

Tesis de Posgrado

Contribución de los grupos benzoilos de la penta-O-benzoil-D-manopiranososa a la formación de N-benzoil-D-manopiranosilamina y 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol

Bertiche, Enrique Santiago

1969

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:

Bertiche, Enrique Santiago. (1969). Contribución de los grupos benzoilos de la penta-O-benzoil-D-manopiranososa a la formación de N-benzoil-D-manopiranosilamina y 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1335_Bertiche.pdf

Cita tipo Chicago:

Bertiche, Enrique Santiago. "Contribución de los grupos benzoilos de la penta-O-benzoil-D-manopiranososa a la formación de N-benzoil-D-manopiranosilamina y 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1969. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1335_Bertiche.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

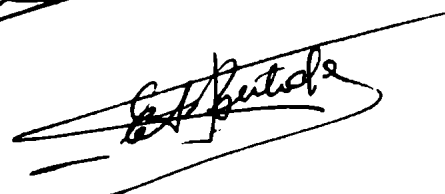
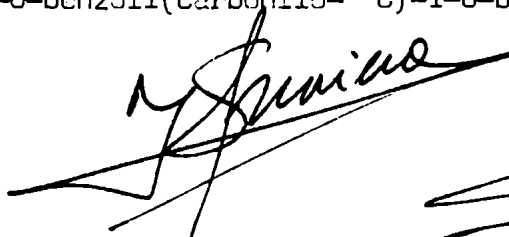
Universidad de Buenos Aires

RESUMEN

- 1- Las penta-O-benzoil- α -D-manopiranosas selectivamente marcadas con benzoilo (carbonilo-¹⁴C), se prepararon mediante benzoilación por fusión de derivados de metil- α -D-manopiranosidos parcial o totalmente benzoilados. Esta reacción, permitió reemplazar grupos metilo, tritilo y/o etiliden por benzoilos con rendimientos aceptables. Se propuso una interpretación mecanística de la misma.
- 2- Se demostró la ausencia de migraciones intramoleculares del tipo O \rightarrow O de los grupos benzoilos en la reacción de fusión.
- 3- Se comprobó que el grupo 1-O-benzoilo de la penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa intercambia con los benzoilos presentes en el medio de reacción durante la fusión benzoilante. Bajo condiciones análogas no se observó intercambio de los grupos benzoiloxi de los carbonos restantes (C-2, C-3, C-4, C-6).
- 4- Se efectuó un estudio detallado de las conformaciones preferenciales de los derivados manopiranosicos.
- 5- Se discutieron los mecanismos propuestos por otros autores, para explicar en la amonólisis metanólica de acil derivados de monosacáridos, la formación de N-acil-glicosilaminas y 1,1-bis(acilamido)-1-desoxi-polioles.
- 6- Se determinaron las contribuciones individuales aparentes de los grupos benzoilos de la penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa, a la formación de 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol y N-benzoil-D-manopiranosilamina, siendo los valores determinados para esta última, los primeros que se establecen para una N-acil-glicosilamina.
- 7- En base a los valores de contribución obtenidos y a los mecanismos considerados se postuló la existencia de un intermediario común, a partir del cual, se formarían N-benzoil-D-manopiranosilamina y 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol.
- 8- Los valores de contribución de los distintos grupos benzoilo a la formación

de D-manosa-dibenzamida se correlacionaron con los obtenidos respectivamente por otros autores para D-glucosa-dibenzamida, D-galactosa-dibenzamida y L-arabinosa-dibenzamida.

- 9- Se propuso una interpretación para explicar la mayor contribución relativa, del grupo 2-O-benzoilo de la penta-O-benzoil- α -D-manopiranos, respecto a las contribuciones de los benzoiloxi en el carbono análogo de los derivados piranósicos benzoilados de D-glucosa, D-galactosa y L-arabinosa, a la formación de la aldosa-diamida respectiva.
- 10- Se prepararon las siguientes sustancias no descritas en la literatura:
- a- Metil-2-O-benzoil-3-O-nitro-4,6-O-etiliden- α -D-manósido.
 - b- Metil-2-O-benzoil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido.
 - c- Metil-2,3-di-O-benzoil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido.
 - d- Metil-2-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)-3-O-nitro-4,6-O-etiliden- α -D-manósido.
 - e- Metil-2-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)-4,6-O-etiliden- α -D-manósido.
 - f- Metil-2-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)-3-O-benzoil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido.
 - g- Metil-2,3-di-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)-4,6-O-etiliden- α -D-manósido.
 - h- Metil-2,3,4-tri-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)-6-O-tritil- α -D-manósido.
 - i- Metil-2,3,4-tri-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)-6-O-benzoil- α -D-manósido.
 - j- Metil-2,3,4-tri-O-benzoil-5-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)- α -D-manósido,
 - k- Metil-tetra-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)- α -D-manósido.
 - l- 1,3,4,6-tetra-O-benzoil-2-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)- α -D-manosa.
 - m- 1,4,6-tri-O-benzoil-2,3-di-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)- α -D-manosa.
 - n- 1,4,6-tri-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)-2,3-di-O-benzoil- α -D-manosa.
 - ñ- 2,3,4-tri-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)-1,6-di-O-benzoil- α -D-manosa.
 - o- 1,2,3,4-tetra-O-benzoil-6-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)- α -D-manosa.
 - p- 2,3,4,6-tetra-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)-1-O-benzoil- α -D-manosa.



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Contribución de los grupos benzoílos de la
penta-O-benzoíl-D-manopiranososa
a la formación de
N-benzoíl-D-manopiranosilamina y
1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol

ENRIQUE SANTIAGO BEPTICHE

1335

Tesis presentada para optar al título de
Doctor en Química
(Orientación Química Orgánica)

1969

1335

A la memoria de mi padre

A mi madre

A mi esposa

Agraduzco al Dr. Jorge Félix Spreviere,
Consejero de Estudios y Director de esta
Institución, por su permanente apoyo y
orientación en el desarrollo del presente
trabajo.

Agradezco también:

- . Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, por haberme otorgado una beca que permitió llevar a cabo parte de esta Tesis.
- . Al Dr. Venancio Deulofeu, por sus valiosos consejos y oportunas sugerencias.
- . Al Dr. Eduardo G. Gros, por el interés demostrado en el presente trabajo.
- . Al Dr. Adolfo R. Frasca, por la discusión de algunos espectros N.M.R.
- . A la Dra. Blanca B. de Deferrari, por los microanálisis realizados.
- . Al Sr. Juan J. Ferrer, por los espectros realizados.
- . Al personal del Departamento de Química Orgánica, por su apoyo y cordialidad permanente.
- . Al personal del Departamento de Biblioteca y Publicaciones, por su colaboración desinteresada.

CAPITULO I

INTRODUCCION

El objeto principal de esta tesis es continuar los trabajos iniciados en este laboratorio, con el fin de lograr un mejor conocimiento sobre las migraciones individuales aparentes de $O \rightarrow N$ de los grupos benzoflos de diversos monosacáridos O-benzoilados, cuando éstos son sometidos a la amonólisis metanólica.

En nuestro caso particular, se estudió la penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa para establecer las contribuciones individuales aparentes de los benzoflos, a la formación de 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol y, al mismo tiempo, determinar la influencia que podría tener sobre la migración del benzoiloxi del C-2 la configuración opuesta que, en el caso de la D-manosa, presenta este carbono con respecto al carbono análogo de la D-glucosa, D-galactosa y L-arabinosa.

Los resultados obtenidos permitieron, además, determinar por vez primera, los porcentajes de migración aparente de los benzoflos de la penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa, a la formación de N-benzoil-D-manopiranosilamina.

Por otra parte, para incorporar grupos benzoflos (carbonilo-¹⁴C) en las posiciones adecuadas de la penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa, fue necesario sintetizar una serie de intermediarios, algunos de los cuales no estaban descritos en la literatura.

En estas síntesis se empleó frecuentemente una reacción de benzoilación por fusión. La misma se estudió bajo diferentes condiciones y se analizó su probable mecanismo.

La fusión benzoilante permitió sustituir, en la mayoría de los casos con valor preparativo, acetales cíclicos y/o éteres por grupos benzoflos.

CAPITULO II

DESCRIPCION DEL TRABAJO REALIZADO

En el presente trabajo se han realizado síntesis de penta-O-benzoil- α -D-manopiranosas selectivamente marcadas con benzofilo (carbonilo- ^{14}C) en distintos carbonos del monosacárido. En la etapa inicial se llevaron a cabo las mismas preparaciones, sin emplear sustancias radioactivas.

Las D-manopiranosas radioactivas perbenzoiladas, fueron sometidas a la reacción de amonólisis metanólica con el fin de determinar la contribución individual o conjunta de los grupos benzofilos a la formación de N-benzoil-D-manopiranosilamina y 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol.

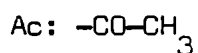
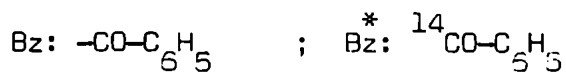
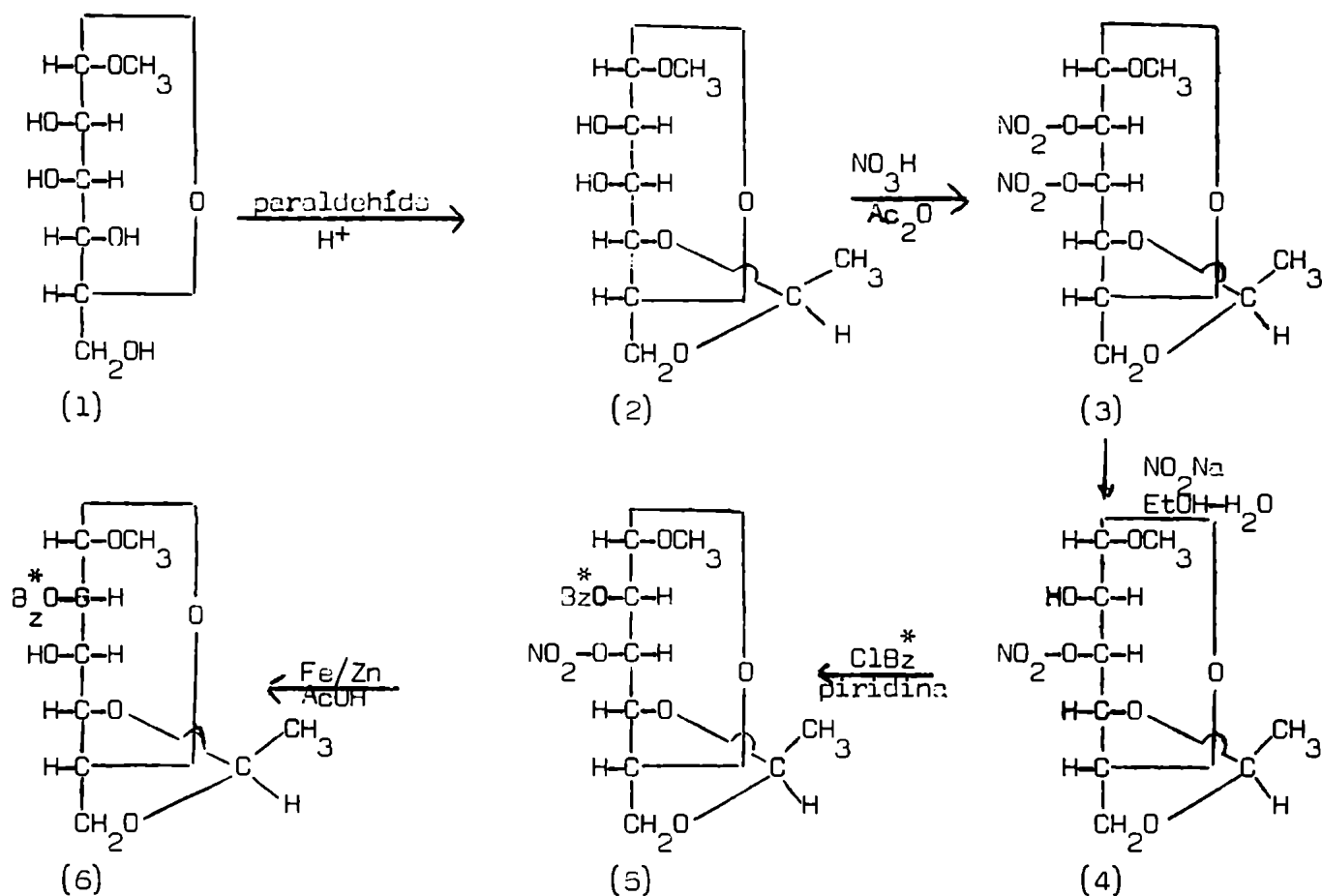
A continuación describiremos las secuencias que permitieron obtener las penta-O-benzoil- α -D-manopiranosas radioactivas que fueron empleadas como sustrato de amonólisis.

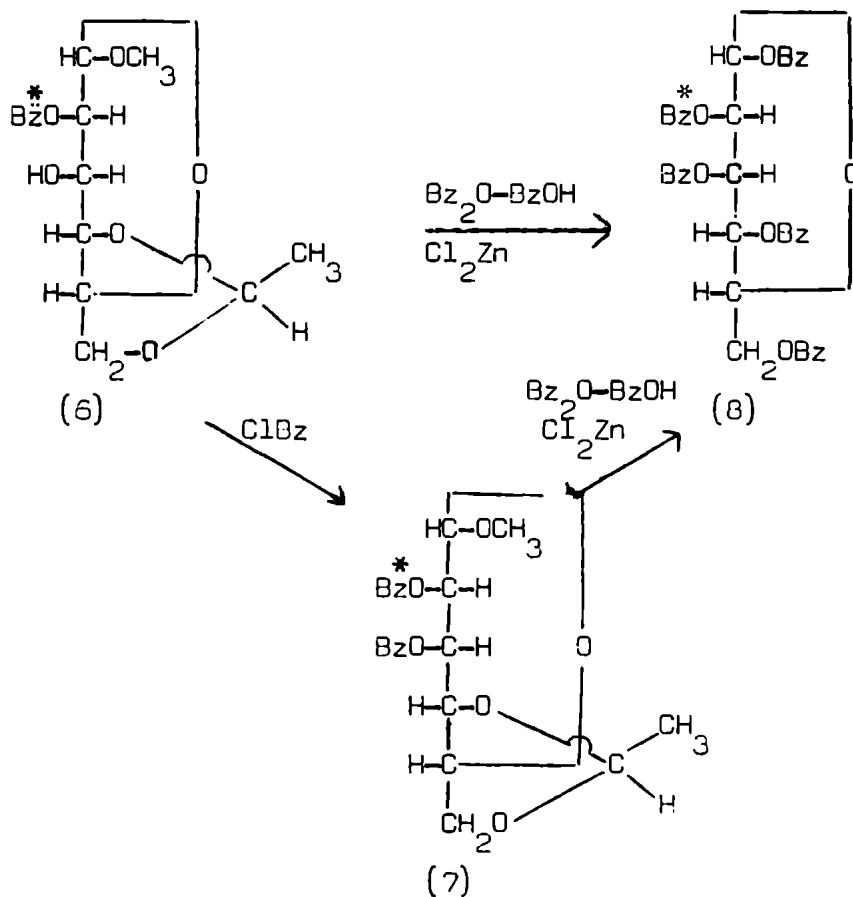
α -Obención de 1,3,4,5-tetra-O-benzoil-2-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)- α -D-manosa

Para la preparación del producto marcado en C-2, se partió de metil- α -D-manopiranosido (1). Por tratamiento de esta sustancia con paraldehído en medio ácido como lo describen Honeyman y col. (1954), se obtuvo metil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido (2). Esta sustancia fue tratada con ácido nítrico fumante en anhídrido acético, obteniéndose metil-2,3-di-O-nitro-4,6-O-etiliden- α -D-manósido (3), tal como lo indican Honeyman y col. (1954).

El di-O-nitro derivado (5) fue denitratado selectivamente de la posición C-2 por tratamiento con nitrito de sodio en solución ~~hidroalcohólica~~. La técnica empleada en este último paso, es una modificación de la descrita por Honeyman y col. (1957). El metil-3-O-nitro-4,6-etiliden- α -D-manósido (4) aislado, fue benzoilado con cloruro de benzofilo (carbonilo- ^{14}C). De esta manera, se obtuvo metil-2-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)-3-O-nitro-4,6-O-etiliden-

α -D-manósido (5). Por denitratación de (5) con hierro y cinc en ácido acético glacial se preparó el metil-2-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)-4,6-O-etiliden- α -D-manósido (6) (Gros, com. pers.). Al compuesto (6) se le benzoiló con cloruro de benzoillo inactivo, obteniéndose metil-2-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)-3-O-benzoil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido (7) (Lezerovich, com.pers.). Por fusión de (7) empleando una mezcla benzoilante constituida por anhídrido benzoico, ácido benzoico y cloruro de cinc, de acuerdo con la técnica de Hudson y col. (1950), se obtuvo 1,3,4,6-tetra-O-benzoil-2-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)- α -D-manosa (8). La misma penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa marcada en C-2, se preparó por fusión benzoilante del metil-2-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)-4,6-O-etiliden- α -D-manósido (6).





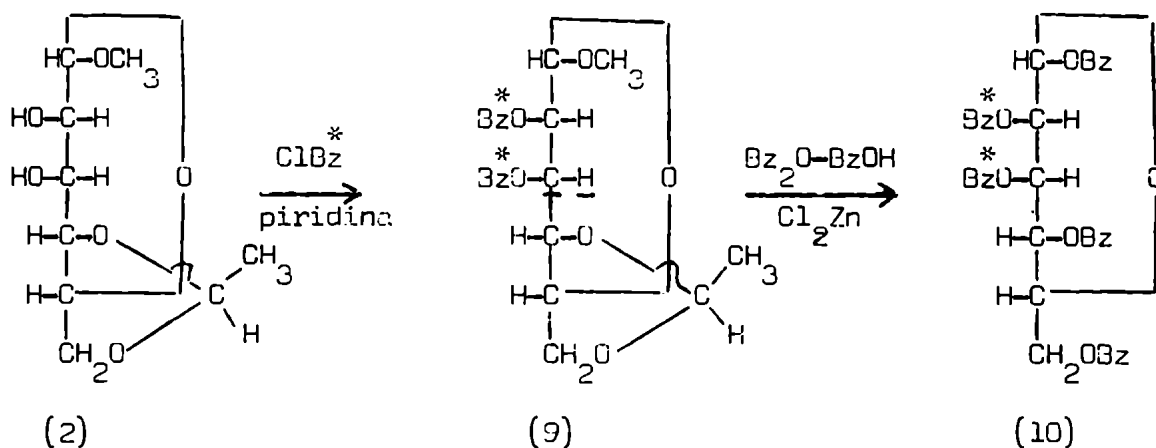
Determinación de la contribución del grupo 2-O-benzilo de la 1,3,4,6-tetra-O-benzoil-2-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)- α -D-manosa a la formación de 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol y de N-benzoil-D-manopiranosilamina

Efectuada la amonólisis de la 1,3,4,6-tetra-O-benzoil-2-O-benzoil;(carbonilo- ^{14}C)- α -D-manosa, se obtuvieron N-benzoil-D-manopiranosilamina (D-manosa-monobenzamida) y 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol (D-manosa-dibenzamida) radiactivas. Los cálculos de incorporación de grupos benzilos indican que a la D-manosa-monobenzamida se transfirieron 0,16 mol de benzilo desde C-2 y 0,26 mol a la D-manosa-dibenzamida.

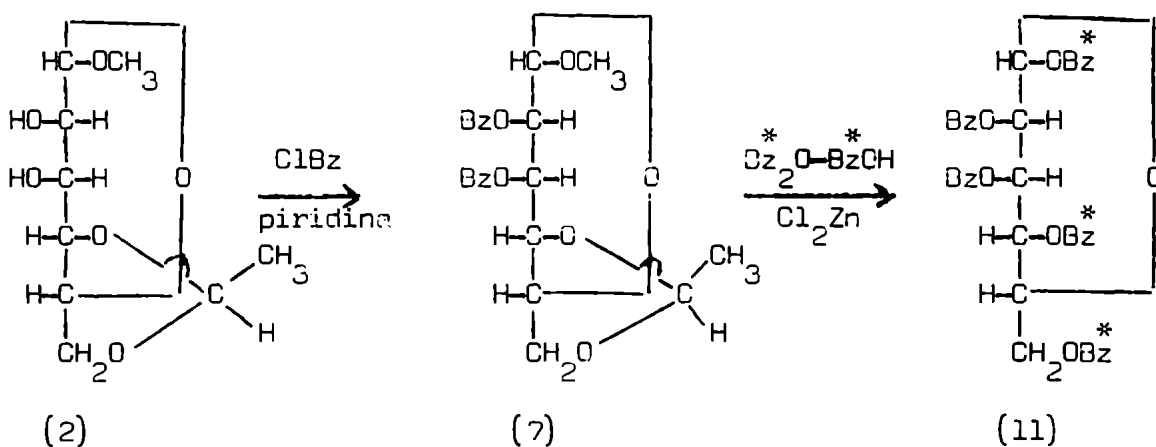
b- Obtención de 1,4,6-tri-O-benzoil-2,3-di-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)- α -D-manosa

Para preparar la penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa marcada en C-2 y C-3 se benzoiló con cloruro de benzilo (carbonilo- ^{14}C) el metil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido (2) obteniéndose metil-2,3-di-O-benzoil (carbonilo-

^{14}C -4,6-O-etiliden- α -D-manósido (9). Por fusión de esta sustancia con mezcla benzoilante inactiva se obtuvo la 1,4,6-tri-O-benzoil-2,3-di-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)- α -D-manosa (10).



Siguiendo la misma secuencia pero haciendo la marcación en sentido inverso, es decir empleando en la transformación (2) \rightarrow (9), cloruro de benzoilo inactivo y en la reacción (9) \rightarrow (10), anhídrido benzoico (carbonilo- ^{14}C), ácido benzoico (carbonilo- ^{14}C) y cloruro de cinc se obtuvo 1,4,6-tri-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)-2,3-di-O-benzoil- α -D-manosa (11).



Determinación de la contribución conjunta de los grupos 2 y 3-O-benzilos de la 1,4,6-tri-O-benzoil-2,3-di-O-benzoil(carbonilo- ^{14}C)- α -D-manosa a la formación de N-benzoil-D-manopiranosilemina y 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol

La amonólisis del compuesto (10) permitió establecer la contribución conjunta de los grupos 2 y 3-O-benzilos, a la formación de

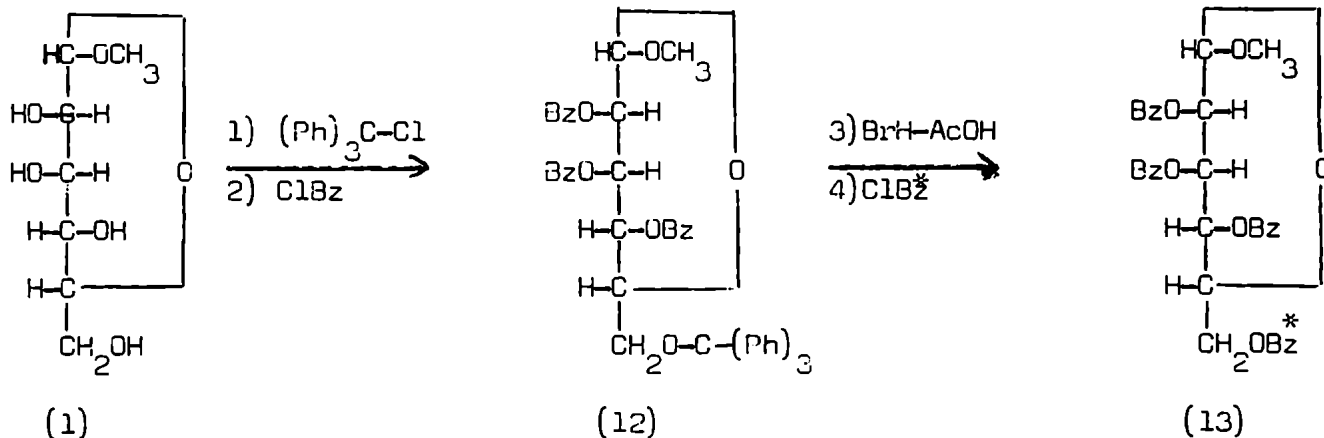
D-manosa-monobenzamida (0,74) y D-manosa-dibenzamida (0,99). Con estos datos fue posible calcular por diferencia, la contribución individual del grupo benzilo del C-3, a partir del valor determinado para el benzilo del C-2 en la experiencia (a).

En forma análoga, por amonólisis del compuesto (11) se pudo establecer la participación conjunta de los grupos 4 y 6-O-benzilos, a la formación de D-manosa-monobenzamida (0,24) y D-manosa-dibenzamida (1,02) ya que, como lo han demostrado Ondetti (1957) y Gros (1950), el grupo 1-O-benzilo no contribuye a la formación de amidas de monosacáridos.

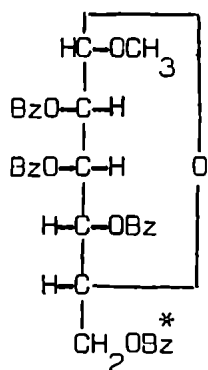
c- Obtención de 1,2,3,4-tetra-O-benzoil-6-O-benzoil(carbonilo-¹⁴C)- α -D-manosa

El metil- α -D-manopiranosido (1) se trató con cloruro de tritilo en piridina y posteriormente en el mismo medio de reacción con cloruro de benzilo inactivo, obteniéndose, de acuerdo con la técnica descrita por Percival y col. (1955), metil-2,3,4-tri-O-benzoil-6-O-tritil- α -D-manósido (12).

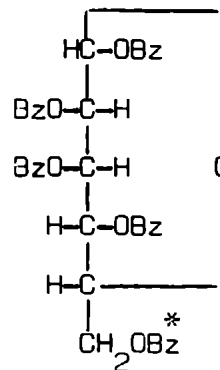
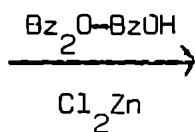
El tritil derivado (12), se detritiló con ácido bromhídrico en ácido acético glacial y posteriormente se lo benziló con cloruro de benzilo (carbonilo-¹⁴C), obteniéndose metil-2,3,4-tri-O-benzoil-6-O-benzoil(carbonilo-¹⁴C)- α -D-manósido (13). Por fusión de (13) con mezcla benzoilante inactiva se preparó 1,2,3,4-tetra-C-benzoil-6-C-benzoil(carbonilo-¹⁴C)- α -D-manosa (14).



Ph: C₆H₅

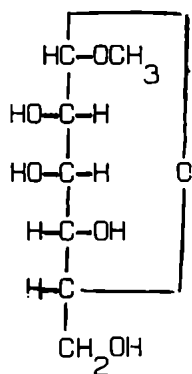


(13)

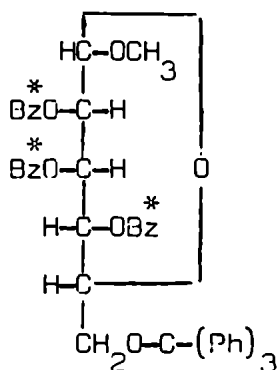
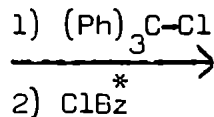


(14)

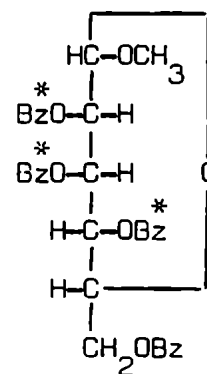
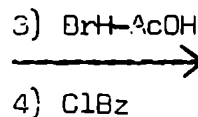
Se efectuó también la marcación en sentido inverso, es decir, en la transformación (1) \rightarrow (12), se empleó cloruro de benzilo radioactivo, de esta manera se obtuvo metil-2,3,4-tri-O-benzil(carbonilo- ^{14}C)-5-O-tritil- α -D-manósido (15). Este producto fue detritilado y posteriormente benzilado con cloruro de benzilo inactivo, obteniéndose metil-2,3,4-tri-O-benzil(carbonilo- ^{14}C)-5-O-benzil- α -D-manosa (16). Por fusión benzoilante con mezcla inactiva, la sustancia (16) se transformó en 2,3,4-tri-O-benzil(carbonilo- ^{14}C)-1,6-di-O-benzil- α -D-manosa (17).



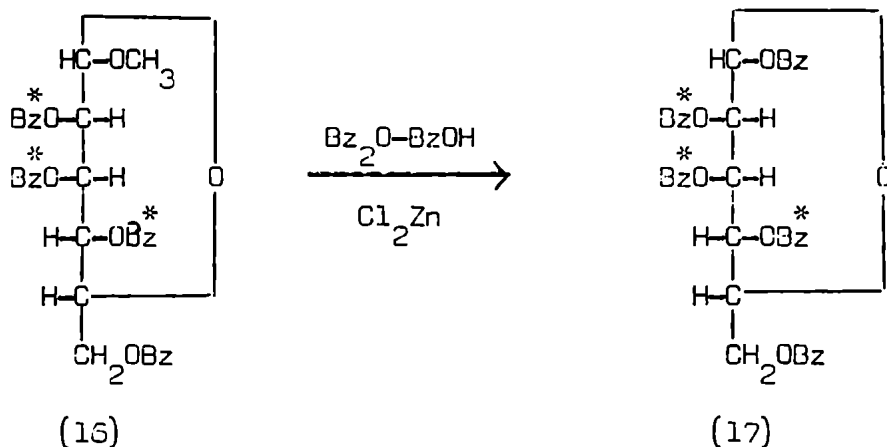
(1)



(15)



(16)



Determinación de la contribución individual del grupo 6-O-benzóilo de la 1,2,3,4-tetra-O-benzóil-6-O-benzóil(carbonilo-¹⁴C)- α -D-manosa, en la formación de N-benzóil-D-manopiranosilamina y 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol

La amonólisis del compuesto (14) permitió determinar la contribución individual del grupo 6-O-benzóilo a la formación de D-manosa-dibenzamida (0,25) y establecer que dicho grupo no participa en la formación de D-manosa monobenzamida. Por otra parte, cuando se amonolizó la 2,3,4-tri-O-benzóil(carbonilo-¹⁴C)-1,6-di-O-benzóil- α -D-manosa, se pudo establecer la contribución conjunta de los grupos 2,3, y 4-O-benzóilos a la formación de D-manosa monobenzamida (1,01) y D-manosa-dibenzamida (1,74).

A los efectos de complementar las experiencias realizadas sobre contribuciones de los distintos benzóilos de la penta-O-benzóil- α -D-manopiranososa, a la formación de D-manosa-monobenzamida y D-manosa-dibenzamida, fue preciso comprobar la ausencia de migraciones intramoleculares del tipo O \rightarrow O de los grupos benzóilos, así como también que no se producían intercambios de benzóilos en el curso de las reacciones de fusión con mezcla benzóilante. Las experiencias que se efectuaron se detallan en el capítulo de "Reacciones de fusión".

CAPITULO III

REACCIONES DE FUSION

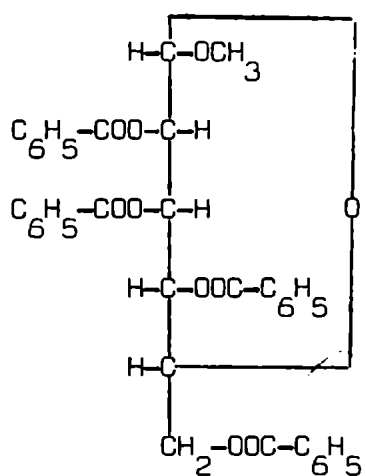
Cuando se plantearon las vías de síntesis para obtener penta-O-benzoil-D-manopiranosas, con grupos benzoílos marcados sobre las distintas posiciones del monosacárido, se observó la conveniencia de trabajar con los metil-glicósidos derivados de la D-manosa. Era, por lo tanto, importante disponer de un método que permitiera la sustitución del grupo metoxilo presente en el carbono anomérico por un resto benzoiloxi. Por estas razones se adoptó la técnica empleada por Hudson y col. (1950), quienes sometieron el metil-tetra-O-benzoil- α -D-manósido a la acción de una mezcla constituida por anhídrido benzoico, ácido benzoico y cloruro de cinc y obtuvieron, con buen rendimiento, penta-O-benzoil- α -D-manopiranosas.

Este método fue utilizado en esta tesis con resultados satisfactorios. Inicialmente, se lo aplicó a la misma sustancia descrita por Hudson y col.. Posteriormente, modificando en parte la composición del reactivo, la mezcla se ensayó como agente benzoilante frente a otros sustratos.

