

Tesis de Posgrado

Síntesis de glicosidos y disacáridos de galactosa furanosica

Marino, María Carla

1990

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:

Marino, María Carla. (1990). Síntesis de glicosidos y disacáridos de galactosa furanosica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2300_Marino.pdf

Cita tipo Chicago:

Marino, María Carla. "Síntesis de glicosidos y disacáridos de galactosa furanosica". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1990.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2300_Marino.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

SINTESIS DE GLICOSIDOS Y DISACARIDOS
DE GALACTOSA FURANOSICA

Director de Tesis

Dra. Rosa M. de Lederkremer

Lugar de Trabajo

Departamento de Química Orgánica

María Carla Marino

*Tesis presentada para optar al título de
Doctor en Ciencias Químicas*

A Walter, por su amor y su
infinita comprensión.

A mis padres, por que lo que
soy, es fruto de su esfuerzo.

A mis hermanos, por nuestra
amistad.

Agradezco a la Dra. Rosa M. de Lederkremer, quién sugirió el tema de esta Tesis y guió mi trabajo con permanente interés, entusiasmo y afecto.

Agradezco profundamente al Dr. Oscar Varela, quien con permanente interés por mi formación y continua dedicación, me brindó sus enseñanzas, su experiencia y su valiosa amistad.

Agradezco también:

A mis compañeros de laboratorio Daniel Cicero, Griselda De Fina, Lucio Jeroncic, Alejandro Nin, Patricia Zunszain, Carlos Lima, Cecil Du Mortier, Liliana Casal, Marisa Ramirez, Alicia Couto, Laura Urigh y Marcelo Befumo, que con su ayuda y apoyo a lo largo de estos años hicieron más grato este trabajo.

A Edith Monteagudo, Daniel Cicero, Lucio Jeroncic, Darío Doller y Elizabeth Jares, por haberme brindado su amistad, su compañía y su estímulo.

A Griselda De Fina por su cariño y su valiosa amistad.

A los Dres. Oscar Varela, Lucio Jeroncic y Darío Doller por los espectros de R.M.N. realizados.

Al Lic. Juan Bautista Rodriguez y a la Dra. Elizabeth Jares por el asesoramiento en la utilización de los cromatógrafos líquidos de alta resolución y su generosa colaboración.

Al Dr. E. Gros por el material mecanográfico facilitado.

A la Dra. I. M. E. Thiel por la bibliografía y el material mecanográfico facilitados.

Al Dr. Gerardo Burton por su disponibilidad y asesoramiento durante todo este período.

Al Lic. Fabio Doctorovich por haberme facilitado el programa utilizado para la impresión de este trabajo.

A la Lic. Marta Marcote por los microanálisis realizados.

A las Lic. M. Rivero y M. M. Moglia por la realización de las cromatografías gas-líquido y al Sr. J. A. Aznarez por los espectros de masa.

Al CONICET por las Becas de Iniciación y Doctorado otorgadas.

Al Departamento de Química Orgánica (FCEN-UBA), por haberme concedido el lugar de trabajo.

A UMYFORM (CONICET-FCEN) por el equipo técnico suministrado.

Al personal de Biblioteca y Publicaciones por su colaboración.

A todo el personal del Departamento de Química Orgánica, profesores, docentes auxiliares y no docentes por su cordialidad permanente.

INDICE

Abreviaturas.

P9

CAPITULO I

La D-galactofuranosa en la naturaleza.

-Introducción.....	1
-D-Galactofuranosa en hongos.....	2
-D-Galactofuranosa en protozoarios.....	13
-D-Galactofuranosa en bacterias.....	16

CAPITULO II

Métodos de Síntesis de glicósidos y disacàridos

de azúcares furanósicos.....	20
-------------------------------------	-----------

-Síntesis de glicofuranósidos por el método de Koenigs-Knorr.....	21
--	----

-Síntesis de glicofuranósidos de configuración <u>1,2-trans</u>	27
--	----

A partir de 1,2-ortoésteres.....	27
----------------------------------	----

A partir de 1,2-(1'-cianoetilidén) derivados.....	29
---	----

A partir de derivados peracilados, catalizada por SnCl ₄	31
--	----

-Síntesis de glicofuranósidos de configuración <u>1,2-cis</u>	33
--	----

-Antecedentes de la síntesis de disacàridos rela- cionados con esta Tesis	
--	--

6-O-β-D-Galactofuranosil-D-galactosa (16).....	39
--	----

5-O-β-D-Galactofuranosil-D-galactofuranosa (1).....	39
---	----

RESULTADOS Y DISCUSION

CAPITULO III

Síntesis de glicósidos de galactosa furanósica.....	46
-Síntesis de metil β -D-galactofuranósido (5).....	46
-Síntesis de p-nitrofenil β -D-galactofuranósido (97).....	56

CAPITULO IV

Síntesis de disacàridos de galactosa furanósica.....	66
-Síntesis de 6-O- β -D-galactofuranosil-D-galactosa (16).....	67
-Síntesis de metil 6-O- β -D-galactofuranosil- β -D- galactofuranósido (112).....	83
-Obtención de β -D-galactofuranosil-(1- \rightarrow 1)- β -D- galactofuranósido (114).....	93
-Síntesis de 5-O- β -D-galactofuranosil-D-galac- tofuranosa (1).....	101
-Síntesis de 3,5-di-O- β -D-galactofuranosil-D- galactofuranosa (124).....	118

CAPITULO V

Eliminación beta en disacàridos lactónicos. Síntesis
de glicosil 3-desoxi- y 3,5-di-desoxi-lactonas.

-Eliminación beta en aldono-1,4-lactonas.....	129
---	-----

-Eliminación beta en glicosil aldono-1,4-lactonas. Síntesis de 2-O-benzoil-3,5-di-desoxi-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-D,L- <u>treo</u> -hexono-1,4-lactona (157,158).....	136
-Hidrogenólisis de aldono-1,4-lactonas. Síntesis de 2,5-di-O-benzoil-3-desoxi-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-D- <u>xilo</u> -hexono-1,4-lactona (167).....	150

CAPITULO VI

Análisis conformacional de metil 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil-D-galactofuranósido (90).....	157
---	-----

CAPITULO VII

Parte experimental.....	168
-------------------------	-----

Resumen.....	226
--------------	-----

Bibliografía.....	235
-------------------	-----

ABREVIATURAS

Ac	acetilo
aq.	acuoso
Bn	bencilo
Bz	benzoílo
⊆	concentración
c	cuarteto
c.c.d.	cromatografía en capa delgada
c.g.l.	cromatografía gas-líquido
c.l.a.r.	cromatografía líquida de alta resolución
col.	colaboradores
comp.	compuesto
conf.	conformación
c.p.s.	ciclos por segundos
d	doblete
2D	bidimensional
DBU	1,8-diazobicyclo[5.4.0]7-eno
dd	doble doblete
DSB	diisomilborano
E.M.	espectrometría de masas
eq	equivalente molar
Et	etilo
eV	electrón volt
Fig	figura
g	gramo
h	hora
Hz	hertz

lit	literatura
m	multiplete
M	molar
Me	metilo
mg	miligramo
MHz	megahertz
mm	milímetro
mmol	milimol
p.f.	punto de fusión
Ph	fenilo
p.p.m.	partes por millón
Py	piridina
R.M.N. - ¹ H	resonancia magnética nuclear de protón
R.M.N. - ¹³ C	resonancia magnética nuclear de carbono-13
s	singulete
sa	singulete ancho
ss	solución saturada
sv	solvente
t	triplete
T _c	temperatura de columna
T _d	temperatura de detector
T _i	temperatura de inyector
t _r	tiempo de retención
TBDMS	ter-butildimetilsililo
TEA	triethylamina
THF	oxolano (tetrahydrofurano)
Tr	trifenilmetilo (tritilo)

CAPITULO I:

LA D-GALACTOFURANOSA

EN LA NATURALEZA.

Introducción

La D-galactosa es uno de los pocos hidratos de carbono, además de D-glucosa, que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza tanto en el reino animal como vegetal. Sin embargo, su presencia en la configuración furanósica solo se restringe a microorganismos, en los cuales forma parte de importantes componentes estructurales de la célula. Las primeras referencias a galactosa furanósica en productos naturales, datan de los años 60^{1,2}, cuando ya se contaba con técnicas analíticas ventajosas como la cromatografía y la electroforésis. El hecho de que el análisis por metilación e hidrólisis conduce a los mismos derivados para la galactosa piranósica sustituida en O-4 y para la furanósica sustituida en O-5, y otros factores, han hecho que en muchos ejemplos de años anteriores y posteriores no se hayan detectado o se hayan asignado estructuras erróneas, las que reexaminadas a la luz de los avances tecnológicos se han podido corregir.

La presencia de galactosa furanósica se ha descrito en glicoconjugados de numerosas familias de hongos, líquenes, protozoarios y bacterias, y en muchos casos se ha demostrado que este azúcar es el responsable de importantes funciones biológicas de esos glicoconjugados.

D-Galactofuranosa en Hongos

La D-galactofuranosa se ha encontrado en hongos como componente de galactanos, galactomananos, fosfogalactomananos y otros heteropolisacàridos³, que forman parte a su vez, de glicoconjugados de distinto tipo.

En 1959, Gorin y Spencer⁴ aislaron un polisacàrido producido por Penicillium charlesii, llamado galactocarolosa, cuyo análisis estructural sugería la presencia de cadenas de nueve o diez unidades de galactosa en configuración β -furanósica, y obtuvieron el disacàrido 5-O- β -D-galactofuranosil-D-galactofuranosa (1) como un producto de hidrólisis parcial del polisacàrido. Posteriormente, Gander y col.⁵ describieron un glicopéptido exocelular de F. charlesii formado por un polisacàrido (un fosfogalactomanano) y varios oligosacàridos de manosa de bajo peso molecular, unidos todos O-glicosídicamente al péptido. El fosfogalactomanano consiste en un "core" de manopiranosas sustituidas con grupos fosfatos y ramificado por ocho o diez cadenas de longitud variable de β -D-galactofuranosas, sustituidas (1- \rightarrow 5) en-

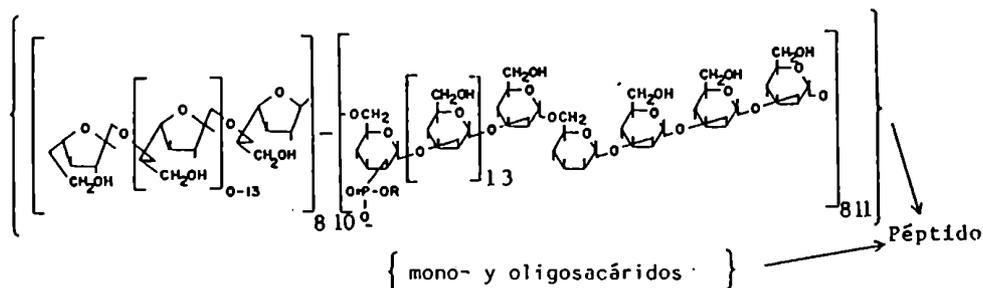
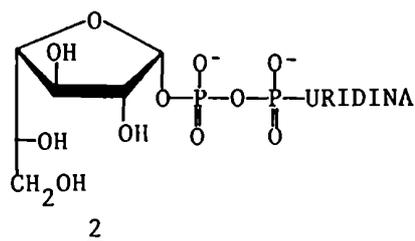


Figura 1. Esquema del glicopéptido exocelular de Penicillium charlesii.

tre sí y conectadas al O-3 de las manosas del "core". Posiblemente la galactocarolosa sea un producto de degradación de este glicopéptido.

También se ha aislado de P. charlesii, el nucleótido UDP- α -D-galactofuranósido (2) y se ha comprobado que está involucrado en la biosíntesis del fosfogalactomanano. Se postula para esta y otras especies, que la galactosa furanósica se transfiere al glicopéptido a través de 2^a.



El P. charlesii libera al medio de crecimiento una α -D-manosidasa⁷ y una β -D-galactofuranosidasa⁸ que son responsables de la variación de las proporciones de azúcares presentes en los cultivos de distinta edad. Si bien no se conoce con exactitud que papel desempeñan estas enzimas, se considera que el peptidofosfogalactomanano en combinación con las enzimas serían una fuente de energía importante para el Penicillium en su habitat natural.

En muchas otras especies de Penicillium, como P. chrysogenum⁷ y P. citrinum¹⁰ la galactosa también se encuentra como Galf(1- \rightarrow 5)Galf y desempeñando funciones biológicamente importantes. Como se verá posteriormente, se ha demostrado que

existe reacción cruzada entre las distintas especies de este género¹¹.

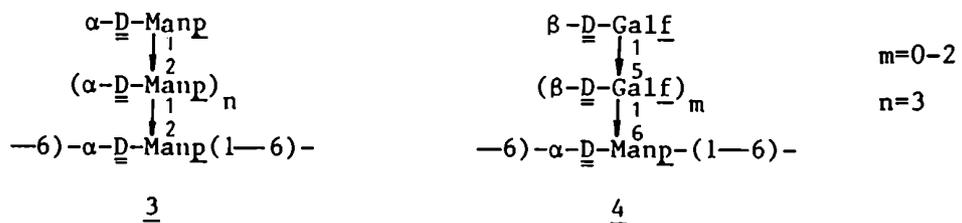
Varios grupos de investigación han estudiado la estructura de polisacáridos de Aspergillus fumigatus, el agente más común de las micosis profundas en el mundo moderno. El interés en un galactomanano que presenta galactosa furanósica, ha aumentado desde que se detectó que el suero antigénico de animales¹² y pacientes infectados¹³ con Aspergillus está constituido mayoritariamente por este galactomanano. Barreto-Bertger y col.¹⁴ y Bennet y col.¹⁵ coincidieron en que el polisacárido está formado por un "core" de α -D-manopiranosas con cadenas laterales de cuatro a seis unidades de β -D-galactofuranosas interglucosidadas en forma (1- \rightarrow 5) y unidas al "core" por el O-6 de manosa.

Bardayale y Nordin¹⁶ aislaron de Aspergillus niger un galactomanano biológicamente activo y lo caracterizaron como un "core" de manosas ramificado por cadenas de tres o cuatro D-galactosas donde solamente la unidad terminal se encuentra en configuración β -furanósica y el resto en la configuración piranósica, y unidas (1- \rightarrow 4) entre sí. Estas cadenas se conectan al "core" por el O-2 de las manosas.

Galactosa furanósica terminal se ha descrito en galactomananos estructuralmente similares de pared celular de muchos hongos¹⁷⁻¹⁹ y se ha identificado como un determinante antigénico primario^{20,21}, lo cual se explicaría por su posición expuesta en la superficie celular. Los extremos no reductores fura-

nósicos servirían como señal para que termine la elongación de la cadena durante la síntesis del polímero, controlando así su tamaño y su forma, o bien, podrían constituir una barrera para el ataque enzimático de exoglucosidas ambientales que requieren al sustrato en configuración piranósica¹⁶.

Barreto-Bertger y Travassos²², en cambio, caracterizaron al galactomanano de A. niger como un "core" manopiranosídico ramificado por cadenas cortas de manosas (3) y de galactofuranosas (4). Estas últimas se conectan entre sí en forma $\beta(1\rightarrow5)$ y se unen al O-6 de las manosas del "core", aunque no se sabe si se unen a las cadenas manopiranosídicas laterales, a la principal o a ambas.



La longitud promedio de las cadenas laterales de galactosa furanósica se estimó en base a las áreas de los picos de c.g.l. de los productos obtenidos en el estudio por metilación, y a las intensidades relativas de las señales de C-1 en el espectro de R.M.N.-¹³C de los residuos de Galf unidos $\beta(1\rightarrow5)$ (δ 108,4) y la de los residuos unidos al "core" α -D-manopiranosídico (δ 109,2 y 107,4).

La discrepancia con la estructura propuesta por Bardayale y

Nordin¹⁶, que atribuyeron a las cadenas laterales de galactosa configuración piranósica, salvo para la unidad terminal, podría deberse a una subestimación de las condiciones de "hidrólisis suave" necesarias para liberar los residuos furanósicos¹⁶.

También se aislaron galactomananos biológicamente activos de A. terreus, A. flavus y A. nidulans²² y se compararon sus espectros de R.M.N.-¹³C con el del polisacárido de A. fumigatus, observándose como característica común tres señales correspondientes a los C-1 de unidades α -manopiranosídicas (103,6, 102,2 y 99,9 p.p.m.) y señales características de C-1 de galactosa furanósica a 108,4, 109,2 y 107,4 p.p.m., y de C-2 y 4 a 82,9 y 83,5 p.p.m. Esto permitió inferir una similitud estructural entre distintas especies de Aspergillus.

En el género Aspergillus también se ha observado que los residuos de galactosa furanósica son inmunodominantes¹⁰ y se ha demostrado que existe reacción cruzada con el género Penicillium¹¹. Notermans y col.¹¹ y Bennet y col.¹⁰ observaron que el metil β -D-galactofuranósido (5) interfiere en los inmunoensayos para la detección de polisacáridos de varias especies de Aspergillus y Penicillium, mientras que el mismo azúcar en configuración piranósica, o el metil α -D-manopiranosído no muestran actividad inhibitoria.

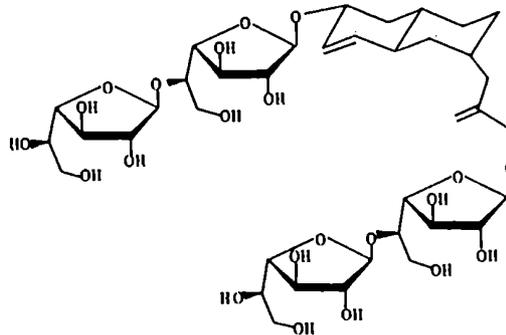
Posteriormente, para determinar más específicamente la estructura inmunodominante de polisacáridos de Aspergillus probaron la inhibición a la reacción antígeno-anticuerpo producida por oli-

gosacàridos sintéticos de galactosa β -furanósica²³. El metil β -D-galactofuranósido (5) y los di, tri y tetrasacàridos de galactosa furanósica unidos $\beta(1\rightarrow5)$ entre sí, interfieren con velocidad creciente en la reacción entre el polisacàrido antigénico y los anticuerpos de F. digitatum y F. cyclopium. Los penta, hexa y heptasacàridos análogos también producen una inhibición creciente pero en menor grado. Por otro lado, los dímeros de galactosa β -furanósica (1 \rightarrow 2), (1 \rightarrow 3) y (1 \rightarrow 6) mostraron un poder similar al del metil glicósido 5. De estos experimentos se deriva, no sólo que las cadenas de galactosa furanósica $\beta(1\rightarrow5)$ son la parte inmunodominante del polisacàrido, sino también que el tamaño del paratopo presente en la Ig G del polisacàrido, es de cuatro unidades. Este tetràmero, sin embargo, no produce inhibición completa, lo que significa que hay otras partes inmunológicamente activas, aunque en menor grado, que aún no se han podido detectar. Notermans había observado que las inmunoglobulinas anti-exopolisacàridos de F. digitatum y F. cyclopium reaccionaban con los fluidos de cultivo de casi todas las especies de Penicillium y Aspergillus ensayadas²⁴. El estudio posterior de inhibición por oligosacàridos de galactosa furanósica demuestra que estos anticuerpos son verdaderamente activos para la misma estructura, es decir para la unidad $\text{Gal}f(\beta 1\rightarrow 5)\text{Gal}f(1)$ ²³.

La detección específica de anticuerpos, por ejemplo anticuerpos de A. fumigatus, el agente más común de aspergillosis en el hombre, representa una importantísima herramienta de diag-

nósis²⁵. Sin embargo, el hecho de que presentan reacción cruzada, lo que deriva de una estrecha similitud estructural entre los D-galacto-D-mananos de las distintas especies, impediría, en principio, el uso de estos antígenos para la detección específica de cada uno de ellos.

El hongo Helminthosporium sacchari, parásito de la caña de azúcar, produce una toxina, el helminthosporósido (6), que se ha caracterizado como una estructura sin precedentes en la naturaleza: un bis- β -digalactofuranósido de sesquiterpenoide, donde la unión entre las unidades de galactosa también es $\beta(1\rightarrow5)$ ²⁶.



6

Del medio de cultivo del hongo se ha aislado una $\text{exo-}\beta\text{-D-galactofuranosidasa}$ ²⁷ que actúa con un mecanismo similar a la de F. charlesii²⁸ y es la responsable del control de los niveles de la toxina en el huésped.

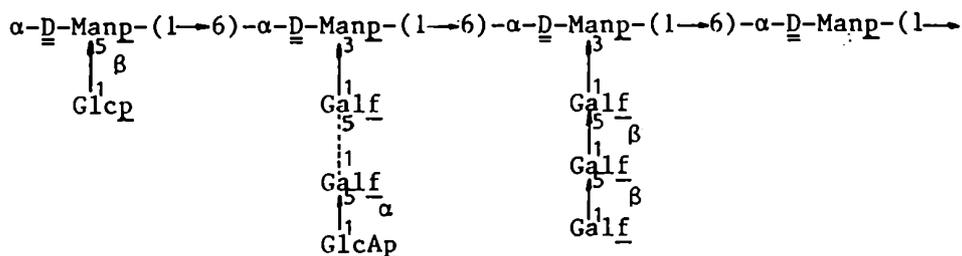
Residuos de D-galactofuranosas unidos $\beta(1\rightarrow5)$ también se encuentran en un proteoheteroglicano (PHG) de la pared celular de Neurospora crassa formando parte de cadenas N- y O-glicosídicas^{29, 27}:

lisacàrido formado predominantemente por un esqueleto de galactofuranosas unidas 1- \rightarrow 2 entre sí y ramificadas en O-6. Este contiene también gal $f(1\rightarrow5)$ y gal $p(1\rightarrow4)$ ³³.

Lederkremer y col.³⁴, aislaron un glicopéptido de Ascobolus furfuraceus cuyas cadenas N-glicosídicas están sustituidas por β -galactofuranosa y algunas unidades de Gal $f(\beta 1\rightarrow 2)$ Gal f unidas al O-2 de las manosas.

En Cordyceps cicadae, un hongo que se ha usado en la medicina china, se encontró un galactomanano altamente ramificado formado por un "core" de manosas, algunas de las cuales están sustituidas en O-2 y O-6 por residuos terminales de α ó β -D-Gal f y α -D-Man p y por cadenas cortas de D-Gal f unidas $\beta(1\rightarrow 2)$ ^{35, 36}. En un galactomanano de Cordyceps sinensis, en cambio, galactosas unidas entre sí en forma (1- \rightarrow 3), (1- \rightarrow 5) y (1- \rightarrow 6)-D-Gal f y (1- \rightarrow 4)-D-Gal p ramifican al "core" de manosas³⁷

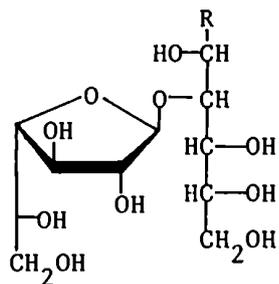
La unión Gal $f(\beta 1\rightarrow 6)$ Gal f es bastante más frecuente. Se ha descrito en un polisacàrido del Aurobasidium (Pulullaria) pullulans, donde una cadena principal de manosas está ramificada por residuos de D-glucopiranosas, cadenas cortas de D-galactofuranosa unidas $\beta(1\rightarrow 6)$ y cadenas de D-galactofuranosa con ácido D-glucourónico como unidad terminal³⁸:



Polisacàridos de Sporothrix schenkii y Ceratocystis steno-
ceras estàn estructuralmente relacionados y presentan cadenas la-
 terales de D-galactofuranosa unidas $\beta(1\rightarrow6)$ entre sí y conecta-
 das, al menos en parte, al O-2 de las manosas de un "core"³⁷.
 La reacci3n serol3gica cruzada que ocurre entre S. schenkii,
Ceratocystis spp y otros microorganismos se había atribuido a ca-
 denas laterales de ramnosa comunes a polisacàridos de esas espe-
 cies⁴⁰. El hallazgo posterior de estos galactomananos, explic3
 la reacci3n cruzada que se había observado con A. fumigatus,
Cladosporium werneckii y Trichophyton rubrum⁴¹, cuyos polisa-
 càridos contienen D-Galf y no contienen ramnosa. Esto ha influ-
 ido en la diagn3sis del paràsito S. schenkii ya que en las prepa-
 raciones antigénicas debe controlarse el contenido de polisacàri-
 dos con galactosa ademàs del de ramnomananos, que son los espe-
 cíficos para ese hongo.

Un grupo de compuestos que pueden clasificarse aparte son
 los β -galactofuran3sidos de alditoles, que se han identificado
 entre los hidratos de carbono de bajo peso molecular de algunos
 líquenes. De Umbilicaria pustulata y otros líquenes del 3rden

Gymnocappeno se aisló y caracterizó 2-O-β-D-galactofuranosil-D-arabinitol¹ (7) y de Peltigera aptosa, 3-O-β-D-galactofuranosil-D-manitol (8)².



7 R=CH₂OH

8 R=H

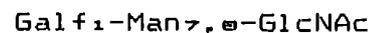
D-Galactofuranosa en protozoarios

En la familia de protozoarios Trypanosomatidae, muchos de los cuales son causantes de enfermedades endémicas de países en desarrollo, se han identificado glicoconjugados que presentan D-galactofuranosa. Resulta interesante que varios géneros de estos protozoarios actúan como parásitos de mamíferos, en los cuales la galactosa se encuentra exclusivamente en configuración piranósica. Esto haría suponer que los oligosacáridos de protozoarios con Galf debieran ser altamente inmunogénicos en células de mamíferos.

En protozoarios, la galactosa furanósica forma parte de estructuras bastante diferentes y se puede generalizar que en aquellas especies que solo infectan insectos y no a mamíferos (Leptomonas samueli, Herpetomonas samuelpesoai, Crithidia fasciculata y Crithidia harmosa) se encuentra en oligosacáridos N-glicosídicos de glicoproteínas del tipo "alta manosa", y unida directamente a manosa en el extremo no reductor del oligosacárido^{43,44}. Por ejemplo, en L. samueli⁴³ se caracterizaron oligosacáridos de composición:



y



y en Crithidia fasciculata⁴³, $\text{Gal}f_{1-3}\text{-Man}_{6}\text{-GlcNAc}$.

En especies infectantes tanto de insectos como de mamíferos (Trypanosoma cruzi, Trypanosoma conorhini, Trypanosoma dionisii,

Leishmania mexicana, Leishmania donovani, etc.), la galactosa furanósica no se ha encontrado en oligosacáridos tipo "alta manosa"^{44,44,47}. En Leishmania donovani se ha caracterizado un lipofosfoglicano (LPG) que actúa de ancla de un polisacárido a la membrana del parásito. En el "core" se ha identificado galactosa furanósica de configuración α y unida al O-3 de manosa⁴⁸ (Figura 3). Este es uno de los pocos ejemplos en los cuales la Galf se encuentra en la parte interna de un polisacárido.

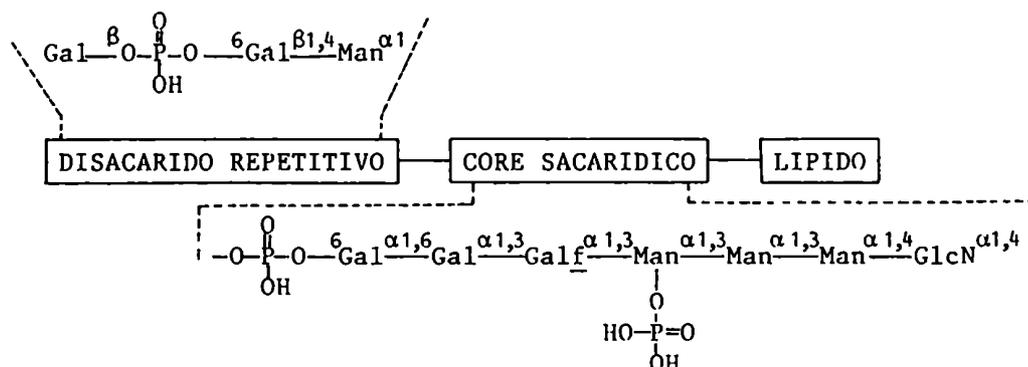


Figura 3. Estructura del lipofosfoglicano (LPG) de Leishmania donovani.

En T. cruzi, agente del mal de Chagas, se encuentra en un componente de la membrana plasmática llamado lipopéptidofosfoglicano (LPPFG)⁴⁷. Los componentes de la membrana de este parásito han sido exhaustivamente estudiados buscando esclarecer los mecanismos involucrados en la respuesta inmunológica al protozoo y en la penetración del parásito a las células del hospedando. El LPPFG contiene en la porción sacarídica aproximadamente

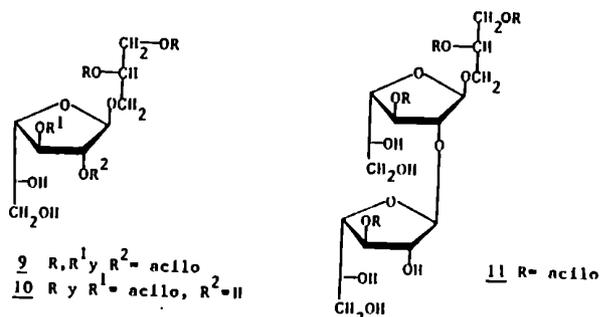
diez unidades de azúcar con extremos reductores de Galp (25%), Manp (7%), y Galp (6%) y los residuos β -D-galactofuranosídicos se encuentran unidos principalmente al O-3 de manosas^{80,81}.

Estos polisacáridos identificados en T. cruzi no sólo son muy similares a los polisacáridos de hongos estructuralmente, sino que en ellos también las cadenas laterales de β -D-Galp son antigénicas. Los estudios inmunológicos indican un reconocimiento específico de los anticuerpos de T. cruzi epimastigotes por el epítopo β -D-Galp-(1- \rightarrow 3)- α -D-Manp y señalan a los residuos β -galactofuranosídicos como los únicos determinantes antigénicos y como los responsables de la reacción cruzada con anticuerpos para varios hongos (Aspergillus spp., Dactylium dendroides)⁸².

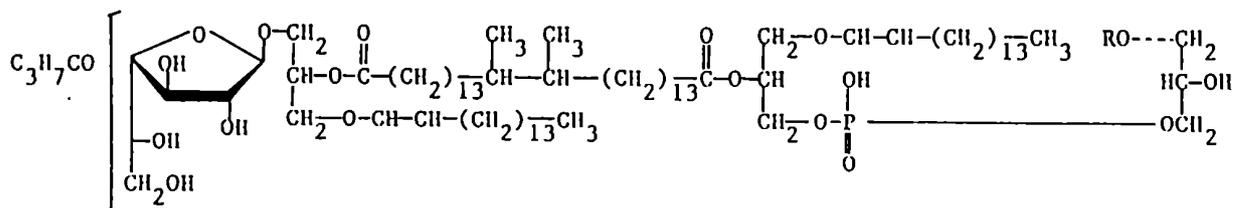
D-Galactofuranosa en Bacterias

En glicoconjugados de bacterias no es muy frecuente la presencia de galactosa furanósica. Sin embargo, en la literatura se citan algunos ejemplos que son interesantes debido a que el azúcar forma parte de organizaciones bastante diferentes de las de hongos y protozoarios. Mas aún, la primer referencia a un galactofuranósido natural corresponde a 1-glicerol- β -D-galactofuranósido, como un producto de hidrólisis parcial de un glicolípido de Bacteroides symbiosus².

Los glicosildiacylglicéridos son constituyentes importantes de muchas bacterias³. En particular, en algunas de ellas se ha detectado galactofuranosildiacylglicerol. En Bifidobacterium bifidum var pennsylvanicus se han caracterizado varios galactolípidos de este tipo como 1',2'-di-O-acil-3-O-[2,3-O-diacil- β -D-galactofuranosil]-sn-glicerol (9), 1',2'-di-O-acil-3-O-[3-O-acil- β -D-galactofuranosil]-sn-glicerol (10) y 1',2'-di-O-acil-3'-O-[3-O-acil- β -D-galactofuranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-galactofuranosil]-sn-glicerol (11), donde los restos acilo son ácidos grasos⁴. Galactofuranosildiacylglicéridos también se han descrito en Mycoplasma mycoides⁵ y en algunas especies de Butyrivibrio⁶.



El Butyrivibrio S2 produce en presencia de ácido palmítico, glicolípidos complejos que responden a la fórmula general β -galactofuranosilalquenilacilglicéridos y que son análogos de los β -galactosildiacylglicéridos antes descritos. Para los lípidos "14" y "11" se propusieron²⁷ las estructuras 12 y 13, respectivamente, en las cuales la ubicación de los grupos butiroílo no se ha determinado con precisión debido a la facilidad con que éstos migran entre hidroxilos vecinos de una misma molécula.



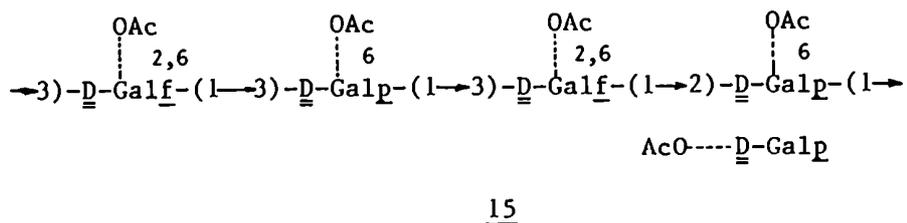
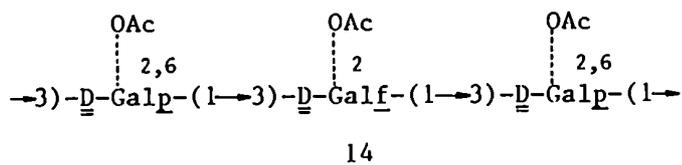
12 R= C₃H₇CO "Lípido 14"

13 R= palmitoílo "Lípido 11"

Una hipótesis acerca de la función de estos lípidos es que el microorganismo presenta poderosas fosfolipasas y glicolíipasas en la membrana plasmática²⁸ y que estructuras de este tipo inhibirían la autodigestión de los lípidos de la membrana.

En el género Klebsiella, la galactosa se encontró en otro tipo de estructuras. De Klebsiella serotipo K-41 se aisló un polisacárido capsular que contiene residuos galactofuranosídicos 2,3-di-O-sustituídos²⁹. En Klebsiella O, grupos 8 y 9, forma parte de lipopolisacáridos en los cuales la cadena O-glicosídica está constituida únicamente por D-galactosa, 3-O-sustituída cuando la configuración es furanósica. Lindberg y col.^{30,31}, propusie-

ron las estructuras 14 y 15 para las unidades repetitivas del grupo 8 y 9 respectivamente, donde la mayor parte de las uniones glicosídicas son α y las líneas punteadas indican que el sustituyente no está presente en todas las unidades repetitivas.



De Diplococcus pneumoniae, tipo 31, se aisló un polisacárido capsular lineal, S 31, en el cual la galactosa furanósica también se encuentra sustituida en O-3 y probablemente en configuración α^{\pm} .

La pleuroneumonía bovina contagiosa ha sido un problema serio para la ganadería mundial y el agente causante es el Mycoplasma mycoides. Este produce un polisacárido inmunológicamente específico que contiene galactosa furanósica, para el cual se postulan uniones $\beta(1 \rightarrow 6)$, en base al aislamiento de 6-O- β -D-galactofuranosil-D-galactosa (16) como un producto de hidrólisis parcial del polisacárido $^{\pm}$.

La pared celular de la mayoría de las micobacterias está

constituída en aproximadamente un 35% p/p por arabinogalactanos que se unen covalentemente y en forma simultánea al péptidoglicano y a los ácidos micólicos ramificados de alto peso molecular. Estos arabinogalactanos serían los principales componentes inmunodominantes de la célula. Las micobacterias y sus metabolitos han sido objeto de investigación por varias generaciones en busca de paliativos para grandes azotes de la humanidad: la tuberculosis y la lepra. Misaki y col.⁶⁴ demostraron que el polisacárido de Mycobacterium tuberculosis estaba formado exclusivamente por D-arabinosa y D-galactosa y propusieron una estructura donde los residuos de arabinosa se encontraban predominantemente en configuración furanósica y la galactosa en configuración piranósica. Sin embargo, Vilkas y col.⁶⁵ aislaron 6-O-β-D-galactofuranosil-D-galactosa (16) como un producto de degradación del arabinogalactano, con lo que se demostró que la galactosa se encontraba, al menos en parte, en configuración furanósica y unida al O-6 de otra unidad de galactosa. Posteriormente, Mc Neil y col.⁶⁶ demostraron que todos los residuos de galactosa en arabinogalactanos de Mycobacterium leprae y tuberculosis se encuentran en configuración furanósica y sustituidos en posición 5 y/o 6. La estructura total del polisacárido aún no se conoce, pero se espera encontrar en ella una respuesta química a la antigenicidad de varias micobacterias.

**CAPITULO II:
METODOS DE SINTESIS DE
GLICOSIDOS Y DISACARIDOS
DE AZUCARES FURANOSICOS.**

El desarrollo de métodos de preparación de glicósidos y oligosacàridos ha sido objeto de investigación desde hace varios años, cuando se reconoció el significado biológico que los hidratos de carbono tienen en los polisacàridos y glicoconjugados naturales, y como un medio para profundizar el conocimiento de las funciones que desempeñan.

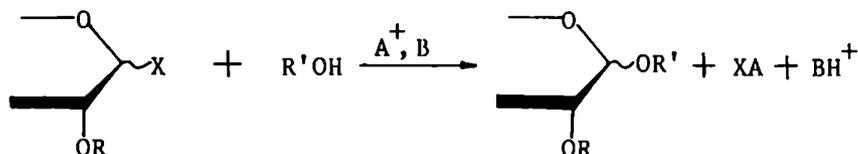
La síntesis de este tipo de estructuras involucra en general varios pasos y los obstáculos principales son la formación de la unión glicosídica en sí, su estereoquímica y la necesidad de que dicha unión resista las condiciones de las reacciones posteriores. Se requiere además un profundo análisis del tamaño, conformación, estabilidad y factores estereoelectrónicos que operan en las moléculas que participan en la formación de dicha unión, y las consideraciones mecanísticas que permitan lograr el control estereoselectivo de la reacción. Todo ésto hace que la preparación de cada glicósido u oligosacàrido implique una estrategia particular y que no se puedan desarrollar condiciones sistemáticas generales.

Para la obtención de glicósidos furanósicos se han utilizado técnicas clásicas, como extensión de las aplicadas en los análogos piranósicos, como por ejemplo el método de alcoholisis de Fisher⁶⁷, el método de Koenigs-Knorr⁶⁸, la preparación a partir de ditioacetales⁶⁷, etc. La necesidad de mayor eficiencia en términos de control estérico y rendimiento, ha llevado a desarrollar un gran número de modificaciones y principalmente de nue-

vas alternativas sintéticas, algunas de las cuales se describen en este capítulo.

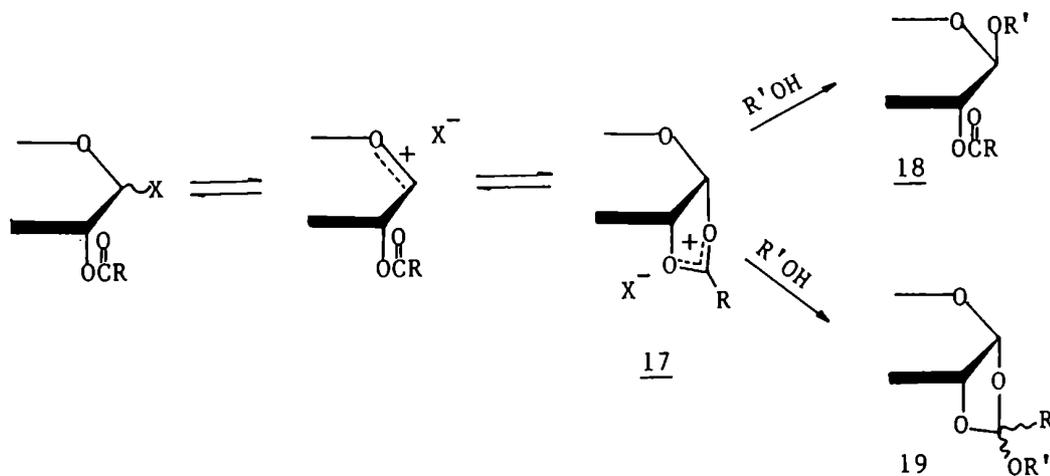
Síntesis de Glicofuranósidos por el Método de Koenigs-Knorr

El método de Koenigs-Knorr ha sido extensamente aplicado a la síntesis de glicósidos y disacáridos piranósicos. Involucra la reacción de un halogenuro de glicosilo totalmente protegido con un alcohol, catalizada por un agente halofílico como sales de plata o de mercurio, en presencia de un aceptor de ácido:



Se han desarrollado numerosas variantes que implican distintos catalizadores y distintas condiciones de reacción⁶⁹. En términos generales, cuando el HO-2 está protegido con un grupo "participante", capaz de estabilizar anquiméricamente al carbocación de C-1, como por ejemplo acetatos o benzoatos, la reacción conduce a glicósidos de configuración 1,2-trans (18). En este caso se postula la existencia de intermediarios aciloxonio del tipo 1,2-dioxolano (17), cuya orientación está determinada por la configuración de C-2. El anillo dioxolano bloquea una de las caras de la molécula y dirige el ataque del nucleófilo sobre el carbono anomérico por la otra cara. Una reacción competitiva es la

formación de ortoésteres (19) que resultan del ataque nucleofílico del alcohol sobre el C-2 del anillo dioxolano:



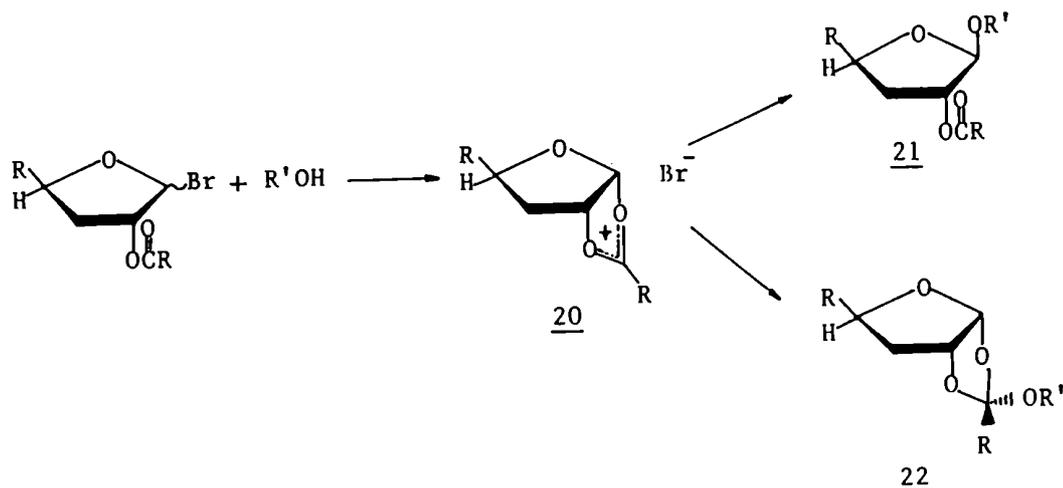
Controlando las condiciones experimentales de reacción (tipo de solvente, catalizadores, etc.), se pueden preparar selectivamente glicósidos u ortoésteres^{68,70}.

Cuando el HO-2 está protegido por un grupo que no puede estabilizar especies iónicas intermedias, o grupo "no participante", la estereoquímica del producto de reacción depende de factores estereoelectrónicos y de las características del nucleófilo y del solvente, pero bajo determinadas condiciones pueden obtenerse los glicósidos de configuración 1,2-cis con alto grado de estereoselectividad^{68,70}.

Esta reacción también se ha utilizado para la síntesis de glicósidos furanósicos y la tendencia según el HO-2 esté protegido por un grupo "participante" o "no participante" es la misma que para glicósidos piranósicos, pero en general la estereoselec-

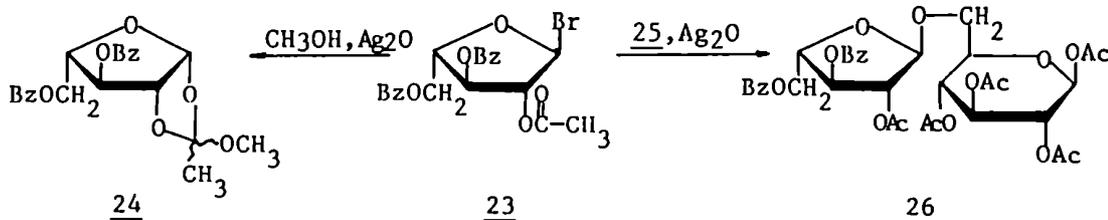
tividad y el rendimiento son menores.

Cuando el sustituyente de HO-2 puede participar anquiméricamente se forma un intermediario iónico tipo 1,2-dioxolano (20), análogo al que se forma en la reacción con azúcares en configuración piranósica (17), a partir del cual por ataque nucleofílico del alcohol sobre el C-anomérico o sobre el C-2 del anillo dioxolano, se forman el glicósido 1,2-trans (21) o el ortoéster (22), respectivamente:



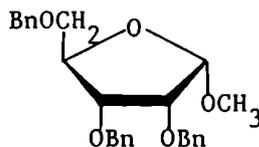
El intermediario iónico 20 resulta más estable que su análogo piranósico 17, en parte por la estereoquímica cis que presentan los enlaces C-O de los C-1 y C-2 en anillos de cinco miembros⁷¹ y también por la flexibilidad de los mismos que permiten cambios de conformación de baja energía para satisfacer los requisitos estéricos del nuevo anillo de cinco miembros formado. Estos factores también favorecen la velocidad de formación de iones tipo 20, que ocurre más rápidamente que la de los análogos piranósicos (17)⁷². Además se ha establecido que un anillo de

cinco miembros se estabiliza cuando se fusiona con otro anillo del mismo tamaño⁷³. La mayor estabilidad del intermediario 20 se traduce en que la formación del ortoéster (22) ocurre en mayor proporción que en el caso de piranosas. Sin embargo, se observa que cuando el nucleófilo es muy voluminoso, como en la síntesis de disacáridos, la reacción es más regioespecífica, ya que el C-2 del anillo dioxolano se encuentra estéricamente más impedido que el C-anomérico⁷¹. Por ejemplo, el bromuro de 2-O-acetil-3,5-di-O-benzoil- α -L-arabinofuranosilo (23), por reacción con metanol en presencia de óxido de plata, conduce mayoritariamente al metil ortoacetato 24, y con 1,2,3,4-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranososa (25), en cambio, el producto principal es el glicósido α (26) y trazas del β ⁷¹.



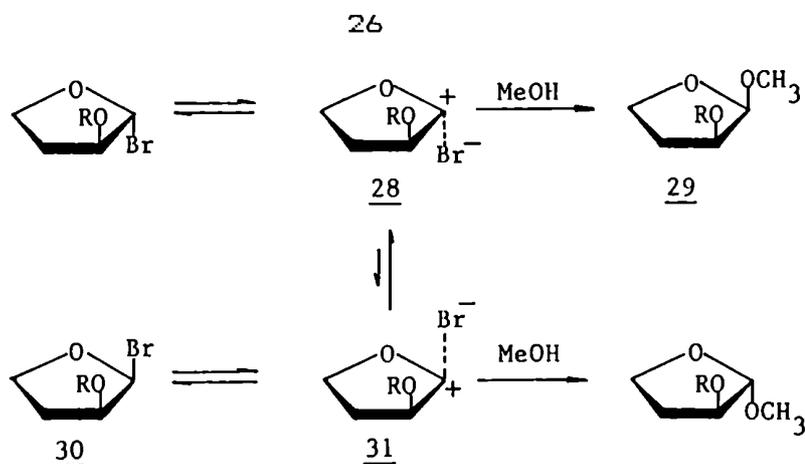
Por otro lado, la síntesis estereoselectiva de glicósidos furanósicos de configuración 1,2-cis, se realiza a partir de halogenuros de glicofuranosilo protegidos con un grupo "no participante" en C-2, y reacciones que suelen ser menos eficientes que para sus análogos piranósicos. Fletcher y col.⁷⁴ observaron que cuando dichos halogenuros furanósicos presentan una configuración 1,2-trans dan predominantemente productos con inversión de la con-

figuración en C-1, es decir glicósidos 1,2-cis, a pesar de que la reacción se rige por un mecanismo tipo S_N1 , y cuando se parte de halogenuros 1,2-cis, también se obtienen, aunque más lentamente, glicósidos 1,2-cis, es decir que la reacción ocurre con retención de la configuración. Así, por ejemplo, una mezcla anomérica de bromuro de 2,3,5-tri-O-bencil-D-ribofuranosilo, por tratamiento con metanol en presencia de carbonato de plata conduce estereoselectivamente al metil glicósido α (27)⁷⁰.

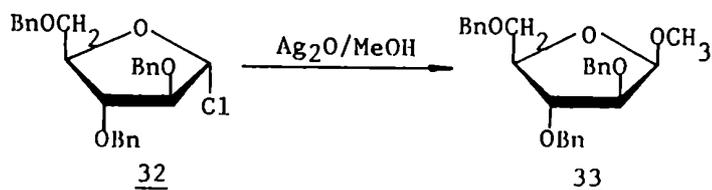


27

Este hecho se atribuyó a que en el estado de transición de la reacción está involucrado un par iónico y que aquel de configuración 1,2-trans (28) es más estable que el de configuración 1,2-cis (31) debido a la repulsión electrostática de los dipolos C-2--O y C-1--Br que opera en este último. Si se parte del haluro de glicosilo 1,2-cis (30) el intermediario 31 inicialmente formado, anomerizaría en el medio de reacción, al intermediario 28 más estable, conduciendo así, al glicósido 1,2-cis (29), independientemente de la configuración del halogenuro de partida. La anomerización se vería favorecida por la presencia de ión bromuro en el medio de reacción⁷⁴.



Esta reacción se ha aplicado recientemente, y en algunos casos, con buenos resultados. Por ejemplo, el cloruro de 2,3,5-tri-O-bencil- α -D-arabinofuranosilo (32) conduce, por tratamiento con metanol y óxido de plata únicamente al anómero β (33)⁷⁶. En otros casos, en cambio, la estereoselectividad no es tan buena.



Los ejemplos anteriores muestran que en la síntesis de glicósidos y disacáridos furanósicos por el método de Koenigs-Knorr es difícil el control de la estereoselectividad (α ó β) y los rendimientos son generalmente bajos, debido a la competencia con reacciones laterales (formación de ortoésteres) y, fundamentalmente, a la sensibilidad de los halogenuros de glicofuranosilo a la hidrólisis y a la descomposición térmica⁷⁷. A estos inconvenientes, se suman otros más generales de la reacción, como los re-

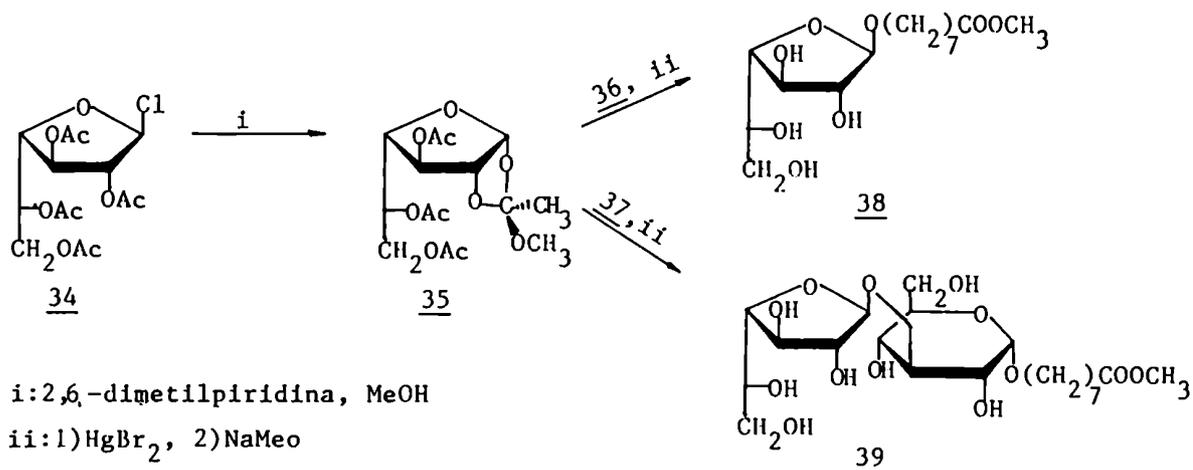
lacionados con el uso de metales pesados, tóxicos y costosos, como catalizadores. Estos hechos han promovido el desarrollo de otras alternativas para la síntesis de glicósidos y oligosacáridos en general^{70,77}, y para el caso particular de los furanósicos se ha establecido como una premisa la necesidad de métodos que involucren compuestos de partida más estables que los haluros de glicosilo, y condiciones de reacción mucho más suaves, dado que estos glicósidos furanósicos son apreciablemente más sensibles a la hidrólisis que sus análogos piranósicos.

SINTESIS DE GLICOFURANOSIDOS DE CONFIGURACION 1,2-TRANS

-A partir de 1,2-ortoésteres

El método de glicosidación a partir de 1,2-ortoésteres es altamente eficiente en términos de estereoespecificidad y rendimiento, y clásicamente se han usado sales de 2,6-di-metil y 3,4,6-tri-metil piridinio como catalizadores y clorobenceno como solvente. Gorin y col.^{80,81} optimizaron las condiciones de reacción para preparar glicósidos furanósicos. Encontraron que los mejores resultados se obtenían usando bromuro mercúrico como catalizador, en nitrobenzono a reflujo, y en presencia de tamices moleculares para capturar el agua y los alcoholes de bajo peso molecular que se liberan al reordenar el ortoéster. Aplicaron este método para

sintetizar estructuras del tipo mono ó disacàrido-lípido espaciador-proteína, en los que la porción sacarídica presenta actividad antigénica respecto a la infección con Trypanosoma cruzi. Estas estructuras inmovilizadas en un soporte sólido servirían para aislar anticuerpos del suero de animales y pacientes infectados²¹. Por tratamiento del cloruro de 2,3,5,6-tetra-O-acetil-β-D-galactofuranosilo (34) con metanol y 2,6-dimetilpiridina se obtuvo 3,5,6-tri-O-acetil-1,2-O-(1'-metoxietilidén)-α-D-galactofuranosa (35). Este ortoéster se glicosidó con 8-metoxycarboniloctanol (36) y 8-metoxycarboniloctil 4,6-bencilidén-α-D-manopiranosido (37) para dar, por posterior desprotección el glicósido 38 y el disacàrido 39, respectivamente²¹.

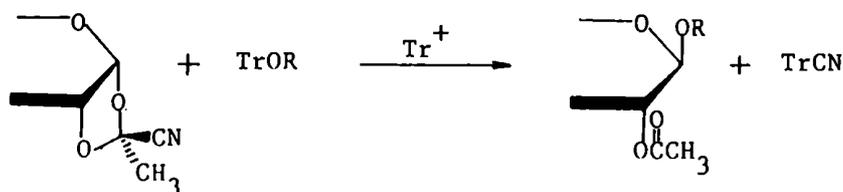


Las complicaciones posibles son, la formación del alquil glicósido a partir del alquil ortoéster, en lugar de la condensación con el alcohol (en el ortoéster 35 correspondería a la formación del metil glicósido) y la formación del ortoéster del nuevo

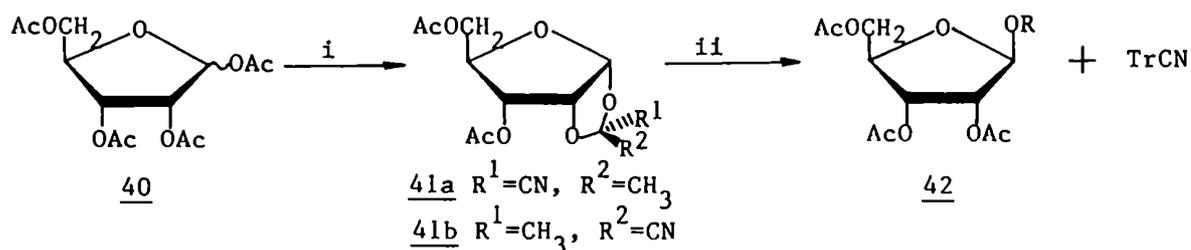
alcohol, es decir el intercambio de ortoéster. El primer inconveniente se evita eliminando del medio de reacción, por destilación, el alcohol que inicialmente formaba el ortoéster²¹; y el intercambio de ortoéster, que normalmente ocurre reversiblemente, aún en ausencia de catalizador, se inhibe por la presencia de HgBr₂, que en solventes polares origina un anión complejo tipo [HgBr₃]⁻ el cual forma un par iónico fuertemente asociado con el catión dioxolano intermediario (tipo 20), dirigiendo el ataque del nucleófilo al C-anomérico²². Así, el método del ortoéster que surgió como una alternativa interesante para la síntesis de glicósidos piranósicos²¹, resulta particularmente ventajosa para la preparación de glicósidos y disacàridos furanósicos.

-A partir de 1,2-O-(1'-cianoetilidén) derivados

Los derivados 1,2-(1'-cianoetilidén) de hexopiranosas han sido ampliamente usados como intermediarios para la síntesis de oligo y polisacàridos, los cuales se obtienen por la apertura del anillo 1,2-dioxolano catalizada por perclorato de tritilo, en presencia de un aceptor de glicosilo tritilado²³:



El procedimiento clásico para obtener estos derivados es el tratamiento del bromuro de glicosilo acetilado, con cianuro de sodio o potasio en acetonitrilo a temperatura ambiente, o por reflujo en xileno con cianuro de plata, lo cual en el caso de furanosas es una desventaja dada la inestabilidad térmica de los derivados halogenados⁷⁷. De las Heras y col.⁸⁴ obtuvieron por tratamiento de 1,2,3,5-tetra-O-acetil- β -D-ribofuranosa (**40**) con cianuro de trimetilsililo y un ácido de Lewis, el derivado 1,2-(1'-cianoetilidén) correspondiente en sus dos formas diastereoméricas (exo-ciano, **41a** y endo-ciano, **41b**) y posteriormente Kochetkov y col.⁸⁸ optimizaron el método y lo aplicaron a la preparación de varios derivados furanósicos de este tipo. La apertura de éstos se realiza en las mismas condiciones que las de los análogos piranósicos, conduciendo ambos diastereoisómeros **41a** y **41b**, estereoespecíficamente al glicósido 1,2-trans (**42**).

