

Tesis de Posgrado

Síntesis de inositoles nitrogenados y sulfonilados con actividad biológica potencial : Reacciones de funcionalización de hidratos de carbono

Elías, Cecilia

1996

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:

Elías, Cecilia. (1996). Síntesis de inositoles nitrogenados y sulfonilados con actividad biológica potencial : Reacciones de funcionalización de hidratos de carbono. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2883_Elias.pdf

Cita tipo Chicago:

Elías, Cecilia. "Síntesis de inositoles nitrogenados y sulfonilados con actividad biológica potencial : Reacciones de funcionalización de hidratos de carbono". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1996.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2883_Elias.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 INOSITOLES NITROGENADOS Y SULFONILADOS CON
ACTIVIDAD BIOLÓGICA POTENCIAL
REACCIONES DE FUNCIONALIZACIÓN DE HIDRATOS DE CARBONO

Director de Tesis
Dr. Raúl A. Cadenas

Lugar de Trabajo
Cátedra de Química Orgánica
Facultad de Agronomía (UBA)

Cecilia Elías

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la
Universidad de Buenos Aires*

-1996-

52

**SINTESIS DE INOSITOLES NITROGENADOS Y SULFONILADOS CON
ACTIVIDAD BIOLOGICA POTENCIAL
REACCIONES DE FUNCIONALIZACION DE HIDRATOS DE CARBONO**

Sumario

A partir del mio-inositol se llevó a cabo la síntesis de diversos inositoles nitrogenados y sulfonilados relacionados con el muco-inositol. El 3-azido-3-desoxi-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol fué el producto más importante de éstas síntesis y se empleó como materia prima para la obtención de mostazas nitrogenadas con diferentes estructuras. Se investigó también su aplicación a la síntesis de oligosacáridos aminociclitólicos.

Como resultado de observaciones realizadas en forma paralela en éstos últimos estudios, surgió la posibilidad de emplear sales de nitrilio en general para funcionalizar el carbono anomérico de azúcares peracilados, generando N-acilglicosilaminas. Como modelo de ésta aplicación se estudió la reacción, catalizada por el tetracloruro de estaño, del acetilamino acetonitrilo con la penta-O-benzoil- α -D-glucopiranososa, aislándose diferentes productos de acople y de transformación del azúcar de partida.

Se discuten estudios biológicos "in vitro" realizados con el 1,5-dicloro-6-N-bis(2-cloroetil)amino-1,5,6-tridesoxi-2,3,4-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol, sintetizado en ésta tesis.

Palabras Clave

Muco-inositol/ mostazas nitrogenadas/ oligosacáridos ciclitólicos/ sales de nitrilio/ N-acilglicosilaminas.

SYNTHESIS OF NITROGENATED AND SULFONYLATED INOSITOLS WITH
POTENTIAL BIOLOGICAL ACTIVITY
FUNCTIONALISATION REACTIONS OF CARBOHYDRATES

Abstract

Starting from *myo*-inositol, the synthesis of several nitrogenated and sulfonylated derivatives of *muco*-inositol were performed. The 3-azido-3-deoxy-1,5,6-tri-O-(methylsulfonyl)-*muco*-inositol was a relevant product obtained and it was employed to synthesize several nitrogen mustards. Its application to the synthesis of cyclitol oligosacarides was also investigated.

In the latter studies, observations were made that suggested the possibility to employ nitrilium salts in general to functionalise the anomeric carbon atom of peracylated sugars, to give N-acylglycosylamines. As a model for that application, the reaction of acetylamino acetonitrile with penta-O-benzoyl- α -D-glucopyranose catalyzed by tin (IV) chloride was investigated, and different coupling and transformation products of the starting sugars were isolated.

Biological studies conducted with one of the substances obtained, the 1,5-dichloro-6-N-bis(2-chloroethyl)amino-1,5,6-trideoxy-2,3,4-tri-O-(methylsulfonyl)-*muco*-inositol, are described.

Key Words

Muco-inositol/ nitrogen mustards/ cyclitol oligosacarides/ nitrilium salts/ N-acylglycosylamines.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres.

A mis tíos por haberme brindado su cariño y apoyo incondicional.

Al Dr. Raúl A. Cadenas por haberme transmitido no sólo enseñanzas a nivel científico, sino también por su guía y apoyo para superar los inconvenientes de ésta tarea.

A la Dra. María E. Gelpi por su asesoramiento, quién puso a mi disposición su tiempo cada vez que lo necesité.

Al Ing. Agr. Eduardo Sierra por permitirme el uso de la impresora láser del Centro de Cómputos de la Facultad de Agronomía (Universidad de Buenos Aires).

A la Ing. Civ. Diana Giorgini por su asesoramiento. A la Srta. Liliana Vaquero y a todo el personal del Centro de Cómputos de la Facultad de Agronomía (Universidad de Buenos Aires) por su colaboración.

A mis compañeros de laboratorio, Margarita Yaber Grass, Silvia R. Leicach y Jorge Mosettig por su estímulo y colaboración.

A todo el personal docente y no docente de la Cátedra de Química Orgánica de la Facultad de Agronomía (Universidad de Buenos Aires).

ABREVIATURAS UTILIZADAS

Ac	acetilo
Ac ₂ O	anhídrido acético
AcOH	ácido acético
Al	alilo
Anal.	análisis
Bn	bencilo
Bz	benzoilo
Bs	brosilo
Bu	butilo
c	concentración
calc.	calculado
CAN	nitrate amónico cérico
cat	catalizador
Cbz	benciloxicarbonilo
ccd	cromatografía en capa delgada
ClAc	cloroacetilo
ClBz	cloruro de benzoilo
ClMs	cloruro de mesilo
ClTs	cloruro de tosilo
col.	colaboradores
DEAE	dietilaminoetil
DMAP	4-dimetilamino piridina
DMF	dimetilformamida
DMP	2,2-dimetoxipropano

DNP	2,4-dinitrofenilo
DMSO	dimetilsulfóxido
EM	espectrometría de masa
FAB ⁺	fast atom bombardment mass spectrometry
fig.	figura
HPLC	high performance liquid chromatography
Ip	-C(CH ₃) ₂
IR	infrarrojo
lit.	literatura
Me	metilo
Ms	mesilo
NBS	N-bromosuccinimida
Pent	-(CH ₂) ₂ -CH ₂ -CH=CH ₂
p.f.	punto de fusión
Ph	fenilo
p-MeBn	p-metilbencilo
p-MeOBn	p-metoxibencilo
p-NO ₂ Bz	p-nitrobenzoilo
ppm	partes por millón
p-TSA	ácido p-toluensulfónico
PY	piridina
RMN	resonancia magnética nuclear
TBS	t-butildimetilsililo
temp. amb.	temperatura ambiente
Tf	trifluormetilsulfonilo
THF	tetrahidrofurano
TMSOTf	trifluormetanosulfonato de trimetilsililo
Ts	tosilo

CAPITULO I

Síntesis de sulfonil y anhídrido ciclitoles

<i>Síntesis de sulfonil ciclitoles</i>	1
<i>Síntesis de anhídrido ciclitoles</i>	9
<i>Síntesis de monoanhídrido inositoles</i>	10
<i>Síntesis de dianhídrido inositoles</i>	12
<i>Síntesis de trianhídrido inositoles</i>	21

CAPITULO II

Síntesis de amino ciclitoles. Inosaminas

<i>Síntesis de inosaminas</i>	29
<i>Síntesis de inosadiaminas</i>	35
<i>Síntesis de desoxi-inosaminas y desoxi-inosadiaminas</i>	52
<i>Síntesis de inosatriaminas y desoxi-inosatriaminas</i>	57
<i>Síntesis de inosatetraminas</i>	66
<i>Síntesis de amino carba-azúcares</i>	67

CAPITULO III

Síntesis de pseudo-oligosacáridos. Carbaoligosacáridos

CAPITULO IV

<i>Síntesis de pseudo-oligosacáridos relacionados con las inosaminas</i>	67
--	----

CAPITULO V

<i>Empleo de sales de nitrilio en síntesis orgánica</i>	119
<i>Las sales de nitrilio en el campo de los hidratos de carbono</i>	128

CAPITULO VI

Resultados y Discusión

<i>Síntesis de inositoles nitrogenados y sulfonilados</i>	154
<i>Síntesis de oligosacáridos ciclitólicos</i>	194
<i>Funcionalización de hidratos de carbono mediante sales de nitrilio</i>	201
<i>Estudios biológicos</i>	229

CAPITULO VII

Parte Experimental

<i>Instrumental y métodos generales</i>	237
<i>Purificación de reactivos y solventes</i>	240
<i>Síntesis de inositoles nitrogenados y sulfonilados</i>	242
<i>Obtención de oligosacáridos ciclitólicos sustituidos</i>	
<i>Reacción del 3-azido-3-desoxi-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol con la penta-O-benzoíl-α-D-glucopiranososa</i>	254
<i>Formación de sales de nitrilio y síntesis de N-acilglicosilaminas</i>	
<i>Reacción de la penta-O-benzoíl-α-D-glucopiranososa con acetonitrilo</i>	257
<i>Reacción de la penta-O-benzoíl-α-D-glucopiranososa con N-acetilamino acetonitrilo</i>	259
<i>Estudios biológicos del 1,5-dicloro-6-N-bis(2-cloroetil)amino-1,5,6-tridesoxi-2,3,4-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol</i>	265
RESUMEN	269
BIBLIOGRAFIA	275

CAPITULO I
SINTESIS DE SULFONIL Y ANHIDRO CICLITOLES

SINTESIS DE SULFONIL Y ANHIDRO CICLITOLES

Síntesis de sulfonil ciclitoles

Las reacciones de sulfonilación de azúcares fueron y son ampliamente utilizadas en reacciones de bloqueo selectivo y para introducir otros grupos funcionales, en muchas reacciones particulares.

En el caso de los inositoles, en la literatura existen unos pocos estudios sistemáticos acerca del comportamiento de estas sustancias frente al cloruro de p-toluensulfonilo (cloruro de tosilo), con el fin de preparar intermediarios útiles principalmente para reacciones de aminación.

En general, la tosilación de inositoles es una reacción que genera mezclas de diferentes isómeros parcialmente sulfonilados con bajos rendimientos, atribuibles a razones estéricas.

Por otra parte, las reacciones con cloruro de metanosulfonilo (cloruro de mesilo) se han estudiado mucho menos frente a inositoles y sólo se han aplicado a pocos casos puntuales para la síntesis ulterior de aminociclitoles, que se discutirán en el capítulo referente a inosaminas.

Suami y col.¹ llevaron a cabo reacciones de p-toluen-sulfonilación del 1,2-O-ciclohexilidén-*mio*-inositol² (1) para dar un mono-, tres di-, tres tri- y un tetra-O-p-toluensulfonil derivados del *mio*-inositol.

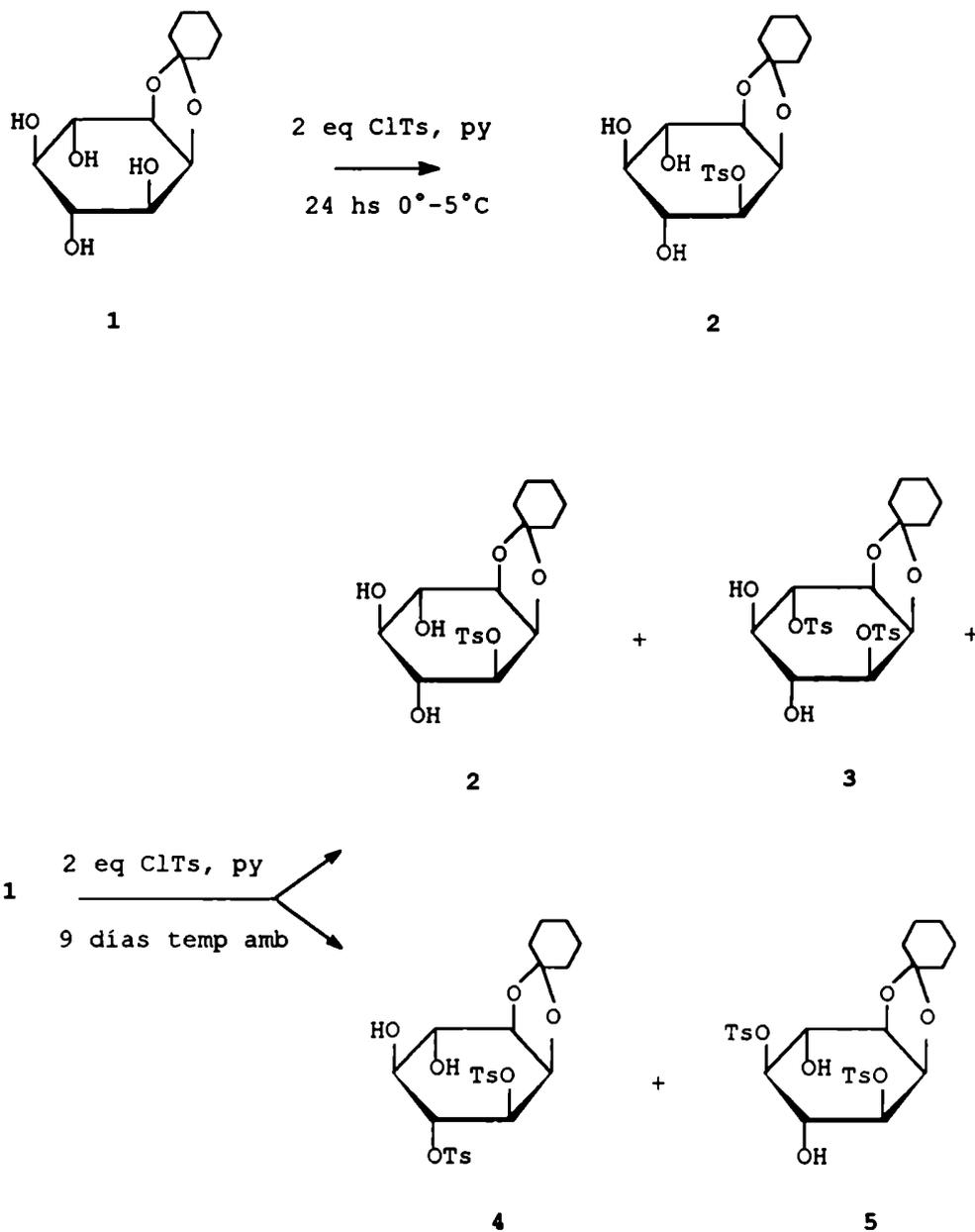
Cuando 1 se trató con dos equivalentes de cloruro de tosilo en piridina a 0°-5°C durante veinticuatro horas, se obtuvo exclusivamente el 1,2-O-ciclohexilidén-3-O-(p-

toluensulfo- nil)-mio-inositol (2) con 41% de rendimiento. La misma reacción se llevó a cabo con 1,5 ó 3 equivalentes de cloruro de tosilo y se obtuvo el monosulfonil derivado 2 con 39 y 36% de rendimiento respectivamente.

Estos resultados indican que el grupo hidroxilo en C-3 es el más reactivo, respecto de los otros grupos hidroxilo en el compuesto 1. Esto está de acuerdo con investigaciones previas en las que se ha observado la acilación o sulfonilación favorecida por átomos de oxígeno vecinos en posición *cis*².

También se intentó la disulfonilación de 1 con dos equivalentes de cloruro de tosilo en piridina a 0°-5°C durante veinticuatro horas y luego nueve días a temperatura ambiente. Así se obtuvo el monosulfonil derivado 2 con 33% de rendimiento y una mezcla de tres diésteres isómeros que se separó por cristalización fraccionada de aguas madres con 41% de rendimiento, compuesta por el 3,6-di- (3); 3,4-di- (4) y 3,5-di-O-p-toluensulfonil derivado (5), que se aislaron por cromatografía en columna de sílica gel.

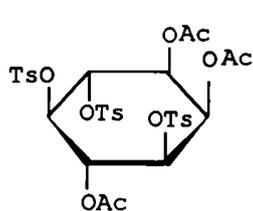
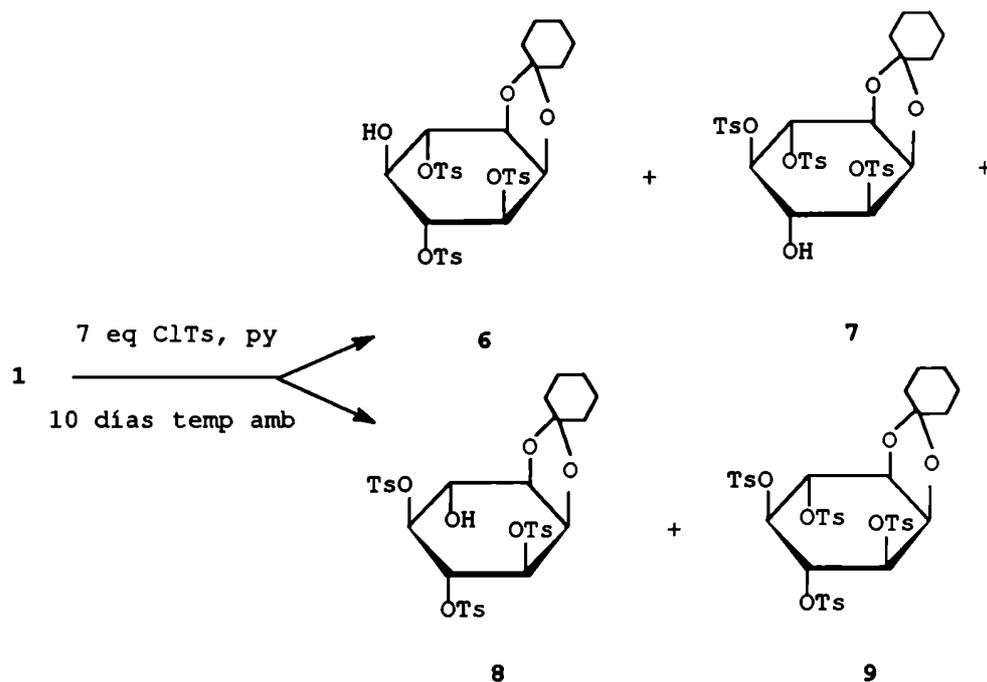
Los estudios cromatográficos de sulfonilación del monotosilato 2, indicarían que los tres ditosilatos obtenidos provienen de él.



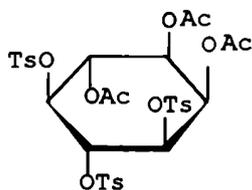
Cuando se llevó a cabo la reacción de 1 con siete equivalentes de cloruro de tosilo en piridina a temperatura ambiente, se obtuvo una mezcla de dos triésteres, el 3,4,6-tri- (6) y el 3,5,6-tri-O-tosil derivado (7) por cristalización fraccionada con 28 y 6% de rendimiento respectivamente y una cantidad considerable de un tetraéster

que se detectó en aguas madres por cromatografía. En otra experiencia, luego de cristalizar **6** con 24% de rendimiento, las aguas madres se evaporaron y el residuo se hidrolizó con ácido acético. Del hidrolizado se recuperó el 1,4,5,6-tetra-O-(p-toluensulfonil)-*mio*-inositol (**9a**) con 21% de rendimiento, que se caracterizó como su di-O-acetil derivado. Las aguas madres se evaporaron y el jarabe residual se acetiló por el procedimiento usual para dar **7b** con 5% de rendimiento y el tri-O-acetil-tri-O-(p-toluensulfonil)-*mio*-inositol (**8b**) con 11% de rendimiento.

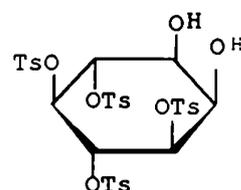
Los estudios cromatográficos de sulfonilación de los tres isómeros ditosilados **3**, **4** y **5** indican que los tri-O-tosil derivados **6** y **7** provienen del di-O-tosil derivado **3**; mientras que **6**, también se forma a partir de **4** y **7** a partir de **5**, junto con un componente minoritario no identificado que puede suponerse que se trata del 1,2-O-ciclohexilidén-3,4,5-tri-O-(p-toluensulfonil)-*mio*-inositol (**8**), que se detectó en la mezcla de reacción de los di-O-tosil derivados **4** y **5**.



7b



8b



9a

Posteriormente, Suami y col.³ estudiaron la sulfonilación selectiva del 3-O-benzoil-1,2-O-ciclohexilidén-mio-inositol (10).

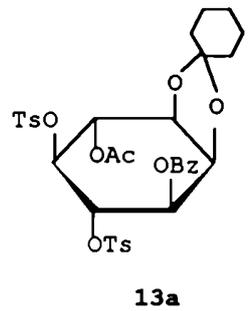
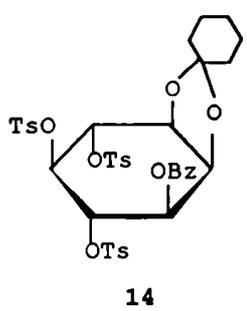
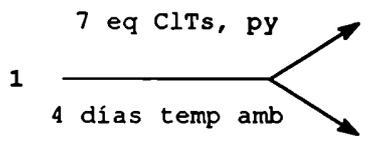
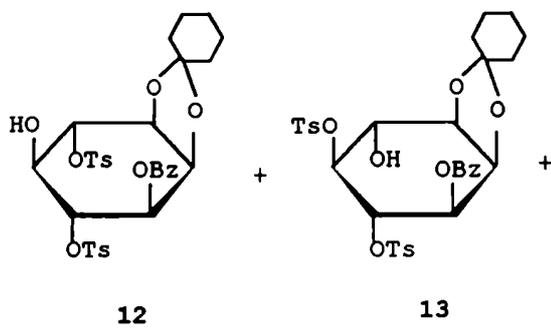
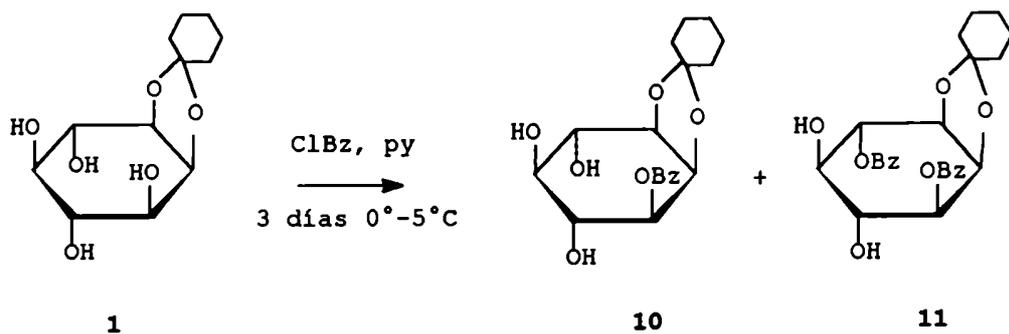
La reacción de 1 con 1,5 equivalentes de cloruro de benzoilo en piridina a 0°-5°C durante tres días dió el 3-O-benzoil derivado 10 como único monobenzoato cristalino con

40% de rendimiento, junto con una mezcla de di- y tribenzoatos a partir de la cual pudo aislarse fácilmente el 3,6-di-O-benzoíl derivado 11 con 2,5% de rendimiento por cristalización fraccionada.

La reactividad relativa de los grupos hidroxilo en el compuesto 1 hacia la benzoilación es similar a la observada respecto de la tosilación¹. El grupo hidroxilo en C-3 es el más reactivo. Los estudios cromatográficos de benzoilación del monobenzoíl derivado 10 indican que el 3,6-di-O-benzoíl derivado 11 se forma a partir de él por benzoilación posterior y que la función éster está ubicada en C-3.

La sulfonilación de 10 con siete equivalentes de cloruro de tosilo en piridina a temperatura ambiente durante cuatro días, condujo a la formación de dos di- y un trisulfonato. Por cristalización fraccionada de la mezcla se obtuvo el 4,6-di- (12) y el 4,5,6-tri-O-p-toluensulfonato (14) con 22 y 5% de rendimiento respectivamente. El 4,5-diéster 13 siruposo se convirtió en el acetil derivado cristalino 13a con 20% de rendimiento, para su identificación.

Cuando la misma reacción se llevó a cabo a 30°C durante tres días, se aislaron los compuestos 12, 13 y 14 con 30, 7 y 12% de rendimiento respectivamente. Esto indica que el 4,5-di-O-tosil derivado 13 reacciona más rápidamente con el agente acilante que el 4,6-di-O-tosil derivado 12, para dar el compuesto tritosilado 14.



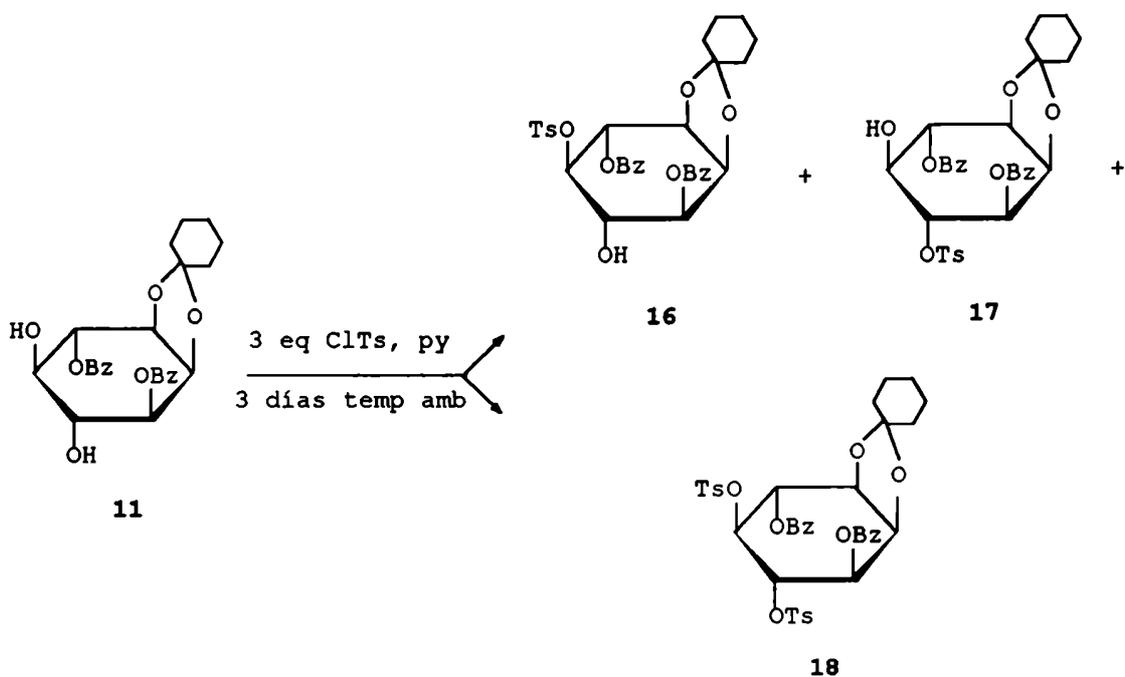
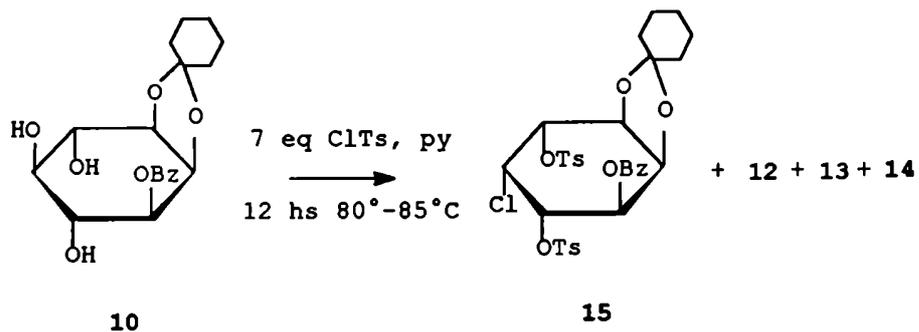
Por otra parte, cuando la misma reacción se llevó a cabo a $80^\circ-85^\circ\text{C}$ durante doce horas, se obtuvo el 3-O-benzoil-5-

cloro-1,2-O-ciclohexilidén-5-desoxi-4,6-di-O-(p-tolilsulfo-
nil)-neo-inositol (15) con 9% de rendimiento, junto con una
mezcla de 12 y 14 (20%), 13 y 14 con 8 y 30% de rendimiento
respectivamente.

Se postuló un ataque S_N2 directo del ión cloruro,
generado a partir del clorhidrato de piridinio, sobre el C-5
del tri-O-tosil derivado 14. Hess y Stenzel⁴ habían observado
previamente el desplazamiento por el ión cloruro de grupos
tosiloxi en C-6 y en C-4 del metil- α -D-glucopiranosido, por
tratamiento con seis equivalentes de cloruro de tosilo en
piridina a 85°C.

La sulfonilación selectiva de 11 con tres equivalentes
de cloruro de tosilo en piridina a temperatura ambiente
durante tres días, condujo a la formación de dos
monosulfonatos y un disulfonato. Por cristalización
fraccionada de la mezcla se obtuvo el 5- (16) y el 4,5-di-O-
p-toluensulfonil derivado (18) con 12 y 20% de rendimiento
respectivamente. El supuesto 4-O-p-toluensulfonil derivado
(17) no pudo obtenerse en estado cristalino. Aparentemente,
los dos monosulfonatos parecen haberse formado en la misma
proporción.

Estas experiencias ponen de manifiesto que aún en
condiciones drásticas la tosilación de los inositoles no
suele ser completa y es común la formación de mezclas. Los
rendimientos no son en general elevados. Su empleo como
intermediarios de síntesis en el campo de los inositoles se
ve, por lo tanto, afectado por esas limitaciones.

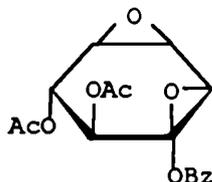


Síntesis de anhidro ciclitoles

Los anhidro inositoles son útiles como intermediarios para la síntesis de diversos derivados de inositoles, además de poseer, algunos de ellos, acciones biológicas específicas.

Así, el crotepóxido⁵ (19) que se aisló de *Croton macrostachys*^{6,7} y de *Piper futokazura*^{8,9} posee acción inhibidora tumoral. También se encontró que el antibiótico

LL-Z1220 tiene estructura de *cis*-diepoxi-ciclohexeno^{10,11}. Por ello, resulta de gran interés estudiar la relación entre estructura y actividad de los anhídrido derivados del inositol.

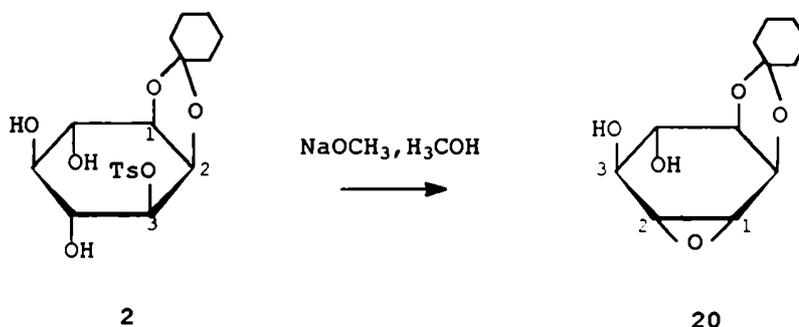


19

Síntesis de monoanhídrido inositoles

Suami y col.¹² llevaron a cabo la reacción de tosilatos del 1,2-O-ciclohexilidén-*mio*-inositol con metóxido de sodio en un solvente apropiado para dar seis anhídrido derivados diferentes.

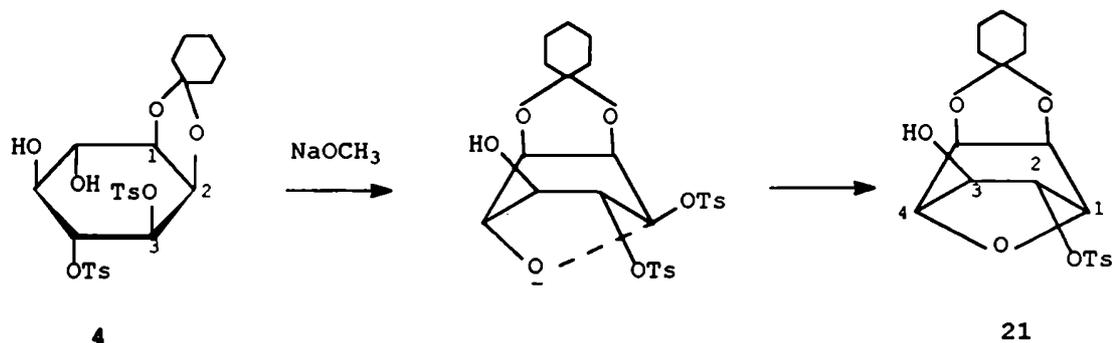
Por ejemplo, cuando el 1,2-O-ciclohexilidén-3-O-(*p*-toluensulfonil)-*mio*-inositol¹ (2) se trató con un ligero exceso de metóxido de sodio en metanol a temperatura ambiente durante tres horas, se obtuvo exclusivamente el 1,2-anhídrido-5,6-O-ciclohexilidén-*chiro*-inositol (20) con un rendimiento del 80%.



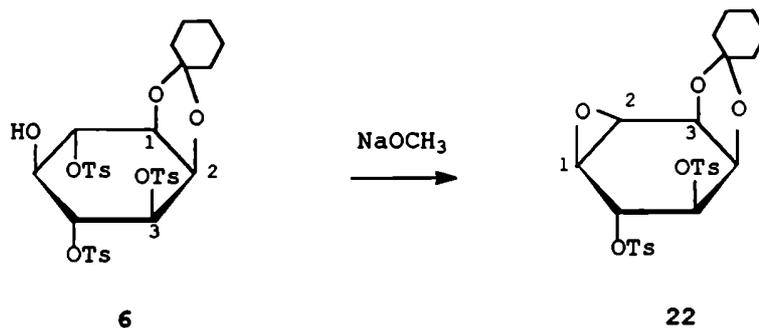
2

20

Por tratamiento del 1,2-O-ciclohexilidén-3,4-di-O-(p-toluensulfonil)-*mio*-inositol¹ (4) con metóxido de sodio metanólico 2 M, en una mezcla de cloroformo-metanol durante veinticuatro horas a temperatura ambiente, se obtuvo el 1,4-anhidro-5,6-O-ciclohexilidén-2-O-(p-toluensulfonil)-*chiro*-inositol (21) con 67% de rendimiento. También se obtuvo exclusivamente el monoepóxido 21 cuando 4 se trató con exceso de azida sódica en 2-metoxietanol hirviente durante veinte horas con un rendimiento del 73%. En el compuesto 4 el ataque del grupo hidroxilo en C-5 a C-4 está impedido y entonces el otro grupo hidroxilo en C-6 ataca por el lado opuesto a C-3 en la conformación *bote* para dar el anhidro derivado 21.



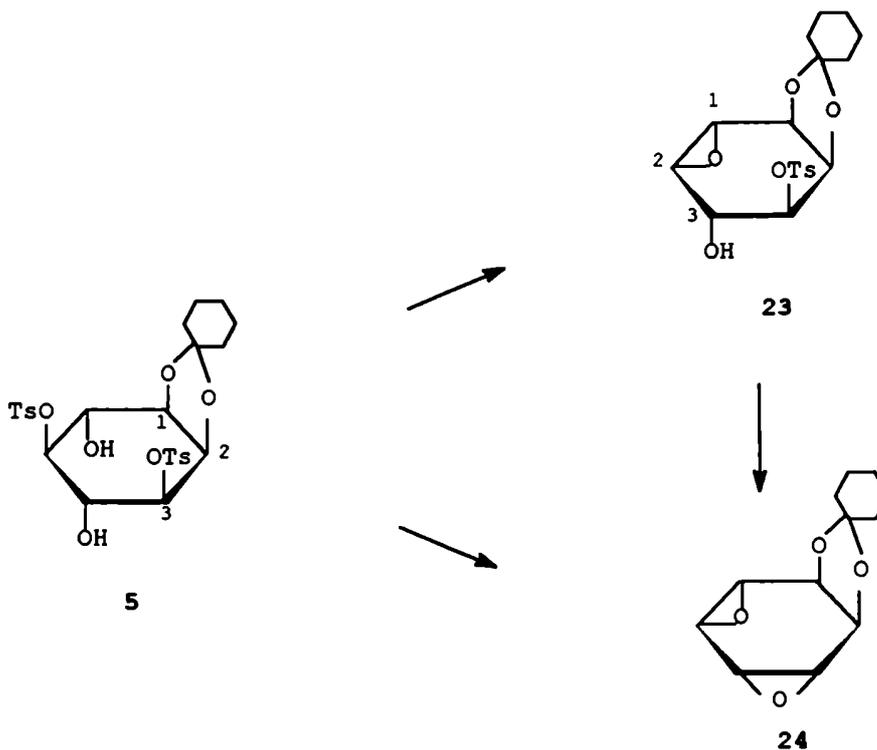
Cuando el 1,2-O-ciclohexilidén-3,4,6-tri-O-(p-toluensulfonil)-*mio*-inositol¹ (6) se trató con metóxido de sodio metanólico 1 M en una mezcla de cloroformo-metanol durante veinticuatro horas a temperatura ambiente se obtuvo el 1,2-anhidro-3,4-O-ciclohexilidén-5,6-di-O-(p-toluensulfonil)-*epi*-inositol (22) con 84% de rendimiento. En el compuesto 6, el oxianión en C-5 ataca preferentemente a C-6, para dar el monoepóxido 22.



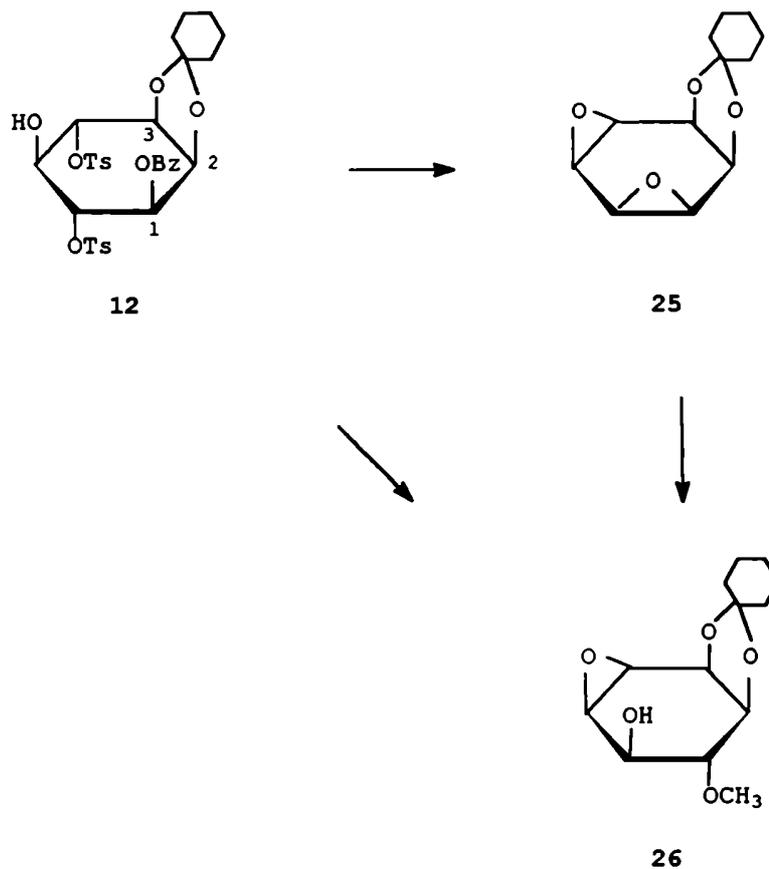
Síntesis de dianhidro inositoles

Suami y col.¹² llevaron a cabo la reacción de tosilatos del 1,2-O-ciclohexilidén-*mio*-inositol con metóxido de sodio en un solvente adecuado para dar tres dianhidro derivados.

Así, por tratamiento del 1,2-O-ciclohexilidén-3,5-di-O-(p-toluensulfonil)-*mio*-inositol¹ (5) con metóxido de sodio metanólico 3 M en una mezcla de cloroformo-metanol durante veinticuatro horas a temperatura ambiente, se obtuvo el 1,2-anhidro-5,6-O-ciclohexilidén-4-O-(p-toluensulfonil)-*neo*-inositol (23) con 76% de rendimiento. Para convertir 5 en el diepóxido 24, se necesitaron condiciones más drásticas. Así, cuando 5 se trató con exceso de metóxido de sodio metanólico 3 M en 2-metoxietanol hirviente durante diez minutos, se obtuvo el 1,2:3,4-dianhidro-5,6-O-ciclohexilidén-*allo*-inositol (24) con 28% de rendimiento. Monitoreando la reacción por cromatografía se encontró que el monoepóxido 23 es un intermediario en la epoxidación posterior a 24.



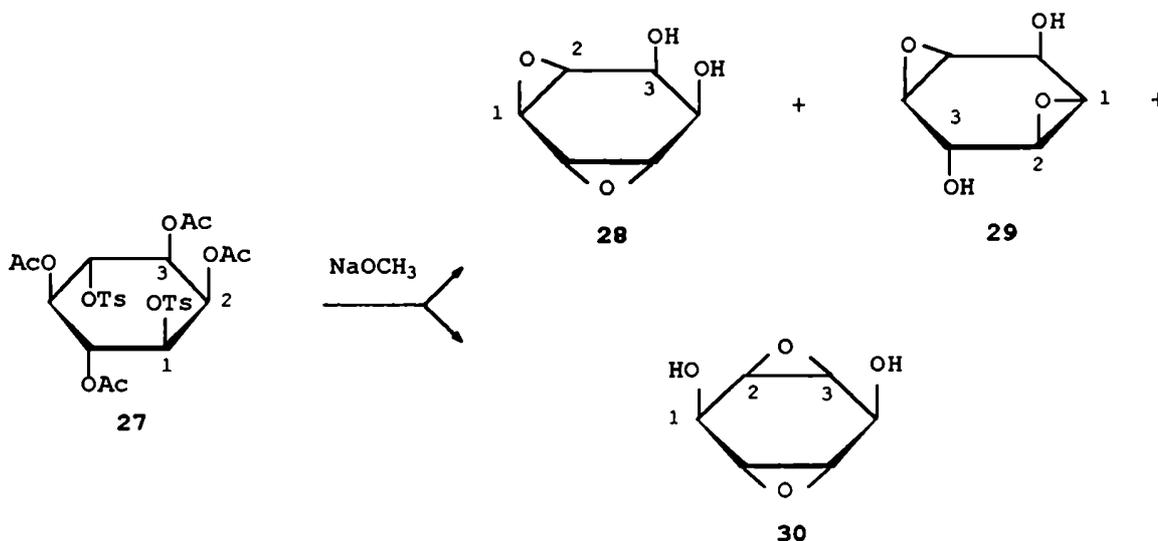
Cuando el 1-O-benzoil-2,3-O-ciclohexilidén-4,6-di-O-(p-toluensulfonil)-*mio*-inositol³ (12) se trató con metóxido de sodio metanólico 3,5 M en una mezcla de butanona-metanol durante veinticuatro horas a temperatura ambiente, se obtuvo el 1,2:3,4-dianhidro-5,6-O-ciclohexilidén-*cis*-inositol (25) con 19% de rendimiento. Monitoreando la reacción por cromatografía se encontró que 12 se convierte lentamente en 25 y este a su vez reacciona con el ión metóxido para dar origen al 2,3-anhidro-4,5-O-ciclohexilidén-6-O-metil-*epi*-inositol (26). Así, cuando 12 se trató con metóxido de sodio 7 M en metanol a temperatura ambiente durante dos días, se obtuvo el monometiléter 26 con 48% de rendimiento.



Suami y col.¹³ sintetizaron todos los 1,2:3,4- y 1,2:4,5-dianhidro-ciclohexanohexoles isómeros (cinco racematos y seis compuestos meso) por tratamiento con metóxido de sodio de tosilatos y mesilatos apropiados del *mio*-, *muco*- y *chiro*-inositol.

Por ejemplo, el tratamiento del 2,3,5,6-tetra-O-acetil-1,4-di-O-(*p*-toluensulfonil)-*mio*-inositol (27) con metóxido de sodio metanólico 1 M (2,5 equivalentes) en una mezcla de cloroformo-metanol durante veinticuatro horas a temperatura ambiente, dió tres diepoxidioles; el 1,2:5,6-dianhidro-*allo*-inositol (28), el 1,2:4,5-dianhidro-*epi*-inositol (29) y el 2,3:5,6-dianhidro-*allo*-inositol (30) con 23, 8 y 21% de rendimiento respectivamente. El diepoxidinol 29 se formaría a

partir de **28**, por isomerización catalizada por base. El tratamiento de **28** así como de **29** con metóxido de sodio en metanol dió una mezcla (3:2) de **28** y **29** respectivamente. El compuesto **30** permanece inalterado en esas condiciones.

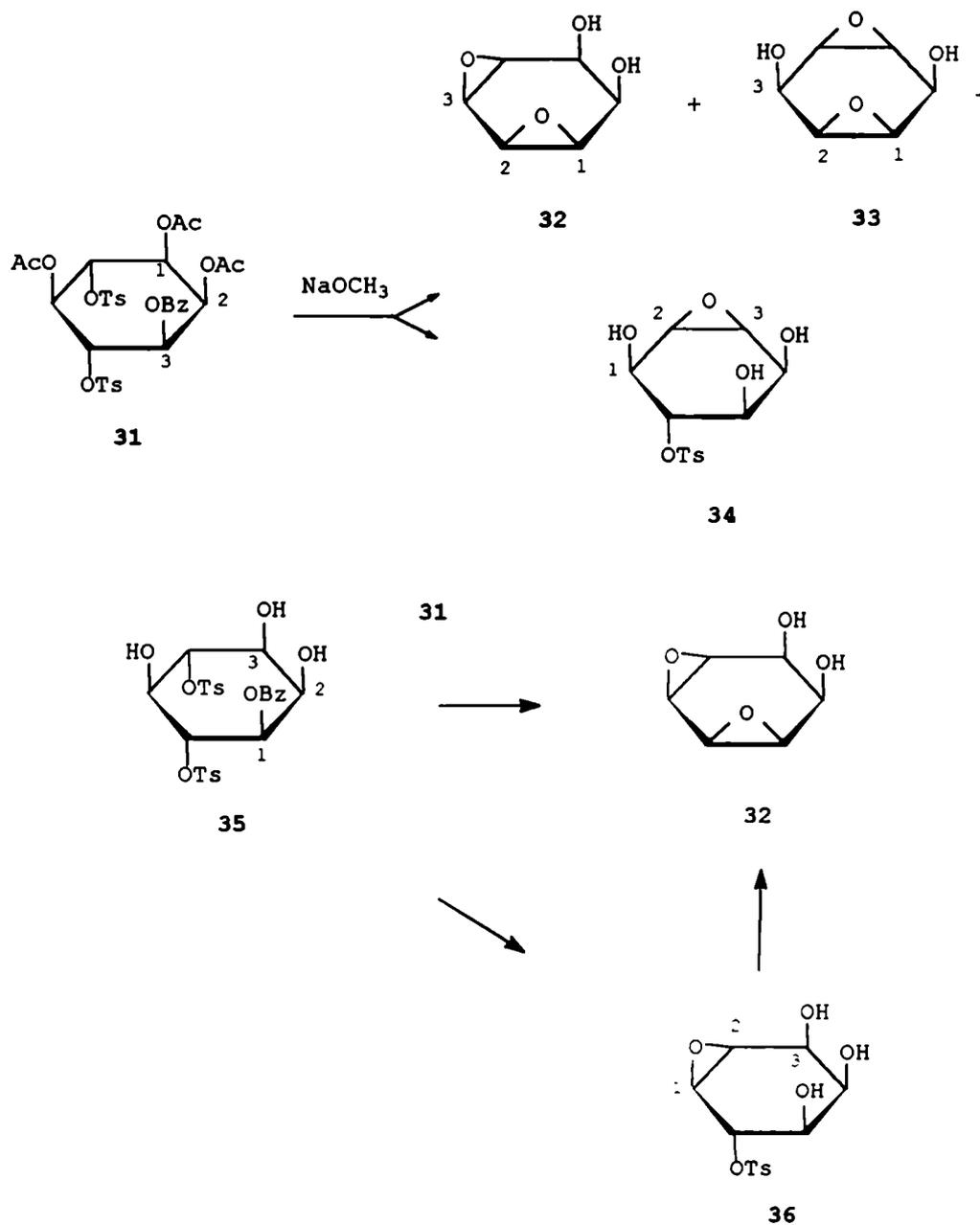


El tratamiento del 1,2,5-tri-O-acetil-3-O-benzoil-4,6-di-O-(p-toluensulfonil)-*mio*-inositol³ (**31**) con metóxido de sodio metanólico 1 M (2,5 equivalentes) en una mezcla de cloroformo-metanol durante veinticuatro horas a temperatura ambiente dió dos diepoxidios; el 1,2:3,4-dianhidro-*cis*-inositol (**32**) y el 1,2:4,5-dianhidro-*cis*-inositol (**33**) con 4 y 37% de rendimiento respectivamente, junto con el 2,3-anhidro-6-O-(p-toluensulfonil)-*epi*-inositol (**34**) con 4% de rendimiento. El tratamiento de **34** con metóxido de sodio en metanol dió el diepoxidol **33**.

En contraste con los resultados anteriores, cuando el 1-O-benzoil-4,6-di-O-tosil-*mio*-inositol³ (**35**) fué sometido a epoxidación, se obtuvo el diepoxidol **32** con 36% de rendimiento, junto con trazas de **33** y **34**. Se postula un

ataque del oxianión en C-5 a C-6 ó a C-4 para dar el 1,2-anhidro-6-O-tosil-epi-inositol (36) como intermediario de 32.

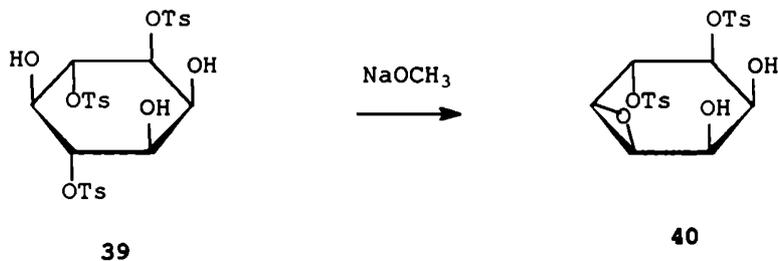
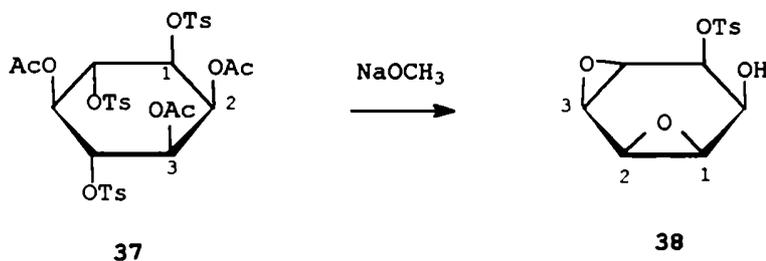
En el caso del compuesto 31, 34 debe ser el intermediario principal que resulta de un ataque del oxianión en C-1 ó C-3, formado primero por desacilación, a C-6 ó C-4.



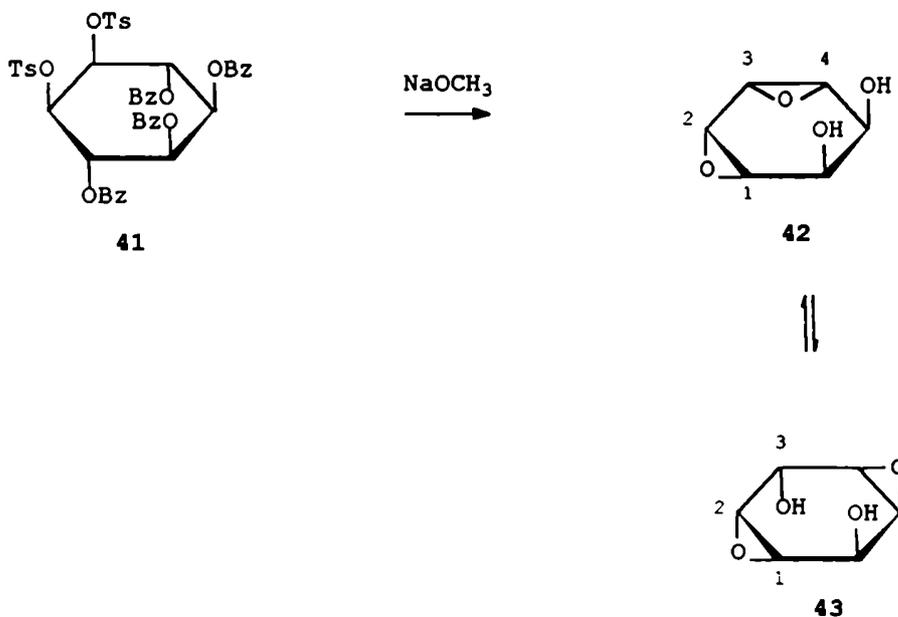
El tratamiento del 2,3,5-tri-O-acetil-1,4,6-tri-O-tosil-mio-inositol¹ (37) con exceso de metóxido de sodio metanólico 1 M (2,5 equivalentes) en una mezcla de cloroformo-metanol durante veinticuatro horas a temperatura ambiente, dió el 1,2:3,4-dianhidro-5-O-tosil-cis-inositol (38) con 50% de rendimiento.

Por otra parte, el 1,4,6-tri-O-tosil-mio-inositol¹ (39) reaccionó con metóxido de sodio en condiciones similares para dar el 1,2-anhidro-5,6-di-O-tosil-epi-inositol (40) con 24% de rendimiento, junto con trazas de 38.

En el caso del compuesto 37, primero se produce la desacilación del grupo acetoxilo en C-3 para dar el epóxido-3,4; como intermediario de 38. La formación preferencial del epóxido-3,4 ó -4,5; está de acuerdo con lo observado en el caso de los derivados 31 y 35.



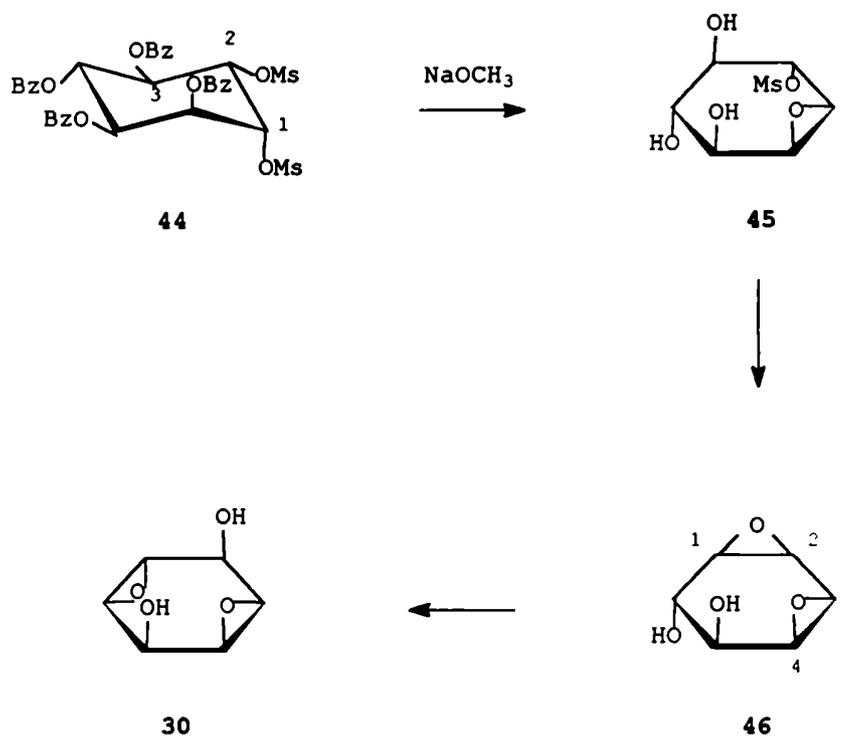
El tratamiento del 1,2,3,6-tetra-O-benzoil-4,5-di-O-tosil-muco-inositol^{13,14} (41) con metóxido de sodio metanólico 1 M (2,5 equivalentes) en una mezcla de cloroformo-metanol durante veinticuatro horas a temperatura ambiente dió el 1,2:4,5-dianhidro-neo-inositol (43) con 39% de rendimiento. El equilibrio entre el 1,2:3,4-dianhidro-allo-inositol (42) y el diepoxidiol 43 en medio básico, está completamente desplazado hacia éste último. El tratamiento de 42 con metóxido de sodio en metanol dió exclusivamente el compuesto 43.



Finalmente, el 3,4,5,6-tetra-O-benzoil-1,2-di-O-mesil-chiro-inositol^{13,14} (44) se trató con metóxido de sodio metanólico 1 M (1,1 equivalentes) en una mezcla de cloroformo-metanol durante veinticuatro horas a temperatura ambiente para dar el monoepóxido 45, que se pasó a través de una columna de resina básica Amberlite IRA-400 en solución metanólica varias veces, hasta su desaparición, monitoreando

por cromatografía. El producto crudo consistía en una mezcla del 1,2:3,4-dianhidro-epi-inositol (46) y trazas de 30, que se separó por cromatografía para dar 46 con 25% de rendimiento. El tratamiento de 46 con metóxido de sodio en metanol dió exclusivamente 30.

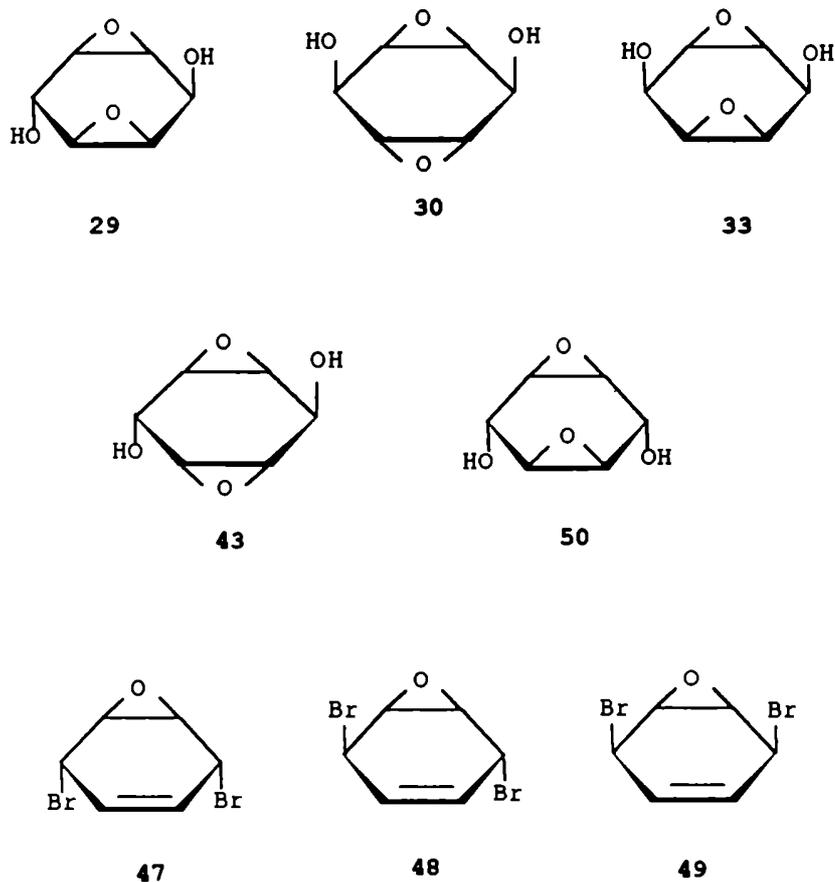
En el compuesto 44 primero ocurre la epoxidación entre C-1 y C-6 ya que el grupo benzoiloxi en C-6 y el grupo sulfoniloxi en C-1 están ubicados en posición diaxial en la conformación favorecida. Las condiciones para la epoxidación fueron elegidas cuidadosamente, para evitar la migración conducente al compuesto 30.



Prinzbach y col.¹⁵, sintetizaron los dianhidro inositoles 29, 30, 33, 43 y 50, utilizando como material de partida los dibromo-epoxi-ciclohexenos 47, 48 y 49, fácilmente accesibles

a partir de la reacción del 4,5-epoxi-ciclohexeno con N-bromosuccinimida en tetracloruro de carbono.

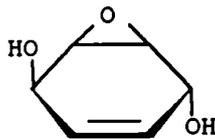
Los dibromuros estereoisómeros 47, 48 y 49 se obtuvieron por bromación del 4,5-epoxi-ciclohexeno con N-bromosuccinimida en tetracloruro de carbono, como una mezcla (36:59:5) con un rendimiento del 70% y pueden aislarse puros en escala preparativa por cristalización fraccionada.



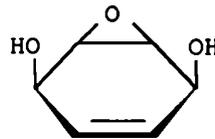
Por tratamiento de los dibromo-epoxi-ciclohexenos con acetato de tetrabutilamonio obtuvieron los correspondientes acetatos de 51, 52 y 53.



51



52



53

La peroxidación de la doble ligadura (ácido cloroperbenzoico) y posterior desacetilación condujo a los diepóxidos arriba mencionados.

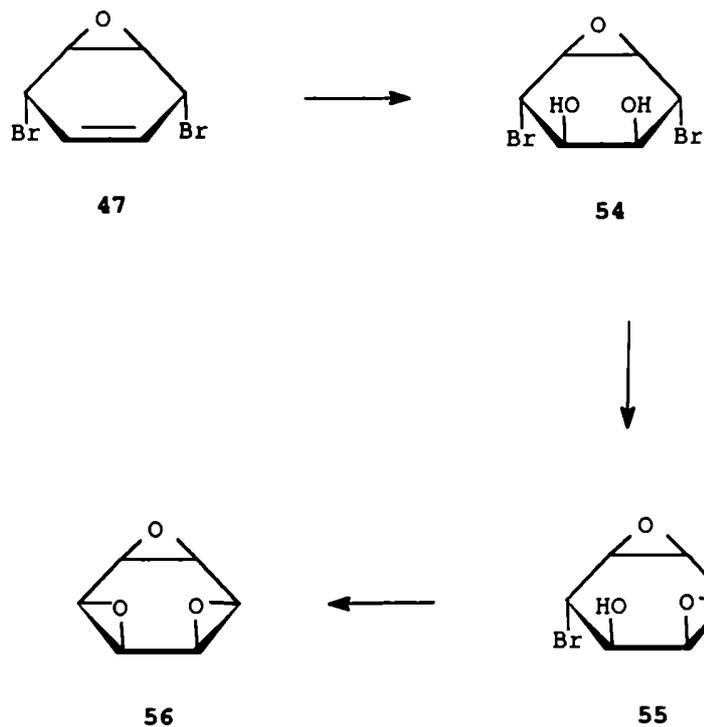
La epoxidación de la doble ligadura de los dibromo derivados 47, 48 y 49 condujo también a los correspondientes diepóxidos dibromados, los cuales, fueron parcialmente desbromados para dar los monobromo-monohidroxi-diepóxidos.

Tanto la cis-hidroxilación de la doble ligadura con permanganato de potasio como la apertura del anillo oxiránico de los dibromo y monobromo epóxidos genera un conjunto de inositoles sustituidos por halógeno que fueron ulteriormente utilizados en nuevas secuencias sintéticas.

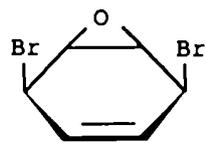
Síntesis de trianhidro inositoles

Como una derivación de los estudios anteriores Prinzbach y col.^{15,16} sintetizaron el 1,2:3,4:5,6-trianhidro-cis-inositol (cis-benceno-trióxido) con 59% de rendimiento utilizando los dibromo- monoepóxidos 47, 48 y 49.

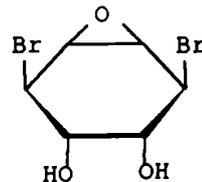
Por cis-hidroxilación de 47 con permanganato de potasio y epoxidación con base, a través del diepóxido 55, se obtiene el triepóxido 56.



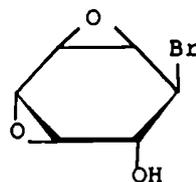
La segunda alternativa sintética en el campo de los triepóxidos inositolicos se llevó a cabo¹⁵ a partir del dibromo derivado **49**, el cual por *cis*-hidroxilación dió lugar al dibromo-dihidroxi-monoepóxido **57** y luego, por epoxidación controlada, al diepóxido **58** y finalmente al 1,2:3,4:5,6-trianhidro-*allo*-inositol (**59**).



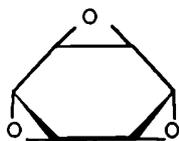
49



57



58



59

CAPITULO II
SINTESIS DE AMINO CICLITOLES
INOSAMINAS

SINTESIS DE AMINOCICLITOLES (INOSAMINAS)

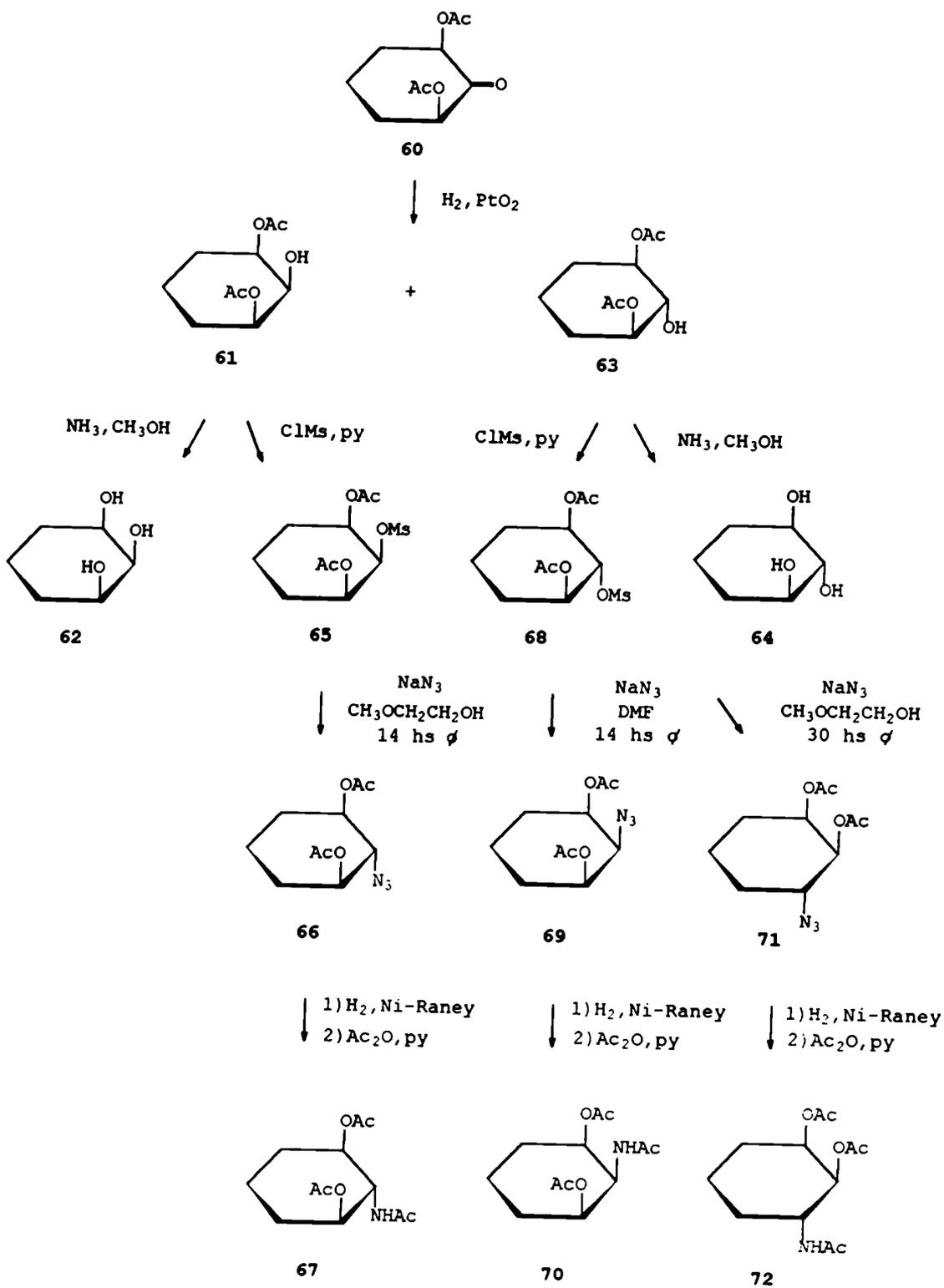
Los aminociclitolos son constituyentes importantes de los antibióticos modernos. Se trata en general de moléculas complejas, constituidas por una ó varias unidades de monosacáridos unidas a una ó varias moléculas de aminociclitolos, de estructura también compleja. La síntesis de estos aminociclitolos naturales se ha visto notablemente facilitada por el conocimiento básico desarrollado sobre los aminociclitolos más sencillos, particularmente sobre las denominadas "inosaminas", es decir los aminoinositolos. La descripción que sigue se centrará en las investigaciones realizadas sobre la síntesis y reacciones de este tipo de sustancias y de aminociclitolos simples. Uno de los métodos más utilizados para sintetizar diversas inosaminas ó aminociclitolos en general es el que consiste en introducir un grupo azido en la molécula de inositolos ó de compuestos directamente relacionados con ellos.

Suami y col.¹⁷ estudiaron el desplazamiento del grupo metanosulfonilo (mesilo) del 1,3-di-O-acetil-2-O-mesil-ciclohexanotriol, por el ión azido altamente nucleofílico.

Como material de partida emplearon la 2,6-diacetoxi-ciclohexanona (60) con configuración *cis*. Cuando 60 se hidrogena en presencia de óxido de platino como catalizador se obtiene una mezcla de 1,3-di-O-acetil-*cis*-1,2,3-ciclohexanotriol (61) y 1,3-di-O-acetil-*trans*-1,2,3-ciclohexanotriol (63). La cristalización fraccionada de la

mezcla, de etanol, permitió obtener 61 en estado cristalino con 40% de rendimiento. La desacilación del jarabe crudo de 63 conduce al *trans*-1,2,3-ciclohexanotriol (64) con 50% de rendimiento. La mezcla original de hidrogenación se trata con cloruro de metanosulfonilo (cloruro de mesilo) en piridina para dar los derivados mesilados 65 y 68. Por cristalización fraccionada de dicha mezcla, de etanol, se obtienen los compuestos 65 y 68 en estado cristalino con 50 y 17% de rendimiento respectivamente. También 65 se obtiene cuantitativamente a partir de 61 por tratamiento con cloruro de mesilo en piridina, mientras que 68 se prepara a partir del producto crudo 63 con 73% de rendimiento.

El tratamiento de 65 con azida de sodio en 2-metoxietanol ó en dimetilformamida a reflujo da un producto siruposo 66 que muestra la absorción característica del azido a 2090 cm^{-1} en el infrarrojo. La hidrogenación catalítica de 66 y posterior acetilación con anhídrido acético en piridina conduce finalmente al diacetato del *trans*-2-acetamido-1,3-ciclohexanodiol (67) con 41% de rendimiento.



Cuando el anillo de ciclohexano contiene grupos sulfoniloxi y acetoxi vecinos en posición *trans*, la sustitución del grupo sulfonato, por tratamiento con acetato de sodio en un solvente apropiado, tiene lugar con inversión de configuración a través de un ión acetoxonio intermediario¹⁸. Cuando estos grupos están ubicados en posición *cis*, la sustitución ocurre a una velocidad considerablemente menor¹⁹, debido a la falta de asistencia anquimérica²⁰.

Para la reacción con azida de sodio, se ha propuesto un mecanismo análogo^{21,22}.

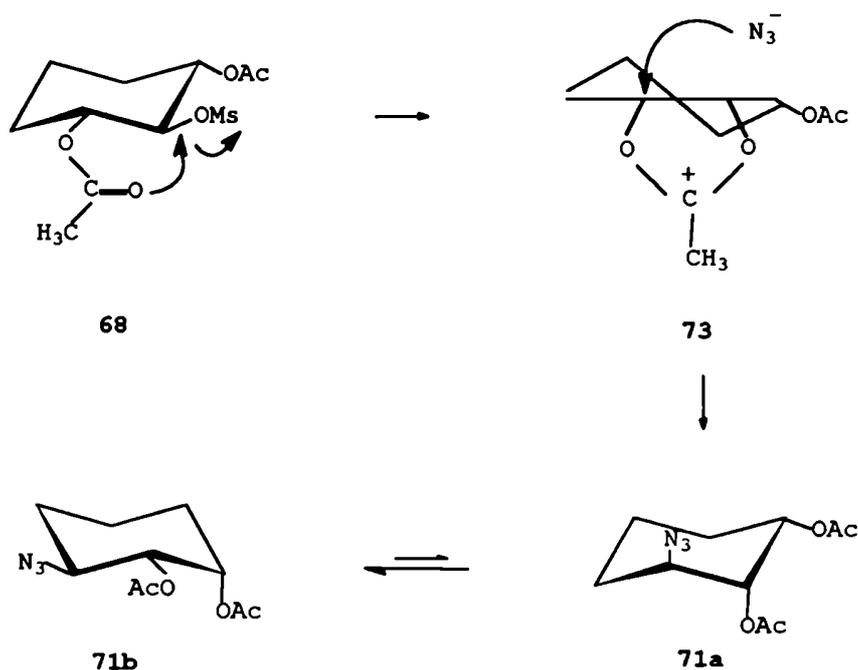
En el compuesto **65** el grupo mesiloxi tiene una orientación *cis* respecto de los grupos acetoxi vecinos. La formación del *trans*-2-amino-1,3-ciclohexanodiol derivado como producto principal, indica que la reacción transcurre a través de un mecanismo S_N2.

La desmesilación del mesilato *trans* **68** por el ión azido en dimetilformamida también transcurre a través de un mecanismo S_N2 directo, ya que la hidrogenación catalítica del azido derivado **69** y posterior acetilación conduce a la formación del triacetil derivado *cis* **70** con 43% de rendimiento.

No obstante, la misma reacción sigue un curso estereoquímico diferente cuando se lleva a cabo en 2-metoxietanol.

Por hidrogenación catalítica y acetilación subsiguiente puede aislarse el diacetato del D,L-3-β-acetamido-1-α,2-α-ciclohexanodiol (**72**) con 25% de rendimiento, mientras que el diacetato del *cis*-2-acetamido-1,3-ciclohexanodiol (**70**) sólo se obtiene con 3% de rendimiento. La formación de **72** a partir de **68** sólo puede interpretarse suponiendo la participación

del grupo acetoxi vecino en el curso de la reacción. El grupo mesiloxi es eliminado con formación de un ión acetoxonio intermediario **73**, sobre el cual el ataque nucleofílico ocurre predominantemente en la unión C-O cuasi ecuatorial. Se obtiene así el producto diaxial **71a**, que pasa a la conformación silla más estable **71b**.



Los autores postulan que la fuerza relativa de los dos nucleófilos (el ión azido y el grupo acetoxi anquimérico) depende del solvente.

De una manera similar Suami y col. aplicaron la desmesilación por el ión azido del 1-O-acetil-3-O-mesil-D,L-2- α -acetamido-1- β ,3- α -ciclohexanodiol a la síntesis del D,L-trans-2,3-diamino-ciclohexanol²³; la del (\pm)-2-O-mesil-epi-inositol pentacetato a la síntesis de mio-inosaminas²⁴ y la

del (\pm)-1,4,5,6-tetra-O-acetil-3-O-mesil-mio-inositol a la síntesis de *muco*-inosaminas²⁵.

Posteriormente, estos autores²⁶ estudiaron el desplazamiento del grupo mesiloxi por el ión azido en inositoles bloqueados y lo aplicaron a la síntesis de *scillo*-y *muco*-inosaminas.

Síntesis de inosaminas

Los autores utilizaron el 1,4,5,6-tetra-O-acetil-mio-inositol²⁷ (74) como material de partida.

Por tratamiento de 74 con un mol de cloruro de mesilo en piridina, se obtuvo el 1,4,5,6-tetra-O-acetil-3-O-mesil-mio-inositol (75) con 72% de rendimiento. La acetilación de 75 dió el 1,2,4,5,6-penta-O-acetil-3-O-mesil-mio-inositol (76) con un rendimiento del 87,7%. El ataque del cloruro de mesilo tiene lugar preferencialmente sobre un hidroxilo ecuatorial antes que sobre uno axial²⁸. La reacción de 76 con azida de sodio en 2-metoxietanol hirviente y acetilación subsiguiente permite obtener el 1,3,4,5,6-penta-O-acetil-2-azido-2-desoxi-*muco*-inositol (77). La reducción catalítica de 77, seguida de acetilación da la hexacetil-*muco*-inosamina (78) con 32,3% de rendimiento. Durante el curso de la reducción tiene lugar una migración de acetilo de oxígeno a nitrógeno²⁹.

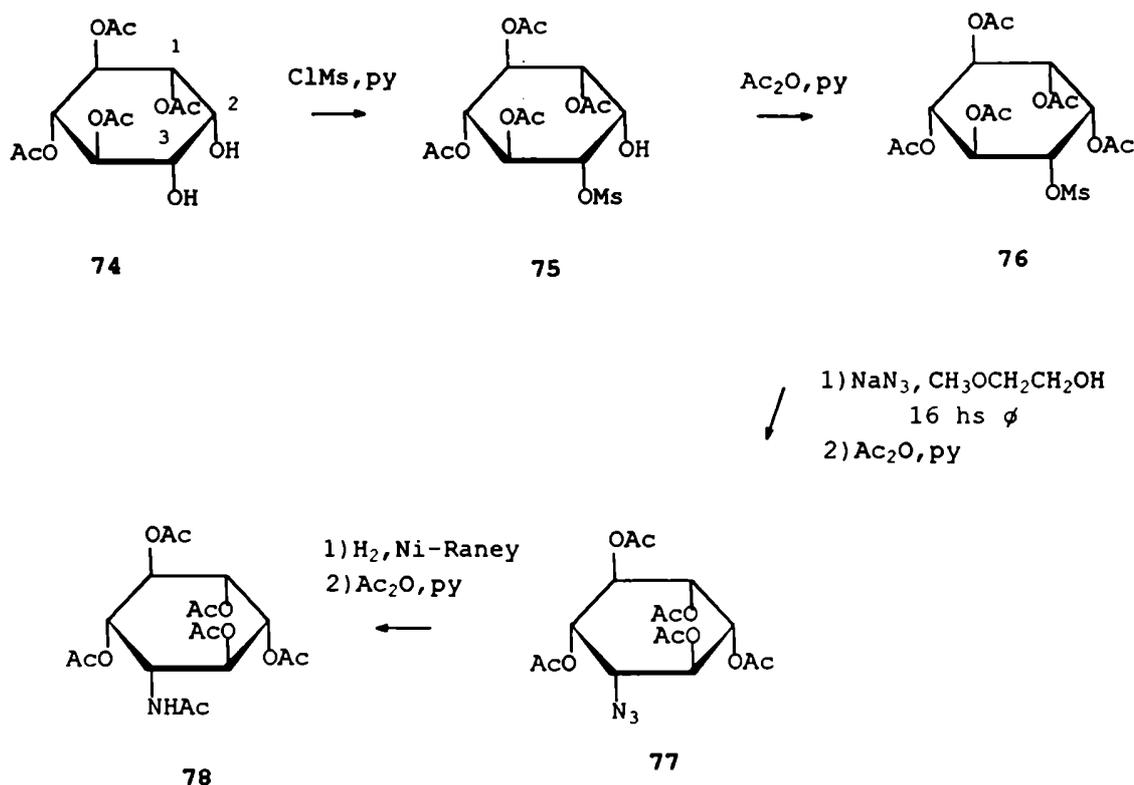
La desmesilación de 76 transcurre a través de la formación de un anillo dioxolano, con participación del grupo acetoxi vecino *trans*, que sufre una apertura *trans*-diaxial por el ataque del ión azido¹⁷.

El compuesto 78 puede prepararse con 40% de rendimiento a partir de 75, por tratamiento con amoníaco metanólico a presión y acetilación posterior. Como la primer etapa de ésta

reacción es una des-O-acetilación, la formación de 78 transcurre a través de un anillo oxirano entre C-3 y C-4, que sufre luego una apertura trans-diaxial³⁰.

El curso estereoquímico de éstas reacciones es análogo al ataque por el ión acetato, de un ión acetoxonio intermediario²⁰ y a la apertura de un anillo oxirano, muy tensionado, por un nucleófilo³¹.

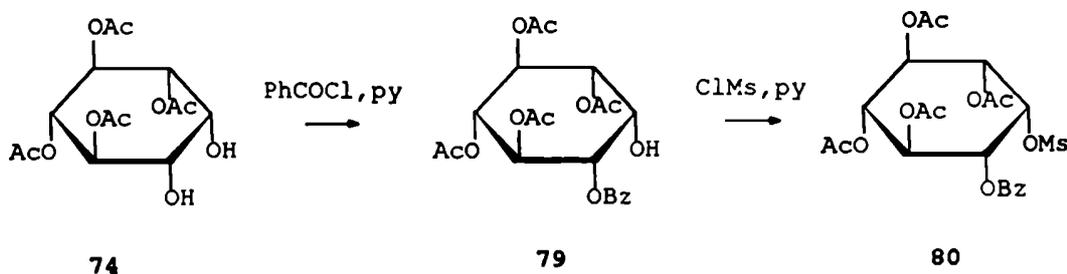
Cuando la desmesilación de 76 con azida de sodio se lleva a cabo en dimetilformamida, se obtiene el compuesto 78 con 9,6% de rendimiento y una hexacetil inosamina no identificada.