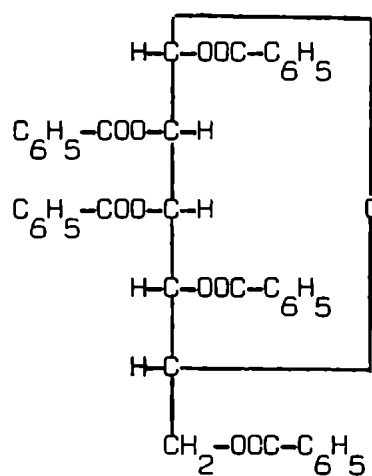
Estas experiencias señalaron la capacidad acilante de la mezcla de fusión^(*) en las reacciones que se indican a continuación:

- 1- Sustitución del grupo metoxilo sobre C-1, por benzoílo. Empleando como sustrato metil-tetra-O-benzoil- α -D-manopiranosas (1) Hudson y col. (1950).

(*) Por razones de conveniencia, denominaremos en este capítulo mezcla de fusión o mezcla benzoilante a la constituida por anhídrido benzoico, ácido de benzoico, con y sin cloruro de cinc.

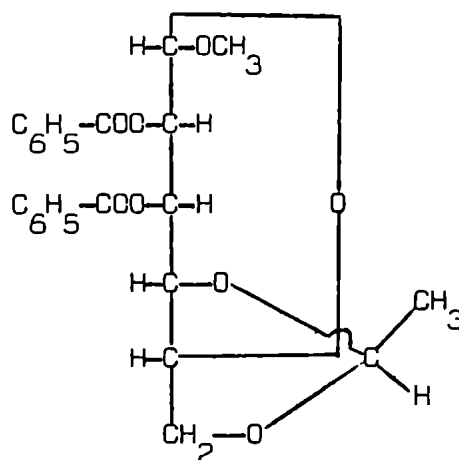


(1)



(2)

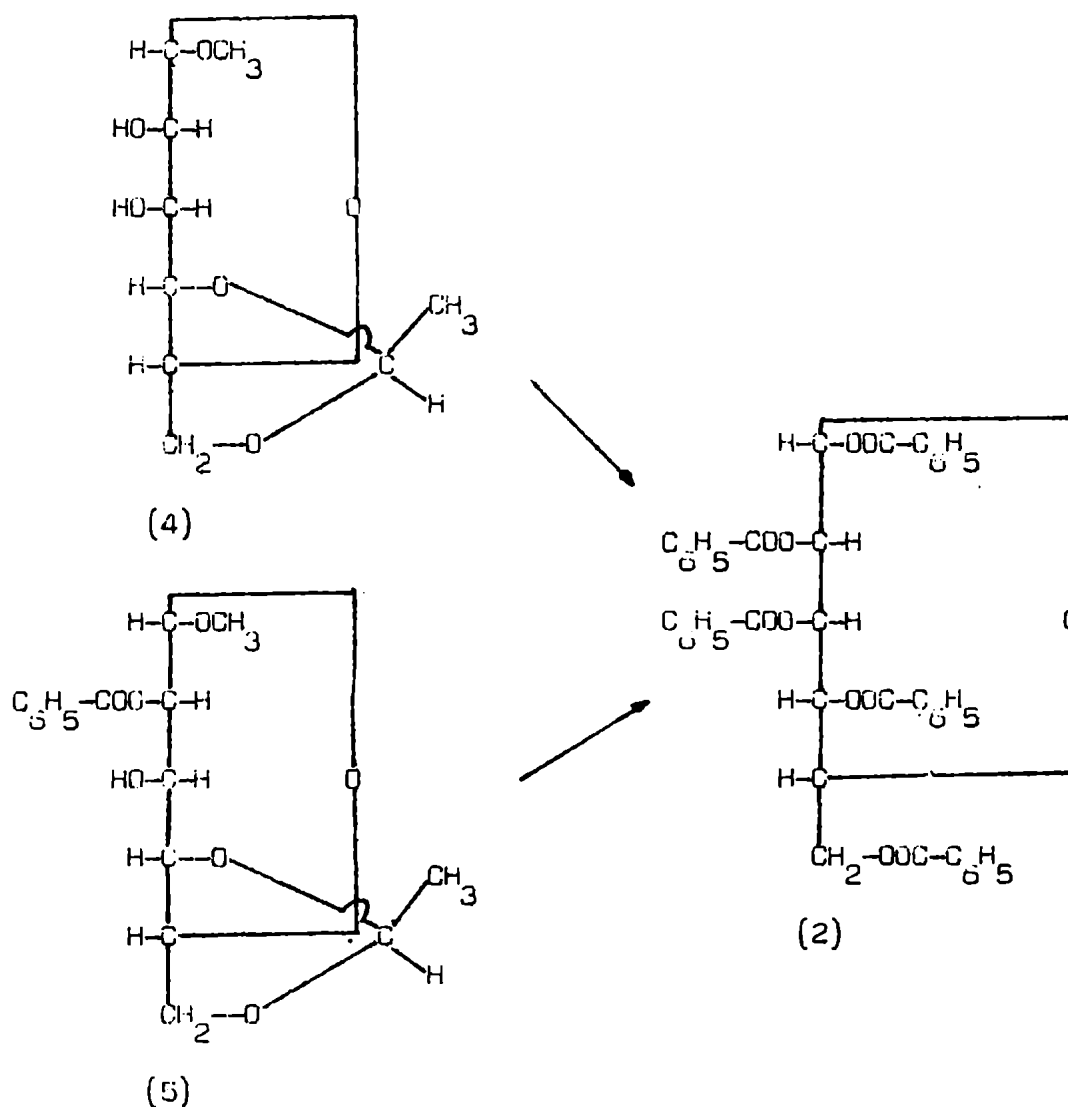
2- Sustitución simultánea de grupos metoxilos sobre C-1 y de grupos etiliden por benzoílos.



(3)

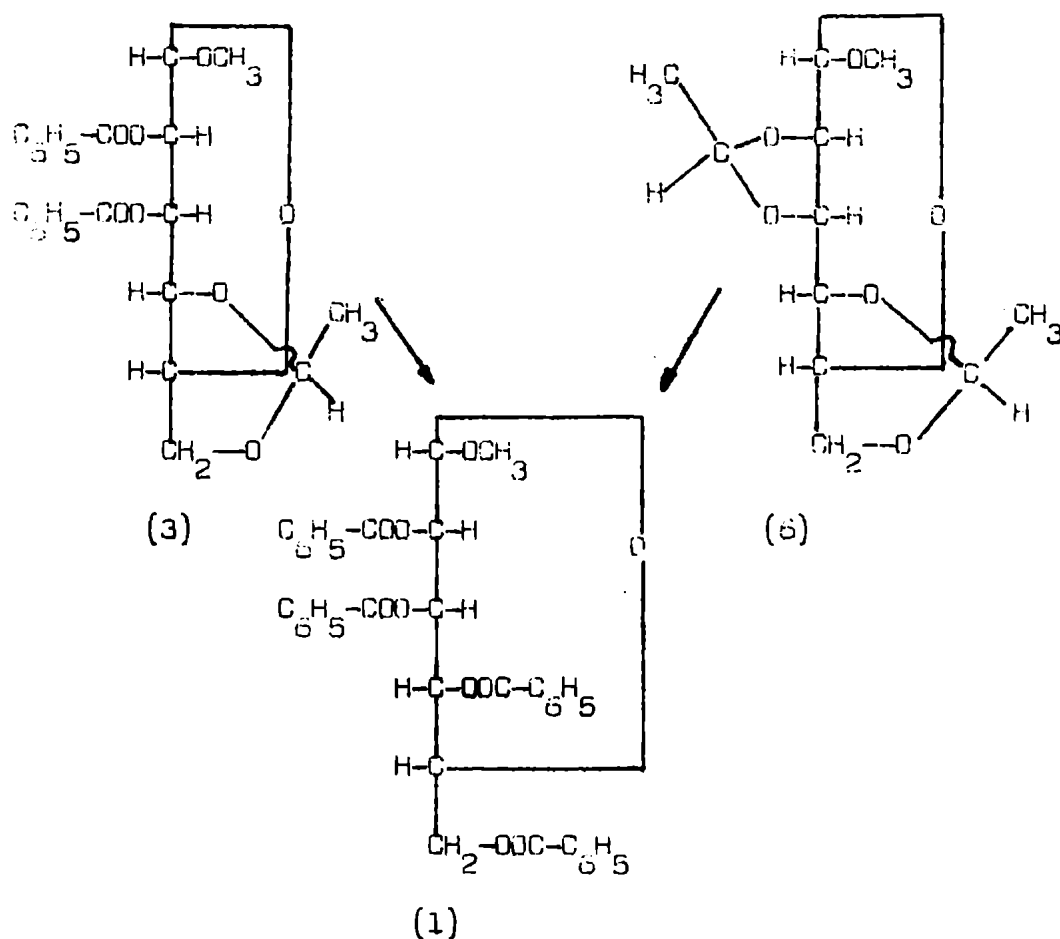
El metil-2,3-di-O-benzoíl-4,6-O-etiliden- α -D-manósido (3), fue tratado por primera vez con la mezcla de fusión por Lezerovich (1963), quien obtuvo penta-O-benzoíl- α -D-manopiranososa (2).

3- Benzoilación de uno o dos grupos hidroxilos libres, con sustitución simultánea de un grupo etiliden y del metoxilo sobre C-1, en derivados metil- α -D-manopiranosídeos.



Estas experiencias se realizaron empleando como sustrato metil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido (4) y metil-2-O-benzoíl-4,6-O-etiliden- α -D-manósido (5). El producto final en ambas fusiones fue la penta-O-benzoíl- α -D-manopiranososa (2). Aunque conviene señalar que los rendimientos disminuyeron sensiblemente con respecto a otras reacciones de fusión, siendo del orden de 12-15%.

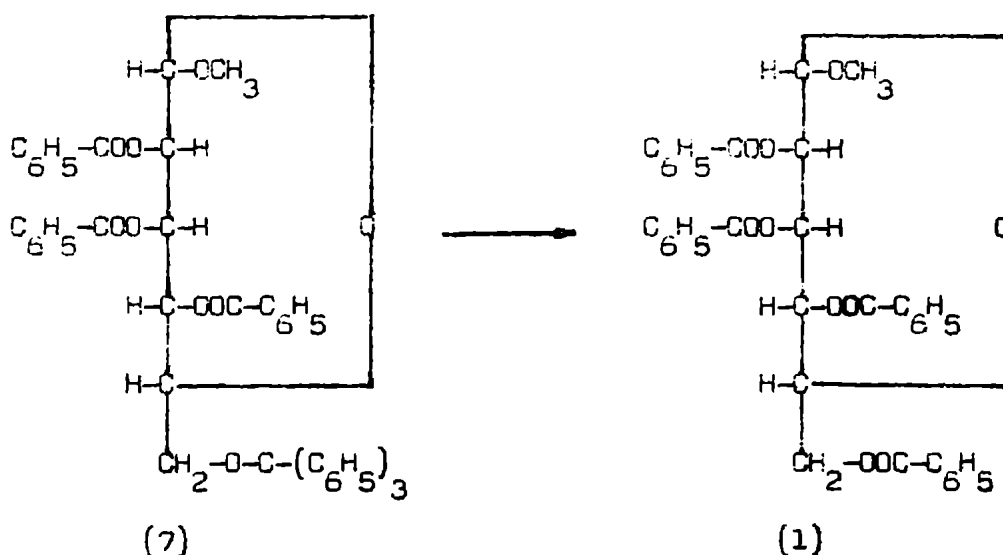
4- Sustitución de grupos etiliden por benzoílos, sin afectar el metoxilo sobre C-1.



Esta sustitución selectiva, se logró reduciendo la cantidad del ácido de Lewis en la mezcla benzoylante. Se ensayó sobre el metil-2,3-di-O-benzoyl-4,6-O-etiliden- α -D-manósido (3) y sobre el metil-2,3;4,6-di-O-etiliden- α -D-manósido (6). En ambos casos, se obtuvo metil-tetra-O-benzoyl- α -D-manósido (1).

Cuando en la fusión de (3) no se empleó cloruro de cinc, se recuperó con alto rendimiento el producto de partida. Esto indica el papel importante que cumple el catalizador ácido para obtener determinadas sustituciones.

5- Sustitución del grupo tritilo en C-6 por benzoílo, sin afectar el grupo metoxilo sobre C-1.



Esta experiencia permitió la sustitución del grupo tritilo, en el metil-2,3,4-tri-O-benzoíl-6-O-tritil- α -D-manósido (7), por un grupo benzoílo, obteniéndose metil-tetra-O-benzoíl- α -D-manósido (1). También en este caso debieron emplearse cantidades menores de cloruro de cinc en la mezcla de fusión.

Este método, ha resultado el más recomendable para sustituir al tritilo por benzoílo, en la posición C-6, pues evita el tratamiento usual con ácido bromhídrico, que puede llegar a sustituir el grupo metoxilo (Percival, 1957).

El estudio de las reacciones de fusión, efectuada sobre los sustratos descritos anteriormente, indicaba la importancia de demostrar que durante el curso de las mismas, no se produjeran reacciones de intercambio de los benzoílos presentes, con los de la mezcla benzoilante, ni tampoco migraciones intramoleculares del tipo $\text{O} \rightleftharpoons \text{O}$, por parte de los grupos benzoílos.

Si se cumplen ambas condiciones, al emplear benzoílos marcados, sería posible determinar contribuciones aparentes de los mismos a la formación de N-benzoíl-O-manopiranosilamina y 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-

D-manitol.

Consideremos demostrada la ausencia de intercambio entre los benzoílos presentes en las posiciones C-2, C-3, C-4 y C-6 de la D-manosa y los de la mezcla de fusión dado que, cuando se efectuaron las reacciones en las condiciones que se detallan en la parte experimental empleando mezcla benzoilante inactiva sobre los derivados de la D-manosa indicados a continuación, se obtuvieron siempre penta-O-benzoíl- α -D-manopiranosas (2) cuyas actividades específicas molares eran equivalentes a las que tenían los productos de partida.

- 1- Metil-2-O-benzoíl (carbonilo- ^{14}C)-3-O-benzoíl-4,6-O-etiliden- α -D-manósido (3).
- 2- Metil-2,3-di-O-benzoíl (carbonilo- ^{14}C)-4,6-O-etiliden- α -D-manósido (3).
- 3- Metil-2,3,4-tri-O-benzoíl-6-O-benzoíl (carbonilo- ^{14}C)- α -D-manósido (1).
- 4- Metil-2,3,4-tri-O-benzoíl (carbonilo- ^{14}C)-6-O-benzoíl- α -D-manósido (1).
- 5- Metil-2,3,4,6-tetra-O-benzoíl (carbonilo- ^{14}C)- α -D-manósido (1).

Otra prueba adicional se obtuvo al tratar metil-2,3-di-O-benzoíl-4,6-O-etiliden- α -D-manósido (3) con una mezcla fundente radioactiva (anhídrido benzoico (carbonilo- ^{14}C), ácido benzoico (carbonilo- ^{14}C) y cloruro de cinc). La 1,4,6-tri-O-benzoíl (carbonilo- ^{14}C)-2,3-di-O-benzoíl- α -D-manopiranososa (2) aislada, tenía una actividad específica molar que demostraba la incorporación de tres grupos benzoílos radioactivos. Por lo tanto, no se había producido tampoco intercambio de sus dos grupos benzoílos primitivos con el medio fundente.

Por otra parte, el grupo benzoiloxi sobre C-1, intercambia con los presentes en la mezcla de fusión, pues cuando se trató en la forma habitual la 1,4,6-tri-O-benzoíl (carbonilo- ^{14}C)-2,3-di-O-benzoíl- α -D-manosa (2) con mezcla benzoilante inactiva durante tres horas, se obtuvo penta-O-benzoíl- α -D-manopiranososa cuya actividad específica molar disminuyó en un 30% con respecto a la del producto de partida. Es

interesante señalar que el anómero aislado fue el mismo originalmente empleado en el ensayo (α).

Como la estabilidad de los grupos benzoílos en las posiciones C-2 a C-6 ha sido demostrada anteriormente, consideramos que esta disminución de actividad se debe al intercambio que se produce sobre el carbono anomérico.

Una reacción que puede interpretarse hoy como un intercambio de grupos acilos sobre el átomo de carbono lactólico y en la cual se emplearan condiciones muy similares a las nuestras, fue encontrada por Hudson y col. (1950), quienes por fusión con ácido benzoico y cloruro de cinc anomerizaron la penta-O-benzoil- β -D-glucopiranososa, al anómero α .

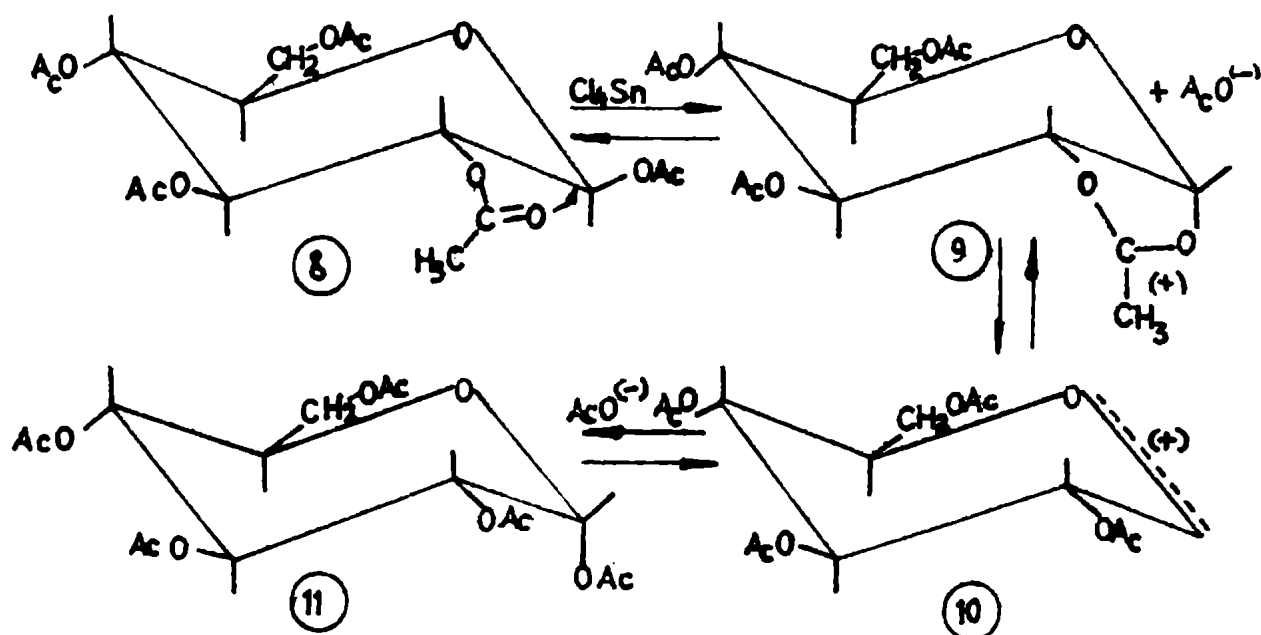
No hemos encontrado en la literatura antecedentes sobre estudios mecanísticos realizados para interpretar la anomerización de los derivados penta benzoilados de la D-manosa. El mismo Hudson (1950) menciona solamente los detalles experimentales, pero no describe ninguna interpretación de la inversión del centro anomérico.

En cambio, el mecanismo de la reacción de anomerización de monosacáridos peracetilados, empleando ácidos de Lewis como catalizadores, ha sido muy estudiado desde que Erwig y Koenigs (1889) utilizando anhídrido acético y cloruro de cinc, obtuvieron la penta-O-acetil- β -D-glucopiranososa a partir del anómero α .

Mientras no se disponga de datos que permitan una interpretación de la reacción, pensamos que podría asimilarse el mecanismo de la misma al propuesto por Lemieux y Brice (1952) para explicar la anomerización de la penta-O-acetil- β -D-glucopiranososa, cuando esta sustancia se trata con cloruro estánnico en solución clorofórmica, conteniendo una fuente de iones acetato (mono acetato tricloruro estánnico). Los autores probaron mediante el empleo de trazadores radioactivos, que en las condiciones que empleaban, sólo se producía intercambio del grupo acetoxi unido al átomo de carbono

lactólico, con el medio.

Un esquema simplificado del mecanismo propuesto por Lemieux y Brice para la anomerización de penta-O-acetil- β -D-glucopiranososa es el siguiente:



Bajo las condiciones de reacción empleadas, la penta-O-acetil- β -D-glucopiranososa (8) por acción del ácido de Lewis se disocia en iones acetato y en el ion carbonio 1,2- α -cíclico (9). Este último, se forma por asistencia anquimérica del grupo acetoxi desde la posición adyacente en el C-2.

La recombinación del ion (9) con iones acetato del medio, procede rápidamente, sufriendo el carbono lactólico una nueva inversión, para regenerar la sustancia de partida (8) (anómero β).

La formación del anómero α (11) a partir del intermediario iónico (9), requiere el reordenamiento reversible de este ion 1,2- α -cíclico, al ion carbonio (10). Este reordenamiento (9) \rightleftharpoons (10) sería según Lemieux y Brice el paso de control cinético en la reacción de anomerización, dado

que la disociación del anómero (8) \rightleftharpoons (9) parece ser mucho más rápida que la velocidad de anomerización observada.

Finalmente, el ion carbonio (10) es susceptible de sufrir un ataque por iones acetato del medio que puede producirse desde dos direcciones opuestas, dando lugar a la formación de ambos anómeros.

Posteriormente, Lemieux (1965) ha señalado que el efecto anomérico descrito por él (Lemieux y Chü, 1958), desempeña un papel sustancialmente más importante en la disociación del grupo acetoxi en el compuesto (8) que el asignado a la asistencia anquimérica del grupo acetoxi en el C-2.

Avala esta afirmación con las experiencias realizadas por él mismo (Lemieux y Huber, 1955) sobre la solvólisis en ácido acético de 1-cloro-3,4,6-tri-O-acetil- α -D-glucopiranosido y su anómero β .

Estos autores observaron que el anómero β es cien veces más reactivo que el anómero α y que además, durante la reacción, se produce un alto grado de inversión del centro anomérico.

La ausencia de un grupo acetoxi en la posición C-2 adyacente al carbono lactólico en el compuesto mencionado anteriormente, descarta en este caso, la posibilidad de una asistencia anquimérica y apoya la hipótesis que el efecto anomérico aumenta la reactividad del anómero β .

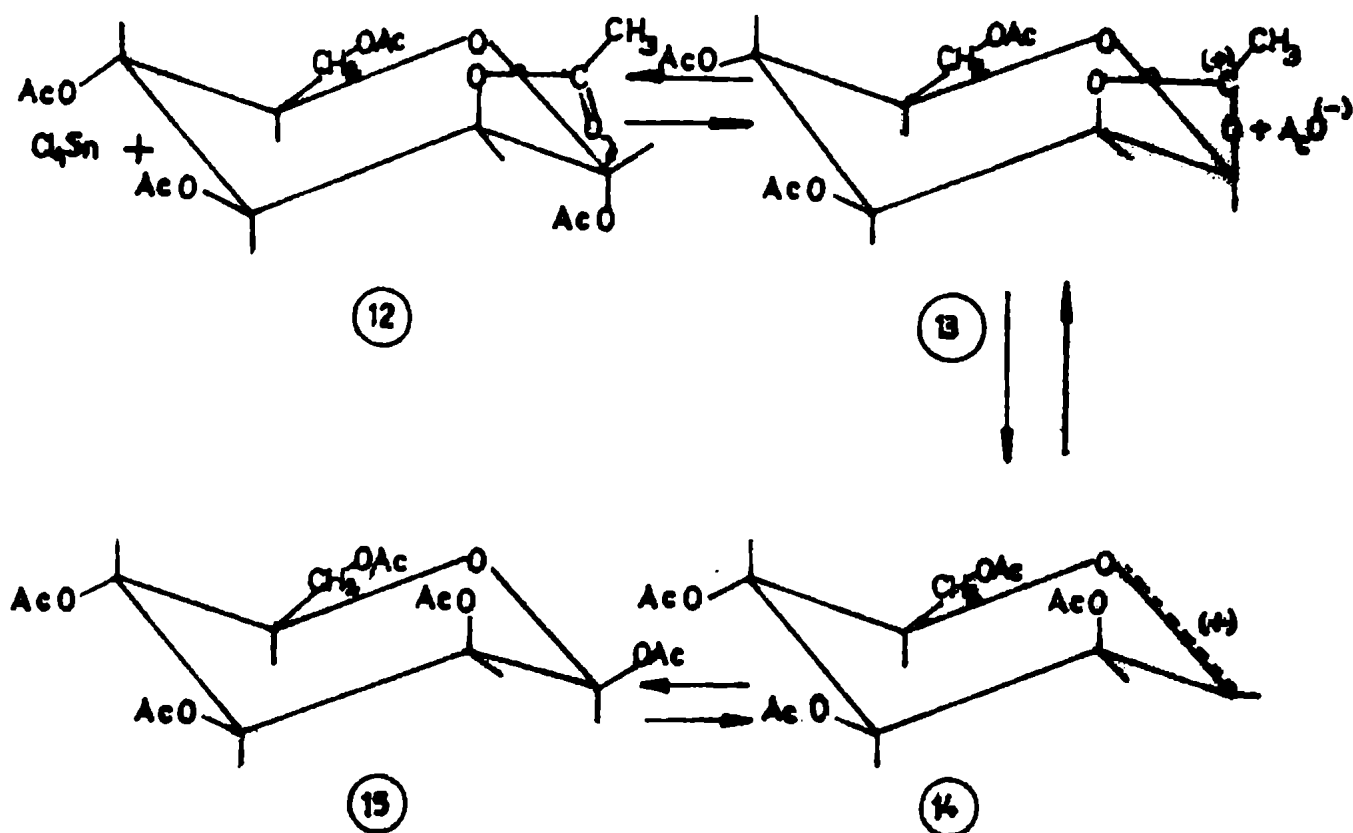
Las primeras bases sobre el hoy llamado efecto anomérico, corresponden a Edward (1955) quien las postuló para explicar la preferente formación de α alquilglicósidos en su estudio de análisis conformacional de los mismos.

Lemieux y Chü (1958) denominaron efecto anomérico al que hace que un sustituyente polar en posición ecuatorial sobre el carbono anomérico sea menos estable que en posición axial.

Una explicación de este fenómeno fue dada por Edward (1955) en términos de interacción dipolo-dipolo entre la unión carbono-oxígeno del

puente hemiacetálico y la unión entre el C-1 y un sustituyente polar. Cuando el sustituyente es ecuatorial, dichos dipolos forman un ángulo pequeño, mientras que con sustituyentes axiales, dicho ángulo se aumenta notoriamente. Por consiguiente, las fuerzas de repulsión electrostática serán más intensas cuando el sustituyente sobre el centro anomérico se encuentre en posición ecuatorial (β en conformación C-1). La hipótesis del efecto anomérico será empleada más adelante, al tratar otras reacciones de sustitución sobre el carbono lactólico.

Posteriormente, Lemieux y Brice (1955) ampliaron sus estudios de anomerización a la D-manosa y formularon un mecanismo de reacción similar al anterior.



Como en el caso de la D-glucosa, Lemieux y Brice postulan que, en un primer paso ocurriría la disociación de la penta-O-acetil- α -D-manopiranos (12) catalizada por el ácido de Lewis. Concomitantemente, el grupo acetoxi presente en el C-2 ejercería asistencia anquimérica sobre el átomo de carbono lactólico, formándose un ion carbonio 1,2- β -cíclico (13), produciéndose así la primera inversión del C-1. Esta hipótesis está apoyada por determinaciones cinéticas que prueban que el anómero α , que en la manosa es 1,2-trans, intercambia siempre más rápidamente su acetoxi en C-1 que el anómero β .

Estos resultados no dejan dudas que la disociación en ion acetato, con formación del ion carbonio (13), se produce con mayor facilidad a partir del anómero α , debido a que posee una configuración del C-2 más apropiada.

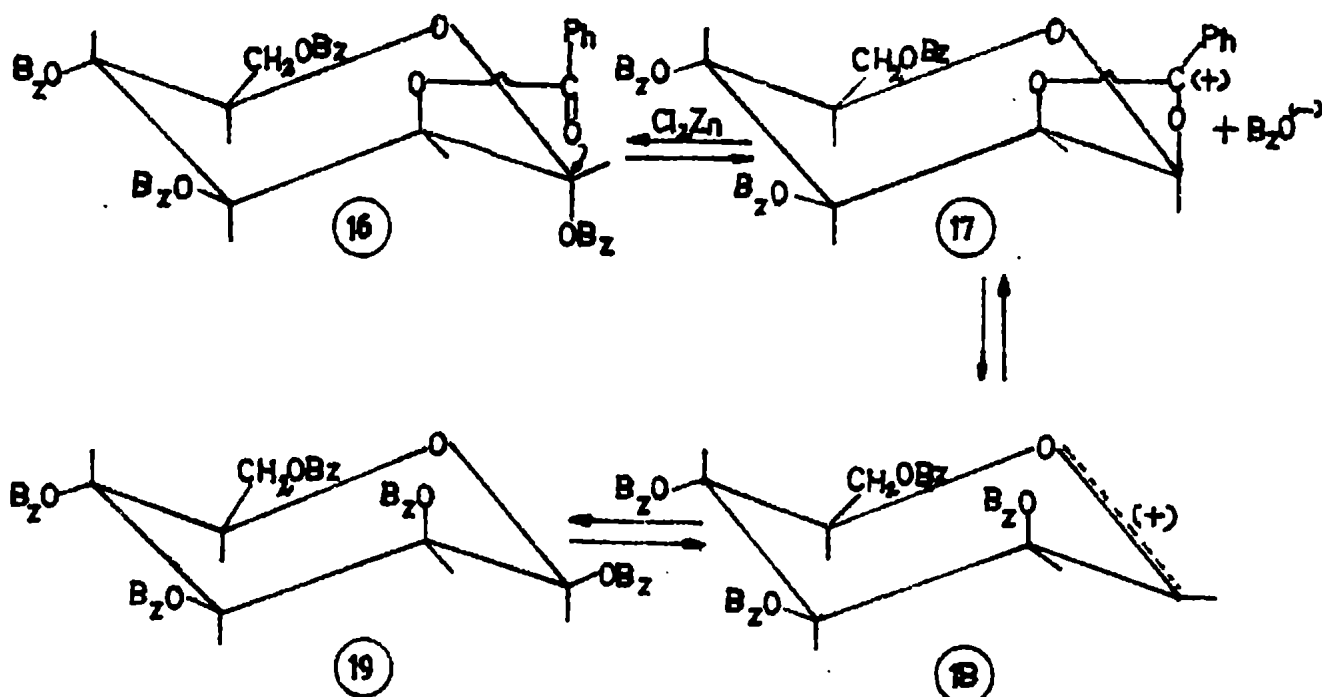
El ion carbonio (13) por una parte, se reordenaría en un equilibrio reversible al ion (14); en otra reacción, el ataque por iones acetato del medio produciría una segunda inversión del carbono anomérico, regenerando la penta-O-acetil- α -D-manopiranos (12).

Lemieux y Brice señalan que el ion carbonio 1,2- β -cíclico (13) puede transformarse en el ion carbonio (14); a juicio de los autores, el ion (13) es termodinámicamente más estable que el ion (14). Por lo tanto, la concentración será mayor en el equilibrio (13) \rightleftharpoons (14). Por último, por ataque de iones acetato del medio, el ion (14) puede transformarse en penta-O-acetil- β -D-manopiranos (15) o regenerar el anómero α (12).

Justifica la hipótesis de una mayor estabilidad del ion (13) porque la reacción de intercambio de grupos acetoxi en C-1, se produce más rápidamente que la anomerización $\beta \rightarrow \alpha$, que se realiza a partir de (14).

Si utilizamos la interpretación de Lemieux y Brice para explicar la reacción de intercambio sobre el carbono anomérico, en la reacción de fusión de penta-O-benzóil- α -D-manopiranos

(16), cuando se emplea la mezcla de fusión, se obtiene el siguiente esquema:



La separación del grupo benzoiloxi del átomo de carbono lactólico en la penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa, sería catalizada por el cloruro de cinc y asistida anquiméricamente por el grupo benzoiloxi desde la posición adyacente C-2. De esta forma, por una primera inversión del carbono lactólico se formaría el ion 1,2- β -cíclico (17). Este ion debería ser más estable que el ion acetilado (13), debido a que la deslocalización de la carga positiva se encuentra favorecida por la presencia del fenilo.

Un ataque sobre el ion (17) por aniones benzoato del medio de fusión, daría lugar a una segunda inversión del carbono anomérico, que regeneraría el anómero α . Esto explicaría que se aisle el anómero α como

producto principal de la reacción. Como se produce un intercambio con el medio por parte del grupo benzilo inicialmente presente en C-1, este mecanismo permite explicar la disminución de radioactividad observada en la fusión de 1,4,6-tri-O-benzil (carbonilo-¹⁴C)-2,3-di-benzil- α -D-manosa.

