

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO	
RAD: 11-95147- -18	FECHA: 2015-10-26 15:28:08
DEP: 2020 DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES	EVE: 378 FASE NACIONAL INCLUIDO CAPITULO I
TRA: 11 PCT-PATENTE DE INVENCION CAPITULOS I Y II	FOLIOS: 20
ACT: 519 TRASLADOINFORME	

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

2020
Bogotá, D.C.,

Abogado(a)/Señor(a)
CARLOS R. OLARTE GARCIA

Asunto: Radicación: 11-95147- -18
Trámite: 11
Evento: 378
Actuación: 519
Oficio: 12766
Folios: 20

Patente de Invención	X			Patente de Modelo de Utilidad	
Vía Nacional					
Vía PCT (Fase Nacional)	X	Capítulo I	X	Capítulo II	
No. Solicitud Internacional	PCT/US2010/022268				
Fecha de Presentación Internacional	27/01/2010				

Como resultado del Examen de Fondo realizado, con fundamento en el Artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se comunica:

1. Documentos estudiados

Descripción:	Radicado No. 11-095147-00000-0000	28/Julio/2011
Reivindicaciones:	Radicado No. 11-095147-00000-0000	28/Julio/2011
	Radicado No. 11-095147-00008-0000	13/Diciembre/2013
	Radicado No. 11-095147-00016-0000	03/Marzo/2015
Dibujos:	Radicado No. 11-095147-00000-0000	28/Julio/2011
Prioridad:	US 61 147 878	28/Enero/2009
	US 61 159 643	12/Marzo/2009
	US 61 162 107	20/Marzo/2009
	US 61 163 084	25/Marzo/2009
	US 61 219 897	24/Junio/2009
	US 61 223 572	07/Julio/2009
	US 61 252 857	19/Octubre/2009

2. Análisis de la Prioridad

Se acepta la reivindicación de Prioridad porque esta solicitud fue presentada dentro del plazo establecido (Art. 9 D 486) y su contenido técnico corresponde con el de la prioridad reivindicada.

3. Objeto de la invención

De acuerdo con lo establecido en el numeral 1.2.2.2 del capítulo primero del Título 10 de la Circular Única para efectos del examen de patentabilidad, se tendrá en cuenta la tasa pagada por el solicitante al momento de comenzar el examen para las reivindicaciones adicionales; esto es que cuando la solicitud contenga más de diez (10) reivindicaciones y no se haya pagado la tasa complementaria, sólo se estudiarán las cubiertas por la tasa pagada. En el presente caso se tiene en cuenta la totalidad del capítulo reivindicatorio modificado presentado junto con el memorial 11-095147-00016-0000 del 3 de marzo de 2015.

Título de la solicitud: “Sistemas basados en conjugados insulina-sacárido para entrega controlada del fármaco” (modificado en el memorial 11-095147-00008-0000 del 13 de diciembre de 2013).

El problema planteado en esta solicitud consiste en la necesidad de suministrar sistemas de entrega farmacológica controlada de insulina, sensibles a sacáridos, libres de lecitina.

Para resolver este problema técnico la solicitud en estudio proporciona un conjugado que comprende una insulina conjugada a uno o más ligandos en donde al menos un ligando es un aminoetiltrimanosa (AETM) o aminoetilfucosa (AEF) y en donde uno o más ligandos están conjugados a la insulina por una estructura polimérica o no polimérica.

El objeto de la presente solicitud se relaciona con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP): A01N 45/00.

4. De la Solicitud de Patente

Reivindicaciones (Art 30 D 486, Art 22 PCT)

La reivindicación 1 reclama materia protegida por la patente del expediente 11-095151 ya que dicha patente presenta en su reivindicación 1, un conjugado de insulina que comprende un ligando aminoetiltrimanosa (AETM). Se sugiere eliminar de la presente solicitud la materia contenida en el expediente 11-095151.

La reivindicación 1 no es concisa, porque reclama cualquier conjugado de insulina que comprenda un aminoetiltrimanosa (AETM) o aminoetilfucosa (AEF), sin embargo, la descripción solo soporta conjugados que comprenden una estructura (scaffold) o espaciador que puede ser TSB, TSAT, TSPE, TSAT-C6 o DSS, y donde el ligando es AEM, AEBM, AETM, AEM + ATM, o GA. Adicionalmente, la reivindicación 1 no menciona las demás posibilidades de ligandos que podrían estar incluidos cuando señala que la insulina está conjugada a uno o más ligandos, lo cual genera un indeterminado número de posibles conjugados, muchos de los cuales no cuentan con soporte descriptivo. Se sugiere restringir la materia reclamada a una generalización razonable de la materia efectivamente probada y soportada en la descripción, ya que la descripción no soporta, ni prueba conjugados que comprendan ligando diferentes a AEM, AEBM, AETM, AEM y ATM, y GA, y que no comprendan un espaciador.

La reivindicación 2 no es clara porque se refiere a “un fármaco”, sin embargo, la reivindicación 1 de la cual depende no se refiere a “un fármaco”, lo cual puede generar confusión a la hora de determinar el alcance de la solicitud. La descripción solo soporta y prueba conjugados que comprenden insulina por lo cual se sugiere eliminar la palabra fármaco de la reivindicación y referirse únicamente a insulina.

La reivindicación 4 no se encuentra soportada en la descripción, porque la descripción no soporta, ni prueba composiciones que comprendan L-fucosa. Se sugiere hacer una generalización razonable de la materia efectivamente soportada y probada.

La reivindicación 5 no se encuentra soportada en la descripción porque no se encuentra en los ejemplos ningún ejemplo que comprenda la fórmula reclamada y que pueda servir como soporte de la materia reclamada. Adicionalmente, tampoco se encuentra soporte para conjugados que comprendan algún fármaco diferente a la insulina o un sacárido diferente a manosa o glucosamina. Se sugiere hacer una generalización razonable de la materia efectivamente soportada y probada.

La reivindicación 6 no se encuentra enteramente soportada en la descripción porque no se encuentra ningún ejemplo de conjugados que presenten las fórmulas reclamadas y que puedan servir como sustento de la materia reclamada. Tampoco se encuentra soporte para conjugados que comprendan un fármaco diferente a insulina, ni conjugados que comprendan fucosa. Se sugiere restringir la materia reclamada a una generalización razonable de la materia efectivamente soportada en la descripción.

La reivindicación 7 no se encuentra enteramente soportada en la descripción porque no se encuentra en la descripción ningún ejemplo de conjugados que comprendan un fármaco diferente de insulina, que comprendan fucosa, que comprendan algún átomo de azufre, un grupo heteroarilo, grupo arilo, grupo heterociclo o átomo de oxígeno que reemplacen una o más unidades de metileno. Se sugiere restringir la materia reclamada a la efectivamente soportada en la descripción.

La reivindicación 7 no es clara, porque no es claro a qué se refiere cuando señala que L^B es un grupo derivado de la conjugación de un T con un X, o cuando señala que L^D es un grupo derivado de la conjugación de un T con un W, lo cual no permite determinar el alcance de la solicitud. Se sugiere restringir la materia reclamada a la efectivamente soportada en la descripción y presentarla de tal manera que su alcance se pueda determinar claramente.

La reivindicación 8 no se encuentra enteramente soportada en la descripción porque la descripción no presenta, ni prueba, ningún conjugado que comprenda un fármaco diferente a insulina, ni conjugados que no presenten el grupo etilamino directamente unido al sacárido (AEM, AEBM, AETM, AEM + AETM). La descripción no soporta conjugados que comprendan L-fucosa. Se sugiere restringir la materia reclamada a la efectivamente soportada en la descripción.

La reivindicación 9 no es clara porque no es claro a qué se refiere cuando señala que L^B es un grupo derivado de la conjugación de un T con un X, o cuando señala que L^D es un grupo derivado de la conjugación de un T con un W, lo cual no permite determinar el alcance de la solicitud. Se sugiere restringir la materia reclamada a la efectivamente soportada en la descripción y presentarla de tal manera que su alcance se pueda determinar claramente.

La reivindicación 9 no se encuentra enteramente soportada en la descripción porque la descripción no presenta, ni prueba, conjugados que comprendan un fármaco diferente a insulina, que comprendan algún átomo de azufre, o N(R), C(O)O, OC(O), S(O), S(O)₂, N(R)SO₂, SO₂N(R), o un grupo heterocíclico, un grupo arilo, o un grupo heteroarilo, o donde R sea un grupo protector, fracción de arilalquilo, fracción arilo, fracción de heteroarilo o fracción heteroalifática. Se sugiere restringir la materia reclamada a la efectivamente soportada en la descripción y presentarla de tal manera que su alcance se pueda determinar claramente.

La reivindicación 10 no se encuentra enteramente soportada en la descripción porque la descripción no soporta, ni prueba conjugados que comprendan L-fucosa, o un fármaco diferente a insulina, ni soporta conjugados que no presenten el grupo etilamino directamente unido al sacárido (AEM, AEBM, AETM, AEM + AETM). Se sugiere restringir la materia reclamada a la efectivamente soportada en la descripción.

La reivindicación 14 no se encuentra enteramente soportada en la descripción porque la descripción no soporta, ni prueba conjugados que comprendan ligandos diferentes a glucosamina (GA), AEM, AEBM, AETM y AEM+AETM, es decir que los ligandos aminoetilfucosa (AEF) y β -aminoetil-N-acetilglucosamina (AEGA) no presentan soporte descriptivo. Se sugiere restringir la materia reclamada a la efectivamente soportada en la descripción.

La reivindicación 14 no es concisa, porque reclama cualquier conjugado de insulina que comprenda un ligando aminoetiltrimanosa (AETM), β -aminoetil-N-acetilglucosamina (AEGA) o aminoetilfucosa (AEF), sin embargo, la solicitud solo soporta conjugados que comprenden un espaciador o estructura (scaffold) como TSB, TSAT, TSPE, TSAT-C6 y DSS, y donde el ligando es AEM, AEBM, AETM, AEM + ATM, y GA. Se sugiere restringir la materia reclamada a una generalización razonable de la materia efectivamente probada y soportada en la descripción, redactando la solicitud de tal manera que su alcance se pueda determinar claramente.

La reivindicación 17 no es clara porque se refiere a un resultado a alcanzar cuando señala que el conjugado se caracteriza porque, cuando se administra a un mamífero en ausencia de una molécula de unión multivalente de sacáridos exógena, al menos una propiedad farmacocinética o farmacodinámica del conjugado es sensible a la concentración en suero del sacárido, en el suero de un mamífero. El resultado a alcanzar no define al conjugado porque la invención no queda definida por el resultado a alcanzar, puesto que la reivindicación incluiría no sólo la solución propuesta por el solicitante, sino todas las alternativas presentes o futuras que lleguen a ese resultado. Se sugiere reemplazarlo por las características esenciales, estructurales o funcionales, que contribuyen a la obtención de ese efecto, es decir la estructura del conjugado reclamado.

La reivindicación 17 no se encuentra enteramente soportada en la descripción porque la descripción no soporta, ni prueba, conjugados que comprendan ligandos aminoetilglucosa (AEG), β -aminoetil-N-acetilglucosamina (AEGA) o aminoetilfucosa (AEF). Además, la reivindicación 17 no es concisa, porque reclama cualquier conjugado de insulina que comprenda un ligando AEG, AEM, AEBM, AETM, AEGA o AEF, sin embargo, la solicitud solo soporta conjugados que comprenden un espaciador o estructura (scaffold) seleccionada de TSB, TSAT, TSPE, TSAT-C6 y DSS, y donde el ligando es AEM, AEBM, AETM, AEM + ATM, o GA. La reivindicación 17 no es concisa porque no señala las otras posibilidades de ligandos, lo cual genera un número indeterminado de posibilidades de conjugados, muchos de los cuales no cuentan con soporte descriptivo. Se sugiere restringir la materia reclamada a una generalización razonable de la materia efectivamente probada y soportada en la descripción, redactando la solicitud de tal manera que su alcance se pueda determinar claramente.

La reivindicación 21 no se encuentra enteramente soportada en la descripción, porque la descripción no soporta, ni prueba, complejos donde la insulina se conjugue a través del grupo amino-épsilon de Lys^{B3}.

La reivindicación 22 no se encuentra enteramente soportada en la descripción, porque la descripción no soporta, ni prueba, complejos donde uno o más ligandos sean AEG.

La reivindicación 26 no se encuentra enteramente soportada en la descripción, porque la descripción no soporta, ni prueba, complejos donde uno o más ligandos sean AEGA.

La reivindicación 27 no se encuentra enteramente soportada en la descripción, porque la descripción no soporta, ni prueba, complejos donde uno o más ligandos sean AEF.

La reivindicación 35 no se encuentra enteramente soportada en la descripción, porque la descripción solo soporta conjugados que comprenden hasta dos puntos diferentes de conjugación de la molécula de insulina con ligandos separados.

La reivindicación 37 no es concisa porque no establece claramente cuántos ligandos y cuáles comprende el conjugado reclamado, lo cual genera una muy grande cantidad de posibilidades, muchas de las cuales no cuentan con soporte descriptivo. Se sugiere restringir la materia reclamada a una generalización razonable de la materia efectivamente probada y soportada en la descripción, redactando la reivindicación de tal manera que su alcance se pueda determinar claramente.

La reivindicación 39 no es concisa, porque no establece cuál es la estructura de cada uno de los marcos conjugados ramificados, ni cuáles son los ligandos a los cuales se conjugan la molécula de insulina, lo cual genera una incontable cantidad de posibilidades de conjugados, muchos de los cuales no cuentan con soporte descriptivo. Se sugiere restringir la materia reclamada a una generalización razonable de la materia efectivamente probada y soportada en la descripción, redactando la solicitud de tal manera que su alcance se pueda determinar claramente ya que como se encuentra actualmente presentado, el capítulo reivindicatorio reclama materia que no ha sido desarrollada por la solicitante.

La reivindicación 42 no cuenta con soporte descriptivo porque la descripción no soporta, ni prueba, conjugados que comprendan AEG. Se sugiere restringir la materia reclamada a una generalización razonable de la materia efectivamente probada y soportada en la descripción.

La reivindicación 46 no cuenta con soporte descriptivo porque la descripción no soporta, ni prueba, conjugados que comprendan AEGA. Se sugiere restringir la materia reclamada a una generalización razonable de la materia efectivamente probada y soportada en la descripción.

La reivindicación 47 no cuenta con soporte descriptivo porque la descripción no soporta, ni prueba, conjugados que comprendan AEF. Se sugiere restringir la materia reclamada a una generalización razonable de la materia efectivamente probada y soportada en la descripción.

Las reivindicaciones 48, 52 y 53 no se encuentran soportadas en la descripción porque la descripción no presenta, ni prueba, conjugados que comprendan AEG, AEGA o AEF. Se sugiere retirar del pliego reivindicatorio la materia que no cuenta con soporte descriptivo.

Las reivindicaciones 49 a 51 no son concisas porque reclaman un conjugado de insulina que comprende AEM, AEEM o AETM, sin establecer cuál es la estructura o conformación de dicho conjugado, lo cual genera una gran cantidad de posibles conjugados no soportados en la descripción. La descripción solo soporta conjugados que presentan una estructura (scaffold) que comprende TSB, TSAT, TSPE, TSAT-C6 y DSS, y donde el ligando es AEM, AEEM, AETM, AEM + ATM, o GA. Se sugiere restringir la materia reclamada a una generalización razonable de la materia efectivamente probada y soportada en la descripción.

La reivindicación 57 no se encuentra enteramente soportada en la descripción, porque la descripción no soporta, ni prueba, complejos donde la insulina se conjugue a través del grupo épsilon- amino de Lys^{B3}.

La reivindicación 59 no se encuentra soportada en la descripción, porque la descripción no soporta, ni prueba, ningún conjugado que comprenda AEF. Se sugiere retirar del pliego reivindicatorio la materia que no cuenta con soporte descriptivo.

La reivindicación 61 no se encuentra enteramente soportada en la descripción porque la descripción no presenta, ni prueba, conjugados de insulina que comprendan AEG. Se sugiere retirar del pliego reivindicatorio la materia que no cuenta con soporte descriptivo.

La reivindicación 62 no es clara porque al referirse al AETM luego entre paréntesis se refiere a aminoetilglucosa, lo cual genera confusión a la hora de determinar el alcance de la solicitud porque en el capítulo descriptivo AETM es aminoetiltrimanosa. Por otro lado, la descripción no soporta conjugados que comprendan AEG por lo cual se sugiere hacer la corrección necesaria. Adicionalmente, la reivindicación 62 se encuentra redactada de una forma que no es comprensible. Se sugiere revisar la traducción o redacción de la reivindicación.

El capítulo reivindicatorio no es conciso porque presenta un excesivo número de reivindicaciones independientes, las cuales presentan un alcance igual. Se sugiere presentar una sola reivindicación independiente de compuesto o conjugado y una de formulación, y restringir el capítulo reivindicatorio a una generalización razonable de la materia efectivamente soportada y probada en la descripción.

El capítulo reivindicatorio no es conciso porque de su lectura no es posible determinar claramente el alcance de la solicitud porque no señala de manera precisa cual es la composición o estructura de los conjugados reclamados. Se sugiere redactar las reivindicaciones de tal manera que su alcance sea claro y que se encuentre soportado en la descripción.

Adicionalmente, es importante señalar que el capítulo descriptivo señala que una de las ventajas de los conjugados de la presente solicitud corresponde a que no es necesaria la utilización de lectinas como ConA, sin embargo las reivindicaciones presentadas no reflejan dicha ventaja porque tal como se encuentran redactadas no excluyen el uso de lectinas. Se sugiere redactar el capítulo reivindicatorio de tal forma que reclame de forma clara una generalización razonable de la materia realmente desarrollada en la descripción, ya que el alcance actual del mismo es demasiado amplio y cubre complejos no desarrollados y que se pueden derivar de forma obvia de la materia divulgada en el estado de la técnica, además de materia no soportada en la descripción. Adicionalmente, es importante mencionar también, que los conjugados de la descripción comprenden unas estructuras enlazantes o espaciadoras las cuales siempre están presentes pero en ningún momento son mencionadas dentro del capítulo reivindicatorio, en vista de que la descripción no demuestra que se presente el mismo efecto sin la presencia de dichas estructuras, es necesario que éstas sean incluidas dentro de las reivindicaciones independientes.