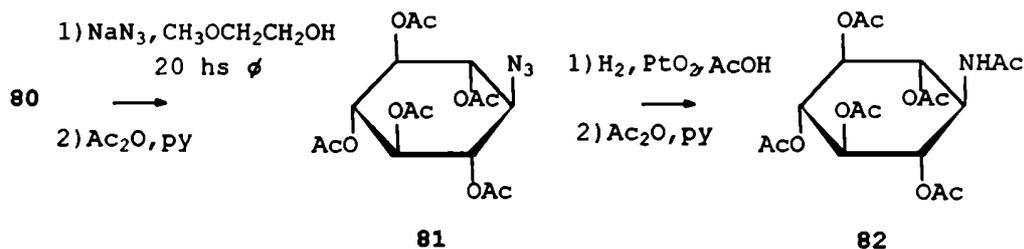


Paralelamente el compuesto 74 se hizo reaccionar con un mol de cloruro de benzoilo en piridina y se obtuvo el tetra-O-acetil-3-O-benzoil derivado (79) con un rendimiento del

73%, cuya mesilación condujo al 1,4,5,6-tetra-O-acetil-3-O-benzoil-2-O-mesil-mio-inositol (**80**) con 67% de rendimiento. El cloruro de benzoilo ataca un hidroxilo ecuatorial antes que uno axial, de la misma manera que el cloruro de tosilo²⁸ ó de mesilo²⁵. La reacción de **80** con azida de sodio se llevó a cabo en 2-metoxietanol hirviente, obteniéndose el azido derivado **81** con 77% de rendimiento por acetilación posterior. La hidrogenación y acetilación subsiguiente de éste compuesto produce la hexacetil-scillo-inosamina (**82**) con un rendimiento del 91,3%.

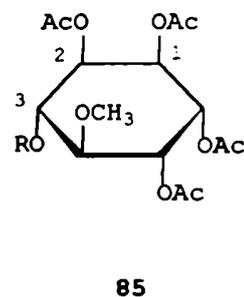
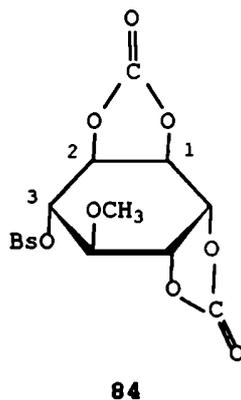
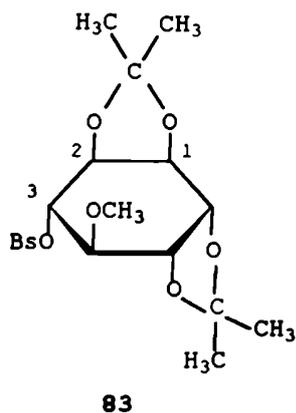
En el caso del compuesto **80** los dos grupos aciloxi en C-1 y C-3 tienen una configuración *cis* respecto del mesiloxi vecino, de manera tal que la participación del grupo vecino es poco probable y se postula un mecanismo S_N2 directo²² para la desmesilación de **80** con azida de sodio.





El desplazamiento de grupos sulfonato en ciclitoles por el ión azido en 2-metoxietanol ha sido estudiado por Suami y col. y en dimetilformamida húmeda, con agregado de benzoato de sodio ó sin él, fué investigado por Angyal y Stewart³². En los ejemplos descriptos por éstos dos grupos de investigadores, cuando hay grupos acetilo ó hidroxilo vecinos y con orientación **trans** respecto de los grupos sulfonato, el desplazamiento de éstos últimos transcurre a través de un mecanismo que involucra la participación de los grupos vecinos. Cuando éstos grupos vecinos no pueden participar, resulta un desplazamiento directo, ó no hay reacción.

Wu y Anderson³³ estudiaron el desplazamiento de grupos sulfonato por el ión azido en dimetilformamida a 110°C en p-toluensulfonatos y p-bromobencenosulfonatos (brosilatos) derivados del chiro-inositol.

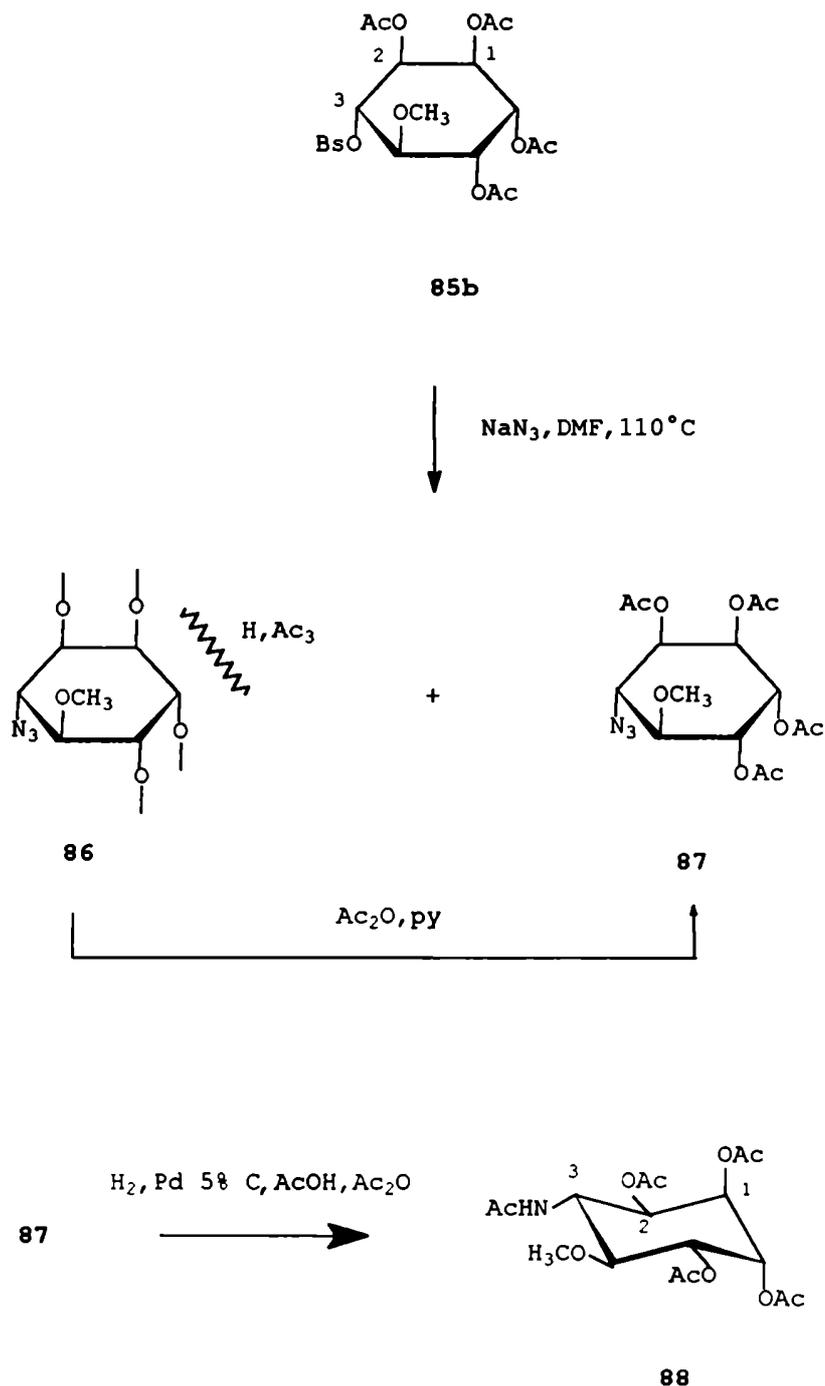


a R = Ts
b R = Bs

En éstos compuestos el grupo arilsulfonilo está ubicado en la posición 3 y los sustituyentes en las otras posiciones son grupos isopropilidén, acetilo, metilo y carbonato cíclico. Se llevaron a cabo estudios cinéticos y se discutieron efectos estéricos y electrónicos sobre tales desplazamientos.

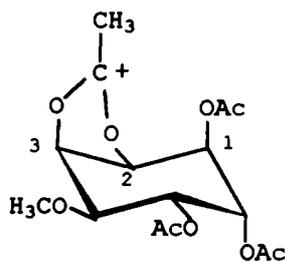
A través de los compuestos examinados en este estudio y considerando poco probable la participación del grupo metoxilo, el desplazamiento asistido anquiméricamente sólo sería posible en los sulfonatos **85a** y **b**³³.

La reacción del brosil tetracetato **85b** con azida de sodio dió dos productos. Uno de ellos es el azido tetracetato **87** con configuración *chiro* y el otro es el triacetato **86** que se convirtió en **87** por acetilación. De esta manera, el desplazamiento del grupo brosilo en el compuesto **85b** transcurre con retención de la configuración y pérdida parcial de un grupo acetilo.



En el brosil tetracetato **85b**, el grupo acetoxilo en C-1 tendría una orientación *syn*-axial respecto del eventual nucleófilo atacante, que impide el desplazamiento directo del grupo sulfonato. Richardson³⁴ ya había informado sobre

desplazamientos impedidos debido a este tipo de ordenamientos. No obstante, en este compuesto el desplazamiento puede transcurrir a través del ión acetoxonio intermediario 89.



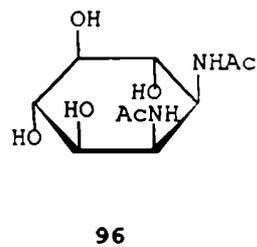
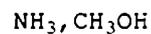
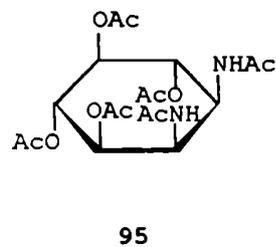
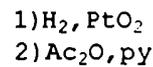
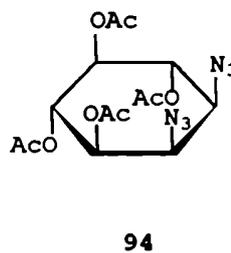
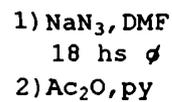
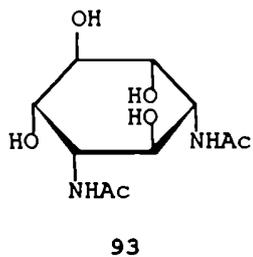
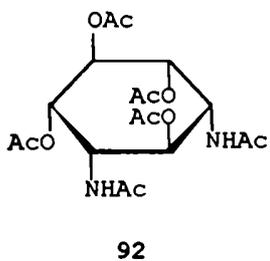
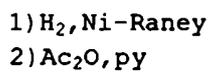
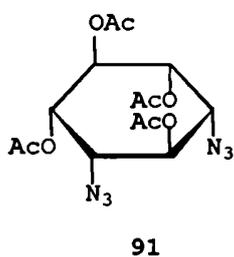
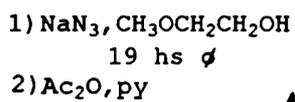
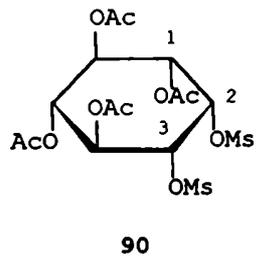
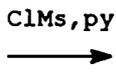
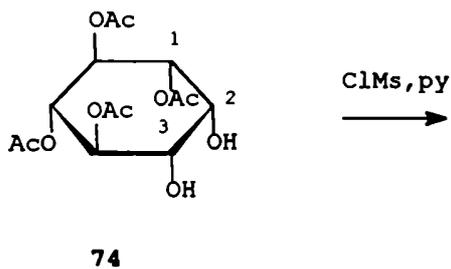
89

El grupo acetoxilo en C-6 protege la posición 2 del ión 89 debido a una interacción syn-axial con respecto al eventual nucleófilo atacante. Por lo tanto, el ataque por el ión azido tiene lugar en la posición 3, con retención de la configuración.

Síntesis de Inosadiaminas

Suami y col.²⁶ aplicaron el desplazamiento del grupo mesiloxi por el ión azido en inositoles bloqueados a la síntesis de *mio*-1,2- y *muco*-1,5-inosadiaminas.

El tratamiento del 1,4,5,6-tetra-O-acetil-*mio*-inositol (74) con dos moles de cloruro de mesilo en piridina produce el 1,4,5,6-tetra-O-acetil-2,3-di-O-(metilsulfonil)-*mio*-inositol (90) con un rendimiento del 87,5%. Cuando 90 se hace reaccionar con azida de sodio en 2-metoxietanol hirviente,



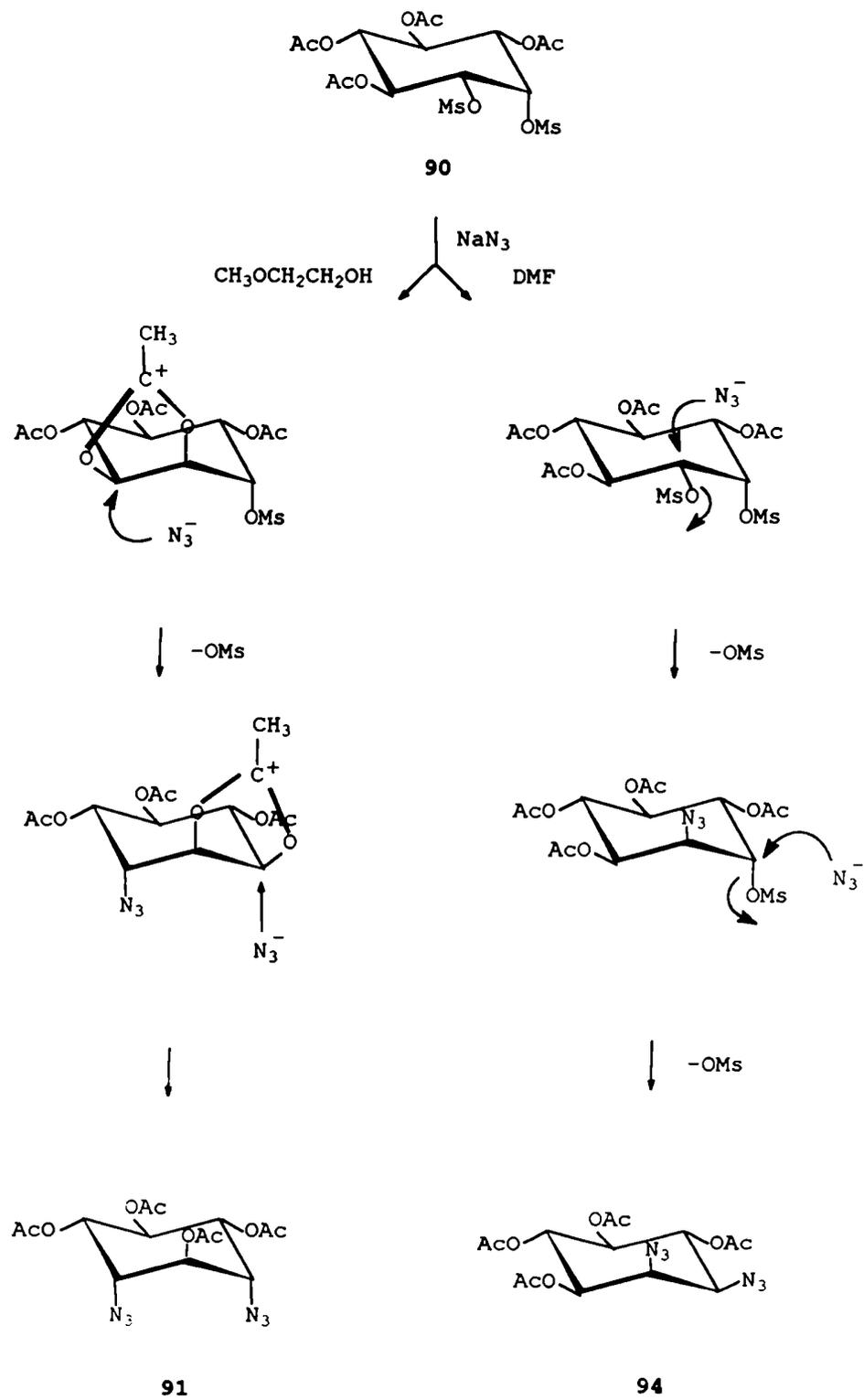
seguido de acetilación, se obtiene el diazido derivado 91 que se convierte en la hexacetil-*muco*-1,5-inosadamina (92) con un rendimiento del 7,6%, por hidrogenación y acetilación posterior. Cuando la reacción con azida de sodio se lleva a cabo en dimetilformamida y luego se aplica un procedimiento análogo al anterior se obtiene la hexacetil-*mio*-1,2-inosadamina (95) con un rendimiento del 6,4%.

La formación de 91 puede explicarse (ver Esquema 1) considerando un ión acetoxonio intermediario en un mecanismo anquimérico con el desplazamiento del grupo mesiloxi en C-3. Luego se produce el ataque nucleofílico por el ión azido provocando una apertura trans-diaxial del anillo dioxolano²⁰. Nuevamente el grupo mesiloxi y acetoxi tienen una configuración *trans* que da como resultado la formación de otro ión acetoxonio y subsiguiente apertura por el ión azido.

Cuando 90 se trata con amoníaco bajo presión se obtiene la misma *muco*-1,5-inosadamina con 25% de rendimiento. En ésta reacción primero tiene lugar una des-O-acetilación y se forma un anillo oxirano³⁰ que sufre una apertura por ataque nucleofílico del amoníaco de la manera descripta antes.

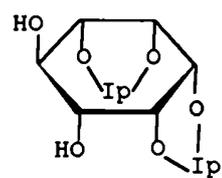
En la formación de 94, el desplazamiento de los grupos mesiloxi en C-2 y C-3 transcurre a través de un mecanismo S_N2 directo con inversión de configuración en C-2 y C-3.

Esquema 1

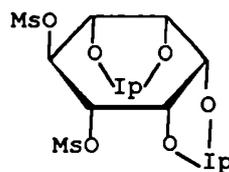
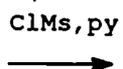


Como extensión de éstos estudios, Suami y col.³⁵ describieron la síntesis de streptamina, componente del antibiótico streptomina y cuya estructura es una 1,3-inosadamina con configuración *scillo*, por azidolisis del (\pm)-1,2,3,4-tetra-O-acetil-5,6-di-O-(metilsulfonil)-*epi*-inositol (99).

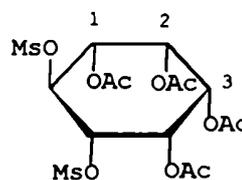
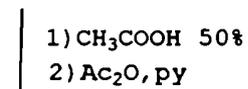
Para ello se partió del (\pm)-1:2-3:4-di-O-isopropilidén-*epi*-inositol^{36,37} (97). Cuando 97 se trató con exceso de cloruro de mesilo en piridina, se obtuvo el derivado di-O-mesilado 98. Este compuesto se trató con una solución de ácido acético 50% en baño de agua hirviente durante dos horas, para eliminar los grupos isopropilidén y el producto se acetiló para dar el tetracetato del (\pm)-5,6-di-O-(metilsulfonil)-*epi*-inositol (99), el cual se hizo reaccionar con azida de sodio en 2-metoxietanol hirviente durante 40 horas seguido de acetilación. Se obtuvo así el (\pm)-1,2,3,5-tetra-O-acetil-4,6-diazido-4,6-didesoxi-*mio*-inositol (100), como producto principal con 28% de rendimiento. La hidrogenación catalítica de 100 en etanol y la acetilación del producto de reducción dió la hexacetil-*mio*-4,6-inosadamina (101). La desacetilación selectiva de 101 dió el di-N-acetil derivado 102, que contiene un solo grupo hidroxilo axial en C-2. Por lo tanto, éste compuesto se oxidó en presencia de negro de platino a 40°C durante veinticuatro horas^{38,39} a la cetona 103 que se redujo inmediatamente con amalgama de sodio⁴⁰ en solución ligeramente ácida y el producto de reducción se acetiló para dar la hexacetil-streptamina (104) con 12,5% de rendimiento.



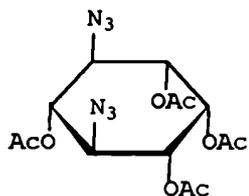
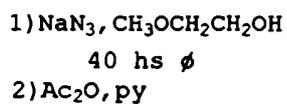
97



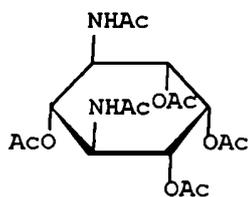
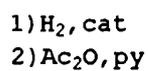
98



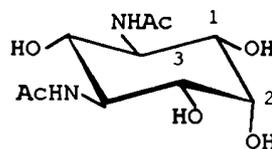
99



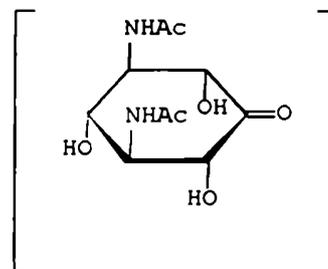
100



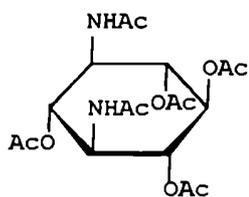
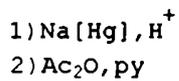
101



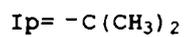
102



103



104

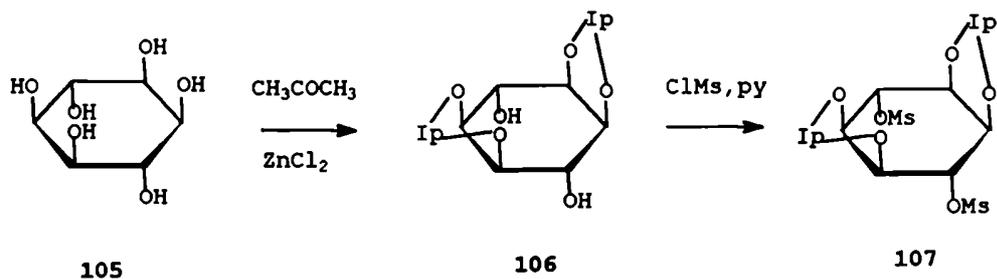


Posteriormente, Suami y col.⁴¹ estudiaron el desplazamiento de grupos sulfoniloxi en derivados del *muco*-inositol, y lo aplicaron a la síntesis de *muco*- y *mio*-inosadiaminas nuevas.

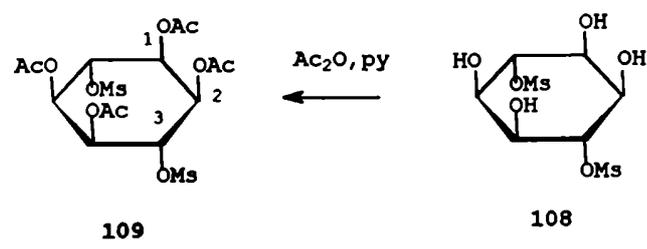
El *muco*-inositol⁴¹ (105) se trató con acetona a reflujo en presencia de cloruro de zinc anhidro para dar el 1,2:4,5-di-O-isopropilidén-*muco*-inositol⁴² (106). La reacción de 106 con cloruro de mesilo conduce a la formación del 1,2:4,5-di-O-isopropilidén-3,6-di-O-(metilsulfonil)-*muco*-inositol (107) con 95% de rendimiento. El compuesto 107 se hidrolizó con ácido acético 90% para dar el 3,6-di-O-(metilsulfonil)-*muco*-inositol (108). Luego 108 se acetiló obteniéndose el 1,2,4,5-tetra-O-acetil-3,6-di-O-(metilsulfonil)-*muco*-inositol (109).

Cuando 109 se hizo reaccionar con azida de sodio en 2-metoxietanol hirviente durante 46 horas se obtuvo una mezcla de dos diazido derivados 110 y 100. La mezcla se separó mediante recristalizaciones fraccionadas obteniéndose 110 y 100 con 76 y 3,6% de rendimiento respectivamente. Cuando la misma reacción se llevó a cabo en dimetilformamida, en lugar de 2-metoxietanol como solvente, sólo se obtuvo 110 con 46% de rendimiento y no se pudo aislar 100 de los productos de reacción.

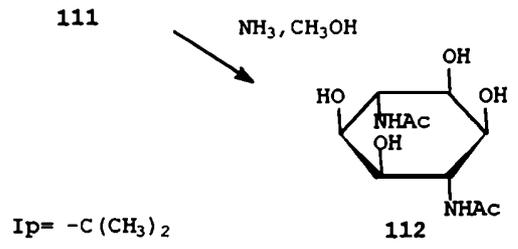
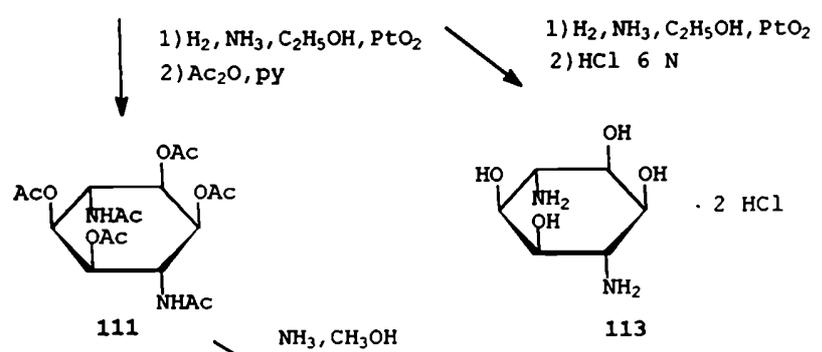
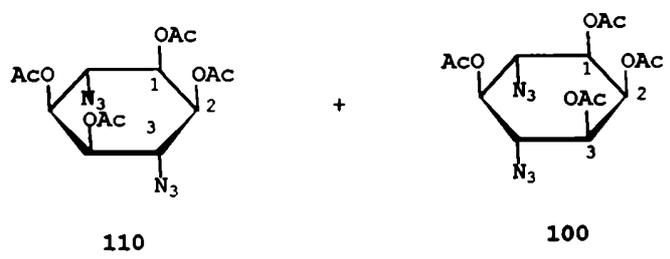
El compuesto 110 se hidrogenó y el producto de reducción se acetiló por el procedimiento usual para dar la hexacetil-*muco*-3,6-inosadiamina (111). La hidrólisis selectiva de los grupos acetilo dió la di-N-acetil-*muco*-3,6-inosadiamina (112). Finalmente, la hidrólisis ácida del producto crudo de reducción dió el diclorhidrato 113.



$\swarrow \text{CH}_3\text{COOH } 90\%$



1) $\text{NaN}_3, \text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$
 46 hs ϕ
 2) $\text{Ac}_2\text{O}, \text{py}$



$\text{Ip} = -\text{C}(\text{CH}_3)_2$

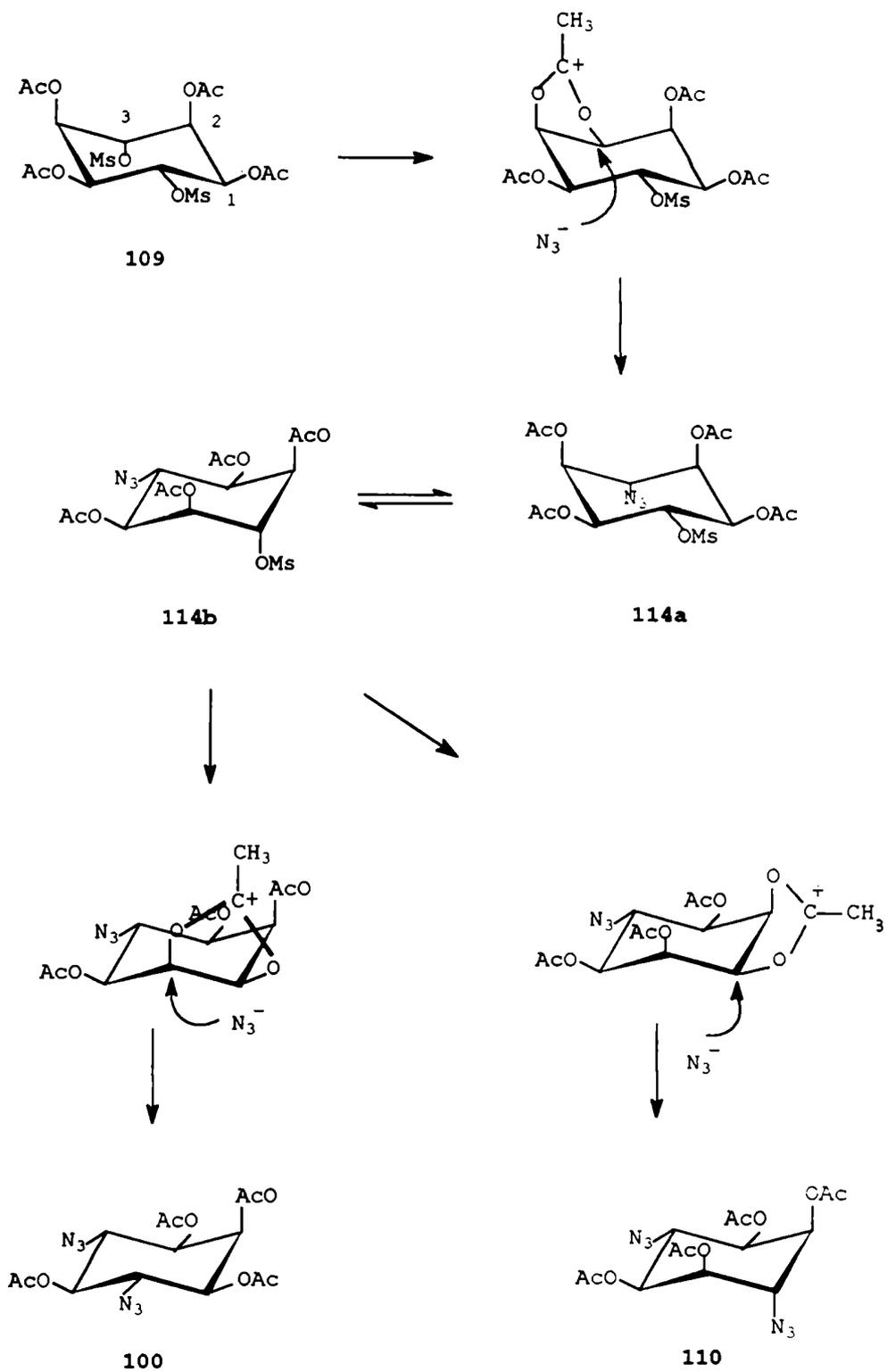
El requerimiento estérico para la formación del ión acetoxonio cíclico es una disposición *trans* de los grupos acetoxi y sulfoniloxi. No obstante, no es necesario que éstos grupos sean axiales.

Es razonable pensar que el desplazamiento de los grupos sulfoniloxi por los iones azido, procede en el compuesto 109 en etapas sucesivas. La reacción de éste compuesto con azida de sodio puede dar el primer ión acetoxonio cíclico intermediario, debido a que hay tres grupos axiales en C-2, C-3 y C-4 (ver Esquema 2). Luego el ión cíclico es atacado por el ión azido, predominantemente con una apertura *trans*-diaxial para dar el tetracetato del 3-azido-3-desoxi-6-O-(metilsulfonil)-*muco*-inositol (114a). Luego tiene lugar la inversión del anillo a la forma silla 114b, que contiene el otro grupo sulfoniloxi y otro acetoxi en posiciones axiales. Así, puede formarse el segundo ión cíclico, que sufre la apertura por el ión azido de la manera descrita más arriba para dar el 3,6-diazido-3,6-didesoxi-*muco*-inositol derivado (110) como producto principal.

También se obtuvo el 4,6-diazido-4,6-didesoxi-*mio*-inositol derivado como producto minoritario, además de aminociclitoles no identificados, que se detectaron por cromatografía en papel.

Por lo tanto, debe concluirse que el producto principal se forma a través de una apertura *trans*-diaxial del ión acetoxonio intermediario por el ión azido, mientras que los productos secundarios se obtienen a través de una apertura *trans*-diecuatorial.

Esquema 2

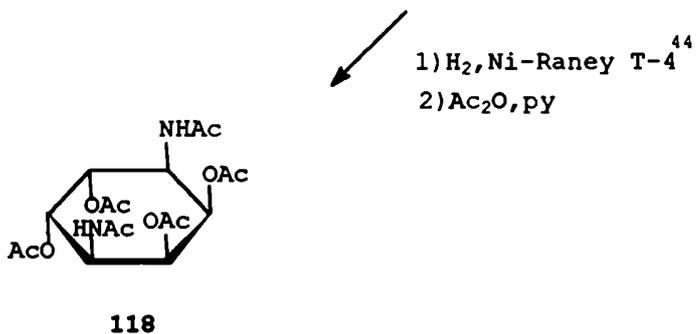
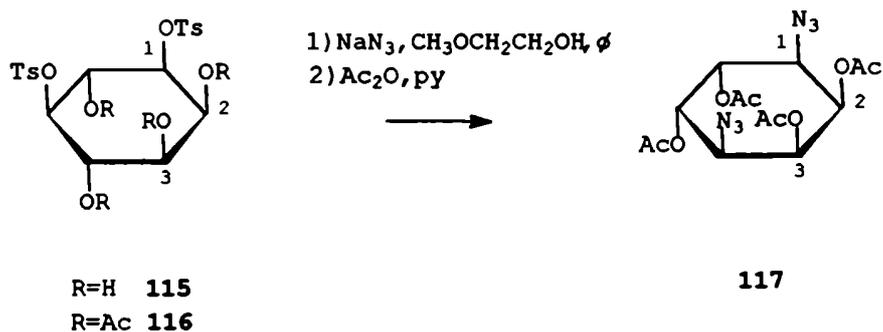


Los azido-desoxi y diazido-didesoxi inositoles obtenidos son intermediarios útiles en la síntesis de inosaminas y de inosdiaminas ó de análogos de nucleósidos cuya parte de hidrato de carbono tiene estructura de pseudo-azúcar.

Así, Suami y col.⁴³ llevaron a cabo reacciones de desplazamiento nucleofílico por el ión azido en 1,4-; 1,5- y 1,6-disulfonatos del mio-inositol y sus 1,2-O-ciclohexilidén derivados. Se discutieron los mecanismos de reacción que involucran la participación de grupos vecinos. La hidrogenación de los azido derivados seguida de acetilación condujo a la síntesis de seis inosdiaminas acetiladas, tres de ellas conocidas (*allo*-1,5; *muco*-1,3 y *mio*-4,5) y tres nuevas (*allo*-1,4; *muco*-1,2 y *chiro*-2,4).

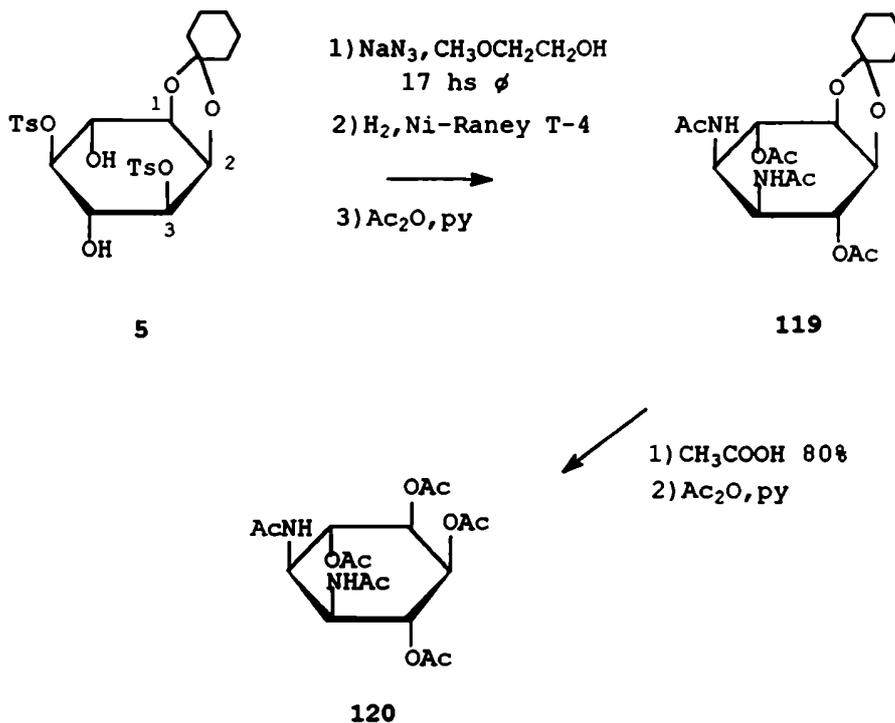
Por ejemplo el tratamiento del 1,5-di-O-tosil-mio-inositol¹ (115) y su acetyl derivado¹ 116 con azida de sodio en 2-metoxietanol a reflujo, seguido de acetilación dió el 2,3,5,6-tetra-O-acetyl-1,4-diazido-1,4-didesoxi-*allo*-inositol (117) como único producto cristalino con 13 y 39% de rendimiento respectivamente. Además del compuesto 117 se detectaron por cromatografía dos productos minoritarios no identificados. La reducción catalítica de 117 seguido de acetilación dió la hexacetyl-*allo*-1,4-inosdiamina nueva (118).

Desde un punto de vista mecanístico, inicialmente tiene lugar la participación del grupo hidroxilo ó del acetyl en C-4 a C-5 para dar lugar a un intermediario cíclico-4,5.



Por otra parte, los dos grupos hidroxilo en C-2 y C-3 de 115 se bloquearon con el grupo ciclohexilidén para dar el 1,2-O-ciclohexilidén-3,5-di-O-tosil-mio-inositol¹(5). La azidólisis de 5 en condiciones similares, seguido de acetilación dió la tetra-acetil-O-ciclohexilidén-inosadamina (119) con 34% de rendimiento que se convirtió en la hexacetil-muco-1,2-inosadamina nueva (120).

En el caso del compuesto 5 la sustitución nucleofílica del epóxido intermediario está afectada por la presencia del grupo ciclohexilidén, ubicado con una orientación *trans* respecto de él; por lo que resulta una apertura inicial *trans*-diecuatorial del epóxido-5,6¹², seguido de la apertura *trans*-diaxial del epóxido-3,4.



Suami y col.⁴⁵ llevaron a cabo la hidrazinólisis del 1,3-di-O-p-(toluensulfonil)-*mio*-inositol⁴¹ (121), seguido de hidrogenación catalítica para dar una *mio*-1,3-inosadiazina, vía el intermediario (no aislado) 6,7-diazabicyclo-[3.2.1]-octano-2,3,4,8-tetrol (122).

En ésta reacción, el uso de la N,N'-dimetilhidrazina y la N-metilhidrazina conduce a la actinamina, componente del antibiótico spectomicina y a la N-metil-*mio*-1,3-inosadiazina que es un intermediario importante en la síntesis de la D,L-hyosamina, respectivamente.

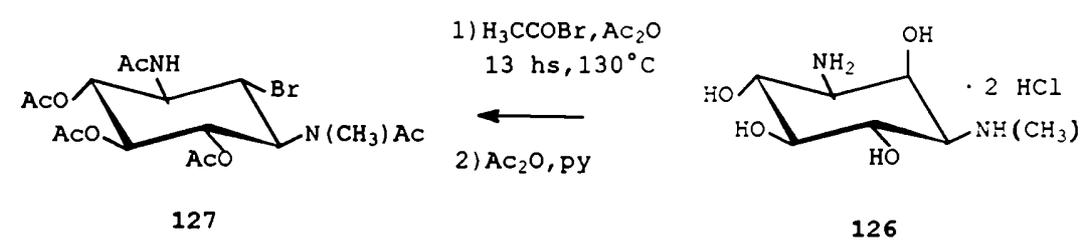
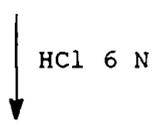
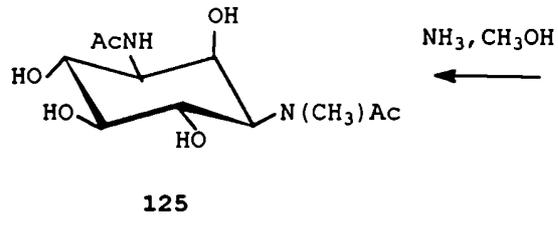
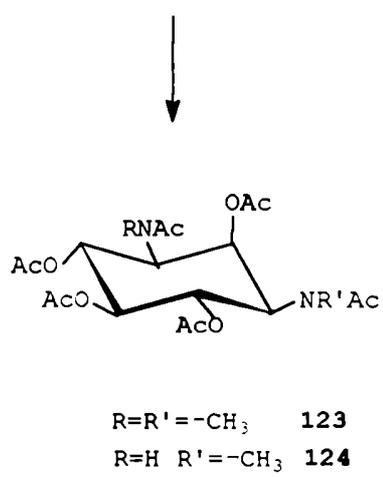
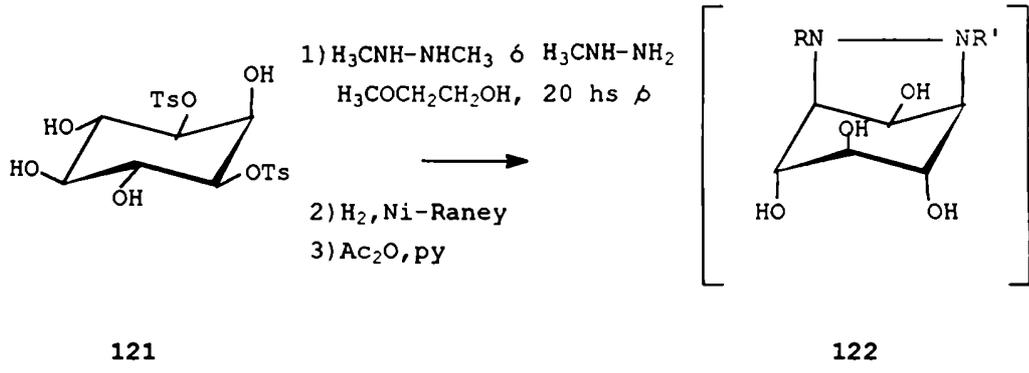
Cuando 121 se calentó a reflujo con una mezcla de N,N'-dimetilhidrazina y 2-metoxietanol durante veinte horas, se obtuvo un jarabe que fué hidrogenado en presencia de Ni-Raney y acetilado con anhídrido acético y piridina para dar la hexacetil-actinamina cristalina (123) con un rendimiento del 36,3%. Mientras que cuando se utilizó N-metil-hidrazina por

un procedimiento análogo se obtuvo la hexacetil-D,L-N-metil-mio-1,3-inosdiamina (124) con un rendimiento del 42,7%. La desacilación selectiva de 124 condujo a la di-N,N'-acetil-D,L-N-metil-mio-1,3-inosdiamina (125) y la hidrólisis de 124 con ácido clorhídrico 6 N dió la D,L-N-metil-mio-1,3-inosdiamina (126) como su diclorhidrato.

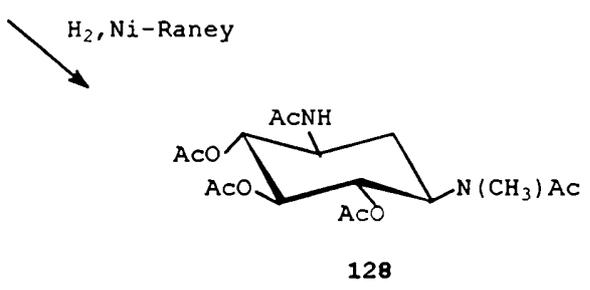
Los grupos hidroxilo vecinales ubicados con una orientación *cis* respecto de un grupo amino ó acetamido en los aminociclitolos son desplazados preferentemente por halógenos en una mezcla del haluro de acetilo y anhídrido acético⁴⁶, con inversión de la configuración en el centro involucrado.

Cuando 126 se calentó en una mezcla de bromuro de acetilo y anhídrido acético, en un tubo sellado a 130°-135°C durante trece horas, se obtuvo la pentacetil-D,L-2-bromo-2-desoxi-N-metil-scillo-1,3-inosdiamina (127) con un rendimiento del 22%.

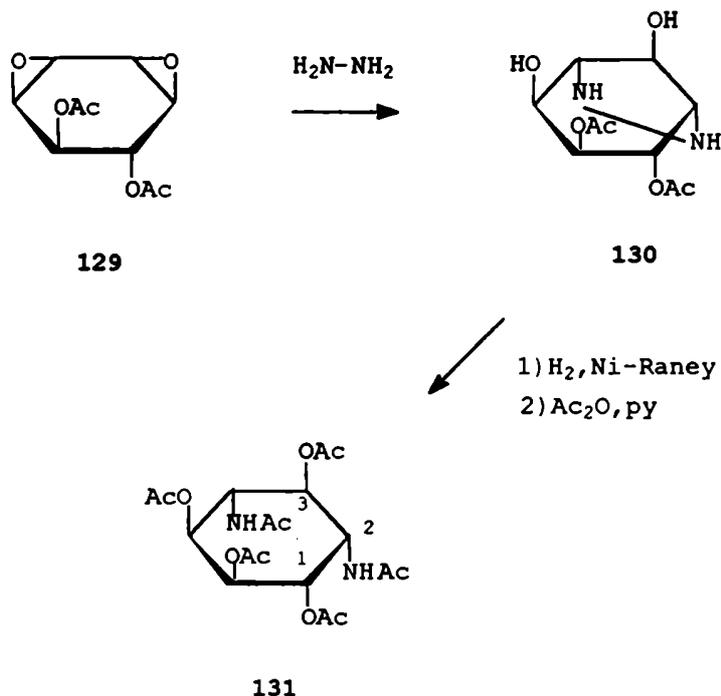
La desbromación catalítica de 127 con hidrógeno-Ni-Raney y Amberlite IR-4B (HO⁻) dió la pentacetil-D,L-hyosamina (128) con un rendimiento del 86,6%.



+ 124

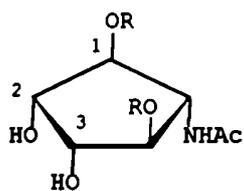


Prinzbach y Schneider⁴⁷ llevaron a cabo la reacción con hidrazina del diepóxido⁴⁷ 129 para dar el aducto 130, el cual no se aisló, sino que se hidrogenó en presencia de Ni-Raney y se peracetiló a la *chiro*-2,4-inosadamina peracetilada⁴³ (131). La entrada se produce en las posiciones 1,3. A pesar de las múltiples variantes posibles, la reacción transcurre en consonancia con investigaciones previas similares^{48,49}.

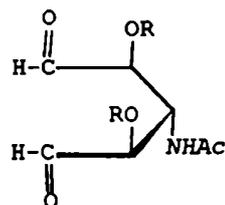
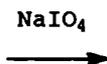


Suami y col.⁵⁰ estudiaron la ciclación de dialdehídos con nitrometano en la preparación de inosadaminas nuevas y se discutieron los mecanismos de reacción.

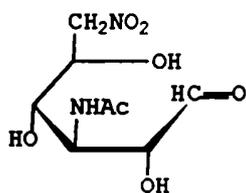
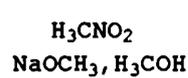
Para ello, partieron del 1,4-di-O-acetil-(1,4/2,3,5)-5-acetamido-1,2,3,4-ciclopentanotetrol (132) y del 1,4-di-O-benzoil derivado^{51,52} (133). El compuesto 132 se oxidó con peryodato de sodio en solución acuosa para dar la 3-acetamido-2,4-di-O-acetil-3-desoxi-xilo-pentodialdosa (134)



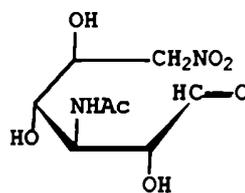
R=Ac 132
R=Bz 133



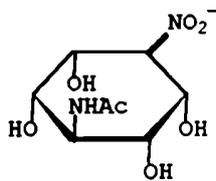
R=Ac 134
R=Bz 135



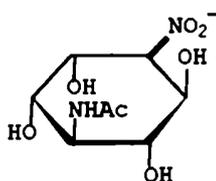
136
D-gluco



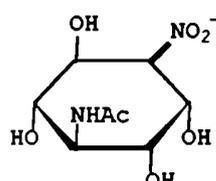
137
L-ido



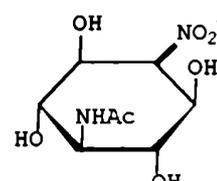
138



139

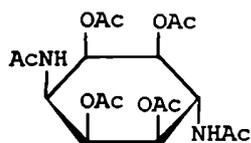


140

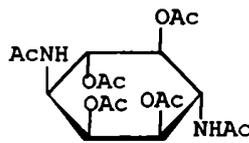


141

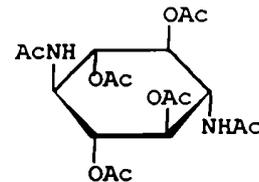
1) H₂, Ni-Raney T-4
2) Ac₂O, py



142
epi-3,6



143
mio-1,4



144
scillo-1,4

como un jarabe, que se trató con nitrometano en presencia de metóxido de sodio. Luego se hidrogenó con Ni-Raney y se acetiló por el procedimiento usual. Así, se obtuvieron tres productos: hexacetil-*epi*-3,6-inosadiamina (142); hexacetil-*mio*-1,4-inosadiamina (143) y hexacetil-*scillo*-1,4-inosadiamina (144) con 1,3; 39 y 3,5% de rendimiento respectivamente. Se obtuvieron resultados análogos partiendo del dibenzoíl derivado 133.

Los resultados obtenidos coinciden con estudios previos realizados por Kovar y Baer⁵³.

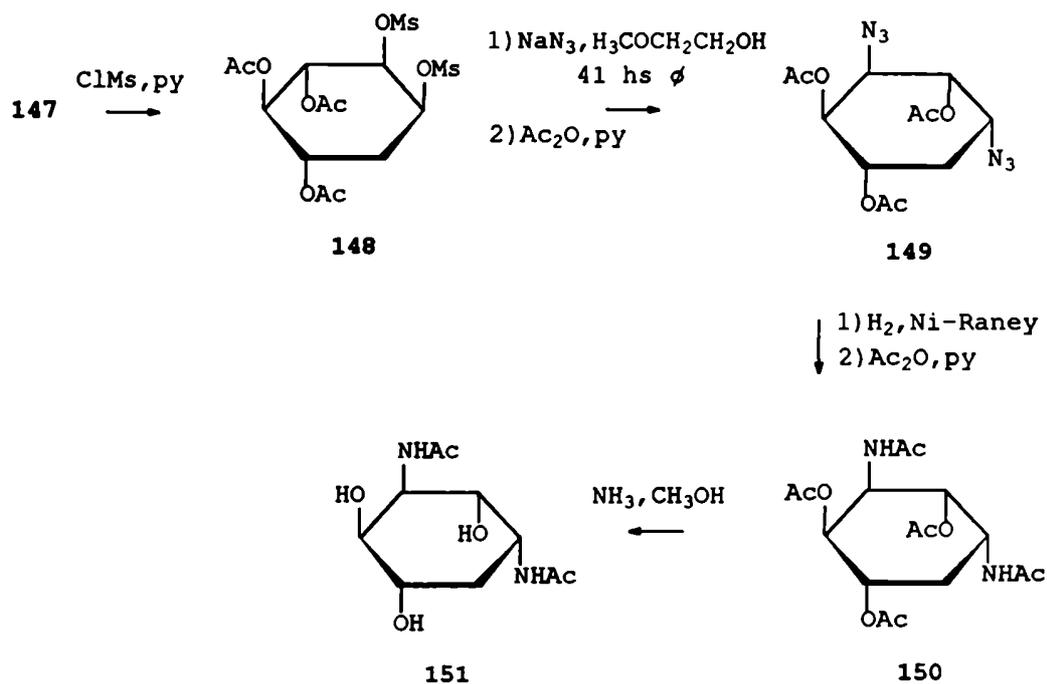
En la etapa inicial de la reacción, tendría lugar una adición entre el nitrometano y uno de los grupos aldehído de 134 para dar los dos intermediarios diastereoisméricos con configuración D-gluco y L-ido.

La segunda etapa de la reacción sería la ciclación intramolecular de los intermediarios para dar los compuestos con configuración *mio*-1,4 y *epi*-3,6 provenientes del D-gluco y *mio*-1,4 y *scillo*-1,4 provenientes del L-ido, vía las sales de nitronato correspondientes.

Síntesis de desoxi-inosaminas y desoxi-inosadiaminas

La desmesilación por el ión azido se aplicó a la síntesis de (±)-1-desoxi-*muco*-4-inosamina; de (±)-1-desoxi-*scillo*-2-inosamina y de (±)-2-desoxi-*allo*-3,5-inosadiamina⁵⁴, utilizando como material de partida el 1-desoxi-*mio*-inositol⁵⁵ (145).

En éste último caso, por ejemplo, el 1-desoxi-*mio*-inositol (145) se trató con acetona en presencia de cloruro de zinc anhidro y ácido acético glacial, y el producto

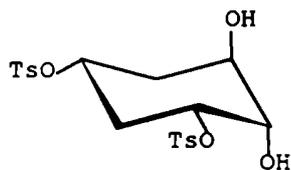


El grupo mesiloxi en C-3 de **148** es eliminado con participación del acetoxi vecino *trans* para formar el ión acetoxonio intermediario, y luego el anillo dioxolano es atacado por el ión azido.

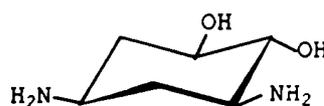
El otro grupo mesiloxi en C-2 es reemplazado por el ión azido vía un mecanismo S_N2 directo. El comportamiento de éste último grupo difiere del observado por Suami y col. en una situación análoga anterior²⁶.

Posteriormente Suami y col.⁵⁶ aplicaron la azidolisis del 1,2-di-O-acetil-3,5-di-O-mesil-(1,3/2,5)-ciclohexanotetrol y del 1,5-di-O-acetil-2,3-di-O-mesil-(1,3/2,5)-ciclohexanotetrol a la síntesis de 2,4- y 4,6-didesoxi-streptamina respectivamente junto con los acetil derivados de otros dos diamino ciclohexanodiolos; y del 2,3-di-O-acetil-1,4-di-O-mesil-(1,2/3,4)-ciclohexanotetrol a la síntesis de 4,5-didesoxi-streptamina.

La azidolisis en dimetilformamida a reflujo⁵⁷ del 1D-(1/2,3,5)-1,2-dihidroxi-3,5-di-O-tosil-ciclohexano (**152**), se aplicó a la síntesis quiral de la D-(+)-2,6-didesoxi-streptamina (**153**), que tiene la misma configuración absoluta que la didesoxi-streptamina sustituida presente en los antibióticos naturales.



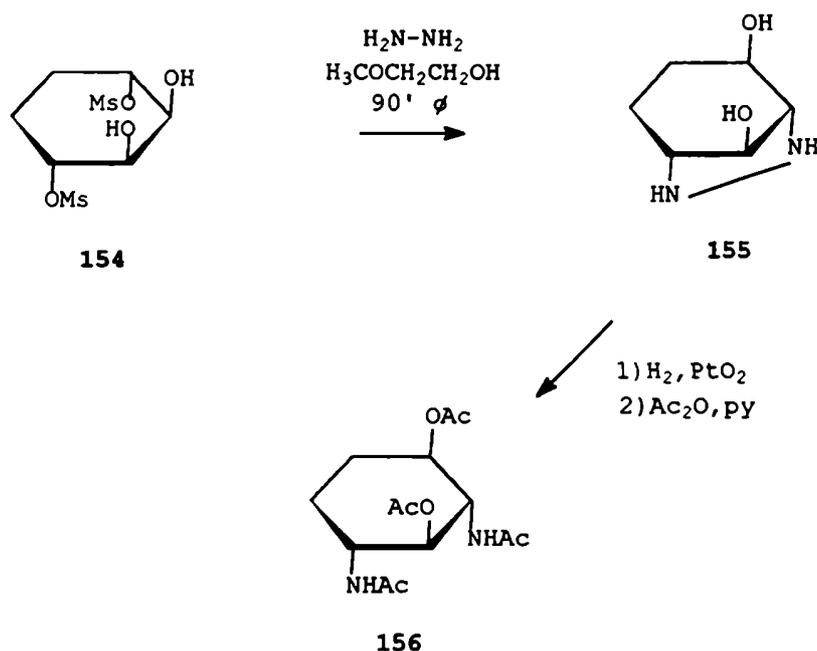
152



153

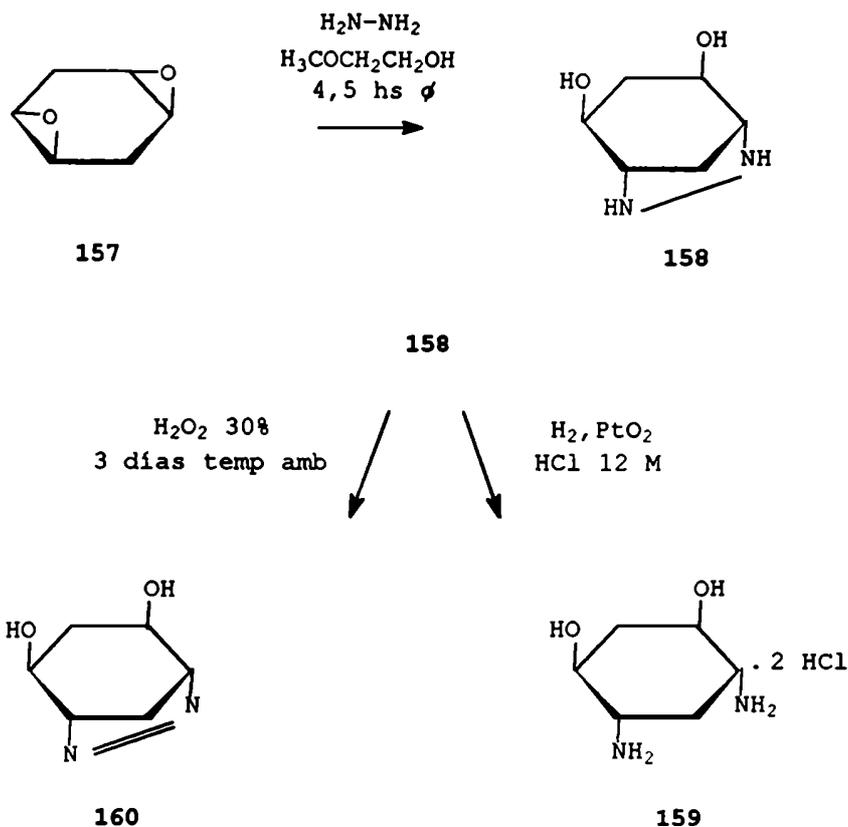
También, Suami y col.⁵⁶ aplicaron la hidrazinólisis del 1,4-di-O-mesil-(1,4/2,3)-ciclohexanotetrol (**154**), en 2-metoxietanol a reflujo, seguido de hidrogenación y acetilación a la síntesis de la tetracetil-4,5-didesoxi-streptamina (**156**) con un rendimiento del 46%.

El compuesto **154** se obtiene a partir del 1,2-anhidro-5,6-O-ciclohexilidén-3,4-di-O-mesil-chiro-inositol por reducción con hidruro de aluminio y litio⁵⁵ seguido de mesilación. La hidrólisis del grupo ciclohexilidén se realizó con ácido acético 80%.



Además, los mismos autores⁵⁶ llevaron a cabo la reacción con hidrazina del diepóxido⁴⁹ 157 en 2-metoxietanol a reflujo durante cuatro horas y media para dar el 1,3-hidrazino derivado 158, que se caracterizó como su di-N-acetil y su tetracetil derivado por reacción con anhídrido acético en metanol y anhídrido acético en piridina, respectivamente. La hidrogenación de 158 en presencia de Ni-Raney dió el diamino ciclohexanodiol 159, que se aisló y caracterizó como su diclorhidrato. El compuesto 159 también se convirtió en el tetracetil, en el di-N-acetil y en el di-N-carbobenciloxi derivado respectivamente por los procedimientos usuales.

El 1,3-hidrazino derivado 158 es estable en estado cristalino puro. No obstante en solución ó impuro se descompone gradualmente por oxidación para dar el azo derivado cristalino 160, que se caracterizó como su diacetato.



Síntesis de inosatriaminas y desoxi-inosatriaminas

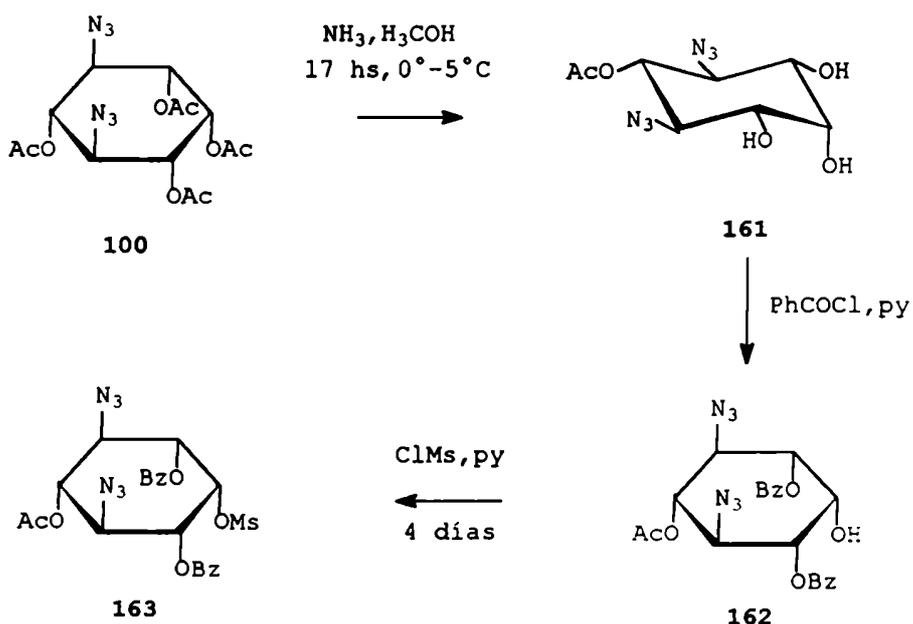
Suami y col.⁵⁹ llevaron a cabo la síntesis de la N,N',N'' -triacetil-scillo-1,3,5-inosatriamina (166), a partir del 1,2,3,5-tetra-O-acetil-4,6-diazido-4,6-didesoxi-mio-inositol³⁵ (100).

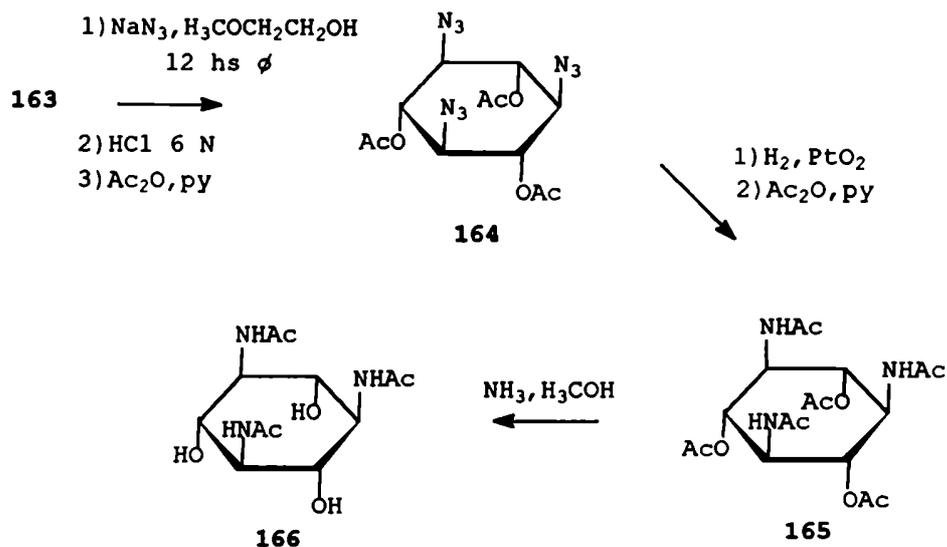
La desacilación selectiva de 100 con amoníaco metanólico a 5°C condujo a la formación del 5-O-acetil-4,6-diazido-4,6-didesoxi-mio-inositol (161). El compuesto 161 contiene dos grupos hidroxilo ecuatoriales y uno axial. Por lo tanto, la benzoilación selectiva con cloruro de benzoílo y piridina permite obtener el 5-O-acetil-4,6-diazido-1,3-di-O-benzoíl-4,6-didesoxi-mio-inositol (162) con 84,2% de rendimiento. La mesilación del hidroxilo libre en C-2 con cloruro de mesilo

en piridina durante cuatro días dió el 5-O-acetil-4,6-diazido-1,3-di-O-benzoil-4,6-didesoxi-2-O-mesil-mio-inositol (163) con 83,2% de rendimiento.

Cuando 163 se trató con azida de sodio en 2-metoxietanol y el producto se hidrolizó con ácido clorhídrico 6 N y luego se acetiló con anhídrido acético y piridina, se obtuvo el triazido derivado 164 como un jarabe. Posteriormente se hidrogenó en presencia de óxido de platino como catalizador y el producto de reducción se acetiló, obteniéndose la hexacetil-scillo-1,3,5-inosatriamina (165) con 35% de rendimiento.

El desplazamiento del grupo mesiloxi por el ión azido ocurre en éste caso a través de un mecanismo S_N2 directo.



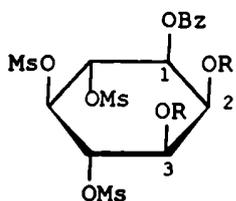


Posteriormente, Suami y col.⁶⁰ estudiaron el desplazamiento nucleofílico por el ión azido en 1,4,5-; 1,4,6-; 1,5,6- y 4,5,6-trisulfonatos y en un tetrasulfonato (1,4,5,6) del *mio*-inositol y se discutieron los mecanismos de reacción que involucran la participación de grupos vecinos.

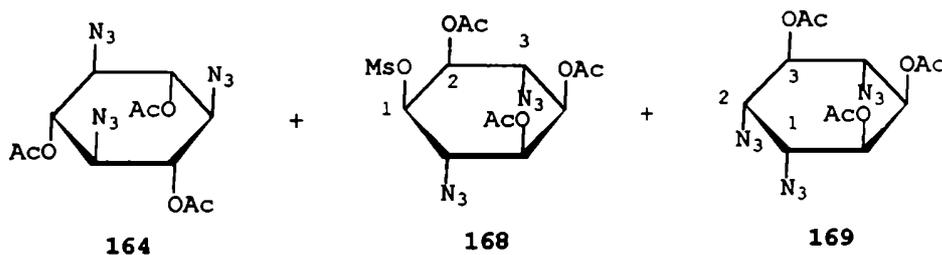
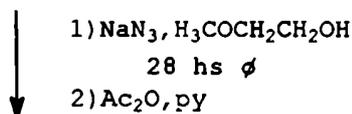
Por ejemplo, el tratamiento del 1-O-benzoil-4,5,6-tri-O-mesil-*mio*-inositol³ (**167**) con azida de sodio en 2-metoxietanol a reflujo, seguido de acetilación, dió una mezcla de tres productos: el 2,4,5-tetra-O-acetil-3,6-diazido-3,6-didesoxi-1-O-mesil-*muco*-inositol (**168**); el 3,5,6-tri-O-acetil-1,2,4-triazido-1,2,4-tridesoxi-*chiro*-inositol (**169**) y el 2,4,6-tri-O-acetil-1,3,5-triazido-1,3,5-tridesoxi-*scillo*-inositol (**164**) con 30,5; 13,6 y 9,5% de rendimiento respectivamente.

La participación del grupo benzoiloxi en C-1 ó del grupo hidroxilo en C-3 a C-6 ó a C-4 respectivamente, seguido de la apertura diaxial del intermediario cíclico por el ión azido conduce a la formación preferencial de **168** como producto predominante, además del minoritario **164**. Se postula la

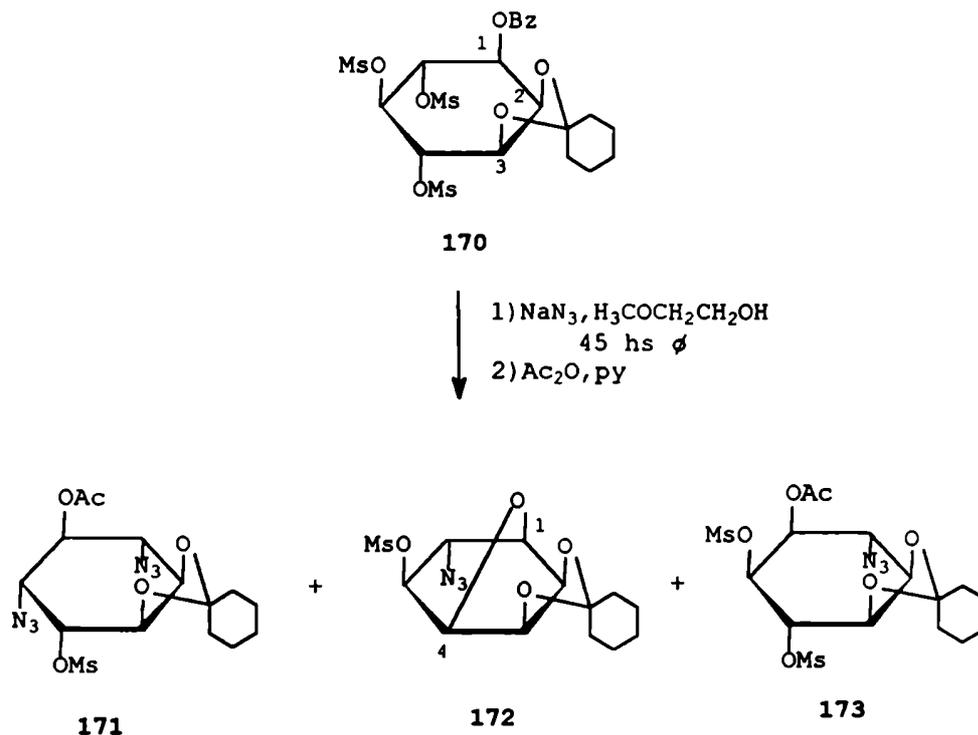
sustitución inicial del grupo mesiloxi en C-5 para explicar la formación de los compuestos 169 y 164.



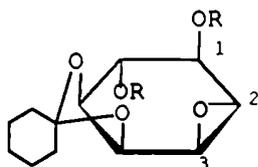
167 a R=H
b R=Ac



También se llevó a cabo la azidolisis⁶⁰ del 2,3-O-ciclohexilidén derivado³ (170). Al cabo de 45 horas de calentamiento, se detectó la presencia de tres productos: el 3-O-acetil-2,4-diazido-5,6-O-ciclohexilidén-2,4-didesoxi-1-O-mesil-*chiro*-inositol (171); el 1,4-anhidro-6-azido-2,3-O-ciclohexilidén-6-desoxi-5-O-mesil-*epi*-inositol (172) y el 2-O-acetil-3-azido-4,5-O-ciclohexilidén-3-desoxi-1,6-di-O-mesil-*muco*-inositol (173) con 7,7; 8,7 y 1,5% de rendimiento respectivamente.

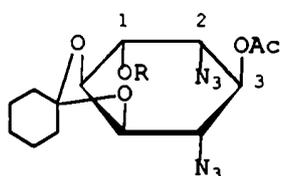


Debido a que la reacción transcurriría a través de un intermediario cíclico, que es el ión 1,6-benzoxonio, se estudió la azidolisis de un epóxido con configuración similar. Para ello se partió de los epóxidos 2,3-anhidro-4,5-O-ciclohexilidén-1,6-di-O-mesil-*epi*-inositol³ (174a) y el 1,6-di-O-tosil-*epi*-inositol² 174b y se obtuvieron los compuestos 171a y b y 172a y b con rendimientos razonables. La eliminación del grupo ciclohexilidén de 171a y de 172a condujo en ambos casos al dihidroxi compuesto correspondiente.



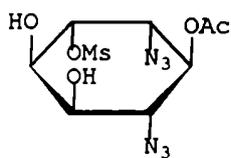
174 a R=Ms
b R=Ts

1) $\text{NaN}_3, \text{H}_4\text{NCl}$
 $\text{H}_3\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{OH}, \phi$
2) $\text{Ac}_2\text{O}, \text{py}$

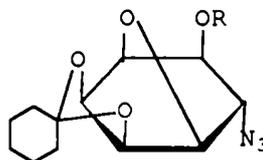


171 a R=Ms
b R=Ts

H_3CCOOH 80%

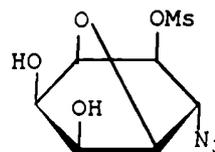


175



172 a R=Ms
b R=Ts

H_3CCOOH 80%



176

En la primera etapa de la azidolisis, desde un punto de vista mecanístico, es razonable concluir que el epóxido-2,3 se abre por el ión azido para dar origen a los 2- y 3-azido derivados, los cuales carecen de grupos vecinos que puedan participar en la sustitución nucleofílica de los grupos sulfoniloxi.

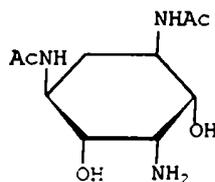
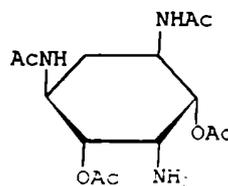
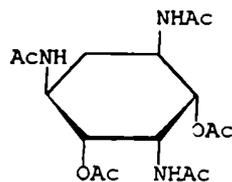
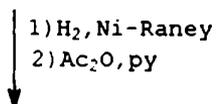
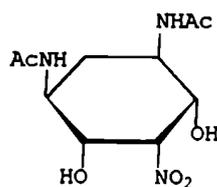
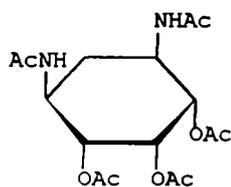
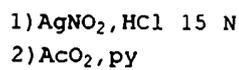
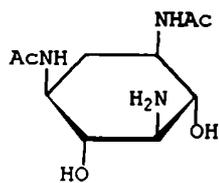
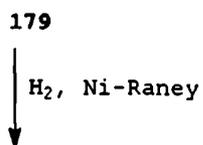
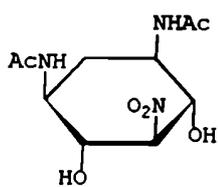
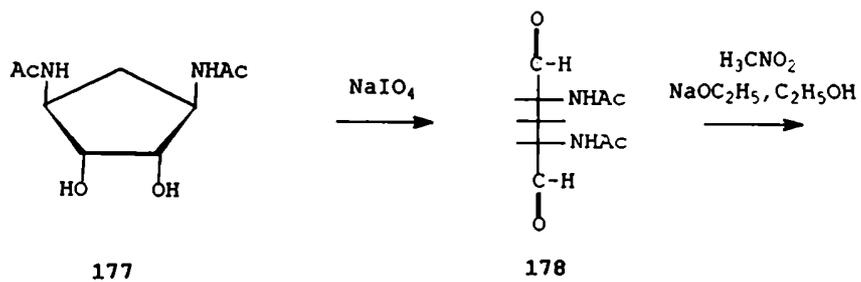
En el último caso la sustitución del grupo sulfonyloxi en C-1 transcurre a través de un mecanismo S_N2 directo para dar el diazido derivado 171a.

En el primer caso, el ataque S_N2 directo sobre el C-1 está impedido por factores estéricos y electrónicos debido a la presencia del grupo azido adyacente; pero el grupo hidroxilo en C-3 puede atacar por el lado opuesto de C-6 intramolecularmente, lo que da como resultado el epóxido transanular ^{43,61} 172a.

Hasegawa y Sable⁶² estudiaron la ciclación de dialdehídos con nitrometano y la aplicaron al diacetamido pentanodial 178 para obtener una mezcla de dos diacetamido-nitro-ciclohexanodiolos diastereoisoméricos 179 y 180.

También llevaron a cabo estudios de desaminación, por tratamiento con nitrito de plata, de los triaminodiolos acetilados obtenidos por hidrogenación catalítica de los mencionados nitrocompuestos.

El (1,2/3,5)-3,5-diacetamido-ciclopentano-1,2-diol⁶² (177) se oxidó con metaperiodato de sodio al 2,4-diacetamido-pentanodial simétrico (178). El dialdehído crudo reaccionó con nitrometano en las condiciones usuales de ciclación para dar una mezcla de dos diacetamido-nitro-ciclohexanodiolos: el (1,3/2,4,6)-4,6-diacetamido-2-nitro-ciclohexano-1,3-diol (179) con 43,3% de rendimiento y el (1,2,3/4,6)-4,6-diacetamido-2-nitro-ciclohexano-1,3-diol (180) que no se pudo cristalizar. El producto predominante es el derivado trans



179. En el estado de transición de éste último compuesto, el grupo nitro y los grupos hidroxilo pueden adoptar una disposición 1,2,3-trans-diaxial, mientras que en el estado de transición de 180 ésta orientación es imposible de lograr. Probablemente éste último estado de transición sea de mayor energía. Además, si la energía del producto tiene influencia en el curso de la reacción el derivado 179 con todos los grupos ecuatoriales es de menor energía que su epímero 180. No obstante, la diferencia en las energías entre los dos estados de transición no supera las 0,5-1,0 Kcal, probablemente debido a que en la orientación 1,2,3-triaxial, el grupo nitro de 179 tiene una interacción syn-diaxial con los dos grupos acetamido. El grupo nitro en 180 no puede estar involucrado en tal interacción y esto disminuye la diferencia de energía entre los dos estados de transición. El rendimiento despreciable de los otros diastereoisómeros posibles está de acuerdo con las energías elevadas para los estados de transición y estados fundamentales correspondientes.

La reducción de 179 dió el (1,3/2,4,6)-4,6-diacetamido-2-amino-ciclohexano-1,3-diol (181), que se convirtió en el pentacetil derivado. La reducción del nitrocompuesto 180, seguido de acetilación dió el (1,2,3/4,6)-2,4,6-triacetamido-1,3-di-O-acetil-ciclohexano-1,3-diol (182) con 23% de rendimiento.

También se llevó a cabo la desaminación del triaminodiol parcialmente acetilado 181, por tratamiento con nitrito de plata. La acetilación del producto de reacción dió el diacetamido derivado 183. La inversión de la configuración durante la desaminación de aminociclitoles, había sido

observada previamente por Posternak⁶³ y en derivados no acetilados de amino azúcares por Watanabe y col.⁶⁴.

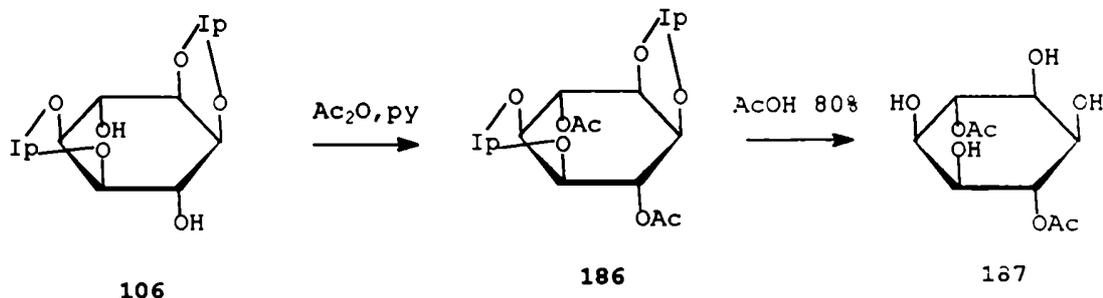
Cuando se intentó la desaminación del clorhidrato de **184**, no pudieron aislar productos de la reacción y cuando el bromhidrato de **185** se trató con nitrito de plata, el único producto que pudo aislarse fué el diacetamido derivado **183**, con un rendimiento muy pobre.

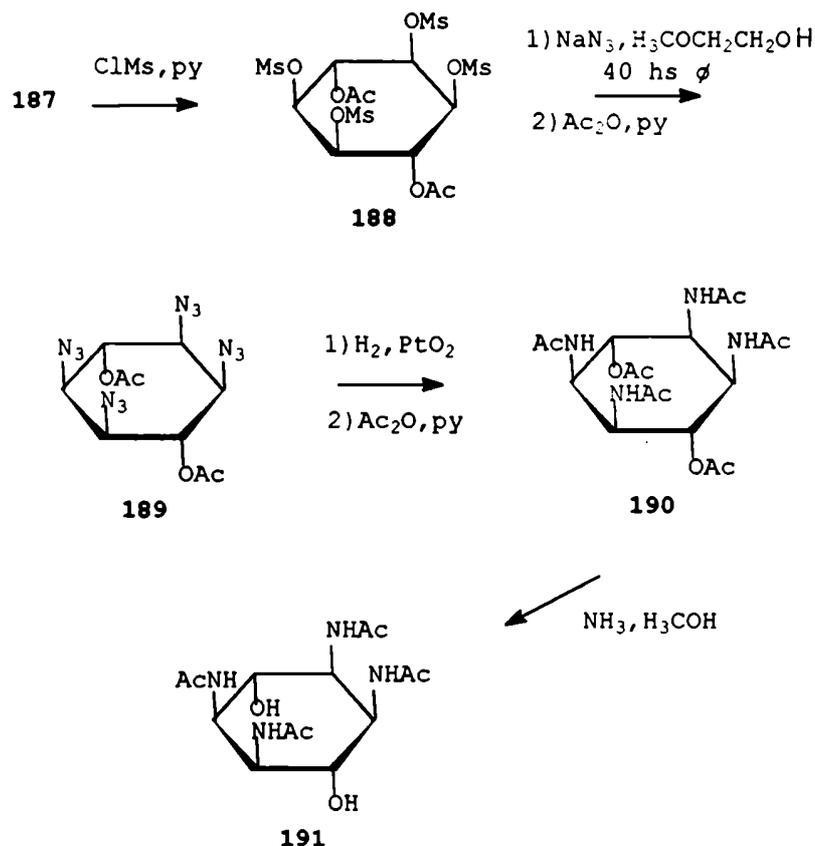
Síntesis de Inosatetraminas

Suami y col.⁴¹ llevaron a cabo la síntesis de la tetra-N-acetil-*muco*-1,2,4,5-inosatetramina (**191**) por azidolisis del 3,6-di-O-acetil-1,2,4,5-tetra-O-(metilsulfonil)-*muco*-inositol (**188**).

Cuando **188** se trató con azida de sodio en 2-metoxietanol hirviente, se obtuvo el tetrazido derivado **189**. La hidrogenación de **189** en presencia de un catalizador seguida de acetilación, permite obtener la hexacetil-*muco*-1,2,4,5-inosatetramina (**190**) con 29% de rendimiento.

Para ésta reacción puede proponerse un mecanismo similar al descrito en el Esquema 2.