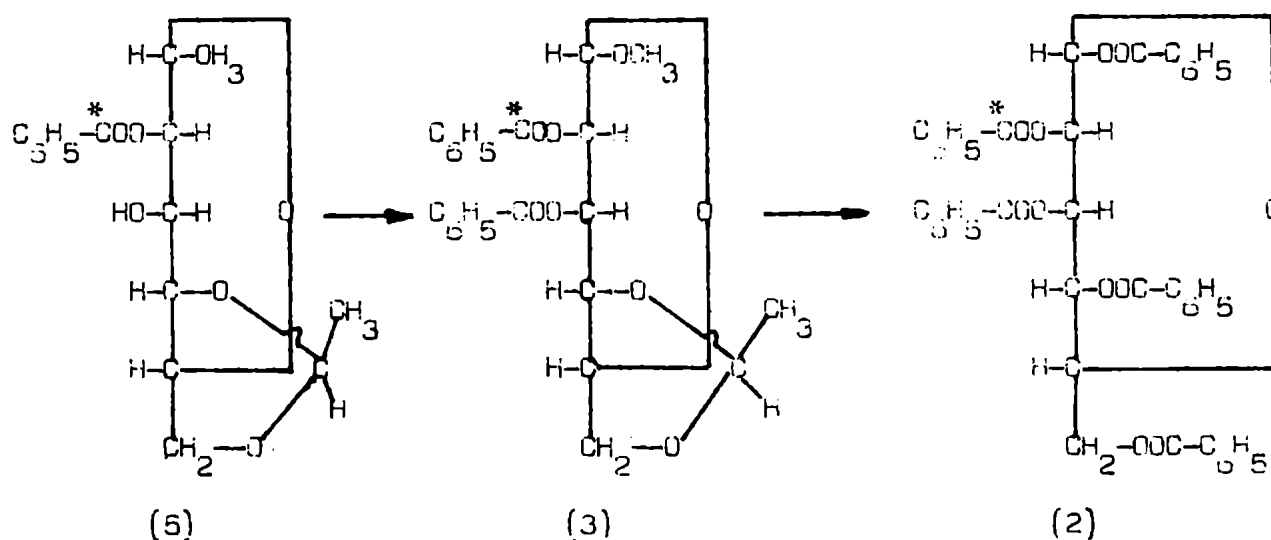
Como en el caso del ion acetilado (14), el ion benzilado (15) puede también, por ataque de iones benzoato del medio, formar el anómero β (19). Este anómero no ha sido aislado en nuestras experiencias, pero si se produjera, se formarían en pequeñas cantidades. Esta hipótesis está apoyada por las experiencias de Lemieux y Hrice (1956), quienes al anomerizar penta-O-acetil-D-manopiranososa con monoacetato tricloruro estánico durante 50 horas a 40°, sólo detectaron 1,5% del anómero β . La baja producción de este anómero se puede atribuir al efecto anomérico postulado por Lemieux y Chü (1958).

La evidencia de que no se producen migraciones intramoleculares de grupos benzilos en la reacción de fusión, aun en los casos en que existía un grupo hidroxilo libre, adyacente a un átomo de carbono portador de un benzilo se obtuvo empleando metil 2-O-benzil (carbonilo-¹⁴C)-4,6-O-etiliden- α -D-manósido (5). Dicho grupo hidroxilo en C-3 de (5) constituye un receptor potencial adecuado para la transposición intramolecular del benzilo vecino (C-2) durante la reacción de fusión.

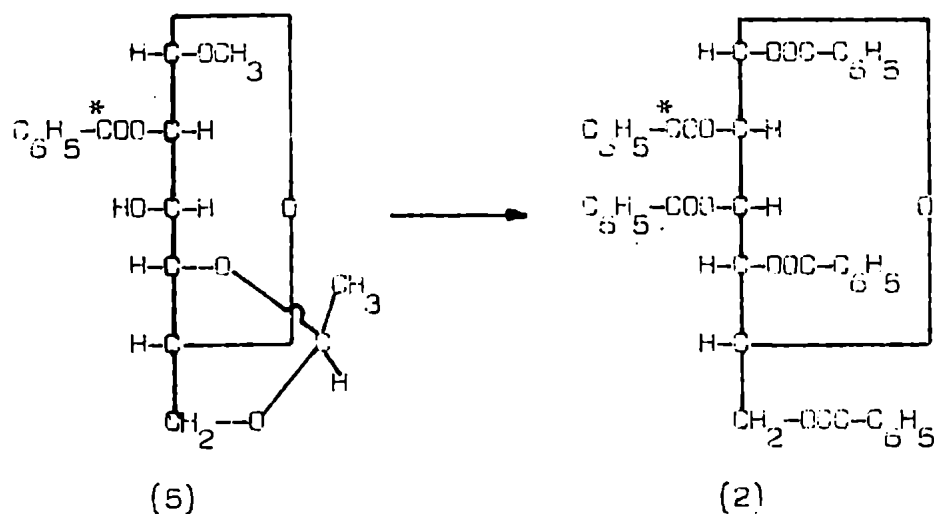
Un ensayo de estabilidad del compuesto (5) permitió establecer que el mismo se recupera inalterado luego de disolverlo en piridina a temperatura ambiente; esto asegura la ausencia de migración de los grupos benzilos en solución piridínica. Este hecho es consistente con lo determinado por Gros (1962, 1964) y Lezarovich (1963), quienes demostraron la estabilidad de compuestos parcialmente benzilados de la D-glucosa y D-galactosa en piridina, bajo diferentes condiciones.

La estabilidad del compuesto (5) permite concluir que cuando

dicha sustancia se benzoíla en solución piridínica para obtener metil-2-O-benzoíl (carbonilo-¹⁴C)-3-O-benzoíl-4,6-O-etilidén- α -D-manósido (3), el benzoílo introducido en la posición C-3, proviene del reactivo benzoilante y por lo tanto no se ha producido transposición intramolecular. La fusión de (3) con mezcla benzoilante inactiva dio tetra-O-benzoíl-2-O-benzoíl (carbonilo-¹⁴C)- α -D-manopiranososa (2), cuya actividad específica molar indicaba que en el transcurso de las reacciones (5) \rightarrow (3) \rightarrow (2), se había conservado íntegramente un grupo benzoílo activo.



Por otra parte, cuando el compuesto (5) se trató con mezcla fundente inactiva, se obtuvo directamente (2), cuya actividad específica molar era equivalente a la del producto de partida (5) indicando también la conservación de un grupo benzoílo radiactivo.



La amonólisis del compuesto (2), obtenido por dos caminos diferentes (5) \rightarrow (3) \rightarrow (2) y (5) \rightarrow (2), permitió aislar en ambos casos 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol y N-benzoíl-D-manopiranosilamina.

En estos compuestos, la fracción molar de grupo benzoílo que se había transferido, era prácticamente la misma (0,14 y 0,15 en el caso de la monoamida y 0,25 y 0,26 para la diamida). Esta igualdad de transferencia O \rightarrow N indica a nuestro juicio que en ambas penta-O-benzoíl- α -D-manopiranosas, el benzoílo radioactivo se encontraba unido al átomo de C-2.

Si se hubieran producido migraciones intramoleculares de grupos benzoílos durante las preparaciones, las mismas, para explicar los resultados anteriores, debían haber ocurrido en proporciones idénticas; tanto cuando la benzoilación se lleva a cabo en solución piridínica a 0°, como cuando se realiza por fusión benzoilante sobre la sustancia (5) a 100°. Estas migraciones cuantitativamente iguales parecen muy poco probables debido a las diferencias en las condiciones de reacción empleadas y es más razonable aceptar la ausencia de migración.

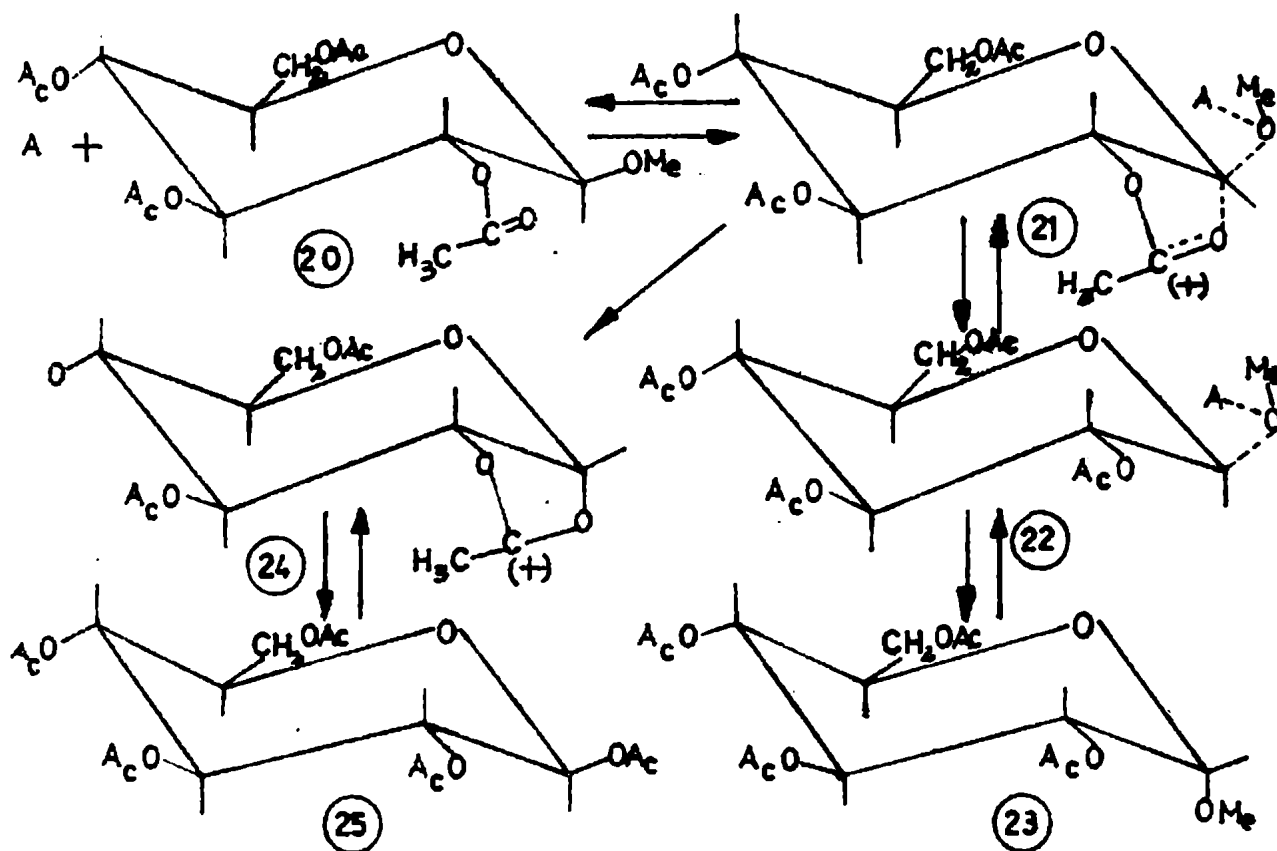
Durante las reacciones de fusión se producen otras dos transformaciones interesantes. Ellas son las sustituciones por grupos benzoílos de grupos etiliden presentes en el resto de la molécula y del grupo metoxilo unido al carbono lactólico.

En la literatura no hemos encontrado ningún antecedente mecanístico que interprete las reacciones mencionadas. Como en los casos anteriores, las reacciones más estudiadas son las sustituciones de grupos alcóxidos en los glicósidos por acetilo, con formación de penta-O-acetil-D-glicopiranosas. Esta reacción de acetólisis fue descrita por primera vez por Montgomery y col. (1937, 1942), quienes empleando ácido acético, anhídrido acético y cloruro de cinc transformaron el metil-tri-O-acetil-arabino-piranosido en el tetra-O-acetil derivado correspondiente. Estos autores no elaboraron ninguna interpretación mecanística.

Más recientemente Lindberg y col. (1949, 1950, 1950) investigaron en una serie de trabajos el mecanismo de la reacción y postularon la formación de compuestos acíclicos, como intermediarios de la misma. Dicho mecanismo ha sido discutido ampliamente por Lemieux y col. (1955a) quienes discrepan en cuanto a dicha interpretación.

El mecanismo formulado por Lemieux, frente a nuestros conocimientos actuales, nos parece más adecuado. Su esquema está apoyado por investigaciones cinéticas y un análisis muy completo de los productos que se forman durante la reacción, cuando se emplea una mezcla de ácido acético, anhídrido acético y ácido sulfúrico como catalizador. Además, este mecanismo resulta ser un caso particular de otras reacciones donde interviene el carbono anomérico, tales como las analizadas anteriormente al discutir las reacciones de intercambio en C-1.

Las etapas propuestas por Lemieux para interpretar la reacción de acetólisis son las siguientes:



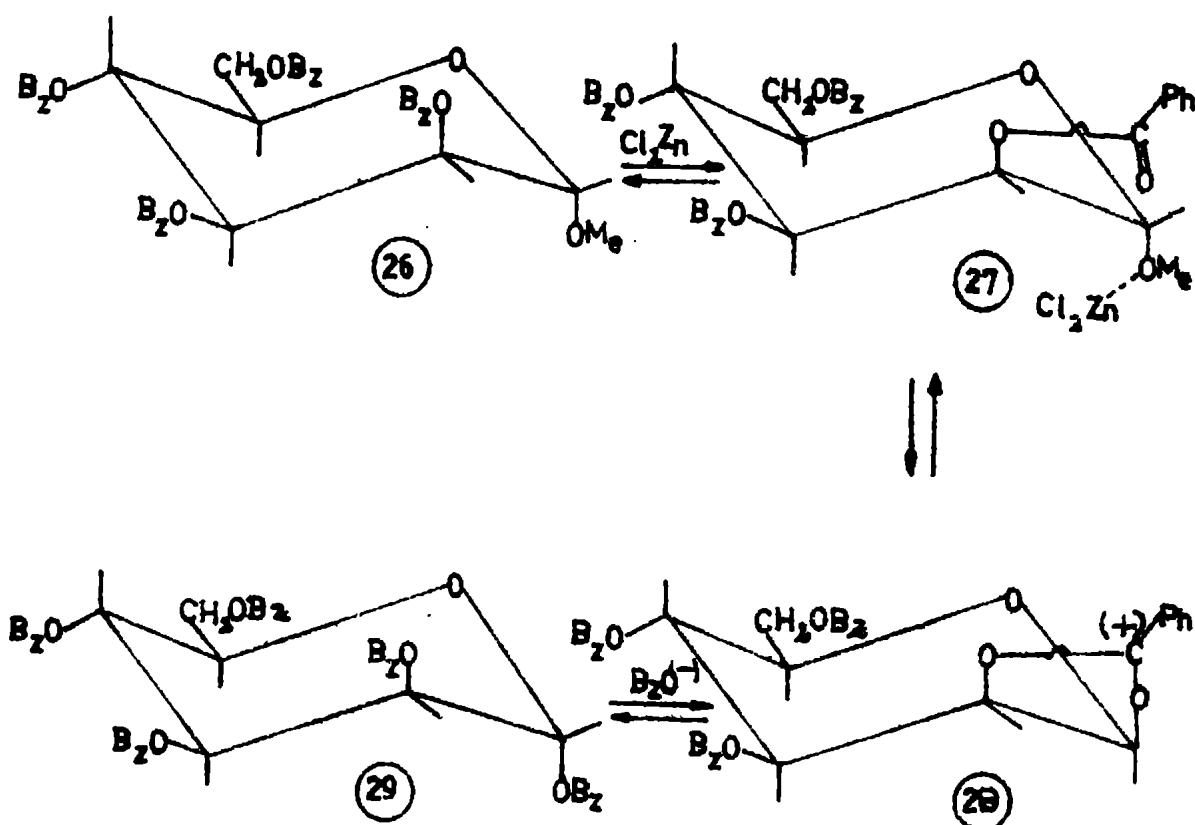
A: simboliza el catalizador ácido empleado.

A partir del metil-tetra-O-acetil- β -D-glucósido (20), en un primer paso se produciría la fijación del catalizador ácido sobre el oxígeno glucósido y por asistencia del resto acetoxi del C-2 se formaría el complejo activado (21). A partir de este último, puede formarse el par iónico (22) y por otra parte, si se produjera la separación del metoxilo en el intermediario (21) favorecido por el efecto anomérico, se formaría el ion carbonio (24). Este ion, tal como se vio anteriormente al discutir el mecanismo de anomerización (equil. (8) \rightleftharpoons (9)), es susceptible de sufrir un ataque por los iones acetato presentes y dar, en esta forma, la penta-O-acetil- β -D-glucopiranososa. Lemieux comprobó en las experiencias realizadas que este anómero (β) es el que se forma inicialmente en el curso de las reacciones. No obstante, el anómero alfa fue detectado luego de un cierto período de reacción. La transformación $\beta \rightarrow \alpha$ debe ocurrir por el mecanismo postulado por Lemieux y Brice (1952) (transf. (8) \rightarrow (9) \rightarrow (10) \rightarrow (11)) que ya hemos discutido en la primera parte.

En el par iónico (22) existe coplanaridad entre los átomos de C-1, C-2 y el oxígeno del puente hemiacetalico; por esta razón, cuando ese ion se reordena internamente, puede producirse el glucósido (23), tal como se demostró experimentalmente.

En la hipótesis de Lemieux las reacciones (21) \rightleftharpoons (22) \rightleftharpoons (23) son reversibles y, por lo tanto, el glucósido alfa (23) puede, a través de dichas reacciones formar el β -pentaacetato (25). Esta conclusión está apoyada experimentalmente, porque en la acetólisis del metil-tetra-O-acetil- α -D-glucósido, la penta-O-acetil- β -D-glucopiranososa (25) es también el anómero que se forma inicialmente.

Si aplicamos el esquema de Lemieux simplificado a la reacción de sustitución de grupos metoxilos por benzoílos en el caso de metil-tetra-O-benzoíl- α -D-manósido, el mismo podría representarse de la siguiente forma:



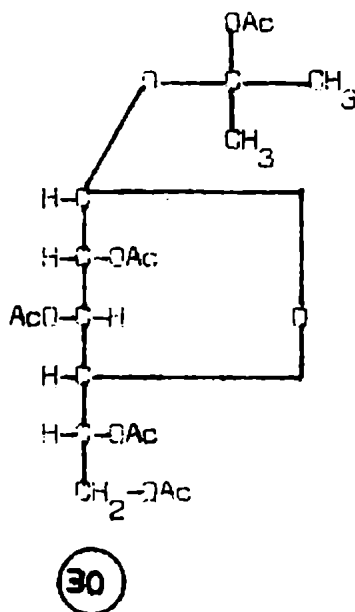
En un primer paso, el ácido de Lewis se coordinaría sobre el oxígeno glicosídico, dando el intermediario (27). Luego por asistencia anquimérica del grupo benzoiloxi de la posición adyacente C-2, se formaría el ion carbonio cíclico (28). Dicho ion sufriría el ataque de un ion benzoato de la mezcla benzoilante, dando lugar a una nueva inversión del carbono lactólico y formando penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa (29).

Por último consideraremos la interpretación de la reacción de sustitución de grupos etiliden por benzoilos.

El antecedente de una reacción similar a ésta fue originalmente descrito por Brigl y Grüner (1932), quienes por tratamiento de la 1,2,3-tri-

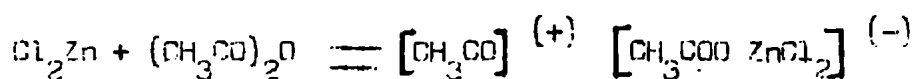
l-benzoil-4,6-O-benciliden-D-glucosa con una mezcla de anhídrido acético y cloruro de cinc obtuvieron 1,4,6-tri-O-acetil-2,3-di-O-benzoil-D-glucosa. Más tarde, Brigl y Zarrwek (1933) observaron que por acción de anhídrido acético y cloruro de cinc tanto sobre el 1,2-O-isopropiliden- α -D-glucofuranososa como sobre el 1,2-O-isopropiliden-3,5,6-tri-O-acetil-D-glucosa, obtenían una misma sustancia. Su estudio reveló que contenía cinco grupos acetilos y un isopropilo por molécula de glucosa.

Casi simultáneamente Schlubach y col. (1933) demostraron la estructura correcta del compuesto que correspondía a una tetra-O-acetil-1-O-(1-acetoxi-isopropil)-D-glucofuranososa (30).

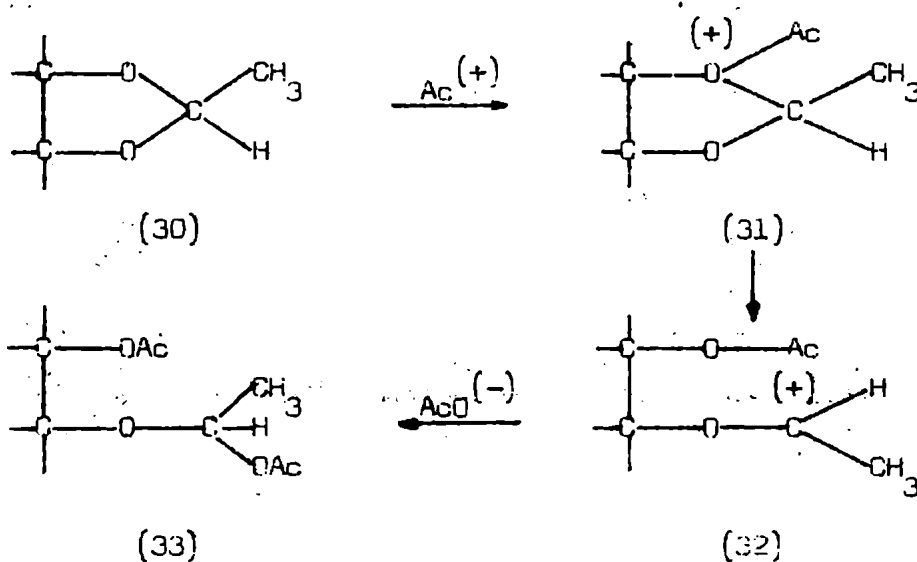


Posteriormente, se describieron un pequeño grupo de reacciones de hemiacetólisis similares a las anteriores (de Belder, 1965).

Para explicar esta reacción, de Belder consideró que el reactivo es el catión acetilo, que se formaría cuando se mezcla anhídrido acético con cloruro de cinc.



Este catión, promovería la apertura del acetal cíclico, dando lugar a la hemiacetólisis como se indica en el siguiente esquema postulado por de Belder.



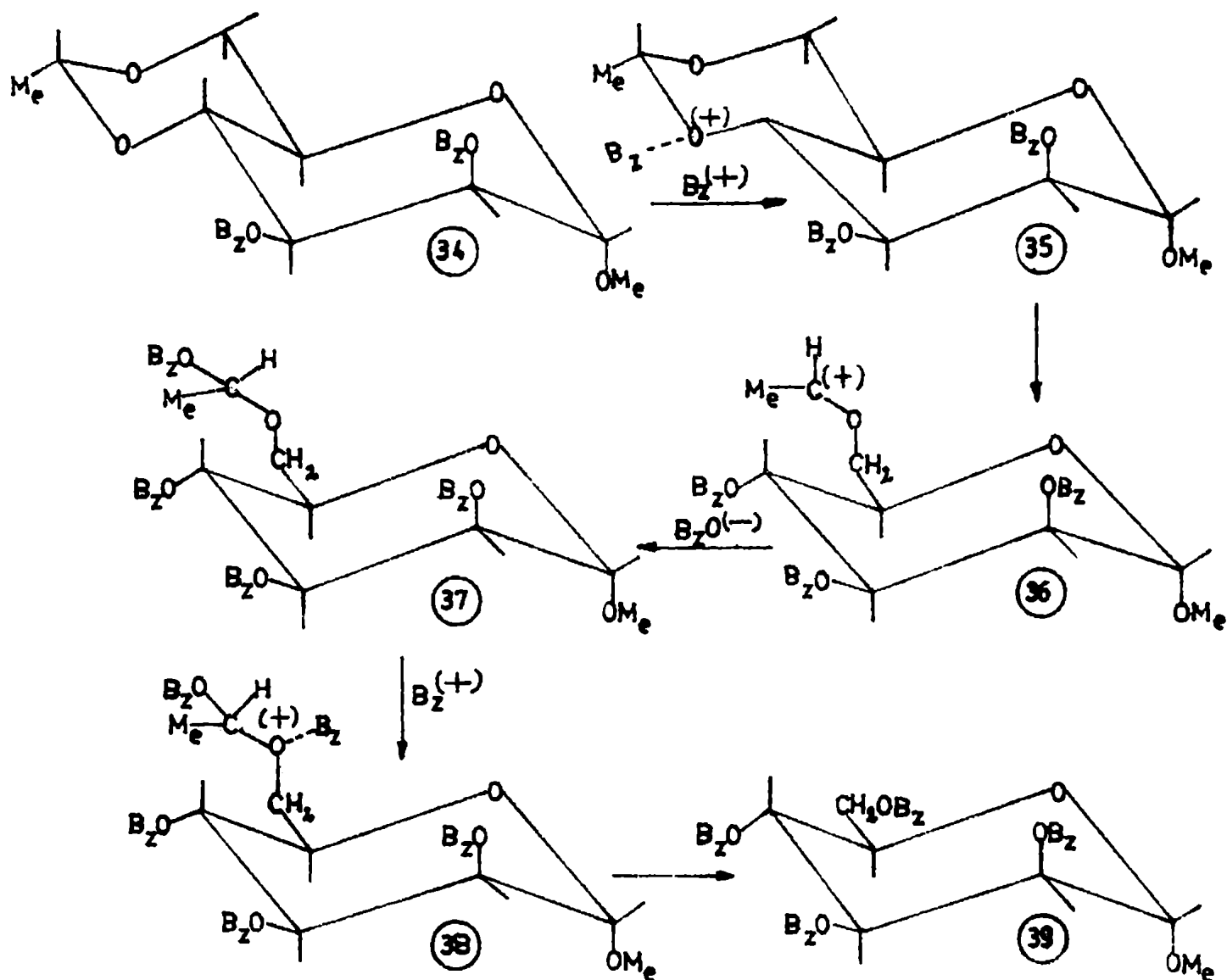
En una primera etapa, el catión acetilico se coordinaría sobre uno de los átomos de oxígeno del acetal cíclico, formándose el catión oxonio (31). La heterólisis de la unión carbono-oxígeno promovería la formación del catión carbonio (32) que por ataque de iones acetato, presentes en el reactivo, daría el acetoxi-alquil derivado correspondiente (33).

Hemos considerado que la reacción de sustitución de grupos etiliden por benzoílos, empleando cloruro de zinc, anhídrido benzoico y ácido benzoico, puede interpretarse formalmente por un mecanismo análogo al propuesto por de Belder. Teniendo en cuenta que las condiciones más severas que impone la reacción de fusión, no permitirían el aislamiento del benzoxi-etil derivado (37), análogo al compuesto (33), sino que se produciría la acetólisis total, con sustitución del grupo etiliden por dos grupos benzoílos.



El metil 2,3-di-O-benzoil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido (34) por ataque del catión benzoílico sobre el oxígeno del acetal se transformaría en el catión oxonio (35). Este, por apertura de la unión carbono-oxígeno, formaría el ion carbonio (36) que por ataque de iones benzoato daría la isotética metil 2,3,4-tri-O-benzoil-6-O-(*o*-benzoixi-etil)- α -D-manosa (37) cuyo aislamiento no se logró debido, presumiblemente, a las condiciones enérgicas de la reacción de fusión.

El intermediario (37), por un mecanismo similar al descrito para la apertura del etiliden en el compuesto (34), sufriría el ataque del catión benzoílico formándose el catión oxonio (38), el que conduciría a la metil-tetra-O-benzoil- α -D-manósido (39).



CAPITULO IV

ANÁLISIS CONFORMACIONAL DE DERIVADOS MANOPIRANOSÍCOS

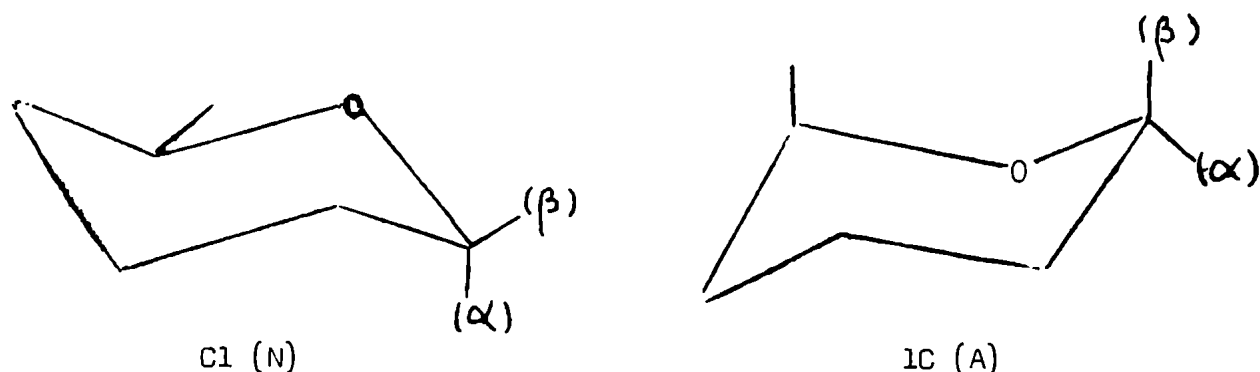
El análisis conformacional de los monosacáridos más corrientes (pentosas y hexosas) de estructura piranósica, requiere tener en cuenta la presencia de un átomo de oxígeno en un heterociclo hexaatómico y la acumulación de sustituyentes en los carbonos, particularmente hidroxilos.

No obstante estas diferencias Hassel y Ottar (1947) abordaron el problema de la conformación de ciclos piranósicos en base a sus estudios sobre las distintas formas conformacionales (silla y bote) del ciclohexano.

Posteriormente, Reeves (1949-1950-1951) mediante el estudio de los complejos formados por los monosacáridos con soluciones cuproamoniacales, concluyó que tanto las pentosas como las hexosas de estructura piranósica existen en la conformación silla y no en la bote. Al mismo tiempo asignó a cada una de las distintas conformaciones un símbolo designado con C1 y 1C las dos conformaciones sillas que pueden existir.

La conformación C1 (normal de Angyal (N)) es aquélla en la cual el átomo de oxígeno del ciclo piranósico y el sustituyente carbinólico en las D-hexosas, proyectan del mismo lado del plano formado por los carbonos 1, 2, 4 y 5. En esta conformación el sustituyente carbinólico debe tomar siempre una disposición ecuatorial.

La conformación 1C (alternante de Angyal (A)) es aquélla en la cual el átomo de oxígeno del ciclo piranósico y el sustituyente carbinólico proyectan cada uno hacia un lado diferente, es decir, hacia lados opuestos del plano formado por los carbonos 1, 2, 4 y 5. En esta conformación el resto carbinólico es siempre axial.



Existen diversos factores que determinan la mayor o menor estabilidad de los conformeros C1 ó 1C en las pentosas y hexosas piranósicas.

La preponderancia de un conformero en el equilibrio $C1 \rightleftharpoons 1C$ depende fundamentalmente del número de sustituyentes axiales y/o ecuatoriales, como así también de su posición relativa en la molécula.

Los primeros factores de inestabilidad en los hidratos de carbono fueron postulados por Hassel y Ottar (1947), quienes señalaron que la existencia de sustituyentes distintos del hidrógeno en posición axial aumenta la energía libre en los ciclos piranósicos. Además, consideraron otro factor importante de inestabilidad, la presencia simultánea en posición axial de un átomo de carbono unido a C-5 y de un grupo hidroxilo en C-1. Este efecto fue denominado por Reeves (1949) efecto H (efecto Hassel).

Posteriormente, Reeves (1951) señaló en los compuestos de estructura piranósica un tercer factor de inestabilidad, cuando la unión $C_{(2)}/O$ es axial y bisecta el ángulo formado por las uniones $C_{(1)}/O_{\text{aglicón}}$ y $C_{(1)}/O_{\text{ciclo}}$.

Esta interacción la denominó $\Delta 2$ y se presenta cuando el oxígeno unido al C-2 es axial y el hidroxilo del carbono anomérico ecuatorial (conformero C1, anómero β). Reeves (1951) consideró que los

factores de inestabilidad eran aditivos y asignó a cada uno de ellos un valor numérico expresado en unidades convencionales.

TABLA I

| Factores de inestabilidad | Unid.convencionales según Reeves | Unid.convencionales según Kelly |
|--|-------------------------------------|------------------------------------|
| 1- Sustituyente (distinto de H) en posición axial | 1 | 1 |
| 2- Efecto H | 0,5 | 0,5 |
| 3- Efecto $\Delta 2$ | 2,5 | 2,5 |
| 4- Grupo carbinólico en posición axial | -.- | 2,0 |
| 5- Grupo carbinólico en posición axial e hidroxilo axial en C-1. | -.- | 2,5 |

Reeves estableció además, ciertas reglas para decidir cuál de los conformeros (C1 ó 1C) es más estable, señalando que puede esperarse inestabilidad conformacional, cuando las formas C1 y 1C no difieren en más de una unidad de inestabilidad. En estos casos Reeves considera que se establece un equilibrio entre ambos conformeros.

La segunda regla establece que también existe inestabilidad conformacional, cuando ambas conformaciones (C1 y 1C) tienen 2,5 o más unidades de inestabilidad, pues en estos casos la inestabilidad de ambos conformeros es tan elevada, que ninguna predomina, estableciéndose un equilibrio entre las mismas.