Descripción (Art 28 D 486)

La descripción no divulga la invención de manera suficientemente completa para que la persona del oficio normalmente versada en la materia pueda ejecutarla (ó reproducirla) porque para obtener la gran cantidad de posible conjugados reclamados, la persona de nivel medio versada en la materia tendría que realizar sus propios ensayos porque la descripción solo presenta unos pocos ejemplos para la gran cantidad de posibilidades reclamadas.

Se requiere al Solicitante hacer las aclaraciones necesarias o redactar el capítulo reivindicatorio de acuerdo a la materia realmente desarrollada y soportada en la descripción.

5. Unidad de invención (Art 25 D 486)

La Solicitud no cumple con el Requisito de Unidad de Invención porque se refiere a 6, Grupos Inventivos.

Los Grupos Inventivos están definidos por las siguientes características **esenciales**:

1° Un conjugado que comprende una molécula de insulina conjugada a uno o a más ligandos en donde al menos un ligando comprende aminoetilglucosa (AEG).

- 2° Un conjugado que comprende una molécula de insulina conjugada a uno o a más ligandos en donde al menos un ligando comprende aminoetilmanosa (AEM).
- 3° Un conjugado que comprende una molécula de insulina conjugada a uno o a más ligandos en donde al menos un ligando comprende aminoetilbimanosa (AEBM).
- 4° Un conjugado que comprende una molécula de insulina conjugada a uno o a más ligandos en donde al menos un ligando comprende aminoetiltrimanosa (AETM).
- 5° Un conjugado que comprende una molécula de insulina conjugada a uno o a más ligandos en donde al menos un ligando comprende β -aminoetil-N-acetilglucosamina (AEGA).
- 6° Un conjugado que comprende una molécula de insulina conjugada a uno o a más ligandos en donde al menos un ligando comprende aminoetilfucosa (AEF).

No se encuentra un concepto común inventivo entre los 6 grupos mencionados porque conjugados de insulina con carbohidratos a través de un grupo espaciador ya habían sido divulgados en el documento US4348387, y adicionalmente los conjugados reclamados no presentan nivel inventivo en vista de la información que en conjunto divulgan los documentos D4 y D6, D4 y D5, o D7 y D6.

Se sugiere presentar las Solicitudes Divisionales que considere necesarias, ó limitar la solicitud inicial a una sola invención, eliminando de ella las otras invenciones.

6. Determinación del Estado de la Técnica

El estado de la técnica se determinó con base en la fecha de presentación de la solicitud de prioridad: enero 28 de 2009 y se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud:

Ítem	Documento	Título	Fecha de Publicación
D4	US20070099820	Polymer-drug conjugates	03/Mayo/2007
D5	Carbohydrate Research 342 (2007) 2729–2734	Design and synthesis of novel multivalent mannosides targeting the mannose receptor	19/Noviembre/2007
D6	Chem. Eur. J. 1997, 3, No. 8.	Synthetic carbohydrate-containing dendrimers	01/Agosto/1997
D7	US4348387	Method and system for the controlled release of biologically active substances to a body fluid	07/Septiembre/1982

D4 http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?DB=EPODOC&II=0&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=20070503&CC=US&NR=2007099820A1&KC=A1

Divulga un conjugado que incluye un fármaco (que puede ser insulina) covalentemente ligado a un polímero (que puede ser glicógeno). Un material tal como una pluralidad de conjugados de agentes multivalentes de reticulación permite la liberación controlada del fármaco en respuesta a la concentración local de un indicador molecular (como la glucosa). Los polímeros de los conjugados incluyen un análogo del indicador dentro de su estructura covalente. Los agentes de reticulación multivalentes incluyen receptores que interactúan con el análogo del indicador y reticulan los conjugados. Dichas interacciones no covalentes son interrumpidas cuando una cantidad del indicador molecular está presente de este modo causando que el material libere el conjugado en una manera que es dependiente de la concentración local del indicador (Resumen; párrs. [0011], [0017], [0051], [0064] y [0068]; Fig. 1).

D5 divulga que el receptor de manosa (MR) es una proteína asociada a la membrana multi-dominio que reconoce e internaliza una variedad de microorganismos patógenos y glicoproteínas potencialmente dañinos con terminal de manosa, fucosa, 2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa (N-acetilglucosamina), o residuos de glucosa. El documento D5 divulga manósidos multivalentes que se unen al receptor de manosa (Pág. 2729, col. de la izquierda, segundo párr.; esquema 2, compuestos 9, 10, 14, 17 y 19).

D6 divulga dendrímeros de carbohidratos como residuos de β -D-glucopiranosil (Pág. 1194, col. de la derecha, segundo párr.). La anterioridad señala que el principal motor de esta investigación ha sido el principio bien establecido de la mejora de la afinidad de unión de algunos carbohidratos naturales hacia las proteínas de unión a carbohidratos, tales como lectinas (pág. 1196, col. de la izquierda, último párr.). El documento D6 menciona que en el caso de los dendrímeros totalmente carbohidrato, la combinación del efecto de grupo de hidratos de carbono con la capacidad de los dendrímeros de atar y entregar fármacos podría ser la base para un nuevo régimen terapéutico potente (Pág. 1198, col. de la izquierda, segundo párr.).

D7 http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?CC=US&NR=4348387A&KC=A&FT=D&ND=3&date=19820907&DB=worldwide.espacenet.com&locale=en_EP

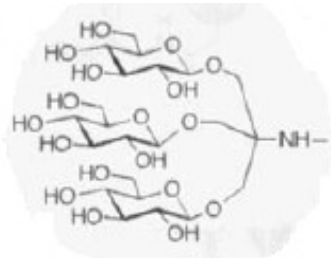
Divulga un conjugado que incluye una hormona como la insulina y un carbohidrato como maltotriosa, donde dicho conjugado es útil en el tratamiento de la diabetes al liberar el agente activo en respuesta a los niveles de glucosa en la sangre (col. 8, líns. 56 – 64; ej; col. 7, líns. 9 – 27; resumen; reivs. 1 y 7).

7. Examen de Patentabilidad (Art 14 D486)

Nivel Inventivo (Art18 D486)

La reivindicación 1 consiste en un conjugado que comprende una insulina conjugada a uno o más ligandos en donde al menos un ligando es un aminoetiltrimanosa (AETM) o aminoetilfucosa (AEF) y en donde uno o más ligandos están conjugados a la insulina por una estructura polimérica o no polimérica.

Comparación de las características técnicas **esenciales**, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D4	D6
Un conjugado que comprende una insulina conjugada a uno o más ligandos en donde al menos un ligando es un aminoetiltrimanosa (AETM) o aminoetilfucosa (AEF) y en donde uno o más ligandos están conjugados a la insulina por una estructura polimérica o no polimérica	Divulga un conjugado que incluye un fármaco (que puede ser insulina) covalentemente ligado a un polímero (que puede ser glicógeno) (Resumen; párrs. [0011], [0017], [0051], [0064] y [0068]; Fig. 1).	Divulga dendrímeros de carbohidratos que comprenden trisglucósidos de la fórmula: 

Los documentos D4 y D6 se consideran el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 1 porque:

El documento D4 divulga un conjugado que incluye un fármaco (que puede ser insulina) covalentemente ligado a un polímero (que puede ser glicógeno). Un material, tal como una pluralidad de conjugados de agentes multivalentes de reticulación, permiten la liberación controlada del fármaco en respuesta a la concentración local de un indicador molecular (como la glucosa). Los polímeros de los conjugados incluyen un análogo del indicador dentro de su estructura covalente. Los agentes de reticulación multivalentes incluyen receptores que interactúan con el análogo del indicador y reticulan los conjugados. Dichas interacciones no covalentes son interrumpidas cuando una cantidad del indicador molecular está presente de este modo causando que el material libere el conjugado en una manera que es dependiente de la concentración local del indicador (Resumen; párrs. [0011], [0017], [0051], [0064] y [0068]; Fig. 1). El documento D4 enseña que cuando el indicador es glucose, el análogo de indicador

puede ser un derivado de glucosa como lactosa, maltosa, manosa, manobiosa, manotriosa, etc. Y que en una realización, el indicador es glucosa, y el polímero es glicógeno (el cual incluye fracciones de glucosa como análogo del indicador), y el conjugado es liberado del material en respuesta a la concentración local de glucosa (Párr. [0068], [0070]).

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 1 y los conjugados del documento D4 consiste en que los conjugados de la anterioridad comprenden una estructura polimérica (ej. glicógeno).

El efecto que logrado por esta característica es que en los conjugados que comprenden un polímero, la insulina presenta una tasa de absorción y eliminación más lenta.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: “cómo modificar los conjugados de insulina divulgados en el documento D4 para obtener conjugados de insulina que presenten una tasa de absorción y eliminación menos lenta”.

Sin embargo, el documento D6 divulga dendrímeros de carbohidratos como residuos de β -D-glucopiranosil (Pág. 1194, col. de la derecha, segundo párr.). La anterioridad señala que El principal motor de esta investigación ha sido el principio bien establecido de la mejora de la afinidad de unión de algunos carbohidratos naturales hacia las proteínas de unión a carbohidratos, tales como lectinas (pág. 1196, col. de la izquierda, último párr.). El documento D6 menciona que en el caso de los dendrímeros totalmente carbohidrato, la combinación del efecto de grupo de hidratos de carbono con la capacidad de los dendrímeros de atar y entregar fármacos podría ser la base para un nuevo régimen terapéutico potente (Pág. 1198, col. de la izquierda, segundo párr.).

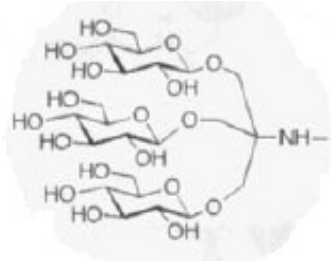
En consecuencia, la persona de nivel medio versada en la materia, interesada en obtener conjugados de insulina que presenten una tasa de absorción y eliminación menos lenta, se vería motivada a reemplazar los polímeros de los conjugados divulgados en el documento D4 por otras estructuras que presenten un menor peso molecular, tal como los dendrímeros divulgados en el documento D6, por lo cual el objeto de la reivindicación 1 se considera obvio.

Conclusión:

La reivindicación 1 cumple el requisito de novedad (Art. 16), pero no cumple con el requisito de nivel inventivo (Art. 18), de la misma forma que sus reivindicaciones dependientes 2- 10.

Nivel inventivo frente a los documentos D7 y D6

Comparación de las características técnicas **esenciales**, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D7	D6
Un conjugado que comprende una insulina conjugada a uno o más ligandos en donde al menos un ligando es un aminoetilrimanosa (AETM) o aminoetilfucosa (AEF) y en donde uno o más ligandos están conjugados a la insulina por una estructura polimérica o no polimérica	Divulga un conjugado que incluye un fármaco (que preferiblemente es insulina) covalentemente ligado a un carbohidrato como maltosa o maltotriosa a través de un enlazador (col. 8, líns. 56 – 64; ej; col. 7, líns. 9 – 27).	Divulga dendrímeros de carbohidratos que comprenden trisglucósidos de la fórmula: 

Los documentos D7 y D6 se consideran el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 1 porque:

El documento D7 divulga un conjugado que incluye una hormona como la insulina y un carbohidrato como maltotriosa, donde dicho conjugado es útil en el tratamiento de la diabetes al liberar el agente activo en respuesta a los niveles de glucosa en la sangre (col. 8, líns. 56 – 64; ej; col. 7, líns. 9 – 27; resumen; reivs. 1 y 7).

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 1 y los conjugados del documento D7 consiste en que la anterioridad no divulga un ejemplo específico de conjugado que comprenda aminoetiltrimanosa.

No se encuentra alguna ventaja o efecto superior logrado por las composiciones reclamadas frente a las del documento D7 porque tanto los conjugados de la reivindicación 1 de la presente solicitud, como los de la anterioridad permiten la liberación de la insulina en respuesta a los niveles de glucosa en sangre.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: “cómo modificar los conjugados de insulina divulgados en el documento D7 para obtener conjugados alternativos”.

Sin embargo, el documento D6 divulga dendrímeros de carbohidratos como residuos de β -D-glucopiranosil (Pág. 1194, col. de la derecha, segundo párr.). La anterioridad señala que El principal motor de dicha investigación fue el principio bien establecido de la mejora de la afinidad de unión de algunos carbohidratos naturales hacia las proteínas de unión a carbohidratos, tales como lectinas (pág. 1196, col. de la izquierda, último párr.). El documento D6 menciona que en el caso de los dendrímeros totalmente carbohidrato, la combinación del efecto de grupo de hidratos de carbono con la capacidad de los dendrímeros de atar y entregar fármacos podría ser la base para un nuevo régimen terapéutico potente (Pág. 1198, col. de la izquierda, segundo párr.).

En consecuencia, la persona de nivel medio versada en la materia, interesada en obtener conjugados de insulina alternativos a los divulgados en el documento D7, se vería motivada a incluir estructuras como las de los dendrímeros divulgados en el documento D6 dentro de los conjugados divulgados en el documento D7 con el fin de mejorar la unión de los conjugados a la molécula de unión a carbohidratos, por lo cual el objeto de la reivindicación 1 se considera obvio.

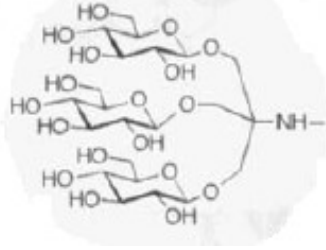
Conclusión:

La reivindicación 1 cumple el requisito de novedad (Art. 16), pero no cumple con el requisito de nivel inventivo (Art. 18), de la misma forma que sus reivindicaciones dependientes 2- 10.

La reivindicación 11 consiste en una formulación de liberación sostenida que comprende un conjugado de cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

Comparación de las características técnicas **esenciales**, con las del Estado de la Técnica:

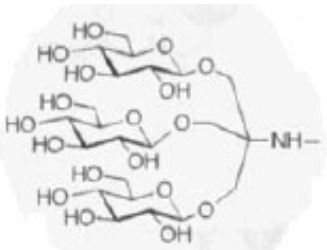
Características esenciales	D4	D6
Una formulación de liberación sostenida que comprende un conjugado de cualquiera de las reivindicaciones anteriores.	Divulga composiciones que comprenden los conjugados allí divulgados (Ejs. 21, 27 y 28).	Divulga dendrímeros de carbohidratos que comprenden trisglucósidos de la fórmula:

Características esenciales	D4	D6
		 El documento D6 menciona que en el caso de los dendrímeros totalmente carbohidrato, la combinación del efecto de grupo de hidratos de carbono con la capacidad de los dendrímeros de atar y entregar fármacos podría ser la base para un nuevo régimen terapéutico potente (Pág. 1198, col. de la izquierda, segundo párr.).

La formulación de la reivindicación 11 no es inventiva, de la misma forma que la formulación de la reivindicación dependiente 12, porque el ingrediente que las caracteriza no es inventivo.

Nivel inventivo frente a los documentos D7 y D6

Comparación de las características técnicas **esenciales**, con las del Estado de la Técnica:

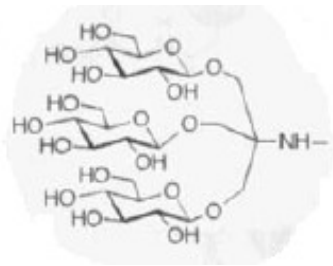
Características esenciales	D7	D6
Una formulación de liberación sostenida que comprende un conjugado de cualquiera de las reivindicaciones anteriores.	Divulga un medicamento de liberación controlada que comprende: una cantidad hipoglicémicamente activa de un complejo reversible de (1) un análogo de insulina que es un conjugado entre un carbohidrato y una insulina y (2) una lectina que tenga afinidad por glucosa y por la porción de carbohidrato del conjugado (reiv. 8).	Divulga dendrímeros de carbohidratos que comprenden trisglucósidos de la fórmula:  El documento D6 menciona que en el caso de los dendrímeros totalmente carbohidrato, la combinación del efecto de grupo de hidratos de carbono con la capacidad de los dendrímeros de atar y entregar fármacos podría ser la base para un nuevo régimen terapéutico potente (Pág. 1198, col. de la izquierda, segundo párr.).

La formulación de la reivindicación 11 no es inventiva, de la misma forma que la formulación de la reivindicación dependiente 12, porque el ingrediente que las caracteriza no es inventivo en vista de la información que en conjunto divulgan los documentos D7 y D6.

La reivindicación 14 consiste en un conjugado que comprende una molécula de insulina conjugada con uno o más ligandos que se seleccionan independientemente a partir del

grupo que consta de, aminoetiltrimanosa (AETM), β -aminoetil-N-acetilglucosamina (AEGA), y aminoetilfucosa (AEF).

Comparación de las características técnicas **esenciales**, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D4	D6
Un conjugado que comprende una molécula de insulina conjugada con uno o más ligandos que se seleccionan independientemente a partir del grupo que consta de, aminoetiltrimanosa (AETM), β -aminoetil-N-acetilglucosamina (AEGA), y aminoetilfucosa (AEF).	Divulga un conjugado que incluye un fármaco (que puede ser insulina) covalentemente ligado a un polímero (que puede ser glicógeno) (Resumen; párrs. [0011], [0017], [0051], [0064] y [0068]; Fig. 1).	Divulga dendrímeros de carbohidratos que comprenden trisglucósidos de la fórmula: 

Los documentos D4 y D6 se consideran el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 14 porque:

El documento D4 divulga un conjugado que incluye un fármaco (que puede ser insulina) covalentemente ligado a un polímero (que puede ser glicógeno). Un material, tal como una pluralidad de conjugados de agentes multivalentes de reticulación, permite la liberación controlada del fármaco en respuesta a la concentración local de un indicador molecular (como la glucosa). Los polímeros de los conjugados incluyen un análogo del indicador dentro de su estructura covalente. Los agentes de reticulación multivalentes incluyen receptores que interactúan con el análogo del indicador y reticulan los conjugados. Dichas interacciones no covalentes son interrumpidas cuando una cantidad del indicador molecular está presente de este modo causando que el material libere el conjugado en una manera que es dependiente de la concentración local del indicador (Resumen; párrs. [0011], [0017], [0051], [0064] y [0068]; Fig. 1). El documento D4 enseña que cuando el indicador es glucose, el análogo de indicador puede ser un derivado de glucosa como lactosa, maltosa, manosa, manobiosa, manotriosa, etc. Y que en una realización, el indicador es glucosa, y el polímero es glicógeno (el cual incluye fracciones de glucosa como análogo del indicador), y el conjugado es liberado del material en respuesta a la concentración local de glucosa (Párr. [0068], [0070]).