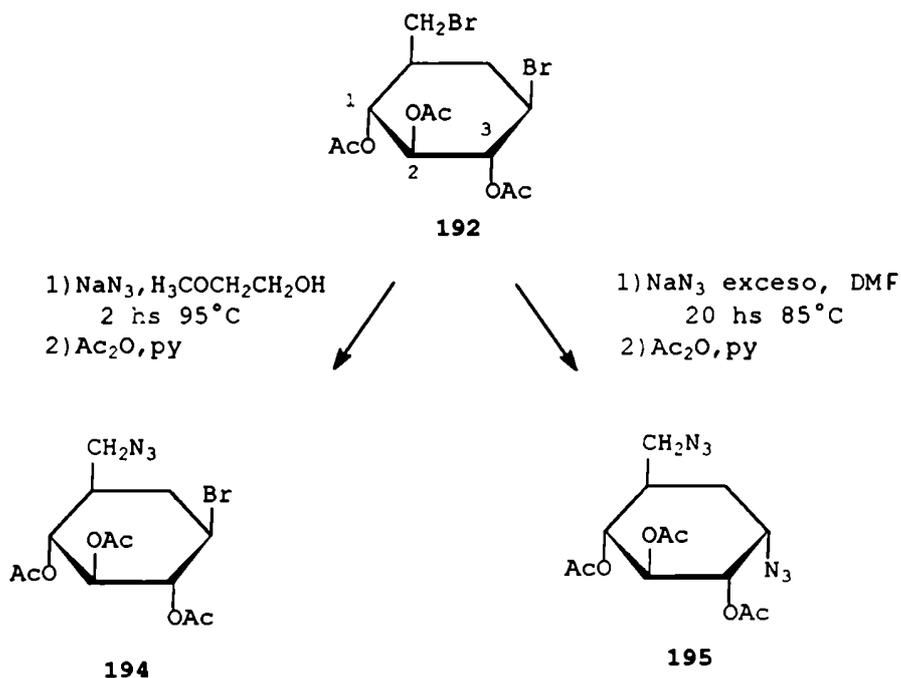
Síntesis de Amino Carba-Azúcares

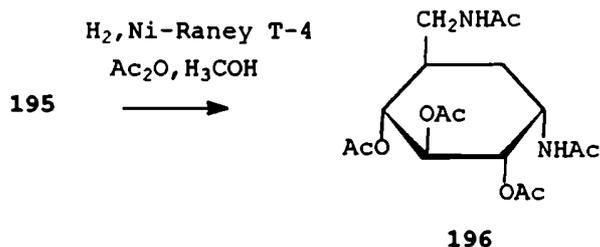
Es sabido que los carba-azúcares (pseudo-azúcares) son aceptados por algunos sistemas enzimáticos en lugar de los azúcares verdaderos correspondientes y poseen propiedades biológicas muy útiles e interesantes.

Así, Suami y col.⁶⁵ estudiaron el desplazamiento de átomos de bromo en carbonos primarios y secundarios por el ión azido y por el ión acetato en el tri-O-acetil-(1,3/2,4,6)-4-bromo-6-bromometil-1,2,3-ciclohexanotriol⁶⁵ (192) y en el 1,2-di-O-acetil-3-O-tosil-(1,3/2,4,6)-4-bromo-6-bromometil-1,2,3-ciclohexanotriol⁶⁵ (193); y lo aplicaron a la síntesis de D,L-validamina (197) como parte de un estudio sintético de los antibióticos validamicinas.

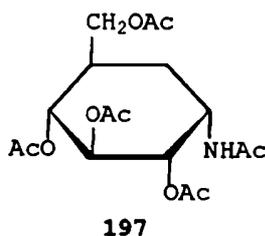
La sustitución preferencial del átomo de bromo primario del compuesto **192** por el ión azido se realizó por tratamiento con un ligero exceso de azida sódica en 2-metoxietanol para dar el correspondiente 7-azido derivado **194** con 91% de rendimiento.

Por otra parte, la reacción de **192** con exceso de azida de sodio en dimetilformamida condujo al desplazamiento del átomo de bromo en C-4 por el ión azido vía un mecanismo S_N2 para dar el diazido derivado cristalino **195** con 76% de rendimiento. La hidrogenación catalítica de **195** en presencia de Ni-Raney⁴⁴ en anhídrido acético y metanol dió el pentacetil derivado **196** con 51% de rendimiento.



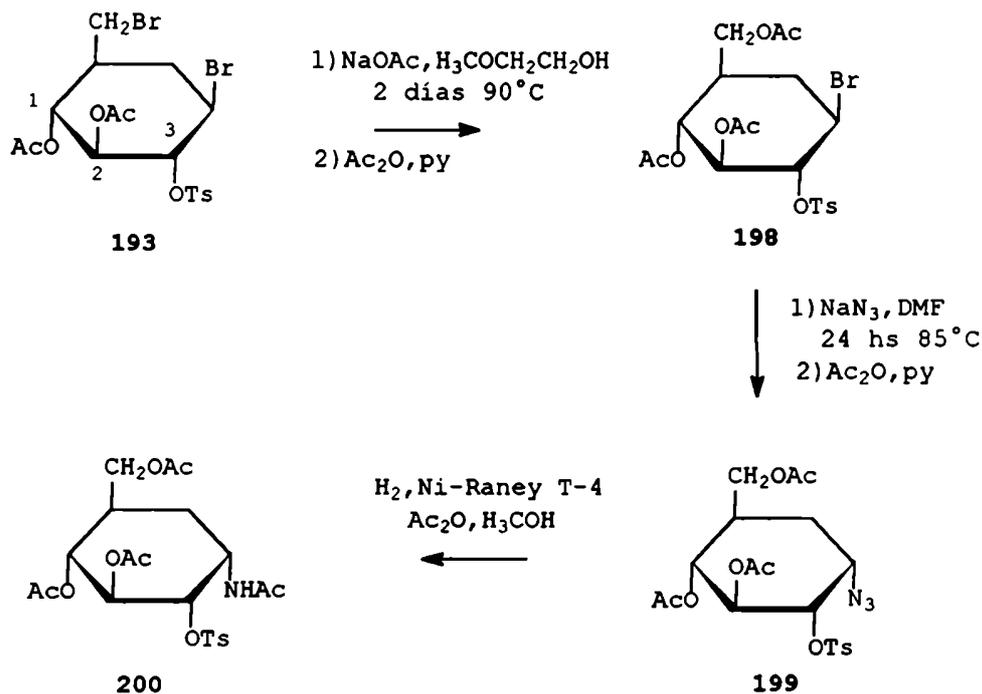


La D,L-validamina (197) se obtuvo por desplazamiento del átomo de bromo en el carbono primario de 192 con acetato de sodio en 2-metoxietanol a reflujo seguido de azidolisis en dimetilformamida a reflujo y posterior hidrogenación catalítica en presencia de Ni-Raney en anhídrido acético y metanol.



Por otra parte, el compuesto 193 se convirtió en el correspondiente 7-acetoxi derivado 198 con 63% de rendimiento. Por tratamiento con un ligero exceso de azida de sodio en dimetilformamida, 198 dió el azido tosilado 199 como un jarabe con 97% de rendimiento que se hidrogenó de la manera descrita antes para dar la amida tosilada 200.

En éste caso, la sustitución del átomo de bromo en C-4 por el ión azido ocurre más rápidamente que la del grupo tosiloxi en C-3, vía una reacción anquimérica.



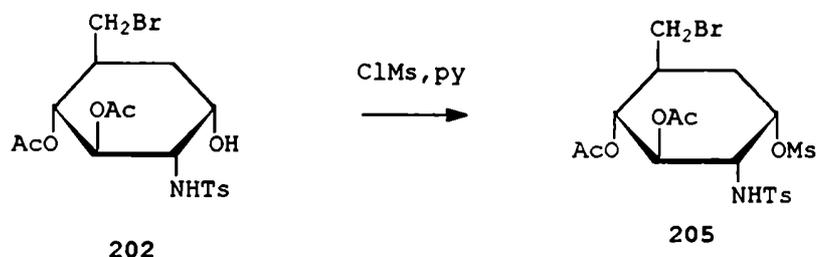
Los pseudo-aminoazúcares relativos a la 2-amino-2-desoxi-; 6-amino-6-desoxi- y 2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucosa, componentes de algunos antibióticos de importancia clínica, son útiles para el estudio de la relación entre estructura y actividad de los antibióticos.

Así, Suami y col.⁶⁶ llevaron a cabo la síntesis de análogos carbocíclicos derivados de la glucosamina con configuración α - y β -gluco, mediante reacciones de desplazamiento del átomo de bromo en carbono primario por el ión azido y por el ión acetato en el D,L-3,4-di-O-acetil-(1,2,4/3,5)-2-(p-toluensulfonamido)-5-bromometil-1,3,4-ciclohexanotriol (202) y del grupo mesiloxi en el D,L-3,4-di-O-acetil-1-O-(metilsulfonil)-(1,2,4/3,5)-5-bromometil-2-(p-toluensulfonamido)-1,3,4-ciclohexanotriol (205), obtenidos por cis-oxiaminación del D,L-di-O-acetil-(1,3/2)-3-bromometil-5-ciclohexén-1,2-diol⁶⁶ (201).

Por otra parte, para obtener los derivados con configuración β -gluco, se intentó una inversión de la configuración de C-1 de 202 por una reacción de sustitución directa del 1-O-metanosulfonato 205.

La azidolisis de 205 con 1,5 equivalentes de azida de sodio en dimetilformamida a 80°C durante dos horas dió preferencialmente el 7-azido derivado 209 con 68% de rendimiento, mientras que el tratamiento con cinco equivalentes de azida de sodio a 85°C durante veinte horas dió principalmente el diazido derivado 206 con 71% de rendimiento. La hidrogenación de 209 y 206 seguida de acetilación condujo a los acetamido derivados 210 y 207.

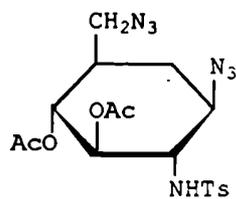
También se aisló como producto secundario de la hidrogenación de 206 el D,L-1,2-di-O-acetil-(1,3/2,6)-3-acetamidometil-6-(p-toluensulfonamido)-1,2-ciclohexanodiol (208) con 18% de rendimiento, que surge de la eliminación del grupo azido en C-4 en condiciones ligeramente básicas.



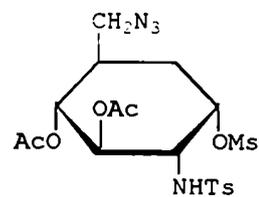
205

1) NaN₃ 5 eq; DMF
20 hs 85°C
2) Ac₂O, py

1) NaN₃ 1,5 eq; DMF
2 hs 80°C
2) Ac₂O, py



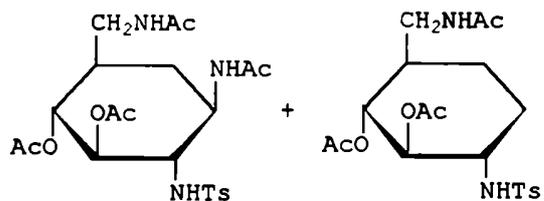
206



209

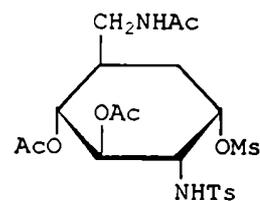
H₂, Ni-Raney T-4
Ac₂O, H₃COH

H₂, Ni-Raney T-4
Ac₂O, H₃COH



207

208



210

CAPITULO III
SINTESIS DE PSEUDO-OLIGOSACARIDOS
CARBAOLIGOSACARIDOS

SINTESIS DE PSEUDO-OLIGOSACARIDOS (CARBAOLIGOSACARIDOS)

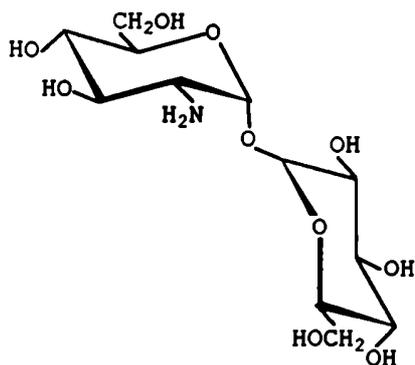
Los pseudo-oligosacáridos son análogos carbocíclicos de los oligosacáridos en los cuales una ó más unidades de hexosa ó pentosa son reemplazadas por un carba-azúcar. Se consideran dentro de éste grupo a compuestos que poseen por lo menos un componente ciclitólico con variado tipo de sustituyentes.

Los más conocidos son los oligosacáridos aminociclitólicos cuyo estudio estructural y sintético comienza con el descubrimiento de la streptomina en 1944.

En el campo de los antibióticos los aminociclitoles desempeñan un papel preponderante, así como en el de los inhibidores enzimáticos, los glicosil-ciclitoles. Los glicosil-ciclitoles han presentado acciones destacadas, particularmente como inhibidores de las glicosidasas.

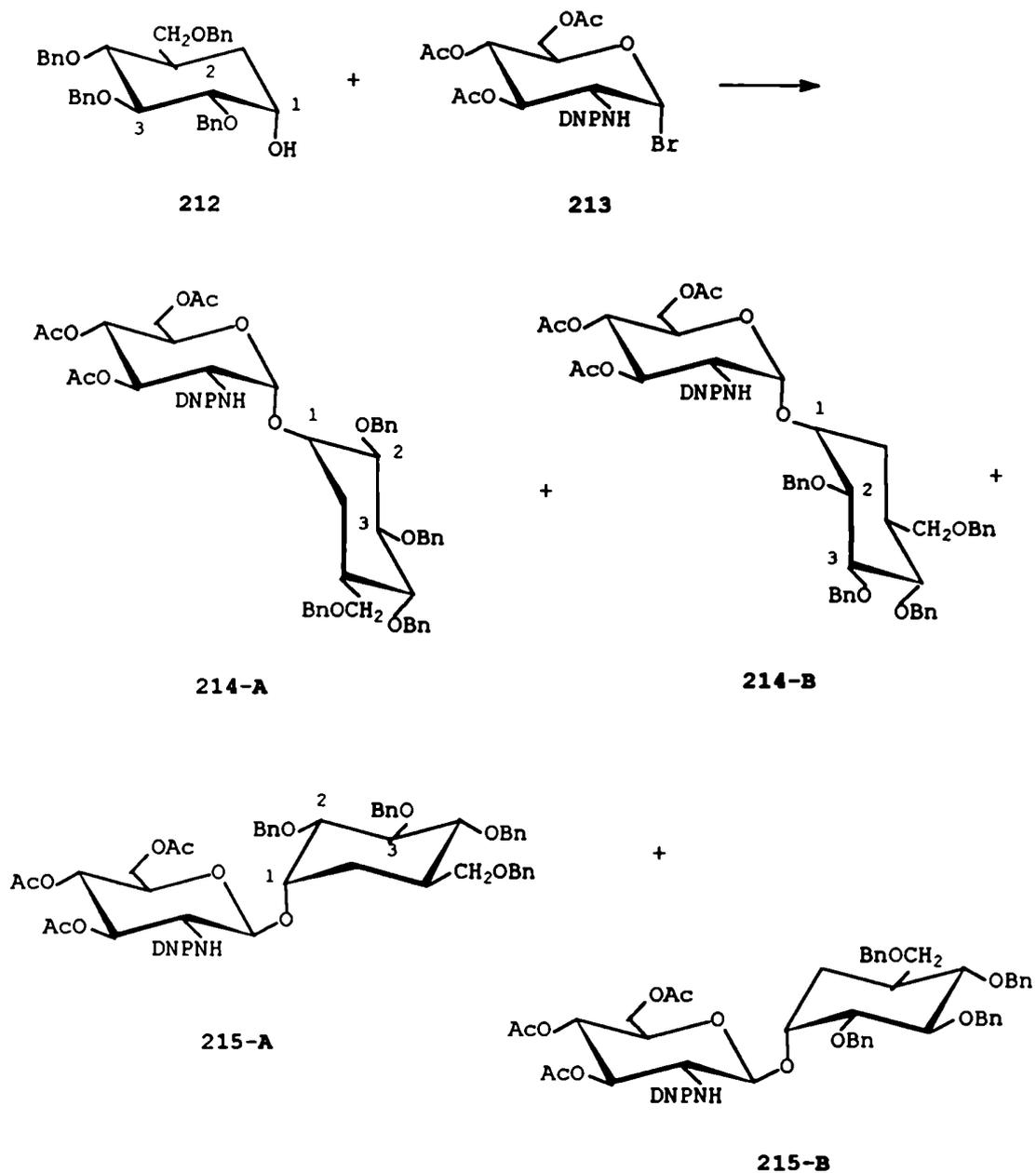
En el presente capítulo se describirán los trabajos más significativos referidos a éste último tipo de compuestos, mientras que en el capítulo cuatro se discutirán trabajos recientes referentes a oligosacáridos aminociclitólicos, en los que se pondrá en evidencia la metodología que se aplica modernamente en éste campo.

Ogawa y Shibata⁶⁸ sintetizaron la pseudo-trehalosamina (219-A), que es un pseudo-disacárido análogo del antibiótico trehalosamina (211).



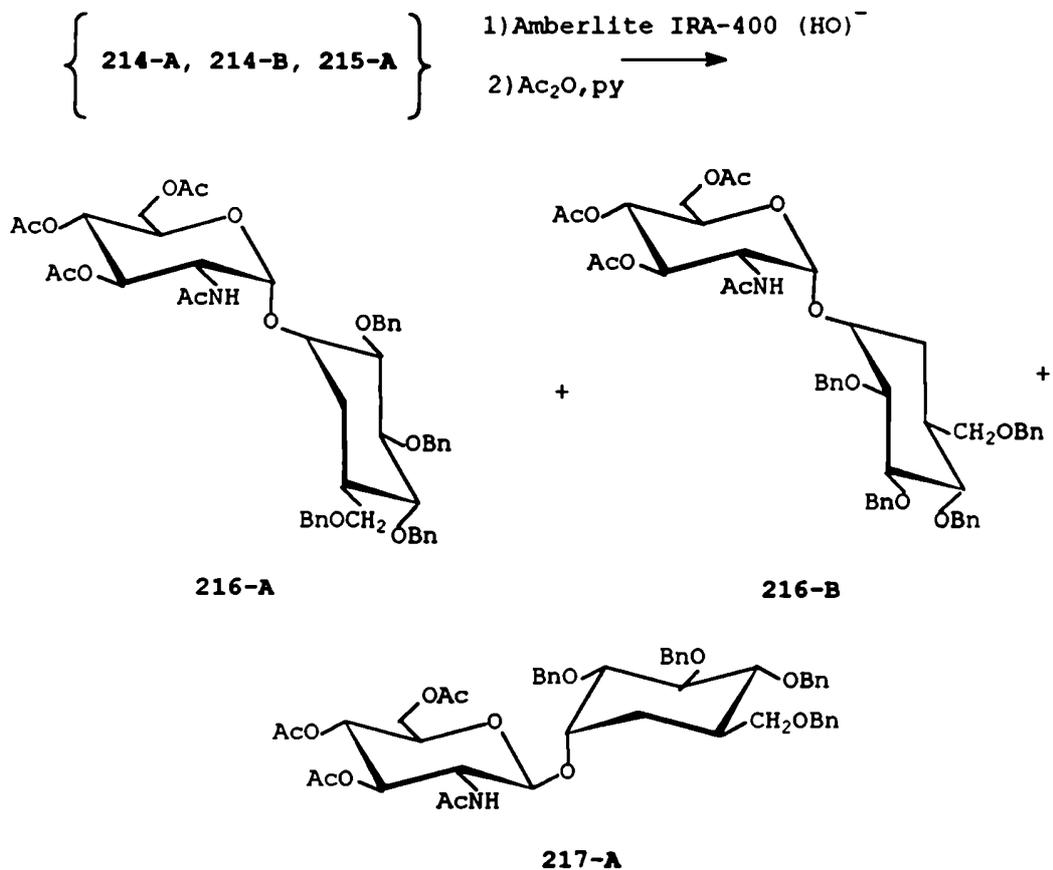
211

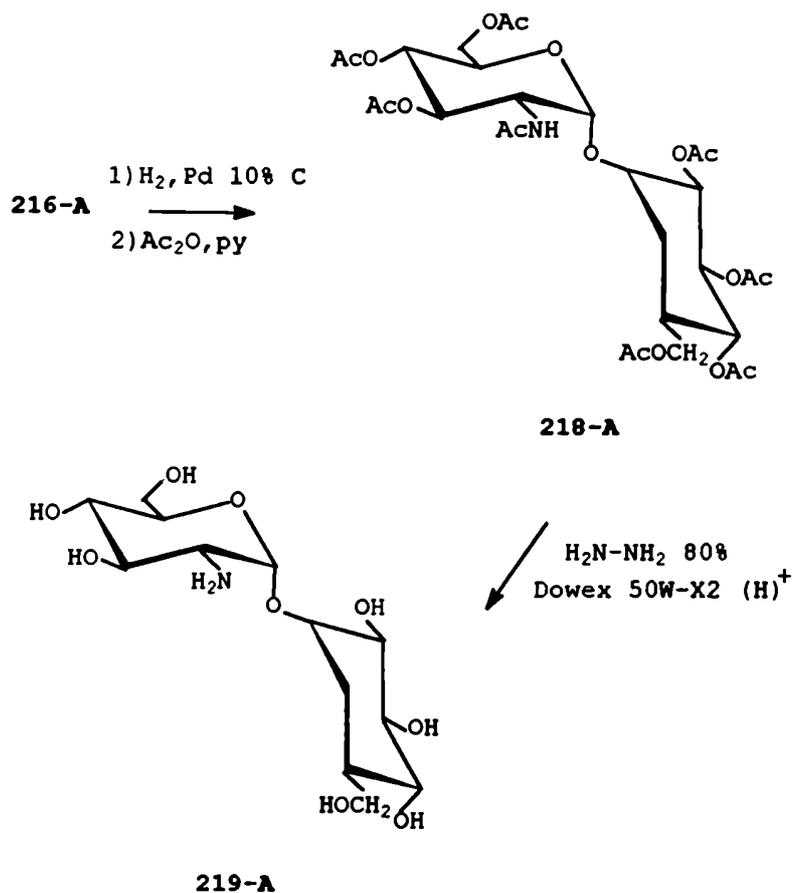
El acoplamiento del D,L-(1,2,4/3,5)-2,3,4-tri-O-bencil-5-benciloximetil-1,2,3,4-ciclohexanotetrol^{68,69} (212) con tres equivalentes de bromuro de 3,4,6-tri-O-acetil-2-desoxi-2-(2,4-dinitrofenilamino)- α -D-glucopiranosilo⁷⁰ (213), en diclorometano en presencia de carbonato de plata, perclorato de plata, 2,4,6-trimetilpiridina y sulfato de calcio durante cuatro horas a temperatura ambiente, dió una mezcla de los pseudo-disacáridos diastereoisoméricos (1S- α -D) 214-A, (1R- α -D) 214-B y (1S- β -D) 215-A con 63% de rendimiento, que se separó por cromatografía del isómero (1R- β -D) 215-B obtenido con 29% de rendimiento. El fraccionamiento posterior de la mezcla por cromatografía dió 8,3% de 214-B. El tratamiento de la mezcla de 214-A, 214-B y 215-A con resina alcalina Amberlite IRA-400 en metanol, para desbloquear los grupos amino, seguido de acetilación y separación cromatográfica, dió los N-acetil derivados 216-A, 216-B y 217-A con 8,8; 3,8; y 9,3% de rendimiento respectivamente, basado en 212.



Los compuestos 214-B y 215-B aislados antes también se convirtieron en los N-acetil derivados 216-B y 217-B con 7,1 y 9,2% de rendimiento respectivamente. La hidrogenólisis de 216-A, en metanol en presencia de paladio 10% sobre carbón seguido de acetilación dió el pseudo-disacárido peracetilado

218-A. El pseudo-disacárido libre [1(S)-(1,2,4/3,5)-2,3,4-trihidroxi-5-hidroximetil-1-ciclohexil]-2-amino-2-desoxi- α -D-glucopiranósido (219-A), se preparó por hidrazinólisis del correspondiente peracetato con rendimiento cuantitativo.





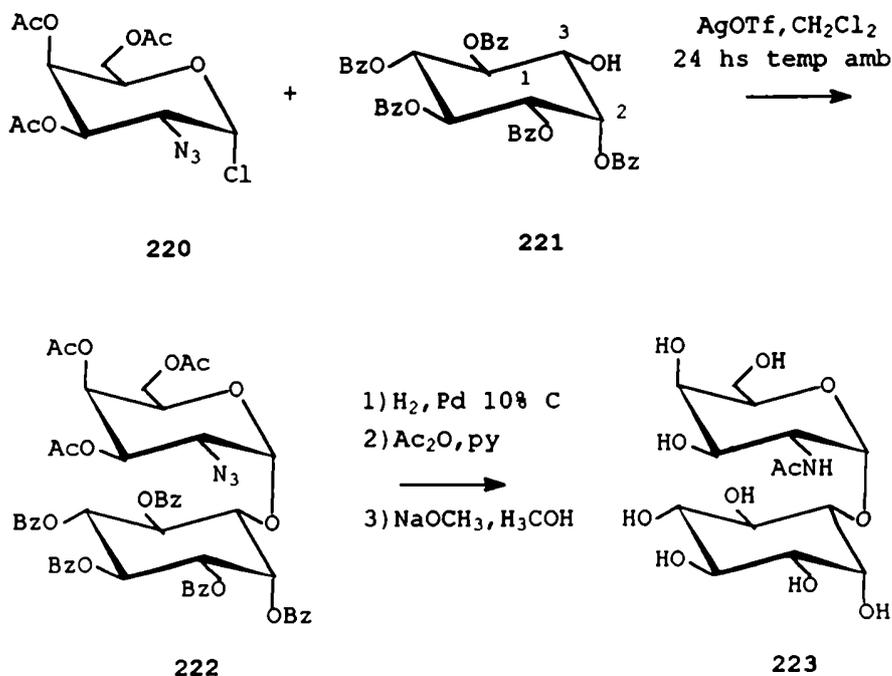
Alenfalk y col.⁷¹ llevaron a cabo la síntesis de los isómeros 1D- y 1L-1-O-(2-acetamido-2-desoxi- α -D-galactopiranosil)-*mio*-inositol con el objeto de determinar la configuración absoluta en la parte de inositol del 1-O-(2-acetamido-2-desoxi- α -D-galactopiranosil)-*mio*-inositol, aislado de la orina humana durante el período de gestación.

Como ninguno de los dos isómeros se corresponde espectroscópicamente (¹H-RMN) con el producto natural también se sintetizaron los correspondientes 2-O-derivados; la mezcla de 1D,L-4-O- y 5-O-(2-acetamido-2-desoxi- α -D-galactopiranosil)-*mio*-inositol. No obstante, ninguno de ellos mostró

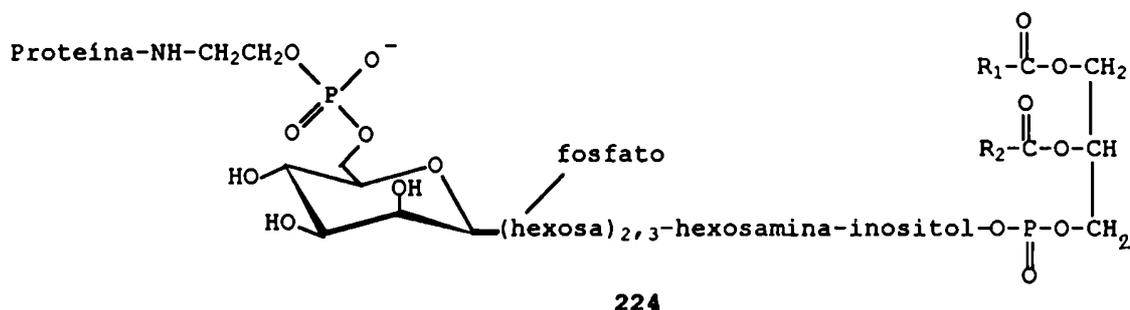
analogía ($^1\text{H-RMN}$) con el producto natural, por lo que el problema estructural no está resuelto aún.

Las glicosilaciones se llevaron a cabo utilizando el cloruro de 3,4,6-tri-O-acetil-2-azido-2-desoxi- α -D-galactopiranosilo⁷² (220) como donador de glicosilo y triflato de plata como catalizador, condiciones que dan el anómero α con buen rendimiento y estereoselectividad.

El 1D-1,2,4,5,6-penta-O-benzoil-*mio*-inositol^{71,73} (221), que contiene el grupo hidroxilo libre en C-3 reaccionó con 220 en diclorometano para dar el α -glicosil inositol 222 con 76% de rendimiento, que se separó del anómero β por cromatografía, este último con 10% de rendimiento. La hidrogenólisis de 222 seguida de N-acetilación y des-O-acilación dió el 1D-1-O-(2-acetamido-2-desoxi- α -D-galactopiranosil)-*mio*-inositol (223).



Los glicolípidos, comúnmente conocidos como glicosil fosfatidil inosoles (GPI) unen una gran variedad de proteínas de la pared celular a las membranas⁷⁴. Su estructura, biosíntesis y función es objeto de intensas investigaciones. Algunos fragmentos metabólicos de GPI generados por la acción combinada de proteasas y fosfolipasa C poseen propiedades bioquímicas asociadas previamente con preparaciones crudas de presuntos⁷⁵ mensajeros de insulina (PIM). Esto sugiere una similitud estructural entre GPI y PIM y confirma la heterogeneidad de PIM proveniente de distintos tipos de células. Con el objeto de facilitar la caracterización química y bioquímica de las múltiples formas de los GPI y PIM se han realizado esfuerzos por sintetizar el núcleo estructural de oligosacárido del tipo general 224.

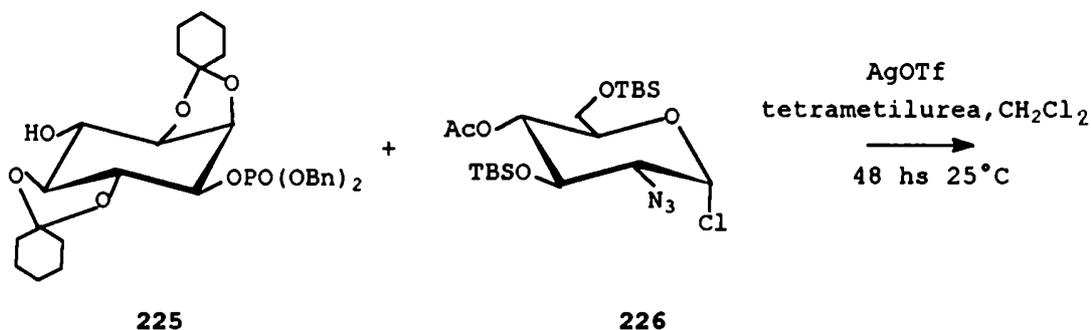


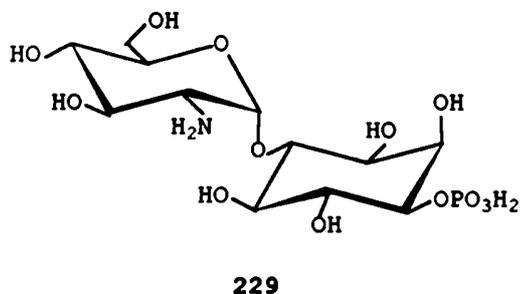
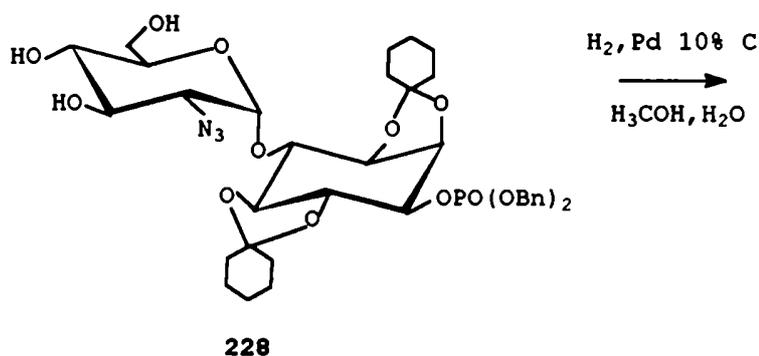
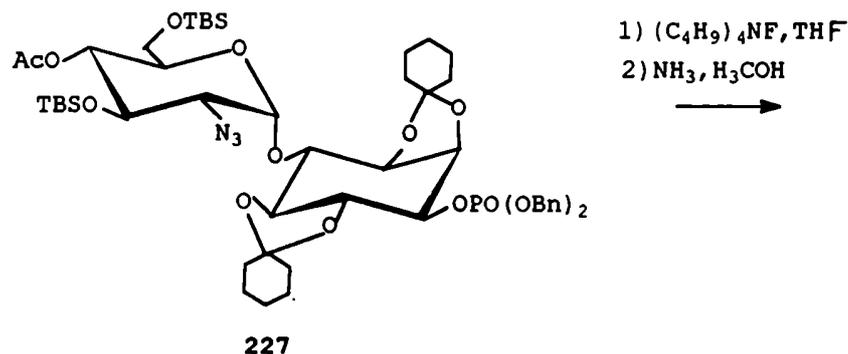
Los componentes del disacárido hexosamina-inositol varían según el origen. No obstante, en diversas preparaciones de GPI se encontró D-glucosamina- α -(1 \rightarrow 6)-mio-inositol. Por otra parte las glicoproteínas de la pared de tripanosomas están unidas a las membranas a través de hexosaminas-(1 \rightarrow 4)-inositoles y en preparaciones de hígado de rata se encontró D-galactosamina y D-chiro-inositol como componentes de PIM. Así en las primeras pruebas destinadas al

estudio estructural de GPI y PIM, se eligió sintetizar una hexosamina-inositol-fosfato con unión de tipo 1→4.

Berlin y col.⁷⁶ sintetizaron el 4-O-(2-amino-2-desoxi- α -D-glucopiranosil)-D-mio-inositol-1-fosfato (229), por condensación del 1,2;4,5-di-O-ciclohexilidén-3-O-dibencilfosforil-D-mio-inositol^{76,77,78} (225) con el cloruro de 4-O-acetil-2-azido-2-desoxi-3,6-di-O-terbutildimetilsilil- α -D-glucopiranosilo^{72,76,79} (226), empleando triflato de plata como catalizador, seguido de desprotección.

La condensación de 225 y 226 se llevó a cabo en diclorometano, en presencia de tetrametilurea y empleando triflato de plata como catalizador y un exceso doble del cloruro de glicosilo, para dar el gluco-mio-disacárido 227 con 47% de rendimiento, basado en el aceptor de glicosilo.





TBS = $t-Bu(CH_3)_2Si-$

La condensación, también dió el anómero β con un rendimiento del 10%, que se separó por cromatografía. Los bromuros de glicosilo dan mayor proporción del anómero β y los rendimientos de los productos de acople no son mayores. El gluco-mio-disacárido **227** se desbloqueó primero por desililación utilizando fluoruro de tetrabutilamonio seguido de desacetilación para dar el triol **228** con 60% de

rendimiento. La hidrogenólisis de los grupos bencilfosfato y azido se realizó en presencia de paladio 10% sobre carbón, para dar el 4-O-(2-amino-2-desoxi- α -D-glucopiranosil)-1-O-dihidrogenofosforil-D-mio-inositol (229). Según Vacca y col.⁷⁷ cuando en las hidrogenólisis se utiliza como solvente una mezcla de metanol-agua, el grupo fosfato liberado posee la acidez suficiente para hidrolizar los acetales, de manera tal que la hidrogenólisis e hidrólisis de los grupos ciclohexilidén se realiza en una sola etapa.

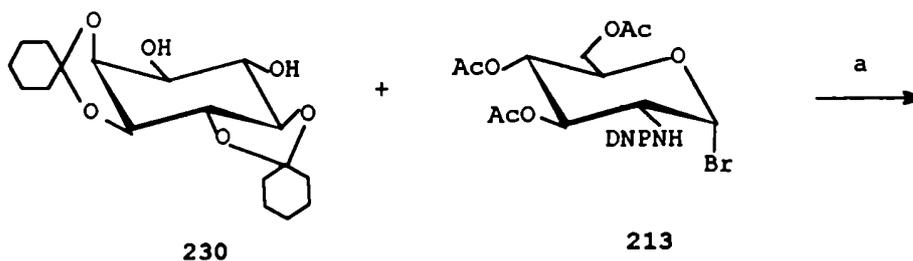
Plourde y d'Alarcao⁸⁰ sintetizaron el disacárido 6-O-[(2-amino-2-desoxi)- α -D-glucopiranosil]-D-mio-inositol-1-fosfato (234) por resolución del producto de condensación de Koenigs-Knorr del bromuro de 3,4,6-tri-O-acetil-2-(2,4-dinitrofenilamino)- α -D-glucopiranosilo^{68,70} (213) con el 1,2;5,6-di-O-ciclohexilidén-D,L-mio-inositol⁸¹ (230).

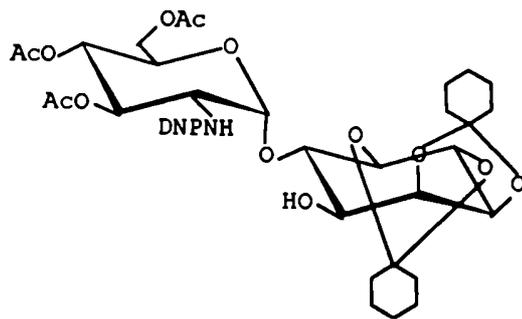
El fosfodisacárido 234 constituye la porción terminal y presumiblemente esencial de los presuntos mensajeros secundarios de insulina, además de ser el sitio de unión de las glicoproteínas en las membranas celulares. Estudios preliminares sugerían que el disacárido compuesto por D-glucosamina unida glicosídicamente $\alpha(1\rightarrow6)$ al D-inositol-1-fosfato sería la subunidad estructural de los fosfoligosacáridos suficiente para poseer actividad insulino-mimética⁸².

La reacción de Koenigs-Knorr del inositol racémico 230 con el bromuro de glucosamina protegido 213 dió una mezcla de ocho disacáridos isómeros que se separaron cuidadosamente por cromatografía-flash. El isómero deseado 6-O-[3,4,6-tri-O-acetil-2-desoxi-2-(2,4-dinitrofenilamino)- α -D-glucopirano-

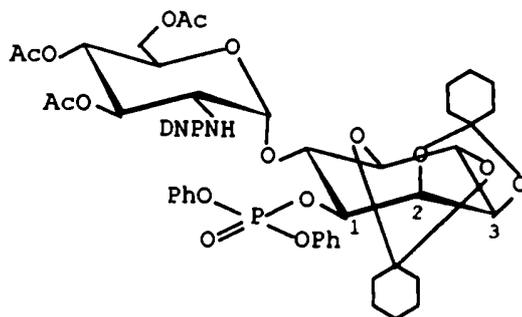
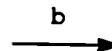
sil]-2,3;4,5-di-O-ciclohexilidén-D-mio-inositol (231) se obtuvo de la mezcla con un rendimiento del 30% basado en 230. La fosforilación de 231 con cloruro de difenilfosforilo condujo al fosfodisacárido protegido 232. Por tratamiento con hidróxido de litio 1 M en dioxano durante dieciocho horas a 25°C y luego una hora a 95°C, se eliminaron los grupos acetilo, dinitrofenilo y uno de los grupos fenilo del fosfortriéster, para dar el zwitterion 233. La hidrogenólisis en presencia de óxido de platino en una mezcla de etanol-agua con trazas de ácido acético 80% durante una hora a 95°C, eliminó los grupos protectores restantes.

De esta manera, el fosfodisacárido 234 ópticamente puro, se preparó a partir del inositol racémico 230 con un rendimiento global del 7%.

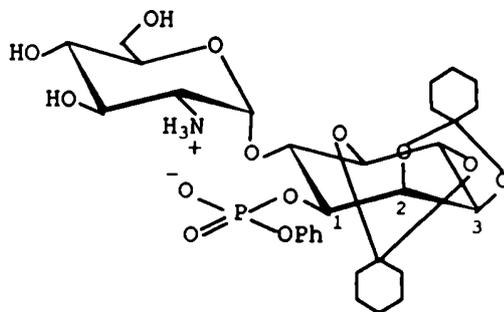
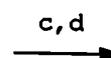




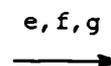
231

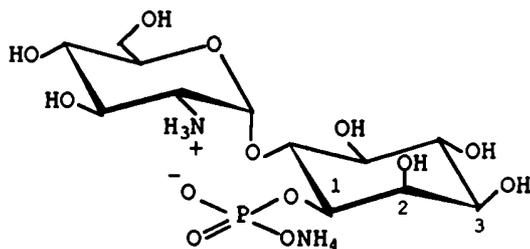


232



233





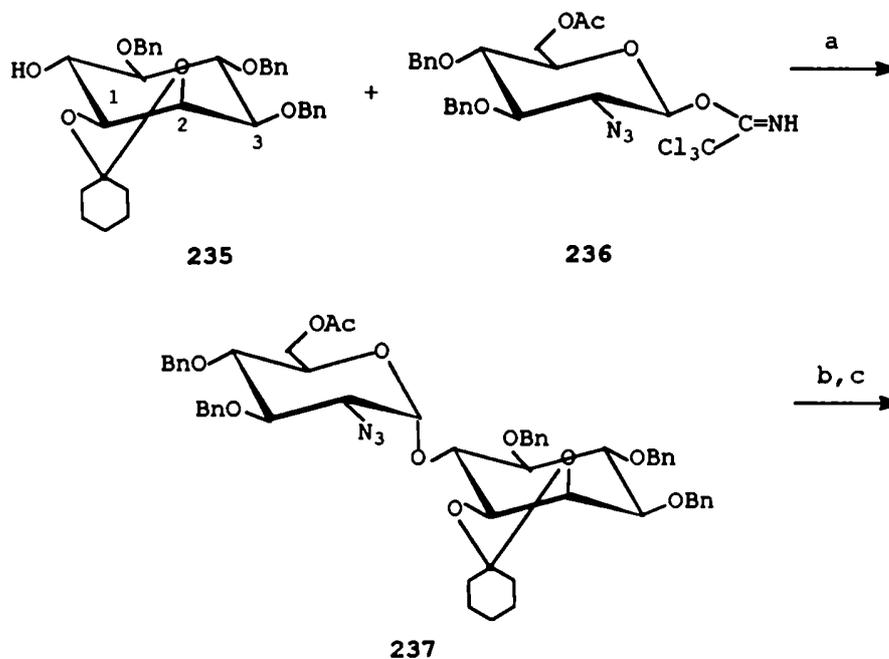
234

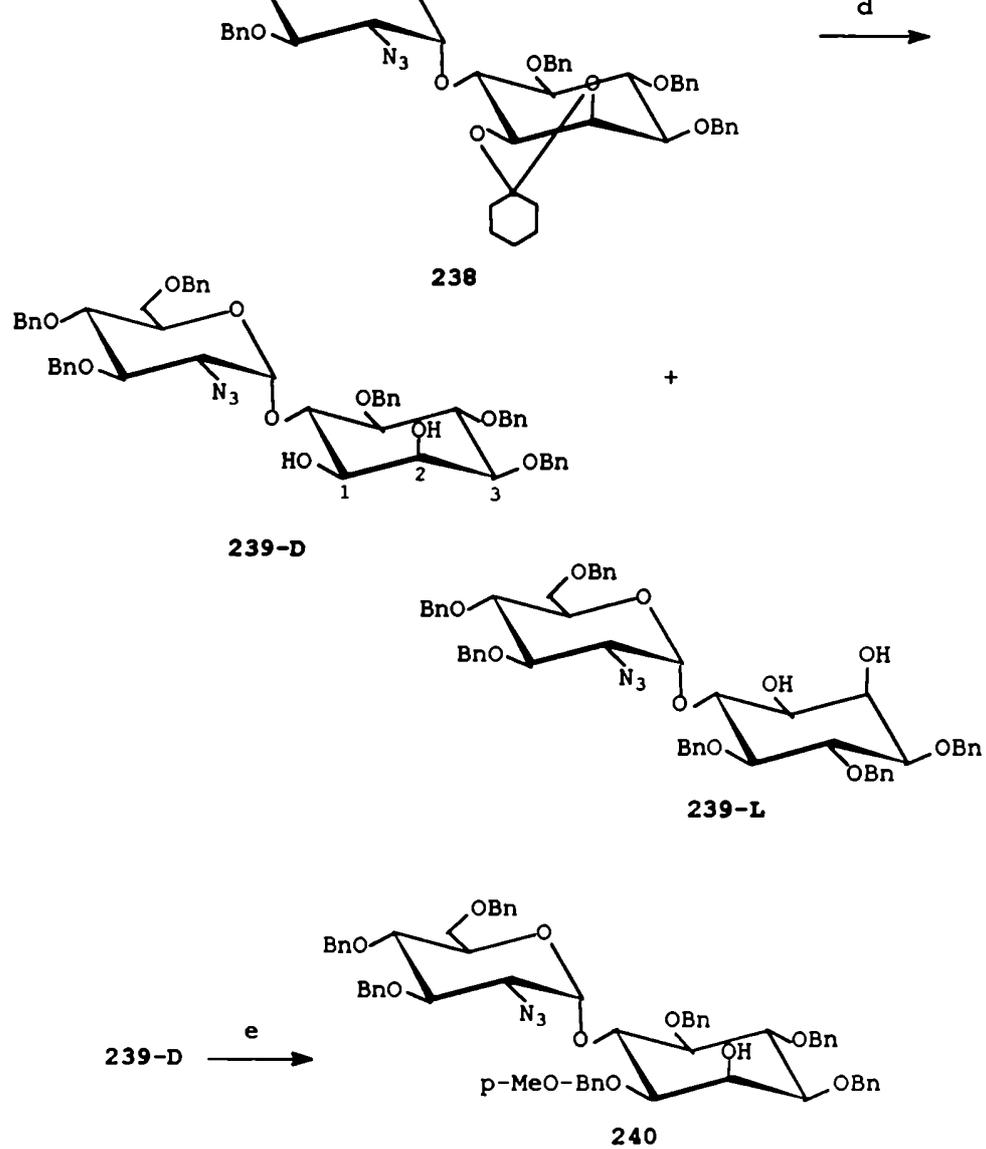
a = AgCO_3 ; AgClO_4 ; CaSO_4 ; CH_2Cl_2 ; 2,4,6-collidina. b = $(\text{PhO})_2\text{POCl}$, py, DMAP, benceno. c = LiOH 1 M, dioxano. d = H_3CCOOH . e = H_2 , PtO_2 , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}-\text{H}_2\text{O}$, trazas H_3CCOOH . f = H_3CCOOH 80%. g = DEAE celulosa, gradiente de NH_4 (H_3CCOO).

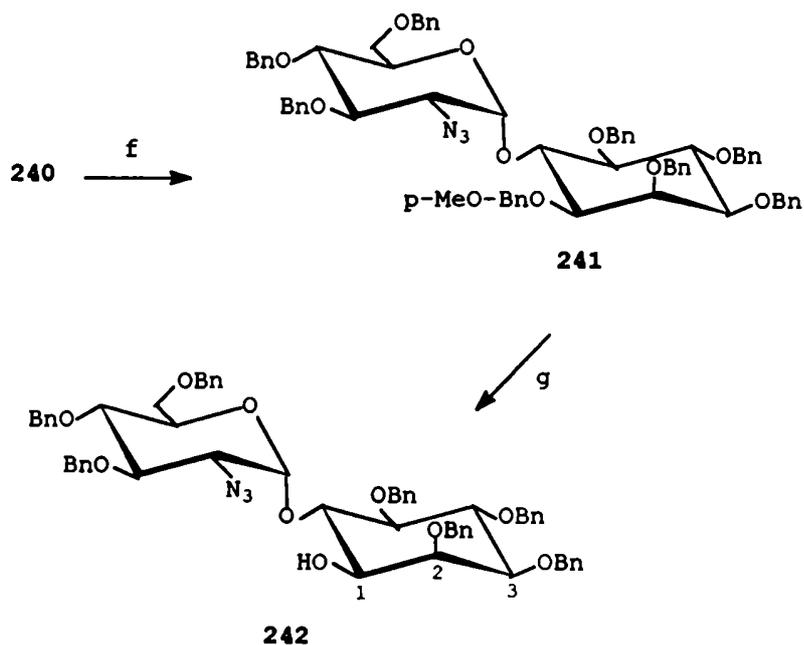
Verduyn y col.⁸³ desarrollaron una síntesis estereoespecífica del 2-azido-2-desoxi-D-glucosil-D-mio-inositol (242) parcialmente bloqueado precursor de la actividad insulino-mimética potencial^{80,82} y el sitio de unión de glicoproteínas en las membranas celulares⁸⁴.

La glicosilación del 3,4,5-tri-O-bencil-1,2-O-ciclohexilidén-mio-inositol racémico^{83,85} (235) con el O-(6-O-acetil-2-azido-3,4-di-O-bencil-2-desoxi- β -D-glucopiranosil)-tricloroacetimidato^{83,86} (236), se llevó a cabo empleando triflato de trimetilsililo (TMSOTf) como catalizador en diclorometano a -20°C , observándose la formación exclusiva de la unión α -glicosídica. Por purificación posterior se obtuvo la mezcla diastereoisomérica del disacárido 237 con 84% de rendimiento basado en 235. La desacetilación de la mezcla seguida de bencilación condujo a los isómeros 238. La hidrólisis ácida del grupo 1,2-ciclohexilidén dió los dioles 239-L y 239-D, que se separaron por cromatografía, con 39 y 43% de rendimiento respectivamente, aislándose el último en

estado cristalino. Luego, el grupo hidroxilo en C-2 del diol 239-D se bloqueó de la siguiente manera: primero, el complejo dibutylestannilidén⁸⁷ de 239-D se trató con cloruro de p-metoxibencilo en presencia de bromuro de tetrabutilamonio⁸⁸ para dar el glicosil inositol parcialmente bloqueado 240 con 76% de rendimiento. La bencilación seguida de hidrólisis ácida del grupo p-metoxibencilo dió el azido-D-glucosil-D-mio-inositol 242 ópticamente puro.







a = TMSOTf, CH_2Cl_2 , -20°C . b = NaOCH_3 , $\text{H}_3\text{COH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$. c = PhCH_2Br
 NaH , DMF, $(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{NI}$. d = HCl , $\text{H}_3\text{COH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$. e = $(\text{C}_4\text{H}_9)_2\text{SnO}$, toluene,
 p-(H_3CO)- PhCH_2Cl , $(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{NBr}$. f = PhCH_2Br , NaH , DMF, $(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{NI}$.
 g = $\text{F}_3\text{C}-\text{COOH}$ 2%, CH_2Cl_2 .

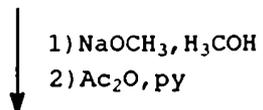
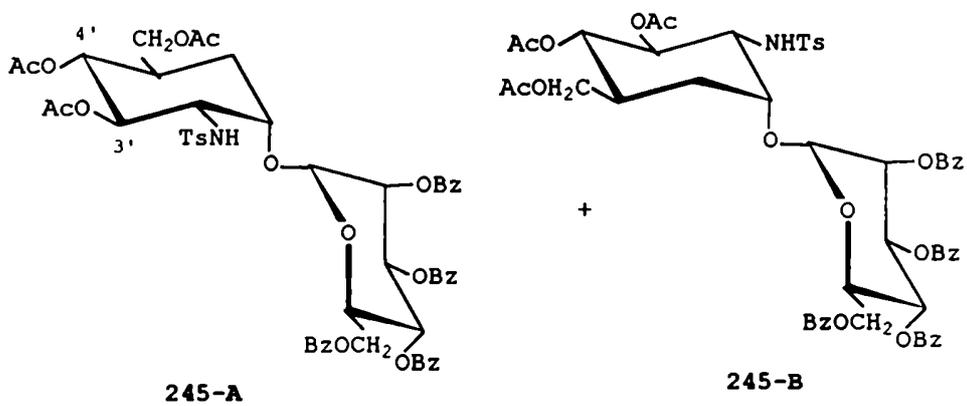
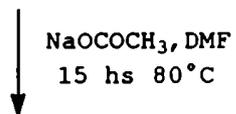
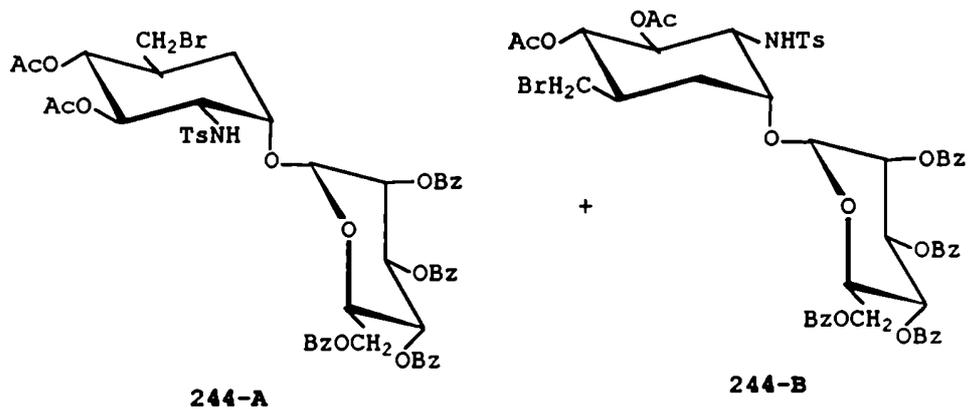
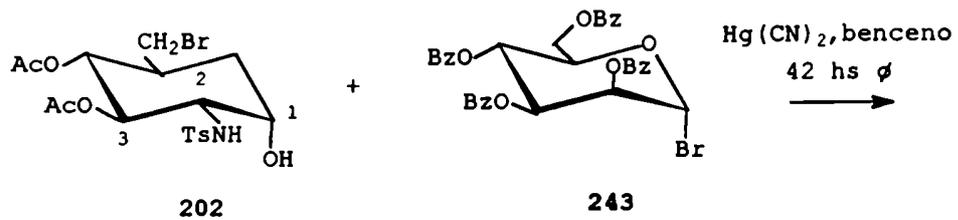
TMSOTf = $\text{F}_3\text{C}-\text{SO}_2-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$

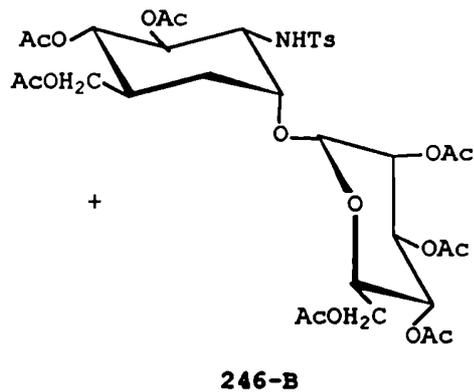
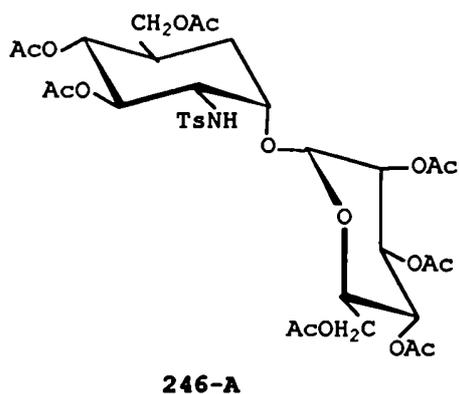
El camino sintético descrito aquí es en varios aspectos, como por ejemplo la estereoespecificidad de la glicosilación y la separación eficiente de los diastereoisómeros 239 D/L superior a los informados en la literatura previamente^{80,89,90}.

Se determinó la configuración absoluta de los dioles 239-L y 239-D mediante un procedimiento análogo al descrito, pero partiendo del *mio*-inositol ópticamente activo 235-D^{83,91} y comparando los datos físicos y espectroscópicos (^1H y ^{13}C -RMN) del diol ópticamente activo 239-D obtenido como un producto cristalino con el diol 239-D cristalino preparado a partir del inositol racémico 235.

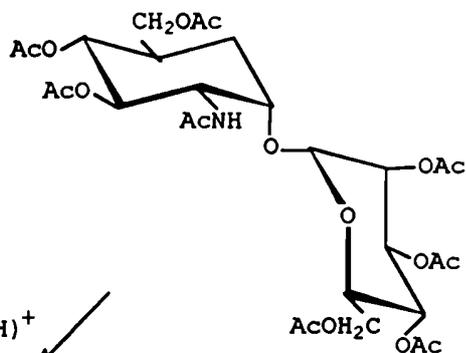
Ogawa y Shibata⁹² sintetizaron el pseudo-disacárido **248-A** análogo del 2-amino-2-desoxi- α -D-glucopiranosil- α -D-manopiranosido.

La condensación del D,L-(1,2,4/3,5)-3,4-di-O-acetil-5-bromometil-2-(p-toluensulfonamido)-1,3,4-ciclohexanotriol⁶⁶ (202) con el bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil- α -D-manopiranosilo⁹³ (243) en benceno a reflujo en presencia de cianuro mercurico durante cuarenta y dos horas dió una mezcla de pseudo-disacáridos diastereoisoméricos **244-A** y **B** con 84% de rendimiento. Las condiciones de reacción empleadas favorecieron la formación del α -glucósido. El tratamiento de la mezcla con acetato de sodio anhidro en dimetilformamida a 80°C dió la mezcla de los 3',4',6'-triacetatos **245-A** y **B** con 64% de rendimiento, que se desaciló con metóxido de sodio en metanol y luego se acetiló por el procedimiento usual para dar los heptacetatos **246-A** y **B** que se separaron por cromatografía con 32 y 30% de rendimiento respectivamente. El tratamiento de **246-A** con sodio en amoníaco líquido, seguido de acetilación dió el octacetil derivado **247-A** con 47% de rendimiento. La hidrazinólisis de **247-A** seguida de purificación con resina ácida Dowex 50W-X2 condujo al pseudo-disacárido [(1S)-(1,2,4/3,5)-2-amino-3,4-dihidroxi-5-hidroximetil-1-ciclohexil]- α -D-manopiranosido (**248-A**).

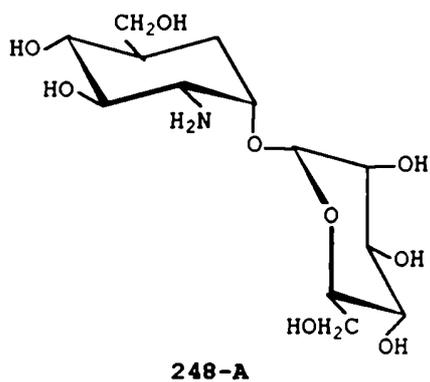




1) Na, NH₃ liq.
2) Ac₂O, py



H₂N-NH₂ 80%
1/2 hora ϕ
Dowex 50W-X2 (H)⁺



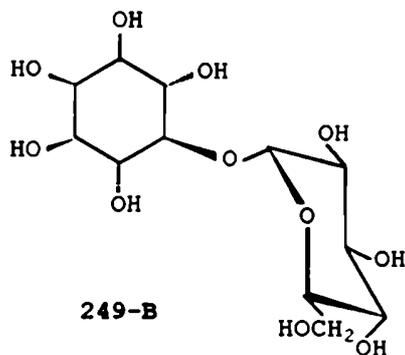
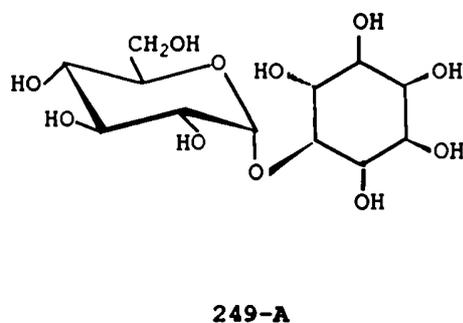
Los carba-azúcares⁹⁴ análogos de los oligosacáridos naturales de interés biológico se han utilizado como compuestos modelo para el análisis conformacional de los

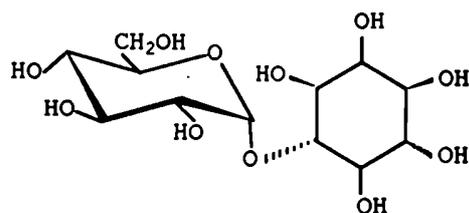
oligosacáridos verdaderos, o como sustratos para el estudio de acciones enzimáticas.

Sato y col.⁹⁵ obtuvieron una mezcla de isómeros de posición del glucosil-*mio*-inositol por digestión con glucoamilasa de los oligoglucosil-inositales sintetizados utilizando el *mio*-inositol como aceptor y β -ciclodextrina como donador por transglucosilación con ciclomaltodextrina glucanotransferasa (CGTasa) de *Bacillus ohbensis*^{96,97}.

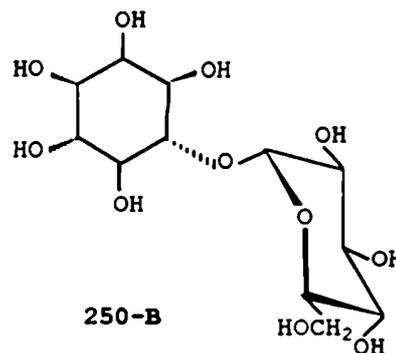
La fracción de glucosil-inositales se separó por cromatografía de intercambio iónico. Esta fracción está compuesta por dos isómeros de posición que se aislaron por cristalización y HPLC en columna de grafito.

La estructura de uno de los dos isómeros se determinó como el O- α -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 5)-*mio*-inositol aislado como el par diastereoisomérico (249-A y B) y el otro se postuló como el 1D-4-O- α -D-glucopiranosil-*mio*-inositol (250-A y B) a partir de datos fisicoquímicos y espectroscópicos.





250-A



250-B

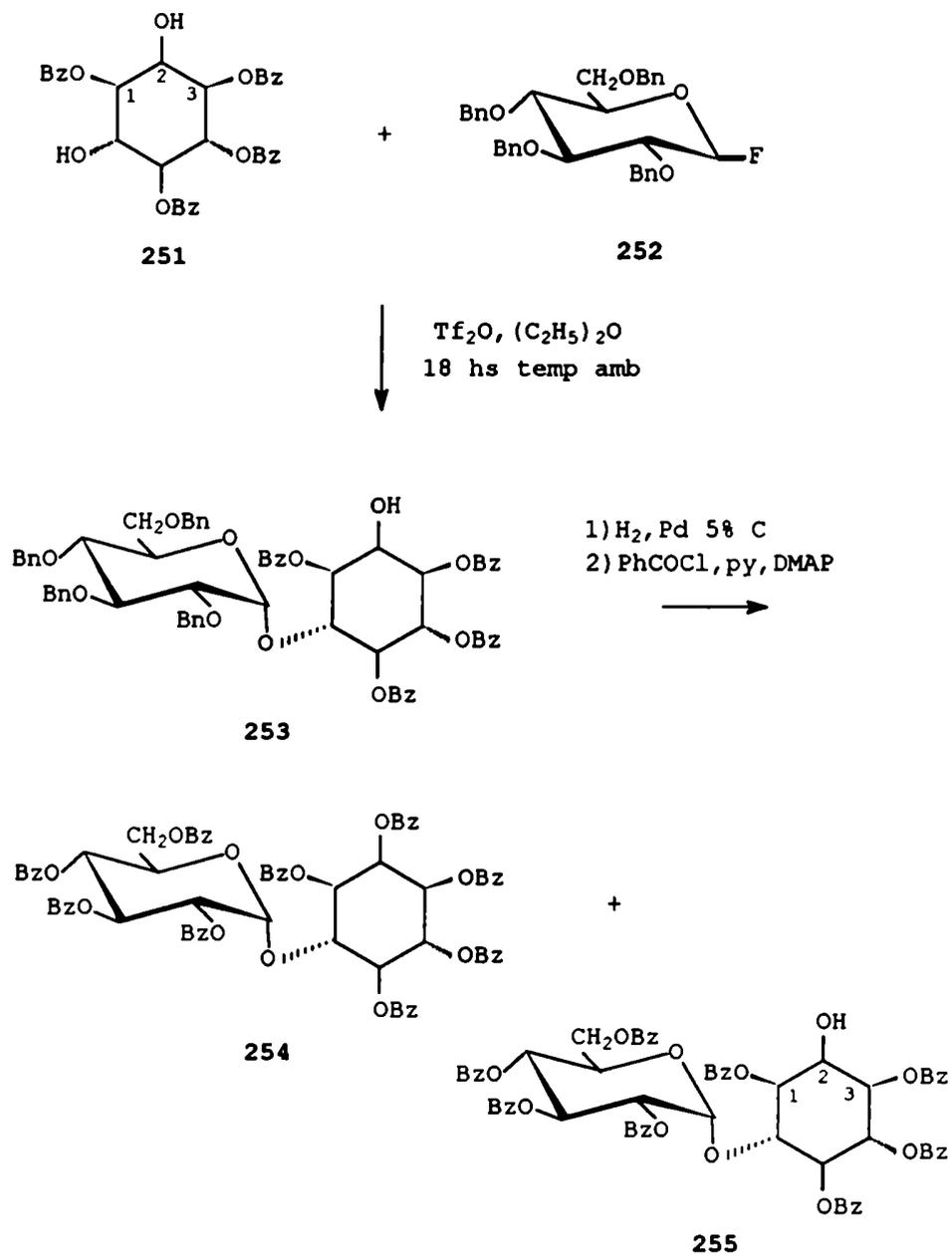
También se llevaron a cabo los ensayos de asimilación de la mezcla de isómeros de posición del glucosil inositol cristalino por bacterias intestinales, encontrándose que el glucosil-*mio*-inositol es un factor estimulante del crecimiento para las bifidobacterias.

Posteriormente, Watanabe y col.⁹⁸ determinaron la configuración absoluta del 4- α -D-glucopiranosil-*mio*-inositol, uno de los productos de transglicosilación enzimática de la β -ciclodextrina al *mio*-inositol⁹⁵ mediante una síntesis química.

Asimismo, el análisis por HPLC demostró que la glicosilación enzimática transcurre con alto grado de diastereoselectividad.

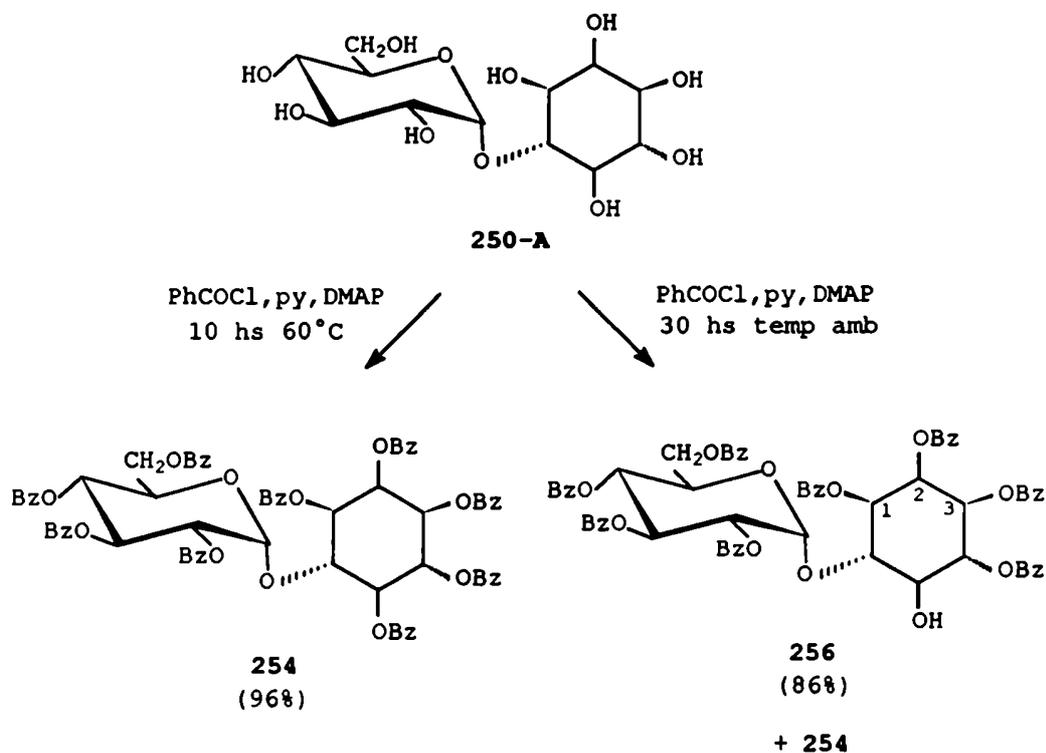
El 1L-1,3,4,5-tetra-O-benzoil-*mio*-inositol⁹⁹ (251) (con 74% de exceso enantiomérico¹⁰⁰) se glicosiló selectivamente en C-6 por reacción con fluoruro de 2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucopiranosilo (252)¹⁰¹ (α/β 1:1) en presencia de anhídrido trifluorometanosulfónico¹⁰² para dar el α -D-glucósido 253 con 76% de rendimiento, junto con el β -D-glucósido con 11% de rendimiento acompañado por una pequeña cantidad de otros productos no identificados. La eliminación de los grupos bencilo por hidrogenólisis seguida de benzoilación exhaustiva

condujo al nonabenzoato 254 (66%) junto con el 2-hidroxi derivado 255 (23%).



Por otra parte, el producto de glicosilación enzimática⁹⁵ 250-A se benzoiló a 60°C para dar 254, mientras que la

reacción a temperatura ambiente dió el 5-hidroxi derivado 256 como producto principal junto con 11% de 254. En este caso no se formó el 2-hidroxi derivado 255.



El análisis por HPLC del glucosil-*myo*-inositol 250 obtenido por desprotección con metóxido de sodio de la mezcla diastereomérica de 254 mostró dos picos en relación (1:1), uno de los cuales coincide con el pico correspondiente al producto de glicosilación enzimática 250-A y la relación de 250-A/250-B fué de 98,8/1,2. Por lo tanto, la glicosilación enzimática transcurre con alto grado de diastereoselectividad.

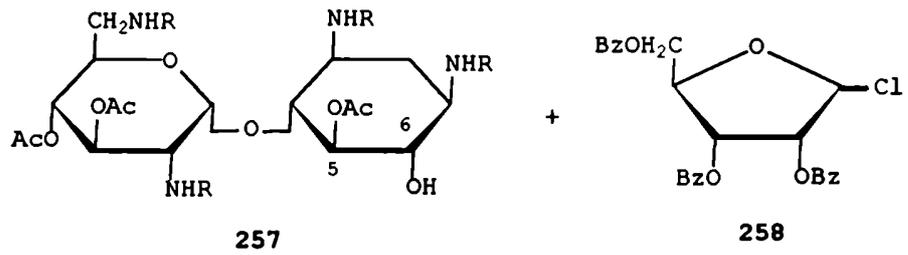
CAPITULO IV
SINTESIS DE PSEUDO-OLIGOSACARIDOS
RELACIONADOS CON LAS INGSAMINAS

**SINTESIS DE PSEUDO-OLIGOSACARIDOS
RELACIONADOS CON LAS INOSAMINAS**

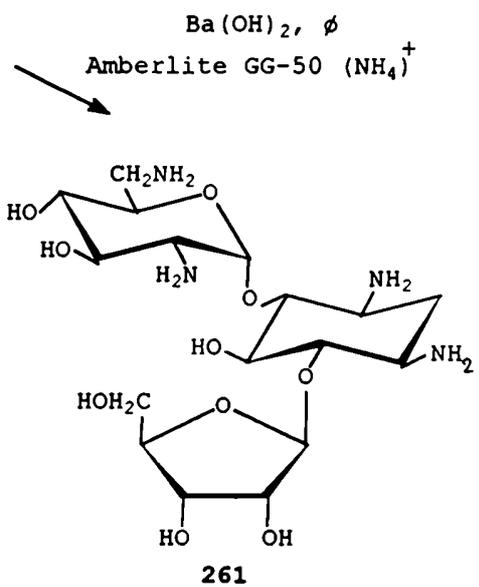
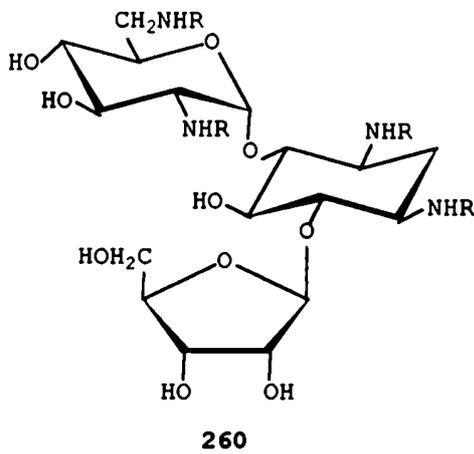
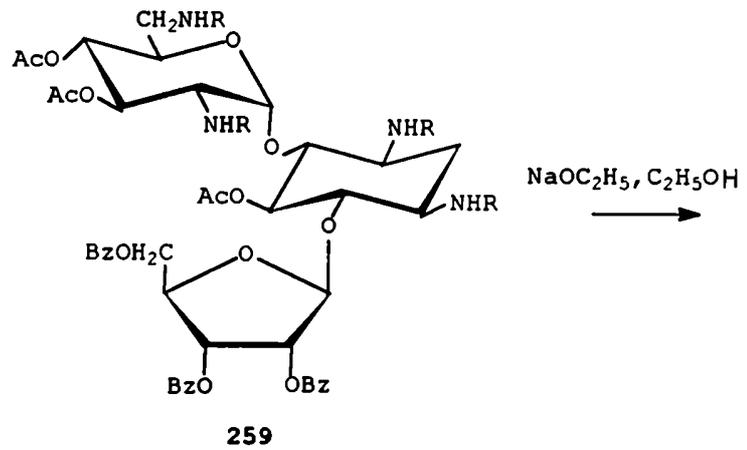
Suami y col.¹⁰³ llevaron a cabo modificaciones en el hidroxilo de C-6 de la unidad de 2-desoxi-streptamina del antibiótico aminociclitólico neamina con la finalidad de estudiar la relación entre estructura y actividad antimicrobiana.

La condensación de la 5,3',4'-tri-O-acetil-1,3,2',6'-tetra-N-(etoxicarbonil)-neamina^{103,104} (257) con el cloruro de 2,3,5-tri-O-benzoil-D-ribofuranosilo¹⁰⁵ (258) en presencia de cianuro mercúrico, seguido de acetilación y purificación cromatográfica, condujo a la 5,3',4'-tri-O-acetil-6-O-(2,3,5-tri-O-benzoil-β-D-ribofuranosil)-1,3,2',6'-tetra-N-(etoxicarbonil)-neamina (259) con 59% de rendimiento. La des-O-acilación de 259 dió la 1,3,2',6'-tetra-N-(etoxicarbonil)-6-O-(β-D-ribofuranosil)-neamina (260). El compuesto 260 se hidrolizó con hidróxido de bario y se purificó con resina Amberlite GG-50 (NH₄') para dar la 6-O-(β-D-ribofuranosil)-neamina (261).

La introducción del residuo de β-D-ribosa en C-6 disminuye la actividad antimicrobiana, comparada con la de la neamina.



1) $\text{Hg}(\text{CN})_2$, benceno, drierita
 143 hs ϕ
 2) AcO_2 , py

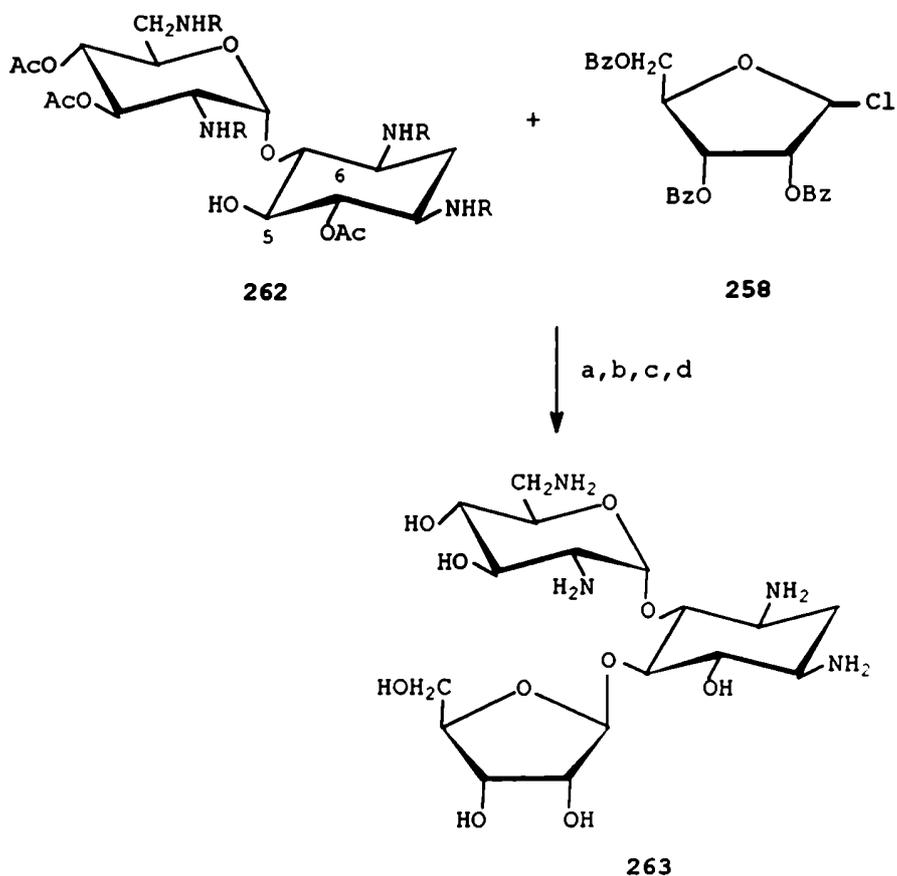


$\text{R} = -\text{COOC}_2\text{H}_5$

También Suami y col.¹⁰⁶, por un procedimiento análogo al descrito antes, introdujeron un residuo de β-D-ribosa en el hidroxilo de C-5 de la unidad de 2-desoxi-streptamina, de la neamina.

La condensación de la 6,3',4'-tri-O-acetil-1,3,2',6'-tetra-N-(etoxicarbonil)-neamina¹⁰³ (262) con 258 seguido de desprotección condujo a la ribostamicina (263) con un rendimiento global del 47%.

La ribostamicina es un antibiótico aminociclitólico producido por *Streptomyces ribosidificus*.



R = -COOC₂H₅

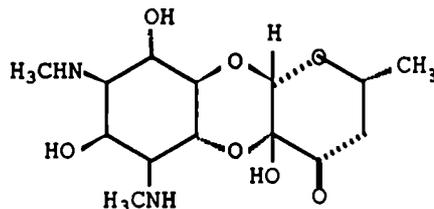
a = Hg(CN)₂, benceno, drierita, 22 hs ø. b = Ac₂O, py.

c = NaOC₂H₅, C₂H₅OH. d = Ba(OH)₂, b, Amberlite GG-50 (NH₄)⁺

Suami y col.¹⁰⁷ sintetizaron una de las cuatro tetrahidrospectomicinas, descritas por Knight y Hoeksema¹⁰⁸.

La spectomicina (264) es un antibiótico aminociclitólico producido por fermentación de *Streptomyces spectabilis* y de amplio uso en tratamientos clínicos.

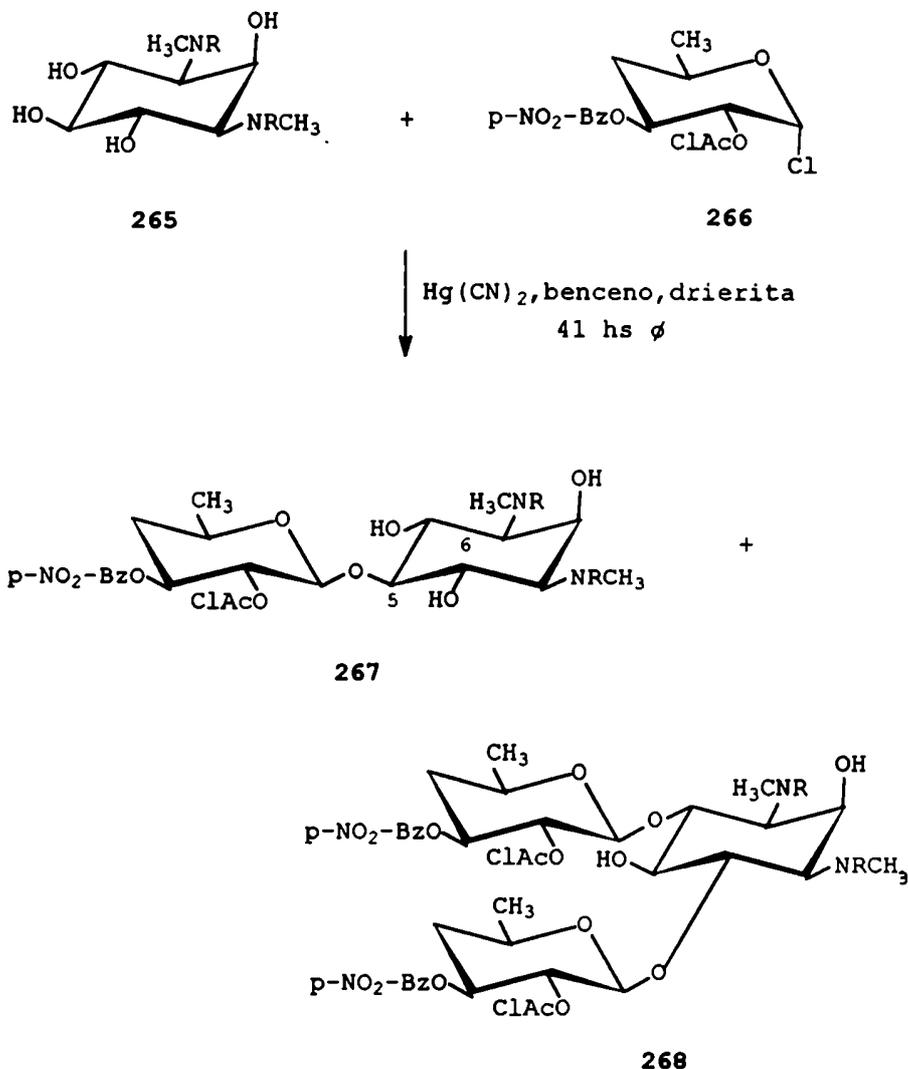
La reducción de la spectomicina con borohidruro de sodio o con hidrógeno en presencia de un catalizador da dos dihidrospectomicinas¹⁰⁹ epímeras, cuya reducción posterior da cuatro tetrahidrospectomicinas¹⁰⁸.