En base a estas reglas, Reeves (1951) predijo la estabilidad conformacional de varias pentosas y hexosas de estructura piranósica. Los resultados teóricos postulados fueron comparados con los que obtuvo experimentalmente en sus trabajos sobre la formación de complejos, entre

diferentes glicósidos y soluciones cuproamónicas (1949, 1951); los mismos, confirmaron sus predicciones teóricas. Sólo en el caso de la α -D-gulosa y de la β -D-manosa, los resultados experimentales indicaron que estos monosacáridos debían tener una conformación C-1, mientras que sus cálculos indicaban la existencia de un equilibrio $C1 \rightleftharpoons 1C$.

Kelly (1957) analizó estos resultados y señaló que si se modificaban los valores de inestabilidad asignados por Reeves en la forma indicada en la Tabla I, así como las reglas por él enunciadas, podían explicarse los resultados obtenidos experimentalmente en el caso de la α -D-gulosa y de la β -D-manosa.

Como se puede observar en la Tabla I, Kelly mantuvo los mismos valores asignados por Reeves para los hidroxilos en posición axial y para los efectos $\Delta 2$ y H, pero aumentó, en razón de su mayor volumen, la influencia del carbinol en posición axial.

Kelly considera que, cuando las dos conformaciones difieren en más de una unidad de inestabilidad, el monosacárido adoptará aquella conformación en la cual el número de unidades convencionales de inestabilidad sea menor, cualquiera sea su valor.

Aceptando la modificación sugerida por Kelly, la conformación preferida en los casos de la β -D-manosa y α -D-gulosa, es la C1. En la Tabla II se indica el número de unidades de inestabilidad y la conformación preferencial de algunas aldopiranosas, según se tenga en cuenta los valores asignados por Reeves o por Kelly a los factores de inestabilidad.

Puede observarse que para los dos anómeros de la D-manopiranososa que es el monosacárido con el cual hemos trabajado en esta tesis, la conformación C1 es termodinámicamente la más estable si se emplean los valores de Kelly.

TABLA II

| Piranósidos | Unidad conv. de Inest | | | | Conform. preferencial | |
|-----------------------------|-----------------------|-----|-----------------|-----|-----------------------|-------------|
| | según Reeves | | según Kelly | | según Reeves | según Kelly |
| | C1 | 1C | C1 ^a | 1C | | |
| α -D-glucosa | 1 | 5 | 1 | 7 | C1 | C1 |
| β -D-glucosa | 0 | 6 | 0 | 7 | C1 | C1 |
| α -D-manosa | 2 | 3,5 | 2 | 4,5 | C1 | C1 |
| β -D-manosa | 2,5 | 5,0 | 2,5 | 6,0 | C1 \rightarrow 1C | C1 |
| α -D-galactosa | 2 | 5 | 2 | 6 | C1 | C1 |
| β -D-galactosa | 1 | 5 | 1 | 6 | C1 | C1 |
| α -D-xilosa | 1 | 4,5 | 1 | 4,5 | C1 | C1 |
| β -D-xilosa | 0 | 4 | 0 | 4 | C1 | C1 |

En base a las predicciones cualitativas de Reeves y Kelly se realizaron los primeros intentos para estimar cuantitativamente el contenido de energía libre de cada conformero en las series de las pentosas y hexosas piranósicas.

Angyal (1965a) señaló que para hacer una predicción cuantitativa de la energía libre conformacional de una estructura piranósica, es preciso introducir tres aproximaciones importantes. Ellas son:

- 1- La energía libre de cada isómero conformacional, es el resultado de la adición de los términos de energía de interacción, sin intervención de valencias (interacción de no unión), entre sus átomos o grupos de átomos. Estas interacciones son independientes entre sí.
- 2- Debe aceptarse que las moléculas de los monosacáridos piranósicos adoptan siempre conformaciones sillas perfectas, que no son afectadas por los sustituyentes.
- 3- Se pueden emplear en primera aproximación para los cálculos de energía libre

de monosacáridos piranósicos, los valores de energía de interacción de no unión, determinados experimentalmente para ciclitales.

En la Tabla III, se indican los valores de energía de interacción de no unión, entre sustituyentes en ciclitales, estimados en solución acuosa a 25° (Angyal y McHugh, 1956).

TABLA III

$E_{\text{interacción}}$ (kcal/mol)

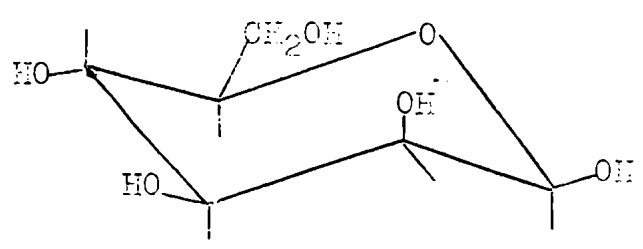
| Entre | OH _{ax} | OH _{3ax} | OH _{eq} |
|-------------------|------------------|-------------------|------------------|
| H _{ax} | 0,45 | 0,9 | (0) |
| OH _{ax} | 1,9 | 1,6 | 0,35 |
| OH _{eq} | 0,35 | 0,35 | 0,35 |
| CH _{3eq} | 0,35 | -.- | 0,35 |

Angyal (Eliel, 1965) empleó estos valores en sus cálculos y realizó un análisis del efecto $\Delta 2$ de Reeves, asignando como valor más adecuado a este tipo de interacción 0,45 kcal/mol. Otro término energético de repulsión que consideró, fue el postulado por Hansen, Craine y Gray (1954), quienes señalaron la interacción entre un sustituyente axial y el par de electrones del átomo de oxígeno del ciclo. Este efecto se debe considerar en los cálculos, cuando el oxígeno del ciclo piranósico y el sustituyente axial se encuentran del mismo lado del plano formado por C-1, C-2, C-4 y C-5. A esta interacción Angyal le asignó un valor de 0,45 kcal/mol, y al "efecto anomérico" definido por Lemieux y Chü (1953), un valor de 0,55 kcal/mol, siempre que se trataran de soluciones acuosas de pentosas y/o hexosas.

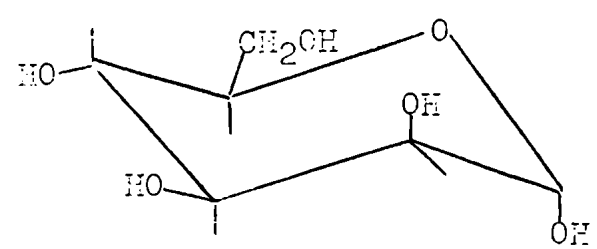
En las Tablas IV y V se indica cómo se efectúan cálculos de energía libre en el caso de los conformeros C1 y 1C y de la α -D- y β -D-manopiranosas,

empleando todos los parámetros de energía de interacción utilizados por Angyal.

TABLA IV



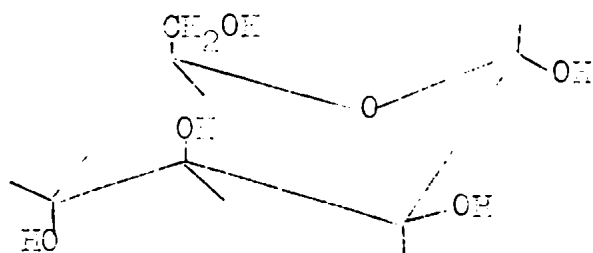
β -D-manopiranososa
(C1)



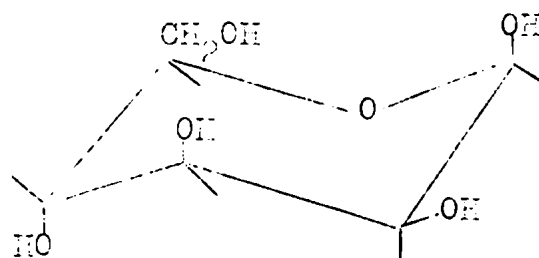
α -D-manopiranososa
(C1)

| β -D-manopiranososa (C1) | | α -D-manopiranososa (C1) | |
|---|-------------|---|-------------|
| Interacción | E(kcal/mol) | Interacción | E(kcal/mol) |
| C(1)-OH _{eq} — C(2)-OH _{ax} | 0,35 | C(1)-OH _{ax} — C(3)-H _{ax} | 0,45 |
| C(2)-OH _{ax} — C(4)-H _{ax} | 0,45 | C(1)-OH _{ax} — C(5)-H _{ax} | 0,45 |
| C(2)-OH _{ax} — O _{ciclo} | 0,45 | C(2)-OH _{ax} — C(4)-H _{ax} | 0,45 |
| C(2)-OH _{ax} — C(3)-OH _{eq} | 0,35 | C(2)-OH _{ax} — O _{ciclo} | 0,45 |
| C(3)-OH _{eq} — C(4)-OH _{eq} | 0,35 | C(2)-OH _{ax} — C(3)-OH _{eq} | 0,35 |
| C(4)-OH _{eq} — C(5)-(CH ₂ OH) _{eq} | 0,35 | C(3)-OH _{eq} — C(4)-OH _{eq} | 0,35 |
| Efecto $\Delta 2$ | 0,45 | C(4)-OH _{eq} — C(5)-(CH ₂ OH) _{eq} | 0,35 |
| Efecto Anomérico | 0,55 | Efecto $\Delta 2$ | -- |
| | | Efecto Anomérico | -- |
| $G_{\beta} =$ | 3,30 | $G_{\alpha} =$ | 2,85 |

TABLA V



α -D-manopiranososa
(1C)



β -D-manopiranososa
(1C)

| (1C) | | (1C) | |
|---|-------------|---|-------------|
| Interacción | E(kcal/mol) | Interacción | E(kcal/mol) |
| $C_{(1)}-OH_{eq} - C_{(2)}-OH_{eq}$ | 0,35 | $C_{(1)}-OH_{ax} - C_{(2)}-OH_{eq}$ | 0,35 |
| $C_{(2)}-OH_{eq} - C_{(3)}-OH_{ax}$ | 0,35 | $C_{(1)}-OH_{ax} - C_{(5)}-(CH_2OH)$ | 1,60 |
| $C_{(3)}-OH_{ax} - C_{(1)}-H_{ax}$ | 0,45 | $C_{(1)}-OH_{ax} - C_{(3)}-OH_{ax}$ | 1,90 |
| $C_{(4)}-OH_{ax} - C_{(2)}-H_{ax}$ | 0,45 | $C_{(2)}-OH_{eq} - C_{(3)}-OH_{ax}$ | 0,35 |
| $C_{(3)}-OH_{ax} - C_{(5)}-(CH_2OH)_{ax}$ | 1,60 | $C_{(4)}-OH_{ax} - C_{(2)}-H_{ax}$ | 0,45 |
| $C_{(4)}-OH_{ax} - O_{ciclo}$ | 0,45 | $C_{(4)}-OH_{ax} - O_{ciclo}$ | 0,45 |
| $C_{(5)}-(CH_2OH)_{ax} - C_{(1)}-H_{ax}$ | 0,90 | $C_{(3)}-OH_{ax} - C_{(5)}-(CH_2OH)_{ax}$ | 1,60 |
| Efecto Anomérico | 0,55 | Efecto Anomérico | -. |
| Efecto $\Delta 2$ | -. | Efecto $\Delta 2$ | -. |
| $B_{\alpha} =$ | 5,10 | $G_{\beta} =$ | 6,10 |

Más recientemente Sundararajan y V.S.R.Rao (1968) calcularon la energía potencial de interacción en los dos conformeros, de una serie de glicósidos de pentosas y hexosas piranósicas empleando las funciones tipo de Kitaygorodsky (1961). Estos autores señalan que en todas las aldohexosas y en la mayoría de las aldopentosas, la conformación C1 es la de menor energía. En la Tabla VI resumimos las conformaciones preferenciales, estimadas independientemente por varios autores para la α y β -D-manopiranosas.

TABLA VI

| | Conformación Preferencial | | | |
|---------------------------|----------------------------|-------------|--------------|--------------------------|
| | según Reeves | según Kelly | según Angyal | según Sundararajan y Rao |
| α -D-manopiranosas | C1 | C1 | C1 | C1 |
| β -D-manopiranosas | C1 \rightleftharpoons 1C | C1 | C1 | C1 |

La confirmación experimental que la α -D y β -D-manopiranosas en solución acuosa adopta la conformación C1 tal como predijeron la mayor parte de los autores anteriores, fue realizada por Lemieux y Stevens (1966) en base al análisis de sus espectros de resonancia magnética nuclear en ese solvente.

El estudio de la conformación de los peracetatos de ambas manopiranosas, por los mismos autores indicó que la conformación C1 es también la normal para los dos anómeros. Esto está de acuerdo con las predicciones de Lemieux y Chü (1968) quienes realizaron un estudio termodinámico del fenómeno de anomerización y establecieron los valores de energía de interacción que se indican en la Tabla VII, asignando 1,5 kcal al valor del efecto anomérico para hexopiranosas disueltas en solventes orgánicos.

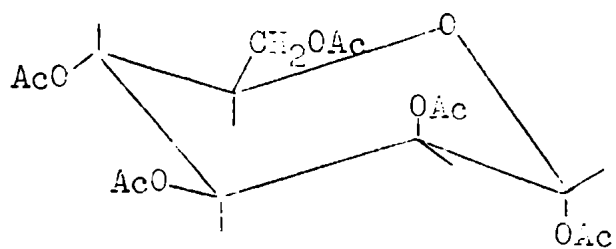
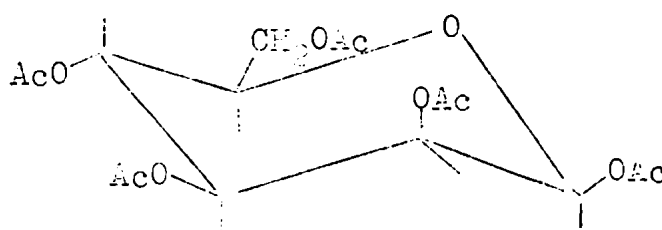
TABLA VII (*)

| Entre | E (kcal/mol) | |
|-------------------|-------------------|-------------------|
| | AcO _{ax} | AcO _{eq} |
| H _{ax} | 0,18 | (0) |
| AcO _{ax} | 2,08 | 0,55 |
| AcO _{eq} | 0,55 | 0,55 |

(*) Mayo 1964

Empleando estos valores de energía de interacción y el determinado para efecto anomérico, hemos esquematizado en la Tabla VIII el cálculo efectuado por Lemieux y Chü de la energía libre de cada uno de los anómeros de la D-manopiranososa, peracetilada.

TABLA VIII

penta-O-acetil- α -D-manopiranososapenta-O-acetil- β -D-manopiranososa

| Interacción | E(kcal/mol) | Interacción | E(kcal/mol) |
|---|-------------|---|-------------|
| C(1)-OAc _{ax} — C(3)-H _{ax} | 0,18 | C(1)-OAc _{eq} — C(2)-OAc _{ax} | 0,55 |
| C(1)-OAc _{ax} — C(5)-H _{ax} | 0,18 | C(2)-OAc _{ax} — C(4)-H _{ax} | 0,18 |
| C(2)-OAc _{ax} — C(4)-H _{ax} | 0,18 | C(2)-OAc _{ax} — C(3)-OAc _{eq} | 0,55 |
| C(2)-OAc _{ax} — C(3)-OAc _{eq} | 0,55 | C(3)-OAc _{eq} — C(4)-OAc _{eq} | 0,55 |
| C(3)-OAc _{eq} — C(4)-OAc _{eq} | 0,55 | C(4)-OAc _{eq} — C(5)-CH ₂ OAc _{eq} | 0,55 |
| C(4)-OAc _{eq} — C(5)-CH ₂ OAc _{eq} | 0,55 | Efecto anomérico | 1,51 |
| $G_{\alpha} = 2,19$ | | $G_{\beta} = 3,89$ | |

Como puede observarse, el anómero α resulta ser el más estable por su menor contenido de energía libre, en el caso de las penta-O-acetil-D-manopiranosas anoméricas.

La diferencia de energía libre de $-1,7$ kcal/mol, está de acuerdo con la encontrada experimentalmente por dichos autores, de $-1,69$ kcal/mol.

La concordancia entre el valor teórico y el dato experimental, en la diferencia de energía libre del equilibrio de anomerización, es una prueba bien clara que ambos anómeros adoptan la conformación C1 en solución.

Estas conformaciones fueron confirmadas por Lemieux y col. (1958 y 1965) en sus estudios de los espectros de resonancia magnética nuclear de los dos anómeros de la penta-O-acetil-D-manopiranososa en CD_3C .

En el caso de la penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa empleada en el curso de nuestro trabajo, no existe ningún dato experimental que permita asignarle una determinada conformación. Onodera y col. (1968) determinaron el espectro RMN de la penta-O-benzoil- β -D-manopiranososa, pero no pudieron establecer ninguna conformación preferida debido a la complejidad del mismo.

Mientras no exista demostración experimental sobre la conformación de la penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa, consideramos que puede aceptarse que en solución adopte la conformación C1. En apoyo de este hipótesis puede mencionarse que Bhacca, Horton y Paulsen (1968, 1968a) al estudiar las conformaciones de la penta-O-acetil- y penta-O-benzoil- α -D-idopiranososa, analizando los espectros de resonancia magnética nuclear de ambos derivados, establecieron que adoptan en solución la conformación C1, vale decir que la sustitución de un metilo por un fenilo, no modifica la conformación preferida.

Si esto ocurre en el caso de la idopiranososa peracilada donde el anómero α -D posee cuatro grupos acilos en posición axial, es lícito suponer que la penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa posee en solución la misma conformación C1 que ha sido experimentalmente demostrada para la penta-O-acetil- α -D-manopiranososa.

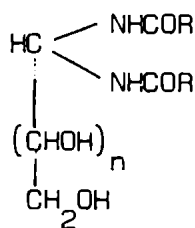
CAPITULO V

AMONOLISIS DE LOS ACILDERIVADOS DE LOS MONOSACARIDOS

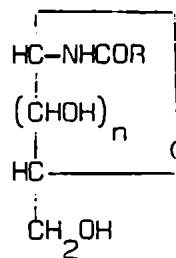
Cuando un monosacárido piranósico peracilado (pentosa o hexosa) se trata con metanol-amoniaco en las condiciones descriptas en la parte experimental, se producen varias reacciones competitivas.

En relación con el tema de esta tesis, son de interés aquellas reacciones que conducen a sustancias cuya formación puede interpretarse sobre la base de migraciones $O \rightarrow N$ de grupos acilo. Estas transposiciones se realizan formalmente desde el átomo de oxígeno, al cual un grupo acilo estaba originalmente unido y terminan en un átomo de nitrógeno que en los productos finales aparece unido al C-1. Esta reacción se encuentra vinculada con la clásica reacción de Wohl de degradación de monosacáridos.

Los productos que se obtienen como resultado de las transposiciones son de naturaleza acíclica (1,1-bis(acilamido)-1-desoxi-poliols (1)) y/o cíclica (N-acil-glicosilaminas (2)). Estas últimas pueden presentar estructura furanósica o piranósica. Los grupos acilos que no han migrado durante la reacción son amonolizados o transesterificados.



(1)



(2)

n = 2 ó 3

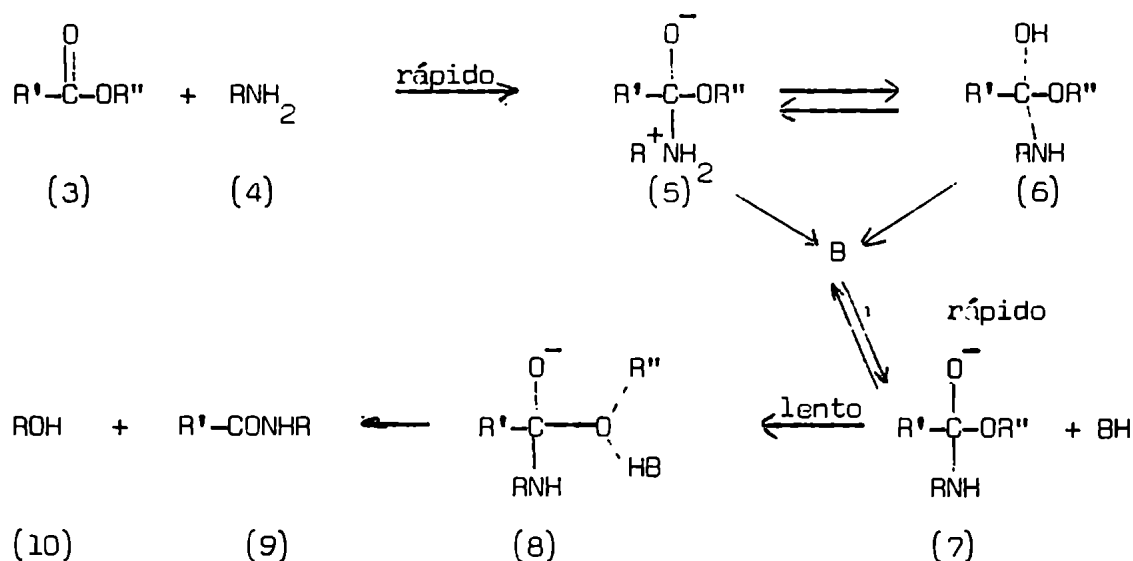
El mecanismo de reacción que conduce a la formación de los compuestos mencionados, no se conoce sino imperfectamente.

Se ha demostrado que la reacción de amonólisis es intramolecular y que las amidas formadas durante la reacción (acetamida o benzamida) no participan de la misma (Hockett, Deulofeu y Deferrari (1950); Deulofeu y Deferrari (1950-1952); Gros y col. (1962)). Además en la amonólisis de los derivados acilados de los monosacáridos, el grupo acilo unido al C-1 no contribuye a la formación de aldosas diamidas ni de N-acil-glicosilaminas (Ondetti, 1957; Gros, 1960).

Teniendo en cuenta estos hechos y extrapolando la información suministrada por el estudio del mecanismo de reacciones similares, pueden realizarse algunas especulaciones sobre las etapas posibles de la reacción de amonólisis. Cuando una aldosa peracilada piranósica se pone en contacto con la solución de metanol-amoniaco, todos los grupos acilo presentes son susceptibles de sufrir un ataque sobre el carbono carbonílico, de parte de los reactivos nucleofílicos presentes en el medio de reacción (NH_3 , CH_3O^- , NH_2^-).

Bunnett y Davis (1960) en un estudio sobre el mecanismo de formación de amidas, en la reacción de aminólisis de formiato de etilo con n-butilamina en etanol, descartan la posibilidad que el ion amiduro intervenga en la misma, por lo tanto, consideramos que podemos excluirlo quedando como nucleófilos el amoníaco y el ion metilato.

Si se considera para simplificar, solamente la acción del amoníaco, es razonable suponer que la formación de acetamida o benzamida que se origina por amonólisis de los grupos acilo presentes en el monosacárido se produzca por un mecanismo análogo al postulado por Bunnett y Davis (1960). Este es el mecanismo actualmente aceptado y comprende las siguientes etapas:



B = catalizador básico

Bunnett y Davis concluyeron que a concentraciones elevadas de la amina, esta sustancia es la responsable de la catálisis básica. Mientras que a bajas concentraciones, la catálisis básica la ejercerían los iones alcoholato. Además establecieron que el paso determinante de la velocidad de reacción, es la separación del O-alquilo ((8) \longrightarrow (9)).

Jenks (1964) y Blackburn y Jenks (1968) estudiaron la cinética de aminólisis de formiato de metilo en solución acuosa, empleando diversas aminas. Sus conclusiones coinciden en líneas generales con las de Bunnett y Davis, aunque existen algunas diferencias.

La diferencia principal radica en el paso determinante de la velocidad de reacción de aminólisis, que en medio acuoso (Blackburn y Jenks, 1968) resulta ser la adición de la amina al éster, mientras que en medio etanólico (Bunnett y Davis, 1960) corresponde a la heterólisis del O-alquilo.

Empleando el mecanismo propuesto por Bunnett y Davis para explicar la formación de acetamida o benzamida, en las reacciones de aminólisis de monosacáridos acetilados o benzoilados, la primera etapa comprendería el ataque nucleofílico del amoníaco sobre el grupo carbonilo del éster, con formación del intermediario (5), el cual en un equilibrio

prototrópico daría lugar a la formación del compuesto (6). Cualquiera de estos dos intermediarios cedería un protón al catalizador básico para formar (7), siendo este paso rápido y reversible. Finalmente en una etapa lenta se produciría la separación del O-alkilo en el compuesto (7) por una catálisis ácida general, formándose la acil-amida (9) (acetamida o benzamida) que como hemos señalado, queda en el medio de reacción sin participar de las trasposiciones $O \rightarrow N$.

Aunque desconocemos las velocidades individuales de amonólisis de los distintos grupos benzoilos en las penta-O-benzoil-hexopiranosas, existen algunas razones teóricas y evidencias experimentales que permiten asegurar que dos de estos grupos presentan reactividades diferenciales con respecto a los restantes. En particular el grupo benzoilo* unido al hidrógeno hidroxílico de menor índice de carga en la molécula del monosacárido.

La aplicación realizada por Zhdanov y col. (1968) del método de orbitales moleculares en su aproximación a moléculas saturadas (Del Re, 1958), permitió calcular la estructura electrónica de una pentosa piranósica.

Sus resultados indican que mientras en los oxígenos unidos a los carbonos 2, 3 y 4, el índice de carga varía entre $-0,4747$ y $-0,4734$, el índice del oxígeno perteneciente al hidroxilo hemiacetalico es de $-0,4629$. Si aceptamos que los índices de carga no se han de alterar sustancialmente al pasar de una pentosa a una hexosa piranósica y, además, que la relación entre las mismas se mantiene al esterificar los hidroxilos con acatilo o benzoilos, entonces el carbono carbonílico del acilo que esterifica el hidroxilo unido al C-1, será más electrofílico que los otros (menor neutralización de su carga positiva por parte del oxígeno que posee menor índice de carga), por lo tanto, la reacción de amonólisis se producirá más rápidamente con dicho benzoilo que con los restantes.

Algunos resultados que consideramos demostrativos de lo expuesto, fueron obtenidos por Gros y col. (1962), quienes amonolizaron con metanol amoniacal (16%) la 1,2,3,4,6-penta-O-benzoil- β -D-glucosa y la 2,3,4,6-tetra-O-benzoil- β -D-glucosa. Empleando el segundo sustrato obtuvieron 1,1-bis

* De aquí en adelante, cuando empleamos el grupo benzoilo unido a un determinado carbono, nos referimos al grupo benzoiloxi de dicho carbono.

(benzamido)-1-desoxi-D-glucitol con un rendimiento del 28%, mientras que al amonolizar la 1,2,3,4,6-penta-O-benzóil- β -D-glucosa, obtuvieron la misma diamida con 21% de rendimiento. Esta diferencia de rendimientos que no es muy grande, fue interpretada por Deulofeu y col. (1964) admitiendo que la fijación de amoniaco en el grupo carbonilo de la 2,3,4,6-tetra-O-benzóil- β -D-glucosa (C-1) se produce más rápidamente que en la penta-O-benzóil- β -D-glucopiranososa, ya que en esta última sólo puede ocurrir una vez que se haya eliminado el grupo benzóilo unido al C-1. Durante el tiempo requerido para que esta eliminación tenga lugar, se producirá alcoholólisis o amonólisis de los benzóilos restantes, que será mayor que la que se produce en el caso de la 2,3,4,6-tetra-O-benzóil- β -D-glucosa y por consiguiente, disminuirá la concentración de las moléculas que cumplen con las condiciones para producir 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-glucitol.

Gros y col. (1962) estudiaron también las contribuciones aparentes de los distintos grupos benzóilos, en la 2,3,4,6-tetra-O-benzóil-D-glucosa y en la 1,2,3,4,6-penta-O-benzóil-D-glucosa. Sus resultados indicaron que las contribuciones de los benzóilos unidos a los carbonos 2, 3, 4 y 6 eran prácticamente iguales para ambos derivados benzóilados (ver Tabla III). Este hecho, conjuntamente con la pequeña diferencia de rendimientos comentada anteriormente, es indicativo que el benzóilo unido al C-1 ha sido separado de la molécula de penta-O-benzóil- β -D-glucopiranososa, a mayor velocidad que los cuatro grupos restantes.

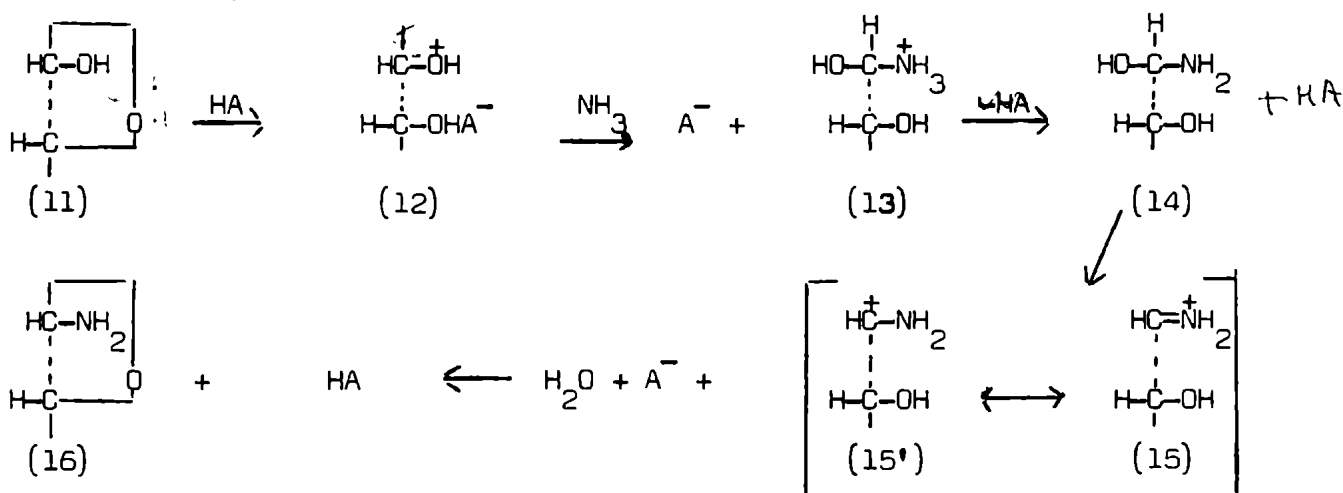
El otro grupo benzóilo que presenta una reactividad diferencial es el unido al C-6. Hay varios hechos experimentales que muestran su mayor resistencia a amonolizarse en solución alcohólica.

Restelli de Labriola y Deulofeu (1947), encontraron que al tratar con etanol amoniaco (10%) diversos nitrilos de ácidos aldónicos (D-glucónico, D-manónico, D-galactónico) se producían con eliminación del grupo nitrilo siguiendo una reacción de Wohl, derivados N,N'-dibenzóilados de monosacáridos con un átomo de carbono menos que el nitrilo empleado, los cuales conservaban el grupo benzóilo unido al carbono primario (C-6).

Variando el solvente y la concentración de amoniaco, Gros y col. (1962a) encontraron que al tratar con isopropanol amoniaco (8%) la penta-O-benzóil-D-glucopiranososa y la penta-O-benzóil-D-galactopiranososa se producían

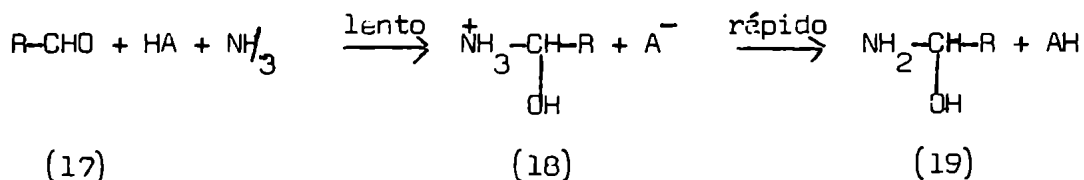
1,1-bis(benzamido)-6-O-benzoil-1-desoxi-D-glucitol y 1,1-bis(benzamido)-6-O-benzoil-1-desoxi-D-galactitol respectivamente. La amonólisis en isopropanol amoniaco (8%) de la 1,2,3,4-tetra-O-benzoil-6-O-benzoil(carbonilo-¹⁴C)- β -D-glucosa, indicó que no menos del 98% del grupo benzoilo que se encontraba unido al C-6 había permanecido sin reaccionar y no provenía de transposiciones (Lezerovich, 1963). Esta mayor resistencia a la amonólisis por parte de un éster benzoico de un alcohol primario con respecto a los ésteres análogos de alcoholes secundarios (C-2, C-3, C-4), no está de acuerdo con los resultados encontrados por Gordon Miller y Day (1948), quienes establecieron que en solventes orgánicos hidroxilados, los ésteres benzoicos de alcoholes primarios se amonolizan más rápidamente que los de alcoholes secundarios y éstos, a su vez, más rápido que los ésteres de alcoholes terciarios. La diferencia de comportamiento observada entre los ésteres de monosacáridos y los derivados análogos de alcoholes simples, tendría su explicación en un trabajo posterior de Gordon Miller y Day (1949). Estos autores encontraron que la amonólisis del monoacetato de etilenglicol procede más lentamente que la amonólisis de acetato de metilo. Este hecho explicaría la menor reactividad del grupo benzoilo unido al C-6, pues al amonolizarse hexopiranosas peraciladas con producción de 1,1-bis(acilamido)-1-desoxi-glicitoles, es evidente que deben formarse estructuras acíclicas intermedias, en las cuales, el hidroxilo libre que se encuentra en el C-5, le conferiría al benzoilo del carbono primario (C-6) una mayor inercia a la amonólisis, tal como se encontró en el caso del monoacetato de etilenglicol. Si admitimos de acuerdo a lo discutido anteriormente que el grupo benzoilo en C-1 se amonoliza más rápidamente que los demás, su separación inicial determinará la formación de estructuras acíclicas, en las cuales un número variable de grupos O-benzoilo permanecerá esterificando y donde el grupo hidroxilo hemiacetalico no estará bloqueado. Teniendo en cuenta la diferencia no muy grande en los rendimientos en 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-glucitol observada en la amonólisis de 1,2,3,4,6-penta-O-benzoil- β -D-glucosa y de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil- β -D-glucosa y considerando además las

contribuciones muy similares de los distintos benzoflos (C-2, C-3, C-4 y C-6) de ambos derivados benzoilados a la formación de D-glucosa-dibenzamida, podemos concluir que el compuesto que predomina al amonolizarse el benzoflo en C-1 de la penta-O-benzoil-D-glucopiranososa será principalmente el derivado tetra-O-benzoilado (2,3,4,6-tetra-O-benzoil-D-glucosa). La adición de amoníaco a este último, se produciría de acuerdo con el mecanismo propuesto por Isbell y Frush (1958), para explicar la formación de ; glicosilamina, a partir de aldosas.



