(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 880 957**

(51) Int. CI.:

C07H 15/04 (2006.01)
A61K 39/09 (2006.01)
A61K 31/7028 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.01.2016 PCT/EP2016/051608**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **15.12.2016 WO16198170**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.01.2016 E 16701762 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.05.2021 EP 3303357**

(54) Título: **Vacunas contra Streptococcus pneumoniae serotipo 5**

(30) Prioridad:

08.06.2015 EP 15171079

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.11.2021

(73) Titular/es:

MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTEN E.V. (100.0%)
Hofgartenstraße 8
80539 München, DE

(72) Inventor/es:

ANISH, CHAKKUMKAL;
LISBOA, MARILDA;
MARTIN, CHRISTOPHER;
PEREIRA, CLANEY LEBEV;
SEEBERGER, PETER H. y
KHAN, NAEEM

(74) Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Vacunas contra Streptococcus pneumoniae serotipo 5

Campo de la invención

[0001] La presente invención se refiere a sacáridos sintéticos bien definidos de fórmula general (**I)** que están relacionados con la unidad de repetición de polisacárido capsular de *Streptococcus pneumoniae* serotipo 5 y conjugados de los mismos. Los conjugados y composiciones farmacéuticas que contienen dichos conjugados son útiles para la prevención y/o tratamiento de enfermedades asociadas con *Streptococcus pneumoniae,* y más específicamente contra enfermedades asociadas con *Streptococcus pneumoniae* serotipo 5. Además, los sacáridos sintéticos de fórmula general (**I)** son útiles como marcador en ensayos inmunológicos para la detección de anticuerpos contra las bacterias *Streptococcus pneumoniae.*

Antecedentes de la invención

[0002] *Streptococcus pneumoniae* es una bacteria Gram-positiva, bacteria encapsulada que es una causa principal de infecciones del tracto respiratorio y puede conducir a la enfermedad neumocócica invasiva grave (IPD). Hasta la fecha se han descrito más de 90 serotipos neumocócicos diferentes. Estos se clasifican por la estructura de su polisacárido capsular (CPS), que es único para cada serotipo. En consecuencia, la respuesta inmune generada contra el CPS varía entre diferentes serotipos. Se utiliza para generar anticuerpos específicos en conejos contra el antígeno de cada serotipo. A menudo se observa reactividad cruzada entre estos anticuerpos específicos y otros serotipos distintos de aquellos contra los que se produjeron, debido a las similitudes estructurales del CPS de diferentes serotipos. Debido a sus propiedades inmunológicas, el CPS se utiliza como componente principal de las vacunas contra S. *pneumoniae.*

[0003] La primera vacuna eficiente que contenía el CPS de cuatro serotipos diferentes fue descrita en 1945. A continuación, se tardó más de treinta años hasta que una vacuna se introdujo que cubría 14 serotipos, seguida poco después por una vacuna 23-valente. Sin embargo, estas vacunas de polisacáridos tenían varias deficiencias. No pudieron obtener una protección duradera y no fueron eficaces en las poblaciones más vulnerables a la infección, a saber, los niños menores de dos años, así como los pacientes inmunodeficientes y ancianos. Estas deficiencias son el resultado de la inmunología de los carbohidratos y se superaron con la introducción de vacunas conjugadas de carbohidratos y proteínas. Las primeras vacunas antineumocócicas conjugadas fueron la vacuna siete-valente (PCV-7) y 10-valente (PCV-10). La PCV-7 fue reemplazada posteriormente por la vacuna más reciente (PCV-13), que contiene los glicoconjugados CPS de 13 serotipos diferentes.

[0004] *S. pneumoniae* serotipo 5 (SP5) es a nivel mundial el quinto serotipo causante de ENI más prevalente entre los niños pequeños, y el segundo serotipo más prevalente entre los niños en los países más pobres del mundo, elegible para el apoyo de la Alianza Global para Vacunas e Inmunización (GAVI). Además, recientemente se identificó al SP5 como el agente causante de una epidemia de neumonía grave entre los jóvenes reclutas del ejército israelí y los brotes comunitarios de infección invasiva en poblaciones urbanas empobrecidas de Canadá. Un estudio muy reciente mostró que el SP5 es una causa frecuente de brotes de ENI entre niños y adultos en España. Aunque la mayoría de los subtipos de SP5 todavía son susceptibles a los antibióticos, la aparición y diseminación de bacterias SP5 resistentes a los antibióticos es motivo de preocupación.

[0005] El SP5 CPS es un componente de las vacunas PCV-10 y PCV-13 conjugado más recientes. El SP5 CPS consta de una unidad repetitiva de pentasacárido ramificado con la secuencia [→4)-β -D-Glc*p*-(1→4)-[α-L-Pne*p*NAc-(1→2)-β-D-Glc*p*A-(1→+3)]-α-L-Fuc*p*NAc-(1→3)-β-D-Sug*p*(1→], donde Sug*p* es 4-ceto-D-FucNAc (nombre sistemático: 2-acetamido-2,5-dideoxi-D-*xilo*-hexos-4-ulosa) y PneNAc es *N*-acetil-L-pneumosamina (ver **Figura 1)**.

[0006] La solicitud de patente francesa FR 2850106 A1 (AVENTIS PASTEUR, 23 de julio de 2004) describe conjugados obtenidos por aminación reductora de SP5 CPS para uso como vacunas contra SP5. La parte sacárida de los conjugados son fragmentos de SP5 CPS aislados de fuentes bacterianas que contienen en promedio 30 a 35 unidades repetidas, en donde al menos 85% de unidades repetidas corresponde a una de las siguientes unidades repetidas: [→4)-β-D-Glc*p*-(1→4)-[α-L-Pne*p*NAc-(1→2)-β-D-Glc*p*A-(1→3)]-α-L-Fuc*p*NAc-(14→3)-β-**D-Sug*p*** (1→]; [→4)-β-D-Glc*p*-(1→4)-[α-L-Pne*p*NAc-(1→2)-β-D-Glc*p*A-(1→3)]-α-L-Fuc*p*NAc-(1→3)-β-**D-Fuc*p*NAc** (1→]; y [→4)-β-D-Glc*p*-(1→4)-[α-L-Pne*p*NAc-(1→2)-β-DGlc*p*A-(1→3)]-α-L-Fuc*p*NAc-(1→3)-β-**D-Qui*p*NAc** (1→]. La heterogenicidad de los fragmentos de SP5 CPS tanto en términos de tamaño como de estructura es perjudicial para la fabricación eficiente de una vacuna bien definida.

[0007] La solicitud de patente internacional WO2009000826A1 describe conjugados del polisacárido capsular no dimensionado de varios serotipos, incluyendo *S. pneumoniae* serotipo 5 y proteína transportadora, así como su uso para preparar anticuerpos. La conjugación puede obtenerse directamente o usando un enlazador, que se introduce y se une al átomo de oxígeno final del sacárido a través de un enlace covalente.

[0008] La publicación científica de Alonso De Velasco et al. (Streptococcus pneumoniae: factores de virulencia, patogénesis y vacunas, revisiones microbiológicas vol. 59, 4 (1995): 591-603) informes sobre factores de virulencia, patogénesis y vacunas de *S. pneumoniae.* Las vacunas conjugadas neumocócicas-sacárido-proteína se citan entre las

vacunas contra *S. pneumoniae.* La inmunogenicidad de los conjugados sacárido-proteína depende de sus características estructurales, a saber, la longitud del sacárido y las estructuras terminales, la naturaleza de la proteína transportadora, la relación sacárido/proteína y la química de acoplamiento.

[0009] La publicación científica de Kim et al. (Determination of saccharide content in pneumococcal polysaccharides and conjugate vaccines by GC-MSD. Anal Biochem. 2005; 347 (2): 262-274) informa sobre un método para la determinación del contenido de sacáridos en polisacáridos y conjugados neumocócicos, incluido el serotipo 5.

[0010] Pieretti G, et al. (The complete structure of the core of the LPS from Plesiomonas shigelloides 302-73 and the identification of its O-antigen biological repeating unit. Carbohydr Res. 2010; 345(17): 2523-2528) describen la estructura del LPS de *Plesiomonas shigelloides* 302-73 y la identificación de su unidad de repetición biológica de antígeno. Se identificó *N*-acetil-L-neumosamina de monosacárido raro en la estructura OS1 obtenida después de la hidrólisis suave del LPS.

[0011] Corsaro, M. et al. (Highly Phosphorylated Core Oligosaccaride Structures from Cold-Adapted Psychromonas arctica. Chem Eur J 2008, 14: 9368-9376) informan sobre la caracterización estructural de la cadena principal de carbohidratos de un lipooligosacárido de *Psychromonas artica.*

[0012] El objetivo de la presente invención es proporcionar sacáridos sintéticos bien definidos de fórmula general **(I)** que están relacionados con la unidad repetitiva de polisacáridos capsulares de *Streptococcus pneumoniae* serotipo 5. Dichos sacáridos sintéticos bien definidos son adecuados para conjugarse con un vehículo inmunogénico para proporcionar conjugados y composiciones farmacéuticas de los mismos que son útiles para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades asociadas con *Streptococcus pneumoniae,* y más específicamente contra enfermedades asociadas con *Streptococcus pneumoniae* serotipo 5. Además, los sacáridos sintéticos de fórmula general (**I)** son útiles como marcadores en ensayos inmunológicos para la detección de anticuerpos contra la bacteria *Streptococcus pneumoniae.*

[0013] El objetivo de la presente invención se resuelve mediante la enseñanza de las reivindicaciones independientes. Otras características, aspectos y detalles ventajosos de la invención son evidentes a partir de las reivindicaciones dependientes, la descripción, las figuras y los ejemplos de la presente solicitud.

Descripción de la invención

Definiciones

[0014] El término "enlazador", como se usa aquí abarca fragmentos moleculares capaces de conectar el extremo reductor de monosacáridos de un sacárido con un portador inmunogénico o un soporte sólido, opcionalmente mediante la unión a al menos una molécula de interconexión. Por tanto, la función del enlazador *per se* o junto con la molécula de interconexión es establecer, mantener y/o puentear una distancia especial entre el monosacárido del extremo reductor y un portador inmunogénico o un soporte sólido. Más específicamente, una extremidad del enlazador está conectada al átomo de oxígeno exocíclico en el centro anomérico del monosacárido del extremo reductor y la otra extremidad está conectada a través del átomo de nitrógeno con la molécula de interconexión, o directamente con el portador inmunogénico o el soporte sólido.

[0015] Como se usa en este documento, el término "interconexión molécula" se refiere a una molécula bifuncional que contiene grupo funcional X y el grupo funcional Y, en donde el grupo funcional X es capaz de reaccionar con el grupo amino terminal en el enlazador L y el grupo funcional Y es capaz de reaccionar con una funcionalidad presente en un portador inmunogénico o en un soporte sólido. La **Figura 2** muestra ejemplos de moléculas de interconexión disponibles comercialmente, pero no restringe las moléculas de interconexión que se pueden usar de acuerdo con la presente invención a los ejemplos presentados en este documento.

[0016] El término "adyuvante" tal como se utiliza aquí, se refiere a un adyuvante inmunológico es decir, un material utilizado en una composición de vacuna que modifica o aumenta los efectos de dicha vacuna mediante la mejora de la respuesta inmune a un antígeno dado contenido en la vacuna sin ser antigénicamente relacionado con él. Para el experto en la técnica, los ejemplos de adyuvantes reconocidos clásicamente incluyen:

- composiciones que contienen minerales, que incluyen sales de calcio y sales de aluminio (o mezclas de las mismas). Las sales de calcio incluyen fosfato de calcio. Las sales de aluminio incluyen hidróxidos, fosfatos, sulfatos, etc., adoptando las sales cualquier forma adecuada (por ejemplo, gel, cristalino, amorfo, etc.). Se prefiere la adsorción a estas sales. Las composiciones que contienen minerales también se pueden formular como una partícula de sal metálica. También se pueden usar los adyuvantes conocidos como hidróxido de aluminio y fosfato de aluminio. La invención puede usar cualquiera de los adyuvantes "hidróxido" o "fosfato" que se usan en general como adyuvantes. Los adyuvantes conocidos como "hidróxido de aluminio" son típicamente sales de oxihidróxido de aluminio, que normalmente son al menos parcialmente cristalinas. Los adyuvantes conocidos como "fosfato de aluminio" son típicamente hidroxifosfatos de aluminio, que a menudo también contienen una pequeña cantidad de sulfato (es decir, sulfato de hidroxifosfato de aluminio). Pueden obtenerse por precipitación, y las condiciones de reacción y las concentraciones durante la precipitación influyen en el grado de sustitución de fosfato por hidroxilo en la sal. Pueden

emplearse mezclas de hidróxido de aluminio y fosfato de aluminio en la formulación de acuerdo con la presente invención;

- saponinas, que son un grupo heterólogo de glucósidos de esterol y glucósidos triterpenoides que se encuentran en la corteza, hojas, tallos, raíces e incluso flores de una amplia gama de especies vegetales. Las saponinas de la corteza de *Quillaia saponaria,* árbol de Molina han sido ampliamente estudiadas como adyuvantes. Las saponinas también se pueden obtener comercialmente de Smilax ornata (zarzaprilla), Gypsophilla paniculata (velo de novia) y Saponaria oficianalis (raíz de jabón). Las formulaciones de adyuvantes de saponina incluyen formulaciones purificadas, como QS21, así como formulaciones de lípidos, como ISCOM. Las composiciones de saponina se han purificado usando HPLC y RP-HPLC. Se han identificado fracciones purificadas específicas que utilizan estas técnicas, que incluyen QS 7, QS 17, QS 18, QS2 1, QH-A, QH-B y QH-C. Las formulaciones de saponina también pueden comprender un esterol, como el colesterol. Se pueden usar combinaciones de saponinas y colesteroles para formar partículas únicas llamadas complejos inmunoestimulantes (ISCOM). Los ISCOM generalmente incluyen un fosfolípido como fosfatidiletanolamina o fosfatidilcolina. En los ISCOM se puede utilizar cualquier saponina conocida. Preferiblemente, el ISCOM incluye uno o más de QuilA, QHA y QHC;
- micropartículas (es decir, una partícula de 100 nm a 150 pm de diámetro, más preferiblemente de 200 nm a 30 pm de diámetro, o de 500 nm a 10 pm de diámetro) formadas a partir de materiales que son biodegradables y no tóxicos. Dichos materiales no tóxicos y biodegradables incluyen, pero no se limitan a ácido poli(α-hidroxi), ácido polihidroxibutírico, poliortoéster, polianhídrido, policaprolactona;
- ligandos CD1d, tales como una α-glicosilceramida, α-glicosilceramidas que contienen fitoesfingosina, OCH, KRN7000 [(2*S*,3*S*,4*R)*-1-*O*-(α-D-galactopiranosil)-2-(*N*-hexacosanoilamino)-1,3,4-octadecanotriol], CRONY-101, 3”-sulfogalactosilceramida;
- oligonucleótidos inmunoestimuladores, tales como el motivo CpG que contiene unos (una secuencia de dinucleótidos que contiene un residuo de citosina no metilado unido por un enlace fosfato a un residuo guanosina), o un motivo Cpl que contiene unos (una secuencia de dinucleótidos que contiene citosina unida a inosina), o un ARN bicatenario, o un oligonucleótido que contiene una secuencia palindrómica, o un oligonucleótido que contiene una secuencia poli(dG). Los oligonucleótidos inmunoestimuladores pueden incluir modificaciones de nucleótidos/análogos tales como modificaciones de fosforotioato y pueden ser bicatenarios o monocatenarios (excepto para ARN);
- compuestos que contienen lípidos unidos a un esqueleto acíclico que contiene fosfato, tales como el antagonista de TLR4 E5564;
- emulsiones oleosas (p. ej. adyuvante).

[0017] En teoría, cada molécula o sustancia que sea capaz de favorecer o amplificar una situación particular en la cascada de eventos inmunológicos, conduciendo finalmente a una respuesta inmunológica más pronunciada, puede definirse como un adyuvante.

[0018] En principio, a través del uso de adyuvantes en formulaciones de vacuna, se puede

- dirigir y optimizar respuestas inmunes que son apropiadas o deseables para la vacuna;
- permitir la administración de vacunas a través de la mucosa, es decir, la administración que da como resultado el contacto de la vacuna con una superficie de la mucosa como el epitelio bucal o gástrico o pulmonar y el tejido linfoide asociado;
- promover respuestas inmunes mediadas por células;
- potenciar la inmunogenicidad de inmunógenos más débiles, como antígenos altamente purificados o recombinantes;
- reducir la cantidad de antígeno o la frecuencia de inmunización necesaria para proporcionar inmunidad protectora; y
- mejorar la eficacia de las vacunas en personas con respuestas inmunitarias reducidas o debilitadas, como los recién nacidos, los ancianos y los receptores de vacunas inmunodeprimidos.

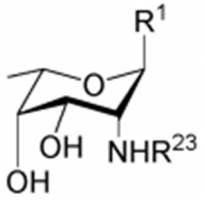
[0019] Aunque poco se sabe acerca de su modo de acción, actualmente se cree que los adyuvantes aumentan las respuestas inmunológicas por uno de los siguientes mecanismos:

- el aumento de la vida media biológica o inmunológica de antígenos;
- mejorar la administración de antígenos a las células presentadoras de antígenos (APC), así como el procesamiento y la presentación de antígenos por las APC, por ejemplo, permitiendo que el antígeno atraviese las membranas endosomales en el citosol después de la ingestión de complejos de antígeno adyuvante por APC;
- imitar señales de inducción de peligro de células estresadas o dañadas, que sirven para iniciar una respuesta inmunitaria;
- inducir la producción de citocinas inmunomoduladoras;
- sesgar la respuesta inmunitaria hacia un subconjunto específico del sistema inmunológico; y
- bloquear la rápida dispersión de la exposición al antígeno.

[0020] Los sacáridos son conocidos por los expertos en la técnica como antígenos TI-2 (células T independientes-2) e inmunógenos pobres. Por tanto, para producir una vacuna basada en sacáridos, dichos sacáridos se conjugan con un portador inmunogénico para proporcionar un conjugado, que presenta una inmunogenicidad incrementada en comparación con el sacárido. En este contexto, el término "portador inmunogénico" se define como una estructura que se conjuga con el sacárido para formar un conjugado que presenta una inmunidad aumentada en comparación con el sacárido *per se*. Así, la conjugación de los sacáridos al portador inmunogénico tiene como efecto la estimulación de la

respuesta inmune contra dicho sacárido, sin inducir una respuesta inmune contra dicho portador inmunogénico.

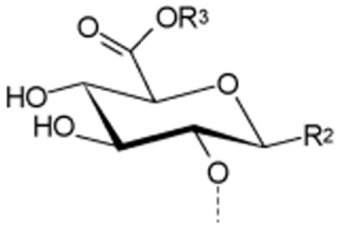
[0021] La presente invención se refiere a sacáridos de fórmula general (**I**):



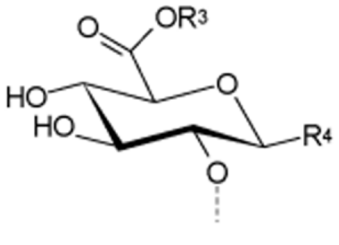
(**I**)

en donde

R^1 se selecciona de entre

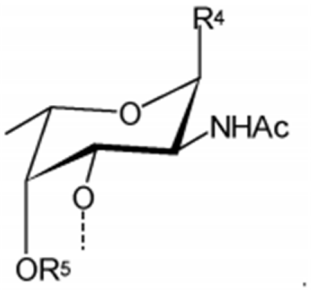


, y



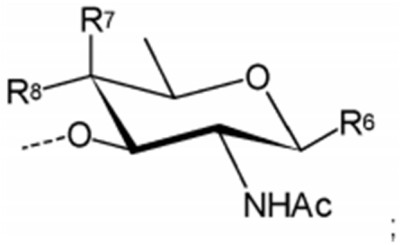
;

R^2 representa



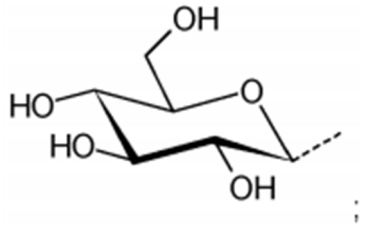
;

R^3 se selecciona entre -H, $-CH_3$, $-C_2H_5$, $-C_3H_7$, $-C_4H_9$ y $-CF_3$;
R^4 representa R^6 o



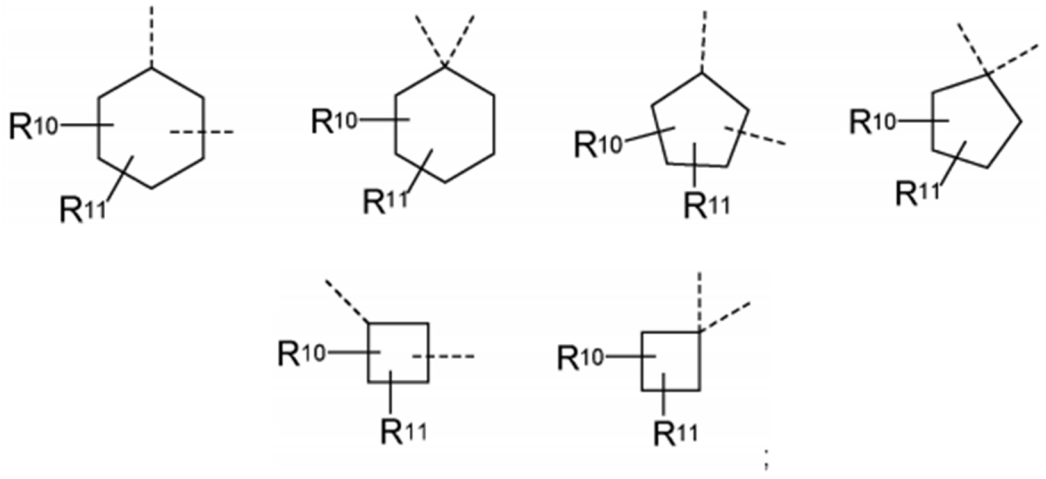
;

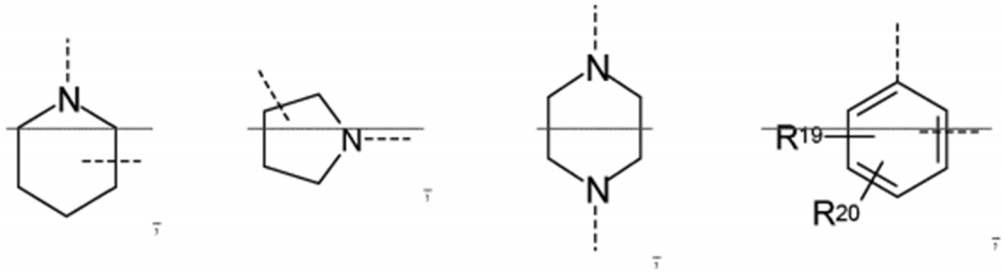
R^5 representa -H o



R^6 representa -O-L-NH_2;
R^7 y R^8 se seleccionan independientemente entre sí de -H y -OH y no pueden ser simultáneamente -H;
R^7 y R^8 pueden formar juntos un residuo =O; o en otras palabras, R^7 y R^8 pueden formar junto con el átomo de carbono al que están unidos a un grupo carbonilo C=O;
R^{23} se selecciona de -H, -C(O)CH_3, -C(O)CF_3 y -C(O)CCl_3;
-L- representa -(CH_2)m- y m es un número entero seleccionado entre 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10;
y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

[0022] -L- se define como un enlazador y es parte del fragmento -O-L-NH_2. Por tanto, el enlazador -L- está unido a un átomo de oxígeno y al átomo de nitrógeno del grupo NH_2. Se prefiere que al menos dos átomos de carbono del enlazador estén entre el átomo de oxígeno y el grupo NH_2, como -O-C-C-NH_2. El enlazador -L- puede ser una cadena alifática, en donde la cadena alifática puede incluir opcionalmente una cadena aromática insertada en ella, o una serie de heteroátomos que oscilan de 0 a 10.





[0023] Los sacáridos de la presente invención llevan sustituyentes básicos y/o ácidos y pueden formar sales con ácidos o bases orgánicos o inorgánicos.

[0024] Ejemplos de ácidos adecuados para tal formación de sal de adición de ácido son ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido acético, ácido cítrico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido salicílico, ácido *p*-aminosalicílico, ácido málico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido ascórbico, ácido maleico, ácido sulfónico, ácido fosfónico, ácido perclórico, ácido nítrico, ácido fórmico, ácido propiónico, ácido glucónico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido hidroximaleico, ácido pirúvico, ácido fenilacético, ácido benzoico, ácido p-aminobenzoico, ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido nitroso, ácido hidroxietansulfónico, ácido etilensulfónico, ácido *p*-toluensulfónico, ácido naftilsulfónico, ácido sulfanílico, ácido canforsulfónico, ácido china, ácido mandélico, ácido o-metilmandélico, ácido hidrógeno-bencenosulfónico, ácido pícrico, ácido adípico, ácido d-otoliltartárico,

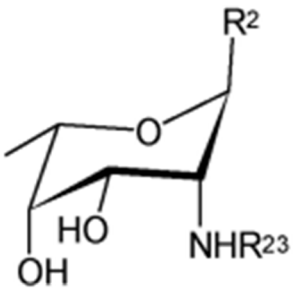
ácido tartrónico, ácido (*o, m, p*)-toluico, naftilamina ácido sulfónico, y otros ácidos minerales o carboxílicos bien conocidos por los expertos en la técnica. Las sales se preparan poniendo en contacto la forma de base libre con una cantidad suficiente del ácido deseado para producir una sal de la manera convencional.

[0025] Los ejemplos de bases orgánicas o inorgánicas adecuadas son, por ejemplo, NaOH, KOH, NH_4OH, hidróxido de tetraalquilamonio, lisina o arginina y similares. Las sales se pueden preparar de manera convencional usando métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo mediante el tratamiento de una solución del compuesto de fórmula general (**I)** con una solución de una base, seleccionada del grupo mencionado anteriormente.

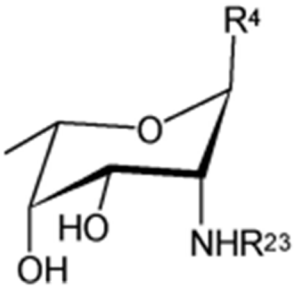
[0026] Además, también es posible que los compuestos de la presente invención llevan simultáneamente grupos básicos y ácidos. Además, también puede ocurrir que estos grupos básicos y ácidos parezcan estar muy próximos entre sí, lo que permite una transferencia de protones intramolecular del grupo ácido al grupo básico. Por lo tanto, en una realización preferida de la presente invención, el compuesto de fórmula (**I)** puede ser de ión bipolar, portando al menos, por ejemplo, un grupo -O- y un grupo $-NH_3^+$.

[0027] Está claro para el experto en la técnica de la química de carbohidratos que los sacáridos de general (**I)** no contienen enlaces -O-O- y/o fragmentos de azúcar conectados o unidos entre sí a través de sus carbonos anoméricos o C-1.

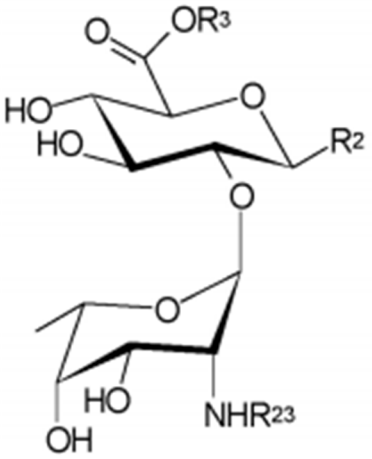
[0028] También se describen sacáridos de fórmulas generales (**IV)**, (**V)**, (**VI)** y (**VII)**



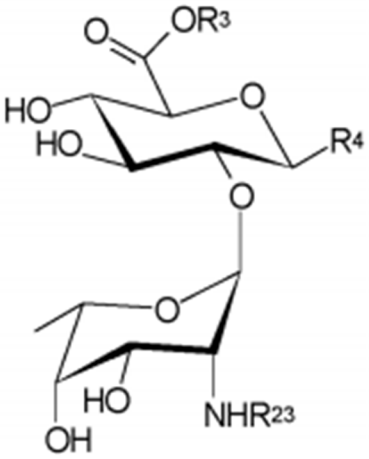
IV



V



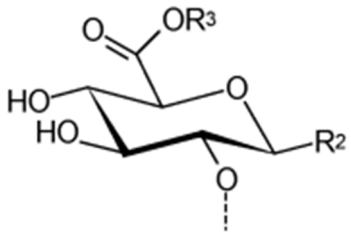
VI



VII

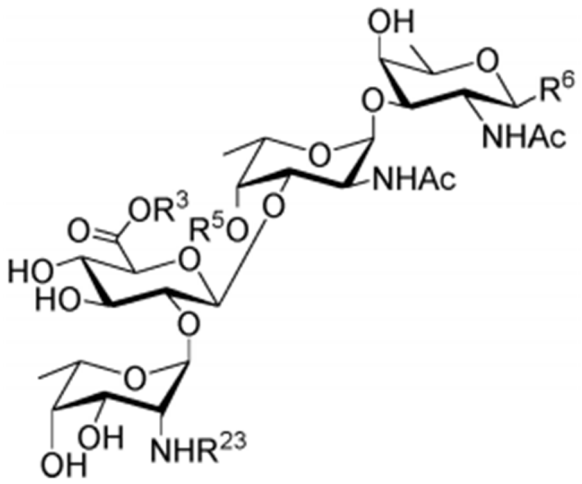
en donde R^2, R^3, R^4 y R^{23} tienen los significados definidos anteriormente.

[0029] Otra realización preferida de la presente invención se refiere a sacáridos de fórmula general (**I)**, en donde R^1 representa:



en donde R^2 y R^3 tienen los significados definidos anteriormente. También se describen sacáridos en los que el residuo R^4 representa R^6. Por tanto, también se describen los sacáridos de fórmulas generales (**I**), (**IV**), (**V**), (**VI**) y (**VII**), siendo R^4 R^6.

[0030] Una realización aún más preferida de la presente invención está dirigida a un sacárido de fórmula general (**III**)



(**III**)

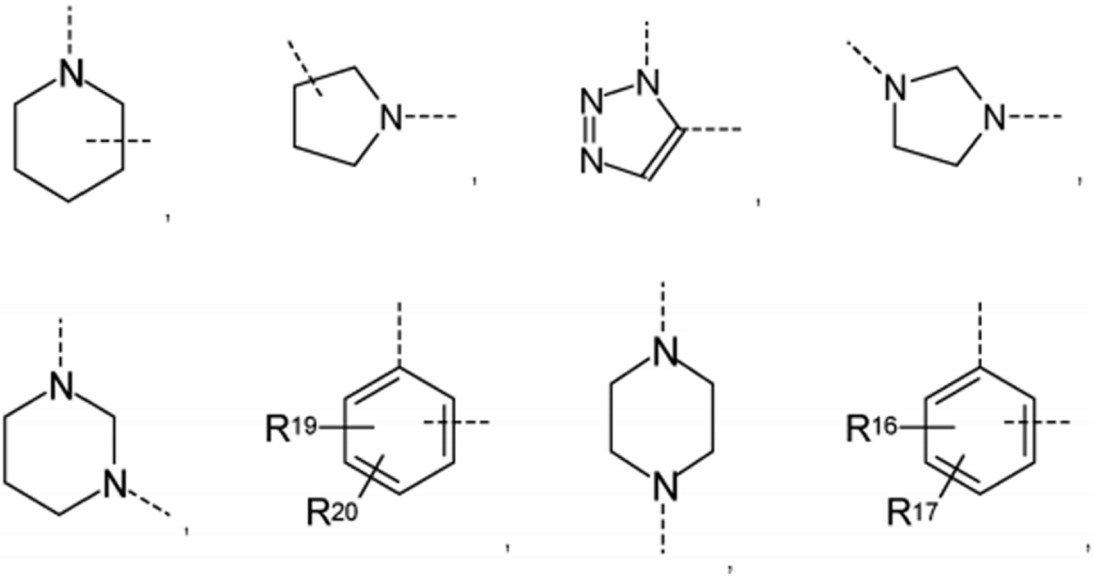
en donde los residuos R^3, R^5, R^6 y R^{23} tienen los significados que se definen en el presente documento.

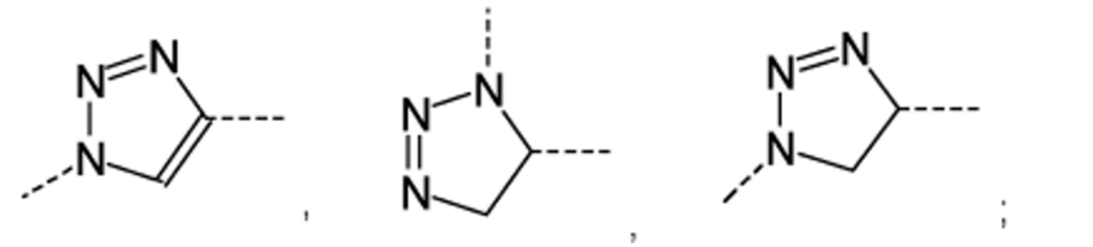
[0031] Son particularmente preferidos los sacáridos según la presente invención en los que R^3 representa -H. Por tanto, se prefieren particularmente los sacáridos de fórmulas generales (**I**) y (**III**), siendo R^3 -H.

[0032] Preferiblemente, el residuo R^{23} representa $-C(O)CH_3$. Por tanto, se prefieren especialmente los sacáridos de fórmula general (I) con el residuo R^3 que representa -H y el residuo R^{23} que representa $-C(O)CH_3$.También se describen en el presente documento los sacáridos de fórmulas generales (**I**), (**III**), (**IV**), (**V**) o (**VII**) donde el enlazador -L- se selecciona de: $-L^a-$, $-L^a-L^e-$, $-L^a-L^b-L^e-$, $-L^a-L^b-L^d-L^c-L^e-$, $-L^a-L^d-L^e-$, y en donde

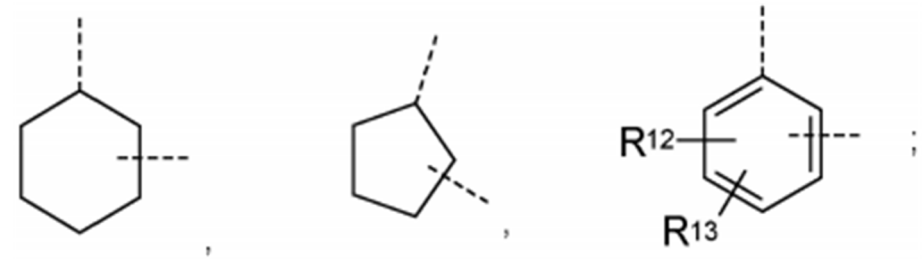
$-L^a-$ se selecciona de: $-(CH_2)_m-$, $-(CF2)_m-$, $-(CH_2-CH_2-O)_m-C_2H_4-$, $-(CH_2-CH_2-O)_m-CH_2-$, $-(CR^{10}R^{11})_m-$;

$-L^b-$ y $-L^c-$ se seleccionan independientemente entre sí de: -O-, -S-, $-NR^9-$, -NH-C(O)-NH-, -NH-C(O)-, -C(O)-NH-, -NH-C(O)-O-, $-NR^{18}-$, $-SO_2-$,





-L^d- representa -$(CH_2)_n$-, -(CF2)$_n$-, -$(CR^{12}R^{13})_n$-, -$(CH_2$-CH_2-$O)_n$-C_2H_4-, -$(CH_2$-CH_2-$O)_n$-CH_2-,



-L^e- se selecciona de: -$(CH_2)_{p1}$-, -$(CF_2)_{p1}$-, -C_2H_4-$(O$-CH_2-$CH_2)_{p1}$-, -CH_2-$(O$-CH_2-$CH_2)_{p1}$-, -$(CH_2)_{p1}$-O-$(CH_2)_{p2}$-, -$(CH_2)_{p1}$-S-$(CH_2)_{p2}$-, -$(CR^{14}R^{15})_{p1}$-, -$(CR^{14}R^{15})_{p1}$-O-$(CR^{21}R^{22})_{p2}$-, -$(CR^{14}R^{15})_{p1}$-S-$(CR^{21}R^{22})_{p2}$-,

R^9 y R^{18} se seleccionan independientemente entre sí de: -CH_3, -C_2H_5, -C_3H_7 y -$C(O)CH_3$.,

R^{10}, R^{11}, R^{12}, R^{13}, R^{14}, R^{15}, R^{16}, R^{17}, R^{19}, R^{20}, R^{21} y R^{22} se seleccionan independientemente entre sí de: -H, -F, -Cl, -CH_3, -C_2H_5, -C_3H_7, -C_5H_9, -C_6H_{13}, -OCH_3, -OC_2H_5, -CH_2F, -CHF_2, - CF_3, -$C(O)$-NH_2, -SCH_3, -SC_2H_5, -$NHC(O)CH_3$, -$N(CH_3)_2$ y -$N(C_2H_5)_2$;

m, n, p1 y p2 son independientemente uno de otro un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5, y 6.

[0033] Como se describe en el presente documento, el enlazador -L- se selecciona de:

-L^a- -L^a-L^b-L^e- y -L^a-L^d-L^e-; y

-L^a- se selecciona de: -$(CH_2)_m$-, -$(CF_2)_m$-, -$(CH_2$-CH_2-$O)_m$-C_2H_4-, -$(CH_2$-CH_2-$O)_m$-CH_2-;

-L^b- se selecciona de: -O-, -S-, -NH-C(O)-NH-, -NH-C(O)- y -C(O)-NH-

-L^d- se selecciona de-$(CH_2)_n$- y -$(CF_2)_n$-;

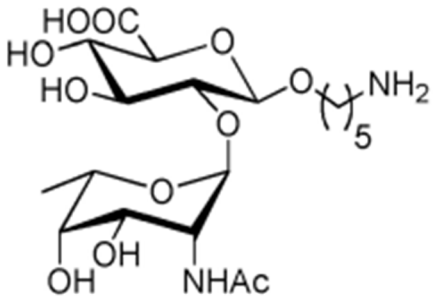
-L^e- se selecciona entre: -$(CH_2)_{p1}$-, -$(CF_2)_{p1}$-, -C_2H_4-$(O\text{-}CH_2\text{-}CH_2)_{p1}$-, -$CH_2$-$(O\text{-}CH_2\text{-}CH_2)_{p1}$-, -$(CH_2)_{p1}$-O-$(CH_2)_{p2}$-, y -$(CH_2)_{p1}$-S-$(CH_2)_{p2}$-, y

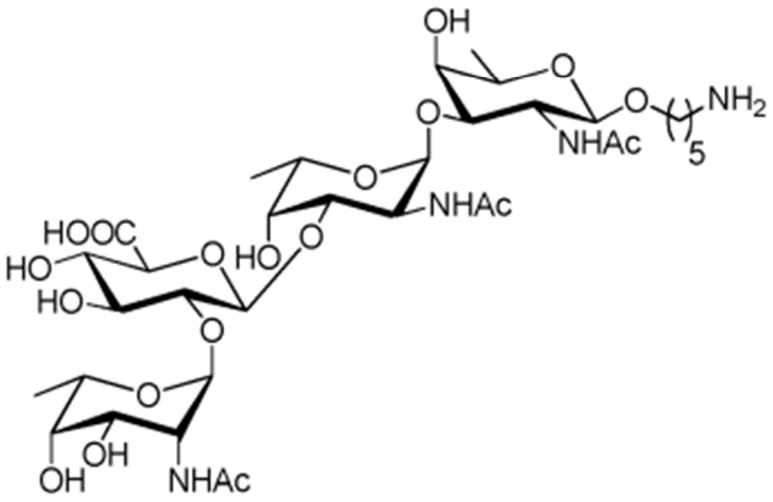
m, n, p1 y p2 son independientemente entre sí un número entero seleccionado entre 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10. Por tanto, un sacárido de fórmulas generales (**I**), (**III**), (**IV**), (**V**) o (**VII**) en donde el enlazador -L- tiene el significado definido es especialmente preferido.

[0034] En la realización más preferida, el enlazador -L- representa -$(CH_2)_m$-, donde m es un número entero seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5 y 6. También se describe que el enlazador -L- representa -$(CH_2\text{-}CH_2\text{-}o)_m\text{-}C_2H_4$- o -$(CH_2\text{-}CH_2\text{-}o)_m\text{-}CH_2$- y m es un número entero seleccionado de 1, 2 y 3.

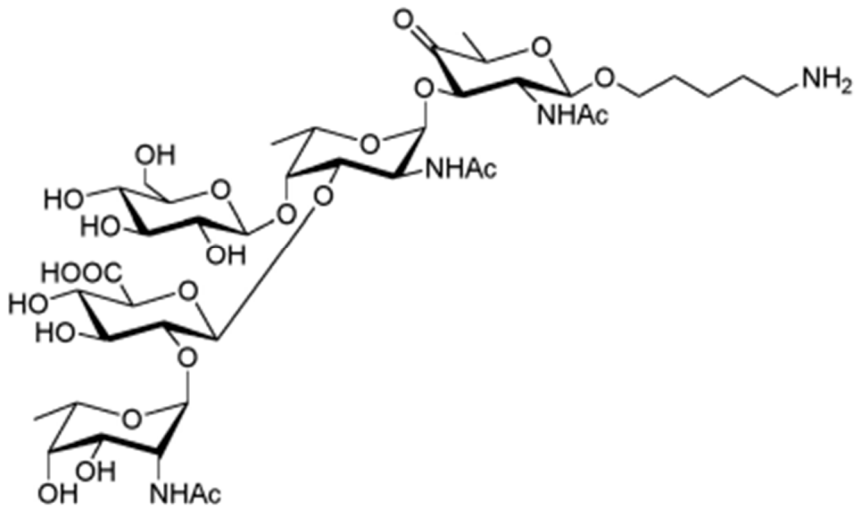
[0035] Preferiblemente los sacáridos de acuerdo con la presente invención se seleccionan de:

5-amino-pentanilo 2-*N*-acetil-α-L-neumo-aminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosiluronato (**27***)

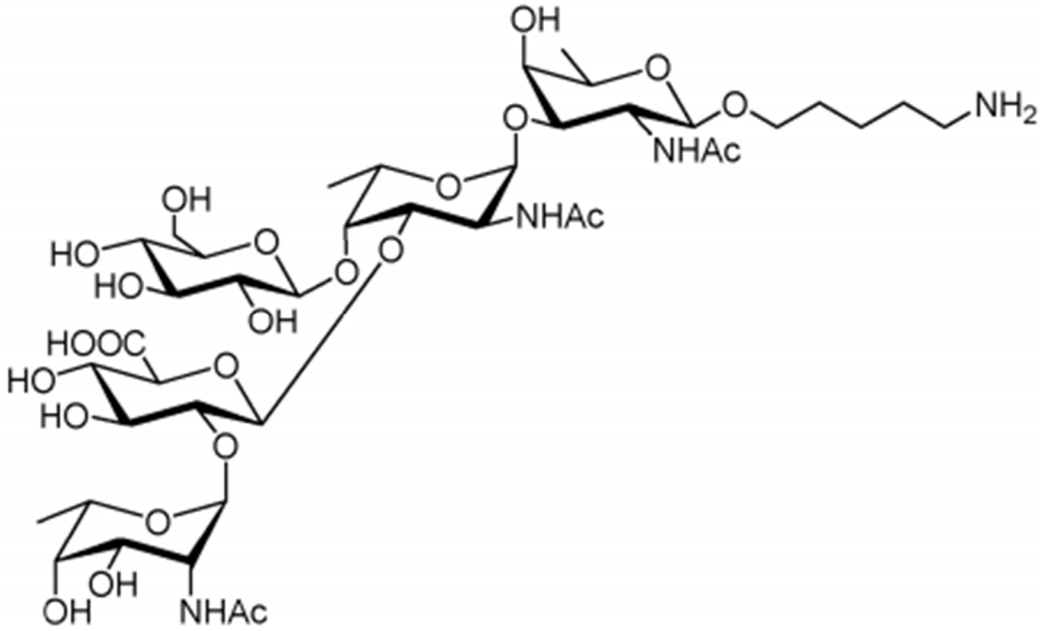




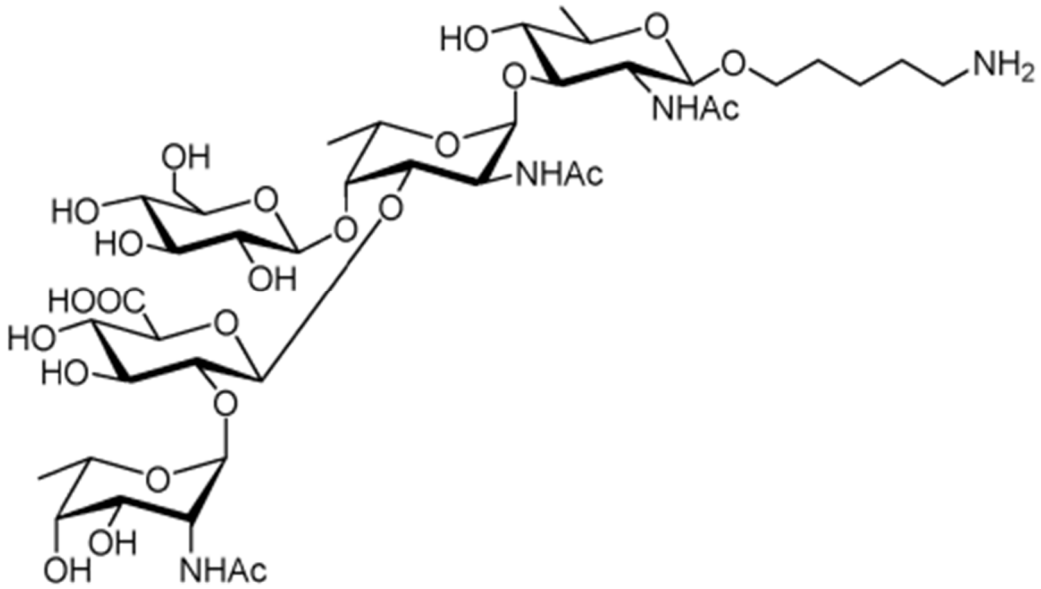
5-amino-pentanilo 2-*N*-acetil-α-L-neumoaminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosiluronato-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-β-D-fucosaminopiranosido (**33***)



5-amino-pentanilo 2-*N*-acetil-α-L-neumoaminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosiluronato-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-[β-D-glucopiranosil-(1→4)]-2-acetamido-2,5-didesoxi-(β-D-xilo-hexos-4-ulosido (**88*)**



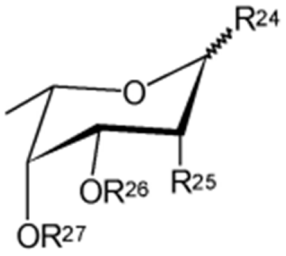
5-amino-pentanilo 2-*N*-acetil-α-L-Neumosaminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosiluronato-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-[β-D-glucopiranosil-(1→4)]-2-*N*-acetil-β-D-fucosaminopiranósido (**73*)**



5-amino-pentanilo 2-*N*-acetil-α-L-neumosaminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosiluronato-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-[β-D-glucopiranosil-(1→4)]-2-*N*-acetil-β-D-quinovosaminopiranósido (**85***)

[0036] Los sacáridos de fórmula general (**I**) son capaces de inducir una respuesta inmune protectora contra bacterias de *S. pneumoniae* serotipo 5 en un huésped humano y/o animal. La presencia del residuo de α-L-neumosamina en los sacáridos de fórmula general (**I**) es esencial para lograr la reactividad cruzada hacia los polisacáridos capsulares nativos *S. pneumoniae* tipo 5.

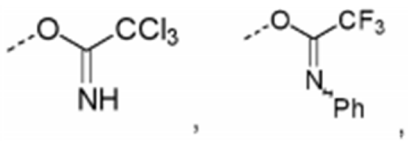
[0037] Otro aspecto de la presente invención se refiere a compuestos intermedios de fórmula general (**IX**)



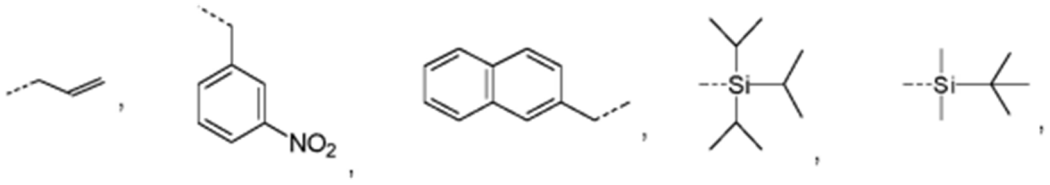
IX

en donde

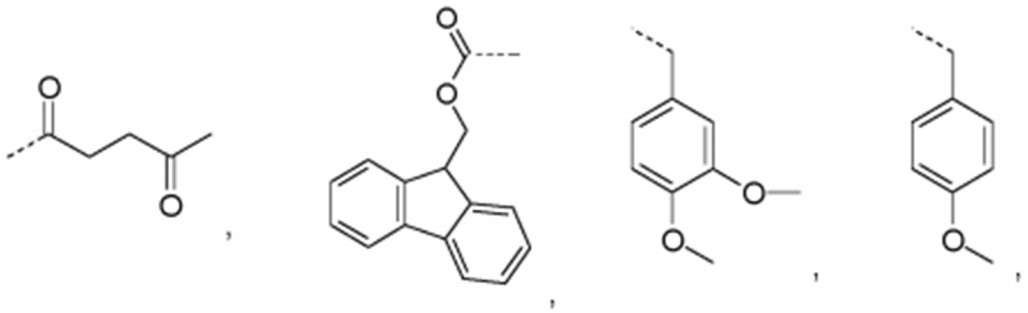
R^{24} se selecciona entre



-F, -Cl, -Br, - I, $-SR^{28}$, $-SeR^{29}$, $-OPO_3R^{30}{}_2$;
R^{25} se selecciona de $-N_3$, $-NBn_2$, -NBnCbz;
R^{26} y R^{27} se seleccionan independientemente entre sí de -H, -Bn,



$-Si(CH_3)_3$, $-Si(CH_2CH_3)_3$, $-C(O)CH_3$, -C(O)Ph,

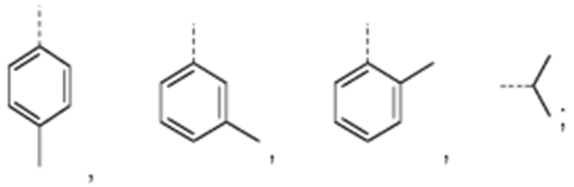


o R^{26} y R^{27} pueden formar juntos,



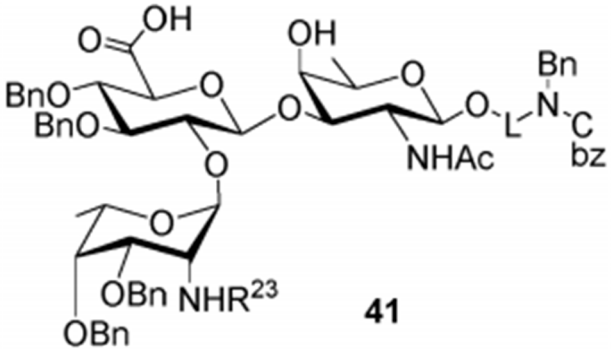
;

R^{28} se selecciona de: $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, -Ph,

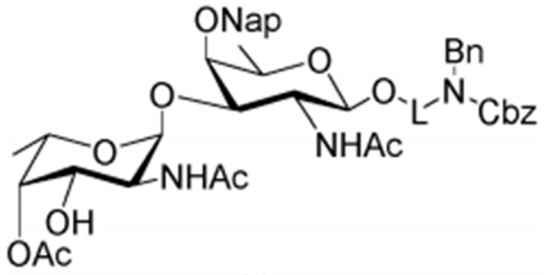


;

R^{29} representa -Ph;
R^{30} representa $-CH_2CH_2CH_2CH_3$; e
intermedios de fórmulas **41** y **63:**



41



63

donde L y R^{23} se definen como se describe en el presente documento, L preferido es -C_5H_{10}- y/o R^{23} es CH_3CO-.

Glicoconjugados

[0038] Otro aspecto de la presente invención se refiere a un conjugado que comprende un sacárido según la presente invención. Dicho conjugado demostró ser eficaz como vacuna para la inmunización frente a enfermedades asociadas a la bacteria *Streptococcus pneumoniae* serotipo 5.

[0039] Los sacáridos son conocidos por los expertos en la técnica como antígenos generalmente TI-2 (independientes de células T-2) e inmunógenos pobres. Los antígenos TI-2 son antígenos, que son reconocidos solo por las células B maduras a través del entrecruzamiento de los receptores de inmunoglobulina expuestos a la superficie. Sin la ayuda de las células T, no se genera memoria inmunológica y no se produce el cambio de isotipo de IgM a otras subclases de IgG, ni la maduración de la afinidad de las células B. Además, los sacáridos son inmunógenos pobres conocidos en humanos debido a la homología estructural con los glicolípidos y glicoproteínas humanos. Debido a sus escasas propiedades inmunogénicas, los sacáridos manifiestan una escasa capacidad para producir tanto la producción de anticuerpos por las células B como la formación de células de memoria, características que son esenciales para la producción de vacunas potentes.

[0040] Por lo tanto, para producir una vacuna potente basada en sacárido, los sacáridos de fórmulas generales (**I**), y (**III**), se conjugan a un portador inmunogénico para proporcionar conjugados, que presente mayor inmunogenicidad en comparación con el sacárido. Sorprendentemente, se encontró que la inmunización con un conjugado que comprende un sacárido de fórmula general (**I**) unido covalentemente a un portador inmunogénico da como resultado la producción de altos títulos de anticuerpos específicos para la parte carbohidrato del sacárido de fórmula general (**I**). Dichos anticuerpos presentan reacción cruzada con la SP-5 CPS natural y presentan opsonofagocitosis y actividad bactericida, confiriendo así protección frente a la bacteria S. *pneumoniae* serotipo 5.

[0041] En este contexto, el término "portador inmunogénico" se define como una estructura, que está conjugada con el sacárido para formar un conjugado que presenta una mayor inmunidad en comparación con el sacárido *per se.* Así, la conjugación de los sacáridos de fórmulas generales (**I**) y (**III**) y al portador inmunogénico tiene como efecto la estimulación de la respuesta inmune frente al sacárido de fórmulas generales (**I**) y (**III**), sin inducir una respuesta inmune frente a dicho portador inmunogénico.

[0042] Portadores inmunogénicos preferidos son proteínas portadoras o glicoesfingolípidos con propiedades inmunomoduladoras. Para el experto en la técnica, una proteína portadora es una proteína seleccionada del grupo que comprende o consiste en: un toxoide diftérico, un toxoide diftérico mutado, un toxoide diftérico modificado, un toxoide diftérico mutado y modificado, un toxoide tetánico, un toxoide diftérico modificado, un toxoide tetánico, un toxoide tetánico mutado, proteína de la membrana externa (OMP), albúmina de suero bovino (BSA), hemocianina de lapa californiana

(KLH) o toxoide del cólera (CT). El término "toxoide" como se usa en este documento se refiere a una toxina bacteriana (normalmente una exotoxina), cuya toxicidad ha sido inactivada o suprimida por tratamiento químico (formalina) o térmico, mientras que se mantienen otras propiedades, típicamente inmunogenicidad. Un toxoide mutado como se usa en este documento es una toxina bacteriana recombinante, que se ha modificado para que sea menos tóxica o incluso no tóxica modificando la secuencia de aminoácidos de tipo salvaje. Tal mutación podría ser una sustitución de uno o más aminoácidos. Tal toxoide mutado presenta en su superficie una funcionalidad que puede reaccionar con el grupo funcional Y de la molécula de interconexión para proporcionar un toxoide modificado. Dicha funcionalidad es conocida por el experto en la técnica e incluye, pero no se limita a la funcionalidad amino primaria de un residuo de lisina que puede reaccionar con ésteres activados, un grupo isocianato o un aldehído en presencia de un agente reductor, a la funcionalidad de carboxilato de un residuo de glutamato o aspartato que puede ser activado por carbodiimidas o de la funcionalidad tiol de un residuo de cisteína.

[0043] Los ésteres activados incluyen, pero no se limitan a N-(γ maleimidobutiriloxi) sulfosuccinimida éster (sulfoGMBS), succinimidil (4-yodoacetil) aminobenzoato (sulfo-SIAB), succinimidil-3-(bromoacetamido)propionato (SBAP), glutarato de disuccinimidilo (DSG), adipato de disuccinimidilo (DSA), 2-piridilditiol-tetraoxatetradecano-*N*-hidroxisuccinimida (PEG-4-SPDP) (ver **Figura 2)**.

[0044] El resto de cisteína en la proteína portadora se puede convertir en la deshidroalanina correspondiente que se puede reaccionar adicionalmente con una molécula de interconexión adecuada para proporcionar proteína transportadora modificada que tiene en su superficie el grupo X funcional de la molécula de interconexión.

[0045] Se prefiere especialmente que los sacáridos de fórmulas generales (**I)** y (**III)**, y preferiblemente sacáridos **27*, 33*, 73*, 85*** y **88*** se conjugan a la toxina de la difteria no tóxica mutada CRM_{197} presentando como una funcionalidad una funcionalidad de amina primaria de un residuo de lisina.

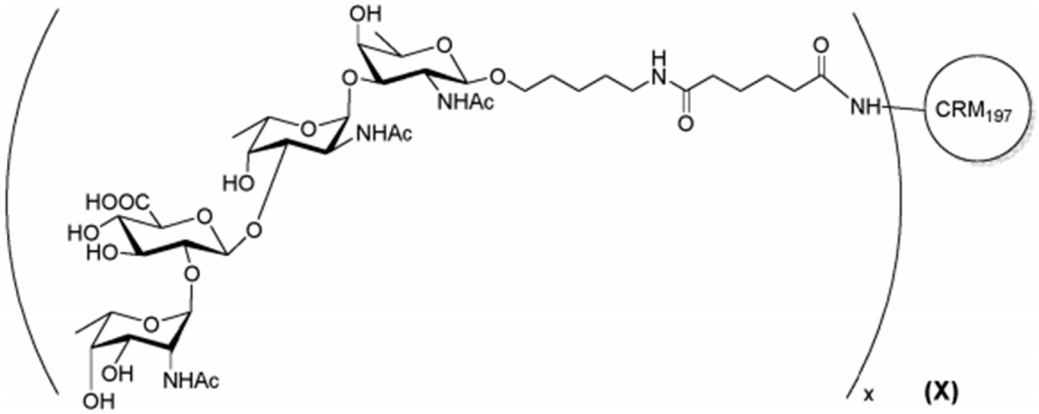
[0046] La toxina diftérica de tipo salvaje similar a CRM_{197} es una cadena polipeptídica única de 535 aminoácidos (58 K*d*) que consta de dos subunidades unidas por puentes disulfuro que tienen una sustitución de un solo aminoácido de ácido glutámico por glicina. Se utiliza como proteína transportadora en varias vacunas conjugadas aprobadas para enfermedades como Prevnar.

[0047] Por lo tanto, en una realización preferida de la presente invención la proteína portadora presenta en su superficie primaria funcionalidades amino de residuos de lisina que son capaces de reaccionar con el grupo funcional Y de la molécula de interconexión para proporcionar proteína transportadora modificada que tiene en su superficie dicho grupo funcional X de la molécula de interconexión, que es capaz de reaccionar con el grupo amino terminal del enlazador de los compuestos de fórmula general (**I)**.

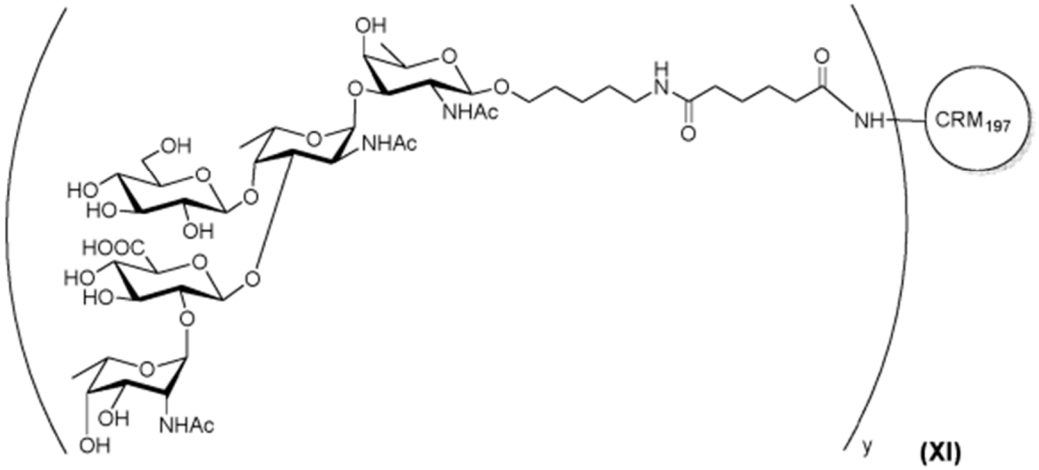
[0048] Dicho grupo funcional X de las moléculas de interconexión se selecciona del grupo que comprende o que consiste en maleimida; α-yodoacetilo; α-bromoacetilo; y éster de *N*-hidroxisuccinimida (NHS), aldehído, imidoéster, ácido carboxílico, alquil sulfonato, cloruro de sulfonilo, epóxido, anhídrido, carbonato (ver **Figura 3)**.

[0049] Preferiblemente, el sacárido de fórmulas generales (**I)** y (**III)**, se conjuga con la toxina de difteria mutada no tóxica CRM_{197}, que se modifica por maleimida. En otra realización preferida más, el sacárido de fórmulas generales (**I)** y (**III)** se conjuga con la toxina diftérica mutada no tóxica CRM_{197}, que está modificada por α-bromoacetamida. En la realización más preferida, el sacárido de fórmula general **I** se conjuga con la toxina diftérica mutada no tóxica CRM_{197}, que está modificada por adipato de *N*-hidroxisuccinimida.

