

Tesis de Posgrado

Preparación del octa-O-acetil-melibionitrilo y del octa-O-benzoil-melibionitrilo y estudio de sus degradaciones según los métodos de Wohl y de Zemplen

Zuazo, Beatriz Noemí

1983

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:

Zuazo, Beatriz Noemí. (1983). Preparación del octa-O-acetil-melibionitrilo y del octa-O-benzoil-melibionitrilo y estudio de sus degradaciones según los métodos de Wohl y de Zemplen. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1790_Zuazo.pdf

Cita tipo Chicago:

Zuazo, Beatriz Noemí. "Preparación del octa-O-acetil-melibionitrilo y del octa-O-benzoil-melibionitrilo y estudio de sus degradaciones según los métodos de Wohl y de Zemplen". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1983.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1790_Zuazo.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

PREPARACION DEL OCTA-O-ACETIL-MELIBIONONITRILO
Y DEL OCTA-O-BENZOIL-MELIBIONONITRILO Y ESTUDIO DE SUS
DEGRADACIONES SEGUN LOS METODOS DE WOHL Y DE ZEMPLER.

BEATRIZ NOEMI ZUAZO

1983.

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

PREPARACION DEL OCTA-O-ACETIL-MELIBIONONITRILO
Y DEL OCTA-O-BENZOIL-MELIBIONONITRILO Y ESTUDIO DE SUS
DEGRADACIONES SEGUN LOS METODOS DE WOHL Y DE ZEMPLER.

BEATRIZ NOEMI ZUAZO

.Tesis presentada para optar al Título de
Doctor en Ciencias Químicas.

1983.

J790
Ej. 2

A mis padres

A mi hijo

A Rolo

Mi profunda gratitud a la Dra. Inge M. E. Thiel, que con su interés, apoyo y constante dedicación hizo posible la culminación de este trabajo y al Dr. Jorge O. Deferrari, quien sugiriera el tema del mismo, por las enseñanzas que de él he recibido.

Agradezco también:

- A la Dra María Elena Gelpi, su ayuda al iniciarme en la investigación y su interés en mi trabajo.
- A la Dra Blanca B. de Deferrari, su apoyo.
- Al Instituto Nacional de Farmacología y Bromatología, la beca otorgada.
- Al UMYMFOR (CONICET-FCEN), los espectros y microanálisis realizados.
- Al Diplom. Chem. A. M. Schüller (Universität Hamburg) por haber realizado los espectros de r.m.p. a 270 y 400 MHz y de r.m.n. ^{13}C del octa-O-benzoíl-melibiononitrilo (XI) y del penta-O-benzoíl-D-glucononitrilo.
- Al Dr Oscar Marzoa, por la muestra de penta-O-benzoíl-D-glucononitrilo.
- A la Dra. Inge M. E. Thiel, por la muestra de penta-O-benzoíl- α -D-galactopiranososa.
- A los compañeros del laboratorio donde se realizó este trabajo, por su interés y apoyo.
- A los profesores, compañeros y demás miembros del Departamento de Química Orgánica, el apoyo brindado.

INTRODUCCION

En la literatura se encuentran varios trabajos sobre la aplicación de la reacción de Wohl a diferentes octa-O-acetil- y octa-O-benzoíl-aldobiosas con unión glicosídica 1→4 y 1→6 y a algunos octa-O-acetil-aldobiononitrilos con unión glicosídica 1→4.

En este trabajo se describe la síntesis del octa-O-acetil-melibiononitrilo y del octa-O-benzoíl-melibiononitrilo, que presentan unión glicosídica 1→6 y la aplicación de la reacción de Wohl a los mismos.

Los diecisiete compuestos originales, cuya síntesis y caracterización se describen aquí, se encuentran enumerados con números romanos (I a XVII).

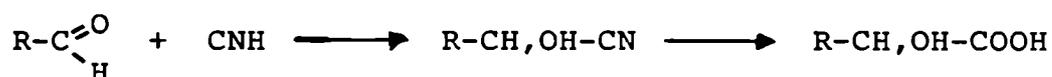
La degradación de los dos nitrilos antes mencionados según el método de Zemplén condujo a la obtención de los azúcares libres esperados.

CAPITULO I

SINTESIS DE NITRILOS

La reacción de una aldosa con cianuro de hidrógeno conduce a una mezcla de los dos posibles epímeros de un nitrilo de un ácido aldónico homólogo superior.

Esta reacción ha sido ampliamente utilizada en el campo de los compuestos carbonílicos, ya que los aldehídos y cetonas reaccionan con el cianuro de hidrógeno formando cianhidrinas, cuya hidrólisis conduce a α -hidroxiácidos.



La aplicación de esta reacción a la síntesis de aldosas produce el alargue de la cadena hidrocarbonada, simultáneamente con la creación de un nuevo centro asimétrico y es conocida con el nombre de síntesis de Kiliani y Fischer.

Los nitrilos de aldosas obtenidos por este método pocas veces se han aislado debido a su extrema solubilidad en agua, y en general son solo intermediarios que usualmente se hidrolizan a los correspondientes hidroxiácidos¹⁻⁴.

Kiliani realizó esta reacción sobre algunas aldosas y cetosas y preparó los siguientes ácidos aldónicos: L-manónico a partir de la L-arabinosa^{3,4}, D-glicero-D-guloheptónico a partir de la D-glucosa⁵, D-glicero-L-manoheptónico a partir de la D-galactosa^{6,7} y 2-C-hidroximetil-D-glucónico a partir de la D-fructosa².

Fischer demostró que la síntesis cianhídrica puede ser utilizada en la preparación de aldosas superiores y estableció las condiciones para llevar a cabo dicha reacción. Las mismas consisten en la reducción de las lactonas de los correspondientes ácidos al-

dónicos con sodio amalgamado⁸.

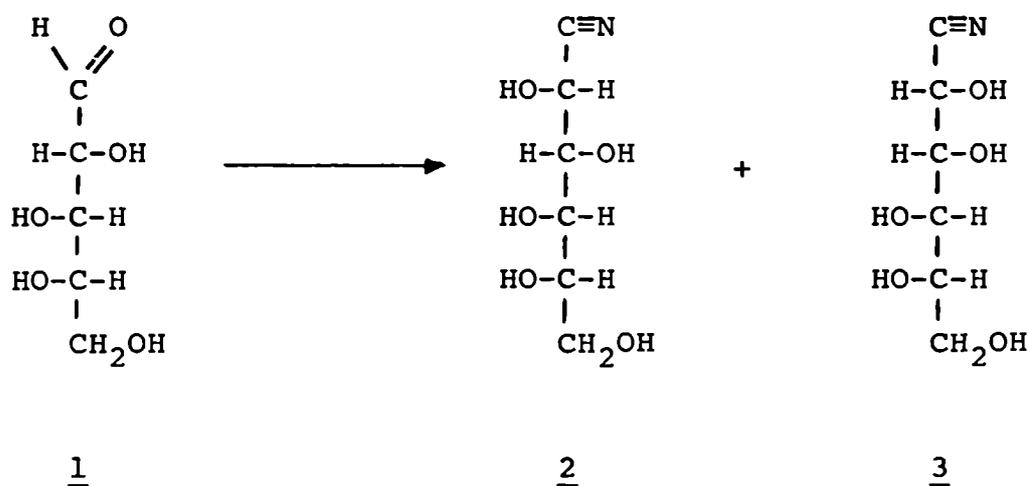
Por aplicación repetida de este método Philippe⁹ logró transformar la D-glucosa en una aldosa de diez átomos de carbono.

La síntesis de cianhidrinas fue estudiada ampliamente por Isbell y col.^{10,11}, quienes la usaron en la preparación de azúcares marcados con ¹⁴C y en la determinación cuantitativa de azúcares reductores.

La preparación de cianhidrinas se llevó a cabo, en un principio, por agregado de ácido cianhídrico a una solución acuosa de la aldosa o cetosa en presencia de una pequeña cantidad de amoníaco^{2-7,12}.

Maltby¹³ y Rosenfeld y col.¹⁴ observaron que bajo estas condiciones de reacción el epímero que se forma en mayor proporción es aquél, en el cual los grupos hidroxilos de los C-2 y C-4 se encuentran en relación anti. De modo que se forma preferentemente la D-manosa a partir de la D-arabinosa, la L-manosa a partir de la L-arabinosa, la D-galactosa a partir de la D-xilosa y la D-glicero-D-galaheptosa a partir de la D-manosa.

Rupp y col.¹⁵ y más tarde Hudson y col.¹⁶⁻²⁰ simplificaron la preparación de cianhidrinas usando en lugar de ácido cianhídrico líquido, soluciones acuosas de cianuros alcalinos en presencia de cloruro de calcio o de bario.



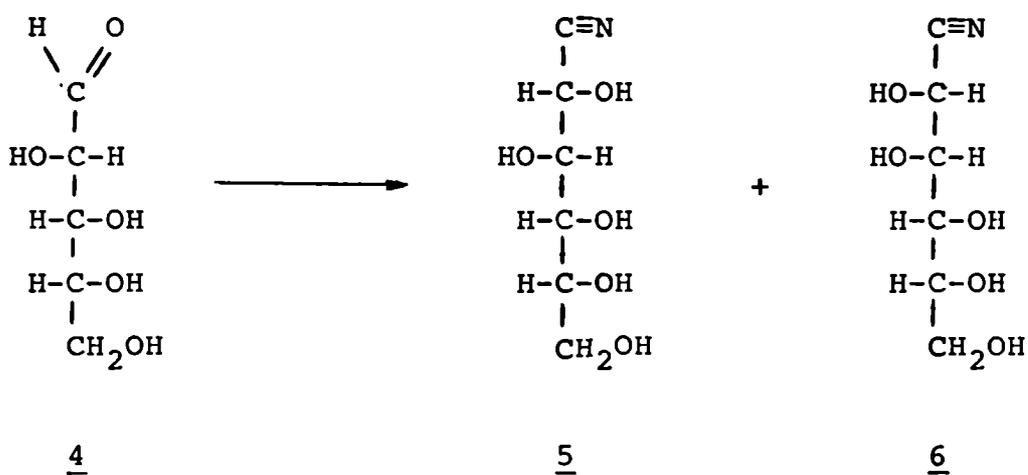
Kuhn y col.^{21,22} sintetizaron los nitrilos de los ácidos L-glucónico (2) y L-manónico (3), a partir de la L-arabinosa (1), tratán-

dola con ácido cianhídrico en piridina anhidros durante quince días a temperatura ambiente o a 60° con adición de 0.3-1% de trietilamina durante tres días. En ambos casos obtuvieron la mezcla de los nitrilos esperados con 96% de rendimiento.

La reacción de formación de cianhidrinas fue estudiada analíticamente por Isbell y col.^{10,23}, Millitzer^{24,25} y Brigl y col.²⁶, quienes encontraron que depende de la configuración del azúcar y del medio de reacción. A pH 9-9.1 la reacción procede cuantitativamente en presencia de exceso de cianuro y aún con cantidades estequiométricas de dicho reactivo.

También ha sido estudiada la influencia del medio sobre el curso estereoquímico de la reacción y se encontró, que la relación de los epímeros producidos, puede ser variada considerablemente por cambios en el valor del pH del medio de reacción.

Por ejemplo, la D-arabinosa (4) produce en medio alcalino moderado (solución acuosa de cianuro de sodio) los nitrilos de los ácidos D-glucónico (5) y D-manónico (6) en relación 73:27, mientras que en medio ácido moderado (solución acuosa de cianuro de sodio, bicarbonato de sodio y dióxido de carbono) los mismos se forman en relación 30:70.



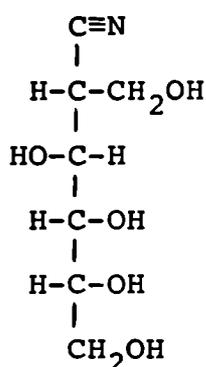
a) CNNa ac. 5:6 :: 73:27

b) CNNa-CO₃HNa-CO₂ 5:6 :: 30:70

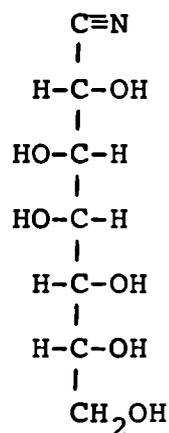
Las cianhidrinas son muy solubles en agua y facilmente hidro-

lizables por ácidos y más aún por álcalis. Esto dificulta su aislamiento y por lo general se convierten en los ácidos correspondientes.

Solo se conocen unas pocas cianhidrinas en estado libre, como el nitrilo del ácido 2-C-hidroximetil-D-glucónico^{2,21,27} (7) y los nitrilos de los ácidos D-glucónico^{28,29} (5), L-glucónico²² (2), L-manónico²² (3) y D-glicero-D-galaheptónico²⁷ (8).



7



8

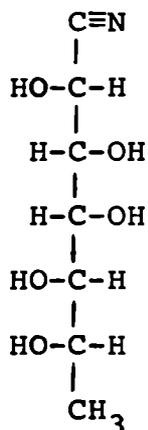
7 2-C-hidroximetil-D-glucononitrilo

8 D-glicero-D-gala-heptononitrilo

En 1926 Miĥsić³⁰ llevó a cabo la síntesis de los nitrilos de los ácidos D-glicero-D-galaheptónico (8) y 7-desoxi-L-glicero-L-galaheptónico (9) y obtuvo ambos en estado cristalino trabajando a 0° y usando como reactivo una solución acuosa de ácido cianhídrico al 28.5% en presencia de trazas de amoníaco como catalizador.

Más tarde Brigl y col.²⁶ sintetizaron las correspondientes cianhidrinas de la D-glucosa, la D-manosa, la D-galactosa, la D-fructosa, la maltosa (monohidrato) y la lactosa (monohidrato) aplicando el método desarrollado por Miĥsić³⁰. Estos autores estudiaron posteriormente el rendimiento de dicha reacción por dosaje del cianuro remanente en la solución de cada una de las cianhidrinas así sintetizadas. Determinaron la cantidad de cianhídrico a diferentes tiempos de reacción y comprobaron que después de 5-6 horas comenza-

ba a disminuir apreciablemente la cantidad de nitrilo por transformación del mismo en la amida correspondiente.



9

9 7-desoxi-L-glicero-L-gala-heptononitrilo

De la comparación de los rendimientos de cianhidrinas obtenidos por Brigl y col.²⁶ se ve que para la D-glucosa y los disacáridos maltosa y lactosa, cuya porción reductora es un resto de D-glucosa, los porcentajes de reacción varían entre 6 y 9% al cabo de 1.5 horas y entre 12 y 17% al cabo de 5 horas. En el caso de otros azúcares como la D-manosa, la D-galactosa y la D-fructosa, los porcentajes de reacción en esos mismos tiempos se encuentran entre el 25 y el 36% y entre el 40 y el 76% respectivamente.

De estas consideraciones surge que el rendimiento de la reacción depende de la constitución del azúcar de partida.

Los resultados de estas investigaciones se muestran en la Tabla I.

Posteriormente Allan²⁷ realizó la síntesis del nitrilo D-glicero-D-galaheptónico, que obtuvo como un sólido cristalino. Allan usó para esta síntesis D-manosa en solución acuosa y la trató con ácido cianhídrico en presencia de soluciones reguladoras ácidas o alcalinas. Esta modificación se debió a que el amoníaco, que Kiliani²⁻⁷ usaba como catalizador, competía en la reacción de adición.

TABLA I

| Azúcar de partida. | g azúcar 5 ml sol. | CNH total ^a | CNH incorporado ^a y cianhidrina obtenida (%) | |
|--------------------------|-----------------------|------------------------|---|-----------------------------|
| | | | 1.5 hs. | 5 hs. 24 hs. |
| glucosa | 0.1801 | 138.4 | 12.5 mg 9.3% | 19.5 mg 14.6% 46.7 mg 34.9% |
| | 0.1801 | 138.4 | 11.3 mg 8.4% | 23.2 mg 17.3% 47.4 mg 35.4% |
| manosa | 0.1801 | 134.3 | 47.0 mg 35.1% | 102.2 mg 76.4% |
| | 0.1801 | 138.4 | 49.0 mg 36.6% | 99.5 mg 74.4% |
| galactosa | 0.1801 | 134.3 | 38.9 mg 29.1% | 70.3 mg 52.5% |
| fructosa | 0.1801 | 134.3 | 34.2 mg 25.6% | 54.2 mg 40.5% |
| maltosa.H ₂ O | 0.3602 | 138.4 | 8.8 mg 6.6% | 16.0 mg 11.9% 48.1 mg 35.9% |
| lactosa.H ₂ O | 0.3602 | 138.4 | 8.2 mg 6.1% | 18.1 mg 13.5% 46.5 mg 34.7% |

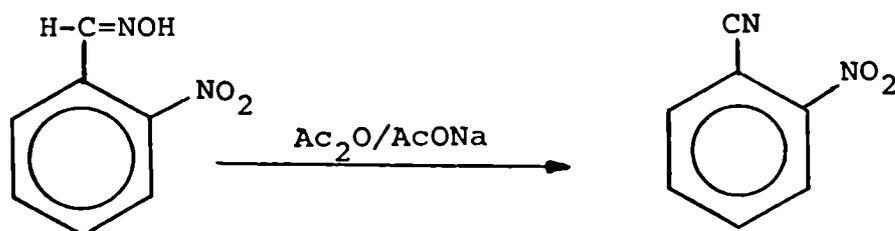
^a resultados expresados en mg. de CNAg.

Se realizaron dos experiencias, una acondicionando el medio con una solución reguladora formada por N-etil-piperidina y su clorhidrato en etanol-agua y la otra en una solución reguladora ácida, formada por ácido acético-acetato de sodio en solución acuosa. En ambos casos obtuvo el nitrilo cristalino con rendimientos entre el 70 y el 72%. En otra experiencia paralela llevada a cabo sobre la D-manosa con ácido cianhídrico anhidro en solución piridínica y en presencia de trazas de N-etil-piperidina como catalizador, el mismo autor²⁷ también obtuvo el D-glicero-D-gala-heptonitrilo (8) en forma cristalina. La acetilación de éste último con anhídrido acético le permitió obtener el correspondiente derivado peracetilado cristalino con un rendimiento del 64%.

A partir de sacarosa y previa hidrólisis ácida del disacárido Allan²⁷ sintetizó el 2-C-hidroximetil-D-gluconitrilo (7) cristalino con rendimiento del 33.5%.

Un método que permite obtener los nitrilos de los ácidos aldónicos acilados, ha sido desarrollado por Wohl, quién sintetizó nitrilos de azúcares acetilados por calentamiento de las aldoximas con anhídrido acético y acetato de sodio.

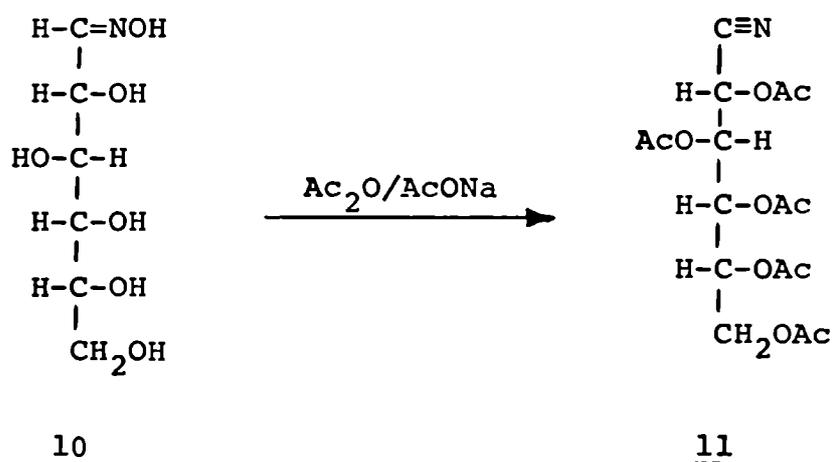
La transformación de una oxima en el correspondiente nitrilo ya era bien conocida en la química de los aldehídos alifáticos y aromáticos. En efecto, Gabriel y Meyer³¹ habían obtenido el o-nitro benzonitrilo por calentamiento de la o-nitro benzaldoxima con anhídrido acético y acetato de sodio.



Más tarde Lach³² preparó el benzonitrilo por un proceso similar, a partir de la benzaldoxima y Dollfuss³³ transformó aldoximas de la serie alifática, tales como acetaldoxima, propionaldoxima, isobutilaldoxima y valeraldoxima en los nitrilos correspondientes,

por simple tratamiento con anhídrido acético.

Wohl³⁴ inició su trabajo en el campo de los nitrilos acetilados derivados de los ácidos aldónicos, sintetizando el penta-O-acetil-D-glucononitrilo (11) por calentamiento de la D-glucosa oxima (10) con anhídrido acético y acetato de sodio.



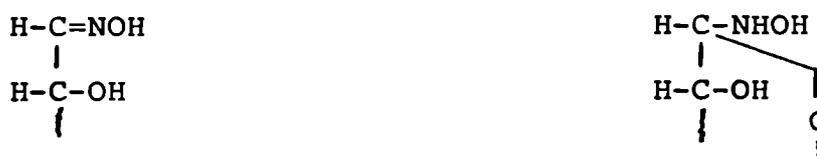
10 D-glucosa oxima

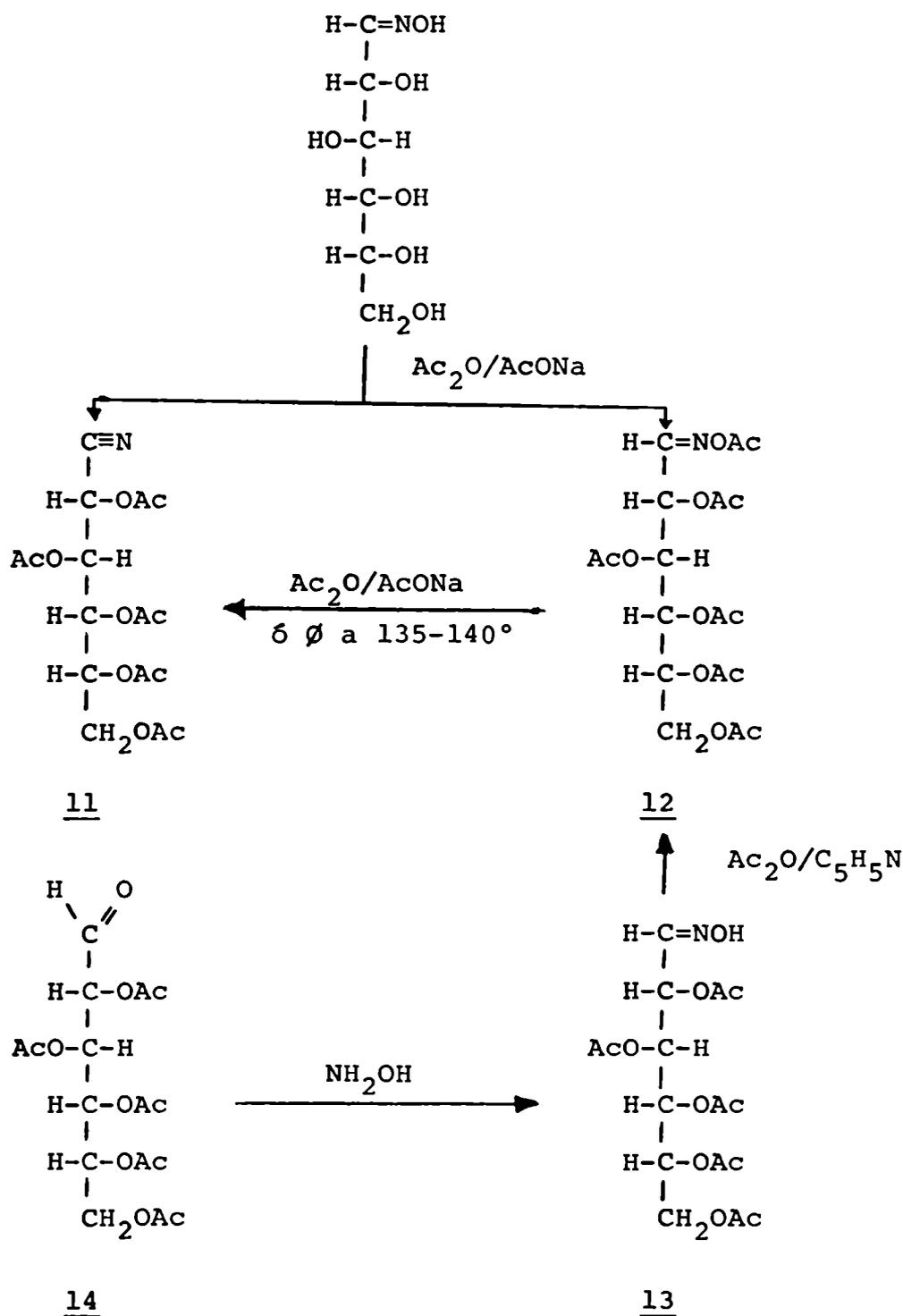
11 penta-O-acetil-D-glucononitrilo

Más tarde, Behrend³⁵ obtuvo el mismo nitrilo (11) tratando la oxima de D-glucosa con anhídrido acético y piridina.

Hantzsch³⁶ comprobó que la oxima acetilada del ácido 2-oxo-2-fenil acético, que hoy se sabe posee estructura "anti", es fácilmente deshidratada al benzonitrilo, a diferencia de la oxima con estructura "syn", que no lo da a menos que previamente se transforme en su forma "anti".

Con relación a los hidratos de carbono, la obtención de nitrilos presenta dificultades mayores, ya que debe tenerse en cuenta que las oximas pueden tener además de las dos formas mencionadas (syn y anti), estructuras cíclicas y acíclicas, tal como la demostraron Wolfrom y Thompson³⁷.





11 penta-O-acetil-D-gluconitrilo

12 hexa-O-acetil-aldehído-D-glucosa oxima

13 penta-O-acetil-aldehído-D-glucosa oxima

14 penta-O-acetil-aldehído-D-glucosa

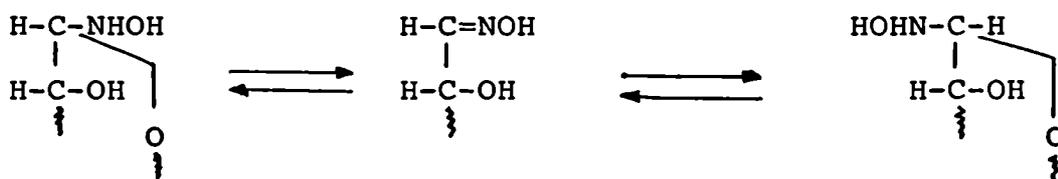
Estos autores hicieron reaccionar la D-glucosa oxima con anhídrido acético y acetato de sodio y obtuvieron además del penta-O-acetil-D-glucononitrilo (11) (40% de rendimiento), una pequeña proporción de la hexa-O-acetil-aldehído-D-glucosa oxima (12). Este último compuesto fue idéntico al preparado por acetilación suave de la penta-O-acetil-aldehído-D-glucosa oxima (13), cuya estructura ya se conocía por formarse a partir de la penta-O-acetil-aldehído-D-glucosa (14).

La hexa-O-acetil-aldehído-D-glucosa oxima (12) se transforma, por calentamiento a 135-140° o por tratamiento con anhídrido acético y acetato de sodio fundido, en el correspondiente nitrilo con 82% de rendimiento.

Debido a estas evidencias Wolfrom y Thompson³⁷ consideraron a las oximas de cadena abierta y a sus derivados acetilados como intermediarios en la síntesis de los nitrilos acetilados.

Hauser y Jordan³⁸ estudiaron la acción de la piridina en la transformación de acetatos de oximas "anti" en nitrilos, observando que ese medio facilita la reacción. En el caso de las aldoximas aromáticas sustituidas, los mismos autores confirmaron que si las condiciones de reacción se hacen muy suaves, tal como ocurre empleando una mezcla de anhídrido acético y piridina enfriada a 0°, solo las aldoximas de estructura "anti" conducen a la formación de nitrilos.

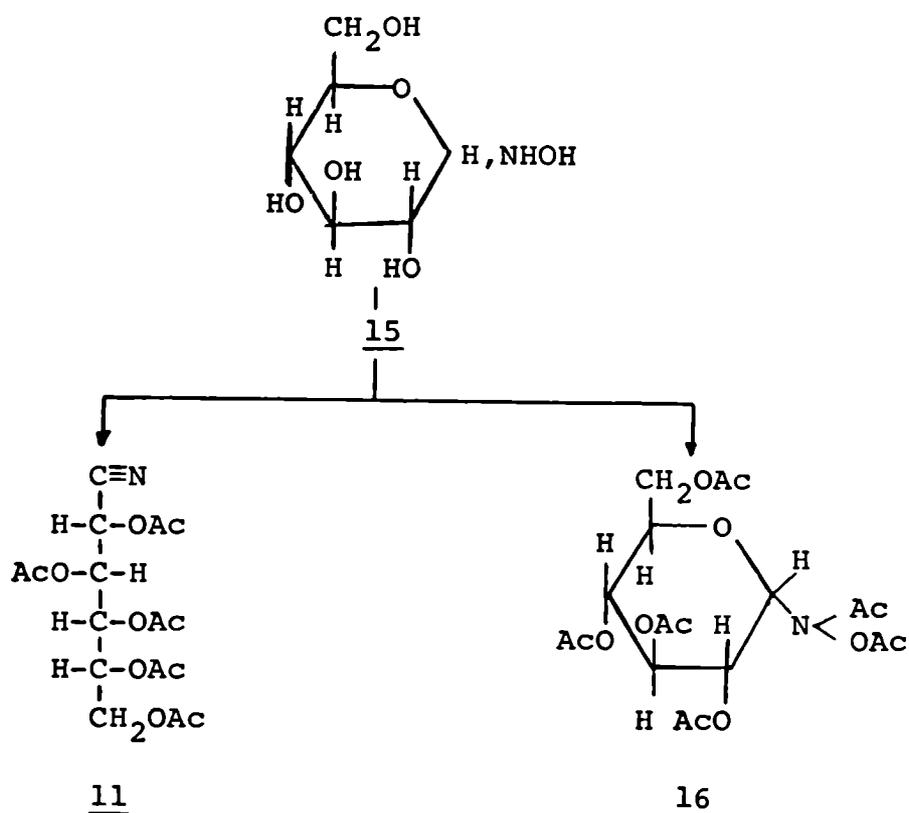
Las estructuras de las oximas de las aldosas, en su forma aldehídica o abierta, están vinculadas con sus formas cíclicas a través de un intercambio prototrópico que se opera en la molécula.



Jacobi³⁹ y otros autores⁴⁰⁻⁴³ hallaron pruebas que confirman la suposición que las oximas de azúcares pueden presentar, bajo ciertas condiciones, estructura cíclica. En efecto, estas aldoximas mutarrotan en solución y este comportamiento puede tener analogía con el de los azúcares libres, ya que podría ser el resultado de un equilibrio entre las aldoximas con estructura de cadena abierta y sus

isómeros cíclicos, en forma similar a los anómeros α y β de los azúcares reductores.

La oxima de la D-glucosa obviamente presenta una estructura cíclica (15) porque su acetilación con anhídrido acético en presencia de piridina³⁵ produce además del derivado acetilado del D-gluccononitrilo (11), un hexa-acetil derivado de la oxima que contiene un grupo N-acetilo y uno O-acetilo en el nitrógeno (16).



Esta sustancia (16) difiere del hexa-O-acetil derivado preparado por la acción del clorhidrato de hidroxilamina sobre la 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-aldehído-D-glucosa (14) y posterior acetilación^{40,44-49}.

Más complicado es el caso de la D-galactosa. Deulofeu y col.⁵⁰ sometieron la D-galactosa oxima a la acción de piridina-anhídrido acético a baja temperatura y obtuvieron una mezcla constituida por el penta-O-acetil-D-galactonitrilo, la-D-galactosa oxima cíclica

hexa acetilada y el hexa-O-acetil derivado de la aldehído-D-galactosa oxima. Los mismos autores demostraron que la galactosa oxima de cadena abierta da lugar al nitrilo y a la oxima lineal peracetilada y la oxima de estructura cíclica a la sustancia nombrada en segundo término.

Por otra parte Deulofeu y col.⁵¹ analizaron el comportamiento de la L-arabinosa, la L-xilosa, la L-ramnosa y la D-manosa y verificaron que las oximas de dichos azúcares poseen siempre, aún sintetizadas a baja temperatura, estructura acíclica. Las tres primeras dan siempre, independientemente de las condiciones experimentales, los correspondientes nitrilos acetilados, mientras que la D-manosa oxima se convierte en el nitrilo acetilado por encima de 30° y por debajo de esa temperatura se forma la hexa-O-acetil-aldehído-D-manosa oxima.

El mismo tratamiento fue aplicado por Wolfrom y Soltzberg⁵² a la celobiosa oxima y por Hann y Hudson⁴¹ a la D-glicero-L-mano-heptosa oxima obteniéndose en ambos casos el producto acetilado de cadena abierta.

Restelli de Labriola y Deulofeu⁵³ estudiaron el comportamiento de otras tres oximas de aldosas: la D-glucosa oxima, la D-glicero-D-gulo-heptosa oxima y la L-fucosa oxima frente a la mezcla piridina-anhídrido acético.

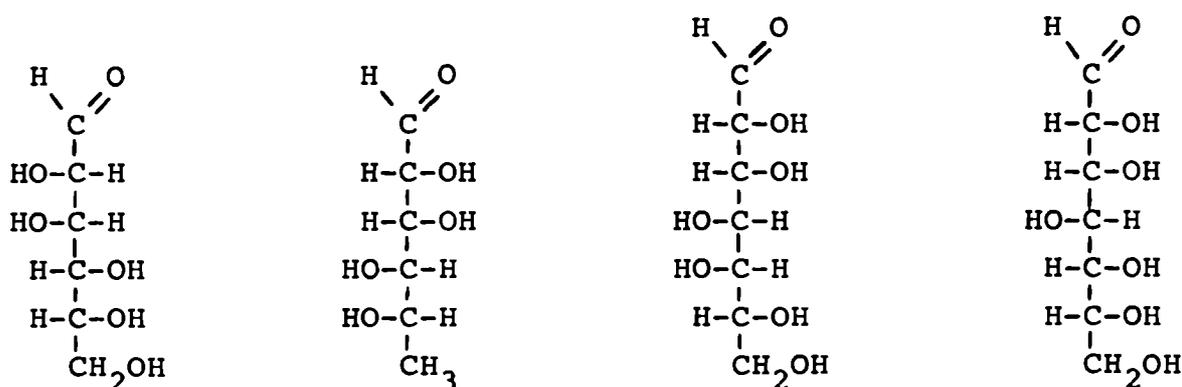
Las dos primeras reaccionan siempre en su forma de cadena abierta dando únicamente el nitrilo acetilado, aún a -10° y los autores no describen las oximas acetiladas cíclicas o de cadena abierta.

La oxima de la L-fucosa se comporta de modo muy distinto. A -10° se obtiene una oxima penta acetilada idéntica al compuesto que Votoček⁵⁴ había aislado conjuntamente con el L-fuconitrilo tetraacetilado. Esta oxima debe ser cíclica ya que por calentamiento con anhídrido acético y acetato de sodio no se convierte en el correspondiente nitrilo⁵³.

Resulta dificultoso correlacionar el comportamiento de las distintas oximas, pero de los datos obtenidos surge que dependiendo de la estructura del azúcar, su oxima tiende a reaccionar a baja temperatura en forma cíclica en el caso de la D-glucosa, en forma acicli-

ca en el de la L-arabinosa, la D-xilosa, la L-ramnosa, la D-glicero-D-guloheptosa, la D-glicero-L-manoheptosa y la D-glucosamina o en ambas formas tal como sucede con la D-galactosa y la L-fucosa.

Cuando la acetilación se produce sobre la forma abierta, puede obtenerse el nitrilo acilado o la aldehído oxima acilada. Las oximas pueden estar en las formas "syn" o "anti". Las primeras de ellas dan lugar a las oximas acetiladas. Si solo se consideran las reacciones a baja temperatura, se ve que la L-ramnosa, la D-manosa, la D-glicero-D-guloheptosa y la D-glicero-L-manoheptosa oximas reaccionan bajo la forma acíclica. Se puede aceptar que todas ellas están en parte, configuracionalmente relacionadas ya que sus tres primeros grupos hidroxilos tienen la misma distribución espacial.



D-manosa

L-ramnosa

D-glicero-L-
-manoheptosa

D-glicero-D-
-guloheptosa

Por otra parte la L-fucosa y la D-galactosa están muy relacionadas en cuanto a su configuración y sus oximas reaccionan de la misma manera para dar derivados tanto de forma cíclica como de cadena abierta. Sin embargo se diferencian en que para la L-fucosa la forma cíclica predomina a baja temperatura mientras que para la D-galactosa, la que predomina, es la forma abierta.

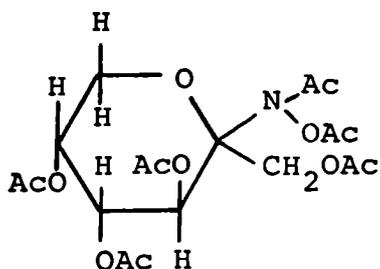
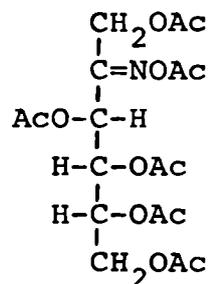
El resto de las oximas es más difícil de correlacionar.

En cuanto a la D-glucosa, ésta reacciona a 0° exclusivamente en la forma cíclica, obteniéndose la oxima hexaacetilada, pero la

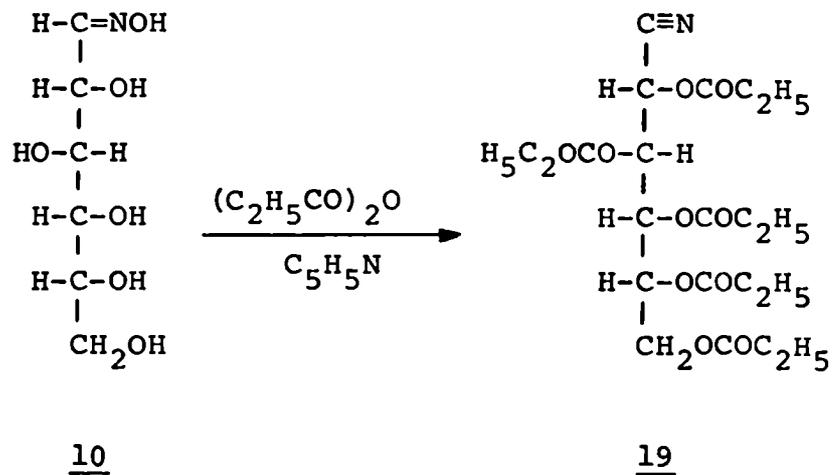
introducción de un residuo de D-glucosa sobre el átomo de carbono cuatro, como en la celobiosa, la transformación del hidroxilo de carbono dos en grupo amino, como en la D-glucosamina o la eliminación del último átomo de carbono como en la D-xilosa, determina que la reacción tenga lugar exclusivamente en la forma aldehídica.

La oxima de cadena abierta de la D-fructosa fue sintetizada en forma cristalina por primera vez por Helferich⁵⁵ quién simultáneamente llevó a cabo la demostración de la estructura de la misma.

Posteriormente Brederick y col.⁵⁶⁻⁵⁸ obtuvieron la mezcla de las oximas hexaacetiladas de la D-fructosa en sus formas cíclica (17) y acíclica (18).

1718

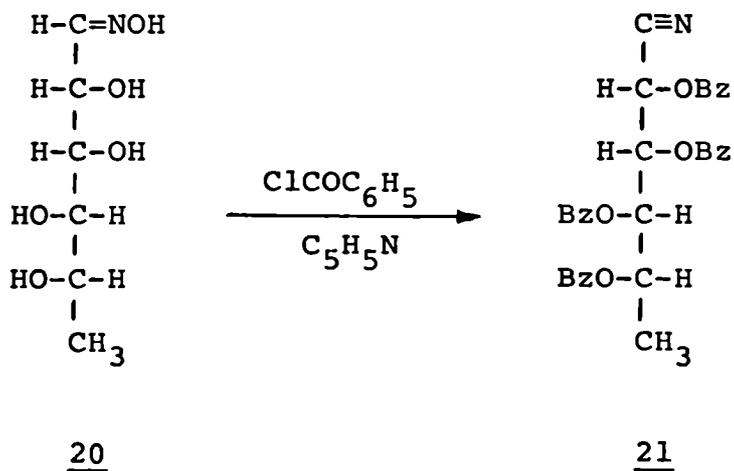
Aplicando un método similar de deshidratación y acilación de oximas, Giménez y Deulofeu⁵⁹ sintetizaron varios nitrilos propionilados mediante la reacción de las correspondientes aldoximas con una mezcla de anhídrido propiónico y piridina. Aplicando esta técnica a la D-glucosa oxima (10), la D-manosa oxima, la D-galactosa oxima y la L-ramnosa oxima obtuvieron el penta-O-propionil-D-glucononitrilo (19), el penta-O-propionil-D-manonitrilo, el penta-O-propionil-D-galactonitrilo y el tetra-O-propionil-L-ramnonitrilo respectivamente.



10 D-glucosa oxima

19 penta-O-propionil-D-glucononitrilo

Con referencia a otros nitrilos acilados merecen considerarse los trabajos Restelli de Labriola y Deulofeu⁸⁵ quienes obtuvieron entre otros, con muy buen rendimiento, el tetra-O-benzoil-L-ramnonitrilo (21) por acción de cloruro de benzoílo y piridina sobre la L-ramnosa oxima (20).



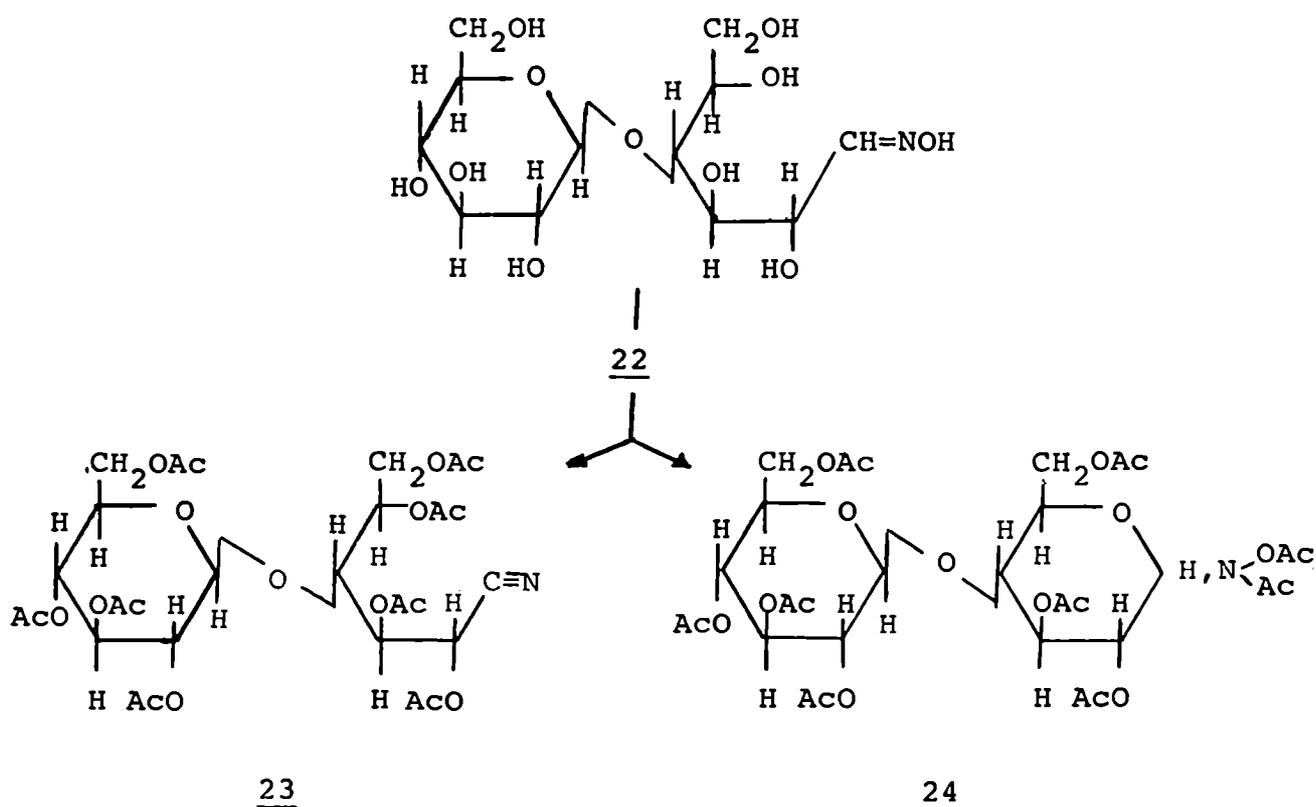
20 L-ramnosa oxima

21 tetra-O-benzoil-L-ramnonitrilo

.Aplicando la misma técnica a la D-glucosa oxima, la D-galactosa oxima y la D-manosa oxima, los mismos autores⁸⁵ obtuvieron el penta-O-benzoil-D-glucononitrilo, el penta-O-benzoil-D-galactononitrilo y el penta-O-benzoil-D-manononitrilo respectivamente.

En literatura se encuentran descritas las oximas de varios disacáridos, de los cuales se obtuvieron cristalinas las de la lactosa^{60,61}, la celobiosia^{62,63} y la melibiosia⁶⁴ y en forma de jarabe las de la maltosa⁶⁵, la soforosa⁶⁶ (2-O- β -D-glucopiranosil-D-glucosa) y la 3-O- β -D-glucopiranosil-D-glucosa⁶⁷.

En el campo de los disacáridos, Zemlén⁶² preparó el octa-O-acetil-celobionitrilo (23) con 50% de rendimiento a partir de la celobiosia oxima (22) por reacción con anhídrido acético y acetato de sodio. En esta síntesis se obtuvo como subproducto, una celobio-



- 22 celobiosia oxima
23 octa-O-acetil-celobionitrilo
24 nona-O-acetil-celobiosia oxima

sa oxima acetilada, que Wolfrom y Soltzberg⁵² consideraron que se trataba de la nona-O-acetil-celobiosa oxima (24) con estructura cíclica.

Zemplén^{60,68} obtuvo por el mismo procedimiento el octa-O-acetil-lactononitrilo y el octa-O-acetil-maltononitrilo en forma de jarabes con un rendimiento bruto aproximado del 50% a partir de la lactosa oxima y de la maltosa oxima respectivamente. El análisis cuantitativo del grupo ciano de ambos jarabes, los que no pudieron ser purificados por Zemplén, indicó que los mismos contenían un 65% de nitrilo.

