

Tesis de Posgrado

Amonólisis de la Pentabenzoi-D-Glucosa y de la 2,3,4,6-Tetrabenzoi-D-Glucosa con grupos benzoilos marcados : Contribución de cada grupo a la formación de la N,N'-Dibenzoi-D-Glucosiliden Diamina

Gros, Eduardo Gervasio

1960

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Gros, Eduardo Gervasio. (1960). Amonólisis de la Pentabenzoi-D-Glucosa y de la 2,3,4,6-Tetrabenzoi-D-Glucosa con grupos benzoilos marcados : Contribución de cada grupo a la formación de la N,N'-Dibenzoi-D-Glucosiliden Diamina. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1032_Gros.pdf

Cita tipo Chicago:

Gros, Eduardo Gervasio. "Amonólisis de la Pentabenzoi-D-Glucosa y de la 2,3,4,6-Tetrabenzoi-D-Glucosa con grupos benzoilos marcados : Contribución de cada grupo a la formación de la N,N'-Dibenzoi-D-Glucosiliden Diamina". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1032_Gros.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

RESUMEN DE LA TESIS : "Amonólisis de la pentabenzoil-D-glucosa y de la 2,3,4,6-tetrabenzoil-D-glucosa con grupos benzoilos marcados. Contribución de cada grupo a la formación de la N,N'-dibenzoil-D-glucosiliden diamina".

Presentada a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales por Eduardo Gervasio Gros para optar al título de Doctor en Química (Orientación Química Orgánica)

- I) Se confirmó, haciendo uso de benzamida (carbonilo C¹⁴) como indicador, que la reacción de formación de la D-glucosa dibenzamida mediante la amonólisis de la pentabenzoil-D-glucosa y de la 2,3,4,6-tetrabenzoil-D-glucosa, es intramolecular.
- II) Se han preparado las siguientes pentabenzoil-D-glucosas utilizando cloruro de benzoilo (carbonilo C¹⁴):
- pentabenzoil-(carbonilo C¹⁴)-D-glucosa
 - 1-benzoil-(carbonilo C¹⁴)-2,3,4,6-tetrabenzoil-D-glucosa
 - 1,2,3-tribenzoil-(carbonilo C¹⁴)-4,6-dibenzoil-D-glucosa
 - 1,3,4-tribenzoil-(carbonilo C¹⁴)-2,6-dibenzoil-D-glucosa
 - 4-benzoil-(carbonilo C¹⁴)-1,2,3,6-tetrabenzoil-D-glucosa
 - 4,6-dibenzoil-(carbonilo C¹⁴)-1,2,3-tribenzoil-D-glucosa
 - 6-benzoil-(carbonilo C¹⁴)-1,2,3,4-tetrabenzoil-D-glucosa
- III) Se han preparado las siguientes tetrabenzoil-D-glucosas utilizando cloruro de benzoilo (carbonilo C¹⁴):
- 2,3-dibenzoil-(carbonilo C¹⁴)-4,6-dibenzoil-D-glucosa
 - 3,4-dibenzoil-(carbonilo C¹⁴)-2,6-dibenzoil-D-glucosa
 - 4,6-dibenzoil-(carbonilo C¹⁴)-2,3-dibenzoil-D-glucosa
 - 4-benzoil-(carbonilo C¹⁴)-2,3,6-tribenzoil-D-glucosa
 - 6-benzoil-(carbonilo C¹⁴)-2,3,4-tribenzoil-D-glucosa

R1032

R. de Tesis: 1002

IV) Las amonólisis, en alcohol metílico amoniacoal, de las penta-benzoil-D-glucosas radiactivas, antes mencionadas, han permitido demostrar:

- a) que el grupo benzoilo unido al carbono 1 no participa en la formación de la D-glucosa dibenzamida.
- b) que los grupos benzoilos ubicados en las posiciones 2, 3, 4 y 6 realizan, respectivamente, las siguientes contribuciones aparentes a la formación de los restos benzamida que están unidos al carbono 1 de la molécula de la D-glucosa:

benzoilo posición 2: $5,7\% \pm 1,5\%$

benzoilo posición 3: $37,8\% \pm 1,3\%$

benzoilo posición 4: $41,1\% \pm 0,6\%$

benzoilo posición 6: $15,4\% \pm 0,3\%$

Se define como contribución aparente, aquella obtenida por la medida directa de la cantidad de grupo benzoilo, unido a determinada posición como éster, que pasa a formar parte de restos benzamida de la D-glucosa dibenzamida, sin tomar en cuenta posibles transposiciones que puedan ocurrir entre grupos benzoilos durante la amonólisis.

V) Las amonólisis, en alcohol metílico amoniacoal, de las 2,3,4,6-tetra-benzoil-D-glucosa radiactivas, antes mencionadas, han permitido establecer que las contribuciones aparentes, a la formación de la D-glucosa dibenzamida, de los grupos benzoilos ubicados en las posiciones 2,3,4 y 6 son respectivamente:

benzoilo posición 2: $5,8\% \pm 1,7\%$

benzoilo posición 3: $40,1\% \pm 1,5\%$

benzoilo posición 4: $40,6\% \pm 0,7\%$

benzoilo posición 6: $13,7\% \pm 0,2\%$.

- VI) Se han efectuado una serie de consideraciones para la interpretación de los resultados anteriores. Parecería que los factores determinantes de estas contribuciones son variables; en el caso del grupo benzoilo unido al hidroxilo del carbono 2 su baja contribución parece depender de su facilidad para amonolizarse, mientras que en el caso del grupo benzoilo unido al carbono 6 sería lo contrario, o sea, que su poca contribución se explica por su resistencia a la amonólisis; esta afirmación está atestiguada en VIII.
- Los grupos benzoilos de las posiciones 3 y 4 serían los de contribución más elevada por ser su reactividad intermedia.
- En estas consideraciones no se han tenido en cuenta factores estéricos, en especial conformacionales, sino que se basan únicamente en la desigual reactividad de los hidróxilos de un monosacárido.
- VII) En la amonólisis, tanto de la pentabenzoil-D-glucosa como de la tetrabenzoil-D-glucosa, el equivalente a dos de los grupos benzoilos, provistos en las proporciones antes indicadas, pasan a formar la D-glucosa dibenzamida; no todo el resto de los benzoilos se amonolizan a benzamida. Es evidente, como resultado de una experiencia bien controlada, que en el medio metanólico la acción básica del amoníaco cataliza la reacción de transesterificación con posible producción de benzoato de metilo.
- VIII) La amonólisis de la pentabenzoil-D-glucosa no radiactiva en alcohol isopropílico amoniacal produce, con rendimiento del 26%, la 6-benzoil-D-glucosa dibenzamida cuya estructura se demostró mediante oxidación con periodato de sodio. La obtención de este compuesto prueba la mayor resistencia a la amonólisis del grupo benzoilo del carbono primario.

Por similitud de la estructura, este resultado puede asociarse con la obtención de la 5-benzoil-D-lixosa dibenzamida y de la 5-benzoil-D-arabinosa dibenzamida por amonólisis de nitrilos benzoilados de ácidos aldónicos.

Edwards

FCEN-BA

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ANÁLISIS DE LA PENTABENZOIL-D-GLUCOSA
Y DE LA 2,3,4,6-TETRABENZOIL-D-GLUCOSA
CON GRUPOS BENZOILOS MARCADOS. CONTRIBUCIÓN
DE CADA GRUPO A LA FORMACIÓN DE LA
N,N'-DIBENZOIL-D-GLUCOSILIDEN DIAMINA.

TESIS

Tesis: 1000

Presentada a la Facultad de Ciencias Exactas
y Naturales por el ex-alumno EDUARDO GERVASIO GROS
para optar al título de DOCTOR EN QUÍMICA,
(Orientación Química Orgánica)

BUENOS AIRES

1960

A mis padres

A mi novia

Quiero dejar constancia de mi sincero agradecimiento hacia el Dr. Venancio Doulofca por haberme sugerido el tema de esta tesis y por la guía y eficaces consejos que me brindó durante el desarrollo de la misma.

Agradezco también, a la compañía E. R. Squibb & Sons, Argentina, por haberme concedido una de sus becas para la investigación científica, la cual permitió la realización de este trabajo experimental.

Además, agradezco a la Comisión Nacional de Energía Atómica el haberme permitido hacer uso de los laboratorios de la sección Química Orgánica y a los Dres. Mauricio F. Bühler y Aldo E. A. Mittra por los múltiples asesoramiento recibidos para el manejo de radioisótopos.

INTRODUCCION

Los primeros compuestos, que posteriormente recibieron el nombre de aldosas diacetamidas, fueron obtenidos por Wohl en 1893 al encontrar su método de degradación de azúcares.

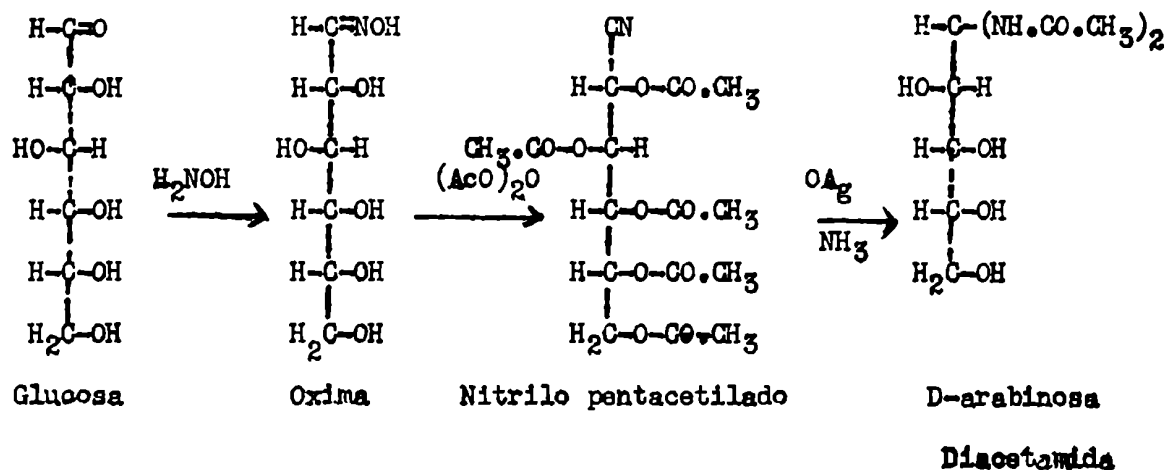
Esencialmente, éste es una operación inversa a la síntesis de monosacaridos de Kiliani-Fischer (1885).

En la degradación de Wohl el carbono es eliminado como grupo ciano, empleando para ello los nitrilos acilados de ácidos aldónicos que preparó por tratamiento de las oximas de aldosas con anhídrido acético y acetato de sodio.

La eliminación simultánea del grupo ciano y de los acetilos la realizó por tratamiento de los nitrilos acetilados con una solución de óxido de plata en amoníaco.

Wohl, la primera vez que trató el nitrilo pentacetilado del ácido D-glucónico, no obtuvo D-arabinosa directamente, sino un producto de condensación de dos moléculas de acetamida con la D-arabinosa, del cual obtuvo el azúcar libre mediante hidrólisis ácida.

La serie de reacciones fué la siguiente:

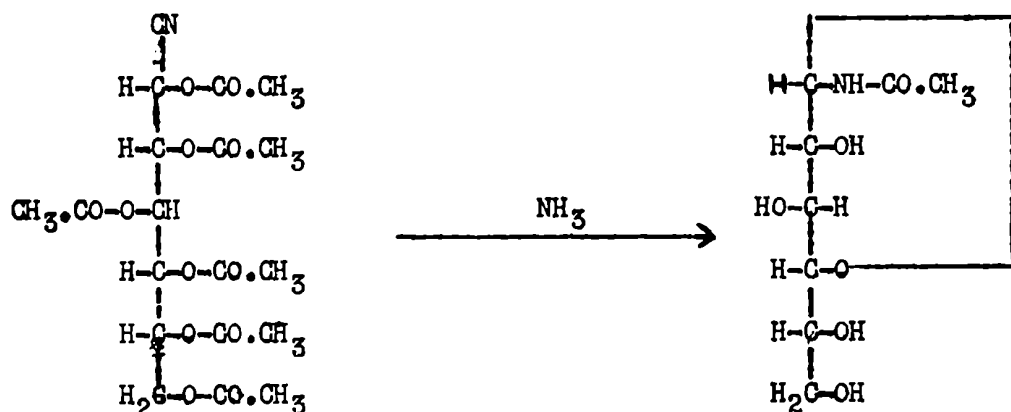


Posteriormente se encontró que no era necesaria la presencia del óxido de plata para la eliminación del grupo nitrilo, pues bastaba efectuar el tratamiento con soluciones de amoníaco acuoso (Maquenne 1901) o alcoholica (Brigl y col. 1931; Hockett y Chandler, 1944).

La variación del grupo acilo unido a los hidroxilos del ácido aldónico no modificó los resultados de la reacción en los casos ensayados, aunque el número de acilos ensayados fué muy reducido.

Brigl, Mühlischlegel y Schinle (1931) y Restelli de Labriola y Deulofeu (1947) obtuvieron aldosas dibenzamidas a partir de nitrilos benzoilados y Deulofeu y Jimenez (1950) aldosa dipropionamidas empleando nitrilos propionilados.

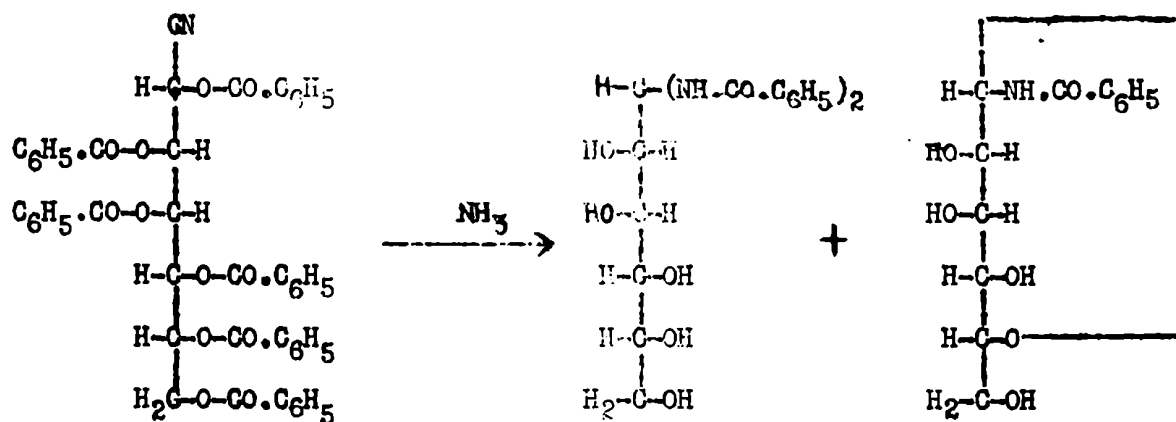
En cambio se observó una variación en el producto obtenido al variarse los ácidos aldónicos. Hockett y Chandler (1944) efectuaron la amonólisis del Hexacetil-D-glicero-D-gulo heptonitrilo y obtuvieron, con bajo rendimiento, un producto derivado de la condensación de la D-glucosa con una sola molécula de acetamida que consideraron era la N-acetil-D-glucofuranosilamina.