Los autores señalan que en un primer paso, ocurre la apertura del monosacárido cíclico por catálisis ácida, formándose la aldohexosa (12). Esta adiciona luego una molécula de amoníaco, transformándose en el aldehído-amoníaco (14). La interacción del par de electrones no apareados del nitrógeno favorece la eliminación del hidroxilo y la formación del ion (15)↔(15'), a partir del cual se forman las glicosilaminas piranósicas y/o furanósicas. La adición a grupos carbonilo de reactivos nitrogenados similares al amoníaco, es muy conocida en la química de los aldehídos. La hidroxilamina y la semicarbazida se adicionan con gran rapidez, en una reacción catalizada por ácidos y se estabilizan por pérdida de agua, formando uniones imínicas (oximas y semicarbazonas). El mecanismo de adición de amoníaco a varios aldehídos, ha sido estudiado recientemente por Ogata y Kawasaki (1964 y 1964a), quienes concluyen que la coordinación del amoníaco al aldehído por catálisis ácida (pH 9,4-11-1), es el paso determinante de la velocidad de reacción.

La secuencia de reacciones postulada por estos autores, es la siguiente:



Esta interpretación de base experimental al mecanismo propuesto por Isbell y Frush para explicar la formación de glicosilaminas.

En base a las evidencias experimentales discutidas anteriormente, formularemos un esquema de las reacciones que conducen a la formación de N-acil-glicosilaminas y a 1,1-bis(acilamido)-1-desoxi-D-poliolios.

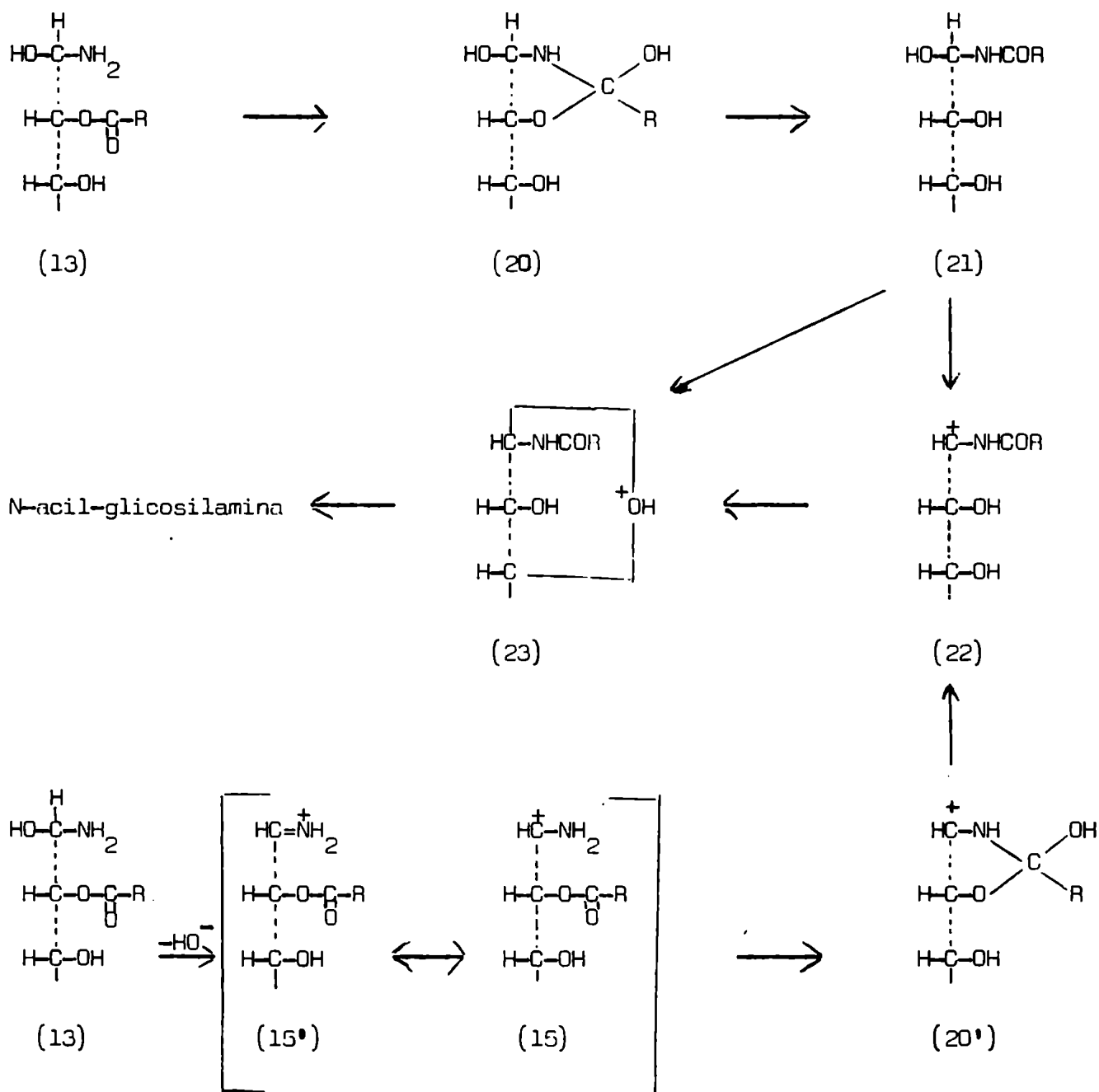
Comenzaremos explicando la producción de las primeras porque, **COMENZAMOS**, posteriormente haremos la hipótesis de la existencia de un intermediario común, en la formación de ambos tipos de sustancias.

Mecanismo de formación de N-acil-glicosilaminas

Isbell y Frush (1949) consideraron que la reacción inicial en la formación de las dos amidas, es la migración de un grupo acilo en el amino-alcohol (13)*, el cual se transformaría en la ortoamida cíclica (20) que se reordenaría para dar el N-acil-amino-alcohol (21). De esta forma, se produciría la primera migración de un grupo acilo. Estos autores indican en su trabajo algunas de las reacciones que pueden conducir a las N-acil-glicosilaminas y señalan brevemente que la sustancia (21) puede formar compuestos piranósicos o furanósicos, pero no sugieren un mecanismo detallado para explicar la formación de los ciclos.

* Por razones de conveniencia, denominaremos en este capítulo con la misma numeración a los intermediarios (13), (14), (15 \rightleftharpoons 15') y (16), tanto cuando están O-acilados como cuando presentan las funciones hidroxilo libre.

Mecanismo de formación de N-acil-glicosilaminas



Si para interpretar esta reacción aplicamos los conocimientos actuales sobre formación de glicósidos (Capon y Thacker, 1965, 1967), la formación del ciclo puede resultar de una reacción concertada (21) \rightarrow (23), la cual se produciría por una catálisis ácida. A partir del ácido conjugado (23) se formaría la N-acil-glicosilamina (24), por pérdida de un protón del primer compuesto.

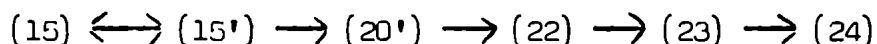
Si bien en nuestro trabajo no se han empleado catalizadores ácidos, este hecho no invalida que se acepten y discutan probables mecanismos de catálisis ácida, ya que el metanol o los iones amonio presentes en la solución amoniaca podrían intervenir catalizando la transformación mencionada.

Otra posibilidad es que la eliminación del hidroxilo hemiacetalico se efectúe como un paso independiente a partir del N-acil-aminoalcohol (21), en este caso se formaría el ion (22), el cual se ciclaría dando al ácido conjugado (23), que como hemos señalado, se transformaría en la N-acil-glicosilamina (24).

La formación de iones carbonio acíclicos ha sido postulada para explicar la mutarrotación de glicosilaminas (Isbell y Frush, 1951, 1951a, 1958) y recientemente, en sus estudios sobre metanólisis del dimetil acetal de la D-xilosa catalizada por ácidos, Ferrier y Hatton (1968) han considerado la posibilidad que los iones carbonio acíclicos, sean intermediarios en la formación de los correspondientes metil furanósidos.

Isbell y Frush (1949) en su formal explicación de la formación de N-acil-glicosilaminas, no consideran la posibilidad que el ion (15) \leftrightarrow (15') actúe como N-aceptor de acilos, en las reacciones de transposición O \rightarrow N. Si bien no hay pruebas experimentales en favor o en contra, sobre la participación de dicho ion mesómero, debe admitirse que el mismo puede formarse con relativa facilidad, a partir del amino-alcohol (13), por pérdida del hidroxilo del C-1. Considerando al grupo amino del ion (15) \leftrightarrow (15')

como un aceptor potencial de grupos acilo, debe tenerse en cuenta que la carga positiva en las formas mesómeras, disminuye el poder nucleofílico del grupo amino en el ion, con respecto al amino del aldehído-amoníaco (13). Por consiguiente, el ion (15) \longleftrightarrow (15') será menos eficaz que este último para promover transformaciones $O \rightarrow N$ de los grupos acilos. No obstante, muy posiblemente contribuya en parte a dichas migraciones a través de la siguiente secuencia:



Otro intermediario hipotético en la formación de N-acil-glicosilaminas serían las glicosilaminas parcialmente aciladas del tipo (16), las cuales, como hemos indicado, podrían formarse a partir del ion mesómero (15) \longleftrightarrow (15'). Glicosilaminas peracetiladas han sido preparadas por Bertho y Maier (1932) y por Helferich y Mitrowsky (1952), quienes no mencionan que ocurran transposiciones de acilos, al tratarlas con metanol a ebullición. Sería importante determinar si catalizadores ácidos o básicos favorecen dichas transposiciones $O \rightarrow N$ de grupos acilo en estos compuestos, sobre todo teniendo en cuenta la relativa facilidad con que migran los grupos acetilos en la 2,3,4,6-tetra-O-acetil-5-toluen-sulfonil-D-glicosilaminas (Helferich y Mitrowsky, 1952).

Hasta tanto no se establezcan pruebas sobre la posibilidad que el grupo amino de las glicosilaminas participe como N-acceptor de acilos consideraremos al compuesto (14) y al ion mesómero (15) \longleftrightarrow (15') como intermediarios hipotéticos en la migración del primer grupo acilo. Es importante señalar que una vez formadas las N-acil-glicosilaminas (24), si hay grupos acilo que permanecen esterificando dichas sustancias, estos serán amonolizados o transesterificados, pues la amonólisis de derivados peracilados o perbenzoilados de N-acil-glicosilaminas permite obtener las aldosas monoamidas correspondientes con rendimientos casi cuantitativos (Dalpy, 1962). Por lo tanto, los grupos acetiloxi o benzoiloxi que pudieran permanecer

esterificando, serán eliminados como acetamida o benzamida y como acetato de metilo o benzoato de metilo, si la reacción se llevó a cabo en metanol-amoniaco.

Las contribuciones aparentes determinadas para los distintos grupos benzoílos de la penta-O-benzoil-D-manopiranososa, a la formación de N-benzoil-D-manopiranosilamina están indicadas en la Tabla I. Para permitir comparar datos de contribución hemos incorporado a dicha Tabla los resultados de participación de los benzoílos de la misma sustancia, a la formación de 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol.

TABLA I

| Penta-O-benzoil-D-manopiranososa con grupos benzoílos marcados en los carbonos | Contribución a la formación de D-manosa-monobenzamida | Contribución a la formación de D-manosa-dibenzamida |
|--|---|---|
| C-2 | 0,15±0,01 | 0,26±0,01 |
| C-2 y C-3 | 0,74±0,02 | 0,99±0,03 |
| C-1, C-4 y C-6 | 0,24±0,02 | 1,02±0,02 |
| C-2, C-3 y C-4 | 1,01±0,03 | 1,74±0,02 |
| C-6 | -- | 0,29±0,03 |

En la Tabla II resumimos los valores de contribución individual obtenidos experimentalmente en el caso de los C-2 y C-6 y los calculados por diferencias de contribuciones para los carbonos 3 y 4.

TABLA II

| | C-2 | C-3 | C-4 | C-6 |
|---|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Contribución a la formación de D-manosa-monobenzamida | 0,15±0,01 | 0,59±0,02 | 0,27±0,02 | -- |
| Contribución a la formación de D-manosa-dibenzamida | 0,26±0,01 | 0,73±0,03 | 0,74±0,02 | 0,29±0,03 |

El análisis de los resultados obtenidos en el caso de la N-benzoil-D-manopiranosilamina permite señalar algunos hechos que resultan de interés:

1- Se comprueba la ausencia de contribución del grupo benzoilo del C-6.

Como lo señaláramos anteriormente, este grupo presenta en esa posición una mayor resistencia al ataque nucleofílico y la falta de contribución podría atribuirse en parte, a una menor reactividad frente al amoníaco.

2- La contribución del grupo benzoilo del C-2 adyacente al carbono receptor de N-acilos es la más baja de todas. Este hecho es consistente con los resultados de contribución encontrados para las aldosas-diamidas estudiadas, en las cuales se observa la pequeña participación del benzoilo del C-2.

Hasta ahora no ha sido posible dar una explicación satisfactoria de estas bajas contribuciones.

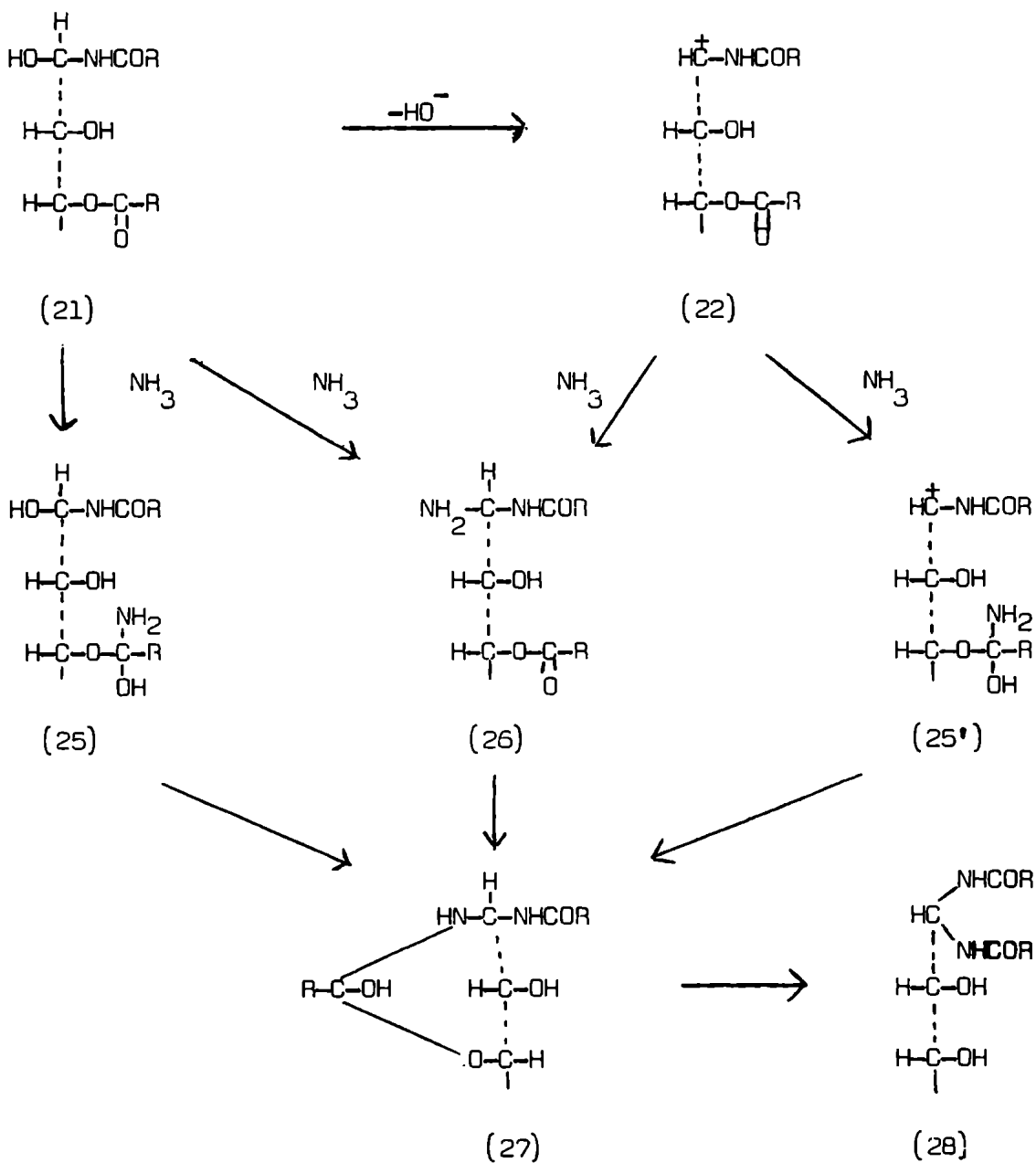
3- La contribución del benzoilo en C-3 es el doble de la del benzoilo del C-4.

Esta contribución diferente podría asignarse en parte, a una mayor resistencia al ataque nucleofílico del benzoiloxi en C-4, lo cual se manifestaría por una menor velocidad de migración del mismo.

Consideraremos a continuación los posibles mecanismos de formación de 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol. Para ello, partiremos de la premisa que no existen hasta el momento resultados experimentales que permitan establecer en forma fehaciente una interpretación de esta reacción. Por lo tanto, los mecanismos que se sugieren son susceptibles de modificaciones. La incorporación de un segundo grupo N-acilo en el C-1 para dar aldosas-diamidas, en los intermediarios que ya contienen el grupo N-acil-amido, ha sido propuesta en todas las interpretaciones descritas en la literatura. Por consiguiente, no consideraremos la posibilidad que las aldosas-diamidas se formen a partir de diaminas de monosacáridos, ya que la estabilidad de las mismas es muy baja (Hellmann y Opitz, 1956). Una de las interpretaciones que estimamos apropiada para explicar la formación de aldosas-diamidas fue propuesta por Isbell y Frush (1949). Estos autores consideraron en su esquema la existencia de un intermediario común en la formación de

N-acil-glicosilaminas y de aldosas-diamidas. Dicho intermediario es el N-acil-amino-alcohol (21). A partir de este último, las aldosas-diamidas pueden formarse por dos mecanismos diferentes:

Mecanismo de formación de 1,1-bis(acilamido)-1-desoxi-D-polioles



a- Transposición hacia el C-1 de un grupo N-acilo, a través de la siguiente secuencia: (21) \rightarrow (25) \rightarrow (27) \rightarrow (28).

Esta reacción se produciría por un mecanismo concertado en el cual la transformación (25) \rightarrow (27) ocurriría por un desplazamiento nucleofílico intramolecular del hidroxilo hemiacetálico por el grupo amino de la ortoamida (25), formándose la ortoamida lábil (27) que se reordenaría para dar aldosa-diamida.

b- El otro esquema comprende los siguientes pasos: (21) \rightarrow (26) \rightarrow (27) \rightarrow (28). En una primera etapa se produciría la sustitución del hidroxilo en C-1 por amoníaco, formándose el compuesto (26), el cual se transformaría en la ortoamida lábil (27) que finalmente da aldosa diamida.

Los autores consideran el mecanismo (b) poco probable, ya que no son comunes sustituciones directas de hidroxilo por amoníaco en las condiciones de la reacción de amonólisis.

Gros y col. (1962), introdujeron al ion (22) como intermediario común a la producción de ambas amidas. La formación de dicho ion la hemos interpretado anteriormente en el esquema de formación de glicosilaminas, a través de las etapas (15) \leftrightarrow (15') \rightarrow (20') \rightarrow (22). A partir del ion (22) las etapas que conducen a aldosas-diamidas son muy similares a las propuestas por Isbell y Frush (1949) en su interpretación. También en este caso han sido postulados dos mecanismos de migración de un N-acilo hacia el C-1. El primero comprende los siguientes pasos: (22) \rightarrow (26) \rightarrow (27) \rightarrow (28). La otra posibilidad propuesta por Gros y col. indica que la transposición ocurriría a través de la siguiente secuencia: (22) \rightarrow (25') \rightarrow (27) \rightarrow (28). Interpretamos que en una reacción de este tipo, en la cual existe competencia entre un grupo amino de una ortoamida y la molécula de amoníaco por la carga positiva del C-1, debe estar favorecida aquella reacción que ocurre con la especie que presente mayor carácter nucleofílico, en este caso el amoníaco. Sin embargo, no sería posible excluir

definitivamente la otra reacción y ambas podrían participar en la formación de aldosas diamidas.

Es interesante destacar que todas las las interpretaciones descriptas incluyen intermediarios comunes en la formación de N-acil-glicosilaminas y de aldosas diamidas.

Los resultados de contribución de los benzoflos de la penta-O-benzofl-D-manopiranososa a la formación de manosa dibenzamida han sido indicados en la Tabla II. Estos valores comparados con los datos de contribución obtenidos para la N-benzofl-D-manopiranosilamina permiten establecer las siguientes conclusiones:

- 1- La participación del benzoflo en C-6 es exclusiva y relativamente elevada en la formación de diamidas.
- 2- Se observa un aumento grande de la contribución de benzoflo en C-4 a la formación de D-manosa-dibenzamida con respecto a la D-mánosa-monobenzamida.
- 3- La contribución de los benzoflos en C-2 y C-3 de la penta-O-benzofl-D-manopiranososa a la formación de D-manosa-dibenzamida, aumentan muy poco con respecto a los resultados obtenidos para la monoamida. Además, la magnitud de dicho incremento es del mismo orden para los benzoflos en C-2 y en C-3.

A continuación analizaremos comparativamente los valores de contribución individual de los benzoflos de diversos monosacáridos benzoilados, a la formación de 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-poliolios. En la Tabla III se indican los valores que obtuvimos para la D-manosa-dibenzamida y los determinados por otros autores para D-glucosa-dibenzamida, D-galactosa-dibenzamida y L-arabinosa-dibenzamida.

TABLA III

| Sustancia amonolizada | Contribución del grupo benzóilo | | | |
|---|---------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | C-2 | C-3 | C-4 | C-6 |
| Penta-O-benzóil- α -D-manopiranososa | 0,26 \pm 0,01 | 0,73 \pm 0,04 | 0,74 \pm 0,02 | 0,29 \pm 0,02 |
| Penta-O-benzóil- β -D-glucopiranososa ⁽¹⁾ .. | 0,12 \pm 0,03 | 0,76 \pm 0,02 | 0,82 \pm 0,02 | 0,31 \pm 0,04 |
| Tetra-O-benzóil- β -D-glucopiranososa ⁽¹⁾ .. | 0,12 \pm 0,03 | 0,80 \pm 0,03 | 0,81 \pm 0,02 | 0,27 \pm 0,02 |
| Penta-O-benzóil- α -D-galactopiranososa ⁽²⁾ | 0,13 \pm 0,01 | 0,62 \pm 0,01 | 1,02 \pm 0,02 | 0,18 \pm 0,01 |
| Tetra-O-benzóil- β -L-arabinopiranososa ⁽³⁾ | 0,16 \pm 0,002 | -.- | -.- | -.- |

(1) Gros y col. (1962).

(2) Gros y Deulofeu (1964)

(3) Sproviero y Lezerovich (com.pers.)

Si bien no hay datos suficientes que permitan establecer los factores que determinan la proporción de migración de cada benzóilo en las amonólisis metanólicas de los derivados benzóilados que se indican en la Tabla III, es posible proponer algunas hipótesis sobre las transposiciones $O \rightarrow N$ que conducen a la formación de aldosas diamidas.

Comparando los datos de contribución de los benzóilos que esterifican el C-2 de las hexopiranosas benzóiladas, se puede observar que en caso de la D-manosa hay una mayor participación del benzóilo en C-2, con respecto a la D-glucosa, D-galactosa y L-arabinosa. Aunque la formación de aldosas diamidas debe producirse a partir de intermediarios acíclicos, es interesante señalar que en la penta-O-benzóil-D-manopiranososa, el grupo benzóiloxi en C-2 presenta disposición axial, mientras que en los derivados benzóilados de la D-glucosa, D-galactosa y L-arabinosa, el benzóiloxi en C-2 es ecuatorial. Esta diferencia de contribuciones adquiere un interés más general, si se observa que el benzóiloxi en C-4 (axial) de la penta-O-benzóil-D-galactopiranososa tiene también una contribución superior, con respecto a los

benzoílos del carbono análogo en los derivados benzoilados de D-manosa y D-glucosa (benzoiloxi en C-4 presenta disposición ecuatorial en ambos).

Los resultados experimentales señalados, podrían interpretarse considerando que la separación de los grupos benzoílos como benzamida y/o benzoato de metilo se produce más lentamente cuando los grupos benzoiloxi son axiales.

Si admitimos esta hipótesis, los intermediarios acíclicos que conducen por transposiciones $O \rightarrow N$, a la formación de manosa-dibenzamida y D-galactosa-dibenzamida, conservarían hasta la etapa de migración una proporción relativa mayor de grupos benzoiloxi en C-2 (D-manosa) y en C-4 (D-galactosa). Esto explicaría la mayor contribución de los grupos benzoiloxi axiales de la D-manosa y D-galactosa. En apoyo de esta hipótesis existe el hecho que los ésteres axiales del ciclohexano reaccionan más lentamente que los isómeros ecuatoriales, frente a reactivos nucleofílicos (Cavell, Chapman y Johnson, 1960; Eliel, Hansburstock y Acharya, 1961).

Los diferentes valores de contribución de los benzoílos en C-2 de la D-manosa (0,26) y en C-4 de la D-galactosa (1,02) indican que existen otros factores que gobiernan las transposiciones $O \rightarrow N$, además de la mayor inercia a la amonólisis de los grupos benzoiloxi axiales.

Comparando los resultados de contribución a la formación de aldosas diamidas, de los benzoílos de la penta-O-benzoil-D-glucopiranososa y tetra-O-benzoil-D-glucopiranososa, puede concluirse que la mayor participación del benzoílo en C-2 de la D-manosa, sería compensada por la disminución de las contribuciones de los benzoílos en C-3 y C-4. Por otra parte, la contribución del benzoílo en C-3 de dicho monosacárido, es del mismo orden que las determinadas en las amonólisis de los derivados benzoilados de la D-glucosa que hemos considerado.

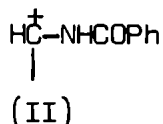
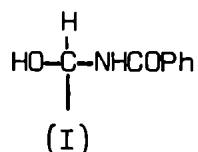
CAPITULO VI

Interpretación de los resultados

La circunstancia de haber podido determinar por vez primera en una penta-O-benzoíl-D-hexopiranososa sometida a la reacción de amonólisis, la contribución de cada benzoílo a la formación de N-benzoíl-D-glicosilamina y 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-glicitol permite señalar algunos hechos interesantes de esta compleja reacción.

A fin de proponer una interpretación de los resultados experimentales, haremos algunas hipótesis que resultan necesarias en nuestras especulaciones:

- a- Consideraremos que tanto la N-benzoíl-D-manopiranosilamina como el 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol se forman a partir de un intermediario común.
- b- Este intermediario de cadena abierta contiene un grupo N-benzoílo en el C-1 y puede presentar las siguientes estructuras sobre dicho carbono



La estructura (I) del carbono anomérico es similar a la propuesta por Isbell y Frush (1949) como intermediaria en la formación de aldosas diamidas y N-acil-glicosilaminas. El ion carbonio (II) es análogo al empleado por Gros y col. en su esquema de formación de aldosas diamidas (ver mecanismo de formación de 1,1-bis(acilamido)-1-desoxi-D-polioles). Una vez formado el precursor común, éste evolucionará hacia la monoamida; cíclica o hacia la diamida acíclica, sin participar de otras reacciones en el C-1.

- c- Como el intermediario contiene un resto HN-COPh, al considerar los resultados obtenidos de contribución de cada benzoílo a la formación de

N-benzóil-D-manopiranosilamina se concluye que por cada mol de intermediario formado durante la reacción, una fracción de 0,15 mol de benzóilo proviene del benzoiloxi en C-2, 0,59 mol de benzóilo se transpone desde el benzoiloxi del C-3 y 0,27 mol migra desde el C-4. El benzoiloxi presente en el C-6 no contribuye a la formación del grupo NH-COPh del intermediario, ya que no participa en la formación de N-benzóil-D-manopiranosilamina.

d- Como lo señalaron Gros y Deulofeu (1964), no todas las moléculas del intermediario contendrán el mismo número ni idéntica distribución de los grupos benzoiloxi, pero en el caso de la D-manosa cada mol del precursor común deberá contener como mínimo: 0,11 mol de benzoiloxi en el C-2; 0,14 mol en el C-3; 0,47 mol en el C-4 y 0,29 mol en el C-6, pues estas son las proporciones que se requieren para que, a partir del intermediario común, pueda también formarse 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol.

Discutiremos más adelante la participación del benzoiloxi del C-2 de la penta-O-benzóil-D-manopiranososa, a la formación de D-manosa-monobenzamida y D-manosa-dibenzamida. Por el momento sólo tendremos en cuenta los benzoiloxi presentes en los carbonos restantes.

Los valores de contribución de los benzóilos de la penta-O-benzóil-D-manopiranososa, a la formación de N-benzóil-D-manopiranosilamina, indican que en las etapas que conducen a la formación del intermediario común, la velocidad de migración $O \rightarrow N$, de los benzoiloxi de los carbonos 3, 4 y 6 varía en el siguiente orden: C-3 > C-4 >> C-6.

Teniendo en cuenta los resultados de contribución muy similares (C-3, C-4 y C-6) determinados por Gros y col. (1962) en la amonólisis metanólica de penta-O-benzóil-D-glucopiranososa y de tetra-O-benzóil-D-glucopiranososa y la pequeña diferencia de rendimientos en D-glucosa-dibenzamida observada en las dos reacciones, consideramos lícito suponer que la reacción de transposición es más rápida que las de amonólisis y transesterificación que separan los grupos benzoiloxi como benzamida y benzoato de metilo, respectivamente. En consecuencia, las diferencias en las velocidades de migración de los

grupos benzoflos (C-3, C-4 y C-6) de la D-manosa-perbenzoilada, no puede atribuirse en esta primera etapa a la distinta concentración de grupos benzoiloxi en los carbonos de los compuestos que forman el precursor común, sino a factores eléctricos y estéricos que gobiernan las transposiciones $O \rightarrow N$. En cambio, en la formación de D-manosa-dibenzamida, la proporción de grupos benzoiloxi presentes, será diferente en los carbonos 3, 4 y 6.

En esta segunda etapa habrá una mayor disponibilidad de grupos benzoiloxi en C-4 con respecto a C-3 y este factor de concentración, determinará una mayor participación del grupo 4-O-benzoflo en la producción del segundo grupo NHCOPh que conduce a la formación de D-manosa-dibenzamida. En cambio, la contribución del grupo benzoiloxi en C-6, no está disminuida por factores de concentración, sino por su mayor resistencia al ataque nucleofílico y en menor proporción por razones estereoquímicas (distancia al C-1) que determinarían que su participación no sobrepase el valor 0,29 mol de benzoflo.

Consideraremos finalmente la participación del grupo benzoiloxi en C-2 de la penta-O-benzofl-D-manopiranos, en las reacciones de migración $O \rightarrow N$.