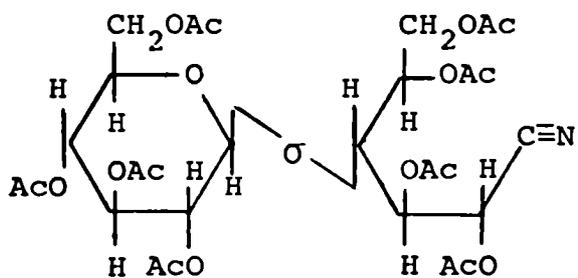
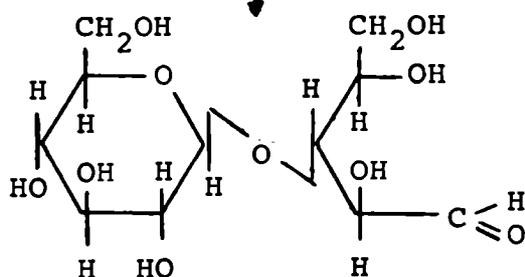
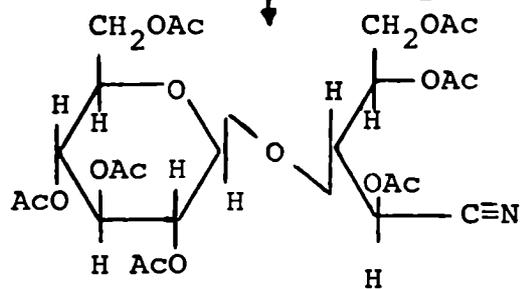
Kuhn y Kirschenlor⁶¹ en el año 1956 modificaron la técnica de Zemplén para la obtención del octa-O-acetil-lactononitrilo y lo obtuvieron cristalino.

Gelpi, Deferrari y Cadenas⁶⁹ mejoraron la técnica para la obtención del octa-O-acetil-lactononitrilo obteniéndolo con un rendimiento del 89%.

Los mismos autores⁷⁰ lograron obtener el octa-O-acetil-maltononitrilo en forma cristalina, con 45% de rendimiento, por pasaje del producto de reacción a través de una columna de sílica gel. Esto les permitió separarlo de la octa-O-acetil-maltosa que lo impurificaba. Así mismo, Zemplén⁶⁴ preparó el octa-O-acetil-melibiononitrilo en forma de un jarabe que contenía 64% de nitrilo partiendo de la melibiosa oxima cristalina.

Usando la técnica por él descripta, Zemplén⁶² sintetizó el hepta-O-acetil-3-O- β -D-glucopiranosil-D-arabinonitrilo. Partió del octa-O-acetil-celobiononitrilo (25) al cual degradó con metóxido de sodio. Así obtuvo la 3-O- β -D-glucopiranosil-D-arabinosa (26). La oxima de esta hexosil-pentosa fue preparada de la manera habitual y luego transformada por calentamiento con anhídrido acético y acetato de sodio en el peracetato del 3-O- β -D-glucopiranosil-D-arabinonitrilo (27), que se aisló en forma de jarabe que contenía tan solo 67% de esa sustancia.

De manera similar Zemplén⁶⁰ obtuvo el hepta-O-acetil-3-O- β -D-galactopiranosil-D-arabinonitrilo con un rendimiento del 57% partiendo del octa-O-acetil-lactononitrilo.

25CH₃ONa/CH₃OH26a) NH₂OH
b) Ac₂O/AcONa2725 octa-O-acetyl-celobionitrilo26 3-O-β-D-glucopiranosil-D-arabinosa27 hepta-O-acetil-3-O-β-D-glucopiranosil-D-arabinonitrilo

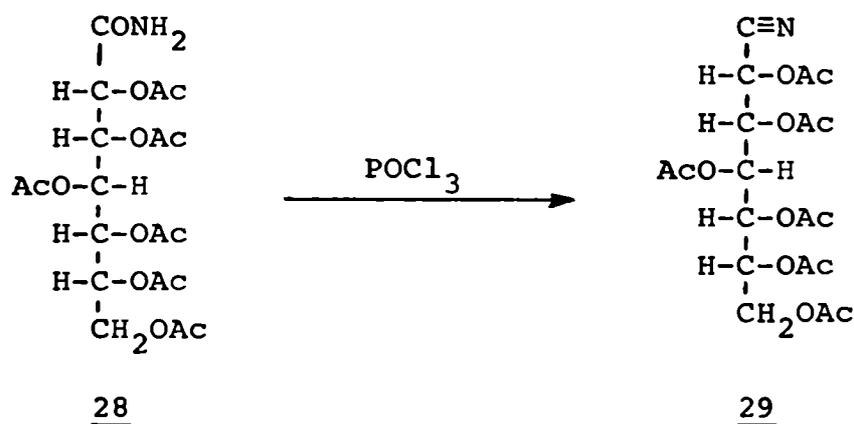
Zemplén⁶⁸ intentó aplicar el mismo procedimiento a la maltosa con el objeto de aislar el nitrilo peracetilado de la 3-O- α -D-glucopiranosil-D-arabinosa, pero no pudo lograr su propósito ya que obtuvo una mezcla de reacción muy compleja de la que no pudo aislar el compuesto deseado.

Gakhokidze⁶⁶ sintetizó el octa-O-acetil-2-O-D-glucopiranosil-D-glucononitrilo y posteriormente obtuvo el octa-O-acetil-3-O-D-glucopiranosil-D-glucononitrilo⁶⁷ por conversión de los correspondientes azúcares libres en las oximas y subsiguiente deshidratación y acetilación de éstas con anhídrido acético y acetato de sodio.

El mismo autor⁶⁷ llevó a cabo la degradación del octa-O-acetil-3-O-D-glucopiranosil-D-glucononitrilo con metóxido de sodio y carbonato de plata obteniendo la 2-O-D-glucopiranosil-D-arabinosa. De este compuesto preparó la oxima y la convirtió en el hepta-O-acetil-2-O-D-glucopiranosil-D-arabinonitrilo cristalino con rendimiento del 49%

Otro método que permite obtener nitrilos acetilados consiste en la deshidratación de las amidas correspondientes usando como agente deshidratante oxicloruro de fósforo.

Por esta vía Zemplén y Kiss⁷¹ prepararon el hexa-O-acetil-D-glicero-D-gulo-heptononitrilo (29) a partir de la hexa-O-acetil-D-glicero-D-gulo-heptonamida (28).



28 hexa-O-acetil-D-glicero-D-gulo-heptonamida

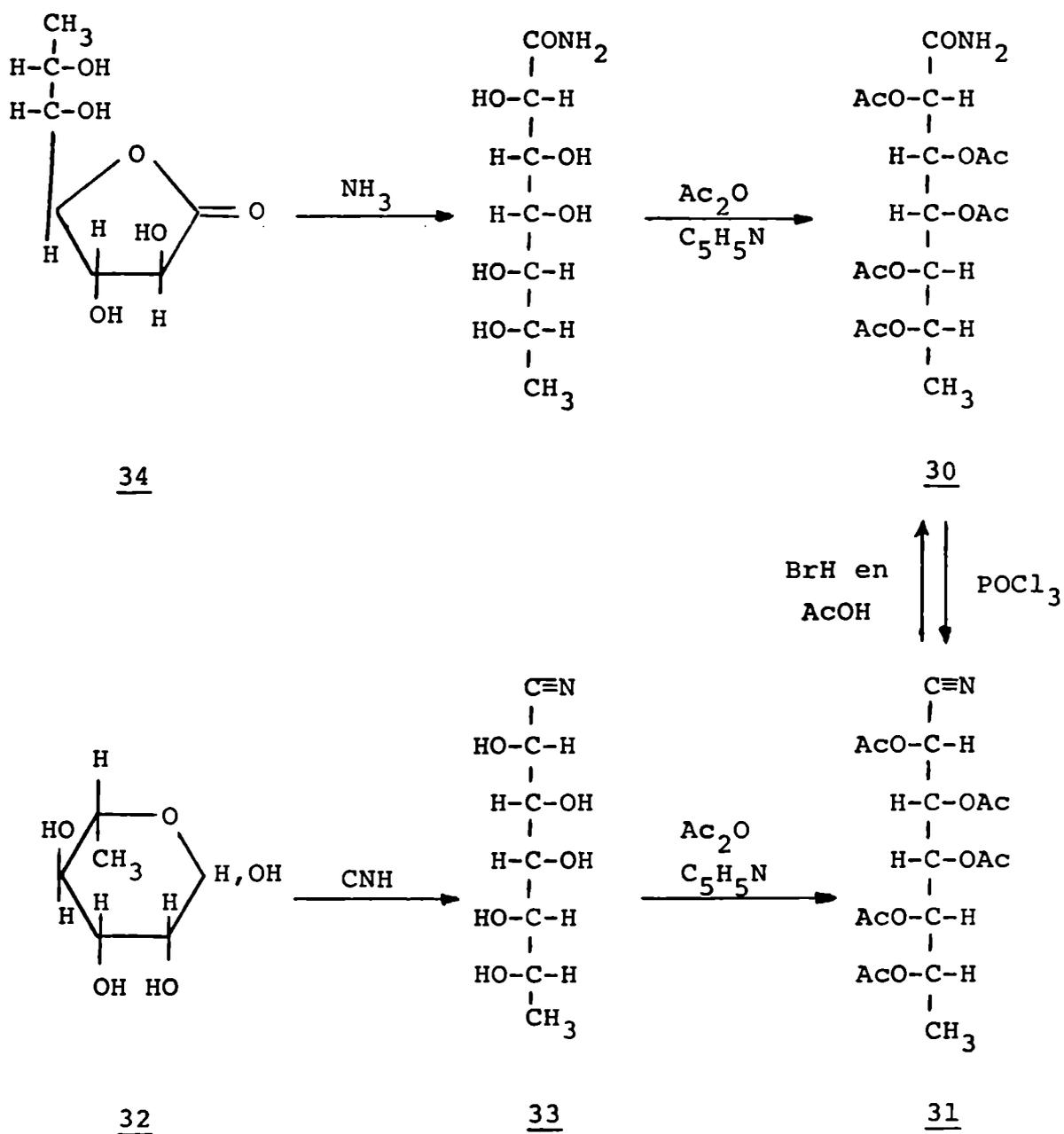
29 hexa-O-acetil-D-glicero-D-gulo-heptononitrilo

Aplicando el mismo método Ladenburg y col.⁷² sintetizaron el tetra-O-acetil-D-ribonitrilo, el tetra-O-acetil-D-arabinonitrilo y el penta-O-acetil-D-glucononitrilo a partir de las amidas peracetiladas correspondientes.

Deferrari y Deulofeu⁷³ llevaron a cabo la síntesis del penta-O-acetil-L-glicero-L-gala-7-desoxi-heptononitrilo (31), por el mismo procedimiento, usando como material de partida la penta-O-acetil-L-glicero-L-gala-7-desoxi-heptonamida (30). Las constantes del nitrilo obtenido por Deferrari y Deulofeu no fueron coincidentes con las descritas por Miksić³⁰ para la misma sustancia.

Para confirmar la estructura del nitrilo obtenido por ellos, Deferrari y Deulofeu⁷³ aplicaron a la L-ramnosa (32) la síntesis cianhídrica y obtuvieron el L-glicero-L-gala-7-desoxi-heptononitrilo (33). La acetilación de 33 dió el mismo nitrilo acetilado que habían preparado por deshidratación de la penta-O-acetil-L-glicero-L-gala-7-desoxi-heptonamida (30) con oxiclورو de fósforo. Además obtuvieron por hidrólisis del penta-O-acetil-L-glicero-L-gala-7-desoxi-heptononitrilo (31), con ácido bromhídrico en ácido acético glacial, la penta-O-acetil-L-glicero-L-gala-7-desoxi-heptonamida (30), idéntica a la preparada a partir de la L-glicero-L-gala-7-desoxi-heptonolactona (34).

En la Tabla II se recopilan los nitrilos acilados derivados de mono y disacáridos descriptos en literatura.



- 30 penta-O-acetil-L-glicero-L-gala-7-desoxi-heptonamida
31 penta-O-acetil-L-glicero-L-gala-7-desoxi-heptononitrilo
32 L-ramnosa
33 L-glicero-L-gala-7-desoxi-heptononitrilo
34 L-glicero-L-gala-7-desoxi-heptonolactona

TABLA II.

Nitrilos acilados de monosacáridos y de disacáridos.

| sustancia | $[\alpha]_D$ | % | p.f. | lit. |
|-----------|--------------|---|------|------|
|-----------|--------------|---|------|------|

1. Nitrilos acetilados de pentosas.

| | | | | |
|---------------------------------|-------|----|---------|--------|
| tetra-O-acetil-D-arabinonitrilo | -3.3 | 63 | 120-121 | 42, 73 |
| tetra-O-acetil-L-arabinonitrilo | +3.4 | - | 120-121 | 50 |
| tetra-O-acetil-D-ribonitrilo | +34.4 | 46 | 71-72 | 72 |
| tetra-O-acetil-D-xilonitrilo | +50.4 | 14 | 81-82 | 51 |
| tetra-O-acetil-L-xilonitrilo | -50.4 | 48 | 81-82 | 74, 75 |

2. Nitrilos acetilados de hexosas.

| | | | | |
|---|-------|---------|----------------|----------|
| penta-O-acetil-D-galactonitrilo | +43.2 | - 40 | 138-139 135 | 50 87 |
| penta-O-acetil-D-gluconitrilo | +47.8 | - | 83-84 | 37, 71 |
| penta-O-acetil-D-manonitrilo | -1.8 | 45 | - | 37, 76 |
| penta-O-acetil-D-glucosaminonitrilo | +20.5 | - | 126 118-119 | 53 79 |
| penta-O-acetil-N-metil-L-glucosaminonitrilo | -38 | - | 132-134 | 77 |
| penta-O-acetil-N-metil-L-manosaminonitrilo | -27.5 | - | - | 37 |
| tetra-O-acetil-L-fuconitrilo | -22.4 | - | 176-177 | 53, 54 |
| tetra-O-acetil-L-ramnonitrilo | -4.6 | 70 | 71 | 51, 78 |

Tabla II (continuación).

| sustancia | $[\alpha]_D$ | % | p.f. | lit. |
|--|--------------|------|---------|--------------|
| 3. Nitrilos acetilados de heptosas. | | | | |
| hexa-O-acetil-D-glicero-D-galaheptonitrilo | +31.4 | - | - | 30 |
| hexa-O-acetil-D-glicero-D-guloheptonitrilo | +24.6 | 69 | 113-114 | 71, (53, 77) |
| hexa-O-acetil-D-glicero-D-idoheptonitrilo | +0.68 | 60 | 105-108 | 80, 96 |
| hexa-O-acetil-L-glicero-L-manoheptonitrilo | +31.7 | - | - | 40 |
| penta-O-acetil-7-desoxi-L-glicero-L-galaheptonitrilo | -33.9 | 37 | 127-128 | 73, 81 |
| 4. Nitrilos acetilados de disacáridos. | | | | |
| octa-O-acetil-celobionitrilo | +34.3 | 50 | 132 | 62 |
| octa-O-acetil-lactonitrilo | +35.5 | 88.9 | 90-93 | 61, 69 |
| octa-O-acetil-maltonitrilo | +67.8 | 45 | 170-171 | 70 |
| 5. Nitrilos propionilados de hexosas. | | | | |
| penta-O-propionil-D-galactonitrilo | +36.7 | 65 | 60-61 | 59 |
| penta-O-propionil-D-gluconitrilo | +40.1 | 60 | 68-70 | 59 |
| penta-O-propionil-D-manonitrilo | +5.6 | 43 | - | 59 |
| tetra-O-propionil-L-ramnonitrilo | -6.0 | 87 | 26-28 | 59 |
| 6. Nitrilos benzoilados de pentosas. | | | | |
| tetra-O-benzoil-D-ara-binonitrilo | +13.8 | 64 | 81-83 | 82 |
| tetra-O-benzoil-L-ara-binonitrilo | -16.5 | 70 | 107-108 | 83, 84 |
| tetra-O-benzoil-D-xilonitrilo | -2.9 | - | - | 84 |

Tabla II (continuación).

| sustancia | $[\alpha]_D$ | % | p.f. | lit. |
|-----------|--------------|---|------|------|
|-----------|--------------|---|------|------|

7. Nitrilos benzoilados de hexosas.

| | | | | |
|--|-------|----|---------|-----|
| penta-O-benzoil-D-galactono-nitrilo | +9.7 | 96 | 144. | 85 |
| penta-O-benzoil-D-glucono-nitrilo | +15.1 | 71 | 118 | 85 |
| penta-O-benzoil-D-manono-nitrilo | +10.2 | 93 | 130 | 85 |
| tetra-O-benzoil-L-ranono-nitrilo | +4.7 | 91 | 114 | 85 |
| 2,4,5,6-tetra-O-benzoil-D-glucononitrilo | +48.6 | 17 | 235-238 | 158 |

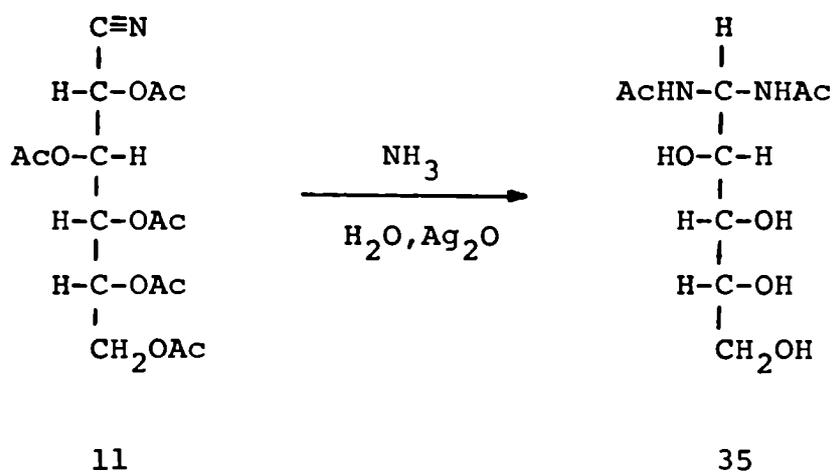
8. Nitrilos benzoilados de heptosas.

| | | | | |
|---|-------|------|---------|----|
| hexa-O-benzoil-D-glicero-D-galaheptononitrilo | +30.3 | | 124-125 | 26 |
| hexa-O-benzoil-D-glicero-D-guloheptononitrilo | +30.5 | 67 | 166-167 | 86 |
| hexa-O-benzoil-D-glicero-L-manoheptononitrilo | +19.5 | 65.6 | 190-191 | 86 |

CAPITULO IILA REACCION DE WOHL

El primer estudio acerca del efecto del amoníaco sobre un aldonitrilo acetilado fue llevado a cabo por Wohl³⁴ en 1893. Dicho autor sometió el penta-O-acetil-D-glucononitrilo (11) a la acción del amoníaco acuoso, usando óxido de plata como catalizador y obtuvo una sustancia nitrogenada que denominó "arabinosa diacetamida".

De acuerdo con las actuales reglas de nomenclatura dicho compuesto era el 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-D-arabinitol (35).



11 penta-O-acetil-D-glucononitrilo

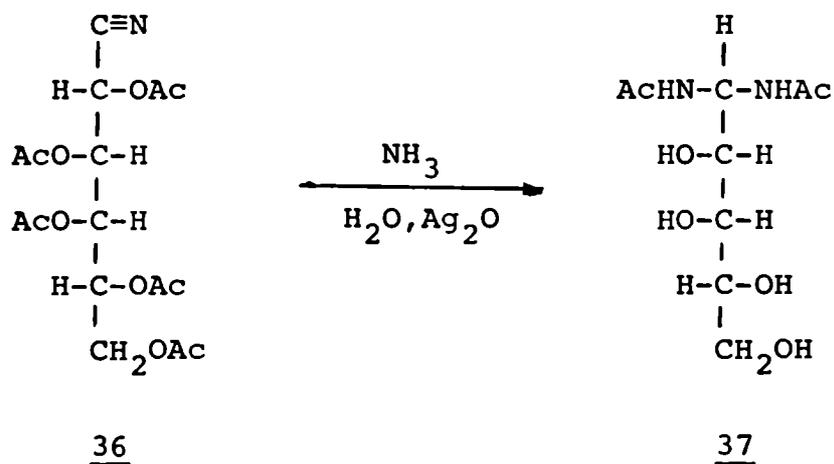
35 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-D-arabinitol

Durante mucho tiempo esta reacción se aplicó exclusivamente a los nitrilos acetilados de los ácidos aldónicos y en general los productos obtenidos son denominados "aldosas amidas".

Fischer⁷⁸ usó esta reacción para transformar el tetra-O-ace-

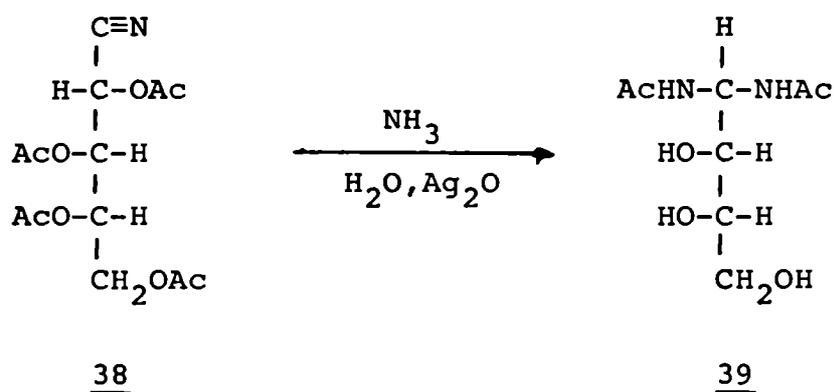
til-L-ramnonitrilo en el 1,1-bis(acetamido)-1,5-didesoxi-L-arabinitol, el cual por posterior hidrólisis y oxidación permitió determinar la configuración del ácido dextro tartárico (ácido L-treárico).

Wohl^{87,88} extendió la reacción al penta-O-acetil-D-galactononitrilo (36) y al tetra-O-acetil-L-arabinonitrilo (38) los cuales produjeron el 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-D-lixitol (37) y el 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-L-eritritol (39) respectivamente.



36 penta-O-acetil-D-galactononitrilo

37 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-D-lixitol

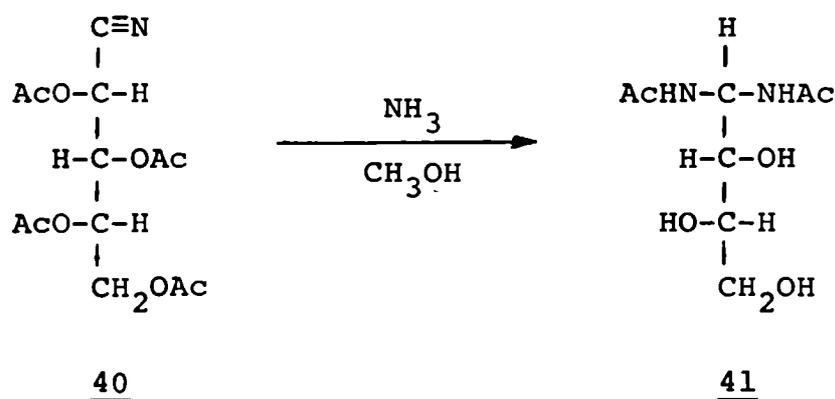


38 tetra-O-acetil-L-arabinonitrilo

39 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-L-eritritol

Esta reacción de degradación fue aplicada a un gran número de nitrilos acilados de ácidos aldónicos. Entre estas experiencias se pueden citar las efectuadas por Maquenne⁸⁹ y por Hockett⁹⁰ quienes comprobaron que no era necesaria la presencia de óxido de plata en la solución amoniacal para llevar a cabo la reacción.

Deulofeu^{74,76} llevó a cabo esta degradación sobre el tetra-O-acetil-L-xilononitrilo (40) y sobre el tetra-O-acetil-D-arabinonitrilo en medio metanólico obteniendo de este modo el 1,1-bis(acetamido)-l-desoxi-L-treitol (41) y el 1,1-bis(acetamido)-l-desoxi-D-eritritol respectivamente.

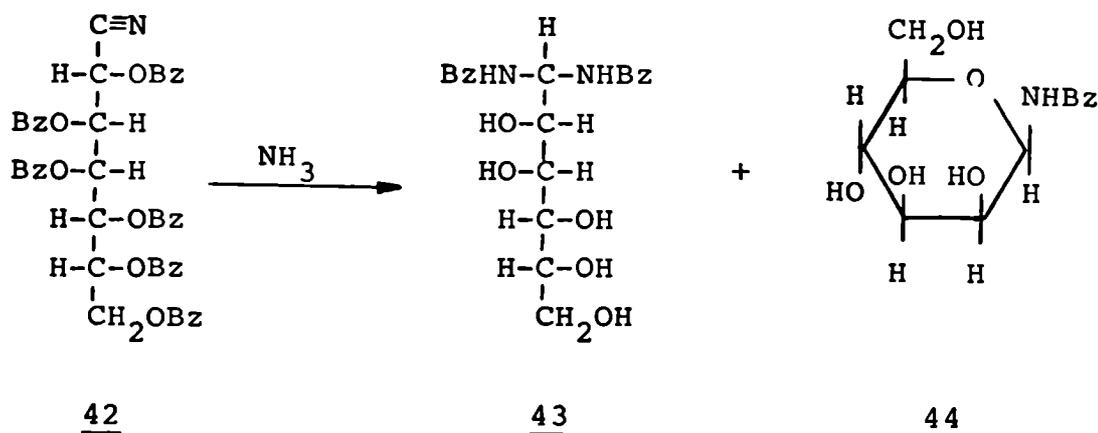


40 tetra-O-acetil-L-xilononitrilo

41 1,1-bis(acetamido)-l-desoxi-L-treitol

Los datos experimentales evidenciaban que la degradación de los nitrilos de los ácidos aldónicos acilados conducía, de forma general, a la obtención de N,N'-diacil-aldosilidendiaminas con un átomo de carbono menos que el nitrilo del cual se había partido.

Pero, cuando Brigl y col.²⁶ aplicaron esta reacción al hexa-O-benzoil-D-glicero-D-gala-heptononitrilo (42) obtuvieron una mezcla del 1,1-bis(benzamido)-l-desoxi-D-manitol (43) y de la N-benzoil-D-manosilidendiamina (44). Deferrari y Deulofeu^{73,81} demostraron que la configuración de 44 correspondía al anómero β con estructura piranósica.

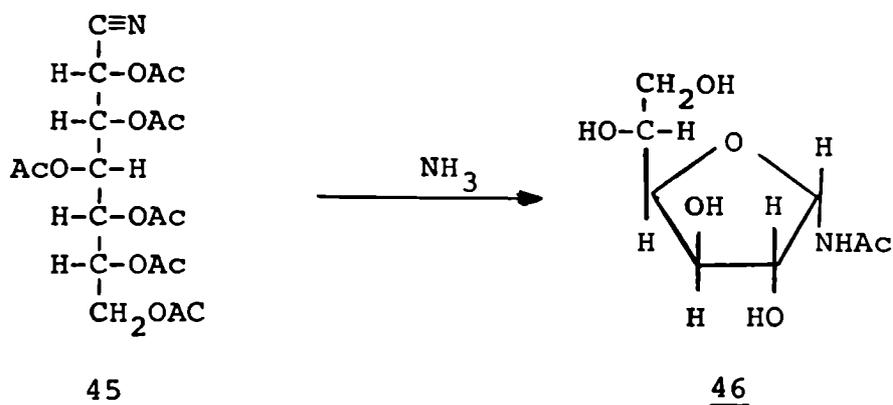


42 hexa-O-benzoil-D-glicero-D-gala-heptononitrilo

43 1,1-bis(benzamido)-l-desoxi-D-manitol

44 N-benzoil- β -D-manopiranosilamina

Por el mismo camino Hockett y Chandler⁹¹ obtuvieron a partir del hexa-O-acetil-D-glicero-D-gulo-heptononitrilo (45), la N-acetil-D-glucofuranosilamina (46) como único producto. La estructura furanósica de este monoacetamido derivado fue demostrada por oxidación con tetraacetato de plomo^{91,92} y su configuración anomérica α por oxidación con periodato de sodio y reducción con borohidruro⁹³.

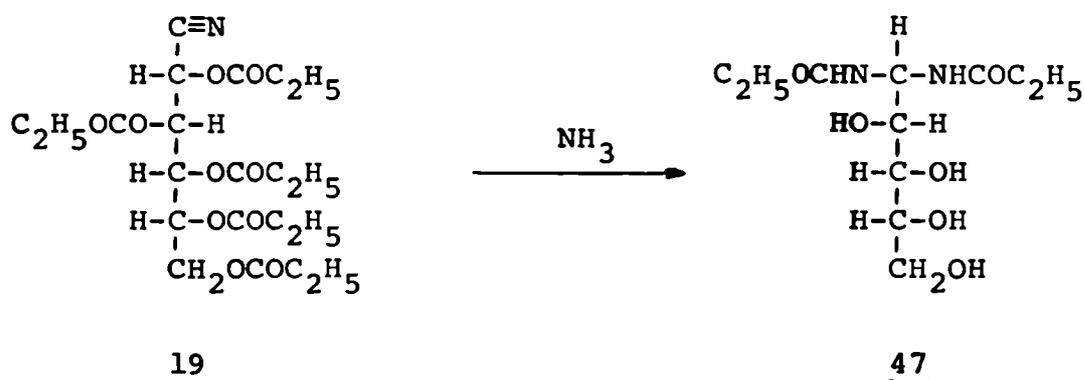


45 hexa-O-acetil-D-glicero-D-gulo-heptononitrilo

46 N-acetil- α -D-glucofuranosilamina

Deferrari y Matsuhiro⁸⁶ realizaron la amonólisis del hexa-O-benzoil-D-glicero-D-gulo-heptonitrilo, del hexa-O-benzoil-D-glicero-L-mano-heptonitrilo y del hexa-O-benzoil-D-glicero-D-gala-heptonitrilo en medio metanólico y obtuvieron, conjuntamente con los correspondientes 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-hexitoles y las N-benzoil-D-glicopiranosilaminas, los azúcares D-glucosa, D-galactosa y D-manosa respectivamente, cuya presencia demostraron cromatográficamente.

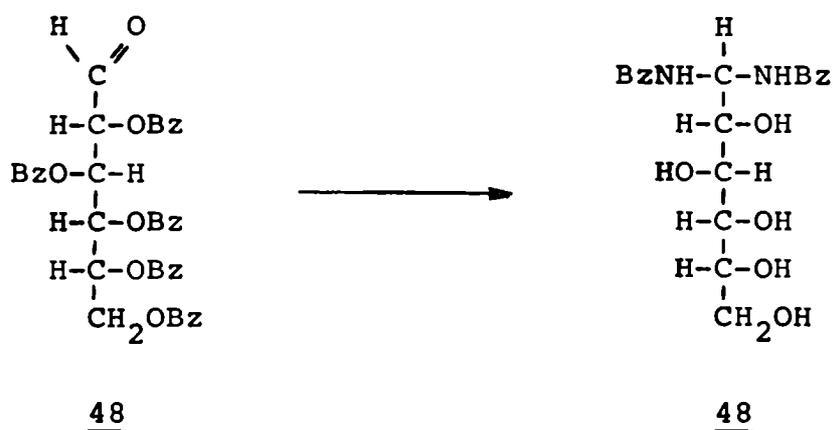
En 1950 aparecen por primera vez en literatura las N,N'-di-propionil-aldosilidendiaminas. Estas fueron preparadas por Giménez y Deulofeu⁵⁹ sometiendo el penta-O-propionil-D-gluconitrilo (19) y el penta-O-propionil-D-galactonitrilo a la degradación de Wohl. Aislaron así el 1,1-bis(propionamido)-1-desoxi-D-arabinitol (47) y el 1,1-bis(propionamido)-1-desoxi-D-lixitol.



19 penta-O-propionil-D-gluconitrilo

47 1,1-bis(propionamido)-1-desoxi-D-arabinitol

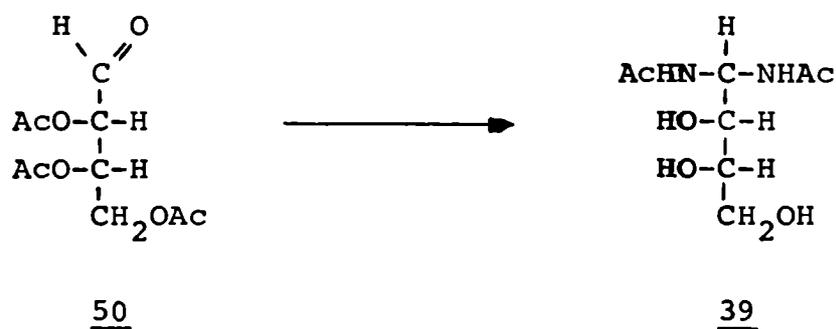
Brigl y col²⁶ amonolizaron la penta-O-benzoil-aldehído-D-glucosa (48) y obtuvieron el 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-glucitol (49), comprobando de este modo que la formación de "aldosas amidas" no está restringida a la degradación de ácidos aldónicos acilados.



48 penta-O-benzoil-aldehído-D-glucosa

49 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-glucitol

De manera similar a partir de la tri-O-acetil-aldehído-L-eritrosa (50)⁹⁴ y de la tetra-O-acetil-aldehído-L-arabinosa⁹⁵ se obtuvo el 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-L-eritritol (39) y el 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-L-arabinitol respectivamente.

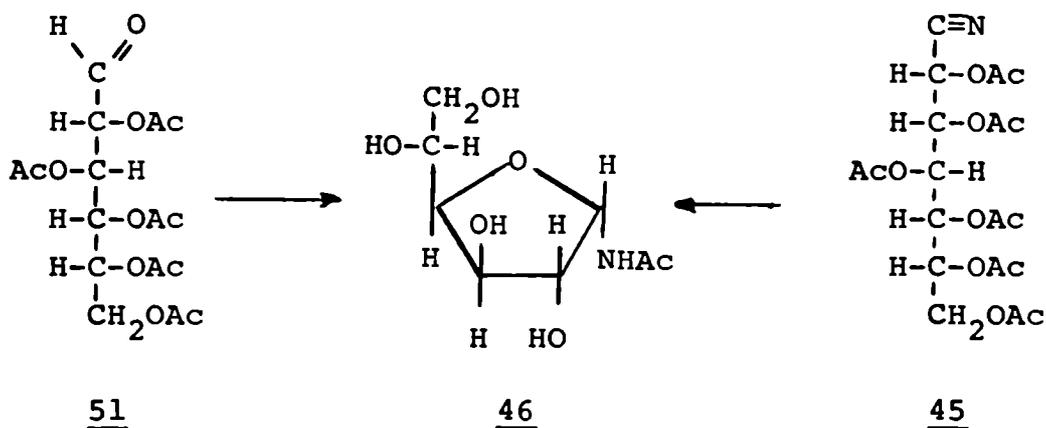


50 tri-O-acetil-aldehído-L-eritrosa

39 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-L-eritritol

La similitud entre los productos obtenidos por amonólisis de

los nitrilos acilados y de los monosacáridos acilados con estructura aldehídica que poseen un átomo de carbono menos que el nitrilo correspondiente, fue verificada por Hockett y Chandler⁹¹. Por amonólisis de la penta-O-acetil-aldehído-D-glucosa (51) obtuvieron la misma N-acetil- α -D-glucofuranosilamina (46) que la obtenida a partir del hexa-O-acetil-D-glicero-D-gulo-heptonitrilo (45).



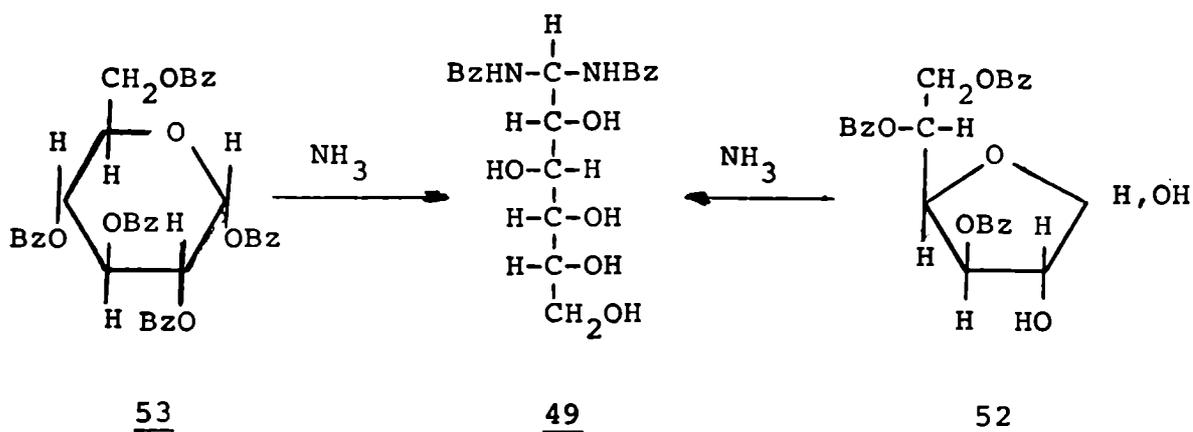
51 penta-O-acetil-aldehído-D-glucosa

46 N-acetil- α -D-glucofuranosilamina

45 hexa-O-acetil-D-glicero-D-gulo-heptonitrilo

Por otra parte existen evidencias de que no es imprescindible la presencia de una función aldehído para que tenga lugar la formación de los 1,1-bis(acilamido)-1-desoxi-alditales. En efecto, tanto la amonólisis de la 3,5,6-tri-O-benzoil-D-glucofuranosa (52)²⁶ como la de la penta-O-benzoil- α -D-glucofuranosa (53)^{80,96} condujo a la obtención del 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-glucitol (49). Estas experiencias confirman que la existencia del anillo hemiacetalico no impide que se produzca la reacción.

La reacción de Wohl también se aplicó a los derivados acetilados y benzoilados con estructuras furanósicas y piranósicas de la D-galactosa⁹⁷, la D-manosa⁹⁸, la D-lixosa^{99,100}, la L-ramnosa^{73,81}, la D-ribosa, la D-xilosa y la L-arabinosa^{83,84} y además a algunas glucosas parcialmente benzoiladas¹⁰¹.



53 penta-O-benzoil- α -D-glucopiranososa

49 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-glucitol

42 3,5,6-tri-O-benzoil-D-glucofuranosa

Deferrari y Deulofeu⁹⁸ obtuvieron, por amonólisis de la penta-O-benzoil- α -D-manosa, el 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol (43) y la N-benzoil-D-manopiranosilamina (44). Estos compuestos fueron idénticos a los obtenidos por Brigl y col.²⁶ por amonólisis del hexa-O-benzoil-D-glicero-D-gala-heptonitrilo (42).

La aplicación de las técnicas cromatográficas ha permitido aislar nuevos componentes a partir de las mezclas de reacción.

Así, el 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-D-glucitol¹⁰² fue aislado como un producto secundario, junto con la N-acetil- α -D-glucofuranosilamina (46), de la amonólisis de la penta-O-acetil-D-glucosa.

Los mismos autores¹⁰², Cerezo y col. obtuvieron, por amonólisis de la penta-O-benzoil- β -D-glucopiranososa, la N-benzoil- β -D-glucofuranosilamina ya descrita por Deferrari y Matsuhira⁸⁶.

La amonólisis en medio acuoso de la penta-O-acetil- β -D-manopiranososa (54)¹⁰³ produjo además de la D-manosa, el previamente aislado 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-D-manitol (55)⁹⁸, la N-acetil- α -D-manofuranosilamina (56), la N-acetil- β -D-manofuranosilamina (57) y la N-acetil- α -D-manopiranosilamina (58).

Los antecedentes de la reacción de Wohl en el campo de los disacáridos datan de 1926 en que Zemplén⁶² aplicó esta técnica al octa-O-acetil-celobionitrilo, obteniendo sustancias amorfas que contenían nitrógeno. De ello dedujo que se trataba de "acetamido derivados". No intentó el aislamiento e identificación de esos productos ya que su propósito era el de demostrar la estructura de los disacáridos reductores a través de sucesivas degradaciones de sus nitrilos. Esto no podía realizarse si el C-1 estaba bloqueado por grupos acetamido, cuya hidrólisis conduciría también a la hidrólisis de los disacáridos.

Zemplén introdujo entonces el uso del metóxido de sodio como reactivo para eliminar el grupo nitrilo y saponificar los acetilos presentes en los nitrilos de los ácidos aldónicos.

Este método fue aplicado por su autor especialmente en la degradación de nitrilos acetilados de ácidos aldobiónicos como se discutirá más adelante.

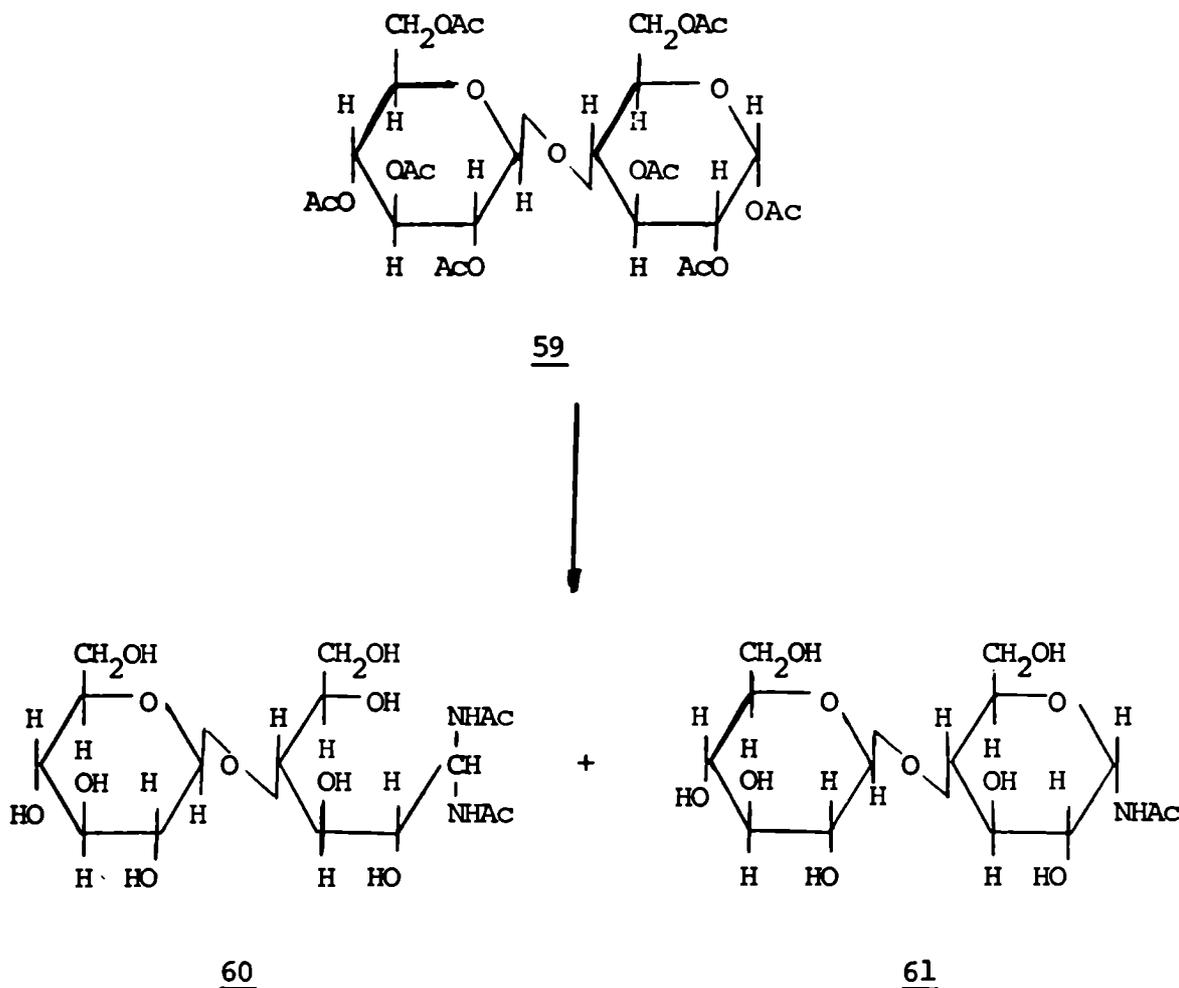
El primer trabajo sobre disacáridos totalmente acetilados fue llevado a cabo por Zechmeister y Tóth¹⁰⁴ quienes disolvieron la octa-O-acetil-celobiosa en amoníaco líquido y mantuvieron la mezcla de reacción 48 horas a 55° aislando una N-acetil-celobiosilamina. Por acetilación posterior del residuo de reacción obtuvieron el peracetato del 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-celobiitol. Los autores propusieron para esta diamida estructuras alternativas de naturaleza cíclica¹⁰⁴.

Deferrari y Cadenas¹⁰⁵ demostraron a través de estudios de metilación e hidrólisis la estructura acíclica de las "diacetamidas" obtenidas por amonólisis de los peracetatos de celobiosa, lactosa y maltosa.

Micheel y col.¹⁰⁶ hicieron reaccionar la octa-O-acetil-celobiosa con amoníaco metanólico a 50° durante 120 horas y lograron aislar dicelobiosilamina con 30.5% de rendimiento y celobiosilamina con 10% de rendimiento.

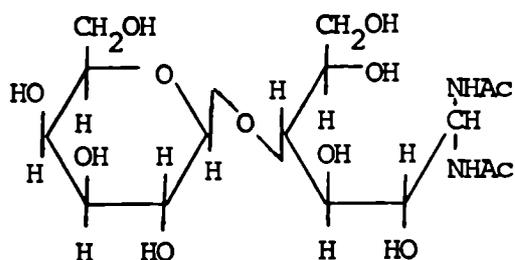
A partir de 1963 se publicaron una serie de estudios acerca del comportamiento de disacáridos totalmente benzoilados o acetilados frente al amoníaco acuoso y, o metanólico a temperatura ambiente.

Deferrari y Cadenas¹⁰⁷ trataron la octa-O-acetil- α -celobiosa (59) con amoníaco metanólico y obtuvieron el 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-celobiitol (60) y la N-acetil- α -celobiosilamina (61). Este último compuesto es el anómero de la N-acetil-celobiosilamina que había sido descrita por Zechmeister y Tóth¹⁰⁴ y por Micheel y col.¹⁰⁶.

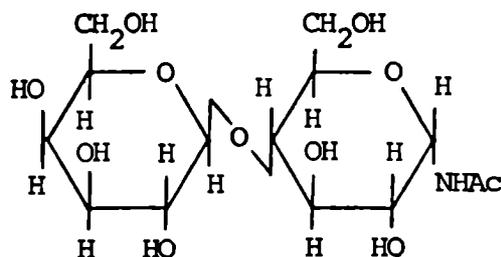


- 59 octa-O-acetil- α -celobiosa
60 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-celobiitol
61 N-acetil- α -celobiosilamina

La amonólisis de la octa-O-acetil- β -lactosa¹⁰⁸ con amoníaco metanólico condujo a la formación del 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-lactitol (62) y de la N-acetil- α -lactosilamina (63).



