

Tesis de Posgrado

Acción del amoníaco sobre derivados acetilados de disacáridos

Zanlungo, Alberto

1963

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:

Zanlungo, Alberto. (1963). Acción del amoníaco sobre derivados acetilados de disacáridos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1175_Zanlungo.pdf

Cita tipo Chicago:

Zanlungo, Alberto. "Acción del amoníaco sobre derivados acetilados de disacáridos". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1963.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1175_Zanlungo.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

-----0-----

ACCION DEL AMONIACO SOBRE DERIVADOS
ACETILADOS DE DISACARIDOS

ALBERTO ZANLUNGO

RESUMEN DE TESIS

presentada para optar al Título

de

Doctor en Química(Orientación Química Biológica)

1963

R. de Terr. 1175

LA AMONOLISIS DE LA OCTA-O-ACETIL MELIBIOSA Y LA OCTA-O-ACETIL
GENCIOBIOSA

Como los ~~disac~~ disacáridos acetilados empleados por Deferrari y Cadenas tenían unión glicosídica 1-4, lo cual determinaba que en la mitad reductora que experimentaba la reacción de migración de acetilos se eliminase la posibilidad de la formación de una N-acetil aldobiosilamina con ciclo furanósico y además, la carencia del acetilo del carbono 4 eliminaba una participación que podía pensarse era importante en base a las experiencias realizadas por Gros, Ondetti, Sproviero, Deulofeu y Deferrari con la 1,2,3,4,6-penta-O-benzoil-D-glucosa y la 2,3,4,6-tetra-O-benzoil-D-glucosa marcadas con benzoilos carbonilo C¹⁴ en distintas posiciones, y en las cuales se establecía en 0,81±0,02 la participación del benzoílo del carbono 4 en la formación de N,N'-dibenzoil-D-glucosilidéndiamina, hemos considerado interesante extender el estudio de la reacción del amoníaco a los derivados acetilados con unión glicosídica 1-6, tales como la melibiosa y la genciobiosa.

El interés del estudio de la reacción del amoníaco sobre los disacáridos acetilados con unión glicosídica 1-6 residía en que se podía determinar el efecto que en el curso de la misma tenía la presencia de un acetilo en el carbono 4 de la mitad reductora del disacárido que experimentaba la reacción de migración de acetilos, el cual por extensión de los establecido por Deulofeu y colaboradores podría tener la misma participación en la formación de N-acetil aldosisilaminas que el benzoílo en el carbono 4 en el

caso de la N,N'-dibenzoil glucosilidéndiamina.

Además, el hecho de que por eliminación del acetilo del carbono 4 quedara libre un hidroxilo en esa posición, posibilitaría la formación de N-acetil aldobiosilaminas con un ciclo furanósico a semejanza de lo que ocurría con la penta-O-acetil- α -D-glucosa, la penta-O-acetil- β -D-glucosa y el hexa-O-acetil-D-glicero-D-gulo heptonitrilo, los cuales tratados con amoníaco producían la N-acetil glucofuranosilamina.

También podía esperarse un aumento en el rendimiento de la N,N'-diacetil aldobiosilaminas por el hecho de sustituirse la pequeña participación del acetilo del carbono 6 por la importante participación del acetilo del carbono 4, teniendo en cuenta que en la formación de N,N'-dibenzoil-D-glucosilidéndiamina la contribución del grupo 6-O-benzoilo es 0,3 moles mientras que la del 4-O-benzoilo es de 0,8 moles. Asimismo se podía conocer la influencia que en el curso de la reacción tendría un grupo voluminoso como es el resto no reductor unido al carbono 6 de la parte reductora del disacárido.

Desde el punto de vista preparativo se podía pensar en obtener las N,N'-diacetil aldobiosilidéndiaminas y las N-acetil aldobiosilaminas de los disacáridos con unión glicosídica 1-6.

La preparación de la octa-O-acetil melibiosa necesaria para estos experimentos se hizo por acetilación del azúcar libre siguiendo la técnica de Scheibler y Mittelmeier.

La reacción de la octa-O-acetil melibiosa con amoníaco la efectuamos en distintos medios, aunque en las mismas condiciones ope-

rativas. De la reacción de la octa-0-acetil melibiosa con amoníaco acuoso al 25% obtuvimos un jarabe del que separamos por cromatografía en columna de carbón y con rendimiento de 7,7% la forma α de la melibiosa, análoga a la descrita por Fletcher y Diehl, y N-acetil melibiosilamina con rendimiento de 22,5%.

La amonólisis de la octa-0-acetil melibiosa con amoníaco acuoso al 33% dio un jarabe del cual por acetilación con anhídrido acético y piridina aislamos octa-0-acetil melibiosa idéntica a la descrita anteriormente con un rendimiento de 1,6% y un jarabe que cromatografiado en columna de talco celite dio con 5,8 % de rendimiento la octa-0-acetil-N,N'-diacetil melibiosilidéndiamina.

Del jarabe obtenido en la reacción de la octa-0-acetil melibiosa con amoníaco metanólico 16% obtuvimos por acetilación 13,3% de octa-0-acetil melibiosa y 5% de octa-0-acetil-N,N'-diacetil melibiosilidéndiamina y por cromatografía en columna de celulosa aislamos con 4,5% de rendimiento la forma α de la melibiosa y N-acetil melibiosilamina con un rendimiento de 0,27%.

La acetilación de la N-acetil melibiosilamina con anhídrido acético y piridina dio la hepta-0-acetil-N-acetil melibiosilamina.

La octa-0-acetil genciobiosa la preparamos condensando de acuerdo a la técnica de Reynolds y Evans la 1- α -bromo-2,3,4,6-tetra-0-acetil-D-glucopiranososa con la 1,2,3,4-tetra-0-acetil-D-glucosa.

La amonólisis de la octa-0-acetil genciobiosa con amoníaco acuoso al 25% dio un jarabe del cual pudimos aislar por cromatografía en columna de carbón y con rendimiento de 7,7% la forma α de la melibiosa, análoga a la descrita por Fletcher y Diehl, y N-acetil melibiosilamina con rendimiento de 22,5%.

tografía en carbón la N,N'-diacetil genciobiosilidéndiamina con un rendimiento del 8,5% y por cromatografía en celulosa 29% de la N-acetil genciobiosilamina en forma de un producto amorfo e higroscópico.

La acetilación de la N,N'-diacetil genciobiosilidéndiamina con anhídrido acético y piridina dio la octa-O-acetil-N,N'-diacetil genciobiosilidéndiamina.

Los resultados obtenidos en la reacción del amoníaco con los disacáridos acetilados de unión glicosídica 1-6 estudiados por nosotros están estrechamente vinculados al análisis del comportamiento de la penta-O-acetil- β -D-glucosa con dicho reactivo, por cuanto la melibiosa y la genciobiosa son 6-O-glicopiranosil-D-glucopiranosas, es decir, que la parte que experimenta la reacción de migración de acetilos en dichos octa-O-acetil disacáridos es una 1,2,3,4-tetra-O-acetil-glucosa sustituida en el carbono 6 por un resto 2,3,4,6-tetra-O-acetil glucopiranosilo.

Cabe destacar que en los casos estudiados, la N,N'-diacetil aldobiosilidéndiamina se produce con un rendimiento menor que en el de la amonólisis en medio acuoso de la octa-O-acetil maltosa; que las N-acetil aldobiosilaminas se producen con un rendimiento mucho mayor que el obtenido con los disacáridos acetilados de unión glicosídica 1-4, y que el rendimiento de azúcares libres fue menor que en el caso de los acetatos de maltosa, lactosa y celobiosa.

La formación de N,N'-diacetil melibiosilidéndiamina en cantidad de 5% en medio metanólico es del mismo orden que en el

caso de los disacáridos con unión glicosídica 1-4 y podría considerarse como un resultado similar al obtenido con la penta-O-acetil- β -D-glucosa que por tratamiento con amoníaco metanólico da N,N'-diacetil glucosilidéndiamina con solo 8% de rendimiento además de 12% de la N-acetil-D-glucopiranosilamina.

En la amonólisis en medio acuoso los rendimientos de N,N'-diacetil melibiosilidéndiamina(5,8%) y N,N'-diacetil genciobiosilidéndiamina(8,5%) son del mismo orden entre sí, pero mucho menores que el obtenido en el caso de la octa-O-acetil maltosa que en esas condiciones produjo 27% de N,N'-diacetil maltosilidéndiamina.

El rendimiento de 22,5% de N-acetil melibiosilamina y de 29% de N-acetil genciobiosilamina obtendios en nuestras experiencias con amoníaco acuoso comparado con el obtendio en la reacción del amoníaco acuoso con la penta-O-acetil- β -D-glucosa que da 41% de N-acetil glucofuranosilamina podría explicarse si se considera que en la penta-O-acetil- β -D-glucosa los 4 acetilos ubicados en los carbonos 2,3,4 y 6 tienen posibilidades de migrar, mientras que en la octa-O-acetil melibiosa y en la octa-O-acetil genciobiosa solamente los 3 acetilos ubicados en los carbonos 2, 3 y 4 podrían migrar al carbono 1. Es decir, que en relación a la penta-O-acetil glucosa faltaría solo la contribución del acetilo del carbono 6, la cual podría ser poco importante si se postula que éste contribuiría en una forma similar a la del benzoilo ubicado en la misma posición en el caso de la penta-O-benzoil- β -D-glucopiranososa. Ello hace pensar que no po-

dría ser ésta la única razón por la cual en la amonólisis de la octa-O-acetil melibiosa y la octa-O-acetil genciobiosa el rendimiento de N-acetil aldobiosilamina es prácticamente la mitad del obtenido con la β -penta-O-acetil glucosa; esta diferencia debería ser atribuída entonces al factor estérico debido a la presencia del grupo voluminoso 2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranosilo unido al carbono 6 de la parte reductora de estos disacáridos. Por otra parte el hecho que se haya obtenido un rendimiento elevado de N-acetil melibiosilamina y de N-acetil genciobiosilamina en relación a las N,N'-diacetil aldobiosilidimainas sería explicable considerando que el resto reductor que sufre la reacción de transposición de acilos es una unidad de glucosa que presenta la posibilidad de formar un ciclo 1-4, que como ya hemos señalado es de fácil formación, lo que haría factible que la reacción pudiera producirse en ese sentido.

A pesar que aún no hemos podido demostrar la estructura del ciclo de la N-acetil melibiosilamina y la N-acetil genciobiosilamina, la formación de un ciclo piranósico, aunque posible, nos parece menos probable, en razón del comportamiento de la penta-O-acetil- β -D-glucosa, la cual da N-acetil glucofuranosilamina y de los bajos rendimientos (menos del 1%) de N-acetil aldobiosilaminas con ciclos piranósicos obtenidos en la amonólisis de los disacáridos acetilados con unión glicosídica 1-4, en los cuales sólo podía formarse el ciclo piranósico por estar la posición 4 comprometida en la unión glicosídica.

En función de que los rendimientos de N,N'-diacetil aldobio-

silidéndiaminas y N-acetil aldobiosilaminas son cercanos a los que podían esperarse si solamente contribuyera la mitad reductora, nos parece que fundamentalmente el mecanismo de migración de acetilos debería verificarse en dicha mitad, pero no podemos descartar la posibilidad de una contribución de los acetilos ubicados en la otra parte de la molécula.

El estudio de un modelo molecular del producto de adición del amoníaco a la octa-O-acetil-genciobiosa con apertura del ciclo hemiacetalico, permitió comprobar que el grupo NH_2 del carbono 1 podía interaccionar con relativa facilidad con los acetilos ubicados en los carbonos 2 y 6 de la parte noreductora del mismo y que estos últimos podrían interaccionar también con los hidroxilos ubicados en los carbonos 2, 3, 4 y 5 de la parte reductora, lo cual podría dar lugar a una transferencia de algunos de estos acetilos a los hidroxilos mencionados contribuyendo así a la formación de N,N'-diacetil aldobiosilidéndiamina y N-acetil aldobiosilamina.

J. J. J.

de Buenos Aires

Ciencias Exactas

Naturales

1111, nos Aires, 30 de diciembre de 1963.

Presentada en la fecha.

Buffo

Buenos Aires, 30 de diciembre de 1963.

Por disposición del señor Vice-Decano en Ejercicio pase al Departamento de Química Orgánica, para que se sirva considerar - la tesis presentada por el ex-alumno del Doctorado en Ciencias Químicas, orientación Química Analítica y Química Biológica Dn Alberto Bautista Zanlungo.

em.

Ricardo Gimson
RICARDO GIMSON
PROSECRETARIO TECNICO

18/3/64 -
En la fecha la Comisión Examinadora procedió a considerar la presente tesis resolviendo aceptarla. -

Jubric *Murphy*

Case 1175

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

-----0-----

ACCION DEL ANONIACO SOBRE DERIVADOS
ACETILADOS DE DISACARIDOS

ALBERTO ZANLUNGO

RESUMEN

Presentada para optar al **Título**
de

Doctor en Química (Orientación Química Biológica)

1963

Mi reconocimiento al Dr. J. O. Deferrari por la dirección de esta tesis.

Agradezco también

Al Dr. R. Cadenas los eficaces consejos que me diera durante la realización de esta tesis.

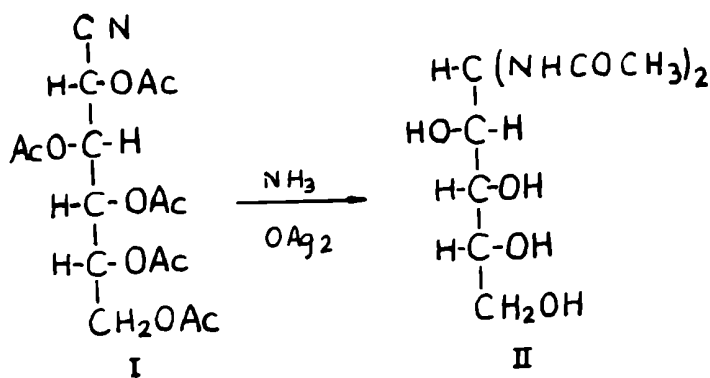
A la Dra. B. Berinzaghi de Deferrari por la realización de los microanálisis que figuran en este trabajo.

A todo el personal de la Cátedra de Química Orgánica por su desinteresada colaboración.

REACCION DE WOHL Y FORMACION DE N,N'-DIACIL ALDOSILIDEN-
DIAMINAS Y N-ACIL ALDOSILAMINAS

En 1893 A. Wohl(1) inició las experiencias que condujeron a la obtención de derivados N-acilados en el carbono 1 de los monosacáridos. La idea original de Wohl era hallar un método de degradación de azúcares que permitiera obtener un azúcar con un átomo de carbono menos que el monosacárido de partida.

Con ese propósito trató el penta-O-acetil-D-glucononitrilo (I) con amoníaco acuoso conteniendo óxido de plata disuelto, esperando así obtener D-arabinosa, pero en su lugar aisló un producto nitrogenado al que llamó arabinosa diacetamida y que actualmente se denomina N,N'-diacetil-D-arabinosilidéndiamina(II).



Por hidrólisis ácida de la arabinosa diacetamida obtuvo la D-arabinosa con 50-60% de rendimiento.

La reacción de Wohl se aplicó a otros nitrilos acilados de ácidos aldónicos, demostrándose que generalmente se producían derivados N-acilados en el carbono 1, por lo cual diferentes autores han realizado experiencias con fines preparativos y para evaluar algunos factores que intervienen en la reacción, tales como la concentración de amoníaco y el solvente en el cual

se lleva a cabo la misma. De estas experiencias merecen destacarse las de Maquenne(2) y las de Hockett(3) que permitieron comprobar la posibilidad de realizar satisfactoriamente la reacción en ausencia de óxido de plata disuelto.

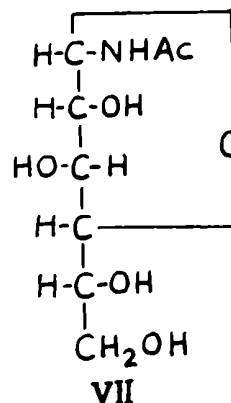
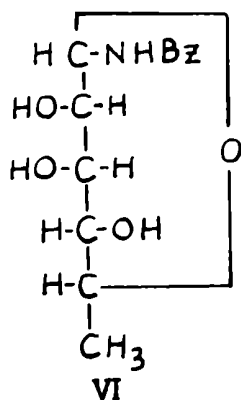
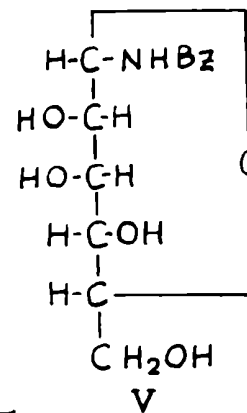
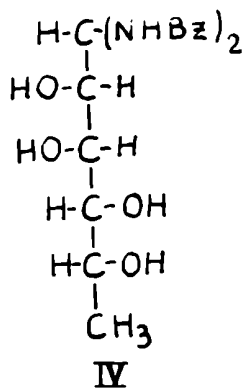
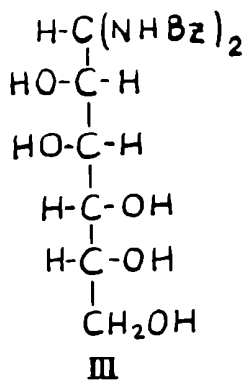
En 1931, Brigl y colaboradores(4) pusieron en evidencia que la formación de N,N'-diacil aldósilidéndiaminas no estaba restringida a la degradación de Wohl aplicada a los nitrilos acilados, sino que ciertas aldosas benzoiladas como la penta-O-benzoil-aldehído-D-glucosa, la 3,4,5,6-tetra-O-benzoil-aldehído-D-glucosa y la 3,5,6-tri-O-benzoil-D-glucofuranosa tratadas con amoníaco en medio lalcohólico originaban N,N'-dibenzoil-D-glucosilidéndiamina.

La posibilidad de obtener N,N'-diacetil aldósilidéndiaminas por amonólisis de derivados acetilados con función aldehído libre fué estudiada por Deulofeu(5), quien a partir de la tri-O-acetil-aldehído-L-eritrosa obtuvo la N,N'-diacetil eritrosilidéndiamina y posteriormente por Isbell y Frush(6) que con la tetra-O-acetil-aldehído-D-arabinosa obtuvieron la N,N'-diacetil-D-arabinosilidéndiamina.

Deulofeu y Deferrari demostraron que las formas piranósicas y furanósicas totalmente aciladas de diversos monosacáridos también producen N,N'-diacetil-D-aldósilidéndiaminas. Estos autores amonolizaron los anómeros α y β de la penta-O-benzoil-D-glucosa(7) y luego extendieron la reacción a la D-manosa(8), a la D-galactosa(9), a la D-xilosa(conjuntamente con Recondo)(10), a la L-ramnosa(11) y la L-arabinosa, D-xilosa y D-ribosa(en colaboración con Ondetti)(12) obteniendo en todos los casos las

correspondientes N,N'-diacil-aldosilidéndiaminas.

En los casos de la manosa y ramnosa benzoiladas, además de la N,N'-dibenzoil manosilidéndiamina(III) y la N,N'-dibenzoil ramosilidéndiamina(IV) se aislaron las N-benzoil manosilamina(V) y la N-benzoil ramosilamina(VI) correspondientes, con rendimientos de 3% y 1,34% respectivamente. Ambas monobenzoiladas tienen estructura piranósica, lo cual fué demostrado por oxidación con peryodato de sodio. Una excepción a este comportamiento general lo constituye el caso de la β -penta-O-acetil-D-glucosa que tratada con amoníaco produce la N-acetil-D-glucofuranosilamina(VII), siendo éste el único caso que se conoce hasta ahora en el campo de los monosacáridos.

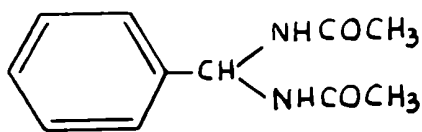


MECANISMOS DE FORMACION DE LAS N,N'-DIACETIL AEDOSILAMINAS

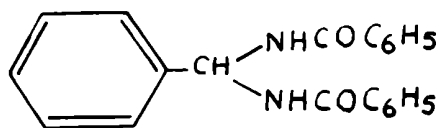
Y N-ACETIL AEDOSILAMINAS

En su trabajo sobre la degradación del penta-O-acetil-D-glucosonitrilo, Wohl consideró a la N,N'-diacetil-D-arabinosilidén diamina como el resultado de la condensación de dos moléculas de acetamida con una de aldehido-D-arabinosa.

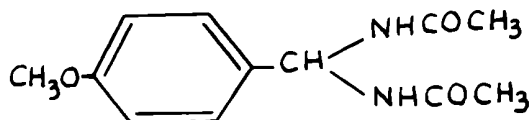
Esta interpretación, que se consideró válida durante mucho tiempo, estaba sustentada en las condensaciones de aldehidos simples con acetamida y benzamida registradas en la literatura. Roth(13) obtuvo bencilidén diacetamida(VIII) y bencilidén dibenzamida(IX) por condensación de un mol de benzaldehido con dos moles de acetamida o benzamida respectivamente; Schuster(14) condensó anisaldehido con acetamida y obtuvo anisilidén diacetamida(X); Pawildarow(15) preparó etilidén diacetamida(XI) por condensación de acetaldehido con acetamida y Nencki(16), por tratamiento de acetaldehido con benzamida en presencia de ácido clorhídrico obtuvo etilidén dibenzamida(XII).



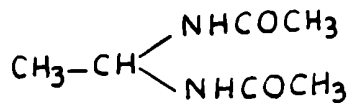
VIII



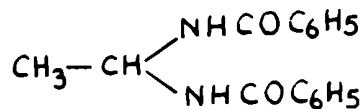
IX



X



XI

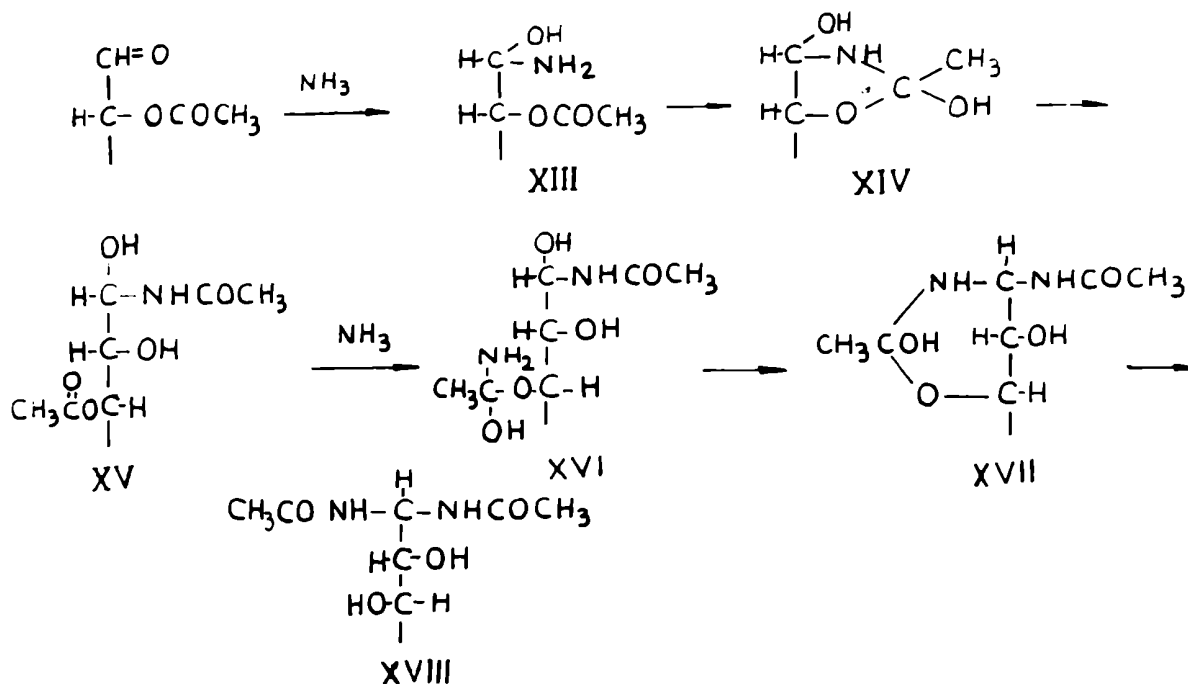


XII

Varios hechos experimentales indicaron que este tipo de condensación no ocurría en una reacción en la que intervenían monosacáridos en medio alcalino. Así, Brigl y colaboradores(4) en 1931, por tratamiento de D-glicero-D-galacto heptonitrilo libre con amoníaco y en presencia de nitrato de plata y benzamida aislaron D-manosa y no la N,N'-dibenzoil-D-manosilidéndiamina, como podía esperarse de haber sido válida la suposición primitiva, lo que indicaba que la benzamida del medio no tomaba parte en la formación de la aldosadiamida.

A la misma conclusión llegaron Hockett y Chandler(17), quienes no pudieron condensar penta-O-acetil-aldehído-D-glucosa con acetamida disueltas en cloroformo, calentando a reflujo durante 10 hs.

En 1949, Isbell y Frush(6) propusieron un mecanismo intramolecular, para explicar la formación de N,N'-diacetil-D-arabino-silidéndiamina en la reacción de la tetra-O-acetil-aldehído-D-



arabinosa con amoníaco. En el mecanismo propuesto el amoníaco se adicionaría al grupo carbonilo del aldehído dando XIII. La cercanía de un nitrógeno con un par de electrones libres y un carbono deficiente en electrones (debido a la polarización del grupo carbonilo del acetilo en el carbono 2) permitiría la formación de un ortoéster lábil (XIV) que se reordenaría dando el N-acetil derivado (XV). Una vez llegado a este intermediario la reacción podría terminar por formación de un ciclo hemiacetalico, para lo cual sería necesario la existencia de un grupo hidroxilo libre dispuesto en posición estéricamente favorable, lo cual conduciría a un monoamido derivado.

Pero también podría formarse un N,N'-diacil derivado en el carbono 1, para lo cual sería necesario la adición de amoníaco al grupo carbonilo de un O-acetilo ubicado en otro carbono (por ejemplo el carbono 3) dando XVI. El grupo -NH₂ de este intermediario se uniría con el carbono 1 dando lugar a un ortoéster lábil (XVII), que se reordenaría dando un N,N'-diacil derivado (XVIII).

La demostración experimental que la reacción de aldosas diamidas era de carácter intramolecular como lo supone el mecanismo de Isbell y Frush, fué suministrada posteriormente por Deulofeu, Deferrari y Hockett.

Deulofeu y Deferrari (18) efectuaron la amonólisis de la tetra-O-acetil-aldehído-L-arabinosa en medio metanólico y en presencia de 3 moles de propionamida, obteniendo 53% de N,N'-diacetil-D-arabinosilidéndiamina, sin haber podido aislar la N,N'-dipropionil-D-arabinosilidéndiamina; este rendimiento fué además similar

al obtenido en un experimento similar pero en presencia de 8 moles de acetamida. Un resultado análogo obtuvieron los mismos autores al amonolizar la penta-O-benzoil- α -D-glucopiranososa en presencia de 10 moles de acetamida, por cuanto aislaron N,N'-dibenzoil-D-glucosilidéndiamina con el mismo rendimiento que en un experimento sin acetamida en el medio de reacción; y no habiendo podido aislar la N,N'-diacetil-D-glucosilidéndiamina.

Otra prueba concluyente fué aportada por Hockett, Deulofeu y Deferrari(19) al amonolizar el tetra-O-acetil-L-arabononitrilo con solución etanólica de amoníaco que contenía 6,2% de N¹⁵ y en presencia de 4 y 3 moles de acetamida con N normal. En estas experiencias aislaron N,N'-diacetil-L-eritrosilidéndiamina con 5,69% y 5,71% de N¹⁵, es decir, el porcentaje de N¹⁵ que este compuesto contenía era muy próximo al porcentaje de N¹⁵ del amoníaco empleado, lo que indicaba que la mayor parte de la reacción se verificaba por un mecanismo intramolecular.

En cambio, si el mecanismo de la reacción hubiera sido intermolecular, es decir, si la reacción se produjera entre las moléculas de aldosa y las de acetamida del medio, la N,N'-diacetil-L-eritrosilidéndiamina obtenida hubiera contenido una cantidad mucho menor de N¹⁵ ya que las moléculas de acetamida conteniendo N¹⁵ producidas durante la amonólisis de los acetilos se hubieran diluído con las moléculas de acetamida conteniendo nitrógeno normal y presentes en el medio, que estaban en exceso con respecto a las de acetamida marcada que se producían.

Por último Gros, Ondetti, Sproviero, Deulofeu y Deferrari(20) demostraron que la adición de benzamida(carbonilo C¹⁴) en el medio en que se efectúa la amonólisis de la penta-O-benzoil- α -D-

glucopiranososa, no introducía benzoilos(carbonilo C1⁴) en la N,N'-dibenzoil-D-glucosilidéndiamina formada, lo cual está de acuerdo con un mecanismo intramolecular.

En base a estas experiencias se puede afirmar el carácter intramolecular de la formación de las N,N'-diacil aldósilidéndiaminas.

El mecanismo propuesto por Isbell y Frush puede considerarse correcto en líneas generales, aunque experiencias posteriores a la fecha de su postulación plantean modificaciones a introducir al mismo.

Uno de los problemas que se plantearon después de conocerse con certeza el mecanismo intramolecular, fué el de la evaluación del porcentaje de participación de cada grupo acilo en la reacción.

Para realizar este estudio se eligieron los derivados benzoilados de la glucosa, porque de este monosacárido se conocía un número relativamente grande de derivados benzoilados y además porque la N,N'-dibenzoil-D-glucosilidéndiamina formada se puede aislar y purificar fácilmente. Algunas experiencias anteriores permitían conocer las influencias que sobre el rendimiento de las N,N'-dibenzoil glucosilidéndiaminas ejercían el número y posición de los grupos benzoilos y la presencia de los ciclos furanósicos o piranósicos.

Los rendimientos de N,N'-dibenzoil-D-glucosilidéndiamina obtenidos a partir de distintos poli-O-benzoil-D-glucosas se dan en la tabla I(20).

TABLA I

COMPUESTO	RENDIMIENTO DE N,N'- DIBENZOIL-D-GLUCOSI- LIDENDIAMINA
A) Aldehído-D-glucosa	
3,4,5,6-tetra-O-benzoil-D-glucosa	78%
2,3,4,5,6-penta-O-benzoil-D-glucosa	42%
B) D-glucofuranosas	
2,3,5,6-tetra-O-benzoil-D-glucosa	62%
1,2,3,5,6-penta-O-benzoil-D-glucosa	53%
3,5,6-tri-O-benzoil-D-glucosa	16%
C) D-glucopiranosas	
1-O-acetil-tetra-O-benzoil-D-glucosa	32%
2,3,4,6-tetra-O-benzoil-D-glucosa	28%
1,2,3,4,6-penta-O-benzoil-D-glucosa	21%
1,2,3,6-tetra-O-benzoil-D-glucosa	trazas
1,2,3-tri-O-benzoil-D-glucosa	0%
2,6-di-O-benzoil-D-glucosa	0%

Cabe destacar que estos rendimientos no son absolutos, debido a que la cantidad de N,N'-dibenzoil-D-glucosilidéndiamina aislada en cada caso no es representativa de la cantidad producida, debido a la influencia que en el aislamiento de la misma tiene la presencia de otras sustancias producidas en la reacción. No obstante muestran claramente la importancia del número y de la ubicación de los grupos benzoilos en la formación de la diamida.

Por ello Gros, Ondetti, Sproviero, Deulofeu y Deferrari(20) determinaron la contribución aparente de cada benzoilo en la formación de N,N'-dibenzoil-D-glucosilidéndiamina. La contribu-

ción se califica de aparente debido a que es imposible establecer si la migración es directa, o mediante la formación de ortoésteres con un hidroxilo libre de la molécula.