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 14 y los conjugados del documento D4 consiste en que los conjugados de la anterioridad comprenden una estructura polimérica (ej. glicógeno).

El efecto que logrado por esta característica es que en los conjugados que comprenden un polímero, la insulina presenta una tasa de absorción y eliminación más lenta.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: “cómo modificar los conjugados de insulina divulgados en el documento D4 para obtener conjugados de insulina que presenten una tasa de absorción y eliminación menos lenta”.

Sin embargo, el documento D6 divulga dendrímeros de carbohidratos como residuos de β -D-glucopiranosil (Pág. 1194, col. de la derecha, segundo párr.). La anterioridad señala que El principal motor de esta investigación ha sido el principio bien establecido de la mejora de la afinidad de unión de algunos carbohidratos naturales hacia las proteínas de unión a carbohidratos, tales como lectinas (pág. 1196, col. de la izquierda, último párr.). El documento D6 menciona que en el caso de los dendrímeros totalmente

carbohidrato, la combinación del efecto de grupo de hidratos de carbono con la capacidad de los dendrímeros de atar y entregar fármacos podría ser la base para un nuevo régimen terapéutico potente (Pág. 1198, col. de la izquierda, segundo párr.).

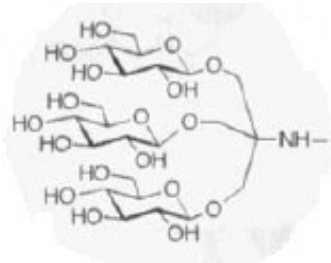
En consecuencia, la persona de nivel medio versada en la materia, interesada en obtener conjugados de insulina que presenten una tasa de absorción y eliminación menos lenta, se vería motivada a reemplazar los polímeros de los conjugados divulgados en el documento D4 por otras estructuras que presenten un menor peso molecular, tal como los dendrímeros divulgados en el documento D6, por lo cual el objeto de la reivindicación 14 se considera obvio.

Conclusión:

La reivindicación 14 cumple el requisito de novedad (Art. 16), pero no cumple con el requisito de nivel inventivo (Art. 18), de la misma forma que sus reivindicaciones dependientes 15 y 16.

Nivel inventivo frente a los documentos D7 y D6

Comparación de las características técnicas **esenciales**, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D7	D6
Un conjugado que comprende una molécula de insulina conjugada con uno o más ligandos que se seleccionan independientemente a partir del grupo que consta de, aminoetilrimanosa (AETM), β -aminoetil-N-acetilglucosamina (AEGA), y aminoetilfucosa (AEF).	Divulga un conjugado que incluye un fármaco (que preferiblemente es insulina) covalentemente ligado a un carbohidrato como maltosa o maltotriosa o un análogo de glucosa a través de un enlazador (col. 8, líns. 56 – 64; ej; col. 7, líns. 9 – 27).	Divulga dendrímeros de carbohidratos que comprenden trisglucósidos de la fórmula: 

Los documentos D7 y D6 se consideran el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 14 porque:

El documento D7 divulga un conjugado que incluye una hormona como la insulina y un carbohidrato como maltotriosa, donde dicho conjugado es útil en el tratamiento de la diabetes al liberar el agente activo en respuesta a los niveles de glucosa en la sangre (col. 8, líns. 56 – 64; ej; col. 7, líns. 9 – 27; resumen; reivs. 1 y 7).

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 14 y los conjugados del documento D7 consiste en que la anterioridad no divulga un ejemplo específico de conjugado que comprenda aminoetilrimanosa (AETM), β -aminoetil-N-acetilglucosamina (AEGA), y aminoetilfucosa (AEF).

No se encuentra alguna ventaja o efecto superior logrado por las composiciones reclamadas frente a las del documento D7 porque tanto los conjugados de la reivindicación 14 de la presente solicitud, como los de la anterioridad permiten la liberación de la insulina en respuesta a los niveles de glucosa en sangre.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: “cómo modificar los conjugados de insulina divulgados en el documento D7 para obtener conjugados alternativos”.

Sin embargo, el documento D6 divulga dendrímeros de carbohidratos como residuos de β -D-glucopiranosil (Pág. 1194, col. de la derecha, segundo párr.). La anterioridad señala que El principal motor de dicha investigación fue el principio bien establecido de

la mejora de la afinidad de unión de algunos carbohidratos naturales hacia las proteínas de unión a carbohidratos, tales como lectinas (pág. 1196, col. de la izquierda, último párr.). El documento D6 menciona que en el caso de los dendrímeros totalmente carbohidrato, la combinación del efecto de grupo de hidratos de carbono con la capacidad de los dendrímeros de atar y entregar fármacos podría ser la base para un nuevo régimen terapéutico potente (Pág. 1198, col. de la izquierda, segundo párr.).

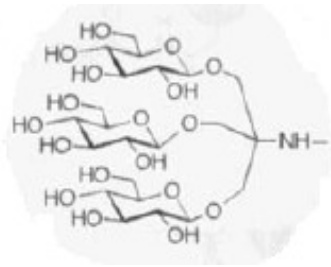
En consecuencia, la persona de nivel medio versada en la materia, interesada en obtener conjugados de insulina alternativos a los divulgados en el documento D7, se vería motivada a incluir estructuras como las de los dendrímeros divulgados en el documento D6 dentro de los conjugados divulgados en el documento D7 con el fin de mejorar la unión de los conjugados a la molécula de unión a carbohidratos, por lo cual el objeto de la reivindicación 14 se considera obvio.

Conclusión:

La reivindicación 14 cumple el requisito de novedad (Art. 16), pero no cumple con el requisito de nivel inventivo (Art. 18), de la misma forma que sus reivindicaciones dependientes 15 y 16.

La reivindicación 17 consiste en un conjugado que comprende una molécula de insulina conjugada a uno o a más ligandos en donde al menos un ligando comprende aminoetilglucosa (AEG), aminoetilmanosa (AEM), aminoetilbimansa (AEBM), aminoetiltrimansa (AETM), β -aminoetil-N-acetilglucosamina (AEGA), o aminoetilfucosa (AEF).

Comparación de las características técnicas **esenciales**, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D4	D6
Un conjugado que comprende una molécula de insulina conjugada a uno o a más ligandos en donde al menos un ligando comprende aminoetilglucosa (AEG), aminoetilmanosa (AEM), aminoetilbimansa (AEBM), aminoetiltrimansa (AETM), β -aminoetil-N-acetilglucosamina (AEGA), o aminoetilfucosa (AEF).	Divulga un conjugado que incluye un fármaco (que puede ser insulina) covalentemente ligado a un polímero (que puede ser glicógeno) (Resumen; párrs. [0011], [0017], [0051], [0064] y [0068]; Fig. 1).	Divulga dendrímeros de carbohidratos que comprenden trisglucósidos de la fórmula: 

Los documentos D4 y D6 se consideran el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 17 porque:

El documento D4 divulga un conjugado que incluye un fármaco (que puede ser insulina) covalentemente ligado a un polímero (que puede ser glicógeno). Un material tal como una pluralidad de conjugados de agentes multivalentes de reticulación permiten la liberación controlada del fármaco en respuesta a la concentración local de un indicador molecular (como la glucosa). Los polímeros de los conjugados incluyen un análogo del indicador dentro de su estructura covalente. Los agentes de reticulación multivalentes incluyen receptores que interactúan con el análogo del indicador y reticulan los conjugados. Dichas interacciones no covalentes son interrumpidas cuando una cantidad del indicador molecular está presente de este modo causando que el material libere el conjugado en una manera que es dependiente de la concentración local del indicador (Resumen; párrs. [0011], [0017], [0051], [0064] y [0068]; Fig. 1). El documento D4 enseña que cuando el indicador es glucosa, el análogo de indicador puede ser un derivado de glucosa como lactosa, maltosa, manosa, manobiosa, manotriosa, etc. Y que en una realización, el indicador es glucosa, y el polímero es glicógeno (el cual incluye fracciones de glucosa como análogo del indicador), y el

conjugado es liberado del material en respuesta a la concentración local de glucosa (Párr. [0068], [0070]).

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 17 y los conjugados del documento D4 consiste en que los conjugados de la anterioridad comprenden una estructura polimérica (ej. glicógeno).

El efecto que logrado por esta característica es que en los conjugados que comprenden un polímero, la insulina presenta una tasa de absorción y eliminación más lenta.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: “cómo modificar los conjugados de insulina divulgados en el documento D4 para obtener conjugados de insulina que presenten una tasa de absorción y eliminación menos lenta”.

Sin embargo, el documento D6 divulga dendrímeros de carbohidratos como residuos de β -D-glucopiranosil (Pág. 1194, col. de la derecha, segundo párr.). La anterioridad señala que El principal motor de esta investigación ha sido el principio bien establecido de la mejora de la afinidad de unión de algunos carbohidratos naturales hacia las proteínas de unión a carbohidratos, tales como lectinas (pág. 1196, col. de la izquierda, último párr.). El documento D6 menciona que en el caso de los dendrímeros totalmente carbohidrato, la combinación del efecto de grupo de hidratos de carbono con la capacidad de los dendrímeros de atar y entregar fármacos podría ser la base para un nuevo régimen terapéutico potente (Pág. 1198, col. de la izquierda, segundo párr.).

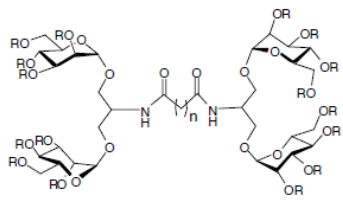
En consecuencia, la persona de nivel medio versada en la materia, interesada en obtener conjugados de insulina que presenten una tasa de absorción y eliminación menos lenta, se vería motivada a reemplazar los polímeros de los conjugados divulgados en el documento D4 por otras estructuras que presenten un menor peso molecular, tal como los dendrímeros divulgados en el documento D6, por lo cual el objeto de la reivindicación 17 se considera obvio.

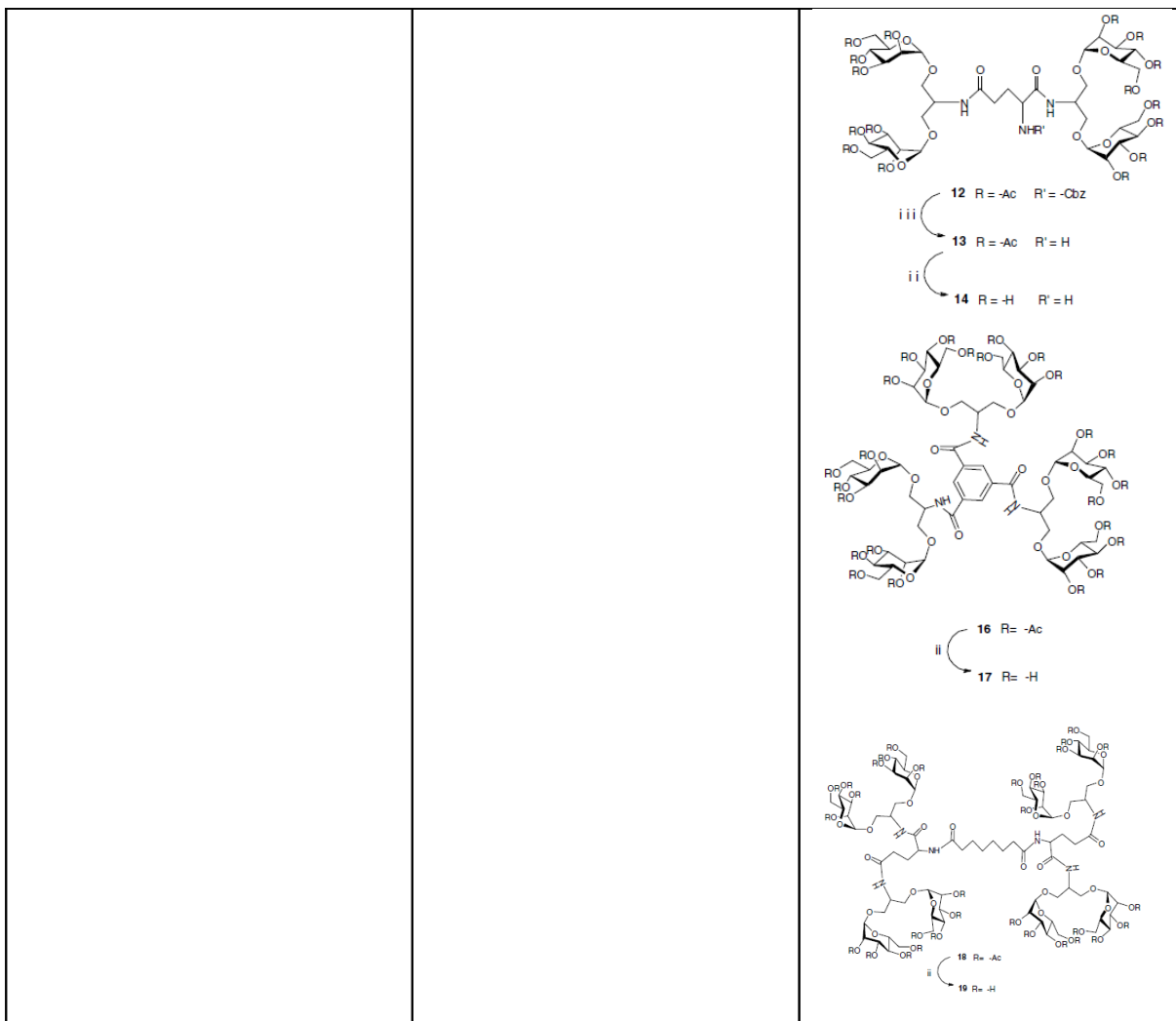
Conclusión:

La reivindicación 17 cumple el requisito de novedad (Art. 16), pero no cumple con el requisito de nivel inventivo (Art. 18), de la misma forma que sus reivindicaciones dependientes 18 a 47.

Nivel inventivo frente a los documentos D4 y D5

Comparación de las características técnicas **esenciales**, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D4	D5
Un conjugado que comprende una molécula de insulina conjugada a uno o a más ligandos en donde al menos un ligando comprende aminoetilglucosa (AEG), aminoetilmanosa (AEM), aminoetilbimansa (AEBM), aminoetilrimansa (AETM), β -aminoetil-N-acetilglucosamina (AEGA), o aminoetilfucosa (AEF).	Divulga un conjugado que incluye un fármaco (que puede ser insulina) covalentemente ligado a un polímero (que puede ser glicógeno) (Resumen; párrs. [0011], [0017], [0051], [0064] y [0068]; Fig. 1).	Divulga manósidos que se unen al receptor de manosa tal como:  7 R = -Ac n = 2 8 R = -Ac n = 6 9 R = -H n = 2 10 R = -H n = 6



Los documentos D4 y D5 se consideran el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 17 porque:

El documento D4 divulga un conjugado que incluye un fármaco (que puede ser insulina) covalentemente ligado a un polímero (que puede ser glicógeno). Un material tal como una pluralidad de conjugados de agentes multivalentes de reticulación permiten la liberación controlada del fármaco en respuesta a la concentración local de un indicador molecular (como la glucosa). Los polímeros de los conjugados incluyen un análogo del indicador dentro de su estructura covalente. Los agentes de reticulación multivalentes incluyen receptores que interactúan con el análogo del indicador y reticulan los conjugados. Dichas interacciones no covalentes son interrumpidas cuando una cantidad del indicador molecular está presente, de este modo causando que el material libere el conjugado en una manera que es dependiente de la concentración local del indicador (Resumen; párrs. [0011], [0017], [0051], [0064] y [0068]; Fig. 1). El documento D4 enseña que cuando el indicador es glucosa, el análogo de indicador puede ser un derivado de glucosa como lactosa, maltosa, manosa, manobiosa, manotriosa, etc., Y que en una realización, el indicador es glucosa, y el polímero es glicógeno (el cual incluye fracciones de glucosa como análogo del indicador), y el conjugado es liberado del material en respuesta a la concentración local de glucosa (Párr. [0068], [0070]).

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 17 y los conjugados del documento D4 consiste en que los conjugados de la anterioridad comprenden una estructura polimérica (ej. glicógeno).

El efecto que logrado por esta característica es que en los conjugados que comprenden un polímero, la insulina presenta una tasa de absorción y eliminación más lenta.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: “cómo modificar los conjugados de insulina divulgados en el documento D4 para obtener conjugados de insulina que presenten una tasa de absorción y eliminación menos lenta”.

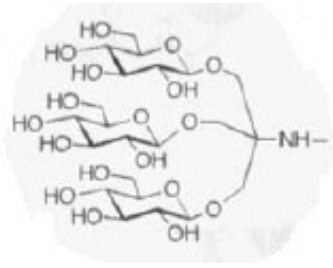
Sin embargo, el documento D5 menciona que el receptor de manosa (MR) es una proteína asociada a la membrana multi-dominio que reconoce e internaliza una variedad de microorganismos patógenos y glicoproteínas potencialmente dañinos con terminal de manosa, fucosa, 2- acetamido-2-desoxi-D-glucosa (N-acetilglucosamina), o residuos de glucosa. El documento D5 divulga manósidos multivalentes que se unen al receptor de manosa (Pág. 2729, col. de la izquierda, segundo párr.; esquema 2, compuestos 9, 10, 14, 17 y 19).

En consecuencia, la persona de nivel medio versada en la materia, interesada en obtener conjugados de insulina que presenten una tasa de absorción y eliminación menos lenta, se vería motivada a reemplazar los polímeros de los conjugados divulgados en el documento D4 por otras estructuras que presenten un menor peso molecular, tal como las divulgadas en el documento D5, por lo cual el objeto de la reivindicación 17 se considera obvio.

Conclusión:
La reivindicación 17 cumple el requisito de novedad (Art. 16), pero no cumple con el requisito de nivel inventivo (Art. 18), de la misma forma que sus reivindicaciones dependientes 18 a 47.