Para explicar los valores de contribución obtenidos propondremos algunas hipótesis. Una de ellas resulta de correlacionar los datos de contribución con la configuración del benzoiloxi en C-2 en los derivados cíclicos benzoilados, que conducen a las aldosas diamidas estudiadas. Para ello tendremos en cuenta, además, la participación del grupo 2-O-benzoflo de un derivado acíclico, a la formación de aldosa diamida.

Lezerovich (1963) al tratar con amoníaco metanólico 2-O-benzofl (carbonilo- ^{14}C) 3,4,5,6-tetra-O-benzofl-D-glucosa y 1-sulfonato de sodio-2-O-benzofl(carbonilo- ^{14}C)-3,4,5,6-tetra-O-benzofl-D-glucitol obtuvo 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-glucitol. Las medidas de radioactividad de la D-glucosas-dibenzamidas aisladas, indicaron la incorporación de 0,80 mol de benzoflo proveniente del benzoiloxi en C-2 del derivado bisulfítico, mientras

que para la forma aldehídica la contribución era de 0,70 mol. Comparando estos valores con los obtenidos para el mismo carbono en distintos O-benzoil-derivados cíclicos (ver Tabla III), resulta evidente que la menor contribución que se observa en éstos, debe depender en parte de la naturaleza cíclica de los compuestos estudiados. En base a estos resultados, consideramos legítimo suponer que en el caso de los derivados benzoilados de hexopiranosas, antes de producirse la apertura del ciclo, ocurrirían amonólisis y/o transesterificaciones parciales de los grupos benzoiloxi en C-2, que a posteriori serían las responsables de las bajas contribuciones desde dicho carbono.

En apoyo de esta hipótesis, podemos considerar nuevamente los valores de índices de carga determinados por Zhdanov y col. (1968), suponiendo que las relaciones de índices de carga se conservan al pasar de una pentosa a una hexopiranososa benzoilada. El análisis de dichos valores permite predecir que el 2-O-benzoil se separará más rápidamente que los grupos análogos de los carbonos 3, 4 y 6, pero más lentamente que el benzoiloxi en C-1, en las reacciones de amonólisis.

Otro hecho consistente con la hipótesis propuesta, es que la contribución del benzoiloxi del C-2 a la formación de aldosas diamidas, en los derivados que presentan dicho grupo en disposición ecuatorial, es la mitad de la determinada para el isómero axial (penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa), lo cual, como ya lo señaláramos, está de acuerdo con los resultados obtenidos por Cavell, Chapman y Johnson (1960) y por Eliel, Hansburstok y Acharya (1961) en sus estudios sobre velocidad de hidrólisis de ésteres axiales y ecuatoriales del ciclohexano.

Admitiendo estas hipótesis, se pueden explicar las bajas contribuciones observadas del grupo benzoiloxi en C-2 en la serie de hexopiranosas estudiadas y, además, puede interpretarse la mayor contribución relativa del grupo 2-O-benzoil de la penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa, con respecto a la de los otros monosacáridos considerados.

Otro resultado que surge de esta interpretación, es que hasta la etapa de formación del intermediario hipotético, la velocidad de amonólisis y transesterificación del benzoiloxi en C-2, es mayor que la velocidad de migración, contrariamente a lo postulado en la misma etapa para los benzoiloxi de los carbonos 3, 4 y 6.

CAPITULO VII

PARTE EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión se determinaron en tubo capilar y no están corregidos. Los poderes rotatorios se midieron en un polarímetro Rudolph modelo 70.

Los espectros infrarrojo se determinaron con un aparato Perkin-Elmer 137-B Infracord.

Los espectros de resonancia magnética nuclear se determinaron con un aparato Varian A-60; se utilizaron como solventes óxido de deuterio y deuterocloroformo. En cada experiencia individual se detalla el solvente utilizado en el espectro de la sustancia. Los solventes empleados en este trabajo fueron previamente purificados según Vogel (1957).

El secado de las extracciones efectuadas con solventes orgánicos no polares, se realizó siempre con sulfato de sodio o de magnesio anhidro.

Las evaporaciones se hicieron a presión reducida, calentando en baño de agua a temperaturas inferiores a 45°.

En la interpretación de los espectros infrarrojo, sólo se consideraron las bandas más importantes, para la caracterización de un determinado grupo funcional en la molécula. Los resultados se expresan en número de onda (cm^{-1}).

En los espectros de resonancia magnética nuclear, no se asignaron los protones aromáticos, pero en todos los casos se verificó la correcta integración de los mismos. Los resultados se expresan en δ (p.p.m.) referidas a la señal del tetrametil silano (TMS) o del 3-(trimetilsilil)-propansulfónico (DSS) que se utilizaron como standard internos. Las constantes de acoplamiento se expresan en J (c.p.s.).

SINTESIS DE PRODUCTOS NO RADIOACTIVOS

Metil α -D-manopiranosido

Se preparó según la técnica de Cadotte y col. (1952). En un balón de tres bocas provisto de agitador mecánico se mezclaron 200 g de D-manosa (previamente secada durante 1 hora a 30°), 200 g de resina "Dowex 50 W" (activada con ácido sulfúrico 2N, lavada con agua destilada hasta reacción negativa de ion sulfato y secada en estufa durante 3 horas a 100°) y 2,6 litros de metanol.

La mezcla se calentó a reflujo durante 25 horas con agitación continua. Luego la suspensión se filtró en caliente. Del filtrado, por enfriamiento cristalizaron 136 g del producto de p.f.: 187-190°. Por evaporación de las aguas madres se obtuvieron 15 g más de sustancia. Luego de dos recristalizaciones de alcohol se obtuvieron 146 g (rendimiento: 72%) de p.f.: 190-191°, $[\alpha]_D^{25} +78,6$ (c= 0,9 en agua).

Fischer (1895) da p.f.: 190-191°, $[\alpha]_D +79$.

Cadotte y col. dan p.f.: 195°, $[\alpha]_D +80$.

R.M.N. (D₂O- DSS): (δ) CH₃-O, 3,40 (s, 3H); H-C₁, 4,78 (d, J: 1,5 cps, 1H)

Metil 4,6-O-etiliden- α -D-manósido

Se adaptó la técnica empleada por Honeyman y col. (1954). A una suspensión de 40 g de metil α -D-manopiranosido en 300 ml de paraldehído, se agregaron 1,4 ml de ácido sulfúrico (c), agitando continuamente. Luego se agitó mecánicamente durante 25 minutos y posteriormente se neutralizó con carbonato de sodio anhidro. Se filtró para separar las sales de sodio y el sólido se lavó con paraldehído. El filtrado se evaporó y se obtuvo un residuo aceitoso que se volcó sobre 150 ml de agua helada, se separó un producto de consistencia pastosa que por raspado formó grumos, los mismos se

disgregaron hasta convertirse en un polvo finamente dividido. Se filtró, separándose el sólido que fue identificado luego de dos recristalizaciones de etanol como metil 2,3:4,6-di-O-etiliden- α -D-manósido; p.f.: 71-72°, $[\alpha]_D^{22} +14,7$ (c= 1,1 en cloroformo). Honeyman y col. dan para esta sustancia p.f.: 71-72°, $[\alpha]_D +14,6$.

El filtrado proveniente de la separación del dietiliden manósido se evaporó a sequedad. Se obtuvo un jarabe que luego de varias horas solidificó. Este producto se recristalizó tres veces de tetracloruro de carbono-éter de petróleo (1:3), se obtuvieron 15,5 g (rendimiento: 32%) de p.f.: 112-113°, $[\alpha]_D^{22} +72^\circ$ (c= 1,0 en cloroformo).

Honeyman y col. (1954) dan para esta sustancia p.f.: 117°, $[\alpha]_D +71$.

Aspinall y col. (1957) dan para la misma sustancia p.f.: 112°, $[\alpha]_D +71$.

R.M.N. (D₂O-DSS): (d) $\text{CH}_3\text{-CH}$, 1,35 (d, J: 5 cps, 3H); $\text{CH}_3\text{-O}$, 3,41 (s, 3H); H-C_1 , 4,81 (d, J: 1,5 cps, 1H); $\text{CH}_3\text{-CH}$, 4,97 (q, J: 5 cps, 1H).

Metil 2,3-di-O-nitro-4,6-O-etiliden- α -D-manósido

Se preparó haciendo algunas modificaciones a la técnica utilizada por Honeyman y col. (1954). A una suspensión de 3 g de metil 4,6-O-etiliden- α -D-manósido en 60 ml de anhídrido acético, previamente enfriada a -5°, se le agregó lentamente y agitando, una solución de 3 ml de ácido nítrico fumante (densidad: 1,5 g/ml) en 20 ml de anhídrido acético que también fue enfriada a -5°. Se agitó durante 15 minutos permitiendo que la temperatura de la mezcla de reacción aumentara hasta 0° y luego se volcó sobre 300 ml de agua helada. Se separó un aceite y se decantó la fase acuosa; el aceite se lavó varias veces con agua.

El residuo oleoso se dejó 46 horas a temperatura ambiente, transformándose en un sólido que se disolvió en cloroformo, la solución se lavó con solución saturada de bicarbonato de sodio hasta reacción neutra,

luego con agua y se secó. Por evaporación, se obtuvo un residuo aceitoso que cristalizó luego de 24 horas en el desecador. Los cristales se disolvieron en una mezcla de etanol-agua (4:1) a ebullición. Por enfriamiento se obtuvo un producto de p.f.: 69-73°. Luego de dos recristalizaciones más, se obtuvieron 4,6 g (rendimiento: 40%) de p.f.: 74-75°, $[\alpha]_D^{25} +21,3$ (c= 0,9 en cloroformo).

Honeyman y col. (1954) dan para esta sustancia p.f.: 73-74° y $[\alpha]_D +20$.

R.M.N. ($Cl_3CO-TMS$): (δ) CH_3-CH , 1,33 (d, J: 5 cps, 3H); CH_3-O , 3,47 (s, 3H); CH_3-CH , 4,73 (q, J: 5 cps, 1H); $H-C_1$, 4,90 (d, J: 1,5 cps, 1H); $H-C_2$ y $H-C_3$, 5,57 (m, 2H).

I.R. (nujol: $\bar{\nu}$ (cm^{-1})) 1637-1639 ($-NO_2$); 1290-1232-1274 ($-NO_2$); 960-845-833 ($O-NO_2$).

Metil 3-O-nitro-4,6-O-etiliden- α -D-manósido

Se obtuvo por una modificación de la técnica desarrollada por Honeyman y col. (1957). A una solución de 3,25 g de nitrito de sodio en 45 ml de etanol-agua (4:1) se le agregaron 5 g de metil 2,3-di-nitro-4,6-O-etiliden- α -D-manósido, se calentó la mezcla a ebullición y se mantuvo a reflujo durante 2 horas. Luego se filtró en caliente para separar las sales inorgánicas, El filtrado se evaporó a sequedad; se obtuvo un sólido que se disolvió en 50 ml de cloroformo. Los extractos se secaron y evaporaron. El residuo se dejó en desecador hasta el día siguiente, obteniéndose un sólido cristalino que se disolvió en 25 ml de cloroformo a ebullición y se filtró en caliente. Por agregado de 39 ml de éter de petróleo (60-70°) a la solución resultante se obtuvieron cristales de p.f.: 161-164°.

Luego de dos recristalizaciones empleando la misma mezcla de solventes, se obtuvieron 2,1 g (rendimiento: 50%) de p.f.: 164-165°,

$[\alpha]_D^{23} +56,7$ (c= 1,1 en cloroformo).

Honeyman y col. dan para esta sustancia p.f.: 164-165°, $[\alpha]_D +57$.

R.M.N. ($\text{Cl}_3\text{CD-TMS}$): (δ) $\text{CH}_3\text{-CH}$, 1,35 (d, J: 5 cps, 3H); $\text{CH}_3\text{O-}$, 3,45 (s, 3H).
 I.R. (nujol): $\bar{\nu}$ (cm^{-1}) 3509 (-OH); 1633 ($-\text{NO}_2$); 1274 ($-\text{NO}_2$); 860-833-805
 (O- NO_2)

Metil 2-O-benzoil-3-O-nitro-4,6-O-etiliden- α -D-manósido

Se preparó por un método desarrollado por Gros (1962) para sintetizar el mismo producto.

Se disolvieron 5,3 g del producto anterior en 50 ml de piridina anhidra, se enfrió la solución a 0° , se agregaron gota a gota y con agitación 11 ml de cloruro de benzoilo. Se abandonó 72 horas a esa temperatura y luego se volcó sobre 250 ml de agua helada. Luego de 24 horas a temperatura ambiente, se separó un aceite, se decantó la fase acuosa y el residuo se disolvió en 50 ml de cloroformo. La solución se lavó con ácido sulfúrico 2N (3×15 ml), luego con solución saturada de bicarbonato de sodio hasta reacción neutra y finalmente con agua (3×20 ml).

Se secó el extracto clorofórmico y se evaporó el solvente. La eliminación del cloroformo se completó agregando unos mililitros de etanol y evaporando nuevamente. Se obtuvo un residuo oleoso que se disolvió en 72 ml de isopropanol a ebullición, por enfriamiento y raspado cristalizó un producto de p.f.: $114-117^\circ$. Luego de dos recristalizaciones más del mismo solvente se obtuvieron 6,9 g (rendimiento: 79%) de p.f.: $113-119^\circ$ y $[\alpha]_D^{23} -43$ (c= 1,2 en cloroformo).

Gros determinó para el producto p.f.: $117-119^\circ$, $[\alpha]_D -47,9$.

Análisis calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{O}_9\text{N}$: C, 52,04%; H, 5,19%; N, 3,80%. Obtenido: C, 51,32%; H, 5,22%; N, 3,91%.

R.M.N. ($\text{Cl}_3\text{CD-TMS}$): (δ) $\text{CH}_3\text{-CH}$, 1,35 (d, J: 5 cps, 3H); CH_3O , 3,47 (s, 3H);
 $\text{CH}_3\text{-CH}_2$, 4,75 (q, J: 5 cps, 1H); H-C_1 , 4,87 (d, J: 1,5 cps, 1H); H-C_2 y H-C_3 , 5,67 (m, 2H)..

I.R. (nujol): $\bar{\nu}$ (cm^{-1}) 1724 ($-\text{C=O}$); 1637 ($-\text{NO}_2$); 1285-1274 (NO_2); 860-845
 (O- NO_2).

Metil 2-O-benzoil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido

Se preparó de acuerdo a la técnica desarrollada por Gros (1962) para sintetizar el mismo producto.

Se disolvieron 0,1 g de metil 2-O-benzoil-3-O-nitro-4,6-O-etiliden- α -D-manósido en 153 ml de ácido acético glacial; a esta solución se agregó en pequeñas porciones y agitando 4,0 g de una mezcla de partes iguales de polvo de hierro y cinc, hasta reacción negativa de nitrato con difenilamina. Feigl (1925).

La suspensión resultante se filtró y el sólido se lavó varias veces con cloroformo. El filtrado que contenía la solución acético-clorofórmica, se lavó con agua (3 x 15 ml) y las aguas de lavado se extrajeron con cloroformo (2 x 10 ml). El extracto clorofórmico se secó y evaporó. Al residuo se le agregaron unos mililitros de éter de petróleo (60-70°) y se evaporó nuevamente, obteniéndose un residuo cristalino. Este producto se disolvió en isopropanol a ebullición y por enfriamiento cristalizó una sustancia de p.f.: 135-138°.

Luego de dos recristalizaciones más del mismo solvente se obtuvieron 4,3 g (rendimiento: 30%) de p.f.: 136-138°, $[\alpha]_D^{23} +2,5$ (c= 1,1 en cloroformo).

Gros determinó para el producto p.f.: 136-138°, $[\alpha]_D +2,5$.

Análisis calculado para $C_{15}H_{20}O_7$: C, 59,25%; H, 6,25%. Obtenido: C, 59,43%; H, 6,15%.

R.M.N. ($Cl_3CD-TMS$): (δ) CH_3-CH , 1,37 (d, J: 5cps, 3H); CH_3O , 3,33 (s, 3H); $H-C_1$, 4,30 (d, J: 1,5 cps, 1H); CH_3-CH , 4,35 (q, J: 5 cps, 1H); $H-C_2$, 5,43 (q, J_{e-a} : 3 cps, J_{e-e} : 2 cps, 1H).

I.R. (nujol): $\bar{\nu}$ (cm^{-1}) 3505 (-OH); 1720 (C=O).

Metil 2,3-di-O-benzoil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido

Se preparó según la técnica de Lezerovich (1963). Se disolvieron 2,0 g de metil 2-O-benzoil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido en 12,5 ml de piridina anhidra, se enfrió la solución a -15° , se agregaron gota a gota y agitando 2,5 ml de cloruro de benzoilo. Se estacionó a 0° durante 72 horas y luego se volcó en agua-hielo. Luego de 40 horas se separaron cristales que se filtraron. El producto se disolvió en cloroformo, el extracto se lavó con ácido sulfúrico 2N (3 x 10 ml), con solución saturada de bicarbonato de sodio hasta neutralidad y finalmente con agua (3 x 15 ml). La solución clorofórmica se secó y se evaporó a sequedad. El residuo se disolvió en 3 ml de etanol absoluto a ebullición, se decoloró y se filtró en caliente.

Por enfriamiento del filtrado, se obtuvo un producto de p.f.: $95-98^{\circ}$. Luego de dos recristalizaciones más del mismo solvente se obtuvieron 1,9 g (rendimiento: 73%) de p.f.: $102-103^{\circ}$ y $[\alpha]_D^{25} -33,2$ (c= 1,0 en cloroformo).

Lezerovich determinó para el mismo producto p.f.: $102-103^{\circ}$, $[\alpha]_D -34,6$.

Análisis calculado para $C_{23}H_{24}O_8$: C, 64,46%; H, 5,64%. Obtenido: C, 64,30%; H, 5,63%.

R.M.N. ($Cl_3CO-TMS$): (δ) CH_3-CH , 1,33 (d, J: 5 cps, 3H); CH_3O , 3,46 (s, 3H); CH_3-CH , 4,37 (q, J: 5 cps, 1H); $H-C_1$, 4,63 (d, J: 1 cps, 1H); $H-C_2$ y $H-C_3$ (m, 2H).

I.R. (nujol): $\bar{\nu}$ (cm^{-1}) 1720 ($C=O$)

Metil 2,3-di-O-benzoil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido

3,34 g de metil 4,6-O-etiliden- α -D-manósido se disolvieron en 20 ml de piridina anhidra y la solución se enfrió a -15° . Se agregaron entonces lentamente y agitando 3,6 ml de cloruro de benzoilo, controlando que la temperatura se mantuviera siempre inferior a 0° . Se abandonó la solución a 0° durante 72 horas y se volcó sobre 200 ml de agua helada. Se obtuvo una

goma que luego de 48 horas cristalizó.

Los cristales se disolvieron en 50 ml de cloroformo, se lavó la solución con ácido sulfúrico 2N (3 x 15 ml), luego con solución saturada de bicarbonato de sodio y finalmente con agua (3 x 15 ml), luego con solución saturada de bicarbonato de sodio y finalmente con agua (3 x 10 ml). Se secó el extracto clorofórmico y se evaporó, obteniéndose un residuo aceitoso que conservado en desecador por la noche, no cristalizó. Se disolvió entonces en etanol absoluto a ebullición, se decoloró y se filtró en caliente. Del filtrado, por enfriamiento cristalizó un producto de p.f.: 35-92° que luego de dos recristalizaciones más del mismo solvente dio 3,0 g (rendimiento: 59%) de p.f.: 102-103°, $[\alpha]_D^{25} -84$ (c= 1,1 en cloroformo). Este producto es idéntico al obtenido a partir del metil 2-O-benzoil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido.

Metil 2,3,4,6-tetra-O-benzoil- α -D-manósido

Se preparó siguiendo la técnica descripta por Hudson y col. (1946). Se disolvieron 5,9 g de metil α -D-manopiranosido en 30 ml de piridina anhidra. Se enfrió la solución a 0°, se agregaron gota a gota y agitando 13 ml de cloruro de benzoilo. Se abandonó la solución 72 horas a temperatura ambiente y luego se volcó sobre agua-hielo. Se separó una goma que luego de sucesivos lavados con agua, se hizo friable. El producto se filtró y el sólido se lavó con agua; luego se lo disolvió en 30 ml de cloroformo y los extractos se trataron con ácido sulfúrico 2N (3 x 5 ml), luego con solución saturada de bicarbonato de sodio y finalmente con agua (3 x 10 ml).

La solución clorofórmica se secó y evaporó el solvente. Se obtuvo un residuo cristalino de p.f.: 127-133°. Luego de dos recristalizaciones de etanol absoluto se obtuvieron 17,1 g (rendimiento: 91%) de p.f.: 134-135°, $[\alpha]_D^{23} +67,3$ (c= 0,9 en cloroformo). Hudson y col. (1946) dan p.f.: 134-135°, $[\alpha]_D +56,2$.

Penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa

Se adaptó la técnica descrita por Hudson y col. (1950). 20 g de manosa anhidra se disolvieron en 225 ml de piridina anhidra. Se enfrió la solución a 0° y se agregaron 30 ml de cloruro de benzoílo, lentamente y agitando. La mezcla de reacción se estacionó 48 horas a temperatura ambiente y luego se volcó en agua-hielo. Se obtuvo una goma que se disolvió en 60 ml de cloroformo, se lavó con ácido sulfúrico 2N (3 x 10 ml), luego con solución saturada de bicarbonato de sodio y por último con agua (3 x 15 ml). Se secó el extracto y se evaporó el solvente. Se obtuvo un sólido que se disolvió en 30 ml de una mezcla de acetona-metanol (1:1); se abandonó por la noche y luego se agregaron 40 ml de metanol. Luego de algunas horas cristalizó un producto de p.f.: 144-150°. Luego de dos recristalizaciones más de etanol absoluto se obtuvieron 71 g (rendimiento: 91%) de p.f.: 152-153°, $[\alpha]_D^{22} -18,3$ (c= 1,1 en cloroformo).

Hudson y col. (1950) dan p.f.: 152-153°, $[\alpha]_D -13,8$.

Metil 2,3,4-tri-O-benzoil-6-O-tritil- α -D-manósido

Se adaptó la técnica de Percival y col. (1955) con algunas modificaciones. 5 g de metil α -D-manopiranosido y 7,5 g de cloruro de trifenil metano se suspendieron en 50 ml de piridina anhidra. La mezcla de reacción se calentó a 50° agitando ocasionalmente hasta disolución total (2 horas). Luego se estacionó el producto de reacción durante 18 horas a temperatura ambiente. Transcurrido este período, se enfrió la solución a 0° y se agregaron 10 ml de cloruro de benzoílo, lentamente y con agitación; controlando que la temperatura no se modificara. El producto de benzoilación se abandonó 72 horas en la oscuridad a temperatura ambiente, obteniéndose un sólido cristalino. Se filtró el producto y el sólido se lavó sucesivamente con piridina, luego con etanol, posteriormente con agua y nuevamente con etanol. Luego de recristalizar de acetona se obtuvieron 17,1 g (rendimiento:

77%) de un producto que fundió 115-120°, luego solidificó al elevar la temperatura y fundió finalmente neto a 133-139°. Recristalizando dos veces de etanol absoluto dio directamente un p.f.: 139-190°, $[\alpha]_D^{21} -121$ (c= 0,9 en cloroformo).

Percival y col. determinaron para el mismo producto idénticas constantes físicas.

R.M.N. ($Cl_3CO-TMS$): (δ) CH_3O , 3,56 (s, 3H); $H-C_1$, 5,07 (d, J: 1 cps, 1H);
 $H-C_2$, 3,11 (q, J_{e-a} : 2,5 cps, J_{e-e} : 2 cps, 1H).

I.R. (nujol): $\bar{\nu}$ (cm^{-1}) 1730 (C=O).

Metil 2,3,4,6-tetra-O-benzoil- α -D-manósido

Se preparó por una adaptación de la técnica desarrollada por Percival y col. (1955) para sintetizar metil 2,3,4-tri-O-benzoil- α -D-manósido. 3,6 g de metil 2,3,4-tri-O-benzoil-6-O-tritil- α -D-manósido se disolvieron en 12 ml de ácido acético glacial a ebullición. Luego se enfrió a 12° y se agregaron 1,66 ml de una solución de ácido bromhídrico en ácido acético glacial al 50%. Se agitó la mezcla durante 1,5 minutos en forma enérgica y se filtró para separar el bromuro de trifenil metano formado. Se lavó este sólido con unos mililitros de ácido acético glacial y el filtrado se volcó sobre 250 ml de agua helada. Se obtuvo una goma blanca, que se lavó con agua hasta que se hizo friable. Este producto se disolvió en 25 ml de cloroformo, se lavó la solución con bicarbonato de sodio solución saturada y posteriormente con agua. Los extractos clorofórmicos se secaron y evaporaron, se obtuvo un aceite de $[\alpha]_D^{21} -143$ (c= 0,8 en cloroformo). Un espectro I.R. (nujol) dio una banda correspondiente a OH libre en 3507 cm^{-1} . El aceite se disolvió en 13 ml de piridina anhidra, se enfrió a 0° y se agregaron 1,39 ml de cloruro de benzoilo lentamente y agitando. La solución se estacionó 24 horas en la oscuridad a temperatura ambiente. Luego se volcó sobre agua-hielo obteniéndose un aceite que se disolvió en 35 ml de cloroformo. El extracto

se lavó con ácido sulfúrico 2N (3 x 5 ml), luego con solución saturada de bicarbonato de sodio y finalmente con agua (3 x 10 ml). La solución clorofórmica se secó y se evaporó el solvente. Se obtuvo un residuo aceitoso que por tratamiento con unos mililitros de etanol absoluto y evaporado nuevamente, cristalizó.

Luego de dos recristalizaciones de etanol absoluto, se obtuvieron 2 g (rendimiento: 71%) del producto de p.f.: 134-135°, $[\alpha]_D^{21} +67$ (c= 0,9 en cloroformo).

Los valores de las constantes físicas son idénticos a los descriptos para el mismo producto, preparado por una vía de síntesis diferente.

MEDICIONES DE RADIOACTIVIDAD

Sistema de Medición: Contadores de Centelleo Líquido

El uso de centelleadores líquidos data de 1950, año en que Reynolds y Kallman, independientemente, anunciaron que soluciones diluidas de sustancias fluorescentes podían ser utilizadas para detectar radiaciones.

En un principio, los contadores fueron empleados en lugar de los cristales sólidos para detectar radiaciones penetrantes, pero pronto se determinó que también servían para medir emisores β débiles.

Dado que la energía máxima de muchos emisores β es baja, cualquier material absorbe sus radiaciones con facilidad y resulta difícil medirlas en estado sólido ya que existe una autoabsorción por la misma muestra.

Este tipo de absorción es menor si la muestra se disuelve junto con el centelleador en un solvente adecuado. Además, medir una muestra en solución significa tener prácticamente geometría 4π , ya que los átomos que desintegran están completamente rodeados por moléculas del centelleador.

La medición de nucleídos radioactivos con contador de centelleo líquido, no solamente provee gran sensibilidad y eficiencia, sino que ofrece también otras ventajas tales como que, generalmente, es más sencillo disolver un material dado que preparar muestras sólidas adecuadas a las condiciones de medición o llevarlas al estado gaseoso. Otro beneficio es que se puede trabajar con volúmenes relativamente grandes.

Este método presenta inconvenientes que resultan, en algunos casos, de la baja solubilidad de las muestras en los solventes utilizados

y la dificultad para recuperar el material radioactivo de la solución.

Funcionamiento del Equipo Detector

Bell y Newton Hayes (1953)

En líneas generales, los contadores de centelleo líquido trabajan de la siguiente forma: la muestra radioactiva se incorpora junto con el centelleador en un solvente apropiado y se coloca en el contador.

Los destellos producidos por interacción de las partículas con el centelleador, son detectados por un sistema de fotomultiplicadores que convierten la energía luminosa en energía eléctrica.

Los impulsos que salen del fotomultiplicador son amplificados electrónicamente, de modo que resultan suficientemente intensos como para poder ser registrados y analizados.

Los impulsos producidos por radiaciones β débiles, como en el caso del carbono-14 (E_{β} : 0,155 MeV), son de muy pequeña amplitud, de manera que resulta difícil diferenciarlos de los impulsos de ruido térmico que producen los fotomultiplicadores.

Una forma de reducir estos impulsos de ruido térmico es refrigerando todo el equipo contador. Otra solución es montar el recipiente conteniendo la muestra radioactiva entre dos fotomultiplicadores unidos a un circuito electrónico de coincidencia, que acepta solamente los impulsos provenientes de ambas salidas. Los impulsos originados por ruidos térmicos son fortuitos y rara vez coinciden en el tiempo en ambos fotomultiplicadores.

El equipo contador utilizado en todas las mediciones descritas en esta tesis, está equipado con un sistema refrigerador cuya temperatura es posible ajustar.

Condiciones que Debe Cumplir la Muestra Radioactiva

La actividad de la muestra a medir en un contador de centelleo líquido es el resultado de cuatro factores, que son: a) solvente; b) centelleador; c) material radioactivo y d) recipiente.

a- El solvente debe permitir una buena transferencia de energía beta al centelleador sin absorber en forma considerable los fotones por éste producidos, lo cual significaría una disminución de la intensidad de los impulsos a la salida del fotomultiplicador. Si se cumplen estas condiciones, se dirá que el solvente no produce "quenching".

Si por el contrario, el solvente absorbe parte de la luz emitida por el centelleador hay "quenching de color" y si absorbe energía de la partícula beta, "quenching químico".

Otras condiciones que debe cumplir el solvente son: no congelar a la temperatura de operación entre (0 y -10°) y mantener en solución el material radioactivo a medir. Para lograr esto último, a menudo se recurre a mezclas de distintos solventes; los más empleados son los hidrocarburos y éteres aromáticos.

Cuando no se dispone de un solvente adecuado, se suspende la muestra finamente dividida en el solvente. En este caso se requiere, además, la presencia de un agente que tienda a producir un gel rígido y estable, en el que se suspende el material a medir por simple agitación.

b- El centelleador convierte la energía de las partículas beta en energía luminosa (fotones). Distintas sustancias orgánicas fluorescentes pueden ser utilizadas, siempre que cumplan las condiciones de ser solubles en el solvente elegido a la temperatura de trabajo y no absorber la luz emitida (autoquenching). A veces se agrega a la sustancia fluorescente primaria un centelleador secundario, que tiene por objeto llevar la longitud de onda de la luz emitida por el centelleador primario a una zona del espectro donde el fotomultiplicador

posee mayor sensibilidad. De esta forma, se aumenta considerablemente la eficiencia de la medición.

c- Los nucleidos radioactivos que más frecuentemente se miden con el contador de centelleo líquido son los emisores beta de baja energía. Por ejemplo: ^3H (E_{β} : 0,010 MeV); ^{14}C (E_{β} : 0,155 MeV); ^{35}S (E_{β} : 0,103 MeV); ^{45}Ca (E_{β} : 0,28 MeV), etc.

Esto no excluye la posibilidad de medir emisores alfa o gamma, con óptima eficiencia en este tipo de equipo ("Catalog 100: Instruments for Radioactivity Measurement and Chromatography" (1963)).

d- El recipiente que contendrá el material radioactivo es un factor al que se debe conceder bastante importancia. Los de vidrio común contienen ^{40}K como isótopo natural, el cual aumenta el fondo considerablemente y su uso no es recomendable.

Los de polietileno resultan permeables a muchos solventes orgánicos después de cierto uso y, además, transfieren con dificultad la luz ultravioleta. Los más aconsejados son los de cuarzo, pero son costosos. Lo importante es utilizar el mismo tipo de recipiente para una serie dada de mediciones, ya que las propiedades ópticas varían en forma apreciable con la naturaleza del material.

Eficiencia del Sistema Detector

Corrección del "quenching" (Packard Technical Bulletins N°15 (1965))

La incorporación de una muestra radioactiva, sobre todo si se trata de material biológico, a la solución centelleadora, produce "quenching" reduciendo la eficiencia de la medición. Resulta, por consiguiente, necesario aplicar correcciones si se desea determinar la actividad absoluta de la muestra o si se quiere comparar muestras que se miden con distinta eficiencia.

Se conocen varios métodos para efectuar correcciones de "quenching". Los más difundidos son el método del standard interno y el método de relación de canales.

a- Método del standard interno: la muestra se prepara por duplicado y se agrega una cantidad conocida de nucleído a una de ellas ("standard interno"). La diferencia entre las mediciones obtenidas para ambas muestras corresponde al standard interno y permite calcular la eficiencia de medición para las condiciones de trabajo utilizadas. Una variante consiste en medir la misma muestra antes y después de agregarle el standard interno.

Teóricamente, las condiciones de medición no deberían variar cuando se agrega el standard interno. Esto se logra con mayor facilidad cuando se preparan muestras por duplicado que cuando se mide la misma muestra con y sin standard interno.

b- Método de relación de "canales": se utiliza cuando se dispone de un equipo que posea, por lo menos, dos "canales", capaz de efectuar análisis de altura de impulsos. La eficiencia de medición se determina en base a la relación de los valores obtenidos en un "canal" con respecto a las del otro (Baillie (1960)).