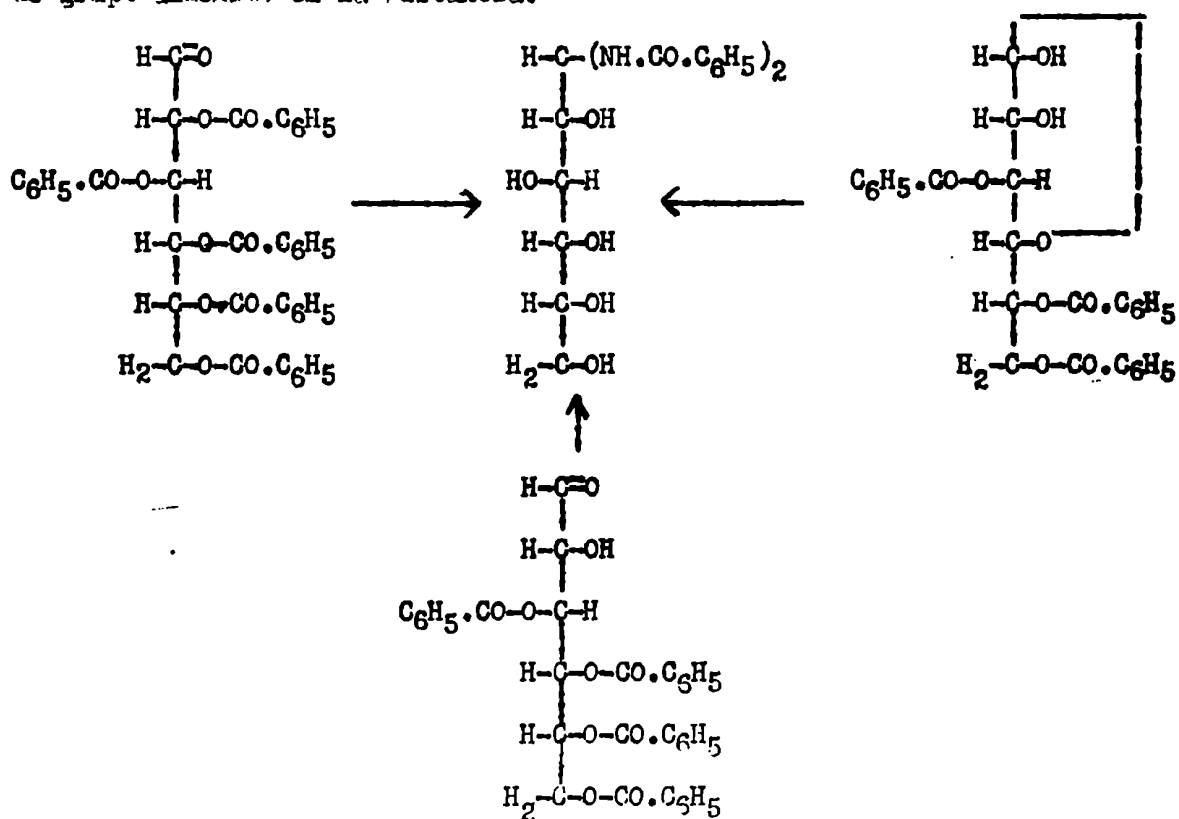
Esta estructura fué confirmada posteriormente, mediante la oxidación con ácido periódico, por Nieman y Hays (1945) y Deferrari y Deulofeu (1957). No era la primera vez que se obtenía un derivado monoamidado, pues Brigl y col. (1931) al efectuar la amonólisis del hexacetil-D-glicero-D-gala-heptonitrilo obtuvieron paralelamente con la D-manosa dibenzamida, que podríamos llamar normal, una N-benzoil D-manosilamina que tiene estructura piranosica (Deferrari y Deulofeu, 1957).

Brigl y col. (1931) atribuyeron la formación de este compuesto a una reacción secundaria a partir de la D-manosa dibenzamida lo que no pudo ser demostrado por Deferrari y Deulofeu (1952) puesto que la

D-manosa dibenzamida o su derivado pentabenzoilado no producen la monoamida por tratamiento con amoníaco.



Las aldosas-diamidas podían obtenerse por otra reacción sin pasar por los nitrilos acilados de los ácidos aldónicos. Brigl y col. (1931) habían preparado D-glucosa dibenzamida por amonólisis de la pentabenzoil-aldehído-D-glucosa, de la 3, 4, 5, 6 -tetrabenzoil-aldehído-D-glucosa y de la 3,5,6-tribenzoil-D-glucofuranosa. Consideraban que el grupo aldehído libre era necesario para la formación de las diamidas y en el caso particular de la 3,5,6-tribenzoil-D-glucofuranosa señalaron que podía considerarse una medida de la disponibilidad de grupo aldehído en la sustancia.



La posibilidad de llevar a cabo la formación de aldosas-diacetamidas a partir de derivados de los monosacáridos con función aldehído libre, fué estudiada por Deulofeu (1932) con la triacetil-aldehído-L-eritrosa y posteriormente por Isbell y Frush (1949) con la tetracetil-aldehído-D-arabinosa que por amonólisis dieron L-eritrosa diacetamida y D-arabinosa diacetamida respectivamente.

La similitud de reacción de amonólisis entre un nitrilo aldónico acilado y el monosacárido de un carbono menos, también acilado pero con función aldehído libre, fué encontrada por Hockett y Chandler (1944) entre el hexacetil-D-glicero-D-gulo heptono-nitrilo y la pentacetil-aldehído-D-glucosa. (Nioman y Hays, 1945) pués las dos producían por amonólisis N-acetil-D-glucofuranosilamina.

Nioman y Hays (1945) extendieron la reacción a la pentacetil- β -D-glucopiranososa, que por amonólisis, produjo al igual que las anteriores la N-acetil-D-glucopiranosilamina.

Si en vez de la pentacetil- β -D-glucopiranososa se someten a la amonólisis los acetatos o benzoatos piranósicos de otros monosacáridos o los benzoatos de la D-glucopiranososa, la reacción produce las correspondientes aldosas diacetamidas o aldosas dibenzamidas. Deulofeu y Deferrari (1950) encontraron que así ocurría con los dos anómeros de las pentabenzoil-D-glucosas y que la reacción podía extenderse a la D-manosa y D-galactosa (Deferrari y Deulofeu, 1952); a la D-lixosa (Deferrari, Deulofeu y Recondo, 1958); a la L-ramnosa (Deferrari y Deulofeu, 1957) y a la L-arabinosa, D-xilosa y D-ribosa y sus derivados, (Deferrari, Ondetti y Deulofeu, 1959). En el caso de la L-ramnosa se obtuvo paralelamente con la L-ramnosa dibenzamida, similarmente a lo ocurrido con la pentabenzoil-D-manosa, una N-benzoil-L-ramnopiranosilamina cuya estructura fué establecida por oxidación con ácido periódico.

MECANISMO DE LA FORMACION DE ALDOSA-DIAMIDA :

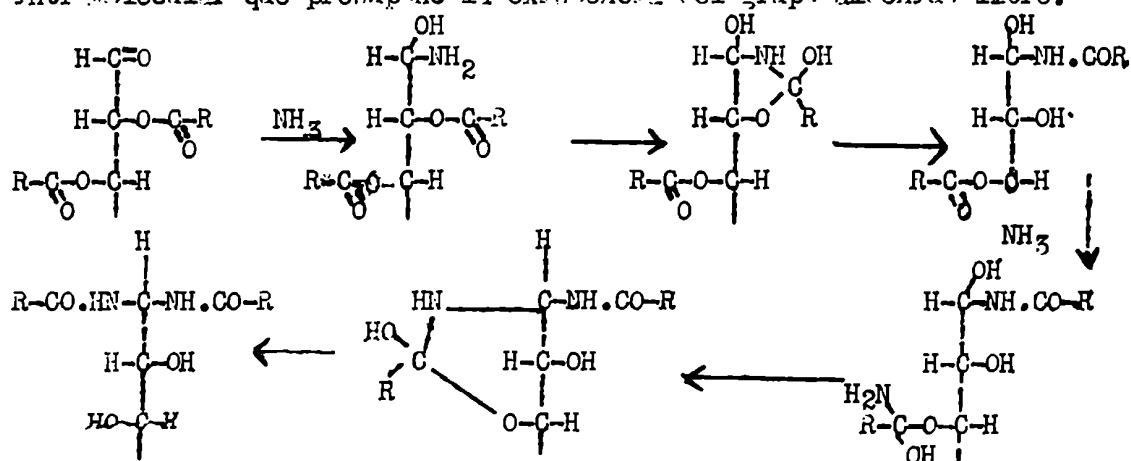
La formación de las aldosa-diamidas fué interpretada durante mucho tiempo como el resultado de la condensación del grupo aldehído del monosacárido, obtenido por la eliminación de la función nitrilo y de los grupos acetilos, con las moléculas de amidas formadas durante la reacción.

Esta interpretación estaba sustentada en los ejemplos bien conocidos de condensación de aldehídos con amidas (Noves y Forman, 1933) y había sido considerada como posible por Brigl y col. (1931) en su trabajo de formación de D-glucosadibenzamida a partir de diversas benzoil-D-glucosas.

Existían, sin embargo, varios hechos que mostraban que no era fácil la condensación de monosacáridos con amidas libres en la misma solución.

Brigl y col. (1931) tratando el nitrilo D-glícero-D-gala heptónico con amoníaco, nitrato de plata y benzamida en solución metanólica obtuvieron solamente D-manosa, mientras que empleando el mismo nitrilo benzoylado obtenían D-manosa dibenzamida. además se había fracasado en todos los intentos efectuados para condensar acetamida o benzamida con monosacáridos (Hockett y Chandler, 1944).

En 1949 Isbell y Frush propusieron un mecanismo de reacción intramolecular que presupone la existencia del grupo aldehído libre:



El primer paso consistiría, dada la facilidad de combinación de los aldehídos con amoníaco, en la adición de amoníaco al grupo

carbonilo del aldehído. La vecindad entre un nitrógeno dador de electrones y un carbono carbonílico deficiente, favorecería la formación de un ortoéster lábil que conduce al primer intermediario.

Luego seguiría con la condensación de otra molécula de amoníaco con otro grupo carbonilo y la formación de otro ortoéster lábil que daría origen a la diamida.

Pero, si cuando la reacción está en la monoamida, un hidroxilo colocado en una posición conveniente queda libre, existe la posibilidad de combinación con el hidroxilo del carbono 1 de la monoamida y que se forme un ciclo estable por el mecanismo corrientemente aceptado. Sería este el caso de la formación de la N-acetil-D-glucosilamina ya descrito.

La demostración experimental que la reacción de formación de aldosas diamidas era de carácter intramolecular, como lo suponía el mecanismo de Isbell y Frush, fué aportada posteriormente.

Deulofeu y Deferrari (1950) demostraron que las amidas extrañas colocadas en una solución en la cual se somete a un derivado acetilado a la reacción de Wohl no participan en la formación de la aldosa diamida obtenida. Así amonolizando la tetracetil-aldehído-L-arabinosa en medio metanólico y en presencia de ocho moléculas de propionamida se obtenía el 52% de L-arabinosadiacetamida, rendimiento similar al obtenido cuando se hacía la amonólisis en presencia de ocho moles de acetamida.

Idéntico resultado obtuvieron los mismos autores (1952) al amonolizar la pentabenzoil- α -D-glucopiranososa en presencia de diez moles de acetamida.

Además Hockett, Deulofeu y Deferrari (1950) al efectuar la amonólisis de nitrilos acetilados utilizando amoníaco con un cierto porcentaje de N^{15} , en solución etanólica conteniendo cierto número de moléculas de acetamida, encontraron en la aldosa diacetamida resultante el mismo porcentaje de N^{15} que había en el amoníaco.

Así amonolizando la tetracetil-L-arabonitrilo con solución etanólica de amoníaco con 6,2% de N^{15} en presencia de cuatro y ocho moles

de acetamida con nitrógeno normal, aislaron la L-eritrosa diacetamida con 5,6% y 5,71% de N^{15} respectivamente.

El cálculo demuestra que en este último caso, si la acetamida proviniera también de la presente en solución, debería encontrarse tan solo 2,1% de átomos de N^{15} .

En el trabajo descrito en esta tesis se confirmó que la reacción era intramolecular colocando en la solución donde se efectuaba la amonólisis de la pentabenzoil-D-glucosa 0,06; 1 y 4 moles de benzamida (carbonilo C^{14}) por mol de pentabenzoil-D-glucosa.

Considerando en particular el último de estos ensayos en cual se utilizaron 4 moles de benzamida de 51.288 cuentas por minuto o sea de 6.206 cuentas por minuto por milimol se podría razonar diciendo que : si se supone que la reacción es totalmente intermolecular, por mol de pentabenzoil-D-glucosa se producirán 5 moles de benzamida que unidos a los 4 moles de benzamida radiactiva, que se hallan en el medio, sumarán 9 moles que podemos suponer uniformemente marcados, o sea, que cada mol de benzamida mezcla tendrá 0,56 mol de no radiactiva y 0,44 mol de radiactiva.

Si dos de estos moles mezcla entran en una molécula de glucosa para formar la D-glucosa dibenzamida, ésta tendría, según el cálculo, una actividad de 5,461 cuentas por minuto por milimol o sea una actividad leída a espesor infinito de 13.517 cuentas por minuto.

Suponiendo el caso que únicamente entre en la molécula de D-glucosa dibenzamida la centésima parte (0,0088 mol) de la cantidad de benzamida radiactiva anterior, la D-glucosa dibenzamida tendría una actividad registrada a espesor infinito de 135 c.p.m., valor perfectamente detectable. Con la supuesta cantidad, 0,0088 mol, de benzamida radiactiva es el 0,2% de la originalmente colocada, puede afirmarse que, ya la participación del 0,2% de la benzamida del medio podría asegurarse con error standard del 1%.

Como la actividad de la D-glucosa dibenzamida aislada no pudo distinguirse de la actividad del fondo, contando un tiempo suficiente

para asegurar error standard del 1%, puede decirse que, por lo menos, la reacción es intramolecular en un 99,8% o sea prácticamente 100%.

Es de hacer notar que en estas experiencias las mediciones de actividad se hicieron sobre la propia sustancia para así evitar la dilución que representaría el convertirlas en carbonato de bario.

Aunque no se produce una condensación directa de las moléculas de amidas con el grupo aldehído del monosacárido, la presencia de esa función es necesaria para la reacción, como puede suponerse por la estructura de los productos obtenidos.

Además la fácil disponibilidad de ese grupo, cuando se parte de monosacáridos total o parcialmente acilados, favorece indudablemente la reacción.

Existe un cierto paralelismo entre esa disponibilidad del grupo aldehído y el rendimiento en aldosas diamidas. Esto fué encontrado en el caso de los derivados acetilados de la D-galactosa por Deferrari y Deulofeu (1952) y en el caso de algunos derivados benzoilados de la D-glucosa por Ondetti (1957). El mecanismo propuesto por Ishell y Frush, que indudablemente es cierto en sus líneas generales, explica la participación importante del grupo aldehído en la reacción.