Nivel inventivo frente a los documentos D7 y D6

Comparación de las características técnicas **esenciales**, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D7	D6
Un conjugado que comprende una molécula de insulina conjugada a uno o a más ligandos en donde al menos un ligando comprende aminoetilglucosa (AEG), aminoetilmanosa (AEM), aminoetilbimansa (AEBM), aminoetiltrimansa (AETM), β-aminoetil-N-acetilglucosamina (AEGA), o aminoetilfucosa (AEF).	Divulga un conjugado que incluye un fármaco (que preferiblemente es insulina) covalentemente ligado a un carbohidrato como maltosa o maltotriosa o un análogo de glucosa a través de un enlazador (col. 8, líns. 56 – 64; ej; col. 7, líns. 9 – 27).	Divulga dendrímeros de carbohidratos que comprenden trisglucósidos de la fórmula: 

Los documentos D7 y D6 se consideran el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 17 porque:

El documento D7 divulga un conjugado que incluye una hormona como la insulina y un carbohidrato como maltotriosa, donde dicho conjugado es útil en el tratamiento de la diabetes al liberar el agente activo en respuesta a los niveles de glucosa en la sangre (col. 8, líns. 56 – 64; ej; col. 7, líns. 9 – 27; resumen; reivs. 1 y 7).

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 17 y los conjugados del documento D7 consiste en que la anterioridad no divulga un ejemplo específico de conjugado que comprenda aminoetilglucosa (AEG), aminoetilmanosa (AEM), aminoetilbimansa (AEBM), aminoetiltrimansa (AETM), β-aminoetil-N-acetilglucosamina (AEGA), o aminoetilfucosa (AEF).

No se encuentra alguna ventaja o efecto superior logrado por las composiciones

reclamadas frente a las del documento D7 porque tanto los conjugados de la reivindicación 17 de la presente solicitud, como los de la anterioridad permiten la liberación de la insulina en respuesta a los niveles de glucosa en sangre y no se presenta ningún ensayo que permita de determinar que cuando el conjugado de la anterioridad se administra a un mamífero en ausencia de una molécula de unión multivalente de sacáridos exógena, al menos una propiedad farmacocinética o farmacodinámica del conjugado no es sensible a la concentración en suero de un sacárido en un mamífero.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: “cómo modificar los conjugados de insulina divulgados en el documento D7 para obtener conjugados alternativos”.

Sin embargo, el documento D6 divulga dendrímeros de carbohidratos como residuos de β -D-glucopiranosil (Pág. 1194, col. de la derecha, segundo párr.). La anterioridad señala que El principal motor de dicha investigación fue el principio bien establecido de la mejora de la afinidad de unión de algunos carbohidratos naturales hacia las proteínas de unión a carbohidratos, tales como lectinas (pág. 1196, col. de la izquierda, último párr.). El documento D6 menciona que en el caso de los dendrímeros totalmente carbohidrato, la combinación del efecto de grupo de hidratos de carbono con la capacidad de los dendrímeros de atar y entregar fármacos podría ser la base para un nuevo régimen terapéutico potente (Pág. 1198, col. de la izquierda, segundo párr.).

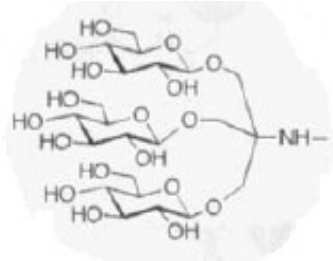
En consecuencia, la persona de nivel medio versada en la materia, interesada en obtener conjugados de insulina alternativos a los divulgados en el documento D7, se vería motivada a incluir estructuras como las de los dendrímeros divulgados en el documento D6 dentro de los conjugados divulgados en el documento D7 con el fin de mejorar la unión de los conjugados a la molécula de unión a carbohidratos, por lo cual el objeto de la reivindicación 17 se considera obvio.

Conclusión:

La reivindicación 17 cumple el requisito de novedad (Art. 16), pero no cumple con el requisito de nivel inventivo (Art. 18), de la misma forma que sus reivindicaciones dependientes 18 a 47.

Las reivindicaciones 48 a 53 consisten en un conjugado que comprende una molécula de insulina conjugada a aminoetilglucosa (AEG), aminoetilmanosa (AEM), aminoetilbimanosa (AEBM), aminoetiltrimanosa (AETM), β -aminoetil-N-acetilglucosamina (AEGA), o aminoetilfucosa (AEF).

Comparación de las características técnicas **esenciales**, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D7	D6
Un conjugado que comprende una molécula de insulina conjugada a aminoetilglucosa (AEG), aminoetilmanosa (AEM), aminoetilbimanosa (AEBM), aminoetiltrimanosa (AETM), β -aminoetil-N-acetilglucosamina (AEGA), o aminoetilfucosa (AEF).	Divulga un conjugado que incluye un fármaco (que preferiblemente es insulina) covalentemente ligado a un carbohidrato como maltosa o maltotriosa o un análogo de glucosa a través de un enlazador (col. 8, líns. 56 – 64; ej; col. 7, líns. 9 – 27).	Divulga dendrímeros de carbohidratos que comprenden trisglucósidos de la fórmula: 

Los documentos D7 y D6 se consideran el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicaciones 48 a 53 porque:

El documento D7 divulga un conjugado que incluye una hormona como la insulina y un carbohidrato como glucosa, maltosa, maltotriosa, o un análogo de glucosa, donde dicho conjugado es útil en el tratamiento de la diabetes al liberar el agente activo en respuesta a los niveles de glucosa en la sangre (col. 8, líns. 56 – 64; ej; col. 7, líns. 9 – 27; resumen; reivs. 1 y 7).

La diferencia entre la invención, definida en las reivindicaciones 48 a 53 y los conjugados del documento D7 consiste en que la anterioridad no divulga un ejemplo específico de conjugado que comprenda aminoetilglucosa (AEG), aminoetilmanosa (AEM), aminoetilbimansa (AEBM), aminoetiltrimansa (AETM), β -aminoetil-N-acetilglucosamina (AEGA), o aminoetilfucosa (AEF).

No se encuentra alguna ventaja o efecto superior logrado por las composiciones reclamadas frente a las del documento D7 porque tanto los conjugados de las reivindicaciones 48 a 53 de la presente solicitud, como los de la anterioridad permiten la liberación de la insulina en respuesta a los niveles de glucosa en sangre.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: “cómo modificar los conjugados de insulina divulgados en el documento D7 para obtener conjugados alternativos”.

Sin embargo, el documento D6 divulga dendrímeros de carbohidratos como residuos de β -D-glucopiranosil (Pág. 1194, col. de la derecha, segundo párr.). La anterioridad señala que El principal motor de dicha investigación fue el principio bien establecido de la mejora de la afinidad de unión de algunos carbohidratos naturales hacia las proteínas de unión a carbohidratos, tales como lectinas (pág. 1196, col. de la izquierda, último párr.). El documento D6 menciona que en el caso de los dendrímeros totalmente carbohidrato, la combinación del efecto de grupo de hidratos de carbono con la capacidad de los dendrímeros de atar y entregar fármacos podría ser la base para un nuevo régimen terapéutico potente (Pág. 1198, col. de la izquierda, segundo párr.).

En consecuencia, la persona de nivel medio versada en la materia, interesada en obtener conjugados de insulina alternativos a los divulgados en el documento D7, se vería motivada a incluir estructuras como las de los dendrímeros divulgados en el documento D6 dentro de los conjugados divulgados en el documento D7 con el fin de mejorar la unión de los conjugados a las moléculas de unión a carbohidratos, por lo cual el objeto de las reivindicaciones 48 a 53 se considera obvio.

Conclusión:

Las reivindicaciones 48 a 53 cumplen el requisito de novedad (Art. 16), pero no cumple con el requisito de nivel inventivo (Art. 18), de la misma forma que sus reivindicaciones dependientes 54 a 58.

8. Conclusión

Los requisitos de Patentabilidad de la presente Solicitud están afectados así:

Ítem	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D4	US20070099820	1 – 58	Nivel Inventivo
D5	Carbohydrate Research 342 (2007) 2729–2734	17 – 47	Nivel Inventivo
D6	Chem. Eur. J. 1997, 3, No. 8.	1 – 58	Nivel Inventivo
D7	US4348387	1 – 58	Nivel Inventivo

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de sesenta (60) días contados a partir del día siguiente de la fecha de notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

Se invita al solicitante se sirva indicar, si así lo considera, su renuncia al término faltante de sesenta (60) días para dar respuesta a este requerimiento y presentarla por escrito.

Finalmente, se le recuerda al solicitante que si como respuesta a este requerimiento llegara a modificar el capítulo reivindicatorio y éste contenga más de diez (10) reivindicaciones, no pagará la tasa de modificación voluntaria pero sí la correspondiente al pago por reivindicación adicional.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No. 10 de 2001.



JOSÉ LUIS SALAZAR LÓPEZ
Director de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha 2015-11-03

Elaboró: Juanita Catalina Rico Valbuena
Revisó: Rubiela Pacanchique Vargas



Design and synthesis of novel multivalent mannosides targeting the mannose receptor

Zhao-Jun Yin, Qing Li,* Xiang-Bao Meng and Zhong-Jun Li*

Department of Chemical Biology, School of Pharmaceutical Sciences, State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Peking University Health Science Center, Beijing 100083, PR China

Received 17 May 2007; received in revised form 16 August 2007; accepted 21 August 2007

Available online 31 August 2007

Abstract—According to the characteristics of C-type lectin-like domains in the mannose receptor (MR), a novel design of multivalent mannosides targeting the MR was accomplished. Beginning with a divalent mannoside as the sugar unit, a series of multivalent mannosides with variations in both valence and space were synthesized in a convergent approach. The synthetic multivalent mannosides are to be explored to study MR–sugar binding events.

© 2007 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Multivalent; Mannoside; Mannose receptor

1. Introduction

It has been widely accepted that carbohydrate–protein interactions play a crucial role in a large number of biological processes, such as pathogenic infections, receptor-mediated endocytosis, inflammation and metastasis.^{1–3} Binding affinities for individual carbohydrate–protein interactions are generally weak, with dissociation constants in the millimolar range. Since most proteins possess multiple carbohydrate-recognition domains and typically exist as oligomeric structures, this limitation is often overcome through multivalency.^{4–8}

The mannose receptor (MR) found on peripheral and bone marrow macrophages, dendritic cells and sinusoidal liver cells is a multi-domain membrane-associated protein that recognizes and internalizes a variety of pathogenic microorganisms and potentially harmful glycoproteins with terminal mannose, fucose, 2-acetamido-2-deoxy-D-glucose (*N*-acetylglucosamine), or glucose residues.^{9,10} It has been assumed that MR enhances pathogen uptake by phagocytosis, regulates levels of endogenous proteins, and removes pituitary hormones such as lutropin and thyrotropin from the circula-

tion.^{11–15} Recent studies indicate that the MR may be involved in HIV-1 infections^{16,17} and HIV-1 neuropathogenesis.^{18,19}

The extracellular region of the mannose receptor consists of an N-terminal, cysteine-rich domain and a fibronectin type II repeat unit as well as eight C-type lectin-like domains (CTLDS). In contrast to other multi-domain receptors, the eight CTLDS, which are responsible for specificity as well as affinity for oligosaccharide ligands, locate within a single polypeptide chain.²⁰ Recent structure–function studies propose that CTLDS 1–3 have at most very weak affinity for carbohydrates; therefore, CTLDS 4–8 are required for high affinity binding to mannose-terminated ligands, but CTLD 4 is the only CTLD to display a monosaccharide specificity characteristic when expressed in isolation.²¹ In addition, CTLDS 5–8 retain weak affinity, while CTLDS 6–8 do not present binding activity. This suggests a weak activity located in CTLD 5. Sequence examination reveals that only CTLD 4 and CTLD 5 contain the residues required for Ca²⁺-dependent sugar binding.²² Proteolysis experiments indicate the presence of close contacts between three pairs of domains (CTLD 1 and 2, CTLD 4 and 5, CTLD 7 and 8) and exposed linker regions separating CTLD 3 and 6 from their neighbouring domains.²³ The mannose receptor is like

* Corresponding authors. Tel.: +86 10 82801714; fax: +86 10 62367134 (Z.-J.L.); e-mail addresses: qli@bjmu.edu.cn; zjli@bjmu.edu.cn

other carbohydrate-binding proteins, in which several CTLDs, each with weak affinity for single sugars, are clustered to achieve high affinity binding to oligosaccharides.^{21,22} To further study the multivalent binding properties of the MR, we describe herein the design and synthesis of novel mannose derivatives having well-organized and characterized multivalencies.

2. Results and discussion

As mentioned above, the CTLDs of MR exist as three close contact pairs separated by CTLD 3 and 6, of which CTLD 4 and 5 are two domains most important for binding oligosaccharides. Since each CTLD embeds only one mannose binding site, we first constructed a divalent mannoside by using a flexible linker, and then a series of multivalent mannosides based on the divalent compound were synthesized, which may bridge multiple copies of MR, or/and bind MR in chelating manner.

Scheme 1 summarizes the steps for the synthesis of the divalent mannoside. Treating mannosyl trichloroacetimidate **1**²⁴ with readily available 2-azido-1,3-propanediol (**2**)²⁵ in the presence of $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ produces divalent mannoside **3** in excellent yields. This divalent mannoside carries an azide group at the focal point of the scaffold, which can be easily converted into an amino group and further coupled with different poly-carboxylic acids to produce multivalent mannosides. There are diverse approaches to reduce the azide, among which hydrogenation is most easily operated. Hydrogenation of **3** on Pd/C was sluggish and gave the desired amine **4** in low yield. Other reducing agents such as H_2S and Ph_3P also did not give satisfactory results. Finally, using $\text{Pd}(\text{OH})_2$ furnished **4** in good yields within 3 h. Although a little amount of starting material remains, prolonging the reaction time only produced undesired products. Without purification, treating **4** with spacer arms such as butanedioic acid, octanedioic acid, *N*-Cbz-glutamic acid and 1,3,5-benzenetricarboxylic acid in dry THF in the presence of HOBt and DCC gives tetra- and hexa-

valent mannosides (**7**, **8**, **12** and **16**) in yields of 80–90% (**Scheme 2**).

The free amine product **13** was obtained in nearly quantitative yield after treating **12** with H_2 over Pd/C in CH_3OH . Coupling of **13** with octanedioic acid gave octavalent mannosides **18**.

All the target compounds were obtained after O-deacetylation under classical $\text{CH}_3\text{ONa}-\text{CH}_3\text{OH}$ conditions in essentially quantitative yields.

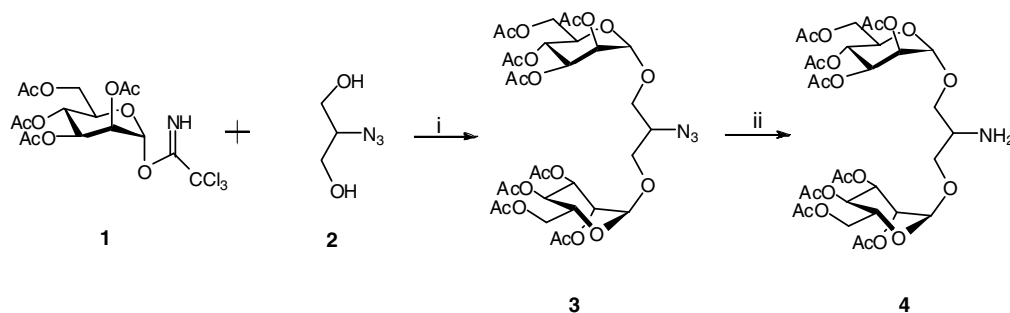
3. Experimental

3.1. General methods

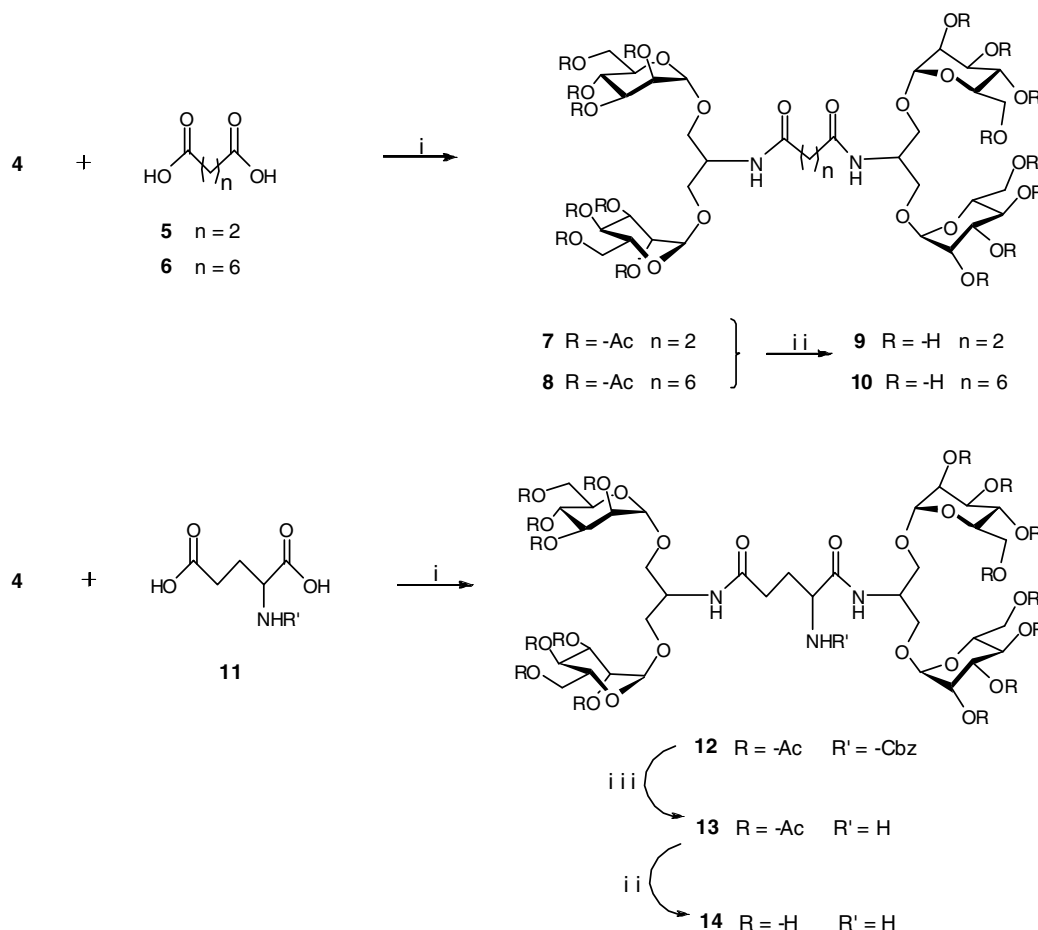
Optical rotations were recorded using an Optical Activity AA-10R type polarimeter. NMR spectra were recorded with Varian JEOL-300 spectrometers, with CDCl_3 and D_2O as solvents. Mass spectra were recorded with an IBI-MDS Sciex Q-star and Autospec-Ultima ETOF mass spectrometers. Purity of the products was verified by TLC on Silica Gel GF₂₅₄ (Hai Yang Chemical Factory, Qingdao, Shandong, PR China). Column chromatography was performed on Silica Gel H₆₀ (Hai Yang Chemical Factory, Qingdao, Shandong, PR China). Solvents were purified by standard procedures.