Los resultados se dan en la tabla II

TABLA II

Sustancia	Contribución aparente en moles de cada grupo benzoilo				
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₆
1,2,3,4,6-penta-O-benzoil-D-glucosa	0	0,12±0,03	0,76±0,02	0,82±0,02	0,31±0,02
2,3,4,6-tetra-O-benzoil-D-glucosa	0	0,12±0,03	0,80±0,03	0,81±0,02	0,27±0,02

Estos resultados demuestran que el grupo benzoilo unido al carbono 1 no participa en la reacción; que hay una elevada contribución de los benzoilos unidos a los carbonos 3 y 4; que hay una contribución mediana por parte del benzoilo en el carbono 6 y mucho menor del grupo benzoilo en el carbono 2.

Lezerovich(21) estudió la contribución del 2-O-benzoilo en las O-benzoil-D-glucosas con estructura furanósica y de cadena abierta.

En el caso de la 1,2,3,5,6-penta-O-benzoil-D-glucosa y 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-D-glucosa que tienen ciclo furanósico encontró que la contribución del benzoilo en posición 2 a la formación del benzamido grupo en el carbono 1 era de 0,12±0,01 moles y 0,11±0,01 moles respectivamente y que en el primer caso los O-benzoilos de los carbonos 3, 5 y 6 contribuían con 1,37±0,02, o sea que eran estos los que se transponían fundamentalmente al carbono 1 para dar la N,N'-dibenzoil-D-glucosilidéndiamina. Estos datos están en concordancia con lo que ocu-

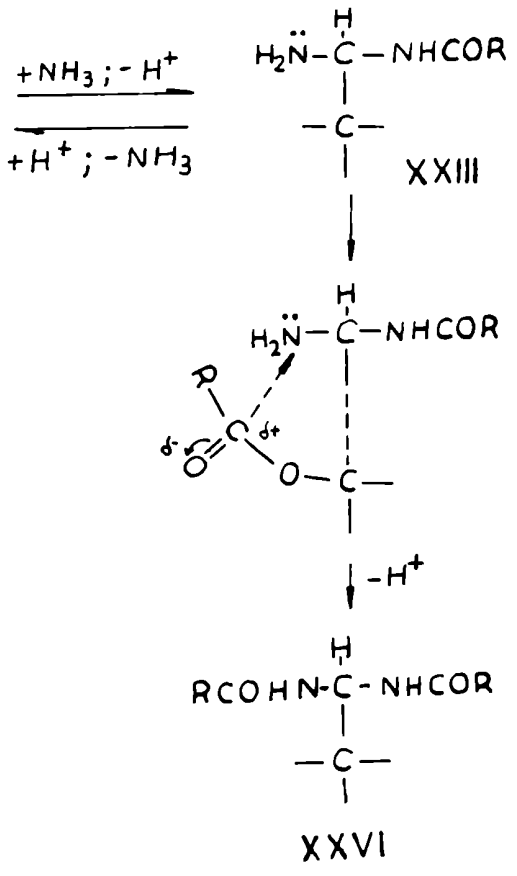
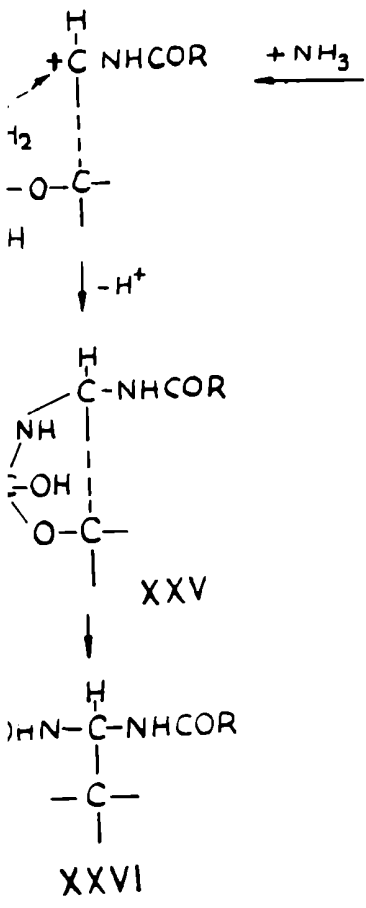
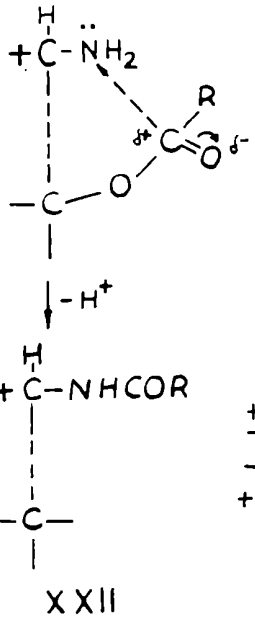
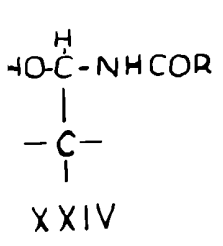
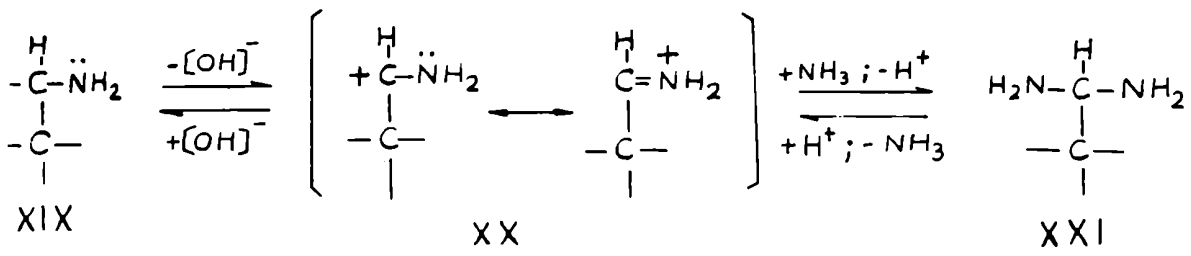
re en los derivados piranósicos.

En cambio, en el caso de la 2,3,4,5,6-penta-O-benzoil-D-glucosa y de su derivado bisulfítico, el 1-sulfonato de sodio-2,3,4,5,6-penta-O-benzoil-D-glucitol que tienen estructura de cadena abierta, la contribución del 2-O-benzoilo es fundamentalmente diferente, $0,78 \pm 0,02$ y $0,80 \pm 0,02$ respectivamente, mientras que la contribución de los cuatro O-benzoilos restantes es de $1,15 \pm 0,02$ em ambos casos.

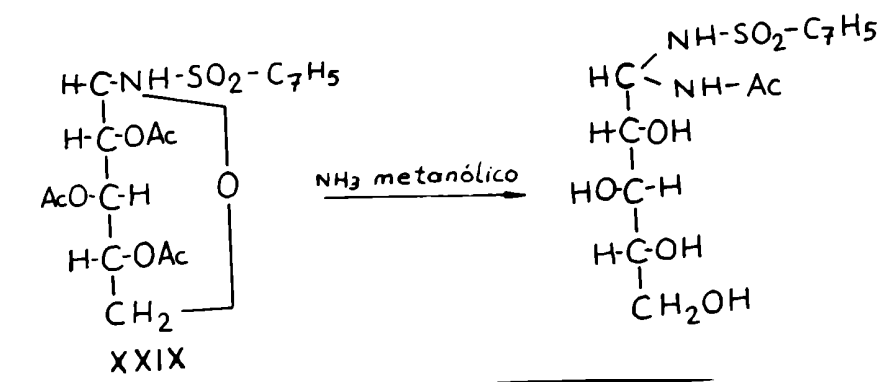
Según Lezerovich, esta marcada diferencia del comportamiento del grupo benzoilo del carbono 2 sólo podría explicarse admitiendo que las primeras etapas de la reacción son diferentes para los derivados de estructura cíclica y para los derivados de cadena abierta.

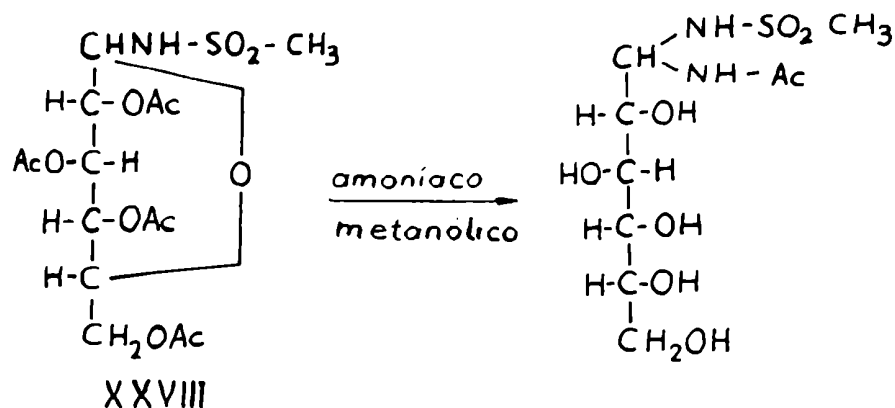
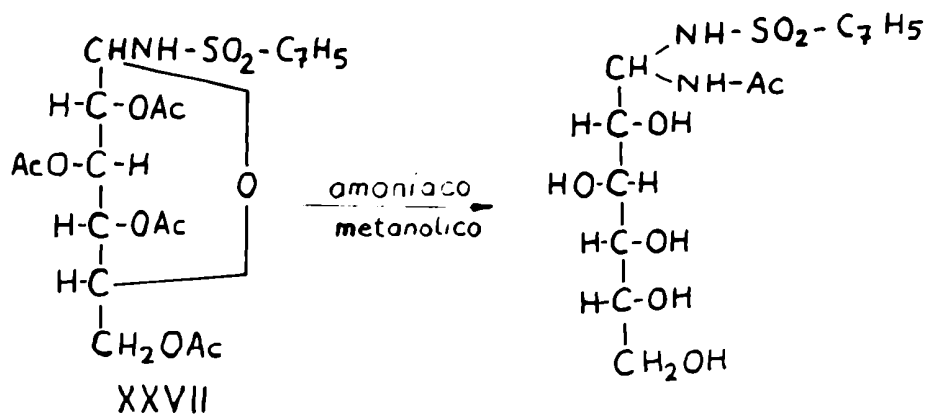
Como lo sugieren Gros, Ondetti, Sproviero, Deulofeu y Deferrari(20) es razonable admitir que la etapa inicial de la reacción consistiría en la adición de amoníaco sobre el carbonilo del carbono 1, resultando la formación de un aldehidato de amoníaco(XIX). Por otra parte Isbell y Frush(6) sugieren que la adición de amoníaco al carbonilo del carbono 1 es el primer paso en la formación de las glicosilaminas.

La migración de los grupos acilo hacia el nitrógeno sólo podría tener lugar después que se forma el aldehidato de amoníaco. La eliminación del grupo hidroxilo en XIX produciría XX y la migración de un grupo acilo en este último daría XXII. En XXII el carbono 1 que es electrofílico podría aceptar amoníaco para dar XXIII, o el amoníaco adicionándose al grupo carbonilo de un acetilo formaría con el carbono 1 un ortoéster lábil(XXV).



Un ión como el XXII podría explicar la formación de N-acil glicosilaminas. Estas se formarían durante la amonólisis de derivados acilados de monosacáridos, cuando durante la misma se libere un hidroxilo en una posición estéricamente favorecida para formar un ciclo furanósico o piranósico con el carbono 1. Las N-acil glicosilaminas no son intermediarias en la formación de las N,N'-diacil aldósilidéndiaminas ya que la amonólisis de sus acetatos o benzoatos no produce diamidas, sino que regenera las N-acil glicosilaminas originales(22), con excepción de la 2,3,4,6-tetra-O-acetil-N-p-toluénsulfonil-D-glucosilamina(XXVII), la 2,3,4,6-tetra-O-acetil-N-metánsulfonil-D-glucosilamina(XXVIII) y la 2,3,4-tri-O-acetil-N-p-toluénsulfonil-D-xilosilamina(XXIX) estudiadas por Helferich(23) y colaboradores, en las que el grupo sulfonilo, fuertemente electronegativo facilita la apertura del ciclo, con la formación de las N-p-toluénsulfonil(o N-metánsulfonil),N'-acetil glicosilidéndiaminas correspondientes



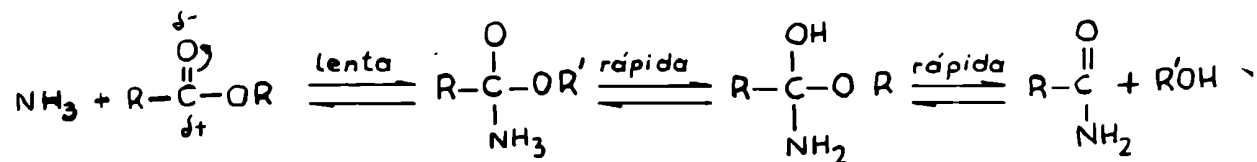


Un ión XXII podría formarse a partir de XXIV por eliminación de un anión hidroxilo; pero en XXIV la eliminación de un HO^- debería ser más difícil que en XIX porque el efecto desactivante del carbonilo adyacente al nitrógeno dificultaría la rotura heterolítica de la unión $\text{HO}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-\left(\text{HO}-\overset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\overset{\text{R}}{\text{N}}-\overset{\text{R}}{\text{C}}\right)$

Por otra parte puede formarse la diamina XXI y dos migraciones sucesivas darían la diamida XXVI. Este tipo de diaminas han sido preparadas a partir de aldehidos simples y aminas, pero ellas regeneran fácilmente los iones del tipo XX de los que se parte. Además estas diaminas no han sido preparadas a partir de aldosas, por lo cual parece poco probable la posibilidad de un

intermediario como el XXI.

La adición de NH_2 de un grupo $\text{R}-\overset{\overset{\text{NH}_2}{|}}{\underset{\underset{\text{OH}}{|}}{\text{C}}}-\text{O}-\overset{\overset{|}}{\underset{\underset{|}}{\text{C}}}-$ al carbono 1 de XXII para formar XXV parecería también poco probable porque este grupo se formaría por la adición de amoníaco sobre un éster según el esquema siguiente:



Luego de la adición de amoníaco (lenta) los pasos posteriores serían rápidos, terminando con la formación de amida y alcohol, lo cual hace pensar que sería más lógico que en la amonólisis, la adición de amoníaco sobre un grupo acilo provocaría principalmente la pérdida del mismo como amida. Por otra parte el amoníaco es más nucleofílico que el grupo $\text{R}-\overset{\overset{\text{NH}_2}{|}}{\underset{\underset{\text{OH}}{|}}{\text{C}}}-$ y por ende reaccionaría más fácilmente con el carbono 1 deficitario en electrones dando XXIII, el cual por migración de otro acilo daría la diamida XVI, por lo cual y aunque sin apoyo experimental que lo confirme se prefiere el camino XIX \rightarrow XX \rightarrow XXII \rightarrow XXIII \rightarrow XXVI.

INFLUENCIA DEL SOLVENTE EN LA FORMACION DE N,N'-DIACIL ALDOSILIDENDIAMINAS Y N-ACIL ALDOSILAMINAS

Por análisis de los resultados obtenidos en las degradaciones de Wohl de los nitrilos acilados pueden sacarse algunas conclusiones de carácter general, que muestran la influencia de los distintos medios que se emplearon en dichas reacciones.

Así, puede verse que los mayores rendimientos en N,N'-diacetil aldósilidéndiaminas, partiendo de derivados acetilados, se obtienen usando amoníaco acuoso como en los siguientes casos:

	Rendimiento en N,N'-diacetil aldósilidéndiamina
tetra-O-acetil-L-xilononitrilo(24)	70%
tetra-O-acetil-D-xilononitrilo(3)	70%
penta-O-acetil-D-galactononitrilo(24)	72%

El reemplazo de amoníaco acuoso por amoníaco con óxido de plata en disolución, provoca una disminución en el rendimiento de "aldosa diamida". Ello puede verse en el siguiente cuadro comparativo:

	Rendimiento en N,N'-diacil aldósilidéndiamina	
	amoníaco acuoso	amoníaco acuoso- óxido de plata
tetra-O-acetil-L-xilononitrilo	70%(24)	30%(25)
penta-O-acetil-D-galactononitrilo	72%(24)	40%(25)

Cuando se utiliza metanol saturado con amoníaco se obtiene aún más bajos rendimientos de "aldosas diamidas". Por ejemplo:

Rendimiento en N,N'-diacil
aldósilidéndiamina

tetra-O-benzoil-L-arabonitrilo	19%(12)
hexa-O-acetil-D-glicero-D-galacto-heptonitrilo	34%(4)
hexa-O-benzoil-D-glicero-D-galacto heptonitrilo	33%(4)
tetra-O-benzoil-D-xilonitrilo	18,3%(12)

El empleo de etanol saturado con amoníaco(12%), permite obtener derivados parcialmente acilados en el hidroxilo primario. Esta variación no se observó con metanol y con agua. Por ejemplo:

	Sustancia aislada	%
penta-O-benzoil-D-glucononitrilo	5-O-benzoil-N,N'-dibenzoil-D-arabinosilidén diamina	25(26)
penta-O-benzoil-D-manononitrilo	5-O-benzoil-N,N'-dibenzoil-D-arabinosilidén diamina.	14(26)
penta-O-benzoil-D-galactononitrilo	5-O-benzoil-N,N'-dibenzoil-D-lixosilidén diamina	22(26)

Cabe destacar que en estas últimas experiencias, además de la diferente concentración de amoníaco, el tiempo de reacción fué de 3 hs., mientras que en general en las otras experiencias el tiempo fué de 16 hs. o más.

Diversos investigadores estudiaron este aspecto de la reacción de Wohl. Así, Deferrari, Deulofeu y Recondo(27) trataron la 5-O-benzoil-N,N'-dibenzoil-D-lixosilidéndiamina con metanol saturado de amoníaco(16%) durante 24 hs., con lo cual se produjo la amonólisis del grupo benzoilo del carbono 5 y obtuvieron N,N'-dibenzoil-D-lixosilidéndiamina.

Según lo demostraron las investigaciones realizadas por diversos autores el tiempo de reacción y la concentración del

amoníaco empleado tienen menor importancia que la naturaleza del solvente empleado.

Recondo(28) observó que si se hacía actuar metanol con 12% de amoníaco(es decir, una concentración análoga a la del etanol) sobre la 5-O-benzoil-N,N'-dibenzoil-D-lixosilidéndiamina durante 2 hs. se eliminaba también el grupo benzoilo y se obtenía la N,N'-dibenzoil-D-lixosilidéndiamina.

La misma experiencia realizada con etanol saturado de amoníaco, durante mayor tiempo de contacto(24 hs.) condujo a idéntico resultado.

Estos hechos demuestran que no era sólo la concentración de amoníaco sino el solvente y el tiempo de reacción los factores que determinaban el curso de la misma.

Un mayor tiempo de contacto hacía que el amoníaco, aún en etanol, eliminara el benzoilo del carbono 5. Esto lo confirmó Recondo(28) repitiendo la amonólisis del penta-O-benzoil-D-galactonitrilo realizada por Restelli de Labriola y Deulofeu(26), pero llevando el tiempo de contacto de 3 hs. a 24 hs. con lo que obtuvo la N,N'-dibenzoil-D-lixosilidéndiamina.

Manteniendo constante el tiempo de reacción y variando el solvente y la concentración de amoníaco se obtuvo otra evidencia de que en el curso de la reacción el solvente tenía un papel más importante que la concentración de amoníaco. La reacción del penta-O-benzoil-D-galactonitrilo con etanol-amoníaco 12% durante 3 hs. produjo la 5-O-benzoil-N,N'-dibenzoil-D-lixosilidéndiamina, mientras que tratando la misma sustancia con metanol con 12% de amoníaco durante el mismo lapso se obtenía una mez-

cia de la N,N'-dibenzoil-D-lixosilidéndiamina y su 5-O-benzoil derivado. Recondo comprobó además, que ni aún reduciendo la concentración de amoníaco en metanol hasta el 4% podía obtener como único producto la 5-O-benzoil-N,N'-lixosilidéndiamina, la que siempre apareció acompañada de la N,N'-dibenzoil-D-lixosilidéndiamina. En otra serie de experimentos Gros, Lezerovich, Recondo, Deulofeu y Deferrari(29) mantuvieron constantes las concentraciones de amoníaco y el tiempo y variaron el solvente; empleando metanol con 5,5% de amoníaco y haciéndolo reaccionar durante 13 hs. con penta-O-benzoil-D-galactonitrilo y penta-O-benzoil-D-gluconitrilo obtuvieron las N,N'-dibenzoil aldossilidéndiaminas correspondientes, mientras que con isopropanol 5,5% de amoníaco en las mismas condiciones aislaron los 5-O-benzoil derivados.

Por otra parte Ondetti(30) estudió la acción del isopropanol con 6,5 de amoníaco sobre el tetra-O-benzoil-L-arabonitrilo y sobre la 2,3,4,5-tetra-O-benzoil-N,N'-dibenzoil-D-arabinosilidéndiamina y la 2,3,4,5-tetra-O-benzoil-N,N'-dibenzoil-D-lixosilidéndiamina, efectuando simultáneamente degradaciones comparativas en medio metanólico con 6% de amoníaco.

De la amonólisis de la N,N'-dibenzoil-D-arabinosilidéndiamina tetrabenzoilada en medio isopropanólico se obtuvo un residuo no cristalizabile, mientras que con metanol con 6% de amoníaco se aisló un 60% de N,N'-dibenzoil-D-arabinosilidéndiamina.

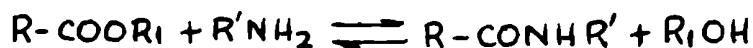
La tetra-O-benzoil-N,N'-dibenzoil-D-lixosilidéndiamina prácticamente no se amonolizó, tratada con isopropanol amoniacal durante 13 hs. En el mismo lapso, empleando metanol amoniacal con

la misma concentración obtuvo la N,N'-dibenzoil-D-lixosilidéndiamina.

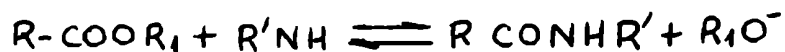
Estas experiencias apoyan las conclusiones que con respecto al papel del solvente destacaron los autores mencionados anteriormente, aunque se debe señalar que en la degradación de Wohl, que Ondetti aplicó a 1 g. de tetra-O-benzoil-L-arabonitrilo sólo pudo aislar 50 mg. de N,N'-dibenzoil-D-eritrosilidéndiamina. Como lo señala el mismo Ondetti, es difícil deducir alguna conclusión de este resultado anómalo en reacciones que como la anterior dan tan bajo rendimiento.

Una explicación sobre los factores que influyen en los comportamientos antes descriptos puede surgir del análisis de estudios cinéticos realizados sobre la aminólisis de ésteres (siendo la aminólisis un caso particular). Las conclusiones de estos estudios se pueden aplicar cualitativamente al caso de los hidratos de carbono.

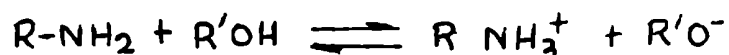
Betts y Hammett(31) estudiaron cinéticamente la aminólisis de ésteres y en base a los resultados obtenidos postularon que la misma podía efectuarse según un mecanismo no catalizado:



y también, mediante una catálisis básica, por la presencia del ión amiduro(NH₂⁻):



Los iones amiduros se producirían mediante el preequilibrio:



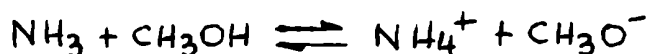
En sus experiencias, Betts y Hammett comprobaron que la velocidad de aminólisis es aumentada por la adición de iones alcóxi-

te nucleofílico poderoso, los ésteres carboxílicos no reaccionan fácilmente con amoníaco de sodio en amoníaco líquido.

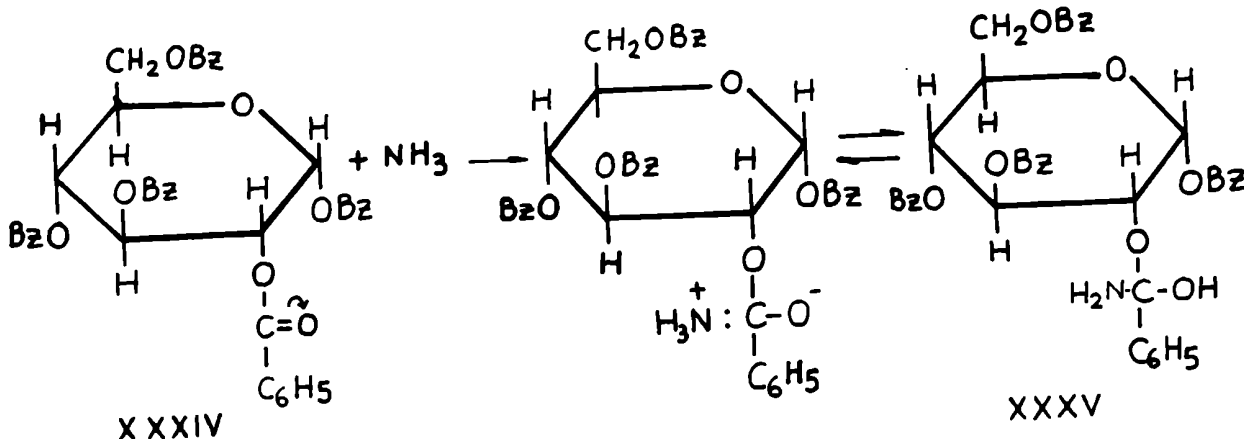
Bunnett y Davis explican este comportamiento como debido a la lenta eliminación del ión alcóxido del intermediario XXXIII mediante catálisis ácida, por cuanto en amoníaco líquido conteniendo iones amoníaco una catálisis ácida debe ser muy improbable.

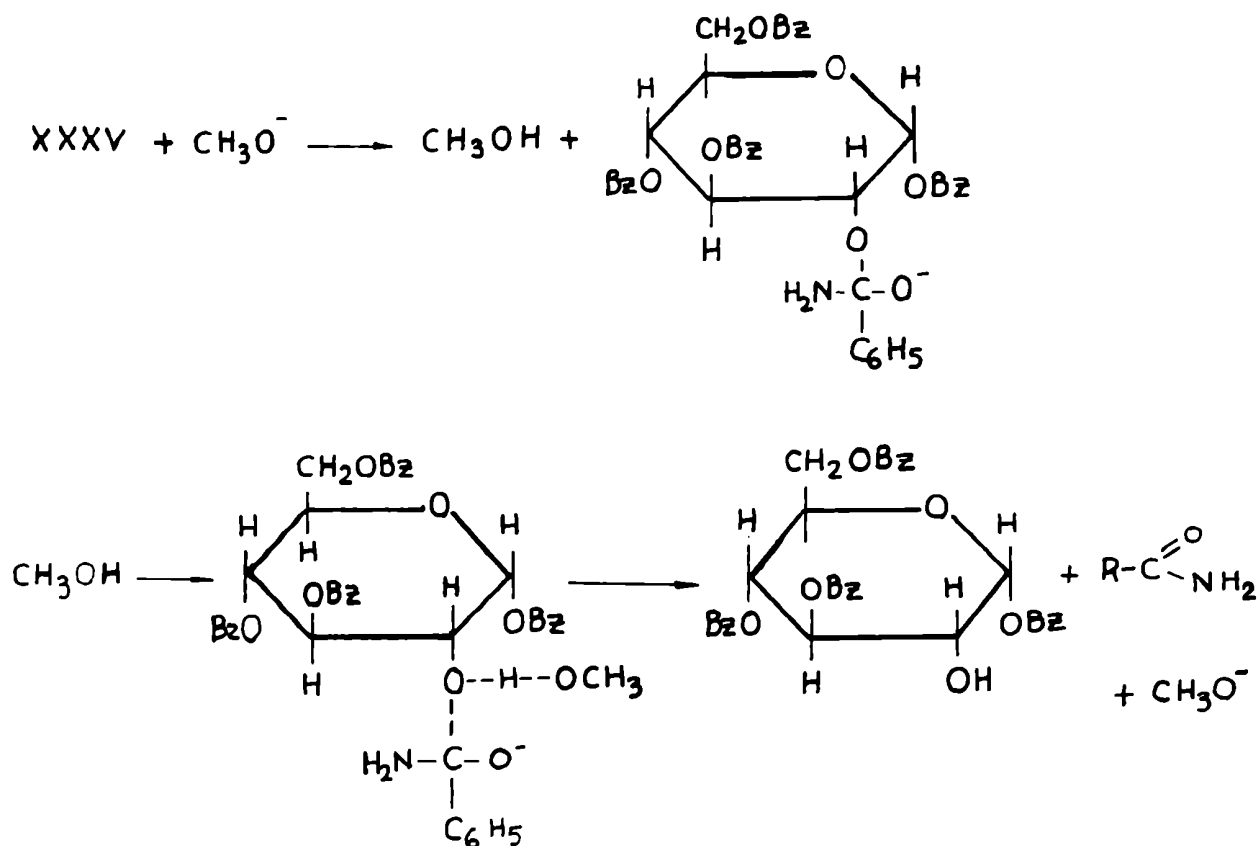
Cadenas y Deferrari(33), considerando que en la amonólisis de hidratos de carbono acilados se producen varias reacciones competitivas entre las cuales las más importantes serían: a) la amonólisis total de los grupos acilos, y b) formación de "aldosas diamidas" mediante el mecanismo de ortoésteres ya descrito, aplicaron las consideraciones generales de Bunnett y Davis a la reacción del amoníaco con ésteres de hidratos de carbono para interpretar la amonólisis total de los acilos.

En metanol amoniacal se produciría el pre-equilibrio:



Entonces, de acuerdo con el mecanismo propuesto por Bunnett y Davis, proponen para la amonólisis de la penta-O-benzoil- α -D-gluconiranososa(XXXIV) el mecanismo siguiente:

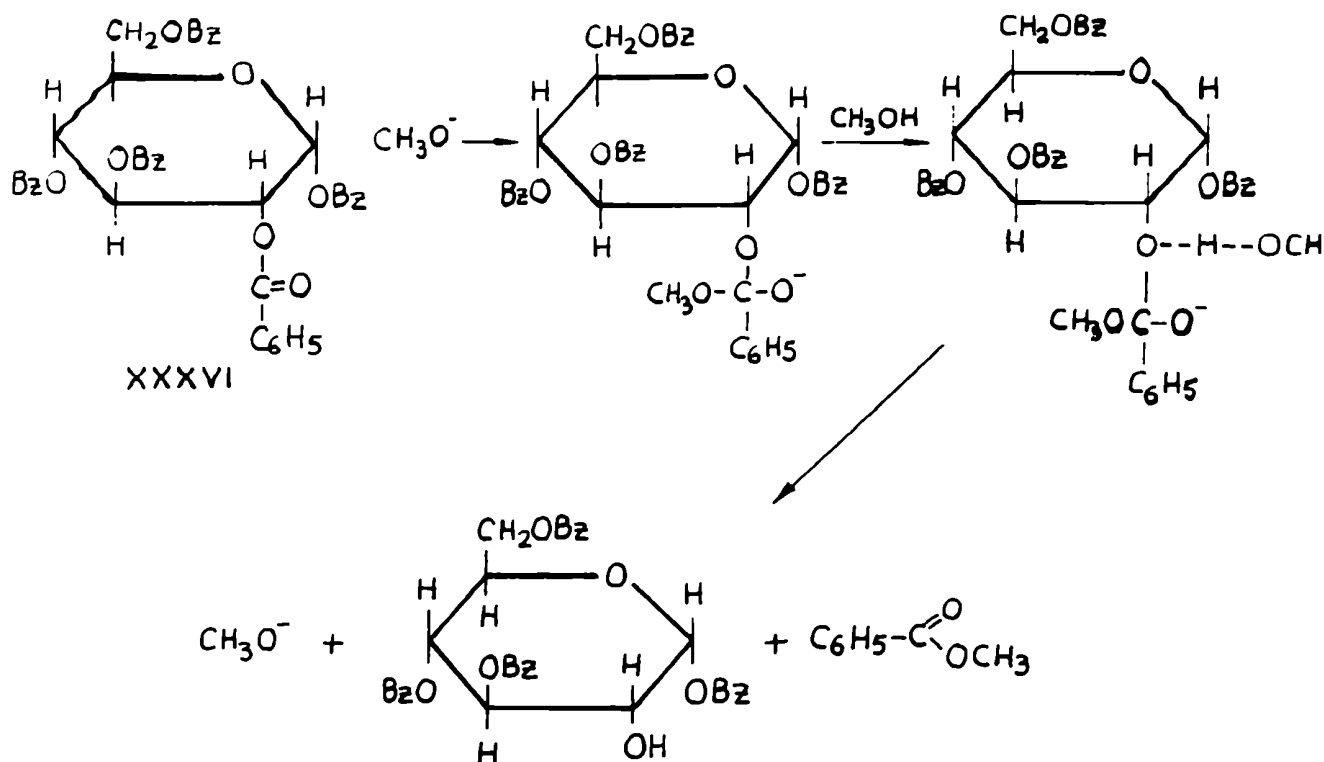




El incremento de la concentración de iones alcóxido debe incrementar la velocidad de amonólisis, lo cual implicaría que un número menor de moléculas de acil derivados reaccionarían de acuerdo al mecanismo de formación de ortoésteres que conduce a "aldosas diamidas", y a esa razón se atribuye que en un medio metanólico el rendimiento de esas sustancias es comparativamente menor.