62



63

62 1,1-bis(acetamido)-l-desoxi-lactitol

63 N-acetil- α -lactosilamina

Kuhn y Krüger¹⁰⁹ habían obtenido el anómero de este último compuesto (63) haciendo reaccionar l-amino-l-desoxi-lactosa con cetena o por acetilación de la misma y posterior O-desacetilación del peracetato.

Este último camino de síntesis es factible ya que los grupos amida presentes en los mono y en los bis(amido) derivados de los monosacáridos y disacáridos son muy resistentes a la hidrólisis en medio alcalino. Esto permite llevar a cabo la saponificación de los grupos éster presentes en los compuestos nitrogenados peracetilados, sin que se afecten mayormente las funciones N-acil-amínicas.

Los acetatos de estos disacáridos producen, en medio metanólico, muy bajos rendimientos de compuestos nitrogenados (3-5%) en comparación con los rendimientos obtenidos en los casos de los monosacáridos acetilados (20-40%).

Este comportamiento se puede atribuir al impedimento estérico provocado por la parte no reductora de la molécula que está unida al C-4. Sin embargo, probablemente sea más importante la ausencia en dicha posición de un grupo acilo con capacidad migratoria que el solo

efecto estérico. En los disacáridos el principal producto de esta reacción es el azúcar libre.

Cadenas y Deferrari¹¹⁰ lograron aislar, por amonólisis de la octa-O-acetil- β -maltosa en medio metanólico, solo 0.8% del 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-maltitol. Al realizar la amonólisis del mismo compuesto en medio acuoso el rendimiento del diacetamido derivado aumentó al 27%. Otros estudios han demostrado que el agua es el mejor medio para esta reacción. Sin embargo, los benzoatos siempre se han amonolizado en medio alcohólico debido a la insolubilidad de estos ésteres en medio acuoso.

La estructura de las diamidas de lactosa, maltosa y celobiosa fue demostrada por Deferrari y Cadenas¹⁰⁵ por metilación con yoduro de metilo en N,N-dimetilformamida en presencia de óxido de bario¹¹¹.

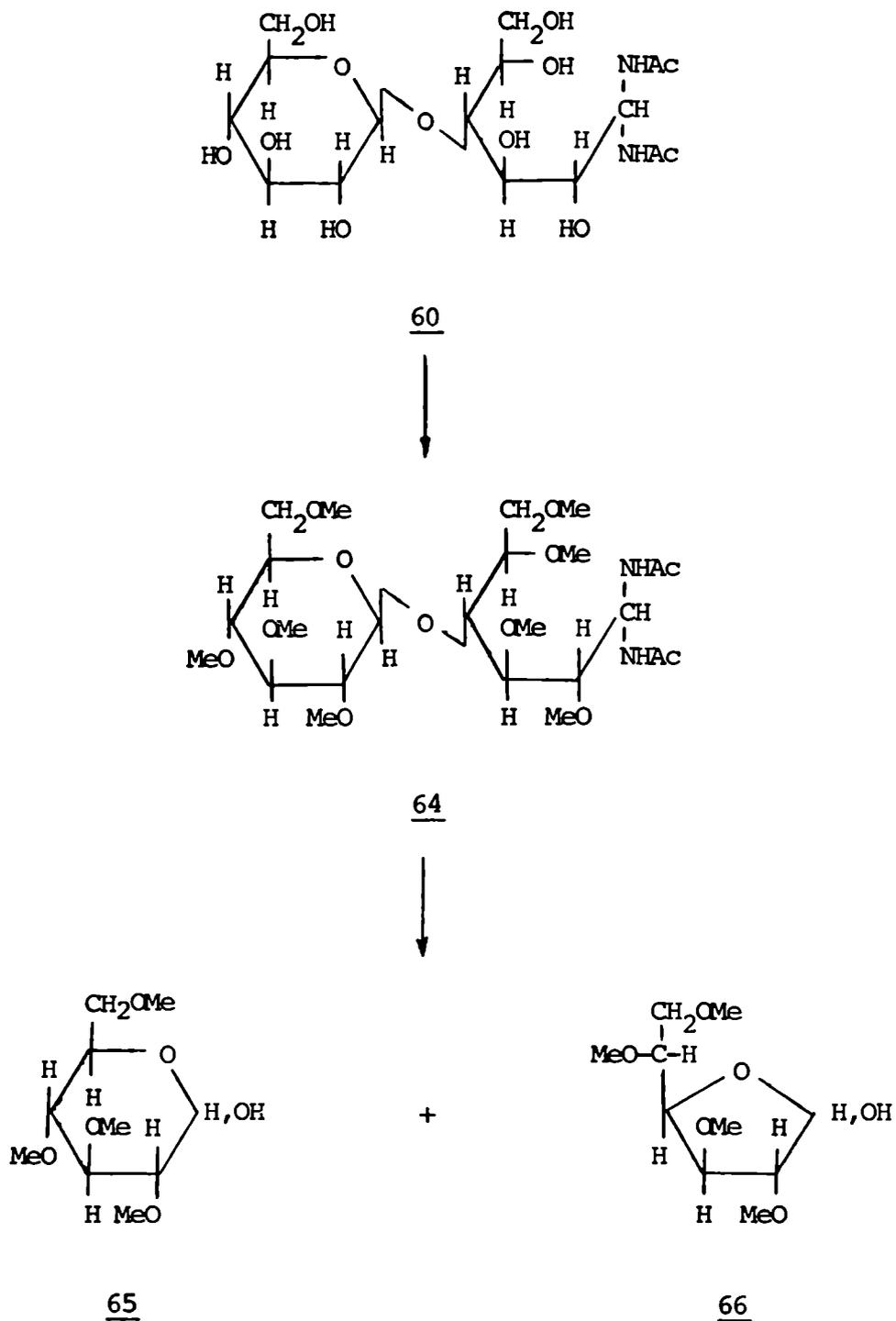
En cada caso se obtuvo el 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-octa-O-metil-aldobiitol correspondiente. Cada una de las aldosas diamidas metiladas produjo por hidrólisis ácida dos monosacáridos metilados cuyas estructuras concuerdan con las fórmulas acíclicas propuestas para los compuestos de partida.

Por ejemplo, del 1,1-bis(acetamido)-derivado de la celobiosa (60) se obtuvo el 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-octa-O-metil-celobiitol (64). Por hidrólisis ácida de éste se aislaron la 2,3,4,6-tetra-O-metil-D-glucopiranosa (65) y la 2,3,5,6-tetra-O-metil-D-glucofuranosa (66).

La relación entre 65 y 66 era de 80 a 20, lo cual indica que la parte nitrogenada de la molécula se descompone en parte durante la hidrólisis.

La octa-O-acetil-melibiosa, que posee una unión glicosídica 1 \rightarrow 6, podría dar lugar a la formación de una N-acetil-melibiosilamina con estructura furanósica o piranósica en la parte reductora del azúcar de partida.

Por tratamiento del peracetato de la melibiosa, tanto en medio acuoso como metanólico, Zanlungo, Deferrari y Cadenas¹¹² obtuvieron el 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-melibiitol y la N-acetil-6-O- α -D-galactopiranosil- β -D-glucofuranosilamina.



60 1,1-bis(acetamido)-1-desoxy-celobiitol

64 1,1-bis(acetamido)-1-desoxy-octa-O-metil-celobiitol

65 2,3,4,6-tetra-O-metil-D-glucopiranososa

66 2,3,5,6-tetra-O-metil-D-glucofuranosa

Sin embargo los rendimientos de ambos productos variaron significativamente de acuerdo al medio en que se realizara la reacción.

El rendimiento total de productos nitrogenados fue del 27% en medio acuoso y tan solo de 5% en medio metanólico.

Se llevaron a cabo, en forma paralela, estudios acerca del comportamiento de algunos disacáridos totalmente benzoilados. Estos trabajos condujeron, de modo similar, a la obtención de mono y bis-benzamido derivados, así también como a la de los correspondientes disacáridos libres.

La amonólisis de la octa-O-benzoil-lactosa¹¹³ condujo a rendimientos del 7.4% de los correspondientes mono y bis-benzamido derivados, junto con un 82% de lactosa. No se observó la formación de la 6-O-benzoil-lactosa. Un comportamiento análogo ofreció la octa-O-benzoil- β -celobiosa¹¹⁴ obteniéndose rendimientos similares de productos nitrogenados además de 6.6% de 6-O-benzoil-celobiosa y 49.6% de celobiosa. La octa-O-benzoil- β -maltosa¹¹⁵ presentó un comportamiento apreciablemente diferente, ya que su amonólisis condujo a un 21% de compuestos nitrogenados junto con 31.6% de 6-O-benzoil-maltosa y 37.8% de maltosa.

Los resultados de estos trabajos se resumen en la Tabla III.

El aislamiento de 6-O-benzoil-celobiosa y de 6-O-benzoil-maltosa de entre los productos de amonólisis de los perbenzoatos de celobiosa¹¹⁴ y maltosa¹¹⁵ permitió observar que el grupo benzoilo situado sobre el O-6 presenta una resistencia inusual a la hidrólisis que ha sido atribuída por Deferrari y col.¹¹⁴ a la diferente estereoquímica de la unión glicosídica entre las dos porciones de la molécula del disacárido, que en el caso de la maltosa es α .

Del análisis de los modelos moleculares los autores¹¹³ infirieron que los grupos benzoilo, en el caso de los perbenzoatos de la lactosa y la celobiosa, podrían encontrarse dispuestos en la periferia de la molécula del disacárido de modo de facilitar un ataque por parte del amoníaco. Esto favorecería la eliminación de esos grupos como benzamida dando en consecuencia una muy pequeña oportunidad a que se produzcan migraciones intramoleculares de los grupos acilo.

Tabla III

Rendimientos de compuestos obtenidos por amonólisis
de octa-O-benzoíl derivados de disacáridos

| Compuesto amonolizado | Producto | | |
|--|----------|-------|-------|
| | A | B | C |
| Octa-O-benzoíl- α, β -lactosa | 6.7% | 0.74% | - |
| Octa-O-benzoíl- β -celobiosa | 7.8% | 0.92% | 6.6% |
| Octa-O-benzoíl- β -maltosa | 20.8% | 0.10% | 31.6% |

A 1,1-bis (benzamido)-1-desoxi-aldobiitol

B N-benzoíl-aldobiosilamina

C 6-O-benzoíl-aldobiosa

De manera análoga surge que la conformación que adopta la octa-O-benzoíl- β -maltosa impone una distribución más compacta de los grupos benzoílo. Esto impediría que los grupos acilo sean eliminados con la misma facilidad por la acción del amoníaco.

Los perbenzoatos, durante la amonólisis, perderían primero el grupo benzoílo del C-1. Esto posibilitaría que se produzca la reacción con el amoníaco con migración hacia el C-1 de otros grupos acilo.

En el caso de la octa-O-benzoíl- β -maltosa el apiñamiento de los grupos voluminosos favorecería la apertura del anillo piranósico de la porción reductora del disacárido. La reacción proseguiría con el ataque del amoníaco sobre el grupo carbonilo, ahora libre, y posterior migración de los grupos benzoílo hacia el C-1.

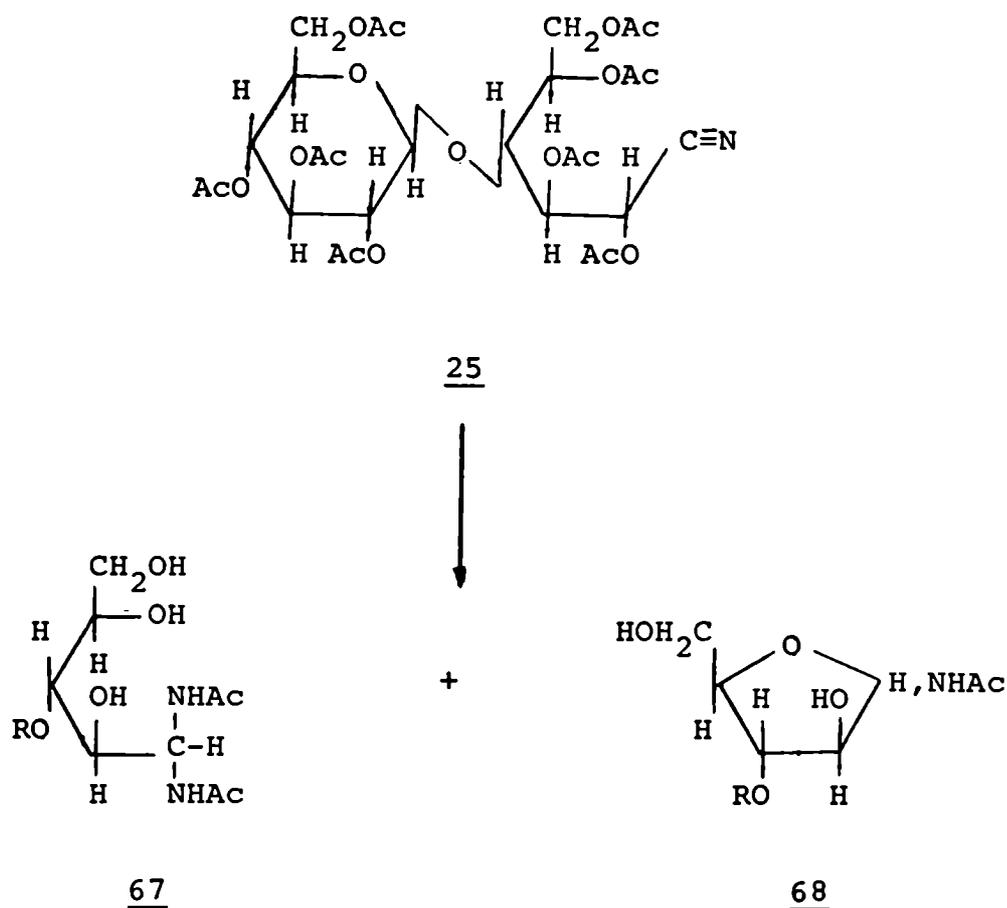
De este modo se justifica la formación de productos nitrogenados en mayor proporción en el caso de la amonólisis de disacáridos con enlace glicosídico α -1-4.

Los mismos autores¹¹⁶ demostraron la importancia que posee un grupo benzoílo en C-3 sobre los productos nitrogenados producidos por migración dado que, la amonólisis de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoíl- β -maltosa produjo 40% de 6-O-benzoíl-maltosa y 56% de maltosa y no se aislaron, ni se detectaron cromatográficamente productos nitrogenados.

Resultados similares se obtuvieron por amonólisis de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoíl- β -lactosa¹¹⁷ (21.6% de 6-O-benzoíl-lactosa y 75.1% de lactosa) y de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoíl- β -celobiosa¹¹⁸ (59% de 6-O-benzoíl-celobiosa y 39.5% de celobiosa).

Deferrari y col. han investigado también el comportamiento de nitrilos de ácidos aldónicos acetilados frente al amoníaco. Esto les permitió aislar varias amidas con estructura de hexosil-pentosas.

La amonólisis del octa-O-acetil-celobionitrilo (25)¹¹⁹ produjo el 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-3-O- β -D-glucopiranosil-D-arabinitol (67), la N-acetil-3-O- β -D-glucopiranosil-D-arabinofuranosilamina (68) y una 3-O- β -D-glucopiranosil-D-arabinosa.



R= β -D-glucopiranosilo

25 octa-O-acetil-celobionitrilo

67 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-3-O- β -D-glucopiranosil-D-arabinitol

68 N-acetil-3-O- β -D-glucopiranosil-D-arabinofuranosilamina

Los mismos autores⁶⁹ obtuvieron por amonólisis, en amoníaco acuoso 25%, del octa-O-acetil-lactobionitrilo el 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-3-O- β -D-galactopiranosil-D-arabinitol, la N-acetil-3-O- β -D-galactopiranosil-D-arabinofuranosilamina y una 3-O- β -D-galactopiranosil-D-arabinosa.

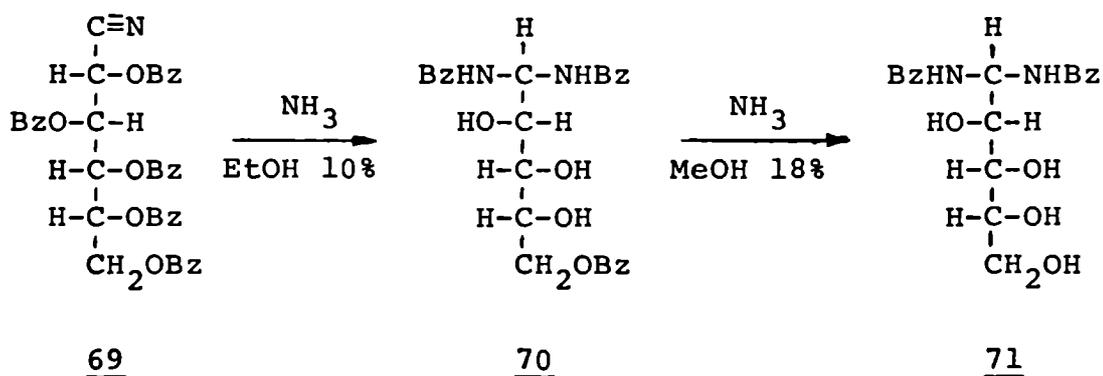
Influencia del Solvente

El solvente en el cual se lleva a cabo la reacción de amonólisis de los acilderivados de los hidratos de carbono tiene gran influencia sobre el rendimiento de las N-acil-aldosilaminas y de los 1,1-bis(acilamido)-1-desoxi-alditales.

En las condiciones de la degradación de Wohl en medio metanólico, el tetra-O-acetil-D-xilononitrilo^{89,90}, el tetra-O-acetil-L-xilononitrilo⁷⁴ y el penta-O-acetil-D-galactononitrilo⁷⁵ dieron diamidas con rendimientos entre el 30% y el 40%.

Cuando la reacción se condujo en medio acuoso se obtuvieron rendimientos de dichos productos cercanos al 70%.

El tratamiento de los penta-O-benzoíl-D-glucono-, D-galactono- y D-manononitrilos con amoníaco etanólico les permitió a Restelli de Labriola y Deulofeu⁸⁵ obtener los correspondientes 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-5-O-benzoíl-pentitales, en los cuales no se había amonilizado el grupo benzoiloxi sobre el carbono primario. El penta-O-benzoíl-D-glucononitrilo (69), por ejemplo, dió el 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-5-O-benzoíl-D-arabinitol con 25% de rendimiento. Este compuesto, al ser tratado con amoníaco metanólico, pierde rápidamente el grupo benzoiloxi de C-5 dando 71.



69 penta-O-benzoíl-D-glucononitrilo

70 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-5-O-benzoíl-D-arabinitol

71 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-arabinitol

Si la amonólisis del penta-O-benzoíl-D-glucononitrilo (69) se lleva a cabo en amoníaco metanólico (5.5%) el compuesto que se obtiene es el 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-arabinitol (71). Si se emplea la misma concentración de amoníaco pero en solución isopropanólica se obtiene 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-5-O-benzoíl-D-arabinitol (70)¹²⁰.

Similares resultados se han obtenido al llevar a cabo la amonólisis del penta-O-benzoíl-D-galactononitrilo y de los perbenzoatos de la D-glucopiranosa, la D-galactopiranosa, la aldehído-D-glucosa y del derivado bisulfítico de esta última¹²¹ usando soluciones de amoníaco (5.5-8%) en alcohol metílico o isopropílico. Derivados nitrogenados ω -O-benzoilados se han obtenido al tratar estos compuestos con soluciones de amoníaco 8% en alcohol isobutílico. Si la reacción se lleva a cabo en medio etanólico se obtienen mezclas de compuestos totalmente desbenzoilados y de los correspondientes 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi- ω -O-benzoíl-alditales tal como lo demostraron Gros y col.¹²⁰.

Ondetti¹²² aisló los 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi- ω -O-benzoíl-alditales por amonólisis, con amoníaco (8%) en isopropanol, de los benzoatos de alditales nitrogenados mencionados.

De todos estos estudios surge que los grupos benzoilo ubicados sobre un hidroxilo primario presentan una mayor resistencia frente a este tipo de hidrólisis. La única excepción que se ha encontrado al respecto se presentó en la amonólisis del tetra-O-benzoíl-L-arabino-nitrilo¹²². Por tratamiento de este nitrilo con amoníaco isopropanólico (5.5%) solo se obtuvo el 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-L-eritritol.

El aumento del rendimiento en los 1,1-bis(acilamido)-1-desoxi-alditales, cuando se lleva a cabo la amonólisis en amoníaco acuoso en lugar de amoníaco metanólico⁹⁰, fue confirmado por Cadenas y De-ferrari¹¹⁰ al amonolizar la octa-O-acetil-maltosa en ambos medios.

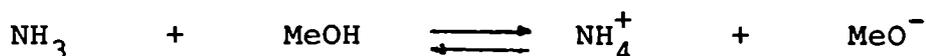
Los autores observaron que el rendimiento de 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-maltitol resultó del 0.8% en metanol y del 27% en agua.

Zanlungo y col.¹¹² obtuvieron resultados similares con la octa-O-acetil-melibiosa.

Por otra parte, Zechmeister y Tóth¹⁰⁴ aislaron azúcares nitrogenados al amonolizar la octa-O-acetil-celobiosa en amoníaco líquido.

La interpretación de estas diferencias se ha basado en estudios previos llevados a cabo sobre la amonólisis de ésteres¹²³⁻¹²⁵.

En soluciones amoniacaes metanólicas se produce el siguiente equilibrio:

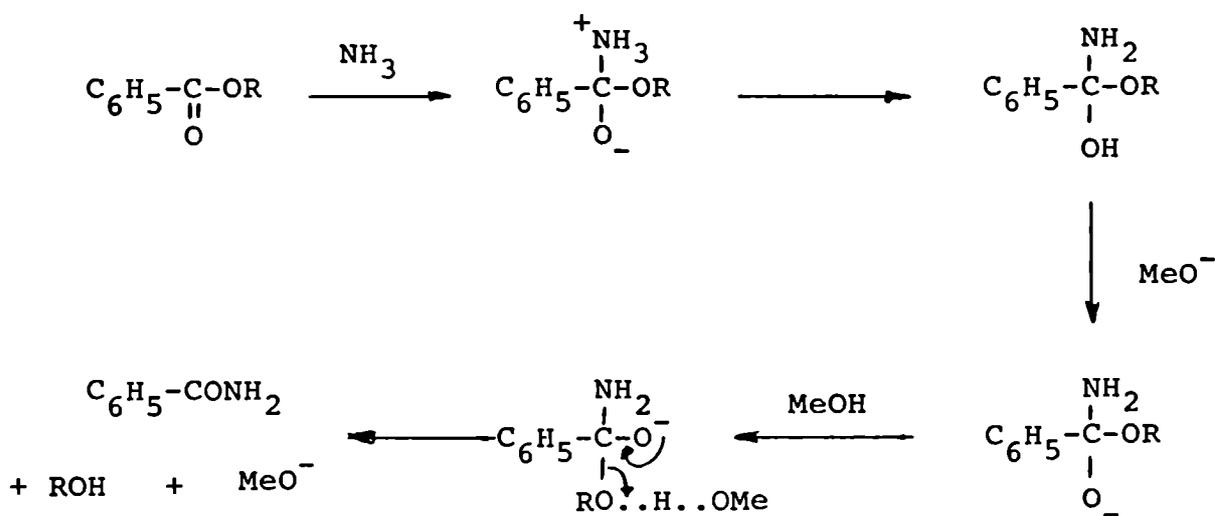


Ecuación I

La presencia del ión alcóxido podría incrementar la proporción de amonólisis e impedir simultaneamente, en forma parcial, la formación de los bis(acilamido) derivados que se producen a través de un mecanismo del tipo orto-éster.

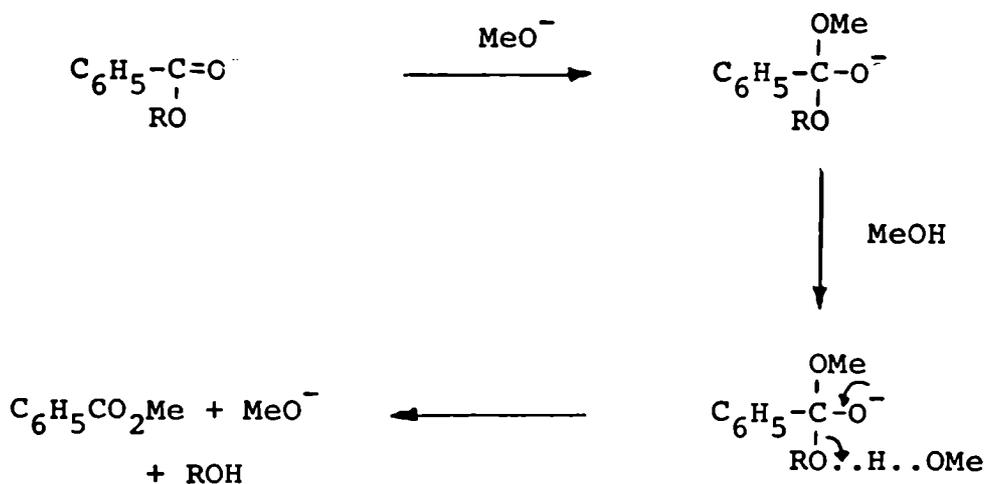
Así por ejemplo, la amonólisis de la penta-O-benzoíl-D-glucosa, en solución metanólica 5 milimolar en metóxido de sodio, produce un 11% menos de rendimiento de la bis(benzamida) del glucitol que el que se obtiene cuando la reacción se realiza sin agregado del ión metóxido¹¹⁰.

La influencia del ión alcóxido sobre la formación de intermediarios que favorezcan el predominio de la reacción de amonólisis simple puede ser interpretada de la siguiente forma:



En presencia de metanol se ha encontrado que se forma, en las reacciones de amonólisis, benzoato de metilo. Esto indica que junto con la catálisis básica, que produce benzamida, y con la formación de ortoésteres a través de un mecanismo intramolecular, que conduce a la formación de azúcares nitrogenados, tiene lugar una reacción de transesterificación.

En ésta los iones alcoxilos cumplen un papel muy importante que puede ejemplificarse a través de la siguiente secuencia de reacciones:



De los resultados experimentales se puede deducir que el predominio de la amonólisis simple y de la transesterificación sobre la formación de orto-ésteres, está relacionada con la acidez del solvente.

Gros y col.¹²⁰ observaron que el grado de amonólisis de los grupos benzoílo presentes en los distintos azúcares benzoilados depende sobre todo de la naturaleza del alcohol utilizado.

El grado de amonólisis decrece en el siguiente orden: metanol, etanol, isopropanol, isobutanol.

Hine y Hine¹²⁶ aseguran que el etanol, el isopropanol y el terbutanol considerados como ácidos son más débiles que el agua, mientras que el metanol es más fuerte. En base a estas consideracio-

nes se puede interpretar la influencia del solvente de acuerdo con la Ecuación I. En metanol, el equilibrio estará desplazado hacia la derecha de modo que las reacciones de amonólisis y de transesterificación estarán incrementadas conjuntamente con la disminución en el rendimiento de los azúcares nitrogenados.

En agua y en alcoholes distintos del metanol el equilibrio para la Ecuación I estará desplazado hacia la izquierda, lo que hace que la reacción transcurra a través de la formación de los orto-ésteres con mayor factibilidad.

La obtención de los bis(benzamido)-alditoles mono O-benzoilados por amonólisis en medio isopropanólico^{120,121} puede explicarse también en base a estas consideraciones.

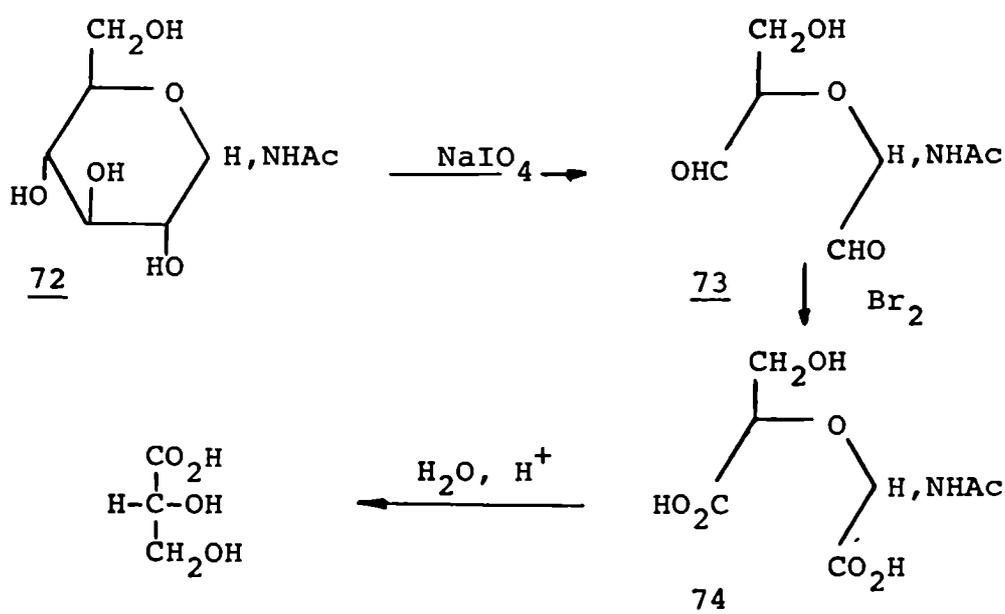
Estructura y Configuración

La determinación de la estructura de los mono y bis(amido) derivados de los hidratos de carbono se realiza en general a través del análisis de sus peracetatos. El número de los grupos acilo indica cuando se trata de una estructura de tipo cíclico o acíclico. Además los resultados de las oxidaciones con periodato o tetraacetato de plomo conducen inequívocamente a la demostración de tales estructuras. También se han empleado estudios de metilación.

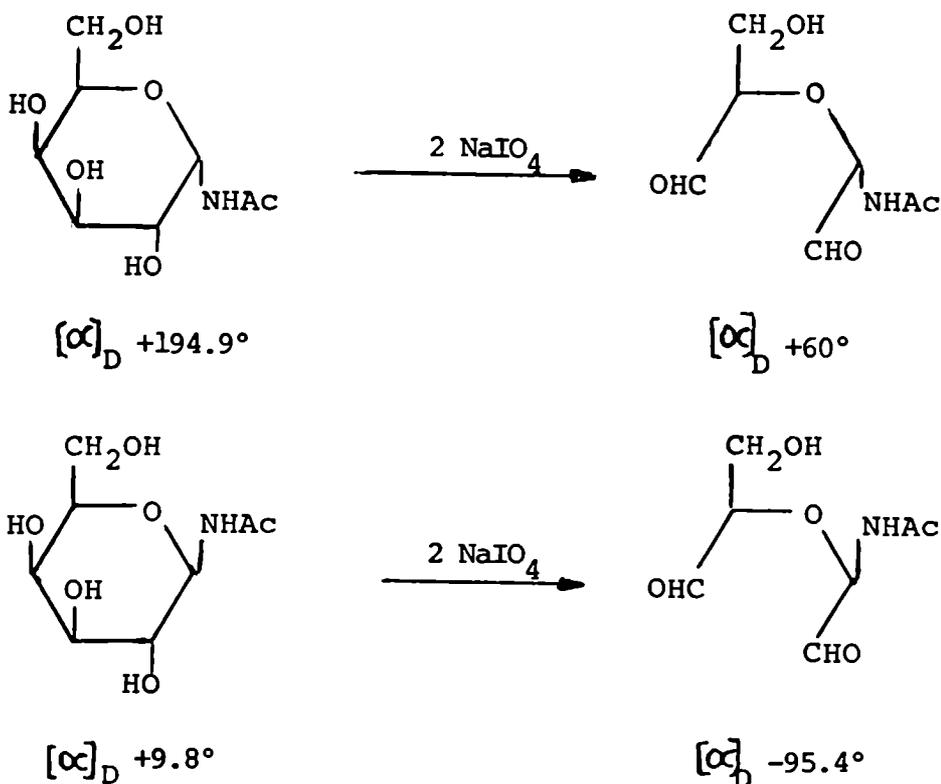
Los primeros estudios oxidativos sobre N-acil-glicosilaminas fueron aplicados en escala preparativa por Niemann y Hays¹²⁷.

Estos autores demostraron que la N-acetil-D-glucopiranosilamina (72), que había sido obtenida por acetilación de la D-glucopiranosilamina con cetena o por acetilación total de la misma seguida de amonólisis de los grupos éster, tenía estructura piranósica.

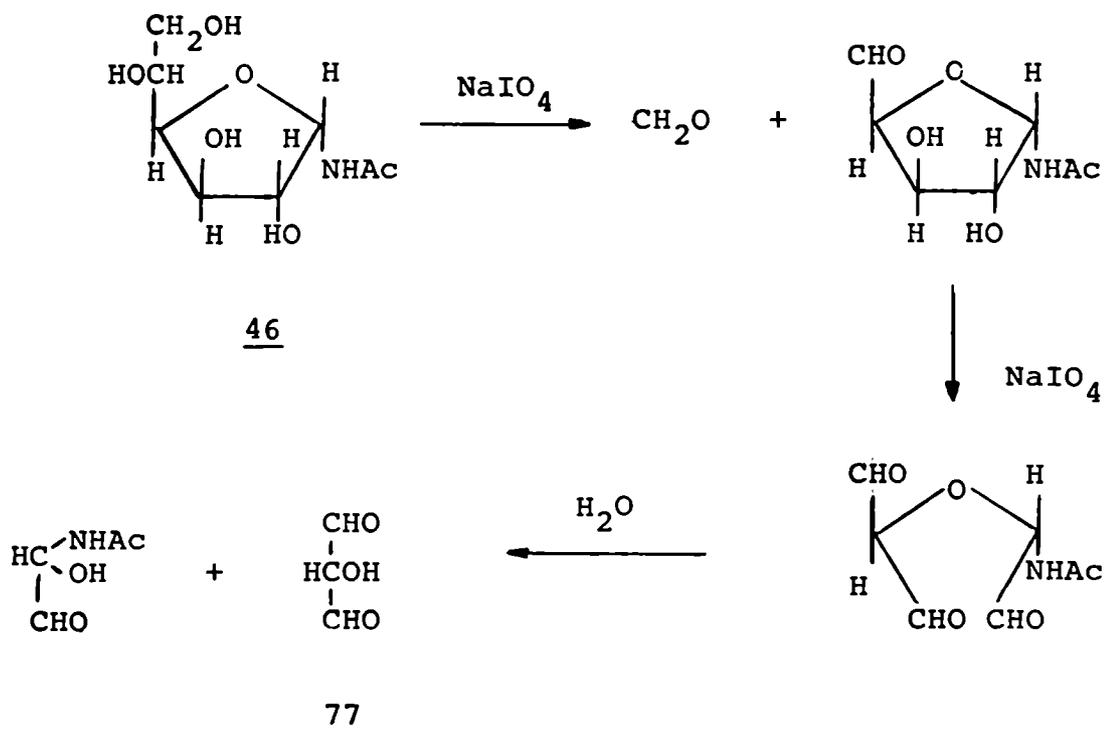
Para determinar el tipo de anillo presente oxidaron 72 con periodato de sodio. El dialdehído (73) obtenido, fue convertido por tratamiento con Br₂ en el diácido (74) que se aisló como sal de estroncio. La hidrólisis de este diácido condujo finalmente al ácido D(+)-glicérico.



La oxidación en escala semimicro de las N-acil-glicopiranosilaminas es directa y no se produce sobreoxidación si la reacción se lleva a cabo durante tiempos cortos. Estas características se pusieron de manifiesto en la oxidación de la N-benzoíl-L-ramnopiranosilamina^{73,81} y en la del par de N-acetil-D-galactopiranosilaminas anoméricas¹²⁸. Los anómeros mencionados fueron obtenidos por desacetilación de los penta acetatos de la α -y de la β -galactopiranosilamina. Por oxidación con periodato de sodio se obtuvieron los dos aldehídos cuyas estructuras y rotaciones específicas se indican a continuación.



Como la única diferencia entre los dos productos de oxidación es la configuración del átomo de carbono del centro anomérico, ha sido posible determinar la configuración del C-1 de otras N-acetil-glicopiranosilaminas por comparación de las rotaciones específicas de los "dialdehídos" formados por oxidación de las mismas con per-

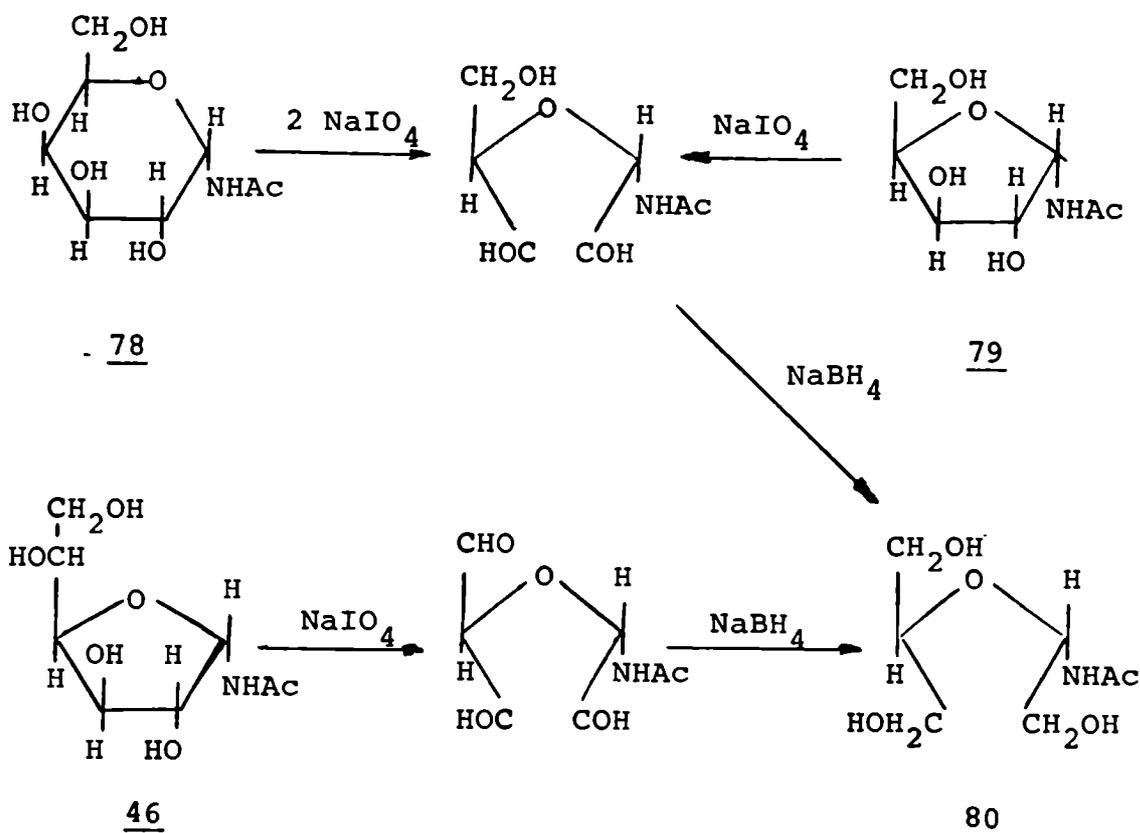


Esto también fue observado por Zanlungo y col.^{103,132} al estudiar la estructura de los productos obtenidos por amonólisis de los peracetatos de la D-manopiranososa y de la D-galactopiranososa.

El método de Frush e Isbell¹²⁸ fue modificado por Cerezo y Deulofeu⁹³ con el fin de lograr la determinación de la configuración anomérica de las N-acil-glicofuranosilaminas. En esta modificación se reducen los dialdehídos, formados por oxidación con periodato de sodio, con borohidruro de sodio. De esta forma el único centro asimétrico que se mantiene es el del carbono anomérico. Por aplicación de este método las N-acetil-hexopiranosilaminas, N-acetil-hexofuranosilaminas y N-acetil-pentofuranosilaminas que tengan la misma configuración anomérica darán el mismo producto.

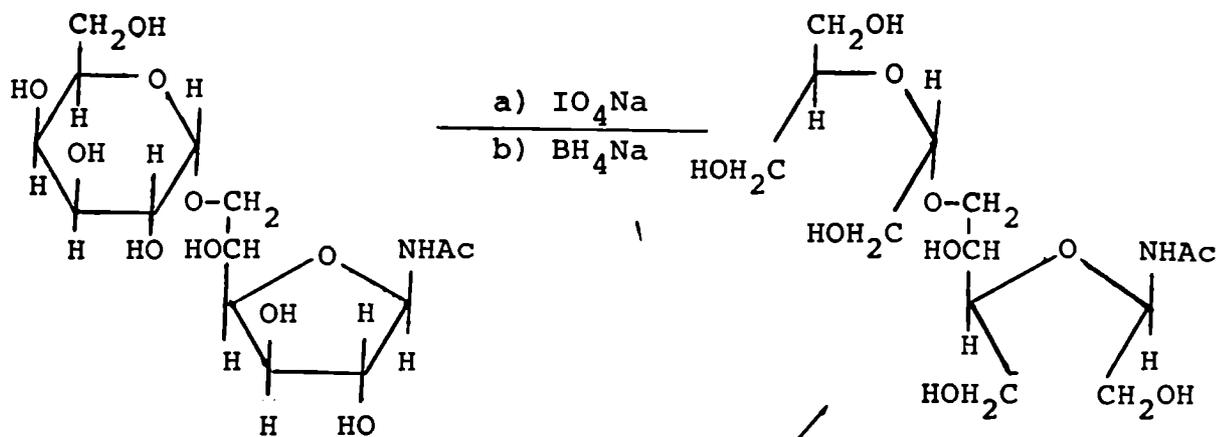
El método de Cerezo y Deulofeu⁹³ fue aplicado por sus autores a la N-acetil- α -D-galactopiranosilamina (78), cuya configuración anomérica era conocida, a la N-acetil-D-glucofuranosilamina (46) y a la N-acetil-D-xilofuranosilamina (79) de las que se desconocía la configuración del primer átomo de carbono.

Todos estos azúcares dieron finalmente el compuesto 80 lo que permitió demostrar que 46 y 79 poseían la configuración α -D. Generalmente los anómeros α -N-acetilados dan derivados con rotación específica entre $+7^\circ$ y $+9^\circ$, mientras que los anómeros β tienen rotaciones específicas que oscilan entre -8° y -11° .



- 46 N-acetil- α -D-glucofuranosilamina
78 N-acetil- α -D-galactopiranosilamina
79 N-acetil- α -D-xilopiranosilamina

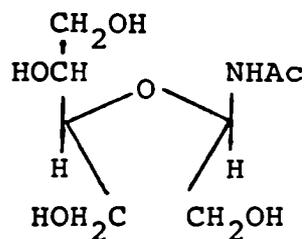
En el caso de las N-acil-aldobiosilaminas, este método requiere una nueva oxidación y posterior reducción. Zanlungo y col.¹¹² aplicaron esta modificación del método de Cerezo y Deulofeu⁹³ a la N-acetil-6-O- α -D-galactopiranosil- β -D-glucofuranosilamina que habían obtenido por amonólisis de la octa-O-acetil-melibiosa.



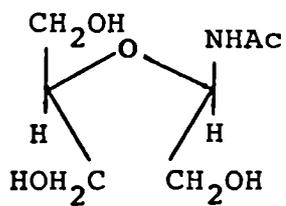
$\text{H}^+, \text{H}_2\text{O}$
 temp. amb.

Fragmentos ópticamente
 inactivos

+



a) IO_4Na
 b) BH_4Na



Este procedimiento ha sido aplicado por Delpy y Cerezo¹³³ con el objeto de determinar el tamaño del anillo y la configuración anomérica de varias N-benzoil-glicosilaminas obtenidas por N-benzoilación de glicosilaminas libres. Los autores consideraron que el tamaño del anillo y la configuración del C-1 se retiene durante el proceso de benzoilación.

Cerezo y Deulofeu⁹³ usaron las reglas de isorotación de Hudson para confirmar la configuración anomérica α de la N-acetil-D-glucofuranosilamina y de la N-acetil-D-xilofuranosilamina. Más tarde Delpy y Cerezo¹³³ propusieron una modificación de los valores de "B" usados habitualmente para estos N-acil derivados basándose en una mejor correspondencia entre los valores experimentales y los calculados teóricamente. Ellos sugirieron que las diferencias entre ambos valores se debían a la presencia, en las glicosilaminas, de grupos altamente polarizables.

También se han realizado estudios acerca del comportamiento de las N-acil-glicosilaminas, los 1,1-bis(acilamido)-1-desoxi-alditoles y de sus ésteres frente a la radiación infraroja¹³⁴.

Estos trabajos se han llevado a cabo con el objeto de correlacionar dicho comportamiento con el de otros derivados de azúcares que había en literatura¹³⁵⁻¹³⁸.

Sin embargo estos estudios no han permitido elaborar un criterio general, aunque en ocasiones se han hallado bandas con algún valor diagnóstico. Por ejemplo, la presencia de dos bandas de amida II no equivalentes, en las 1,1-bis(acilamidas) de alditoles. Este comportamiento sugeriría que los dos grupos amida estarían involucrados en uniones de tipo hidrógeno de distinta naturaleza.

Zanlungo y col.¹⁰³ llevaron a cabo un estudio comparativo de los rendimientos de los productos cíclicos y acíclicos de las reacciones de amonólisis de varias glucopiranosas peraciladas. Este análisis reveló, que cuando los grupos acilo son alifáticos el rendimiento de productos nitrogenados cíclicos es mayor que si esos grupos son aromáticos. En el caso de estos últimos el bajo rendimiento puede atribuirse a factores estereoelectrónicos¹³² ya que la lenta amonólisis de esos grupos voluminosos puede dificultar la ciclación favoreciendo la formación de derivados 1,1-bis-acilamido de natura-

leza acíclica.

La amonólisis de benzoatos ha dado N-benzoíl-piranosilaminas y no ha conducido a la formación de anillos furanósicos. Este comportamiento podría atribuirse al hecho que las N-benzoíl-D-glicopiranosilaminas adoptan una conformación 4C_1 por ser ésta la menos impedida.

Se ha demostrado que la reacción de formación de N-acil-glicosilaminas es irreversible y se halla controlada cinéticamente. También se ha comprobado que en muchas reacciones irreversibles de ciclación en hidratos de carbono predomina la formación de estructuras furanósicas¹³⁹⁻¹⁴¹. La preponderancia de estas estructuras y el hecho que se encuentre favorecida una determinada configuración anomérica podría ser el resultado de un balance de las energías libres asociadas a los estados de transición en la etapa de ciclación. Posiblemente la geometría del estado intermedio y del producto final serían de naturaleza similar¹⁴².

