

Tesis Doctoral

Tiooligosacáridos con unidades furanósicas. Síntesis diastereoselectiva y estudios de inhibición de una furanosil hidrolasa

Repetto, Evangelina

2010

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:

Repetto, Evangelina. (2010). Tiooligosacáridos con unidades furanósicas. Síntesis diastereoselectiva y estudios de inhibición de una furanosil hidrolasa. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Repetto, Evangelina. "Tiooligosacáridos con unidades furanósicas. Síntesis diastereoselectiva y estudios de inhibición de una furanosil hidrolasa". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2010.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Química Orgánica

**TIOOLIGOSACÁRIDOS CON UNIDADES FURANÓICAS.
SÍNTESIS DIASTEROSELECTIVA Y ESTUDIOS DE INHIBICIÓN
DE UNA FURANOSIL HIDROLASA.**

Tesis presentada para optar al título de
Doctor de la Universidad de Buenos Aires
en el área Química Orgánica.

Farm. Evangelina Repetto

Director de Tesis: Dr. Oscar Varela

Buenos Aires, 2010.

– “Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado. Un esfuerzo total es una victoria completa” –

M. Gandhi.

Dedico esta tesis a mi mamá y a mi papá por estar siempre para mí y ser mis “fans” número 1.

A mi hermano, de quien estoy orgullosa porque es una gran persona y soy feliz por ser su hermana.

A Ro, con quien ya perdí la cuenta de cuantas cosas y momentos compartimos juntos, y éste al igual que tantos otros, es de los dos. Gracias por elegirme.

A mi familia.

A mi abuela, que la extraño.

A Vero, que merece una “dedicación aparte” porque se transformó en una gran amiga, con la capacidad de escucharme, aconsejarme y hacer que estos años no hayan costado trabajo, ya que fueron compensados con risas, charlas y una amistad que será para siempre.

A mis amigos.

A Shoco y a Monita, compañeras de estudio.

Al Dr. Oscar Varela, quien me brindó la posibilidad de realizar mi Tesis en su laboratorio y siempre estuvo presente, no sólo como director sino también como persona, preocupándose por mí.

Quiero agradecer a las Instituciones y personas que hicieron posible la realización de este trabajo.

A la ANPCyT y a CONICET por las becas que me han otorgado.

Al Departamento de Química Orgánica (FCEyN).

A Lau y Adri por brindarme su ayuda desde el primer día y compartir su experiencia conmigo.

A mis amigos en el laboratorio:

Lore por estar al comienzo de mi trabajo y dejar sus cosas para hacer mis espectros y ayudarme;

Romi por ser super compañera, siempre dispuesta a dar una mano y preocuparse por mí;

Ale, que no se cómo mantiene su paciencia y buen humor a pesar de vivir rodeado por nosotras;

Chili y Dani que aportan locura, alegría y música al trabajo y Sil, que también compartió con nosotros el laboratorio.

A Brenda, Guillermo, Sebastián, Valeria, Eleonora, Andrea, Lucía y todos aquellos con quienes compartí turnos de laboratorio y charlas de pasillo.

A Carla por ayudarme con la parte de inhibición enzimática.

A los Docentes y Profesores con quienes compartí turnos de TP.

Al plantel no docente del Departamento, en especial a Maripi, Olga, Sergio y Nancy.

A Mery por los microanálisis y por soportar que la persigamos por los pasillos.

A José y especialmente a Gernot por los espectros de RMN 500 MHz.

A las Dras. Perillo y Salerno de la FFyB por haberme dado la posibilidad de empezar a trabajar en química orgánica.

A mis amigas y amigos de la vida. A Vale por escucharme y estar siempre que la necesito. A Vani por tantos años de amistad. A Sofía por hacerme reír.

TIOOLIGOSACÁRIDOS CON UNIDADES FURANÓICAS. SÍNTESIS DIASTEROSELECTIVA Y ESTUDIOS DE INHIBICIÓN DE UNA FURANOSIL HIDROLASA.

En el área de la glicobiología la búsqueda de nuevos inhibidores enzimáticos ha conducido al desarrollo de glicomiméticos como, por ejemplo, los tiooligosacáridos. Éstos son análogos de oligosacáridos naturales en los cuales el átomo de oxígeno interglicosídico se ha sustituido por azufre y suelen ser reconocidos por enzimas e inhibir su actividad biológica. Dado que prácticamente no se encuentran ejemplos de tiodisacáridos y tiooligosacáridos de azúcares furanósicos, se planteó como objetivo general de esta Tesis el diseño y síntesis de tiodisacáridos constituidos por al menos una unidad pento o hexofuranosa y su evaluación como inhibidores de una β -galactofuranosidasa de *Penicillium fellutanum*.

La galactofuranosa es constituyente de polisacáridos de micobacterias como el *Mycobacterium tuberculosis*, causante de la tuberculosis. La Galfes esencial para la sobrevivencia o virulencia de varios microorganismos patogénicos, pero por el momento no se ha encontrado en mamíferos. Dado que la degradación de glicoconjugados de Galf en algunos microorganismos es resultado de la acción de una β -galactofuranosidasa, ésta es un blanco adecuado para la acción de inhibidores.

Por las razones enunciadas precedentemente, en este trabajo se desarrollaron metodologías generales de síntesis de tiooligosacáridos de azúcares furanósicos, en particular de Galf. Como paso clave para la construcción diastereoselectiva del enlace tioglicosídico se emplearon: i) Adiciones conjugadas de 1-tioaldosas a azúcares aceptores de Michael; ii) Reacciones de trans-tioglicosilación; iii) Reacciones de sustitución nucleofílica y iv) Reacciones de apertura de tiiranos de azúcares. Así, se han obtenido tiodisacáridos con unidades furanósicas localizadas tanto en el extremo reductor como el no reductor. También se presenta una síntesis satisfactoria de un tiodisacárido formado por dos azúcares furanósicos. Asimismo, se ha descrito una nueva metodología, basada en la apertura de tiiranos de azúcares por una 1-tioaldosa, para la construcción de ditiotrisacáridos ramificados con unidades furanósicas.

Palabras clave: tiodisacáridos, tiooligosacáridos, tiofuranosas, inhibidores enzimáticos, β -galactofuranosidasa.

THIOOLIGOSACCHARIDES WITH FURANOSE UNITS. DIASTEROSELECTIVE SYNTHESIS AND INHIBITION STUDIES OF A FURANOSYL HIDROLASE.

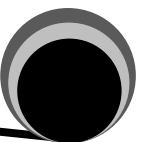
In the area of the Glycobiology the search for new enzyme inhibitors has led to the development of glycomimetics that resemble the global structure of a related sugar, but exhibit improved drug-like properties. For example, the replacement of the oxygen atom of the interglycosidic linkage by a sulfur atom leads to thiooligosaccharides, which may act as inhibitors of the enzymes that participate in the metabolism of the natural analogues. As practically no examples are found of thiodisaccharides and thiooligosaccharides of furanose sugars, we propose as a main goal of this Thesis the design and synthesis of thiodisaccharides formed at least by one penta or hexafuranose unit. The resulting glycomimetics have been evaluated as inhibitors of a β -galactofuranosidase from *Penicillium fellutanum*.

Galactofuranose is a sugar component of polysaccharides from many microorganisms. They include mycobacterium, such as *M. tuberculosis*, the agent of tuberculosis. This sugar is essential for the survival or virulence of pathogenic microorganisms, but it has not yet been found in mammals. As the degradation of Gal β containing polysaccharides is the result of the activity of a β -galactofuranosidase, this enzyme is a convenient target for inhibition.

In view of the previous considerations, in this work we have developed general methodologies for the synthesis of thiooligosaccharides constituted by furanose sugars, in particular by Gal β . As key step for the diastereoselective construction of the thioglycosidic linkage were employed: *i*) Conjugate addition of 1-thioaldoses to sugar enones as Michael acceptors; *ii*) Trans-thioglycosylation reactions; *iii*) Nucleophilic substitution reactions, and *iv*) Sugar thiirane ring-opening. The procedures employed led to thiodisaccharides having a furanose unit as a reducing or non-reducing end. A convenient synthesis of a thiodisaccharide formed by two furanose units is reported. Furthermore, branched-chain dithiotrisaccharides have been prepared through a new synthetic route, based on the ring-opening of a thiirane group of a sugar derivative by a 1-thioaldose.

Keywords: thiodisaccharides, thiooligosaccharides, thiofuranoses, enzyme inhibitors, β -galactofuranosidase.

CAPITULO 1



Glicobiología de azúcares furanósicos.

Glicobiología de azúcares furanósicos.

La química de los hidratos de carbono se encuentra fuertemente conectada con la química orgánica, farmacéutica y medicinal.

Los hidratos de carbono son biomoléculas esenciales para la vida, cuyo rol no sólo se limita al almacenamiento de energía, sino que también son elementos claves en una gran variedad de procesos biológicos tales como señalización y adhesión celular, crecimiento y diferenciación, angiogénesis, comunicación intercelular e incluso son moléculas blanco (targets moleculares y celulares).

La gran variedad de propiedades que poseen los hidratos de carbono se relaciona con sus estructuras, que pueden incluir polímeros lineales o estructuras complejas ramificadas o conjugadas con otro tipo de moléculas. En este caso forman parte de glicoproteínas, glicolípidos y otros glicoconjugados, que pueden encontrarse en todos los sistemas vivos. En las glicoproteínas, por ejemplo, el fragmento glicosídico puede ser pequeño (puede consistir solo en una unidad de monosacárido) o puede ser más grande incluso que la fracción proteica.

Estructuralmente, los monosacáridos pueden encontrarse en configuraciones piranósica o furanósica y las uniones pueden darse en distintas posiciones, originando un gran número de posibles uniones glicosídicas entre monómeros. La capacidad de crear estructuras complejas y diferentes tipos de uniones es una propiedad estructural única de los hidratos de carbono con respecto, por ejemplo, a los péptidos y ácidos nucleicos, cuya consecuencia es la gran diversidad funcional en los sistemas biológicos, como se mencionó anteriormente.

La conformación también es un aspecto que influye en la actividad biológica. La conformación de glicósidos queda determinada principalmente por la estereoquímica de la unión glicosídica, la configuración de los grupos sustituyentes y la posibilidad de pseudorrotación en los anillos piranósicos o furanósicos.

Mayoritariamente los monosacáridos se encuentran en la forma hexopiranosica.¹ Sin embargo, durante las últimas décadas, las biomoléculas que contienen constituyentes hexofuranósicos han atraído la atención debido a:

- Su presencia en varios microorganismos, incluso algunos de ellos patogénicos
- Ausencia en mamíferos

En razón de estas propiedades, los análogos y derivados de glicofuranosas son candidatos promisorios para nuevas drogas.² Sin embargo, los mecanismos detallados de la biosíntesis y metabolismo de conjugados de glicofuranósidos no han sido aún completamente elucidados. Se ha descrito que en estos procesos participan enzimas clásicas como las hidrolasas³ y transferasas,^{4,5} y también se han sumado las mutasas,^{6,7} que catalizan la interconversión entre azúcares piranósicos y furanósicos. No obstante, pocas de estas enzimas han sido aisladas y estudiadas excepto algunas relacionadas con estructuras galactofuranósicas.

Desde el punto de vista químico, una hexosa determinada muestra grandes diferencias dependiendo de si se encuentra como piranosa o furanosa. Es bien conocido que los hexopiranosidos están más favorecidos “termodinámicamente” que los furanósidos correspondientes, básicamente porque las interacciones estéricas se minimizan en los anillos de seis miembros.⁸ Además, los efectos “estereoelectrónicos”, en particular el efecto anomérico, tienden a estabilizar las agliconas con orientación axial. Es por esto que los α -D-piranosidos en la conformación 4C_1 son generalmente más estables que sus correspondientes anómeros β , ecuatoriales (Fig.1). Sin embargo, debido a su flexibilidad, en los furanósidos los efectos anoméricos no son capaces de favorecer a los anómeros α más que a los β , ya que este efecto es posible en ambos casos. Como consecuencia, el solapamiento de orbitales en los furanósidos no es tan eficiente como en los piranosidos y, generalmente, no puede explicar la mayor estabilidad de un anómero sobre el otro.

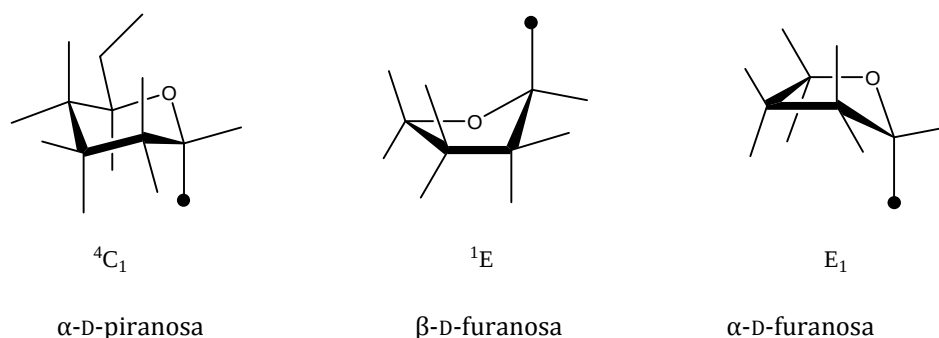


Figura. 1. Conformaciones estabilizadas por efecto anomérico.

De todos modos, por estudios realizados principalmente en nucleósidos, se ha establecido que el equilibrio entre las conformaciones de baja energía tipo Norte (la conformación T ó twist que se encuentra en el hemisferio norte del ciclo pseudorrotacional) o Sur (el twist opuesto del hemisferio sur) depende de los efectos anomérico y/o interacciones gauche que involucran a los oxígenos O-2 o O-3.⁹⁻¹¹ Por la baja energía de interconversión, la conformación de un furanósido se describe principalmente como un promedio entre las conformaciones sobre y twist.^{2,12-15} Esta flexibilidad justifica en parte porque la manipulación de grupos funcionales en compuestos furanósicos se encuentra más limitada en comparación con sus análogos piranósicos.

Los polisacáridos compuestos por residuos furanósicos son constituyentes importantes de glicoconjugados de bacterias,^{16,17} protozoos,¹⁸ hongos¹⁹ y plantas.²⁰ También se han identificado en glicopéptidos, glicolípidos y nucleótidos. Entre las pentosas, la ribosa y la arabinosa son los azúcares más comúnmente encontrados en forma furanósica.

La ribofuranosa, forma parte de los ácidos nucleicos, y la arabinofuranosa se encuentra en bacterias del suelo, hongos y plantas.²¹ La D-galactosa es la hexosa más abundante en forma furanósica en polisacáridos naturales. La mayoría de los ejemplos se encuentran en micobacterias, donde también es posible hallar unidades arabinofuranósicas. En particular, las estructuras de glicoconjugados que incluyen la unidad D-Galf en configuración anomérica 1,2-*trans* (β -D-Galf) se han

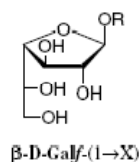
encontrado en varios microorganismos, no necesariamente patogénicos y también en algunos organismos pluricelulares.¹

A diferencia de muchos monosacáridos que se encuentran en la naturaleza en una única forma enantiomérica, la *Araf* puede encontrarse en glicoconjugados tanto en su forma *D* como *L*. Además, en los polisacáridos prevalece la configuración anomérica α . En cambio, la *Gal* solo se encuentra en la naturaleza como *D-Galf*, y ambas formas α y β -*Gal* son producidas por diversos microorganismos, aunque los enlaces β -*Gal* son los que predominan. Se han identificado algunos polisacáridos que contienen residuos α -*D-Galf* pero son más raros. El residuo *D-Galf* puede estar conectado con otras unidades piranósicas, como *D-Man_p*, *D-Glc_p* o *D-Gal_p*, o incluso *N*-acetil-*D*-galactosamina (*D-Gal_p-NAc*) o glucosamina (*D-Glc_p-NAc*); *L*-ramnosa (*L-Ram_p*), *D*-fructosa (*D-Fru_p*) o también a unidades galactofuranósicas a través de una unión *O*-glicosídica (1→2), (1→3), (1→5) o (1→6), siendo estas dos últimas las más comunes.¹

Se han encontrado unidades de *Gal* en numerosas estructuras consideradas esenciales para la virulencia en muchos organismos patogénicos. Otros azúcares furanósicos que pueden encontrarse aunque más escasamente en bacterias y plantas son *D-Glcf*, *D-Fucf* o incluso *D-Manf*.¹ En la Tabla 1 se reseña la presencia de β -*D-Galf* en microorganismos. A continuación se describe el tipo de estructuras que incluyen a la β -*D-Galf* en microorganismos (micobacterias, protozoos, hongos y bacterias) y en plantas y otros eucariotas.

Tabla 1. Unidades de β -D-Gal β en oligosacáridos naturales de distintos microorganismos.*

Unión glicosídica	Microorganismo(s)	Unión glicosídica	Microorganismo(s)
(1 $\rightarrow$ 2)-D-Gal β	<i>Penicillium</i> ³² <i>Talaromyces</i> ^{23,34} <i>Trypanosoma cruzi</i> ²⁵	(1 $\rightarrow$ 2)-D-Manp	<i>Bionectria</i> ²⁴ <i>Byssoschlamys</i> ^{24,26} <i>Cryphonectria parasitica</i> ²⁷
(1 $\rightarrow$ 3)-D-Gal β	<i>Aspergillus</i> ^{24,31} <i>Chaetosartorya</i> ²⁴ <i>Penicillium</i> ²² <i>Renibacterium salmoninarum</i> ³² <i>Talaromyces</i> ^{23,34}	(1 $\rightarrow$ 3)-D-Manp	<i>Hypocrea</i> ^{24,28} <i>Neurospora</i> ^{24,29,30} <i>Paecilomyces</i> ²⁶ <i>Trichoderma</i> ²⁸ <i>Aspergillus</i> ³³ <i>Trypanosoma cruzi</i> ^{18,34} <i>Leishmania</i> ³⁵
(1 $\rightarrow$ 5)-D-Gal β	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> ³⁶ <i>Arachniotus</i> ²⁴ <i>Aspergillus</i> ^{24,33,37,40} <i>Bionectria</i> ²⁴ <i>Byssoschlamys</i> ^{24,26} <i>Chaetosartorya</i> ²⁴ <i>Cryphonectria parasitica</i> ²⁷ <i>Discula</i> ³⁰ <i>Eupenicillium</i> ^{24,41} <i>Gymnascella</i> <i>Hypocrea</i> ^{34,38} <i>Mycobacterium</i> ^{16,42-45} <i>Nectria</i> ⁴⁶ <i>Neosartorya</i> ^{24,39} <i>Paecilomyces</i> ²⁶ <i>Penicillium</i> ^{22,47} <i>Rocella decipiens</i> <i>Sesquicillium</i> ^{4,6} <i>Talaromyces</i> ^{23,24,48} <i>Trichoderma</i> ²⁸	(1 $\rightarrow$ 6)-D-Manp	<i>Aspergillus</i> ^{33,37,40,49} <i>Epidermophyton</i> ³⁰ <i>Microrosporium</i> ³⁰ <i>Paraccidioides brasiliensis</i> ⁵⁰ <i>Rocella decipiens</i> ⁵¹ <i>Trichophyton</i> ³⁰ <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Sü39</i> ⁵² <i>Escherichia coli</i> K-12 ⁵³ <i>Trypanosoma cruzi</i> ²⁵ <i>Agelas</i> sp. ⁵⁴ <i>Agelas longissima</i> ⁵⁵ <i>Bacteroides cellulosus</i> ⁵⁶ <i>Fibrobacter succinogenes</i> S85 ⁵⁷
		(1 $\rightarrow$ 3)-D-Glc	
		(1 $\rightarrow$ 6)-D-Glc	
		(1 $\rightarrow$ 4)-D-GlcNAc	
		(1 $\rightarrow$ 3)-D-Galp	
		(1 $\rightarrow$ 3)-D-GalpNAc	<i>Bacteroides fragilis</i> 9343 ⁵⁸ <i>Hafnia alvei</i> ⁵⁹ <i>Escherichia coli</i> O164 ⁶⁰ <i>Shigella dysenteriae</i> type 3 ⁶⁰ <i>Mycobacterium</i> ^{16,42-45} <i>Pleisiomonas shigelloides</i> ⁶¹ <i>Rahnella aquatilis</i> ⁶⁸
(1 $\rightarrow$ 6)-D-Gal β	<i>Arachniotus</i> ²⁴ <i>Aspergillus</i> ^{30,39} <i>Bionectria</i> ²⁴ <i>Byssoschlamys</i> ^{24,26} <i>Calonectria</i> ^{24,62} <i>Cryphonectria parasitica</i> ²⁷ <i>Cyclindocladium</i> ⁶² <i>Discula</i> ³⁰ <i>Fusarium</i> ^{63,64} <i>Gibberella</i> ^{24,64} <i>Gymnascella</i> <i>Hypocrea</i> ^{24,28} <i>Mycobacterium</i> ^{16,42-45} <i>Myrothecium</i> ⁶⁵ <i>Nectria</i> ⁶⁴ <i>Neosartorya</i> ^{24,39} <i>Paecilomyces</i> ²⁶ <i>Penicillium</i> ^{22,47} <i>Renibacterium salmoninarum</i> ⁶⁶ <i>Sesquicillium</i> ^{4,6} <i>Talaromyces</i> ^{23,24,67} <i>Trichoderma</i> ²⁸	(1 $\rightarrow$ 4)-L-Rhap	
		(1 $\rightarrow$ 3)-D-Frup	

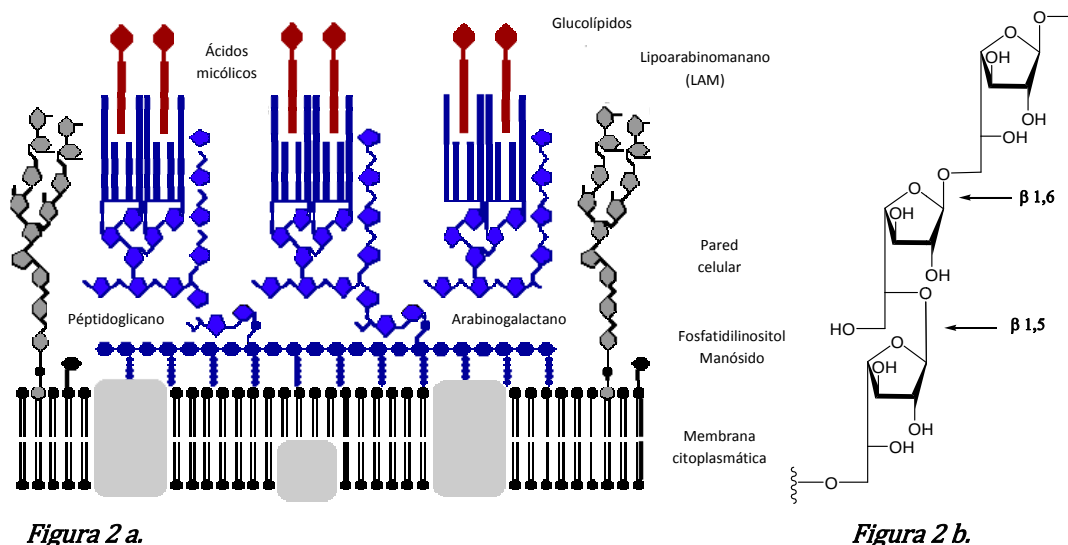


*Fuente: *Carbohydr. Res.* **2008**, 343, 1897-1923 (Las referencias indicadas corresponden a este trabajo)

1. Micobacterias

La pared celular en estas especies está constituida principalmente por un lipoarabinomanano (LAM) y un arabinogalactano (AG), en el cual todos los residuos de galactosa y arabinosa están presentes como anillos furanósicos (Fig. 2a).^{16,22} La porción AG comprende una cadena linear de aproximadamente 30 unidades alternadas de D-Gal f unidas β -(1 $\rightarrow$ 5) y β -(1 $\rightarrow$ 6) (Fig. 2b). Se ha propuesto que cada cadena de galactano contiene 2 o 3 cadenas de arabinanos y que la posición de unión es el O-5 de la unidad Gal f .

El “core” de la pared celular de las micobacterias consiste en una capa lipídica externa (ácido micólico) unida a peptidoglicano a través del AG, y es única para micobacterias y *Actinomicetes*. Si se inhibe la formación de dicha pared celular es factible inhibir el crecimiento microbiano, hecho que ha potenciado el desarrollo de nuevos inhibidores.²³ Se mencionó que las células de los mamíferos carecen de la habilidad de biosintetizar y/o metabolizar glicofuranósidos, por lo cual las enzimas involucradas en estos procesos metabólicos en bacterias, hongos y protozoos son un excelente blanco para el desarrollo de nuevas terapéuticas. La inhibición de glicofuranosidasas es también de utilidad para avanzar en el conocimiento de los roles biológicos y fisicoquímicos de los glicofuranósidos y de los mecanismos biológicos conectados con ellos. En particular, la inhibición de las enzimas que ensamblan polifuranósidos evitaría la proliferación de micobacterias, incluido el agente causante de la tuberculosis, el *Mycobacterium tuberculosis*.^{2,24}



2. Protozoos

Los residuos de *Gal*f también están presentes en configuración β en patógenos eucariotas como *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania major*. Los parásitos protozoarios del género *Leishmania* son los agentes causales de la leishmaniasis, que infecta a más de 10 millones de personas en el mundo.

Tanto en *L. major* como en *T. cruzi*, el lipofosfoglicano (LPG) y el glicoinositol fosfolípido (GIPL) de superficie se relacionan estructuralmente porque contienen residuos de *Gal*f en forma β -D-Gal β (1 $\rightarrow$ 3)-Man α , lo cual sugiere además una ruta biosintética común. Cabe destacar que ambos complejos glicolipídicos (LPG y GIPL) actúan como factores de virulencia involucrados en el reconocimiento y adhesión de macrófagos huésped, así como también en la unión al canal o tracto alimentario del insecto responsable de la transmisión de los parásitos de *Trypanosoma* o *Leishmania* a mamíferos huésped.

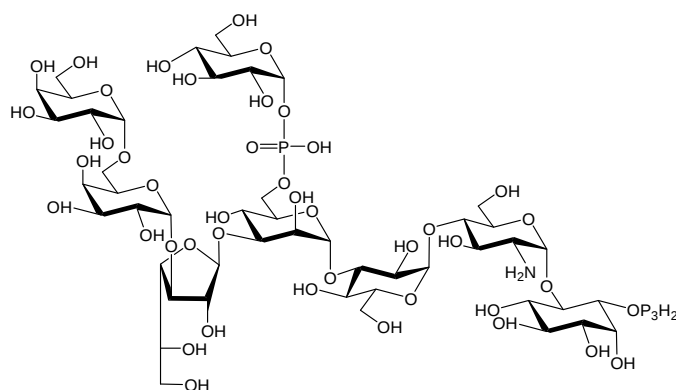


Figura 3. Fragmento del “core” de LPG encontrado en la superficie de *Leishmania*.

3. Hongos

Los hongos son otros microorganismos reconocidos como causa de ciertas infecciones, especialmente en pacientes inmunodeficientes y aquellos tratados con agentes inmunosupresores. Se ha observado que durante el crecimiento de hongos se producen exopolisacáridos (EPS) con propiedades inmunogénicas. Por ejemplo, los EPS de especies de *Aspergillus* y *Penicillium* poseen una cadena principal compuesta por α -D-manopiranosidos unidos (1→2) y (1→6), la cual contiene cadenas laterales de 4 a 10 unidades de residuos β -D-Galf unidos (1→5) (Fig. 4).¹⁹

También se ha purificado un nuevo galactofuranano a partir de quince especies de *Eupenicillium*³¹ y se estudió la estructura de un heteropolisacárido rico en unidades de Galf unidas (1→2) y (1→5) en *Talaromyces helicus*.³² En algunas de estas especies la unidad galactofuranósica parece ser el determinante antigénico.

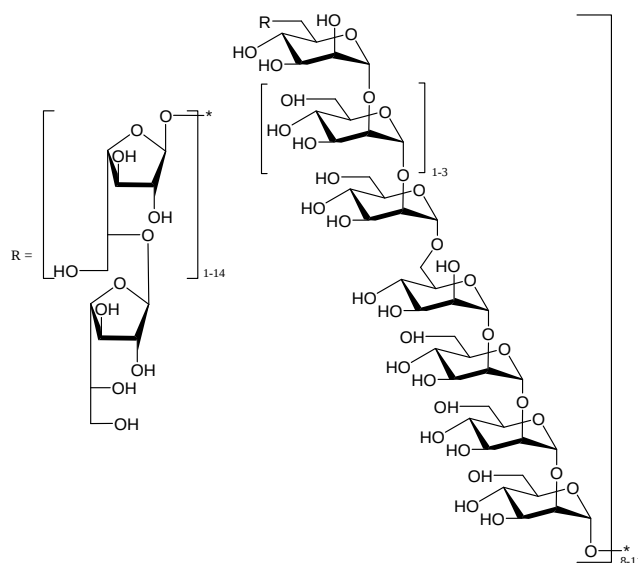


Figura 4. Estructura del “core” galactomanano del EPS producido por *Aspergillus* y *Penicillium*.

En algunos microorganismos, la degradación de glicoconjugados que contienen unidades de *Galf* es promovida, por una β -galactofuranosidasa. La más conocida es la exo β -D-galactofuranosidasa, que se purificó por primera vez a partir de un cultivo de *Penicillium fellutanum*.³³ Luego, se describió también, en *Helminthosporium sacchari*³⁴ y otras especies de *Penicillium* y *Aspergillus*.^{35,36} El rol de esta enzima en *P. fellutanum* es liberar galactosa, por despolimerización de un glicopéptido extracelular, para utilizarla como fuente de carbono, durante el crecimiento del hongo.³³

La β -D-galactofuranosidasa es un blanco importante si consideramos que durante la diferenciación del *Trypanosoma cruzi* del estadio invasivo al infectivo, la cantidad de glicoconjugados que contienen unidades de *Galf*, disminuye críticamente.³⁷

4. Bacterias

Si bien se han encontrado glicoconjugados que incluyen unidades de D-*Galf* en configuración anomérica 1,2-*trans* en muchos microorganismos, no necesariamente patogénicos (incluyendo bacterias Gram negativas y más raramente, Gram positivas), en ciertas ocasiones los glicoconjugados que

contienen unidades de D-Gal β aparecen como esenciales para la virulencia de muchos organismos patogénicos. Entre estos glicoconjugados se encuentran los lipopolisacáridos (LPS) antigénicos (antígeno O) de un creciente número de bacterias Gram negativas, como la *Escherichia coli* K-12^{38,39} (Fig. 5a) o la *E. coli* O164 enteroinvasiva,⁴⁰ así como también se presentan en la unidad repetitiva galactan-I del antígeno O de *Klebsiella pneumoniae*⁴¹ (Fig. 5b). También puede encontrarse Gal β en polisacáridos extracelulares o capsulares de una gran variedad de bacterias Gram negativas y Gram positivas.⁴²⁻⁴⁵

Además es importante señalar que la estructura β -D-Gal β (1 $\rightarrow$ 6)- α -D-Gal β se ha encontrado en exopolisacáridos de bacterias beneficiosas para los humanos tales como *Lactobacillus rhamnosus*, aislado de la flora intestinal humana⁴⁶ o *Streptococcus thermophilus* producido en leche descremada.⁴⁷

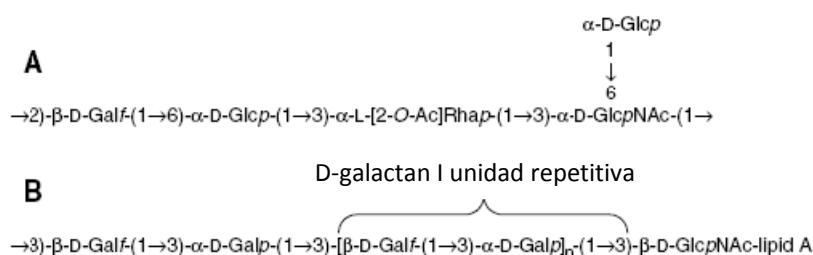


Figura 5. Estructuras de glicoconjugados de bacterias Gram negativas, que contiene unidades de Gal β . **a.** Unidad repetitiva del glicano del antígeno O del LPS de *Escherichia coli* K-12. **b.** Unidad repetitiva del antígeno O de *Klebsiella pneumoniae*.

Cabe destacar que las unidades de Gal β en configuración 1,2-*cis* se encuentran algunas veces presentes en los oligosacáridos mencionados anteriormente, como también en el caso de algunas cepas de *Clostridium thermocellum*⁴⁸ (Fig. 6) y otras bacterias y hongos como, *Adopus dedicus*.⁴⁹

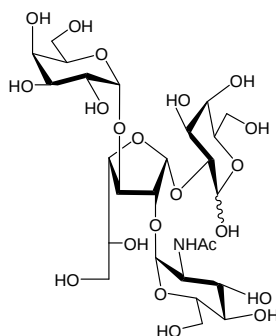


Figura 6. Fragmento del celulosoma de *Clostridium thermocellum*, que contiene α -D-Gal.

5. Plantas y otros organismos eucariotas

Se han encontrado diferentes hexofuranósidos en plantas, algas y líquenes, como así también en esponjas marinas, estrellas de mar y arcaebacterias.¹

Glicomiméticos.

Se mencionó anteriormente el rol importante que desempeñan los hidratos de carbono en eventos de reconocimiento que inician respuestas inmunológicas a infecciones bacterianas y virales. También participan en distintos procesos de señalización que ocurren en enfermedades como el cáncer, la diabetes o procesos inflamatorios. Estas actividades biológicas únicas, han potenciado la búsqueda de nuevos análogos con propiedades biológicas mejoradas, respecto de los compuestos originales y con la capacidad de acelerar (como iniciadores o activantes) o inhibir la actividad enzimática. Nos estamos refiriendo a “compuestos miméticos de hidratos de carbono”, en los cuales su estructura molecular nos recuerda a un azúcar natural, pero con alteraciones capaces de modificar su actividad biológica y metabolismo.

Con este objetivo, se han incrementado los esfuerzos en cuanto a diseño, síntesis y evaluación de glicomiméticos como inhibidores enzimáticos. Dado que la conformación de un oligosacárido depende principalmente del enlace glicosídico, muchas de las modificaciones estructurales que se realizan sobre ellos, involucran al átomo del enlace interglicosídico. Particularmente, se han sintetizado análogos

que contienen átomos de carbono o heteroátomos como azufre e incluso nitrógeno, como herramientas útiles para estudiar procesos enzimáticos. Estos análogos de los *O*-sacáridos han atraído la atención por su estabilidad frente a la hidrólisis y por su actividad, en muchos casos, como inhibidores enzimáticos.⁵⁰

En relación con la bioquímica de los poliglicofuranósidos, las enzimas que pretenden inhibirse son las mutasas y glicosidasas.

➤ **Inhibidores de mutasas:** hasta hoy la enzima más estudiada involucrada en la biosíntesis de hexofuranósidos es la UDP-Galp mutasa, la cual cataliza la isomerización de UDP-Galp a UDP-Galf.¹ Se diseñan inhibidores para entender mejor este proceso y para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas contra tuberculosis, lepra, y otras enfermedades causadas por infecciones micobacterianas. Los inhibidores pueden agruparse en dos familias: la de los que conservan la unidad furanósica (Fig. 7a y 7b) y la de los análogos en los cuales el oxígeno del anillo de cinco miembros ha sido reemplazado por otro elemento (N, S, Se)⁵¹⁻⁵⁵ (Fig. 7c y 7d).

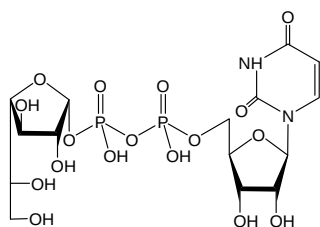


Figura 7a. C-análogo de UDP-Galf.

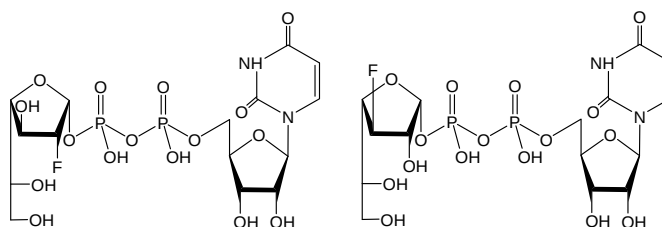


Figura 7b. Análogos fluorados de UDP-Galf.

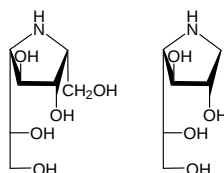


Figura 7c. Análogos pirrolidínicos de Galf.

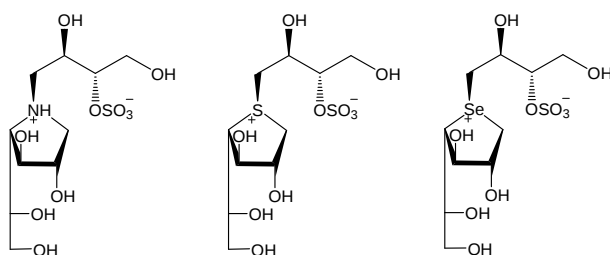


Figura 7d. Iones amonio, sulfonio y selenio, análogos de GalF

➤ **Inhibidores de hidrolasas:** los tioglicósidos son generalmente resistentes a la hidrólisis ácida y enzimática.¹ Como su estructura se asemeja a la del sustrato natural, son reconocidos por enzimas que en muchos casos son incapaces de metabolizarlos, por lo cual actúan como inhibidores de las mismas al bloquear el sitio activo. Los tioglicósidos inhibidores de glicopiranosidasas se han utilizado para investigar, mediante rayos X, la estructura del complejo enzima-sustrato. Además, estos tioglicósidos, pueden utilizarse en la síntesis convergente de oligosacáridos. Se han utilizado tioglicósidos de GalF, para inhibir galactofuranosidasas, un target importante para el diseño de nuevas drogas^{56,57} (Fig. 8).

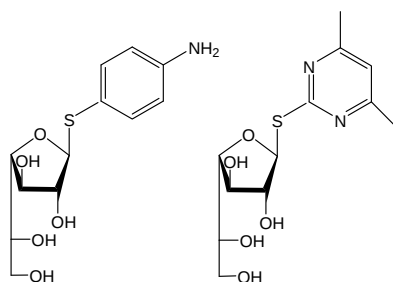


Figura 8. Inhibidores de *exo*-β-D-galactofuranosidasa de *Penicillium fellutanum*.

Los tioligosacáridos se han empleado como sondas convenientes para estudios de inhibición enzimática.⁵⁸⁻⁶¹ Además, existen antecedentes acerca de la actividad de un buen número de tioligosacáridos como inhibidores competitivos de glicosidasas y también como targets específicos para estudios de inhibición enzimática. En la mayoría de los casos se trata de tiodisacáridos constituidos por unidades piranósicas. Los estudios más completos de inhibición de glicosil

hidrolasas por tiooligosacáridos, se realizaron con derivados unidos (1→4) mediante azufre de la serie celobiosa (β -glucopiranosil-(1→4)- β -glucopiranososa) y maltosa (α -glucopiranosil-(1→4)- α -glucopiranososa), con celulasas y α -amilasas de varios orígenes (Fig. 9).⁶²

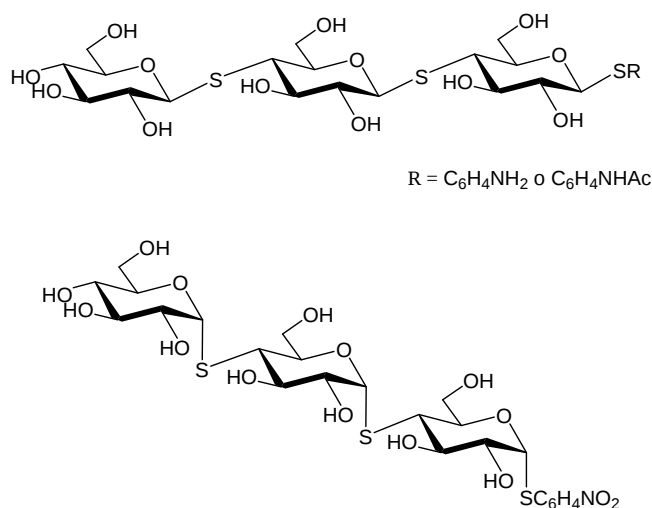
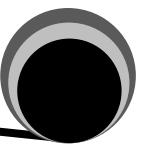


Figura 9. Derivados unidos (1→4) mediante azufre, de la serie celobiosa y maltosa.

En cuanto a los tiodisacáridos, la mayoría de los casos, actúan como inhibidores competitivos de las glicosil hidrolasas.^{56,63} Aunque con cierta frecuencia pueden actuar como inhibidores mixtos.

En contraposición, hasta el inicio de esta tesis no se encontraron ejemplos de tiooligosacáridos con unidades furanósicas como inhibidores enzimáticos.

CAPITULO 2



Síntesis de tiooligosacáridos.

Síntesis de tiooligosacáridos.

Los tiooligosacáridos se presentan como inhibidores valiosos ya que son tolerados por la mayoría de los sistemas biológicos, sin participar generalmente de los procesos metabólicos. El átomo de azufre interglucosídico, puede actuar como aceptor de enlace de hidrógeno, el cual, de la misma forma que el sustrato natural, podría jugar un rol importante en la unión con ligandos. Los *S*-glicósidos que contienen un átomo de azufre en el anillo o aquellos en los cuales el S se encuentra en el enlace interglucosídico de un disacárido, poseen propiedades únicas, como por ejemplo la solubilidad en agua, la cual difiere en general de otros derivados de monosacáridos funcionalizados convencionalmente. Las diferencias en la actividad biológica entre tioglicósidos y sus análogos oxigenados dependen de sus diferencias electrónicas, siendo el azufre menos electronegativo y más polarizable.⁶⁴ Además el azufre puede oxidarse a niveles superiores, aunque forma enlaces C=S con cierta dificultad, en contraste con el oxígeno que forma enlaces C=O estables. La facilidad con la que los tioles se oxidan a disulfuros es también una diferencia notable con respecto a los alcoholes. También, las diferencias en actividad biológica entre *S*- y *O*-glicósidos, se basan en diferencias de tipo geométricas, conformacionales y de flexibilidad. Cabe mencionar que se han llevado a cabo estudios conformacionales en 4-tiomaltosa,^{65,66} 4-tiogalabiosa,⁶⁷ *S*- α -L-fucosil-(1 $\rightarrow$ 3)-3-tio-D-acetilglucosamina,⁶⁸ α,α -tiotrealosa⁶⁹ y tiogangliósidos.⁷⁰ Estos estudios han demostrado que el enlace tioglicosídico provee un alto grado de flexibilidad entre las unidades glicosídicas y que por ello estas moléculas poseen más conformeros que sus análogos naturales.⁷¹ Se observó para los tiodisacáridos libres en solución que al interaccionar con las proteínas, pueden cambiar fácilmente su conformación y entonces son capaces de ubicarse mejor en el sitio catalítico. Además, por cristalografía de rayos X del metil 4-tio- α -maltósido, se confirmó que, dado que el enlace C-S es más largo que el enlace C-O ($\sim 0,4$ Å), la distancia espacial entre los carbonos interglucosídicos de los dos residuos también es mayor en el tioanálogo ($\sim 0,35$ Å).⁷² Como consecuencia de estos factores, las moléculas modificadas muestran generalmente alteraciones en sus propiedades de unión respecto de las naturales.

En contraposición con toda la información con que se cuenta acerca de la importancia de los azúcares azufrados (tioazúcares) y el número considerable de *S*-glicósidos sintéticos, existen en la naturaleza pocos ejemplos de tioglicósidos. Dentro de ellos, los “glucosinolatos” pueden encontrarse en vegetales⁷³ y otros pocos tioazúcares han sido aislados de distintas fuentes naturales. Por ejemplo, la *S*-adenosil-L-metionina se ha identificado como la sustancia intermediaria que participa en la transferencia enzimática de un grupo metilo de la metionina a diversos sustratos en sistemas biológicos.⁷⁴ Su análogo de configuración *xilo* furanosa se ha aislado del molusco *Doris verrucosa*.⁷⁵ Además, el átomo de azufre puede estar incorporado en el anillo, como es el caso la 5-tio-D-manosa, el primer ejemplo de un tioazúcar natural aislado de la esponja marina *Chlatria pyramida*.⁷⁶

El potencial de los tiooligosacáridos como posibles agentes terapéuticos ha impulsado la síntesis y estudio de su actividad biológica. Existen distintas rutas para sintetizar tiooligosacáridos. La formación del enlace tioglicosídico puede ocurrir a través de mecanismos de *S*-glicosilación promovida por base (tipo S_N2), promovida por ácido (tipo S_N1) o *S*-alquilación de tioles anoméricos a través de mecanismos de tipo S_N2 . En general estas reacciones dan buenos rendimientos, aunque la formación de disulfuros (vía oxidación por el oxígeno del aire) es la principal reacción competitiva. También existen otras alternativas tales como reacciones S_N2' , adiciones de Michael de tiolatos a enonas de azúcares y el uso de epóxidos intermediarios como agentes alquilantes.

Podríamos dividir estas aproximaciones sintéticas en cuatro grupos:⁷⁷

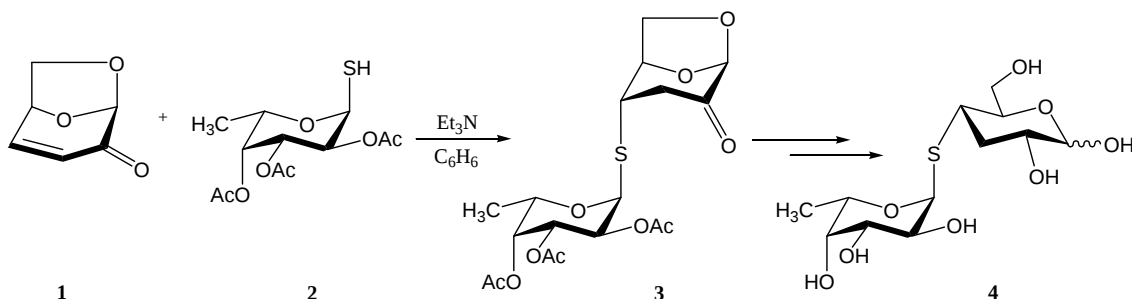
- I. Adiciones de Michael o tipo Michael de tioles de azúcares a aceptores insaturados.
- II. Desplazamiento nucleofílico de buenos grupos salientes por parte de azúcares que contienen un sustituyente tiol.
- III. Apertura de anillos de aziridinas y oxiranos por tioazúcares.
- IV. Acoplamientos de tioazúcares catalizados por enzimas.

Sin embargo, estas estrategias han sido aplicadas principalmente a los tiooligosacáridos constituidos por unidades en configuración piranósica, mientras que se encuentran escasos ejemplos de tiooligosacáridos que contengan un azúcar furanósico como constituyente.

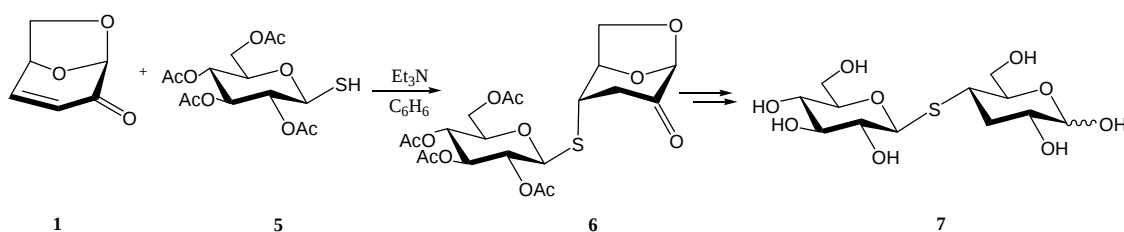
I. Adiciones de Michael o tipo Michael de tioles de azúcares a aceptores insaturados.

Las enonas de azúcares son bloques de construcción útiles por poseer grupos carbonilo y olefina, que permiten llevar a cabo una importante variedad de reacciones conocidas. La enona de azúcar más conocida es la levoglucosenona que ha sido ampliamente utilizada como sintón quiral en la síntesis tanto de hidratos de carbono como de otras moléculas.⁷⁸ La adición de Michael de 1-tioaldosas a enonas derivadas de hidratos de carbono constituye una estrategia útil para obtener tiodisacáridos.^{58,79,80}

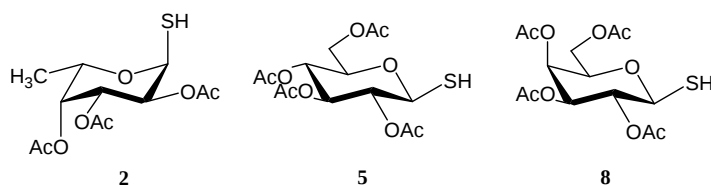
Por ejemplo, la adición del derivado per-*O*-acetilado de 1-tio- α -L-fucosa (**2**) a la levoglucosenona (**1**) en benceno y en presencia de cantidades catalíticas de Et₃N condujo al tiodisacárido **3** con un 91% de rendimiento. La adición resultó altamente diastereoselectiva debido a la estructura rígida del biciclo de **1** y el impedimento estérico en la cara superior del anillo piranósico debido a la presencia del puente 1,6-anhidro. Por posterior reducción del grupo carbonilo de **3** con L-Selectride, seguido por la apertura del anillo 1,6-anhidro por acetólisis y *O*-desacetilación se sintetizó el tiodisacárido **4**, un 3-desoxi análogo de tiodisacáridos que contienen glucosa como extremo reductor.⁷⁸



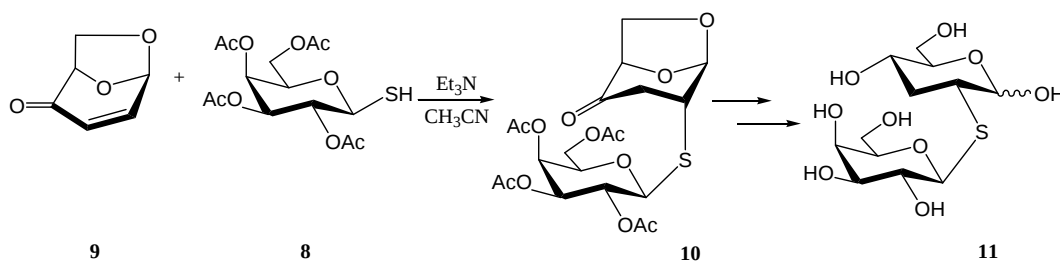
La misma metodología se utilizó para preparar 4-*S*-(β -D-glucopiranosil)-3-desoxi-4-tio-D-glucopiranososa (3-desoxitiocelobiosa, **7**) a partir de **1** y el 1-tioazúcar **5**. El acoplamiento de éstos produjo el tiodisacárido **6**, el cual condujo a **7** por reducción del grupo carbonilo con L-Selectride y posterior acetólisis y *O*-desacetilación.⁸¹



Witczak y col. también llevaron a cabo esta clase de adiciones conjugadas de 1-tioazúcares, tales como **2**, **5** u **8** a la isolevoglucosenona (**9**) seguidas por reducción del grupo carbonilo en C-4, lo cual constituyó un método conveniente (2 pasos) para sintetizar 3-desoxi-(1 $\rightarrow$ 2)-2-*S*-tiodisacáridos.⁸²

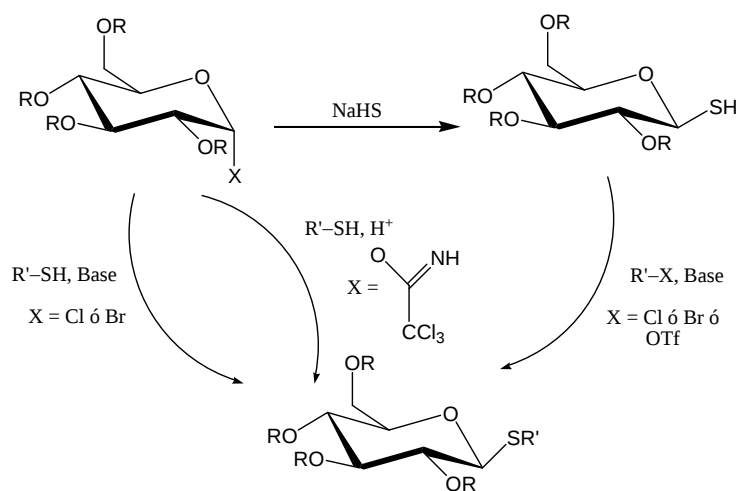


La isolevoglucosenona se sintetizó a partir de D-glucal,⁸³ y se le adicionó el 1-tioazúcar correspondiente, por ejemplo **8**, para dar **10**. Por reducción del grupo carbonilo con L-Selectride, acetólisis del puente anhidro (varias condiciones) y *O*-desacetilación obtuvieron 2-*S*-(β -D-galactopiranosil)-2-tio-3-desoxi-D-glucopiranososa (**11**).



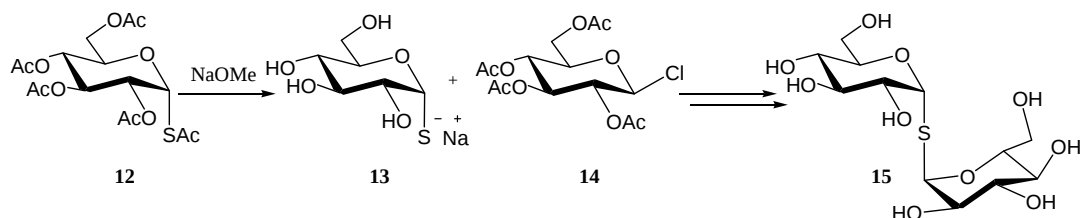
II. Desplazamiento nucleofílico de buenos grupos salientes por parte de azúcares que contienen un sustituyente tiol.

Este método de síntesis aprovecha la menor basicidad y mayor nucleofilia del átomo de azufre en comparación con el de oxígeno. El enlace tioglicosídico se forma por ataque de un tiol, convenientemente activado, a un centro nucleofílico de otro derivado de azúcar (Esq. 1)⁸⁴ principalmente por reacciones de tipo S_N2.

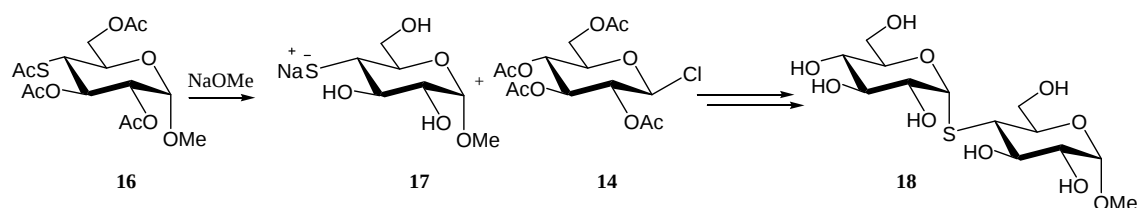


Esquema 1. Síntesis de tioglicósidos por desplazamiento nucleofílico.
(*Chem. Rev.* 2006, 106, 160-187).

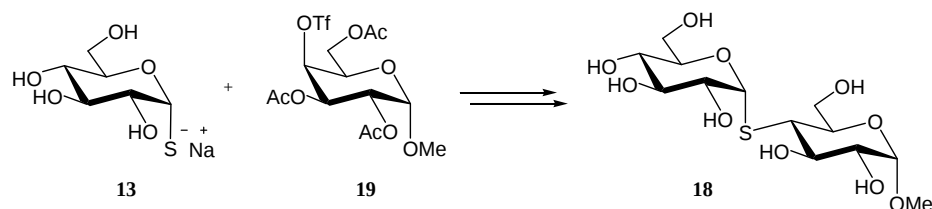
Si esta reacción ocurre entre una 1-tioaldosa y otro azúcar con su centro anomérico activado convenientemente (por ejemplo, un haluro de glicosilo), se obtienen tiodisacáridos unidos (1→1).⁸⁵



También puede ocurrir una reacción similar entre un haluro de glicosilo y un tioazúcar, donde el grupo tiol se encuentre en otra posición diferente a la anomérica, produciendo el correspondiente tiodisacárido, como en la secuencia que se muestra a continuación en la cual se obtuvo un tiodisacárido unido (1→4).⁸⁵

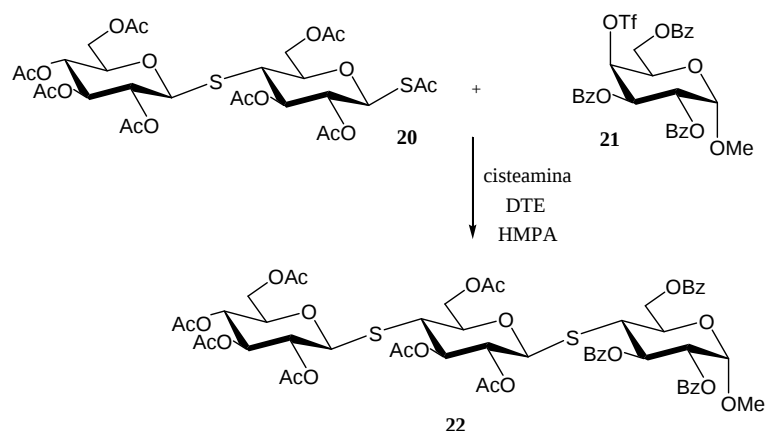


Una alternativa consiste en el desplazamiento nucleofílico de otros grupos salientes adecuados, diferentes de los haluros, como los sulfonatos (ej: trifluorometansulfonato o triflato, p-toluensulfonilo o tosilo), que no se encuentren en la posición anomérica, por un tiolato anomérico. Esto permite la formación estereocontrolada de tiooligosacáridos.^{59,86}



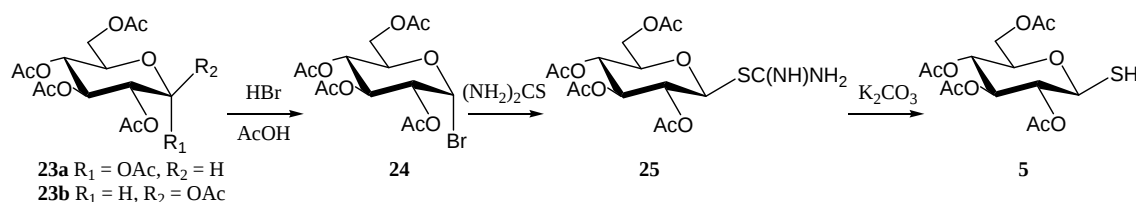
En los casos descritos, se utilizó HMPA como solvente, para incrementar la nucleofilicidad del tiolato.