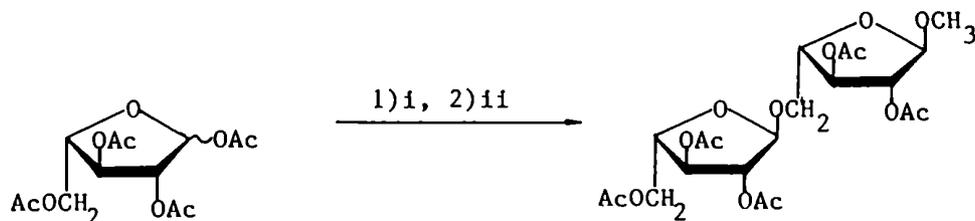


i: $(\text{CH}_3)_3\text{SiCN}$, SnCl_4

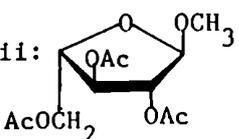
ii: TrOR , TrClO_4

De este modo se sintetizaron glicofuranósidos de L-arabino-
sa, D-galactosa y D-glucosa, y en el caso de que el donador de
glicosilo fuera un azúcar mono tritilado, se obtuvieron disacáridos

dos con buen rendimiento²⁰. La secuencia se muestra en el siguiente esquema:



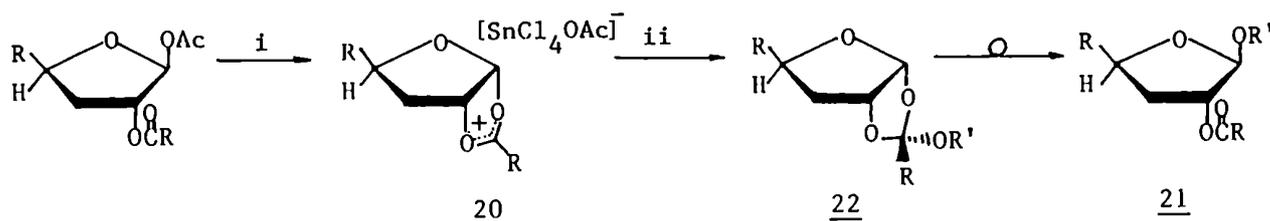
i: $(\text{CH}_3)_3\text{SiCN}$, SnCl_4

ii: , TrClO_4

-A partir de derivados peracilados, catalizada por SnCl_4

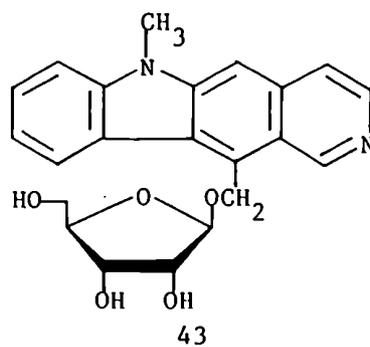
Hanessian y Banoub describieron la preparación de glicósidos 1,2-trans a partir de azúcares peracilados, catalizada por cloruro de estaño (SnCl_4)²⁰. El derivado acilado forma en ese medio de reacción un intermediario 1,2-aciloxonio, análogo al descrito anteriormente (20), y muy estabilizado por el contra ión que el catalizador forma por asociación con el grupo saliente del C-anomérico. El ataque del nucleófilo ocurre necesariamente por la cara opuesta a la del sustituyente en C-2, como se ha visto en otras reacciones que implican intermediarios de este tipo, y en lo que se basa la estereoselectividad de este método. Por otra

parte, también es posible que la reacción transcurra a través de la formación inicial de un ortoéster (22), bajo control cinético, el que en presencia de SnCl_4 sufre un reordenamiento al glicósido de configuración 1,2-trans (21):



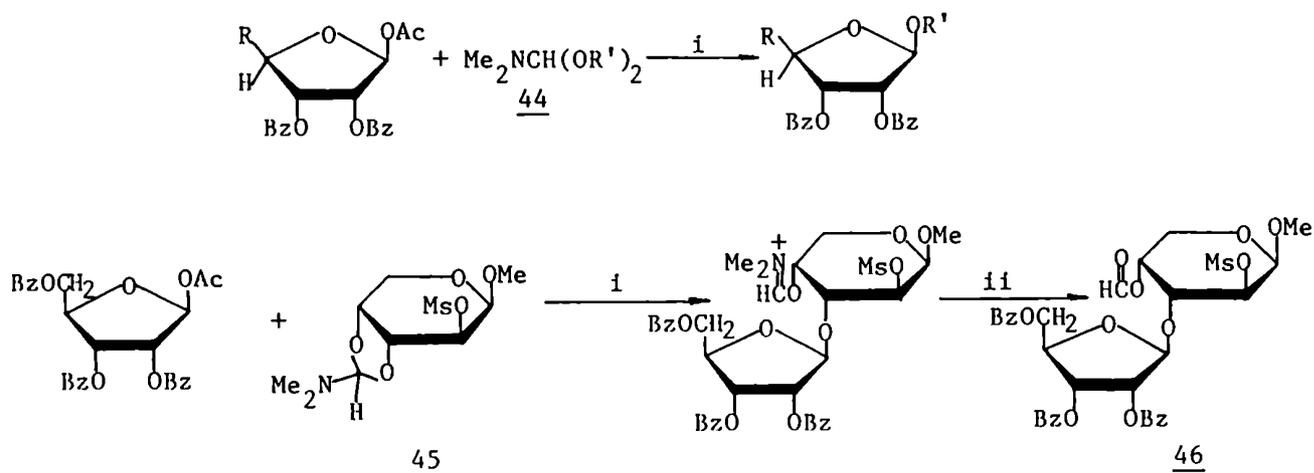
i: SnCl_4 , ii: $\text{R}'\text{OH}$

Estas condiciones de reacción son sumamente suaves y han permitido la preparación de glicósidos piranósicos²⁷ y furanósicos²⁸, inclusive con agliconas con sensibilidad térmica o hidrolítica, como por ejemplo para la síntesis del β -D-ribofuranósido de carbazol (43)²⁷:



Una alternativa para la reacción catalizada por SnCl_4 , es que el aceptor de glicosilo sea el dialquil acetal de una amida, por ejemplo de la formamida (44), o acetales cíclicos de amidas, como el caso particular del metil 3,4-O-(1-(dimetilamino)me-

tilén)-2-O-metansulfonil- β -D-arabinofuranósido (45) que ha permitido obtener el compuesto 46, como un precursor de un disacàrido⁷⁰:



i: $\text{SnCl}_4, \text{Cl}_2\text{CH}_2, 0^\circ$, ii: NaHCO_3

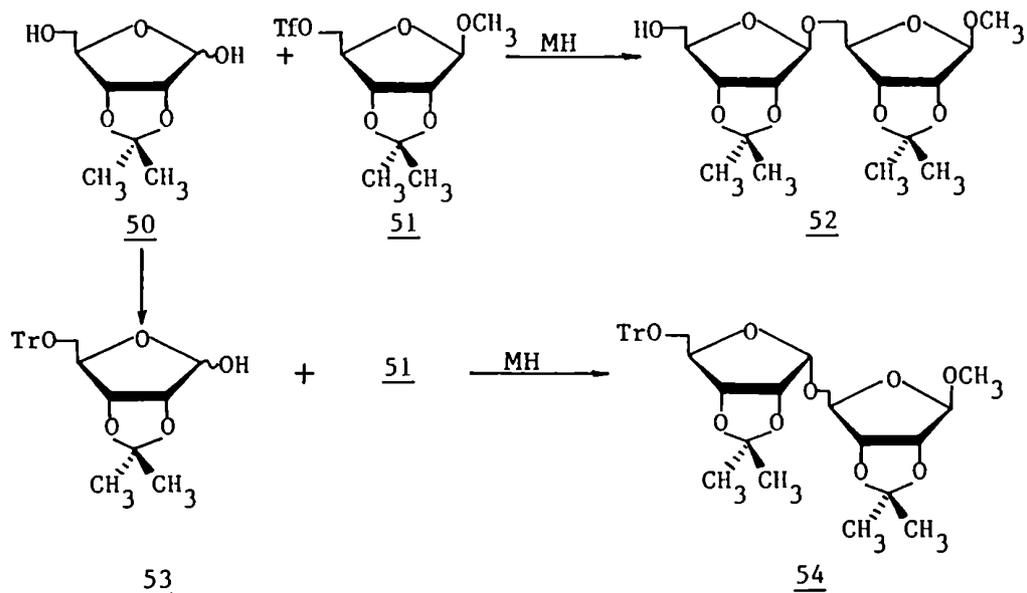
La reacci3n transcurre por el mismo mecanismo que cuando el aceptor de glicosilo es un alcohol, pero en condiciones de reacci3n aùn mäs suaves, ya que el ácido de Lewis y el acetal de la amida forman en conjunto un reactivo esencialmente neutro que evita todo tipo de degradaciones.

SINTESIS DE GLICOSIDOS DE CONFIGURACION 1,2-CIS

La preparaci3n de glic3sidos de configuraci3n 1,2-cis generalmente presenta dificultades. En el caso de azúcares furan3sicos, donde el problema estä asociado a ejemplos de inter3s bioquímico, como la sntesis de nucle3sidos, präticamente no se conocen métodos eficientes, y solo se han desarrollado determina-

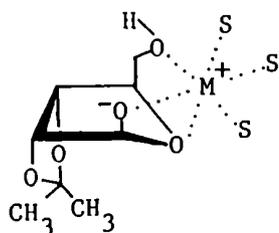
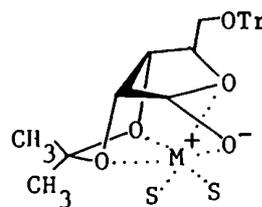
funcionar como fuente de aglicona en una nueva condensación con 47.

En la 1-O-alkilación directa de azúcares con el HO-anomérico libre se puede controlar la estereoselectividad mediante la presencia de grupos voluminosos que bloqueen una cara de la molécula. Así, la 2,3-O-isopropilidén-D-ribosa (50) en presencia de una base fuerte como un alcóxido o un hidruro metálico (MH) y metil 2,3-O-isopropilidén-5-O-trifluorometansulfonil-D-ribosa (51), se 1-O-alkila para dar el disacárido β (52), pero si se parte del análogo tritilado en el HO-5 (53), conduce al disacárido α (54).

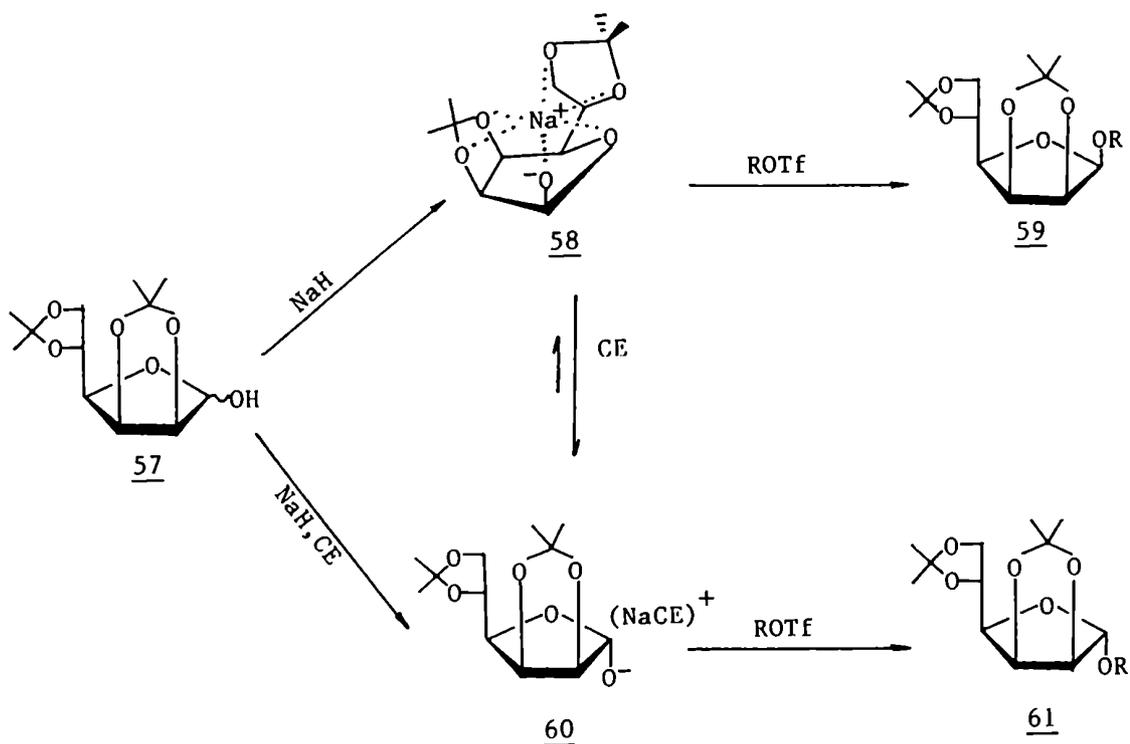


Se ha postulado que este efecto no se debe solo al impedimento estérico que ocasiona el grupo tritilo en sí, sino también a

que se forman distintos complejos intramoleculares entre el alcóxido y el metal, como por ejemplo **55**, si el HO-5 está libre, o **56** si se encuentra sustituido^{7e}.

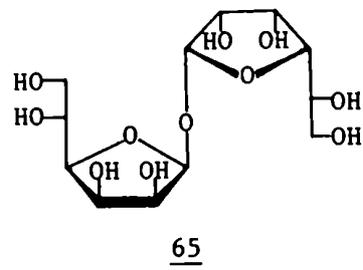
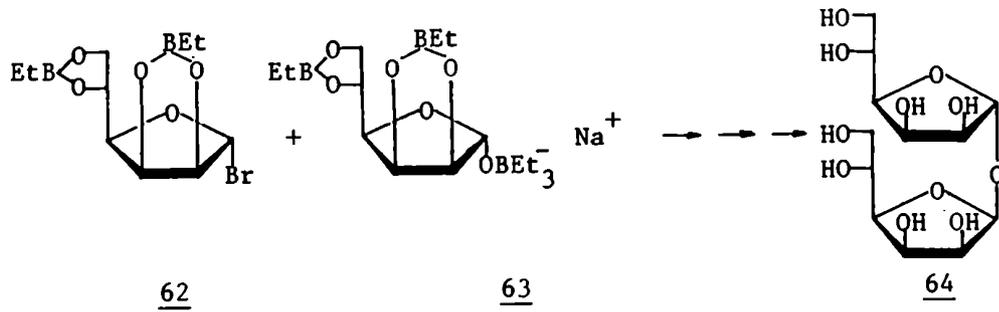
5556

En el caso de D-manosa, el control estérico de la 1-O-alquilación también se ha atribuido a un complejo intramolecular con iones metálicos. Por reacción de la sal de sodio de **57** en benceno y en presencia de un nucleófilo fuerte (ROTr) se forma selectivamente el glicósido de configuración β (**59**). Esto se debería a que el alcóxido intermediario adopta preferencialmente la configuración β (**58**) ya que de ese modo tiene una geometría del tipo "éter corona" y compleja al sodio eficientemente. En un medio que compite por los iones metálicos, por ejemplo en presencia de dibenzo[18]crown 6 (CE), se favorece la formación del alcóxido de configuración α (**60**), más estable estérica y electrónicamente, conduciendo así al glicósido **59**^{7e}.



Otra estrategia para obtener glicósidos β -manofuranósicos se basa en la sustitución nucleofílica de un derivado 1,2-trans, bajo condiciones de inversión neta de la configuración del centro anomérico. Así, el bromuro de 2,3:5,6-di-O-etilboranodiil- α -D-manofuranosilo (**62**) reacciona con el derivado organobórico **63**, el cual actúa como un nucleófilo fuerte en una reacción $\text{S}_{\text{N}}2$, para dar el disacárido no reductor **64**, con un centro anomérico en configuración 1,2-cis y el otro 1,2-trans. Por otra parte, el uso de un nucleófilo que ya tenga la configuración 1,2-cis, como el complejo **58** antes descrito, conduce al disacárido **65**, con ambos centros anoméricos en configuración 1,2-cis. Este

último (65) no se había podido sintetizar por medio de técnicas más convencionales²².



ANTECEDENTES DE LA SINTESIS DE DISACARIDOS RELACIONADOS CON ESTA TESIS

6-O- β -D-Galactofuranosil-D-galactopiranososa (16):

Jaquinet y Sinay²³ desarrollaron la síntesis del disacárido Galf(β 1- \rightarrow 6)Galp (16), que se había aislado de un hidrolizado de arabinogalactanos de Mycobacterium tuberculosis²³ y M. leprae²⁴, empleando como estrategia de glicosidación el método del ortoéster²². Para ello, prepararon el metil glicósido 5 a partir de D-galactosa dietil ditioacetal (85) según el método que se describirá en el Capítulo III²⁷. Por acetilación de 5 y posterior acetólisis obtuvieron la 1,2,3,5,6-penta-O-acetil- β -D-galactofuranosa (66), la cual tratada con Cl₂Al condujo al halogenuro de glicosilo 34. A partir de 34 se preparó el ortoéster 35, como se describió anteriormente, con un rendimiento global del 78% a partir de 85 (Figura 4).

Como agente glicosidante, sintetizaron el bencil 2,3,4-tri-O-bencil- α -D-galactopiranósido (70) utilizando una complicada secuencia de reacciones que involucraba al derivado 6-O-alil-1,2:3,4-di-O-isopropilidén- α -D-galactopiranósido (67), su transformación en el bencil 6-O-alil-2,3,4-tri-O-bencil- α -D-galactopiranósido (68), y luego isomerización al análogo 6-O-(1'-propenil)éter 69, e hidrólisis del grupo protector del HO-6; lo cual condujo al derivado 70 con 20% de rendimiento to-

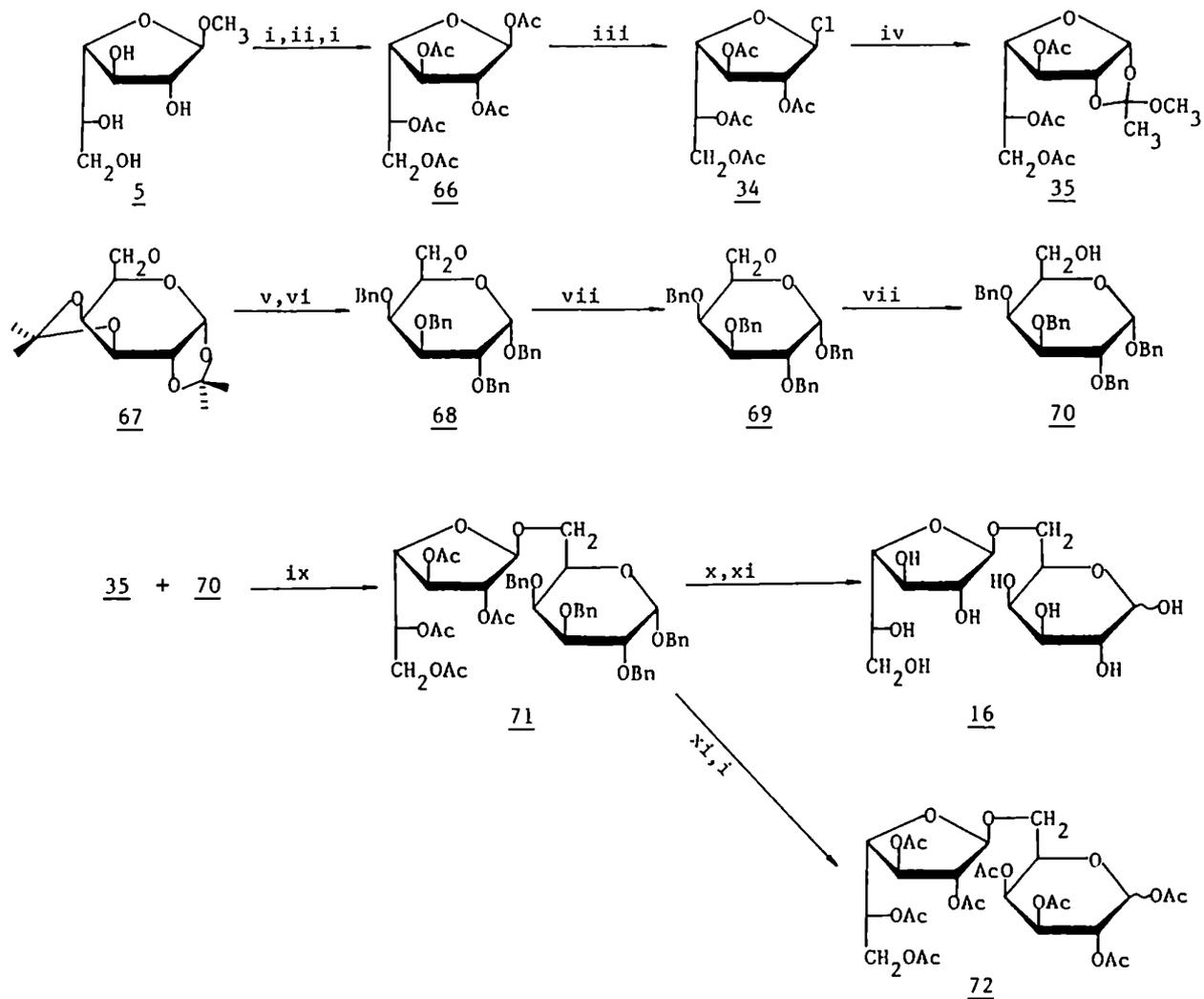


Figura 4. Ruta sintética para la obtención de 6-O- β -D-galactofuranosil-D-galactopiranososa (16) ⁷³.

tal ⁷³. La condensación del ortoéster 35 con 70 catalizada por HgBr_2 , condujo al bencil 2,3,4-tri-O-bencil-6-O-(2,3,5,6-te-

tra-O-acetil- β -D-galactofuranosil)- α -D-galactopiranosido (71) con 51% de rendimiento. Por desprotección total de 71, obtuvieron el disacárido 16 con 7% de rendimiento total, y por desbencilación y posterior acetilación, el derivado octa-O-acetilado 72 (Figura 4).

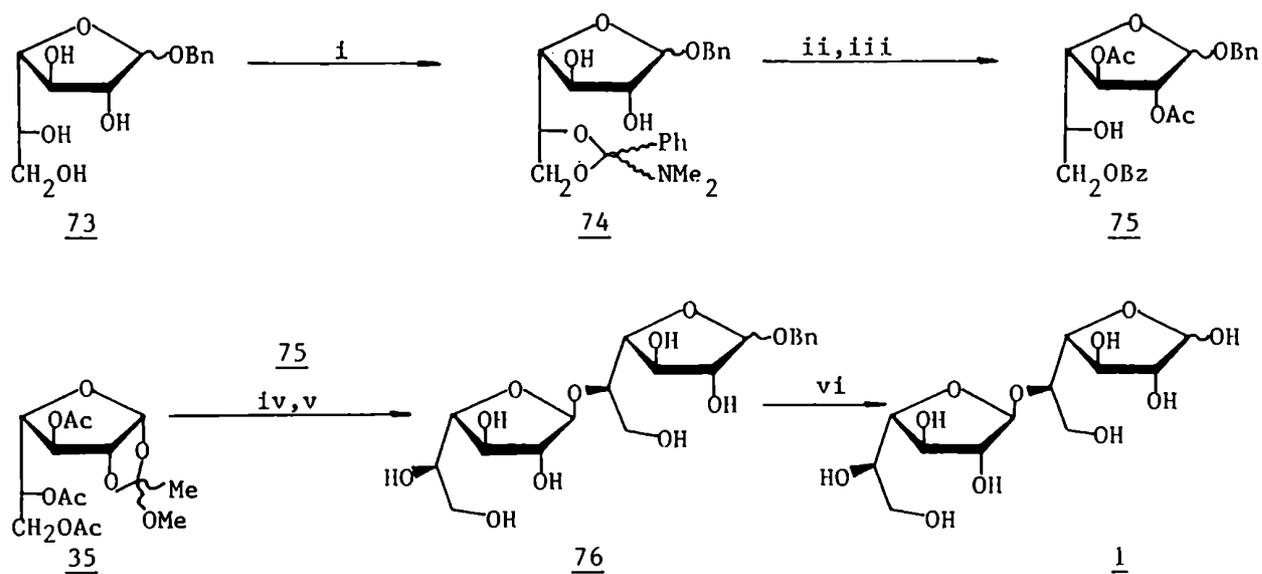
5-O- β -D-galactofuranosil-D-galactosa (1):

La síntesis del disacárido Gal β (1 \rightarrow 5)Gal (1) ha despertado gran interés a partir del reconocimiento de estructuras de ese tipo en varias especies de Penicillium¹⁵ y Aspergillus^{16,17} y de la necesidad de contar con ese producto para ensayos inmunológicos^{18,20} (Capítulo I). En la literatura se han descrito tres caminos sintéticos para 1. Dos de ellos implican la preparación de dos precursores selectivamente protegidos, seguida de una estrategia de condensación estereoselectiva^{74,75}, y el tercero es un caso particular de la síntesis de oligosacáridos en fase heterogénea⁷⁶.

Vliegthart y col.⁷⁴ obtuvieron el disacárido 1 utilizando el método del ortoéster (Capítulo II). A partir de D-galactosa dietil ditioacetal (85) prepararon el bencil α,β -D-galactofuranósido (73) el cual por tratamiento con N,N-dimetil benzamida dimetil acetal dió el 5,6-O-dimetilamino-bencilidén derivado (74) como una mezcla diasteromérica. La acetilación de

74 y posterior apertura regioselectiva en medio ácido, condujo al bencil 2,3-di-O-acetil-6-O-benzoil- α,β -D-galactofuranósido (75), precursor adecuado del extremo reductor de 1 (Figura 5).

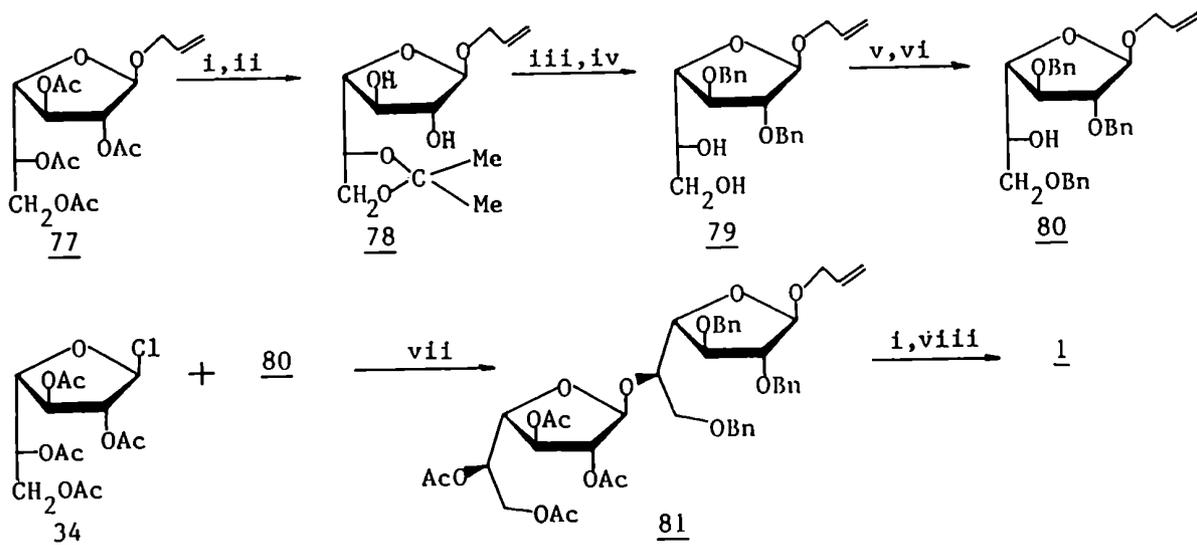
Por condensación del 1,2-(metilortoacetato) 35, obtenido en forma similar a la ya descrita, con 75, en presencia de HgBr_2 , y posterior desacilación, obtuvieron el bencil 5-O- β -D-galactofuranosil-D-galactofuranósido (76), el cual por hidrogenación condujo al disacárido 1 con un rendimiento total del 5%, a partir de 85 y 35 (Figura 5).



i $\text{PhCN}(\text{OMe})_2\text{Me}_2$, ii $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Py}$, iii $\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$, iv $\text{HgBr}_2, \text{NO}_2\text{Me}$, v NaMeO/MeOH , vi $\text{H}_2, \text{Pd}/\text{C}$

Figura 5. Ruta sintética para la preparación de 5-O- β -D-galactofuranosil-D-galactofuranosa (1) ⁷⁴.

En otra síntesis alternativa de **1** se usó el método de Koenigs-Knorr para la condensación^{7a}, utilizando como agente glicosidante el alil 2,3,6-tri-O-bencil- β -D-galactofuranósido (**80**), el cual se sintetizó a partir del cloruro de tetra-O-acetil- β -D-galactofuranósilo (**34**), en una secuencia que involucra la preparación del alil 2,3,5,6-tetra-O-acetil- β -D-galactofuranósido (**77**). Por desacetilación de **77** y posterior tratamiento con acetona en medio ácido, se obtuvo el isopropilidén derivado **78**. La bencilación de **78**, seguida de hidrólisis ácida condujo al derivado **79**, el cual, a través de bencilación regioselectiva vía estanilación^{7a} condujo al glicósido **80** con 42% de rendimiento a partir de **25**. Por condensación de **34** con **80** catalizada por HgBr₂ se obtuvo el derivado **81**, y por desprotección total de éste, el disacárido **1**, con un rendimiento total del 15% a partir de **34** (Figura 6).



i NaOMe/MeOH, ii acetona/H⁺, iii BnBr/NaH, iv AcOH, v (Bu₃Sn)₂O, vi Bu₄NBr/BnBr
vii HgBr₂/tamiz molecular, viii H₂, Pd/C

Figura 6. Ruta sintética para la preparación de (**1**)^{7a}.

El disacàrido 1 y oligosacàridos de Galf unidas $\beta(1\rightarrow5)$ se sintetizaron en fase heterogènea, utilizando como fase sòlida L-homoserina convenientemente protegida y unida a través de una funci3n èster a una matriz polimèrica. Por glicosidaci3n del grupo hidroxilo de la L-homoserina con cloruro de 2,3-di-O-benzoil-5-O-levulinoil-6-O-pivaloil- β -D-galactofuranosilo (82), en presencia de $\text{Hg}(\text{CN})_2/\text{HgBr}_2$, se obtuvo el derivado monomèrico inmovilizado en la matriz s3lida (83, $n=0$, figura), y por remoci3n selectiva del grupo protector de HO-5 y un nuevo acoplamiento a otra molècula de 82, se obtuvo el derivado del disacàrido 1 unido a la matriz (83, $n=1$). Repitiendo este proceso de "crecimiento" del polìmero, se sintetizaron varios derivados de oligosacàridos, hasta el heptàmero ($n=6$). Por desprotecci3n de estas unidades, se obtuvieron los oligosacàridos libres ($R=R'=H$) 76.

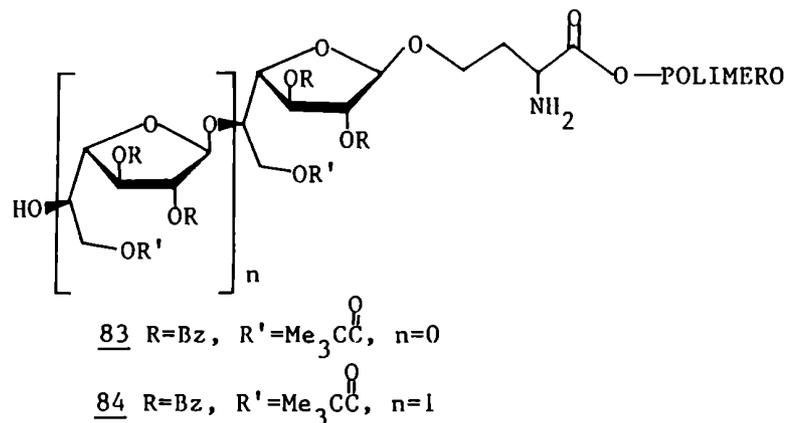


Figura 7. Oligosacàridos D-Galf inmovilizados en una matriz polimèrica 76.

Este es uno de los pocos ejemplos citados en la literatura en el cual el método de síntesis en fase heterogénea resulta eficiente para la preparación de azúcares furanósicos, ya que en general tiene el inconveniente de partir de los inestables haluros de glicofuranosilo. Sin embargo, pese a que en este caso el disacárido **1** se obtiene, según los autores, con muy buen rendimiento (77%), el cálculo está realizado a partir del sistema L-homoserina + matriz ya constituido, el cual se obtiene por un proceso bastante largo y tedioso. Este método pareciera justificarse más, entonces, para la obtención de oligosacáridos mayores que para la del disacárido.

Por otra parte, por hidrólisis alcalina de la unión de la homoserina a la matriz se liberan los oligosacáridos pero siempre unidos al aminoácido, lo cual no siempre es deseable.

RESULTADOS Y DISCUSION

CAPITULO III:
SINTESIS DE GLICOSIDOS
DE GALACTOSA FURANSICA

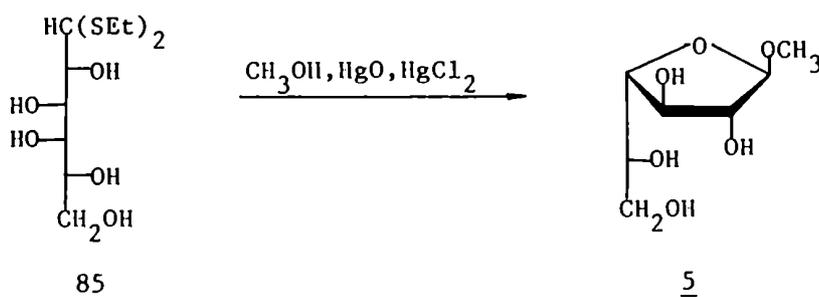
Síntesis de Metil β -D-Galactofuranósido

Los glicósidos de galactofuranosa se han empleado en estudios de actividad enzimática de β -D-galactofuranosidasas^{10,27} y en la determinación de estructuras inmunodominantes de polisacáridos biológicamente activos que contienen residuos β -furanósicos de galactosa^{11,10,23} (Capítulo I). Dado que en la literatura no se describían procedimientos sintéticos sencillos para la obtención de galactofuranósidos, se decidió investigar métodos de síntesis que podrían eventualmente extenderse a la obtención de disacáridos. También los glicósidos simples servirían como "modelos furanósicos" que facilitarían el análisis espectral de esas estructuras más complejas.

El más sencillo era, obviamente, el metil β -D-galactofuranósido (5). Este compuesto se había usado como sustrato de una galactofuranosidasa presente en Penicillium charlesii¹⁰ y en ensayos de inhibición de polisacáridos antigénicos de varias especies de Penicillium y Aspergillus^{11,10,23}. Sin embargo, los métodos de síntesis de 5 resultaban bastante ineficientes en términos de especificidad y rendimiento. Los primeros intentos datan de 1924, cuando Haworth y col.²⁷, utilizando el procedimiento de Fisher, obtuvieron una mezcla de reacción con preponderan-

cia de los derivados furanósicos. La reacción se llevó a cabo con D-galactosa en metanol conteniendo ácido clorhídrico o sulfúrico y a temperatura ambiente. Posteriormente, Augestad y Berner (1954) optimizaron las condiciones para obtener metil glicósidos furanósicos, los cuales se forman por reflujo de soluciones metanólicas de azúcares libres, en presencia de una concentración muy baja de HCl ($\sim 3,7 \times 10^{-3}$ N). No obstante, el producto de reacción era una mezcla compleja de glicósidos piranósicos y furanósicos, de la cual el isómero β -furanósico **5** se aislaba por cromatografía en columna de celulosa, con 53% de rendimiento⁶⁹.

Green y Facsù (1938) describieron también la preparación de **5**, a partir de D-galactosa dietil ditioacetal (**85**), el cual por tratamiento con metanol en presencia de cloruro y óxido mercurícos, a temperatura ambiente, condujo al compuesto **5** con 20% de rendimiento^{69,77}:

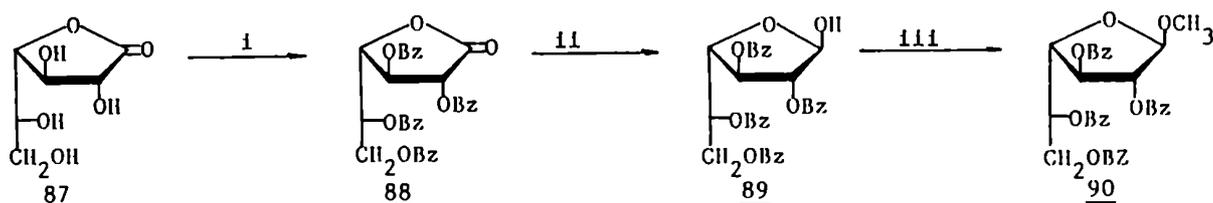


En la literatura no se encuentran descriptos otros procedimientos para la preparación de **5**, y aún en trabajos muy posteriores sobre la síntesis de derivados furanósicos, como por ejemplo 5,6-di-O-metil-D-galactofuranosa (**86**), se utilizó como

compuesto de partida y precursor del anillo de cinco miembros, al glicósido 5, obtenido según la técnica de Augestad y Berner⁹⁸, con las consecuentes complicaciones de la purificación en columna de celulosa y el bajo rendimiento⁹⁷. Consideramos pues, que el desarrollo de un procedimiento más efectivo para la preparación de 5, constituiría un aporte interesante.

Una síntesis sencilla de 5 involucraría la preparación de un intermediario furanósico de galactosa, derivatizado adecuadamente, y susceptible de una posterior glicosidación estereoselectiva. En primera instancia, consideramos que la D-galactono-1,4-lactona (87) sería un compuesto de partida conveniente pues permitiría preparar, mediante una secuencia de protección de los grupos hidroxilo y posterior reducción del grupo lactónico al lactol, un derivado furanósico de galactosa, cuyo HO-anomérico libre podría ser glicosidado. Para ello se realizó la benzoilación de 87 con cloruro de benzoilo en piridina, a 0°C, que condujo a la 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (88), idéntica a la descrita por Lederkremer y col.¹⁰⁰. Para la reducción al lactol de 88 y de otras lactonas, se utilizó el método del bis(3-metil-2-butil)borano o diisoamilborano (DSB)¹⁰¹ que había resultado efectivo para la reducción de aldono lactonas peraciladas en este^{97, 98, 102, 103, 104} y otros laboratorios^{101, 103}. Así, a partir de 88 se obtuvo 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosa (89) con 81% de rendimiento a partir de D-galactono-1,4-lactona (87) comercial.

La primera aproximación sintética al metil β -D-galactofuranósido (5) se basó en la alquilación de 89 con diazometano catalizada por $F_3B:OEt_2$ ¹⁰⁶, reacción que condujo al metil 2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranósido (90). Sin embargo, la metilación no era completa aún después de varios tratamientos sucesivos con diazometano, y luego de purificar por cromatografía en columna, 90 se obtuvo con 52% de rendimiento.



El espectro de R.M.N.-¹H de 90 (Figura 8) mostraba la señal del OMe como un único singulete a δ 3,47, lo cual confirmaba la obtención estereoselectiva de un solo anómero, y la de H-1 como un singulete ancho, $J_{1,2} < 1,0$ Hz, valor que sugiere¹⁰⁶ un anillo de cinco miembros con configuración 1,2-trans y por ende una configuración β para el C-1. Los valores de las constantes de acoplamiento de los otros protones del anillo furanósico ($J_{2,3}$ 1,1 y $J_{3,4}$ 5,4 Hz) indicarían según los criterios tradicionales, una conformación preferencial $E_0(D)$, coincidente con la propuesta para otros β -D-galactofuranósidos¹⁰⁷. En esta conformación el grupo metoxilo se ubica en una posición cuasi-axial, lo cual satisface los requerimientos estereoelectrónicos del oxígeno del anillo (efecto anomérico); la cadena lateral

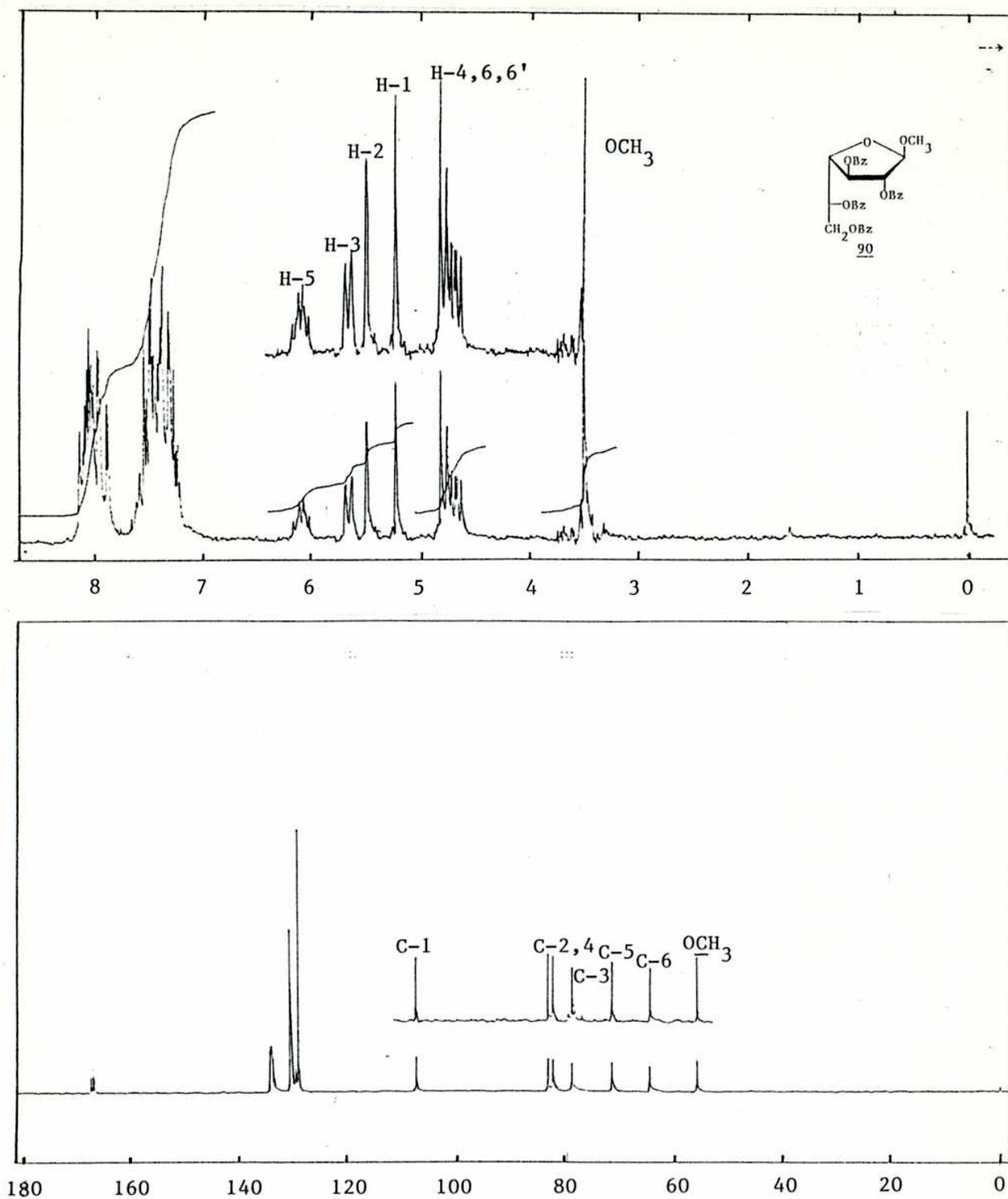
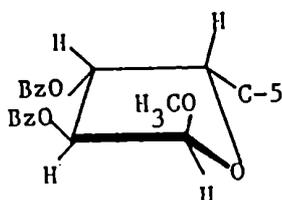


Figura 8. Espectros de R.M.N.-¹H y R.M.N.-¹³C del metil 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranósido (90).

se dispone cuasi-ecuatorialmente, y además no existen interacciones de eclipsamiento entre los sustituyentes de C-2 y C-3, ya que éstos se encuentran en una configuración trans¹⁹⁷. Sin embargo, estos datos experimentales permitieron realizar un análisis conformacional con otro enfoque, según se describirá en el Capítulo VI.



E_0

El espectro de R.M.N.-¹³C de **90** (Figura B) mostraba entre otras, la señal de C-1 a 106,7 p.p.m. y dos señales a campos bajos (δ 82,0 y 81,1) correspondientes a C-2 y C-4, características de sistemas furanósicos con configuración 1,2-trans.

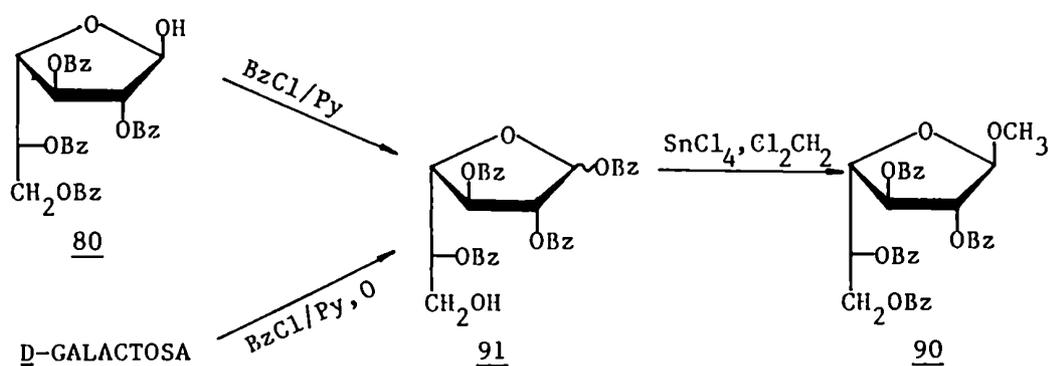
El bajo rendimiento de **90** nos llevó a explorar otros procedimientos para la preparación de glicósidos. Una alternativa posible, empleada principalmente en azúcares piranósicos, era partir de derivados totalmente acilados, los cuales experimentan glicosidación por tratamiento con alcoholes y en presencia de un ácido de Lewis. El SnCl₄ ya había sido empleado por Lemieux y col.¹⁹⁸ en 1953, para preparar el fenil 2,3,4,6-tetra-O- β -D-glucopiranosido a partir de penta-O-acetil- β -D-glucopiranososa, en benceno a reflujo con el fenol y cantidades equimoleculares de SnCl₄. Ingle y Bose (1970)¹⁹⁹, utilizaron la misma técnica

para obtener varios glicopiranosidos simples y en todos los casos los rendimientos eran de aproximadamente 50%. Hanessian y Banoub⁸⁶ encontraron que trabajando en solución de Cl_2CH_2 a temperatura ambiente o menor, mejoran notablemente los rendimientos de dichos glicopiranosidos (80%). Sometiendo a esas mismas condiciones de reacción a la 1-O-acetil-2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosa obtuvieron varios glicofuranosidos de configuración 1,2-trans. Como se discutió anteriormente, la alta estereoselectividad de la reacción se debe a la formación de un ión aciloxonio intermediario (20) que dirige el ataque nucleofílico del alcohol al C-1, por la cara opuesta a la del sustituyente de C-2 (Capítulo II).

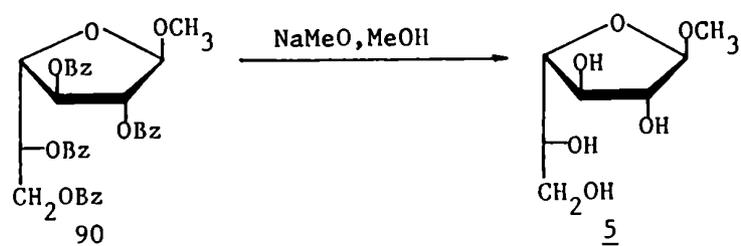
Como se disponía del compuesto parcialmente benzoilado 89, y para la reacción de glicosidación se requería el derivado peracilado, se procedió a benzoilar el HO-1 de 89, con BzCl/Py , obteniéndose 1,2,3,5,6-penta-O-benzoil-D-galactofuranosa (91) de configuración β , como un producto cristalino con 72% de rendimiento. Las constantes físicas y propiedades espectroscópicas de 91 eran idénticas a las descritas en la literatura¹¹⁰. Alternativamente, el intermediario 91 podía obtenerse por tratamiento de D-galactosa con BzCl/Py a alta temperatura (100°C)¹¹⁰. En efecto, por benzoilación de D-galactosa en esas condiciones se obtuvo una mezcla anomérica (α - β 1:1) cristalina de 91, con 68% de rendimiento. Si bien por repetidas recristalizaciones de etanol era posible obtener el anómero β puro, se comprobó que

en las reacciones de glicosidación en las cuales se partía del derivado totalmente acilado, se pueden utilizar indistintamente cualquiera de los anómeros o una mezcla de ambos y obtener selectivamente el glicósido β . Por esta razón, y dada la sencillez con que se obtenía la mezcla **91** a partir de **D**-galactosa en un solo paso, esta técnica fue la más utilizada para la obtención de glicósidos y disacáridos sintetizados en este trabajo de tesis.

Así, la mezcla anomérica de **91** en solución de Cl_2CH_2 tratada con metanol y en presencia de SnCl_4 , condujo al derivado cristalino **90** con 85% de rendimiento.



Con la finalidad de obtener el metil β -**D**-galactofuranósido (**5**) se llevó a cabo la *O*-desbenzoilación de **90** por tratamiento con una solución 0,1N de metóxido de sodio en metanol y agitando a 0°C hasta desaparición del compuesto de partida. Por posterior neutralización con resina Dowex 50W (H^+) se obtuvo el metil glicósido **5** como un jarabe incoloro (91%), que presentaba el mismo poder rotatorio y propiedades espectroscópicas idénticas a las descritas en la literatura^{67, 78, 77}.



En el espectro de R.M.N.- ^{13}C de **5** (Figura 9) se observaba la señal de C-1 a 109,0 p.p.m., considerablemente más desprotegida que la señal de C-1 del análogo β -piranósico (104,5 p.p.m.) y las señales de C-2 y C-4 a 81,6 y 83,8 p.p.m. Este grupo de señales es diagnóstico de la configuración β -galactofuranosídica; en particular la señal de C-2, que aparece desplazada a $\delta > 80$.

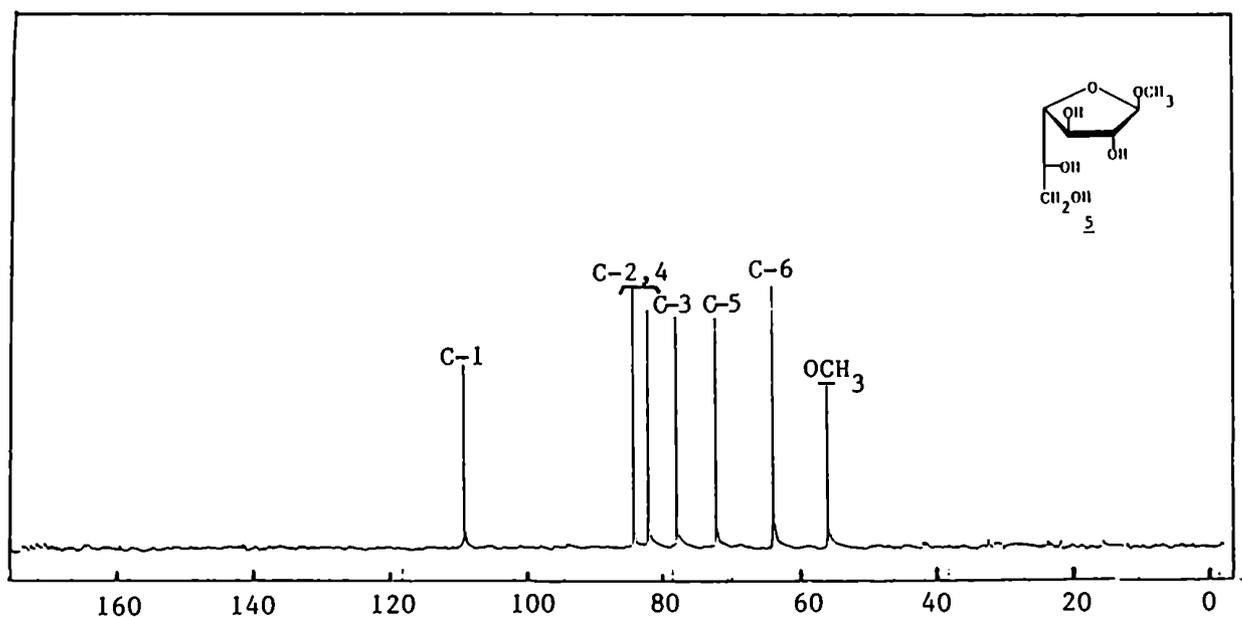
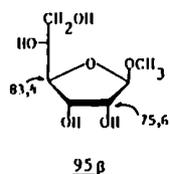
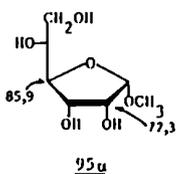
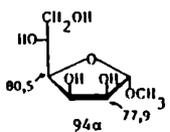
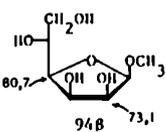
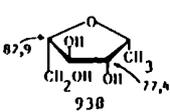
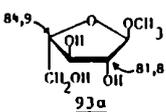
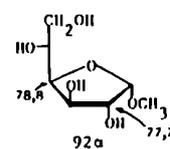
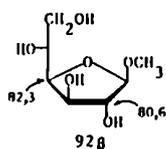
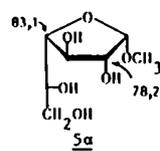
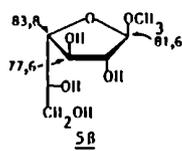


Figura 9. Espectro de R.M.N.- ^{13}C (D_2O) del metil galactofuranósido (**5**).

Este hecho se observa solamente en compuestos furanósicos, cuyo sustituyente de C-2 está en relación trans con los sustituyentes de C-1 y C-3. Por ejemplo, el metil β -D-glucofuranósido (92β) y el α -L-arabinofuranósido (93α), presentan la señal de C-2 a δ 80,6 y 81,8 p.p.m. respectivamente, mientras que en los correspondientes anómeros 92α y 93β esta señal se observa a δ 80 p.p.m. Por otro lado, en ambos anómeros de D-manosa, 94α o 94β , o de D-alosa, 95α o 95β , se observa la protección que C-1 y/o C-3 en relación cis a C-2, ejercen sobre éste¹¹¹:



El metil β -D-galactofuranósido (5) se obtuvo con muy buen rendimiento, mediante una secuencia breve de reacciones y utilizando técnicas de purificación sencillas. Los puntos claves de esta preparación son la facilidad de obtención de un intermediario furanósico peracilado 91, en un solo paso, y la glicosidación estereoselectiva promovida por SnCl_4 . Este procedimiento aventaja a los descritos anteriormente^{66,70,78} y sería aplicable no solo a la síntesis de 5, sino también en estrategias sintéticas que involucren intermediarios en la configuración furanósica, como es el caso de la síntesis de 5,6-di-O-metil-D-galactofuranosa (86)⁶⁷.

Síntesis de p-Nitrofenil β -D-Galactofuranósido (97)

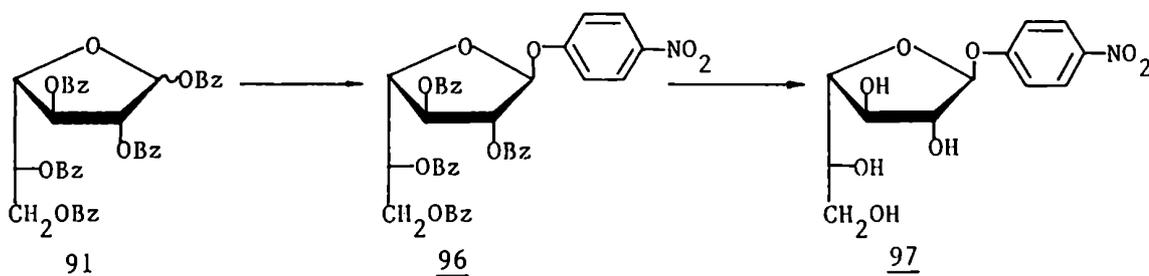
Los p-nitrofenilglicósidos se utilizan en estudios de actividad y cinética enzimática, pues las evaluaciones se pueden basar en la detección espectrofotométrica del p-nitrofenol que libera la enzima, obviándose así métodos tediosos de cuantificación de azúcares. Además, la reducción del grupo nitro a amino genera glicósidos que se pueden unir a proteínas para dar productos de valor inmunológico.

El p-nitrofenil β -D-galactofuranósido (97) sería un sustrato cromogénico útil para evaluar la actividad de dicha enzima, y dado que no se encontraba descrito en la literatura, se decidió llevar a cabo una síntesis conveniente de (97).

Los arilglicopiranosidos pueden prepararse por fusión del fenol con el derivado per-O-acetilado del azúcar en presencia de cloruro de cinc anhidro, para obtener el anómero α , o de ácido p-toluensulfónico, para obtener el anómero β ¹¹². Si bien se han introducido muchas modificaciones para mejorar la preparación de estos glicósidos, particularmente los p-nitrofenil derivados suelen obtenerse con bajos rendimientos. Un método más ventajoso consiste en transferir el derivado fenólico desde una resina, a la cual se encontraba inicialmente unido, a un halogenuro de glicosilo¹¹³. El inconveniente de este procedimiento, si se desea aplicar a la síntesis de glicósidos furanósicos, es que los halogenuros furanósicos peracilados son, como ya se mencionó, derivados muy inestables⁷⁷. Sin embargo, se han descrito buenos rendimientos en la obtención de fenil y p-nitrofenil furanósidos de D- y L-arabinosa, a partir de los correspondientes cloruros perbenzilados y realizando la condensación con el fenol en solución de cloruro de metileno y en presencia de tamices moleculares (MS), que atrapan el HCl liberado. La desventaja en estas preparaciones es que no se obtienen anómeros puros, sino mezclas anoméricas, lo cual es de esperar dado que el grupo protector de C-2 no ejerce ningún factor de estereoselectividad^{114, 115}.

La síntesis del p-nitrofenilglicósido 97 podía realizarse mediante una secuencia de reacciones análoga a la utilizada para la obtención del metil glicósido 5, ésto es, la glicosidación estereoselectiva de perbenzoato 91, que conduciría al p-nitrofe-

nil 2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranósido (96), y su posterior O-desbenzoilación:



La glicosidación de **91** con p-nitrofenol se realizó con dos catalizadores distintos: ácido p-toluensulfónico y SnCl_4 . Para que la reacción con ácido p-toluensulfónico fuera efectiva, fue necesario llevarla a cabo en un solvente anhidro de alto punto de ebullición. Así, por reflujo de una solución de **91** en tolueno, exceso de p-nitrofenol y ácido p-toluensulfónico en cantidades catalíticas, el derivado **96** se obtuvo con buen rendimiento (86%) cuando se implementó al sistema de reflujo una trampa tipo Deam-Stark, para realizar la reacción en condiciones estrictamente anhidras. El ácido p-toluensulfónico promovería la formación de un intermediario iónico estabilizado por la participación anquimérica del grupo benzoiloxi de C-2, del tipo **20**, e induciría la entrada del nucleófilo por la cara opuesta al sustituyente de C-2.

En el espectro de R.N.M.- ^1H de **96** (Figura 10, Tabla I), se observa el efecto desprotector del p-nitrofenilo como aglicona, que produce el desplazamiento de las señales de H-1 y H-2 ha-

cia campos bajos, si se compara con el análogo 1-O-metilado 90. El H-1 aparece como un singulete ancho ($J_{1,2} < 1,0$ Hz) lo cual indica una configuración β para C-1⁹⁶.

Tabla I. Datos de R.M.N.-¹H de metil (90) y p-nitrofenil (96) 2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosidos.

Comp	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6,6'
90	5,20	5,46	5,62	4,65	6,06	4,77
96	6,04	5,75	5,75	4,76	6,06	4,76

En el espectro de R.M.N.-¹³C de 96 (Figura 10, Tabla II) se observa el desplazamiento hacia campos altos de C-1 por efecto del grupo fenilo y, característico de anillos β -furanósicos, las señales de C-2 y C-4 aparecen a 235 >80 p.p.m.

Tabla II. Datos de R.M.N.-¹³C de metil (90) y p-nitrofenil (96) 2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranósidos.

Comp	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
90	106,7	81,1	77,6	82,0	70,2	63,4
96	103,7	81,8	77,2	83,0	70,5	63,0

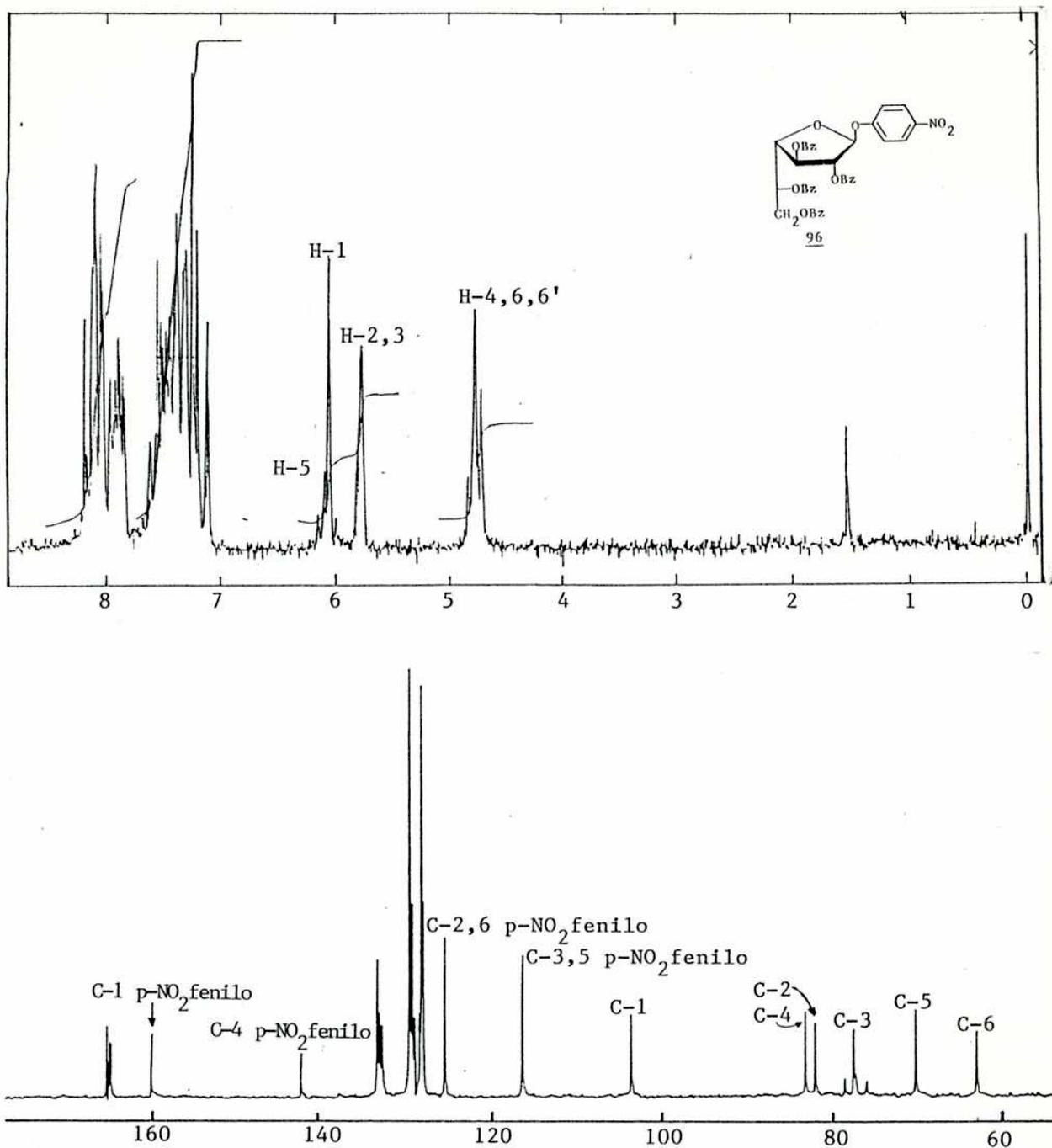
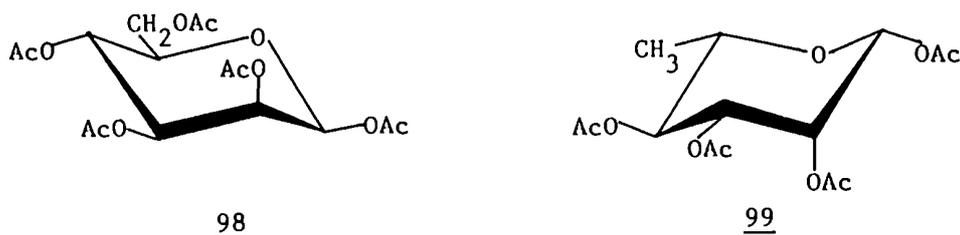


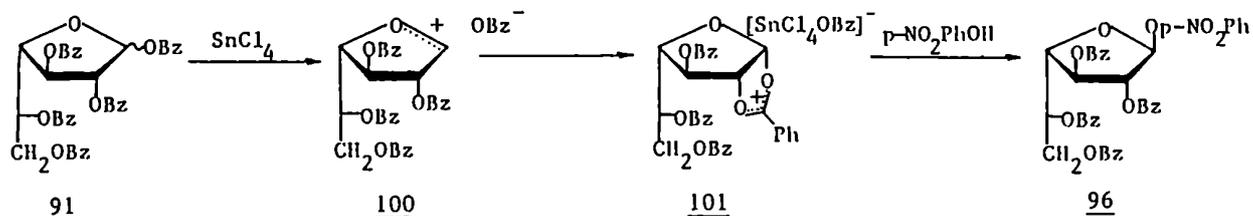
Figura 10. Espectros de R.M.N.-¹H y R.M.N.-¹³C del p-nitrofenil 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranósido (96).