INFLUENCIA DE LOS GRUPOS BENZOILOS DE LAS DIVERSAS BENZOIL-D-GLUCOSAS EN LA REACCIÓN DE AMONOLISIS

Al establecer con certeza que la reacción de formación de aldosas-diamidas a partir de derivados acilados de las mismas era intramolecular y que por lo tanto las moléculas de amida del producto final provenían de grupos acilos de la propia molécula y no del conjunto que se encontraba en solución producido por la verdadera amonólisis de las funciones éteres, se planteó el interesante problema de cual podría ser la participación de cada grupo acilo presente en la molécula original del monosacárido.

Para realizar este estudio se eligieron los derivados benzoilados de la D-glucosa por dos razones: primero porque de este monosacárido se conoce un número relativamente grande de derivados benzoilados, superior al de otros monosacáridos; segundo: porque la D-glucosa dibenzamida

producida en la amonólisis es un producto fácilmente aislable y purificable por cristalización. Además, existían experiencias anteriores de Brigl y col. (1931) y Ondotti (1957) que permitían conocer varias influencias como ser: número y posición de los benzoilos presentes; influencia del ciclo piranósico o furanósico; de la existencia y de la calidad del sustituyente en el carbono 1.

Los resultados conocidos se encuentran resumidos en la siguiente tabla:

Rendimientos en D-glucosa dibenzada por amonólisis de diversos derivados benzilados de la D-glucosa:

<u>Derivado</u>	<u>Rendimiento</u>	<u>Bibliografía</u>
α y β pentabenzoil-D-glucopiranososa	19 - 21	Doulofeu y Deferrari (1952)
α pentabenzoil-D-glucofuranosa	53	Doulofeu y Deferrari (com. per.)
pentabenzoil-al-D-glucosa	42	Brigl y col. (1931)
3,4,5,6-tetrabenzoil-al-D-glucosa	78	Brigl y col. (1931)
2,3,4,6-tetrabenzoil-D-glucopiranososa	29	Ondotti (1957)
2,3,5,6-tetrabenzoil-D-glucofuranosa	62	Ondotti (1957)
1-acetil-2,3,4,6-tetrabenzoil-D-glucopiranososa	32	idem
3,5,6-tribenzoil-D-glucofuranosa	16	Brigl y col. (1931)
1,2,3,6-tetrabenzoil-D-glucopiranososa	(x)	Ondotti (1957)
1,2,3-tribenzoil-D-glucopiranososa	---	idem
2,6-dibenzoil-D-glucopiranososa	---	idem

(x) Identificada por cromatografía en papel.

ESTUDIO DE LA CONTRIBUCION DE LOS GRUPOS BENZOILS EN EL CASO DE LA
PENTABENZOIL-D-GLUCOPIRANOSA

Para conocer la participación de cada uno de los grupos benzoilos presentes en la pentabenzoil-D-glucopiranosas, en la formación de D-glucosa dibenzamida, se prepararon pentabenzoil-D-glucosos con grupos benzoilos (carbonilo C^{14}) en distintas posiciones.

Efectuada la amonólisis en condiciones normalizadas se realiza la determinación de actividad de la D-glucosa dibenzamida obtenida y así se conoce la participación total de los grupos benzoilos marcados en la formación de los restos benzamida unidos a la D-glucosa.

Eligiendo convenientemente los benzoilos marcados, simples operaciones aritméticas permiten establecer la contribución individual de cada grupo benzoil.

Los resultados obtenidos con las pentabenzoil-D-glucosos fueron los siguientes:

- 1^a) El grupo benzoil unido al carbono 1 de la pentabenzoil-D-glucosa no participa en la formación de los restos benzamida de la D-glucosa dibenzamida, pues la amonólisis de la 1-benzoil (carbonilo C^{14})-2,3,4,6-tetrabenzoil-D-glucosa da una D-glucosa dibenzamida cuya actividad no se distingue de la del fondo.
- 2^a) El grupo benzoil unido al carbono 4 contribuye con un $41,1 \pm 0,6\%$ a la formación de los restos benzamida, como se comprobó por la amonólisis de la 4-benzoil (carbonilo C^{14})-1,2,3,6-tetrabenzoil-D-glucosa.
- 3^a) El benzoil unido al carbono 6 contribuye con un $15,4 \pm 0,3\%$ deducido de la amonólisis de una pentabenzoil-D-glucosa en la cual el único grupo benzoil marcado era el unido a ese carbono.
- 4^a) La contribución sumada de los grupos benzoilos en los carbonos 4 y 6 es por lo tanto del $56,5 \pm 0,7\%$ lo cual coincide con el valor experimental de $56,3 \pm 0,7\%$ obtenido por la amonólisis de la 4,6-dibenzoil (carbonilo C^{14})-1,2,3-tribenzoil-D-glucosa o sea la pentabenzoil-D-glucosa con benzoilos radiactivos colocados simultáneamente en los carbonos 4 y 6.

- 5*) La contribución del grupo benzilo unido al carbono 3 es del $57,8 \pm 1,5\%$ o sea muy similar a la obtenida del benzilo del carbono 4. Este valor ha sido determinado por diferencia entre la contribución total encontrada en la análisis de la 1,5,4-tribenzil-(carbonilo C^{14})-2,6-dibenzil-D-glucosa y la contribución del benzilo de posición 4 determinada en 2*. Según 1* el benzilo del carbono 1 no contribuye a la reacción.
- 6*) La contribución del grupo benzilo del carbono 2 es pequeña y se puede obtener por diferencia entre la participación conjunta de los grupos benzilos de posiciones 1,2 y 3, obtenida mediante la análisis de la 1,2,5-tribenzil-(carbonilo C^{14})-4,6-dibenzil-D-glucosa, y la contribución del benzilo de posición 3 calculada en 5*. El valor para el benzilo de posición 2 es $5,7 \pm 1,5\%$. Además la participación del benzilo del carbono 2 puede obtenerse sustrayendo del valor obtenido por análisis de la pentabenzil-(carbonilo C^{14})-D-glucopiranosas la suma de los resultados obtenidos en 4* y 5* y en esta forma se obtiene $5 \pm 1,9\%$. Otra manera de obtener el valor buscado es sumar los resultados de 2*, 3* y 5* y restarlos del valor obtenido al analizar la pentabenzil-D-glucopiranosas con todos los benzilos marcados; de esta manera se obtiene $4,7 \pm 1,9\%$.

ESTUDIO DE LA CONTRIBUCION DE LOS GRUPOS BENZILLOS EN EL CASO DE LAS TETRABENZIL-D-GLUCOSAS SIN EL GRUPO BENZILO DE POSICION 1.

Debido a la facilidad con que se puede eliminar el grupo benzilo unido al carbono 1 de la pentabenzil-D-glucopiranosas se pensó en obtener todas las tetrabenzil-D-glucosas correspondientes a las diversas pentabenzil-D-glucosas radiactivas y por análisis determinar la contribución de cada grupo benzilo a la formación de la D-glucosa dibenzamida. Se podría así conocer las modificaciones que resultan al estar libre el carbono hemiacetálico, o sea, al no tener que producirse el pri-

mer paso del mecanismo que era la eliminación del acilo que esterificaba dicha posición, el cual, no contribuyó a la formación de la D-glucosa dibenzamida.

Los resultados obtenidos señalan que aunque no existiendo una modificación apreciable se produce un pequeño aumento en la contribución de los grupos benzoylos correspondientes a los carbonos 2 y 3, compensado con la disminución que se nota en los valores obtenidos para las posiciones 4 y 6.

Los resultados obtenidos con las 2,3,4,6-totrabenzoyl-D-glucosas radiactivas son los siguientes:

- I) El grupo benzoylo ubicado en el carbono 6 contribuye con un 13.7 \pm 0,22%, valor obtenido al amonolizar la 6-benzoyl-(carbonilo C¹⁴)-2,3,4-tribenzoyl-D-glucosa.
 - II) Cuando se amonoliza la 4-benzoyl-(carbonilo C¹⁴)-2,3,6-tribenzoyl-D-glucosa se obtiene D-glucosadibenzamida con una actividad que corresponde a una transferencia del 40,6 \pm 0,7%.
 - III) Los valores de las contribuciones de los carbonos 4 y 6 cuando se suman dan 54,3 \pm 0,7% y dicho resultado está en concordancia con el que se obtiene al amonolizar la 4,6-dibenzoyl-(carbonilo C¹⁴)-2,3-dibenzoyl-D-glucosa que es de 53,6 \pm 0,8%.
 - IV) La contribución correspondiente al grupo benzoylo del carbono 3 se determina restando del valor obtenido al amonolizar la 3,4-dibenzoyl-(carbonilo C¹⁴)-2,6-dibenzoyl-D-glucosa el ya señalado en (II). Dicha diferencia es de 40,1 \pm 1,5%.
 - V) El valor de la contribución del grupo benzoylo de posición 2 se obtiene mediante la diferencia entre el resultado obtenido de amonolizar la 2,3-dibenzoyl-(carbonilo C¹⁴)-4,6-dibenzoyl-D-glucosa y el obtenido en IV.
Así, para el grupo benzoylo de posición 2 se obtiene 5,8 \pm 1,7%.
-

REACTIVIDAD SELECTIVA DE LOS HIDROXILOS DE MONOSACARIDOS

La marcada diferencia hallada entre las contribuciones de los grupos benzoilos ubicados en distintas posiciones, podría ser debida a la desigual reactividad de los hidroxilos de un monosacárido y por lo tanto, es conveniente resumir la selectividad para reaccionar que tienen los hidroxilos según la posición que ocupan en la molécula de un monosacárido y las condiciones en que se llevan a cabo las reacciones.

A pesar del orden clásico de reactividad establecido para los hidroxilos de monosacáridos, a saber: hemiacetálico, primario y secundario, la experiencia ha llegado a demostrar que no siempre se cumple esta clasificación y sobre todo que los hidroxilos secundarios no actúan todos en igual forma.

Refiriéndonos a las esterificaciones, principalmente metilaciones, diversos trabajos dejan constancia de la gran reactividad de los hidroxilos de las posiciones 2 y 6.

Lieser y Leckzyck (1934) obtuvieron la 2-metil-dietiltioacetal-D-glucosa y el derivado análogo de la dibenciltioacetal por reacción directa con yoduro de metilo y óxido de plata.

Papadakis (1930) por metilación directa del derivado sodado de la dietiltioacetal-D-glucosa obtuvo un monometil éter de la dietiltioacetal-D-glucosa que resultó tener el metilo en posición 2.

Percival y col. (1934, 1935, 1936 y 1938) tratando con sulfato de metilo diversos complejos de azúcares con álcali, encontraron que tanto el α como el β metil-D-glucopiranosido daban un derivado con otro metilo más, que mostraron se encontraba en posición 6.

Análogo es lo que sucede con la esterificación e hidrólisis. Se ha descrito que tanto el α como el β metil-D-glucopiranosido dan con cloruro de tosilo en piridina el 6-tosil derivado (Compton, 1938) y que en forma similar se prepara el metil-6-metil- α -D-glucopiranosido (Helferich, 1938)

También se produce selectiva tosilación y metilación con monosacáridos reductores, como se ejemplifica en la preparación de la

acetil)-D-glucopiranosido y obtuvieron un compuesto con un solo grupo trifluoroacetil que según las pruebas efectuadas se encuentra en posición 3.

Gladding y Furves (1944) trataron con álcali el metil-2-nitrato-3,4,6-triacetil-(β)-D-glucopiranosido y su isómero con el nitrato en posición 6 y encontraron que el primero se denitra más fácilmente.

Una debenzoilación selectiva ha sido obtenida por Restelli de Labriola y Deulofeu (1947) en la degradación de nitrilos aldónicos benzoilados pues, empleando etanol amoniacal 10,5%, el grupo benzoilo del carbono primario resistía la amonólisis.

Este resultado es diferente de los obtenidos por Gordon, Miller y Day (1948 y 1949) según los cuales los ésteres de alcoholes primarios se amonolizarían más fácilmente que los secundarios; así al amonolizar en dioxano-agua y en solventes anhidros, ésteres metílicos, etílicos, isopropílicos y terbutílicos de los ácidos acético y benzoico, hallaron que la velocidad de amonólisis es mayor para los alcoholes primarios que para los secundarios y mayor en éstos que en los terciarios.

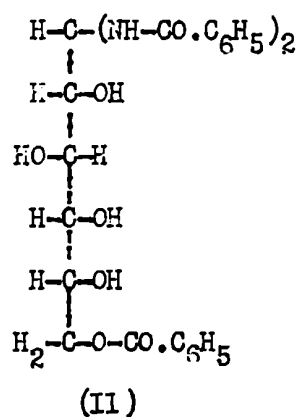
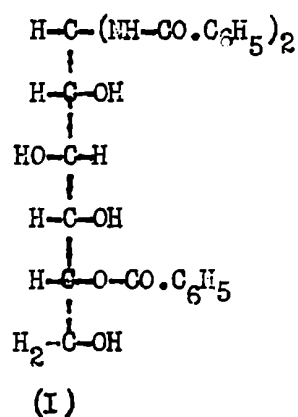
A pesar que Deferrari y Deulofeu (1951, 1952) en todos los casos que trataron derivados benzoilados de hexosas con metanol amoniacal, nunca obtuvieron productos con grupo benzoilo en posición 6, cuando se modifican las condiciones de la reacción, o sea, cambiando el alcohol y la concentración de amoníaco, surgen diferencias entre la reactividad de los distintos hidroxilos. En 1956 Recondo hizo un análisis de las condiciones de la reacción estudiando la influencia del solvente, de la concentración de amoníaco y del tiempo de reacción, y encontró que el solvente es el factor más importante, logrando experiencias bien demostrativas de la acción diferencial del metanol e isopropanol interpretadas de acuerdo al diferente grado de disociación que presentan dichos alcoholes. En el caso del metanol, la mayor disociación produciría mayor número de iones básicos que favorecerían la amonólisis.

En este trabajo, hemos hallado un caso de selectividad en la debenzoilación similar al ya notado por Restelli de Labriola y Deulofeu (1947), dado que al amonolizar la pentabenzoil-D-glucopiranososa en alcohol isopropílico amoniacal 7-8%, se obtuvo un compuesto que resultó ser una benzoil-

D-glucosa dibenzamida. La posición ocupada por el grupo benzilo era la del carbono primario, hecho éste demostrado mediante oxidación con periodato de sodio. Así, la ausencia de formaldehído en dicha oxidación, señala que el grupo benzilo está unido al carbono 5 o al carbono 6 de la molécula de la D-glucosa dibenzamida; existe el antecedente de que no se produce formaldehído en la oxidación de azúcares con grupos benzilos en el carbono primario (Zinner, Bock y Klöcking, 1959).

El valor obtenido del consumo de ácido periódico aclara esta situación ya que únicamente con el grupo benzilo ubicado en el carbono primario podrían consumirse los tres moles determinados experimentalmente, puesto que si la posición ocupada fuera la del carbono 5 (I) se consumirían dos moles.