Cadenas y Deferrari(33) comprobaron el efecto del aumento de la concentración de iones metóxido haciendo una amonólisis comparativa de penta-O-benzoil- α -D-glucopiranos(XXXVI) en medio metanólico, con y sin agregado de sodio. Con el agregado de 0,00125 moles de sodio disminuyó el rendimiento de N,N'-diben-

zoil-D-glucosilidéndiamina de 25,5% a 14% y aumentó la cantidad de benzoato de metilo producido en dicha reacción de 5% a 13%. Según Cadenas y Deferrari, la presencia de benzoato de metilo, como producto normal de la reacción demuestra que tiene lugar una tercer reacción competitiva en la que los iones metóxido del medio catalizan el siguiente mecanismo de transesterificación:



Resulta así difícil atribuir la disminución del rendimiento de aldosas diamidas, cuando aumenta la concentración de iones alcóxido, únicamente a un aumento en la velocidad de amonólisis.

Deferrari y Cadenas(33) describen **asimismo** la experiencia realizada con β -octa-O-acetil maltosa con amoníaco metanólico 16% y amoníaco acuosos 25%. En el primer caso el rendimiento de

N,N'-diacetil maltosilidéndiamina fué de 1%, mientras que en el segundo alcanzó a 27%. El aumento del rendimiento en medio acuoso se debe a que si en la ecuación 2 el agua reemplaza al metanol, siendo el agua un ácido más débil que el metanol, el equilibrio debe desplazarse hacia la izquierda, y por ello una mayor cantidad de moléculas puede seguir el mecanismo de orto-ésteres dando "aldosa diamida".

La ausencia de iones alcóxido y amiduro en amoníaco líquido explicaría que en el experimento de Zechmeister y Toth(42) no se haya producido celobiosa libre.

Hine y Hine(34) han demostrado que el etanol, el isopropanol o el ter-butanol son ácidos más débiles que el agua, de modo que la escala de acidez relativa en sentido decreciente es:

metanol > agua > etanol > isopropanol > ter-butanol

Entonces si en la ecuación 2 se reemplaza metanol por etanol el equilibrio se desplaza hacia la izquierda, con lo que disminuye la concentración de iones alcóxido, es decir disminuye la velocidad de amonólisis y la de transesterificación.

Esto explica que Restelli de Labriola y Deulofeu hayan aislado pentosas diamidas con un benzoilo esterificando el hidroxilo primario, cuando amonolizaron los nitrilos acilados de las hexosas correspondientes con etanol saturado con amoníaco.

LA ESTRUCTURA DE N,N'-DIACIL ALDOSILIDENDIAMINAS Y N-ACIL
ALDOSILAMINAS

La determinación de las estructuras de las N-acil aldósilaminas y las N,N'-diacil aldósilidéndiaminas no presenta grandes dificultades en el caso de los derivados de los monosacáridos, dada la estabilidad que tienen los grupos N-acilo en las reacciones que se utilizan para tal fin.

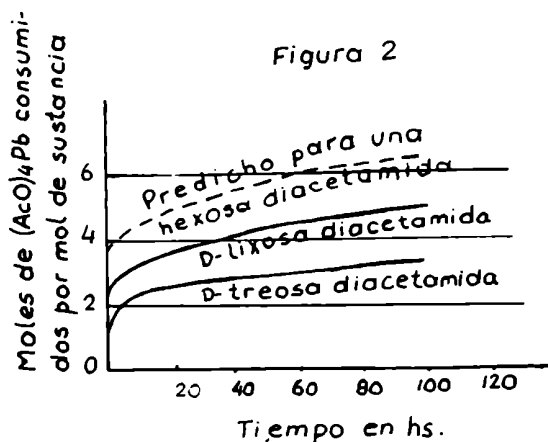
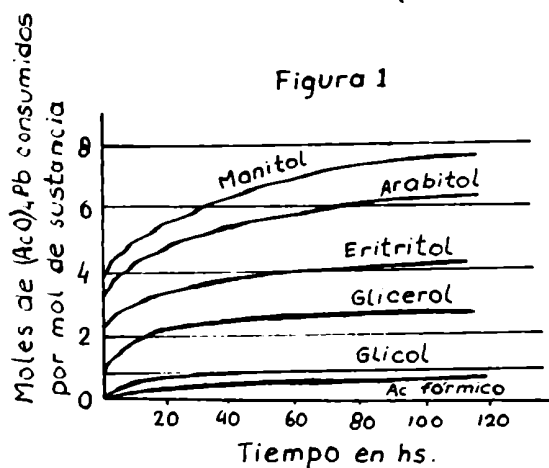
Las oxidaciones con tetraacetato de plomo y ácido peryódico permiten establecer el tipo de ciclo, furanósico o piranósico, de acuerdo a los productos formados en la oxidación y al número de moles de oxidante consumidos.

Hockett, Dienes, Fletecher y Ramsden(35) efectuaron la oxidación con tetraacetato de plomo de algunos polioles de cadena abierta y de cuatro N,N'-diacetil aldósilidéndiaminas(N,N'-diacetil treosilidéndiamina, N,N'-diacetil eritrosilidéndiamina, N,N'-diacetil arabinosilidéndiamina, N,N'-diacetil lixosilidéndiamina) y establecieron las curvas de oxidación de esos compuestos en función del número de moles de oxidante gastados y del tiempo que duraba la oxidación.

Los resultados de las experiencias se muestran en las fig. 1 y 2. Puede notarse en la figura 1 que la configuración de un polialcohol de cadena abierta no tiene efecto sobre el curso de la reacción. Así, por ejemplo, el manitol, el dulcitol, y el sorbitol presentan curvas similares que prácticamente no difieren entre sí y por ello la curva de oxidación del manitol expresa correctamente el comportamiento de los otros polialcoholes. Por otra parte los autores destacaron que las curvas de oxida-

ción se disponen en una serie de familias de curvas, y que la posición de las mismas con respecto a las coordenadas son función del número de hidroxilos libres.

La figura 2 muestra el comportamiento de "aldosas diamidas" en la oxidación con tetraacetato de plomo.

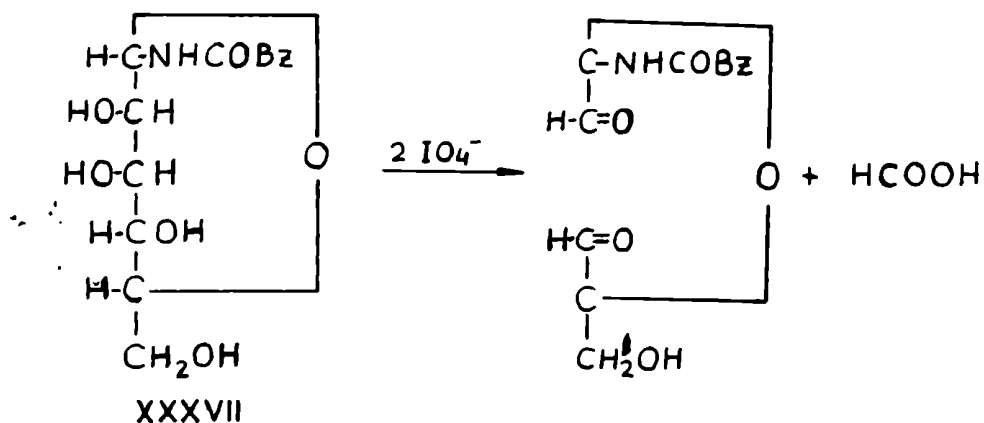


Hockett, Dienes, Fletcher y Ramsden compararon estas curvas con la de los polialcoholes de igual número de hidroxilos libres observando gran analogía entre ellas, lo que está de acuerdo con la estructura de cadena abierta propuesta para las N,N' -diacil aldósilidéndiaminas.

Los estudios de oxidación con ácido peryódico y tetraacetato de plomo permitieron establecer la estructura de las N -acil aldósilaminas aisladas en las reacciones de derivados acilados de monosacáridos y de sus nitrilos con amoníaco: N -acetil- D -glucosilamina, N -benzoil- D -manosilamina y N -benzoil- L -ramnosilamina.

En la oxidación de la N -benzoil- D -manosilamina(XXXVII), Deferrari y Deulofeu(36) comprobaron que después de 24 hs. a temperatura ambiente se consumieron dos moles de peryodato de sodio y se produjo un mol de ácido fórmico, mientras que no se

puedieron detectar la presencia de formaldehído. Estos datos están de acuerdo con la estructura piranósica que los autores asignaron a ese derivado.

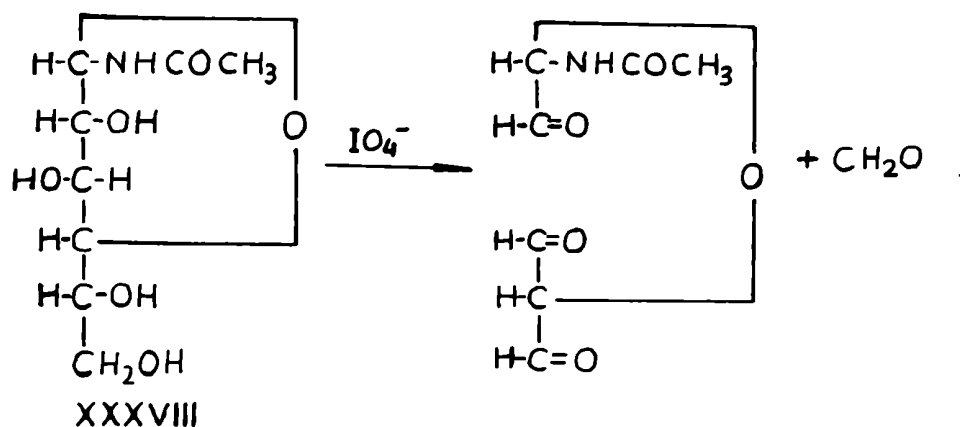


Deulofeu y Deferrari(36) obtuvieron un resultado análogo con la N-benzoil-L-ramnosilamina, a la cual también le asignaron estructura piranósica.

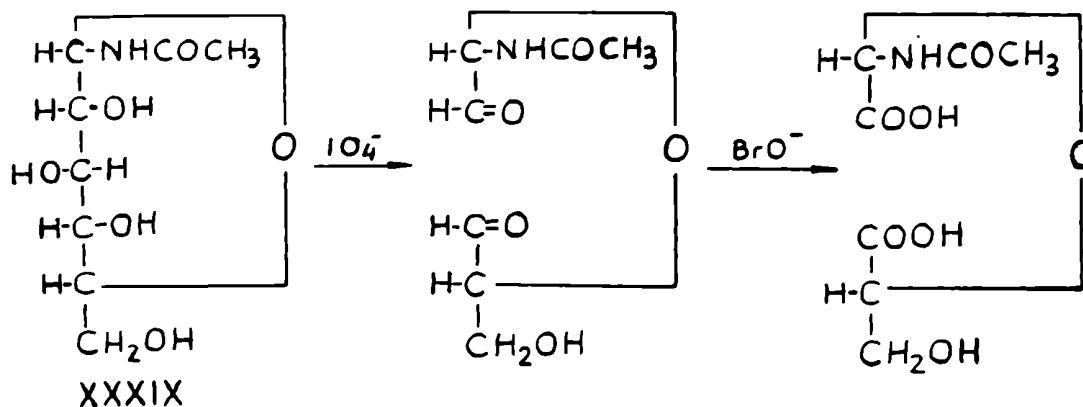
El estudio de la estructura de la N-acetil-D-glucosilamina fué algo más laborioso que en los casos anteriores. Brigl y Keppler(37) en 1929 obtuvieron una N-acetil-D-glucosilamina de $[\alpha]_D -22,4^\circ$, por amonólisis con metanol amoniacal de la penta-O-acetil- β -D-glucosilamina obtenida por acetilación de la D-glucosilamina. Esta misma sustancia fué obtenida por Niemann y Hays (33) en 1940, tratando una solución de D-glucosilamina en metanol con cetena.

Hockett y Chandler(17) anunciaron en 1944 la obtención de una segunda N-acetil-D-glucosilamina de $[\alpha]_D +87^\circ$, mediante la acción de amoníaco sobre la penta-O-acetil-aldehído-D-glucosa o el hexa-O-acetil-D-glicero-D-gulo heptononitrilo con rendimientos de

56 y 26% respectivamente. Hockett y Chandler estudiaron la estructura de la N-acetil-D-glucosilamina (XXXVIII) obtenida por ellos, aplicando la oxidación con tetraacetato de plomo. De la oxidación aislaron formaldehído como 2,4-dinitro fenilhidrazona y por ello atribuyeron la estructura furanósica a esa sustancia. En efecto, una estructura furanósica es compatible con ese experimento:



Niemann y Hays(33) aplicaron la oxidación con ácido peryódico, continuando luego con agua de bromo, a la N-acetil-D-glucosilamina (XXXIX) $[\alpha]_D^{25} -22,4^\circ$ obtenida por ellos. Aislaron la sal de Ba de un ácido dibásico, que sometida a hidrólisis condujo a la obtención de ácido D(+)-glicérico. Esta experiencia indicó sin lugar a dudas la estructura piranósica de la sustancia estudiada.



Posteriormente Miemann y Hays(39) obtuvieron la N-acetil-D-glucosilamina de $[\alpha]_D +37^\circ$ por amonólisis con amoníaco metanólico de la penta-O-acetil-D-glucopiranososa con 8% de rendimiento. Estos investigadores compararon el comportamiento de las dos N-acetil-D-glucosilaminas mediante la oxidación con tetraacetato de plomo y con ácido peryódico. Los datos correspondientes al estudio con tetraacetato de plomo se dan en la tabla III

TABLA III

Moles de tetraacetato de plomo

tiempo	N-acetil-D-glucosilamina $[\alpha]_D -22,4^\circ$	N-acetil-D-glucosilamina $[\alpha]_D +37^\circ$
10	0,55	2,35
20	1,00	2,72
30	1,36	2,92

40	1,64	3,06
50	1,84	3,15
60	1,98	3,23
70	2,10	3,28
80	2,18	3,32
90	2,23	3,34
100	2,28	3,36
110	2,30	3,37
120	2,32	3,38

En el caso de la N-acetil-D-glucosilamina de $[\alpha]_D -22,4^\circ$ que tiene ciclo piranósico, la velocidad de oxidación es más lenta, consumiendo algo más de 2 moles de oxidante por mol de azúcar, lo que está de acuerdo con los estudios anteriores. Con la N-acetil-D-glucosilamina de $[\alpha] +37^\circ$ que tiene ciclo furanósico encontraron una situación análoga a la observada en la oxidación de β -etil-D-galactofuranósido, estudiado por Hockett, Nicherson y Reeder(40). Estas experiencias para las dos N-acetil-D-glucosilaminas confirmaron los trabajos anteriores, en lo que respecta a la asignación de estructuras.

Niemann y Hays(39) también efectuaron la oxidación de las dos N-acetil-D-glucosilaminas con peryodato. La N-acetil-D-glucosilamina de $[\alpha]_D +37^\circ$ se oxida empleando una cantidad anómala de peryodato(5 moles). La única conclusión que pudieron sacar de estas oxidaciones con peryodato es que las dos N-acetil-D-glucosilaminas no son isómeros α y β , sino que difieren en el tamaño del ciclo.

Merece destacarse que el consumo anómalo de tetraacetato de plo-

no o de peryodato en algunas oxidaciones es atribuido a reacciones de post-oxidación sobre los productos originados en las primeras etapas de la reacción.

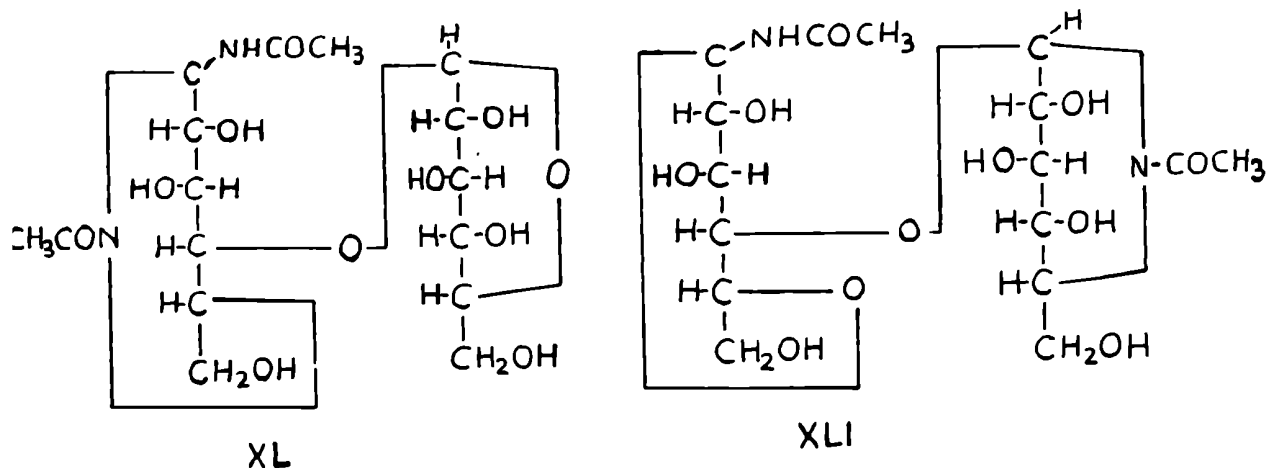
Hockett, Dienes, Fletcher y Ramsden(35) indicaron que la oxidación del ácido fórmico formado era una causa muy importante para explicar el gasto excesivo de tetraacetato de plomo. Estos autores estudiaron la oxidación del ácido fórmico en condiciones comparativas con diversos polioles y observaron que únicamente el etilén-glicol (que no produce ácido fórmico por oxidación) cesa de consumir oxidante cuando llega al nivel teórico de un mol y que a las 120 hs. el ácido fórmico consume un mol de tetraacetato de plomo.

Por último Deferrari y Deulofeu(36) estudiaron en forma precisa la oxidación de la N-acetil-D-glucofuranosilamina de $[\alpha]_D^{20} +87^\circ$ con peryodato de sodio a 35° . Estos autores observaron que se consumía un mol de peryodato rápidamente, produciéndose un mol de formaldehído y no pudieron detectar en ese momento ácido fórmico, lo cual indicaba una ruptura oxidativa entre los carbonos cinco y seis y afirmaba la validez de la estructura furanósica asignada. La reacción se produjo luego lentamente, comenzándose a observar la presencia de ácido fórmico después de 1 hora. A las 28 horas de iniciada la reacción se habían consumido 5,23 moles de peryodato con producción de alrededor de 3 moles de ácido fórmico. Según Fleury(41) esta post-oxidación es debida a la formación de aldehído tartrónico que después se sigue oxidando.

En el caso de los diacetamido derivados obtenidos por la acción del amoníaco sobre los octaacetatos de disacáridos tam-

bién fué necesario determinar su estructura.

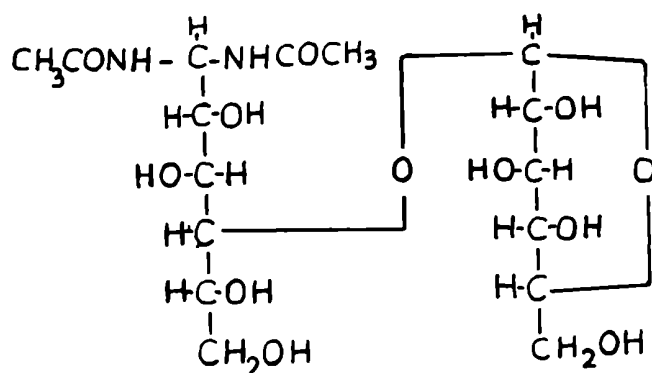
Zechmeister y Toti(42) en 1936 obtuvieron una N,N'-diacetil celóbiosilidéndiamina, a la que le asignaron como posibles las estructuras XL y XLI.



Cadenas y Deferrari obtuvieron N,N'-diacetil amaltosilidéndiamina(33), N,N'-diacetil lactosilidéndiamina(44) y N,N'-diacetil celobiosilidéndiamina(43), como resultado de la acción del amoníaco metanólico 16% sobre los octaacetatos de los disacáridos correspondientes y por analogía con las estructuras de "aldosidas diamidas" de monosacáridos, propusieron para las N,N'-diacetil aldobiosilidéndiaminas derivadas de disacáridos, estructuras acíclicas como la XLII, asignada a la N,N'-diacetil celobiosilidéndiamina.

Deferrari y Cadenas consideraron que la estructura XLI sería muy poco probable y que la elección entre XL y XLII en base a los datos analíticos, era difícil por cuanto estas sustancias cristalizan a veces con moléculas de disolvente, por lo cual puede pro-

cirse una variación en los resultados del análisis elemental según las condiciones de secado.



XLII

Deferrari y Cadenas (45) resolvieron este problema estructural por metilación de las N,N'-diacetil aldobiosilidéndiaminas obtenidas por ellos, mediante el aislamiento e identificación de las sustancias obtenidas luego de la hidrólisis de los "octametil diamido" derivados. Utilizaron la técnica de metilación con yoduro de metilo y óxido de bario en dimetilformamida de Kuhn y Baer ligeramente modificada. La hidrólisis de las octa-O-metil-N,N'-diacetil aldobiosilidéndiaminas la realizaron en condiciones muy suaves (25 minutos a 100° en medio de ácido sulfúrico 1N), porque de otra manera se destruía parte de la molécula.

En el caso de la N,N'-diacetil lactosilidéndiamina, aislaron mediante cromatografía en columna de celulosa la 2,3,5,6-tetra-O-metil-D-glucosa y la 2,3,4,6-tetra-O-metil-D-galactosa que identificaron por el poder rotatorio y por la preparación de algunos derivados.

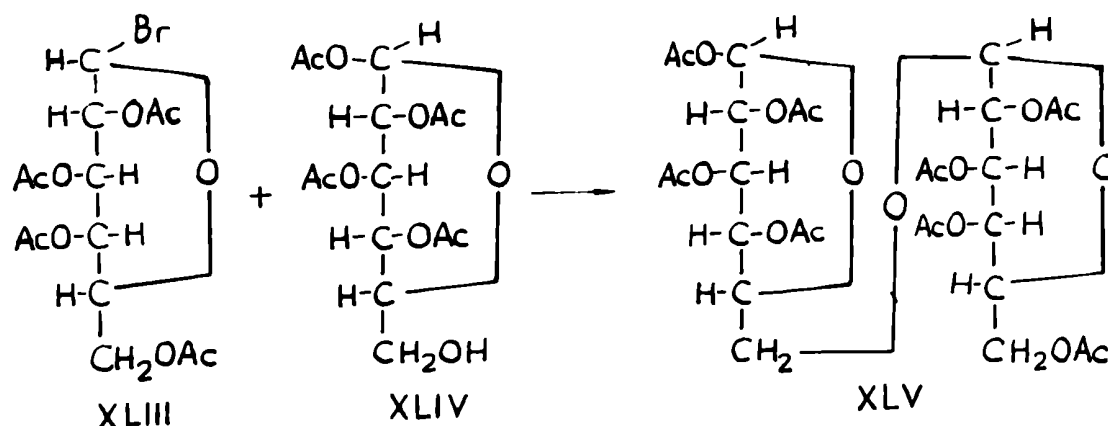
El estudio estructural mediante la metilación de las N,N'-diacetil celobiosilidéndiamina y N,N'-diacetil maltosilidéndiamina

que difieren solamente en la configuración glicosídica condujo a la obtención de sus octametil derivados. Los productos de hidrólisis, que en ambos casos no pudieron separar por cromatografía en columna de celulosa o de alúmina, fueron identificados como 2,3,4,6-tetra-O-metil-D-glucosa y 2,3,5,6-tetra-O-metil-D-glucosa por cromatografía gas-líquido.

LA REACCION DE KOENIGS-KNORR

La reacción de Koenigs-Knorr aplicada a la síntesis de disacáridos consiste en la condensación de un acetohalógeno azúcar con un derivado de hidrato de carbono que tenga un hidroxilo libre, y los restantes hidroxilos convenientemente protegidos.

Esta síntesis involucra el uso de un solvente, la presencia de un agente condensante, de un anhidrizante y a veces la adición de una pequeña cantidad de yodo. Por ejemplo, la condensación de 1- α -bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-galactopiranosas (XLIII) con 1,2,3,4-tetra-O-acetil- β -D-glucosa (XLIV) en presencia de carbonato de plata, cloruro de calcio y yodo dió 70% de octa-O-acetil-6- β -D-galactopiranosil- β -D-glucosa (XLV) (46).



El rendimiento en la síntesis de disacáridos es bueno (50-70%), cuando el acetohalógeno azúcar se condensa con un hidroxilo primario y mucho menor (frecuentemente menos del 10%) cuando la reacción involucra un hidroxilo hemiacetalico o secundario (47).

Un primer tipo de intermediario con un hidroxilo libre(el hidroxilo hemiacetálico) utilizado en la reacción de Koenigs-Knorr, fué la 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranososa, preparada por E. Fischer y Delbrück(48). Luego Helferich(49) y colaboradores sintetizaron el segundo tipo de intermediario(con el hidroxilo del carbono primario libre), empleando la tritilación en el hidroxilo primario, seguida de acetilación de los restantes y eliminación del tritilo por tratamiento con ácido bromhídrico en ácido acético. Posteriormente Freudenberg(50) y colaboradores introdujeron el empleo del grupo isopropilidénico como agente bloqueante aplicándolo a la galactosa. También se han utilizado metil y bencilidén(51) derivados en diferentes posiciones.

La síntesis de disacáridos(y oligosacáridos) involucra el uso de un solvente inerte(cloroformo, benceno, tetracloruro de carbono, éter, dioxano, xileno, acetonitrilo o nitrometano), con el objeto de disolver el acetohalógeno azúcar y el derivado hidroxilado. No hay un estudio sistemático de la influencia de la polaridad del disolvente en la síntesis de disacáridos, aunque el papel del solvente en la síntesis de glicósidos usando la reacción de Koenigs-Knorr ha sido discutido por Isbell y Frush(52). Según algunos autores el uso del yodo, tendría precisamente la finalidad de aumentar la polaridad del solvente, aunque también se emplea con el objeto de disminuir la proporción del ortoéster que se forma en algunas reacciones.

Los agentes bloqueantes utilizados(óxido de plata, carbonato de plata, quinolina) actuarían como reactivos electrofílicos con el fin de eliminar el halógeno del derivado correspondiente(53).

Se ha comprobado en la síntesis de glicósidos que si el componente halogenado y el alcohólico son suficientemente reactivos no es indispensable la presencia de un agente condensante(54).

Un factor de enorme importancia en la reacción de Koenigs-Knorr es la ausencia de humedad. El acetohalógeno derivado reacciona más rápido con el agua que con el hidroxilo de la segunda molécula del azúcar dando un azúcar con el hidroxilo libre en el carbono 1, que puede reaccionar también con el acetohalógeno derivado. Estas reacciones laterales pueden ser disminuídas manteniendo la concentración de agua en un mínimo; para ello se usan desecantes internos que se combinan con el agua a medida que ésta se forma. Los primeros en usarse fueron el sulfato de sodio anhidro y el sulfato de cobre anhidro. Posteriormente se empleó cloruro de calcio y más tarde Kreider y Evans(55) introdujeron el sulfato de calcio hemihidratado(Drierita) como desecante interno. Mediante el uso de Drierita, Reynolds y Evans(56) pudieron incrementar el rendimiento de octa-O-acetil genciobiosa de 23 a 74%.

La Drierita es un desecante muy intenso y con un conjunto de propiedades muy interesantes. Su poder desecante es muy cercano al del pentóxido de fósforo aunque sólo puede absorber un 6% de su peso de agua; puede ser regenerado mediante calentamiento a 230-250° durante 2 a 3 horas.

Los acetohalógeno azúcares más empleados son los acetobromo derivados, dado que son más reactivos que los acetocloro derivados y más estables que los acetoyodo derivados.

Usando las condiciones normales de la reacción de Koenigs-

Knorr para sintetizar octaacetatos de disacáridos, Goldschmidt y Perlin(47) hallaron que se produce fácilmente una reacción entre el acetohalógeno azúcar y el agente condensante aún en ausencia de un compuesto hidrofílico. Así, la adición de óxido de plata a una solución de 1- α -bromo-tetra-O-acetil-D-manosa en benceno o cloroformo provoca rápidamente un cambio en el poder rotatorio de la solución. La magnitud en la variación del poder rotatorio depende de la proporción de óxido de plata usado en relación al acetohalógeno azúcar presente; cuando la solución experimenta el máximo de la variación del poder rotatorio, desaparece prácticamente todo el acetohalógeno azúcar. Estos autores observaron una gran variación en la actividad de óxidos obtenidos por diferentes caminos.

Los acetohalógeno azúcares se descomponen también con carbonato de plata en los solventes mencionados anteriormente, pero son mucho más estables en presencia de una base orgánica soluble como la piridina.

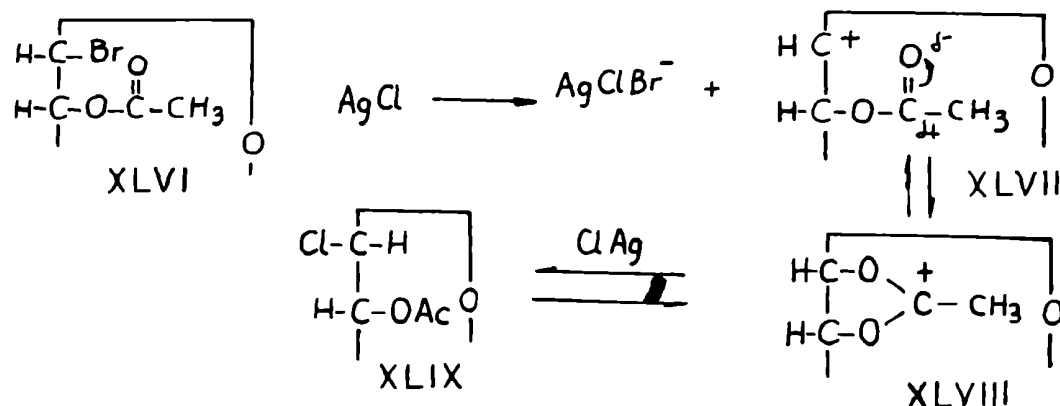
El producto de la reacción, aislado después del tratamiento con óxido de plata en benceno, es un sólido amorfo libre de halógeno, que no muestra propiedades de no saturación y que absorbe débilmente en el infrarrojo en la región característica de los grupos hidroxilos.

El análisis elemental sugiere que la formación de esos productos implica la presencia de un átomo de oxígeno por cada dos radicales tetraacetil hexosilo(R).

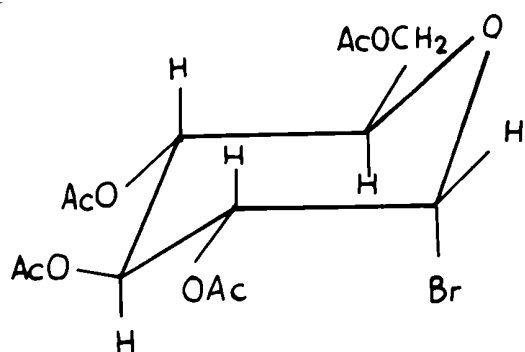
El átomo de halógeno en los acetohalógeno azúcares es del tipo de los α -halógeno éteres y tiene mucho más reactividad que el de los halogenuros de alquilo. La configuración del halógeno en estos compuestos es generalmente α , como puede determinarse por las reglas de isorrotación de Hudson y por la formación o no de ortoésteres.