[0050] Más preferiblemente, el glicoconjugado CRM_{197} se selecciona del grupo que consiste en:

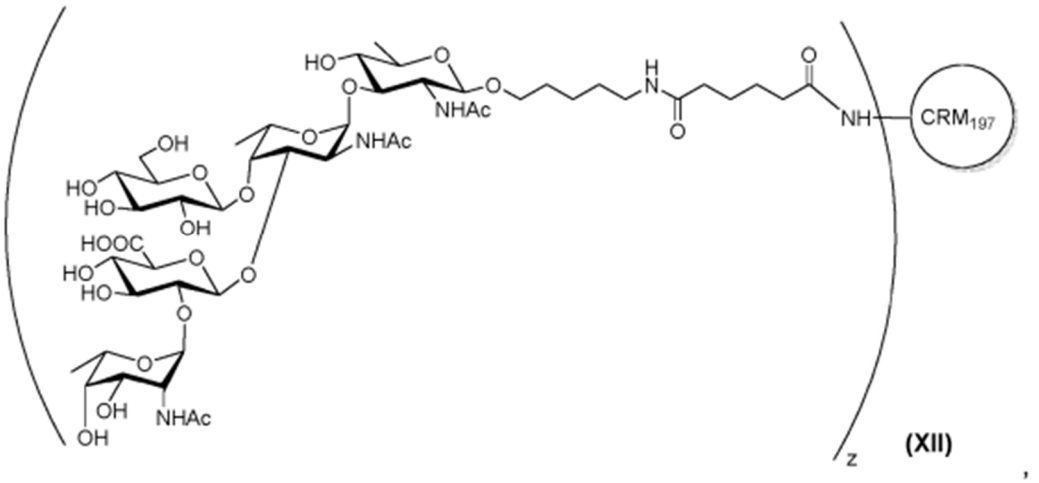


(X)



(XI)

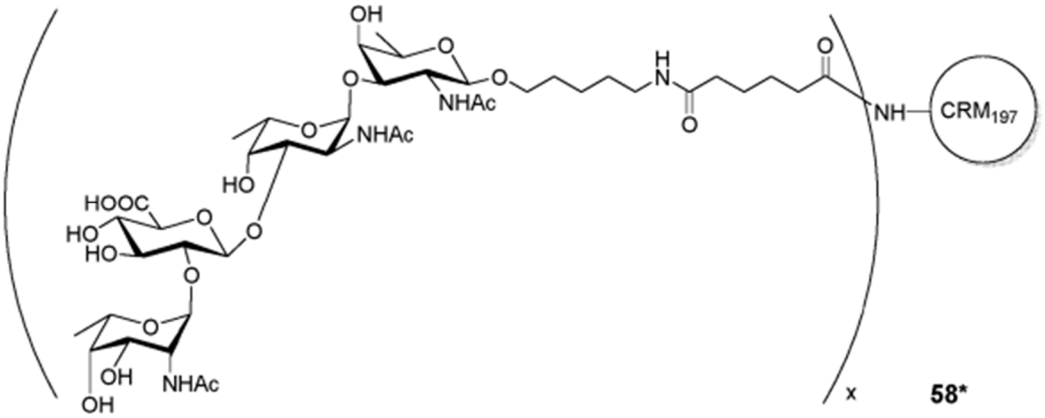
y



(XII) ,

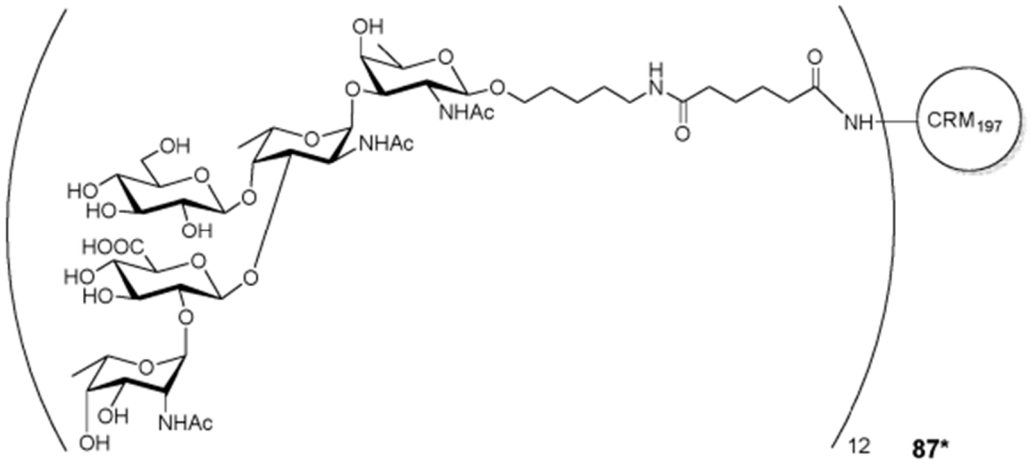
en donde x, y y z son independientemente número entero de 1 a 20; número entero preferido de 1 a 15; un número entero más preferido de 5 a 14; número entero más preferido de 7 a 13; número entero más preferido de 8 a 12.

[0051] Los más preferidos son los conjugados **58a*, 58b*, 58c*,** y **87***



58*

58*a cuando x = 7; **58*b** cuando x = 8; **58*c** cuando x = 11,2.



87*

[0052] En otra realización, dicho portador inmunogénico es preferiblemente un glicoesfingolípido con propiedades inmunomoduladoras, y más preferiblemente (2*S*,3*S*,4*R)*-1-(α-D-galactopiranosil)-2-hexacosanoilaminooctadecano-3,4-diol. El término glucoesfingolípido con propiedades inmunomoduladoras, como se usa en este documento, se refiere a un glucoesfingolípido adecuado capaz de estimular la respuesta del sistema inmunológico a un antígeno diana, pero que en sí mismo no confiere inmunidad como se define anteriormente.

[0053] Glicoesfingolípidos como utilizados aquí son compuestos que contienen un resto de hidrato de carbono α-vinculado a un esfingolípido. Preferiblemente, el resto de carbohidrato es una hexopiranosa y lo más preferiblemente es α-D-galactopiranosa. Para el experto en la técnica, los esfingolípidos son una clase de lípidos que contienen un aminoalcohol C18 conectado mediante un enlace amida a un ácido graso. El aminoalcohol C18 está preferiblemente mono, di o polisustituido con grupos hidroxilo. Especialmente preferido, el aminoalcohol C18 es fitoesfingosina. El ácido graso es preferiblemente un ácido monocarboxílico que tiene una cadena de alquilo saturada de varios carbonos que varían de 16 a 28 y más preferiblemente de 18 a 26. Los glicoesfingolípidos con propiedades inmunomoduladoras incluyen, pero no se limitan a (2*S*,3*S*,4*R)*-1-(α-D-galactopiranosil)-2-hexacosanoilaminooctadecano-3,4-diol, que puede estimular la actividad asesina natural (NK) y producción de citoquinas por células T asesinas naturales (NKT) y exhibe una potente actividad antitumoral *in vivo* (Proc. Natl Acad. Sci. EE. UU., 1998, 95, 5690).

[0054] Los conjugados de los sacáridos de fórmulas generales (**I**), (**III**), (**IV**), (**V**), (**VI**) y (**VII**) con un glicoesfingolípido con propiedades inmunomoduladoras tiene la ventaja de ser estable al calor. Para que sea adecuado para la conjugación, se introduce una funcionalidad en el glucoesfingolípido con propiedades inmunomoduladoras. Dicha funcionalidad es propensa a reaccionar directamente con el grupo amino terminal del enlazador de los sacáridos de fórmulas generales (**I**), (**III**), (**IV**), (**V**), (**VI**) y (**VII**) para proporcionar conjugados de los sacáridos de fórmulas generales (**I**), (**III**), (**IV**), (**V**), (**VI**) y (**VII**), o con el grupo funcional Y de la molécula de interconexión para proporcionar el glucoesfingolípido modificado con propiedades inmunomoduladoras.

[0055] Dicha funcionalidad se puede introducir en el C6 del resto carbohidrato de los glicoesfingolípidos con propiedades inmunomoduladoras. Así, el glucoesfingolípido con propiedades inmunomoduladoras se funcionaliza con una funcionalidad, que es propensa a reaccionar con el grupo amino terminal de los sacáridos o con el grupo funcional Y de

la molécula de interconexión. Una funcionalidad propensa a reaccionar con un grupo amino incluye, pero no se limita a éster activado, grupo isocianato, aldehído, epóxido, imidoéster, ácido carboxílico, alquil sulfonato y cloruro de sulfonilo. Una funcionalidad propensa a reaccionar con el grupo funcional Y de la molécula de interconexión de modo que a proporciona al glucoesfingolípido modificado propiedades inmunomoduladoras que presenten el grupo funcional X de la molécula de interconexión incluye, pero no se limita a amina, alcohol, tiol, éster activado, grupo isocianato, aldehído, epóxido, vinilo, imidoéster, ácido carboxílico, alquil sulfonato, cloruro de sulfonilo, grupo vinilo, grupo alquinilo y grupo azido.

[0056] Se describe que la funcionalidad introducida en el C6 del resto carbohidrato de los glicoesfingolípidos con propiedades inmunomoduladoras se selecciona entre el grupo que comprende o que contiene una amina, un tiol, un alcohol, un ácido carboxílico, un vinilo, maleimida, α-yodoacetil, α-bromoacetil, éster de *N*-hidroxisuccinimida (NHS), 2-piridilditioles.

[0057] Dicho grupo funcional X de las moléculas de interconexión se selecciona entre el grupo que comprende o que consiste de maleimida, α-iodoacetil, α-bromoacetil, *N*-hidroxisuccinimida éster (NHS), aldehído, ácido carboxílico, epóxido de alquilo sulfonato, cloruro de sulfonilo, anhídrido, carbonato.

[0058] Como se usa en este documento, el término "molécula de interconexión" se refiere a una molécula bifuncional que contiene el grupo funcional X y el grupo funcional Y, en donde el grupo funcional X es capaz de reaccionar con el grupo amino terminal en el enlazador -L- y el grupo funcional Y es capaz de reaccionar con una funcionalidad presente en el portador inmunogénico o en el soporte sólido.

[0059] Se encontró que los conjugados que comprenden los sacáridos de la presente invención, se prefieren los conjugados (**X**), (**XI**) y (**XII**), más preferiblemente **58*a, 58*b, 58*c, 87*,** son adecuados para generar una respuesta inmunitaria protectora en un huésped humano y/o animal y, por lo tanto, son útiles para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades asociadas con bacterias que contienen *N*-acetil-L-neumosamina en su polisacárido capsular.

[0060] Preferiblemente, la bacteria que contiene en el polisacárido capsular *N*-acetil-L-pneumosamina es *Streptococcus pneumoniae* serotipo 5.

[0061] En una realización preferida, los conjugados que comprenden los sacáridos de fórmulas generales (**I**) y (**III**) conjugados con un portador inmunogénico, preferidos los conjugados (**X**), (**XI**) y (**XII**), más preferidos **58*a, 58*b, 58*c, 87*,** son útiles para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades asociadas con bacterias, y particularmente con enfermedades asociadas con bacterias que contienen *N*-acetil-L-neumosamina en su polisacárido capsular, y preferiblemente con *Streptococcus pneumoniae* serotipo 5, donde dichas enfermedades incluyen neumonía, meningitis, otitis media, bacteriemia y exacerbación aguda de bronquitis crónica, sinusitis, artritis. y conjuntivitis.

[0062] Un aspecto de la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas, especialmente vacunas que comprenden un conjugado que comprende un sacárido de fórmula general (**I**) conjugado a un portador inmunogénico, y/o un sacárido de fórmula general (**I**), junto con al menos un crioprotector, lioprotector, excipiente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable. Dichas composiciones farmacéuticas pueden usarse para generar una respuesta inmune protectora en un huésped humano y/o animal. En el presente documento se describen también composiciones farmacéuticas, especialmente vacunas que comprenden además al menos uno de los antígenos de otros serotipos *Streptococcus pneumoniae*, serotipos preferidos 2, 4, 8, 9A, 9V y 14.

[0063] Dicha vacuna se puede preparar en forma de una suspensión o puede estar liofilizada. La forma de suspensión se puede almacenar congelada. En la forma liofilizada, es preferible añadir uno o más estabilizadores. Opcionalmente, también se pueden añadir uno o más adyuvantes. Cualquier estabilizador y adyuvante convencional puede incluirse en una vacuna de acuerdo con esta invención.

[0064] El término "adyuvante" tal como se utiliza aquí, se refiere a un adyuvante es decir, un material inmunológico utilizado en una composición de vacuna que modifica o aumenta los efectos de dicha vacuna mediante la mejora de la respuesta inmune a un antígeno dado contenido en la vacuna sin ser antigénicamente relacionado. Para los expertos en la técnica, los ejemplos clásicamente reconocidos de adyuvantes inmunológicos incluyen, pero no se limitan a emulsiones oleosas (por ejemplo, adyuvante de Freund), saponinas, sales de aluminio o calcio (por ejemplo, alumbre), tensioactivos de polímero de bloques no iónicos y muchos otros.

[0065] La vacunación se puede realizar a cualquier edad. La vacuna puede administrarse por vía subcutánea, por pulverización, por inyección, por vía oral, intraocular, intratraqueal o nasal.

[0066] Otro aspecto de la presente invención se refiere a formulaciones farmacéuticas y composiciones farmacéuticas que contienen la vacuna como un ingrediente activo, junto con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, excipiente, disolvente y/o diluyentes.

[0067] Más preferentemente, la composición farmacéutica se formula en forma de un liofilizado o solución de tampón líquido.

[0068] La vacuna también puede administrarse en forma de su sal farmacéuticamente activa opcionalmente usando vehículos, excipientes, adyuvantes o diluyentes sustancialmente no tóxicos aceptables farmacéuticamente. La vacuna de la presente invención se prepara en un vehículo o diluyentes sólidos o líquidos convencionales y un adyuvante convencional elaborado farmacéuticamente a un nivel de dosificación adecuado de una manera conocida. Las preparaciones y formulaciones preferidas están en forma administrable, que es adecuada para la aplicación oral. Estas formas administrables, por ejemplo, incluyen píldoras, comprimidos, comprimidos de película, comprimidos recubiertos, cápsulas, polvos y depósitos. También son posibles formas distintas de las formas administrables por vía oral. La vacuna de la invención se puede administrar por cualquier medio apropiado, que incluye, pero no se limita a inhalación; inyección (intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea); por absorción a través de revestimientos epiteliales o mucocutáneos (mucosa oral, revestimientos epiteliales rectales y vaginales, mucosa nasofaringial, mucosa intestinal); por vía oral, rectal, transdérmica, tópica, intradérmica, intragástrica, intracutánea, intravaginal, intravasal, intranasal, intrabucal, percutánea, sublingual o por cualquier otro medio disponible dentro de las técnicas farmacéuticas.

[0069] La vacuna de la presente invención, que contiene un conjugado que comprende el sacárido de fórmula general (**I)** conjugado a un portador inmunogénico, el sacárido de fórmula general (**I)** o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos como ingrediente activo normalmente se administrará en mezcla con materiales portadores adecuados seleccionados adecuadamente con respecto a la forma de administración prevista, es decir, comprimidos orales, cápsulas (rellenas de sólido, semisólido o líquido), polvos para la constitución, geles orales, elixires, gránulos dispersables, jarabes, suspensiones y similares, y de acuerdo con las prácticas farmacéuticas convencionales. Por ejemplo, para la administración oral en forma de comprimidos o cápsulas, el ingrediente activo puede combinarse con cualquier vehículo inerte no tóxico oral farmacéuticamente aceptable, como lactosa, almidón, sacarosa, celulosa, estearato de magnesio, fosfato dicálcico, sulfato de calcio, talco, manitol, alcohol etílico (formas líquidas) y similares. Además, cuando se desee o sea necesario, también se pueden incorporar a la mezcla aglutinantes, lubricantes, agentes disgregantes y agentes colorantes adecuados.

[0070] Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como acacia, alginato de sodio, carboximetil-celulosa, polietilenglicol y ceras. Entre los lubricantes que se pueden mencionar para su uso en estas formas de dosificación, se encuentran el ácido bórico, el benzoato de sodio, el acetato de sodio, el cloruro de sodio y similares. Los desintegrantes incluyen almidón, metilcelulosa, goma guar y similares. También se pueden incluir agentes edulcorantes y aromatizantes y conservantes cuando sea apropiado. Algunos de los términos indicados anteriormente, a saber, desintegrantes, diluyentes, lubricantes, aglutinantes y similares, se analizan con más detalle a continuación.

[0071] Además, la vacuna de la presente invención puede formularse en forma de liberación sostenida para proporcionar la liberación de velocidad controlada de uno cualquiera o más de los componentes o ingredientes activos para optimizar los efectos terapéuticos. Las formas de dosificación adecuadas para liberación sostenida incluyen comprimidos en capas que contienen capas de velocidades de desintegración variables o matrices poliméricas de liberación controlada impregnadas con los componentes activos y conformados en forma de comprimido o cápsulas que contienen tales matrices poliméricas porosas impregnadas o encapsuladas.

[0072] Las preparaciones en forma líquida incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones. Como ejemplo se pueden mencionar agua o soluciones de agua-propilenglicol para inyecciones parenterales o adición de edulcorantes y opacificantes para soluciones, suspensiones y emulsiones orales. Las preparaciones en forma líquida también pueden incluir soluciones para administración intranasal.

[0073] Las preparaciones en aerosol adecuadas para inhalación pueden incluir soluciones y sólidos en forma de polvo, que pueden estar en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable tal como un gas comprimido inerte, por ejemplo nitrógeno.

[0074] Para preparar supositorios, una cera de bajo punto de fusión tal como una mezcla de glicéridos de ácidos grasos tales como manteca de cacao se funde primero, y el ingrediente activo se dispersa homogéneamente en la misma por agitación o mezcla similar. La mezcla homogénea fundida se vierte luego en moldes de tamaño conveniente, se deja enfriar y de ese modo solidifica.

[0075] También se incluyen preparaciones en forma sólida que están destinadas a ser convertidas, poco antes de su uso, preparaciones en forma líquida para administración oral o parenteral. Tales formas líquidas incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones.

[0076] La vacuna de la presente invención también puede administrarse por vía transdérmica. Las composiciones transdérmicas pueden tomar la forma de cremas, lociones, aerosoles y/o emulsiones y pueden incluirse en un parche transdérmico del tipo de matriz o depósito como son convencionales en la técnica para este propósito.

[0077] El término cápsula se refiere a un recipiente o recinto especial hecho de metilcelulosa, alcoholes de polivinilo, o gelatinas desnaturalizadas o almidón para mantener o contener composiciones que comprenden los ingredientes activos. Las cápsulas de cáscara dura están hechas típicamente de mezclas de gelatinas de piel de cerdo y hueso de resistencia

de gel relativamente alta. La propia cápsula puede contener pequeñas cantidades de colorantes, agentes opacantes, plastificantes y conservantes.

[0078] Tableta significa forma de dosificación sólida comprimida o moldeada que contiene los ingredientes activos con diluyentes adecuados. La tableta se puede preparar por compresión de mezclas o granulaciones obtenidas por granulación en húmedo, granulación en seco o por compactación bien conocida por un experto en la técnica.

[0079] Geles orales se refieren a los ingredientes activos dispersos o solubilizados en una matriz semisólida hidrófila.

[0080] Los polvos para la constitución se refieren a mezclas de polvos que contienen los ingredientes activos y diluyentes adecuados que pueden suspenderse en agua o jugos.

[0081] Los diluyentes adecuados son sustancias que generalmente conforman la porción principal de la composición o forma de dosificación. Los diluyentes adecuados incluyen azúcares como lactosa, sacarosa, manitol y sorbitol, almidones derivados de trigo, maíz, arroz y patata, y celulosas como celulosa microcristalina. La cantidad de diluyentes en la composición puede variar de aproximadamente 5 a aproximadamente 95% en peso de la composición total, preferiblemente de aproximadamente 25 a aproximadamente 75%, más preferiblemente de aproximadamente 30 a aproximadamente 60% en peso y lo más preferiblemente de aproximadamente 40 al 50% en peso.

[0082] El término desintegrantes se refiere a materiales añadidos a la composición para ayudarla a romperse (desintegrar) y liberar los medicamentos. Los desintegrantes adecuados incluyen almidones, almidones modificados "solubles en agua fría" tales como carboximetil almidón de sodio, gomas naturales y sintéticas tales como algarroba, karaya, guar, tragacanto y agar, derivados de celulosa tales como metilcelulosa y carboximetilcelulosa de sodio, celulosas microcristalinas y celulosas microcristalinas reticuladas como croscarmelosa de sodio, alginatos como ácido algínico y alginato de sodio, arcillas como bentonitas y mezclas efervescentes. La cantidad de desintegrante en la composición puede variar de aproximadamente 1 a aproximadamente 40% en peso de la composición, preferiblemente de 2 a aproximadamente 30% en peso de la composición, más preferiblemente de aproximadamente 3 a 20% en peso de la composición, y más preferiblemente de aproximadamente un 5 a aproximadamente un 10% en peso.

[0083] Los aglutinantes caracterizan sustancias que unen o "pegan" polvos entre sí y los hacen cohesivos formando gránulos, sirviendo así como el "adhesivo" en la formulación. Los aglutinantes añaden fuerza cohesiva ya disponible en los diluyentes o agentes de carga. Los aglutinantes adecuados incluyen azúcares tales como sacarosa, almidones derivados de trigo, maíz, arroz y patata; gomas naturales como acacia, gelatina y tragacanto; derivados de algas marinas tales como ácido algínico, alginato de sodio y alginato de amonio y calcio; materiales celulósicos tales como metilcelulosa y carboximetilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa de sodio; polivinilpirrolidona; e inorgánicos tales como silicato de magnesio y aluminio. La cantidad de aglutinante en la composición puede variar de aproximadamente 1 a 30% en peso de la composición, preferiblemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 20% en peso de la composición, más preferiblemente de aproximadamente 3 a aproximadamente 10% en peso, incluso más preferiblemente de aproximadamente un 3 a aproximadamente un 6% en peso.

[0084] El lubricante se refiere a una sustancia añadida a la forma de dosificación para permitir que el comprimido, gránulos, etc. después de que ha sido comprimida, se libere del molde o troquel reduciendo la fricción o desgaste. Los lubricantes adecuados incluyen estearatos metálicos tales como estearato de magnesio, estearato de calcio o estearato de potasio; ácido esteárico; ceras de alto punto de fusión; y lubricantes solubles en agua tales como cloruro de sodio, benzoato de sodio, acetato de sodio, oleato de sodio, polietilenglicoles y D, L-leucina. Los lubricantes generalmente se agregan en el último paso antes de la compresión, ya que deben estar presentes en las superficies de los gránulos y entre ellos y las partes de la prensa de tabletas. La cantidad de lubricante en la composición puede variar de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 15% en peso de la composición, preferiblemente de 0,2 a aproximadamente 5% en peso de la composición, más preferiblemente de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 3% y lo más preferiblemente de aproximadamente 0,3 hasta aproximadamente el 1,5% en peso de la composición.

[0085] Los deslizantes son materiales que evitan el apelmazamiento y mejoran las características de flujo de las granulaciones, de modo que el flujo sea suave y uniforme. Los deslizantes adecuados incluyen dióxido de silicio y talco. La cantidad de deslizamiento en la composición puede variar de aproximadamente 0,01 a 10% en peso de la composición, preferiblemente de 0,1% a aproximadamente 7% en peso de la composición total, más preferiblemente de aproximadamente 0,2 a 5% en peso y lo más preferiblemente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2% en peso.

[0086] Los agentes colorantes son excipientes que aportan coloración a la composición o forma de dosificación. Dichos excipientes pueden incluir tintes de calidad alimentaria y tintes de calidad alimentaria adsorbidos sobre un adsorbente adecuado como arcilla u óxido de aluminio. La cantidad de agente colorante puede variar de aproximadamente 0,01 a 10% en peso de la composición, preferiblemente de aproximadamente 0,05 a 6% en peso, más preferiblemente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 4% en peso de la composición y lo más preferiblemente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1%.

[0087] Las técnicas para la formulación y administración de la vacuna de la presente invención se pueden encontrar en “Remington's Pharmaceutical Sciences” Mack Publishing Co., Easton PA. Una composición de vacuna adecuada que

comprende al menos un conjugado de la presente invención y/o sales farmacéuticamente aceptables del mismo puede ser una solución de un conjugado que comprende un sacárido de fórmula general (I) conjugado con un vehículo inmunogénico en un vehículo farmacéutico líquido adecuado o cualesquiera otras formulaciones tales como comprimidos, píldoras, comprimidos de película, comprimidos recubiertos, grageas, cápsulas, polvos y depósitos, geles, jarabes, pastas, suspensiones, emulsiones y similares.

[0088] Una dosis terapéuticamente eficaz de un conjugado de acuerdo con la presente invención o de un sacárido de fórmula general (I) se refiere a aquella cantidad del compuesto que resulta en al menos una inmunización parcial contra una enfermedad. La toxicidad y la eficacia terapéutica de tales compuestos pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos, farmacológicos y toxicológicos estándar en cultivos celulares o animales de experimentación. La relación de dosis entre el efecto tóxico y terapéutico es el índice terapéutico. La cantidad real de composición administrada dependerá del sujeto que se esté tratando, del peso del sujeto, de la gravedad de la aflicción, de la forma de administración y del criterio del médico que prescribe.

[0089] Todavía otro aspecto de la presente invención se refiere a sacáridos de fórmula general (I) para su uso como marcador en ensayos inmunológicos para la detección de anticuerpos contra las bacterias que contienen *N*-acetil-L-pneumosamina en su polisacárido capsular.

[0090] Dichos ensayos comprenden, por ejemplo, micromatrices y ELISA útiles para la detección de anticuerpos contra las bacterias que contienen *N*-acetil-L-pneumosamina en su polisacárido capsular, tales como *Streptococcus pneumoniae* serotipo 5.

[0091] Los sacáridos de la presente invención pueden ser fácilmente conjugados con soportes sólidos para proporcionar ensayos inmunológicos útiles para la detección de anticuerpos contra bacterias que contienen *N*-acetil-L-neumosamina en su polisacárido capsular. Dichos soportes sólidos presentan en su superficie una funcionalidad propensa a reaccionar con el grupo amino de los sacáridos de fórmula general (**I)** o con el grupo funcional Y de la molécula de interconexión para proporcionar soportes sólidos modificados, presentando en su superficie el grupo funcional X de la molécula de interconexión que además puede reaccionar con el grupo amino de sacáridos de fórmula general (**I)**. En una realización según la presente invención los soportes sólidos son portaobjetos de micromatrices, que presentan en su superficie una funcionalidad propensa a reaccionar con el grupo funcional Y de la molécula de interconexión para proporcionar portaobjetos de micromatrices modificados, presentando en su superficie el grupo funcional X de la molécula de interconexión. Ejemplos de tales portaobjetos de micromatrices incluyen, pero no se limitan a portaobjetos revestidos con epóxido Corning® o portaobjetos revestidos con Corning® GAPS™ II.

[0092] En una realización preferida, los soportes sólidos son portaobjetos de micromatrices que presentan en su superficie una funcionalidad que es propensa a reaccionar con el grupo amino de sacáridos de fórmula general (**I)**, y más preferiblemente un éster activado por *N*-hidroxisuccinimida (NHS). Tales portaobjetos de micromatrices son, por ejemplo, portaobjetos CodeLink® NHS.

[0093] Se usó una micromatriz de glicanos preparada como se describe en el **Ejemplo 78** para identificar los epítopos de unión de sueros de tipificación específicos anti-SP5 comerciales generados en conejos (ver **Figura 4)**.

[0094] Como se muestra en la **Figura 4A,** sólo tres de los once glicanos impresos fueron atados por IgG anti-SP5 específico, a saber tetrasacárido **33*** (posición 1), α-PneNAc-(1→2)-GlcA disacárido **27*** (posición 8) y monosacárido de α-PneNAc **36*** (posición 10). Los tres oligosacáridos reconocidos contienen el residuo α-PneNAc, lo que demuestra que este motivo es parte del epítopo reconocido. Se observó además que la IgG se unía al tetrasacárido **33*** y al disacárido **27*** en niveles comparables, lo que sugiere que α-PneNAc-(1→2)-GlcA es de hecho el epítopo reconocido por IgG de sueros de tipificación SP5 específicos. La **Figura 4B** muestra una muestra de micromatriz en donde el suero de tipificación se preincubó con una solución de SP5 CPS natural. Los niveles de IgG anti-glicano se reducen significativamente en comparación con la muestra de la **Figura 4A.** Esto significa que los anticuerpos unidos al CPS natural durante la preincubación ya no están disponibles para unirse a los glicanos sintéticos. En consecuencia, los epítopos de unión del CPS natural y los glicanos sintéticos son idénticos.

[0095] Con el fin de identificar epítopos reconocidos por el sistema inmunológico humano, rastreos adicionales se llevaron a cabo usando una mezcla de sueros de humanos que habían recibido una vacuna neumocócica basada en CPS, que contiene el CPS de múltiples serotipos diferentes (véase **la Figura 5)**.

[0096] La respuesta de la IgG de humanos inmunizados hacia los glicanos de síntesis se muestra en la **Figura 5A.** Aunque los sueros de humanos inmunizados no eran específicos de SP5, contenían IgG predominantemente contra el tetrasacárido **33*** (posición 1). También se observó la unión de IgG a PneNAc-(1→2)-GlcA disacárido **27*** (posición 8) y PneNAc **36*** (posición 10), sin embargo a niveles más bajos.

[0097] Además, se detectaron niveles bajos de IgG anti-**21*** (posición 5) y anti-**51*** (posición 6) y niveles muy bajos de IgG anti-**20*** (posición 4), anti-**44*** (posición 7), anti-**52*** (posición 9) y anti-**37*** (posición 11). Los anticuerpos contra D-FucNAc **15*** (posición 3) y la muestra que contiene Sug **14*** (posición 2) no se detectaron en absoluto. Curiosamente, se detectaron niveles más altos de anticuerpos anti-disacárido **21*** que para la muestra que contenía L-FucNAc-(1→3)-β-Sug **20*.** Esto

sugeriría que la presencia de la cetona es realmente perjudicial para la unión del anticuerpo. La preincubación de los sueros humanos con el SP5 CPS natural, que se muestra en la **Figura 5B,** condujo a una reducción significativa de los niveles de anti-tetrasacárido **33***IgG. Esto prueba que los anticuerpos que se unen a **33*** son específicos de SP5 ya que también se unen a SP5 CPS.

[0098] Otros datos de micromatrices indicaron que los sueros tipo reconocieron los varios glicanos sintéticos junto con polisacárido CPS-5 **(Figura 8B).** Sin embargo, los sueros tipo también reconocieron el tetrasacárido **33*** y el pentasacárido **73*** con alta afinidad y se consideraron los epítopos de células B que se han presentado a las moléculas MHCII. Por lo tanto, sugiere que estos oligosacáridos son críticos para la inmunidad.

[0099] Se ha demostrado que la subestructura de la SP5 CPS tal como estructura de referencia 1 **(Ref.1)** y 2 **(Ref,2)** que no contienen el azúcar pneumosamina no son reconocidas por los anticuerpos producidos durante la inmunización. Por lo tanto, se supone que la neumosamina es una parte muy importante del epítopo inmunogénico y de alguna manera es necesaria para una respuesta inmunitaria protectora y eficaz y para la producción de anticuerpos. Hasta ahora, no ha sido posible desencadenar un título de anticuerpos determinable contra SP5 CPS cuando se usa una de las estructuras de referencia mencionadas anteriormente conjugadas con CRM_{197} para la inmunización en conejos.

[0100] En conclusión, el análisis de micromatrices reveló que el residuo PneNAc terminal es parte del epítopo reconocido por los anticuerpos anti-SP5 CPS y que α-PneNAc-(1→2)-GlcA es el epítopo predominante reconocido por tipificación SP5 sueros. En el caso de humanos vacunados, el epítopo específico de SP5 parece ser más grande, parecido al tetrasacárido **33*** y al pentasacárido **73*.** Los residuos de D-FucNAc o Sug del extremo reductor no parecen ser importantes para la respuesta inmunológica a SP5.

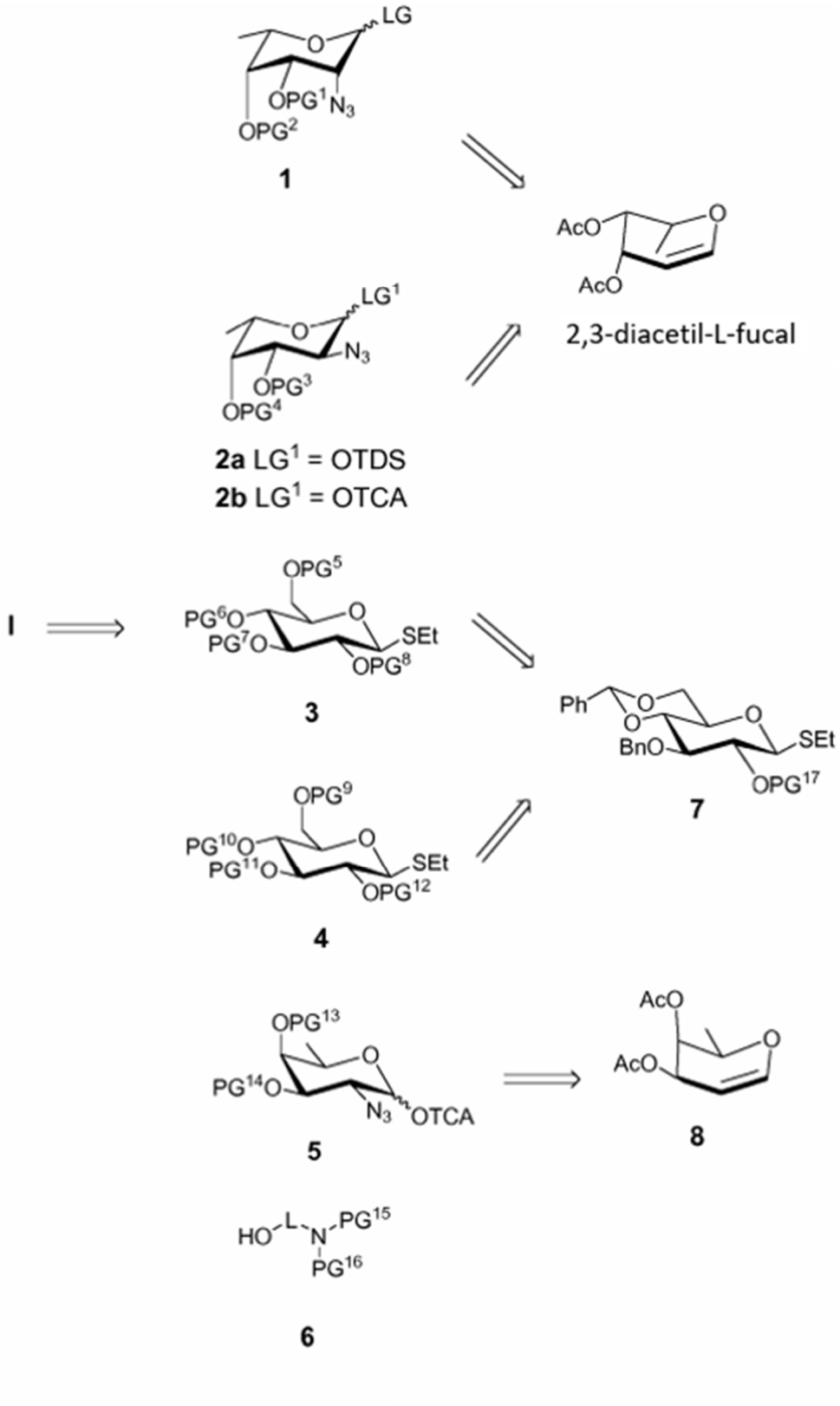
[0101] El micromatriz de glicanos con anticuerpos producidos en conejos contra ST5 conjugados de glicano sintéticos también demuestra (Ejemplo 81, **Figura 9B y D).** Este resultado sugirió que el tetrasacárido **33*** y el pentasacárido **73*** son inmunogénicos en conejo e inducen anticuerpos de reacción cruzada.

[0102] Como se muestra en el Ejemplo 82 y la Figura 10, las respuestas de anticuerpos se analizaron por apoyo ELISA que pentasacárido **73*** es más inmunogénico en comparación con tetrasacárido **33***.

[0103] La unión a la superficie de sueros conjugados de anti-glicano ST5 indica que los anticuerpos contra los glicanos anti-ST5 localizó el epítopo en la superficie de los neumococos (Ejemplo 83, **Figura 11)** y se considera que un candidato sintético novelo a vacuna. Se realizó un ensayo de destrucción opsonofagocítica para evaluar la relevancia funcional de los anticuerpos inducidos en respuesta a la inmunización con el conjugado **58*c** de ST5 (tetrasacárido). Estos datos demuestran que el conjugado **58*c** de ST5 (tetrasacárido) genera anticuerpos neutralizantes y promueve la muerte de neumococos por células HL-60 diferenciadas.

Síntesis química

[0104]



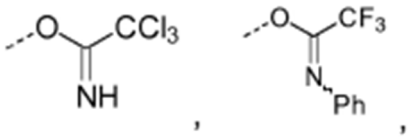
Esquema 1: Esquema retrosintético

[0105] Los sacáridos de fórmula general I pueden ser ensamblados a partir de los bloques de construcción **1, 2, 3, 4, 5** y **6** (ver **Esquema 1)**. Los bloques de construcción **1** y **2** se pueden preparar fácilmente mediante una reacción de azidoselención a partir del 3,4-diacetil-L-fucal conocido. Se puede acceder a los tioglucósidos **3** y **4,** por ejemplo, mediante la apertura regioselectiva del acetal de bencilideno instalado en las posiciones 4 y 6 del bloque de construcción de tioglucósidos **7.** El bloque de construcción de D-fucosa **5** se puede obtener mediante una reacción de azidoselención a

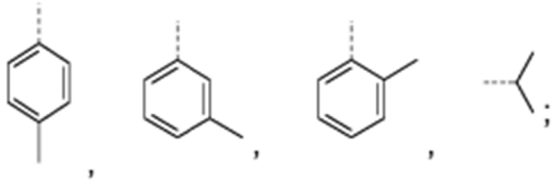
partir de D-fucal **8.**

[0106] LG representa un grupo saliente que se selecciona preferiblemente entre:

-F, -Cl, -Br, -I, -SR^{28}, -SeR^{29}, -$OPO_3R^{30}{}_2$,



R^{28} se selecciona de: -CH_3, -CH_2CH_3, -Ph,



R^{29} representa -Ph;
R^{30} representa -$CH_2CH_2CH_2CH_3$.

[0107] PG^1, PG^2, PG^3, PG^4, PG^5, PG^6, PG^7, PG^8, PG^9, PG^{10}, PG^{11}, PG^{12}, PG^{13}, PG^{14}, PG^{15}, PG^{16} y PG^{17} representan grupos protectores. El término "grupo protector" como se usa en este documento se refiere a grupos comúnmente usados en síntesis orgánica, preferiblemente usados para protección de aminas, grupos hidroxilo, tioles, iminas, carbonilos, carboxilos u otros grupos funcionales comunes, y particularmente preferidos para aminas y grupos hidroxilo.

[0108] Los grupos protectores pueden ser diferenciados en los grupos protectores permanentes y los grupos protectores temporales. Los grupos protectores permanentes son grupos protectores que son estables durante toda la síntesis y que pueden eliminarse eficazmente en la última etapa de la síntesis. En este caso, los grupos protectores permanentes incluyen PG^1, PG^2, PG^6, PG^7, PG^9, PG^{11}, PG^{15} y PG^{16}. PG^1, PG^2, PG^6, PG^7, PG^9 y PG^{11} enmascaran los grupos hidroxilo durante toda la síntesis, mientras que los grupos protectores PG^{15} y PG^{16} enmascaran el grupo amino terminal presente en el enlazador L. Preferiblemente, los grupos protectores PG^1, PG^2, PG^6, PG^7, PG^9, PG^{10}, PG^{11} y PG^{15} son grupos bencilo y el grupo protector PG^{16} es un grupo protector benciloxicarbonilo (Cbz).

[0109] Los grupos protectores temporales son grupos protectores generalmente ortogonales que se pueden eliminar selectivamente en diferentes niveles de la síntesis a los grupos hidroxilo libres para la introducción subsiguiente de diferentes sustituyentes, incluyendo monosacáridos u otros grupos protectores. En este caso, los grupos protectores temporales incluyen PG^3, PG^4, PG^5, PG^8, PG^{12}, PG^{13}, PG^{14} y PG^{17}.

[0110] La elección ingeniosa de grupos protectores permite el acceso conveniente a una biblioteca de sacáridos de la fórmula general **I** funcionalizada con un grupo amino para la conjugación subsiguiente a un portador inmunogénico o un soporte sólido.

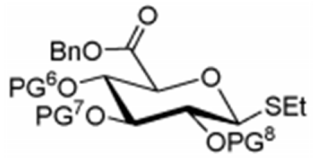
[0111] Más específicamente PG^3, PG^4, PG^5, PG^8, PG^{12}, PG^{13}, PG^{14} y PG^{17} son grupos protectores temporales adecuados para la protección de grupos hidroxilo es decir, ser capaces de ser eliminados posteriormente uno tras otro por una secuencia adecuada de reacciones de desprotección. Preferiblemente, PG^3, PG^4, PG^5, PG^8, PG^{12}, PG^{13}, PG^{14} y PG^{17} se seleccionan del grupo que consiste en o que comprende: alilo, acetilo, benzoílo, p-metoxibencilo, tritilo, 2-naftilmetilo, triisopropilsililo, terc-butildimetilsililo, *terc*-butildifenilsililo, terc-butilmetoxifenilsililo, trietilsililo, trimetilsililo, 2-trimetilsililetoximetilo, 9-fluorenilmetoxicarbonilo y levulinoilo.

[0112] Preferiblemente, PG^3 y PG^4 instalados en C-3 y C-4 de la construcción de bloque **2** son grupos protectores participantes que garanticen la formación del enlace α-glucosídico, y más preferiblemente son grupos acetilo.

[0113] Preferiblemente, los grupos protectores de PG^8 y PG^{12} presentes en la posición 2 de los bloques de construcción de glucósido **3** y **4** son grupos protectores que favorecen la formación del enlace β-glucosídico que se selecciona de benzoilo y levulinoílo. Preferiblemente, el grupo protector PG^{17} tiene el mismo significado que los grupos protectores PG^8 y PG^{12}.

[0114] El grupo protector ortogonal PG^5 se instaló en la sexta posición del glucósido **3** en previsión de la introducción del

grupo ácido carboxílico en esta posición. Preferiblemente, el grupo protector PG^5 representa alilo, 2-naftilmetilo, benzoílo o p-metoxibencilo. Alternativamente, el bloque de construcción **3a** podría usarse en lugar del bloque de construcción **3** para el ensamblaje de los sacáridos de fórmula general (I).

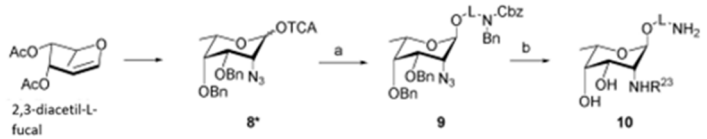


3a

[0115] Los grupos protectores PG^{13} y PG^{14} son grupos protectores no participantes. Preferiblemente, el grupo protector PG^{14} se puede eliminar en presencia de PG^{13} en previsión del alargamiento de la cadena en la posición C-3. Dichos grupos protectores no participantes son conocidos por el experto en la técnica e incluyen, pero no se limitan a éter alil, éteres silil, éter 2-naftilmetil y éter p-metoxibencil. Preferiblemente, PG^{14} es p-metoxibencilo y PG^{13} es 2-naftilmetilo.

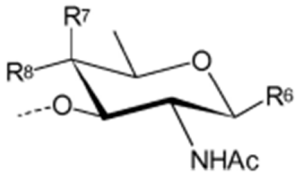
[0116] Por lo tanto, los sacáridos de la fórmula general **I** con R^1 que representa R^4 y R^4 que representa R^6 (es decir, monosacáridos de fórmula general **10)** se pueden sintetizar de acuerdo con la ruta sintética descrita en el **Esquema 2.** Síntesis de tricloroacetimidato L-pneumosamina **1** se llevó a cabo a través de azidoselenación del 3,4-diacetil-L-fucal conocido. El engarce amino terminal se añadió en la posición anomérica mediante tratamiento del bloque de construcción **1** con el aminoalcohol HO-L-NBnCbz en presencia de TMSOTf a -30ºC.

[0117] Monosacárido protegido **9** se puede convertir en sacáridos de fórmula general (**10)** después de los procedimientos de desprotección conocidos para el experto. Por ejemplo, la hidrogenólisis usando Pd/C como catalizador en una mezcla de disolventes $EtOH/H_2O/AcOH$ proporciona sacáridos de fórmula general **10,** siendo R^{23} -H. Se puede acceder a los sacáridos de fórmula general **10** con R^{23} que es $-C(O)CH_3$ mediante un procedimiento de desprotección de dos pasos que incluye la conversión del grupo azido en el grupo acetamido mediante tratamiento con ácido tioacético en piridina, seguido de hidrogenólisis usando Pd/C como catalizador. Los sacáridos de fórmula general **10** con R^{23} siendo $-C(O)CF_3$ o $-C(O)CCl_3$ se pueden preparar mediante un procedimiento de desprotección de tres pasos que incluye la reducción quimioselectiva del grupo azido al grupo amino, seguida de acilación e hidrogenólisis usando Pd/C como catalizador. La reducción quimioselectiva se puede realizar mediante la reacción de Staudinger (PPh_3 o PMe3, THF/H_2O) o mediante hidrogenólisis en Pd/C en presencia de amoniaco, acetato de amonio, trifenilfosfina o piridina. La acilación se puede realizar, por ejemplo, mediante el tratamiento de la amina con el cloruro de acilo adecuado o el anhídrido adecuado en presencia de piridina.



Esquema 2: Síntesis de monosacáridos de fórmula general **10**: **a.** HO-L-NBnCbz, TMSOTf, DCM, tamices moleculares 4Å, -30ºC a -20ºC; **b.** procedimiento general de desprotección.

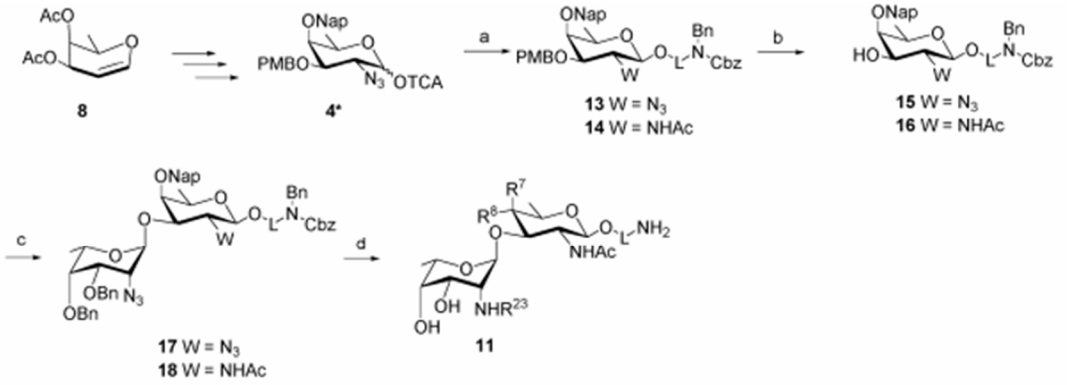
Los sacáridos de fórmula general I con R^1 representando R^4 y R^4 representando



(es decir, disacáridos de fórmula general **11)** pueden prepararse, por ejemplo, de acuerdo con la ruta sintética descrita en el **Esquema 3.** Por tanto, partiendo de D-fucal **8** conocido, tricloroacetimidato **4*** se sintetizó en 5 pasos de acuerdo con los procedimientos descritos en la literatura. A este nivel, el engarce amino se añadió en la posición anomérica haciendo reaccionar el tricloroacetimidato **4*** con aminoalcohol HO-L-NBnCbz en presencia de TMSOTf a -15°C para dar el monosacárido **13.** Para acceder a disacáridos de fórmula general **11**, en donde R^{23} se selecciona de -H, $-C(O)CF_3$ y $-C(O)CCl_3$, el grupo azido se convierte a este nivel en el grupo acetamido por tratamiento con ácido tioacético en piridina para proporcionar el intermedio **14.** Eliminación de la protección de PMB en los intermedios **13** y **14** proporciona los alcoholes **15** y **16** que representan el aceptor de glicosilo para la siguiente reacción de glicosilación. A continuación, se hizo reaccionar el alcohol **15** con imidato **8*** en presencia de TMSOTf para proporcionar el disacárido **17** correspondiente a los precursores de los disacáridos de fórmula general **11,** siendo R^{23} $-C(O)CH_3$. El mismo procedimiento de reacción aplicado al monosacárido **16** da como resultado la formación del disacárido **18, 25** que es el precursor del disacárido de

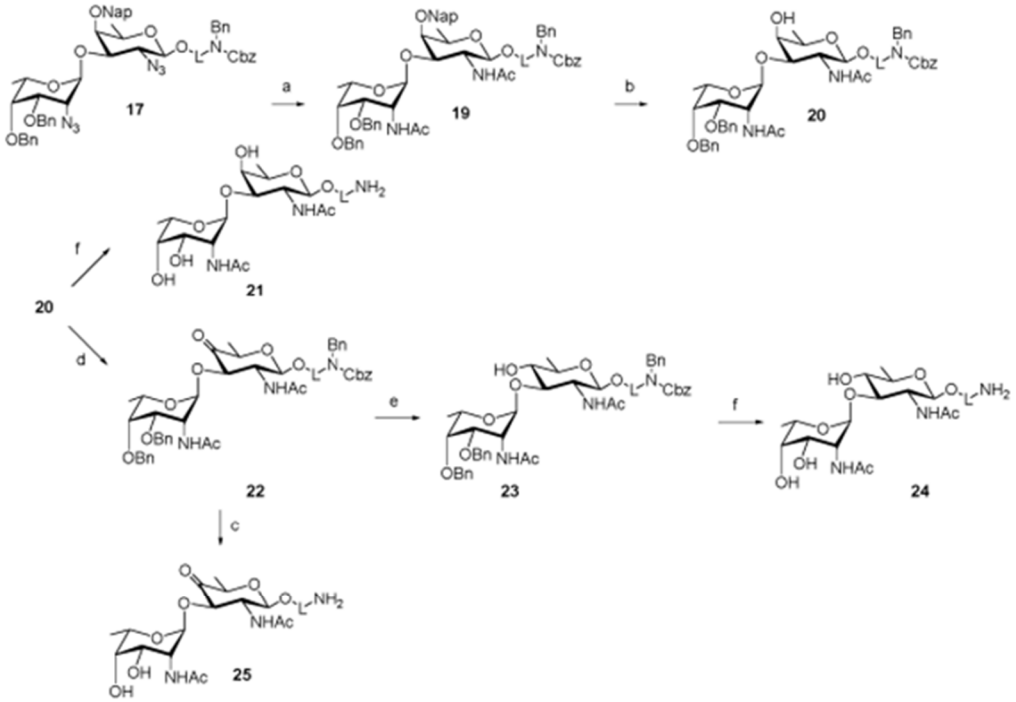
fórmula general **11,** seleccionándose R^{23} de -H, $-C(O)CF_3$ y $-C(O)CCl_3$.

[0118] La Etapa e incluye la instalación de los residuos de R^7 y R^8 y la desprotección final se describe en detalle para el compuesto **17** en el **Esquema 4.** La misma vía se lleva a cabo para el compuesto **18.**



Esquema 3: Síntesis de disacáridos de fórmula general **11**: **a**. HO-L-NBnCbz, TMSOTf, DCM, tamices moleculares 4Å, -15ºC; **b.** CAN, acetona/agua; **c. 1**, TMSOTf, DCM, tamices moleculares 4Å, -30ºC a -20ºC; **d. 1)** instalación de los residuos R^7 y R^8; **2)** desprotección.

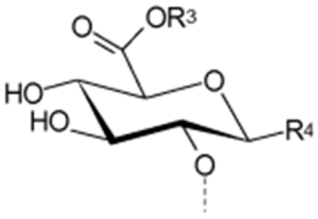
[0119] Para el acceso disacárido **21** (R^7 = -OH y R^8 = -H) el compuesto **17** se trata con ácido tioacético en piridina de manera que el grupo azido se convierte en el grupo acetamido, luego se elimina el grupo protector Nap con DDQ y se realiza la hidrogenólisis en Pd/C. Para proporcionar el disacárido **25** (R^7 y R^8 representan -OH o forman juntos un residuo =O), el alcohol intermedio **20** se somete a una reacción de oxidación usando periodinano de Dess-Martin para proporcionar la cetona **22.** Luego, los grupos protectores permanentes de la cetona **22** son eliminados para proporcionar el disacárido **25** como una cetona (R^7 y R^8 forman juntos un residuo =O) o como una cetona hidratada (R^7 y R^8 representan -OH). Cuando sea necesario, la cetona **22** se puede proteger temporalmente como ditiano para evitar la degradación.



Esquema 4: Instalación de los residuos R^7 y R^8: síntesis de disacáridos **21, 24** y **25**: **a.** AcSH, piridina; **b.** DDQ, DCM, H_2O, 0ºC a ta; **c. 1)** 1,3-propanoditiol, *p*-TsOH; **2)** H_2, Pd/C, EtOH/EtOAc/H_2O/AcOH; **d.** periodinano Dess-Martin, DCM; **e.** L-selectruro; **f.** H_2, Pd/C, EtoH/EtOAc/H_2O/AcOH

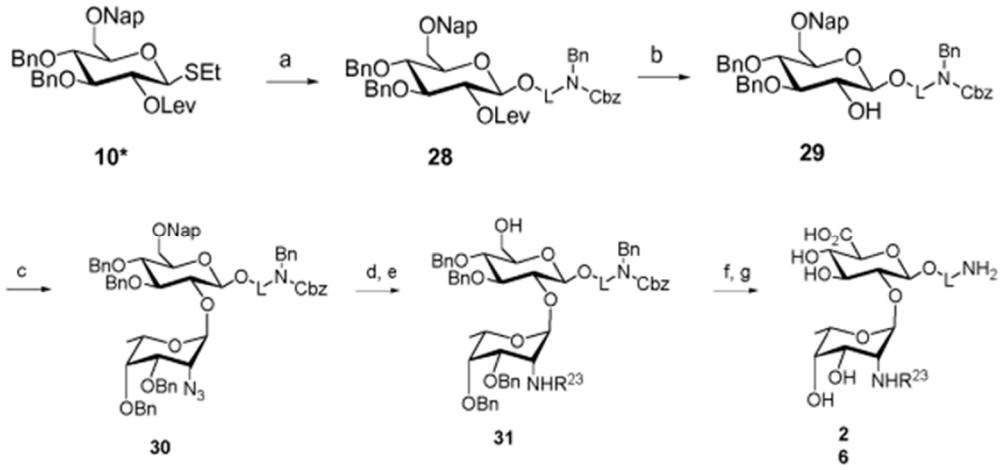
[0120] A partir del intermedio **22** de cetona**,** se puede acceder fácilmente al disacárido **24** (R^7 = -H y R^8 = -OH) mediante la reducción regioselectiva de la cetona con L-selectruro y posterior hidrogenólisis utilizando Pd/C como catalizador.

[0121] Los sacáridos de la fórmula general I con R^1 representa



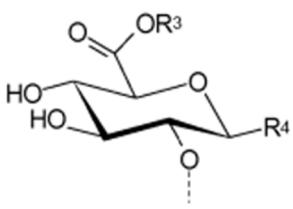
y R^4 que representa R^6 (disacáridos de fórmula general **26)** se pueden montar siguiendo la ruta sintética mostrada en el **Esquema 5.**

[0122] Unión de tioglicósido **10*** con el enlazador por activación con NIS/TfOH proporciona el monosacárido **28.** Un tioglucósido **10* ,** que está protegido en la sexta posición como un éster de benzoilo en lugar de 2-naftilmetiléter, también es adecuado para usarse como bloque de construcción a este nivel. La eliminación del éster levulínico da el alcohol **29** que se somete adicionalmente a glicosilación con **8* ,** dando como resultado el disacárido **30.** A este nivel, el residuo B puede instalarse en la molécula aplicando una de las reacciones mencionadas en el **Esquema 2.** Posteriormente, el grupo protector Nap se elimina con DDQ para proporcionar el alcohol primario **31,** que se oxida adicionalmente con TEMPO y diacetato de yodobenceno para dar el ácido carboxílico. El ácido carboxílico **27** se somete además a hidrogenólisis usando Pd/C como catalizador para dar los disacáridos de fórmula general **26.** Para acceder a disacáridos con R^3 que es diferente de -H es decir, si R^3 se selecciona de $-CH_3$, $-C_2H_5$, $-C_3H_7$, $-C_4H_9$ y $-CF_3$, debe insertarse un paso de esterificación entre el paso f y el paso g.

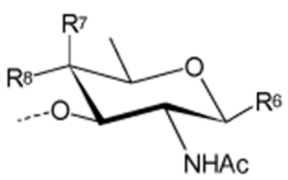


Esquema 5: Síntesis de disacáridos de la fórmula general **26**: **a.** HO-L-NBnCbz, NIS/TfOH, DCM, 4 Å MS, -30ºC a -20ºC; **b.** $N_2H_4H_2O$, AcOH/piridina, DCM; **c. 8***, TMSOTf, DCM, 4Å MS, -30ºC a -20ºC; **d.** conversión residuo $-N_3$ a residuo $-NHR^{23}$; **e.** DDQ, DCM, tampón de fosfato, pH 7,2, 0ºC a ta; **f.** TEMPO, diacetato de yodobenceno, DCM, H_2O, 0ºC a ta; **g.** H_2, Pd/C, EtOH/EtOAc/H_2O/AcOH.

[0123] Los sacáridos de fórmula general (**I)** con R^1 representa

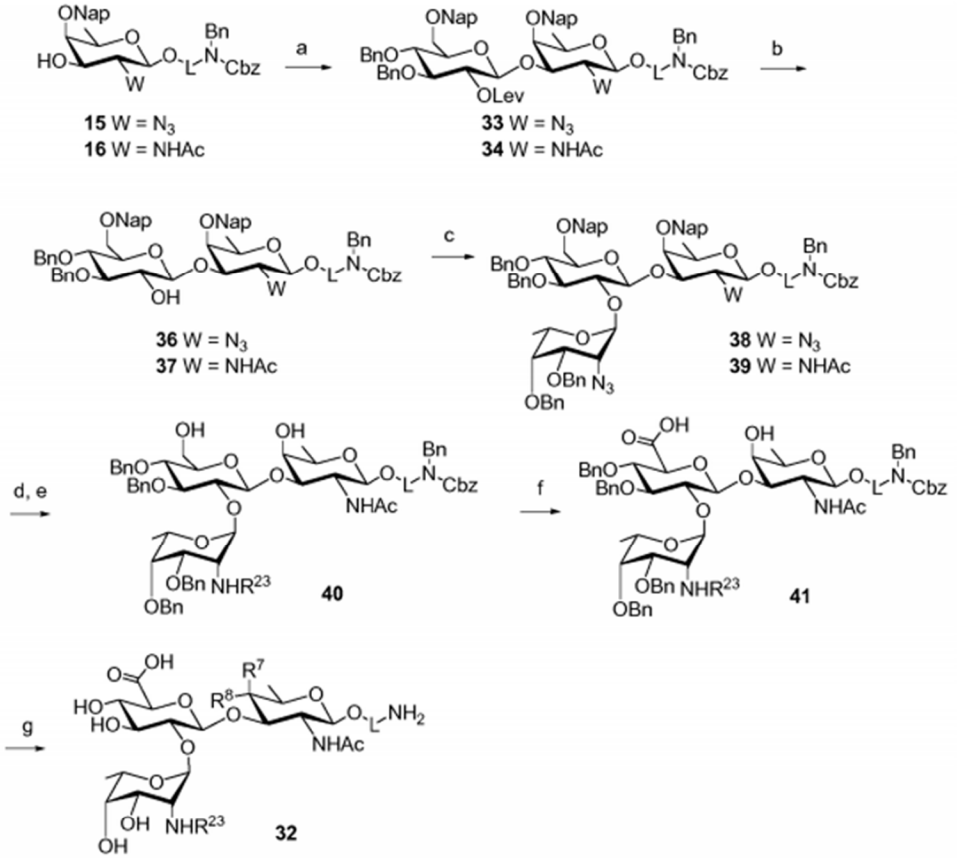


y R^4 que representa



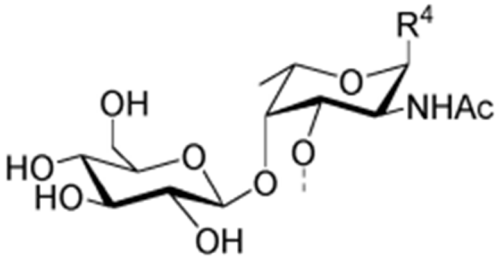
(trisacáridos de fórmula general **32)** se pueden montar siguiendo la ruta sintética mostrada en el **Esquema 6.**

[0124] En primer lugar, bloques de construcción **15** y **16** obtenidos como se describe anteriormente se hacen reaccionar con tioglucósido **10*** (ver **Esquema 5)** en presencia de un activador como NIS/TfOH para proporcionar los disacáridos **33** y **34.** La eliminación del grupo protector de Lev proporciona alcoholes secundarios **36** y **37** que están además involucrados en un acoplamiento glicosídico para dar los trisacáridos **38** y **39**. La conversión del grupo -N_3 en el residuo -NHR^{23} correspondiente de acuerdo con uno de los procedimientos descritos anteriormente, seguido de la escisión del éter Nap proporciona el diol de fórmula general **40.** La oxidación regioselectiva del alcohol primario con TEMPO y diacetato de yodobenceno da ácido carboxílico **41** que se puede convertir adicionalmente usando las condiciones de reacción apropiadas para la instalación de los residuos R^7 y R^8 (ver **Esquema 4)** y la hidrogenólisis a trisacáridos de fórmula general **32.** Opcionalmente, se podría acceder fácilmente a los trisacáridos de fórmula general **32,** siendo R^{23} -H, comenzando sometiendo el trisacárido **38** a los pasos e, f y g.