264

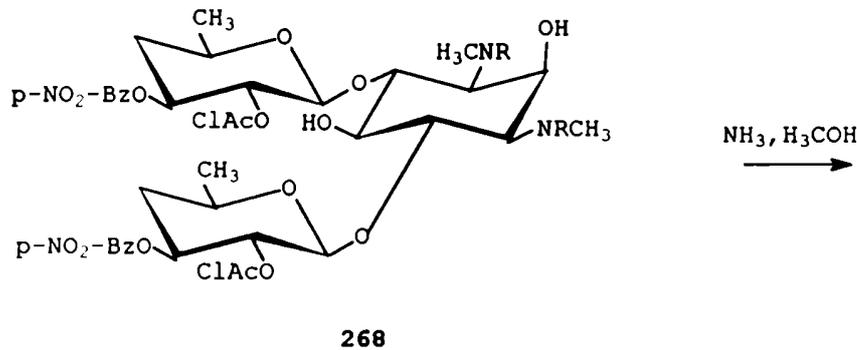
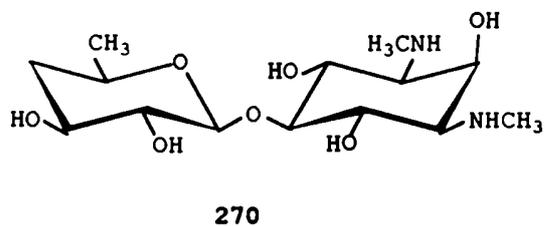
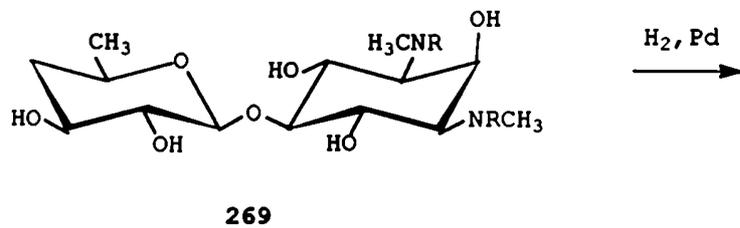
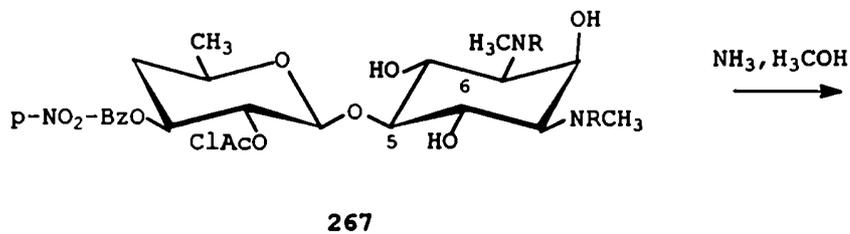
La condensación de la 1,3-bis-N-(benciloxicarbonil)-actinamina^{45,107,110} (265) con el cloruro de 2-O-cloroacetil-4,6-didesoxi-3-O-p-nitrobenzoíl- α -D-xilo-hexopiranosilo^{107,111, 112} (266) en benceno a reflujo en presencia de cianuro mercúrico dió una mezcla de tres productos. La purificación de la mezcla por cromatografía dió la 1,3-bis-N-(benciloxicarbonil)-5-O-(2-O-cloroacetil-4,6-didesoxi-3-O-p-nitrobenzoíl- β -D-xilo-hexopiranosil)-actinamina (267) cristalina con 7,8% de rendimiento junto con la 1,3-bis-N-(benciloxicarbonil)-4,6-bis-O-(2-O-cloroacetil-4,6-didesoxi-3-O-p-nitrobenzoíl- β -D-xilo-hexopiranosil)-actinamina (268)

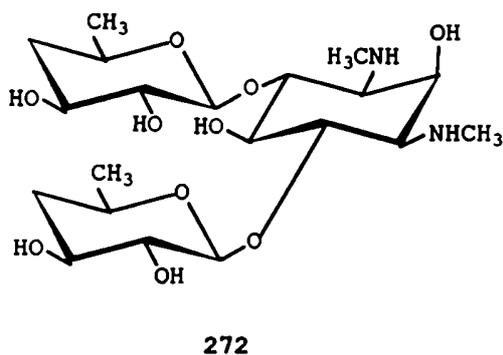
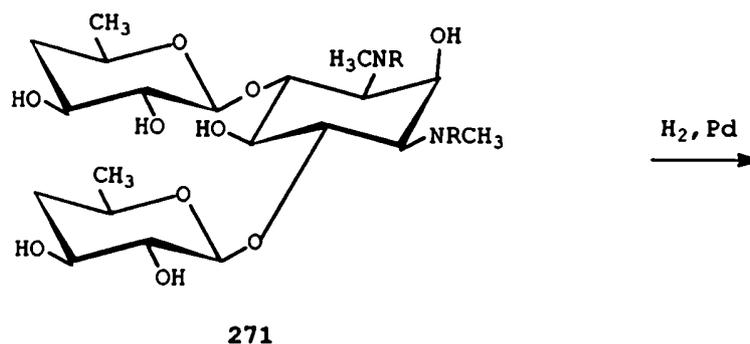
con 13% de rendimiento y un isómero de 267 con 1,7% de rendimiento cuya estructura no fué clarificada.



La eliminación de los grupos protectores de 267 dió la 5-O-(4,6-didesoxi-β-D-xilo-hexopiranosil)-actinamina (270), idéntica a una de las cuatro tetrahidrospectomicinas descritas por Knight y Hoeksema¹⁰⁸.

La eliminación de los grupos protectores de 268 dió la 4,6-bis-O-(4,6-didesoxi-β-D-xilo-hexopiranosil)-actinamina (272).

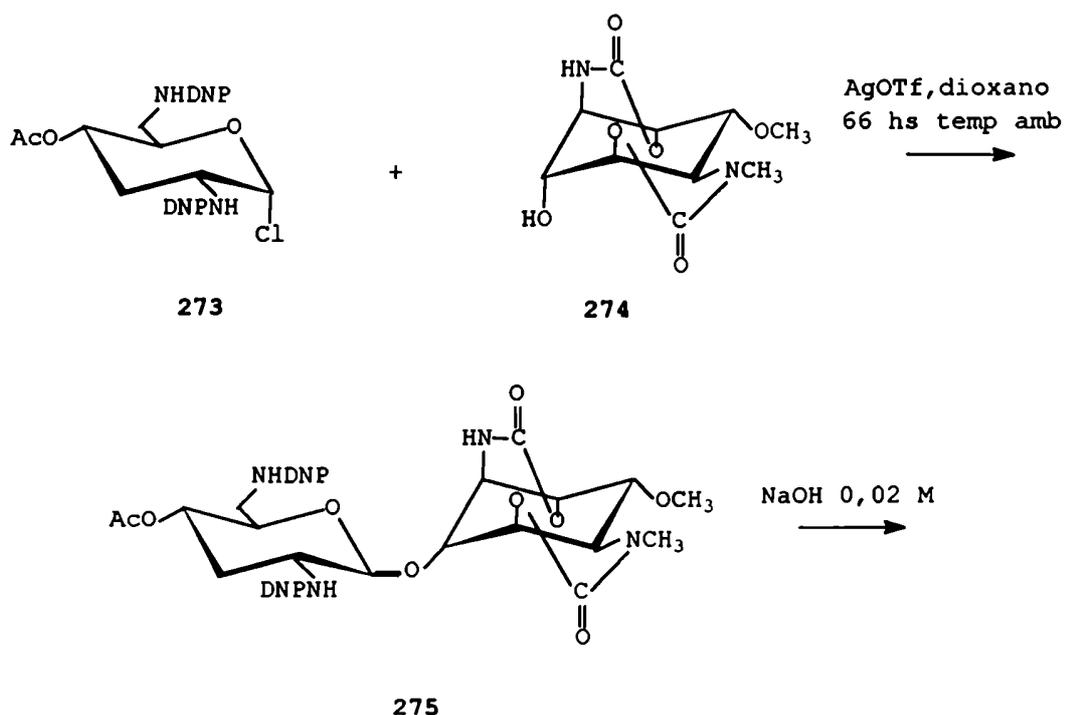


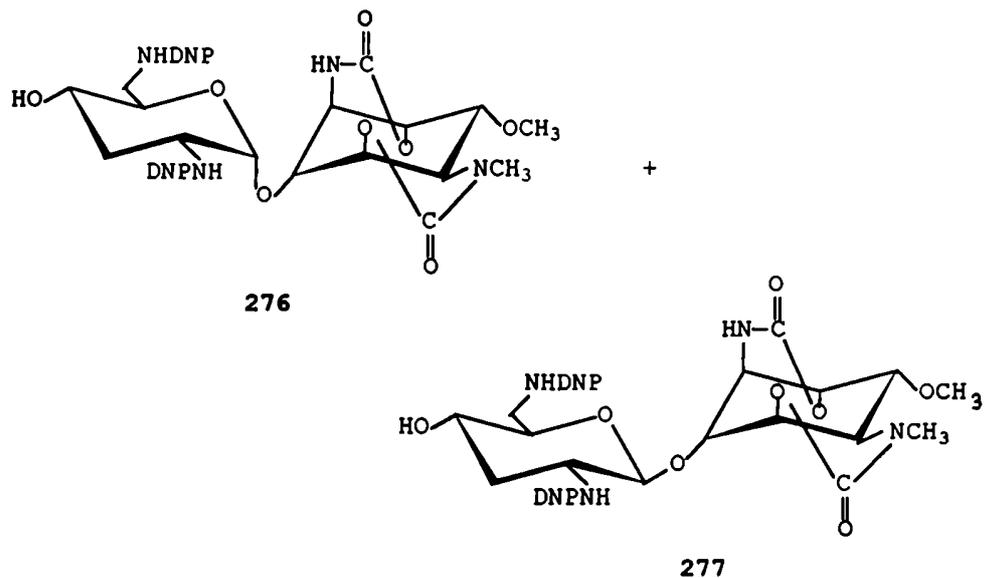


Suami y col.¹¹³ llevaron a cabo la síntesis del 4'-hidroxi análogo (281) de la fortimicina D¹¹⁴, por condensación del cloruro de 4-O-acetil-2,6-bis-(2,4-dinitrofenilamino)-2,3,6-tridesoxi- α -D-ribo-hexopiranosilo^{113,115,116} (273) con un amino ciclitol parcialmente bloqueado, la 1,2:4,5-di-N,O-carbonilfortamina B^{116,117} (274), seguido de desprotección.

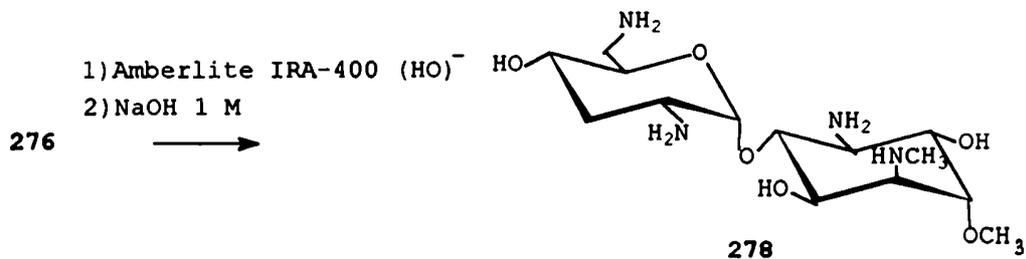
Las fortimicinas se aislaron por fermentación de cultivos de *Micromonospora olivoasterospora*. Estos antibióticos poseen estructura de pseudo-disacáridos compuestos por un 1,4-diamino ciclitol (fortamina) y un diamino azúcar (6-epipurpurosamina B). Con el objeto de estudiar la relación entre la estructura y la actividad antimicrobiana se llevaron a cabo modificaciones ya sea en la parte de amino ciclitol¹¹⁸, como en la de amino azúcar¹¹³.

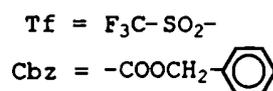
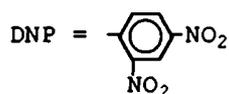
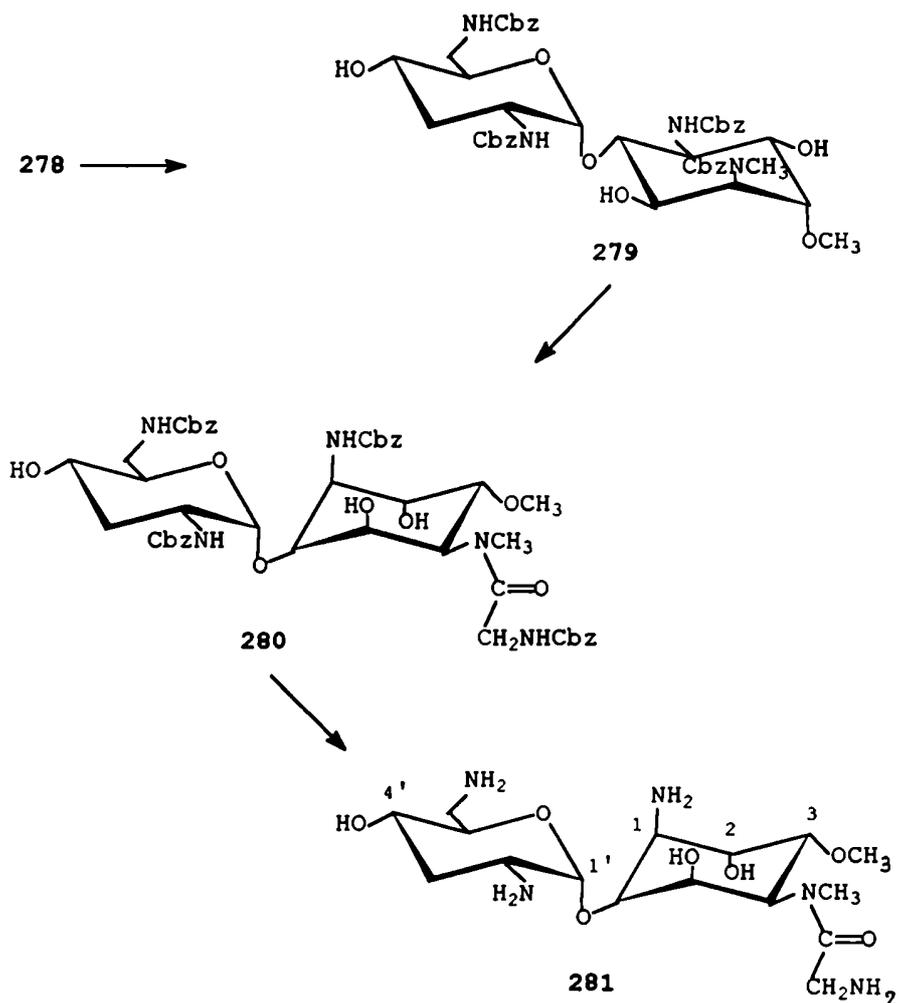
La condensación de 273 y 274 en dioxano en presencia de trifluormetanosulfonato de plata condujo a la mezcla de anómeros 275 con 28% de rendimiento. La desacetilación de la mezcla con hidróxido de sodio 0,02 M, dió los dos anómeros, 276 y 277, que se separaron por cromatografía con 5 y 11% de rendimiento respectivamente, basado en 274. La eliminación del grupo dinitrofenilo de 276 con resina alcalina Amberlite IRA-400, seguido de hidrólisis con hidróxido de sodio 1 M a reflujo dió la 4'-hidroxi-fortimicina KE (278) con 76% de rendimiento que se caracterizó por conversión en su heptacetil derivado.





La N-benciloxycarbonilación selectiva de 278 con N-(benciloxycarbonilo)-succinimida dió la 1,2',6'-tris-[N-(benciloxycarbonil)]-4'-hidroxi-fortimicina KE (279) con 50% de rendimiento. La introducción del grupo N-(benciloxycarbonil)-glicilo en el grupo metilamino en C-4 de 279 se llevó a cabo con N-[N-(benciloxycarbonil)-gliciloxi]-succinimida y trietilamina para dar la 1,2',6'-tris-[N-(benciloxycarbonil)]-4-[N-[N-(benciloxycarbonil)-glicil]]-4'-hidroxi-fortimicina KE (280) con 67% de rendimiento. La hidrogenólisis de 280 dió la 4'-hidroxi-fortimicina D (281).



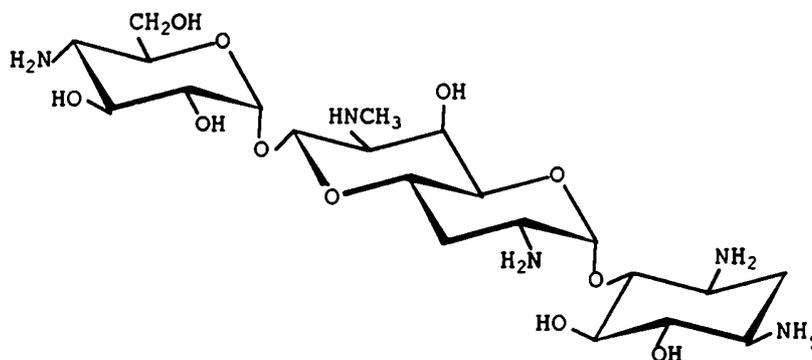


Canas-Rodríguez y col.^{119,120} aplicaron la adición de alcoholes a glicales catalizada por trifluoruro de boro, a la síntesis del pseudo-trisacárido **289** análogo de la apramicina.

Este procedimiento conduce a α -glicósidos con buenos rendimientos y estereoselectividad^{120,121}.

La apramicina {O-(4-amino-4-desoxi- α -D-glucopiranosil)-(1 \rightarrow 8)-O-[(8R)-2-amino-2,3,7-tridesoxi-7-metilamino-D-glice-

ro- α -D-allo-octodialdo 1,5:8,4- dipiranosil]-(1 \rightarrow 4)-2-desoxi-streptamina} (282) es un amino glicósido que posee alta actividad antibacteriana y baja toxicidad. En este pseudo-trisacárido la aglicona, 2-desoxi-streptamina, está sustituida en C-4 por la diamino octobiosa y posee un sistema de anillos dipiranosico rígido, del tipo de la trans-decalina. Esto a su vez está glicosidado a través de un segundo centro anomérico C-8 por la 4-amino-4-desoxi-D-glucosa.



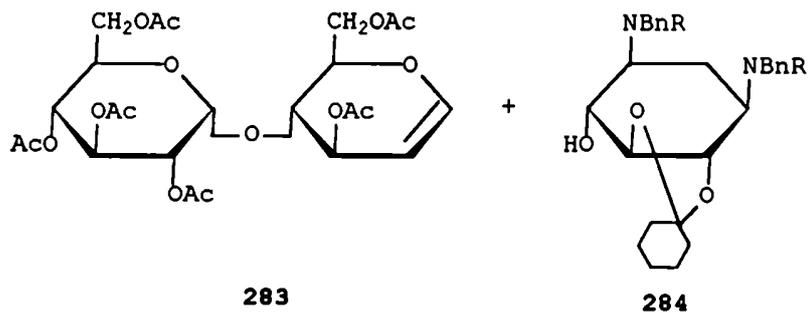
282

La estabilidad de este antibiótico¹²² frente a la desactivación enzimática producida por bacterias resistentes, constituye la base para establecer la relación entre estructura y actividad y la preparación de antibióticos más efectivos.

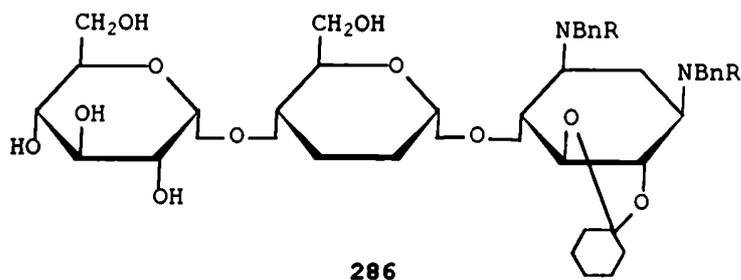
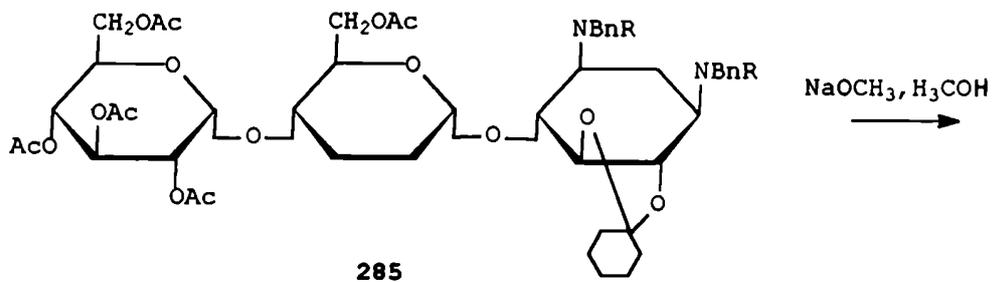
Como la octobiosa no es accesible, se prepararon 4-O-pseudo-trisacáridos de la 2-desoxi-streptamina con derivados de glucosa.

La glicosilación catalizada por trifluoruro de boro de la 1,3-di-N-bencil-5,6-O-ciclohexilidén-2-desoxi-1,3-di-N-metoxicarbonil-streptamina¹²⁰ (284) con el hexa-O-acetil-D-maltal¹²³ (283) en 1,2-dicloroetano, seguido de hidrogenación

catalítica, dió el α -glicósido pseudo-trisacárido 285 con 85% de rendimiento junto con algunos productos poliméricos que se separaron por HPLC semi-preparativa en fase reversa. La desacilación convencional de 285, seguido de HPLC en fase reversa dió 286 como un producto cristalino con rendimiento cuantitativo. La formación selectiva de las sales de fosfonio en los grupos hidroxilo primarios de 286 utilizando tris-(dimetilamino)-fosfina¹²⁴ en dimetilformamida seguido de desplazamiento nucleofílico por el ión azido condujo al diazido derivado 287 con 60% de rendimiento. La reducción simultánea de los grupos azido y la saponificación de los grupos carbamato en 1-propanol hirviente con hidrato de hidrazina en presencia de paladio 10% sobre carbón, seguido de hidrogenación sobre hidróxido de paladio 20% condujo a la tetramina 288. La hidrólisis del grupo ciclohexilidén con ácido clorhídrico dió el pseudo-trisacárido 289 [2-desoxi-4-O-(6,6'-diamino-2,3,6,6'-tetradesoxi- α -D-maltosil)-streptamina-tetraclorhidrato].

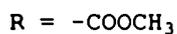
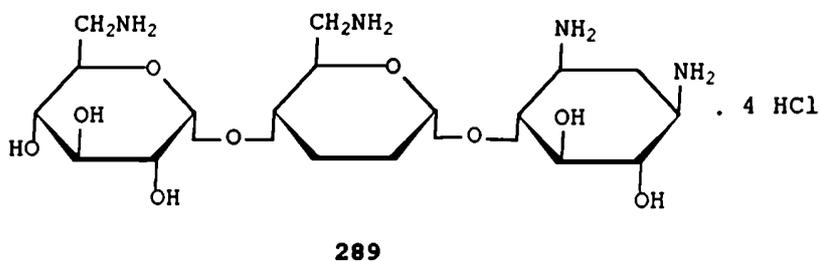
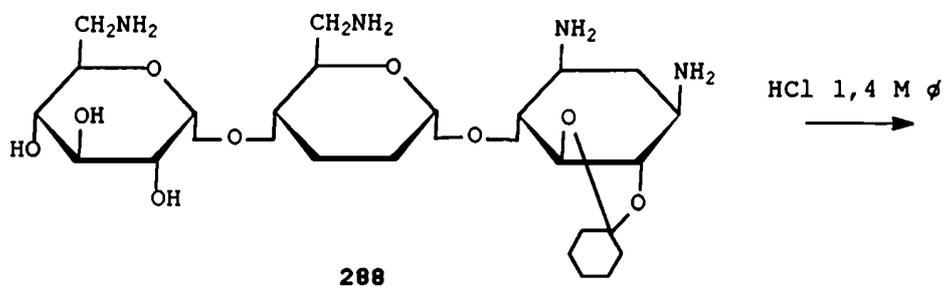
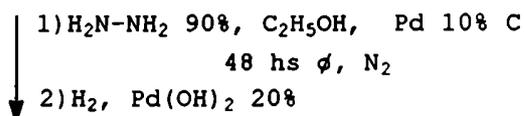
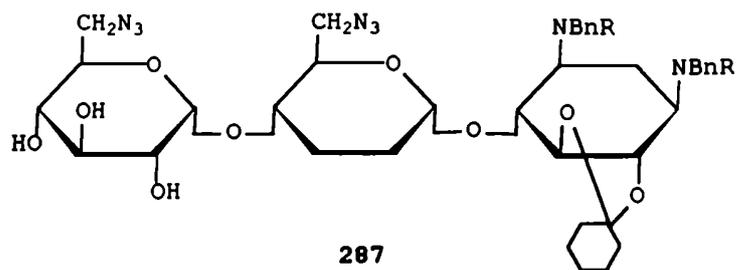


1) $\text{BF}_3 \cdot \text{O}(\text{C}_2\text{H}_5)_2, \text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$
 2 hs -5°C
 2) $\text{H}_2, \text{Pd } 10\% \text{ C}$



1) $\text{P}[\text{N}(\text{CH}_3)_2]_3, \text{DMF}$
 2 hs $-40^\circ\text{C}, \text{N}_2$
 2) NaN_3
 48 hs $60^\circ\text{C}, \text{N}_2$

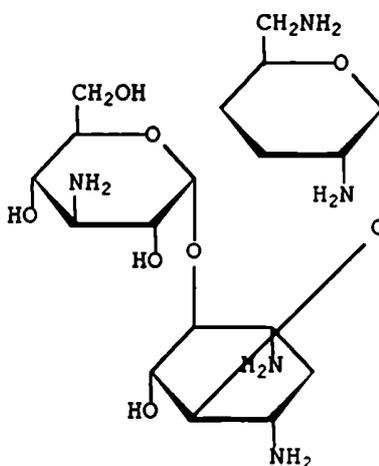
$\text{R} = -\text{COOCH}_3$



Kitagawa y col.¹²⁵ sintetizaron el antibiótico dibekacina (3',4'-didesoxi-kanamicina B) (290) utilizando una des-carboxilación oxidativa con tetracetato de plomo y una desacetoxilación reductiva con borohidruro de sodio como reacciones claves en dicha síntesis. Estas reacciones habían sido empleadas previamente en el desarrollo de métodos de

síntesis de aminociclitolos y sus glicósidos de monosacáridos¹²⁶ y en la síntesis del antibiótico aminoglicosídico ribostamicina¹²⁷, compuesto por dos residuos de monosacáridos unidos a los hidroxilos de C-4 y C-5 de la 2-desoxi-streptamina.

La dibekacina es un antibiótico aminoglicosídico de importante aplicación clínica, que está compuesto por dos residuos de monosacáridos unidos a los hidroxilos de C-4 y C-6 de la 2-desoxi-streptamina.



290

Hashimoto y col.¹²⁸ llevaron a cabo la síntesis del antibiótico destomicina C (302), que pertenece al grupo de las ortosomicinas y es un pseudo-trisacárido que contiene las uniones ortoéster y β-D-talo-piranosídica.

La característica estructural de las ortosomicinas es la presencia de la unión inter-glicosídica *spiro* ortoéster.

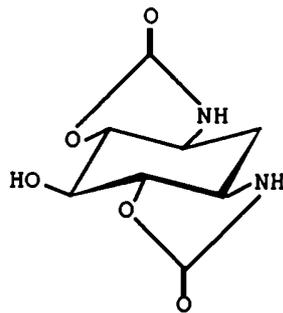
Las ortosomicinas se clasifican en dos grupos: antibióticos con estructura de oligosacárido (everninomicinas y flambamicinas) y antibióticos aminoglicosídicos (pseudo-trisacáridos), que incluyen las destomicinas (A-C)^{129,130,131}.

Las destomicinas se aislaron de *Streptomyces rimofaciens* y se utilizan como antihelmínticos para aves y animales domésticos.

La destomicina C (302) tiene un grupo adicional N-metilo en el aminociclitol y muestra un espectro antimicrobiano¹³⁰ similar al de la destomicina A (303).

El problema principal en la síntesis de la destomicina C consiste en la formación de las uniones ortoéster y β -D-talo-piranosídica. Esta última unión se formó primero para evitar el impedimento estérico debido a la unión ortoéster. Si se utiliza la D-manosa como precursor de la unidad central de 302, la formación de la unión β -D-mano-piranosídica requiere la creación posterior de la unión ortoéster y la inversión de la configuración (mano \rightarrow talo) ó viceversa.

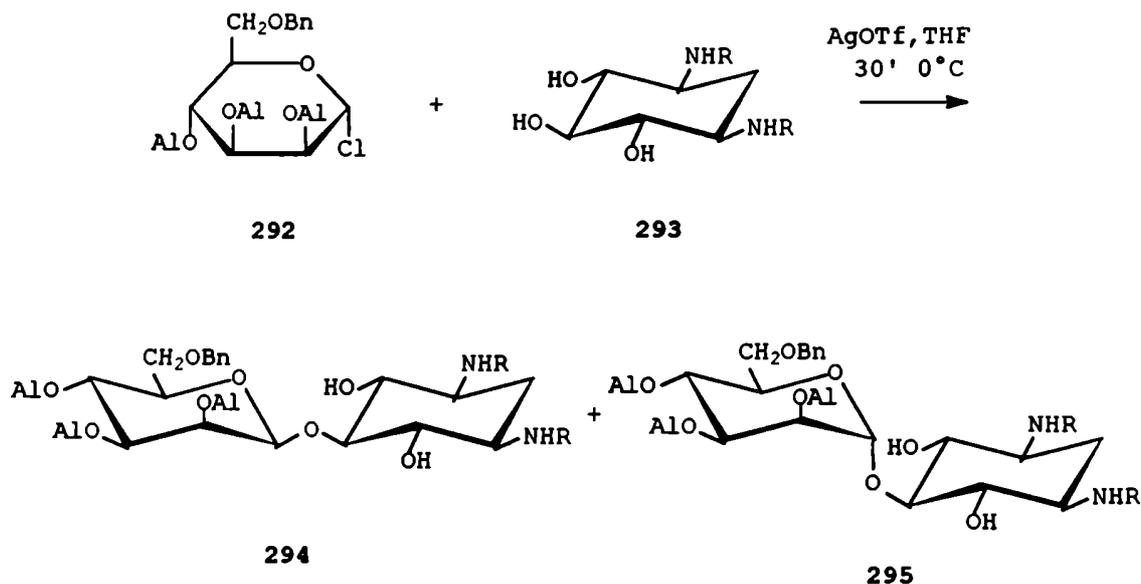
Por acoplamiento del cloruro de 2,3,4-tri-O-allil-6-O-bencil- α -D-mano-piranosilo^{129,132} (292) con la 1-N,6-O;3-N,4-O-dicarbonil-2-desoxi-streptamina¹³³ (291) en tetrahidrofurano a -90°C en presencia de triflato de plata, se obtuvo el pseudo-disacárido sólo con un rendimiento del 3%. El acoplamiento de 292 con la 4,6-di-N-benciloxicarbonil-2-desoxi-streptamina¹³⁴ (293) en las mismas condiciones condujo al β -pseudo-disacárido deseado 294 junto con el correspondiente α -disacárido 295 con 40 y 22% de rendimiento respectivamente.



291

Esta diferencia en la reactividad entre los dos aceptores puede atribuirse a la formación de un complejo entre el nitrógeno y los átomos de oxígeno vecinos con los iones plata.

Cuando el acoplamiento de 292 con 293 en tetrahidrofurano se llevó a cabo a -78°C , y a concentraciones 2,7 veces superiores, se logró mejor selectividad β , obteniéndose 294 y 295 con 52 y 14% de rendimiento respectivamente. A temperaturas de reacción mayores, la selectividad disminuye, aunque se obtiene un rendimiento total mayor trabajando a $(-30)-(-50)^{\circ}\text{C}$. A 0°C se forma predominantemente el anómero α 295 con 31% de rendimiento junto con un 10% del anómero β 294.



Al = $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$

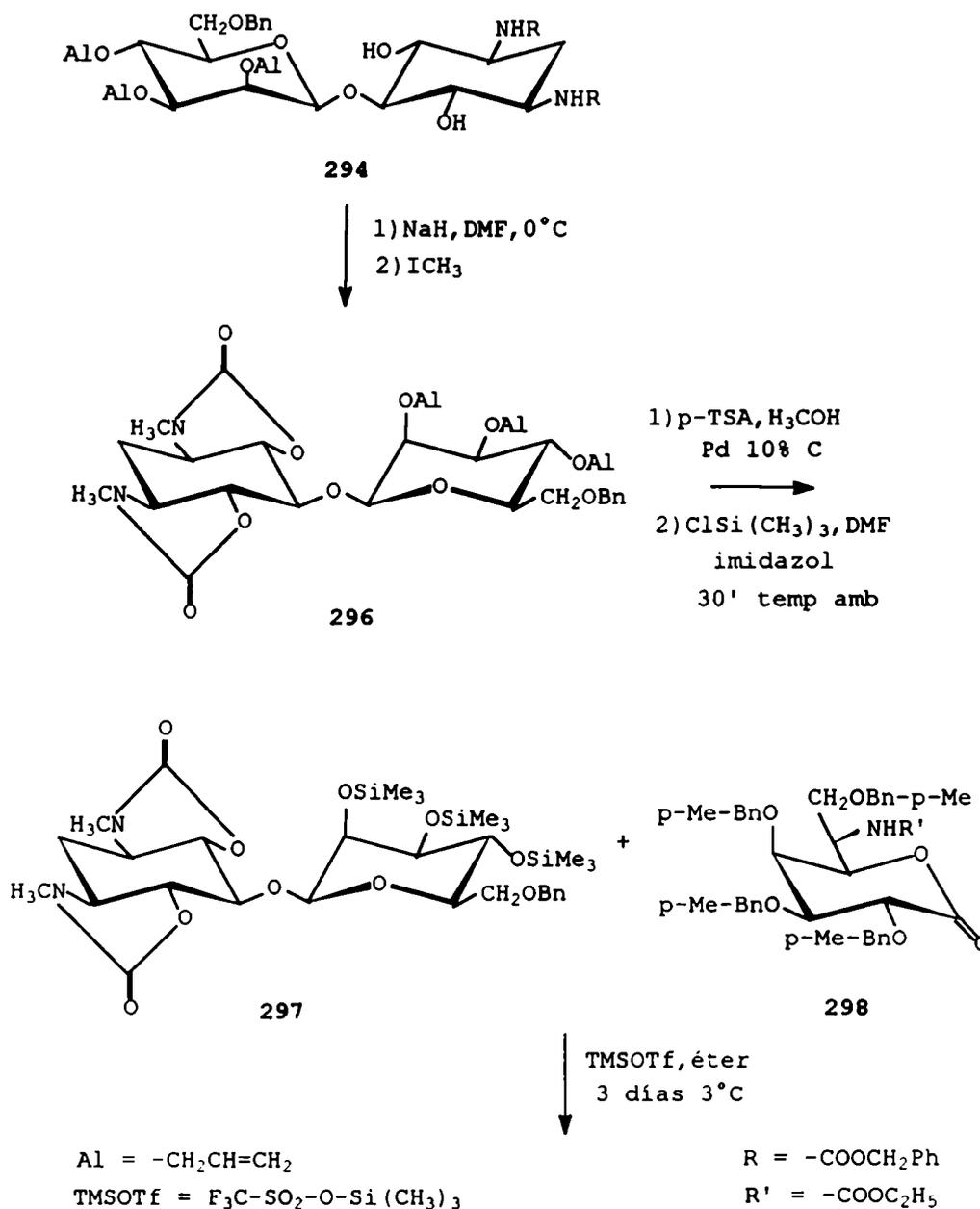
R = $-\text{COOCH}_2\text{Ph}$

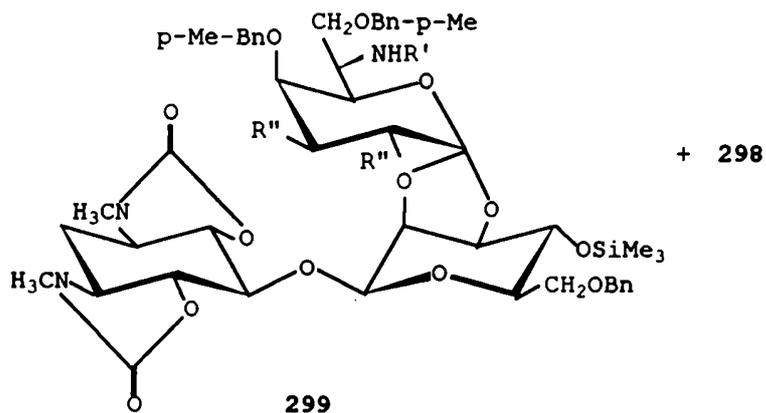
La porción desoxi-streptamina del β -disacárido **294** se convirtió en el carbamato cíclico por intercambio intramolecular de ésteres, utilizando hidruro de sodio en dimetilformamida a 0°C seguido de metilación con yoduro de metilo para dar **296**. La des-O-allilación de **296** con paladio sobre carbón y ácido p-toluensulfónico en metanol seguido de trimetilsililación dió el derivado **297**.

El acoplamiento de la destominolactona^{128,135} **298** con **297** en éter en presencia de triflato de trimetilsililo durante tres días a 3°C transcurre con regio y estereoselectividad para dar el pseudo-trisacárido **299** con 30% de rendimiento.

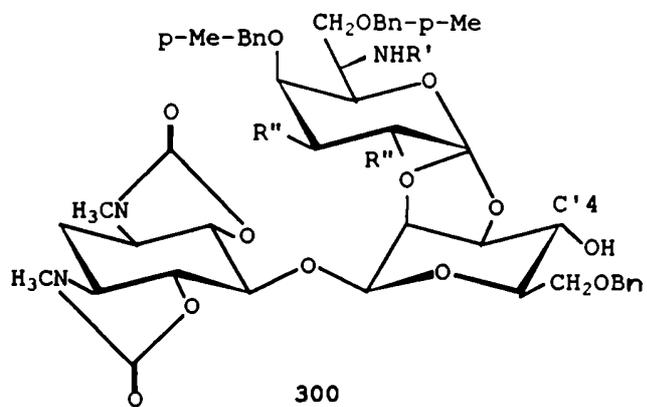
La inversión de la configuración en C'-4 se llevó a cabo por oxidación y posterior reducción del derivado des-O-sililado **300** para dar **301** con 36% de rendimiento (dos etapas).

Luego el carbamato se hidrolizó con hidróxido de bario a 80°C y los grupos p-metilbencilo y bencilo se eliminaron por hidrogenación sobre hidróxido de paladio 20%. El producto se purificó con resina alcalina Dowex 1-X2 para dar la destomicina C (302).

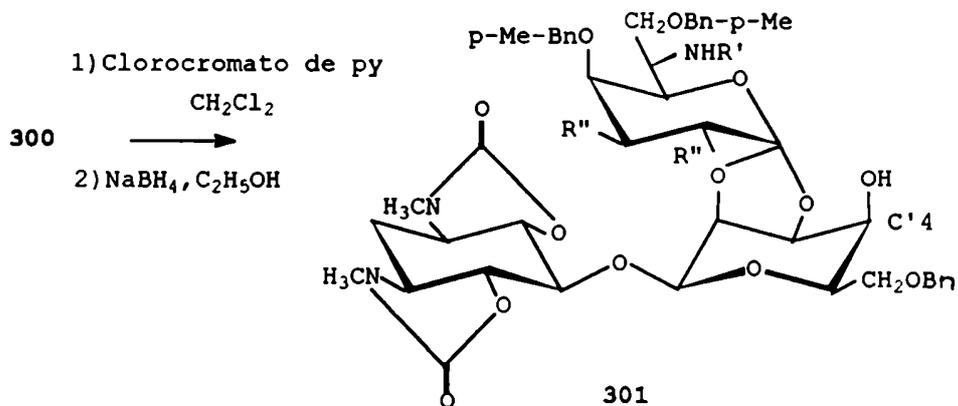




$\text{K}_2\text{CO}_3, \text{H}_3\text{COH}$
 temp amb

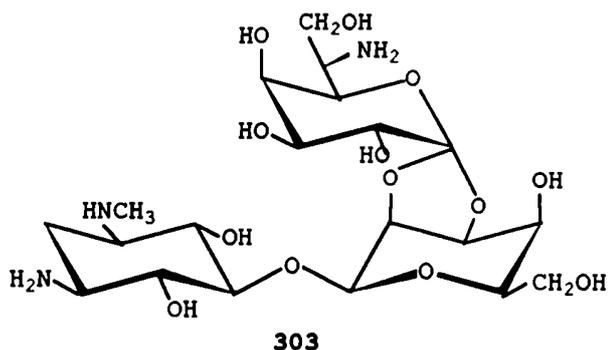
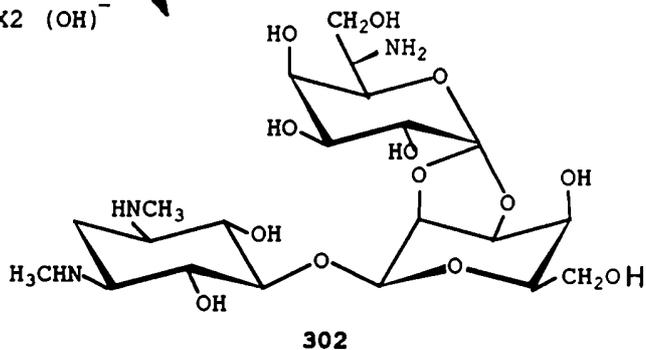


$\text{R}' = -\text{COOC}_2\text{H}_5$
 $\text{R}'' = \text{p-Me-BnO-}$



301

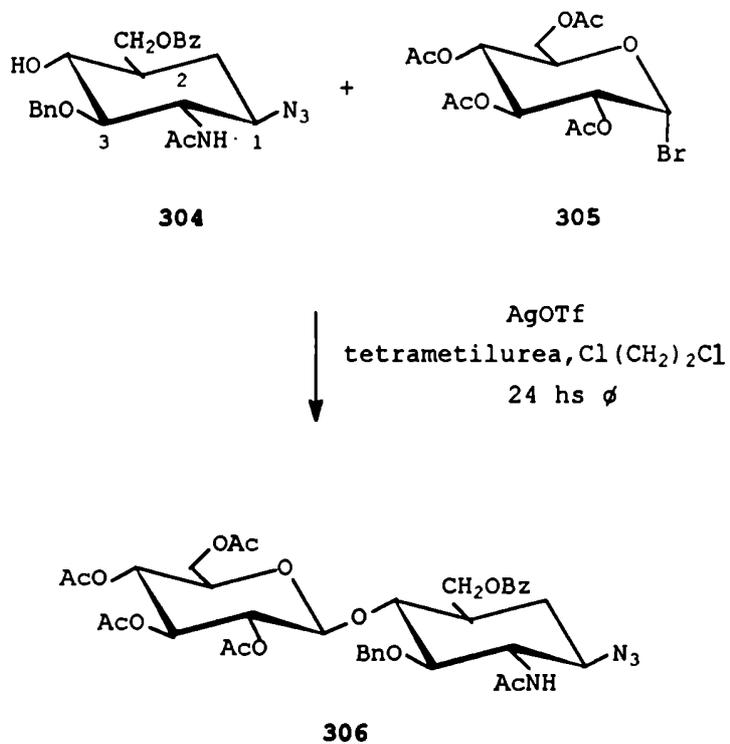
- 1) Ba(OH)₂ 0,1 M
dioxano 80°C
- 2) H₂, Pd(OH)₂ 20%
- 3) Dowex 1-X2 (OH)⁻



Ogawa y col.¹³⁶ sintetizaron el carba-disacárido bloqueado 306 precursor de carba-oligosacáridos relacionados con los glicanos de la pared celular.

La condensación de la 2-acetamido-1-azido-6-O-benzoil-3-O-bencil-5a-carba-1,2-didesoxi-β-D-glucopiranososa^{136,137} (304) con el bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-α-D-glucopiranosilo (305) en 1,2-dicloroetano a reflujo en presencia de tetrametilurea y empleando triflato de plata como catalizador condujo a la 2-acetamido-1-azido-6-O-benzoil-3-O-bencil-5a-

carba-1,2-didesoxi-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)- β -D-glucopiranosil) (306) con 80% de rendimiento.

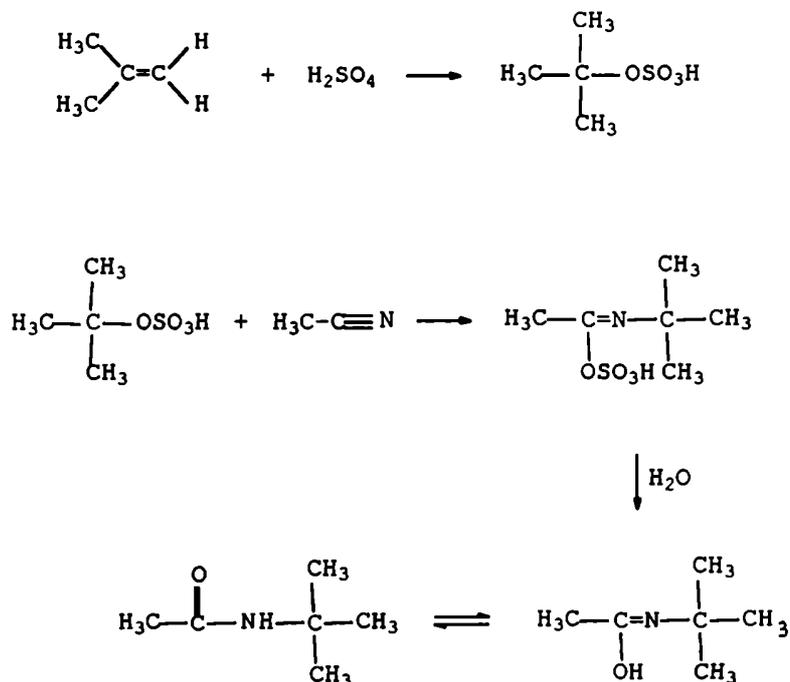


CAPITULO V
EMPLEO DE SALES DE NITRILICO
EN SINTESIS ORGANICA

**EMPLEO DE SALES DE NITRILIO
EN SINTESIS ORGANICA**

Es conocida la reactividad de los nitrilos frente a centros de carga positivos, que conduce a la formación de sales de nitrilio altamente reactivas que se han empleado como intermediarios en la síntesis de diversos compuestos como amidas, aminas, tetrazoles, etc.. Así, se ha descrito la interacción de nitrilos con dobles ligaduras polarizadas¹³⁸ según el Esquema 3.

Esquema 3

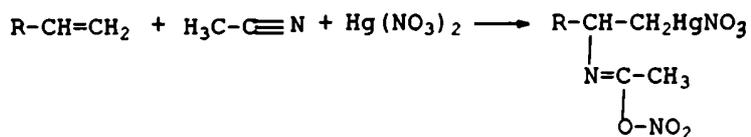


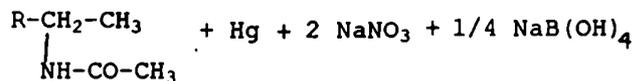
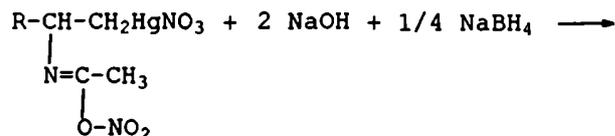
El alqueno, el nitrilo y el ácido sulfúrico se mezclan en proporciones equimoleculares en ácido acético como solvente, se mantiene a temperaturas menores de 50°C durante toda la noche con agitación, luego se trata con agua y cristaliza la amida.

En esta reacción los rendimientos con acetonitrilo y benzonitrilo fueron del orden del 70%, mientras que nitrilos alifáticos de alto peso molecular dieron rendimientos menores.

Una reacción similar a la síntesis de amidas de Ritter pero que evita los ácidos fuertes requeridos en dicha síntesis y con ello ciertos reordenamientos concomitantes, es la solvomercuriación-desmercuriación de Brown y Kurek¹³⁹. Esta reacción, llevada a cabo en presencia de acetonitrilo, constituye una técnica conveniente para la aminación de dobles ligaduras etilénicas. La reacción consiste en la adición del solvente (acetonitrilo) y del nitrato de mercurio a un alqueno y la posterior reducción del aducto con borohidruro de sodio en medio alcalino, como se formula en el Esquema 4.

Esquema 4





La reacción transcurre a 25°C. La posterior hidrólisis de la alquilacetamida obtenida conduce a la correspondiente amina. Los rendimientos varían del 70 al 95%.

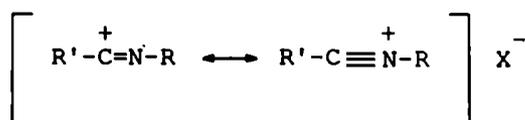
Sokolov y Reutov¹⁴⁰ llevaron a cabo la solvomercuriación de dobles ligaduras, pero no la desmercuriación, empleando acetonitrilo, benzonitrilo y cianoacetato de etilo con altos rendimientos de la amida correspondiente, por tratamiento acuoso de la sal de nitrilio inicialmente formada.

Otro caso de reacción frente a dobles ligaduras polarizadas ha sido descrito por Hassner y col.¹⁴¹.

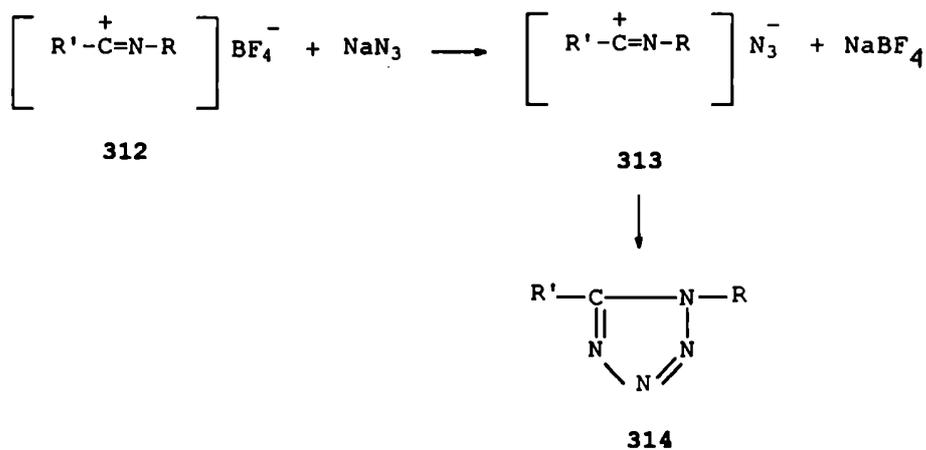
En la reacción de halógenos con olefinas se producen iones halonio del tipo 307. Si se usa un nitrilo como solvente (acetonitrilo), se puede competir con la entrada del ión halogenuro, introduciendo en su lugar el nitrilo como sal de nitrilio 308. Luego se puede derivar a diversos productos como amidas 309 por hidrólisis, o a tetrazoles 311 por reacción con azida sódica. La esteereoquímica de la reacción es *trans*.

La síntesis de tetrazoles mediante la reacción de sales de nitrilio con azida de sodio ha sido descripta por Lee y col.¹⁴².

Las sales de nitrilio de fórmula general:



pueden obtenerse por reacción de sales de trialquiloxonio con nitrilos¹⁴³. Estas sales de nitrilio (p. ej. fluoroboratos, **312**) reaccionan con azida de sodio en tolueno para formar tetrazoles 1,5-disustituídos **314**.

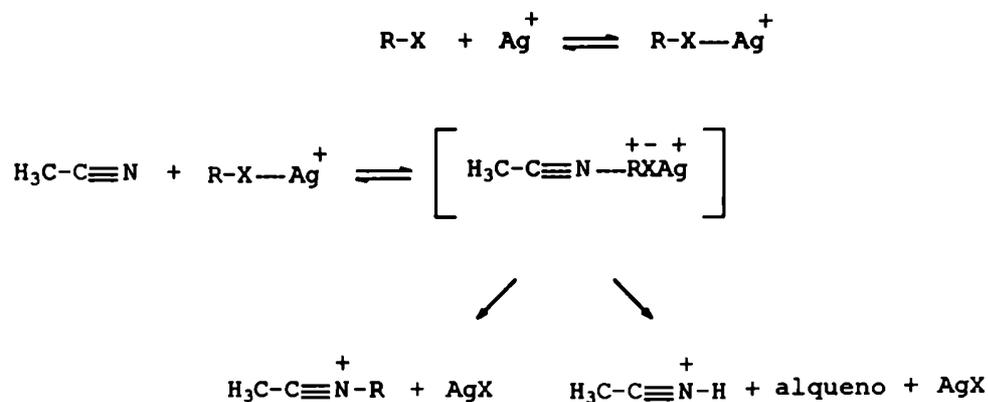


El intermediario **313**, que se cicla en tolueno hirviendo para dar **314**, no se ha podido aislar.

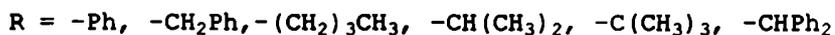
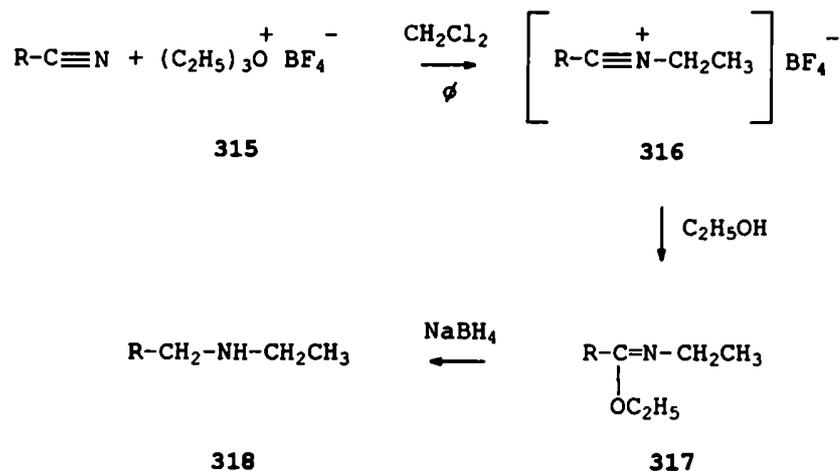
Con este procedimiento se prepararon 1-etil-5-metil y 1,5-dietil tetrazoles con rendimientos del orden del 20%. Los rendimientos aumentan en un 10% cuando se utiliza azida de sodio activada¹⁴⁴.

Otro aspecto en el cual se ha estudiado la reactividad de nitrilos para formar sales de nitrilio fué el de las

uniones carbono-halógeno polarizadas¹⁴⁵. Se llevó a cabo un estudio cinético de la reacción del 2-bromooctano en acetonitrilo en presencia de perclorato de plata. Los resultados se interpretaron en términos de la participación del acetonitrilo, que puede competir con un nucleófilo relativamente débil como el ión perclorato, frente a un centro positivo, generando una sal de nitrilio. Alternativamente, el acetonitrilo puede provocar la eliminación de un protón vecino al centro positivo para dar un alqueno:



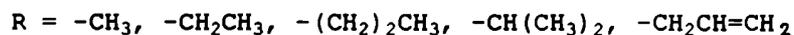
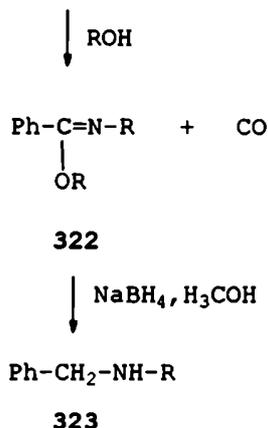
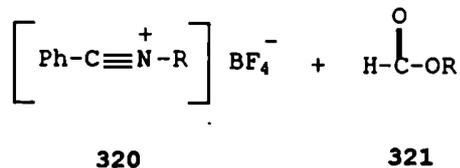
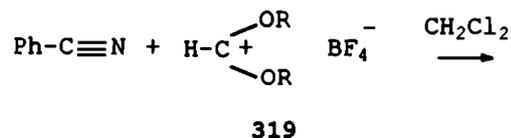
La reacción de nitrilos también fué aplicada a iones alquinoxonio¹⁴⁶. Se preparó la sal de nitrilio **316** refluendo el nitrilo y dos equivalentes de fluoroborato de trietiloxonio en diclorometano. La reacción de **316** con etanol absoluto conduce al iminoéster **317**, que posteriormente fué reducido con borohidruro de sodio a la amina secundaria **318** correspondiente.



Por otra parte, se encontró que también se podían obtener sales de nitrilio, por reacción de fluoroboratos de dialcoxi-carbonio con nitrilos¹⁴⁶.

Estos compuestos se obtienen por reacción de ortoésteres con trifluoruro de boro-eterato, en diclorometano a -30°C (pueden aislarse como productos cristalinos a bajas temperaturas).

La reacción condujo a la formación del iminoéster 322 además de la sal de nitrilio 320. La formación del iminoéster se explica suponiendo que el formiato de alquilo 321, subproducto de la reacción, actúa como dador de grupos alcoxilo en un medio muy polar, y se descompone para dar el iminoéster protonado (HBF_4) y monóxido de carbono.

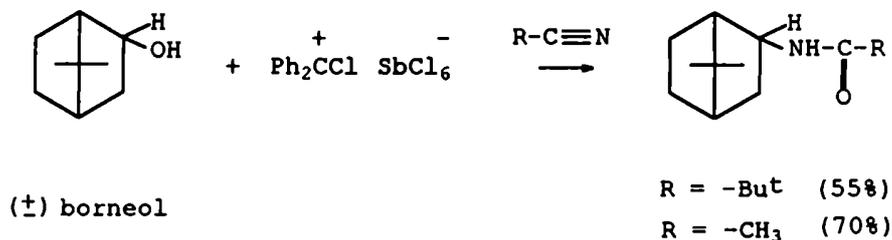


La reducción del iminoéster conduce nuevamente a la amina secundaria. Con fluoroboratos de diisopropoxi y dialiloxi-carbonio la reacción se completa en una a tres horas a 25°C. El tratamiento con agua rinde la amida correspondiente.

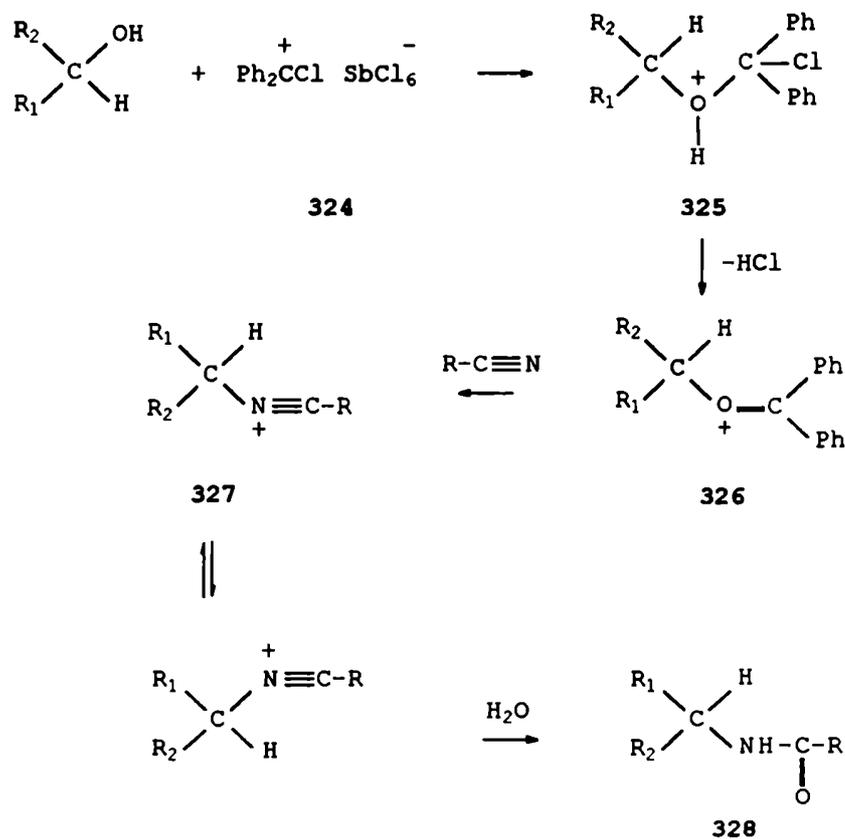
Existen otros aspectos sintéticos en los cuales las sales de nitrilio intervienen a través de mecanismos indirectos, como ocurre en el caso de la transformación de alcoholes en amidas, que resulta ser una reacción principal al emplearse nitrilos como solventes.

Así, Barton y col.¹⁴⁷ trataron alcoholes con el catión hexacloroantimoniato de cloro difenilmetilio en presencia de

nitrilos como solventes, y cortaron la reacción con agua a los cinco minutos, obteniendo la amida correspondiente:



El mecanismo involucraría una sal de nitrilio:



El alcohol genera un ión oxonio 326, que es atacado por el solvente nucleofílico (RCN) para dar la sal de nitrilio 327 más estable. El tratamiento con agua, da la amida 328

correspondiente. Los rendimientos varían del 50 al 80% y la reacción se lleva a cabo con exclusión de oxígeno y de humedad.

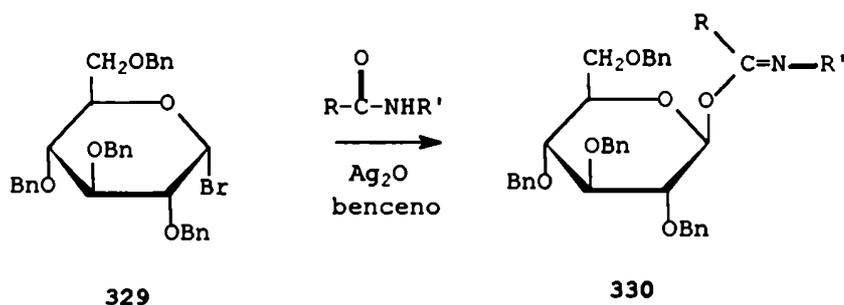
Las sales de nitrilio en el campo de los hidratos de carbono

En el campo de los hidratos de carbono se ha descrito la interacción del acetonitrilo con glicosiloxocarbo-cationes originados a partir de imidatos¹⁴⁸.

Las sales de nitrilio se producirían como intermediarios en reacciones de formación de N-acetilglicosilaminas o de glicosilación, llevadas a cabo en acetonitrilo como solvente, cuando estas sales de nitrilio reaccionan con ácidos o azúcares parcialmente bloqueados, respectivamente.

La formación de estas sales de nitrilio sería consecuencia de la capacidad de ciertos imidatos de azúcares para formar glicosiloxocarbo-cationes, reactivos frente al nitrilo seleccionado como solvente.

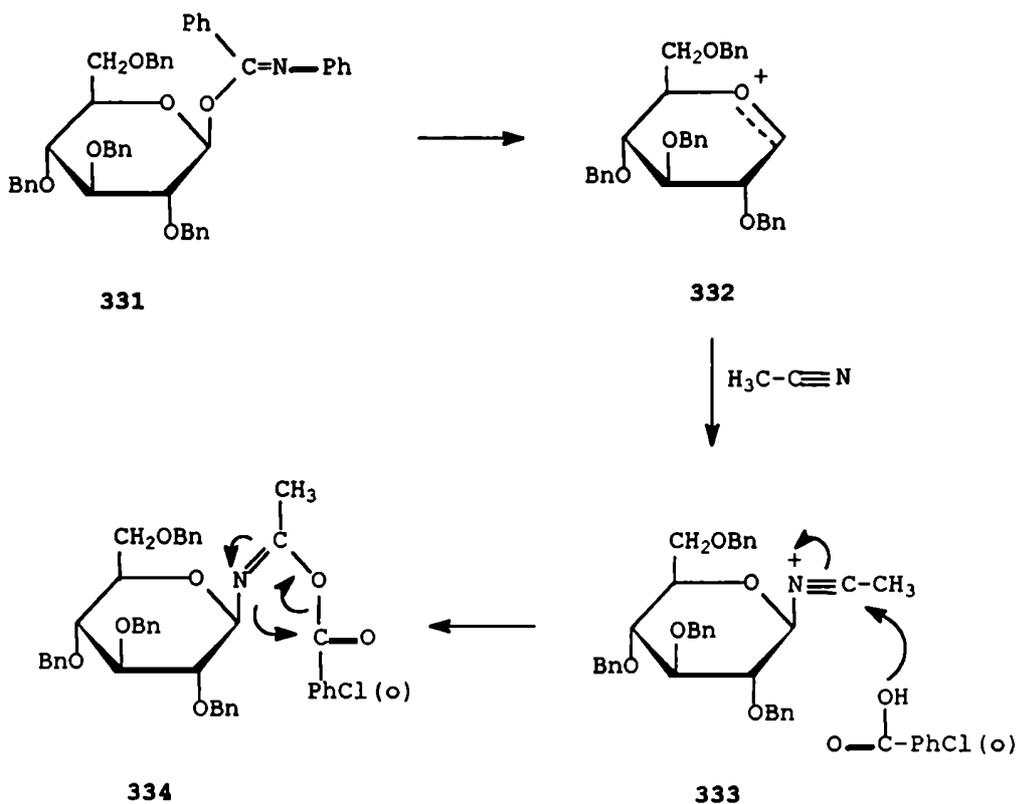
Estos imidatos se obtienen a partir de haluros bencilados de glicosilo y amidas secundarias en presencia de óxido de plata.

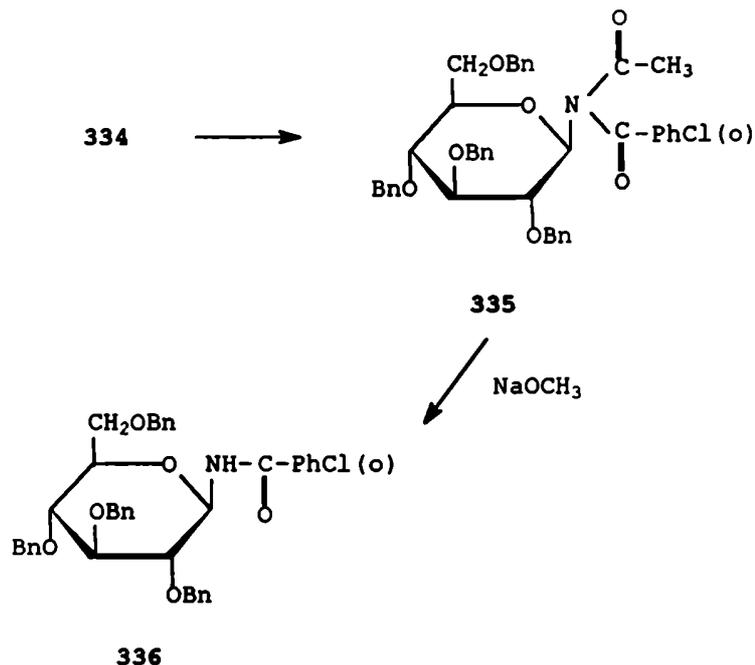


El compuesto 330 se disuelve en acetonitrilo y en presencia de un ácido (o-clorobenzoico) o de un azúcar

parcialmente bloqueado (p. ej. metil 2,3,4-tri-O-bencil- α -D-glucopiranosido), se forma una amida o un disacárido respectivamente.

La formación de la amida se explica mediante el mecanismo siguiente:



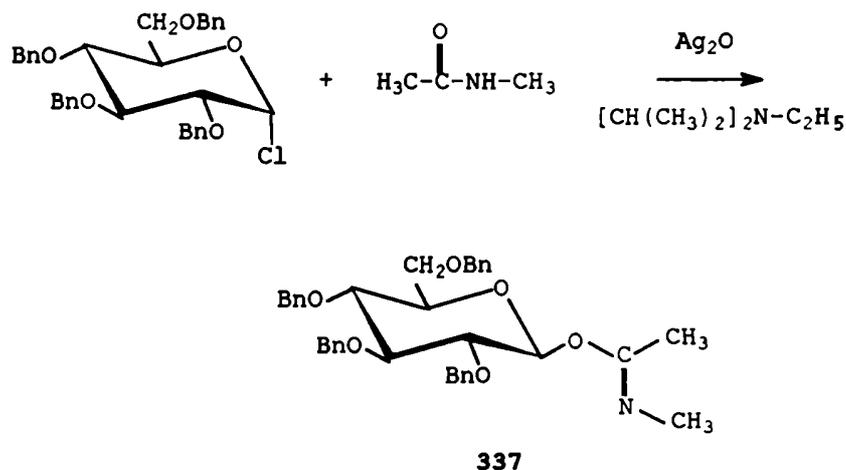


Los autores postulan que el ataque del acetonitrilo al glicosiloxocarbocación 332 se lleva a cabo por la cara β , debido al efecto anomérico inverso. No obstante, posteriormente se demostró la formación cinética de una sal de nitrilio con configuración α ¹⁴⁹.

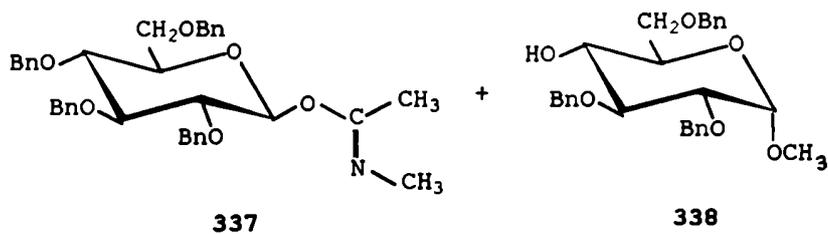
El ácido o-clorobenzoico transforma 333 en el iminoanhídrido (o isoimida) 334 inestable que se traspone por un reordenamiento de Mumm¹⁵⁰ a la imida 335 más estable. El tratamiento de la imida 335 con metóxido de sodio, da la amida 336, del ácido agregado. Todas estas reacciones tienen lugar con rendimientos cuantitativos.

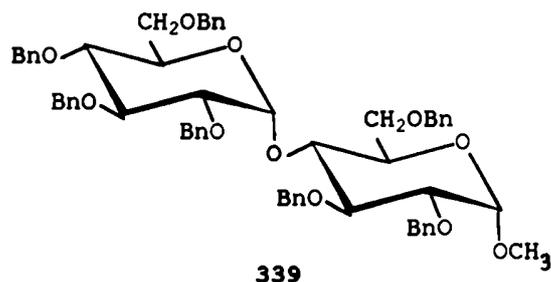
Posteriormente, Sinaý y col. aplicaron los imidatos a la síntesis de oligosacáridos¹⁵¹.

El imidato 337 se prepara con 88% de rendimiento a partir del cloruro de 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosilo y N-metilacetamida en presencia de óxido de plata:



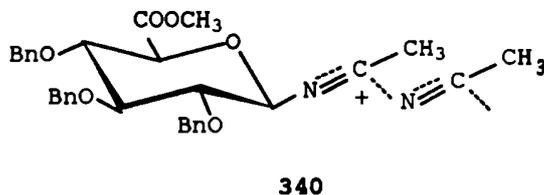
Estos imidatos reaccionan con azúcares parcialmente bloqueados, como el metil 2,3,6-tri-O-bencil- α -D-glucopiranosido (**338**), en presencia de ácido p-toluensulfónico, en cantidades equimolares con el azúcar, en benceno a temperatura ambiente (seis días), para dar oligosacáridos α -glicosídicos (1,2 *cis*) con buenos rendimientos.





Cuando la reacción se lleva a cabo en acetonitrilo, se obtiene principalmente la configuración β -glicosídica, a través de una sal de nitrilio intermediaria; pero los autores sólo mencionan el hecho y no interpretan los resultados. Esta es la primera síntesis de un oligosacárido 1,2 *cis* con rendimiento alto. El hidroxilo en C-4 de la glucopiranososa bloqueada se mostró siempre muy poco reactivo en las síntesis clásicas y el mejor rendimiento que se había obtenido fué del 44%¹⁵².

Otra reacción en la cual se postula la formación de intermediarios conjugados nitrilio-acetonitrilo del tipo 340, es la de ésteres de ácidos urónicos¹⁵³. Sus haluros de glicosilo se utilizaron como agentes glicosilantes frente a hidroxilos primarios y secundarios de azúcares, en presencia de perclorato de plata, usando acetonitrilo como solvente.



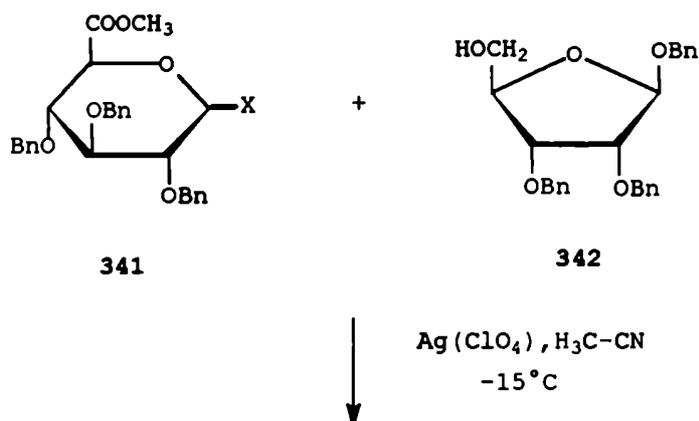
Como la relación obtenida de glicósidos α, β fué independiente de la estereoquímica α o β del haluro del

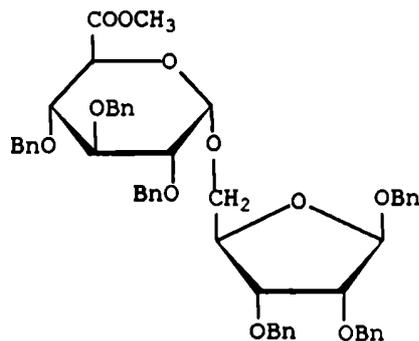
uronato de partida, se pensó en un intermediario común de nitrilio, como el formulado 340.

La estereoquímica de la glicosilación depende de la temperatura (generalmente -15°C), del solvente, etc.

El carácter β de la sal de nitrilio 340 se atribuye al efecto anomérico inverso. A partir de 340, se obtienen glicósidos α , cuando en realidad Sinaÿ y col. indican que se forman glicósidos β ¹⁴⁹.

Así, la reacción de un haluro del metil éster del ácido 2,3,4-tri-O-bencil-D-glucopirranurónico (341) con el bencil 2,3-di-O-bencil- β -D-ribofuranósido (342) da una mezcla de disacáridos en una relación $\alpha:\beta > 19:1$ con un 56% de rendimiento de la forma α .



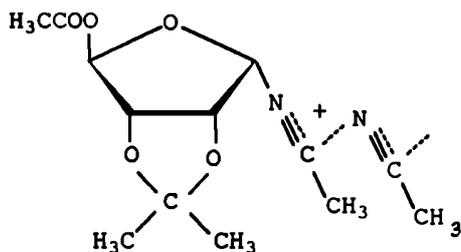


343

X = Cl, Br.

La reacción también da buenos rendimientos y selectividad con hidroxilos secundarios en C-2 de azúcares.

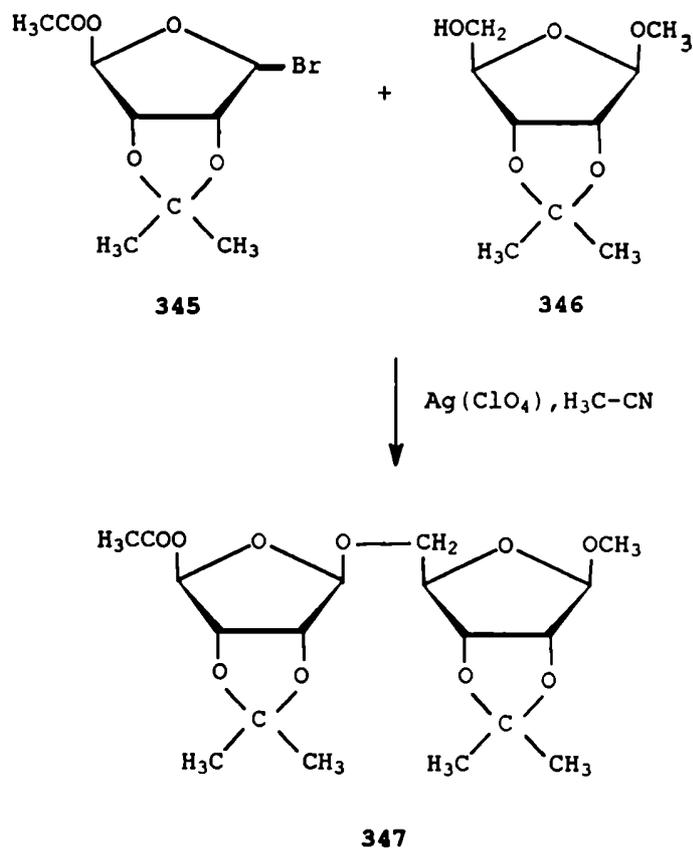
Una confirmación de la hipótesis acerca de los intermediarios conjugados nitrilio-acetonitrilo, la da el hecho de que en el caso del éster ribofuranósico, el efecto anomérico inverso favorece el derivado α de la sal de nitrilio¹⁵⁴ 344.



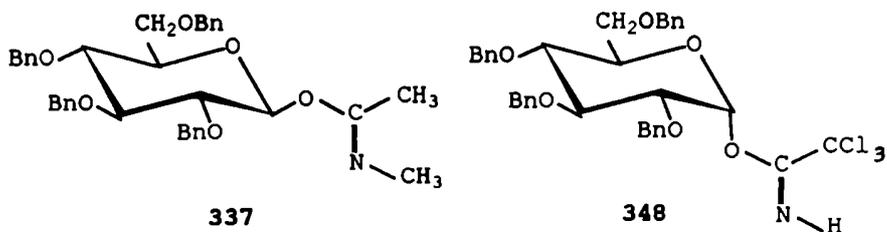
344

Al aplicar éste método a la reacción del éster ribofuranurónico 345 con el metil 2,3-isopropiliden- β -D-ribofuranósido (346) empleando perclorato de plata en

acetonitrilo, se obtuvo la mezcla de disacáridos con una relación $\alpha:\beta < 1:19$.

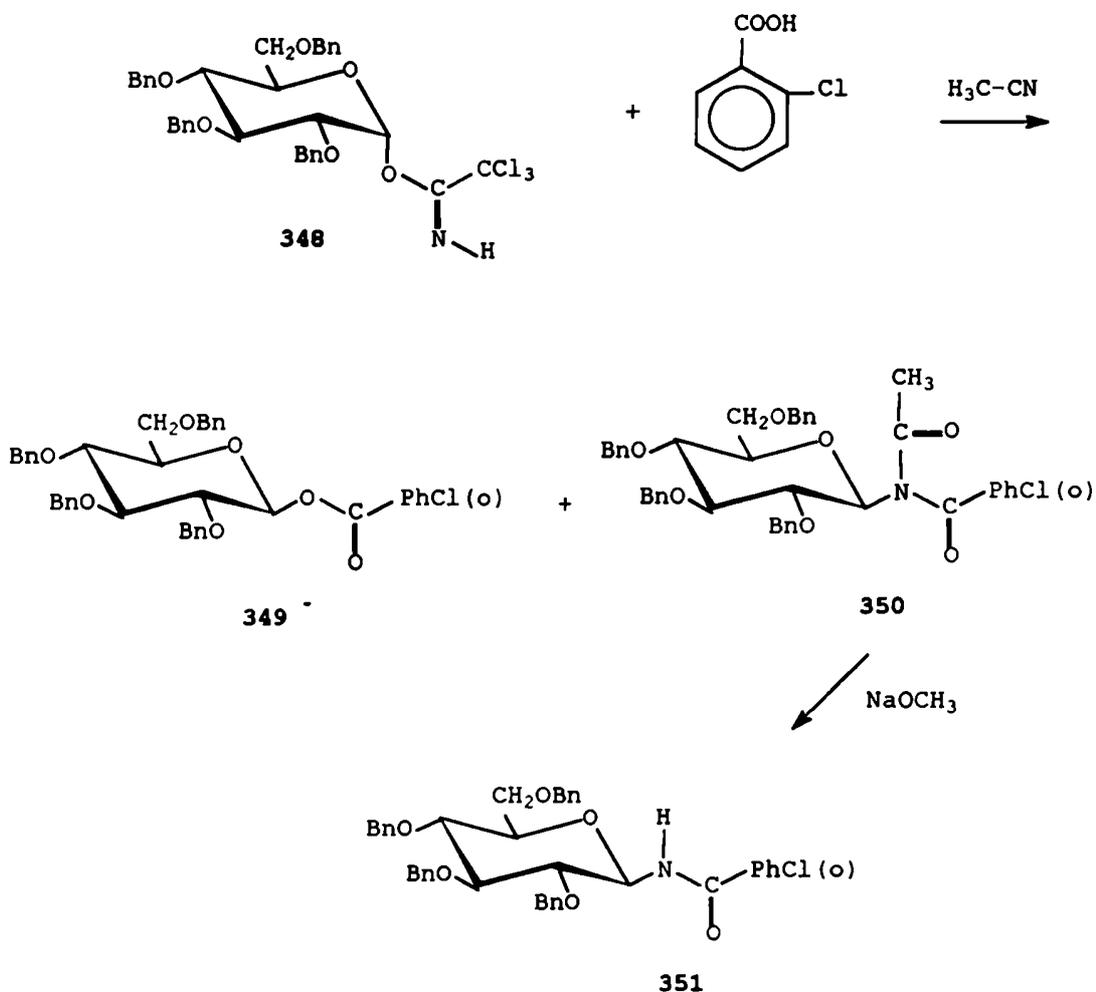


En 1985 Schmidt y Michel¹⁵⁵ encontraron que los tricloroacetimidatos 348 son más reactivos que los N-metilacetimidatos 337, utilizados por Sinaý y col.^{140,151}.

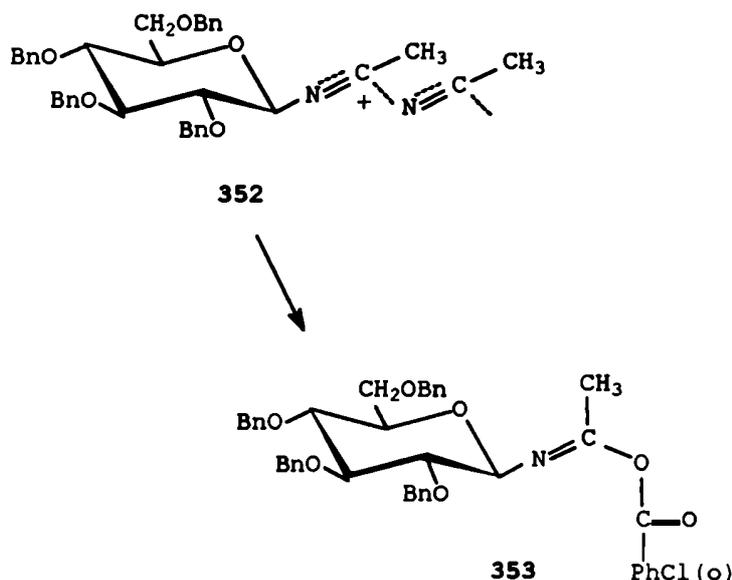


Los tricloroacetimidatos se preparan, por ejemplo, a partir de la 2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucosa, por reacción con tricloroacetnitrilo en presencia de hidruro de sodio¹⁵⁶.