En general los anómeros α de los acetohalógeno azúcares son más estables que los β . Una excepción es la L-arabinosa en la que la 1- β -bromo-triacetil-L-arabinosa es la forma estable. Los anómeros de la configuración β pueden ser obtenidos por intercambio de halógeno a partir de los α -acetobromo azúcares, como por ejemplo el caso de la 1- β -cloro-2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranososa, que se obtiene haciendo reaccionar la 1- α -bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranososa con cloruro de plata "activo" preparado de acuerdo a la técnica de Schlubach(57).

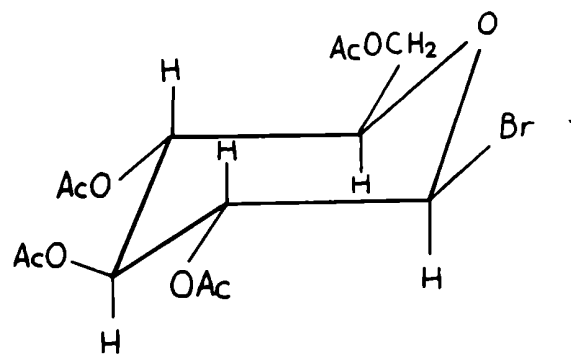
Lemieux(58) sugiere que la adsorción del acetobromo azúcar 1,2-cis(XLVI) sobre el cloruro de plata facilitaría la formación de un ión carbonio(XLVII) que se estabilizaría inmediatamente después de formado tomando una estructura cíclica(XLVIII). Este ión carbonio sufriría un ataque por el lado opuesto con otra molécula de cloruro de plata dando el β -acetocloroderivado con configuración 1,2 trans(XLIX).



La preparación y propiedades de algunos poli-O-acetil glicosil halogenuros de series inestables han sido estudiadas por W. Korytnyk y J. Mills(59). Estos autores comprobaron que por ejemplo la β -acetocloroglucosa que se descompone en solventes húmedos, es muy estable cuando el solvente (de preferencia no polar) está rigurosamente seco, y suponen que la mayor estabilidad de muchos de los 1- α -halógeno-poli-O-acetil glicopiranosos, cuando se compara con los análogos β es debida probablemente a la interacción polar desfavorable entre el átomo de halógeno en la posición (es decir una posición ecuatorial en la conformación C1) y el átomo de oxígeno del ciclo.

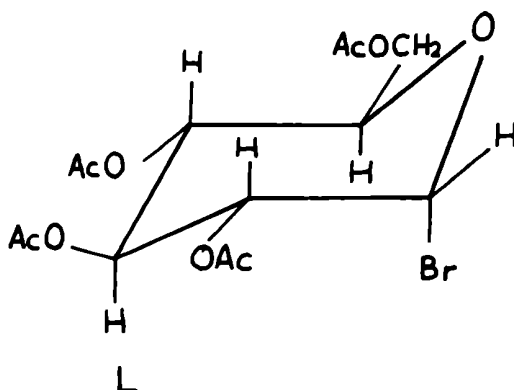
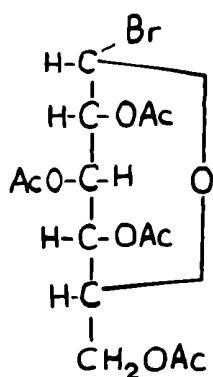


1- α -bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranososa

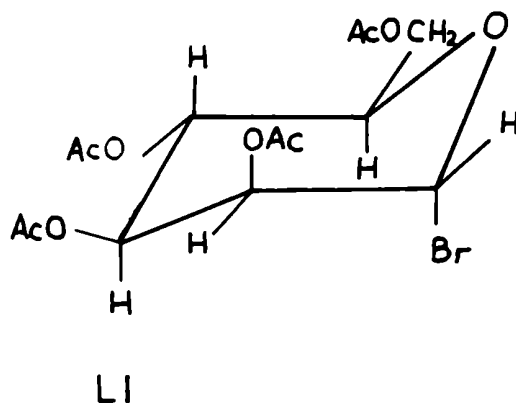
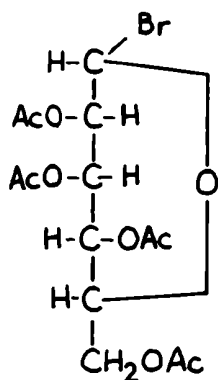


1- β -bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranososa

Cuando un acetohalógeno azúcar reacciona con un hidroxilo en presencia de sales de plata, normalmente hay inversión de Walden, y puesto que la mayoría de los halogenuros de glicosilo corresponden a la serie α la unión glicosídica formada en la reacción de Koenigs-Knorr debería ser la β . Pero no siempre tiene lugar este comportamiento, sino que hay casos de retención de configuración. Este comportamiento diferente está relacionado con la configuración relativa de los grupos unidos a los carbonos 1 y 2, que pue-



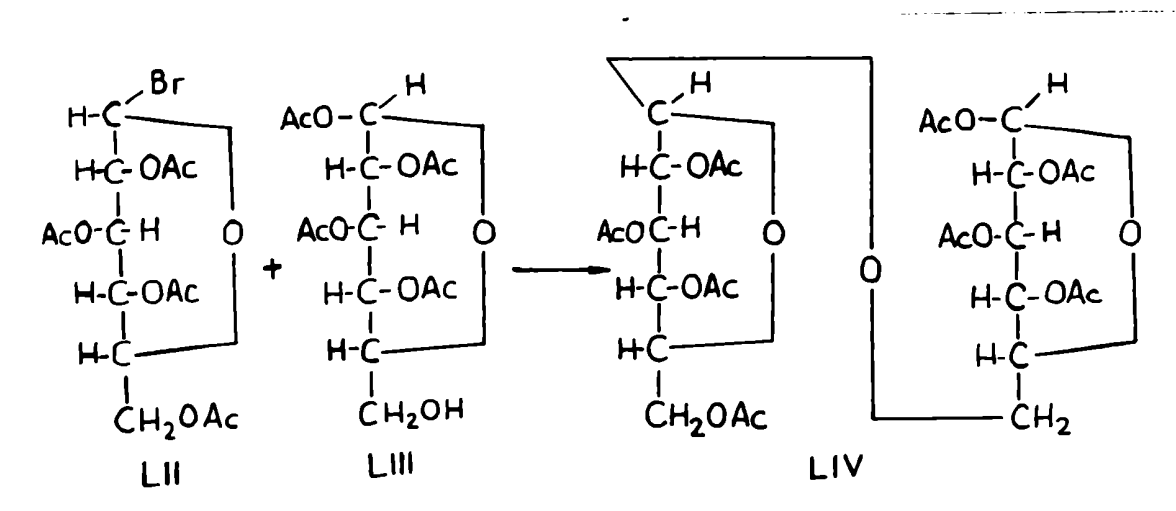
L
1- α -bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil-
D-glucopiranososa



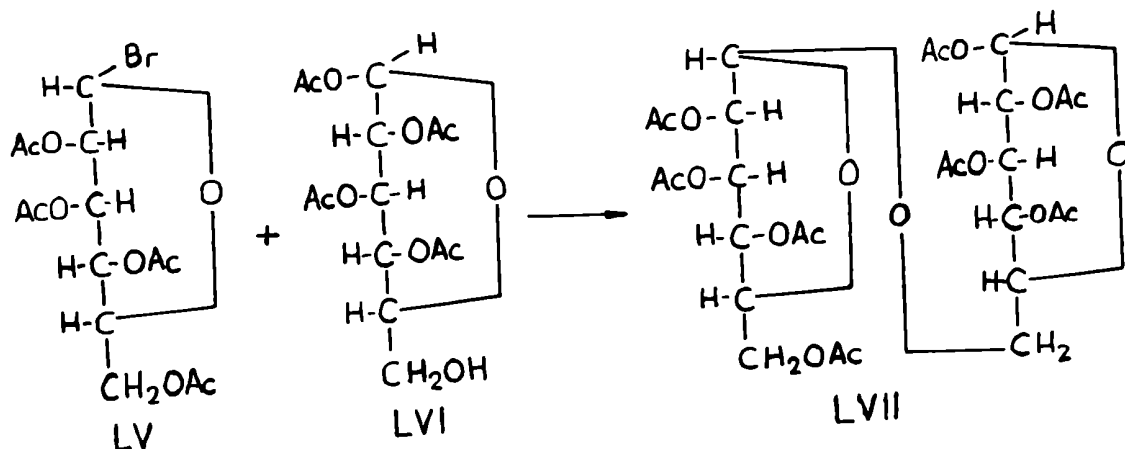
LI
1- α -bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil-
D-manopiranososa

den presentar al halógeno en el carbono 1 y el grupo acilo en el carbono 2 en cis(L) o trans(LI).

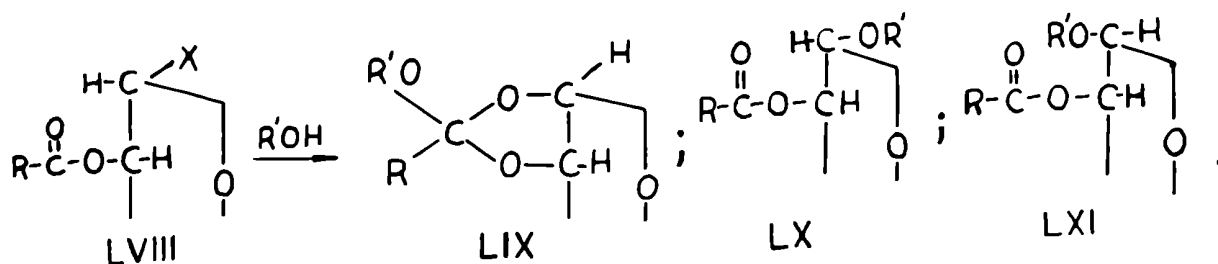
Las condensaciones que se efectúan utilizando acetohalógeno derivado cis en carbono 1 y 2, en general dan un porcentaje elevado de disacárido con unión β . Por ejemplo la condensación de 1- α -bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranososa(LII) con 1,2,3,4-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranososa(LIII) da 73% de octa-O-acetil-6- β -D-glucopiranosil- β -D-glucopiranososa(56) (octa-O-acetil genciobiosa)(LIV).



No ocurre lo mismo cuando se trata de derivados de la otra serie, como puede ejemplificarse en la condensación de α -acetobromo manosa(LV), que tiene los sustituyentes en los carbonos 1-2 en posición trans, con la 1,2,3,4-tetra-O-acetil- β -D-glucosa (LVI) que da octa-O-acetil-6- α -manopiranosil- β -D-glucosa(LVII), disacárido con unión glicosídica α (60).

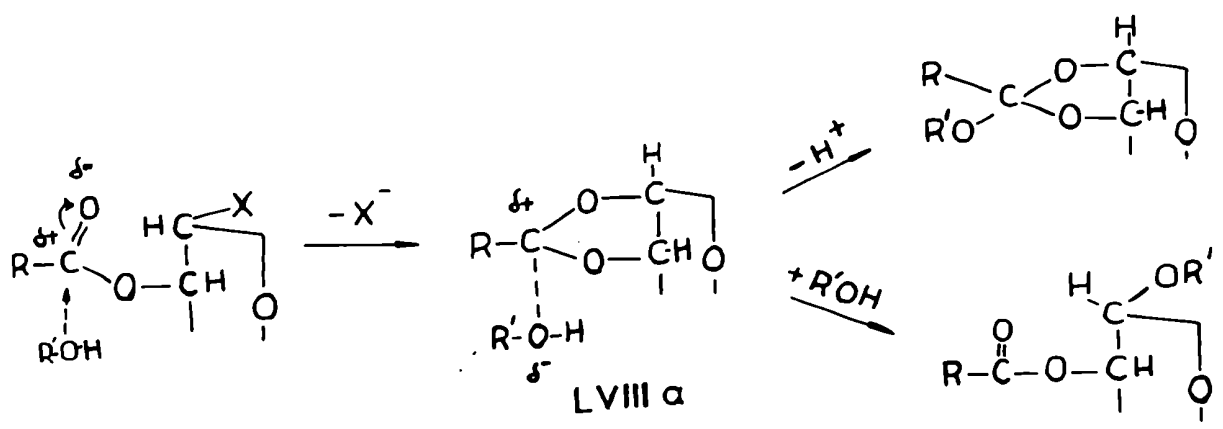


Esto está de acuerdo con lo que se conoce sobre las reacciones de acetohalógeno azúcares con alcoholes(52,58b), según las cuales los derivados 1-2 trans(LVIII) (R=metilo o fenilo) debido a la participación del acilo del carbono 2 pueden formar un ortoéster (LIX) o el glicósido trans(LX) sin inversión de Walden, aunque también se puede formar una pequeña cantidad del glicósido 1-2 cis(LXI) con inversión de la configuración del carbono 1



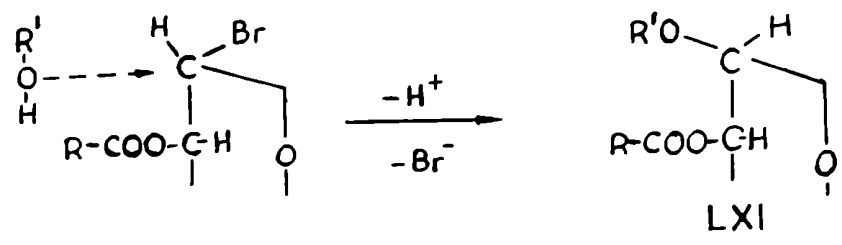
El ortoéster LIX se formaría a partir de trans acetohalógeno azúcares por eliminación del halógeno y reacción intramolecular sobre el carbono 1 mediante el oxígeno nucleofílico del grupo aceto vecino de LVIII, con adición del alcohol al carbono deficitario de electrones del carbonilo del aceto y eliminación de un

protón del intermediario LVIIIa

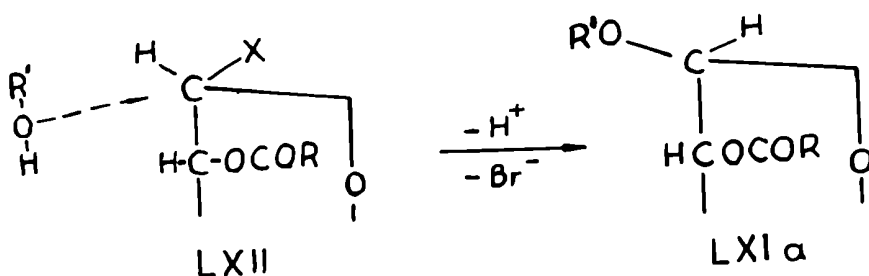


La formación del acetilglicósido LX de igual configuración que la del acetohalógeno azúcar, se formaría mediante una reacción secundaria de ataque al intermediario LVIIIa por el alcohol en el carbono 1.

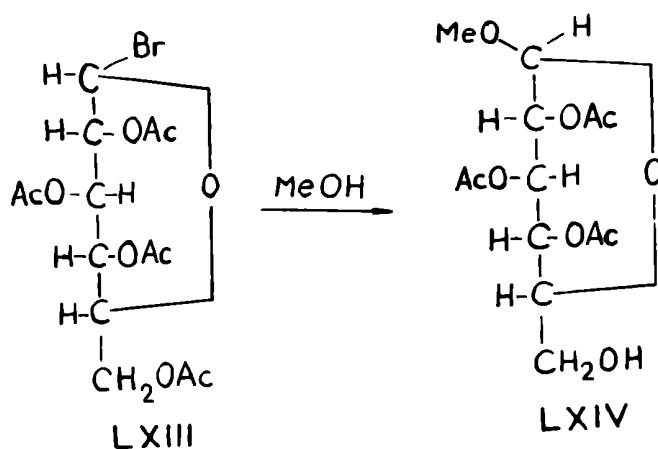
El acetilglicósido de configuración inversa(LXI) se formaría en la alcoholólisis del acetohalógeno azúcar por un ataque intermolecular del alcohol al carbono glicosídico con eliminación de un protón y un ión bromuro.



De acuerdo a esto último se puede esperar que con el acetohalógeno azúcar 1-2 cis(LXII) se produzca predominantemente la inversión para formar el glicósido trans(LXIa) de acuerdo al siguiente esquema:



Efectivamente, esto ocurre como puede ejemplificarse en la metanólisis de 1- α -bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranosid(LXIII) que da el 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -metil-D-glucopiranosido(LXIV) con 94% de rendimiento(61).

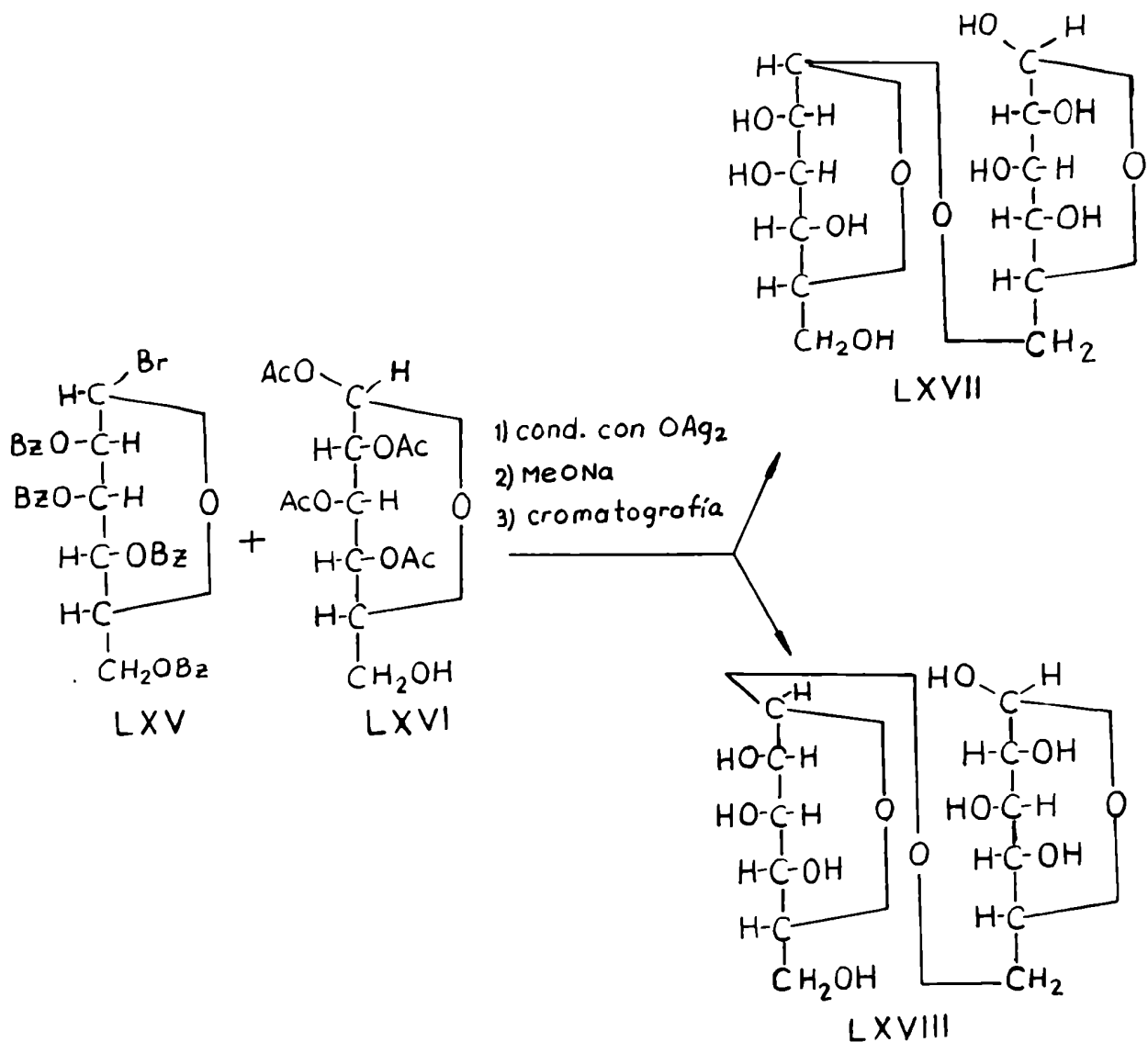


En algunos casos se han preparado glicósidos 1-2 cis a partir de acetohalógeno derivados con configuración 1-2 trans, eliminando el efecto de vecindad del acilo en el carbono 2.

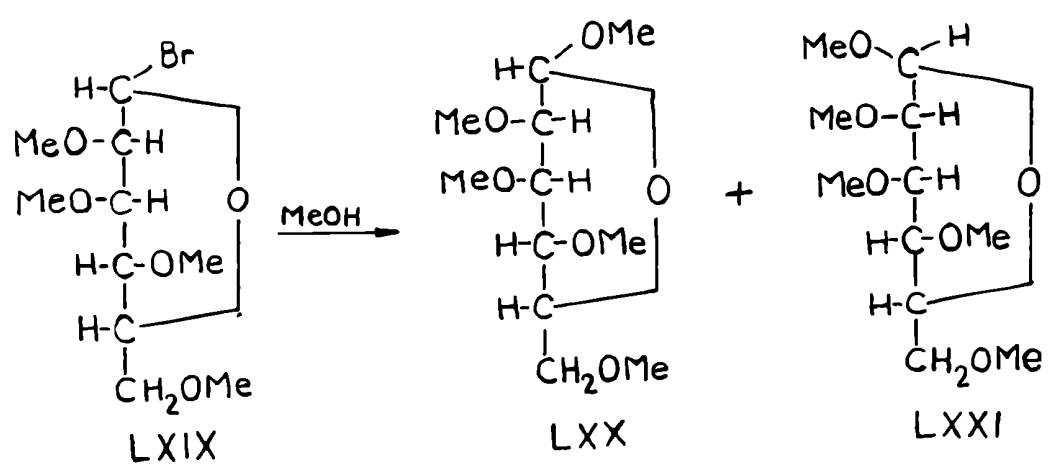
Gorin y Perlin(62) con el objeto de sintetizar disacáridos que tuvieran una mitad β -manopiranosil, o sea con configuración 1-2 cis, ensayaron distintos derivados de la 1- α -bromo-manosa.

Para tal fin condensaron la 1- α -bromo-2,3,4,6-tetra-O-benzoil-

D-manopiranososa(LXV) con 1,2,3,4-tetra-O-acetil- β -D-glucosa(LXVI) y obtuvieron un jarabe que desacetilado con metilato de sodio y cromatografiado en columna de carbón dió 35% de la 6-O- α -D-manopiranosil-D-glucosa(LXVII) y 5% de la 6-O- β -D-manopiranosil-D-glucosa(LXVIII). El rendimiento de disacárido α es mejor que el obtenido cuando se emplea la 1- α -bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-manopiranososa(25% y 14% respectivamente), lo que evidencia la utilidad del derivado benzoilado en la síntesis de disacáridos con unión α .



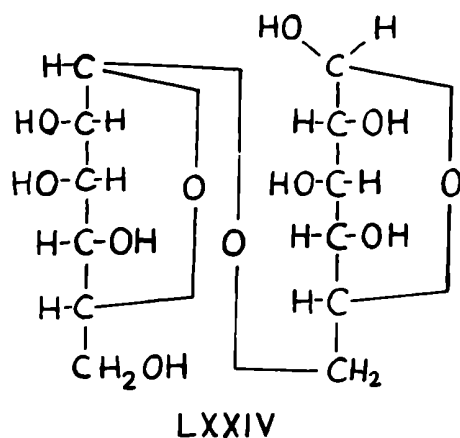
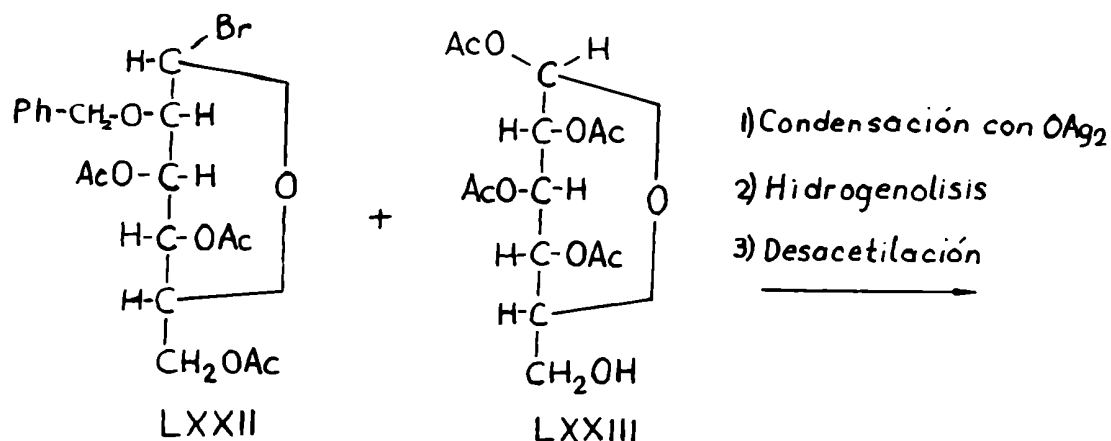
Luego los mismos autores(62) ensayaron la influencia del grupo metoxilo en el carbono 2, cuya presencia eliminaba el efecto del grupo acilo en el curso de la reacción, condensando 1- α -bromo-2,3,4,6-tetra-O-metil-D-manopiranososa(LXIX) con metanol en presencia de óxido de plata y obtuvieron una mezcla de α y β -metil-2,3,4,6-tetra-O-metil-D-manopiranosidos(LXX, LXXI) en la relación de 1:3, lo cual demostraba que cuando no hay participación del grupo acilo la reacción se efectúa fundamentalmente con inversión de la configuración.



No obstante, como lo señalan Gorin y Perlin, aunque el grupo metoxilo favorece la formación de β -D-manósidos, su difícil eliminación limita la utilidad de los O-metil derivados en la síntesis de disacáridos.

En otra experiencia reemplazaron el grupo 2-O-metilo por el 2-O-bencilo, esperando que tendría un efecto similar al metoxilo y para aprovechar su facilidad de eliminación; la condensación de 1- α -bromo-2-O-bencil-3,4,6-tri-O-acetil-D-manopiranososa(LXXII)

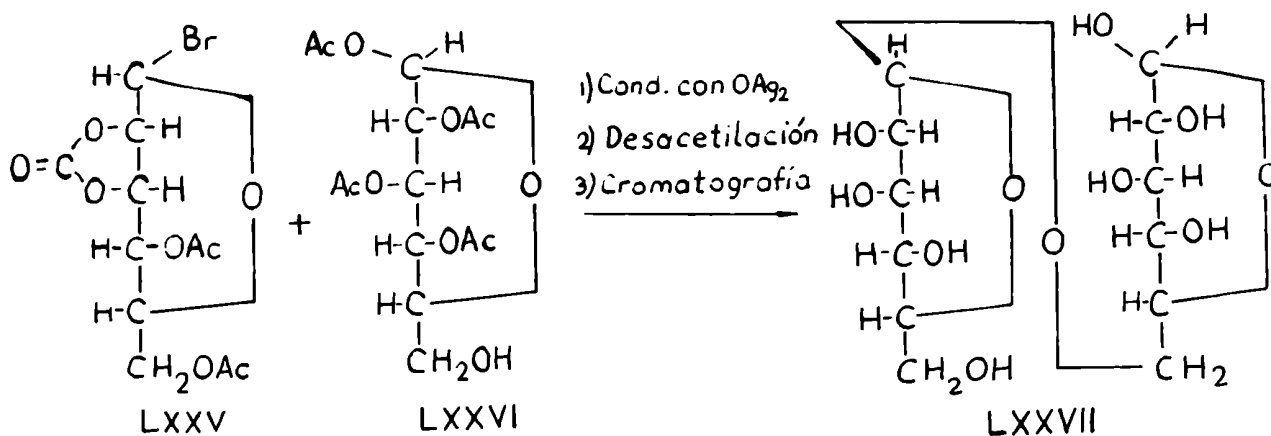
con 1,2,3,4-tetra-O-acetil- β -D-glucosa(LXXIII) llevó a la obtención de un producto que por hidrogenólisis y desacetilación dió 6-O- α -D-manopiranosil-D-glucopiranososa(LXXIV)(62).



Gorin y Perlin sugieren que en esta reacción parece factible la participación del grupo acetilo en el carbono 6, a diferencia de lo que ocurre en la glucosa en que este grupo tiene poca influencia en las reacciones del carbono 1. Si la participación del acetilo del carbono 6, tuviera la misma característica señalada para el acetilo del carbono 2, es decir que pudiera participar en la formación de un ión ortoéster entre el carbono 6 y

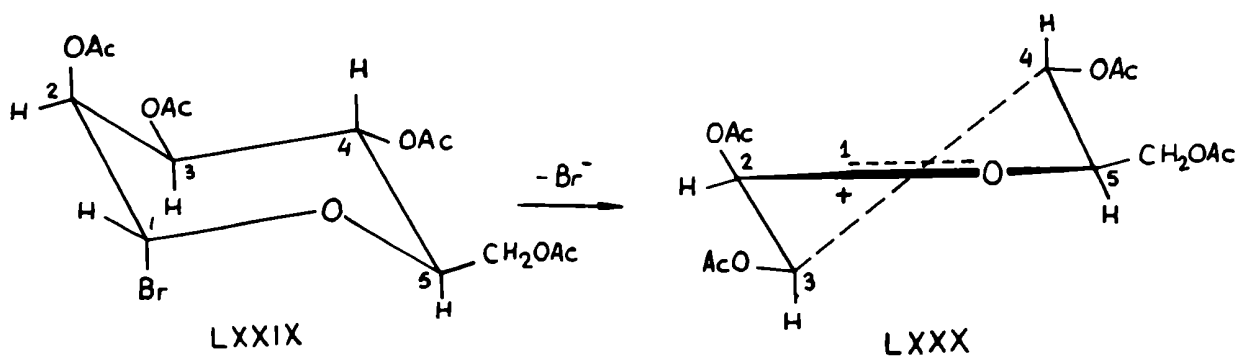
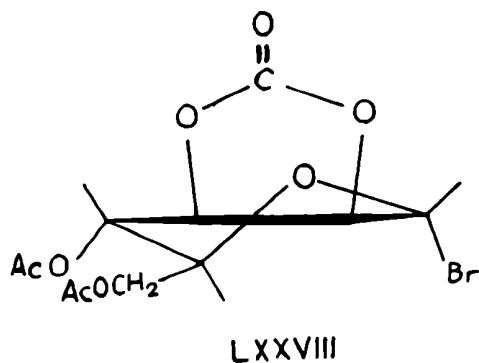
el carbono 1, explicaría que la condensación de la 1- α -bromo-2-0-bencil-3,4,6-triacetil-D-manopiranososa con la 1,2,3,4-tetra-0-acetil- β -D-glucosa se produzca con retención de la configuración del carbono glicosídico.

Gorin y Perlin(62) condensaron también la 1- α -bromo-2,3-0-carbonil-4,6-di-0-acetil-manopiranososa(LXXV) con la 1,2,3,4-tetra-0-acetil- β -D-glucopiranososa(LXXVI) y obtuvieron la 6-0- β -D-manopiranosil-D-glucosa(LXXVII).



Según Gorin y Perlin, el modelo molecular de la 1- α -bromo-2,3-0-carbonil-4,6-di-0-acetil-D-manopiranososa indica que el grupo carbonato no puede participar con facilidad en las reacciones de sustitución del carbono 1, con lo cual se explica que este 1- α -bromo derivado reacciones con inversión de la configuración del carbono 1. No obstante, según opinión de los mismos autores, parece mucho más probable que el ciclo de 5 átomos del grupo carbonato provoque una modificación de la conformación del ciclo piranósico(LXXVIII), de manera tal que impediría la disposición

planar del oxígeno con los carbonos 1,2 y 5 lo cual constituiría un impedimento para formar un ión cíclico como el LXXX originado en la ionización de la 1- α -bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-manopiranososa(LXXIX), por lo cual se favorecería la reacción bimolecular de LXXVIII, que se produciría con inversión de la configuración del carbono 1.