El SnCl_4 se había utilizado como catalizador para obtener los p-nitrofenil α -glicopiranosidos de D-manosa y L-ramnosa, a partir de los correspondientes precursores peracetilados **98** y **99**, respectivamente. Los rendimientos de glicósidos 1,2-trans fueron de aproximadamente 70%, pero la formación de los glicósidos 1,2-cis era significativa¹¹⁶. Posiblemente, la estereoselectividad se ve afectada porque la formación del ión aciloxonio intermediario, como **17**, es más lenta por la disposición inicial axial-ecuatorial de los grupos acetiloxi de C-1 y C-2^{1,72}.



En nuestro caso, el tratamiento de **91** con SnCl_4 en solución de Cl_2CH_2 y posterior agregado de p-nitrofenol, condujo al derivado **96** con 91% de rendimiento y no se detectó la formación del anómero α . Este hecho, es una evidencia más de que la formación de iones aciloxonio intermediarios (**101**) está favorecida en especies furanósicas, lo cual podría deberse a que los sustituyentes de C-1 y C-2 fácilmente pueden adoptar posiciones eclipsadas y satisfacer los requisitos estéricos para formar el nuevo anillo de cinco miembros (capítulo II). Esto hace que el intermediario **101** se forme rápidamente y que no haya sustitu-

ción sobre el ión 100, precursor de ambos anómeros, 1,2-cis y 1,2-trans.



Por O-desbenzoilación de 96 con NaMeO/MeOH y posterior neutralización con resina Dowex 50W (H⁺) se obtuvo el p-nitrofenil β-D-galactofuranósido (97) como un producto cristalino y con 77% de rendimiento. El glicósido 97 dió un análisis elemental correcto y mostró actividad óptica, $[\alpha]_D^{20} -203^\circ$ (c 1, metanol).

En el espectro de R.M.N.-¹H de 97 (Figura 11) se observó la señal anomérica a δ 6,21 (J_{1,2} 2,2 Hz), y las señales del anillo aromático a δ 8,14 (H-3,5, p-nitrofenilo) y 7,20 (H-2,6 p-nitrofenilo).

En el espectro de R.M.N.-¹³C de 97 (Figura 11, Tabla III) se observó nuevamente el efecto protector de la aglicona aromática sobre el C-anomérico, que desplaza la señal 3 p.p.m. a campos altos respecto de la misma señal para el metil β-D-galactofuranósido (5), y las señales de C-2 y C-4 a δ >80 p.p.m, confirman la configuración 1,2-trans. Para los C-aromáticos se observaron señales a δ 161,8 (C-O, p-nitrofenilo), 141,2 (C-NO₂, p-nitrofenilo), 125,5 (C-2,6, p-nitrofenilo), 116,4 (C-3,5, p-nitrofenilo).

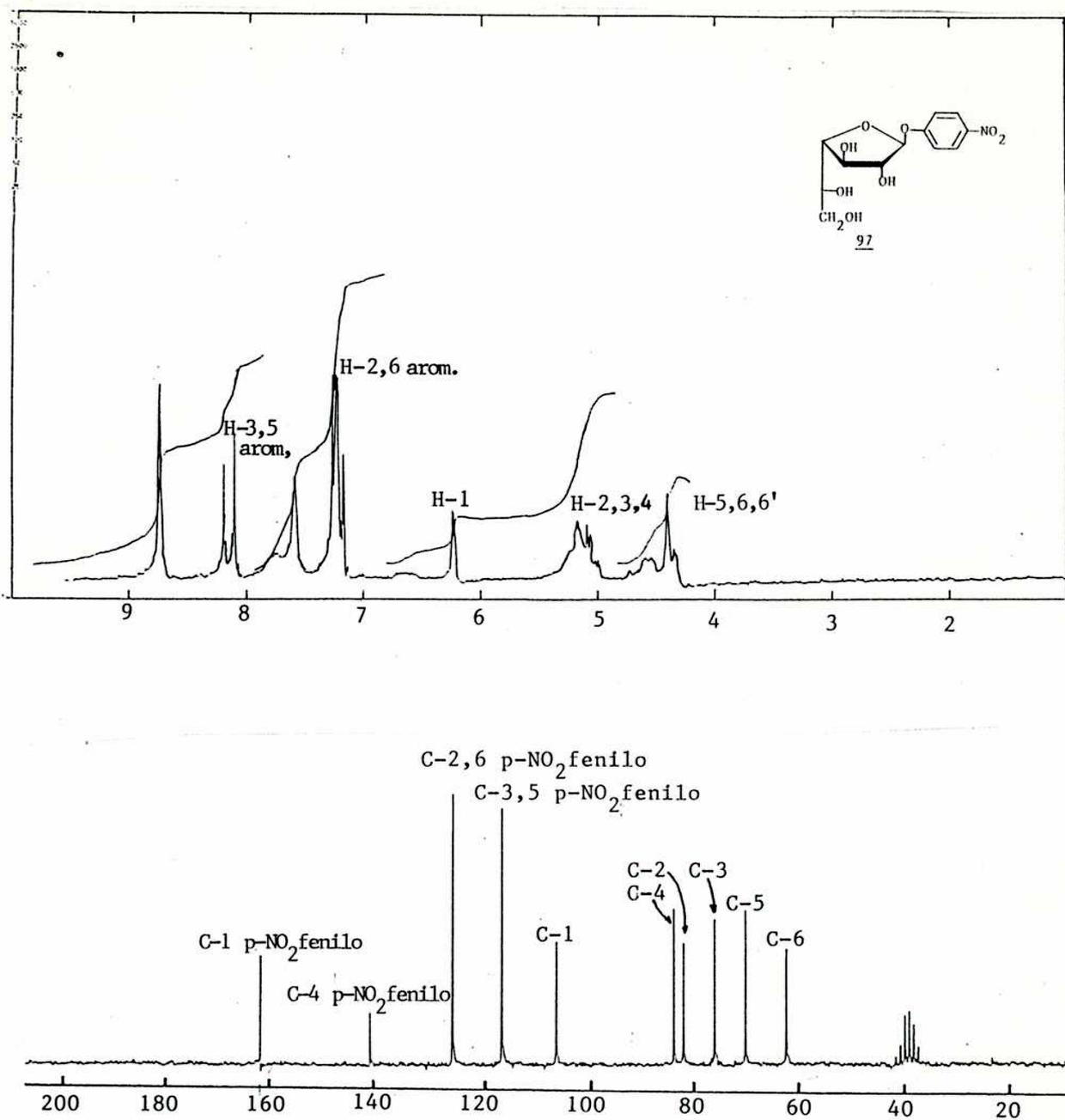
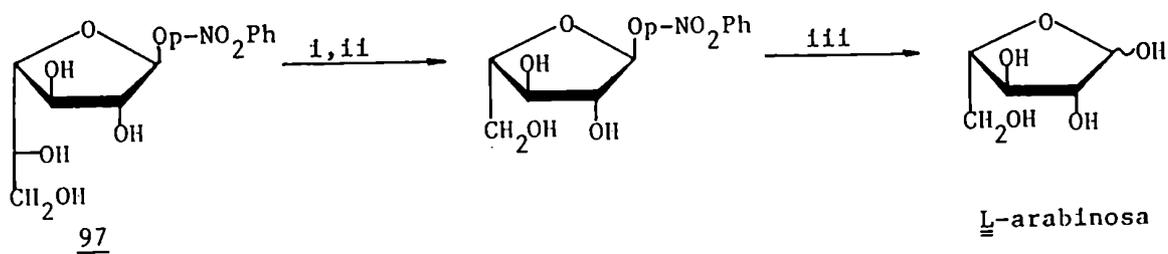


Figura 11. Espectros de R.M.N.-¹H (C₆D₆N) y R.M.N.-¹³C (C₂D₆SO) del p-nitrofenil β-D-galactofuranósido (97)

Tabla III. Datos R.M.N.- ^{13}C de metil (5) y p-nitrofenil (97) β -D-galactofuranósidos.

Comp	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
5	109,0	81,6	77,5	83,8	71,8	63,6
97	106,0	81,6	75,8	83,5	69,9	62,3

Para verificar la estructura furanósica de un glicósido se puede oxidar el mismo con metaperiodato de sodio, en condiciones suficientemente suaves como para provocar únicamente la ruptura de la unión C₅-C₆, exocíclica, y obtener después de la reducción con borohidruro de potasio e hidrólisis ácida, la pentosa correspondiente⁴⁷. Para confirmar químicamente la estructura de 97, este se sometió a dicho tratamiento. Como era de esperar, el producto de esta secuencia presentó por cromatografía en papel el mismo R_f que la arabinosa. Por reducción y acetilación del producto se obtuvo el derivado acetilado del alditol, que mostró por c.g.l. el mismo t_r que el arabinitol acetato.



i:NaIO₄, ii:KBH₄, iii:HCl

El procedimiento aquí descrito para la síntesis de glicofuranósidos involucra una secuencia de reacciones sencillas, estereoselectivas y que no requiere derivados halogenados furanósicos. Los glicósidos 5 y 97 se obtuvieron con excelentes rendimientos. Debido a estos resultados consideramos que las condensaciones con SnCl_4 podrían ser eficaces para la síntesis de disacáridos furanósicos.

CAPITULO IV:

SINTESIS DE DISACARIDOS

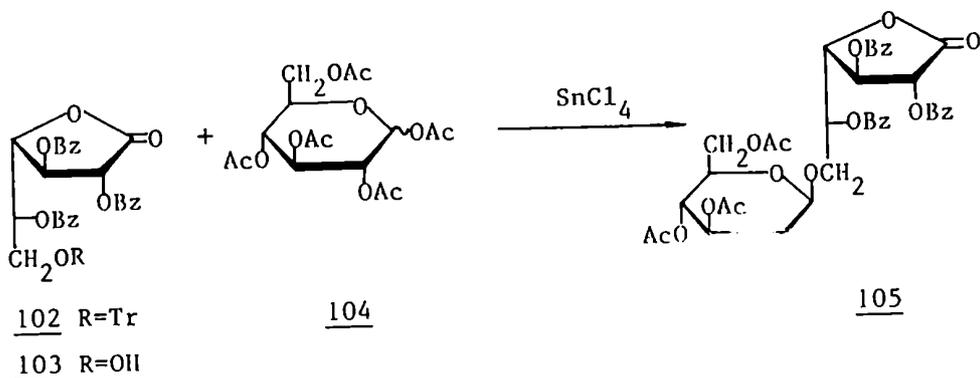
DE GALACTOSA FURANOSICA

La galactosa furanósica se ha identificado en numerosos glicoconjugados y polisacàridos naturales y en muchos casos se ha demostrado que es responsable de la actividad biológica de esas macromoléculas (Capítulo I). La disponibilidad de oligosacàridos de galactosa furanósica de distintas estructuras y, en particular, con distintos tipos de uniones interglicosídica, resulta indispensable para determinar las características de las estructuras inmunodominantes, ya sea por comparación espectroscópica o por reacciones de tipo antígeno-anticuerpo.

Con el fin de incursionar en la síntesis de ese tipo de sustancias, se decidió comenzar por la preparación del disacàrido con la unión glicosídica en configuración β , que es la más frecuente en la naturaleza³. Además dado que el hidroxilo primario de un azúcar es más reactivo que cualquiera de los secundarios, era conveniente preparar en primer lugar un disacàrido con enlace glicosídico 1- \rightarrow 6. Se llevó a cabo pues, la síntesis de la 6-O- β -D-galactofuranosil-D-galactosa (16). Este disacàrido se había aislado como un producto de hidrólisis parcial de arabinogalactanos altamente inmunogénicos de Mycoplasma micoides⁴³ y Mycobacterium tuberculosis⁴⁴, y en este último constituyó la primera evidencia de la presencia de galactosa furanósica, ya que anteriormente se le había asignado la configuración piranósica (Capítulo I).

Síntesis de 6-O-β-D-Galactofuranosil-D-Galactosa (16)

La extensión del método de glicosidación de penta-O-benzoil-D-galactofuranosa (91) catalizada por SnCl₄, a la síntesis de disacáridos de galactosa furanósica, significaba utilizar como agente glicosidante un derivado furanósico de D-galactosa convenientemente protegido. En nuestro laboratorio, las aldono-1,4-lactonas se han utilizado como precursores de azúcares furanósicos^{102,103}, y en particular se ha comprobado⁹⁷ que la condensación de derivados selectivamente protegidos de D-galactono-1,4-lactona con azúcares piranósicos per-O-acilados, permite obtener glicopiranosil aldono-1,4-lactonas, a partir de las cuales pueden prepararse disacáridos con el extremo reductor en configuración furanósica. Así, por monotritilación de D-galactono-1,4-lactona (87) y posterior benzoilación se obtuvo la 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-tritil-D-galactono-1,4-lactona (102)¹¹⁷, la cual por tratamiento con BF₃·OEt₂ condujo a la 2,3,5-tri-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (103). Por condensación de 102 o 103 con 1,2,3,4,6-penta-O-benzoil-D-glucopiranososa (104) en presencia de SnCl₄, se obtuvo la glucopiranosil aldono-1,4-lactona 105 con muy buen rendimiento⁹⁷:



naron en base a las conectividades, comenzando por el doblete fácilmente identificable del H-2 a 5,93 p.p.m. Las señales de los protones de la unidad galactofuranosídica se asignaron por comparación con las señales del metil glicósido 90, y se confirmaron por sus conectividades, comenzando por el multiplete localizado a campos más bajos (6,08 p.p.m.) correspondiente a H-5'. En la Tabla IV, se puede observar que el espectro protónico de 106 resulta de la superposición de los espectros del glicósido 90 y la lactona 103, con pequeñas diferencias debidas a la presencia de un sustituyente voluminoso en C-1'. Así, la señal de H-1' a 5,41 p.p.m. está ligeramente desprotegida respecto de la señal análoga de 90, y el valor de $J_{1,2} < 1,0$ Hz también sugiere una configuración β -furanósica ¹⁰⁶. Las señales de H-5 y H-6a,b se desplazan hacia campos bajos por efecto de la glicosidación en C-6. Las constantes de acoplamiento entre los protones del anillo furanósico H-2', H-3' y H-4' son también similares a las de los monosacáridos de referencia, por lo cual se podría inferir que la tendencia conformacional también se mantiene. Una particularidad del espectro es que las señales de H-6a y b se resuelven como dos cuartetos, mientras que en las lactonas 102 o 103 o en la 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (88) aparecen superpuestas formando un multiplete complejo¹¹⁷. Este hecho podría deberse a que en la glicosil lactona 106 los H-6a,b están próximos al centro anomérico, lo cual causa diferenciación de protones equivalentes, como se ha observado para los protones del metileno de etil glicósidos ¹¹⁸.

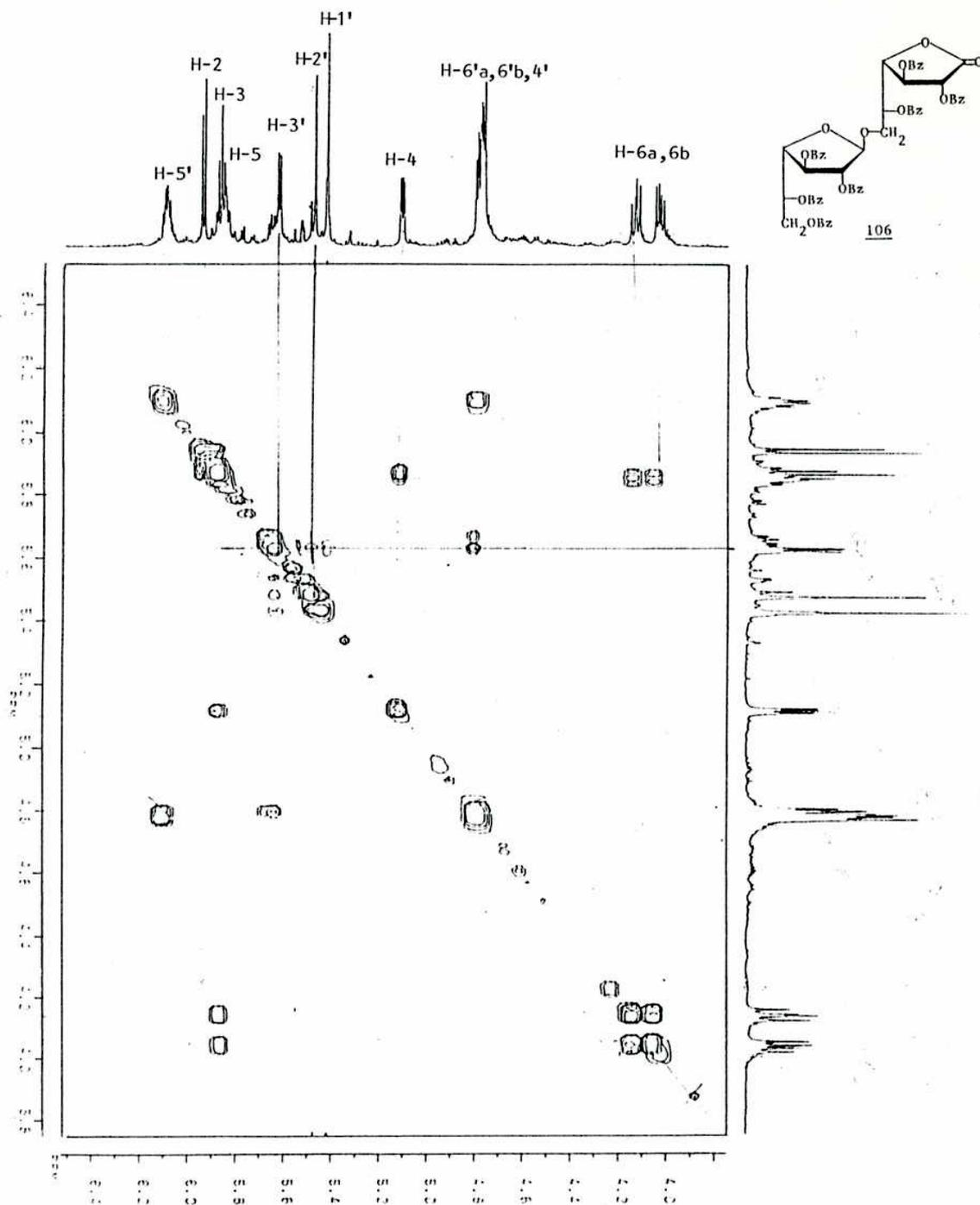


Figura 12. Espectro de R.M.N.- ^1H (2D-COSY) de 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (106).

TABLA IV: Espectros de R.M.N-¹H de metil 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranósido (90), 2,3,5-tri-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (103) y 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (106)

Comp.	δ, ppm. J, Hz										
	H-2 (J _{2,3})	H-3 (J _{3,4})	H-4 (J _{4,5})	H-5 (J _{5,6a})	H-6a,b (J _{5,6b})	H-1' (J _{1',2'})	H-2' (J _{2',3'})	H-3' (J _{3',4'})	H-4'	H-5'	H-6'a,b
<u>103</u>	6,08 (5,8)	5,88 (5,5)	5,10 (2,5)	5,65	4,04 ^a						
<u>90</u>						5,20 (<1,0)	5,46 (1,1)	5,62 (5,4)	4,65	6,06	4,77 ^a
<u>106</u>	5,93 (6,0)	5,85 (5,6)	5,10 (2,5)	5,84 (7,7)	4,12-4,07 (6,0)	5,41 (<1,0)	5,46 (1,0)	5,61 (4,8)	4,72-4,80	6,08	4,72-4,80

^aEl valor de δ corresponde al centro del múltiplete.

En el espectro de R.M.N-¹³C de 106 (Figura 13), la señal desplazada a campos más bajos se asignó al carbonilo lactónico (δ 168,5, C-1) y la señal de C-1' se observó a δ 105,5. Como ya se discutió para los glicósidos simples, este valor de δ para C-1' y el δ >80 p.p.m. para C-2' y 4', confirman la configuración β para el anillo galactofuranósico.

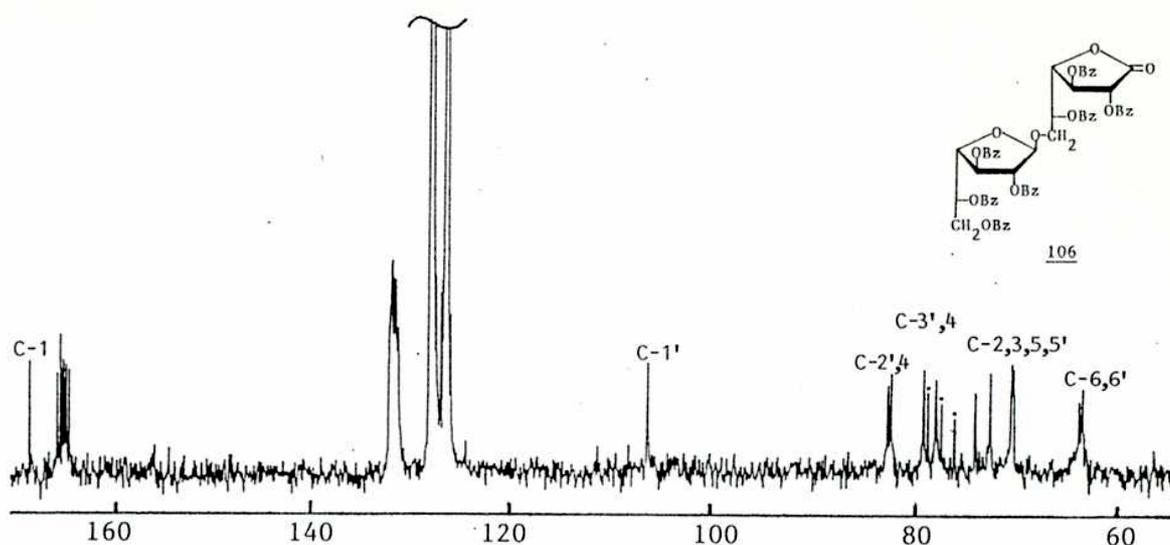
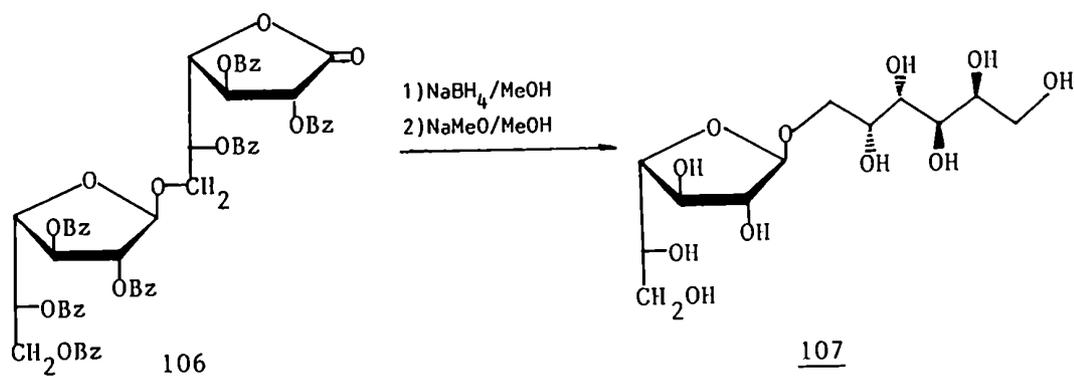


Figura 13. Espectro de R.M.N. $-^{13}\text{C}$ de 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (106).

Previamente se había observado en este laboratorio⁷, que el SnCl_4 catalizaba eficientemente la condensación cuando el grupo hidroxilo del agente glicosidante que participa en la formación del enlace glicosídico, se encontraba derivatizado como un éter de trifenilmetano (trilito), ya que en el medio de reacción ocurre la destritolación y condensación. Por ello, se repitió la preparación de la glicosil lactona 106, partiendo del perbenzoato 91 y de la lactona 102, observándose que aunque la reacción transcurría más lentamente y era necesaria una mayor cantidad de catalizador, el compuesto 106 se obtenía con muy buen rendimiento (85%).

La condensación de 91 con 102 o 103 ocurría pues, estereoselectivamente, para dar el anómero β de la glicosil lactona

106, a través del HO-6 de la unidad lactónica. Para confirmar químicamente la estructura de 106, se preparó el glicosil alditol 107. Por reducción con borohidruro de sodio del carboxilato lactónico de 106 al alcohol, y posterior desacilación con NaMeO/MeOH se obtuvo el 6-O-β-D-galactofuranosil-D-galactitol (107) con 76% de rendimiento:



En el espectro R.M.N.- ^{13}C de 107 (Figura 14) las señales de los carbonos del anillo furanósico se encontraban a campos más bajos respecto de las restantes. El C-anomérico (C-1') aparecía a δ 108,6, similar al desplazamiento de C-1' del metil glicósido 5 (109,0 p.p.m.). Las señales de C-4' y 2', a δ 83,6 y 81,8, respectivamente, confirmaban la estereoquímica de la unión glicosídica. Los carbonos de la cadena abierta del alditol mostraban resonancias a campos más altos (71,9-69,6 p.p.m.), distinguiéndose las señales de los primarios (C-1 y C-6') a 64,2 y 63,6 p.p.m. La ausencia de una tercera señal en esta zona, que correspondería a C-6, confirma que el enlace glicosídico involucra al HO-6, por lo cual se produce un desplazamiento a campos bajos de la señal de C-6.

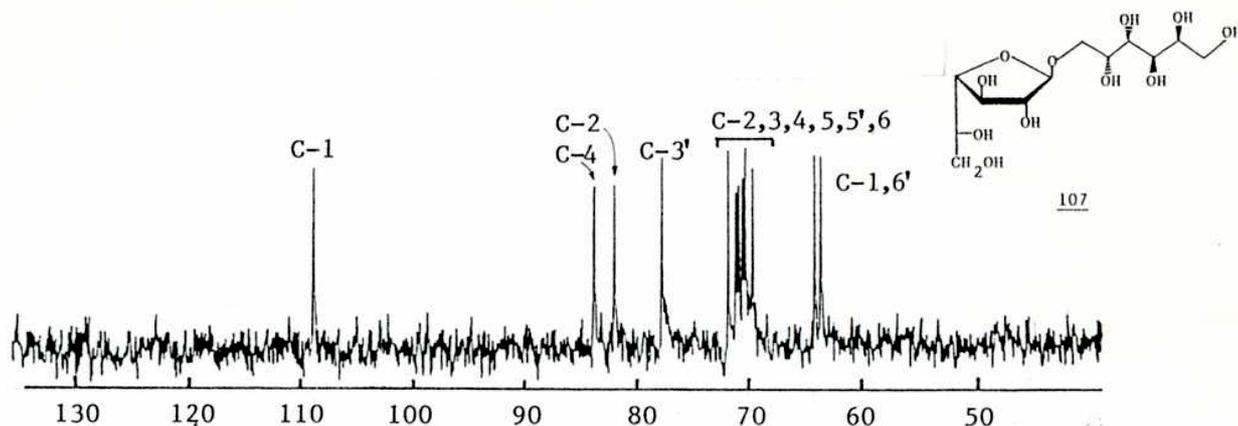


Figura 14. Espectro de R.M.N.- ^{13}C ($\text{D}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}$) de 6-O- β -D-galactofuranosil-D-galactitol (107).

Finalmente, se preparó el derivado trimetilsililado (TMS) del alditol 107, por tratamiento con Tri-Sil (Pierce) en piridina anhidra y se realizó el espectro de masa, el cual coincidía con el descrito para el TMS-derivado del alditol obtenido a partir del disacárido 6-O- β -D-galactofuranosil-D-galactosa (16), aislado como un producto de hidrólisis parcial de Mycobacterium tuberculosis⁶⁰ (Capítulo I). Se observaron los iones característicos de trimetilsilil derivados de alditoles de disacáridos¹¹⁷, los cuales se producen de acuerdo a las fragmentaciones primarias que se señalan en la Figura 15. Los picos a m/z 525 (61%), 451 (67%) y 361 (63%) son comunes a todos los alditoles de disacáridos de hexosas simples¹²⁰ y corresponden, los dos primeros a las fragmentaciones en torno a la unión glicosídica y el tercero a la pérdida de TMSOH a partir de 451. El pico base del espectro es el ión m/z 319 correspondiente a [409-TMSOH]. Un pico

característico de TMS-éteres es m/z 217 (71%) y se ha asignado a $(\text{TMS-CH=CH-CH-OTMS})^+ \cdot 120$. La abundancia relativa de los iones m/z 205 (95%) y 204 (67%) es indicativa de la presencia de una unidad furanósica. En el caso de un alditol de un disacárido con una unión interglucosídica 1- \rightarrow 6 y con el anillo en configuración piranósica, estos picos se forman únicamente por la ruptura entre C-2 y C-3 de la porción del alditol y la relación entre los iones m/z 217 y 204 es característicamente mucho menor que la unidad. En azúcares furanósicos, en cambio, dicha relación es mayor debido a la contribución a los iones m/z 204 y 205 de la cadena lateral del extremo no reductor (ruptura entre C-4' y C-5')¹²⁰.

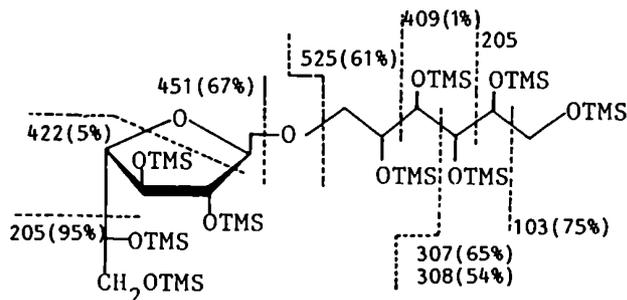
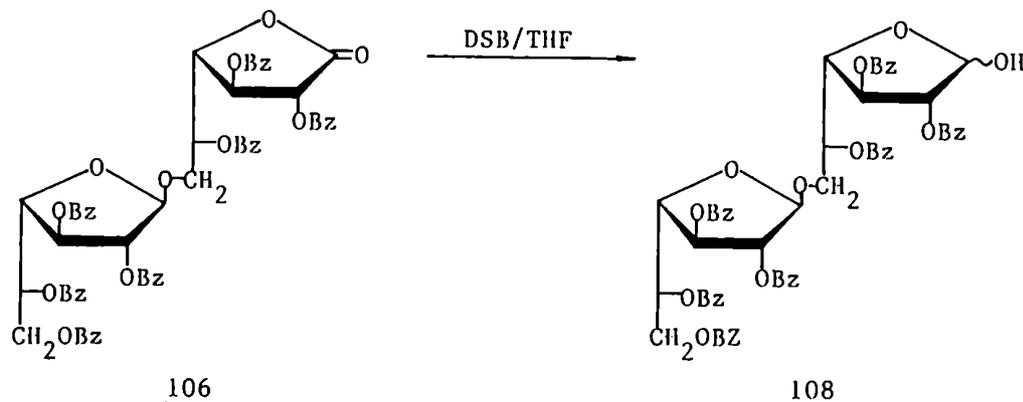


Figura 15. Fragmentaciones primarias y abundancias relativas observadas en el espectro de masas del TMS-derivado de 6-O- β -D-galactofuranosil-D-galactitol (107).

El paso siguiente de síntesis de β -D-Galf-(1- \rightarrow 6)-D-Gal (16), consistió en la reducción del grupo lactónico de 106 al lactol. Para este tipo de reacción, como ya se mencionó anteriormente, se utilizó el diisoamilborano¹²¹ como agente reductor y

THF como solvente, obteniéndose la 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (108) con 88% de rendimiento, mayoritariamente en configuración β según su espectro de R.M.N.- ^{13}C .



El espectro de R.M.N.- ^1H de 108 resultaba muy complejo debido a la aparición de las señales de las dos unidades de azúcar en un rango de δ muy estrecho, además de la superposición con las señales del anómero α minoritario. El H-1' mostraba un singulete ancho a δ 5,36 ($J_{1,2} < 1,0$ Hz), valor similar al observado para el H-anomérico de 106, y la señal a δ 5,77 ($J_{1,2} < 1,0$ Hz), se atribuyó al H-1 del anómero β .

En el espectro de R.M.N.- ^{13}C de 108 (Figura 16) se identificaron para el anómero β la señal de C-1' a δ 104,7, similar al valor observado en 106, y la de C-1 a δ 100,7, coincidente con el desplazamiento observado en furanosas análogas de configuración $\beta^{13}\text{C}$. La señal a 95,9 p.p.m. se asignó al C-1 del anómero α y en base a la relación de intensidades de ésta y la señal a δ 100,7 se estimó una composición β/α en la unidad

reductora de aproximadamente 7:3. Para el anómero mayoritario las señales de C-2,2',4 y 4' se observaron a δ 83,2, 81,8, 81,6 y 80,6 confirmando la configuración β -galactofuranósica, y las señales del resto de los carbonos aparecían agrupadas de a pares (C-3,3', C-5,5' y C-6,6') lo cual ponía de manifiesto la similitud entre las dos unidades del disacárido. Para el anómero se identificaron, entre otras, las señales a δ 82,2, 69,0, 63,7 y 63,5.

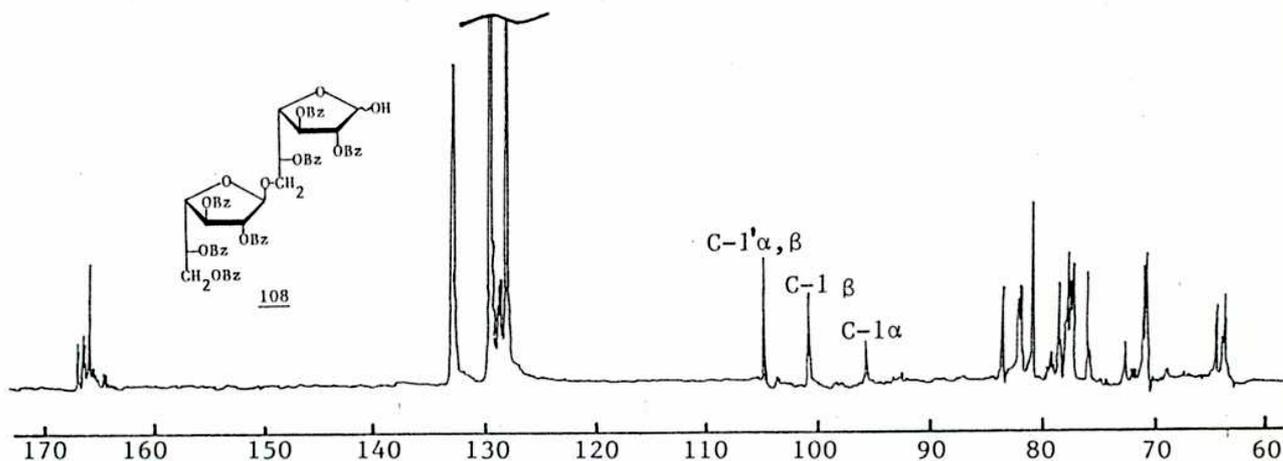
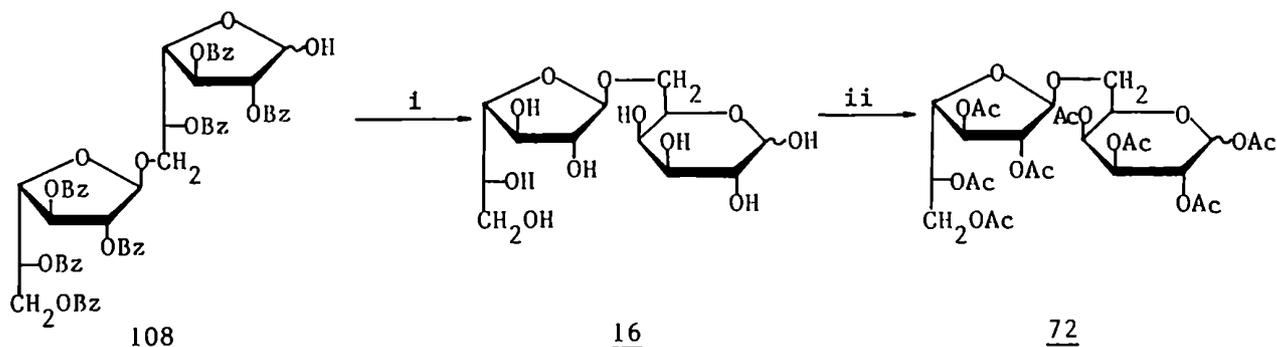


Figura 16. Espectro de R.M.N.- ^{13}C de 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactofurranosa (108).

La O-desbenzoilación de 108 con NaMeO/MeOH conduciría directamente al disacárido 16. Sin embargo, se observó por c.c.d. D-galactosa que se formaba en la etapa de neutralización del NaMeO con resina Dowex 50W (H^+). La hidrólisis era importante aún cuando se utilizaba una resina mixta (Amberlite MB-3) en lu-

gar de una ácida, o hielo seco (CO_2). Por c.l.a.r., utilizando una fase tipo amino (condiciones a) y $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$, 4:1, como solvente, se obtuvo el disacárido 16 puro. Su comportamiento cromatográfico y su poder rotatorio, $[\alpha]_D^{20} -21^\circ$ (c 0,4, agua), eran coincidentes con los observados para los disacáridos naturales aislados de *M. mycoides*⁶³ y *M. tuberculosis*⁶⁴, y para el disacárido sintetizado por Jaquinet y Sinay⁷³.



i: NaMeO/MeOH, ii: $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Py}$

Con el objeto de obviar la purificación por c.l.a.r. del disacárido 16, el producto de O-desbenzoilación se trató, inmediatamente después de la neutralización de la base (CO_2), con $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Py}$ y el crudo de dicha acetilación se purificó por columna de sílica gel, obteniéndose la 1,2,3,4-tetra-O-acetil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-acetil- β -D-galactofuranosil)-D-galactopiranososa (72) con 58% de rendimiento a partir de 108, mayoritariamente como anómero β , en base a sus espectros de R.M.N.- ^1H y ^{13}C . El disacárido peracetilado 72 mostró un $[\alpha]_D^{20} -13^\circ$ (c 1, cloroformo), y el análisis elemental de C e H estaba de acuerdo con la estructura propuesta.

Un experimento bidimensional de correlación homonuclear (COSY) permitió asignar totalmente el espectro de R.M.N.- ^1H de 72 (Figura 17) que no se encontraba descripto en la literatura. El doblete más desplazado a campos bajos, 5,69 p.p.m. correspondía a H-1 y el valor grande de la constante de acoplamiento ($J_{1,2}$ 8,3 Hz), sugería una configuración β para el centro anomérico. Además, no se observó ninguna señal correspondiente al anómero α -galactopiranosídico. Los valores de δ bajos para H-6a y H-6b (3,69 y 3,58 p.p.m.) confirmaban que el HO-6 de la unidad galactopiranosídica estaba involucrado en la unión glicosídica. La señal de H-1' a 5,01 p.p.m. mostraba una constante de acoplamiento ($J_{1',2'}$ 0,5 Hz) característica de la configuración β -galactofuranosídica¹⁰⁶

En el espectro de R.M.N.- ^{13}C de 72 (Figura 18), la señal correspondiente a C-1 se observó a 92,1 p.p.m., valor muy similar al observado para el C-1 de penta-O-acetil- β -D-galactopiranosidina¹¹¹. La otra señal detectada en la región anomérica a δ 105,5, se asignó a C-1' y coincide con la señal análoga del disacárido lactónico 106. Del resto de las señales se distinguen, a campos más bajos, δ 81,2 y 80,7, las de C-2' y 4', y a campos mayores, δ 64,1 y 62,7, las señales de los carbonos primarios, C-6 y 6'.

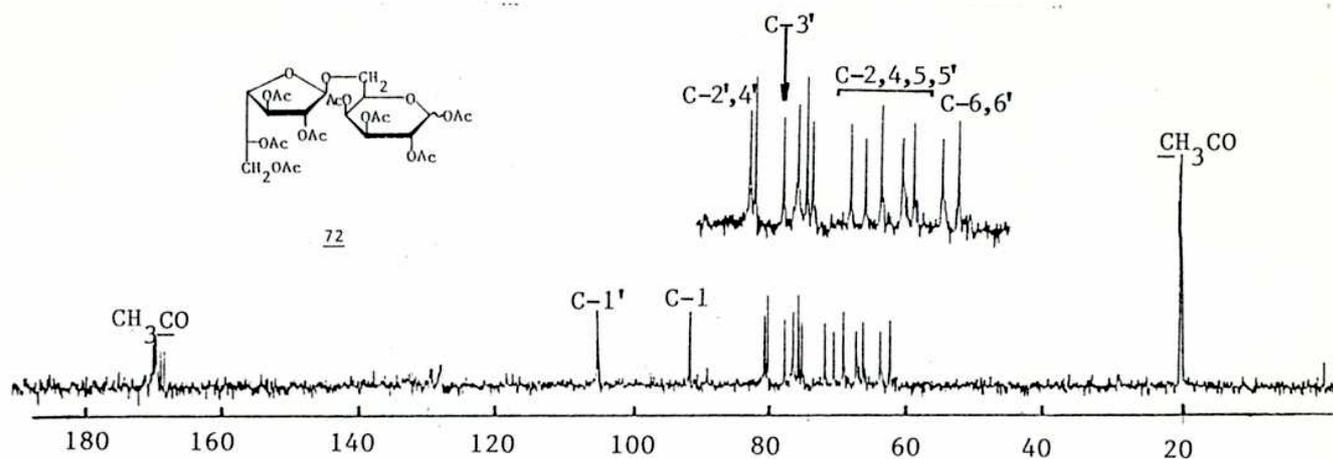


Figura 18. Espectro de R.M.N. ^{13}C de 1,2,3,4-tetra-O-acetil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-acetil-β-D-galactofuranosil)-D-galactopiranososa (72).

El espectro de masa de 72 también era coincidente con el obtenido a partir del acetato del disacárido aislado de *M. tuberculosis*⁶⁵. En la Figura 19 se observan las rupturas que conducen a los iones más característicos, siendo muy importantes los iones de m/z 331 (81%), que surge de la ruptura en torno a la unión glicosídica, y el de m/z 533 (8%) que corresponde a la pérdida de la cadena lateral del extremo no reductor, y que es diagnóstico de la presencia de un anillo furanósico. El pico base del espectro, m/z 169, se ha atribuido a la pérdida de dos moléculas de ácido acético y una de cetena del ión m/z 317¹²¹, y el pico a m/z 317 (6%) provendría de m/z 533 por pérdida del fragmento de masa 216.

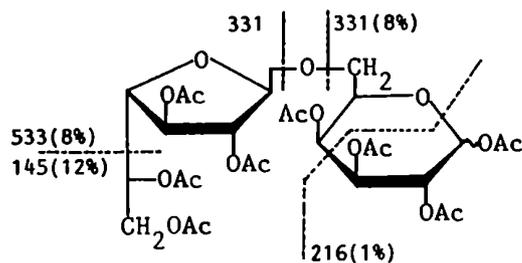


Figura 19. Fragmentaciones primarias y abundancias relativas observadas en el E.M. de 72.

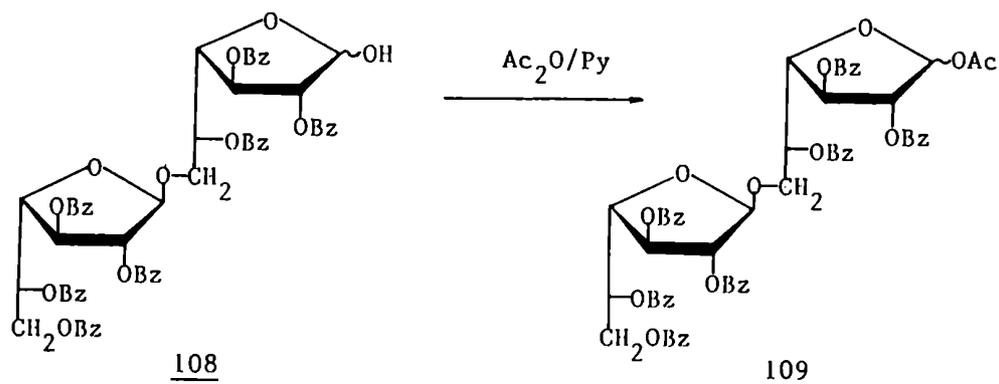
La ruta sintética aquí desarrollada para la preparación del disacárido 16, resulta considerablemente más sencilla que la descrita por Jaquinet y Sinay⁷³, mediante el método del ortoéster, y que se describiera en el Capítulo II.

Síntesis de Metil 6-O-β-D-Galactofuranosil-β-D-Galactofuranósido (112).

La 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (108) es un intermediario útil para la síntesis de un glicósido con dos unidades de galactofuranosa. Dado que por O-desbenzoilación de 108 se obtiene el disacárido β-D-Galf-(1→6)-D-Gal (16), cuyo extremo reductor se encuentra en configuración piranósica, si se desea obtener un disacárido libre difuranósico, sería necesario glicosidar el C-1 de 108 antes de la O-desbenzoilación, para conservar la configuración de los dos anillos. La síntesis de un disacárido β(1→6) con dos unidades de D-galactofuranosa, sería un modelo interesante, ya que en los glicoconjugados de donde se aisló el disacárido 16^{43,45}, el extremo reductor probablemente se encontraba en configuración furanósica, y al liberarlo se reordenó al anillo de seis miembros. Mas aún, Mc Neil y col.⁴⁶ demostraron que en los arabinogalactanos de Micobacterium tuberculosis y M. Leprae la D-galactosa se encuentra exclusivamente en configuración furanósica.

Dado que SnCl₄ promueve eficientemente la formación de enlaces glicosídicos, se consideró que también sería de utilidad para metilar el HO-1 de 108. Como para esta reacción se requería un derivado peracilado del azúcar, se acetiló dicho hidroxilo por tratamiento con Ac₂O/Py. La 1-O-acetil-2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-

(2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (109) así obtenida, se encontraba mayoritariamente en configuración β , de acuerdo a su espectro de R.M.N.- ^1H . Para el H-1 se observaron dos señales en relación 5:1, un singulete ancho a 6,48 p.p.m. ($J_{1,2} = 1,0$ Hz) que se asignó al anómero β , y un doblete a δ 6,60 ($J_{1,2} = 1,2$ Hz) correspondiente al anómero α . La señal de H-1' se observó a campos más altos, δ 5,39 ($J_{1',2'} < 1,0$ Hz).



En el espectro de R.M.N.- ^{13}C de 109 (Fig 20) se observaron, para el anómero β , las señales de C-1' y C-1 a 105,5 y 99,4 p.p.m., respectivamente. El resto de las señales, como ya se describió para 108, aparecen en cuatro grupos, correspondientes a C-2,2',4,4', C-3,3', C-5,5' y C-6,6', dada la similitud entre las dos unidades del disacàrido. El C-1 del anómero α aparecía a 93,5 p.p.m., y al igual que el valor del anómero β , concuerda con los desplazamientos observados para derivados per-O-benzoilados de D-Galf (α : 94,3 p.p.m., β : 99,8 p.p.m. ¹¹⁰).

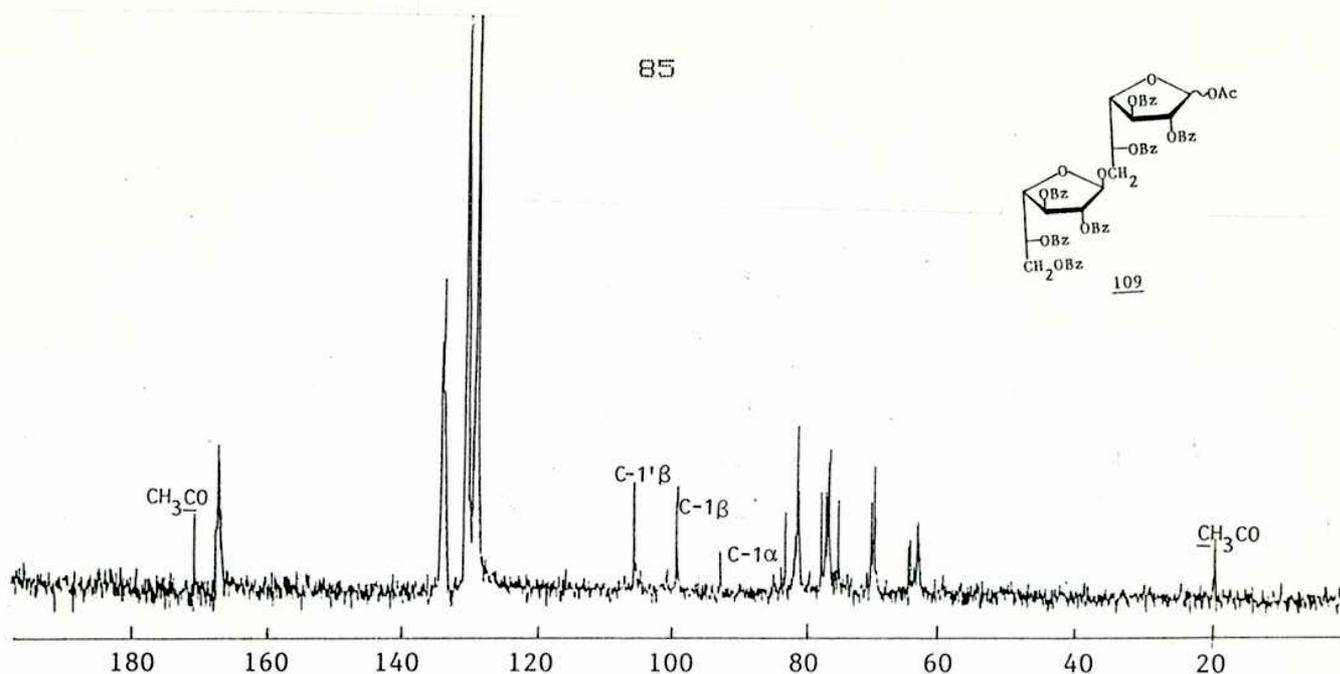
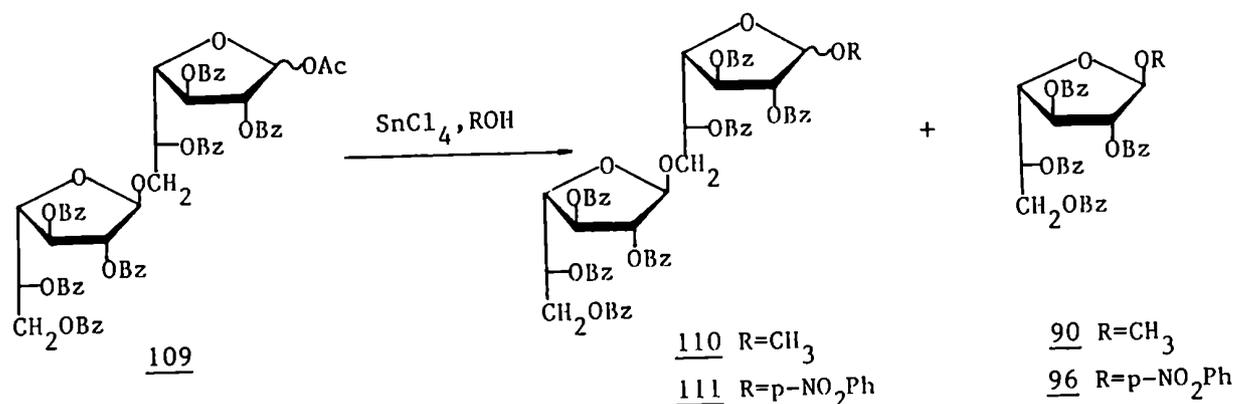


Figura 20. Espectro de R.M.N.- ^{13}C de 1-O-acetil-2,3,5-tetra-O-benzoil-6-O-(2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (109).

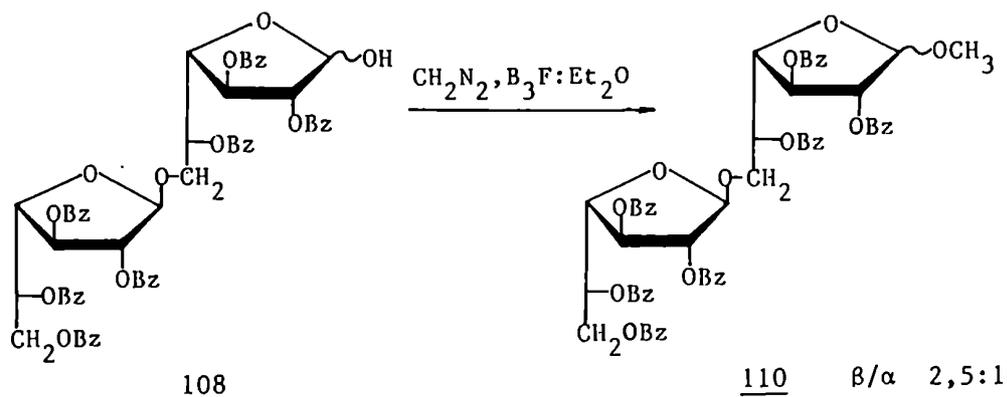
Cuando una solución de 109 en Cl_2CH_2 anhidro se trató con SnCl_4^{86} , a 0°C , posteriormente se agregó MeOH y se continuó la agitación a temperatura ambiente, se detectó la formación inicial de un producto de mayor movilidad (R_f 0,46, sv 3) que el compuesto de partida (R_f 0,42). Sin embargo, antes de que la reacción se completara, se observaba por c.c.d. la formación de varios productos, uno de los cuales tenía la misma movilidad que un testigo del metil glicósido 90 (R_f 0,52) y cuya proporción aumentaba con el tiempo. Del mismo modo al intentar preparar el p-nitrofenil derivado de 108 (111), se observaba la formación del glicósido 96. Evidentemente el SnCl_4 promovía la hidrólisis de la unión glicosídica. Manteniendo la temperatura a 0° , y

controlando estrictamente el tiempo de la reacción, aún a expensas de que quedara compuesto de partida sin reaccionar, se lograba disminuir la formación de los glicósidos **90** y **96**, pero luego de purificar por cromatografía en columna el producto crudo de las condensaciones, los glicósidos del disacárido **108** se obtenían con un rendimiento inferior al 10%.



Este resultado nos llevó a probar otros procedimientos de glicosidación. Una alternativa posible era la metilación del HO-1 de **108** con diazometano catalizada por $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ ¹⁰⁸, que se había utilizado previamente para la preparación de **90**. Así, a una solución de **108** en la mínima cantidad de Cl_2CH_2 y en presencia de trazas de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, se agregaron sucesivas alícuotas de $\text{CH}_2\text{N}_2/\text{Cl}_2\text{CH}_2$ hasta que por c.c.d. se verificó la desaparición del compuesto de partida. Por cromatografía en columna se aisló el producto de R_f 0,46 (sv 3), el cual se caracterizó, en base a sus propiedades físicas y espectroscópicas, como metil 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-

galactofuranosil)-D-galactofuranósido (110) con 77% de rendimiento. Los espectros de R.M.N.- ^1H y ^{13}C mostraron que se trataba de una mezcla anomérica β/α en relación 2,5:1, que no pudo separarse por cromatografía en columna.



El espectro de R.M.N.- ^1H de 110 (Figura 21) resultó similar a los de 108 y 109. La señal de H-1 (δ 5,15) era análoga a la observada para 90, y la de H-1' a δ 5,43 se correspondía con la señal anomérica del disacárido lactónico 108, y presentaban en ambos casos, constantes de acoplamiento ($J_{1,2} \sim J_{1',2'} < 1,0$ Hz) consistentes con la configuración β^{104} . Los H-6a,6b se encuentran más protegidos que los H-6'a,6'b y formando parte de un sistema más resuelto, como se había observado para 108, debido a que el C-6 está involucrado en la unión glicosídica. El CH_3O resonaba a 3,41 p.p.m.

En el espectro de R.M.N.- ^{13}C 110 (Figura 21) el anómero β mostró las señales de C-1 y C-1' a 106,8 y 105,8 p.p.m., valores similares a los de C-1 de 90 y C-1' de 108. Para el anómero α , el C-1' aparecía en la misma región (105,2 p.p.m.) y

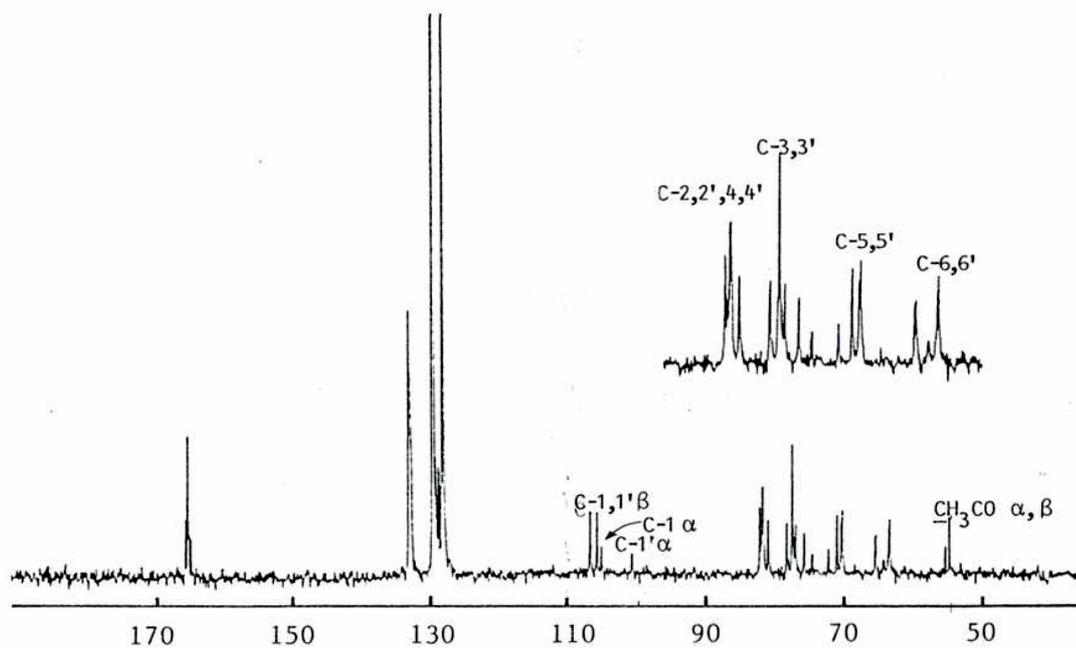
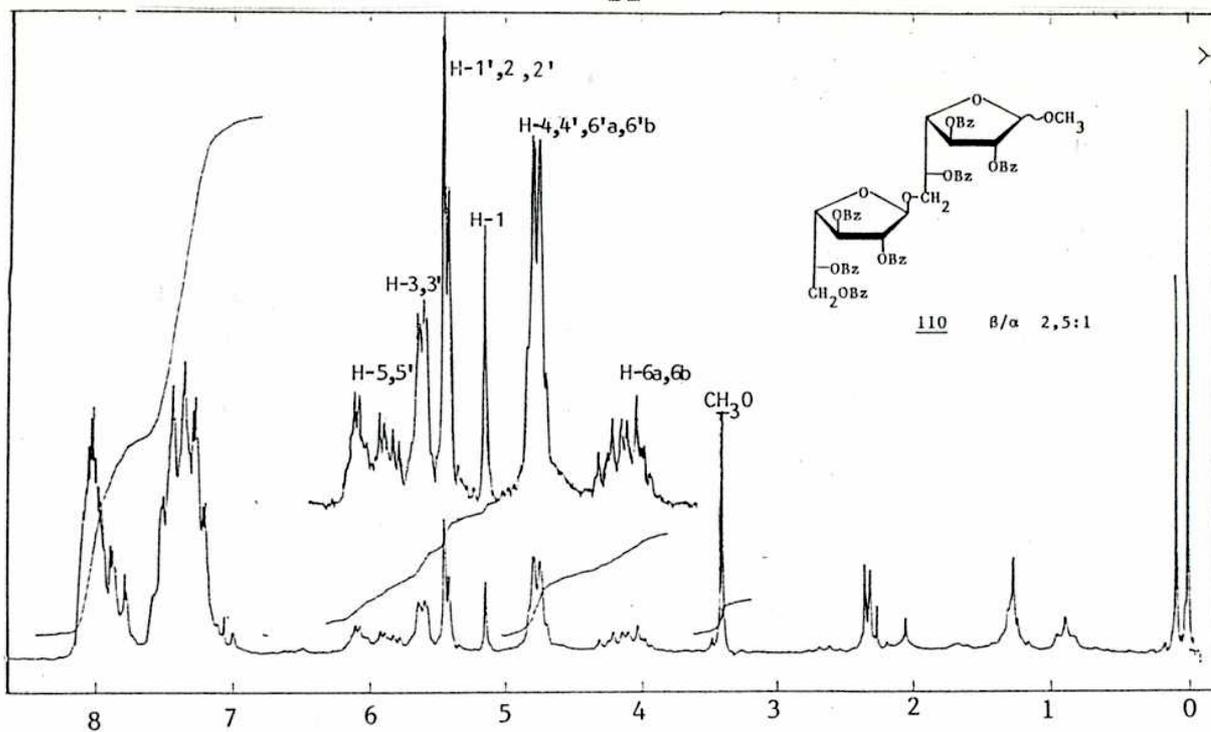
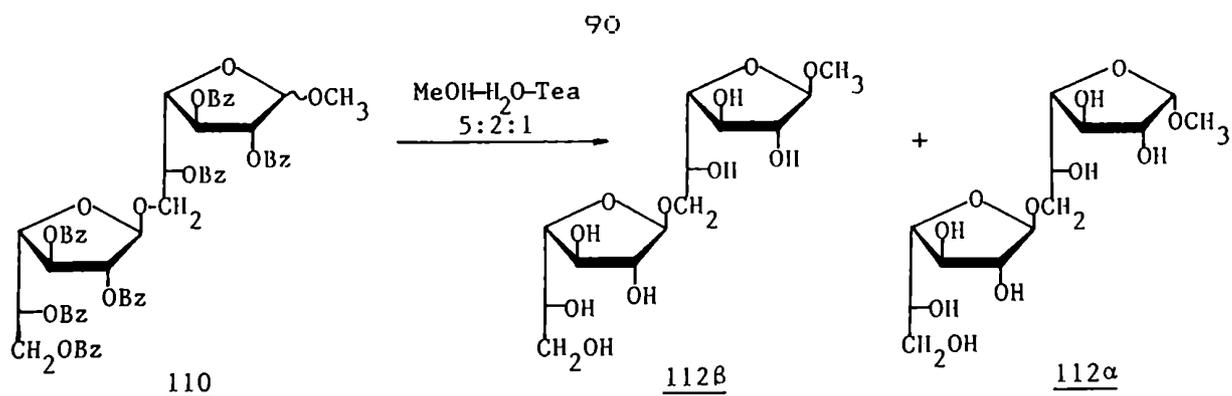


Figura 21. Espectros de R.M.N.- ^1H y R.M.N.- ^{13}C del metil 2,3,5-tri-*O*-benzoil-6-*O*-(2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranósido (110).

el C-1 se desplazaba hacia campos más altos (100,9 p.p.m.), comparable con el valor observado para α -galactofuranósidos¹¹¹. Las señales del CH_2O de cada anómero aparecían bien diferenciadas a δ 55,5 en el α y 54,9 en el β .