Por lo tanto la sustancia en discusión resulta ser la 6-benzoil-D-glucosa dibenzamida (II).



Como conclusión podemos decir que todos los hechos experimentales descriptos, resaltan una marcada sensibilidad de los hidroxilos de las posiciones 2 y 6.

En muchos casos el hidroxilo primario es más reactivo que el grupo alcohólico secundario y estaría en concordancia con su condición de primario y de estar menos impedido estéricamente.

A su vez, la marcada actividad del hidroxilo de posición 2, comparada con la de los otros hidroxilos secundarios, ha sido explicada suponiendo que fuera el resultado de la mayor acidez de los grupos hidroxilos adyacentes a grupos carbonilos actuales o potenciales, que provocarían en aquellos una permanente polarización.

6-tosil-D-glucosa (Hardegger y Montawon, 1946) y de la 6-mesil-D-glucosa (Helferich y col., 1939).

Además, Hardegger y col. (1948) describen la preparación de la 1,3,4-triacetil-2,6-ditosil- α -D-glucosa mediante la reacción de dos moles de cloruro de tosilo con D-glucosa y posterior acetilación.

Existen varios casos de benzoilaciones selectivas; así Levene y Raymond (1932) obtuvieron el metil-2,3,6-tribenzoil-D-glucopiranosido por benzoilación del correspondiente 2,3-dibenzoato.

En 1932 Brigl y Gruner describieron la preparación de la 1,2,3,6-tetrazbenzoil-D-glucopiranosida por benzoilación de la 1,2,3-tribenzoil-D-glucopiranosida.

Además, existen las preparaciones de las 6-benzoil-D-glucosa dietiltioacetal a partir de la D-glucosa dietiltioacetal (Brigl y Gruner, 1932 b) y (Lieser y Schweizer, 1935); de la 6-benzoil-D-glucosa diben-ciltioacetal (Lieser y Schweizer, 1935); del fenil-6-benzoil- β -D-glucopiranosido (Lieser y Schweizer, 1935) y del o-cresil-6-benzoil- β -D-glucopiranosido (Richtmyer y Yeakel, 1934) a partir de los respectivos glucopiranosidos.

Ejemplos que involucran la esterificación de hidroxilos secundarios además de los primarios, se tienen en la benzoilación de los α y β metil-D-glucopiranosidos produciendo derivados 2,6-dibenzoil (Lieser y Schweizer, 1935) y en la benzoilación de la D-glucosa, en presencia de ácido bórico, donde se obtiene la 2,6-dibenzoil-D-glucosa (Brigl y Gruner, 1932 b).

Aunque la acetilación no ha tenido éxito en estudios de esterificación selectiva, la hidrólisis de acetatos sí ha proporcionado pruebas de la facilidad de ruptura, no solo del enlace hemiacetalico sino del éster de posición 2 también.

Se tienen ejemplos en el tratamiento del α y β -D-glucosa pentacetato con piperidina del cual se obtiene la N-(3,4,6-triacetil-D-glucopiranosil)-piperidina (Hodge y Rist, 1952).

A su vez, Bourne, Sta cey, Tatlow y Tatlow (1951) llevaron a cabo una metanolisis sobre la metil-4,6-benciliden-2,3-bis-(trifluoro-

En cuanto a diferencias entre las reactividades de los hidroxilos de las posiciones 2 y 6, quedan supeditadas a las condiciones en las cuales se realiza la reacción y a las variaciones estructurales que puede presentar la molécula.

De acuerdo a lo anterior se nota que aquellos hidroxilos que poseen mayor reactividad para esterificarse, son los portadores de los grupos benzilos que menos contribuyen a formar los restos benzamida de la D-glucosa dibenzamida y que en el caso del hidroxilo del carbono primario la gran reactividad que tienen para esterificarse está en concordancia con lo poco reactivo que es para amonolizarse.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

En el mecanismo propuesto por Isbell y Frush, la formación del grupo aldehído libre debería producirse, a partir de la penta-benzoil-D-glucosa, mediante la amonólisis del benzoilo del carbono 1 y la ruptura del ciclo, y estos pasos necesitarían producirse rápidamente para que sea mayor la posibilidad de que migren, hacia el carbono 1, los restantes grupos acilos. Se creía que a medida que se amonolizaba el grupo benzoilo del carbono hemiacetalico, se rompía el ciclo y se condensaba amoníaco sobre el grupo carbonilo formado. Los restantes grupos benzoilos se amonolizarían en forma tal, que cuando la molécula se encontrara en condiciones para que se produzcan las migraciones O—N, las cantidades de grupos benzoilos, unidos a la molécula todavía como ésteres, no serían las mismas en todas las posiciones dado en primer término la distribución espacial y luego la distinta reactividad de los hidroxilos de un monosacárido.

Aunque evidentemente algo de esto sucede, el hecho de que no se produzcan grandes variaciones en los porcentajes de transferencia de los grupos benzoilos, cuando se llevan a cabo las amonólisis de las pentabenzoil-D-glucosas y de las 2,3,4,6-tetrabenzoil-D-glucosas radiactivas, indica que la velocidad de amonólisis del grupo benzoilo unido al carbono hemiacetalico es mucho mayor que la de los restantes grupos benzoilos, de ahí que ambas moléculas reaccionen prácticamente en igual forma.

Por otra parte, en las determinaciones llevadas a cabo en esta tesis se encontró que tanto en la pentabenzoil-D-glucosa como en la 2,3,4,6-tetrabenzoil-D-glucosa los grupos benzoilos unidos a los carbonos 2 y 6 son los que menos contribuyen a la formación de la D-glucosa dibenzamida; siendo siempre un poco mayor la contribución del grupo benzoilo del carbono 6 que la correspondiente al grupo benzoilo de la posición 2.

El resultado experimental, ya señalado, de que los hidroxilos de posiciones 2 y 6 son los más fáciles de esterificar, unido al hecho de que el benzoilo del carbono primario resiste más la amonólisis que

los restantes, podrían ser tomados como base para hacer la suposición de que los hidroxilos de las posiciones 2 y 6 se comportan en forma análoga tanto en las esterificaciones como en las amonólisis, o sea, que lo que se sabe para la posición 6, que es una gran facilidad para esterificarse acompañada de una dificultad para amonolizarse, podría extenderse para el hidroxilo de posición 2.

Lo expresado en el párrafo anterior es una mera suposición, puesto que no existen pruebas experimentales, de haberse aislado, en hidrólisis o amonólisis, productos que conserven inalterados los grupos acilos que esterificaban los hidroxilos de los carbonos 2 y 6, ni tampoco casos en el cual el único acilo resistente fuera el presente en el carbono 2.

La hipótesis en cuestión conduciría a afirmar que aquellos grupos benzóilos que son más resistentes a amonolizarse son los que menos contribuyen a la formación de la D-glucosa dibenzamida, o sea, que las grandes contribuciones provenientes de los grupos benzóilos ubicados en las posiciones 3 y 4 son consecuencia de que dichos benzóilos se amonolizaban con gran facilidad.

Esta suposición es contraria a lo hasta ahora creído, pues siempre se consideró que existía una competencia entre la reacción de amonólisis propiamente dicha y la reacción de migración, en tal sentido que migraban los grupos que eran más resistentes a amonolizarse.

Además en el trabajo de Briegl y col. (1931) se nota que la presencia de un grupo no amonolizable ubicado en posición 2 reduce la migración de los grupos acilos; así, al amonolizar la 2-tioctil-3,4,5,6-tetrabenzóil-al-D-glucosa obtenían una monobenzamida que consideraban era la N-benzóil-(2-tioctil-D-glucopiranosil)-amina. Aunque este ejemplo no concuerde exactamente con los casos clásicos considerados, ya que tiene un azufre en lugar de un oxígeno, puede servir para notar el impedimento que tiene los grupos acilos para migrar, cuando en la molécula se halla bloqueada la posición 2.

Si además de estar ocupada por grupos no amonolizables la posi-

ción 2, lo está la 3, no se produce migración de acilos hacia el carbono 1. Esto se ejemplifica en el trabajo de Allerton y Overend (1952) quienes al amonolizar la 2,3-dimetil-4,5,6-triacetil-al-D-glucosa obtenían únicamente la 2,3-dimetil-D-glucosa.

Indudablemente a pesar de que la D-glucosa solo da una monoacetamida con ciclo furanósico, el hecho de estar ocupadas las posiciones 2 y 3 impiden la migración del acilo.

De acuerdo a estos resultados parece razonable suponer que la presencia de un grupo bloqueando la posición 2 molesta en parte al pasaje de los acilos hacia el carbono 1, ya sea por efecto estérico o por el hecho de ser el carbono 2 un eslabón de una cadena de migraciones, y que cuando se hallan ocupadas las posiciones 2 y 3 ya no se producen migraciones, quizás en esta eventualidad, por efecto estérico o porque la formación del ortoéster intermediario entre el carbono 1 y el carbono donde se encuentra el acilo que migra, significa formar un ciclo con tensión elevada.

Indudablemente para poder concordar con los resultados experimentales obtenidos por los autores antes citados y por nosotros, habría que suponer que los grupos acilos ubicados en las posiciones 2 y 6 se comportan de manera totalmente distinta, o sea, que mientras el benzilo ubicado en posición 6 resiste más la amonólisis y por lo tanto contribuye poco a formar la D-glucosa dibenzamida, el unido al carbono 2 se amonoliza mucho más rápidamente que los demás, excepto el ubicado en el carbono hemiacetalico, y de esta forma deja paso a los colocados en las restantes posiciones.

En apoyo de esta suposición se encuentran los trabajos, ya citados de Hodge y Rist (1952), Bourne, Stacey, Tatlow y Tatlow (1951) y de Gladding y Purves (1944), en los cuales se demuestra una reactividad selectiva, para la hidrólisis, del grupo acilo unido al carbono 2 frente a los restantes hidroxilos secundarios, y aún frente al primario.

En esta hipótesis, la baja contribución del propio benzilo ubicado en el carbono 2, debería ser explicada por el hecho de que al amonolizarse tan rápidamente poco es lo que puede contribuir a la for-

mación de los restos benzamida unidos al carbono 1 de la D-glucosa.

Cualquiera sea la explicación de los resultados por nosotros obtenidos existe una marcada relación entre estos y los alcanzados por Ondetti en 1957, pues encontró que tanto la 1,2,3-tribenzoil-D-glucosa como la 2,6-dibenzoil-D-glucosa no producían, al amonolizarse, la D-glucosa dibenzamida; estos hechos pueden ahora explicarse a la luz de nuestro conocimiento del papel importante que juegan los benzilos de las posiciones 3 y 4, principalmente este último, que es el que aparentemente más contribuye a la formación de la D-glucosa dibenzamida.

La gran influencia del grupo benzilo del carbono 4 se halla corroborada por otro hallazgo de Ondetti, de que la 1,2,3,6-tetrabenzoil-D-glucosa rinde tan poca cantidad del producto de amonólisis, que únicamente puede identificarse por cromatografía en papel.

Ahora bien, en el ejemplo de Brigl y col. antes citado están presentes grupos benzilos en los carbonos 3,4,5 y 6, y sin embargo el existir un grupo no amonolizable en posición 2, hace que solo uno de estos restos pase al carbono 1; este resultado no puede ser explicado por la falta de benzilos en la molécula original y conduce a pensar que la posición 2 juega un rol importante en el mecanismo de la reacción.

PARTE EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión no están corregidos. La solución de amoníaco en metanol, utilizada para las amonólisis, es del 16% en volumen.

MEDICION DE RADIOACTIVIDAD : Las mediciones de radiactividad se efectuaron con un tubo Geiger-Müller 1GG2, con ventana de mica de 1,8 mg/cm² de espesor y se hicieron sobre el carbonato de bario obtenido mediante la combustión húmeda de cada sustancia por el método de Van Slyke-Folch (1940, 1951, 1955), a espesor infinito. Para ello se utilizaron cápsulas cilíndricas de aluminio de 2,5 cm de diámetro por 0,5 cm de altura. Se coloca en la cápsula entre 150 y 180 mg del carbonato de bario, obtenido por la combustión, y se añaden unas gotas de metanol de manera de empastarlo; con ayuda de una varilla de vidrio y agitación manual de la cápsula se distribuye la pasta lo más uniformemente posible sobre el fondo y se seca empleando una lámpara infrarojo hasta pesada constante (Calvin, 1949). Esto da una distribución entre 30 y 36 mg de sustancia por cm² de superficie que está dentro de las cantidades aconsejadas para efectuar mediciones a espesor infinito. Esta forma de medir, evita efectuar la corrección por autoabsorción y la actividad observada en estas condiciones es proporcional a la actividad específica de la sustancia (Yankwich, 1947; Calvin, 1949; Aronoff, 1957). Luego se adhiera la cápsula a una placa de plástico que se adapta perfectamente en el montaje del tubo detector y en estas condiciones la eficiencia del contador es constante.

En todos los casos se midió entre 10.000 y 12.000 cuentas. Se hicieron las correcciones por coincidencia y de fondo (coincidence and background) y se calculó la desviación standard en cada caso.

METODO EMPLEADO PARA EL CALCULO DE ERRORES EN LAS MEDIDAS DE RADIOACTIVIDAD

El método usado para calcular los errores de las mediciones efectuadas, es el corrientemente utilizado en este tipo de trabajos, tal cual está descrito en Fairer y Parks (1958), Aronoff (1957), Calvin (1949) y Whitehouse y Putman (1953); y los principales tópicos pueden

resumirse así : el proceso de desintegración radiactiva es de carácter aleatorio o sea que el instante en el cual un átomo se desintegra es independiente de la desintegración de todos los otros átomos y no puede predecirse; pero por la aplicación de reglas estadísticas puede expresarse el número de desintegraciones que probablemente se produzcan en un dado intervalo de tiempo. Por lo tanto el único valor del cual puede hablarse es el promedio o el valor medio de las cuentas que se producen en un cierto intervalo de tiempo, normalmente un minuto, y expresar el error de dicho valor.

En la práctica una fuente es contada una sola vez y se adopta la convención general de tomar como desviación standard la raíz cuadrada del número de cuentas reunidas en un determinado intervalo de tiempo.

Así, si n cuentas son registradas, el error standard de la cuenta total será \sqrt{n} y por lo tanto la medición tendrá el valor $n \pm \sqrt{n}$; si dichas cuentas son reunidas en t minutos, la actividad por minuto será $\frac{n \pm \sqrt{n}}{t}$.

Normalmente n representa el número de cuentas leídas más las adicionadas por la corrección por tiempo muerto.

De acuerdo a lo anterior es necesario registrar un total de 10.000 cuentas, independientemente del tiempo requerido para hacerlo, para tener una desviación standard de 100 cuentas y por lo tanto un error del 1%.