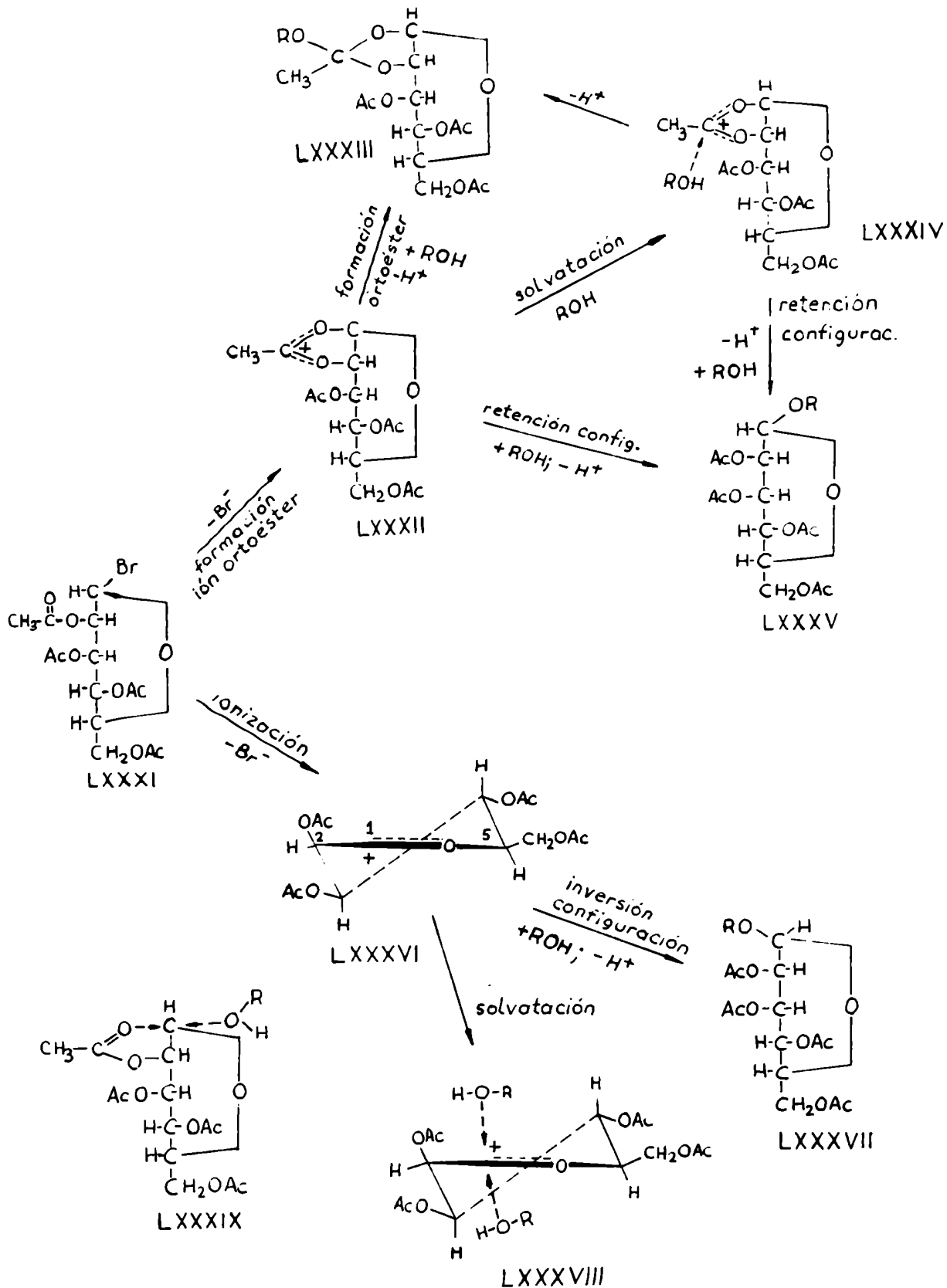


Los resultados de los trabajos anteriores y otros datos obtenidos con 1- α -bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-manopiranososa muestran una amplia variación en las propiedades estéricas de diferentes 1- α -bromo manosil derivados, aunque la síntesis de

disacáridos se caracteriza, exceptuando la realizada con la 1- α -bromo-2,3-O-carbonil-4,6-di-O-acetil-D-manopiranososa, por la retención de la configuración.

Los autores dicen asimismo que de acuerdo con experiencias cinéticas realizadas por Phillips y colaboradores(63), las reacciones de sustitución de los acetohalógeno azúcares se efectúan por un mecanismo SN_1 , y aunque estas mediciones se hicieron en solventes de alta polaridad como metanol y el mecanismo puede variar para los solventes de baja polaridad como cloroformo y benceno, que se utilizan en la síntesis de disacáridos, los datos reunidos hasta le presente no permiten suponer que se produzca una modificación del mecanismo SN_1 establecido por Phillips y colaboradores.

La reacción de Koenigs-Knorr que se efectúa con la 1- α -bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-manosa, encuadrada dentro del esquema de una reacción SN_1 , podría ser formulada según Gorin y Perlin (62) de la manera siguiente:



La formación de β -D-manósidos aparece como el resultado del ataque del compuesto hidroxilado sobre el catión LXXXVI, por el lado opuesto a aquel de donde se separa el ión halogenuro. Este paso tendría importancia cuando el solvente es metanol.

Otra posibilidad es que tenga lugar la solvatación de LXXXVI dando lugar por ejemplo a LXXXVIII, que es un ión solvatado y postulado para explicar la racemización en la sustitución S_N1 . No obstante, la presencia de varios sustituyentes en el ciclo hace que dicho ión sea solvatado asimétricamente y las interacciones entre los sustituyentes en 2,3 y 6 debe favorecer la formación del producto 1-2 trans, mas bién que el 1-2 cis, menos estable. Además cuando el componente hidrofílico es una tetraacetilhexosa, que es mucho más voluminosa que el metanol, esta tendencia estaría aún más favorecida.

Si la participación de los grupos acetilos vecinos es importante, el ión LXXXII puede estar en mayor proporción que LXXXVI. Se acepta generalmente que el ortoéster se forma mediante el ataque del componente hidrofílico en el carbono α de LXXXII, y que ese mismo ataque al carbono 1 produce el α -D-manósido LXXXV. Por otra parte, la formación de un ión ortoéster de estructura semejante a LXXXII fué postulado por Winstein(64) en base a sus estudios con derivados del ciclohexano.

Según Isbell y Frush(52), cuando se efectúa la metanolisis de 1- α -bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-manopiranos, la presencia de una alta concentración de éter en el medio de reacción causa una disminución en el rendimiento del ortoacetato(LXXXIII) y un

y un aumento del rendimiento del α -glicósido(LXXXVI), lo cual podría ser explicado por una solvatación competitiva de LXXXII.

Otro tipo de estado de transición que puede ser postulado es el ión LXXXIX, correspondiente a un estado intermedio entre el LXXXII y el LXXXVIII. Un ión de este tipo(LXXXIX) debería tener más importancia en un solvente no polar que en uno polar como el metanol, debido a que en esa condición el carbonilo del grupo acetilo del carbono 2 podría competir con el componente hidroxílico cediendo electrones al carbono deficitario. Gorin y Perlin suponen que los α -D-manósidos deberían ser el resultado de la formación intermediaria de este tipo de compuestos.

LA AMONOLISIS DE DISACARIDOS ACETILADOS

Los primeros estudios que se refieren a la acción del amoníaco sobre los disacáridos acetilados datan de 1926, cuando Zemplén (65) intentó aplicar la reacción de Wohl modificada al nitrilo del ácido celobiónico acetilado. Su objetivo era demostrar la estructura de disacáridos reductores mediante sucesivas degradaciones de sus nitrilos acetilados, pero en lugar del azúcar libre obtuvo sustancias que contenían nitrógeno y que supuso eran "acetamido derivados".

Estos productos no le interesaron por cuanto el carbono 1 quedaba bloqueado y no podía liberarlo por hidrólisis ya que ésta produciría simultáneamente la ruptura de la unión glicosídica.

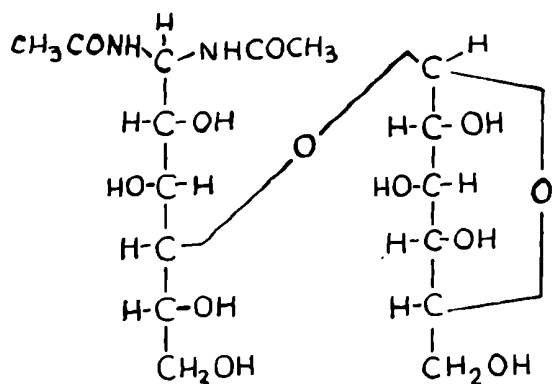
Posteriormente Zechmeister y Toth(42) sometieron la octa-0-acetil celobiosa a la acción del amoníaco líquido a 55° durante 48 horas. De la mezcla de reacción pudieron aislar una N-acetil celobiosilamina de p.f. 246°, $[\alpha]_D^{20}$ -20,3°, con un rendimiento de 27%. La acetilación de esta sustancia dió un acetato de p.f. 196°, $[\alpha]_D^{20}$ -3,4°. Por acetilación del jarabe residual aislaron la octa-0-acetil-N,N'-diacetil celobiosilidéndiamina que fundió a 196°, $[\alpha]_D^{20}$ -3,3°, y con un rendimiento tal que correspondía a un 28% del "diacetamido derivado" libre. Por desacetilación de este octaacetato con hidróxido de bario obtuvieron la N,N'-diacetil celobiosilidéndiamina libre, aunque de la misma no dan datos analíticos concordantes ni punto de fusión. Estos autores propusieron dos estructuras posibles para la "celobiosa diacetamida", que han sido discutidas en la página 33.

Micheel y colaboradores(66) por reacción de la octa-0-acetil celobiosa con amoníaco metanólico al 40% durante 120 hs. a 50° aislaron celobiosilamina, dicelobiosilamina y la misma N-acetil celobiosilamina de Zechmeister y Toth como acetato.

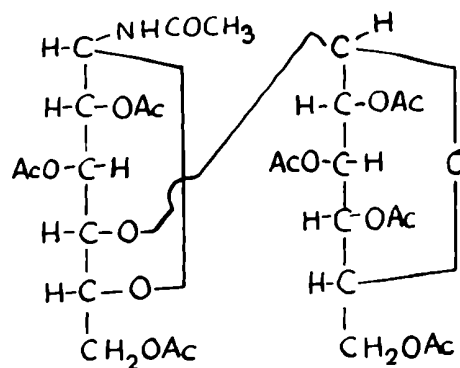
Los trabajos anteriores no fueron realizados en condiciones comparativas entre sí ni con las experiencias similares efectuadas en el campo de los monosacáridos.

Cadenas y Deferrari realizaron el estudio de la reacción del amoníaco metanólico al 16% sobre la α -octa-0-acetil celobiosa(43), β -octa-0-acetil lactosa(44) y β -octa-0-acetil maltosa(33).

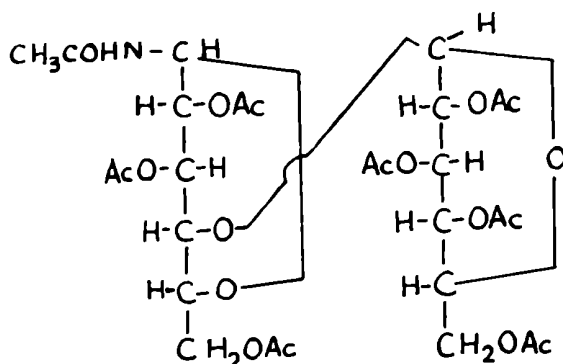
Por reacción de la α -octa-0-acetil celobiosa con amoníaco metanólico 16% obtuvieron celobiosa como producto principal. La cristalización directa de la N,N'-diacetil celobiosilidéndiamina fué impedida por la presencia de sustancias de carácter básico de naturaleza desconocida, que se eliminaron mediante pasajes a través de resina carboxílica y luego de resina sulfónica. Pudieron aislar entonces la N,N'-diacetil celobiosilidéndiamina(XC) (3,7%) de p.f. 113-115°, $[\alpha]_D^{25}$ -23,5°. La acetilación del residuo dió un acetato de p.f. 230°, el cual por purificación cromatográfica en columna de talco-celite dió la hepta-0-acetil-N-acetil celobiosilamina(XCI) de p.f. 242°, $[\alpha]_D^{27}$ +54,09°. Los autores consideraron este acetato como el anómero α del acetato de p.f. 196°, $[\alpha]_D^{20}$ -8,4°(XCII) obtenido por Zechmeister y Toth y por Micheel y colaboradores.



XC



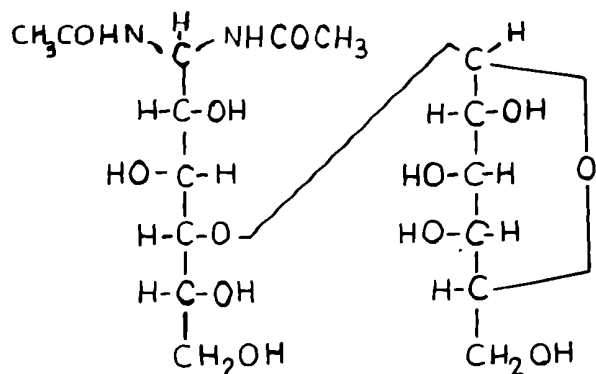
XCI



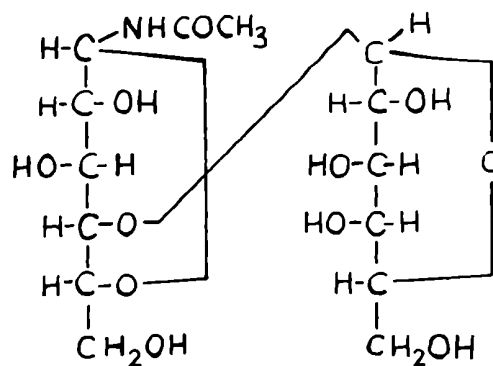
XCII

De la reacción de la β -octa-O-acetil lactosa con amoníaco metanólico obtuvieron lactosa (71%), N,N'-diacetil lactosilidén-diamina (XCIII) (4,6%) de p.f. 114-116°, $[\alpha]_D -14,8^\circ$ y N-acetil- α -lactosilamina (XCIV) de p.f. 162-163°, $[\alpha]_D^{24} +71,5^\circ$. A la N-acetil lactosilamina XCIV le asignaron la configuración α en base a su poder rotatorio y al de su acetato de p.f. 181° y $[\alpha]_D^{27} +68,1^\circ$, por comparación con la N-acetil lactosilamina (XCV) de p.f. 246-248°, $[\alpha]_D^{25} +1,5^\circ$, preparada anteriormente por Kuhn y Krüger por acción de la cetena sobre la l-amino lactosa y cuyo acetato de

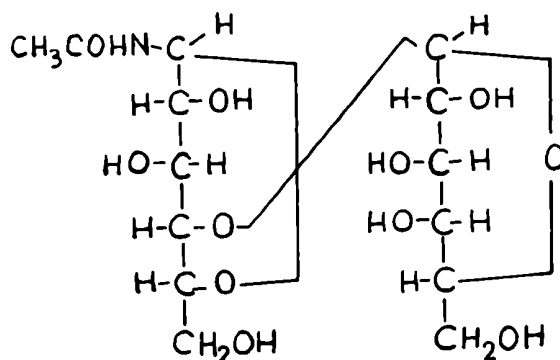
p.f. 142-146° tenía $[\alpha]_D^{25} +2,7^\circ$.



XCIII

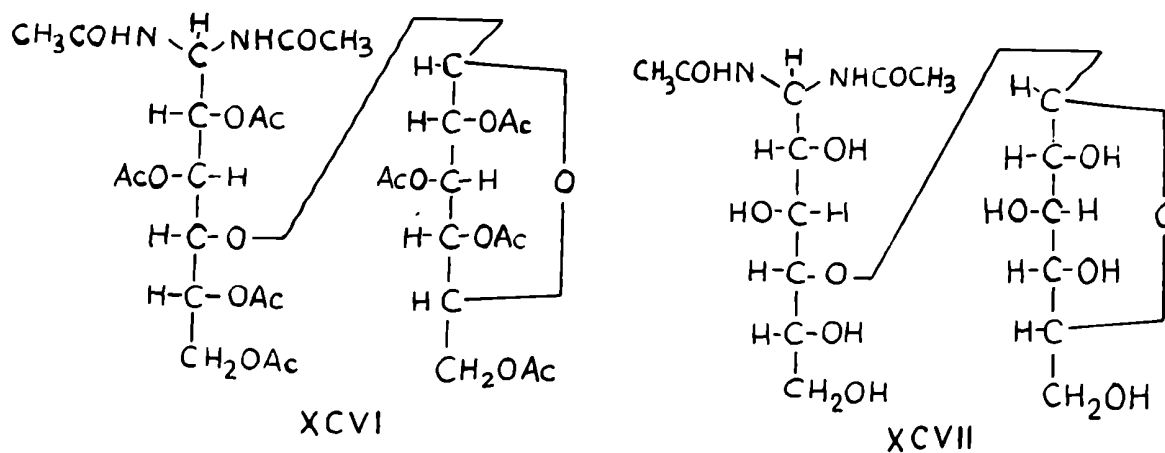


XCIV



XCV

De la reacción de la β -octa-O-acetil maltosa con amoníaco metanólico 16%, mediante cromatografía en columna de carbón obtuvieron maltosa y fracciones de jarabes no cristalizables. Por acetilación de las fracciones de jarabes que daban reacción positiva con el reactivo ácido pícrico-metaperyodato de sodio(67) obtuvieron octa-O-acetil-N,N'-diacetil maltosilidéndiamina(XCVI) de p.f. 95°, $[\alpha]_D^{23} +47,4^\circ$ con un rendimiento que corresponde teóricamente a 0,3% de N,N'-diacetil maltosilidéndiamina(XCVII).



Cadénas y Deferrari efectuaron también la reacción de la octa-O-acetil maltosa con amoníaco acuoso al 25%. Del jarabe obtenido aislaron mediante cromatografía en columna de carbón la N,N'-diacetil maltosilidéndiamina con 27% de rendimiento. Esta experiencia en medio acuoso fué realizada con el objeto de verificar la influencia que en el curso de la reacción y por lo tanto en el rendimiento de los productos, tenía el solvente empleado.

Las experiencias anteriores demostraron hasta este momento que los rendimientos en el campo de los disacáridos están vinculados fundamentalmente a dos factores: 1) el impedimento estérico en la parte no reductora de la molécula del disacárido unida glicosídicamente al carbono 4 y 2) el medio en el cual se efectúa la reacción, cuya influencia ya discutimos en el capítulo 3.

LA AMONOLISIS DE LA OCTA-O-ACETIL MELIBIOSA Y LA OCTA-O-ACETIL GENCIOBIOSA. DISCUSION DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS.

Como los disacáridos acetilados empleados por Deferrari y Cadenas tenían unión glicosídica 1-4, lo cual determinaba que en la mitad reductora que experimentaba la reacción de migración de acetilos se eliminase la posibilidad de la formación de una N-acetil aldobiosilamina con ciclo furanósico y además, la carencia del acetilo del carbono 4 eliminaba una participación que podía pensarse era importante en base a las experiencias realizadas por Gros, Ondetti, Sproviero, Deulofeu y Deferrari(20) con la 1,2,3,4,6-penta-O-benzoil-D-glucosa y la 2,3,4,6-tetra-O-benzoil-D-glucosa marcadas con benzoilos carbonilo C^{14} en distintas posiciones, y en las cuales se establecía en $0,81 \pm 0,02$ la participación del benzoilo del carbono 4 en la formación de N,N'-dibenzoil-D-glucosilidéndiamina, hemos considerado interesante extender el estudio de la reacción del amoníaco a los derivados acetilados de disacáridos con unión glicosídica 1-6, tales como la melibiosa y la genciobiosa.

El interés del estudio de la reacción del amoníaco con los disacáridos acetilados de unión glicosídica 1-6 residía en que se podía determinar el efecto que en el curso de la misma tenía la presencia de un acetilo en el carbono 4 de la mitad reductora del disacárido que experimentaba la reacción de migración de acetilos, el cual por extensión de lo esta-

blecido por Deulofeu y colaboradores(20) podría tener la misma participación en la formación de N-acetil aldósilaminas que el benzoilo en el carbono 4 en el caso de la N,N'-dibenzoil glucosilidéndiamina.

Además, el hecho de que por eliminación del acetilo del carbono 4 quedara libre un hidroxilo en esa posición, posibilitaría la formación de N-acetil aldobiosilaminas con un ciclo furanósico a semejanza de lo que ocurría con la penta-O-acetil- α -D-glucosa(17), la penta-O-acetil- β -D-glucosa(68) y el hexa-O-acetil-D-glicero-D-gulo heptonitrilo(17), los cuales tratados con amoníaco producían la N-acetil glucofuranosilamina.

También podía esperarse un aumento en el rendimiento de las N,N'-diacetil aldobiosilidéndiaminas o de las N-acetil aldobiosilaminas por el hecho de sustituirse la pequeña participación del acetilo del carbono 6 por la importante participación del acetilo del carbono 4, teniendo en cuenta que en la formación de N,N'-dibenzoil-D-glucosilidéndiamina la contribución del grupo 6-O-benzoilo es 0,3 moles mientras que la del 4-O-benzoilo es de 0,8 moles. Asimismo se podía conocer la influencia que en el curso de la reacción tendría un grupo voluminoso como es el resto no reductor unido al carbono 6 de la parte reductora del disacárido.

Desde el punto de vista preparativo se podía pensar en obtener las N,N'-diacetil aldobiosilidéndiaminas y las N-acetil aldobiosilaminas de los disacáridos de unión glicosídica 1-6.

La preparación de la octa-O-acetil melibiosa necesaria para

estos experimentos se hizo por acetilación del azúcar libre con anhídrido acético y acetato de sodio siguiendo la técnica de Scheibler y Mittelmeier(69).

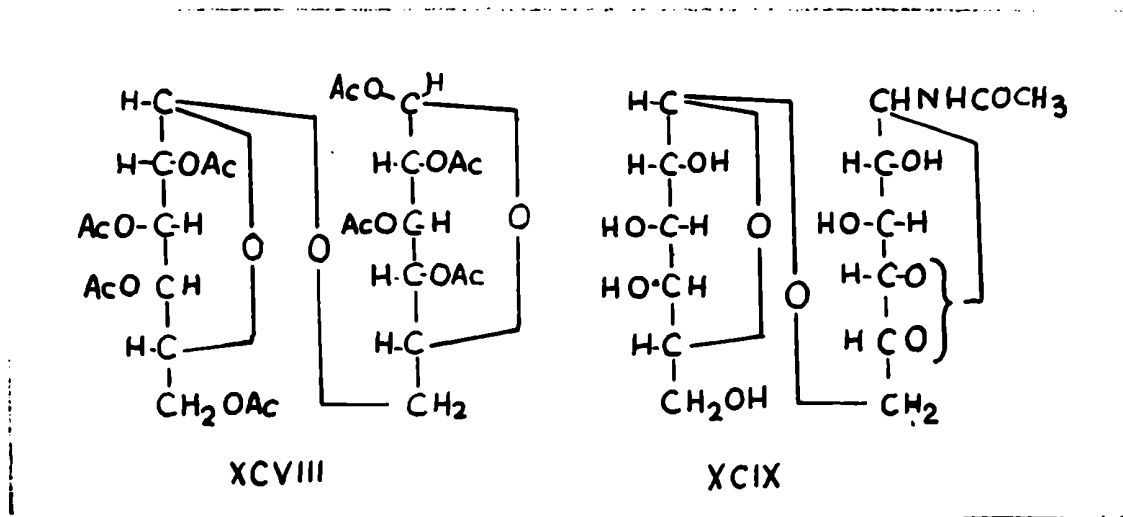
La reacción de la octa-O-acetil melibiosa(XCVIII) con amoníaco la efectuamos en distintos medios, aunque en las mismas condiciones operativas. De la reacción de la octa-O-acetil melibiosa con amoníaco acuoso al 25% obtuvimos un jarabe del que, después de eliminar la acetamida con acetato de etilo, separamos por cromatografía en columna de carbón y con rendimiento de 7,7% la forma α de la melibiosa de p.f. 176-177°, $[\alpha]_D^{24} +144,3^\circ$ (c, 0,17, agua) análoga a la descrita por Fletcher y Diehl(70) y N-acetil melibiosilamina(XCIX) de p.f. 220°; $[\alpha]_D^{22} +66,6^\circ$ (c, 0,2, agua) con rendimiento de 22,5%; el resto resultó un jarabe no cristalizabile.

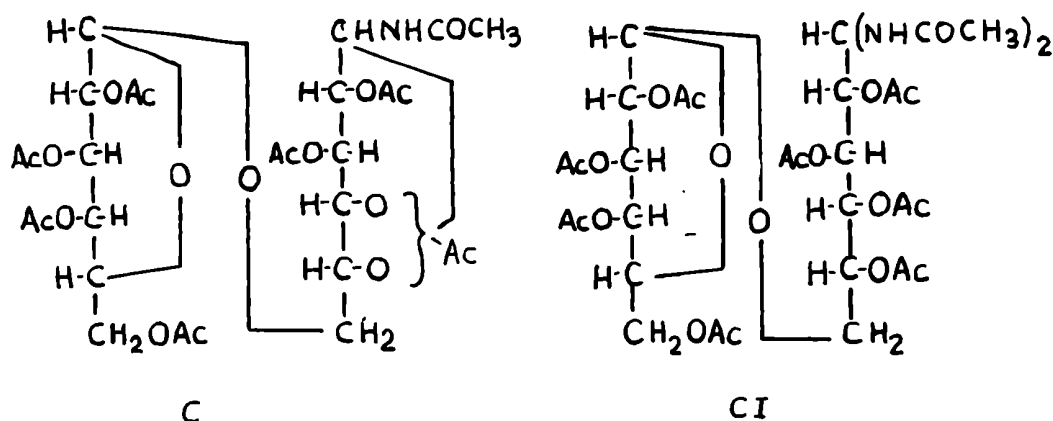
Por acetilación de la N-acetil melibiosilamina de p.f. 220° con anhídrido acético y piridina obtuvimos la hepta-O-acetil-N,N'-acetil melibiosilamina(C) de p.f. 159-162°, $[\alpha]_D^{23} +32,03^\circ$ (c, 0,19, cloroformo).

La amonólisis de la octa-O-acetil melibiosa con amoníaco acuoso al 33% dió un jarabe del cual después de eliminar por extracción con acetato de etilo la acetamida presente, por acetilación con anhídrido acético y piridina aislamos octa-O-acetil melibiosa(1,6%) de p.f. 175-176°, $[\alpha]_D^{23} +103,2^\circ$ (c, 0,21, cloroformo) idéntica a la descrita por nosotros en la página 97 y un jarabe que cromatografiado en columna de talco-celite dió con 5,8% de rendimiento la octa-O-acetil-N,N'-diacetil melibiosili-

déndiamina de p.f. 200-201° (CI); de $[\alpha]_D^{28} +64,6^\circ$ (c, 0,10, cloroformo).

Del jarabe obtenido en la reacción de la octa-O-acetil melibiosa con amoníaco metanólico 16,5, acetilamos con anhídrido acético y piridina una alícuota que representaba el 4,4% del jarabe original y obtuvimos 13,3% de octa-O-acetil melibiosa de p.f. 175-176°, $[\alpha]_D^{22} +102,7^\circ$ (c, 0,10, cloroformo), idéntica a la descrita en la página 97 5,5 de octa-O-acetil melibiosilic'amina de p.f. 200-201°, $[\alpha]_D^{28} +64,6^\circ$, idéntica a la descrita anteriormente. Por cromatografía en celulosas del resto del jarabe obtenido en la hidrólisis en medio metanólico aislamos con 4,5% de rendimiento la forma α de la melibiosa ya descrita y N-acetil melibiosilamina con un rendimiento de 0,27%.



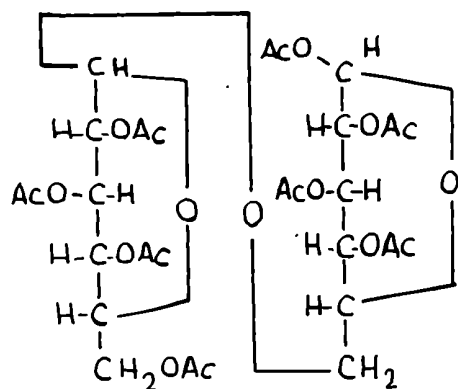


La octa-Oacetil gencibiosa(CII) la preparamos condensando de acuerdo a la técnica de Reynolds y Evans(56) la 1- α -bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranososa con la 1,2,3,4-tetra-O-acetil-D-glucosa; esta última la obtuvimos por tritilación y acetilación de la glucosa, seguida de la detritilación con ácido bromhídrico en ácido acético.

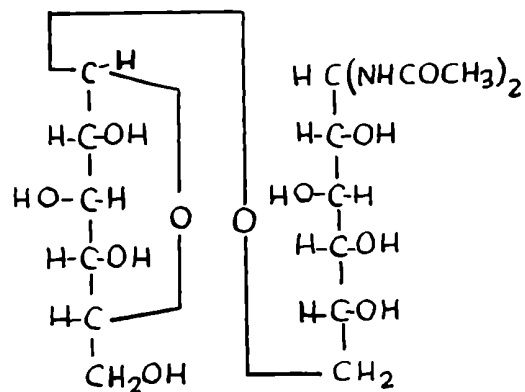
La amonólisis de la octa-O-acetil gencibiososa con amoníaco acuoso al 25% dió un jarabe del cual, luego de eliminar la acetamida con acetato de etilo, pudimos aislar por cromatografía en carbón la N,N'-diacetil gencibiosilidéndiamina(CIII) de p. f. 146-147°, $[\alpha]_D^{22} -19,6^\circ$ con un rendimiento del 3,5%. Por cromatografía en celulosa del jarabe residual pudimos aislar con 29% de rendimiento la N-acetil gencibiosilamina(CIV) en forma de producto amorfo e higroscópico de $[\alpha]_D^{20} -9,3^\circ$ (c, 0,4, agua).

Por acetilación de la N,N'-diacetil gencibiosilidéndiamina de p.f. 146-147° obtuvimos la octa-O-acetil-N,N'-diacetil gencibiosilidéndiamina de p.f. 107-109°(CV); $[\alpha]_D^{20} -27,0^\circ$ (c, 0,2,

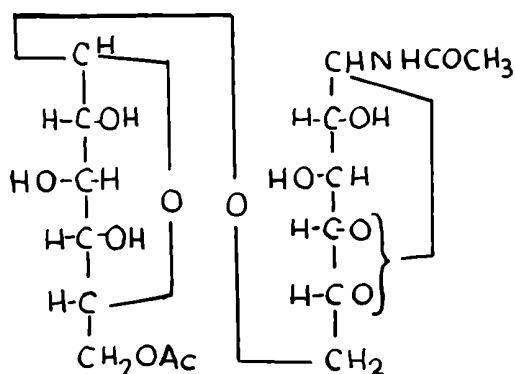
cloruro de b).



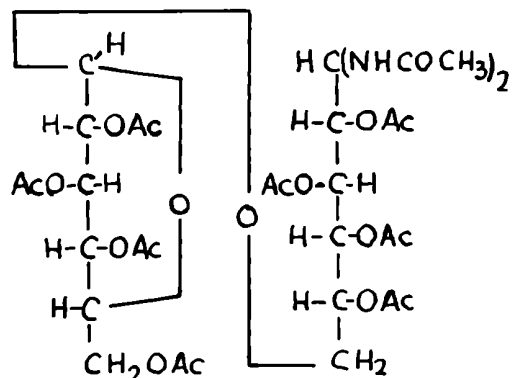
CII



CIII



CIV



CV

Los resultados obtenidos en la reacción de β -D-glucosa con los disacáridos acetilados de unión glicosídica 1-6 estudiados por nosotros están estrechamente vinculados al análisis del comportamiento de la penta-O-acetil- β -D-glucosa con dicho reactivo, por cuanto la melibiosa y gentiobiosa son 6-O-glicopiranosil-D-glucopiranosas, es decir, que la parte que experimenta la reacción de migración de acilos en dichos penta-O-acetil disacáridos es una 1,2,3,4-tetra-O-acetil-D-glucosa sustituida en el carbono 6 por un resto 1,2,3,4-tetra-O-acetil glucopirano-

silo.