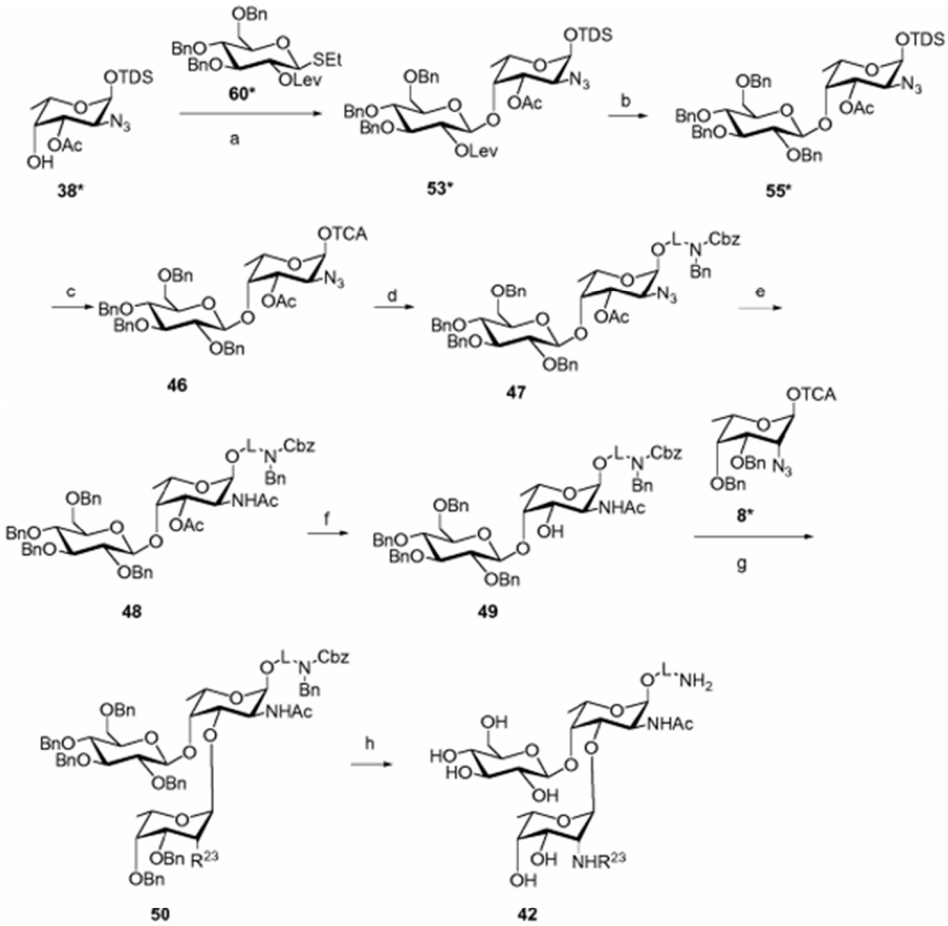
Esquema 6: Síntesis de trisacáridos de la fórmula general **32**: **a. 10*** NIS/TfOH, DCM, 4 Å MS, -20ºC a -10ºC; **b.** $N_2H_4H_2O$, AcOH/piridina, DCM; **c. 8***, TMSOTf, DCM, 4Å MS, -30ºC a -20ºC; **d.** conversión residuo -N_3 a residuo -NHR^{23}; **e.** DDQ, DCM, tampón de fosfato, pH 7,2, 0ºC a ta; **f.** TEMPO, diacetato de yodobenceno, DCM, H_2O, 0ºC a ta; **g. 1)** Instalacion de los residous R^7 y R^8; **2)** H_2, Pd/C, EtOH/EtOAc/H_2O/AcOH.

[0125] Los sacáridos de fórmula general (**I**), en donde R^1 representa



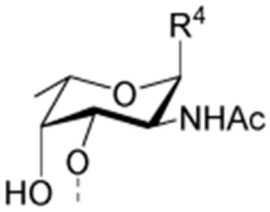
y R^4 representa R^6, es decir, los triasacáridos de fórmula general **42** pueden sintetizarse de acuerdo con la ruta sintética. presentado en el **Esquema 7.** La síntesis comienza con la instalación del residuo de β-D-glucosa en la cuarta posición de

la D-fucosa. Este paso se logra mediante el tratamiento del tioglucósido **60*** con L-fucósido **38*** en presencia de NIS/TfOH. Después de la escisión del éster de levulinoilo, el alcohol libre en la segunda posición del glucósido se protege como éter bencílico, el grupo protector xidimetilsililo se elimina para proporcionar un lactol intermedio que se convierte adicionalmente en el correspondiente tricloroacetimidato **46.** A este nivel, el enlazador es añadido a la molécula haciendo reaccionar tricloroacetimidato **46** con alcohol **6** en presencia de un activador como TMSOTf. Posteriormente, el grupo azido del intermedio **47** se convierte en la acetamida correspondiente mediante tratamiento con ácido tioacético y piridina. La eliminación del grupo acetato usando condiciones de Zémplen libera el alcohol secundario en la segunda posición de la L-fucosa que proporciona el nucleófilo para la siguiente reacción de glicosilación. El último resto de azúcar se añade haciendo reaccionar el alcohol **49** con tricloroacetimidato **1** en presencia de TMSOTf. La conversión del trisacárido totalmente protegido en el trisacárido **42** diana incluye la conversión del residuo -N_3 en el residuo -NHR^{23} y la eliminación de los grupos protectores permanentes siguiendo los procedimientos descritos anteriormente.

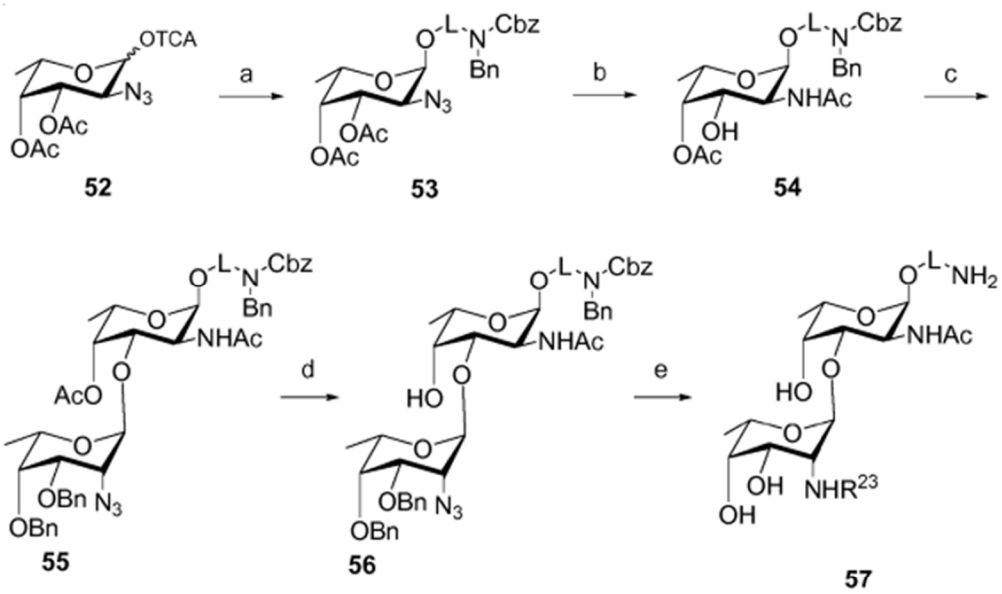


Esquema 7: Síntesis de trisacáridos de la fórmula general **42**: **a. 60*** NIS/TfOH, DCM, -30ºC; **b. 1)** $N_2H_4H_2O$, AcOH/piridina, DCM; **2)** BnBr, NaH, DCM:DMF; **c. 1)** TBAF, AcOH, THF; **2)** CCl_3CN, DBU, DCM; **d.** HO-L-NBnCbz, TMSOTf, DCM; **e.** AcSH/piridina; **f.** MeONa/MeOH; **g. 8***, TMSOTf, DCM, 4Å MS, -30ºC a -20ºC; **h. 1)** conversión residuo -N_3 a residuo -NHR^{23}; **2)** desprotección.

[0126] Los sacáridos de fórmula general (**I**), en donde R^1 representa

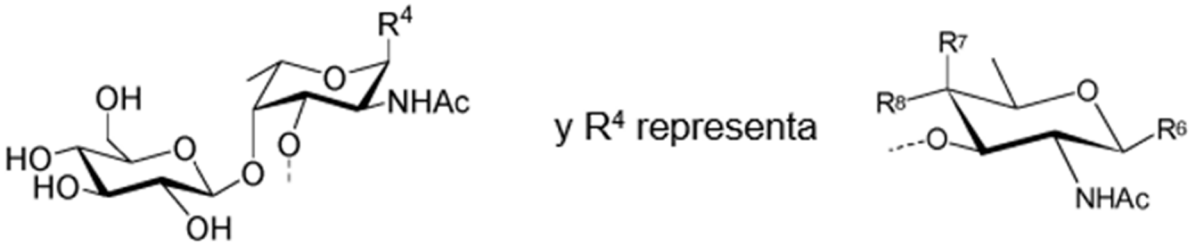


y R^4 representa R^6, es decir, los disacáridos de fórmula general **57** se pueden sintetizar de acuerdo con la ruta sintética presentada en el **Esquema 8.** La síntesis comienza con la instalación del enlazador L en el residuo de L-fucosa. Este paso se logra mediante el tratamiento del imidato **52** con HO-L-NBnCbz en presencia de un activador como TMSOTf. Posteriormente, la azida **53** se convierte en la correspondiente acetamida **54** mediante tratamiento con ácido tioacético y piridina. La eliminación de los grupos acetato usando condiciones de Zémplen proporciona un intermedio de diol que se hace reaccionar adicionalmente con ortoacetato de trimetilo y *p*-TsOH y posteriormente se trata con AcOH al 80% para proporcionar alcohol **54. El** alcohol **54** se glicosila más con imidato **8*** en presencia de un activador para dan el disacárido **55** que se trata adicionalmente con MeONa/MeOH para proporcionar alcoholes **56,** respectivamente. Partiendo del alcohol **56,** se puede acceder fácilmente al disacárido de fórmula general **57** según la presente invención siguiendo los procedimientos descritos anteriormente.

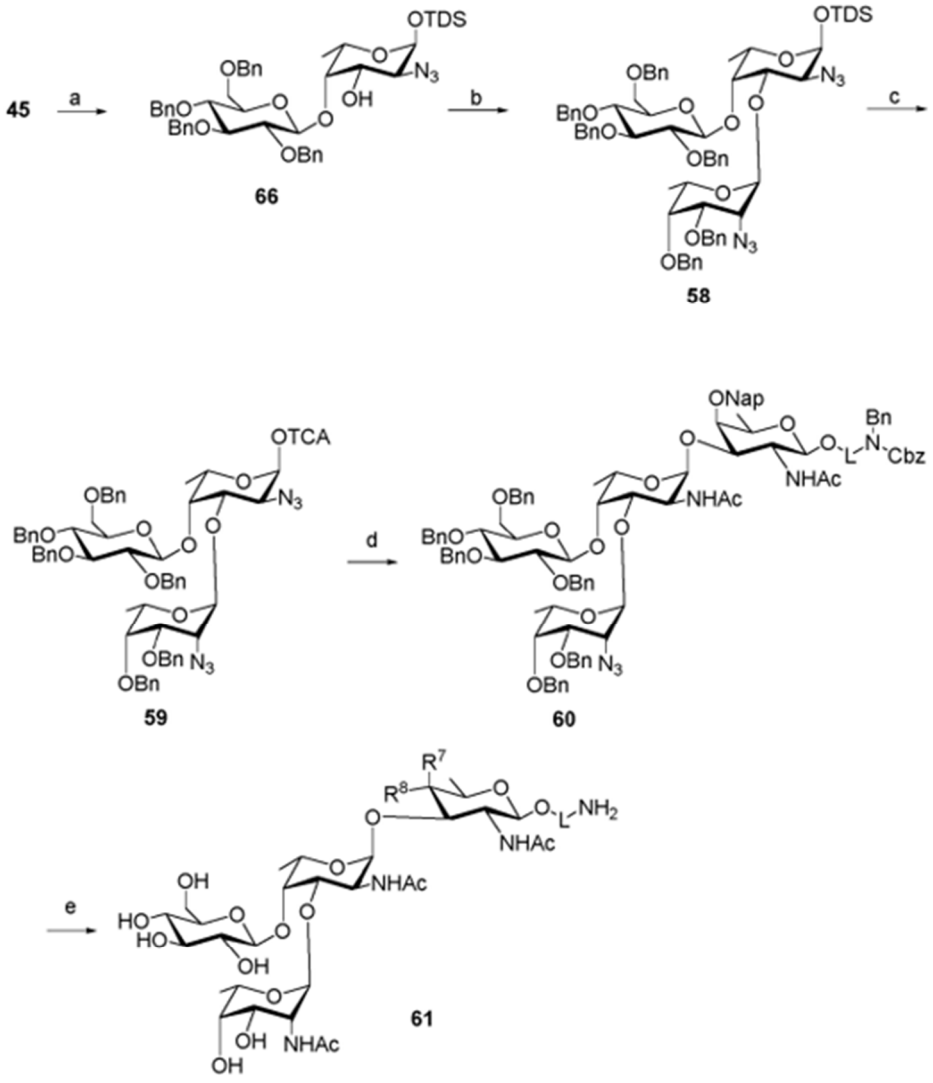


Esquema 8: Síntesis de disacárido **57**: **a.** HO-L-NBnCbz, TMSOTf, DCM, 4Å MS, -30ºC a -20ºC; **b. 1)** AcSH, piridina; **2)** MeONa, MeOH; **3)** ortoacetato trimetílico, *p*-TsOH, DMF luego 80% AcOH; **c. 8***, TMSOTf, DCM, 4Å MS, -30ºC; **d.** MeONa, MeOH; **e. 1)** conversión residuo -N_3 a residuo -NHR^{23}; **2)** desprotección.

[0127] Una ruta sintética para acceder a los sacáridos de fórmula general (**I**), en donde R^1 representa

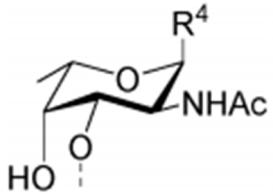


es decir los tetrasacáridos de fórmula general **61** se muestra en **el Esquema 9.** La síntesis comienza a partir de disacárido **55*** en donde se escindió el éster de etilo para proporcionar alcohol **66.** la glicosilación de alcohol **66** con **8*** proporciona trisacárido **58.** Después de la eliminación del grupo protector texidimetilsililo, el lactol intermedio se convierte en el correspondiente tricloroacetimidato **59.** La síntesis de tetrasacárido totalmente protegido se completa añadiendo el resto de azúcar del extremo no reductor y la transformación de los grupos azido en los correspondientes grupos acetamido. La conversión del tetrasacárido protegido **60** en el tetrasacárido **61** diana sigue los procedimientos descritos anteriormente.

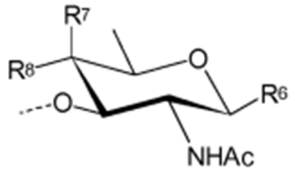


Esquema 9: Síntesis de tetrasacárido **61**: **a.** MeONa/MeOH: **b. 8***, TMSOTf, DCM, **1)** TBAF, AcOH, THF; **2)** CCl_3CN, DBU, DCM; **d. 1) 15**, TMSOTf, DCM; **2)** AcSH, piridina; **e. 1)** residuos de instalación R^7 y R^8; **2)** desprotección

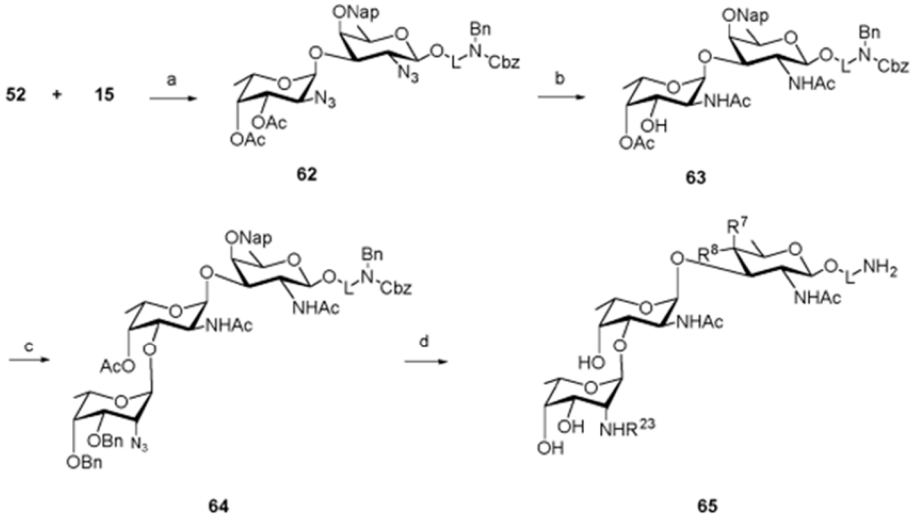
[0128] Una ruta sintética para evaluar los sacáridos de fórmula general (I), en donde R^1 representa



y R^4 representa,

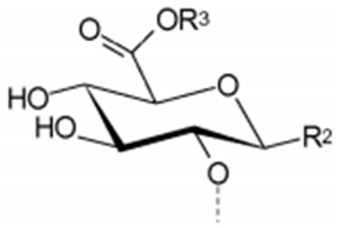


es decir, trisacáridos de fórmula general **65** se muestran en el **Esquema 10.** La síntesis implica la reacción de tricloroacetimidato **52** con alcohol **15** para proporcionar disacárido **62,** que se convierte como se muestra en el **Esquema 8, paso b** en alcohol **63** que además es sometido a una reacción de glicosilación para proporcionar un trisacárido totalmente protegido. La conversión del trisacárido protegido **64** a trisacárido diana **65** sigue los procedimientos descritos anteriormente.

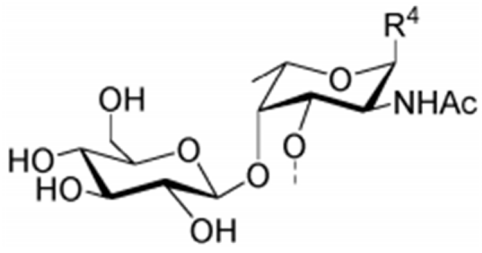


Esquema 10: Síntesis de trisacárido **65**: **a.** TMSOTf, DCM: **b. 1)** AcSH, piridina; **2)** MeONa/MeOH; **3)** ortoacetato trimetílico, *p*-TsOH, DMF luego 80% AcOH; **c. 1**, TMSOTf, DCM; **d. 1)** conversión residuo -N_3 a residuo -NHR^{23}; **2)** residuos de instalación R^7 y R^8; **3)** desprotección.

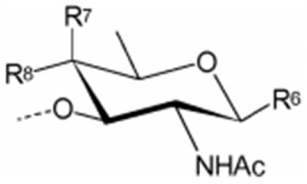
[0129] Por último, los sacáridos de la fórmula general (**I**), en donde R^1 representa



siendo R^2



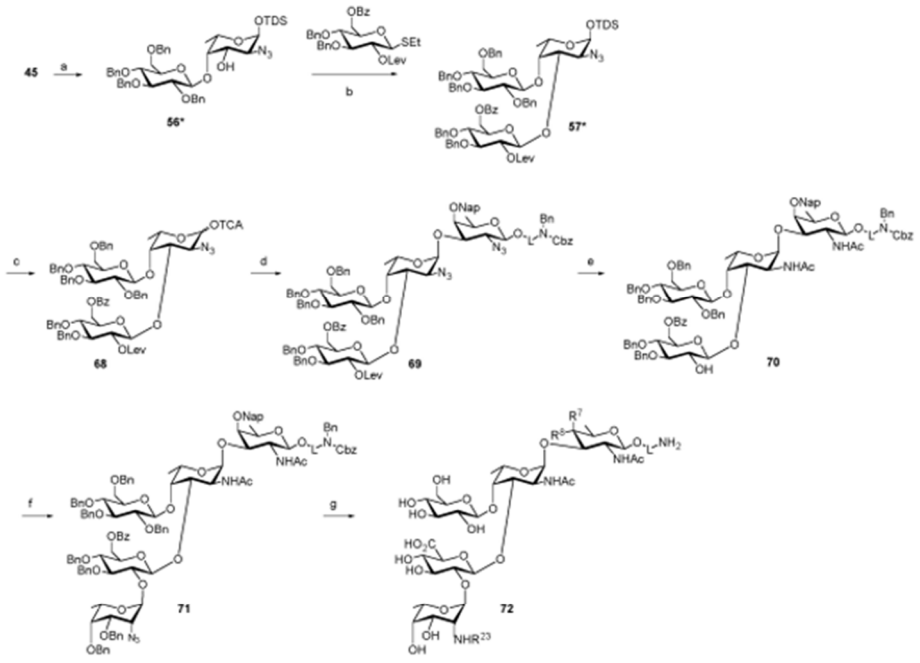
y R^4 representa



es decir, pentasacáridos de fórmula general **72** pueden obtenerse de acuerdo a la ruta sintética presentada en el **Esquema 11.** La síntesis procede con la escisión del acetato en el residuo de L-fucosa para proporcionar el alcohol **56*** que se somete a una reacción de glicosilación para dar el trisacárido **57*.** El tratamiento del trisacárido **67** con TBAF/AcOH da como resultado la eliminación del grupo protector xidimetilsililo proporcionando un lactol intermedio que se convierte en el correspondiente tricloroacetimidato **68.** A este nivel, el resto de azúcar del extremo reductor se agrega a la molécula mediante una reacción de glicosilación y el éster de levulinoilo del residuo de glucosa se escinde para producir el tetrascárido **70.** Después de instalar el resto de azúcar final no reductor, se consigue el pentasacárido diana **71** totalmente protegido.

[0130] La conversión del pentasacárido totalmente protegido **71** al pentasacárido deseado **72** implica:

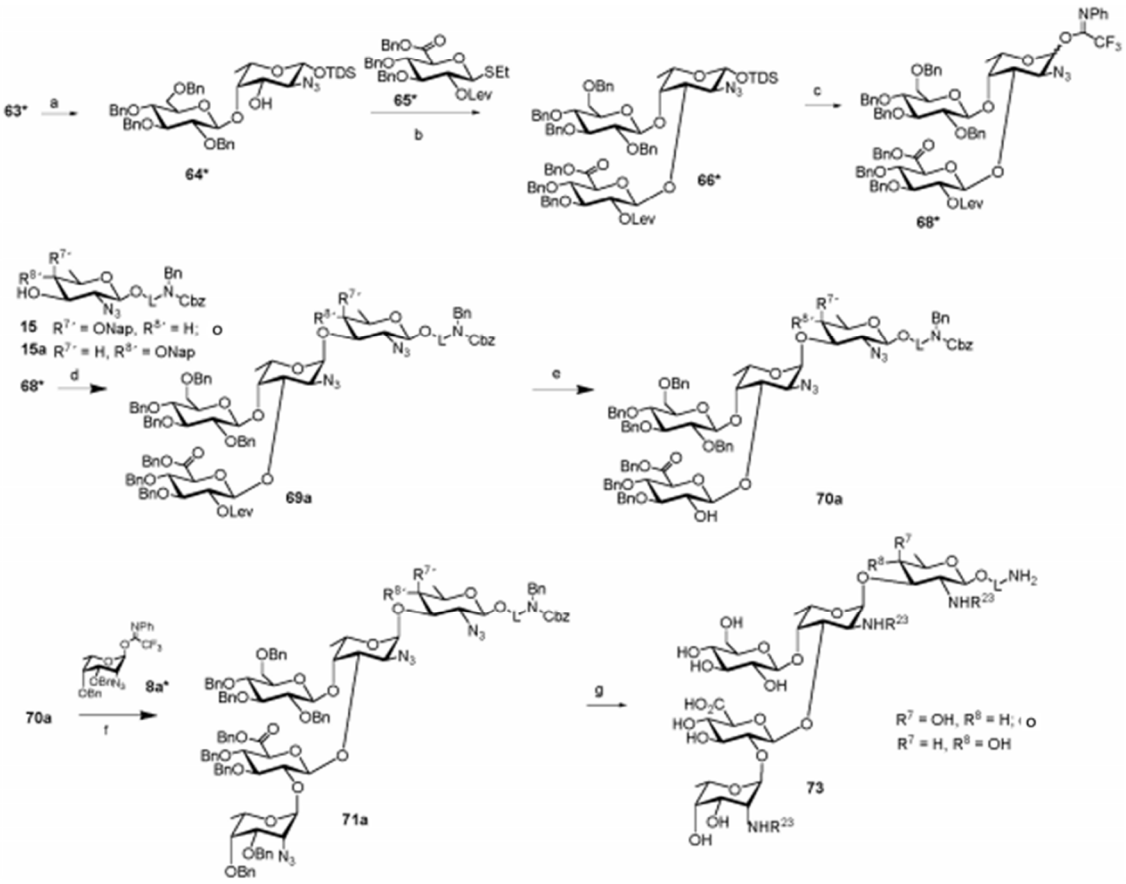
- la eliminación de benzoilo seguido de oxidación del alcohol primario para dar el ácido carboxílico correspondiente;
- conversión del residuo -N_3 en residuo -NHR^{23};
- instalación de los residuos R^7 y R^8; y
- desprotección.



Esquema 11: Síntesis de pentasacárido **72**:
a. MeONa/MeOH; **b.** NIS/TfOH, DCM; **c.** 1) TBAF, AcOH, THF; 2) CCl_3CN, DBU, DCM; **d. 15**, TMSOTf, DCM; **e. 1)** AcSH, piridina; **2)** $N_2H_4H_2O$, AcOH/piridina, DCM; **f. 1**, TMSOTF, DCM; **g. 1)** MeONa/MeOH; **2)** TEMPO, diacetato de yodobenceno, DCM, H_2O; **3)** conversión residuo -N_3 a residuo -NHR^{23}; **2)** residuos de instalación R^7 y R^8; **3)** desprotección.

[0131] Alternativamente, el pentasachharide 73 se puede sintetizar por la siguiente ruta sintética como se muestra en Schme 12.

Esquema 12: Síntesis de pentasacárido **73**:
a. DDQ, DCM/H_2O; **b.** NIS/TfOH, DCM/Tol; **c.** 1) HF pi, DCM/pi; 2) $CCl_3CNPhCl$, Cs_2CO_3, DCM; **d.** TMSOTf, DCM; **e.** $N_2H_4H_2O$, AcOH/piridina/DCM; **f. 1**, TMSOTF, Tol; **g.** conversión residuo $-N_3$ a residuo $-NHR^{23}$.



Descripción de las figuras

[0132]

La Figura 1 muestra la estructura química de la unidad de repetición *S. pneumoniae* serotipo 5.

La Figura 2 proporciona ejemplos de moléculas de interconexión disponibles comercialmente de acuerdo con la presente invención.

La Figura 3 proporciona ejemplos del grupo funcional X de la molécula de interconexión según la presente invención.

La Figura 4 muestra los resultados de la selección por matriz de glicanos del suero de tipificación de conejo de *S. pneumoniae* serotipo 5. **A)** Pocillo representativo de suero de tipificación de conejo (dilución 1:1000); **B)** Pocillo representativo de suero de tipificación de conejo (dilución 1:1000) preincubado con SP5 CPS (5 mg/ml); **C)** Tabla que enumera las posiciones 1-11 de los respectivos glicanos. Las muestras **14*** y **20*** eran impuras.

La Figura 5 muestra los resultados de la selección por matriz de glicanos del suero combinado de los receptores de la vacuna CPS neumocócica humana. **A)** Pocillo representativo de suero neumocócico humano (dilución 1:100); **B)** Pocillo representativo de suero neumocócico humano (dilución 1:100) preincubado con SP5 CPS (5 mg/ml); **C)** Tabla que enumera las posiciones 1-11 de los respectivos glicanos. Las muestras **14*** y **20*** eran impuras.

La **Figura 6:** A) Estructura química del tetrasacárido **33*** de SP-5 sintético; B) Se conjugó tetrasacárido **33*** con

CRM_{197} mediante química basada en PNP y se resolvió en SDS-PAGE al 10% junto con CRM_{197} recombinante y se tiñó con azul brillante de Coomassie R250. El marcador de peso molecular se muestra en medio de SDS-PAGE; C) La cantidad de proteína se estimó usando la curva estándar graficada con concentración conocida de BSA (BCA: ácido bicinconínico).

La **Figura 7: A** y **B:** el tetrasacárido **33*** y el pentasacárido **73*** de ST5 se conjugaron con CRM_{197} mediante química basada en PNP y se resolvieron en SDS-PAGE al 10% junto con CRM_{197} recombinante y teñido con azul brillante de Coomassie R250 respectivamente. El marcador de peso molecular se muestra en el extremo izquierdo de SDS-PAGE; **C** y **D:** Se llevó a cabo un análisis de *ionización/desorción láser asistida* por *matriz (MALDI)* para medir el tamaño molecular medio de los conjugados de ST5 tetrasacárido **33*** y pentasacárido **73*** a pH 8,0 respectivamente. El CRM_{197} recombinante se usó como estándar.

La **Figura 8: Micromatriz con sueros tipo ST5** A) Patrón de impresión de portaobjetos de micromatrices. (B) El portaobjetos de micromatrices se incubó con sueros de conejo de tipo 5 (Statens Serum Institute, Dinamarca) a una dilución de 1 en 100. El análisis de micromatrices sugirió que los sueros de tipo reconocían estructuras sintéticas junto con el polisacárido CPS-5 nativo. (C) Descripción de la estructura impresa en el portaobjetos.

La **Figura 9: Micromatriz con suero de conjugados sintéticos anti-ST5 de conejo** (A) Patrón de inmunización y recolección de sueros (el patrón de impresión es el mismo en todos los estudios). Los conejos se inmunizaron como primera manera de refuerzo los días 0, 14 y 28. Se recogió suero preinmune (día 0) e hiperinmune (día 14, 21 y 35) de conejos individuales. (B y D) Los portaobjetos de micromatrices se incubaron con sueros de conejo combinados (día 35) criados contra conjugados de tetrasacárido y pentasacárido en los portaobjetos. Ambos grupos de sueros hiperinmunes exhibieron reactividad cruzada con polisacárido nativo. (C) Patrón de impresión de portaobjetos de micromatrices.

La **Figura 10: Análisis de títulos de punto final.** La inmunización con conjugados de glicano ST5 induce altos títulos de anticuerpos en conejos. Tres conejos de cada grupo (conejos hembra ZIKA, 10-12 semanas, 2,5-3 kg) se inmunizaron por vía subcutánea con 3 dosis de 10 mg de tetrasacárido y conjugado de pentasacárido (en alumbre) los días 0, 14 y 28. La respuesta inmune fue analizada y representada en términos de cambio de pliegues en cada punto de tiempo (A). El título de punto final (IgG total) se determinó en suero hiperinmune (día 35) de conejo individual (B). Cada barra representa el título de anticuerpos de conejo individual. Los títulos de anticuerpos se representaron como el recíproco de la dilución más alta que dio una lectura menos el valor de absorbancia obtenido con los sueros preinmunes (día 0; 1 en 100 diluciones). También se analizó la respuesta de anticuerpos entre los grupos (C).

La Figura 11: Tinción de la superficie de conjugados de glicano anti-ST5 con cepa neumocócica. La unión a la superficie de sueros conjugados anti-glicano ST5 con la cepa de serotipo 5 se analizó mediante citometría de flujo. El histograma de color gris sólido representa el control negativo (bacteria + anticuerpo secundario), el punto negro representa el día 0. Los histogramas de color negro y gris representan el tetrasacárido y el pentasacárido, respectivamente.

La **Figura 12** Los anticuerpos anti-ST5 (tetrasacárido) promueven la fagocitosis de neumococos.

[0133] Las células HL-60 diferenciadas se incubaron con bacterias serotipo 5 pretratadas con anti-ST5 (tetrasacárido) o sueros preinmunes, y la supervivencia neumocócica se evaluó después de 45 min. Se calculó el porcentaje de muerte de neumococos basándose en colonias neumocócicas viables obtenidas en relación con ningún control de suero. Estos son los valores de representación de uno de cada tres experimentos independientes realizados por triplicado. Los valores representan la media ± DE.

[0134] Los siguientes ejemplos se incluyen para demostrar las realizaciones preferidas de la invención. Los expertos en la técnica deben apreciar que las técnicas descritas en los ejemplos que siguen representan técnicas que el inventor ha descubierto que funcionan bien en la práctica de la invención y, por tanto, se puede considerar que constituyen modos preferidos para su práctica. Sin embargo, los expertos en la técnica deberían, a la luz de la presente divulgación, apreciar que se pueden realizar muchos cambios en las realizaciones específicas, que se describen y todavía obtienen un resultado similar o semejante sin apartarse del espíritu y alcance de la invención.

[0135] Otras modificaciones y realizaciones alternativas de diversos aspectos de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica a la vista de esta descripción. Por consiguiente, esta descripción debe interpretarse como ilustrativa únicamente y tiene el propósito de enseñar a los expertos en la técnica la manera general de llevar a cabo la invención. Debe entenderse que las formas de la invención mostradas y descritas en este documento deben tomarse como ejemplos de realizaciones. Los elementos y materiales pueden ser sustituidos por los ilustrados y descritos en el presente documento, las partes y los procesos pueden revertirse y ciertas características de la invención pueden utilizarse de forma independiente, todo como resultará evidente para un experto en la técnica después de beneficiarse de esta descripción de la invención. Se pueden realizar cambios en los elementos descritos en este documento sin apartarse del espíritu y alcance de la invención como se describe en las siguientes reivindicaciones.

Ejemplos

Síntesis química

Abreviaturas:

[0136]

NIS:	*N*- yodosuccinimida;
TfOH:	ácido tríflico;
h:	hora;
DCM:	diclorometano;
TLC:	cromatografía de capa fina;
ta:	temperatura ambiente;
EtOAc:	acetato de etilo;
MS:	tamices moleculares;
TMS:	trimetilsililo;
Tempo:	2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi, radical libre;
BAIB:	[bis(acetoxi)yodo] benceno;
TMSOTf:	triflato de trimetilsililo;
TBAF:	fluoruro de tetrabutilamonio;
TDS:	dimetiltexilsililo;
DDQ:	2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona;
Et 3N:	trietilamina;
DBU:	1,8-diazabiciclоundec-7-eno;
Nap:	2-naftilmetilo;
equiv:	equivalentes;
sat.:	saturado;
aq.:	acuoso;
Hex:	hexanos;
$TMSN_3$:	trimetilsilil azida;
PMBCl:	cloruro de p-metoxibencilo;
THF:	tetrahidrofurano;
DMAP:	4-dimetilaminopiridina;
TBAI:	yoduro de tetrabutilamonio;
TBAB:	bromuro de tetrabutilamonio;
Bu_2SnO:	óxido de dibutilestaño;
CAN:	nitrato de cerio y amonio;
BnBr:	bencilbromuro;
BH_3.THF:	complejo de borano tetrahidrofurano;
DMF:	dimetilformamida;
UV:	ultravioleta;
RMN:	resonancia magnética nuclear;
MALDI-TOF:	espectrometría de tiempo de vuelo de ionización/desorción láser asistida por matriz;
HRMS:	espectroscopia de masas de alta resolución;
ESI:	ionización por electropulverización;
MeCN:	acetonitrilo;
IR:	infrarrojo;
EDC:	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida;
Et_2O:	éter dietílico;
NaOMe:	metóxido de sodio;
OTCA:	tricloroacetimidato;

Información general para la síntesis química

[0137] Los reactivos comerciales se usaron sin purificación adicional excepto cuando se indique. Los disolventes se secaron y se redestilaron antes de su uso de la forma habitual. Todas las reacciones se realizaron en material de vidrio secado al horno bajo una atmósfera inerte a menos que se indique lo contrario. Se realizó cromatografía analítica en capa fina (TLC) sobre placas Kieselgel 60 F254 de aluminio prerrevestidas con un espesor de 0,25 mm de gel de sílice. Las placas de TLC se visualizaron con luz ultravioleta y mediante tinción con solución de Hanessian (sulfato cérico y molibdato de amonio en ácido sulfúrico acuoso) o solución de ácido sulfúrico-etanol. La cromatografía en columna se realizó en Fluka Kieselgel 60 (230-400 mesh). Las rotaciones ópticas (RO) se midieron con un polarímetro Schmidt & Haensch UniPol L1000 a una concentración (c) expresada en g/100 mL. Los espectros de ^{1}H y $^{13C\ RMN}$ se midieron con un espectrómetro Varian 400-MR o Varian 600 con Me4Si como patrón interno. Los desplazamientos químicos de RMN (δ) se registraron en ppm y las constantes de acoplamiento (J) se informaron en Hz. Los espectros de masas de alta

resolución (HRMS) se registraron con un espectrómetro de masas Agilent 6210 ESI-TOF en la Freie Universität Berlin, Mass Spectrometry Core Facility.

Procedimiento general (A) para la eliminación del grupo TDS en la posición anomérica.

[0138] Material de partida protegido por TDS anomérico (1,0 equiv) se disolvió en THF (concentración de reacción a 0,15 M) y se enfrió a 0ºC. Se añadió una solución de TBAF (1 M en THF, 10 equiv.) y AcOH (12 equiv.), se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 3 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con HCl 0,1 N, $NaHCO_3$ sat. ac. y salmuera. Las fases orgánicas se secaron sobre $MgSO_4$ y se concentraron. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/EtOAc) proporcionó el lactol correspondiente como una mezcla de anómeros α y β.

Procedimiento general (B) para la glicosilación de tio y selenoglucósidos mediada por NIS/TfOH.

[0139] El aceptor (1,0 a 2,0 equiv) y tio o selenoglucósido (1,0 a 1,3 equiv) se co-evaporó con tolueno tres veces y se secó *a vacío.* El residuo se disolvió en DCM o MeCN (concentración de reacción de 80 a 120 mM) junto con tamices moleculares recién activados (4 Å) y NIS (1,2 equivalentes con respecto al tio o selenoglucósido). La mezcla se enfrió y se añadió TfOH (0,1 equiv. con respecto al tio o selenoglucósido). La reacción se agitó durante 1 h, luego se inactivó mediante la adición de NEt_3 y se diluyó con DCM. La capa orgánica se lavó con una solución sat. ac. $Na_2S_2O_3$ seguido de $NaHCO_3$ sat. ac., se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró. La cromatografía en columna (hexanos/EtOAc) proporcionó el producto puro.

Procedimiento general (C) para la síntesis de glicosil-tricloroacetimidato con K_2CO_3.

[0140] A una solución del lactol (1,0 equiv) en DCM (concentración de reacción a 0,5 M) tricloroacetonitrilo (10 equiv) y se agitó durante 3 h a temperatura ambiente y K_2CO_3 (1,7 equiv). El producto bruto se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/EtOAc) para proporcionar el producto puro.

Procedimiento general (D) para la síntesis de glicosil-tricloroacetimidato con DBU.

[0141] A una solución del lactol (1,0 equiv) en DCM (concentración de reacción a 0,5 M) a 0°C tricloroacetonitrilo (10 equiv) y DBU (1 gota) y se agitó durante 1 hora a 0ºC. El producto bruto se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/EtOAc) para proporcionar el producto puro.

Procedimiento general (E) para la glicosilación de glicosil-imidatos mediada por TMSOTf.

[0142] El aceptor (1,0 a 2,0 equiv) y glicosil-tricloroacetimidato (1,0 a 1,3 equiv) se co-evaporó con tolueno tres veces y se secó *a vacío.* El residuo se disolvió en DCM (concentración de reacción de 80 a 120 mM) y se añadieron tamices moleculares recién activados (4 Å). La mezcla se enfrió a -30ºC y se añadió TMSOTf (0,1 equiv.). La reacción se llevó a -20ºC, luego se inactivó mediante la adición de NEt_3 y se concentró a presión reducida. La cromatografía en columna (hexanos/EtOAc) proporcionó el producto puro.

Procedimiento general (F) para la reducción de azidas a base de ácido tioacético.

[0143] A una solución de azida de material en piridina de partida (1 ml) de ácido tioacético (0,5 ml) se añadió y se agitó durante 12 a 48 h. La mezcla de reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetona) para proporcionar el producto acetamida.

Procedimiento general (G) para la eliminación del grupo protector Nap.

[0144] A una mezcla de material de partida naftilado (1 equiv) en una mezcla de DCM/tampón de fosfato (10:1 (v:v), 7 mM, pH 7,2, la concentración de reacción a 4 mM o DCM/H_2O (10:1) a 0°C se añadió DDQ (2-3 equiv.) en porciones durante 1,5 h. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1,5 a 5 h más. La mezcla se diluyó con solución acuosa saturada de $NaHCO_3$, se extrajo con DCM y la capa orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/EtOAc) proporcionó el producto puro.

Procedimiento general (H) para la oxidación mediada de TEMPO.

[0145] A una mezcla del alcohol primario (1,0 equiv) en DCM/H_2O ((2,5:1, v:v), la concentración de reacción a 7 mM) a 0°C se añadió TEMPO (0,2 equiv) y Balb (5,0 equiv). La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 2 h y después se diluyó con H_2O y se extrajo con DCM. Las fases orgánicas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. La cromatografía de exclusión por tamaño en Sephadex LH-20 ($CHCl_3$/MeOH = 1:1) proporcionó el producto.

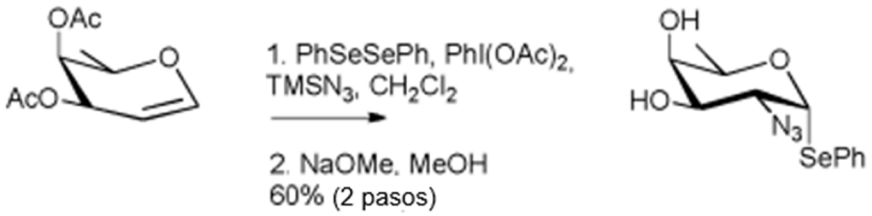
Procedimiento general (I) de hidrogenólisis.

[0146] Una solución del material de partida (concentración de la reacción de 4 a 8 mM) en una mezcla de

EtOH/EtOAc/H_2O/AcOH se purgó con Ar. Después de eso, se añadió Pd/C al 10% y la solución se purgó con H_2 durante 10 min, luego se agitó bajo una atmósfera de H_2 durante 12 h, se filtró y se concentró. El producto bruto se disolvió en H_2O, se sometió a extracción en fase sólida en fase inversa (RP SPE) (Waters Sep-Pak®, C18) y se liofilizó. Cuando fue necesario, se realizó una cromatografía de exclusión por tamaño en Sephadex LH-20 (MeOH).

Ejemplo 1: Síntesis de 2-azido-2-desoxi-1-seleno-α-D-fucopiranósido de fenilo (1*)

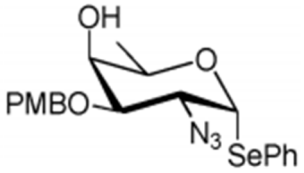
[0147]



A una solución del fucal (Bedini, E. et. Al. Synlett 2006, 6, 825-830) (4,6 g, 21,6 µmol) y PH_2Se_2 (6,75 g, 21,6 µmol) en DCM (70 ml) a -30ºC se añadió $PhI(OAc)_2$ (6,96 g, 21,6 mmol). Luego, se añadió gota a gota $TMSN_3$ (5,74 ml, 43,2 µmol) a la solución resultante. La reacción se calentó a -10ºC. Después de 4 h a -10ºC, se completó la reacción. La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se lavó con una solución saturada de $NaHCO_3$ seguido de salmuera. Se evaporó el disolvente y se disolvió el impuro en MeOH (190 ml). Se añadió gota a gota una solución de NaOMe 0,5 M (4,75 µmol, 9,5 ml) a la mezcla a temperatura ambiente. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió Amberlite y se dejó agitar hasta que el pH descendió a 5. Se filtró la mezcla de reacción y se evaporó el disolvente. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (DCM 100% a DCM: MeOH: Acetona 97: 1,5:1,5). El sólido amarillo obtenido se lavó con hexanos para dar el diol 1* como un sólido blanco (4,24 g, 12,9 µmol, 60% de rendimiento). $[\alpha]_D20$ = 241,6° (c = 1,00, $CHCl_3$); IR v max (película) 3321, 2925, 2105, 1578, 1475, 1438, 1093, 1059, 739 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, CD3OD) δ 7,71 - 7,47 (m, 2H), 7,35 - 7,09 (m, 3H), 5,90 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H), 4,28 (q, *J* = 6,6 Hz, 1H), 4,00 (dd, *J* = 9,9, 5,3 Hz, 1H), 3,70 (ddd, *J* = 6,6, 4,5, 2,2 Hz, 2H), 1,13 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H). ^{13}C RMN (101 MHz, CD_3OD) δ 134,5, 128,6, 127,3, 85,5, 71,5, 71,3, 69,2, 61,5, 15,0. HRMS (ESI+) calculado para $C_{12}H_{15}O_3N_3SeNa^+$ $[M+Na]^+$ 352,0171, encontrado 352,0179.

Ejemplo 2: Síntesis de 2-azido-2-desoxi-3-O-p-metoxibencil-1-seleno-α-D-fucopiranósido de fenilo (**2***)

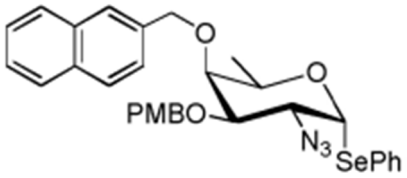
[0148]



[0149] Diol **2*** (2,5 g, 7,62 µmol) se coevaporó con tolueno seco dos veces y se dejó secar a alto vacío durante 30 min. Luego, se añadió tolueno seco (80 ml), seguido de Bu_2SnO (2,84 g, 11,43 µmol) y 4 A MS. La reacción se agitó durante 1 hora bajo reflujo. La reacción se enfrió a 40ºC; se añadieron PMBCl (3,11 ml, 22,85 µmol) y TBAB (3,68 g, 11,43 µmol) y se dejaron en agitación durante la noche a ta. Por la mañana la reacción fue completa. Se filtró la reacción y se evaporó el disolvente. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAC en Hex del 10 al 20%). Se obtuvo alcohol **2*** como un aceite amarillo (3,09 g, 6,89 µmol, 90%). $[\alpha]_D^{20}$ = + 177,4° (c = 0,77, $CHCl_3$); IR v_{max} (película) 3493, 2935, 2111, 1613, 1514, 1249, 1091, 740 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,79 - 7,47 (m, 2H), 7,41 - 7,12 (m, 5 H), 6,92 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 5,88 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 4,69 (d, J = 11,0 Hz, 1H), 4,63 (d, J = 11,0 Hz, 1H), 4,29 (q, J = 6,5 Hz, 1H), 4,15 (dd, J = 10,2, 5,3 Hz, 1H), 3,89 - 3,84 (m, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,69 (dd, J = 10,2, 3,1 Hz, 1H), 2,36 (s, 1H), 1,26 (d, J = 6,6 Hz, 3H). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$) δ 159,7, 134,4, 129,8, 129,1, 129,0, 128,5, 127,8, 114,1, 85,2, 78,9, 71,8, 68,6, 68,5, 60,1, 55,3, 16,1. HRMS (ESI+) calculado para $C_{20}H_{23}O_4N_3SeNa^+$ $[M+Na]^+$ 472,0746, encontrado 472,0755.

Ejemplo 3: Síntesis de 2-azido-2-desoxi-3-O-p-metoxibencil-4-O-(2-naftalenilmetil)-1-seleno-α-D-fucopiranósido-2-(bromometil)-naftaleno de fenilo (**3***)

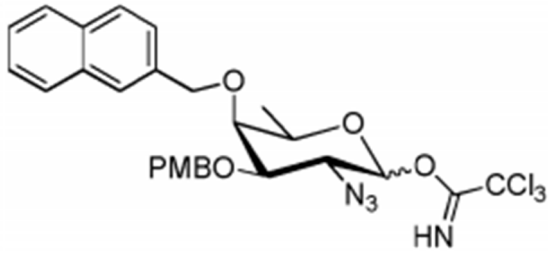
[0150]



[0151] se añadió 2-(bromometil)-naftaleno (2,8 g, 12,67 µmol) a una solución de alcohol **2*** (2,84 g, 6,33 µmol) en DMF: THF (1:1, 64 ml). Luego, la mezcla se enfrió a 0ºC y se añadió NaH al 60% (304 mg, 7,60 mmol). La reacción se calentó a temperatura ambiente y se dejó agitar durante 1 h. La reacción no se completó. Luego, se enfrió nuevamente a 0°C y se agregaron 100 mg de NaH. En 1h se completó la reacción. La mezcla de reacción se enfrió a 0ºC, se añadió MeOH y la reacción se calentó a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con éter, se lavó con HCl, $NaHCO_3$ y salmuera. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAC en Hex 5 a 10%). El producto **3*** se obtuvo como un aceite incoloro (2,56 g, 4,35 µmol, 69%). $[\alpha]_D^{20}$ = 151,28° (c = 2,00, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 2896, 2109, 1612, 1513, 1249, 1101, 1065, 820, 740 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,94 - 7,75 (m, 3H), 7,71 (s, 1H), 7,63 - 7,53 (m, 2H), 7,52 - 7,42 (m, 3H), 7,40 - 7,31 (m, 2H), 7,29 - 7,20 (m, 3H), 7,00 - 6,84 (m, 2H), 5,94 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 5,09 (d, *J* = 11,7 Hz, 1H), 4,78 (d, *J* = 11,7 Hz, 1H), 4,74 (d, *J* = 11,1 Hz, 1H), 4,70 (d, *J* = 11,1 Hz, 1H), 4,48 - 4,30 (m, 1H), 4,22 (q, *J* = 6,5 Hz, 1H), 3,84 (s, 1H), 3,77 - 3,66 (m, 1H), 1,13 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$) δ 159,5, 135,6, 134,3, 133,1, 133,0, 129,6, 129,0, 128,7, 128,1, 127,9, 127,7, 127,6, 126,9, 126,3, 126,1, 125,9, 114,0, 85,6, 80,4, 75,7, 74,9, 72,4, 69,4, 60,9, 55,3, 16,6. HRMS (ESI+) calculado para $C_{31}H_{31}O_4N_3SeNa^+$ $[M+Na]^+$ 612,1373, encontrado 612,1371.

Ejemplo 4: Síntesis de 2-azido-2-desoxi-3-*O*-p-metoxibencil-4-*O*-(2-naftalenilmetil)-α,β-D-fucopiranosil tricloroacetimidato (**4***)

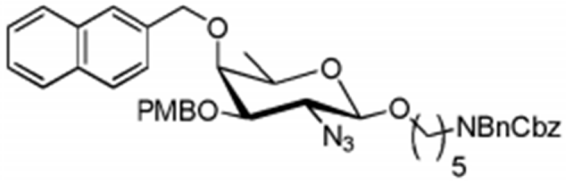
[0152]



[0153] El compuesto de seleniuro **3*** (730 mg, 1,24 µmol) se disolvió en THF:H_2O (1,7:1, 38 ml) y se añadió NIS (558 mg, 2,48 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h y se inactivó con NaS_2O_3. Luego, la mezcla de reacción se diluyó con CH_2Cl_2 y se lavó con $NaHCO_3$ y salmuera. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc en Hex 20%). Se obtuvo un aceite incoloro con un rendimiento del 94% (524 mg, 1,17 mmol). El producto se disolvió en DCM (12 ml) y se enfrió a 0ºC. Se añadieron tricloroacetonitrilo (1,16 ml, 11,57 µmol) y DBU (0,012 µmol, 2 µl). Después de 1 h de agitación a 0ºC, la reacción no se completó. Luego, se añadió tricloroacetonitrilo (1 mL). Una hora más tarde se completó la reacción. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc en Hex 20%). Se obtuvo tricloroacetimidato **4*** como mezcla de anómeros alfa y beta (α:β, 1: 3) con un rendimiento cuantitativo (700 mg, 1,18 mmol). La caracterización se da para el anómero beta. $[\alpha]_D^{20}$ = -8,69° (c = 1,99, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 2934, 2113, 1675, 1513, 1059, 821, 796 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,63 (s, 1H), 7,98 - 7,78 (m, 3H), 7,73 (s, 1H), 7,59 - 7,43 (m, 3H), 7,34 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 6,92 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 5,53 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 5,10 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H), 4,86 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H), 4,70 (s, 2H), 4,07 (dd, *J* = 10,2, 8,6 Hz, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,68 - 3,52 (m, 2H), 3,45 (dd, *J* = 10,3, 2,7 Hz, 1H), 1,23 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$) δ 161,5, 159,5, 135,4, 133,1, 133,0, 129,6, 129,5, 128,1, 127,9, 127,7, 127,4, 126,6, 126,1, 126,0, 114,0, 97,2, 92,5, 80,7, 74,8, 74,5, 72,6, 71,9, 62,5, 55,3, 29,7, 16,9. HRMS (ESI+) calculado para $C_{27}H_{27}O_4N_4Cl_3Na^+$ $[M+Na]^+$ 617,0912, encontrado 617,0930.

Ejemplo 5: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 2-azido-2-desoxi-3-*O*-*p*-metoxibencil-4-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-fucopiranósido (**5***)

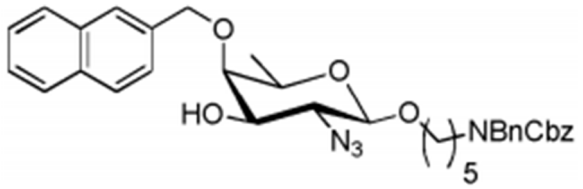
[0154]



[0155] Imidato **4*** (538 mg, 0,91 µmol) y el enlazador N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-1-pentanol (593 mg, 1,8 µmol) se co-evaporó con tolueno seco y se secó en alto vacío. El residuo se disolvió en acetonitrilo y se enfrió a -15ºC. Se añadió TMSOTf (16 ml, 0,09 µmol) y la reacción se agitó durante 1 h. La reacción se inactivó con trietilamina y el disolvente se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc en Hex del 15 al 20%) para dar el monosacárido **5*** como un aceite incoloro con un rendimiento del 74% (510 mg, 0,672 mmol). $[\alpha]_D^{20}$ = -21,34° (c = 2,10, $CHCl_3$); IR v_{max} (película) 2935, 2110, 1697, 1513, 1248, 1068, 819, 699 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,90 - 7,77 (m, 3H), 7,72 (s, 1H), 7,58 - 7,43 (m, 3H), 7,38 - 7,14 (m, 12 H), 6,91 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 5,18 (d, *J* = 12,1 Hz, 1H), 5,07 (d, *J* = 11,9 Hz, 1H), 4,84 (d, *J* = 11,9 Hz, 1H), 4,73 - 4,60 (m, 1H), 4,50 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 4,14 (t, *J* = 8,7 Hz, 1H), 3,93 - 3,71 (m, 2H), 3,53 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 3,44 - 3,35 (m, 1H), 3,32 - 3,15 (m, 1H), 1,66 - 1,47 (m, 1H), 1,41 - 1,26 (m, 1H), 1,19 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$) δ 137,9, 135,7, 133,1, 133,0, 129,8, 129,5, 128,5, 128,5, 128,0, 127,9, 127,8, 127,7, 127,2, 126,7, 126,0, 125,9, 113,9, 102,3, 80,7, 74,7, 74,6, 72,5, 70,5, 69,6, 67,1, 63,1, 55,3, 50,5, 50,2, 47,1, 46,2, 29,2, 27,9, 27,5, 23,2, 17,0. HRMS (ESI+) calculado para $C_{45}H_{50}O_7N_4Na^+$ $[M+Na]^+$ 781,3577, encontrado 781,3590.

Ejemplo 6: Síntesis de *N*-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 2-azido-2-desoxi-4-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-fucopiranósido (**6***)

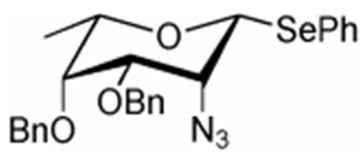
[0156]



[0157] El compuesto protegido con PMB **5*** (510 mg) se disolvió en acetona (10 ml) y H_2O (1,1 ml), luego se añadieron 700 mg de CAN (sólido). Después de eso, se añadió una solución de CAN (700 mg) en acetona (1,7 ml) y H_2O (0,2 ml) durante 70 min. Después de 10 min, la reacción se vertió en $NaHCO_3$ y se extrajo con CH_2Cl_2. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (EtOAc en Hex 20%). Se obtuvo el alcohol **6*** que era un aceite amarillo con un rendimiento del 73% (315 mg, 0,493 mmol). $[\alpha]_D^{20}$ = -1,73° (c = 2,18, $CHCl_3$); IR v_{max} (película) 3440, 3031, 2935, 2109, 1694, 1068, 698 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,89 - 7,74 (m, 4H), 7,62 - 7,43 (m, 3H), 7,41 - 7,21 (m, 9 H), 7,17 (d, *J* = *6,9* Hz, 1H), 5,18 (d, *J* = 13,1 Hz, 2H), 4,97 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H), 4,90 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H), 4,50 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 4,18 (t, *J* = 8,6 Hz, 1H), 3,95 - 3,80 (m, 1H), 3,64 - 3,37 (m, 5 H), 3,23 (m, 2H), 2,31 (s, 1H), 1,69 - 1,46 (m, 4H), 1,43 - 1,18 (m, 2H), 1,31 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$) δ 137,9, 135,3, 133,2, 133,1, 128,5, 128,4, 128,0, 127,9, 127,8, 127,7, 127,2, 127,1, 126,2, 126,1, 126,1, 102,2, 78,2, 75,9, 73,0, 70,8, 69,7, 67,1, 64,7, 50,5, 50,2, 47,1, 46,2, 29,2, 27,9, 27,4, 23,2, 17,0. HRMS (ESI+) calculado para $C_{37}H_{42}O_6N_4Na^+$ $[M+Na]^+$ 661,3002, encontrado 661,3015.

Ejemplo 7: Síntesis de 2-azido-3,4-di-*O*-bencil-2-desoxi-1-seleno-β-L-neumopiranósido de fenilo (**7***)

[0158]

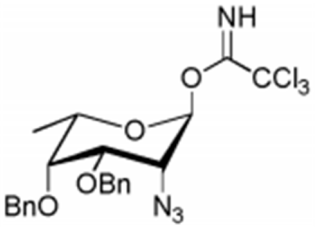


[0159] A una mezcla impura que contiene aprox. 25% de 2-azido-2-desoxi-1-seleno-β-L-neumopiranósido (192 mg) en DMF (5 ml) a 0ºC, BnBr (0,21 ml, 1,8 µmol) y NaH (31 mg, 1,3 mmol). Después de 3 h, la reacción se inactivó con MeOH a 0ºC y se diluyó con Et_2O. La capa orgánica se lavó con 0,1 M solución ac. de HCl, $NaHCO_3$ sat. ac. y salmuera. Las capas orgánicas se secaron sobre $MgSO_4$ y se concentraron. La cromatografía en columna sobre gel de sílice

(hexanos/acetato de etilo) proporcionó **7x** (66 mg, 0,13 µmol, 22%). $[\alpha]_D^{20}$ = -72,2° (c = 1,6, $CHCl_3$); IR v_{max} (película) 3062, 3031, 2933, 2869, 2106, 1578, 1496, 1477, 1454, 1438, 1361, 1279, 1202, 1162, 1105, 1067 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,58 - 7,23 (m, 15 H), 5,80 (d, *J* = 1,5, 1H), 5,02 (*J* = 11,8, 1H), 4,81 - 4,64 (m, 3H), 4,24 - 4,10 (m, 2H), 3,99 - 3,90 (m, 1H), 3,71 - 3,66 (m, 1H), 1,24 (d, *J* = 6,5, 3H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 138,4, 137,4, 133,9, 129,4, 129,1, 128,8, 128,6, 128,3, 128,2, 128,0, 127,8, 127,7, 83,9, 77,5, 75,4, 75,0, 71,4, 70,6, 60,0, 16,7; HRMS (ESI): calculado para $C_{26}H_{27}N_3O_3SeNa^+$ $[M+Na]^+$ 532,1115, encontrado 532,1112.