También pueden construirse enlaces tioglicosídicos⁷¹ a través del acoplamiento one pot de una 1-tioaldopiranososa peracilada con un derivado triflato, en presencia de cisteamina (2-aminoetanotiol). La cisteamina desacetila selectivamente el azufre y activa el tiol resultante por formación del anión sulfuro.⁸⁷



En este caso también se agregó ditioeritritol (DTE) al medio de reacción para mantener el sulfuro en su forma reducida. En algunos casos, según la estereoquímica y la naturaleza de los grupos protectores presentes en el azúcar que contiene el grupo triflato, la cisteamina, utilizada para *S*-desacetilar, puede conducir a bajos rendimientos de tiooligosacáridos debido a la formación de productos secundarios insaturados por eliminación de ácido triflico. Por ello, puede reemplazarse por dietilamina.⁸⁸

También pueden utilizarse 1-tioaldosas, en lugar de 1-tioacetatos, para la introducción del azufre glicosídico.



La 1-tioglucona per-*O*-acetilada **5**, se preparó a partir de la mezcla anomérica de glucosa pentaacetato **23a** y **23b**, vía el correspondiente bromuro de glicosilo **24**. Éste se convirtió en la sal de isotiuronio (**25**) y finalmente en condiciones básicas, se obtuvo **5**,⁸⁹ el cual podrá atacar nucleofílicamente, en medio básico (NaH ó KOH) a otro azúcar con un grupo triflato⁹⁰ o haluro⁹¹ y generar el nuevo enlace tioglicosídico.

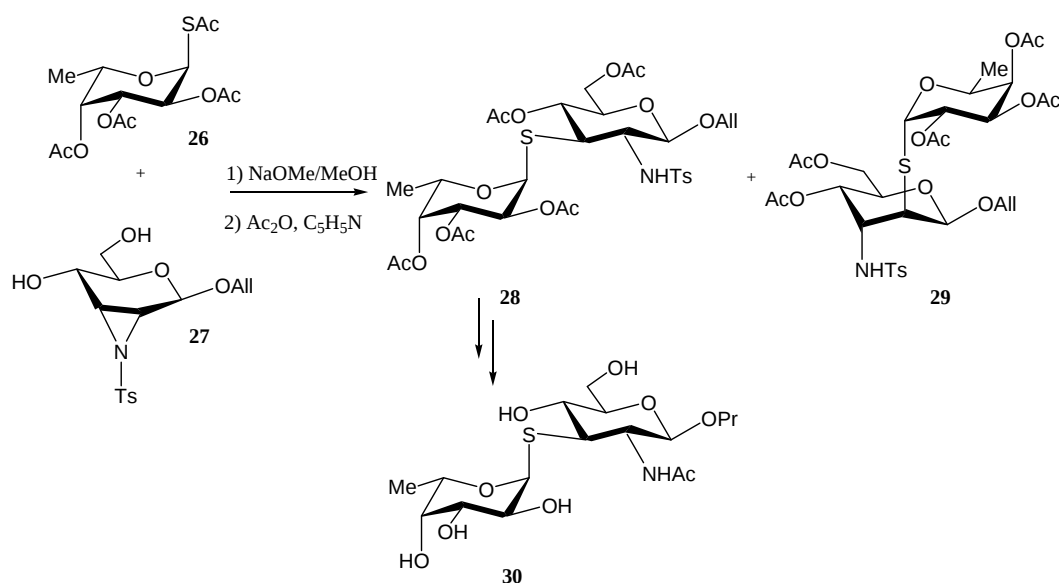
III. Apertura de anillos de aziridinas y oxiranos por tioazúcares.

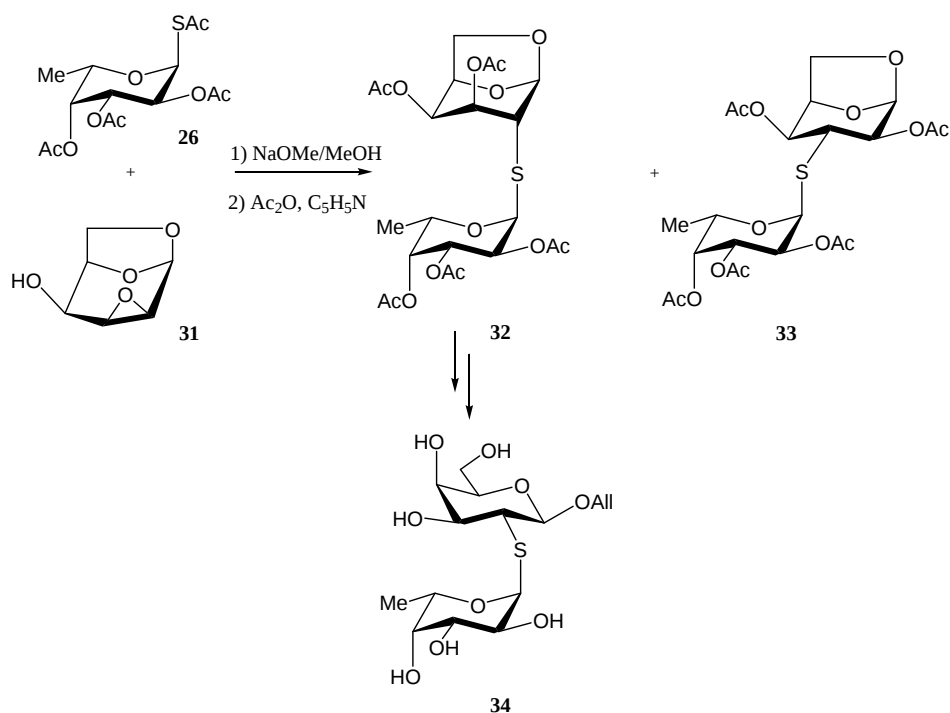
Los epoxiazúcares, son utilizados con frecuencia en el campo de los hidratos de carbono, como compuestos de partida en la síntesis de azúcares modificados⁹² (halo, amino, azido, desoxi derivados). También se han utilizado como intermediarios reactivos en la síntesis de oligosacáridos. Por ejemplo, se epoxidaron glicales para obtener precursores de oligosacáridos estereorregulares y derivados sustituidos convenientemente ("the glycal assembly method").⁹³

También se describió la utilización de 2,3-anhidro azúcares como intermediarios para obtener oligosacáridos comunes con unidades de Ara^f^{13,94} o Gal^f.⁹⁵

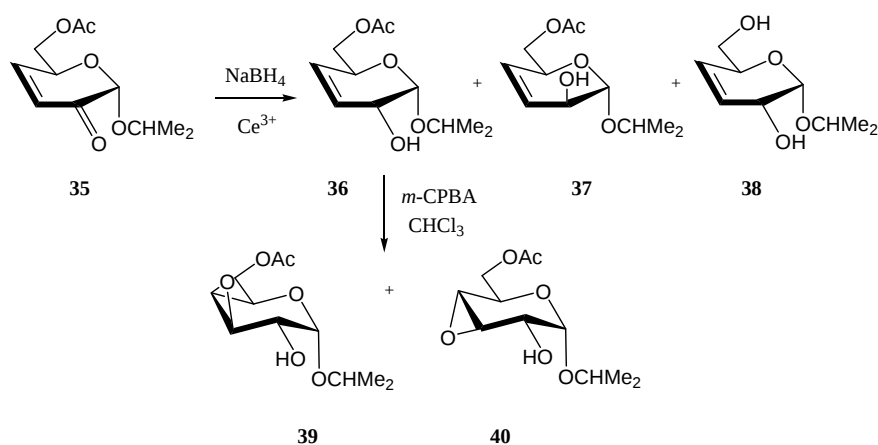
Si nos referimos a disacáridos unidos mediante enlaces *S*-glicosídicos, los ejemplos son muy escasos. El grupo de Hashimoto y col.⁹⁶ sintetizó tiodisacáridos con una unidad de α -L-fucopiranososa en el extremo no reductor, unida (1 $\rightarrow$ 6), (1 $\rightarrow$ 4), y (1 $\rightarrow$ 3) a 2-acetamido-2-desoxi- β -D-glucopiranosido y (1 $\rightarrow$ 2) a β -D-galactopiranosido. El paso clave de esta síntesis fue la apertura de un anillo aziridina u oxirano, utilizando el compuesto **26** como nucleófilo. Por acoplamiento entre **26** y la aziridina **27**, en presencia de metóxido de sodio a reflujo y posterior acetilación, se obtuvo el tiodisacárido **28** y su isómero α -(1 $\rightarrow$ 2) con configuración *D-alto* (**29**). Por desprotección de **28** se obtuvo finalmente el tiodisacárido **30**.

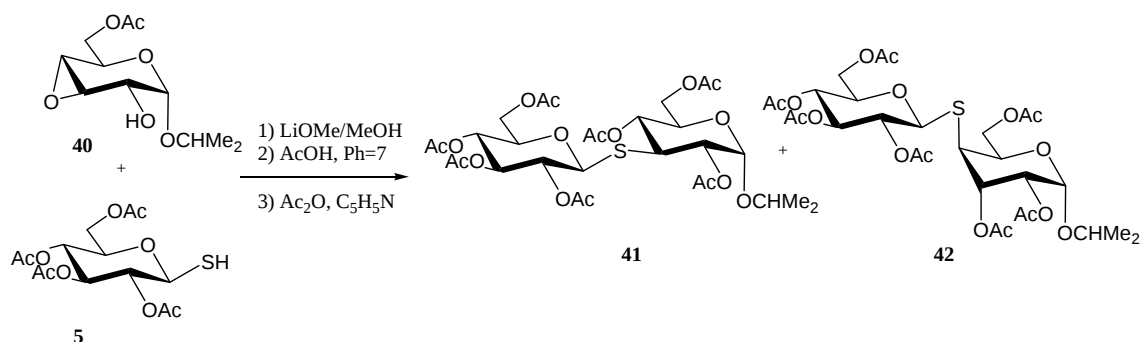
Por otro lado, el acoplamiento entre **26** y 1,6:2,3-dianhidro-D-talopiranososa (**31**) condujo al compuesto de configuración *D-galacto* tiofucosilado en el C-2 (**32**, 87%) y el isómero *D-ido* fucosilado en el C-3 (**33**, 7%). El tiodisacárido unido (1 $\rightarrow$ 2) se convirtió en el β -glicósido **34**. En este último ejemplo se pone de manifiesto la utilidad de la reacción de apertura de epóxidos para la construcción de tiooligosacáridos.



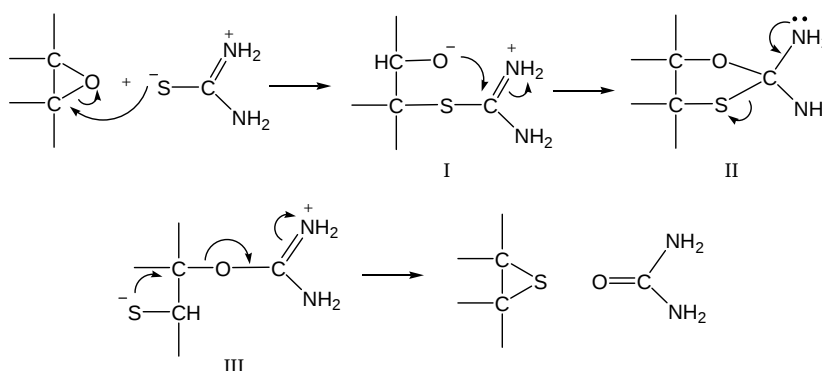


Además, en nuestro laboratorio, se diseñó una ruta sintética para obtener tiodisacáridos unidos (1→3) y (1→4) por apertura de 3,4-epóxidos por una 1-tioaldopiranososa. Los epóxidos precursores se prepararon a partir de enonas de azúcares mediante dos pasos de reacción altamente diastereoselectivos: reducción del carbonilo seguido de epoxidación.⁹⁷



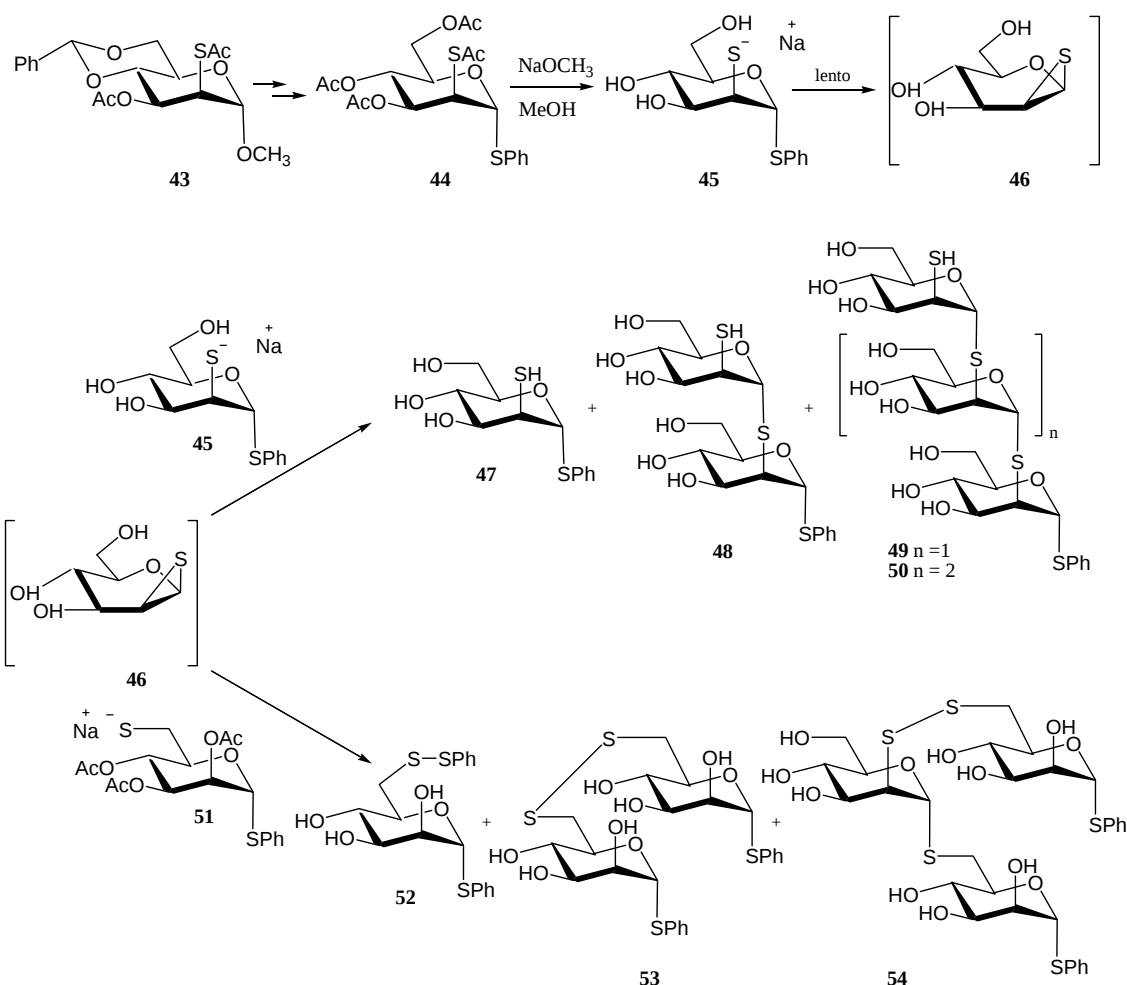


En particular, en esta tesis, nos interesan los epóxidos como precursores de tiiranos, ya que el método más importante de síntesis de estos anillos es la conversión de epóxidos con exceso de tiourea o tiocianatos inorgánicos.⁹⁸ El mecanismo para la reacción con tiourea se describe a continuación:^{99,100}



El último paso, el clivaje de III seguido por la ciclación, es posible si el enlace O—C está debilitado por la presencia de grupos atractores de electrones, como en el caso de sales de *O*-uronio o cianatos; en caso contrario, si al átomo de oxígeno se une un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, no ocurre la ciclación.¹⁰⁰

No hay prácticamente antecedentes de apertura de anillos tiiranos para obtener tiooligosacáridos. Sólo se informó que en condiciones básicas, el fenil 1,2-ditio- α -D-manopiranosido **44** produjo el 1,2-tiirano **46** que luego por oligomerización controlada condujo a una familia de tiooligo- α -D-manopiranosidos (**48–50**) en una única reacción. Por otra parte, si el tiirano **46** reaccionaba con otros tiolatos, como por ejemplo **51**, se obtenía una mezcla de productos (**52–54**).¹⁰¹



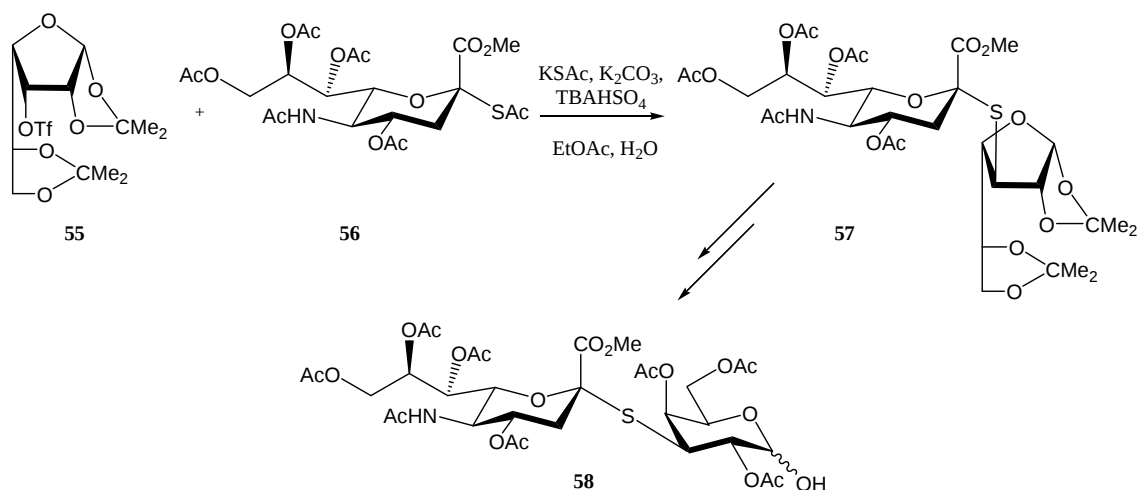
IV. Acoplamiento de tioazúcares catalizados por enzimas

Pueden construirse enlaces tioglicosídicos mediante la utilización de enzimas tales como las glicosidasas mutantes llamadas “tioglicoligasas”. En ellas, el residuo ácido/base catalítico de la glicosidasas comunes, se ha reemplazado por un residuo catalíticamente inactivo. Es por esto que se necesitan donores de glicosilo activados, como los dinitrofenil glicósidos, para que se pueda formar el intermediario glicósido-enzima. Además, se requieren aceptores fuertemente nucleofílicos que no necesiten catálisis básica. Dos glicosidasas mutantes que se han utilizado son: Abg E171A, la β -glucosidasa de *Agrobacterium sp.* y Man2A E429A, la β -manosidasa de *Cellulomonas fimi*.¹⁰²

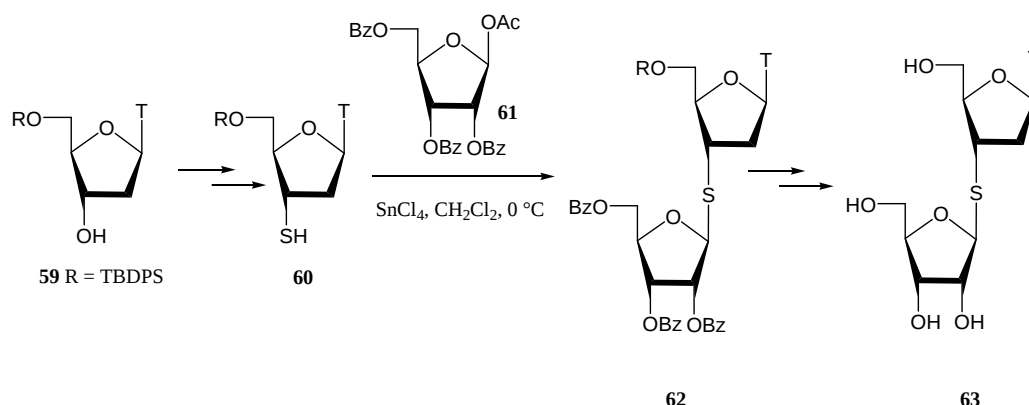
También se han utilizado glicosiltransferasas para sintetizar tiooligosacáridos, que catalizan la transferencia de un residuo de monosacárido desde un donador azúcar

nucleótido activado a un carbohidrato aceptor que contiene un tiol. Como ejemplos de estas enzimas podemos mencionar una α 1,3-galactosiltransferasa y una β 1,3-N-acetil-glucosaminiltransferasa de *Neisseria meningitidis*.¹⁰³

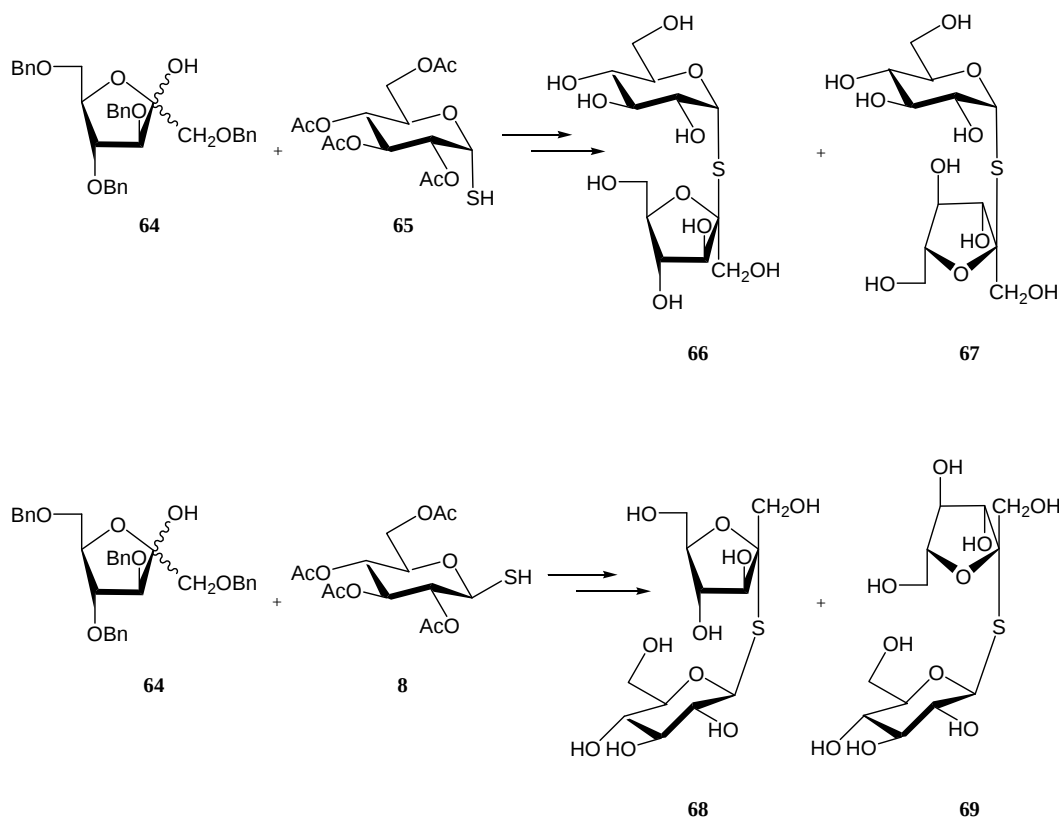
Se han descrito ejemplos de métodos de construcción de enlaces *S*-glicosídicos, según la clasificación que se realizó al comenzar este capítulo. Mediante estos procedimientos se sintetizaron distintos tiooligoscáridos constituidos por unidades de azúcares piranósicos. Pero ¿qué ejemplos encontramos en la literatura de compuestos tioglicosilados que contengan unidades de configuración furanósica? Realmente, estos ejemplos son muy escasos. Podemos mencionar que la 1,2:5,6-di-*O*-isopropiliden-3-*O*-trifil- α -D-gulofuranosa (**55**) se convirtió en el derivado α -(2 $\rightarrow$ 3)-sialil-3-tiogalactofuranósico (**57**), que luego de la desprotección dio origen al isómero galactopiranósico como producto mayoritario (**58**).¹⁰⁴ En este caso la reacción de acoplamiento queda incluida en el grupo II, debido a que ocurre el desplazamiento nucleofílico de un triflato (reacción tipo S_N2).



Asimismo, se informó la síntesis por condensación entre un derivado convenientemente protegido de 3'-tiotimidina y un ribofuranósido activado, de un gliconucleósido que contiene una unión tioglicosídica.¹⁰⁵ Así, el tionucleósido **60**, obtenido a partir de **59**, condensó con la 1-*O*-acetil-2,3,5-tri-*O*-benzoil- β -D-ribofuranosa (**61**) para dar **62**, con un 67% de rendimiento. Por desprotección de **62** se obtuvo **63**.



Además, el grupo de Defaye y col.¹⁰⁶ describió la síntesis de tiodisacáridos que contenían una unidad fructofuranósica. Así, por condensación catalizada por un ácido de Lewis (SnCl_4), entre la 1,3,4,6-tetra-*O*-bencil-D-fuctofuranosa (**64**) y la 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio- α -D-glucopiranososa (**65**), en CH_2Cl_2 y posterior desprotección, obtuvieron 1-tiosucrosa **66** (ó 1-tiosacarosa, β -D-Fru f 1-tio- α -D-Glc p) y su anómero α -D-Fru f 1-tio- α -D-Glc p (**67**). De forma similar, la 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio- β -D-glucopiranososa (**8**) reaccionó con **64** para obtener 1-tioisosucrosa **68** (α -D-Fru f 1-tio- β -D-Glc p) y su anómero β,β **69**.



CAPITULO 3

Objetivos de la Tesis.

Objetivos de la Tesis.

Por tratarse de los componentes mayoritarios de la biomasa renovable y por sus propiedades bioquímicas destacables, los hidratos de carbono han despertado un inusitado interés en la comunidad científica. Los hidratos de carbono (azúcares) forman parte de los reservorios de energía en seres vivos, la cual es liberada por procesos metabólicos y también participan en procesos de reconocimiento celular, adhesión, inmunodeterminación, etc. Asimismo, los hidratos de carbono forman parte de glicoproteínas, glicolípidos y ácidos nucleicos, todas ellas moléculas esenciales para la vida. Una característica importante de los monosacáridos es la alta densidad de estereocentros en relación al número relativamente bajo de carbonos (en general, cinco o seis), por lo cual son precursores quirales útiles en la síntesis de productos bioactivos y productos naturales complejos.

En el área de la glicobiología la búsqueda de nuevos inhibidores enzimáticos y miméticos de azúcares estables a la acción de enzimas hidrolíticas ha conducido al desarrollo de análogos de oligosacáridos en los cuales el oxígeno interglicosídico se ha sustituido por azufre u otros heteroátomos. Los tioglicósidos resultantes son glicomiméticos usualmente resistentes a los procesos metabólicos.^{62,71} También suelen ser reconocidos por enzimas y al alojarse en sus sitios activos pueden inhibir la actividad biológica de las mismas. En particular, numerosos tiooligosacáridos han sido descritos como potentes inhibidores de glicosidasas. Por estos motivos la síntesis de tiooligosacáridos ha atraído considerable atención. En la literatura se describen numerosas rutas generales para enlazar mediante un átomo de azufre unidades de azúcares de configuración piranósica.^{71,77,84} Dada la importancia de los tiooligosacáridos como inhibidores enzimáticos y que prácticamente no se encuentran ejemplos de tiodisacáridos y tiooligosacáridos de azúcares furanósicos se planteó como objetivo general de esta tesis el diseño y síntesis de tiodisacáridos constituidos por al menos una unidad furanósica (pentofuranosa o hexofuranosa) para ser evaluados como posibles inhibidores enzimáticos.

Los azúcares en configuración furanósica se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. La ribofuranosa forma parte de los ácidos nucleicos y la arabinofuranosa se encuentra en bacterias del suelo, hongos y plantas.²¹ La arabinosa y la galactosa son constituyentes en estructuras furanósicas de polisacáridos de micobacterias, en particular de *Mycobacterium tuberculosis*, el agente causante de la tuberculosis.¹² La Galf es esencial para la sobrevivencia o virulencia de varios microorganismos patogénicos^{17,107} pero está ausente en mamíferos. La degradación de los glicoconjugados que contienen Galf, es llevada a cabo en algunos microorganismos, por una β -D-galactofuranosidasa, la cual es un blanco interesante para la acción de inhibidores de la misma. Se presume que la inhibición de las enzimas involucradas en la biosíntesis o degradación de dichos polifuranósidos evitaría la proliferación de las micobacterias, protozoarios u hongos. Además, estos inhibidores serían inocuos para los mamíferos, ya que éstos no procesan Galf.

Por estos motivos, en este trabajo, se desarrollaron metodologías generales de síntesis de tiooligosacáridos que contengan azúcares furanósicos, en particular Galf y Araf. Las unidades furanósicas podrían localizarse tanto en el extremo reductor como el no reductor de los tiodisacáridos. También se propone sintetizar tiodisacáridos constituidos exclusivamente por azúcares furanósicos.

Específicamente se evaluarán metodologías para la síntesis de tiodisacáridos con unidades furanósicas, que involucren las siguientes reacciones claves:

- Adición conjugada de 1-tioaldosas a azúcares aceptores de Michael.
- Reacciones de trans-tioglicosilación.
- Reacciones de sustitución nucleofílica.
- Reacciones de apertura de tiiranos de azúcares por una 1-tioaldosa.

Bibliografía.

1. Euzen, R.; Ferrières, V.; Plusquellec, D. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 2759–2768. Peltier, P.; Euzen, R.; Daniellou, R.; Nugier-Chauvin, C.; Ferrières, V. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1798–1923.
2. Lowary, T. L. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2003**, *7*, 749–756.
3. Miletto, L. C.; Marino, C.; Mariño, K.; de Lederkremer, R. M.; Colli, W.; Alves, M. J. M. *Carbohydr. Res.* **1999**, *320*, 176–182.
4. Rose, N. L.; Completo, G. C.; Lin, S. J.; McNeil, M.; Palcic, M. M.; Lowary, T. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6721–6729.
5. Wing, C.; Errey, J. C.; Mukhopadhyay, B.; Blanchard, J. S.; Field, R. A. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 3945–3950.
6. Chad, J. M.; Sarathy, K. P.; Gruber, T. D.; Addala, E.; Kiessling, L. L.; Sanders, D. A. R. *Biochemistry* **2007**, *46*, 6723–6732.
7. Kleczka, B.; Lamerz, A.-C.; van Zandbergen, G.; Wenzel, A.; Gerardy-Schahn, R.; Wiese, M.; Routier, F. H. *J. Biol. Chem.* **2007**, *282*, 10498–10505.
8. Collins, P.; Ferrier, R. *Monosaccharides. Their Chemistry and their Roles in Natural Products*; John Wiley and Sons Ltd, **1995**, pp 4–57.
9. Thibaudeau, C.; Foldesi, A.; Chattopadhyaya, J. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 1867–1900.
10. Luyten, I.; Thibaudeau, C.; Chattopadhyaya, J. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8800–8808.
11. Plavec, J.; Tong, W.; Chattopadhyaya, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9734–9746.
12. Houseknecht, J. B.; Lowary, T. L. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2001**, *5*, 677–682.
13. Callam, C. S.; Gadikota, R. R.; Krein, D. M.; Lowary, T. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13112–13119.
14. Houseknecht, J. B.; Lowary, T. L. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4150–4164.

15. Houseknecht, J. B.; McCarren, P. R.; Lowary, T. L.; Hadad, C. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 8811–8824.
16. Brennan, P. J.; Nikaido, H. *Annu. Rev. Biochem.* **1995**, *64*, 29–63.
17. Pedersen, L. L.; Turco, S. J. *Cell. Mol. Life Sci.* **2003**, *60*, 259–266.
18. de Lederkremer, R. M.; Colli, W. *Glycobiology* **1995**, *5*, 547–552.
19. Kamphuis, H. J.; Notermans, S.; Veeneman, G. H.; van Boom, J. H.; Rombouts, F. M. In *Fungal Cell Wall and Immune Response*, Latgé, J. P.; Boucias, D.; NATO ASI Series, **1991**; H53, pp. 157–167.
20. Tungland, B. C. *ACS Symp. Ser.* **2003**, *849*, 135–152.
21. Minic, Z.; Do, C.-T.; Rihouey, C.; Morin, H.; Lerouge, P.; Jouanin, L. *J. Exp. Bot.* **2006**, *57*, 2339–2351.
22. Besra, G. S.; Khoo, K. H.; McNeil, M. R.; Dell, A.; Morris, H. R.; Brennan, P. J. *Biochemistry* **1995**, *34*, 4257–4266.
23. Lowary, T. L. In *Glycoscience I–III*; Fraser-Reid, B.; Tatsuda, K.; Thiem, J., Eds.; Springer: Berlin, Heidelberg, New York, **2001**; pp 2005–2080.
24. Pan, F.; Jackson, M.; Ma, Y.; McNeil, M. *J. Bacteriol.* **2001**, *183*, 3991–3998.
25. McConville, M. J.; Ferguson, M. A. J. *Biochem. J.* **1993**, *294*, 305–324.
26. Carreira, J. C.; Jones, C.; Wait, R.; Previato, J. O.; Mendonça-Previato, L. *Glycoconjugate J.* **1996**, *13*, 955–966.
27. Ng, K.; Handman, E.; Bacic, A. *Biochem. J.* **1996**, *317*, 247–255.
28. Sacks, D. L.; Modi, G.; Rowton, E.; Spath, G.; Epstein, L.; Turco, S. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2000**, *97*, 406–411.
29. Ilg, T. *Med. Microbiol. Immunol.* **2001**, *190*, 13–17.
30. Xavier Da Silveira, E.; Jones, C.; Wait, R.; Previato, J. O.; Mendonça-Previato, L. *Biochem. J.* **1998**, *329*, 665–673.
31. Parra, E.; Jiménez-Barbero, J.; Bernabé M.; Leal, J. A.; Prieto, A.; Gomez-Miranda, B. *Carbohydr. Res.* **1994**, *251*, 315–325.

32. Prieto, A.; Rupérez, A.; Hernández-Barranco, A.; Leal, J. A. *Carbohydr. Res.* **1988**, *177*, 265–272.
33. Rietschel-Berst, M.; Jentoft, N. H.; Rick, P. D.; Pletcher, C.; Fang, F.; Gander, J. E. *J. Biol. Chem.* **1977**, *252*, 3219–3226.
34. Daley, L. S.; Ströbel, G. A. *Plant Sci. Lett.* **1983**, *30*, 145–154.
35. Cousin, M. A.; Notermans, S.; Hoogerhout, P.; Van Boom, J. H. *J. Appl. Bacteriol.* **1989**, *66*, 311–317.
36. Wallis, G.-L.; Hemming, F. W.; Pederby, J. F. *Biochim. Biophys. Acta* **2001**, *1525*, 19–28.
37. Golgher, D. B.; Colli, W.; Souto-Padron, T.; Zingales, B. *Mol. Biochem. Parasitol.* **1993**, *60*, 249–264.
38. Stevenson, G.; Neal, B.; Liu, D.; Hobbs, M.; Packer, N. H.; Batley, M.; Redmond, J. W.; Lindquist, L.; Reeves, P. *J. Bacteriol.* **1994**, *176*, 4144–4156.
39. Whitfield, C. *Trends Microbiol.* **1995**, *3*, 178–185.
40. Linnerborg, M.; Weintraub, A.; Widmalm, G. *Eur. J. Biochem.* **1999**, *266*, 460–466.
41. Clarke, A. J.; Bronner, D.; Keenleyside, W. J.; Severn, W. B.; Richards, J. C.; Whitfield, C. *J. Bacteriol.* **1995**, *177*, 5411–5418.
42. Michael, F. S.; Szymanski, C. M.; Li, J.; Chan, K. H.; Khieu, N. H.; Larocque, S.; Wakarchuk, W. W.; Brisson, J.-R.; Monteiro, M. A. *Eur. J. Biochem.* **2002**, *269*, 5119–5136.
43. Abeygunawardana, C.; Bush, C. A.; Cisar, J. O. *Biochemistry* **1990**, *29*, 234–248.
44. Abeygunawardana, C.; Bush, C. A.; Cisar, J. O. *Biochemistry* **1991**, *30*, 6528–6540.
45. Bax, A.; Summers, M. F.; Egan, W.; Guirgis, N.; Schneerson, R.; Robbins, J. B.; Ørskov, F.; Ørskov, I.; Vann, W. F. *Carbohydr. Res.* **1988**, *173*, 53–64.

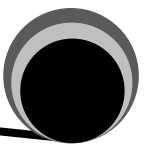
46. Lipinski, T.; Jones, C.; Lemercinier, X.; Korzeniowska- Kowal, A.; Strus, M.; Rybka, J.; Gamian, A.; Piotr, B. H. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 605–609.
47. Faber, E. J.; van den Haak, M. J.; Kamerling, J. P.; Vliegenthart, J. F. G. *Carbohydr. Res.* **2001**, *331*, 173–182.
48. Gerwig, G. J.; Kamerling, J. P.; Vliegenthart, J. F. G.; Morag-Morgenstern, E.; Lamed, R.; Bayer, E. A. *Eur. J. Biochem.* **1991**, *196*, 115–122.
49. Ahrazem, O.; Prieto, A.; Leal, J. A.; Jiménez-Barbero, J.; Bernabé, M. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 1503–1506.
50. La Ferla, B.; Bugada, P.; Cipolla, L.; Peri, F.; Nicotra, F. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, *11*, 2451–2470. Butters, T. D.; Dwek, R. A.; Platt, F. M. *Curr. Top. Med. Chem.* **2003**, *3*, 561–574. Asano, N.; Nash, R. J.; Molyneux, R. J.; Fleet, G. W. J. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 1645–1680. Heightman, T. D.; Vasella, A. *T. Angew. Chem., Int. Ed.* **1999**, *38*, 750–770.
51. Kovensky, J.; McNeil, M.; Sinay, P. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 6202–6205.
52. Lee, R. E.; Smith, M. D.; Nash, R. J.; Griffiths, R. C.; McNeil, M.; Grewal, R. K.; Yan, W.; Besra, G. S.; Brennan, P. J.; Fleet, G. W. J. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 6733–6736.
53. Zhang, Q.; Liu, H. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6756–6766.
54. Ghavami, A.; Chen, J. J.-W.; Mario Pinto, B. *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 401–407.
55. Veerapen, N.; Yuan, Y.; Sanders, D. A. R.; Pinto, B. M. *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 2205–2217.
56. Marino, C.; Mariño, K.; Miletto, L.; Julia, M.; Alves, M.; Colli, W.; De Lederkremer, R. M. *Glycobiology* **1998**, *8*, 901–904.
57. Mariño, K.; Marino, C. *ARKIVOC* **2005**, 341–351.
58. Witczak, Z. J.; Sun, J.; Mielgaj, R. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 2169–2174.

59. Defaye, J.; Gelas, J. in Atta-ur-Rahman (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry*, Vol 8E, Elsevier, Amsterdam, **1991**, pp. 315–357.
60. Hutson, D.M. *J. Chem. Soc. C* **1967**, 442–444.
61. Blanc-Muesser, M.; Defaye, J.; Driguez, H. *Tetrahedron Lett.* **1976**, *47*, 4307–4310.
62. Driguez, H. *Top. Curr. Chem.* **1997**, *187*, 85–116.
63. Witczak, Z. J.; Boryczewski, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 3265–3268.
64. Witczak, Z. J.; Culhane, J. M.; *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2005**, *69*, 237–244.
65. Mazeau, K.; Tvaroska, I. *Carbohydr. Res.* **1992**, *225*, 27–41.
66. Bock, K.; Duus, J. Ø.; Refn, S. *Carbohydr. Res.* **1994**, *253*, 51–67.
67. Nilsson, U.; Johansson, R.; Magnusson, G. *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 295–302.
68. Aguilera, B.; Jiménez-Barbero, J.; Fernández-Mayoralas, A. *Carbohydr. Res.* **1998**, *308*, 19–27.
69. Bock, K.; Defaye, J.; Driguez, H.; Bar-Guilloux, E. *Eur. J. Biochem.* **1983**, *131*, 595–600.
70. Geyer, A.; Hummel, G.; Eisele, T.; Reinhardt, S.; Schmidt, R. R. *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 981–988.
71. Driguez, H. *ChemBioChem* **2001**, *2*, 311–318.
72. Perez, S.; Vergelati, C. *Acta Crystallogr. Sect. B* **1984**, *40*, 294–299.
73. Fahey, J. W.; Zalcman, A. T.; Talalay, P. *Phytochemistry* **2001**, *56*, 5–51.
74. Baddiley, J.; Cantoni, G. L.; Jamieson, G. A. *J. Chem. Soc.* **1953**, 2662–2664.
75. Cimino, G.; Crispino, A.; De Stefano, S.; Gavagnin, M.; Sodano, G. *Experientia* **1986**, *42*, 1301–1302.
76. Capon, R. J.; MacLeod, J. K. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1987**, 1200–1201.
77. Szilágyi, L.; Varela, O. *Curr. Org. Chem.* **2006**, *10*, 1–26.
78. Witczak, Z. J. in Atta-ur-Rahman (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry*, Vol. 14, Elsevier, Amsterdam, **1994**, 268–282.

79. Shafizadeh, F.; Furneaux, R. H.; Stevenson, T. T. *Carbohydr. Res.* **1979**, *71*, 169–191.
80. Essig, M. G. *Carbohydr. Res.* **1986**, *156*, 225–231.
81. Witczak, Z. J.; Chhabra, R.; Chen, H.; Xie, X.- Q. *Carbohydr. Res.* **1997**, *301*, 167–175.
82. Witczak, Z. J.; Chen, H.; Kaplon, P. *Tetrahedron: Asymm.* **2000**, *11*, 519–532.
83. Lauer, G.; Oberdorfer, F. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 271–272.
84. Pachamuthu, K.; Schmidt, R. R. *Chem.. Rev.* **2006**, *106*, 160–187
85. Blanc-Muesser, M.; Defaye, J.; Driguez, H. *Carbohydr. Res.* **1978**, *67*, 305–328.
86. Defaye, J.; Guillot, J.-M. *Carbohydr. Res.* **1994**, *253*, 185–194.
87. Schou, C. Rasmussen, G.; Schulein, M.; Henrissat, B.; Driguez, H. *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, *12*, 743–752.
88. Moreau, V.; Norrild, J. C.; Driguez, H. *Carbohydr. Res.* **1997**, *300*, 271–277.
89. Horton, D. *Methods Carbohydr. Chem.* **1963**, *2*, 433–437. Horton, D.; Wolfrom, M. L. *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 1794–1800.
90. Wang, L.- X.; Lee, Y. C. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1996**, 581–591.
91. Ding, Y.; Contour-Galcerà, M.- O.; Ebel, J.; Ortiz-Mellet, C.; Defaye, J. *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 1143–1152.
92. Review: Èerny',M. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2003**, *58*, 122–198. Chini, M.; Crotti, P.; Gardelli, C.; Macchia, F. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4131–4137. Vaman Rao, M.; Nagarajan, M. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 1184–1191.
93. Spassova, M. K.; Bornmann, W. G.; Ragupathi, G.; Sukenick, G.; Livingston, P. O.; Danishefsky, S. J. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 3383–3395. Danishefsky, S. J.; Bilodeau, M. T. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1996**, *35*, 1381–1419. Danishefsky, S. J.; Behar, V.; Randolph, J. T.; Lloyd, K. O. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5701–5711.

94. Cociorva, O. M.; Lowary, T. L. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 1481–1489. Gadikota, R. R.; Callam, C. S.; Wagner, T.; Del Fraino, B.; Lowary, T. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4155–4165. Gadikota, R. R.; Callam, C. S.; Lowary, T. L. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 607–610.
95. Bai, Y.; Lowary, T. L. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 9658–9671.
96. Hashimoto, H.; Shimada, K.; Horito, S. *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, *5*, 2351–2366. Hashimoto, H.; Shimada, K.; Horito, S. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 4953–4956.
97. Manzano, V. E.; Uhrig, M. L.; Varela, O. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7224–7235.
98. Dachlauer, K.; Jackel, L. French Patent 797,621, **1936**; German Patent 636,708, **1936**; British Patent 465,662, **1937**; U. S. Patents 2,094,837 and 2,094,914, **1937**; *Chem. Abst.*, **1936**, *30*, 7122.
99. Bordwell, F. G.; Andenen, H. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 4959–4962.
100. Culvenor, C. C. J.; Davies, W.; Savige, W. E. *J. Chem. Soc.* **1952**, 4480–4486.
101. Knapp, S.; Malolanarasimha, K. *Org. Lett.* **1999**, *1*, 611–613.
102. Jahn, M.; Marles, J.; Warren, R. A. J.; Withers, S. G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 352–354.
103. Rich, J. R.; Szpacenko, A.; Palcic, M. M.; Bundle, D. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 613–615.
104. Turnbull, W. B.; Field, R. A. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2000**, 1859–1866.
105. Buckingham, J.; Brazier, J. A.; Fisher, J.; Cosstick, R. *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 16–22.
106. Defaye, J.; Driguez, H.; Poncet, S.; Chambert, R.; Petit-Glatron, M-F. *Carbohydr. Res.* **1984**, *130*, 299–315.
107. Kremer, L.; Dover, L. G.; Morehouse, C.; Hitchin, P.; Everett, M.; Morris, H. R.; Dell, A.; Brennan, J.; MacNeil, M. R.; Flaherty, C.; Duncan, K.; Besra, G. S. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 26430–26440.

CAPITULO 4



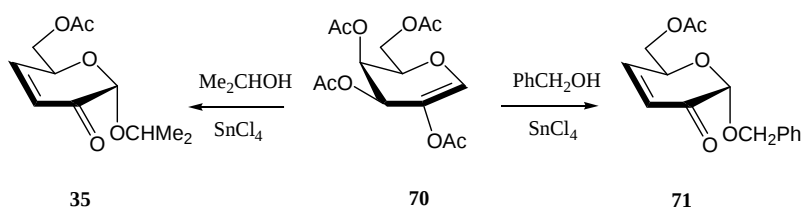
Síntesis de tiodisacáridos mediante reacciones de adición
conjugada

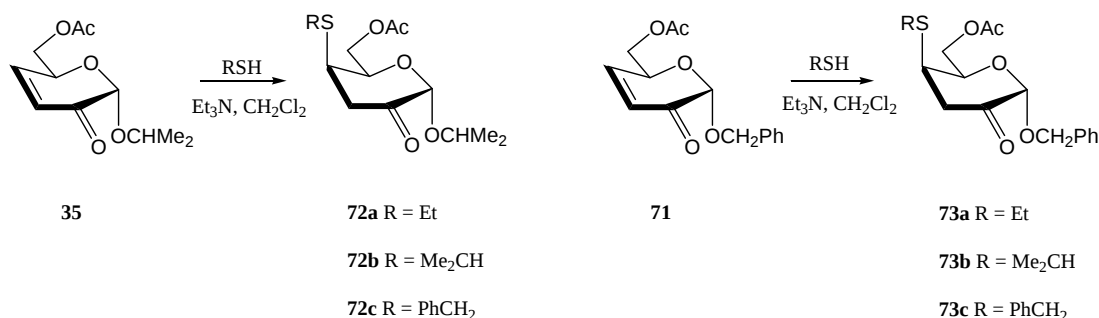
Síntesis de tiodisacáridos mediante reacciones de adición conjugada

4.1. Introducción.

Las enonas de azúcares son bloques de construcción quirales, útiles para la síntesis de productos naturales y moléculas biológicamente activas.¹ Su utilidad se debe a que poseen un reducido número de grupos funcionales hidroxilo y de estereocentros, en comparación con los correspondientes monosacáridos. Además, poseen una insaturación olefínica conjugada con un grupo carbonilo, sobre el cual pueden llevarse a cabo una gran variedad de reacciones.² La más popular de las enonas es la levoglucosenona (1,6-anhidro-3,4-didesoxi- β -D-*glicero*-hex-3-enopiranosid-2-ulosa), que ha sido ampliamente utilizada como un sintón quiral en la síntesis de hidratos de carbono y otras moléculas.³ Se ha estudiado la adición de Michael de tioles a la levoglucosenona^{4,5} y como se reseñó en el capítulo 2, el grupo de Witczak⁶ describió una aproximación sintética elegante de (1 $\rightarrow$ 4)-*S*-tiodisacáridos, basándose en la adición de Michael de 1-tioazúcares a levoglucosenona e isolevoglucosenona.

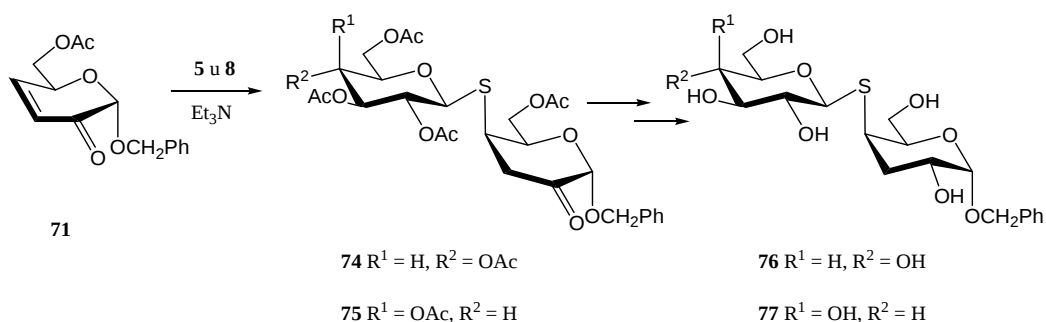
En nuestro laboratorio se estudió la adición de tioles a enonas de azúcares (dihidropirranonas) con configuración en el carbono anomérico opuesta a la de levoglucosenona. Las dihidropirranonas como, **35** o **71**, se prepararon en un único paso a partir de per-*O*-acetil-2-acetoxiglicales derivados de hexosas mediante una glicosidación promovida por tetracloruro de estaño.⁷ Esta reacción, descrita por nuestro grupo, permitió acceder a cantidades de enonas en escala preparativa sin necesidad de recurrir a sucesivos pasos de protección selectiva, oxidación y eliminación en monosacáridos comunes.



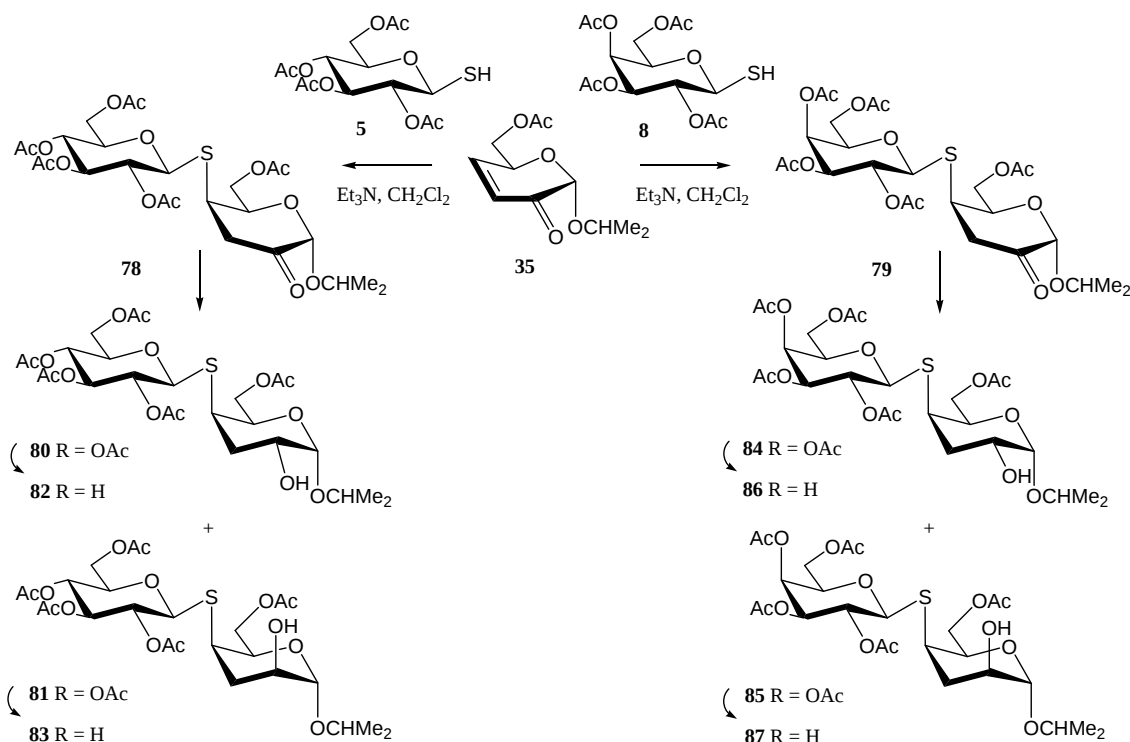


Las enonas **35** y **71** experimentaron adiciones 1,4 altamente diastereoselectivas de tioles comunes en posición *anti* con respecto al sustituyente anomérico. La alta diastereoselectividad para la adición conjugada de tioles al sistema carbonílico α,β insaturado de **35** y **71** se justificó por el impedimento estérico ejercido por el sustituyente anomérico axial, el cual induce el ataque al C-4 por la cara opuesta.⁸

También citaremos como antecedentes las adiciones de Michael sobre la enona **71** de las 1-tioaldosas **5** u **8** para obtener **74** o **75**, respectivamente. Estos compuestos se redujeron y *O*-desacetilaron para obtener **76** y **77**, tiodisacáridos con configuración 3-desoxi- α -D-*galacto* en el extremo reductor.

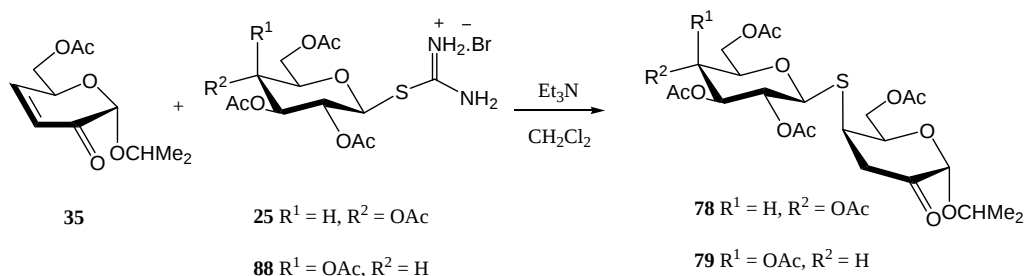


Similarmente la enona **35** reaccionó con los mismos tioazúcares **5** y **8** mencionados anteriormente, para dar las 3-desoxi-4-*S*-glicosil-4-tiohexopiranosid-2-ulosas (**78** y **79**) con rendimientos mayores al 80%.⁹ Por reducción del grupo carbonilo de **78** y **79** se produjo la mezcla de diastereoisómeros esperados, siendo los productos mayoritarios **80** y **84** y los minoritarios **81** y **85**. Todos ellos se desacetilaron para transformarse en los correspondientes tiodisacáridos libres **82**, **83**, **86** y **87**.



También se describió otra metodología para sintetizar los mismos compuestos **78** y **79**, a partir de sales de isotiuronio, las cuales se prepararon por el procedimiento descrito por el grupo de Ibatullin.¹⁰⁻¹² Dichas sales de isotiuronio se convirtieron en tioglicósidos, tiooligosacáridos y glicosiltioésteres. Los tiodisacáridos ó tiooligosacáridos se prepararon por reacción de un bromuro de *S*-glicosil isotiourea con un derivado triflato en la posición 4 de un monosacárido, mediante una reacción promovida por Et_3N .¹² Esta base convertía la *S*-glicosil isotiourea en 1-tioaldosa, la cual desplazaba nucleofílicamente al grupo saliente (triflato) en C-4 del otro monosacárido, para generar el enlace tioglicosídico en un proceso “one-pot”.

Dado que las adiciones de Michael llevadas a cabo en nuestro laboratorio también eran promovidas por Et_3N , se exploró el acoplamiento in situ de las sales de glicosil isotiourea **25** y **88** con el aceptor de Michael **35**. Estas glicosilisotioureas se prepararon fácilmente a partir del bromuro de tetra-*O*-acetil- α -D-galactopiranosilo, o de su análogo de configuración α -D-*gluco* y tiourea.¹³ En este caso los tiodisacáridos **78** y **79** se obtuvieron también con rendimientos mayores al 80%.



4.2. Tiodisacáridos con unidades furanósicas en el extremo no reductor.

Hasta aquí, junto con los casos citados en el capítulo 2, se realizó una revisión de trabajos en los cuales se han sintetizado tiodisacáridos mediante adiciones de Michael. En todas las metodologías descriptas se han utilizado 1-tioazúcares en configuración piranósica. Pero no se encontraban ejemplos en literatura de adiciones de Michael para generar tiodisacáridos con unidades furanósicas.

En esta tesis se describe como primer ruta de síntesis de tiodisacáridos, la reacción de Michael sobre la enona **35** (2-propil 6-*O*-acetil-2,3-dideoxi- α -D-*glicero*-hex-3-enopiranosid-2-ulosa) de donores de glicosilo en configuración furanósica (1-tiofuranosas). Se utilizó la enona **35** como molécula aceptora para la adición 1,4 y se fue variando la configuración del azúcar donador: arabinosa, ribosa, xilosa y galactosa, todas ellas en configuración furanósica (Fig. 10).

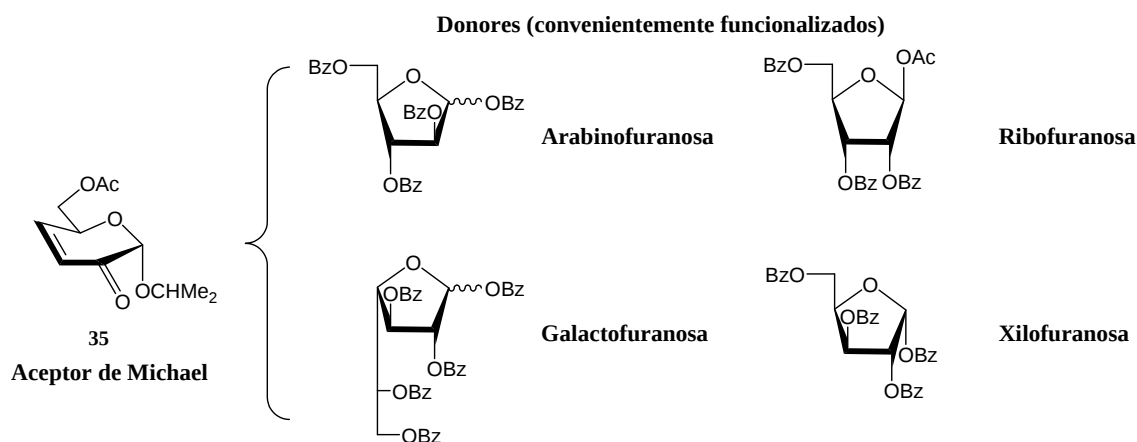


Figura 10.