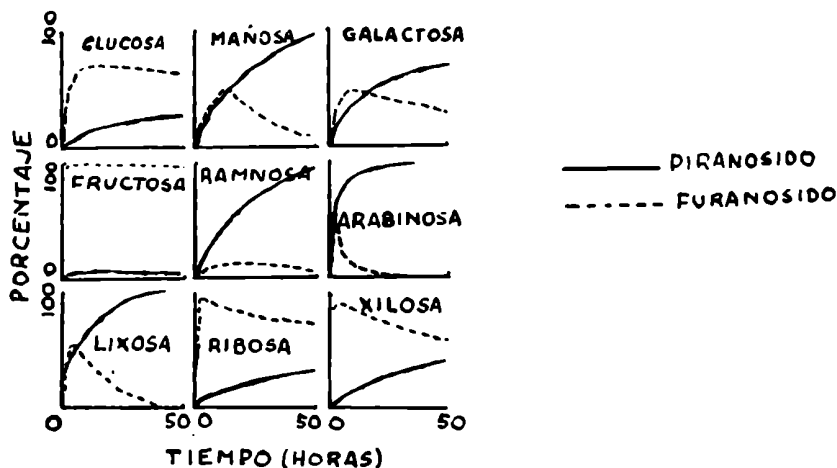
La formación de productos con ciclo furanósico, aparentemente poco frecuente en la reacción estudiada, es explicable si se tiene en cuenta el tipo de reacción química involucrada (reversible o irreversible) y si se la compara con reacciones similares en las cuales se producen ciclos furanósicos o piranósicos.

La química de los hidratos de carbono tiene muchos ejemplos de reacciones que pueden producirse por varios caminos para dar productos que difieren en configuración o en estructura. La influencia de la configuración de los reactantes en el curso de tales reacciones puede depender en gran parte de que las mismas sean irreversibles o reversibles(71). Si todos los pasos son irreversibles, la naturaleza de los productos depende de la velocidad relativa de dichos pasos, los cuales están determinados por cambios de entropía y por la estereoquímica del estado de transición(72).

Por otra parte si cada paso de la reacción es reversible y se establece un verdadero equilibrio entre ellos, la naturaleza de los productos es independiente del mecanismo de la reacción quedando determinada por la relativa estabilidad termodinámica de los constituyentes, aún cuando las velocidades de las reacciones individuales sean muy diferentes(71).

El ejemplo más característico de reacción reversible en el campo de los hidratos de carbono lo tenemos en la reacción de Fischer(73) para la obtención de glicósidos. Levene, Raymond

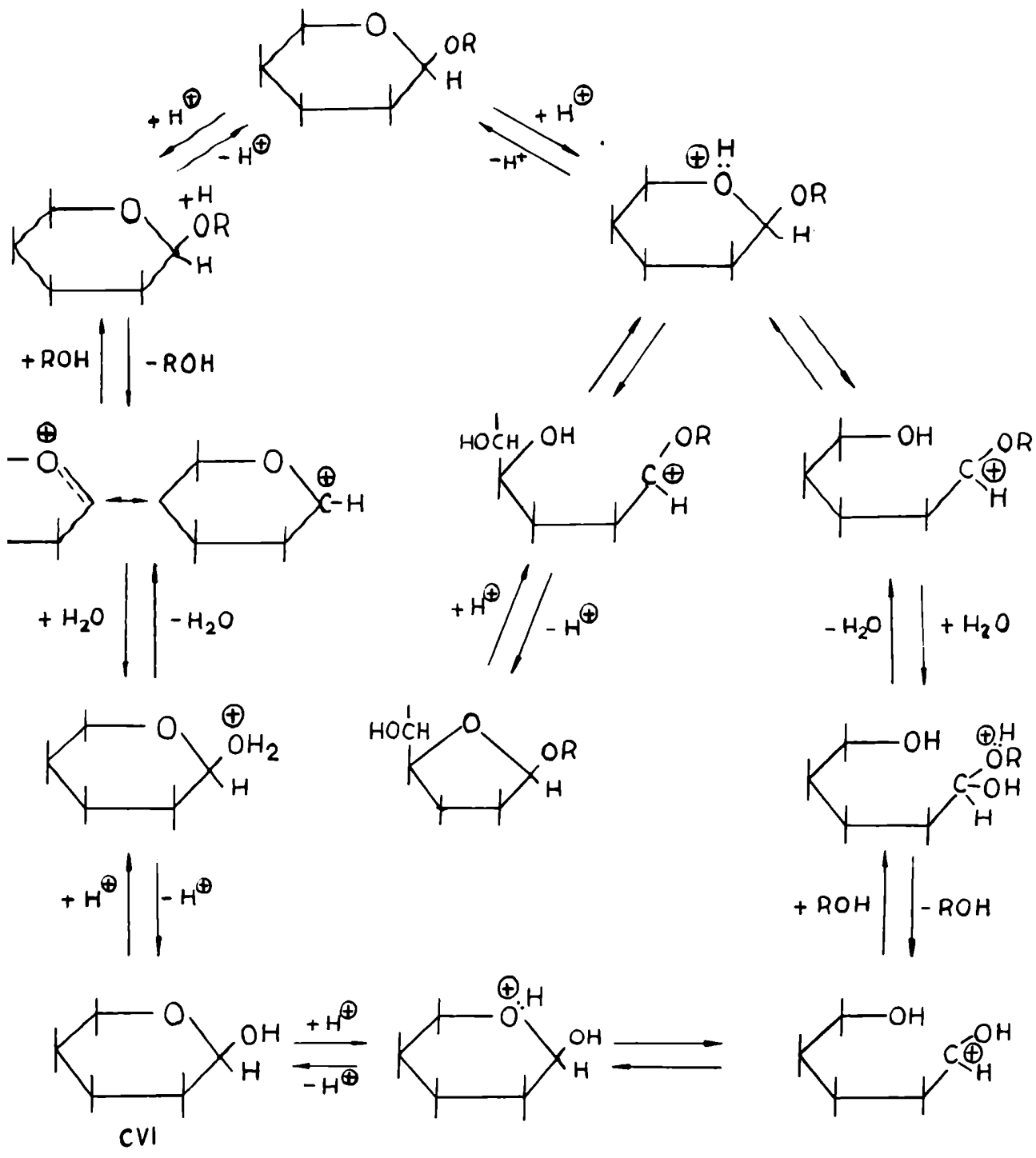
y Dillon(74) han hecho un estudio detallado de los cambios que tienen lugar durante la formación de metil glicósidos por la reacción de azúcares con alcoholes en medio clorhídrico, y sus datos se esquematizan en la figura 3.



Composición de la solución durante la formación de glicósidos a 25° en metanol conteniendo 0,5% de ácido clorhídrico anhidro.

Como se observa en la figura 3 los metil furanósidos se forman en las primeras etapas de la reacción y su cantidad disminuye a medida que esta progresa, mientras que la cantidad de metil piranósido aumenta con el tiempo. Por otra parte, la cantidad de metil furanósidos varía notablemente con la naturaleza del azúcar.

Según Shafizadeh(75) los posibles pasos de la reacción de formación de glicósidos a partir del azúcar CVI serían los siguientes:



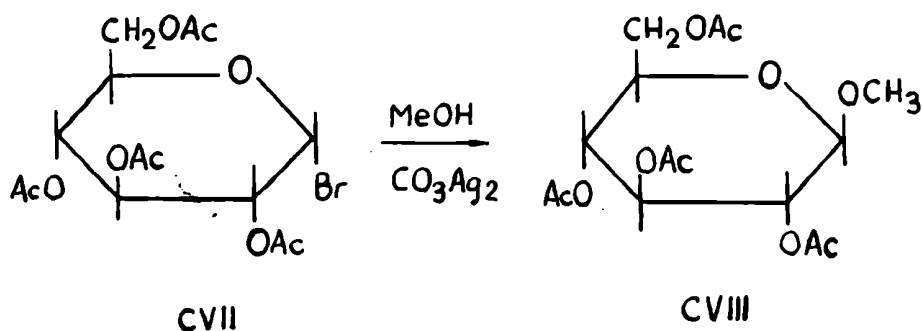
CVI

CVII

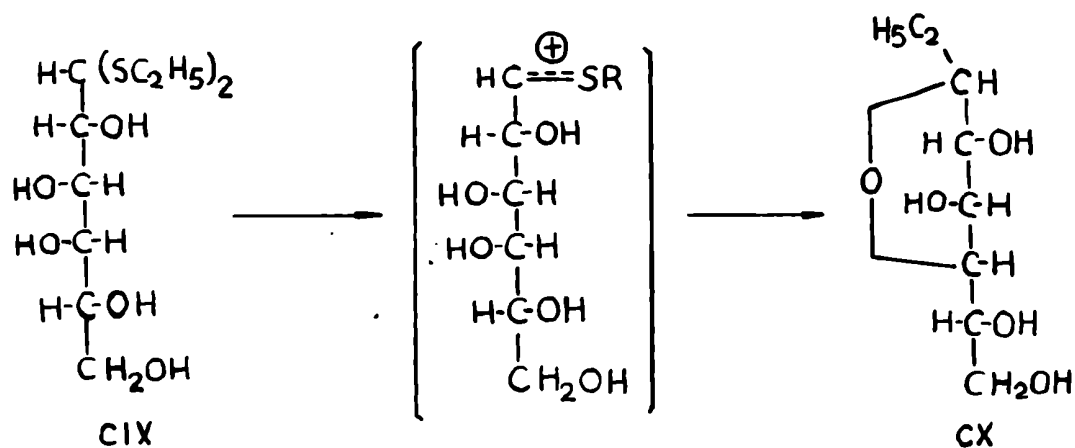
CVIII

cósidos, se forman tanto ciclos furanósicos como piranósicos, dependiendo la proporción de los mismos de la estabilidad termodinámica de cada uno de ellos.

Un ejemplo de reacción irreversible en los hidratos de carbono lo tenemos en la formación de glicósidos a partir de acetohalógeno azúcares (CVII) en la cual el glicósido formado (CVIII) tiene el mismo ciclo que el acetohalógeno azúcar original. (76)



Dentro de las reacciones irreversibles interesa destacar aquellas que llevan a la formación de un ciclo furanósico, y un ejemplo lo tenemos en la desmercaptalización de la galactosa dietil mercaptal (CIX) en medio etanólico con cloruro mercuríco en presencia de óxido mercuríco, la cual, como se produce en medio neutro o ligeramente alcalino, conduce a la formación irreversible de β -etil galactofuranósido con 70% de rendimiento (77).



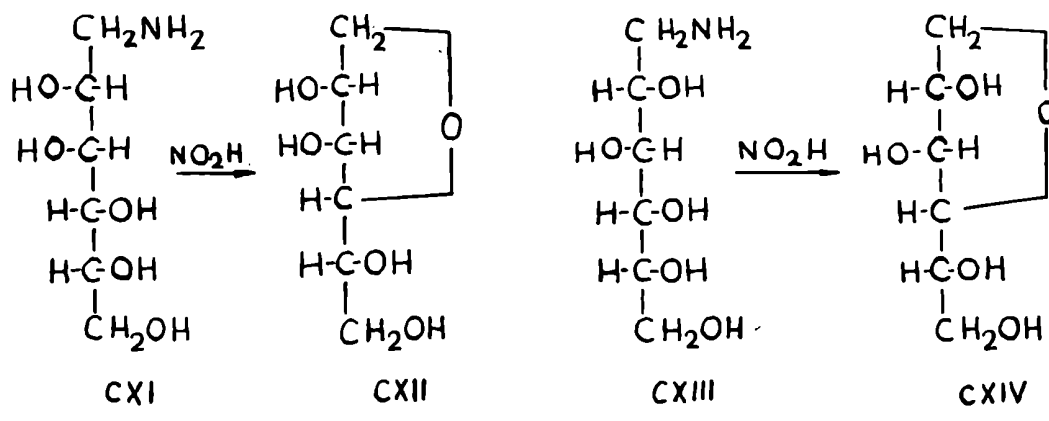
Otros ejemplos de formación de un ciclo furanósico lo tenemos en la desaminación de l-amino alditoles y de ácidos amino aldónicos.

La desaminación de aminas alifáticas simples con ácido nitroso involucra, de acuerdo con Ingold y colaboradores(73), la formación de un ión diazonio intermediario que se descompone en un ión carbonio, el cual luego da lugar a la formación de alcohol y olefinas. En compuestos más complicados, las variaciones en las configuraciones estéricas y la naturaleza de los grupos sustituyentes puede llevar tanto a reordenamientos como a eliminación s y a productos de desplazamiento.

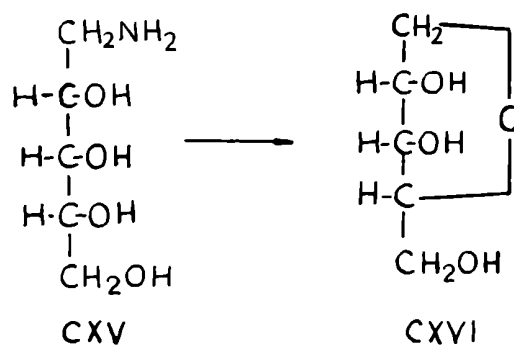
Nosotros consideraremos aquí, por razones de similitud estructural y por el mecanismo por el cual se forma el anillo, las reacciones de desaminación de amino alditoles y de ácidos amino aldónicos, las cuales dan compuestos cíclicos de 5 átomos.

Hay muchas pruebas experimentales de que en la desaminación

de amino azúcares se forman ciclos de cinco átomos. Por ejemplo, el 1-amino-1-desoxi-manitol(CXI) y el 1-amino-1-desoxi-D-glucitol(CXIII) tratados con ácido nítrico dan 1-4 anhidro-D-manitol(CXII) y 1-4 anhidro-D-glucitol(CXIV) respectivamente(79,80).



También el 1-amino-1-desoxi-D-ribitol(CXV) tratado con agua regia(cloruro de nitrosilo) dá 1-4 anhidro-D-ribitol(CXVI)(31).



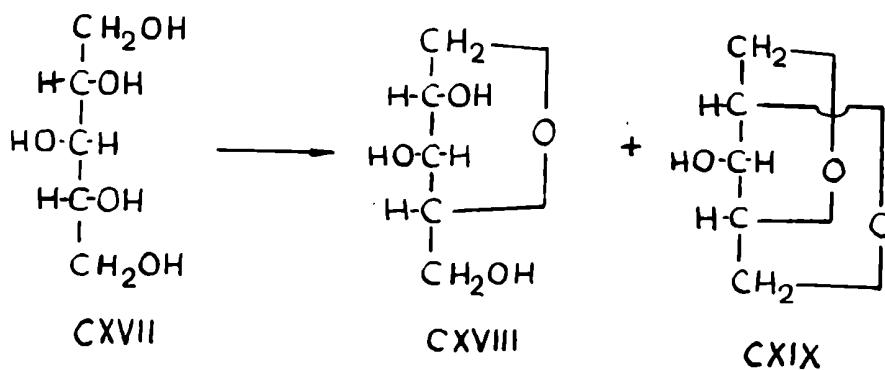
En la tabla IV se resumen algunos datos de experiencias rea-

lizadas con ácidos amino aldónicos e indican que la desaminación de los ácidos 2-amino-2-desoxi hexónicos conducen a los correspondientes ácidos 2-5 anhidro aldónicos, los cuales se aislaron convirtiéndolos, por posterior oxidación con ácido nítrico, en ácidos 2-5 anhidro hexáricos.

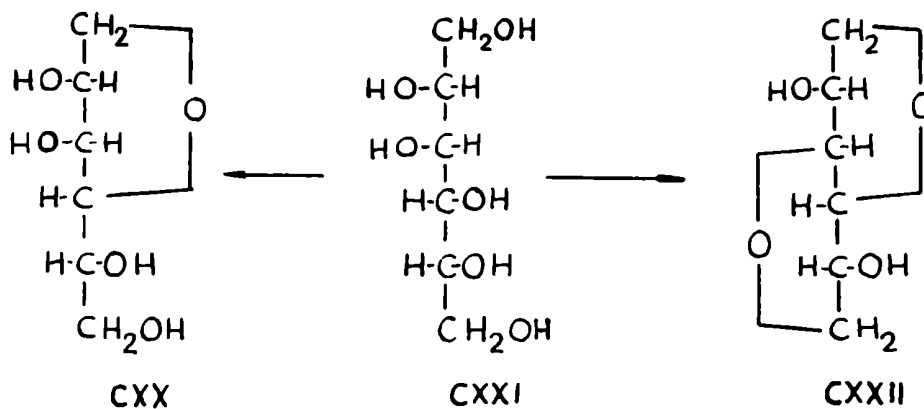
TABLA IV

2-amino-2-desoxi-D-glucónico	2-5-anhidro-D-glucárico(82).
2-amino-2-desoxi-D-manónico	2-5-anhidro-D-manárico(83).
2-amino-2-desoxi-D-galactónico	2-5-anhidro-D-galactárico(84).
2-amino-2-desoxi-D-talónico	2-5-anhidro-D-talárico(83).
2-amino-2-desoxi-D-altrónico	2-5-anhidro-D-altárico(85).
2-amino-2-desoxi-D-allónico	2-5-anhidro-D-allárico(85).
2-amino-2-desoxi-D-gulónico	2-5-anhidro-D-gulárico(83).
2-amino-2-desoxi-D-idónico	2-5-anhidro-D-idárico(83).

La ciclización de alditoles en condiciones acídicas, para dar ciclos de 5 átomos es una reacción de tipo general que constituye otra prueba experimental de la formación preferencial de ciclos furanósicos en las reacciones irreversibles. En la serie de los pentitales, el xilitol(CXVII) por calentamiento con ácidos o con cloruro de zinc da 1-4 anhidro xilitol cristalino(CXVIII) y un dianhidro derivado(CXIX), en forma de jarabe, el cual según Carson y MacLay(86) tiene probablemente la estructura dianhidro 1-4,2-5.



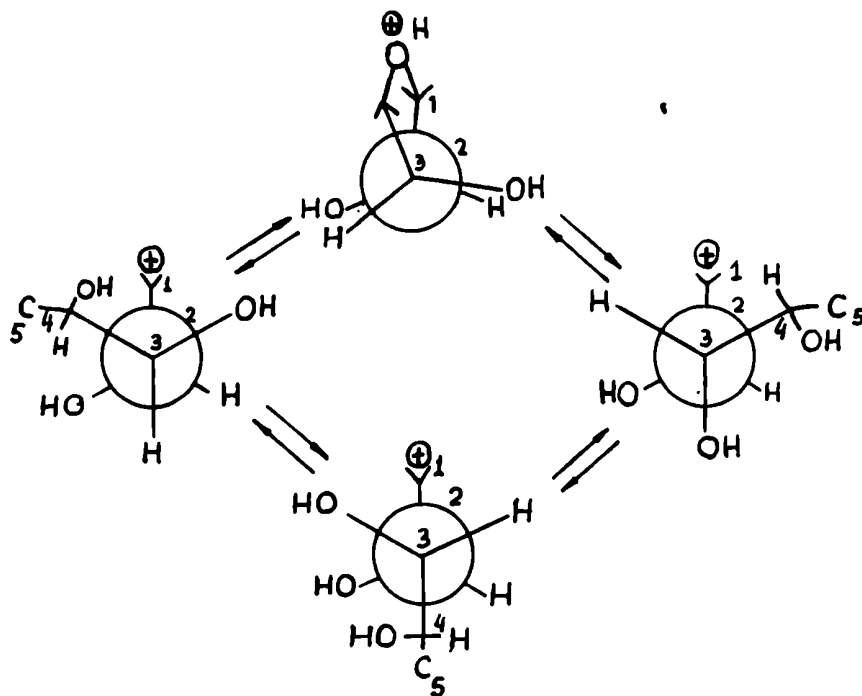
El D-manitol (CXX) con ácido clorhídrico a presión da el 1-4 anhidro-D-manitol (CXXI) (87), y sometido a condiciones más drásticas de deshidratación conduce a la obtención del 1-4,3-6 dianhidro manitol (CXXII) el cual tiene 2 ciclos de 5 átomos en la misma molécula (88).



Estos hechos demuestran que en sustancias en que es posible la formación tanto de ciclos furanósicos como piranósicos, en reacciones irreversibles como las descritas, se forma prefe-

rentemente el anillo furanósico.

Según Shafizadeh(75) la formación de los ciclos pentatómicos puede ser descripta como el resultado de una reacción intramolecular, en la cual un hidroxilo ubicado en una posición estéricamente conveniente actúa como sustituyente. El ataque de otros hidroxilo al carbono 1 está restringido por la mayor tensión de la cadena y por la energía libre necesaria para formar un ciclo de 3 y 4 átomos. La adecuada disposición del carbono 1 y del carbono 4, necesaria para formar un ciclo de 5 átomos en la configuración xilo, está representada en la figura 4 mediante los rotámeros de los carbonos 2 y 3.



La conformación más probable para la molécula de un monosacárido de cadena abierta es la de una cadena planar en zig-zag(89), en la que los grupos más voluminosos que están unidos a otro carbono adyacente se colocan en trans uno con respecto a otro. No obstante, la diferencia en energía libre entre esta conformación y otra cualquiera de cadena abierta no puede ser muy grande, por lo cual es factible la interconversión de una en otra; en la figura 5 se muestra al D-glucitol en esa conformación zig-zag.

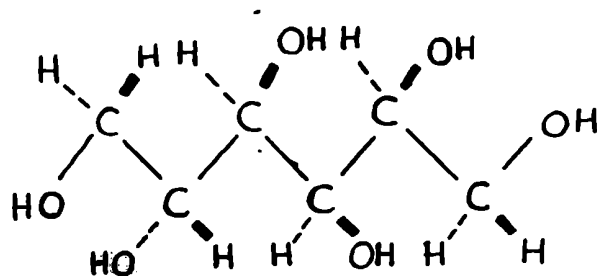


Fig 5

La formación del ciclo de 6 átomos requiere una orientación especial del átomo del carbono 5, además de la de los otros átomos que lo preceden, por lo cual la formación del ciclo piranósico es menos probable que la del furanósico, particularmente a baja temperatura donde las barreras de energía potencial que impiden la libre rotación necesaria para adecuar dicha orientación son más efectivas.

Esta consideración es también válida para la formación de los ciclos en las reacciones reversibles como en el caso de la forma-

ción de metil-glicósidos por la reacción de Fischer, en la cual, al comienzo predomina la formación de glicósidos con estructura furanósica; la posterior conversión de éstas en estructuras piranósicas por la apertura del ciclo y formación intermedia de un catión carbonio de estructura abierta (página 69) podría explicarse por el hecho de que el calentamiento aporta la energía necesaria para producir la rotación y adecuar la configuración estérica de los carbonos 2, 3, 4 y 5 a la formación de un anillo piranósico.

La influencia del factor estérico en la reacción de migración de acilos se pone de manifiesto en el experimento de Allerton y Overend(90), quienes encontraron que la 2,3-di-O-metil-4,5,6-tri-O-acetil-al-D-glucosa tratada con amoníaco metanólico no produce la N-acetil-2,3-di-O-metil glucofuranosilamina. Nosotros hemos estudiado con un modelo molecular la posibilidad de la migración de los acetilos desde los carbonos 4, 5 y 6 al nitrógeno ubicado en el carbono 1 y hemos encontrado que dicha migración estaría impedida estéricamente por el volumen de los metoxilos ubicados en los carbonos 2 y 3.

Como habíamos indicado en el capítulo referente a los mecanismos de formación de N,N'-diacil aldósilidéndiaminas y N-acil aldósilaminas (pág. 12) parecería probable que estas últimas también podrían formarse mediante el cierre de un ciclo entre el carbono 1 positivo y un hidroxilo que esté libre y en posición estéricamente favorable (figura 6); este mecanismo de ciclización sería comparable al de formación de los ciclos de los metilglicósidos.

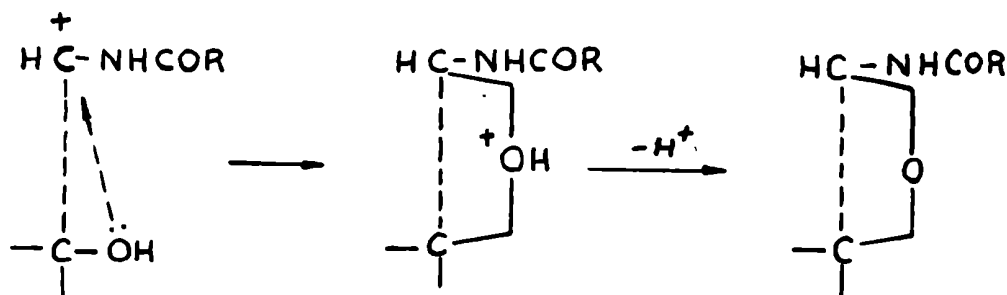


Figura 6

La reacción de formación de las N-acil glucosilaminas mediante la reacción del amoníaco con los derivados acilados de hidratos de carbono es de carácter irreversible, por cuanto el tratamiento con amoníaco neutraliza de dichos N-acil glucosilaminas regenera las mismas N-acil glucosilaminas de partida, con excepción de la N-acetil-maltosilamina y la N-benzoil-maltosilamina dan una mezcla no separable(22).

La explicación de la formación preferencial de la N-acetil glucosilaminas en la reacción del amoníaco con los derivados acilados de la glucosa, la podemos hacer basándonos en las consideraciones acerca de la formación de ciclos furanósicos expuestos anteriormente. La aplicación de dicho criterio a la formación de N-acilaldosilaminas en las reacciones de amoníacosis de derivados acilados de aldosas, debe hacerse teniendo en cuenta la diferencia fundamental que existe entre la formación de un ciclo en una molécula sin sustituyentes que puedan interferir

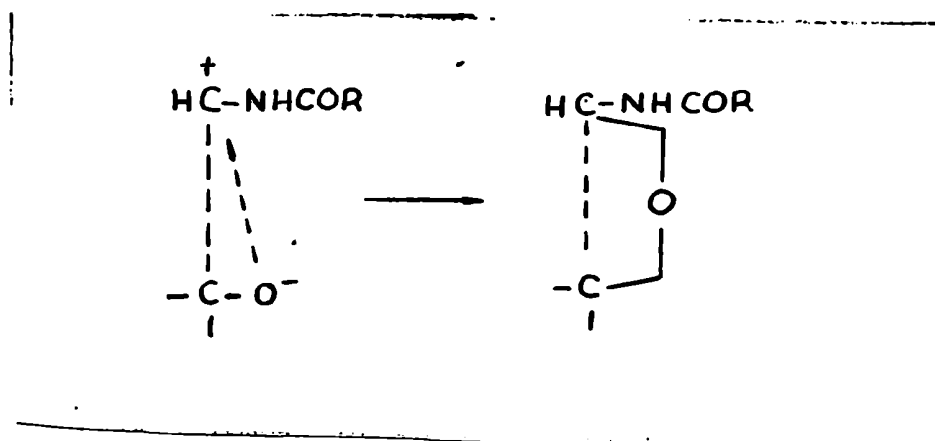
en el cierre del anillo, o en otra en la cual, en el momento de cerrarse el ciclo, puede haber aún acilos ubicados en la molécula los cuales podrían impedir el ordenamiento estérico de los carbonos 2, 3, 4 y 5 necesario para la formación de un ciclo, lo que traería como consecuencia la dificultad de formación del mismo.

Como dijimos anteriormente (pág. 67) la naturaleza de los productos de una reacción irreversible está determinada por los cambios de entropía y por la estereoquímica del estado de transición. Para poder explicar el diferente comportamiento de la penta-O-acetil- β -D-glucosa que produce N-acetil-D-glucofuranosilamina y el de la penta-O-benzoil-D-manosa y tetra-O-benzoil-L-ramnosa que dan respectivamente N-benzoil-D-manopiranosilamina y N-benzoil-L-ramnosilamina tenemos que considerar los probables estados de transición que conducen a cada uno de ellas.

Mills(71) asegura que aunque no se han hecho muchas medidas cinéticas, las reacciones de sustitución nucleofílica SN_2 son probablemente muy comunes en los hidratos de carbono, especialmente en las que producen anhídros azúcares. Este concepto está de acuerdo con el mecanismo postulado por Deulofeu y colaboradores(20) para la reacción de formación de N-acil glicosilaminas por amonólisis de los derivados acilados de hidratos de carbono.

Otra posible explicación del mecanismo de la reacción de ciclización que conduce a la formación de N-acil aldosisilaminas, sería la que involucra la reacción del ión carbonilo localizado

en el carbono 1 con un hidroxilo ionizado, teniendo en cuenta que dicha reacción se verifica en medio alcalino.

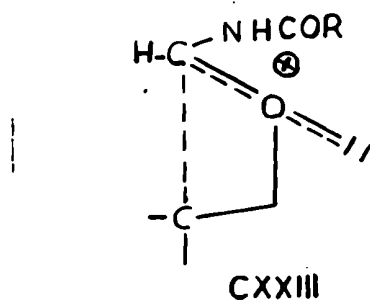


Sin embargo esto parece poco probable por cuanto las otras reacciones de ciclización que hemos descripto anteriormente se producen en medio neutro o ácido, y además, porque de producirse la ionización de los hidroxilos, la ciclización podría ocurrir con alguno de los que quedan libres diferentes de los ubicados en los carbonos 4 y 5, dando lugar a productos con distinto ciclo, lo cual no ha sido nunca observado.

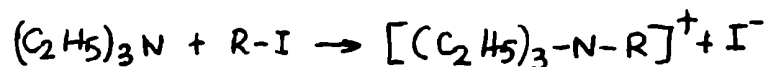
Por otra parte y aunque no conocemos que se hayan realizado medidas de la acidez de los grupos hidroxilos en una molécula de hidrato de carbono de cadena abierta, las experiencias realizadas con hidratos de carbono de estructura cíclica, tales como α y β -metil glucósidos, D-glucosa, celobiosa y maltosa (91) establecieron que luego del hidroxilo del carbono 1, que era el más ácido y del hidroxilo del carbono 2 que lo seguía, los restantes tenían el mismo grado de acidez, por lo cual no se podría explicar la formación selectiva de ciclos furanósicos

y piranósicos.

La reacción de ciclización que consideramos podría tener un estado de transición representable por CXXIII.



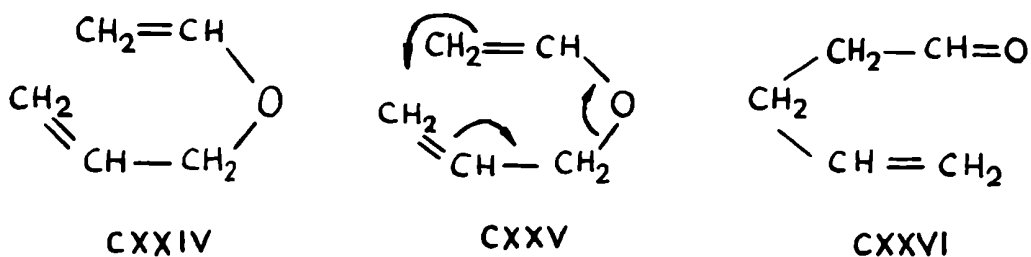
Este estado de transición tendría su energía libre de activación (ΔE^\ddagger) y su entropía de activación (ΔS^\ddagger). Para explicar la formación de ciclos es necesario considerar como actúa en general el impedimento estérico sobre la ΔE^\ddagger y la ΔS^\ddagger . Por ejemplo la energía de activación de la reacción:



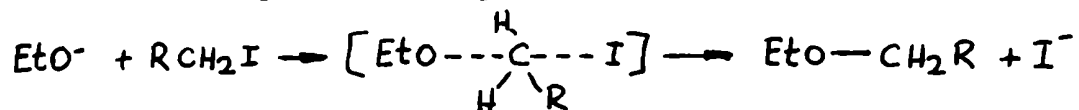
es de sólo 9,7 Kcal por mol cuando R es metilo pero es de 16,0 Kcal por mol cuando R es isopropilo. El átomo de nitrógeno puede aproximarse al carbono del yoduro de metilo con poca interferencia, pero con el grupo isopropilo está sujeto a un mayor impedimento estérico, lo cual aumenta el ΔE^\ddagger de la reacción(92).