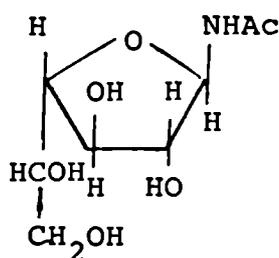
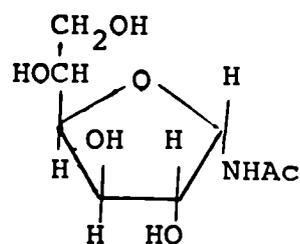
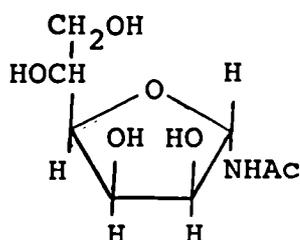
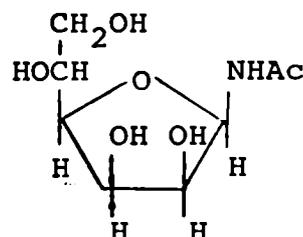
La formación de anillos de cinco miembros a partir de formas acíclicas tiene requerimientos entrópicos muy bajos. Esto justifica la gran tendencia a la ciclación de las formas abiertas dado el alto grado de desorden de éstas^{143,144}.

Se ha observado que la configuración de los azúcares de partida tiene gran influencia sobre la ciclación. Por ejemplo los acetatos que poseen la configuración D-gluco o D-galacto producen por amonólisis solamente compuestos cíclicos con estructuras furanósicas; aquéllos que poseen configuración D-mano conducen a mezclas de N-acetil-glicosilaminas con estructuras furanósicas y piranósicas^{103,145}.

Estos resultados pueden explicarse en base a consideraciones de carácter estérico de los productos finales. En el caso de las N-acetil-glicofuranosilaminas con configuración D-galacto (81) y D-gluco (46) existen dos sustituyentes arriba y dos debajo del plano del anillo, mientras que en los casos con configuración D-mano (56) y (57) hay por lo menos tres sustituyentes hacia un mismo lado del plano.

Las grandes interacciones que se presentan en 56 y 57 podrían aumentar la energía de activación necesaria para la etapa de ciclación, lo que conduciría a un menor grado de formación de anillos fu-

ranóicos, haciendo más competitiva la ciclación a estructuras piranósicas.

81465657

- 81 N-acetil- β -D-galactofuranosilamina
46 N-acetil- α -D-glucofuranosilamina
56 N-acetil- α -D-manofuranosilamina
57 N-acetil- β -D-manofuranosilamina

La obtención de la N-acetil- β -D-galactofuranosilamina (81) y de la N-acetil- α -D-glucofuranosilamina (46) puede ser atribuida a la diferente configuración del C-4 en ambos compuestos. De modo que los productos principales sean aquellos en los que los grupos voluminosos que sustituyen los C-1 y C-4 se encuentren en lados opuestos del anillo furanósico.

El mismo razonamiento es aplicable para explicar la preponderancia del anómero α en la mezcla de productos cíclicos obtenidos por amonólisis de la penta-O-acetil- β -D-manopiranososa (54)¹⁰³.

Mecanismos de Formación de los Derivados Nitrogenados

Wohl^{34,87,88} supuso que la reacción de los aldononitrilos acetilados con amoníaco ocurría en dos etapas.

1.- Eliminación de los grupos acetilo y ciano y formación de un aldehído-azúcar.

2.- Formación del bis-acetamido derivado por condensación del grupo aldehído con dos moléculas de acetamida provenientes del medio de reacción.

Para hacer estas suposiciones Wohl se basó en las reacciones de condensación de los aldehídos con acetamida o benzamida¹⁴⁶⁻¹⁴⁹.

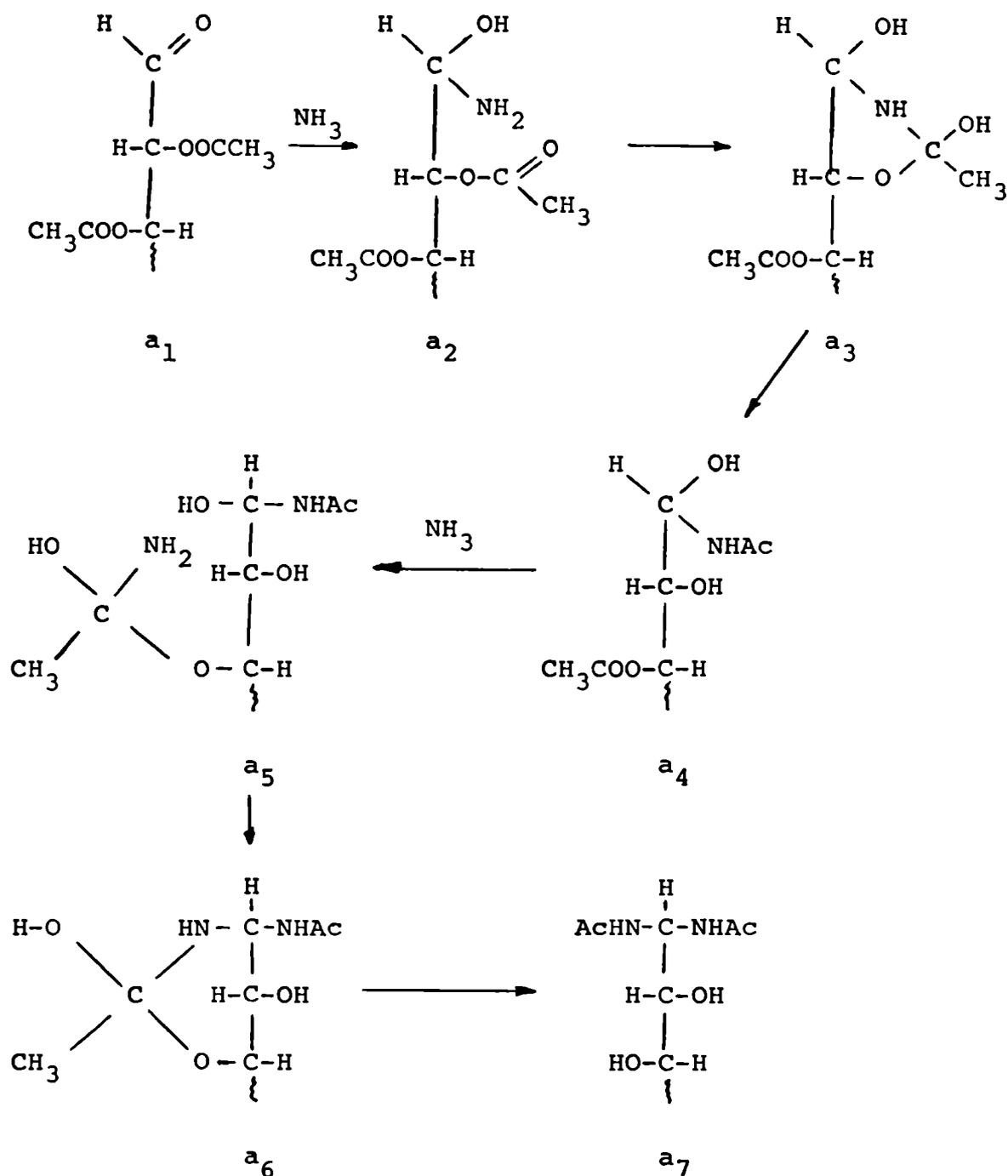
Sin embargo Hockett y Chandler⁹¹ no lograron la condensación de la penta-O-acetil-aldehído-D-glucosa con acetamida. Quedó así demostrado que la reacción, en los hidratos de carbono, no ocurre a través de las etapas supuestas por Wohl.

Con anterioridad a los trabajos de Hockett, Brigl y col.²⁶ no habían logrado obtener 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-manitol por tratamiento del D-glicero-D-gala-heptononitrilo con amoníaco y óxido de plata en presencia de benzamida.

En 1949 Isbell y Frush⁹⁵ propusieron un mecanismo intramolecular para la amonólisis de las formas aldehídicas de las aldosas acetiladas.

En base a la facilidad de condensación de los aldehídos con amoníaco, la reacción podría comenzar con la adición de una molécula de amoníaco al grupo aldehído del monosacárido acilado (a_1). El átomo de nitrógeno así introducido podría formar un compuesto tipo orto éster cíclico (a_3) con el grupo acetilo del carbono adyacente a través del grupo amino. Un reordenamiento posterior conduciría al N-acetil derivado (a_4). La reacción podría detenerse en este punto dando lugar a la formación de un anillo hemiacetálico. Pero en la mayoría de los casos la reacción prosigue adicionando otra molécula de amoníaco sobre el grupo carbonilo del C-3 (a_5). Este intermediario (a_5) po-

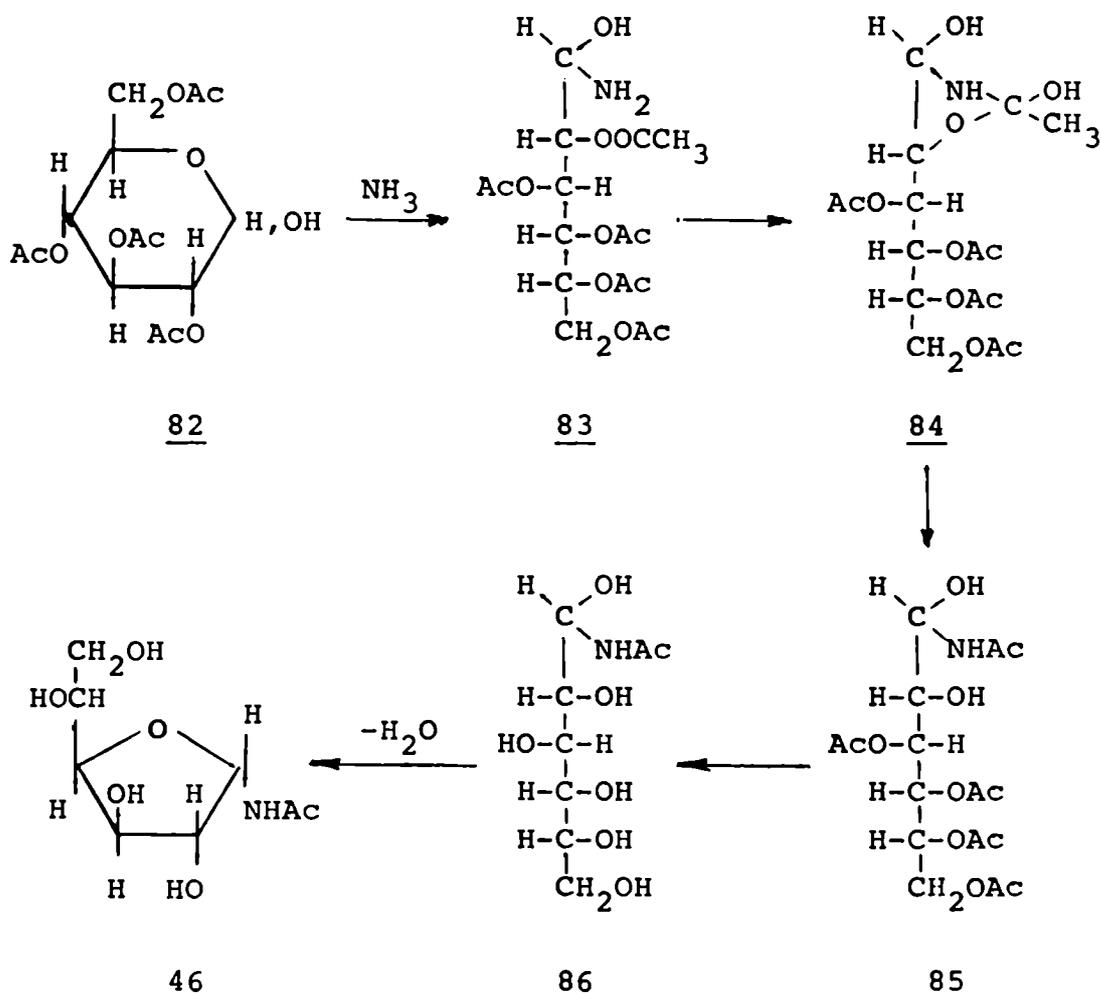
dría reordenarse, a través de una estructura cíclica (a_6), al 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-alditol (a_7).



En la amonólisis de los nitrilos acetilados el grupo aldehído libre podría ser el resultado de la pérdida del grupo ciano como ión cianuro y de la eliminación del grupo acetilo ubicado sobre el O-2 como acetamida.

Este mecanismo ha sido avalado por la formación de 2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa (64% Rend.) por amonólisis, en medio metanólico, de la 1,3,4,6-tetra-O-acetil-2-desoxi-2-amino-D-glucopiranososa a través de la migración de un grupo acetilo hacia el grupo amino presente en la molécula original¹⁵⁰.

La formación de la N-acetil- α -D-glucofuranosilamina (46) a partir de la penta-O-acetil-D-glucopiranososa y de algunas N-acil-D-glucosaminas^{73,81,91,93} podría iniciarse con la rápida eliminación del grupo acetilo ubicado sobre el O-1 de la penta-O-acetil-D-glucopiranososa para dar la 2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranososa (82). En este proceso el C-1 es capaz de combinarse con el amoníaco para dar 83 y posteriormente un intermediario orto éster cíclico 84. Luego tendría lugar la amonólisis de los restantes grupos acetilo y el subsiguiente o simultáneo reordenamiento a 85 y 86, seguido de ciclación a la N-acetil- α -D-glucofuranosilamina (46).



En bibliografía existen numerosos datos que refutan la teoría, elaborada por Wohl^{34,87,88}, de un mecanismo de condensación directa.

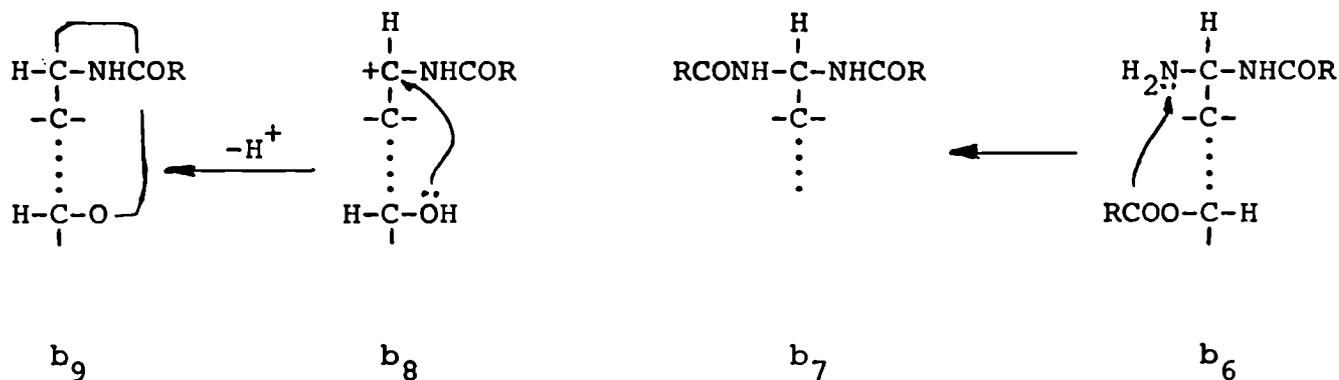
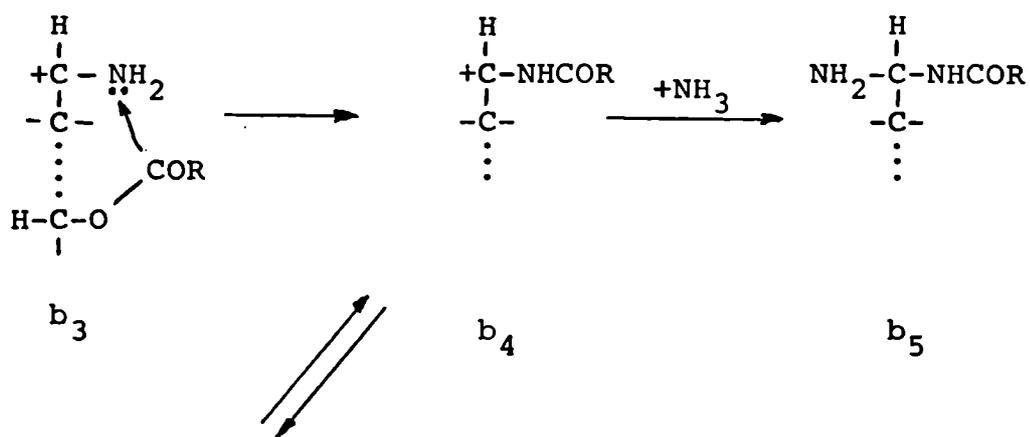
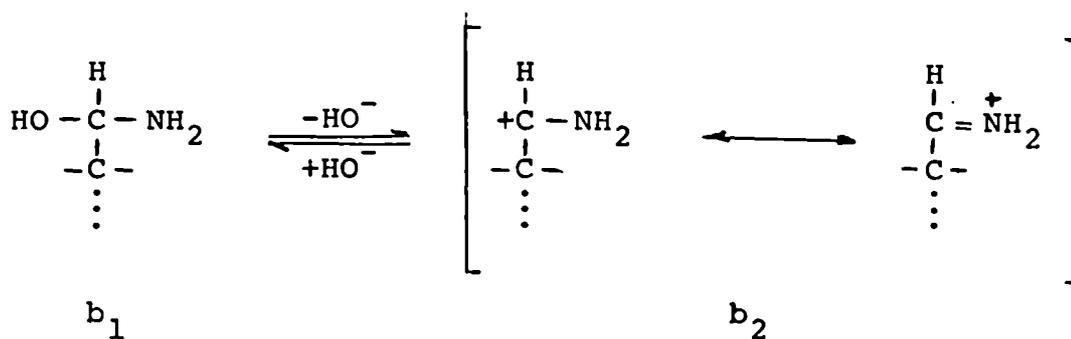
Deulofeu y Deferrari¹⁵¹ obtuvieron por degradación del tetra-O-acetil-L-arabinonitrilo en presencia de propionamida o benzamida, el 1,1-bis(acetamido)-l-desoxi-L-eritritol con rendimiento similar al obtenido cuando la reacción se llevó a cabo en ausencia de dichas amidas. Los mismos autores verificaron que un exceso de acetamida no incrementa el rendimiento de productos nitrogenados.

Hockett y col.¹⁵² amonolizaron también el tetra-O-acetil-L-arabinonitrilo en medio etanólico con amoníaco marcado con ¹⁵N en presencia de acetamida ¹⁴N y obtuvieron el correspondiente diacetamido alditol con un contenido en ¹⁵N similar al del amoníaco empleado. Si el mecanismo intermolecular propuesto por Wohl fuese el que rige la reacción, el porcentaje de ¹⁵N del bis-acetamido alditol debería haber sido más bajo.

Del mismo modo, la amonólisis de la penta-O-benzoíl-D-glucosa llevada a cabo por Gros y col.¹⁰¹ en presencia de benzamida, cuyo carbonilo contenía ¹⁴C, no manifestó radiactividad en el 1,1-bis(benzamido)-l-desoxi-D-glucitol obtenido. Estos autores propusieron un mecanismo alternativo al elaborado por Isbell y Frush⁹⁵. En él la etapa inicial sería similar, es decir la formación de un iminol (b₁).

Este intermediario daría lugar a un ión imonio (b₂). Este ión (b₂) luego de la migración de un grupo acetilo convenientemente dispuesto (b₃) conduciría a la formación del carbonio (b₄). El ataque nucleofílico del amoníaco sobre el C-1 de este intermediario generaría (b₅) y finalmente se obtendría el 1,1-bis(acilamido)-l-desoxi-alditol (b₇) por migración de otro grupo acilo (b₆). El ión carbonio (b₄) sería el responsable de la formación de N-acil-glicosilaminas (b₉) que habitualmente se obtienen con bajo rendimiento. Estos derivados monoacilados se producirían, a través de un proceso de ciclación, por ataque del par electrónico de un grupo oxhidrilo convenientemente localizado en la cadena (b₈).

El mecanismo propuesto por Gros y col.¹⁰¹ se ejemplifica en el esquema de la página siguiente.



Se ha demostrado que las N-acil-glicosilaminas (b_9) no son precursoras de los bis(acilamido)-alditoles (b_7) ya que por amonólisis de sus peracetatos se recuperan inalteradas.

Se han realizado algunos estudios cuyo objeto es el de determinar la contribución de los grupos acilo a la formación de las bis(acilamidas) de los alditoles.

El primero de tales estudios fue realizado por Brigl y col.²⁶

quienes con ese fin llevaron a cabo la amonólisis de la 3,4,5,6-tetra-O-benzóil-2-S-etil-2-tio-aldehído-D-glucosa obteniendo la N-benzóil-2-S-etil-2-tio-D-glucopiranosilamina. Este resultado sugiere que la ausencia de un grupo 2-O-benzóilo impediría la formación de los bis(benzamido)-alditales. Además, el tratamiento con amoníaco de la 4,5,6-tri-O-acetil-2,3-di-O-metil-aldehído-D-glucosa llevó a sus autores¹⁵³ a la obtención, como único producto, de la 2,3-di-O-metil-D-glucosa. Sin embargo de estas experiencias no se puede concluir en forma inequívoca que los grupos aciloxi de los C-2 y C-3 son los únicos contribuyentes en ese tipo de reacción, ya que los sustituyentes metilo o etil-tio podrían impedir la trasposición debido a un impedimento de tipo estérico.

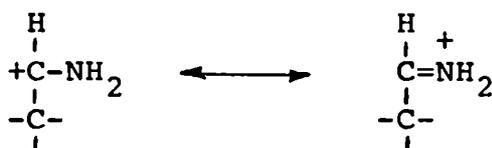
Por otra parte, estos sustituyentes podrían impedir la formación de intermediarios útiles en la migración hacia el C-1. En acuerdo con estas conclusiones Brigl y col.²⁶ lograron obtener el 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-glucitol por amonólisis de la 3,4,5,6-tetra-O-benzóil-aldehído-D-glucosa.

Con el objeto de demostrar que los grupos aciloxi de las distintas posiciones de la cadena de los hidratos de carbono contribuyen en distinta proporción a la formación de los productos nitrogenados en este tipo de reacciones Gros y col.¹⁰¹ llevaron a cabo la reacción de amonólisis sobre penta-O-benzoatos de D-glucosa sustituidos selectivamente en las distintas posiciones por grupos benzoílo marcados con ¹⁴C. La medida de la reactividad del 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-glucitol obtenido en cada experiencia, da idea de la contribución de cada grupo benzoílo a la formación del bis(acilamido)-glucitol. Se debe hablar de contribución aparente, ya que no puede descartarse la posibilidad de que se produzcan migraciones de los grupos acilo durante la amonólisis.

Los resultados obtenidos por Gros y col.¹⁰¹ se presentan en la Tabla IV y muestran que en los benzoatos cíclicos existe una gran contribución de los grupos benzoíloxi ubicados en los C-3 y C-4, una contribución intermedia por parte del ubicado sobre C-6 y una pequeña contribución del situado en el C-2; mientras que la contribución del benzoíloxi de C-1 es nula respecto de la formación del 1,1-bis(benza-

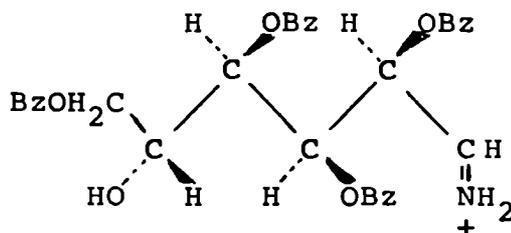
mido)-1-desoxi-D-glucitol.

Se observa que existe un aumento del rendimiento de los derivados nitrogenados cuando la reacción se realiza sobre aldehído azúcares acilados. Este incremento puede explicarse en base a una mayor participación del intermediario b_3 (pag. 61) ya que en este caso no es necesaria la amonólisis previa del grupo aciloxi situado sobre el C-1. Por lo tanto la eliminación de los grupos acilo como amida podría verse disminuída.



b_2

La conformación preferida del intermediario b_2 que permitiría una migración directa $\text{C}-2 \rightarrow \text{N}-1$ o $\text{C}-3 \rightarrow \text{N}-1$ podría ser una conformación planar en zig-zag del tipo 87, cuyo rotámero $\text{C}-2 \rightarrow \text{C}-3$ se puede representar a través de 88. Aunque también el intermediario 87 podría adoptar la conformación 89. En esta última si bien la migración $\text{C}-3 \rightarrow \text{N}-1$ estaría impedida, la migración $\text{C}-4 \rightarrow \text{N}-1$ y la $\text{C}-2 \rightarrow \text{N}-1$ no sería dificultosa.

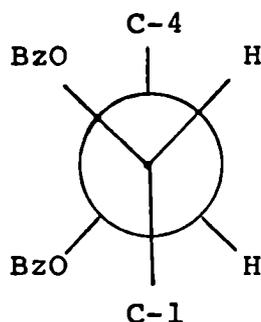
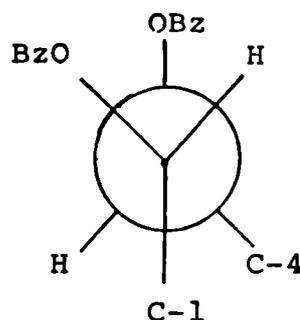


87

TABLA IV

Contribución (moles/mol) de cada grupo benzoílo a la migración con formación del 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-glucitol¹⁵⁴ y del 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-galactitol¹⁵⁵

| sustancia | C-1 | C-2 | C-3 | C-4 | C-6 | Rend. |
|---|-----|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|
| 1,2,3,4,6-penta-O-benzoíl-D-glucosa | 0 | 0.12±0.03 | 0.76±0.02 | 0.82±0.02 | 0.31±0.02 | 21% |
| 2,3,4,6-tetra-O-benzoíl-D-glucosa | - | 0.12±0.03 | 0.80±0.03 | 0.81±0.02 | 0.27±0.02 | 28% |
| 1,2,3,5,6-penta-O-benzoíl-D-glucosa | 0 | 0.10±0.01 | - | - | - | 53% |
| 2,3,5,6-tetra-O-benzoíl-D-glucosa | - | 0.11±0.02 | - | - | - | 62% |
| 2,3,4,5,6-penta-O-benzoíl-(aldehydo)-D-glucosa | - | 0.81±0.02 | - | - | - | 61% |
| 2,3,4,5,6-penta-O-benzoíl-D-glucosa, derivadp bisulfítico | - | 0.83±0.02 | - | - | - | 62% |
| 1,2,3,4,6-penta-O-benzoíl-D-galactosa | - | 0.13±0.01 | 0.62±0.01 | 1.02±0.02 | 0.18±0.01 | 24% |

8889

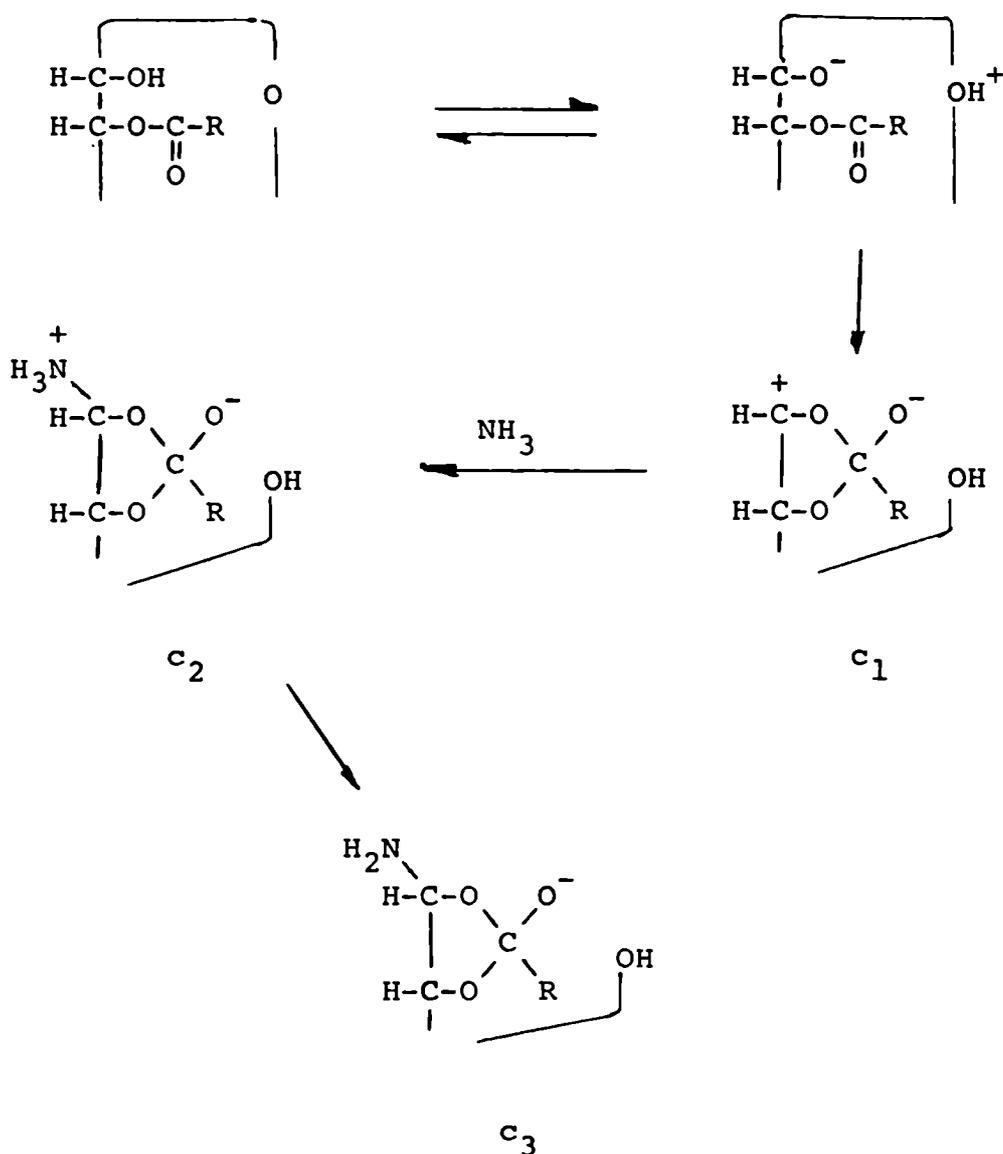
Ha sido observado por Deulofeu y col.¹⁵⁴ que la contribución del grupo benzoílo situado sobre el O-2 es similar tanto en benzoatos furanósicos como piranósicos. En los casos donde no es posible la formación de tales estructuras la contribución del grupo benzoílo es mayor; tal como se ve por los datos de la Tabla IV. Esta diferencia de comportamiento fue interpretada considerando, para los derivados cíclicos, la formación de un orto éster (c_1) que podría estabilizar la carga positiva sobre el C-1 y de este modo facilitar la captura del amoníaco para dar c_2 y c_3 . En efecto, al estar involucrado el grupo benzoílo del O-2 en el intermediario c_1 , este grupo está impedido de participar en una migración $O \rightarrow N$.

En los derivados acíclicos la posibilidad de formación de orto ésteres entre los C-1 y C-2 debe estar disminuída debido a la facilidad de reacción del grupo carbonilo con el amoníaco.

La suposición de que en los derivados cíclicos la baja contribución del grupo benzoílo del O-2 a la migración $O \rightarrow N$ era atribuible a su facilidad de eliminación como benzamida es falsa, ya que la amonólisis de la 2,3,5,6-tetra-O-benzoíl-D-glucofuranosa y de la 3,5,6-tri-O-benzoíl-D-glucofuranosa dan rendimientos del 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-D-glucitol del 62% y del 16% respectivamente.

Como la única diferencia estructural entre los dos benoatos de partida es la presencia del benzoílo en O-2, el distinto rendimiento obtenido no está de acuerdo con la baja contribución a la mi-

gración de este grupo benzóilo. En base a estos resultados, se concluyó que a pesar de la baja contribución de dicho grupo, es necesaria la presencia del mismo en el O-2 para que se pueda obtener el bis(benzamido)-alditol con alto rendimiento. Esta suposición refuerza la hipótesis de que la formación del orto éster c_1 permite una rápida apertura del anillo hemiacetálico, facilitando de este modo el ataque por el amoníaco.

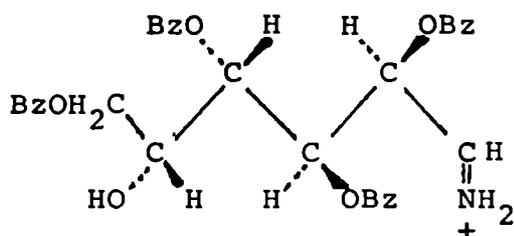


Gros y Deulofeu¹⁵⁵ llevaron a cabo, en forma paralela, estudios sobre penta-O-benzoíl- α -D-galactopiranosas que poseían en diferentes posiciones grupos benzoílo marcados con carbonilo-¹⁴C. La contribución de cada grupo benzoílo fue determinada a través de la medición de la actividad específica que mostraba cada uno de los 1,1-bis-(benzamido)-l-deosxi-D-galactitoles obtenidos (ver Tabla IV).

El valor de 1.02 moles/mol encontrado para la contribución del grupo O-benzoílo ubicado en C-4 en la penta-O-benzoíl- α -D-galactopiranososa es 0.18 moles/mol más alto que el encontrado para la contribución del grupo benzoílo ubicado en la misma posición en la penta-O-benzoíl-D-glucopiranososa¹⁰¹.

Este aumento de la participación de este grupo en el perbenzoato de D-galactosa se presenta conjuntamente con una menor contribución de los grupos benzoílos ubicados en C-3 y C-6, mientras que en ambos casos el valor hallado para el benzoílo de C-2 es similar.

La migración total del grupo O-benzoílo del C-4 en la penta-O-benzoíl- α -D-galactosa fue atribuido por Gros y Deulofeu¹⁵⁵ a una mejor localización de dicho grupo para la migración en la conformación zig-zag del intermediario acíclico 90.



90

El análisis conformacional por medio de las proyecciones de Newman del intermediario para el D-galacto-derivado, en comparación con el análogo D-gluco (87), les sugirió a los autores¹⁵⁵ que, la conformación más estable para 90 podría ser también la más favorable para la migración directa C-4 \rightarrow N-1 ya que en 87 la distancia entre los átomos involucrados es más grande. Una explicación alternativa, basa-

da más en análisis estéricos y configuracionales, que en consideraciones de tipo conformacional, fue intentada por Zanlungo y col.¹³² quienes consideraron que de acuerdo con el principio de Curtin-Hammett la energía de reacción probablemente sobrepase las barreras energéticas entre los conformeros, de modo que consideraciones fundadas en estados conformacionales de los intermediarios de reacción podrían tener menos peso. Las diferencias observadas en las contribuciones de los grupos benzoílo, situados en posiciones similares, dependiendo de que el azúcar de partida sea cíclico o acíclico sugeriría que la reacción de amonólisis se halla controlada por efectos estéricos^{156,157} y que las magnitudes de las distintas contribuciones estarían relacionadas con la dirección de ataque del amoníaco.

CAPITULO III

DESCRIPCION DE LAS EXPERIENCIAS

Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Síntesis del octa-O-acetil-melibionitrilo (I) y análisis de su espectro de resonancia magnética protónica y de su espectro de masa

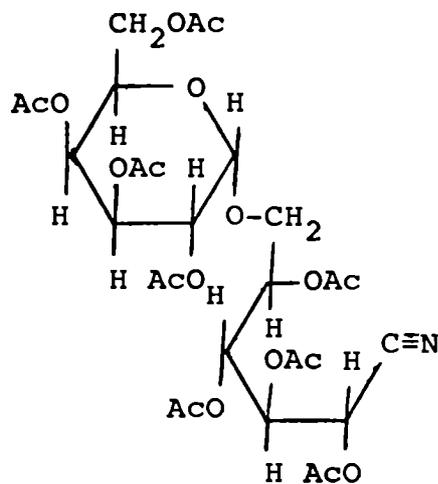
La síntesis de oximas a partir de aldosas ha permitido obtener generalmente derivados de cadena abierta, pero también se encuentran descritas en literatura oximas con estructura cíclica^{35,37,50,53,56-58}.

Los aldononitrilos acilados se preparan a partir de las oximas de cadena abierta, que reaccionan a través de su forma "anti", por acilación y deshidratación de las mismas. Los rendimientos son variables y dependen de las condiciones de reacción, especialmente de la temperatura.

La deshidratación de oxima a nitrilo se produce con temperaturas de alrededor de 90°-100° en condiciones óptimas, aunque también se observan productos oscuros de carbonización. A temperaturas menores baja el rendimiento en el nitrilo acilado por formación de otros compuestos tales como oximas aciladas o productos parcialmente sustituidos.

Zemplén^{60,62,64,68} aplicó esta reacción a varias oximas de disacáridos con el fin de obtener el correspondiente aldobionitrilo acilado. Entre otros trató de sintetizar el octa-O-acetil-melibionitrilo⁶⁴ a partir de la oxima cristalina de la melibiosa, pero solo logró obtener un jarabe con un contenido en nitrilo de 64%.

En el presente trabajo sintetizamos la melibiosa oxima, la que obtuvimos cristalina, con características físicas similares a las descritas por Zemplén⁶⁴. Por deshidratación-acetilación de la misma a 100°, con anhídrido acético-acetato de sodio, obtuvimos como único producto el octa-O-acetil-melibionitrilo (I) como sólido amorfo, cromatográficamente puro y cuyo análisis elemental concordaba con el calculado. El rendimiento de la reacción fue del 65.8%.



I

(I) octa-O-acetil-melibionitrilo

Espectro de r.m.p. del octa-O-acetil-melibionitrilo (I)

Los estudios de las conformaciones de los hidratos de carbono y de sus derivados se realizan frecuentemente en base al análisis de sus espectros de resonancia magnética nuclear protónica en solución.

Estos datos se han complementado en algunos casos con los aportados por otros métodos físicos como estudios de difracción de rayos X o de actividad óptica.

Debido a la gran utilidad de la primera de estas técnicas para dilucidar estructuras y conformaciones existen numerosos trabajos al respecto ya sea que se trate de estudios comparativos o de datos en los trabajos de síntesis.

Hall¹⁵⁹ y Coxon¹⁶⁰ abarcaron el tema de la resonancia protónica en hidratos de carbono. Durette y Horton¹⁶¹ revisaron los estudios conformacionales en este campo y destacaron los posibles errores en las generalizaciones al usar datos de r.m.p..

Aquí solo mencionaremos los trabajos más directamente relacionados con las estructuras parciales que tengan vinculación con el octa-O-acetil-melibionitrilo (I) y que puedan sernos de interés como referencia.

Diversos autores han intentado realizar un análisis exhaustivo de los espectros de r.m.p. de diversos compuestos que presentan estructura configuracional D-galactopiranosica. En los casos en los que los hidroxilos del hidrato de carbono se encontraban sustituidos por grupos acetilo la interpretación completa de las señales protónicas no pudo realizarse en ninguno de los casos publicados. En efecto, Lemieux y Stevens¹⁶² describen los espectros de los penta-acetatos de D-galactosa en CDCl_3 a 100 MHz. En estas condiciones identifican algunos de los protones (H_1 , H_2 , H_3 , H_4 y H_5 para el anómero β y H_1 y H_5 para el anómero α).

En tanto los espectros de los acetyl derivados de β -D-glucopiranososa, α y β -D-gulopiranososa, α -D-ribopiranososa y α -D-altropiranososa ofrecen mayor información al aparecer las señales en los mismos más diferenciadas.

Holland y col.¹⁶³ realizaron los espectros de r.m.p. de l-tioaldopiranosas acetiladas en diferentes solventes, CDCl_3 , $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ y C_6D_6 , a 100 y 220 MHz. Aún en estas condiciones no se pudo lograr la interpretación de todas las señales ya que sobre todo en el derivado con configuración D-galacto la resolución no fue satisfactoria. Los autores¹⁶³ lograron las mejores condiciones en los espectros realizados en solución deuterobencénica.

En literatura se encuentran referencias acerca de estudios conformacionales sobre aldononitrilos acetilados. Los mismos fueron realizados por Binkley y col.¹⁶⁴, quienes analizaron los espectros correspondientes a la serie de los tetra-O-acetil-D-pentononitrilos, y por Seldes y col.¹⁶⁵, quienes estudiaron algunos nitrilos peracetilados derivados de pentosas y hexosas. En ambos casos los espectros se realizaron a 60 MHz pero utilizando diferentes solventes.

Nosotros realizamos el espectro de resonancia magnética protónica del octa-O-acetil-melibionitrilo (I). A 100 MHz, en deuterocloroformo no fue posible hacer una asignación de los protones de la cadena y solo se podían diferenciar las señales de los grupos acetilo de las señales del otro grupo de protones.

El espectro de I realizado a 400 MHz, en CDCl_3 , ofreció mejor información y dió lugar a un análisis de primer orden.

Sin embargo, aún en estas condiciones, solo el uso de experiencias de desacople permitió asignar unívocamente parte de las señales.

En la Figura I se muestra el espectro de r.m.p. del octa-O-acetil-melibionitrilo (I) y en la Figura II el espectro ampliado de la región entre δ 3,40 y δ 5.80. En la Tabla 1 se consignan los desplazamientos químicos y las constantes de acoplamiento de los protones unidos al esqueleto carbonado de dicho compuesto. Las asignaciones de estos protones han sido confirmadas, como ya mencionamos, en algunos casos por experimentos de doble resonancia.

Los valores de las constantes de acoplamiento determinadas para I indican que, en solución deuterocloroformica, la porción acíclica adopta una conformación que se obtiene por rotación de la unión C-2—C-3 de la forma planar en zig-zag como se muestra en la Figura III.

Con esta disposición desaparecen las interacciones 1-3 y el valor de $J_{2,3}$ (5.8 Hz) puede ser explicado por una disposición H-2 - H-3 algo distorsionada pero de todas formas antiparalela. Como $J_{3,4}$ (3.7 Hz) indica una relación "gauche" entre H-3 y H-4 esto explica que el H-4 resuene a campos más bajos que H-3 ya que se encuentra situado en la zona de desprotección del grupo ciano. El valor para $J_{4,5}$ (7.4 Hz) está de acuerdo con la disposición antiparalela de estos dos protones. Además que la señal de H-5 aparezca como doble triplete ($J_{5,6a}$ y $J_{5,6b}$ 4.8 Hz) es demostración que el H-5 se encuentra bisectando el ángulo formado por H-6_a ···C-6···H-6_b.

La porción del espectro correspondiente al resto D-galactopiranosílico de I no permitió obtener una información completa ya que si bien se pueden asignar cada uno de los protones del esqueleto carbonado, no fue posible determinar con precisión la multiplicidad de algunas señales ni medir con exactitud las constantes de acoplamiento de las mismas.

Como ya dijimos, en literatura son escasos los datos referentes a derivados acetilados con estructura α -D-galactopiranosica y en los mismos la asignación no es completa.

En nuestro caso se asignaron las señales correspondientes a

todos los protones irradiando algunas de las señales.

En el espectro se observan tres dobles-dobletes a 5.12 ppm, 5.16 ppm y 5.35 ppm. Los mismos se asignaron a los H-2', H-6'_b y H-6'_a respectivamente. Las constantes de acoplamiento están de acuerdo con la configuración α -D-galactopiranosílica en conformación 4C_1 .

La señal a 5.47 ppm (m) la asignamos al H-5' ya que al irradiar la señal de H-6'_a (5.35 ppm) las únicas señales que se modificaron fueron las del H-6'_b (5.16 ppm) y la de 5.47 ppm.

Quedan en este punto por asignar las señales de H-1', H-3' y H-4'. Al irradiar la señal a 4.17 ppm, cuya forma hacía pensar en la de un posible H-5' se modificó la señal que aparece a 5.47 ppm mientras que las señales a 5.35 ppm y a 5.16 ppm no sufrieron variación.

Esto confirmó la asignación de las señales de H-5', H-6'_a y H-6'_b y permitió verificar claramente que la señal a 4.17 ppm corresponde al H-4'.

El multiplete a 4.09 ppm integra para dos protones y lo asignamos a los H-1' y H-3'.

Del análisis del espectro de I se puede concluir que la porción acíclica del mismo adopta una conformación planar extendida en zig-zag con giro en el enlace C₂—C₃ que le confiere una disposición de tipo falciforme. En cuanto a la parte α -D-galactopiranosílica la información obtenida del espectro no es tan concluyente. A pesar de haberse realizado el espectro a 400 MHz las señales de H-1' y H-3' se encuentran superpuestas, H-4' y H-5' aparecen como aparentes multipletes y las derivadas de Fourier de estas señales no permitieron una determinación clara de las constantes de acoplamiento.

En la Figura III se representa la conformación más probable para el octa-O-acetil-melibiononitrilo (I).