Este método para construir enlaces tioglicosídicos requería transformar los azúcares furanósicos peracilados (que se muestran en la Fig. 10) en las correspondientes sales de isotiouronio, como precursores de 1-tioaldosas. Sin embargo, los procedimientos que suelen ser satisfactorios para sintetizar 1-tiopiranosas, no resultaron adecuados para las 1-tiofuranosas, las cuales autocondensaban para dar disulfuros y producían otras reacciones secundarias.¹⁴ Por eso no se pudo obtener la 1-tiofuranosa con el grupo tiol libre en C-1 listo para reaccionar con la enona o con otro aceptor de tioglicosilo. Se consideró entonces utilizar las sales de isotiouronio (ó *S*-glicosilisotioureas) de furanosas como 1-tiofuranosas enmascaradas. Se sabía que para las piranosas, sus derivados de *S*-glicopiranosil isotiurea pueden prepararse fácilmente partiendo de 1,2-*trans*-glicopiranosil acetatos.¹⁰⁻¹² También en nuestro laboratorio habíamos encontrado que las 1-tioaldopiranosas, generadas in situ a partir de los derivados de *S*-glicopiranosil isotiurea, podían ser atrapados por una enona de azúcar para dar el correspondiente tiodisacárido.⁹

Se comenzó trabajando con la 1-*O*-acetil-2,3,5-tri-*O*-benzoil- β -D-ribofuranosa (**89**), que es un producto asequible comercialmente. La misma se trató con tiourea y $F_3B.OEt_2$ para dar la *S*-glicosilisotiurea **90**. La configuración en el carbono anomérico de **90** se asignó mediante su espectro de RMN-¹H (Fig. 11), realizado a partir de una fracción del crudo a la que simplemente se le evaporó el solvente. Dicho espectro mostraba un valor de $J_{1,2} = 3,7$ Hz, lo cual sugiere una configuración anomérica β . (Esta asignación se justificará posteriormente en el análisis de los espectros de los tiodisacáridos que se obtienen como productos de la adición).

El tratamiento de **90** con Et_3N condujo a la formación in situ de la tioaldofuranosa **91**, como intermediario no aislado, que se adicionó 1,4 a la enona **35** para dar los tiodisacáridos **92** y **93**.

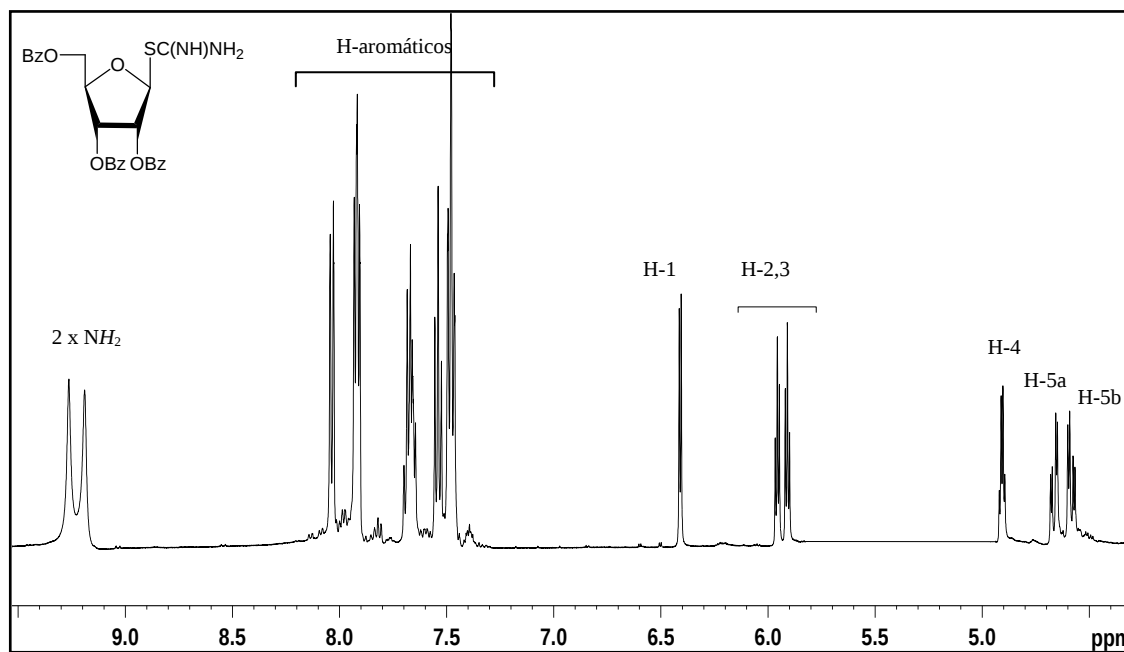
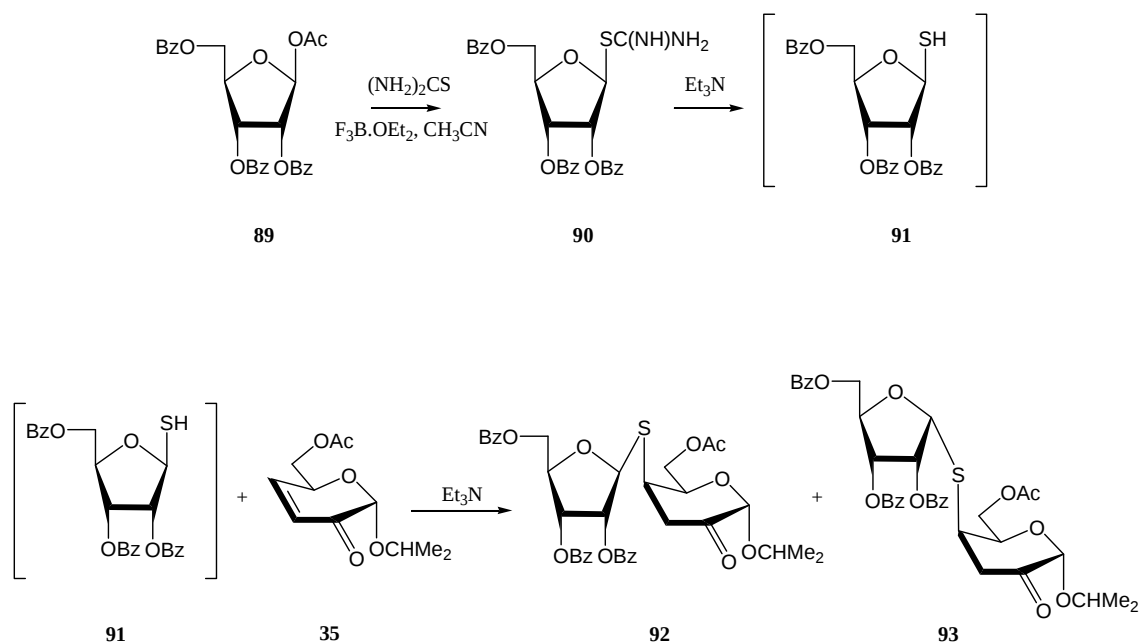


Figura 11a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 90 con supresión del pico de agua.

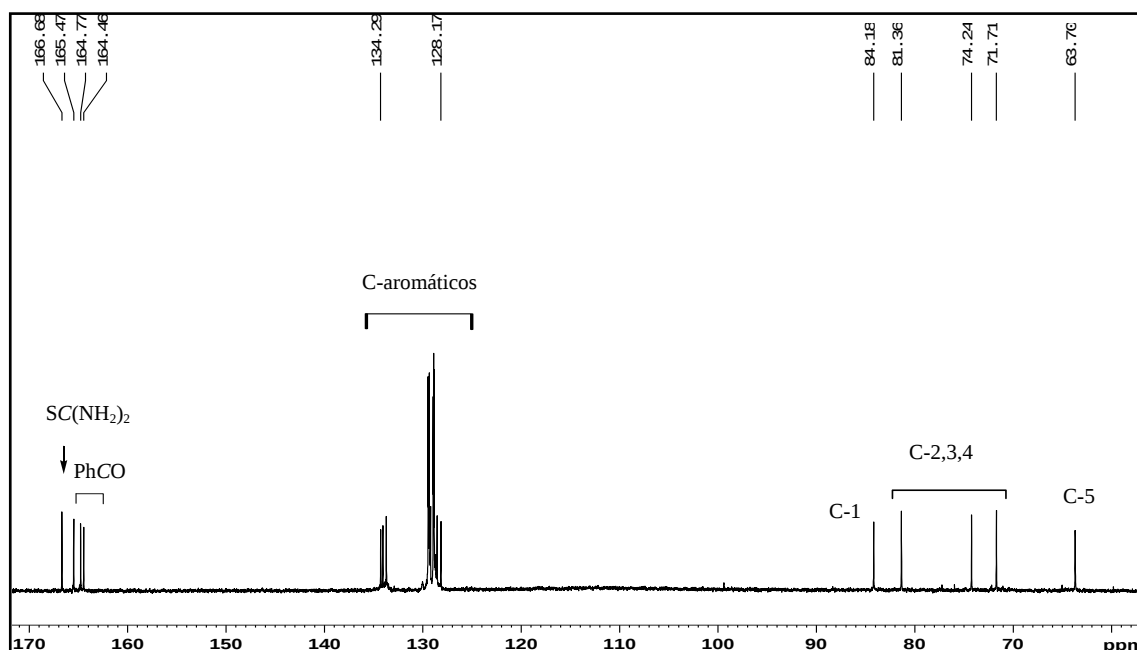
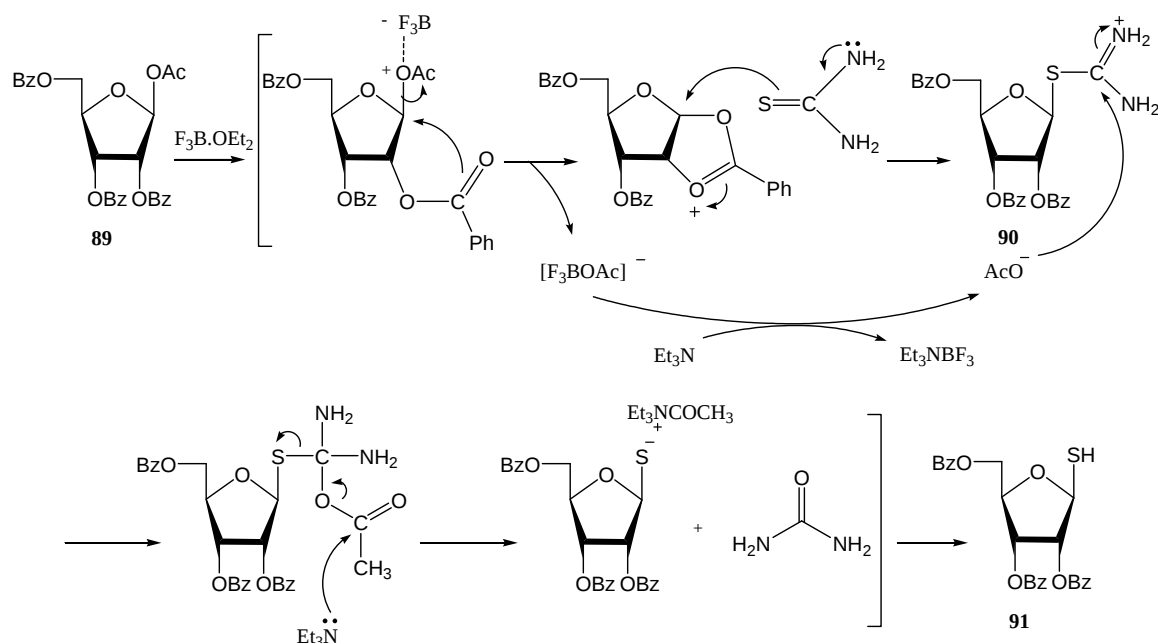


Figura 11b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 90.

En el esquema 2 se muestran los pasos de reacción factibles que conducen a la 1-tioaldofuranosa **91** a partir del azúcar peracilado **89**.



Esquema 2. Mecanismo propuesto para la reacción de azúcares peracetilados con tiourea, catalizada por $\text{F}_3\text{B}.\text{OEt}_2$.

La adición resultó ser altamente diastereoselectiva, y tuvo lugar en ambos casos por la cara superior de la enona, opuesta a la que contiene al sustituyente anomérico.

La mezcla de tiodisacáridos se separó por columna cromatográfica, aunque se observaron pequeñas cantidades de enona de partida, posiblemente debido a que la reacción retro-Michael tenga lugar durante el proceso cromatográfico. La configuración del estereocentro en el C-4 de los compuestos **92** y **93** se estableció como *R*, debido a que sus espectros de RMN- ^1H mostraron constantes de acoplamiento pequeñas entre el H-4 y los protones del metileno adyacente, H-3 axial y H-3 ecuatorial (cabe aclarar que dichos hidrógenos, vecinos al grupo carbonilo, ocupan en realidad una posición cuasi axial y cuasi ecuatorial respectivamente, pero se nombrarán de aquí en más como H-3ax y H-3ec). Así, se observó para **92**: $J_{\text{ec},4} = 2,0$, $J_{\text{ax},4} = 4,7$ Hz; y para **93**: $J_{\text{ec},4} = 2,0$, $J_{\text{ax},4} = 3,8$ Hz. Estos valores indicaban que el enlace C-4–H-4 bisectaba el ángulo formado por los H-3ax y H-3ec y establecía una configuración α -D-*treo* para el fragmento hexopiranosid-2-ulosa. Dado que se observaron diferencias sustanciales para las constantes de acoplamiento de los protones anoméricos de las unidades 1-tiofuranósicas de **92** y **93**, se infirió que había ocurrido un proceso de anomerización durante el transcurso de la reacción, dando origen al tiodisacárido minoritario **93**.

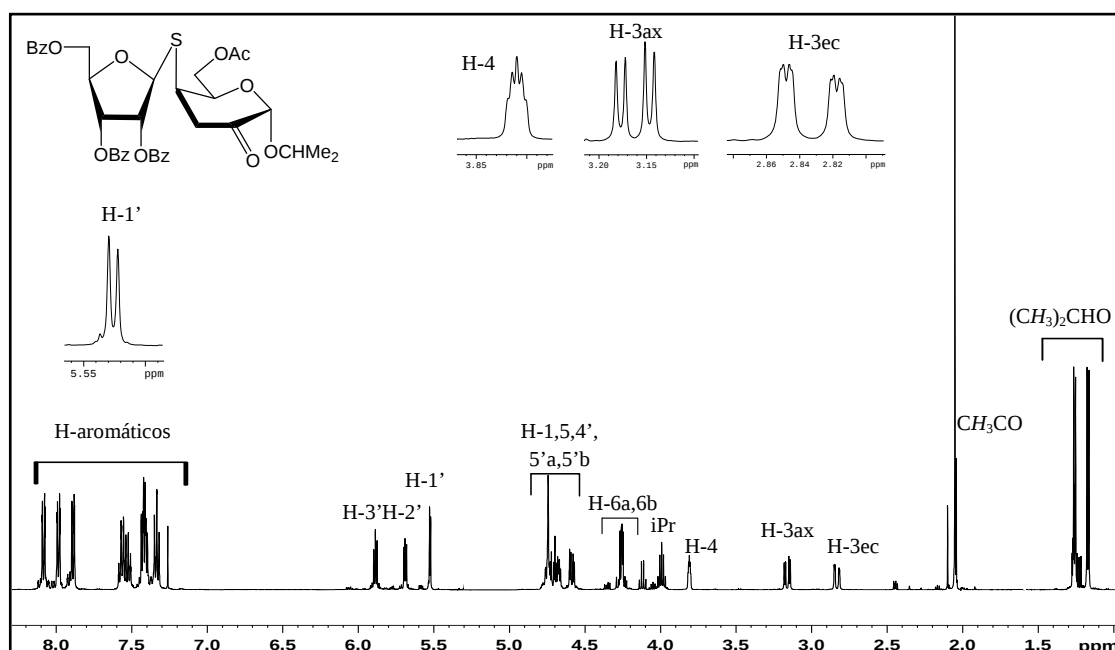


Figura 12a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **92**.

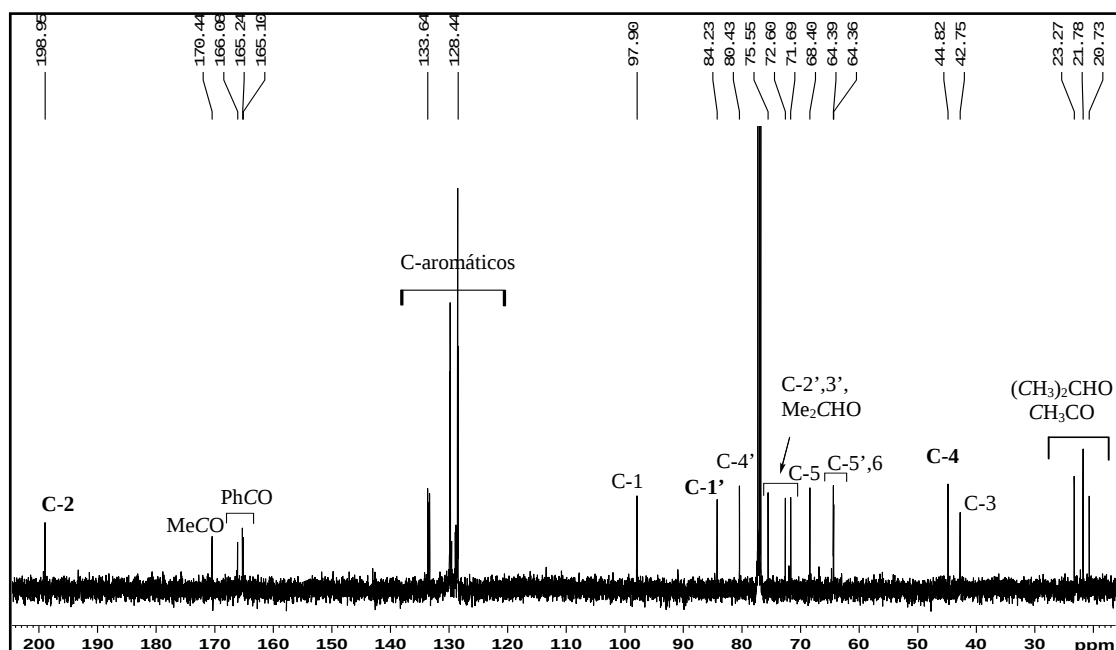


Figura 12b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de **92**.

El compuesto **92** mostraba en su espectro de RMN- ^1H (Fig. 12a) un doblete a 5,52 ppm para el H-1' con un $J_{1',2'} = 3,7$ Hz, igual al observado en el espectro de RMN- ^1H de la sal de tiouronio **90**, que le dio origen. El compuesto **93** presentaba, en cambio, un doblete a 5,96 ppm para H-1' (Fig. 13a) con un valor de constante de acoplamiento mayor ($J_{1',2'} = 6,0$ Hz).

La configuración anomérica de los ribofuranósidos se asignó en base a los desplazamientos químicos relativos y las constantes de acoplamiento de los protones anoméricos.¹⁵ Así, el H-1' de **92** resonaba a campos más altos que el H-1' de **93** ($J_{1',2'} = 6,0$ Hz) y con un menor valor de $J_{1',2'}$ (3,7 Hz) la cual sugería que **92** era el anómero β . Estas asignaciones fueron posteriormente confirmadas mediante experimentos NOE en los correspondientes compuestos reducidos **107** y **109**, que serán detallados más adelante.

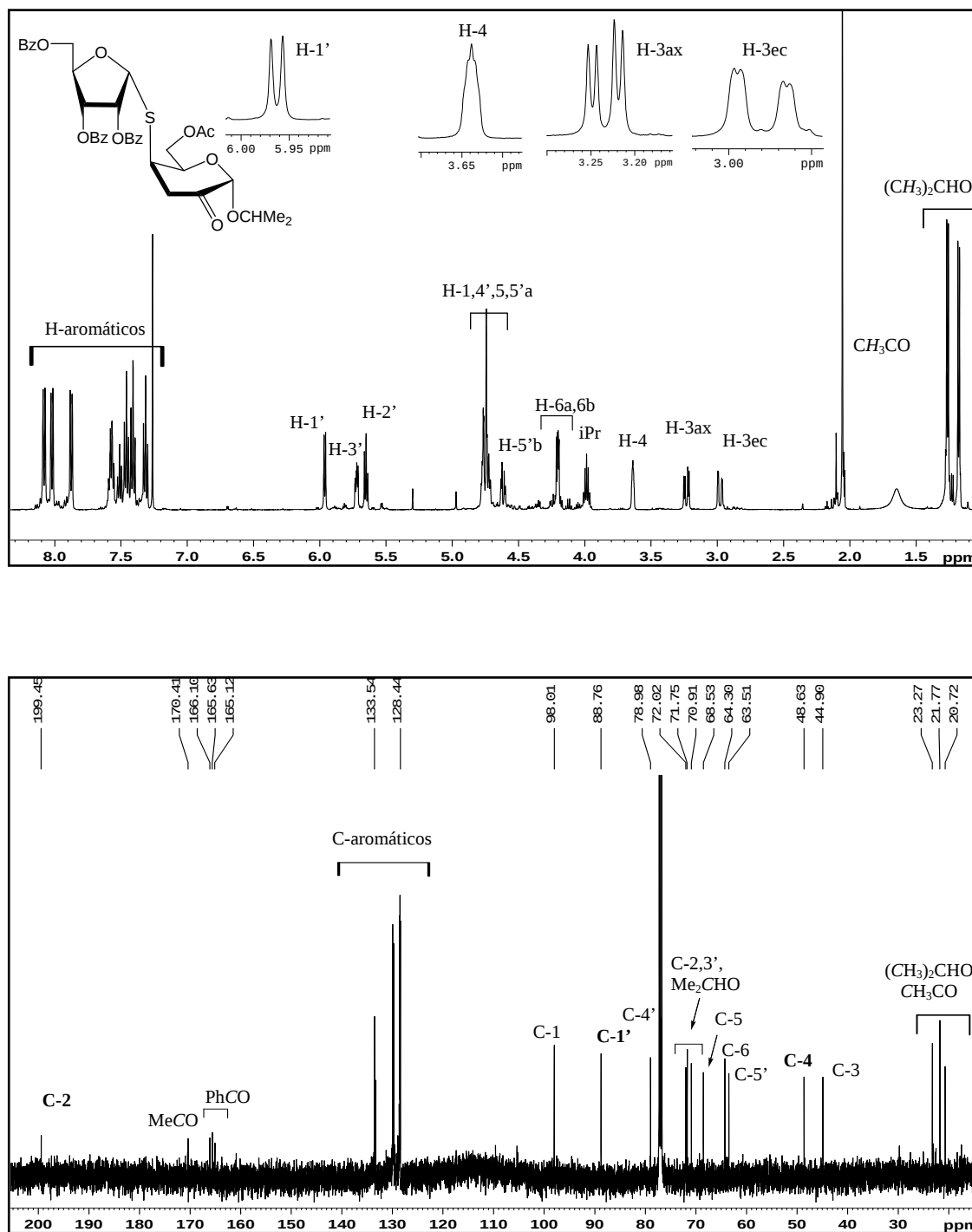


Figura 13a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 93. **Figura 13b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 93.

También se estudiaron las mismas condiciones de tioglicosilación con otros azúcares, para poder evaluar si este camino sintético podía considerarse un método general de obtención de tiodisacáridos con unidades furanósicas en el

D-arabinosa $\xrightarrow[70\text{ }^{\circ}\text{C}]{\text{BzCl, C}_5\text{H}_5\text{N}}$ 

Figura 14a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 95 con supresión del pico de agua.

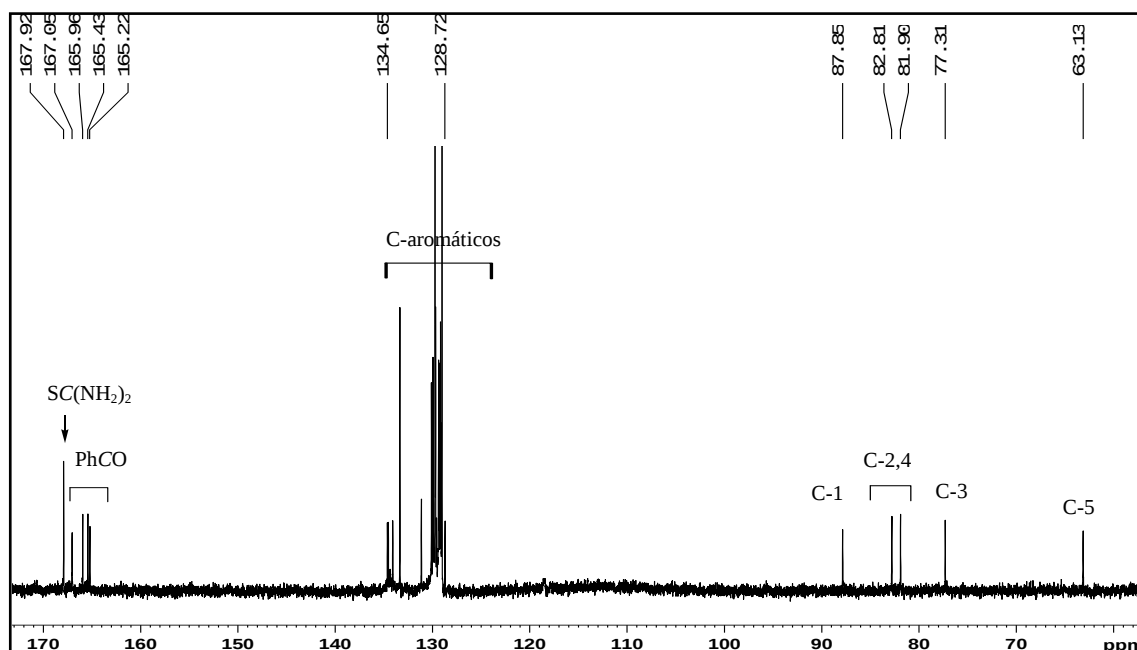
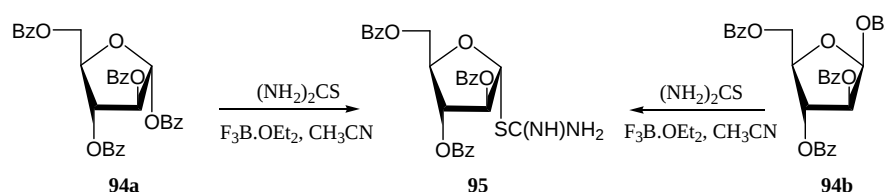


Figura 14b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de **95**.

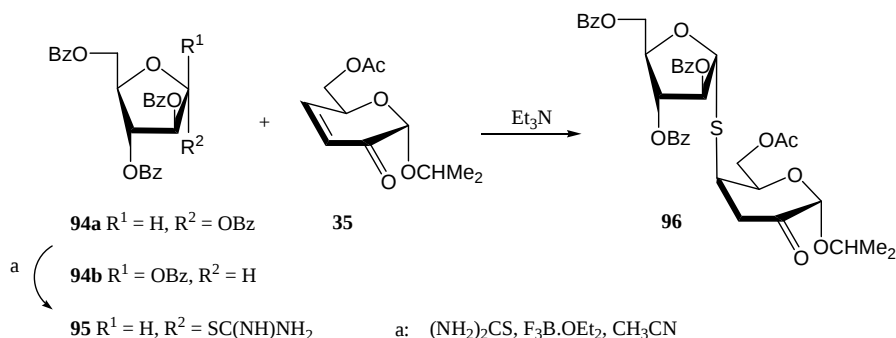
Como la benzoilación de la D-arabinosa produjo también el anómero β (**94b**), se llevó a cabo la reacción con este compuesto y tiourea, bajo las mismas condiciones utilizadas para el anómero α . Se obtuvo la misma sal de tiouronio **95**, con buen rendimiento. Por lo tanto pudo utilizarse la mezcla anomérica **94a** y **94b** para la síntesis de **95**.



A partir de estos resultados, se pudo concluir que el procedimiento descrito por Ibatullin para obtener glicosil isotiureas a partir de piranosas 1,2-*trans* puede extenderse a furanosas per-*O*-benzoiladas, incluso cuando éstas posean la configuración 1,2-*cis*.

Siguiendo con la secuencia, se trató al compuesto **95**, crudo, con Et_3N para promover la formación de la 1-tioAraf como donador de tioglicosilo. Luego de adicionar la enona **35** a la mezcla de reacción se obtuvo el tiodisacárido **96**. En concordancia con resultados previos, la adición de Michael del tiol nucleofílico,

obtenido a partir de la sal de tiouronio, a la enona **35** resultó altamente diastereoselectiva, y tuvo lugar únicamente por la cara opuesta a la que contenía al sustituyente anomérico.



La configuración del nuevo estereocentro de C-4, generado como consecuencia de la adición conjugada, se estableció como *R*, en base al espectro de RMN-¹H de **96** (Fig. 15a). El H-4 se encuentra acoplado con los protones del metileno adyacente, con constantes de acoplamiento pequeñas ($J_{\text{3ec},4} = 1,8$, $J_{\text{3ax},4} = 4,7$ Hz), en forma análoga a lo observado para los tiodisacárido **92** y **93**. Además, el pequeño valor de la constante de acoplamiento entre H-1' y H-2' ($J_{1',2'} < 1$ Hz) indicaba nuevamente una estereoquímica 1,2-*trans* (configuración anomérica α) para la unidad furanósica.

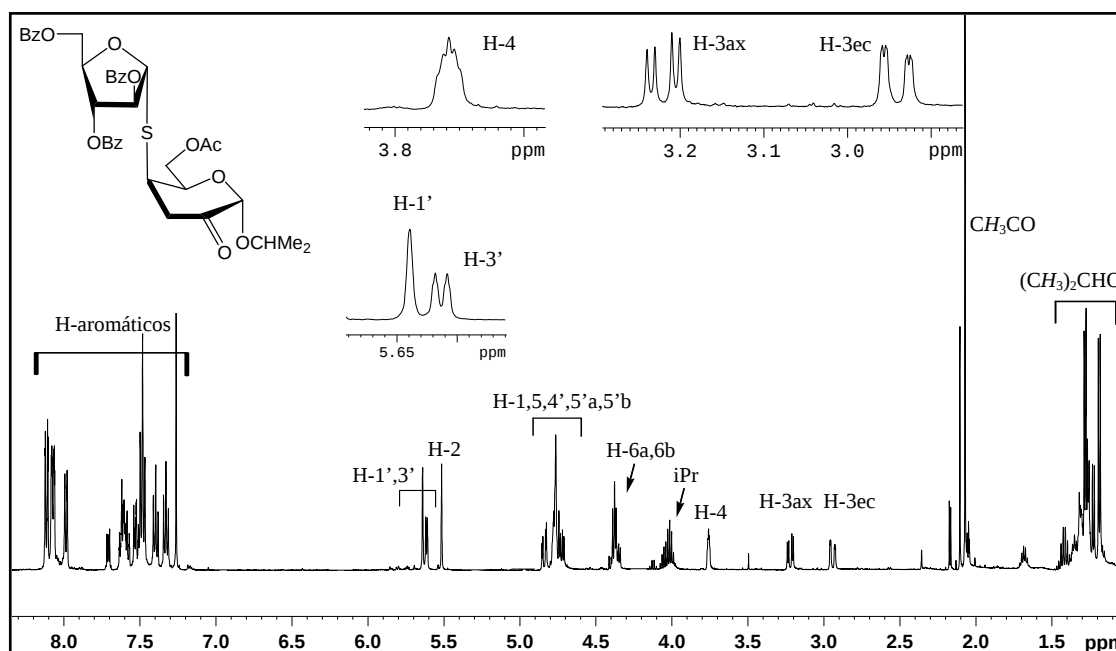


Figura 15a. Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) de **96**.

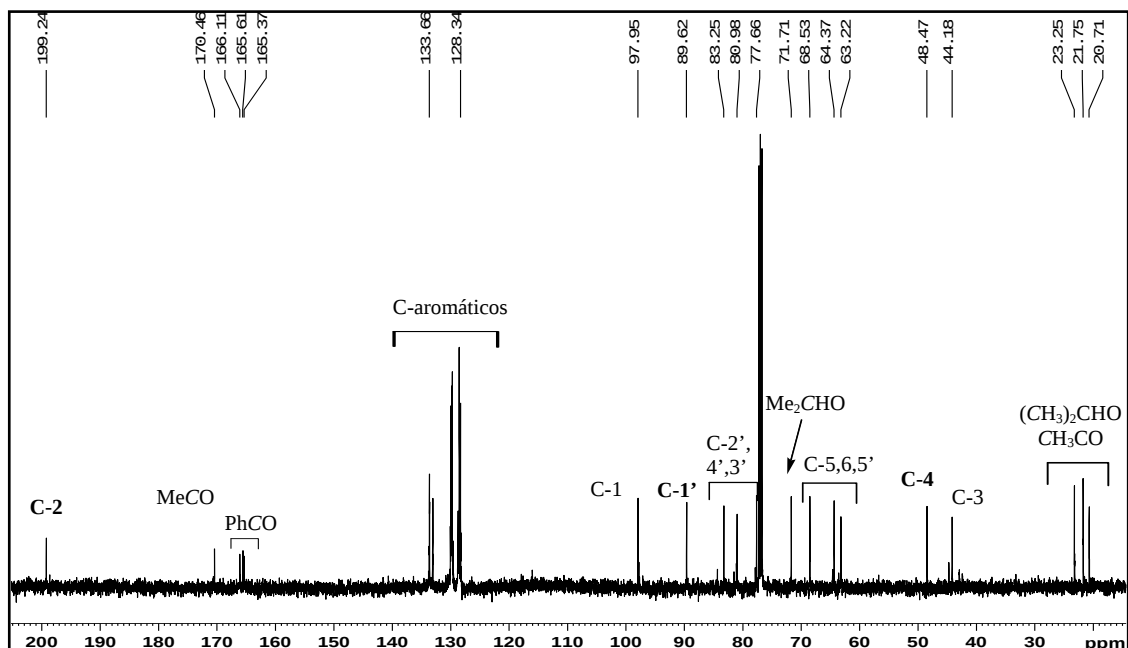
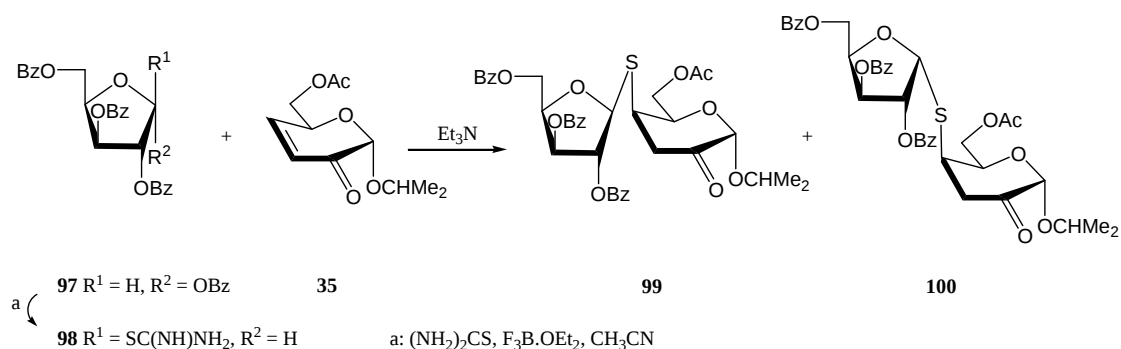


Figura 15b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de **96**.

Decidimos también utilizar la 1,2,4,5-tetra-*O*-benzoil- α -D-xilopiranososa (**97**) asequible comercialmente, como ejemplo de otra pentofuranosa con relación 1,2-*cis* entre los sustituyentes de C-1 y C-2. A partir de **97** se obtuvo la correspondiente sal de isotiouronio (**98**) por reacción con tiourea y el catalizador $\text{F}_3\text{B}\cdot\text{OEt}_2$. En su espectro de RMN- ^1H (Fig. 16a) se observó que la supresión del pico de agua afectó las señales de los hidrógenos H-5a y H-5b.

Se acopló **98** con la enona **35**, promoviendo la reacción con Et_3N para obtener, en forma similar a lo descrito para la ribofuranosa, la mezcla de anómeros **99** y **100**.



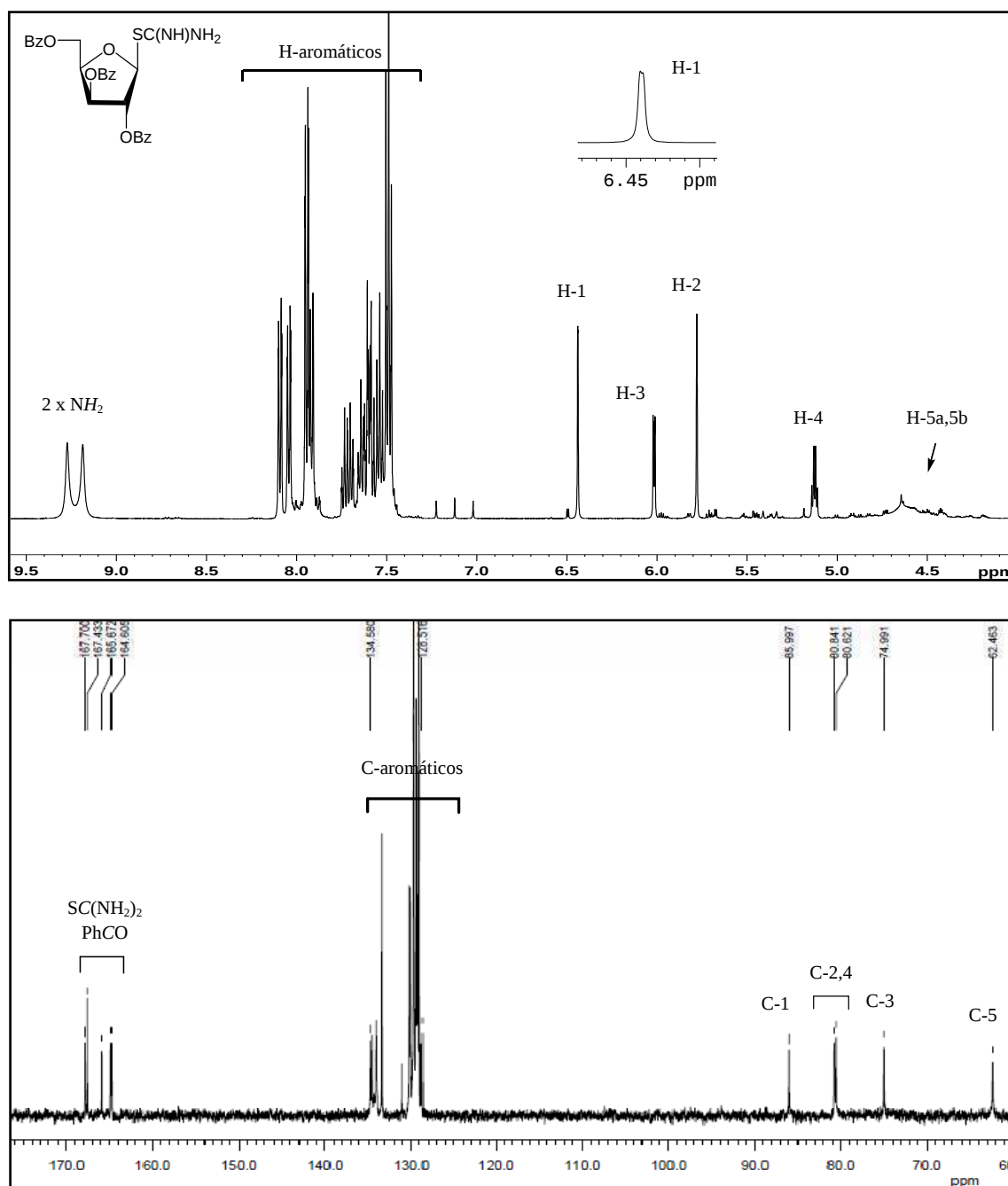


Figura 16a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 98 con supresión del pico de agua. **Figura 16b.** Espectro de RMN- ^{13}C (50,3 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de 98.

La relación entre los productos **99** y **100** cada vez que se repitió la reacción, fue variable (de 1,4:1 a 4:1), siendo siempre el anómero β (1',2'-*trans*) el producto mayoritario. Esta mezcla no pudo separarse por cromatografía en columna y a su vez quedó impurificada con restos de la enona de partida (**35**), como en el caso de

los tiodisacáridos descritos anteriormente. En la Fig. 17 se muestran algunas de las señales características del espectro de RMN-¹H de la mezcla de **99** y **100**.

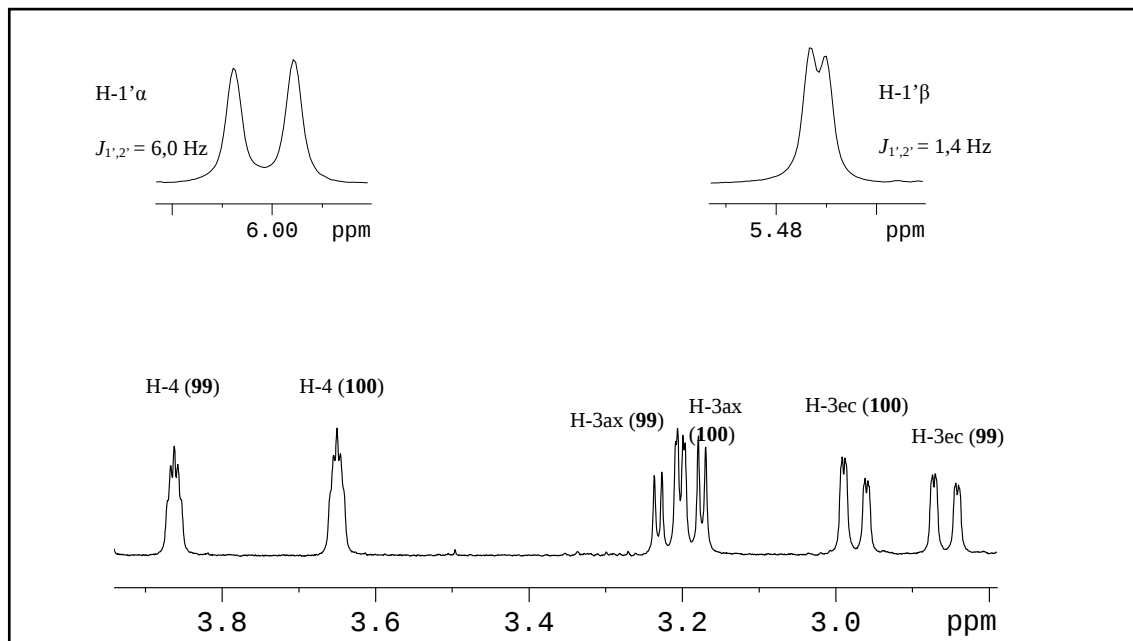
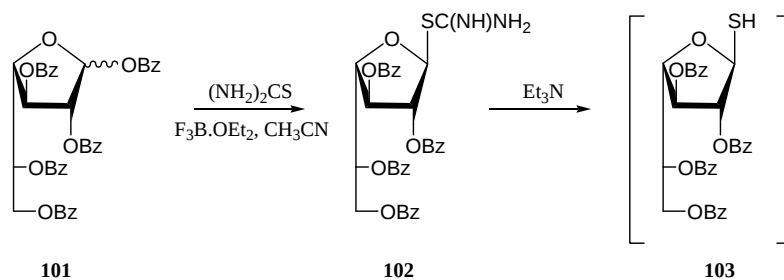


Figura 17. Señales características del espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) de la mezcla de **99** y **100**.

Finalmente, la reacción se extendió a una hexofuranosa, la 1,2,3,4,6-penta-*O*-benzoil- α,β -D-galactofuranosa (**101**), producto de la benzoilación de D-galactosa a alta temperatura.²⁰ Como se contaba con la experiencia del caso de la Araf, en la cual la reacción podía llevarse a cabo tanto a partir de azúcares de configuración 1,2-*trans* como 1,2-*cis*, se decidió utilizar la mezcla de anómeros. Por reacción de **101** con tiourea en presencia de F₃B.OEt₂ como catalizador, se obtuvo la *S*-galactofuranosil isotiourea **102**. El crudo de reacción se trató con Et₃N para promover la conversión in situ de **102** en el tioazúcar **103**, el cual se adicionó a la posición 4 de la hex-3-enopiranosid-2-ulosa **35** para dar el tiodisacárido **104** como producto mayoritario, acompañado por el tiodisacárido diastereoisomérico **105**.



El espectro de RMN- ^1H de la glicosil isotiourea **102** (Fig. 18a) presentaba el singulete característico del H-1 de un furanósido con relación entre los sustituyentes 1,2-*trans* ($J < 1$ Hz),^{18,19} que corresponde en este caso a la configuración anomérica β .

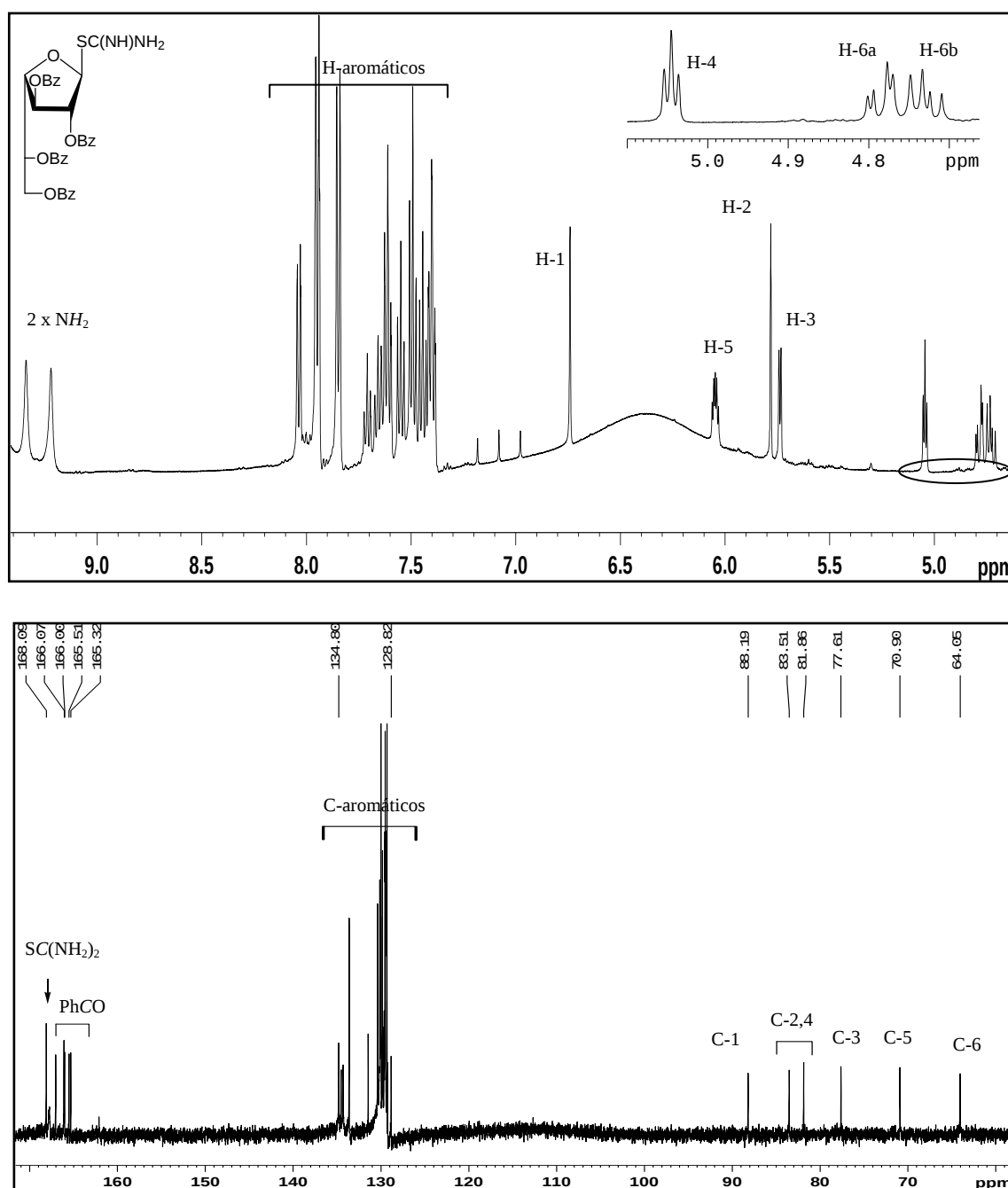
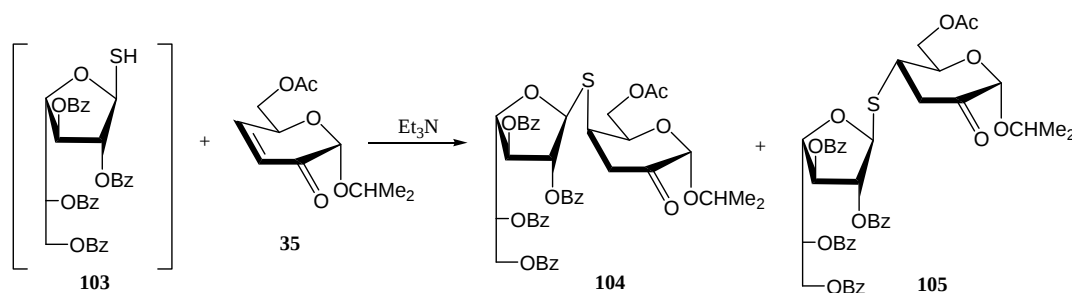


Figura 18a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de **102**. **Figura 18b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) de **102**.



Nuevamente, la adición resultó ser altamente diastereoselectiva y ocurrió principalmente por la cara superior de la enona, lado opuesto al sustituyente anomérico axial (relación **104:105** > 3:1). La mezcla de tiodisacáridos diastereoisoméricos se separó mediante una columna cromatográfica. No obstante, como se había mencionado anteriormente para los tiodisacáridos derivados de Ribof, Araf y Xilof, los compuestos **104** y **105** se encontraban ligeramente contaminados con la enona de partida. La configuración del estereocentro en C-4 del tiodisacárido **104** se estableció como *R*, debido a que su espectro de RMN-¹H (Fig. 19a) mostraba constantes de acoplamiento pequeñas entre el H-4 y los protones del metileno adyacente ($J_{3ec,4} = 2,4$, $J_{3ax,4} = 5,0$ Hz) y también con el H-5 ($J_{4,5} = 2,4$ Hz). Además, el pequeño valor de la constante de acoplamiento entre H-1' y H-2' ($J_{1',2'} < 1$ Hz) indicaba una configuración β-D-Galf para el extremo no reductor del tiodisacárido.

Del espectro de RMN-¹H de **105** (Fig. 20a) se dedujo que la configuración en el C-4 es la opuesta (*S*) a la de **104**. Ambos compuestos difieren en los valores de las constantes de acoplamiento entre el H-4 con H-3ax y H-3ec ($J_{3ec,4} = 5,0$, $J_{3ax,4} = 12,8$ Hz) y entre el H-4 y H-5 ($J_{4,5} = 10,8$ Hz). Los valores de *J* indicados corresponden a **105**. La configuración 4-(*S*) indicaba que una cantidad minoritaria del 1-tioazúcar se había adicionado por la cara inferior de la enona, a pesar del impedimento estérico ejercido sobre esta cara por el sustituyente isopropilo. Sin embargo, dado que la señal del H-1' continuaba siendo un singulete ancho, con $J_{1',2'} < 1$ Hz, se concluyó que el carbono anomérico del extremo no reductor había mantenido su configuración (β-D-Galf).

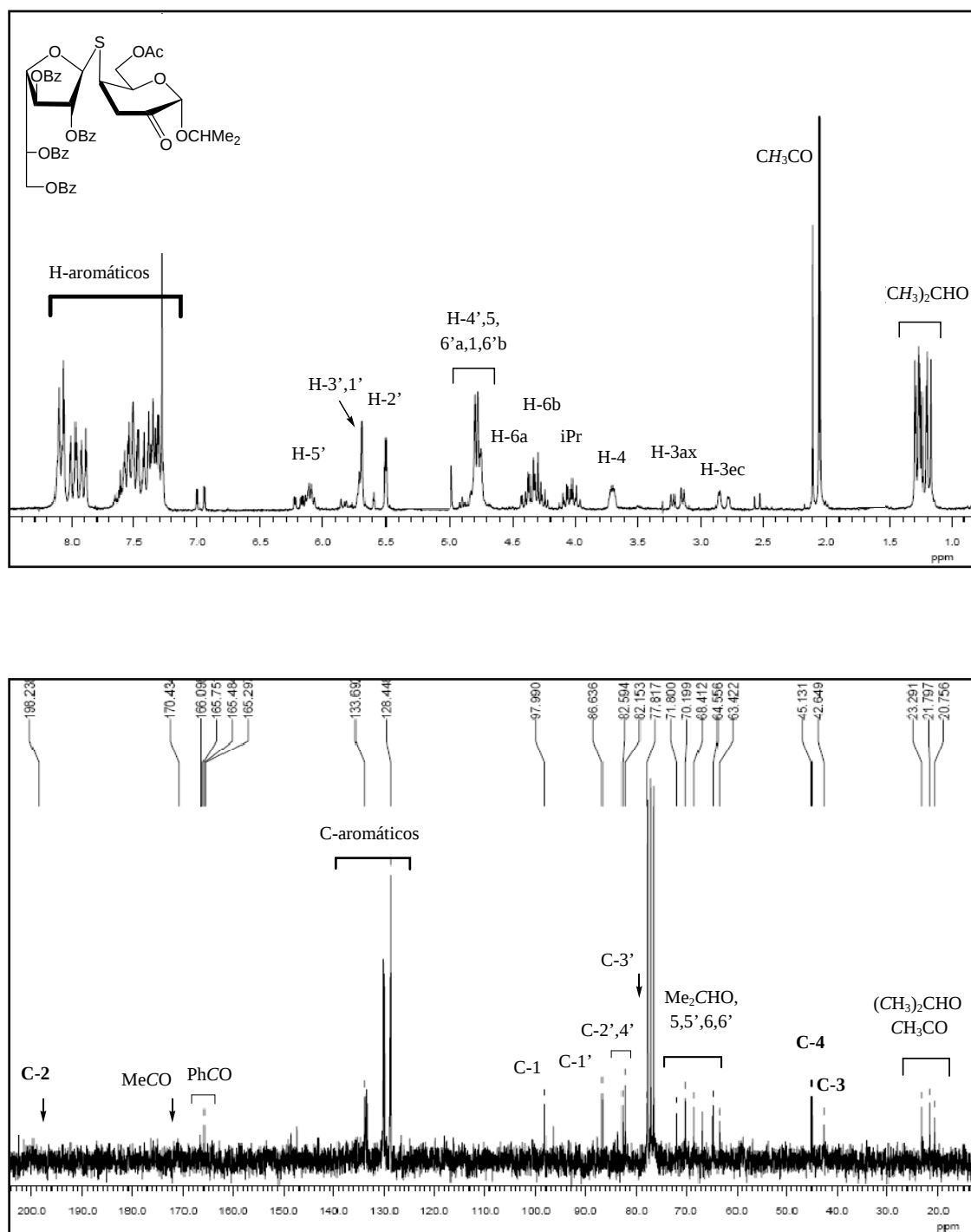


Figura 19a. Espectro de RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 104. **Figura 19b.** Espectro de RMN- ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) de 104.

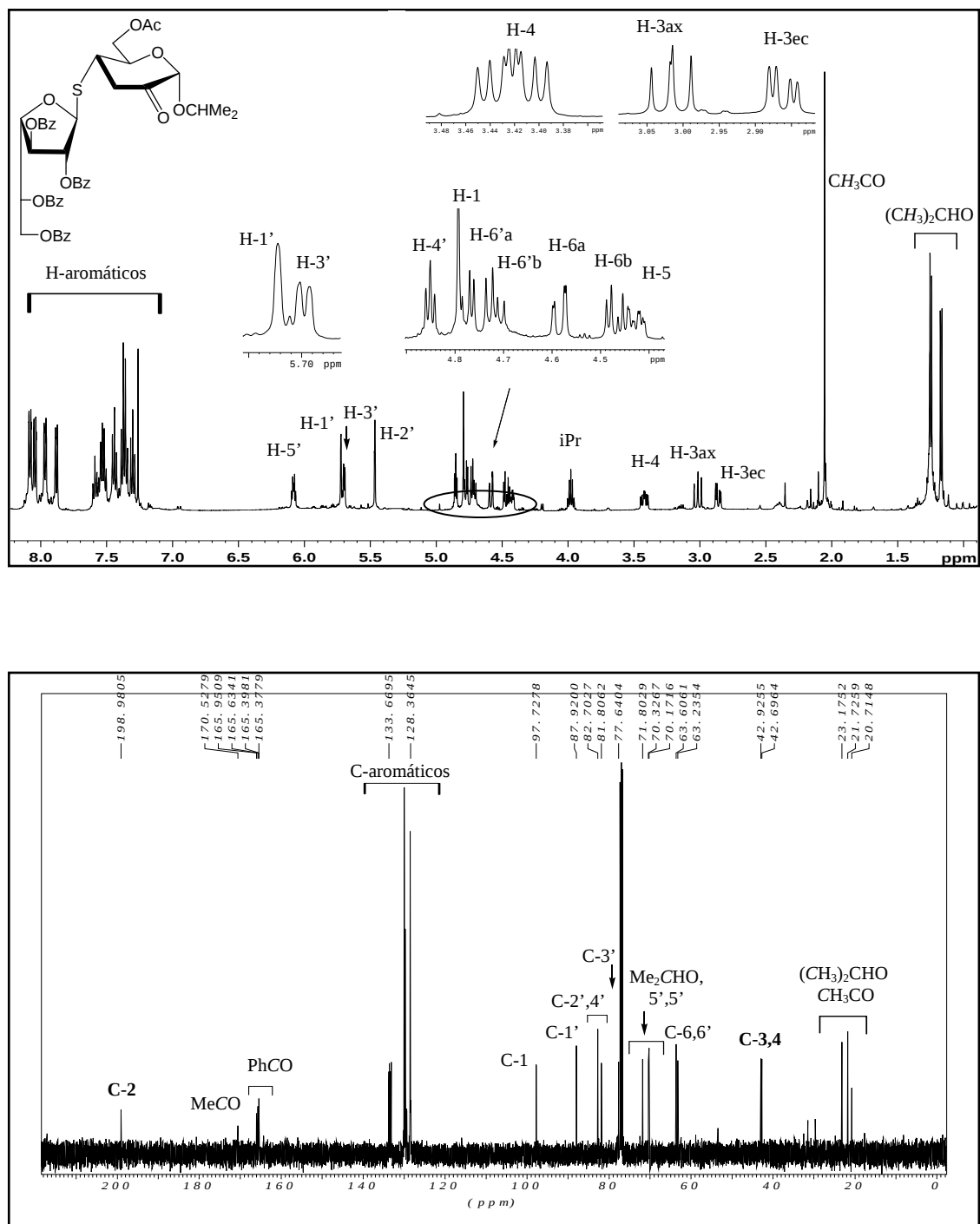


Figura 20a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 105. Figura 20b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 105.