En lo que respecta a la entropía de activación, según opinión de Gould(93), cuando se forma un estado de transición cíclico a partir de productos no cíclicos en general la ΔS^\ddagger es negativa, puesto que durante la ciclización está impedida la

la libre rotación alrededor de las uniones simples. Así la isomerización del éter alil vinílico (CXXIV) al β -vinil propionaldehído (CXXVI) ha sido estudiada por Stein y Murphy (94) quienes establecieron que procede a través del intermediario cíclico CXXV, tiene una entropía de activación de $-7,7$ cal por mol y por grado.



Por otra parte, una baja entropía de activación puede corresponder también a un estado de transición en el cual el movimiento de los sustituyentes está impedido. Dostrovsky y Fugles han establecido que la entropía de activación de la reacción



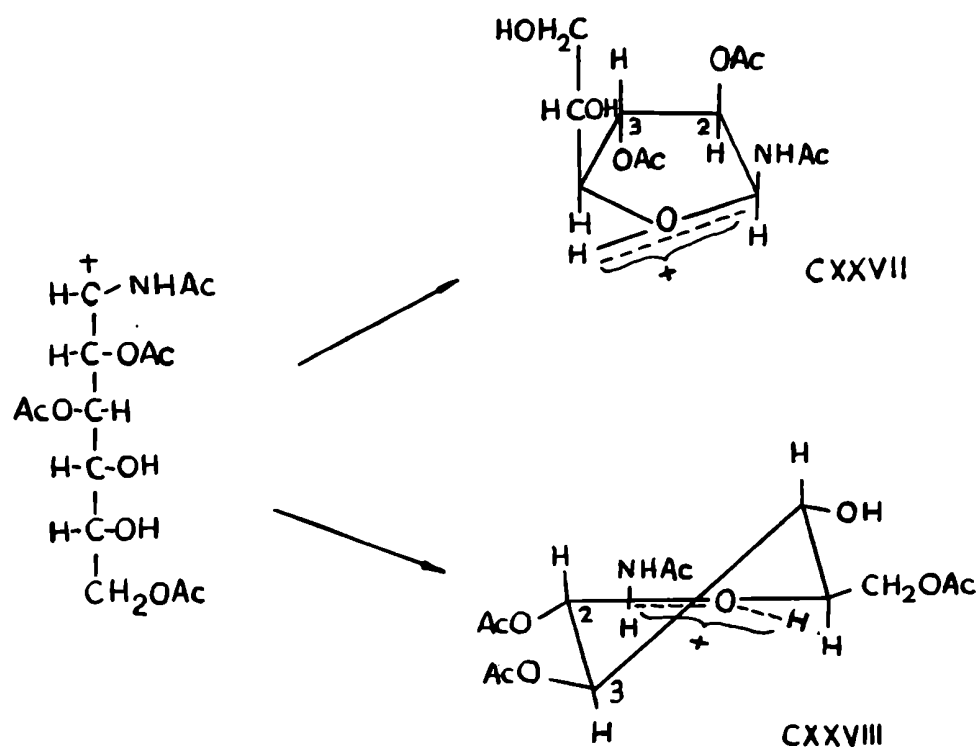
es de $-9,5$ cal por mol y por grado cuando R es hidrógeno, pero que baja a $-19,9$ cal por mol y por grado cuando R es ter-butilo (95).

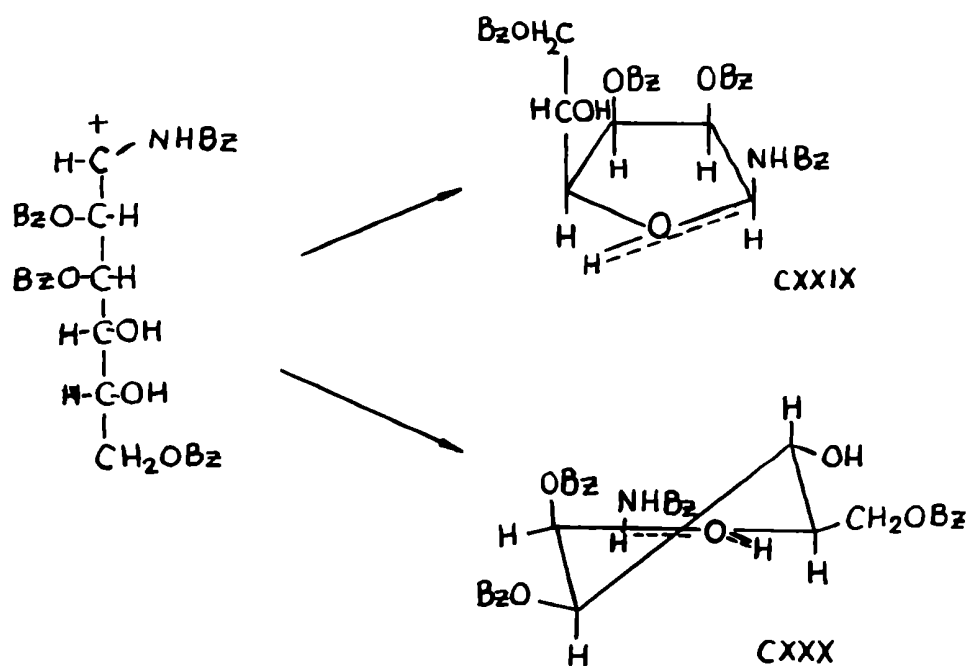
De acuerdo a lo antedicho, una reacción puede ser retardada tanto por una elevada energía de activación positiva como por una entropía de activación negativa elevada.

En nuestro caso y como hipótesis límite, partiremos de la suposición que en el momento de la formación del estado de tran-

sición están libres solamente los hidroxilos de los carbonos 4 y 5 los que pueden así competir en la formación de los ciclos furanósicos o piranósicos, quedando los restantes hidroxilos esterificados por sus grupos acilos.

Los posibles estados de transición para los ciclos furanósicos y piranósicos de la N-acetil glucofuranosilamina y la N-benzoyl manosilamina se representan en los dibujos siguientes:





En los dibujos se observa que en los estados de transición de la glucosa el impedimento estérico debido a la disposición de los grupos acetilos en trans en los carbonos 2 y 3 en el ciclo furanósico(CXXVII) y en posición ecuatorial en el ciclo piranósico(CXXVIII), no es muy diferente, por lo cual se podría suponer que la energía libre de activación y la entropía de activación de ambos estados podría ser similar, lo que explicaría que la ciclización se efectuó según el criterio expuesto anteriormente en la página 76, dando un ciclo de 5 átomos.

Los estados de transición de la manosa son muy diferentes en lo que respecta a impedimento estérico, por cuanto el intermediario furanósico(CXXIX) tiene 2 grupos benzoilos ubicados en posición cis(96), mientras que el intermediario piranósico(CXXX)

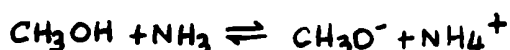
tendría el benzoilo de 2 en posición axial y los restantes en posición ecuatorial, por lo cual el efecto del impedimento estérico en este último debería ser menor que en el caso de un intermediario furanósico(CXXIX), por lo que el estado de transición correspondiente al intermediario piranósico(CXXX) tendría una energía libre de activación y una entropía de activación menor que para el CXXIX. Ello explicaría la formación de la N-benzoil-D-manosilamina y también la de la N-benzoil-L-ramnosilamina, por cuanto puede suponerse que los estados de transición de esta última serían similares a CXXIX y a CXXX.

Los resultados obtenidos por Cadenas y Deferrari(33,43 y 44) con los disacáridos acetilados con unión glicosídica 1-4 se resumen en la tabla V, y pueden explicarse en base al comportamiento de la glucosa por cuanto todos los disacáridos estudiados son 4-O-glicopiranosil-D-glucosas.

TABLA V

Disacárido	medio de reacción	N-acetil aldobiosilamina aislada	N,N'-diacetil aldobidilidéndiamina aislada
maltosa	Amoníaco metanólico 16%	-	0,8%
	Amoníaco acuoso al 25%	-	27%
celobiosa	Amoníaco metanólico 16%	1%	3,7%
lactosa	Amoníaco metanólico al 16%	1%	4,6%

El bajo porcentaje de N-acetil aldobiosilamina fué explicado por Cadenas(Tesis) como debido a la influencia del resto unido al carbono 4 o a la carencia de un hidroxilo en el carbono 4 de la parte reductora, con lo cual estaba impedida la formación de un ciclo furanósico, que es el que se forma por amonólisis de la penta-O-acetil- β -D-glucopiranososa. Una pequeña parte de los acetilos migraba para formar una N-acetil aldobiosilamina conciclo piranósico, otra parte formaba la N,N'-diacetil aldobiosilidéndiamina mientras que la mayor parte se eliminaba como acetamida dando como resultado un alto porcentaje del azúcar libre. Los bajos rendimientos obtenidos con amoníaco metanólico 16% fueron explicados por Cadenas y Deferrari(33) como resultado del efecto de la naturaleza del solvente que en el caso del metanol y por ser un ácido más fuerte que el agua produciría iones metilato según el equilibrio:



cuyo resultado sería la eliminación de acetilos por transesterificación con el solvente y por amonólisis con formación de acetamida.

Cabe destacar el relativamente alto rendimiento de N,N'-diacetil maltosilidéndiamina(27%) en la amonólisis de la octa-O-acetil maltosa con amoníaco acuoso, teniendo en cuenta que la posible contribución de los acetilos de la parte reductora de la maltosa es la de los ubicados en los carbonos 2, 3 y 6.

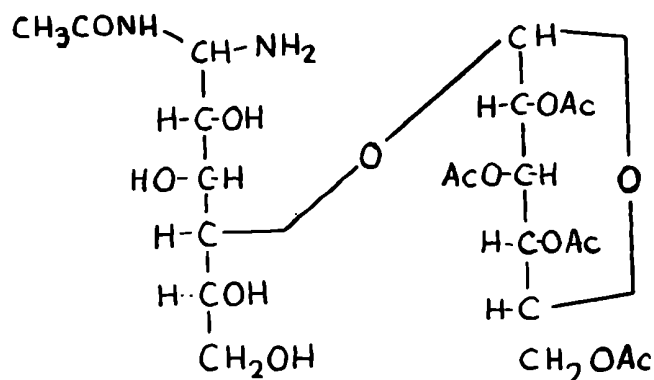
La participación del acetilo del carbono 6 podría ser cuestionada si se tiene en cuenta que su migración al carbono 1 no podría ser directa sino que debería transponerse primero a los

carbonos 5, 4, 3 o 2 desde alguno de los cuales podría luego migrar al nitrógeno ubicado en el carbono 1 para dar la N-acilamina correspondiente, lo cual fué observado por nosotros mediante el empleo de un modelo molecular.

Una explicación del relativamente elevado rendimiento de N,N'-diacetil maltosilidéndiamina podría ser el hecho que al estar bloqueado el hidroxilo del carbono 4 por el sustituyente D-glucopiranosilo está impedida la ciclización entre esa posición y el carbono 1 para dar un anillo furanósico de fácil formación inicial, y antes que la cadena zig-zag de CXXXI pueda adecuarse a la configuración estérica necesaria para la formación de un anillo piranósico, la migración de otro acetilo conduciría a la formación de la N,N'-diacetil aldobiosilidéndiamina.

Otro factor a tener en cuenta para la explicación del relativamente elevado rendimiento de N,N'-diacetil maltosilidéndiamina sería la consideración de la contribución por migración al carbono 1 de otros acetilos provenientes de la mitad no reductora del disacárido acetilado. Esta contribución pareció posible ya que estudiando un modelo molecular de CXXXI observamos que el NH₂ del carbono 1 podía interaccionar sin dificultad con el acetilo unido al carbono 2 de la mitad cíclica de CXXXI y con alguna mayor dificultad con el del carbono 6. Además el estudio del modelo mostró que los acetilos unidos a los carbonos 2 y 6 de la mitad cíclica podían interaccionar también con los hidroxilos de los carbonos 2, 3, 5 y 6 de la otra mitad de cadena abierta de CXXXI con lo cual podría dar

lugar a una migración de acetilos al carbono 1 a través de la transferencia de éstos a algunos de los hidroxilos libres de los carbonos 2, 3, 5 y 6 de la mitad de cadena abierta.



CXXXI

Los resultados obtenidos por nosotros en el estudio de la acción del amoníaco sobre disacáridos acetilados con unión glicosídica 1-6 se resumen en la tabla VI

TABLA VI

Disacárido	Medio de reacción	N,N'-diacetilaldobiosilidéndianina	N-acetilaldosilamina	Azúcar libre
Melibiosa	Amoníaco acuoso al 25%	-	22,5%	7,7%
	Amoníaco acuoso al 33%	5,8%(1)	-	1,6%(1)
	Amoníaco metanólico 16%	5% (1)	0,27%	13,3%(1)
Genciobiosa	Amoníaco acuoso al 25%	0,5%	29%	(2)

(1) aislado como acetato

(2) identificado cromatográficamente

Cabe destacar que en los casos estudiados la N,N'-diacetil aldobiosilidéndiamina se produce con un rendimiento menor que en el de la amonólisis en medio acuoso de la octa-O-acetil maltosa y que la N-acetil aldobiosilamina se producen con rendimiento mucho mayor que el obtenido con los disacáridos acetilados de unión glicosídica 1-4, y que el rendimiento de azúcares libres fué menor que en el caso de los acetatos de celobiosa, lactosa, y maltosa.

La formación de N,N'-diacetil melibiosilidéndiamina en cantidad de 5% en medio metanólico es del mismo orden que en caso de los disacáridos con unión glicosídica 1-4 y podría considerarse como un resultado similar al obtenido con la penta-O-acetil- β -D-glucosa que por tratamiento con amoníaco metanólico da N,N'-diacetil glucosilidéndiamina con sólo 8% de rendimiento (97), además de N-acetil-D-glucofuranosilamina.

En la amonólisis en medio acuoso los rendimientos de N,N'-diacetil melibiosilidéndiamina (5,8%) y N,N'-diacetil genciobiosilidéndiamina (8,5%) son del mismo orden entre sí, pero mucho menores que el obtenido en el caso de la octa-O-acetil maltosa que en esas condiciones produjo 27% de N,N'-diacetil maltosilidéndiamina.

El rendimiento de 22,5% de N-acetil melibiosilamina y de 29% de N-acetil genciobiosilamina obtenidos en nuestras experiencias con amoníaco acuoso comparado con el obtenido en la reacción del amoníaco acuoso con la penta-O-acetil- β -D-glucosa que da 41% de N-acetil glucofuranosilamina (68) podría expli-

carse si se considera que en el penta-O-acetil- β -D-glucosa los 4 acetilos ubicados en los carbonos 2, 3, 4 y 6 tiene posibilidades de migrar, mientras que en la octa-O-acetil melibiosa y en la octa-O-acetil genciobiosa solamente los 3 acetilos ubicados en los carbonos 2, 3 y 4 podrían migrar al carbono 1. Es decir, que en relación a la penta-O-acetil glucosa faltaría sólo la contribución del acetilo del carbono 6, la cual podría ser poco importante si se postula que éste contribuiría en una forma similar a la del benzoilo ubicado en la misma posición en el caso de la penta-O-benzoil-D-glucosa. Ello hace pensar que no podría ser ésta la única razón por la cual en la amonólisis de la octa-O-acetil melibiosa y la octa-O-acetil genciobiosa en rendimiento de N-acetil aldobiosilamina es prácticamente la mitad del obtenido con la β -penta-O-acetil glucosa; esta diferencia debería ser atribuida entonces al factor estérico debido a la presencia del grupo voluminoso 2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glicopiranosilo unido al carbono 6 de la parte reductora de estos disacáridos. Por otra parte el hecho que se haya obtenido un rendimiento elevado de N-acetil melibiosilamina y de N-acetil genciobiosilamina en relación a las N,N'-diacetil aldobiosilidéndimina sería explicable considerando que el resto reductor que sufre la reacción de transposición de acetilos es una unidad de glucosa que presenta la posibilidad de formar un ciclo 1-4, que como ya hemos señalado es de fácil formación, lo que haría factible que la reacción pudiera producirse en ese sentido.

A pesar que aún no hemos podido demostrar la estructura del ciclo de la N-acetil melibiosilamina y la N-acetil gencibiosilamina, la formación de un ciclo piranósico, aunque posible, nos parece menos probable, en razón del comportamiento de la penta-O-acetil β -D-glucosa, la cual da N-acetil glucofuranosilamina y de los bajos rendimientos (menos del 1%) de N-acetil aldobiosilaminas con ciclos piranósicos obtenidos en la amonólisis de los disacáridos acetilados con unión glicosídica 1-4, en los cuales sólo podía formarse el ciclo piranósico por estar la posición 4 comprometida en la unión glicosídica.

En función de que los rendimientos de N,N'-diacetil aldobiosilidéndiaminas y N-acetil aldobiosilaminas son cercanos a los que podían esperarse si solamente contribuyera la mitad reductora, nos parece que fundamentalmente el mecanismo de migración de acetilos debería verificarse en dicha mitad, pero no podemos descartar la posibilidad de una contribución de los acetilos ubicados en la otra parte de la molécula.

El estudio de un modelo molecular de CXXXII permitió comprobar que el grupo NH₂ del carbono 1 podía interaccionar con relativa facilidad con los acetilos ubicados en los carbonos 2 y 6 de la parte no reductora de CXXXII y que estos últimos podrían interaccionar también con los hidroxilos ubicados en los carbonos 2, 3, 4 y 5 de la parte reductora, lo cual podría dar lugar a una transferencia de algunos de estos acetilos a los hidroxilos mencionados contribuyendo así a la formación de

PARTE EXPERIMENTAL

1,2,3,4,6-PENTA-O-ACETIL- β -D-GLUCOSA

Esta sustancia se preparó de acuerdo a la técnica de E. Fischer (98).

A 50 g. de glucosa anhidra previamente mezclados con 40 g. de acetato de sodio fundido y molido se añadieron 250 ml. de anhídrido acético y se calentó en baño de maría hirviente durante 3 hs. La solución resultante se volcó en 2 l. de agua helada; después de 6 horas se decantó el agua y el jarabe obtenido por repetidos tratamientos con agua fría cristalizó. Se filtró, lavó y secó. Después de 3 recristalizaciones de metanol se obtuvieron 65 g. de 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- β -D-glucosa de p.f. 131-132°. (E. Fischer da p.f. 131-132°).

1- α -BROMO-2,3,4,6-TETRA-O-ACETIL-D-GLUCOPIRANOSA

Esta sustancia se preparó por una modificación de la técnica de E. Fischer(98).

45 g. de penta-O-acetil- β -D-glucopiranososa de p.f. 131-132° se trataron con 90 g. de ácido bromhídrico al 33% en ácido acético glacial enfriado a 0°. Se agitó durante 10 minutos hasta disolver el sólido en suspensión y la solución resultante después de 2 horas a temperatura ambiente se diluyó con 180 ml. de cloroformo, se volcó con agitación sobre 450 ml. de agua helada y se decantó la solución clorofórmica.

La solución acuosa se extrajo tres veces con 100 ml. de cloroformo cada vez. Las soluciones clorofórmicas reunidas se lavaron con cinco porciones de 100 ml. de agua cada vez hasta reac-

neutra; se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó al vacío. El jarabe obtenido se disolvió en 150 ml. de éter anhidro y por enfriamiento de la solución cristalizó la α -acetobromoglucosa que se filtró y lavó con éter frío. Rendimiento: 32,5 g. de p.f. 87-89°. Se concentraron las aguas madres al vacío hasta la mitad del volumen original. Al enfriar se separó una cantidad adicional de α -acetobromoglucosa. Este proceso se repitió una vez más, con lo que se obtuvo más producto cristalino. Las diferentes fracciones se recrystalizaron por separado, disolviéndolas en éter etílico anhidro a temperatura ambiente y agregando luego éter de petróleo (p.e. 60-60°) hasta aparición de turbiedad. Rendimiento total: 40,5 g. de p.f. 88-89° (86%). Fischer da p.f. 83-89°.

1,2,3,4-TETRA-O-ACETIL-6-TRITIL- β -D-GLUCOSA

Se siguió la técnica de D. Reynolds y W. Evans(99).

En un baño de agua hirviente se calentó hasta disolución una mezcla de 60 g. de glucosa anhidra, 96,6 g. de trifenilclorometano y 250 ml. de piridina anhidra. Sin enfriar se agregaron 180 ml. de anhídrido acético de una sola vez y se mantuvo la solución a temperatura ambiente durante 12 hs.

Se volcó luego lentamente y con agitación enérgica en 5 l. de agua-hielo con lo cual precipitó un producto amorfo que se filtró y se agitó nuevamente con 5 litros de agua helada. El precipitado se filtró, lavó con abundante agua y secó al aire.

El sólido seco se maceró con 300 ml. de éter etílico anhidro

y la porción insoluble en éter se disolvió en 800 ml. de etanol a ebullición y se decoloró con carbón; por enfriamiento cristalizaron 75 g. de 1,2,3,4-tetra-O-acetil-6-tritil- β -D-glucopiranososa de p.f. 161-163° que recristalizados de 700 ml. de una mezcla de etanol-metanol(4:1) rindieron 66,1 g. de p.f. 165,5-166°.

De las aguas madres se recuperaron 3,5 g. de 1,2,3,4-tetra-O-acetil-6-tritil- β -D-glucopiranososa de p.f. 165,5-166°. La solución etérea resultante de la maceración del producto bruto se concentró al vacío y se cromatografió en una columna de alúmina neutra activada a 130° durante 12 hs. La elución de la columna con benceno-éter etílico anhidro(1:1) proporcionó 9,3 g. más de 1,2,3,4-tetra-O-acetil-6-tritil- β -D-glucosa de p.f. 165-166°. Rendimiento total 79,4 g.(40%). Reynolds y Evans dan p.f. 166-166,5°(corregido).

1,2,3,4-TETRA-O-ACETIL- β -D-GLUCOPIRANOSA

Se siguió la técnica descrita por D. Reynolds y W. Evans(99).

31,9 g. de 1,2,3,4-tetra-O-acetil-6-tritil- β -D-glucopiranososa se disolvieron en 90 ml. de ácido acético glacial por calentamiento en baño de maría a 30°. La solución se enfrió a 10° y se agitó enérgicamente con 15 ml. de ácido bromhídrico en ácido acético glacial(33%) durante 45 segundos. Se filtró el bromuro de trifenilmetilo producido y el filtrado se volcó inmediatamente en 500 ml. de agua helada.

La solución acuosa se extrajo 3 veces con 60 ml. de cloroformo cada vez y la solución clorofórmica resultante se lavó

10 veces con 50 ml. de agua helada cada vez hasta eliminación total de acidez; se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el cloroformo al vacío. El jarabe resultante se tomó con 10 ml. de cloroformo y se pasó a un frasco de Erlenmeyer de 125 ml., donde se le agregaron 80 ml. de éter etílico anhidro. Se sembró y después de 40 minutos comenzó la cristalización; después de 24 hs. a +5° se filtraron los cristales y se lavaron con éter anhidro. Rendimiento: 12,5 g. de p.f. 123-126°.

Se recrystalizaron disolviéndolos en 9 ml. de cloroformo a ebullición y agregando 50 ml. de éter etílico anhidro; por enfriamiento cristalizó y se diluyó entonces con 30 ml. de éter de petróleo. Se obtuvieron 10 g. de p.f. 126-128°.

Las aguas madres se concentraron al vacío hasta consistencia siruposa y el jarabe residual, sometido al mismo procedimiento dió 1,1 g. de cristales de p.f. 127-128°. Por una nueva concentración al vacío de las aguas madres se obtuvo un jarabe que no se pudo cristalizar y del cual por cromatografía en columna de alúmina neutra (40 cm. por 1,5 cm.) con benceno-etanol absoluto (1%) se obtuvieron 400 mg. más de p.f. 127-128°. Rendimiento total: 11,5 g. de p.f. 127-128° (61%). Reynolds y Evans dan p.f. 128-129°.

OCTA-O-ACETIL-6- β -D-GLUCOPIRANOSIL- β -D-GLUCOPIRANOSA (OCTA-O-ACETIL GENCIOBIOSA).

Se siguió la técnica descripta por D. Reynolds y W. Evans (56).

En un frasco de Erlenmeyer y en la oscuridad se agitaron durante 50 minutos 21,13 g. de 1,2,3,4-tetra-O-acetil- β -D-glu-

cosa, 48 g. de Drierita y 11,5 g. de óxido de plata (preparado de acuerdo a la técnica de Helferich y Klein (100)), con 45 ml. de cloroformo anhidro libre de alcohol; se agregaron luego 2,1 g. de yodo y en un lapso de 40 minutos una solución de 24,75 g. de α -acetobromoglucosa en 50 ml. de cloroformo anhidro libre de alcohol. Se continuó la agitación durante 24 hs. al cabo de las cuales se filtró la mezcla a través de una capa de celite y se lavó el residuo con cloroformo.

El filtrado clorofórmico se evaporó al vacío y el jarabe obtenido se disolvió en 450 ml. de etanol; de la solución etanólica por reposo y enfriamiento se separaron 27,5 g. de cristales de p.f. 192-195°; que recristalizados de 320 ml. de etanol rindieron 24,25 g. (58,7%) de octa-O-acetil-6- β -D-glucopiranosil- β -D-glucopiranososa de p.f. 195-196°. (Reynolds y Evans dan p.f. 195-196°).

OCTA-O-ACETIL MELIBIOSA

Se siguió la técnica descrita por C. Scheiber y H. Mittelmeier (69).

12 g. de melibiosa anhidra, 24 g. de acetato de sodio y 44 ml. de anhídrido acético se calentaron en baño de maría durante 1 hora y luego 20 minutos a ebullición. El producto de la reacción se volcó en 500 ml. de agua-hielo y después de 24 hs. se decantó el líquido sobrenadante y el jarabe que se separó se maceró repetidas veces con agua, con lo que se obtuvo un producto amorfo que se filtró. Después de dos cristalizaciones se obtuvieron 15,95 g. (66,1%) de octa-O-acetil melibiosa de p.f. 175-176° (Scheiber y Mittelmeier dan p.f. 170-171°).

AMONOLISIS DE OCTA-O-ACETIL MELIBIOSA CON AMONIACO ACUOSO AL 25%

OBTENCION DE MELIBIOSA Y N-ACETIL MELIBIOSILAMINA

15,90 g. de octa-0-acetil melibiosa se agitaron hasta disolución con 350 ml. de amoníaco acuoso al 25%. Después de 24 hs. a temperatura ambiente se evaporó el agua al vacío a temperatura menor de 60°. El jarabe resultante se secó en un desecador al vacío sobre ácido sulfúrico, se maceró con 5 ml. de acetato de etilo y se secó nuevamente. El sólido amorfo así obtenido se extrajo 6 veces con 50 ml. de acetato de etilo para eliminar la acetanida y se secó nuevamente; se disolvió en agua y se pasó la solución por una columna de 910 ml. de resina sulfónica Amberlite IR-120 para eliminar sustancias básicas, lavando con 4 l. de agua. La solución acuosa se concentró al vacío hasta consistencia de jarabe; se secó, se extrajo 4 veces con 50 ml. de acetato de etilo cada vez y se secó nuevamente al vacío. Rendimiento: 10,6 g. de jarabe.

Estos 10,6 g. de jarabe se cromatografiaron en una columna de 60 cm. por 2,7 cm. de carbón Darco G-60-Celite 535(5:1); se eluyó con agua y con concentraciones crecientes de etanol- agua recogiendo en volúmenes de 500 ml. las siguientes fracciones:

Fracciones	Eluyente	Volúmen	
1-7	Agua	3,5	1.
8-9	Agua-etanol(100:1)	1	1.
10-18	Agua-etanol(100:2)	4	1.
19	Agua-etanol(100:5)	0,5	1.
20-24	Agua-etanol(100:7)	2	1.

25-26	Agua-etanol(100:12)	1	1.
27-28	Agua-etanol(100:15)	1	1.
29-30	Etanol	1	1.

Aislamiento de melibiosa: por evaporación al vacío y tratamiento con metanol las fracciones 9 a 17 dieron 210 mg. de placas de p.f. 175-176° que se identificaron como la forma α de la melibiosa descrita por H. Fletcher y H. Diehl(70). 100 mg. se recristalizaron disolviéndolos en 0,10 ml. de agua y añadiendo 3 ml. de metanol y 3 ml. de etanol gota a gota; después de 4 cristalizaciones dieron 38 mg. de placas de p.f. 176-177°, $[\alpha]_D^{24} +144,3^\circ$ (c, 0,17, agua); Fletcher y Diehl(70) dan p.f. 179-181°, $[\alpha]_D +142,3^\circ$.

Análisis calculado para $C_{12} H_{22} O_{11}$: C:42,15; H:6,43

Encontrado : C:41,76; H:6,68

Caracterización de la melibiosa:

a) por acetilación: 90 mg. de cristales de p.f. 176-177°, $[\alpha]_D^{24} +144,3^\circ$, 0,4 ml. de anhídrido acético y 0,2 g. de acetato de sodio se calentaron a ebullición durante 1h. a baño de maría y luego a reflujo durante 10 minutos. La solución resultante se volcó con agitación sobre 20 ml. de agua-hielo; se obtuvieron 150 mg. de un sólido que recristalizado 3 veces de etanol 80% dió 80 mg. de octa-O-acetil melibiosa de p.f. 176-176,5°, $[\alpha]_D^{22} +102,7^\circ$ (c, 0,19, cloroformo); Fletcher y Diehl(70) dan p.f. 179-181° y $[\alpha]_D^{20} +104,3$ (c, 0,82, cloroformo).

b) por cromatografía: el producto de p.f. 176-177° se identificó además como melibiosa por cromatografía en papel Whatman K^o1 empleando el sistema butanol:etanol:agua(5:1:4, fase superior) corriendo simultáneamente una muestra auténtica de melibiosa

dihidratada de p.f. 35-36°. El revelado con nitrato de plata amoniacal mostró la presencia de dos manchas que corrían a la misma distancia del origen.

c) por hidrólisis: 10 mg. del producto de p.f. 176-177° se calentaron con 2 ml. de ácido sulfúrico 2N durante 1 hora a 100°. La solución se neutralizó con carbonato de bario y luego se corrió cromatográficamente en papel Wathman N°1, conjuntamente con glucosa y galactosa como testigos para verificar la presencia en el hidrolizado de estos monosacáridos constitutivos de la melibiosa. El revelado del papel con nitrato de plata amoniacal mostró que el hidrolizado presentaba 2 manchas ubicadas respectivamente a la misma altura que la galactosa y glucosa usadas como testigos.

AISLAMIENTO de N-acetil melibiosilamina:

Las fracciones 22 a 27, por evaporación al vacío y tratamiento con metanol dieron 2,07 g. de N-acetil melibiosilamina en forma de agujas de p.f. 224-228° que recristalizadas cuatro veces de metanol 90% fundieron a 220° (ablanda a 214°), $[\alpha]_D^{22} +66,6^\circ$ (c, 0,2, agua).

Análisis calculado para $C_{14}H_{25}O_{11}N$: C:43,86; H:6,53; N:3,65

Encontrado : C:43,85; H:6,73; N:3,71

Los jarabes de la cromatografía nanterior que no cristalizaron, se cromatografiaron nuevamente en una columna de carbón Darco G-60-Celite 535(5:1) de 57 cm. por 2,7 cm., recogiendo en volúmenes de 500 ml. las siguientes fracciones:

Fracciones	Eluyente	Volúmen
------------	----------	---------

1-2	Agua	1	1.
3-6	Agua-etanol(100:5)	2	1.
7-11	Agua-etanol(100:10)	3	1.
12-17	Agua-etanol(100:15)	3	1.
18-19	Agua-etanol(100:20)	1	1.
20-21	Etanol	1	1.