3.2. Synthesis of multivalent mannosides

3.2.1. 2-Azido-1,3-di-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)propane (3**).** To a solution of 2-azido-1,3-propanediol (**2**, 317 mg, 2.71 mmol) and mannosyl trichloroacetimidate (**1**, 4.00 g, 8.13 mmol) in dry CH_2Cl_2 (40 mL) were added 4 Å molecular sieves (3.00 g). The suspension was stirred under nitrogen for 30 min, then cooled to 0 °C before the addition of a solution of $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ complex (206.0 μL , 1.63 mmol) in CH_2Cl_2 (1 mL). The temperature was maintained for 2 h at 0 °C, and then the mixture was stirred at room temperature overnight. The mixture was then diluted with CH_2Cl_2 (100 mL) and washed with aq NaHCO_3 and water, dried



Scheme 1. Synthesis of divalent mannoside. Reagents and conditions: (i) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, CH_2Cl_2 , rt, 85%; (ii) $\text{Pd}(\text{OH})_2$, 1:1 EtOAc–EtOH, H_2 (0.4 MPa), rt.



Scheme 2. Synthesis of tetra-, hexa- and octavalent mannosides. Reagents and conditions: (i) HOBT, DCC, THF, rt; (ii) CH_3ONa , CH_3OH , rt; (iii) Pd/C , H_2 (0.4 MPa), CH_3OH , rt.

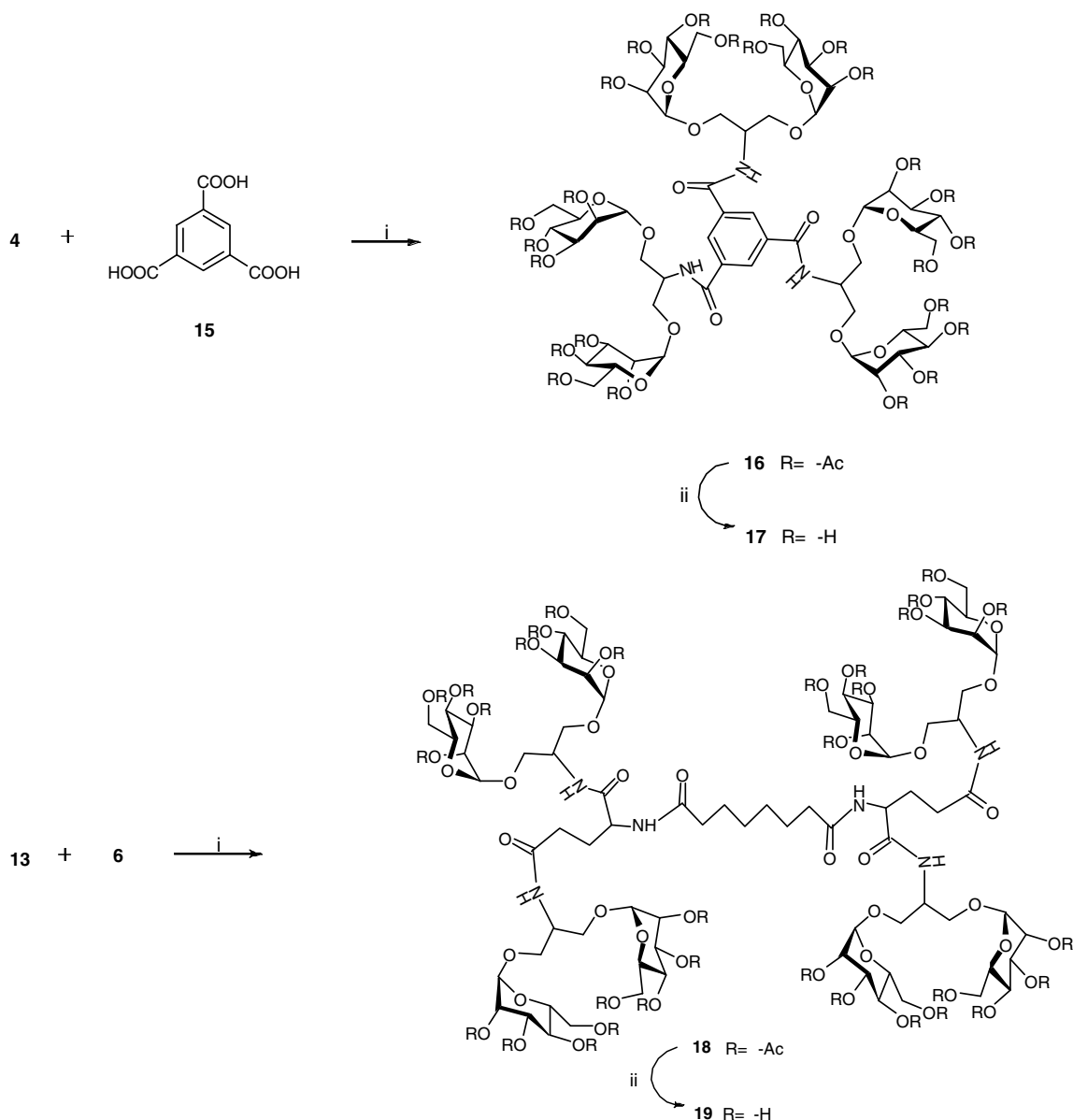
(Na_2SO_4) and evaporated under diminished pressure. The crude product was purified by flash chromatography with 2:1 petroleum ether (60–90 °C)–ethyl acetate as eluent to afford 1.79 g of **3** as white foam in an 85% yield: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +47.3$ (c 0.93, CHCl_3); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 5.26–5.32 (m, 3H, H-2, H-3, H-4), 4.88 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, H-1), 4.32 (dd, $J = 5.1$ Hz, 12 Hz, 1H), 4.11–4.17 (m, 1H), 4.03–4.06 (m, 1H), 3.83–3.89 (m, 2H), 3.60–3.65 (m, 1H), 2.00, 2.05, 2.12, 2.17 (s, 12H, 4 CH_3CO); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 169.7–170.6 (C=O), 97.9, 97.8, 69.1, 68.9, 68.7, 67.3, 67.1, 65.8, 65.8, 62.3, 59.6, 20.6–20.8. HRESIMS Calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_{20}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, m/z 778.2513. Found: m/z 778.2513; $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, m/z 795.2778. Found: m/z 795.2767; $[\text{M}+\text{Na}]^+$, m/z 800.2332. Found: m/z 800.2339.

3.2.2. General procedure for coupling between amines (4 and 13) and acids (5, 6, 11 and 15). The preparation of **4**: To a solution of compound **3** (214 mg, 0.28 mmol) in 1:1 EtOAc–EtOH (6 mL) was added $\text{Pd}(\text{OH})_2$ (50 mg, 50% moisture), and the mixture was stirred under 0.4 MPa of H_2 for 3 h at room temperature. The mixture

was then filtered through Celite, and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The white foam **4** was used in the coupling reaction without any purification.

Preparation of 13: To a solution of compound **12** (200 mg, 0.11 mmol) in MeOH (10 mL) was added Pd/C (50 mg, 50% moisture), and the mixture was stirred under 0.4 MPa of H_2 for 2 h at room temperature. The mixture was then filtered through Celite, and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The white foam **13** was used in the coupling reaction without further purification.

Coupling reaction: To a solution of acids (0.10 mmol) in anhyd THF (3.0 mL) at 0 °C was added HOBT ($2 \times \text{N}_{\text{COOH}}$ mmol) and DCC ($2 \times \text{N}_{\text{COOH}}$ mmol). To this mixture was added dropwise a solution of amines ($0.11 \times \text{N}_{\text{COOH}}$ mmol) in dry THF (10 mL) dropwise. The mixture was stirred for 2 h at 0 °C, then allowed to rise to room temperature with stirring for an additional 36 h. The mixture was concentrated, and the residue was then diluted with CH_2Cl_2 (20 mL). The solution was filtered, and the filtrate was washed with aq NaHCO_3 and water, dried (Na_2SO_4) and evaporated



Scheme 2 (continued)

under diminished pressure. The crude product was purified by flash chromatography.

3.2.2.1. *N*-{2-[1,3-Di-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)]propanyl}butanediamide (7). Yield: 134 mg (85%), as a white foam. $[\alpha]_D^{+48.2}$ (*c* 1.1, CHCl₃); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6.79 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, -NHCO-), 5.12–5.33 (m, 12H, 4 $\times$ H-2, 4 $\times$ H-3, 4 $\times$ H-4), 4.84–4.87 (m, 4H, 4 $\times$ H-1), 4.28–4.44 (m, 6H), 4.08–4.15 (m, 4H), 4.00–4.04 (m, 4H), 3.78–3.88 (m, 4H), 3.61 (dd, *J* = 6.6 Hz, 9.9 Hz, 2H), 3.52 (dd, *J* = 6.0 Hz, 9.6 Hz, 2H), 2.61 (s, 4H, -COCH₂-), 1.99, 1.99, 2.05, 2.07, 2.11, 2.13, 2.15 (s, 48H, CH₃CO-); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ 169.7–172.6 (C=O), 97.9, 69.2, 69.0, 68.8, 66.9, 66.6, 65.8, 62.2, 47.8 (-CH(NHCO)-), 32.0 (-CH₂CO), 20.6–20.8 (CH₃CO-);

ESI-TOF MS: Calcd for C₆₆H₉₂N₂O₄₂ *m/z* 1584.5. Found: *m/z* 1585.5 [M+H]⁺, 1602.5 [M+NH₄]⁺, 1607.4 [M+Na]⁺.

3.2.2.2. *N*-{2-[1,3-Di-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)]propanyl}octane-1,8-diamide (8). Yield: 136 mg (83%), as a white foam. $[\alpha]_D^{+53.1}$ (*c* 0.98, CHCl₃); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 5.98 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, -NHCO-), 5.22–5.33 (m, 6H, 2 $\times$ H-2, 2 $\times$ H-3, 2 $\times$ H-4), 4.87 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, H-1), 4.84 (s, 1H, H-1'), 4.27–4.37 (m, 3H), 4.08–4.15 (m, 2H), 3.96–4.00 (m, 2H), 3.87 (dd, *J* = 4.2 Hz, 10.2 Hz, 1H), 3.79 (dd, *J* = 5.4 Hz, 10.5 Hz, 1H), 3.69 (dd, *J* = 4.5 Hz, 10.5 Hz, 1H), 3.48 (dd, *J* = 6.3 Hz, 9.6 Hz, 1H), 2.18–2.25 (m, 2H, -COCH₂-), 2.00, 2.06, 2.11, 2.16 (s, 24H, CH₃CO-), 1.65 (br s, 2H, -CH₂-), 1.37

(br s, 2H, $-\text{CH}_2-$); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 169.6–172.8 ($\text{C}=\text{O}$), 98.0, 97.7, 69.1, 69.0, 68.7, 66.0, 65.7, 62.2, 47.5 ($-\text{CH}(\text{NHCO})-$), 36.3 ($-\text{CH}_2\text{CO}$), 28.7 ($-\text{CH}_2-$), 25.3 ($-\text{CH}_2-$), 20.6–20.8 (CH_3CO); ESI-TOF MS: Calcd for $\text{C}_{70}\text{H}_{100}\text{N}_2\text{O}_{42}$ m/z 1640.6. Found: m/z 1641.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 1658.6 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 1663.5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

3.2.2.3. *N*-{2-[1,3-Di-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)]propanyl}-2-carbo benzyloxyamino-pentane-1,5-diamide (12). Yield 148 mg (85%), as a white foam. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +44.0$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7.28–7.35 (m, 5H, Ar), 6.62 (d, $J=8.7$ Hz, 1H, $-\text{NHCO}-$), 6.47 (d, $J=5.7$ Hz, 1H, $-\text{NHCO}-$), 5.13–5.33 (m, $4\times\text{H}-2$, $4\times\text{H}-3$, $4\times\text{H}-4$, Ph- CH_2-), 5.00 (d, $J=12.9$ Hz, Ph- CH_2-), 4.84–4.88 (4H, $4\times\text{H}-1$), 4.28–4.37 (m, 6H), 4.08–4.22 (m, 5H), 4.00 (br s, 4H), 3.78–3.85 (m, 4H), 3.62–3.65 (m, 2H), 3.45–3.52 (m, 2H), 2.46 (br s, 2H, $-\text{COCH}_2-$), 1.95–2.19 (m, 50H, 16 CH_3CO , $-\text{CH}_2\text{CHNHCbz}$); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 169.7–171.6 ($\text{C}=\text{O}$), 136.4, 128.4, 128.0, 127.9, 97.9, 97.7, 70.0, 68.7, 68.6, 66.6, 65.8, 62.2, 54.4, 47.8–48.2 (2C, $-\text{CH}(\text{NHCO})-$), 28.1–31.9 (2C, $-\text{CH}_2\text{CO}$, $-\text{CH}_2\text{CHNH}-$), 20.6–20.8 (CH_3CO). ESI-TOF MS: Calcd for $\text{C}_{75}\text{H}_{101}\text{N}_3\text{O}_{44}$ m/z 1747.6. Found: m/z 1748.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 1765.6 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 1770.6 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

3.2.2.4. *N*-{2-[1,3-Di-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)]propanyl}benzene-1,3,5-triamide (16). Yield 181 mg (75%), as a white foam. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +53.1$ (c 0.98, CHCl_3); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 8.40 (s, 1H, Ar), 7.45 (d, $J=8.1$ Hz, 1H, $-\text{NHCO}-$), 5.22–5.31 (m, 6H, $2\times\text{H}-2$, $2\times\text{H}-3$, $2\times\text{H}-4$), 4.90–4.93 (2s, $2\times\text{H}-1$), 4.50–4.65 (m, 1H), 4.25–4.31 (m, 2H), 4.12–4.18 (m, 2H), 3.96–4.03 (m, 4H), 3.83 (dd, $J=6.3$ Hz, 10.2 Hz, 1H), 3.66 (dd, $J=7.2$ Hz, 9.6 Hz, 1H), 1.97, 1.99, 2.01, 2.02, 2.08, 2.12, 2.14, 2.15 (s, 24H, CH_3CO); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 166.2–170.8 ($\text{C}=\text{O}$), 135.1, 129.1, 97.8, 97.5, 69.1, 69.0, 68.9, 66.5, 65.8, 65.7, 62.3, 49.2 ($-\text{CH}(\text{NHCO})-$), 20.6–20.7 (CH_3CO); MALDI-TOF MS: Calcd for $\text{C}_{102}\text{H}_{135}\text{N}_3\text{O}_{63}$ m/z 2409.7. Found: m/z 2432.5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 2448.5 $[\text{M}+\text{K}]^+$.

3.2.2.5. *N*-{2-[2-[1,3-Di-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyloxy)]propanyl}pentane-1,5-diamidyl}-octane-1,8-diamide (18). Yield 236 mg (70%), as a white foam. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +31.5$ (c 8.1, CHCl_3); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7.62 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, $-\text{NHCO}-$), 7.24 (d, $J=6.3$ Hz, 1H, $-\text{NHCO}-$), 6.87 (d, $J=8.7$ Hz, 1H, $-\text{NHCO}-$), 5.21–5.34 (m, 12H, $4\times\text{H}-2$, $4\times\text{H}-3$, $4\times\text{H}-4$), 4.85–4.90 (m, 4H, $4\times\text{H}-1$), 4.31–4.35 (m, 7H), 4.02–4.16 (m, 9H), 3.85 (br s, 3H), 3.47–3.68 (m, 4H), 2.69 (br s, 2H, $-\text{CH}_2-$), 2.42–2.44 (br s, 2H, $-\text{CH}_2-$), 1.98–2.18 (m, 50H, 16 CH_3CO , $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CO})\text{NHCbz}$), 1.59 (br s, 2H, $-\text{CH}_2-$), 1.31 (br s, 2H, $-\text{CH}_2-$); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3): δ 169.6–173.4 ($\text{C}=\text{O}$), 97.8, 97.6, 69.2, 69.0, 68.6, 66.5, 65.7, 62.1, 52.6, 48.0, 47.7, 36.1, 32.0, 30.8, 28.9, 28.4,

25.4, 20.6–20.7 (CH_3CO). MALDI-TOF MS: Calcd for $\text{C}_{142}\text{H}_{200}\text{N}_6\text{O}_{86}$ m/z 3365.1. Found: m/z 3387.8 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 3404.0 $[\text{M}+\text{K}]^+$.

3.2.3. General procedure for *O*-deacetylation (7, 8, 13, 16 and 18). A catalytic amount of sodium was added to a solution of compound (100 mg) in dry MeOH (10 mL). The mixture was stirred at room temperature for 12 h, and then neutralized with H^+ cation-exchange resin. The solution was filtered and concentrated, and the residue was dissolved in 20 mL of water and lyophilized to give a white foam.