Para efectuar la corrección por radiación de fondo es necesario sustraer del valor n anterior, una determinada cantidad f que son las cuentas reunidas, durante el mismo tiempo t , por el aparato de medición funcionando sin muestra y como este valor está afectado del error \sqrt{f} la diferencia a efectuar será $(n \pm \sqrt{n}) - (f \pm \sqrt{f})$, y aplicando la fórmula para restar valores afectados de error resulta : $N = n - f \pm \sqrt{n + f}$ y para expresar el resultado en cuentas por minuto basta dividir por el tiempo utilizado para medir, resultando:

$$R = \frac{n - f \pm \sqrt{n + f}}{t} \quad \text{c.p.m.}$$

Además, en el cálculo de la participación de cada grupo benzóilo o sea de hallar la cantidad de actividad transferida de la

pentabenzoil-D-glucosa a la D-glucosa dibenzamida se aplica la fórmula general para efectuar un cociente entre valores afectados de error.

METODO EMPLEADO PARA CALCULAR LOS PORCENTAJES DE GRUPOS BENZOÍLOS
TRANSFERIDOS

Conocida la actividad de la pentabenzoil-D-glucosa radiactiva en cuentas por minuto, obtenida mediante el producto de la actividad del carbonato de bario por el número de átomos de carbono del compuesto quemado, se calcula la actividad molar de la misma en cuentas por minuto por milimol.

Obtenida la D-glucosa dibenzamida mediante la amonólisis y obtenida su actividad en cuentas por minuto, se calcula también su actividad molar.

El porcentaje en que contribuyen la totalidad de los grupos benzoílos presentes en la molécula original como ésteres, a la formación de las dos moléculas de benzamida unidas al carbono 1 de la glucosa, se calcula así:

siendo A_p la actividad molar de la pentabenzoil-D-glucosa con n grupos radiactivos, será $\frac{A_p}{n}$ la actividad correspondiente a cada grupo benzoilo.

Análogamente siendo A_g la actividad molar de la D-glucosa dibenzamida, y considerando que como máximo pasan dos grupos benzoílos de la pentabenzoil-D-glucosa a la D-glucosa dibenzamida, será $\frac{A_g}{2}$ la actividad correspondiente a cada grupo benzoilo, suponiendo que el carbono C^{14} esté distribuido en forma equivalente en cada uno de ellos.

Si se considera el 100% de transferencia de actividad cuando

$\frac{A_p}{n} = \frac{A_g}{2}$, la actividad máxima posible, para los dos grupos benzoílos sumados, será $A_g \frac{100\%}{2} \frac{2 \cdot A_p}{A_g}$. Por lo tanto, recordando que A_g es la actividad molar de la D-glucosa dibenzamida, obtenida en cada operación individual, el porcentaje de actividad transferida será $\frac{A_g}{A_g} \cdot 100$ y

reemplazando queda $\frac{A_g \cdot 100}{\frac{2A_p}{n}}$ o sea $\frac{A_g \cdot n \cdot 100}{2 \cdot A_p}$.

PREPARACION DE CLORURO DE BENZOILO (CARBONILO C¹⁴)

El cloruro de benzoilo (carbonilo C¹⁴) se prepara refluendo durante dos horas una mezcla de ácido benzoico radiactivo, ácido benzoico normal y cloruro de tionilo (Calvin, 1949; Schmid y Banholzer, 1954).

El cloruro de tionilo sin reaccionar se elimina destilando a baja presión (baño a 30-40°) y se completa la eliminación añadiendo benceno y evaporándolo nuevamente. Se repite tres veces esta operación.

Los rendimientos oscilan entre 90 y 95%. La actividad del producto se determina hidrolizando, con agua, una pequeña porción a ácido benzoico y midiendo la actividad de éste, previa conversión a carbonato de bario. La actividad del cloruro de benzoilo (carbonilo C¹⁴) empleado, está indicada en cada operación individual.

PREPARACION DE BENZAMIDA (CARBONILO C¹⁴)

Se siguió la técnica descrita en Vogel (1956). 5 ml. de cloruro de benzoilo (carbonilo C¹⁴) de 6218 \pm 26 cuentas por minuto por milimol, preparados en la forma antes indicada, se añaden, gota a gota, sobre 25 ml. de hidróxido de amonio 25% refrigerados exteriormente a 0° y con continua agitación. Una vez finalizado el agregado de cloruro de benzoilo, se filtra la benzamida obtenida y se recrystaliza de agua obteniéndose 4,453 gr. (rond.: 85%) con p.f. 128-129° y actividad de 6206 \pm 27 cuentas por minuto por milimol.

DETERMINACION DE LA INTRAMOLECULARIDAD DE LA REACCION DE AMONOLISIS DE LA PENTABENZOIL-D-GLUCOPIRANOSA

5 gr. (7 milimoles) de pentabenzoil- β -D-glucopiranososa se trataron con 175 ml. de metanol amoniacal 16% que tenían disueltas cantidades crecientes de benzamida radiactiva. La D-glucosa dibenzamida obtenida fué recrystalizada cuatro veces de etanol y en todos los casos su actividad era prácticamente indistinguible de la actividad de fondo.

Los datos se consiguen en el siguiente cuadro:

Benzamida añadida		Actividad de la benzamida añadida(1)		Actividad de la D-glucosa dibenzamida obtenida(1)	
gr.	milimoles	c.p.m.	c.p.m./mM	c.p.m.	c.p.m./mM
0,0524	0,45	51,288 ± 224	6206 ± 27	0,2 ± 0,1	0,08 ± 0,04
0,8520	7	"	"	0,3 ± 0,1	0,12 ± 0,04
3,400	28	"	"	0,7 ± 0,4	0,28 ± 0,16

(1) las mediciones de radiactividad se llevaron a cabo a espesor infinito, sobre la propia sustancia.

ESTABILIDAD DE LAS GLUCOSAS PARCIALMENTE BENZOILADAS

La estabilidad de las glucosas parcialmente benzoiladas se comprobaba disolviendo, entre 100 y 150 mg. de producto, en 1 ml. de piridina y manteniendo la solución a 100° durante media hora.

Los resultados se consignan en el siguiente cuadro:

Compuesto	Productos iniciales		Productos de recuperación.	
	p.f.	$(\alpha)_D^{25}$	p.f.	$(\alpha)_D^{25}$
1) 2,3,4,6-tetra-benzoil-D-glucosa.	126-129°	44,2° (a)	126-128°	43,8° (a)
2) 1,2,3,6-tetra-benzoil-D-glucosa.	150-152°	26,6° (a)	151-152°	26,4° (a)
3) 1,2,3-tribenzoil-D-glucosa	110-112°	35,9° (a)	110-111°	35,0° (a)
4) 2,6-dibenzoil-D-glucosa	180-181°	56,8° (b)	179-180°	55,6° (b)

- (a) cloroformo
(b) etanol 96%

La recuperación se efectuó en el caso de los compuestos (1), (2) y (3) volcando la solución piridínica en agua con hielo y recristalizando una sola vez, el precipitado resultante.

En el caso de la sustancia (4) fué recuperada evaporando la piridina en un desecador a temperatura ambiente y recristalizando, una sola vez el producto obtenido.

En la preparación de las pentabenzoil-D-glucosas se encontraron, al determinar sus constantes, las dificultades ya descritas en la literatura, tanto más que en nuestro caso, debido a las etapas preparativas que era necesario seguir, no podía esperarse la obtención de anómeros puros en algunas de las preparaciones.

Los dos anómeros de la pentabenzoil-D-glucosa fueron preparados por vez primera por Fischer y Freudenberg (Ber. 45, 2725 (1912) quienes benzoylaron α y β -D-glucosa en medio quinolínico; para la pentabenzoil- α -D-glucosa obtuvieron, luego de varias recristalizaciones de alcohol, un p.f. 157° con ablandamiento desde 145° y con escurrimiento volviéndose límpido y formando menisco recién a 177°. (α)_D +107,6 en cloroformo.

La β -pentabenzoil-D-glucosa ablandaba desde 155°, fundía a 187° y tenía (β)_D +23,7° en cloroformo.

Posteriormente Levene y Meyer (S.Biol. Chem., 76, 513 (1928) repitieron esta preparación y obtuvieron una pentabenzoil- α -D-glucosa evidentemente más pura que en el caso anterior; dan p.f. 137° (neto) y (α)_D +138,5°. Estos valores fueron confirmados por Maurer y Böhm (Ber. 69, 1399 (1936) quienes indican p.f. 167° y (α)_D +139,2°. El anómero β de Levene y Meyer era muy similar al de Fischer y Freudenberg salvo que su p.f. 157° era neto. Pero señalaron que el tipo cristalino y el punto de fusión de la forma β variaban según el solvente de cristalización y que era necesario recristalizarla muchas veces para lograr el punto de fusión mencionado. Aún así en ciertos preparados fundía a 156-157° mientras que en otros lo hacía a 180° con ablandamiento desde 170°. En ambos casos el poder rotatorio específico era (α)_D +24° en cloroformo.

Las dos pentabenzoil-D-glucosas fueron preparadas posteriormente, en forma muy cuidadosa, por Ness, Fletcher y Hudson (J. Am. Chem. Soc., 72, 2202 (1950) quienes obtuvieron, para la forma α , un punto de fusión final de 190° y un (α)_D +136,8° en cloroformo.

La forma β resultó más difícil de obtener con punto de fusión neto, fué necesario llevar a cabo varias recristalizaciones llegándose finalmente a un producto con p.f. 185-192° con ablandamiento a 160° y con (β)_D +24,2°, que secado a 150° por la noche daba p.f. 189-192° sin ablandamiento previo y sin modificar su poder rotatorio.

Nuestras pentabenzoil-D-glucosas radiactivas se recristalizaron una vez de ácido acético y luego varias veces de acetona-agua y presentaban, con una excepción, ablandamiento alrededor de 150° y la fusión se producía en unos dos grados, dentro del rango de temperaturas de 155-159°. En algunos casos la sustancia quedaba opaca y se hacía transparente entre 164-177°. El poder rotatorio de las mismas oscilaba entre +24,2 y +29,0° en cloroformo, indicando que estaban constituidas casi exclusivamente por el anómero β .

La excepción que se encontró fue la 1,3,4-tribenzoil-(carbonilo C¹⁴)-2,6-dibenzoil-D-glucosa cuyo p.f. 175-177° con ablandamiento a 169° y su $(\alpha)_D^{25} +107,5^\circ$, indicaban una mezcla de anómeros con predominio de la forma α .

Como ya se indicó, el rendimiento en D-glucosa dibenzoilada es prácticamente el mismo tanto partiendo de la pentabenzoil- α -D-glucosa como de la forma β y por lo tanto para nuestro propósito los preparados antes descriptos, mezclas de anómeros α y β , eran suficientemente puros y no parecen introducir error en la experiencia. Por consiguiente los criterios de pureza adoptados fueron: la constancia en el poder rotatorio y en la radioactividad del producto luego de recristalizaciones sucesivas, y que este último valor correspondiera estequiométricamente a la ganancia de los grupos benzoilos incorporados en la molécula de acuerdo a la radioactividad del cloruro de benzoil (carbonilo C¹⁴) utilizando para benzoilar.

PREPARACION DE LA 1,2,5,4,6-PENTABENZOIL-(CARBONILO C¹⁴)-D-GLUCOSA

Se siguió el método de Ness, Fletcher y Hudson (1950). 3 gr. de D-glucosa anhidra disueltos en 36 ml. de piridina seca, se benzoilan añadiendo de una sola vez 12 ml. de cloruro de benzoil radioactivo de 1021 \pm 11 c.p.m./mM. Se calienta una hora a 60°, se deja enfriar, se agrega 1 ml. de agua y a los diez minutos 10 ml. más. Se vuelca entonces en agua helada y por agitación se obtienen un producto fácilmente friable. Se filtra y se seca bien en desecador. Luego se macera con metanol durante diez horas y vuelve a filtrarse lavando con metanol. Una vez seca, pesa 10,2 gr. Se recristaliza de aproximadamente 100 ml. de ácido acético y luego dos veces de acetona-agua obteniéndose 6,0 gr. de pentabenzoil-(carbonilo C¹⁴)-D-glucosa con p.f. 156-157°, con ablandamiento a 152°, y $(\alpha)_D^{25} + 24,2^\circ$ en cloroformo (c:1,764) y con actividad de 5104 \pm 48 c.p.m./mM.

Estos valores no se alteran luego de una nueva recristalización de acetona-agua.

PREPARACION DE LA 1-BENZOIL-(CARBONILO C¹⁴)-2,3,4,6-TETRA-BENZOIL-D-GLUCOSA

10 gr. de 2,3,4,6-tetrabenzoil- β -glucosa de p.f. 126-129° y $(\alpha)_D^{25} + 44,2^\circ$ en cloroformo, preparados según Noss, Fletcher y Hudson (1940) disueltos en 100 ml. de piridina seca, se benzoilan añadiendo de una vez 11 ml. de cloruro de benzoilo radiactivo de 1164 \pm 11 c.p.m. por milimol. Se calienta una hora a 60°, se deja enfriar, se agregan 4 ml. de agua, se espera diez minutos y se añaden otros 40 ml. Se vuelca en agua.

Con agitación se hace friable rápidamente. Se filtra y se seca bien en desecador. Se macera durante ocho horas con metanol. Se filtra y se lava con metanol, obteniéndose 11,3 gr. de sustancia de p.f. 140-153°.

Recristalizando de aproximadamente 100 ml. de ácido acético y luego dos veces de acetona-agua, se obtienen agujas de p.f. 156-158° con ablandamiento a 150°, con $(\alpha)_D^{25} + 29,0^\circ$ en cloroformo (c: 0,819) y con actividad de 1174 \pm 16 c.p.m./mM. Se recristaliza nuevamente de acetona-agua y se obtienen 8,7 gr. de sustancia de p.f. 156-158° con ablandamiento a 151°, $(\alpha)_D^{25} + 27,5^\circ$ en cloroformo (c: 1,105) y con actividad de 1175 \pm 16 c.p.m./mM.

PREPARACION DE LA 4-BENZOIL-(CARBONILO C¹⁴)-1,2,3,6-TETRA-BENZOIL-D-GLUCOSA

6,8 gr. de 1,2,3,6-tetrabenzoil-D-glucosa de p.f. 150-152° y $(\alpha)_D^{25} + 26,6^\circ$ (Brigl y Grüner, 1932) se disuelven fácilmente en 70 ml. de piridina anhidra y se benzoilan añadiendo de una sola vez 6 ml. de cloruro de benzoilo radiactivo de 1091 \pm 15 c.p.m./mM. Se deja un día a temperatura ambiente, se agregan 2 ml. de agua y a los diez minutos 20 ml. más. Se vuelca en agua helada, donde con agitación se hace rápidamente friable. Se filtra y se seca. El producto seco se macera con metanol durante ocho horas, se filtra, se seca. Pesa 11,0 gr. y tiene p.f. 145-155°.

Recristalizando de 90 ml. de ácido acético y luego cuatro veces de acetona-agua se obtiene una sustancia con actividad de 1118 \pm 16 c.p.m. por milimol, y que recristaliza nuevamente de acetona-agua da 5,84 gr. de un producto de p.f. 155-157° con ablandamiento a 149°, con $(\alpha)_D^{25} + 26,2^\circ$ en

cloroformo (c: 1,361) y con actividad de 1110 ± 16 c.p.m./mM.