La O-desbenzoilación de 110 conduciría al metil glicósido del disacàrido con las dos unidades de galactosa en configuración furanósica. Por tratamiento de 110 con NaMeO/MeOH se observaba, en la etapa de neutralización con resina àcida, la formación de galactosa por hidrólisis parcial de la unión glicosídica, como ya se describió para el disacàrido 16. Esta degradación se atribuyó a la resina coloidal que quedaría aún después la filtración. Se decidió entonces, utilizar un método de desacilación que obviara el tratamiento con resinas. Para la hidrólisis de los benzoatos se empleó una solución de MeOH-H₂O-TEA (5:2:1) y a modo de ensayo, se aplicó la reacción al glicósido 90, el cual se reflujoó en dicha mezcla durante 1 h, obteniéndose el metil β -D-galactofuranósido (5) con buen rendimiento. Para la desbenzoilación de 110 se prefirió realizar el tratamiento en un recipiente cerrado y calentar sólo esporàdicamente para favorecer la disolución. Luego de aproximadamente 10 h el compuesto de partida se había consumido totalmente y por c.c.d. se observaron dos manchas que se atribuyeron a los anómeros α y β del metil 6-O-(β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranósido (112), que dió un análisis elemental de C e H correcto. En el espectro de R.M.N.-¹³C (Fig 22) de la mezcla anomérica de 112 se observaron para el anomero β , las señales de C-1 y C-1' a δ 109,7 y



109,4, y la del CH_2O a 56,6 p.p.m.. Entre estas señales se ubican todas las restantes, agrupándose o superponiéndose, en algunos casos, aquellas de los carbonos análogos de cada anillo furanósico (Tabla V). Para el anómero 112α, la señal de C-1' se superpone con una de las señales anoméricas de 112β y la de C-1 aparece a 103,6 p.p.m. Esta señal, al igual que la de los restantes carbonos de la unidad de configuración α, coincide con los valores asignados al metil α-D-galactofuranósido (5α)¹¹¹ (Tabla V). Por cromatografía flash en columna de sílica gel, se aisló el componente mayoritario de la mezcla de O-desbenzoylación de 110, que se caracterizó como el anómero β (112 β), $[\alpha]_D^{20} -90^\circ$ (c, 0,5, agua). El espectro de R.M.N.-¹H de 112β en D₂O mostró para los H-anoméricos, dos singuletes anchos a 5,08 y 4,95 p.p.m.

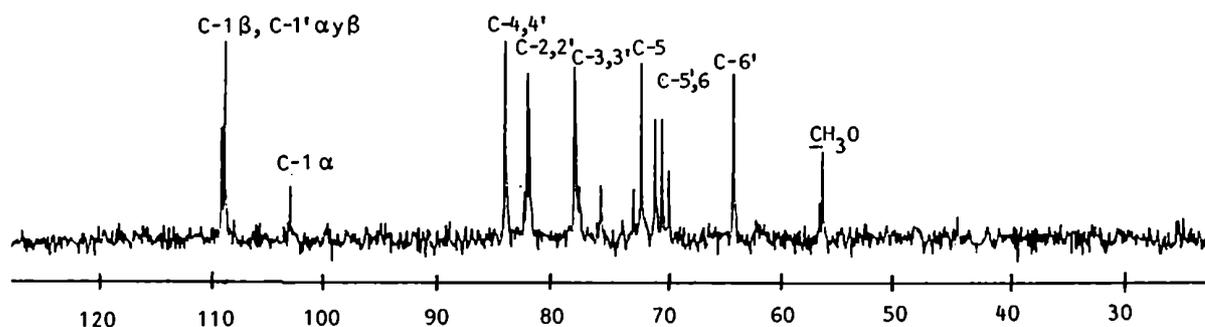


Figura 22. Espectro de R.M.N.-¹³C de 112.

Tabla V. Datos de R.M.N.- ^{13}C de los anómeros de metil D-galactofuranósido (5β y 5α) y metil 6-O-(β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranósido (112β y 112α).

Comp.	δ , ppm						
	C-1,1'	C-2,2'	C-3,3'	C-4,4'	C-5,5'	C-6,6'	CH_2O
<u>5β</u>	109,9	81,6	77,5	83,8	71,8	63,6	55,8
<u>5α</u>	103,8	78,2	76,2	83,1	74,5	64,1	57,2
<u>112β</u>	109,4	82,7	78,5	84,7	71,3	64,4	56,6
	109,7	82,4	78,4	84,6	72,5	70,7	
<u>112α</u>	103,6	78,0	76,1	83,0	73,2	70,1	56,8
	109,4						

El espectro de masa del trimetilsilil derivado de 112 también avalaba la estructura propuesta. A valores de m/z menores se observaron los iones característicos de este tipo de derivados: m/z 217 (90,6%), 103 (43%) y 73 (59%)^{119, 120, 123}. En la Figura 23 se observan las principales rupturas primarias y las intensidades relativas. A partir del ión m/z 451 y por pérdida de una o dos moléculas de TMSOH se forman respectivamente los iones 361 (12%) y 271 (73%). En disacáridos con el extremo reductor en configuración furanósica, el ión m/z 583 es muy significativo. En nuestro caso, no se pudieron observar iones mayores que m/z 550. La gran intensidad del ión 205 (70%) confirma la presencia de al

menos un anillo furanósico. El ión m/z 319 (100%) se ha postulado^{1,23} que proviene de $\text{TMSO}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}(\text{OTMS})-\text{CH}-\text{OTMS}$ y también es característico de especies furanósicas y el de m/z 332 (67%) se formaría a partir de m/z 422 por pérdida de TMSOH ^{1,23}.

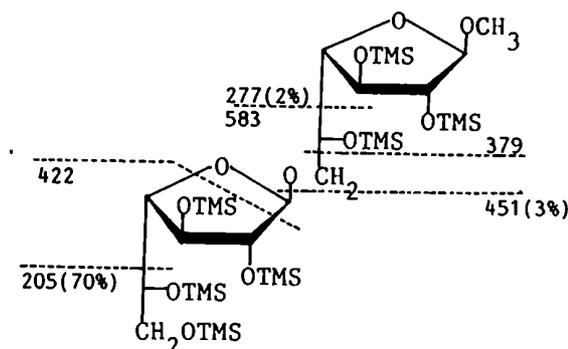


Figura 23. Fragmentaciones primarias y abundancias relativas observadas en el E.M. del TMS-derivado de 112.

El metil glicósido 112, constituye un análogo sintético de la unidad terminal de los arabinogalactanos inmunogénicos de Mycobacterium tuberculosis y M. leprae^{63,65}, por lo que consideramos que su caracterización espectroscópica y su disponibilidad a través de una ruta sencilla como la que hemos desarrollado, constituyen un aporte para la investigación de los mecanismos de infección.

Obtención de β -D-Galactofuranosil-(1 \rightarrow 1)- β -D-Galactofuranósido (114)

En la reacción de condensación de penta-O-benzoil-D-galactofuranosa (91) con las lactonas 102 o 103, catalizada por SnCl₄, se observó la formación de un producto secundario cuya proporción aumentaba cuando el medio de reacción no era estrictamente anhidro. Esto sugería que probablemente se hidrolizaba el benzoato anomérico y se formaba la 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-D-galactofuranosa (89). Sin embargo, el espectro de R.M.N.-¹H (Fig 24) del subproducto (113), que era similar al del metil glicósido 90 (Tabla VI), mostraba una señal anomérica a δ 5,77 ($J_{1,2} < 1,0$ Hz), y ésta junto con las constantes de acoplamiento del resto de los protones, indicaban la presencia de un sistema furanósico de configuración β^{106} . Aparentemente el C-anomérico se encontraba glicosidado, ya que no se observaba la señal del HO-1. Se supuso entonces, que se había formado un disacárido no reductor, por condensación de dos unidades de 89 a través de una unión β, β' (1 \rightarrow 1'). En efecto, el producto se caracterizó en base a su espectro de R.M.N.-¹³C y al análisis elemental de C e H, como 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)- β -D-galactofuranósido (113).

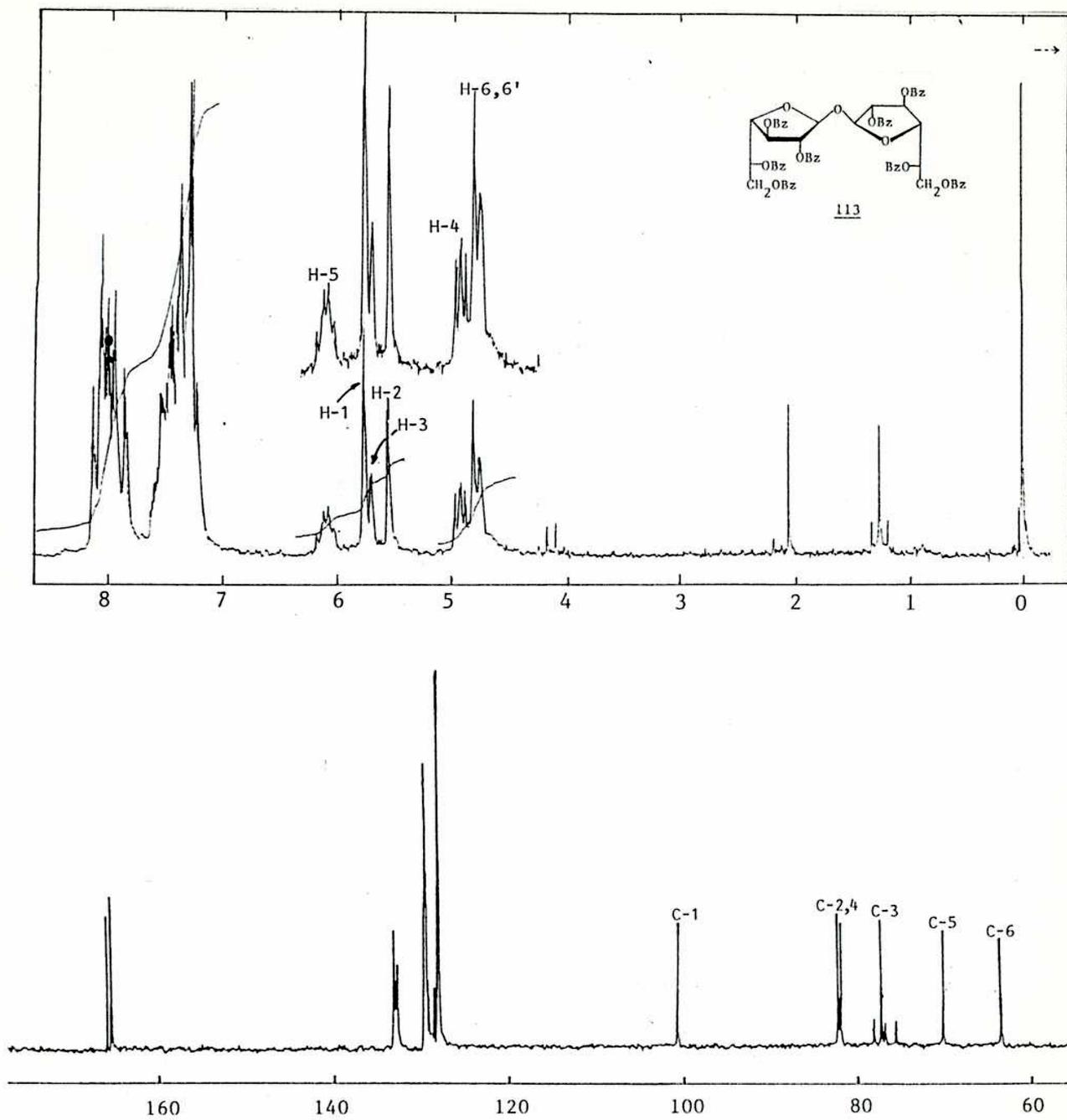


Figura 24. Espectros de R.M.N.- ^1H y R.M.N.- ^{13}C de 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)- β -D-galactofuranósido (113).

Tabla VI. Datos de R.M.N.-¹H del metil 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranósido (90) y 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-(1→1)-β-D-galactofuranósido (113).

Comp	δ, p.p.m. J, Hz					
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6
90	5,20 (<1,0)	5,46 (1,1)	5,62 (5,4)	4,65	6,06	4,77
113	5,77 (<1,0)	5,56 (1,0)	5,73 (4,9)	4,92	6,10	4,78

El espectro de R.M.N.-¹³C de 113 (Fig 24) era similar al del metil glicósido 90 (Tabla VII) y la única señal que se modificaba era la de los C-anoméricos, desplazada en 5,8 p.p.m. hacia campos más altos (δ 100,9). Este valor es similar al que se había encontrado para disacáridos análogos¹⁰³. Por otra parte, la observación de solamente seis señales correspondientes a carbonos del azúcar, era una indicación de la simetría del producto.

Kuhn y Wartburg¹²⁴ describieron la glicosidación de azúca-

res piranósicos con el HO-1 libre y alcoholes secundarios o ben-
cíclicos en presencia de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$. Dyong y col.¹²⁸ estudia-
ron detalladamente la reacción, y encontraron que cuando se apli-
caba a furanosas acetiladas se obtenía el glicósido correspondien-
te a la expansión del anillo, y en ausencia del precursor de la
aglicona, se formaban disacáridos del tipo 1- \rightarrow 1 piranósicos. Jer-
roncic, Cirelli y Lederkremer¹⁰³ describieron la dimerización
de 2,5,6,7-tetra-O-benzoil-3-desoxi- β -D-glucopiranososa ca-
talizada por $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ o por SnCl_4 , que conducía al producto
de configuración furanósica $\beta, \beta' (1 \rightarrow 1')$, y el hecho de que no hu-
biera expansión del anillo se atribuyó a la menor tendencia del
grupo benzoilo a migrar.

En nuestro caso, el disacárido **113** se formaría a partir
del perbenzoato **91**, vía **89**, resultante de la hidrólisis del
grupo benzoilo de C-1 de **91**. Por condensación de **89** con el
ión benzooxonio **101** formado por acción del SnCl_4 a partir de
otra molécula de **91**, se obtendría **113**.

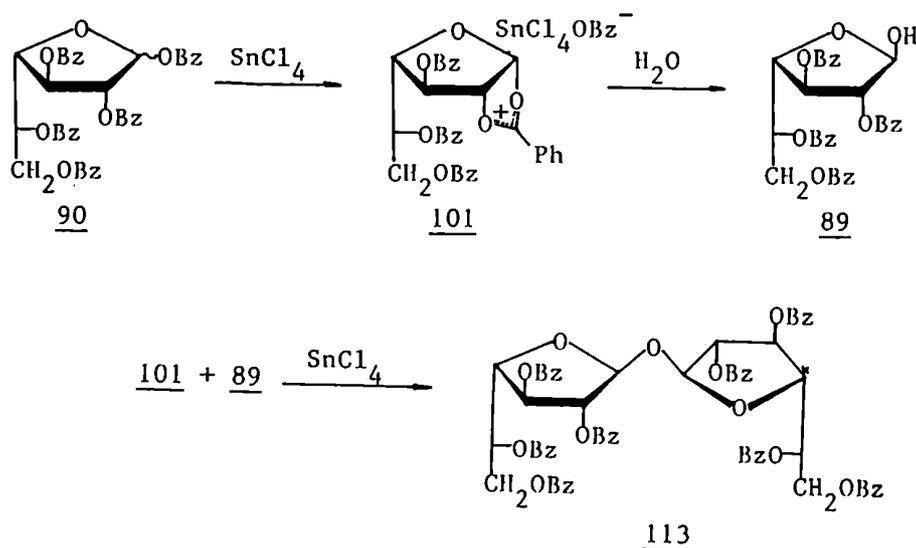


Tabla VII. Datos de R.M.N.- ^1H de metil 2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranósido (90) y 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-(1 \rightarrow 1)- β -D-galactofuranósido (113) y los correspondientes glicósidos libres 5 y 114.

Comp	δ , p.p.m. J, Hz					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
90	106,7	81,1	77,6	82,0	70,2	63,4
113	100,9	82,3*	77,3	82,4*	70,2	63,6
5	109,0	81,6	77,5	83,8	71,8	63,6
114	104,8	82,4	78,1	84,6	72,1	64,0

* Las señales pueden estar intercambiadas.

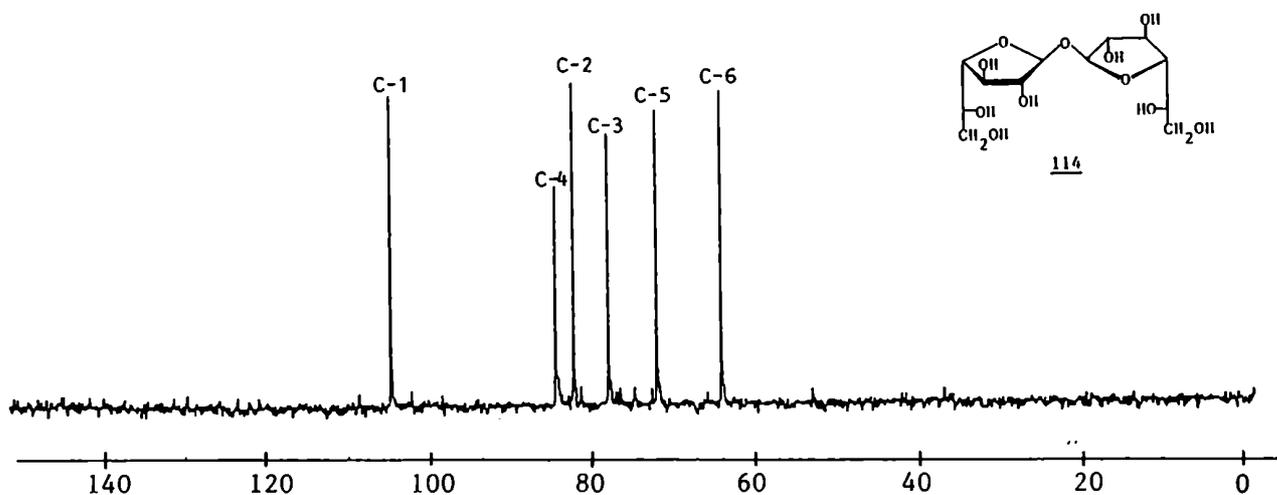


Figura 25. Espectro de R.M.N.- ^{13}C ($\text{D}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}$) de 114.

La hidrólisis ácida de **114** constituye una comprobación adicional de su estructura. En efecto, cuando se trató **114** con DCI 2M en D₂O a temperatura ambiente y se siguió la reacción por R.M.N.-¹H, se observó la disminución gradual de la señal a δ 5,20 y la aparición de dos dobletes a δ 5,22 ($J_{1,2}$ 3,0 Hz) y 4,56 ($J_{1,2}$ 7,6 Hz) correspondientes a las formas α y β -piranósicas de la D-galactosa¹²⁷.

En la Figura 25 se esquematizan las reacciones que permitieron obtener los disacáridos **16**, **112**, **114** y sus correspondientes derivados.

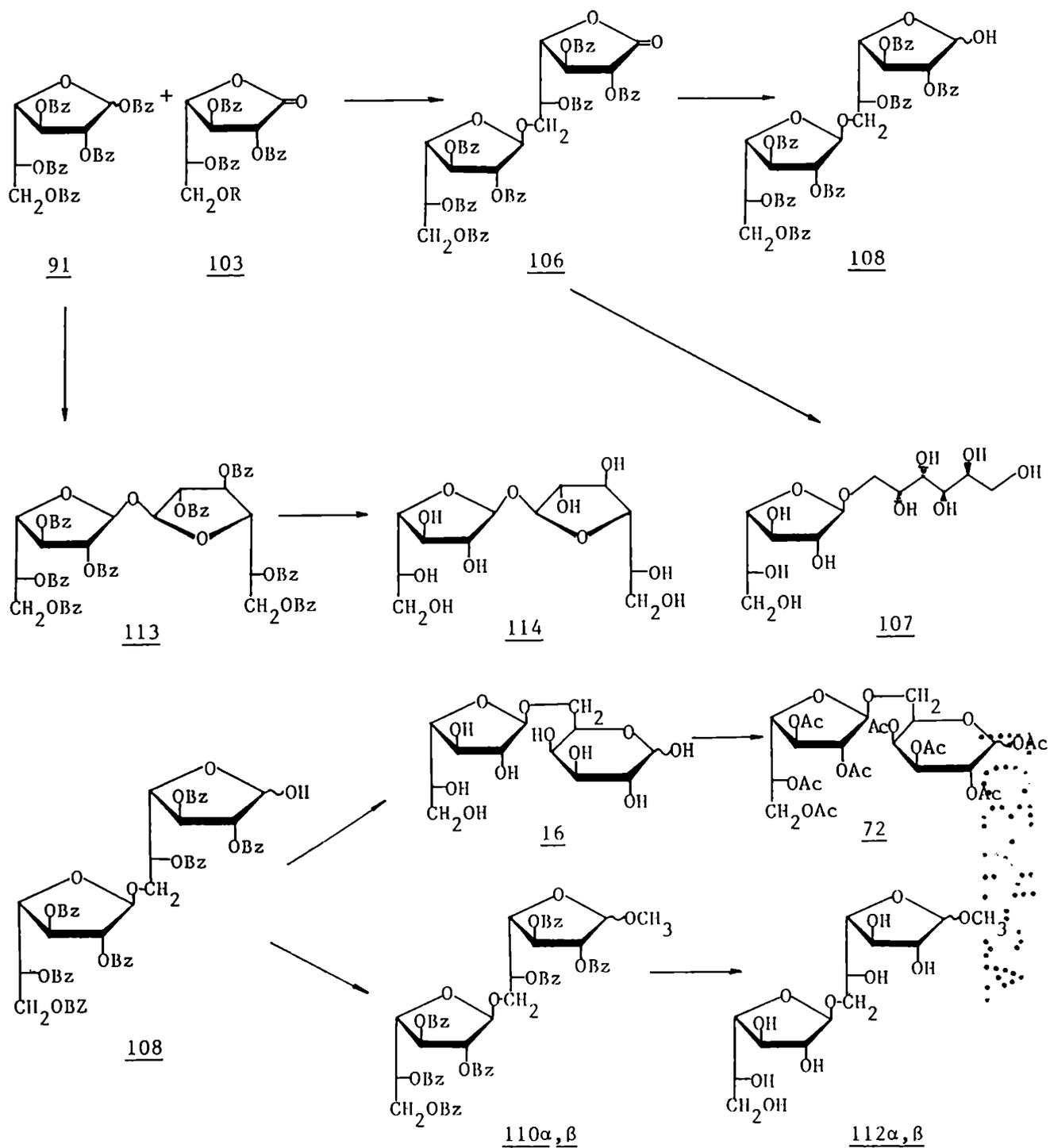
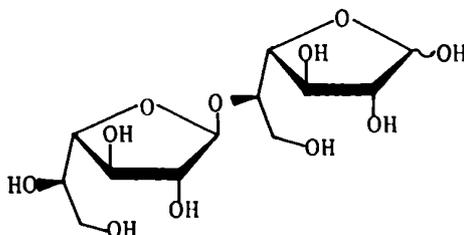


Figura 26. Ruta sintética para la obtención de los disacáridos 16, 112 y 114.

Síntesis de
5-O-β-D-Galactofuranosil-D-Galactofuranosa (1).

Residuos de galactosa furanósica unidas en forma β(1→5) entre sí, se han descrito en numerosos glicoconjugados de hongos, por ejemplo en Neurospora crassa^{20,27}, Helminthosporium sacchari²⁶ y en varias especies de Penicillium y Aspergillus²². En muchos casos se ha determinado que dichas unidades de galactosa son inmunodominantes^{11,10,23} o desempeñan otras funciones de defensa del parásito²⁷, como se describió en el Capítulo I.

Por estos motivos, y continuando con nuestro proyecto de síntesis de disacáridos, resultaba interesante el desarrollo de una estrategia eficiente para la preparación del disacárido 5-O-β-D-Galf-D-Galf (1):



1

Si bien en la literatura se encuentran descritos tres métodos para la preparación de 1 (Capítulo II), éstas presentan como desventaja común, la de utilizar como precursores del disacárido a compuestos que se obtienen a partir de varios pasos de síntesis, involucrando grupos protectores selectivos que perjudican el rendimiento global y hacen que la obtención de 1 sea larga y tediosa.

La aplicación de la metodología descrita para la síntesis del disacárido 112 (β 1 \rightarrow 6), a la obtención del disacárido 1, involucraría la preparación de un disacárido lactónico precursor, por condensación del perbenzoato 91 con un derivado convenientemente sustituido de D-galactono-1,4-lactona (87) con el HO-5 libre.

En este laboratorio se había estudiado^{1,20} la benzoilación selectiva de 87. Cuando se usaron 3,3 eq. molares cloruro de benzoilo en piridina, a 0°C, se obtuvo una mezcla compleja, cuyo producto mayoritario era la 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (88, 47%), aislándose también 2,5,6-tri-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (115, 24%), 2,3,6-tri-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (116, 15%) y 2,6-di-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (117, 14%, Figura 27).

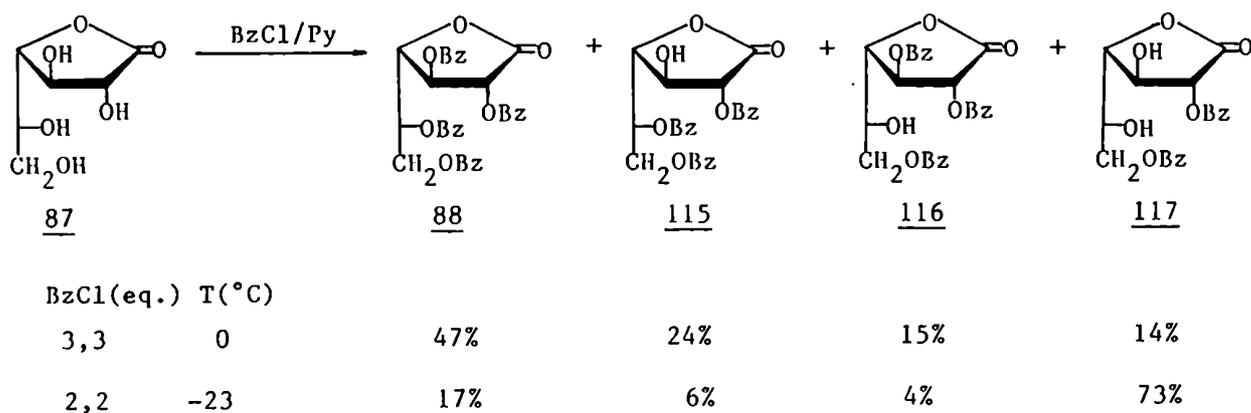
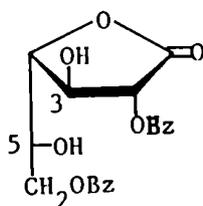


Figura 27. Benzoilación parcial de D-galactono-1,4-lactona.

Aunque 117 era un producto minoritario tenía la ventaja de que se aislaba cristalino del producto crudo de reacción por adición de éter etílico, mientras que el aislamiento de los otros componentes de la mezcla requerían purificaciones cromatográficas tediosas. Consideramos que 117 sería un intermediario adecuado para obtener, por condensación con el perbenzoato 91, una glicosil lactona precursora del disacárido 1. Si bien 117 tenía dos hidroxilos libres, HO-3 y HO-5, era de esperar que la glicosilación tuviera lugar preferentemente por el HO-5, exocíclico y por lo tanto menos impedido.



117

Para que la síntesis de 1 resultara efectiva era necesario mejorar el rendimiento de 117, variando las condiciones de benzoilación. Dado que este producto provenía de la acilación de los dos hidroxilos más reactivos de 87, el HO-6 primario, y el HO-2 activado por el efecto inductivo del grupo lactónico vecino, se realizó la benzoilación de 87 con 2,2 eq. de cloruro de benzoilo en piridina a -23°C (baño $\text{CO}_2/\text{Cl}_4\text{C}$). Luego de 4 h. de agitación, la mezcla se volcó sobre agua-hielo y el jarabe resultante se disolvió en acetona y se evaporó con tolueno para eliminar el agua y la piridina. Una nueva adición de tolueno condujo a

un producto cristalino, el cual se filtró (0,87 g, 60%) y mostró por c.c.d. el mismo R_f (0,14, sv 4) que una muestra auténtica del dibenzoato 117. Después de recrystalizar de etanol, también eran coincidentes las propiedades físicas y espectroscópicas. La precipitación con tolueno era un procedimiento alternativo al tratamiento con éter que se había utilizado anteriormente ¹²⁰ para el aislamiento de 117.

Por evaporación de las aguas madres de tolueno, se obtuvo un jarabe que por c.c.d. mostró cuatro productos principales de R_f 0,59, 0,43, 0,39 y 0,14 y trazas de un producto de R_f 0,62 cuya proporción aumentaba con el tiempo. Los productos de R_f 0,59 y 0,14 se correspondían con los testigos del tetrabenzoato 88 y el dibenzoato 117, y los de movilidad intermedia correspondían entonces a los productos tribenzoilados 115 y 116. El compuesto de R_f 0,62 sería probablemente un producto de eliminación.

El espectro de R.M.N.-¹³C de la mezcla en acetona-d₆ permitió cuantificar aproximadamente su composición por integración de las señales correspondientes al C-4 de cada lactona¹²⁷, pues se había comprobado que esto llevaba a resultados certeros ¹²⁸. Así la relación aproximada de 88:115:116:117 (δ_{C-4} 78,9, 79,7, 80,4 y 81,3 respectivamente) era 19:12:16:62. Teniendo en cuenta la masa de 117 separada por cristalización de tolueno, y la masa del jarabe obtenido por evaporación de las aguas madres, se estimó que la mezcla de reacción contenía 17% de 88, 6% de 115, 4% de 116 y 73% de 117 (Figura 27). Este cálculo se re-

alizó suponiendo que la lactona de partida **87** había reaccionado totalmente y que no se habían formado productos monobenzoilados.

La obtención del producto parcialmente sustituido **117** con buen rendimiento, en un solo paso de reacción, sin más purificación que una cristalización fraccionada, hacían de éste un buen compuesto de partida para la síntesis de **1**.

Por condensación de **91** con cantidades equimoleculares de **117**, catalizada por SnCl_4 , empleando $\text{Cl}_2\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{CN}$ 1:1 como solvente para mantener disuelto al dibenzoato **117**, se observó por c.c.d. la formación de un producto principal de R_f 0,22 y otro minoritario de R_f 0,43 (sv 3). Este último, se aisló por cromatografía en columna con 3% de rendimiento y se lo identificó como el producto de glicosidación de los dos hidroxilos libres de **117**, o sea la 2,6-di-O-benzoil-3,5-di-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (**119**) que se describirá posteriormente, dado que modificando las condiciones de reacción, se lo obtuvo como producto principal de la condensación.

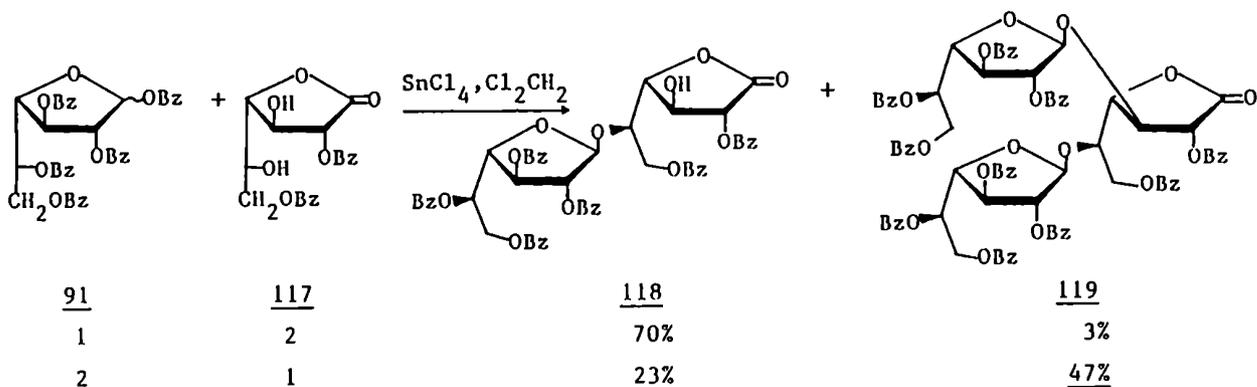


Figura 28. Condensación de **91** con **117**, mediada por SnCl_4 .

Otro producto muy minoritario de la reacción era, al igual que en la preparación de la glicosil lactona 106, el disacàrido (1-→1) 113. También aquí se logró minimizar su formación manteniendo el medio de reacción estrictamente anhidro.

Realizando la condensación de 91 con 2,0 equivalentes de 117 se incrementaba considerablemente la formación del producto de menor movilidad (R_f 0,22), el cual se aisló por cromatografía en columna con 70% de rendimiento. Este producto se caracterizó como 2,6-di-O-benzoil-5-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (118), en base a sus propiedades espectroscópicas y al análisis elemental de C e H.

El espectro de R.M.N.- ^1H (250 MHz) de 118 (Figura 29, Tabla VIII), se interpretó en base a una serie de irradiaciones selectivas homonucleares. Sin embargo la zona del espectro que involucraba a los H-1', 2, 2' y 3 resultaba muy compleja y fue necesario recurrir a una serie de desacoples heteronucleares, como se describe luego. Por comparación con el disacàrido lactónico (1-→6) 106, se observó similitud en las señales correspondientes a la unidad furanósica, por ejemplo la señal de H-1' aparecía también en este caso más protegida (δ 5,70) que la señal análoga del metil glicósido 90, y el valor de $J_{1',2'}$ 0,5 Hz indicaba una configuración β para el enlace glicosídico¹⁰⁶. En la unidad lactónica de 118, la ausencia del grupo benzoiloxi en C-3, provoca un desplazamiento a campos altos del H-3 y también de H-2 y H-4, respecto de las mismas señales de 106. La señal

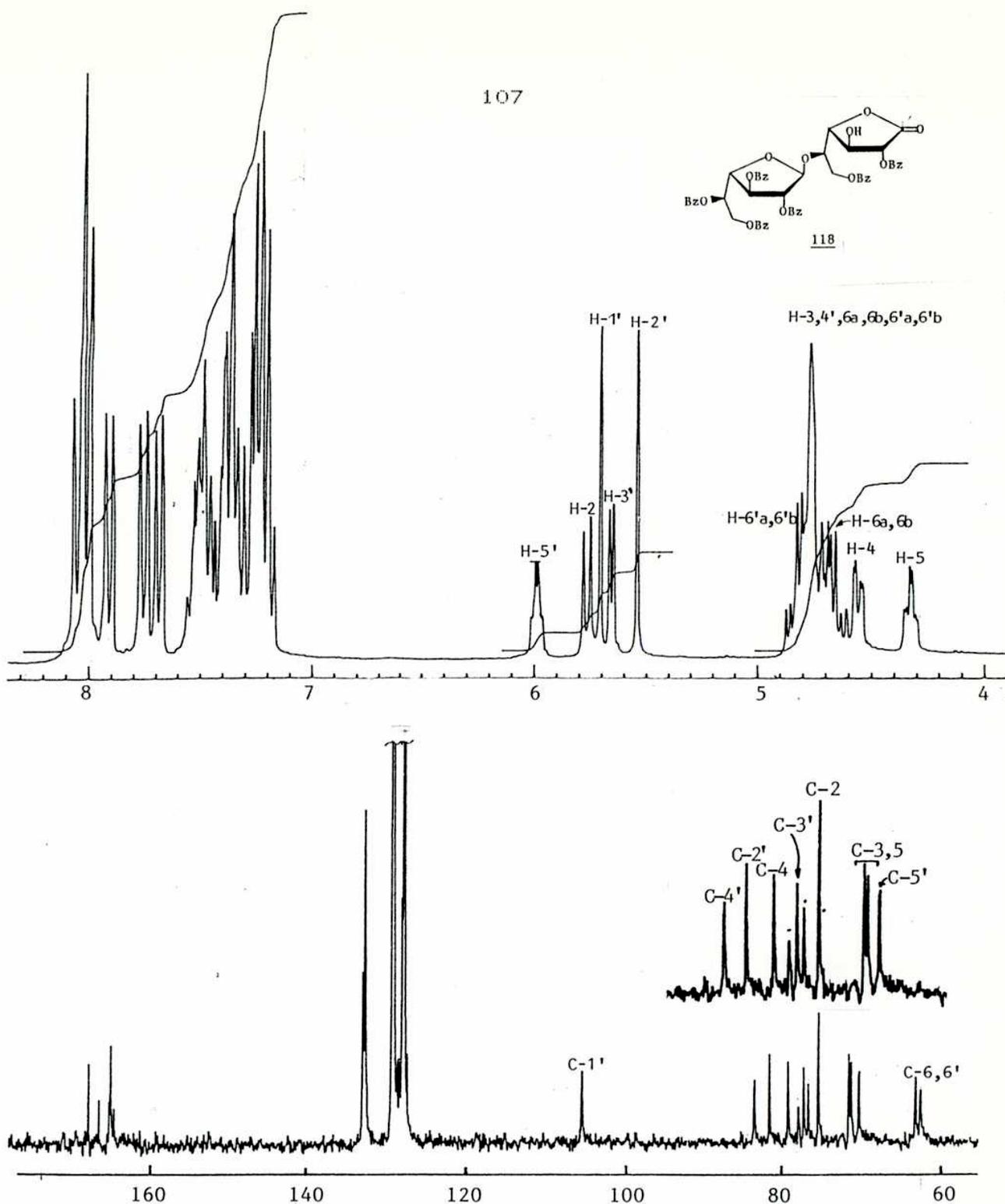


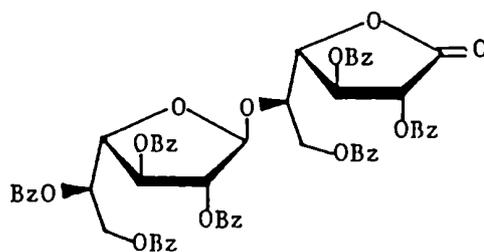
Figura 29. Espectros de R.M.N. ^{-1}H (250 MHz) y R.M.N. ^{-13}C de 2,6-di-O-benzoil-5-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofurano-sil)-D-galactono-1,4-lactona (118).

de H-5 (δ 4,32) es similar a la de la lactona de partida 117 pero resuena a campos más altos respecto del H-5 de 106, por el efecto del benzoato en C-5 en ésta última. El fenómeno inverso se observa al comparar las señales de los H-6 de los mismos compuestos.

En el espectro de R.M.N.- ^{13}C de 118 (Figura 29, Tabla IX) la señal de C-1' aparecía a 105,5 p.p.m., siendo ésta y las demás señales de la unidad furanósica, similares a las del metil glicósido 90. La comparación de las señales de la unidad lactónica de 118, con las de la lactona precursora 117, indica que la glicosidación ocurrió a través del HO-5, pues mientras que la señal de C-3 presenta δ similares en ambos compuestos, la de C-5 se desplaza 4,5 p.p.m. a campos más bajos y las de C-4 y C-6 a campos más altos en 118, lo cual concuerda con lo observado para la glicosidación de un dado hidroxilo de un monosacárido. Mediante un experimento de desacoples heteronucleares fue posible asignar las señales de los H-1', 2, 2' y 3. Cuando se irradió a 564 c.p.s., se intensificaron las señales de C-1' (δ 105,5), C-2' (δ 81,8) y C-3' (δ 77,5) (Tabla IX), lo que permitió, junto con la información obtenida a través de los desacoples homonucleares, asignar las señales a δ 5,70, 5,64 y 5,56 a H-1', 3' y 2, respectivamente. Al irradiar a 574 c.p.s., se intensificaron las señales de C-1' y de C-2 (δ 75,6) por lo cual, el doblete a 5,75 p.p.m. se asignó a H-2.

Con el objeto de contar con una confirmación espectroscópica

adicional del sitio de glicosidación (HO-3 o HO-5) se realizó la benzoilación del HO-3 de **118** con BzCl/Py en Cl_2CH_2 obteniéndose casi cuantitativamente la 2,3,6-tri-O-benzoil-5-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (**120**), como un producto cristalino (p.f. 87-88°C).



120

El espectro de R.M.N.- ^1H (200 MHz) de **120** (Figura 30, Tabla VIII) se pudo interpretar en base a un experimento bidimensional de correlación homonuclear (COSY). El desplazamiento de la señal de H-3 de **120** hacia campos bajos (δ 6,21), respecto del H-3 de **118** refleja la benzoilación de HO-3 y confirma que la glicosidación había ocurrido en el HO-5.

En el espectro de R.M.N.- ^{13}C de **120** (Figura 30, Tabla IX) también se observa el efecto de la benzoilación ^{13}C de HO-3 en el desplazamiento de la señal de C-3 hacia campos más bajos (δ 72,5) y las de los carbonos β (C-2 y 4) hacia campos más altos respecto de dichas señales en **118**.

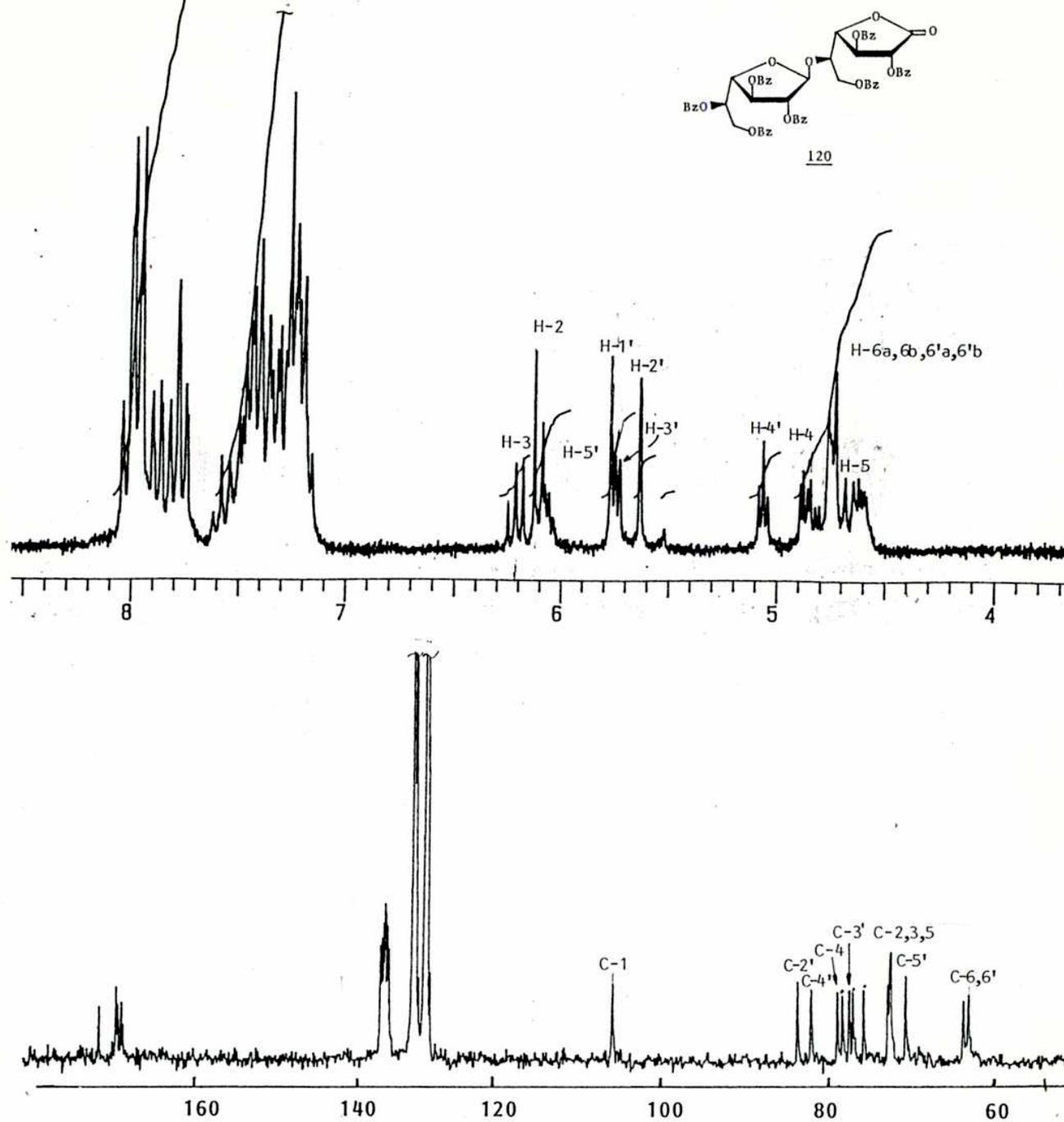


Figura 30. Espectros de R.M.N. ^1H (200 MHz) y R.M.N. ^{13}C de 2,3,6-tri-O-benzoil-5-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (120).

Tabla VIII. Datos de R.M.N.-¹H de los compuestos 90, 106, 117, 118, 120.

Comp.	δ , ppm. <i>J</i> , Hz										
	H-1' (<i>J</i> _{1',2'})	H-2' (<i>J</i> _{2',3'})	H-3' (<i>J</i> _{3',4'})	H-4'	H-5'	H-6'ab	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6ab
<u>90</u>	5,20 (<1,0)	5,46 (1,1)	5,62 (5,4)	4,65	6,06	4,76					
<u>117</u>							6,04	4,94	4,65	4,37	4,58 ^a
<u>106</u>	5,41	5,46	5,61	4,76 ^a	6,08	4,76 ^a	5,93	5,85	5,10	5,84	4,12
<u>118</u>	5,70 (<0,5)	5,56 (<0,5)	5,64 (4,4)	4,69 ^a	5,97	4,69 ^a	5,75	4,69 ^a	4,55	4,32	4,69 ^a
<u>120</u>	5,77*	5,64*	5,74	5,07	6,08	4,77 ^a	6,10	6,21	4,87	6,08	4,77 ^a

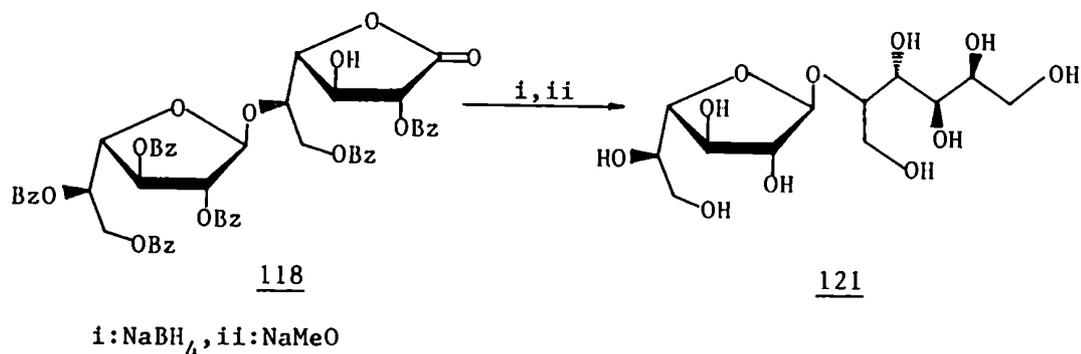
^aEl valor de δ corresponde al centro del multiplete. *Las señales pueden estar intercambiadas.

Tabla IX. Datos de R.M.N.-¹³C de los compuestos 90, 117, 118, 120.

Comp.	δ , ppm.										
	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
<u>90</u>	106,7	81,1	77,6	82,0	70,2	63,4					
<u>117</u>							76,2	71,8	81,3	67,3	66,1
<u>118</u>	105,5	81,8	77,5	83,7	70,5	63,4*	75,6	71,5	79,5	71,8	62,8*
<u>120</u>	105,7	81,9	77,4	83,5	70,6	63,7*	72,8*	72,5*	78,8	72,4	63,1*

*Las señales pueden estar intercambiadas.

La condensación de **91** con **117** para dar la glicosil lactona **118** ocurrió estereoselectivamente, formándose el enlace glicosídico de configuración β , y regioselectivamente, a través del HO-5 de **117**. Para confirmar químicamente estos resultados se preparó el alditol derivado de **118**. Por reducción de **118** con NaBH_4 y posterior tratamiento con NaMeO/MeOH , se obtuvo el 5-O- β -D-galactofuranosil-D-galactitol (**121**) como un producto cristalino con las mismas propiedades físicas que las del alditol resultante de la reducción del disacárido 1 natural⁴ y del obtenido por síntesis⁷⁴.



El espectro de R.M.N.- ^1H de **121** en D_2O mostró en la región anomérica una única señal a δ 5,33 correspondiente al H-1', cuyo valor de $J_{1',2'}$ 1,8 Hz, indicaba una configuración β -galactofuranósica¹⁰⁶.

En el espectro de R.M.N.- ^{13}C de **121** (Figura 31) se observó la señal anomérica a 109,2 p.p.m. y la de los C-2' y 4' a δ >80, confirmando nuevamente la configuración 1,2-trans. El resto de las señales se encontraban desplazadas a campos más altos, distinguiéndose las de los tres hidroximetilenos presentes en la molécula a δ 65,0, 64,5 y 63,4 (C-1,6,6').

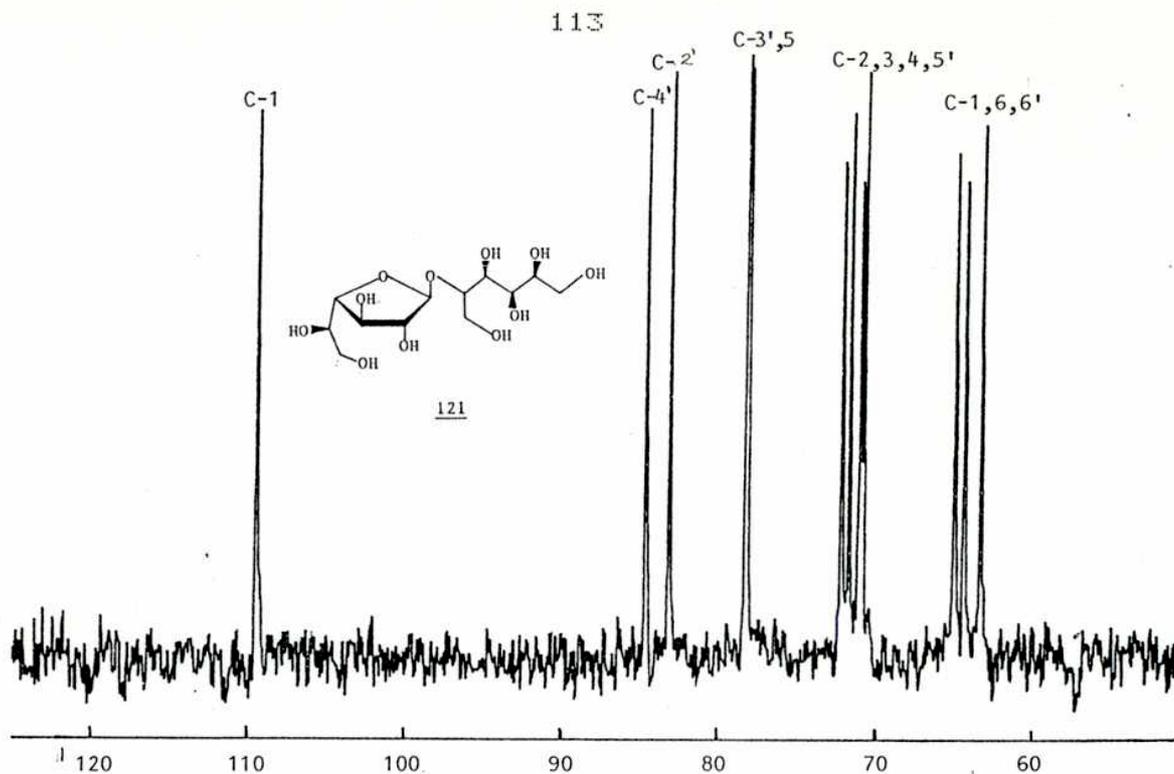
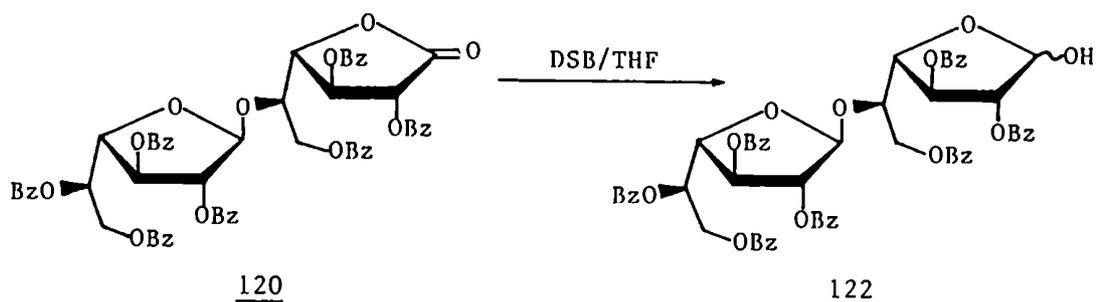


Figura 31. Espectro de R.M.N. ^{-13}C ($\text{D}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}$) del 5-O- β -D-galactofuranosil-D-galactitol (121).

El siguiente paso de síntesis de la 5-O- β -D-galactofuranosil-D-galactofuranosa (1) consistía en la reducción con diisobutilborano (DSB) del grupo lactónico de la glicosil lactona 118 o 120 al lactol correspondiente. Dado que los alcoholes se complejan con los boranos, el compuesto 118 con el HO-3 libre podría consumir parte del reactivo, por lo cual la reducción se realizó a partir del perbenzoato 120. Así, por tratamiento de 120 con DSB en THF se obtuvo la 2,3,6-tri-O-benzoil-5-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (122) con 87% de rendimiento, como una mezcla anomérica β : α en relación 1,8:1, estimada en base al espectro de R.M.N. ^{-13}C .

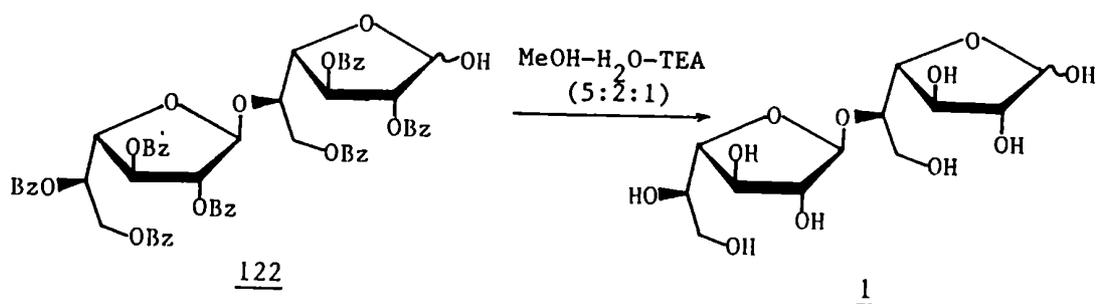


El espectro de R.M.N.- ^1H de 122 resultó como en el análogo 1- \rightarrow 6 (108), muy complejo debido a la superposición de señales de ambos anómeros. La señal correspondiente al H-1 del anómero β aparecía a δ 5,72 ($J_{1,2} < 1,0$ Hz), similar al desplazamiento químico del H-1 de 108.

Los espectros de R.M.N.- ^{13}C de 108 y 122 eran también similares. Las señales anoméricas de 122 aparecían a δ 105,3 (C-1') y 100,6 (C-1) para el anómero β , y a δ 105,9 (C-1') y 95,3 (C-1) para el anómero α . En la región comprendida entre 80,9 y 82,3 p.p.m. se observaban las señales correspondientes a C-2' y 4' de ambos anómeros, a C-2 y 4 del β y C-4 del α . La señal a δ 70,4, se asignó a los C-5 y 5' de ambos anómeros y las señales muy próximas comprendidas entre 64,4 y 63,6 p.p.m a los C-6 y 6'.

La O-desbenzoilación de 122 con una solución de MeOH-H $_2$ O-TEA, 5:2:1, a temperatura ambiente, condujo, sin degradación apreciable, a la 5-O- β -D-galactofuranosil-D-galactofurranosa (1), como una mezcla β : α , 5:4, según su espectro de R.M.N.- ^{13}C . El comportamiento cromatográfico de este producto y

su actividad óptica, $[\alpha]_D^{25} -64^\circ$ (c 1, agua), estaban de acuerdo con los datos descriptos para el disacárido natural aislado del hidrolizado de un polisacárido de Fenicillium charlesii⁴, y para el disacárido obtenido por síntesis^{74,75} (Capítulo II).



En el espectro de R.M.N.-¹H de **1** en D₂O se observó en la región anomérica un multiplete complejo comprendido entre 5,37 y 5,20 p.p.m., correspondiente a H-1 y 1' de ambos anómeros.

En el espectro de R.M.N.-¹³C de **1** (Figura 32) se asignaron las señales a δ 108,0 (C-1') y 102,0 (C-1) del anómero β , y a δ 107,7 (C-1') y 96,2 (C-1) del anómero α . Los desplazamientos observados para los C-1' están de acuerdo con las señales asignadas a los carbonos anoméricos involucrados en uniones β -(1 \rightarrow 5) intergalactosídicas en un D-galacto-D-manano de Aspergillus niger (δ 108,4)⁷⁶. El resto del espectro resultó muy complejo, como era de esperar, pero se distinguieron los grupos de señales que se indican en la Figura 32.

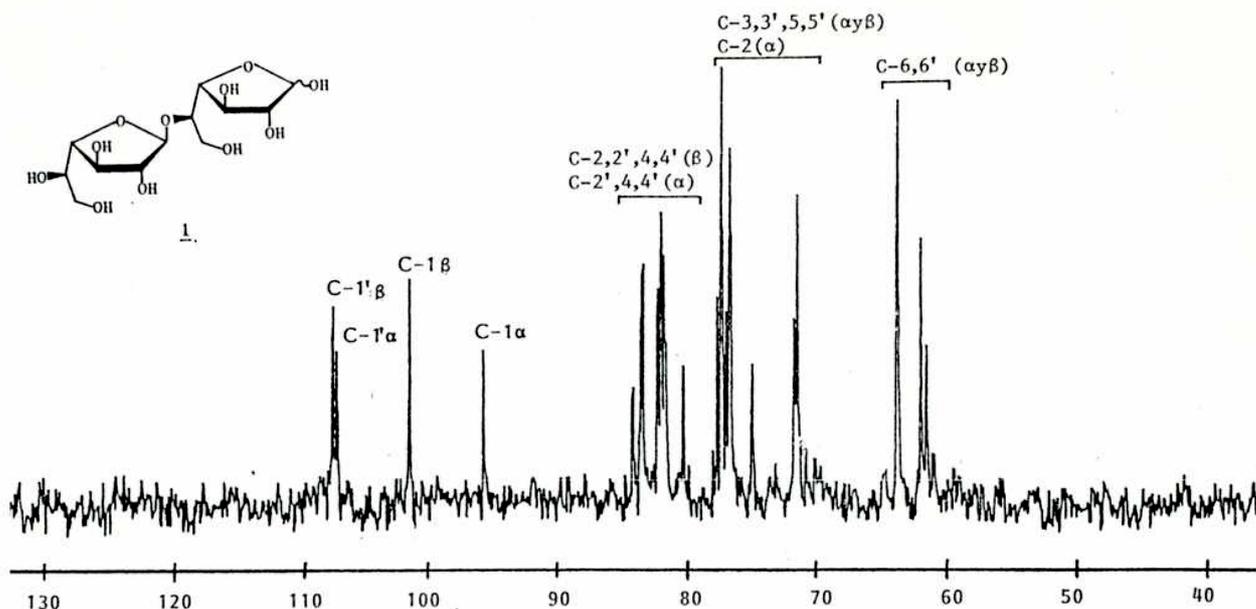


Figura 32. Espectro de R.M.N. $-^{13}\text{C}$ ($\text{D}_2\text{O}-\text{H}_2\text{O}$) de 5-O- β -D-galactofuranosil-D-galactofuranosa (1).

Una ventaja importante del proceso sintético empleado para la obtención del disacárido 1, es que los compuestos de partida, el perbenzoato furanósico 91 y la lactona parcialmente benzoilada 117, se preparan fácilmente mediante una sola reacción a partir de azúcares comerciales, y se purifican simplemente por cristalización fraccionada o por recristalización. Las rutas de síntesis descritas en la literatura^{74, 75, 76} (Capítulo II), en cambio, involucran varios pasos de protecciones y desprotecciones selectivas para obtener los precursores adecuados.

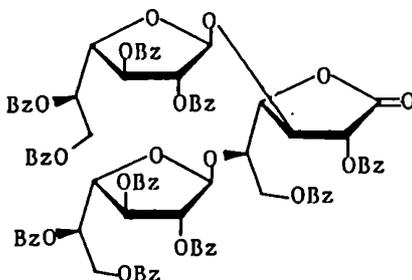
La síntesis del alditol 121 también resulta más sencilla que la propuesta por Vliegthart y col.⁷⁴, y además se completó su caracterización mediante su descripción espectroscópica.