Las fracciones 3 a 5 tratadas de la manera habitual dieron placas de p.f. 172-174° que una vez recristalizadas no dieron depresión del punto de fusión mezcladas con la melibiosa dep. f. 176-177°. Rendimiento total de melibiosa: 610 mg. (7,7%).

Las fracciones 8 a 11 dieron 100 mg. de N-acetil melibiosilamina de p.f. y p.f. mezcla 220°; rendimiento total: 2,02 g. (22,5%).

HEPTA-O-ACETIL-N-ACETIL-MELIBIOSILAMINA:

200 mg. de N-acetil melibiosilamina de p.f. 220° se disolvieron por ebullición a reflujo en 12 ml. de una mezcla de piridina y anhídrido acético(1:1); después de 48 hs. a temperatura ambiente se evaporó hasta sequedad en desecador al vacío sobre ácido sulfúrico e hidróxido de sodio. El residuo se disolvió en 0,7 ml. de isopropanol y se agregó éter de petróleo hasta turbiedad; precipitó así un jarabe que cristalizó a temperatura ambiente por raspado, dando 200 mg. de placas de p.f. 156-161°.

Recristalizadas tres veces más de isopropanol-éter de petróleo fundieron a 159-162°, $[\alpha]_D^{23} +32,03(c, 0,19, \text{cloroformo})$.

Análisis calculado para C₂₈ H₃₉ O₁₈ N: C:50,00; H:6,10; N:2,31

Encontrado

: C:49,61; H:5,80; N:2,19

ANÁLISIS DE OCTA-O-ACETIL MELIBIOSA CON AMONÍACO ACUOSO AL 33%
OBTENCIÓN DE OCTA-O-ACETIL-N,N'-DIACETIL MELIBIOSILIDENDIAMINA

12 g. de octa-O-acetil melibiosa se suspendieron en 300 ml. de amoníaco acuoso al 33% y se agitaron durante 3 hs. hasta disolución total. Después de 24 hs. a temperatura ambiente se evaporó la solución al vacío y a temperatura menor de 60°. El jarabe obtenido se trató repetidas veces con metanol evaporando al vacío para eliminar restos de agua, y luego se secó en desecador al vacío sobre ácido sulfúrico.

El jarabe así obtenido se maceró con 3 ml. de acetato de etilo y se volvió a secar en desecador, con lo cual se transformó en un sólido amorfo higroscópico, que fué extraído nuevamente 4 veces con 40 ml. de acetato de etilo cada vez y después de secado al vacío dió 10,4 g. de un sólido pulverulento y amorfo.

Estos 10,4 g. se disolvieron en 50 ml. de agua y la solución se pasó por 910 ml. de resina sulfónica Amberlite IR-120 para eliminar sustancias básicas; se lavó con 5 l. de agua y la solución se evaporó al vacío hasta consistencia siruposa. El jarabe así obtenido se extrajo 4 veces con 100 ml. de acetato de etilo y luego se secó en desecador al vacío. El producto amorfo resultante de este tratamiento se disolvió en 25 ml. de metanol; se dejó varios días a temperatura ambiente raspando frecuentemente y dejando evaporar lentamente el solvente. Como de esta manera no se pudo obtener cristales, se acetiló de la siguiente manera: 4,94 g. del jarabe se disolvieron a temperatura ambiente en una mezcla de 49 ml. de piridina an-

hidra y 49 ml. de anhídrido acético y la solución se mantuvo 24 hs. a temperatura ambiente; luego se calentó la mezcla en baño de agua hirviente durante 30 minutos y se volcó sobre 400 ml. de agua-hielo, con lo que se separaron 650 mg. de un producto sólido (Fracción I de acetatos) y una solución conteniendo la Fracción II de acetatos.

Los 650 mg. que constituyeron la Fracción I de acetatos, re-cristalizados de etanol decolorando con carbón, dieron 190 mg. de p.f. 175-176° (1,6%) que no produjeron depresión del punto de fusión mezclados con una muestra auténtica de octa-0-acetil melibiosa.

La solución conteniendo la fracción II de acetatos se extrajo 6 veces con 100 ml. de cloroformo cada vez. Las soluciones clorofórmicas reunidas se lavaron 6 veces con 50 ml. de ácido sulfúrico 2N he lado cada vez, luego 3 veces con 100 ml. de solución saturada de bicarbonato de sodio cada vez y finalmente con agua hasta reacción neutra; se secó con sulfato de sodio y se evaporó el solvente al vacío. El jarabe resultante se disolvió en benceno y por evaporación lenta y raspando no pudo aislarse material cristalino por lo cual se evaporó al vacío y se secó en desecador sobre ácido sulfúrico. Rendimiento: 6,8 g. de jarabe.

Estos 6,8 g. de jarabe disueltos en 15 ml. de benceno se cromatografiaron en una columna de talco-celite 503(5;1) previamente embebida en benceno, eluyendo con benceno y mezclas de benceno-etanol absoluto. Se recogieron las siguientes fracciones de aproximadamente 50 ml.:

Fracciones

Eluyente

Volúmen

1-4	Benceno	250 ml.
5-9	Benceno-etanol absoluto(100:0,1)	250 ml.
10-20	Benceno-etanol absoluto(100:0,5)	435 ml.
21-27	Benceno-etanol absoluto(100:1)	400 ml.
28-33	Benceno-etanol absoluto(100:2)	550 ml.
34-42	Benceno-etanol absoluto(100:3)	450 ml.
43-49	Benceno-etanol absoluto(100:5)	450 ml.
50-53	Benceno-etanol absoluto(100:10)	400 ml.
54-58	Benceno-etanol absoluto(100:20)	500 ml.
59-62	Etanol	900 ml.

De las fracciones 33 al 46 por evaporación al vacío cristalizaron productos de punto de fusión similares, que reunidos y recristalizados de etanol dieron 400 mg. de p.f. 199-201°. Rendimiento: 5,8%.

110 mg. del material anterior recristalizados 4 veces de 5 ml. de una mezcla de isopropanol-éter de petróleo(60-80°)(4:1) dieron 47 mg. de octa-O-acetil-N,N'-diacetil melibiosilidén-diamina de p.f. 200-201°, $[\alpha]_D^{20} +64,6^\circ$ (c, 0,18, cloroformo).

Análisis calculado para $C_{32}H_{46}O_{20}N_2$: C:49,33%; H:5,95; N:3,45

Encontrado : C:49,22; H:6,14; N:3,50

El jarabe aislado de las fracciones restantes(6,2 g.) se recromatografió en una columna de talco-celite(5:1), eluyendo con una solución benceno-etanólica progresivamente enriquecida en etanol, con lo cual no pudimos aislar fracciones cristalinas. Se reunieron todas las fracciones y el jarabe obtenido se recromatografió en una columna de alúmina neutra, elu-

yendo con benceno progresivamente enriquecido en etanol, con lo que no se pudo aislar producto cristalino, por lo cual se reunieron nuevamente todas las fracciones y el jarabe resultante se reacetiló con anhídrido acético y piridina. La solución resultante se volcó en agua, se extrajo con cloroformo y lavó con agua, solución de ácido sulfúrico 1N frío, con solución de bicarbonato de sodio y nuevamente con agua; se secó y evaporó el solvente al vacío. El jarabe obtenido después de este tratamiento se cromatografió en columna de talco-celite, con lo que tampoco se pudo aislar producto cristalino.

ANÁLISIS DE OCTA-O-ACETIL MELIBIOSA CON AMONÍACO METANOLICO 16%
OBTENCION DE N-ACETIL MELIBIOSILAMINA Y MELIBIOSA

13,45 g. de octa-O-acetil melibiosa se suspendieron en 300 ml. de amoníaco metanólico al 16% y se agitaron hasta disolución total. Después de 24 hs. a temperatura ambiente se evaporó el solvente al vacío a una temperatura menor de 50° y el jarabe residual se secó al vacío sobre ácido sulfúrico; se extrajo 5 veces con 50 ml. de acetato de etilo cada vez para eliminar la acetamida y se volvió a secar. Rendimiento: 9,1 g. de jarabe.

3,7 g. del jarabe anterior libre de acetamida se cromatografiaron en una columna de celulosa de 65 cm. por 4,5 cm., recogiendo en volúmenes de 200 ml. las siguientes fracciones:

Fracciones	Eluyente	Volúmen
1-45	Butanol saturado con agua	9 l.

46-75	Butanol-etanol-agua-(5:1:4)(fase sup.)	6 l.
76-95	Metanol	4 l.

De las fracciones 19 a 33 reunidas y evaporadas al vacío se aislaron 20 mg. de N-acetil melibiosilamina en forma de agujas de p.f. 218-220°(0,27%), $[\alpha]_D^{23} +65,7^\circ$ (c, 0,19, agua), que corrida cromatográficamente junto a una muestra auténtica dió el mismo Rf en papel Wathman N°1 y usando el sistema butanol:etanol:agua(2:1:1).

De las fracciones 45 a 59 se aislaron por evaporación al vacío 425 mg. de un producto dep.f. 164-171°, que recrystalizados de metanol-agua(30:20) dieron 320 mg. de melibiosa de p.f. 175-176°(4,5%) idéntica a la descrita en la página 99

AISLAMIENTO DE OCTA-O-ACETIL MELIBIOSA Y OCTA-O-ACETIL-N,N'-DIACETIL MELIBIOSILIDENDIAMINA

400 mg. (4,4% del total) del jarabe anterior libre de acetamida se disolvieron por agitación a temperatura ambiente en una mezcla de 14 ml. de anhídrido acético y 14 ml. de piridina anhidra; la solución se dejó a temperatura ambiente durante 24 hs. y se calentó luego 30 minutos a ebullición suave y una vez frío se volcó en 140 ml. de agua helada. Después de 24 hs. se filtraron 240 mg. de un sólido que recrystalizado de etanol y decolorado con carbón dió 70 mg. de octa-O-acetil melibiosa de p.f. 175-176°(13,3%) que notió depresión del punto de fusión mezclada con una muestra auténtica.

El filtrado acuoso de la acetilación anterior se extrajo 5 veces con 60 ml. de cloroformo cada vez; los extractos cloroformicos se lavaron 5 veces con 50 ml. de ácido sulfúrico 2N

frío cada vez, luego 3 veces con 50 ml. de bicarbonato de sodio 3% cada vez y por último con agua hasta reacción neutra. Se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó al vacío; el jarabe obtenido se disolvió en etanol y por reposo se obtuvieron 50 mg. de una sustancia de p.f. 192-195°, que recristalizados de isopropanol-éter de petróleo(4:1) dieron 30 mg. de octa-O-acetil-N,N'-diacetil melibiosilidéndiamina(5%) en forma de placas de p.f. 200-201°, que no produjeron depresión del punto de fusión mezcladas con una muestra auténtica de octa-O-acetil-N,N'-diacetil melibiosilidéndiamina.

AMONOLISIS DE OCTA-O-ACETIL GENCIOBIOSA CON AMONIACO ACUOSO AL 25%
OBTENCION DE N,N'-DIACETIL GENCIOBIOSILIDENDIAMINA Y N-ACETIL GENCIOBIOSILAMINA.

13,5 g. de octa-O-acetil gencibiosa se agitaron con 300 ml. de amoníaco acuoso al 25% hasta disolución total. Después de 24 hs. a temperatura ambiente se evaporó el agua a temperatura menor de 60°. El jarabe resultante se secó al vacío sobre ácido sulfúrico y luego se disolvió en 200 ml. de metanol; la solución metanólica se agitó con 20 g. de resina Zeo-Karb 225 durante 30 minutos para eliminar las sustancias básicas, se filtró y lavó la resina por decantación con 200 ml. de metanol(solución A); la resina se agitó luego con 200 ml. de metanol-agua(1:1), se dejó 12 hs. en reposo y se filtró y lavó con el mismo solvente (solución B). Por último se agitó la resina con 200 ml. de agua

(solución C).

Las soluciones A, B y C se evaporaron al vacío por separado y en cada concentrado se verificó con ninhidrina la presencia de sustancias básicas, dando ensayo negativo para A y B y positivo para C. El jarabe de la evaporación de C (100 mg.) se desechó y los jarabes de A y B reunidos se maceraron con 5 ml. de acetato de etilo y se secaron al vacío. El producto obtenido se extrajo 5 veces con 50 ml. de acetato de etilo cada vez y después de secado nuevamente se cromatografió en una columna de carbón Darco G-60-Celite 535(5:1) de 55 cm. por 3 cm., recogiendo las siguientes fracciones de 500 ml. cada una:

Fracciones	Eluyente	Volúmen
1-6	Agua-etanol(100:3)	3 l.
7-15	Agua-etanol(100:4,5)	4,5 l.
16-19	Agua-etanol(100:6)	2 l.
20-21	Agua-etanol(100:7)	1 l.
22-25	Agua-etanol(100:8,5)	2 l.
26-29	Agua-etanol(100:10)	2 l.
30-31	Agua-etanol(100:15)	1 l.
32-35	Etanol	2 l.

Las fracciones 3 a 15 dieron por evaporación al vacío 735 mg. de agujas de p.f. 140-145°, que recristalizados 2 veces de metanol dieron 570 mg. de N,N'-diacétil genciobiosilidéndiamina de p.f. 145-146°; 150 mg. del material anterior recristalizados cuatro veces de metanol-etanol(2:1) dieron 50 mg. de N,N'-diacétil genciobiosilidéndiamina en forma de agujas de p.f. 146-147°, $[\alpha]_D^{25}$ -19,6°(c, 0,2, agua).

Análisis calculado para $C_{16}H_{30}O_{12}N_2 \cdot H_2O$: C:41,73; H:6,95; N:6,08

Encontrado : C:41,37; H:7,12; N:5,80

Las aguas madres de las recristalizaciones del producto anterior se reunieron y concentraron al vacío. Se obtuvo 1 g. de un producto higroscópico que se cromatografió en una columna de carbón Darco-G-60-Celite 535(5:1) de 50 cm. por 1,5 cm. Se recogieron las siguientes fracciones de 500 ml. cada una:

Fracciones	Eluyente	Volumen	
1-3	Agua-etanol(100:3)	1,5	1.
4-6	Agua-etanol(100:4,5)	1,5	1.
7-9	Agua-etanol(100:6)	1,5	1.
10-12	Agua-etanol(100:7)	1,5	1.
13-15	Agua-etanol(100:8)	1,5	1.
16-17	Agua-etanol(100:10)	1	1.
18-20	Agua-etanol(100:15)	1,5	1.
21-22	Etol	1	1.

Las fracciones 9 a 12 dieron por evaporación al vacío 150 mg. de agujas de p.f. 145-146°, idéntico al descrito anteriormente.

Las fracciones que no dieron material cristalino (16-35 de la primera cromatografía y 13-21 de la segunda cromatografía) se reunieron y concentraron al vacío hasta consistencia siruposa. El jarabe obtenido, secado en desecador al vacío pesó 5 g.

Estos 5 g. se recromatografiaron en columna de carbón Darco G-60-Celite 535(5:1) recogiendo las siguientes fracciones: de 500 ml. cada una:

Fracciones	Eluyente	Volúmen	
1-4	Agua-etanol(100:3)	2	1.
5-8	Agua-etanol(100:4,5)	2	1.
9-10	Agua-etanol(100:5)	1	1.
11-12	Agua-etanol(100:5,5)	1	1.
13-14	Agua-etanol(100:6)	1	1.
15-18	Agua-etanol(100:7)	2	1.
19-34	Agua-etanol(100:8)	8	1.
35-38	Agua-etanol(100:9)	2	1.
39-42	Agua-etanol(100:10)	2	1.
43-46	Agua-etanol(100:12,5)	2	1.
47-48	Agua-etanol(100:15)	1	1.
49-51	Agua-etanol(100:20)	1,5	1.
52-55	Etanol	2	1.

De la fracción 20 se obtuvieron 30 mg. de N,N'-diacetil genciobiosilidíndiamina en forma de agujas de p.f. 145-146°, idénticos a la descrita anteriormente. Rendimiento total de N,N'-diacetil genciobiosilidíndiamina: 750 mg.(8,5%). El resto de las fracciones no dieron material cristalino, por lo cual se reunieron y concentraron al vacío; el jarabe obtenido se cromatografió en columna de silicagel Mallinckrodt(100 mesh) de 55 cm. por 3 cm. usando como eluyente isopropanol-acetato de etil-agua(6:2:2). Se recogieron 7 fracciones de 150 ml. cada una de las que no se pudo aislar material cristalino.

Se reunieron todas las fracciones y la solución resultante se concentró al vacío. Se obtuvieron 4,4 g. de un jarabe que

se recromatografió en una columna de celulosa Wathman de 60 cm. por 5 cm. empleando como eluyente butanol:piridina:agua(10:4:3), recogién dose 25 fracciones de 300 ml. cada una.

De las fracciones 5 a 9 se obtuvieron 2,2 g. de un jarabe, el cual cromatografiado en papel Wathman N°1 con butanol:piridina:agua(10:4:3) y revelado con nitrato de plata amoniacal demostró estar libre de genciobiosa y genciobisa diacetamida.

De las fracciones 10 a 16 se obtuvieron 2 g. de un jarabe, el cual cromatografiado en papel Wathman N=1 con acetato de etilo:ácido acético:agua(2:1:2)(capa superior), reveló la presencia de genciobisa y genciobiosa diacetamida.

De las fracciones 5 a 9 se obtuvieron 2,2 g. de un jarabe, el cual se recromatografió en una columna de celulosa Wathman de 60 cm. por 2,5 cm. empleando butanol:piridina:agua(10:4:3); se recogieron 20 fracciones de 100 ml. cada una. De las fracciones 8 a 16 se obtuvieron 2,1 g. (29%) de N-acetil genciobiosilamina en forma amorfa y muy higroscópica, de $[\alpha]_D^{20} -9,3^{\circ}$ (c, 0,4, agua).

Análisis calculado para $C_{14} H_{25} O_{11} N$: C:43,86; H:6,53; N:3,65

Encontrado : C:43,65; H:6,51; N:3,25

OCTA-O-ACETIL-N,N'-DIACETIL GENCIOSILIDENDIAMINA

100 mg. de N,N'-diacetil genciobiosilidéndiamina de p.f. 145-146° se disolvieron a temperatura ambiente en 3 ml. de una mezcla de anhídrido acético y piridina(1:1). Después de 24 hs. a temperatura ambiente se evaporó la solución al vacío sobre ácido sulfúrico, obteniéndose 130 mg. de un producto sólido

que después de 4 recristalizaciones dió 43 mg. de octa-O-acetil
N,N'-diacetil genciobiosilidéndiamina en forma de agujas de
p.f. 107-109°; $[\alpha]_D^{20}$ -27,0°(c, 0,2, cloroformo).

Análisis calculado para $C_{32}H_{46}O_{20}N_2$: C:49,33; H:5,95; N:3,45

Encontrado

: C:49,33; H:6,06; N:3,64

RESUMEN Y CONCLUSIONES

1) Se ha efectuado la amonólisis de la octa-O-acetil melibiosa con amoníaco acuoso al 25% y por cromatografía en carbón se aisló la forma α de la melibiosa con 7,7% de rendimiento y la N-acetil melibiosilamina con 22,5% de rendimiento.

Por acetilación de la N-acetil melibiosilamina con anhídrido acético y piridina se obtuvo la hepta-O-acetil-N-acetil melibiosilamina.

2) La octa-O-acetil melibiosa se amonolizó con amoníaco acuoso al 33% y del jarabe obtenido por acetilación con anhídrido acético y piridina y cromatografía en columna de talco-celite se obtuvo octa-O-acetil-N,N'-diacetil melibiosilidéndiamina con 5,8% de rendimiento.

3) La amonólisis de la octa-O-acetil melibiosa con amoníaco metanólico al 16% condujo al aislamiento, por cromatografía en columna de celulosa, de la forma α de la melibiosa con 4,5% de rendimiento y de la N-acetil melibiosilamina con 0,27% de rendimiento.

Por acetilación de una alícuota del jarabe obtenido en la amonólisis se obtuvo octa-O-acetil melibiosa con 13,3% de rendimiento y octa-O-acetil-N,N'-diacetil melibiosilidéndiamina con 5% de rendimiento.

4) La octa-O-acetil genciobiosa se amonolizó con amoníaco acuoso al 25% y por cromatografía en columna de celulosa se aisló la N,N'-diacetil genciobiosilidéndiamina con 3,5% de rendimiento y la N-acetil genciobiosilamina con 29% de rendimiento.

Por acetilación de la N,N'-diacetil genciobiosilidéndiamina con anhídrido acético y piridina se obtuvo la octa-O-acetil-N,N'-diacetil genciobiosilidéndiamina.

- 5) Se discuten los resultados obtenidos comparándolos con los obtenidos en la amonólisis de la penta-O-acetil- β -D-glucosa y de los disacáridos acetilados con unión glicosídica 1-4.
- 6) Se postulan las causas que podrían determinar el comportamiento diferencial de los acetatos estudiados por nosotros en relación a los de la celobiosa, lactosa y maltosa.

7061 feno

7061 feno

BIBLIOGRAFIA

- 1) A. Wohl Ber. 26, 730 (1893)
- 2) L. Maquenne Compt. Rend. 130, 1342 (1900)
- 3) R.C. Hockett J. Am. Chem. Soc. 57, 2265 (1935)
- 4) P. Brigl, H. Muhschelgel y R. Shinle Ber. 64, 2921(1931)
- 5) V. Deulofeu J. Chem. soc. 2973 (1932)
- 6) H. Isbell y H. Frush J. Am. Chem. Soc. 71, 1579 (1949)
- 7) V. Deulofeu y J. O. Deferrari J. Org. Chem. 17, 1087 (1952)
- 8) V. Deulofeu y J. O. Deferrari J. Org. Chem. 17, 1093 (1952)
- 9) V. Deulofeu y J. O. Deferrari J. Org. Chem. 17, 1097 (1952)
- 10) V. Deulofeu, J. O. Deferrari y E. Recondo Anales Asoc,
Quím. Arg. 46, 137 (1958)
- 11) V. Deulofeu y J. O. Deferrari J. Org. Chem. 22, 807 (1957)
- 12) J. O. Deferrari, M. Ondetti y V. Deulofeu J. Org. Chem.
24, 183 (1959)
- 13) E. Roth Ann. 154, 72 (1870)
- 14) A. Shuster Ann. 154, 30 (1870)
- 15) N. Tawildarow Ber 5, (1), 477 (1872)
- 16) M. Nencki Ber 7, 158 (1874)
- 17) R. Hockett y L. Chandler J. Am. Chem. Soc. 66, 957 (1944)
- 18) V. Deulofeu y J. O. Deferrari Anales Asoc. Quím. Arg.
33, 241 (1950)
- 19) R. C. Hockett, V. Deulofeu y J. O. Deferrari J. Am. Chem.
72, 1840 (1950)
- 20) E. Gros, M. Ondetti, J. Sproviero, V. Deulofeu y J. O. Defe-
rrari J. Org. Chem. 27, 924, (1962)
- 21) A. Lezerovich Tesis, Facultad de Ciencias Exactas y Mat.

(1963)

- 22) S. Delpy Tesis, Fac. de Ciencias Exactas y Nat. (1962)
- 23) B. Helferich y A. Mitrowsky Ber 85, 1 (1952); B. Helferich
K. Schmidt y D. Nachtseim. Ann. 605, 182 (1957)
- 24) R. C. Hockett, V. Deulofeu, A. Sedoff y J. Mendive J. Am.
Chem. Soc. 60, 278 (1938)
- 25) V. Deulofeu J. Chem. Soc. 2458 (1929)
- 26) Restelli de Labriola y V. Deulofeu J. Org. Chem. 12, 726
(1947)
- 27) J. O. Deferrari, V. Deulofeu y E. Recondo Anales Asoc.
Quím. Arg. 46, 137 (1958)
- 28) E. Recondo Tesis, Fac. de Ciencias Exactas y Nat. (1956)
- 29) E. Gros, A. Lezerovich, E. Recondo, V. Deulofeu y J. O.
Deferrari Anales Asoc. Quím. Arg. 50, 135 (1962)
- 30) M. Ondetti Tesis, Fac. de Ciencias Exactas y Nat. (1957)
- 31) R. Betts y L. Hammett J. Am. Chem. Soc. 59, 1568 (1937)
- 32) J. Bunnett y G. Davis J. Am. Chem. Soc. 82, 665 (1960)
- 33) R. Cadenas y J. O. Deferrari J. Org. Chem. 28, 2613 (1963)
- 34) J. Hine y M. Hine J. Am. Chem. Soc. 74, 5266 (1952)
- 35) R. C. Hockett, M. Dienes, H. Fletcher y H. Ramsden J. Am.
Chem. Soc. 66, 467, (1944)
- 36) V. Deulofeu y J. O. Deferrari J. Org. Chem. 22, 302 (1957)
- 37) P. Brigl y H. Keppler Z. Physiol. Chem. 180, 38 (1929)
- 38) C. Niemann y J. Hays J. Am. Chem. Soc. 62, 2960 (1940)
- 39) C. Niemann y J. Hays J. Am. Chem. Soc. 67, 1302 (1945)
- 40) R. C. Hockett, M. Nicherson y W. Reeder J. Am. Chem. Soc.
66, 472 (1944)

- 41) P. Fleury Bull. Soc. Chim. France 1126(1955)
- 42) L. Zechmeister y G. Toth Ann 525, 14 (1936)
- 43) R. Cadenas y J. Deferrari J. Org. Chem. 28, 1070 (1963)
- 44) R. Cadenas y J. Deferrari J. Org. Chem 28, 1072 (1963)
- 45) R. Cadenas y J. Deferrari (Comunicación Personal)
- 46) E. Knopf Ber. 60, 241 (1927)
- 47) A. Goldschmid y A. S. Perlin Can. J. Chem. 39, 2025 (1961)
- 48) E. Fischer y K. Delbrück Ber. 42, 2776 (1909)
- 49) B. Helferich, L. Moog y A. Jünger Ber. 58, 872 (1925)
- 50) K. Freudenberg, A. Noë y E. Knopf Ber. 60, 238 (1927)
- 51) K, Freudenberg, C. Andersen, Y. Go, K. Friedrich y H. K.
Richtmeyer Ber. 63, 1961 (1930); B. Coxon y H.
Fletcher J. Org. Chem. 26, 2892 (1961)
- 52) H. Isbell y H. Frush J. Research Natl. Bur. Standards
43, 161 (1949)
- 53) W. Pigman Angew. Chemie 69, 426 (1957)
- 54) R. K. Ness, H. Fletcher y C. Hudson J. Am. Chem. Soc. 72
2200 (1950)
- 55) L. Kreider y W. Evans J. Am .Chem. Soc. 57, 229 (1935)
- 56) D. Reynolds y W. Evans J. Am. Chem. Soc. 60, 2559 (1938)
- 57) H. Schlubach Ber. 59, 340 (1926)
- 58) R. Lemieux Can. J. Chem 29, 1079 (1951); R. Lemieux
Adv. in Carbohydrate Chem. Vol. 9, 1 (Academic Press,
1954)
- 59) W. Korytnyk y J. Mills J. Chem. Soc. 636 (1959)
- 60) P. Gorin y A. Perlin Can. J. Chem. 37, 1930 (1959)

- 61) R. Ness, H. Fletcher y C. Hudson J. Am. Chem. Soc. 73,
959 (1951)
- 62) P. Gorin y A. Perlin Can. J. Chem. 39, 2474 (1961)
- 63) G. Phillips y F. Newth J. Chem. Soc. 2904 (1953); G.
Mattok y G. Phillips J. Chem. Soc. 263 (1957); G.
Mattok y G. Phillips J. Chem. Soc. 130 (1958)
- 64) S. Winstein y R. Buckles J. Am. Chem. Soc. 65, 613 (1943)
- 65) G. Zemplen Ber. 59, 1254 (1926)
- 66) F. Micheel, R. Frier, E. Plate y A. Hiller Ber. 85, 1092
, (1952)
- 67) R. Kühn y G. Krüger Ber. 87, 1544 (1954)
- 68) R. Cadenas y J. Deferrari (Comunicación Personal)
- 69) C. Scheiber y H. Mittelmeier Ber. 2, 1433 (1890)
- 70) H. Fletcher y H. Diehl J. Am. Chem. Soc. 74, 5774 (1952)
- 71) J. A. Mills Adv. in Carbohydrate Chem. Vol 10, 1, pág. 6
(Academic Press, 1955)
- 72) E. Hughes Quart. Revs 2, 107 (1948) (London); C. K. Ingold
Structure and Mechanism in Organic Chemistry pág. 47
(G. Bell and Sons Ltd. 1953)
- 73) E. Fischer Ber. 26, 2400 (1893)
- 74) P. A. Levene, A. Raymond y R. Dillon J. Biol. Chem. 95,
699 (1932)
- 75) F. Shofizadeh Adv. in Carbohydrate Chemistry Vol 13, 1,
(Academic Press, 1958)
- 76) W. Koenigs y E. Knorr Ber 34, 957 (1901)
- 77) J. Green y E. Pacsu J. Am. Chem. Soc. 59, 1205 (1937)

- 78) P. Brewster, F. Hiron, E. Hughes, C. Ingold y P. Rao
Nature 166, 179 (1950)
- 79) V. Bashford y L. Wiggins Nature 165, 566 (1950)
- 80) V. Bashford y L. Wiggins J. Chem. Soc. 299 (1948)
- 81) R. Kuhn y G. Wendt Ber. 81, 553 (1948)
- 82) P. Levene y F. B. LaForge J. Biol. Chem. 20, 433 (1915)
- 83) P. Levene J. Biol. Chem. 36, 39 (1918)
- 84) P. Levene y F. B. LaForge J. Biol. Chem. 22, 331 (1915)
- 85) P. Levene y E. Clark J. Biol. Chem. 46, 19 (1921)
- 86) J. Carson y W. MacLay J. Am. Chem. Soc. 67, 1808 (1945)
- 87) G. Bouchardat, Ann. Chim. phys. (5), 6, 100 (1875)
- 88) A. Fanconnier Bull. Soc. Chim. France (2), 41, 119 (1884)
H. Fletcher y J. Goepf J. Am. Chem. Soc. 68, 939
(1946)
- 89) S. Barker, E. Bourne y D. Whiffin J. Chem. Soc.
3865 (1952)
- 90) R. Allerton y W. Overend J. Chem. Soc. 35 (1952)
- 91) V. Dereretskaya, G. S. Smirnova y Z. A. Rogovin Doklady
Akademii Nauk CCCP Tomo 141, N°5 (1961)
- 92) H. Brown y N. Eldred J. Am. Chem. Soc. 71, 445 (1949)
- 93) M. Gould Mechanism and Structure in Organic Chemistry
pág. 131 (H. Holt and Company, 1959)
- 94) L. Stein y G. Murphy J. Am. Chem. Soc. 74, 1041 (1952)
- 95) I. Dostrowsky y E. Hughes J. Chem. Soc 157 (1946)
- 96) R. C. Hockett et al J. Am. Chem Soc 61, 1667 (1939);
65, 1474 (1943); 66, 469 (1944)

- 97) A. Cerezo (Comunicación Personal)
- 98) E. Fischer Ber. 49, 584 (1916)
- 99) D. Reynolds y W. Evans Organic Reactions, Collective
Volume III, pág. 433 (John Wiley and Sons, Inc New
York, 1955)
- 100) B. Helferich y G. Klein Ann. 450, 219 (1926)

INDICE

Reacción de Wohl y formación de N,N'-diacil aldosi- lidéndiaminas y N-acil aldossilaminas.	pág. 1
Mecanismos de formación de las N,N'-diacil aldosi- lidéndiaminas y N-acil aldossilaminas.	pág. 4
Influencia del solvente en la formación de N,N'-dia- cil aldossilidéndiaminas y N-acil aldossilaminas	pág. 16
La estructura de N,N'-diacil aldossilidéndiaminas y N-acil aldossilaminas.....	pág. 26
La reacción de Koenigs-Knorr.....	pág. 36
La amonólisis de discáridos acetilados.....	pág. 56
La amonólisis de la octa-O-acetil melibiosa y la octa-O-acetil genciobiosa. Discusión de los resulta- dos	pág. 61
Parte experimental.....	pág. 93
Resumen y conclusiones	pág. 113
Bibliografía	pág. 115