Ejemplo 8: Síntesis de tricloroacetimidato de 2-azido-3,4-di-*O*-bencil-2-desoxi-α-L-neumopiranosilo **(8*)**

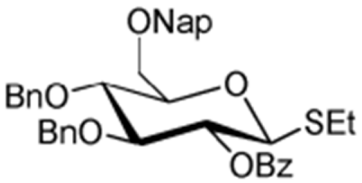
[0160]



[0161] A una solución de **7*** (30 mg, 59 µmol) en THF (1,25 ml) y H_2O (0,75 ml) se añadió NIS (27 mg, 180 µmol) y se agitó durante 2 h. La reacción se diluyó con DCM y la capa orgánica se lavó con una solución sat. ac. $Na_2S_2O_3$ seguido de $NaHCO_3$ sat. ac., se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró. La cromatografía en columna (hexanos/EtOAc) proporcionó el lactol libre (20 mg, 54 µmol, 92%) como una mezcla de anómeros α y β. IR v_{max} (película) 3413, 3031, 2872, 2110, 1496, 1454, 1360, 1306, 1176, 1109, 1053, 1027 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,59 - 7,20 (m, 10 H), 5,20 (d, *J* = 1,6 Hz, 0,5 H), 4,99 (d, *J* = 11,7 Hz, 1H), 4,81 - 4,64 (m, 3H), 4,56 (d, *J* = 1,8 Hz, 0,5H), 4,02 (t, *J* = 3,4 Hz, 1H), 3,67 (t, *J* = 3,4 Hz, 0,5H), 3,65 - 3,63 (m, 0,5H), 3,60 - 3,55 (m, 0,5 H), 3,44 (qd, *J* = 6,3, 1,1 Hz, 0,5 H), 1,26 (d, *J* = 6,4 Hz, 1,5 H), 1,23 (d, *J* = 6,6 Hz, 1,5 H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 138,4, 138,1, 137,8, 137,3, 129,0, 128,8 (2C), 128,6, 128,4, 128,3, 128,2, 127,9, 127,7, 127,5, 127,4, 93,6, 93,2, 79,7, 76,7, 75,4, 74,9, 73,8, 71,8, 71,4, 71,2, 67,3, 60,4, 58,3, 17,0, 16,9; HRMS (ESI): calculado para $C_{20}H_{23}N_3O_4Na^+$ $[M+Na]^+$ 392,1586, encontrado 392,1583. De acuerdo con el procedimiento general (C), el lactol (75 mg, 0,20 µmol) se hizo reaccionar con tricloroacetonitrilo (0,20 ml, 2,0 µmol) y K_2CO_3 (48 mg, 0,35 µmol) en DCM (2 ml) para producir el compuesto **8*** (65 mg, 0,13 µmol, 62%). $[\alpha]_D^{20}$ =-32,3° (c = 1,5, $CHCl_3$); IR v_{max} (película) 3336, 2910, 2113, 1672, 1454, 1356, 1273, 1157, 1063 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,65 - 8,49 (m, 1H), 7,43 - 7,22 (m, 10 H), 6,19 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H), 5,03 (d, *J* = 11,7 Hz, 1H), 4,78 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H), 4,70 (d, *J* = 3,7 Hz, 2H), 4,09 - 3,98 (m, 3H), 3,69 (dd, *J* = 1,6, 1,2 Hz, 1H), 1,23 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 159,9, 138,2, 137,2, 128,9, 128,8 (2C), 128,7, 128,4, 128,3, 128,2, 128,0, 127,9 (2C), 97,0, 91,0, 76,0, 75,1, 74,5, 71,2, 70,3, 56,2, 16,9; HRMS (MALDITOF): calculado para $C_{22}H_{23}Cl_3N_4O_4Na^+$ $[M+Na]^+$ 535,0677, encontrado 535,0660.

Ejemplo 9: Síntesis de 2-*O*-benzoil-3,4-di-*O*-bencil-6-*O*-(2-naftalenilmetil)-1-tio-β-D-glucopiranósido de etilo **(9*)**

[0162]

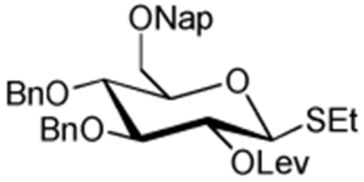


[0163] A una solución de 2-*O*-benzoil-3-*O*-bencil-4,6-*O*-benciliden-1-tio-β-D-glucopiranósido (584 mg, 1,15 µmol) en DCM (10 ml), BH_3·THF (1 M en THF, 6,9 ml, 6,9 µmol) y TMSOTf (0,1 ml, 0,6 µmol) se añadieron gota a gota a 0ºC. Se calentó a temperatura ambiente durante 2 h, se enfrió de nuevo a 0ºC y se inactivó mediante la adición gota a gota de una solución sat. ac. de $NaHCO_3$. La emulsión se diluyó con DCM y se lavó con una solución sat. ac. de $NaHCO_3$. Después, la fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró para dar el alcohol crudo. A una solución de alcohol crudo en THF/DMF (9:1, 10 ml) a 0ºC, se le añadieron bromuro de naftilo (509 mg, 2,30 µmol) y NaH (33 mg, 1,38 mmol). La reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 30 min, se enfrió a 0ºC y se inactivó mediante la adición de agua. Después de la dilución con Et_2O, la fase orgánica se lavó con 0,1 M HCl y una solución sat. ac. de $NaHCO_3$. Después, la fase orgánica se secó sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó **9 x** (626 mg, 0,97 µmol, 84%). $[\alpha]_D^{20}$ = + 29,5° (c = 3,1, $CHCl_3$), IR v_{max} (película) 3061, 3030, 2867, 1722, 1602, 1496, 1452, 1359, 1315, 1264, 1087, 1067, 1026 cm^{-1}; ^1H-RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.06 - 8.01 (m, 2H), 7,86 - 7,79 (m, 4H), 7,60 - 7,42 (m, 6H), 7,26 - 7.04 (m, 10H), 5,34 (dd, *J* = 10,0, 8,9 Hz, 1H), 4,84 - 4,54

(m, 7H), 3,88 - 3,74 (m, 4H), 3,60 (ddd, *J* = 9,5, 4,5, 2,0 Hz, 1H), 2,81 - 2,68 (m, 2H), 1,26 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 165,4, 138,0, 137,9, 135,8, 133,4, 133,3, 133,2, 130,1, 130,0, 128,5 (2C), 128,4, 128,3, 128,1 (3C), 127,9, 127,8 (2C), 126,6, 126,2, 126,0, 125,9, 84,5, 83,4, 79,7, 78,1, 75,4, 75,2, 73,7, 72,6, 69,1, 24,1, 15,1; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{40}H_{40}O_6SNa^+$ $[M+Na]^+$ 671,2438, encontrado 671,2478.

Ejemplo 10: Síntesis de 3,4-di-*O*-bencil-2-*O*-levulinoil-6-*O*-(2-naftalenilmetil)-1-tio-β-D-glucopiranósido de etilo **(10*)**

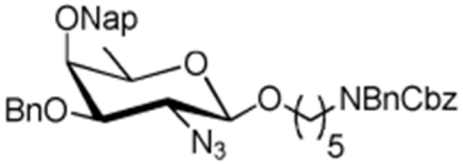
[0164]



[0165] A una solución de **9 x** (367 mg, 0,57 µmol) en DCM (5,0 ml) se añadió 0,5 M NaOMe en MeOH (5,0 ml) y se agitó durante 16 h. La mezcla se neutralizó con resina de intercambio iónico Amberlite® IR 120 (H^+), se filtró y se concentró. El residuo se disolvió en DCM (5,0 ml) junto con DMAP (7 mg, 0,06 mmol), ácido levulínico (81 ml, 0,79 µmol) y EDC (120 ml, 0,68 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 4 h, se concentró y se redisolvió en EtOAc. La capa orgánica se lavó con una solución sat. ac. NH_4Cl, $NaHCO_3$ sat. ac. y salmuera, luego se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó **10X** (271 mg, 0,42 µmol, 75%). $[\alpha]_D^{20}$ = - 1,0° (c = 1,5, $CHCl_3$), IR v_{max} (película) 3061, 3031, 2926, 2869, 1746, 1718, 1497, 1454, 1404, 1361, 1203, 1158, 1081, 1062 cm^1; ^{1}H-RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,89 - 7,73 (m, 4H), 7,55 - 7,42 (m, 3H), 7,41 - 6,97 (m, 10H), 5,11 - 5,02 (m, 1H), 4,82 -4,69 (m, 5H), 4,56 (d, *J* = 10,8 Hz, 1H), 4,39 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 3,82 - 3,68 (m, 4H), 3,53 (ddd, *J* = 9,2, 4,6, 2,1 Hz, 1H), 2,80 - 2,64 (m, 4H), 2,60 - 2,46 (m, 2H), 2,16 (s, 3H), 1,28 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206,2, 171,6, 138,3, 137,9, 135,7, 133,3, 133,1, 128,4 (2C), 128,3, 128,2, 128,0 (2C), 127,9 (3C), 127,8 (2C), 126,5, 126,2, 125,9, 125,8, 84,4, 83,5, 79,5, 77,9, 75,2, 75,1, 73,6, 72,3, 68,9, 38,0, 29,9, 28,2, 24,0, 15,0; HRMS (MALDITOF): calculado para $C_{38}H_{42}O_7SNa^+$ $[M+Na]^+$ 665,2543, encontrado 665,2558.

Ejemplo 11: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 2-azido-3-*O*-bencil-2-desoxi-4-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-fucopiranósido **(11*)**

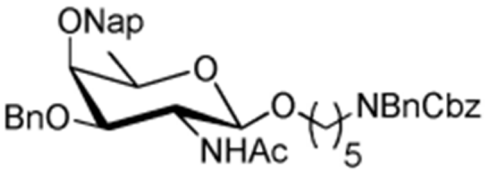
[0166]



[0167] A una solución de **6*** (50 mg, 78 µmol) en DMF (4 ml) a 0ºC, BnBr (28 mL, 240 mmol), TBAI (3 mg, 8 µmol) y se añadió NaH (3 mg, 125 mmol). Después de 3 h, la reacción se inactivó con MeOH a 0ºC y se diluyó con Et_2O. La capa orgánica se lavó con 0,1 M solución ac. de HCl, $NaHCO_3$ sat. ac. y salmuera. Las capas orgánicas se secaron sobre $MgSO_4$ y se concentraron. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó **11 x** (32 mg, 44 µmol, 56%). $[\alpha]_D^{20}$ = -24,2° (c = 1,6, $CHCl_3$); IR v_{max} (película) 3031, 2935, 2110, 1697, 1496, 1454, 1421, 1362, 1230, 1172, 1111, 1068 cm^{-1}; ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,42 (s, 22 H), 5,19 (d, *J* = 12,8 Hz, 2H), 5,09 (d, *J* = 11,9 Hz, 1H), 4,86 (d, *J* = 11,9 Hz, 1H), 4,79 -4,68 (m, 2H), 4,51 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 4,22 -4,11 (m, 1H), 3,96 - 3,80 (m, 2H), 3,58 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 3,51 - 3,36 (m, 2H), 3,34 - 3,17 (m, 3H), 1,67 - 1,47 (m, 4H), 1,46 - 1,28 (m, 2H), 1,21 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 138,0, 137,9, 135,8, 133,2, 133,1, 128,6 (2C), 128,6, 128,1 (2C), 128,0, 127,9, 127,8, 127,3, 126,8, 126,1, 126,0, 102,4, 81,1, 74,8, 74,7, 72,9, 70,6, 69,8, 67,2, 63,3, 50,6, 50,3, 47,2, 46,3, 29,3, 28,0, 27,6, 23,3, 17,1; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{44}H_{48}N_4O_6Na^+$ $[M+Na]^+$ 751,3466, encontrado 751,3417.

Ejemplo 12: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil *2-N*-acetil-3-*O*-bencil-2-desoxi-4-*O*-(*2*-naftalenilmetil)-β-D-fucosaminopiranósido **(12*)**

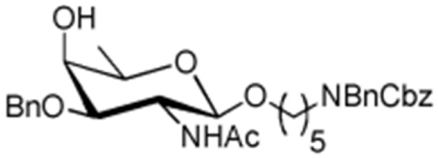
[0168]



[0169] De acuerdo con el procedimiento general (F), azido-monosacárido **11*** (32 mg, 44 µmol) se hizo reaccionar con ácido tioacético durante 24 h para dar **12*** (26 mg, 35 µmol, 80%). $[\alpha]_D^{20}$ = + 8,8° (c = 1,4, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 3288, 3062, 2933, 1698, 1654, 1555, 1496, 1454, 1422, 1366, 1308, 1231, 1173, 1113, 1068 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,93 - 7,08 (m, 22 H), 5,17 (d, *J* = 15,1 Hz, 2H), 5,06 (d, *J* = 11,9 Hz, 1H), 4,95 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 4,84 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 4,72 - 4,63 (m, 1H), 4,60 - 4,32 (m, 4H), 3,92 - 3,72 (m, 1H), 3,65 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 3,57 (q, *J* = 6,3 Hz, 1H), 3,53 - 3,32 (m, 2H), 3,32 - 3,09 (m, 2H), 1,98 - 1,79 (m, 3H), 1,63 - 1,41 (m, 4H), 1,33 - 1,16 (m, 5H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 171,1, 138,0, 133,2, 133,0, 128,6, 128,1, 128,0 (2C), 127,9, 127,8, 127,3, 127,0, 126,7, 126,1, 125,9, 99,4, 78,2, 75,5, 74,7, 72,6, 70,4, 69,5, 67,2, 55,5, 50,3, 47,3, 29,1, 27,5, 23,8, 23,5, 17,3; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_4sH_{52}N_2O_7Na^+$ $[M+Na]^+$ 767,3667, encontrado 767,3575.

Ejemplo 13: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil *2-N*-acetil-3-*O*-bencil-2-desoxi-β-D-fucosaminopiranósido **(13*)**

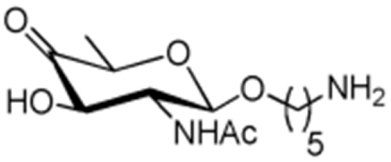
[0170]



[0171] Según procedimiento general (G), se hizo reaccionar monosacárido **12*** (20 mg, 27 µmol) con DDQ (12 mg, 53 µmol) en DCM/H_2O para dar alcohol **13*** (12 mg, 20 µmol, 74%). $[\alpha]_D^{20}$ = + 13,9° (c = 1,2, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 3298, 3032, 2934, 1697, 1657, 1554, 1497, 1454, 1423, 1369, 1303, 1229, 1173, 1069 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,53 - 7,07 (m, 15 H), 5,16 (d, *J* = 18,4 Hz, 2H), 4,85 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 4,67 (d, *J* = 11,7 Hz, 1H), 4,59 - 4,42 (m, 3H), 4,31 - 4,15 (m, 1H), 3,92 - 3,72 (m, 2H), 3,61 (q, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,45 - 3,10 (m, 4H), 2,34 (s, 1H), 1,99 - 1,80 (m, 3H), 1,64 - 1,43 (m, 4H), 1,36 - 1,20 (m, 5H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 170,9, 138,0, 128,7, 128,6, 128,1 (2C), 127,9, 127,4, 127,3, 99,4, 77,4, 76,7, 71,9, 70,0, 69,5, 68,7, 67,3, 54,6, 50,5, 50,3, 47,4, 29,3, 29,0, 27,5, 23,8, 23,6, 16,7; HRMS (MALDI-TOF): Calculado para $C_{35}H_{77}N_2O_7Na^+$ $[M+Na]^+$ 627,3041, encontrado 627,2969.

Ejemplo 14: Síntesis de 5-amino-oxopentanil 2-acetamido-2,5-didesoxi β-D-*xilo*hexos-4-ulósido **(14*)**

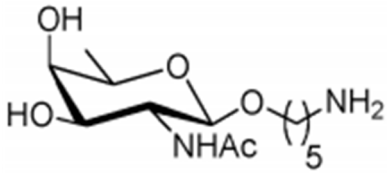
[0172]



[0173] A una solución de alcohol **13*** (12 mg, 20 µmol) en DCM (2 ml) se añadió periodinano de Dess Martin (17 mg, 40 µmol) y se agitó durante 12 h. La mezcla de reacción se cargó en una columna de gel de sílice y se purificó mediante cromatografía en columna (hexanos/acetona) para dar la cetona protegida bruta. De acuerdo con el procedimiento general (I), la cetona protegida cruda se sometió a hidrogenólisis para dar **14*** como componente minoritario en una mezcla de compuestos. HRMS (ESI): calculado para $C_{13}H_{26}N_2O_6Na^+$ $[M+H_2O+Na]^+$ 329,1689, encontrado 329,1479.

Ejemplo 15: Síntesis de 5-amino-pentanil 2-*N*-acetil-2-desoxi-β-D-fucosaminopiranósido **(15*)**

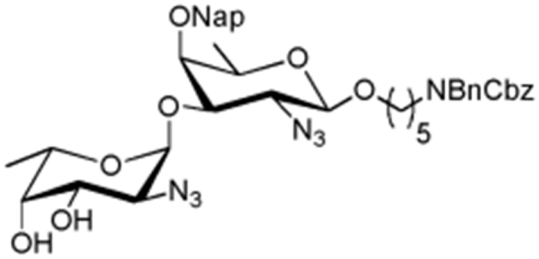
[0174]



[0175] Según el procedimiento general (I), D-fucosaminosido **12*** (7 mg, 9 µmol) se sometió a hidrogenólisis para dar **15*** (2,5 mg, 8,6 µmol, 92%). ^{1}H RMN (600 MHz, D_2O) δ 4,43 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 3,94 - 3,81 (m, 2H), 3,80 - 3,68 (m, 3H), 3,64 - 3,56 (m, 1H), 3,06 - 2,96 (m, 2H), 2,05 (s, 3H), 1,69 (dt, *J* = 15,2, 7,6 Hz, 2H), 1,63 - 1,57 (m, 2H), 1,45 - 1,37 (m, 2H), 1,28 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (150 MHz, D_2O) δ 177,2, 104,1, 73,8, 73,5, 73,1, 72,6, 54,8, 41,9, 30,8, 29,0, 24,8, 24,7, 18,1; HRMS (ESI): calculado para $C_{13}H_{27}N_2O_5^+$ $[M+H]^+$ 291,1920, encontrado 291,1925.

Ejemplo 16: Síntesis de *N*-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 2-azido-2-desoxi-α-L-fucopiranosil-(1→3)-2-azido-2-desoxi-4-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-fucopiranósido **(16*)**

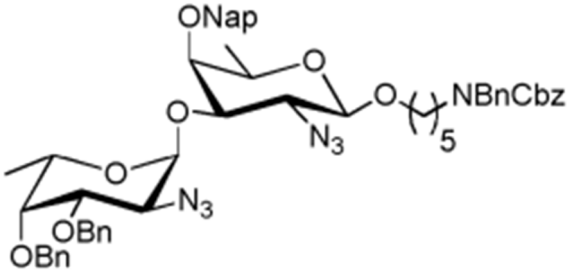
[0176]



[0177] De acuerdo con el procedimiento general (E), tricloroacetimidato de 2-azido-3,4-di-O-bencil-2-desoxi-α-L-fucopiranosilo (140 mg, 335 µmol) y **6*** (100 mg, 157 µmol) se hicieron reaccionar en DCM (2 ml) a -20°C a -15°C durante 30 min para dar el disacárido crudo. A una solución del disacárido bruto en DCM/MeOH (1:1, 2 ml) se le añadió 0,5 M NaOMe en MeOH (0,1 ml) y se agitó durante 16 h. La mezcla se neutralizó con resina de intercambio iónico Amberlite® IR 120 (H^+), se filtró y se concentró. La cromatografía en columna (DCM/MeOH/acetona) proporcionó el disacárido **16*** (110 mg, 136 µmol, 87%). $[\alpha]_D^{20}$ = -41,6° (c = 1,5, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 3328, 2936, 2119, 1697, 1422, 1255, 1095, 1070, 1028 cm^{-1}; ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,94 - 7,72 (m, 4H), 7,59 - 7,44 (m, 3H), 7,41 - 7,03 (m, 10 H), 5,24 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 5,17 (d, *J* = 12,9 Hz, 2H), 4,99 (d, *J* = 12,2 Hz, 1H), 4,80 (d, *J* = 12,2 Hz, 1H), 4,49 (d, *J* = 6,9 Hz, 2H), 4,21 (t, *J* = 9,3 Hz, 1H), 3,99 - 3,84 (m, 2H), 3,59 - 3,39 (m, 6H), 3,31 - 3,12 (m, 4H), 2,30 (s, 2H), 1,69 - 1,47 (m, 4H), 1,43 - 1,27 (m, 5H), 1,10 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 136,0, 133,2, 133,1, 128,6, 128,3, 128,0, 127,9, 127,8, 127,4, 126,8, 126,6, 126,5, 126,3, 102,8, 99,9, 79,1, 78,2, 75,6, 71,4, 71,0, 69,9, 67,9, 67,3, 66,3, 63,8, 59,7, 50,6, 50,3, 47,2, 46,3, 29,3, 23,3, 17,3, 16,2; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{43}H_{51}N_7O_9Na^+$ $[M+Na]^+$ 832,3640, encontrado 832,3676.

Ejemplo 17: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanilo 3,4-di-O-bencil-2-azido-2-desoxi-α-L-fucopiranosil-(1→3)-2-azido-2-desoxi-4-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-fucopiranósido **(17*)**

[0178]

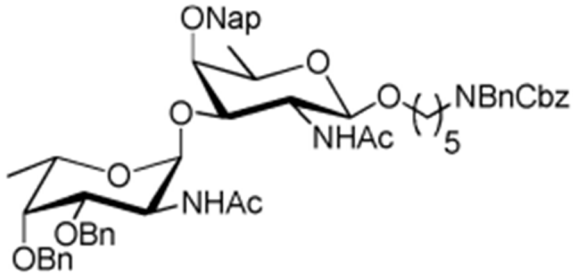


[0179] A una solución de diol **16*** (87 mg, 107 µmol) en DMF (5 ml) a 0ºC, se añadieron BnBr (77 ml, 645 mmol), TBAI (4 mg, 11 µmol) y NaH (8 mg, 333 mmol). Después de 3 h, la reacción se inactivó con MeOH a 0ºC y se diluyó con Et_2O. La capa orgánica se lavó con 0,1 M solución ac. de HCl, $NaHCO_3$ sat. ac. y salmuera. Las capas orgánicas se secaron sobre

$MgSO_4$ y se concentraron. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó **17*** (88 mg, 89 µmol, 83%). $[\alpha]_D^{20}$ = -50,2° (c = 1,4, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 2937, 2114, 1697, 1496, 1454, 1421, 1360, 1233, 1171, 1103, 1068, 1038 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,92 - 7,72 (m, 4H), 7,63 - 7,07 (m, 23H), 5,22 (d, *J = 3,7* Hz, 1H), 5,18 (d, *J* = 13,1 Hz, 2H), 4,95 (d, *J* = 12,1 Hz, 1H), 4,83 (dd, *J* = 12,5 Hz, 2H), 4,57 - 4,36 (m, 5 H), 4,21 (dd, *J* = 11,6, 8,1 Hz, 1H), 4,02 - 3,84 (m, 2H), 3,75 (dd, *J* = 10,8, 3,5 Hz, 1H), 3,64 - 3,40 (m, 6H), 3,33 - 3,15 (m, 3H), 1,70 - 1,49 (m, 4H), 1,43 - 1,26 (m, 5H), 1,00 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 138,1, 137,6, 136,0, 133,2, 133,0, 128,6, 128,5, 128,4, 128,3, 128,0, 127,9 (2C), 127,8, 127,3, 126,5, 126,4, 126,2, 102,7, 100,4, 79,4, 78,9, 75,8, 75,7, 74,9, 72,2, 70,9, 70,0, 67,2, 63,9, 59,4, 50,6, 50,3, 47,2, 46,3, 29,3, 28,0, 27,5, 23,3, 17,3, 16,8; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{57}H_{63}N_7O_9Na^+$ $[M+Na]^+$ 1012,4579, encontrado 1012,4502.

Ejemplo 18: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanilo *2-N*-acetil-3,4-di-*O*-bencil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetilo-4-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-fucosaminopiranoside **(18*)**

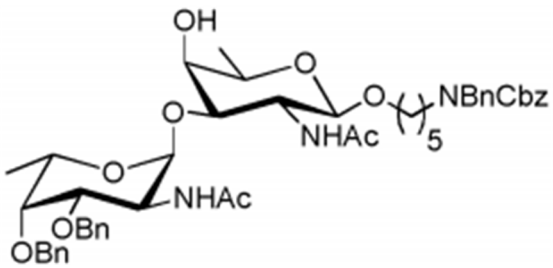
[0180]



De acuerdo con el procedimiento general (F), azido-disacárido **17*** (88 mg, 89 µmol) se hizo reaccionar con ácido tioacético para 24 h para dar **18*** (82 mg, 80 µmol, 90%). $[\alpha]_D^{20}$ = -21,0° (c = 1,2, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 3314, 2933, 1682, 1497, 1454, 1366, 1304, 1233, 1172, 1104, 1063, 1029 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,91 - 7,71 (m, 4H), 7,55 - 7,04 (m, 23H), 5,21 - 5,08 (m, 2H), 5,00 -4,62 (m, 5H), 4,60 -4,40 (m, 4H), 4,35 -4,00 (m, 3H), 3,90 - 3,66 (m, 3H), 3,57 - 3,09 (m, 7H), 2,07 - 1,84 (m, 6H), 1,65 - 1,40 (m, 4H), 1,36 - 1,15 (m, 5H), 1,05 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 171,4, 170,8, 133,2, 132,9, 128,6, 128,5, 128,4 (2C), 128,3, 128,2, 128,0, 127,9, 127,8, 127,6, 127,5, 127,4, 127,3, 126,4, 126,1, 126,0, 125,5, 101,4, 100,5, 78,5, 75,5, 74,3, 72,2, 70,7, 68,5, 67,6, 67,2, 52,0, 50,5, 48,1, 47,6, 29,2, 28,7, 23,6, 23,5, 17,4, 17,0; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{61}H_{71}N_3O_{11}Na^+$ $[M+Na]^+$ 1044,4981, encontrado 1044,4917.

Ejemplo 19: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanilo *2-N*-acetil-3,4-di-*O*-bencil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-β-D-fucosaminopiranosido **(19*)**

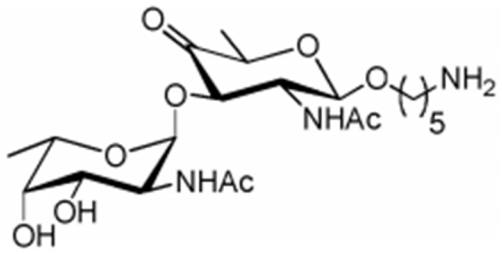
[0181]



[0182] Según el procedimiento general (G), disacárido **18*** (46 mg, 45 µmol) se hizo reaccionar con DDQ (30 mg, 132 µmol) en DCM/H_2O para dar alcohol **19*** (30 mg, 34 µmol, 76%). $[\alpha]_D^{20}$ = -35,7° (c = 1,0, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 3290, 3088, 2932, 1702, 1646, 1548, 1497, 1454, 1422, 1372, 1304, 1227, 1101, 1063, 1024 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,41 - 7,14 (m, 20 H), 5,22 - 5,07 (m, 2H), 5,01 -4,85 (m, 2H), 4,84 - 4,31 (m, 6H), 4,29 - 4,18 (m, 1H), 4,11 - 3,89 (m, 2H), 3,87 - 3,38 (m, 6H), 3,36 - 3,04 (m, 3H), 2,00 (s, 3H), 1,91 (s, 3H), 1,63 - 1,38 (m, 4H), 1,27 (d, *J* = 6,4 Hz, 5H), 1,17 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 170,8, 128,7, 128,6, 128,5, 128,4 (2C), 128,0, 127,6, 127,5, 127,4, 101,5, 101,1, 80,4, 78,4, 75,8, 74,8, 72,0, 71,5, 70,1, 68,8, 67,4, 67,3, 51,3, 50,6, 48,8, 47,6, 28,7, 27,0, 23,6, 23,5, 17,2, 16,5; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{50}H_{63}N_3O_{11}Na^+$ $[M+Na]^+$ 904,4355, encontrado 904,4344.

Ejemplo 20: Síntesis de 5-amino-pentanil 2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-2-acetamido-2,5-didesoxi-β-D-*xilo*-hexos-4-ulósido **(20*)**

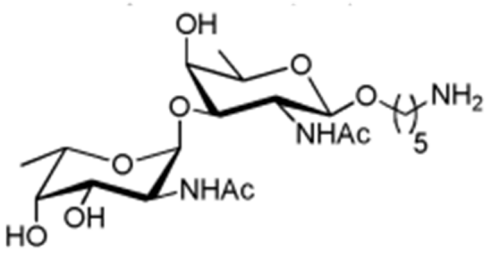
[0183]



[0184] A una solución de **19*** (9 mg, 10 µmol) en DCM (2 ml) se añadió periodinano de Dess Martin (9 mg, 9 µmol) y se agitó durante 12 h. La mezcla de reacción se cargó en una columna de gel de sílice y se purificó mediante cromatografía en columna (hexanos/acetona) para dar la cetona protegida bruta. De acuerdo con el procedimiento general (I), la cetona protegida bruta se sometió a hidrogenólisis para dar **20*** como una mezcla de compuestos (aproximadamente 2 mg, aproximadamente 4 µmol, aproximadamente 39%). ^{1}H RMN (600 MHz, D_2O) δ 5,02 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 4,49 (q, *J* = 6,5 Hz, 1H), 4,45 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 4,15 (dd, *J* = 11,2, 4,1 Hz, 1H), 3,99 (dd, *J* = 11,2, 3,2 Hz, 1H), 3,92 - 3,83 (m, 3H), 3,66 - 3,54 (m, 3H), 3,01 - 2,97 (m, 2H), 2,06 (s, 3H), 1,98 (s, 3H), 1,70 - 1,64 (m, 2H), 1,61 - 1,55 (m, 2H), 1,42 - 1,36 (m, 2H), 1,29 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 1,20 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (150 MHz, D_2O) δ 177,0, 176,4, 104,0, 100,9, 95,4, 81,4, 75,9, 73,7, 72,8, 70,2, 69,9, 52,1, 42,0, 30,8, 29,1, 24,9, 24,8, 24,7, 17,9, 13,8; HRMS (ESI): calculado para $C_{21}H_{40}N_3O_{10}^+$ $[M+H_2O+H]^+$ 494,2714, encontrado 494,2740.

Ejemplo 21: Síntesis de 5-amino-pentanil 2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-β-D-fucosaminopiranósido **(21***)

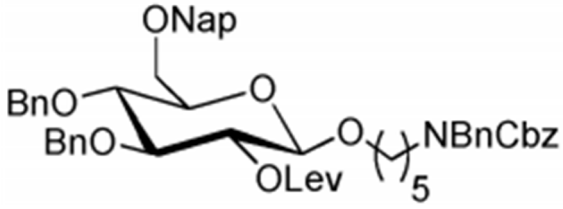
[0185]



[0186] De acuerdo con el procedimiento general (I), disacárido **20*** (7 mg, 7 µmol) se sometió a hidrogenolisis para dar **21*** (2,73 mg, 5,7 µmol, 83 %). ^{1}H RMN (600 MHz, D_2O) δ 5,00 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 4,41 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 4,15 - 4,09 (m, 2H), 4,01 - 3,94 (m, 2H), 3,89 (dt, *J* = 10,2, 6,0 Hz, 1H), 3,85 (d, *J* = 3,0 Hz, 1H), 3,82 - 3,74 (m, 3H), 3,58 (dt, *J* = 10,1, 6,4 Hz, 1H), 3,04 - 2,96 (m, 2H), 2,05 (s, 3H), 2,00 (s, 3H), 1,72 - 1,64 (m, 2H), 1,63 - 1,55 (m, 2H), 1,44 - 1,36 (m, 2H), 1,28 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 1,24 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (150 MHz, D_2O) δ 176,8, 176,7, 104,2, 101,6, 79,4, 73,6, 73,3, 73,1, 72,7, 70,1, 69,7, 54,0, 52,1, 41,9, 30,8, 29,1, 24,8 (2C), 24,7, 18,0 (2C); HRMS (ESI): calculado para $C_{21}H_{40}N_3O_9^+$ $[M+H]^+$ 478,2765, encontrado 478,2775.

Ejemplo 22: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 3,4-di-O-bencil-2-*O*-levulinoil-6-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-glucopiranósido **(22***)

[0187]

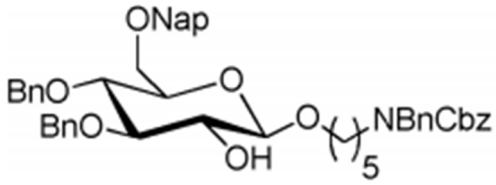


[0188] de acuerdo con el procedimiento general (B), tioglucósido **10*** (30 mg, 47 µmol) se hizo reaccionar con N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanol (31 mg, 93 mmol), NIS (13 mg, 56 µmol) y TfOH (0,8 ml, 9 µmol) en DCM (1 ml) de -30ºC a -20ºC durante 1 h. Después del tratamiento, la cromatografía en columna (hexanos/EtOAc) proporcionó

22 x (26 mg, 29 µmol, 61%). $[\alpha]_D^{20}$ = + 3,7° (c = 0,9, $CHCl_3$); IR v_{max} (película) 2924, 1747, 1698, 1454, 1421, 1362, 1210, 1153, 1071 cm^{-1}; ^{1}H-RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,84 - 7,76 (m, 4H), 7,26 (s, 22H), 7,09 - 7,05 (m, 2H), 5,21 - 5,13 (m, 3H), 4,98 (t, J = 8,6 Hz, 1H), 4,77 (d, J = 10,9 Hz, 3H), 4,70 (d, J = 11,6 Hz, 2H), 4,53 -4,44 (m, 4H), 4,37 - 4,27 (m, 1H), 3,85 - 3,59 (m, 5H), 3,53 - 3,11 (m, 3H), 2,82 - 2,39 (m, 4H), 2,17 - 2,03 (m, 2H), 1,62 - 1,43 (m, 8H), 1,37 - 1,17 (m, 3H)); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 171,5, 138,4, 133,4, 133,1, 128,7, 128,5, 128,3, 128,1 (2C), 128,0, 127,9, 127,8 (2C), 126,7, 126,2, 126,0, 101,1, 83,0, 78,1, 75,2 (2C), 75,1, 73,7 (2C), 69,6, 68,8, 67,3, 50,3, 47,2, 37,9, 30,0, 29,3, 28,1, 23,3; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{56}H_{61}NO_{10}Na^+$ $[M+Na]^+$ 930,4188, encontrado 930,4190.

Ejemplo 23: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 3,4-di-O-bencil-6-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-glucopiranósido **(23*)**

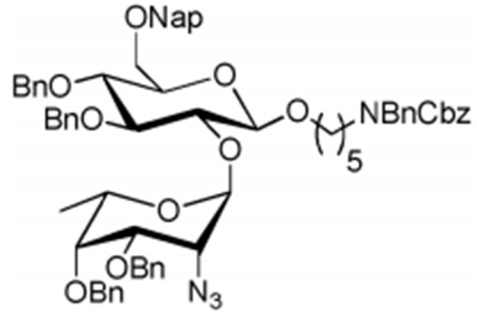
[0189]



[0190] A una solución de **22*** (13 mg, 14 µmol) en DCM (1 ml) hidrato de hidrazina (2,8 ml, 57 µmol) disuelto en AcOH (40 ml) y piridina (60 ml) se añadió y la solución se agitó durante 1 h. Después, la reacción se detuvo mediante la adición de acetona y se concentró. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó **23 x** (10 mg, 12 µmol, 86%). $[\alpha]_D^{20}$ = + 4,9° (c = 1,0, $CHCl_3$); IR v_{max} (película) 2926, 1698, 1454, 1230, 1063 cm^{-1}; ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,84 - 7,01 (m, 27 H), 5,16 (d, *J* = 9,8 Hz, 2H), 4,93 (t, *J* = 11,1 Hz, 1H), 4,81 (dd, *J* = 11,0, 6,1 Hz, 2H), 4,75 (d, *J* = 12,4 Hz, 1H), 4,67 (d, *J* = 12,4 Hz, 1H), 4,51 -4,43 (m, 3H), 4,26 -4,17 (m, 1H), 4,02 - 3,79 (m, 2H), 3,78 - 3,67 (m, 2H), 3,60 - 3,44 (m, 4H), 3,30 - 3,12 (m, 2H), 1,66 - 1,43 (m, 4H), 1,38 - 1,19 (m, 2H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 138,0, 135,7, 133,4, 133,1, 128,7, 128,6, 128,5, 128,3, 128,1, 128,0 (2C), 127,8, 127,3, 126,8, 126,2, 126,0, 103,1, 84,7, 77,7, 75,3, 75,2, 74,8, 73,7, 70,1, 69,9, 69,0, 67,3, 50,3, 47,2, 46,2, 32,4, 29,3, 27,5, 23,5; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{51}H_{55}NO_8Na^+$ $[M+Na]^+$ 832,3820, encontrado 832,3870.

Ejemplo 24: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 2-azido-3,4-di-*O*-bencil-2-desoxi-α-L-neumopiranosil-(1→2)-3,4-di-*O*-bencil-6-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-glucopiranósido **(24*)**

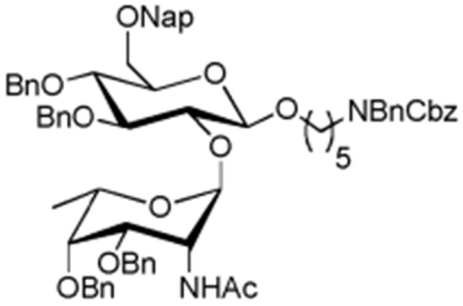
[0191]



[0192] De acuerdo con el procedimiento general (E), pneumosil-imidato **8*** (12 mg, 23 µmol) y **23*** (10 mg, 12 µmol) se hicieron reaccionar en DCM (1 ml) de -30°C a -20°C durante 30 min para dar **24*** (13 mg, 11 µmol, 91%). $[\alpha]_D^{20}$ = -0,7° (c = 0,7, $CHCl_3$); IR v_{max} (película) 2929, 2868, 2112, 1697, 1496, 1454, 1421, 1361, 1229, 1126, 1057 cm^{-1}; ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,86 - 7,72 (m, 4H), 7,50 - 7,43 (m, 3H), 7,41 - 7,02 (m, 30 H), 5,24 - 5,08 (m, 3H), 4,93 (dd, *J* = 30,9, 11,5 Hz, 2H), 4,77 - 4,44 (m, 10 H), 4,26 -4,08 (m, 2H), 3,85 - 3,67 (m, 4H), 3,66 - 3,51 (m, 5H), 3,47 - 3,29 (m, 2H), 3,25 - 3,09 (m, 2H), 1,61 - 1,38 (m, 4H), 1,32 - 1,03 (m, 5H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 137,9, 133,4, 133,1, 128,8, 128,7 (2C), 128,6 (2C), 128,4, 128,2, 128,1, 128,0, 127,9, 127,8, 127,2, 126,8, 126,3, 126,0 (2C), 101,8, 99,2, 78,7, 77,4, 75,7, 75,1 (2C), 73,8 (2C), 70,9, 68,9, 67,3, 66,9, 29,5, 23,4, 17,0; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{71}H_{76}N_4O_{11}Na^+$ $[M+Na]^+$ 1183,5403, encontrado 1183,5391.

Ejemplo 25: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil *2-N*-acetil-3,4-di-*O*-bencil-α-L-neumosaminopiranosil-(1→2)-3,4-di -*O*-bencil-6-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-glucopiranósido **(25*)**

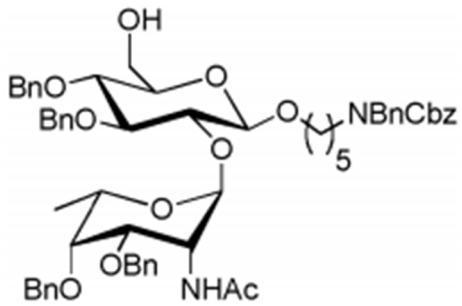
[0193]



[0194] De acuerdo con el procedimiento general (F), azido-disacárido **24*** (13 mg, 11 µmol) se hizo reaccionar con ácido tioacético durante 24 h para dar **25*** (10 mg, 8 µmol, 76%). $[\alpha]_D^{20}$ = -31,1° (c = 1,0, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 2930, 1698, 1497, 1454, 1363, 1229, 1056 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,85 - 7,73 (m, 4H), 7,49 - 7,43 (m, 3H), 7,35 - 7,12 (m, 28 H), 7,08 - 7,02 (m, 2H), 7,01 - 6,94 (m, 1H), 5,28 (s, 1H), 5,21 - 5,13 (m, 2H), 4,90 -4,81 (m, 3H), 4,77 - 4,67 (m, 5H), 4,60 -4,54 (m, 1H), 4,51 - 4,30 (m, 5H), 4,28 - 4,20 (m, 1H), 3,90 - 3,78 (m, 2H), 3,76 - 3,57 (m, 6H), 3,49 - 3,43 (m, 1H), 3,38 (s, 1H), 3,28 - 3,14 (m, 2H), 1,65 (s, 3H), 1,58 - 1,45 (m, 4H), 1,30 - 1,16 (m, 5 H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 169,8, 138,5, 138,3, 137,9, 135,7, 133,4, 133,2, 128,7 (2C), 128,5 (3C), 128,3 (2C), 128,2, 128,1, 128,0 (3C), 127,9, 127,7, 127,6, 126,8, 126,3, 126,0, 102,0, 100,3, 86,0, 79,0, 78,5, 77,4, 75,6 (2C), 75,1, 75,0, 73,8, 73,3, 70,0, 69,0, 67,3, 66,6, 50,7, 50,4, 47,6, 29,6, 27,7, 23,5, 23,3, 16,8; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{73}H_{80}N_2O_{12}Na^+$ $[M+Na]^+$ 1199,5603, encontrado 1199,5599.

Ejemplo 26: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil *2-N*-acetil-3,4-di-*O*-bencil-α-L-neumosaminopiranosil-(1→2)-3,4-di-*O*-bencil-β-D-glucopiranósido **(26*)**

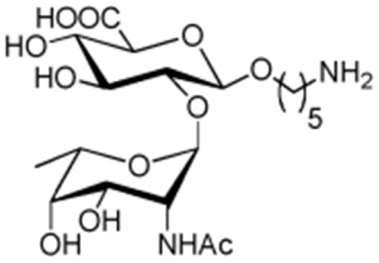
[0195]



[0196] Según el procedimiento general (G), disacárido **25*** (10 mg, 8 µmol) se hizo reaccionar con DDQ (6 mg, 25 µmol) durante 4 h para dar alcohol primario **26*** (7 mg, 7 µmol, 79%). $[\alpha]_D^{20}$ =-34,5° (c = 0,7, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 3404, 2925, 1697, 1497, 1454, 1421, 1362 1260, 1027 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,39 - 7,16 (m, 30 H), 7,04 - 6,93 (m, 1H), 5,28 (s, 1H), 5,23 - 5,14 (m, 2H), 4,92 - 4,83 (m, 3H), 4,80 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H), 4,72 (d, *J* = 12,2 Hz, 2H), 4,63 - 4,55 (m, 2H), 4,53 - 4,47 (m, 2H), 4,45 - 4,37 (m, 1H), 4,35 - 4,23 (m, 2H), 3,90 - 3,72 (m, 3H), 3,72 - 3,53 (m, 5H), 3,47 - 3,30 (m, 2H), 3,29 - 3,14 (m, 2H), 1,66 (s, 3H), 1,58 - 1,45 (m, 4H), 1,30 - 1,16 (m, 5 H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 169,8, 138,5, 138,2, 138,0, 128,7 (3C), 128,5 (2C), 128,3, 128,2 (2C), 128,1, 128,0, 127,7, 127,6, 102,0, 100,4, 85,7, 78,9, 78,1, 77,4, 75,8, 75,6, 75,1, 73,2, 70,0, 67,4, 66,7, 62,1, 50,5, 47,6, 47,2, 29,4, 28,1, 27,4, 23,3, 16,7; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{62}H_{72}N_2O_{12}Na^+$ $[M+Na]^+$ 1059,4977, encontrado 1059,4938.

Ejemplo 27: Síntesis de 5-amino-pentanil 2-*N*-acetil-α-L-neumosaminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosiluronato **(27*)**

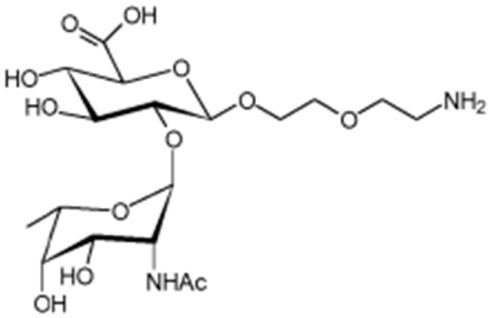
[0197]



[0198] Según el procedimiento general (H), se hizo reaccionar alcohol **26*** (6 mg, 6 µmol) con TEMPO (0,2 mg, 2 µmol) y BAIB (9 mg, 30 µmol) para dar el disacárido uronato protegido. De acuerdo con el procedimiento general (I), el disacárido de uronato se sometió a hidrogenólisis para dar **27*** (1,6 mg, 3,4 µmol, 59%). ^{1}H-RMN (600 MHz, D_2O) δ 5,15 (s, 1H), 4,55 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 4,33 (q, *J* = 6,7 Hz, 1H), 4,23 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 4,09 (dd, *J* = 4,8, 3,2 Hz, 1H), 3,92 (dt, *J* = 10,0, 6,9 Hz, 1H), 3,85 - 3,81 (m, 1H), 3,74 - 3,65 (m, 3H), 3,55 - 3,50 (m, 1H), 3,43 (dd, *J* = 9,0, 8,0 Hz, 1H), 3,00 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 2,06 (s, 3H), 1,73 - 1,66 (m, 4H), 1,49 - 1,42 (m, 2H), 1,26 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (150 MHz, D_2O) δ 178,4, 176,74, 103,6, 102,6, 80,8, 78,8, 78,7, 74,3, 73,6, 72,7, 69,9, 66,5, 53,8, 42,0, 30,9, 28,9, 25,0, 24,7, 18,1; HRMS (ESI): calculado para $C_{19}H_{34}N_2O_{11}Na^+$ $[M+Na]^+$ 489,2060, encontrado 489,2060.

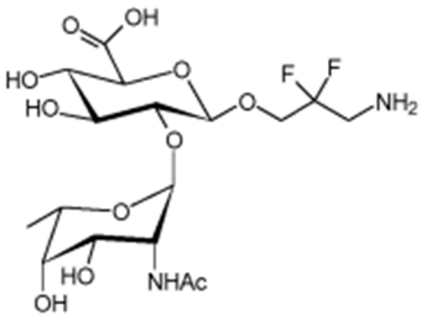
[0199] Los compuestos **27a*27*e** constituyen ejemplos adicionales de acuerdo con la presente invención que se puede obtener siguiendo el procedimiento descrito para el compuesto **27:**

27*a 2-(2-aminoetoxi)etil 2-*N*-Acetil-α-L-neumosaminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosiluronato



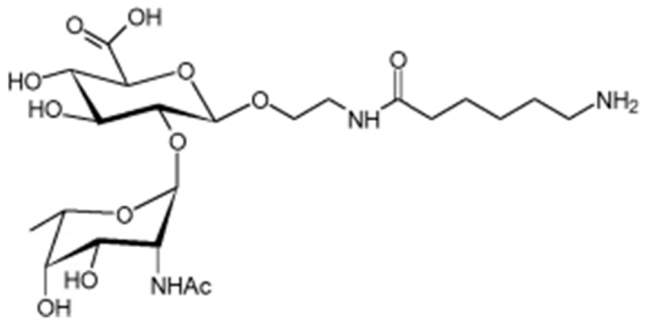
Fórmula química: $C_{18}H_{32}N_2O_{12}$, Masa exacta: 468,1955.

27*b 3-amino-2,2-difluoropropilo 2-*N*-acetil-α-L-pneumosaminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosiluronato



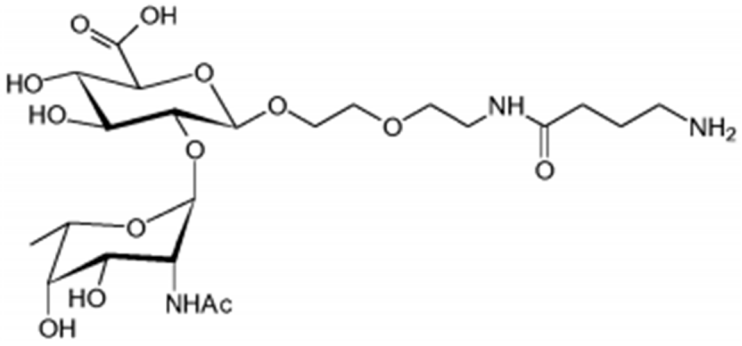
fórmula química: $C_{17}H_{28}F_2N_2O_{11}$; Masa exacta: 474,1661.

27*c *N*-(2-*N*-acetil-α-L-neumosaminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosiluronato etil)-6-amino-hexanamida



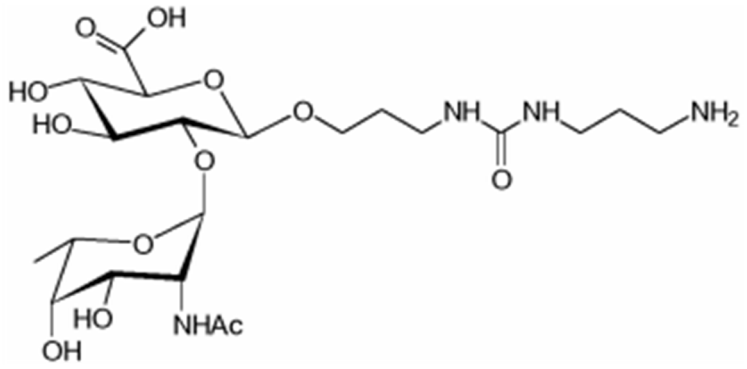
Fórmula química: $C_{22}H_{39}N_3O_{12}$, Masa exacta: 537,2534.

27*d *N*-(2-*N*-acetil-α-L-neumosaminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosiluronil 2-etoxietil)-3-aminopropanamida



Fórmula química: $C_{22}H_{39}N_3O_{12}$; Masa exacta: 537,2534.

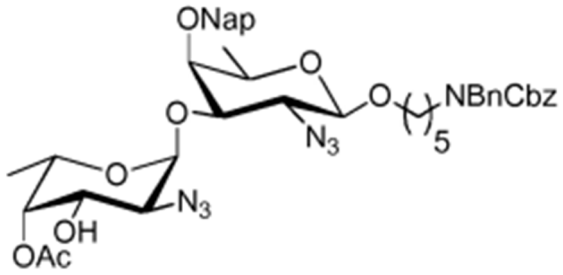
27*e 3-(3-aminopropil) ureido-propil 2-*N*-acetil-α-L-neumosaminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosiluronato



Fórmula química: $C_{21}H_{38}N_4O_{12}$; Masa exacta: 538,2486.

Ejemplo 28: Síntesis de *N*-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanilo 4-*O*-acetil-2-azido-2-desoxi-α-L-fucopiranosil-(1→3)-2-azido-2-desoxi-4-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-fucopiranósido **(28***)

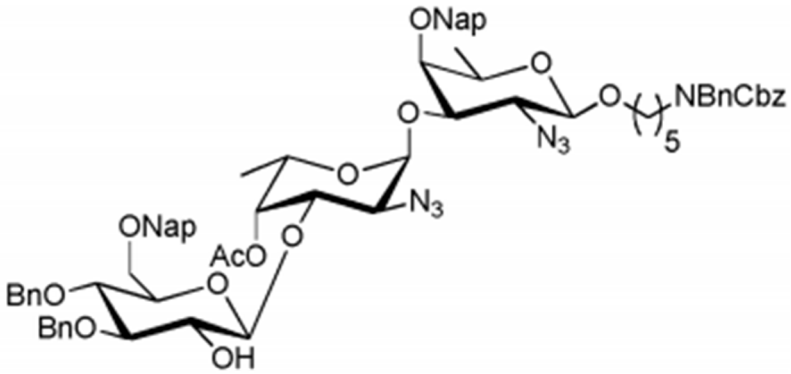
[0200]



[0201] A una solución del disacárido **16*** (110 mg, 136 µmol) en DMF (1 ml) se añadió ortoacetato de trimetilo (104 µl, 815 µmol) y *p*-TSA (4 mg, 21 µmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 30 min. Se añadió trietilamina (2 gotas) y el disolvente se eliminó al vacío usando tolueno como azeótropo. El residuo bruto se recogió en ácido acético al 80% (3 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h. El disolvente se eliminó al vacío y se destiló azeotrópicamente con tolueno. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/EtOAc) proporcionó **28*** (92 mg, 108 µmol, 80%). $[\alpha]_D^{20}$ = -50,9° (c = 1,3, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 3436, 2937, 2114, 1743, 1696, 1423, 1363, 1232, 1165, 1125, 1093, 1070, 1036 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,95 - 7,74 (m, 4H), 7,59 - 7,47 (m, 3H), 7,41 - 7,10 (m, 10 H), 5,24 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 5,17 (d, *J* = 13,3 Hz, 2H), 5,05 (d, *J* = 12,4 Hz, 1H), 4,74 (d, *J* = 12,4 Hz, 1H), 4,49 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 4,41 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 4,21 (dd, *J* = 11,2, 8,3 Hz, 1H), 4,01 - 3,84 (m, 2H), 3,60 - 3,37 (m, 6H), 3,31 - 3,16 (m, 3H), 2,09 (s, 3H), 1,67 - 1,48 (m, 4H), 1,44 - 1,27 (m, 5H), 0,94 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 171,3, 138,0, 136,0, 133,1 (2C), 128,6, 128,4, 127,9, 127,8, 127,3, 126,9, 126,8, 126,7, 126,5, 102,7, 99,8, 79,2, 78,1, 75,8, 72,7, 71,0, 70,0, 67,2, 66,5, 65,4, 63,9, 59,6, 50,6, 50,3, 47,2, 46,3, 29,3, 28,0, 27,5, 23,3, 20,8, 17,3, 16,1; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{45}H_{53}N_7O_{10}Na^+$ $[M+Na]^+$ 874,3746, encontrado 874,3737.

Ejemplo 29: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 3,4-di-*O*-bencil-6-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-glucopiranosil-(1→3)-4-*O*-acetil-2-azido-2-desoxi-α-L-fucopiranosil-(1→3)-2-azido-2-desoxi-4-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-fucopiranósido **(29***)

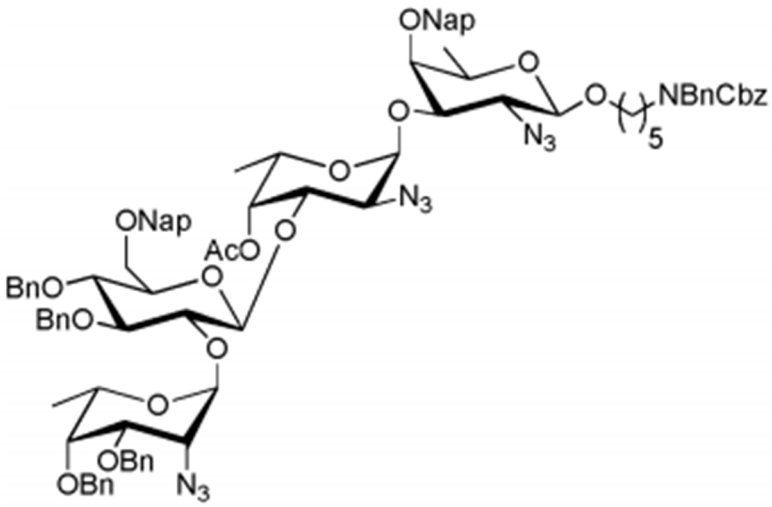
[0202]



[0203] De acuerdo con el procedimiento general (B), tioglucósido **10*** (se hizo reaccionar 75 mg, 117 µmol) con disacárido **28*** (50 mg, 59 mmol), NIS (29 mg, 129 µmol) y TfOH (1 µL, 12 µmol) en DCM (2 mL) de -20°C a -10°C durante 1 h para dar el trisacárido crudo. A una solución del trisacárido bruto en DCM (3 ml) se le añadió hidrato de hidrazina (11 ml, µmol) disuelto en AcOH (40 ml) y piridina (60 ml) y la solución se agitó durante 1 h. Después, la reacción se detuvo mediante la adición de acetona y se concentró. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó alcohol **29*** (72 mg, 54 µmol, 91%). $[\alpha]_D^{20}$ = -19,2° (c = 1,0, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 2936, 2115, 1697, 1454, 1360, 1235, 1069 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,87 - 7,72 (m, 8 H), 7,50 - 7,17 (m, 24 H), 7,10-7,03 (m, 2H), 5,33 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 5,19 (d, *J* = 12,8 Hz, 2H), 5,05 (d, *J* = 11,3 Hz, 1H), 4,98 (d, *J* = 12,3 Hz, 1H), 4,88 - 4,70 (m, 6H), 4,60 - 4,46 (m, 4H), 4,32 - 4,19 (m, 1H), 4,09 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,01 - 3,86 (m, 3H), 3,74 - 3,66 (m, 3H), 3,63 - 3,42 (m, 7H), 3,40 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 3,33 - 3,18 (m, 3H), 2,13 (s, 3H), 1,71 - 1,50 (m, 4H), 1,47 - 1,21 (m, 5H), 0,90 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 174,1, 138,4, 138,2, 138,0, 137,9, 135,6, 133,2, 133,0, 132,9, 128,5, 128,4, 128,3, 128,1 (2C), 128,0, 127,9, 127,8, 127,7 (2C), 127,6 (2C), 127,5, 127,3, 127,2, 126,7, 126,5, 126,4, 126,3, 126,1, 126,0, 125,7, 102,7, 100,3, 100,2, 85,1, 82,0, 77,9, 77,4, 77,0, 76,7, 75,5, 75,5, 75,0, 74,9, 74,5, 74,2, 73,4, 70,8, 69,8, 68,5, 67,1, 63,8, 58,1, 29,2, 27,9, 23,2, 17,1, 16,6; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{76}H_{83}N_7O_{15}Na^+$ $[M+Na]^+$ 1356,5839, encontrado 1356,5896.

Ejemplo 30: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanilo 2-azido-3,4-di-*O*-bencil-2-desoxi-α-L-neumopiranosil-(1→2)-3,4-di-*O*-bencil-6-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-glucopiranosil-(1→3)-4-*O*-acetil-2-azido-2-desoxi-α-L-fucopiranosil-(1→3)-2-azido-2-desoxi-4-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-fucopiranósido **(30***)

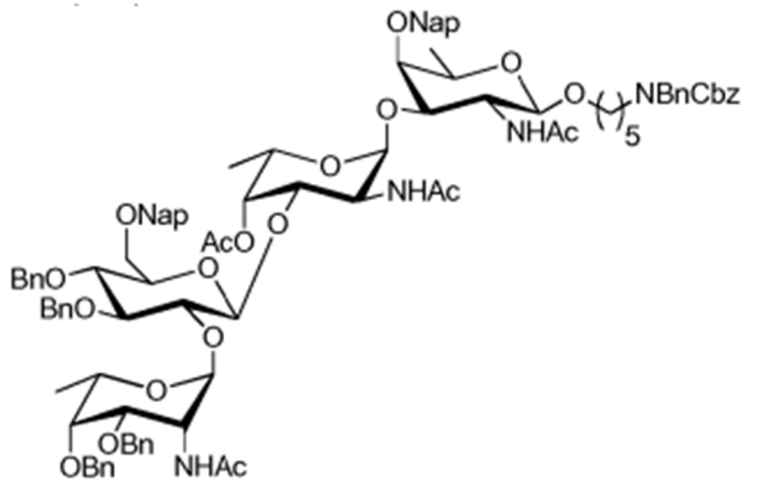
[0204]



[0205] Según el procedimiento general (E), imidato de neumosilo **8*** (100 mg, 196 µmol) y trisacárido **29*** (58 mg, 43 µmol) se hicieron reaccionar en DCM (2 ml) a -30°C a -20°C durante 30 min para dar tetrasacárido **30*** (40 mg, 24 µmol, 55%). $[\alpha]_D^{20}$ =-38,3° (c = 1,2, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 2936, 2114, 1744, 1697, 1496, 1454, 1361, 1231, 1065 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,85 - 6,94 (m, 44 H), 5,34 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H), 5,23 (s, 1H), 5,21 - 5,10 (m, 3H), 4,96 (dd, *J* = 11,8, 3,2 Hz, 2H), 4,88 (d, *J* = 11,3 Hz, 1H), 4,77 - 4,36 (m, 12 H), 4,27 - 4,14 (m, 2H), 4,08 - 3,99 (m, 1H), 3,95 - 3,85 (m, 2H), 3,81 - 3,76 (m, 1H), 3,74 - 3,60 (m, 5H), 3,58 - 3,37 (m, 8 H), 3,33 - 3,16 (m, 3H), 1,90 (s, 3H), 1,64 - 1,46 (m, 4H), 1,42 - 1,22 (m, 5H), 1,19 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 0,83 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 170,3, 138,4, 138,0, 137,9, 137,7, 135,6, 133,2, 133,1, 133,0, 128,9, 128,7, 128,6 (2C), 128,5, 128,4, 128,3, 128,2, 128,1, 128,0 (2C), 127,9, 127,8, 127,7, 127,4, 127,2, 126,8, 126,5, 126,4, 126,1, 125,9, 125,8,102,8,100,1, 98,6, 96,7, 84,8, 78,7, 78,5, 77,4, 76,0, 75,3, 75,1, 75,0, 74,7, 73,3, 71,0, 70,9, 69,9, 68,9, 68,7, 67,3, 65,7, 63,9, 57,4, 57,0, 29,3, 27,6, 23,3, 20,9, 17,6, 16,8, 16,3; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{96}H_{104}N_{10}O_{18}Na^+$ $[M+Na]^+$ 1707,7422, encontrado 1707,7445.