3.2.3.1. *N*-{2-[1,3-Di- α -D-mannopyranosyloxy]propanyl}butane-1,4-diamide (9). Yield 57.0 mg (99%), as a white foam. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +76.5$ (c 11.5, H_2O); ^1H NMR (300 MHz, D_2O): δ 4.65–4.71 (m, 2H, $2\times\text{H}-1$), 4.09 (br s, 1H), 3.41–3.75 (m, 16H), 2.38 (s, 2H, $-\text{COCH}_2-$); ^{13}C NMR (75 MHz, D_2O): δ 175.1 ($\text{C}=\text{O}$), 100.7, 100.2, 73.4, 71.0, 70.5, 67.3, 67.0, 66.9, 61.4, 49.4 ($-\text{CH}(\text{NHCO})-$), 49.3 ($-\text{CH}(\text{NHCO})-$), 31.3 ($-\text{COCH}_2-$); HRESIMS: Calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{60}\text{N}_2\text{O}_{26}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, m/z 913.3507. Found: m/z 913.3503; $[\text{M}+\text{Na}]^+$, m/z 935.3327. Found: m/z 935.3338.

3.2.3.2. *N*-[2-(1,3-Di- α -D-mannopyranosyloxy)propanyl]octane-1,8-diamide (10). Yield 45 mg (99%), as a white foam. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +73.0$ (c 11.5, H_2O); ^1H NMR (300 MHz, D_2O): δ 4.60–4.77 (m, 2H, $2\times\text{H}-1$), 4.11 (m, 1H), 3.42–3.74 (m, 16H), 2.09 (m, 2H, $-\text{COCH}_2-$), 1.41 (br s, 2H, $-\text{CH}_2-$), 1.14 (br s, 2H, $-\text{CH}_2-$); ^{13}C NMR (75 MHz, D_2O): δ 177.7 ($\text{C}=\text{O}$), 100.8, 100.2, 73.4, 71.1, 71.0, 70.5, 67.2, 66.9, 61.4, 49.4 ($-\text{CH}(\text{NHCO})-$), 49.2 ($-\text{CH}(\text{NHCO})-$), 36.3 ($-\text{COCH}_2-$), 28.4 ($-\text{CH}_2-$), 25.9 ($-\text{CH}_2-$); HRESIMS: Calcd for $\text{C}_{38}\text{H}_{68}\text{N}_2\text{O}_{26}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, m/z 969.4133. Found: m/z 969.4122; $[\text{M}+\text{Na}]^+$, m/z 991.3953. Found: m/z 991.3937.

3.2.3.3. *N*-[2-(1,3-Di- α -D-mannopyranosyloxy)propanyl]-2-carbobenzyloxyamino-pentane-1,5-diamide (14). Yield 57 mg (98%), as a white foam. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +41.9$ (c 8.6, H_2O); ^1H NMR (300 MHz, D_2O): δ 4.60–4.65 (m, 4H, $4\times\text{H}-1$), 4.12–4.14 (m, 2H), 3.90 (br s, 1H), 3.43–3.76 (m, 32H), 2.28 (br s, 2H), 1.97–2.00 (m, 2H); ^{13}C NMR (75 MHz, D_2O): δ 174.4, 169.8, 100.7, 100.3, 73.5, 71.0, 70.4, 69.6, 67.2, 66.7, 61.4, 53.1, 49.6, 49.4, 31.4, 27.7; HRESIMS: Calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{63}\text{N}_5\text{O}_{26}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, m/z 942.3773. Found: m/z 942.3734; $[\text{M}+\text{Na}]^+$, m/z 964.3592. Found: m/z 964.3560.

3.2.3.4. *N*-[2-(1,3-Di- α -D-mannopyranosyloxy)propanyl]benzene-1,3,5-triamide (17). Yield 57 mg (98%), as a white foam. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +48.0$ (c 5.0, H_2O); ^1H NMR (300 MHz, D_2O): δ 8.12 (s, Ar), 4.65–4.72 (m, 2H, $2\times\text{H}-1$), 4.39 (br s, 1H), 3.42–3.77 (m, 16H); ^{13}C NMR (75 MHz, D_2O): δ 169.6, 135.4, 129.9, 100.9, 100.3, 73.5, 71.0, 70.5, 67.2, 67.0, 61.4, 50.4, 49.4; HRESIMS: Calcd for $\text{C}_{54}\text{H}_{87}\text{N}_3\text{O}_{39}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, m/z 1402.4990. Found: m/z 1402.4904.

3.2.3.5. N-{2-N-[2-(1,3-Di- α -D-mannopyranosyloxy)-propanyl]pentane-1,5-diamidyl}octane-1,8-diamide (19). Yield 59 mg (99%), as a white foam. $[\alpha]_D^{+33.0}$ (c 10.9, H₂O); ¹H NMR (300 MHz, D₂O): δ 4.55–4.80 (m, 4H, 4 $\times$ H-1), 4.12 (br s, 3H), 3.42–3.75 (m, 32H), 2.10–2.21 (m, 4H), 1.78–1.90 (m, 2H), 1.42 (br s, 2H), 1.15 (br s, 2H); ¹³C NMR (75 MHz, D₂O): δ 177.7, 175.3, 174.0, 100.8, 100.7, 100.2 (2C), 73.4, 71.1, 71.0, 70.5, 67.2, 67.0, 61.5, 53.9, 49.4, 35.9, 32.5, 28.5, 28.0, 25.7; HRESIMS: Calcd for C₇₈H₁₃₆N₆O₅₄, [(M+H+K)/2]⁺ *m/z* 1030.3898. Found: *m/z* 1030.3837.

Acknowledgements

This project was supported by the National Natural Science Foundation of PR China (NSFC) and a grant from the Ministry of Science and Technology of PR China.

Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at [doi:10.1016/j.carres.2007.08.017](https://doi.org/10.1016/j.carres.2007.08.017).

References

- Varki, A. *Glycobiology* **1993**, *3*, 97–130.
- Wells, L.; Vosseller, K.; Hart, G. W. *Science* **2001**, *291*, 2376–2378.
- Rudd, P. M.; Elliott, T.; Cresswell, P.; Wilson, L. A.; Dwek, P. A. *Science* **2001**, *291*, 2370–2376.
- Toone, E. J. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1994**, *4*, 719–728.
- Kiessling, L. L.; Pohl, N. L. *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 71–77.
- Mammen, M.; Choi, S. K.; Whitesides, G. M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1998**, *37*, 2754–2794.
- Kiessling, L. L.; Gestwicki, J. E.; Strong, L. E. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 696–703.
- Lindhorst, T. K. *Top. Curr. Chem.* **2002**, *218*, 201–235.
- Taylor, P. R.; Gordon, S.; Martinez-Pomares, L. *Trends Immunol.* **2005**, *26*, 104–110.
- East, L.; Isacke, C. M. *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* **2002**, *1572*, 364–386.
- Newman, S. L.; Holly, A. *Infect Immunol.* **2001**, *69*, 6813–6822.
- Ezekowitz, R. A.; Wliams, D. J.; Koziel, H.; Armstrong, M. Y.; Warner, A.; Richards, F. F.; Rose, R. M. *Nature* **1991**, *351*, 155–158.
- Lee, S. J.; Ever, S.; Roeder, D.; Parlow, A. F.; Risteli, J.; Risteli, L.; Lee, Y. C.; Feizi, T.; Langen, H.; Nussenzweig, M. C. *Science* **2002**, *295*, 1898–1901.
- Linehan, S. A.; Weber, R.; Mckercher, S.; Ripley, R. M.; Gordon, S.; Martin, P. *Histochem. Cell. Biol.* **2005**, *123*, 365–376.
- Zamze, S.; Martinez-Pomares, L.; Jones, H.; Taylor, P. R.; Stillion, R. J.; Gordon, S.; Wong, S. Y. C. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 41613–41623.
- Cardona-Maya, W.; López-Herrera, A.; Velilla-Hernández, P.; Rugeles, M. T.; Cadavid, A. P. *Am. J. Reprod. Immunol.* **2006**, *55*, 241–245.
- Nguyen, D. G.; Hildreth, J. E. K. *Eur. J. Immunol.* **2003**, *33*, 483–493.
- Galdwell, R. L.; Egan, B. S.; Shepherd, V. L. *J. Immunol.* **2000**, *165*, 7035–7041.
- Liu, Y.; Liu, H.; Kim, B. O.; Gattone, V. H.; Li, J. L.; Nath, A.; Blum, J.; He, J. J. *J. Virol.* **2004**, *78*, 4120–4133.
- Taylor, M. E.; Conary, J. T.; Lennartz, M. R.; Stahl, P. D.; Drickamer, K. *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 12156–12162.
- Taylor, M. E.; Benzouška, K.; Drickamer, K. *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 1719–1726.
- Mullin, N. P.; Hall, K. T.; Taylor, M. E. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 28405–28413.
- Napper, C. E.; Dyson, M. H.; Taylor, M. E. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 14759–14766.
- Upreti, M.; Ruhela, D.; Vishwakarm, R. A. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 6577–6584.
- Arai, Y.; Itoh, H.; Miyamoto, T. Eur. Pat. EP109255 A2, 1984.

Synthetic Carbohydrate-Containing Dendrimers**

Narayanaswamy Jayaraman, Sergey A. Nepogodiev, and J. Fraser Stoddart*

Abstract: Dendrimers coated with carbohydrates on their exterior surfaces have been constructed by using both convergent and divergent synthetic routes. Alternatively, cluster glycosides in the form of highly branched oligosaccharides can serve as dendritic wedges in the subsequent elaboration of fully carbohydrate dendrimers. It is anticipated that these novel saccharide-containing polymers, which are highly branched and water-soluble, will find applications of a biological nature as well as in the context of new materials.

Keywords

carbohydrates • cluster glycosides • convergent synthesis • dendrimers • divergent synthesis

Introduction

Constructing large molecules with precise (macro)molecular structures in a controlled manner is an extremely attractive proposition because of the possibility of creating new materials and biologically active compounds. Since the early 1980s, one of the ways of addressing this objective has been the iterative assembly of monodisperse, highly branched macromolecules^[1] in the form of so-called *dendrimers*. Many organic, organometallic, and polymer chemists have made their contributions to the remarkable advances in dendrimer chemistry that have emerged in this now highly interdisciplinary field of research as new conceptual approaches to the syntheses of dendrimers have evolved. As a result, a wide range of building blocks have been incorporated as components into dendrimers. However, until fairly recently, no saccharides had been employed for this purpose. The desire to understand the biological functions of carbohydrates^[2] has established this class of natural products as one of the major focuses of current biological research^[3] and has prompted the remarkable progress in the synthesis of oligosac-

charides^[4] and glycoconjugates^[5] of the last decade or so. Needless to say, there is an infinite array of possibilities and opportunities in relation to the preparation of synthetic glycoconjugates. The unique features of carbohydrates, which are supremely adaptable to aqueous environments and widely used by Nature, are, as yet, under-explored and hardly exploited as a relatively inexpensive means of creating unnatural macromolecules with potentially useful properties for new materials and biologically active compounds. Recently, several groups—including our own—have turned their attention to the synthesis of carbohydrate-containing dendrimers. In this short article, we will discuss some of the early achievements and try to assess the outlook for a rapidly expanding area of multidisciplinary research that seems to be full of promise.

Observations

There are two limiting types of carbohydrate-containing dendritic molecules^[6] which may be distinguished by the way in which the saccharide residues are incorporated into them. The first type, the carbohydrate-coated dendrimer, is characterized by the presence of saccharides attached to the termini of a non-carbohydrate interior skeleton (Figure 1a). Alternatively, the saccharides could be used as multifunctional building blocks, giving rise to dendrimers that are totally carbohydrate (Figure 1b). Both these types of carbohydrate-containing dendrimers may be considered as analogues of polysaccharides, retaining some of their features—for example, water solubility and biodegradability.

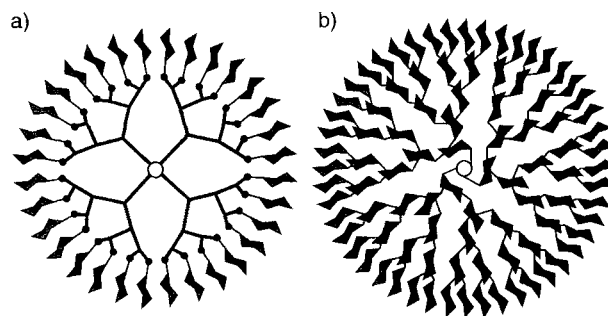
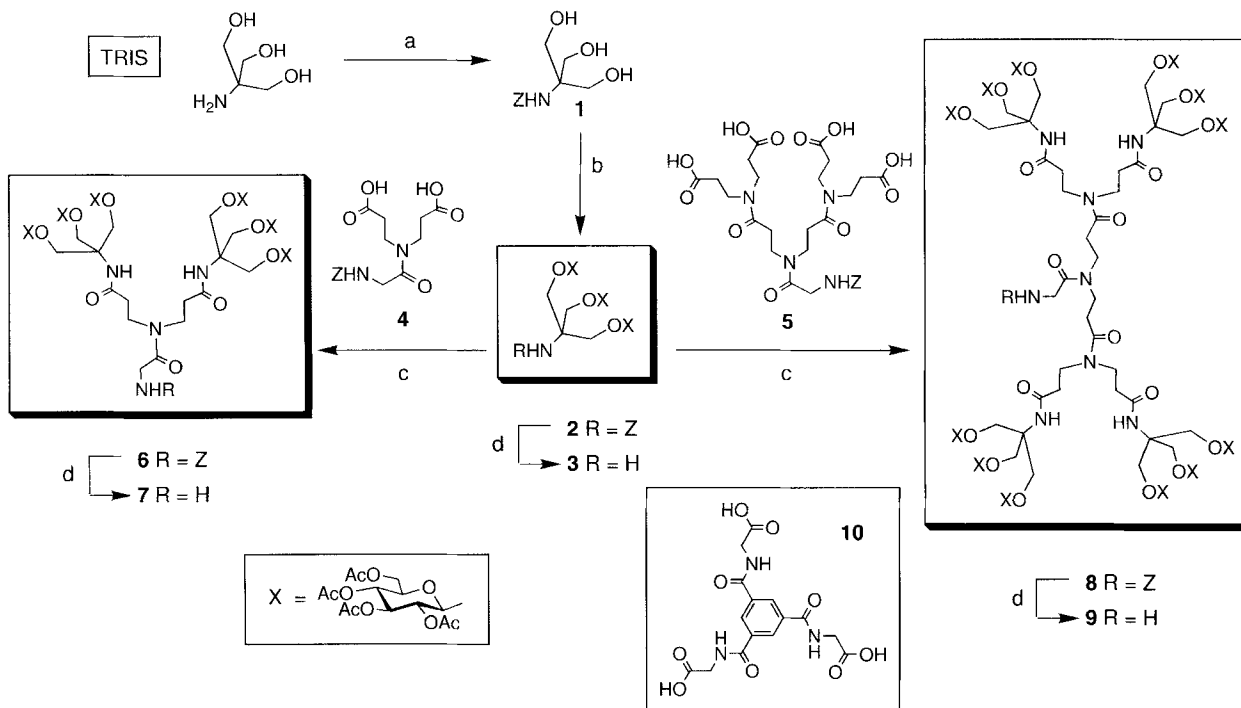


Figure 1. Cartoon representations of the two possible types of carbohydrate-containing dendrimers. a) Carbohydrate-coated dendrimers, where the saccharide residues are located on the outer surface of the dendrimer. b) Fully carbohydrate dendrimers, where the inner saccharide residues play a role as branching units and are linked to three other saccharides.

[*] Prof. J. F. Stoddart, Dr. N. Jayaraman, Dr. S. A. Nepogodiev
School of Chemistry, University of Birmingham
Edgbaston, Birmingham, B15 2TT (UK)
Telefax: Int. code + (121) 414-3531

[**] This paper should be regarded as Part 4 of a series on Synthetic Carbohydrate Dendrimers: For Part 3, ref. [16]. A list of abbreviations used in this article is given in ref. [39].



Scheme 1. The construction of the dendritic building blocks **3**, **7**, and **9**, bearing trisglucoside clusters and containing a focal NH_2 group for the attachment to the central core component **10**. Reagents: a) $\text{Z-Cl}/\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{H}_2\text{O}$; b) 2,3,4,6-tetra-*O*-benzoyl- α -D-glucopyranosyl bromide/ $\text{AgOTf}/\text{collidine}/\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeNO}_2$; c) $\text{DCC}/\text{HOBT}/\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$; d) $\text{H}_2/\text{Pd}/\text{C}/\text{EtOAc}/\text{MeOH}$.

1. Carbohydrate-Coated Dendrimers: The synthesis of this type of glycodendrimer can be approached by a convergent method or in a divergent fashion through end-group modifications of a pre-existing non-carbohydrate dendritic core. Since the chemical manipulation with free saccharides is still a somewhat delicate exercise, the use of *O*-protected saccharides is advantageous when employing either of these two synthetic strategies, provided that the dendritic core is stable under the conditions required for deprotection.

Convergent Synthetic Routes: A convergent strategy for the synthesis of glycodendrimers implies that branched building blocks should carry saccharides from the very beginning of the synthesis. In other words, the first step in such a strategy involves the attachment of two or more saccharide residues to a polyfunctional branching unit. This objective may be achieved by a variety of methods involving the formation of *O*-, *S*-, or *N*-glycosides, with or without the insertion of an additional spacer arm between the sugars and the branching unit. Quite a number of small molecules can be considered as feasible branching components^[7] for the attachment of saccharides. In our initial investigations,^[8,9] we chose the compound TRIS (Scheme 1), because of the possibility of elaborating it further through its NH_2 group, following the attachment of glycosyl residues to the CH_2OH groups. Hence, the trisglucosylated derivative **2**, prepared in excellent yield by a well-established glycosylation technique from the *N*-protected TRIS derivative **1**, was converted into the amine **3**, which was used for the construction of the larger dendritic wedges **6** and **8** by forming amide bonds. These compounds were obtained in good yields, by coupling of two or four molecules of **3** with the dicarboxylic acid **4** or tetracarboxylic acid **5**. Removal of the *N*-protecting group from **6** and

8 afforded, respectively, the hexa- and dodecavalent cluster glycosides **7**^[8] and **9**.^[9] In summary, dendrons **7** and **9** are accessible in good overall yields and in high purities by using repetitive sequences of reactions and without having to resort to employing exotic reagents. We anticipate that much higher generation dendritic wedges could also be prepared in this manner.