PREPARACION DE LA 6-BENZOIL-(CARBONILO C¹⁴)-1,2,3-TRIBENZOIL-D-GLUCOSA

Se empleó el método descrito por Briegl y Grüner (1932). 15,6 gr. de 1,2,3-tribenzoil-D-glucosa de p.f. 110-112° y $(\alpha)_D^{25} + 35,9^\circ$, se disuelven en 36 ml. de piridina anhidra y se benzoilan a 0°, gota a gota, con 4 ml. de cloruro de benzoilo radiactivo de 1222 ± 11 c.p.m./mM. La mezcla reaccionante se agita durante dos días, ocho horas diarias y se vierte en agua donde por agitación se hace rápidamente friable. Se filtra y se seca. Pesa 17,3 gr. Se disuelve el producto en aproximadamente 200 ml. de benceno, se filtra un pequeño insoluble y se lava la solución con ácido clorhídrico 2 N, luego con una solución saturada de bicarbonato de sodio y con agua, y se seca sobre sulfato de sodio. Se filtra y evapora a baja presión, hasta que quede un aceite que cristaliza por enfriamiento. Se recrystaliza dos veces de etanol, añadiendo una pequeña cantidad de éter de petróleo (40-60°) para aumentar el rendimiento, y se obtiene un producto con p.f. 150-152° y $(\alpha)_D^{25} + 25,6^\circ$ en cloroformo (c: 1,325) y con actividad de 1209 ± 13 c.p.m./mM. Estos valores no se modifican luego de una nueva recrystalización.

Se obtienen 8,78 gr. Briegl y Grüner dan para la 1,2,3-tetotrabenzoil-D-glucosa un p.f. 153-154° y $(\alpha)_D^{25} + 27,0^\circ$.

PREPARACION DE LA 6-BENZOIL-(CARBONILO C¹⁴)-1,2,3,4-TETRABENZOIL-D-GLUCOSA

Los 8,78 gr. de la 6-benzoil-(carbonilo C¹⁴)-1,2,3-tribenzoil-D-glucosa preparados anteriormente, se disuelven en 88 ml. de piridina anhidra y se benzoilan añadiendo de una vez 7,5 ml. de cloruro de benzoilo no radiactivo. Se deja la mezcla un día a temperatura ambiente, se añaden 2 ml. de agua, a los diez minutos 20 ml. más y se vierte en agua helada agitando.

Cuando el producto se hace friable, se filtra, seca y se macera con metanol durante diez horas; se filtra, seca y se obtienen 9,88 gr. de un sólido que se cristalizó de aproximadamente 90 ml. de ácido acético y dos veces de acetona-agua, obteniéndose la 6-benzoil-(carbonilo C¹⁴)-1,2,3,4-totrabenzoil-D-glucosa con p.f. 156-157° (opaco), con ablandamiento previo a 153°. Se vuelve límpido a 170°; con un $(\alpha)_D^{25} + 23,5^\circ$ en cloroformo (c:1,452) y con actividad

de 1191 ± 16 c.p.m./mM. Una nueva recristalización de acetona-agua no modifica estos valores. El producto pesa 8,53 gr.

PREPARACION DE LA 4,6-DIBENZOIL-(CARBONILO C¹⁴)-1,2,3-TRIBENZOIL-D-GLUCOSA

10 gr. de la 1,2,3-tribenzoil-D-glucosa de p.f. 110-112° y $(\lambda)_{\text{D}}^{25} + 35,92$, preparada según Brigl y Grüner (1932), se disuelven en 80 ml. de piridina anhidra y se benzoilan añadiendo de una vez 16,5 ml de cloruro de benzoilo radiactivo de 997 ± 10 c.p.m./mM. Se deja un día a temperatura ambiente, se agregan 3 ml. de agua y a los diez minutos 30 ml. más. Se vuelca luego en agua helada donde con agitación se hace friable rápidamente. Se filtra y se seca. Macerado durante doce horas con metanol rinde 14,45 gr. de una sustancia que funde 145-186° y que recristalizada da aproximadamente 140 ml. de ácido acético y luego dos veces de acetona-agua da un producto de p.f. 157-163° con $(\lambda)_{\text{D}}^{25} + 29,1$ en cloroformo (c: 1,298) y con actividad de 1980 ± 16 c.p.m./mM.

Luego de una nueva recristalización de acetona-agua se obtienen 11,50 gr. de un producto con p.f. 158-159° (opaco) que tiene ablandamiento previo a 155° y que escurre transparente a 169°; tiene $(\lambda)_{\text{D}}^{25} + 28,72$ en cloroformo (c: 1,819) y con actividad de 1985 ± 16 c.p.m./mM.

PREPARACION DE LA 1,3,4-TRIBENZOIL-(CARBONILO C¹⁴)-2,6-DIBENZOIL-D-GLUCOSA

4,44 gr. de la 2,6-dibenzoil-D-glucosa de p.f. 180-181° y $(\lambda)_{\text{D}}^{25} + 56,82$, preparados según Brigl y Grüner (1932 b) se disuelven en 22 ml. de piridina y se benzoilan por el añadido de una vez de 7 ml. de cloruro de benzoilo radiactivo de 680 ± 8 c.p.m./mM dejando la mezcla una hora a 60° y luego un día a temperatura ambiente. Se agregan 2 ml. de agua, a los diez minutos 20 ml. más y se vuelca en agua helada donde por agitación se hace friable. Se filtra, seca y se trata con metanol durante diez horas obteniéndose 7,23 gr. de un producto que recristalizado de aproximadamente 70 ml. de ácido acético y luego dos veces de acetona-agua tiene un p.f. 140-146° con $(\lambda)_{\text{D}}^{25} + 54,92$ en cloroformo (c: 2,091) y actividad de 2070 ± 24 c.p.m./mM. Luego de cuatro recristalizaciones más de acetona-agua se obtiene un producto de p.f. 175°-177° con ablandamiento desde 169°, $(\lambda)_{\text{D}}^{25} + 107,52$ en cloroformo y una activi-

dad de 2074 \pm 24 c.p.m./mL.

PREPARACION DE LA 1,2,3-TRIBENZOIL-(CARBONILO C¹⁴)-D-GLUCOSA

10 gr. de 4,6-benziliden-D-glucosa, preparada según Zervas (1931), disueltos en 30,5 ml. de piridina, se benzoilan, gota a gota, manteniendo la solución a 0°, con 20 ml. de cloruro de benzilo radiactivo de 710 \pm 7 c.p.m./mL y se dejan cuarenta horas a temperatura ambiente. Se vuelca en agua donde se hace friable rápidamente. Se filtra, seca y recrystaliza dos veces de etanol obteniéndose un producto con p.f. 190-191° y actividad de 2170 \pm 20 c.p.m./mL. Se recrystaliza luego de acetona-agua y se obtienen 12,4 gr. de la 1,2,3-tribenzoil-(carbonilo C¹⁴)-4,6-benziliden-D-glucosa con p.f. 190-191° y actividad de 2177 \pm 20 c.p.m./mL.

Los 12,4 gr. del producto anterior se disuelven, siguiendo el método de Briegleb y Gruner (1932), en 155 ml. de acetona y se hidrolizan con 8 ml. de ácido clorhídrico 2N durante tres horas a 50-55°. Se deja enfriar y se neutraliza con carbonato de bario. Se filtra y se evapora a baja presión, sobre carbonato de bario, hasta aproximadamente 30 ml. de solución; se agregan 1,5 litros de agua y se extrae con cloroformo, el cual se seca sobre sulfato de sodio anhidro.

La solución clorofórmica se filtra y concentra a baja presión hasta dejar un aceite espeso que cristaliza por enfriamiento. El producto se recrystaliza dos veces de benceno y se obtienen 7,52 gr. de sustancia de p.f. 109-110° con $(\alpha)_D^{25} + 34,4^\circ$ en cloroformo (c: 2,135) y con actividad de 2150 \pm 21 c.p.m./mL. Dicha actividad no se modifica luego de una nueva recrystalización de benceno.

La sustancia no da depresión en su punto de fusión mezclada con una muestra no radiactiva de 1,2,3-tribenzoil-D-glucosa de p.f. 110-112° y $(\alpha)_D^{25} + 35,9^\circ$.

PREPARACION DE LA 1,2,3-TRIBENZOIL-(CARBONILO C¹⁴)-4,6-DIBENZOIL-D-GLUCOSA

6,25 gr. de la 1,2,3-tribenzoil-(carbonilo C¹⁴)-D-glucosa se disuelven en 48 ml. de piridina y se benzoilan de una vez, con 10 ml. de cloruro de benzilo no radiactivo. Se deja un día a temperatura ambiente y se añaden 3 ml.

de agua, a los diez minutos 30 ml. más y se vierte en agua helada donde con agitación se hace friable.

Se filtra, seca y se deja con metanol durante diez horas. Se filtra, seca y pesa 8,0 gr.

Recristalizando de aproximadamente 75 ml. de ácido acético y luego dos veces de acetona-agua se obtiene un producto con p.f. 154-170° y actividad de 2165 \pm 23 c.p.m./mM. Luego de una nueva recristalización de acetona-agua se obtienen 5,44 gr. de una sustancia que funde a 155-157° aclarando a 168°; (α)_D²⁵ + 24,0° on cloroformo (c: 1,09). Actividad 2171 \pm 24 c.p.m./mM.

Dificultades similares a las notadas para las pentabenzoil-D-glucosas en cuanto a la concordancia de las propiedades físicas, se presentaron con las tetrabenzoil-D-glucosas que tienen libre el hidroxilo hemiacetalico. La 2,3,4,6-tetrabenzoil-D-glucosa fué preparada por vez primera por Fischer y Noth (Ber. 51, 332 (1918)), hidrolizando la 1-bromo-2,3,4,6-tetrabenzoil-D-glucosa y cristalizando el producto de ligroina (90-120°); obtuvieron p.f. 119-120° y $([\alpha]_D + 70,6^\circ)$ en etanol. Noss y Fletcher (J. Am. Chem. Soc. 74, 5344 (1952)) obtuvieron la misma sustancia por hidrólisis de la octabenzoil sacarosa con ácido bromhídrico en ácido acético, pero efectuaron las recristalizaciones de Skelloysolve E (ligroina con p.e. 100-140°) no calentando por encima de 70-80°. En estas circunstancias la sustancia tuvo p.f. 123-126° con $([\alpha]_D + 76,1^\circ)$ en cloroformo. Estos mismos autores observaron que si una preparación efectuada según Fischer y Noth se recristaliza de benceno-pentano (1:1) se obtienen productos de menor solubilidad en etanol 95% y que poseen p.f. 103-110° y $([\alpha]_D + 40,2^\circ)$ en cloroformo. Recristalizando dicho producto de Skelloysolve E se obtuvo p.f. 125-129° con $([\alpha]_D + 75,8^\circ)$ en cloroformo y $+ 76,5^\circ$ en etanol.

Estas diferencias en las constantes físicas de la tetrabenzoil-D-glucosa en cuestión, según el método de obtención, ha sido señalada por otros autores; así Ellis y Honeyman (J. Chem. Soc. 2056 (1952)) obtuvieron por hidrólisis de la N-p-tolil-glucosilamina tetrabenzato un producto que recristalizado de etanol-éter de petróleo tenía p.f. 114-116° y $([\alpha]_D + 90,1^\circ)$ en cloroformo y $+ 73,4^\circ$ en etanol; por otra parte Douglas y Honeyman (J. Chem. Soc. 3680 (1955)) hidrolizando la N-p-nitrofonil-D-glucosilamina tetrabenzato lograron obtener una sustancia que recristalizada de éter de petróleo (100-120°) mostró p.f. 117-120° con $([\alpha]_D + 72,4)$ en cloroformo.

En nuestras manos una preparación de tetrabenzoil-D-glucosa realizada según Fischer y Noth, pero recristalizada dos veces de benceno-éter de petróleo (40-60°) dió p.f. 126-129° y $([\alpha]_D^{25} + 44,2^\circ)$ en cloroformo y $+ 50,3^\circ$ en etanol. Este producto fué empleado como testigo en la determinación de los puntos de fusión mezcla con las tetrabenzoil-D-glucosas radiactivas que se describen posteriormente.

Para confirmar la variación que se produce en las constantes físicas de este compuesto cuando se cambia el solvente de recristalización, se hacen

cinco recristalizaciones, del producto anterior, en solvente Shell N° 6 (fracción de petróleo de p.e. 100-130°) y se obtiene un p.f. 117-120° con $(\alpha)_D^{25} + 72,5^\circ$ en cloroformo y $+ 70,9^\circ$ en etanol; como puede apreciarse, estas constantes tienen valores bastantes cercanos a las de la preparación original de Fischer y Noth y a la de Ness y Fletcher y son prácticamente idénticas a las de Douglas y Honeyman.

Por lo tanto, y como ya ha sido hecho notar, es difícil obtener a esta sustancia con constantes bien definidas, aunque en nuestro trabajo, el hecho de recristalizar todos los preparados en igual forma conduce a valores que varían en rangos no muy grandes. Así todas nuestras tetrabenzoil-D-glucosas radiactivas fueron recristalizadas de benceno-éter de petróleo (40-60°) y tenían puntos de fusión, en un máximo de tres grados, entre 125 y 131°; sus poderes rotatorios, en cloroformo, estaban entre $+ 42,8$ y $+ 48,3^\circ$. Puede observarse que dichos valores son vecinos al obtenido por Ness y Fletcher cuando recristalizaron su producto de benceno-pentano ya que el mismo tenía $(\alpha)_D + 40,2^\circ$ en cloroformo.

Como en el caso de las pentabenzoil-D-glucosas, en estas preparaciones se adoptaron principalmente como criterios de pureza la constancia del poder rotatorio y de la radiactividad luego de dos recristalizaciones sucesivas.

Como materia prima para la preparación de las tetrabenzoil-D-glucosas radiactivas descritas a continuación, se utilizaron las pentabenzoil-D-glucosas radiactivas antes detalladas. Ninguna de ellas dió depresión en su punto de fusión mezcladas con la tetrabenzoil-D-glucosa antes descrita de p.f. 126-129° y $(\alpha)_D + 44,2$ en cloroformo.

PREPARACIÓN DE LA 2,3,4,6-TETRABENZOIL-D-GLUCOSA A PARTIR DE LA 1-BENZOIL-(CARBONILO C¹⁴)-2,3,4,6-TETRABENZOIL-D-GLUCOSA

Para la obtención de la 1-bromo-2,3,4,6-tetrabenzoil-D-glucosa, se aplica el método de Ness, Fletcher y Hudson (1950).

1,4 gr. de la 1-benzoil-(carbonilo C¹⁴)-2,3,4,6-tetrabenzoil-D-glucosa de 1175 \pm 16 c.p.m./m² se suspenden en 2,4 ml. de dicloroetileno y se agregan 2 ml. de ácido bromhídrico en ácido acético 30-32%. Se deja aproximadamente tres horas a temperatura ambiente y se agregan 3 ml. de tolueno, evaporando a sequedad a baja presión (baño 40-45°); se repite este tratamiento cuatro

veces y luego tres veces más con 5 ml. de éter por vez. Una vez seco, se disuelve en éter etílico y cristaliza por agregados de éter de petróleo (40-60°) obteniéndose 0,820 gr. de un producto que funde 125-127°. Según los autores antes mencionados la 1-bromo-2,3,4,6-tetrabenzoil-D-glucosa tiene p.f. 129-130°.