La técnica que se utilice consiste en fijar los límites de un "canal", llamado canal de contaje, de manera que cubra casi totalmente el espectro de impulsos, mientras que el segundo canal -llamado canal de monitoreo- tiene el mismo límite inferior que el anterior, pero su límite superior puede ser cambiado según convenga.

Utilizando un conjunto de muestras que contienen igual cantidad de sustancia radiactiva pero cantidades corrientes de una sustancia que produce "quenching", para cada valor del límite superior del canal de monitoreo se grafica el porcentaje de eficiencia (determinado en el canal de contaje) en función de la relación de los dos canales (R),

obteniéndose así una serie de curvas. Se fija el límite superior del canal de monitoreo en un valor tal, que la representación anterior es una línea recta. La eficiencia de medición de una muestra dada, se determina por interpolación gráfica, conociendo la relación de cuentas en ambos "canales".

Si se utilizan distintos solventes, a cada sistema centelleador-solvente se le debe determinar un gráfico de este tipo.

El método de relación de canales tiene varias ventajas sobre el del standard interno, pues se reduce el manipuleo de la muestra que se mide una sola vez; la misma es recuperable y la medición puede ser repetida, ya que no se agrega material extraño.

Hay equipos más elaborados que están provistos de un standard externo para corregir "quenching". Se trata de una fuente emisora gamma que automáticamente es contada después de cada muestra.

La radiación gamma produce un "efecto Compton" destellos luminosos que son absorbidos por las sustancias que producen "quenching" en forma similar a lo que ocurre con los destellos originados por la radiación beta de la muestra que se mide.

Calibración del Contador de Centelleo Líquido

Las medidas de radioactividad realizadas en esta tesis fueron determinadas con un contador de centelleo líquido Packard Tri-Carb, modelo 3305, semiautomático, de tres canales.

Todas las medidas efectuadas sobre productos marcados con carbono-14 (^{14}C) se realizaron midiendo en el primero y segundo canal, con una ganancia de 9% en cada uno de ellos. El tercer canal no fue utilizado.

En las mediciones se utilizaron frascos de vidrio del tipo borosilicato. Se decidió utilizar este material debido a su alta transmisión de luz ultravioleta y porque presenta un mínimo contenido en

isótopos naturales, especialmente el bajo porcentaje de ^{40}K .

Todas las mediciones de productos radiactivos fueron realizadas con la misma solución centelleadora, utilizando como solvente dioxano purificado para análisis (Vogel (1957)).

Preparación de la Solución Centelleadora

Se siguió la receta descrita en "Packard Technical Bulletin" N° 1, 1953. Se disolvieron 7 g de 2,5-difenil-oxazol (P.P.O.), 0,30 g de dimetil-2,2(bis)-p-fenil(5-fenil-oxazol) (dimetil-P.O.P.O.P) y 100 g de naftaleno en 1000 ml de dioxano. La solución no debe guardarse en heladera porque solidifica. Debe estacionarse en lugar fresco a completo resguardo de la luz.

Curva de Eficiencia del Aparato con Solución Centelleadora de Dioxano

La calibración para determinar la eficiencia del equipo contador se realizó preparando varios frascos de soluciones patrón que; contenían tolueno (^{14}C) con una actividad de 437.000 descomposiciones por minuto por mililitro (d.p.m./ml). A la sustancia radioactiva se le agregaron cantidades diferentes de solución centelleadora y de una sustancia (acetona) que actúa como "quencher".

Tanto en la calibración como en las mediciones posteriormente efectuadas, se agregaron 0,5 ml de agua para evitar que la solución centelleadora congele por efecto del refrigerado del equipo contador.

Cada fracción se contó durante 5 minutos. Los voltajes en los canales se regularon de la siguiente forma:

Canal 1: 50-1000 volts. Ganancia 9%

Canal 2: 50-100 volts. Ganancia 9%

Los frascos conteniendo soluciones patrón de tolueno (^{14}C) se prepararon en las proporciones que se detallan en la siguiente tabla:

| Frasco | Solución Contalladora (ml) | Agua (ml) | Acetona (ml) | Tolueno (^{14}C) (ml) |
|--------|-------------------------------|--------------|-----------------|-------------------------------------|
| 1 | 9,5 | 0,5 | -,- | 0,1 |
| 2 | 9,3 | 0,5 | 0,2 | 0,1 |
| 3 | 9,0 | 0,5 | 0,5 | 0,1 |
| 4 | 8,6 | 0,5 | 0,9 | 0,1 |
| 5 | 8,0 | 0,5 | 1,5 | 0,1 |
| 6 | 7,6 | 0,5 | 1,9 | 0,1 |

Todas las mediciones realizadas en esta tesis se efectuaron a los mismos voltajes y con igual ganancia en ambos canales. Las medidas de actividad de actividad de los frascos conteniendo solución patrón se detallan a continuación:

| Frasco | Canal 1 (dpm/ml) | Canal 2 (dpm/ml) | E% | R | Actividad teórica (dpm/ml) |
|--------|---------------------|---------------------|------|-------|-------------------------------|
| 1 | 34.663 | 6.333 | 79,3 | 0,197 | 43.700 |
| 2 | 32.332 | 8.497 | 73,9 | 0,263 | 43.700 |
| 3 | 28.531 | 10.572 | 65,2 | 0,370 | 43.700 |
| 4 | 25.252 | 11.933 | 57,7 | 0,472 | 43.700 |
| 5 | 21.116 | 12.420 | 48,3 | 0,593 | 43.700 |

R: es el valor del cociente del número de cuentas por minuto por milímetro (cpm/ml) medidas en el segundo canal sobre el mismo número medidas en el primer canal

$$R = \frac{\text{n}^\circ \text{ de cuentas por minuto por ml en Canal 2}}{\text{n}^\circ \text{ de cuentas por minuto por ml en Canal 1}}$$

E: es la eficiencia del equipo contador, se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$E\% = \frac{\text{n}^\circ \text{ de descomposiciones por minuto en Canal 1} \cdot 100}{\text{Actividad teórica de la sol. patrón}}$$

Los valores de eficiencia en contadores de centelleo líquido oscilan entre 70-80%.

La actividad teórica, es el valor medido de la solución patrón de tolueno (^{14}C) en la solución centelleadora, sin agregar "quencher".

Con los datos de R y E% se construye un gráfico de $E\% = f(R)$. De esta forma, al efectuar una medición, se determina la relación entre ambos canales (R) y por interpolación de este valor en el gráfico se determina la eficiencia porcentual de la medición.

Método de Cálculo para Determinar la Actividad Específica Molar de la Muestra

Se determina la actividad de la muestra radioactiva (cpm) simultáneamente en ambos canales.

Se mide el fondo, determinando la actividad de la solución centelleadora sin agregar sustancia radioactiva durante un intervalo de tiempo igual al empleado para medir la muestra radioactiva. El intervalo de tiempo se selecciona de modo de reunir, como mínimo, 10.000 cuentas. De este modo, el error de la medición es del 1%. En todas las mediciones realizadas esta condición fue respetada.

Se realiza entonces el cálculo del siguiente modo:

sea

N: el n° de cuentas totales medidas en el Canal 1

M: el n° de cuentas totales medidas en el Canal 2

f: número de cuentas del fondo medidas en el Canal 1, en un tiempo t , igual al que se midió la muestra activa.

w: masa de la sustancia radioactiva.

Se calcula R de la forma indicada

$$R = \frac{M \text{ (cpm)}}{N \text{ (cpm)}}$$

Obtenido el valor de R se interpola en el gráfico de $E = f(R)$ y se obtiene así la eficiencia porcentual de la medición E%. Luego se calcula

la actividad específica por minuto en el Canal 1, descontando el fondo medido en el mismo canal. Esto se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$A = \frac{N - f}{t_w \cdot t}$$

Donde A es la actividad específica por unidad de tiempo (cpm/mg) sin considerar la eficiencia del equipo de conteo. La actividad específica real (*) de la muestra A_a se determina utilizando la siguiente fórmula:

$$A_a = \frac{A \cdot 100}{E\%}$$

De esta manera, la actividad específica queda expresada en descomposiciones por minuto por miligramo (dpm/mg). Si se desea conocer la actividad específica por milimol A_M , se multiplica el valor de A_a por el peso molecular (P.M).

$$A_M = A_a \text{ (dpm/mg)} \cdot \text{P.M (mg/mM)}$$

Cálculos de Dilución Isotópica

Sea

A_i : la actividad de la muestra radioactiva original.

A_f : la actividad de la muestra radioactiva luego de diluirla isotópicamente con producto inactivo.

m_i : masa de la muestra radioactiva original.

m_f : masa del producto inactivo.

Con estos datos es posible calcular teóricamente la actividad de una muestra sometida a dilución isotópica, mediante la siguiente ecuación:

$$(m_f + m_i) \cdot A_f = m_i \cdot A_i$$

(*) En este capítulo, cuando se utilice la expresión actividad específica, se estará refiriendo a la actividad específica real, definida anteriormente.

Cálculo de Incorporación de Grupos Benzoílos (carbonilo-¹⁴C) en la Serie de Productos Radioactivos Benzoilados

Para determinar la fracción de moles incorporados en una síntesis por benzoilación, con agentes benzoilantes (carbonilo-¹⁴C), es necesario determinar la actividad específica del producto radiactivo obtenido en descomposiciones por minuto por milimol y dividir este valor por la actividad específica del ácido benzoico (carbonilo-¹⁴C) expresada en las mismas unidades, obtenido por hidrólisis del agente benzoilante empleado en la síntesis radioactiva.

En todos los casos, los productos radioactivos deben ser recristalizados hasta actividad constante.

Sea

n: el número de grupos benzoílos (carbonilo-¹⁴C) incorporados. Por consiguiente

$$n = \frac{\text{Actividad del producto benzoilado (dpm/mM)}}{\text{Actividad del ácido benzoico (dpm/ml)}}$$

Este cálculo, es posible efectuarlo sobre cualquier producto marcado con grupos benzoílos refiriéndolo, en todos los casos, al ácido benzoico (carbonilo-¹⁴C).

Esto permite establecer la estabilidad relativa de los grupos benzoílos, en una serie de reacciones efectuadas. En forma análoga se puede determinar la incorporación de grupos benzoílos marcados efectuando el cociente de la actividad específica del producto de reacción expresada en dpm/ml sobre la actividad específica del sustrato en las mismas unidades.

Método Empleado para Calcular los Porcentajes de Grupos Benzoílos Transferidos en la Reacción de Amonólisis

Conocida la actividad de las penta-O-benzoil- α -D-manopiranosas marcadas en diferentes posiciones con grupos O-benzoílos

(carbonilo- ^{14}C) (en dpm/mM), se puede calcular la fracción molar transferida (O-benzoil a N-benzoil) en la formación de 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol y de N-benzoil-D-manopiranosilamina. Para realizar el cálculo es necesario conocer la actividad específica molar de los productos formados durante la reacción de amonólisis.

Sea

A_d : la actividad específica molar de la 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol (D-manosa-dibenzamida).

A_m : la actividad específica molar de la N-benzoil-D-manopiranosilamina (D-manosa-monobenzamida).

A_p : la actividad específica molar de la penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa.

n : el número de grupos benzoilos (carbonilo- ^{14}C) presentes en la penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa.

Por consiguiente, el cociente A_p/n será la actividad correspondiente a cada grupo benzoilo.

Considerando además, que en la formación de manosa-dibenzamida se transfieren como máximo dos grupos benzoilos desde la penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa, será $A_d/2$ la actividad correspondiente a cada grupo benzoilo, suponiendo que el grupo benzoilo (carbonilo- ^{14}C) está distribuido en forma equivalente en cada uno de ellos.

Si se considera el 100% de transferencia de actividad cuando

$$A_p/n = A_d/2$$

entonces la actividad máxima posible, para los dos grupos benzoilos sumados, será:

$$A_d^{100\%} = \frac{2 \cdot A_p}{n}$$

Por lo tanto, recordando que A_d es la actividad molar de la manosa-dibenzamida obtenida en cada operación individual, el porcentaje de actividad transferida será:

$$T\% = \frac{A_d \cdot 100}{A_d^{100\%}}$$

y reemplazando $A_d^{100\%}$ se obtiene el porcentaje de transferencia (T%).

$$T\% = \frac{n \cdot A_d \cdot 100}{2 \cdot A_p}$$

En la misma forma, la fracción de moles de grupos transpuestos será:

$$n_t = \frac{A_d \cdot n}{A_p}$$

Un cálculo análogo se realiza para determinar la transferencia de grupos benzoílos en la formación de manosa-manobenzamida, partiendo de penta-O-benzoíl-(X-D-manopiranosu radiactiva.

Método Empleado para el Cálculo de las Desviaciones Standard en las Mediciones de Radioactividad

Todas las sustancias radioactivas se midieron el tiempo necesario como para acumular 10.000 o más cuentas.

Las correcciones por radiación de fondo se efectuaron restando de las n cuentas medidas en el Canal 1, en un tiempo I , las f cuentas registradas en el mismo canal, contando durante el mismo período de tiempo, un blanco constituido sólo por la solución centelleadora.

Las desviaciones standard de las mediciones efectuadas y de las operaciones aritméticas en las que intervienen medidas de radioactividad se calcularon como indica Fairas y Parks (1958) y Jarret (1961).

Las muestras se contaron una sola vez y se adoptó la convención de tomar como desviación standard de la medida de actividad la raíz cuadrada del número de cuentas reunidas en un determinado período de tiempo.

Si n es el número de cuentas registradas, su desviación

standard es $(n)^{\frac{1}{2}}$ y por lo tanto, el valor de la medición se expresa:

$$n \pm (n)^{\frac{1}{2}} \quad (\text{I})$$

Si las n cuentas fueron reunidas en T minutos, la actividad en cuentas por minuto es:

$$\frac{n \pm (n)^{\frac{1}{2}}}{T} \quad (\text{II})$$

El contador de centellos líquido registra el tiempo automáticamente. Por consiguiente, al deducir la expresión (II) suponemos que no se comete error en la medición del tiempo. De este modo, registrando un total de 10.000 cuentas independientemente del tiempo requerido para hacerlo, se tiene una desviación de 100 cuentas que corresponden a una desviación del 1%.

La radiación de fondo, en el aparato empleado en las mediciones, variaba entre 16 y 17 cpm. Estas fluctuaciones están gobernadas por las mismas leyes de desintegración de sustancias radioactivas. Así, cuando se acumulan f cuentas en una determinación de fondo, la medición está afectada de una desviación standard de $(f)^{\frac{1}{2}}$, por consiguiente, la diferencia correspondiente a la corrección por fondo, es:

$$n \pm (n)^{\frac{1}{2}} - f \pm (f)^{\frac{1}{2}}$$

y teniendo en cuenta la fórmula para restar cantidades afectadas de error, resulta:

$$(n - f) \pm (n + f)^{\frac{1}{2}} \quad (\text{III})$$

Para expresar los resultados de la medición en cuentas por minutos, basta dividir por el tiempo T de medición, la expresión (III):

$$\frac{(n - f) \pm (n + f)^{\frac{1}{2}}}{T}$$

Multiplicando la velocidad de conteo por la eficiencia (E) de

la medición y por el valor correspondiente al milimol de la sustancia, se tiene la actividad específica milimolar, a menos de un factor de proporcionalidad, expresada en descomposiciones por minuto por milimol.

Las desviaciones standard de las operaciones aritméticas en las que intervienen cantidades afectadas de error, se calcularon aplicando las siguientes expresiones, en las que a y b son, respectivamente, las desviaciones standard de las cantidades x e y :

| Valor | Desviación standard |
|-------------|--|
| $x + y$ | $(a^2 + b^2)^{\frac{1}{2}}$ |
| $x - y$ | $(a^2 + b^2)^{\frac{1}{2}}$ |
| $x \cdot y$ | $x \cdot y \left(\frac{a^2}{x^2} + \frac{b^2}{y^2} \right)^{\frac{1}{2}}$ |
| x / y | $x / y \left(\frac{a^2}{x^2} + \frac{b^2}{y^2} \right)^{\frac{1}{2}}$ |

SINTESIS DE PRODUCTOS RADIOACTIVOS

Cloruro de Benzofilo (Carbonilo-¹⁴C)

Se siguió la técnica descrita por Schmid y Banholzer (1954). Se preparó refluendo una mezcla de ácido benzoico radioactivo y cloruro de tionilo durante 2 horas.

El exceso de cloruro de tionilo se eliminó destilando a presión reducida (baño a 35-45°) y se completó la eliminación añadiendo benceno y evaporando nuevamente. Esta operación se repitió tres veces. Se obtuvieron rendimientos entre 90 y 95%.

La actividad del producto se determinó hidrolizando con agua una pequeña porción a ácido benzoico y midiendo la actividad de éste, una vez recristalizado, hasta actividad constante.

La actividad del cloruro de benzofilo (carbonilo-¹⁴C) empleado está indicado en cada operación individual.

Anhidrido Benzoico (Carbonilo-¹⁴C)

Este compuesto fue preparado según la técnica de Smalley y Suschitzky (1964) para la síntesis del mismo compuesto no radioactivo.

A una solución de 14,30 g de benzoato de sodio (carbonilo-¹⁴C) en 152 ml de agua conteniendo dos gotas de piridina, se agregaron lentamente con agitación mecánica 11 ml de cloruro de benzofilo (carbonilo-¹⁴C). Se obtuvo un sólido que se separó por filtración. Se lavó con agua y luego con éter de petróleo (60-60). El producto secado en desecador dió p.f.: 40-41°, coincidente con el punto de fusión del anhidrido benzoico puro descrito en la literatura.

La actividad del anhidrido benzoico (carbonilo-¹⁴C) se determinó hidrolizándolo a ácido benzoico y su valor se indica en cada

operación individual.

Síntesis de Derivados Benzilados (Carbonilo-¹⁴C) de la D-manosa

Para la obtención de las sustancias radiactivas se utilizaron las técnicas detalladas que se describen para los compuestos análogos no radiactivos.

Todos los compuestos radiactivos preparados fueron recristalizados hasta actividad constante.

Metil 2-O-benzil (Carbonilo-¹⁴C)-3-O-nitro-4,6-O-etiliden- α -D-manósido

Se preparó a partir de 3,50 g de metil 3-O-nitro-4,6-O-etiliden- α -D-manósido, disueltos en 30 ml de piridina anhidra y 5 ml de cloruro de benzilo (carbonilo-¹⁴C) de una actividad de $2,60 \cdot 10^6$ dpm/ml.

Se obtuvieron 4,30 g (rendimiento: 49%) de n.f.: 113-119°, $[\alpha]_D^{20} -48$ (c= 1,1 en cloroformo) y una actividad de $2,54 \cdot 10^6$ dpm/ml. Moles de benzilo (carbonilo-¹⁴C) por mol de sustancia: 0,97.

Metil 2-O-benzil (Carbonilo-¹⁴C)-4,6-O-etiliden- α -D-manósido

Se sintetizó a partir de 4 g de la sustancia anterior, que se trató en solución de ácido acético glacial (92 ml) con 1,90 g de una mezcla de partes iguales de hierro y cinc en polvo.

Se obtuvieron 3,03 g (rendimiento: 87%) de p.f.: 136-138°, $[\alpha]_D^{25} +2,7$ (c= 0,9 en cloroformo) y una actividad de $2,57 \cdot 10^6$ dpm/ml. Moles de benzilo (carbonilo-¹⁴C) por mol de sustancia: 0,99.

Metil 2-O-benzil (Carbonilo-¹⁴C)-3-O-benzil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido

Se trataron 4,59 g de metil 2-O-benzil (carbonilo-¹⁴C)-4,6-O-etiliden- α -D-manósido (actividad: $2,57 \cdot 10^6$ dpm/ml) disueltos en 25 ml

de piridina anhidra, con 5,3 ml de cloruro de benzoílo inactivo.

Se obtuvieron 4,30 g (rendimiento: 70%) de p.f.: 102-103°, $[\alpha]_D^{20} -34,1$ (c= 1,1 en cloroformo) y una actividad de $2,55 \cdot 10^6$ dpm/ml. Moles de benzoílo (carbonilo- ^{14}C) por mol de sustancia: 0,93.

Metil 2,3-di-O-benzoíl (Carbonilo- ^{14}C)-4,6-O-etiliden- α -D-manósido

Se disolvieron 1,37 g de metil 4,6-O-etiliden- α -D-manósido en 12 ml de piridina anhidra y se agregaron 4,7 ml de cloruro de benzoílo (carbonilo- ^{14}C) de una actividad de $2,52 \cdot 10^5$ dpm/mm.

Se obtuvieron 1,18 g (rendimiento: 80%) de p.f.: 102-103°, $[\alpha]_D^{21} -34,3$ (c= 0,9 en cloroformo) y una actividad de $5,32 \cdot 10^6$ dpm/ml. Moles de benzoílo (carbonilo- ^{14}C) por mol de sustancia: 2,03.

Metil 2,3,4-tri-O-benzoíl (Carbonilo- ^{14}C)-6-O-tritil- α -D-manósido

Se suspendieron 3,50 g de metil- α -D-manopiranosido y 5,70 g de cloruro de trifenil metano en 35 ml de piridina. Luego de 13 horas se agregaron 7,5 ml de cloruro de benzoílo (carbonilo- ^{14}C) de una actividad de $4,41 \cdot 10^6$ dpm/mm. Se obtuvieron 14,45 g (rendimiento: 30%) de p.f.: 189-190°, $[\alpha]_D^{25} -120,6$ (c= 1,1 en cloroformo) y actividad $1,34 \cdot 10^7$ dpm/mm. Moles de benzoílo (carbonilo- ^{14}C) por mol de sustancia: 3,03.

Metil 2,3,4-tri-O-benzoíl (Carbonilo- ^{14}C)-6-O-benzoíl- α -D-manósido

5 g del producto anterior se detritilaron por tratamiento con 2,32 ml de una solución de ácido bromhídrico en ácido acético glacial al 50%. El jarabe resultante se disolvió en 20 ml de piridina anhidra y se trató con 2,6 ml de cloruro de benzoílo inactivo. Se obtuvieron 2,56 g (rendimiento: 70%) de p.f.: 134-135°, $[\alpha]_D^{23} +67,3$ (c= 1,0 en cloroformo) y una actividad de $1,33 \cdot 10^7$ dpm/mm. Moles de benzoílo (carbonilo- ^{14}C) por mol de sustancia: 3,01.

Metil 2,3,4-tri-O-benzoil-6-O-benzoil (Carbonilo-¹⁴C)- α -D-manósido

Se trataron 4 g de metil 2,3,4-tri-O-benzoil-6-O-tritil- α -D-manósido con 1,05 ml de solución de ácido bromhídrico en ácido acético glacial al 50%. Se obtuvo un jarabe que se disolvió en 13 ml de piridina anhidra y se agregaron 3,9 ml de cloruro de benzoilo (carbonilo-¹⁴C) de una actividad de $4,41 \cdot 10^6$ dpm/mM.

Se obtuvieron 2,11 g (rendimiento: 72%) de p.f.: 134-135°, $[\alpha]_D^{25} +37,5$ (c= 0,9 en cloroformo) y una actividad de $4,54 \cdot 10^6$ dpm/mM. Moles de benzoilo (carbonilo-¹⁴C) por mol de sustancia: 1,03.

1,3,4,6-Tetra-O-benzoil-2-O-benzoil (Carbonilo-¹⁴C)- α -D-manosa

Se fundieron 3,30 g de metil 2-O-benzoil (carbonilo-¹⁴C)-3-O-benzoilo-4,6-etiliden- α -D-manósido (actividad: $2,55 \cdot 10^5$ dpm/mM), 0,80 g de cloruro de cinc, 13,00 g de anhídrido benzoico y 5,72 g de ácido benzoico.

Se obtuvieron 3,49 g (rendimiento: 65%) del producto de p.f.: 152-153°, $[\alpha]_D^{23} -13,5$ (c= 1,1 en cloroformo) y una actividad de $2,57 \cdot 10^6$ dpm/mM.

Moles de benzoilo (carbonilo-¹⁴C) por mol de sustancia: 0,96. (Actividad del ácido benzoico utilizado en la síntesis original $2,60 \cdot 10^6$ dpm/mM).

1,4,6-Tri-O-benzoil-2,3-di-O-benzoil (Carbonilo-¹⁴C)- α -D-manosa

Por fusión de 1 g de metil 2,3-di-O-benzoil (carbonilo-¹⁴C)-4,6-O-etiliden- α -D-manósido (actividad: $5,32 \cdot 10^6$ dpm/mM) con 0,41 g de cloruro de cinc, 4,30 g de anhídrido benzoico y 2,15 g de ácido benzoico, se obtuvieron 0,71 g (rendimiento: 43%) de p.f.: 152-153°, $[\alpha]_D^{21} -13,3$ (c= 0,9 en cloroformo) y una actividad de $5,34 \cdot 10^6$ dpm/mM.

Moles de benzoilo (carbonilo-¹⁴C) por mol de sustancia: 2,00. (Actividad

del ácido benzoico utilizado en la síntesis original: $2,66 \cdot 10^6$ dpm/ml).

1,3,4,6-Tetra-O-benzoil-(Carbonilo- ^{14}C)- α -D-manosa.

Se obtuvo fundiendo 2,25 g de metil-2-O-benzoil (carbonilo- ^{14}C)-4,6-O-etiliden- α -D-manósido (actividad: $2,57 \cdot 10^6$ dpm/ml) con 0,95 g de cloruro de cinc, 9,80 g de anhídrido benzoico y 5,30 g de ácido benzoico. Se obtuvieron 0,73 g (rendimiento: 18%) de p.f.: 152-153°, $[\alpha]_D^{25} -13,5$ (c= 0,9 en cloroformo) y una actividad de $2,63 \cdot 10^6$ dpm/ml. Moles de benzoilo (carbonilo- ^{14}C) por mol de sustancia: 1,01. (Actividad del ácido benzoico original: $2,60 \cdot 10^6$ dpm/ml).

1,4,6-Tri-O-benzoil (Carbonilo- ^{14}C)-2,3-di-O-benzoil- α -D-manosa

Se obtuvo fundiendo 0,37 g de metil 2,3-di-O-benzoil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido con 0,36 g de cloruro de cinc, 3,96 g de anhídrido benzoico (carbonilo- ^{14}C) (actividad: $1,19 \cdot 10^7$ dpm/ml) y 1,90 g de ácido benzoico de la misma actividad. La preparación rindió 0,70 g (rendimiento: 50%) del producto de p.f.: 152-153°, $[\alpha]_D^{25} -17,9$ (c= 1,2 en cloroformo) y una actividad de $3,53 \cdot 10^7$ dpm/ml. Moles de benzoilo (carbonilo- ^{14}C) por mol de sustancia: 3,02. (La actividad del anhídrido benzoico corresponde a la actividad del ácido benzoico obtenido por hidrólisis del mismo).

2,3,4-Tri-O-benzoil (Carbonilo- ^{14}C)-1,6-di-O-benzoil- α -D-manosa

Se preparó por fusión de 3,13 g de metil 2,3,4-tri-O-benzoil (carbonilo- ^{14}C)-6-O-benzoil- α -D-manósido (actividad: $1,33 \cdot 10^7$ dpm/ml) con 0,51 g de cloruro de cinc, 6 g de anhídrido benzoico y 3 g de ácido benzoico.

Se obtuvieron 2,15 g (rendimiento 30% del producto de p.f.:

152-153°, $[\alpha]_D^{25}$ -18,5 (c= 1,0 en cloroformo) y una actividad de $1,34 \cdot 10^7$ dpm/mM.

Moles de benzoílo (carbonilo- ^{14}C) por mol de sustancia: 3,03 (Actividad del ácido benzoico utilizado en la síntesis de los precursores: $4,41 \cdot 10^6$ dpm/mM).

1,2,3,4-Tetra-O-benzoíl- β -O-benzoíl (Carbonilo- ^{14}C)- α -D-manosa

Se fundieron 1,90 g de metil 2,3,4-tri-O-benzoíl- β -O-benzoíl (carbonilo- ^{14}C)- α -D-manósido (actividad: $4,54 \cdot 10^6$ dpm/mM) con 0,32 g de cloruro de cinc, 3,73 g de anhídrido benzoico y 1,39 g de ácido benzoico.

Se obtuvieron 1,31 g (rendimiento: 61%) de p.f.: 152-153°, $[\alpha]_D^{23}$ -13,1 (c= 1,1 en cloroformo) y una actividad de $4,53 \cdot 10^6$ dpm/mM. Moles de benzoílo (carbonilo- ^{14}C) por mol de sustancia: 0,98 (Actividad del ácido benzoico utilizado en la síntesis de los precursores: $4,41 \cdot 10^6$ dpm/mM).

1,4,6-Tri-O-benzoíl (Carbonilo- ^{14}C)-2,3-di-O-benzoíl- α -D-manosa

Fusión con mezcla benzoilante no radiactiva

Se fundieron 1,27 g de 1,4,6-tri-O-benzoíl (carbonilo- ^{14}C)-2,3-di-O-benzoíl- α -D-manosa (actividad: $1,30 \cdot 10^5$ dpm/mM) con 0,39 g de cloruro de cinc, 2,44 g de anhídrido benzoico y 1,15 g de ácido benzoico.

Se obtuvieron 0,35 g (rendimiento: 57%) de p.f.: 152-153°, $[\alpha]_D^{23}$ -18,2 (c= 1,0 en cloroformo) y una actividad de $1,10 \cdot 10^5$ dpm/mM. Moles de benzoílo (carbonilo- ^{14}C) por mol de sustancia: 2,54.

Metil-tetra-O-benzoíl (Carbonilo- ^{14}C)- α -D-manósido

Se disolvieron 1,5 g de metil- α -D-manósido en 20 ml de piridina anhidra y se agregaron 4,5 ml de cloruro de benzoílo

(carbonilo- ^{14}C) de una actividad de $2,62 \cdot 10^6$ dpm/mM.

Se obtuvieron 4,3 g (rendimiento: 89%) de p.f. 134-135°

$[\alpha]_D^{25} +67,1$ ($c= 1,0$ en cloroformo) y una actividad de $1,04 \cdot 10^7$ dpm/mM.

Moles de benzóilo (carbonilo- ^{14}C) por mol de sustancia: 3,93.

2,3,4,6-tetra-O-benzóil (Carbonilo- ^{14}C)-1-O-benzóil- α -D-manosa

Por fusión de 4,0 g del producto anterior (actividad: $1,04 \cdot 10^7$ dpm/mM) con 0,66 g de cloruro de cinc, 8 g de anhídrido benzoico y 3,3 g de ácido benzoico, se obtuvieron 3,1 g (rendimiento: 67%) de p.f.: 152-153°, $[\alpha]_D^{25} -13,3$ ($c= 1,0$ en cloroformo) y una actividad de $1,05 \cdot 10^7$ dpm/mM.

Moles de benzóilo (carbonilo- ^{14}C) por mol de sustancia: 4,02.

REACCIONES DE FUSION

Todas las reacciones de fusión que se detallan a continuación se han realizado adaptando la técnica empleada por Hudson y col. (1950) para la preparación de penta-O-benzoíl-hexosas a partir de metil-tetra-O-benzoíl-hexosas.

Penta-O-benzoíl- α -D-manopiranososa

Una mezcla de 0,66 g de cloruro de cinc recién fundido, 3 g de anhídrido benzoico y 4 g de ácido benzoico se calentó bajo condiciones anhidras a 145° hasta que se homogeneizó por fusión. Se enfrió a 100° y se agregaron 4 g de metil-tetra-O-benzoíl- α -D-manósido, continuándose el calentamiento a esa temperatura durante 3 horas. Se enfrió entonces a temperatura ambiente, se agregaron 27 ml de una mezcla piridina-agua (2:1) y la solución se calentó a 100° durante 20 minutos. Luego se volcó sobre 200 ml de agua y el jarabe formado se disolvió nuevamente en piridina-agua, reprecipitándolo con agua en exceso. El residuo se disolvió en 10 ml de alcohol absoluto a ebullición, se decoloró y se filtró en caliente. Por enfriamiento de la solución cristalizó un producto de p.f.: 146-149°. Luego de dos recristalizaciones más del mismo solvente, se obtuvieron 2,53 g rendimiento: 56%) de p.f.: 152-153°, $[\alpha]_D^{25} -13,5$ (c= 1,3 en cloroformo). Hudson y col. (1950) dan para esta sustancia p.f.: 152-153°, $[\alpha]_D -13,3$.

Penta-O-benzoíl- α -D-manopiranososa a partir de metil 2,3-di-O-benzoíl-4,6-O-etiliden- α -D-manósido

Una mezcla de 0,43 g de cloruro de cinc recién fundido, 4,32 g de anhídrido benzoico y 2,2 g de ácido benzoico, se calentó en condiciones anhidras a 145°; cuando se homogeneizó, se dejó enfriar a 100° y entonces se

agregaron 1,10 g de metil 2,3-di-O-benzoil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido y se continuó el calentamiento a esa temperatura durante 3 horas. Se enfrió a temperatura ambiente, se agregaron 30 ml de una mezcla piridina-agua (2:1) y la solución se calentó a 110° durante 20 minutos.