Por otra parte, el compuesto 122, producto de la reducción con DSB de 106, constituye un derivado adecuado de 1, para la síntesis de productos de importancia biológica que lo involucren, como por ejemplo, el helminstosporósido, toxina producida por el Helminstosporium sacchari²⁶ (Capítulo I), o para acoplar al disacàrido 1 a una matriz proteica, con fines inmunológicos.

Síntesis de

3,5-di-O-β-D-Galactofuranosil-D-Galactofuranosa (124)

Anteriormente se describió que la condensación del perbenzoato **91** con la 2,6-di-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (**117**) catalizada por SnCl₄, conducía al disacárido lactónico **118** como producto principal (R_F 0,22, sv 3), y que se detectaba por c.c.d. la formación de un producto secundario de mayor movilidad cromatográfica (R_F 0,47). Se observó, además, que la proporción de este producto aumentaba con el tiempo de reacción, y si se utilizaba exceso del compuesto **91**. Estos hechos sugerían que luego de la glicosidación del HO-5 de **117** para dar **118**, ocurría la sustitución del HO-3, endocíclico, formándose una 3,5-di-glicosil lactona. La condensación de **117** con 2,0 eq. de **91** dió como producto principal el de R_F 0,47, el cual se aisló por purificación del crudo de reacción en columna de sílica gel, con 47% de rendimiento (Figura 28). Se recristalizó de etanol (p.f. 90-92°C) y se caracterizó como la 2,6-di-O-benzoil-3,5-di-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (**119**). El análisis elemental de C e H estaba de acuerdo con la estructura propuesta.



El espectro de R.M.N.- ^1H (250 MHz) de 119 (Figura 33) se interpretó en base a una serie de irradiaciones selectivas homonucleares. Las señales anoméricas, H-1' y H-1'', se observaron bien diferenciadas a 5,69 y 5,53 p.p.m. respectivamente, con valores de constantes de acoplamiento característicos de la configuración β^{104} . El resto de las señales de ambas unidades furanósicas presentaban desplazamientos químicos muy similares. Respecto de la mono-glicosil lactona 118, se observaba el desplazamiento hacia campos bajos de H-3 (δ 5,08) por efecto de la glicosidación, lo cual también se refleja en la desprotección que sufre el H-5 que aparece en la región de 4,82-4,53 p.p.m.

En el espectro de R.M.N.- ^{13}C de 119 (Figura 33), la señal correspondiente al carbonilo lactónico se observó a 168,1 y la de los C-1' y C-1'' a 106,5 y 106,0 p.p.m., comparables con la de C-1 del metil glicósido 90. El efecto de la glicosidación sobre el HO-3 también se manifiesta en el desplazamiento hacia campos más bajos ($\sim 1,5$ p.p.m.) de C-3 respecto de dicha señal en 118. El resto de las señales de los carbonos de las dos unidades β -galactofuranosídicas (C-2', 2'', 4', 4'', etc.) aparecían a valores de δ muy similares.

Se consideró la aplicación al trisacàrido lactónico 119 de la misma secuencia de recciones que se había aplicado a los disacàridos lactónicos (106 y 118), es decir, reducción con DSB y posterior desacilación, para dar un "trisacàrido ramificado" (124), producto particularmente interesante ya que estarían pre-

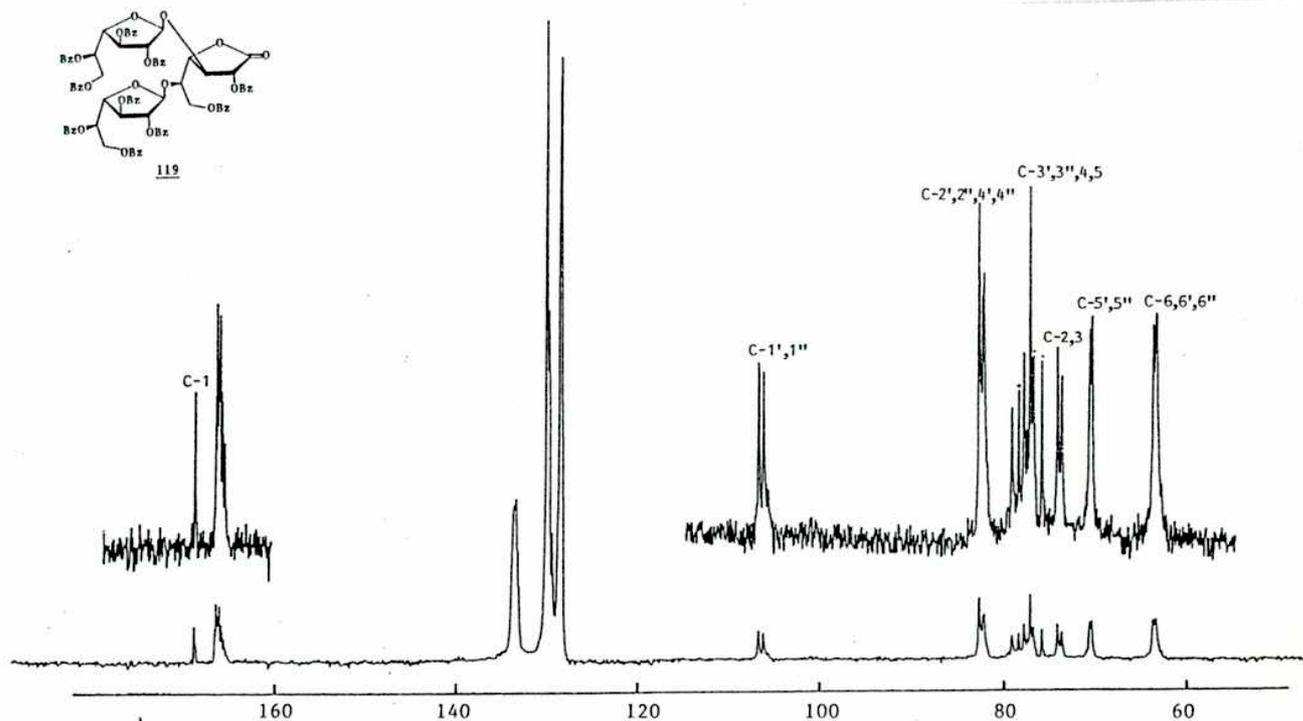
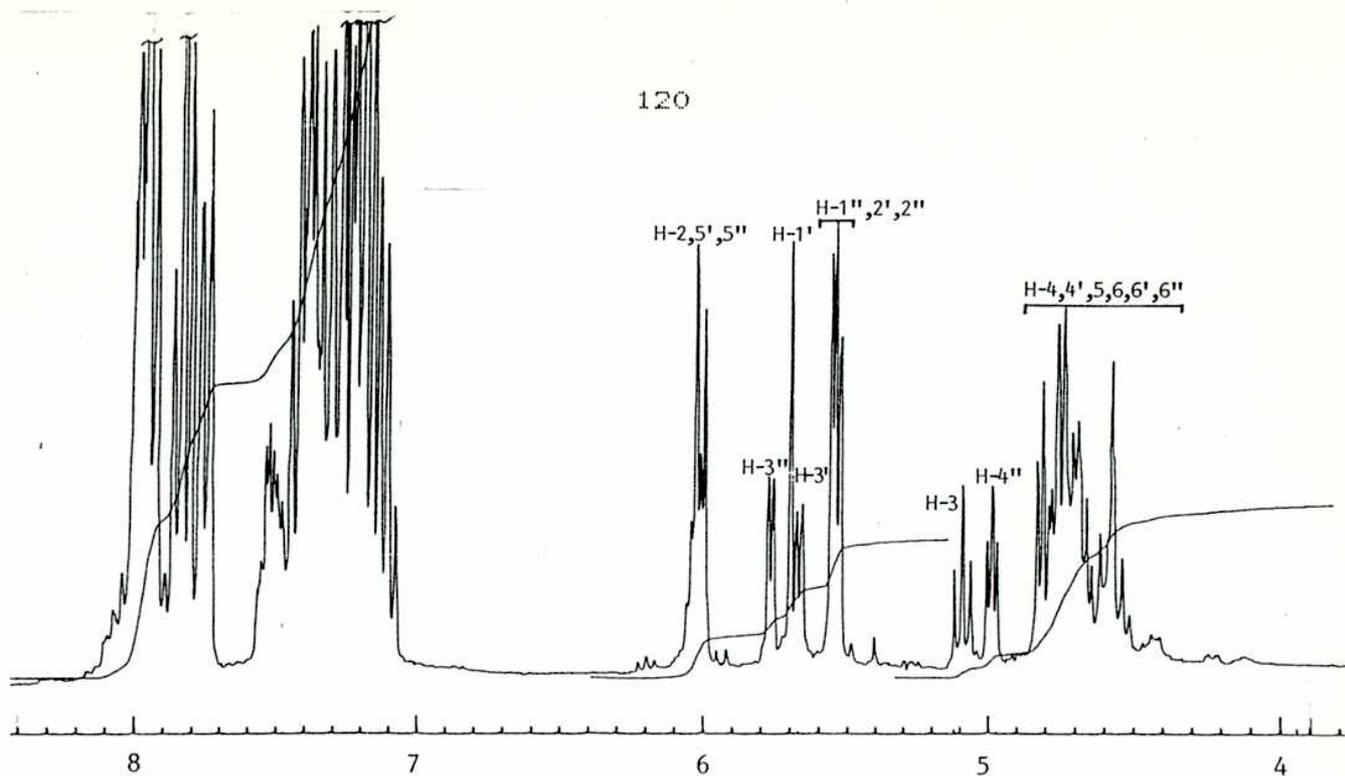
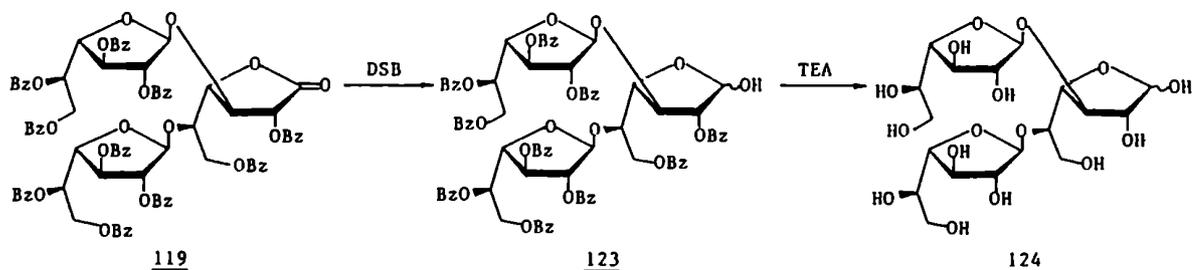


Figura 33. Espectros de R.M.N.- ^1H (250 MHz) y de R.M.N.- ^{13}C de 2,6-di-O-benzoil-3,5-di-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (119).

sentés las uniones galactofuranosídicas $\beta(1\rightarrow3)$ y $\beta(1\rightarrow5)$, simultáneamente en la misma molécula.

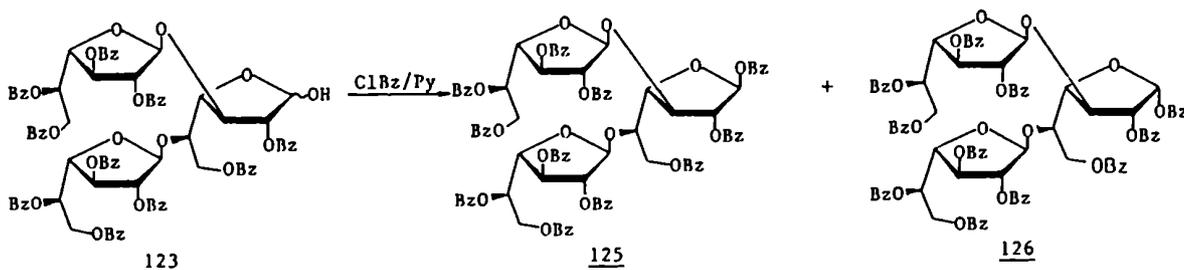


Si bien la reducción con DSB del carbonilo lactónico de **119** al lactol correspondiente, ocurría más lentamente que en el caso de los disacáridos lactónicos, resultaba igualmente efectiva, pues después de 48 h de reacción, se aisló por cromatografía en columna un producto cristalino (p.f. 87-89°C) que se caracterizó como la 2,6-di-O-benzoil-3,5-di-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (**123**), como una mezcla anomérica aproximadamente equimolecular, según se estimaba por su espectro de R.M.N.- ^{13}C .

El espectro de R.M.N.- ^1H de **123** era particularmente complejo debido a la superposición de señales de las tres unidades furanósicas de cada anómero. En el espectro de R.M.N.- ^{13}C de **123** se identificaron en la región anomérica las señales a δ 107,1, 106,8 y 106,3 correspondientes a C-1 del anómero β y C-1' y 1'' de ambos, y a δ 95,7 la del C-1 del anómero α .

Si bien el análisis elemental de C e H de **123** estaba de acuerdo con la estructura propuesta, la caracterización espec-

troscópica resultaba poco satisfactoria. Por esta razón se intentó la preparación de un derivado anoméricamente puro de 123, para lo cual se benzoiló el HO-1. El producto crudo de la reacción se purificó por cromatografía en columna, aislándose de una fracción de mayor movilidad (R_f 0,45, $sv3$), un compuesto que se identificó como 1,2,6-tri-O-benzoil-3,5-di-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)- β -D-galactofuranosa (125). De la fracción de menor movilidad (R_f 0,41, $sv3$) se obtuvo el anómero α (126). Ambos productos cristalizaron de etanol, y mostraron poderes rotatorios bien diferentes, $[\alpha]_D^{25} -21^\circ$ (c 1, cloroformo) para 125 y $[\alpha]_D^{25} +19^\circ$ (c 1, cloroformo) para 126.



Los espectros de R.M.N.- 1H de 125 y 126 se interpretaron parcialmente en base a experimentos bidimensionales de correlación homonuclear (COSY) y por comparación con el trisacárido lactónico 119. En el espectro de R.M.N.- 1H (200 MHz) de 125 (Figura 34) se observó la señal de H-1 a 6,68 p.p.m. con una constante de acoplamiento ($J_{1,2} < 0,5$ Hz) característica de sistemas furanósicos 1,2-trans. Se identificaron además las señales de los H-5' y 5'' superpuestas a δ 6,05, el H-1' a δ 5,91 también

con $J_{1,2}$ pequeño ($<0,5$ Hz) y la de H-2'a δ 5,53, con $J_{2,3}$ 1,3 Hz. El resto de las señales no se pudieron asignar individualmente, debido a que se encontraban muy superpuestas.

En el espectro de R.M.N.- ^{13}C de 125 (Figura 34) las señales correspondientes a C-1' y C-1'' se observaron a δ 105,6 y 105,3, y la de C-1 a 99,8 p.p.m., siendo este valor similar al informado para C-1 de penta-O-benzoil- β -D-galactofuranosa (91α) 110 . En la región comprendida entre 83,9 y 80,5 p.p.m. se observaron las señales que integraban en total para siete carbonos, correspondientes a los C-2 y 4 de los tres anillos furanósicos y superpuesta con éstas, la señal de C-3 de la unidad disustituída que se desprotege respecto de la de los C-3' y 3''. El mismo efecto se observa sobre C-5, que se desplaza a campos bajos respecto de C-5' y 5''.

En el espectro R.M.N.- ^1H (200 MHz) de 126 (Figura 35) también se interpretó en base a un experimento bidimensional de correlación homonuclear (COSY), en el cual se establecieron las conectividades a partir del H-1, que aparecía como un doblete a 6,82 p.p.m., con $J_{1,2}$ 4,6 Hz, siendo ambos valores similares a los descritos para 91α 110 . La señal de H-2 aparecía a δ 5,79, conectada con el triplete a 5,17 p.p.m., correspondiente al H-3 ($J_{3,4}$ 6,70 Hz). Para los H-1' y 1'' se identificaron los singuletes a δ 5,81 y 5,64, respectivamente, ambos con constantes de acoplamiento ($J_{1,2} \sim J_{1,2}'' <0,5$ Hz) características de la configuración β^{106} .

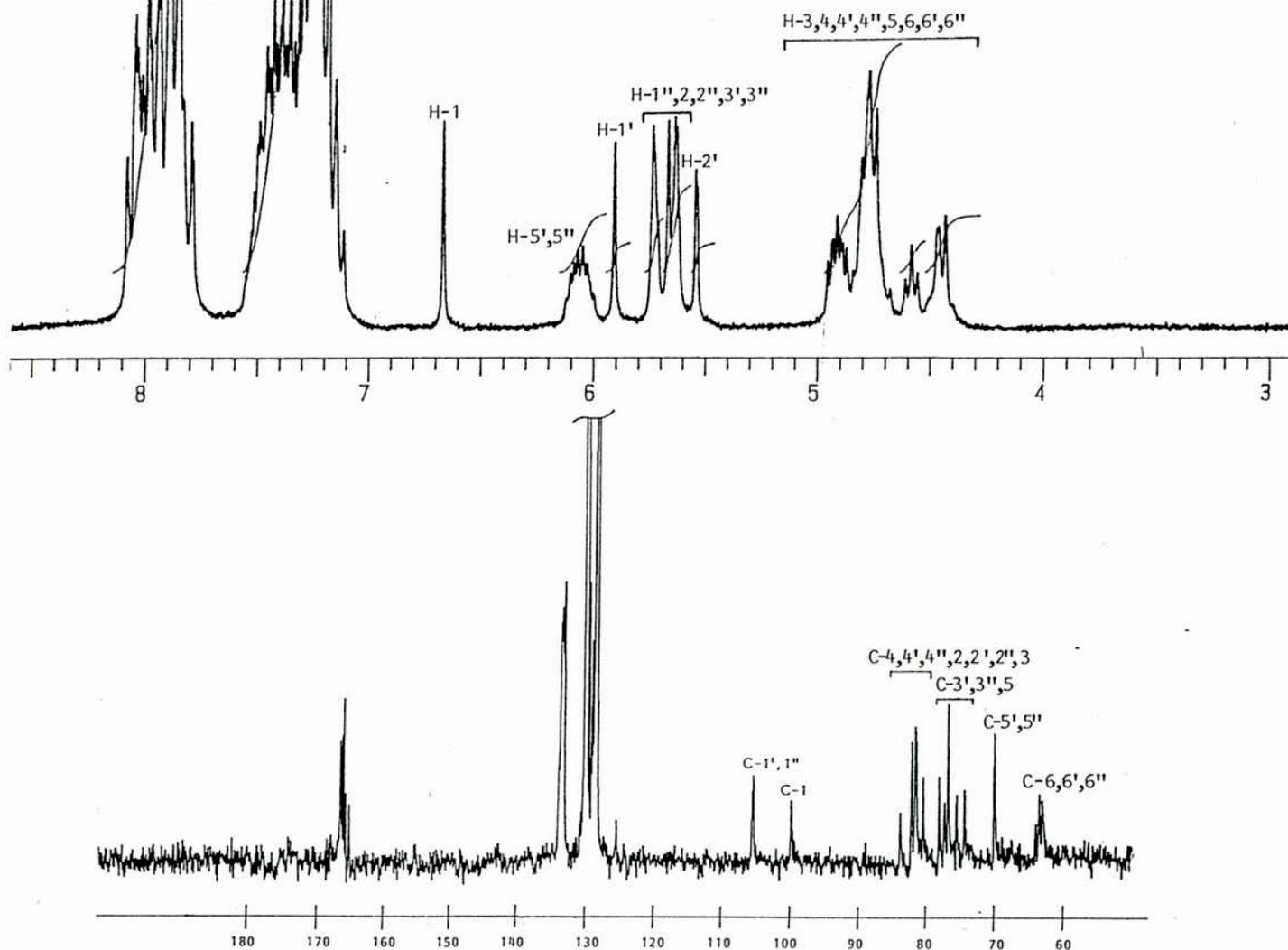
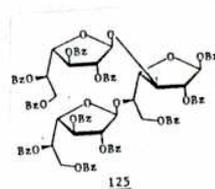


Figura 34. Espectros de R.M.N.- ^1H (200 MHz) y R.M.N.- ^{13}C de 1,2,6-tri-O-benzoil-3,5-di-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)- β -D-galactofuranosa (125).

En el espectro de R.M.N.- ^{13}C de 126 (Figura 35) se observaron en la región anomérica las señales de C-1' y 1'' a 106,0 y 105,7 p.p.m., y la de C-1 a 94,2 p.p.m., valor idéntico al observado para el carbono análogo de $91\alpha^{110}$. Se pueden destacar como diferencias con el espectro del anómero 125, el desplazamiento de las señales de C-2 y C-3 hacia campos más altos, característico de la configuración α^{111} .

Para obtener el trisacárido libre se realizó la O-desbenzoilación de 123 por tratamiento con $\text{MeOH-H}_2\text{O-TEA}$ (5:2:1), como se describió anteriormente para la desbenzoilación de los derivados de disacáridos. Por c.c.d. se observó un producto principal de R_f 0,22 (sv 10) y otro minoritario de igual movilidad que galactosa (R_f 0,39). Por c.l.a.r. (condiciones a) se aisló el producto de R_f 0,22 que se caracterizó como la 3,5-di-O-(β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (124), como una mezcla anomérica β/α en relación $\sim 2,4:1$, de acuerdo a lo estimado en el espectro de R.M.N.- ^{13}C del producto. El análisis elemental de C e H confirmaba la estructura propuesta para 124, el cual mostraba una actividad óptica levógira, $[\alpha]_D^{25} -85^\circ$ (c 1, agua).

En el espectro de R.M.N.- ^1H de 124 en D_2O , se observó en la región anomérica un multiplete complejo a 5,33-5,19 p.p.m. correspondiente a los H-1,1',1'' de ambos anómeros.

En el espectro de R.M.N.- ^{13}C de 124 (Figura 36) se observaron a δ 108,9, 108,8 (x2) y 108,3 las señales correspondien-

126

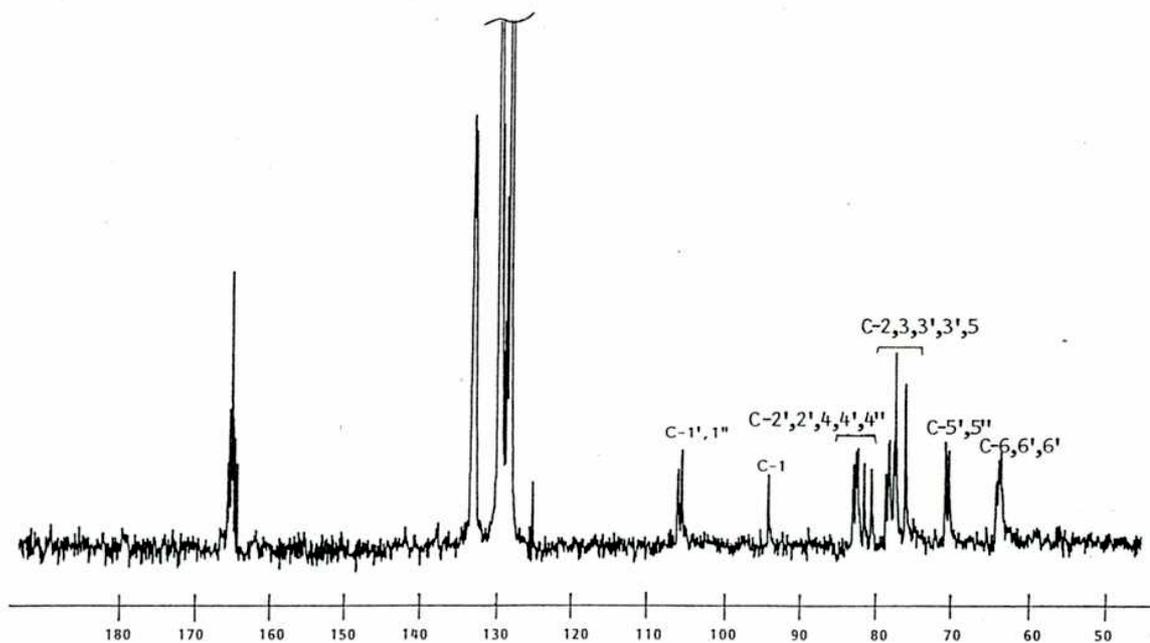
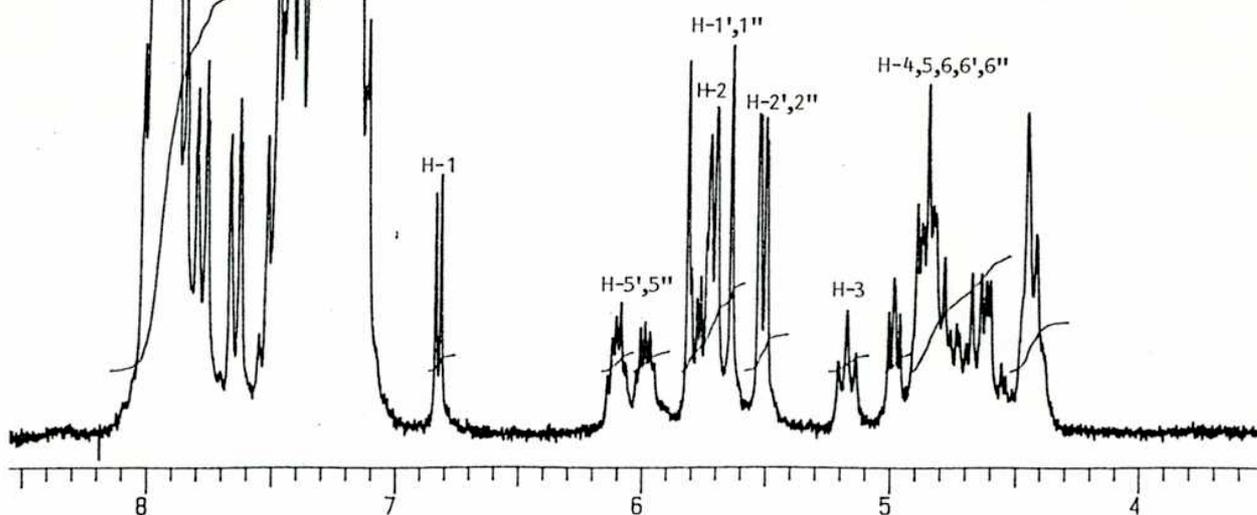
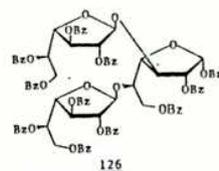


Figura 35. Espectros de R.M.N.- ^1H (200 MHz) y R.M.N.- ^{13}C de 1,2,6-tri-O-benzoil-3,5-di-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)- α -D-galactofuranosa (126).

tes a los C-1' y C-1'' de ambos anómeros; a 102,4, la del C-1 del anómero β , y a 96,4 p.p.m. la del C-1 del α . Todos estos valores están en concordancia con los valores informados para α - y β -D-galactofuranosa¹¹¹ y los ya descritos para el disacárido **1**. El resto del espectro era complejo debido a la superposición de señales, aunque éstas se agrupaban presentando un patrón similar al de **1**.

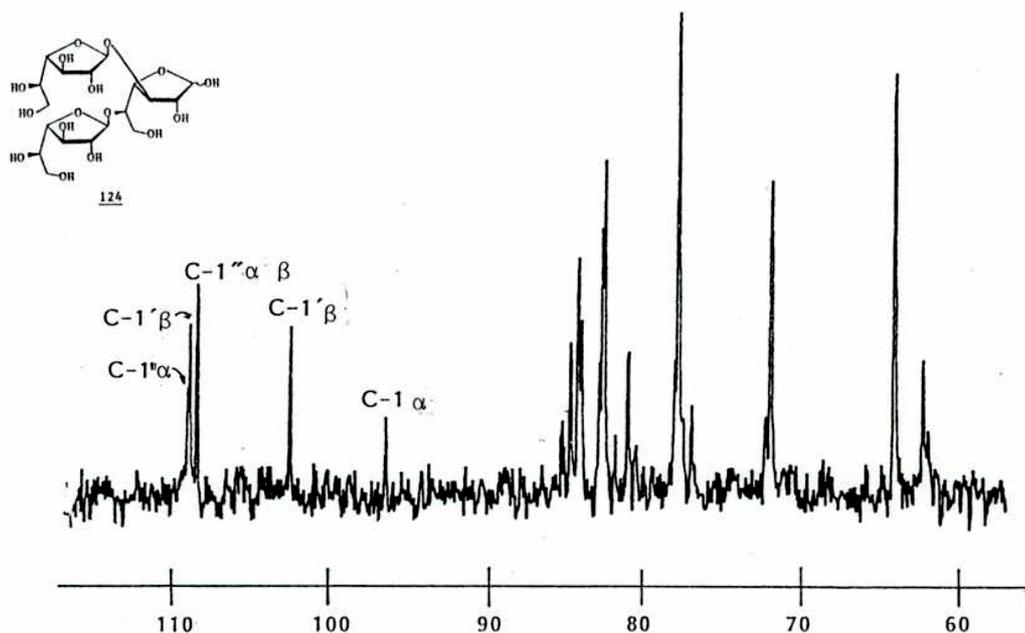


Figura 36. Espectro de R.M.N.-¹³C de 3,5-di-O- β -D-galactofuranosil-D-galactofuranosa (**124**).

La síntesis propuesta para el disacárido **124**, presenta las ventajas ya mencionadas para la preparación del disacárido **1**, es decir que requiere como precursores derivados de monosacáridos (**91** y **117**), de fácil preparación y purificación, y emplea una

técnica de glicosidación muy eficiente en términos de estereoselectividad β y rendimiento.

Residuos de galactosa furanósica unidas $\beta(1\rightarrow3)$ y $\beta(1\rightarrow5)$, se han identificado en la estructura inmunodominante en numerosos glicoconjugados de hongos^{1,2}. Por otro lado en Cordyceps sinensis se encontraron simultáneamente los dos tipos de uniones (Capítulo I), por lo cual la síntesis de 124 resulta interesante por el aporte de su caracterización espectroscópica y su eventual uso en inmunoensayos.

CAPITULO V:

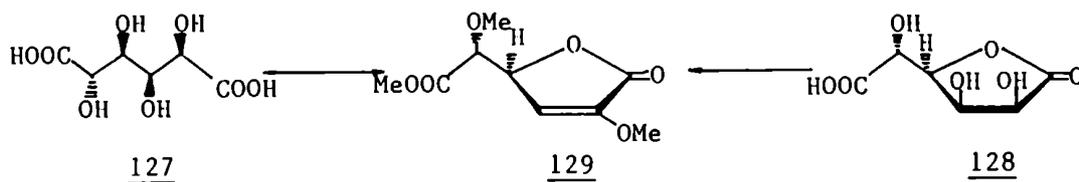
ELIMINACION BETA EN DISACARIDOS

LACTONICOS. SINTESIS GLICOSIL

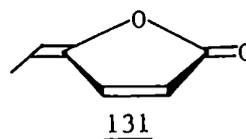
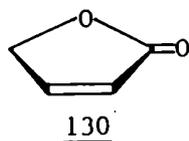
3-DESOXI Y 3,5-DIDESOXI LACTONAS

Eliminación Beta en Aldono-1,4-lactonas.

Las aldonolactonas y sus derivados experimentan procesos de eliminación inducidos por el carbonilo lactónico. En el caso particular de aldono-1,4-lactonas, desde la observación de Schmidt y col. (1937-1938) de que el ácido D-glucárico¹³⁰ (127) o su 6,3-lactona¹³¹ (128) conducían por tratamiento con exceso de diazometano en éter, a la lactona insaturada 129, se han descrito numerosas condiciones de reacción en medio alcalino que conducen, a partir de las lactonas o sus derivados, a productos análogos¹³²⁻¹³⁶.

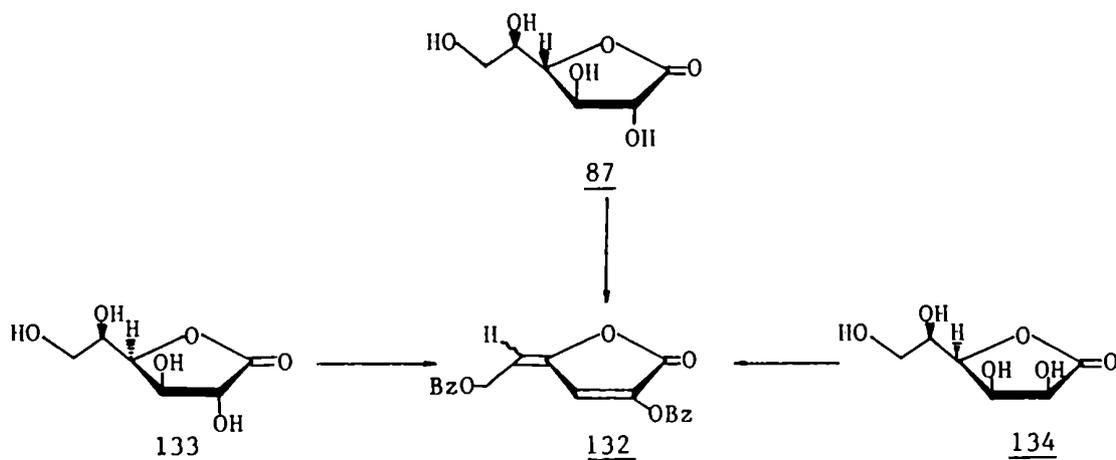


Mediante este tipo de reacciones se obtienen derivados de 2(5H)-furanonas también llamadas $\Delta^{2,3}$ -butenólidos o 2-butenólidos (129,130), o derivados de 5-ilidén-2(5H)-furanonas (o 4-ilidenbutenólidos) (131), cuando también se elimina el sustituyente de C-6.



En este laboratorio, se obtuvieron lactonas insaturadas por benzoilación de aldonolactonas con cloruro de benzoilo en piridi-

na a temperatura ambiente^{139, 137, 140}. Por ejemplo, a partir de D-galactono-1,4-lactona (87) se aisló la 3-benzoiloxi-5-(2-benzoiloxietilidén)-2(5H)-furanona (132) con 36% de rendimiento, la cual también se obtenía por tratamiento de la correspondiente lactona perbenzoilada (88) con piridina durante varias horas. El mismo producto 132 se obtenía a partir de D-glucono (133) y D-manono (134) 1,4-lactonas, lo cual indicaba que no se requería una disposición anti del hidrógeno y del grupo que se eliminaba, por lo cual se postuló un mecanismo E1cB para la reacción^{139, 141}



El primer paso del proceso de eliminación beta (Figura 37), involucraría la abstracción por una base (piridina) del protón de C-2 del derivado acilado de la lactona (88), activado por el grupo carbonilo. El carbanión resultante (135) estaría estabilizado por resonancia con el enolato 136, el cual se reordena electrónicamente con pérdida del grupo 3-benzoiloxi, dando la lactona α,β -insaturada (137), cuya formación estaría favorecida

por la conjugación del doble enlace C-C con el grupo carbonilo. La segunda eliminación de ácido benzoico ocurriría de manera análoga a la anterior, iniciándose con la abstracción del H-4 para dar el carbanión **138**, estabilizado por resonancia con su correspondiente enolato **139**, el cual revierte a la forma carbonílica con pérdida del grupo benzoiloxi de C-5, para dar el producto diinsaturado **132**.

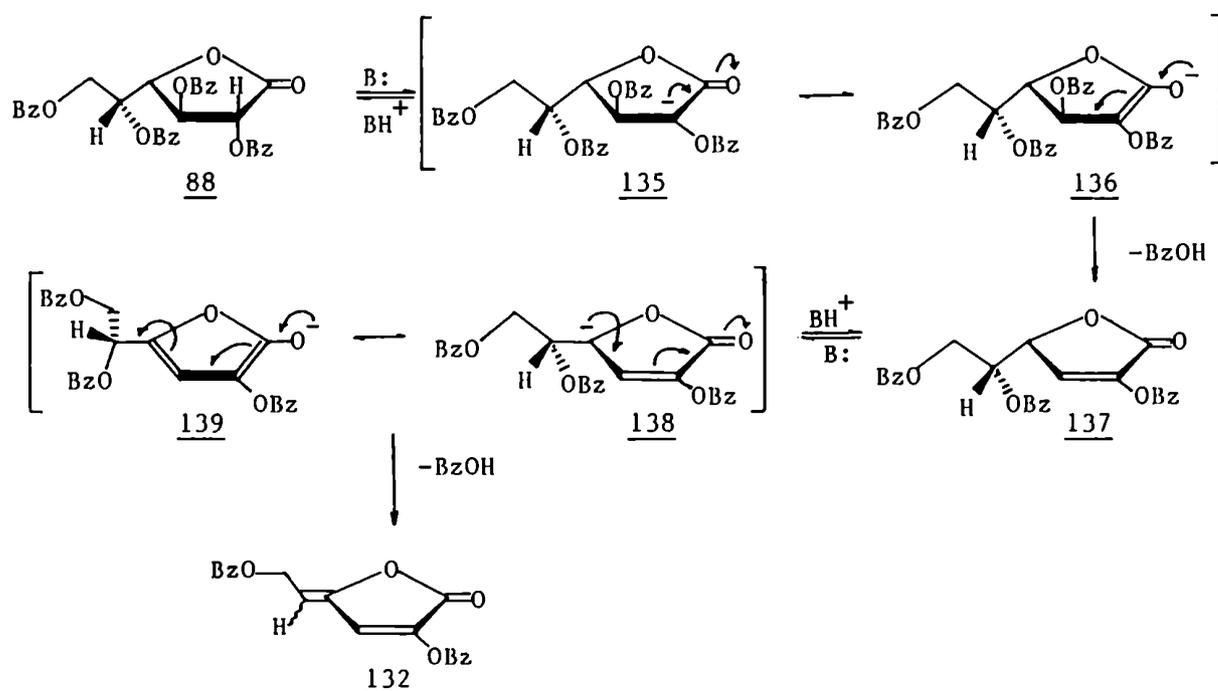
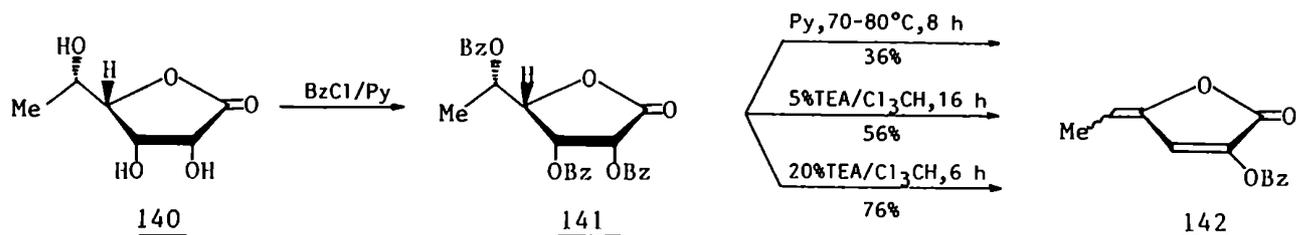


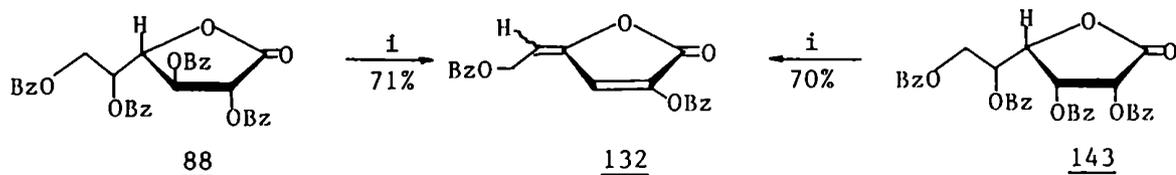
Figura 37. Mecanismo propuesto para la eliminación beta en aldono-1,4-lactonas peraciladas^{139, 141}.

La existencia de un carbanión intermediario explicaría el hecho de que la reacción no sea estereoselectiva y que se obtenga el mismo producto (**132**) independientemente de la orientación inicial de los grupos salientes.

En la naturaleza se encuentran ejemplos de aldono-1,4-lactonas- α,β -insaturadas, las cuales forman parte de metabolitos secundarios con variadas actividades fisiológicas^{142,143}. Desde el punto de vista sintético los compuestos insaturados como 132, constituyen intermediarios adecuados para la síntesis de desoxiazúcares, mediante una secuencia de hidrogenación de los dobles enlaces C-C y reducción del grupo carbonilo lactónico al lactol^{101,103}. Por estos motivos, se investigaron variantes experimentales para mejorar la obtención de los productos de eliminación. Así, en estudios sobre L-ramnono-1,4-lactona^{104,144} (140) se observó que si la benzoilación con cloruro de benzoílo en piridina se realizaba calentando a reflujo, durante 8 h, en lugar de ser a temperatura ambiente y durante 16 h, el rendimiento del producto dieliminado mejoraba un poco. Por otra parte, este tipo de compuestos insaturados resultaban bastante inestables por descomposición térmica y/o fotoquímica, de modo que a tiempos de reacción prolongados prevalecían los procesos de degradación. Se pensó entonces, que si se realizaba la reacción de eliminación con una base más fuerte y a partir de un derivado acilado puro de la lactona, se mejoraría el rendimiento de productos insaturados. Efectivamente, por tratamiento de 2,3,5-tri-O-benzoil-L-ramnono-1,4-lactona (141) con una solución de trietilamina (TEA) al 3% en cloroformo, se obtuvo la lactona 142 con 56% de rendimiento, luego de 16 h de reacción. Si la concentración de TEA se aumentaba hasta el 20%, la reacción se completaba en 6 h y el rendimiento se elevaba hasta 76%¹⁰⁴.



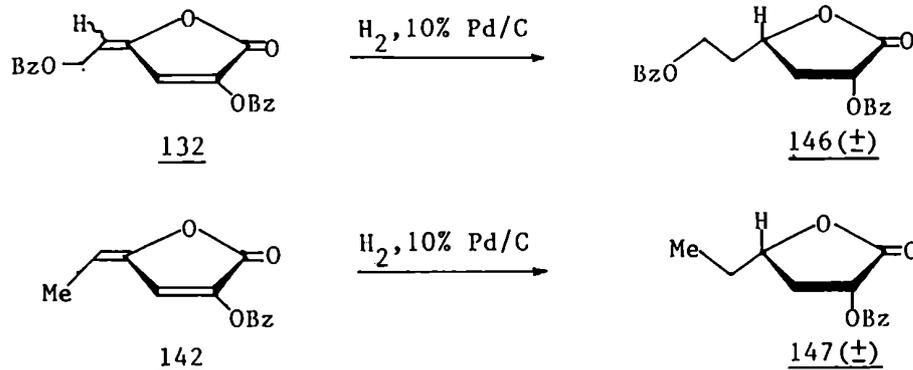
Para comprobar la generalidad de estas condiciones de reacción, en este trabajo de tesis se aplicaron a los derivados perbenzoilados de D-galactono (88) y de L-manono (143) 1,4-lactonas. Una solución de 143 en diclorometano con 20% de TEA se agitó 2 h a 0°C, al abrigo de la luz. Luego de un tratamiento extractivo para neutralizar la base, y de purificar por cromatografía en columna, se obtuvo 132 con un rendimiento considerablemente superior (70%) al obtenido por benzoilación de D-manono-1,4-lactona (43%)¹⁴⁸. El producto 132 resultó idéntico al obtenido por acilación de D-galactono-1,4-lactona (87) con BzCl/piridina (36%)¹⁰⁰, o por tratamiento del derivado perbenzoilado 88 con 20% TEA-Cl₃CH (71%).



i: 20% Et₃N/Cl₃CH

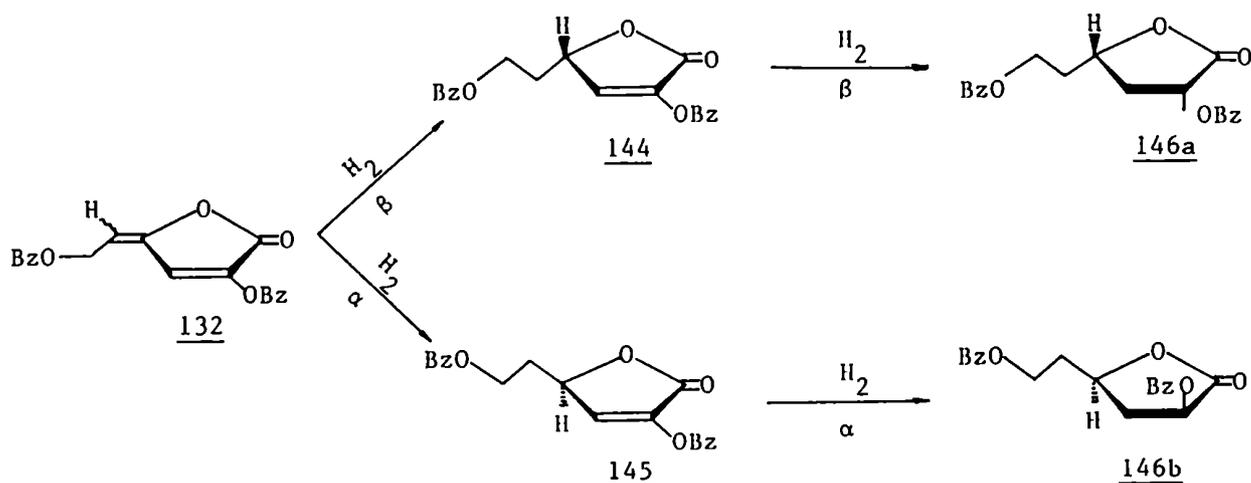
La optimización en la preparación de derivados de 4-ilidenbutenólidos (131) permitía mejorar sustancialmente el rendimiento

de 3,5-didesoxi-1,4-lactonas, intermediarios útiles para la síntesis de desoxiazúcares o de polioles quirales. Las didesoxilactonas se obtienen fácilmente por hidrogenación catalítica de las lactonas diinsaturadas^{100, 104, 117, 141, 146}. Por ejemplo, por hidrogenación de 132 en presencia de Pd 10%/C se obtuvo la 2,6-di-O-benzoil-3,5-didesoxi-D,L-treo-hexono-1,4-lactona (146)¹⁰⁰ y un tratamiento análogo de la lactona 142, condujo a la 2-O-benzoil-3,5,6-tri-desoxi-D,L-treo-hexono-1,4-lactona (147)¹⁰⁴.



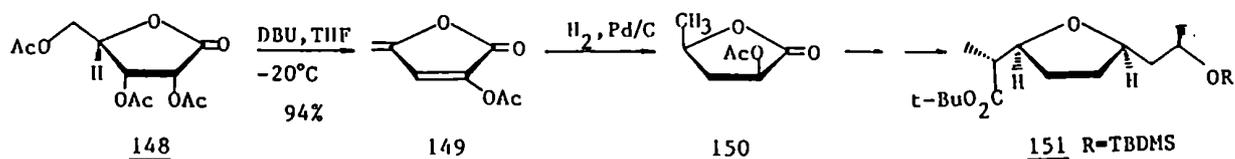
En todos los casos se observó la formación de un solo diastereoisómero, como un par de enantiómeros, en el cual la cadena lateral y el sustituyente de C-2 tienen configuración treo. Esta diastereoselectividad syn se ha atribuido¹⁴¹ a la planaridad de la molécula de los 4-ilidenbutenóidos (131), por lo cual el hidrógeno podría adicionarse a los dobles enlaces por arriba o por debajo del plano de la molécula. El enlace olefínico exocíclico (C₄-C₅) se hidrogena más rápidamente que el endocíclico (C₂-C₃), ya que de ese modo se mantiene la conjugación del

doble enlace C₂-C₃ con el grupo carbonilo^{147,148}. Esto se ha comprobado, pues por adición controlada de hidrógeno se obtuvieron, en algunos casos, los derivados monoinsaturados, por ejemplo 144 y 145. La hidrogenación del enlace endocíclico ocurre estereoselectivamente por la cara menos impedida, es decir por la cara opuesta a la del sustituyente del C-4 de 144 y 145, obteniéndose solo un par de diastereoisómeros de los dos teóricamente posibles.



Esta diastereoselectividad syn de la hidrogenación de 4-iltidenbutenóridos fue observada posteriormente por otros autores. Por ejemplo, Barrett y Shett^{149,150}, por tratamiento con 1,8-diazobicyclo[5.4.0]undecén-7-eno (DBU) en THF, de 2,3,5-tri-O-acetil-D-ribono-1,4-lactona (148) obtuvieron la 3-acetoxi-5-metilén-2(5H)-furanona (149), la cual por hidrogenación catalítica condujo a la 2-O-acetil-3,5-di-desoxi-D,L-treo-pentono-1,4-lactona (150). El compuesto 150 condujo mediante una secuencia de reacciones, al (±)-ter-butyl-8-O-(ter-butyl-dimetilsil-

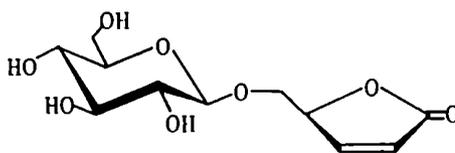
11) nonactano (151), precursor de un antibiótico macrotetrólido producido por Streptomyces sp.



Este es un ejemplo muy representativo de la utilidad de la estrategia de doble eliminación beta y posterior hidrogenación de aldono-1,4-lactonas, para la síntesis de productos de interés biológico.

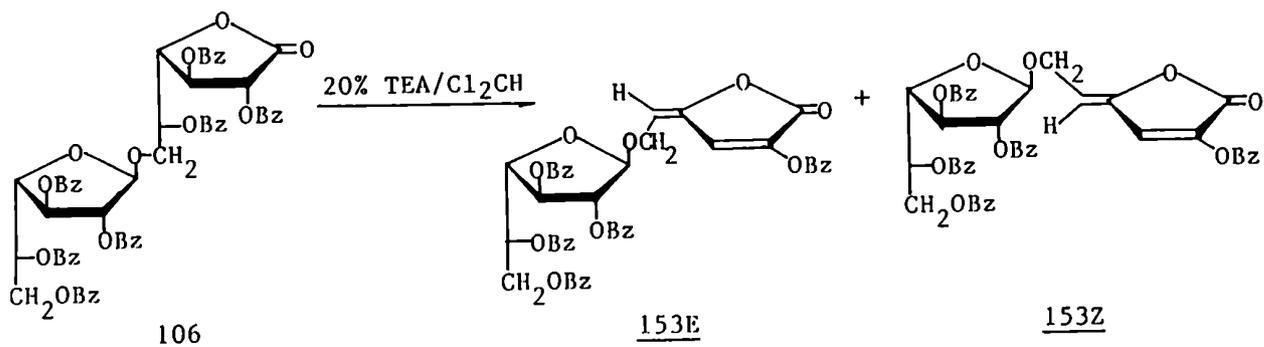
Eliminación beta en disacáridos lactónicos. Síntesis de 2-O-benzoil-3,5-didesoxi-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil-D,L-treo-hexono-1,4-lactona (157,158).

La extensión de las reacciones de eliminación beta a disacáridos lactónicos resultaba interesante ya que conducirían a análogos de productos naturales. Por ejemplo, en varias plantas de la familia Ranunculaceae se ha identificado la (-)ranunculina (152) y se ha reconocido como la responsable de las propiedades vesicantes de las mismas 101, 102.



152

Además, la secuencia de eliminación beta e hidrogenólisis, conduciría a lactonas precursoras de disacáridos con un 3,5-didesoxiazúcar como extremo reductor, lo cual también resultaba atractivo dada la abundancia de los desoxiazúcares en la naturaleza y su importancia como componentes de sustancias biológicamente activas¹⁰³. Se estudió pues la reacción de eliminación beta con la glicosil lactona **106**, obtenida por síntesis. Por tratamiento de **106** con una solución de 20% TEA-Cl₂CH₂ durante 2 h, se obtuvo un producto de mayor movilidad cromatográfica (R_F 0,52, sv 3) que el compuesto de partida (R_F 0,50), impurificado con un material de R_F 0, atribuido a productos de polimerización^{104, 120}. Luego de un tratamiento extractivo para neutralizar la base, el producto crudo de reacción se purificó por una pequeña columna de sílica gel, aislándose el compuesto de R_F 0,52 con 70% de rendimiento, el cual se caracterizó, en base a sus propiedades espectroscópicas y al análisis elemental de C e H, como (Z,E)-2-benzoiloxi-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-2,4-hexadién-4-ólido (**153 E, Z**).



La proporción de isómeros Z:E se estimó del espectro de R.M.N.- ^{13}C , encontrándose una relación aproximada Z:E, 1,5:1. La mezcla no pudo separarse por cromatografía en columna.

El espectro de R.M.N.- ^1H (200 MHz) de 153 E,Z (Figura 38) resultó bastante complejo debido a la presencia de los dos isómeros geométricos. El H-vinílico de ambos isómeros (H-3), aparecía superpuesto con los H-aromáticos debido a la intensa desprotección que provoca el carbonilo lactónico conjugado con el doble enlace entre C_2 y C_3 ¹⁰⁶. Por comparación con el espectro de los análogos 132 Z y 132 E se asignaron las señales de los H-5 de ambos isómeros. La señal del H-5 de 153 E (δ 5,84) se encontraba desplazada a campos más bajos que la del H-5 153 Z (δ 5,62), por efecto de la orientación relativa del oxígeno del anillo lactónico¹⁰⁶. Las señales correspondientes a la unidad galactofuranosídica concordaban con las del metil glicósido 90. La señal a 6,05 p.p.m. se asignó al H-5' y el doblete a 5,64 p.p.m. ($J_{3',4'} = 5,25$ Hz) a H-3'. Los singuletes anchos a δ 5,32 y 5,47 correspondían a H-1' y H-2', respectivamente, y el valor de $J_{1',2'}$ ($<1,0$ Hz) era consistente con la configuración β -furanósica¹⁰⁶.

El espectro de R.M.N.- ^{13}C de 153 Z,E (Figura 38, Tabla X) se interpretó por comparación con los espectros del metil glicósido 90 y de los 4-ilidenbutenólidos 132 Z y 132 E. Las señales de los carbonos de la unidad lactónica de cada isómero geométrico se asignaron por comparación con los del (S)2,6,7-tri-

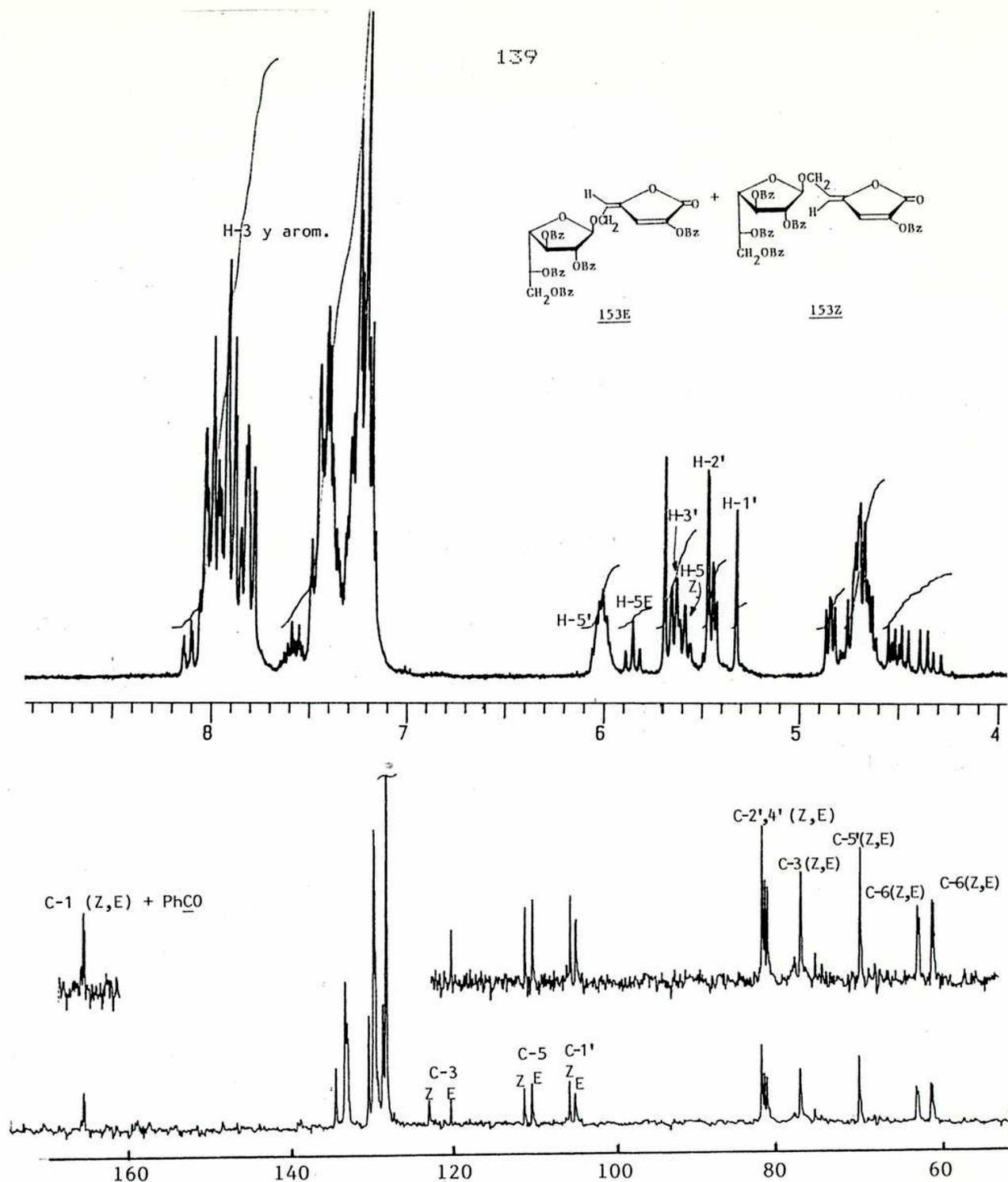


Figura 38. Espectros de R.M.N.- ^1H (200 Mhz) y R.M.N.- ^{13}C de (Z,E)-2-benzoyloxi-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoyl)- β -D-galactofuranosil)-2,4-hexadién-4-ólido (153 Z,E).

benzoiloxi-2,4-heptadién-4-ólido (**154**) cuyos isómeros Z y E habían sido separados por c.l.a.r. y sus respectivos espectros de R.M.N.- ^{13}C asignados mediante experimentos de desacoples heteronucleares selectivos 129 . Las mayores diferencias se observaban en las señales de C-5 y C-6, más desprotegidas por efecto de la glicosidación en C-6. Las señales de C-2 y C-4 no se observaron en el espectro pues el período de acumulación, tratándose de una mezcla, resultó insuficiente para que esos C-sp 2 , unidos a oxígeno, dieran señales apreciables.

Cuando se realizó la eliminación de la glicosil lactona **106** utilizando DBU, en solución de acetonitrilo, se obtuvo un producto (30%) de igual movilidad cromatográfica que **153 Z,E**. Sin embargo, el espectro de R.M.N.- ^{13}C (Figura 39, Tabla X) reveló que se trataba exclusivamente del isómero Z. En dicho

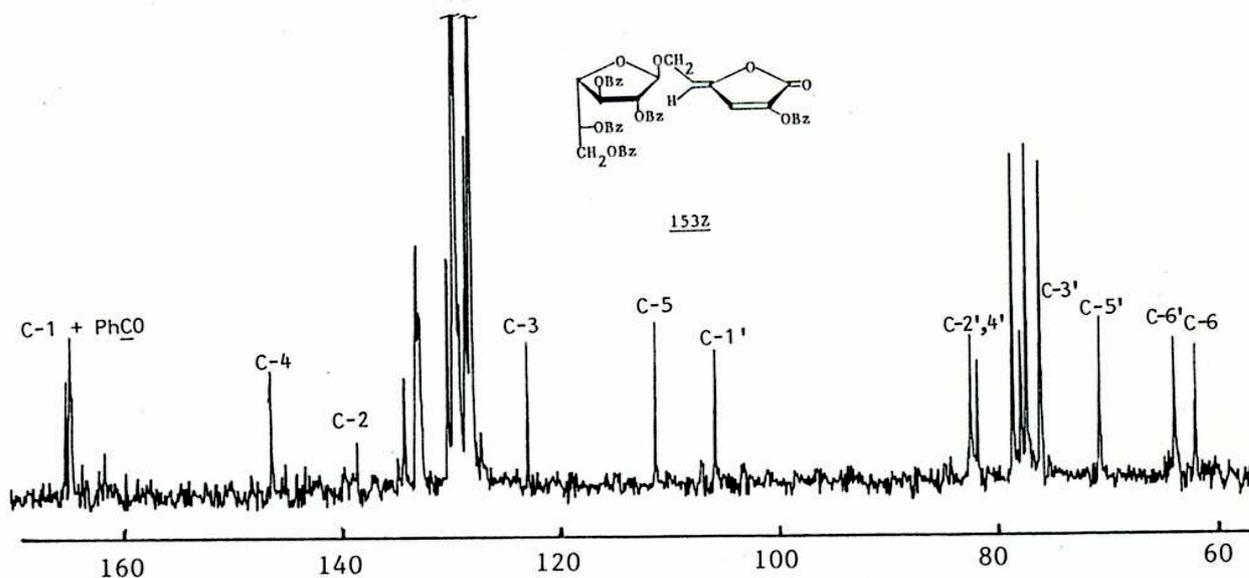
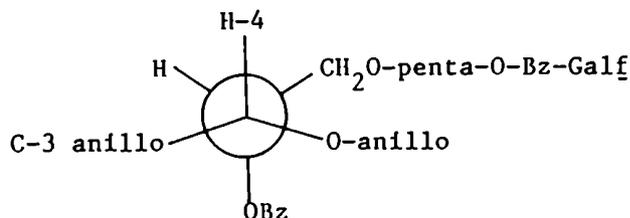


Figura 39. Espectro de R.M.N.- ^{13}C de **153 Z**.

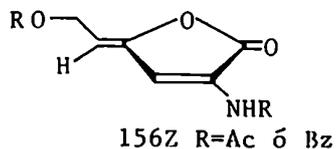
espectro, las señales de C-2 y C-4, que no se habían observado en el de la mezcla Z,E, aparecían a 138,8 y 146,7 p.p.m., respectivamente, en total concordancia con las señales del análogo 132 Z.