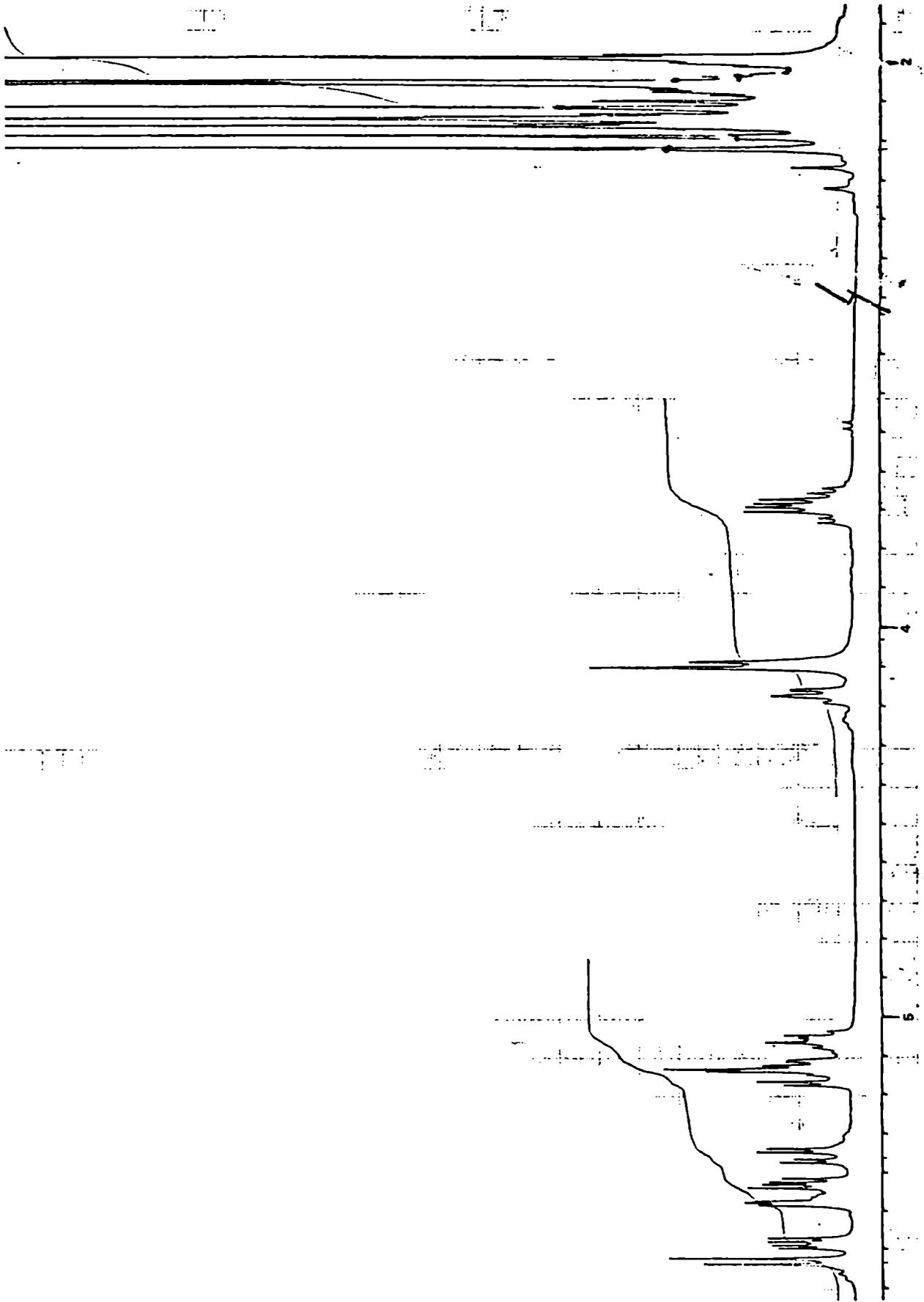


Figura I Espectro de r.m.p. del octa-O-acetil-melibionitrilo (I) (400 MHz, CDCl_3)

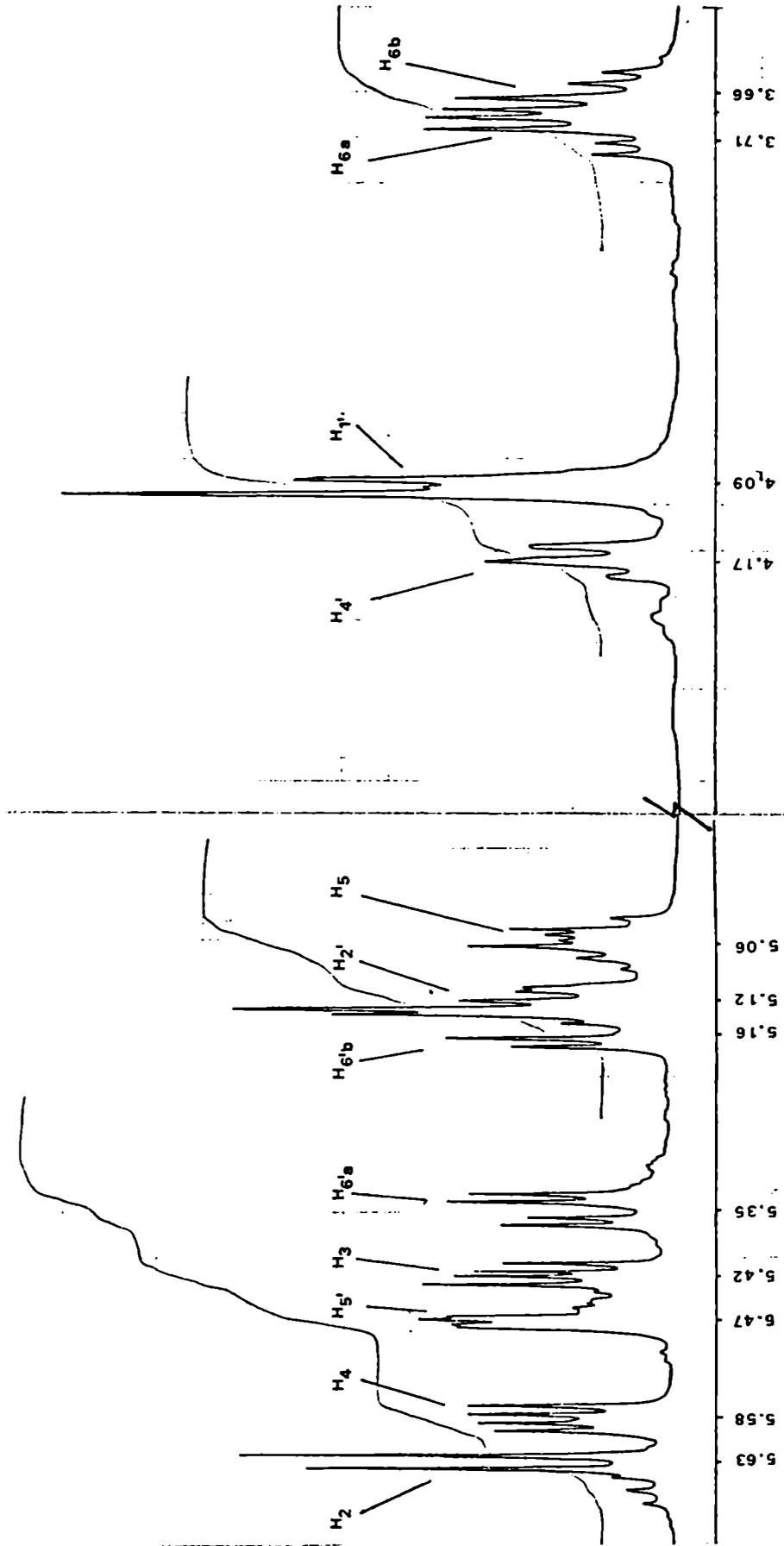


Figura II Espectro de r.m.p. del octa-O-acetil-melibionitrilo (I) entre δ 3.40 y δ 5.80 (400 MHz, $CDCl_3$)

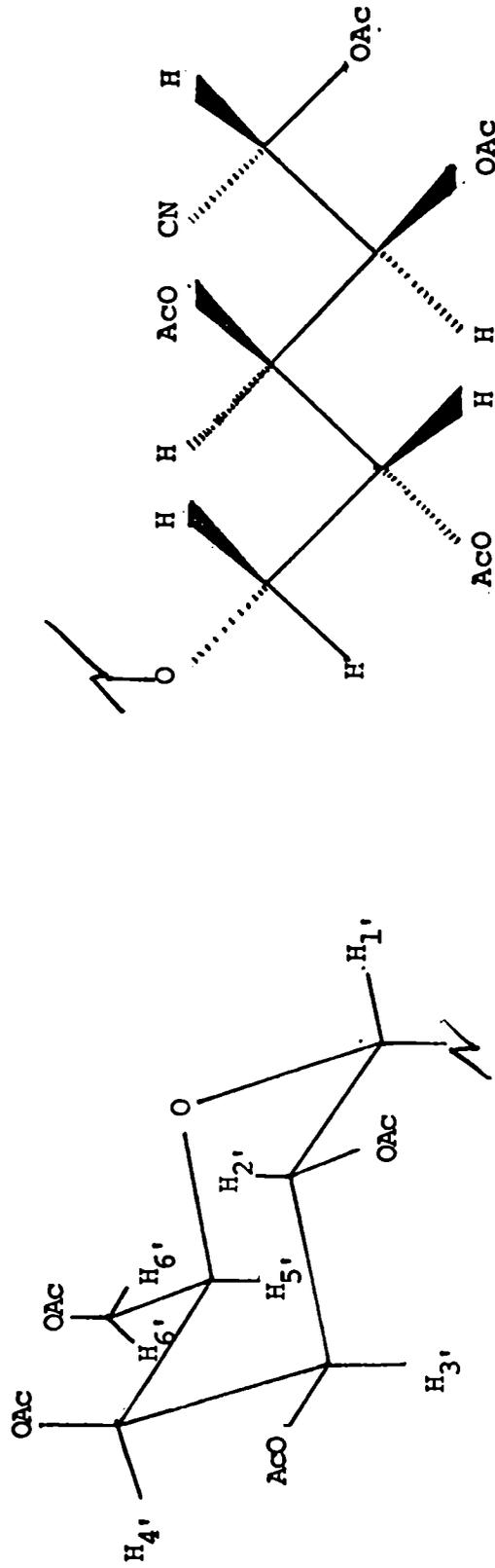
TABLA I

Desplazamientos químicos (δ) y constantes de acoplamiento (Hz) del espectro de resonancia magnética nuclear protónica del octa-O-acetil-melibionitrilo (I)

| H-2 | H-3 | H-4 | H-5 | H-6 _a | H-6 _b | |
|--------------------------------|---|---------------------------------|---|--|--|---|
| 5.63 d J _{2,3} 5.8 | 5.42 dd J _{3,4} 3.7 | 5.58 dd J _{4,5} 7.4 | 5.06 dt J _{5,6_a} 4.8 | 3.71 dd J _{6_a,6_b} 11.2 | 3.66 dd J _{6_b,5} 4.8 | |
| H-1' | H-2' | H-3' | H-4' | H-5' | H-6' _a | H-6' _b |
| 4.09* m | 5.12 dd J _{2',1'} 3.4 J _{2',3'} 7.7 | 4.09* m | 4.17** m | 5.47 m | 5.35 dd J _{6'_a,5'} 3.4 J _{6'_a,6'_b} 10.4 | 5.16 dd J _{6'_b,5'} 3.7 |

* Las señales de H-1' y H-3' se encuentran superpuestas apareciendo como multiplete no resuelto.

** Confirmado por experiencias de irradiación selectiva.

Figura III

Espectro de masa del octa-O-acetil-melibiononitrilo (I)

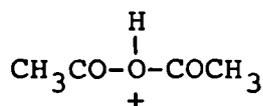
Los espectros de masa de los hidratos de carbono poliacetilados son bastante complejos ya que son posibles numerosos caminos de fragmentación. En general las pérdidas más significativas son las de ácido acético y/o cetena.

El primer estudio sobre los modos de fragmentación de hexoal-dopiranosas peracetiladas fue realizado por Biemann y col.¹⁶⁶.

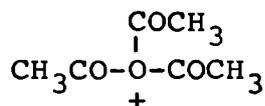
Estos autores usaron sustancias deuteradas o con otros sustituyentes marcados, también observaron la formación de iones metaestables con el objeto de determinar los posibles caminos de fragmentación.

En la misma época Heyns y Scharmann¹⁶⁷ hicieron un estudio sobre un grupo de penta acetatos de glicopiranosas estereoisoméricas y llegaron a conclusiones similares a las que habían llegado Biemann y col.¹⁶⁶.

El pico base de los espectros de las glicopiranosas poliacetiladas es casi siempre el de m/z 43 correspondiente al ión acetilío, $\text{CH}_3\text{C}\equiv\text{O}^+$. También se encuentran los de m/z 103 y 145 que fueron atribuidos por Biemann y col.¹⁶⁶ a los iones diacetiloxonio y triacetiloxonio basándose en resultados obtenidos usando marcación con deuterio.



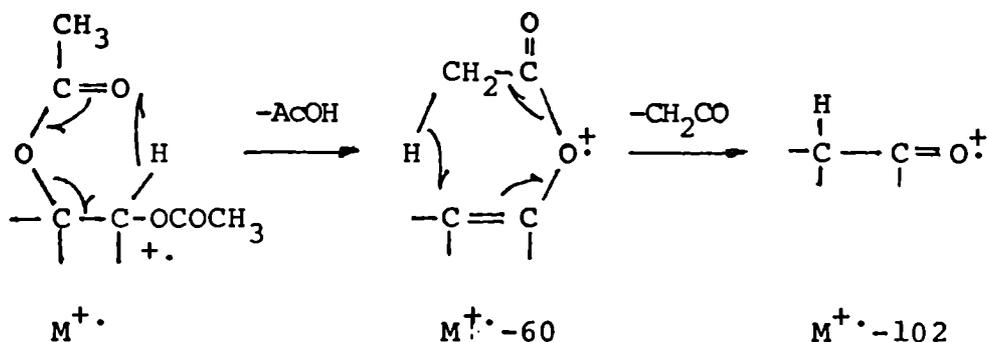
ión diacetiloxonio



ión triacetiloxonio

Este tipo de derivados de hidratos de carbono produce fragmentos que pueden explicarse a través de la eliminación de ácido acético y de cetena.

Biemann y col.¹⁶⁶ usando compuestos marcados comprobaron que este último proceso, la pérdida de cetena, se ve facilitado cuando es precedido por la eliminación de ácido acético y sugirieron la siguiente secuencia:

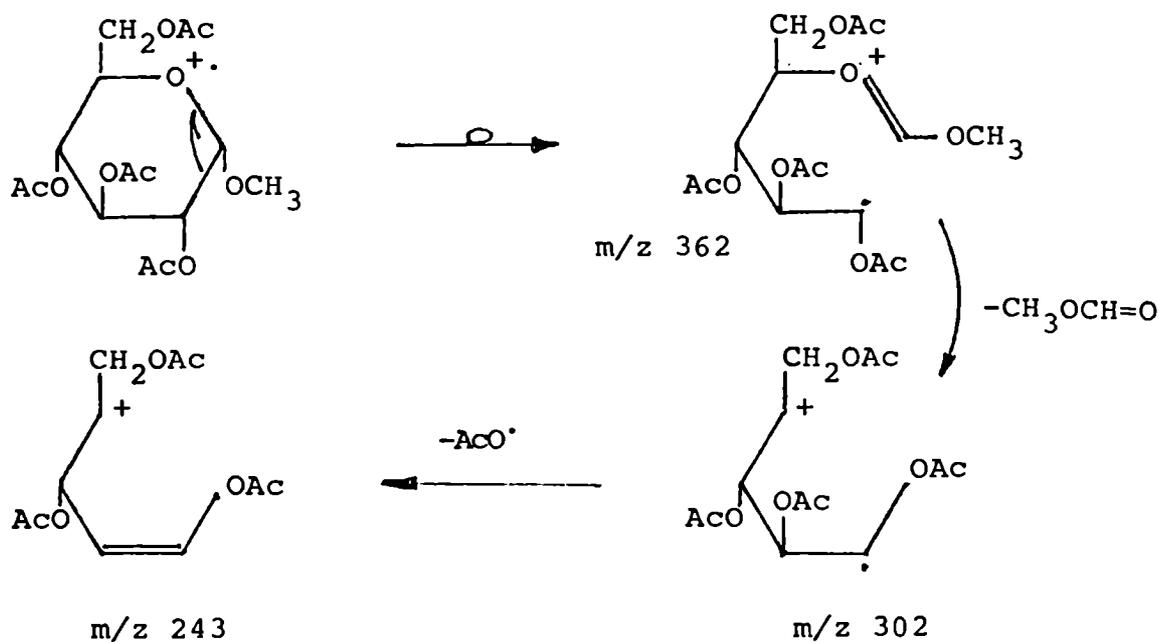


Este proceso es importante cuando la relación entre los dos grupos acetoxi es 1,2 ó 1,3.

En el caso de las peracetyl hexopiranosas la pérdida de un radical acetoxilo ($\text{CH}_3\text{-COO}^\bullet$) es bastante importante, dando lugar al fragmento m/z 331.

En este tipo de compuesto el ión molecular generalmente no aparece.

DeJongh y Biemann¹⁶⁸ al estudiar los espectros de los metil glicopiranosidos poliacetilados encontraron que el sustituyente del C-1 y el oxígeno del ciclo piranósico se pierde como fragmento neutro ($\text{CH}_3\text{OCH=O}$) de acuerdo con el siguiente esquema:



En cuanto a compuestos derivados de hidratos de carbono con estructura lineal existen numerosos trabajos que analizan los espectros de masa de los aldononitrilos y alditoles acetilados ya que los mismos dan fragmentos característicos que pueden ser interpretados con relativa facilidad.

Entre los trabajos que al respecto se encuentran en la literatura citaremos los de Szafranek y col.¹⁶⁹ que estudiaron los espectros de aldononitrilos y desoxialdononitrilos acetilados obtenidos por impacto electrónico.

Dmitriev y col.¹⁷⁰ utilizaron la cromatografía gas líquido para separar mezclas de acetatos de aldononitrilos parcialmente metilados que identificaron a través del análisis de sus respectivos espectros de masa.

Por su parte Baird y col.¹⁷¹ y Varma y col.¹⁷² hicieron lo propio con aldononitrilos y alditoles acetilados.

Seymour, Chen y Bishop¹⁷³ usaron c.g.l. para separar y espectroscopía de masa con ionización química para la identificación de aldononitrilos acetilados, de desoxialdononitrilos acetilados y de otros derivados de azúcares.

En los espectros de masa de los aldononitrilos acetilados no aparece el ión molecular pero si los iones a $(M-73)^+$ y $(M-98)^+$ correspondientes a la pérdida de CH_2OAc^{\cdot} y $CH(OAc)^{\cdot}$ respectivamente.

|
CN

Los fragmentos primarios se forman por ruptura α de la cadena del alditol. Fragmentos secundarios se forman por eliminaciones simples o consecutivas de ácido acético o ceteno. También pueden formarse fragmentos secundarios por pérdida de anhídrido acético a partir de un fragmento primario tal como fue propuesto por DeJongh¹⁷⁴.

Esta eliminación de anhídrido acético podría proceder a través de la forma cíclica de un fragmento primario tal como se ejemplifica a continuación:

anhídrido acético.

Estas conclusiones se ven avaladas por el hecho de que de las 17 señales del espectro con abundancia relativa mayor del 3% solo tres pueden atribuirse a fragmentos provenientes de la porción tetra-O-acetil-galactopiranosílica de I y ninguna al fragmento BN_{11} producido por ruptura heterolítica de I (Esquema VIII). Correspondiendo las restantes a pérdidas de radicales o moléculas neutras a partir de AN_1 .

A diferencia de lo que ocurre tanto con los derivados peracetilados de hexoaldopiranosas como de aldononitrilos, en los que el pico base es el ión acetilio ($CH_3C\equiv O^+$ m/z 43), aquí si bien el fragmento m/z 43 es muy importante (73.6%) el pico de mayor intensidad es el de m/z 62.

Esta señal la atribuimos a la fragmentación de BN_2 a través de un posible camino de formación que se propone en el Esquema V.

Las fragmentaciones de AN_1 que dan lugar a las series más completas son las que se producen por pérdida de radicales formados por cadenas de 2, 3 ó 4 átomos de carbono con o sin nitrógeno. Estas conclusiones surgen del análisis de los Esquemas II al VII.

Otros picos importantes en el espectro son los debidos al $CH_3-C\overset{+}{O}OH-CH_3^{\cdot}$ (m/z 45) y los correspondientes al diacetiloxonio (m/z 103) y triacetiloxonio (m/z 145).

En cuanto a los iones provenientes del fragmento AC_1 las fragmentaciones propuestas, que se consignan en los Esquemas IX y X están de acuerdo con las postuladas por Biemann y col.¹⁶⁶, Heyns y Scharmann¹⁶⁷ y Pavlenko y col.¹⁷⁵ para acetatos de glicopiranosas.

En el espectro de I no aparece la señal del fragmento con m/z 302 que según DeJongh y Biemann¹⁶⁸ corresponde a una fragmentación característica de los glicósidos de glicopiranosas peracetiladas.

Tabla 2Espectro de masa del octa-O-acetil-melibionitrilo (I)

| Ión m/z | Intensidad relativa (%) | Asignación tentativa | Esquema |
|------------|----------------------------|---|---------|
| 444 | 0.3 | $M^{+} \cdot - 2Ac_2O - CNH$ | |
| 345 | 0.4 | AN_1 | I |
| 332 | 0.4 | $M^{+} \cdot - 5AcOH - Ac \cdot$ | |
| 331 | 2.0 | $AC_1 - HO \cdot$ | IX |
| 329 | 0.4 | $AC_1 - H_2O - H \cdot$ | |
| 328 | 2.4 | BN_{11} | VIII |
| 315 | 0.4 | $M^{+} \cdot - 6AcOH \text{ ó}$ | |
| | | $AN_1 - CH_2O$ | VII |
| 314 | 0.9 | $M^{+} \cdot - 6AcOH - H \cdot \text{ ó}$ | |
| | | BN_1 | I |
| 312 | 0.6 | $M^{+} \cdot - 8CH_2CO - CNH$ | |
| 297 | 0.6 | $M^{+} \cdot - 6AcOH - H_2O$ | |
| 294 | 0.9 | $M^{+} \cdot - 8CH_2CO - CNH - H_2O$ | |
| 258 | 0.5 | $M^{+} \cdot - 3AcOH - 5CH_2CO - CNH$ | |
| 257 | 2.0 | $AC_1 - CH_2OAc \cdot - H_2O$ | X |
| 256 | 0.6 | $AC_1 - AcOCH_3 - H_2O$ | IX |
| 255 | 0.4 | $M^{+} \cdot - 7AcOH \text{ ó}$ | |
| | | $AN_1 - CH_2O - AcOH$ | VII |
| 243 | 0.7 | $M^{+} \cdot - 6AcOH - 4H_2O \text{ ó}$ | |
| | | $AN_1 - Ac_2O$ | VII |
| 231 | 0.2 | $AC_1 - AcOCH_3 - CH_2CO - H \cdot$ | IX |
| 226 | 0.4 | $BN_{11} - CH_2CO - AcOH$ | VIII |
| 216 | 0.4 | $AN_1 - Ac_2O - CNH$ | VII |
| 215 | 1.0 | $BN_2 - CNH \text{ ó}$ | V |
| | | $BN_9 - CH_3OH \text{ ó}$ | VI |
| | | $AC_1 - CH_2OAc \cdot - H_2O - CH_2CO$ | X |

Tabla 2 (continuación)

| Ión m/z | Intensidad relativa (%) | Asignación tentativa | Esquema |
|------------|----------------------------|--|------------|
| 201 | 0.4 | AN ₁ -Ac ₂ O-CH ₂ CO | VII |
| 200 | 0.6 | BN ₂ -CH ₂ CO | V |
| 193 | 0.5 | BN ₁₀ -3CH ₂ CO | |
| 189 | 0.3 | AC ₁ -H [·] -AcOCH ₃ -2CH ₂ CO | IX |
| 187 | 0.3 | BN ₉ -AcOH | VI |
| 175 | 0.6 | BN ₈ | I |
| 173 | 0.4 | BN ₂ -CNH-CH ₂ CO ó AC ₁ -CH ₂ OAc [·] -H ₂ O-2CH ₂ CO | V X |
| 170 | 0.5 | BN ₃ | I |
| 169 | 4.2 | AC ₁ -HO [·] -2AcOH-CH ₂ CO | IX |
| 166 | 0.4 | BN ₁₁ -CH ₂ CO-2AcOH | VIII |
| 163 | 0.3 | AC ₁ -4CH ₂ CO-HO [·] | |
| 162 | 0.5 | AC ₁ -AcOH-3CH ₂ CO | |
| 159 | 0.6 | AN ₁ -Ac ₂ O-2CH ₂ CO | VII |
| 158 | 0.4 | BN ₂ -2CH ₂ CO | V |
| 157 | 1.1 | BN ₁₀ -2AcOH-CH ₂ CO | |
| 149 | 2.6 | AC ₁ -CH ₂ OAc [·] -3CH ₂ CO | X |
| 147 | 1.1 | AC ₁ -H [·] -AcOCH ₃ -3CH ₂ CO | IX |
| 145 | 1.5 | BN ₉ -AcOH-CH ₂ CO ó AC ₁ -HO [·] -AcOH-CH ₂ CO | VI |
| 144 | 0.6 | M ⁺ ·-2Ac ₂ O-5AcOH-CN _H ó AC ₁ -2AcOH-2CH ₂ CO | |
| 143 | 0.4 | BN ₃ -CN _H ó BN ₈ -CH ₃ OH | II IV |
| 141 | 0.9 | AN ₁ -2Ac ₂ O ó AN ₁ -Ac ₂ O-2CH ₂ CO-H ₂ O | VII VII |
| 140 | 0.7 | BN ₂ -2CH ₂ CO-H ₂ O ó BN ₂ -AcOH-CH ₂ CO | V V |
| 139 | 0.6 | BN ₁₀ -3AcOH | |
| 135 | 0.9 | AN ₁ -CH ₂ O-AcOH-Ac ₂ O-H ₂ O | VII |
| 134 | 0.4 | BN ₁₁ -CH ₂ CO-2AcOH-CN _H | VIII |

Tabla 2 (continuación)

| Ión m/z | Intensidad relativa (%) | Asignación tentativa | Esquema |
|------------|----------------------------|---|---------|
| 133 | 0.7 | BN ₈ -CH ₂ CO | IV |
| 131 | 0.4 | BN ₂ -2CH ₂ CO-CNH ó | V |
| | | AC ₁ -CH ₂ OAc'-H ₂ O-3CH ₂ CO | X |
| 128 | 0.4 | BN ₃ -CH ₂ CO | II |
| 127 | 1.0 | BN ₉ -2AcOH ó | VI |
| | | AN ₁ -Ac ₂ O-2CH ₂ CO-CH ₃ OH | VII |
| 126 | 0.4 | AN ₁ -CNH-CH ₂ O-2AcOH-CH ₂ CO | VII |
| 123 | 0.6 | AN ₁ -2Ac ₂ O-H ₂ O | VII |
| 122 | 0.5 | BN ₂ -2CH ₂ CO-2H ₂ O ó | V |
| | | BN ₂ -CH ₂ CO-AcOH-H ₂ O | V |
| 120 | 0.5 | AN ₁ -CNH-CH ₂ O-4CH ₂ CO | |
| 115 | 2.0 | BN ₈ -AcOH ó | IV |
| | | BN ₉ -AcOH-CH ₂ CO-CH ₂ O | VI |
| 112 | 1.1 | AN ₁ -CNH-2AcOH-2CH ₂ CO-H ₂ | |
| 110 | 0.5 | BN ₃ -AcOH | II |
| 109 | 1.5 | AN ₁ -2Ac ₂ O-CH ₃ OH ó | VII |
| | | AC ₁ -HO'-3AcOH-CH ₂ CO | IX |
| 108 | 0.6 | AC ₁ -4AcOH | |
| 107 | 1.7 | AC ₁ -4AcOH-H' | |
| 106 | 0.6 | AC ₁ -4AcOH-H ₂ | |
| 105 | 1.4 | AN ₁ -2Ac ₂ O-2H ₂ O | |
| 103 | 1.4 | BN ₇ ó | I |
| | | BN ₈ -CH ₂ CO-CH ₂ O ó | IV |
| | | BN ₉ -AcOH-2CH ₂ CO | VI |
| 102 | 1.9 | AN ₁ -CNH-CH ₂ O-3CH ₂ CO-AcOH | |
| 101 | 0.4 | BN ₃ -CH ₂ CO-CNH ó | II |
| | | BN ₈ -CH ₃ OH-CH ₂ CO | IV |
| 100 | 11.8 | AN ₁ -Ac ₂ O-2CH ₂ CO-CH ₃ OH-CNH | VII |
| 99 | 0.8 | AN ₁ -Ac ₂ O-2CH ₂ CO-CH ₃ OH-CO | VII |
| 98 | 17.7 | BN ₄ ó | I |
| | | BN ₂ -2CH ₂ CO-AcOH | V |

Tabla 2 (continuación)

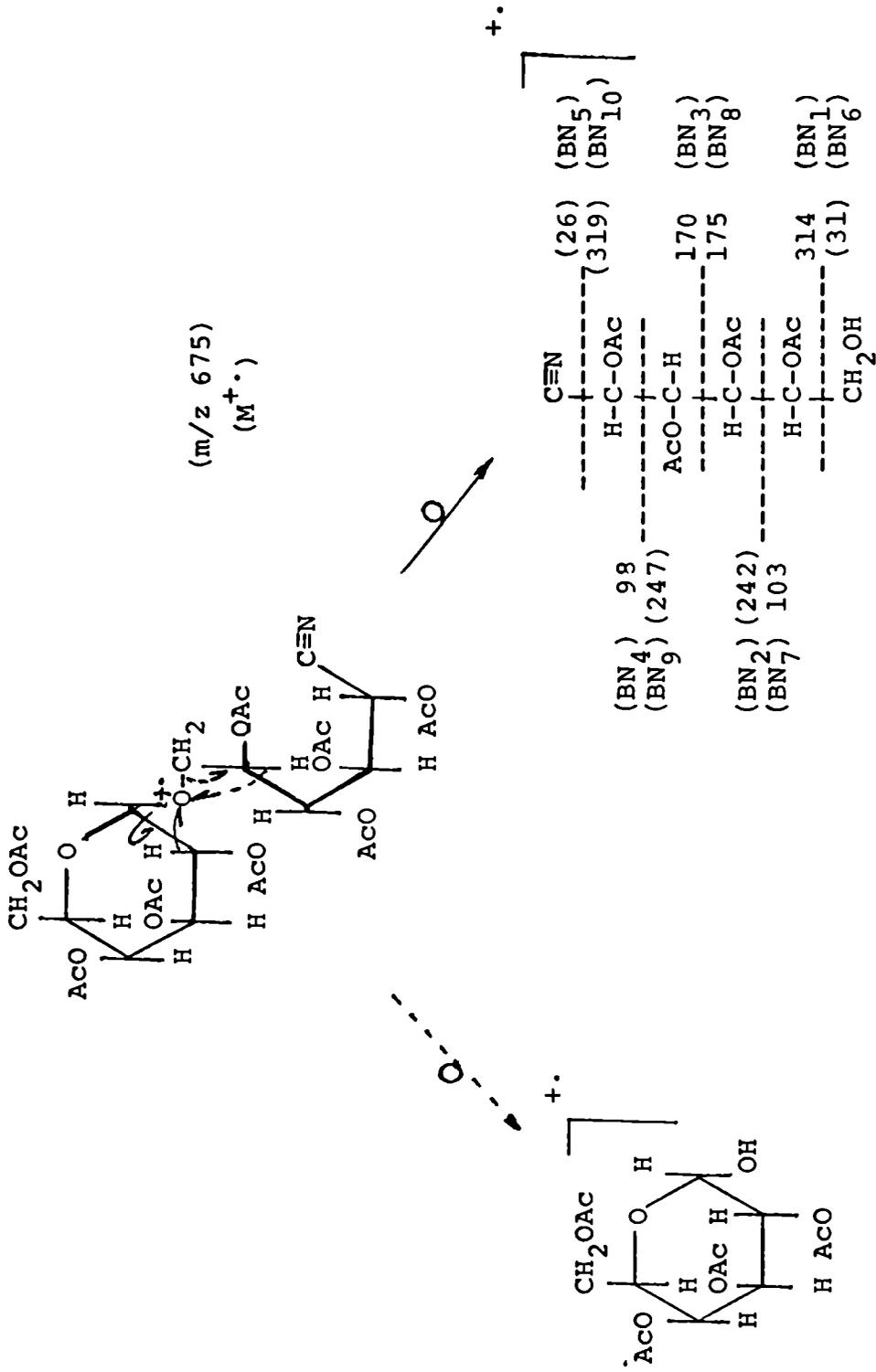
| Ión m/z | Intensidad relativa (%) | Asignación tentativa | Esquema |
|------------|----------------------------|--|-----------------------|
| 97 | 1.4 | BN ₁₀ -3AcOH-CH ₂ CO ó BN ₁₁ -2AcOH-CN _H -2CH ₂ CO | VIII |
| 96 | 0.5 | AN ₁ -2Ac ₂ O-CN _H -H ₂ O | VII |
| 95 | 2.0 | AN ₁ -2Ac ₂ O-H ₂ O-CO ó AC ₁ -CH ₂ OAc'-3H ₂ O-3CH ₂ CO | VII X |
| 94 | 0.7 | AN ₁ -CN _H -2Ac ₂ O-H ₂ O-H ₂ | |
| 93 | 2.0 | AC ₁ -H'-AcOCH ₃ -3CH ₂ CO-3H ₂ O | IX |
| 92 | 1.5 | AN ₁ -CH ₂ O-AcOH-Ac ₂ O-H ₂ O-Ac' | VII |
| 91 | 2.6 | BN ₈ -2CH ₂ CO | IV |
| 85 | 1.3 | BN ₈ -AcOH-CH ₂ O ó BN ₉ -2CH ₂ CO-AcOH-H ₂ O | IV VI |
| 84 | 0.7 | AN ₁ -CN _H -CH ₂ O-2AcOH-2CH ₂ CO | |
| 83 | 1.9 | BN ₃ -CN _H -AcOH | II |
| 82 | 0.8 | AN ₁ -Ac ₂ O-2CH ₂ CO-CH ₃ OH-CN _H -H ₂ O | VII |
| 81 | 3.5 | AN ₁ -2Ac ₂ O-CH ₃ OH-CO ó AC ₁ -HO'-3AcOH-CH ₂ CO-CO | VII IX |
| 80 | 0.4 | AC ₁ -4AcOH-CO ó BN ₂ -2CH ₂ CO-AcOH-H ₂ O ó BN ₂ -2AcOH-CH ₂ CO | V V |
| 79 | 1.5 | BN ₁₀ -4AcOH ó BN ₁₁ -2AcOH-2CH ₂ CO-CN _H -H ₂ O | VIII |
| 78 | 1.2 | AC ₁ -4AcOH-CH ₂ O ó AN ₁ -4AcOH-CN _H | |
| 77 | 0.8 | BN ₁₁ -2AcOH-2CH ₂ CO-CN _H -H ₂ O-H ₂ ó AC ₁ -CH ₂ OAc'-4H ₂ O-3CH ₂ CO | VIII X |
| 76 | 0.4 | AN ₁ -CN _H -4AcOH-H ₂ | |
| 73 | 0.9 | BN ₇ -CH ₂ O ó BN ₈ -2CH ₂ CO-H ₂ O ó BN ₈ -AcOH-CH ₂ CO ó BN ₉ -AcOH-2CH ₂ CO-CH ₂ O | III IV IV VI |

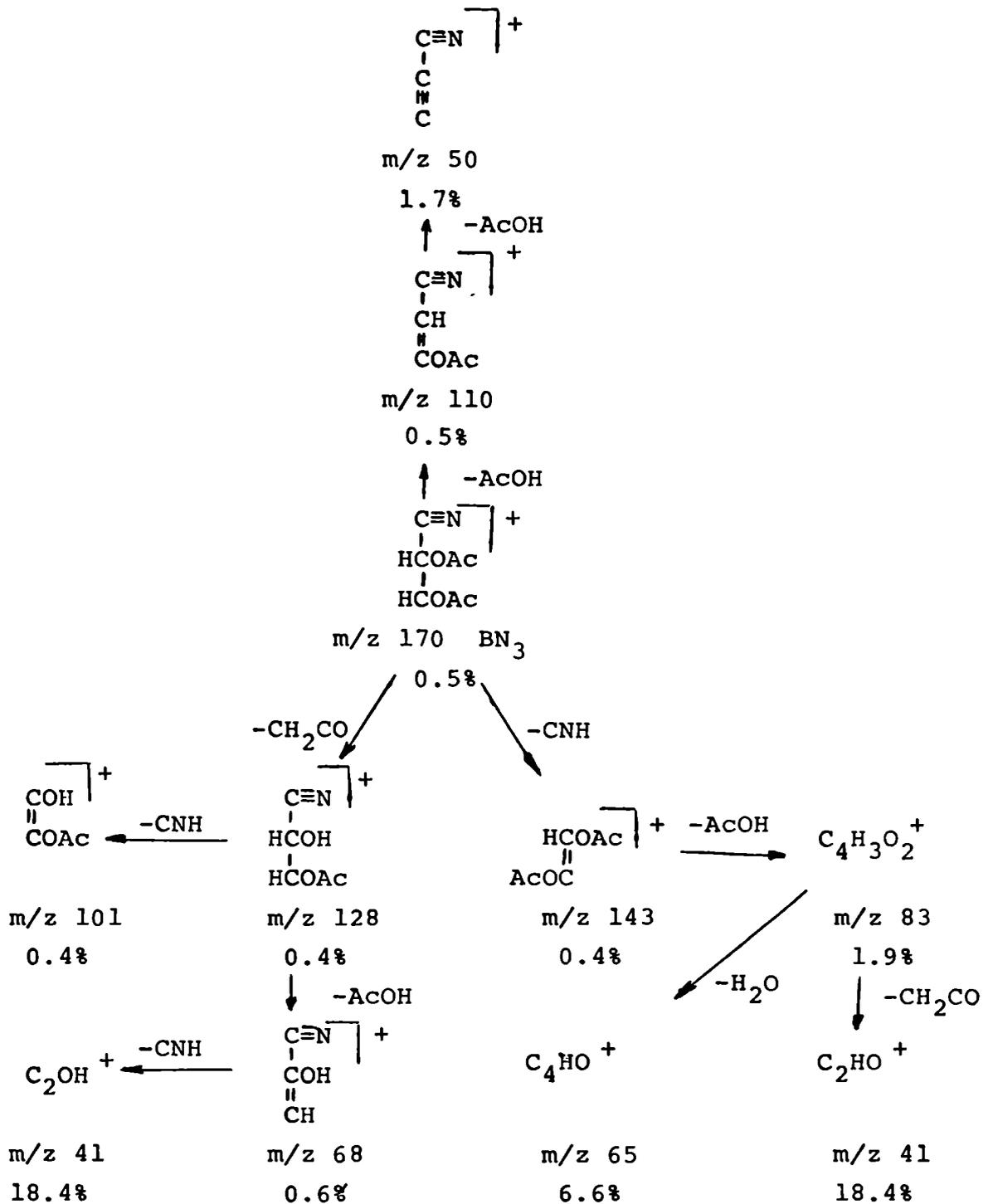
Tabla 2 (continuación)

| Ión m/z | Intensidad relativa (%) | Asignación relativa | Esquema |
|------------|----------------------------|--|---------|
| 71 | 0.7% | BN ₇ -CH ₃ OH δ | III |
| | | BN ₄ -CNH δ | |
| | | BN ₂ -2CH ₂ CO-CN _H -AcOH δ | V |
| | | BN ₂ -3CH ₂ CO-H ₂ O-CN _H | V |
| 70 | 1.1 | AN ₁ -2Ac ₂ O-CN _H -H ₂ O-C ₂ H ₂ | |
| 68 | 0.6 | BN ₃ -CH ₂ CO-AcOH | II |
| 67 | 1.5 | BN ₉ -3AcOH δ | VI |
| | | BN ₉ -2AcOH-CH ₂ CO-H ₂ O δ | VI |
| | | AC ₁ -CH ₂ OAc [·] -3CH ₂ CO-3H ₂ O-CO | X |
| 65 | 6.6 | BN ₃ -CN _H -AcOH-H ₂ O | II |
| 64 | 45.1 | AN ₁ -Ac ₂ O-CH ₃ OH-2CH ₂ CO-CN _H -2H ₂ O | VII |
| 63 | 26.3 | AN ₁ -Ac ₂ O-2CH ₂ CO-CH ₃ OH-CO-2H ₂ O | VII |
| 62 | 100 | BN ₂ -CH ₂ CO-2AcOH -H ₂ O δ | V |
| | | BN ₂ -2CH ₂ CO-AcOH-2H ₂ O | V |
| 61 | 19.1 | BN ₇ -CH ₂ CO δ | III |
| | | BN ₈ -2CH ₂ CO-CH ₂ O | IV |
| 60 | 5.5 | AcOH ⁺ δ | |
| | | C ₂ H ₄ O ₂ ⁺ = AN ₁ -CN _H -CH ₂ O-4CH ₂ CO-C ₂ H ₄ O ₂ | |
| 59 | 1.2 | BN ₈ -CH ₃ OH-2CH ₂ CO | IV |
| 57 | 2.0 | AN ₁ -C ₁₀ H ₁₄ O ₇ -CH ₂ CO | |
| 56 | 0.9 | BN ₄ -CH ₂ CO | III |
| 55 | 2.6 | BN ₈ -2CH ₂ CO-2H ₂ O δ | IV |
| | | BN ₈ -2AcOH δ | IV |
| | | BN ₈ -CH ₂ CO-AcOH-H ₂ O δ | IV |
| | | BN ₉ -AcOH-2CH ₂ CO-H ₂ O | VI |
| | | BN ₂ -CH ₂ CO-2AcOH-CN _H δ | V |
| 53 | 0.7 | BN ₂ -3CH ₂ CO-CN _H -2H ₂ O δ | V |
| | | BN ₂ -2CH ₂ CO-CN _H -AcOH-H ₂ O δ | V |
| | | AN ₁ -2Ac ₂ O-CH ₃ OH-2CO | VII |
| | | AC ₁ -CH ₂ OAc [·] -4H ₂ O-3CH ₂ CO-C ₂ H ₂ | X |
| 50 | 1.7 | BN ₃ -2AcOH | II |

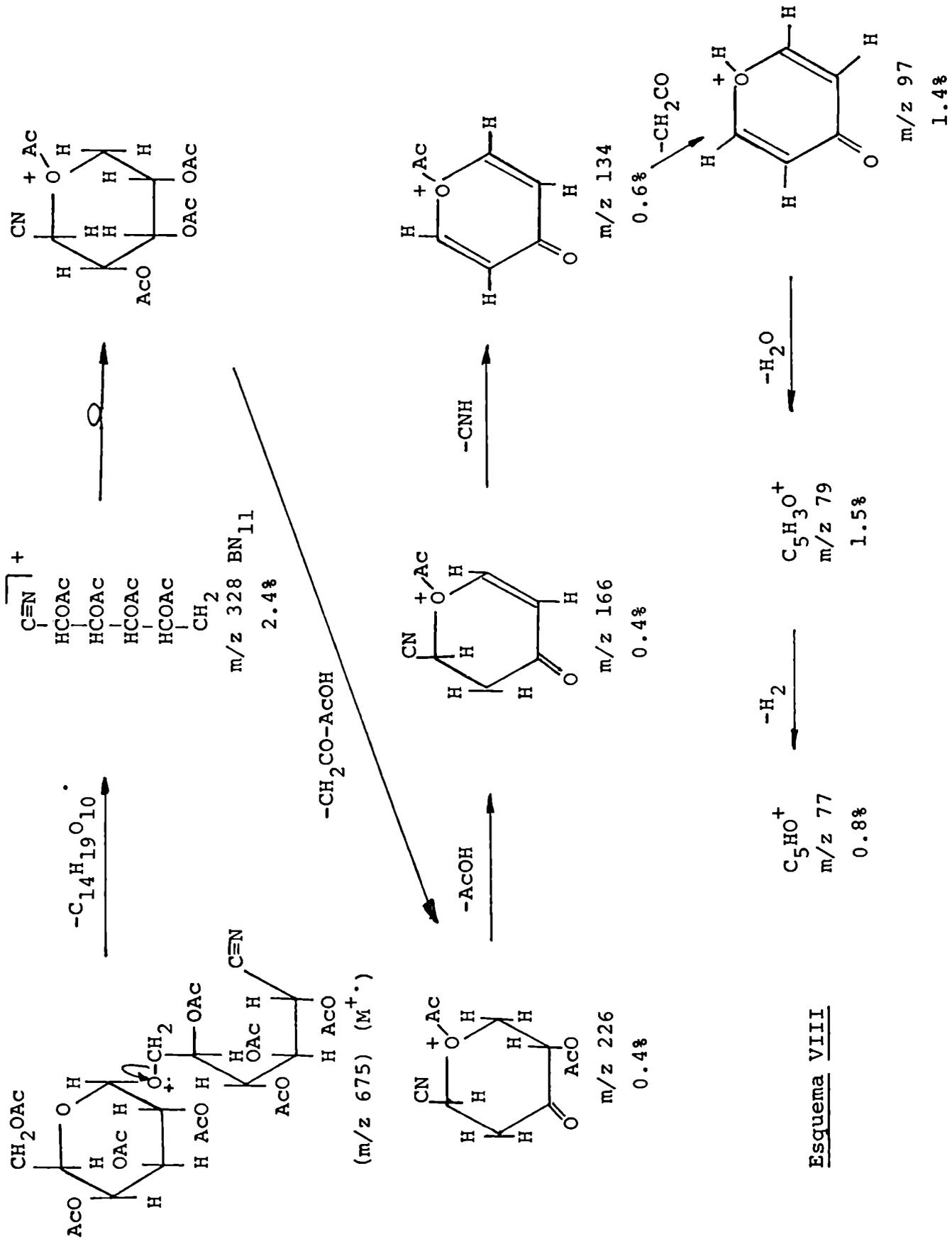
Tabla 2 (continuación)

| Ión m/z | Intensidad relativa (%) | Asignación tentativa | Esquema |
|------------|----------------------------|---|---------|
| 49 | 71.7 | $\text{BN}_9-3\text{AcOH}-\text{H}_2\text{O}$ | VI |
| 48 | 4.4 | $\text{AN}_1-\text{CNH}-\text{CH}_2\text{O}-4\text{AcOH}$ | |
| 46 | 0.7 | CH_2O_2^+ | |
| 45 | 25.3 | $\text{AcOH}^+-\text{CH}_3$ | |
| 43 | 73.6 | $\text{CH}_3-\text{C}\equiv\text{O}^+$ δ | |
| | | BN_7-AcOH δ | III |
| | | $\text{BN}_8-2\text{CH}_2\text{CO}-\text{CH}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}$ δ | IV |
| | | $\text{BN}_8-\text{AcOH}-\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{CO}$ | IV |
| 42 | 3.6 | $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2^+-\text{H}_2\text{O}$ | |
| 41 | 18.4 | $\text{BN}_3-\text{CNH}-\text{AcOH}-\text{CH}_2\text{CO}$ δ | II |
| | | $\text{BN}_8-\text{CH}_3\text{OH}-2\text{CH}_2\text{CO}-\text{H}_2\text{O}$ | IV |

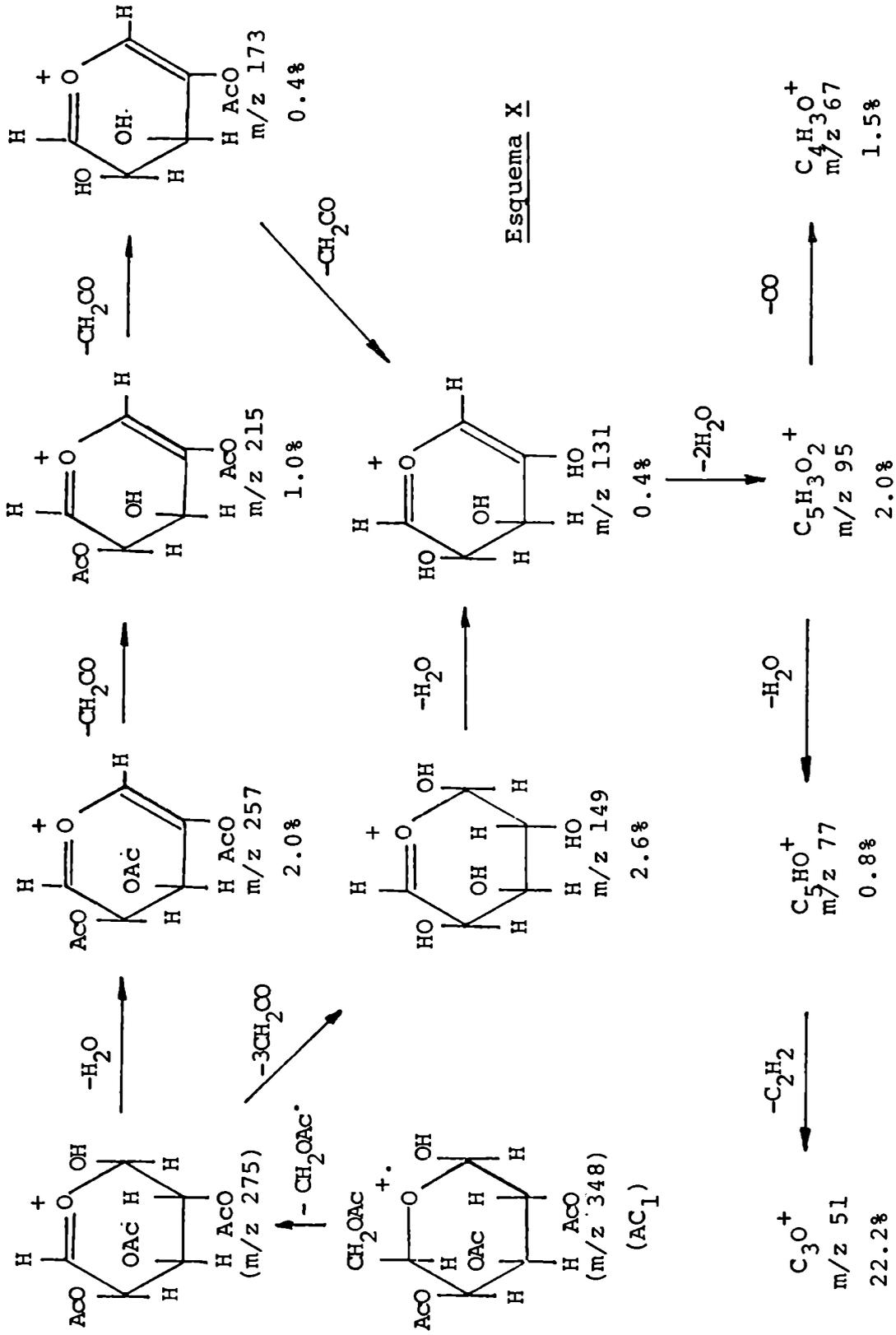




Esquema II



Esquema VIII



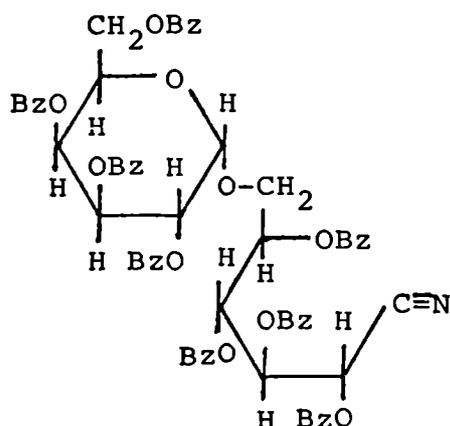
Síntesis del octa-O-benzoíl-melibiononitrilo (XI) y análisis de sus espectros de resonancia magnética nuclear protónica y de ^{13}C

Sobre la síntesis de aldobiononitrilos benzoilados no se encuentran datos en la literatura. Tres de ellos, el octa-O-benzoíl-celobiononitrilo, el octa-O-benzoíl-maltobiononitrilo y el octa-O-benzoíl-lactobiononitrilo fueron sintetizados recientemente por D'Accorso y Thiel¹⁷⁶.