Luego se volcó sobre 200 ml de agua helada y se obtuvo un jarabe oscuro que se dejó sedimentar durante la noche. Se decantó la capa acuosa y el jarabe denso se disolvió en 20 ml de piridina, reprecipitándose por agregado de 250 ml de agua. El residuo se disolvió en 7 ml de etanol absoluto a ebullición y se decoloró. De la solución cristalizaron 0,32 g (rendimiento: 43%) de p.f.: 146-149°. Después de dos recristalizaciones con 25 ml de acetona-metanol (1:5) y de una tercera con 20 ml de etanol absoluto se obtuvieron 0,73 g (rendimiento: 38%) de p.f.: 152-153°, $[\alpha]_D^{19} -18,5$ (c= 1,2 en cloroformo).

Penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa a partir de metil 4,6-O-etiliden- α -D-manósido

Una mezcla de 0,39 g de cloruro de cinc, 4,3 g de anhídrido benzoico y 2,2 g de ácido benzoico, se calentó gradualmente a 145° hasta que se homogeneizó, se enfrió a 100° y se agregaron 1,02 g de metil 4,6-O-etiliden- α -D-manósido. Se continuó calentando a esa temperatura durante 3 horas. Se enfrió a temperatura ambiente, se agregaron 30 ml de una mezcla piridina-agua (2:1) y se calentó a 110° durante 30 minutos. Se volcó sobre 200 ml de agua helada y se obtuvo un jarabe oscuro que se dejó sedimentar por la noche. El residuo se disolvió en 20 ml de piridina y se precipitó con 200 ml de agua. Se decantó el agua y el jarabe se disolvió en 8 ml de etanol absoluto a ebullición y se decoloró. De la solución por enfriamiento cristalizaron 0,45 g del producto de p.f.: 145-149°. Luego de recristalizar dos veces de acetona-metanol (1:5) y una de etanol absoluto se obtuvieron 0,30 g (rendimiento: 9,9%) de p.f.: 152-153°, $[\alpha]_D^{25} -18,1$ (c= 1,1 en cloroformo).

Penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa a partir de metil 2-O-benzoil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido

Una mezcla de 0,21 g de cloruro de cinc recién fundido, 2 g de anhídrido benzoico y 1,10 g de ácido benzoico se calentó bajo las condiciones habituales a 145° hasta homogeneización. Se enfrió a 100° y se agregaron 0,46 g de metil 2-O-benzoil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido. Se continuó el calentamiento a la misma temperatura durante 3 horas, se dejó enfriar a temperatura ambiente, se agregaron 15 ml de una mezcla piridina-agua (2:1) y la solución se calentó a 100° durante 20 minutos. Se volcó sobre 150 ml de agua separándose un jarabe oscuro que se redisolvió en piridina y se reprecipitó con agua en exceso.

El residuo se disolvió en etanol absoluto a ebullición, se decoloró y se filtró en caliente. Del filtrado por enfriamiento cristalizó un producto de p.f.: 147-149°. Luego de dos recristalizaciones más del mismo solvente se obtuvieron 0,11 g (rendimiento: 12%) de p.f.: 152-153°, $[\alpha]_D^{20} -18,4$ (c= 1,1 en cloroformo).

Penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa a partir de metil 2,3:4,6-di-O-etiliden- α -D-manósido

0,70 g de cloruro de cinc recién fundido, 8,20 g de anhídrido benzoico y 3,90 g de ácido benzoico se fundieron en la forma habitual a 145°. Se enfrió la mezcla benzoilante a 100° y se agregaron 1,20 g de metil 2,3:4,6-di-O-etiliden- α -D-manósido. Se continuó el calentamiento a esa temperatura durante 3 horas y luego se efectuaron las mismas operaciones que se detallaron en las fusiones anteriores. Se obtuvieron 0,30 g (rendimiento: 3%) de p.f.: 152-153°, $[\alpha]_D^{21} -17,7$ (c= 1,2 en cloroformo).

Metil tetra-O-benzoil- α -D-manopiranosido a partir de metil 2,3:4,6-di-O-etiliden- α -D-manósido

Una mezcla de 0,03 g de cloruro de cinc recién fundido, 3,96 g de anhídrido benzoico y 2,23 g de ácido benzoico, se calentó gradualmente a 145° hasta fusión homogénea. Se enfrió a 100° y se agregaron 0,79 g de metil 2,3:4,6-di-O-etiliden- α -D-manósido. Se continuó calentando a esa temperatura durante 3 horas. Se enfrió a temperatura ambiente. Luego se agregaron 20 ml de una mezcla piridina-agua (2:1).

La solución se reflujo a 100° un período de 20 minutos y luego se volcó sobre 100 ml de agua helada.

Se separó un jarabe oscuro que se disolvió en 10 ml de piridina y se reprecipitó con agua. Se dejó sedimentar durante la noche, se decantó el agua y el residuo se disolvió en 12 ml de etanol a ebullición; esta solución se decoloró y filtró. Por enfriamiento del filtrado cristalizó un producto que recristalizado dos veces más del mismo solvente dio 0,15 g (rendimiento: 3,4%) de p.f.: 134-135°, $[\alpha]_D^{23} +65,7$ (c= 1,1 en cloroformo). Hudson y col. (1950) dan para esta sustancia p.f.: 134-135°, $[\alpha]_D^{20} +65,2$.

Metil tetra-O-benzoil- α -D-manopiranosido a partir de metil 2,3-di-O-benzoil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido

Una mezcla de 0,04 g de cloruro de cinc recién fundido con 2,12 g de anhídrido benzoico y 1,07 g de ácido benzoico se calentó gradualmente a 145° hasta fusión homogénea. Se enfrió a 100° y se agregaron 0,57 g de metil 2,3-di-O-benzoil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido; se mantuvo a esa temperatura durante 3 horas. Se enfrió a temperatura ambiente. Se agregaron 10 ml de una mezcla piridina-agua (2:1). La solución se reflujo a 110° durante 20 minutos. Se volcó sobre 200 ml de agua helada y se obtuvo un jarabe que se dejó sedimentar durante la noche. Se decantó el agua y el residuo se disolvió en 13 ml de etanol a ebullición, se decoloró con carbón y

se filtró en caliente. Del filtrado, por enfriamiento cristalizaron 0,09 g (rendimiento: 6,4%) de p.f.: 129-133°. Luego de dos recrystalizaciones más del mismo solvente el producto fundió 134-135°, $[\alpha]_D^{25} +65,3$ (c= 0,9 en cloroformo).

Metil 2,3-di-O-benzoíl-4,6-O-etiliden- α -D-manósido. Fusión sin emplear cloruro de cinc

Una mezcla de 4,50 g de anhídrido benzoico y 2,56 g de ácido benzoico se calentó lentamente a 120° hasta fusión homogénea. Se enfrió a 100° y se agregaron 0,93 g de metil 2,3-di-O-benzoíl-4,6-O-etiliden- α -D-manósido. Se continuó calentando durante 3 horas a la misma temperatura, agitando ocasionalmente. Se enfrió a temperatura ambiente. Luego se agregaron 30 ml de una mezcla piridina-agua (2:1), se reflujo la solución durante 20 minutos y se volcó la misma sobre 150 ml de agua helada.

El residuo se disolvió en etanol absoluto a ebullición y por enfriamiento cristalizó un producto de p.f.: 95-99°. Luego de una recrystalización más del mismo solvente se obtuvieron 0,69 g (rendimiento: 79%) de p.f.: 102-103°, $[\alpha]_D^{23} -83,7$ (c= 1,1 en cloroformo).

Estas constantes físicas corresponden a las del producto de partida. Lezerovich (1952) determinó para la misma sustancia p.f.: 102-103°, $[\alpha]_D -84,6$.

Metil tetra-O-benzoíl- α -D-manopiranosido a partir de metil 2,3,4-tri-O-benzoíl-6-O-tritil- α -D-manósido

Una mezcla de 0,23 g de cloruro de cinc recién fundido, 4,66 g de anhídrido benzoico y 2,30 g de ácido benzoico, se calentó gradualmente a 145° hasta fusión homogénea. Se enfrió a 100° y se agregaron 1,40 g de metil 2,3,4-tri-O-benzoíl-6-O-tritil- α -D-manósido. Se continuó calentando a esa temperatura durante 3 horas. Se enfrió a temperatura ambiente y luego se

agregaron 20 ml de una mezcla piridina-agua (2:1).

La solución se reflujo a 100° durante 20 minutos y luego se volcó sobre 200 ml de agua helada. Se separó un jarabe incoloro que se disolvió en 15 ml de piridina y se reprecipitó agregando agua en exceso. El residuo se lavó varias veces con agua y luego se disolvió en etanol absoluto a ebullición, por enfriamiento de la solución cristalizó un producto de p.f.: 127-130°. Luego de dos recristalizaciones más del mismo solvente, se obtuvieron 0,59 g (rendimiento: 52%) de p.f.: 134-135°, $[\alpha]_D^{24} +65,3$ (c= 0,8 en cloroformo).

Estos datos coinciden con los determinados anteriormente para el mismo producto.

AMONOLISIS DE PENTA-O-BENZOIL-- α -D-MANOSA

Todas las reacciones de penta-O-benzoil- α -D-manosas radioactivas se llevaron a cabo suspendiendo 9 g del producto a amonolizar en 250 ml de metanol amoniacoal 10%, agitando mecánicamente hasta total disolución (aproximadamente 1 hora). Se abandonó luego la solución a temperatura ambiente, durante 12 horas y se evaporó el solvente. El secado se completó en desecador durante la noche. El residuo se disolvió en etanol a ebullición y por enfriamiento cristalizó 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol. Luego de dos recrystalizaciones más del mismo solvente, se obtenía el producto de p.f.: 225-226° y $[\alpha]_D^{25} +3,4$ (c= 0,6 en piridina). Esta sustancia fue preparada por primera vez por Brigl y col. (1931), quienes determinaron para la misma p.f.: 226° y $[\alpha]_D +3,6$.

Las aguas madres de separar los cristales anteriores, abandonadas a temperatura ambiente durante 72 horas, rindieron otro producto cristalino que, recrystalizado tres veces de etanol acuoso 70%, se identificó como N-benzoil-D-manopiranosilamina de p.f.: 253-254° y $[\alpha]_D^{25} +6,4$ (c= 0,5 en piridina).

Brigl y col. dan para esta sustancia p.f.: 254° pero no describen el poder rotatorio. Deulofeu y col. (1957) dan p.f.: 253-254° y $[\alpha]_D +6,3$.

Como puede observarse al describir las reacciones de amonólisis, en todas las operaciones realizadas, los puntos de fusión y poderes rotatorios de los productos de reacción son coincidentes con los mencionados anteriormente. Las penta-O-benzoil- α -D-manosas radioactivas empleadas se diluyeron isotópicamente con producto inactivo hasta lograr actividades moderadas y, al mismo tiempo, aumentar la masa del producto que se amonolizaba.

En las reacciones de amonólisis que se describen a continuación se detallan, para cada una de las experiencias individuales, las medidas de actividades molares de los sustratos y de los productos de reacción.

Amonólisis de 1,3,4,6-Tetra-O-benzoil-2-O-benzoil (Carbonilo-¹⁴C)- α -D-manosa

La 1,3,4,6-tetra-O-benzoil-2-O-benzoil (carbonilo-¹⁴C)- α -D-manosa (obtenida por fusión de metil 2-O-benzoil (carbonilo-¹⁴C)-3-O-benzoil-4,6-O-etiliden- α -D-manósido) de p.f.: 152-153°, $[\alpha]_D^{23}$ -18,2 y una actividad de $1,5 \cdot 10^5$ dpm/mM, se amonolizó según la técnica general descripta.

Se obtuvieron 1,20 g (rendimiento 23%) de p.f.: 225-226°, $[\alpha]_D^{23}$ +3,8 (c= 0,4) y una actividad de $3,84 \cdot 10^4$ dpm/mM.

De N-benzoil-D-manopiranosilamina se obtuvieron 0,32 g (rendimiento 7,8%) de p.f.: 253-254°, $[\alpha]_D^{25}$ +6,1 (c= 0,6) y una actividad de $2,22 \cdot 10^4$ dpm/mM.

Amonólisis de 1,3,4,6-tetra-O-benzoil-2-O-benzoil (carbonilo-¹⁴C)- α -D-manosa

La 1,3,4,6-tetra-O-benzoil-2-O-benzoil (carbonilo-¹⁴C)- α -D-manosa (preparada por fusión de metil 2-O-benzoil (carbonilo-¹⁴C)-4,6-O-etiliden- α -D-manósido) de p.f.: 152-153°, $[\alpha]_D^{24}$ -18,4 (c= 0,5) y actividad $3,43 \cdot 10^4$ dpm/mM; se amonolizó siguiendo la técnica habitual. Se obtuvieron 1,21 g (rendimiento: 23%) de 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol; p.f. 225-226°, $[\alpha]_D^{22}$ +3,3 (c= 0,6) y una actividad de $3,43 \cdot 10^3$ dpm/mM.

De N-benzoil-D-manopiranosilamina se obtuvieron 0,30 g (rendimiento: 7%) de p.f.: 253-254°, $[\alpha]_D^{24}$ +6,3 (c= 0,4) y una actividad

de $5,10 \cdot 10^3$ dpm/mM.

Amonólisis de 1,4,6-tri-O-benzoil-2,3-di-O-benzoil (Carbonilo- ^{14}C)- α -D-manosa

La amonólisis de 1,4,6-tri-O-benzoil-2,3-di-O-benzoil (carbonilo- ^{14}C)- α -D-manosa de p.f.: 152-153°, $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -13,5 y una actividad de $1,13 \cdot 10^5$ dpm/ml, se realizó por el procedimiento habitual.

Se obtuvieron 1,30 g (rendimiento: 25%) de 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol; p.f.: 225-226°, $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ +5,9 (c= 0,5) y una actividad de $5,86 \cdot 10^4$ dpm/ml.

De N-benzoil-D-manopiranosilamina se obtuvieron 0,30 g (rendimiento: 7%) de p.f.: 253-254°, $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ +5,9 (c= 0,4) y se determinaron $4,36 \cdot 10^4$ dpm/ml.

Amonólisis de 1,4,6-tri-O-benzoil (Carbonilo- ^{14}C)-2,3-di-O-benzoil- α -D-manosa

La 1,4,6-tri-O-benzoil (carbonilo- ^{14}C)-2,3-di-O-benzoil- α -D-manosa de p.f.: 152-153°, $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -17,8 y una actividad de $6,03 \cdot 10^5$ dpm/mM se amonolizó de acuerdo con la técnica descrita. Se obtuvieron 1,31 g (rendimiento: 25%) de 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol de p.f.: 225-226°, $[\alpha]_{\text{D}}^{23}$ +3,7 (c= 0,4) y una actividad de $2,08 \cdot 10^5$ dpm/ml.

De N-benzoil-D-manopiranosilamina se obtuvieron 0,32 g (rendimiento: 7,8%); p.f.: 253-254°, $[\alpha]_{\text{D}}^{21}$ + 3,1 (c= 0,3), actividad $4,73 \cdot 10^4$ dpm/ml.

Amonólisis de 1,2,3,4-tetra-O-benzoil-6-O-benzoil (Carbonilo- ^{14}C)- α -D-manosa

Por amonólisis de 1,2,3,4-tetra-O-benzoil-6-O-benzoil (carbonilo- ^{14}C)- α -D-manosa de p.f.: 152-153°, $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -13,2 y una actividad

de $3,67 \cdot 10^5$ dpm/mM, se obtuvieron 1,15 g de 1,1-bis(benzamido)-D-desoxi-D-manitol (rendimiento: 21,3%) de p.f.: 225-226°, $[\alpha]_D^{20} +3,5$ (c= 0,4) y una actividad de $1,02 \cdot 10^5$ dpm/ml.

De N-benzoil-D-manopiranosilamina se obtuvieron 0,39 g (rendimiento: 9,5%) de p.f.: 253-254°, $[\alpha]_D^{20} +6,2$ (c= 0,5) y una actividad de $9,99 \cdot 10^3$ dpm/mM.

Amonólisis de 2,3,4-tri-O-benzoil (Carbonilo-¹⁴C)-1,6-di-O-benzoil- α -D-manosa

Por amonólisis de 2,3,4-tri-O-benzoil (carbonilo-¹⁴C)-1,6-di-O-benzoil- α -D-manosa de p.f.: 152-153°, $[\alpha]_D^{21} -18,6$ y una actividad de $3,07 \cdot 10^5$ dpm/mM, se obtuvieron 1,3 g de 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol (rendimiento: 25%) de p.f.: 225-226°, $[\alpha]_D^{23} +3,3$ (c= 0,5) y una actividad de $4,63 \cdot 10^5$ dpm/mM.

De N-benzoil-D-manopiranosilamina se obtuvieron 0,34 g (rendimiento: 8%) de p.f.: 253-254°, $[\alpha]_D^{20} +6,1$ (c= 0,5).

RESUMEN

- 1- Las penta-O-benzoil- α -D-manopiranosas selectivamente marcadas con benzoílo (carbonilo-¹⁴C), se prepararon mediante benzoilación por fusión de derivados de metil- α -D-manopiranosidos parcial o totalmente benzoilados. Esta reacción, permitió reemplazar grupos metilo, tritilo y/o etiliden por benzoílos con rendimientos aceptables. Se propuso una interpretación mecanística de la misma.
- 2- Se demostró la ausencia de migraciones intramoleculares del tipo O \rightarrow O de los grupos benzoílos en la reacción de fusión.
- 3- Se comprobó que el grupo 1-O-benzoílo de la penta-O-benzoil- α -D-manopiranososa intercambia con los benzoílos presentes en el medio de reacción durante la fusión benzoilante. Bajo condiciones análogas no se observó intercambio de los grupos benzoiloxi de los carbonos restantes (C-2, C-3, C-4, C-6).
- 4- Se efectuó un estudio detallado de las conformaciones preferenciales de los derivados manopiranosícos.
- 5- Se discutieron los mecanismos propuestos por otros autores, para explicar en la amonólisis metanólica de acil derivados de monosacáridos, la formación de N-acil-glicosilaminas y 1,1-bis(acilamido)-1-desoxi-polioles.
- 6- Se determinaron las contribuciones individuales aparentes de los grupos benzoílos de la penta-C-benzoil- α -D-manopiranososa, a la formación de 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol y N-benzoil-D-manopiranosilamina, siendo los valores determinados para esta última, los primeros que se establecen para una N-acil-glicosilamina.
- 7- En base a los valores de contribución obtenidos y a los mecanismos considerados se postuló la existencia de un intermediario común, a partir del cual, se formarían N-benzoil-D-manopiranosilamina y 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol.
- 8- Los valores de contribución de los distintos grupos benzoílo a la formación

de D-manosa-dibenzamida se correlacionaron con los obtenidos respectivamente por otros autores para D-glucosa-dibenzamida, D-galactosa-dibenzamida y L-arabinosa-dibenzamida.

- 9- Se propuso una interpretación para explicar la mayor contribución relativa, del grupo 2-O-benzoílo de la penta-O-benzoíl- α -D-manopiranosas, respecto a las contribuciones de los benzoiloxi en el carbono análogo de los derivados piranósicos benzoilados de D-glucosa, D-galactosa y L-arabinosa, a la formación de la aldosa-diamida respectiva.
- 10- Se prepararon las siguientes sustancias no descritas en la literatura:
- a- Metil-2-O-benzoíl-3-O-nitro-4,5-O-etiliden- α -D-manósido.
 - b- Metil-2-O-benzoíl-4,6-O-etiliden- α -D-manósido.
 - c- Metil-2,3-di-O-benzoíl-4,6-O-etiliden- α -D-manósido.
 - d- Metil-2-O-benzoíl(carbonilo- ^{14}C)-3-O-nitro-4,6-O-etiliden- α -D-manósido.
 - e- Metil-2-O-benzoíl(carbonilo- ^{14}C)-4,6-O-etiliden- α -D-manósido.
 - f- Metil-2-O-benzoíl(carbonilo- ^{14}C)-3-O-benzoíl-4,6-O-etiliden- α -D-manósido.
 - g- Metil-2,3-di-O-benzoíl(carbonilo- ^{14}C)-4,6-O-etiliden- α -D-manósido.
 - h- Metil-2,3,4-tri-O-benzoíl(carbonilo- ^{14}C)-6-O-tritil- α -D-manósido.
 - i- Metil-2,3,4-tri-O-benzoíl(carbonilo- ^{14}C)-6-O-benzoíl- α -D-manósido.
 - j- Metil-2,3,4-tri-O-benzoíl-5-O-benzoíl(carbonilo- ^{14}C)- α -D-manósido,
 - k- Metil-tetra-O-benzoíl(carbonilo- ^{14}C)- α -D-manósido.
 - l- 1,3,4,6-tetra-O-benzoíl-2-O-benzoíl(carbonilo- ^{14}C)- α -D-manosa.
 - m- 1,4,6-tri-O-benzoíl-2,3-di-O-benzoíl(carbonilo- ^{14}C)- α -D-manosa.
 - n- 1,4,6-tri-O-benzoíl(carbonilo- ^{14}C)-2,3-di-O-benzoíl- α -D-manosa.
 - ñ- 2,3,4-tri-O-benzoíl(carbonilo- ^{14}C)-1,6-di-O-benzoíl- α -D-manosa.
 - o- 1,2,3,4-tetra-O-benzoíl-6-O-benzoíl(carbonilo- ^{14}C)- α -D-manosa.
 - p- 2,3,4,6-tetra-O-benzoíl(carbonilo- ^{14}C)-1-O-benzoíl- α -D-manosa.

m

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- Angyal S.J. "Conformational Analysis" (Eliel), New York (1965), pag. 351. Interscience Division, J. Wiley & Sons ed.
- 2- Angyal S.J. (1965a), Australian J.Sci., 28, 173.
- 3- Angyal S.J. y Mc Hugh D.J. (1966), Chem.Ind. (London), 1147.
- 4- Aspinall G.O. y Zweifel G. (1957), J.Chem.Soc., 2271.
- 5- Baillie L.A. (1959), Intern.J.Appl.Radiation and Isotopes, 8, 1.;
- 6- Belder A.N.de (1965), Advan.Carbohyd.Chem., 20, 233.
- 7- Bell (Jr.) C.G. y Newton Hayes F. (1958), Pergamon Press, 3, 22.
- 8- Bertho A. y Maier J. (1932), Ann., 495, 113.
- 9- Bhacca N.S., Horton D. y Paulsen H. (1968), J.Org.Chem., 33, 2484.
- 10- Blackburn G.M. y Jenks W.P. (1938), J.Am.Chem.Soc., 90, 2638.
- 11- Brigl P., Mühlischlegel H. y Schinle R. (1931), Ber., 64, 2921.
- 12- Brigl P. y Grüner H. (1932), Ber., 65, 641.
- 13- Brigl P. y Zerrweck W. (1933), Ber., 66, 936.
- 14- Bunnett J.F. y Davis G.T. (1960), J.Am.Chem.Soc., 82, 665.
- 15- Cadotte J.E., Smith F. y Priestersbach D. (1952), J.Am.Chem.Soc., 74, 1501.
- 16- Capon B. y Thacker D. (1965), J.Am.Chem.Soc., 87, 4199.
- 17- Capon B. y Thacker D. (1967), J.Chem.Soc. (B), 1322.
- 18- Cavell E.A.S., Chapman N.B. y Johnson M.D. (1960), J.Chem.Soc., 1413.
- 19- Delpy S.M. (1962), Tesis Fac.Ciencias Exactas y Nat.
- 20- Del Re G. (1958), J.Chem.Soc , 4031.

- 21- Deulofeu V. y Deferrari J.O. (1950), Anal.Asoc.Quím.Arg., 38, 241.
- 22- Deulofeu V. y Deferrari J.O. (1952), J.Org.Chem., 17, 1007.
- 23- Deulofeu V. y Deferrari J.O. (1957), J.Org.Chem., 22, 802.
- 24- Deulofeu V., Gros E.G. y Lezerovich A. (1964), Anales Real Españ.Fís.Quím., (Madrid) LX (B), 157.
- 25- Edward J.T. (1955), Chem.Ind. (London), 1102.
- 26- Eliel E.L., Hansburstock H. y Acharya R.V. (1961), J.Am.Chem.Soc., 83, 2351.
- 27- Erwig E. y Koenigs W. (1859), Ber., 22, 1464.
- 28- Faires R.A. y Parks B.H. (1958), "Radioisotopes Laboratory Techniques", G.Newnes Ltda. (London), 154-155.
- 29- Ferrier R.J. y Hatton L.R. (1968), Carbohydr.Res., 6, 75.
- 30- Gordon M., Miller J.G. y Day A.R. (1948), J.Am.Chem.Soc., 70, 1945.
- 31- Gordon M., Miller J.G. y Day A.R. (1949), J.Am.Chem.Soc., 71, 1245.
- 32- Gros E.G. (1960), Tesis Fac.Ciencias Exactas y Nat.
- 33- Gros E.G., Ondetti M.A., Sproviero J.F., Deulofeu V. y Deferrari J.O. (1962), J.Org.Chem., 27, 924.
- 34- Gros E.G., Lezerovich A., Recondo E.F., Deulofeu V. y Deferrari J.O. (1962a), Anal.Asoc.Quím.Arg., 50, 3.
- 35- Gros E.G. y Deulofeu V. (1964), J.Org.Chem., 29, 3647.
- 36- Hansen R.G., Craine E.M. y Gray P. (1954), J.Biol.Chem., 208, 293.
- 37- Hassel O. y Ottar B. (1947), Acta Chem.Scand., 1, 929.
- 38- Helferich B. y Mitrowsky A. (1952), Ber., 85, 1.
- 39- Hellmann H. y Opitz G. (1936), Angew.Chem., 68, 265.
- 40- Hockett R.C., Deulofeu V. y Deferrari J.O. (1950), J.Am.Chem.Soc., 72, 1840.

- 41- Honeyman J. y Morgan J.W. (1954), J.Chem.Soc., 744.
- 42- Honeyman J. y Stoning T. (1957), J.Chem.Soc., 2270.
- 43- Hudson C.S., Haskins W.T. y Hann R.M. (1946), J.Am.Chem.Soc., 68, 628.
- 44- Hudson C.S., Ness R.K. y Fletcher (Jr.) H.G. (1950), J.Am.Chem.Soc., 72,; 2200.
- 45- Isbell H.S. y Frush H. (1949), J.Am.Chem.Soc., 71, 1579.
- 46- Isbell H.S. y Frush H. (1951), J.Res.Nat.Bur.Standards, 46, 132 y 47, 239.
- 47- Isbell H.S. y Frush H. (1958), J.Org.Chem., 23, 1309.
- 48- Jarret A.A. (1951), U.S.At.Energy-Comm. N.A.A.-S-R, 3972,15.
- 49- Jenks W.P. (1964), Progr,Phys.Org.Chem., 2, 63.
- 50-Kallman K. (1950), Phys.Rev., 78, 321.
- 51- Kelly R.B. (1957), Can.J.Chem., 35, 149.
- 52- Kitaygorodsky A.I. (1961), Tetrahedron,14, 230.
- 53- Lemieux R.U. y Brice C. (1952), Can.J.Chem., 30, 295.
- 54- Lemieux R.U. y Brice C. (1955), Can.J.Chem., 33, 109.
- 55- Lemieux R.U. y Huber G. (1955a), Can.J.Chem., 33, 126.
- 56- Lemieux R.U., Shyluk W.P. y Huber G. (1955b), Can.J.Chem., 33, 148.
- 57- Lemieux R.U. y Chü N.J. (1958), Abstracts of Papers Am.Chem.Soc., 133, 31N.
- 58- Lemieux R.U., Kullnig R.K., Bernstein H.J. y Schneider W.G. (1958), J.Am. Chem.Soc., 80, 6058.
- 59- Lemieux R.U. y Stevens J.D. (1953), Can.J.Chem., 43, 2509.
- 60- Lemieux R.U. y Stevens J.D. (1966), Can.J.Chem., 44, 249.
- 61- Lemieux R.U., "Rearrangements and Isomerisations in Carbohydrate Chemistry", New York (1963), pag. 709, P.de Mayo ed., Interscience Division, J.Wiley & Sons.

- 62- Lezerovich A. (1963), Tesis Fac.Ciencias Exactas y Nat.
- 63- Lindberg B. (1949), Acta Chem.Scand., 3, 1153 y 1350.
- 64- Lindberg B. (1950), Acta Chem.Scand., 4, 1366 y 1446.
- 65- Lindberg B. y Jason J. (1955), Acta Chem.Scand., 14, 877.
- 66- Montgomery E.M., Hann R.M. y Hudson C.S. (1937), J.Am.Chem.Soc., 59, 1124.
- 67- Montgomery E.M., Richtmyer N.K. y Hudson C.S. (1942), J.Am.Chem.Soc., 64, 690.
- 68- Ogata Y. y Kawasaki A. (1964), Tetrahedron, 20, 855.
- 69- Ogata Y. y Kawasaki A. (1964a), J.Org.Chem., 29, 1985.
- 70- Ondetti M.A. (1957), Tesis Fac.Ciencias Exactas y Nat.
- 71- Onodera K., Hirano S., Masuda F. y Kashimura F. (1965), J.Org.Chem., 31, 2403.
- 72- Packard (1969), Technical Bull. Nº 15, Packard Instrument Company Inc.
- 73- Packard (1963), Technical Bull. Nº 1, Packard Instrument Company Inc.
- 74- Packard (1966), "Catalog 100", Instrument for Radioactivity Measurement and Chromatography, Packard Instrument Company Inc.
- 75- Percival E.E., Edington R.A. y Hirst L.E. (1953), J.Chem.Soc., 2281.
- 76- Reeves R.E. (1949), J.Am.Chem.Soc., 71, 215.
- 77- Reeves R.E. (1950), J.Am.Chem.Soc., 72, 1499.
- 78- Reeves R.E. (1951), Advan.Carbohyd.Chem., 6, 107.
- 79- Restelli de Labriola E. y Deulofeu V. (1947), J.Org.Chem., 12, 726.
- 80- Reynolds G.T. (1950), Nucleonics, 6, 68.
- 81- Schlubach H.H., Rauchenberger W. y Schultze A. (1933), Ber., 65, 1246.
- 82- Schmid H. y Banhelzer K. (1954), Helv.Chim.Acta, 37, 1706.

- 83- Smalley R.K. y Suschitzky H. (1964), J.Chem.Soc., 755.
- 84- Sundararajan P.R. y Rao V.S.R. (1968), Tetrahedron, 24, 289.
- 85- Vogel A.I. (1957), "A Text-book of practical .Organic Chemistry", 3rd ed. (London) pag. 163.
- 86- Zhdanov Y., Minkin V.I., Ostroumov A. y Dorofeenko G.N. (1968), Carbohyd. Res., 2, 156.

INDICE

| | <u>Pág.</u> |
|--|-------------|
| CAPITULO I | |
| Introducción | 1 |
| CAPITULO II | |
| Descripción del trabajo realizado | 2 |
| CAPITULO III | |
| Reacciones de fusión | 9 |
| Demostración de la ausencia de intercambio de los grupos benzoiloxi en C-2 C-3, C-4 y C-6 con los benzoílos de la mezcla benzoilante | 14 |
| Interpretación de la reacción de intercambio del grupo benzoiloxi en C-1 | 20 |
| Demostración de la ausencia de migraciones intramoleculares de grupos benzoílos en la reacción de fusión | 21 |
| Mecanismo de sustitución de grupos O-alquilo por O-benzoílo, sobre el carbono anomérico | 26 |
| Mecanismo de sustitución de grupos O-etiliden por O-benzoílos | 29 |
| CAPITULO IV | |
| Análisis conformacional de derivados manopiranosícos. | 30 |
| Factores de inestabilidad conformacional | 31 |
| Cálculos de energía libre conformacional de derivados manopiranosícos | 36 |
| CAPITULO V | |
| Amonólisis de los acilderivados de los monosacáridos. | 41 |

| | <u>Pág.</u> |
|---|-------------|
| Mecanismo de formación de amidas (benzamida o acetamida) | 43 |
| Mecanismo de formación de glicosilaminas | 47 |
| Mecanismo de formación de N-acil-glicosilaminas .. | 49 |
| Resultados de contribución de los grupos benzofílos de la penta-O-benzofíl- α -D-manopiranososa, a la formación de N-benzofíl-1-manopiranosilamina y 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol | 52 |
| Mecanismo de formación de 1,1-bis(acilamino)-1-desoxi-D-poliolios | 54 |
| CAPITULO VI | |
| Interpretación de los resultados | 59 |
| CAPITULO VII | |
| Parte experimental | 64 |
| Mediciones de radioactividad | 75 |
| Cálculo de incorporación de grupos benzofílos (carbonilo- ^{14}C) en la serie de productos radioactivos | 85 |
| Cálculo de errores en las mediciones de radioactividad | 87 |
| Síntesis de productos radioactivos | 90 |
| Reacciones de fusión de productos no radioactivos. | 97 |
| Amonólisis de penta-O-benzofíl- α -D-manopiranosas radiactivas | 103 |
| RESUMEN | 107 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS | 109 |