Ejemplo 31: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanilo *2-N*-acetil-3,4-di-*O*-bencil-α-L-neumosaminopiranosil-(1→2)-3,4-di-*O*-bencil-6-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-glucopiranosil-(1→3)-4-*O*-acetil-2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-4-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-fucosaminopiranoside **(31***)

[0206]

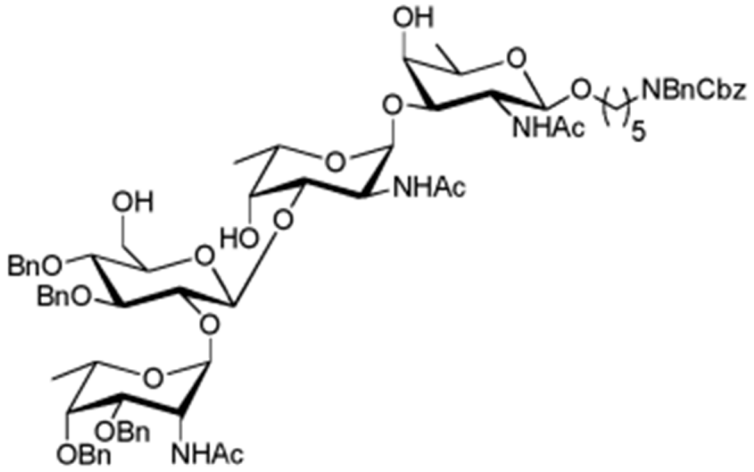


[0207] De acuerdo con el procedimiento general (F), azido-tetrasacárido **30*** (40 mg, 24 µmol) se hizo reaccionar con ácido tioacético durante 48 h para dar **31*** (31 mg, 18 µmol, 75%). $[\alpha]_D^{20}$ = -58,3° (c = 1,2, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 2963, 1740, 1674, 1519, 1454, 1365, 1260, 1234, 1025 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,89 - 6,61 (m, 44 H), 5,40 - 5,04 (m, 6H), 4,95 - 4,80 (m, 2H), 4,79 - 4,11 (m, 16 H), 4,10-3,92 (m, 2H), 3,91 - 3,73 (m, 4H), 3,74 - 3,54 (m, 4H), 3,54 - 3,31 (m, 4H), 3,30 - 3,02 (m, 4H), 2.00 (s, 3H), 1,90 - 1,85 (m, 3H), 1,68 (s, 3H), 1,58 - 1,38 (m, 4H), 1,38 - 1,23 (m, 5H), 1,20 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 1,10-1,00 (m, 3H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 171,2, 170,7 (2C), 170,0, 138,5, 138,1, 137,9, 137,7,

136,2, 133,4, 133,1 (2C), 133,0, 128,8, 128,7, 128,5 (2C), 128,4, 128,2, 128,0, 127,9, 127,7 (2C), 127,6, 127,5, 127,4, 127,3, 126,7, 126,3, 125,9, 125,5, 100,7, 98,7, 98,6, 97,1, 84,1, 79,1, 78,4, 77,4, 75,6, 75,0, 74,5, 74,0, 73,8, 73,5, 73,3, 73,1, 70,7, 70,1, 69,7, 69,3, 68,1, 67,3, 66,9, 66,0, 50,4, 48,6, 47,6, 47,4, 29,0, 27,2, 23,8, 23,4, 23,1, 21,0, 17,3, 16,9, 16,7; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{102}H_{116}N_4O_21Na^+$ $[M+Na]^+$ 1755,8024, encontrado 1755,8089.

Ejemplo 32: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil *2-N*-acetil-3,4-di-*O*-bencilα-L-neumoaminopiranosil-(1→2)-3,4-di-*O*-bencil-β-D-glucopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-β-D-fucosaminopiranósido **(32*)**

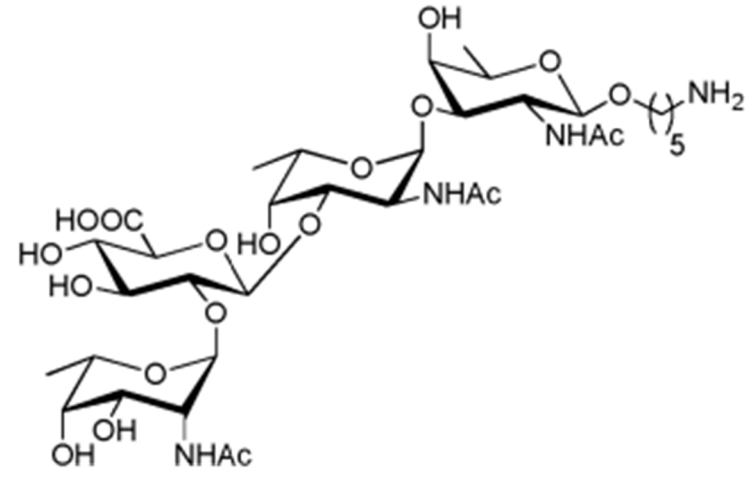
[0208]



[0209] A una solución de **31*** (19 mg, 11 µmol) en DCM/MeOH (1:1, 1 ml) se añadió 0,5 M NaOMe en MeOH (0,5 ml) y se agitó durante 16 h. La mezcla se neutralizó con resina de intercambio iónico Amberlite® IR 120 (H^+), se filtró y se concentró. De acuerdo con el procedimiento general (G), el material crudo se hizo reaccionar con DDQ (9 mg, 40 µmol) en DCM/H_2O para dar triol **32*** (10 mg, 7 µmol, 64%). $[\alpha]_D^{20}$ = -69,7° (c = 1,0, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 3400, 3030, 2933, 1656, 1524, 1497, 1454, 1421, 1366, 1305, 1232, 1055 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,53 - 6,98 (m, 30 H), 5,25 - 5,01 (m, 4H), 4,94 - 4,70 (m, 4H), 4,67 - 4,34 (m, 7 H), 4,28 - 4,10 (m, 4H), 4,00 - 3,10 (m, 19H), 2,06 (s, 3H), 1,99 - 1,94 (m, 3H), 1,70 (s, 3H), 1,63 - 1,37 (m, 4H), 1,37 - 1,07 (m, 11 H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 171,6, 170,9, 170,1, 138,3, 128,7, 128,6 (2C), 128,5, 128,4, 128,3, 128,2, 128,1, 127,7, 127,5, 127,3, 127,2, 126,8,101,7, 101,4, 101,2, 100,6, 99,5, 84,2, 80,8, 78,5, 77,5, 77,4, 77,2, 76,8, 75,7, 75,5, 75,2, 72,7, 72,5, 71,8, 71,3, 70,2, 69,7, 68,7, 68,6, 68,2, 67,3, 66,9, 61,9, 51,4, 50,6, 49,5, 48,5, 47,9, 23,9, 23,8, 23,5, 21,2, 16,6; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{78}H_{98}N_4O_20Na^+$ $[M+Na]^+$ 1433,6666, encontrado 1433,6640.

Ejemplo 33: Síntesis de 5-amino-pentanil *2-N*-acetil-α-L-neumosaminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-β-D-fucosaminopiranoside **(33*)**

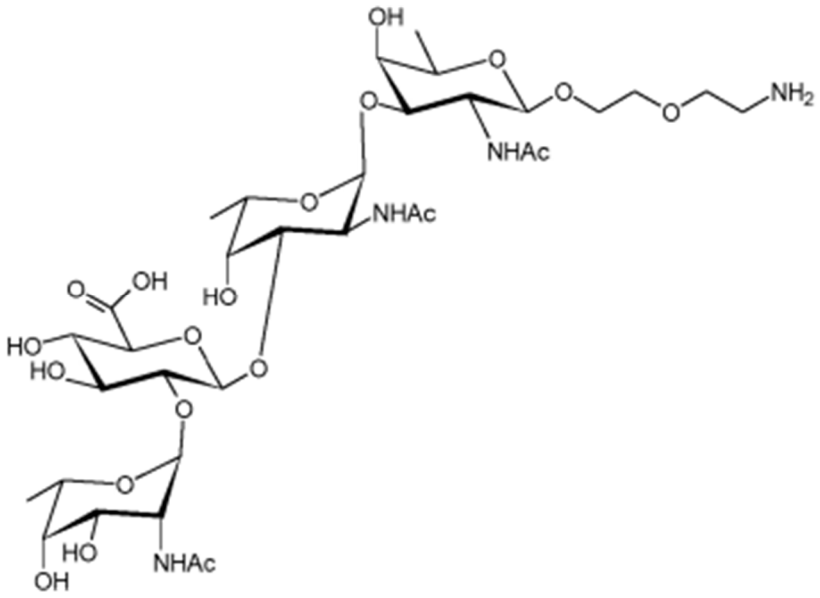
[0210]



[0211] De acuerdo con el procedimiento general (H), triol **32*** (10 mg, 7 µmol) se hizo reaccionar con TEMPO (0,3 mg, 2 µmol) y BAIB (6 mg, 19 µmol) para dar el tetrasacárido uronato protegido. Según el procedimiento general (I), el tetrasacárido de uronato se sometió a hidrogenólisis para dar ácido carboxílico **33*** (4,9 mg, 5,8 µmol, 83%). ^{1}H RMN (600 MHz, D_2O) δ 5,18 (s, 1H), 5,07 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H), 4,69 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 4,65 (q, *J* = 6,7 Hz, 1H), 4,41 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 4,37 (dd, *J* = 11,6, 3,0 Hz, 1H), 4,18 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 4,12 (dd, *J* = 4,7, 3,2 Hz, 1H), 4,10-4,06 (m, 2H), 4,03 (dd, *J* = 11,6, 3,9 Hz, 1H), 3,94 (t, *J* = 9,6 Hz, 1H), 3,88 (dt, *J* = 10,1, 6,0 Hz, 1H), 3,82 - 3,74 (m, 4H), 3,73 - 3,68 (m, 2H), 3,61 - 3,52 (m, 2H), 3,51 (dd, *J* = 9,2, 7,9 Hz, 1H), 3,02 - 2,98 (m, 2H), 2,05 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 1,71 - 1,65 (m, 2H), 1,61 - 1,56 (m, 2H), 1,44 - 1,37 (m, 2H), 1,28 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 1,24 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 1,15 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (150 MHz, D_2O) δ 178,4, 176,8, 176,5, 176,3, 104,2, 102,1, 101,0, 98,2, 79,1, 78,8, 78,1, 74,3, 73,7, 73,5, 73,2, 73,1, 72,6, 69,8, 69,6, 68,9, 66,4, 54,0, 53,7, 51,0, 41,9, 30,8, 29,0, 25,0, 24,9, 24,8, 24,7, 18,1, 18,0, 17,9; HRMS (ESI): calculado para $C_{35}H_{60}N_4O_{19}Na^+$ $[M+Na]^+$ 863,3744, encontrado 864,3774.

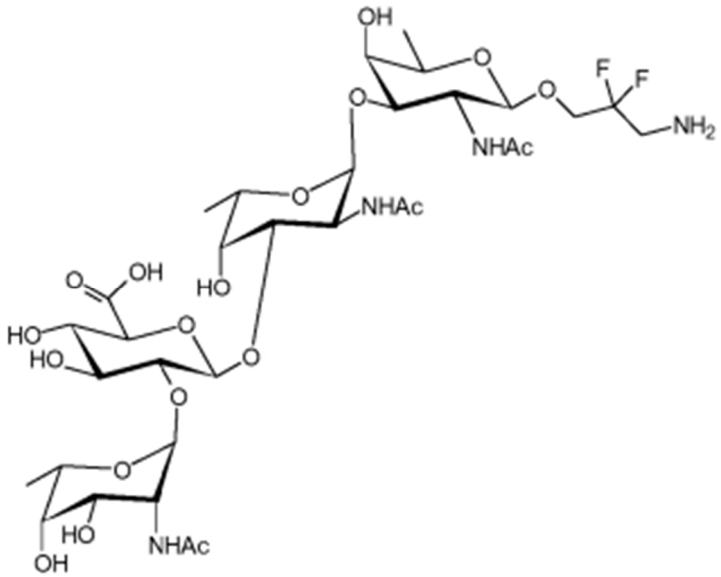
[0212] Los compuestos **33*a-33*e** constituyen ejemplos adicionales de acuerdo con la presente invención que se puede obtener siguiendo el procedimiento descrito para el compuesto **33*:**

33*a 2-(2-aminoetoxi)etilo 2-*N*-acetil-α-L-neumosaminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-p-D-fucosaminopiranosido



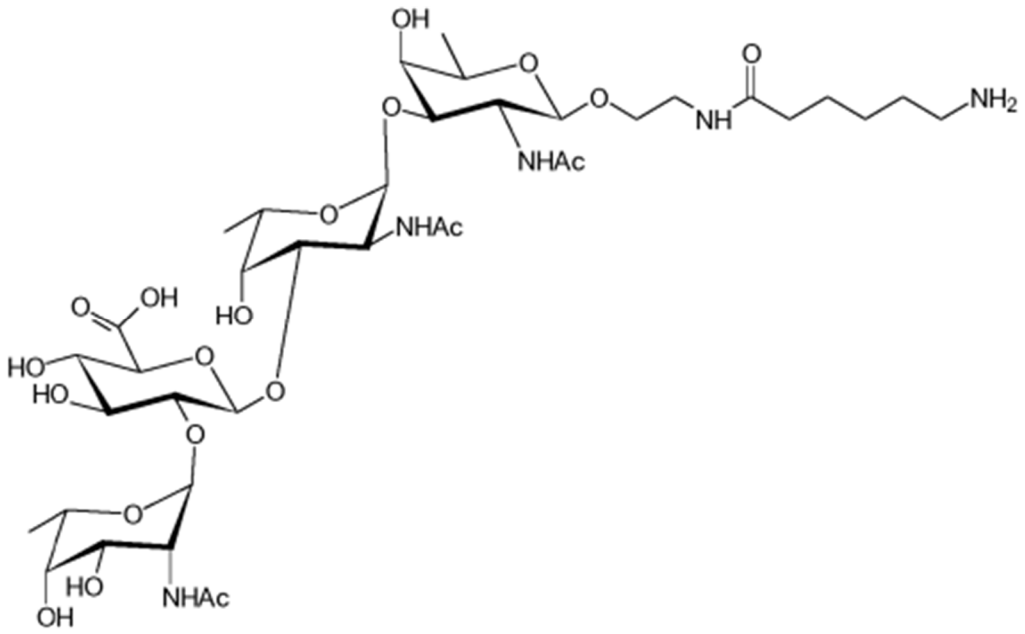
Fórmula química: $C_{34}H_{58}N_4O_{20}$; Masa exacta: 842,3644.

33*b 3-amino-2,2-difluoro-propil 2-*N*-acetil-α-L-neumosaminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-p-D-fucosaminopiranosido



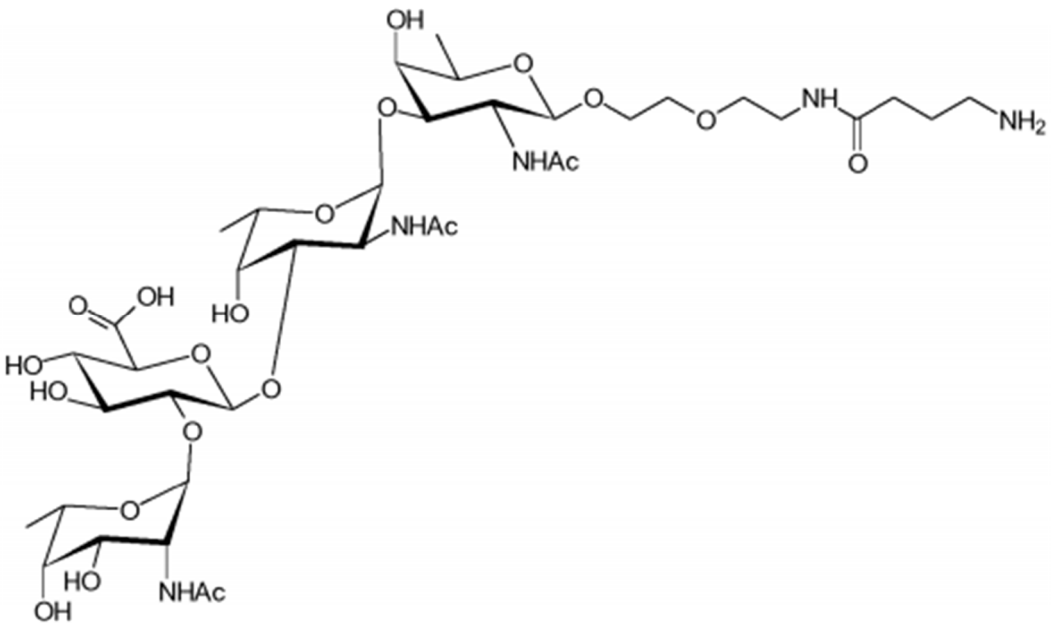
Fórmula química: $C_{33}H_{54}F_2N_4O_{19}$; Masa exacta: 848,3350.

33*c *N*-(2-*N*-acetil-α-L-neumosaminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-β-D-fucosaminopiranosil)-6-amino-hexanamida



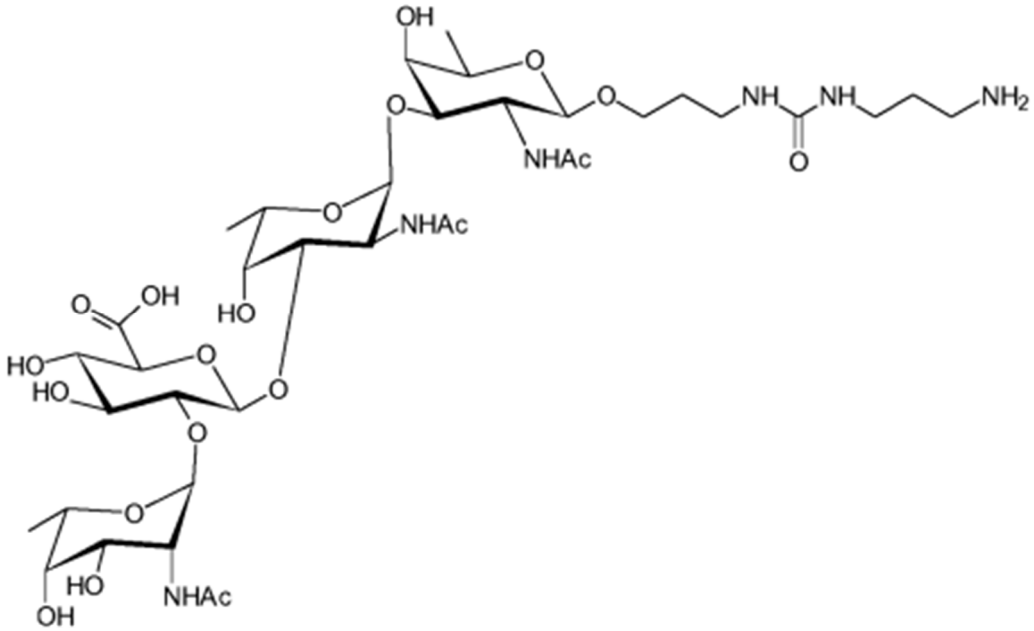
Fórmula química: $C_{38}H_{65}N_5O_{20}$; Masa exacta: 911,4223.

33*d *N*-(2-*N*-acetil-α-L-neumosaminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-β-D-fucosaminopiranosil 2-etoxietil)-3-aminopropanamida



Fórmula química: $C_{38}H_{65}N_5O_{21}$; Masa exacta: 927,4172.

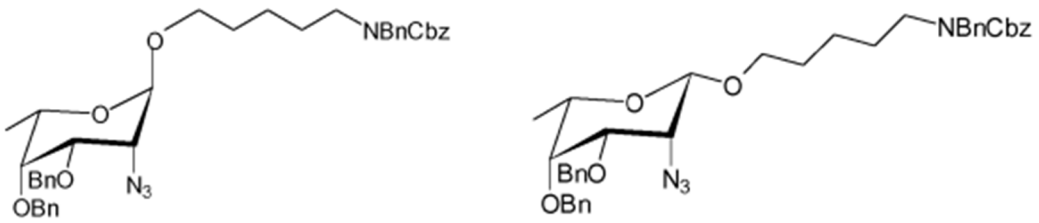
33*e 3-(3-aminopropil)ureido-propil 2-*N*-acetil-α-L-neumosaminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-β-D-fucosaminopiranósido



Fórmula química: $C_{37}H_{64}N_6O_{20}$; Masa exacta: 912,4175.

Ejemplo 34: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-oxopentanil 2-azido-3,4-di-0-bencil-2-desoxi-L-pneumopiranosides **(34*a** y **34*** β)

[0213]

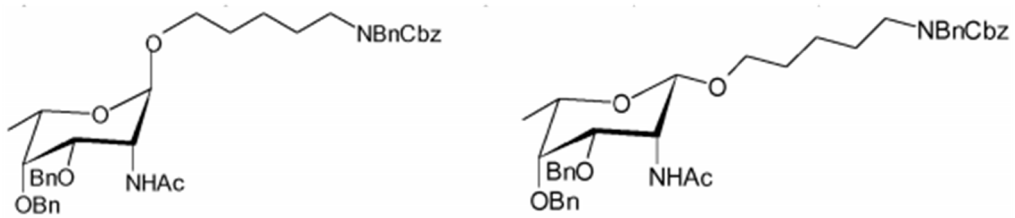


34*α **34*β**

[0214] De acuerdo con el procedimiento general (E), se hicieron reaccionar neumosil-imidato **8*** (30 mg, 58 µmol) y N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanol (38 mg, 117 µmol) en DCM (1 ml).) a-30°C a -20°C durante 30 min para dar los anómeros α y β **34*a** (28 mg, 41 µmol, 71%) y **34*** β (10 mg, 15 µmol, 25%). **34*a:** $[\alpha]_D^{20}$ = -18,0° (c = 1,3, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 2934, 2111, 1697, 1496, 1454, 1422, 1360, 1229, 1061 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,60 - 7,06 (m, 20 H), 5,18 (d, *J* = 13,0 Hz, 2H), 4,99 (d, *J* = 11,7 Hz, 1H), 4,79 - 4,69 (m, 3H)), 4,64 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H), 4,50 (d, *J* = 6,9 Hz, 2H), 3,98 - 3,85 (m, 2H), 3,83 - 3,73 (m, 1H), 3,62 (s, 1H), 3,58 - 3,45 (m, 1H), 3,37 - 3,15 (m, 3H), 1,58 - 1,41 (m, 4H), 1,31 - 1,16 (m, 5 H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 138,4, 137,8, 128,8, 128,7, 128,6, 128,3, 128,1, 127,9 (2C), 127,7, 127,4, 98,6, 77,2, 75,2, 74,9, 71,2, 67,7, 67,3, 66,9, 58,1, 50,6, 50,3, 47,2, 46,2, 29,1, 23,5, 16,9. **34*** β: $[\alpha]_D^{20}$ = + 59,2° (c = 0,9, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 2928, 2110, 1697, 1496, 1454, 1421, 1359, 1229, 1119, 1070 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,55 - 7,09 (m, 20 H), 5,17 (d, *J* = 12,4 Hz, 2H), 5,02 (d, *J* = 11,9 Hz, 1H), 4,77 - 4,70 (m, 2H), 4,62 (d, *J* = 12,2 Hz, 1H), 4,53 - 4,44 (m, 2H), 4,31 (d, *J* = 14,7 Hz, 1H), 3,96 - 3,78 (m, 2H), 3,52 (s, 2H), 3,44 - 3,14 (m, 4H), 1,62 - 1,45 (m, 4H), 1,38 - 1,20 (m, 5H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 138,6, 138,1, 137,6, 128,7, 128,6, 128,2, 128,1, 128,0, 127,9, 127,6 (2C), 127,4, 100,1, 78,8, 77,5, 77,2, 76,8, 74,8, 74,1, 71,8, 70,8, 69,3, 67,2, 58,8, 29,3, 23,4, 16,9; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{40}H_{46}N_4O_6Na^+$ $[M+Na]^+$ 701,3310, encontrado 701,3337.

Ejemplo 35: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil *2-N*-acetil-3,4-di-*O*-bencil-L-neumosaminopiranósidos (35*α y 35*

[0215]

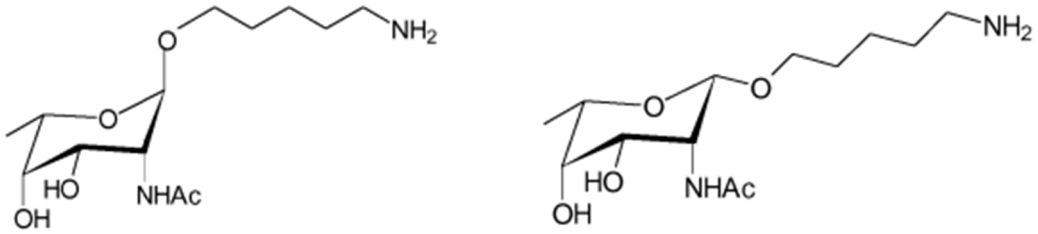


35*α **35*β**

[0216] De acuerdo con el procedimiento general (F), los azido-neumósidos **34***α (28 mg, 41 µmol) y **34*** β (10 mg, 15 µmol) se administraron individualmente reaccionó con ácido tioacético durante 12 h para dar **35***α (19 mg, 27 µmol, 66%) y **35***β (7 mg, 10 µmol, 68%). 35* α: $[\alpha]_D^{20}$ = - 47,4° (c = 1,9, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 3404, 2935, 1698, 1675, 1515, 1497, 1454, 1421, 1361, 1305, 1228, 1120, 1055, 1040 cm^{-1}; ^{1}H-RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,43 - 7,12 (m, 20 H), 5,18 (d, *J* = 14,2 Hz, 2H), 4,90 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 4,75 - 4,68 (m, 2H), 4,60 (d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 4,56 - 4,40 (m, 4H), 3,92 - 3,79 (m, 2H), 3,67 - 3,60 (m, 1H), 3,59 - 3,15 (m, 5H), 1,74 (s, 3H), 1,61 - 1,40 (m, 4H), 1,35 - 1,15 (m, 5H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 170,4, 138,3, 138,2, 138,0, 128,7, 128,6, 128,5 (2C), 128,2, 128,1, 127,9, 127,7 (2C), 127,4, 127,3, 100. 1, 78,7, 75,7, 72,8, 69,9, 67,7, 67,3, 66,3, 50,6, 50,3, 48,0, 47,2, 46,2, 29,3, 28,1, 27,7, 23,5, 16,8. **35***β: $[\alpha]_D^{20}$ = + 18,3° (c = 0,7, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 3420, 2929, 2865, 1698, 1677, 1521, 1454, 1421, 1367, 1312, 1230, 1113, 1058 cm^{-1}; ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,42 - 7,13 (m, 20 H), 6,79 (d, *J* = 9,8 Hz, 1H), 5,16 (d, *J* = 11,6 Hz, 2H), 4,91 (d, *J* = 10,2 Hz, 1H), 4,84 - 4,73 (m, 2H), 4,58 (d, *J* = 10,2 Hz, 1H), 4,52 - 4,42 (m, 3H), 4,28 *(d, J* = 13,1 Hz, 1H), 3,80 - 3,65 (m, 1H), 3,59 - 3,51 (m, 2H), 3,50 - 3,35 (m, 2H), 3,27 - 3,10 (m, 2H), 1,76 (s, 3H), 1,59 - 1,43 (m, 4H), 1,34 - 1,17 (m, 5 H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 170,7, 138,2, 138,1, 128,8, 128,6 (2C), 128,5, 128,1, 128,0, 127,9 (2C), 127,8, 127,3, 100,5, 77,7, 76,2, 75,7, 71,4, 69,8, 67,2, 47,9, 29,3, 23,6, 23,3, 16,8; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{42}H_{50}N_2O_7Na^+$ $[M+Na]^+$ 717,3510, encontrado 717,3543.

Ejemplo 36: Síntesis de 5-amino-pentanil 2-*N*-acetil-L-neumosaminopiranósidos **(36*** y **37***)

[0217]

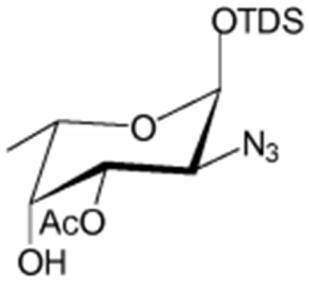


36* **37***

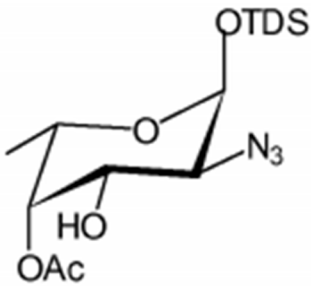
[0218] De acuerdo con el procedimiento general (I), los neumosaminosidos 35*α (19 mg, 27 µmol) y **35***β (7 mg, 10 µmol) se sometieron individualmente a hidrogenólisis para dar **36*** (7 mg, 24 µmol, 88%) y **37*** (2 mg, 7 µmol, 68%), respectivamente. **36** *: ^{1}H-RMN (400 MHz, D_2O) δ 4,75 (s, 1H), 4,13 - 3,93 (m, 3H), 3,78 (s, 1H), 3,71 - 3,61 (m, 1H), 3,55 - 3,44 (m, 1H), 3,03 - 2,91 (m, 2H), 2,01 (s, 3H), 1,74 - 1,57 (m, 4H), 1,49 - 1,35 (m, 2H), 1,22 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (150 MHz, D_2O) δ 176,8,101,6, 73,5, 70,2, 69,5, 66,6, 53,9, 42,0, 30,5, 29,2, 25,0, 18,1. **37*:** ^{1}H-RMN (400 MHz, D_2O) δ 4,61 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H), 4,29 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H), 3,88 (dd, *J* = 4,5, 3,4 Hz, 1H), 3,81 (dt, *J* = 9,9, 6,3 Hz, 1H), 3,71 - 3,58 (m, 3H), 3,00 - 2,93 (m, 2H), 2,02 (s, 3H), 1,68 - 1,54 (m, 4H), 1,42 - 1,33 (m, 2H), 1,25 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (150 MHz, D_2O) δ 177,2, 102,4, 74,2, 72,9, 72,0, 70,1, 54,5, 42,0, 30,8, 29,3, 25,9, 25,2, 24,8, 18,0; HRMS (ESI): calculado para $C_{13}H_{26}N_2O_5Na^+$ $[M+Na]^+$ 313,1739, encontrado 313,1750.

Ejemplo 37: Síntesis de 3-*O*-acetil-2-azido-2-desoxi-α-L-fucopiranósido de texildimetilsililo **(38***) y 4-*O*-acetil-2-azido-2-desoxi-α-L-fucopiranósido de texildimetilsililo **(39***)

[0219]



38*

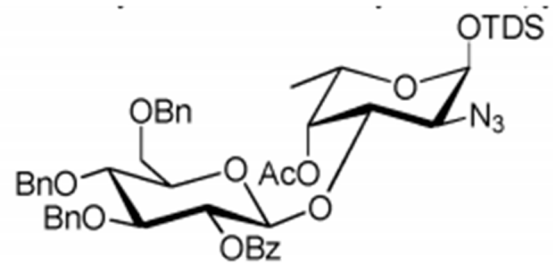


39*

[0220] A una solución de 2-azido-2-desoxi-α-L-fucopiranósido (200 mg, 0,60 μmol) en DCM/piridina (4: 1 (v/v), 10 mL), se añadió gota a gota una solución de AcCl (51 mL, 0,72 μmol) en DCM (1 mL) a 0°C y se agitó durante 6 h a la misma temperatura. La mezcla se diluyó con DCM y se lavó con una solución $NaHCO_3$ sat. ac. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (DCM/MeOH/acetona) proporcionó **38 x** (163 mg, 0,44 μmol, 72%). $[\alpha]_D^{20}$ = + 4,4° (c = 1,0, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 3483, 2958, 2868, 2111, 1747, 1726, 1465, 1370, 1251, 1171, 1145, 1069, 1039 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,66 (dd, *J* = 10,8, 3,1 Hz, 1H), 4,50 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 3,77 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H), 3,61 (qd, *J* = 6,4, 0,8 Hz, 1H), 3,55 (dd, *J* = 10,8, 7,6 Hz, 1H), 2,16 (s, 3H), 1,66 (dt, *J* = 13,7, 6,9 Hz, 1H), 1,28 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 0,89 (d, *J* = 1,0 Hz, 3H), 0,88 (s, 9 H), 0,19 (s, 6H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 170,3, 97,3, 74,0, 70,4, 69,5, 63,5, 34,0, 25,0, 21,2, 20,1, 20,0, 18,6, 18,5, 16,4, -1,9,-3,2; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{16}H_{31}N_3O_5SiNa^+$ $[M+Na]^+$ 396,1925, encontrado 396,1911. Se obtuvo como subproducto el 4-*O*-acetil-2-azido-2-desoxi-α-1-fucopiranósido **(39** x) (22 mg, 0,06 μmol, 10%) de texildimetilsilil. $[\alpha]_D^{20}$ = + 5,3° (c = 1,3, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 3462, 2959, 2869, 2112, 1744, 1465, 1443, 1380, 1252, 1185, 1114, 1073 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 5,09 (dd, *J* = 3,5, 1,1 Hz, 1H), 4,48 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 3,65 (qd, *J* = 6,4, 1,2 Hz, 1H), 3,57 (dd, *J* = 10,4, 3,6 Hz, 1H), 3,40 (dd, *J* = 10,4, 7,6 Hz, 1H), 2,19 (s, 3H), 1,68 (dt, *J* = 13,7, 6,9 Hz, 1H), 1,17 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 0,93 - 0,86 (m, 12 H), 0,19 (d, *J* = 1,6 Hz, 6H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 171,7, 97,2, 71,9, 71,1, 69,4, 66,5, 34,0, 25,0, 21,0, 20,1, 20,0, 18,6, 18,3, 16,5, -1,9,-3,0; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{16}H_{31}N_3O_5SiNa^+$ $[M+Na]^+$ 396,1925, encontrado 396,1954.

Ejemplo 38: Síntesis de texildimetilsilil 2-*O*-benzoil-3,4,6-tri-*O*-bencil-β-D-glucopiranosil-(1→3)-4-*O*-acetil-2-azido-2-desoxi-α-L-fucopiranósido **(40***)

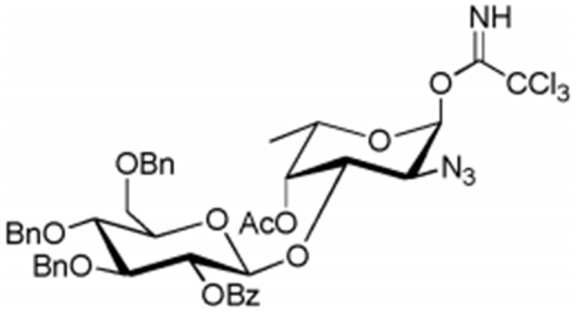
[0221]



[0222] De acuerdo con el procedimiento general (B), 2-*O*-benzoil-3,4,6-tri-*O*-bencil-1-tio-β-D-glucopiranósido (109 mg, 0,18 μmol) se hizo reaccionar con fucósido **39*** (62 mg, 0,17 mmol), NIS (45 mg, 0,20 μmol) y TfOH (1,8 ml, 20 μmol) en DCM (1 ml) a -25°C para -20°C durante 1 h. Después del tratamiento, la cromatografía en columna (hexanos/EtOAc) proporcionó **40x** (139 mg, 0,15 μmol, 92%). $[\alpha]_D^{20}$ = -13,9° (c = 1,9, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 2958, 2867, 2113, 1744, 1496, 1453, 1364, 1267, 1234, 1179, 1095, 1071 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,10-8,03 (m, 2H), 7,60 - 7,54 (m, 1H), 7,50 - 7,42 (m, 2H), 7,41 - 7,21 (m, 10 H), 7,16 - 7,02 (m, 5H), 5,32 (dd, *J* = 9,1, 7,7 Hz, 1H), 5,12 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 4,82 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H), 4,76 - 4,66 (m, 4H), 4,63 (dd, *J* = 11,0, 6,5 Hz, 2H), 4,36 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 3,89 (dd, *J* = 10,4, 3,5 Hz, 1H), 3,86 - 3,80 (m, 2H), 3,79 - 3,72 (m, 2H), 3,62 (ddd, *J* = 9,4, 5,3, 1,9 Hz, 1H), 3,50 - 3,41 (m, 2H), 1,73 - 1,62 (m, 1H), 1,49 (s, 3H), 1,07 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 0,92 - 0,87 (m, 12 H), 0,17 (d, *J* = 4,6 Hz, 6H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 170,6, 164,9, 138,6, 138,0, 137,8, 133,3, 130,2, 129,8, 128,6, 128,5, 128,4, 128,3, 128,2, 128,1, 128,0, 127,7, 127,6 (2C), 97,1, 96,8, 83,0, 78,1, 75,7, 75,3, 75,1, 74,6, 73,7, 73,5, 69,0, 68,9, 67,8, 63,9, 34,0, 25,0, 20,2, 20,1 (2C), 18,6 (2C), 16,5, -1,8, -3,0; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{50}H_{63}N_3O_{11}SiNa^+$ $[M+Na]^+$ 932,4124, encontrado 932,4125.

Ejemplo 39: Síntesis de tricloroacetimidato de 2-*O*-benzoil-3,4,6-tri-*O*-bencil-β-d-glucopiranosil-(1→3)-4-*O*-acetil-2-azido-2-desoxi-α-1-fucopiranosil **(41***)

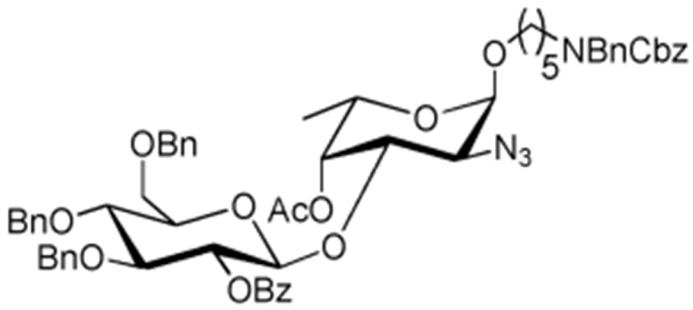
[0223]



[0224] Según el procedimiento general (A), disacárido **40*** (55 mg, 60 µmol) se hizo reaccionar con TBAF (1 m en THF, 600 µl, 600 µmol) y AcOH (42 µl, 725 µmol) en THF (2 ml) para dar el lactol bruto. De acuerdo con el procedimiento general (D), el lactol crudo se hizo reaccionar con tricloroacetonitrilo (60 µl, 600 µmol) y DBU en DCM (2 ml) a 0°C para producir **41*** (44 mg, 48 µmol, 81%). $[\alpha]_D^{20}$ = - 64,8° (c = 1,8, $CHCl_3$) IR v_{max} (película) 2871, 2115, 1743, 1673, 1496, 1453, 1361, 1267, 1229, 1093, 1070, 1027 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,67 (s, 1H), 8,11- 8,03 (m, 2H), 7,60 - 7,56 (m, 1H), 7,50 - 7,43 (m, 2H), 7,42 - 7,26 (m, 8H), 7,24 - 7,18 (m, 2H), 7,16 - 7,03 (m, 5H), 6,35 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 5,38 - 5,30 (m, 2H), 4,84 - 4,78 (m, 2H), 4,73 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H), 4,67 - 4,54 (m, 5H), 4,21 (q, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,88 - 3,71 (m, 5H), 3,61 (ddd, *J* = 9,5, 4,7, 1,8 Hz, 1H), 1,44 (s, 3H), 1,08 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 170,3, 165,0, 160,9, 138,3, 137,9, 137,8, 133,4, 130,3, 129,7, 128,6, 128,5 (2C), 128,4, 128,2, 128,1, 128,0, 127,8, 127,7, 96,8, 95,4, 91,1, 82,9, 78,1, 75,8, 75,4, 75,2, 73,9, 73,7, 70,8, 69,0, 68,2, 68,0, 57,2, 19,9, 16,3; HRMS (ESI): calculado para $C_{44}H_{45}Cl_3N_4O_{11}Na^+$ $[M+Na]^+$ 933,2048, encontrado 933,2051.

Ejemplo 40: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 2-*O*-benzoil-3,4,6-tri-*O*-bencil-β-D-glucopiranosil-(1→3)-4-*O*-acetil-2-azido-2-desoxi-L-fucopiranósido **(42***)

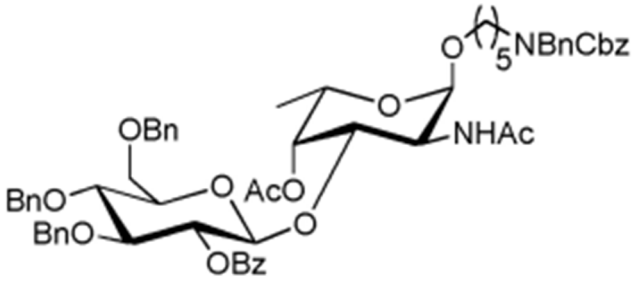
[0225]



[0226] Según el procedimiento general (E), imidato de disacárido **41*** (44 mg, 48 µmol) y N-(bencilo) se hicieron reaccionar benciloxicarbonil-5-amino-pentanol (32 mg, 96 µmol) en DCM (2 mL) a -30°C a -20°C durante 30 min para dar los anómeros α y β de **42*** (45 mg, 42 µmol, 87%) en una relación α/β = 1:6. Se proporcionan datos analíticos para el anómero α. $[\alpha]_D^{20}$ = -68,5° (c = 0,5, $CHCl_3$); IR v_{max} (película) 2927, 2111, 1743, 1698, 1454, 1267, 1091 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,06 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 7,57 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,44 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,39 - 7,27 (m, 15H), 7,23 - 7,01 (m, 10H), 5,31 (t, *J* = 8,4 Hz, 1H), 5,25 (s, 1H), 5,16 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H), 4,85 - 4,78 (m, 2H), 4,74 - 4,69 (m, 2H), 4,63 - 4,52 (m, 4H), 4,45 (s, 3H), 4,01 - 3,90 (m, 1H), 3,85 - 3,69 (m, 4H), 3,59 (dd, *J* = 8,6, 4,1 Hz, 2H), 3,41 (dd, *J* = 10,8, 3,6 Hz, 2H), 3,18 (d, *J* = 20,7 Hz, 2H), 1,56 - 1,43 (m, 4H), 1,42 (s, 3H), 1,35 - 1,18 (m, 3H), 1,02 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 170,5, 165,0, 138,4, 138,0, 137,8, 133,3, 130,3, 129,8, 128,7, 128,6, 128,5, 128,4, 128,3, 128,2, 128,1, 128,0, 127,9, 127,7 (2C), 98,6, 97,4, 83,1, 78,1, 77,4, 75,7, 75,4, 75,2, 73,7, 73,6, 70,9, 69,1, 68,9, 68,5, 67,3, 65,0, 57,8, 50,6, 47,2, 46,2, 29,2, 23,4, 20,0, 16,3; HRMS (ESI): calculado para $C_{62}H_{68}N_4O_{13}Na^+$ $[M+Na]^+$ 1099,4681, encontrado 1099,4679.

Ejemplo 41: Síntesis de *N*-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 2-*O*-benzoil-3,4,6-tri-*O*-bencil-α-D-glucopiranosil (1→3)-2-*N*-acetil-4-*O*-acetil-α-L-fucosaminopiranósido **(43***)

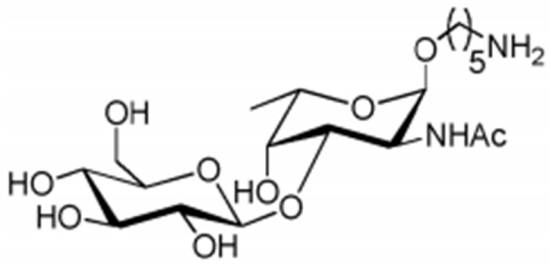
[0227]



[0228] De acuerdo con el procedimiento general (F), azido-disacárido **42*** (10 mg, 9 µmol) se hizo reaccionar con ácido tioacético durante 48 h para dar **43*** (8 mg, 7 µmol, 79%). $[\alpha]_D^{20}$ = -5,5° (c = 1,0, $CHCl_3$); IR v_{max} (película) 2928, 1743, 1697, 1454, 1365, 1266, 1232, 1091 cm^{-1}; ^{1}H-RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.06 - 8,01 (m, 2H), 7,61 - 7,55 (m, 1H), 7,47 - 7,42 (m, 2H), 7,38 - 7,26 (m, 15H), 7,26 - 7,20 (m, 2H), 7,18 - 7.06 (m, 8H), 6,50 - 6,27 (m, 1H), 5,22 - 5,12 (m, 5H), 4,80 (d, *J* = 10,9 Hz, 1H), 4,69 (d, *J* = 10,9 Hz, 1H), 4,66 - 4,60 (m, 2H), 4,50 (dd, *J* = 22,3, 11,3 Hz, 5H), 4,08 (s, 2H), 3,98 - 3,86 (m, 1H), 3,82 - 3,49 (m, 6H), 3,43 - 3,28 (m, 1H), 3,28 - 3,06 (m, 2H), 1,83 (s, 3H), 1,64 (s, 3H), 1,55 - 1,42 (m, 4H), 1,29 - 1,16 (m, 2H), 1,01 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 170,7, 165,1, 138,0, 137,8, 137,6, 133,3, 130,1, 129,8, 128,7 (2C), 128,6, 128,4 (2C), 128. (2C), 127,9, 127,8, 98,9, 97,1, 82,9, 77,8, 77,4, 75,2 (2C), 74,5, 73,5, 73,3, 72,6, 69,9, 68,9, 68,3, 67,3, 64,8, 49,7, 29,2, 23,4, 23,1, 20,2, 16,3; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{64}H_{72}N_2O_{14}Na^+$ $[M+Na]^+$ 1115,4876, encontrado 1115,4890.

Ejemplo 42: Síntesis de 5-amino-pentanil β-D-glucopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranósido **(44*)**

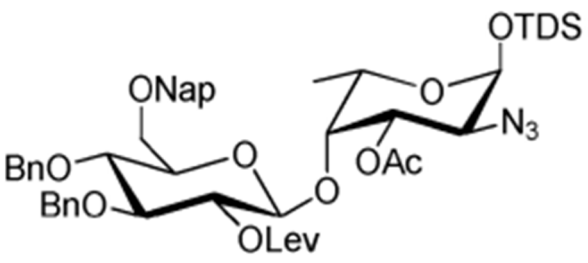
[0229]



[0230] A una solución de **43*** (8 mg, 7 µmol) en MeOH (1 ml) se añadió 0,5 m de NaOMe en MeOH (0,2 ml) y se agitó durante 16 h. La mezcla se neutralizó con resina de intercambio iónico Amberlite® IR 120 (H^+) y el diol resultante se filtró y se concentró. De acuerdo con el procedimiento general (I), el diol bruto se sometió a hidrogenólisis para dar **44*** (3,4 mg, 7,5 µmol, 89%). ^{1}H RMN (600 MHz, D_2O) δ 4,95 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H), 4,55 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 4,19 (dd, *J* = 11,3, 3,7 Hz, 1H), 4,13 (dd, *J* = 11,3, 2,9 Hz, 1H), 4,09 (q, *J* = 6,6 Hz, 1H), 4,03 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 3,98 (dd, *J* = 12,2, 2,1 Hz, 1H), 3,75 - 3,68 (m, 2H), 3,54 - 3,45 (m, 3H), 3,38 (t, *J* = 9,5 Hz, 1H), 3,31 (dd, *J* = 9,4, 8,0 Hz, 1H), 3,03 - 2,98 (m, 2H), 2,05 (s, 3H), 1,73 - 1,62 (m, 4H), 1,49 - 1,41 (m, 2H), 1,27 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (150 MHz, D_2O) δ 177,1, 103,0, 99,3, 78,7, 78,1, 77,8, 75,4, 72,3, 71,3, 70,4, 69,0, 63,6, 50,9, 42,0, 30,5, 29,0, 24,8, 24,6, 18,1; HRMS (ESI): calculado para $C_{19}H_{36}N_2O_{10}Na^+$ $[M+Na]^+$ 475,2268, encontrado 475,2273.

Ejemplo 43: Síntesis de 3,4-di-*O*-bencil-2-*O*-levulinoil-6-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-d-glucopiranosil-(1→4)-3-*O*-acetil-2-azido-2-desoxi-α-L-fucopiranósido de texildimetilsililo **(45*)**

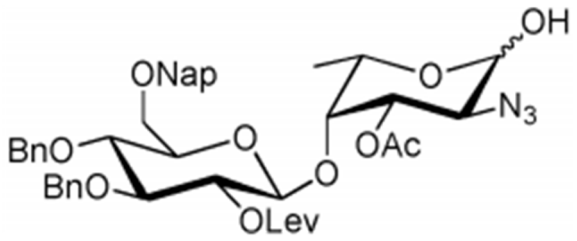
[0231]



[0232] Según el procedimiento general (B), tioglucósido **10*** (140 mg, 218 µmol) se hizo reaccionar con fucósido **38*** (50 mg, 134 mmol), NIS (54 mg, 240 µmol) y TfOH (2,4 mL, 27 µmol) en DCM (1 mL) a -30°C a -20°C durante 1 h. Después del tratamiento, la cromatografía en columna (hexanos/EtOAc) proporcionó **45x** (114 mg, 119 µmol, 89%). $[\alpha]_D^{20}$ = -13,0° (c = 1,8, $CHCl_3$); IR v_{max} (película) 2958, 2867, 2112, 1748, 1721, 1603, 1509, 1455, 1364, 1240, 1147, 1072 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,87 - 7,76 (m, 4H), 7,52 - 7,43 (m, 3H), 7,35 - 7,25 (m, 5H), 7,23 - 7,12 (m, 3H), 7,04 - 6,98 (m, 2H), 5,16 (dd, *J* = 9,6, 8,1 Hz, 1H), 4,80 - 4,75 (m, 3H), 4,70 (d, *J* = 12,1 Hz, 1H), 4,60 (d, *J* = 12,2 Hz, 1H), 4,49 - 4,39 (m, 3H), 4,30 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 3,94 (d, *J* = 3,4 Hz, 1H), 3,85 - 3,79 (m, 1H), 3,76 - 3,65 (m, 3H), 3,58 (dd, *J* = 11,0, 7,6 Hz, 1H), 3,52 (q, *J* = 6,5 Hz, 1H), 3,39 (ddd, *J* = 9,8, 3,5, 2,0 Hz, 1H), 2,93 - 2,81 (m, 1H), 2,68 - 2,63 (m, 1H), 2,62 - 2,58 (m, 1H), 2,54 - 2,45 (m, 1H), 2,16 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 1,67 (dt, *J* = 13,7, 6,9 Hz, 1H), 1,25 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 0,92 (s, 3H), 0,90 (s, 3H), 0,89 (s, 6H), 0,18 (s, 3H), 0,15 (s, 3H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206,4, 171,4, 171,2, 138,3, 137,9, 135,1, 133,3, 133,1, 128,4 (3C), 128,1, 128,0, 127,9, 127,8 (3C), 126,6, 126,3, 126,1, 125,8,101,9, 97,2, 82,9, 77,5, 75,1, 75,0 (2C), 74,3, 73,8, 73,4, 72,8, 70,0, 68,7, 62,8, 38,1, 34,0, 29,9, 28,0, 24,9, 21,0, 20,0 (2C), 18,6, 18,5, 16,4, -2,0,-3,1; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{52}H_{67}N_3O_{12}SiNa^+$ $[M+Na]^+$ 976,4386, encontrado 976,4333.

Ejemplo 44: Síntesis de 3,4-di-*O*-bencil-2-*O*-levulinoil-6-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-glucopiranosil-(1→4)-3-*O*-acetil-2 azido-2-desoxi-L-fucopiranósido **(46***)

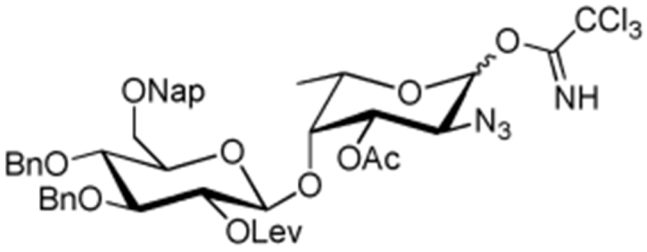
[0233]



[0234] De acuerdo con el procedimiento general (a), disacárido **45*** (105 mg, 0,11 µmol) se hizo reaccionar con TBAF (1,0 ml, 1,00 µmol) y AcOH (70 ml, 1,22 µmol) en THF (2 ml) para dar lactol **46*** (81 mg, 0,10 µmol, 95%) como una mezcla de anómeros α y β. IR v_{max} (película) 3424, 2869, 2111, 1742, 1717, 1454, 1363, 1237, 1151, 1059 cm^{-1}; ^1H-RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,87 - 7,75 (m, 4H), 7,53 - 7,41 (m, 3H), 7,34 - 7,25 (m, 5H), 7,22 - 7,10 (m, 3H), 7,03 - 6,95 (m, 2H), 5,37 - 5,28 (m, 0,5H), 5,25 (d, *J* = 3,5 Hz, 0,5H), 5,16 - 5,02 (m, 1,5H), 4,80 - 4,65 (m, 4H), 4,60 (d, *J* = 12,1 Hz, 1H), 4,50 - 4,43 (m, 2H), 4,35 (d, *J* = 8,0 Hz, 0,5 H), 4,31 (d, *J* = 8,1 Hz, 0,5 H), 4,19 (q, *J* = 6,6 Hz, 0,5 H), 4,07 (dd, *J* = 11,1, 3,1 Hz, 1H), 3,88 - 3,56 (m, 6H), 3,41 - 3,35 (m, 1H), 2,92 - 2,62 (m, 2H), 2,55 - 2,44 (m, 1H), 2,24 (s, 1,5 H), 2,15 (s, 1,5 H), 2,12 (s, 1,5 H), 2,09 (s, 1,5 H), 1,29 (d, *J* = 6,5 Hz, 1,5 H), 1,19 (d, *J* = 6,6 Hz, 1,5 H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 208,9, 206,4, 171,9, 171,7, 171,2, 171,1, 138,5, 138,4, 137,9, 135,1 (2C), 133,3, 133,1, 128,5 (2C), 128,4 (2C), 128,1, 127,9 (4C), 127,8 (3C), 127,7, 126,8, 126,6, 126,4, 126,1, 125,9, 125,8,101,7, 100,9, 96,8, 92,2, 83,0, 82,9, 77,8, 77,6, 75,4, 75,2, 75,1, 75,0 (2C), 73,9 (2C), 73,6, 73,3, 72,8, 70,7, 70,4, 68,8, 68,6, 65,8, 62,8, 57,9, 38,1, 37,6, 30,5, 30,0, 28,1 (2C), 21,1, 21,0, 17,0, 16,3; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{44}H_{49}N_3O_{12}Na^+$ $[M+Na]^+$ 834,3208, encontrado 834,3222.

Ejemplo 45: Síntesis de tricloroacetimidato de 3,4-di-*O*-bencil-2-*O*-levulinoil-6-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-glucopiranosil-(1→4)-3-*O*-acetil-2 -azido-2-desoxi-L-fucopiranosil **(47***)

[0235]



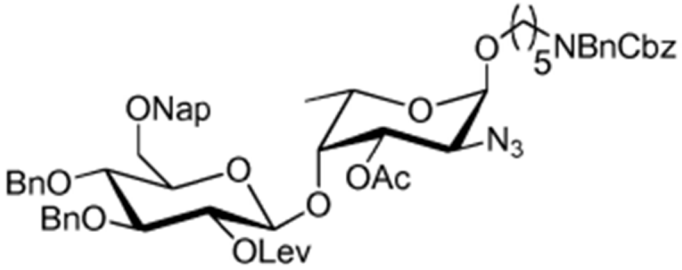
[0236] Según el procedimiento general (D), lactol **46*** (81 mg, 100 µmol) se hizo reaccionar con tricloroacetonitrilo (100 µl, 998 µmol) y DBU en DCM (2 ml) a 0°C para producir **47*** (82 mg, 86 µmol, 86%) como una mezcla de α y β anómeros. Se proporcionan datos analíticos para el anómero α. $[\alpha]_D^{20}$ = -88,7° (c = 1,5, $CHCl_3$); IR v_{max} (película) 3336, 3060, 3030, 2906, 2868, 2113, 1746, 1718, 1673, 1363, 1273, 1243, 1144, 1063, 1028 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,67 (s, 1H), 7,90 - 7,75 (m, 4H), 7,52 - 7,42 (m, 3H), 7,35 - 7,25 (m, 5H), 7,23 - 7,10 (m, 3H), 7,05 - 6,96 (m, 2H), 6,36 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 5,14 (dd, *J* = 9,6, 8,1 Hz, 1H), 5,08 (dd, *J* = 11,1, 3,1 Hz, 1H), 4,80 - 4,69 (m, 4H), 4,60 (d, *J* = 12,1 Hz, 1H), 4,47 (d, *J* = 10,8 Hz, 1H), 4,34 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 4,22 - 4,13 (m, 2H), 4,10 (dd, *J* = 11,1, 3,6 Hz, 1H), 3,87 - 3,72 (m, 3H), 3,71 - 3,64 (m, 1H), 3,40 (ddd, *J* = 9,8, 3,5, 2,0 Hz, 1H), 2,84 - 2,64 (m, 2H), 2,61 - 2,46 (m, 2H), 2,17 (s, 3H), 2,13 (s, 3H), 1,24

(d, *J* = 6,6 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206,3, 171,7, 171,0, 161,1, 138,3, 137,9, 135,0, 133,3, 133,2, 128,5, 128,4, 128,1,

[0237] 128,0, 127,9, 127,8 (2C), 126,7, 126,4, 126,1, 125,9, 101,7, 95,2, 91,1, 82,9, 77,5, 75,1, 74,5, 73,9, 73,5, 70,7, 68,7, 68,5, 56,6, 38,1, 30,0, 28,1, 21,0, 16,3; HRMS (ESI): calculado para $C_{46}H_{49}Cl_3N_4O_{12}Na^+$ $[M+Na]^+$ 977,2310, encontrado 977,2312.

Ejemplo 46: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 3,4-di-O-bencil-2-*O*-levulinoil-6-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-d-glucopiranosil-(1→4)-3-*O*-acetil-2-azido-2-desoxi-L-fucopiranósido **(48*)**

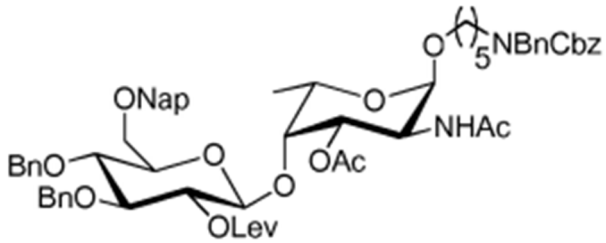
[0238]



[0239] Según el procedimiento general (E), disacárido-imidato **47*** (17 mg, 18 µmol) y N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanol (12 mg, 36 µmol) se hicieron reaccionar en DCM (1 mL) a -30°C a -20°C durante 30 min para dar los anómeros α y β de **48*** (18 mg, 16 µmol, 90%) en una relación α/β = 1: 3. Se proporcionan datos analíticos para el anómero α. $[\alpha]_D^{20}$ = -70,3° (c = 0,3, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 2936, 2110, 1746, 1699, 1497, 1454, 1421, 1362, 1244, 1131, 1054 cm^{-1}; ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,84 - 7,73 (m, 4H), 7,49 - 7,40 (m, 3H), 7,34 - 7,21 (m, 14 H), 7,19 - 7,09 (m, 4H), 7,00 - 6,95 (m, 2H), 5,18 - 5,07 (m, 3H), 5.00 (dd, *J* = 11,1, 2,6 Hz, 1H), 4,78 - 4,65 (m, 5H), 4,57 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 4,51 - 4,42 (m, 3H), 4,28 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 4,04 (s, 1H), 3,92 - 3,86 (m, 1H), 3,77 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 3,72 - 3,57 (m, 4H), 3,36 (d, *J* = 9,6 Hz, 2H), 3,26 - 3,15 (m, 2H), 2,82 - 2,57 (m, 3H), 2,50 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H), 2,13 (s, 3H), 2,08 (s, 3H), 1,54 - 1,46 (m, 4H), 1,33 - 1,25 (m, 2H), 1,15 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206,4, 171,7, 171,2, 138,4, 137,9, 135,1, 133,4, 133,2, 128,7, 128,5 (2C), 128,1, 128,0, 127,9 (3C), 127,8, 127,4, 126,7, 126,4, 126,1, 125,9, 101,7, 98,0, 83,0, 77,6, 77,4, 75,4, 75,1 (2C), 75,0, 73,9, 73,5, 70,3, 68,7, 68,3, 67,3, 65,6, 57,1, 38,2, 30,0, 29,3, 28,1, 23,5, 21,1, 16,3; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{64}H_{72}N_4O_{14}Na^+$ $[M+Na]^+$ 1143,4937, encontrado 1143,4974.

Ejemplo 47: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 3,4-di-O-bencil-2-*O*-levulinoil-6-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-glucopiranosil-(1→4)-2-*N*-acetil-3-*O*-acetil-α-L-fucosaminopiranósido **(49*)**

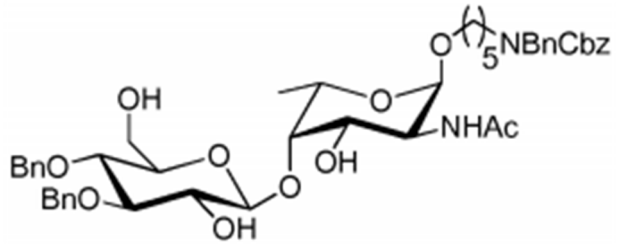
[0240]



[0241] Según el procedimiento general (F), se hizo reaccionar azido-disacárido **48*** (28 mg, 25 µmol) con ácido tioacético durante 24 h para dar **49*** (20 mg, 18 µmol, 70%). $[\alpha]_D^{20}$ = -53,6° (c = 1,0, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 2926, 1694, 1454, 1364, 1247, 1053 cm^{-1}; ^{1}H-RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,92 - 7,72 (m, 4H), 7,60 - 7,08 (m, 21 H), 7,06 - 6,90 (m, 2H), 5,90 - 5,30 (m, 1H), 5,27 - 5,02 (m, 3H), 4,84 (d, *J* = 11,4 Hz, 1H), 4,80 - 4,67 (m, 5H), 4,64 - 4,57 (m, 1H), 4,56 - 4,39 (m, 4H), 4,34 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 3,99 - 3,46 (m, 7 H), 3,39 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 3,36 - 3,10 (m, 3H), 2,89 - 2,62 (m, 2H), 2,62 - 2,44 (m, 2H), 2,15 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 1,92 (s, 3H), 1,66 - 1,41 (m, 4H), 1,39 - 1,22 (m, 2H), 1,19 (d, *J* = 5,6 Hz, 3H); ^{13}C RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206,8, 171,9, 171,3, 171,1, 138,4, 137,9, 135,3, 133,4, 133,1, 128,7, 128,6, 128,5 (2C), 128,4, 128,3, 128,1, 128,0 (2C), 127,8 (2C), 127,7, 126,5, 126,3, 126,0, 125,9, 101,8, 97,5, 83,2, 77,7, 77,4, 75,5, 75,1, 74,9, 73,9, 73,5, 70,3, 69,0, 67,3, 65,6, 50,3, 47,5, 47,2, 38,2, 38,0, 30,0, 29,3, 28,1, 27,5, 23,9, 23,5, 21,2, 16,4; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{66}H_{76}N_2O_{15}Na^+$ $[M+Na]^+$ 1159,5138, encontrado 1159,5148.