En la reacción del tricloroacetimidato **348** con ácido o-clorobenzoico en acetonitrilo, a temperatura ambiente, se obtienen dos productos, el éster benzoico **349** y la imida **350**, esta última con más alto rendimiento. Ambos productos se obtuvieron con inversión de configuración en el carbono anomérico.



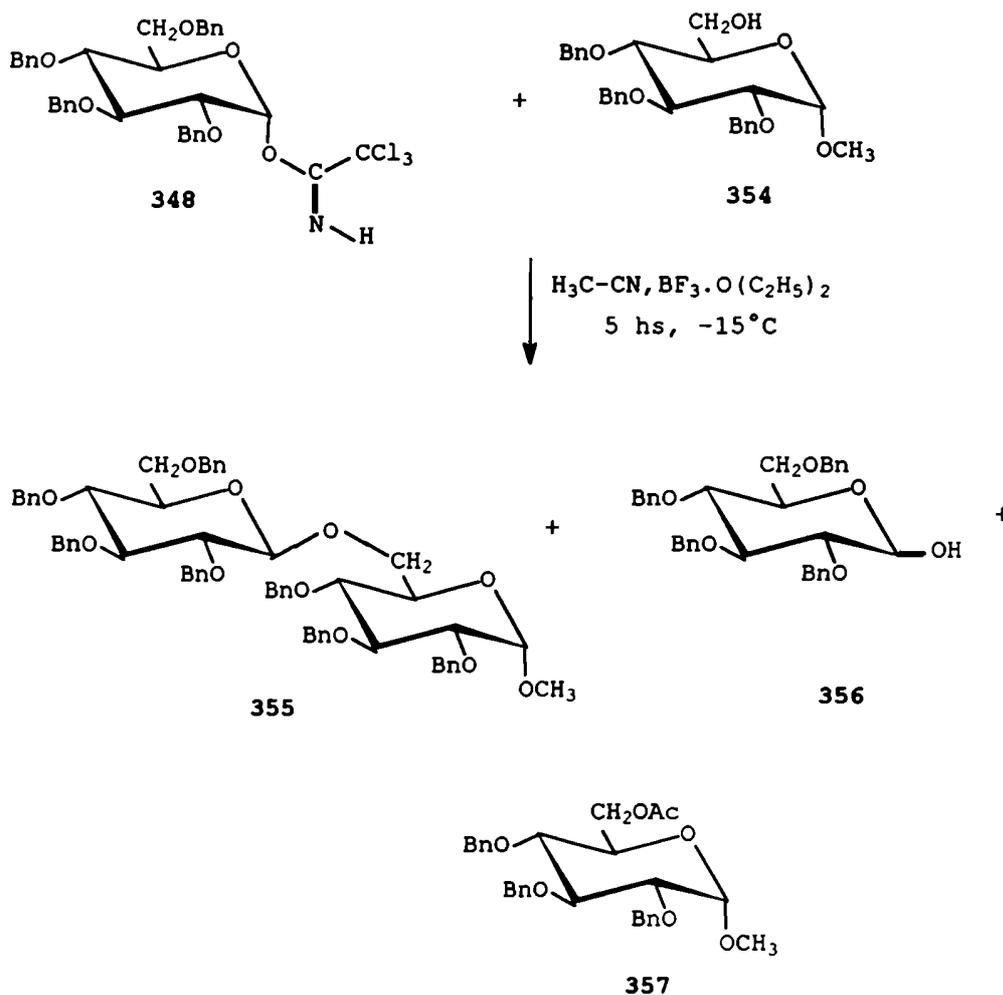
La reacción comenzaría con la formación de un carbocatión en el C-1 del azúcar, asistida por la protonación del tricloroacetimidato, luego la formación de una sal de nitrilio intermediaria 352, que conduciría al O-aroílacetimidato 353, que luego se reordenaría a la imida 350 de una manera similar a la postulada por Sinaÿ y col.¹⁴⁸, descripta anteriormente.



El tratamiento posterior de 350 con metóxido de sodio generó la amida 351 del ácido agregado, con 84% de rendimiento.

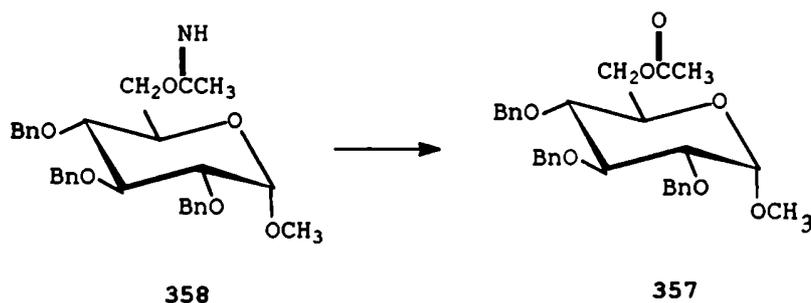
La mayor reactividad del tricloroacetimidato comparada con la del N-metilacetimidato, puede explicarse considerando que la transferencia de un protón del ácido o-clorobenzoico al grupo tricloroacetimidato genera el anión o-clorobenzoato y acelera la formación de 349, presumiblemente a través de un par iónico intermediario. La formación competitiva de la sal de nitrilio estaría favorecida por la separación iónica, lo cual es más probable para imidatos protonados, más estables.

Se obtuvieron resultados consistentes con lo anteriormente postulado al hacer reaccionar el tricloroacetimidato 348 con el metil 2,3,4-tri-O-bencil- α -D-glucopiranosido (354) en acetonitrilo, catalizado por trifluoruro de boro-eterato¹⁵⁵.



De la competición entre el HO-6 nucleofílico y el átomo de nitrógeno del acetonitrilo, surge la formación del disacárido β 355 con 43% de rendimiento por un lado y por otro un 21% del compuesto 6-O-acetilado 357. La formación de

este último puede postularse por reacción del HO-6 del compuesto 354 con el intermediario 352 para dar 358 y subsiguiente hidrólisis. En la reacción se produjo además, un 35% del tetrabencil derivado 356. No se observó el ataque del grupo HO-6 al C-1 del intermediario 352, lo que hubiera dado lugar al disacárido α .

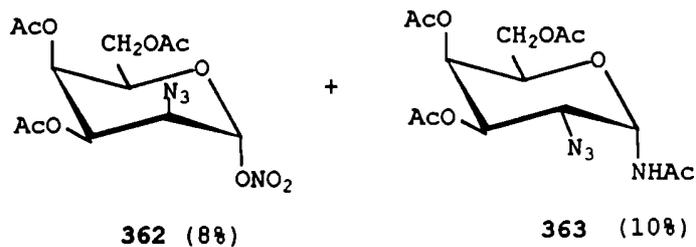
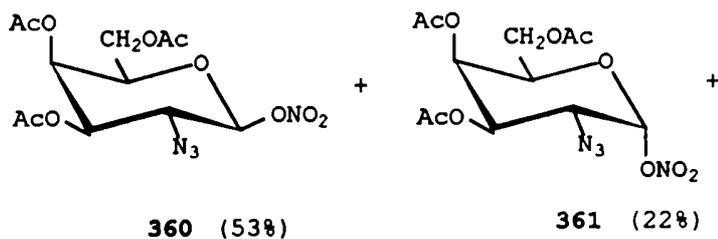


Lemieux y Ratcliffe⁷² llevaron a cabo una reacción de azidolisis sobre el 3,4,6-tri-O-acetil-D-galactal (359), catalizada por nitrato amónico cérico (CAN) en acetonitrilo.

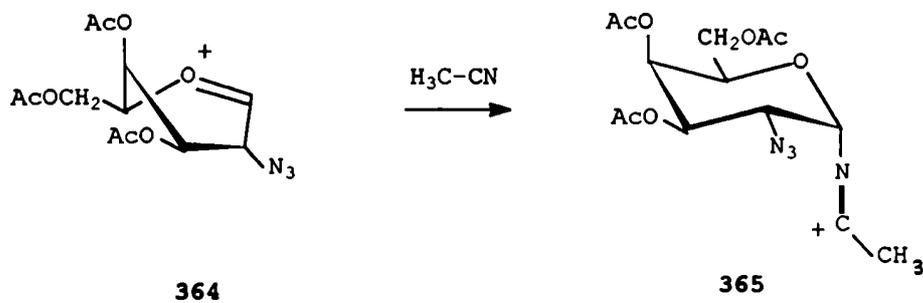
Como resultado de esta reacción obtuvieron una mezcla de cuatro productos. Tres de ellos poseen estructura de 2-azido-1-nitrato y el cuarto producto, que se obtiene con un rendimiento del 10%, es la N-acetil-3,4,6-tri-O-acetil-2-azido-2-desoxi- α -D-glucopiranosilamina (363).



359



La formación de **363** parece ser coherente con la formación de un oxocarboación **364**, que sufriría el ataque del acetonitrilo nucleofílico para dar el ión acetonitrilio **365**, que luego se hidrolizaría al acetamido derivado **363**.



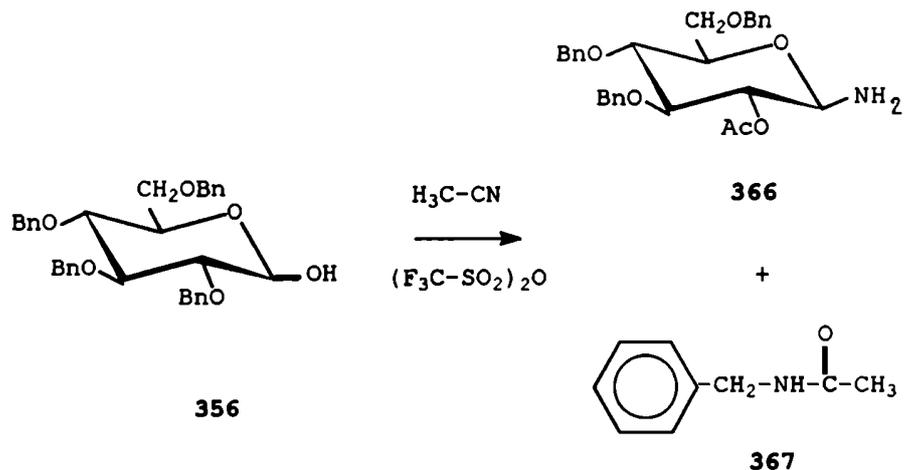
La interpretación del curso de esta reacción se basa en trabajos anteriores en química alifática^{157,158}. Frente al reactivo azida sódica-nitrato amónico cérico, los alquenos reaccionan dando α -azido- β -nitroalcanos a través de la inserción de un radical azido. Este se formaría de acuerdo con la siguiente reacción:



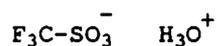
Esta adición sigue un camino anti-Markovnikov, por lo que la reacción con glicales bloqueados siempre produce 2-azido-2-desoxi nitratos de glicosilo. Inicialmente se formarían radicales azido-alquilo, los cuales en una reacción lateral por oxidación darían glicosiloxocarbocationes del tipo 364, reactivos frente al acetonitrilo usado como solvente. La presencia de iones azido no actúa competitivamente en términos prácticos.

Pavia y col.¹⁵⁹ estudiaron la reacción de azúcares con el hidroxilo anomérico libre, con acetonitrilo a 0°C y durante una hora, catalizada por anhídrido trifluorometanosulfónico (anhídrido triflico) para dar un amino azúcar.

Hicieron reaccionar la 2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucopiranososa (356) con acetonitrilo y obtuvieron la 2-O-acetil-3,4,6-tri-O-bencil- β -D-glucopiranosilamina (366). De la reacción también aislaron la N-acetil-bencilamina 367.

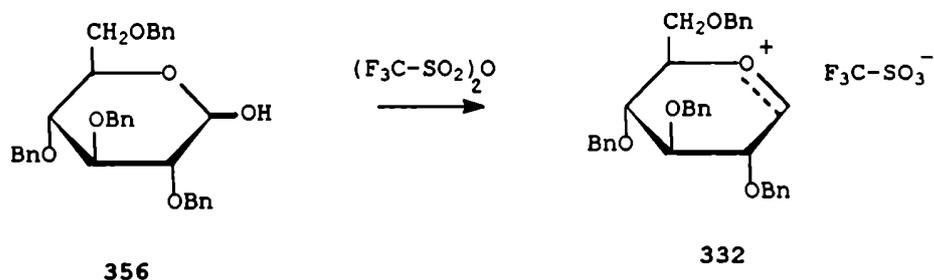


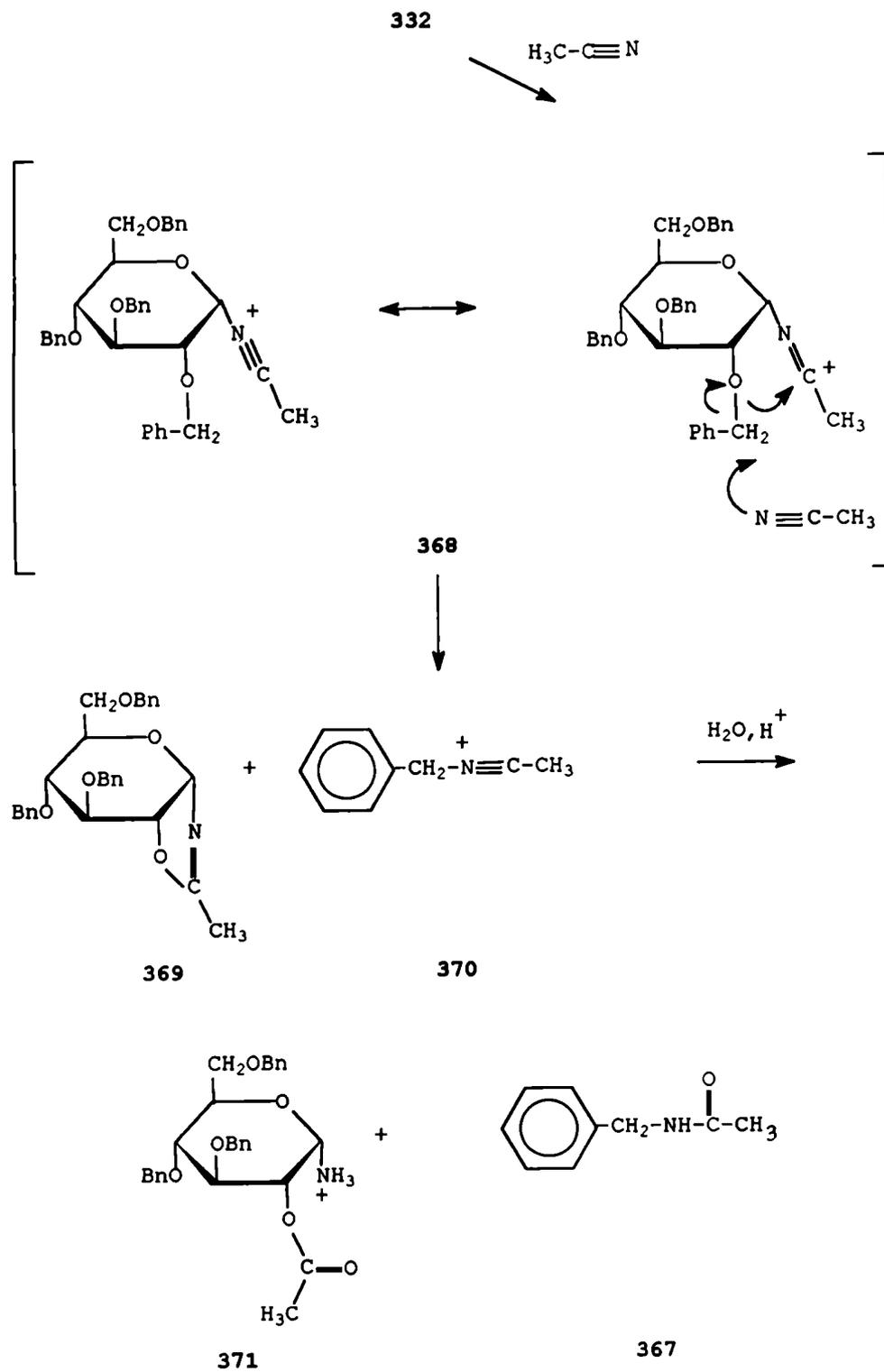
Previamente los autores¹⁶⁰ habían observado que el anhídrido triflico capta agua para dar la especie estable, insoluble, trifluorometanosulfonato de hidroxonio:

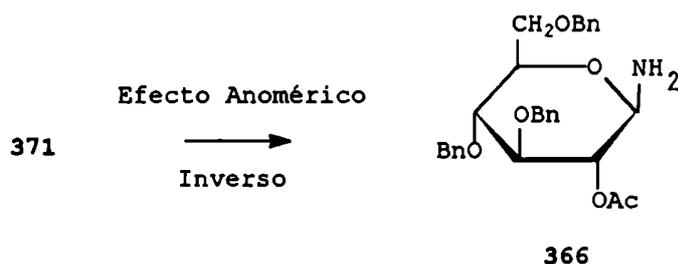


Esto proporciona una captación eficiente de agua liberada durante la reacción de glicosilación, por lo que la aplicaron a reacciones de glicosilación con azúcares¹⁶¹ y aminoazúcares¹⁶².

La formación de los compuestos 366 y 367 puede explicarse mediante el esquema siguiente:

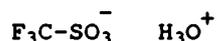






El anhídrido triflico generaría el oxocarbación 332, el cual actúa como un electrófilo fuerte frente al acetonitrilo, generando la sal de nitrilio intermediaria 368.

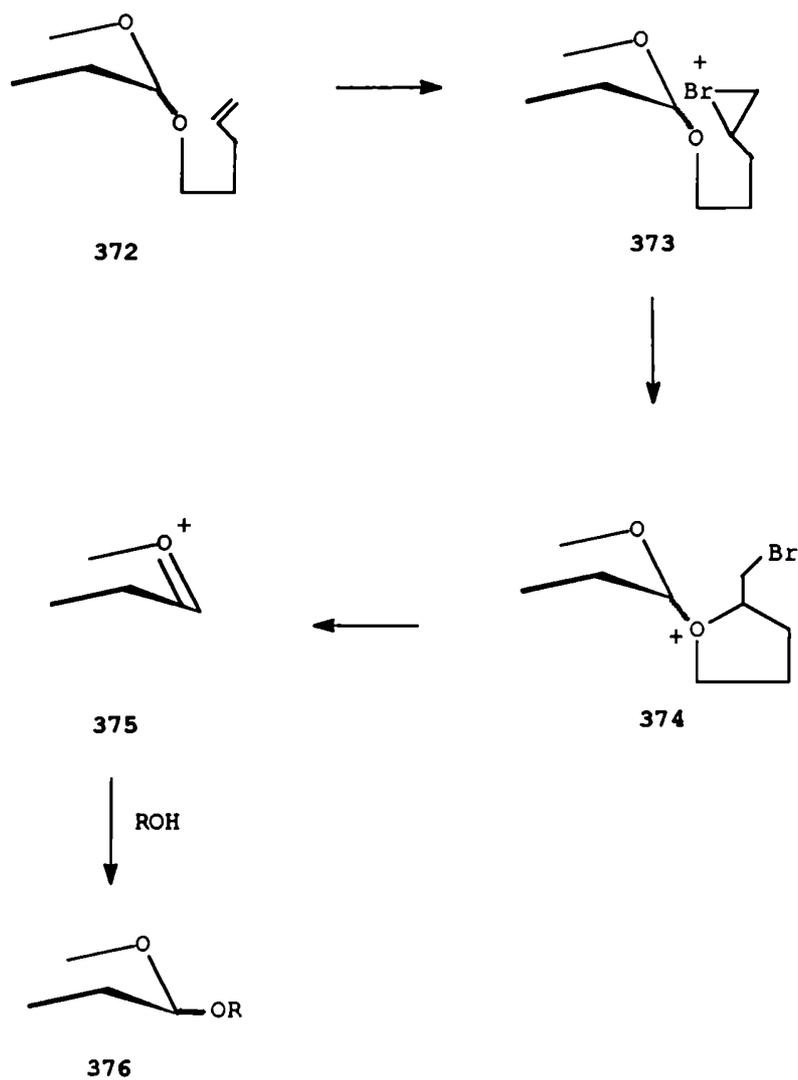
La formación del 2-O-acetil derivado con configuración gluco, implicaría una oxazolina intermediaria 369 con la misma configuración. La hidrólisis de la oxazolina es posible debido a que el medio contiene el catalizador ácido y agua:



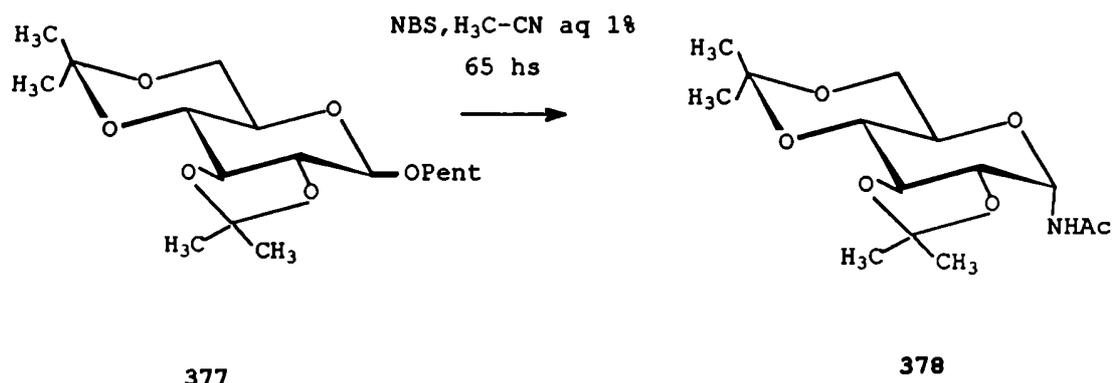
El efecto anomérico inverso sería responsable de la configuración β del grupo amino en el compuesto 366.

La reacción de pent-4-enil glicósidos con N-bromosuccinimida en acetonitrilo, que conduce a la formación de N-acetil- α -D-glucopiranosilamina fué descrita por Ratcliffe y Fraser-Reid¹⁴⁹.

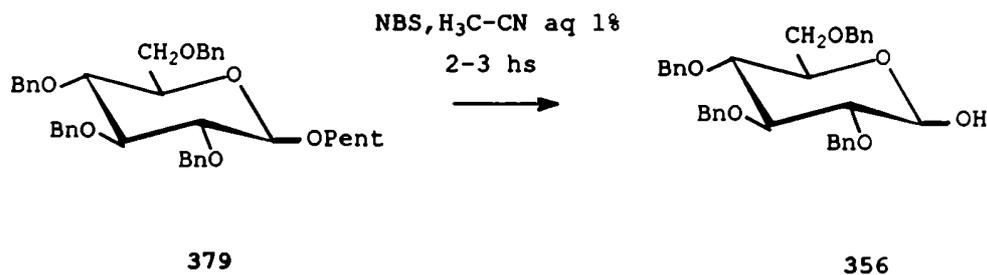
El pentenilglicósido 372 tratado con N-bromosuccinimida en acetonitrilo genera un ión bromonio 373 que da un ión oxolano 374 y finalmente un oxocarbación 375. Este último, en presencia de un alcohol, que puede ser un azúcar parcialmente bloqueado, da el glicósido correspondiente 376.



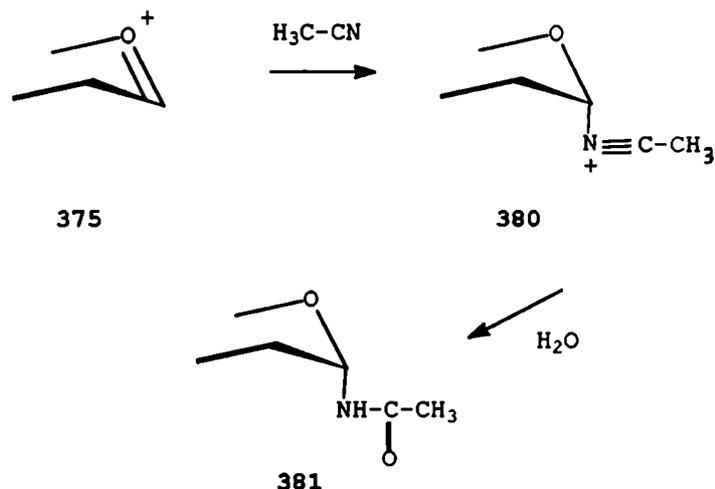
Cuando se bloquea el pentenilglicósido, como en 377, se aísla solamente la N-acetil- α -D-glucopiranosilamina correspondiente 378.



En cambio si se parte del pentenilglicósido perbenzilado 379, no se observa la formación de la N-acetilglicosilamina correspondiente.



La formación del N-acetil- α -D-glucopiranosilamino derivado se explica de acuerdo al mecanismo siguiente:



El oxocarbenio 375 en presencia de acetonitrilo genera la sal de nitrilio α , cuya hidrólisis posterior da la amida correspondiente, con configuración α .

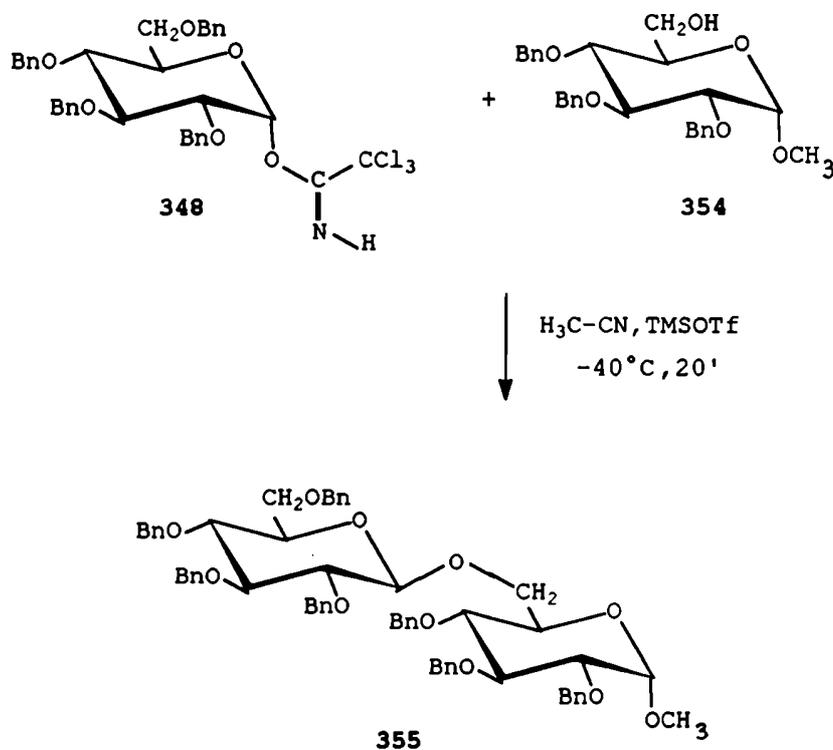
No está claro porqué un oxocarbenio proveniente de un pentenilglicósido tensionado capta acetonitrilo tan eficazmente. Podría haber mayor reactividad en ese ión de la molécula tensionada 377, pero este no sería el único factor.

Otro punto interesante es que la configuración de la sal de nitrilio es α . En otros casos se ha descrito la formación de la sal de nitrilio con configuración β , debido al efecto anomérico inverso^{148,155}. Hay evidencia de que el grupo acetamido tiene un efecto anomérico pequeño¹⁶³. Es decir que va a preferir la orientación ecuatorial sobre bases estéricas. Por lo tanto, el origen de la configuración anomérica en 378, no sería termodinámico sino cinético.

Pavia y col.¹⁵⁹ y Lemieux y Ratcliffe⁷² informaron que los iones acetonitrilio de hidratos de carbono adoptan configuración anomérica α .

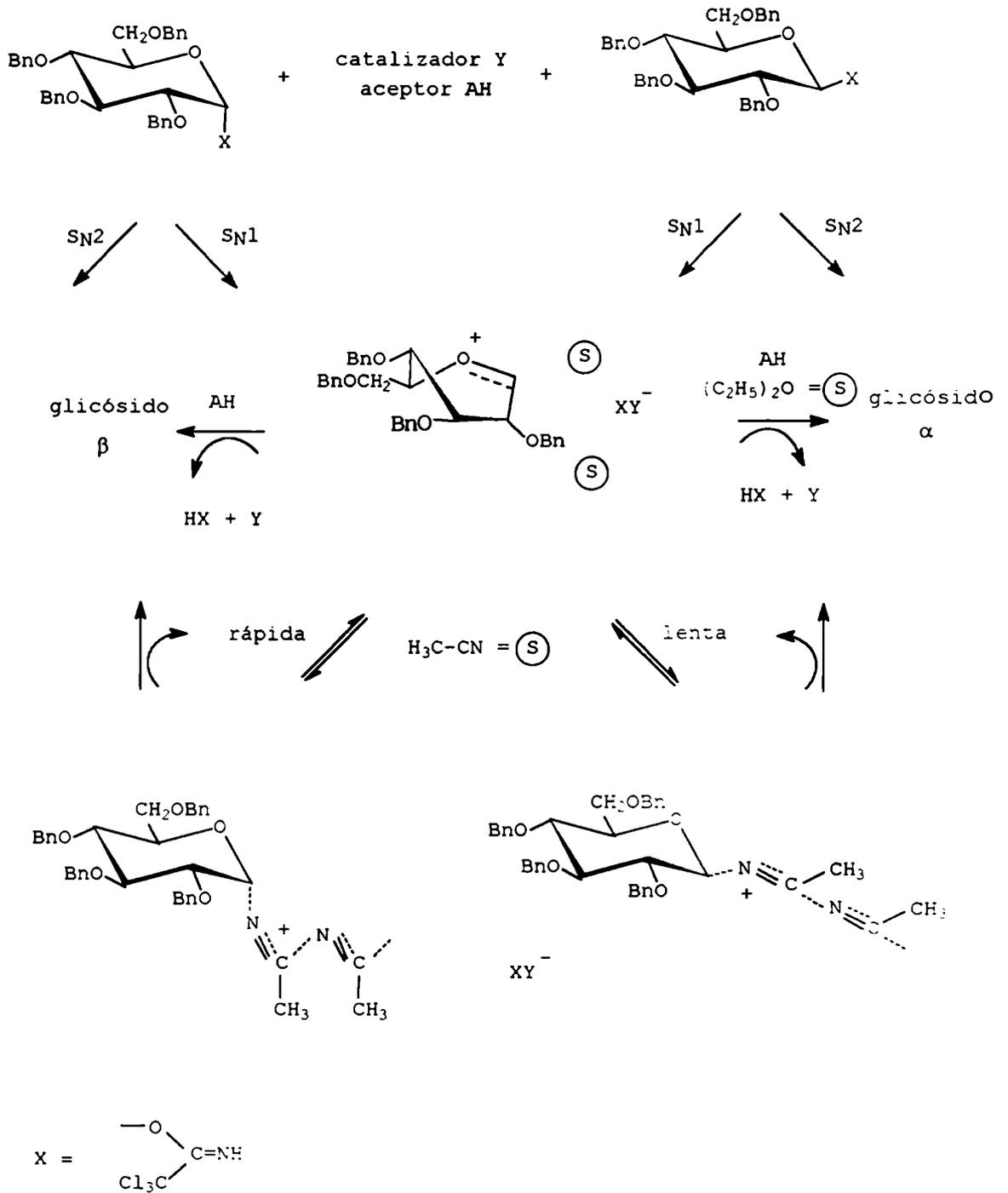
La aparente disparidad de resultados en las reacciones de glicosilación en acetonitrilo es racionalizada por Schmidt

y col.¹⁶⁴, quienes vuelven a plantear que el curso estereoquímico de las reacciones de glicosilación está controlado por intermediarios conjugados β -nitrilio-nitrilo, generados en condiciones S_N1 . No obstante, cuando hacen reaccionar tricloroacetimidatos (dadores de grupos glicosilo), en presencia de nitrilos como solventes a bajas temperaturas con un ácido de Lewis en cantidades equimolares como catalizador (trifluorometanosulfonato de trimetilsililo, TMSOTf) (condiciones S_N1) y un aceptor (hidroxilos primarios y secundarios de azúcares), observan la formación primordial de disacáridos β . Por ejemplo, la reacción del tricloroacetimidato **348** con el metil 2,3,4-tri-O-bencil- α -D-glucopiranosido (**354**) en acetonitrilo conduce a la mezcla de disacáridos **355** en una relación β : α = 16:1, con 89% de rendimiento.



Los autores postulan que la formación rápida de un intermediario conjugado α -nitrilio-nitrilo (que conduce al glicósido β), sería previa a la formación del conjugado β -nitrilio-nitrilo 352 termodinámicamente más estable, que generaría un glicósido α . Estos intermediarios conjugados α -nitrilio-nitrilo se convierten rápidamente en presencia de un aceptor en disacáridos β con altos rendimientos y diastereoselectividad. La relación α, β es independiente de la configuración del material de partida. Esto indica la formación de un intermediario común, que sería atacado por el nitrilo, por la cara α (Esquema 5).

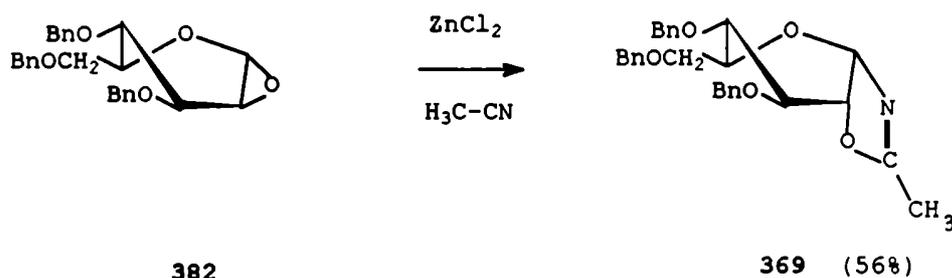
Esquema 5



Los nitrilos empleados son aceto-, propiono-, butiro-, benzo- y acrilonitrilo. Los tiempos de reacción varían de quince a treinta minutos, a -40°C con hidroxilos primarios de azúcares. La reacción también da buenos rendimientos y selectividad con hidroxilos secundarios de azúcares en C-3 o C-4, a -80°C durante diez minutos.

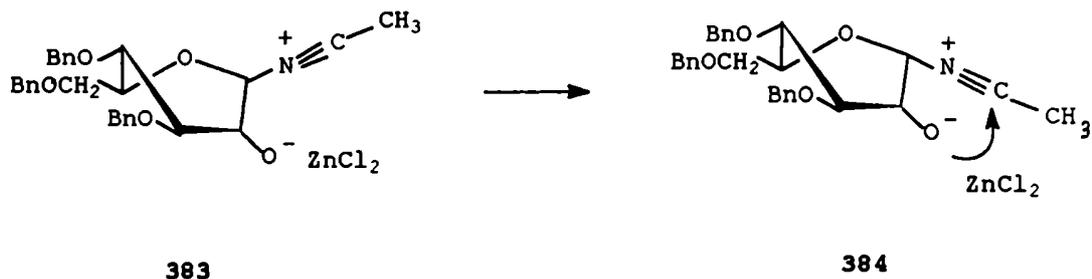
Gordon y Danishefsky¹⁶⁵ aplicaron las sales de nitrilio a la síntesis de 1,2-glicooxazolininas.

Para ello parten de sistemas de 1,2-anhidro piranosas, que tratan con acetonitrilo anhidro y cloruro de zinc en éter etílico durante dos horas a temperatura ambiente.



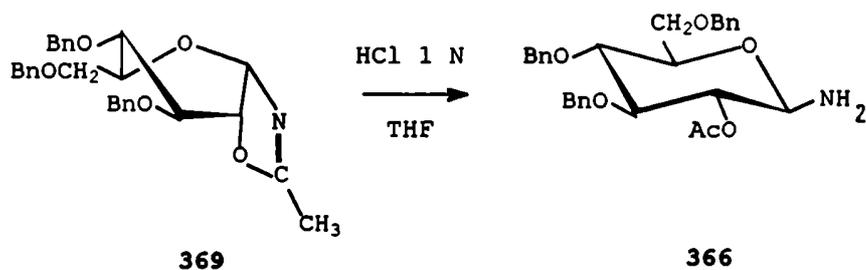
Las oxazolininas obtenidas no daban buenos análisis por combustión debido a su inestabilidad, pero se caracterizaron por espectrometría de masa de alta resolución, otros métodos espectroscópicos (IR, $^1\text{H-RMN}$) y rotación óptica.

El mecanismo implicaría la formación de una sal de nitrilio **383**, que sufriría inversión para dar el anómero axial^{166,167} **384**, que es capturado por el oxianión en C-2.



Alternativamente **384** puede formarse por una apertura de tipo S_N1 del oxirano.

La hidrólisis ácida de la oxazolina en tetrahidrofurano durante treinta minutos a temperatura ambiente da lugar al β -glicosilamino derivado **366**.



La formación del compuesto **366** fué descrita por Pavia y col.¹⁵⁹, según se mencionó antes.

El problema de la estereoquímica de las sales de nitrilio en las glicosilaciones de azúcares con sustituyentes protectores no participativos (por ejemplo bencilos) realizadas en acetonitrilo como solvente fué retomado por Sinaý y col.¹⁶⁸.

Estos autores generaron intermediarios de nitrilio a -30°C por reacción de acetonitrilo con derivados convenientemente sustituidos de glucosa y galactosa y los estudiaron por resonancia magnética nuclear de ^1H , ^{13}C y ^{15}N y por modelado molecular. A esa temperatura encontraron que

sólo se forman derivados de nitrilio con configuración anomérica α . Asimismo pudieron determinar que la participación del solvente en la deslocalización de la carga positiva del ión nitrilio era insignificante.

CAPITULO VI
RESULTADOS Y DISCUSION

SINTESIS DE INOSITOLES NITROGENADOS Y SULFONILADOS

Es conocida la importancia de los ciclitoles nitrogenados en la determinación de la actividad biológica de muchas sustancias complejas¹⁶⁹. Un pequeño grupo de esos ciclitoles son mostazas nitrogenadas y derivados de nitroso-ureas¹⁷⁰ que han demostrado actividad antitumoral similar a la de derivados de azúcares¹⁷¹. La eficacia de los grupos nitrogenados activos se relaciona con la estructura general de la molécula portadora de dichos grupos¹⁷², lo cual explica el amplio espectro de actividad antitumoral que en general presentan las mostazas nitrogenadas.

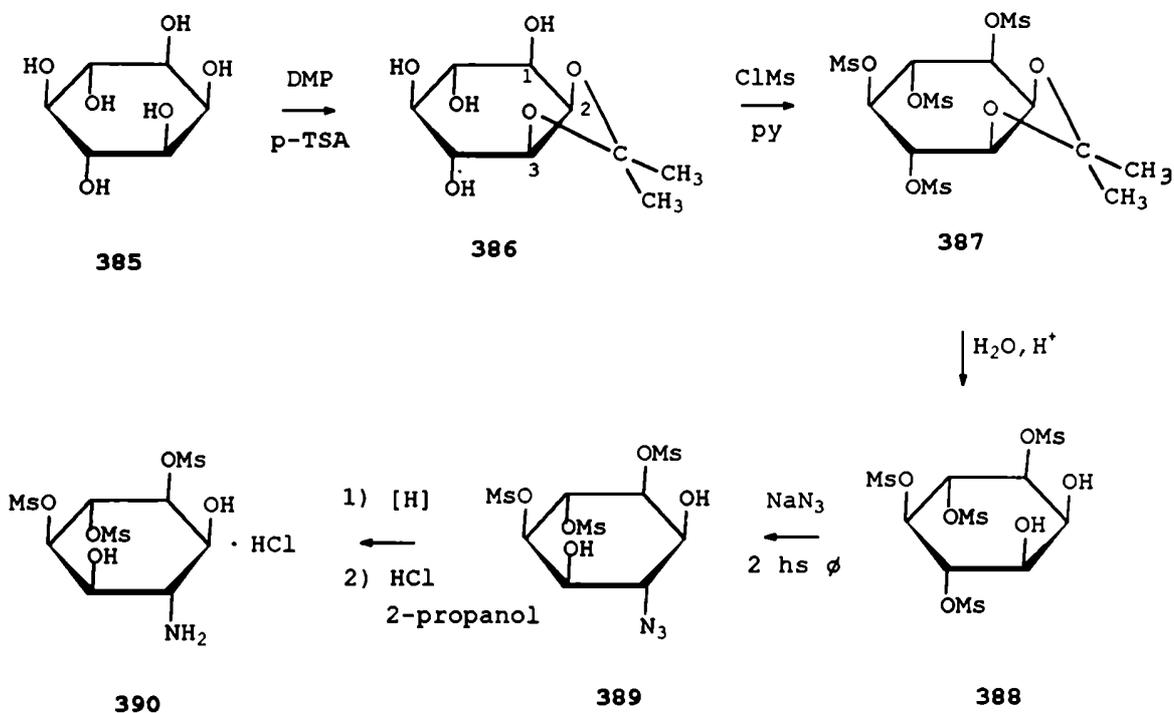
Sobre esas bases se consideró la posibilidad de insertar la agrupación activa:



en la estructura de inositoles sulfonilados que habían sido obtenidos previamente en nuestro laboratorio, pero cuyas síntesis requerían una optimización para llevarlas a escala preparativa y, eventualmente, mejorar sus rendimientos.

En el Esquema 6 se muestra una secuencia de reacciones en la cual, partiendo del *mio*-inositol (385) se obtiene el 2,3-isopropilidén-*mio*-inositol (386) mediante un procedimiento descrito en la literatura¹⁷³ empleando 2,2-dimetoxipropano en dimetilsulfóxido.

Esquema 6



DMP = Dimetoxipropano

p-TSA = Acido p-toluensulfónico

ClMs = $\text{CH}_3\text{-SO}_2\text{-Cl}$

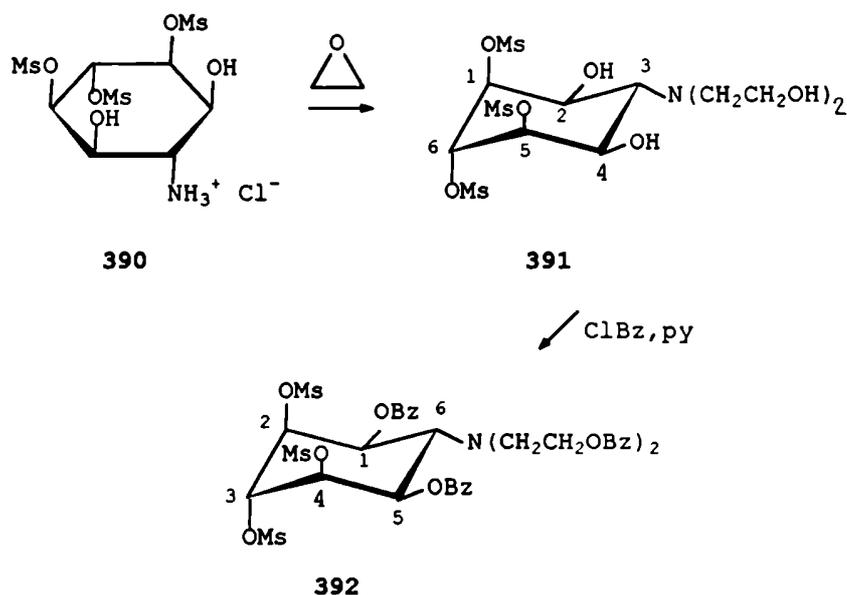
Las reacciones siguientes resultan de modificar los procedimientos descritos¹⁷⁴ en la literatura.

Así, la mesilación de **386** con cloruro de metanosulfonilo en piridina condujo al 2,3-isopropilidén-1,4,5,6-tetra-O-(metilsulfonil)-*mio*-inositol (**387**) con 89% de rendimiento en lugar del 69% descrito¹⁷⁴. La hidrólisis del compuesto **387** con ácido clorhídrico acuoso dió lugar, por eliminación del grupo isopropilidénico, al 1,4,5,6-tetra-O-(metilsulfonil)-*mio*-inositol (**388**) con 91% de rendimiento.

Este inositol tetramesilado se trató directamente con azida sódica, eliminando la etapa de acetilación previa del procedimiento de literatura¹⁷⁴, obteniéndose el 3-azido-3-desoxi-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-*muco*-inositol (389) con 82% de rendimiento.

La reducción del compuesto 389 según literatura¹⁷⁴ requería la acetilación previa para poder solubilizarlo en etanol. La buena solubilidad de 389 en metilcellosolve (2-metoxietanol) permitió llevar a cabo la reducción sin problemas de migración de acetilos hacia el nitrógeno que presentaba el procedimiento de literatura, con lo cual se obtuvo el 3-amino-3-desoxi-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-*muco*-inositol (390) directamente en una etapa. A los fines de su utilización ulterior, el residuo bruto semisólido de la reducción se trató con una mezcla de ácido clorhídrico acuoso concentrado y 2-propanol en una proporción 1:4, respectivamente. Se obtuvo así el clorhidrato cristalino de 390 con un rendimiento del 80%.

El clorhidrato del 3-amino-3-desoxi-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-*muco*-inositol (390) se hizo reaccionar en medio acuoso con óxido de etileno para dar el 3-desoxi-3-N-bis(2-hidroxietyl)amino-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-*muco*-inositol (391). Este dietanolamino derivado parecía ser una mezcla compleja por cromatografía en capa delgada, aunque los espectros de RMN-¹H, RMN-¹³C y los datos analíticos indicaban que era puro. La benzoilación de 391 dió lugar a un único producto cristalino, el 1,5-di-O-benzoil-6-N-bis(2-benzoiloxietil)amino-6-desoxi-2,3,4-tri-O-(metilsulfonil)-*muco*-inositol (392). Este tetrabenzoato por desbenzoilación con álcali diluido volvió a regenerar el aparentemente complejo material de partida.



En el espectro de RMN-¹H de **391** en agua deuterada (Fig.1) los protones sobre los átomos de carbono hidroxilados (H-2 y H-4), aparecen debido a la simetría molecular, superpuestos como un par de dobletes ancho (δ 4,54), cuya separación (11 Hz y 3 Hz), refleja las relaciones axial-axial y *gauche* de éstos protones con sus vecinos, como se ve en la conformación representada para **391**. Las resonancias de H-1 y H-5, que aparecen superpuestas como un triplete angosto (δ 5,25), confirma ésta conformación.

El protón del anillo del átomo de carbono nitrogenado (H-3) aparece protegido y parcialmente superpuesto con los correspondientes a los grupos metileno terminales (CH₂OH) en δ 4,00. En δ 5,38 aparece un triplete para H-6 con $J_{1,6} = J_{5,6} = 3$ Hz que refleja la relación ecuatorial-ecuatorial con H-1 y H-5 respectivamente. Los protones de los grupos metileno unidos al átomo de nitrógeno (N-CH₂) resuenan en δ 3,70.

Finalmente, los protones de los grupos mesilo aparecen como dos singuletes, en δ 3,41 (6H) y 3,43 (3H).

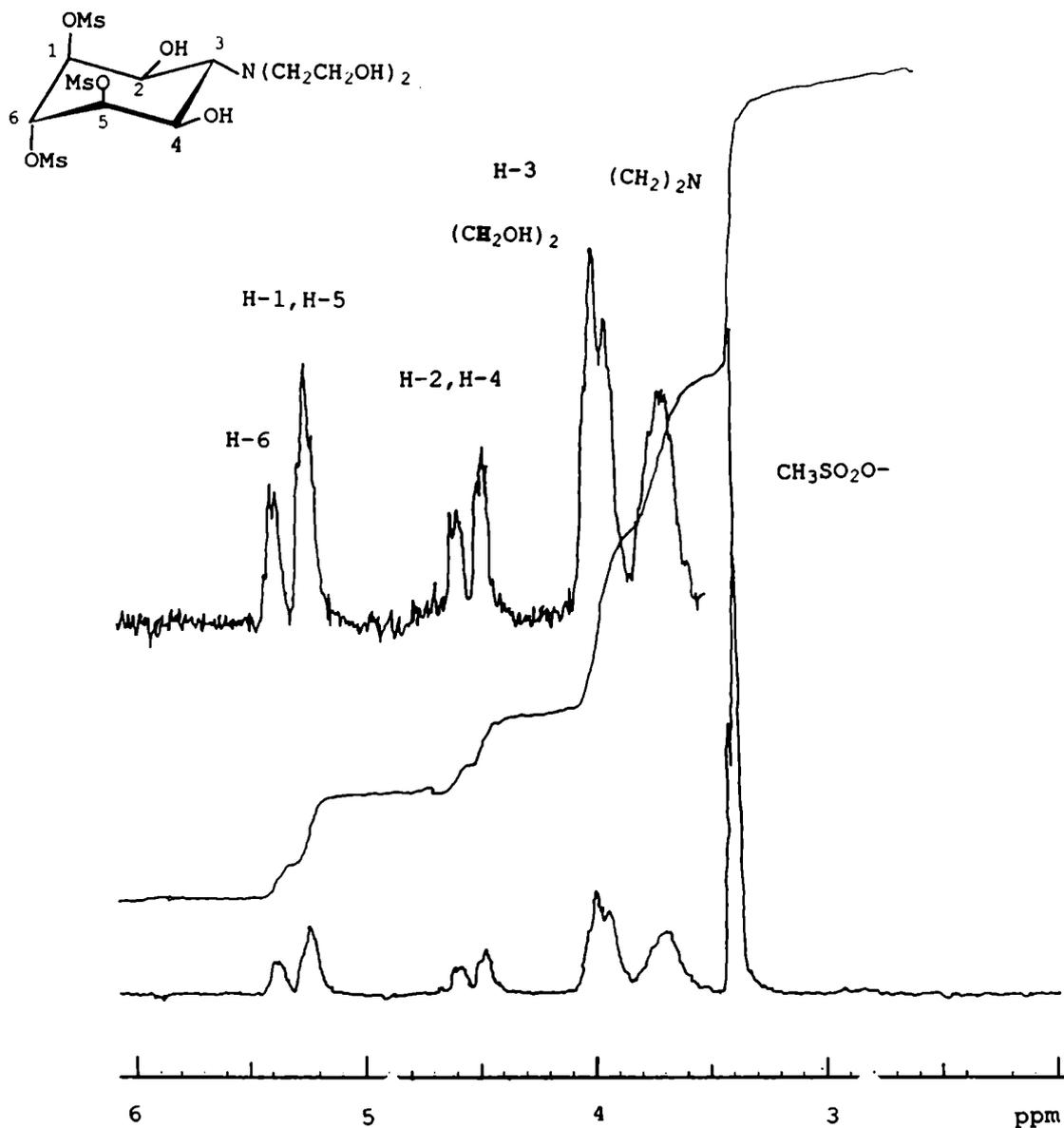


Figura 1. Espectro de RMN^{-1}H de 391 a 100 MHz.

La benzoilación de 391 no cambió notablemente éstos aspectos conformacionales, pero desprotegió fuertemente los dos protones del anillo H-1 y H-5 en 392 (δ 5,62, Fig.2). Los protones del anillo H-2, H-3 y H-4 correspondientes a los átomos de carbono mesilados aparecen superpuestos en δ 5,26. El protón del anillo del átomo de carbono nitrogenado H-6 resuena a δ 3,96 como un triplete ancho con $J_{1,6} = J_{5,6} = 10$ Hz, tal como era de esperar para la conformación postulada. Los protones correspondientes a los grupos metileno (CH_2OBz) terminales y los correspondientes a los grupos metileno unidos al átomo de nitrógeno (NCH_2) aparecen como tripletes a δ 4,22 y 3,14 respectivamente. Los singuletes de los grupos mesilo aparecen a δ 2,94 (6H) y a δ 3,22 (3H). Finalmente, los protones de los grupos benzoílo aparecen como un multiplete en δ 7,32-7,88.

La estructura simétrica de 391 también se evidenció en su espectro de RMN- ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) (Fig.3) que mostró a C-1 y C-5 como un singulete en δ 78,8 y a C-2 y C-4 también como un singulete en δ 65,7, ambos de intensidad doble comparada con el de C-6 (δ 74,4) y C-3 (δ 61,0). Los átomos de carbono de los grupos metileno terminales (CH_2OH) aparecen en δ 58,8 y los correspondientes a los grupos mesilo aparecen superpuestos con los de los grupos metileno unidos al átomo de nitrógeno en δ 37,8.

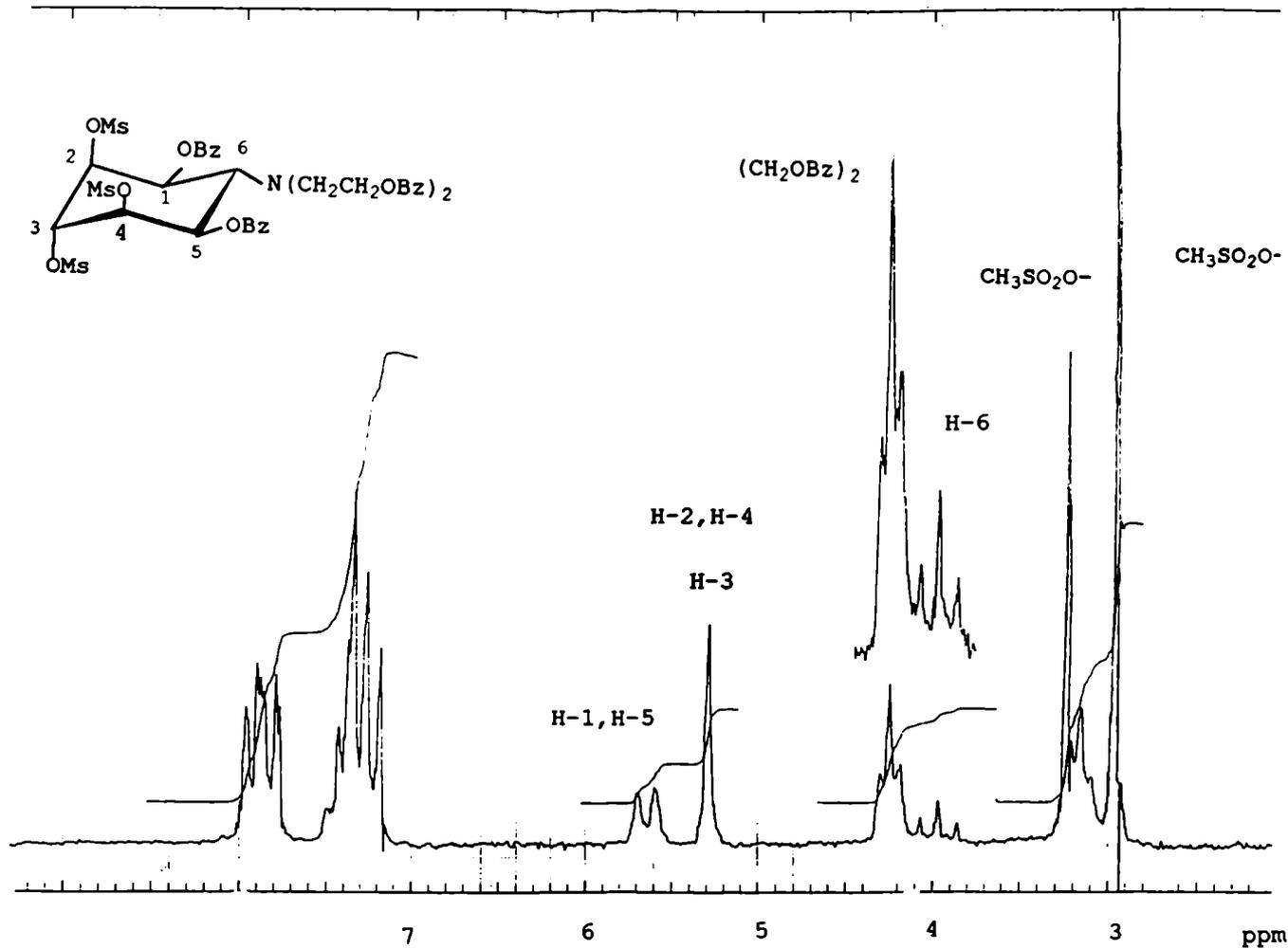


Figura 2. Espectro de RMN- ^1H de 392 a 100 MHz.

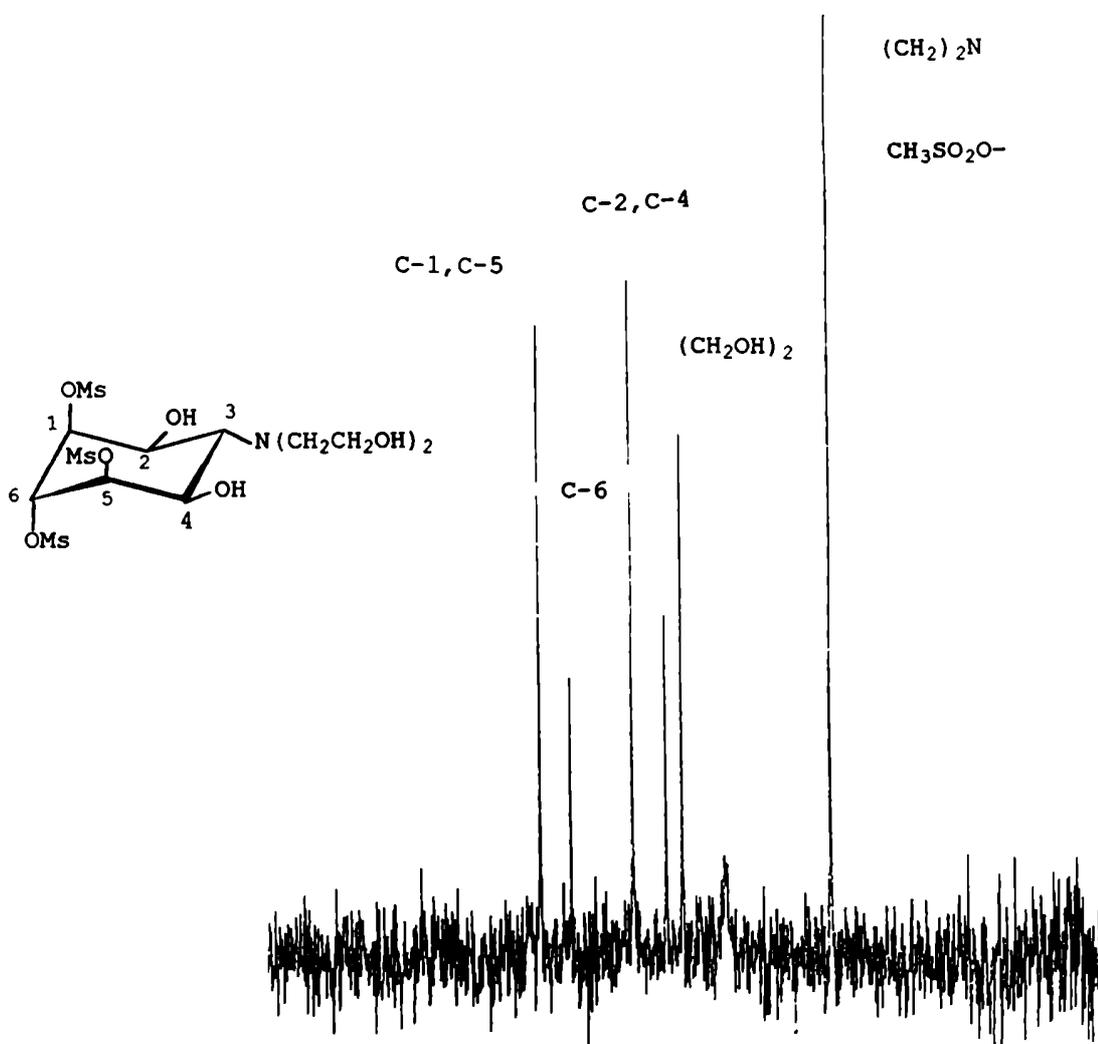


Figura 3. Espectro de RMN- ^{13}C de 391.

La cloración de 391 con cloruro de tionilo sigue un curso diferente, dependiendo de la presencia ó ausencia de piridina en el medio y del tiempo de reacción. Por ejemplo, cuando se utilizó cloruro de tionilo y piridina en cantidades

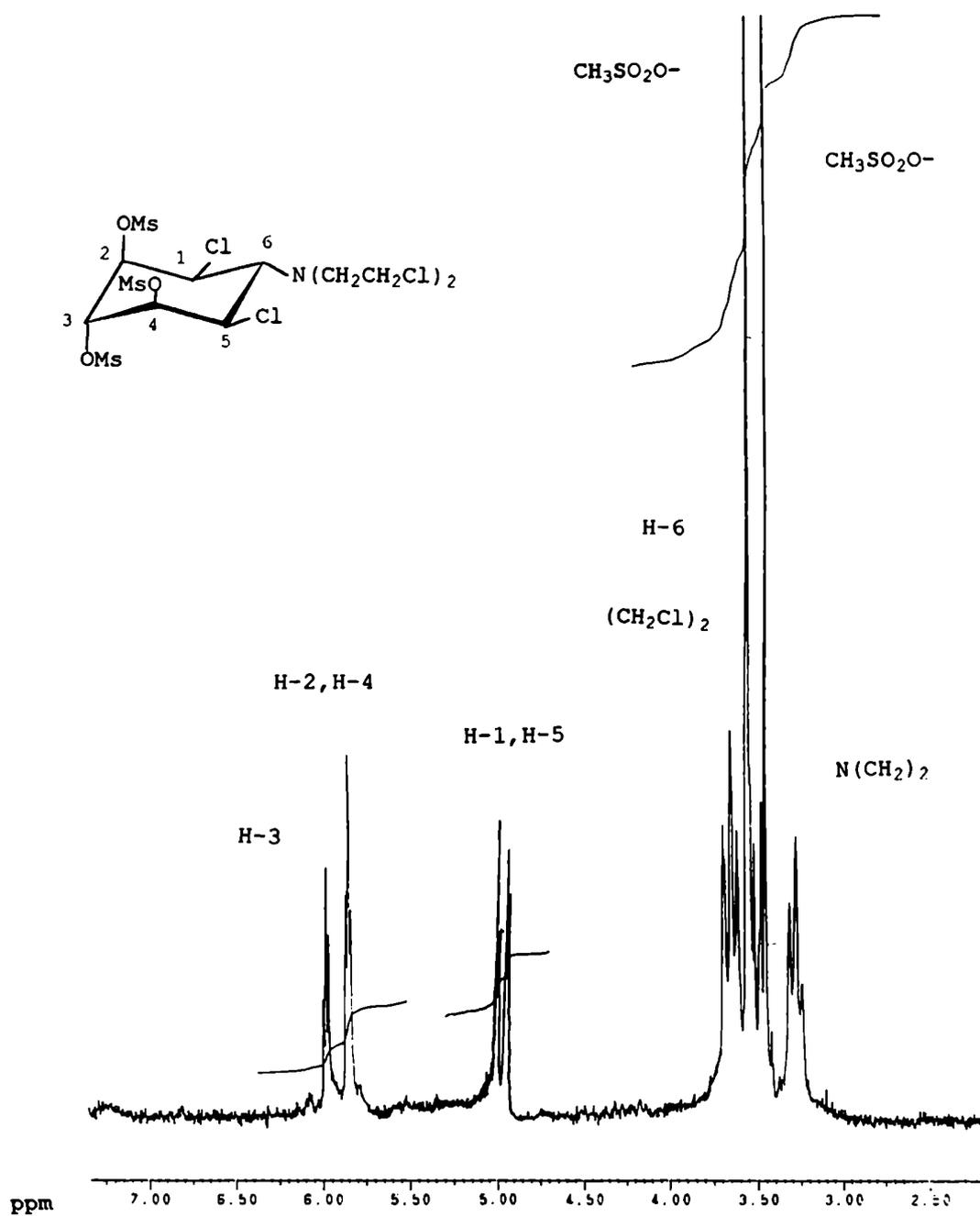


Figura 4. Espectro de RMN- ^1H de 393 a 200 MHz.

En el compuesto **393**, los protones de los átomos de carbono mesilados (H-2, H-3 y H-4) aparecen como tripletes angostos (δ 5,84, H-2 y H-4; δ 5,97, H-3, $J_{2,3} = J_{3,4} = 3$ Hz) idénticos a los correspondientes en **391** y los protones de los átomos de carbono clorados del anillo (H-1 y H-5) aparecen como un par de dobletes superpuestos (δ 5,04, H-1 y H-5) con una separación de 3 y 10 Hz, indicando la relación *gauche* y trans-diaxial de ambos protones con sus vecinos, como se observa en los protones correspondientes (H-2 y H-4) de **391**. Por lo tanto la conformación no ha sufrido alteraciones. Los protones pertenecientes a los grupos metileno junto con H-6 y con los protones de los grupos mesilo aparecen entre δ 3,10-3,90.

En el espectro de RMN- ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) (Fig.5) las resonancias para C-2, C-3 y C-4 (δ 78,4, C-2 y C-4; δ 74,5, C-3) son similares a las de los correspondientes átomos de carbono mesilados en el compuesto **391**. La única diferencia notable se observa para los átomos de carbono clorados (C-1 y C-5, δ 58,8) cuya resonancia aparece superpuesta y desplazada a campos altos (-6,8 ppm) con respecto a las correspondientes (C-2 y C-4) en el compuesto **391**. La señal de C-6 aparece en δ 63,4. Los grupos clorometileno terminales en la cadena lateral aparecen fuertemente desplazados (-15,7 ppm) a campos altos (δ 43,1, CH_2Cl) en comparación con los correspondientes grupos hidroximetileno de **391**. Se han observado desplazamientos drásticos similares en las cloraciones con otros azúcares¹⁷⁵. Las señales correspondientes a los átomos de carbono de los grupos metileno unidos al átomo de nitrógeno (NCH_2) aparecen en δ 37,7 y las correspondientes a los grupos mesilo aparecen en δ 38,4.

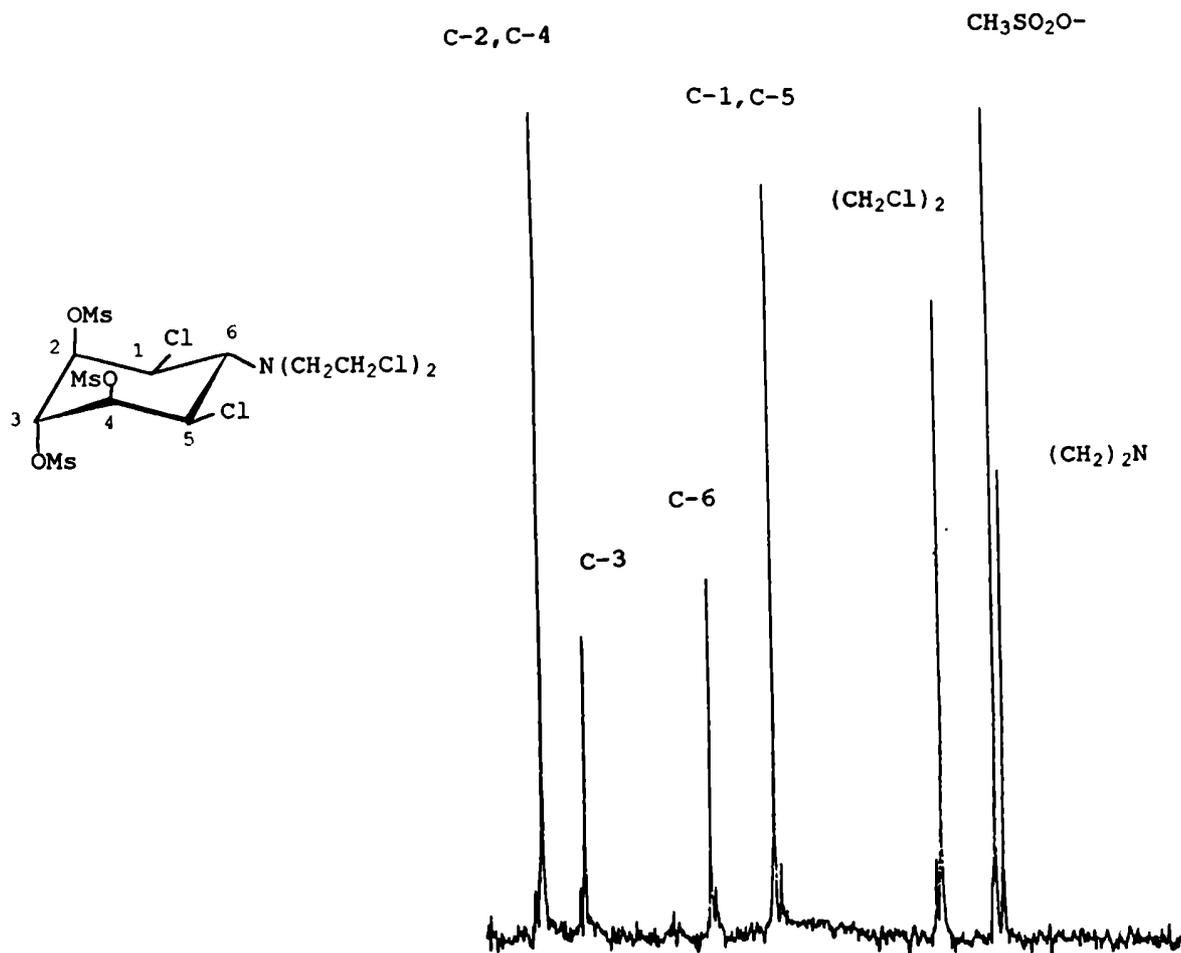
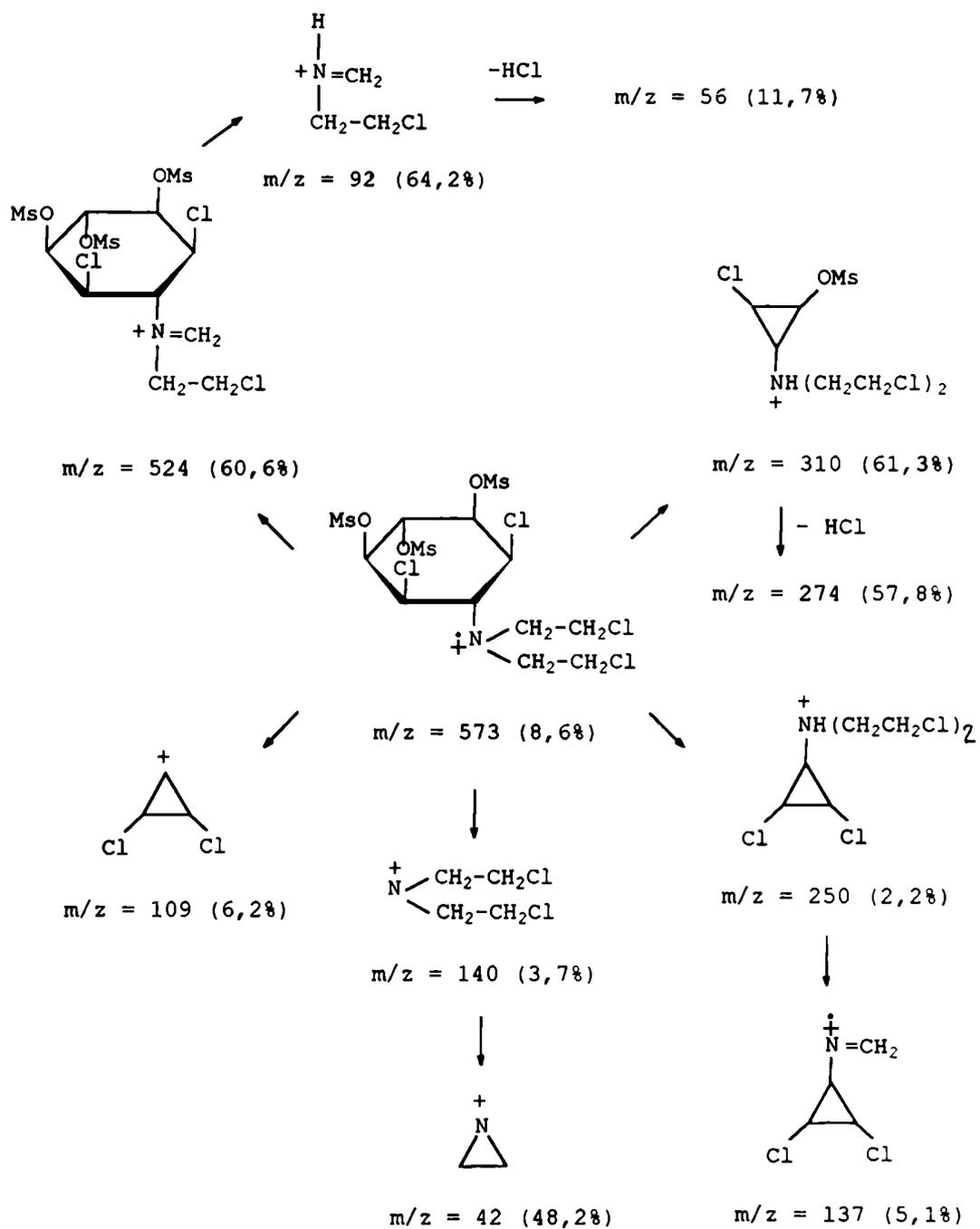


Figura 5. Espectro de RMN- ^{13}C de 393.

En el espectro de masa del derivado tetraclorado 393 (Esquema 7) se observa el ión molecular (m/z 573; 8,6%) y la tendencia común de algunos inositolos para dar fragmentos cíclicos de tres carbonos por impacto electrónico¹⁷⁶ que se atribuyen al ión diclorociclopropilio y diclorociclopropano nitrogenado. La mostaza nitrogenada de la cadena lateral produce un fragmento importante en m/z 92 (64,2%) que se atribuye al ión $\text{CH}_2=\text{N}^+\text{H}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$.

Esquema 7



La cloración de **391** con cloruro de tionilo y piridina a reflujo transcurre con sustitución en los grupos metileno secundarios de la cadena lateral, para dar el hexacloro derivado **394** con 20,6% de rendimiento.

El espectro de RMN-¹H (C₅D₅N) (Fig.6) muestra H-2 y H-4 superpuestos como un triplete angosto a δ 5,91 con espaciamentos de 3,0 Hz; lo cual refleja la relación *gauche* de esos protones con sus vecinos. Por otra parte, H-1 y H-5 aparecen también superpuestos como un par de dobletes centrado a δ 5,83 con espaciamentos de 3,1 Hz y 11,0 Hz; lo cual evidencia la estereoquímica de la cloración con retención de la configuración *muco* del inositol de partida, con una relación trans-diaxial de H-1 y H-6 y de H-5 y H-6. El protón unido al átomo de carbono nitrogenado (H-6) se superpone con los protones de los grupos mesilo a δ 3,53 y H-3 aparece a campo muy bajo a δ 6,03. En lo que respecta a la cadena lateral nitrogenada, la distribución de los átomos de cloro aparece confirmada por la relación de protones metínicos, dos a δ 4,08, que aparecen superpuestos como un triplete y cuatro como un multiplete entre δ 4,32-4,47. Los primeros, a campo muy alto, son comparables a los de los átomos de carbono unidos al átomo de nitrógeno. Puede observarse el corrimiento a campo bajo provocado por la mayor cloración en la cadena lateral, si se comparan los espectros del tetracloro **393** y del hexacloro derivado **394**.

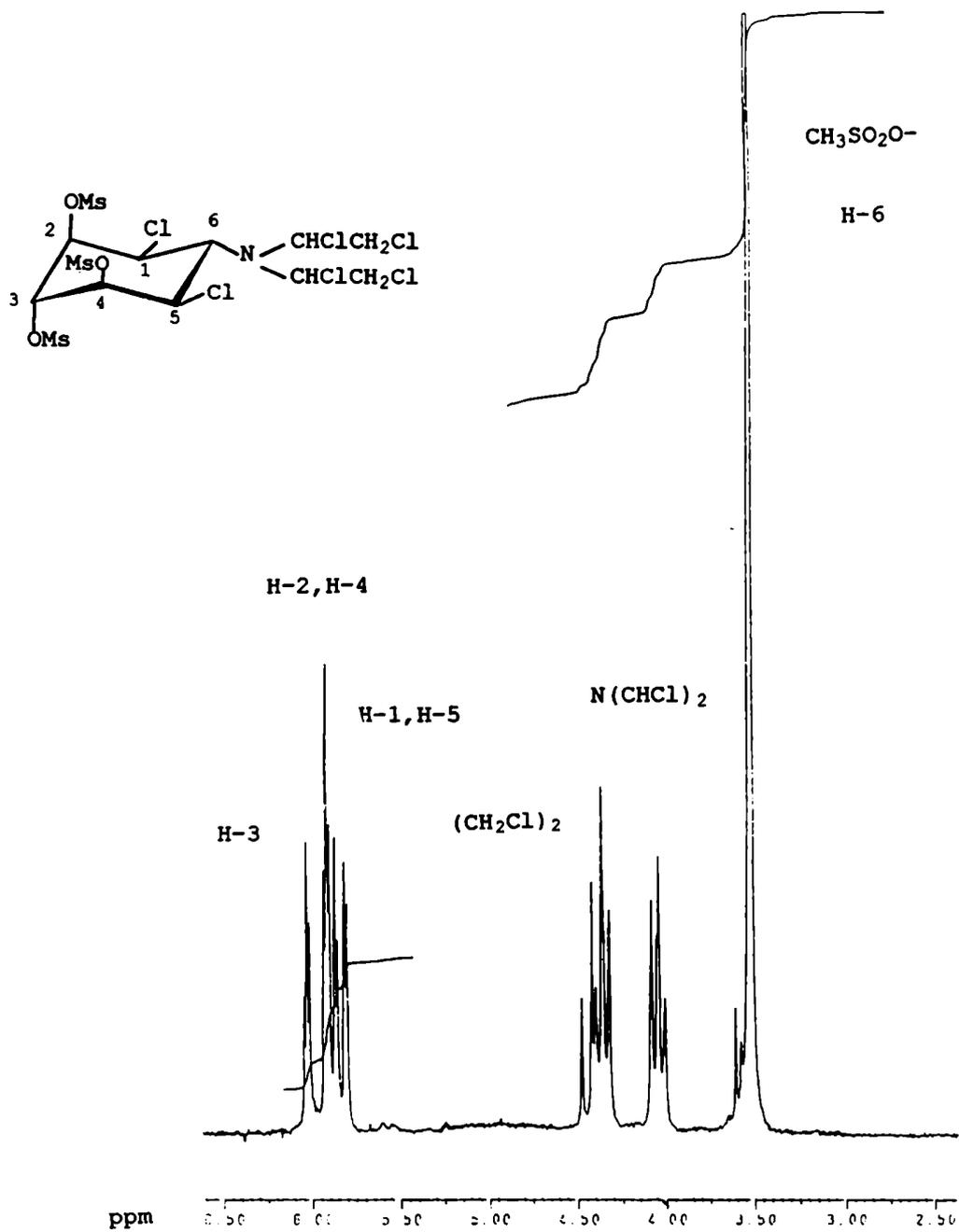
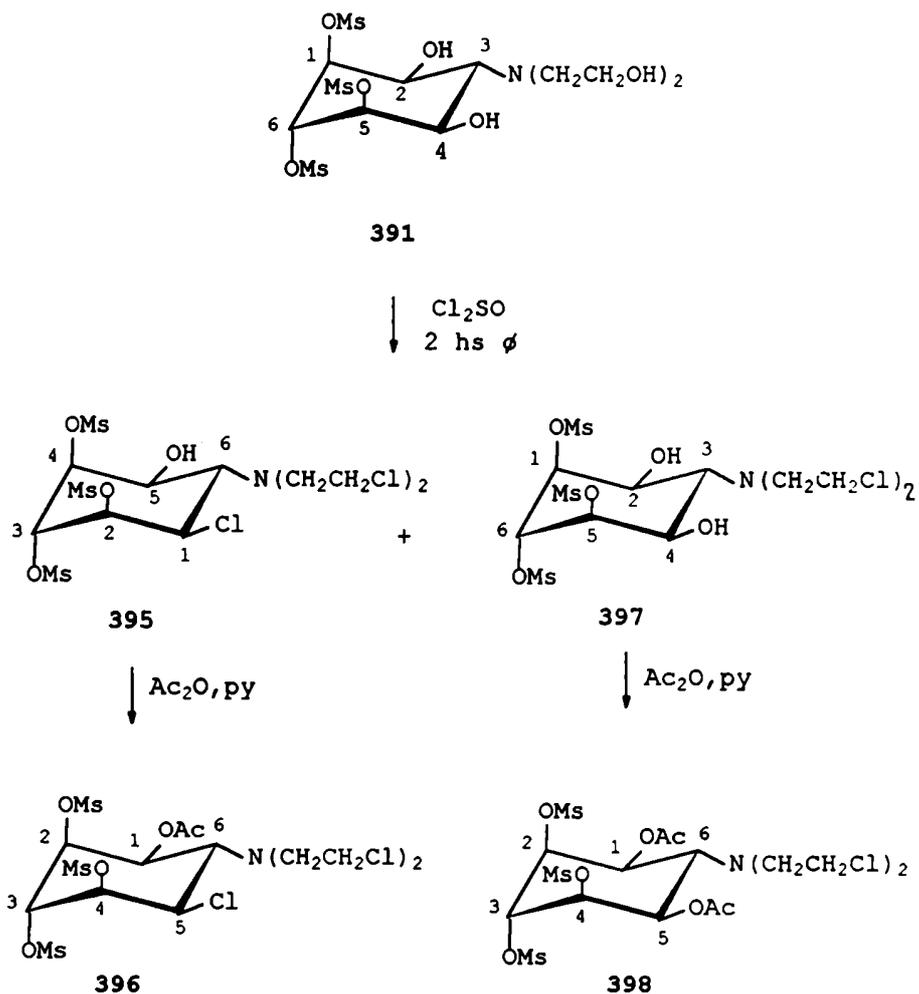


Figura 6. Espectro de RMN-¹H de 394 a 200 MHz.