The final step in the completion of a convergent dendrimer synthesis is the attachment of the dendritic wedges to a central core component. In our research so far, we have condensed compounds **3**, **7**, and **9**, all containing free amino groups at their focal points, with the tricarboxylic acid **10** shown in Scheme 1. In this manner, the dendrimers **9-mer**, **18-mer**, and **36-mer** (Figure 2) bearing 9, 18, and 36 β -D-glucopyranosyl residues, respectively, on their peripheries have been obtained in good yields. Once the dendrimer assemblies are complete, all the carbohydrate protecting groups can be removed to uncover the free saccharide dendrimers.

The primary advantage of the convergent synthetic methodology is that it allows the creation of dendrimers with perfect chemical constitutions, since the number of reactions at any particular stage is kept to the sheer minimum. In this regard, the logic of glycodendrimer synthesis is very similar to the principles behind assembling glycopeptides.^[10] Additional possibilities associated with the convergent approach include: 1) the controllable introduction of different wedges (which may be carbohydrate or non-carbohydrate in nature) for the preparation of unsymmetrical and mixed dendrimers, and 2) ease of variation of the central core component.

Divergent Modifications of Pre-existing Dendritic Cores: One of the most straightforward ways to reach carbohydrate-coated dendrimers is through the grafting of saccharide residues on to

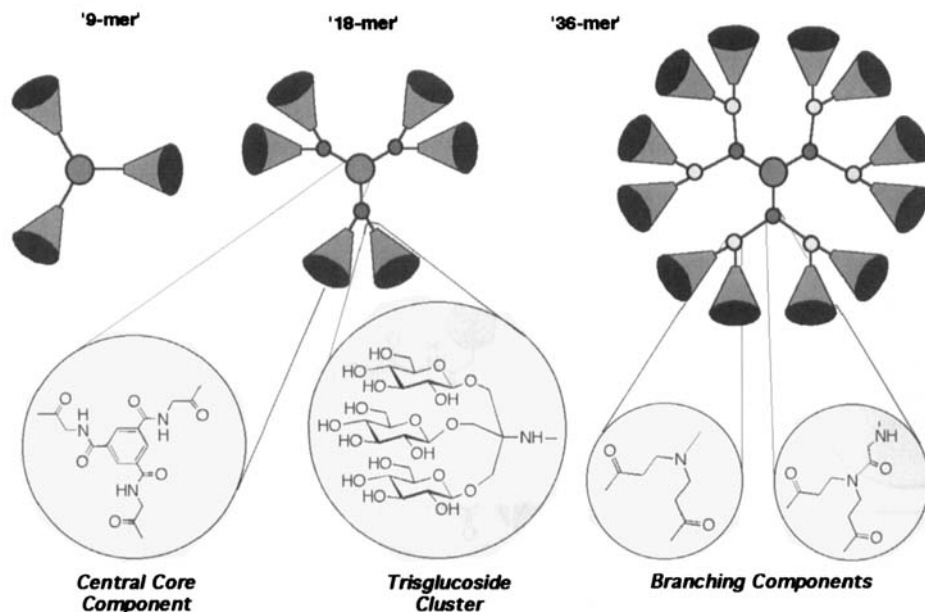
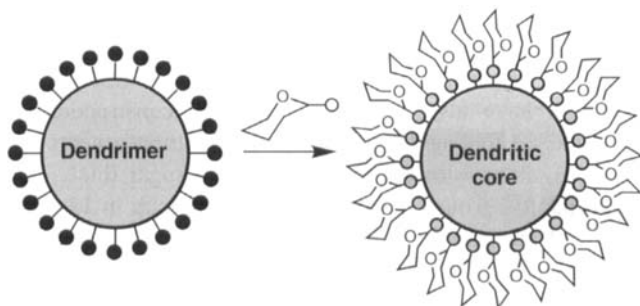


Figure 2. A schematic representation of the carbohydrate dendrimers—the 9-mer, the 18-mer, and the 36-mer—bearing 9, 18, and 36 terminal D-glucopyranose residues, respectively, assembled by the convergent approach [8,9].

the pre-existing dendritic molecules (Scheme 2). Thus, pre-formed non-carbohydrate dendrimers can be employed as well-defined matrices for the attachment of sugar residues in an analogous fashion to the use of proteins as carriers of saccharides in the preparation of neoglycoproteins.^[5a] This approach requires the presence of numerous reactive groups on the outer surface of the dendrimers and a highly efficient means of functionalizing them.

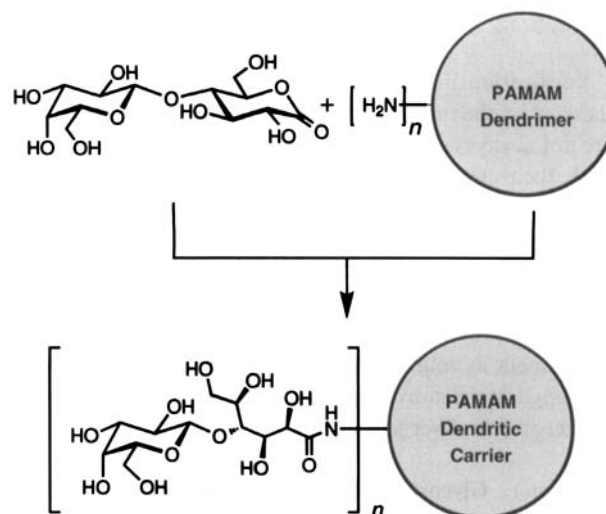


Scheme 2. A cartoon representation of the construction of carbohydrate-coated dendrimers by modification of non-carbohydrate dendritic matrices. Black dots and open circles represent reactive functionalities located at the dendrimer outer-surface and at the saccharide aglycone, respectively. These functionalities allow the saccharides to be attached to the dendrimer.

There are many examples of dendritic macromolecules^[1] that bear reactive terminal functional groups (e.g. NH_2 and CO_2H) suitable for further chemical modifications. In 1995, Okada et al.^[11] reported the functionalization of Tomalia's poly(amido amine) dendrimers^[12] (PAMAM dendrimers) with both maltose and lactose derivatives. This modification was achieved by reaction of the terminal amino groups of the PAMAM dendrimers with the corresponding aldonolactones (Scheme 3). On the basis of ^{13}C NMR spectroscopic and GPC data, the authors claim that the substitution of the primary NH_2 groups by the carbohydrates was complete in their "sugar balls".

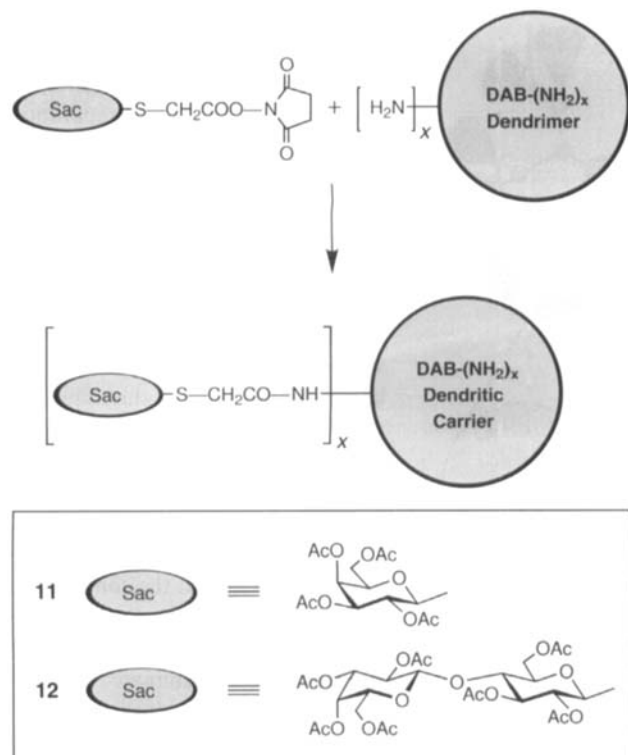
A range of other techniques, which had been developed for the synthesis of neoglycoconjugates,^[13] could be extended to the preparation of carbohydrate-coated dendrimers. Thus, Lindhorst and Kieburg^[14] have shown that acetylated glycosyl isothiocyanates can be linked with the PAMAM dendrimers: after removal of the acetyl groups under standard Zémlen conditions, water-soluble glycodendrimers can be isolated. The efficiency of this approach was demonstrated by the synthesis of tetra-, hexa-, and octa-antennary thiourea-bridged cluster α -D-glycopyranosides. A similar technique, involving the formation of thiourethane linkages at the conjugation step, was employed by Roy et al.^[15] in the preparation of a hexavalent dendrimer, also terminated by α -D-mannopyranosyl residues.

In an attempt to establish a simple and general way of making carbohydrate-coated dendrimers, we have performed^[116] a series



Scheme 3. The attachment of saccharides to a PAMAM dendrimer by amidation of its terminal NH_2 groups with aldonolactones [11]. Free lactonolactone and maltonolactone (not shown) were used in the modification of several PAMAM dendrimers of generations two, three, and four ($n = 12, 24$, and 48 , respectively).

of successful modifications of the poly(propylene imine) dendrimers ($\text{DAB-dendri}(\text{NH}_2)_x$)^[17] with sugar residues. The readily available thiogalactoside and thiolactoside derivatives **11** and **12**, respectively—each endowed with an activated propionic acid aglycone unit—have been attached (Scheme 4) through amide bonds to the terminal NH_2 groups of $\text{DAB-dendri}(\text{NH}_2)_x$. Application of the well-known *N*-hydroxysuccinimide-mediated coupling technique has allowed an extremely high degree of substitution of the surface NH_2 groups with spacer-armed saccharide residues to be accomplished.



Scheme 4. The synthesis of glycodendrimers by modification [16] of a series of DAB-dendri-(NH₂)_x dendrimers. Five different generations of dendrimers were employed with the number terminal primary NH₂ groups *x* equal to 4, 8, 16, 32, and 64.

Purification and characterization of the glycodendrimers synthesized by the functionalization of high-generation dendrimers are not always easy tasks. However, the efforts spent to accomplish them are compensated by the relative simplicity of the methodology, which allows the synthetic chemist to prepare different carbohydrate-coated dendrimers in a rather limited number of steps, starting from the "standard" dendritic precursors, such as PAMAM or DAB-dendri-(NH₂)_x, or other readily accessible dendrimers. Moreover, we can anticipate the use of dendrimers as multivalent cores and attaching to them large carbohydrate dendrons, which may be constructed either by convergent or divergent approaches.

2. Cluster Glycosides and Carbohydrate-Coated Dendritic Wedges: Concurrent with developments in the synthesis of carbohydrate-containing dendrimers, attention has also become focused on the elaboration of approaches to multivalent cluster glycosides, based on dendritic wedgelike carriers. The main driving force for this research has been the well-established principle^[18] of the enhancement of the binding affinity of some natural carbohydrates toward carbohydrate-binding proteins, such as lectins, resulting from the clustering of carbohydrate units. In order to achieve very strong binding between the saccharide ligands and the protein receptors (e.g. leading to irreversible blocking of such receptors and thus inhibiting their interactions with natural ligands), a number of small carbohydrate clusters^[18, 19] have been synthesized, in addition to the development of well-known neoglycoconjugates, constructed through the attachment of carbohydrates to carriers such as proteins^[20] and synthetic polymers.^[21] Thus, it seems logical to

extend the principle of carbohydrate multivalency to dendritic systems. Indeed, since 1993, Roy and his co-workers^[22] have published a series of seminal papers describing the synthesis of dendritic glycosides and evaluating their biological activities. The first compounds in this class^[23] (e.g. the octamer illustrated in **14** in Figure 3) incorporated *N*-acetylneuraminic acid (sialic acid)^[24] as terminal residues. A series of similar polylysine-

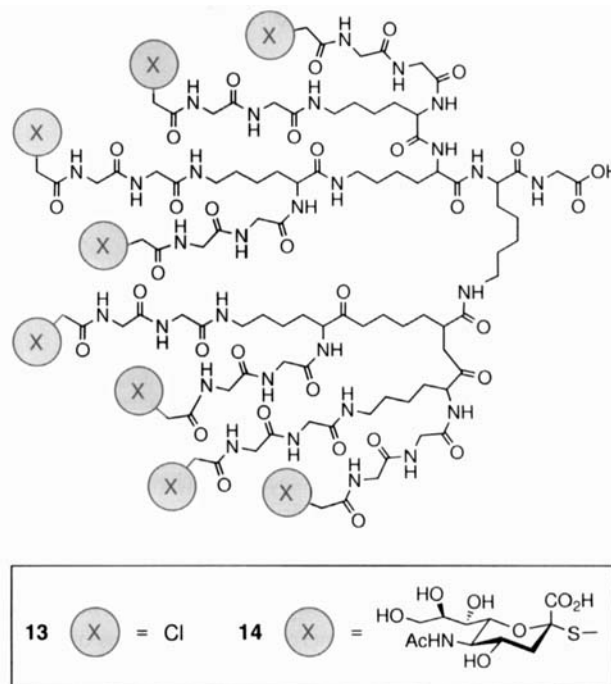
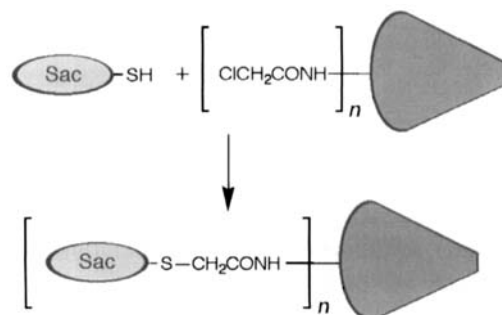


Figure 3. The dendritic polysialoside **14** based on the highly branched oligopeptide core **13** [23].

based dendritic glycosides bearing nonreducing β -glucosaminyl, β -lactosyl, β -lactosaminyl,^[25] and α -mannosyl^[26] residues, respectively, have also been prepared. The construction of polylysine scaffoldings,^[27] such as in the multibranched compound **13**, along with the key couplings of sugar thiols with *N*-chloroacetyl groups located at all eight termini in **13**, were performed on a solid support (Scheme 5). It should be noted that saccharide hydroxyl groups were acetyl-protected during the couplings and that deprotection was performed after releasing the dendrites from the polymer support.



Scheme 5. Coupling of thioylated saccharides with *N*-chloroacetyl termini of a dendritic wedge. The SH group could be positioned either directly at the anomeric center or on the end of the saccharide aglycone. The number of chloroacetylated NH₂ groups (*n*) is typically 4–16. The method has been utilized for the construction of dendritic glycosides by Roy et al [23, 25–31].

In addition to lysine-based dendritic wedges, the Roy group have also studied dendrons using gallic acid,^[28] the phosphotriester group,^[22, 29] and, more recently, 3,3'-iminobis(propylamine)^[30] as the branching components. Modifications of these dendrons with glucosamine, lactose, and sialic acid residues, respectively, were carried out according to previously described methodologies.^[23]

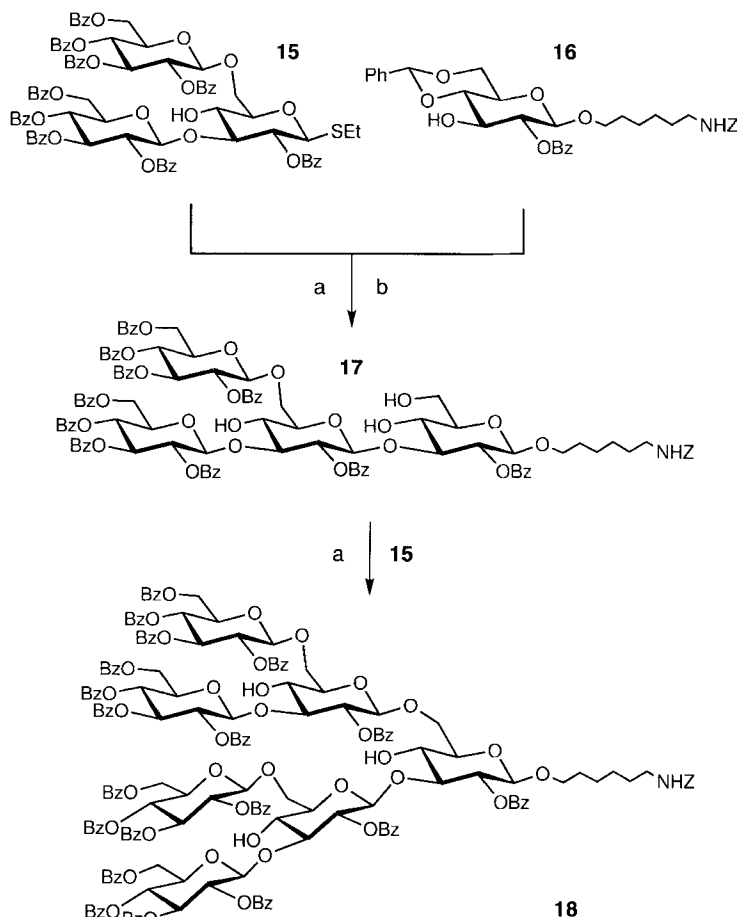
Despite the fact that most of the high-valency glycosides designed and synthesized by Roy's group^[22] are not strictly speaking dendrimers,^[15] the principles employed in their construction could readily be extended to the synthesis of symmetrical carbohydrate-coated dendrimers. Their synthetic protocols could rather easily be adapted 1) to use solid supports for assembling dendritic peptide carriers, 2) to develop efficient coupling methodologies for attaching carbohydrates to dendritic carriers, and 3) to exploit the recently suggested^[31] application of enzymatic glycosylation for the proliferation of dendritic glycosides. It should be possible to create real dendrimers by uniting some of the carbohydrate dendritic wedges already described in the literature by Roy's group. Toward this end, reactions of the focal functionalities of the dendritic wedges with appropriately functionalized multidirectional core molecules might prove to be worthwhile.

3. Toward Fully Carbohydrate Dendrimers: Synthetic fully carbohydrate dendrimers are polysaccharide analogues, which could obviously mimic a broad spectrum of polysaccharide structures and properties. Also, the three-dimensional closely packed architecture of highly branched dendritic oligosaccharides could be responsible for the inclusion properties associated with the inner parts of the molecules. Here, the analogy with the remarkable ability of cyclodextrins^[32] to form inclusion complexes with a wide variety of guest molecules comes to mind. It might be anticipated that water-soluble fully carbohydrate dendrimers could possess—like the cyclodextrins—internal voids, capable of encapsulating and solubilizing hydrophobic organic molecules.