Ejemplo 48: Síntesis de *N*-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 3,4-di-O-bencil-β-D-glucopiranosil-(1→4)-2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranósido **(50*)**

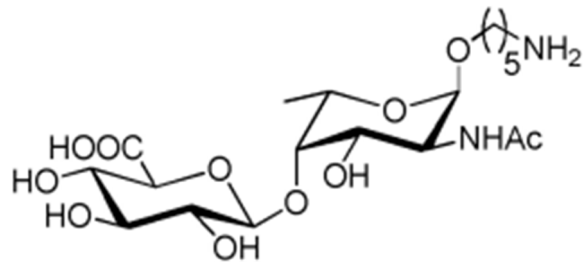
[0242]



[0243] De acuerdo con el procedimiento general (G), disacárido **49*** (20 mg, 18 µmol) se hizo reaccionar con DDQ (12 mg, 53 µmol) durante 1,5 h para dar el alcohol primario crudo. A una solución de alcohol primario crudo en MeOH (1 ml) se le añadió 0,5 m de NaOMe en MeOH (0,3 ml) y se agitó durante 16 h. La mezcla se neutralizó con resina de intercambio iónico Amberlite® IR 120 (H^+), se filtró y se concentró. La cromatografía en columna (DCM/MeOH/acetona) proporcionó **50x** (9 mg, 11 µmol, 60%). $[\alpha]_D^{20}$ = -45,2° (c = 0,7, $CHCl_3$); IR v_{max} (película) 3354, 2925, 1695, 1542, 1497, 1454, 1422, 1361, 1231, 1049 cm^{-1}; ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,68 - 6,84 (m, 20 H), 6,07 - 5,61 (m, 1H), 5,18 (d, *J* = 11,9 Hz, 2H), 5,01 - 4,76 (m, 3H), 4,76 - 4,58 (m, 2H), 4,57 - 4,33 (m, 4H), 4,02 - 3,80 (m, 2H), 3,80 - 3,42 (m, 8H), 3,39 - 3,14 (m, 3H), 2,53 (s, 1H), 2,01 (s, 3H), 1,91 - 1,63 (m, 2H), 1,63 - 1,45 (m, 4H), 1,36 - 1,26 (m, 5H); ^{13}C-RMN (100 MHz, $CDCl_3$) δ 172,0, 138,6, 137,9, 128,7, 128,6 (2C), 128,3, 128,1, 128,0, 127,9 (2C), 103,4, 98,1, 84,3, 83,3, 77,7, 77,4, 76,3, 75,4, 75,2, 74,9, 70,5, 67,4, 67,2, 61,9, 50,3, 47,0, 46,2, 29,3, 27,5, 23,7, 16,8; HRMS (MALDI-TOF): calculado para $C_{48}H_{60}N_2O_{12}Na^+$ $[M+Na]^+$ 879,4038, encontrado 879,4004.

Ejemplo 50: Síntesis de 5-amino-oxopentanil β-D-glucopiranosiluronate-(1→4)-2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranósido **(51*)**

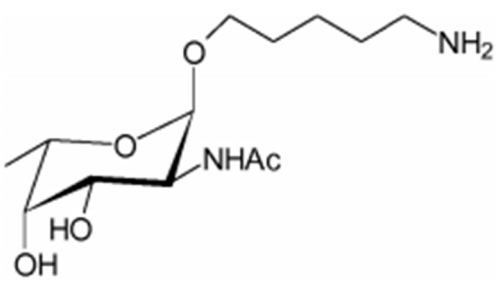
[0244]



[0245] De acuerdo con el procedimiento general (H), triol **50*** (8 mg, 9 µmol) se hizo reaccionar con TEMPO (0,3 mg, 2 µmol) y Balb (15 mg, 47 µmol) para dar el disacárido de uronato protegido. De acuerdo con el procedimiento general (I), el disacárido de uronato se sometió a hidrogenólisis para dar ácido carboxílico **51*** (2,6 mg, 5,3 µmol, 57%). ^1H RMN (600 MHz, D_2O) δ 4,89 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H), 4,53 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 4,20 - 4,12 (m, 2H), 4,05 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 3,93 (dd, *J* = 11,2, 3,0 Hz, 1H), 3,77 - 3,72 (m, 1H), 3,70 (dt, *J* = 8,1, 5,6 Hz, 1H), 3,59 - 3,45 (m, 4H), 3,06 - 2,97 (m, 2H), 2,05 (s, 3H), 1,73 - 1,63 (m, 4H), 1,49 - 1,42 (m, 2H), 1,34 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (150 MHz, D_2O) δ 178,1, 177,1, 105,5, 99,6, 82,5, 78,8, 77,9, 75,8, 74,4, 70,5, 69,6, 69,5, 53,2, 42,0, 30,6, 29,1, 24,9, 24,5, 17,9; HRMS (ESI): calculado para $C_{19}H_{34}N_2O_{11}Na^+$ $[M+Na]^+$ 489,2060, encontrado 489,2063.

Ejemplo 51: Síntesis de 5-amino-2-oxopentanil *N*-acetil-L-fucosaminopiranósido (52*)

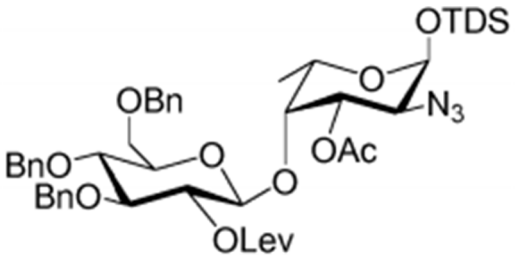
[0246]



[0247] El derivado de fucosamina **52*** se obtuvo según el procedimiento de síntesis descrito para la síntesis de derivado de pneumosamina **36*** (3,26 mg, 11 µmol, rendimiento del 83%) ^{1}H-RMN (400 MHz, D_2O) δ 4,81 (d, *J* = 3,8 Hz, 1H), 4,11-4,02 (m, 2H), 3,88 (dd, *J* = 11,1, 3,3 Hz, 1H), 3,77 (d, *J* = 3,1 Hz, 1H), 3,65 (dt, *J* = 10,1, 6,6 Hz, 1H), 3,44 (dt, *J* = 10,1, 6,3 Hz, 1H), 3,01 - 2,92 (m, 2H), 2,01 (s, 3H), 1,70 - 1,57 (m, 4H), 1,47 - 1,35 (m, 2H), 1,20 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H); ^{13}C-RMN (100 MHz, D_2O) δ 174,4, 96,8, 71,0, 67,7, 67,7, 66,5, 49,6, 39,2, 27,9, 26,4, 22,2, 21,8, 15,3; HRMS (ESI): calculado para $C_{13}H_{26}N_2O_5Na^+$ $[M+Na]^+$ 313,1739, encontrado 313,1750.

Ejemplo 52: Síntesis de texildimetilsilil 3,4,6-tri-*O*-bencil-2-*O*-levulinoil-β-D-glucopiranosil-(1→4)-3-*O*-acetil-2-azido-2-desoxi-α-L-fucopiranósido (**53***)

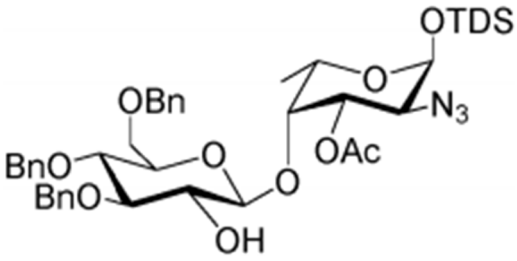
[0248]



[0249] Alcohol **38*** (100 mg, 0,268 mmol, 1,0 equiv) y 2-*O*-levulinoil-3,4,6-tri-*O*-bencil-1-tio-β-D-glucopiranósido (190 mg, 0,321 µmol, 1,2 equiv.) se coevaporaron con tolueno dos veces y se secaron *al vacío*. El residuo se disolvió en diclorometano seco. Se añadieron tamices moleculares (4 Å) y la mezcla de reacción se enfrió a-30ºC. Se añadieron NIS (73 mg, 0,321 µmol, 1,2 equiv.) y TfOH (3 ml, 0,032 µmol, 0,12 equiv.) y la reacción se dejó calentar a -20ºC durante una hora. La reacción se inactivó con trietilamina y se diluyó con diclorometano. La fase orgánica fue lavada con $Na_2S_2O_3$ acuoso saturado, $NaHCO_3$ y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó el disacárido **53*** (182 mg, 0,201 µmol, 75%). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,40 - 7,25 (m, 13 H), 7,15 - 7,12 (m, 2H), 5,14 (dd, *J* = 9,5, 8,2 Hz, 1H), 4,79 (d, *J* = 10,8 Hz, 1H), 4,76 (s, 2H), 4,59 - 4,35 (m, 5H), 4,30 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 3,93 (d, *J* = 3,3 Hz, 1H), 3,81 (t, *J* = 9,3 Hz, 1H), 3,75 - 3,64 (m, 3H), 3,57 (dd, *J* = 10,9, 7,7 Hz, 1H), 3,52 (dd, *J* = 12,9, 6,4 Hz, 1H), 3,40 - 3,34 (m, 1H), 2,93 - 2,42 (m, 4H), 2,16 (s, 3H), 2,09 (s, 3H), 1,73 - 1,59 (m, 1H), 1,26 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 0,93 - 0,85 (m, 12 H), 0,17 (s, 3H), 0,15 (m, 3H).

Ejemplo 53: Síntesis de 3,4,6-tri-*O*-bencil-β-D-glucopiranosil-(1→4)-3-*O*-acetil-2-azido-2-desoxi-α-L-fucopiranósido de texildimetilsililo **(54***)

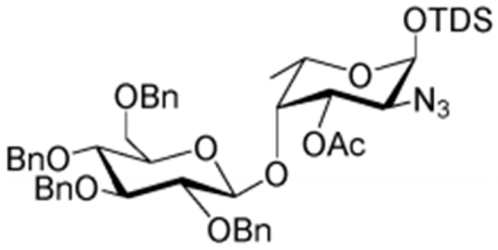
[0250]



[0251] A una solución de disacárido **53*** (180 mg, 0,199 mmol, 1 equiv.) en DCM (11 ml) hidrato de hidracina (40 ml, 0,796 µmol, 4 equiv.) disuelto en AcOH (0,22 ml) y piridina (0,33 ml) y la solución se agitó durante 1 h. Después, la reacción se detuvo mediante la adición de acetona y se concentró. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó el disacárido **54*** (150 mg, 0,186 µmol, 93%). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,38 - 7,21 (m, 13 H), 7,15 - 7,10 (m, 2H), 5,02 (d, *J* = 11,2 Hz, 1H), 4,83 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H), 4,81 (d, *J* = 11,4 Hz, 1H), 4,57 - 4,32 (m, 5H), 4,20 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 4,00 (d, *J* = 3,3 Hz, 1H), 3,80 - 3,50 (m, 7H), 3,44 - 3,30 (m, 1H), 3,21 (s, 1H), 2,11 (s, 3H), 1,74 - 1,63 (m, 1H), 1,33 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 0,94 - 0,85 (m, 12 H), 0,2 (s, 6H).

Ejemplo 54: Síntesis de 3,4,6-tri-*O*-bencil-β-D-glucopiranosil-(1→4)-3-*O*-acetil-2-azido-2-desoxi-α-L-fucopiranósido de texildimetilsililo **(55***)

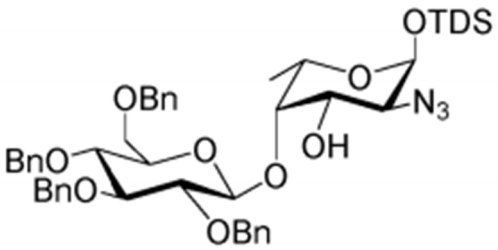
[0252]



[0253] Se añadió bromuro de bencilo (0,074 ml, 0,620 µmol, 10 equiv.) a una solución de alcohol **55*** (50 mg, 0,062 mmol, 1 equiv.) en DCM (0,5 ml). Luego, la mezcla se enfrió a 0ºC y se añadió NaH al 60% en aceite mineral (304 mg, 7,60 mmol). Después de 10 min, se añadió DMF (17 ml). La reacción se calentó a temperatura ambiente y se dejó agitar durante 30 min. La mezcla de reacción se enfrió a 0ºC y se inactivó con AcOH (0,1 ml). La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y el disolvente se evaporó. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó el disacárido **55*** (55 mg, 0,061 µmol, 99%). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,45 - 7,03 (m, 20 H), 5,19 (dd, *J* = 9,6, 8,1 Hz, 1H), 4,89 (d, *J* = 12,6 Hz, 1H), 4,82 - 4,75 (m, 2H), 4,70 (d, *J* = 11,4 Hz, 1H), 4,56 - 4,44 (m, 3H), 4,40 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 4,35 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 4,31 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 3,87 (d, *J* = 3,0 Hz, 1H), 3,73 - 3,43 (m, 6H), 3,34 (q, *J* = 6,5 Hz, 1H), 3,10 (dd, *J* = 10,5, 3,1 Hz, 1H), 1,99 (s, 3H), 1,72 - 1,59 (m, 1H), 1,28 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 0,96 - 0,77 (m, 12 H), 0,13 (m, 6H).

Ejemplo 55: Síntesis de 2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-β-D-glucopiranosil-(1→4)-2-azido-2-desoxi-α-Lfucopiranósido de texildimetilsililo **(56*)**

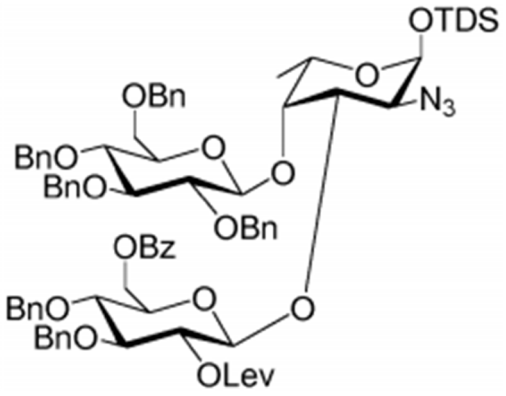
[0254]



[0255] A una solución de disacárido **55*** (55 mg, 61 µmol) en MeOH (1 ml) se añadió 0,5 M NaOMe en MeOH (0,12 ml) y se agitó durante 16 h. La mezcla se neutralizó con resina de intercambio iónico Amberlite® IR 120 (H^+) y el alcohol resultante se filtró y se concentró. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó el disacárido **56*** (43 mg, 50 µmol, 82%). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,42 - 7,20 (m, 18 H), 7,18 - 7,12 (m, 2H), 5,00 (d, *J* = 11,3 Hz, 1H), 4,85 (d, *J* = 11,4 Hz, 2H), 4,76 (d, *J* = 11,3 Hz, 1H), 4,63 (d, *J* = 12,2 Hz, 1H), 4,51 (d, *J* = 10,9 Hz, 1H), 4,48 - 4,32 (m, 4H), 3,93 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 3,76 - 3,46 (m, 7 H), 3,40 (q, *J* = 6,6 Hz, 1H), 3,18 (dd, *J* = 10,5, 3,1 Hz, 1H), 1,73 - 1,63 (m, 1H), 1,32 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 0,92 - 0,83 (m, 12 H), 0,16 (d, *J* = 2,4 Hz, 6H).

Ejemplo 56: Síntesis de [2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-β-D-glucopiranosil-(1→4)]-3,4-di-*O*-bencil-6-*O*-benzoil-2-levulinoílo-β-D-glucopiranosil (1→3)-2-azido-2-desoxi-a-L-fucopiranósido de texildimetilsililo (57*)

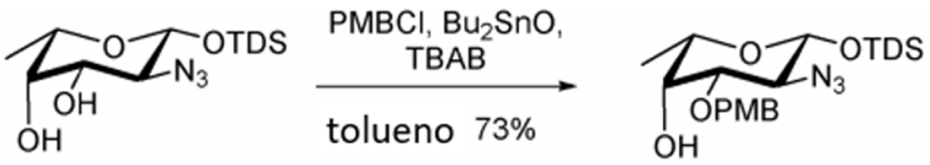
[0256]



[0257] Aceptor **56*** (40 mg, 0,047 mmol, 1,0 equiv) y 6-*O*-benzoil-3,4-di-*O*-bencil-2-*O*-levulinoil-1-tio-β-D-glucopiranósido (43 mg, 0,070 µmol, 1,5 equiv.) se coevaporaron con tolueno dos veces y se secaron *al vacío.* El residuo se disolvió en una mezcla de tolueno (2 mL) y diclorometano (1 mL). Se añadieron tamices moleculares (4 Å) y la mezcla de reacción se enfrió a -45ºC. Se añadieron NIS (21 mg, 0,094 mmol, 2 equiv.) y TfOH (0,5 ml, 5,6 µmol, 0,12 equiv.) y la reacción se dejó calentar a-30ºC durante dos horas. La reacción se inactivó con trietilamina y se diluyó con diclorometano. La fase orgánica se lavó con $Na_2S_2O_3$ acuoso saturado, $NaHCO_3$ y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó el trisacárido **57*** (52 mg, 0,037 µmol, 79%). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,10-7,98 (m, 2H), 7,57 - 7,50 (m, 1H), 7,47 - 7,09 (m, 30 H), 7,07 - 7,00 (m, 2H), 5,23 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 5,14 - 5,05 (m, 1H), 4,91 (d, *J* = 5,1 Hz, 1H), 4,88 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 4,84 - 4,76 (m, 2H), 4,73 - 4,31 (m, 11 H), 4,28 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 3,99 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 3,96 - 3,87 (m, 2H), 3,85 - 3,82 (m, 1H), 3,71 - 3,34 (m, 8 H), 3,18 (dd, *J* = 10,4, 3,1 Hz, 1H), 2,66 - 2,14 (m, 4H), 2,03 (s, 1H), 1,60 -1,48 (m, 1H), 1,44 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 0,83 (dd, *J* = 7,6, 2,4 Hz, 12 H), 0,12 (d, *J* = 10,5 Hz, 6H).

Ejemplo 57: Síntesis de hexildimetilsililo 3-*O*-*p*-metoxibencilo-2-azido-2-desoxi-β-L-fucopiranósido **(59***)

[0258]

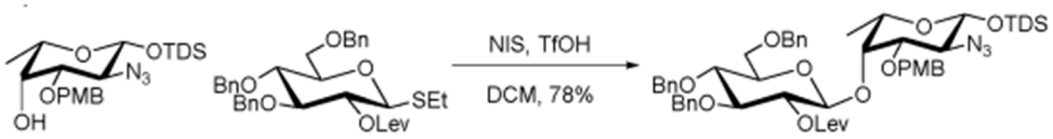


59* **59a***

Se co-evaporó Diol **59*** (1,02 g, 3,07 mmol, 1,0 equiv.) con tolueno seco dos veces y se dejó secar *al vacío* durante 30 min. Luego, se añadió tolueno seco (30 ml), seguido de Bu_2SnO (1,14 g, 4,60 µmol, 1,5 equiv) y 4 Å MS. La reacción se agitó durante 1 hora a reflujo. La reacción se enfrió a 40ºC; se añadieron PMBCl (1,25 ml, 9,20 µmol, 3 equiv.) y TBAB (1,48 g, 4,60 µmol, 1,5 equiv.) y se dejaron en agitación durante la noche a ta. Se filtró la mezcla de reacción y se evaporó el disolvente. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó el bloque de construcción **59a*** (1,01 g, 2,23 µmol, 73%). $[\alpha]_D^{20}$ = 25,6 (c = 2,00, $CHCl_3$); IR v_{max} (película) 3494, 2960, 2870, 2112, 1515, 1251, 1073, 829 cm^{-1}; ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,36 - 7,28 (m, 2H), 6,97 - 6,84 (m, 2H), 4,63 (s, 2H), 4,39 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,71 - 3,63 (m, 1H), 3,53 - 3,39 (m, 2H), 3,24 (dd, *J* = 10,1, 3,3 Hz, 1H), 2,41 - 2,26 (m, 1H), 1,67 (hept, *J* = 6,8 Hz, 1H), 1,31 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 0,89 (d, *J* = 7,0 Hz, 12 H), 0,17 (d, *J* = 3,5 Hz, 6H). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$) δ 159,6, 129,7, 129,5, 114,1, 97,0, 79,0, 71,8, 70,2, 68,4, 65,2, 55,4, 34,0, 24,9, 20,1, 20,0, 18,6, 18,5, 16,5, -1,8, - 3,2. LRMS (ESI+) calculado para $C_{22}H_{37}N_3O_5SiNa^+$ $[M+Na]^+$ 474,2400, encontrado 474,2.

Ejemplo 58: Síntesis de texildimetilsililo 3,4,6-tri-*O*-bencil-2-*O*-levulinoil-β-D-glucopiranosil-(1→4)-3-*O*-*p*-metoxibencil-2-azido-2-desoxi-β-L-fucopiranósido **(61***)

[0259]

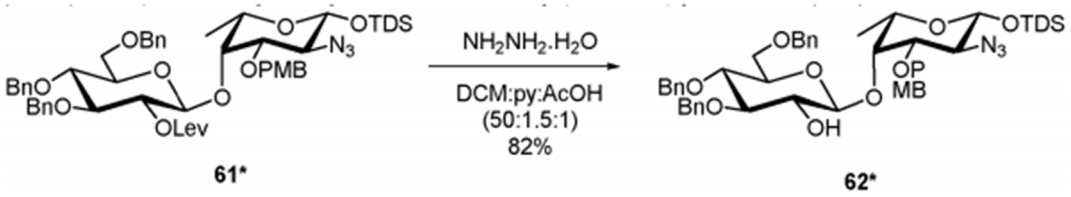


59a* **60*** **61***

[0260] Aceptor de L-fucosil **59a*** (200 mg, 0,443 mmol, 1,0 equiv) y tioglucósido **60*** (354 mg, 0,70 µmol, 1,35 equiv) se coevaporó con tolueno dos veces y se secó *al vacío.* El residuo se disolvió en DCM (15 mL). Se añadieron tamices moleculares lavados con ácido (4 Å) y la mezcla de reacción se enfrió a -40ºC. Se añadieron NIS (149 mg, 0,66 µmol, 1,5 equiv.) y TfOH (2 ml, 0,02 µmol, 0,05 equiv.) y se dejó agitar durante una hora a -40ºC. La reacción se inactivó con trietilamina y se diluyó con DCM. La fase orgánica se lavó con $Na_2S_2O_3$ acuoso saturado, $NaHCO_3$ y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó el disacárido **61*** (338 mg, 0,34 µmol, 78%). $[\alpha]_D^{20}$ = -2,5 (c = 1,00 $CHCl_3$); IR v_{max} (película) 2959, 2868, 2112, 1750, 1721, 1515, 1250, 1075, 832 cm^{-1}, ^{1}H RMN (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7,41 - 7,19 (m, 15H), 7,18-7,11 (m, 2H), 6,82 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 5,19 (t, *J* = *8,8* Hz, 1H), 4,83 - 4,74 (m, 4H), 4,53 - 4,43 (m, 3H), 4,39 (d, *J* = 5,3 Hz, 2H), 4,26 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 3,85 - 3,82 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,73 - 3,63 (m, 2H), 3,60 - 3,43 (m, 4H), 3,33 (q, *J* = 6,6 Hz, 1H), 3,08 (dd, *J* = 10,5, 3,0 Hz, 1H), 2,90 - 2,79 (m, 1H), 2,65 - 2,55 (m, 2H), 2,53 - 2,45 (m, 1H), 2,14 (s, 3H), 1,64 (h, *J* = 6,8 Hz, 1H), 1,27 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 0,91 - 0,81 (m, 12 H), 0,11 (d, *J* = 12,5 Hz, 6H). ^{13}C RMN (151 MHz, $CDCl_3$) δ 206,6, 171,3, 159,2, 138,4, 137,9, 130,2, 129,6, 128,6, 128,5, 128,5, 128,3, 128,2, 128,0, 128,0, 127,8, 127,8, 113,8,101,7, 97,2, 83,2, 78,0, 75,3, 75,2, 75,0, 74,0, 73,9, 73,6, 70,3, 70,0, 69,7, 64,7, 55,4, 38,2, 34,1, 30,0, 28,0, 24,9, 20,1, 20,1, 18,63, 18,58, 17,0, - 1,8,-3,1. HRMS (ESI+) calculado para $C_{54}H_{71}N_3O_{12}SiNa^+$ $[M+Na]^+$ 1004,4705, encontrado 1004,4709.

Ejemplo 59: Síntesis de 3,4,6-tri-*O*-bencil-β-D-glucopiranosil-1→4-3-*Op* -metoxbencil-2-azido-2-desox-β-L-fucoranósido de texildimetilsililo **(62*)**

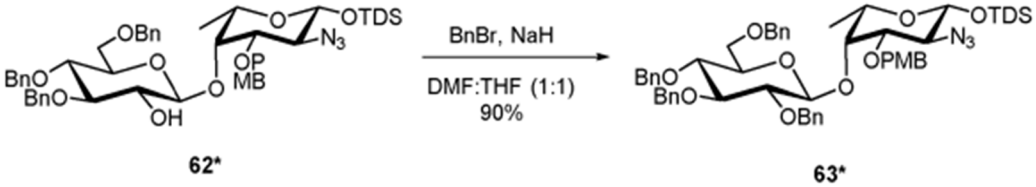
[0261]



[0262] A una solución de disacárido **61*** (970 mg, 0,99 µmol, 1 equiv) en DCM (11 ml), una solución de hidrato de hidrazina (190 µl, 3,95 mmol, 4 equiv.) disuelto en AcOH (1,1 ml) y se añadió piridina (1,7 ml). La mezcla de reacción resultante se agitó a ta durante 1 a 2 h. La reacción se detuvo mediante la adición de acetona y el disolvente se evaporó. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó el disacárido **62*** (720 mg, 0,81 µmol, 82%). $[\alpha]_D^{20}$ = 28,5 (c = 0,10, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 3470, 2930, 2870, 2113, 1515, 1252, 1115, 1069, 832 cm^{-1}, ^1H RMN (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7,40 - 7,36 (m, 2H), 7,35 - 7,21 (m, 13 H), 7,20 - 7,12 (m, 2H), 6,80 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 5,00 (d, *J* = 11,4 Hz, 1H), 4,86 (d, *J* = 10,9 Hz, 1H), 4,80 - 4,72 (m, 2H), 4,60 (d, *J* = 11,6 Hz, 1H), 4,53 (d, *J* = 10,8 Hz, 1H), 4,50 - 4,40 (m, 3H), 4,36 *(d, J* = 7,7 Hz, 1H), 3,90 (d, *J* = 3,0 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,69 - 3,44 (m, 8H), 3,39 (q, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,18 (dd, *J* = 10,5, 3,1 Hz, 1H), 1,66 (h, *J* = 6,8 Hz, 1H), 1,29 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 0,94 - 0,81 (m, 12 H), 0,17 (d, *J* = 4,3 Hz, 6H). ^{13}C RMN (151 MHz, $CDCl_3$) δ 159,6, 139,2, 138,3, 138,1, 130,3, 129,3, 128,51, 128,50, 128,46, 128,2, 127,94, 127,89, 127,8, 127,6, 114,0, 102,5, 97,2, 84,6, 78,0, 77,0, 75,4, 75,2, 75,1, 73,8, 73,6, 72,2, 72,1, 70,7, 69,6, 65,7, 55,4, 34,1, 25,0, 20,2, 20,1, 18,7, 18,6, 17,5, -1,7, - 3,0. HRMS (ESI+) calculado para $C_{49}H_{65}N_3O_{10}SiNa^+$ $[M+Na]^+$ 906,4337, encontrado 906,4371.

Ejemplo 60: Síntesis de 2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-β-D-glucopiranosil-(1→4)-3-*O*-*p*-metoxibencil-2-azido-2-desoxi-β-L-fucopiranósido de texildimetilsililo **(63 x)**

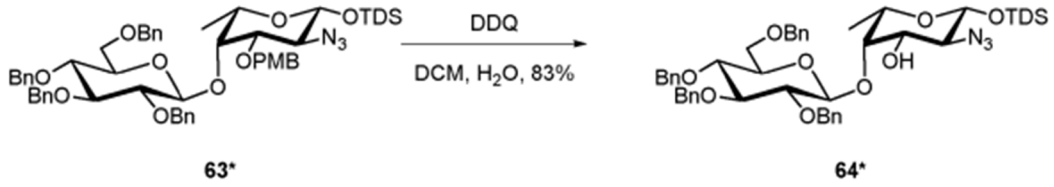
[0263]



[0264] Se añadió bromuro de bencilo (194 ml, 1,63 mmol, 2 equiv.) a una solución de alcohol **62*** (720 mg, 0,81 mmol, 1 equiv.) en THF:DMF (1:1, 17 ml). Luego, la mezcla se enfrió a 0ºC y se añadió NaH al 60% en aceite mineral (65 mg, 1,63 µmol, 2 equiv.). La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se dejó agitar durante 3 h. Luego, se diluyó con DCM y se inactivó con $NaHCO_3$. La capa acuosa se extrajo con DCM (3x). La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se evaporó el disolvente. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó el disacárido **63*** (715 mg, 0,73 µmol, 90%). $[\alpha]_D^{20}$ = - 5,4 (c = 2,44 $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 3066, 3033, 2957, 2867, 2112, 1514, 1249, 1068, 831, 698 cm^{-1}, ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,47 - 7,07 (m, 22H), 6,83 *(d, J* = 8,2 Hz, 2H), 5,17 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 5,04 (d, *J* = 11,1 Hz, 1H), 4,90-4,69 (m, *J* = 25,2, 21,0, 11,5 Hz, 5H), 4,54 - 4,32 (m, 6H), 3,97 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,73 - 3,36 (m, 9H), 3,15 (dd, *J* = 10,5, 3,1 Hz, 1H), 1,68 - 1,56 (h, *J* = 6,8 Hz, 1H), 1,38 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 0,92 - 0,78 (m, 12 H), 0,15 (s, 6H). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$) δ 159,2, 138,9, 138,2, 137,9, 137,8, 130,1, 129,8, 129,3, 128,52, 128,49, 128,47, 128,34, 128,32, 128,03, 127,97, 127,8, 127,7, 113,7, 104,5, 97,1, 85,0, 81,8, 77,9, 76,6, 75,8, 75,1, 75,0, 74,9, 73,7, 73,5, 70,5, 70,0, 69,6, 65,2, 55,3, 34,0, 24,9, 20,2, 20,0, 18,6, 18,5, 17,3, -1,9,-3,2. HRMS (ESI+) calculado para $C_{56}H_{71}N_3O_{10}SiNa^+$ $[M+Na]^+$ 1004,4806, encontrado 996,4809.

Ejemplo 61: Síntesis de 2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-β-D-glucopiranosil-(1→4)-2-azido-2-desoxi-β-L-fucopranósido de texildimetilsililo **(64*)**

[0265]

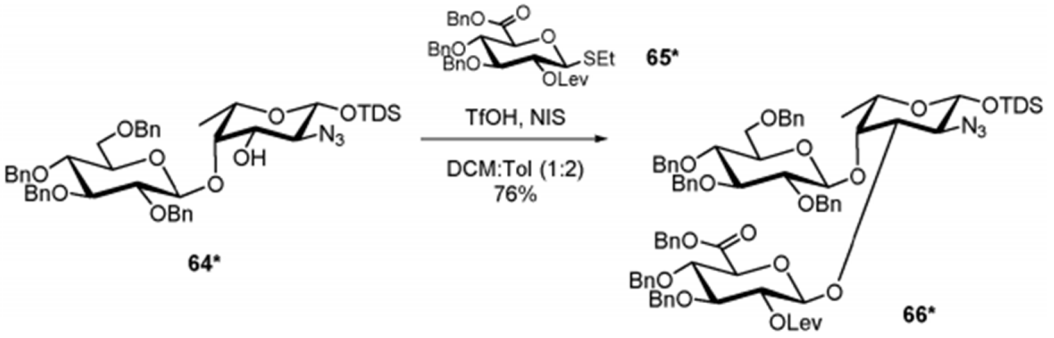


63* 64*

[0266] A una solución de disacárido **63*** (630 mg, 0,65 µmol, 1 equiv) en DCM: H_2O (18:1, 5,3 ml) se añadió 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ) (161 mg, 0,71 µmol, 1,1 equiv) a 0ºC. La reacción se calentó a ta y se dejó agitar durante 2,5 h. La reacción no se completó, luego se agregaron 10 mg de DDQ. Después de 30 minutos, la reacción se diluyó con DCM y se añadió $NaHCO_3$. La fase orgánica se lavó (3x) con $NaHCO_3$ hasta que la solución fue incolora. Luego, la fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se evaporó el disolvente. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó el disacárido **64*** (460 mg, 0,54 µmol, 83%). $[\alpha]_D^{20}$ = 1,9 (c = 1,36, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 3484, 3034, 2959, 2869, 2112, 1254, 1069, 833, 629 cm^{-1}, ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,43 - 7,19 (m, 18H), 7,16-7,08 (m, 2H), 5.08-4,97 (m, 2H), 4,87 - 4,75 (m, 3H), 4,59 - 4,44 (m, 4H), 4,37 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 3,73 - 3,34 (m, 10H), 1,66 (h, *J* = 7,0 Hz, 1H), 1,30 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 0,93 - 0,78 (m, 12 H), 0,20 (s, 6H). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$) δ 138,6, 137,9, 137,85, 137,81, 128,8, 128,6, 128,5, 128,4, 128,2, 128,1, 128,0, 127,9, 127,9, 127,8,104,0, 97,3, 84,6, 81,5, 80,6, 77,6, 77,4, 75,9, 75,3, 75,0, 73,8, 71,4, 70,3, 68,8, 67,7, 34,1, 24,9, 20,2, 20,0, 18,6, 18,5, 16,7, -1,9,-3,0. HRMS (ESI+) calculado para $C_{48}H_{63}N_3O_9SiNa^+$ $[M+Na]^+$ 876,4231, encontrado 876,4234.

Ejemplo 62: Síntesis de [2,3,4,6-tetra-O-bencil-β-D-glucopiranosil-(1→4)]-bencil-3,4-di-*O*-bencil-6-*O*-benzoilo-2-levulinoílo-p-D-glucopiranosiluronate-(1→3)-2-azido-2-desoxi-β-L-fucopiranósido de texildimetilsililo **(66*)**

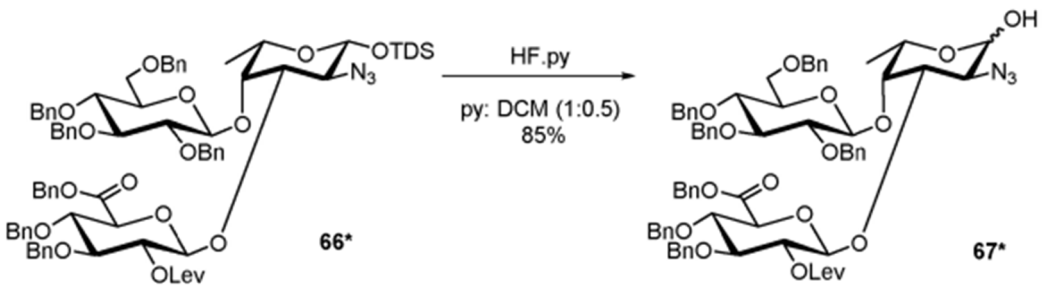
[0267]



[0268] Aceptor **64*** (91 mg, 0,11 mmol, 1,0 equiv) y tioglucósido **65*** (129 mg, 0,21 mmol, 2 equiv.) se coevaporaron con tolueno dos veces y se secaron *al vacío.* El residuo se disolvió en una mezcla de tolueno (4 mL) y DCM (2 mL). Se añadieron tamices moleculares lavados con ácido (4 Å) y la mezcla de reacción se enfrió a-30ºC. Se añadieron NIS (53 mg, 0,23 mmol, 2,2 equiv.) y TfOH (0,5 ml, 5,3 µmol, 0,05 equiv.) y la reacción se dejó calentar a -15ºC durante dos horas. La reacción se inactivó con trietilamina y se diluyó con DCM. La fase orgánica se lavó con $Na_2S_2O_3$ acuoso saturado, $NaHCO_3$ y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó el trisacárido **66*** (114 mg, 0,08 µmol, 76%). $[\alpha]_D^{20}$ = -26,6 (c = 0,87 $CHCl_3$); IR ν_{max}. (Película) 3034, 2929, 2870, 2116, 1751, 1720, 1072, 832, 698 cm^{-1}, ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,56 - 6,90 (m, 35H), 5,21 - 5,06 (m, 5H), 5,02 - 4,94 (m, 2H), 4,83 - 4,61 (m, 6H), 4,53 - 4,32 (m, 6H), 4,06 - 3,88 (m, 3H), 3,83 - 3,73 (m, 2H), 3,65 - 3,33 (m, 8H), 3,21 (t, *J* = 9,2 Hz, 1H), 2,78 - 2,57 (m, 2H), 2,50-2,37 (m, 2H), 2,11 (s, 3H), 1,68-1,53 (m, 1H), 1,35 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 0,94 - 0,73 (m, 12 H), 0,15 (d, *J* = 8,8 Hz, 6H). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$) δ 206,3, 171,3, 168,6, 138,8, 138,4, 138,3, 138,2, 138,0, 137,9, 135,3, 129,2, 128,7, 128,65, 128,60, 128,56, 128,55, 128,53, 128,4, 128,20, 128,18, 128,1, 128,0, 127,9, 127,8, 127,73, 127,70, 127,67, 104,0, 96,8, 95,5, 84,9, 82,0, 81,4, 79,5, 78,3, 75,9, 75,2, 74,9, 74,8, 74,4, 74,3, 74,1, 73,4, 73,4, 73,0, 72,4, 70,5, 69,2, 67,3, 64,6, 37,9, 34,1, 30,1, 28,2, 24,9, 20,2, 20,0, 18,7, 18,5, 17,5, -1,9, - 3,2. HRMS (ESI+) calculado para $C_{80}H_{95}N_3O_{17}SiNa^+$ $[M+Na]^+$ 1420,6328, encontrado 1420,6322.

Ejemplo 63: Síntesis de [2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-β-D-glucopiranosil-(1→4)]-bencil-3,4-di-*O*-bencil-6-*O*-benzoil-2-levulinoil-β-D-glucopiranosiluronato-(1→3)-2-azido-2-desoxi-α,β-L-fucopiranósido **(67*)**

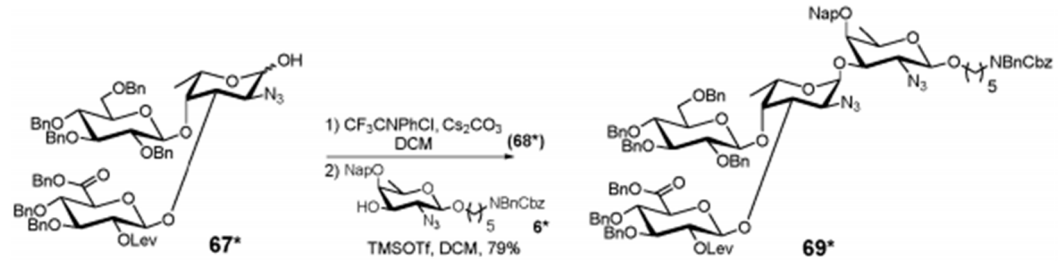
[0269]



[0270] Trisacárido **66*** (235 mg, 0,17 mmol, 1,0 equiv) se disolvió en una mezcla de piridina (1 ml) y DCM (0,5 ml) en un tubo falcon de plástico. Se añadió gota a gota HF.py (0,15 ml, 1,70 mmol, 10 equiv.) y la reacción se dejó agitar a ta durante 48-72 h. La reacción se diluyó con DCM y se inactivó con $NaHCO_3$. Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó el trisacárido lactol **67*** (180 mg, 0,14 µmol, 85%). Mezcla α:β (1,4:1): aceite transparente. $[\alpha]_D^{20}$ =-36,8 (c = 1,12, $CHCl_3$); IR v_{max} (película) 3480, 3033, 2912, 2870, 2115, 1750, 1720, 1071, 740, 698 cm^{-1},^{1}H RMN (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7,48 - 7,03 (m, 60H), 5,29 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H), 5,21 - 5,05 (m, 9 H), 5,00 - 4,94 (m, 2H), 4,82 - 4,76 (m, 4H), 4,74 - 4,63 (m, 7 H), 4,53 - 4,43 (m, 9H), 4,35 (dd, *J* = 10,2, 3,0 Hz, 1H), 4,16 (q, *J* = 6,7 Hz, 1H), 4,07 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 4,03 - 3,95 (m, 4H), 3,90 (dd, *J* = 10,2, 3,5 Hz, 1H), 3,87 (dd, *J* = 10,4, 3,1 Hz, 1H), 3,84 - 3,77 (m, 2H), 3,67 - 3,59 (m, 4H), 3,57-3,48 (m, 3H), 3,47 - 3,38 (m, 3H), 3,31 - 3,25 (m, 2H), 2,70 - 2,65 (m, 3H), 2,56 - 2,47 (m, 2H), 2,45 - 2,36 (m, 2H), 2,13 (s, 2H), 2,11 (s, 3H), 1,39 (d, *J* = 6,6 Hz, 2H), 1,36 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), ^{13}C RMN (151 MHz, $CDCl_3$) δ 206,4, 206,1, 171,3, 168,5, 168,4, 138,7, 138,40, 138,38, 138,3, 138,1, 138.00, 137,98, 135,3, 135,2, 129,0, 128,9, 128,73, 128,72, 128,67, 128,64, 128,61, 128,58, 128,54, 128,53, 128,50, 128,47, 128,39, 128,37, 128,19, 128,16, 128,1, 128.05, 127,98, 127,93, 127,92, 127,88, 127,86, 127,84, 127,77, 127,75, 127,71, 103,8,103,7, 96,14, 96,09, 96,0, 91,9, 84,9, 82,6, 82,4, 81,44, 81,40, 79,7, 79,5, 78,3, 75,9, 75,2, 75,14, 75,13, 75,06, 74,96, 74,94, 74,6, 74,5, 74,43, 74,40, 74,3, 74,2, 73,6, 73,4, 73,3, 73,0, 72,3, 71,7, 71,0, 69,2, 69,1, 67,4, 67,1, 63,6, 59,9, 37,8, 30,10, 30.07, 28,3, 17,5, 17,2. HRMS (ESI+) calculado para $C_{72}H_{77}N_3O_{17}Na^+$ [M+Na]$^+$ 1278,5151, encontrado 1278,5177.

Ejemplo 64: Síntesis de *N*-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil [2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-β-D-glucopiranosil-(1→4)]-bencil-3,4-di-*O*-bencil-6-*O*-benzoil-2-levulinoil-β-D-glucopiranosiluronato-(1→3)-2-azido-2-desoxi-α-Lfucopiranosil-(1→3)-2-azido-2-desoxi-4-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-fucopiranósido **(69*)**

[0271]



[0272] A una solución del lactol trisacárido **67*** (80 mg, 0,06 mmol, 1,0 equiv) en A DCM (3 ml) se le añadió Cs_2CO_3 (42 mg, 0,12 µmol, 2,0 equiv.) y cloruro de 2,2,2-trifluoro-N-fenilacetimidoílo (30 ml, 0,19 µmol, 3,0 equiv.) a 0ºC. Después de 2 h a ta, se filtró el producto **(68 x)** y se evaporó el disolvente. La mezcla cruda se pasó a través de un pequeño tapón de sílice y se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional. El aceptor **6*** (81 mg, 0,13 µmol, 2,0 equiv.) y el imidato de trisacárido **68*** (90 mg, 0,06 mmol, 1,0 equiv.) se coevaporaron con tolueno dos veces y se secaron *al vacío.* El residuo se disolvió en DCM (3 mL). Se añadieron tamices moleculares lavados con ácido (4 Å) y la mezcla de reacción se enfrió a -35ºC. Se añadió TMSOTf (1 ml, 6 µmol, 0,1 equiv.) y la reacción se dejó calentar a -20ºC durante 1 hora. La reacción se interrumpió con trietilamina, se filtró y el disolvente se evaporó. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó tetrasacárido **69*** (94 mg, 0,05 µmol, 79%). $[\alpha]_D^{20}$ = -52,6 (c = 0,54, $CHCl_3$); IR v_{max} (película) 3033, 2929, 2870, 2116, 1751, 1699, 1361, 1071, 737, 698 cm^{-1}, ^{1}H RMN (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7,81 - 7,75 (m, 3H), 7,72 (s, 1H), 7,51 - 7,48 (m, 1H), 7,45 - 7,40 (m, 2H), 7,39 - 7,07 (m, 43H), 7,04 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H), 5,26 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 5,20 - 5,14 (m, 2H), 5,12- 5,05 (m, 2H), 4,99 - 4,94 (m, 2H), 4,91 (d, *J* = 11,0 Hz, 1H), 4,86 (d, *J* = 12,2 Hz, 1H), 4,83 - 4,71 (m, 4H), 4,69 - 4,59 (m, 4H), 4,54 - 4,40 (m, 6H), 4,35 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 4,30 (dd, *J* = 10,3, 3,0 Hz, 1H), 4,22 - 4,12 (m, 1H), 4,03 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 3,95 (t, *J* = 9,3 Hz, 1H), 3,88 - 3,82 (m, 3H), 3,79 - 3,73 (m, 1H), 3,73 - 3,65 (m, 2H), 3,63 - 3,54 (m, 2H), 3,53 - 3,35 (m, 7 H), 3,32 (t, *J* = 9,4 Hz, 1H), 3,29 - 3,23 (m, 1H), 3,22 - 3,16 (m, 1H), 2,63 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H), 2,44 (dt, *J* = 17,4, 6,5 Hz, 1H), 2,36 (dt, *J* = 17,4, 6,7 Hz, 1H), 2,08 (s, 3H), 1,68 - 1,46 (m, 4H), 1,43 - 1,27 (m, 2H), 1,31 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 1,00 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H). ^{13}C RMN (151 MHz, $CDCl_3$) δ 206,2, 171,3, 168,1, 138,7, 138,4, 138,2, 138,0, 135,8, 135,1, 133,2, 133,1, 128,7, 128,62, 128,59, 128,56, 128,55, 128,52, 128,51, 128,46, 128,4, 128,3, 128,21, 128,20, 128,1, 128.03, 127,99, 127,97, 127,9, 127,82, 127,75, 127,7, 127,5, 127,4, 127,1, 126,3, 126,2, 103,7, 102,74, 99,1, 97,0, 85,0, 82,4, 81,4, 79,7, 79,0, 78,3, 75,8, 75,2, 74,9, 74,8, 74,72, 74,68, 74,4, 73,7, 73,2, 71,0, 69,2,

67,3, 67,2, 64,0, 59,0, 50,7, 50,4, 47,3, 46,4, 37,8, 30,1, 29,4, 28,2, 23,4, 17,4, 16,8. HRMS (ESI+) calculado para $C_{109}H_{117}N_7O_{22}Na^+$ [M+Na]$^+$ 1900,1187, encontrado 1900,184.

Ejemplo 65: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanilo [2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-β-D-glucopiranosil-(1→4)]-bencil-3,4-di-*O*-bencil-6-*O*-benzoil-β-D-glucopiranosiluronato-(1→3)-2-azido-2-desoxi-aL-fucopiranosil-(1→3)-2-azido-2-desoxi-4-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-fucopiranósido **(70***)

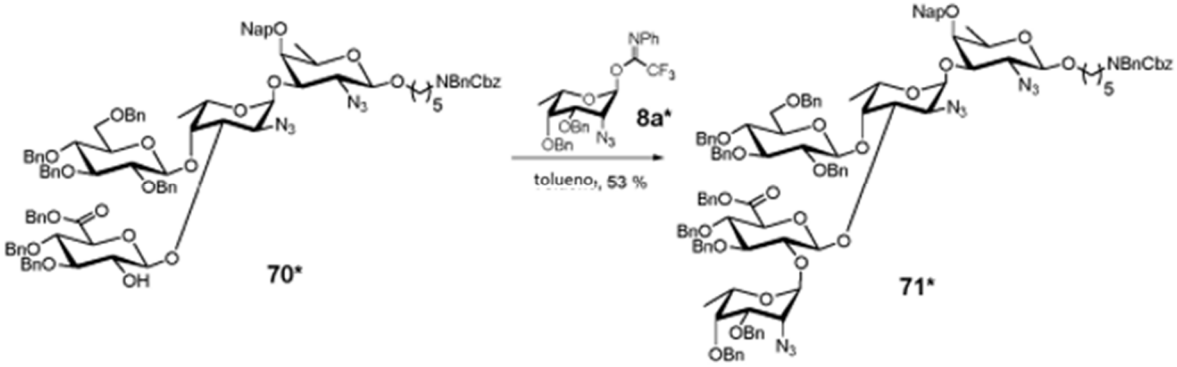
[0273]



[0274] A una solución de tetrasacárido **69*** (40 mg, 0,021 mmol, 1 equiv) en DCM (2 ml), se añadió una solución de hidrato de hidrazina (13 µl, 0,26 mmol, 12 equiv.) disuelta en AcOH (0,08 ml) y piridina (0,12 ml). La mezcla de reacción resultante se agitó a ta durante 1 a 2 h. La reacción se detuvo mediante la adición de acetona y el disolvente se evaporó. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó tetrasacárido **70*** (34 mg, 0,019 mmol, 90%). $[\alpha]_D^{20}$ = - 66,6 (c = 1,00, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 3501, 3033, 2928, 2870, 2116, 1749, 1698, 1070, 735, 698 cm^{-1}, ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,87 - 7,74 (m, 3H), 7,17 (s, 1H), 7,58 - 6,92 (m, 48H), 5,29 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H), 5,21 - 5,13 (m, 3H), 5,08 - 4,71 (m, 10H), 4,59 - 4,38 (m, 6H), 4,37 - 4,29 (m, 2H), 4,27 - 4,18 (m, 2H), 4,00 - 3,86 (m, 5H), 3,78 - 3,17 (m, 17H), 1,72 - 1,47 (m, 4H), 1,39 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 1,43 - 1,27 (m, 2H), 1,04 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$) δ 168,0, 156,8, 156,3, 138,7, 138,7, 138,2, 138,1, 138,0, 137,83, 137,78, 135,6, 135,3, 133,1, 133,0, 128,9, 128,7, 128,62, 128,61, 128,51, 128,49, 128,47, 128,44, 128,40, 128,35, 128,26, 128,2, 128,1, 127,92, 127,89, 127,86, 127,8, 127,7, 127,6, 127,3, 127,0, 126,7, 126,5, 126,3, 104,1, 103,4, 102,8, 100,7, 84,6, 83,9, 82,3, 79,0, 78,8, 78,2, 77,6, 75,8, 75,7, 75,3, 75,23, 75,20, 75,1, 75,0, 74,2, 73,2, 71,0, 70,0, 69,9, 68,2, 67,4, 67,2, 66,8, 63,8, 58,0, 50,6, 50,3, 47,2, 46,3, 29,3, 28,0, 27,5, 23,3, 17,5, 16,8. HRMS (ESI+) calculado para $C_{104}H_{111}N_7O_{20}Na^+$ [M+Na]$^+$ 1801,7815, encontrado 1801,7992.

Ejemplo 66: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 2-azido-3,4-di-*O*-bencil-2-desoxi-α-L-neumopiranosil-(1→2)-[2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-β-D-glucopiranosil-(1→4)]-bencil-3,4-di-*O*-bencil-6-*O*-benzoil-β-D-glucopiranosiluronato-(1→3)-2-azido-2-desoxi-aL-fucopiranosil-(1→3)-2-azido-2-desoxi-4-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-fucopiranósido **(71***)

[0275]

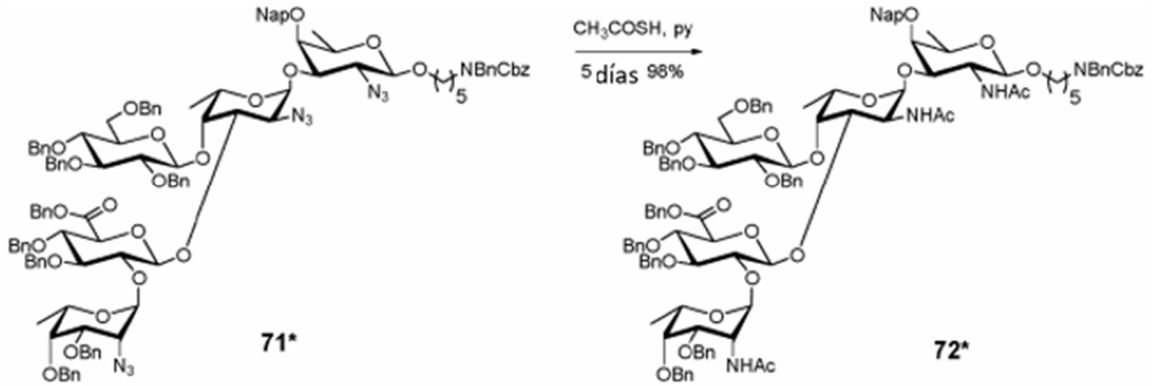


[0276] Aceptor **70*** (25 mg, 0,014 mmol, 1,0 equiv.) e imidato **8a*** (23 mg, 0,042 µmol, 3,0 equiv.) se coevaporaron con tolueno dos veces y se secaron *al vacío*. El residuo se disolvió en tolueno (2 mL). La mezcla de reacción se enfrió a -35ºC. Se añadió TMSOTf (0,25 µl, 1,4 µmol, 0,1 equiv.) y la reacción se dejó calentar a -20ºC durante 2 h. La reacción se interrumpió con trietilamina, se filtró y el disolvente se evaporó. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó el pentasacárido **71*** (16 mg, 0,07 µmol, 53%). $[\alpha]_D^{20}$ =-39,5 (c = 0,30, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 3034, 2931, 2870, 2115, 1750, 1698, 1455, 1070, 736, 698 cm^{-1}, ^{1}H RMN (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7,87 - 7,73 (m, 3H), 7,68 (s, 1H), 7,62 - 7,02 (m, 55H), 7,02 - 6,86 (m, 3H), 5,32 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H), 5,28 - 5,22 (m, 2H), 5,21 - 5,13 (m, 2H), 5,03 - 4,39 (m, 22H), 4,33 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 4,26 (d, *J* = 10,9 Hz, 1H), 4,24 - 4,16 (m, 2H), 4,06 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 4,01 - 3,86 (m, 4H), 3,85 - 3,79 (m, 2H), 3,73 (t, *J* = 8,3 Hz, 1H), 3,67 - 3,54 (m, 4H), 3,54 - 3,32 (m, 8H), 3,31 - 3,12 (m, 4H), 1,74 - 1,46 (m, 4H), 1,46 - 1,18 (m, 8H), 0,97 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H). ^{13}C RMN (151 MHz, $CDCl_3$) δ 168,1, 138,7, 138,4, 137,7, 137,60, 135,58, 134,9, 133,2, 128,73, 128,65, 128,62, 128,57, 128,5, 128,44, 128,42, 128,37, 128,35,

128,23, 128,20, 128,1, 128,03, 127,97, 127,91, 127,87, 127,8, 127,7, 127,6, 127,5, 127,4, 127,2, 127,1, 126,7, 126,4, 126,2, 103,9, 102,9, 100,3, 99,2, 95,4, 85,2, 84,1, 81,2, 80,4, 78,8, 78,2, 77,5, 76,8, 76,5, 75,6, 75,1, 74,9, 74,84, 74,77, 74,5, 74,2, 73,2, 72,5, 71,1, 70,5, 70,0, 69,92, 69,87, 69,3, 68,0, 67,3, 67,0, 66,9, 66,5, 64,0, 57,9, 57,3, 50,7, 50,4, 47,3, 47,3, 46,3, 32,1, 29,8, 29,5, 29,4, 28,0, 27,60, 23,4, 23,3, 22,8, 17,5, 17,1, 17,0, 14,7, 14,3. HRMS (ESI+) calculado para $C_{124}H_{132}N_{10}O_{23}Na^+$ $[M+Na]^+$ 2152,9398, encontrado 2152,9582.

Ejemplo 67: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 2-*N*-acetil-3,4-di-*O*-bencil-α-L-neumopiranosil-(1→2)-[2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-β-D-glucopiranosil-(1→4)]-bencil-3,4-di-*O*-bencil-6-*O*-benzoil-β-D-glucopiranosiluronato-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-4-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-fucopiranósido **(72***)

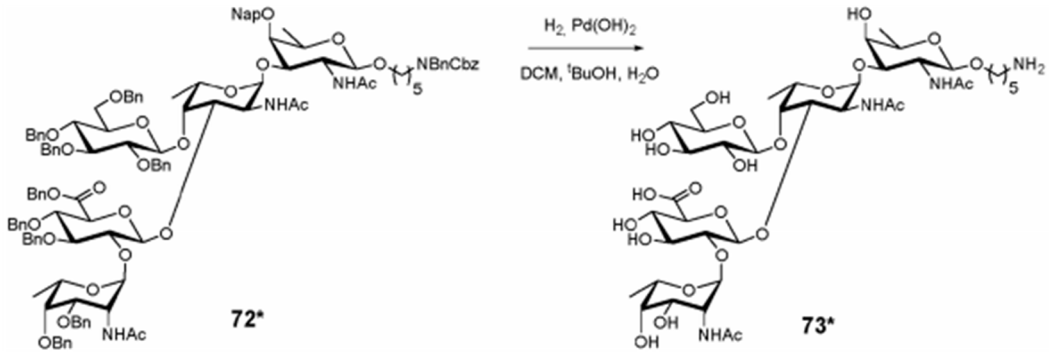
[0277]



[0278] A una solución de azidopentasacárido **71*** (32 mg, 0,015 mmol, 1 equiv.) en piridina (2 ml), se añadió ácido tioacético (0,5 ml) y se agitó durante 5 días a ta. La mezcla de reacción se concentró y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetona) para proporcionar el acetamida pentasacárido **72*** (32 mg, 0,015 µmol, 98%). $[\alpha]_D^{20}$ = -26,6 (c = 0,87, $CHCl_3$); IR v_{max} (película) 3420, 3330, 3030, 2935, 2870, 1677, 1455, 1364, 1070, 7, 698 cm^{-1}, ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,92 - 7,67 (m, 5H), 7,63 - 6,87 (m, 55 H), 6,80 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H), 6,09 (sa, 1H), 5,76 (sa, 1H), 5,51 (sa, 1H), 5,46 - 5,36 (m, 2H), 5,28 (s, 1H), 5,22 - 5,12 (m, 2H), 5,07 - 4,96 (m, 3H), 4,93 - 4,33 (m, 22H), 4,29 - 4,08 (m, 5H), 3,96 - 3,58 (m, 11H), 3,56 - 3,30 (m, 6H), 3,28 - 3,16 (m, 3H), 2,03 - 1,85 (m, 6H), 1,65 - 1,45 (m, 7H), 1,36 - 1,08 (m, 11H). ^{13}C RMN (151 MHz, $CDCl_3$) δ 171,6, 170,7, 169,7, 169,4, 138,6, 138,3, 138,2, 138,02, 137,98, 137,8, 137,7, 137,6, 136,3, 134,5, 133,2, 133,1, 128,9, 128,7, 128,65, 128,62, 128,58, 128,48, 128,43, 128,36, 128,33, 128,29, 128,2, 128,1, 128.02, 127,97, 127,94, 127,89, 127,69, 127,67, 127,64, 127,56, 127,44, 127,39, 126,9, 126,53, 126,49, 126,2, 103,8, 100,5, 99,7, 97,0, 95,0, 85,3, 84,5, 80,9, 80,6, 78,8, 78,3, 77,8, 76,2, 75,8, 75,3, 75,1, 74,4, 74,22, 73,4, 73,2, 71,7, 70,7, 69,8, 69,5, 68,3, 67,4, 67,3, 66,6, 66,5, 55,2, 50,6, 50,4, 49,6, 48,0, 47,4, 46,2, 29,3, 27,99, 27,5, 24,0, 23,6, 23,3, 17,6, 17,5, 16,5. HRMS (ESI+) calculado para $C_{130}H_{144}N_4O_{26}Na^+$ $[M+Na]^+$ 2201,0000, encontrado 2201,0086.