El compuesto 394 resultó ser insoluble en solventes a las concentraciones requeridas para la determinación del espectro de RMN-¹³C en solución.

El espectro de masa de 394 (Esquema 8) muestra un pico a m/z 208 y otros relacionados con éste, que son útiles para confirmar ésta estructura particular.

Cuando el compuesto 391 se reflujo con cloruro de tionilo durante dos horas se obtuvo una mezcla de cloro derivados en la cual pueden distinguirse dos productos principales diferentes de 393 y 394. Estos nuevos compuestos difieren notablemente de aquellos en cromatografía en capa delgada y fueron separados y purificados mediante sucesivas extracciones selectivas con solventes, recristalizaciones y cromatografías en placa preparativa. Así, se aisló el D,L-1-cloro-6-N-bis(2-cloroetil)amino-1,6-didesoxi-2,3,4-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol (395) con 21,1% de rendimiento, mientras que el otro compuesto, el 3-N-bis(2-cloroetil)amino-3-desoxi-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol (397), si-
ruposo, se obtuvo con 23% de rendimiento y se identificó como un dicloro derivado a través de los datos aportados por su diacetil derivado cristalino 398 [1,5-di-O-acetil-6-N-bis(2-cloroetil)amino-6-desoxi-2,3,4-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol].



La estructura de 395 se determinó a partir del espectro de RMN^{-1}H ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) (Fig.7) de su monoacetil derivado 396 [D,L-1-O-acetil-5-cloro-6-N-bis(2-cloroetil)amino-5,6-didesoxi-2,3,4-tri-O-(metilsulfonyl)-muco-inositol], el cual mostró un multiplete angosto entre δ 5,84-5,93 que integra para 3 H, asignable a los protones ecuatoriales de los átomos de carbono mesilados (H-2, H-3 y H-4). Los protones correspondientes a los átomos de carbono acetilado y clorado del anillo aparecen bien diferenciados como dos pares de dobletes en δ 5,63 (H-1) y δ 5,11 (H-5) respectivamente con

$J_{1,6} = 10$ Hz y $J_{1,2} = 3$ Hz para H-1 y $J_{5,6} = 10$ Hz y $J_{4,5} = 3$ Hz para H-5, confirmando la conformación representada para 396. El protón unido al átomo de carbono nitrogenado (H-6) aparece como un triplete a campo más alto (δ 3,80) con $J_{1,6} = J_{5,6} = 10$ Hz. Estos datos concuerdan con una estereoquímica de monocloración en el anillo con retención de la configuración. Los protones correspondientes a los grupos metileno unidos al átomo de nitrógeno (NCH_2) y los correspondientes unidos a los átomos de cloro (CH_2Cl), aparecen a δ 3,24 y 3,61 respectivamente. Los protones correspondientes a los grupos mesilo aparecen a δ 3,38; 3,52 y 3,55 y los correspondientes al grupo acetilo en δ 2,21. La resonancia del singulete de acetilo aparece a un valor que indica la orientación ecuatorial de ese grupo¹⁷⁷.

El espectro de RMN-¹H a 100 MHz en DMSO-d₆ (Fig.8) de 395 sigue los lineamientos del espectro de su acetato pero con muy baja resolución. Muestra un multiplete en δ 5,04-5,24 para los protones de los átomos de carbono mesilados (H-2, H-3 y H-4). Los protones correspondientes a los átomos de carbono hidroxilado y clorado (H-5 y H-1) aparecen como multipletes a δ 4,96 y 4,63 respectivamente. El protón unido al átomo de carbono nitrogenado (H-6) aparece a campo más alto superpuesto con los protones correspondientes a los grupos metileno (CH_2Cl) terminales en δ 3,58. Los protones de los grupos metileno unidos al átomo de nitrógeno (NCH_2) aparecen como un multiplete en δ 3,12, mientras que los protones correspondientes a los grupos mesilo aparecen en δ 3,28; 3,38 y 3,40.

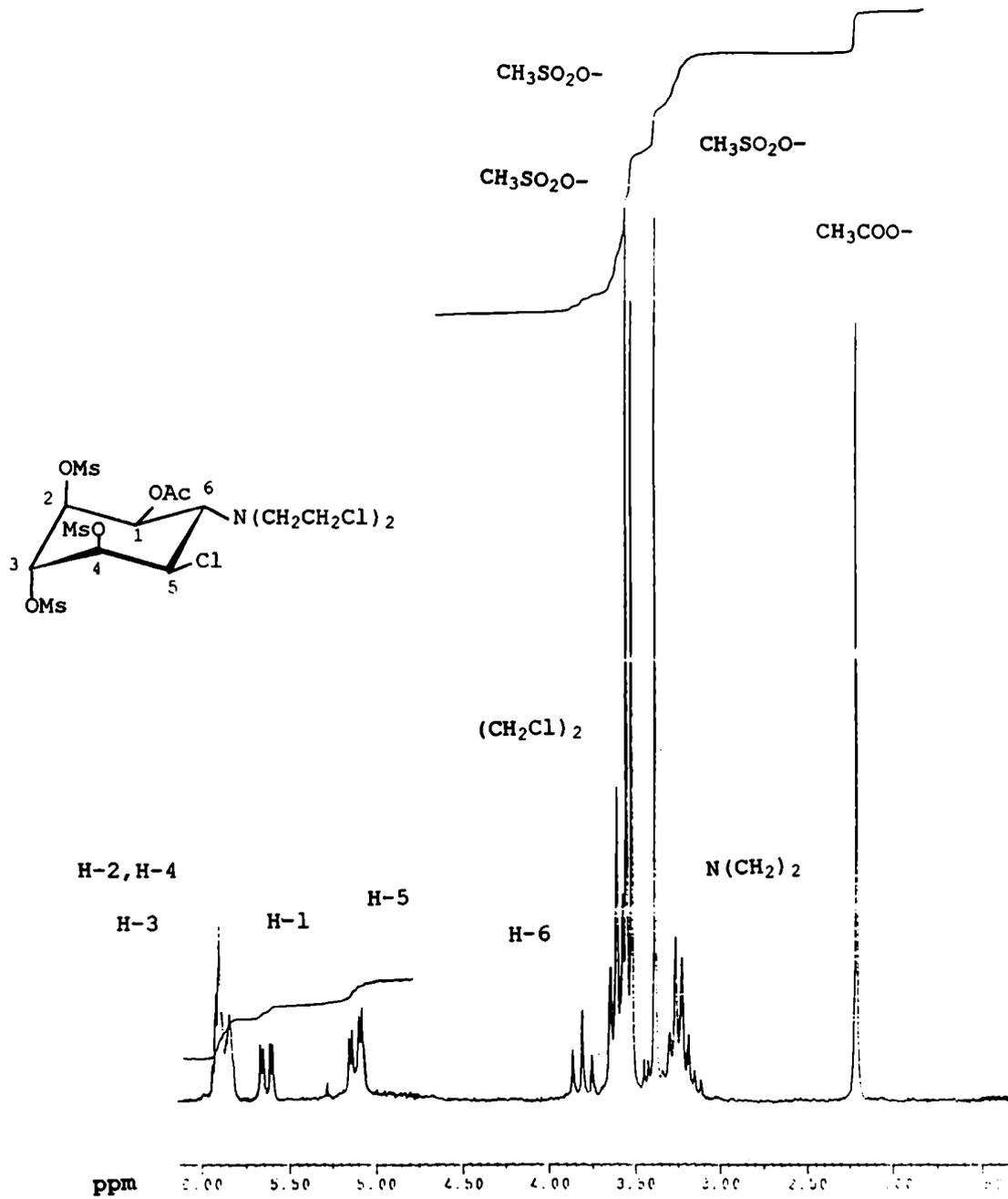


Figura 7. Espectro de RMN- ^1H de 396 a 200 MHz.

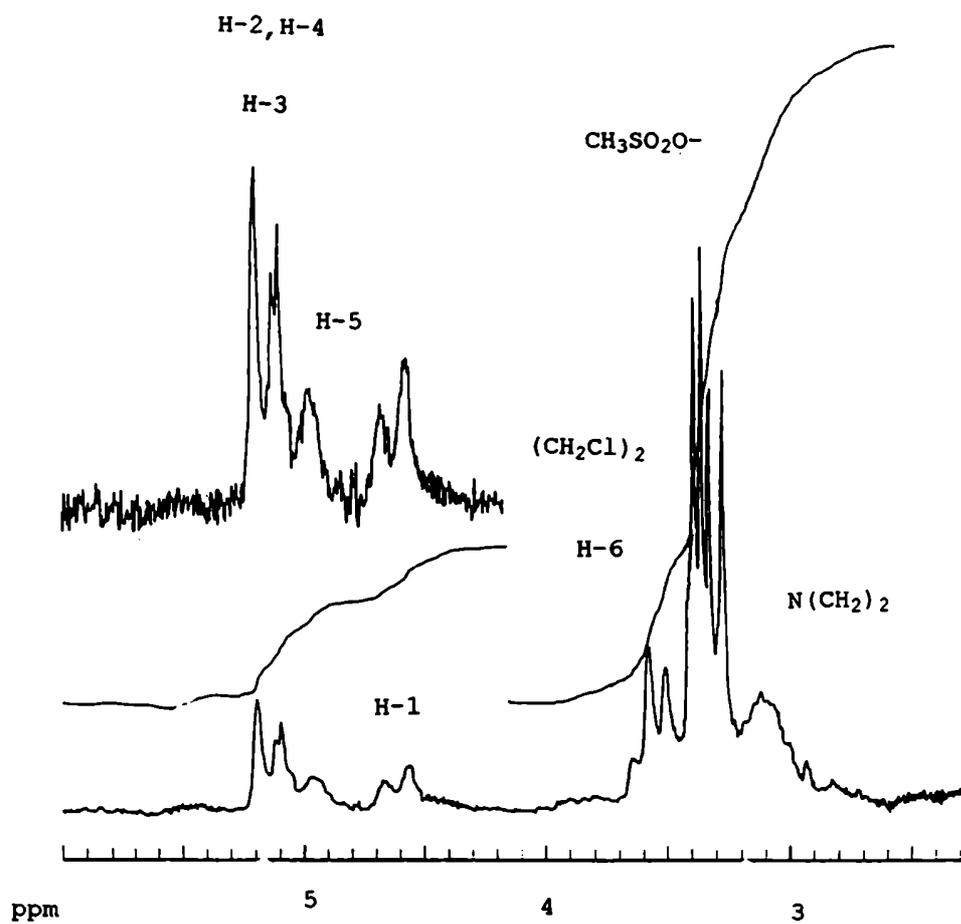
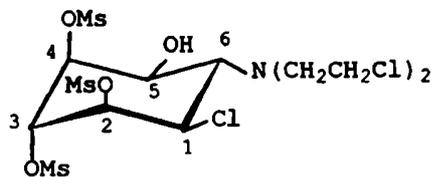


Figura 8. Espectro de RMN-¹H de 395 a 100 MHz.

El espectro de RMN-¹³C (C₅D₅N) (Fig.9) de 395 comparado con el de 393 indica una cloración prácticamente idéntica en la cadena lateral para ambos compuestos, confirmando la estructura con el grupo hidroxilo libre en el anillo. Las resonancias para los átomos de carbono del anillo muestran diferencias predecibles para C-5, C-6 y C-1, indicando un modelo de sustitución asimétrico (δ 66,6; 63,4 y 57,8 para C-5, C-6 y C-1 respectivamente), mientras que los átomos de carbono mesilados C-2, C-4 y C-3 muestran resonancias idénticas que las del compuesto 393 (δ 78,6 y 74,5 para C-2, C-4 y C-3 respectivamente). Los átomos de carbono correspondientes a los grupos metileno terminales (CH₂Cl) aparecen a δ 43,5; mientras que los correspondientes unidos al átomo de nitrógeno (CH₂N) aparecen a δ 37,6; ambos valores coincidentes con los observados para el tetracloro derivado 393. Finalmente, los átomos de carbono correspondientes a los grupos mesilo aparecen a δ 38,4.

Los aspectos más significativos desde el punto de vista estructural del espectro de masa de 395 son el pico a m/z 506 y otros producidos por su fragmentación como se muestra en el Esquema 9, así como también para los picos relativos al compuesto 396.

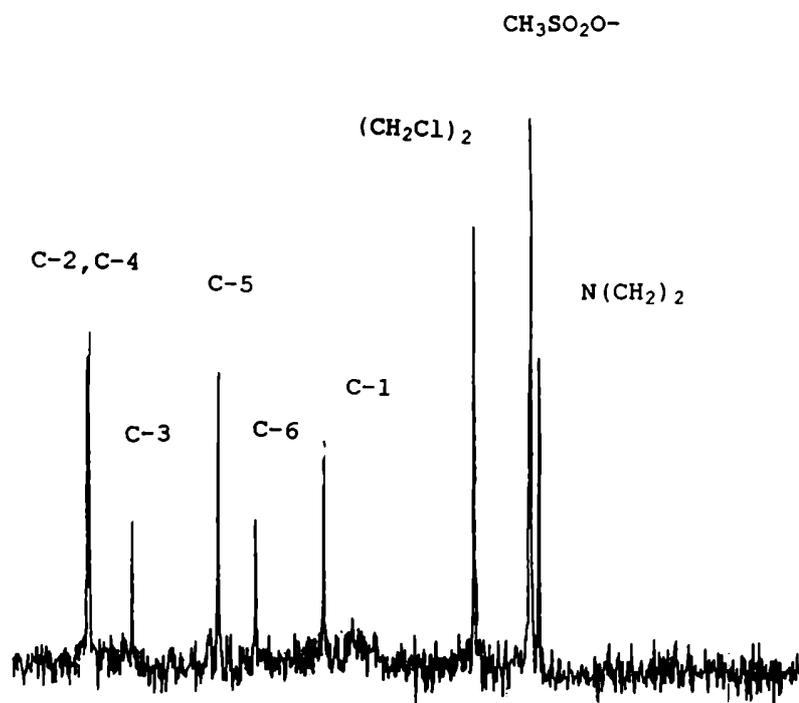
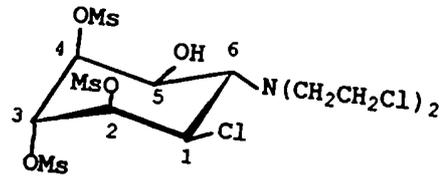
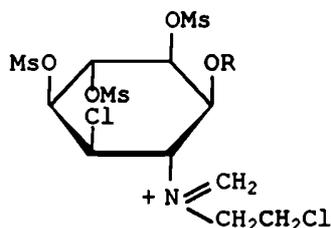


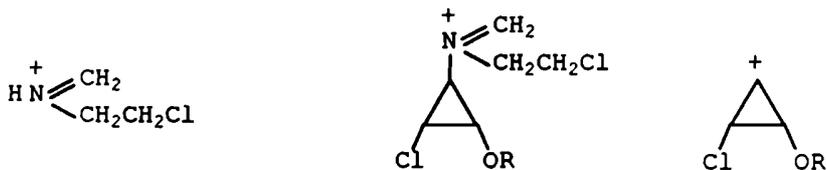
Figura 9. Espectro de RMN-¹³C de 395.

Esquema 9



395 R = H m/z 506 (86,1%)

396 R = Ac m/z 548 (91,6%)



395 R = H m/z 92 (19,7%)

m/z 182 (8,0%)

396 R = Ac m/z 92 (44,1%)

m/z 134 (16,0%)

El dicloro derivado 397 se obtuvo como un polvo amorfo que dió un diacetato 398, cuyo espectro de RMN- 1H (C_5D_5N) (Fig. 10) muestra los protones correspondientes a los dos grupos acetilo superpuestos como un singulete, indicando que ambos grupos pueden estar ubicados en el anillo ó en la cadena lateral (δ 2,22). La primer posibilidad está sustentada por el hecho de que los protones correspondientes del anillo (H-1 y H-5) aparecen a campos relativamente bajos (δ 5,74 - 6,00) debido a la acetilación. La cloración en el anillo implicaría desplazamientos a campos mayores de esos

protones. La resonancia del singulete para los protones de los grupos acetilo en δ 2,22 indica una orientación ecuatorial¹⁷⁷ para ambos grupos acetilo. Los protones correspondientes a los grupos metileno unidos al átomo de nitrógeno (CH_2N) aparecen a δ 3,20 parcialmente superpuestos con la resonancia de un grupo mesilo (δ 3,30), mientras que los correspondientes a los grupos metileno terminales (CH_2Cl) aparecen a δ 3,58 parcialmente superpuestos con la resonancia de dos grupos mesilo a δ 3,53. El protón unido al átomo de carbono nitrogenado (H-6) aparece como un triplete a campo más bajo (δ 3,88).

El espectro de masa de 398 (Esquema 10) a 20 eV confirma la estructura postulada, principalmente sobre la base del pico a m/z 573 (100%) que se origina por la pérdida del fragmento (CH_2Cl) a partir de la cadena lateral diclorada.

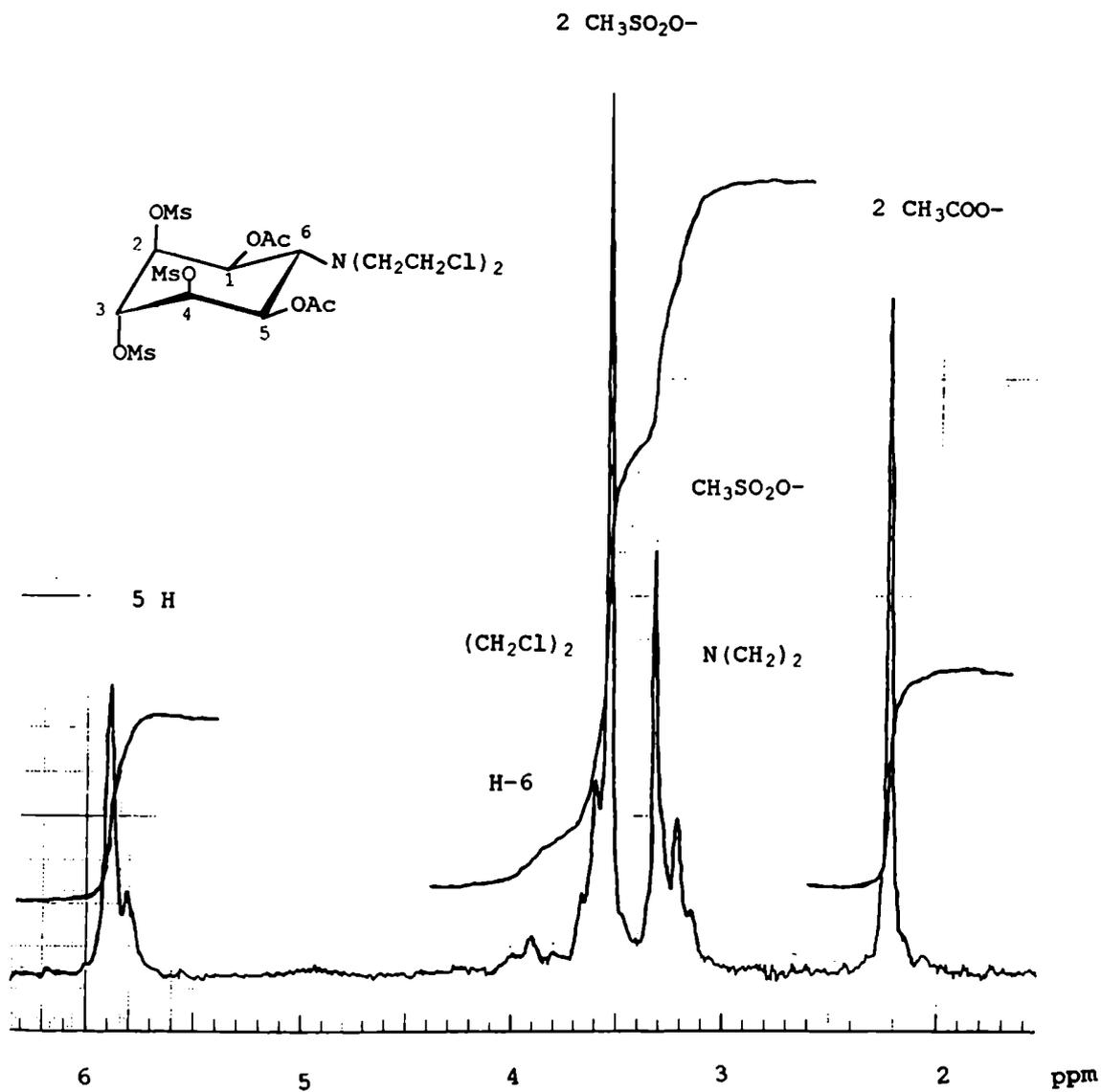
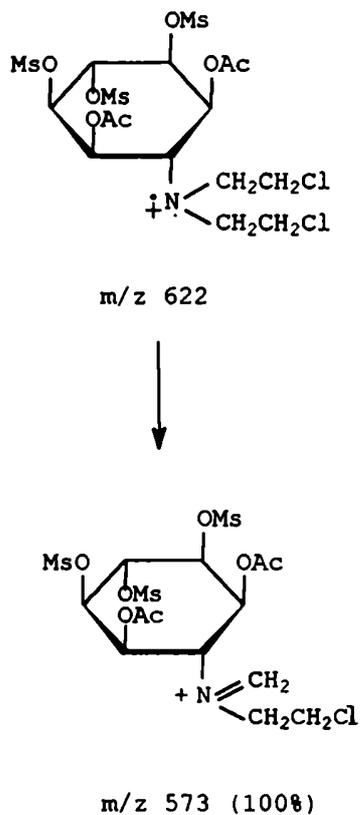


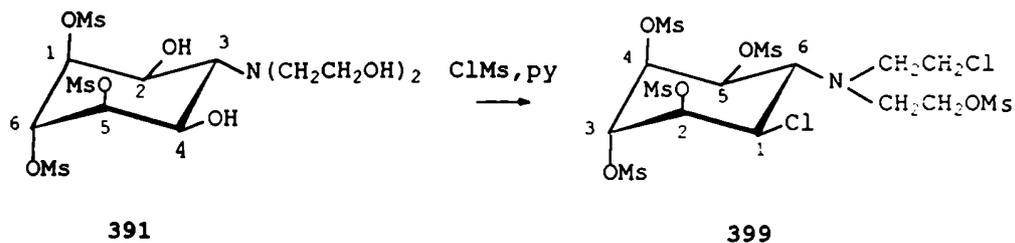
Figura 10. Espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}$ de 398 a 100 MHz.

Esquema 10



Cuando el compuesto 391 se trató con cloruro de mesilo en piridina a temperatura ambiente, se obtuvo el D,L-1-cloro-6-[N(2-cloroetil)-N-(2-O-(metilsulfonyl)etil)]amino-1,6-dideoxi-2,3,4,5-tetra-O-(metilsulfonyl)-*muco*-inositol (399).

Los datos analíticos y espectroscópicos están de acuerdo con la presencia de cinco grupos mesilo y dos átomos de cloro.



En su espectro de RMN-¹H (C₅D₅N) (Fig. 11) la señal del protón unido al átomo de carbono nitrogenado (H-6, δ 4,16) aparece como un triplete con $J_{5,6} = J_{1,6} = 7,8$ Hz; que corresponde a una stereoquímica trans-diaxial de éste protón con sus vecinos H-1 y H-5 (similar a los compuestos 396 y 402). A δ 5,87 aparece un par de dobletes que integra para dos protones con espacios de 3,3 Hz y 7,8 Hz; que son atribuibles a H-1 y H-5. Los restantes protones del anillo (H-2, H-3 y H-4) aparecen como un multiplete a aproximadamente δ 6,0. Los protones correspondientes a los grupos metileno terminales (CH₂Cl) y (CH₂OMs) aparecen superpuestos como un triplete a δ 3,82 y los correspondientes unidos al átomo de nitrógeno (CH₂N) aparecen como un triplete a δ 3,51. Finalmente, la señal correspondiente a los protones del grupo mesilo de la cadena lateral aparece como un singulete a δ 3,32. Otros dos singuletes a δ 3,57 y 3,64 que integran para doce protones pueden atribuirse a los cuatro grupos mesilo del anillo.

En el espectro de masa del compuesto 399 (Esquema 11) no aparece el ión molecular, pero sí muestra dos iones importantes a m/z 644 (100%) y 584 (30%) que se atribuyen a la pérdida de los fragmentos (CH₂Cl) y (CH₂OMs) respectivamente.

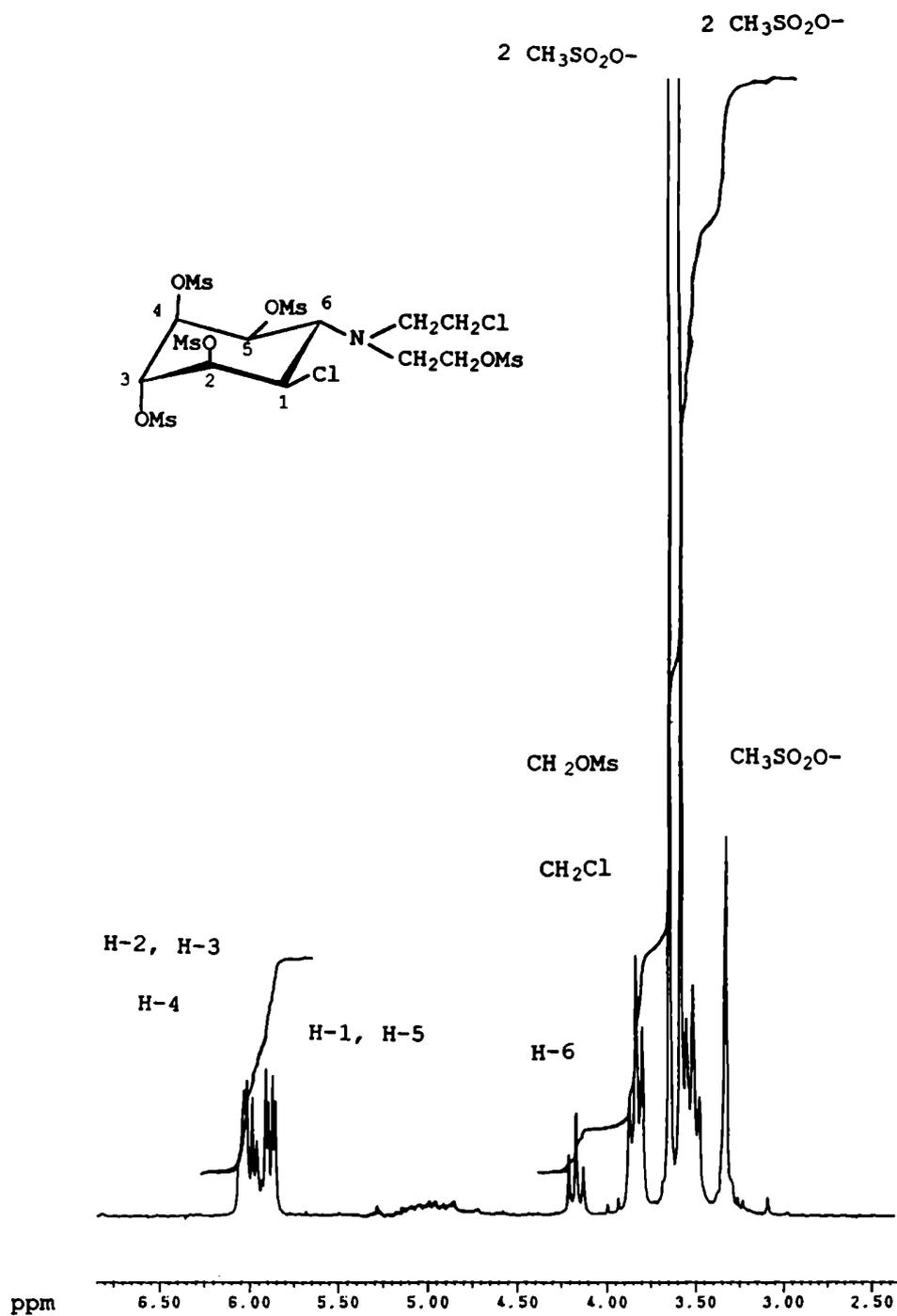
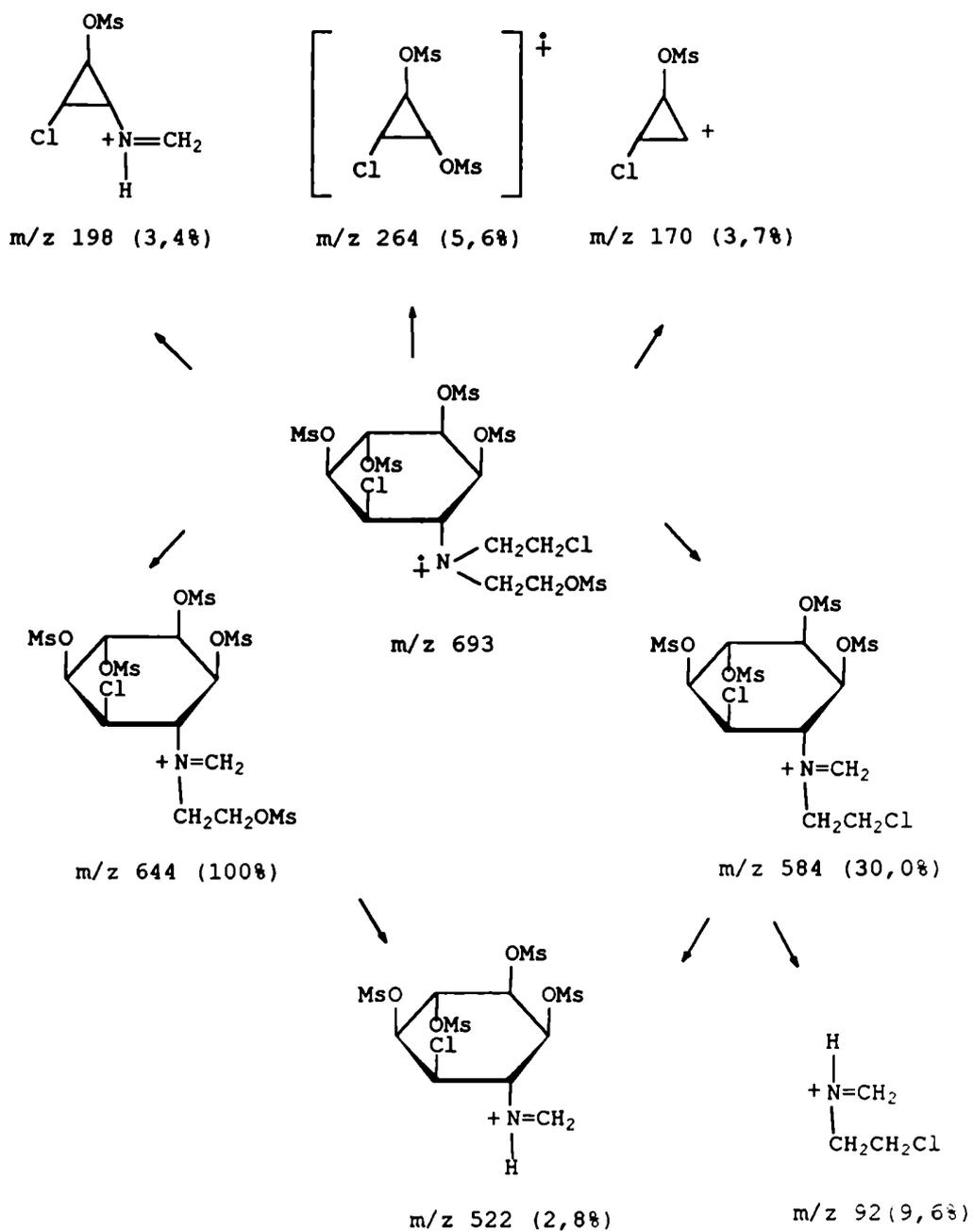


Figura 11. Espectro de RMN^{-1}H de 399 a 200 MHz.

Esquema 11



El espectro de RMN-¹³C (C₅D₅N) (Fig. 12) de **399** concuerda con la estructura propuesta, mostrando una señal a δ 75,4; que aparece como un singulete de intensidad doble, atribuible a C-3 y C-4, en un entorno simétrico. Luego, dos señales cercanas de intensidad simple (δ 74,2 y 73,5) se atribuyen a los otros átomos de carbono mesilados (C-2 y C-5). A campos mayores aparecen las resonancias correspondientes a los dos átomos de carbono restantes del ciclo C-6 en δ 61,2 y el átomo de carbono clorado C-1 en δ 53,8. Los átomos de carbono correspondientes a los grupos metileno de la cadena lateral (CH₂Cl) y (CH₂OMs) resuenan a δ 42,3 y 38,6 respectivamente, mientras que los correspondientes unidos al átomo de nitrógeno (CH₂N) y a los cinco grupos mesilo aparecen como picos de mayor intensidad a δ 39,4 y 38,8 respectivamente.

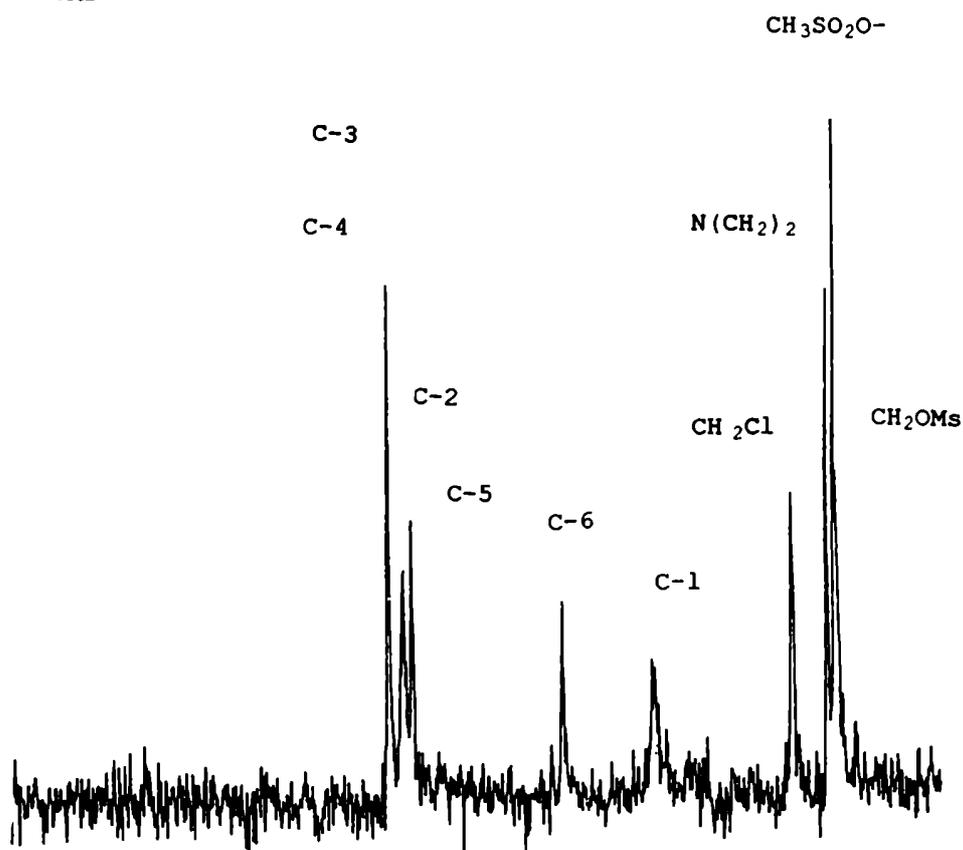
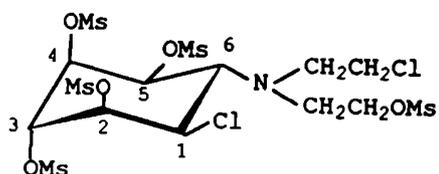
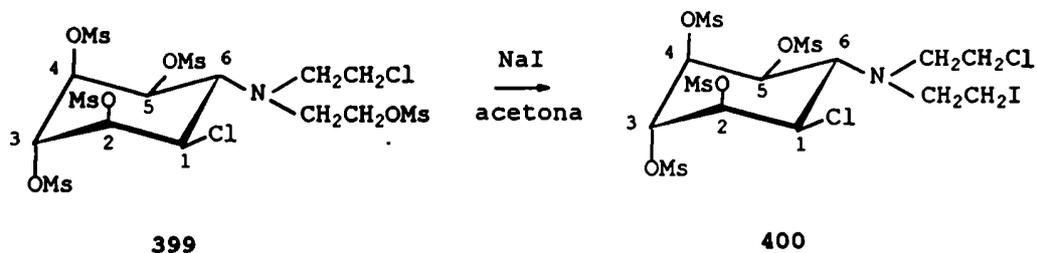


Figura 12. Espectro de RMN- ^{13}C de 399.

Una confirmación de la distribución de los grupos mesilo indicada en la fórmula 399 la dió la síntesis del D,L-1-cloro-6-[N-(2-cloroetil)-N-(2-iodoetil)]amino-1,6-didesoxi-2,3,4,5-tetra-O-(metilsulfonil)-muco-inositol (400). Esta

sustancia se obtuvo por reflujo del compuesto 399 con yoduro de sodio en acetona.



El iodo derivado 400 tiene tendencia a perder iodo cuando se lo recristaliza de solventes hidroxilados, pero precipita como un polvo amorfo de solventes no hidroxilados, el cuál no dió un análisis aceptable, aunque sus datos se acercan razonablemente a los valores calculados para la estructura propuesta.

En su espectro de RMN-¹H, en acetona deuterada, (Fig. 13) se observan cuatro singuletes para los protones de los grupos mesilo a δ 3,38; 3,36; 3,33 y 3,30. El protón del átomo de carbono nitrogenado (H-6) resuena como un triplete ancho a δ 3,71 con $J_{1,6} = J_{5,6} = 8$ Hz, lo cual confirma la esteoquímica trans-diaxial de los protones H-1, H-5 y H-6 y consecuentemente la configuración del clorado original 399. El resto de los protones del anillo aparece como un gran multiplete entre δ 5,20 - 5,45. Los cuatro grupos metileno aparecen superpuestos con la resonancia de los cuatro grupos mesilo entre δ 3,20 - 3,50 formando un multiplete que integra para veinte protones.

El espectro de ésta sustancia en piridina deuterada presentó los cuatro grupos mesilo como dos singuletes, cada uno de los cuales integra para seis protones y los grupos

metileno de la cadena lateral aparecen diferenciados a δ 3,35 (CH_2I); 3,51 [$\text{N}(\text{CH}_2)_2$] y 3,80 (CH_2Cl). La resonancia de los protones anulares no presentó una mejor resolución con respecto al espectro en acetona deuterada.

El espectro de RMN- ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) muestra un modelo análogo al del compuesto 399 para los átomos de carbono del ciclo; C-3 y C-4 en δ 75,6 y 75,4; C-2 y C-5 en δ 74,2 y 73,5; C-6 en δ 61,1 y C-1 en δ 53,8. Los átomos de carbono halogenados de la cadena lateral aparecen bien diferenciados (CH_2Cl) en δ 42,3 y (CH_2I) en δ 38,7 y los correspondientes a los grupos mesilo y (CH_2N) aparecen en δ 39,4 y 39,9 respectivamente.

El espectro de masa (Esquema 12) muestra picos significativos desde el punto de vista estructural como por ejemplo m/z 92 (51%) y m/z 184 (6,7%) que se atribuyen a los iones $\text{CH}_2=\text{N}^+\text{HCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ y $\text{CH}_2=\text{N}^+\text{HCH}_2\text{CH}_2\text{I}$ respectivamente.

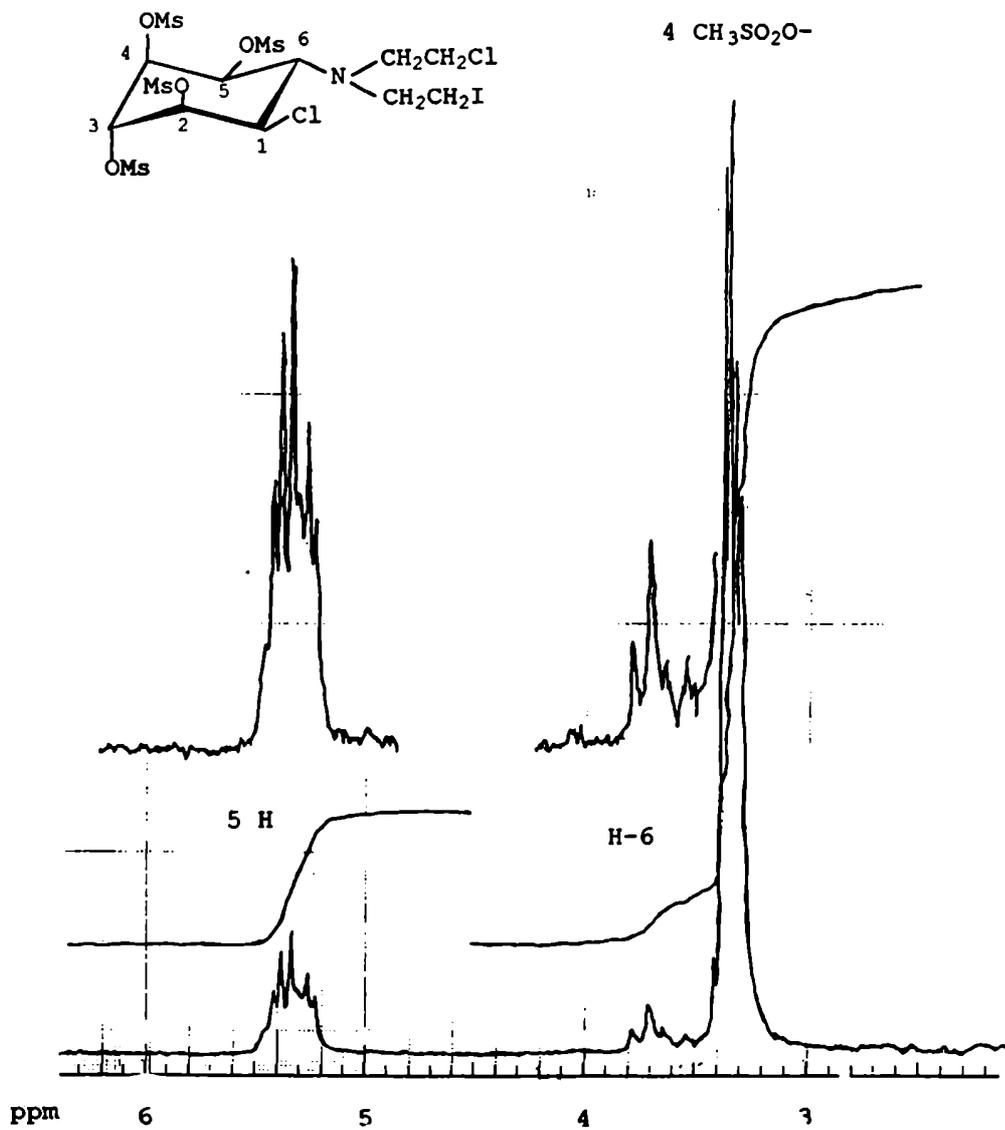
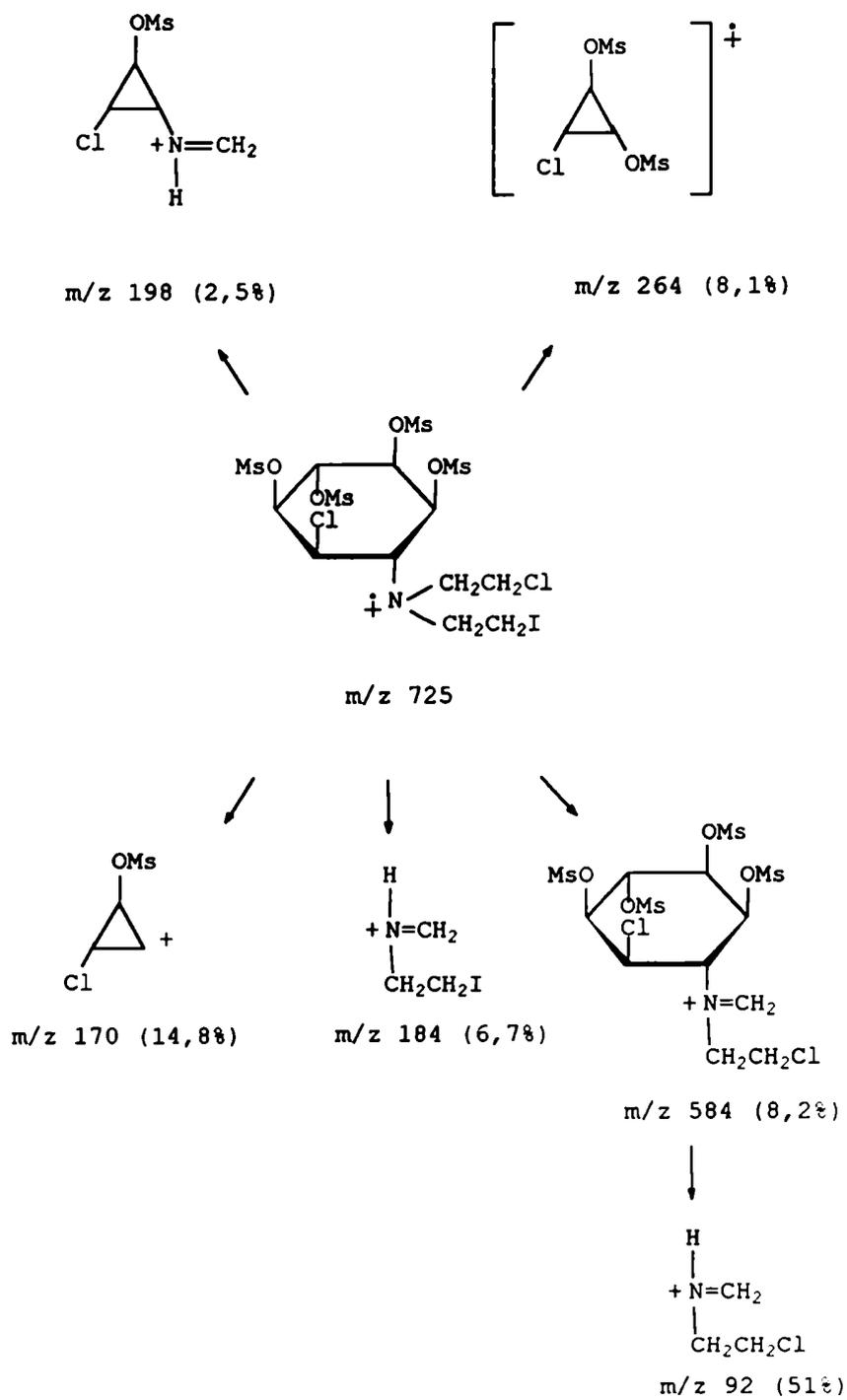
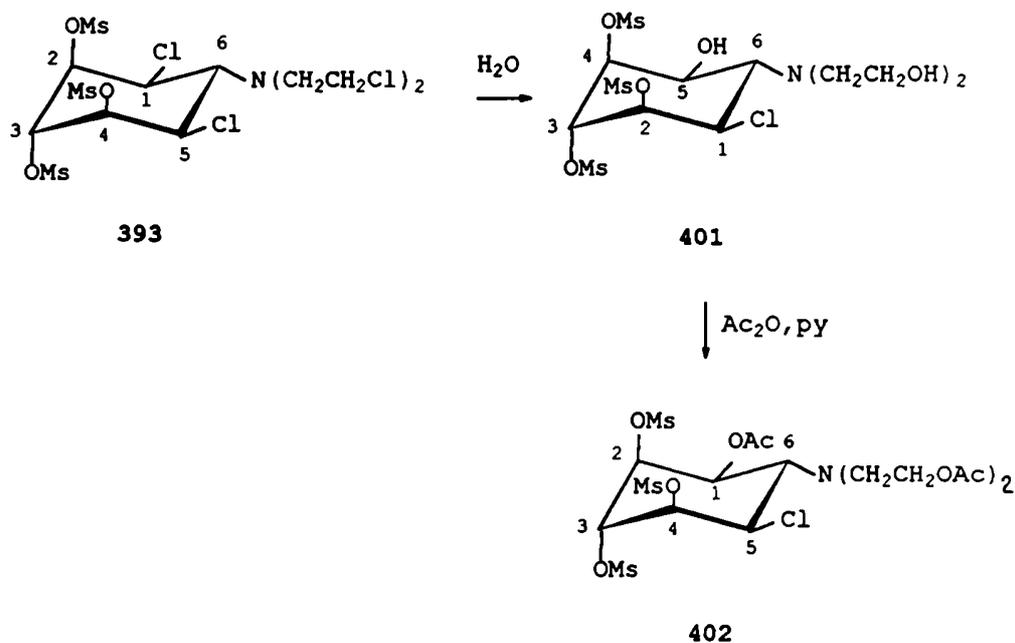


Figura 13. Espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}$ de 400 a 100 MHz en acetona deuterada.

Esquema 12



Cuando el tetracloro derivado 393 se reflujo con agua durante cinco horas se obtuvo el D,L-1-cloro-1,6-didesoxi-6-N-bis(2-hidroxietil)amino-2,3,4-tri-O-(metilsulfonil)-mucoinositol (401) con un rendimiento del 47%.



Este monocloro derivado muestra en su espectro de RMN-¹H (C₅D₅N) (Fig. 14) un triplete angosto para H-3 (δ 5,99) con $J_{2,3} = J_{3,4} = 3$ Hz, lo que indica una relación ecuatorial-ecuatorial de éste protón con sus vecinos H-2 y H-4, y un triplete ancho para H-6 (δ 3,70) con $J_{5,6} = J_{1,6} = 10$ Hz que refleja una relación axial-axial de éste protón con sus vecinos H-1 y H-5. Los protones del anillo H-1 y H-5 aparecen superpuestos como un doble doblete a δ 5,10 con $J_{1,2} = J_{4,5} = 4$ Hz, mientras que H-2 y H-4 aparecen superpuestos a δ 5,84 como un triplete angosto. Los protones de los grupos hidroximetileno terminales de la cadena lateral (CH₂OH) aparecen a δ 3,88; mientras que los correspondientes a los

grupos metileno unidos al átomo de nitrógeno aparecen a δ 3,17. Los protones de los grupos mesilo aparecen como dos singuletes a δ 3,51 (3H) y 3,55 (6H).

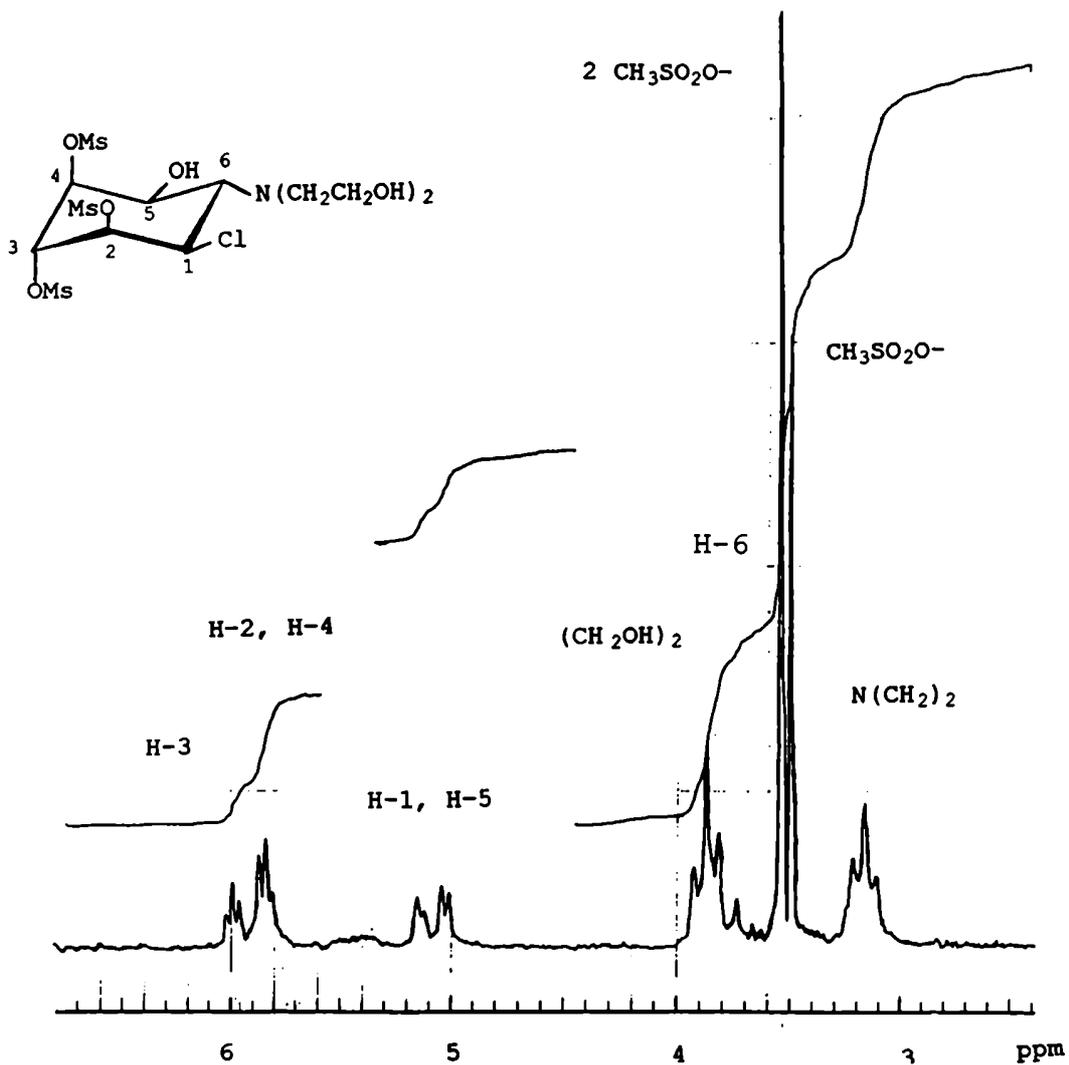


Figura 14. Espectro de RMN-¹H de 401 a 100 MHz.

Cuando el compuesto 401 se acetila para dar el correspondiente triacetato 402 [D,L-1-O-acetil-6-N-bis(2-acetoxietil)amino-5-cloro-5,6-didesoxi-2,3,4-tri-O-(metilsulfonil)-*muco*-inositol], el grupo acetoxi del anillo desprotege al protón correspondiente de manera tal que en su espectro de RMN-¹H (C₅D₅N) (Fig. 15), H-1 aparece ahora a δ 5,65 como un doble doblete con J_{1,6} = 11 Hz y J_{1,2} = 3,3 Hz; mientras que la resonancia del protón unido al átomo de carbono clorado permanece prácticamente inalterada como en el compuesto 401. Así, para H-5 se observa un doble doblete a δ 5,00 con J_{5,6} = 11 Hz y J_{4,5} = 3,2 Hz. Los protones del anillo H-2, H-3 y H-4 aparecen como un multiplete a δ 5,90 y H-6 como un triplete a campo más alto (δ 3,86) con J_{5,6} = J_{1,6} = 11 Hz. En el triacetil derivado 402, los dos grupos acetoxilo de la cadena lateral aparecen como un singulete a δ 2,06 y el tercero, ubicado en el anillo aparece a δ 2,22; lo que indica una orientación ecuatorial¹⁷⁷.

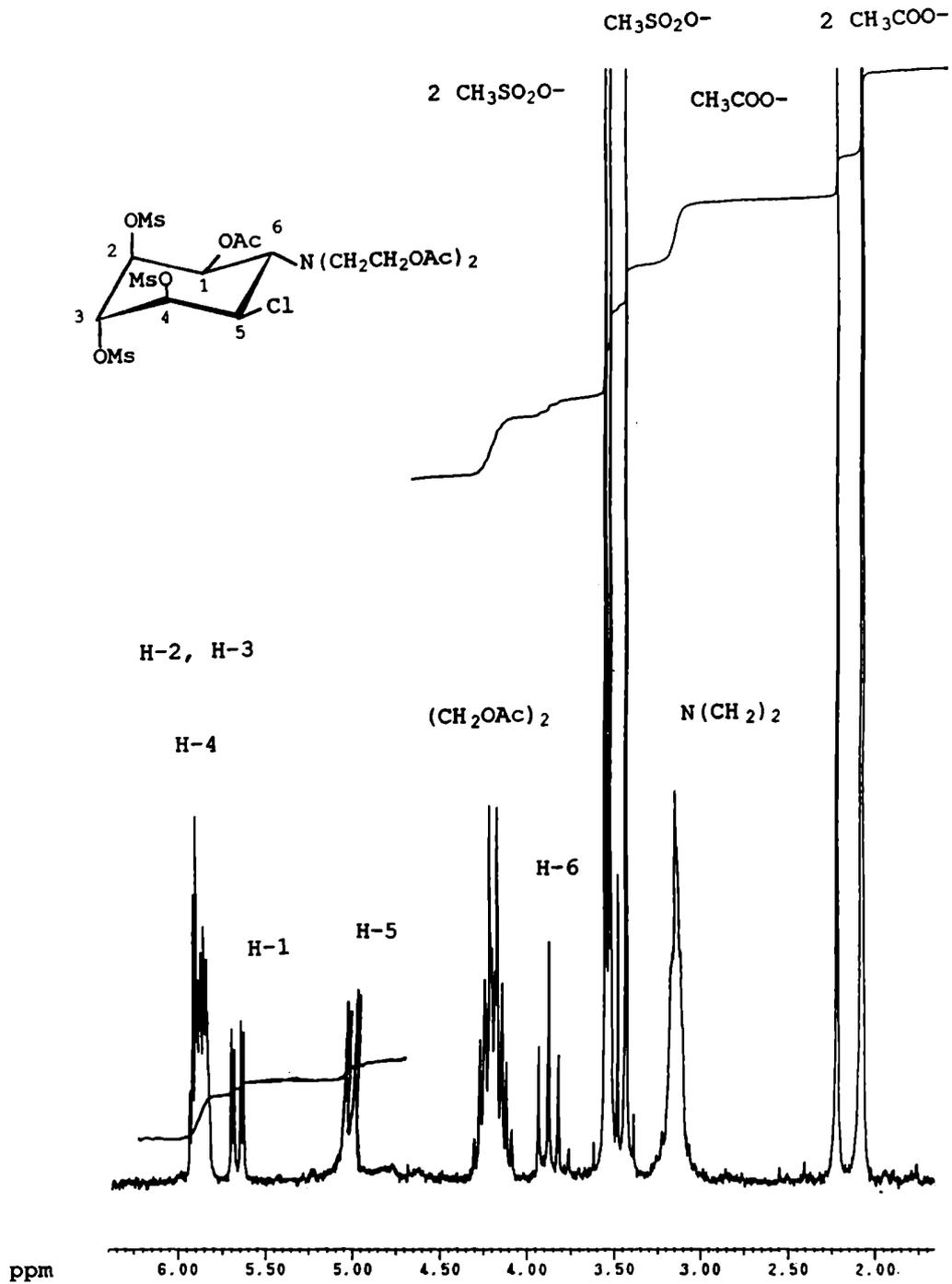


Figura 15. Espectro de RMN- ^1H de 402 a 200 MHz.

SINTESIS DE OLIGOSACARIDOS CICLITOLICOS

Como una extensión de los estudios sobre ciclitoles descritos en páginas anteriores, se llevaron a cabo experiencias relacionadas con la síntesis de oligosacáridos inositolicos, dirigidas a su potencial utilización como inhibidores enzimáticos.

Inicialmente se llevaron a cabo experimentos aplicando la síntesis de Königs-Knorr al acople de la penta-O-benzoil- α -D-glucopiranososa con alguno de los ciclitoles previamente sintetizados, pero en todos los casos fué imposible la purificación de los productos debido a su fuerte asociación con las sales de mercurio empleadas, dentro de un complejo esquema de reacción.

Se optó por utilizar la catálisis por tetracloruro de estaño, el cual resultó fácilmente eliminable de los productos de reacción.

Un segundo inconveniente resultó de la insolubilidad de los ciclitoles en los solventes usualmente empleados en los acoples de azúcares bloqueados, como benceno, diclorometano ó cloroformo. El empleo del acetonitrilo, en el cual todos nuestros reactantes resultaron muy solubles parecía solucionar el problema, pero se observó una muy escasa capacidad de acople de los azúcares. Este hecho podía ser atribuido a la baja reactividad de los hidroxilos secundarios de los inositoles empleados. Sin embargo, se pudo observar que en éste solvente la reacción principal transcurría hacia la formación de la sal de nitrilio con el acetonitrilo para generar, después del procesamiento de la reacción, la N-

acetil- β -D-glucopiranosilamina como producto final significativo.

Si bien la formación de sales de acetonitrilio lábiles intermediarias se había mencionado en diversas síntesis de glicósidos y oligosacáridos, nunca se habían manifestado lo suficientemente estables como para actuar de manera notoriamente competitiva.

Como resultado de ésta observación surgió la posibilidad de aplicar los nitrilos a reacciones de funcionalización directa del carbono anomérico de azúcares acilados, catalizada por tetracloruro de estaño, tal como se describe en el capítulo correspondiente a las sales de nitrilio de ésta tesis.

Finalmente, el problema de encontrar un solvente adecuado se resolvió con el empleo de nitrometano puro ó en mezclas con solventes no polares. Este constituye un medio poco usual en éste tipo de síntesis, pero su polaridad resultó particularmente apta para sustancias con el tipo de bloqueo que presentaban los inositoles descritos en el apartado anterior.

A partir de éste punto el planteo principal fué la búsqueda de la diastereoselectividad en el acople. Esto podía encararse tanto desde el punto de vista de la aplicación de diferentes métodos variando el donador de glicosilo y las condiciones experimentales ó bien, a través de la aplicación sistemática de la catálisis con tetracloruro de estaño, emplear diferentes sustratos ciclitólicos.

De las diferentes alternativas estudiadas, el esquema de reacción más simple se observó al utilizar como sustrato el 3-azido-3-desoxi-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-*muco*-inositol (389). Aprovechando la estructura simétrica de esa molécula se pensó que una relación 1:1 molar del glicosil donador (403)

al ciclitol aceptor (389) podría conducir a una mezcla enantiomérica de un disacárido diastereoisomérico principal. Sin embargo la reacción transcurrió con muy bajo rendimiento y con una alta proporción de ciclitol sin reaccionar.

Se encontró luego que una relación molar 2:1 de 403 a 389 daba lugar a una reacción con muy baja proporción de material de partida sin reaccionar. El esquema de reacción resultó aparentemente simple ya que se determinó, por cromatografía en capa delgada, la presencia de tres productos principales. Su posterior aislamiento y purificación por métodos cromatográficos demostró que en realidad se habían obtenido mezclas diastereoisoméricas complejas de di- y trisacáridos 404 y 405 [2-O-(2',3',4',6'-tetra-O-benzoíl-D-glucopiranosil)-3-azido-3-desoxi-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol] y [2,4-bis-O-(2',3',4',6'-tetra-O-benzoíl-D-glucopiranosil)-3-azido-3-desoxi-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol], respectivamente.

El disacárido 404 se obtuvo con 17% de rendimiento. Esta sustancia dió un buen análisis elemental, pero su espectro de RMN-¹H (Cl₃CD) (Fig. 16) evidencia una compleja mezcla de isómeros, tal como lo indican en particular la diversidad de señales para los grupos mesilo.

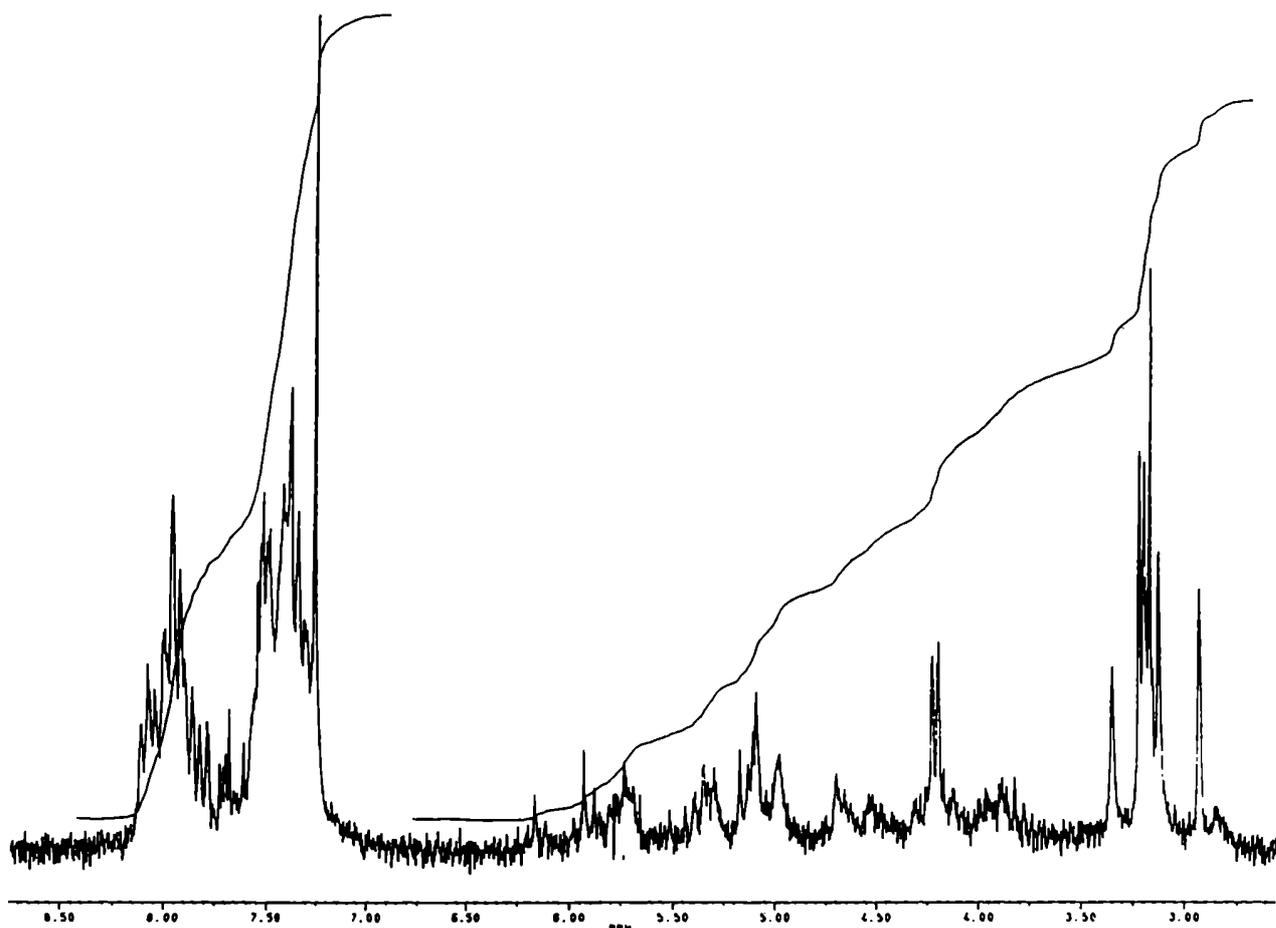


Figura 16. Espectro de RMN-¹H de 404 a 200 MHz.

El trisacárido 405 se obtuvo con 11,3% de rendimiento. Su espectro de RMN-¹H (Cl₃CD) se muestra en la Figura 17.

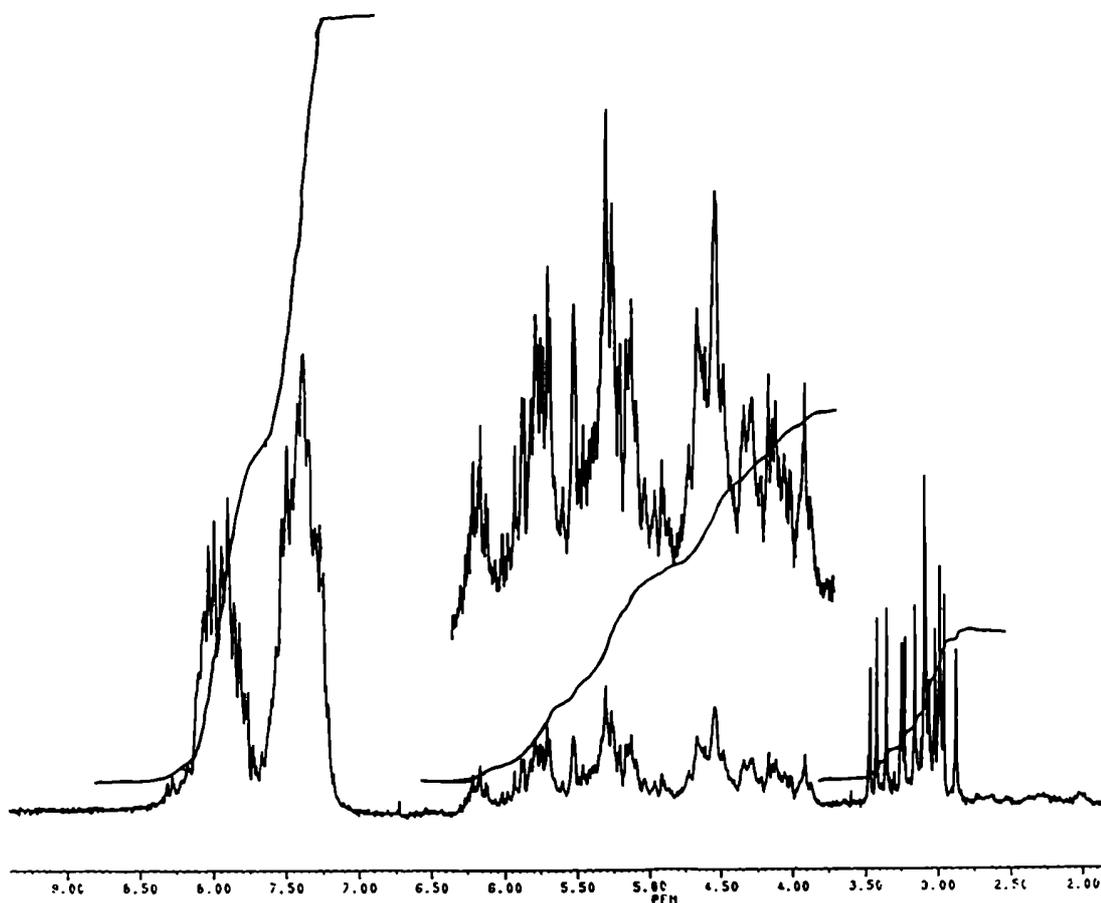


Figura 17. Espectro de RMN-¹H de 405 a 200 MHz.

Un tercer producto de reacción resultó del autoacople de la glucosa benzoilada, generando una sustancia cuya estructura, que no se pudo determinar rigurosamente, se discute a continuación en la sección referente a las sales de nitrilio. Este producto parece producirse sistemáticamente en todas las reacciones de la penta-O- α -D-glucopiranosas catalizadas por tetracloruro de estaño. Tentativamente se le

asignó la estructura de ortoéster 422 y sobre esa base su rendimiento en ésta reacción sería del 28,3%.

El resto de los compuestos corresponde a productos adelantados de R_f similar al de la penta-O-benzoil- α -D-glucopiranosa, al inositol 389 sin reaccionar (en pequeña cantidad) y a productos oscuros de destrucción que permanecían en el origen de las placas cromatográficas.

FUNCIONALIZACION DE HIDRATOS DE CARBONO MEDIANTE SALES DE NITRILIO

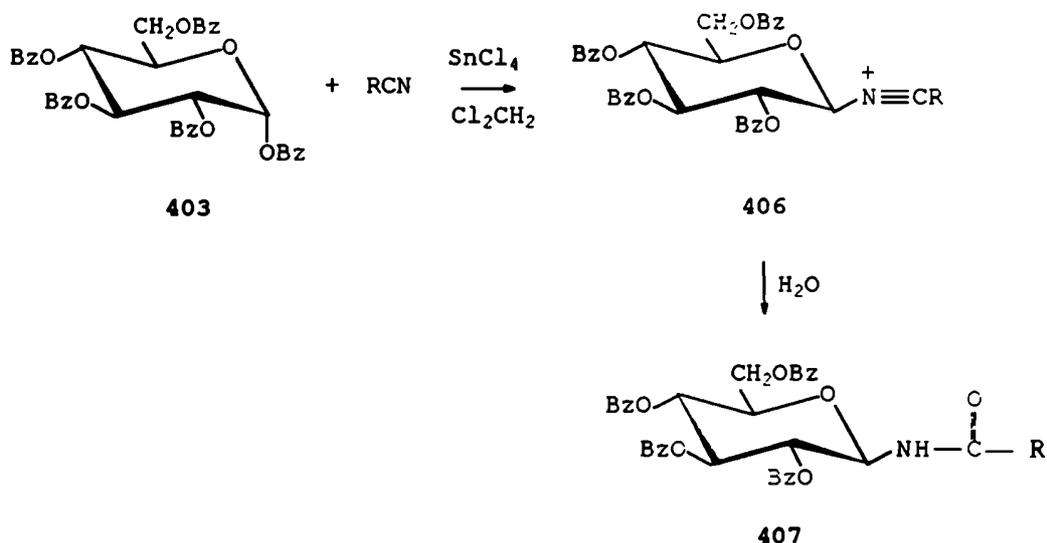
En el capítulo cinco se describió la reactividad de los nitrilos con moléculas que poseen centros electropositivos, que conducen a sales de nitrilio altamente reactivas. Resumiendo brevemente lo allí desarrollado, puntualizaremos que se ha descrito la reacción de nitrilos con dobles ligaduras polarizadas¹³⁸ ó con iones halonio¹⁴¹ y posteriormente éstos estudios se extendieron a enlaces carbono-halógeno polarizados¹⁴⁵, iones alquiloxonio y dialcoxi-carbonio¹⁴⁶, así como también a alcoholes activados por sales orgánicas de antimonio¹⁴⁷.

En el campo de los hidratos de carbono se ha descrito la interacción del acetonitrilo, empleado como solvente, con glicosiloxocarbocationes provenientes de diferentes dadores de grupos glicosilo^{148,149,153,164,166,167}.

En algunos casos las sales de acetonitrilio formadas actúan como intermediarios en la síntesis de oligosacáridos^{153,164}, ó alternativamente conducen a la formación de uniones glicosilamida^{78,148,149,155,166,167}, oxazolinas¹⁶⁵, ó reordenamientos para dar glicosilaminas¹⁵⁹.

Estos antecedentes, centrados en la utilización del acetonitrilo, sugirieron la posibilidad de que un azúcar peracilado, activado en solución por cloruro de estaño (IV), reaccione con nitrilos en general en cantidades estequiométricas, seguido de hidrólisis para dar N-acilglicosilaminas, como se muestra en el Esquema 13.

Esquema 13

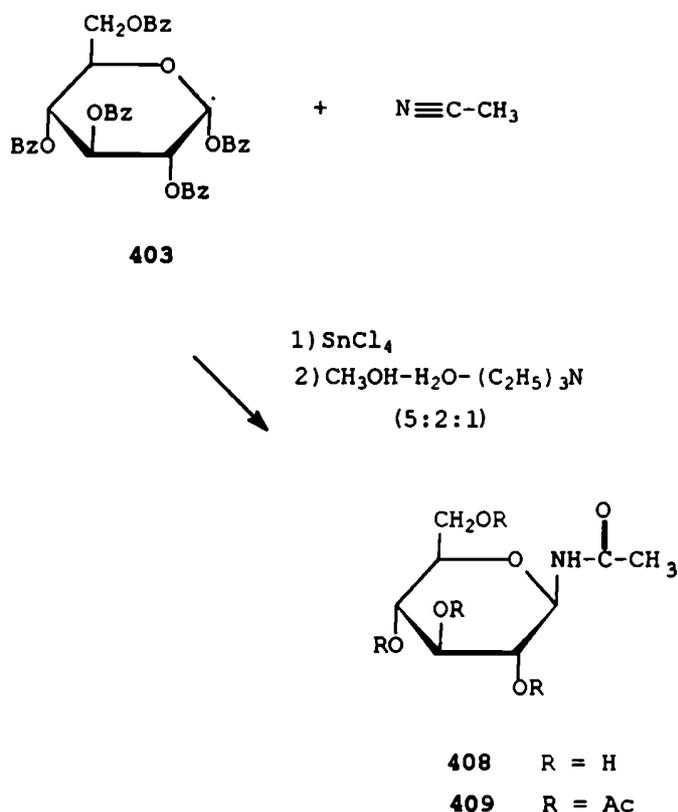


Este tipo de reacción permitiría una síntesis directa de N-acilglicosilaminas con una gran versatilidad estructural en el átomo de carbono anomérico, siendo particularmente interesante su aplicación potencial a la síntesis de aminoácidos glicoconjugados, a través de los nitrilos correspondientes. Otra potencial derivación surgiría de aplicar a la sal de nitrilio inicialmente formada, reacciones diferentes de la de hidrólisis (azidólisis, alcoholisis, etc.)

Se comenzaron a explorar éstas posibilidades con el estudio de la reacción de la penta-O-benzoil- α -D-glucopiranososa (403) con un nitrilo simple, como el acetonitrilo, para luego extenderla a derivados N-bloqueados de α -aminonitrilos, como por ejemplo el acetilaminoacetonitrilo.

La reacción de 403 con acetonitrilo en exceso, catalizada por cloruro de estaño (IV), a reflujo, seguida de

desacilación con una mezcla de metanol-agua-trietilamina (5:2:1) a temperatura ambiente condujo a la N-acetil-β-D-glucopiranosilamina (408) con un rendimiento del 53%.



Su espectro de RMN-¹H a 100 MHz, en agua deuterada, muestra un singulete a δ 2,12 para los protones del grupo acetilo. El protón correspondiente al NH- aparece como un doblete a δ 5,02. Entre δ 3,42-3,70 y 3,80-4,05 se observan dos multipletes que integran para siete protones (protones del anillo, H-6 y H-6').

Cuando el compuesto 408 se acetila en presencia de anhídrido acético y piridina, se obtiene la N-acetil-2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilamina (409) cristalina, cuyo espectro de RMN-¹H (Cl₃CD) (Fig. 18) muestra un doblete a δ

6,30 para el protón correspondiente al NH- con $J_{1,NH} = 9,1$ Hz. Los protones del anillo aparecen ahora bien diferenciados a δ 5,30 (H-3) y a 5,25 (H-4). H-2 y H-1 aparecen como dos tripletes a δ 4,90 y 5,05 respectivamente, con $J_{1,2} = 9,5$ Hz. H-6 y H-6' aparecen como un par de dobletes a δ 4,30 con $J_{6,6'} = 12,4$ Hz y $J_{5,6} = 4,4$ Hz; y a δ 4,07 con $J_{6,6'} = 12,4$ Hz y $J_{5,6'} = 2,1$ Hz respectivamente. H-5 aparece como un multiplete a δ 3,82. Los protones correspondientes a los grupos acetilo aparecen como singuletes a δ 1,99; 2,01; 2,03; 2,05 y 2,07 respectivamente.

Los resultados obtenidos indican que la reacción transcurrió bajo control termodinámico, lo cual era esperable dadas las condiciones empleadas. Esta posibilidad fué planteada por Schmidt y col.¹⁶⁴ (Esquema 3) para explicar las alternativas que presenta ésta reacción.

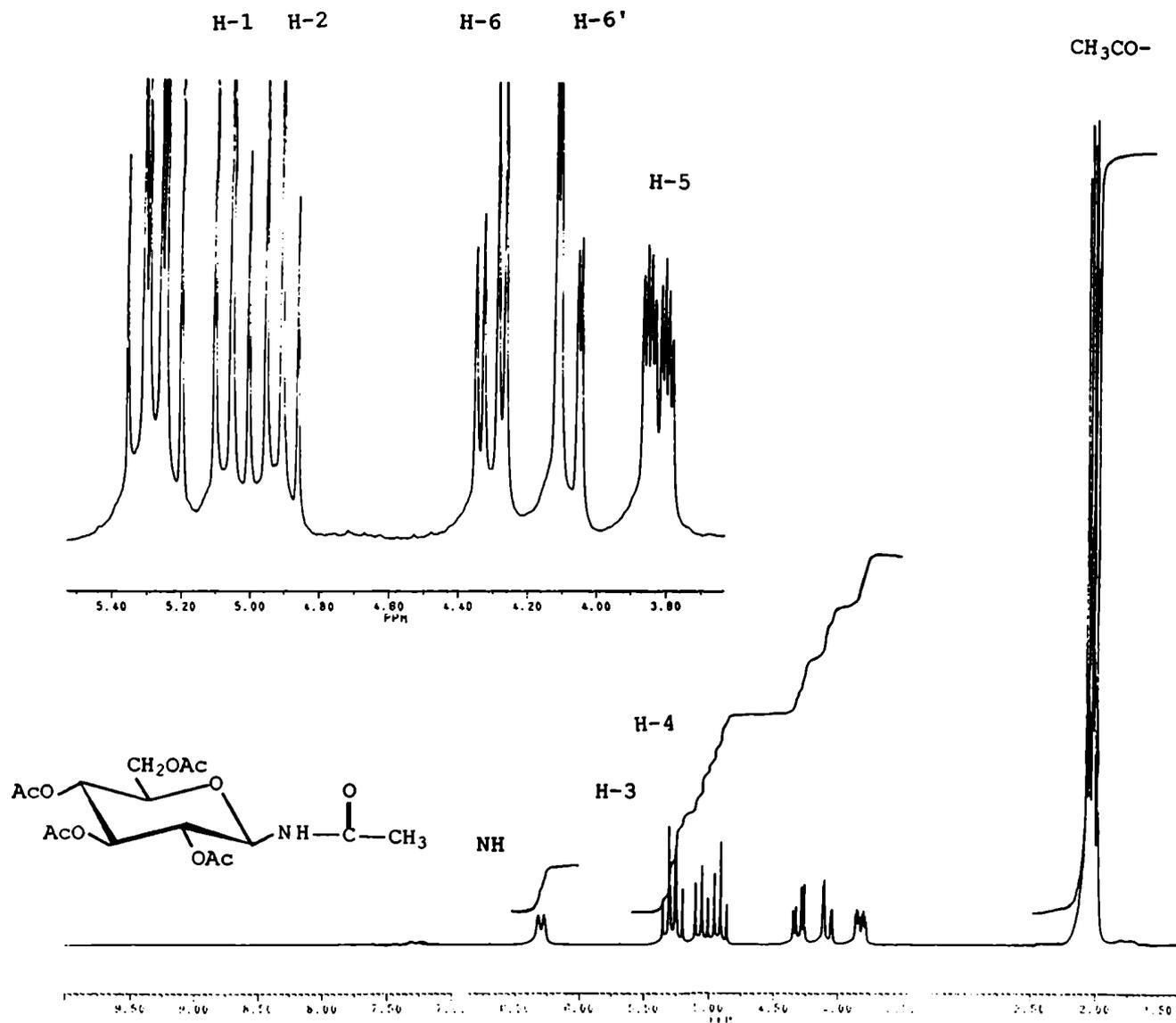


Figura 18. Espectro de RMN-¹H de 409 a 200 MHz.