En la Tabla 2 se destacan los valores que corresponden a las constantes de acoplamiento que definen que el ataque del tiol, generado *in situ*, a la enona 35 se produjo por la cara superior de ésta.

Tabla 2. Constantes de acoplamiento diagnósticas de la configuración de C-4 para los compuestos 92, 93, 96, 99, 100 y 104.

Compuesto	$J_{3ec,4}$ (Hz)	$J_{3ax,4}$ (Hz)
92	2,0	4,7
93	2,0	3,8
96	1,8	4,7
99	1,8	4,9
100	1,8	4,7
104	2,4	5,0

Para todos los compuestos listados en la Tabla 2, los valores de J son muy similares, a excepción del compuesto **105**, que no se incluyó en esta tabla, ya que corresponde al compuesto obtenido por el ataque de la 1-tio-Galf por la cara inferior de la enona. Por este motivo las constantes de acoplamiento en este caso resultaron mayores ($J_{3ec,4} = 5,0$ y $J_{3ax,4} = 12,8$ Hz).

Es importante mencionar que los tiodisacáridos de las series *Ribo*, *Ara*, *Gal* y *Xilo*, obtenidos mediante esta metodología, fueron difíciles de aislar en forma completamente pura, ya que siempre estaban acompañados por pequeñas cantidades de enona de partida. Se mencionó que, durante la purificación por cromatografía en columna, la acidez de la sílica gel parece suficiente para catalizar la reacción inversa a la adición, es decir la retro-Michael. También en todos los casos resultó complicada la elección del solvente adecuado para eluir la columna cromatográfica, ya que los anómeros α y β tenían R_f similares por CCD. Pero una vez encontrado el solvente de elución apropiado, se desarrolló la columna en forma rápida, para tratar de minimizar dicha reversión. Se verificó que, repitiendo la cromatografía en columna del tiodisacárido **96** varias veces, la proporción de

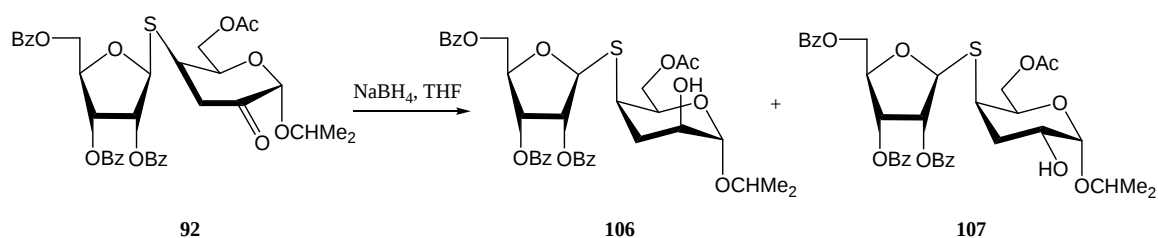
enona remanente aumentaba al mantener la mezcla de reacción en contacto con la sílica por tiempos más prolongados.

Incluso, para evitar el contacto de los tiodisacáridos funcionalizados con un grupo carbonilo en C-2 con el adsorbente, se intentó continuar la síntesis con el crudo de reacción y efectuar el paso siguiente de reducción del carbonilo. Sin embargo, dado que se obtenía una mezcla de productos mayor, se complicaba aún más la separación cromatográfica.

4.3. Reducción de tiodisacáridos.

Para obtener los 3-desoxi tiodisacáridos análogos de disacáridos conocidos, se condujo el siguiente paso de síntesis, que consistió en la reducción del grupo carbonilo de las 2-ulosas sintetizadas (**92**, **93**, **96**, y **104**) con borohidruro de sodio. También se llevó a cabo la reducción con un reductor más voluminoso, el K-Selectride, como se describirá más adelante.

En primera instancia, se redujeron los tiodisacáridos con extremo no reductor de configuración *ribo*, **92** y **93**. Cada uno de ellos se trató con borohidruro de sodio, a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ utilizando THF como solvente. La reducción se llevó a cabo a baja temperatura para mejorar la selectividad en favor del epímero mayoritario. Era de esperar, y luego se verificó experimentalmente, que la aproximación del hidruro fuese controlada por el sustituyente anomérico vecino al carbonilo. La configuración de los estereocentros C-2 y C-4 en el extremo reductor, pudo establecerse fácilmente mediante los espectros de RMN- ^1H de los productos.



Como era previsible, la reducción del grupo carbonilo de **92** produjo los tiodisacáridos epiméricos **106** y **107**, con el grupo hidroxilo libre en la posición 2. Estos compuestos se separaron en forma eficiente por columna cromatográfica.

El isómero **107**, producto mayoritario de la reducción, poseía la configuración α -D-*xilo*, en la unidad hexopiranososa. Esto se justificó en base a su espectro de RMN- ^1H (Fig. 21a), en el cual la señal del H-2 mostraba valores pequeños de constantes de acoplamiento con H-1 ($J_{1,2} = 3,8$ Hz) y H-3_{ec} ($J_{2,3\text{ec}} = 4,3$ Hz), mientras que con el H-3_{ax} daba un valor de J mayor ($J_{2,3\text{ax}} = 11,5$ Hz), lo cual indicaba que el HO-2 se dispone en posición ecuatorial. El hecho que la señal de H-4 aparezca como un singlete ancho, con constantes de acoplamiento pequeñas con los H-3_{ec}, H-3_{ax} y H-5, confirmaba la configuración asignada al esteroCentro de C-4 del tiodisacárido precursor **92**.

En el espectro RMN- ^{13}C de **107** (Fig. 21b) se observó el corrimiento de la señal correspondiente al C-2, de 198,9 a 67,8 ppm, en concordancia con la reducción del grupo carbonilo. Obviamente, se registraron los mismos cambios para el otro diastereoisómero (**106**).

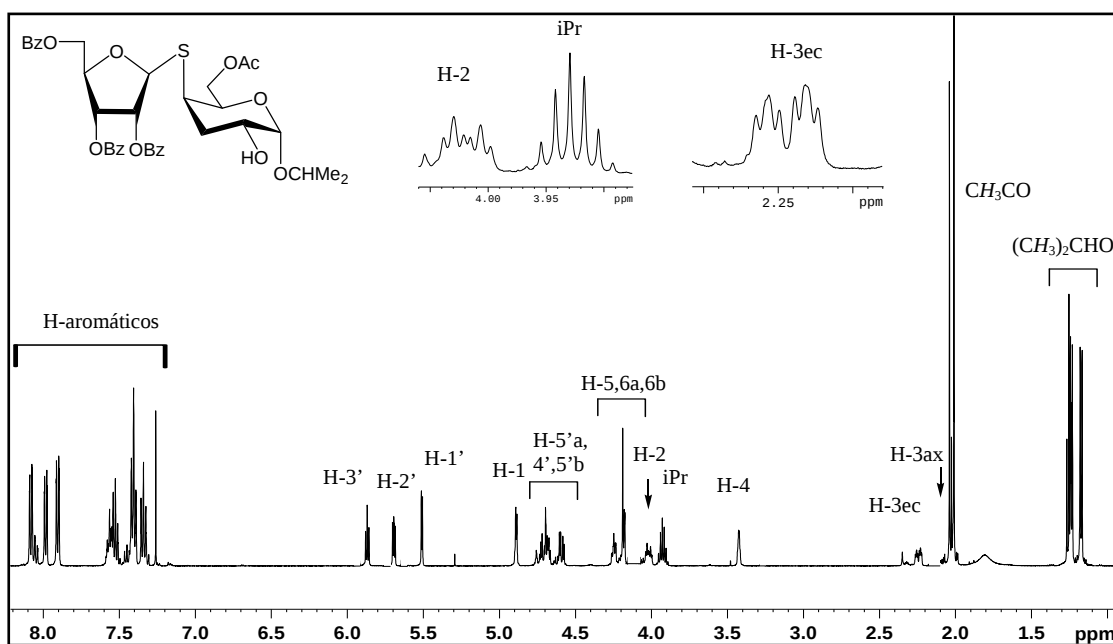


Figura 21a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **107**.

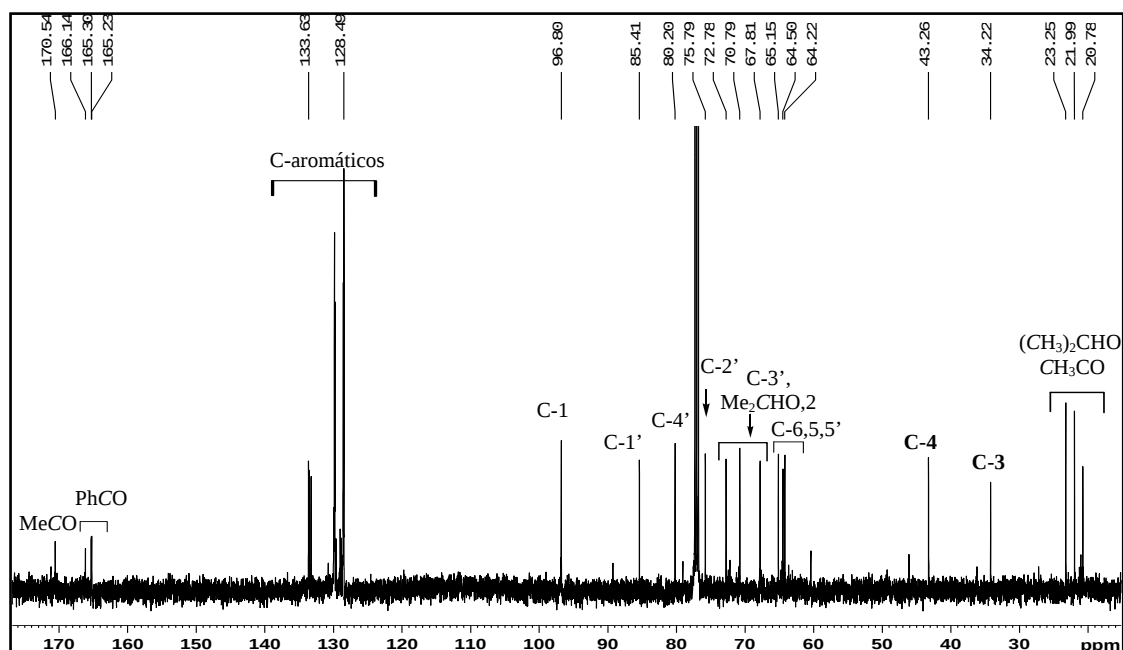


Figura 21b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 107.

Un análisis similar para el compuesto **106** indicó que le correspondía configuración $\alpha\text{-D-lixo}$. En el espectro de RMN- ^1H (Fig. 22a) se observaban constantes de acoplamiento pequeñas para H-2 y H-4 con sus respectivos protones acoplados, lo cual indicaba la configuración asignada al extremo reductor.

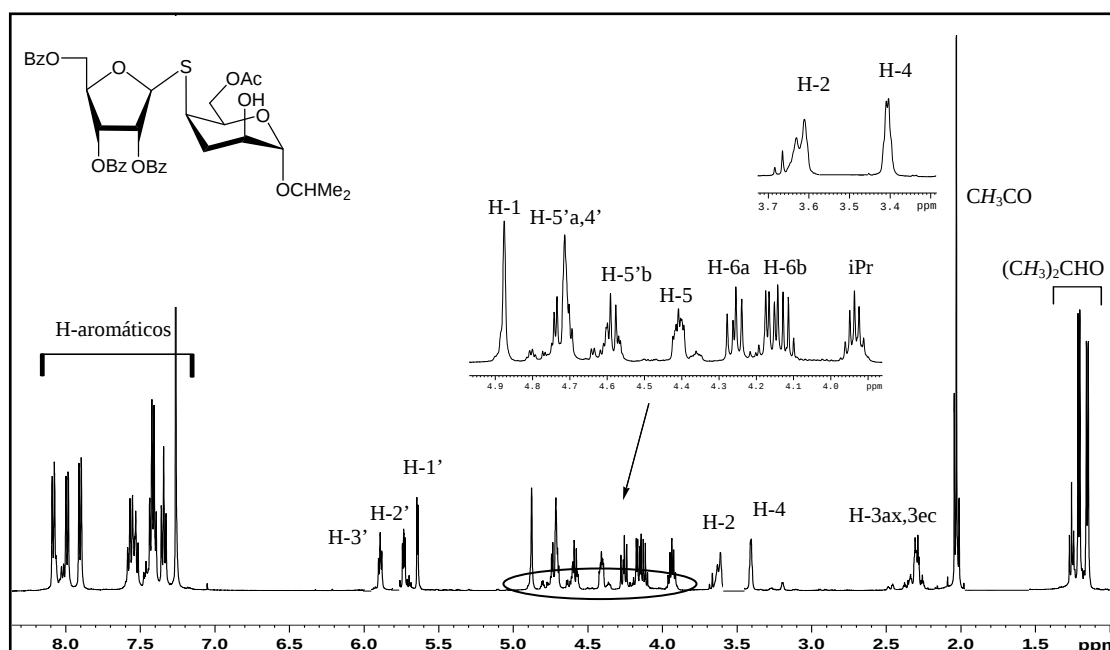


Figura 22a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 106.

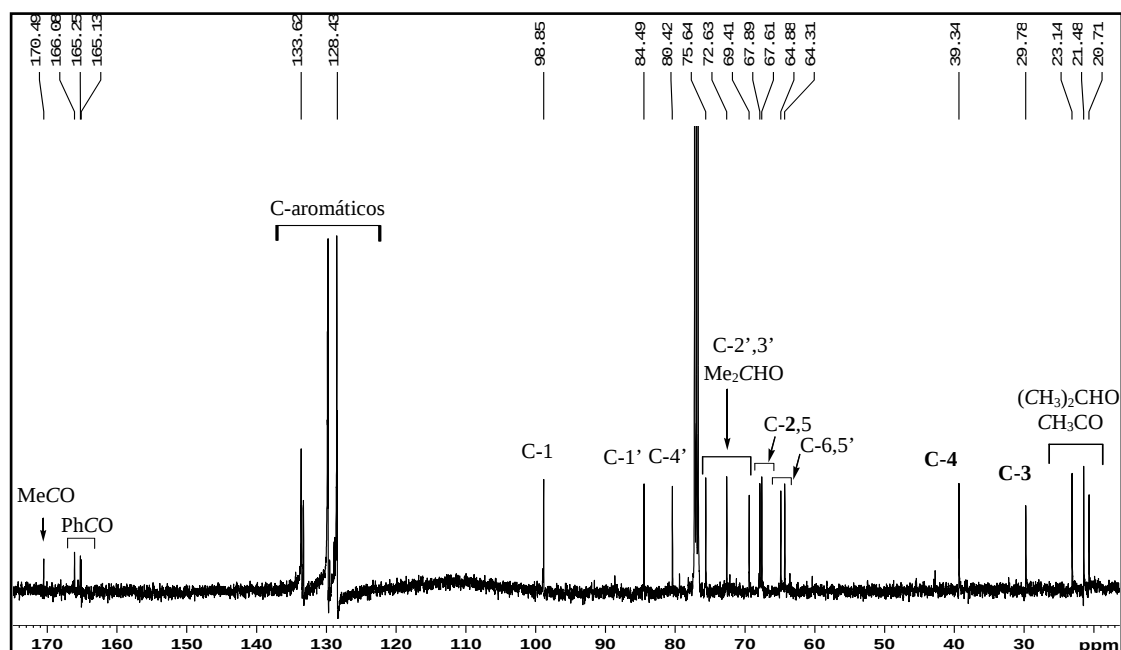
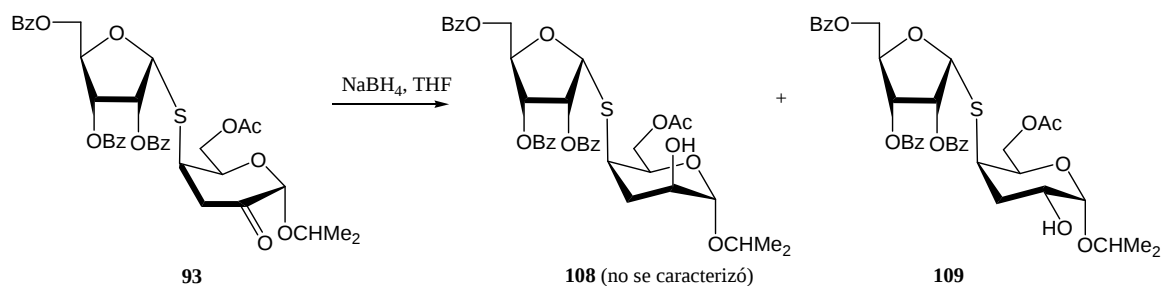


Figura 22b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 106.

Para el otro producto de adición de Michael, el tiodisacárido **93**, se obtuvo el tiodisacárido **109** como resultado de la reducción y un compuesto muy minoritario, que por analogía con la reacción de reducción de **92** descrita anteriormente (R_f apenas mayor), sería el producto minoritario de la reducción (**108**). Pero como la cantidad obtenida fue muy pequeña no se analizó la estructura del mismo. En cambio, el compuesto **109** se caracterizó completamente. Sus espectros de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C se muestran en la Fig. 23.



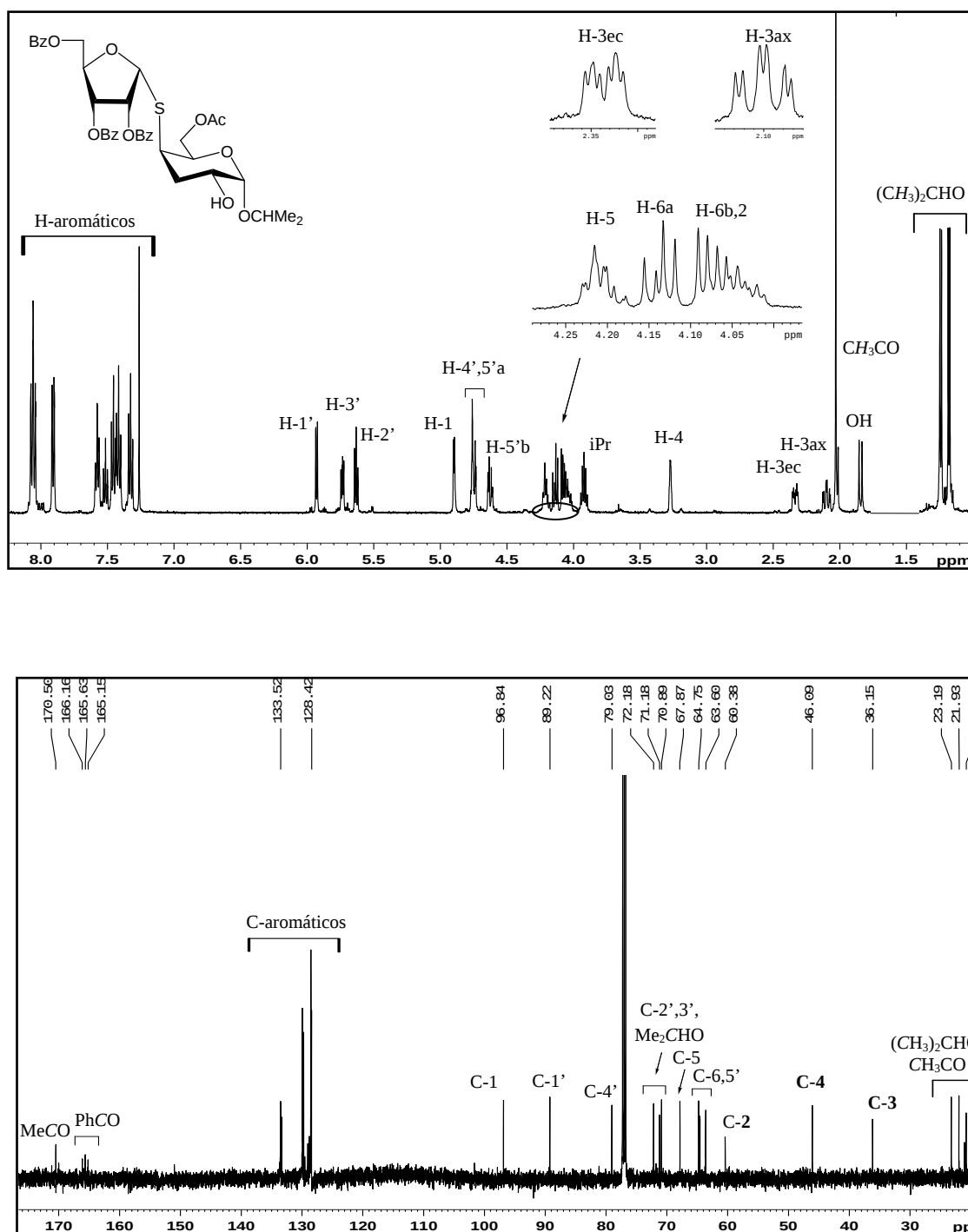


Figura 23a. Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) de 109. **Figura 23b.** Espectro de RMN-¹³C (125,7 MHz, CDCl₃) de 109.

Para los compuestos de esta serie, la configuración anomérica de la unidad Ribof del extremo no reductor se determinó en base a datos espectroscópicos (Tabla 3) y

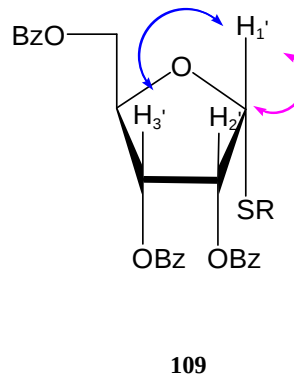
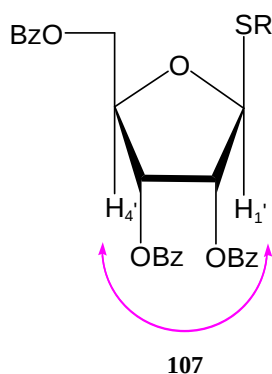
se confirmó por experimentos NOESY de los productos mayoritarios **107** (Fig. 24) y **109** (Fig. 25).

Tabla 3. Constantes de acoplamiento diagnósticas de la configuración anomérica de la unidad Ribof, del extremo no reductor, de los compuestos **92**, **93**, **106**, **107** y **109**.

Compuesto	δ H-1' (ppm)	$J_{1',2'}$ (Hz)	δ C-1' (ppm)	Configuración
92	5,52	3,7	84,2	1',2'- <i>trans</i> (β)
106	5,64	3,6	85,4	1',2'- <i>trans</i> (β)
107	5,51	3,7	84,5	1',2'- <i>trans</i> (β)
93	5,96	6,0	88,8	1',2'- <i>cis</i> (α)
109	5,93	6,0	89,2	1',2'- <i>cis</i> (α)

Para el tiodisacárido **107** se observó una correlación NOE característica²¹ entre H-1' y H-4', que no se detectaba para **109** (Esq. 3). Esta correlación indicaba que ambos protones se ubicaban en la misma cara del anillo furanósico (configuración anomérica β).

En forma similar, la correlación NOE entre H-1' y H-3' en **109** (no observada en el espectro NOESY de **107**) indicó una configuración anomérica α para **109**. Estos resultados confirmaron las asignaciones realizadas previamente para las configuraciones anoméricas de **92** y **93**, precursores de **107** y **109** respectivamente.



Esquema 3. Correlaciones NOE entre H-1'–H-4' en el compuesto 107 y entre H-1'–H-2' y H-1'–H-4' en el compuesto 109.

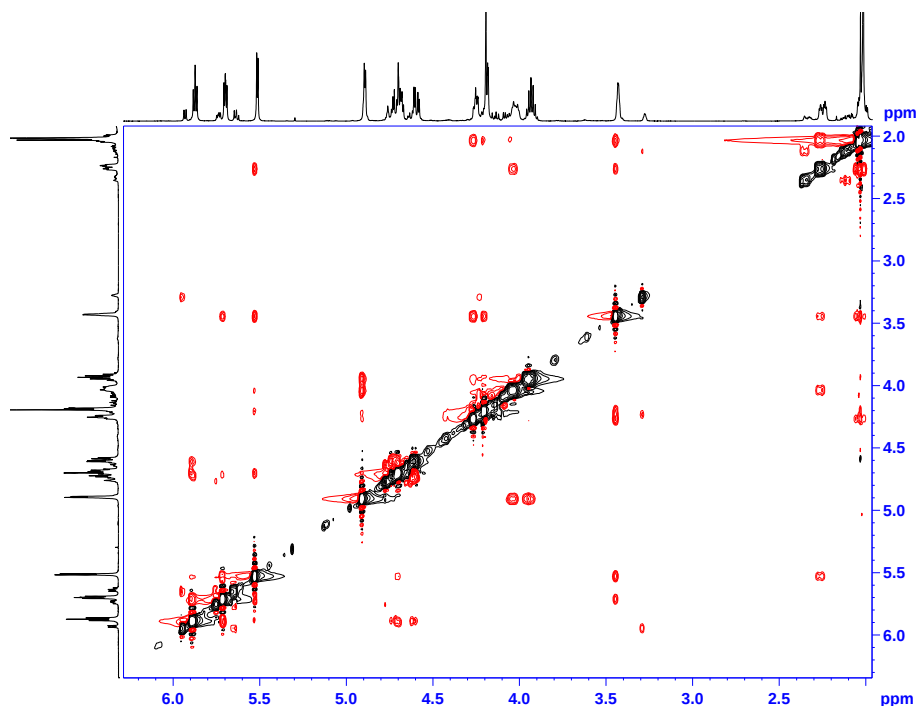


Figura 24a. Espectro NOESY de 107.

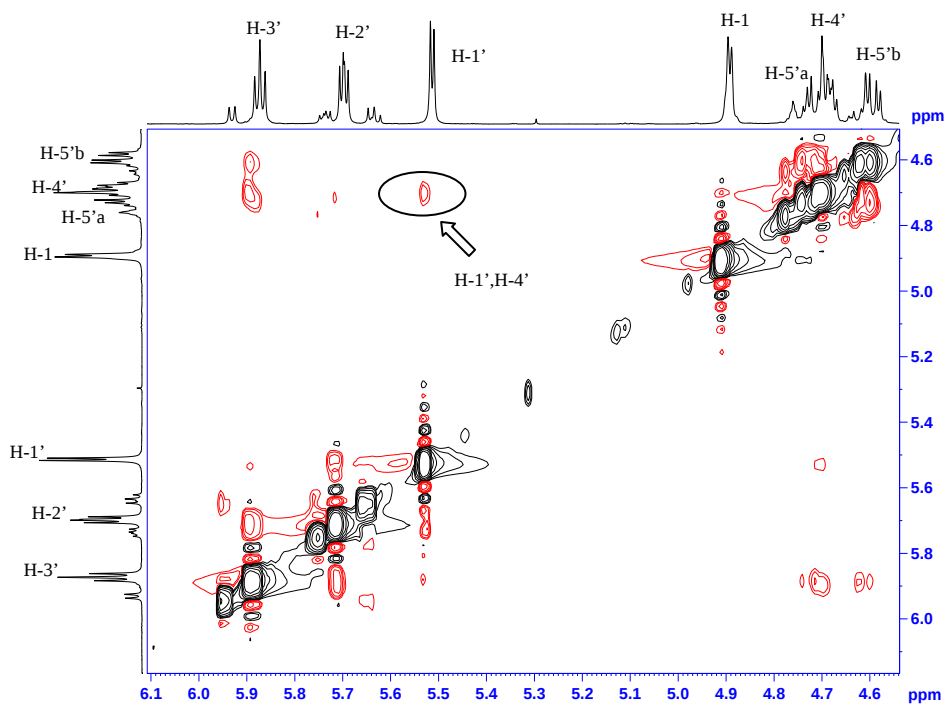


Figura 24b. Espectro NOESY ampliado de 107. Correlación entre los hidrógenos 1' y 4', que confirma configuración β en el extremo no reductor (anillo furanósico).

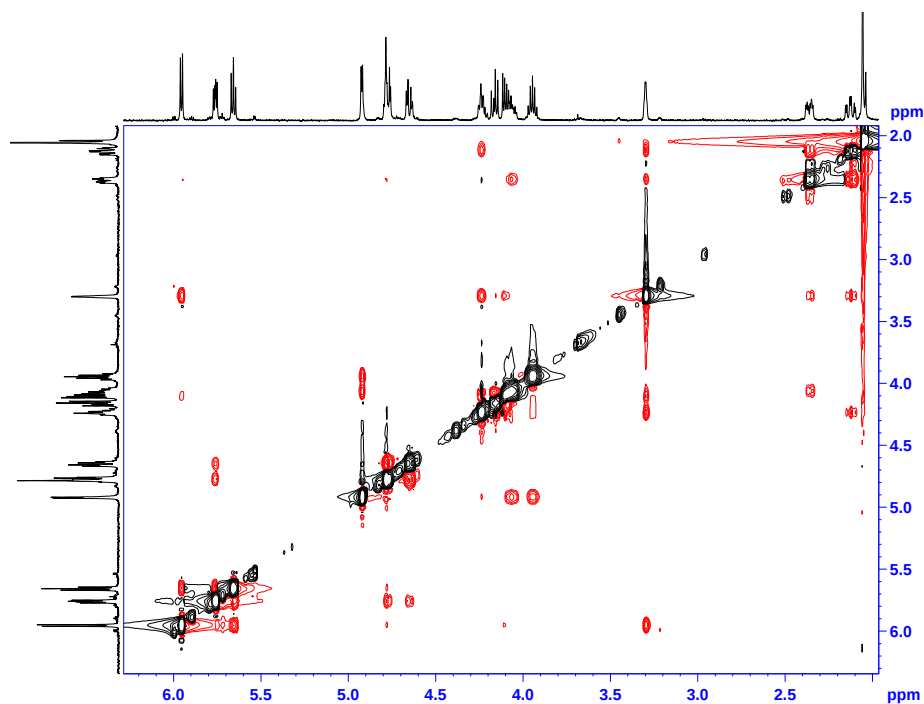


Figura 25a. Espectro NOESY de 109.

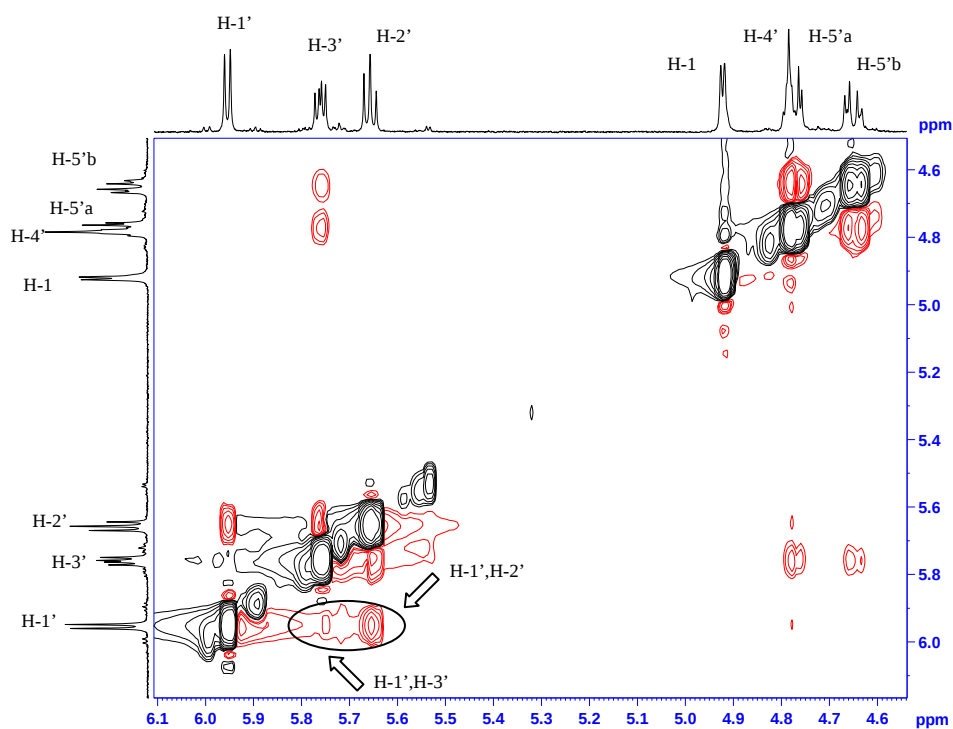
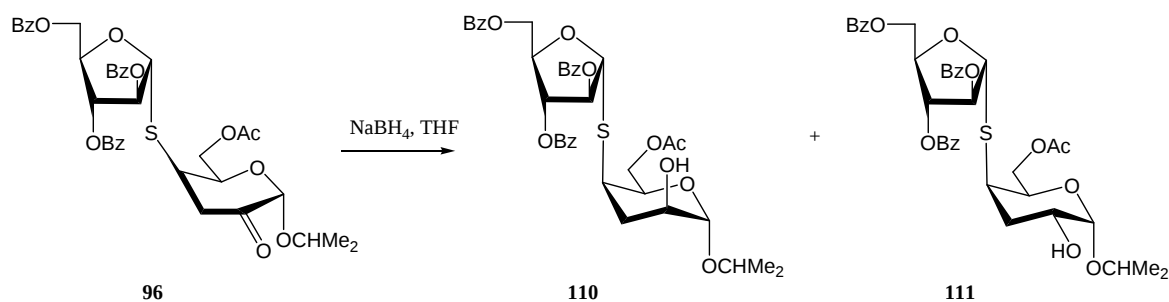


Figura 25b. Espectro NOESY (ampliado) de 109. Correlación entre los hidrógenos 1' y 2', 1' y 3', que confirma configuración α en el extremo no reductor (anillo furanósico).

En el caso del tiodisacárido **92**, se llevó a cabo la reducción del grupo carbonilo, utilizando tri-*sec*-butilborohidruro de potasio (K-Selectride)²² un reductor más voluminoso.

El objetivo de este cambio de agente reductor, consistía en incrementar la relación entre los productos en favor del tiodisacárido con configuración α -D-*xilo* **107**. Pero no se obtuvieron resultados favorables, es decir que con K-Selectride se obtuvo mezcla de productos de reducción del grupo carbonilo en posición 2, en forma análoga a cuando se utilizó borohidruro de sodio y además la técnica requería mayores cuidados debido a que esta reducción debía llevarse a cabo a muy baja temperatura ($-76\text{ }^{\circ}\text{C}$), y demandó entre seis y ocho veces más tiempo de reacción. Por estos motivos, se decidió continuar utilizando el método de reducción ya descrito, con borohidruro de sodio en THF.

El derivado 4-*S*-Ara β 4-tio- α -D-*treo*-hexopiranosid-2-ulosa (**96**) también se redujo con borohidruro de sodio para dar los tiodisacáridos epiméricos **110** y **111**.



El diastereoisómero mayoritario resultó ser el tiodisacárido **111**, que al igual que en la serie *ribo*, presentaba la configuración α -D-*xilo* para la hexopiranososa. Esta configuración se evidenció en el espectro de RMN-¹H (Fig. 26a) de **111**.

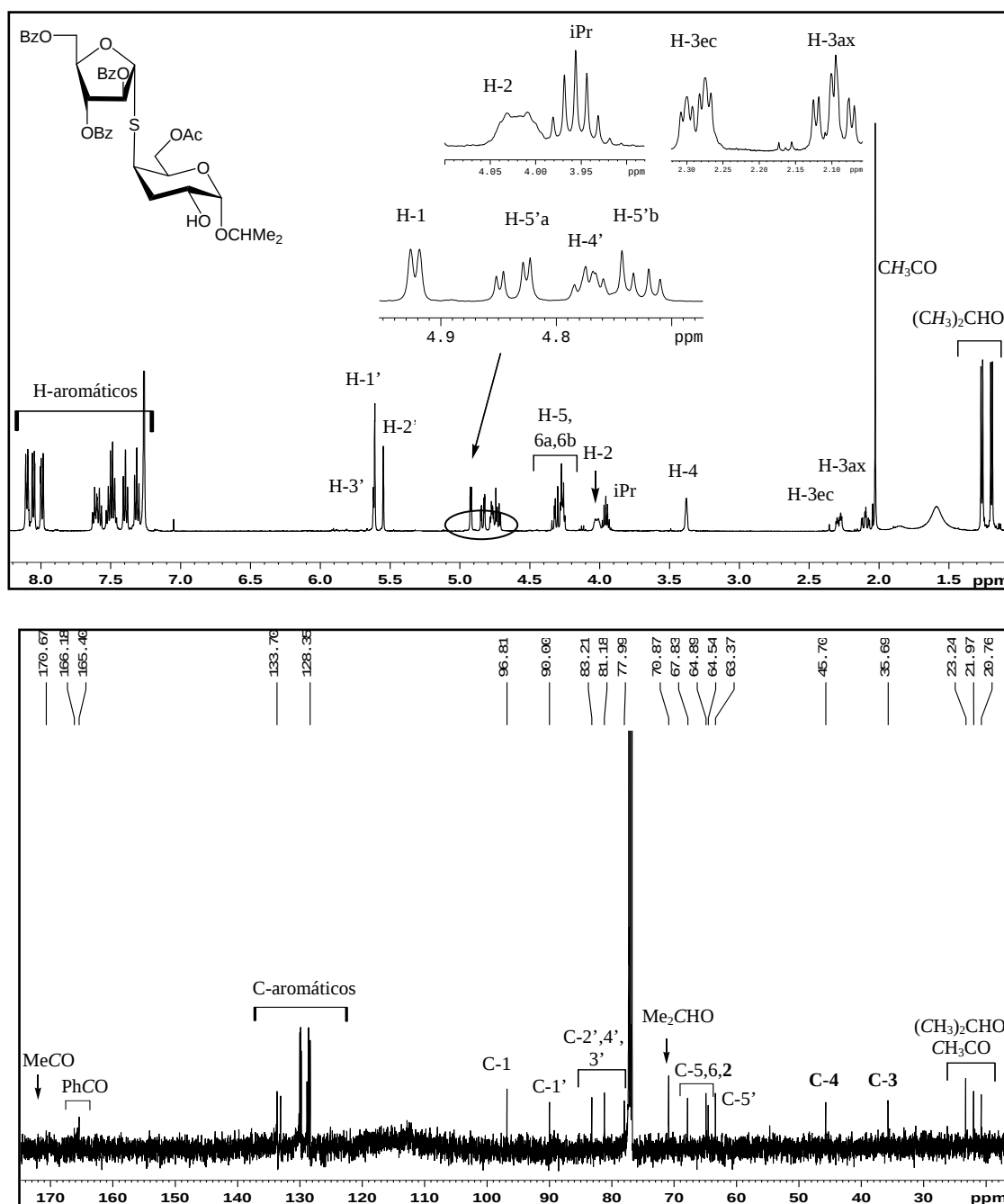


Figura 26a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 111. **Figura 26b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 111.

El protón unido al nuevo estereocentro (H-2) mostraba constantes de acoplamiento pequeñas con H-1 ($J_{1,2} = 3,8$ Hz) y con H-3ec ($J_{2,3\text{ec}} = 3,9$ Hz), como era de esperar para una relación *gauche* entre el H-2 y estos protones adyacentes. La constante de acoplamiento mayor para el H-2 con H-3ax ($J_{2,3\text{ax}} = 12,8$ Hz), confirmaba nuevamente que el HO-2 se disponía en posición ecuatorial.

En cambio, en el espectro de RMN- ^1H (Fig. 27a) del epímero **110**, las constantes de acoplamiento entre H-2 y H-1, H-3a y H-3b, resultaron ser todas pequeñas ($J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3a} = 3,0$ Hz, $J_{2,3b} = 3,9$ Hz), en concordancia con una orientación axial para el HO-2 (configuración α -D-*lixo*).

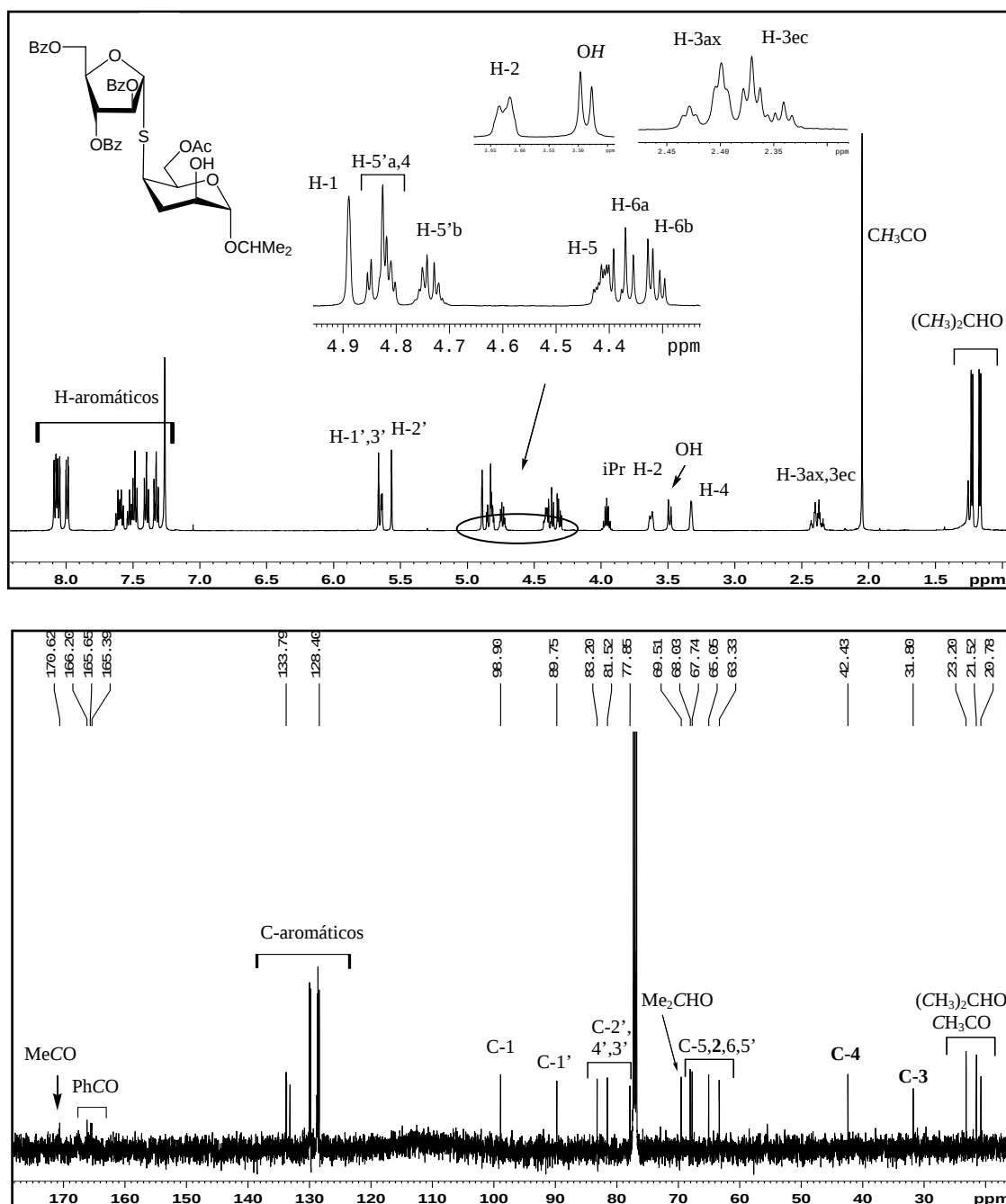
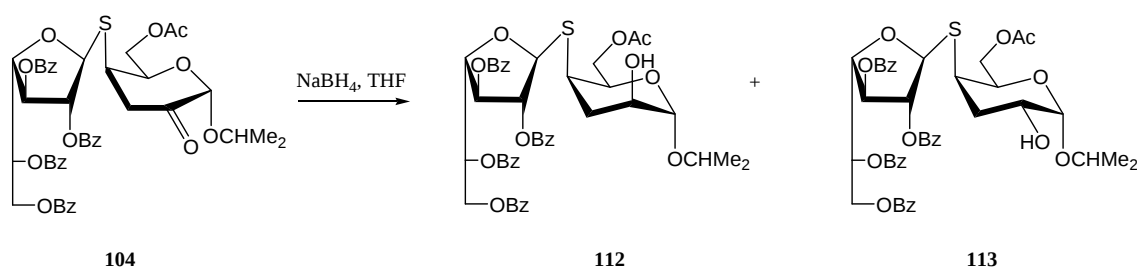


Figura 27a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **110**. Figura 27b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de **110**.

Se mencionó anteriormente que con los azúcares de configuración *xilo*, los productos obtenidos en la adición conjugada no lograron separarse por cromatografía en columna. También se había intentado la reducción de la mezcla para ver si era posible separar los compuestos resultantes en un paso posterior, pero al incrementarse la cantidad de productos obtenidos (cuatro) dificultó aún más la separación por cromatografía en columna. Por este motivo no se continuó trabajando con la serie *xilo*.

Por otra parte, se describió que en la reacción entre la enona **35** y la perbenzoil-Galf(**101**) se obtuvieron dos productos de adición conjugada (**104** y **105**). Uno de ellos correspondía al ataque del 1-tioazúcar, generado in situ, por la cara superior de la 2-ulosa, siendo éste el mayoritario (**104**); mientras que el minoritario correspondía al producto de ataque por la cara inferior de la misma (**105**).

El compuesto mayoritario (**104**), se redujo siguiendo la metodología ya descrita.



La reducción del grupo carbonilo dio origen a los tiodisacáridos **112** y **113**, en relación aproximada 1:6. Ambos se separaron en forma efectiva por cromatografía en columna. El diastereoisómero mayoritario **113** poseía configuración α -D-*xilo*, ya que su espectro de RMN- ^1H (Fig. 28a) mostraba para H-2, valores pequeños de constantes de acoplamiento con H-1 ($J_{1,2} = 3,7$ Hz) y H-3ec ($J_{2,3\text{ec}} = 4,3$ Hz), mientras que con H-3ax mostraba un valor de J mayor ($J_{2,3\text{ax}} = 11,5$ Hz) indicando que el HO-2 se disponía en posición ecuatorial. El hecho que la señal de H-4 apareciera como un singlete ancho con constantes de acoplamiento pequeñas con H-3ec, H-3ax y H-5, confirmó la configuración que fue asignada para el C-4 del tiodisacárido precursor **104**.

En el espectro RMN- ^{13}C de **113** (Fig. 28b) se observó el corrimiento de la señal correspondiente al C-2, de 198,7 a 67,8 ppm, y así quedó demostrada la reducción del grupo carbonilo. Un cambio similar en el desplazamiento se observó para el diastereoisómero **112**.

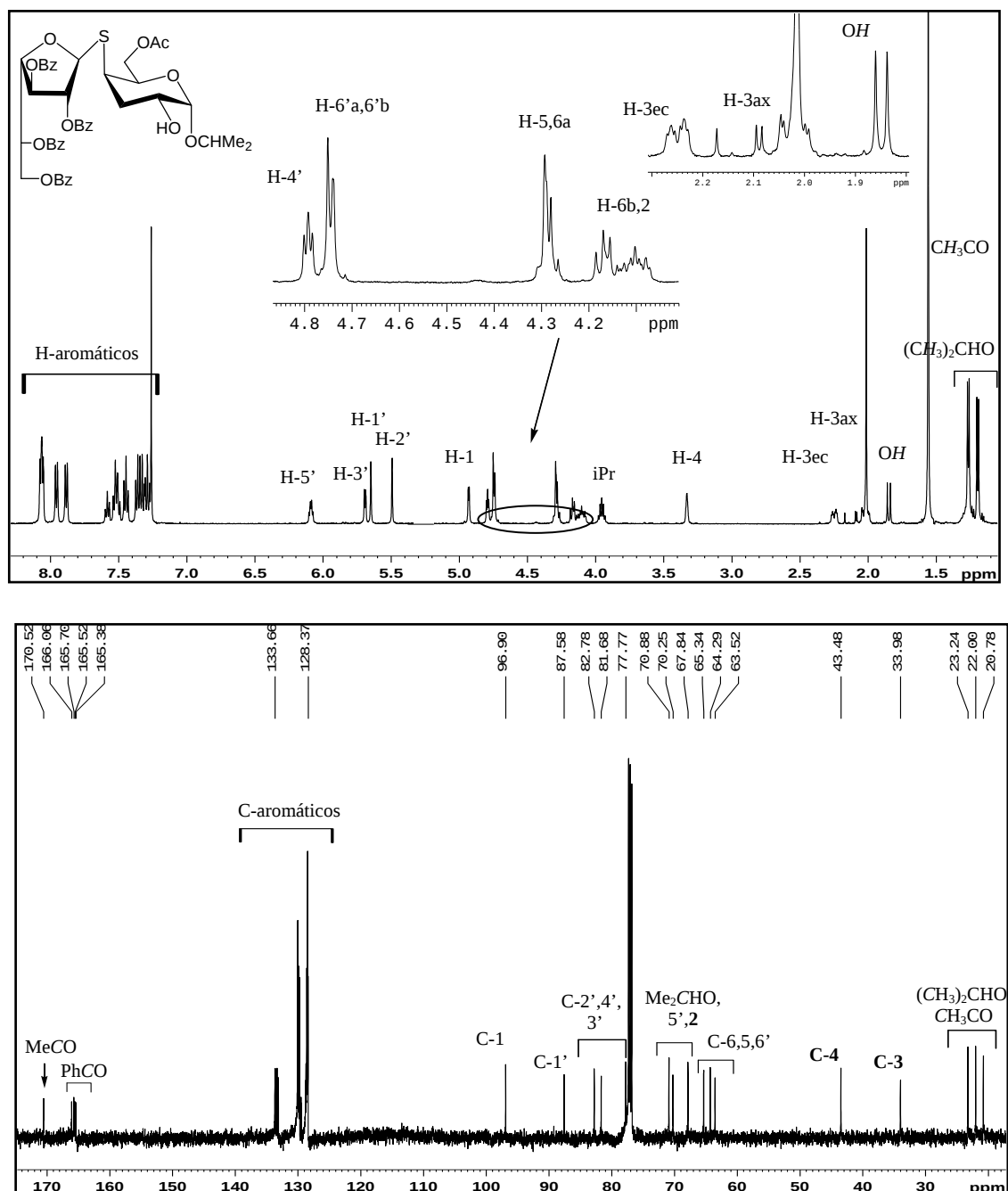


Figura 28a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **113**. **Figura 28b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de **113**.

Un análisis similar del espectro de RMN- ^1H (Fig. 29a) de **112**, indicaba que al extremo reductor le correspondía la configuración $\alpha\text{-D-}lixo$, ya que se observaron constantes de acoplamiento pequeñas para H-2 y H-4 con sus respectivos protones acoplados.

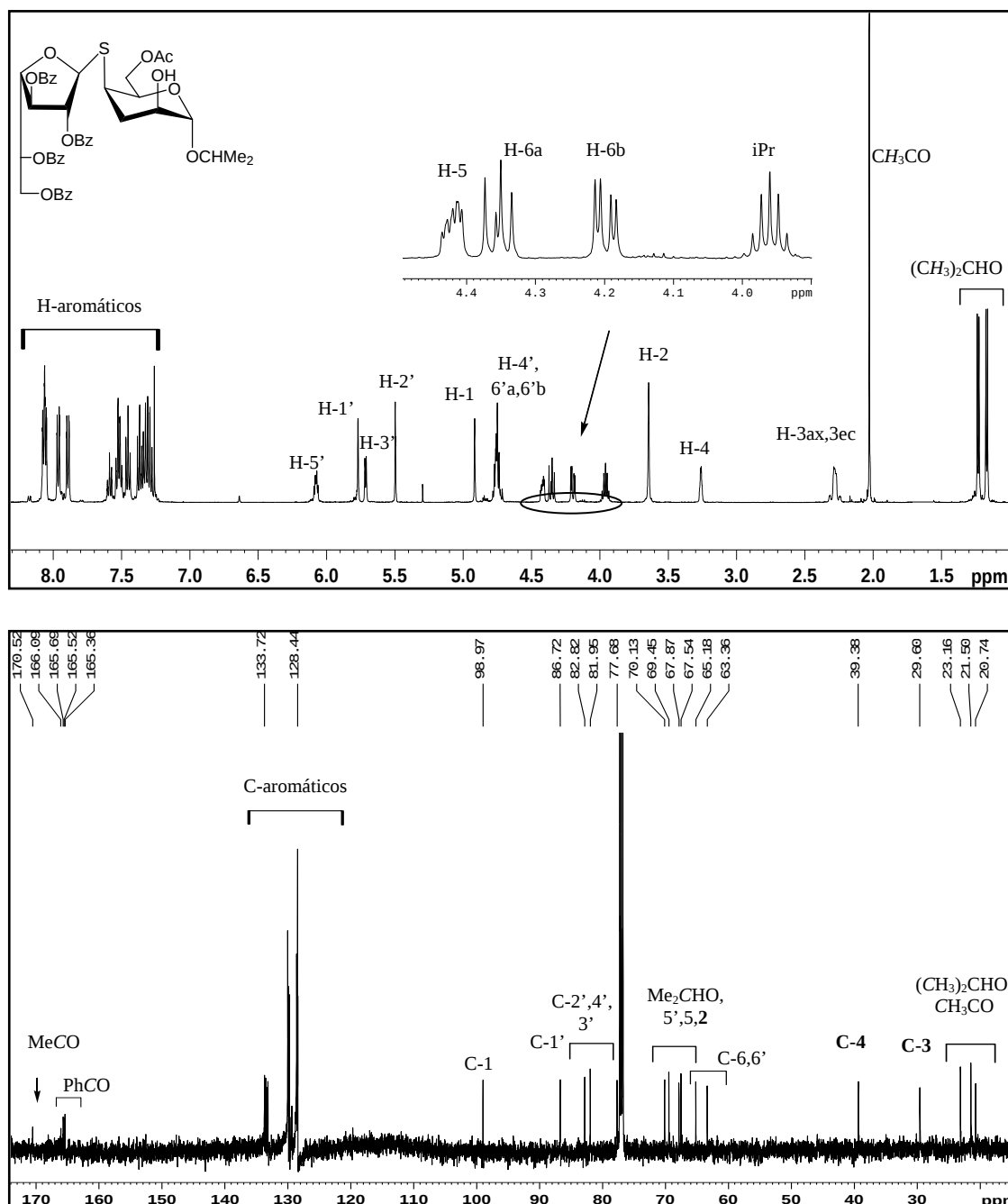


Figura 29a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **112**. Figura 29b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de **112**.

En la Tabla 4 se destacan los valores de las constantes de acoplamiento características para los productos mayoritarios de cada reducción.

Tabla 4. Constantes de acoplamiento diagnósticas de los compuestos 107, 109, 111 y 113.

$J(\text{Hz})$	107	109	111	113
$J_{1,2}$	3,8	3,8	3,8	3,7
$J_{2,3\text{ax}}$	11,5	12,0	12,8	11,5
$J_{2,3\text{ec}}$	4,3	3,8	3,9	4,3
$J_{3\text{ax},4}$		3,6	3,7	5,1
$J_{3\text{ec},4}$	3,5	3,8	3,9	3,5
$J_{3\text{ax},3\text{ec}}$	13,0	12,5	12,8	13,0

En todos los casos los valores de las constantes de acoplamiento listadas son prácticamente de igual magnitud, confirmando la disposición ecuatorial para el grupo hidroxilo de la posición 2.

En la Tabla 5 se indica la relación entre productos isoméricos *lixo:xilo*, que se obtuvieron por reducción de las ulosas con borohidruro de sodio.

Como ya se mencionó, la selectividad observada sugiere que la aproximación del hidruro al grupo carbonilo presente en C-2, es controlado por el grupo isopropilo en posición axial, presente en el estereocentro adyacente C-1. En la reducción de **93** la diastereoselectividad resultó mayor que la determinada para el resto de los tiodisacáridos. El compuesto **93** difería de los restantes en que su estereoquímica era 1,2-*cis* para el anillo tiofuranósico, mientras que en aquellos era 1,2-*trans*. Por lo tanto, la configuración anomérica de la tiofuranosa podría influir en el curso estereoquímico de la reducción. Sin embargo, en todos los casos (*gal*, *ara*, *ribo*) la reducción del grupo carbonilo resultó diastereoselectiva y dio origen a los 4-*S*-

glicofuranosil-4-tio- α -D-*xilo*-hexopiranosidos correspondientes como productos principales.

Tabla 5. Relación entre isómeros *lixo:xilo*, obtenidos por reducción de los compuestos 92, 93, 96 y 104.

Tiodisacárido de partida	Productos de reducción Relación <i>lixo:xilo</i>
92	1:4 (106:107)
93	1:7 (108:109)
96	1:4 (110:111)
104	1:6 (112:113)

4.4. Obtención de tiodisacáridos libres.

El último paso en este camino sintético consistió en obtener los disacáridos libres, para que luego pudiese ser evaluada su posible actividad biológica como inhibidores enzimáticos.

Sólo se desprotegieron los tiodisacáridos obtenidos con mayor rendimiento, es decir a 107, 111 y 113. Para desacilar estos tiodisacáridos, se sometieron a agitación a temperatura ambiente con una mezcla de MeOH:Et₃N:H₂O 3:1:3. Una vez obtenidos los respectivos isopropil glicósidos (114, 115 y 116) se los purificó por elución a través de una columna rellena de resina de intercambio iónico mixta para desionizarlos y luego a través de una mini columna de fase reversa.

Las Figuras 30–32 muestran los respectivos espectros de RMN de los tiodisacáridos libres 114–116.