El valor de $J_{4,5}$ de 106 (2,5 Hz) indicaría una conformación preferencial para la cadena lateral en la cual los H-4 y 5 se encuentran en relación syn (155). Esta disposición relativa se mantendría en el estado de transición cuando una base voluminosa como la DBU abstrae el H-4. En la conformación 155, el H-4 y el grupo benzoiloxi saliente de C-5 se encontrarían en una relación anti-periplanar, favoreciendo el mecanismo E_{1cB}^{197} .

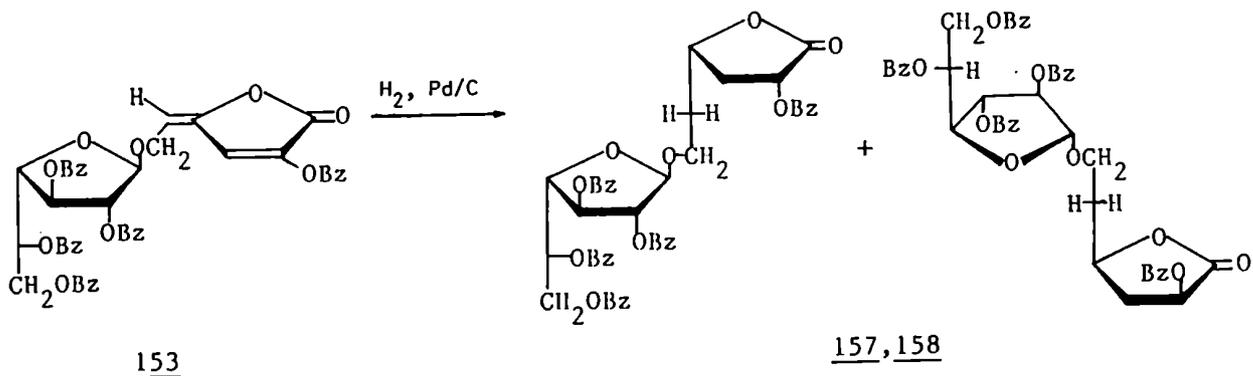


155

Este tipo de estereoselectividad inducida por DBU, se había observado en reacciones de eliminación beta sobre derivados benzoilados y acetilados de ácido 2-amino-2-desoxi-D-glucónico, en los cuales el isómero con el grupo aciloximetilo cis respecto del anillo (156 Z), era el único producto obtenido¹⁹⁸.



Por hidrogenación catalítica de la mezcla **153** E,Z en solución de acetato de etilo y con Pd/C como catalizador, se obtuvo un producto cromatográficamente homogéneo (R_f 0,36, sv 3) que se aisló con 87% de rendimiento. Sin embargo, el espectro de R.M.N.- ^{13}C del producto purificado por columna de sílica gel reveló que se trataba de una mezcla de dos componentes en relación 1:1. Si bien la porción galactofuranosídica de **153**, con numerosos centros asimétricos, podría inducir quiralidad en la hidrogenación, el hecho de que se haya obtenido una relación **157/158** 1:1, indica que no hubo inducción asimétrica y que la hidrogenación de **153** ocurría de manera análoga a la descrita para 4-ili-denbutenólidos simples. El doble enlace endocíclico de **153** se hidrogena en primer término, generando un centro asimétrico en C-4, cuya configuración determina la estereoselectividad de hidrogenación del doble enlace endocíclico, según la orientación de la cadena lateral de C-4. Dado que los productos de hidrogenación de la glicosil lactona **153** son diastereoisómeros, **157** y **158**, además de diferenciarse espectroscópicamente podrían también separarse por medio de alguna técnica cromatográfica.



La mezcla de **157** y **158** se caracterizó en base a sus propiedades espectroscópicas y al análisis elemental de C e H como 2-O-benzoil-3,5-di-desoxi-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D,L-treo-hexono-1,4-lactona (**157,158**).

El espectro de R.M.N.- ^1H (200 MHz) de la mezcla **157,158** (Figura 40) se interpretó tomando como referencia los espectros del metil glicósido **90** y de la 2-O-benzoil-3,5-di-desoxi-6-O-tritol-D,L-treo-hexono-1,4-lactona (**159**). Las asignaciones se confirmaron por sus conectividades en un experimento bidimensional de correlación homonuclear (COSY). El comportamiento espectroscópico de ambos diastereoisómeros **157** y **158** era muy similar, aunque la presencia de los dos compuestos hacía más complejas las señales de H-1' y 2' y las de H-3a y 3b. Este hecho

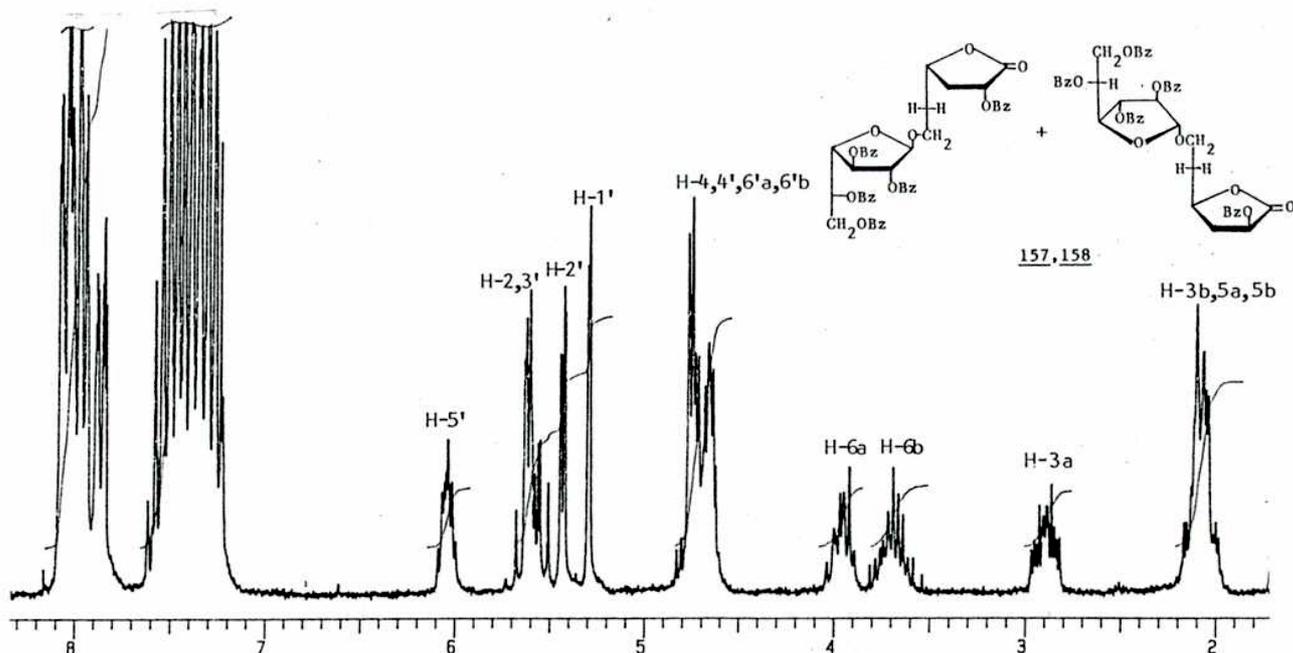


Figura 40. Espectro de R.M.N.- ^1H (200 MHz) de **157,158**.

impedía medir las constantes de acoplamiento y dificultaba la determinación de la configuración de los centros quirales de C-2 y C-4 ^{104,117,141} generados en la hidrogenación.

El espectro de R.M.N.-¹³C de la mezcla 157 y 158 (Figura 41, Tabla X) resultó bastante simple debido a la similitud de las señales de ambos diastereoisómeros que aparecieron superpuestas en muchos casos, y a la analogía con las señales de los compuestos 90 y 159. Sin embargo, se diferenciaron claramente las señales correspondientes a los C-1' de cada isómero, a δ 106,1 y 105,4.

Se realizaron otros intentos para separar la mezcla de 157 y 158, y la c.l.a.r. resultó una alternativa satisfactoria. Utilizando una columna de alta resolución, fase RP-18 (condiciones b) y acetonitrilo-agua 85:15, como eluyente se separaron dos productos de t_r 21,6 y 22,5 min, en relación 1:1, aproximadamente.

El compuesto de menor t_r recristalizado de etanol, dió p.f. 64-69°C y $[\alpha]_D^{20} -1^\circ$ (c 1, cloroformo). Su espectro de R.M.N.-¹H (Figura 42a) resultó muy similar al de la mezcla, con una simplificación notable en la región comprendida entre 5,25 y 5,78 p.p.m., en la cual se identificaron las señales de H-2 y 3' a 5,65 p.p.m., de H-2' a 5,45 p.p.m. ($J_{2',3'} \sim 1,0$ Hz) y de H-1' a 5,32 p.p.m. ($J_{1',2'} < 1,0$ Hz).

El espectro de R.M.N.-¹³C de este producto (Figura 41, Tabla X) mostró además de las señales de los grupos benzoílo, doce señales, confirmando que se trataba de un único compuesto; la señal de C-1' aparecía a 106,1 p.p.m.

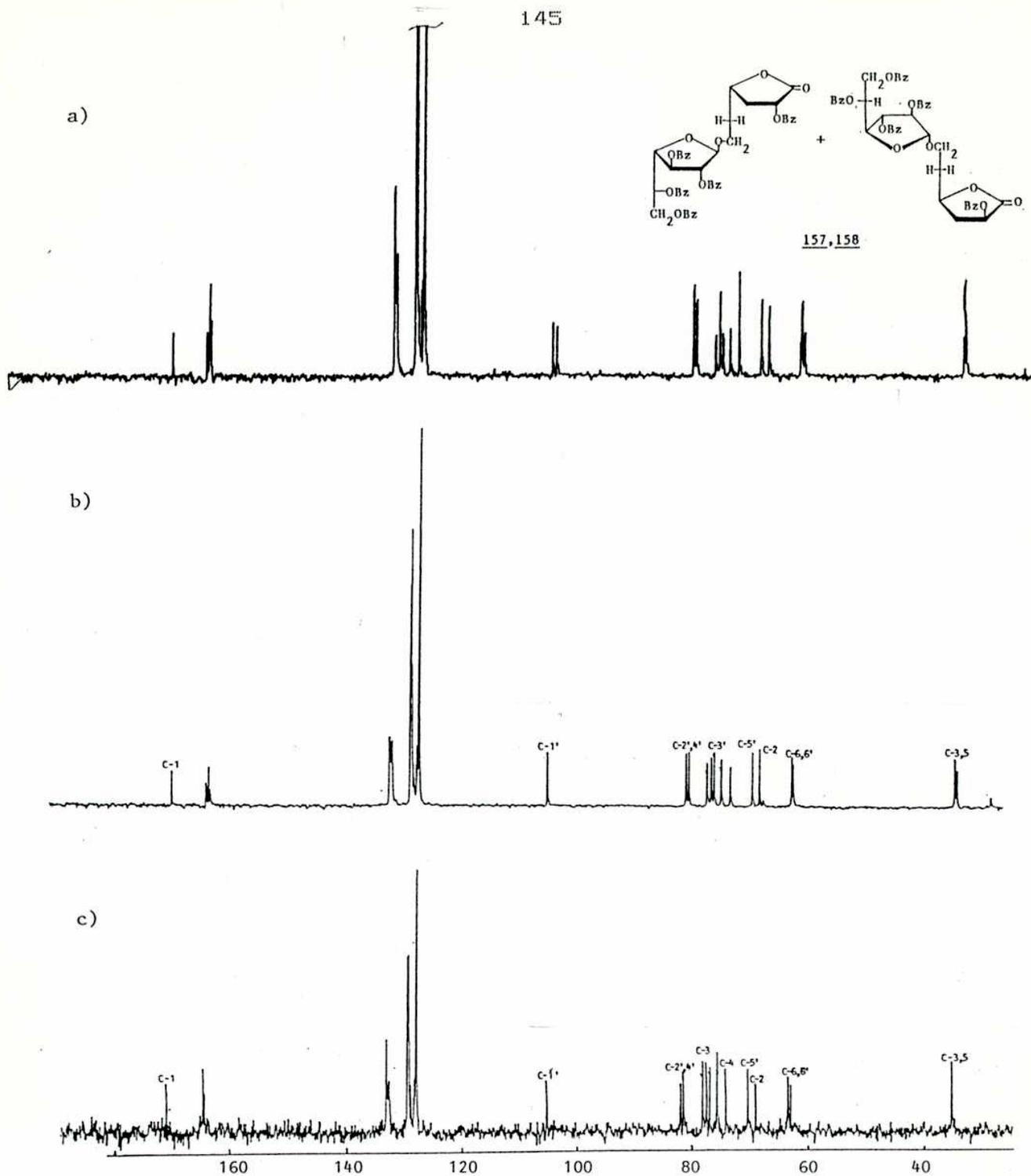


Figura 41. Espectros de R.M.N. $-^{13}\text{C}$ de a) la mezcla 157,158, y de los compuestos aislados por c.l.a.r. b) $\langle tr \rangle$ y c) $\langle tr \rangle$.

El compuesto de mayor t_r también se recrystalizó de etanol (p.f. 69-71°C) y resultó más levorrotatorio, $[\alpha]_D^{25} -26^\circ$ (c 1, cloroformo) que el de menor t_r . El espectro de R.M.N.- 1H (Figura 42) era muy similar al anterior, observándose las señales de H-1' y de H-2' a δ 5,28 y 5,41, respectivamente.

En el espectro de R.M.N.- ^{13}C (Figura 41, Tabla X) también se observaban el número de señales correspondientes a un compuesto puro, concordante con la estructura propuesta. La señal correspondiente a C-1' aparecía a 105,4 p.p.m.

Las pequeñas diferencias en el comportamiento espectroscópico de estas sustancias no permitieron asegurar su respectiva identidad. Por otra parte, los productos no dieron cristales adecuados para realizar un estudio por cristalografía de rayos X.

La separación de los diastereoisómeros 157 y 158 era equivalente a la resolución de la mezcla racémica 146a y 146b por acoplamiento con un reactivo quiral. Consideramos entonces que 157 y 158 podrían sintetizarse a partir de algún análogo de la mezcla racémica 146 a,b con 1,2,3,5,6-penta-O-benzoil-D-galactofuranosa (91), empleando $SnCl_4$ como catalizador. Para este fin resultó adecuada la 2-O-benzoil-3,5-di-desoxi-6-O-tritil-D,L-treo-hexono-1,4-lactona (159), que se había sintetizado en este laboratorio a partir de la 6-O-tritil lactona 102, a través de una secuencia de eliminación beta e hidrogenación, con 94% de rendimiento total¹¹⁷.

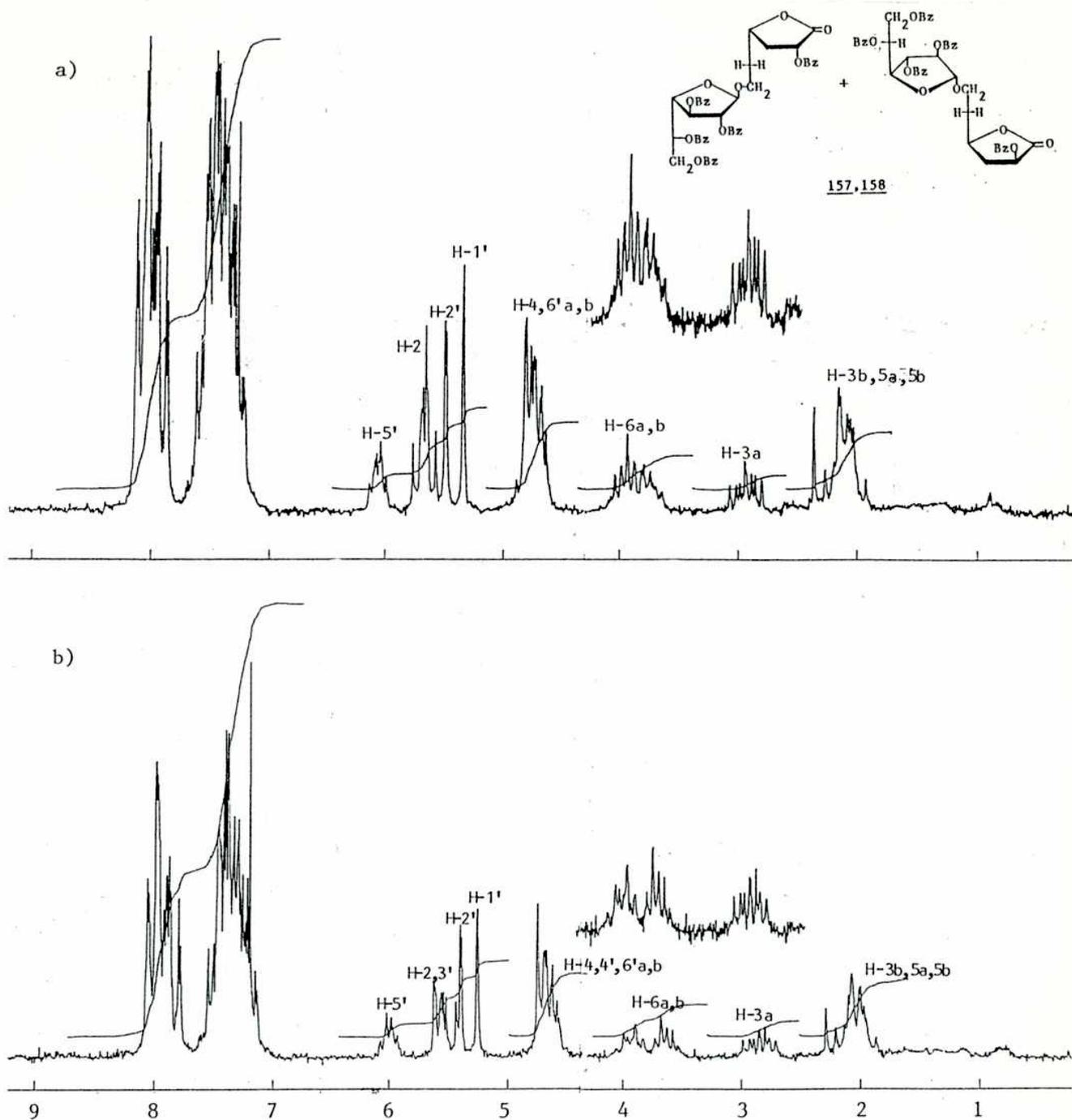


Figura 42. Espectros de R.M.N.- ^1H de los compuestos 157 y 158 separados por c.l.a.r., a) $\langle t_r \rangle$, b) $\rangle t_r$.

Por condensación de cantidades equimoleculares de **91** y **159** en solución de Cl_2CH_2 , en presencia de SnCl_4 se obtuvo, con 68% de rendimiento, un producto de igual movilidad cromatográfica que la mezcla **157,158** obtenida por hidrogenación de **153** (Figura 43). El espectro de R.M.N.- ^{13}C de esta mezcla, resultó idéntico al obtenido anteriormente (Figura 41), lo que confirma la configuración treg de **157** y **158**, ya que se obtuvieron a partir de la lactona **102**, de configuración conocida. Se observó una relación de **157/158** aproximadamente 1:1, según la integración de las señales correspondientes a C-1'.

La síntesis de **157** y **158** por cualquiera de las dos vías propuestas (Figura 43), confirma la utilidad de las aldono-1,4-lactonas para la síntesis de 3,5-didesoxi lactonas y la generalidad del método de eliminación beta, seguida de hidrogenación catalítica, que ocurre con las mismas características de selectividad en lactonas simples que en glicosil lactonas. Por otra parte las lactonas **157** y **158** serían los intermediarios clave para la síntesis de disacáridos con una unidad 3,5-didesoxi-furanósica, como extremo reductor.

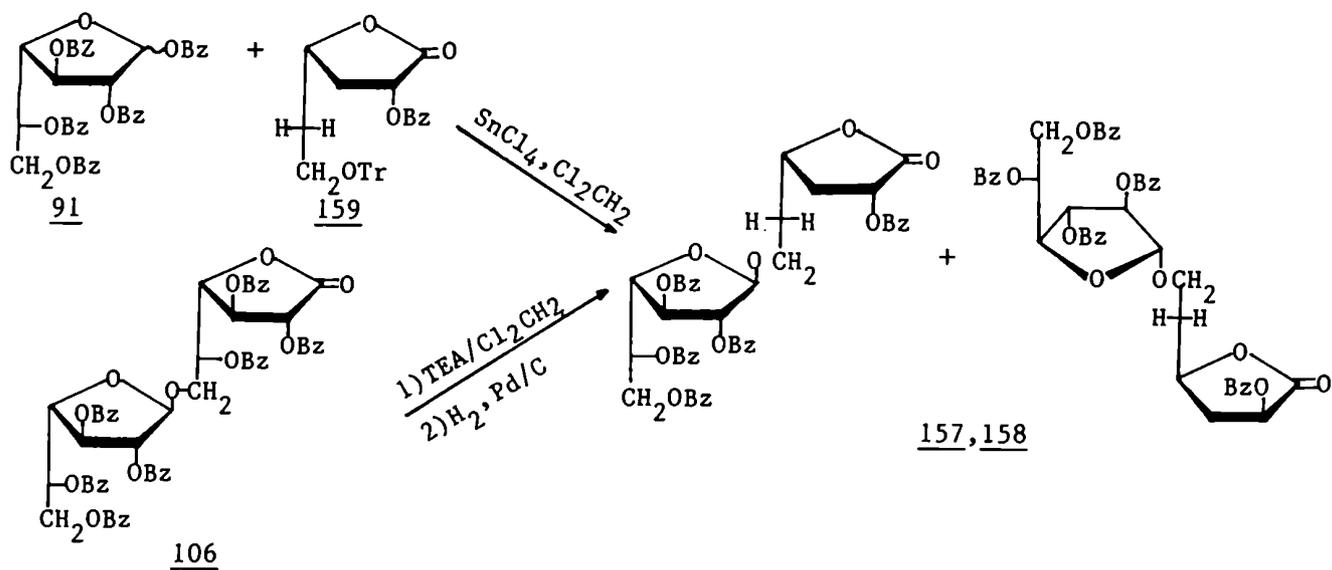
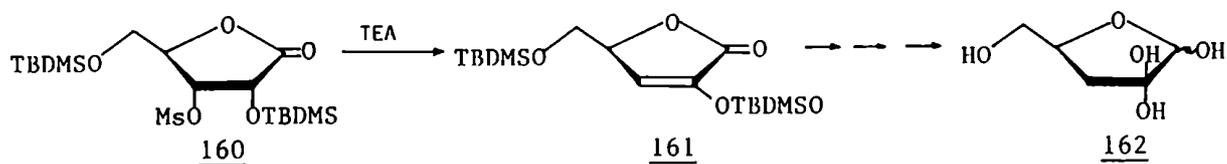


Figura 43. Rutas alternativas para la síntesis de 157, 158.

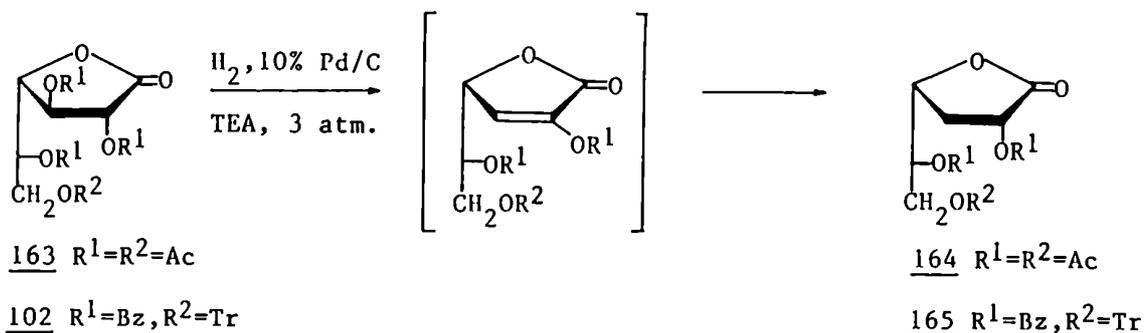
Hidrogenólisis de aldono-1,4-lactonas. Síntesis de 2,5-di-O-benzoil-3-desoxi-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil-D-xilo-hexono-1,4-lactona (167).

La síntesis de 3-desoxi-azúcares a partir de aldono-1,4-lactonas no podría realizarse a través de una secuencia similar a la utilizada para la obtención de 3,5-didesoxiazúcares, pues es muy difícil controlar la eliminación beta y obtener el producto de monoeliminación eficientemente. Una solución a este problema, es la utilización de derivados lactónicos con malos grupos salientes en C-5, como tritiloxi o sililoxi, estables en medio alcalino, lo cual desfavorece el segundo proceso de eliminación. Así, a partir de 2,5-O-(ter-butildimetilsilil)-3-O-mesil-D-ribono-1,4-lactona (160) se obtuvo por un proceso de eliminación beta, la lactona 161, precursora del azúcar natural 3-desoxi-D-glicero-2-pentulosa 162¹⁰⁷.



Una alternativa más simple para la obtención de 3-desoxi derivados, a partir de 1,4-lactonas aciladas consiste en la hidrogenólisis en medio básico. Este método se basa en que una vez que ocurra la primera eliminación beta del grupo aciloxi de C-3, el doble enlace C₂-C₃ debiera hidrogenarse a una velocidad ma-

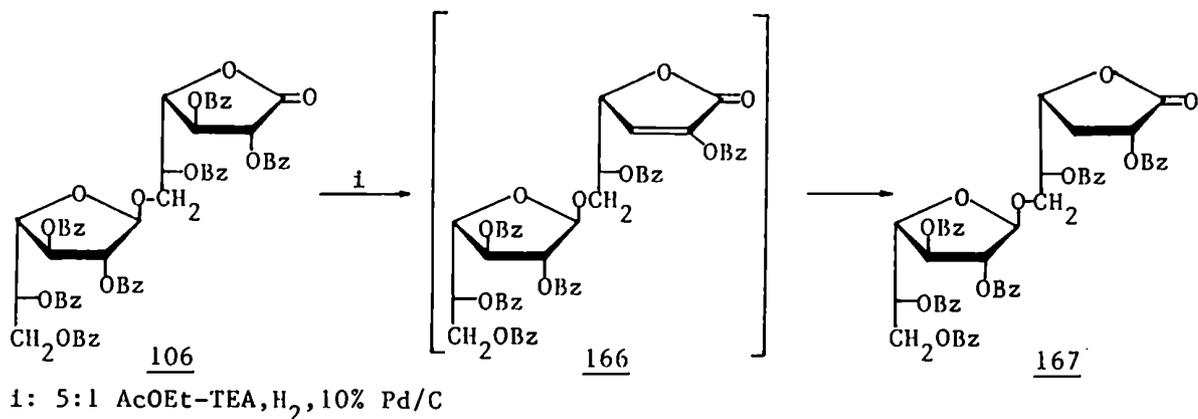
por que la de la eliminación del sustituyente en C-5. Así, la hidrogenación catalítica a presión en condiciones de eliminación de 1,4-lactonas (TEA, AcOEt, Pd/C, H₂), permitió obtener, a partir de varias aldopentono y aldohexono-lactonas, las correspondientes 3-desoxilactonas. Por ejemplo, la 2,3,5,6-tetra-O-acetil-D-galactono-1,4-lactona (163) condujo a la 2,5,6-tri-O-acetil-3-desoxi-D-xilo-hexono-1,4-lactona (164) con 99% de rendimiento¹¹⁷, y en nuestro laboratorio a partir del análogo 102, se obtuvo el derivado 165 con 94% de rendimiento¹¹⁷.



Sólo se obtiene el producto con el sustituyente de C-2 y la cadena lateral en configuración cis, es decir, solo uno de los dos diastereoisómeros posibles. Esto implica que la adición de hidrógeno syn ocurre por la cara menos impedida de la molécula, que es la opuesta a la cadena lateral de C-4.

Esta alta selectividad diasterofacial, es similar a la que se observa en la hidrogenación de derivados de 4-ilidenbutenóidos (131), y en ambos casos constituyen una herramienta muy útil para la obtención de sintones quirales.

Con el objeto de obtener una 3-desoxi glicosil lactona, se sometió la lactona **106** a condiciones de eliminación beta e hidrogenólisis simultánea. Una solución de **106** en 1:5 TEA-AcOEt, se hidrogenó a presión durante 6 h utilizando 10% Pd/C como catalizador. Se observó por c.c.d. la formación de un compuesto principal de R_f 0,39 (sv 3) impurificado con productos de menor movilidad. Luego del tratamiento habitual de neutralización de la base, el producto de reacción se purificó por columna de sílica gel, obteniéndose el producto de R_f 0,39 con 86% de rendimiento, el cual se caracterizó como 2,5-di-O-benzoil-3-desoxi-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-xilohexono-1,4-lactona (**167**). El comportamiento espectroscópico y el análisis elemental de C e H confirmaron esta estructura.



En el espectro de R.M.N.- ^1H de **167** (200 MHz, Figura 44) se identificaron claramente las señales correspondientes a las

unidades 3-desoxilactónica y galactofuranosídica, observándose una concordancia con las señales del metil glicósido 90 y la 3-desoxi-lactona 165¹¹⁷. Las señales de los hidrógenos metilénicos H-3a y H-3b, se observaron a δ 2,91 y 2,15, respectivamente, mientras que en el espectro de 165 los hidrógenos análogos resonaban a δ 2,83 y 2,12¹¹⁷. También los valores de las constantes de acoplamiento eran similares: $J_{2,3a}$ 9,6 Hz, $J_{2,3b}$ 10,2 Hz, $J_{3a,4}$ 6,5 Hz, $J_{3b,4}$ 9,6 Hz y $J_{3a,3b}$ 13,0 Hz, los cuales son indicativos de una configuración treo para los centros quirales C-2 y C-4^{104,117,141} (para 165: $J_{2,3a}$ 9,1, $J_{2,3b}$ 10,0, $J_{3a,4}$ 6,2, $J_{3b,4}$ 9,4 y $J_{3a,3b}$ 13,0 Hz).

El espectro de R.M.N.-¹³C de 167 (Figura 44, Tabla X) también se asignó por comparación con los de los monosacáridos 91 y 165. Las mayores diferencias se observaron en las señales de C-5 y C-6 y son justificables por la presencia del grupo tritilo en 165, que provoca un desplazamiento a campos altos sobre el C- α (C-6) y a campos bajos sobre el C- β (C-5)¹⁴⁰.

Una confirmación adicional de la estructura de 167 consistiría en su obtención por condensación de 1,2,3,5,6-penta-O-benzoil-D-galactofuranosa (91) con 2,5-di-O-benzoil-3-desoxi-6-O-tritil-D-xilo-hexono-1,4-lactona¹¹⁷(165). En efecto, dicha reacción promovida por SnCl₄ condujo a un producto (66%) con las mismas propiedades físicas y espectroscópicas que la glicosil 3-desoxilactona 167 obtenida por hidrogenólisis de 106 (Figura 45).

Tabla X. Datos de R.M.N. -¹³C de 90, 132 Z,E, 153 Z,E, 154, 157, 158, 159, 165, 167.

Comp.	δ , ppm												
	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
<u>90</u>	106,7	81,1	77,6	82,0	70,2	63,4							
<u>132</u> Z							162,2	139,1	122,9	147,7	109,2	58,5	
E							162,1	139,7	119,5	149,6	108,7	58,9	
<u>153</u> Z	105,7	81,4	77,5	82,5	70,2	63,1	162,2	138,8	123,0	146,7	111,2	61,4	
E	105,0	81,8	77,5	82,1	70,2	63,3	162,2		120,3		110,3	61,6	
<u>159</u>							171,9	68,9	35,7	74,5	34,9	59,0	
<u>157</u>	106,1	81,4*	77,5	82,0*	70,2	63,5*	171,7	69,0	35,6*	74,1	35,2*	63,3*	
<u>158</u>	105,4	81,5*	77,5	82,0*	70,3	63,3*	171,7	69,0	35,3	74,1	35,3	62,8*	
<u>165</u>							171,5	68,3	30,8	75,2	73,4	62,1	
<u>167</u>	105,5	81,6*	77,3	82,0*	70,1	63,2*	171,0	68,0	30,2	74,4	71,5	64,6*	
<u>154</u> Z							162,1	139,1	122,5	147,5	109,1	67,5	64,7
E							161,9	139,8	119,9	150,1	108,3	67,5	65,0

*Las señales pueden estar intercambiadas.

Dado que la configuración de C-2 y C-4 en 165 era conocida, la obtención de 167 a partir de 165 brindaba una confirmación adicional de la configuración relativa de la cadena lateral y el grupo benzoiloxi de C-2 en 167.

Estos resultados indican que la glicosil aldono-1,4-lactona 106 conduce al análogo 3-desoxi 167 con la misma estereoselectividad que las lactonas simples, formándose únicamente el producto de configuración trans entre C-2 y C-4, lo cual sugiere que el impedimento estérico de la cadena lateral es el que determina

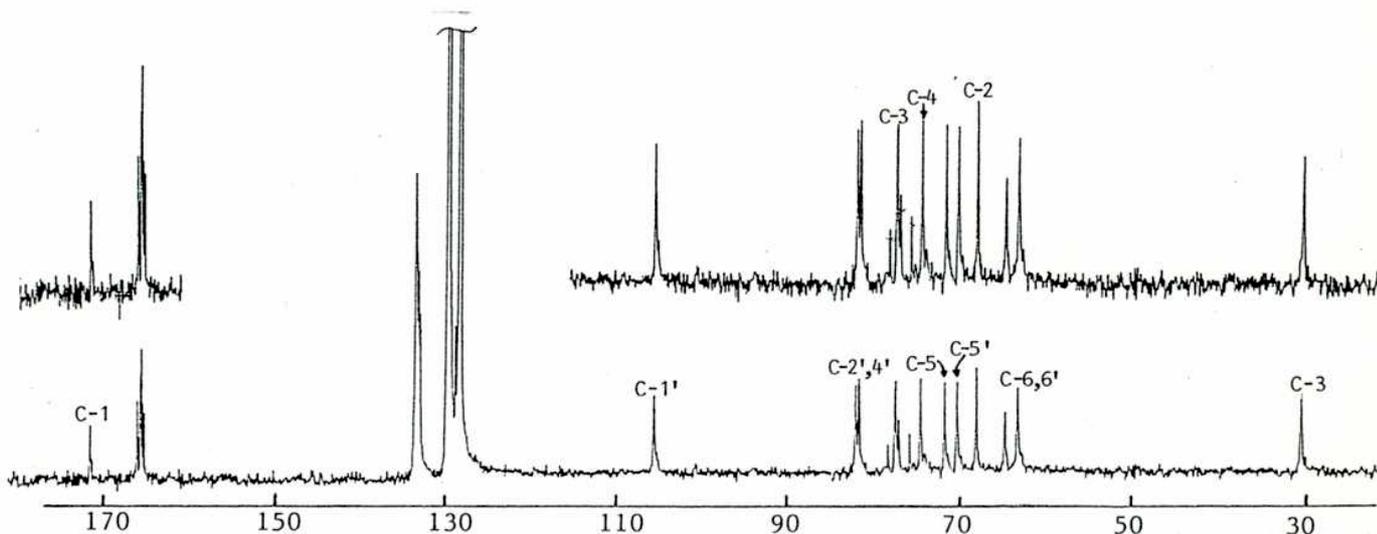
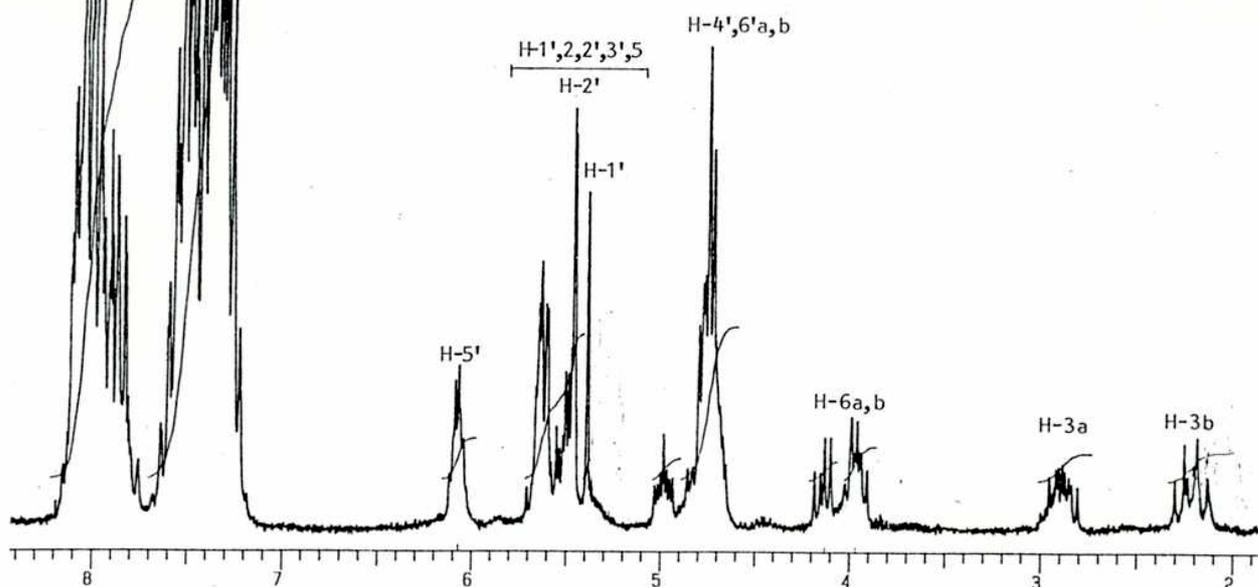
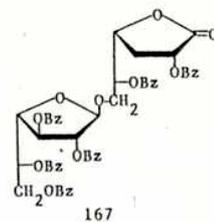


Figura 44. Espectros de R.M.N.- ^1H (200 MHz) y R.M.N.- ^{13}C de 2,5-di-O-benzoil-3-desoxi-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-xilo-hexono-1,4-lactona (167).

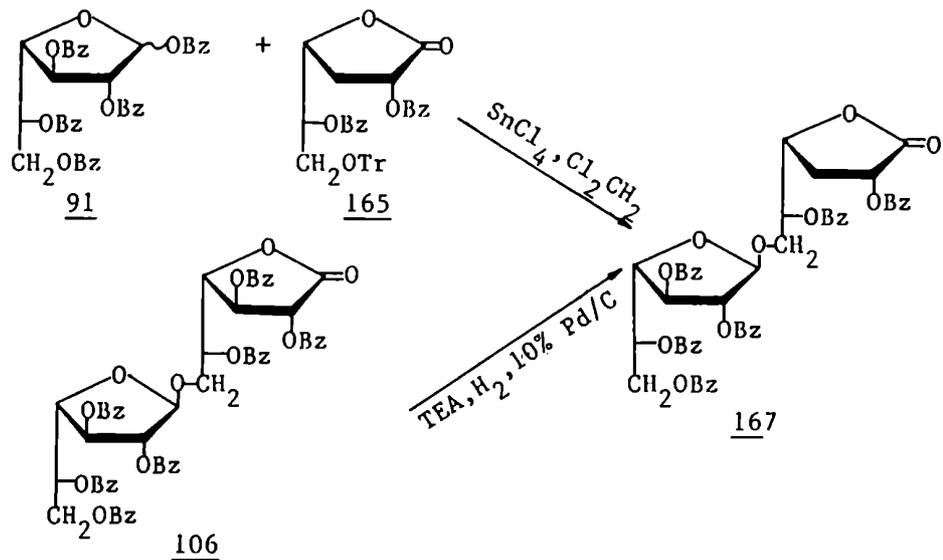


Figura 45. Rutas alternativas para la síntesis de 167.

la entrada de hidrógeno en la enono lactona intermediaria (166) por la cara opuesta, y que los centros quirales de la porción glicosídica no incidirían en la selectividad diasterofacial. Debido a la alta diastereoselectividad y al excelente rendimiento con que ocurre la reacción de hidrogenólisis de aldono-1,4-lactonas, ésta constituye una estrategia sumamente útil para la síntesis de 3-desoxiazúcares.

CAPITULO VI:

ANALISIS CONFORMACIONAL DE METIL

2,3,5,6-TETRA-O-BENZOIL- β -D-

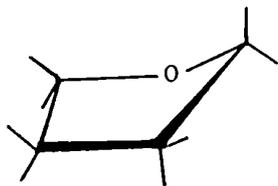
GALACTOFURANOSIDO (90).

La conformación de los anillos furanósicos tiene una incidencia fundamental en la actividad biológica de macromoléculas, como los ácidos nucleicos, o las proteínas que contienen prolina. Es por eso que el análisis conformacional de compuestos furanósicos surgió como una necesidad de complementar el conocimiento de esas moléculas.

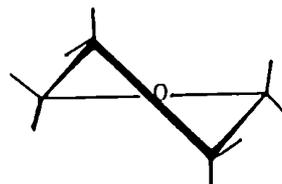
Los estudios conformacionales se han basado principalmente en la medición de las constantes de acoplamiento ($^3J_{H,H}$) y su relación con el ángulo diedro $\varphi_{H,H}$, expresada a través de la ecuación de Karplus¹⁶¹ (ecuación 1) o modificaciones adecuadas de la misma¹⁶²⁻¹⁶⁴.

$$^3J_{H,H} = A \cos^2 \varphi_{H,H} + B \cos 2\varphi_{H,H} + C \quad (1)$$

Sin embargo, la interpretación de $^3J_{H,H}$ en anillos de cinco miembros se complica por la flexibilidad característica de éstos, y que se debe a una baja barrera de interconversión entre las distintas conformaciones plegadas twist (T) o sobre (E) que pueden adoptar¹⁶⁵.



E



T

Esta interconversión podría ocurrir por un proceso de inversión, involucrando una conformación intermedia plana, o bien por

el proceso de pseudorrotación, mediante el cual los átomos del anillo ocupan alternativamente posiciones fuera del plano principal de la molécula, sin adoptar la conformación plana, describiendo un itinerario pseudorrotacional (Figura 46)^{166, 167}.

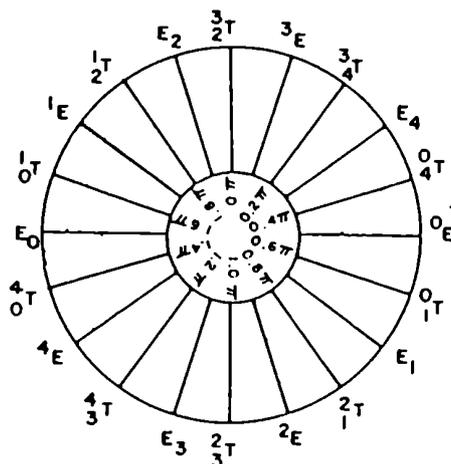


Figura 46. Itinerario pseudorrotacional.

El concepto de pseudorrotación permite la determinación unívoca de una dada conformación en términos de dos parámetros: la amplitud de plegamiento, $\bar{\alpha}_m$, que es el máximo ángulo de plegamiento posible del anillo, y el ángulo de fase de pseudorrotación, F . El parámetro F se relaciona con los ángulos de torsión endocíclicos, $(\bar{\alpha}_j)$, según la ecuación (2) y determina la ubicación exacta de una conformación en el itinerario pseudorrotacional^{166, 167}.

$$\operatorname{tg} F = \frac{(\bar{\alpha}_2 + \bar{\alpha}_4) - (\bar{\alpha}_1 + \bar{\alpha}_3)}{2 \bar{\alpha}_0 (\operatorname{sen} 36^\circ + \operatorname{sen} 72^\circ)} \quad (2)$$

En la ecuación (2), φ_j es el ángulo de torsión entre cuatro átomos del ciclo, exceptuando j , numerándolos a partir del heteroátomo, y asignándole a éste el número cero.

La flexibilidad del anillo furanósico se traduce en la presencia simultánea de varias conformaciones en solución, complicando el enfoque experimental (R.M.N.) del análisis conformacional, pues siendo el proceso de interconversión más rápido que el requerido para un experimento de R.M.N., las constantes de acoplamiento resultan promediadas. Es por ello, que las conclusiones conformacionales a partir de mediciones en R.M.N. deben realizarse con precaución.

Angyal¹⁹⁷ predijo las conformaciones de glicósidos furanósicos basándose en las constantes de acoplamiento $^3J_{H,H}$ experimentales y en tres criterios que contemplan las interacciones estéricas y los efectos estereoelectrónicos del anillo furanósico: a) el grupo anomérico tenderá a ocupar una posición pseudoaxial (efecto anomérico)¹⁴⁰, b) la cadena lateral se orientará pseudoecuatorialmente y c) los sustituyentes cis de carbonos vecinos se alejarán lo más posible entre sí para evitar interacciones de eclipsamiento. Los dos últimos criterios reflejan la tendencia a disminuir las interacciones entre grupos voluminosos. Para el metil β -D-galactofuranósido (5) por ejemplo, de acuerdo a los valores experimentales de $J_{1,2}$ (2,0 Hz) y $J_{3,4}$ (5,6 Hz) y a los criterios a) y b) asignó la conformación $E_0(D)$. En dicha conformación los sustituyentes de C-2 y 3 no introducen una

interacción importante debido a la relación trans de HO-2 y HO-3 en esa configuración. Teniendo en cuenta la flexibilidad de los compuestos furanósicos que no se encuentran en una única conformación, sino que ocupan un segmento del itinerario pseudorrotacional, la conclusión de Angyal para 5 sería que se encuentra poblando el segmento ${}^4E-{}^4T_0-E_0-{}^1T_0-{}^1E$, siendo la E_0 la conformación predominante o la promedio.

Este tipo de metodología para inferir las características conformacionales suelen ser correctas si el compuesto se encuentra poblando un sector estrecho del itinerario pseudorrotacional, pero conduce a errores si ocupa dos segmentos del itinerario¹⁶⁷.

La disponibilidad de otros parámetros experimentales como ${}^3J_{C,H}$ permite obtener tendencias conformacionales con más precisión. Serianni y col.¹⁶⁷ sintetizaron las tetrasas y metil tetrosidos enriquecidos con [${}^{13}C$] y en base a los valores de ${}^3J_{H,H}$ y ${}^3J_{C,H}$ sugirieron los segmentos del itinerario pseudorrotacional poblados por esos compuestos. Un estudio análogo para pentosas tropieza con la dificultad de la síntesis de los compuestos marcados, por lo cual se infirieron tendencias conformacionales para pentosas y pentósidos furanósicos a partir de la comparación de ${}^3J_{H,H}$ con los de las tetrasas homomorfas, para las cuales ya se había determinado la conformación a partir de compuestos marcados¹⁶⁷.

Serianni¹⁷⁰ también enfocó el análisis conformacional de los sistemas tetrafuranósicos desde el punto de vista teórico por

medio de cálculos ab initio de orbitales moleculares. Este estudio mostró la dinámica del anillo no sólo en lo referente a los ángulos de torsión sino también a las longitudes y los ángulos de enlace y permitió estimar la diferencia de energía entre los distintos conformeros. Además, las tendencias conformacionales así deducidas y que se refieren al estado gaseoso, coincidieron con las deducidas por R.M.N.¹⁶⁷, indicando que es la estructura intrínseca de la molécula la que determina la geometría, y que la solvatación no jugaría un papel muy determinante. Los estudios por orbitales moleculares para moléculas mayores como pentosas o hexosas, resultan más complejos y hasta el momento no se han realizado.

Si bien la ecuación original de Karplus (ec. 1) constituyó una herramienta fundamental para estudios estereoquímicos, fué necesario introducir en la misma varias modificaciones tendientes a mejorar la concordancia con los valores de 3J experimentales¹⁶²⁻¹⁶⁴. Haasnoot y Altona¹⁷¹ desarrollaron una generalización semiempírica (ec. 3), en la cual los tres primeros términos representan formalmente a la ecuación (1) y expresan la dependencia de $^3J_{H,H}$ con los ángulos de torsión $\phi_{H,H}$, y los restantes consideran la dependencia de $^3J_{H,H}$ con la orientación relativa de los sustituyentes (S_1) del fragmento H-C-C-H y su electronegatividad.

$$^3J_{H,H} = P_1 \cos^2 \bar{\varphi}_{H,H} + P_2 \cos \bar{\varphi}_{H,H} + P_3 + \sum_1 \Delta x_1 [P_4 + P_5 \cos^2 (\xi_1 \cdot \bar{\varphi}_{H,H} + P_6 |\Delta x_1|)] \quad (3)$$

El parámetro ξ_1 adopta los valores +1 ó -1 según sea la orientación de cada sustituyente (S_1) respecto de su protón geminal, y la influencia de la electronegatividad se evalúa a través de la diferencia de electronegatividad Δx en la escala de Huggins¹⁷², entre el sustituyente S_1 y el hidrógeno. Los valores de Δx_1 dependen no sólo de los sustituyentes directamente unidos al fragmento H-C-C-H (sustituyentes α), sino también de los que se encuentran en posición β , (S_j) que influyen en forma opuesta a los α , resultando la siguiente expresión:

$$\Delta x_1 = \Delta x_{\alpha} - P_7 \sum_j \Delta x_{\beta} \quad (4)$$

Los parámetros P_1 - P_7 se calcularon empíricamente¹⁷¹ por un proceso de iteración a partir de las constantes de acoplamiento experimentales de un gran número de compuestos, en los cuales los ángulos de torsión se determinaron por mecánicas moleculares¹⁷¹.

La ecuación (3) así definida, da una buena concordancia entre los valores de J calculados y los experimentales, lo cual implica poder determinar con más precisión los ángulos diedros $\bar{\varphi}_{H,H}$.

En este laboratorio y en relación al análisis conformacional

de 4-tiofuranósidos¹⁷³ se desarrolló un método para estimar teóricamente los ángulos $\bar{\alpha}_{H,H}$ de todos los hidrógenos de un anillo furanósico en todas las conformaciones posibles, conocidos los cuales, se pueden calcular todos los ${}^3J_{H,H}$ a lo largo del itinerario pseudorrotacional. Esto es equivalente a expresar a ${}^3J_{H,H}$ como una función de los parámetros de pseudorrotación $\bar{\alpha}_m$ y P , de acuerdo a la siguiente ecuación (5), deducida a partir de la ecuación de Altona¹⁷¹.

$${}^3J_{H,H} = P_1 \cos^2 [ka + b\bar{\alpha}_m \cos (P+fase) + c] + P_2 \cos [ka + b \cos (P+fase) + c] + P_3 + \sum_i \Delta x_i (P_4 + P_5 \cos^2 [\xi_i (ka + b \cos (P+fase) + c) + P_6 |\Delta x_i|]) \quad (5)$$

En el caso simetría trigonal, $b=1$, $c=0^\circ$, $a=120^\circ$, $k=0$ para protones cis y $k=\pm 1$ para protones trans, pero en anillos de cinco miembros los ángulos de unión difieren de sus valores tetrahédricos, ocasionando desviaciones en la proyección trigonal, las cuales se corrigen mediante los parámetros a , b y c . Estos parámetros, como así también la amplitud de plegamiento $\bar{\alpha}_m$, se determinaron tomando como modelo al más simple de los anillos oxigenados de cinco miembros, el tetrahydrofurano (THF), y suponiendo que esos parámetros serían los mismos para cualquier derivado. Si bien esta aproximación no tiene en cuenta las distorsiones provocadas por los sustituyentes ni las variaciones en las distancias de enlace y en los ángulos de valencia a lo largo del itinerario

pseudorrotacional, se verificó que la misma introduce errores pequeños en los ángulos ($\bar{\varphi}_{H,H} \pm 3^\circ$) y por ende en los valores de $J_{H,H}$. A partir de la conformación de mínima energía del THF determinada por mecánica molecular (PCMODEL), se calcularon $\bar{\varphi}_m$, a, b y c. El valor encontrado para $\bar{\varphi}_m$ ($40,3^\circ$) cae en el rango normalmente determinado para el anillo furanósico de nucleósidos y nucleótidos ($\bar{\varphi}_m$ $35-45^\circ$), y es también coincidente con el valor estimado por cristalografía de rayos X ($\bar{\varphi}_m = 38,7^\circ$) para el metil α -D-galactofuranósido¹⁷⁴.

Conocidos P y $\bar{\varphi}_m$ y los ángulos diedros $\bar{\varphi}_{H,H}$ en la conformación de mínima energía del THF (calculados por mecánica molecular), se obtuvieron mediante una extensión del método de cuadrados mínimos para funciones con dos variables, los valores de a ($122,38^\circ$), b ($1,11$) y c ($1,28^\circ$). Con estos valores se podían estimar los ángulos de torsión con una diferencia cuadrática promedio (σ) de $0,31^\circ$.

Los parámetros a, b, c y $\bar{\varphi}_m$ del THF así calculados, se introdujeron en la ecuación (5), que da la dependencia de J en función de P, para derivados del THF. Comparando los valores experimentales de J con los calculados, resulta en general un segmento estrecho del itinerario pseudorrotacional en el cual $J_{1,2}$, $J_{2,3}$ y $J_{3,4}$ calculados y experimentales coinciden. Con el valor de P de este segmento se infiere fácilmente la conformación preferida por el compuesto en estudio.

Para comprobar la validez del método desarrollado se aplicó

al análisis de compuestos cuyas conformaciones se habían asignado previamente^{107, 169, 170, 174}, obteniéndose resultados similares.

En lo referente a este trabajo de tesis se realizó el análisis conformacional del metil 2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranósido (90) según el método descrito. La resolución de la ecuación (5) para 90 se muestra en la Tabla XI.

Tabla XI. Valores de $\bar{\phi}$ y ${}^3J_{H,H}$ esperados para 90.

<i>Conf.</i>	P	$\phi_{H_1H_2}$	$\phi_{H_2H_3}$	$\phi_{H_3H_4}$	$J_{1,2}$	$J_{2,3}$	$J_{3,4}$
	(°)	(°)	(°)	(°)	(Hz)	(Hz)	(Hz)
3T_2	0	87,4	- 76,3	87,4	1,1	2,0	0,9
3E	18	97,4	- 78,5	81,1	1,0	1,8	0,9
3T_4	36	109,8	- 84,9	78,9	1,4	1,1	1,0
E_4	54	123,7	- 94,8	81,1	2,5	0,5	0,9
0T_4	72	137,5	-107,3	87,4	4,1	0,6	0,9
0E	90	150,0	-121,1	97,4	5,7	1,6	1,1
0T_1	108	159,9	-134,9	109,8	6,8	3,6	2,1
E_1	126	166,2	-147,4	123,7	7,4	5,7	3,8
2T_1	144	168,4	-157,3	137,5	7,6	7,4	5,9
2E	162	166,2	-163,7	150,0	7,4	8,3	7,7
2T_3	180	159,9	-165,9	159,9	6,8	8,6	8,8
E_3	198	150,0	-163,7	166,2	5,7	8,3	9,3
4T_3	216	137,5	-157,3	168,4	4,1	7,4	9,5
4E	234	123,7	-147,4	166,2	2,5	5,7	9,3
4T_0	252	109,8	-134,9	159,9	1,4	3,6	8,8
E_0	270	97,4	-121,1	150,0	1,0	1,6	7,7
1T_0	288	87,4	-107,3	137,5	1,1	0,6	5,9
1E	306	81,1	- 94,8	123,7	1,4	0,5	3,8
1T_2	324	78,9	- 84,9	109,8	1,6	1,1	2,1
E_2	342	81,1	- 78,5	97,4	1,4	1,8	1,1

En el espectro de R.M.N.- ^1H de 90 (Figura 8), se observaron valores muy pequeños para $J_{1,2}$ ($<1,0$ Hz) y $J_{2,3}$ (1,1 Hz). Estos valores sugieren un ángulo de fase comprendido entre 252° y 54° (Tabla XI). Sin embargo, si se considera el valor de $J_{3,4}$ (5,3 Hz), el sector se acota $F=270^\circ-306^\circ$ siendo los valores de J para $F=288^\circ$ (correspondiente a un $^1\text{T}_0$) concordantes con los valores experimentales. Esto significa que el glicósido 90 se encontraría poblando el segmento $E_0-^1\text{T}_0-^1E$, siendo $^1\text{T}_0$ el conformero predominante o la conformación promedio.

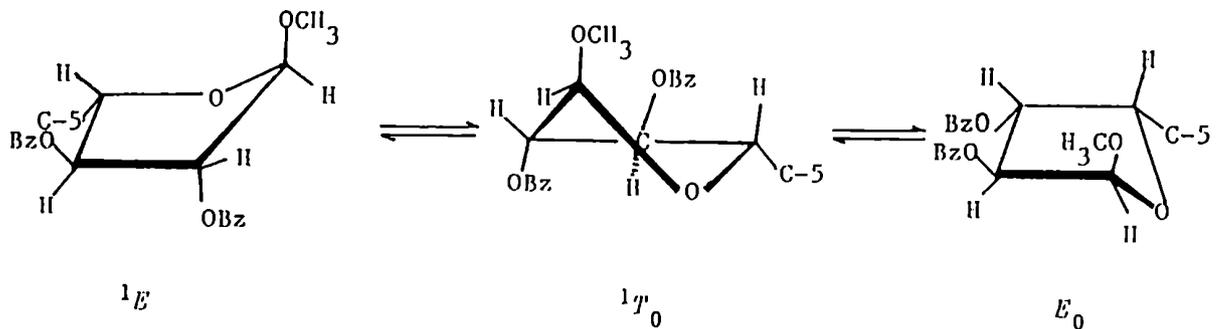


Figura 47. Conformaciones más probables para 90.

Como se observa en la Figura 47, en los tres conformeros el metoxilo de C-1 adopta una posición cuasi axial, y si bien en la conformación 1E la cadena lateral tiene una disposición isocli-
nal, la interacción no es importante debido a que se encuentra en relación trans respecto del sustituyente de C-3.

Estos resultados pueden compararse con los correspondientes al metil β -D-galactofuranósido libre (5)¹⁰⁷ ya que se observa que glicósidos libres y sus correspondientes derivados acila-

dos tienen comportamientos conformacionales similares¹⁷⁰. Angyal¹⁷⁷ había inferido una E_0 para 5 como la conformación más probable y por consideración de la inhomogeneidad conformacional de los compuestos furanósicos, el sector comprendido entre 4E y 1E , dentro del cual también caen las conformaciones deducidas para 90 en este trabajo. Nuestra metodología tiene como ventaja la disponibilidad de las constantes de acoplamiento a lo largo del itinerario pseudorrotacional, de manera que se puede acotar el sector poblado, conociendo la contribución de cada conformero a los valores promedio de dichas constantes.

Estos resultados también están en concordancia con los de Serianni¹⁶⁷ para el metil α -L-arabinósido, pentosa homomorfa, lo cual daría un aval adicional al método aquí descrito.

CAPITULO VII:

PARTE EXPERIMENTAL

Instrumental y Métodos Generales

Los puntos de fusión (p.f.) se determinaron en un aparato Thomas-Hoover y no están corregidos.

Los poderes rotatorios se midieron en un polarímetro Perkin-Elmer, modelo 141, en microceldas de 1 dm de longitud a temperatura ambiente, utilizando el solvente y la concentración que se indican en cada caso.

Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica (R.M.N.- ^1H) se efectuaron a: 100,1 MHz con un espectrómetro Varian XL-100, a 200 MHz con un Varian XL-200, a 250 Mz con un Bruker WM-250 y a 500,132 MHz con un Bruker AM-500. Las constantes de acoplamiento aparentes (expresadas en Hz) se midieron por medición directa de la separación de las líneas en el espectro de R.M.N.- ^1H . Los espectros de resonancia magnética nuclear de carbono-13 (R.M.N.- ^{13}C) se realizaron a 25,2 MHz en un Varian XL-100-15 y se adquirieron empleando desacoples de banda ancha $^{13}\text{C}(^1\text{H})$. En algunos casos, para asignar las señales del espectro de R.M.N.- ^{13}C se realizaron experimentos de desacople heteronuclear selectivo, por irradiación de una dada señal de ^1H con una frecuencia única de baja potencia. Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en partes por millón (p.p.m.) respecto del tetrametilsilano (TMS). Los espectros se realizaron

en Cl_2CD , a menos que se indique lo contrario.

Los espectros de masa (E.M.) se realizaron a 70 eV en un espectrómetro de masa Varian MAT CH-7A, acoplado a una computadora Varian MAT DAta-System 16.

En la cromatografía en capa delgada (c.c.d.) se utilizó la técnica ascendente, en placas de aluminio (Merck) cubiertas con silicagel 60 PF254; 0,2 mm de espesor y 5 cm de longitud. Las manchas se visualizaron por iluminación con luz ultravioleta de 254 nm y luego por inmersión en una solución de H_2SO_4 5% (v/v) en etanol y calentamiento a 140°C. Se emplearon los siguientes solventes:

1-Hexano-acetato de etilo, 2:1

2-Hexano-acetato de etilo, 3:1

3-Tolueno-acetato de etilo, 9:1

4-Tolueno-acetato de etilo, 4:1

5-Tolueno acetato de etilo, 2:1

6-Benceno-acetato de etilo, 19:1

7-acetato de etilo-metanol, 4:1

8-acetato de etilo-metanol, 9:1

9-n-propanol-etanol-agua, 7:1:2

10-ácido acético-acetato de etilo-n-propanol-agua, 6:3:8:1

Para la cromatografía en columna se utilizó como relleno silicagel 60, malla 230-400 (Merck) o silicagel H (Merck). Las columnas de silicagel H se eluyeron con presión utilizando aire compri-

mido. Los solventes de elución se indican en cada caso.

Las cromatografías sobre papel se realizaron en papel Whatman nº1, por el método descendente. Como reactivo de revelado se utilizó nitrato de plata-hidróxido de sodio, preparado según la técnica de Trevelyan y col.¹⁷. Se utilizaron los siguientes solventes:

11-n-Butanol-piridina-agua, 6:4:3

12-Acetato de etilo-ácido acético-agua, 9:2:2

Las cromatografías gas-líquido (c.g.l.) se realizaron con un cromatógrafo gaseoso Hewlett-Packard 5830A con detector de ionización a la llama e inyección directa con nitrógeno como gas portador. Se utilizaron columnas de vidrio (180x0,2 cm), que contenían las siguientes fases:

a) 3% ECNSS-M

b) 3% OV-17

En cada caso se indica la temperatura de inyección (T_i), la temperatura del detector (T_d) y la temperatura de la columna (T_c), como así también los tiempos de retención (t_r).