El derivado bromado anterior, sin purificar, se hidroliza según Fischer y Noth (1918). Se disuelve en 2,5 ml. de acetona, se agregan 0,05 ml. de agua y 0,6 gr. de carbonato de plata recién preparado y se agita vigorosamente durante setenticinco minutos. Se filtra por carbón y se lleva a sequedad a presión reducida. El residuo que se obtiene, se disuelve en benceno y se cristaliza por añadido de éter de petróleo (40-60°) obteniéndose 0,265 gr. de un producto con p.f. 128-130° y actividad de $2,5 \pm 0,5$ c.p.m./mM.

Se recristaliza dos veces más de benceno-éter de petróleo y se obtiene una sustancia con p.f. 128-129° y $(\alpha)_D^{25} + 47,4^\circ$ en cloroformo.

Su actividad era indistinguible de la de fondo.

PREPARACION DE LA 6-BENZOIL-(CARBONILO C¹⁴)-2,3,4-TRIBENZOIL-D-GLUCOSA

Con 3,420 gr. de la 6-benzoil-(carbonilo C¹⁴)-1,2,3,4-tetrabenzoil-D-glucosa de 1191 ± 15 c.p.m./mM se obtienen 2,915 gr. de la 6-benzoil-(carbonilo C¹⁴)-1-bromo-2,3,4-tribenzoil-D-glucosa de p.f. 128-130° mediante el método conocido. Por hidrólisis de dicho compuesto se obtienen 2,100 gr. de producto de p.f. 124-126°, $(\alpha)_D^{25} + 45,4^\circ$ en cloroformo (c: 0,877) y con actividad constante de 1162 ± 13 c.p.m./mM.

PREPARACION DE LA 4-BENZOIL-(CARBONILO C¹⁴)-2,3,6-TRIBENZOIL-D-GLUCOSA

A partir de 3,06 gr. de la 4-benzoil-(carbonilo C¹⁴)-1,2,3,6-tetrabenzoil-D-glucosa de 1110 ± 16 c.p.m./mM, siguiendo la técnica común a estas preparaciones, se obtienen 2,220 gr. de la 4-benzoil-(carbonilo C¹⁴)-1-bromo-2,3,6-tribenzoil-D-glucosa con p.f. 128-129°.

Hidrolizando el derivado bromado se obtienen 1,170 gr. de la tetrabenzoil-D-glucosa radiactiva con p.f. 125-127°, $(\alpha)_D^{25} + 42,8^\circ$ en cloroformo (c: 0,758) y con actividad constante de 1122 ± 13 c.p.m./mM.

PREPARACION DE LA 4,6-DIBENZOIL-(CARBONILO C¹⁴)-2,3-DIBENZOIL-D-GLUCOSA

A 4,580 gr. de 4,6-dibenzoil-(carbonilo C¹⁴)-1,2,3-tribenzoil-D-glucosa de

1985 \pm 17 c.p.m./mM se aplica el tratamiento ya indicado obteniéndose 3,99 gr. de la 4,6-dibenzoil-(carbonilo C¹⁴)-1-bromo-2,5-dibenzoil-D-glucosa con p.f. 128-129^o.

Por hidrólisis del compuesto anterior se obtienen 2,590 gr. de un producto con p.f. 129-131^o, con $(\alpha)_D^{25} + 44,5^{\circ}$ en cloroformo (c: 0,876) y con actividad constante de 1995 \pm 20 c.p.m./mM.

PREPARACION DE LA 3,4-DIBENZOIL-(CARBONILO C¹⁴)-2,6-DIBENZOIL-D-GLUCOSA

Con 3,690 gr. de la 1,3,4-tribenzoil-(carbonilo C¹⁴)-2,6-dibenzoil-D-glucosa de 2074 \pm 25 c.p.m./mM, se obtienen 2,980 gr. de la 3,4-dibenzoil-(carbonilo C¹⁴)-1-bromo-2,6-dibenzoil-D-glucosa con p.f. 129-130^o.

Por medio de la hidrólisis habitual, se obtienen 1,670 gr. de un producto con p.f. 120-121^o, $(\alpha)_D^{25} + 43,8^{\circ}$ en cloroformo (c: 0,926) y actividad constante de 1384 \pm 20 c.p.m./mM.

PREPARACION DE LA 2,3-DIBENZOIL-(CARBONILO C¹⁴)-4,6-DIBENZOIL-D-GLUCOSA

Utilizando 8,00 gr. de la 1,2,3-tribenzoil-(carbonilo C¹⁴)-4,6-dibenzoil-D-glucosa de 2171 \pm 24 c.p.m./mM se preparan, en idéntica forma que en los casos anteriores, 6,850 gr. de la 2,3-dibenzoil-(carbonilo C¹⁴)-1-bromo-4,6-dibenzoil-D-glucosa que tiene p.f. 128-129^o.

Por hidrólisis del derivado bromado anterior, se obtienen 4,650 gr. de producto de p.f. 127-129^o, $(\alpha)_D^{25} + 48,3^{\circ}$ en cloroformo (c: 2,205) y actividad constante de 1444 \pm 20 c.p.m./mM.

AMONOLISIS DE LAS PENTABENZOIL-D-GLUCOSAS RADIATIVAS

Todas las reacciones se llevaron a cabo suspendiendo 5 gr del producto a amonolizar en 175 ml de metanol amoniacal de 16% y agitando mecánicamente hasta total disolución lo que se obtiene en aproximadamente dos y media horas. Se abandona luego la solución, a temperatura ambiente, durante unas catorce horas; se filtra y se evapora a baja presión (baño a 50-55°) completando el secado con aproximadamente dos horas en desecador. El residuo se disuelve en etanol caliente y por enfriamiento precipita la D-glucosa dibenzamida, la que se recristaliza hasta que por recristalizaciones sucesivas se obtenga con igual actividad.

Debido al bajo valor del poder rotatorio, se usa como criterio de pureza, el punto de fusión, el punto de fusión mezcla y el Rf. obtenido cromatografiando en papel Schleicher y Schuell 2043-b desarrollando con la fase superior del sistema isobutanol-éter de petróleo (40-60°) agua, (3:1:1).

Las actividades molares de las D-glucosas dibenzamidadas obtenidas se dan en el siguiente cuadro:

Posición de los grupos benzoylos radiactivos en la pentabenzoyl-D-glucosa	Actividad molar de la D-glucosa dibenzamida correspondiente c.p.m./mM
C ₁ , C ₂ , C ₃ , C ₄ y C ₆	2021 ± 16
C ₁	—
C ₄	913 ± 8
C ₆	368 ± 4
C ₄ y C ₆	1117 ± 12
C ₁ , C ₂ y C ₃	630 ± 8
C ₁ , C ₃ y C ₄	1091 ± 12

PORCENTAJES DE TRANSFERENCIA DE GRUPOS

BENZOLLOS ACTIVOS EN EL CASO

DE LAS PENTABENZOL-D-GLUCOSAS

Pentabenzoil-D-glucosas con grupos benzilos marcados en los carbonos:	Actividad molar de las pentabenzoil-D-glucosas: A_p c.p.m./mM (*)	Número de grupos benzilos marcados: n	Actividad por grupo benzilo: $\frac{A_p}{n}$ c.p.m./mM	Actividad molar de la D-glucosa dibenzamida: A_g c.p.m./mM (*)	Número de grupos benzilos transferidos: $\frac{A \cdot n}{A_p}$	Porcentaje de transferencia de los grupos benzilos radiactivos: $\frac{A_{g \cdot n \cdot 100}}{A_p \cdot 2}$
C_1, C_2, C_3, C_4 y C_6	5104 ± 48	5	1021 ± 10	2021 ± 16	1,98	$99,0 \pm 1,2$
C_1	1175 ± 16	1	1175 ± 16	-----	----	-----
C_4	1110 ± 16	1	1110 ± 16	913 ± 8	0,82	$41,1 \pm 0,6$
C_6	1191 ± 16	1	1191 ± 16	368 ± 4	0,31	$15,4 \pm 0,3$
C_4 y C_6	1985 ± 17	2	993 ± 8	1117 ± 12	1,12	$56,3 \pm 0,7$
C_1, C_2 y C_3	2171 ± 24	3	724 ± 8	630 ± 8	0,87	$43,5 \pm 0,8$
C_1, C_3 y C_4	2074 ± 24	3	691 ± 8	1091 ± 12	1,58	$78,9 \pm 1,2$

(*) Las actividades molares fueron determinadas por conversión de todas las sustancias a carbonato de bario y medidas a espesor infinito. La corrección por la presencia de átomos de carbono no radiactivos fué hecha multiplicando la actividad observada por el número de átomos de carbono del compuesto ensayado.

AMONOLISIS DE LAS 2,3,4,6-TETRA BENZOIL-D-GLUCOPIRANOSAS RADIATIVAS

Las amonólisis de las tetrabenzoil-D-glucopiranosas radiactivas se llevaron a cabo en forma similar a la ya descrita para las pentabenzoil-D-glucopiranosas, salvo que en este caso el producto se disuelve casi instantáneamente en el metanol amoniacal y por lo tanto se mantiene la solución a temperatura ambiente durante 17 horas aproximadamente.

En todas estas amonólisis el rendimiento en D-glucosa dibenzamida fué del 25%.

Las actividades molares de las D-glucosas dibenzamidas obtenidas se consignan en el siguiente cuadro:

Posición de los grupos benzoilos radiactivos en la tetrabenzoil-D-glucosa	Actividad molar de la D-glucosa dibenzamida correspondiente. c.p.m./mM
C ₄	913 ± 12
C ₆	320 ± 4
C ₂ y C ₃	664 ± 8
C ₃ y C ₄	1118 ± 12
C ₄ y C ₆	1071 ± 12

PORCENTAJES DE TRANSFERENCIA DE GRUPOS

BENZILLOS ACTIVOS EN EL CASO DE LAS

2,3,4,6-TETRAENZIL-D-GLUCOSAS

2,3,4,6-tetra-benzoil-D-glucosos con benzoil-los marcados en los carbonos:	Actividad molar de las tetra-benzoil-D-glucosos:	Número de grupos benzoil-los marcados:	Actividad por grupo benzoil-los:	Actividad molar de la D-glucosa dibenzamida:	Número de grupos benzoil-los trans-feridos:	Porcentaje de transferencia de los grupos benzoil-los radiactivos:
	A_t c.p.m./mM (*)	n	$\frac{A_t}{n}$ c.p.m./mM	A_g c.p.m./mM (*)	$\frac{A_{g.n}}{A_t}$	$\frac{A_{g.n.100}}{A_t \cdot 2}$
C ₄	1122 ± 13	1	1122 ± 13	913 ± 12	0,81	40,6 ± 0,7
C ₆	1162 ± 13	1	1162 ± 13	320 ± 4	0,27	13,7 ± 0,2
C ₂ y C ₃	1444 ± 20	2	722 ± 10	664 ± 8	0,92	45,9 ± 0,8
C ₃ y C ₄	1384 ± 20	2	692 ± 10	1118 ± 12	1,61	80,7 ± 1,4
C ₄ y C ₆	1995 ± 20	2	997 ± 10	1071 ± 12	1,07	53,6 ± 0,8

(*) Las actividades molares fueron determinadas por conversión de todas las sustancias a carbonato de bario y medidas a espesor infinito. La corrección por la presencia de átomos de carbono no radiactivos fue hecha multiplicando la actividad observada por el número de átomos de carbono del compuesto ensayado.

ANÁLISIS DE LA PENTABENZOIL- β -D-GLUCOSA EN ISOPROPANOL AMONICAL.

OBTENCIÓN DE UNA BENZOIL-D-GLUCOSA DIBENZAMIDA

4 gr. de pentabenzoil- β -D-glucosa se suspenden en 200 ml. de alcohol isopropílico amoniacal (8%) y se agita hasta total disolución, lo que se obtiene a las seis horas de tratamiento. Se abandona luego a temperatura ambiente hasta completar dieciséis horas. Se evapora a presión reducida (baño a 40-50°) y se completa el secado en desecador. Se toma el residuo en la menor cantidad de etanol caliente y por enfriamiento se produce un precipitado cristalino, en agujas, que pesa 0,738 gr. y funde 193-194°.

Por cromatografía sobre papel Schleicher y Schuell 2043 b, desarrollando con isobutanol-éter de petróleo (40-60)-agua (3:1:1), se observa una mancha con Rf. 0,91 mientras que un testigo de D-glucosa dibenzamida tiene Rf. 0,75, ambas reveladas con nitrato de plata amoniacal.

Recristalizando de etanol se obtienen 0,555 gr. de producto con p.f. 208-209° (d). Mezclada con D-glucosa dibenzamida de p.f. 200-201° da un p.f. 190-192°.

Luego de tres nuevas recristalizaciones de etanol se obtienen agujas de p.f. 208-209° (d) y $(\alpha)_D^{25} + 6,3$ en piridina (c: 0,876).

Análisis:

calculado para $C_{27}H_{28}N_2O_8$ C: 63,77% H: 5,55% N: 5,51%

obtenido C: 63,94% H: 5,52% N: 5,41%

OXIDACIÓN DE LA BENZOIL-D-GLUCOSA DIBENZAMIDA CON PERIODATO DE SODIO

Se siguió el método de Hough y col. (1958). 30,1 mg. de la benzoil-D-glucosa dibenzamida se suspenden en 25 ml. de solución buffer de ácido acético y acetato de sodio de pH 3,6; se añaden 5 ml. de solución de metaperiodato de sodio 0,3 M y se lleva a 100 ml. con agua. Con agitación toda la sustancia se disuelve e inmediatamente ~~comienza a formarse~~ un precipitado cristalino en agujas.

A la vez se aplica idéntico tratamiento a 30,2 mg. de D-glu-

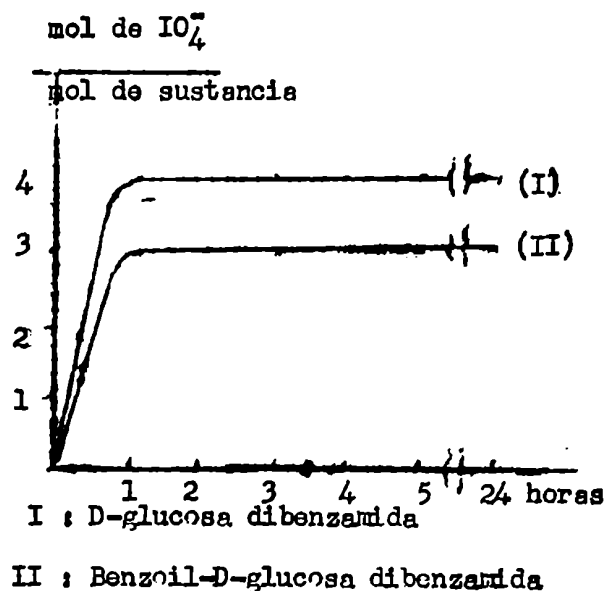
cosa dibenzamida.