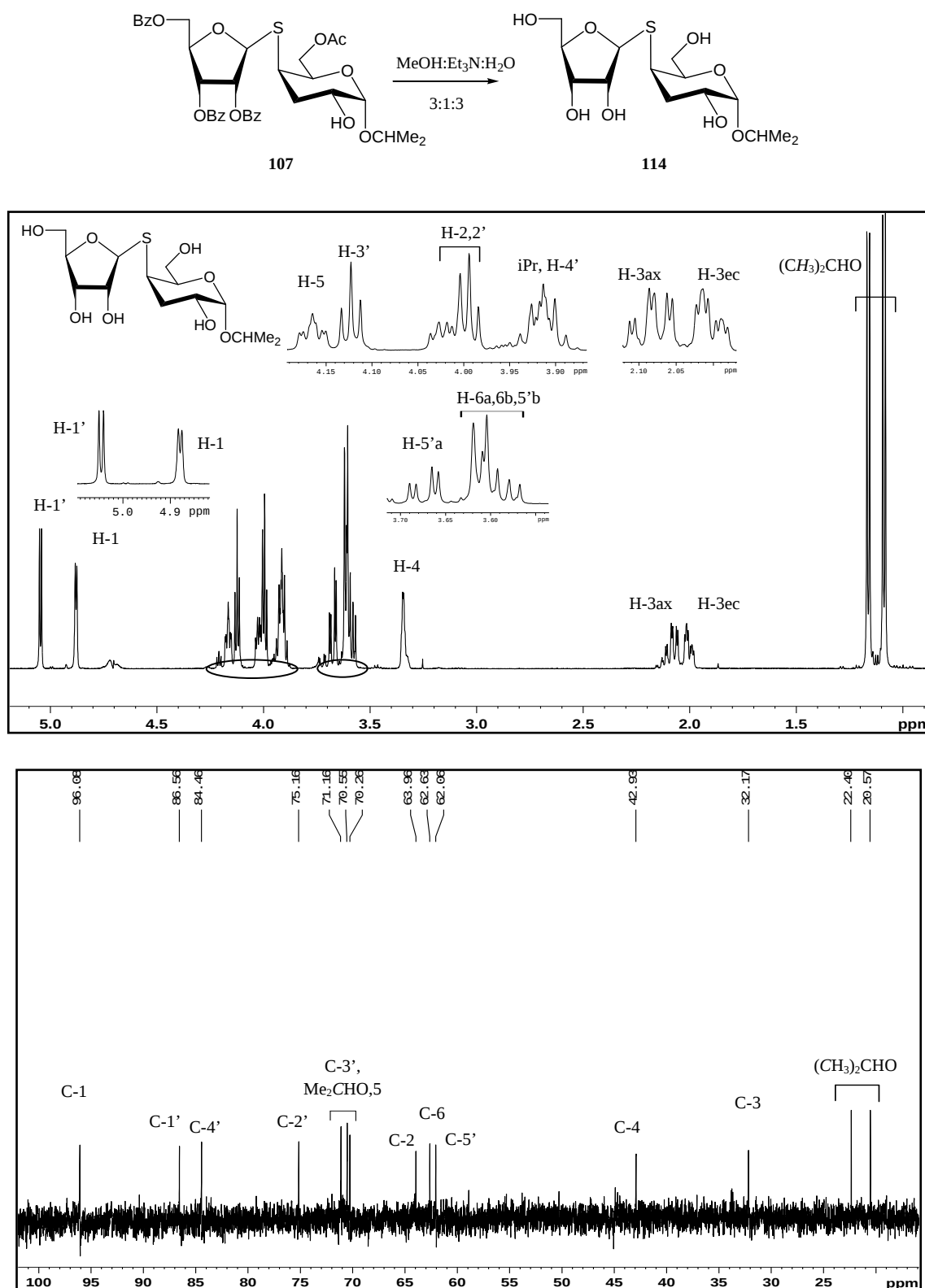


Figura 30a. Espectro de RMN-¹H (500 MHz, D₂O) de 114. **Figura 30b.** Espectro de RMN-¹³C (125,7 MHz, D₂O) de 114.

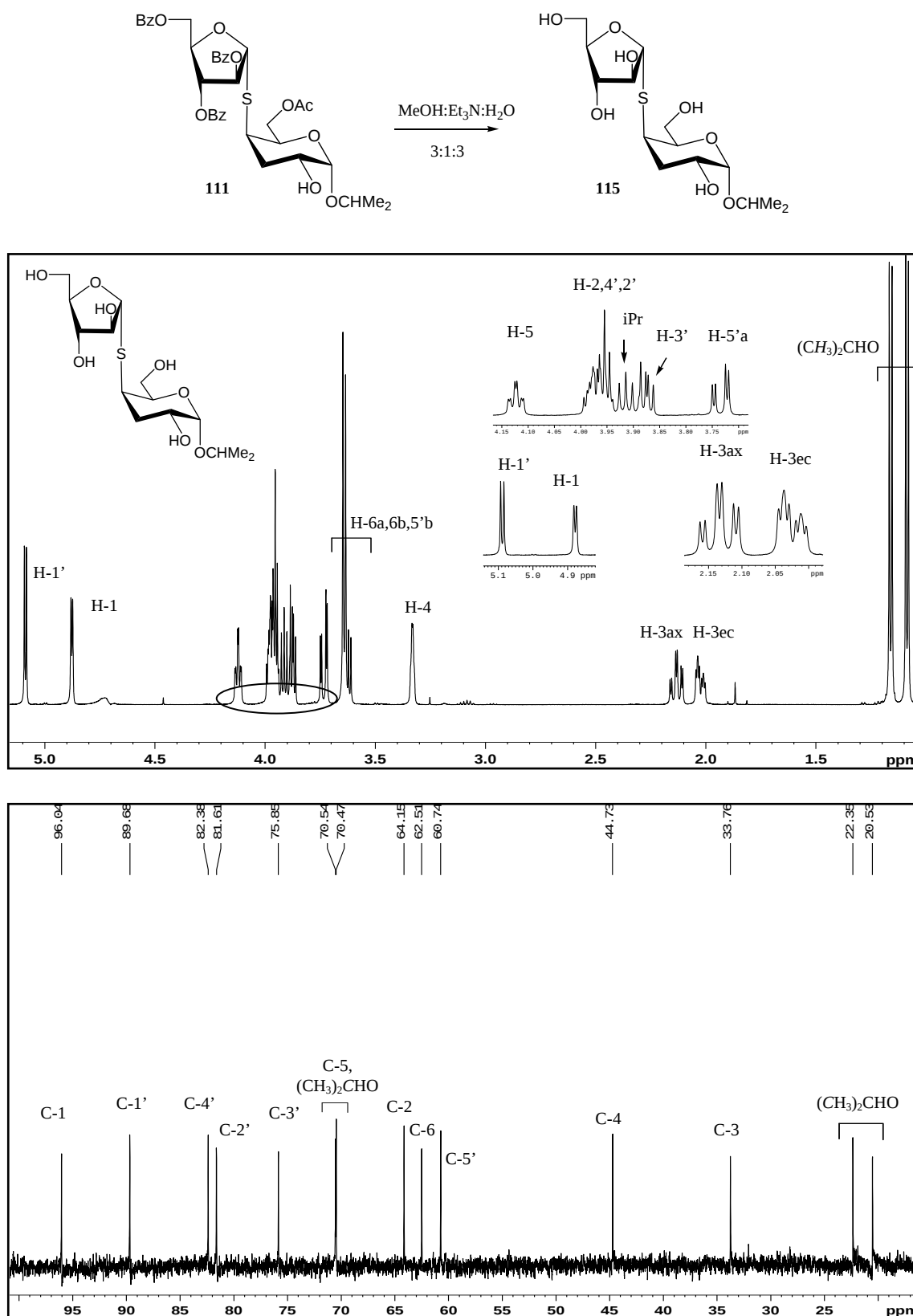


Figura 31a. Espectro de RMN-¹H (500 MHz, D₂O) de 115. **Figura 31b.** Espectro de RMN-¹³C (125,7 MHz, D₂O) de 115.

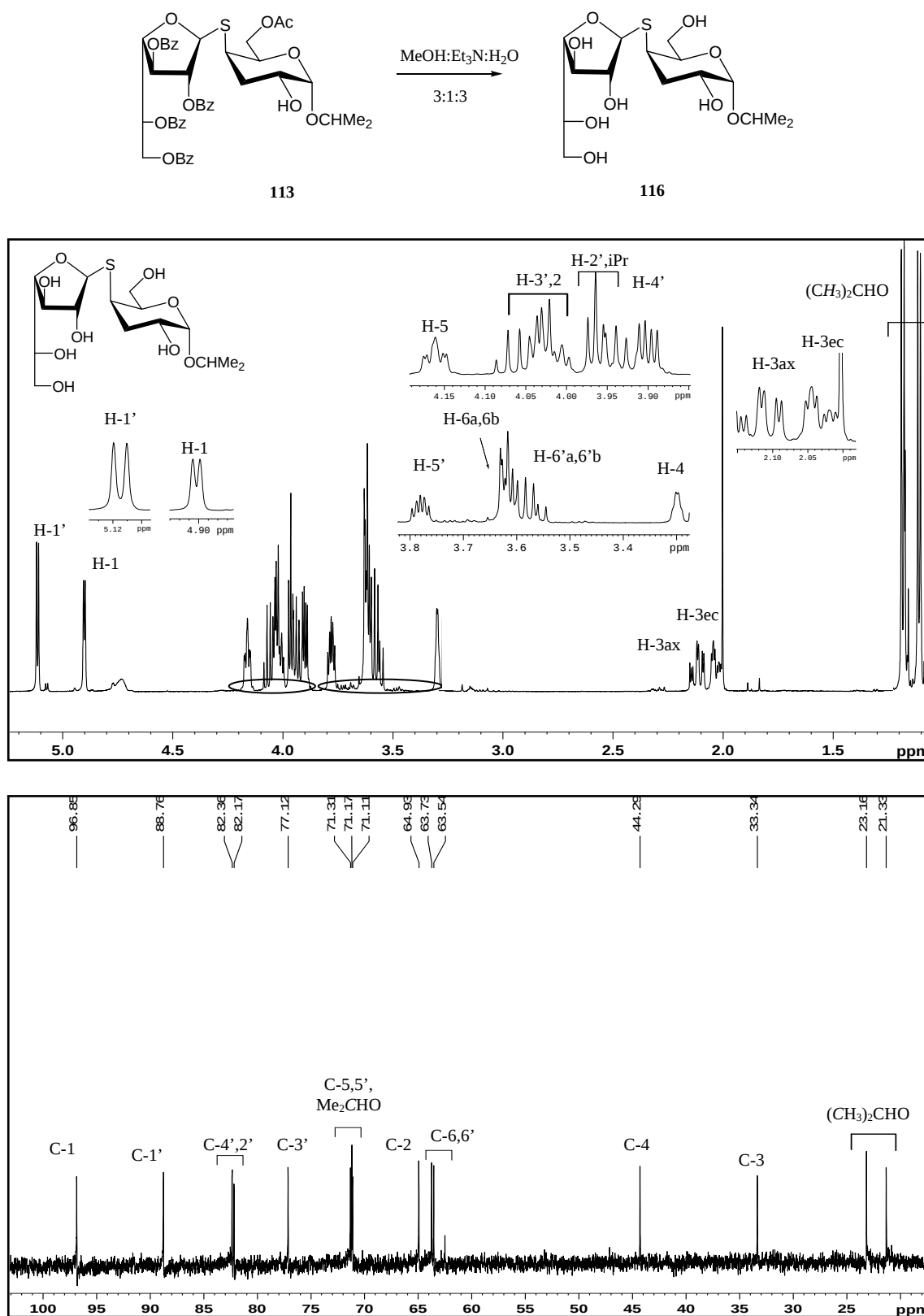


Figura 32a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, D_2O) de 116. Figura 32b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, D_2O) de 116.

En los espectros de los tiodisacáridos desprotegidos (**114**, **115** y **116**) se observó que, a diferencia de los compuestos que les dieron origen (**107**, **111** y **113**), el H-3 axial se encontraba a campos más bajos que el H-3 ecuatorial. En la Tabla 6 se resumen los valores de las constantes de acoplamiento para los H-3ax y H-3ec con sus hidrógenos vecinos, cuyas magnitudes son muy similares en los tres casos.

Tabla 6. Constantes de acoplamiento diagnósticas de los compuestos **114**, **115** y **116**.

$J(\text{Hz})$	114	115	116
$J_{1,2}$	3,7	3,7	3,7
$J_{2,3\text{ax}}$	12,0	12,8	12,0
$J_{2,3\text{ec}}$	4,3	3,9	4,6
$J_{3\text{ax},4}$	3,6	4,0	3,7
$J_{3\text{ec},4}$	3,5	3,9	3,5
$J_{3\text{ax},3\text{ec}}$	13,1	12,5	13,2

4.5. Evaluación de la actividad inhibitoria.

Se evaluó la actividad inhibitoria de los tiodisacárido **114**, **115** y **116**, contra una exo β -D-galactofuranosidasa aislada a partir *Penicillium fellutanum*, según protocolo ya descrito.¹⁸ El 4-nitrofenil β -D-galactofuranósido²³ se utilizó como sustrato y la D-galactono-1,4-lactona como inhibidor de referencia (IC_{50} 0,02 mM).¹⁸ La reacción enzimática se llevó a cabo en presencia de cada uno de los tiodisacáridos en concentraciones comprendidas entre 0,2 y 10 mM y para medir la actividad galactofuranosidasa se determinó la cantidad de 4-nitrofenol liberado a partir de 4-nitrofenil β -D-galactofuranósido. (Fig. 33).

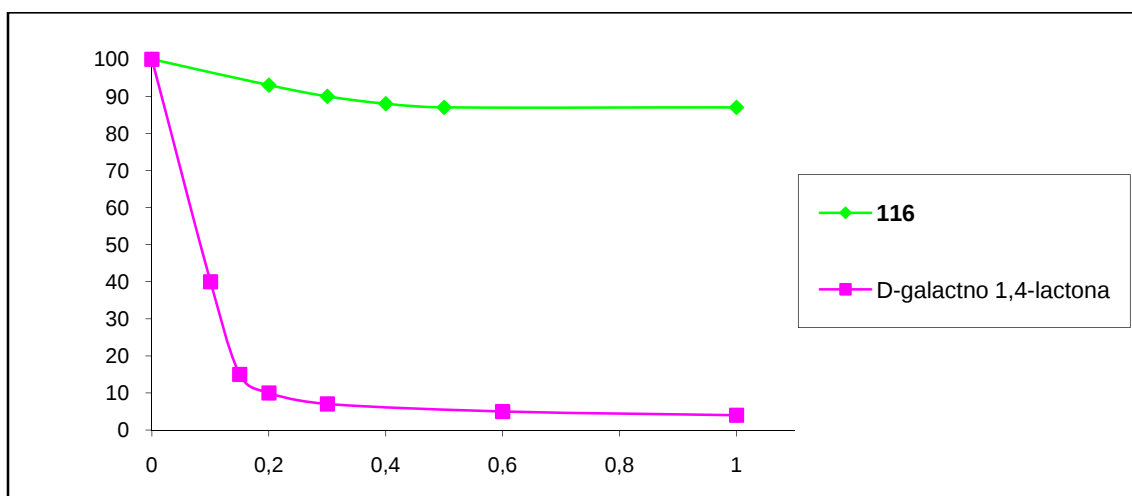


Figura 33. Efecto de la concentración de tiodisacárido en la actividad enzimática de la exo β -D-galactofuranosidasa de *Penicillium fellutanum*. Cada punto deriva del experimento realizado por triplicado.

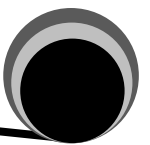
El compuesto **116**, que posee una unidad de Gal f resultó un débil inhibidor de la enzima. Los tiodisacáridos con unidades de Ribof (**114**) y Araf (**115**) no demostraron actividad inhibitoria.

Bibliografía.

1. Lichtenthaler, F. W. in Atta-ur-Rahman (Ed.), *Natural Product Chemistry* **1989**, pp. 227 (Springer Verlag: Heidelberg).
2. Becker, B. *J. Carbohydr. Chem.* **2000**, *19*, 253–284.
3. Witczak, Z. J. in Atta-ur-Rahman (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry*, Vol. 14, Elsevier, Amsterdam, **1994**, 268–282.
4. Shafizadeh, F.; Furneaux, R. H.; Stevenson, T. T. *Carbohydr. Res.* **1979**, *71*, 169–191.
5. Essig, M. G. *Carbohydr. Res.* **1986**, *156*, 225–231.
6. Witczak, Z. J.; Sun, J.; Mielguj, R. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 2169–2174.
7. De Fina, G.; Varela, O.; Lederkremer, R. M. *Synthesis* **1988**, 891–893.
8. Uhrig, M. L.; Varela, O. *Aust. J. Chem.* **2002**, *55*, 1–6.
9. Uhrig, M. L.; Manzano, V. E.; Varela, O. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, 162–168.
10. Ibatullin, F. M.; Selivanov, S. I.; Shavva, A. G. *Synthesis* **2001**, *3*, 419–422.
11. Ibatullin, F. M.; Shabalin, K. A.; Jänis, J. V.; Shavva, A. G. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 7961–7964.
12. Ibatullin, F. M.; Shabalin, K. A.; Jänis, J. V.; Selivanov, S. I. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 4565–4567.
13. Horton, D. *Methods Carbohydr. Chem.* **1963**, *2*, 433–437. Horton, D.; Wolfrom, M. L. *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 1794–1800.
14. Turnbull, W. B.; Field, R. A. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2000**, 1859–1866.
15. Szekeres, G. L.; Bardos, T. J. *J. Med. Chem.* **1972**, *15*, 1333–1334.
16. Gandolfi-Donadío, L.; Gallo-Rodriguez, C.; Lederkremer, R. M. *Can. J. Chem.* **2006**, *84*, 486–491.
17. Gadikota, R. R.; Callam, C. S.; Wagner, T.; Del Fraino, B.; Lowary, T. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4155–4165.

18. Marino, C.; Mariño, K.; Miletto, L.; Manso Alves, M. J.; Colli, W.; Lederkremer, R. M. *Glycobiology* **1998**, *8*, 901–904.
19. Lopez, G.; Daniellou, R.; O'Donohue, M.; Ferrières, V.; Nugier- Chauvin, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 434–438.
20. D'Accorso, N. B.; Thiel, I. M. E.; Schüller, M. *Carbohydr. Res.* **1983**, *124*, 177–184.
21. Rosemeyer, H.; Tóth, G.; Golankiewicz, B.; Kazimierczuk, Z.; Bourgeois, W.; Kretschmer, U.; Muth, H.-P.; Seela, F. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 5784–5790.
22. Uhrig, M. L.; Varela, O. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 2069–2076.
23. Varela, O.; Marino, C.; Lederkremer, R. M. *Carbohydr. Res.* **1986**, *155*, 247–251.

CAPITULO 5



Síntesis de (1→6) tiodisacáridos mediante reacciones de
transtioglicosilación.

Síntesis de (1→6) tiodisacáridos mediante reacciones de transtioglicosilación.

5.1. Introducción.

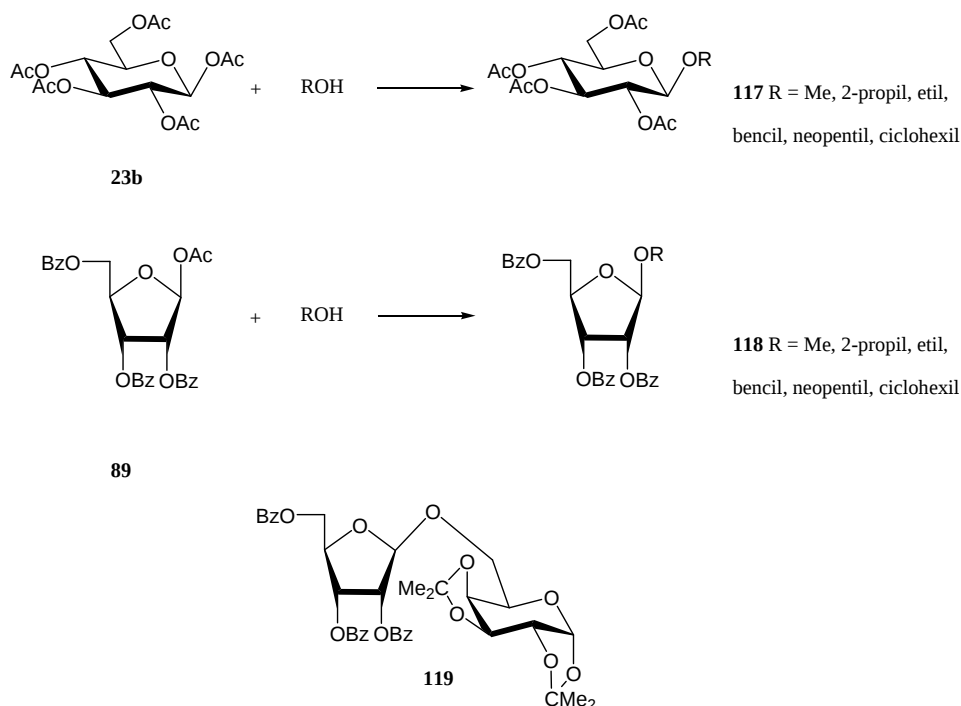
En el capítulo anterior describimos la síntesis de 3-desoxi-(1→4)-tiodisacáridos, mediante reacciones de adición conjugada 1,4 (adiciones de Michael) de sales de tiouronio generadas *in situ*, a enonas.

Como continuación de esos estudios se planteó como objetivo la síntesis de (1→6)-tiodisacáridos con una unidad furanósica en su extremo no reductor, por ser análogos a los disacáridos naturales encontrados en una gran variedad de microorganismos, entre ellos, las micobacterias.

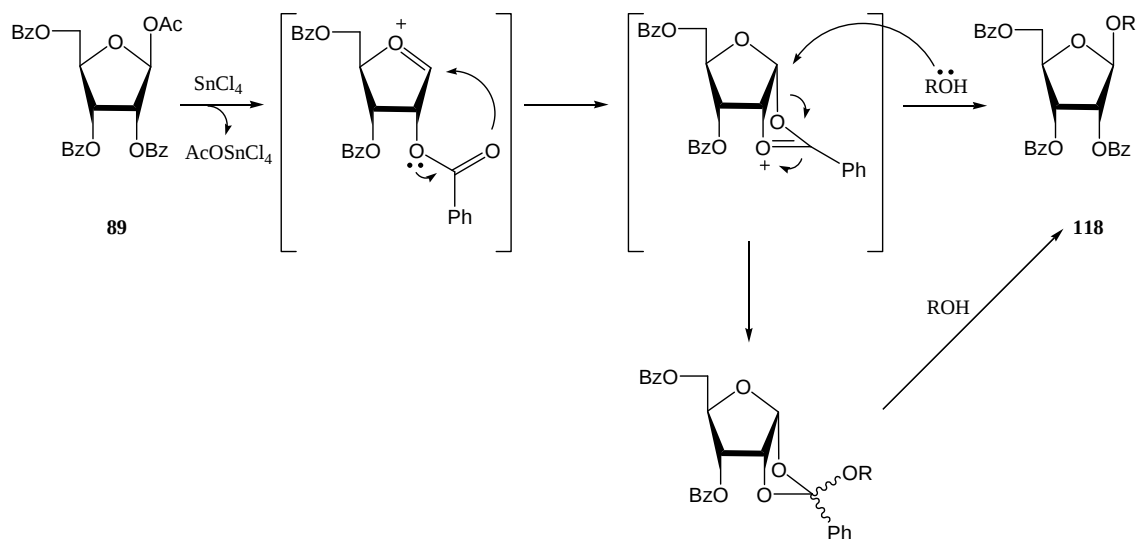
Esta ruta sintética consistió en la obtención de tiodisacáridos, mediante reacciones de tioglicosilación promovidas por catalizadores como el tetracloruro de estaño (SnCl_4) y el dicloruro de dioxomolibdeno (MoO_2Cl_2).

El SnCl_4 se había empleado eficazmente para la síntesis de *O*-glicósidos. En 1977 Hanessian y col.¹ describieron un método eficiente para preparar β -D-ribofuranósidos y β -D-glucopiranosidos con buenos rendimientos a partir de los respectivos monosacáridos per-*O*-acetilados. Previamente habían descripto *O*-glicosilaciones estereocontroladas, utilizando este mismo catalizador, en aldofuranos y piranosas, e inclusive en amino azúcares.²⁻⁵

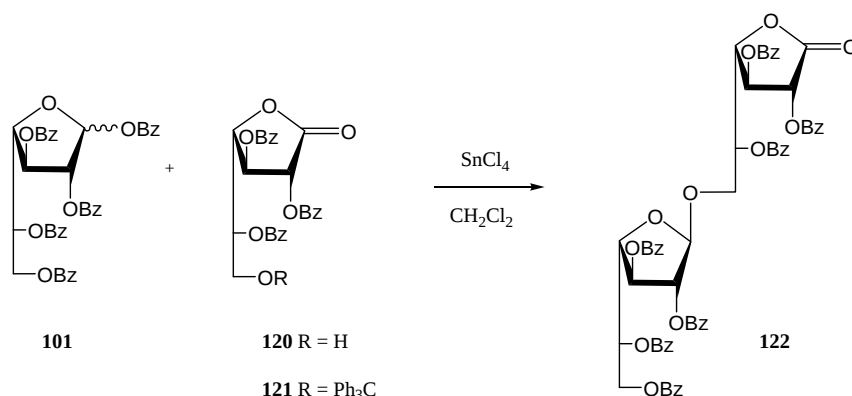
Por ejemplo, por tratamiento de la β -D-glucosa pentaacetato (**23b**) o la 1-*O*-acetil-2,3,5-tri-*O*-benzoil- β -D-ribofuranosa (**89**) con cantidades equimoleculares de SnCl_4 y un alcohol (ROH), en CH_2Cl_2 ; por períodos cortos y a temperatura ambiente o menor, se obtenían los respectivos glicósidos con alta pureza anomérica. Se sintetizaron así varios derivados de β -D-ribofuranósidos (**118**) y se aplicó este método a la síntesis de disacáridos como la 1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén-6-*O*-(2,3,5-tri-*O*-benzoil- β -D-ribofuranosil)- α -D-galactopiranososa (**119**).



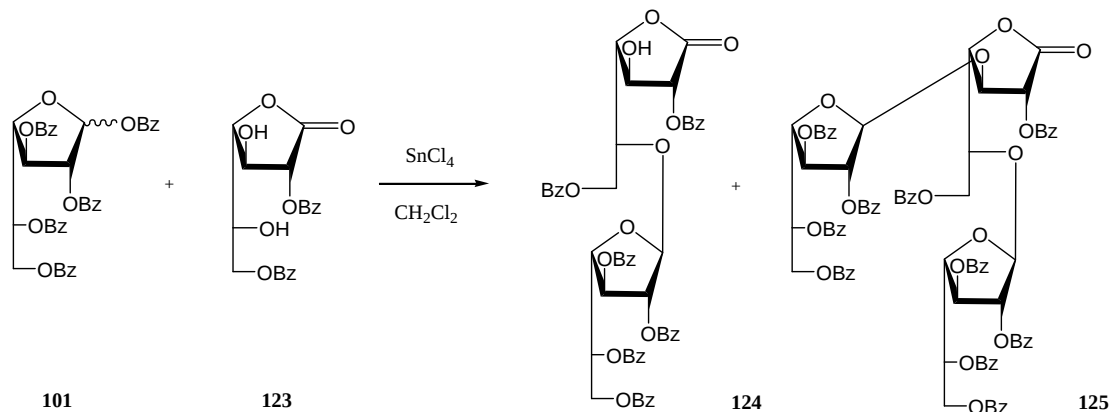
Al igual que otros métodos de glicosilación en estas series, la presencia de un grupo éster participante en C-2, induce la formación estereoselectiva de 1,2-*trans*-glucósidos.⁶⁻⁹ Esta alta estereoselectividad puede atribuirse a la participación anquimérica del sustituyente del C-2 para estabilizar la carga generada en el C-1, por la eliminación con el ácido de Lewis, del sustituyente anomérico. El ión aciloxonio resultante (o un intermediario ortoéster¹) bloquea una de las caras del C-1 e induce el ataque del donador-OH por la cara libre, para dar el glucósido 1,2-*trans*.



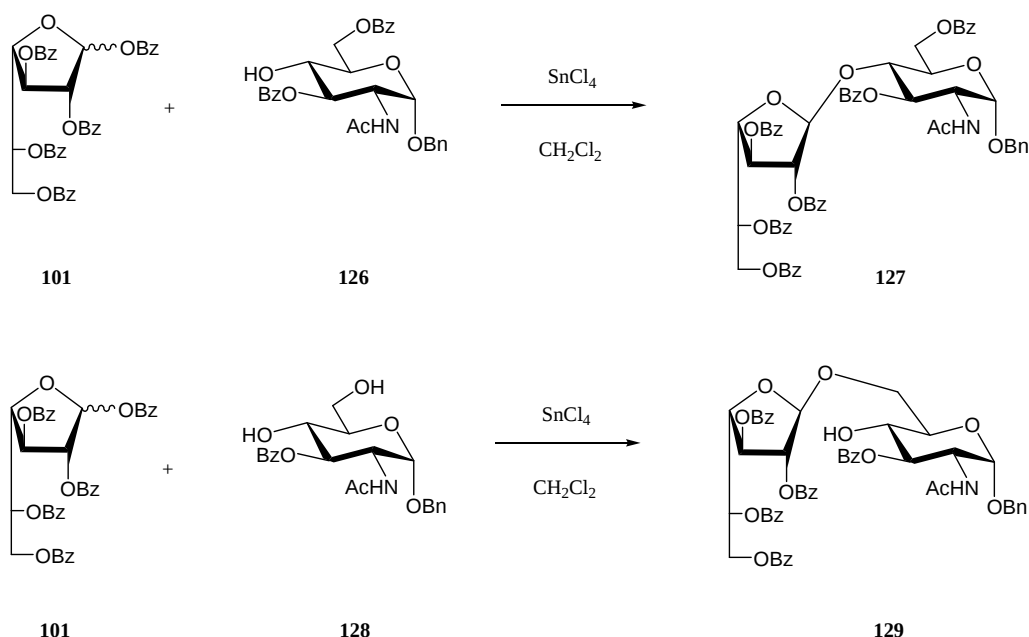
Vach y Lederkremer emplearon esta estrategia para sintetizar disacáridos derivados de galactofuranosa. Mediante la glicosilación catalizada por SnCl_4 de la perbenzoil Gal f (**101**) con 2,3,5-tri-*O*-benzoil-D-galactono-1,4-lactona (**120**) o su derivado 6-*O*-tritolado (**121**), se obtuvo la perbenzoil β -D-galactofuranosil-(1 $\rightarrow$ 6)-D-galactono-1,4-lactona **122** con excelente rendimiento (91%), un intermediario clave en la síntesis de disacáridos con ambas unidades en configuración furanósica.¹⁰



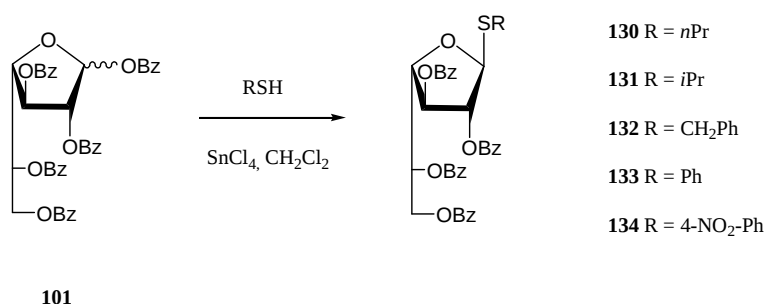
El compuesto **122** es precursor de β -D-Gal f (1 $\rightarrow$ 6)-D-Gal f y también se sintetizaron derivados de β -D-Gal f (1 $\rightarrow$ 5)-D-Gal f , siguiendo esta misma metodología.¹¹ Por ejemplo la glicosilación catalizada por SnCl_4 de la perbenzoil Gal f (**101**) con la lactona parcialmente protegida **123**, condujo al disacárido **124** (70%) acompañado, como producto secundario, por el trisacárido **125**, resultante de la glicosilación de ambos hidroxilos (HO-3 y HO-5).



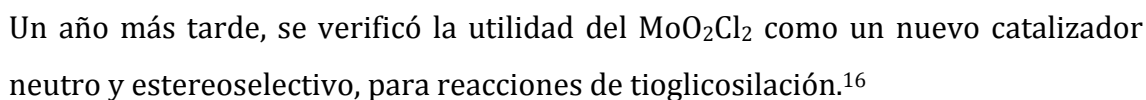
Se utilizaron otros aceptores de Gal f , por ejemplo la *N*-acetil glucosamina, que produjo los disacáridos β -D-Gal f (1 $\rightarrow$ 4)-D-GlcNAc¹² (**127**) y β -D-Gal f (1 $\rightarrow$ 6)-D-GlcNAc (**129**).¹³



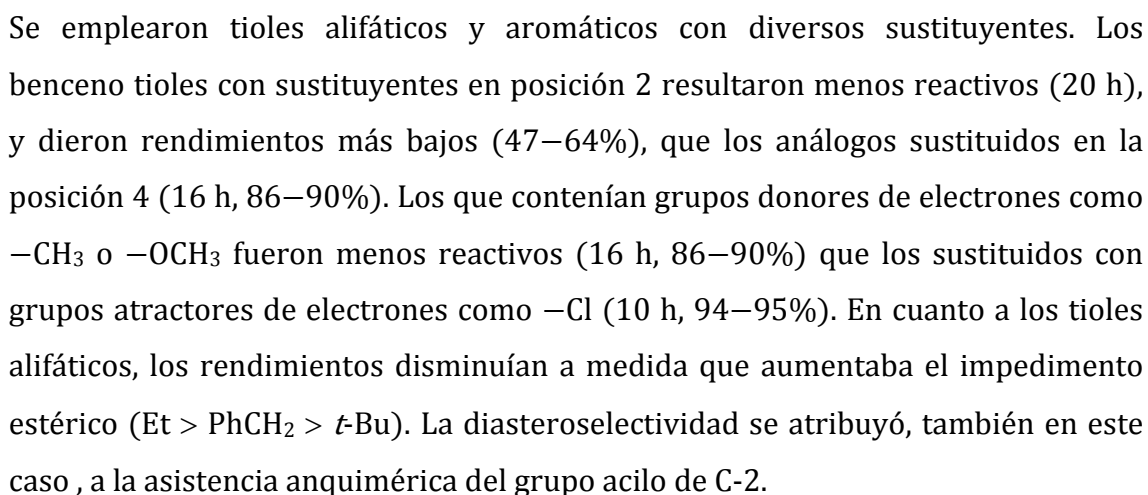
En los trabajos citados se demostró la utilidad del SnCl_4 para promover la síntesis de 1,2-*trans* glicofuranósidos a partir de precursores peracetilados. Sin embargo, se encontró sólo un caso del uso de este método para preparar 1-tio- β -D-galactofuranósidos. Éstos se prepararon por reacción de la perbenzoil Galf(**101**) con alquil, bencil y aril tioles, en presencia de SnCl_4 . Al igual que en el caso de la *O*-glicosilación, sólo se obtuvieron los anómeros β **130–134** con buenos rendimientos (85–95%).¹⁴



Otro catalizador, recientemente descrito, que resultó altamente diastereoselectivo en la tioglicosilación de glicósidos peracetilados, es el dicloruro de dioxomolibdeno (MoO_2Cl_2), una especie oxometálica del grupo VIb. En el año 2005 se empleó al MoO_2Cl_2 como un catalizador eficiente para la reacción de acilación de alcoholes, aminas y tioles, con anhídridos, la cual tenía lugar con buenos rendimientos y alta quimioselectividad.¹⁵ Se atribuyó la actividad catalítica al carácter anfotérico de la unidad $\text{Mo}=\text{O}$, y se propuso el siguiente mecanismo de acilación.

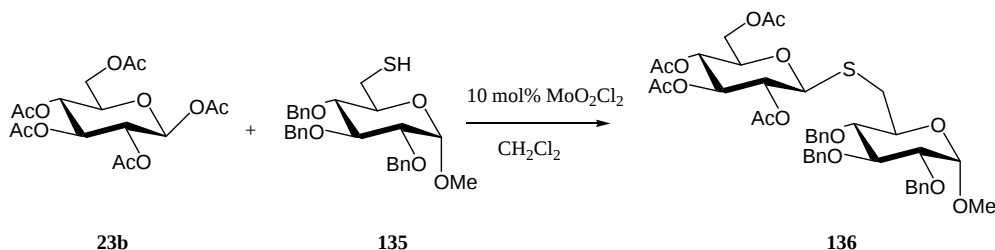


Entre 18 especies oxometálicas examinadas, el MoO_2Cl_2 resultó el catalizador más reactivo en la tioglicosilación de azúcares per-*O*-acetilados con tioles para dar tioglicósidos con exclusivo diastereocontrol 1,2-*trans*.



Se extendió esta metodología a otros monosacáridos peracetilados derivados de galactosa, manosa, ribosa, xilosa y arabinosa. En el caso de la manosa, la tioglicosilación demandaba tiempos de reacción mayores y los rendimientos resultaron menores. Finalmente se demostró la aplicación práctica del método en

la síntesis de β -(1 $\rightarrow$ 6)-tiodisacáridos. Así, por tratamiento de la 1,2,3,4,6-penta-*O*-acetil- β -D-glucopiranososa (**23b**) con metil 2,3,4-tri-*O*-bencil-6-tio- α -D-glucopiranosido (**135**) se obtuvo el tiodisacárido **136** con 74% de rendimiento.



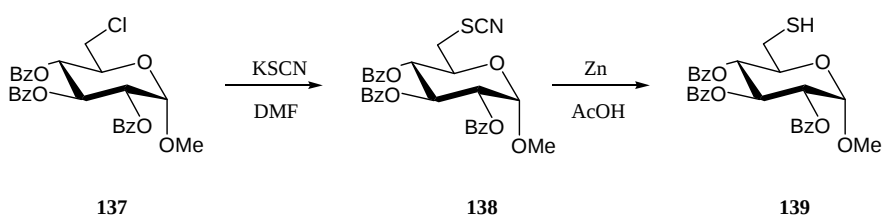
5.2. Tiodisacáridos con unidades furanósicas en el extremo no reductor.

Tioglicosilaciones promovidas por SnCl_4 .

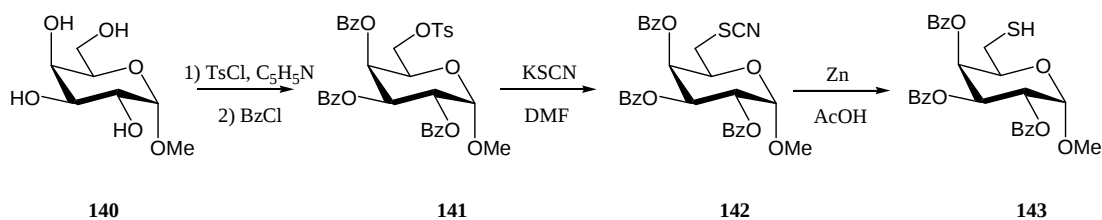
Teniendo en cuenta los antecedentes mencionados en la introducción, se decidió utilizar catalizadores de estaño y molibdeno, para llevar a cabo reacciones de glicosilación para obtener (1 $\rightarrow$ 6)-tiodisacáridos con unidades furanósicas en el extremo no reductor.

Como donores de glicosilo se utilizaron derivados per-*O*-acilados de arabinosa, galactosa y ribosa, todos ellos en configuración furanósica. Como tioles se emplearon derivados de 6-tioazúcares piranósicos, de configuración D-*galacto* y D-*gluco*.

Como derivado de la 6-tio-D-glucosa, se utilizó el metil 2,3,4-tri-*O*-benzoil-6-tio- α -D-glucopiranosido (**139**),¹⁷ el cual se sintetizó a partir del precursor **137**.¹⁸ Por tratamiento de **137** con tiocianato de potasio en DMF a reflujo se obtuvo **138**, luego de ser purificado mediante cromatografía en columna, se redujo utilizando zinc en ácido acético a reflujo para dar **139**.



También se preparó un tioanálogo de **139**, de configuración *galacto*, para el cual se debió desarrollar un método de síntesis conveniente, a partir del metil α -D-galactopiranosido (**140**). Se tosiló selectivamente el hidroxilo primario de **140**,¹⁹ y luego se benzoiló obteniéndose el compuesto **141** convenientemente protegido, al cual se le aplicó una síntesis análoga a la descrita para **139**. Se trató **141** con tiocianato de potasio en DMF a reflujo, y se obtuvo el tiociano derivado **142** (55%) y también compuesto de partida sin reaccionar (24%). La baja reactividad de este tosilato frente a la sustitución, podría deberse a que el nucleófilo que ataca, se encuentra impedido por el sustituyente de C-4, que se dispone en posición axial, siendo un efecto comúnmente observado para los 6-*O*-sulfonatos de galactósidos.²⁰ Finalmente, la reducción de **142** con zinc en ácido acético a reflujo produjo el compuesto deseado **143**.



Habiendo sintetizado los compuestos **139** y **143**, se utilizó la tetra-*O*-acetil- α -L-Araf (**144**), como primera opción de monosacárido donador de glicosilo, para llevar a cabo la reacción de tioglicosilación promovida por SnCl_4 . Los motivos por los cuales se eligió este azúcar fueron:

- es asequible comercialmente
- tiene la misma stereoquímica que la β -D-Galf.

Este primer método de tioglicosilación consistió en disolver el azúcar per-*O*-acetilado en CH_2Cl_2 anhidro, activarlo con SnCl_4 y luego adicionar el 6-tioazúcar **139**. Se dejó proceder la reacción a baja temperatura para dar el tiodisacárido α -L-Araf(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-Glcp (**145**) con 50% de rendimiento.

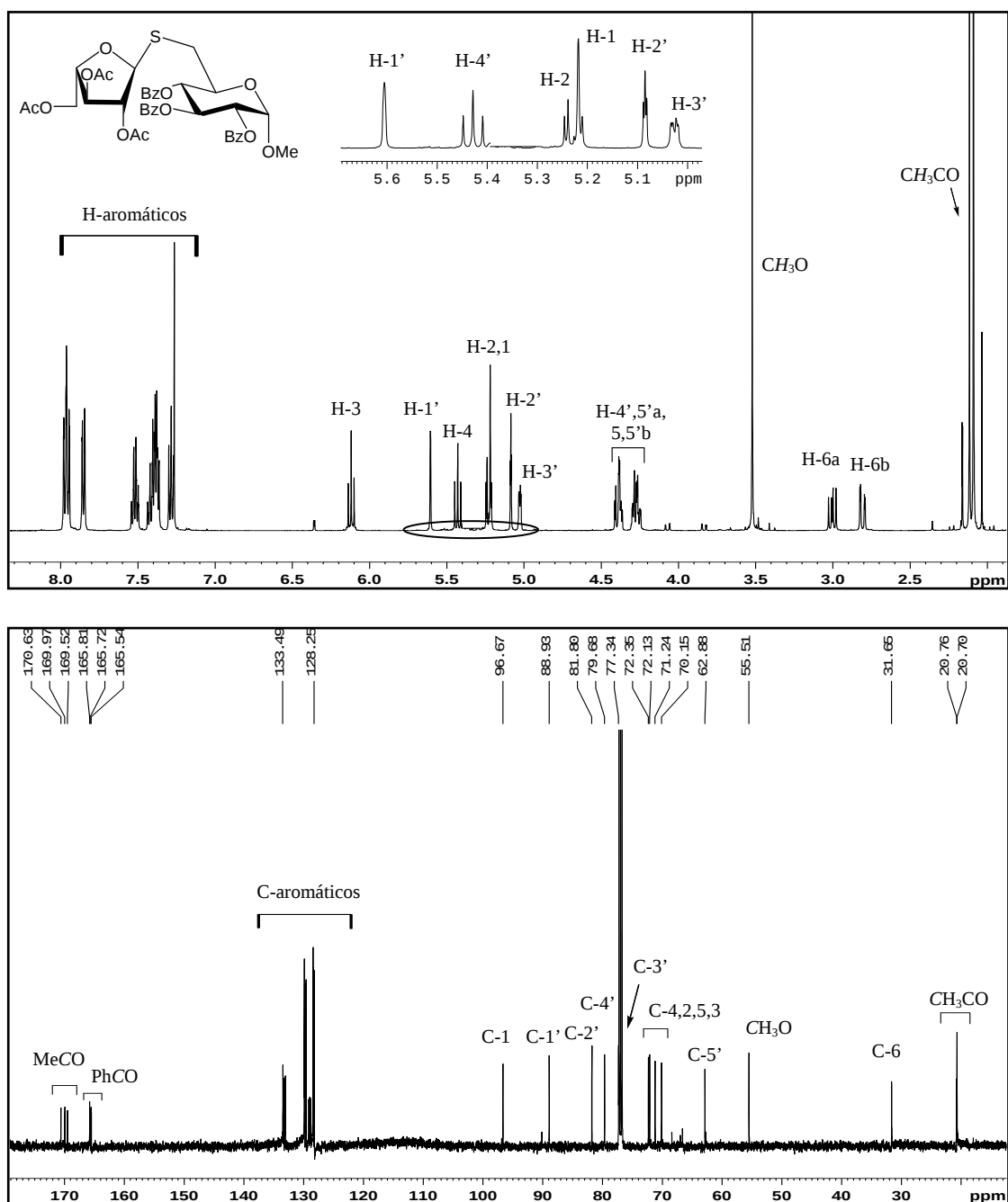
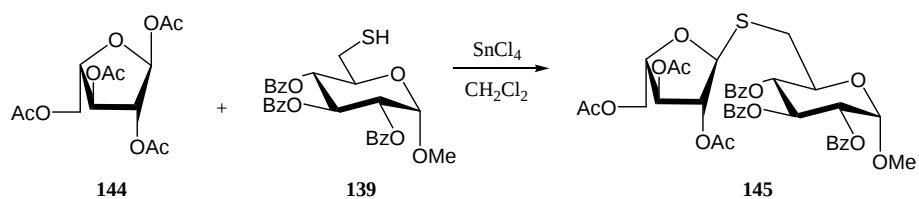
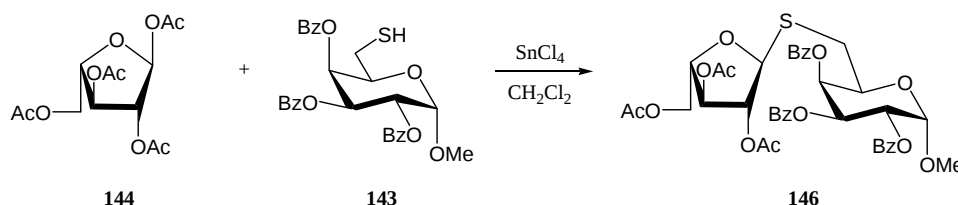


Figura 34a. Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) de 145. **Figura 34b.** Espectro de RMN-¹³C (125,7 MHz, CDCl₃) de 145.

En forma análoga, al partir del tiol **143** se obtuvo el tiodisacárido α -L-Araf(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-Galp (**146**) con 61% de rendimiento.



La configuración del centro anomérico de la unidad L-Araf en ambos tiodisacáridos (**145** y **146**) se estableció como α , en base a sus espectros de RMN- ^1H (Fig 34a y Fig 35a). Éstos mostraron constantes de acoplamiento pequeñas entre el H-1' y el H-2' ($J_{1',2'} < 1$ Hz) característico, como ya se explicó en el capítulo anterior, de 1,2-*trans* tiofuranósidos. Una vez más, la asistencia anquimérica del sustituyente acetilado de C-2 justificaba la alta diastereoselectividad de la reacción en favor del isómero 1,2-*trans*. En forma análoga, en ambos espectros de RMN- ^{13}C (Fig. 34b y Fig. 35b) también se observaban desplazamientos característicos para las señales del C-1' en configuración α -L-Araf (**145**: 88,9 ppm; **146**: 88,7 ppm).

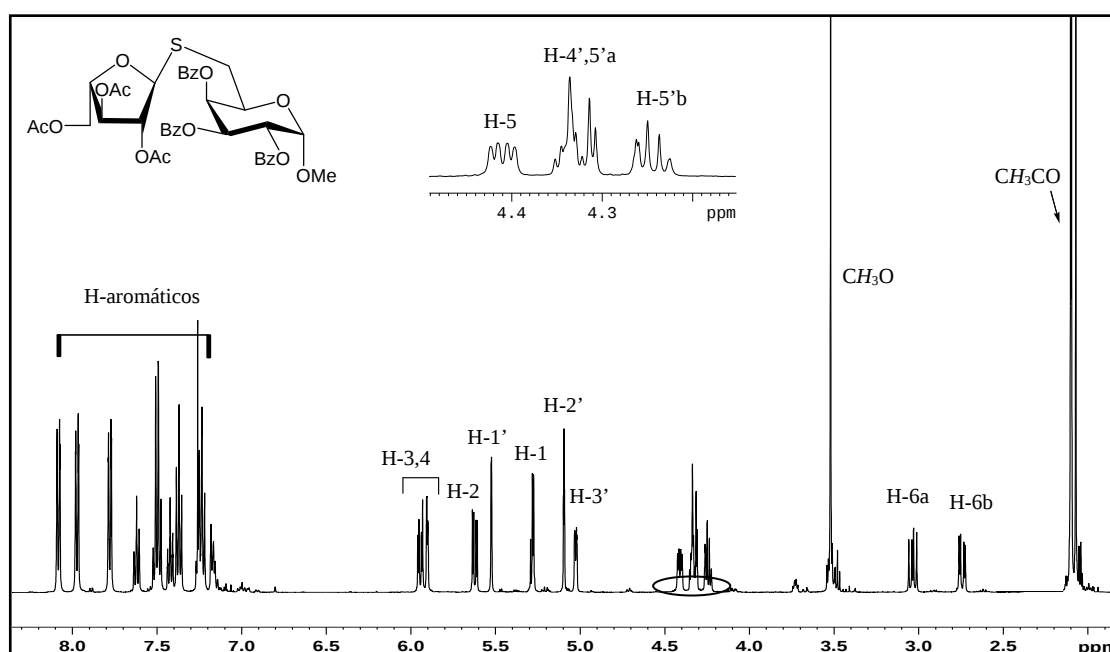


Figura 35a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **146**.

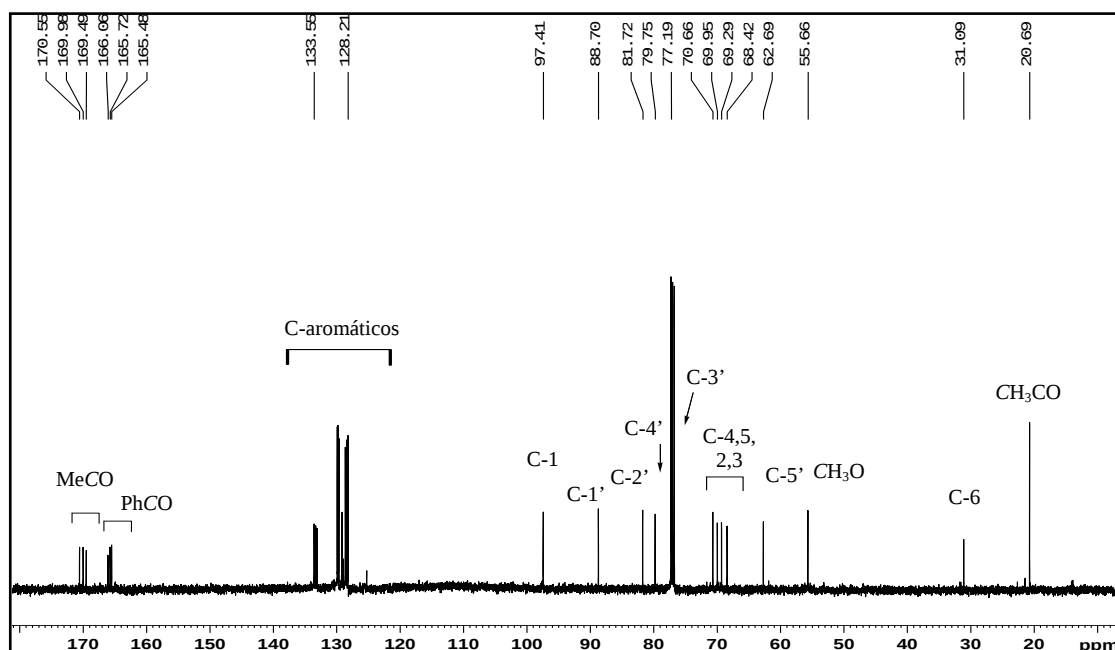
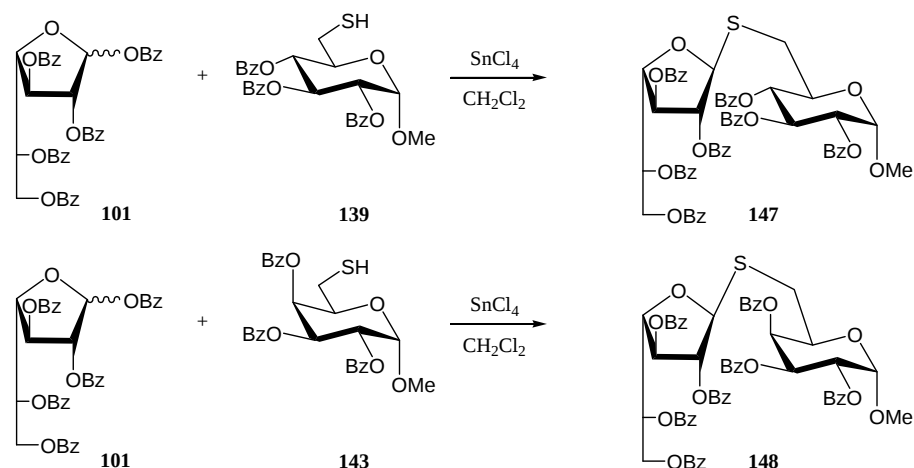


Figura 35b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de **146**.

El procedimiento descrito se extendió a la preparación de un tiodisacárido con una unidad *Gal* como extremo no reductor. El derivado perbenzoilado de *Gal* (**101**) reaccionó con los 6-tiopiranosidos **139** y **143** en presencia de SnCl_4 , para dar los tiodisacáridos **147** y **148** respectivamente.



Nuevamente la reacción resultó diastereoselectiva, en favor de la configuración anomérica β para el enlace tioglicosídico de ambos tiodisacáridos, según lo observado en el espectro de RMN- ^1H (Fig. 36a y Fig. 37a) en las cuales constantes de acoplamiento entre H-1' y H-2' resultaron pequeñas ($J_{1',2'} < 1 \text{ Hz}$). Asimismo, en

los espectros de RMN- ^{13}C (Fig. 36b y Fig. 37b) los valores de desplazamiento para cada C-1' (**147**: 89,2 ppm y **148**: 89,0 ppm), también confirmaba la configuración β en la unidad furanósica de **147** y de **148**.

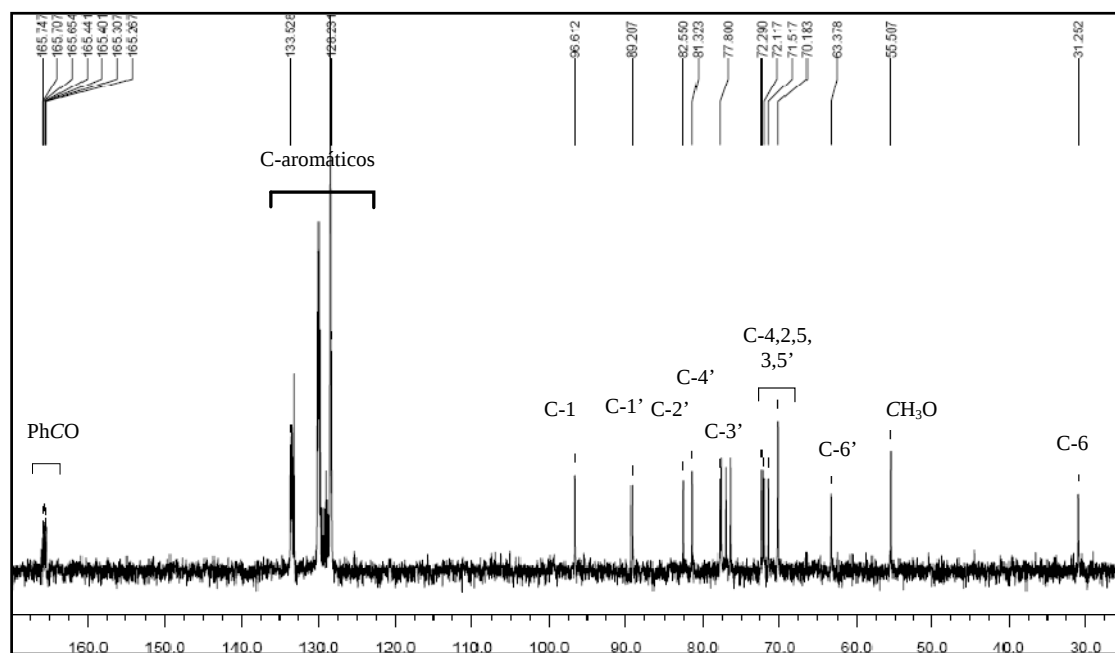
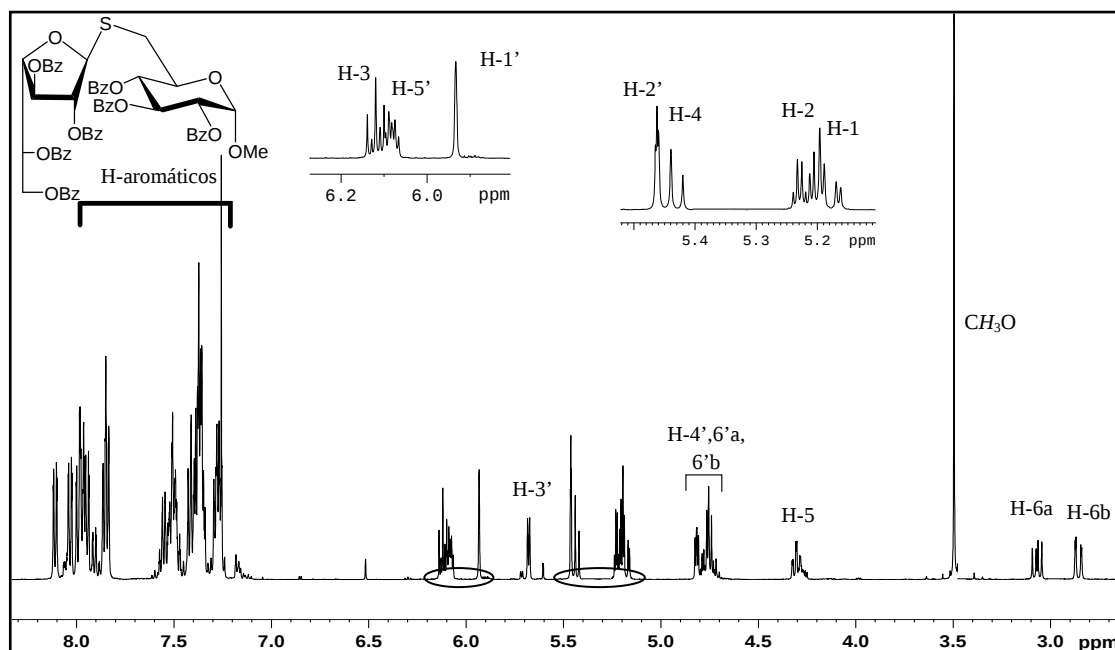


Figura 36a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **147**. **Figura 36b.** Espectro de RMN- ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) de **147**.