En el caso de la síntesis de nitrilos perbenzoilados, la temperatura juega un papel aún más decisivo que en la de los correspondientes derivados acetilados. Así por ejemplo en el caso de la reacción de la D-glucosa oxima con cloruro de benzoílo y piridina, se observó que a veces se formaba un tetra-O-benzoíl-D-glucononitrilo¹⁵⁸.

Se había producido la deshidratación de oxima a nitrilo, pero no todos los oxhidrilos de la cadena se habían benzoilado.

En nuestro caso el tratamiento de la melibiosa oxima con cloruro de benzoílo y piridina a 90° condujo al octa-O-benzoíl-melibiononitrilo (XI) cristalino y cromatográficamente puro, con 77% de rendimiento, concordando el análisis elemental con al calculado para dicho compuesto.



XI

XI octa-O-benzoíl-melibiononitrilo

Espectro de r.m.p. del octa-O-benzoíl-melibionitrilo (XI)

El estudio de la estructura conformacional del octa-O-benzoíl-melibionitrilo (XI) en solución, se realizó sobre su espectro de resonancia magnética protónica.

En literatura no se encuentra mucha información sobre derivados benzoilados de hidratos de carbono cíclicos o de cadena abierta.

Algunos de los trabajos realizados a 60 MHz se limitan a la asignación del protón anomérico de algunas penta-O-benzoíl-hexopiranosas¹⁷⁷ y octa-O-benzoíl-aldobiosas^{177,178}.

Durette y Horton¹⁷⁹ analizaron los espectros de r.m.p., para determinar las conformaciones, de aldopentopiranosas benzoiladas a 100 MHz.

Bhatt y col.^{180,181} trabajando a 220 MHz, ya realizaron una asignación casi total en el espectro del metil 2,6,2',3',4',6'-hexa-O-benzoíl-3-O-metil- β -D-lactósido y metil hepta-O-benzoíl- β -D-galactopiranosil- β -D-alopiranosido en benceno deuterado y del metil 4',6'-O-benciliden-2,3,6,2',3',-penta-O-benzoíl- β -lactósido en cloroformo deuterado.

La asignación de los protones en el espectro de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoíl- β -celobiosa, de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O- β -lactosa y de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoíl- β -malto-sa se pudo realizar a 270 MHz en benceno deuterado¹⁸².

En primer lugar realizamos el espectro del octa-O-benzoíl-melibionitrilo (XI) en solución deuterocloroformica a 60 MHz, pero en estas condiciones no se pudieron asignar los 53 protones de este compuesto; solo se podían observar las señales de los 40 protones aromáticos y el conjunto de los restantes protones pertenecientes al esqueleto carbonado del disacárido.

La determinación del espectro a 270 MHz, en el mismo solvente, tampoco fue satisfactoria, pero en solución deuterobencénica se logró una resolución que permitió asignar los protones no aromáticos del nitrilo en estudio.

En la Figura IV aparece el espectro del octa-O-benzoíl-melibionitrilo (XI) realizado en deuterobenceno a 270 MHz.

En la Figura V se presenta el espectro ampliado de la región entre δ 3.60 y δ 6.80 que muestra 12 de los 13 protones no aromáticos de XI. Uno de los protones debe haberse corrido hacia la zona de las señales de los protones aromáticos y se encontraría parcialmente superpuesto con ellos.

Una situación similar fue observada por Thiel¹⁸² en el espectro de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoíl- β -maltosa realizado en deuterobenceno.

El espectro de XI permite un análisis de primer orden, sin embargo para lograr una asignación segura de algunas señales debimos hacer uso de experimentos de desacople parcial.

En la Tabla 3 se consignan los desplazamientos químicos y las constantes de acoplamiento de cada uno de los protones no aromáticos del octa-O-benzoíl-melibionitrilo.

Los dos dobletes que aparecen a δ 5.46 y δ 6.06, con constantes de acoplamiento de 3.5 Hz y 6.4 Hz respectivamente, fueron asignadas por nosotros a las señales de los H-1' y H-2.

De estas dos señales la que aparece a δ 6.06 debe ser la del H-2 de la parte acíclica del nitrilo ya que se encuentra más desprotegido debido a la presencia del sustituyente benzoíloxi sobre el mismo carbono, mientras que el H-1' se encuentra unido a un carbono acetalico. Además, la constante de partición $J_{1',2'}$ de 3.5 Hz está de acuerdo con la disposición gauche entre el H-1', ecuatorial, y el H-2', axial, del resto D-galactopiranosílico.

La señal a δ 6.17 que aparece como doble-doblete con constantes de acoplamiento de 3.5 Hz y 10.8 Hz debe corresponder al H-2', estando el valor de 10.8 Hz de acuerdo con la disposición trans-diaxial de los H-2' y H-3' de esta parte de la molécula. De modo que la señal a δ 6.49 con J 3.4 Hz y J 10.8 Hz debe corresponder al H-3'.

Las señales de los H-5 y H-5' aparecen a δ 5.96 como doble-triplete y a δ 4.38 como triplete aparente. La derivada de Fourier de esta última señal permitió visualizar la misma como doble-doble-

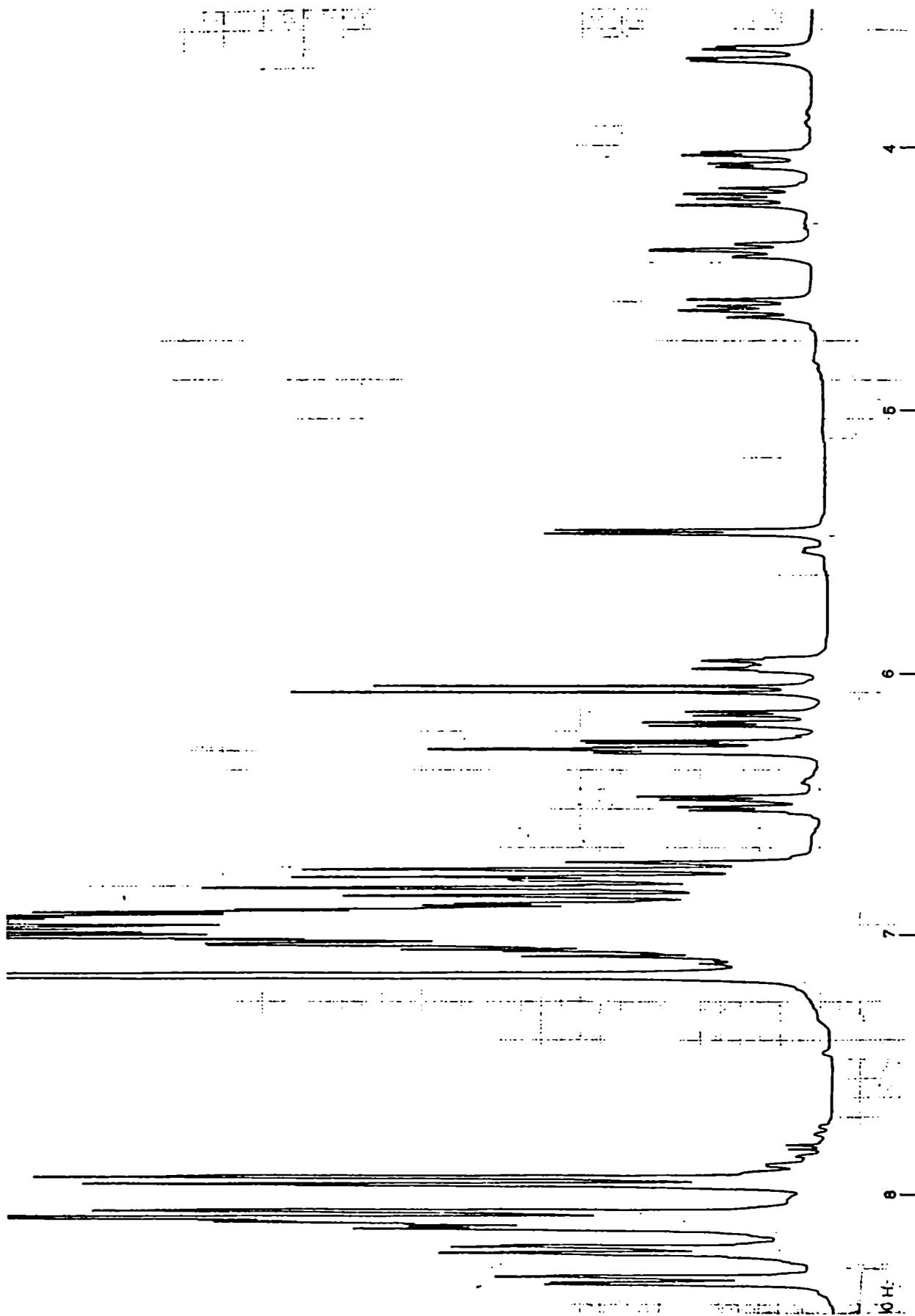


Figura IV Espectro de r.m.p. del octa-O-benzoyl-melibiononitrilo (XI) (270 MHz, C₆D₆)

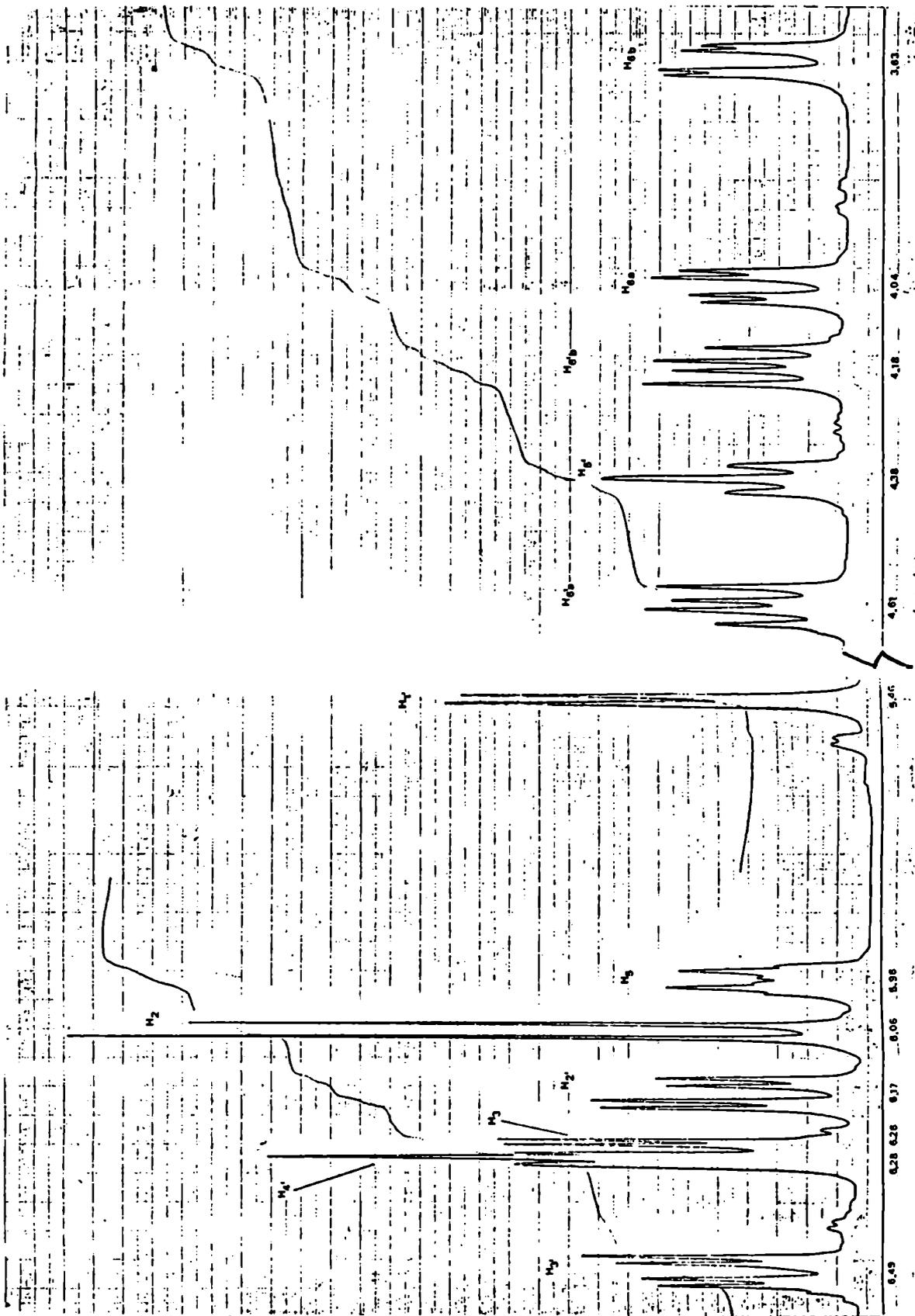


Figura V Espectro de r.m.p. del octa-O-benzoyl-melibionitrilo (XI) entre δ 3.60 y δ 6.80 (270 MHz, C₆D₆)

doblete. De las constantes de acoplamiento de cada una de estas señales surge que los H-6_a y H-6_b aparecen como dobles-dobletes a δ 4.04 y δ 3.63. Las señales de los H-6'_a y H-6'_b son las que aparecen como dobles-dobletes a δ 4.61 y δ 4.18. Que la señal a δ 5.96 aparezca como doble-triplete debe ser consecuencia de encontrarse el H-5 bisecando el ángulo formado por los H-6_a y H-6_b.

La señal del H-3 debe ser la que aparece a δ 6.26 (dd) con $J_{3,2}$ 6.4 Hz y $J_{3,4}$ 2.4 Hz. Esta señal se encuentra parcialmente superpuesta con la que aparece a δ 6.28 que podría ser un doble-doblete con una constante de acoplamiento muy pequeña y otra de aproximadamente 3.8 Hz.

Quedan por asignar las señales de los H-4 y H-4' pero, en la zona del espectro en análisis, solo resta asignar la señal de un aparente doble-doblete a δ 6.28 superpuesta con la de δ 6.26 que asignamos al H-3.

De la medición de las constantes de acoplamiento de los H-5 y H-5' surge que $J_{5,4}$ es de 8.0 Hz y $J_{5',4'}$ es de 1.2 Hz y como la señal a δ 6.28 presenta una constante de acoplamiento pequeña, no medible debido a la superposición de ésta con la del H-3, asignamos la misma al H-4'.

La señal del H-4 debe quedar en la zona donde resuenan los protones de los grupos benzoílo.

Para confirmar esta suposición analizamos el espectro de r.m.p. del penta-O-benzoíl-D-glucononitrilo a 400 MHz en benceno deuterado.

El mismo se muestra en la Figura VI y los desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento de cada uno de sus protones no aromáticos se consignan en la Tabla 3.

Del análisis del espectro de r.m.p. del penta-O-benzoíl-D-glucononitrilo se deduce que efectivamente la señal de su H-4 aparece a δ 6.65, zona donde resuenan los protones aromáticos del octa-O-benzoíl-melibiononitrilo. Este dato no es el único que concuerda sino también todos los valores de las constantes de acoplamiento y la distribución de las señales es similar a la de los protones de la parte acíclica del octa-O-benzoíl-melibiononitrilo (XI).

De todo lo expuesto podemos concluir que tanto el penta-O-benzoíl-D-glucononitrilo como la parte acíclica del octa-O-benzoíl-melibiononitrilo adoptan, en solución, una conformación extendida planar en zig-zag con rotación de la unión entre C-2 y C-3 como se puede deducir del análisis de las constantes de acoplamiento respectivas.

En cuanto a la porción cíclica del nitrilo melibiónico perbenzoilado, ésta adopta una conformación 4C_1 ligeramente deformada debido a la influencia del voluminoso grupo benzoíloxi axial ubicado en el C-4'.

Estas consideraciones conformacionales para el octa-O-benzoíl-melibiononitrilo permiten representar las partes constitutivas del mismo según se indica en la Figura VII.

TABLA 3

Desplazamientos químicos (δ) y constantes de acoplamiento (Hz) del espectro de resonancia magnética nuclear protónica del octa-O-benzofíl-melibionitrilo (XI) y del penta-O-benzofíl-D-gluconitrilo

| H-2 | H-3 | H-4 | H-5 | H-6 _a | H-6 _b |
|--------------------------------|---------------------------------|-----|---------------------------------|---|----------------------------------|
| 6.06 d J _{2,3} 6.4 | 6.26 dd J _{3,4} 2.4 | a) | 5.96 dt J _{5,4} 8.0 | 4.04 dd J _{6a,5} 3.3 J _{6a,6b} 11.8 | 3.63 dd J _{6b,5} 2.5 |

octa-O-benzofíl-
-melibionitrilo
lo (XI)

| H-1' | H-2' | H-3' | H-4' | H-5' | H-6' _a | H-6' _b |
|----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|------|------------------------------------|---|------------------------------------|
| 5.46 d J _{1',2'} 3.5 | 6.17 dd J _{2',3'} 10.8 | 6.49 dd J _{3',4'} 3.4 | 6.28 | 4.38 ddd J _{5',4'} 1.2 | 4.61 dd J _{6a',5'} 6.7 J _{6a',6b'} 11.2 | 4.18 dd J _{6b',5'} 6.4 |

| H-2 | H-3 | H-4 | H-5 | H-6 _a | H-6 _b |
|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| 6.08 d J _{2,3} 6.7 | 6.31 dd J _{3,4} 2.6 | 6.65 dd J _{4,5} 8.0 | 6.06 ddd J _{5,6a} 3.4 | 4.89 dd J _{6a,6b} 12.6 | 4.42 dd J _{6b,5} 5.2 |

penta-O-benzofíl-
-D-gluconitrilo

a) posiblemente a δ 6.74 dd superpuesto con las señales de los protones aromáticos

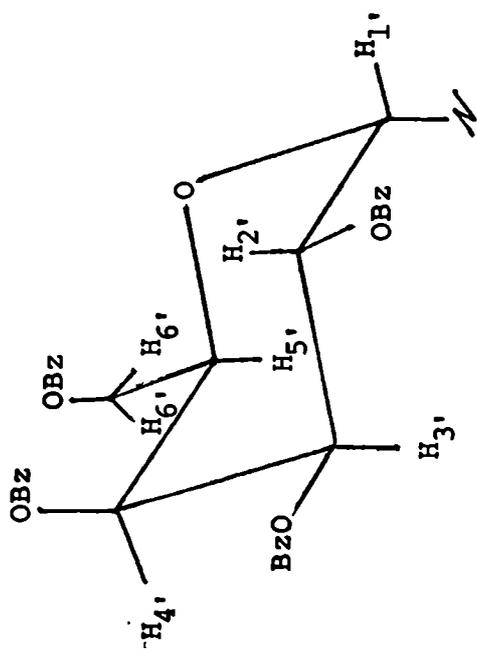
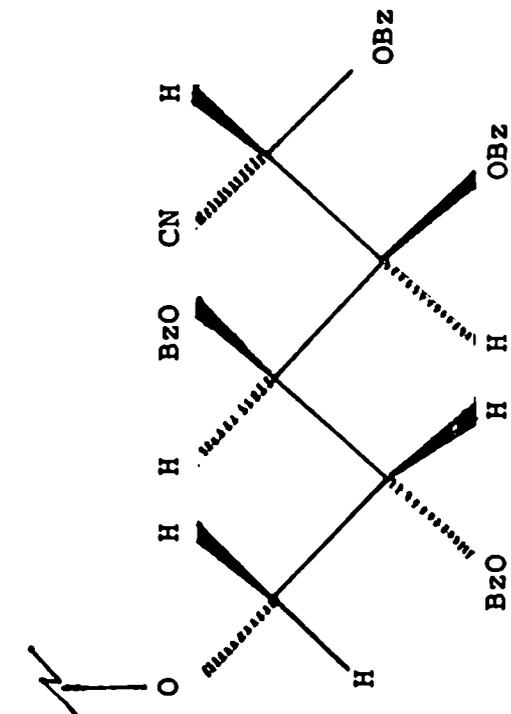


Figura VII

Espectro de r.m.n. ^{13}C del octa-O-benzoíl-melibionitrilo (XI)

Con el objeto de lograr una acertada interpretación del espectro de resonancia magnética nuclear de ^{13}C del octa-O-benzoíl-melibionitrilo (XI) realizamos los espectros de derivados de monosacáridos que corresponden a los fragmentos integrantes de dicho aldobionitrilo. Hicimos esto dado que en literatura no se encuentran antecedentes acerca de este tipo de estudios sobre derivados benzoílados cíclicos o acíclicos de monosacáridos y disacáridos.

Las señales del espectro de r.m.n. de ^{13}C correspondientes al esqueleto fundamental de XI pueden dividirse en dos grupos para su asignación. Estos corresponden uno al grupo α -D-galactopiranosilo y el otro al resto de D-glucononitrilo del disacárido.

Con el objeto de correlacionar las señales de la parte α -D-galactopiranosílica realizamos el espectro de r.m.n. de ^{13}C de la penta-O-benzoíl- α -D-galactopiranososa y comparamos los datos obtenidos con los consignados por Breitmaier y col.¹⁸³ para el metil α -D-galactopiranosido y para la α -D-galactopiranososa.

En el espectro de la penta-O-benzoíl- α -D-galactopiranososa se observan las señales de los carbonilos entre 165.73-164.35 ppm, de los carbonos aromáticos entre 133.77-128.28 ppm, la del CDCl_3 y cinco señales correspondientes a los seis carbonos del esqueleto de la D-galactopiranososa. Una de estas señales, que aparece a 68.54 ppm, presenta una intensidad mucho mayor que la de otros carbonos similares.

La señal del C-1 por tratarse del carbono más desprotegido debe ser la que aparece a 90.65 ppm, mientras que la señal a 61.84 ppm la atribuimos al C-6 ya que este es un carbono primario.

La señal a 68.54 ppm debe corresponder a los C-2 y C-4 y las señales a 67.72 ppm y 69.48 ppm a los C-3 y C-5 respectivamente por comparación con las señales de los carbonos correspondientes en la α -D-galactopiranososa y en el metil α -D-galactopiranosido¹⁸³.

La asignación de la señal a 68.54 ppm a los C-2 y C-4 en la penta-O-benzoíl- α -D-galactopiranososa se justifica por la mayor intensidad de la misma (aunque debido al Efecto Nuclear Overhauser en los espectros de r.m.n. de ^{13}C la integración no tiene valor diagnóstico) y porque las señales de C-2 y C-4 en las sustancias de referencia¹⁸³

Tabla 4

Desplazamientos químicos en ppm de algunos derivados con estructura α -D-galactopiranosica

| Sustancia | C-1 | C-2 | C-3 | C-4 | C-5 | C-6 | Ref. |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| α -D-galactopiranososa | 92.35 | 69.40 | 68.40 | 69.20 | 70.50 | 61.25 | 183 |
| Metil α -D-galactopiranosido | 99.50 | 69.60 | 68.30 | 69.30 | 70.80 | 61.30 | 183 |
| Penta-O-benzoíl- α -D-galactopiranososa | 90.65 | 68.54 | 67.72 | 68.54 | 69.48 | 61.84 | |
| | C-1' | C-2' | C-3' | C-4' | C-5' | C-6' | |
| Octa-O-benzoíl-melibionitrilo | 97.20 | 68.94 | 67.85 | 68.94 | 69.73 | 62.28 | |

son muy similares entre si.

En la Tabla 4 se muestran los valores asignados a cada uno de estos compuestos y las correlaciones correspondientes.

Para correlacionar los desplazamientos químicos de la parte acíclica del octa-O-benzoíl-melibiononitrilo (XI) realizamos los espectros correspondientes al di-O-benzoíl-D,L-gliceronitrilo (XVIII), que además sintetizamos, y al penta-O-benzoíl-D-glucononitrilo (69) y comparamos los datos obtenidos de ellos con los de D' Accorso y Thiel¹⁷⁶ para el tetra-O-benzoíl-D-xilononitrilo (91).

El espectro del penta-O-benzoíl-D-glucononitrilo (69) se realizó en C_6D_6 , el resto en $CDCl_3$. Las asignaciones para cada uno de estos compuestos se consignan en la Figura VIII.

| | | | |
|---------------------|---|---------------------|--------------------|
| | | 114.82 | 114.11 |
| | | C≡N | C≡N |
| | 114.15 | 60.51 | 59.70 |
| | C≡N | H-C-OBz | H-C-OBz |
| | 59.83 | 68.88 | 67.19 |
| | H-C-OBz | BzO-C-H | BzO-C-H |
| 114.45 | 68.66 | 69.12 | 68.31 |
| C≡N | BzO-C-H | H-C-OBz | H-C-OBz |
| 59.88 | 69.00 | 69.49 | 68.31 |
| CH,OBz | H-C-OBz | H-C-OBz | H-C-OBz |
| 62.31 | 62.22 | 62.57 | 66.56 |
| CH ₂ OBz | CH ₂ OBz | CH ₂ OBz | CH ₂ OR |
| <u>XVIII</u> | <u>91</u> | <u>69</u> | <u>XI</u> |
| <u>XVIII</u> | di-O-benzoíl-D,L-gliceronitrilo | | |
| <u>91</u> | tetra-O-benzoíl-D-xilononitrilo | | |
| <u>69</u> | penta-O-benzoíl-D-glucononitrilo | | |
| <u>XI</u> | octa-O-benzoíl-melibiononitrilo | | |
| | (R= tetra-O-benzoíl- α -D-galactopiranosilo) | | |

Figura VIII

El desplazamiento químico del grupo ciano es similar en todos estos casos (114 ppm) y concuerda con la zona donde resuena el carbono de los nitrilos tanto alifáticos como aromáticos¹⁸⁴.

Tanto en el di-O-benzoíl-D,L-gliceronitrilo (XVIII), como en

el penta-O-benzoíl-D-glucononitrilo (69) y en el tetra-O-benzoíl-D-xilononitrilo (91) aparece una señal alrededor de 60 ppm que en los tres casos se asignó al C-2. Esta asignación está avalada por experiencias de desacople parcial realizadas sobre el penta-O-benzoíl-D-glucononitrilo donde la multiplicidad de las señales lo pone de manifiesto.

De la comparación de las señales de los carbonos primarios de los compuestos analizados (Figura VIII), se verifica que las mismas son muy similares en el caso de los tres monosacáridos que aquí se estudian. En el caso del octa-O-benzoíl-melibiononitrilo (XI) se observa un notable desplazamiento de la señal asignada al C-6 (66.56 ppm) ya que si bien se trata de un carbono primario, el mismo se encuentra sustituido por un resto O-glicosídico cuyo efecto de desprotección es mayor que el de los grupos benzoíloxi que son los sustituyentes del carbono primario en los aldononitrilos considerados.

Por otra parte Voelter y col.¹⁸⁵ dan para el C-6 de la melibiosa un valor de 67.05 ppm similar a nuestra asignación para el mismo carbono en XI.

En este último compuesto la señal a 59.70 ppm corresponde a la del C-2, vecino al grupo ciano, de acuerdo con lo propuesto para el mismo carbono en el resto de los nitrilos considerados.

En el tetra-O-benzoíl-D-xilononitrilo los valores de 68.66 ppm y 69.00 ppm habían sido asignados por D'Accorso y Thiel¹⁷⁶ a las señales de los C-3 y C-4 respectivamente por comparación con el espectro del D-xilitol¹⁸⁶, donde el C-3 aparece a campos mayores que el C-4.

De manera similar nosotros asignamos las señales de C-2, C-3 y C-4 en el penta-O-benzoíl-D-glucononitrilo (69) relacionándolas con las correspondientes al D-glucitol¹⁸⁶.

En el caso del melibiononitrilo perbenzoilado (XI) asignamos la señal a 68.31 ppm (mucho más intensa que las restantes) a los C-4 y C-5 y la que aparece a 67.19 ppm al C-3.

Amonólisis del octa-O-acetil-melibiononitrilo (I)

El tratamiento del octa-O-acetil-melibiononitrilo (I) con amoníaco acuoso 25% condujo a la obtención de una mezcla constituida por el 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinitol (II), la N-acetil-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinofuranosilamina (III), la 5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosa (IV) y la 5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosa (V).

De la mezcla de reacción solo se obtuvieron, por precipitación de metanol, 0.58 g del compuesto II.

La separación de la mezcla de reacción, utilizando cromatografía de partición en columna de celulosa, no fue satisfactoria.

Se intentó la separación utilizando diversos solventes pero en ningún caso se pudo lograr la total separación de los componentes de la mezcla. Solo se logró aislar, por cromatografía en columna, parte de la diamida II.

La separación de la mezcla se logró con éxito por cromatografía preparativa en papel Whatman 3 MM. Fue necesario para lograr una buena resolución desarrollar los cromatogramas con frente, secar los mismos y repetir la operación tres veces. Se pudieron aislar de este modo 0.18 g de II además de lograr la separación de los restantes tres productos de reacción.

El 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinitol (II) se obtuvo como sólido cristalino en forma de agujas con 19% de rendimiento. El análisis elemental estaba de acuerdo con la estructura propuesta.

La misma se demostró por:

a) Oxidación con periodato de sodio, el consumo de éste se determinó espectrofotométricamente¹⁹⁶. Se consumieron 4 moles de periodato lo que está de acuerdo con la estructura propuesta para II y no se detectó la presencia de formaldehído¹⁹⁷.

b) Preparación del hepta-O-acetil-derivado (VI). Este compuesto que se obtuvo, por acetilación de II con anhídrido acético y piridi-

na, como sólido cristalino el cual dió un análisis elemental que estaba de acuerdo con el calculado para la estructura propuesta.

La N-acetil-5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosilamina (III) fue obtenida como jarabe con 7.3% de rendimiento. Su análisis elemental estaba de acuerdo con la estructura propuesta.

La estructura de III se demostró por preparación de su hexa-O-acetil derivado (VII) que se obtuvo en forma de jarabe, cromatográficamente puro, con 52.4% de rendimiento y cuyo análisis elemental era concordante con la estructura propuesta.

Para determinar la configuración anomérica de la porción D-arabinofuranósica de III se utilizó el método de Cerezo y Deulofeu⁹³ con una ligera variante para hacerlo de utilidad en el caso de N-acetil-5-O-D-glicopiranosil-D-pentofuranosilaminas.

Para ello se oxidó la N-acetil-5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosilamina (III) con IO_4Na . Los grupos aldehído formados se redujeron a alcoholes con BH_4Na y posteriormente se hidrolizó la unión glicosídica en medio ácido (Figura IX).

La rotación óptica de la solución resultante ($+11^\circ$) estaba de acuerdo con los valores encontrados por Cerezo y Deulofeu⁹³ para los productos de oxidación de las N-acetil-D-glicosaminas con configuración anomérica α .

La 5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosa (IV) se obtuvo como jarabe con 7.2% de rendimiento. El análisis elemental estaba de acuerdo con el calculado para la estructura propuesta.

La rotación específica del anómero α fue de $+98^\circ$ (agua) y el valor de equilibrio de $+82^\circ$ (agua) se alcanzó al cabo de 66 horas.

Se preparó el derivado hepta-O-acetilado de IV que se aisló como jarabe, con 71% de rendimiento y cuyo análisis elemental estaba de acuerdo con el calculado.

La 5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosa (V) se obtuvo como jarabe con 2.3% de rendimiento. El análisis elemental estaba de

acuerdo con el calculado para la estructura propuesta.

La rotación específica del anómero β fue de $+72.2^\circ$ (agua) y el valor de equilibrio $+82.2^\circ$ se alcanzó al cabo de 96 horas.

Se preparó el derivado hepta-O-acetilado (IX) que se aisló como jarabe con 52.5% de rendimiento. Su análisis elemental estaba de acuerdo con el calculado.

La estabilidad de IV y V se comprobó por su lenta mutarrota-ción en agua y por ello se pudo realizar su separación por cromatografía preparativa en papel.

La hidrólisis de ambos azúcares reductores, IV y V, demostró por comparación cromatográfica con patrones de D-galactosa y D-arabiosa que las mismas poseían estructura de galactosil-arabinosa.

Amonólisis del octa-O-benzoíl-melibionitrilo (XI)

La amonólisis del octa-O-benzoíl-melibionitrilo (XI) condujo a la obtención de una mezcla constituida por el 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinitol (XII), la N-benzoíl-5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosilamina (XIII), la N-benzoíl-5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosilamina (XIV) y del par de anómeros de la 5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinofurano-sa (IV y V) además de benzamida.

El jarabe obtenido en la amonólisis se disolvió en metanol y de esta solución precipitaron 0.96 g de XII.

La separación de la mezcla de reacción, utilizando cromatografía de partición en columna de celulosa, permitió en este caso separar 4 de los 6 componentes presentes en la misma. En este caso solo fue necesario recurrir a la cromatografía preparativa en papel Whatman 3 MM para la separación de parte de las 5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinofuranosas IV y V.

Se utilizó la cromatografía en papel Whatman 3 MM para lograr la purificación de los compuestos XIII y XIV que no eran cristalinos.

El 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-5-O- α -D-galactopiranosil-D-ara-

binitol (XII) se obtuvo como sólido cristalino, en forma de agujas, con 37.7% de rendimiento. El análisis elemental estaba de acuerdo con la estructura propuesta.

La estructura de XII se demostró a través de la formación de la formación de su derivado hepta-O-acetilado (XV) que se obtuvo, por acetilación con anhídrido acético y piridina, como agujas y cuyo análisis elemental concordó con el calculado para la estructura propuesta.

En este caso no fue posible llevar a cabo la oxidación con periodato debido a la extrema insolubilidad de XII en medio acuoso.

La N-benzoil-5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosilamina (XIII) fue obtenida como jarabe con 7.7% de rendimiento y

$[\alpha]_D +120.45^\circ$ (metanol). Su análisis elemental estaba de acuerdo con la estructura propuesta.

Su estructura se demostró por preparación de su hexa-O-acetil derivado (XVI), cromatográficamente puro, que se obtuvo cristalino con rendimiento del 49.3% y $[\alpha]_D +95.3^\circ$. El análisis elemental de XVI estaba de acuerdo con el calculado para la estructura propuesta.

La N-benzoil-5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosilamina (XIV) fue obtenida como jarabe con 5.9% de rendimiento y

$[\alpha]_D +100.2^\circ$ (metanol). El análisis elemental estaba de acuerdo con el calculado para la estructura propuesta.

Se preparó su hexa-O-acetil derivado (XVII) que se obtuvo, cromatográficamente puro, como un sólido cristalino con $[\alpha]_D +90.6^\circ$ y cuyo análisis elemental estaba de acuerdo con la estructura propuesta.

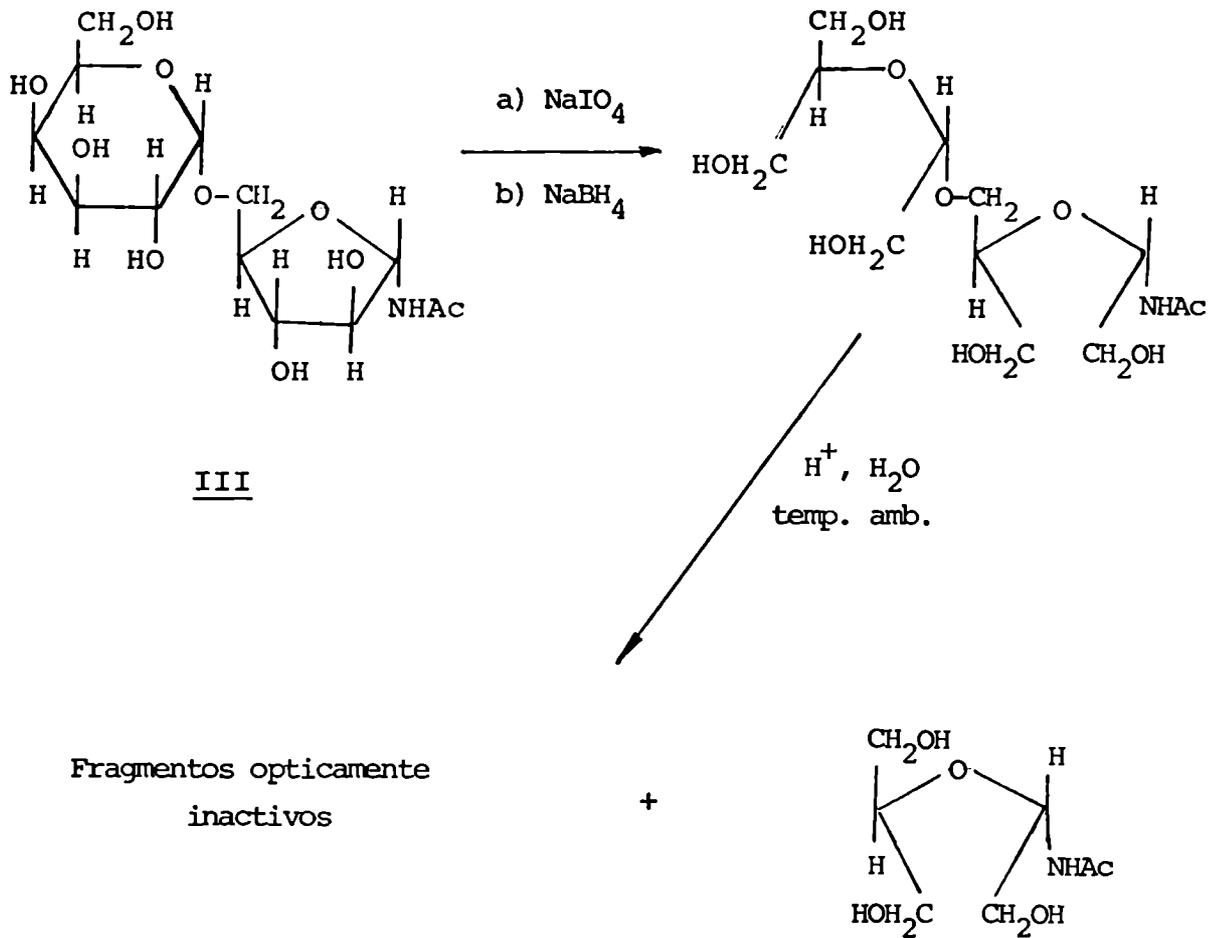
Los compuestos XIII Y XIV se obtuvieron cromatográficamente puros y se les asignó la correspondiente configuración anomérica en base a sus respectivas rotaciones específicas y a las de sus derivados peracetilados.

El par de anómeros de la 5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinofuranosa se separó por cromatografía preparativa en papel 3 MM.

El rendimiento total del anómero α (IV) fue de 1.7% y el del β de 1.35%.

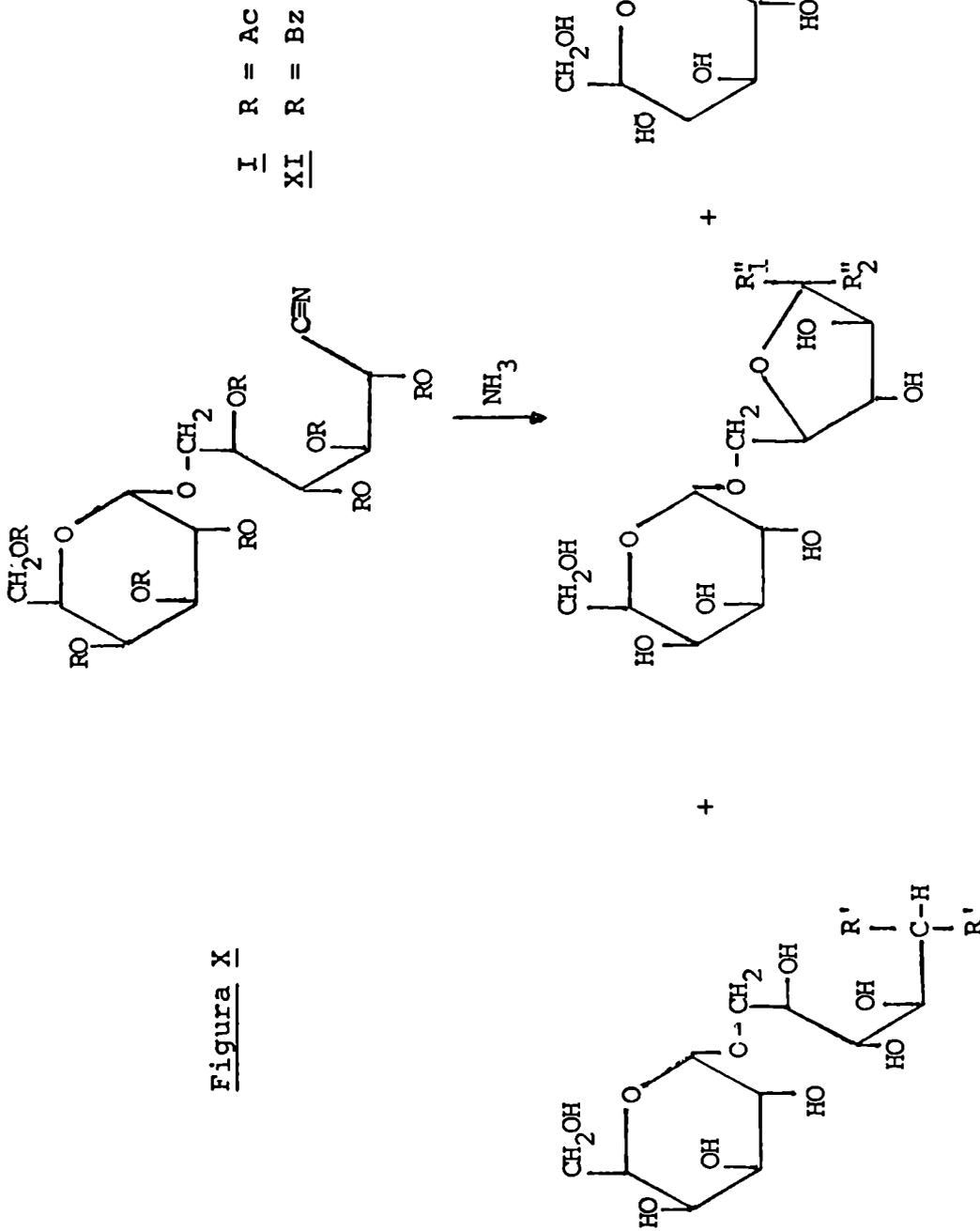
Ambos compuestos presentaban las mismas características cromato-

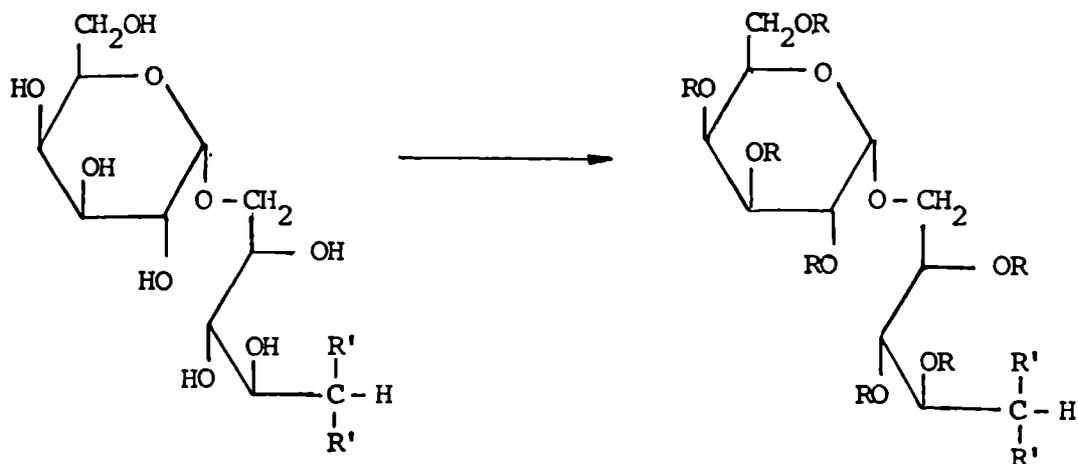
gráficas y rotación óptica que las de los mismos azúcares obtenidos por amonólisis en medio acuoso del octa-O-acetil-melibionitrilo (I).