Las cromatografías líquidas de alta resolución (c.l.a.r.) se realizaron con un cromatógrafo líquido Micromeritics 750 equipado con un inyector Micromeritics 771 y un detector de índice de refracción. Se trabajó bajo las siguientes condiciones:

a) Columna Lichrosorb-NH₂, solvente: acetonitrilo-agua 4:1, flujo: 3 mL/min.

b) Ultrasphere-ODS, RP-18, solvente: acetonitrilo-agua, 85:15, flujo: 2,45 ml/min.

Reactivos generales

Cloruro de estaño (SnCl₄): Se destiló a presión reducida sobre granallas de estaño, bajo atmósfera de nitrógeno.

Diborano (BH₃.THF): Se preparó según la técnica descrita por Brown¹⁷⁷. A 14,82 g (0,391 mol) de borohidruro de sodio y 120 mL de bis(2-metoxietil) éter (diglima) contenidos en un balón de tres bocas, se agregaron lentamente, desde una ampolla de decantación, 62 mL (0,512 mol) de trifluoruro de boro-etil eterato, con agitación y a temperatura ambiente. El agregado duró dos horas y se realizó bajo corriente de nitrógeno, purificado previamente por pasaje sucesivo a través de solución alcalina de pirogalol, hidróxido de potasio, ácido sulfúrico concentrado, hidróxido de potasio y una columna de tamices moleculares 3 A.

El diborano generado, arrastrado por el nitrógeno, se burbujeó a través de una solución diluida de borohidruro de sodio (0,4 g) en bis(2-metoxietil) éter (12 mL) para eliminar el trifluoruro de boro contaminante y se recogió sobre 180 mL de THF manteniendo la temperatura a -5°C. Una vez finalizado el agregado del trifluoruro de boro, el balón se calentó a 60° durante 1 h para arrastrar el diborano residual.

La concentración de la solución de borano varía entre 1,6 y 2,5 M. Para determinarla con exactitud, una alícuota de 1,0 mL de la misma se vertió sobre 10 mL de acetona, se agregaron 10 mL de agua y 0,7 g de manitol. La solución se tituló con hidróxido de sodio 0,1 M usando fenolftaleína como indicador.

Bis(2-butil-3-metil)borano (disiamilborano): Se preparó según la técnica descrita por Lerner¹⁰¹. En un balón de dos bocas provisto de un tubo para entrada de nitrógeno, una barra magnética y una ampolla de decantación con sistema de compensación de presión, se colocaron 10 mL (0,1 mol) de 2-metil-2-buteno. El recipiente se enfrió exteriormente con un baño de ClNa-hielo (-10°C) y se agregaron, lentamente y con agitación 20 mL de una solución 2,5 M de borano en THF. Una vez finalizado el agregado, la mezcla se agitó durante 6 h en atmósfera estática de nitrógeno. Se llevó el volumen a 40 mL por agregado de THF obteniéndose una solución 1,25 M en bis(2-butil-3-metil) borano.

Solución de diazometano en diclorometano: A una mezcla de 60 mL de diclorometano y 25 mL de solución acuosa al 50% de KOH, enfriada a 0°C se le agregaron 6 g de N-nitroso-N-metilurea en porciones y con agitación. Una vez finalizado el agregado se dejó unos minutos para que se complete la reacción y se transfirió la mezcla a una ampolla de decantación. La fase orgánica se separó y la fase acuosa se lavó una vez con 10 mL de diclorometano. Las solu-

ciones de diazometano se juntaron y guardaron sobre KOH en lentes a -18°C .

Trietilamina: Se reflujo sobre KOH durante 6 h y luego se bides-tilo sobre KOH. Finalmente se destilo en atmosfera de nitrógeno luego de agregarle 2% de fenilisocianato. El destilado se guardo en atmosfera de nitrógeno sobre KOH en lentes.

Trifluoruro de boro-etil eterato: Se le agrego eter etílico y se destilo a presión reducida sobre hidruro de calcio.

Purificación de solventes

Todos los solventes se purificaron por destilación. En algunos casos requirieron una purificación especial para poder emplearlos en reacciones determinadas:

Diclorometano (C_12CH_2): Se seco por reflujo sobre P_2O_5 y destilación. Se guardo sobre tamices moleculares de 4 Å.

Acetonitrilo (CH_3CN): Se seco por reflujo sobre P_2O_5 y destilación. Se guardo sobre tamices moleculares de 3 Å.

Piridina (C₅H₅N): Se reflujo sobre KOH y se destiló, conservándola sobre tamices moleculares de 4 Å.

Metanol (CH₃CO): Se secó por reflujo sobre torneaduras de magnesio, se destiló y se guardó sobre tamices moleculares 4 Å.

Bis(2-metoxietil) éter (diglima) y el oxolano (tetrahidrofurano, THF): Fueron secados y liberados del oxígeno disuelto momentos antes de ser empleados por reflujo sobre sodio-benzofenona, bajo atmósfera de nitrógeno purificado y luego destilados.

Métodos Computacionales

Los programas fueron ejecutados bajo Microsoft DOS 3.30 en una computadora IBM PS/2 30 con procesador Intel 8086 (8 MHz), coprocesador matemático Intel 8087, 640 K de memoria principal, 128 K de memoria de pantalla y 200 K de memoria auxiliar. PCMODEL (versión 2,0) es una versión para 300 átomos del programa MODEL (versión VAX 1.1) de Still, y es un programa de modelado molecular iterativo, cuyo campo de fuerza es una extensión del MM2 de Allinger¹⁷⁸.

2,3,5,6-tetra-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (88).-

Se utilizó la técnica de Litter y Lederkremer¹⁰⁰, con ligeras modificaciones.

A una mezcla de 1:1 de cloruro de benzoilo/piridina (10 mL) enfriada a 0°C, se agregó lentamente y con agitación D-galactono-1,4-lactona (87, 1,0 g, 5,61 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 3 h y se volcó sobre agua-hielo (100 mL). Se decantó el agua, el jarabe se lavó tres veces con agua helada por decantación y se extrajo sucesivamente con HCl 1N (100 mL), agua (80 mL), NaHCO₃ (ss, 80 mL) y nuevamente agua (2x80 mL). El extracto orgánico se concentró y se secó a presión reducida en desecador. Al día siguiente, se disolvió el jarabe en éter etílico (10 mL), se filtró, y al filtrado se agregó un volumen igual de éter de petróleo, con lo cual se separó un producto que se purificó por disolución y reprecipitación, obteniéndose 2,90 g (87%) de un jarabe con iguales propiedades físicas y espectroscópicas que una muestra auténtica de 88, $[\alpha]_D^{20} +22^\circ$.

2,3,5,6-tetra-O-benzoil-D-galactofuranosa (89).-

Se utilizó la técnica de Lerner y col.¹⁰¹. A una solución de bis(2-butil-3-metil)borano (8,9 mmol) en 6 mL de tetrahidrofurano (THF) enfriada a -5°C y bajo atmósfera de N₂, se agregó una solución de 88 (1,23 g, 2,07 mmol) en THF (4,0 mL).

Luego de 20 h de agitación a temperatura ambiente, se observó por c.c.d. que el compuesto de partida (R_f 0,58; sv 1) se ha-

La síntesis de los distintos productos, se describe en el mismo orden que en los Capítulos de Resultados y Discusión.

bía convertido totalmente en un producto de R_f 0,41. Se enfrió a 0°C y lentamente, con agitación, se agregaron 0,5 mL de agua. Luego de 0,5 h se agregó agua oxigenada (30% p/p, 1 mL) mientras se ajustaba el pH a 7-8 con NaOH 3 M. Se concentró la solución para eliminar el THF, se agregó agua (50 mL) y se extrajo con Cl_2CH_2 (3x75 mL). El extracto orgánico se lavó con agua, se secó ($MgSO_4$) y se concentró, obteniéndose un jarabe cromatográficamente homogéneo (1,15 g, 93%) que se caracterizó como 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-D-galactofuranosa (89).

1,2,3,5,6-penta-O-benzoil- α,β -D-galactofuranosa (91).-

a) Por benzoilación de 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-D-galactofuranosa (89).

A una solución de 89 (0,20 g, 0,34 mmol) en piridina anhidra (5 mL) enfriada a 0°C, se agregó cloruro de benzoilo (0,5 mL). Luego de 2 h de agitación, la mezcla de reacción se volcó sobre agua-hielo (100 mL), se dejó decantar y el jarabe se lavó varias veces con agua helada para eliminar la piridina. Se obtuvo un sólido blanco que se recristalizó de etanol (0,51 g, 72%) y mostró por c.c.d. una única mancha, R_f 0,54 (sv 3), R_f 0,50 (sv 2), R_f 0,45 (sv 6), coincidentes con el de una muestra auténtica de 1,2,3,5,6-penta-O-benzoil- β -D-galactofuranosa (91 β) y dió p.f. 159-160°C; $[\alpha]_D^{25}$ -25° (c 1, cloroformo); lit¹¹⁰ p.f. 162-164°C, $[\alpha]_D^{25}$ -30°.

b) Por benzoilación de D-galactosa.

Se utilizó el procedimiento de D'Accorso, Thiel y Schüller¹¹⁰.

Una solución de D-galactosa (5,0 g; 27,7 mmol) en piridina anhidra (70 mL) se calentó a reflujo en un baño de agua hirviente, mientras se agitaba. Después de 2 h se llevó la solución a 60°C y se agregó lentamente y con agitación cloruro de benzoílo (20 mL), cuidando que la temperatura no ascendiera. Se continuó el calentamiento durante 1,5 h, manteniendo el baño de agua a 60°C, luego de lo cual se agregó agua (10 mL) y se continuó la agitación a temperatura ambiente durante 0,5 h. La mezcla de reacción se volcó sobre agua-hielo (500 mL) y se trató como en el método a. Por c.c.d. se observó que el producto cristalino obtenido (1,32 g; 68%) mostraba dos manchas de R_f 0,50 y 0,54 (sv 3) de igual movilidad que los testigos auténticos de galactosa furanósica perbenzoilada α y β , respectivamente.

El isómero β (91 β) se aisló por recristalización de etanol, sembrando la solución con cristales de una muestra auténtica.

Metil 2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranósido (90).-

a) Por metilación con diazometano de 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-D-galactofuranosa (89).

Se aplicó la técnica descrita por Mastronardi¹⁰⁹. A una

solución de **89** (0,60 g; 1,01 mmol) en Cl_2CH_2 anhidro (1 mL), enfriada a -5°C , se agregó $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (0,02 mL). Se adicionó gota a gota y con agitación continua una solución de diazometano (CH_2N_2) en Cl_2CH_2 , hasta persistencia de la coloración amarilla. Se filtró el sólido blanco formado en la reacción (polimetileno) y el filtrado se lavó sucesivamente con NaHCO_3 (ss, 100mL) y agua (2x50 mL), se secó (MgSO_4), se evaporó y por c.c.d. se observó un producto principal de R_f 0,40 (sv 1) impurificado con el compuesto de partida (R_f 0,31). Por cromatografía en columna de sílica gel, eluyendo con hexano-acetato de etilo, 3:1, se obtuvo el producto de R_f 0,40 (0,32 g, 52%), mayoritariamente en configuración β , según sus espectros de R.M.N.- ^1H y ^{13}C . Por recristalización de etanol se obtuvo dicho anómero puro y se caracterizó como metil 2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranósido (**90**), R_f 0,52 (sv 3), p.f. $90-92^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{20} -3^\circ$ (c 1, cloroformo).

R.M.N.- ^1H (Fig 8, Tabla I); δ : 8,15-7,20 (20 H-aromáticos); 6,06 (H-5); 5,62 ($J_{3,4} = 5,4$ Hz, H-3), 5,46 ($J_{2,3} = 1,1$ Hz, H-2), 5,20 ($J_{1,2} < 1,0$ Hz, H-1); 4,77 (H-6,6'), 4,65 ($J_{4,5} = 3,5$ Hz, H-4) y 3,47 (CH_2O).

R.M.N.- ^{13}C (Fig 8, Tabla II); δ : 165,8, 165,4 ($\times 2$), 165,2 (PhCO), 133,3-128,2 (C-aromático), 106,7 (C-1), 82,2 (C-4), 81,1 (C-2), 77,6 (C-3), 70,2 (C-5), 63,4 (C-6) y 54,9 (CH_2O).

Análisis. Calculado para $C_{26}H_{30}O_{10}$:	%C: 68,85	%H: 4,95
Encontrado	%C: 69,16	%H: 5,18

b) Por condensación de 1,2,3,5,6-penta-O-benzoil-D-galactofurranosa (91) con metanol, catalizada por $SnCl_4$.

A una solución de 91 (1,40 g, 2,0 mmol) en Cl_2CH_2 anhidro (20 mL), enfriada a $0^\circ C$, se agregó $SnCl_4$ (0,25 mL, 2,1 mmoles). A los 10 min de agitación, se agregó metanol (0,2 mL, 2,6 mmoles) y se continuó la agitación a temperatura ambiente. Luego de 15 h, se observó por c.c.d. un producto principal (R_f 0,40, sv 1) de mayor movilidad que el compuesto de partida (R_f 0,32), que ya había desaparecido casi totalmente. La mezcla de reacción se diluyó con Cl_2CH_2 (40 mL) y se volcó lentamente y con buena agitación sobre $NaHCO_3$ (ss, 75 mL). La fase acuosa se extrajo con Cl_2CH_2 (3x60 mL) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaCl (ss), hasta neutralidad, se secaron ($MgSO_4$) y se concentraron. Por cromatografía en columna sobre sílica gel, eluyendo con hexano-acetato de etilo, 3:1, se obtuvieron 1,26 g (85%) de un producto que recristalizado de etanol, dió las mismas propiedades físicas y espectroscópicas que el producto descripto en a.

Metil β -D-galactofuranósido (5).-

a) Por desbenzoilación de metil 2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranósido (90) con NaMeO.

A una suspensión de 90 (0,52 g, 0,85 mmol) en metanol anhidro (40 mL) enfriada a 0°C, se agregó una solución de NaMeO 0,5 M en MeOH (10 mL).

Después de 2 h de agitación el compuesto de partida había reaccionado totalmente y sólo se detectaba por c.c.d. (sv 2) una mancha en el origen. La mezcla de reacción se desionizó con resina Dowex 50W (H⁺) y se concentró. El benzoato de metilo se eliminó por sucesivas evaporaciones con agua, obteniéndose un jarabe incoloro (0,15 g, 91%), cromatográficamente homogéneo (R_f 0,36, sv 7), que no se pudo cristalizar y que se caracterizó como metil β -D-galactofuranósido (5); $[\alpha]_D^{20}$ -120° (c 1, metanol), Lit⁷⁰ $[\alpha]_D^{20}$ -112° (c 3, agua), $[\alpha]_D^{20}$ -140° (c 2,5, agua); lit⁷⁷ $[\alpha]_D^{20}$ -108° (c 1, metanol)

R.M.N.-¹³C (1:1 D₂O-H₂O) (Figura 9, Tabla III); δ : 109,0 (C-1), 83,8 (C-4), 81,6 (C-2), 77,5 (C-3), 71,8 (C-5), 63,6 (C-6) y 55,8 (CH₃O).

b) Por desbenzoilación de metil 2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranósido (90) con trietilamina (TEA).

Una suspensión de **90** (0,50 g, 0,82 mmol) en 25 mL de MeOH-H₂O-TEA (5:2:1) se calentó a reflujo en baño de agua, hasta disolución total.

Luego de 1 h se concentró la solución y el jarabe se evaporó varias veces con agua, obteniéndose un producto cromatográficamente homogéneo (0,15 g, 94%), con iguales constantes físicas y espectroscópicas que el producto obtenido en a.

p-Nitrofenil 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranósido (96)

a) Glicosidación catalizada por ácido p-toluensulfónico.

A una solución de 1,2,3,5,6-penta-O-benzoil-D-galactofuranosa (2,1 g, 3,0 mmol) en tolueno anhidro (20 mL), se agregó p-nitrofenol (2,1 g, 15 mmoles) y ácido p-toluensulfónico (0,02 g, 0,12 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2 h, eliminando el agua liberada mediante una trampa tipo Dean-Stark. Se obtuvo una solución oscura que se concentró y el residuo se disolvió en Cl₂CH₂ (200 mL) y se extrajo con NaOH 2% (2x50 mL). La fase acuosa se extrajo con Cl₂CH₂ (3x30 mL) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua hasta neutralidad, se secaron (MgSO₄) y se concentraron, obteniéndose un residuo oscuro que por c.c.d. mostró un producto principal de R_F 0,51 (sv 6), levemente impurificado con el compuesto de partida (R_F 0,45). Por cromatografía en una columna pequeña de sílica gel, eluyendo con tolueno-acetato de etilo, 99:1, se aisló

el producto de R_f 0,51 (1,86 g, 87%) que por disolución en etanol-acetona caliente, 40:1 y posterior enfriamiento, precipitó como un sólido amorfo que se caracterizó como p-nitrofenil 2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranósido (96); $[\alpha]_D^{25}$ -11° (c 1, cloroformo)

R.M.N.- ^1H (Figura 10), δ : 8,20-7,10 (H-aromáticos), 6,06 (m, H-5), 6,04 (sa, $J_{1,2} < 1,0$ Hz, H-1), 5,75 (m, H-2,3) y 4,76 (m, H-4,6,6').

R.M.N.- ^{13}C (Figura 10, Tabla I), δ : 165,6, 165,4, 165,3, 165,2 (PhCO), 160,3 (C-NO $_2$ p-nitrofenilo), 142,5 (C-p-nitrofenilo) 133,5-128,1 (C-aromáticos), 125,6 (C-2,6 p-nitrofenilo), 116,3 (C-3,5 p-nitrofenilo), 103,7 (C-1), 83,0 (C-4), 81,8 (C-2), 77,2 (C-3), 70,0 (C-5) y 63,0 (C-6).

Análisis. Calculado para $\text{C}_{40}\text{H}_{31}\text{NO}_{12}$ %C:66,94 %H:4,35 %N:1,95, encontrado %C:67,17 %H:4,36 %N:1,77

b) Glicosidación catalizada por SnCl_4 .

A una solución de 1,2,3,5,6-penta-O-benzoil-D-galactofuranosa (91) (1,40 g, 2,0 mmol) en Cl_2CH_2 anhidro (20 mL) enfriada a 0°C , se le agregó SnCl_4 (0,24 mL, 2,0 mmol). A los 10 min de agitación se agregó p-nitrofenol (0,31 g, 2,2 mmol) y se siguió la reacción por c.c.d. Después de 15 h, el perbenzoato de partida había desaparecido totalmente, por lo cual se volcó la

mezcla de reacción lentamente sobre NaHCO_3 (ss, 80 mL) y se trató como se describió en la técnica anterior, obteniéndose luego de la purificación por columna, un producto con las mismas propiedades físicas y espectroscópicas que el obtenido en a con 91% de rendimiento (0,55 g).

p-Nitrofenil β -D-galactofuranósido (97).-

A una suspensión de p-nitrofenil 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-D-galactofuranósido (96, 1,45 g, 2,0 mmol) en MeOH anhidro (40 mL) se agregaron alícuotas de 1 mL cada 5 min de una solución 1 M de NaMeO/MeOH, hasta que el compuesto de partida se disolvió totalmente (9 mL en total) y por c.c.d. (sv 6) se observaba solamente una mancha en el origen.

La solución se desionizó con resina Dowex 50W (H^+) y al concentrar la solución se obtuvo un producto cristalino de R_f 0,54 (sv 8), que recristalizado de acetato de etilo (0,47 g, 77%) se caracterizó como p-nitrofenil β -D-galactofuranósido (97) y dió: p.f. 152-154°C, $[\alpha]_D^{20}$ -203° (c 1, metanol).

R.M.N.- ^1H ($\text{C}_6\text{D}_6\text{N}$, Fig 10), δ : 8,14 (d, $J_{2,3}$ 9,4 Hz, H-3 p-nitrofenilo), 7,20 (d, H-2 p-nitrofenilo), 6,21 (d, $J_{1,2}$ 2,2 Hz, H-1), 5,34-4,96 (m, H-2,3,4) y 4,70-4,28 (m, H-5,6,6').

R.M.N.- ^{13}C ($\text{C}_2\text{D}_6\text{SO}$, Fig 10, Tabla III), δ : 161,8 (C=O p-nitrofenilo), 141,2 (C-NO₂ p-nitrofenilo), 125,5 (C-2,6 p-ni-

trofenilo), 116,4 (C-3,5 p-nitrofenilo), 106,0 (C-1), 83,5 (C-4), 81,6 (C-2), 75,8 (C-3), 69,9 (C-5) y 62,3 (C-6).

Análisis. Calculado para $C_{12}H_{15}NO_6$: %C:47,84 %H:5,02
N:4,65, encontrado %C:47,59 %H:5,09 %N:4,67

Confirmación de la estructura furanósica. Conversión de p-nitrofenil β -D-galactofuranósido (97) en L-arabinosa.-

A una solución de p-nitrofenil β -D-galactofuranósido (97, 0,003 g) en 0,4 mL de agua se agregaron 0,4 mL de $NaIO_4$ 0,05 M. Luego de 20 min de agitación en la oscuridad, se agregó KBH_4 (0,015 g) y se continuó la agitación durante 2 h a temperatura ambiente.

Para hidrolizar la unión glicosídica, se agregó HCl 2 M (0,4 mL) y se calentó a 100°C durante 2 h. Se evaporó la solución con agua varias veces, para eliminar el ácido y luego se desionizó con una resina mixta (Amberlite MB-3). Las fracciones que dieron positivo el ensayo de fenol-sulfúrico⁴⁷ se analizaron en conjunto por cromatografía en papel (sv 11), observándose una mancha de igual movilidad que arabinosa y no detectándose galactosa.

Una alícuota del producto se redujo con $NaBH_4$ y se acetiló con anhídrido acético en piridina. Por c.g.l. se observó un único pico con el mismo t_r que arabinitol acetato (t_r 0,31, relativo al glucitol acetato, columna a, T_1 :250°C, T_2 : 250°C, T_3 : 220°C, isotérmica, flujo de N_2 : 2 mL/ min.).

2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-tritil-D-galactono-1,4-lactona (102).-

Se siguió la técnica descrita por Du Mortier, Varela y Lederkremer¹¹⁷.

A una solución de D-galactono-1,4-lactona (87) (1,78 g, 10,0 mmol) en piridina anhidra (15 mL) se agregó cloruro de trifetilmetano (3,0 g, 10,0 mmol). Luego de 48 h a temperatura ambiente y en la oscuridad se agregó cloruro de benzoílo (12,0 mL), mientras se enfriaba la mezcla en un baño de hielo-agua.

Al cabo de 2 h de agitación se volcó sobre hielo-agua (200 mL), se decantó el agua y el jarabe se lavó varias veces con agua helada y se recristalizó de etanol, obteniéndose un producto (6,6 g, 90%) con iguales propiedades físicas y espectroscópicas que una muestra auténtica de 102; p.f. 145-146°C, $[\alpha]_D^{25} +8^\circ$ (c 1, cloroformo), R_f 0,45 (sv 2), R_f 0,58 (sv 3).

2,3,5-Tri-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (103).-

Se siguió la técnica descrita por Du Mortier, Varela y Lederkremer¹¹⁷.

A una solución de 2,3,5-tri-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (102) (1,56 g, 2,0 mmol) en Cl_2CH_2 anhidro (80 mL) se agregó $F_3B:OEt_2$ (0,25 mL) y MeOH (0,8 mL). Después de 1 h de agitación a temperatura ambiente se observó por c.c.d. la desaparición del compuesto de partida (R_f 0,58, sv3), por lo cual, la mezcla se diluyó con Cl_2CH_2 (40 mL) y se lavó sucesivamente con agua (100 mL), $NaHCO_3$ (ss, 100 mL) y nuevamente con agua

(2x100 mL); se secó ($MgSO_4$) y se evaporó. El jarabe mostró por c.c.d. una mancha principal de R_f 0,15 (sv 3) impurificado con un producto de igual movilidad que trifenilmetanol. Por disolución en éter etílico y precipitación con hexano se obtuvo un jarabe cromatigráficamente homogéneo (0,86 g, 83 %) de igual movilidad que una muestra auténtica de 103.

2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (106).-

a) A partir de 2,3,5-tri-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (103):

A una solución de 1,2,3,5,6-penta-O-benzoil-D-galactofuranosa (91) (1,01 g, 1,45 mmol) en Cl_2CH_2 anhidro (15 mL), enfriada a 0°C, agregó $SnCl_4$ (0,18 mL, 1,5 mmoles) y 10 min más tarde se agregaron lentamente 0,71 g (1,45 mmol) del compuesto 103. Luego de 5 h a temperatura ambiente, se observó por c.c.d. un producto principal de movilidad intermedia (R_f 0,44, sv 3) respecto de los compuestos de partida 91 (R_{fA} 0,50, R_{fB} 0,54) y 103 (R_f 0,15). La solución se volcó lentamente y con buena agitación sobre $NaHCO_3$ (ss, 75 mL) y la fase acuosa se extrajo con Cl_2CH_2 (3x40 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaCl (ss, 2x50 mL), se secaron ($MgSO_4$) y se evaporaron. El jarabe se disolvió en etanol caliente y al enfriar precipitó como un sólido blanco y amorfo, que se purificó repi-

tiendo la disolución y precipitación de etanol. Se obtuvo así un producto cromatográficamente homogéneo (1,41 g, 91%) que se caracterizó como 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (106), R_f 0,50 (sv 2), $[\alpha]_D^{20} -7^\circ$ (c 1, Cl_3CH).

R.M.N.- 1H (500 Mz, 2D-COSY, Figura 12, Tabla IV), δ : 8,15-7,15 (35 H-aromáticos), 6,08 (m, H-5'), 5,93 (d, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 5,85 ($J_{3,4}$ 5,6 Hz, H-3), 5,84 (H-5), 5,61 (dd, $J_{3',4'}$ 4,8 Hz, H-3'), 5,46 (d, $J_{2',3'}$ 1,0 Hz, H-2'), 5,41 (s, $J_{1',2'}$ <0,5 Hz, H-1'), 5,10 (c, $J_{4,5}$ 2,5 Hz, H-4), 4,72-4,80 (H-4', H-6'a,6'b), 4,12 (c, $J_{6a,6b}$ 7,7 Hz, H-6a) y 4,02 (c, $J_{6a,6b}$ 6,0, $J_{6a,6b}$ 10,3 Hz, H-6b).

R.M.N.- ^{13}C (Figura 13), δ : 168,5 (C-1), 165,5, 165,3, 165,2, 165,1, 164,9, 164,6 (PhCO), 133,4-127,8 (C-aromáticos), 105,5 (C-1'), 82,1, 81,8 (C-2',4'), 78,7, 77,5 (C-3',4), 73,8, 72,3, 70,3, 70,1 (C-2,3,5,5') y 63,8, 63,4 (C-6,6').

Anàlisis. Calculado para $C_{61}H_{48}O_{16}$	%C:68,54	%H:4,53
Encontrado	%C:68,72	%H:4,73

b) A partir de 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-tritil-D-galactono-1,4-lactona (102):

A una solución de 1,2,3,5,6-penta-O-benzoil-D-galactofura-

nosa (91) (1,91 g, 2,73 mmol) en Cl_2CH_2 anhidro (25 mL), enfriada a 0°C , se agregó SnCl_4 (0,33 mL, 2,75 mmoles). A los 10 min de agitación se agregó el compuesto 102 (2,0 g, 2,73 mmol) y se siguió la reacción por c.c.d. Después de 20 h de agitación a temperatura ambiente se observó que aún había una cantidad importante de los compuestos de partida, por lo cual se agregó otra alícuota de SnCl_4 (0,33 mL) y se continuó la agitación durante 20 h más, luego de lo cual la conversión al producto de R_f 0,44 (sv 3) había sido total. La mezcla de reacción se trató como en el caso a, obteniéndose 2,48 g (85%) de un producto con las mismas constantes físicas y propiedades espectroscópicas que en ese caso.

En las aguas madres de las reacciones anteriores (métodos a y b), se observó por c.c.d. la formación de un producto de menor movilidad (R_f 0,34, sv 2) que se aisló y caracterizó como octa-O-benzoil- β -D-galactofuranosil-(1 \rightarrow 1)- β -D-galactofuranósido (113) y que posteriormente se obtuvo como un único producto, bajo otras condiciones de reacción.

6-O- β -D-galactofuranosil-D-galactitol (107).-

A una suspensión de 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (106) (0,50 g, 0,46 mmol), en metanol anhidro (15 mL) se agregó NaBH_4 en cinco porciones de 0,05 g cada 0,5 h. Luego de 20 h de

agitación la mezcla se solubilizó totalmente y se observó por c.c.d. (sv 3) la desaparición del compuesto de partida y la formación de varios productos de menor movilidad, que se atribuyeron a alditoles parcialmente benzoilados. Para completar la desacilación se agregó a la mezcla de reacción una solución de NaMeO 0,5 M en MeOH anhidro y después de 3 h de agitación se observó por c.c.d. un producto principal de R_f 0,67 (sv 9). La solución se desionizó con resina Dowex 50W (H^+) y se concentró. El residuo se evaporó varias veces con agua para eliminar el benzoato de metilo y se obtuvo un jarabe (0,12 g, 76%) que por cromatografía en papel mostró un R_{f1} 0,82 (sv 11), y se caracterizó como 6-O- β -D-galactofuranosil-D-galactitol (107), $[\alpha]_D^{20}$ -45° (c 0,6, agua).

R.M.N.- 1H (D_2O), región anomérica, 5,11 ($J_{1,2}$ $< 1,0$ Hz, H-1').

R.M.N.- ^{13}C (1:1 D_2O-H_2O , Figura 13), δ : 108,6 (C-1'), 83,6 (C-4'), 81,8 (C-2'), 77,6 (C-3'), 71,7, 71,1, 70,8, 70,5, 70,2, 69,6 (C-2,3,4,5,5',6), 64,2 y 63,6 (C-1,6').

A una solución de 107 (5 mg) en piridina anhidra (0,5 mL) se agregaron 0,5 mL de Tri-Sil (Pierce) y el derivado trimetilsililado así obtenido se analizó por c.g.l.-masa.

c.g.l.: t_r 6,1 min (columna b, T_i :250 C, T_a :290°C, T_e : programada desde 200°C hasta 290°C a 9°/min, flujo de helio: 28 mL/min).

E.M.:m/z (%) 525 (61), 451 (67), 422 (5), 361 (63), 345 (67), 332 (66), 319 (100), 307 (65), 217 (71), 205 (95), 204 (76).

2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (108).-

Una solución de 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (106) (1,80 g, 1,68 mmol) en THF anhidro (5 mL), se agregó a una solución recién preparada y enfriada en baño de hielo, que contenía 6,75 mmoles de bis(2-butil-3-metil)borano¹⁰¹ en 5 mL de THF.

Después de 16 h de agitación a temperatura ambiente y bajo atmósfera de N₂, se observó por c.c.d. un producto principal (R_f 0,26, sv 3) de menor movilidad que el material de partida. La mezcla se enfrió a 0°C y cuidadosamente se agregó agua (1 mL). Luego de 30 min de agitación, se agregaron 2 mL de H₂O₂ 30% (p/p) mientras se ajustaba el pH a 7-8 con NaOH 1N. A la hora, la solución se concentró para eliminar el THF y se extrajo con Cl₂CH₂ (3x50 mL). El extracto se lavó con agua, se secó (MgSO₄) y se concentró. Se obtuvo un jarabe incoloro, cromatográficamente homogéneo que se caracterizó como 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (108) y que por disolución en etanol caliente

y posterior enfriamiento, precipitó como un sólido amorfo (1,55 g, 86%), $[\alpha]_D^{20} +3^\circ$ (c 1, Cl_3CH).

R.M.N.- 1H , δ : 8,18-7,15 (35 H-aromáticos), 6,14-5,94 (H-5,5'), 5,77 ($J_{1,2} < 1,0$ Hz, H-1,3), 5,60 ($J_{3,4} = 5,0$ Hz, H-3'), 5,55, 5,46 ($J_{2,3} \sim J_{2',3'} = 1,0$ Hz, H-2,2'), 5,36 ($J_{1',2'} < 1,0$ Hz, H-1'), 5,08-4,65 (H-4,4', 6'a,6'b), 4,24 (H-6a) y 3,97 (H-6b).

R.M.N.- ^{13}C (Figura 16), anómero β , δ : 166,6, 165,6 (x2), 165,4 (x4), 165,0 (PhCO), 133,7-128,2 (C-aromáticos), 104,1 (C-1'), 100,7 (C-1), 83,2, 81,8, 81,6, 80,6 (C-2,2',4,4'), 77,4, 77,1 (C-3,3'), 70,6, 70,3 (C-5,5') y 64,1, 63,3 (-6,6').

Para el anómero α se observaron, inter alia, δ : 104,7 (C-1'), 95,9 (C-1).

Análisis. Calculado para $C_{61}H_{60}O_{10}$	%C:68,40	%H:4,70
Encontrado	%C:68,12	%H:4,97

6-O- β -D-galactofuranosil-D-galactosa (16).-

A una suspensión de 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (10B) (0,35 g, 0,32 mmol) en metanol anhidro (20 mL), enfriada a 0°C, se agregó una solución 0,5 M de NaMeO en MeOH. Luego de 2 h de agitación a temperatura ambiente, el sólido se había disuelto

totalmente y por c.c.d. (sv 3) no se observó compuesto de partida. Se neutralizó con resina Dowex 50W (H⁺) y se evaporó el solvente. El benzoato de metilo se eliminó por sucesivas evaporaciones con agua, obteniéndose un jarabe (0,09 g, 81%) que por c.c.d. mostró una mancha principal de R_F 0,52 (sv 9) y otra de igual movilidad que galactosa. Por c.l.a.r. (condiciones a) se aisló el producto de mayor movilidad, t_R 5,7 min, que por posterior cromatografía en papel mostró R_{Real} 0,77, R_{Lactosa} 1,30 (sv 11), [α]_D -21° (c 0,4, agua); lit⁶³ R_{Lactosa} 1,33, [α]_D -28±1,3° (c 4,5, agua); lit⁶⁰ R_{Real} 0,77, R_{Lactosa} 1,19, [α]_D -26±2° (c 0,5, agua).

1,2,3,4-tetra-O-acetil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-acetil-β-D-galactofuranosil)-D-galactopiranososa (72).-

Una suspensión de 0,43 g (0,39 mmol) de 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (108) en MeOH anhidro (30 mL), se desbenzoiló con NaMeO/MeOH 0,5 N (7 mL) como en la reacción anterior. Luego de 2 h de agitación a temperatura ambiente se neutralizó la solución con hielo seco (CO₂) y se evaporó a sequedad. El residuo se secó en desecador con pentóxido de fósforo, durante la noche. Se disolvió luego en piridina anhidra (3 mL) y se agregó Ac₂O (3 mL). A las 5 h la mezcla se volcó lentamente sobre agua (50 mL) y se extrajo con Cl₂CH₂ (3x30 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron sucesivamente con HCl 1% (30mL), NaHCO₃ (ss,

30 mL), y agua hasta neutralidad. Se secó (MgSO_4) y se evaporó el solvente. El residuo mostró por c.c.d. un producto principal de R_f 0,48 (sv 3) levemente impurificado con otro de igual movilidad que un testigo de 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-galactopiranososa. Por cromatografía en columna, eluyendo con hexano-acetato de etilo, 2:1, se aisló el producto de R_f 0,48 (sv 3) con 58% de rendimiento (0,16 g) y se caracterizó como 1,2,3,4-tetra-O-acetil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-acetil- β -D-galactofuranosil)-D-galactopiranososa (72); $[\alpha]_D^{20} -13^\circ$ (c 1, Cl_3CH).

R.M.N. ^1H (500 MHz, ^1H -COSY, Fig 17), δ : 5,69 (d, $J_{1,2}$ 8,3 Hz, H-1), 5,47 (dd, $J_{4,5}$ 2,9, H-4), 5,36 (m, H-5'), 5,33 (dd, $J_{2,3}$ 10,4 Hz, H-2), 5,06 (dd, $J_{3,4}$ 3,3 Hz, H-3), 5,01 (sa, H-1' y 2'), 4,99 (d, $J_{3',4'}$ 5,8 Hz, H-3'), 4,33 (m, $J_{6'a,6'b}$ 3,7 Hz, H-6'a), 4,18 (m, $J_{6'a,6'b}$ 7,1 Hz, $J_{6'a,6'b}$ 12,0 Hz, H-6'b), 4,12 (m, $J_{5,6a}$ 7,7 Hz, $J_{5,6b}$ 5,8 Hz, H-5), 3,69 (m, $J_{6a,6b}$ 9,6 Hz, H-6a), 3,58 (m, H-6b) y 2,18, 2,11(x2), 2,10, 2,09, 2,06, 2,04, 1,98 (CH_3CO).

R.M.N. ^{13}C (Fig 18), δ : 170,3, 170,0, 169,9, 169,7, 169,3, 168,7 (CH_3CO), 105,5 (C-1'), 92,1 (C-1), 81,2, 80,7 (C-2', 4'), 76,2 (C-3'), 72,3, 71,0, 69,6, 67,6, 66,7 (C-2, 3, 4, 5, 5') y 64,1, 62,7 (C-6, 6'), 20,7-20,5 (CH_3CO).

E.M., m/z (%): 533 (8), 331 (81), 317 (6), 245 (8), 240 (6), 210 (12) y 169 (100), 145 (12).

Análisis. Calculado para $C_{26}H_{32}O_{11}$	%C:49,56	%H:5,64
Encontrado	%C:49,30	%H:5,43

1-O-acetil-2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (109).-

A una solución de 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (108) (0,15 g, 0,13 mmol) en piridina anhidra (0,5 mL), enfriada a -5°C , se agregó lentamente Ac_2O (0,5 mL). Después de 20 h de agitación a la misma temperatura se agregó MeOH (1 mL) y 0,5 h más tarde se evaporó el solvente. El residuo se redisolvió en un pequeño volumen de MeOH, se agregó tolueno y se volvió a evaporar para eliminar la piridina. Por disolución en etanol caliente y posterior enfriamiento, se obtuvo un sólido amorfo (0,14g, 87%) que se caracterizó como 1-O-acetil-2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (109); R_f 0,42 (sv 3), $[\alpha]_D^{25}$ -13° (c 0,7, cloroformo). Su espectro de R.M.N.- ^1H indicó una relación 5:1 de los anómeros β : α .

R.M.N.- ^1H (anómero β), δ : 8,15-7,15 (35 H-aromáticos), 6,48 (sa, $J_{1,2} < 1,0$ Hz, H-1), 6,18-5,82 (H-5,5'), 5,70-,5,55 (H-2,3,3'), 5,42 ($J_{2',3'} = 1,0$ Hz, H-2'), 5,39 (sa, $J_{1',2'} < 1,0$ Hz, H-1'), 4,90-4,66 (H-4,4',6'a,6'b), 4,33-3,91 (H-6a,6b) y 2,06 (CH_3CO).

En la región anomérica se identificó para el anómero α un doblete a δ 6,60 ($J_{1,2}$ 4,2 Hz).

R.M.N. $-^{13}\text{C}$ (anómero β ; Fig 20), δ : 168,9 (CH_3CO), 165,4-164,9 (C=O de benzoato), 133,3-128,1 (C-aromáticos), 105,5 (C-1'), 99,4 (C-1), 83,5, 81,7 (x2), 81,4 (C-2,2',4,4'), 77,5, 77,1 (C-3,3'), 70,6, 70,2 (C-5,5'), 64,9, 63,8 (C-6,6') y 20,9 (CH_3CO).

La señal correspondiente al C-1 del anómero α se observó a δ 93,5.

Análisis. Calculado para $\text{C}_{63}\text{H}_{104}\text{O}_{17}$	%C: 68,05	%H: 4,62
Encontrado	%C: 68,15	%H: 4,73

Metil 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranósido (110).-

Se utilizó la técnica descrita por Mastronardi¹⁰⁸. A una solución de 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (109, 0,50 g, 0,47 mmol) en Cl_2CH_2 (2 mL) se agregó $\text{F}_3\text{B}\cdot\text{OEt}_2$ (0,04 mL) y gota a gota, una solución de CH_2N_2 en Cl_2CH_2 hasta persistencia de la coloración amarilla. Se filtró el sólido blanco formado en la reacción (polimetileno) y el filtrado se lavó sucesivamente con NaHCO_3 (ss, 100 mL) y agua (2x100 mL), se secó

(SO₄Mg), se evaporó y c.c.d. se observó un compuesto principal de R_F 0,46 (sv 3) que se purificó por cromatografía en columna eluyendo con tolueno-acetato de etilo, 24:1. Las fracciones conteniendo dicho producto se combinaron y se evaporaron, obteniéndose un jarabe (0,32 g, 52%) que disuelto en etanol caliente y enfriado rápidamente precipitó como un sólido amorfo que se caracterizó metil 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-D-galactofuranósido (110) y dió [α]_D -10° (c 1, cloroformo). El espectro de R.M.N.-¹³C del producto indicó, por integración de las señales a δ 54,9 (MeO-β) y δ 55,5 (MeO-α), que se trataba de una mezcla 2,5:1 de los anómeros β/α.

R.M.N.-¹H (anómero β, Fig 21), δ: 8,15-7,15 (35 H-aromáticos), 6,09 (m, H-5'), 5,85 (m, H-5), 5,62 (H-3,3'), 5,43 (H-1',2,2'), 5,15 (sa, H-1), 4,83-4,70 (H-4,4',6'a,6'b), 4,31-3,94 (H-6a,6b) y 3,41 (CH₃O).

R.M.N.-¹³C (anómero β, Fig 21), 165,8, 165,4 (x4), 165,2, 164,9 (PhCO), 133,2-128,2 (C-aromáticos), 106,8, 105,8 (C-1.1'), 82,2, 81,8 (x2), 80,9 (C-2,2',4,4'), 77,4 (x2, C-3,3'), 70,9, 70,1 (C-5,5'), 65,4, 63,4 (C-6,6') y 54,9 (CH₃O). Para el anómero α se observaron, inter alia, las siguientes señales, δ: 105,2 (C-1'), 100,9 (C-1), 74,5, 72,1 y 55,5 (CH₃O)

Análisis. Calculado para C ₆₂ H ₆₂ O ₁₆	%C: 68,63	%H: 4,85
Encontrado	%C: 68,85	%H: 4,94

Metil 6-O- β -D-galactofuranosil-D-galactofuranósido (112).-

Una suspensión de metil 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranósido (110, 0,27 g, 0,25 mmol), en MeOH-H₂O-TEA (5:2:1, 15 mL), se calentó esporádicamente a 60°C mientras se agitaba.

Luego de 10 h el sólido se había disuelto totalmante y por c.c.d. (sv 3) no se observó compuesto de partida. Se evaporó el solvente y el residuo se disolvió en agua (15 mL) y se extrajo con éter (3x10 mL). La fase acuosa se liofilizó y se obtuvieron 0,076 g (86%) de un jarabe que por cromatografía en papel mostró una única mancha (R_F 0,72, sv 11) y por c.c.d. dos manchas de R_F 0,66 y 0,73 (sv 9) que se atribuyeron a los anómeros α y β , respectivamente. Por cromatografía en columna eluyendo con acetato de etilo-metanol, 2:1, se aisló el producto de mayor movilidad (42 mg), que se caracterizó como 6-O- β -D-galactofuranosil- β -D-galactofuranósido (112 β) y dió $[\alpha]_D^{25} -90^\circ$ (c 0,5, agua).

R.M.N.-¹³C (anómero β , 1:1 D₂O-H₂O, Fig 22, Tabla V), δ : 109,7, 109,4 (C-1,1'), 84,6 (C-4,4'), 82,7, 82,4 (C-2,2'), 78,5, 78,4 (C-3,3'), 72,5 (C-5), 71,3, 70,7 (C-5',6), 64,4 (C-6') y 56,6 (CH₃O).

Del espectro de la mezcla anomérica se observaron, inter alia, las siguientes señales, δ : 103,6 (C-1), 83,0 (C-4), 78,0 (C-2), 76,1 (C-3), 73,2, 70,1 (C-5,6) y 56,8 (CH₃O).

E.M. m/z: 551 (3), 451 (3), 361 (12), 332 (62), 319 (97), 271 (73), 247 (9), 243 (9), 241 (6), 231 (61), 217 (100) y 205 (70).

Análisis. Calculado para $C_{13}H_{24}O_{11}$	%C:43,82	%H:6,79
Encontrado	%C:44,17	%H:6,86

2,3,5,6-tetra-O-benzoil-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-(1 \rightarrow 1)- β -D-galactofuranósido (113).-

A una solución de 1,2,3,5,6-penta-O-benzoil-D-galactofuranosa (91, 1,0 g, 1,43 mmol) en Cl_2CH_2 anhidro (15 mL), enfriada a 0°C, se agregó $SnCl_4$ (0,17 mL, 1,43 mmol). Luego de 10 min de agitación se agregó agua (0,025 mL, 1,43 mmol) y se siguió la reacción por c.c.d.

Después de 3 h el compuesto de partida se había consumido totalmente, por lo cual, la mezcla de reacción se volcó lentamente y agitando sobre $NaHCO_3$ (ss, 50 mL). La fase acuosa se extrajo con Cl_2CH_2 (3x50 mL) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaCl (ss) y se secaron ($MgSO_4$). Por evaporación del solvente se obtuvo un jarabe incoloro (0,74 g, 88%) que por c.c.d. mostró una única mancha de R_f 0,34 (sv 2), R_f 0,50 (sv 3). El producto se recristalizó de etanol y se caracterizó como 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-(1 \rightarrow 1)- β -D-galactofuranósido (113) y dió p.f. 79-82°C, $[\alpha]_D^{20}$ -18° (c 1. Cl_2CH).

R.M.N.- ^1H (Fig 24, Tabla VI), δ : 8,15-7,20 (40 H-aromáticos), 6,10 (m, H-5), 5,77 (sa, $J_{1,2} < 1,0$ Hz, H-1), 5,73 (dd, $J_{3,4} = 4,9$ Hz, H-3), 5,56 (d, $J_{2,3} = 1,0$ Hz, H-2), 4,92 (c, H-4) y 4,78 (m, H-6,6').

E.M.N.- ^{13}C (Fig 24, Tabla VII), δ : 165,8, 165,4, 165,3, 165,2 (PhCO), 133,2-128,1 (C-aromáticos), 100,9 (C-1), 82,3, 82,0 (C-2,4), 77,3 (C-3), 70,2 (C-5) y 63,6 (C-6).

Análisis. Calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{O}_{17}$	%C: 69,50	%H: 4,63
Encontrado	%C: 69,53	%H: 4,75

β -D-galactofuranosil-(1 \rightarrow 1)- β -D-galactofuranósido (114).-

A una suspensión de 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-(1 \rightarrow 1)- β -D-galactofuranósido (113, 0,49 g, 0,41 mmol) en MeOH anhidro (30 mL), se agregó una solución de NaMeO 0,5 M en MeOH.

La mezcla se agitó durante toda la noche, formándose un precipitado blanco que se filtró (0,08 g). Las aguas madres se neutralizaron con resina Dowex 50W (H^+), se evaporaron y el residuo se cristalizó de MeOH. Ambos sólidos mostraron por c.c.d. la misma movilidad (R_f 0,64, sv 9) y el mismo p.f. Se recrystalizaron en conjunto, obteniéndose 0,11 g (78%) de un producto que se caracterizó como β -D-galactofuranosil-(1 \rightarrow 1)- β -D-galactofuranósido (114) y que dió p.f. 206-208°C, $[\alpha]_D^{25} -150^\circ$ (c 1, agua).

R.M.N.-¹H (D₂O, región anomérica), δ : 5,20 (sa, H-1,1').

R.M.N.-¹³C (1:1 D₂O-H₂O, Fig 25, Tabla VII), δ : 104,8 (C-1), 84,6 (C-4), 82,4 (C-2), 78,1 (C-3), 72,1 (C-5) y 64,0 (C-6).

Análisis. Calculado para C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	%C:42,11	%H:6,48
Encontrado	%C:41,79	%H:6,46

Hidrólisis ácida de β -D-galactofuranosil-(1 \rightarrow 1)- β -D-galactofuranósido (114).-

Se hidrolizaron 20 mg (0,06 mmol) del compuesto 114 con una solución 2 N de DCL en D₂O, a temperatura ambiente.

La reacción se siguió por R.M.N.-¹H empleando 1,4-dioxano como referencia interna (δ_H 3,70 respecto al tetrametil silano). Luego de 2 h se observó en la zona anomérica la disminución de la señal a δ 5,20 (H-1,1' del compuesto 114) y la aparición de dos señales a δ 5,22 (H-1, α -Galp) y 4,56 (H-1, β -Galp). Cuando la hidrólisis fue completa, el espectro fue idéntico al de galactosa corrido en las mismas condiciones.

Benzoilación parcial de D-galactono-1,4-lactona (87). Obtención de 2,6-di-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (117) como producto principal de la reacción.-

A una solución de D-galactono-1,4-lactona (87, 0,60 g, 3,37 mmol) en piridina anhidra (5,5mL), enfriada a -23°C ($\text{CO}_2/\text{Cl}_4\text{C}$), se agregó cloruro de benzoilo (0,86 mL, 7,4 mmol) en porciones de 0,2 mL cada 0,5 h. Luego de 4 h de agitación a -23°C , se dejó que la mezcla alcanzara temperatura ambiente y se volcó sobre agua-hielo (300 mL). Se decantó el agua y el jarabe resultante se suspendió en tolueno y se llevó a sequedad para eliminar la piridina y el agua. Luego de secar el residuo en desecador se obtuvo un sólido que se trató con éter etílico, cristalizando un producto cromatográficamente puro (0,87 g, 62%), el cual mostró las mismas constantes físicas y propiedades espectroscópicas que una muestra auténtica de 2,6-di-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (117), obtenida en este laboratorio como un producto minoritario bajo otras condiciones de reacción, p.f. $194-195^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{-3^{\circ}}_{\text{C}} 0,8$, acetona), $R_{\text{F}} 0,39$ (sv 5), $R_{\text{F}} 0,14$ (sv 4).

Las aguas madres del producto anterior se llevaron a sequedad y se obtuvo un jarabe formado por cuatro productos principales de $R_{\text{F}} 0,59$, $0,43$, $0,39$ y $0,14$ (sv 4) y trazas de un producto de $R_{\text{F}} 0,62$ que se atribuyó a un producto de eliminación beta. Los productos principales correspondían a 2,3,5,6-tetra-O-

benzoil-D-galactono-1,4-lactona (88), 2,5,6-tri-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (115), 2,3,5-tri-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (116) y 2,6-di-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (117)

Por integración de las señales correspondientes al C-4 de cada lactona en el espectro de R.M.N.- ^{13}C de la mezcla¹²⁹ se estimó una relación aproximada de 88:115:116:117 ($\delta_{\text{C-4}}$ 78,9, 79,7, 80,4 y 81,3, respectivamente) de 19:12:16:62. Considerando la masa de 117 separada por cristalización de tolueno, el jarabe obtenido contenía 17% de 88, 6% de 115, 4% de 116 y 73% de 117.

2,6-di-O-benzoil-5-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (118).-

A una solución de 1,2,3,5,6-penta-O-benzoil-D-galactofuranosa (91, 1,05 g, 1,5 mmol) en una mezcla 1:1 de $\text{Cl}_2\text{CH}_2\text{-CH}_3\text{CN}$ (15 mL), enfriada a 0°C, se agregó SnCl_4 (0,18 mL, 1,5 mmol). A los 10 min de agitación se agregó 2,6-di-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (117, 1,16 g, 3,0 mmol) previamente disuelta en $\text{Cl}_2\text{CH}_2\text{-CH}_3\text{CN}$ (35 mL).

Después de 3 h de agitación a temperatura ambiente, se observó que la mezcla estaba formada por cuatro productos de R_f 0,50, 0,43, 0,22 y 0,05 (sv 3) y que la 1,2,3,5,6-penta-O-benzoil-D-galactofuranosa (91) se había consumido totalmente. Se evaporó el solvente a presión reducida y el residuo se disolvió

en Cl_2CH_2 (40 mL) y se volcó lentamente sobre NaHCO_3 (ss, 75 mL). La fase acuosa se extrajo con Cl_2CH_2 (3x40 mL) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaCl (ss, 2x40 mL), se secaron (MgSO_4) y se evaporaron. El residuo se trató con éter etílico, del cual cristalizaron 0,49 g (1,27 mmol) de 2,6-di-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (117), que se había agregado en exceso a la mezcla de reacción, y que correspondía al producto de R_f 0,05. Luego de filtrar los cristales, la solución etérea se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con tolueno-acetato de etilo, 24:1. Se aisló una primera fracción con el producto de R_f 0,52 que se identificó como 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-(1 \rightarrow 1)- β -D-galactofuranósido (113, 0,18 g, 10%), descrito anteriormente. De la segunda fracción cromatográfica (R_f 0,43), se obtuvieron 0,07 g (3%) de un producto que se caracterizó como 2,6-di-O-benzoil-3,5-di-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (119), y que luego, bajo otras condiciones de reacción, se obtuvo como producto principal.

Por último, las fracciones conteniendo el producto de R_f 0,22 se combinaron y evaporaron, obteniéndose un producto (1,01 g, 70%) que se caracterizó como 2,6-di-O-benzoil-5-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (118). Por disolución en etanol caliente y posterior enfriamiento, precipitó como un sólido amorfo y dió $[\alpha]_D^{20} -18^\circ$ (c 1, cloroformo).

R.M.N.- ^1H (250 MHz, Fig 29), δ : 8,10-7,20 (30 H-aromáticos), 5,97 (m, H-5'), 5,75 (d, H-2), 5,70 (sa, $J_{1',2'} < 0,5$ Hz, H-1'), 5,64 (d, $J_{2',3'} < 0,5$ Hz, $J_{3',4'} = 4,4$ Hz, H-3'), 5,53 (sa, H-2'), 4,87-4,60 (H-3,4', 2H-6, 2H-6'), 4,55 (dd, $J_{3,4} = 7,6$, $J_{4,5} = 2,5$ Hz, H-4), 4,32 (m, $J_{5,6a} = 7,7$, $J_{5,6b} = 6,1$ Hz, H-5)

R.M.N.- ^{13}C (Fig 29), δ : 168,3 (x2), 167,0, 165,7, 165,2 (x2), 165,1 (C-1 y C=O de benzoato), 133,4-127,8 (C-aromáticos), 105,5 (C-1'), 83,7 (C-4'), 81,8 (C-2'), 79,5 (C-4), 77,5 (C-3'), 75,6 (C-2), 71,8 (C-5), 71,5 (C-3), 70,5 (C-5') y 63,4, 62,8 (C-6,6').

Análisis. Calculado para $\text{C}_{64}\text{H}_{44}\text{O}_{17}$	%C:67,22	%H:4,59
Encontrado	%C:66,97	%H:4,50

2,3,6-tri-O-benzoil-5-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (120).-

A una solución del compuesto 118 (0,90 g, 0,93 mmol) en Cl_2CH_2 (5 mL), se agregó piridina (1mL) y cloruro de benzoílo (1 mL).

Después de 3 h de agitación a temperatura ambiente, se evaporó el solvente y el residuo se volcó sobre agua-hielo (150 mL). Luego de aproximadamente 16 h el jarabe solidificó y se cristalizó de etanol, obteniéndose un producto cromatográficamente homo-

géneo (0.92 g, 92%) que se caracterizó como 2,3,6-tri-O-benzoil-5-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (120) y que luego de una recristalización del mismo solvente dió p.f. 87-88°C, $[\alpha]_D^{20} +6^\circ$ (c 1, cloroformo), R_f 0,48 (sv 3).

R.M.N.- 1H (200 MHz, Fig 30), δ : 8,10-7,20 (m, 35 H-aromáticos), 6,21 (t, $J_{3,4}$ 6,6 Hz, H-3), 6,10 (d, $J_{2,3}$ 7,3 Hz, H-2), 6,08 (m, H-5'), 5,77 y 5,64 (s, $J_{1',2'} \sim J_{2',3'} < 1,0$ Hz, H-1' y H-2'), 5,74 (d, $J_{3',4'}$ 3,9 Hz, H-3'), 5,07 (t, $J_{4',5'}$ 4 Hz, H-4'), 4,87 (dd, $J_{4,5}$ 2,6 Hz, H-4), 4,85-4,68 (m, H-6a,6b, H-6a',6b'), 4,62 (m, H-5).

R.M.N.- ^{13}C (Fig 30, Tabla IX), 167,7 (C-1), 165,2 ($\times 2$), 165,5, 165,4, 165,0 ($\times 2$), 164,8 (PhCO), 133,8-127,7 (C-aromáticos), 105,7 (C-1'), 83,5 (C-4'), 81,9 (C-2'), 78,8 (C-4), 77,4 (C-3'), 72,8, 72,5, 72,4 (C-2,3,5), 70,6 (C-5') y 63,7, 63,1 (C-6,6').

Análisis. Calculado para $C_{61}H_{46}O_{16}$	%C: 68,54	%H: 4,53
Encontrado	%C: 68,25	%H: 4,51

5-O- β -D-galactofuranosil-D-galactitol (121).-

A una suspensión de 2,6-di-O-benzoil-5-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (118,

0,37 g, 0,38 mmol) en MeOH anhidro (15 mL), se agregó NaBH₄ (0,15 g, 3,8 mmol). Después de 20 h de agitación a temperatura ambiente la mezcla se solubilizó totalmente y se observó por c.c.d. la desaparición del compuesto de partida y la formación de varios productos de menor movilidad, que se atribuyeron a alditoles parcialmente benzoilados. La solución se desionizó con resina Dowex 50W (H⁺), se concentró y sembró en una columna pequeña de resina Amberlite MB 3, de la que se eluyó con MeOH. Se evaporó el solvente y el residuo se disolvió en MeOH-H₂O-TEA (5:2:1, 40 mL) para completar la desbenzoilación.

Luego de 4 h de agitación a temperatura ambiente se observó por c.c.d. un único producto de R_F 0,20 (sv 10). Se evaporó el solvente y se eliminaron el benzoato de metilo y la TEA por sucesivas evaporaciones con MeOH y agua. El residuo se disolvió en agua (20 mL), se extrajo con éter (2x30 mL), obteniéndose un producto (0,11 g, 84 %) que se caracterizó como 5-O-β-D-galactofuranosil-D-galactitol (121), R_{es} 0,90 (c.p., sv 11). Luego de una recristalización de etanol dió: p.f. 150-151°C, [α]_D²⁰ -65 (c 1, agua), lit⁶³ p.f. 149-151°C, [α]_D²⁰ -65° (c 0,9, agua), lit⁶⁰ p.f. 148-150°C, [α]_D²⁰ -63° (c 2, agua).

R.M.N.-¹H (D₂O, zona anomérica), 5,33 (d, J_{1,2} 1,8 Hz, H-1').

R.M.N.-¹³C (1:1 D₂O-H₂O, Fig 31), δ: 109,2 (C-1'), 84,6

(C-4'), 83,1 (C-2'), 78,3, 78,2, (C-3',5), 72,2, 71,8, 70,9 (C-2, 3,4,5') y 65,0, 64,5, 63,4 (C-1,6,6').

2,3,6-tri-O-benzoil-5-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (122).-

A una solución recién preparada de bis(2-butil-3-metil)bora-
no¹⁰¹ (3,0 mmol) en THF, a -10°C y bajo atmósfera de N₂, se a-
gregó una solución de 2,3,5-tri-O-benzoil-5-O-(2,3,5,6-tetra-O-
benzoil-β-D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (120)
en THF (3 mL).

Luego de 48 h de agitación a temperatura ambiente y bajo
atmósfera de N₂, se observó por c.c.d. que el compuesto de
partida se había transformado totalmente en uno de menor movili-
dad cromatofrónica (R_F 0,27 sv 3). La reacción se trató como en
el caso de la preparación de 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-D-galacto-
furanosa (89). El jarabe obtenido se evaporó repetidas veces
con metanol para eliminar el ácido bórico. Por cromatografía en
columna, con tolueno-acetato de etilo, 19:1, como solvente, se
aisló el producto de R_F 0,27 (0,65 g, 87%) que se caracterizó
como 2,3,6-tri-O-benzoil-5-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galac-
tofuranosil)-D-galactofuranosa (122) y dió [α]_D +6° (c 1,
Cl₂CH).

Análisis. Calculado para C ₆₁ H ₅₀ O ₁₀ :	%C: 68,40	%H: 4,70
Encontrado	%C: 68,68	%H: 4,90

5-O-β-D-galactofuranosil-D-galactofuranosa (1).-

Una suspensión de 2,3,6-tri-O-benzoil-5-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (122, 0,16 g, 0,15 mmol) en MeOH-H₂O-TEA (5:2:1, 50 mL), se agitó a temperatura ambiente hasta que el material de partida se disolvió totalmente y por c.c.d. se observó la desaparición del compuesto de partida.

Luego de 3 h, sólo se observaba un producto de R_F 0,20 (sv 10). Se evaporó el solvente, y se eliminaron el benzoato de metilo y la TEA por sucesivas evaporaciones con MeOH-H₂O. El residuo se disolvió en agua (20 mL), se extrajo con éter etílico (2x30 mL) y la fase acuosa se liofilizó, obteniéndose un producto cromatográficamente puro (0,04 g, 78%) que se caracterizó como 5-O-β-D-galactofuranosil-D-galactofuranosa (1), R_{0,1} 1,35 (c.p., sv 11), R_{0,1} 0,85 (c.p., sv 12), [α]_D -65° (c 1, agua); lit^{es} [α]_D -65° (c 3,8 agua); lit^{es} R_{0,1} 0,85 (c.p., sv 12), [α]_D -64° (c 2, agua).

R.M.N.-¹H (D₂O, zona anomérica), δ: 5,32-5,20 (m, H-1,1' de los anómeros α y β).

R.M.N.-¹³C (1:1 D₂O-H₂O, zona anomérica, Fig 32), δ: 108,0 (C-1', anómero β), 107,7 (C-1', anómero α), 102,0 (C-1, anómero β) y 96,2 (C-1, anómero α).