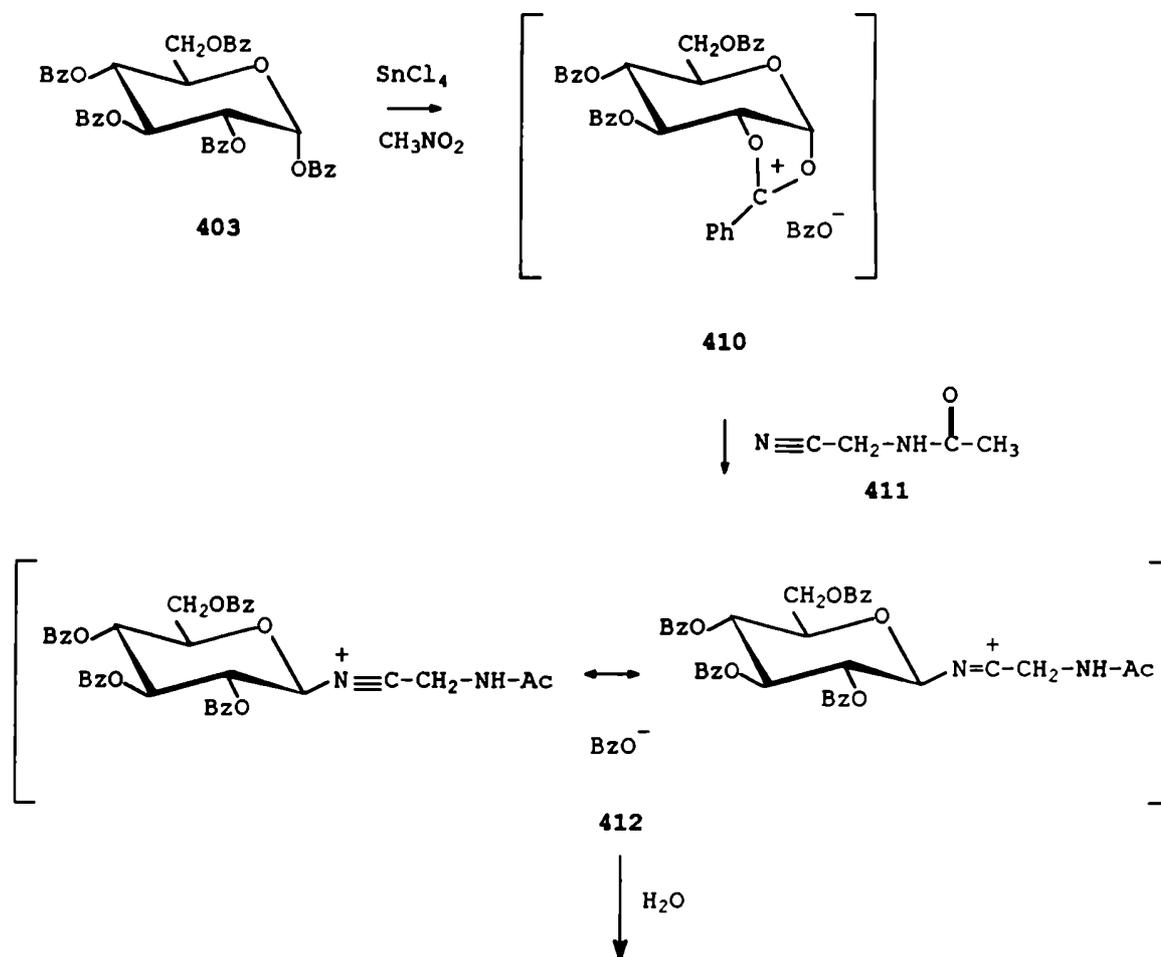
A continuación se planteaba la posibilidad de que éste tipo de reacción pudiera llevarse a cabo con nitrilos que no actuaran además como solventes, empleados en cantidades estequiométricas.

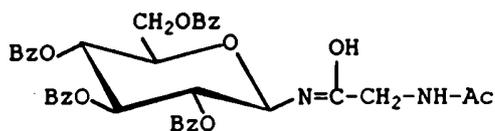
Se estudió así la reacción de la penta-O-benzoil- α -D-glucopiranosa (403) con el acetilaminoacetonitrilo (411), en cantidades equimolares, catalizada por cloruro de estaño (IV). Esta reacción se llevó a cabo empleando una mezcla de diclorometano-nitrometano para permitir la solubilización de los reactivos, durante setenta y dos horas a temperatura ambiente. La solución se lavó con solución saturada de bicarbonato de sodio, luego agua y la fase orgánica se evaporó hasta sequedad, para dar una mezcla siruposa de diferentes compuestos que se separaron y purificaron por cromatografía en columna y placas preparativas de sílica gel. Los resultados obtenidos indican que alrededor del 36% de la reacción transcurre por acoplamiento de los reactivos y el resto resulta en transformaciones del azúcar de partida promovidas por el catalizador.

El Esquema 14 muestra uno de los diferentes caminos competitivos que puede seguir la penta-O-benzoil- α -D-glucopiranosa (403) activada a través del intermediario reactivo aciloxonio 410.

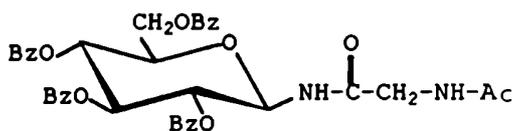
Por acoplamiento con acetilaminoacetonitrilo, el aducto formado reacciona a través de las estructuras resonantes 412. La inserción de agua en éste aducto, seguido de reordenamiento conduce a la esperada N-(2-acetilaminoacetil)-2,3,4,6-tetra-O-benzoil- β -D-glucopiranosilamina (414) con 30% de rendimiento.

Esquema 14





413



414

En el espectro de RMN-¹H (Cl₃CD) (Fig. 19) de éste compuesto H-1 aparece como un triplete a δ 5,66 con $J_{1,2} = J_{1,NH} = 9,5$ Hz; lo que indica una configuración anomérica β ; el resto de las constantes de acoplamiento evidencian una conformación ⁴C₁ para éste compuesto. Así, a δ 6,01 aparecen superpuestos H-3 con el protón del NH- de la cadena lateral como un triplete con espaciamentos de 9,5 Hz y H-4 aparece como un triplete a δ 5,70 con $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,5$ Hz. H-2 aparece como un triplete a δ 5,38 y H-5 como un multiplete a δ 4,26. H-6 y H-6' aparecen como un par de dobletes a δ 4,60 con $J_{5,6} = 2,7$ Hz y $J_{6,6'} = 12$ Hz y a δ 4,45 con $J_{5,6'} = 4,4$ Hz respectivamente. Los protones del grupo metileno aparecen como un doblete a δ 3,88 y los correspondientes al grupo acetilo como un singulete a δ 1,99. En δ 7,16 aparece la señal correspondiente al protón del NH- anomérico con $J_{1,NH} = 9,0$ Hz y a δ 8,04-7,25 las señales correspondientes a los protones de los grupos benzoilo.

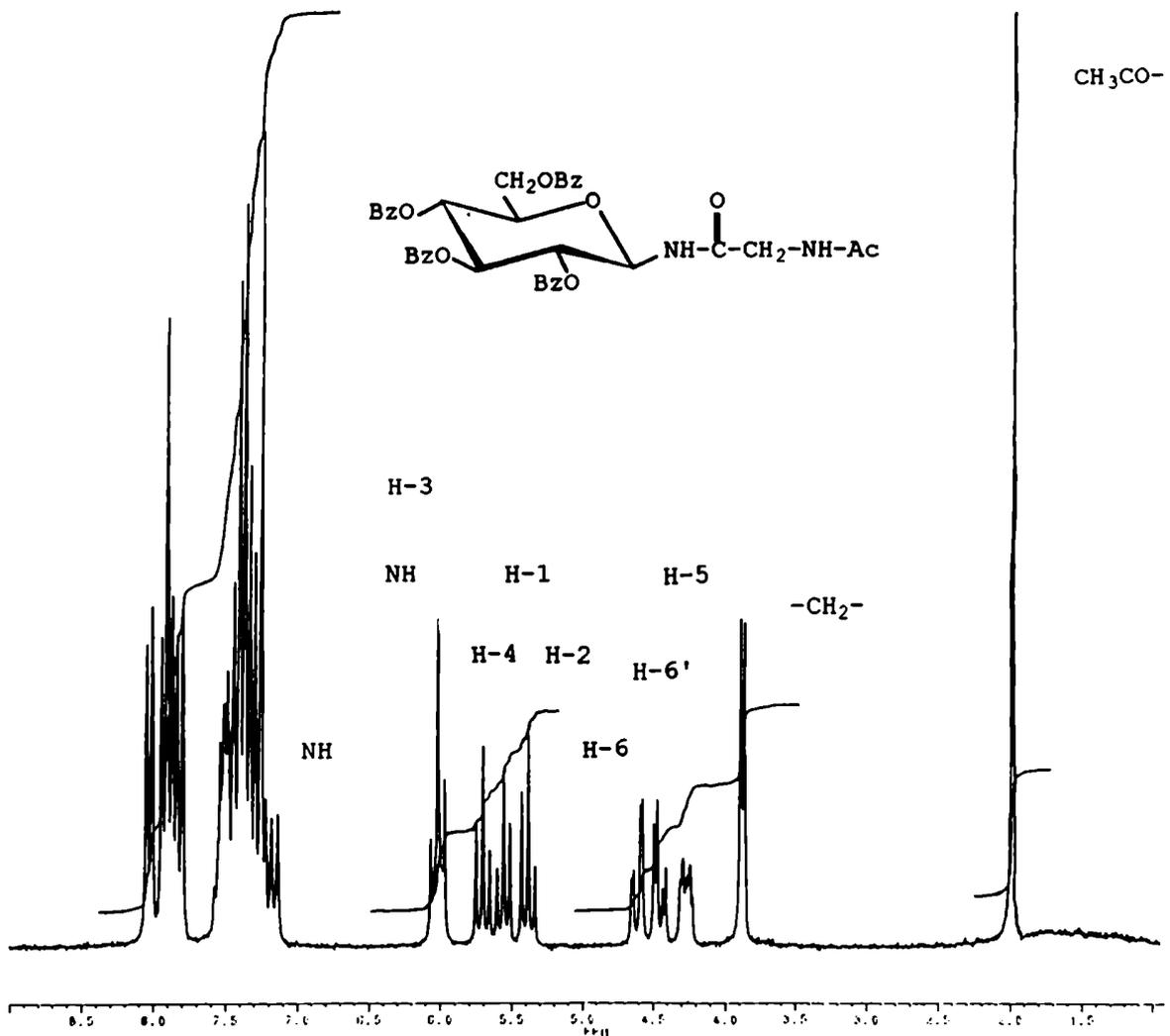


Figura 19. Espectro de RMN-¹H de 414 a 200 MHz.

Las asignaciones de éste espectro fueron realizadas aplicando técnicas de doble resonancia. Así, la irradiación del multiplete de H-5 a δ 4,26 produjo el colapso del triplete de H-4 a δ 5,70 a un doblete y el de H-6, H-6' a un par de dobletes. Asimismo, la irradiación simultánea del NH-

y H-3 a δ 6,01 provocó el cambio a dobletes en H-4 y H-2 y a un singulete la resonancia del metileno.

Como un segundo producto de acople se obtuvo la N-benzoíl-3,5,6-tri-O-benzoíl- α -D-glucofuranosilamina (418) con 6,2% de rendimiento a partir del intermediario 410. La estructura de éste compuesto se evidenció a partir de su espectro de RMN- ^1H (Cl_3CD) (Fig. 20) y del de su 2-O-acetil derivado 419, cuyas resonancias fueron asignadas en su totalidad por irradiación doble.

En el compuesto 418 como es de esperar para un anillo furanósico y según los datos registrados en la literatura para compuestos hexofuranósicos peracilados¹⁷⁸, H-5 resuena a campo muy bajo (multiplete a δ 5,76), lo que sugiere que C-5 está benzoilado. Por otra parte, H-4 aparece desplazado a campos más altos (δ 4,38 con $J_{3,4} = 3,4$ Hz y $J_{4,5} = 7,3$ Hz) que lo esperable para una eventual estructura piranósica, lo que indica que C-4 está involucrado en un anillo furanósico. H-2 resuena a campo alto (δ 4,29 con $J_{1,2} = 4,2$ Hz), lo que indica que C-2 no está benzoilado.

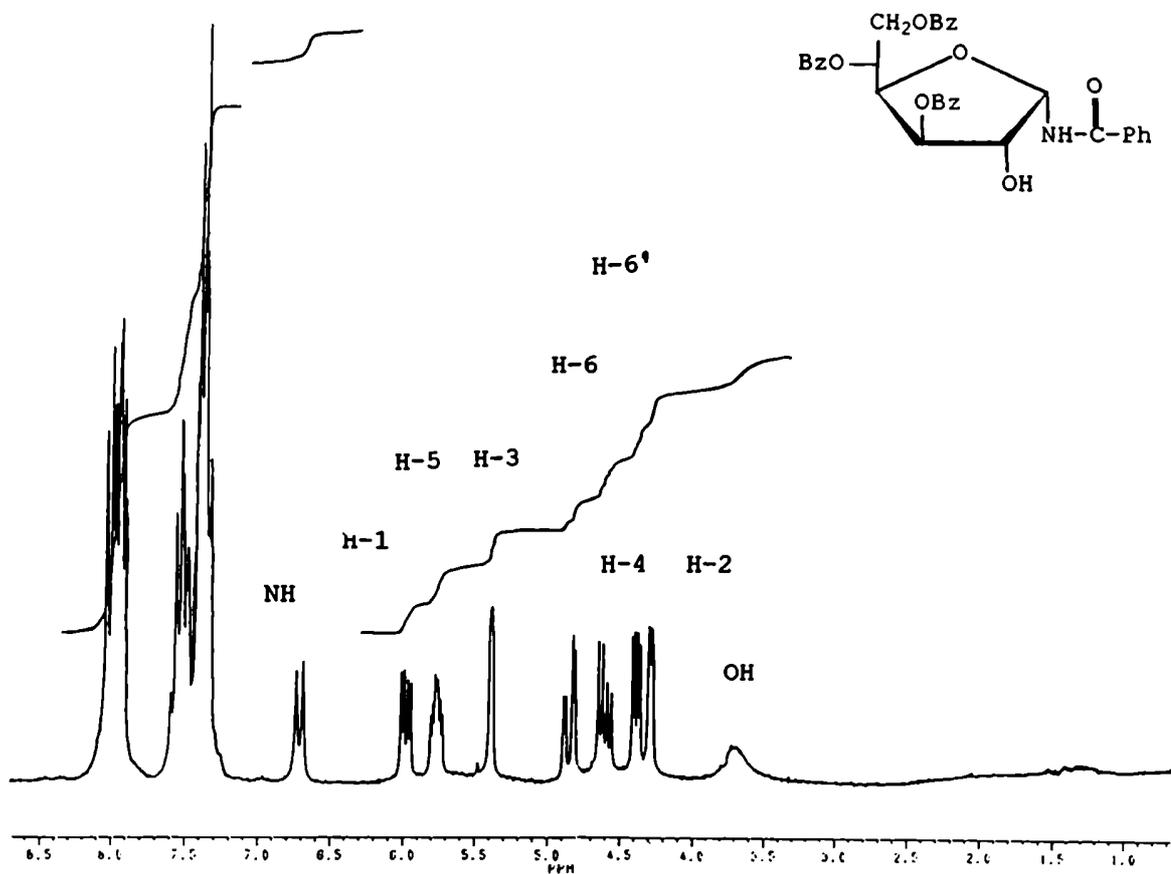


Figura 20. Espectro de RMN-¹H de 418 a 200 MHz.

Por otra parte, H-2 es el único protón que cambia por acetilación del compuesto 418, desplazándose su resonancia a campos menores (δ 5,32) (Fig. 21). H-1, H-3, H-6 y H-6' aparecen como pares de dobletes a δ 5,98 con $J_{1,2} = 4,2$ Hz; 5,39 ($J_{2,3} = 1$ Hz y $J_{3,4} = 3,4$ Hz); 4,85 ($J_{5,6} = 3,01$ Hz y $J_{6,6'} =$

12 Hz) y 4,60 ($J_{5,6'} = 6,1$ Hz) respectivamente. El protón correspondiente al NH- aparece como un doblete a δ 6,71 con $J_{1,NH} = 9,2$ Hz y los protones de los grupos benzoilo a δ 8,03-7,38. El pico ancho a δ 3,72 (HO-) correspondiente al grupo hidroxilo en C-2, desaparece por acetilación. Las constantes de acoplamiento de H-1 y H-2 indican una configuración anomérica α . De otro modo, éste valor debería ser menor de 1 Hz¹⁷⁹.

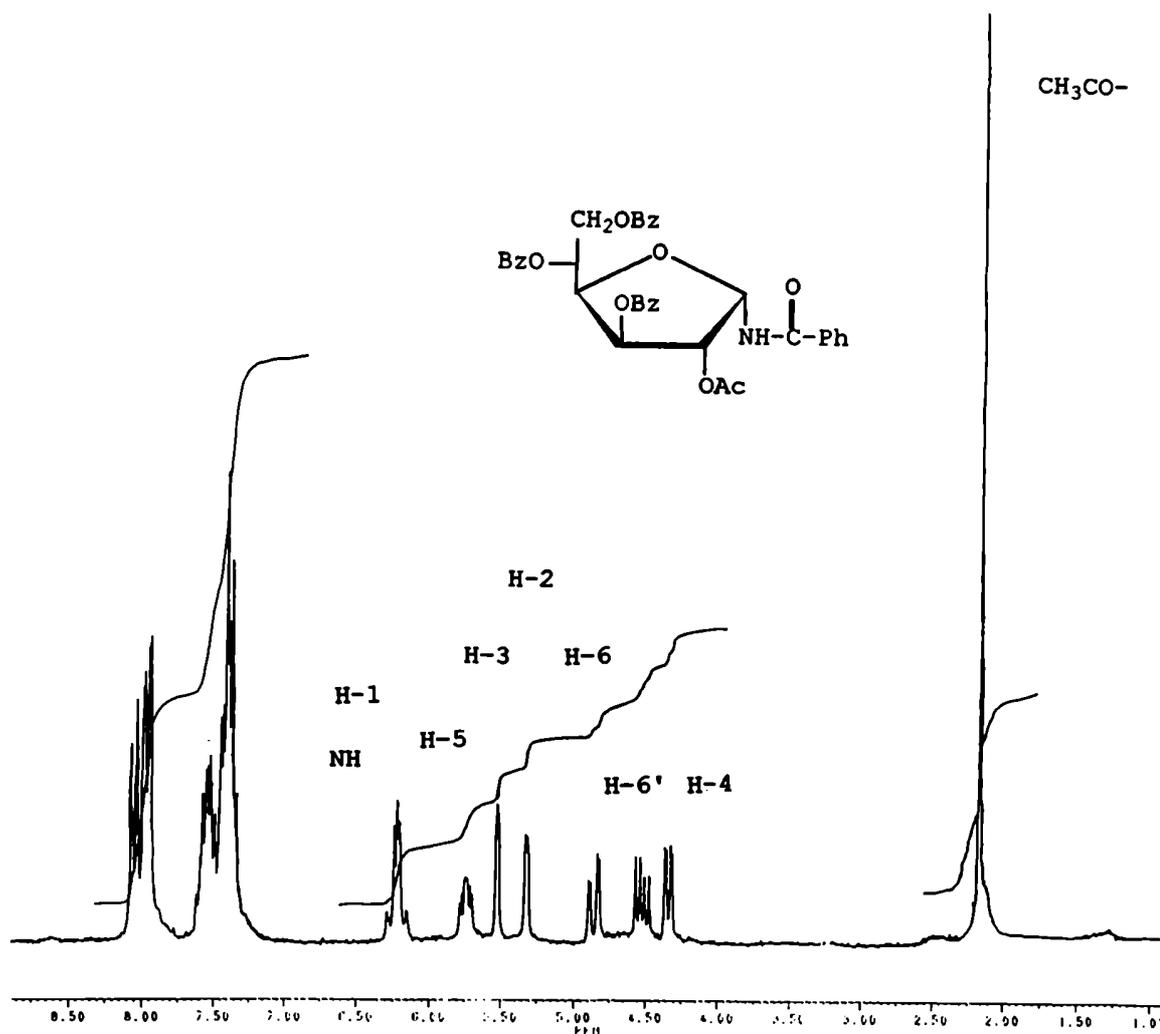


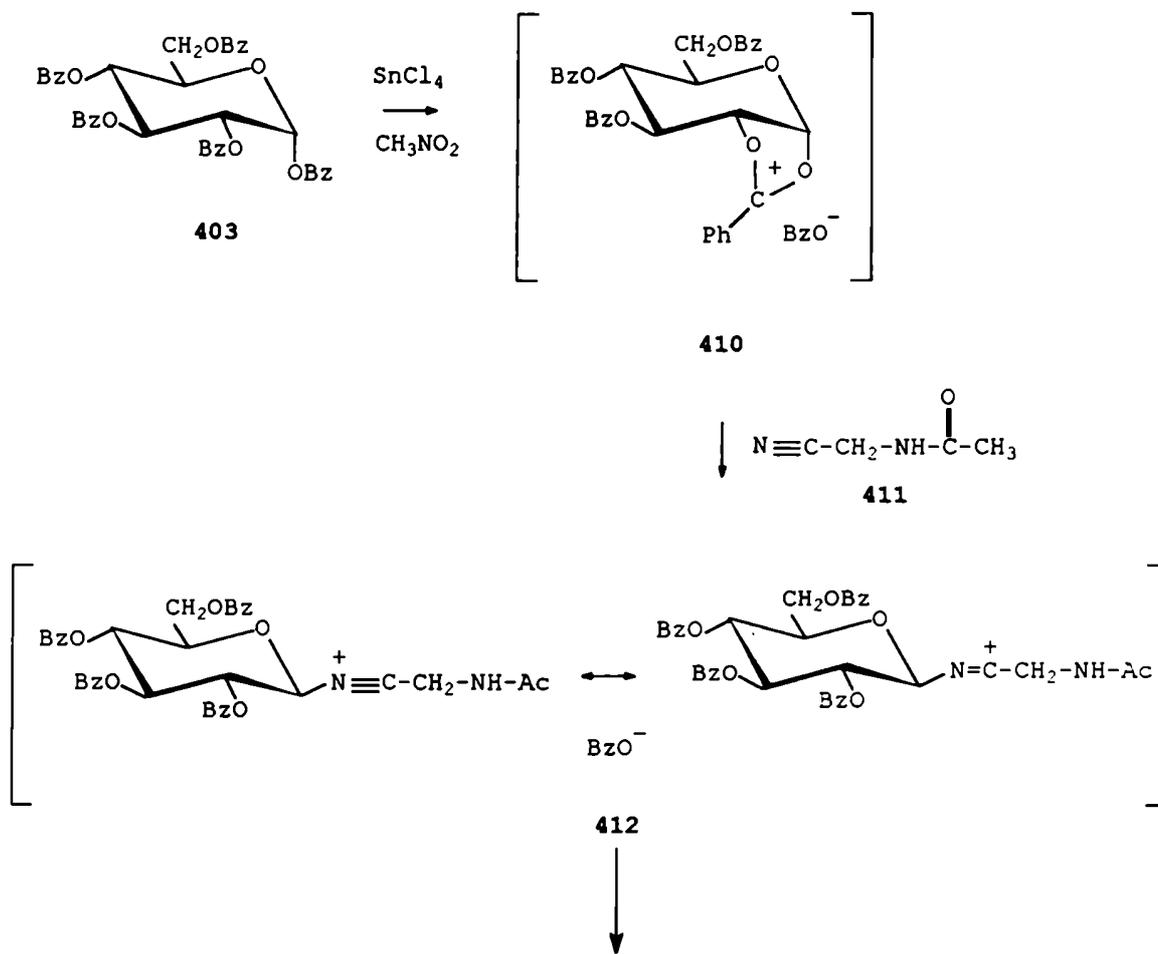
Figura 21. Espectro de RMN-¹H de 419 a 200 MHz.

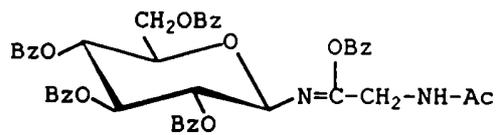
En el espectro de RMN-¹H del producto de acetilación de 418 (Fig. 21) H-3 aparece como un doble doblete a δ 5,52 ($J_{2,3} = 1$ Hz; $J_{3,4} = 2,5$ Hz). H-1 aparece superpuesto con el protón del NH- como un multiplete a δ 6,22; mientras que H-5 resuena como un multiplete a campo bajo (δ 5,74). H-6, H-6' y H-4 aparecen como pares de dobletes a δ 4,85 ($J_{5,6} = 3,1$ Hz y $J_{6,6'} = 12$ Hz); 4,51 ($J_{5,6'} = 6,4$ Hz) y 4,33 ($J_{4,5} = 7,9$ Hz), respectivamente. Los protones del grupo acetilo aparecen como un singulete a δ 2,18 y los correspondientes a los grupos benzoílo a δ 8,06-7,33.

La asignación de las señales se hizo por irradiación de H-4 a δ 4,33; observándose que el par de dobletes a δ 5,52 (H-3) se simplifica a un doblete y el multiplete a δ 5,74 (H-5) se simplifica a un par de dobletes. Luego, por irradiación del multiplete a δ 6,22 (NH- y H-1) se observa un cambio solamente en el par de dobletes a δ 5,32 (H-2) que colapsa a un doblete muy estrecho. Las señales restantes a identificar, H-6 y H-6', son obvias por su gran constante de acoplamiento geminal.

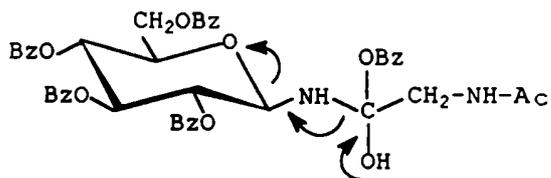
En el Esquema 15 se muestra una interpretación para la formación del compuesto 418. Considerando las estructuras de resonancia 412, la inserción previa del contraíon benzoato en una de las formas de la sal de nitrilio, seguido de hidrólisis conduce a la imina de cadena abierta 417. Este tipo de compuestos se ha postulado como intermediarios activos en reacciones de migración de grupos benzoílo^{18c}.

Esquema 15

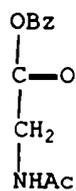




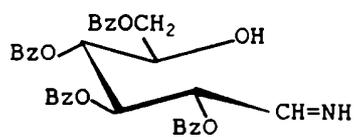
415



416



+

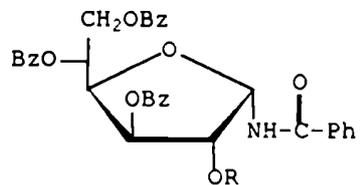


417

migración de benzoílos

C-2 → C-1

C-4 → C-5



418 R = H

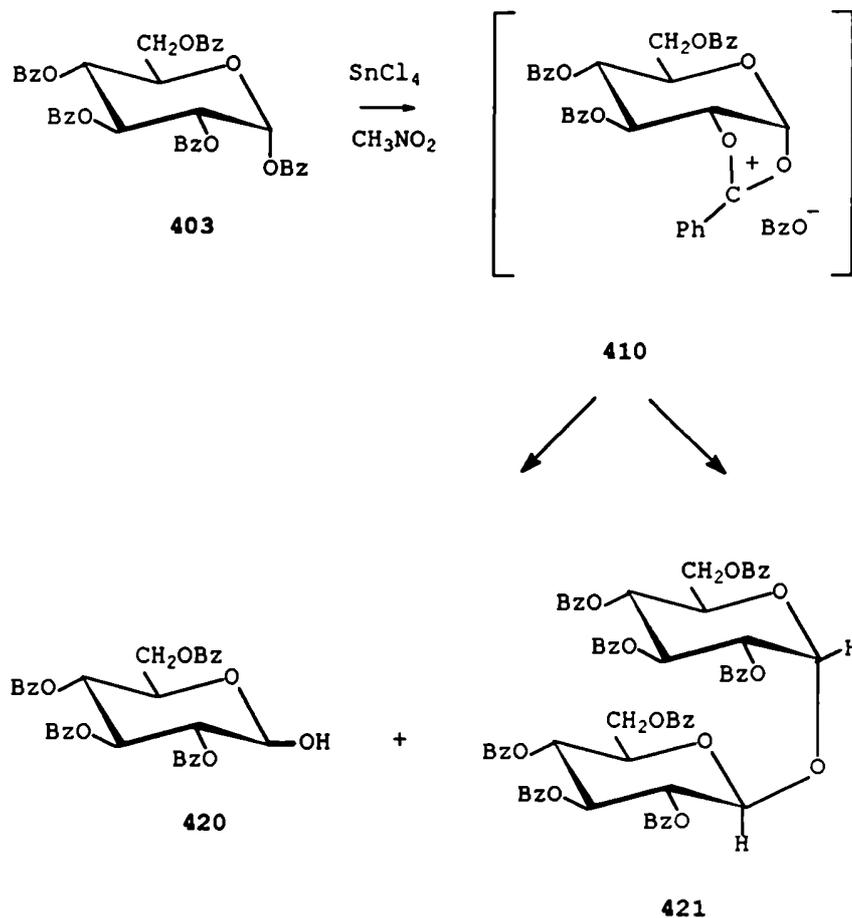
419 R = Ac

En éstas estructuras de azúcares peracilados de cadena abierta, la migración del grupo acilo en C-2 está altamente favorecida para dar N-acil derivados en C-1¹⁸⁰. Por otra parte, la migración fácil de grupos acilo en compuestos polihidroxilados acilados bajo condiciones ligeramente alcalinas es bién conocida y ha sido tema de numerosos informes en la literatura¹⁸¹. Es un concepto establecido¹⁸² el hecho de que las migraciones de grupos acilo a través del esqueleto del azúcar transcurren desde C-1 y hacia C-6, lo cual está de acuerdo con el desplazamiento que postulamos en el compuesto 417 desde C-4 hacia C-5. La gran tendencia a la formación de anillos furanósicos que se ha observado en reacciones irreversibles en la química de los hidratos de carbono¹⁸³, también puede jugar un papel en los reordenamientos producidos. Esto está justificado termodinámicamente, debido a los bajos requerimientos de entropía para la formación de anillos de cinco miembros, en el pasaje desde la forma acíclica¹⁸⁴.

Los otros productos aislados de la reacción resultan de autocondensaciones y reordenamientos del azúcar de partida.

Así, se obtuvo el octa-O-benzoil- β -D-glucopiranosil- α -D-glucopiranosido (octa-O-benzoil- α,β -trehalosa) (421) con 5,3% de rendimiento, la 2,3,4,6-tetra-O-benzoil-D-glucopiranosa (420) con 8,5% de rendimiento y otra sustancia cuya estructura se postula tentativamente.

Esquema 16



Estos compuestos se originaron por la inserción del grupo hidroxilo en el ión aciloxonio cíclico 410, ó por condensación de éste ión con la 2,3,4,6-tetra-O-benzoil-D-glucopiranososa producida en la misma reacción.

La estructura del compuesto 421 se determinó a partir de su espectro de RMN-¹H (Cl₃CD) (Fig. 22) y todas las señales fueron asignadas por doble resonancia.

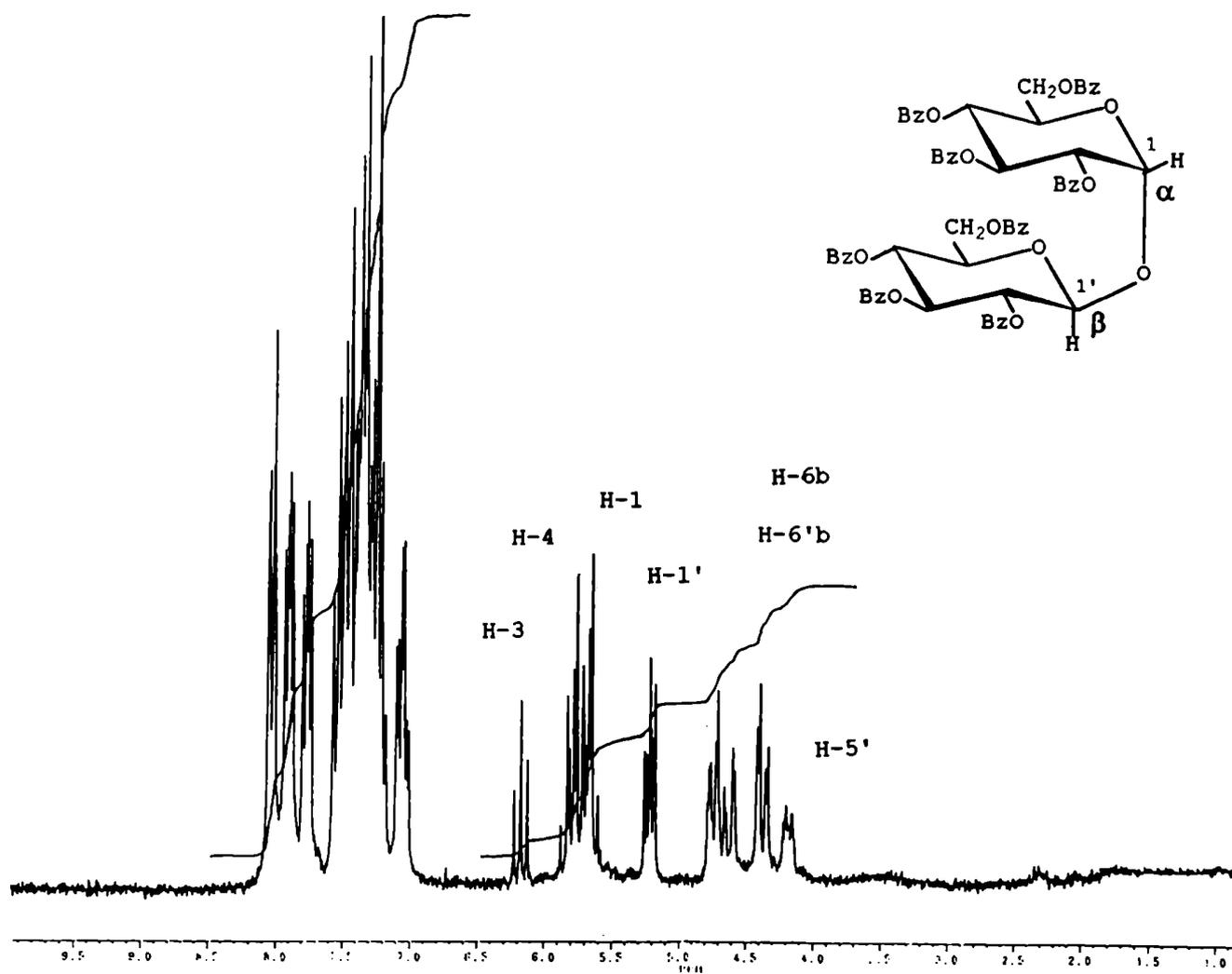


Figura 22. Espectro de RMN-¹H de 421 a 200 MHz.

La octa-O-benzoíl- α,β -trehalosa (421) se obtuvo como un polvo amorfo y la configuración anomérica quedó claramente definida por los dobletes correspondientes a H-1 en δ 5,67 ($J_{1,2} = 3,6$ Hz; configuración α) y H-1' en δ 5,23 ($J_{1',2'} = 7,7$

Hz; configuración β) que aparece parcialmente superpuesto con la señal correspondiente a H-2.

H-3 aparece como un triplete a δ 6,18 con $J_{2,3} = J_{3,4} = 10$ Hz y H-4 como un doble doblete a δ 5,80 con $J_{4,5} = 3,5$ Hz. H-2' y H-3' aparecen como un multiplete a δ 5,65-5,70 y H-4' a δ 5,75 con $J_{3',4'} = 10$ Hz. En δ 4,85-4,55 aparecen las señales correspondientes a H-5, H-6a y H-6'a como un multiplete con $J_{6a,6b} = 12,6$ Hz y $J_{5,6a} = 2,7$ Hz; a δ 4,38 las correspondientes a H-6b y H-6'b y a δ 4,20 un multiplete para H-5'. Finalmente, a δ 8,15-7,00 aparecen las señales correspondientes a los protones de los grupos benzoilo que integran para 40 protones.

La asignación de las señales se hizo de la siguiente manera.

Análisis de la porción de α -D-glucopiranososa benzoilada:

La irradiación del triplete a más bajo campo (δ 6,18) provoca un cambio en el doble doblete centrado a δ 5,23 (se confirma que se trata de H-3 ya que si fuera H-2 modificaría algún doblete aislado, H-1, cosa que no se observa) y también en el doble doblete a δ 5,80; que se atribuye a H-4. El doble doblete a δ 5,23 sería H-2. Podría invertirse la asignación pero si δ 5,23 fuera H-4, al irradiar a δ 5,23 se tendrían que observar modificaciones en la zona de 4,80-4,20 (donde estaría H-5) cosa que no ocurre.

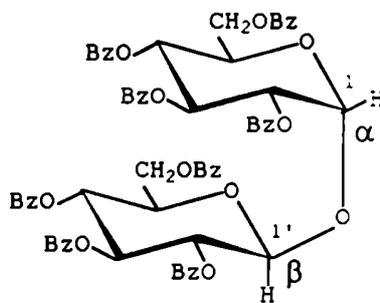
Quedan así ubicados sin ambigüedad H-2, H-3 y H-4 de una de las mitades de la trehalosa benzoilada.

Al irradiar H-2 a δ 5,23; colapsa un doblete intenso a δ 5,67 a un singulete, por lo tanto allí está H-1.

La irradiación de H-4 asignado más arriba (δ 5,80) provocaría un colapso en H-3, cosa que ocurre y en H-5. Esto último, se observa a aproximadamente δ 4,75; lo que ubica a H-5 debajo del multiplete que integra para tres protones a 4,85-4,55.

La irradiación de H-3 a δ 6,18 hace que el doble doblete ancho a δ 5,23 ($J_{2,3} = 10$ Hz) permita evidenciar claramente el doblete de H-1' superpuesto, al mismo tiempo que el doblete con $J_{1,2} = 3,6$ Hz indica que la configuración anomérica es α .

Restan por asignar H-6a y H-6b de ésta porción del disacárido y eso sólo podría hacerse por irradiación de H-5 que justamente se superpone con, por lo menos, uno de ellos. Por lo tanto, esa asignación debería hacerse por descarte al analizar la irradiación de H-5' de la otra mitad, que aparece como un protón aislado a δ 4,20.



421

Análisis de la parte de β -D-glucopiranososa benzoilada:

El análisis de ésta porción se inicia por el doblete a δ 5,23 que se asigna a H-1'. Este, por tener un $J = 7,7$ Hz indica una configuración anomérica β . Cabría postular que ese doblete podría corresponder a H-1 y no a H-1', pero el par de

dobletes parcialmente superpuesto corresponde a H-2, y sus constantes de acoplamiento no coinciden con los de dicho doblete, por lo que esa posibilidad queda excluida. Al irradiar ese H-1' se irradia simultáneamente H-2 por lo cual la asignación de H-2' es ambigua, pero el colapso que se produce a δ 5,65 no sólo involucraría a H-1 como se dijo para la otra mitad, sino también H-2', ya que no se produce colapso en ninguna otra parte del espectro. H-2' estaría en δ 5,70 y se superpondría con H-3'.

En ésta segunda porción estarían asignadas H-1', H-2' y H-3' (éstos dos últimos en la parte superior del multiplete que integra para cinco protones, ambos se centrarían en δ 5,65-5,70).

El multiplete aislado, ubicado a campo alto (δ 4,20), sólo puede corresponder a H-5'. Su irradiación ubica a H-4' en δ 5,75 aproximadamente donde aparece un doblete intenso al irradiar H-5', cuyo $J_{3',4'} \approx 10$ Hz.

Al mismo tiempo el par de dobletes que integra para dos protones superpuestos en δ 4,38 se transforma en otro par de dobletes imperfecto, pero que indica que el acople corto que corresponde a $J_{6'a,5'}$ desapareció y quedó el acople largo $J_{6'a,6'b}$ [aparte de los dos acoples largo y corto $J_{6a,6b}$ y $J_{5,6a}$ respectivamente de la otra mitad del disacárido (las primas se aplican a la resonancia a campo más alto)]. Por lo tanto, el par de dobletes a δ 4,38 (2H) corresponde a H-6b y H-6'b de las dos mitades del disacárido.

La irradiación de H-5' no modifica el par de dobletes correspondiente a un protón centrado en δ 4,69 por lo que se asigna a H-6a con $J_{6a,6b} = 12,6$ Hz y $J_{5,6a} = 2,7$ Hz.

En cambio, sí se modifica el multiplete a δ 4,75 que por lo tanto corresponde a H-5 (ya determinado antes) y a H-6'a que se transforma en un doblete con una constante de acoplamiento grande similar al del doblete a campo alto correspondiente a H-6'b.

Las respectivas constantes de acoplamiento de H-1 ($J_{1,2} = 3,6$ Hz) y de H-1' ($J_{1',2'} = 7,7$ Hz) indican que se trata de la octa-O-benzoil- α,β -trehalosa.

El espectro de masa FAB⁺ muestra el ión molecular a 1173 unidades de masa.

Otro compuesto aislado, fué un jarabe cuya estructura 422 se postula tentativamente (sobre esa base su rendimiento en ésta reacción sería del 12,2%). Muestra un espectro de RMN-¹H (Cl₃CD) (Fig. 23) coherente para una molécula que posee tres unidades de glucopiranosas benzoiladas, tal como se indica en 422 en base a la relación de protones aromáticos a protones de los anillos de glucosa.

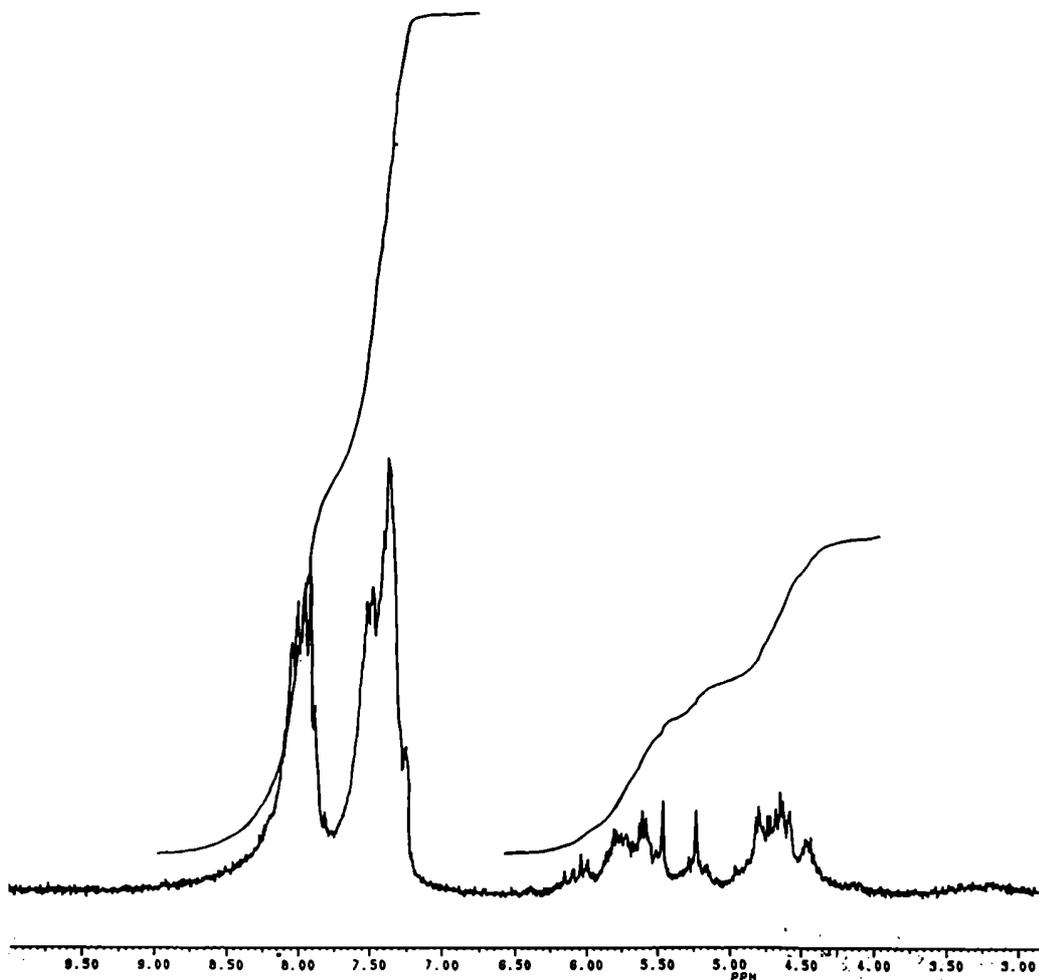


Figura 23. Espectro de RMN-¹H de 422 a 200 MHz.

Su espectro FAB⁺ (Fig. 24) muestra un ión intenso a 1530 unidades de masa, atribuible a la pérdida de un fragmento CH₂OBz y otro de benzoílo a partir del ión molecular (1770).

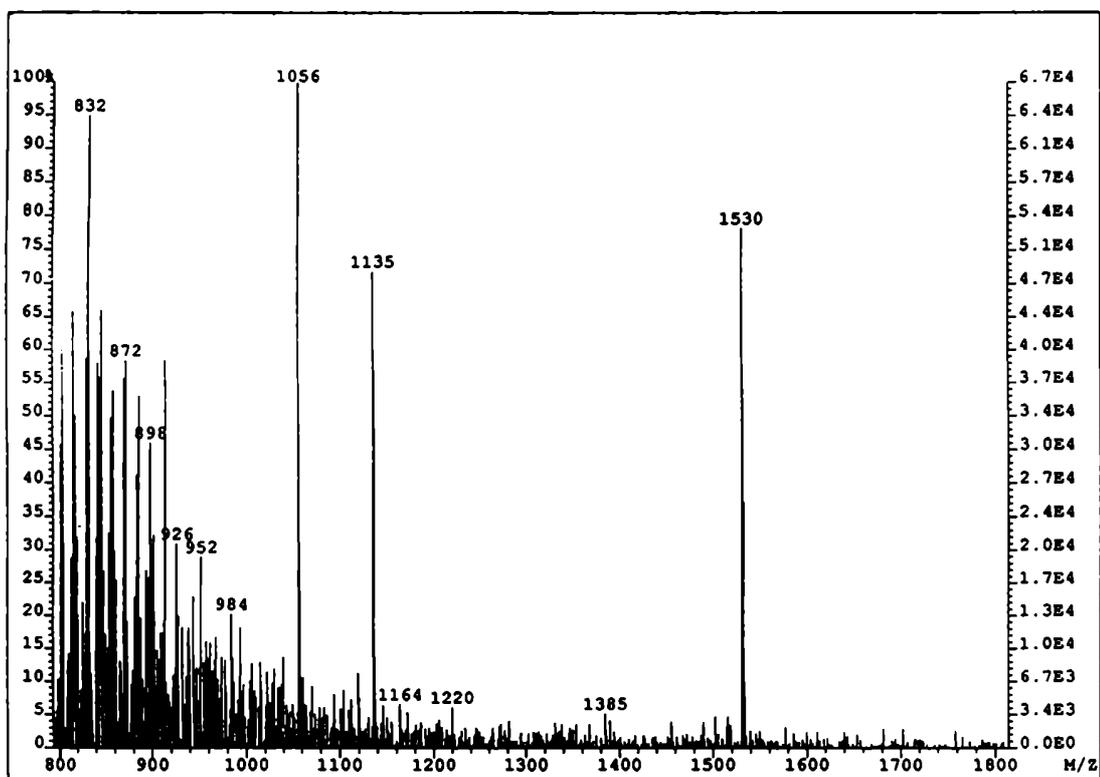
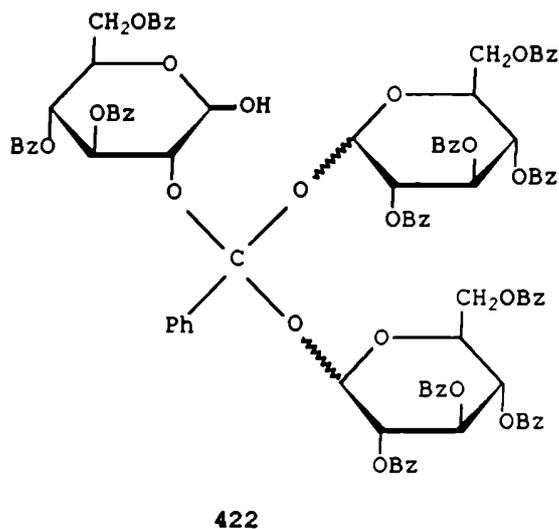
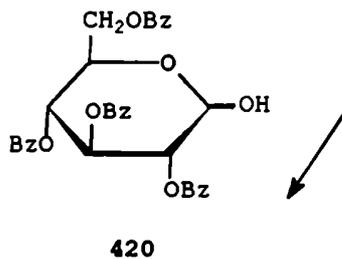
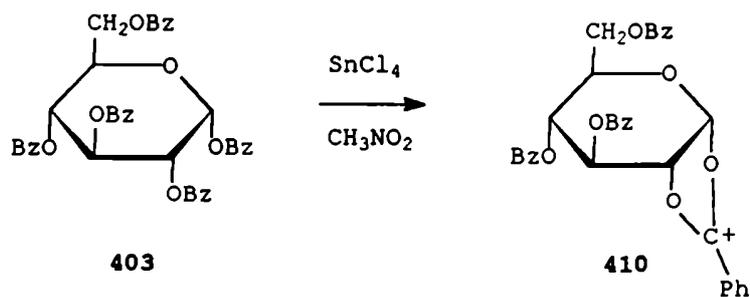


Figura 24. Espectro de masa FAB⁺ de 422.

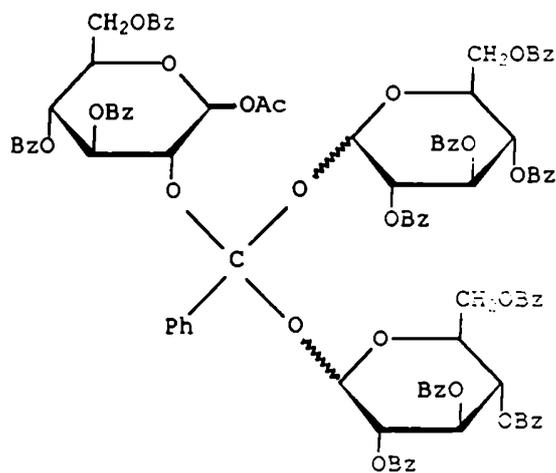
El hecho de que por desacilación sólo se obtiene glucosa sugiere la siguiente hipótesis acerca de su formación:



El carbocatión intermediario **410** reaccionaría sucesivamente con dos moléculas de tetra-O-benzoil-D-glucopiranososa (**420**) generando una estructura de ortoéster **422** susceptible de ser desacilada totalmente a glucosa.

La acetilación de éste presunto ortoéster genera un compuesto siruposo **423** que en su espectro de RMN- ^1H (Cl_3CD ,

(Fig. 25) mostró la presencia de dos resonancias de acetilo (δ 2,13 y 2,25), atribuibles a la mezcla de anómeros en una de las unidades de glucosa.



423

Sin embargo, el espectro de RMN- ^{13}C (Cl_3CD) (Fig. 26) de ésta sustancia no presenta el pico típico de carbono de ortoéster entre δ 112 y 122. Pero, por otra parte, entre δ 90 y 101 hay cuatro picos atribuibles a los carbonos anoméricos de las moléculas de glucosa a δ 90,6; 92,0; 95,8 y 101,1.

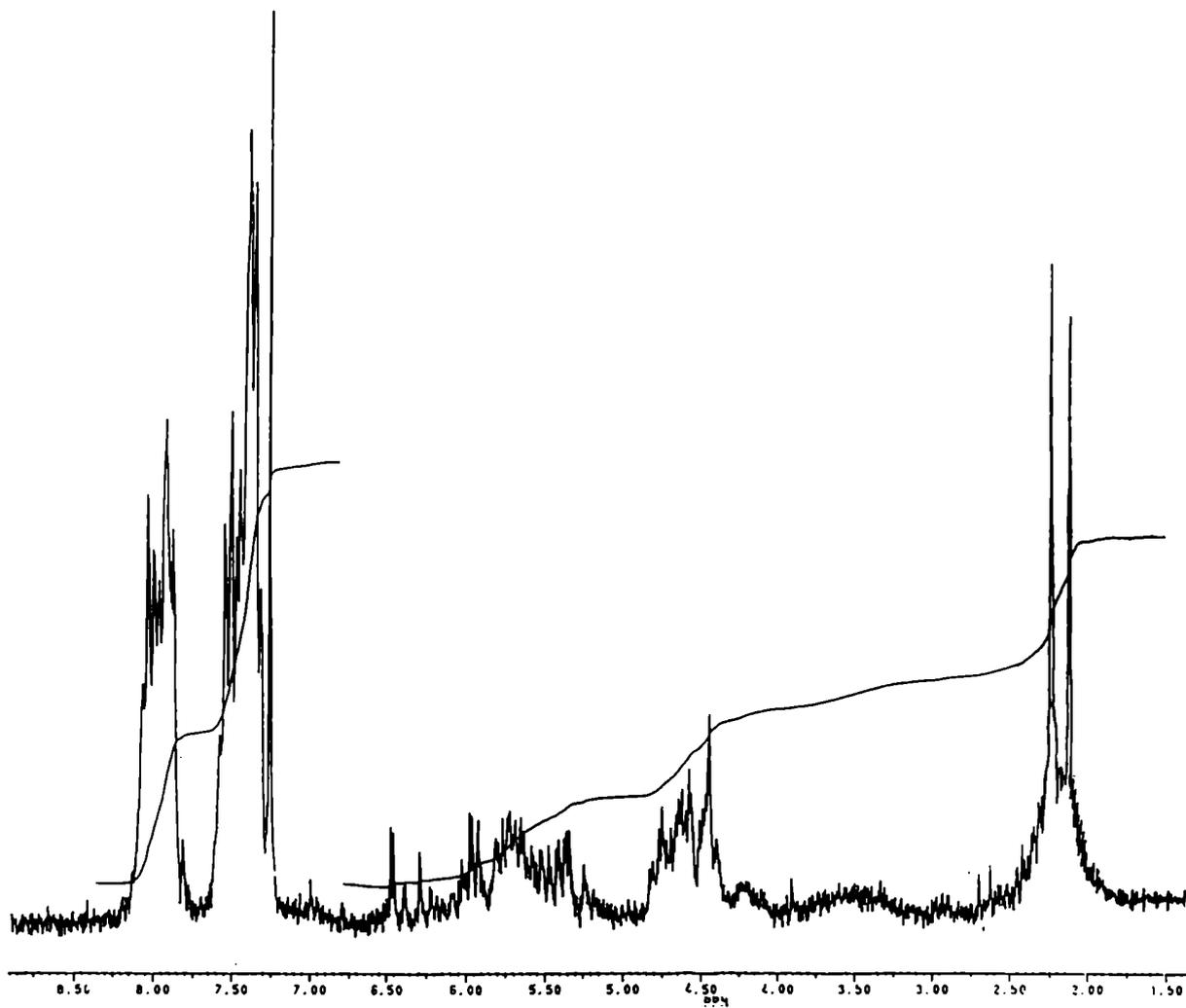


Figura 25. Espectro de RMN- ^1H de 423 a 200 MHz.

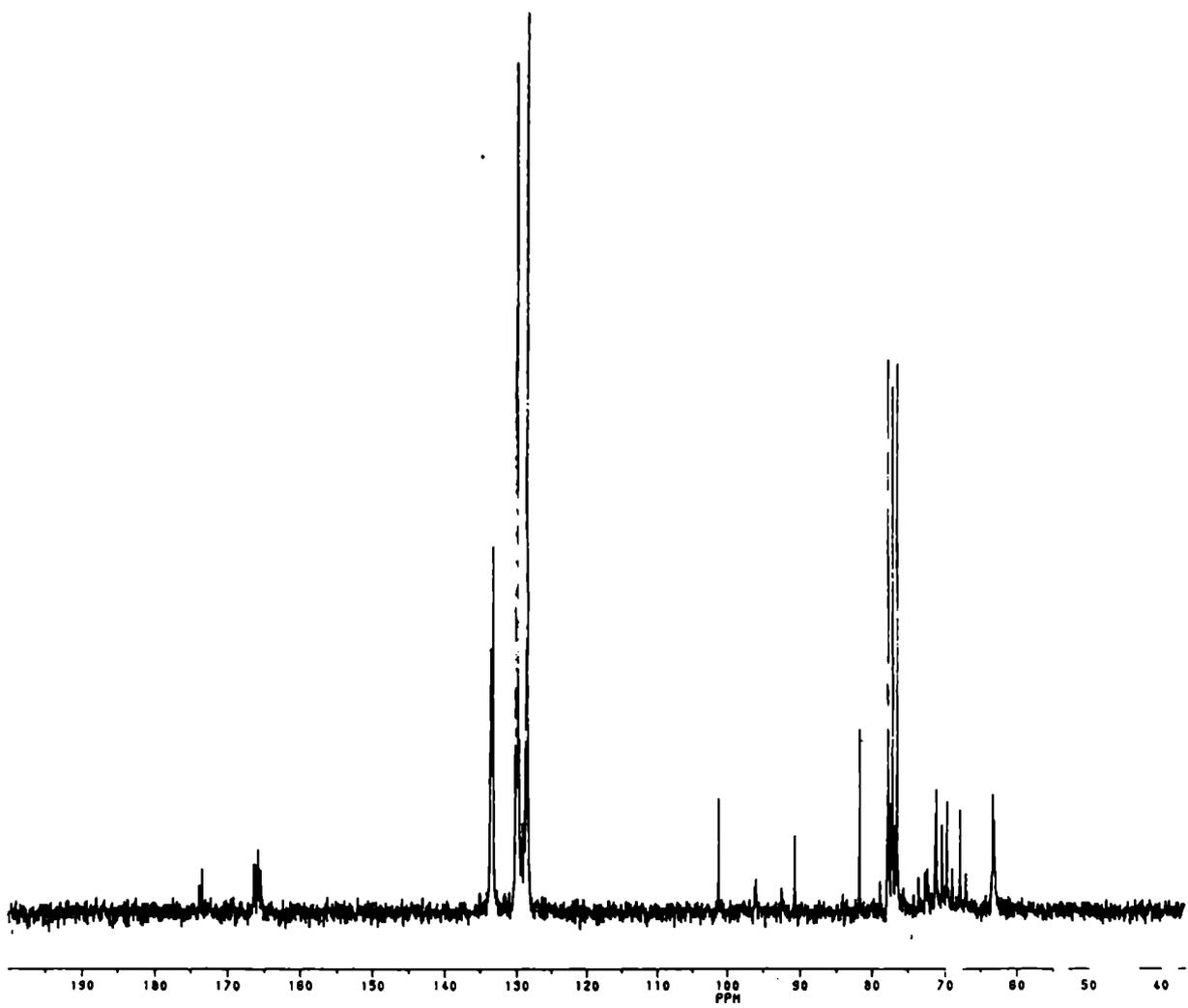


Figura 26. Espectro de RMN-¹³C de 423.

**ESTUDIOS BIOLÓGICOS DEL 1,5-DICLORO-6-N-BIS(2-
CLOROETIL)AMINO-1,5,6-TRIDESOXI-2,3,4-TRI-O-(METILSULFONIL) -
MUCO-INOSITOL (393)**

A pesar de los avances en la quimioterapia del cáncer durante los últimos cuarenta años, todavía es necesario superar grandes dificultades antes de que ésta modalidad para el tratamiento tenga utilidad general en el manejo de las enfermedades neoplásicas.

Las dos limitaciones principales son el grado insuficiente de selectividad de la acción antitumoral de los agentes químicos disponibles, con la consecuente toxicidad para el huésped y el desarrollo de cuadros de resistencia al agente^{185,186,187}.

Estas razones justifican la necesidad de continuar la búsqueda de nuevas sustancias antineoplásicas con eficacia terapéutica mejorada y menor toxicidad.

Las drogas antitumorales usadas en quimioterapia se clasificaron según su acción preferencial dentro del ciclo de la célula, basado en estudios cinéticos de cultivos de células.

Los antimetabolitos, generalmente análogos de la purina y la pirimidina, interfieren la división celular, afectando la síntesis del ADN¹⁸⁸.

Por otra parte, los agentes alquilantes, tales como las mostazas nitrogenadas, usualmente reaccionan con el ADN en la posición N-7 de la guanidina generando entrecruzamientos

entre las hebras y dentro de ellas, así como también entrecruzamientos entre el ADN y proteínas^{189,190,191}.

Estas acciones ocurren en cualquier fase del ciclo de la célula y el daño bioquímico del ADN resulta en la muerte de la célula debido a interferencias en eventos críticos tales como la replicación ó la segregación de cromosomas.

En función de éstos antecedentes se realizó el *screening* "in vitro" del tetracloro derivado **393**.

Los estudios antiproliferativos se realizaron en cultivos primarios de células normales y tumorales murinas.

Los resultados indican que ésta sustancia tiene efecto antiproliferativo y es efectiva sobre el crecimiento de células tumorales más que en las normales.

Inhibición del crecimiento.

El compuesto **393** que posee una estructura de mostaza nitrogenada clásica mostró una actividad inhibitoria significativa en la fase logarítmica del crecimiento en células tumorales y normales (Fig. 27).

La dosis inhibitoria 50% fué 3×10^{-6} , 9×10^{-7} y 10^{-5} M en el adenocarcinoma mamario murino con moderada actividad metastásica (M3), con alta actividad metastásica (MM3) y en células de embriones murino (MEC) respectivamente.

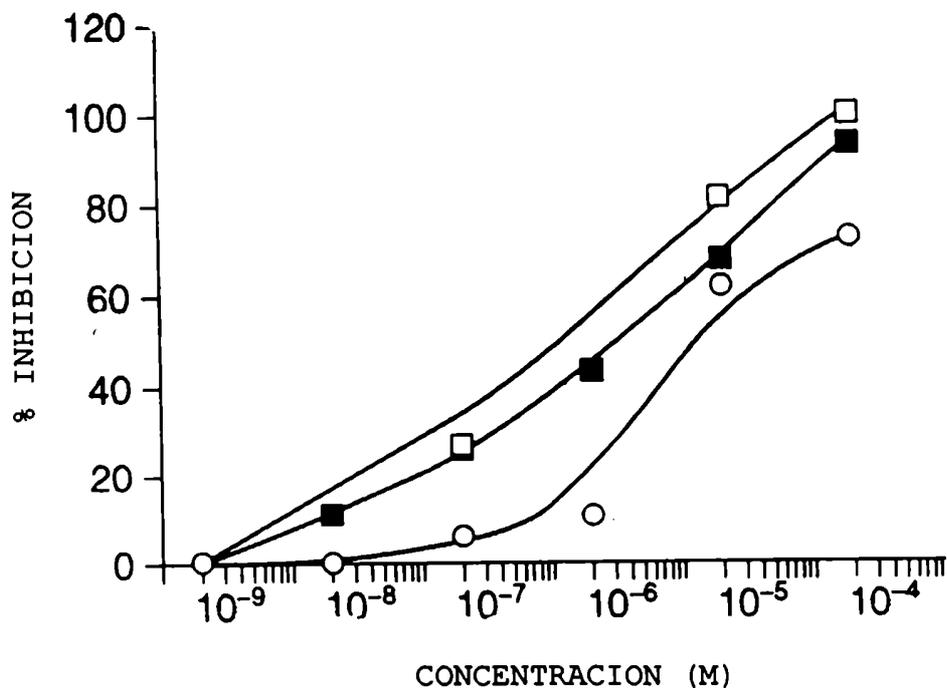


Figura 27. Efecto de 393 sobre el crecimiento de células normales y tumorales. ID₅₀ es 3×10^{-6} , 9×10^{-7} y 10^{-5} M para M3 (■), MM3 (□) y MEC (○), respectivamente.

Citotoxicidad.

Se estudió el compuesto 393 en monocapas confluentes de M3 para establecer si era citotóxico respecto de las células inactivas.

Ninguna de las concentraciones investigadas presentó citotoxicidad.

La morfología celular fué similar para las células tratadas con el compuesto 393 y las células de control y no

se encontró diferencia en el número de células muertas en el sobrenadante.

Paralelamente, no se encontraron diferencias significativas en el contenido de proteínas de las células.

Reversibilidad.

Al cabo de tres días de tratamiento de las células de M3 con el compuesto 393, la droga se eliminó según se menciona en Materiales y Métodos en la Parte Experimental.

Mientras que las células de control crecieron continuamente, las células de M3 tratadas fueron incapaces de recuperar la habilidad para crecer y finalmente murieron (Fig. 28).

Estudios del ciclo celular.

La distribución del contenido de ADN en la fase logarítmica del crecimiento de las células de embriones al cabo de tres días en cultivo (Fig. 29), indica que el 55% de las células corresponde a la fase G_1 y el 27% a G_2/M .

Cuando las células de MEC se trataron con el compuesto 393 (10^{-5} M), el 67% de las células corresponde a G_1 .

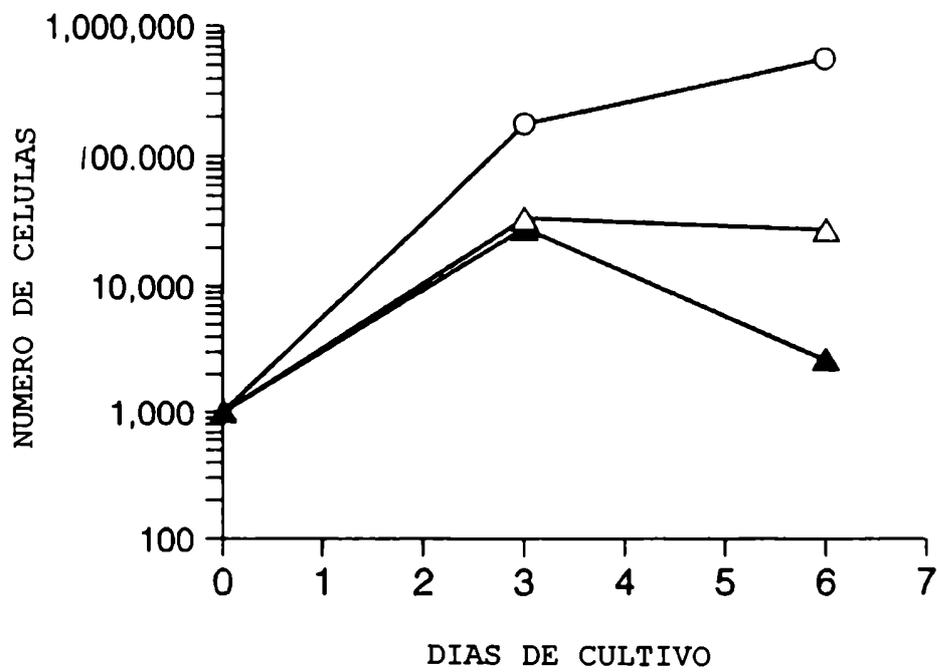


Figura 28. Ensayo de Reversibilidad sobre las células de M3: control (○), células tratadas con 3×10^{-6} M de 393 durante 3 días y luego con el medio de control (▷) y células expuestas continuamente a 393 (▲).

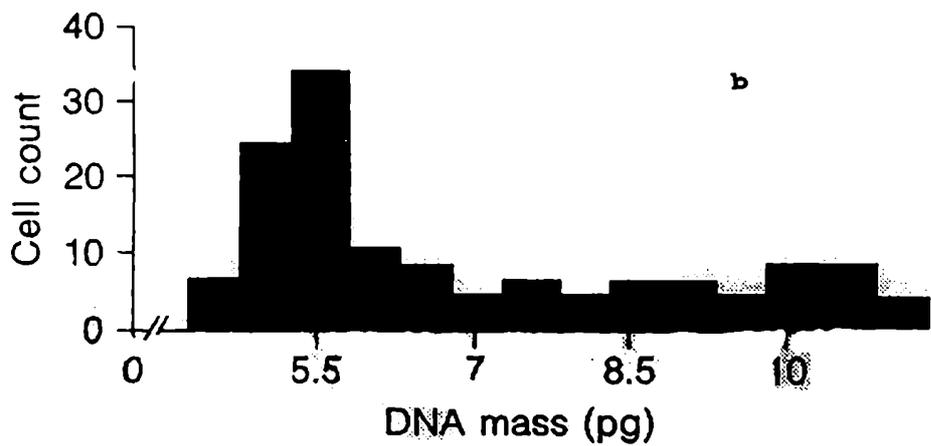
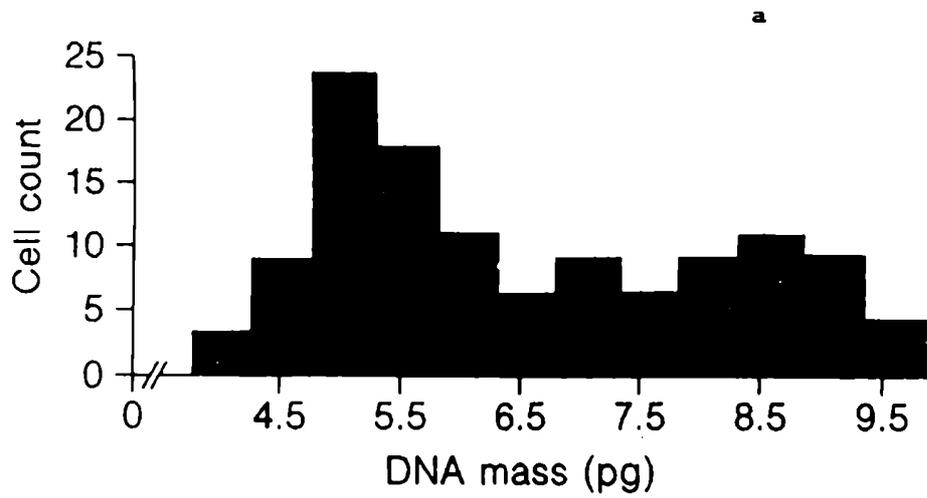


Figura 29. Histogramas de las células de MEC tratadas con DMSO (a, control) ó 393 (b).

Discusión.

Se estudió el efecto del compuesto 393 sobre el crecimiento "in vitro" de dos adenocarcinomas mamario murino con moderada (M3) y alta (MM3) actividad metastásica y en células normales de embriones.

Las drogas con sustituyentes clásicos y no clásicos del tipo de las mostazas nitrogenadas presentan un efecto inhibitorio del crecimiento.

Las mostazas nitrogenadas y muchos de los agentes alquilantes reaccionan con el ADN primariamente en la posición N-7 de la guanina¹⁹¹. Compuestos bifuncionales pueden reaccionar con dos guaninas de la misma hebra ó de hebras opuestas del ADN para generar entrecruzamientos entre hebras y dentro de la misma hebra.

Además, éstas drogas producen entrecruzamientos entre el ADN y las proteínas.

Ambos mecanismos son capaces de inducir la muerte de las células^{190,191}.

Paralelamente, la muerte de las células no puede deberse simplemente a la presencia de lesiones en el ADN sino que debe involucrar una interacción con procesos vitales tales como la replicación ó la segregación de cromosomas.

Algunas drogas capaces de producir entrecruzamientos entre el ADN y las proteínas (inhibidores de topoisomerasas) muestran rápidamente un efecto reversible¹⁹².

Paralelamente, en algunas células los entrecruzamientos entre el ADN y las proteínas correlacionan con la citotoxicidad^{193,194}.

Se observó que el efecto inhibitorio del compuesto 393 en las células de M3 fué irreversible y sólo ocurre en la fase logarítmica del crecimiento de las células, ya que las

monocapas confluentes inactivas no fueron dañadas por éste compuesto.

El análisis del ciclo celular sugiere que el compuesto 393 inhibe las células en la fase G₁.

Este comportamiento está de acuerdo con los mecanismos propuestos para los agentes alquilantes.

Hay algunas drogas más efectivas sobre células tumorales que otras. Esta diferencia puede atribuirse a la especificidad de la secuencia del ADN que ellas reconocen.

Kohn y col.¹⁹¹ mostraron que la selectividad en la secuencia del ADN que la mayoría de las mostazas nitrogenadas reconocen está basado en interacciones electrostáticas entre el catión aziridinio de la mostaza nitrogenada y el potencial electrostático negativo en la vecindad del sitio de reacción del ADN. Por ejemplo, secuencias GGG probablemente pueden formar entrecruzamientos intracadena letales, mientras que la secuencia 5'-CG-3' puede formar entrecruzamientos entre cadenas.

El compuesto 393 tiene un posible uso clínico debido a que es activo a dosis bajas y es más efectivo en las células de MM3 que sobre las células de M3.

Dicho compuesto es más efectivo sobre células tumorales que sobre las normales, por lo tanto se espera una baja citotoxicidad para el huésped.

Las experiencias biológicas fueron realizadas en el Area Investigación del Instituto Angel H. Roffo de la Facultad de Medicina (Universidad de Buenos Aires).

CAPITULO VII
PARTE EXPERIMENTAL

INSTRUMENTAL Y METODOS GENERALES

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

Para la cromatografía en capa delgada (ccd) se utilizó la técnica ascendente en placas de vidrio cubiertas con sílica gel G (Merck) de 0,25 mm de espesor y 20 cm de longitud. Se emplearon los siguientes sistemas de solventes de desarrollo:

1. Etanol Absoluto-Benceno 2:8 (v/v)
2. Etanol Absoluto- Cloroformo 1:1 (v/v)
3. Butanona saturada con Agua
4. Etanol Absoluto-Benceno 1:19 (v/v)
5. Etanol Absoluto-Benceno 1:9 (v/v)
6. Metanol-Cloroformo 2,5:7,5 (v/v)
7. n-Propanol-Cloroformo-Agua 32:5:15
8. Etanol Absoluto-Benceno 3:17 (v/v)
9. Etanol Absoluto-Benceno 1:49 (v/v)

Las manchas se detectaron con los siguientes reactivos:

1. Vapor de yodo
2. Ninhidrina en 1-Butanol para amino compuestos¹³²
3. Hidroxilamina alcalina-Nitrato férrico para ésteres¹⁹⁶

Para la cromatografía en placa preparativa se utilizó la técnica ascendente en placas de vidrio cubiertas con sílica gel G (Merck) de 1 mm de espesor y 20 cm de longitud.

Para la cromatografía en columna se utilizó como relleno sílica gel Fluka 100. Los solventes de elución se indican en cada caso.

Las cromatografías sobre papel se realizaron en papel Whatman N°1 por el método descendente y se empleó el siguiente sistema de solventes de desarrollo:

1. Butanol-Etanol-Agua 10:4:4

Como reactivos de revelado se utilizaron:

1. Nitrato de plata-Hidróxido de sodio.

Se preparó según la técnica descrita por Trevelyan y col.¹⁹⁷. Una solución acuosa saturada de nitrato de plata (0,1 ml) se agregó a 20 ml de acetona. El precipitado de nitrato de plata obtenido se redisolvió por agregado de la mínima cantidad de agua. Los cromatogramas se sumergieron en la solución anterior y se secaron a temperatura ambiente. Luego de tres ó cuatro minutos se pulverizaron con una solución de hidróxido de sodio 0,5 N en etanol 50%. El exceso de óxido de plata después de revelar se remueve por inmersión en una solución acuosa de tiosulfato de sodio al 5%. La cantidad mínima detectada de azúcares reductores es de 2 a 20 microgramos.

2. Biftalato de Anilina.

Se preparó según la técnica descrita por Partridge¹⁹⁸. A 10 ml de butanol saturado con agua se le agregan 160 mg de ácido ftálico anhidro y en el momento de usar se le añaden 0,1 ml de anilina (destilada sobre zinc). Se pulveriza el cromatograma y se calienta en estufa a 110°C durante diez minutos.

3. Ninhidrina.

Se preparó según la técnica descrita por Smith¹⁹⁹. Se disuelven 10 mg de ninhidrina en 10 ml de acetona y se rocía el papel. Se deja durante veinticuatro horas a temperatura ambiente y se observan las manchas que van

apareciendo. Luego se puede calentar 15-20 minutos a 120°C.

Los poderes rotatorios fueron medidos en un polarímetro Perkin-Elmer, modelo 141, en microceldas de 1 dm de longitud y a temperatura ambiente. El solvente y la concentración utilizados se indican en cada caso.

Los espectros de absorción en el infrarrojo (IR) fueron determinados en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 710-B Infracord. Los espectros se realizaron en emulsión de nujol en todos los casos.

Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica (RMN-¹H) y de carbono (RMN-¹³C) se realizaron a 20-25°C en un espectrómetro Varian XL-100 a 100 (¹H) y 25,2 (¹³C) MHz respectivamente ó en un espectrómetro Bruker ACE a 200 MHz, con tetrametilsilano como standard interno. Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en partes por millón (ppm) respecto del tetrametilsilano (TMS).

Los espectros de masa (EM) se realizaron en un espectrómetro Varian MAT 7 acoplado a un sistema de datos computarizado Varian MAT 166 y a un potencial de ionización de 70 eV, la temperatura de inserción directa de la muestra fué de 200-220°C; ó en un espectrómetro VG a 180°C y 70 eV.

Los espectros de masa FAB⁺ se realizaron en un espectrómetro ZAB-SEQ.

PURIFICACION DE REACTIVOS Y SOLVENTES

Todos los solventes se purificaron por destilación. Las condiciones para obtener solventes anhidros se indican en cada caso.

Acetona: se reflujo con permanganato de potasio y se destiló.

Acetonitrilo: se destiló y se secó sobre tamices moleculares 3 de Å.

Benceno: se destiló conservándose bajo sodio metálico.

Cloroformo: se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Se destiló conservándose sobre tamices moleculares de 3 Å.

Diclorometano: se destiló conservándose sobre tamices moleculares de 3 Å.

2-Metoxietanol: se destiló conservándose sobre tamices moleculares de 3 Å.

Nitrometano: se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Se destiló conservándose sobre tamices moleculares de 3 Å.

Piridina: se reflujo sobre hidróxido de sodio y se destiló conservándose sobre hidróxido de sodio.

Cloruro de estaño (IV): se destiló a presión reducida sobre granallas de estaño en atmósfera de nitrógeno. Se guardó en atmósfera de nitrógeno, protegido de la luz.

SINTESIS DE INOSITOLES NITROGENADOS Y SULFONILADOS

1,2-O-Isopropilidén-*mio*-inositol (386).

Este compuesto se sintetizó por el procedimiento de literatura¹⁷³.

Una mezcla de *mio*-inositol (385) (20 g, 0,11 moles) y ácido p-toluensulfónico (150 mg) se calentó a 110°C en 2,2-dimetoxipropano (75 ml) y dimetilsulfóxido (75 ml) hasta disolución, luego se destilaron el metanol y el 2,2-dimetoxipropano. Se agregó una nueva porción de *mio*-inositol (20 g, 0,11 moles) y se calentó a 120°C durante una hora y media más, al cabo de lo cual se agregó carbonato de potasio (150 mg) y se evaporó hasta sequedad. El residuo siruposo se reflujo con etanol durante media hora, se filtró para eliminar la materia prima sin reaccionar (21,5 g). Por concentración y enfriamiento de la solución y posterior filtración se obtuvo el compuesto 386 (14 g, 61% de rendimiento), p.f. 182-183°C, lit.¹⁷³ p.f. 182-183°C.

1,2-O-Isopropilidén-3,4,5,6-tetra-O-(metilsulfonil)-*mio*-inositol (387).

El compuesto 386 (14 g, 0,068 mmoles) se disolvió en piridina (50 ml) y se agregó cloruro de metanosulfonilo (40 ml; 0,5 moles) a 0°C en porciones, con agitación. La solución se mantuvo protegida de la humedad a temperatura ambiente

durante 48 horas, luego se agregó agua y hielo picado obteniéndose un precipitado marrón que se filtró y se lavó con agua. El sólido se extrajo dos veces con acetona, los extractos se juntaron (300 ml) y se concentraron a 50 ml seguido de enfriamiento durante la noche. Se obtuvo el compuesto **387** (30 g, 89% de rendimiento), p.f. 218°C, lit.¹⁷⁴ p.f. 218°C; ccd R_f 0,84 (solvente 1, reactivo 1).

1,4,5,6-Tetra-O-(metilsulfonil)-mio-inositol (388).

El compuesto **387** (30 g) se suspendió en ácido clorhídrico 1 N (0,6 l) y se reflujo durante dos horas, luego se decoloró con carbón y se filtró. Por enfriamiento y filtración se obtuvo el compuesto **388** (24,2 g; 91% de rendimiento), p.f. 227-228°C, lit.¹⁷⁴ p.f. 227-228°C; ccd R_f 0,63 (solvente 1, reactivo 1).

3-Azido-3-desoxi-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol (389).

El tetramesilato **388** (500 mg; 1,02 mmoles) y azida de sodio (250 mg; 3,85 mmoles) se disolvieron en 2-metoxietanol (20 ml) y se reflujo durante dos horas. La solución se evaporó hasta sequedad y el residuo se extrajo con acetona caliente (3 x 30 ml). El extracto acetónico se evaporó hasta sequedad y el residuo, triturado con etanol, dió **389** (367 mg, 82% de rendimiento), p.f. y p.f. mezcla¹⁷⁴ 227°C; ccd R_f 0,52 (solvente 1, reactivo 1).

Clorhidrato de 3-Amino-3-desoxi-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol (390).