III N-acetil-5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosilamina

Figura IX



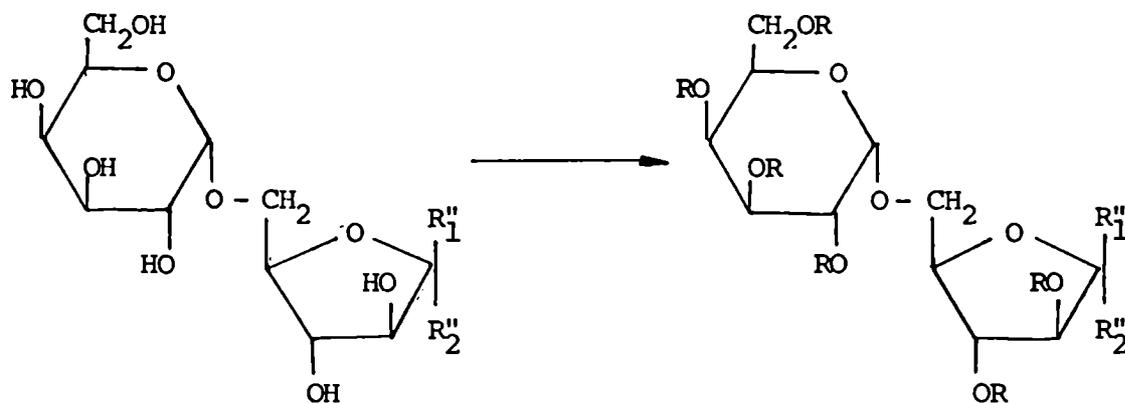


II $R' = \text{AcNH-}$

VI $R = \text{Ac} ; R' = \text{AcNH-}$

XII $R' = \text{BzNH-}$

XV $R = \text{Ac} ; R' = \text{BzNH-}$



III $R_1'' = \text{H} ; R_2'' = \text{AcNH-}$

VII $R = \text{Ac} ; R_1'' = \text{H} ; R_2'' = \text{AcNH-}$

IV $R_1'' = \text{H} ; R_2'' = \text{OH}$

VIII $R = \text{Ac} ; R_1'' = \text{H} ; R_2'' = \text{Ac}$

V $R_2'' = \text{H} ; R_1'' = \text{OH}$

IX $R = \text{Ac} ; R_2'' = \text{H} ; R_1'' = \text{Ac}$

XIII $R_1'' = \text{H} ; R_2'' = \text{BzNH-}$

XVI $R = \text{Ac} ; R_1'' = \text{H} ; R_2'' = \text{BzNH-}$

XIV $R_2'' = \text{H} ; R_1'' = \text{BzNH-}$

XVII $R = \text{Ac} ; R_2'' = \text{H} ; R_1'' = \text{BzNH-}$

Figura XI

Discusión de los resultados obtenidos por aplicación de la reacción de Wohl al octa-O-acetil-melibiononitrilo (I) y al octa-O-benzoíl-melibiononitrilo (XI)

En literatura hay dos antecedentes de la aplicación de la degradación de Wohl a aldobiononitrilos acilados. Ambos fueron llevados a cabo por Gelpi y col.

Estos autores⁶⁹ obtuvieron por amonólisis, en medio acuoso, del octa-O-acetil-lactononitrilo 17.6% de 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-3-O- β -D-galactopiranosil-D-arabinitol, 4.4% de N-acetil-3-O- β -D-galactopiranosil-D-arabinofuranosilamina y 1.9% de 3-O- β -D-galactopiranosil-D-arabinosa.

El otro trabajo se refiere al octa-O-acetil-celobiononitrilo¹¹⁹ cuya amonólisis en medio acuoso condujo a la obtención de 24.2% de 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-3-O- β -D-glucopiranosil-D-arabinitol, 4.2% de N-acetil-3-O- β -D-glucopiranosil-D-arabinofuranosilamina y 0.38% de 3-O- β -D-glucopiranosil-D-arabinosa.

En ambos casos los rendimientos en productos nitrogenados fueron similares.

En algunos trabajos se intenta relacionar el rendimiento en productos nitrogenados de este tipo de reacciones con el medio en que se lleva a cabo la misma. En ellos se plantea la competencia entre las reacciones de amonólisis simple, las de transesterificación y las de migración de acilos a través de intermediarios de tipo ortoéster. Estos antecedentes se encuentran reseñados en las páginas 43 a 47.

De acuerdo con estas consideraciones se puede explicar el mayor rendimiento en productos nitrogenados en las amonólisis en medio acuoso respecto de las realizadas en medio metanólico.

En el caso de disacáridos peracilados esto fue observado por Zanlungo y col.¹¹² al llevar a cabo la amonólisis de la octa-O-acetil- β -melibiosa en medio acuoso y metanólico. Mientras los rendimientos en diamida en ambos medios fueron similares (4.7% y 5% respectivamente) el rendimiento en N-acetil-melibiosilamina en medio

acuoso fue del 22.3% y solo del 0.3 % en medio metanólico.

En ambos casos la parte nitrogenada de la N-acilamida obtenida tenía estructura β -furanósica. Esto está de acuerdo con lo que ya se había observado en el caso de los monosacáridos ya que los derivados acetilados de los mismos dan preferentemente monoamidas furanósicas, mientras que los correspondientes derivados benzoilados conducen a N-acil-glicosilaminas en las que prevalecen las de estructura piranósica¹³².

Si se comparan los rendimientos en productos nitrogenados de las amonólisis de la octa-O-acetil-celobiosa¹⁰⁷ y de la octa-O-benzoíl-celobiosa¹¹⁴, ambas realizadas en metanol, se observa que los mismos son similares en cuanto a la obtención de N-acil-piranosilamina (0.95% y 0.92% respectivamente), pero hay una notable diferencia en la cantidad de 1,1-bis(acilamido)-1-desoxi-aldobiitol (3.7% y 7.8% respectivamente).

Este hecho podría sugerir que el mayor rendimiento en productos nitrogenados totales provenientes del compuesto benzoilado podría deberse a la mayor resistencia a la amonólisis de los acilos aromáticos. Esto permitiría que dichos grupos participen en mayor proporción en etapas de migración, que son las que conducen a las di- y monoamidas.

Un comportamiento similar se observa en los correspondientes derivados de lactosa^{108,113}.

Además, esta resistencia a la hidrólisis, se ve reflejada en la amonólisis de la octa-O-benzoíl-celobiosa en la obtención de un 6.6% de 6-O-benzoíl-celobiosa.

En la amonólisis de la octa-O-benzoíl-maltosa¹¹⁵ se obtuvo 20.8% de diamida y 31.6% de 6-O-benzoíl-maltosa.

Nosotros al llevar a cabo la amonólisis, en medio acuoso, del octa-O-acetil-melibiononitrilo (I) obtuvimos 19% de 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinitol (II), 7.3% de N-acetil-5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosilamina (III), 7.2% de 5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosa (IV) y 2.3% de 5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosa (V).

En la amonólisis del octa-O-benzoíl-melibiononitrilo (XI), que realizamos en medio metanólico, obtuvimos 37.7% de 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinitol (XII), 7.7% de N-benzoíl-5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosilamina (XIII), 5.9% de N-benzoíl-5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosilamina (XIV), 1.7% de 5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosa (IV) y 1.35% de 5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosa (V).

En estos casos no pueden formarse azúcares ya sea libres o nitrogenados con estructura piranósica por estar involucrado el C-5 de la porción pentosílica en la unión glicosídica. En los derivados de nitrilos acilados con unión glicosídica 1 \rightarrow 4 son posibles ambos tipos de estructura, mientras que en los derivados de disacáridos con unión glicosídica 1 \rightarrow 4 solo son posibles estructuras piranósicas y en aquellos con unión 1 \rightarrow 6 ambos tipos de estructuras son posibles.

Si se comparan los rendimientos en productos nitrogenados obtenidos por amonólisis en medio acuoso del octa-O-acetil-celobiononitrilo¹¹⁹ y del octa-O-acetil-lactononitrilo⁶⁹ con los obtenidos en este trabajo al someter al octa-O-acetil-melibiononitrilo (I) a la misma reacción se ve que los mismos son similares (Tabla 5).

En los tres casos el producto predominante es la diamida. Sin embargo esta similitud de resultados no podría explicarse en base a un mecanismo que implicara la formación de ortoésteres cíclicos intermedios que involucrara solamente los grupos acilo presentes inicialmente en la porción acíclica del nitrilo de partida.

En la amonólisis de XI, realizada en metanol, se observa un aumento significativo del rendimiento en productos nitrogenados (51.3%) respecto del rendimiento de este tipo de productos en las amonólisis de los nitrilos aldobiónicos acetilados realizadas en medio acuoso. En la amonólisis de XI el producto principal de la reacción es nuevamente una diamida, la XII, (Rend. 37.7%).

La relación entre los 1,1-bis(acilamido)-1-desoxi-aldobioitales y las N-acil-aldobiosilaminas obtenidos por amonólisis de I y XI es de 3:1.

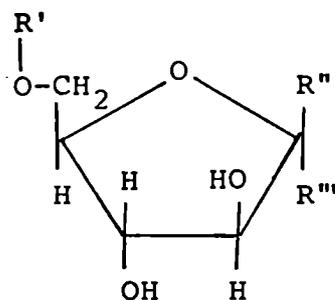
El producto principal que se obtiene tanto en las amonólisis

de los dos únicos nitrilos acilados de disacáridos descritos en literatura^{69,119} como en los dos que aquí se presentan es el correspondiente 1,1-bis(acilamido)-1-desoxi-aldobiitol independientemente del medio utilizado en la reacción y del acilo presente en el nitrilo original.

En cuanto al mayor rendimiento en diamida benzoilada respecto de la acetilada no podemos descartar que podría existir una participación de algún o algunos grupos benzoílos ubicados en posición estéricamente favorable en la porción D-galactopiranosílica que pudieran contribuir a la formación de un intermediario apto para la migración hacia el N-1.

Para lograr una mejor visualización de los hechos experimentales que aquí se discuten todos los resultados obtenidos en el campo de las amonólisis de derivados acilados de disacáridos se reúnen en la Tabla 5.

Acerca de la estructura de las monoamidas obtenidas por nosotros puede decirse que la configuración anomérica de III está de acuerdo con lo propuesto por Zanlungo y col.¹⁴⁵ respecto de la disposición de los grupos voluminosos en este tipo de compuestos. Aquí el anómero obtenido presenta la disposición menos impedida estéricamente ya que los grupos AcNH-, -CH₂-O-galactopiranosilo y HO- se encuentran dos por arriba y dos por debajo del plano del anillo furanósico.



R' = α-D-galactopiranosilo

- III R'' = H ; R''' = AcNH-
XIII R'' = H ; R''' = BzNH-
XIV R'' = H ; R''' = BzNH-

En el caso de la amonólisis de XI se obtuvieron las dos monoamidas anoméricas con rendimientos del 7.7% para la α (XIII) y del 5.9% para la β (XIV).

La formación de XIV que sería el anómero menos favorecido estéricamente por tener 3 grupos voluminosos hacia un mismo lado del plano del ciclo podría explicarse considerando que si bien el grupo BzNH- es de mayor tamaño que el AcNH- el mismo podría adoptar una disposición espacial más favorable que le conferiría cierta estabilidad a este anómero.

Tabla 5.

ANÁLISIS DE DERIVADOS ACILADOS DE DISACÁRIDOS.

| sustancia | medio | 1,1-bis(acilamido)- 1-desoxi-aldoitol | N-acil-aldo- biosilamina | azúcar | 6-O-benzofl- azúcar. |
|---|--------------------|--|-----------------------------|--------|-------------------------|
| octa-O-acetil- α -celobiosa ¹⁰⁷ | CH ₃ OH | 3.7 | 0.95 | 89.3 | - |
| octa-O-acetil-gencibiosa ¹⁸⁷ | H ₂ O | 10.0 | 30.0 ^a | - | - |
| octa-O-acetil- β -lactosa ¹⁰⁸ | CH ₃ OH | 4.6 | 0.77 ^b | 71.0 | - |
| octa-O-acetil- β -maltosa ¹¹⁰ | CH ₃ OH | 0.8 | - | 34.9 | - |
| | H ₂ O | 27.0 | - | - | - |
| octa-O-acetil- β -melibiosa ¹¹² | CH ₃ OH | 5.0 | 0.27 ^a | 13.5 | - |
| | H ₂ O | 4.7 | 22.5 ^a | 7.7 | - |
| octa-O-benzofl- β -celobiosa ¹¹⁴ | CH ₃ OH | 7.8 | 0.92 ^b | 49.6 | 6.6 |
| octa-O-benzofl-lactosa ¹¹³ | CH ₃ OH | 6.7 | 0.74 ^b | 82.0 | - |
| octa-O-benzofl- β -maltosa ¹¹⁵ | CH ₃ OH | 20.8 | 0.1 ^b | 37.8 | 31.6 |
| octa-O-acetil-celobionitrilo ¹¹⁹ | H ₂ O | 24.2 | 4.2 ^a | 0.4 | - |
| octa-O-acetil-lactonitrilo ⁶⁹ | H ₂ O | 17.6 | 4.4 ^a | 1.9 | - |
| octa-O-acetil-melibionitrilo | H ₂ O | 19.0 | 7.3 ^a | 9.5 | - |
| octa-O-benzofl-melibionitrilo | CH ₃ OH | 37.7 | 13.6 ^a | 3.0 | - |

a: estructura furanósica.

b: estructura piranósica.

La reacción de Zemplén aplicada al octa-O-acetil-melibiononitrilo (I) y al octa-O-benzoil-melibiononitrilo (XI)

En 1926 Zemplén⁶² trabajando con celobiosa introdujo un nuevo tipo de degradación que, similarmente a la degradación de Wohl, puede aplicarse a los nitrilos acilados de los ácidos aldónicos. Esta reacción permite obtener azúcares libres por pérdida del grupo ciano e hidrólisis de los grupos acilo. Zemplén empleó para lograr su objetivo metóxido de sodio.

Zemplén y Kiss⁷¹ en 1927 aplicaron la reacción al penta-O-acetil-D-glucononitrilo obteniendo D-arabinosa. Este método tiene aplicación en especial en el campo de los disacáridos. En estos casos el método de Wohl no es de utilidad para obtener azúcares libres, ya que si bien en dicha reacción se obtienen hidratos de carbono, el producto principal de la misma está constituido siempre por los correspondientes derivados nitrogenados (mono y diamidas) y es imposible llevar a cabo la hidrólisis de los grupos amida sin hidrolizar simultáneamente la unión glicosídica del disacárido. El uso de metóxido de sodio conduce exclusivamente a azúcares libres.

El efecto catalítico de los alcóxidos de sodio en solución alcohólica sobre ésteres era conocido desde 1887¹⁸⁸. En 1919 Fischer y Bergmann¹⁸⁹ demostraron por primera vez dicho efecto en la saponificación de azúcares acilados en solución etanólica.

Zemplén y Kunz¹⁹⁰ propusieron una vía de reacción que explicaría la pequeña cantidad de alcóxido de sodio requerida para la saponificación de los grupos acilo. Ellos sugirieron que el etóxido de sodio se adicionaría al grupo carbonilo del éster y que aquél se regeneraría con separación del grupo acetilo como acetato de etilo prosiguiendo luego la reacción sobre otro grupo aún no saponificado.

En literatura se encuentra descripta la aplicación de este método a nitrilos acilados de algunos monosacáridos como el tetra-O-acetil-D-arabinonitrilo⁷⁶, tetra-O-acetil-L-arabinonitrilo¹⁹¹, tetra-O-acetil-D-xilononitrilo⁷⁶, penta-O-acetil-D-glucononitrilo⁷¹, penta-O-

-acetil-D-manonitrilo⁷⁶, penta-O-acetil-D-galactonitrilo⁷⁶, tetra-O-acetil-L-rannonitrilo⁷⁶, hexa-O-acetil-D-glucoheptonitrilo⁷¹, penta-O-propionil-D-gluconitrilo⁵⁹, penta-O-benzoíl-D-gluconitrilo⁸⁵ y penta-O-benzoíl-D-galactonitrilo⁸⁵.

El método de Zemplén produce mayores rendimientos de azúcares libres que la degradación de Wohl. Sin embargo el uso de esta reacción para la obtención de monosacáridos de cadena corta no es de utilidad, ya que estos hidratos de carbono son muy sensibles al medio fuertemente básico de esta reacción y los rendimientos de la misma son en estos casos muy bajos.

La reacción de Zemplén fue aplicada por su autor a nitrilos de disacáridos acetilados con la intención de demostrar, en algunos casos, la estructura de la aldobiosa de partida. Zemplén aplicó su método al octa-O-acetil-maltonitrilo⁶⁸, al octa-O-acetil-lactonitrilo⁶⁰ y al octa-O-acetil-melibionitrilo⁶⁴. En todos los casos los resultados no fueron satisfactorios. La dificultad no se debió a una limitación del método sino al hecho de que en ninguno de los casos mencionados se partió de productos puros sino de mezclas que tan solo tenían un contenido en nitrilo entre el 60% y el 65%. La degradación de estas mezclas condujo a sistemas muy complejos que no se pudieron resolver. Al aplicar la misma reacción al octa-O-acetil-celobionitrilo⁶², único compuesto de este tipo que se había logrado obtener puro, se pudieron aislar bajo la forma de sus hepta-acetatos, tres glucopiranosil-arabinosas.

Gelpi y Cadenas¹⁹² en 1981 revisaron esta reacción y lograron aislar a partir del octa-O-acetil-celobionitrilo, por formación de sus peracetatos, cuatro sustancias que separaron por recristalización fraccionada y que identificaron como los correspondientes pares de anómeros de la hepta-O-acetil-O- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)-D-arabinopiranososa y de la hepta-O-acetil-O- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)-D-arabinofuranosa. La estructura, configuración y conformación de estos cuatro compuestos fue asignada por Gelpi y Cadenas haciendo uso de correlaciones en cuanto a la rotación específica de los mismos, llevando a cabo la anomerización de cada uno de ellos y analizando sus espectros de resonancia magnética nuclear protónica.

En virtud de los resultados obtenidos arribaron a la conclusión de que uno de los azúcares acetilados obtenidos por Zemplén⁶² correspondía a la hepta-O-acetil-O- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)- α -D-arabinopiranososa estando constituidos los otros compuestos informados por éste por mezclas de estos azúcares.

Nosotros llevamos a cabo la degradación según Zemplén del octa-O-acetil-melibiononitrilo (I) y del octa-O-benzoil-melibiononitrilo (XI), los cuales habíamos obtenido analítica y cromatográficamente puros.

Ambas reacciones de degradación las realizamos sin utilizar metanol para la disolución de los nitrilos debido a la insolubilidad de los mismos.

En los dos casos el producto de reacción consistió en un jarabe formado por una mezcla de dos componentes. Los R_f de los mismos en cromatografía en papel Whatman N° 1 con solvente a correspondieron a los obtenidos para la 5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranoosa (IV) y la 5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranoosa (V) que habíamos aislado de entre los productos de la reacción de Wohl aplicada a los mismos compuestos I y XI.

Los componentes del jarabe obtenido de la aplicación de la degradación de Zemplén al octa-O-acetil-melibiononitrilo (I) se separaron por cromatografía preparativa en papel 3 MM. El rendimiento de IV y V fue del 30.8% y del 42.5% respectivamente. Ambos anómeros demostraron ser estables ya que en solución acuosa se necesitaron 66 horas para alcanzar el equilibrio partiendo del anómero α y 96 horas al partir del β . La mezcla en equilibrio está formada por aproximadamente 60% de V.

CAPITULO IV

PARTE EXPERIMENTAL

Consideraciones generales

Los puntos de fusión se determinaron por el método del tubo capilar en un aparato Thomas Hoover y no fueron corregidos.

Los poderes rotatorios se determinaron a 20° en un polarímetro Perkin Elmer, modelo 141 en microceldas de 1 dm.

Los espectros de r.m.p. del octa-O-acetil-melibiononitrilo (I) y del penta-O-benzoíl-glucononitrilo se realizaron en un equipo Bruker WM 400 equipado con un Aspect 2000 data acquisition system. El del octa-O-benzoíl-melibiononitrilo (XI) se realizó a 270 MHz en un equipo Bruker WH 270.

Los espectros de r.m.n. ^{13}C del octa-O-benzoíl-melibiononitrilo (XI) y del penta-O-benzoíl-D-glucononitrilo se realizaron a 20.15 MHz en un equipo Bruker 80. El de la penta-O-benzoíl- α -D-galactopiranososa se realizó a 100.63 MHz en un equipo Bruker WM 400 equipado con un Aspect 2000 data acquisition system y el del di-O-benzoíl-D,L-gliceronitrilo (XVIII) se llevó a cabo en un equipo Varian XL-100-15 acoplado a una computadora 620L VTF por el método de pulsos y utilizando transformadas de Fourier.

Todos los espectros de r.m.n. se realizaron utilizando TMS como standard interno.

En los espectros de r.m.p. la multiplicidad de las señales se indica en cada caso como: s: singulete, d: doblete, dd: doble-doblete, ddd: doble-doble-doblete y dt: doble-triplete.

El espectro de masa del octa-O-acetil-melibiononitrilo (I) se realizó en un equipo Varian Mat CH7-A a 70 ev, por el método de impacto electrónico, acoplado a una computadora Varian Mat, data system 166 con sustracción automática y por la técnica de inserción directa.

Los solventes y reactivos líquidos utilizados fueron purificados por destilación.

La evaporación de los solventes se llevó a cabo a presión reducida, a temperaturas inferiores a 60°.

Las muestras para microanálisis fueron secadas a una presión de 0.01 mm de Hg y a temperaturas de 64° ó 100°.

Las cromatografías en placa delgada se realizaron utilizando sílicagel G (Merck) como fase fija.

Las cromatografías analíticas sobre papel se realizaron en papel Whatman N° 1, por el método descendente.

Las cromatografías de partición en columna se realizaron sobre Celulosa Whatman CF 11. Las fracciones se recogieron con un colector automático.

Las cromatografías preparativas sobre papel se realizaron en papel Whatman 3 MM, por el método descendente y por triple desarrollo.

Solventes usados en las cromatografías en placa delgada:

- | | |
|-----------------------------|---------------|
| 1) benceno-etanol absoluto | 49: 1 en vol. |
| 2) benceno-etanol absoluto | 85:15 en vol. |
| 3) benceno-etanol absoluto | 90:10 en vol. |
| 4) benceno-etanol absoluto | 94: 6 en vol. |
| 5) benceno-acetato de etilo | 9: 1 en vol. |
| 6) tolueno-butanona | 1: 1 en vol. |

Solventes usados en las cromatografías de partición:

- | | |
|--|---------------------------------|
| a) n-butanol-etanol-agua | 10: 4: 4 en vol. |
| b) n-butanol saturado con H ₂ O | capa superior |
| c) piridina-acetato de etilo- -ácido acético-agua | 5: 5: 1: 3 en vol. |
| d) n-butanol-etanol-agua | 5: 1: 4 en vol. (capa superior) |
| e) n-butanol-etanol-agua | 4: 1: 5 en vol. (capa superior) |
| f) acetato de etilo-ácido a- cético-agua | 6: 3: 2 en vol. |

Reactivos para revelado en placa delgada

- I) Las placas de sílicagel se revelaron en una cuba saturada con vapores de iodo o se revelaron por rociado con ácido sulfúrico 5% en etanol, calentando luego en estufa a 100°.
- II) Reactivo para test de ácidos hidroxámicos

Preparado según la técnica descripta por Tate y Bishop¹⁹³.

Solución a) clorhidrato de hidroxilamina 10% en agua

Solución b) hidróxido de sodio 20%

Solución c) 40 g de $(\text{NO}_3)_3\text{Fe} \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ en 600 mL de agua destilada y 400 mL de ácido acético glacial.

Solución d) ClH concentrado.

Se vaporiza la placa con una solución de iguales volúmenes de solución a y solución b.

Se calienta en estufa a $100^\circ\text{-}110^\circ$ durante 10 minutos; se enfría la placa a temperatura ambiente y después se vaporiza con una solución formada por 45 mL de solución c y 6 mL de solución d.

Reactivos para revelado de cromatografías sobre papel.

Reactivo A

Preparado según la técnica descrita por Cadenas y Deferrari¹⁹⁴.

Solución a) nitrato de plata 0.3 % en metanol.

Solución b) amoníaco metanólico, solución saturada.

Solución c) metóxido de sodio 7% en metanol

El reactivo se prepara mezclando las soluciones a, b y c en relación 5:1:2 y se rocían los cromatogramas.

Reactivo B

Preparado según la técnica descrita por Partridge¹⁹⁵.

En 10 mL de n-butanol saturado con agua se disuelven, por agitación, 160 mg de ácido ftálico y se le agregan 0.1 mL de anilina destilada. Con esta solución se rocían los cromatogramas.

Preparación de la melibiosa oxima

Se utilizó la técnica de Zemplén⁶⁴ ligeramente modificada.

A una solución de 7.2 g de clorhidrato de hidroxilamina en 5.5 mL de agua, enfriada a -5° , se le agregó lentamente y agitando otra de 1.54 g de sodio metálico en 60 mL de etanol absoluto; se dejó media hora en reposo y luego se filtró el cloruro de sodio formado y se lavó el mismo con 10 mL de etanol absoluto.

La solución alcohólica de hidroxilamina así obtenida se añadió rápidamente y agitando a una solución de 10 g de monohidrato de α -melibiosa en 10 mL de agua destilada mantenida a 60° .

Finalizado el agregado de hidroxilamina se mantuvo la mezcla durante una hora a 65° y luego se concentró al vacío. Se obtuvieron de este modo 10 g de melibiosa oxima que cristalizó bajo la forma de agujas que fundieron a 194° - 195° (desc.); $[\alpha]_D +95.9^{\circ}$ (H_2O); Zemplén⁶⁴ informa p.f. 184° (desc.) y $[\alpha]_D +95^{\circ}$ (H_2O).

Preparación del octa-O-acetil-melibionitrilo (I)

Se utilizó la técnica de Zemplén⁶⁴ ligeramente modificada.

La melibiosa oxima obtenida de la preparación anterior se mezcló con 10 g de acetato de sodio anhidro recientemente fundido y se añadieron, en porciones de 5 mL, 60 mL de anhídrido acético. La mezcla se calentó gradualmente en un baño de agua hasta que se inició la reacción, y ésta se mantuvo por sucesivos agregados de anhídrido acético. Finalizada la reacción se calentó durante 80 minutos a 100° , se enfrió a temperatura ambiente y se volcó sobre 300 mL de una mezcla de agua-hielo. De este modo se obtuvo un insoluble de aspecto gomoso que se dejó decantar 24 horas. Se separó el agua y se lavó varias veces por agitación con agua fría y decantación.

Se obtuvo un sólido pulverulento que se filtró y lavó con agua hasta que los líquidos de lavado tuvieron reacción neutra al tornasol.

El octa-O-acetil-melibionitrilo crudo se suspendió en éter de petróleo (p.e. 60°-80°) caliente y el producto gomoso obtenido se enfrió y disgregó por agitación. Se secó en desecador de vacío obteniéndose 12.6 g (Rend. 65.8%) de I de p.f. 64°-66° (ablandamiento a 55°); $[\alpha]_D^{25} +100.6^\circ$ (c 0.8, cloroformo). Por cromatografía en placa delgada dió una sola mancha de Rf 0.64 (solvente 1).

El espectro de r.m.p. (400 MHz, en CDCl_3) (Figuras I y II) presentaba las siguientes señales a δ (ppm) 5.63 (d, $J_{2,3}$ 5.8 Hz H-2); 5.58 (dd, $J_{3,4}$ 3.7 Hz, $J_{4,5}$ 7.4 Hz, H-4); 5.47 (m, H-5'); 5.42 (dd, $J_{2,3}$ 5.8 Hz, $J_{3,4}$ 3.7 Hz, H-3); 5.35 (dd, $J_{5',6'_a}$ 3.4 Hz, $J_{6'_a,6'_b}$ 10.4 Hz, H-6'_a); 5.16 (dd, $J_{5',6'_b}$ 3.7 Hz, $J_{6'_a,6'_b}$ 10.4 Hz, H-6'_b); 5.12 (dd, $J_{1',2'}$ 3.4 Hz, $J_{2',3'}$ 7.7 Hz, H-2'); 5.06 (dt, $J_{4,5}$ 7.4 Hz, $J_{5,6_a}$ 4.8 Hz, $J_{5,6_b}$ 4.8 Hz, H-5); 4.17 (m, H-4'); 4.09 (m, H-1', H-3'). 1.98 a 2.22 (8 s, 24 H de los 8 $\text{CH}_3\text{COO-}$)

El e.m. (Tabla 2) presentaba 109 picos, aquí se consignan los que poseen intensidades relativas al pico base m/z 62 mayor del 3%.

La totalidad de los picos del e.m. están reunidos en la Tabla 2.

Las intensidades relativas referidas al pico base se indican entre paréntesis: 169 (4.2), 100 (11.8), 98 (17.7), 81 (3.5), 65 (6.6), 64 (45.1), 63 (26.3), 62 (100), 61 (19.1), 60 (5.5), 51 (22.2), 49 (71.7), 48 (4.4), 45 (25.3), 43 (76.3), 42 (3.6), 41 (18.4).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{NO}_{18}$, %C: 49.75; %H: 5.52; %N: 2.07
Encontrado %C: 49.43; %H: 5.71; %N: 1.66

4

Amonólisis del octa-O-acetil-melibionitrilo (I) y aislamiento del 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinitol (II), de la N-acetil-5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosilamina (III), de la 5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosa (IV) y de la 5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosa (V)

Se disolvieron 10 g de octa-O-acetil-melibionitrilo (I) en 250 mL de amoníaco acuoso 25% por agitación durante 3 horas. Se dejó la solución en reposo durante 24 horas a temperatura ambiente y luego se evaporó el solvente, a presión reducida, hasta sequedad.

Se obtuvo un jarabe que se secó en desecador de vacío (14 g).

Este jarabe se extrajo repetidas veces con acetato de etilo caliente (6x50 mL) para remover la acetamida formada durante la reacción de amonólisis. El producto obtenido luego de este tratamiento se secó en desecador de vacío. La cromatografía en papel de una muestra de este jarabe (solvente a) revelada con reactivos A y B mostró la presencia de cuatro sustancias con R_f 0.93, 0.64, 0.44 y 0.18. Siendo las sustancias con R_f 0.44 y 0.18 de naturaleza reductora.

1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinitol (II)

El jarabe, producto de la amonólisis de (I), se disolvió en metanol caliente. De la solución alcohólica precipitó II en forma de agujas que, luego de tres recristalizaciones de metanol, dió p.f 163°-165°, $[\alpha]_D^{20} +78.7^\circ$ (c 0.8; agua). En esta etapa se obtuvieron 0.58 g de II.

La cromatografía en papel (solvente a) revelada con reactivos

A y B dió una sola mancha no reductora de R_g 0.64.

Por evaporación de las aguas madres se obtuvieron 10.9 g de un jarabe que se cromatografió en una columna de celulosa de 45x940 mm.

Se recolectaron fracciones de 14 mL usando como primer eluyente 4.5 L de solvente b (fracciones 1-320), como segundo eluyente 4.9 L de solvente a (fracciones 321-670) y lavando por último la columna con 1.5 L de metanol.

De las fracciones 45 a 80 se aisló acetamida.

Las fracciones 142 a 217 dieron por evaporación al vacío 0.39 g de agujas de p.f. 163°-165° de 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinitol (II) de R_g 0.64 al ser cromatografiado en papel con solvente a y revelado con reactivo A.

En las restantes fracciones no se pudo lograr separación por lo cual las mismas se reunieron y evaporaron al vacío.

El jarabe así obtenido se separó por cromatografía sobre papel Whatman 3 MM, se usó solvente a para el desarrollo. Los cromatogramas se corrieron con frente y se secaron, repitiéndose esta operación tres veces sucesivas con el objeto de lograr una mejor resolución.

Se obtuvieron así 0.18 g más de (II) con constantes físicas y características cromatográficas idénticas a las de las fracciones previamente aisladas.

La cantidad total de 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinitol fue de 1.15 g (Rend. 19%).

| | | | | |
|------------------|---|------------|----------|---------|
| <u>Análisis:</u> | Calculado para C ₁₅ H ₂₈ N ₂ O ₁₁ , | %C: 43.68; | %H 6.79; | %N 6.79 |
| | Encontrado | %C: 43.25; | %H 7.26; | %N 6.47 |

La cromatografía preparativa en papel Whatman 3 MM permitió aislar también los siguientes compuestos:

N-acetil-5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosilamina (III)

El compuesto III se obtuvo en forma de jarabe. Se aislaron, por cromatografía preparativa en papel Whatman 3 MM, 0.38 g (Rend. 7.3%), $[\alpha]_D +210.7^\circ$ (c 0.56; agua).

La cromatografía de III en papel con solvente a y revelada con reactivo A dió una mancha no reductora de Rg 0.93. El compuesto III no pudo ser revelado con reactivo B.

| | | |
|------------------|--|----------------------------|
| <u>Análisis:</u> | Calculado para $C_{13}H_{23}NO_{10}$, | %C 44.19; %H 6.55; %N 3.96 |
| | Encontrado | %C 44.36; %H 6.27; %N 3.81 |

5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosa (IV)

El compuesto IV se aisló como jarabe. Se obtuvieron, por cromatografía preparativa en papel Whatman 3 MM, 0.33 g (Rend. 7.2%), $[\alpha]_D +98^\circ$ (10 min.) $\longrightarrow +82^\circ$ (66 hs.) (c 0.91; agua).

En sendas cromatografías en papel (solvente a) reveladas con reactivos A y B se observó una única mancha reductora de Rg 0.44.

| | | |
|------------------|---------------------------------------|-------------------|
| <u>Análisis:</u> | Calculado para $C_{11}H_{20}O_{10}$, | %C 42.30; %H 6.41 |
| | Encontrado | %C 42.30; %H 6.73 |

5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosa (V)

El compuesto V se aisló como jarabe. Se obtuvieron, por cromatografía preparativa en papel Whatman 3 MM, 0.11 g (Rend. 2.3%), $[\alpha]_D +72.2^\circ$ (10 min.) $\longrightarrow +82.2^\circ$ (96 hs.) (c 1.0; agua).

En sendas cromatografías en papel (solvente a) reveladas con reactivos A y B se observó una única mancha reductora de Rg 0.18.

| | | |
|------------------|---------------------------------------|-------------------|
| <u>Análisis:</u> | Calculado para $C_{11}H_{20}O_{10}$, | %C 42.30; %H 6.41 |
| | Encontrado | %C 42.15; %H 6.79 |

Preparación del hepta-O-acetil-1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-5-O-
-α-D-galactopiranosil-D-arabinitol (VI)

El compuesto II (0.061 g) se disolvió en 7 mL de una mezcla de piridina-anhídrido acético 1:1 por calentamiento durante 3 minutos en un baño de agua hirviente. La mezcla se dejó en reposo durante 24 horas a temperatura ambiente y luego se evaporó a sequedad en desecador de vacío. El producto crudo obtenido se recristalizó tres veces de metanol, hasta constancia en el punto de fusión. Se obtuvieron 0.103 g (Rend. 99%) de VI en forma de agujas de p.f. 193°-194°, $[\alpha]_D +130.8^\circ$ (c 0.58; cloroformo). Por cromatografía en placa delgada de sílica gel G (solvente 2) VI dió una sola mancha de Rf 0.43.

| | | | | |
|------------------|--|-----------|----------|---------|
| <u>Análisis:</u> | Calculado para $C_{29}H_{42}N_2O_{18}$, | %C 49.29; | %H 5.95; | %N 3.96 |
| | Encontrado | %C 48.98; | %H 6.06; | %N 3.66 |

Preparación de la hexa-O-acetil-N-acetil-5-O-α-D-galactopirano-
sil-α-D-arabinofuranosilamina (VII)

El compuesto III (0.034 g) se disolvió en 1.2 mL de una mezcla de piridina-anhídrido acético 1:1 por calentamiento durante 5 minutos en un baño de agua hirviente. La mezcla se dejó en reposo durante 24 horas a temperatura ambiente y luego se evaporó a sequedad en desecador de vacío. Se obtuvieron de este modo 0.055 g (Rend. 98.9%) de un jarabe que mostró al ser cromatografiado en placa delgada (solvente 3) estar formado por dos sustancias con Rf 0.34 y 0.59.

La sustancia con Rf 0.59 se reveló con reactivo para test de ácidos hidroxámicos¹⁹³ pero no con vapores de yodo, mientras que la de Rf 0.34 se reveló con ambos reactivos y además era el componente mayoritario de la mezcla.

El jarabe obtenido de la acetilación de III se purificó por cromatografía preparativa en placa delgada (solvente 2). Se obtuvieron de este modo 0.030 g (Rend. 52.4%) del compuesto VII, en forma de jarabe ópticamente activo, $[\alpha]_D +64.9^\circ$ (c 1.37; cloroformo). Por cromatografía en placa delgada (solventes 2 y 3) VII dió en cada caso una sola mancha con Rf 0.37 y 0.34 respectivamente.

Análisis: Calculado para $C_{25}H_{35}NO_{16}$, %C 49.59; %H 5.79; %N 2.31
 Encontrado %C 49.31; %H 5.20; %N 2.47

Preparación de la hepta-O-acetil-5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosa (VIII)

Una muestra de 0.038g de la 5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosa (IV) se disolvió en 2.4 mL de una mezcla de piridina-anhídrido acético 1:1 enfriada a 0°. Esta solución se mantuvo 24 horas a 5° y luego se evaporó en desecador de vacío.

El jarabe obtenido se disolvió en metanol y se decoloró con carbón. No se logró inducir la cristalización de VIII por lo que se llevó a sequedad la solución metanólica y se obtuvieron de este modo 0.052 g (Rend. 71%) de un jarabe cromatográficamente puro. La cromatografía de VIII en placa delgada, con cuadruple desarrollo (solvente 4) dió una mancha de Rf 0.77. El compuesto VIII era ópticamente activo, $[\alpha]_D +91.9^\circ$ (c 0.82; cloroformo).

Análisis: Calculado para $C_{25}H_{34}O_{17}$, %C 49.50; %H 5.61
 Encontrado %C 49.20; %H 5.90

Preparación de la hepta-O-acetil-5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosa (IX)

Una muestra de 0.060 g de la 5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosa (V) se agregó a una suspensión de 120 mg de acetato de sodio anhidro en 2 mL de anhídrido acético. La mezcla se mantuvo 3

horas en baño de agua hirviente con agitación. Al cabo de dicho tiempo se volcó sobre 50 mL de hielo picado. La solución acuosa se extrae con cloroformo (3x30 mL). La fase clorofórmica se lavó con solución saturada de bicarbonato de sodio, luego con agua y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. La solución resultante se filtró, evaporó y concentró a presión reducida hasta sequedad.

El jarabe obtenido se disolvió en metanol y se decoloró con carbón. No se logró inducir la cristalización de IX por lo que se concentró a presión reducida hasta sequedad la solución metanólica.

Se obtuvieron 0.063 g (Rend. 52.5%) de un jarabe cromatográficamente puro. La cromatografía de IX en placa delgada, con cuadruple desarrollo (solvente 4), dió una mancha única de Rf 0.64. El compuesto IX era ópticamente activo, $[\alpha]_D +61.3^\circ$ (c 1.4; cloroformo).

Análisis: Calculado para $C_{25}H_{34}O_{17}$, %C 49.50; %H 5.61
Encontrado %C 49.92; %H 6.01

Oxidación del 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinitol (II) con periodato de sodio

Una solución de 3.5 mg de II en 15 mmoles de periodato de sodio (3.9 mL) se mantuvo a 5°. Muestras de 0.1 mL fueron tomadas periódicamente y diluidas con agua destilada hasta 25 mL.

El periodato consumido fue determinado espectrofotométricamente¹⁹⁶ usando un espectrofotómetro Beckman DU a 222,5 nm.

Los moles de periodato de sodio consumidos por mol de sustancia a oxidar vs el tiempo necesario para ello se expresan a continuación:

| moles de IO_4^- /mol de <u>II</u> | tiempo (horas) |
|-------------------------------------|----------------|
| 1.35 | 0.16 |
| 2.53 | 4.00 |
| 3.02 | 24.00 |
| 3.98 | 28.00 |
| 3.98 | 91.00 |
| 3.98 | 115.00 |

La aplicación del método de Mac Fadyen¹⁹⁷ para determinar la presencia de formaldehído dió resultado negativo.

Determinación de la configuración anomérica de la N-acetil-5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosilamina (III)

Para llevar a cabo esta determinación se usó el método de Cerezo y Deulofeu⁹³ con una ligera variante para hacerlo de utilidad en este caso.

Una solución de III, que contenía 35.3 mg (0.1 mMol) de este compuesto, en 3.5 mL (0.35 mmoles) de periodato de sodio 0.1 M fue guardada en la oscuridad y a temperatura ambiente durante 24 horas.

Pasado ese tiempo se agregaron unas gotas de etilenglicol con el objeto de descomponer el exceso de periodato de sodio. Luego, se alcalinizó la solución con 10 mg de bicarbonato de sodio y a continuación se agregaron 10 mg de borohidruro de sodio. Esta solución se dejó en reposo, a temperatura ambiente, durante 24 horas y luego se acidificó hasta pH 1 y guardó nuevamente otras 24 horas para producir la ruptura de la unión glicosídica. Pasado ese tiempo se determinó la rotación óptica de la solución final que fue en este caso de +11°.

Este valor está dentro del rango observado por Cerezo y Deulofeu⁹³ para el producto de oxidación de las N-acetil-D-glicosilaminas con configuración anomérica α .

Hidrólisis de la 5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosa (IV) y de la 5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosa (V)

Los anómeros (IV y V) de la 5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinofuranosa (10 mg) fueron hidrolizados separadamente por disolución en 3 mL de una solución 0.5 M de ácido sulfúrico. La solución se mantuvo durante 1 hora en un baño de agua hirviente. Luego se neutralizó con carbonato de bario; la suspensión resultante se filtró y el

filtrado se concentró hasta 0.5 mL.

La cromatografía en papel de esta solución usando solvente c y reactivos A y B permitió revelar la presencia de dos sustancias de naturaleza reductora con R_f 1.02 y 0.90 coincidentes con las de los testigos D-galactosa y D-arabinosa. En otra cromatografía en papel usando solvente d también se observó coincidencia entre los R_f de los productos de hidrólisis y el de los patrones utilizados.

Preparación del octa-O-benzoil-melibionitrilo (XI)

Se suspendieron 8.5 g de melibiosa oxima (preparada según la técnica descrita en la pag. 133) en 90 mL de piridina anhidra y se le fueron agregando lentamente, en porciones y con agitación continua, 90 mL de cloruro de benzoilo de forma tal de mantener la mezcla de reacción a 90° durante todo el proceso. Finalizada la adición de reactivos se agitó la mezcla de reacción durante 4 horas y luego se la dejó 24 horas a temperatura ambiente. Se obtuvo un sólido que se lavó repetidas veces con agua fría obteniéndose 24.2 g (86.8%) de un producto amorfo de p.f. 89°-95°. Este se recristalizó tres veces de isopropanol obteniéndose 21.56 g (Rend. 77.3%) de octa-O-benzoil-melibionitrilo de p.f. 96°-97°, $[\alpha]_D +91.3^\circ$ (c 0.56; cloroformo).

La cromatografía en placa delgada (solvente 5) revelada tanto en cámara de iodo como con reactivo para test de ácidos hidroxámicos¹⁹³ dió una sola mancha de Rf 0.58.

El espectro de r.m.p. (270 MHz, en C_6D_6) (Figuras IV y V) presentaba las siguientes señales a δ (ppm) 8.35 a 6.73 (señales de los H aromáticos de los 8 $C_6H_5COO^-$ y probablemente del H-4); 6.49 (dd, $J_{2',3'}$ 10.8 Hz, $J_{3',4'}$ 3.4 Hz, H-3'); 6.28 (H-4'); 6.26 (dd, $J_{2,3}$ 6.4 Hz, $J_{3,4}$ 2.4 Hz, H-3); 6.17 (dd, $J_{1',2'}$ 3.5 Hz, $J_{2',3'}$ 10.8 Hz, H-2'); 6.06 (d, $J_{2,3}$ 6.4, H-2); 5.96 (dt, $J_{4,5}$ 8.0 Hz, H-5); 5.46 (d, $J_{1',2'}$ 3.5 Hz, H-1'); 4.61 (dd, $J_{5',6'_a}$ 6.7 Hz, $J_{6'_a,6'_b}$ 11.2 Hz, H-6'_a); 4.38 (ddd, $J_{4',5'}$ 1.2 Hz, $J_{5',6'_a}$ 6.7 Hz, $J_{5',6'_b}$ 6.4 Hz, H-5'); 4.18 (dd, $J_{5',6'_b}$ 6.4 Hz, $J_{6'_a,6'_b}$ 11.2 Hz, H-6'_b); 4.04 (dd, $J_{5,6_a}$ 3.3 Hz, $J_{6_a,6_b}$ 11.8 Hz, H-6_a); 3.63 (dd, $H_{5,6_b}$ 2.5 Hz, $J_{6_a,6_b}$ 11.8 Hz, H-6_b).

El espectro de r.m.n. ^{13}C (20.15 MHz, en $CDCl_3$) presentó las siguientes señales a δ (ppm) 165.75-163.90 (8 $C_6H_5-COO^-$); 133.88-127.25 ($C_6H_5COO^-$); 114.11 ($-C\equiv N$); 97.20 (C-1'); 69.73 (C-5'); 68.94 (C-2' y C-4'); 68.31 (C-4 y C-5); 67.85 (C-3'); 67.19 (C-3); 66.56 (C-6); 62.28 (C-6') y 59.70 (C-2).