Ejemplo 68: Síntesis de 5-amino-pentanilo 2-*N*-acetil-α-L-neumopiranosil-(1→2)-[β-D-glucopiranosil-(1→4)]-β-D-glucopiranosiluronato-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-β-D-fucopiranósido **(73***)

[0279]

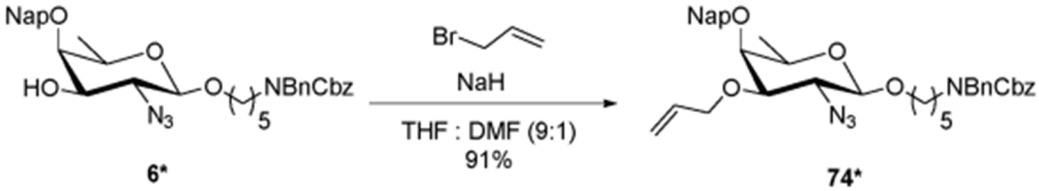


[0280] El pentasacárido **72*** se disolvió en CH_2Cl_2/^{t}BuOH/agua (1,5:16:8, 1 ml), purgado con argón y tratado con una suspensión de $Pd(OH)_2$ sobre carbono (carga al 20% (p/p), 10 mg) en la misma mezcla de disolventes (1 mL). La suspensión se purgó con hidrógeno, se agitó en atmósfera de hidrógeno a ta. Después de 24 h, se añadió una suspensión recién preparada de $Pd(OH)_2$ (5 mg, 1 ml) y la reacción se agitó durante 24 h más, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante extracción en fase sólida (Chromabond C_{18}, Macherey-Nagel) y cromatografía de exclusión por tamaño

en Sephadex LH-20 (MeOH: H_2O) y se liofilizó para dar pentasacárido **73*** (3 mg, 2,99 µmol, 50%) como un color blanco sólido. ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) δ 5,16 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 5,07 (s, 1H), 5,00 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 4,58 - 4,47 (m, 2H), 4,44 - 4,28 (m, 3H), 4,17 - 4,05 (m, 3H), 4,00 - 3,61 (m, 12H), 3,56 - 3,27 (m, 7H), 3,11 (dd, *J* = 9,3, 7,9 Hz, 1H), 2,99 - 2,88 (m, 2H), 2,00 (s, 3H), 1,96 (s, 3H), 1,95 (s, 3H), 1,69 - 1,46 (m, 4H), 1,41 - 1,26 (m, 5H), 1,22 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 1,05 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H). ^{13}C RMN (101 MHz, D_2O) δ 176,0, 174,01, 173,97, 173,3, 102,8,101,6, 99,7, 97,3, 93,7, 77,8, 76,0, 75,8, 75,2, 73,8, 71,9, 71,7, 71,0, 70,9, 70,6, 70,3, 69,9, 69,8, 67,0, 66,9, 63,8, 60,6, 51,4, 50,8, 49,0, 39,2, 28,1, 26,3, 22,3, 22,1, 21,9, 15,9, 15,3, 15,2. HRMS (ESI+) calculado para $C_{141}H_{70}N_4O_{24}Na^+$ $[M+Na]^+$ 1026. 4311, encontrado 1026,4397.

Ejemplo 69: *N*-(Bencil)-benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 2-azido-2-desoxi-4-*O*-(2-naftalenilmetil)-3-*O*-alil-β-D-fucopiranósido **(74***)

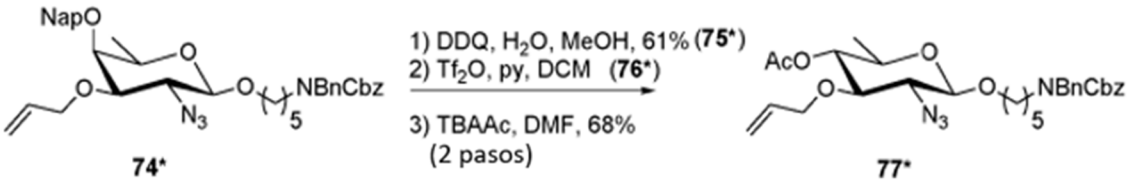
[0281]



[0282] Bromuro de alilo (30 µl, 0,35 mmol, 1,5 equiv) se añadió a una solución de alcohol **6*** (150 mg, 0,24 mmol, 1 equiv) en THF:DMF (9:1,2,0 ml). Luego, la mezcla se enfrió a 0ºC y se añadió NaH al 60% en aceite mineral (19 mg, 0,47 mmol, 2 equiv.). La reacción se calentó a temperatura ambiente y se dejó agitar durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con DCM y se inactivó con $NaHCO_3$. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se evaporó el disolvente. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó el fucopiranósido de alilo **74*** (145 mg, 0,21 mmol, 91%). ^{1}H RMN (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7,41 - 7,19 (m, 15 H), 7,18-7,11 (m, 2H), 6,82 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 5,19 (t, *J* = 8,8 Hz, 1H), 4,83 - 4,74 (m, 4H), 4,53 - 4,43 (m, 3H), 4,39 (d, *J* = 5,3 Hz, 2H), 4,26 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 3,85 - 3,82 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,73 - 3,63 (m, 2H), 3,60 - 3,43 (m, 4H), 3,33 (q, *J* = 6,6 Hz, 1H), 3,08 (dd, *J* = 10,5, 3,0 Hz, 1H), 2,90 - 2,79 (m, 1H), 2,65 - 2,55 (m, 2H), 2,53 - 2,45 (m, 1H), 2,14 (s, 3H), 1,64 (h, *J* = 6,8 Hz, 1H), 1,27 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 0,91 - 0,81 (m, 12 H), 0,11 (d, *J* = 12,5 Hz, 6H). ^{13}C RMN (151 MHz, $CDCl_3$) δ 156,8, 156,3, 138,0, 137,0, 136,9, 135,8, 134,5, 133,2, 133,1, 128,6, 128,5, 128,1, 128,0, 127,9, 127,8, 127,3, 127,2, 126,7, 126,1, 126,0, 117,6, 102,3, 81,0, 74,7, 71,6, 70,6, 69,7, 69,6, 67,2, 63,0, 50,6, 50,3, 47,2, 46,3, 29,3, 28,0, 27,5, 23,3, 17,1. HRMS (ESI+) calculado para $C_{40}H_{46}N_4O_6Na^+$ $[M+Na]^+$ 701,3315, encontrado 701,3336.

Ejemplo 70: *N*-(Bencil)-benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 2-azido-2-desoxi-4-*O*-acetil-3-*O*-alil-β-D-quinovopiranósido **(77***)

[0283]

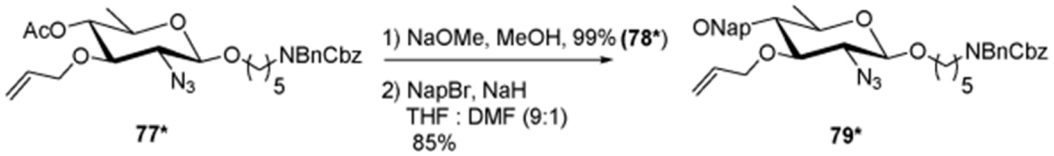


[0284] A una solución de fucopiranósido **74*** (145 mg, 0,21 mmol, 1 equiv.) en DCM: H_2O (18:1, 2 ml) se añadió 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (58 mg, 0,26 mmol, 1,2 equiv.) a 0ºC. La reacción se calentó a ta y se dejó agitar durante 2,5 h. La reacción se diluyó con DCM y se añadió $NaHCO_3$. La fase orgánica se lavó (3x) con $NaHCO_3$ hasta que la solución fue incolora. Luego, la fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se evaporó el disolvente. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó fucopiranósido **75*** (70 mg, 0,13 mmol, 61%). A una solución de fucopiranósido **75*** (35 mg, 0,065 mmol, 1 equiv.) en DCM (1 ml) se le añadió piridina (32 µl, 0,390 mmol, 6 equiv.) y anhídrido tríflico (22 µl, 0,130 mmol, 2 equiv.) en 0ºC. La mezcla de reacción resultante de color púrpura intenso se dejó agitar a 0ºC durante 30 min. Luego, la reacción se diluyó con DCM y se inactivó con $NaHCO_3$. Las fases se separaron y la capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se evaporó el disolvente. El aceite resultante se coevaporó con tolueno, se disolvió en DMF (1 ml) y se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. Se añadió acetato de tetrabutilamonio a la solución del triflato **(76*)** en DMF y se dejó agitar durante la noche a ta. Se evaporó el disolvente. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó el quinovopiranósido **77*** (26 mg, 0,044 mmol, 68%). $[\alpha]_D^{20}$ = - 19,6 (c = 0,56, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 2939, 2868, 2111, 1747, 1698, 1423, 1230, 1066, 699 cm^{-1}; ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,45 - 7,08 (m, 10 H), 5,86 (ddt, *J* = 17,2, 10,4, 5,7 Hz, 1H), 5,30 - 5,10 (m, 4H), 4,74 (t, *J* = 9,5 Hz, 1H), 4,56 - 4,41 (m, 2H), 4,32 - 4,15 (m, 2H), 4,12 - 4,05 (m, 1H), 3,94 - 3,76 (m, 1H), 3,56 - 3,32 (m, 3H), 3,30 - 3,16 (m, 3H), 2,09 (s, 3H), 1,69 - 1,46 (m, 4H), 1,42 1,26 (m, 2H), 1,19 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H). ^{13}C RMN (151 MHz, $CDCl_3$) δ 169,8, 138,1, 134,6, 128,7, 128,6, 128,04, 127,97, 127,4, 117,3, 102,0, 80,1, 74,9,

73,7, 70,2, 67,3, 66,2, 50,7, 50,4, 47,2, 46,3, 29,3, 28,0, 27,6, 23,3, 21,1, 17,5. HRMS (ESI+) calculado para $C_{31}H_{40}N_4O_7Na^+$ [M+Na]$^+$ 603,2795, encontrado 603,2809.

Ejemplo 71: *N*-(Bencil)-benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 2-azido-2-desoxi-4-*O*-(2-naftalenilmetil)-3-*O*-alil-β-D-quinovopiranósido **(79***)

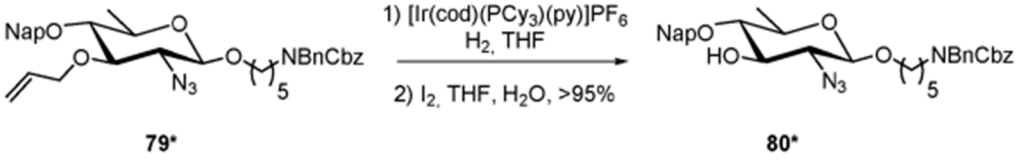
[0285]



[0286] A una solución de quinovopiranósido **77*** (35 mg, 0,060 µmol, 1 equiv) en MeOH (0,5 ml) se añadió 0,5 M NaOMe en MeOH (0,362 ml, 0,181 mmol, 3 equiv) y se agitó durante la noche. La mezcla se neutralizó con resina de intercambio iónico Amberlite® IR 120 (H^+), se filtró y se concentró *al vacío*. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato etilo) proporcionó alcohol **(78*)** (32 mg, 0,059 mmol, 99%). Se añadió bromuro de 2-naftalenilmetilo (20 mg, 0,091 µmol, 1,5 equiv.) a una solución de alcohol **(78*)** (32,5 mg, 0,060 mmol, 1 equiv.) en THF:DMF (9:1, 1,0 ml). Luego, la mezcla se enfrió a 0ºC y se añadió NaH al 60% en aceite mineral (3 mg, 0,121 mmol, 2 equiv.). La reacción se calentó a temperatura ambiente. Después de 1,5 h, se añadieron 2 equiv. de NaH y la reacción se dejó agitar durante 1 h más. La mezcla de reacción se diluyó con DCM y se inactivó con $NaHCO_3$. Luego, la fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se evaporó el disolvente. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó el quinovopiranósido **79*** (35 mg, 0,052 µmol, 82%). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,78 - 7,71 (m, 3H), 7,70 (sa, 1H), 7,45 - 7,33 (m, 3H), 7,33 - 7,04 (m, 10 H), 5,92 (ddt, *J* = 16,4, 10,3,5,8 Hz, 1H), 5,24 (dd, *J* = 16,0, 1,6 Hz, 1H), 5,18 - 5,03 (m, 3H), 4,83 (ABq, *J* = 11,0 Hz, 2H), 4,42 (d, *J* = 7,7 Hz, 2H), 4,27 (qdt, *J* = 12,2, 5,9, 1,5 Hz, 2H), 4,11 (t, *J* = 8,7 Hz, 1H), 3,83 - 3,69 (tt, *J* = 15,6, 6,3 Hz, 1H), 3,47 - 3,03 (m, 7 H), 1,62 - 1,37 (m, 4H), 1,35 - 1,16 (m, 2H), 1,22 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H). ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$) δ 156,8, 156,3, 138,0, 137,0, 136,9, 135,5, 134,8, 133,4, 133,1, 128,63, 128,57, 128,4, 128,0, 127,9, 127,8, 127,4, 127,3, 126,9, 126,3, 126,2, 126,1, 101,9, 83,3, 82,7, 75,5, 74,4, 71,4, 70,0, 69,9, 67,2, 66,5, 50,6, 50,3, 47,2, 46,3, 29,3, 28,0, 27,5, 23,3, 18,0. HRMS (ESI+) calculado para $C_{40}H_{46}N_4O_6Na^+$ [M+Na]$^+$701,3315, encontrado 701,3348.

Ejemplo 72: *N*-(bencil)-benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 2-azido-2-desoxi-4-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-quinovopiranósido **(80***)

[0287]

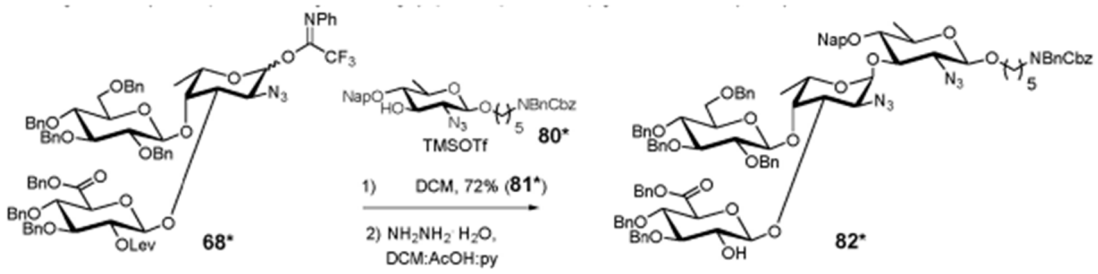


[0288] El complejo de iridio (0,71 mg, 0,884 µmol, 0,02 equiv.) se tomó en THF seco (2 ml) y se burbujeó con nitrógeno durante 2 minutos a ta. El catalizador de color rojo se disolvió en THF. Luego, la solución se purgó con hidrógeno durante aproximadamente 2 minutos más. El color de la mezcla de reacción cambió de rojo a incoloro y la solución se dejó agitar durante 15 minutos bajo presión de hidrógeno. La solución del catalizador activo se añadió a la solución de quinovopiranósido de alilo **79*** (30 mg, 0,044 mmol, 1 equiv.) en THF seco (1 ml) bajo argón mediante una jeringa y se dejó agitar durante 2 horas a ta. La mezcla de reacción se inactivó con una solución de $NaHCO_3$ y se extrajo con DCM. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se evaporaron para obtener el compuesto isomerizado (isomerización confirmada por ^{1}H RMN). El sustrato se recogió en THF-agua (2:1, 1,5 ml) y se añadió yodo (22 mg, 0,088 mmol, 2 equiv.) a ta. La solución de color marrón se agitó durante 2 horas antes de inactivarse con una solución de $Na_2S_2O_3$ al 10%. Luego, la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3x). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y el disolvente se evaporó para obtener un líquido marrón. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó el quinovopiranósido **80*** (30 mg, 0,053 µmol, cuant.). $[\alpha]_D^{20}$ = - 8,4 (c = 1,7, $CHCl_3$); IR ν_{max} (película) 3429, 3032, 2937, 2868, 2110, 1698, 1455, 1424, 1093, 698 cm^{-1}; ^{1}H RMN (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7,87 - 7,80 (m, 3H), 7,79 (s, 1H), 7,51 - 7,45 (m, 3H), 7,42 - 7,13 (m, 10 H), 5,18 (d, *J* = 18,8 Hz, 2H), 4,94 (ABq, *J* = 11,4 Hz, 2H), 4,50 (d, *J* = 12,8 Hz, 2H), 4,31 - 4,18 (m, 1H), 3,92 - 3,78 (m, 1H), 3,54 - 3,34 (m, 3H), 3,34 - 3,12 (m, 4H), 2,49 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 1,60 (q, *J* = 13,9, 7,5 Hz, 4H), 1,43 - 1,27 (m, 2H), 1,36 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H). ^{13}C RMN (151 MHz, $CDCl_3$) δ 156,9, 156,3, 138,1, 135,5, 133,4, 133,2, 128,7, 128,6, 128,1, 128,03, 127,96, 127,9, 127,3, 127,0, 126,4, 126,2, 126,0, 101,9, 83,2, 75,3, 71,4, 70,0, 67,3, 66,7, 50,7, 50,3, 47,2, 46,3, 29,4, 28,0, 27,6, 23,3, 18,1. HRMS (ESI+) calculado para $C_{37}H_{42}N_4O_6Na^+$ [M+Na]$^+$ 661,3002, encontrado 661,3019.

Ejemplo 73: Síntesis de N-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil [2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-β-D-glucopiranosil-(1→4)]-bencil-3,4-di-*O*-bencil-6-*O*-benzoil-β-D-glucopiranosiluronato-(1→3)-2-azido-2-desoxi-α-L-fucopiranosil-(1→3)-2-azido-2-

deox-4-*O*-2-naftalenomethl-β-D-quinovopiranósido **(82***)

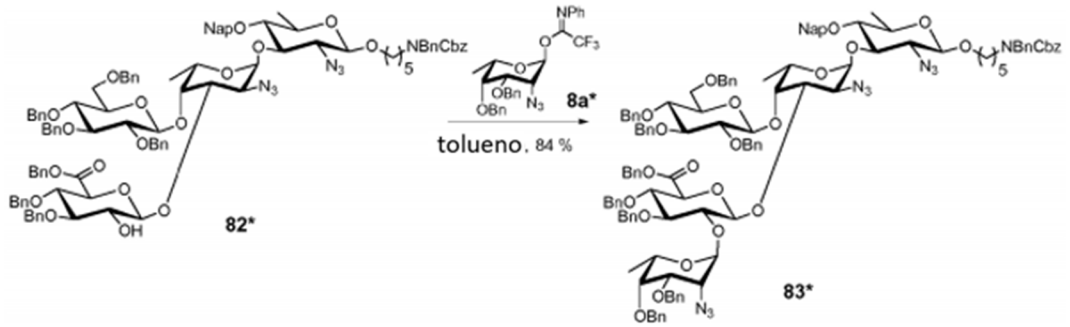
[0289]



[0290] Aceptor **80*** (17 mg, 0,027 µmol, 1,9 equiv.) e imidato de trisacárido **68*** (20 mg, 0,014 mmol, 1,0 equiv.) se coevaporaron con tolueno dos veces y se secaron *al vacío*. El residuo se disolvió en DCM (1 mL). Se añadieron tamices moleculares lavados con ácido (4 Å) y la mezcla de reacción se enfrió a-35ºC. Se añadió TMSOTf (1 µl, 5,5 µmol, 0,4 equiv.) y la reacción se dejó calentar a -20ºC durante 1 h. La reacción se interrumpió con trietilamina, se filtró y el disolvente se evaporó. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó tetrasacárido **(81 x)** (19,3 mg, 10,3 µmol, 73%). HRMS (ESI+) calculado para $C_{109}H_{117}N_7O_{22}Na^+$ $[M+Na]^+$ 1899,8183, encontrado 1899,8203. A una solución de tetrasacárido **(81***) (17 mg, 0,009 mmol, 1 equiv.) en DCM (1 ml), una solución de hidrato de hidrazina (6 µl, 0,12 mmol, 13 equiv.) disuelto en AcOH (0,04 ml) y piridina. (0,06 ml) se añadió. La mezcla de reacción resultante se agitó a ta durante 1 a 2 h. La reacción se detuvo mediante la adición de acetona y el disolvente se evaporó. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó el tetrasacárido **82*** (14 mg, 7,87 µmol, 87%). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7,72 (m, 3H), 7,66 (sa, 1H), 7,41 - 7,35 (m, 2H), 7,31 - 7,12 (m, 41 H), 7,09 - 7,04 (m, 3H), 6,98 - 6,90 (m, 2H), 5,59 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H), 5,15 - 5,04 (m, 4H), 4,97 - 4,87 (m, 2H), 4,82 - 4,57 (m, 8 H), 4,47 - 4,40 (m, 5H), 4,35 - 4,28 (m, 3H), 4,27 - 4,18 (m, 1H), 4,13 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 3,99 - 3,80 (m, 5H), 3,68 - 3,31 (m, 16H), 3,25 - 3,10 (m, 4H), 1,65 - 1,40 (m, 4H), 1,37 - 1,22 (m, 2H), 1,31 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H), 0,75 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H). HRMS (ESI+) calculado para $C_{104}H_{111}NO_{20}Na^+$ $[M+Na]^+$ 1801,7815, encontrado 1801,7781.

Ejemplo 74: Síntesis de *N*-(bencil)benciloxicarbonil-5-amino-pentanil 2-azido-3,4-di-*O*-bencil-2-desoxi-α-L-neumopiranosil-(1→2)-[2,3,4,6-tetra-*O*-bencil-β-D-glucopiranosil-(1→4)]-bencil-3,4-di-*O*-bencil-6-*O*-benzoil-β-D-glucopiranosiluronato-(1→3)-2-azido-2-desoxi-α-L-fucopiranosil-(1→3)-2-azido-2-desoxi-4-*O*-(2-naftalenilmetil)-β-D-quinovopiranósido **(83***)

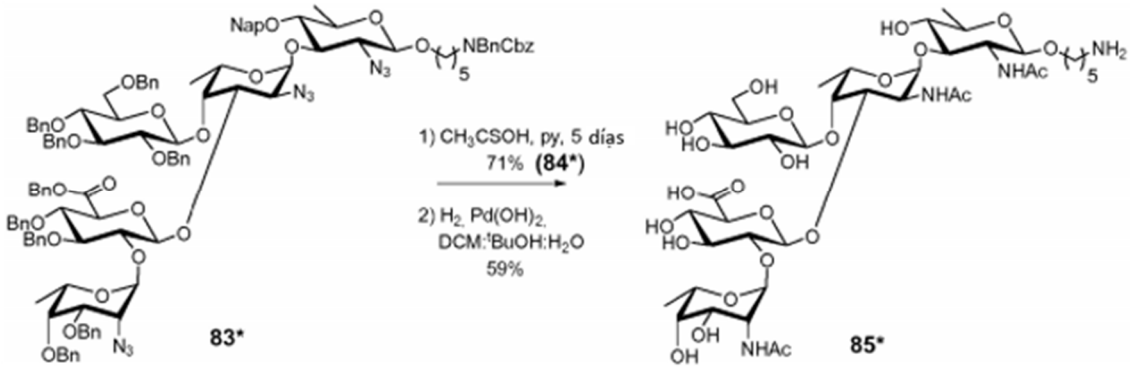
[0291]



[0292] aceptador **82*** (13,5 mg, 7,6 mmol, 1,0 equiv) y imidato **8a*** (10 mg, 0,019 mmol, 2,4 equiv) se coevaporó con tolueno dos veces y se secó *a vacío*. El residuo se disolvió en tolueno (1 mL). La mezcla de reacción se enfrió a -35ºC. Se añadió TMSOTf (0,25 µl, 1,4 µmol, 0,1 equiv.) y la reacción se dejó calentar a -20ºC durante 2 h. La reacción se interrumpió con trietilamina, se filtró y el disolvente se evaporó. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetato de etilo) proporcionó pentasacárido **83*** (13,5 mg, 6,34 µmol, 84%) HRMS (ESI+) calculado para $C_{124}H_{132}N_{10}O_{23}Na^+$ $[M+Na]^+$ 2152,9398, encontrado 2152,9406.

Ejemplo 75: Síntesis de 5-amino-pentanil 2-*N*-acetil-α-L-neumopiranosil-(1→2)-[β-D-glucopiranosil-(1→4)]-β -D-glucopiranosiluronato-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-β-D-quinovopiranósido **(85***)

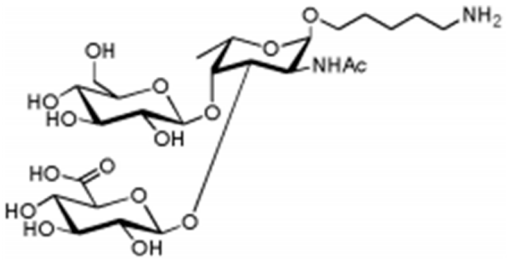
[0293]



[0294] A una solución de azido pentasacárido **83*** (13 mg, 6,1 µmol, 1 equiv) en piridina (1 ml), ácido tioacético (0,25 ml) se añadió y se agitó durante 5 días a ta. La mezcla de reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexanos/acetona) para producir el pentasacárido de acetamida **(84*)** (9,4 mg, 4,31 µmol, 71%). HRMS (ESI+) calculado para $C_{130}H_{144}N_4O_{26}Na^+$ $[M+Na]^+$ 2201,0000, encontrado 2201,0027. El pentasacárido **(84*)** (5,5 mg, 2,52 mmol, 1 equiv.) disuelto en CH_2Cl_2/^{t}BuOH/agua (1,5:16:8, 1 ml), se purgó con argón y se trató con una suspensión de $Pd(OH)_2$. sobre carbono (carga al 20% (p/p), 10 mg) en la misma mezcla de disolventes (1 ml). La suspensión se purgó con hidrógeno y se agitó en una atmósfera de hidrógeno a ta. Después de 24 h, se añadió una suspensión recién preparada de $Pd(OH)_2$ (5 mg, 1 ml) y la reacción se agitó durante 24 h más, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante extracción en fase sólida (Chromabond C18, Macherey-Nagel) y cromatografía de exclusión por tamaño en Sephadex LH-20 (MeOH: H_2O) y se liofilizó para dar pentasacárido **85*** (1,5 mg, 1,49 µmol, 59%) de color blanco. sólido. ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) δ 5,20 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 5,09 (s, 1H), 5,01 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 4,52 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 4,51 - 4,29 (m, 5H), 4,18 - 4,13 (m, 1H), 4,13 - 4,07 (m, 1H), 4,02 - 3,90 (m, 2H), 3,86 - 3,62 (m, 6H), 3,58 (t, *J* = 9,4 Hz, 1H), 3,54 - 3,30 (m, 9 H), 3,25 (t, *J* = 9,2 Hz, 1H), 3,13 (dd, *J* = 9,3, 7,9 Hz, 1H), 2,97 - 2,92 (m, 2H), 2,01 (s, 3H), 1,97 (s, 3H), 1,96 (s, 3H), 1,68 - 1,49 (m, 4H), 1,40 - 1,31 (m, 2H), 1,31 - 1,23 (m, 6H), 1,07 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H). ^{13}C RMN (151 MHz, D_2O) δ 175,8, 173,9, 173,6, 173,2, 102,6, 101,3, 99,5, 96,0, 93,6, 77,6, 77,1, 76,3, 75,8, 75,7, 75,3, 73,7, 73,4, 71,8, 71,5, 71,1, 70,7, 69,9, 69,7, 66,9, 66,8, 66,6, 63,7, 60,5, 55,5, 50,6, 48,7, 39,2, 28,0, 26,6, 22,2, 22,1, 22,0, 21,8, 16,6, 15,6, 15,2. HRMS (ESI+) calculado para $C_{141}H_{70}N_4O_{24}Na^+$ $[M+Na]^+$ 1025. 4278, encontrado 1025,4309.

Ejemplo 76: 5-amino-pentanil [β-D-glucopiranosil-(1→4)]-β-D-glucopiranosiluronato-(1→3)-2-N-acetil-α-L-fucopiranósido **(Ref. 1)**

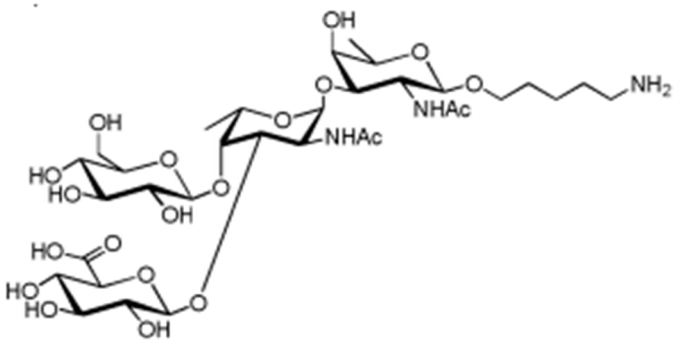
[0295]



[0296] ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) δ 4,93 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H), 4,67 - 4,56 (m, 2H), 4,30 - 4,27 (m, 1H), 4,26 - 4,3 (m, 3H), 3,92 - 3,84 (m, 1H), 3,76 - 3,60 (m, 3H), 3,54 - 3,25 (m, 8H), 2,94 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 1,97 (s, 3H), 1,68 - 1,52 (m, *J* = 20,7, 7,0, 6,4 Hz, 4H), 1,44 - 1,34 (m, *J* = 7,6 Hz, 1H), 1,31 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 1,27 - 1,18 (m, 1H). HRMS (ESI+) calculado para $C_{25}H_{44}N_2O_6Na^+$ $[M+Na]^+$ 651,2589, encontrado 651,2598.

Ejemplo 77: 5-aminopentanil [β-D-glucopiranosil-(1→4)]-β-D-glucopiranosiluronato-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-β-D-fucopiranósido **(Ref. 2)**

[0297]



[0298] ^{1}H RMN (400 MHz, D_2O) δ 5,04 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H), 4,65 - 4,60 (m, 2H), 4,38 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 4,34 - 4,06 (m, 4H), 3,95 - 3,24 (m, 16 H), 2,98 - 2,90 (m, 2H), 1,98 (s, 3H), 1,96 (s, 3H), 1,68 - 1,49 (m, 4H), 1,41 - 1,17 (m, 2H), 1,31 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 1,23 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H). HRMS (ESI+) calculado para $C_{33}H_{57}N_3O_{20}Na^+$ $[M+Na]^+$ 833,3433, encontrado 833,3441.

<u>Ejemplo 78</u>: Preparación de micromatriz de glicanos y cribado - I

[0299] Matrices de glicano de 64 pocillos se imprimieron utilizando una impresora de micromatrices Scienion S3 en portaobjetos de vidrio CodeLink® NHS activados (Surmodics). Todos los compuestos (proteínas y glicanos que contienen un aminoligante) se disolvieron en tampón de impresión (fosfato de sodio 50 mM, pH 8,5). Los portaobjetos impresos se almacenaron durante la noche en una cámara saturada de humedad para completar la reacción, se secaron por centrifugación a 1200 g y posteriormente se almacenaron a 4ºC. Antes de su uso, los portaobjetos se lavaron con agua, se inactivaron con una solución de extinción (fosfato de sodio 50 mM, etanolamina 100 mM, pH 7,4) a temperatura ambiente durante 2 h, se lavaron con agua y se bloquearon durante 1 ha temperatura ambiente con BSA al 1% en PBS. Después de lavar con PBS, los portaobjetos se secaron mediante centrifugación. Se aplicó una junta de 64 pocillos a los portaobjetos y se llevó a cabo la incubación del anticuerpo primario (diluciones de suero en BSA-PBS al 1%) a temperatura ambiente durante 1 h. Los pocillos se lavaron tres veces durante 10 min con PBS que contenía Tween-20 al 0,1%. Se pipetearon diluciones secundarias de anticuerpos en los pocillos. Después de 1 hora de incubación a temperatura ambiente en la oscuridad, los portaobjetos se lavaron tres veces durante 10 minutos con PBS que contenía 0,1% de Tween-20 y una vez brevemente con agua. Se retiró la junta y se secaron los portaobjetos mediante centrifugación. La fluorescencia se leyó usando un escáner de micromatrices GenePix 4300A (Bucher Biotec, Basilea, Suiza) con un láser de 488 nm para excitación FITC y un láser de 594 nm para AlexaFluor 594. Se usó GenePix Pro 7 (Bucher Biotec) para el análisis.

[0300] Un micromatriz de glicanos preparado como se ha descrito anteriormente que contiene once subestructuras de CPS SP5 se utilizó para identificar los epítopos de unión de sueros de tipo anti-SP5 específicos comerciales generados en conejos (ver **Figura 4)**.

[0301] Como se muestra en la **Figura 4A,** sólo tres de once glicanos estaban unidos por específico anti-SP5 IgG, a saber tetrasacárido **33*** (posición 1), disacárido α-PneNAc-(1→2)-GlcA **27*** (posición 8) y monosacárido α-PneNAc **36*** (posición 10). Los tres oligosacáridos reconocidos contienen el residuo α-PneNAc, lo que demuestra que este motivo es parte del epítopo reconocido. Se observó además que la IgG se unía al tetrasacárido **33*** y al disacárido **27*** en niveles comparables, lo que sugiere que α-PneNAc-(1→2)-GlcA es de hecho el epítopo reconocido por IgG de sueros de tipo SP5 específicos. La **Figura 4B** muestra una muestra de micromatrices en donde el suero de tipificación se preincubó con una solución de SP5 CPS natural. Los niveles de IgG anti-glicano se reducen significativamente en comparación con la muestra de la **Figura 4A.** Esto significa que los anticuerpos unidos al CPS natural durante la preincubación ya no están disponibles para unirse a los glicanos sintéticos. En consecuencia, los epítopos de unión del CPS natural y los glicanos sintéticos son idénticos.

[0302] Con el fin de identificar epítopos reconocidos por el sistema inmunológico humano, rastreos adicionales se llevaron a cabo usando una mezcla de sueros de humanos que habían recibido una vacuna neumocócica basada en CPS, que contiene el CPS de múltiples serotipos diferentes (véase la **Figura 5**).

[0303] La respuesta de la IgG de humanos inmunizados hacia los glicanos de síntesis se muestra en la **Figura 5A.** Aunque los sueros de humanos inmunizados no eran específicos de SP5, contenían IgG predominantemente contra el tetrasacárido **33*** (posición 1). También se observó la unión de IgG a disacárido PneNAc-(1→2)-GlcA **27*** (posición 8) y PneNAc **36*** (posición 10), sin embargo a niveles más bajos.

[0304] Además, se detectaron los niveles bajos de IgG anti-**21*** (posición 5) y anti-**51*** (posición 6) y niveles muy bajos de anti-**20*** (posición 4), anti-**44*** (posición 7), anti-IgG **52*** (posición 9) y anti-**37*** (posición 11). Los anticuerpos contra D-FucNAc **15*** (posición 3) y la muestra que contiene Sug **14*** (posición 2) no se detectaron en absoluto. Curiosamente, se detectaron niveles más altos de anticuerpos anti-disacárido **21*** que para la muestra que contenía L-FucNAc-(1→3)-β-

Sug **20*.** Esto sugeriría que la presencia de la cetona es de hecho perjudicial para la unión del anticuerpo. La preincubación de los sueros humanos con el SP5 CPS natural, que se muestra en la **Figura 5B,** condujo a una reducción significativa de los niveles de anti-tetrasacárido **33*** IgG. Esto prueba que los anticuerpos que se unen a **33*** son específicos de SP5 ya que también se unen a SP5 CPS.

[0305] En conclusión, el análisis de micromatrices reveló que el residuo PneNAc terminal es parte del epítopo reconocido por los anticuerpos anti-SP5 CPS y que α-PneNAc-(1→2)-GlcA es el epítopo predominante reconocido por sueros de tipificación SP5. En el caso de humanos vacunados, el epítopo específico de SP5 parece ser más grande, parecido al tetrasacárido **33*.** Los residuos de D-FucNAc o Sug del extremo reductor no parecen ser importantes para la respuesta inmunológica a SP5.

Ejemplo 79: Conjugación del tetrasacárido 33* a CRM_{197}: síntesis de conjugado 58*a, 58*b y 58*c

[0306] Los conjugados se prepararon usando un procedimiento de dos etapas como se describe aquí en los detalles.

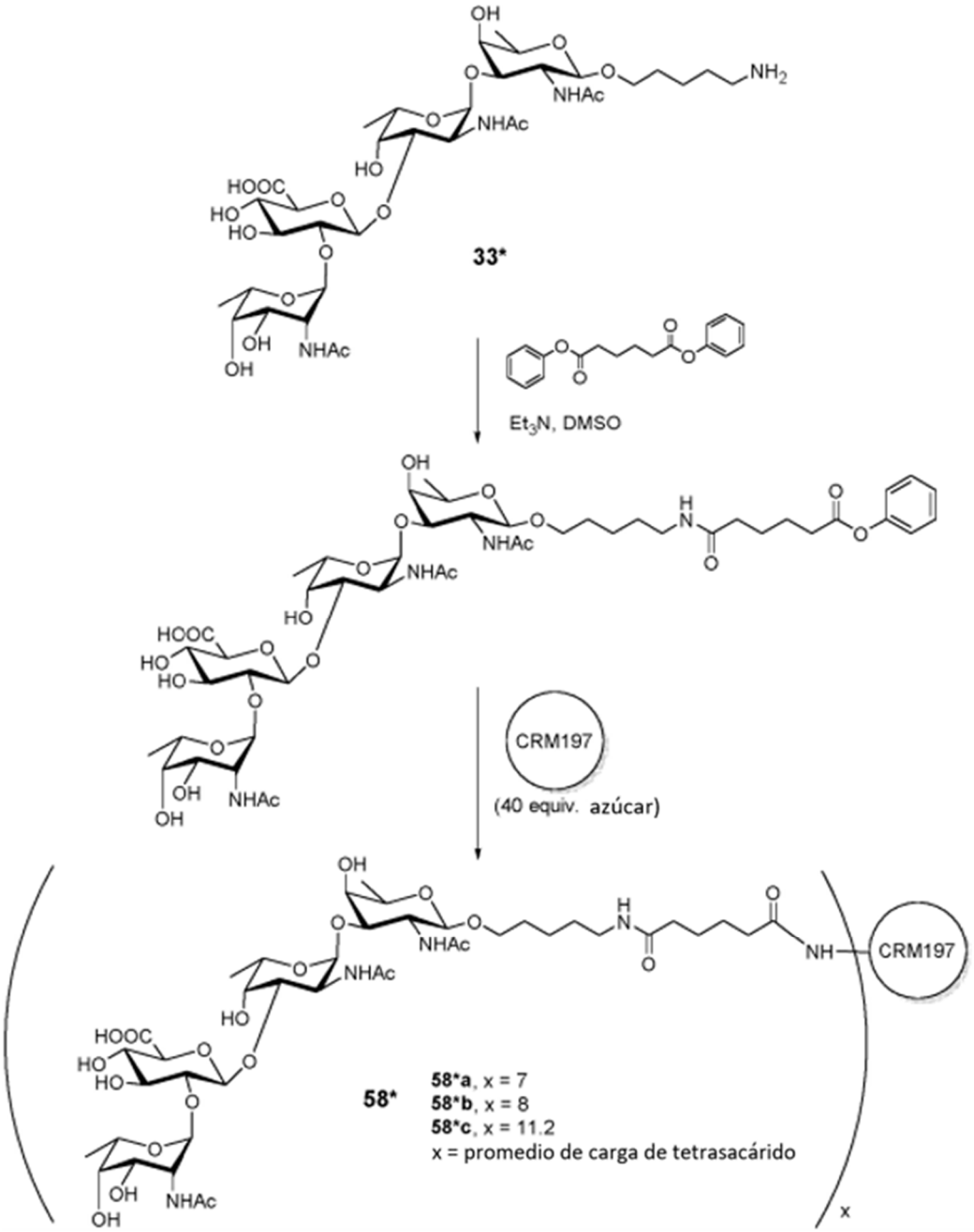
Paso 1: Formación de la amida de *p*-nitro fenilo (PNP)

[0307] Para el tetrasacárido **33*** (0,5 mg, 0,6 µmol, 1 equivalente) y adipato de difenilo (1,6 mg, 4,2 µmol, 7 equivalentes) en un vial de vidrio se añadió una mezcla de piridina y DMSO (1:1, 0,24 mL) y la mezcla se dejó agitar durante 5 minutos para una solubilización completa. Luego, se añadió trietilamina (0,83 ml, 6 µmol, 10 equivalentes) y se dejó agitar durante 20 minutos. La TLC indicó el consumo completo del material de partida. El disolvente se eliminó al *vacío*. El residuo se lavó con diclorometano (3 x 1 ml) para eliminar el exceso de éster de PNP y el sólido blanco obtenido se secó al *vacío*.

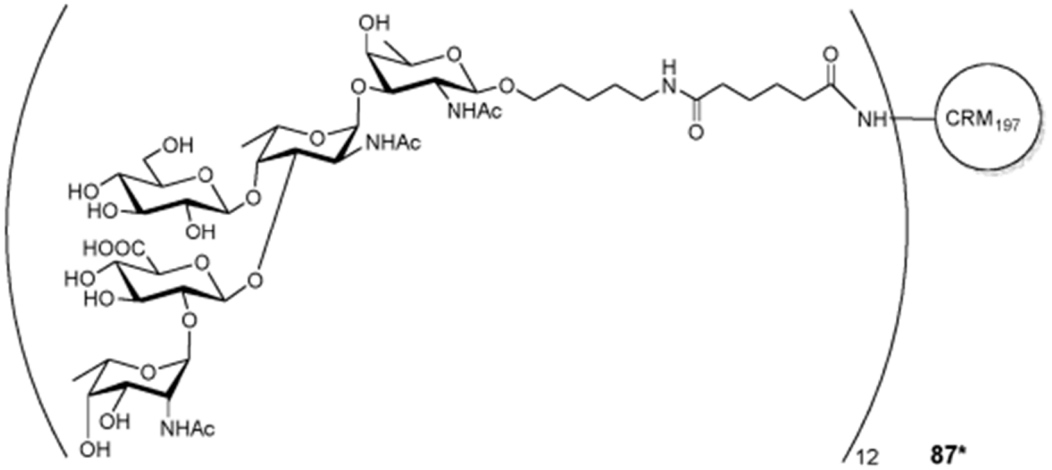
Paso 2: Conjugación con CRM_{197}

[0308] El compuesto obtenido en el Paso 1 (40 equivalentes) se disolvió en DMSO (10 ml), CRM_{197} (1 equivalente) se añadió en tampón de fosfato de sodio (0,1 NaPi, pH ~ 8,0) y la mezcla se dejó agitar durante 18h. A continuación, la mezcla de reacción se lavó dos veces con 400 ml de tampón (pH ~ 8,0), seguido de lavado con 400 ml de agua sometida a autoclave tres veces usando un filtro Amicon (10.000 kDa). El material se transfirió a un vial Eppendorf usando tampón PBS y se almacenó a -20°C (400 ml).

[0309] El mismo procedimiento se repitió con tampón de pH ~ 8,5.



[0310] El conjugado de pentasacárido **87*** se combinó mediante la conjugación de pentasacárido **73*** a CRM_{197}.



[0311] Análisis de Maldi:

1) Conjugado **58*a (conjugado 1 en la Figura 6 B):** pH 8,0, 0,9 mg CRM_{197}, promedio de carga de tetrasacárido = 7
2) Conjugado **58*b (conjugado 2 en la Figura 6 B):** pH 8,5, 0,6 mg de CRM_{197}, promedio de carga de tetrasacárido = 8
3) Conjugado **58*c (conjugado 2 en la Figura 7 A):** promedio de carga de tetrasacárido = 11,2
4) Conjugado **87*** (**conjugado en la Figura 7 B):** a pH 8,0, promedio de carga de pentasacárido = 12

Caracterización de conjugados

[0312] Análisis de MALDI: El tamaño molecular medio de los conjugados de **58*a** y **58*b** se determinó por análisis de *desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI)* usando CRM_{197} como estándar y se calculó el número promedio de tetrasacárido unido por molécula de CRM_{197}.

[0313] SDS-PAGE: Los conjugados se resolvieron mediante SDS-PAGE (10%) en condiciones desnaturalizantes. Las muestras se prepararon en tinte de carga de muestra 6X SDS-PAGE. La electroforesis se llevó a cabo a 120 V y 25 mA durante 1 h 30 min en tampón de electrodo y el gel se tiñó con azul brillante de Coomassie R250.

Estimación de proteínas

[0314] La concentración de proteína se estimó mediante kit de ensayo de proteínas Micro BCA (Thermo-scientific, EE.UU.) siguiendo las instrucciones del fabricante. La muestra se preparó en PBS y se mezcló con un volumen igual de mezcla de reactivos (B:C:A::24:1:25). La placa se incubó a 37°C y la absorbancia se midió a 560 nm. La curva estándar se trazó con la concentración conocida de BSA proporcionada con el kit.

Inmunización de ratones y la generación de sueros policlonales

[0315] Conejos Zika hembra de diez a doce semanas de edad (n=3) fueron inmunizados por vía subcutánea con los conjugados en alumbre (10 mg de conjugado en formulación de alumbre (hidróxido de aluminio)) a días 0, 14 y 28. Se recogieron sueros preinmunes e hiperinmunes los días 0, 14, 21 y 35. El grupo de control recibió solo CRM_{197} en formulación de alumbre. Las respuestas inmunes se analizaron mediante micromatrices de glicanos y ELISA.

<u>Ejemplo 80</u>: Preparación y selección de micromatrices de glicanos - II

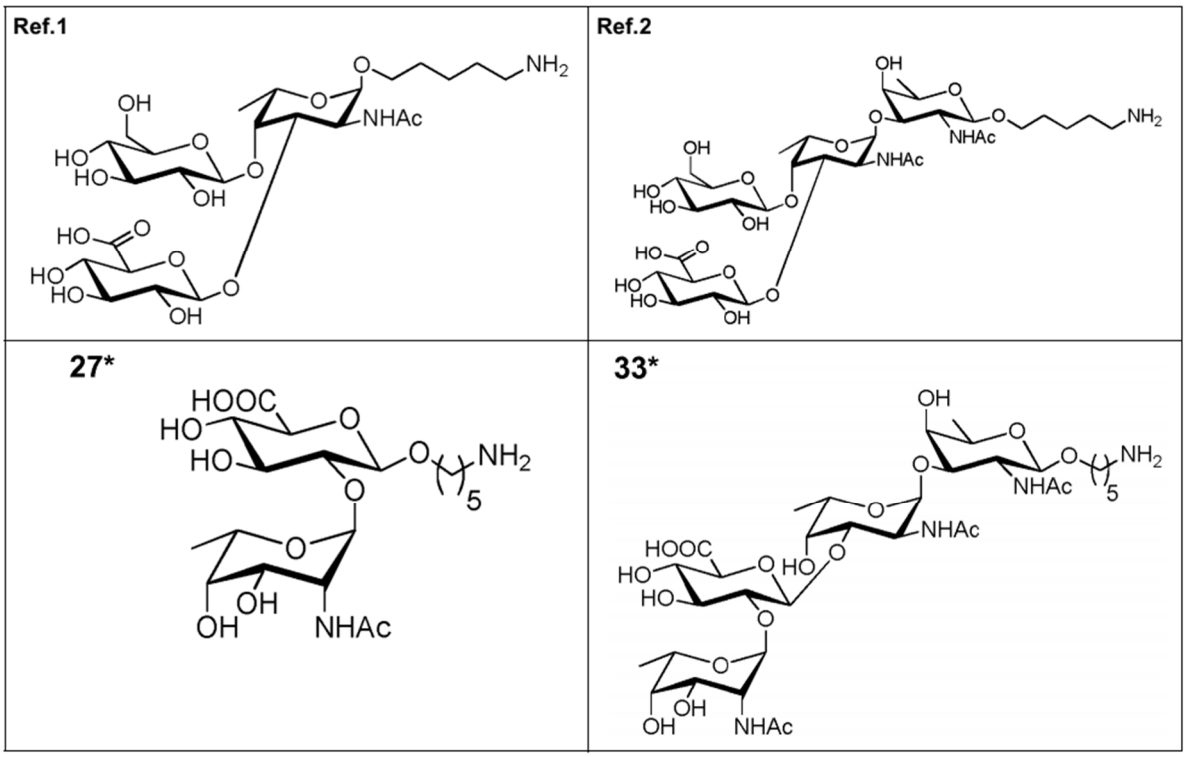
[0316] Preparación de portaobjetos de micromatrices: Se prepararon oligosacáridos, polisacáridos, CRM_{197} y portaobjetos de vidrio con espaciador, se apagaron, se bloquearon con BSA-PBS al 1% y se almacenaron a 4ºC hasta su uso.

[0317] Los portaobjetos de vidrio activados por CodeLink NHS activados (SurModics) fueron vistos con glicanos sintéticos y polisacáridos nativos a dos concentraciones diferentes (100 mM y 200 mM) en tampón de impresión (fosfato de sodio 50 mM, pH 8,5) mediante el uso de una impresora de micromatrices piezoeléctrica S3 (Scienion) equipada con una boquilla revestida de tipo 4. La humedad relativa de la cámara manchada se mantuvo constantemente al 65%. Los portaobjetos manchados se incubaron durante la noche a temperatura ambiente en una cámara de humidificación. Los grupos no reactivos de los portaobjetos se bloquearon con fosfato de sodio 50 mM, etanolamina 100 mM pH 9,0 a temperatura ambiente durante una hora. Posteriormente, los portaobjetos se lavaron tres veces durante 5 min con agua, se secaron por centrifugación a 300 g durante 5 min (sistema CombiSlide, Eppendorf) y se almacenaron a 4°C hasta su

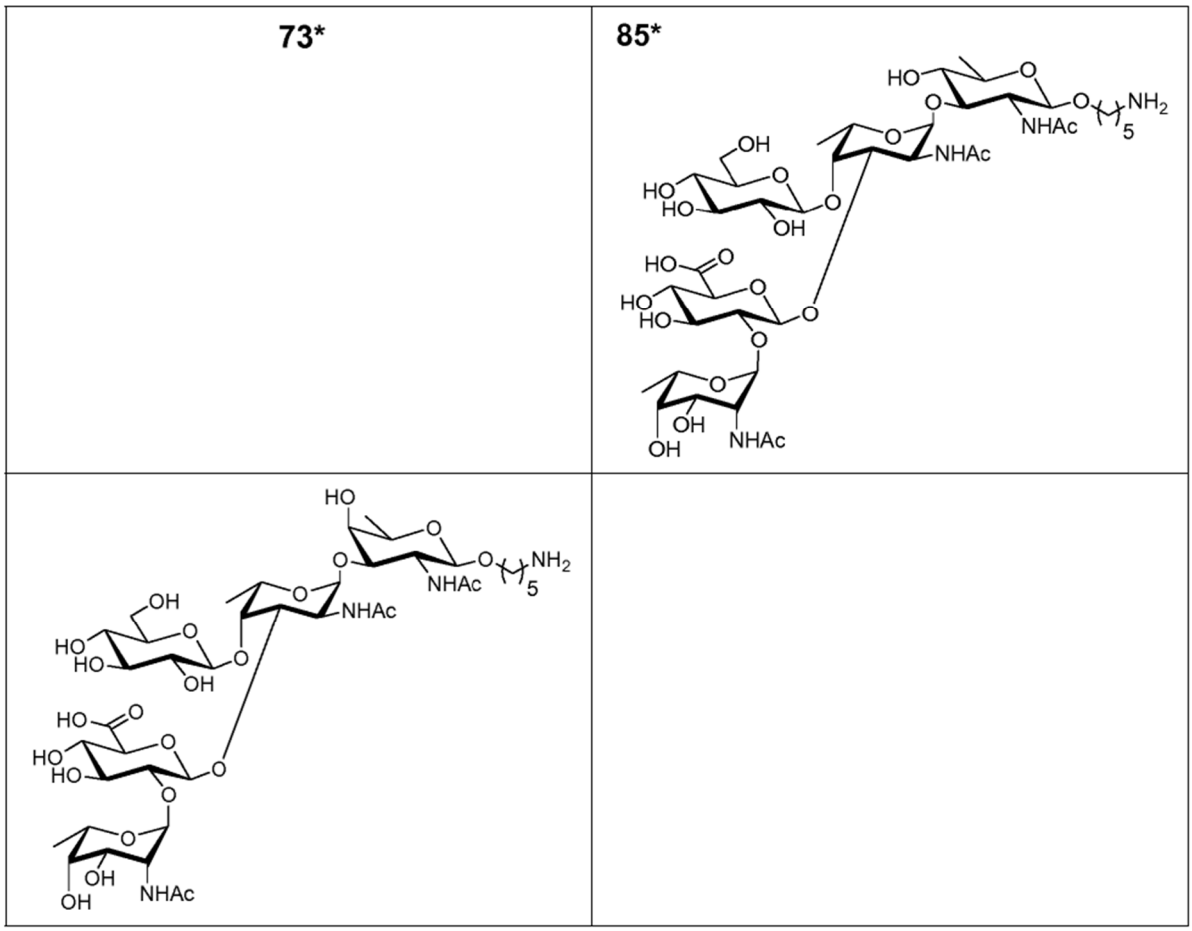
uso.

[0318] Ensayos de unión de micromatrices: Una cuadrícula de FlexWell 64 (Grace Bio-Labs, Bend, OR, EE.UU.) se aplicó a portaobjetos de micromatrices (se aplicó la cuadrícula en las portaobjetos impresas como se mencionó anteriormente). Los portaobjetos se incubaron con sueros policlonales criados en conejos contra conjugados de tetrasacárido y pentasacárido SP-5 a diferentes diluciones, diluidos en BSAPBS al 1% (p/v) en una cámara húmeda durante 1 h a temperatura ambiente, lavados tres veces con Tween al 0,1%. 20 en PBS (v/v) y se secó por centrifugación (300 x g, 5 min). Los portaobjetos se incubaron con un anticuerpo secundario marcado con fluorescencia, IgG anti-ratón de cabra 635 nm (rojo; dilución 1 en 400), IgM anti-ratón de cabra 594 nm (amarillo; dilución 1 en 200) y FITC488 anti-conejo de cabra (diluciones 1 en 200) (Life Technologies, EE. UU.) diluido en BSA al 1% en PBS (p/v) en una cámara húmeda durante 1 h a temperatura ambiente, lavado tres veces con 0,1% Tween-20 en PBS (v/v), enjuagado una vez con agua desionizada y se secan por centrifugación (300 x g, 5 min) antes de escanear con un escáner de micromatrices GenePix 4300A (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EE. UU.). El análisis de imágenes se realizó con el software GenePix Pro 7 (Molecular Devices). El voltaje del tubo fotomultiplicador (PMT) se ajustó de manera que los escaneos estuvieran libres de señales de saturación **(Figura 8).**

[0319] Se preparó una micromatriz adicional para identificar la estructura de glicano más pequeña del polisacárido CPS-5, incubamos los portaobjetos de micromatriz con sueros de tipo ST5 criados en conejo **(Figura 8).** El patrón de reactividad de los sueros tipo contra glicanos y polisacáridos impresos se analizó mediante micromatrices de glicanos. Los datos de la micromatriz indicaron que el tipo de suero reconoció los diversos glicanos sintéticos junto con el polisacárido CPS-5 **(Figura 8B).** Sin embargo, los sueros tipo también reconocieron el tetrasacárido **33*** y el pentasacárido **73*/85*** con alta afinidad, que se consideran los epítopos de células B que han presentado las moléculas MHCII. Por tanto, los siguientes resultados sugieren que estos oligosacáridos son críticos para la inmunidad.



(Continuación)



Ejemplo 81: Micromatriz de glicanos con anticuerpos producidos en conejo contra conjugados de glicanos sintéticos ST5

[0320] Para analizar la respuesta inmune específica de glicanos sintéticos ST5, se sometieron sueros hiperinmunes criados en conejo (n=3) inmunizado con tetrasacárido ST5 **(58* c)** y conjugados de pentasacárido **(87***) en portaobjetos de micromatrices. Los datos de la micromatriz sugirieron que los anticuerpos específicos de glicanos sintéticos tenían reactividad cruzada con las estructuras impresas en los portaobjetos y el polisacárido nativo **(Figura 9B y D).** Este resultado sugirió que el tetrasacárido **33*** y el pentasacárido **73*** son inmunogénicos en conejo e inducen anticuerpos de reacción cruzada.

[0321] Ejemplo 82: ELISA: El título de punto final de los sueros de conejo se analizó mediante ELISA. Se recubrieron placas de microtitulación de poliestireno de noventa y seis pocillos de alta unión (Corning, EE.UU.) durante la noche a 4ºC con CSP-5 (50 ml de 10 µg/ml por pocillo) en PBS, pH 7,2. Las placas se lavaron tres veces con PBS que contenía Tween-20 al 0,1% (PBST) y se bloquearon con FCS al 10% en PBS a 37ºC durante 1 hora. Después de lavar tres veces con PBST, la placa se incubó con el suero de conejo individual y combinado (n=3) a diferentes diluciones por duplicado o triplicado a 37ºC durante 1 hora. La placa se lavó 4-5 veces con PBST y se incubó con anticuerpos IgG de cabra anti-conejo conjugados con HRP (diluidos 1 en 10,000 en PBS que contenía suero diluido en FCS al 10% seguido de incubación a 37°C durante 1 hora. La placa se lavó a fondo con PBST y desarrollado utilizando 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (Thermo Fisher Scientific, EE.UU.). La reacción se detuvo mediante la adición de 2% de H_2SO_4 y absorbancia registrada a 450 nm.

Respuestas de anticuerpos se analizaron por ELISA

[0322] Tres grupos de conejos (n=3) se inmunizaron con 10 mg de conjugado equivalente de glicanos los días 0, 14 y 28 por vía subcutánea, y las respuestas de anticuerpos se analizaron en diferentes momentos. Se determinó el título de anticuerpos de punto final específico de polisacárido CSP-5 (Life Technologies, EE. UU.) del suero de conejo individual. La inmunización con conjugados de tetrasacárido y pentasacárido indujo títulos altos de anticuerpos **(Figura 10A).** Se realizó cuantificación posterior de las inmunoglobulinas específicas a polisacáridos por punto final **(Figura 10B).** El título de punto final fue calculado como el recíproco de la dilución de suero más alta que dio un valor de absorbancia obtenido

con los sueros preinmunes (diluido 1:1000). La respuesta de anticuerpos para animales individuales de cada grupo se representó como cambio de veces en el día 35. Este análisis sugirió que el pentasacárido **73*** o el conjugado **87*** es más inmunogénico en comparación con el tetrasacárido **33*** o el conjugado **58*c.**

Ejemplo 83 superficie de unión de sueros de conjugados de anti-glicano ST5

[0323] La inmunidad protectora contra neumococos es principalmente mediada por anticuerpos y para un candidato de vacuna eficaz, los epítopos de células B deben ser accesibles al anticuerpo. Para investigar la accesibilidad del epítopo de células B, realizamos la citometría de flujo para la tinción de la superficie. Las células neumocócicas inactivadas con UV se incubaron con sueros preinmunes e hiperinmunes seguidos de anticuerpos anti-conejo de cabra conjugados con FITC. Las bacterias teñidas se analizaron mediante citometría de flujo. Los datos de citometría de flujo indicaron que las células neumocócicas incubadas con sueros hiperinmunes exhibieron la tinción superficial (tetrasacárido; histograma negro y pentasacárido; histograma gris). No observamos tinción con los sueros preinmunes (histograma negro punteado). Esto indicó que los anticuerpos contra los glicanos anti-ST5 localizaban el epítopo en la superficie de los neumococos **(Figura 11)** y se consideraba un nuevo candidato a vacuna sintética.

[0324] Análisis de citometría de flujo: se tiñeron células de *S pneumoniae* serotipo 5 como se describió previamente con modificaciones menores (Khan et al; 2015, Clin Vaccine Immunol. 22 (1): 99-107). Brevemente, se recolectaron células neumocócicas de fase logarítmica media (A600 = 0,3-0,4) mediante centrifugación a 6000 x g. Las células se lavaron con PBS (pH 7,4) y se inactivaron con UV durante 10 min. La inactivación celular se confirmó colocando en placas de agar en sangre. Las células se bloquearon con BSA al 2% preparada en PBS a temperatura ambiente durante 30 minutos seguido de incubación con sueros combinados preinmunes e hiperinmunes (n=3) (diluidos 1:100) a temperatura ambiente durante 1 hora. Como anticuerpo secundario se utilizó IgG anti-conejo de cabra conjugada con FITC (Life Technologies, EE.UU.) diluida 1:200 en una dilución de BSA-PBS al 0,5%). Las células teñidas se analizaron mediante citometría de flujo (BD Bioscience).

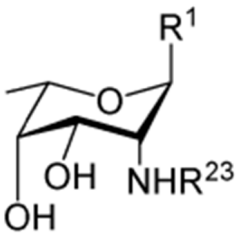
[0325] Ejemplo 84: Ensayo de destrucción opsonofagocítica in vitro: se realizó un ensayo de destrucción opsonofagocítica como se describió anteriormente (Romero-Steiner et al., CLINICAL AND DIAGNOSTIC LABORATORY IMMUNOLOGY 1997, 415-422). Brevemente, ~ 4 x 10^5 células/ml de células HL-60 se diferenciaron en células HL-60 que se diferenciaron en células fagocíticas usando dimetilformamida (DMF) al 0,8% durante 5-6 días antes de realizar el ensayo. Después de la diferenciación, las células se recogieron y contaron usando un hemocitómetro y se resuspendieron en tampón opsonofagocítico (HBSS con Ca^{++} y Mg^{++} y gelatina al 0,1%) a una densidad de 1 x 10^7 células/ml. La cepa del serotipo 5 (1000 ufc) en 20 ml de tampón opsonofagocítico se incubó con 10 ml de sueros policlonales conjugados de tetrasacárido anti-SP-5 **(58* c)** combinados (n=3) (día 35). Se utilizaron sueros preinmunes (día 0), sueros anti-CRM_{197} y anti-Prevnar 13® como controles positivos y negativos y se preopsonizaron las bacterias durante 15 min a 37ºC. Después de la preopsonización, se añadieron 8 µl de complemento de cría de conejo y 40 µl de células HL-60 diferenciadas (relación 1: 400) con neumococos tratados con anticuerpo durante 45 min a 37ºC y CO_2 al 5% con agitación intermitente. Los neumococos extracelulares viables se determinaron colocando diluciones en serie en placas de TSA por triplicado. La media de 3 experimentos independientes se representó como porcentaje de muerte en relación con el control "sin sueros".

Anticuerpos anti-ST5 (tetrasacárido) aumentan la captación de neumococos por las células HL-60.