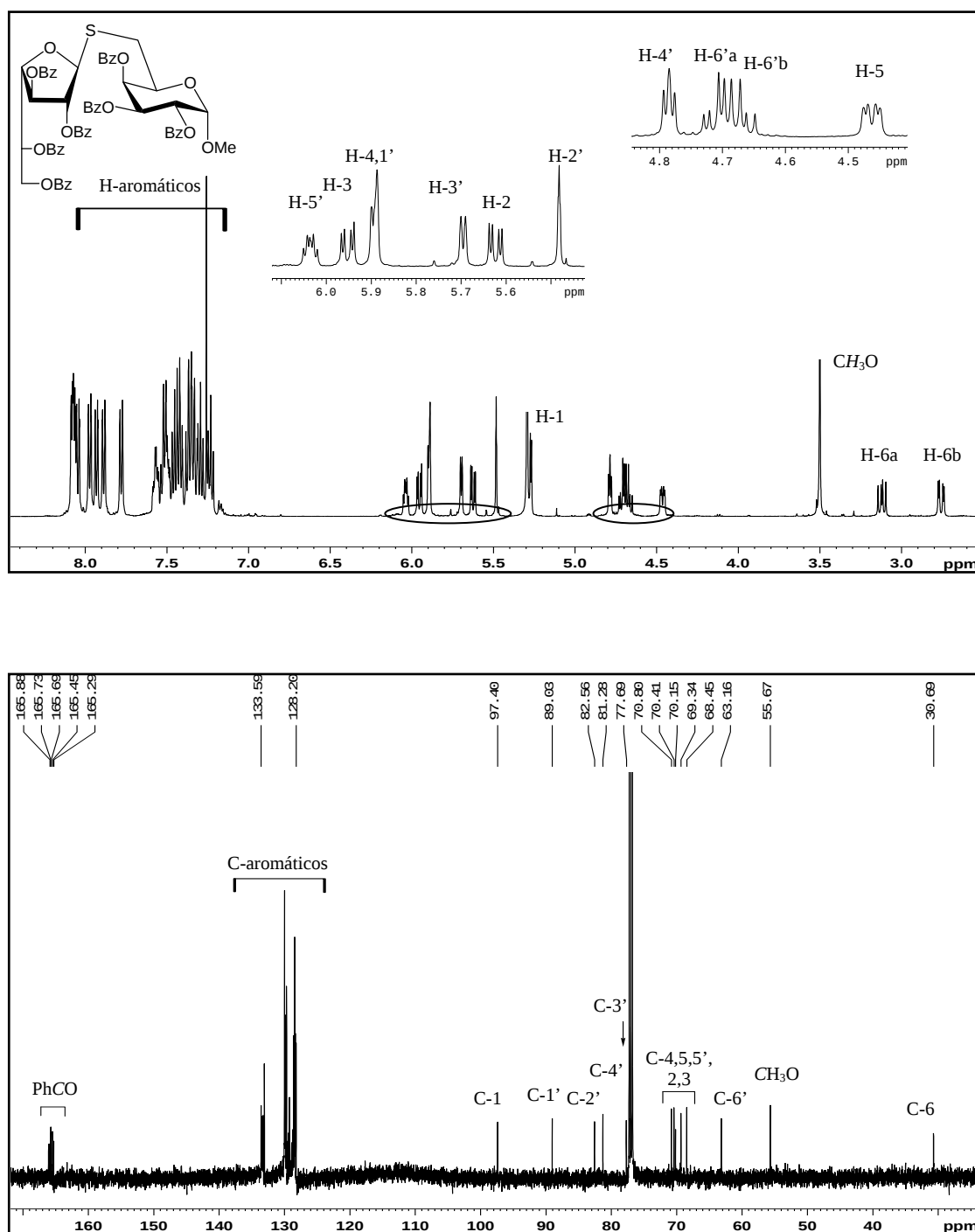


Figura 37a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 148. **Figura 37b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 148.

El tiodisacárido **147** también se sintetizó a partir de un derivado 1-*O*-acetil-per-*O*-benzoiliado de Gal β que se describirá más adelante, obteniéndose un rendimiento similar (59%), para este método sintético promovido por SnCl_4 .

5.3. Tiodisacáridos con unidades furanósicas en el extremo no reductor.

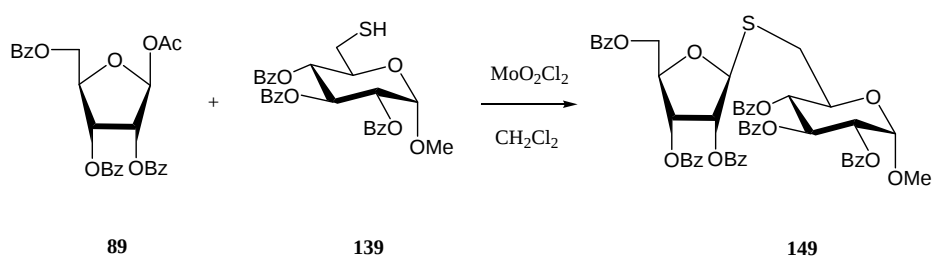
Tioglicosilaciones promovidas por MoO₂Cl₂.

El segundo método de tioglicosilación consistió en utilizar el catalizador novedoso MoO₂Cl₂, que había resultado efectivo para promover tioglicosilaciones de 1-*O*-acetil piranosas.¹⁶

Nuevamente se utilizaron 6-tioazúcares de configuración *gluco* y *galacto*, y derivados acilados de Araf, Galfy además de Ribof, que no se había utilizado para la reacción con SnCl₄.

Este método de tioglicosilación consistió en disolver el MoO₂Cl₂ en CH₂Cl₂ anhidro, bajo atmósfera de argón y adicionar una solución, en el mismo solvente, del azúcar furanósico per-*O*-acilado. Luego de agitar a temperatura ambiente durante 10 min se agregó el tioazúcar y se dejó que la reacción proceda a temperatura ambiente.

En primer lugar, se llevó a cabo la reacción de la 1-*O*-acetil-2,3,5-tri-*O*-benzoil-β-D-ribofuranosa (**89**), comercial, ya utilizada anteriormente. Como agente de tioglicosilación utilizamos el 6-tioazúcar de configuración *gluco* (**139**). Se obtuvo así el tiodisacárido **149** con alta diastereoselectividad y un rendimiento aceptable (52%).



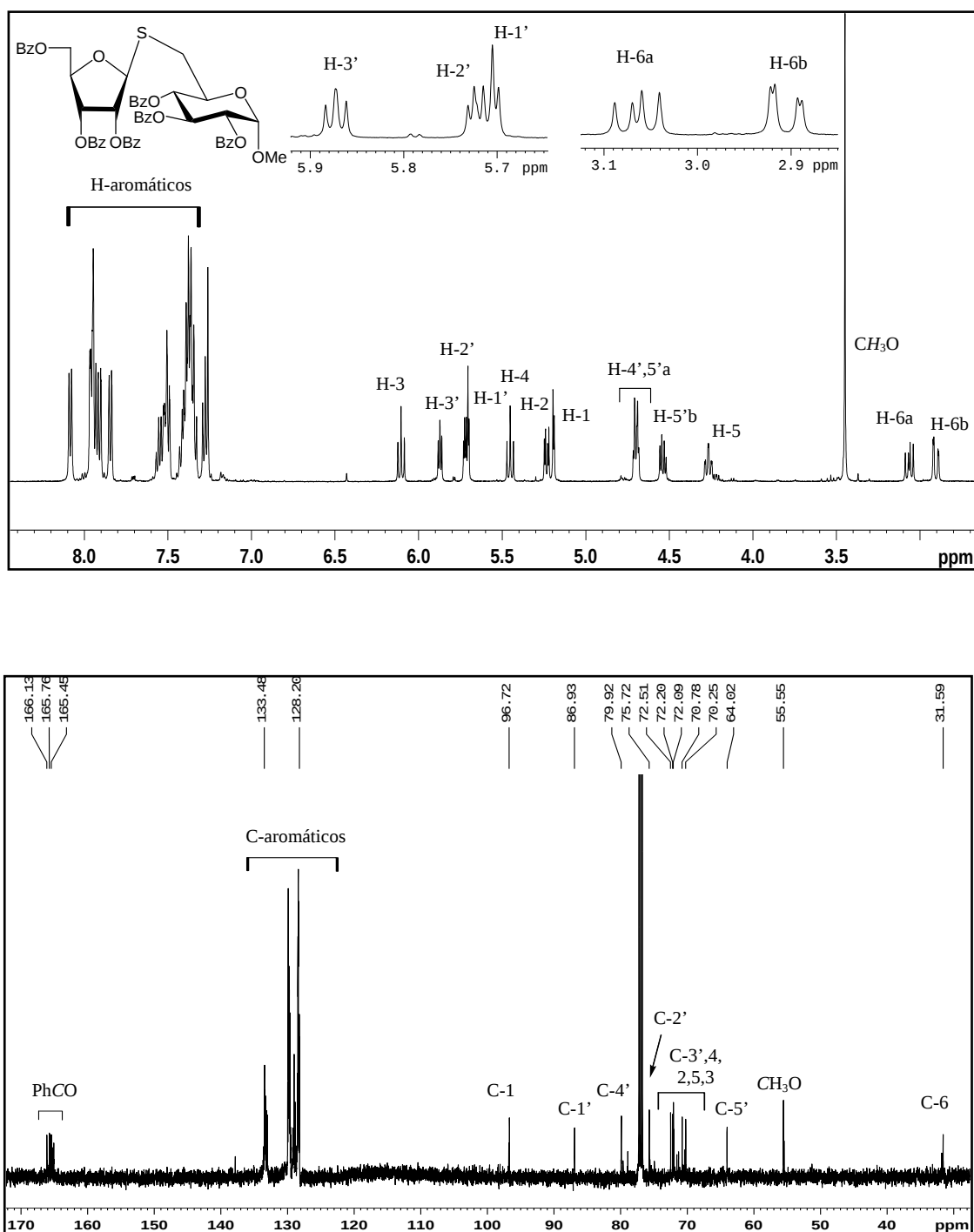
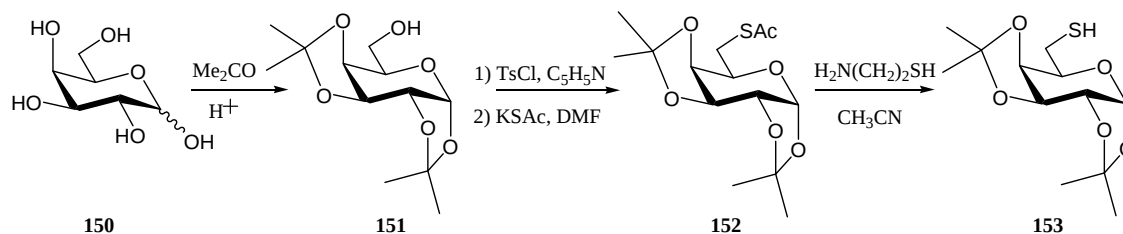


Figura 38a. Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) de 149. **Figura 38b.** Espectro de RMN-¹³C (125,7 MHz, CDCl₃) de 149.

Se utilizó en segunda instancia un 6-tioazúcar de configuración *galacto*: la 1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén-6-tio- α -D-galactopiranososa (**153**). Este precursor no puede utilizarse en presencia de SnCl₄ debido a que este ácido de Lewis promueve la

hidrólisis de los grupos protectores isopropilidén. El tiol **153** se sintetizó según metodología ya descrita²¹ a partir de galactosa (**150**).



El tiol **153**, reaccionó con el azúcar **89**, en presencia de MoO_2Cl_2 para dar el tiodisacárido **154**, con un rendimiento relativamente bajo (39%).

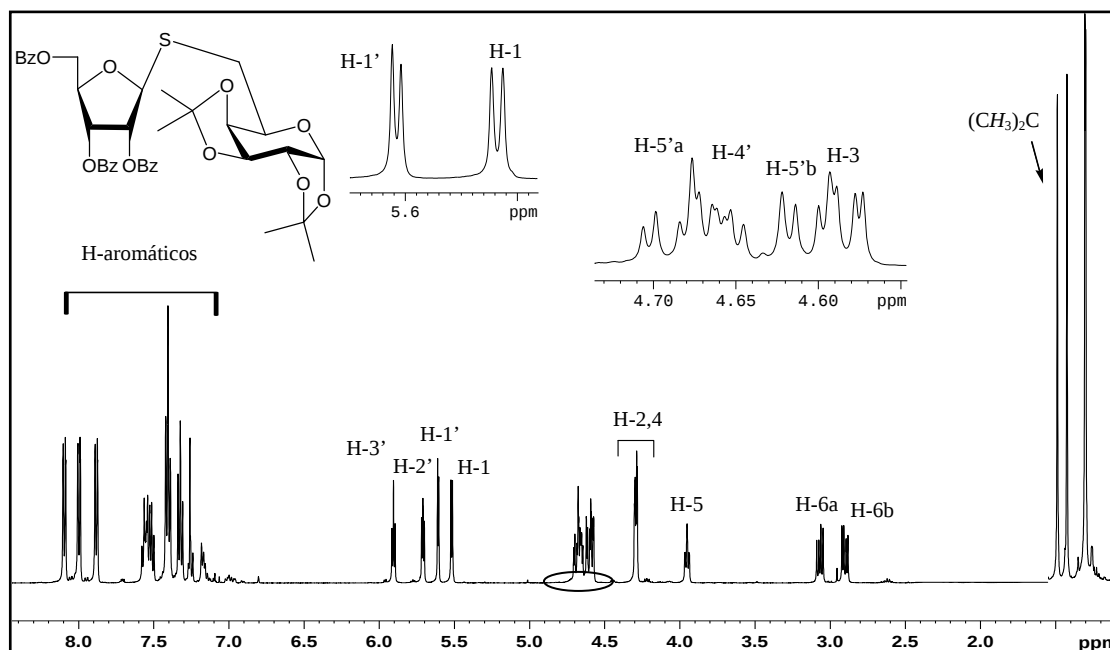
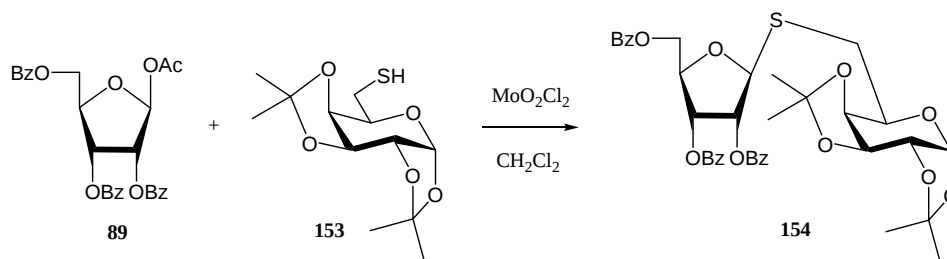


Figura 39a. Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl_3) de **154**.

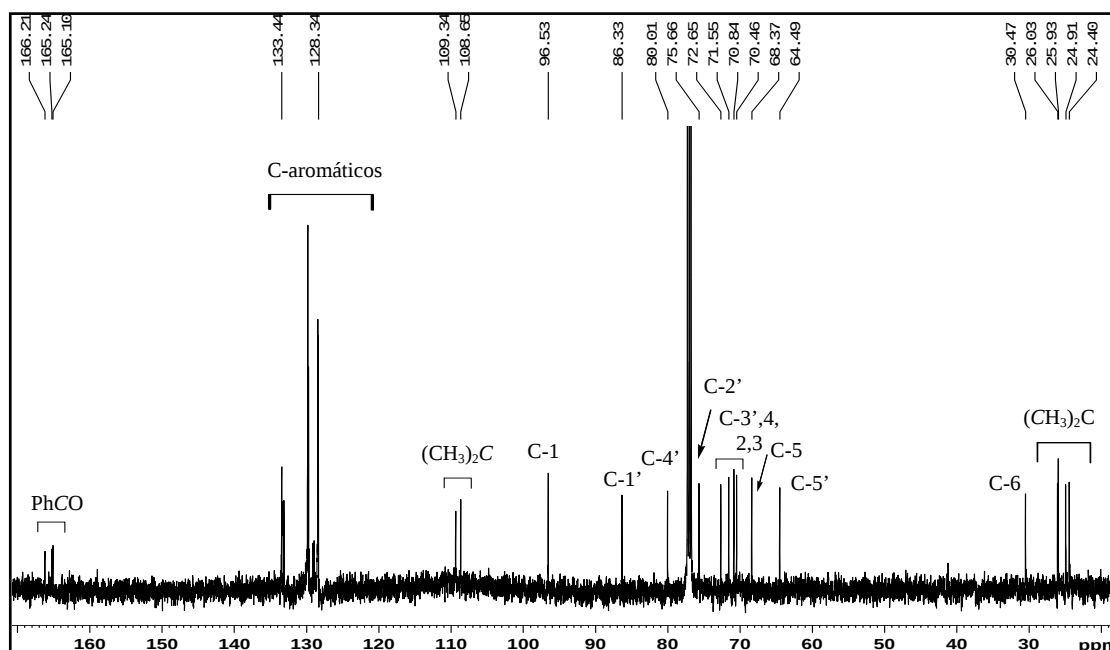
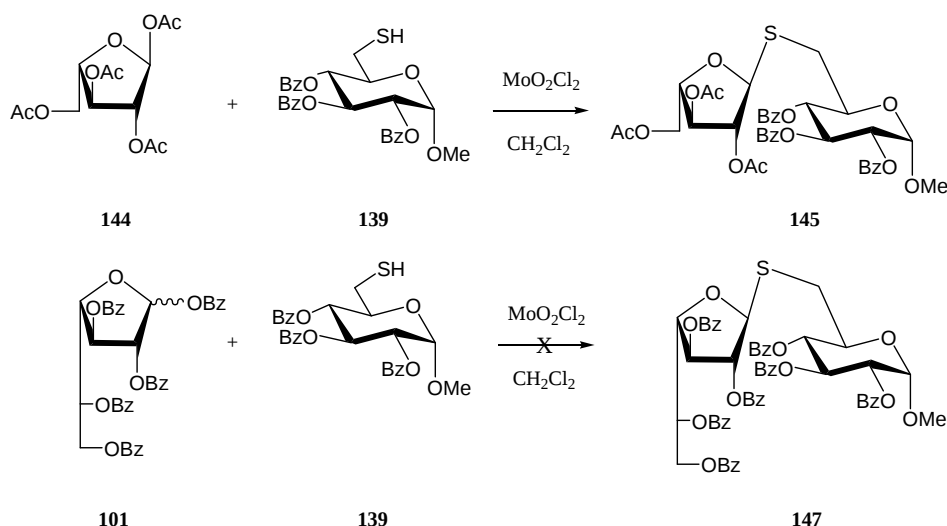


Figura 39b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 154.

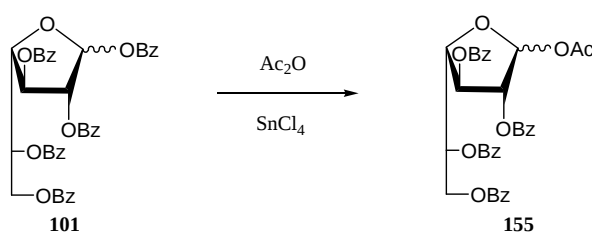
A continuación y, a modo de comparación entre ambos catalizadores, se llevó a cabo la reacción entre los azúcares furanósicos per-*O*-acilados **101** y **144** con el donador de tioglicosilo de configuración *gluco* (**139**) según las siguientes reacciones:



Por reacción de **144** y **139** se obtuvo nuevamente el tiodisacárido **145** (65%), según se confirmó por espectroscopía de RMN- ^1H y ^{13}C , pero la reacción para obtener **147**, a partir de **101** y **139**, resultó prácticamente infructuosa. El bajo rendimiento en esta última se atribuyó al hecho de que el compuesto **101** posee un

grupo benzoiloxi como sustituyente anomérico, en lugar de un grupo acetiloxi, como es el caso de **144** o los ejemplos previamente descriptos en piranasas.

Para confirmar esta hipótesis se sintetizó la 1-*O*-acetil-per-*O*-benzoil-Galf(**155**). Se utilizó SnCl₄ para la activación anomérica *in situ* de **101** y se agregó anhídrido acético como nucleófilo, obteniéndose el 1-*O*-acetil derivado **155** con buen rendimiento (78%).



El espectro de RMN-¹H de **155** crudo indicaba que el anómero β era el producto mayoritario. Al integrar el área de las señales correspondientes a cada uno de los H-1 (anómero β: 6,52 ppm, *J*_{1,2} < 1 Hz; anómero α: 6,66 ppm, *J*_{1,2} = 4,8 Hz) se obtuvo una relación β:α 5:1. También se dedujo una relación similar a partir del espectro de RMN-¹³C, que mostró en la región anomérica la resonancia del C-1 a 99,4 ppm (anómero β) y a 93,4 ppm (anómero α). El anómero β se obtuvo como único diastereoisómero mediante recristalización de EtOH del crudo de reacción. Los espectros de RMN-¹H y ¹³C de **155**-β se muestran en las Fig. 40a y 40b.

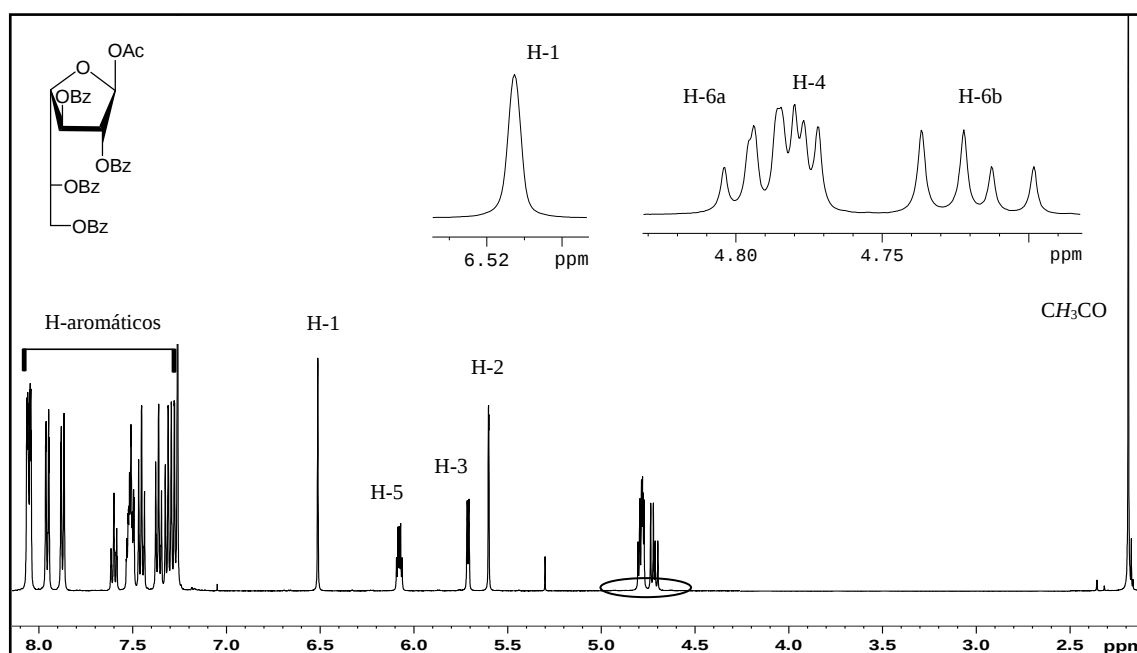


Figura 40a. Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) del anómero β de **155**.

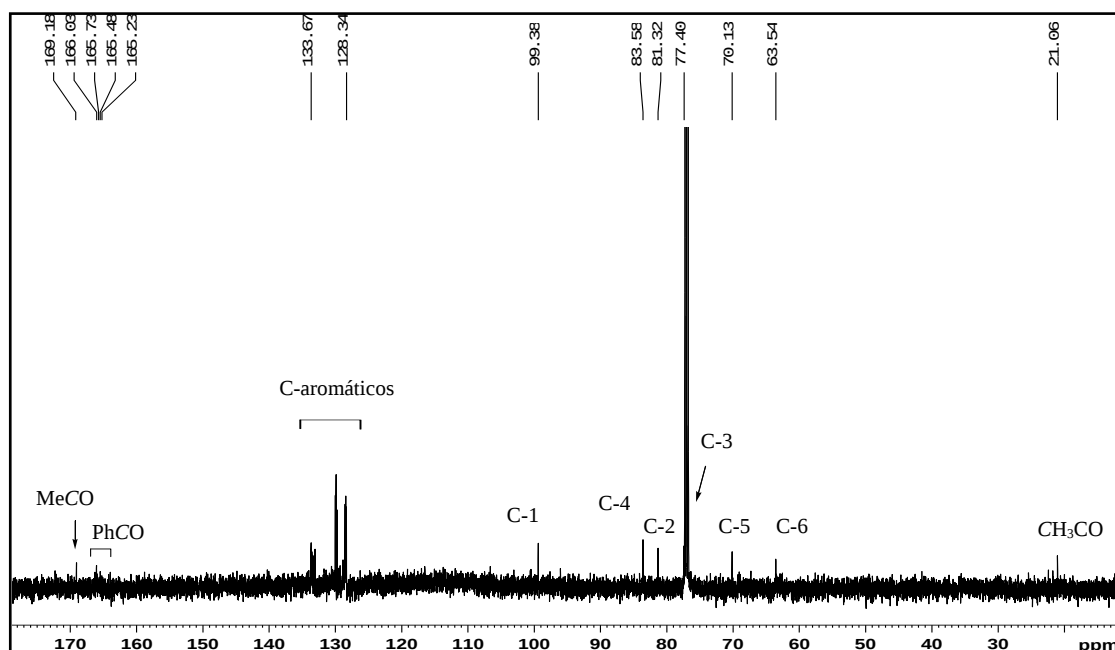
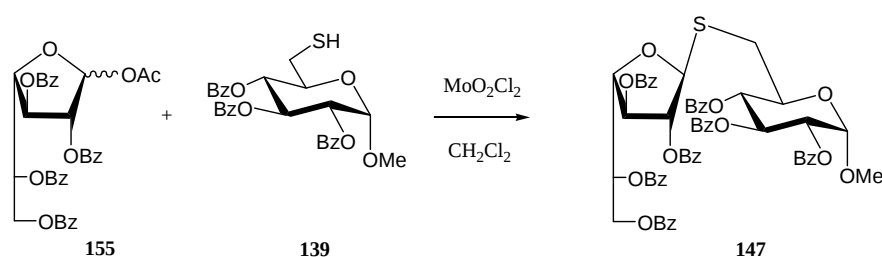


Figura 40b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) del anómero β de **155**.

Teniendo el derivado de Galf **155**, se repitió la reacción con el MoO_2Cl_2 y el tioazúcar **139** y en este caso sí se obtuvo el tiodiscárido **147** con buen rendimiento (56%).



También se llevó a cabo esta síntesis con las furanosas 1-*O*-acetiladas, **144** y **155**, con el tioazúcar de configuración *galacto* (**153**), pero en ambos casos los rendimientos resultaron bastante bajos (tiodisacárido **156**: 20%, tiodisacárido **157**: 37%), en concordancia con lo observado para el tiodisacárido con la unidad de ribofuranosa **154**. Las figuras 41 y 42 ilustran los respectivos espectros de RMN- ^1H y ^{13}C de **156** y **157** respectivamente.

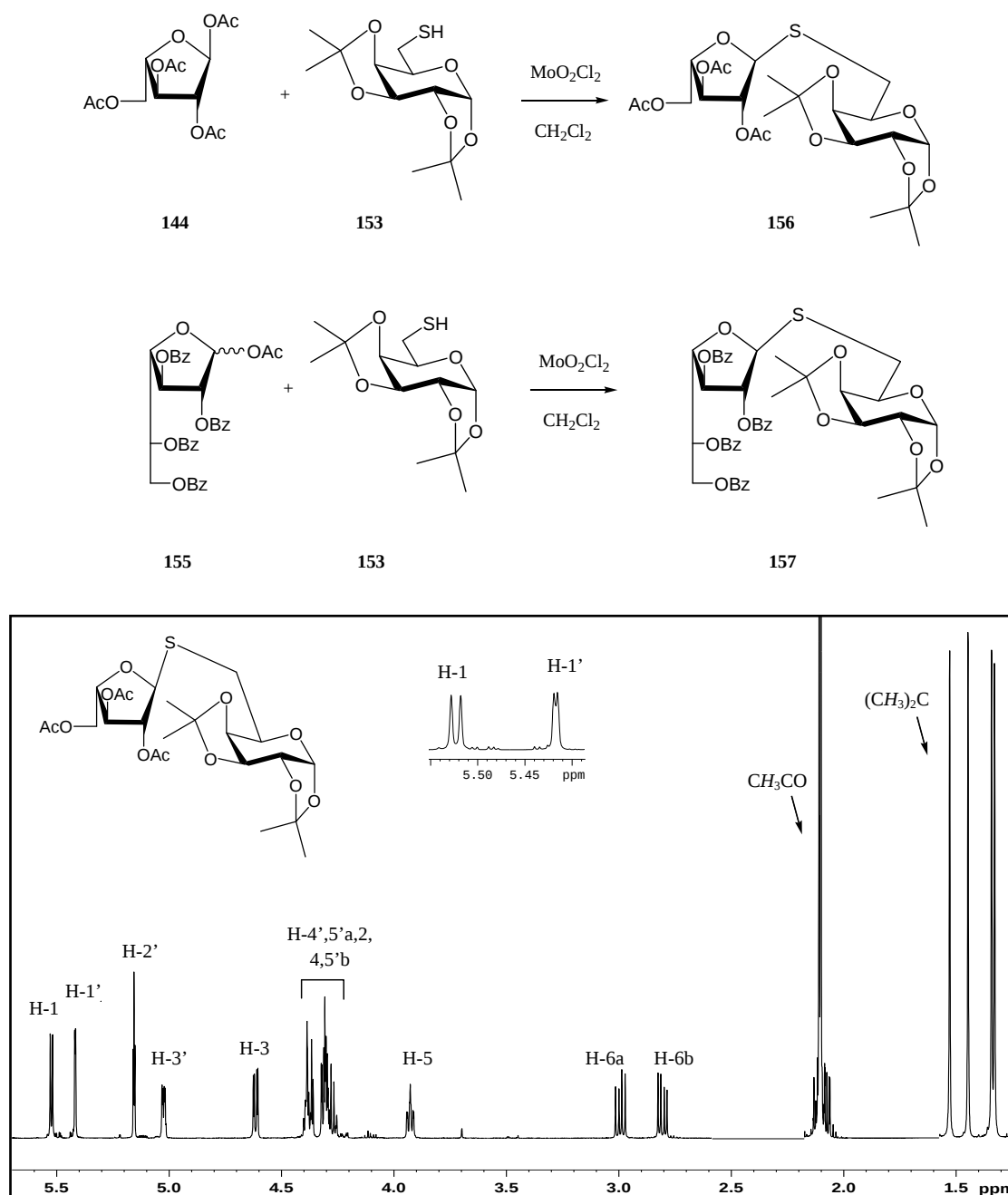


Figura 41a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 156.

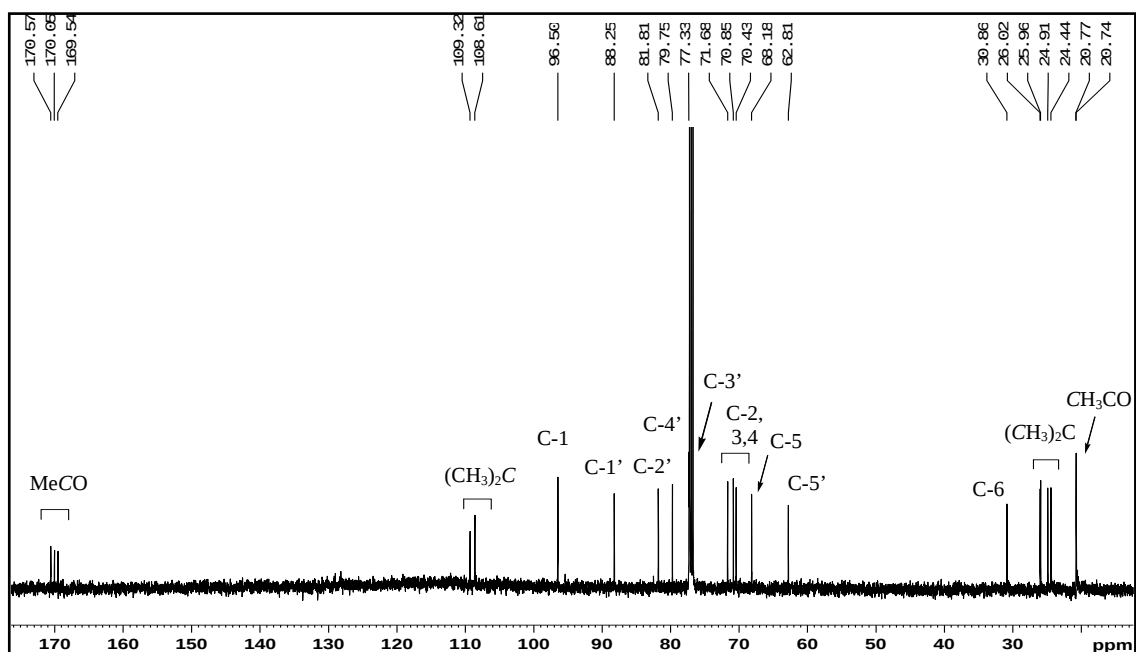


Figura 41b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 156.

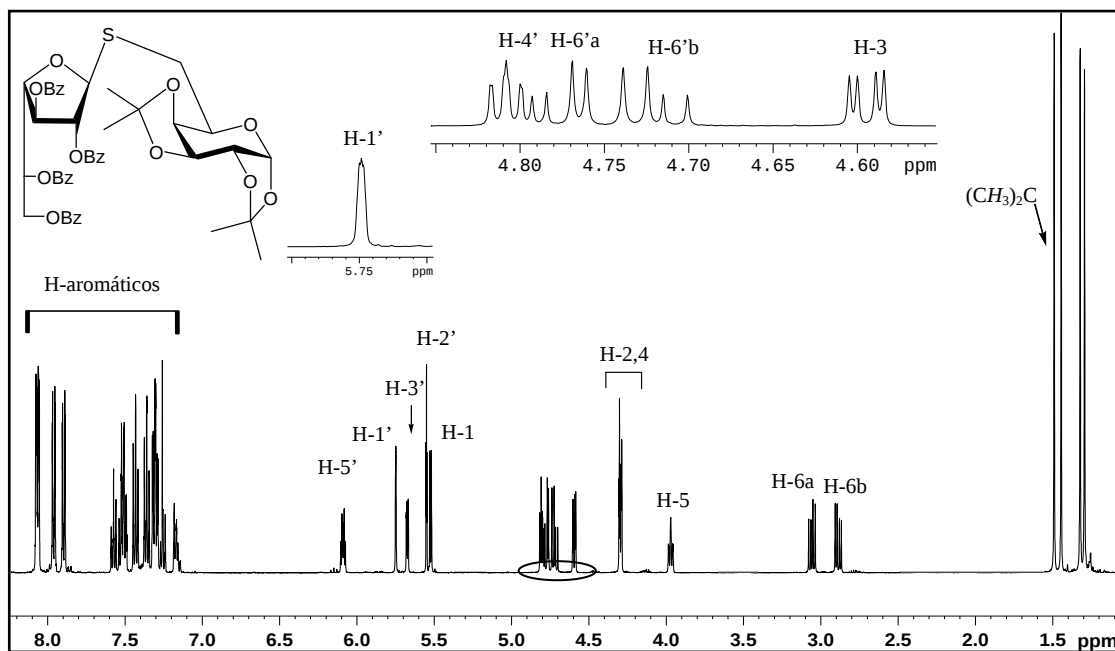


Figura 42a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 157.

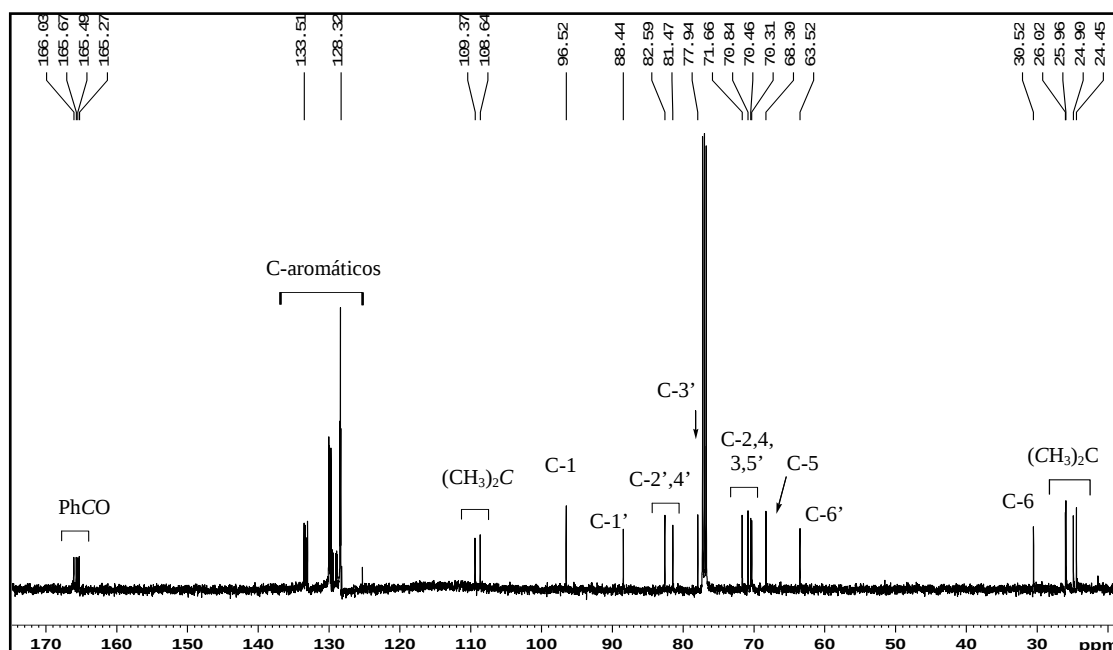
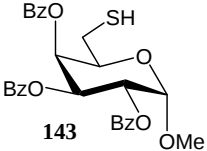
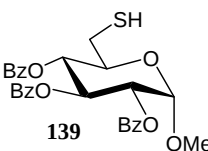
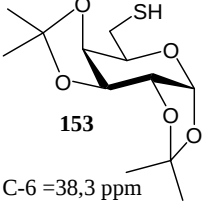
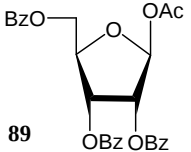
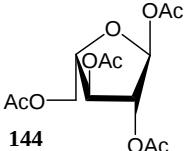
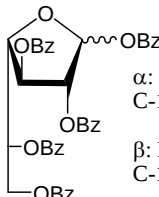
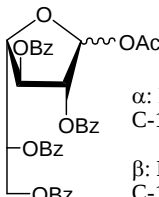


Figura 42b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de **157**.

En las glicosilaciones que dieron bajos rendimientos, principalmente cuando el 6-tioazúcar utilizado era **153** (1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén-6-tio- α -D-galactopiranos), se observó la formación de disulfuros, constituidos por dos unidades piranósicas, provenientes de la oxidación del tiol correspondiente. Probablemente, cuando el grupo tiol se encuentra más impedido, como ocurre en **153** (por el sustituyente de C-4 axial), la reacción de glicosilación se hace más lenta y aumentan los productos secundarios.

En todos los espectros de RMN- ^1H de los tiodisacáridos se detectó la desaparición de la señal correspondiente al HS , que se observaba en el tiol de partida en la zona de 1,80 ppm como un doble doblete acoplado con los H-6a y H-6b. Además, en el espectro de RMN- ^{13}C , se observó el corrimiento de la señal de los carbonos C-1' (de la unidad furanósica) a campos más altos como consecuencia de la unión con el átomo de azufre, y un corrimiento menor del C-6 (unidad piranósica) a campos más bajos. Estos desplazamientos químicos característicos se muestran representados en la Tabla 7.

Tabla 7. Señales características en los espectros de RMN-¹H y ¹³C de los tiodisacáridos **145**, **146**, **147**, **148**, **149**, **154**, **156** y **157**.

	 143 C-6 = 24,8 ppm	 139 C-6 = 26,2 ppm	 153 C-6 = 38,3 ppm
 89 β: H-1 = 6,43; C-1 = 98,4 ppm		149: H-1' = 5,70; C-1' = 87,0; C-6 = 32,6 ppm	154: H-1' = 5,61; C-1' = 86,3; C-6 = 30,5 ppm
 144 β: H-1 = 6,20; C-1 = 99,3 ppm	146: H-1' = 5,52; C-1' = 88,7; C-6 = 31,1 ppm	145: H-1' = 5,61; C-1' = 88,9; C-6 = 31,7 ppm	156: H-1' = 5,42; C-1' = 88,2; C-6 = 30,9 ppm
 101 α: H-1 = 6,86; C-1 = 94,2 ppm β: H-1 = 6,79; C-1 = 99,8 ppm	148: H-1' = 5,89; C-1' = 89,0; C-6 = 30,7 ppm	147: H-1' = 5,93; C-1' = 89,2; C-6 = 31,3 ppm	
 155 α: H-1 = 6,68; C-1 = 93,3 ppm β: H-1 = 6,53; C-1 = 99,3 ppm		147: ídem	157: H-1' = 5,75; C-1' = 88,4; C-6 = 30,5 ppm

5.4. Obtención de tiodisacáridos libres.

Siguiendo la metodología descrita en el capítulo anterior, se prepararon los tioazúcares libres como último paso de estas síntesis. Así, la desacilación de los tiodisacáridos **145**, **146**, **147**, **148**, **154** y **157** se llevó a cabo por agitación a temperatura ambiente con una mezcla de MeOH:Et₃N:H₂O 3:1:3. Se obtuvieron los tiodisacáridos libres puros (**158–161**) luego de eluirlos a través de una columna

rellena con resina de intercambio iónica mixta (Dowex MR-3C mixed bed) para desionizarlos y a través de una mini columna de fase reversa.

A continuación se esquematizan las reacciones que condujeron a los tiodisacáridos libres mencionados y se presentan los correspondientes espectros de RMN- ^1H y ^{13}C .

Derivados de Ara f :

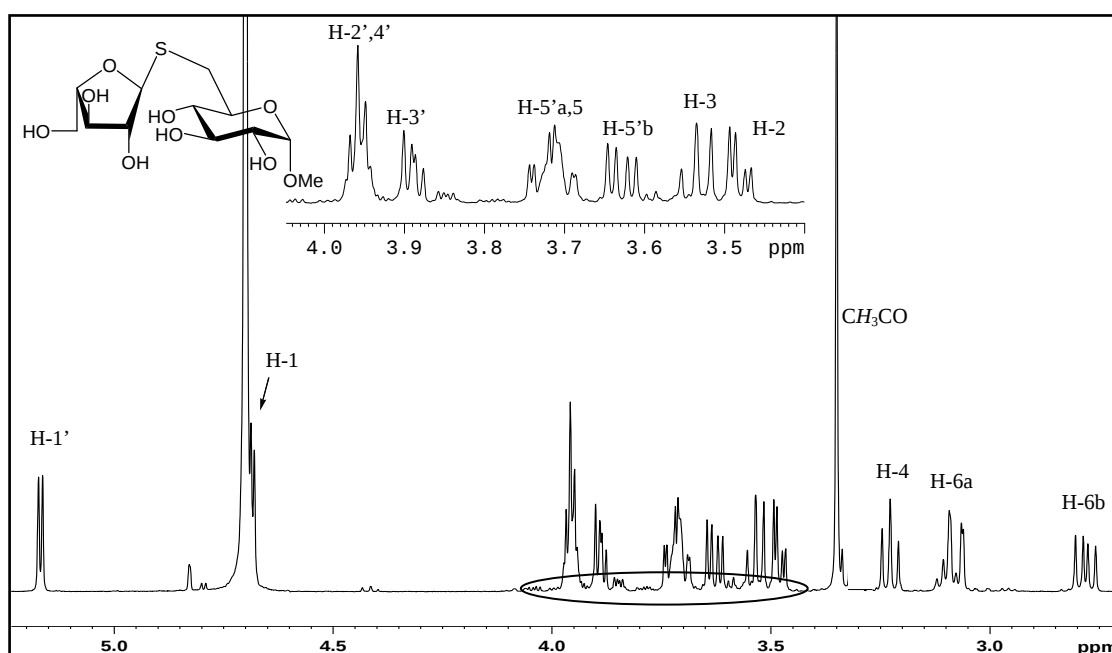
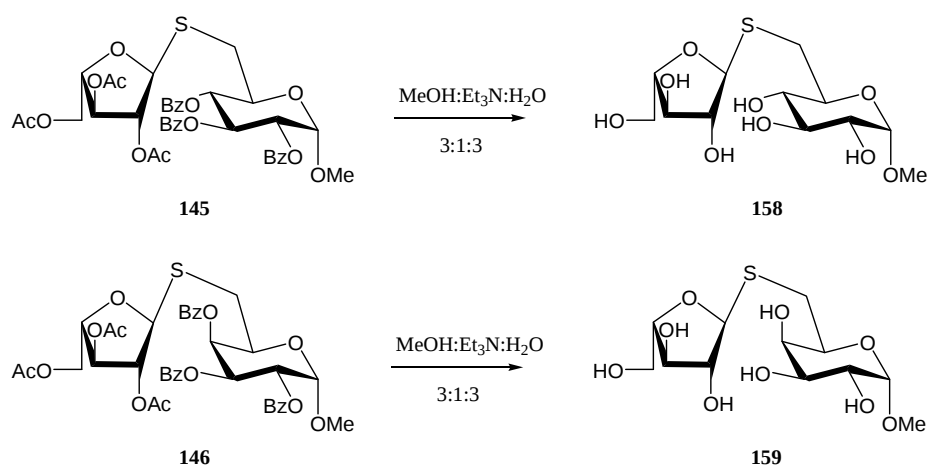


Figura 43a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, D₂O) de 158.

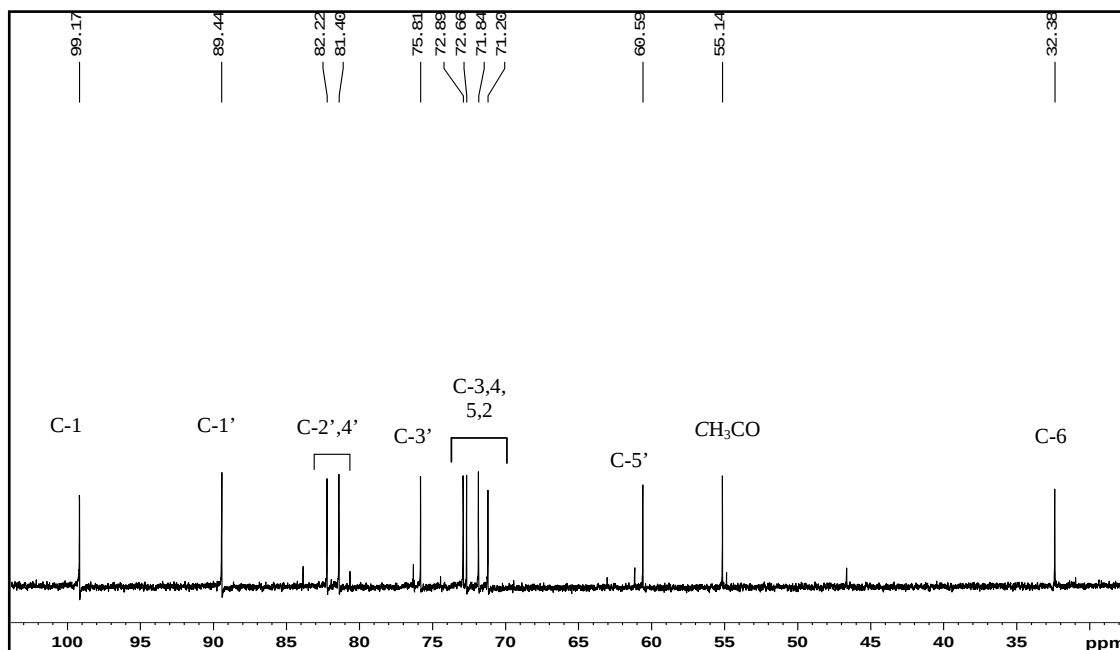


Figura 43b. Espectro de RMN-¹³C (125,7 MHz, D₂O) de 158.

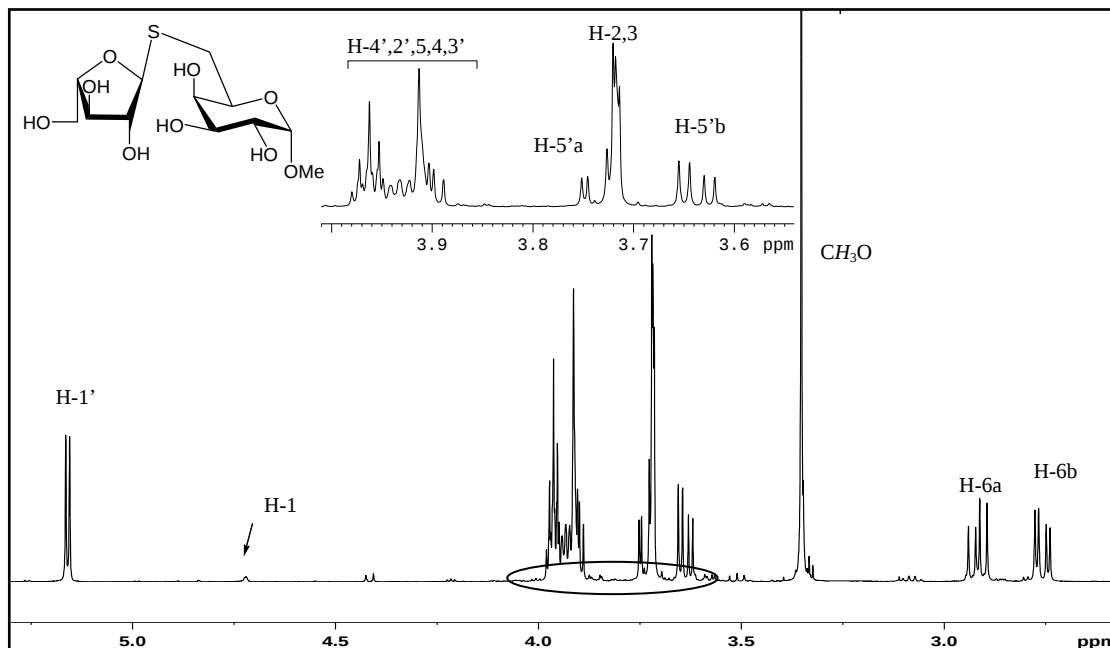


Figura 44a. Espectro de RMN-¹H (500 MHz, D₂O) de 159 con supresión del pico de agua.

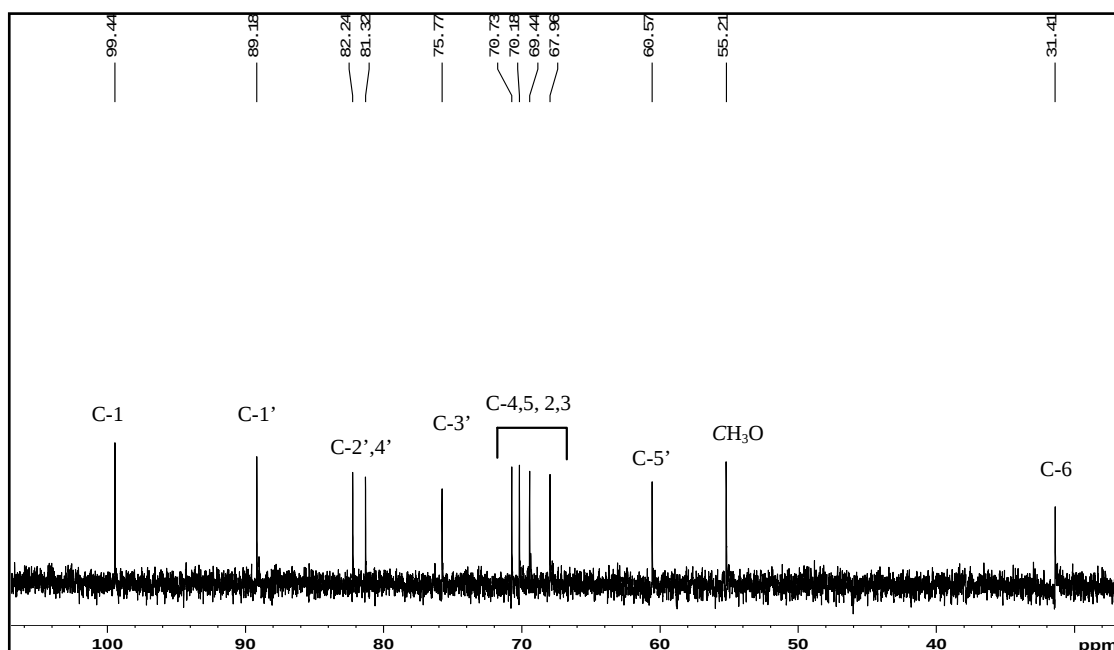
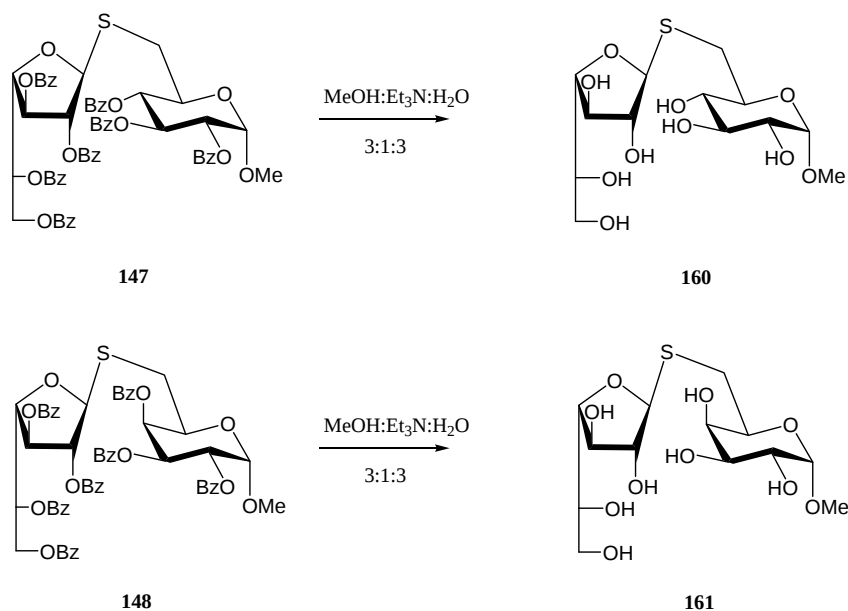


Figura 44b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, D_2O) de 159.

Derivados de Gal β



La desbenzoylación del tiodisacárido **147** dio el tiodisacárido libre **160**, el cual es un tioanálogo del disacárido $\beta\text{-D-Gal}\beta(1\rightarrow6)\text{-D-Glcp}$ componente del antígeno O de *Escherichia coli* K-12.^{22,23} El antígeno O, una unidad repetitiva de polisacárido que compone el lipopolisacárido (LPS), es la principal superficie antigénica de muchas

bacterias Gram negativas, entre ellas *E. coli*. Los glicoconjugados que contienen Galf parecen ser esenciales para la virulencia en bacterias Gram-negativas.²²

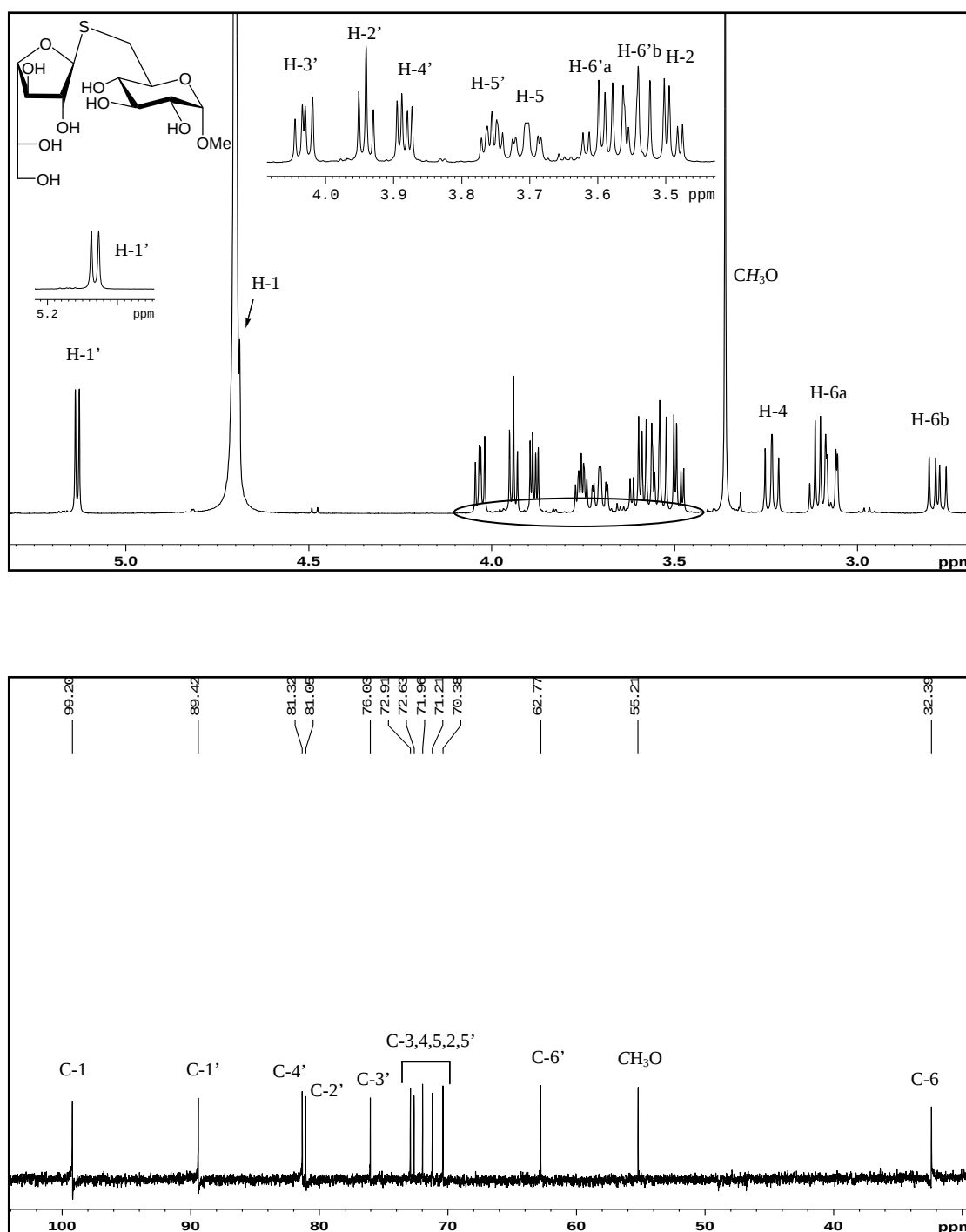


Figura 45a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, D_2O) de 160. **Figura 45b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, D_2O) de 160.