In attempts directed toward the generation of fully carbohydrate dendrimers, we have designed and identified a branched oligosaccharide representing a wedge component of a dendrimer. Taking advantage of the recent developments^[33] in the synthesis of the phytoalexin elicitor analogues and employing a highly convergent scheme, we have completed the multistep synthesis of the gluco-heptasaccharide **18** possessing β -(1 $\rightarrow$ 3) and β -(1 $\rightarrow$ 6) interglycosidic bonds (Scheme 6).^[34] The reaction sequence involved the initial preparation of the trisaccharide thio-glycoside building block **15**, which was then used as a glycosyl donor in two sequential glycosylations of 3-positions in the glucosyl acceptor **16** and the 6-position in the tetrasaccharide intermediate **17**. The attachment of this heptasaccharide wedge **18** to a central trifunctional core should afford a C_3 -symmetrical glucodendrimer of the type anticipated by the cartoon drawn in Figure 1 b.

Reflections

The wide range of different modes of synthesis of dendritic saccharides demonstrates that the basis for the construction of carbohydrate-containing dendrimers is now established. Small and medium-sized dendritic carbohydrates can be prepared at



Scheme 6. Synthesis of the branched glucoheptaoside **18**, which can be used as a fully carbohydrate dendritic wedge for further construction of glycodendrimers. The focal NH₂ group, which can be generated by removal of the Z protecting group, is available to react with a central core component. Reagents and conditions: a) CF₃SO₃H/*N*-iodosuccinimide/CH₂Cl₂, 20 °C; b) 90% CF₃CO₂H/CH₂Cl₂.

present by using one of many different approaches. The synthesis of high molecular weight carbohydrate dendrimers matching the high molecular weights of some commonly known neoglycoconjugates is the next challenging task, which demands progress beyond previously elaborated synthetic methodologies. It seems that one of the optimal strategies for glycodendrimer construction might lie in a combination of the convergent approach with the divergent methodology of terminal group modification. Thus, multifunctional dendrimers could be regarded as core components themselves to be used for attachment of large saccharide dendritic wedges in a convergent manner. The carbohydrate-containing dendritic wedges themselves could be constructed, either 1) by the modification of pre-existing dendrons or 2) by using convergent schemes. The second approach would be much more versatile for constructing dendrimers coated with complex oligosaccharides. It is also worth drawing attention to the potential use of the chemoenzymatic syntheses for the construction of both carbohydrate-coated and fully carbohydrate dendrimers. Some well-recognized advantages of this approach—such as, for example, there being no need for the involvement of protecting groups—may mean that it has a unique role to play in glycodendrimer synthesis.

For creating dendritic cores, the use of the solid support technology seems to offer a promising prospect. It might be expected

that such dendrites would be based on highly branched peptide structures, like the polylysine dendron **13**. Such molecular architectures suffer from the disadvantage associated with their low symmetries, which makes their characterization difficult. However, replacement of natural amino acids with a symmetrical component, such as compound **4**^[8] (Scheme 1) or *N,N*-bis-(3-aminopropyl)glycine^[30] could provide a solution to this problem. Many attempts have been made to synthesize oligosaccharides by application of the solid support technique.^[35] However, spectacular as recent advances have been, we are still somewhat distant from a general methodology that would allow it to be applied forthwith to the synthesis of fully carbohydrate dendrimers. There is, however, another way to employ solid phase synthesis for the preparation of fully carbohydrate dendrimers, which is associated with creating intersaccharide linkages by means of amide bond formation. The syntheses of these types of oligosaccharide mimetics by using solution chemistry were reported recently.^[35] The application of this approach to the construction of fully carbohydrate dendrimers seems to be ready for investigation.

The incentive to create carbohydrate-containing dendrimers has emerged in part because of the potential interest which these macromolecules, exhibiting multivalency, as they do, could arouse in the fascinating area of glycoscience. Extensive biochemical studies of dendrimers covered by specific carbohydrate epitopes are currently in progress.^[11, 14, 15, 23, 24] With improvements in the quality and availability of dendritic carriers, as well as advances in the development of techniques for constructing carbohydrate dendrimers employing a convergent approach, the attractive concept of anti-adhesive drugs^[37] may become a reality. We might also envisage that, in the case of fully carbohydrate dendrimers, the combination of the carbohydrate cluster effect with the ability of the dendrimers to bind and deliver drugs, could be the basis for a potent new therapeutic regime. Further, synthetic carbohydrate based vaccines are being increasingly realized for the development of new therapeutics to induce immunological responses against cancer cells.^[38] Application of dendrimer chemistry may also find an avenue in the production of such carbohydrate-based vaccines.^[38a]

The physicochemical properties of synthetic dendritic carbohydrates need to be explored in much more detail. So many questions need to be answered. Do glycodendrimers have globular shapes? Do they aggregate in aqueous solution? How do the constitutions of their interior skeletons influence their overall shapes? Is it possible to use the unique properties of glycodendrimers to grow crystalline materials suitable for X-ray diffraction studies? These and many other questions have yet to be answered before the potential of these new dendritic systems can reveal their full scientific and technological significance.^[40]

Acknowledgements: We are all indebted to the British Council, the Royal Society of London, the Biotechnology and Biological Sciences Research Council, the Engineering and Physical Sciences Research Council, and Pfizer Central Research in the United Kingdom for their generous support which has allowed us to enter this fascinating arena of research activity during the exciting early days of its development. We thank Professor E. W. Meijer at Eindhoven University of Technology for participating with us in a collaboration that made it possible to produce carbohydrate-coated poly(propylene imine)dendrimers.

Received: February 3, 1997 [C 598]

- [1] For authoritative and comprehensive reviews on dendrimers, see: a) D. A. Tomalia, A. M. Naylor, W. A. Goddard III, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 138–175; b) J. Issberner, R. Moors, F. Vögtle, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 2413–2420; c) J. M. J. Fréchet, *Science*, **1994**, *263*, 1710–1715; d) G. R. Newkome, C. N. Moorefield, F. Vögtle, *Dendritic Molecules: Concepts, Syntheses, Perspectives*, VCH, Weinheim, **1996**.
- [2] A. Varki, *Glycobiology* **1993**, *3*, 97–130.
- [3] The rapidly growing interest in carbohydrate-protein interactions has led to the evolution of glycobiology as a field of intense scientific inquiry. For an excellent review, see: R. Dwork, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 683–720.
- [4] a) K. Toshima, K. Tatsuta, *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1503–1531; b) G.-J. Boons, *Tetrahedron*, **1996**, *52*, 1095–1121; c) S. J. Danishefsky, M. T. Bilodeau, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1380–1419.
- [5] The majority of the research performed in this area is directed toward creating synthetic analogues of natural glycoconjugates—the so-called neoglycoconjugates. These compounds provide an insight into the biological functions of saccharides and are an indispensable aid to understanding many aspects of glycobiology. For leading references, see: a) C. P. Stowell, Y. C. Lee, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1980**, *37*, 225–281; b) *Neoglycoconjugates: Preparation and Applications* (Eds.: Y. C. Lee, R. T. Lee), Academic Press, San Diego, **1994**; c) *Methods in Enzymology, Vol. 242, Neoglycoconjugates, Part A, Synthesis* (Eds.: Y. C. Lee and R. T. Lee), Academic Press, San Diego, **1994**; d) *Methods in Enzymology, Vol. 247, Neoglycoconjugates, Part B, Biomedical Applications* (Eds.: Y. C. Lee and R. T. Lee), Academic Press, San Diego, **1994**.
- [6] The term *glycodendrimers* has also been suggested by Roy for this class of compounds: in practice, it is used for dendrimers, dendrons, and even compounds consisting of relatively small multi-antennary molecules. An article entitled *Glycodendrimer* has recently been published in German; see: T. K. Lindhorst, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1996**, *44*, 1073–1079.
- [7] For a discussion on the wide range of building blocks available for constructing dendrimers, see: G. R. Newkome, C. N. Moorefield, G. R. Baker, *Aldrichim. Acta*, **1992**, *25*, 31–38.
- [8] P. R. Ashton, S. E. Boyd, C. L. Brown, N. Jayaraman, S. A. Nepogodiev, J. F. Stoddart, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 1115–1128.
- [9] P. R. Ashton, S. E. Boyd, C. L. Brown, N. Jayaraman, J. F. Stoddart, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 732–735.
- [10] Glycopeptides are usually assembled from glycosylated amino acids, rather than by the glycosylation of pre-formed peptides. See: a) M. Meldal, in *Neoglycoconjugates: Preparation and Applications* (Eds.: Y. C. Lee and R. T. Lee), Academic Press, San Diego, **1994**, pp. 145–198; b) H. Paulsen, S. Peters, T. Bielfeldt, in *New Comprehensive Biochemistry, Vol. 29, Glycoproteins* (Eds.: J. Montreuil, J. F. G. Vliegthart, H. Schachter), Elsevier, Amsterdam, **1995**, pp. 87–121.
- [11] K. Aoi, K. Itoh, M. Okada, *Macromolecules* **1995**, *28*, 5391–5393.
- [12] D. A. Tomalia, H. Baker, J. Dewald, M. Hall, G. Kallos, S. Martin, J. Roeck, J. Ryder, P. Smith, *Polym. J.* **1985**, *17*, 117–132. A range of Tomalia's PAMAM dendrimers from generations one to five is now available from the Aldrich Chemical Company.
- [13] Most of the synthetic techniques rely upon covalent bond formation between spacer-armed saccharides and functional groups on the polymer carriers. For more details, consult ref. [5].
- [14] K. Lindhorst, C. Kieburg, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1953–1956.
- [15] D. Pagé, S. Aravind, R. Roy, *Chem. Commun.* **1996**, 1913–1914.
- [16] P. R. Ashton, S. E. Boyd, C. L. Brown, S. A. Nepogodiev, E. W. Meijer, H. W. I. Peerlings, J. F. Stoddart, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 974–984.
- [17] a) E. M. M. de Brabander-van den Berg, E. W. Meijer, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1308–1311; b) E. M. M. de Brabander-van den Berg, A. Nijenhuis, M. Muré, J. Keulen, R. Reintjens, F. Vandenbooren, B. Bosman, R. de Raat, T. Frijns, S. van der Wal, M. Castelijns, J. Put, E. W. Meijer, *Macromol. Symp.* **1994**, *77*, 51–62.
- [18] R. T. Lee, Y. C. Lee in *Neoglycoconjugates: Preparation and Applications* (Eds.: Y. C. Lee, R. T. Lee), Academic Press, San Diego, **1994**, pp. 23–50.
- [19] For a selection of some recent papers, see: a) U. Sprengard, M. Schudok, W. Schmidt, G. Kretzschmer, H. Kunz, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 321–324; b) S. A. DeFrees, W. Kosch, W. Way, J. C. Paulson, S. Sabesan, R. L. Halcomb, D.-H. Huang, Y. Ichikawa, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 66–79; c) E. R. Wijsman, D. Filippov, A. R. P. M. Valentijn, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* **1996**, *115*, 397–401; d) A. Kichler, F. Schuber, *Glycoconj. J.* **1995**, *12*, 275–281; e) J. Lehman, U. P. Weitzel, *Carbohydr. Res.* **1996**, *294*, 65–94; f) A. R. P. M. Valentijn, G. A. van der Marel, L. A. J. M. Slidregt, T. J. C. van Berkel, E. A. L. Biessen, J. H. van Boom, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 759–770.
- [20] R. T. Lee, Y. C. Lee, in *Lectins and Glycobiology* (Eds.: H.-J. Gabius and S. Gabius), Springer, Heidelberg, **1993**, pp. 9–22.
- [21] a) W. K. C. Park, S. Aravind, A. Romanowski, J. Renaud, R. Roy, *Methods Enzymol.* **1994**, *42*, 294–304; b) R. Roy, *Trends in Glycoscience and Glycotechnology* **1996**, *8*, 79–99; c) K. H. Mortell, R. V. Weatherman, L. K. Kiessling, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 2297–2298.
- [22] R. Roy, *Polymer News* **1996**, *21*, 226–232.

- [23] a) R. Roy, D. Zanini, S. J. Meunier, A. Romanowska, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 1869–1872; b) R. Roy, D. Zanini, S. J. Meunier, A. Romanowska in *Am. Chem. Soc. Symp. Ser. Vol. 560*, **1994**, pp. 104–119.
- [24] Sialic acid is one of the most important carbohydrate epitopes implicated in many biological processes. For instance, it is a potential anti-inflammatory agent since it acts as an inhibitor of hemagglutination of human erythrocytes by influenza viruses. Having the advantage of well-defined chemical structures and presumably lacking the immunogenicity caused by the non-carbohydrate parts of more conventional macromolecules, glycodendrimers seem to be very attractive candidates for drugs in comparison with multivalent inhibitors based on synthetic polymers or natural proteins, which have been studied previously. See: a) R. Roy, F. O. Andersson, G. Harms, S. Kelm, R. Schauer, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1478–1481; b) N. E. Byramova, L. V. Mochalova, I. M. Belyanchikov, M. N. Matrosovich, N. V. Bovin, *J. Carbohydr. Chem.* **1991**, *10*, 691–700; c) G. B. Sigal, M. Mammen, G. Dahmann, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3789–3800.
- [25] D. Zanini, W. K. C. Park, R. Roy, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 7383–7386.
- [26] D. Pagé, D. Zanini, R. Roy, *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *11*, 1949–1961.
- [27] Apart from octavalent dendron **14**, homologous dendritic compounds containing 2, 4, and 16 branches have also been used successfully for the attachment of saccharide residues. For more information, see refs. [22] and [24].
- [28] R. Roy, W. K. C. Park, Q. Wu, S.-N. Wang, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 4377–4380.
- [29] D. Zanini, W. K. C. Park, S. J. Meunier, Q. Wu, S. Aravind, B. Kratzer, R. Roy, *Abstr. Am. Chem. Soc.* **1995**, Vol. 210, Part 2, PMSE 43.
- [30] D. Zanini, R. Roy, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7348–7354.
- [31] Enzymatic treatment of the dendritic *N*-acetylglucosamine leads to its complete transformation to the dendritic *N*-lactosamine. This method allows an entry into glycodendrimers with more complex outer surface oligosaccharides, such as, for example, sialyl Lewis^x. For ref. see: D. Zanini, R. Roy, *Abstracts XVIII International Carbohydrate Symposium* (Milan) **1996**, BO035.
- [32] The binding properties of cyclodextrins result from the relatively rigid hydrophobic cavities associated with their cyclic structures. The current state of cyclodextrin chemistry is described in detail in: *Comprehensive Supramolecular Chemistry*: Vol. 3, *Cyclodextrins* (Eds.: J. Szejtli, T. Osa), Elsevier, Oxford, **1996**.
- [33] a) P. Fügedi, W. Birberg, P. J. Garegg, Å. Pilotti, *Carbohydr. Res.* **1987**, *164*, 297–312; b) R. Verduyn, M. Douwes, P. A. M. van der Klein, E. M. Möisinger, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, *Tetrahedron*, **1993**, *33*, 7301–7316.
- [34] B. Colonna, M. Sc. Thesis, University of Birmingham, 1996.
- [35] R. Liang, L. Yan, J. Loebach, M. Ge, Y. Uozumi, K. Sekanina, N. Horan, J. Gildersleeve, C. Thompson, A. Smith, K. Biswas, W. C. Still, D. Kahne, *Science* **1996**, *274*, 1520–1522 and references therein; b) see also: C. M. Timmers, J. J. Turner, C. M. Ward, G. A. van der Marel, M. L. C. E. Kouwijzer, P. D. J. Grootenhuis, J. H. van Boom, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 920–929.
- [36] H. P. Wessel, C. M. Mitchel, C. M. Lobato, G. Schnidt, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2712–2713.
- [37] a) For example, several synthetic multivalent sialyl Lewis^x glycomimetics have been developed as suitable inhibitors for the selectin family of adhesion molecules, which are implicated in mediating the attachment of leukocytes at sites of tissue injury and inflammation. See ref. [19a,b]; b) For an article on the evolution of carbohydrate drugs, see: S. Borman, *Chem. Eng. News* **1993**, June 28, pp. 27–34.
- [38] a) T. Toyokuni, A. K. Singhal, *Chem. Soc. Rev.* **1995**, *24*, 231–242; b) G. Raghupathi, T. K. Park, S. Zhang, I. J. Kim, L. Graber, S. Adluri, K. O. Lloyd, S. J. Danishefsky, P. O. Livingston, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 125–128.
- [39] Ac = acetyl; Bz = benzoyl; DCC = 1,3-dicyclohexylcarbodiimide; HOBT = 1-hydroxybenzotriazole; TRIS = tris(hydroxymethyl)methylamine; Z = benzyloxycarbonyl; DAB-dendri-(NH₂)_x (x = 4, 8, 16, 32, 64, ...) = poly(propylene imine) dendrimers; PAMAM dendrimers = poly(amido amine) dendrimers.
- [40] **Note added in proof:** The feasibility of using unprotected carbohydrates in dendrimer syntheses has been established very recently. Kieburg and Lindhorst have demonstrated that unprotected carbohydrates, tethered with isothiocyanate functional groups, can readily form thiourea bridges with amine-terminated PAMAM dendrimers (C. Kieburg, T. K. Lindhorst, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3885–3888). In a convergent synthetic approach, we have synthesized some lower-generation carbohydrate-containing dendrimers using unprotected carbohydrates (N. Jayaraman, J. F. Stoddart, *Tetrahedron Lett.*, submitted for publication). The key reaction, which proceeds in DMF/Pyridine (9:1) at 60 °C, is one between a three-directional core, carrying *N*-hydroxysuccinimide ester functions, and free glucoside and mannoside-containing dendritic wedges with amino groups at their focal points. The development of synthetic routes utilizing unprotected carbohydrates to prepare dendrimers has the advantages that i) it circumvents steric inhibition caused by the presence of protecting groups on the saccharide residues in a growing dendrimer and ii) it avoids the consequent reduction in the surface densities of the final free saccharide-containing dendrimers upon removal of the protecting groups. The absence of any protecting groups on the peripheral glycoside units should now make it possible to prepare large densely-packed carbohydrate-containing dendrimers without the need to resort to protecting group manipulations on the saccharide residues.