2,6-di-O-benzoil-3,5-di-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (119).-

A una solución de 1,2,3,5,6-penta-O-benzoil-D-galactofuranosa (91, 0,89 g, 1,27 mmol) en $\text{Cl}_2\text{CH}_2\text{-CH}_3\text{CN}$ (1:1, 10 mL), enfriada a 0°C se agregó SnCl_4 (0,15 mL, 1,27 mmol), y a los 10 min de agitación, 2,6-di-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (117, 0,49g, 1,27 mmol) previamente disuelta en $\text{Cl}_2\text{CH}_2\text{-CH}_3\text{CN}$ (15 mL).

Luego de 6 h de agitación a temperatura ambiente la mezcla anterior se volcó sobre una solución recién preparada de 91 (0,89g, 1,27 mmol) y SnCl_4 (0,15 mL, 1,27 mmol) en $\text{Cl}_2\text{CH}_2\text{-CH}_3\text{CN}$ (1:1, 15 mL). Se continuó la agitación durante 16 h y luego se evaporó el solvente. El residuo se disolvió en Cl_2CH_2 (100 mL) y se volcó sobre NaHCO_3 (ss, 75 mL). La fase acuosa se extrajo con Cl_2CH_2 (2x50 mL) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaCl (ss) hasta neutralidad, se secaron (MgSO_4) y evaporaron. Por c.c.d. se observó que el residuo estaba formado por un producto principal de R_f 0,43 (sv 3) y dos productos minoritarios de R_f 0,52 y 0,22. La mezcla se separó por cromatografía en columna, eluyendo con tolueno-acetato de etilo, 19:1. Los productos de R_f 0,52 y 0,22 se aislaron y se identificaron como 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-(1 \rightarrow 1)- β -D-galactofuranósido (113, 0,25 g, 17%) y 2,6-di-O-benzoil-5-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (118,

0,28 g, 23%), respectivamente, ambos descritos anteriormente.

Por evaporación de las fracciones que contenían el producto de $R_f = 0,43$ se obtuvo un producto que cristalizó de etanol (1,01g, 47%) y que se caracterizó como 2,6-di-O-benzoil-3,5-di-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (119). Luego de una recristalización del mismo solvente dió: p.f. 90-92°C, $[\alpha]_D^{25} -1^\circ$ ($c = 1$, cloroformo).

R.M.N.- 1H (250 MHz, Fig 33), δ : 8,10-7,10 (50 H-aromáticos), 6,03-5,99 (H-2,5',5"), 5,75 ($J_{2,3} = 1,5$, $J_{3,4} = 5,0$ Hz, H-3"), 5,60 ($J_{1,2} < 0,5$ Hz, H-1'), 5,66 ($J_{2,3} < 0,5$ Hz, $J_{3,4} = 5,0$ Hz, H-3'), 5,55-5,51 (H-1",2',2"), 5,08 ($J_{2,3} = J_{3,4} = 7,1$ Hz, H-3), 4,98 (H-4"), 4,82-4,53 (H-4,4',5,6,6',6").

R.M.N.- ^{13}C (Fig 33), δ : 168,1 (C-1), 165,8, 165,7 (x2), 165,5, 165,3 (x2), 165,1, 165,0, 164,8 (PhCO), 133,2-124,9 (C-aromáticos), 106,6, 106,5 (C-1',1"), 82,6, 82,5, 82,2, 82,1 (C-2',2",4',4"), 79,1, 77,8, 77,0, 76,9 (C-3',3",4,5), 74,0, 73,6 (C-2,3), 70,6, 70,4 (5',5") y 63,7, 63,4, 63,3 (C-6,6',6").

Análisis. Calculado para $C_{26}H_{20}O_{26}$	%C: 68,48	%H: 4,57
Encontrado	%C: 68,27	%H: 4,42

2,6-di-O-benzoil-3,5-di-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (123).-

A una solución recién preparada de bis(2-butil-3-metil)bora-
no¹⁰¹ (2,0 mmol) en THF (1,7 mL) enfriada a -10°C y bajo atmós-
fera de Nz, se agregó 2,6-di-O-benzoil-3,5-di-O-(2,3,5,6-tetra-
O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (119,
0,40 g, 0,25 mmol) disuelta en THF (2 mL). Al cabo de 48 h de agi-
tación a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se examinó
por c.c.d. observándose que el compuesto de partida se había
transformado en un producto de menor R_F (0,16, sv 3), el cual
se aisló de manera análoga a la descrita en la preparación de
122.

Después de repetidas evaporaciones con MeOH para eliminar el
ácido bórico se obtuvo un jarabe cromatográficamente homogéneo
que cristalizó de etanol (0,37 g, 96%) y se caracterizó como 2,6-
di-O-benzoil-3,5-di-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofura-
nosil)-D-galactofuranosa (123). Recristalizado de etanol dió:
p.f. 87-89°C, $[\alpha]_D^{20}$ -3° (c 1, Cl₂CH).

R.M.N.-¹³C (zona anomérica), δ : 107,1, 106,8, 106,3 (C-1 β ,
1',1"), 95,7 (C-1 α).

Análisis. Calculado para C ₃₆ H ₃₂ O ₂₆ :	%C: 68,39	%H: 4,69
Encontrado	%C: 68,28	%H: 4,67

1,2,6-tri-O-benzoil-3,5-di-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)- β -D-galactofuranosa (125) y 1,2,6-tri-O-benzoil-3,5-di-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)- α -D-galactofuranosa (126).-

A una solución de 2,6-di-O-benzoil-3,5-di-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (123, 0,6 g, 0,39 mmol) en piridina anhidra (5 mL), enfriada a 0°C, se agregó cloruro de benzoilo (3 mL). Después de 3 h de agitación a temperatura ambiente se volcó lentamente sobre agua-hielo (100 mL), formándose un sólido que por c.c.d. mostró dos manchas de R_f 0,45 y 0,41 (sv 3). La mezcla se separó por cromatografía en columna, eluyendo con tolueno acetato de etilo 19:1, y se obtuvieron 0,26 g (40%) del producto de R_f 0,45; 0,10 g (16%) del producto de R_f 0,41 y 0,15 g de una mezcla de ambos (80% de rendimiento total).

El producto de mayor movilidad (R_f 0,45) se caracterizó como 1,2,6-tri-O-benzoil-3,5-di-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)- β -D-galactofuranosa (125). Recristalizado de etanol dió: p.f. 88-89°C, $[\alpha]_D^{20}$ -21° (c 1, Cl₃CH).

R.M.N.-¹H (200 MHz, Fig 33), δ : 8,10-7,10 (55 H-aromáticos), 6,68 (s, $J_{1,2}$ <1,0 Hz, H-1), 6,05 (m, H-5',5"), 5,91 (s, $J_{1',2'}$ <1,0 Hz, H-1'), 5,91-5,63 (H-1",2,2",3',3"), 5,53, (d, $J_{2',3'}$ 1,26 Hz, H-2'), 4,98-4,40 (H-3,4,4',4",5,6ab,6'ab,6"ab).

R.M.N.- ^{13}C (Fig 34), δ : 166,7-165,6 (PhCO), 133,9-128,9 (C-aromáticos), 105,6, 105,3 (C-1',1"), 99,8 (C-1), 83,9, 82,2 (x2), 81,7 (x2), 81,6, 80,5 (C-2,2',2",3,4,4',4"), 77,5, 77,0, 74,6 (C-3',3",5), 70,5 (x2, C-5',5") y 64,4, 63,9, 63,4 (C-6,6',6").

Análisis. Calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_{12}$:	%C:69,24	%H:4,64
Encontrado	%C:68,90	%H:4,87

El producto de menor movilidad (R_f 0,41) se caracterizó como 1,2,6-tri-O-benzoil-3,5-di-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)- α -D-galactofuranosa (126) y luego de recristalizado de etanol dió: p.f. 78-80°C, $[\alpha]_D^{20} +19^\circ$ (c 1, cloroformo).

R.M.N. ^1H (200 MHz, Fig 33), δ : 8,10-7,10 (55 H-aromáticos), 6,82 (d, $J_{1,2}$ 4,56, H-1), 6,10 (H-5'), 5,98 (H-5"), 5,81 (s, $J_{1',2'}$ 0,5 Hz), H-1'), 5,71 (H-3',3"), 5,64 (s, $J_{1'',2''}$ <1,0 Hz, H-1"), 5,52, 5,50 (H-2',2"), 5,17 (t, $J_{3,4}$ 6,70, H-3), 4,89-4,40 (H-4,5,6ab,6'ab,6"ab).

R.M.N.- ^{13}C (Fig 34), δ : 166,5-165,6 (PhCO), 133,9-128,9 (C-aromáticos), 106,0, 105,7 (C-1',1"), 94,2 (C-1), 82,7, 82,3, 82,0, 81,2, 80,2 (C-2',2",4,4',4"), 78,0, 77,8, 77,3, 77,0, 75,8 (C-2,3,3',3",5), 70,5, 70,1 (C-5',5") y 64,0, 63,7, 63,5 (C-6,6',6").

Análisis. Calculado para $C_{10}H_{16}O_{10}$:	%C: 69,24	%H: 4,64
Encontrado	%C: 69,43	%H: 4,87

3,5-di-O-(β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (124).-

Una suspensión de 2,6-di-O-benzoil-3,5-di-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (123, 0,22 g, 0,14 mmol) en MeOH-H₂O-TEA (5:2:1, 50 mL), se agitó a temperatura ambiente hasta disolución total del compuesto de partida (20 h), detectándose por c.c.d. una mancha principal de R_f 0,22 (sv 10) y otra de igual movilidad que galactosa (R_f 0,39). Se evaporó el solvente y se eliminaron el benzoato de metilo y la TEA por sucesivas evaporaciones con MeOH-agua. El residuo se lavó con éter (2x5 mL) y se purificó por c.l.a.r. (condiciones a), el cual se caracterizó como 3,5-di-O-(β -D-galactofuranosil)-D-galactofuranosa (124), R_{s1} 1,1 (sv 11), R_{s1} 0,51 (c.p., sv 12), $[\alpha]_D^{25} -85^\circ$ (c 1, agua).

R.M.N.- 1H (D₂O, zona anomérica), δ : 5,33-5,19 (m, H-1,1', 1" de los anoméros α y β).

R.M.N.- ^{13}C (Fig 36), zona anomérica, δ : 108,9, 108,8 (x2), 108,3 (C-1', 1" de los anoméros α y β), 102,4 (C-1 β), 96,4 (C-1 α).

Análisis. Calculado para $C_{10}H_{16}O_{10}$	%C: 42,86	%H: 6,39
Encontrado	%C: 42,51	%H: 6,25

Obtención de 3-benzoiloxi-5-(2-benzoiloxietilidén)-2(5H)-furanona (132).-

a) A partir de 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (88):

Una solución de 88 (0,60 g, 1,0 mmol) en TEA 20% en Cl_2CH_2 (2 mL) se agitó durante a 2 h a temperatura ambiente, en la oscuridad y en atmósfera de N_2 .

Por c.c.d. se observó la conversión del compuesto de partida (R_f 0,41, sv 2) en un producto de igual movilidad que un testigo de 132 (R_f 0,49) obtenido en este laboratorio. La mezcla de reacción se diluyó con Cl_2CH_2 (100 mL) y se lavó sucesivamente con agua (50 mL), HCl (5%, 50 mL), agua (50 mL), NaHCO_3 (ss, 2x50 mL) y NaCl (ss) hasta neutralidad. La fase orgánica se secó (MgSO_4), se concentró y el residuo se purificó por una columna pequeña, eluyendo con hexano-acetato de etilo 4:1. Por evaporación de las fracciones que contenían el producto de R_f 0,41, se obtuvo un jarabe (0,27, 70 %) que cristalizó de etanol y mostró las mismas propiedades físicas y espectroscópicas que una muestra auténtica de 132, p.f. 127-128 C°.

b) A partir de 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-L-manono-1,4-lactona (143):

El perbenzoato 143 se obtuvo en la forma usual, agitando

una solución de L-manono-1,4-lactona en cloruro de benzoilo/piridina, a 0°C, durante 2 h, y realizando luego el tratamiento que se describió para la preparación de 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (88).

Una solución de 143 (0,42 g, 0,07 mmol) en TEA al 20% en Cl_2CH_2 (6 mL), se agitó durante 2 h a temperatura ambiente, en la oscuridad y en atmósfera de N_2 . Se realizó el mismo tratamiento descrito en a, obteniéndose un jarabe (0,16 g, 70%) que cristalizó de etanol y mostró las mismas propiedades físicas y espectroscópicas que el obtenido a partir de 88.

2-benzoiloxi-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-2,4-hexadién-4-ólido (153 E,Z).-

A una solución de 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (106, 0,50 g, 0,47 mmol) en Cl_2CH_2 anhidro (48 mL) se agregó TEA (12 mL) y se agitó a 0°C y en la oscuridad.

Luego de 2 h se observó por c.c.d. la conversión del compuesto de partida en un producto de mayor movilidad (R_f 0,52, sv 3), impurificado con un material de R_f 0. La mezcla de reacción se diluyó con Cl_2CH_2 (100 mL) y se lavó sucesivamente con agua (100 mL), HCl (5%, 50 mL), agua (50 mL), NaHCO_3 (ss, 100 mL) y NaCl (ss, 2x100 mL). La fase orgánica se secó (MgSO_4), se concentró y el residuo se cromatografió en una columna pequeña de sílica gel, eluyendo con tolueno-acetato de etilo 49:1. Por evapora-

ración de las fracciones que contenían el compuesto de R_f 0,52 se obtuvo un jarabe (0,27 g, 70%) que precipitó como un sólido amorfo por disolución en etanol caliente y posterior enfriamiento. Este compuesto, cuyo espectro de R.M.N.-¹³C mostraba la presencia de dos isómeros E y Z en relación aproximada 1,5:1, se caracterizó como 2-benzoiloxi-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-2,4-hexadién-4-ólido (153 E,Z), [α]_D²⁰ -22° (c 1, cloroformo).

R.M.N.¹H (200 MHz, Fig 38), inter alia, δ: 6,05 (H-5'), 5,84 (H-5 E), 5,64 (J_{3',4'} 5,25, H-3'), 5,62 (H-5Z).

R.M.N.-¹³C (Fig 38), δ: 165,5, 165,3, (C=O de lactona y PhCO), 133,5-128,0 (C-aromáticos), 123,0 (C-3, Z), 120,3 (C-3 E), 11,2 (C-5, Z), 110,3 (C-5, E), 105,6 (C-1', Z), 105,0 (C-1', E), 82,1 (x2), 81,8, 81,4 (C-2', 4', E, Z), 77,5 (x2, C-3', E, Z), 70,2 (x2, C-5', E, Z), 63,3, 63,1 (C-6', Z y E) y 61,6, 61,4 (C-6, Z, E).

Análisis. Calculado para C ₄₇ H ₃₆ O ₁₄	%C: 68,44	%H: 4,40
Encontrado	%C: 68,18	%H: 4,68

(Z)-2-benzoiloxi-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-2,4-hexadién-4-ólido (153 Z).-

A una solución de 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (106,

0,30 g, 0,28 mmol) en CH₃CN anhidro (10 mL) se agregó DBU (0,10 mL, 0,70 mmol). Después de 2 h de agitación a 0°C y en la oscuridad, se observó por c.c.d. la conversión de 106 en un producto de mayor movilidad (R_F 0,52, sv 3). La solución se diluyó con Cl₂CH₂ (100 mL), y se realizó el mismo tratamiento extractivo que en la obtención de 153 Z,E. Por cromatografía en columna, utilizando tolueno-acetato de etilo 49:1 como eluyente, se aisló un producto (0,07 g, 30%), con idéntica movilidad cromatográfica que 153 E,Z, pero su espectro de R.M.N.-¹³C indicaba que se trataba de un único isómero, por lo cual el compuesto se formuló como (Z)-2-benzoiloxi-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-2,4-hexadién-4-ólido (153 Z), [α]_D -18° (c 1, cloroformo).

R.M.N.-¹³C (Fig 39), δ: 165,9, 165,5, 165,3, 162,3 (C=O de lactona y PhC=O), 146,7 (C-4), 138,8 (C-2), 134,4-127,4 (C-aromáticos), 123,0 (C-3), 111,2 (C-5), 105,6 (C-1'), 82,1, 81,5 (C-2',4'), 77,5 (C-3'), 70,2 (C-5'), 63,3 (C-6') y 61,4 (C-6).

2-O-benzoil-3,5-di-desoxi-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-D,L-treg-hexono-1,4-lactona (157,158).-

a) Por hidrogenación de 153 Z,E:

Una solución de 153 (0,21 g, 0,25 mmol) en acetato de etilo (15 mL) se hidrogenó a presión atmosférica y 0°C en presencia

de 10% Pd/C (0,05 g).

Luego de 24 h había cesado la absorción de H₂ y por c.c.d. se observó la desaparición total del compuesto de partida (R_f 0,52) y la presencia de un producto principal de R_f 0,36 impurificado con pequeñas cantidades de sustancias de menor movilidad. La mezcla se diluyó con acetato de etilo (20 mL), se filtró sobre lecho de celite para eliminar el catalizador y el filtrado se concentró y se cromatografió en una columna, eluyendo con tolueno-acetato de etilo 19:1. Se obtuvo un jarabe (0,18 g, 87%) que precipitó de etanol como un sólido amorfo y se caracterizó como 2-O-benzoil-3,5-di-desoxi-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-D,L-treo-hexono-1,4-lactona (157,158), [α]_D²⁰ -9° (c 1, Cl₃CH). El espectro de R.M.N.-¹³C mostró en la región anomérica, dos señales a δ 106,1 y 105,4 en relación ~1:1 correspondiente a los C-1' de los dos productos diastereoméricos posibles de hidrogenación.

Análisis. Calculado para C ₄₇ H ₄₀ O ₁₄	%C:68,11	%H:4,86
Encontrado	%C:68,36	%H:5,07

R.M.N.-¹H (200 MHz, Fig 40), δ: 8,15-7,15 (H-aromáticos), 6,05 (m, H-5'), 5,68-5,51 (H-2,3'), 5,45, 5,41 (s, J_{2,3'} ~1 Hz, H-2' de ambos diastereoisómeros), 5,32, 5,28 (J_{1,2'} <1,0 Hz, H-1' de ambos diastereoisómeros), 4,83-4,61 (H-4,4',6'a,6'b), 3,95, 3,69 (H-6a,6b), 2,89 (H-3a), 2,17-1,95 (H-3b,5a,5b).

R.M.N.- ^{13}C (Fig 41)

La mezcla se separó por c.l.a.r. (condiciones b) obteniéndose dos productos de t_r 21,6 y 22,5 min, en relación $\sim 1:1$.

El producto de menor t_r recristalizó y dió p.f. 64-69°C, $[\alpha]_D -1^\circ$ (c 2, CH_2CH).

R.M.N.- ^1H (Fig 42), δ : 8,15-7,15 (25 H-aromáticos), 6,07 (m, H-5'), 5,78-5,55 (H-2',3'), 5,45 (d, $J_{2',3'} = 2,0$ Hz, H-2'), 5,32 (sa, $J_{1',2'} = 1,0$ Hz, H-1'), 4,86-4,58 (H-4,4',6'ab), 3,94, 3,74 (H-6a,b), 2,94 ($J_{3a,3b} = 13,0$ Hz, $J_{2,3a} = 9,0$ Hz, $J_{3a,4} = 6,0$ Hz, H-3a), 2,36-1,90 (H-3b,5a,5b).

R.M.N.- ^{13}C (Fig 41), δ : 171,7 (C=O de lactona), 165,8, 165,5, 165,3 (x3), 165,1 (PhCO), 133,5-128,3 (C-aromáticos), 106,1 (C-1'), 82,0, 81,4 (C-2',4'), 77,5 (C-3'), 74,1 (C-4), 70,2 (C-5'), 69,0 (C-2), 63,5, 63,3 (C-6,6') y 35,6, 35,2 (C-3,5).

El producto de mayor t_r también recristalizó de etanol y dió p.f. 69-71°C, $[\alpha]_D -26^\circ$ (c 1, cloroformo).

R.M.N.- ^1H (Fig 42), δ : 8,18-7,15 (25 H-aromáticos), 6,07 (m, H-5), 5,70-5,56 (H-2,3'), 5,41 (d, $J_{2',3'} = 1,0$ Hz, H-2'), 5,30 (s, $J_{1',2'} < 1,0$ Hz, H-1'), 4,82-4,64 (H-4', 6'a,6'b), 4,10-3,58 (H-6a,6b), 2,92 ($J_{3,3'} = 12,0$ Hz, $J_{3,4} = 6,0$ Hz, $J_{2,3} = 9,0$ Hz, H-3a), 2,28-1,96 (H-3b,5a,5b).

R.M.N.- ^{13}C (Fig 41), δ : 171,7 (C=O de lactona), 165,0 (x2), 165,1 (x3, PhC=O), 133,5-128,3 (C-aromáticos), 105,4 (C-1'), 82,0, 81,5 (C-2',4'), 77,5 (C-3"), 74,1 (C-4), 70,3 (C-5'), 69,0 (C-2), 63,3 (C-6,6') y 35,3 (x2, C-3,5).

b) Por condensación de 1,2,3,5,6-tetra-O-benzoil-D-galactofurano-sa (91) con 2-O-benzoil-3,5-di-desoxi-6-O-tritil-D,L-treo-hexono-1,4-lactona (159):

La lactona 159 se preparó según la técnica descrita por Du Mortier, Varela y Lederkremer ¹¹⁷, a partir de 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-tritil-D-galactono-1,4-lactona (102) a través de una reacción de doble eliminación beta promovida por TEA, como se describió para la obtención de 3-benzoiloxi-5-(2-benzoiloxi-etilidén)-(5H)-furán-2-ona (132), y posterior hidrogenación en solución de acetato de etilo y en presencia de Pd 10%/C como catalizador.

Una solución de 1,2,3,5,6-penta-O-benzoil-D-galactofurano-sa (91, 0,35 g, 0,50 mmol) en Cl_2CH_2 anhidro (5 mL), enfriada a 0°C, se agregó SnCl_4 (0,07 mL, 0,54 mmol). Después de 10 min de agitación a 0°C, se agregó 2-O-benzoil-3,5-di-desoxi-6-O-tritil-D,L-treo-hexono-1,4-lactona (159, 0,25 g, 0,50 mmol). Al cabo de 16 h de agitación a temperatura ambiente se observó la presencia de un producto principal de movilidad idéntica (R_f 0,36, sv 3) a la del producto 157,158, obtenido en a, y pequeñas cantidades de los compuestos de partida 91 (R_f

0,50/0,52) y 159 (R_f 0,56). La mezcla de reacción se volcó lentamente sobre NaHCO_3 (ss, 50 mL) y la fase acuosa se extrajo con Cl_2CH_2 (3x30 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaCl hasta neutralidad, se secaron (MgSO_4) y se concentraron. El residuo se cromatografió en columna eluyendo con tolueno-acetato de etilo 19:1, obteniéndose un producto (0,28 g, 68%) de $[\alpha]_D^{25} -11^\circ$ (c 1, Cl_2CH_2), que mostró las mismas propiedades espectroscópicas que la glicosil didesoxi lactona 157,158 obtenida en a.

2,5-di-O-benzoil-3-desoxi-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-xilo-hexono-1,4-lactona (167).-

a) Por hidrogenólisis de 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-galactofuranosil)-D-galactono-1,4-lactona (106):

A una solución de 106 (0,38 g, 0,36 mmol) en acetato de etilo (16 mL) se agregó TEA (4 mL), 10% Pd/C (0,05 g) y se hidrogenó a 3 atmósferas de presión.

Luego de 6 h se observó por c.c.d. la desaparición del compuesto de partida y la formación de un producto de R_f 0,39 (sv 3), impurificado con productos de menor movilidad. La mezcla se diluyó con acetato de etilo (20 mL) y se filtró por lecho de celite para eliminar el catalizador. El filtrado se lavó sucesivamente con HCl (5%, 50 mL), agua (50 mL), NaHCO_3 (ss, 100 mL) y

NaCl (ss) hasta neutralidad. La solución se secó (MgSO₄), se concentró y el jarabe resultante se disolvió en etanol caliente y al enfriar precipitó como un sólido amorfo, cromatográficamente homogéneo (0,31 g, 86%), que se caracterizó como 2,5-di-O-benzoil-3-desoxi-6-O-(2,3,5,6-tetra-O-benzoil-β-D-galactofuranosil)-D-xilo-hexono-1,4-lactona (167) $[\alpha]_D^{25} -30^\circ$ (c 1, cloroformo).

R.M.N.-¹H (200 MHz, Fig 44), δ: 8,15-7,20 (30 H-aromáticos), 6,08 (m, H-5'), 5,70-5,35 (H-2,3',5), 5,46 (s, J_{2,3'} < 1,0 Hz, H-2'), 5,40 (s, J_{1,2'} < 1,0 Hz, H-1'), 4,98 (H-4), 4,82-4,64 (H-4',6'a,6'b), 4,14 (c, J_{5,6a} 6,0 Hz, H-6a), 3,96 (c, J_{5,6b} 6,0 Hz, J_{6a,6b} 10,0 Hz, H-6b), 2,91 (m, J_{2,3a} 9,6 Hz, J_{3a,4} 6,5 Hz, J_{3a,3b} 13,0 Hz, H-3a) y 2,22 (m, J_{2,3b} 10,2 Hz, J_{3b,4} 9,6 Hz, H-3b).

R.M.N.-¹³C (Fig 44), δ: 171,0 (C=O de lactona), 165,6, 165,3, 165,2 (x2), 165,0, 164,9 (PhC=O), 133,2-128,3 (C-aromáticos), 105,5 (C-1'), 82,0, 81,6 (C-2',4'), 77,3 (C-3'), 74,4 (C-4), 71,2 (C-5), 70,1 (C-5'), 68,0 (C-2), 64,2, 63,2 (C-6,6') y 30,2 (C-3).

Análisis. Calculado para C ₂₄ H ₄₄ O ₁₆	%C: 68,35	%H: 4,67
Encontrado	%C: 68,59	%H: 4,90

b) Por condensación de 1,2,3,5,6-penta-O-benzoil-D-galactofurranosa (91) con 2,5-di-O-benzoil-3-desoxi-6-O-tritil-D-xilo-hexono-1,4-lactona (165):

La lactona 165 se preparó siguiendo la técnica descrita por Lederkremer y col.¹¹⁷.

A una solución de 2,3,5-tri-O-benzoil-6-O-tritil-D-galactono-1,4-lactona (102, 0,60 g, 0,82 mmol) en acetato de etilo (5 mL) se agregó TEA (0,5 mL) y se hidrogenó a 3 atmósferas de presión a temperatura ambiente, en presencia de 10% Pd/C. Después de 3 h se observó por c.c.d. que el compuesto de partida se había convertido totalmente en un producto de menor movilidad (R_f 0,40, sv 3). La mezcla de reacción se trató como en la hidrogenólisis del punto a, obteniéndose un producto (0,31 g, 87%) con las mismas propiedades espectroscópicas que la 2,5-di-O-benzoil-3-desoxi-6-O-tritil-D-xilo-hexono-1,4-lactona (165), $[\alpha]_D -48^\circ$ (c 1, cloroformo), lit¹¹⁷ $[\alpha]_D -46^\circ$ (c 0,8, cloroformo).

A una solución de 1,2,3,5,6-penta-O-benzoil-D-galactofura-

nosa (91, 0,28 g, 0,40 mmol) en Cl_2CH_2 anhidro (5 mL) enfriada a 0°C , se agregó SnCl_4 (0,05 mL, 0,4 mmol). Luego de 10 min de agitación se agregó la 3-desoxi-lactona 165 (0,25 g, 0,40 mmol) y se continuó la agitación a temperatura ambiente. Al cabo de 16 h se observó por c.c.d. la formación de un producto principal de igual movilidad que el obtenido en a (R_f 0,39, sv 3) impurificado con pequeñas cantidades de los compuestos de partida 91 (R_f 0,50/0,52) y 165 (R_f 0,59). La mezcla se volcó sobre NaHCO_3 (ss, 75 mL), la fase acuosa se lavó con Cl_2CH_2 (3x30 mL) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaCl (ss) hasta neutralidad, se secaron (MgSO_4) y concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con tolueno-acetato de etilo 19:1, y por evaporación de las fracciones que contenían el producto de R_f 0,39 se obtuvo un producto (0,25 g, 66%) con iguales propiedades físicas y espectroscópicas que el obtenido en a, por hidrogenólisis de 106.

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue el desarrollo de métodos convenientes para obtener glicósidos y disacàridos de galactosa furanósica. Estos ùltimos resultan interesantes desde el punto de vista biològico, por ser constituyentes de polisacàridos y glicoconjugados de microorganismos, en muchos casos con interesantes propiedades antigénicas.

En este trabajo se presentan:

- 1-. Un resumen de la distribución en la naturaleza de la D-galactofuranosa.
- 2-. Una revisión de los distintos métodos de glicosidación utilizados en la preparación de glicósidos y disacàridos de azùcares furanósicos.
- 3-. Una descripción detallada de las reacciones que se realizaron en este trabajo de investigación y la discusión de los resultados obtenidos.
- 4-. Una descripción del trabajo experimental desarrollado.

Para la preparación de metil (5) y p-nitrofenil (97) β -D-galactofuranósidos, se estudiaron distintas condiciones de glicosidación con el objeto de contar con un método eficiente que podría aplicarse luego a la síntesis de disacàridos. Como precursor del anillo furanósico se utilizó la 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (88), la cual, por reducción con diisoamilborano (DSB) condujo a la 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-D-

galactofuranosa (89). La metilación del HO-1 de 89 con diazometano en presencia de $F_3B:OEt_2$, condujo, estereoselectivamente al metil glicósido benzoilado de configuración β 90, aunque con moderado rendimiento (53%). Con la finalidad de desarrollar alternativas más eficientes, se eligió como compuesto de partida la penta-O-benzoil-D-galactofuranosa (91), la cual se preparó por dos rutas diferentes: a) por benzoilación del HO-1 de 89, para dar principalmente el anómero β , y b) por tratamiento de D-galactosa con $BzCl/Fy$ a $100^\circ C$, obteniéndose una mezcla anomérica $\alpha:\beta \sim 1:1$ del perbenzoato 91. Por tratamiento de la mezcla anomérica de 91 con $SnCl_4$ en solución de Cl_2CH_2 , y posterior agregado de metanol, se obtuvo el metil glicósido 90 estereoselectivamente y con 85% de rendimiento. La O-desbenzoilación de 90, por tratamiento con $NaMeO/MeOH$ o con $MeOH-H_2O-TEA$ (5:2:1), condujo al metil glicósido 5 con 91% de rendimiento.

La síntesis del p-nitrofenil glicósido 97 se realizó a partir de 91, utilizando dos catalizadores distintos: ácido p-toluensulfónico y $SnCl_4$. La reacción con ácido p-toluensulfónico se realizó en tolueno anhidro a reflujo y en presencia de exceso de p-nitrofenol, obteniéndose el glicósido perbenzoilado 96 (86%). La misma reacción mediada por $SnCl_4$ condujo al glicósido 96 (91%), el cual por desacilación con $NaMeO/MeOH$, dió el p-nitrofenil β -D-galactofuranósido (97, 77%), cristalino, sustrato cromogénico útil para detectar actividad de galactofuranosidas.

La eficiencia en términos de rendimiento y estereoselectividad de la glicosidación de **91** catalizada por SnCl_4 , sugirió que este método podría extenderse a la síntesis de disacáridos de galactosa furanósica. Para ello, podía utilizarse como agente glicosidante un derivado furanósico de *D*-galactosa, convenientemente protegido. Los derivados de *D*-galactono-1,4-lactona con un hidroxilo libre (o potencialmente libre) resultaron adecuados, ya que la función lactona evitaba reacciones laterales del C-1 por efecto del SnCl_4 .

Para la síntesis de disacáridos con la unión intergalactosídica $\beta(1\rightarrow6)$, se utilizaron como agentes glicosidantes la 2,3,5,-tri-*O*-benzoil (**103**) y la 2,3,5-tri-*O*-benzoil-6-*O*-tritol (**102**) *D*-galactono-1,4-lactonas, las cuales condensaron con el perbenzoato **91** para dar la $\beta(1\rightarrow6)$ glicosil lactona (**106**) con un rendimiento del 91% y 85%, respectivamente. Por reducción con NaBH_4 y posterior desbenzoilación con NaMeO se obtuvo el 6-*O*- β -*D*-galactofuranosil-*D*-galactitol (**107**), con idénticas propiedades físicas y espectroscópicas a las descritas en la literatura, para el alditol obtenido por reducción de un hidrolizado de *Mycobacterium tuberculosis*. Este hecho confirma la configuración y la regioquímica de la unión interglicosídica de **106**. Por reducción con DSB del grupo lactónico de **106**, se obtuvo el disacárido parcialmente acilado **108**, mayoritariamente de configuración β (88%). Durante la *O*-desbenzoilación de **108** con NaMeO

para dar el disacàrido 6-O- β -D-galactofuranosil-D-galactosa (16), se observó la hidrólisis parcial de la unión glicosídica. Por c.l.a.r. se obtuvo el disacàrido 16, componente de polisacàridos de Mycobacterium tuberculosis y Mycobacterium leprae. La acetilación inmediata del producto de desacilación de 10B, minimizaba la degradación y condujo al derivado peracetilado (72) de 16 con buen rendimiento; sus propiedades físicas y espectroscópicas eran coincidentes con las descritas en la literatura. El procedimiento aquí descrito para la obtención de 16 constituye una ruta sintética más sencilla que la anteriormente desarrollada por Jaquinet y Sinaÿ.

Con el objeto de conservar la configuración furanósica de los dos anillos de 10B en el disacàrido libre, se realizó la metilación de su HO-anomérico. Por tratamiento de 10B con diazometano en presencia de $B_3F_3 \cdot OEt_2$, se obtuvo el metil glicósido 110 como una mezcla anomérica β/α en relación 2,1:1 (77%). La O-desbenzoilación de 110 (MeOH-H₂O-TEA) dió el metil 6-O- β -D-galactofuranosil- α,β -D-galactofuranósido (112), cuyo anómero β se aisló por cromatografía en columna. En base a sus propiedades espectroscópicas se confirmó la estructura de este disacàrido, que no se encontraba descrito en la literatura.

Durante la reacción de condensación de 91 con las lactonas 102 o 103 se observó la formación del disacàrido β,β' (1- \rightarrow 1') 113, como un producto secundario. Posteriormente se sintetizó 113, en escala preparativa (88%), por tratamiento de 91 con

SnCl₄ y adición de una cantidad controlada de agua. Las estructuras de 113 y del producto cristalino obtenido por desacilación con NaMeO (114), se determinaron por análisis de sus espectros de R.M.N.-¹H y ¹³C.

Se aplicó la metodología utilizada en la síntesis de 16 para preparar el disacárido Galf-β-(1→5)-Galf (1). Como precursor del extremo reductor del mismo, se utilizó la 2,6-di-O-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (117), obtenida por benzoilación parcial de 87 con 2,2 eq. de BzCl/Py a -23°C. La condensación de 91 con 2,0 eq. de 117, catalizada por SnCl₄ ocurrió regio y estereoselectivamente, para dar la 5-O-β-D-galactofuranosil lactona 118, con 70% de rendimiento. Para confirmar su estructura, 118 se redujo con NaBH₄ y se desbenzoiló, obteniéndose el 5-O-β-D-galactofuranosil-D-galactitol (121), descrito en la literatura. El perbenzoato (120) de 118, se redujo con DSB al lactol, para dar el heptabenzoato 122, el cual por desacilación (MeOH-H₂O-TEA) condujo al disacárido 1 (87%), componente de un gran número de glicoconjugados de hongos, como por ejemplo del Helminthosporium sacchari y varias especies de Penicillium y Aspergillus.

Cuando la reacción de condensación de 91 con el dibenzoato 117 se realizó en presencia de un exceso de 91, se obtuvo el perbenzoato de la 3,5-di-O-β-glicosil lactona (119, 47%), producto de la sustitución de los dos hidroxilos libres de 117: HO-3 y HO-5. Por reducción de 119 con DSB se obtuvo el lactol

123, precursor de un trisacàrido ramificado (124), el cual se obtuvo por desacilaci3n (MeOH-H₂O-TEA). Por tratamiento de 123 con BzCl/Py y purificaci3n por cromatografia en columna se aislaron los perbenzoatos anomèricamente puros 125 (β) y 126 (α).

El proceso sintético empleado para la obtenci3n de los disacàridos 1, 16 y 112, y para el trisacàrido 124, tiene la ventaja de utilizar compuestos de partida de fàcil preparaci3n y purificaci3n, y el paso clave, la reacci3n de glicosidaci3n, transcurre estèreo y regioselectivamente, con excelente rendimiento.

Continuando con el estudio de la reacci3n de eliminaci3n beta en derivados de aldono-1,4-lactonas, realizado en este laboratorio, se sometieron a los perbenzoatos de D-galactono (88) y L-manono (143) 1,4-lactonas a tratamiento con TEA al 20% en Cl₂CH₂, durante 2 h. Se observ3 en ambos casos, la formaci3n de 3-benzoiloxi-5-(2-benzoiloxietilidèn)-2(5H)-furanona (132) con muy buen rendimiento. Este resultado, confirmaría el mecanismo E_{1c}B propuesto para esta reacci3n, ya que el rendimiento de la misma es independiente de la relaci3n estereoquímica del proton y del benzoato que se eliminan.

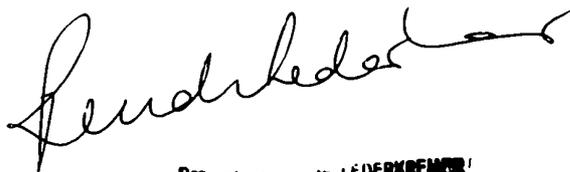
Se estudi3 la reacci3n de eliminaci3n beta, en la glicosil aldono-1,4-lactona 106. Los productos insaturados serían precursores adecuados de disacàridos cuyo extremo reductor estaría constituido por un 3-desoxi o 3,5-didesoxi azùcar. En efecto, por

tratamiento de la glicosil lactona 106 con TEA en solución de Cl_2CH_2 , se obtuvo el producto de doble eliminación de benzoato (153, 70%) como una mezcla de los isómeros Z:E en relación 1,5:1. Si la reacción se llevaba a cabo con 1,8-diazobicyclo [5.4.0]undecén-7-eno (DBU) en solución de acetonitrilo, se obtenía exclusivamente el isómero Z. La hidrogenación de 153 en presencia de 10% Pd/C, condujo a la mezcla diastereomérica 157, 158, la cual se separó por c.l.a.r. Alternativamente y confirmando la estructura propuesta, la mezcla 157,158 se obtuvo por condensación del perbenzoato 91 con 2-O-benzoil-6-O-tritil-3,5-didesoxi-D,L-treo-hexono-1,4-lactona (159), catalizada por SnCl_4 . Con el objeto de obtener una glicosil 3-desoxilactona se realizó la hidrogenación en condiciones de eliminación beta (H_2 , Pd/C, TEA) de 106, reacción que condujo a la glicosil 3-desoxilactona 167. Para el anillo lactónico de 167 se determinó la configuración cis de los sustituyentes de C-2 y C-4. Este producto sería un precursor conveniente para la síntesis de un disacárido cuyo extremo reductor estaría constituido por un 3-desoxiazúcar. También en este caso, se confirmó la estructura propuesta al obtener 167 por condensación de 91 con 2,5-di-O-benzoil-6-O-tritil-3-desoxi-D-xilo-hexono-1,4-lactona (165).

Por último, se realizó el análisis conformacional del metil glicósido 90 utilizando un procedimiento desarrollado en este laboratorio, que permite calcular, para un dado compuesto los ángulos diedros protón-protón ($\phi_{\text{H,H}}$) y los $^3J_{\text{H,H}}$ esperados pa-

ra cada forma twist y sobre del itinerario pseudorrotacional. Por comparación con los valores de $\varphi_{H,H}$, se acota fácilmente el sector poblado conformacionalmente. Los resultados son comparables con los obtenidos para el metil glicósido 5 y otros compuestos análogos, por otros métodos.

Los compuestos 89, 90, 96, 97, 106, 108, 109, 110, 112, 113, 114, 118, 119, 120, 122, 123, 124, 125, 126, 157, 158 y 167 no se encontraban descritos en la literatura.



Dr. Juan José LEDEREMANN



Parte del trabajo realizado en esta Tesis, dió lugar a las siguientes publicaciones:

"Synthesis of p-nitrophenyl β -D-galactofuranoside. A convenient substrate for β -D-galactofuranosidases".

Oscar Varela, Carla Marino y Rosa M. de Lederkremer, Carbohydr. Res., **155** (1986) 247-251.

"Synthesis of disaccharides of biological significance".

Carla Marino, Oscar Varela y Rosa M. de Lederkremer, Carbohydr. Res., **189** (1989) 65-76.

"Convenient synthesis of 5-O- β -D-galactofuranosyl-D-galactofuranose and 3,5-di-O- β -D-galactofuranyl-D-galactofuranose".

Rosa M. de Lederkremer, Carla Marino y Oscar Varela, Carbohydr. Res., en prensa.

BIBLIOGRAFIA

1. B. Lindberg y B. Wickberg, *Acta Chem. Scand.*, **16** (1962) 2240
2. R. E. Reeves, N. G. Latour y R. J. Lousteau, *Biochem.*, **3** (1964) 1248.
3. E. Barreto-Bergter y P. A. J. Gorin, *Adv. in Carbohydr. Chem. and Biochem.*, **41** (1983) 67-103.
4. P. A. J. Gorin y J. F. T. Spencer, *Can. J. Chem.*, **37** (1959) 499.
5. J. E. Gander, N. H. Jentof, L. R. Drewes y P. D. Rick, *J. Biol. Chem.*, **249** (1974) 2063.
6. A. García Trejo, J. W. Haddock, G. J. F. Chittenden y J. Baddiley, *Biochem. J.*, **122** (1971) 49.
7. J. F. Preston, E. Lapis y J. E. Gander, *Arch. Mikrobiol.*, **88** (1973) 71.
8. M. Rietschel-Berst, N. H. Jentof, P. D. Rick, C. Fletcher, F. Fang y J. E. Gander, *J. Biol. Chem.*, **252** (1977) 3219.
9. T. Miyazaki y T. Yadomae, *Chem. Pharm. Bull.*, **17** (1969) 361.
10. T. Kohama, M. Fujimoto, A. Kuniaka y H. Yoshino, *Agric. Biol. Chem.*, **37** (1974) 23.
11. S. Notermans, G. Wieten, H. W. B. Engel, F. M. Rombouts, P. Hoogerhout y J. H. van Boom, *J. Appl. Bact.*, **62** (1987) 157.
12. P. J. Shaffer, G. Medoff y G. S. Kobayashi, *J. Infect. Dis.*, **130** (1979) 313.
13. M. H. Weiner, G. H. Talbot, S. L. Gerson, G. Filice y P. A. Cassileth, *Ann. Intern. Med.*, **99** (1983) 777.
14. E. Barreto-Bergter, P. A. J. Gorin y L. R. Travassos, *Carbohydr. Res.*, **95** (1981) 205.

15. J. E. Bennet, A. K. Bhattacharjee y C. P. J. Glaudemans, *Molec. Immun.*, **23** (1985) 251.
16. P. C. Bardayale y J. H. Nordin, *J. Biol. Chem.*, **252** (1977) 2584.
17. S. A. Barker, O. Basarb y C. N. D. Cruickshank, *Carbohydr. Res.*, **3** (1967) 325.
18. C. T. Bishop y M. B. Perry, *Can. J. Chem.*, **44** (1966) 2291.
19. D. J. Manners, I. R. Pennie y J. F. Reyley, *Carbohydr. Res.*, **29** (1973) 63.
20. J. F. Preston, E. Lapis y J. E. Gander, *Can. J. Microbiol.*, **16** (1970) 687.
21. S. Suzuki, M. Suzuki, K. Yokota, H. Sunayama y O. Sakaguchi, *Jap. J. Microbiol.*, **11**, 269.
22. E. M. Barreto-Bergter y L. R. Travassos, *Carbohydr. Res.*, **86** (1980) 273.
23. S. Notermans, G. H. Veeneman, C. W. E. M. van Zuylen, F. Hoogerhout y J. H. van Boom, *Mol. Imm.*, **25** (1988) 975.
24. S. Notermans, C. J. Heuvelman, H. F. van Egmond, W. E. Paulsch y J. R. Besling, *J. Food Prot.*, **49** (1986) 786.
25. V. Hearn, B. L. Griffiths y F. A. J. Gorin, *Glycoconjugate J.*, **6** (1989) 85.
26. R. C. Beier, B. F. Mundy y G. A. Strobel, *Experientia*, **38** (1982) 1312.
27. L. S. Daley y G. A. Strobel, *Plant Science Letters*, **30** (1983) 145.
28. T. Nakajima, M. Yoshida, N. Hiura y K. Matsuda, *J. Biochem.*, **96** (1984) 1005.

29. T. Nakajima, M. Yoshida, M. Nakamura, N. Hiura y K. Matsuda, *J. Biochem.*, **96** (1984) 1013.
30. P. E. Jansson y B. Lindberg, *Carbohydr. Res.*, **82** (1980) 97.
31. A. Matsunaga, M. Okubo, M. Fukami, S. Yamasaki y S. Toda, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **102** (1981) 524.
32. I. R. Siddiqui y G. A. Adams, *Can. J. Chem.*, **39** (1961) 1683.
33. A. Prieto, P. Rupéres, A. Hernández-Barranco y J. A. Leal, *Carbohydr. Res.*, **177** (1988) 265.
34. J. F. Groisman y R. M. de Lederkremer, *Eur. J. Biochem.*, **165** (1987) 327.
35. S. Ukai, S. Matsuura, C. Hara, T. Kiho y K. Hirose, *Carbohydr. Res.*, **101**, (1982) 109.
36. H. H. Lee, P. G. Hodgson, R. J. Bernacki, W. Korytnyk y M. Sharma, *Carbohydr. Res.*, **176** (1988) 58.
37. T. Miyasaki, N. Oikawa y H. Yamada, *Chem. Pharm. Bull.*, **25** (1977) 3324.
38. R. Brown y B. Lindberg, *Acta Chem. Scand.*, **21** (1967) 2383.
39. L. Mendonça-Previato, F. A. J. Gorin y L. R. Travassos, *Infection and Immunity*, **29** (1980) 934.
40. H. Ishizaki, R. W. Wheat, D. P. Kiel y N. F. Conant, *Infect. Immun.*, **21** (1978) 585.
41. S. Suzuki y N. Takeda, *Infect. Immun.*, **17** (1977) 483.
42. B. Lindberg, B. G. Silvaner y C. A. Wachtmeister, *Acta Chem. Scand.*, **18** (1964) 213.
43. D. H. Meldenzon y A. J. Parodi, *J. Biol. Chem.*, **261** (1986) 2129.

44. D. H. Meldenzon, J. O. Freviato y A. J. Parodi, *Mol. Biochem. Parasitol.*, **18** (1986) 355.
45. C. T. Moraes, M. Bosch y A. J. Parodi, *Biochem.*, **27** (1988) 1542.
46. A. J. Parodi, G. Z. Lederkremer y D. H. Mendelzon, *J. Biol. Chem.*, **258** (1983) 5589.
47. A. J. Parodi, J. Martin-Barrientos y J. C. Engel, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **118** (1984) 1.
48. S. J. Turco y F. A. Orlandi Jr., *J. Biol. Chem.*, **264** (1989) 6711.
49. R. M. de Lederkremer, O. L. Casal, M. O. M. Alves y W. Colli, *FEBS Lett.*, **116** (1980) 25.
50. L. Mendonça-Freviato, P. A. J. Gorin, A. F. Braga, J. Scharfstein y J. O. Freviato, *Biochem.*, **22** (1983) 4980.
51. R. M. de Lederkremer, O. L. Casal, A. Couto y W. Colli, *Eur. J. Biochem.*, **151** (1985) 539-542.
52. B. B. Schnaidman, N. Yoshida, P. A. J. Gorin y L. R. Travassos, *J. Protozool.*, **33** (1986) 186-191.
53. N. Shaw, *Bacteriol. Rev.* **34** (1970) 365.
54. J. H. Veerkamp, *Biochim. Biophys. Acta*, **273** (1972) 359.
55. P. Plackett, *Biochem.*, **6** (1967) 2746.
56. N. G. Clarke, G. F. Hazlewood y R. M. C. Dawson, *Chem. Phys. Lipids*, **17** (1976) 222.
57. N. G. Clarke, G. F. Hazlewood y R. M. C. Dawson, *Biochem. J.*, **191** (1980) 561.
58. G. F. Hazlewood y R. M. C. Dawson, *J. Gen. Microbiol.*, **112** (1979) 15.

59. G. Chambat, J. P. Joseleau, M. Lapeyre y A. Lefebvre,
Carbohydr. Res., **63** (1978) 323.
60. M. Curvall, B. Lindberg, J. Lönngren, U. Rudén y W. Nimmich,
Acta Chem. Scand., **27** (1973) 4019.
61. B. Lindberg y J. Lönngren, Carbohydr. Res. **23** (1972) 47.
62. N. Roy, Carbohydr. Res., **63** (1978) 333.
63. P. Plackett y S. H. Buttery, Biochem. J., **90** (1964) 201.
64. A. Misaki, N. Ikawa, T. Kato y S. Kotani, Biochim. Biophys.
Acta, **215** (1970) 405.
65. E. Vilkas, A. Amar, J. Markovits, J. F. G. Vliegenthart y J.
P. Kamerling, Biochim. Biophys. Acta, **297** (1973) 423.
66. M. Mc Neil, S. J. Wallner, S. W. Hunter y P. J. Brennan,
Carbohydr. Res., **166** (1987) 299.
67. S. J. Angyal, C. L. Bodkin y F. W. Parrish, Aust. J. Chem.,
28 (1975) 1541.
68. K. Igarashi, Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., **34** (1977) 243.
69. E. Pacsü, Method Carbohydr., Vol. II, 354.
70. G. Wulff y G. Röhle, Angew. Chem. Ed. Int., **13** (1974) 157.
71. P. A. J. Gorin, Can. J. Chem., **40** (1962) 275.
72. H. Paulsen, Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., **26** (1971) 127.
73. A. S. Perlin, Can. J. Chem., **42** (1964) 1365.
74. C. P. J. Glaudemans y H. G. Fletcher Jr., J. Am. Chem. Soc.,
87 (1965) 2456.
75. R. Barker y H. G. Fletcher Jr., J. Org. Chem., **26** (1961)
4605.
76. A. Granata y A. S. Perlin, Carbohydr. Res., **86** (1980) 305.

77. L. J. Haynes y F. H. Newth, *Adv. Carbohydr. Res.*, **10** (1955) 207.
78. R. R. Schmidt, *Angew. Chem. Ed. Int.*, **25** (1986) 212.
79. H. Paulsen, *Angew. Chem. Ed. Int.*, **21** (1982) 155.
80. P. A. J. Gorin, E. M. Barreto-Bertger y F. S. Da Cruz, *Carbohydr. Res.*, **88** (1981) 177.
81. D. S. Tsui y P. A. J. Gorin, *Carbohydr. Res.*, **156** (1986) 1.
82. N. K. Kochetkov, A. J. Khorlin y A. F. Bochkov, *Tetrahedron*, **23** (1967) 693.
83. V. I. Betaneli, M. V. Ovchinnikov, L. V. Blackinwsky y N. K. Kochetkov, *Carbohydr. Res.*, **76** (1979) 252.
84. F. G. de las Heras y F. Fernandez-Resa, *J. Chem. Soc., Perkin Tran I*, (1982) 903.
85. N. D. Backinowsky, S. A. Nepogod'ev, A. S. Shashkov y N. K. Kochetkov, *Carbohydr. Res.*, **138** (1985) 41.
86. S. Hanessian y J. Banoub, *Carbohydr. Res.*, **59** (1977) 261.
87. C. Du Mortier, O. Varela y R. M. de Lederkremer, *Carbohydr. Res.*, **189** (1989) 79.
88. L. O. Jeroncic, A. Fernández Cirelli y R. M. de Lederkremer, *Carbohydr. Res.*, **167** (1987) 175.
89. M. J. Wanner, G. J. Koomen y U. K. Pandit, *Tetrahedron*, **39** (1986) 3673.
90. S. Hanessian y J. Banoub, *Tett. Lett.*, (1976) 657, 661.
91. R. R. Schmidt y P. Hermentin, *Angew. Chem. Ed. Int.*, **16** (1977) 48.
92. W. V. Dahlhoff y A. Geisheimer, *Z. Naturforsch.*, **40b** (1985) 141.

93. J. C. Jaquinet y P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.*, **34** (1974) 343.
94. W. A. R. Van Heeswijk, H. G. J. Visser y J. F. G. Vligenthart, *Carbohydr. Res.*, **59** (1977) 81.
95. a) F. Sugawara, H. Nakayama y T. Ogawa, *Agric. Biol. Chem.*, **50** (1986) 1557, b) T. Ogawa y M. Matsui, *Carbohydr. Res.*, **62 C1** (1978).
96. G. H. Veeneman, S. Notermans, R. M. J. Liskamp, G. A. Marel y J. H. van Boom, *Tett. Lett.*, **28** (1987) 6695.
97. W. N. Haworth, E. L. Hirst, D. I. Jones y H. J. Woodward, *J. Chem. Soc.*, (1938) 1575.
98. I. Augestad y E. Bernar, *Acta Chem. Scand.*, **8** (1954) 251.
99. J. W. Green y E. Pacsù, *J. Am. Chem. Soc.*, **60** (1938) 2056.
100. R. M. de Lederkremer y M. I. Litter, *Carbohydr. Res.*, **20** (1971) 442.
101. F. Kohn, R. H. Samaritano, L. M. Lerner, *J. Am. Chem. Soc.*, **87** (1965) 5475.
102. O. J. Varela, A. Fernández Cirelli y R. M. de Lederkremer, *Carbohydr. Res.*, **85** (1980) 130.
103. O. J. Varela, A. Fernández Cirelli y R. M. de Lederkremer, *Carbohydr. Res.*, **70** (1979) 27.
104. O. J. Varela, A. Fernández Cirelli y R. M. de Lederkremer, *Carbohydr. Res.*, **100** (1982) 424.
105. I. O. Mastronardi, S. M. Fematti, J. O. Deferrari y E. G. Gros, *Carbohydr. Res.*, **3** (1966) 177.
106. D. R. Bundle y R. U. Lemieux, *Method Carbohydr. Chem.* **7** (1976) 79.
107. S. J. Angyal, *Carbohydr. Res.*, **77** (1979) 37.

108. R. U. Lemieux y W. F. Shyluk, *Can. J. Chem.*, **31** (1953) 528.
109. T. R. Ingle y J. L. Bose, *Carbohydr. Res.*, **12** (1970) 459.
110. N. B. D'Accorso, I. M. E. Thiel y M. Schüller, *Carbohydr. Res.*, **124** (1983) 177.
111. K. Bock y C. Pedersen, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **41** (1983) 27.
112. J. Conchie, G. A. Levy y C. A. Marsh, *Adv. Carbohydr. Chem.*, **12** (1957) 157.
113. T. Iversen y R. Johansson, *Synthesis*, (1979) 207.
114. E. Zissis y C. P. J. Glaudemans, *Carbohydr. Res.*, **50** (1976) 292.
115. S. Sadeh y U. Zehavi, *Carbohydr. Res.*, **101** (1982) 152.
116. P. J. Garegg, Hultberg y T. Iversen, *Carbohydr. Res.*, **62** (1978) 173.
117. C. Du Mortier, O. Varela y R. M. de Lederkremer, *Revista Latinoamericana de Química*, **17** (1986) 16.
118. J. E. Namshin y A. S. Perlin, *Carbohydr. Res.*, **76** (1979).
119. J. Kärkkäinen, *Carbohydr. Res.*, **11** (1969) 247.
120. J. P. Kamerling y J. F. G. Vliegthart, *Tetrahedron*, **27** (1971) 4275.
121. K. Biemann, D. C. Dejongh y H. K. Shnoes, *J. Am. Chem. Soc.*, **85** (1963) 1763.
122. N. L. Holder y B. Fraser-Reid, *Can. J. Chem.*, **51** (1973) 3357.
123. D. C. Dejongh, T. Radford, J. D. Hribar, S. Hanessian, G.

- Dawson y C. C. Sweeley, *J. Am. Chem. Soc.*, **91** (1969) 1728.
124. M. Kuhn y A. von Wartburg, *Helv. Chim. Acta*, **51** (1968) 1631; **52** (1969) 948.
125. I. Dyong, L. Baumeister y H. Bendlin, *Chem. Ber.*, **112** (1979) 161.
126. K. Bock, C. Pedersen y H. Pedersen, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **42** (1984) 193.
127. S. J. Angyal y V. A. Pickles, *Aust. J. Chem.*, **25** (1972) 1695.
128. L. O. Jeroncic, Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, U.B.A.
129. D. Horton y Z. Walaszek, *Carbohydr. Res.*, **105** (1982) 145.
130. O. T. Schmidt, H. Zeiser y H. Dippold, *Chem. Ber.*, **70** (1937) 2402.
131. O. T. Schmidt y F. Günther, *Chem. Ber.*, **71** (1938) 493.
132. D. Heslop y F. Schmidt, *J. Am. Chem. Soc.*, **577** (1944); 637 (1944).
133. H. S. Isbell, *Ann. Rev. Biochim.*, **12** (1943) 205.
134. R. F. Linstead, L. N. Owen y R. F. Webb, *J. Am. Chem. Soc.* **1225** (1953).
135. N. Pravdic y H. G. Fletcher Jr., *Carbohydr. Res.*, **19** (1971) 339.
136. K. Ochi y K. Okui, *Chem. Pharm. Bull. (Japan)*, **22** (1974) 2223.
137. K. Dax y H. Weidmann, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **33** (1976) 189.

138. H. Weidmann, M. Apenruth, R. Leipert-Klug, K. Dax y P. Stöck, J. Carbohydr. Nucleosides Nucleotides, **3** (1973) 236.
139. M. I. Litter y R. M. de Lederkremer, Carbohydr. Res., **26** (1973) 431.
140. M. I. Litter y R. M. de Lederkremer, Anales Asoc Quim. Argentina., **62** (1974) 147.
141. L. O. Jeroncic, O. Varela, A. Fernández Cirelli y R. M. de Lederkremer, Tetrahedron, **39** (1983) 1425.
142. L. J. Haynes, Quart Rev., **2** (1948) 46.
143. G. Pattenden, Fortschritte Chem. Organ. Naturstoffe, **35** (1978) 133.
144. O. Varela, Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, U.B.A.
145. M. I. Litter, Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, U.B.A.
146. D. Horton, J. K. Thomson, O. Varela, A. Nim y R. M. de Lederkremer, Carbohydr. Res., en prensa.
147. P. Rylander, "Catalytic Hydrogenation in Organic Synthesis", Academic Press, N. York, 1979.
148. H. O. House, "Modern Synthetic Reactions", 2nd. Ed., Benjamin, California, 1972.
149. A. G. M. Barrett y H. G. Sheth, J. Org. Chem., **48** (1983) 5017.
150. A. G. M. Barrett y H. G. Sheth, J. Chem. Soc. Commun., (1982) 170.
151. G. Pattenden, Fortschritte Chem. Organ. Naturstoffe, **35**, 133 (1978).

152. Y. Häfele y V. Jäger, *Liebigs Ann. Chem.*, **85** (1987).
153. S. Hanessian, *Adv. Carbohydr. Chem.*, **21** (1966) 143.
154. Y. S. Rao, *Chem. Rev.*, **76** (1976) 625.
155. H. Günter, "N.M.R. Spectroscopy. An Introduction", J. Wiley and Sons. New York (1980).
156. C. F. Ingham, R. A. Massy-Westropp y G. D. Reynolds, *Aust. J. Chem.*, **27**, 1477 (1974).
157. R. D. Bach, R. C. Bagdger y T. J. Lang, *J. Am. Chem. Soc.*, **101** (1979) 2845.
158. H. Komura, T. Iguashita, H. Naoki, K. Nakanishi, J. Oka, K Ueda y O. Hayaishi, *J. Am. Chem. Soc.*, **105** (1983) 5165.
159. K. Bock, I. Lundt y C. Pedersen, *Acta Chem. Scand.*, **B35** (1981) 155.
160. J. Ferrier, *International Rev. Sci. Organic. Chem.*, **7** "Carbohydrates", pg 1-34.
161. M. Karplus, *J. Chem. Phys.*, **30** (1959) 11.
162. C. Altona, H. R. Buys, H. J. Hageman y E. Havinga, *Tetrahedron*, **23** (1973) 2333.
163. M. Karplus, *J. Am. Chem. Soc.*, **85** (1963) 2870.
164. C. Altona y M. Sundaralingam, *J. Am. Chem. Soc.*, **95** (1973) 2333.
165. O. Jardetzky, *Biochem. Biophys. Acta*, **621** (1980) 227.
166. J. Kilpatrick y K. S. Pitzer y R. J. Spitzer, *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, (1947) 2483.
167. C. Altona y M. Sundaralingam, *J. Am. Chem. Soc.*, **94** (1972) 8205.
168. R. U. Lemieux, *Pure Appl. Chem.*, **27** (1971) 527.

169. A. S. Serianni y R. Barker, *J. Org. Chem.*, **49** (1984) 3292.
170. A.S. Serianni, D. M. Chipman, *J. Am. Chem. Soc.*, **109** (1987) 5297.
171. C. A. G. Haasnoot, F. A. A. M. De Leeuw y C. Altona, *Tetrahedron*, **36** (1980) 2783.
172. M. L. Huggins, *J. Am. Chem. Soc.*, **75** (1953) 4123.
173. Daniel Cicero, Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, U.B.A..
174. P. Groth, B. Klewe y A. Reine, *Acta Chem. Scand.*, **B 30** (1976) 948.
175. J. D. Stevens y H. G. Fletcher, *J. Org. Chem.*, **33** (1968) 1799.
176. W. Trevelyan, D. Procter y J. Harrison, *Nature* **166** (1950) 444.
177. H. C. Brown, "Organic Synthesis via Boranes", Wiley Interscience, N. York, 1974.
178. U. Burbert y N. L. Allinger, *Molecular Mechanics*, ACS Monograph n° 177, American Chemical Society, Washington DC (1988).