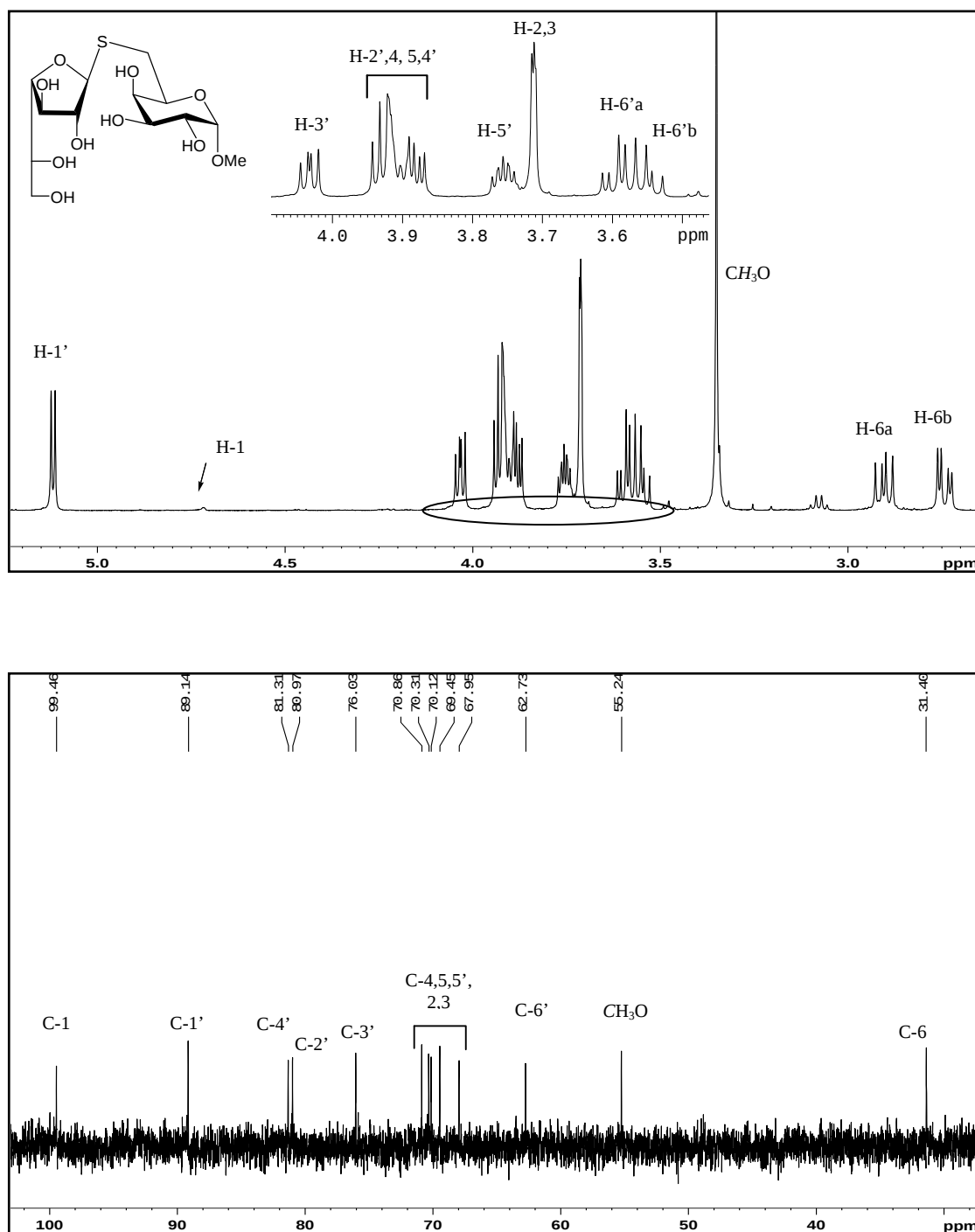
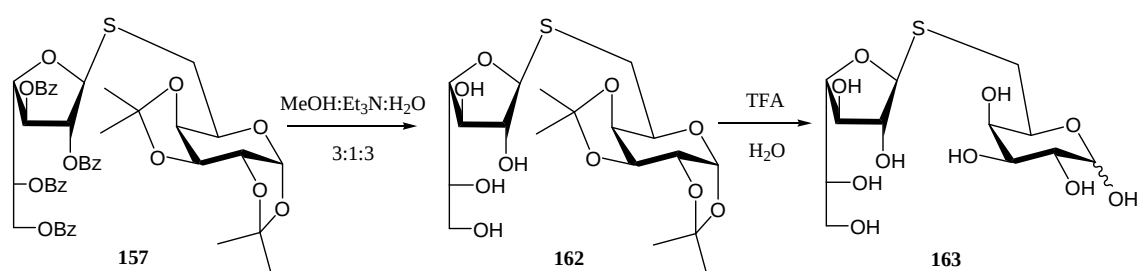


Figura 46a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, D_2O) de 161 con supresión del pico de agua. **Figura 46b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, D_2O) de 161.

Además resultaba interesante sintetizar el tiodisacárido $\beta\text{-D-Gal}\mathcal{F}\text{-S}(1\rightarrow6)\text{-6-tio-D-Galp}$ (163), debido a que la unidad $\beta\text{-D-Gal}\mathcal{F}(1\rightarrow6)\text{-D-Galp}$ se encontró en la

naturaleza, como constituyente del exopolisacárido de *Lactobacillus rhamnosus*²⁴ y *Streptococcus thermophilus*.²⁵ Este disacárido también se obtuvo por hidrólisis parcial de polisacáridos de *Mycoplasma mycoides*²⁶ y *Mycobacterium tuberculosis*.²⁷ Por otro lado, el tiodisacárido **163** sería útil para investigar la influencia del cambio de configuración del extremo reductor, con respecto a **160**, en la inhibición de la β -galactofuranosidasa.



Para ello, se desbenzoiló el tiodisacárido **157** para dar el derivado **162** parcialmente protegido, al cual se trató con TFA para hidrolizar los grupos acetales. Sin embargo, esta desprotección no resultó satisfactoria debido a que las condiciones ácidas necesarias para la hidrólisis de las funciones isopropilidén produjo la degradación parcial del enlace tioglicosídico.

La hidrólisis mencionada no se pudo evitar, incluso utilizando condiciones más suaves como una mezcla de ácido acético:THF:agua 5:1:1 a 65 °C o en las condiciones de la reacción de acetólisis, en las cuales los enlaces tioglicosídicos entre unidades piranósicas, son estables.²⁸ Es sabido que los furanósidos son mucho más lábiles a los ácidos que los análogos piranósicos.²⁹ La purificación de **163** de sus monosacáridos constituyentes no resultó factible.

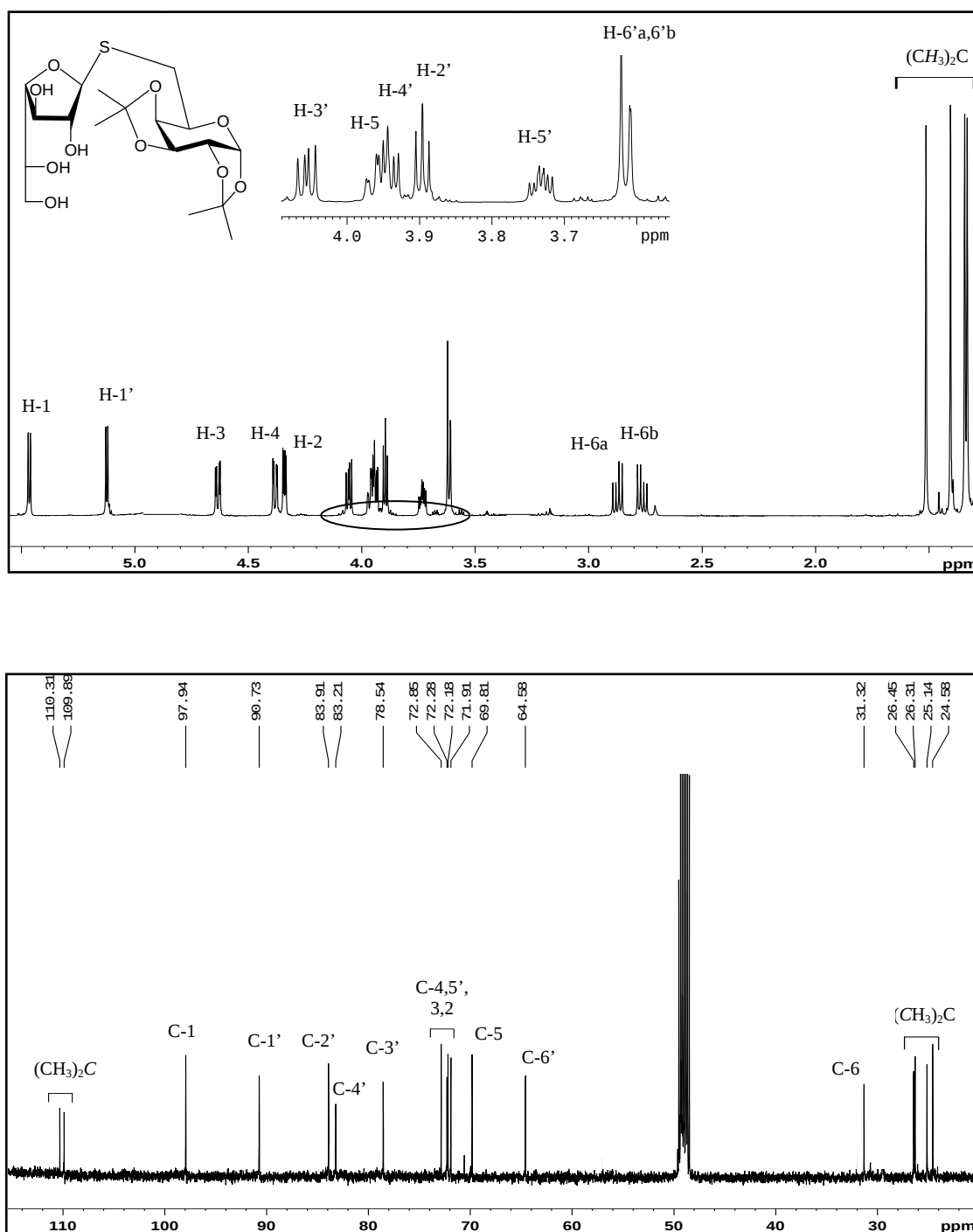


Figura 47a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CD_3OD) de 162. **Figura 47b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CD_3OD) de 162.

Derivados de Ribof

Se había sintetizado el tiodisacárido **154**, que también tenía en el extremo reductor una unidad de Galp protegida con grupos isopropilidén, en forma análoga al tiodisacárido **157**. Se probó desproteger totalmente **154** pero tampoco fue posible. Sólo se logró obtener el compuesto parcialmente desprotegido **164** análogo a **162**.

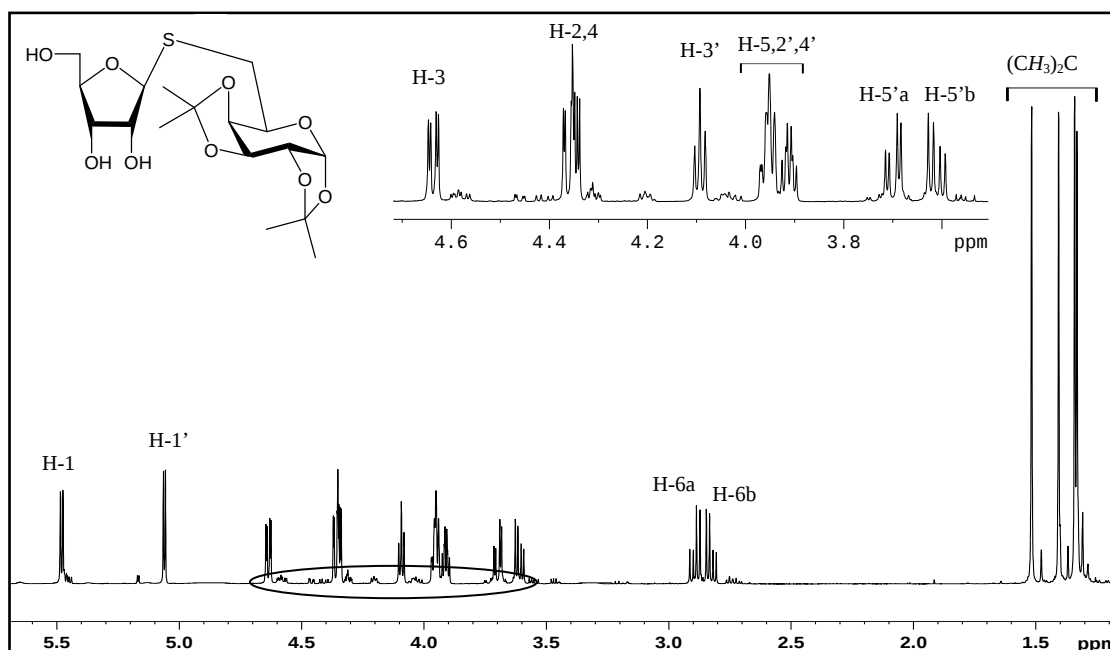
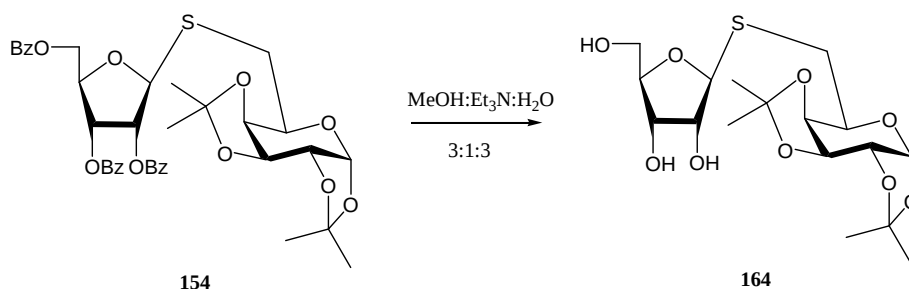


Figura 48a. Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CD₃OD) de **164**.

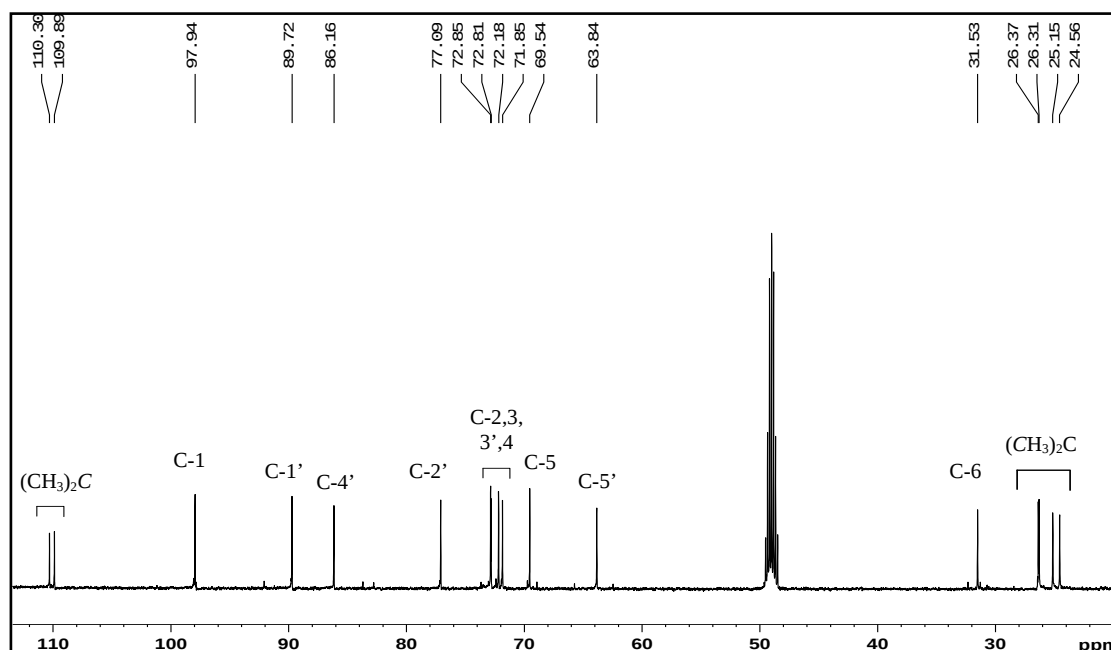


Figura 48b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CD_3OD) de 164.

5.5. Evaluación de la actividad inhibitoria.

Se evaluó la actividad inhibitoria de los tiodisacáridos derivados de Araf y Galf (158, 159, 160, 161 y 162) contra la exo β -D-galactofuranosidasa aislada a partir *Penicillium fellutanum*, según protocolo ya descrito.¹⁴ Se utilizó el 4-nitrofenil β -D-galactofuranósido³⁰ como sustrato y la D-galactono-1,4-lactona como inhibidor de referencia (IC_{50} 0,02 mM).¹⁴ La reacción enzimática se llevó a cabo en presencia de los tiodisacáridos mencionados en concentraciones comprendidas dentro del siguiente rango: 0,2 a 10 mM. Se determinó la cantidad de 4-nitrofenol liberado a partir de 4-nitrofenil β -D-galactofuranósido, como medida de la actividad galactofuranosidasa (Fig. 49). El tiodisacárido 158 no resultó activo, y los compuestos 161 y 162 fueron los más activos, si bien mostraron actividad inhibitoria débil ($\text{IC} > 1$ mM) comparada con la lactona (IC_{50} 0,02 mM). Este resultado indicaba que los tiodisacáridos constituídos por una unidad β -D-Galf unida mediante azufre a galactosa en configuración piranósica (161) o incluso sustituida con grupos isopropilidén (162) son capaces de interactuar con la enzima e inhibirla débilmente. Probablemente por esta razón el tiodisacárido α -L-Araf

(1→6)-6-tio- α -D-Galp-OMe (**159**), relacionado estructuralmente con **161** (L-Ara y D-Gal tienen idéntica configuración para todos los estereocentros del anillo furanósico), mostró un nivel de actividad similar a **161** y **162**.

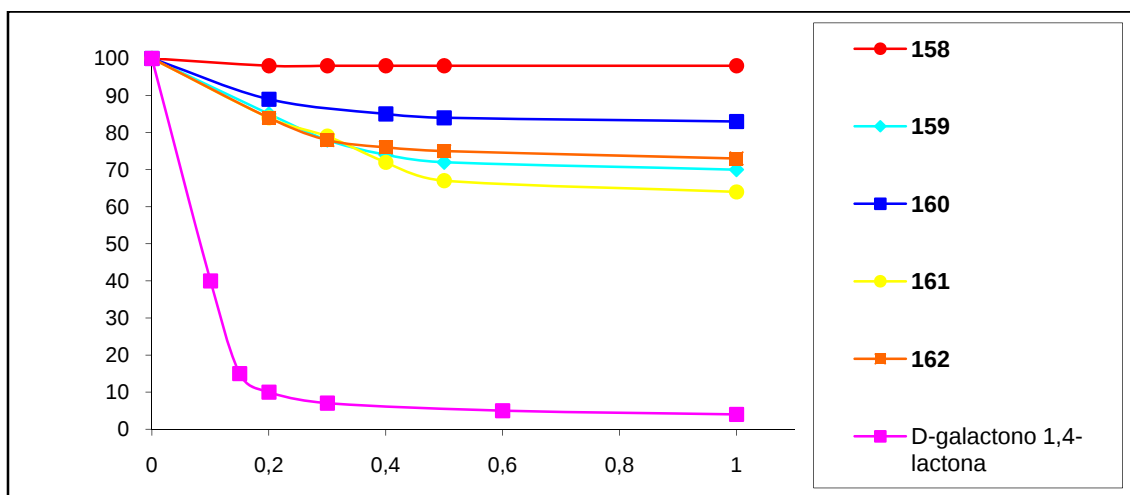


Figura 49. Efecto de la concentración de tiodisacárido en la actividad enzimática de la exo β -D-galactofuranosidasa de *Penicillium fellutanum*. Cada punto deriva del experimento realizado por triplicado.

El tiodisacárido **158** (Ara β (1→6)-Glc p), que tiene en su extremo no reductor una unidad de Ara f , al igual que **159** (Ara β (1→6)-Gal p), pero posee una unidad de Glc p en lugar de Gal p en el extremo reductor, no resultó activo.

El tiodisacárido **160** (Gal β (1→6)-Glc p), con una estructura similar a **158** (Ara β (1→6)-Glc p) y **161** (Gal β (1→6)-Gal p), mostró una actividad inhibitoria intermedia entre ellos.

Puede concluirse entonces que la presencia de una unidad de Glc p en el extremo reductor, disminuye la actividad inhibitoria de estas moléculas y que los tiodisacáridos constituidos por β -D-Gal f o α -L-Ara f unidas mediante S a una unidad de Gal p mostraron mayor actividad uninhibitoria

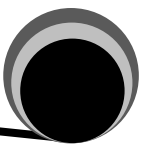
Estos resultados concuerdan con la alta especificidad observada para esta enzima.³¹

Bibliografía.

1. Hanessian, S.; Banoub, J. *Carbohydr. Res.* **1977**, *59*, 261–267.
2. Hanessian, S.; Banoub, J. *Carbohydr. Res.* **1975**, *44*, c14–c-17.
3. Hanessian, S.; Banoub, J. *Tetrahedron Lett.* **1976**, 657–660; 661–664.
4. Hanessian, S.; Cassinelli, G.; Casey, M. *Carbohydr. Res.* **1975**, *44*, c18–c-21.
5. Hanessian, S.; Banoub, J. *Adv. Chem. Ser.* **1976**, *39*, 36–63.
6. Green, J. W. *Adv. Carbohydr. Chem.* **1966**, *21*, 95–142.
7. Wulff, G.; Röhle, G. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1974**, *13*, 157–170.
8. Ferrier, R. J. *Top. Curr. Chem.* **1970**, *14*, 390–429.
9. Capon, B. *Chem. Rev.* **1969**, *69*, 407–498.
10. Marino C.; Varela, O.; de Lederkremer R. M. *Carbohydr. Res.* **1989**, *190*, 65–76.
11. de Lederkremer, R. M.; Marino, C.; Varela, O. *Carbohydr. Res.* **1990**, *200*, 227–235.
12. Gallo-Rodriguez, C.; Varela, O.; de Lederkremer R. M. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 1886–1889.
13. Gallo-Rodriguez, C.; Gandolfi, I.; de Lederkremer, R. M. *Org. Lett.* **1999**, *1*, 245–247.
14. Marino, C.; Mariño, K.; Miletto, L.; Manso Alves, M. J.; Colli, W.; Lederkremer, R. M. *Glycobiology* **1998**, *8*, 901–904.
15. Chen, C.-T.; Kuo, J.-H.; Pawar, V. D.; Munot, Y. S.; Weng, S.-S.; Ku, C.-H.; Liu, C.-Y. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1188–1197.
16. Weng, S.-S.; Lin, Y.-D.; Chen, C.-T. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 5633–5636.
17. Sherry, B. D.; Loy, R. N.; Toste, F. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4510–4511.
18. Lemieux, R. U. Tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosyl chloride. In *Methods Carbohydr. Chem*, Vol II, Academic Press, New York, **1963**, 223.

19. Lewis, B. A.; Smith, F.; Stephen, A. M. 2,5- and 3,6-Anhydrosugars and their derivatives. In *Methods Carbohydr. Chem*, Vol II, Academic Press, New York, **1963**, 174.
20. Boons, G.-J.; Hale, K. J. In *Organic Synthesis with Carbohydrates*, Sheffield Academic Press: Sheffield, **2000**; pp 60–61.
21. Martins Alho, M. A.; D'Accorso, N. B.; Thiel, I. M. E. *J. Heterocycl. Chem.* **1996**, *33*, 1339–1343.
22. Peltier, P.; Euzen, R.; Daniellou, R.; Nugier-Chauvin, C.; Ferrières, V. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1897–1923.
23. Stevenson, G.; Neal, B.; Liu, D.; Hobbs, M.; Packer, N. H.; Batley, M.; Redmond, J. W.; Lindquist, L.; Reeves, P. *J. Bacteriol.* **1994**, *176*, 4144–4156.
24. Lipinski, T.; Jones, C.; Lemercinier, X.; Korzeniowska-Kowal, A.; Strus, M.; Rybka, J.; Gamian, A.; Heczko, P. B. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 605–609.
25. Faber, E. J.; van den Haak, M. J.; Kamerling, J. P.; Vliegthart, J. F. G. *Carbohydr. Res.* **2001**, *331*, 173–182.
26. Plackett, P.; Buttery, S. H. *Biochem. J.* **1964**, *90*, 201–205.
27. Vilkas, E.; Amar, C.; Markovits, J.; Vliegthart, J. F. G.; Kamerling, J. P. *Biochim. Biophys. Acta* **1973**, *297*, 423–435.
28. Witczak, Z. J.; Chhabra, R.; Chen, H.; Xie, X.-Q. *Carbohydr. Res.* **1997**, *301*, 167–175.
29. Robyt, J. F. In *Essentials of Carbohydrate Chemistry*, Cantor, C. R., Ed.; Springer Verlag: New York, **1998**; pp 179–180; Green, J. W. *Adv. Carbohydr. Chem.* **1966**, *21*, 95–142.
30. Varela, O.; Marino, C.; Lederkremer, R. M. *Carbohydr. Res.* **1986**, *155*, 247–251.
31. Rietschel-Berst, M.; Jentoft, N. H.; Rick, P. D.; Pletcher, C.; Fang, F.; Gander, J. E. *J. Biol. Chem.* **1977**, *252*, 3219–3226.

CAPITULO 6

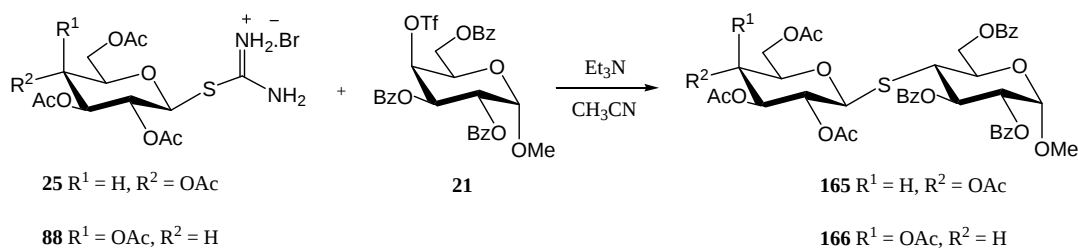


Síntesis de tiodisacáridos mediante reacciones de sustitución
nucleofílica.

Síntesis de tiodisacáridos mediante reacciones de sustitución nucleofílica.

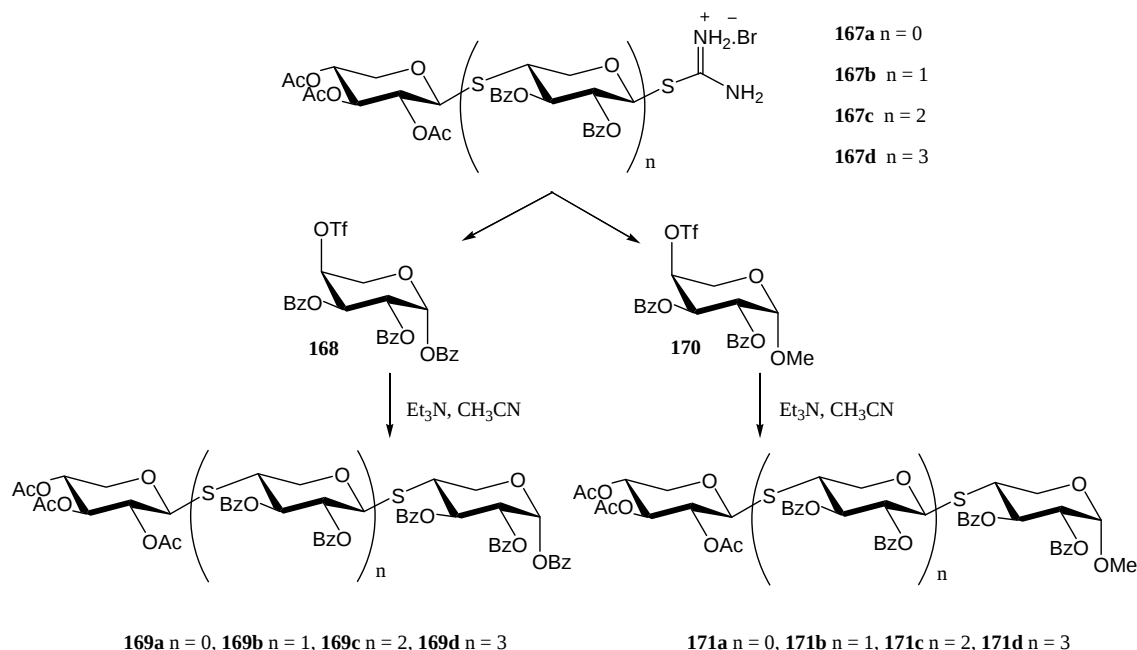
6.1. Introducción.

En el capítulo 2 se describieron tiodisacáridos sintetizados mediante reacciones de tipo S_N2 . En ellas se utilizaron 1-tioacetatos y 1-tioaldosas como fuentes de aniones sulfuros, capaces de sustituir buenos grupos salientes en otra molécula de azúcar. Pero además, existen antecedentes de este tipo de reacciones a partir de sales de isotiuronio que ocurren en un único paso (“one pot”), sin necesidad de aislar la 1-tioaldosa generada^{1,2} por la base (Et_3N) que también promueve la *S*-alquilación. Este procedimiento se aplicó satisfactoriamente en la síntesis de derivados 4-tio- α -celobiósidos y metil 4-tio- α -lactósidos¹ y de otros tiooligosacáridos.² En el primer caso, el metil 4-tiocelobiósido (**165**) y el metil 4-tiolactósido (**166**) se prepararon a partir de las sales de isotiuronio **25** y **88** previamente descritas, mediante una reacción promovida por Et_3N , con un ligero exceso del triflato **21**. Anteriormente, otro grupo había fracasado en el intento de sintetizar **166** por acoplamiento de la sal de sodio de la 1-tio- β -D-Galp con el triflato **21** en HMPA.³



Como se mencionó, esta misma metodología se utilizó para obtener, en forma estereoselectiva, di, tri, tetra y pentasacáridos (**169a-d** y **171a-d**) a partir de sales de isotiuronio (**167a-d**) como precursores. En general se emplea un ligero exceso de triflato (**168**, 1,2,3-tri-*O*-benzoil-4-*O*-triflil- β -L-Arap o **170**, 2,3,6-tri-*O*-benzoil-4-*O*-triflil- α -D-Galp) debido a que los mismos pueden descomponer en condiciones básicas, por eliminación del grupo triflato, y consecuente formación de productos secundarios insaturados durante el paso de acoplamiento. Esta reacción no deseada depende fuertemente de la configuración del enlace glicosídico. Por razones estéricas los grupos 1-benzoiloxi o 1-metoxi en posición axial disminuyen

la descomposición del triflato y este hecho da cuenta de los rendimientos bajos de productos de acoplamiento de los análogos de **168** y **170** que poseen el sustituyente de C-1 en disposición ecuatorial.⁴

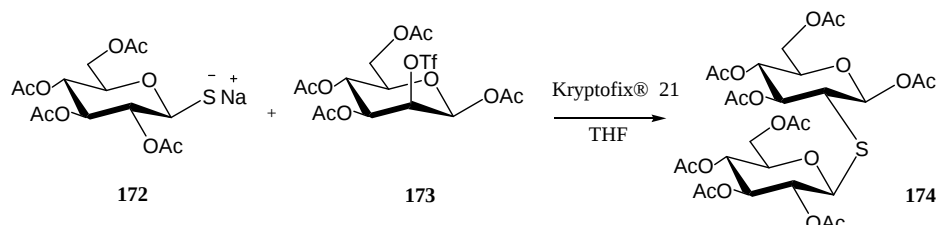


6.2. Reacciones $\text{S}_{\text{N}}2$ a partir de monosacáridos con grupo saliente tosilo ó triflato.

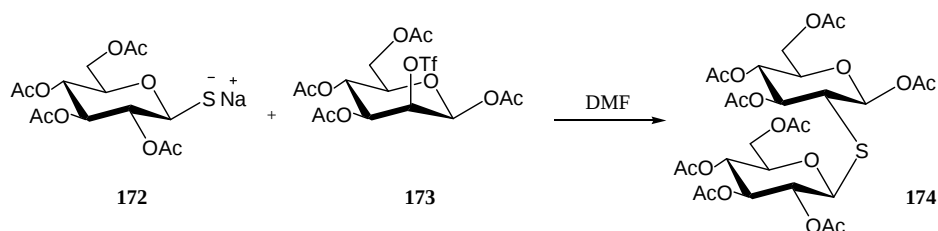
En base a estos antecedentes, decidimos conducir como reacción modelo la síntesis de un derivado peracetilado de la 2-tiosoforosa (**174**), análogo de la soforsa (β -D-Glcp-(1 $\rightarrow$ 2)-GlcP)

Los enlaces glicosídicos (1 $\rightarrow$ 2) se encuentran en numerosas secuencias oligosacarídicas, en sistemas biológicos específicos. Por ejemplo, la soforsa mencionada es conocida por su actividad regulatoria en la producción de enzimas celulolíticas en *Trichoderma reesei*.^{5,6} La 2-tiosoforsa fue sintetizada en tres oportunidades por distintos grupos.⁷⁻⁹ Dos de ellos utilizaron la 2-tiosoforsa peracetilada, obtenida mediante reacciones de tipo $\text{S}_{\text{N}}2$, como intermediario en la obtención del producto final desprotegido. El primer antecedente consistió en una reacción de sustitución entre la sal de sodio de la 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio- β -D-glucopiranososa (**172**) y 1,3,4,6-tetra-*O*-acetil-2-*O*-trifluorometansulfonil- β -D-manopiranososa (**173**), en presencia de un catalizador de transferencia de fase, el

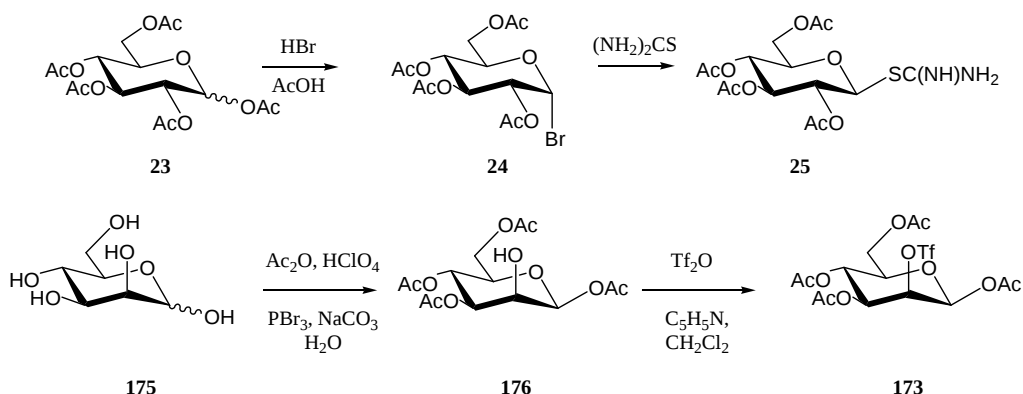
1,7,10-trioxa-4,13-diazaciclopentadecano (Kryptofix® 21).⁷ La reacción procedía a temperatura ambiente y se obtenía un rendimiento del tiodisacárido **174** de aproximadamente 30%.



Una opción apenas diferente, fue descrita por el grupo de Defaye y col.,⁸ que se basaba en la reacción entre los precursores **172** y **173** en DMF a temperatura ambiente, la cual produjo el tiodisacárido **174** con 58% de rendimiento.

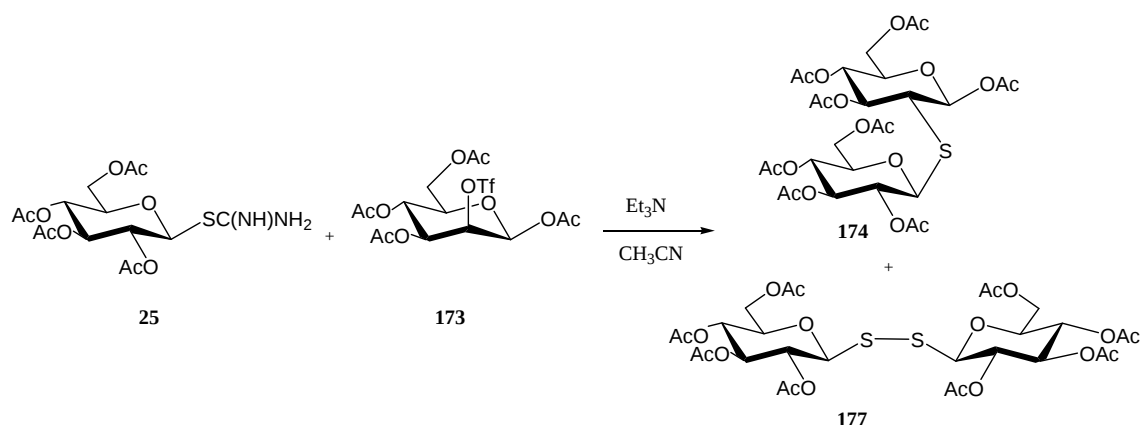


Utilizamos el mismo triflato **173** para llevar a cabo la reacción de sustitución y como nucleófilo seleccionamos la sal de isotiuronio **25**. Para ello, se sintetizó **25** mediante procedimiento ya descrito;¹ mientras que el triflato **173** se preparó a partir de D-manosa.^{7,10} Estas síntesis se ilustran en el siguiente esquema.

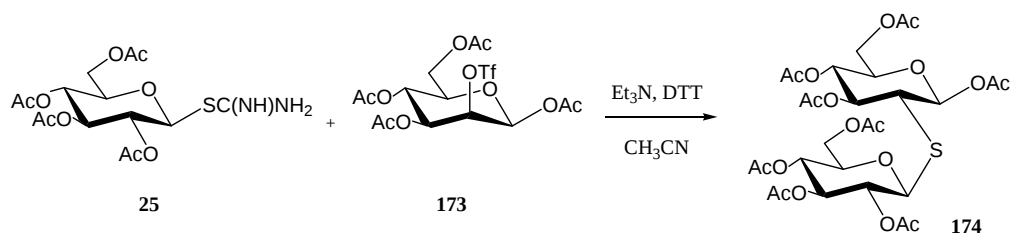


La glicosil isotiurea **25** se disolvió en acetonitrilo anhidro y se agregó **173** y Et₃N como catalizador, y se dejó reaccionar a temperatura ambiente para obtener el

tiodisacárido **174**. Sin embargo, además de este producto, se obtuvo disulfuro **177**, formado por la unión 1,1 entre dos moléculas de la 1-tioaldosa proveniente de la sal de isotiouronio, lo cual ocasionó una disminución importante en el rendimiento de **174**.



Se llevó a cabo la misma reacción pero en ausencia del triflato **173** y efectivamente se comprobó la formación del disulfuro **177**. Para evitar la formación de este subproducto se condujo la reacción entre **25** y **173** en presencia de ditiotreitolo (DTT). Este compuesto, o su análogo ditioeritritol (DTE), se utilizan frecuentemente para impedir la formación de enlaces disulfuro intra e intermoleculares.¹¹ Aunque en este caso no se observó la formación del disulfuro **177**, el rendimiento de **174** fue bajo (~25%). No intentamos optimizar el rendimiento porque esta reacción se utilizó solamente como modelo para extenderla luego a furanosas.



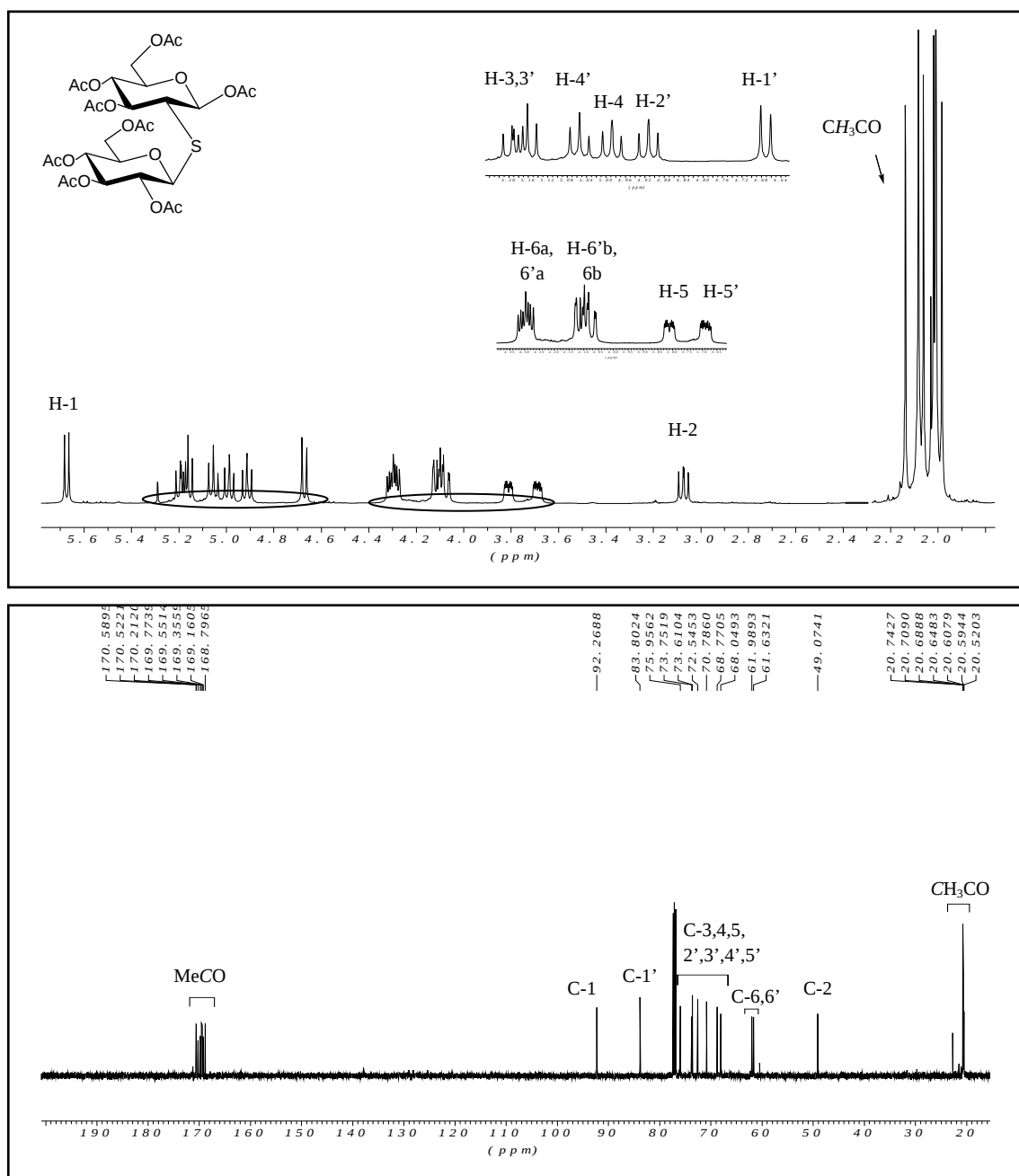


Figura 50a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **174**. **Figura 50b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de **174**.

Dado que fue posible obtener el tiodisacárido **174** a partir de una glicosil isotiurea, aplicamos esta misma metodología con una sal de isotiuronio de un azúcar furanósico. Así, se intentó la reacción entre la sal de isotiuronio de la Gal β (**102**) y el mismo triflato (**173**), para obtener **178**, pero los resultados no fueron positivos. Aunque se evaluaron distintas condiciones (Tabla 8), en todos los casos,

se obtuvieron monosacáridos derivados de Gal f hidroxilados ($-\text{OH}$), O -acetilados ($-\text{OAc}$) ó S -acetilados ($-\text{SAC}$) en la posición anomérica. Como se describe a continuación, en ciertas condiciones, se obtuvo una molécula de glucosa 1,3,4,6-tetra- O -acetilada-2- O -benzoilada resultado de la sustitución del triflato en la posición 2 por un benzoato.

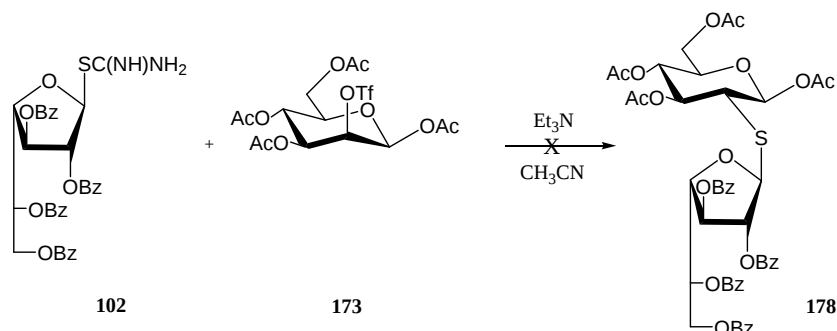


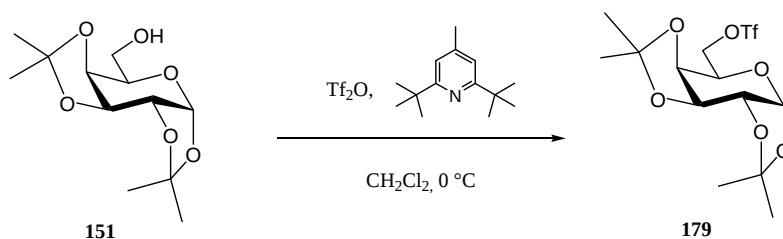
Tabla 8. Condiciones de reacción para obtener el tiodisacárido 178.

	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	Ensayo4
Gal f 102	0,07 mmol	0,07 mmol	0,07 mmol	0,15 mmol
Solvente	0,3 mL DMF	1,5 mL CH ₃ CN	0,5 mL DMF	0,5 mL DMF
DTT	11 mg ($\times 1$)	11 mg ($\times 1,0$)	11 mg ($\times 1,0$)	23 mg ($\times 1,0$)
Et ₃ N	12 μL ($\times 1,2$)	15 μL ($\times 1,5$)	100 μL ($\times 10$)	42 μL ($\times 2$)
Triflato 173	37 mg ($\times 1,1$)	Sin triflato	30 mg ($\times 0,9$)	79 mg ($\times 1,1$)
T ($^{\circ}\text{C}$), tiempo (h)	25 $^{\circ}\text{C}$; 24 h 60-80 $^{\circ}\text{C}$; 8 h, 25 $^{\circ}\text{C}$; 16 h	25 $^{\circ}\text{C}$; 3 h	25 $^{\circ}\text{C}$; 5 h 45 $^{\circ}\text{C}$; 3 h	25 $^{\circ}\text{C}$; 1,5 h 65 $^{\circ}\text{C}$; 2 h

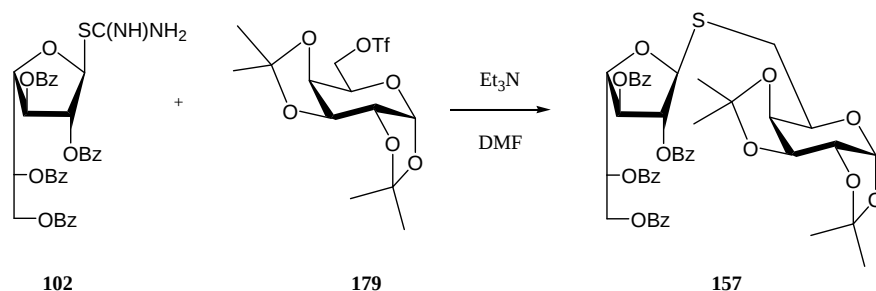
En las condiciones del **Ensayo 1** se obtuvo la 2,3,5,6-tetra- O -benzoil- α,β -D-Gal f (con el HO-1 libre) según espectroscopia de RMN- ^1H y ^{13}C . Además, parte de este producto se acetiló y se realizaron espectros de RMN- ^1H y ^{13}C . Estos espectros coincidieron con los del compuesto **155**, previamente sintetizado, confirmando que se trataba del derivado O -acetilado en la posición anomérica.

En el **Ensayo 2** se obtuvo un producto de diferente R_f que el obtenido en el **Ensayo 1**. Como en este ensayo no se había agregado el triflato **173**, se pensó que podría tratarse del tior **103**, entonces este producto se trató inmediatamente con anhídrido acético esperando obtener la 1-*S*-acetil-2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil-1-tio- β -D-Gal*f*, pero los datos espectroscópicos que se observaron no se correspondían con los informados en literatura para este compuesto.¹² En base a los datos espectrales se asignó el disulfuro unido (1 $\rightarrow$ 1) como estructura factible para este producto.

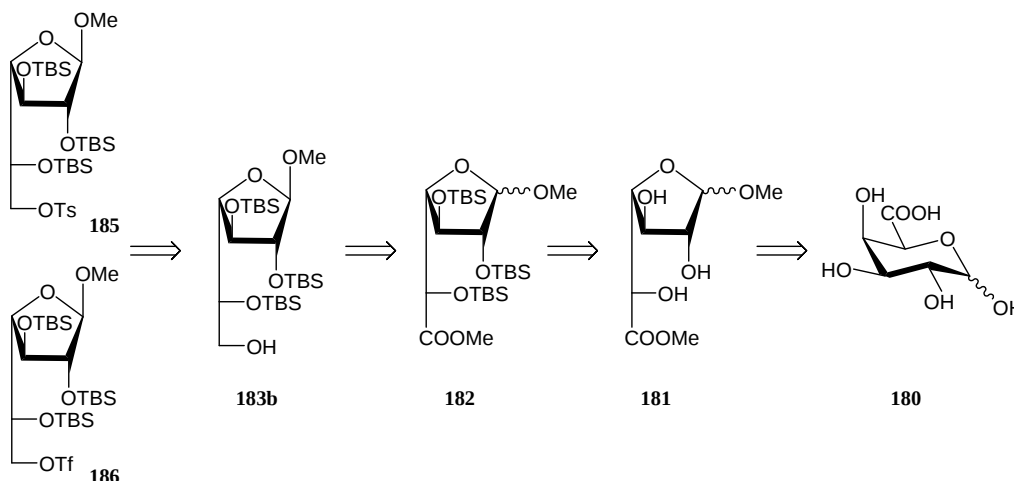
Como resultado de los **Ensayos 3 y 4** se obtuvo un producto de configuración glucopiranósica que resultó ser producto de sustitución del grupo triflato de **173**, por benzoato. Cabe mencionar que había $BzO.BF_3^-$ en el medio de reacción, remanente de la preparación de la sal de isotiuronio. La causa de estos resultados desfavorables se atribuyó al impedimento estérico de la posición 2 de la manosa, por lo cual decidimos llevar a cabo la misma reacción con un triflato menos impedido. Para ello se sintetizó, a partir de **151**, el derivado 1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén-6-*O*-trifilil- α -D-galactopiranososa (**179**),^{13,14} con el grupo saliente sulfonilo de alcohol primario.



Por reacción de la sal de isotiuronio de la Gal*f* con el triflato **179**, en presencia de Et_3N , se obtuvo el tiodisacárido **157**, aunque también con bajo rendimiento (26%). Este producto ya había sido sintetizado por otro método (Capítulo 5), por lo cual quedó fácilmente corroborada su identidad.



Se concluyó que la sal de isotiuronio de la Gal*f* producía la 1-tioaldosa nucleofílica intermediaria para la reacción de sustitución, y que con un grupo triflato en la posición 6 de una hexosa menos impedida, se producía el acoplamiento. Por lo tanto aplicamos esta metodología a derivados tosilato o triflato, también en la posición 6, pero de una unidad galactofuranósica. Esta reacción conduciría a un tiodisacárido constituido por dos unidades furanósicas, análogo de Gal*f*β-(1→6)-Gal*f*, unidad encontrada en glicoconjugados de diversos microorganismos, entre ellos, *Aspergillus*, *Mycobacterium*, *Penicillium* y *Trichoderma*. Se propuso estudiar la reacción con el metil 2,3,5-tri-*ter*-butildimetilsilil-6-*O*-tosilo-α-D-galactofuranósido (**185**) o el metil 2,3,5-tri-*ter*-butildimetilsilil-6-*O*-triflil-α-D-galactofuranósido (**186**). Para obtener estos compuestos, se planteó el siguiente esquema retrosintético, en el cual el ácido D-galacturónico (**180**) sería el sustrato de partida.



El primer paso de esta síntesis consistió en obtener, a partir de ácido D-galacturónico (**180**), el metil glicósido de configuración furanósica **181**, como mezcla de anómeros. Esta reacción había sido descrita por Marino y Lederkremer.¹⁵ El compuesto **181** tenía un grupo éster en la posición 6, que luego

sería reducido para obtener el hidroxilo terminal libre, previa protección de los hidroxilos restantes con cloruro de *ter*-butil dimetilsililo (TBSCl). Se eligió esta opción de grupos protectores ya que se contaba con antecedentes que indicaban que la protección con grupos acetatos o benzoatos, no era eficiente debido a la migración del grupo protector del C-5 al C-6, en el momento de llevar a cabo la reducción del éster.¹⁶ Así, se sintetizó el metil glicósido **181** (el anómero β era mayoritario) y se convirtieron los grupos hidroxilos en silil ésteres con TBSCl/imidazol. En las figuras 51a y 51b se muestran los espectros de RMN- ^1H y ^{13}C del compuesto totalmente protegido **182**.

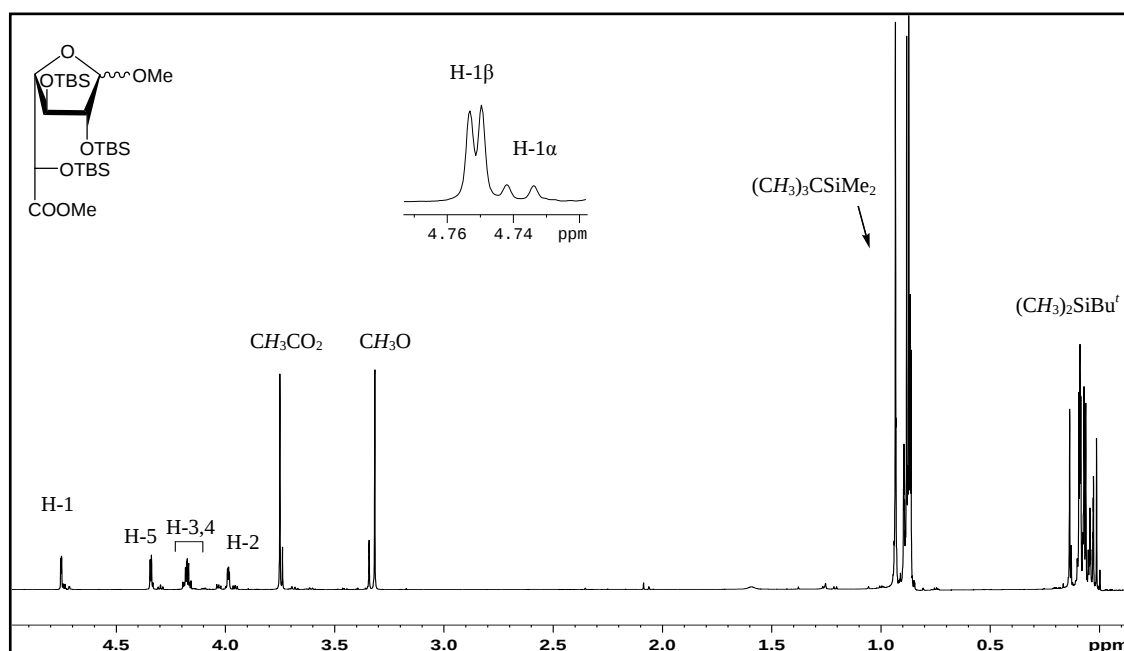
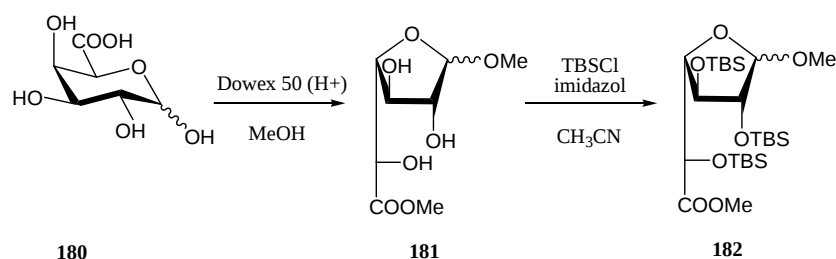


Figura 51a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **182**.