El compuesto **389** (2 g; 5,56 mmoles) se disolvió en 2-metoxietanol (100 ml) y se agregó paladio al 10% sobre carbón (0,3 g). Esta suspensión se hidrogenó a temperatura ambiente durante veinte horas a 50 libras/pulg.² en un hidrogenador de Parr; luego se filtró y el catalizador se extrajo con etanol caliente (3 x 30 ml). La solución en 2-metoxietanol y los extractos etanólicos se juntaron y se evaporaron a sequedad. El residuo se suspendió en 2-propanol hirviente (200 ml) y se agregó ácido clorhídrico concentrado (50 ml) hasta lograr la disolución del producto. Por enfriamiento posterior, se obtuvo el compuesto **390** (1,73 g; 80% de rendimiento), p.f. y p.f. mezcla¹⁷⁴ 186-187°C; ccd R_f 0,45 (solvente 2, reactivos 1 y 2).

3-Desoxi-3-N-bis(2-hidroxietyl)amino-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol (391).

El compuesto **390** (7,82 g; 0,017 moles) se disolvió en agua (100 ml) y se agregó óxido de etileno (60 ml). La solución se mantuvo durante diez días a temperatura ambiente, al cabo de los cuales se evaporó hasta sequedad. El compuesto **391** cristalizó de 2-propanol como base libre (7,87 g; 92% de rendimiento), p.f. 138-140°C. Por recristalización de 2-propanol saturado con cloruro de hidrógeno (g) se obtuvo el clorhidrato de p.f. 108-110°C.

RMN-¹H (D₂O) (Fig.1): δ 3,41 (s, 6H, CH₃SO₂-); 3,43 (3H, CH₃SO₂-); 3,70 [N-(CH₂)₂]; 4,00 [5H, H-3, (CH₂OH)₂]; 4,54 (dd, H-2, H-4, J_{1,2} = 3 Hz, J_{2,3} = 11 Hz); 5,25 (t, H-1, H-5); 5,38 (t, H-6, J_{1,6} = J_{5,6} = 3 Hz).

RMN-¹³C (C₅D₅N) (Fig.3): δ 78,8 (C-1, C-5); 74,4 (C-6); 65,7 (C-2, C-4); 61,0 (C-3); 58,8 (CH₂OH); 37,8 [CH₃SO₂-, (CH₂)₂N].

Anal. calc. para C₁₃H₂₇NO₁₃S₃.HCl: %C 29,02; %H 5,21; %N 2,60; %S 17,86. Encontrado: %C 28,74; %H 5,40; %N 2,91; %S 17,60.

A partir del clorhidrato, se re-obtuvo la base libre por tratamiento con amoníaco metanólico; ccd R_f 0,45 (solvente 3, reactivo 1).

Anal. calc. para C₁₃H₂₇NO₁₃S₃.H₂O: %C 30,06; %H 5,59; %N 2,70; %S 18,50. Encontrado: %C 30,00; %H 5,49; %N 2,89; %S 18,13.

Las sustancias puras, no obstante mostraron un esquema complejo en ccd. La acetilación dió una mezcla de acetatos siruposos; no así la benzoilación que dió lugar a un único producto.

1,5-Di-O-benzoil-6-N-bis(2-benzoiloxietil)amino-6-desoxi-2,3,4-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol (392).

El compuesto 391 (146 mg; 0,29 mmoles) se disolvió en piridina (2 ml) y a la solución previamente enfriada se agregó cloruro de benzoilo (2 ml). Al cabo de veinticuatro horas a temperatura ambiente la solución se calentó durante treinta minutos en baño de agua hirviente y luego se volcó en hielo-agua. El sólido obtenido se lavó repetidas veces con agua, se secó y se recristalizó de 2-propanol-acetona (5:1) obteniéndose un producto (155 mg) de p.f. 160-163°C; ccd R_f 0,60 (solvente 4, reactivo 1) doble desarrollo.

RMN-¹H (Cl₃CD) (Fig.2): δ 2,94 (s, 6H, CH₃SO₂-); 3,22 (s, 3H, CH₃SO₂-); 3,14 [t, 4H, N(CH₂)₂]; 3,96 (t, H-6, J_{1,6} = J_{5,6} =

10 Hz); 4,22 [t, 4H, (CH₂O)₂]; 5,26 (3H, H-2, H-3 y H-4); 5,62 (2H, H-1 y H-5); 7,32-7,88 (m, 20 H, grupos benzoílo).

Anal. calc. para C₄₁H₄₃O₁₇NS₃: %C 53,65; %H 4,69; %N 1,53; %S 10,47. Encontrado: %C 53,54; %H 5,04; %N 1,76; %S 10,33.

Desbenzoilación.

El benzoato 392 se trató con metóxido de sodio en metanol 0,01 N y la solución se mantuvo durante tres días a temperatura ambiente. Luego de neutralizar con resina ácida Dowex-50, la solución se evaporó hasta sequedad y el residuo se recristalizó de 2-propanol para dar un producto de p.f. 140°C correspondiente al compuesto de partida. El análisis por ccd mostró una mezcla compleja similar a la observada con una muestra pura de 391.

1,5-Dicloro-6-N-bis(2-cloroetil)amino-1,5,6-tridesoxi-2,3,4-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol (393).

El clorhidrato del compuesto 391 (1,11 g; 2,1 mmoles) se suspendió en cloruro de tionilo (15 ml) y se reflujo durante sesenta horas. La solución ligeramente amarilla se evaporó hasta sequedad y el residuo se extrajo con cloroformo caliente (3 x 30 ml), el cual por evaporación dió un residuo que se recristalizó de metanol para dar 393 (787 mg; 61,1% de rendimiento), p.f. 209-211°C; ccd R_f 0,54 (solvente 4, reactivo 1).

RMN-¹H (C₅D₅N) (Fig.4): δ 3,10-3,90 (m, 9H, H-6 y protones metilénicos); 3,38 (s, 3H, CH₃SO₂-); 3,51 (s, 6H, CH₃SO₂-); 5,04 (dd, H-1 y H-5, J_{1,2} = 3 Hz, J_{1,6} = 10 Hz); 5,84 (t, H-2 y H-4); 5,97 (t, H-3, J_{2,3} = J_{3,4} = 3 Hz).

RMN-¹³C (C₅D₅N) (Fig.5): δ 78,4 (C-2 y C-4); 74,5 (C-3); 63,4 (C-6); 58,8 (C-1 y C-5); 43,1 (CH₂Cl); 38,4 (CH₃SO₂); 37,7 [(CH₂)₂N].

EM (Esquema 7): m/z(%) 573(8,6); 524(60,6); 310(61,3); 274(57,8); 250(2,2); 140(3,7); 137(5,1); 109(6,2); 92(64,2); 56(11,7); 42(48,2).

Anal. calc. para C₁₃H₂₃Cl₄NO₉S₃: %C 27,13; %H 4,00; %Cl 24,69; %N 2,43; %S 16,70. Encontrado: %C 27,44; %H 4,29; %Cl 24,09; %N 2,50; %S 16,80.

1,5-Dicloro-6-N-bis(1,2-dicloroetil)amino-1,5,6-tridesoxi-2,3,4-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol (394).

El compuesto 391, como base libre, (1,17 g; 2,3 mmoles) se disolvió en piridina (5 ml) y se agregó cloruro de tionilo (5 ml). La solución se reflujo durante cinco horas, luego se mantuvo veinticuatro horas a temperatura ambiente y se evaporó hasta sequedad. El residuo triturado con 2-propanol dió 1,12 g de un sólido oscuro que se extrajo dos veces con acetona (2 x 20 ml). El extracto acetona se evaporó hasta sequedad y el residuo se recristalizó de metanol, obteniéndose 394 (307 mg; 20,6% de rendimiento) como agujas de p.f. 213-216°C; ccd R_f 0,59 (solvente 4, reactivo 1). Las aguas madres dieron una mezcla compleja de derivados clorados, que no fué resuelta.

RMN-¹H (C₅D₅N) (Fig.6): δ 3,53 (9H, CH₃SO₂- y H-6); 4,08 (t, 2H, -CHCl); 4,32-4,47 (m, 4H, -CH₂Cl); 5,83 (dd, H-1 y H-5, J_{1,6} = J_{5,6} = 11,0 Hz; J_{1,2} = J_{4,5} = 3,1 Hz); 5,91 (t, H-2 y H-4, J_{2,3} = J_{3,4} = 3,0 Hz); 6,03 (H-3).

EM (Esquema 8): m/z(%) 241(11,0); 208(7,7); 163(25,7); 139(4,08); 127(5,7); 111(17,3); 109(9,9); 103(10,1); 75(10,8); 63(54,8).

Anal. calc. para $C_{13}H_{21}Cl_6NO_9S_3$: %C 24,22; %H 3,26; %Cl 33,07; %N 2,17; %S 14,91. Encontrado: %C 24,53; %H 3,52; %Cl 32,73; %N 2,27; %S 14,74.

D,L-1-Cloro-6-N-bis(2-cloroetil)amino-1,6-didesoxi-2,3,4-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol (395).

El clorhidrato de 391 (2,27 g; 4,2 mmoles) se suspendió en cloruro de tionilo (50 ml) y se reflujo durante dos horas. La solución se filtró para eliminar material sin reaccionar (0,169 g) y se evaporó hasta sequedad; el residuo se trituró con agua caliente para obtener un sólido amorfo que se filtró (1,84 g) y se extrajo a reflujo con benceno, cloroformo y diclorometano sucesivamente (3 x 30 ml c/u). Los extractos se juntaron, se evaporaron hasta sequedad y el sólido residual se recristalizó de metanol para dar 395 puro (460 mg; 21,2% de rendimiento) como placas de p.f. 168-171°C; ccd R_f 0,49 (solvente 4, reactivo 1).

RMN- 1H (DMSO- d_6) (Fig.8): δ 3,12 (m, 4H, CH_2N); 3,28 (3H, CH_3SO_2); 3,38 (3H, CH_3SO_2); 3,40 (3H, CH_3SO_2); 3,58 (5H, H-6, CH_2Cl); 4,63 (m, H-1); 4,96 (m, H-5); 5,04-5,24 (m, H-2, H-3 y H-4).

RMN- ^{13}C (C_5D_5N) (Fig. 9): δ 78,6 (C-2 y C-4); 74,5 (C-3); 66,6 (C-5); 63,4 y 57,8 (C-6 y C-1); 43,5 (CH_2Cl); 38,4 (CH_3SO_2); 37,6 (CH_2N).

EM (Esquema 9): m/z(%) 506(86,1); 182(8,0); 92(19,7).

Anal. calc. para $C_{13}H_{24}Cl_3NO_{10}S_3 \cdot H_2O$: %C 27,15; %H 4,53; %Cl 18,54; %N 2,44; %S 16,71. Encontrado: %C 27,40; %H 4,65; %Cl 18,90; %N 2,44; %S 16,60.

D,L-1-O-Acetil-5-cloro-6-N-bis(2-cloroetil)amino-5,6-dideoxi-2,3,4-tri-O-(metilsulfonyl)-muco-inositol (396).

El compuesto **395** (140 mg; 0,25 mmoles) se disolvió en piridina -anhídrido acético (1:1, 3 ml); la solución se mantuvo a temperatura ambiente durante veinticuatro horas y luego media hora en baño de agua hirviente. Después de evaporar hasta sequedad, el residuo se trituró con agua, se filtró (117 mg) y se recristalizó de etanol-acetona (1:1, 12 ml). Se obtuvo el compuesto **396** (89 mg), p.f. 188-191°C; ccd R_f 0,50 (solvente 4, reactivo 1).

RMN- 1H (C_5D_5N) (Fig.7): δ 2,21 (3H, CH_3CO-); 3,24 (4H, CH_2N); 3,38; 3,52; 3,55 (9H, CH_3SO_2); 3,61 (4H, CH_2Cl); 3,80 (t, H-6, $J_{1,6} = J_{5,6} = 10$ Hz); 5,11 (dd, H-5, $J_{4,5} = 3$ Hz, $J_{5,6} = 10$ Hz); 5,63 (dd, H-1, $J_{1,2} = 3$ Hz, $J_{1,6} = 10$ Hz); 5,84-5,93 (m, H-2, H-3 y H-4).

EM (Esquema 9): m/z(%) 548(91,6); 134(16,0); 92(44,1).

Anal. calc. para $C_{15}H_{26}Cl_3NO_{11}S_3$: %C 30,07; %H 4,34; %Cl 17,79; %N 2,33; %S 16,04. Encontrado: %C 30,31; %H 4,57; %Cl 17,48; %N 2,50; %S 15,84.

1,5-Di-O-acetil-6-N-bis(2-cloroetil)amino-6-desoxi-2,3,4-tri-O-(metilsulfonyl)-muco-inositol (398).

El residuo (504 mg) de las extracciones sucesivas para obtener **395**, mostró una mancha principal en ccd de R_f 0,25 (solvente 4, reactivo 1). Una alícuota (99 mg) de dicho

residuo se purificó por placa preparativa para dar un dicloro derivado **397** como un polvo amorfo, que se acetiló con anhídrido acético-piridina (1:1) como en el caso del compuesto **395**. Se obtuvo un acetato cristalino que se recrystalizó de etanol-acetona (1:1) para dar **398** (21 mg), p.f. 203-205°C; ccd R_f 0,40 (solvente 4, reactivo 1).

RMN-¹H (C₅D₅N) (Fig. 10): δ 2,22 (6H, CH₃CO-); 3,20 (4H, CH₂N); 3,30 (3H, CH₃SO₂); 3,53 (6H, CH₃SO₂); 3,58 (4H, CH₂Cl); 3,88 (t, H-6); 5,74-6,00 (5H, protones del anillo).

EM (Esquema 10): m/z(%) 573(100).

Anal. calc. para C₁₇H₂₉Cl₂O₁₃NS₃: %C 32,79; %H 4,66; %Cl 11,41; %N 2,25; %S 15,43. Encontrado: %C 33,12; %H 4,80; %Cl 11,30; %N 1,97; %S 15,21.

D,L-1-Cloro-6-[N-(2-cloroetil)-N-(2-O-metilsulfonil)etil] amino-1,6-didesoxi-2,3,4,5-tetra-O-(metilsulfonil)-mucoinositol (399).

El compuesto **391**, como base libre, (1,0 g; 1,4 mmoles) se disolvió en piridina hirviente (15 ml) y luego de enfriar la solución a temperatura ambiente se agregó cloruro de metanosulfonilo (0,5 ml). La mezcla se mantuvo durante dos horas a 0°C al cabo de las cuales se agregó una nueva porción de cloruro de metanosulfonilo (0,5 ml). Después de cuatro días a temperatura ambiente la solución se volcó en hielo picado y el sólido pulverulento obtenido se lavó con agua por decantación repetidas veces. El producto (622 mg) se recrystalizó de metanol para dar **399** como placas de p.f. 202-204°C; ccd R_f 0,58 (solvente 5, reactivo 1); rendimiento 46,7%.

RMN-¹H (C₅D₅N) (Fig. 11): δ 3,32 (s, 3H, CH₃SO₂); 3,51 [t, 4H, (CH₂)₂N]; 3,57 y 3,64 (12H, CH₃SO₂); 3,82 (m, 4H, CH₂Cl, CH₂OMs); 4,16 (t, H-6, J_{5,6} = J_{1,6} = 7,8 Hz); 5,87 (dd, H-1 y H-5, J_{1,2} = 3,3 Hz, J_{1,6} = 7,8 Hz); 6,00 (m, H-2, H-3 y H-4).

RMN-¹³C (C₅D₅N) (Fig. 12): δ 75,4 (C-3 y C-4); 74,2 y 73,5 (C-2 y C-5); 61,2 (C-6); 53,8 (C-1); 42,3 (CH₂Cl); 39,4 [(CH₂)₂N]; 38,8 (CH₃SO₂); 38,6 (CH₂OMs).

EM (Esquema 11): m/z(%) 644(100); 584(30); 522(2,8); 264(5,6); 198(3,4); 170(3,7); 92(9,6).

Anal. calc. para C₁₅H₂₉Cl₂NO₁₅S₅: %C 25,94; %H 4,18; %Cl 10,23; %N 2,02; %S 23,05. Encontrado: %C 26,27; %H 4,27; %Cl 10,32; %N 2,17; %S 22,79.

D,L-1-Cloro-6-[N-(2-cloroetil)-N-(2-iodoetil)]amino-1,6-di-desoxi-2,3,4,5-tetra-O-(metilsulfonil)-muco-inositol (400).

El compuesto 399 (348 mg; 0,5 mmoles) se disolvió en una solución de ioduro de sodio (245 mg; 1,6 mmoles) en acetona (50 ml). La mezcla se reflujo durante veinte horas, se filtró y se evaporó hasta sequedad. El residuo seco se trituró con agua caliente y el precipitado obtenido (379 mg) se filtró y se disolvió en acetato de etilo. Esta solución se lavó con solución saturada de tiosulfato de sodio, luego agua y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Por concentración de la solución a pequeño volumen y precipitación del producto con éter de petróleo se obtuvo un sólido amorfo (245 mg) y posteriormente un segundo precipitado (77 mg; rendimiento total de 400 88,5%). El sólido se precipitó nuevamente de acetato de etilo con éter de petróleo para dar un producto de p.f. 199-201°C; ccd R_f 0,63 (solvente 5, reactivo 1).

RMN-¹H (acetona-d₆) (Fig. 13): δ 3,30; 3,33; 3,36; 3,38 (12 H, CH₃SO₂); 3,20-3,50 [m, 20 H, (CH₂I), (CH₂Cl), (CH₂)₂N, (CH₃SO₂)]; 3,71 (t, H-6, J_{1,6} = J_{5,6} = 8 Hz); 5,20-5,45 (m, 5H, protones del anillo).

RMN-¹H (C₅D₅N): δ 3,35 (CH₂I); 3,51 (CH₂)₂N; 3,54 (6 H, CH₃SO₂); 3,61 (6 H, CH₃SO₂); 3,80 (CH₂Cl); 4,20 (H-6); 5,80-6,06 (m, 5 H, protones del anillo).

RMN-¹³C (C₅D₅N): δ 75,6 y 75,4 (C-3 y C-4); 74,2 y 73,5 (C-2 y C-5); 61,1 (C-6); 53,8 (C-1); 42,3 (CH₂Cl); 39,9 [(CH₂)₂N]; 39,4 (CH₃SO₂); 38,7 (CH₂I).

EM (Esquema 12): m/z(%) 584(8,2); 264(8,1); 198(2,5); 184(6,7); 170(14,8); 92(51).

Anal. calc. para C₁₄H₂₆Cl₂INO₁₂S₄: %C 23,14; %H 3,58; %N 1,93. Encontrado: %C 23,98; %H 3,50; %N 1,74.

D,L-1-Cloro-1,6-didesoxi-6-N-bis(2-hidroxi-etil)amino-2,3,4-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol (401).

El compuesto 393 (275 mg; 0,48 mmoles) se suspendió en agua (10 ml) y se reflujo durante cinco horas. La solución se evaporó hasta sequedad y el residuo seco se trituró con metanol para dar 401 como un sólido amorfo (129 mg, 47% de rendimiento), p.f. 178-181°C; ccd R_f 0,66 (solvente 3, reactivo 1). La recristalización de metanol saturado con cloruro de hidrógeno (g) dió el clorhidrato de p.f. 137-141°C.

RMN-¹H (C₅D₅N) (Fig. 14): δ 3,17 [4H, (CH₂)₂N]; 3,51 (s, 3 H, CH₃SO₂); 3,55 (s, 6 H, CH₃SO₂); 3,70 (t, H-6, J_{5,6} = J_{1,6} = 10 Hz); 3,88 (4H, CH₂OH); 5,10 (dd, H-1 y H-5, J_{1,2} = J_{4,5} = 4 Hz); 5,84 (t, H-2 y H-4); 5,99 (t, H-3, J_{3,4} = J_{2,3} = 3 Hz).

Anal. calc. para $C_{13}H_{26}ClNO_{12}S_3 \cdot HCl$: %C 28,06; %H 4,86; %Cl 12,77; %N 2,52; %S 17,27. Encontrado: %C 28,05; %H 4,41; %Cl 13,14; %N 2,44; %S 17,47.

D,L-1-O-acetil-6-N-bis(2-acetoxietil)amino-5-cloro-5,6-dideoxi-2,3,4-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol (402).

El compuesto 401 (150 mg; 0,29 mmoles) se disolvió en una mezcla caliente de anhídrido acético-piridina (1:1). La solución se mantuvo durante veinticuatro horas a temperatura ambiente, luego media hora en baño de agua hirviente y se llevó a sequedad. El residuo obtenido se maceró con agua y se filtró (146 mg). Por recristalización de metanol-acetona se obtuvo 402 (113 mg), p.f. 122-126°C; ccd R_f 0,26 (solvente 4, reactivo 1).

RMN- 1H (C_5D_5N) (Fig. 15): δ 2,06 (s, 6H, CH_3CO-); 2,22 (s, 3H, CH_3CO-); 3,14 (4H, CH_2N); 3,42 (s, 3H, CH_3SO_2); 3,52 (s, 3H, CH_3SO_2); 3,54 (s, 3H, CH_3SO_2); 3,86 (t, H-6, $J_{5,6} = J_{1,6} = 11$ Hz); 4,16 (4H, CH_2OAc); 5,00 (dd, H-5, $J_{5,6} = 11$ Hz, $J_{4,5} = 3,2$ Hz); 5,65 (dd, H-1, $J_{1,6} = 11$ Hz, $J_{1,2} = 3,3$ Hz); 5,90 (m, H-2, H-3 y H-4).

Anal. calc. para $C_{19}H_{32}ClNO_{15}S_3$: %C 35,32; %H 4,96; %Cl 5,50; %N 2,17; %S 14,87. Encontrado: %C 35,05; %H 5,07; %Cl 5,45; %N 2,58; %S 14,53.

**OBTENCION DE OLIGOSACARIDOS
CICLITOLICOS SUSTITUIDOS**

Penta-O-benzoil- α -D-glucopiranosa (403).

A una mezcla de piridina (100 ml), cloruro de benzoilo (100 ml) y cloroformo (250 ml) enfriada a 0°C, se agrega D-glucosa (25 g; 0,138 moles). Se agita hasta disolución y luego se mantiene durante veinticuatro horas a temperatura ambiente. Se vuelca sobre hielo picado, se decanta la fase clorofórmica y la fase acuosa se extrae con cloroformo (3 x 70 ml). Los extractos clorofórmicos juntos se lavan con ácido sulfúrico 2 N (3 x 100 ml), solución saturada de carbonato de sodio (1 x 100 ml) y agua hasta neutralidad. Se seca sobre sulfato de sodio anhidro, se filtra y se evapora hasta sequedad. Por maceración con etanol se obtuvo un sólido que se recristalizó de acetato de etilo, p.f. 184-187°C, lit.²⁰⁰ p.f. 187°C, $[\alpha]_D +137,5^\circ$ (c 0,9; cloroformo), lit.²⁰⁰ $[\alpha]_D +138,5^\circ$ (c 2,0; cloroformo); ccd $R_f 0,77$ (solvente 6, reactivo 1).

Reacción del 3-azido-3-desoxi-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol con la penta-O-benzoil- α -D-glucopiranosa.

A la penta-O-benzoil- α -D-glucopiranosa (403) (2,95 g; 4,22 mmoles) disuelta en nitrometano (20 ml) se agrega cloruro de estaño (IV) (0,8 ml; 6,66 mmoles) y se agita a temperatura ambiente durante una hora. Luego se agrega el 3-

azido-3-desoxi-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol (389) (1,84 g; 4,21 mmoles) disuelto en nitrometano (40 ml). Se agita a temperatura ambiente durante cuatro días, se diluye con nitrometano (250 ml) y se agrega bicarbonato de sodio para neutralizar. Se lava con agua (1 x 50 ml) y la fase orgánica se seca con sulfato de sodio anhidro, se filtra y se evapora hasta sequedad. El residuo (2,80 g) se disolvió en benceno a temperatura ambiente y se cromatografió en una columna de sílica gel utilizando etanol 9% en benceno como eluyente y sacando fracciones de 200 ml cada una. De las fracciones de columna F63-F94 se recuperó un total de 2,73 g de producto. Estas fracciones de columna se purificaron mediante placas preparativas de sílica gel (solvente 4, doble desarrollo), aislándose los siguientes compuestos:

2-O-(2',3',4',6'-Tetra-O-benzoíl-D-glucopiranosil)-3-azido-3-desoxi-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol (404).

Este compuesto se obtuvo como un polvo amorfo constituido por una mezcla diastereomérica. (728,5 mg; 17% de rendimiento); ccd R_f 0,36 (solvente 6, reactivo 1).

RMN- 1H (Cl_3CD) (Fig. 16).

Anal. calc. para $C_{43}H_{43}O_{20}N_3S_3$: %C 50,74; %H 4,23; %N 4,13; %S 9,44. Encontrado: %C 50,84; %H 4,70; %N 4,02; %S 8,89.

2,4-Bis-O-(2',3',4',6'-tetra-O-benzoil-D-glucopiranosil)-3-azido-3-desoxi-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol (405).

Este compuesto se obtuvo como un polvo amorfo constituido por una mezcla diastereomérica. (379,4 mg; 11,3% de rendimiento); ccd R_f 0,69 (solvente 6, reactivo 1).

RMN-¹H (Cl₃CD) (Fig. 17).

Anal. calc. para C₇₇H₆₉O₂₉N₃S₃: %C 57,93; %H 4,33; %N 2,63; %S 6,02. Encontrado: %C 58,45; %H 4,91; %N 2,82; %S 5,69.

Un tercer producto **422** [3,4,6-tri-O-benzoil-D-glucopiranososa-2-bis(2,3,4,6-tetra-O-benzoil-D-glucopiranosil)ortobenzoato], aislado como un jarabe y purificado carecía de nitrógeno y azufre, y resultaría del acople de tres moléculas de glucosa benzoilada (702,8 mg; 28,3% de rendimiento); ccd R_f 0,46 (solvente 6, reactivo 1).

Ver descripción en la sección referente formación de sales de nitrilio y síntesis de N-acilglicosilaminas.

El resto de los compuestos corresponde a productos adelantados (126,6 mg) de R_f similar al de la penta-O-benzoil- α -D-glucopiranososa, ccd R_f 0,77 (solvente 6, reactivo 1), al inositol **389** sin reaccionar y a productos oscuros de degradación (701,7 mg), que en el solvente 6 permanecían en el origen de las placas cromatográficas.

**FORMACION DE SALES DE NITRILIO
Y SINTESIS DE N-ACILGLICOSILAMINAS**

Reacción de la penta-O-benzoil- α -D-glucopiranosa con acetonitrilo.

N-Acetil- β -D-glucopiranosilamina (408).

A la penta-O-benzoil- α -D-glucopiranosa (1,16 g; 1,66 mmoles) disuelta en acetonitrilo (30 ml) se le agregó cloruro de estaño (IV) (0,12 ml; 1 mmol) y se reflujo durante diecinueve horas. Se diluyó con cloroformo (200 ml) y se lavó con solución saturada de bicarbonato de sodio (3 x 30 ml) y luego con agua hasta neutralidad. Se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó hasta sequedad.

Al residuo obtenido se le agregó una mezcla de metanol-agua-trietilamina (5:2:1) y se mantuvo durante una semana a temperatura ambiente. Luego se evaporó hasta sequedad y por maceración con etanol, seguido de filtración, se obtuvo la N-acetil- β -D-glucopiranosilamina (408) (126,2 mg) que se recristalizó de etanol. Las aguas madres se evaporaron hasta sequedad y se extrajeron sucesivamente con acetona y cloroformo. De los residuos de las extracciones (158,9 mg) se eliminó la glucosa por fermentación con levadura de cerveza a 36-37°C durante veinticuatro horas. Se filtró, se evaporó hasta sequedad y el producto se purificó a través de una columna rellena con resina ácida Dowex 50 eluida con agua. Se

recuperaron 68,8 mg del compuesto 408 (53% de rendimiento total); ccd R_f 0,40 (solvente 7, reactivo 1); cromatografía en papel R_f 0,33 (solvente 1, reactivo 1); $[\alpha]_D -21,0^\circ$ (c 1,0; agua); lit.²⁰¹ $[\alpha]_D -22,4^\circ$ (agua).

RMN-¹H (D₂O): δ 2,12 (s, 3H, CH₃CO-); 3,42-3,70 y 3,80-4,05 (m, 7H, protones del anillo, H-6 y H-6'); 5,02 (d, NH).

N-Acetil-2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilamina (409).

Al compuesto 408 (71 mg; 0,32 mmoles) se le agregan 0,7 ml de piridina y 0,5 ml de anhídrido acético. La solución se mantuvo durante veinticuatro horas a temperatura ambiente, se calentó en baño de agua hirviente durante tres horas y se evaporó hasta sequedad. Se obtuvo 409 (49 mg), p.f. 160-162°C; lit.^{202,203} p.f. 163-164°C; ccd R_f 0,31 (solvente 4, reactivo 1); $[\alpha]_D +16,5^\circ$ (c 2,3; cloroformo); lit.^{202,203} $[\alpha]_D +17,0^\circ$ (c 1,0; cloroformo).

RMN-¹H (Cl₃CD) (Fig. 18): δ 1,99; 2,01; 2,03; 2,05 y 2,07 (15 H, CH₃CO-); 3,82 (m, H-5); 4,07 (dd, H-6, $J_{6',6} = 12,4$ Hz, $J_{5,6} = 2,1$ Hz); 4,30 (dd, H-6', $J_{6,6'} = 12,4$ Hz, $J_{5,6'} = 4,4$ Hz); 4,90 (t, H-2, $J_{1,2} = 9,5$ Hz); 5,05 (t, H-1, $J_{1,2} = 9,5$ Hz, $J_{1,NH} = 9,1$ Hz); 5,25 (H-4); 5,30 (H-3); 6,30 (d, NH-, $J_{1,NH} = 9,1$ Hz).

Reacción de la penta-O-benzoíl- α -D-glucopiranososa con N-acetilamino acetonitrilo.

Acetilamino acetonitrilo (411).

El clorhidrato del amino acetonitrilo (1,0 g; 1,7 mmoles) se disolvió en una mezcla de piridina (11 ml) y anhídrido acético (9,5 ml). La solución se mantuvo a temperatura ambiente durante 48 horas y luego se evaporó hasta sequedad. El jarabe obtenido dió una mancha principal ccd R_f 0,70 (solvente 4, reactivo 1) y se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel utilizando acetona como eluyente. La fracción principal cristalizó de tolueno (1,05 g; 60% de rendimiento), p.f. 77-79°C.

RMN- ^1H (Py- d_5): δ 2,03 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{CO-}$); 4,48 (d, CH_2); 9,56 (NH).

Anal. calc. para $\text{C}_4\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$: %C 48,97; %H 6,12; %N 28,57.
Encontrado: %C 49,30; %H 6,40; %N 28,93.

Reacción del acetilamino acetonitrilo con la penta-O-benzoíl- α -D-glucopiranososa.

El compuesto 403 (700 mg; 1,0 mmol) se disolvió en diclorometano (3 ml) y se agregó cloruro de estaño (IV) (0,2 ml). La solución se agitó a temperatura ambiente durante una hora y luego se agregó el acetilamino acetonitrilo (99 mg; 1,0 mmol) en diclorometano (1 ml). El sólido que precipitó se disolvió por agregado de nitrometano (4 ml) y la solución se agitó durante 72 horas a temperatura ambiente. Luego se diluyó con nitrometano (70 ml) y se lavó con solución saturada de bicarbonato de sodio (40 ml) y agua (3 x 30 ml).

La mezcla de agua-nitrometano se mantuvo durante 24 horas a temperatura ambiente, se decantó la fase orgánica y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. La solución se evaporó hasta sequedad para dar un residuo (519 mg) que se disolvió en benceno y se purificó por cromatografía en columna de sílica gel de 350 mm por 20mm. La elución se realizó con benceno (700 ml, F1-F3) y concentraciones crecientes de etanol en benceno como sigue: 0,5% (1 l, F4-F17); 1% (1,5 l, F18-F32); 2,5% (600 ml, F33-F38); 5% (600 ml, F39-F44); 15% (600 ml, F45-F47); 30% (600 ml, F48-F50); etanol (800 ml, F51-F54). Los productos principales se obtuvieron de F7-F8 (212 mg) y F33-F35 (207 mg). El resto de las fracciones mostró una distribución de productos a lo largo de la columna totalizando 78 mg. Los productos principales de la reacción se aislaron y purificaron como sigue:

N-(2-Acetilaminoacetil)-2,3,4,6-tetra-O-benzoil- β -D-glucopiranosilamina (414).

El compuesto 414 se obtuvo como un sólido amorfo de las fracciones 33-35 por precipitación con etanol, p.f. 196-199°C (207 mg, 30% de rendimiento); $[\alpha]_D +45,0^\circ$ (c 0,7; cloroformo); ccd R_f 0,48 (solvente 8, reactivo 1).

RMN- 1H ($DCCl_3$) (Fig. 19): δ 8,04-7,25 (20H, grupos benzoilo); 7,16 (NH anomérico, $J_{NH,1} = 9,0$ Hz); 6,01 (t, 2H, H-3, NH cadena lateral, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9,5$ Hz); 5,70 (t, H-4, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,5$ Hz); 5,66 (t, H-1, $J_{1,2} = J_{1,NH} = 9,5$ Hz); 5,38 (t, H-2); 4,60 (dd, H-6, $J_{5,6} = 2,7$ Hz, $J_{\epsilon,\epsilon'} = 12$ Hz); 4,45 (dd, H-6', $J_{5,\epsilon'} = 4,4$ Hz); 4,26 (m, H-5); 3,88 (d, CH_2); 1,99 (s, grupo acetilo).

Anal. calc. para $C_{38}H_{34}N_2O_{11}$: %C 65,69; %H 4,93; %N 4,03.
Encontrado: %C 65,35; %H 5,03; %N 4,24.

N-Benzoíl-3,5,6-tri-O-benzoíl- α -D-glucofuranosilamina (418).

El compuesto 418 se obtuvo de las fracciones 21-24, como un jarabe que solidificó a un polvo por trituración con agua caliente (37 mg; 6,2% de rendimiento); $[\alpha]_D +13,6^\circ$ (c 0,5; cloroformo); ccd R_f 0,44 (solvente 4, reactivo 1).

RMN- 1H ($DCCl_3$) (Fig. 20): δ 8,03-7,38 (20H, grupos benzoílo); 6,71 (d, NH, $J_{1,NH} = 9,2$ Hz); 5,98 (dd, H-1, $J_{1,2} = 4,2$ Hz); 5,76 (m, H-5); 5,39 (dd, H-3, $J_{2,3} = 1$ Hz, $J_{3,4} = 3,4$ Hz); 4,85 (dd, H-6, $J_{5,6} = 3,01$ Hz, $J_{6,6'} = 12$ Hz); 4,60 (dd, H-6', $J_{5,6'} = 6,1$ Hz); 4,38 (dd, H-4, $J_{3,4} = 3,4$ Hz, $J_{4,5} = 7,3$ Hz); 4,29 (H-2, $J_{1,2} = 4,2$ Hz); 3,72 (s ancho, OH).

Anal. calc. para $C_{34}H_{29}NO_9 \cdot 2H_2O$: %C 64,65; %H 5,26; %N 2,21. Encontrado: %C 64,98; %H 5,56; %N 2,25.

2-O-Acetil-N-benzoíl-3,5,6-tri-O-benzoíl- α -D-glucofuranosilamina (419).

El compuesto 418 se acetiló con una mezcla de piridina - anhídrido acético 1:1 (1,5 ml) a temperatura ambiente. La solución se evaporó hasta sequedad, el jarabe residual se disolvió en etanol y la solución se decoloró con carbón. La evaporación del solvente dió un residuo siruposo que se transformó en polvo por trituración con agua caliente. La cromatografía en capa delgada mostró una única mancha R_f 0,54 (solvente 4, reactivo 1); $[\alpha]_D +11,0^\circ$ (c 0,09; cloroformo).

RMN- 1H ($DCCl_3$) (Fig. 21): δ 8,06-7,33 (20H, grupos benzoílo); 6,22 (m, 2H, NH, H-1); 5,74 (m, H-5); 5,52 (dd, H-

3, $J_{2,3} = 1,0$ Hz, $J_{3,4} = 2,5$ Hz); 5,32 (H-2, $J_{1,2} = 3,7$ Hz); 4,85 (dd, H-6, $J_{5,6} = 3,1$ Hz, $J_{6,6'} = 12,0$ Hz); 4,51 (dd, H-6', $J_{5,6'} = 6,4$ Hz); 4,33 (dd, H-4, $J_{4,5} = 7,9$ Hz); 2,18 (s, grupo acetilo).

Anal. calc. para $C_{36}H_{31}NO_{10} \cdot H_2O$: %C 65,95; %H 5,03; %N 2,13. Encontrado: %C 66,26; %H 5,15; %N 2,03.

Estudio de la fracción 7-8 de columna.

Estas fracciones (212 mg) contienen cinco componentes que se separaron por cromatografía en placa preparativa (solvente 9, doble desarrollo). Se identificaron las siguientes sustancias:

2,3,4,6-Tetra-O-benzoíl-D-glucopiranosa (420).

Se obtuvo una mezcla siruposa de los anómeros (51 mg; 8,5% de rendimiento); $[\alpha]_D +29,5^\circ$ (c 0,1; cloroformo) cuyo espectro RMN-¹H fué idéntico al de la muestra sintética obtenida según el procedimiento descrito por Mikamo²⁰⁴. También dió una mancha coincidente en cromatografía en capa delgada R_f 0,66 (solvente 4, reactivo 1) y coincidió con una muestra auténtica en los solventes 4 y 9, reactivo 1.

Octa-O-benzoíl- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 1)- α -D-glucopiranósido (octa-O-benzoíl- α,β -trehalosa) (421).

El compuesto 421 (31 mg; 5,3% de rendimiento) se obtuvo como un polvo amorfo de p.f. 104-106°C; $[\alpha]_D +43,3^\circ$ (c 0,7; cloroformo); ccd R_f 0,68 (solvente 9, reactivo 1).

RMN-¹H (DCCl₃) (Fig. 22): δ 8,15-7,00 (40H, grupos benzoílo); 6,18 (t, H-3, J_{2,3} = J_{3,4} = 10 Hz); 5,80 (dd, H-4, J_{4,5} = 3,5 Hz); 5,67 (d, H-1, J_{1,2} = 3,6 Hz); 5,65-5,70 (m, H-2', H-3'); 5,75 (H-4', J_{3',4'} = 10 Hz); 5,23 (m, H-2, H-1', J_{1',2'} = 7,7 Hz); 4,85-4,55 (m, H-5, H-6a, H-6'a, J_{6a,6b} = 12,6 Hz, J_{5,6a} = 2,7 Hz); 4,38 (H-6b, H-6'b); 4,20 (m, H-5').

EM FAB⁺: M⁺ 1174.

Anal. calc. para C₆₈H₅₄O₁₉: %C 69,49; %H 4,62. Encontrado: %C 69,20; %H 5,00.

3,4,6-Tri-O-benzoíl-D-glucopiranososa-2-bis(2,3,4,6-tetra-O-benzoíl-D-glucopiranosil)ortobenzoato (422).

Este compuesto se obtuvo como un jarabe (72,2 mg; 12,2% aproximadamente de rendimiento); ccd R_f 0,60 (solvente 4, reactivo 1).

Su análisis indicó ausencia de nitrógeno, pero los valores cuantitativos no se ajustaron a los correspondientes a la estructura 422 postulada (5% por debajo de los valores calculados). Por secado en caliente la muestra analítica se oscurece.

RMN-¹H (DCCl₃) (Fig. 23).

EM FAB⁺ (Fig. 24): m/z 1530 [1770 (M⁺) - CH₂OBz - Bz].

El compuesto 422 (30 mg) se suspendió en metanol (2 ml) y se agregaron gotas de metóxido de sodio hasta pH alcalino neto. La solución se mantuvo a temperatura ambiente durante dos días. Se neutralizó con resina ácida Dowex 50W, se filtró y se evaporó hasta sequedad completa, obteniéndose un residuo de 7,3 mg (79,8% de rendimiento); que dió una única mancha en

cromatografía en papel que coincidió con una muestra auténtica de D-glucosa (solvente 1, reactivos 1 y 2).

Acetilación.

El compuesto 422 se acetiló con una mezcla de anhídrido acético y piridina (1:1) a temperatura ambiente durante veinticuatro horas. Luego se calentó en baño de agua hirviente durante una hora y la solución se evaporó hasta sequedad, obteniéndose un residuo que dá una única mancha en ccd de R_f 0,65 (solvente 4, reactivo 1).

RMN- 1H ($DCCl_3$) (Fig. 25) (δ 2,13 y 2,25, picos de acetilo)

RMN- ^{13}C ($DCCl_3$) (Fig. 26) (protones anoméricos a δ 90,6; 92,0; 95,8 y 101,1).

**ESTUDIOS BIOLÓGICOS DEL 1,5-DICLORO-6-N-BIS(2-
CLOROETIL)AMINO-1,5,6-TRIDESOXI-2,3,4-TRI-O-(METILSULFONIL) -
MUCO-INOSITOL (393)**

Realizados en el Área Investigación del Instituto Angel H. Roffo de la Facultad de Medicina (Universidad de Buenos Aires).

Materiales y Métodos

Tumores y cultivos primarios

Se utilizaron dos adenocarcinomas mamarios trasplantables BALB/C con diferente capacidad metastásica para el pulmón, M3 moderadamente metastásico y MM3 altamente metastásico. Para obtener los cultivos primarios, las suspensiones de células tumorales a partir de los tumores sólidos de M3 y MM3 se prepararon enzimáticamente de acuerdo al procedimiento de Bal de Kier Joffé y col.²⁰⁵.

Las suspensiones de células de embriones murino (MEC) se prepararon a partir de embriones de doce días de edad por tripsinización (0,25% solución de Hanks) durante treinta minutos.

Las células se cultivaron en un medio completo: MEM 41500 - 018 (Gibco, Grand Island, N. Y., USA), suplementado con FCS 5%, L-glutamina 2mM y gentamina 80 mg/ml.

Las monocapas consistieron principalmente de células tumorales epiteliales polihédricas con menos del 2% de macrófagos contaminantes y células con aspecto de

fibroblastos analizados por criterios morfológicos y citogenéticos²⁰⁶.

Inhibición del Crecimiento

El compuesto 393 se utilizó para chequear la capacidad de inhibir el crecimiento de cultivos primarios de adenocarcinomas murino M3 y MM3 y de células normales de embriones BALB/C. Como controles se utilizaron soluciones salinas ó DMSO.

Se sembraron 5×10^4 células en 0,5 ml de un medio completo en los agujeros de placas de toque (Corning). Al cabo de un período de incubación de dieciocho horas, el medio se eliminó y se colocaron en los agujeros diluciones del compuesto 393 (desde 10^{-4} a 10^{-9} M) en MEM suplementado con FCS 2%. Las placas se incubaron a 37°C en atmósfera húmeda con 5% de CO₂. Las células fueron realimentadas y las muestras se agregaron cada dos días.

El crecimiento celular se determinó al cabo de cuatro a seis días de tratamiento, mediante la determinación del contenido de proteínas, utilizando el método de Oyama e Eagle²⁰⁷. Previamente se determinó que 1 mg de proteínas celulares era equivalente tanto a 1,300 células de M3 ó a 1,500 células de MM3.

Cada experimento se repitió al menos tres veces.

La dosis inhibitoria 50% (ID₅₀) se calculó a partir de la curva obtenida al graficar el porcentaje de inhibición en función de la concentración molar de droga.

El porcentaje de inhibición del crecimiento (GI) se calculó de la siguiente manera:

% GI = (1 - contenido de proteínas del grupo experimental / contenido de proteínas del grupo de control) x 100.

Citotoxicidad

La citotoxicidad aguda del compuesto **393** (10^{-4} a 10^{-9} M) se determinó en monocapas confluentes inactivas de M3 durante 96 horas.

Los cultivos fueron observados a diario y la muerte celular se evaluó mediante el test de exclusión con *trypan-blue*.

Reversibilidad

Cultivos de células de M3 en la fase logarítmica se trataron durante tres días con la ID_{50} del compuesto **393**.

Luego las células se lavaron y se agregó el medio completo.

Las células fueron observadas a diario y el contenido de proteínas se evaluó al final del período de incubación.

Ciclo Celular

El contenido de ADN de células cultivadas de embriones teñidas con Feulgen se trató con **393** (ID_{50}) ó DMSO y se analizó utilizando un sistema de análisis celular (CAS 200 Image Analysis System).

Análisis de Datos

Las desviaciones standard de los datos de las curvas de crecimiento fueron menores del 15% del valor medio.

Sólo los porcentajes de inhibición del crecimiento mayores del 30% fueron significativos ($p < 0,05$) por el test de Anova.

RESUMEN

RESUMEN

A) Síntesis de Inositoles Nitrogenados y Sulfonilados

Se discute la importancia de los ciclitoles nitrogenados en la determinación de la actividad biológica de muchas sustancias de origen natural y sintético.

Se lleva a cabo una revisión de ciertos aspectos referentes a la funcionalización de las moléculas de los inositoles como base para la síntesis de productos con actividad antibiótica, antitumoral y antiviral.

Se discuten los resultados obtenidos en la síntesis de inositoles con actividad biológica potencial. A partir del mio-inositol se introducen grupos metilsulfonilo susceptibles de sufrir reacciones de epoxidación y azidólisis conducentes a inositoles sulfonilados y nitrogenados con la estereoquímica del muco-inositol.

A partir de esos derivados aminados se sintetizan mostazas nitrogenadas con diferentes grados de cloración del 3-desoxi-3-N-bis(2-hidroxiethyl)amino-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-muco-inositol (391) en diferentes condiciones experimentales que conducen a hexa, tetra, tri, di y monocloro derivados, cuyas estructuras se estudian por RMN-¹H, RMN-¹³C y espectroscopía de masa.

En algunos casos éstos compuestos se han derivatizado a los fines de completar ó confirmar las estructuras propuestas.

B) Síntesis de Oligosacáridos Ciclitólicos

Los oligosacáridos ciclitólicos y aminociclitólicos resultan de particular interés desde el punto de vista biológico. Entre ellos se encuentran muchos antibióticos modernos. En ésta tesis se lleva a cabo una revisión de los aspectos sintéticos más relevantes en éste campo.

Como una extensión de los estudios sobre ciclitoles, se llevaron a cabo experiencias relacionadas con la síntesis de oligosacáridos inositólicos dirigidas en principio a su potencial utilización como inhibidores enzimáticos.

La reacción del 3-azido-3-desoxi-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-*muco*-inositol (389) con la penta-O-benzoíl- α -D-glucopiranosa (403) en una relación molar 2:1 catalizada por cloruro de estaño (IV) condujo a una mezcla de tres productos principales:

El 2-O-(2',3',4',6'-tetra-O-benzoíl-D-glucopiranosil)-3-azido-3-desoxi-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-*muco*-inositol (404) con 17% de rendimiento, como una mezcla diastereoisomérica.

El 2,4-bis-O-(2',3',4',6'-tetra-O-benzoíl-D-glucopiranosil)-3-azido-3-desoxi-1,5,6-tri-O-(metilsulfonil)-*muco*-inositol (405) con 11,3% de rendimiento, también como una mezcla diastereoisomérica y finalmente un tercer producto, que resultó del autoacople de la glucosa benzoilada. Este producto parece producirse sistemáticamente en todas las reacciones de la penta-O-benzoíl- α -D-glucopiranosa catalizada por cloruro de estaño (IV). Tentativamente se le asignó una estructura de ortoéster 422 y sobre esa base su rendimiento en ésta reacción sería del 28,3%.

C) Funcionalización de Hidratos de Carbono mediante Sales de Nitrilio

Durante las experiencias exploratorias de las síntesis de oligosacáridos ciclotólicos en medio de acetonitrilo se observó la formación de N-acetilglucosilamina, que no había sido descrita como producto normal en síntesis de oligosacáridos en ese medio.

Se llevó a cabo una revisión bibliográfica (Capítulo V) centrada en la reactividad de los nitrilos con moléculas portadoras de centros electropositivos, que conducen a sales de nitrilio altamente reactivas.

En el campo de los hidratos de carbono se ha descrito la interacción del acetonitrilo, empleado como solvente, con glicosiloxocarbocationes provenientes de diferentes dadores de grupos glicosilo.

Estos antecedentes centrados prácticamente sólo en la utilización del acetonitrilo, sugirieron la posibilidad de que un azúcar peracilado, activado en solución por cloruro de estaño (IV), reaccione con nitrilos en general en cantidades estequiométricas, seguido de hidrólisis, para dar N-acilglicosilaminas.

Este tipo de reacción permitiría una síntesis directa de N-acilglicosilaminas con una gran versatilidad estructural en el átomo de carbono anomérico.

En primer lugar, se investigó la reacción de la penta-O-benzoil- α -D-glucopiranososa con acetonitrilo en exceso catalizada por cloruro de estaño (IV) a reflujo, seguida de desacilación a temperatura ambiente. Ello condujo a la N-acetil- β -D-glucopiranosilamina con un rendimiento del 53%.

Luego se estudió la reacción de la penta-O-benzoil- α -D-glucopiranosa con el acetilaminoacetonitrilo, en cantidades equimolares, catalizada por cloruro de estaño (IV).

Esta reacción se llevó a cabo en una mezcla de diclorometano-nitrometano, durante 72 horas a temperatura ambiente y condujo a una mezcla siruposa de diferentes compuestos que se separaron y purificaron cromatográficamente. Se obtuvieron así los siguientes compuestos:

N-(2-acetilaminoacetil)-2,3,4,6-tetra-O-benzoil- β -D-glucopiranosilamina con 30% de rendimiento.

N-benzoil-3,5,6-tri-O-benzoil- α -D-glucofuranosilamina con 6,2% de rendimiento, cuya estructura se evidenció a partir de sus datos espectroscópicos y los de su 2-O-acetil derivado.

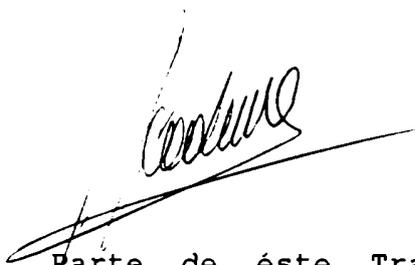
Los otros productos aislados de la reacción resultaron de autocondensaciones y reordenamientos del azúcar de partida.

Así, se obtuvo la 2,3,4,6-tetra-O-benzoil-D-glucopiranosa con 8,5% de rendimiento; el octa-O-benzoil- β -D-glucopiranosil- α -D-glucopiranosido (octa-O-benzoil- α,β -trehalosa) con 5,3% de rendimiento y una sustancia cuya estructura resultaría del autoacople de tres moléculas de glucosa benzoilada generando una estructura de ortoéster con un rendimiento del 12,2% y sería similar a la aislada en la síntesis de oligosacáridos ciclitólicos, tal como se ha mencionado más arriba.

D) Estudios Biológicos del 1,5-Dicloro-6-N-bis(2-cloroetil)amino-1,5,6-tri-desoxi-2,3,4-tri-O-(metilsulfonil)-mucoinositol (393)

Se estudió el efecto del tetracloro derivado 393 sobre el crecimiento "in vitro" de dos adenocarcinomas mamarios murinos (M3 y MM3), así como también sobre células normales de embriones.

El compuesto mencionado presentó un efecto antiproliferativo marcado y demostró ser más efectivo sobre el crecimiento de células tumorales que sobre el de células normales.



Parte de éste Trabajo de Tesis dió origen a las siguientes publicaciones:

"Cytotoxic Cyclitols. Synthesis of ethanolamino and haloethylamino derivatives of methylsulfonylated cyclitols", R. A. Cadenas, C. Elías and M. E. Gelpi, *Journal of Carbohydrate Chemistry*, 9, 59 (1990).

"Action of nitrogenated and sulfonylated inositol derivatives upon the proliferation *in vitro* of normal mouse cells and tumor mouse cells", A. M. Eijan, L. Puricelli, E. Bal de Kier Joffé, C. Elías, S. R. Leicach and R. A. Cadenas, *Tumor Biology*, **15**, 354 (1994).

"Reaction of peracylated sugars with nitriles catalyzed by Lewis acids", R. A. Cadenas, C. Elías and M. E. Gelpi, *Journal of Carbohydrate Chemistry*, **14**, 1209 (1995).

"Nucleocyclitols. Pyridinium-Inositol Derivatives", M. Yaber Grass, M. E. Gelpi, C. Elías and R. A. Cadenas, *Anales Asoc. Quím. Arg.*, **83**, 201 (1995).

BIBLIOGRAFIA

1. Suami T., Ogawa S., Tanaka T. y Otake T. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **44**, 835 (1971).
2. Angyal S. J., Tate M. E. y Gero S. D. *J. Chem. Soc.*, 4116 (1961).
3. Suami T., Ogawa S., Ohashi K. y Oki S. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **45**, 3660 (1972).
4. Hess K. y Stenzel H. *Ber*, **68**, 981 (1935).
5. Suami T., Ogawa S. y Oki S. *Chemistry Letters*, 901 (1973).
6. Kupchan S. M., Hemingway R. J., Coggon P., Mc Phail y Sim G. A. *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 2982 (1968).
7. Kupchan S. M., Hemingway R. J. y Smith R. M. *J. Org. Chem.*, **34**, 3898 (1969).
8. Takahashi S. *Phytochemistry*, **8**, 321 (1969).
9. Takahashi S. *Chem. Pharm. Bull.*, **18**, 199 (1970).
10. Borders D. B., Barbatschi F., Shay A. J. y Shu P. *Antimicrob. Ag. Chemother*, **233**, 1969 (1970).
11. Borders D. B., Shu P. y Lancaster J. E. *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 2540 (1972).
12. Suami T., Ogawa S., Oki S. y Ohashi K. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **45**, 2597 (1972).
13. Ogawa S., Oki S. y Suami T. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **52**, 1095 (1979).
14. Ogawa S., Oki S., Kunitomo H. y Suami T. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **50**, 1867 (1977).
15. Keller R., Schwesinger R., Fritsche W., Schneider H. W., Hunkler D. y Prinzbach H. *Chem. Ber.*, **112**, 3347 (1979).
16. Schwesinger R., Fritz H. y Prinzbach H. *Chem. Ber.*, **112**, 3318 (1979).

17. Suami T., Lichtenthaler F. W. y Ogawa S. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **38**, 754 (1965).
18. Winstein S., Hess H. V. y Buckles R. E. *J. Am. Chem. Soc.*, **64**, 2796 (1942); Winstein S., Hanson C. y Grundwald E. *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 812 (1948).
19. Winstein S., Grundwald E. Buckles R. E. y Hanson C. *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 816 (1948).
20. Gould E. S. "Mechanism and Structure in Organic Chemistry" Holt, Rinehart y Winston, New York, 565-566 (1959).
21. Suami T. y Ogawa S. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **37**, 733 (1964).
22. Baker B. R. y Haines A. H. *J. Org. Chem.*, **28**, 442 (1963).
23. Suami T. y Ogawa S. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **38**, 758 (1965).
24. Suami T. y Kenji Yabe, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **38**, 655 (1965).
25. Suami T. y Ogawa S. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **37**, 1238 (1964).
26. Suami T., Lichtenthaler F. W. y Ogawa S. *Bull. Chem., Soc. Japan*, **39**, 170 (1966).
27. Angyal S. J., Gilham P. T. y Macdonald C. G. *J. Chem. Soc.*, 1417 (1957).
28. Angyal S. J. y Anderson L. "Advances in Carbohydrate Chemistry", Vol. XIV, Ac. Press, New York, 167 (1959).
29. Fodor G. y Kiss J. *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 3495 (1950).
30. Bodycote E. W., Haworth W. N. y Hirst E. L. *J. Chem. Soc.*, 151 (1931); Jeanloz R. W. y Rapin A. M. C. *J. Org. Chem.*, **28**, 2978 (1963); Tipson R. S. "Advances in

- Carbohydrate Chemistry", Vol. 8, Ac. Press, New York, 176-177 (1958).
31. Eliel E. y Newman M. S. "Steric Effects in Organic Chemistry" Wiley J. and Sons, New York, 130-134 (1956); Nakajima M., Hasegawa A. y Lichtenthaler F. W. *Ann. Chem.*, **75**, 669 (1963).
 32. Angyal S. J. y Stewart T. S. *Aust. J. Chem.*, **20**, 2117 (1967).
 33. Wu M-C y Anderson L. *Carbohydr. Res.*, **44**, 53 (1975).
 34. Richardson A. C. *Carbohydr. Res.*, **10**, 395 (1969).
 35. Suami T. y Ogawa S. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **38**, 2026 (1965).
 36. Angyal S. J. y Macdonald C. G. *J. Chem. Soc.*, 686 (1952); Angyal S. J. y Gilham P. T. *J. Chem. Soc.*, 375 (1958).
 37. Posternak T. "Methods in Carbohydrate Chemistry", Vol. 1, Ac. Press, New York, 289-291 (1962).
 38. Heyns K. y Paulsen H. *Chem. Ber.*, **86**, 833 (1953).
 39. Post G. G. y Anderson L. *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 471 (1962).
 40. Posternak T. *Helv. Chim. Acta*, **24**, 1045 (1941).
 41. Suami T., Lichtenthaler F. W. y Ogawa S. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **40**, 1488 (1967).
 42. Angyal S. J. Y Hoskinson R. M. *J. Chem. Soc.*, 2985 (1962).
 43. Suami T., Ogawa S., Oki S. y Sato H. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **47**, 1731 (1974).
 44. Nishimura I. S. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **32**, 61 (1959).
 45. Suami T., Ogawa S. y Sano H. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **43**, 1843 (1970).

46. Suami T., Lichtenthaler F. W., Ogawa S., Nakashima. Y. y Sano H. *Bull. Chem. Soc. Japan*, 41, 1014 (1968); Suami T., Ogawa S., Nakashima Y. y Sano H. *Bull. Chem. Soc. Japan*, 40, 2958 (1967).
47. Prinzbach H. y Schneider H. W. *Tetrahedron Letters*, 3073 (1975).
48. Knothe L. y Prinzbach H. *Tetrahedron Letters*, 1121 (1975).
49. Craig T. W., Harvey G. R. y Berchtold G. A. *J. Org. Chem.*, 32, 3743 (1967).
50. Suami T., Tadano K. y Horiuchi S. *Bull. Chem. Soc. Japan*, 48, 2895 (1975).
51. Suami T., Sakota Y., Tadano K. y Nishiyama S. *Bull. Chem. Soc. Japan*, 44, 2222 (1971).
52. Ahluwalia R., Angyal S. J. y Luttrell B. M. *Aust. J. Chem.*, 23, 1819 (1970).
53. Kovar J. y Baer H. H. *Can. J. Chem.*, 51, 2836 (1973).
54. Suami T. y Yabe K. *Bull. Chem. Soc. Japan*, 39, 1931 (1966).
55. McCasland G. E. y Horswill E. C. *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 4020 (1953).
56. Suami T., Ogawa S., Uchino H. y Funaki Y. *J. Org. Chem.*, 40, 456 (1975).
57. Cleophax J., Gero S. D., Leboul J., Akhtar M., Barnett J. E. G., Pearce C. J. *J. Am. Chem. Soc.*, 98, 7110 (1976).
58. Suami T., Ogawa S. y Funaki Y. *Bull. Chem. Soc. Japan*, 48, 1545 (1975).
59. Ogawa S., Abe T., Sano H., Kotera K. y Suami T. *Bull. Chem. Soc. Japan*, 40, 2405 (1967).

60. Suami T., Ogawa S., Oki S. y Kunitomo H. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **47**, 1737 (1974).
61. Angyal S. J. y Hoskinson R. M. *J. Chem. Soc.*, 2043 (1963); Primacombe J. S., Hunedy F. y Al-Radhi A. K. *Carbohydr. Res.*, **11**, 331 (1969).
62. Hasegawa A. y Sable H. Z. *Tetrahedron*, **25**, 3567 (1969); Owen L. N. y Smith P. N. *J. Chem. Soc.*, 4035 (1952).
63. Posternak T. *Helv. Chim. Acta*, **33**, 1597 (1950).
64. Watanabe K. A., Berenek J., Friedman H. A. y Fox J. J. *J. Org. Chem.*, **30**, 2735 (1965).
65. Ogawa S., Nakamoto K., Takahara M., Tanno Y., Chida N. y Suami T. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **52**, 1174 (1979).
66. Ogawa S., Toyokuni T., Kondoh T., Hattori Y., Iwasaki S., Suetsugu M. y Suami T. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **54**, 2739 (1981).
67. Sharpless K. B., Patrick D. W., Truesdale L. K. y Biller S. A. *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 2305 (1975); Sharpless K. B., Chong A. O. y Oshima K. *J. Org. Chem.*, **41**, 177 (1976).
68. Ogawa S. y Shibata Y. *Carbohydr. Res.*, **176**, 309 (1988).
69. Ogawa S., Tsukiboshi Y., Iwasawa Y. y Suami T. *Carbohydr. Res.*, **136**, 77 (1985).
70. Lloyd P. F. y Stacey M. *Tetrahedron*, **9**, 116 (1960).
71. Alenfalk S., Kvarnström I., Niklasson A., Niklasson G., Svensson S. C. T. y Garegg P. J. *J. Carbohydrate Chemistry*, **10**, 937 (1991).
72. Lemieux R. U. y Ratcliffe R. M. *Can. J. Chem.*, **57**, 1244 (1979).
73. Garegg P. J., Lindberg B., Kvarnström I. y Svensson S. C. T. *Carbohydr. Res.*, **173**, 205 (1988).

74. Ferguson M. A. J. y Williams A. F. *Ann. Rev. Biochem.*, **57**, 285 (1988).
75. Czech M. P., Klarlund J. K., Yagaloff K. A., Bradford A. P. y Lewis R. F. *J. Biol. Chem.*, **263**, 11017 (1988).
76. Berlin W. K., Zhang W-S y Shen T. G. *Tetrahedron*, **47**, 1 (1991).
77. Vacca J. P., Solms S. J. de, Huff J. R., Billington A. C., Baker R., Kulagowshi J. J., Mawer I. M. *Tetrahedron*, **45**, 5679 (1989).
78. Ku K. L. y Fraser-Reid B. *Tetrahedron Letters*, **29**, 979 (1988).
79. Kinzy W. y Schmidt R. R. *Liebigs Ann. Chem.*, 1537 (1985).
80. Plourde R. y d' Alarcao M. *Tetrahedron Letters*, 2693 (1990); Plourde R., d'Alarcao M. y Saltiel A. R. *J. Org. Chem.*, **57**, 2606 (1992).
81. Garegg P. J., Iversen T., Johansson R. y Lindberg B. *Carbohydr. Res.*, **130**, 322 (1984).
82. Low M. G. y Saltiel A. R. *Science*, **239**, 268 (1988).
83. Verduyn R., Elie C. J. J., Dreef C. E., van der Marel G. A. y van Boom J. H. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, **109**, 591 (1990).
84. Homans S. W., Ferguson M. A. J., Dwek R. A., Rademacher T. W., Amand R. y Williams A. F. *Nature*, **333**, 269 (1988).
85. Oikawa Y., Yoshioka T. y Yonemitsu Q. *Tetrahedron Letters*, **23**, 885 (1982).
86. Paulsen H. y Lockhoff O. *Chem. Ber.*, **114**, 3102 (1981); van der Klein P. A. M., Boons G. J. P. H., Veeneman G. H., van der Marel G. A. y van Boom J. H. *Tetrahedron Letters*, **30**, 5477 (1989); Excoffier G., Gagnaire A. y

- Utile J. P. *Carbohydr. Res.*, **39**, 368 (1975); Schmidt R. R., Michel J. y Roos M. *Liebigs Ann. Chem.*, 1343 (1984).
87. Nashed M. A. y Anderson L. *Tetrahedron Letters*, **17**, 3503 (1976); Augé C., Davids S. y Veyrières A. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 375 (1976); Alais J. y Veyrières A. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*, 377 (1981).
88. Thiem J. y Klaffke W. *J. Org. Chem.*, **54**, 2006 (1989).
89. Mootoo D. R., Konradsson P. y Fraser-Reid B. *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 8540 (1989).
90. Murakata C. y Ogawa T. *Tetrahedron Letters*, **31**, 2439 (1990).
91. Ozaki S., Watanabe Y., Ogasawara T., Kondo Y., Shiotani N., Nishii H. y Matsuki T. *Tetrahedron Letters*, **27**, 3157 (1986).
92. Ogawa S. y Shibata Y. *Carbohydr. Res.*, **170**, 116 (1987).
93. Ness R. K., Fletcher H. G. y Hudson C. S. *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 2200 (1950).
94. Suami T. y Ogawa S. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **48**, 21 (1990).
95. Sato M., Nakamura K., Nagano H., Yagi Y., y Koizumi K. *Biotechnology Letters*, **14**, 659 (1992).
96. Yagi Y., Sato M., Ishikura T. *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, **33**, 144 (1986).
97. Sato M. y Yagi Y. *Biotechnology of Amylodextrin Oligosaccharides*, ed. Friedman R. B., chapter 10, 125, ACS. Symposium Ser. 458, American Chemical Society, Washington, D. C. (1991).
98. Watanabe G., Nakamoto C., Ozaki S., Sato M., Koizumi K. *J. Carbohydrate Chemistry*, **12**, 685 (1993).
99. Watanabe G., Oka A., Shimizu Y., Ozaki S. *Tetrahedron Letters*, **31**, 2613 (1990).

100. Ozaki S., Kondo Y., Nakashira H., Yamaoka S., Watanabe G. *Tetrahedron Letters*, **28**, 4691 (1987); Baudin G., Glänzer B. I., Swaminathan K. S., Vasella A. *Helv. Chim. Acta*, **71**, 1367 (1988); Dreef C. E., Tuinman R. J., Elie C. J. J., van der Marel G. A., van Boom J. H. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, **107**, 395 (1988).
101. Mukaiyama T., Hashimoto Y., Shoda S. *Chem. Lett.*, 935 (1983).
102. Wessel H. P. *Tetrahedron Letters*, **31**, 6863 (1990); Wessel H. P., Englert G., Stangier P. *Helv. Chim. Acta*, **74**, 683 (1991).
103. Suami T., Nishiyama S., Ishikawa Y., Katsura S. *Carbohydr. Res.*, **52**, 187 (1976).
104. Jikihara T., Tsuchiya T., Umezawa S. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **46**, 3507 (1973); Umezawa S., Okasaki Y., Tsuchiya T. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **45**, 3619 (1972).
105. Yung N. y Fox J. J. *Methods Carbohydr. Chem.*, **2**, 108 (1963).
106. Suami T., Nishiyama S., Ishikawa Y., Katsura S. *Carbohydr. Res.*, **56**, 415 (1977).
107. Suami T., Nishiyama S., Ishikawa H., Okada H., Kinoshita T. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **50**, 2754 (1977).
108. Knight J. C., Hoeksema H. *J. Antibiot.*, **28**, 136 (1975).
109. Wiley P. F., Argoudelis A. D., Hoeksema H. *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 2652 (1963).
110. Suami T., Sano H. *Tetrahedron Letters*, 2655 (1968).
111. Lawton B. T., Szarek W. A., Jones J. K. N. *Carbohydr. Res.*, **14**, 255 (1970).
112. Cook A. F., Maichuk D. T. *J. Org. Chem.*, **35**, 1940 (1970).

113. Kanai K., Sakamoto I., Miyamoto Y., Ogawa S. y Suami T. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **60**, 255 (1987).
114. Lida T., Sato M., Matsubara I., Mori Y. y Shirahata K. *J. Antibiot.*, **32**, 1274 (1979).
115. Inouge S., Ohba K., Shomura T., Kojima M., Tsuruoka T., Yoshida J., Ito M., Amano S., Omoto S., Ezaki N., Ito T., Niida T. y Watanabe K. *J. Antibiot.*, **32**, 1354 (1979).
116. Abuaan M. M., Brimacombe J. S. y Tucker L. C. N. *Carbohydr. Res.*, **132**, 51 (1984).
117. Honda Y. y Suami T. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **55**, 1156 (1982).
118. Suami T., Tadano K., Matsuzawa K. *J. Antibiot.*, **33**, 1289 (1980).
119. Canas-Rodríguez A., Coronel Borges L. A. *Carbohydr. Res.*, **165**, 129 (1987).
120. Canas-Rodríguez A., Galán Ruiz-Poveda S., Coronel Borges L. A. *Carbohydr. Res.*, **159**, 217 (1987).
121. Canas-Rodríguez A. Ger. Pat. 2,311,524 (1977); *Chem. Abstr.*, **88**, 170438 h (1977); Canas-Rodríguez A., Martínez-Tobed A. *Carbohydr. Res.*, **68**, 43 (1979); Canas-Rodríguez A. Br. Pat. 1,579,029.
122. Davies J., O'Connor S. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **69** (1978).
123. Haworth W. N., Hirst E. L., Reynolds R. J. W. *J. Chem. Soc.*, 302 (1934).
124. Castro B., Chapleur Y., Cross B. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 3034 (1973).
125. Yoshikawa M., Torihara M., Nakae T., Bae Cheon Cha, Kitagawa I. *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 2136 (1987).

126. Yoshikawa M., Ikeda Y., Hayakiri H., Kitagawa I. *Heterocycles*, **17**, 209 (1982); Yoshikawa M., Ikeda Y., Hayakiri H., Takenaka K., Kitagawa I. *Tetrahedron Letters*, **23**, 4717 (1982).
127. Yoshikawa M., Ikeda Y., Takenaka K., Torihara M., Kitagawa I. *Chem. Lett.*, 2097 (1984).
128. Tamura J-I., Horito S., Hashimoto H., Yoshimura J. *Carbohydr. Res.*, **174**, 181 (1988).
129. Kondo S., Iinuma K., Naganawa H., Shimura M., Sekizawa Y. *J. Antibiot.*, **28**, 79 (1975); Kondo S., Akita E., Koike M. *J. Antibiot., Ser. A.*, **19**, 137 (1966).
130. Shimura M., Sekizawa Y., Iinuma K., Naganawa H., Kondo S. *J. Antibiot.*, **28**, 83 (1975).
131. Shimura M., Sekizawa Y., Iinuma K., Naganawa H., Kondo S. *Agric. Biol. Chem.*, **40**, 611 (1976).
132. Kondo S., Sezaki M., Koike M., Shimura M., Akita E., Satoh K., Hara M. *J. Antibiot., Ser. A.*, **18**, 38 (1965); Sondheimer S. J., Eby R., Schuerch C. *Carbohydr. Res.*, **60**, 187 (1978); Paulsen H., Richter A., Sinnwell V., Stenzel W. *Carbohydr. Res.*, **64**, 339 (1978); Varma A. J., Schuerch C. *J. Org. Chem.*, **46**, 799 (1981).
133. Umezawa S., Takagi Y., Tsuchiya T. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **44**, 1411 (1971).
134. Umezawa S., Ito Y. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **34**, 1540 (1961).
135. Horito S., Ohhashi Y., Gassner N., Yoshimura J., Sasada Y. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **54**, 2147 (1981).
136. Ogawa S., Tonegawa T., Nishi K. y Yokoyama J. *Carbohydr. Res.*, **229**, 173 (1992).
137. Ogawa S., Nakamura K. y Takagaki T. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **59**, 2956 (1986); House H. O. "Modern Synthetic

- Reactions", 2nd ed., Benjamin Menlo, Park, 304 (1972);
Ogawa S. y Tonegawa T. *Carbohydr. Res.*, **204**, 51 (1990).
138. Ritter J. J., Minieri P. *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 4045
(1948).
139. Brown H. C., Kurek J. T. *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 5647
(1969).
140. Sokolov V. I., Reutov O. A. *Jzv. Akad. Nauk. SSSR.
Ser. Khim*, **1**, 222 (1968).
141. Hassner A., Levy L. A., Gault R. *Tetrahedron Letters*,
27, 3119 (1966).
142. Lee L. A., Crabtree E. V., Lowe J. U. Jr., Cziesla M.
J., Evans R. *Tetrahedron Letters*, 2885 (1965).
143. Meerwein H., Laasch P., Mersch R., Spille J. *Ber.*, **89**,
209 (1956).
144. Smith P. A. *Org. Reactions*, Vol. III, 382 (1947).
145. Pocker Y., Kevill A. N. *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 4771
(1965).
146. Borch R. F. *J. Org. Chem.*, **34**, 627 (1969).
147. Barton D. H. R., Magnus P. D., Young R. N. *J. Chem.
Soc. Chem. Commun.*, 331 (1973).
148. Pougny J. R., Sinaÿ P. *Tetrahedron Letters*, **45**, 4073
(1976).
149. Ratcliffe A. J., Fraser-Reid B. *J. Chem. Soc. Perkin
Trans I*, 1805 (1989).
150. Curtin D. Y., Miller L. L. *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 637
(1967); Mumm O., Hesse H., Volquartz H. *Ber.*, **48**, 379
(1915).
151. Pougny J. R., Jacquinet J. C., Nassr M., Duchet D.,
Milat M. L., Sinaÿ P. *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 6762
(1977).

152. Igarashi K., Irisawa J., Honma T. *Carbohydr. Res.*, **39**, 341 (1975).
153. Schmidt R. R., Rücker E. *Tetrahedron Letters*, **21**, 1421 (1980).
154. Schmidt R., Hermentin P. *Chem. Ber.*, **112**, 2659 (1979).
155. Schmidt R. R., Michel J. *J. Carbohydr. Chem.*, **4**, 141 (1985).
156. Schmidt R. R., Stumpp M. *Liebigs Ann. Chem.*, 1249 (1983).
157. Trahanovsky W. S., Robins M. D. *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 5256 (1971).
158. Trahanovsky W. S., Cramer J. *J. Org. Chem.*, **36**, 1890 (1971).
159. Pavia A. A., Ung-Chhun S. N., Durand J. L. *J. Org. Chem.*, **46**, 3158 (1981).
160. Pavia A. A., Ung-Chhun S. N. *Can. J. Chem.*, **59**, 473 (1981).
161. Pavia A. A., Rocheville J. M., Ung-Chhun S. N. *Carbohydr. Res.*, **79**, 79 (1980).
162. Lacombe J. M., Pavia A. A., Rocheville J. M. *Can. J. Chem.*, **59**, 482 (1981).
163. Kirby A. J. "The Anomeric Effect and Related Stereoelectronic Effects at Oxygen" Springer-Verlag, New York, 14-17 (1983).
164. Schmidt R. R., Behrendt M., Toepfer A. *Synlett*, 694 (1990).
165. Gordon D. M., Danishefsky S. J. *J. Org. Chem.*, **56**, 3713 (1991).
166. Ratcliffe A. J., Konradsson P., Fraser-Reid B. *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 5665 (1990).

167. Ratcliffe A. J., Fraser-Reid B. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*, 747 (1990).
168. Bracaini I., Derouet C., Esnault J., Hervé du Penhoat C., Mallet J. M., Michon V., Sinay P. *Carbohydr. Res.*, **246**, 23-41 (1993).
169. Rinehart K. L. Jr., Suami T. (Ed), *Aminocyclitol Antibiotics*, ACS Symposium Series, 125 (1980).
170. Suami T. y Nomiya B. *Jpn. Kokai*, 7234343 (1972), *C. A.*, **78**, 578666 (1973); Suami T. *Ger. Offen.*, 2,830007 (1979), *C. A.*, **90**, 204435 (1979); Suami T., Tadano K., Bradner W. T. *J. Med. Chem.*, **22**, 314 (1979); Machinami T., Nishiyama S., Kikuchi K., Suami T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **48**, 3763 (1975); Suami T., Machinami T., Hisomatsu T. *Jpn. Kokai*, 7717423 (1977), *C. A.*, **87**, 136339 (1977); *ibid.*, **87**, 136125 (1977); Suami T. *U. S.*, 4,148921 (1979), *C. A.*, **91**, 57418 (1979).
171. Vargha L., Toldy L., Fehér Ö., Lendval S. *J. Chem. Soc.*, 805 (1957); Vargha L., Fehér Ö., Lendval S. *J. Chem. Soc.*, 810 (1957); Morikawa T., Takeda M., Arai Y., Tsujihara K. *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, 2386 (1982).
172. Sellei C., Eckardt S., Németh L. *Chemoterapy of Neoplastic Diseases*, Akadémiai Kiadó, Budapest (1970); Heal J. M., Fox P., Schein P. S. *Biochem. Pharmacol.*, **28**, 1301 (1979).
173. Gigg R., Warren C. D. *J. Chem. Soc.*, 2367 (1969).
174. de Freire M. del C. P., Cadenas R. A. *Carbohydr. Res.*, **63**, 157 (1978).
175. Khan R., Jenner M. R., Lindseth H. *Carbohydr. Res.*, **78**, 173 (1980).

176. Buchs A., Charollais E. *Helv. Chim. Acta*, **56**, 207 (1973); Buchs A., Charollais E., Posternak T. *Helv. Chim. Acta*, **51**, 695 (1968).
177. Lichtenthaler F. W., Emig P. *Carbohydr. Res.*, **7**, 121 (1968).
178. Salinas A. E., Sproviero J. F., Deulofeu V. *Carbohydr. Res.*, **170**, 71 (1987).
179. Rehnberg N., Frejd T., Magnusson G. *Tetrahedron Letters*, **23**, 3589 (1987); Stevens J. D., Fletcher H. G. Jr. *J. Org. Chem.*, **33**, 1799 (1968); Kam B. L., Barascut J. L., Imbach J. L. *Carbohydr. Res.*, **69**, 135 (1979); Alföldi J., Peciar C., Palovcik R., Kovác P. *Carbohydr. Res.*, **25**, 249 (1972); Kovács J., Pintér I., Lendering U., Köll P. *Carbohydr. Res.*, **210**, 155 (1991).
180. Gros E. G., Ondetti M. A., Sproviero J. F., Deulofeu V., Deferrari J. O. *J. Org. Chem.*, **27**, 924 (1962); Deulofeu V., Gros E. G., Lezerovich A. *An. Real Soc. Española Fís. y Quím.*, **LX**, 157 (1964); Lezerovich A., Gros E. G., Sproviero J. F., Deulofeu V. *Carbohydr. Res.*, **4**, 1 (1967).
181. Bonner W. A. *J. Org. Chem.*, **24**, 1388 (1959).
182. Brown F., Hough L., Jones J. K. N. *J. Chem. Soc.*, 1125 (1950).
183. Green J. W., Pacsu E. *J. Am. Chem. Soc.*, **59**, 1205 (1937); Wolfrom M. L., Olin S. M., Polglase W. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **59**, 1724 (1950); Wolfrom M. L., Yosizawa Z. *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 3474 (1959); Wolfrom M. L., Yosizawa Z., Juliano B. O. *J. Org. Chem.*, **24**, 1529 (1959); Wolfrom M. L., von Bebenburg W., Thompson A. *J. Org. Chem.*, **26**, 4151 (1961); Wolfrom M. L., Mc

- Wain P., Pagnucco R., Thompson A. *J. Org. Chem.*, **29**, 454 (1964); Bashford V., Wiggins L. F. *Nature*, **165**, 566 (1950); Kuhn R., Wendt G. *Chem. Ber.*, **81**, 553 (1948).
184. Mills J. A. *Advan. Carbohydr. Chem.*, **10**, 1 (1955); Gould E. S. *Mechanism and Structure in Organic Chemistry Holt, Rinehart and Winston, New York, N. Y.*, 200 (1960).
185. Lampidis T. J., Savaraj N., Valet G. K., Trevorrow K., Fourcade A., Tapiero H. *Anti-cancer Drugs, Tapiero H., Robert J., Lampidis T. J. (eds)., Colloque INSERM.*, London, Libbey Eurotext, **191**, 29 (1989).
186. Savaraj N., Lu K., Guo T., Castello C., Tapiero H., Lampidis T. J. *Cancer Res.*, **29**, 1164 (1988).
187. Tapiero H., Boule D., Ittah-Coros C., Fourcade A., Lampidis T. J. *Mechanisms of drug resistance in Neoplastic Cells, Wooley P., Tew K. (eds), New York, Academic Press*, 329 (1988).
188. Bloch A. (ed). *Ann N. Y. Acad. Sci.*, **255**, 1 (1975).
189. Lambert B., Roques B. P., Pecq L. E. *Nucleic Acids Res.*, **16**, 1063 (1988).
190. Kohn K. W. *Molecular Aspects of Anticancer Drug Action, Mac Millan (ed), New York, Mac Millan*, 315 (1983).
191. Kohn K. W., Hartley J. A., Mattes W. B. *Nucleic Acids Res.*, **15**, 10531 (1987).
192. Kohn K. W. *Anticancer Drugs, Tapiero H., Robert J., Lampidis T. J. (eds), Colloque INSERM, London, Paris, John Libbey Eurotext*, **191**, 77 (1989).
193. Pommier Y., Schwartz R. E., Zwelling L. A., Kerigan D., Mattern M. R., Charcosset J. T., Jacquemin-Sablob A., Kohn K. W. *Cancer Res.*, **46**, 611 (1986).

194. Markovits J., Pommier Y., Kerrigan D., Covey J. V.,
Tilchen E. J., Kohn K. W. *Cancer Res.*, **47**, 2050 (1987).
195. Tsukamoto T., Komori T. *Chem. Pharm. Bull.*, **8**, 913
(1960).
196. Tate M. E., Bishop C. T. *Can. J. Chem.*, **4**, 1043
(1962).
197. Trevelyan W. E., Procter D. P., Harrison J. S. *Nature*,
166, 444 (1950).
198. Partridge S. M. *Nature*, **164**, 443 (1949).
199. Smith I. *Nature*, **171**, 43 (1953).
200. Levene P. A., Meyer K. *J. Biol. Chem.*, **76**, 513 (1928).
201. Brigl P., Keppler H. *Hoppe-Seyler's, Z. Physiol. Chem.*,
180, 38 (1929).
202. Isbell H. S., Frush H. L. *J. Org. Chem.*, **23**, 1309
(1958).
203. Onodera K., Kitaoka S. *J. Org. Chem.*, **25**, 1322 (1960).
204. Mikamo M. *Carbohydr. Res.*, **191**, 150 (1989).
205. Bal de Kier Joffé E., Puricelli L., Vidal M. Del C., et.
al. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, **2**, 151 (1983).
206. Bal de Kier Joffé E., Puricelli L., de Lustig E. S.
Invasion Metastasis, **6**, 302 (1986).
207. Oyama V. I., Eagle H. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **91**,
305 (1956).