DETERMINACION DEL CONSUMO DE ACIDO PERIODICO :

Para medir el consumo de ácido periódico se toma, cada hora, muestras de 10 ml. que se añaden a 25 ml. de solución buffer de fosfatos de pH 6,98; se agregan 5 ml. de solución de yoduro de potasio 20% y el yodo liberado se titula con solución 0,1 N de tiosulfato de sodio. Al mismo tiempo se realiza igual titulación con un ensayo en blanco. En todas las determinaciones tomadas a la hora, dos horas, tres horas, cinco horas y veinticuatro horas, se obtiene el mismo consumo de ácido periódico, que corresponde a tres moles por mol de sustancia ensayada. En el caso de la D-glucosa dibenzamida el consumo fué de cuatro moles de ácido periódico por mol de sustancia.

Los valores están indicados en la tabla y curva siguientes:

tiempo (horas)	moles IO_4^- gastados mol sustancia	
	I	II
1	3,91	2,87
2	3,96	2,92
3	3,95	2,90
4	3,95	2,95
5	3,97	2,91
24	3,96	2,90



DETERMINACION DE FORMALDEHIDO :

El resto de la solución en la cual se hubo medido el consumo de ácido periódico se filtra, para separar el precipitado que estaba en suspensión, y en el filtrado se destruye el exceso de ácido periódico con solución de cloruro estannoso al 6% según Tompsett y Smith (1953). Se destila recogiendo porciones de 10 ml. sobre 1 ml. de solución de sulfato de sodio al 1%. Se toma 1 ml. de cada una de estas porciones,

se añaden 2 ml. de agua, luego 5 ml. de solución de ácido cromotrópico y se calientan los tubos durante media hora en baño de agua a 100°, conjuntamente con un tubo con 3 ml. de agua y 5 ml. de solución de ácido cromotrópico que sirve como ensayo en blanco. Se enfría y se agrega, a cada tubo, 2 ml. de ácido sulfúrico 9 M.

La medida de la absorción se realiza en un fotocolorímetro "Lumetron 401" con filtro 580, y en todos los tubos el valor determinado fué similar al del tubo testigo, indicando la ausencia de formaldehído.

En el caso de la D-glucosa dibenzamida se obtuvo una intensa coloración violeta debida a la presencia de formaldehído. Esta determinación se realizó únicamente en forma cualitativa.

ANÁLISIS DE LA 6-BENZOIL-D-GLUCOSA DIBENZAMIDA EN METANOL AMONIACAL

0,120 gr. de la 6-benzoil-D-glucosa dibenzamida se suspenden en 4,4 ml. de metanol amoniacal 16% y se disuelve a los pocos minutos de agitación. Se abandona quince horas a temperatura ambiente. Se evapora a baja presión y precipita rápidamente un producto cristalino (agujas) que recristalizado de etanol da p.f. 197-198° (d).

Una nueva recristalización de etanol produce 0,075 gr. de producto de p.f. 200-201° que no da depresión en su punto de fusión mezclada con D-glucosa dibenzamida y que por cromatografía sobre papel da un Rf. similar al de la D-glucosa dibenzamida.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

- I) Se confirmó, haciendo uso de benzamida (carbonilo C^{14}) como indicador, que la reacción de formación de la D-glucosa dibenzamida mediante la amonólisis de la pentabenzoil-D-glucosa y de la 2,3,4,6-tetrabenzoil-D-glucosa, es intramolecular.
- II) Se han preparado las siguientes pentabenzoil-D-glucosas utilizando cloruro de benzilo (carbonilo C^{14}):
- a) pentabenzoil-(carbonilo C^{14})-D-glucosa
 - b) 1-benzoil-(carbonilo C^{14})-2,3,4,6-tetrabenzoil-D-glucosa.
 - c) 1,2,5-tribenzoil-(carbonilo C^{14})-4,6-dibenzoil-D-glucosa.
 - d) 1,3,4-tribenzoil-(carbonilo C^{14})-2,6-dibenzoil-D-glucosa.
 - e) 4-benzoil-(carbonilo C^{14})-1,2,3,6-tetrabenzoil-D-glucosa.
 - f) 4,6-dibenzoil-(carbonilo C^{14})-1,2,3-tribenzoil-D-glucosa.
 - g) 6-benzoil-(carbonilo C^{14})-1,2,3,4-tetrabenzoil-D-glucosa.
- III) Se han preparado las siguientes tetrabenzoil-D-glucosas utilizando cloruro de benzilo (carbonilo C^{14}):
- a) 2,5-dibenzoil-(carbonilo C^{14})-4,6-dibenzoil-D-glucosa.
 - b) 3,4-dibenzoil-(carbonilo C^{14})-2,6-dibenzoil-D-glucosa.
 - c) 4,6-dibenzoil-(carbonilo C^{14})-2,3-dibenzoil-D-glucosa.
 - d) 4-benzoil-(carbonilo C^{14})-2,3,6-tribenzoil-D-glucosa.
 - e) 6-benzoil-(carbonilo C^{14})-2,3,4-tribenzoil-D-glucosa.
- IV) Las amonólisis, en alcohol metílico amoniacal, de las pentabenzoil-D-glucosas radiactivas, antes mencionadas, han permitido demostrar:
- a) que el grupo benzilo unido al carbono 1 no participa en la formación de la D-glucosa dibenzamida.
 - b) que los grupos benzilos ubicados en las posiciones 2,3,4 y 6 realizan, respectivamente, las siguientes contribuciones aparentes a la formación de los restos benzamida que están unidos al carbono 1 de la molécula de la D-glucosa:

benzoilo de posición 2 : 5,7% \pm 1,5%

benzoilo de posición 3 : 37,8% \pm 1,3%

benzoilo de posición 4 : 41,1% \pm 0,6%

benzoilo de posición 6 : 15,4% \pm 0,3%

Se define como contribución aparente, aquella obtenida por la medida directa de la cantidad de grupo benzoilo, unido a determinada posición como éster, que pasa a formar parte de restos benzarida de la D-glucosa dibenzarida, sin tomar en cuenta posibles transposiciones que puedan ocurrir entre grupos benzoilos durante la amonólisis.

V) Las amonólisis, en alcohol metílico amoniacoal, de las 2,3,4,6-tetrabenzoil-D-glucosas radiactivas, antes mencionadas, han permitido establecer que las contribuciones aparentes, a la formación de la D-glucosa dibenzarida, de los grupos benzoilos ubicados en las posiciones 2,3,4 y 6 son respectivamente:

benzoilo posición 2 : 5,3% \pm 1,7%

benzoilo posición 3 : 40,2% \pm 1,5%

benzoilo posición 4 : 40,6% \pm 0,7%

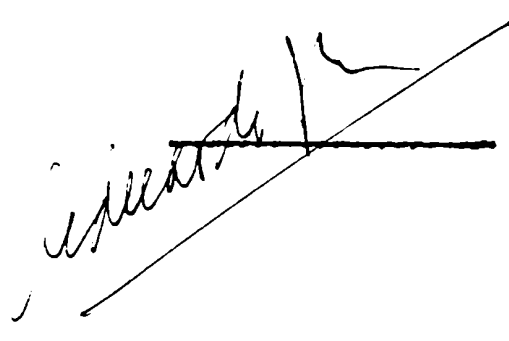

benzoilo posición 6 : 13,7% \pm 0,2%

VI.) Se han efectuado una serie de consideraciones para la interpretación de los resultados anteriores. Parecería que los factores determinantes de estas contribuciones son variables; en el caso del grupo benzoilo unido al hidroxilo del carbono 2 su baja contribución parece depender de su facilidad para amonolizarse, mientras que en el caso del grupo benzoilo unido al carbono 6 sería lo contrario, o sea, que su poca contribución se explica por su resistencia a la amonólisis; esta afirmación está atestiguada en VIII. Los grupos benzoilos de las posiciones 3 y 4 serían los de contribución más elevada por ser su reactividad intermedia. En estas consideraciones no se han tenido en cuenta factores

estéricos, en especial conformacionales, sino que se basan únicamente en la desigual reactividad de los hidroxilos de un monosacárido.

VII) En la amonólisis, tanto de la pentabenzoil-D-glucosa como de la tetrabenzoil-D-glucosa, el equivalente a dos de los grupos benzoylos, provistos en las proporciones antes indicadas, pasan a formar la D-glucosa dibenzamida; no todo el resto de benzoylos se amonoliza a benzamida. Es evidente, como resultado de una experiencia bien controlada, que en el medio metanólico la acción básica del amoníaco cataliza la reacción de transesterificación con posible producción de benzoato de metilo.

VIII) La amonólisis de la pentabenzoil-D-glucosa no radiactiva en alcohol isopropílico amoniaco produce, con rendimiento del 26%, la 6-benzoyl-D-glucosa dibenzamida cuya estructura se demostró mediante oxidación con periodato de sodio. La obtención de este compuesto prueba la mayor resistencia a la amonólisis del grupo benzoylo del carbono primario. Por la similitud de la estructura, este resultado puede asociarse con la obtención de la 5-benzoyl-D-licosa dibenzamida y de la 5-benzoyl-D-arabinosa dibenzamida por amonólisis de nitrilos benzoylados de ácidos aldónicos.

~~isidoro~~  

BIBLIOGRAFIA

- ALLERTON R. y OVEREND W.G. J. Chem. Soc. 35 (1952)
- ARONOFF S. : "Techniques of Radiobiochemistry", The Iowa State College Press, 1957, pág. 56-60.
- BOURNE E.J., STACEY M., TATLOW C.E. y TATLOW J.C. J.Chem.Soc.826,(1951).
- BRIGL P.y GRUNER.H. Ber. 65,1428 (1932)
- BRIGL P. y GRUNER H. Ann.495,60 (1932-b)
- BRIGL P., MUHLISCHLEGEL H. y SCHINLE R. Ber.64,2921 (1931)
- CALVIN M., HEIDELBERGER C., REID J.C., TOLBERT B.M. y YANKWICH P.
"Isotopic Carbon" John Wiley & Sons, New York 1949.
Pag. 118-119; 29; 200-201; 292; 285.
- COMPTON J. J. Am. Chem. Soc. 60,395 (1938)
- DEFERRARI J. y DEULOFEU V. J.Org. Chem. 22,802 (1957)
- DEFERRARI J., DEULOFEU V. y RECONDO E.F. An.Asoc.Quim.Arg.46,137 (1958)
- DEFERRARI J., ONDETTI M. A. y DEULOFEU V. J.Org.Chem.24,183 (1959)
- DEULOFEU V. J.Chem.Soc. 2973 (1932)
- DEULOFEU V. y DEFERRARI J. An.Asoc.Quim.Arg.38,241 (1950)
- DEULOFEU V. y DEFERRARI J. J.Org.Chem. 17,1087,1093,1097 (1952)
- DEULOFEU V. y DEFERRARI J. Nature 167,42 (1951)
- DEULOFEU V. y JIMENEZ F. J.Org. Chem. 15,460 (1950)
- FAIBES R. y PARKS B.H. "Radioisotopes Laboratory Techniques"
George Newnes Ltda. London (1958) Pag.154;128;
156.
- FISCHER E. y NOTH H. Ber. 51,332 (1918)
- GLADDING E.R. y FURVES C.B. J.Am. Chem.Soc. 66,76 (1944)
- GORDON M., MILLER J.G. y DAY A.R. J. Am. Chem. Soc. 70,1946 (1948)
71, 1245 (1949)
- HARDEGGER E., MONTAVON R. y JUCKER O. Helv. Chim.Acta 31,1863 (1948)
- HARDEGGER E. y MONTAVON R. Helv. Chim.Acta 29,1199 (1946)
- HELPERICH B., DRESSLER H. y GRIEBEL R. J.Prakt. Chem. 153,2 85 (1939)
- HELPERICH B. y GNUCHTEL A. Ber. 71,712 (1938)
- HOOKETT R.C. y CHANDLER A.R. J.Am.Chem.Soc.66,957 (1944)

- HOCKETT R.C., DEULOFEU V. y DEFERRARI J. J. Am. Chem. Soc. 72, 1840 (1950)
- HODGE J.E. y RIST C.E. J. Am. Chem. Soc. 74, 1498 (1952)
- HOUGH L., TAYLOR T.J., THOMAS G.H.S. y WOODS B.M. J. Chem. Soc. 1212 (1958)
- ISELL H. y FRUSH H. J. Am. Chem. Soc. 71, 1579 (1949)
- KILIANI H. Ber. 19, 767, 1128 (1886)
- LEVENE P.A. y RAYMOND A.L. J. Biol. Chem. 97, 763 (1932)
- LIESER T. y LECKZYCK E. Ann. 511, 137 (1934)
- LIESER T. y SCHWEIZER R. Ann. 519, 271 (1935)
- Naturwissenschaften 23, 131 (1935)
- MACQUENNE L. Ann. Chim. 7, 24, 399 (1901)
- NESS R., FLETCHER H. y HUDSON C.S. J. Am. Chem. Soc. 72, 2202 (1950)
- NIEMAN C. y HAYS J.T. J. Am. Chem. Soc. 67, 1302 (1945)
- NOYES W.A. y FORMAN D.B. J. Am. Chem. Soc. 55, 3493 (1933)
- ONDETTI M.A. Tesis Facultad Cs. Exactas y Naturales (1957)
- PAPADAKIS P.E. J. Am. Chem. Soc. 52, 3465 (1930)
- PERCIVAL E.G. y HEDDIE W.J. J. Chem. Soc. 1690 (1938)
- PERCIVAL E.G. J. Chem. Soc. 1160 (1934)
- PERCIVAL E.G. J. Chem. Soc. 648 (1935)
- PERCIVAL E.G. y RITCHIE G.G. J. Chem. Soc. 1765 (1936)
- RECONDO E.F. Tesis Facultad Cs. Exactas y Naturales (1956)
- RESTELLI de LABRIOLA E. y DEULOFEU V. J. Org. Chem. 12, 726, (1947)
- RICHTMYER N.K. y YEAKEL E.H. J. Am. Chem. Soc. 56, 2495 (1934)
- SCHIMD H. y BANHOLZER K. Helv. Chim. Acta 37, 1706 (1954)
- TOMPSETT S.L. y SMITH D.C. The Analyst 78, 209 (1953)
- VAN SLYKE D.D. y FOLCH J. J. Biol. Chem. 136, 509 (1940)
- VAN SLYKE D.D., PLAZIN J. y WEISIGER J. J. Biol. Chem. 181, 299 (1951)
- VAN SLYKE D.D., STEELE R. y PLAZIN J. J. Biol. Chem. 192, 769 (1951)
- VAN SLYKE D.D., MAROTT SINEX F., PLAZIN J., CLAREUS D., BERNSTEIN W. y CHASE R. J. Biol. Chem. 213, 673 (1955)
- VOCKL A. "Practical Organic Chemistry (3a. edición).
Longmans, Green & Co. New York, 1956, pág. 797
- WHITEHOUSE W. y PUTMAN J.L. "Radioactive Isotopes"

WHOL A. Ber. 26, 730 (1893)

YANKWICH P., NORRIS T. y HUSTON J. : Anal. Chem. 19, 439 (1947)

ZERVAS L. Ber. 64-B, 2289 (1931)

ZINNER H., BOCK W. y KLOCKING H. Ber. 92, 1307 (1959)