Análisis: Calculado para $C_{68}H_{53}NO_{18}$, %C: 69.68; %H 4.52; %N 1.19
Encontrado %C: 69.63; %H 4.73; %N 1.25

Amonólisis del octa-O-benzoíl-melibionitrilo (XI) y aislamiento del 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinitol (XII), de la N-benzoíl-5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosilamina (XIII), de la N-benzoíl-5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosilamina (XIV), de la 5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosa (IV) y de la 5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosa (V)

Se suspendieron 20 g de octa-O-benzoíl-melibionitrilo (XI) en 500 mL de amoníaco metanólico 16% agitando durante 30 minutos hasta disolución total. Se dejó la solución en reposo durante 24 horas a temperatura ambiente y luego se evaporó el solvente, a presión reducida, hasta consistencia siruposa.

El jarabe obtenido se disolvió en metanol sin lograrse la cristalización de ninguna sustancia. La solución metanólica se concentró y se secó en desecador al vacío. Se obtuvo un jarabe que se lavó repetidas veces con acetato de etilo a 60° (6x50 mL) para remover la benzamida y el benzoato de metilo formados durante la amonólisis. El producto obtenido luego de este tratamiento se secó en desecador al vacío. Se obtuvieron 9.1 g de un jarabe que contenía trazas de benzamida. La cromatografía en papel de una muestra de este jarabe (solvente a) revelada con reactivos A y B mostró la presencia de seis sustancias con R_f 3.2, 2.25, 1.15, 0.88, 0.40 y 0.20. Siendo las sustancias con R_f 0.40 y 0.20 de naturaleza reductora.

1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinitol (XII)

El jarabe (9.1 g), producto de la amonólisis de XI, se disol-

vió en 50 mL de metanol. De la solución alcohólica precipitaron 0.96 g de XII en forma de agujas que luego de dos recristalizaciones de metanol dió p.f. 231°-232° (desc.), $[\alpha]_D^{25} +78.48^\circ$ (c 0.7; piridina).

La cromatografía en papel (solvente a) revelada con reactivos A y B dió una sola mancha no reductora de Rg 2.25.

Por evaporación de las aguas madres se obtuvieron 8.1 g de un jarabe que se disolvió en 15 mL de solvente a y se cromatografiaron en una columna de celulosa de 45x940 mm.

Se recolectaron 360 fracciones de 15 mL cada una usando como eluyente solvente a (5.4 L) y luego se lavó la columna con 600 mL de metanol-agua 1:1.

Las fracciones se evaporaron, cromatografiaron y revelaron con los reactivos A y B, juntándose aquellas de igual composición.

De las fracciones 1 a 69 se aisló benzamida.

Las fracciones 70 a 85 revelaron, por cromatografía en papel, estar constituidas por XII y trazas de benzamida. De estas fracciones se obtuvieron, por sublimación de la benzamida que lo impurificaba, 0.08 g de 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinitol (XII) de Rg. 2.25 al ser cromatografiado en papel con solvente a y revelado con reactivo A.

Las fracciones 92 a 100 dieron por evaporación al vacío y recristalización de metanol 2.41 g de XII de p.f. 231-232° (desc.) en forma de agujas, con Rg 2.25 (solvente a y reactivo A).

La cantidad total de 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinitol (XII) fue de 3.45 g (Rend. 37.7%)

| | |
|--|-----------------------------|
| <u>Análisis</u> : Calculado para $C_{25}H_{32}N_2O_{11}$, | %C: 55.97; %H 5.96; %N 5.22 |
| Encontrado | %C: 55.85; %H 5.98; %N 5.35 |

N-benzoil-5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosilamina (XIII)

Las fracciones 111 a 133 dieron por evaporación al vacío un jarabe, que no se pudo cristalizar. El mismo se purificó por cromatografía preparativa en papel 3 MM; se obtuvo un jarabe cromatográficamente puro de Rg 1.15 (solvente a) y Rg 1.13 (solvente f) de

naturaleza no reductora.

El compuesto XIII se obtuvo como jarabe con $[\alpha]_D + 120.45^\circ$ (c 1.1; metanol). Se obtuvieron 0.55 g (Rend. 7.7%).

Análisis: Calculado para $C_{18}H_{25}NO_{10}$, %C: 52.04; %H 6.02; %N 3.37
Encontrado %C: 51.72; %H 5.61; %N 3.24

N-benzoíl-5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosilamina (XIV)

Las fracciones 135 a 168 dieron por evaporación al vacío un jarabe, que no se pudo cristalizar. El mismo se purificó por cromatografía preparativa en papel 3 MM; se obtuvo un jarabe cromatográficamente puro de Rg 0.88 (solvente a) y Rg 0.81 (solvente f) de naturaleza no reductora.

El compuesto XIV se obtuvo como jarabe con $[\alpha]_D + 100.2^\circ$ (c 1.35; metanol). Se obtuvieron 0.42 g (Rend. 5.9%).

Análisis: Calculado para $C_{18}H_{25}NO_{10}$, %C 52.04; %H 6.02; %N 3.37
Encontrado %C 51.85; %H 5.72; %N 3.18

Separación de la 5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosa (IV) y de la 5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosa (V)

Las fracciones 171 a 274 dieron por evaporación 0.14 g de un jarabe compuesto por dos sustancias cuyas características cromatográficas eran coincidentes con las obtenidas para el par de anómeros de la 5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinofuranosa. Ambos componentes del jarabe se separaron por cromatografía preparativa en papel 3 MM obteniéndose 0.09 g de IV (Rend. 1.7%) y 0.03 g de V (Rend. 0.6%).

Las fracciones 275 a 340 contenían 0.04 g de V (Rend. 0.75%)

Ambos compuestos, el IV y el V, poseían las mismas propiedades cromatográficas y rotación específica que las de los correspondientes azúcares reductores, 5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosa (IV) y 5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosa (V), descritos en la pag. 137.

Preparación del hepta-O-acetil-1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinitol (XV)

Se disolvieron 0.090 g de 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinitol (XII) en 5 mL de una mezcla de piridina-anhídrido acético 1:1 por calentamiento durante 5 minutos en un baño de agua hirviente. La mezcla se dejó en reposo durante 24 horas a temperatura ambiente y la solución se evaporó a sequedad en desecador al vacío. El sólido blanco así obtenido se disolvió en la menor cantidad posible de metanol-agua (1:2) en caliente y por enfriamiento de la solución cristalizaron 0.128 g (Rend. 97.7%) de XV, en forma de agujas de p.f. 105°-110°, que luego de tres recristalizaciones sucesivas del mismo solvente dieron 0.119 g (Rend. 91.2%) de p.f. 111°-114° y $[\alpha]_D +100.3^\circ$ (c 0.67; cloroformo).

Por cromatografía en placa delgada (solvente 2) XV dió una sola mancha de Rf 0.62 al ser revelada la misma con reactivo para test de ácidos hidroxámicos¹⁹³ y en cámara de iodo.

| | | |
|------------------|--|----------------------------|
| <u>Análisis:</u> | Calculado para $C_{39}H_{46}N_2O_{18}$, | %C 56.38; %H 5.54; %N 3.37 |
| | Encontrado | %C 56.08; %H 5.95; %N 3.65 |

Preparación de la hexa-O-acetil-N-benzoíl-5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosilamina (XVI)

El compuesto XIII (0.178 g) se disolvió en 13 mL de una mezcla de piridina-anhídrido acético 1:1 por calentamiento durante 5 minutos en un baño de agua hirviente. La mezcla se dejó en reposo durante 24 horas a temperatura ambiente y luego se evaporó a sequedad en desecador al vacío. Se obtuvieron de este modo 0.259 g (Rend. 90.5%) de un jarabe que por cromatografía en placa delgada (solvente 2) reveló estar formado por una sustancia de Rf 0.50, que constituía el producto mayoritario, y otra de Rf cercano a cero.

El jarabe se purificó por cromatografía en columna (3x20cm) usando como adsorbente sílica gel Davison y solvente 2. Se recogie-

ron 24 fracciones de 10 mL cada una. La cromatografía en placa delgada (solvente 2) de las fracciones 3 a 10 mostró una sola mancha de Rf 0.50. Estas fracciones se juntaron y una vez evaporado el solvente se disolvieron en metanol; por agregado de agua se obtuvieron 0.197 g de un producto cristalino de p.f. 118°-122°. Luego de tres recristalizaciones se obtuvieron 0.141 g (Rend. 49.3%) de XVI de p.f. 125°-128° y $[\alpha]_D +95.3^\circ$ (c 0.48; cloroformo)

| | |
|--|----------------------------|
| <u>Análisis</u> : Calculado para $C_{30}H_{37}NO_{16}$, | %C 53.97; %H 5.54; %N 2.09 |
| Encontrado | %C 53.52; %H 5.83; %N 1.85 |

Preparación de la hexa-O-acetil-N-benzoil-5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosilamina (XVII)

El compuesto XIV (0.047 g) se disolvió en 10 mL de una mezcla de piridina-anhídrido acético 1:1 por agitación en tubo cerrado. La solución se dejó en reposo durante 24 horas a temperatura ambiente y luego se evaporó el solvente hasta sequedad en desecador al vacío. Se obtuvieron de este modo 0.068 g (Rend. 90.66%) de un jarabe. Este se disolvió en metanol y por agregado de agua se obtuvieron 0.051 g de agujas de p.f. 73°-77° que por sucesivas recristalizaciones de metanol-agua (1:3) dieron 0.041 g (Rend. 54.6%) de XVII de p.f. 76°-78° y $[\alpha]_D +90.6^\circ$ (c 1.01; cloroformo). Por cromatografía en placa delgada (solvente 2) XVII dió una sola mancha de Rf 0.68 al revelarse la misma con reactivo para test de ácidos hidroxámicos¹⁹³ y en cámara de iodo.

| | |
|--|----------------------------|
| <u>Análisis</u> : Calculado para $C_{30}H_{37}NO_{16}$, | %C 53.97; %H 5.54; %N 2.09 |
| Encontrado | %C 53.65; %H 5.42; %N 1.76 |

Degradación del octa-O-acetil-melibiononitrilo (I) con metóxido de sodio

Para llevar a cabo esta degradación se aplicó la técnica de Zemplén⁶².

Se disolvieron 4.5 g del octa-O-acetil-melibiononitrilo (I) en 8 mL de cloroformo. Luego de enfriar esta solución en un baño de agua-hielo se le agregó una solución de 0.15 g de sodio en 7.5 mL de metanol absoluto. Al cabo de 10 minutos de agitación se obtuvo una mezcla gelatinosa que se mantuvo otros 10 minutos a 5°.

Esta mezcla se diluyó con 15 mL de agua destilada; se separó la capa clorofórmica por decantación y la fase orgánica se lavó varias veces con agua destilada, reuniendo las aguas de lavado con la fase acuosa previamente obtenida.

La solución acuosa se agitó con resina sulfónica Zeokarb 225 (H⁺) hasta neutralidad. La solución así obtenida se concentró al vacío hasta consistencia siruposa. El jarabe se secó en desecador al vacío obteniéndose 1.88 g. La cromatografía en papel con solvente a y revelada con reactivos A y B mostró la presencia de dos sustancias de naturaleza reductora con R_f 0.44 y 0.18, coincidentes con los que se habían obtenido para la 5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosa (IV) y la 5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosa (V) por amonólisis del mismo nitrilo (I).

Los componentes de este jarabe se separaron por cromatografía preparativa en papel 3 MM con solvente a. Se obtuvieron 0.66 g (Rend. 30.8%) de IV y 0.91 g de V (Rend. 42.5%).

Preparación de la hepta-O-acetil-5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosa (VIII)

La acetilación de una muestra de IV con anhídrido acético-piridina se realizó con la misma técnica que se utilizó en el caso del mismo azúcar, (IV), obtenido a partir de la amonólisis del octa-O-acetil-melibiononitrilo (I) (pag. 139). La misma condujo a la obten-

ción de VIII en forma de jarabe con $[\alpha]_D +91.6^\circ$ y Rf 0.77 (solvente 4). Estas características coinciden con las que se habían obtenido para la hepta-O-acetil-5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosa (VIII) (pag. 139).

Preparación de la hepta-O-acetil-5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosa (IX)

La acetilación de una muestra de V con acetato de sodio-anhídrido acético se realizó con la misma técnica que se utilizó en el caso del mismo azúcar, (V), obtenido a partir de la amonólisis del octa-O-acetil-melibiononitrilo (I) (pag. 139). La misma condujo a la obtención de IX en forma de jarabe con $[\alpha]_D +61.3^\circ$ y Rf 0.64 (solvente 4). Estas características coinciden con las que se habían obtenido para la hepta-O-acetil- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosa (IX) (pag. 140).

Preparación del metil hexa-O-metil-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinofuranósido (X) e hidrólisis del mismo

La metilación se llevó a cabo aplicando la técnica de Kuhn y col.¹¹¹.

La 5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosa (IV) (0.030 g) se disolvió en 2 mL de N,N-dimetilformamida y se le agregaron 0.332 g de óxido de bario y 0.3 mL de yoduro de metilo. La mezcla se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente.

A la mezcla de reacción se le agregaron 20 mL de cloroformo y se filtró. La solución clorofórmica se lavó con SO_4H_2 1N, con agua, con solución saturada de CO_3HNa , con agua, con solución de $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2$ 5% y nuevamente con agua. Se secó sobre SO_4Na_2 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida.

El residuo se disolvió en éter etílico, de esta solución cristalizaron 0.027 g (Rend. 69%) de X en forma de agujas de p.f. 78° - 80° y $[\alpha]_D +67.4^\circ$ (c 0.54; metanol). La cromatografía en placa delgada (solvente 6) dió una sola mancha de Rf 0.79.

La hidrólisis de X (0.021 g) se llevó a cabo con 5 mL de SO_4H_2

1 N en baño de agua hirviente durante 6 horas. La solución se dejó a temperatura ambiente 24 horas, se neutralizó con CO_3Ba sólido, se filtró a través de un lecho de celite y la solución remanente se concentró a presión reducida.

El residuo, disuelto en agua, se cromatografió en papel en solvente e y se reveló con reactivos A y B. En estas condiciones se revelaron dos sustancias de naturaleza reductora de R_f 0.73 (R_g 0.90) coincidente con la mancha de la 2,3,4,6-tetra-O-metil-D-galactosa y R_f 0.47 (R_g 0.70) coincidente con la mancha de la 2,3-di-O-metil-D-arabinosa usadas como patrones.

Degradación del octa-O-benzoíl-melibiononitrilo (XI) con metóxido de sodio

Para llevar a cabo esta degradación se aplicó la técnica de Zemplén⁶² con ligeras modificaciones.

Se disolvieron 3 g del octa-O-benzoíl-melibiononitrilo (XI) en 6 mL de cloruro de metileno. Luego de enfriar esta solución en un baño de agua-hielo se le agregaron, en porciones de 0.5 mL, otra de sodio 2.1% en metanol absoluto. El agregado de esta solución se realizó de modo de mantener el medio de reacción por encima de pH 8. Al cabo de 2 minutos de agitación se obtuvo una mezcla gelatinosa que se mantuvo a 5° durante 10 minutos. Al cabo de este tiempo la solución tenía pH 8.9.

Esta mezcla se neutralizó con ácido acético y la fase acuosa neutra se separó de la fase orgánica. Esta se lavó varias veces con agua destilada y las aguas de lavado se reunieron con la fase acuosa previamente obtenida.

La solución resultante de este tratamiento se concentró al vacío hasta consistencia siruposa. El jarabe se secó en desecador al vacío obteniéndose 0.69 g (Rend. 86.2%). La cromatografía en papel de una muestra de este jarabe con solvente a y revelada con reactivos A y B mostró la presencia de dos sustancias de naturaleza reductora con R_f 0.44 y 0.18, que coincidían con los que se habían obtenido para la 5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosa (IV) y la 5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofuranosa (V) que se habían obtenido por amonólisis del mismo nitrilo (XI) y por amonólisis del octa-O-acetil-melibiononitrilo (I) y por aplicación de la degradación de Zemplén a este último.

Preparación del di-O-benzoíl-D,L-gliceronitrilo (XVIII)

Se sintetizó la oxima del D,L-gliceraldehído por aplicación de la técnica de Wohl y Neuberger¹⁹⁸. Se partió de 7.7 g de D,L-gliceraldehído. La oxima obtenida en forma de jarabe se disolvió en 60 mL de piridina anhidra y se benzoiló con 56 mL de cloruro de benzoílo, manteniendo la temperatura entre 80° y 100°. Después de 5 horas a temperatura ambiente se volvió sobre hielo, se filtró y se recristalizó de metanol. Se obtuvieron 15.6 g de XVIII (Rend. 64%) en forma de agujas de p.f. 92°-93°. Dyer y col.¹⁹⁹ informan p.f. 93°-94°.

El espectro de r.m.n. ¹³C (25.2 MHz, en CDCl₃) presentó las siguientes señales a δ (ppm) 165.35 y 164.22 (2 C₆H₅-COO-); 134.14, 133.59, 129.97, 129.77, 128.58, 128.29 y 127.54 (C₆H₅-COO-); 114.48 (-C≡N); 62.31 (C-3) y 59.88 (C-2).

RESUMEN

El presente trabajo tuvo por objeto la síntesis del octa-O-acetil-melibiononitrilo y del octa-O-benzoíl-melibiononitrilo, que presentan unión glicosídica 1→6, así como el estudio de los productos obtenidos por aplicación de la degradación de Wohl y de Zemplén a los mismos.

En él se presentan:

1) Los antecedentes sobre la síntesis de nitrilos acilados derivados de monosacáridos y de disacáridos (Capítulo I).

2) Se revisan los datos de la literatura acerca de la reacción de Wohl aplicada a los mismos, se analiza el efecto del solvente y los estudios acerca de la demostración de la estructura y configuración de los compuestos nitrogenados formados durante el transcurso de la misma (Capítulo II).

3) La descripción de las experiencias realizadas en este trabajo y la discusión de los resultados obtenidos (Capítulo III).

- En el caso del octa-O-acetil-melibiononitrilo (I), que se preparó analítica y cromatográficamente puro, se pudo establecer su conformación en solución a través del análisis de su espectro de resonancia magnética protónica, que se realizó a 400 MHz.

El análisis del espectro de masa de I permitió correlacionar y asignar los picos correspondientes a sus distintas fragmentaciones. Los resultados de estos estudios se encuentran agrupados en la Tabla 2 y en los Esquemas I-X.

- En el caso del octa-O-benzoíl-melibiononitrilo (XI), que se preparó analítica y cromatográficamente puro, se determinó su conformación en solución a través del análisis de su espectro de resonancia magnética protónica a 270 MHz y se com-

paró con el del penta-O-benzoíl-D-glucononitrilo que se realizó a 400 MHz.

- Se realizó el espectro de resonancia magnética nuclear de ^{13}C de XI y las señales del mismo se asignaron por correlación con las de los espectros de resonancia magnética nuclear de ^{13}C , que también se analizaron, del penta-O-benzoíl-D-glucononitrilo, de la penta-O-benzoíl- α -D-galactopiranososa y del di-O-benzoíl-D,L-glíceronitrilo (XVIII).
- Se aplicó la reacción de degradación de Wohl al octa-O-acetil-melibiononitrilo (I) y al octa-O-benzoíl-melibiononitrilo (XI) obteniéndose de este modo los 1,1-bis(acilamido)-1-desoxi-aldobitulos II y XII, las N-acil-aldobiosilaminas III, XIII y XIV y los azúcares reductores IV y V. Se analiza la formación de los compuestos nitrogenados II, III, XII, XIII y XIV con relación a los datos existentes en literatura acerca de la amonólisis de algunas octa-O-acetil- y octa-O-benzoíl-aldobiosas con unión glicosídica 1 \rightarrow 4 y 1 \rightarrow 6 y de algunos octa-O-acetil-aldobiononitrosos con unión glicosídica 1 \rightarrow 4.
- Se prepararon los correspondientes derivados peracetilados de los compuestos II, III, IV, V, XII, XIII y XIV.
- Se aplicó la degradación de Zemplén al octa-O-acetil-melibiononitrilo (I) y al octa-O-benzoíl-melibiononitrilo (XI) obteniéndose las 5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinofuranosas IV y V.

4) La parte experimental del trabajo (Capítulo IV)

5) La reseña bibliográfica.

BIBLIOGRAFIA.

1. H. Kiliani; Ber., 18, 3066 (1885).
2. H. Kiliani; Ber., 19, 221 (1886).
3. H. Kiliani; Ber., 19, 3029 (1886).
4. H. Kiliani; Ber., 20, 339 (1887).
5. H. Kiliani; Ber., 19, 767 (1886).
6. H. Kiliani; Ber., 21, 915 (1888).
7. H. Kiliani; Ber., 22, 521 (1889).
8. E. Fischer; Ber., 22, 2204 (1889).
9. L. H. Philippe; Ann. Chim. Phys., (8) 26, 289 (1912).
10. H. S. Isbell, J. V. Karabinos, H. L. Frush, N. B. Holt, A. Schwebel y T. T. Galkowski; J. Res. Nat. Bur. Standards, 48, 163 (1952).
11. J. D. Moyer y H. S. Isbell; Anal. Chem., 30, 1975 (1958).
12. E. Fischer y F. Passmore; Ber., 23, 2226 (1890).
13. J. G. Maltby; J. Chem. Soc., 2769 (1929).
14. D. A. Rosenfeld, N. K. Richtmayer y C. S. Hudson; J. Amer. Chem. Soc., 73, 4907 (1951).
15. E. Rupp y A. Holzle; Arch. Pharm., 253, 404 (1915).
16. C. S. Hudson, O. Hartley y C. B. Purves; J. Amer. Chem. Soc., 56, 1248 (1934).
17. E. L. Jackson y C. S. Hudson; J. Amer. Chem. Soc., 56, 2455 (1934).
18. R. C. Hockett y C. S. Hudson; J. Amer. Chem. Soc., 60, 622 (1938).
19. E. M. Montgomery y C. S. Hudson; J. Amer. Chem. Soc., 64, 247 (1942).
20. J. V. Karabinos, R. M. Hann y C. S. Hudson; J. Amer. Chem. Soc., 75, 4320 (1953).
21. R. Kuhn y H. Grassner; Ann., 612, 55 (1958).
22. R. Kuhn y P. Klesse; Chem. Ber., 91, 1989 (1958).
23. H. L. Frush y H. S. Isbell; J. Res. Nat. Bur. Standards, 51, 307 (1953).
24. W. E. Millitzer; Arch. Biochem., 9, 91 (1946).
25. W. E. Millitzer; Arch. Biochem., 21, 143 (1949).

26. P. Briegl, M. Mühlischlegel y R. Schinle; Ber., 64, 2921 (1931).
27. Z. J. Allan; Coll. Czech. Chem. Commun., 19, 1242 (1954).
28. A. Wohl y O. Wollenberg; Ann., 500, 281 (1932).
29. R. Kuhn y J. C. Jochims; Chem. Ber., 93, 1047 (1960).
30. J. Mikšić; Věstník Král. Čes. Spol. Nauk. Cl. II, 18 (1926); Chem. Abstr., 23, 2941 (1929).
31. S. Gabriel y R. Meyer; Ber., 14, 2332 (1881).
32. B. Lach; Ber., 17, 1571 (1884).
33. W. Dollfuss; Ber., 25, 1917 (1892).
34. A. Wohl; Ber., 26, 730 (1893).
35. R. Behrend; Ann., 353, 106 (1907).
36. A. Hantzsch; Ber., 24, 13 (1891).
37. M. L. Wolfrom y A. Thompson; J. Amer. Chem. Soc., 53, 622 (1931).
38. G. R. Hauser y F. Jordan; J. Amer. Chem. Soc., 58, 1772 (1936).
39. H. Jacobi; Ber., 24, 696 (1891).
40. M. L. Wolfrom, A. Thompson y L. W. Georges; J. Amer. Chem. Soc., 54, 4091 (1932).
41. R. M. Hann y C. S. Hudson; J. Amer. Chem. Soc., 59, 1898 (1937).
42. R. C. Hockett y C. W. Maynard jr.; J. Amer. Chem. Soc., 61, 2111 (1939).
43. R. C. Hockett y L. B. Chandler; J. Amer. Chem. Soc., 66, 627 (1944).
44. A. Wohl; Ber., 24, 696 (1891).
45. M. L. Wolfrom, M. Konigsberg y S. Soltzberg; J. Amer. Chem. Soc., 58, 490 (1936).
46. M. L. Wolfrom y A. Thompson; J. Amer. Chem. Soc., 53, 622 (1931).
47. M. L. Wolfrom y L. W. Georges; J. Amer. Chem. Soc., 58, 1781 (1936).
48. A. Wohl; Ber., 24, 993 (1891).
49. M. L. Wolfrom y A. Thompson; J. Amer. Chem. Soc., 56, 880 (1934).
50. V. Deulofeu, M. L. Wolfrom, P. Cattaneo, C. C. Christman y L. W. Georges; J. Amer. Chem. Soc., 55, 3488 (1933).

51. V. Deulofeu, P. Cattaneo y G. Mendivelzua; J. Chem. Soc., 147 (1934).
52. M. L. Wolfrom y S. Soltzberg; J. Amer. Chem. Soc., 58, 1783 (1936).
53. E. Restelli de Labriola y V. Deulofeu; J. Amer. Chem. Soc., 62, 1611 (1940).
54. E. Votoček; Ber., 50, 35 (1917).
55. B. Helferich; J. prakt. Chem., 147, 60 (1937).
56. H. Brederock, J. Hennig y H. Zinner; Chem. Ber., 86, 476 (1953).
57. H. Brederock, G. Höschele y T. Heinkel; Chem. Ber., 87, 531 (1954).
58. H. Brederock, A. Wagner, D. Hummel y H. Kreiselmeier; Chem. Ber., 89, 1532 (1956).
59. F. Giménez y V. Deulofeu; J. Org. Chem., 15, 460 (1950).
60. G. Zemplén; Ber., 59, 2402 (1926).
61. R. Kuhn y W. Kirschenlohr; Ann., 600, 135 (1956).
62. G. Zemplén; Ber., 59, 1254 (1926).
63. P. A. Levene y M. L. Wolfrom; J. Biol. Chem., 77, 671 (1928).
64. G. Zemplén; Ber., 60, 923 (1927).
65. G. Zemplén; Ber., 60, 1309 (1927).
66. M. Gakhokidze; Zhur. Obshchei Khim., 11, 117 (1941); Chem. Abstr., 35, 5467 (1941).
67. M. Gakhokidze; Zhur. Obshchei Khim., 16, 1923 (1946); Chem. Abstr. 41, 6210 (1947).
68. G. Zemplén; Ber., 60, 1555 (1927).
69. M. E. Gelpi, J. O. Deferrari y R. A. Cadenas; J. Org. Chem., 30, 4064 (1965).
70. M. E. Gelpi, J. O. Deferrari y R. A. Cadenas; Carbohydr. Res., 17, 478 (1971).
71. G. Zemplén y D. Kiss; Ber., 60, 165 (1927).
72. K. Ladenburg, M. Tishler, J. W. Wellman y R. D. Babson; J. Amer. Chem. Soc., 66, 1217 (1944).
73. J. O. Deferrari y V. Deulofeu; J. Org. Chem., 22, 802 (1957).
74. V. Deulofeu; J. Chem. Soc., 2458 (1929).

75. R. C. Hockett, V. Deulofeu, A. L. Sedoff y J. R. Mendive; *J. Amer. Chem. Soc.*, 60, 278 (1938).
76. V. Deulofeu; *J. Chem. Soc.*, 2602 (1930).
77. M. L. Wolfrom, A. Thompson e I. R. Hooper; *J. Amer. Chem. Soc.*, 68, 2342 (1946).
78. E. Fischer; *Ber.*, 29, 1377 (1896).
79. C. Neuberg y H. Wolff; *Ber.*, 35, 4017 (1902).
80. V. Deulofeu y J. O. Deferrari; *J. Org. Chem.*, 17, 1087 (1952).
81. J. O. Deferrari y V. Deulofeu; *An. Asoc. Quím. Argent.*, 46, 126 (1958).
82. O. G. Marzoa, J. O. Deferrari e I. M. E. Thiel; *Carbohydr. Res.*, 73, 323 (1979).
83. J. O. Deferrari, M. A. Ondetti y V. Deulofeu; *J. Org. Chem.*, 84, 183 (1959).
84. J. O. Deferrari, M. A. Ondetti y V. Deulofeu; *An. Asoc. Quím. Argent.*, 47, 293 (1959).
85. E. Restelli de Labriola y V. Deulofeu; *J. Org. Chem.*, 12, 726 (1947).
86. J. O. Deferrari y B. Matsuhira; *J. Org. Chem.*, 31, 905, (1966).
87. A. Wohl y E. List; *Ber.*, 30, 3101 (1897).
88. A. Wohl; *Ber.*, 32, 3666 (1899).
89. L. Maquenne; *Compt. Rend.*, 130, 1402 (1900); *Ann. Chim. Paris*, 24, 399 (1901).
90. R. C. Hockett; *J. Amer. Chem. Soc.*, 57, 2265 (1935).
91. R. C. Hockett y L. B. Chandler; *J. Amer. Chem. Soc.*, 66, 957 (1944).
92. R. C. Hockett, M. H. Nickerson y W. H. Reeder (III); *J. Amer. Chem. Soc.*, 66, 472 (1944).
93. A. S. Cerezo y V. Deulofeu; *Carbohydr. Res.*, 2, 35 (1966).
94. V. Deulofeu; *J. Chem. Soc.*, 2973 (1932).
95. H. S. Isbell y H. L. Frush; *J. Amer. Chem. Soc.*, 71, 1579 (1949).
96. V. Deulofeu y J. O. Deferrari; *Nature*, 167, 42 (1951).
97. J. O. Deferrari y V. Deulofeu; *J. Org. Chem.*, 17, 1097 (1952).

98. J. O. Deferrari y V. Deulofeu; *J. Org. Chem.*, 17, 1093 (1952).
99. V. Deulofeu y J. O. Deferrari; *Anais Acad. Brasil. Cienc.*, 26, 69 (1954).
100. J. O. Deferrari, V. Deulofeu y E. F. Recondo; *An. Asoc. Quím. Argent.*, 46, 137 (1958).
101. E. G. Gros, M. A. Ondetti, J. F. Sproviero, V. Deulofeu y J. O. Deferrari; *J. Org. Chem.*, 27, 924 (1962).
102. A. S. Cerezo, J. F. Sproviero, V. Deulofeu y S. Delpy; *Carbohydr. Res.*, 7, 395 (1968).
103. A. B. Zanlungo, J. O. Deferrari y R. A. Cadenas; *Carbohydr. Res.*, 14, 245 (1970).
104. L. Zechmeister y G. Tóth; *Ann.*, 525, 14 (1936).
105. J. O. Deferrari y R. A. Cadenas; *J. Org. Chem.*, 30, 2007 (1965).
106. F. Micheel, R. Frier, E. Plate y A. Hiller; *Chem. Ber.*, 85, 1092 (1952).
107. J. O. Deferrari y R. A. Cadenas; *J. Org. Chem.*, 28, 1070 (1963).
108. R. A. Cadenas y J. O. Deferrari; *J. Org. Chem.*, 28, 1072 (1963).
109. R. Kuhn y G. Krüger; *Chem. Ber.*, 87, 1544 (1954).
110. R. A. Cadenas y J. O. Deferrari; *J. Org. Chem.*, 28, 2613 (1963).
111. R. Kuhn, H. H. Baer y A. Seeliger; *Ann.*, 611, 236 (1958).
112. A. B. Zanlungo, J. O. Deferrari y R. A. Cadenas; *J. Chem. Soc.*, (C), 1908 (1970).
113. J. O. Deferrari, I. M. E. Thiel y R. A. Cadenas; *Carbohydr. Res.*, 29, 141 (1973).
114. J. O. Deferrari, I. M. E. Thiel y R. A. Cadenas; *J. Org. Chem.*, 30, 3053 (1965).
115. I. M. E. Thiel, J. O. Deferrari y R. A. Cadenas; *J. Org. Chem.*, 31, 3704 (1966).
116. I. M. E. Thiel, J. O. Deferrari y R. A. Cadenas; *Ann.*, 723, 192 (1969).

117. I. M. Vazquez, I. M. E. Thiel y J. O. Deferrari; *Carbohydr. Res.*, 26, 351 (1973).
118. I. M. Vazquez, I. M. E. Thiel y J. O. Deferrari; *Carbohydr. Res.*, 47, 241 (1976).
119. J. O. Deferrari, M. E. Gelpi y R. A. Cadenas; *J. Org. Chem.*, 30, 2328 (1965).
120. E. G. Gros, A. Lezerovich, E. F. Recondo, V. Deulofeu y J. O. Deferrari; *An. Asoc. Quím. Argent.*, 50, 185 (1962).
121. A. Lezerovich, E. G. Gros, J. F. Sproviero y V. Deulofeu; *Carbohydr. Res.*, 4, 1 (1967).
122. M. A. Ondetti; Tesis, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Buenos Aires, Argentina. (1957).
123. H. L. Betts y L. J. Hammett; *J. Amer. Chem. Soc.*, 59, 1568 (1937).
124. R. Baltzly, I. M. Berger y A. A. Rothstein; *J. Amer. Chem. Soc.*, 72, 4149 (1950).
125. J. F. Bunnett y G. T. Davis; *J. Amer. Chem. Soc.*, 82, 665 (1960).
126. J. Hine y M. Hine; *J. Amer. Chem. Soc.*, 74, 5266 (1952).
127. C. Niemann y J. T. Hays; *J. Amer. Chem. Soc.*, 62, 2960 (1940).
128. H. L. Frush y H. S. Isbell; *J. Res. Nat. Bur. Standards*, 47, 239 (1951).
129. H. S. Isbell y H. L. Frush; *J. Res. Nat. Bur. Standards*, 46, 132 (1951).
130. H. S. Isbell y H. L. Frush; *J. Org. Chem.*, 23, 1309 (1958).
131. R. C. Hockett, M. T. Dienes, H. G. Fletcher jr. y H. E. Ramsden; *J. Amer. Chem. Soc.*, 66, 467 (1944).
132. A. B. Zanlungo, J. O. Deferrari y R. A. Cadenas; *Carbohydr. Res.*, 10, 403 (1969).
133. S. Delpy y A. S. Cerezo; *An. Asoc. Quím. Argent.*, 61, 59 (1973).
134. R. S. Tipson, A. S. Cerezo, V. Deulofeu y A. Cohen; *J. Res. Nat. Bur. Standards*, 71, 53 (1967).
135. H. Spedding; *Adv. Carbohydr. Chem.*, 19, 23 (1964).

136. L. W. J. Verstraeten; *Anal. Chem.*, 36, 1040 (1964); *Carbohydr. Res.*, 1, 481 (1966).
137. P. Nanasi y P. Cerletti; *Gazz. Chim. Ital.*, 92, 576 (1962).
138. P. Nanasi, E. Nemes-Nanasi y P. Cerletti; *Gazz. Chim. Ital.*, 95, 966 y 975 (1975).
139. J. W. Green y E. Pascu; *J. Amer. Chem. Soc.*, 59, 1205 (1937).
140. V. G. Bashford y L. F. Wiggins; *J. Chem. Soc.*, 299 (1948).
141. B. G. Hudson y R. Barker; *J. Org. Chem.*, 32, 3650 (1967).
142. N. L. Allinger y V. Zalkow; *J. Org. Chem.*, 25, 701 (1960).
143. J. A. Mills; *Adv. Carbohydr. Chem.*, 10, 1 (1955).
144. E. S. Gould; "Mechanism and Structure in Organic Chemistry" Holt Rinehard y Winston, New York, N. Y. 1960, pág. 200.
145. A. S. Cerezo, A. B. Zanlungo, J. O. Deferrari y R. A. Cadenas; *Chem. & Ind. (London)*, 1051 (1970).
146. E. Roth; *Ann.*, 154, 72 (1870).
147. A. Schuster; *Ann.*, 154, 80 (1870).
148. V. von Richter; *Ber.*, 5, 477 (1872).
149. N. Nencki; *Ber.*, 7, 158 (1874).
150. T. White; *J. Chem. Soc.*, 1498 (1938).
151. V. Deulofeu y J. O. Deferrari; *An. Asoc. Quím. Argent.*, 38, 241 (1950).
152. R. C. Hockett, V. Deulofeu y J. O. Deferrari; *J. Amer. Chem. Soc.*, 72, 1840 (1950).
153. A. Allerton y W. G. Overend; *J. Chem. Soc.*, 35 (1952).
154. V. Deulofeu, E. G. Gros y A. Lezerovich; *An. Real. Soc. Españ. Fis. Quím., Ser. B*, 60, 157 (1964).
155. E. G. Gros y V. Deulofeu; *J. Org. Chem.*, 29, 3647 (1964).
156. W. G. Dauben, G. J. Fonker y D. S. Noyce; *J. Amer. Chem. Soc.*, 78, 2579 (1956).
157. J. C. Richer; *J. Org. Chem.*, 30, 324 (1965).
158. R. D. García Lastres e I. M. E. Thiel; *An. Asoc. Quím. Argent.*; en prensa.
159. L. D. Hall; *Adv. Carbohydr. Chem.*, 19, 51 (1964); *Adv. Carbohydr. Chem. & Biochem.*, 29, 11 (1974).
160. B. Coxon; *Adv. Carbohydr. Chem. & Biochem.*, 27, 7 (1972).
161. P. L. Durette y D. Horton. *Adv. Carbohydr. Chem. & Biochem.*, 26, 49 (1971).

162. R. U. Lemieux y J. D. Stevens; *Can. J. Chem.*, 43, 2059 (1965).
163. C. V. Holland, D. Horton y M. J. Miller; *J. Org. Chem.*, 32, 3077 (1967).
164. W. W. Binkley, D. R. Diehl y R. W. Binkley; *Carbohydr. Res.*, 18, 459 (1971).
165. A. M. Seldes, E. G. Gros, I. M. E. Thiel y J. O. Deferrari; *Carbohydr. Res.*, 39, 11 (1975).
166. K. Biemann, D. C. DeJongh y H. K. Schnoes; *J. Amer. Chem. Soc.*, 85, 1763 (1963).
167. K. Heyns y H. Scharmann; *Ann.*, 667, 183 (1963).
168. D. C. DeJongh y K. Biemann; *J. Amer. Chem. Soc.*, 85, 2289 (1963).
169. J. Szafranek, C. D. Pfaffenberger y E. C. Horning; *Carbohydr. Res.*, 38, 97 (1974).
170. B. A. Dmitriev, L. V. Backinowsky, O. S. Chizhov, B. M. Zolotarev y N. K. Kochetkov; *Carbohydr. Res.*, 19, 432 (1971).
171. J. K. Baird, M. J. Holroyde y D. C. Ellwood; *Carbohydr. Res.*, 27, 464 (1973).
172. R. Varma, R. S. Varma y A. H. Wardi; *J. Chromatogr.*, 77, 222 (1973).
173. F. R. Seymour, E. C. M. Chen y S. H. Bishop; *Carbohydr. Res.*, 73, 19 (1979).
174. D. C. DeJongh; *J. Org. Chem.*, 30, 453 (1965).
175. A. F. Pavlenko, I. I. Belogortseva, Yu. S. Ovodov; *Khim. Prir. Soedin.*; 31 (1982).
176. N. B. D'Accorso e I, M. E. Thiel; comunicación personal.
177. J. O. Deferrari, I. M. E. Thiel y R. A. Cadenas; *Carbohydr. Res.*, 26, 244 (1973).
178. K. Takeo; *Carbohydr. Res.*, 59, 584 (1977).
179. P. L. Durette y D. Horton; *J. Org. Chem.*, 36, 2658 (1971).
180. R. S. Bhatt, L. Hough y A. C. Richardson; *Carbohydr. Res.*, 51, 272 (1976).
181. R. S. Bhatt, L. Hough y A. C. Richardson; *Carbohydr. Res.*, 43, 57 (1975).
182. I. M. E. Thiel; *An. Asoc. Quím. Argent.*, 70, 369 (1982).

183. E. Breitmaier, W. Voelter, E. Rathbone y E. M. Stephen; *Tetrahedron*, 29, 3845 (1973).
184. E. Pretch, T. Clerc, J. Seibl y W. Simon; *Tabellen zur Strukturaufklärung organischer Verbindungen mit Spektroskopischen Methoden*. -Springer Verlag, (1976), pág. C-190.
185. W. Voelter, V. Bilik y R. Beitmaier; *Coll. Czech. Chem. Commun.*, 38, 2054 (1973).
186. W. Voelter, E. Beitmaier, G. Jung, T. Keller y D. Hiss; *Angew. Chem. (Int.)*, 9, 803 (1970).
187. A. B. Zanlungo, J. O. Deferrari, M. E. Gelpi y R. A. Cadenas; *Carbohydr. Res.*, 35, 33 (1974).
188. L. Claisen; *Ber.*, 20, 646 (1887).
189. E. Fischer y M. Bergmann; *Ber.*, 52, 829 (1919).
190. G. Zemplén y A. Kunz; *Ber.*, 56, 1705 (1923).
191. V. Deulofeu y R. J. Selva; *J. Chem. Soc.*, 225 (1929); *An. Asoc. Quím. Argent.*, 17, 13 (1929).
192. M. E. Gelpi y R. A. Cadenas; *Carbohydr. Res.*, 88, 277 (1981).
193. M. E. Tate y C. T. Bishop; *Can. J. Chem.*, 40, 1043 (1962).
194. R. A. Cadenas y J. O. Deferrari; *Analyst*, 86, 132 (1961).
195. S. M. Partridge; *Nature*, 164, 443 (1949).
196. R. D. Guthrie; *Methods Carbohydr. Chem.*, 1, 440 (1962).
197. P. A. Mac Fadyen; *J. Biol. Chem.*, 158, 107 (1945).
198. A. Wohl y C. Neuberger; *Ber.*, 33, 3025 (1900).
199. E. Dyer, O. A. Pickett jr., S. F. Grause y H. W. Worell jr.; *J. Amer. Chem. Soc.*, 78, 3384 (1956).

INDICE

Introducción

CAPITULO I

Síntesis de nitrilos 1

CAPITULO II

La reacción de Wohl 25

Influencia del solvente 43

Estructura y configuración 48

Mecanismos de formación de los derivados
nitrogenados 57

CAPITULO III

Descripción de las experiencias y discusión de los
resultados

Síntesis del octa-O-acetil-melibiononitrilo (I) y
análisis de su espectro de resonancia magnética
protónica y de su espectro de masa 69

Síntesis del octa-O-benzoíl-melibiononitrilo (XI)
y análisis de su espectro de resonancia magnética
protónica y de ^{13}C 99

Amonólisis del octa-O-acetil-melibiononitrilo (I).. 113

Amonólisis del octa-O-benzoíl-melibiononitrilo (XI) . 115

Discusión de los resultados obtenidos por aplica-
ción de la reacción de Wohl al octa-O-acetil-me-
libiononitrilo (I) y al octa-O-benzoíl-melibiono-
nitrilo (XI) 120

CAPITULO IV

Parte experimental

| | |
|--|-----|
| Consideraciones generales | 130 |
| Preparación de la melibiosa oxima | 133 |
| Preparación del octa-O-acetil-melibiononitrilo (<u>I</u>). | 133 |
| Amonólisis del octa-O-acetil-melibiononitrilo (<u>I</u>) y aislamiento del 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-5-O- - α -D-galactopiranosil-D-arabinitol (<u>II</u>), de la N- -acetil-5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofura- nosilamina (<u>III</u>), de la 5-O- α -D-galactopiranosil- - α -D-arabinofuranosa (<u>IV</u>) y de la 5-O- α -D-galacto- piranosil- β -D-arabinofuranosa (<u>V</u>) | 135 |
| Preparación del hepta-O-acetil-1,1-bis(acetamido)- -1-desoxi-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinitol (<u>VI</u>) y de la hexa-O-acetil-N-acetil-5-O- α -D-galactopi- ranosil- α -D-arabinofuranosilamina (<u>VII</u>) | 138 |
| Preparación de la hepta-O-acetil-5-O- α -D-galactopira- nosil- α -D-arabinofuranosa (<u>VIII</u>) y de la hepta-O- -acetil-5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabinofurano- sa (<u>IX</u>) | 139 |
| Oxidación del 1,1-bis(acetamido)-1-desoxi-5-O- α -D- -galactopiranosil-D-arabinitol (<u>II</u>) con periodato de sodio | 140 |
| Determinación de la configuración anomérica de la N-acetil-5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofura- nosilamina (<u>III</u>) | 141 |
| Hidrólisis de la 5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-ara- binofuranosa (<u>IV</u>) y de la 5-O- α -D-galactopiranosil- - β -D-arabinofuranosa (<u>V</u>) | 141 |
| Preparación del octa-O-benzofil-melibiononitrilo (<u>XI</u>) | 143 |

| | |
|---|-----|
| Amonólisis del octa-O-benzoíl-melibiononitrilo (<u>XI</u>) y aislamiento del 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi- -5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinitol (<u>XII</u>), de la N-benzoíl-5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabino- furanosilamina (<u>XIII</u>), de la N-benzoíl-5-O- α -D-ga- lactopiranosil- β -D-arabinofuranosilamina (<u>XIV</u>), de la 5-O- α -D-galactopiranosil- α -D-arabinofuranosa (<u>IV</u>) y de la 5-O- α -D-galactopiranosil- β -D-arabino- furanosa (<u>V</u>) | 145 |
| Preparación del hepta-O-acetil-1,1-bis(benzamido)- -1-desoxi-5-O- α -D-galactopiranosil-D-arabinitol (<u>XV</u>) | 148 |
| Preparación de la hexa-O-acetil-N-benzoíl-5-O- α -D- -galactopiranosil- α -D-arabinofuranosilamina (<u>XVI</u>).. | 148 |
| Preparación de la hexa-O-acetil-N-benzoíl-5-O- α -D- -galactopiranosil- β -D-arabinofuranosilamina (<u>XVII</u>). | 149 |
| Degradación del octa-O-acetil-melibiononitrilo (<u>I</u>) con metóxido de sodio | 150 |
| Preparación de la hepta-O-acetil-5-O- α -D-galactopi- ranosil- α -D-arabinofuranosa (<u>VIII</u>) | 150 |
| Preparación de la hepta-O-acetil-5-O- α -D-galactopi- ranosil- β -D-arabinofuranosa (<u>IX</u>) | 151 |
| Preparación del metil hexa-O-metil-5-O- α -D-galacto- piranosil-D-arabinofuranósido (<u>X</u>) e hidrólisis del mismo | 151 |
| Degradación del octa-o-benzoíl-melibiononitrilo (<u>XI</u>) con metóxido de sodio | 153 |
| Preparación del di-O-benzoíl- D,L-glíceronitrilo (<u>XVIII</u>) | 154 |
| RESUMEN | 155 |
| BIBLIOGRAFIA | 157 |