[0326] El anti-ST5 (tetrasacárido) puede facilitar la eliminación de neumococos por fagocitosis. Realizamos un ensayo de muerte opsonofagocítica para evaluar la relevancia funcional de los anticuerpos inducidos en respuesta a la inmunización con conjugado ST5 (tetrasacárido) **58*c.** Se incubaron células HL-60 diferenciadas con bacterias de serotipo 5 preopsonizadas con sueros anti-ST5 (tetrasacárido) o preinmunes. La destrucción de neumococos se evaluó mediante el método de placa como se describe en el Material y Métodos. El valor relativo de muerte porcentual obtenido para el anticuerpo policlonal contra ST5 (tetrasacárido) fue superior al 50% en comparación con los sueros preinmunes **(Figura 12).** Observamos algún nivel basal de muerte (-25%) con los sueros preinmunes. Los sueros de conejo anti-prevnar 13® se utilizaron como control positivo. Los datos de OPKA demuestran que el conjugado de ST5 (tetrasacárido) **(58*c)** genera anticuerpos neutralizantes y promueve la muerte de neumococos por células HL-60 diferenciadas.

REIVINDICACIONES

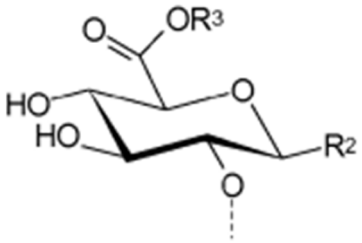
1. Un sacárido de fórmula general (I)



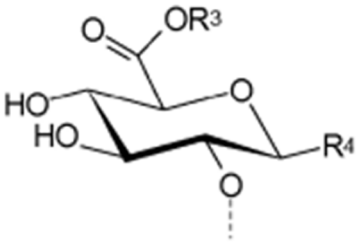
(I)

donde

R^1 se selecciona de

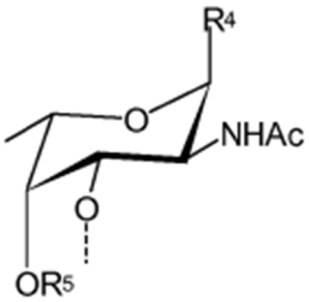


y



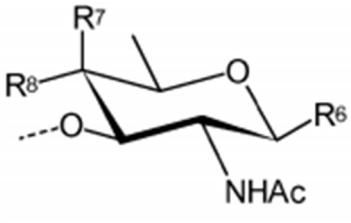
;

R^2 representa



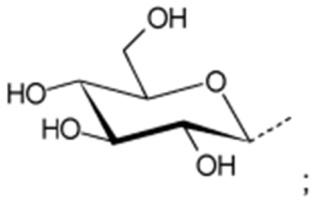
;

R^3 se selecciona de -H, $-CH_3$, $-C_2H_5$, $-C_3H_7$, $-C_4H_9$ y $-CF_3$;
R^4 representa R^6 o



;

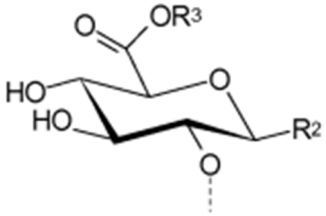
R^5 representa -H o



;

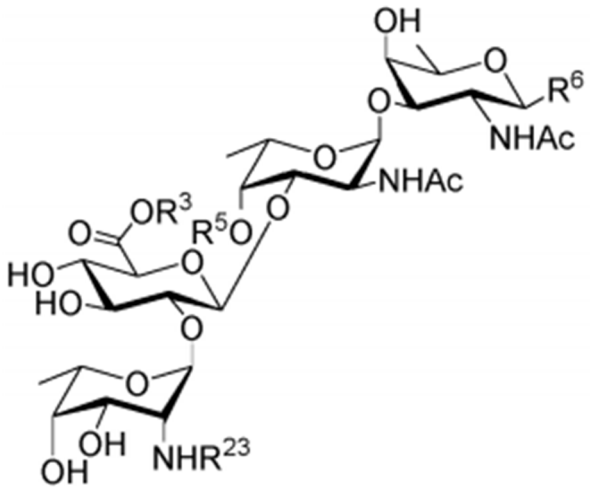
R^6 representa -O-L-NH_2;
R^7 y R^8 se seleccionan independientemente entre sí de -H y -OH y no pueden ser simultáneamente -H;
R y R^8 se puede formar junto con el átomo de carbono al que están unidos a un grupo carbonilo C=O;
R^{23} se selecciona de -H, -C(O)CH_3, -C(O)CF_3 y -C(O)CCl_3;
-L-representa -(CH_2)m- y m es un número entero seleccionado entre 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10;
y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

2. El sacárido según la reivindicación 1, en donde R^1 representa



y R^2 y R^3 tienen los significados definidos en la reivindicación 1.

3. El sacárido según la reivindicación 1 o 2 de fórmula general (III)



(III)

en donde R^3, R^5, R^6 y R^{23} tienen los significados definidos en la reivindicación 1.

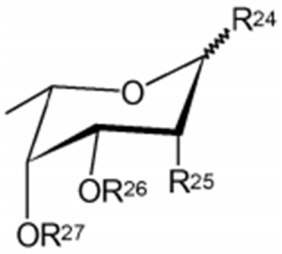
4. El sacárido según una cualquiera de las reivindicaciones 1- 3, en donde R^3 representa -H y R^{23} representa -C(O)CH_3.

5. El sacárido de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado del grupo que consiste en:

5-amino-pentanilo 2-*N*-acetil-α-L-neumosaminopiranosil-(1→42)-β-D-glucopiranosiluronato **(27*),**
5-aminopentanilo 2-*N*-acetil-α-L-neumosaminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosiluronato-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-2-*N*-acetil-β-D-fucosaminopiranósido **(33*),**
5-amino-pentanilo 2-*N*-acetil-α-L-neumosaminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosiluronato-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-[β-D-glucopiranosil-(1→4)]-2-*N*-acetil-β-D-fucosaminopiranosido **(73*),**
5-amino-pentanilo 2-*N*-acetil-α-L-neumosaminopiranosil-(1→2)-β-D-glucopiranosiluronato-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-[β-D-glucopiranosil-(1→4)]-2-*N*-acetil-β-D-quinovosaminopiranosido **(85***) y

5-amino-pentanilo 2-*N*-acetil-α-L-neumoaminopiranosilo-(1→2)-β-D-glucopiranosiluronato-(1→3)-2-*N*-acetil-α-L-fucosaminopiranosil-(1→3)-[β-D-glucopiranosil-(1→4)]-2-acetamido -2,5-didesoxi β-D-*xilo*-hexos-4-ulósido **(88***)

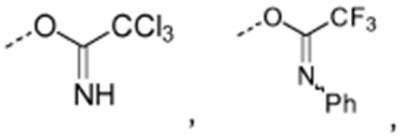
6. Un compuesto intermedio de fórmula **(IX), 41** y **63:**



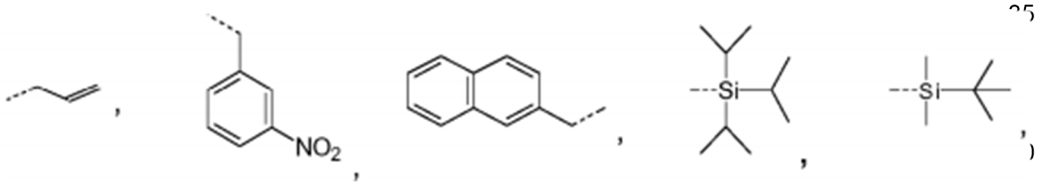
(IX)

en donde

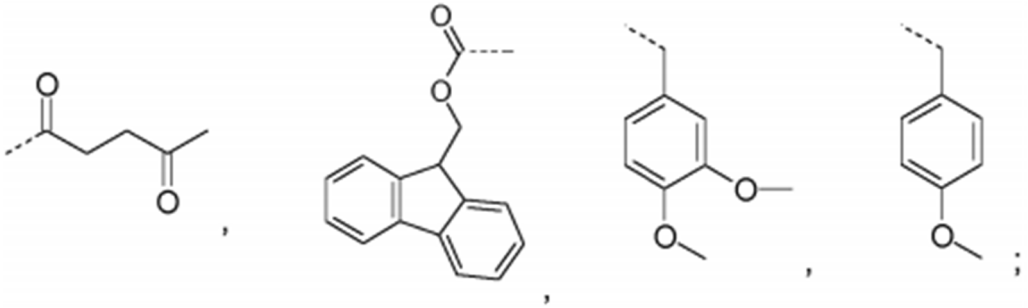
R^{24} se selecciona de



-F, -Cl, -Br, -I, $-SR^{28}$, $-SeR^{29}$, $-OPO_3R^{30}{}_2$;
R^{25} se selecciona de $-N_3$, $-NBn_2$, -NBnCbz;
R^{26} y R^{27} se seleccionan independientemente entre sí de -H, -Bn,



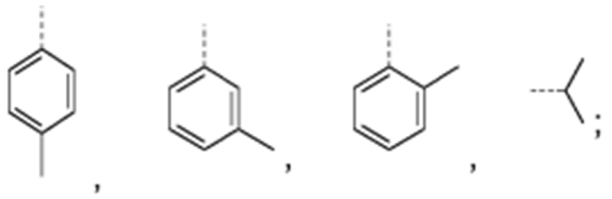
$-Si(CH_3)_3$, $-Si(CH_2CH_3)_3$, $-C(O)CH_3$, -C(O)Ph,



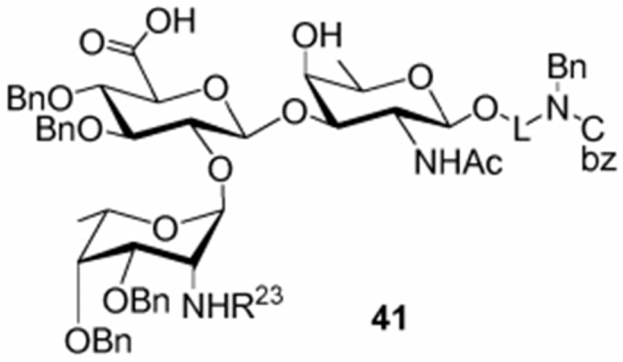
o R^{26} y R^{27} pueden formar juntos,



R^{28} se selecciona de: $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, -Ph,

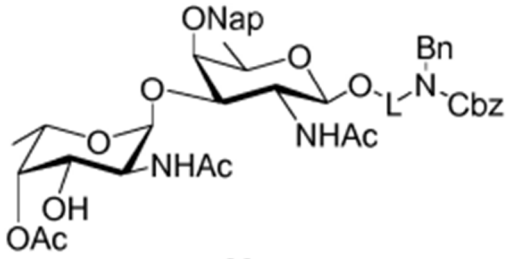


R^{29} representa -Ph;
R^{30} representa $-CH_2CH_2CH_2CH_3$;



41

en donde L y R^{23} tienen los significados definidos en la reivindicación 1;

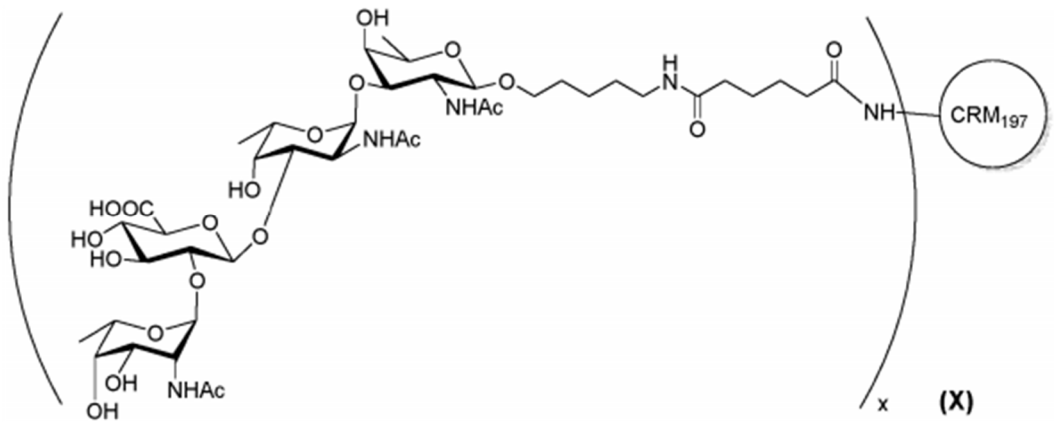


63

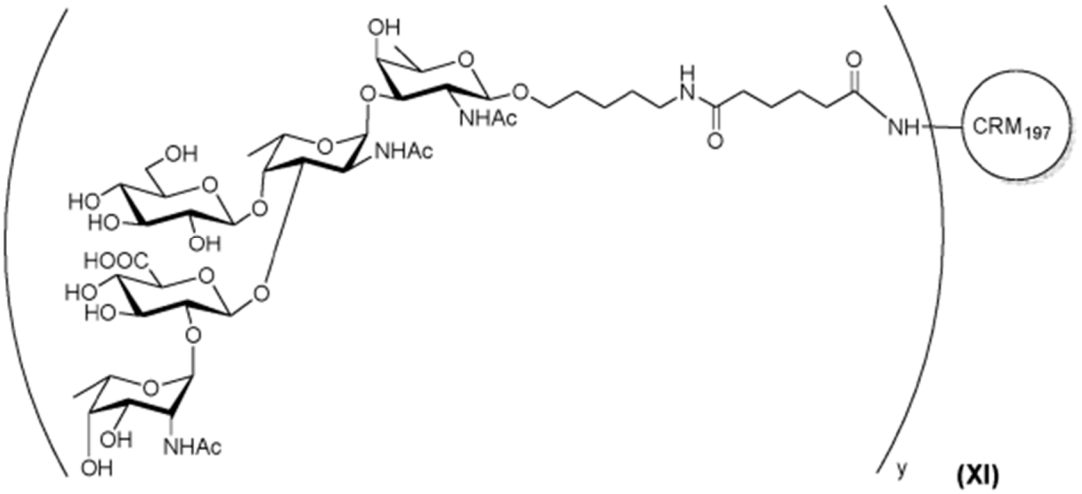
en donde L tiene el significado definido en la reivindicación 1.

7. El intermedio según la reivindicación 6 se selecciona entre los sacáridos **41** y **63,** en donde L es $-C_5H_{10}-$ y/o R^{23} es CH_3CO-.

8. Un conjugado seleccionado del grupo que consiste en los conjugados de las fórmulas **(X), (XI)** y **(XII):**

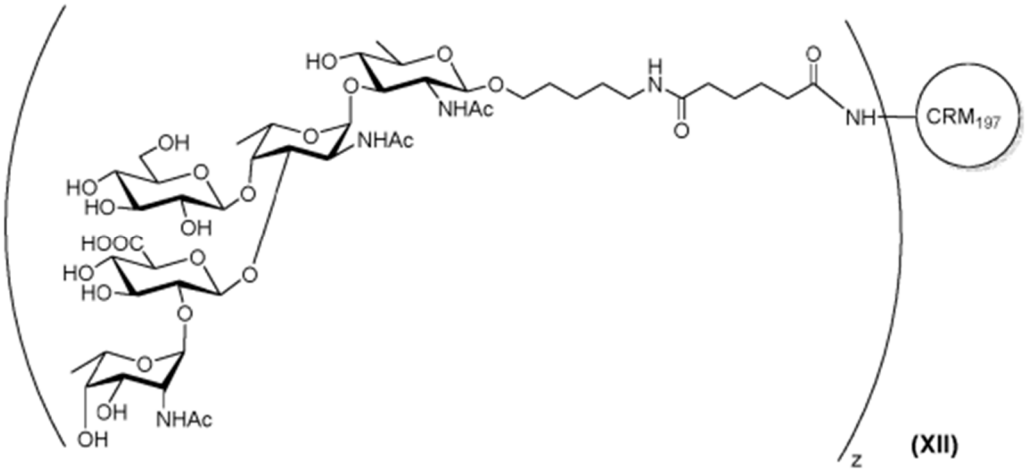


(X)



(XI)

y

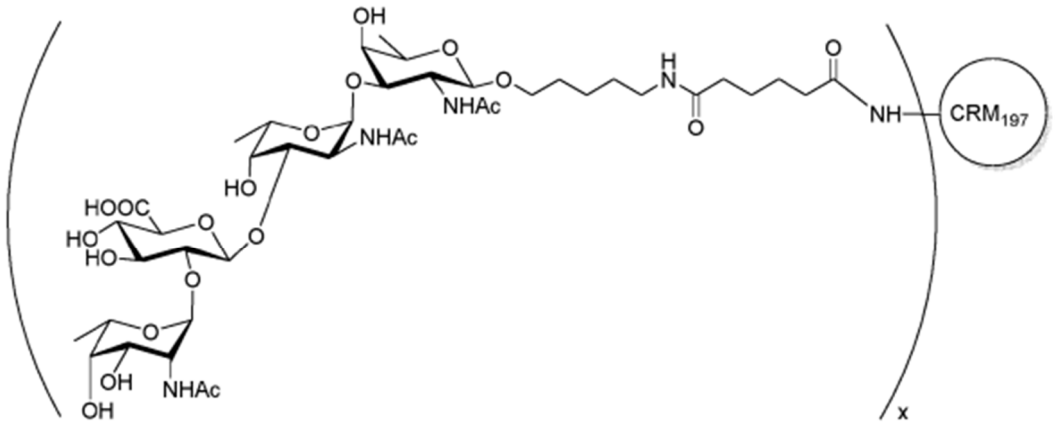


(XII)

,

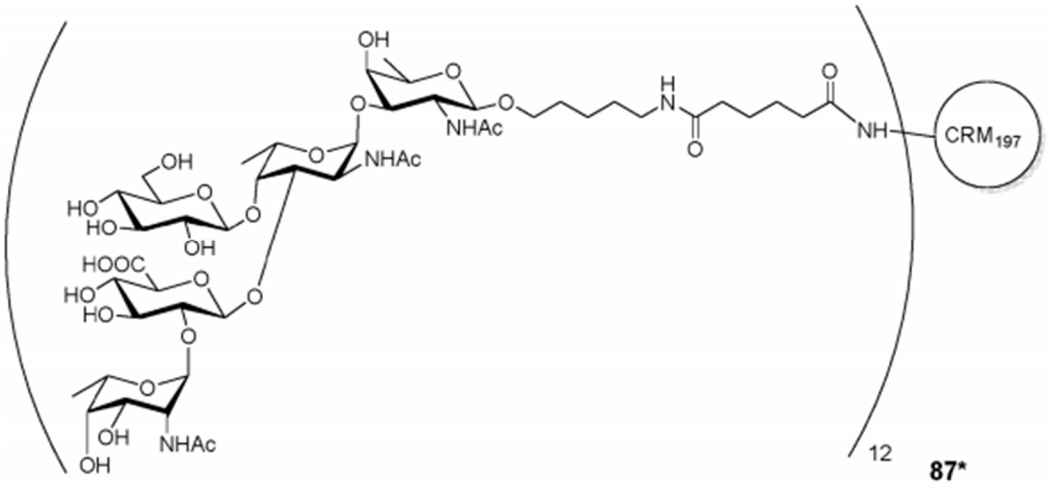
en donde x, y y z son independientemente número entero de 1 a 20.

9. El conjugado de acuerdo con la reivindicación 8 seleccionado del grupo que consiste de **58*a, 58*b , 58*c** y **87***:



58*a, x = 7
58*b, x = 8
58*c, x = 11.2

y



87*

10. El conjugado de acuerdo con la reivindicación 8 o 9 para su uso en la generación de una respuesta inmune protectora en un huésped humano y/o animal.

11. El conjugado según la reivindicación 8 o 9 para su uso en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades asociadas con bacterias que contienen *N*-acetil-L-neumosamina en su polisacárido capsular.

12. El conjugado para usar según la reivindicación 11, en donde la bacteria es *Streptococcus pneumoniae* serotipo 5.

13. El conjugado para usar según la reivindicación 11 o 12, en donde las enfermedades asociadas con bacterias incluyen neumonía, meningitis, otitis media, bacteriemia y exacerbación de bronquitis crónica, sinusitis, artritis y conjuntivitis.

14. Una composición farmacéutica que comprende el conjugado según la reivindicación 8 o 9 y/o el sacárido según cualquiera de las reivindicaciones 1-7 junto con al menos un crioprotector, lioprotector, excipiente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

15. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 14 para su uso en la activación de una respuesta inmunitaria protectora en un huésped humano y/o animal.

Figura 1

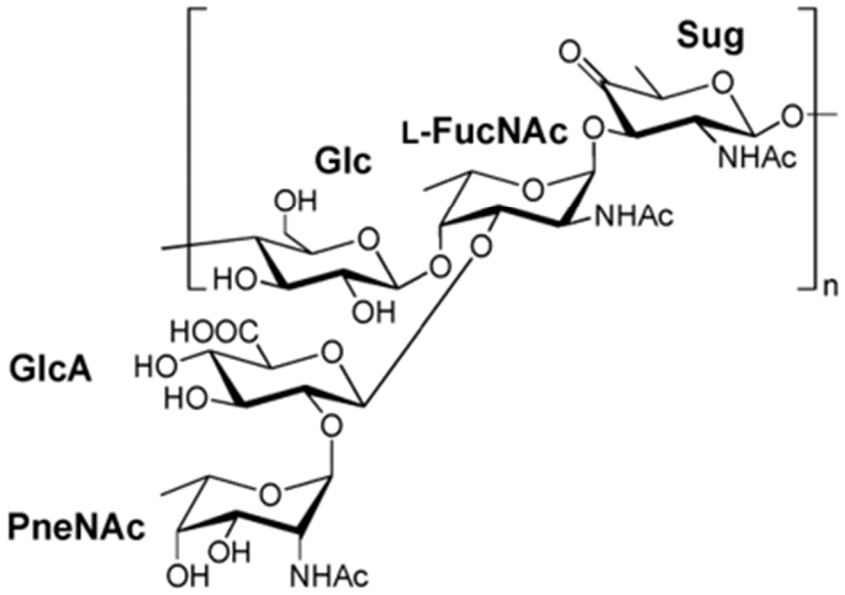


Figura 3

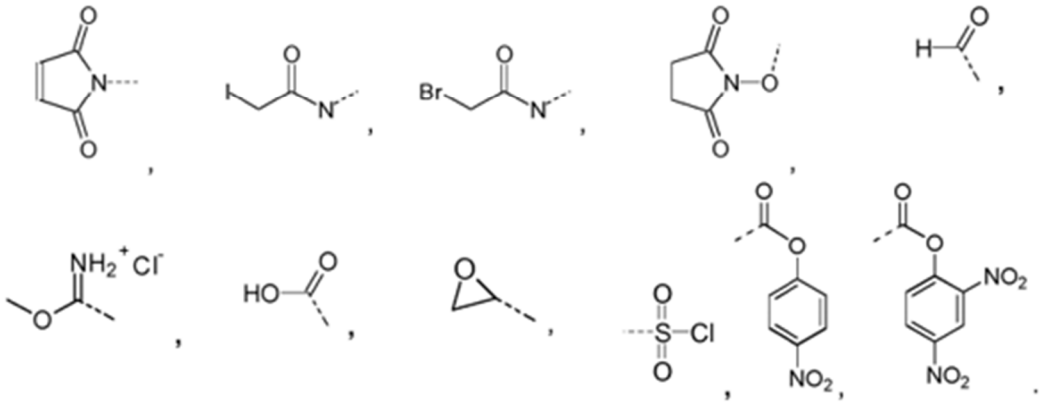
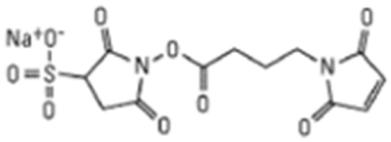


Figura 2

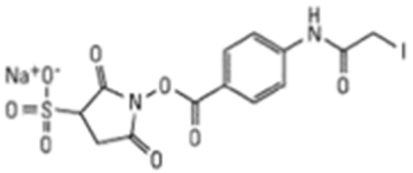


Sulfo-GMBS

Éster de *N*-(γ-Maleimidobutiriloxi)sulfosuccinimida

MW 382.28

Brazo espaciador 7.3 Å

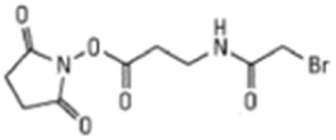


Sulfo-SIAB

(4-yodoacetil)aminobenzoato de sulfosuccinimidilo

MW 504.19

Brazo espaciador 10.6 Å

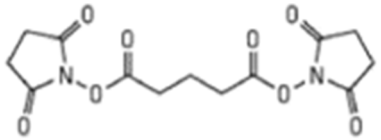


SBAP

Succinimidil-3-(bromoacetamido)propionato

MW 307.10

Brazo espaciador 6.2 Å

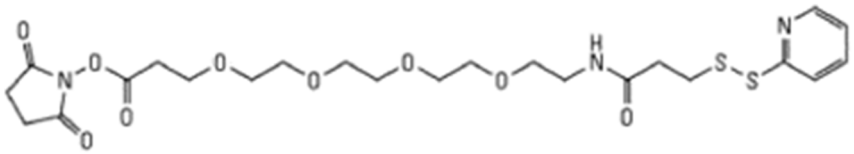


DSG

Glutarato de disuccinimidilo

MW 326.26

Brazo espaciador 7.7 Å

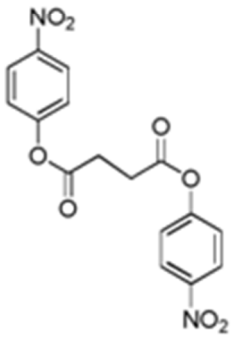


PEG4-SPDP

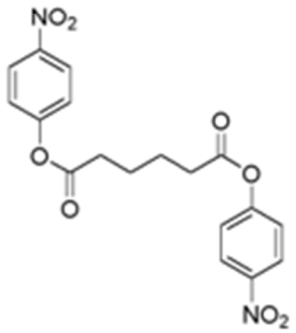
2-Piridilditiol-tetraoxatetradecano-*N*-hidroxisuccinimida

MW 559.17

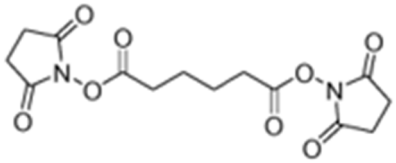
Brazo espaciador 25.7 Å



Bis-(4-nitrofenil)succinato

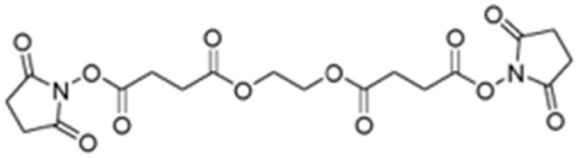


Bis-(4-nitrofenil)adipato



DSA

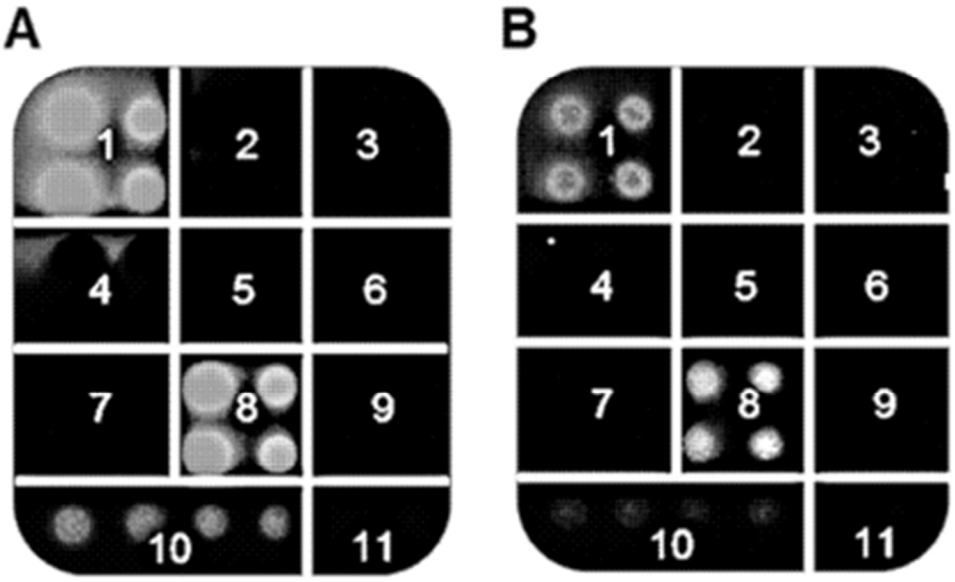
Adipato de disuccinimidilo



Etilenglicol-bis(ácido succínico

éster N-hidroxisuccinimida)

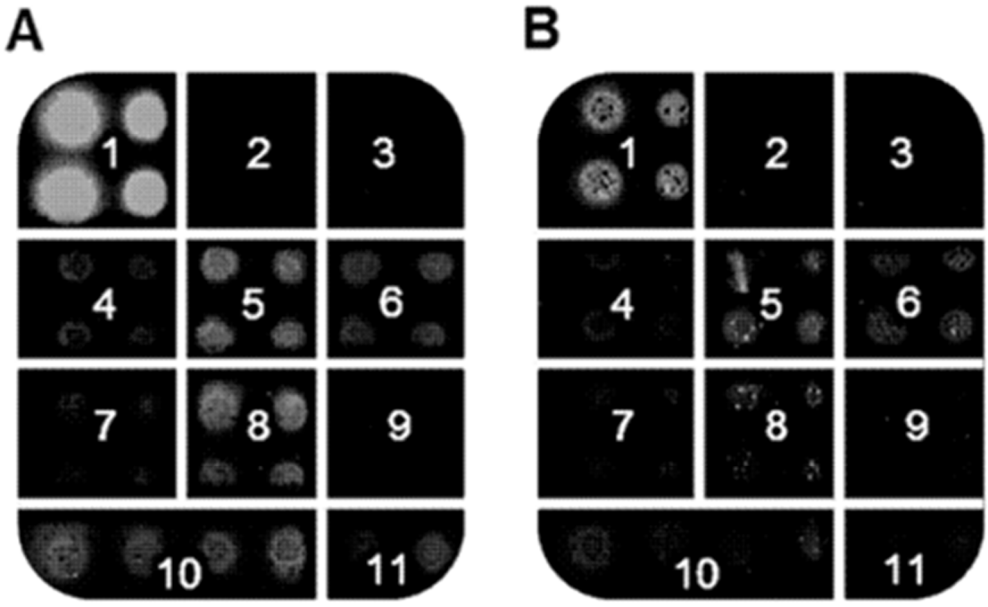
Figura 4



C

Posición	Sacárido	Posición	Sacárido
1	33*	7	44*
2	14*	8	27*
3	15*	9	52*
4	20*	10	36*
5	21*	11	37*
6	51*		

Figura 5



C

Posición	Sacárido	Posición	Sacárido
1	33*	7	44*
2	14*	8	27*
3	15*	9	52*
4	20*	10	36*
5	21*	11	37*
6	51*		

Figura 6

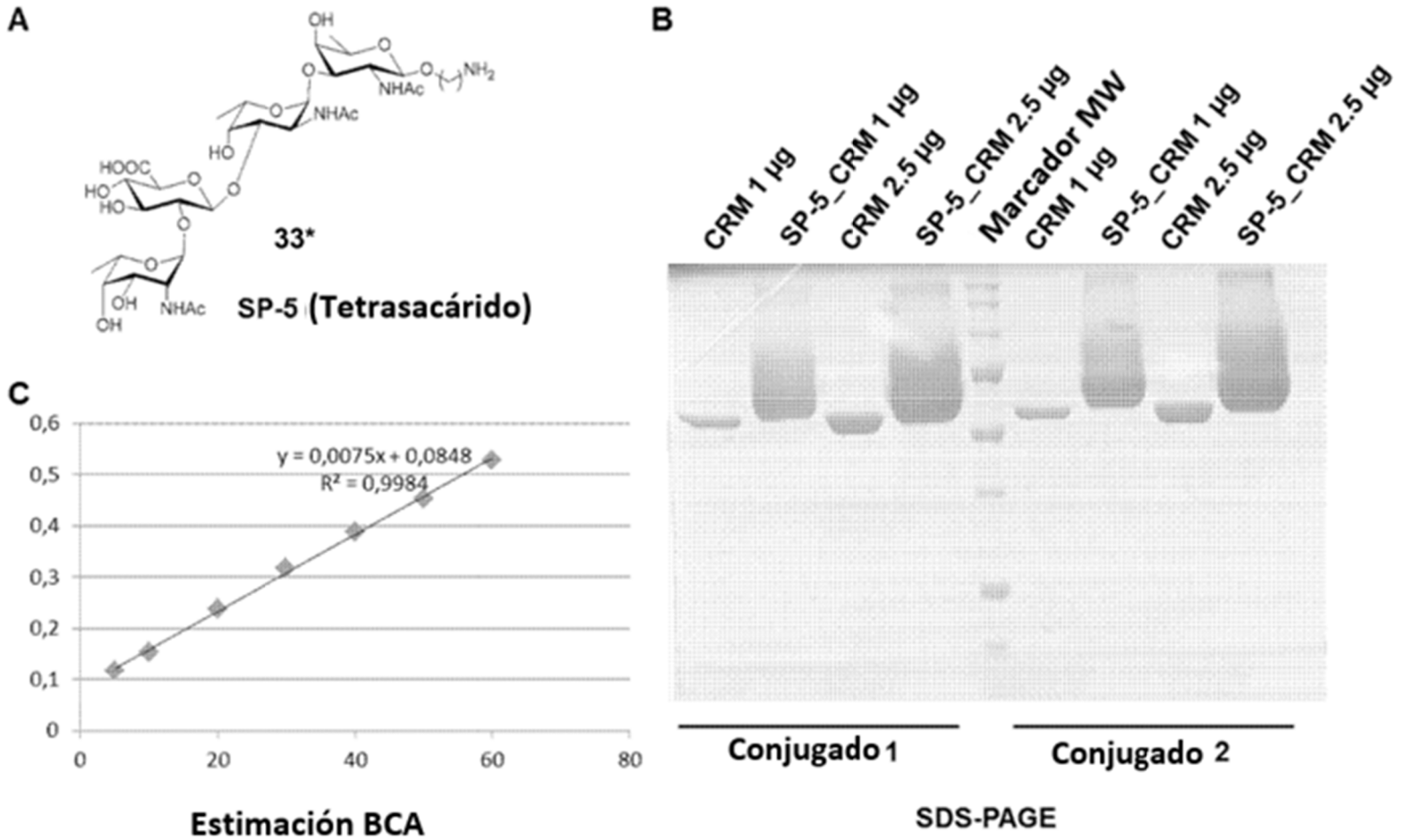

A
33*
SP-5 (Tetrasacárido)
B
CRM 1 µg
SP-5_CRM 1 µg
CRM 2.5 µg
SP-5_CRM 2.5 µg
Marcador MW
CRM 1 µg
SP-5_CRM 1 µg
CRM 2.5 µg
SP-5_CRM 2.5 µg
Conjugado 1
Conjugado 2
SDS-PAGE
C
y = 0,0075x + 0,0848
R² = 0,9984
Estimación BCA

Figura 7

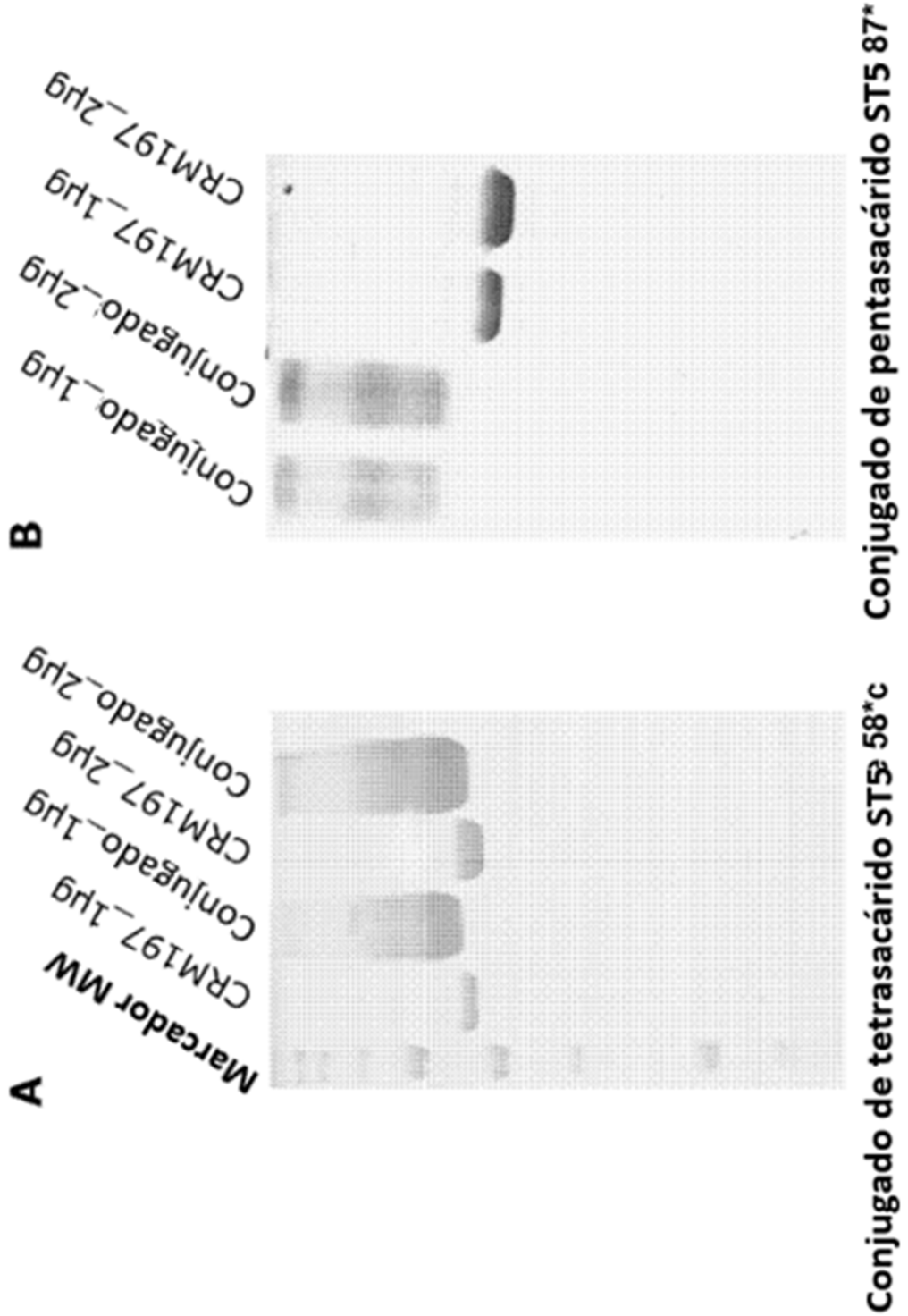

A
Marcador MW
CRM197_1µg
Conjugado_1µg
CRM197_2µg
Conjugado_2µg
Conjugado de tetrasacárido ST5 58*c
B
Conjugado_1µg
Conjugado_2µg
CRM197_1µg
CRM197_2µg
Conjugado de pentasacárido ST5 87*

Figura 7 continuada

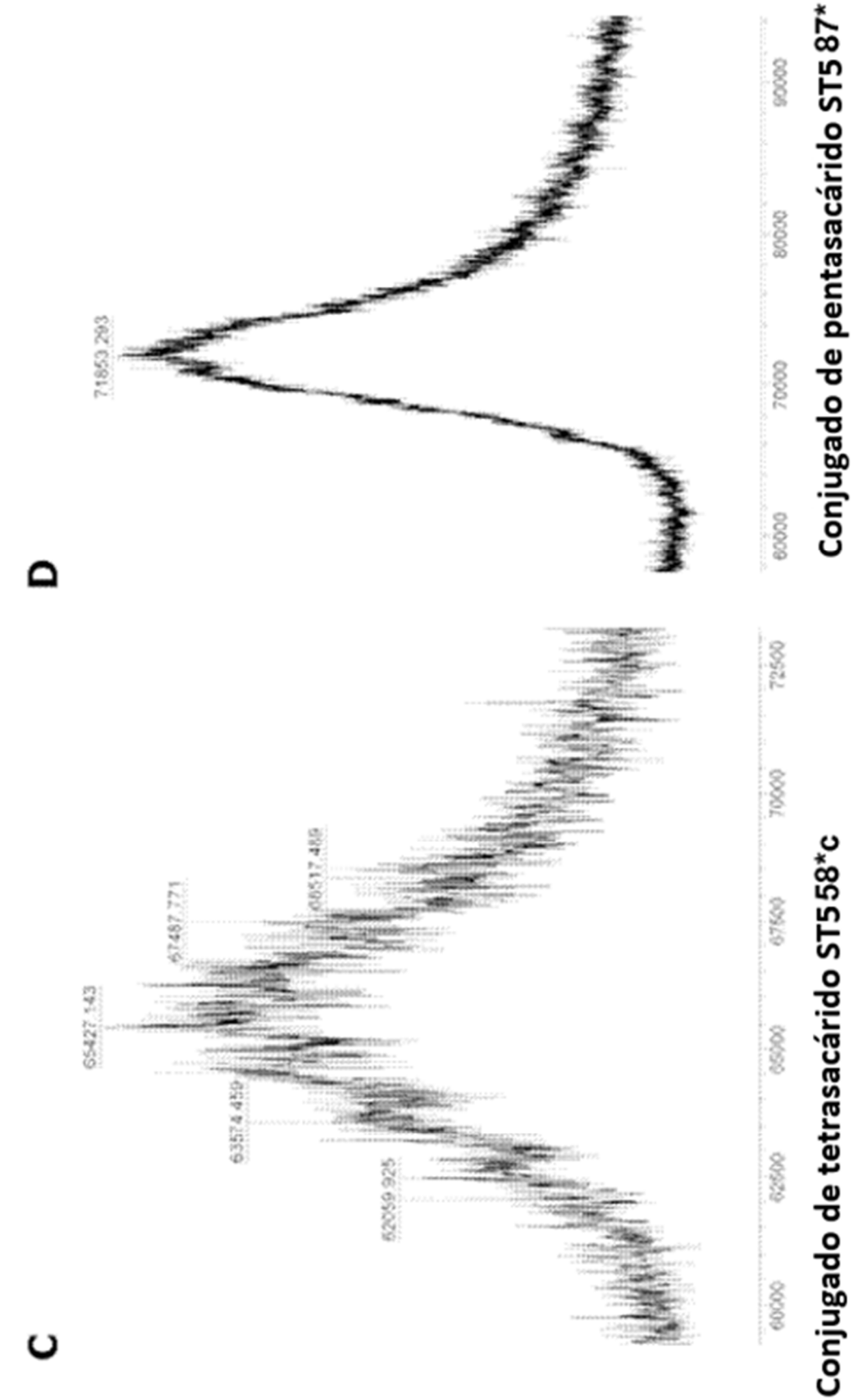
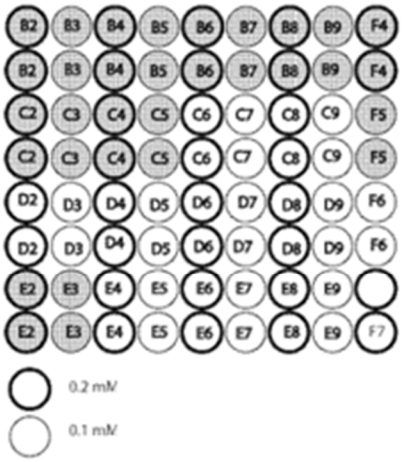


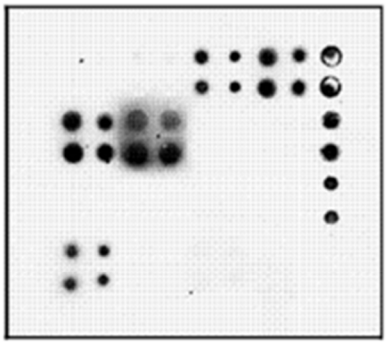
Figura 8

A



B

Sueros de tipo ST5



C

Estructura	Nombre	0.2 mM	0.1 mM
1	Glc(β1-4)FucNAc(α1-3)D-FucNAc(β1-1)aminopentanol	B2	B3
2 (Ref.1)	GlcA(β1-3)[Glc(β1-4)]FucNAc(α1-1)aminopentanol	B4	B5
3 (Ref.2)	GlcA(β1-3)[Glc(β1-4)]FucNAc(α1-3)D-FucNAc(β1-1)aminopentanol	B6	B7
4 (73*)	L-PneNAc(α1-2)GlcA(β1-3)[Glc(β1-4)]FucNAc(α1-3)D-FucNAc(β1-1)aminopentanol	B8	B9
5 (85*)	L-PneNAc(α1-2)GlcA(b1-3)[Glc(β1-4)]FucNAc(α1-3)QuiNAc(β1-1)aminopentanol	C2	C3
6 (33*)	L-PneNAc(α1-2)GlcA(β1-3) FucNAc(α1-3)D-FucNAc(β) aminopentanol	C4	C5
7	D-6d-xylHexpNAc-4-ulo(β) aminopentanol	C6	C7
8	D-FucNAc(β) aminopentanol	C8	C9
9	FucNAc(α1-3)D-6d-xylHexpNAc-4-ulo(β) aminopentanol	D2	D3
10	FucNAc(α1-3)D-FucNAc(β) aminopentanol	D4	D5
11	GlcA(β1-4)FucNAc(α) aminopentanol	D6	D7
12	Glc(β1-4)FucNAc(α) aminopentanol	D8	D9
13 (27*)	L-PneNAc(α1-2)GlcA(β)aminopentanol	E2	E3
14	FucNAc(α) aminopentanol	E4	E5
15	L-PneNAc(α)aminopentanol	E6	E7
16	L-PneNAc(β)aminopentanol	E8	E9

		0.2 mg/ml	0.04 mg/ml
ST5	Polisacárido nativo	F4	F5
1CWPS	Polisacárido de pared celular nativo	F6	
Tampón	Tampón de impresión	A2	

Figura 9

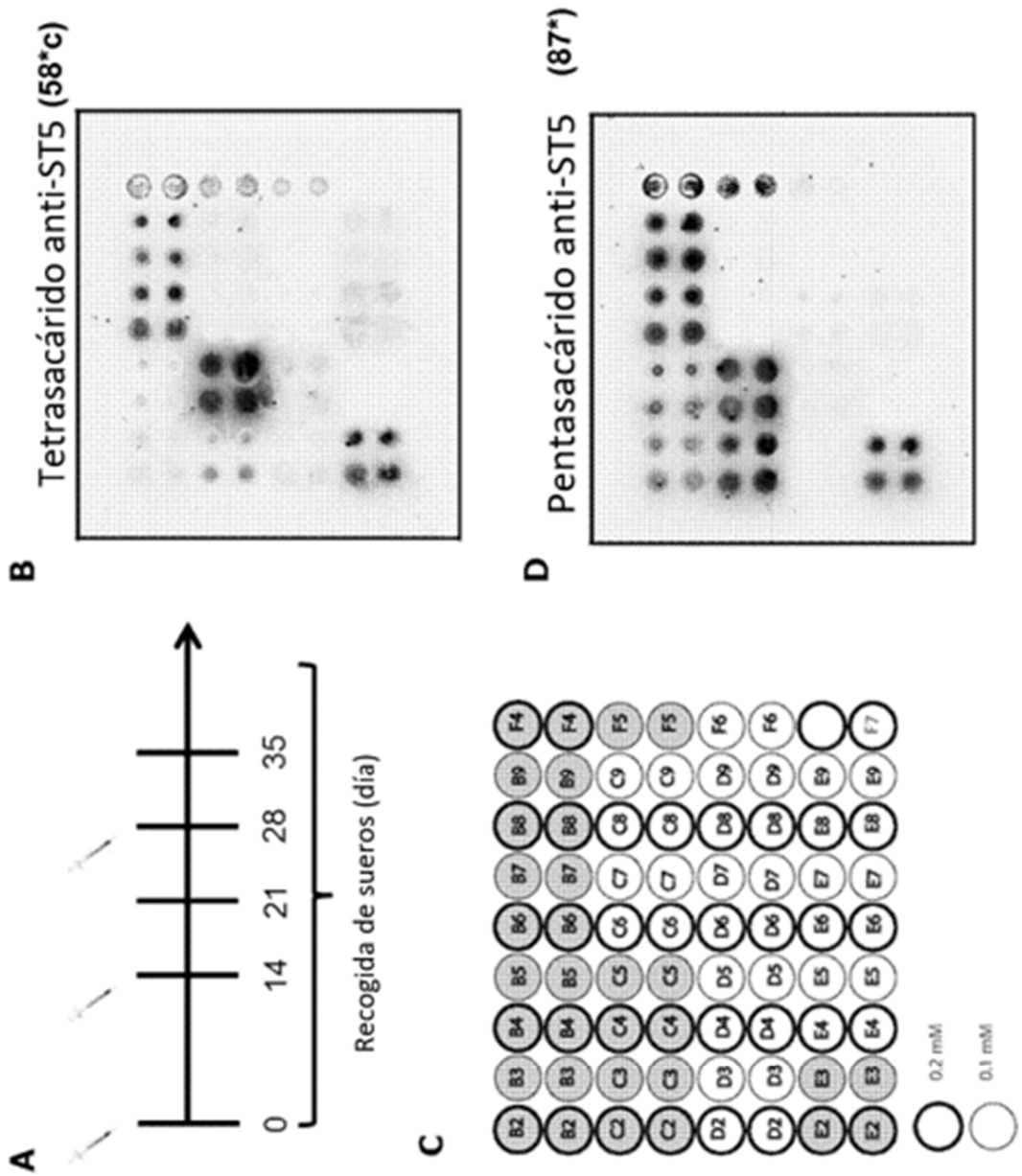

A
0
14
21
28
35
Recogida de sueros (día)
B
Tetrasacárido anti-ST5 (58*c)
C
0.2 mM
0.1 mM
D
Pentasacárido anti-ST5 (87*)

Figura 10

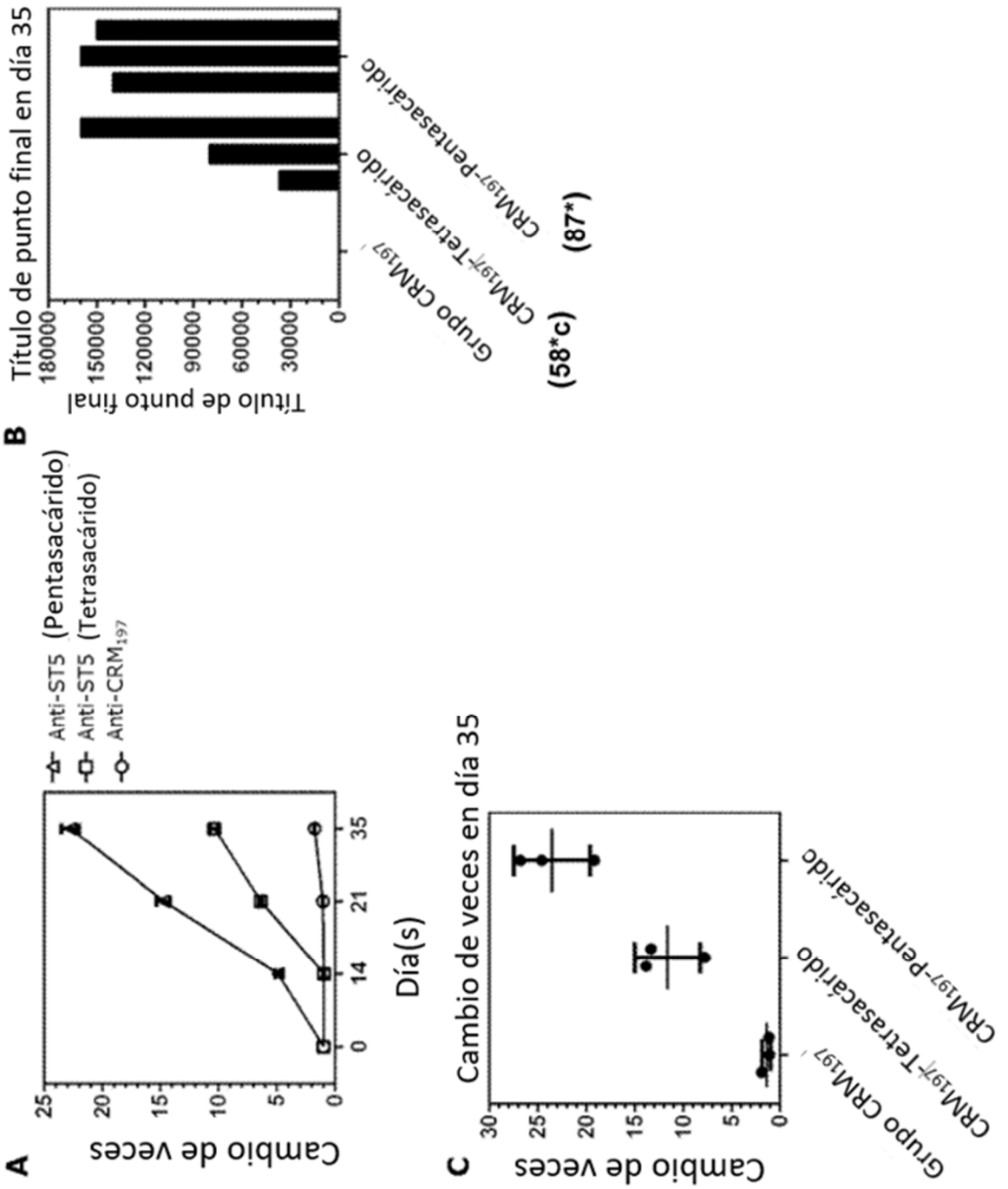

A
Anti-ST5 (Pentasacárido)
Anti-ST5 (Tetrasacárido)
Anti-CRM197
Cambio de veces
Día(s)
B
Título de punto final en día 35
Título de punto final
Grupo CRM197
CRM197-Tetrasacárido
CRM197-pentasacárido
(58*c)
(87*)
C
Cambio de veces en día 35
Cambio de veces
Grupo CRM197
CRM197-Tetrasacárido
CRM197-pentasacárido

Figura 11

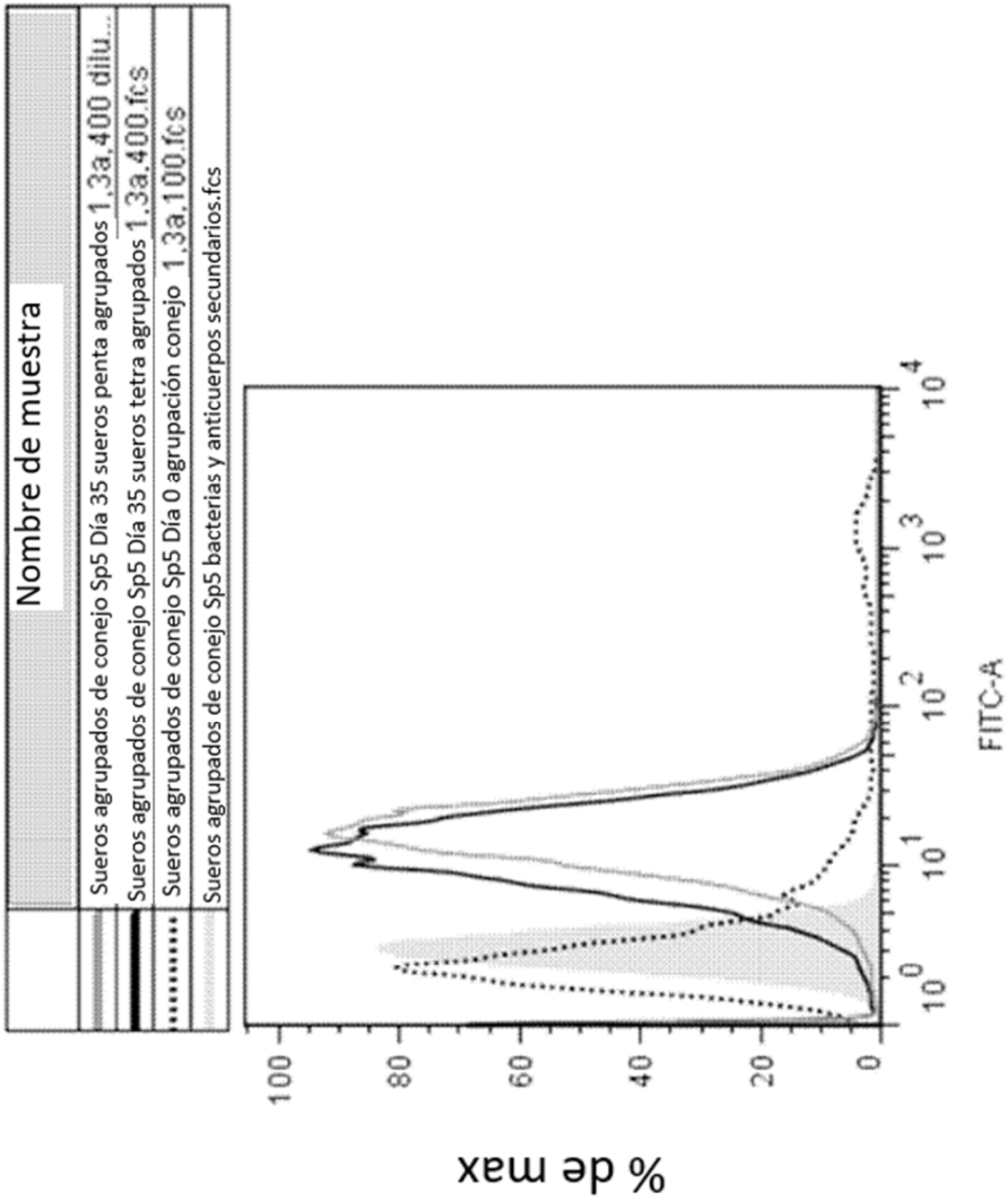
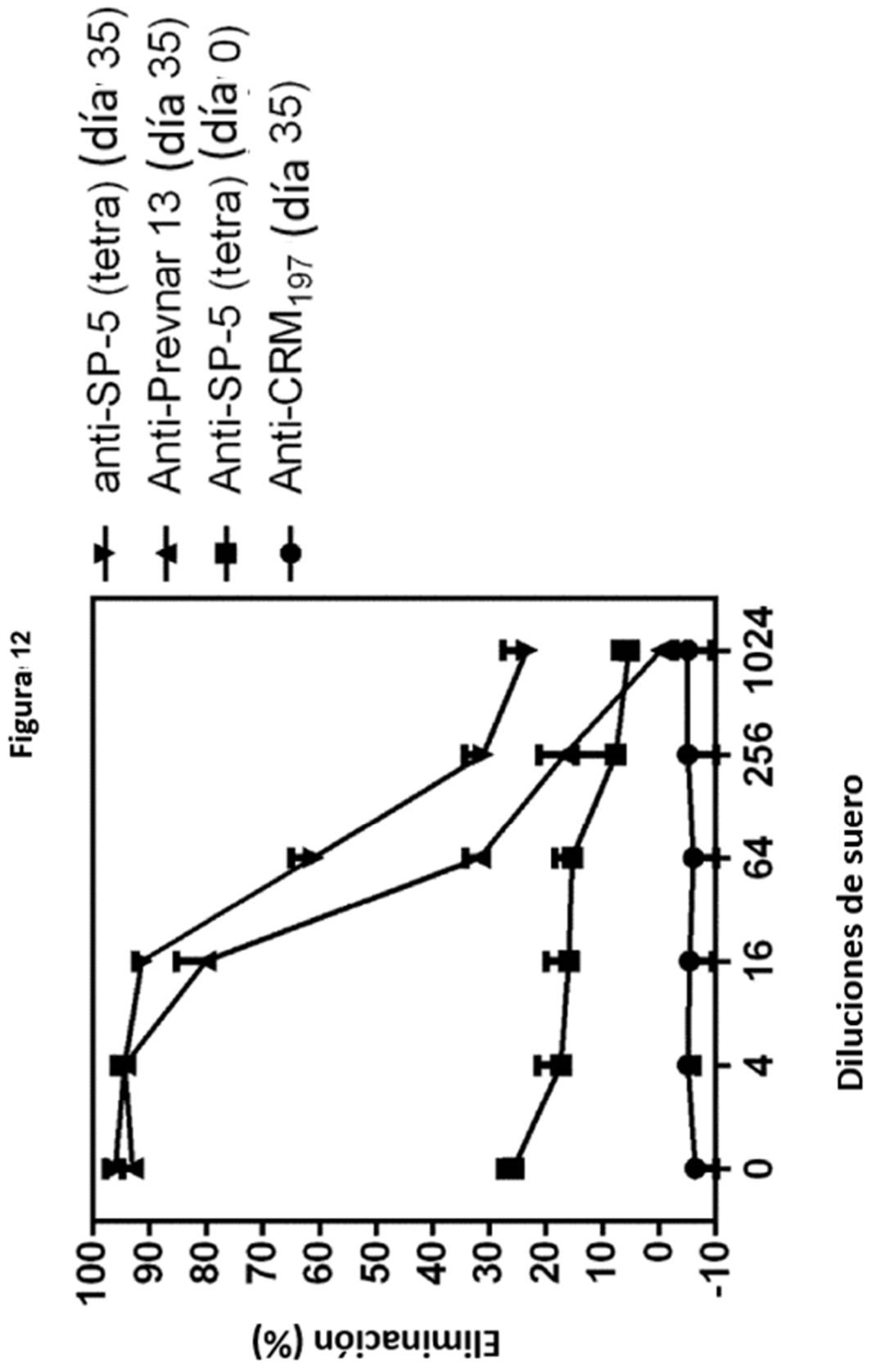

Nombre de muestra
Sueros agrupados de conejo Sp5 Día 35 sueros penta agrupados 1,3a,400 dilu...
Sueros agrupados de conejo Sp5 Día 35 sueros tetra agrupados 1,3a,400.fcs
Sueros agrupados de conejo Sp5 Día 0 agrupación conejo 1,3a,100.fcs
Sueros agrupados de conejo Sp5 bacterias y anticuerpos secundarios.fcs
% de max
100
80
60
40
20
0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
FITC-A

Figura 12


anti-SP-5 (tetra) (día 35)
Anti-Prevnar 13 (día 35)
Anti-SP-5 (tetra) (día 0)
Anti-CRM197 (día 35)
Eliminación (%)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-10
0
4
16
64
256
1024
Diluciones de suero