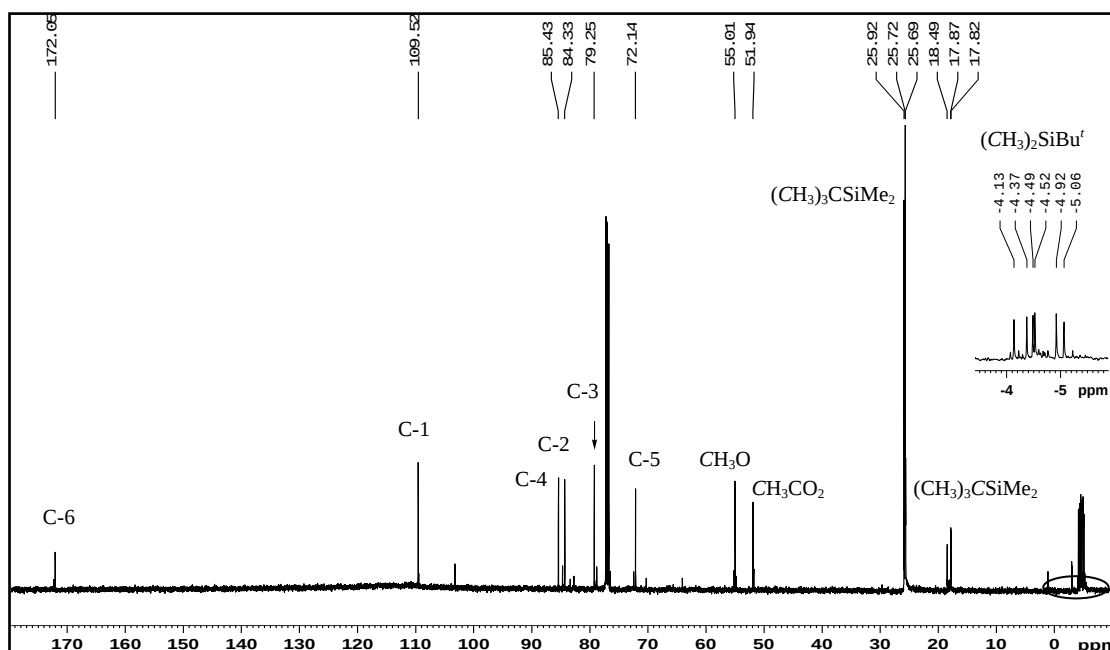
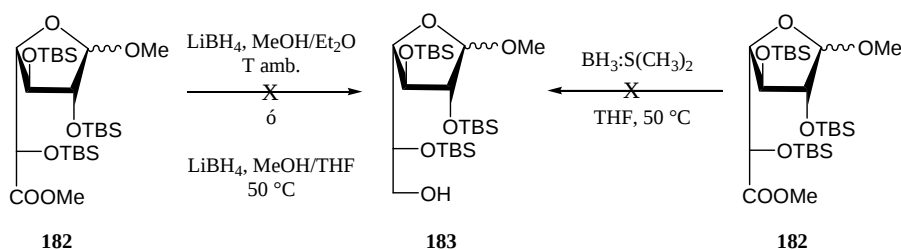
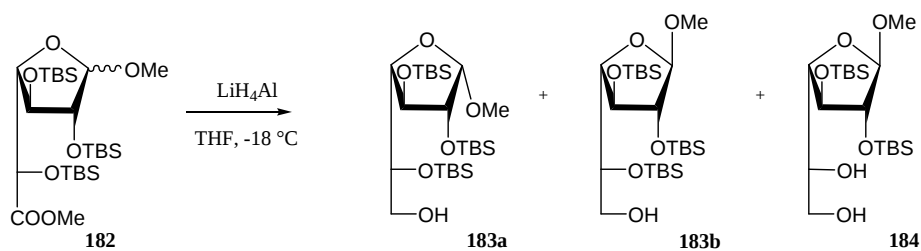


Figura 51b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de **182**.

Se evaluaron diversos agentes reductores para el siguiente paso de síntesis. Se comenzó probando con reductores suaves como LiBH_4 ¹⁷ o $\text{BH}_3\cdot\text{S}(\text{CH}_3)_2$,¹⁸ los cuales no resultaron adecuados para reducir el éster de **182**.



Cuando se utilizó LiH_4Al como agente reductor, resultó difícil ajustar las condiciones de reacción: cantidad de agente reductor, temperatura y tiempo. Un exceso del agente reductor superior a 1,2 moles, a temperatura ambiente o incluso a $0\text{ }^\circ\text{C}$ y por tiempos prolongados (1 h o más) conducía a la desililación parcial de la posición 5 de **183** para dar **184**. Una vez optimizadas las condiciones de reacción se obtuvieron los siguientes productos.



No pudo evitarse la pérdida del grupo sililo protector del C-5 (**184**), pero con tiempos de reacción cortos se lograba obtener principalmente los productos con el C-6 libre (**183b**, de configuración β , en forma mayoritaria). En esta etapa, los productos se separaron eficientemente mediante cromatografía en columna. Como se verá más adelante el compuesto **184** resultaría útil para otra vía de síntesis y su obtención se podía favorecer aumentando el tiempo de reacción.

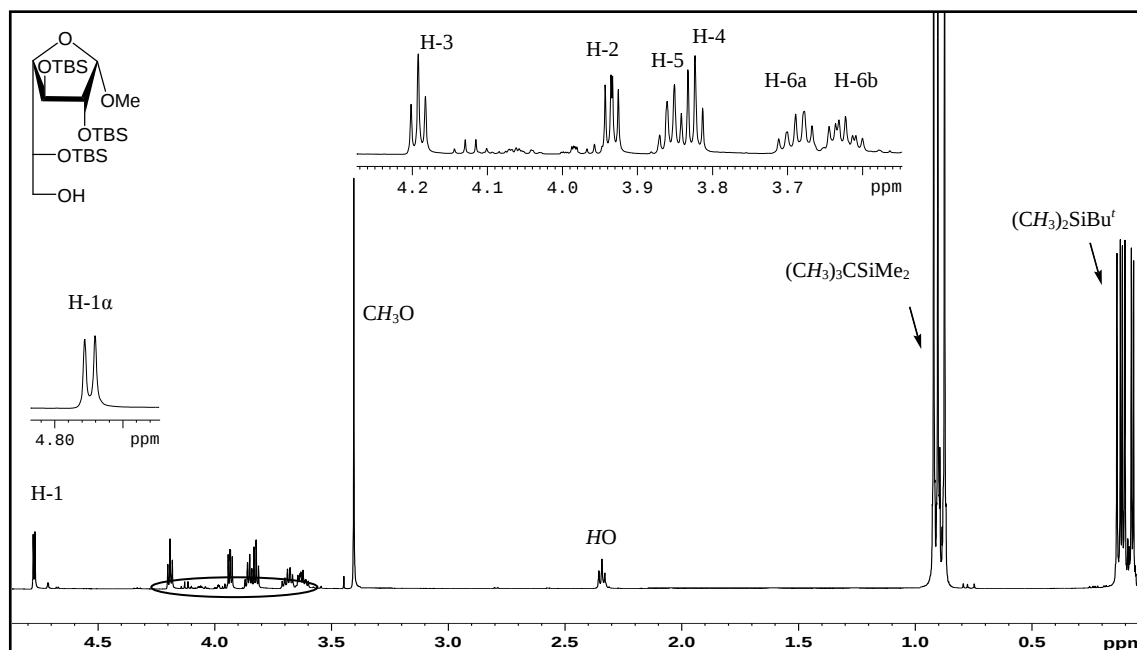


Figura 52a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **183a**.

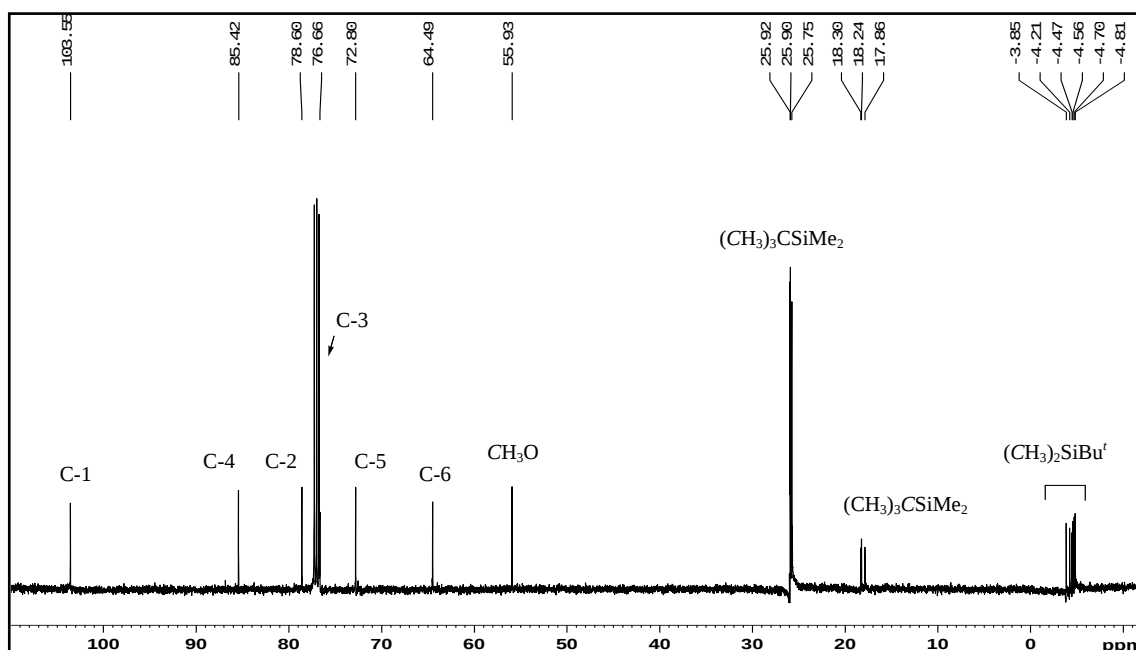


Figura 52b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 183a.

En el espectro de RMN- ^1H de **183a** (Fig. 52a) se observaban, entre otras señales, un triplete a 2,34 ppm correspondiente al *HO* acoplado con los H-6a y H-6b y un doblete para el H-1 (4,77 ppm) con un $J_{1,2} = 3,8$ Hz, indicativo de configuración α . Además, esto se confirmó mediante su espectro de RMN- ^{13}C (Fig. 52b) en el cual se observaba la señal del carbono anomérico a 103.5 ppm.

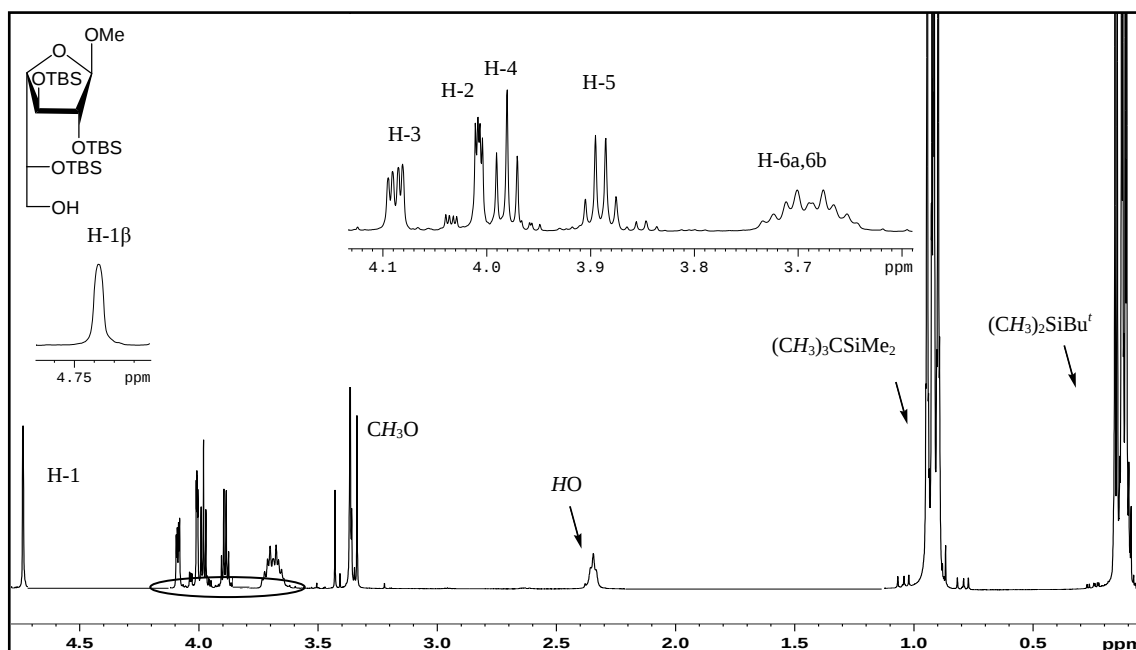


Figura 53a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 183b.

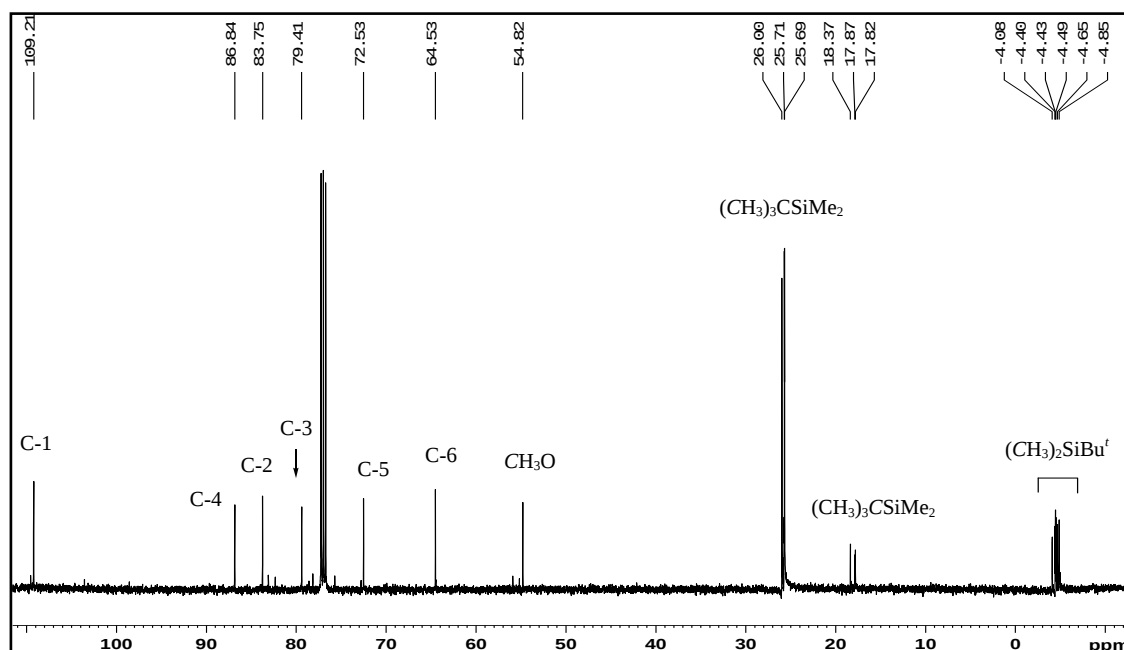


Figura 53b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de **183b**.

En el espectro de RMN- ^1H de **183b** (Fig. 53a) la señal correspondiente al HO aparecía a 2,35 ppm y la del H-1 a 4,74 ppm con $J_{1,2} < 1$ Hz confirmando la configuración anomérica β . En el espectro de RMN- ^{13}C de **183b** (Fig. 53b) la señal del carbono anomérico aparecía desplazada a campos más bajos, en comparación con la de **183a** (109,2 ppm), coincidente con la configuración anomérica asignada.

Las diferencias más notorias en el espectro de RMN- ^1H de **184** (Fig. 54a) con respecto a los anómeros **183a** y **183b**, previamente descriptos, resultaron ser la aparición de dos señales correspondientes a hidroxilos libres (2,62 y 2,23 ppm) y sólo dos señales correspondientes a los grupos protectores silil ésteres de las posiciones 2 y 3, en la zona de campos más altos. La configuración anomérica resultó β , con valores de desplazamientos y constante de acoplamiento ($J_{1,2}$) análogos a los observados para **183b**.

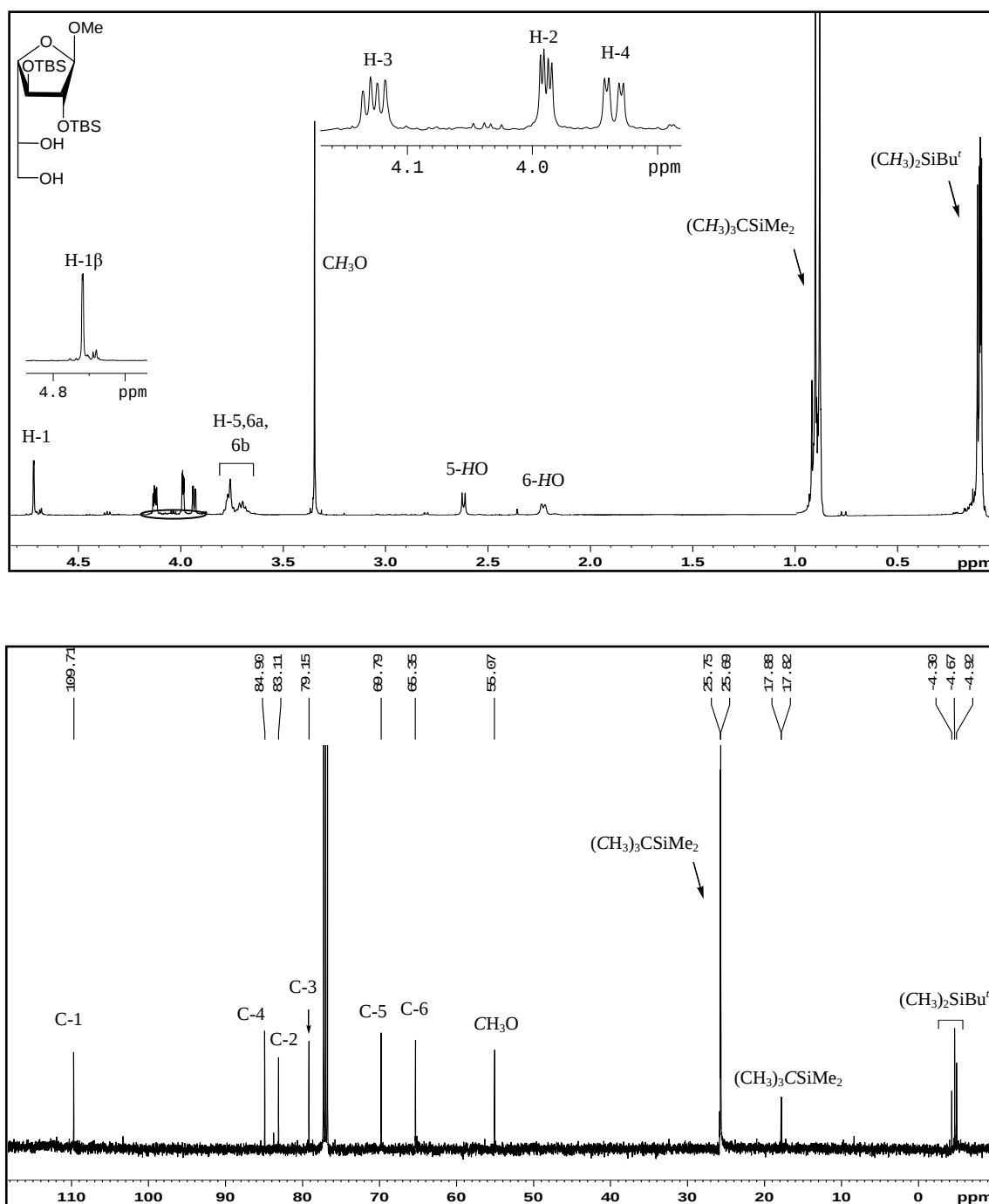


Figura 54a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 184. **Figura 54b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 184.

En ciertas oportunidades, cuando se dejó proceder la reacción por mayor tiempo y la temperatura alcanzó los 0 °C, se observó la migración del grupo sililo protector

del C-5 al C-6, en forma análoga a lo que ocurre con acetatos o benzoatos y se obtuvieron **183a'** y **183b'**, con el hidroxilo de la posición 5 libre

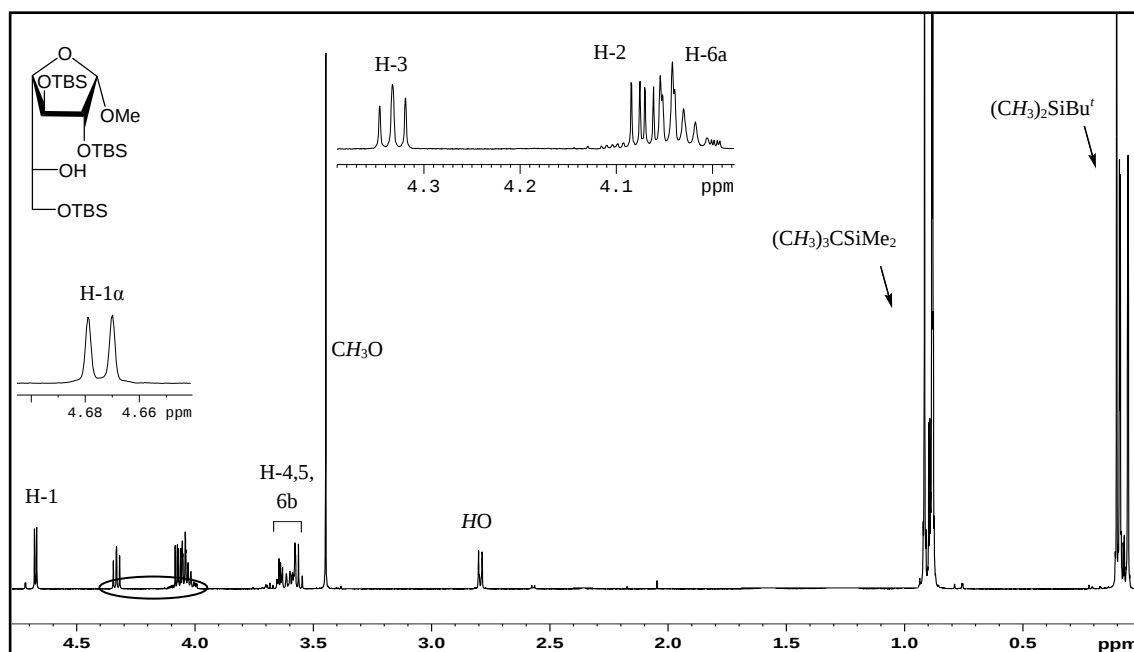
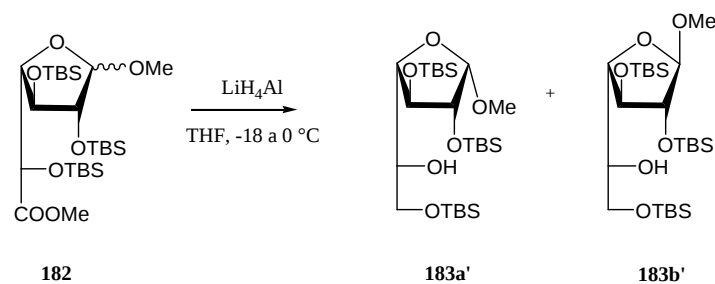


Figura 55a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **183a'**.

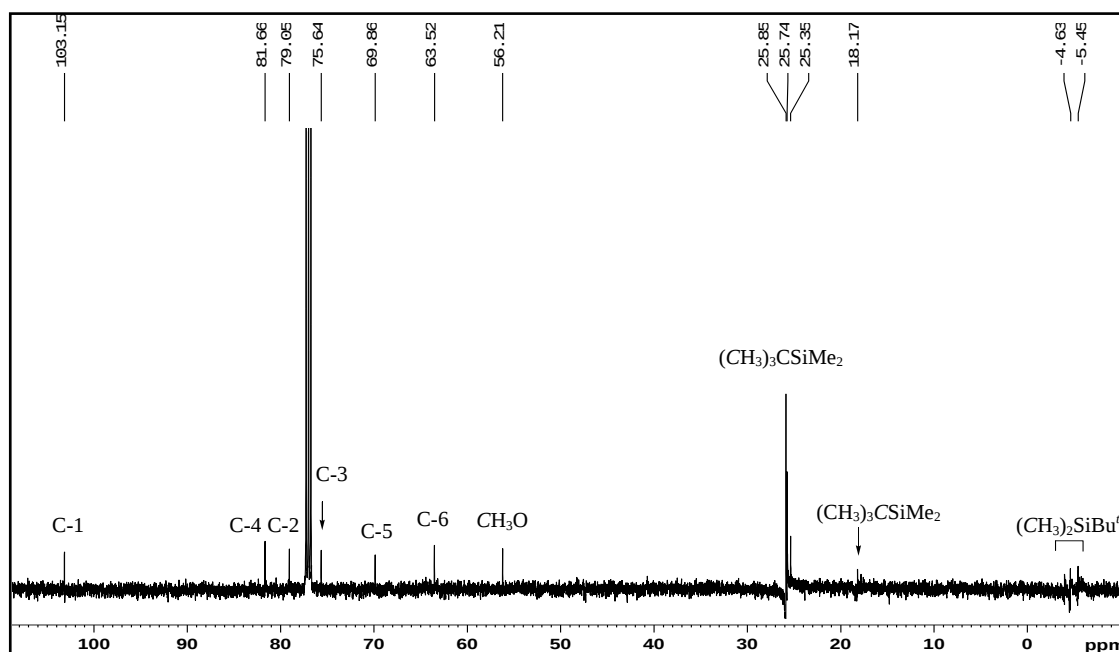


Figura 55b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 183a'.

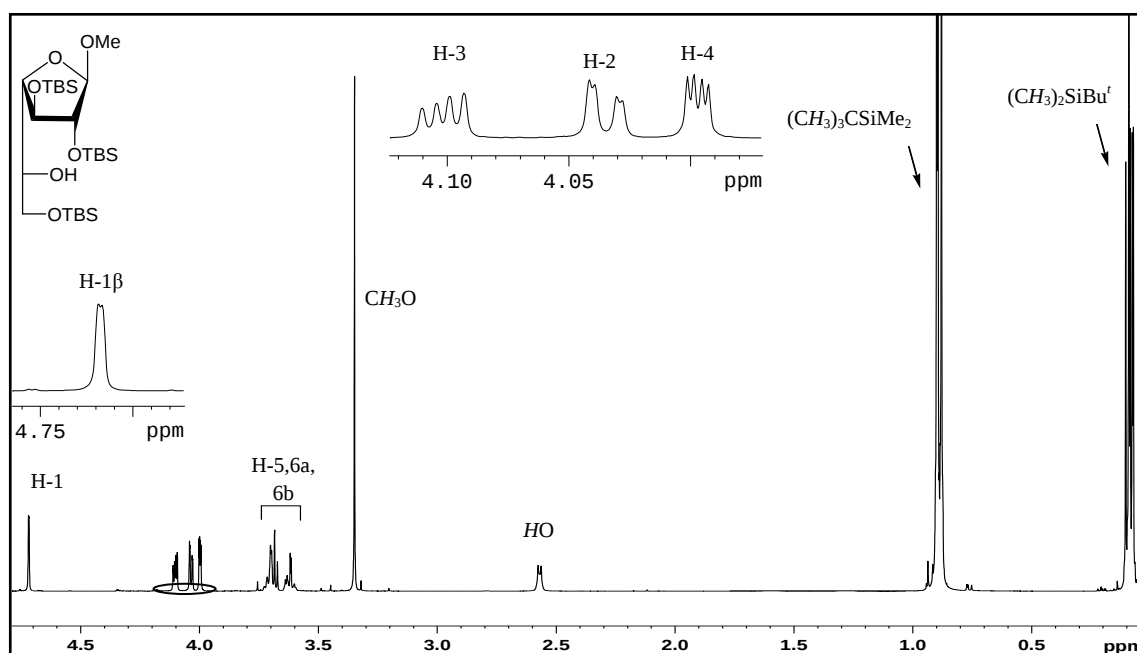


Figura 56a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 183b'.

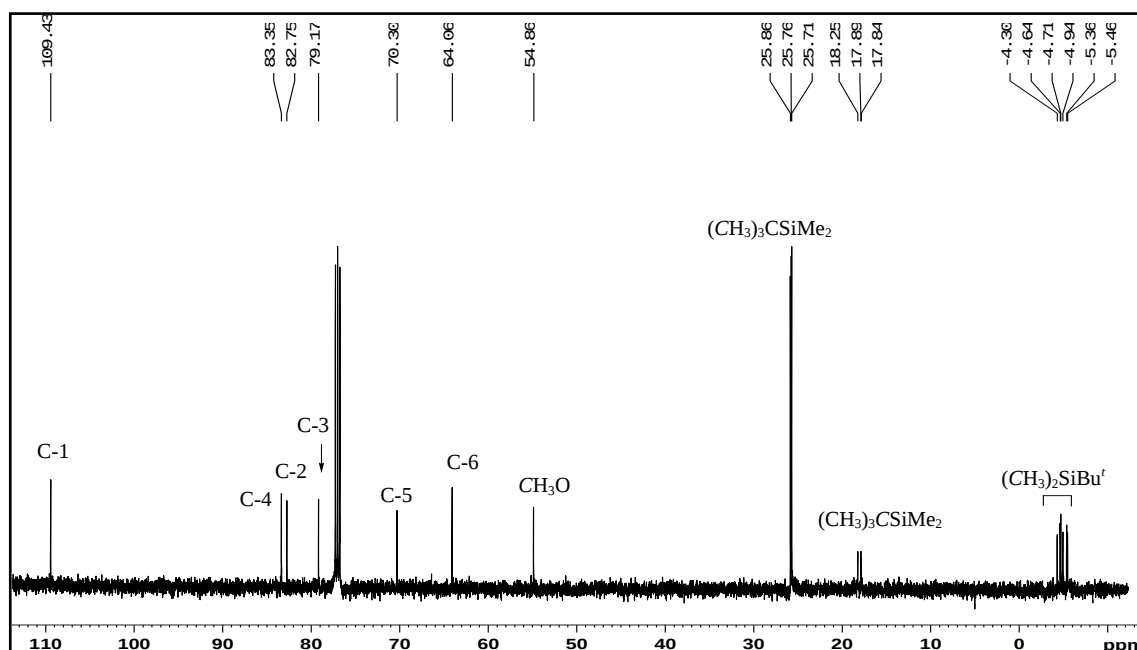


Figura 56b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de **183b'**.

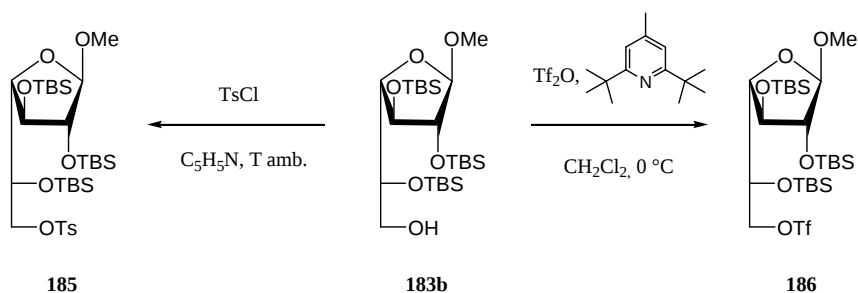
Los espectros de RMN- ^1H de **183a'** y **183b'** (Fig. 55a y 56a) resultaron bastante similares a los de sus análogos hidroxilados en la posición 6, excepto en el desplazamiento de las señales correspondientes a los *HO*-5 que además, como era de esperar eran dobletes, dado que la señal del H-5 aparecía acoplada con el protón del hidroxilo y a valores de δ mayores a 2,50 ppm (**183a'**: 2,80 ppm y **183b'**: 2,57 ppm). En los espectros de RMN- ^{13}C de **183a'** y **183b'** (Fig. 55b y 56b, respectivamente) se observaba que la señal correspondiente al C-5 se desplazaba levemente a campos más altos (con respecto a los mismos carbonos en **183a** y **183b**).

Estas asignaciones se confirmaron por acetilación de los grupos HO de los compuestos **183b**, **183b'** y **184**. Como era de esperar la acetilación produjo un desplazamiento a campos bajos de los protones vecinos y también se observó un efecto menor en los espectros de RMN- ^{13}C . Los desplazamientos mencionados se listan en la Tabla 9.

Tabla 9. Señales características en los espectros de RMN-¹H de los compuestos **183b**, **183b'** y **184**.

Compuestos acetilados derivados de:	183b	183b'	184
δ H-5	3,73	5,07	5,30
δ H-6a	4,20	3,74	4,34
δ H-6b	3,97		4,21
δ C-5	70,5	71,7	69,2
δ C-6	66,4	61,0	63,2

Se prepararon los sulfonil derivados de **183b** como aceptores de tioglicosilo. A partir de **183b**, por reacción con cloruro de tosilo en piridina anhidra, se sintetizó **185** y con anhídrido trifílico en CH₂Cl₂ anhidro, se obtuvo **186**.



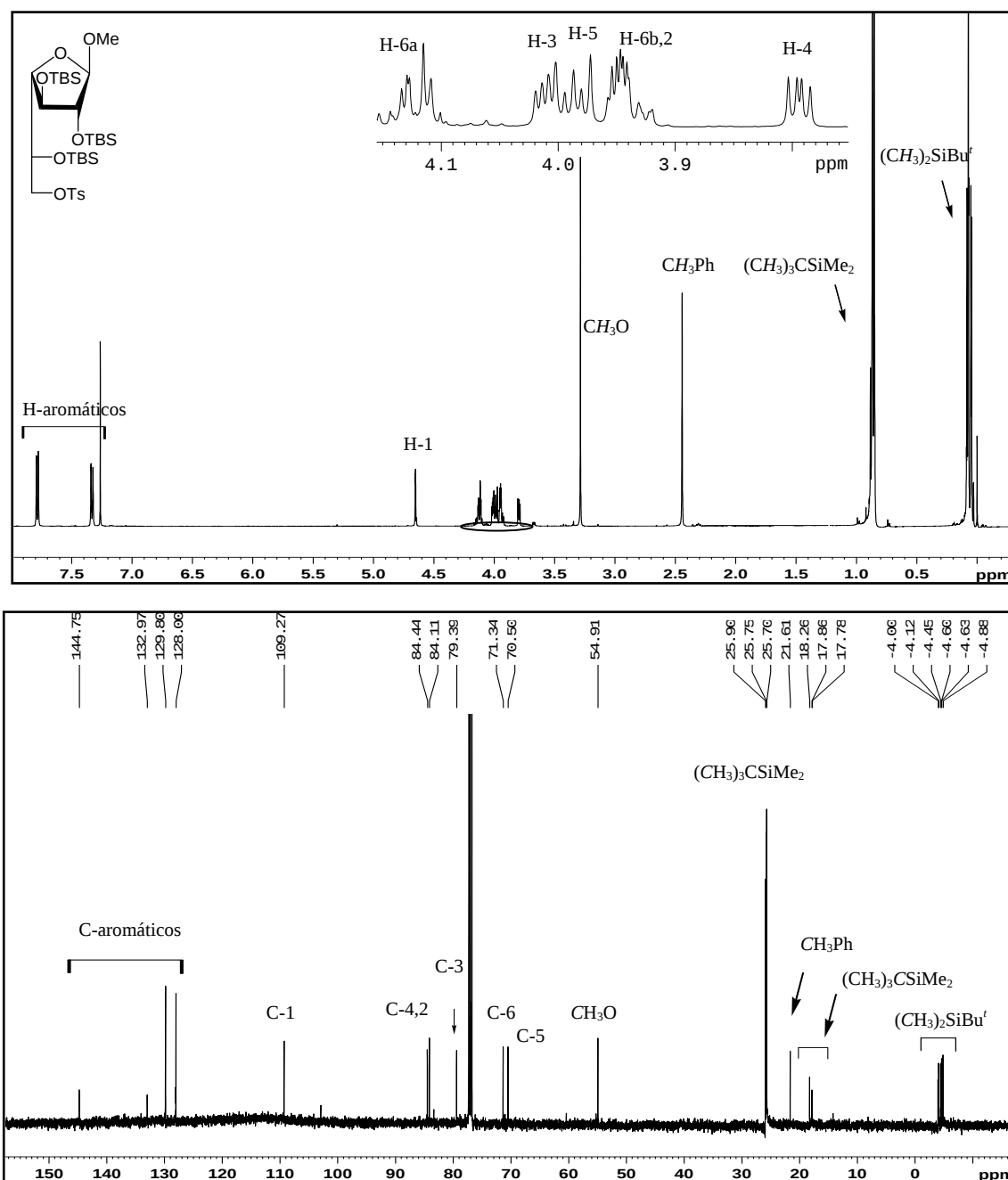


Figura 57a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **185**. **Figura 57b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de **185**.

La tosilación de **183b** se verificó por comparación de su espectro de RMN- ^1H (Fig. 53a) con el del derivado **185** (Fig. 57a), dado que se observó un desplazamiento a campos más bajos de las señales de H-6a (0,41 ppm) y H-6b (0,28 ppm). De manera similar, en el espectro de RMN- ^1H de **186** (Fig. 58a) se observó que la introducción del grupo triflato en el hidroxilo primario de **183b** produjo una

desprotección aún mayor para H-6a (0,91 ppm) y H-6b (0,70 ppm). Para ambos derivados, **185** y **186**, sus espectros de RMN- ^{13}C (Fig. 57b y 58b) mostraban el corrimiento de la señal correspondiente al C-6 a campos ligeramente más bajos, en comparación al compuesto de origen (**183b**).

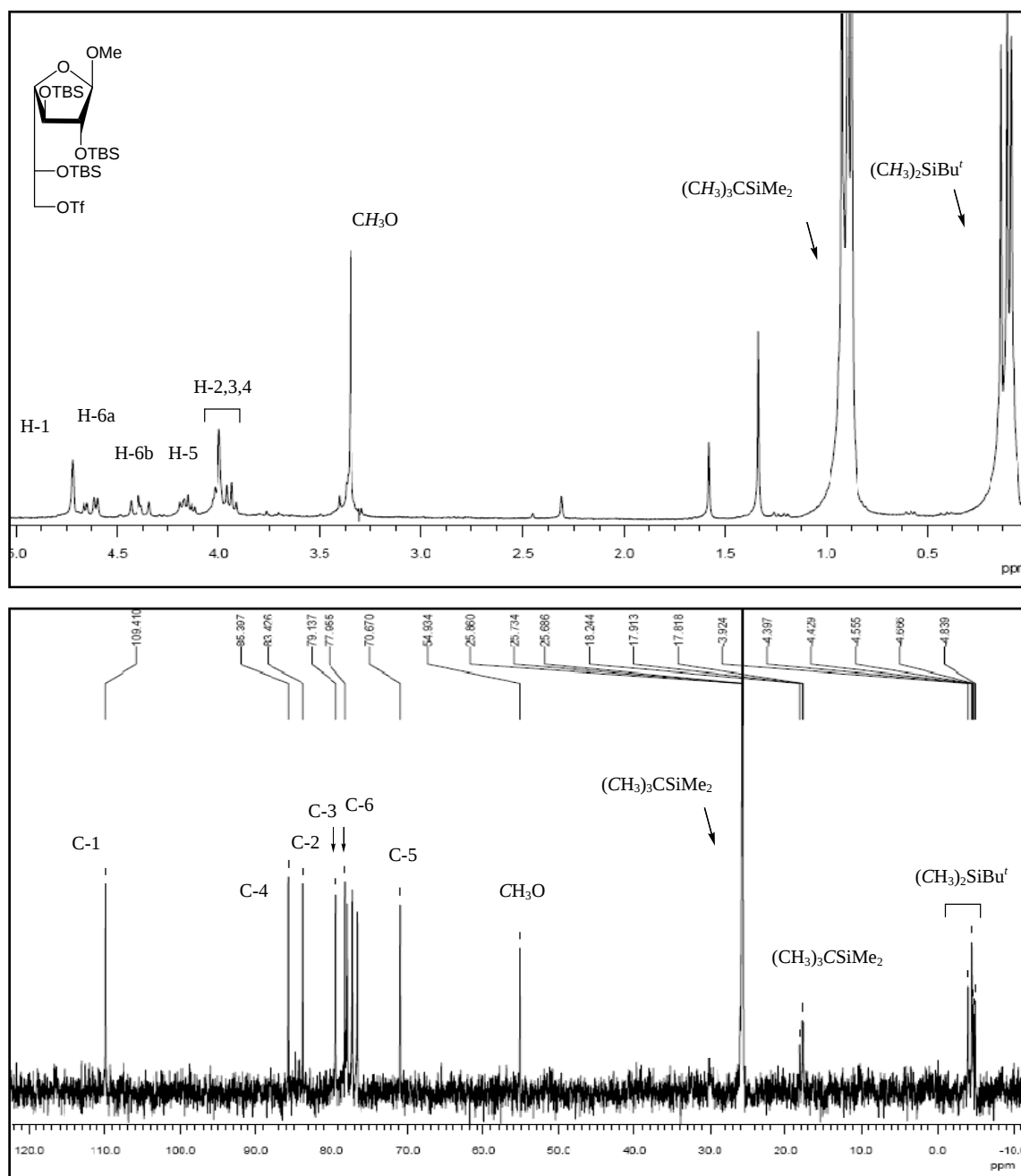


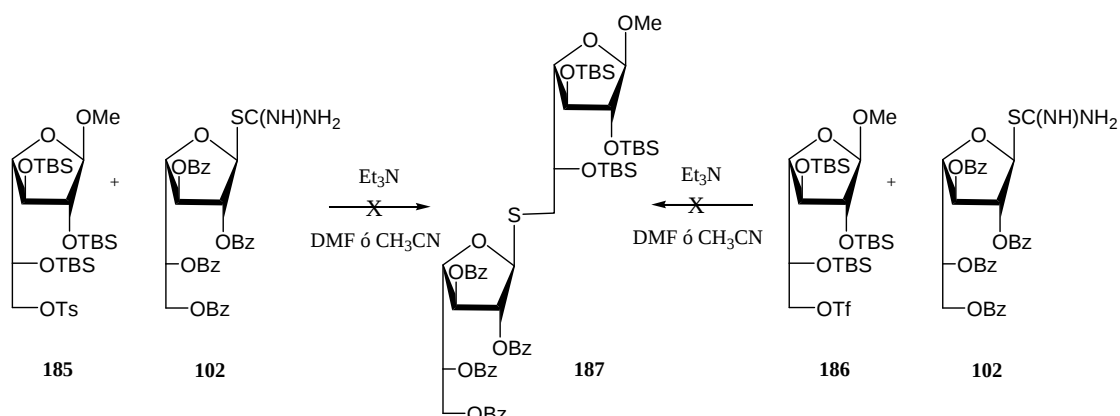
Figura 58a. Espectro de RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3) de **186**. **Figura 58b.** Espectro de RMN- ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3) de **186**.

En la Tabla 10 se listan algunas señales de espectros de RMN- ^1H y valores de constantes de acoplamiento características para los compuestos **183b**, **183b'**, **184**, **185**, **186** y **183a**.

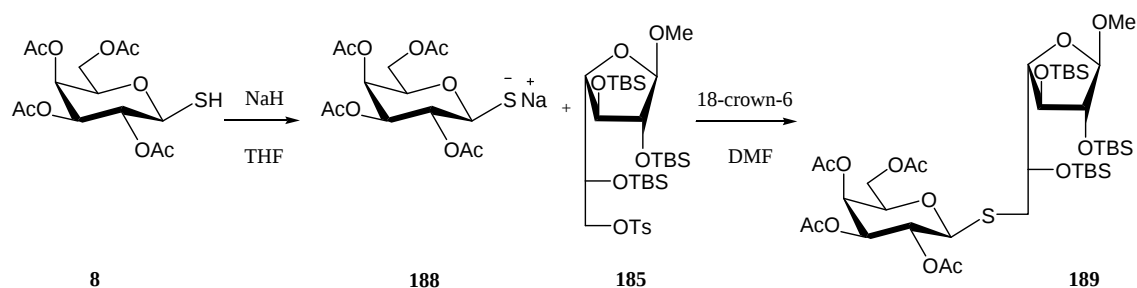
Tabla 10. Señales y constantes de acoplamiento características en los espectros de RMN- ^1H de los compuestos **183b**, **183b'**, **184**, **185**, **186** y **183a**.

Compuesto	δ H-4 ($J_{3,4}$)	δ H-5 ($J_{4,5}$)	δ H-6a ($J_{5,6a}$)	δ H-6b ($J_{5,6b}$)	J con HO
183b	3,98 (4,9)	3,89 (4,9)	3,71 (5,0)	3,67 (5,0)	6,3 ($J_{6,\text{HO}}$)
183b'	4,00 (3,0)	3,73 – 3,60			5,9 ($J_{5,\text{HO}}$)
184	3,94 (5,7)	3,76 – 3,68			7,7 ($J_{5,\text{HO}}$) 7,7 ($J_{6,\text{HO}}$)
185	3,79 (5,7)	3,98 (3,7)	4,12 (3,2)	3,95 (7,2)	-
186	3,92 (~4,2)	4,14 (~4,2)	4,62 (3,3)	4,37 (7,7)	-
183a	3,83 (4,8)	3,85 (4,8)	3,69 (4,8)	3,62 (4,8)	6,4 ($J_{6,\text{HO}}$)

Primeramente se estudió la reacción de la glicosil isotiourea **102** con el derivado tosilado **185**. Como catalizador se utilizó Et_3N y como solvente se empleó tanto DMF como acetonitrilo. Como no se obtuvieron resultados satisfactorios se decidió aplicar la misma metodología a partir del derivado triflato (**186**), considerando que éste es un mejor grupo saliente (mejor nucleóforo). Sin embargo, tampoco en este caso la reacción produjo el tiodisacárido deseado **187**.



Los resultados obtenidos parecían indicar que la concentración y/o nucleofilia del tiol formado in situ a partir de la sal de tiouronio de la unidad furanósica, no eran suficientes para que ocurra la sustitución. Para comprobar esta hipótesis se llevó a cabo la reacción con un tiol piranósico. La diferencia con la 1-tiofuranosa es que la de configuración piranósica es estable y puede aislarse. Además es factible activar el tiol como sulfuro de sodio nucleofílico, por tratamiento con NaH. Cuando se intentó la reacción del tosilato **185** con el derivado de la 1-tio-Galp (**188**) en acetonitrilo como solvente los resultados no fueron satisfactorios. Sin embargo, la misma reacción en DMF produjo el tiodisacárido buscado **189**, con buen rendimiento (86%).



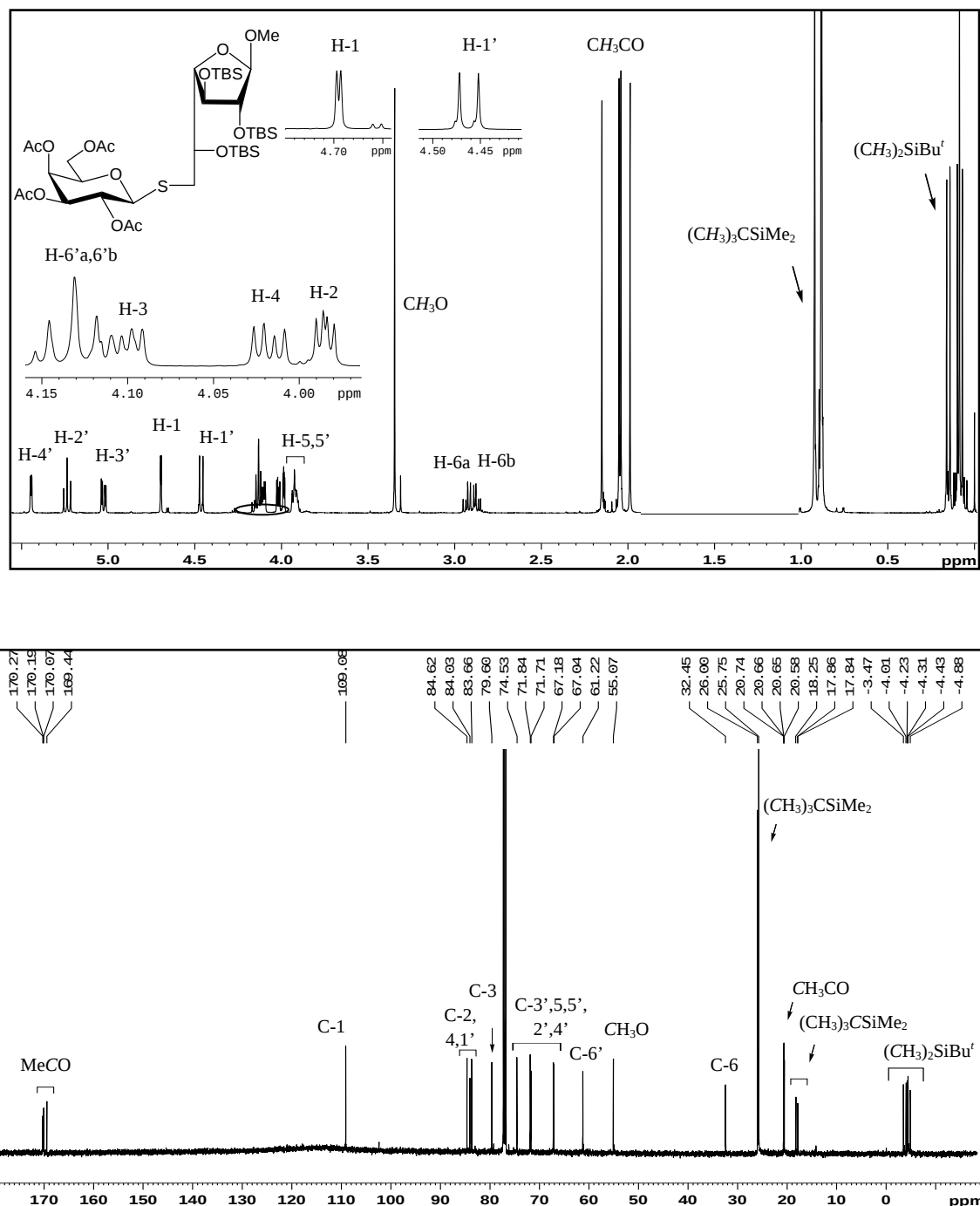
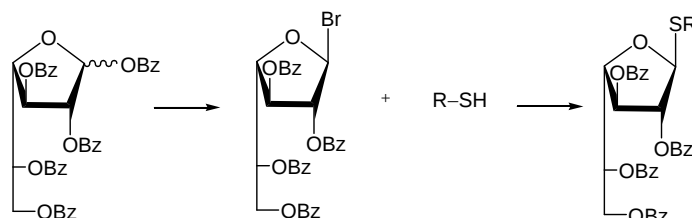


Figura 59a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 189. Figura 59b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 189.

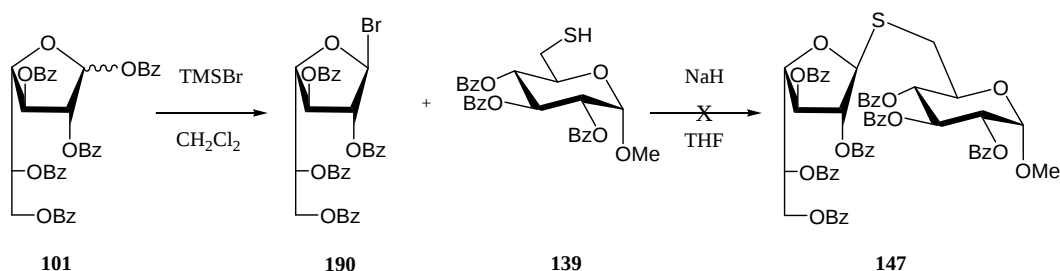
6.3. Activación del centro anomérico de la Galf como halogenuro de glicosilo.

A efectos de sintetizar tiodisacáridos con una unidad furanósica en el extremo no reductor mediante esta metodología, se estudió la reacción entre un derivado

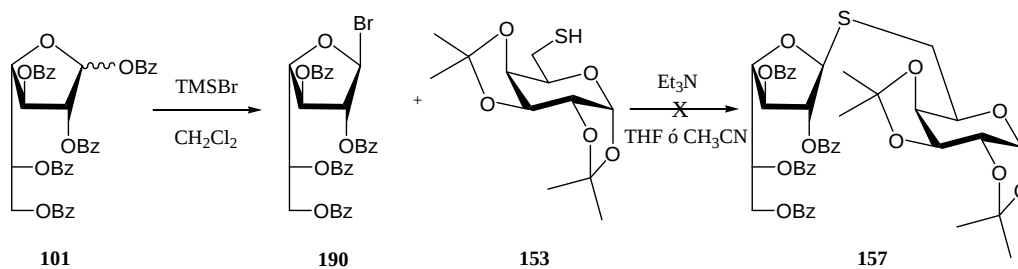
bromuro de glicosilo de configuración *Gal**f* y un tiol en la posición 6 de un derivado de *Glc**p* ó *Gal**p*. Esta reacción produciría los tiodisacáridos *Gal**f*-(1→6)-*Glc**p* (**147**) y *Gal**f*-(1→6)-*Gal**p* (**157**).



Se sintetizó a partir de la perbenzoil *Gal**f* (**101**), el correspondiente bromuro, por reacción con TMSBr.¹⁹ Una vez obtenido éste, se lo hizo reaccionar con las 6-tioazúcares **139** o **153** como se reseña en la Tabla 11. Primeramente se utilizó **139**, de configuración *Glc**p* y protegida con grupos benzoatos. Se llevó a cabo la reacción a partir de **139** generando previamente el nucleófilo con NaH y se agregó luego el bromuro **190**. No se obtuvo el tiodisacárido esperado pues no se registró reacción.



Se intentó el acoplamiento de **190** con el tiol **153**, de configuración *Gal**p*.



Las reacciones entre el bromuro **190** con el tiol **153** se condujeron en presencia de Et₃N y con THF o acetonitrilo como solventes.

Tabla 11. Condiciones de reacción para obtener los tiodisacárido **147** ó **157**.

	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Gal/bromuro 190	0,11 mmol	0,11 mmol	0,11 mmol
Solvente	4 mL THF	4 mL THF	4 mL CH ₃ CN
Base	NaH (× 1,2)	Et ₃ N 45 µL (× 3)	Et ₃ N 30 µL (× 2)
Tiol	139 (Glc <i>p</i>)	153 (Gal <i>p</i>)	153 (Gal <i>p</i>)
	68 mg (× 1,2)	35 mg (× 1,2)	35 mg (× 1,2)
T (°C) y tiempo (h)	25 °C; 2.5 h	25 °C; 1 h	25 °C; 1 h

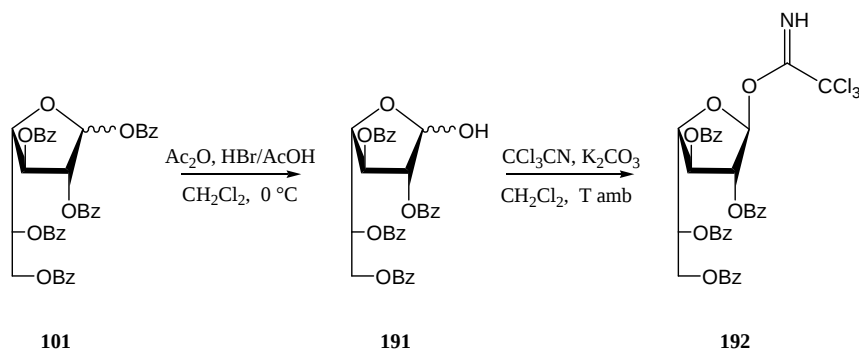
Ninguna de las condiciones estudiadas resultaron adecuadas para la reacción, en la cual se obtenía el derivado hidroxilado en la posición anomérica de la Gal*f* proveniente de la hidrólisis del bromuro de glicosilo **190**. Esto se confirmó mediante espectroscopía de RMN-¹H y ¹³C. Por lo tanto esta ruta de síntesis quedó descartada.

6.4. Activación del centro anomérico de la Gal*f* como tricloroacetimidato.

Como un intento adicional de síntesis de tiodisacáridos por *S*-glicosilación mediante reacciones de sustitución nucleofílica, se utilizó el método del tricloroacetimidato. Este es un compuesto de partida en el cual la posición anomérica se activa por catálisis ácida suave en el paso de glicosilación. El método del tricloroacetimidato se utilizó ampliamente para llevar a cabo glicosilaciones de glicopiranosídeos.²⁰ Además, existen reportes acerca de la preparación y glicosilación de un ribofuranosil tricloroacetimidato²¹ y un manofuranosil tricloroacetimidato,²² y algunos antecedentes de derivados galactofuranósicos. El

grupo de Roy y col.²³ consideró que, frente a la amplia utilización de tricloroacetimidatos piranósicos como donores de glicosilo, la posibilidad de utilizar tricloroacetimidatos furanósicos en reacciones de glicosilación aparecía como una opción altamente promisoria. Sintetizaron por primera vez el 2,3,5-tri-*O*-benzoil-6-*O*-bencil- β -D-galactofuranosil tricloroacetimidato y lo utilizaron como donador en la síntesis de disacáridos con unidades de Gal β . De forma similar, existen publicaciones más recientes acerca de la utilización de este método para preparar galactofuranosil disacáridos.²⁴⁻²⁶

En base a estos antecedentes se sintetizó un tricloroacetimidato de configuración galactofuranósica a partir de la perbenzoil Gal β (**101**).^{23,24} El primer paso consistió en hidrolizar el benzoato anomérico de **101** para obtener **191**. Luego de purificarlo por cromatografía en columna (99%) se lo trató con tricloroacetoniitrilo en condiciones básicas para dar el derivado **192** como anómero mayoritario, con muy buen rendimiento (97%). En su espectro de RMN-¹H la señal para el H-1 aparecía a campos bajos (6,71 ppm) con una constante de acoplamiento $J_{1,2} < 1$ Hz, indicando la configuración anomérica β .



Hasta aquí sintetizamos el donador de glicosilo (**192**). Era necesario sintetizar el tioazúcar cuyo grupo tiol actuaría como aceptor. A efectos de sintetizar el tiodisacárido Gal β (1 $\rightarrow$ 6)-Gal β se preparó un 6-tiol derivado de Gal β a partir de compuestos descriptos previamente.

Se llevó a cabo la reacción de sustitución a partir del derivado 6-*O*-tosilado de Gal β (**185**), así como también a partir del compuesto **186**, sustituido por triflato en la posición 6. Los rendimientos resultaron similares en ambos casos pero la reacción con el triflato **186** era mucho más rápida, entonces se optimizó la síntesis

utilizando este compuesto como precursor. En los espectros de RMN- ^1H y ^{13}C de **193** (Fig. 60) se observaron las señales características del tioacetato (RMN- ^1H : 2,35 ppm SCOCH_3 , ^{13}C : 195,3 SCOCH_3 y 30,4 ppm SCOCH_3).

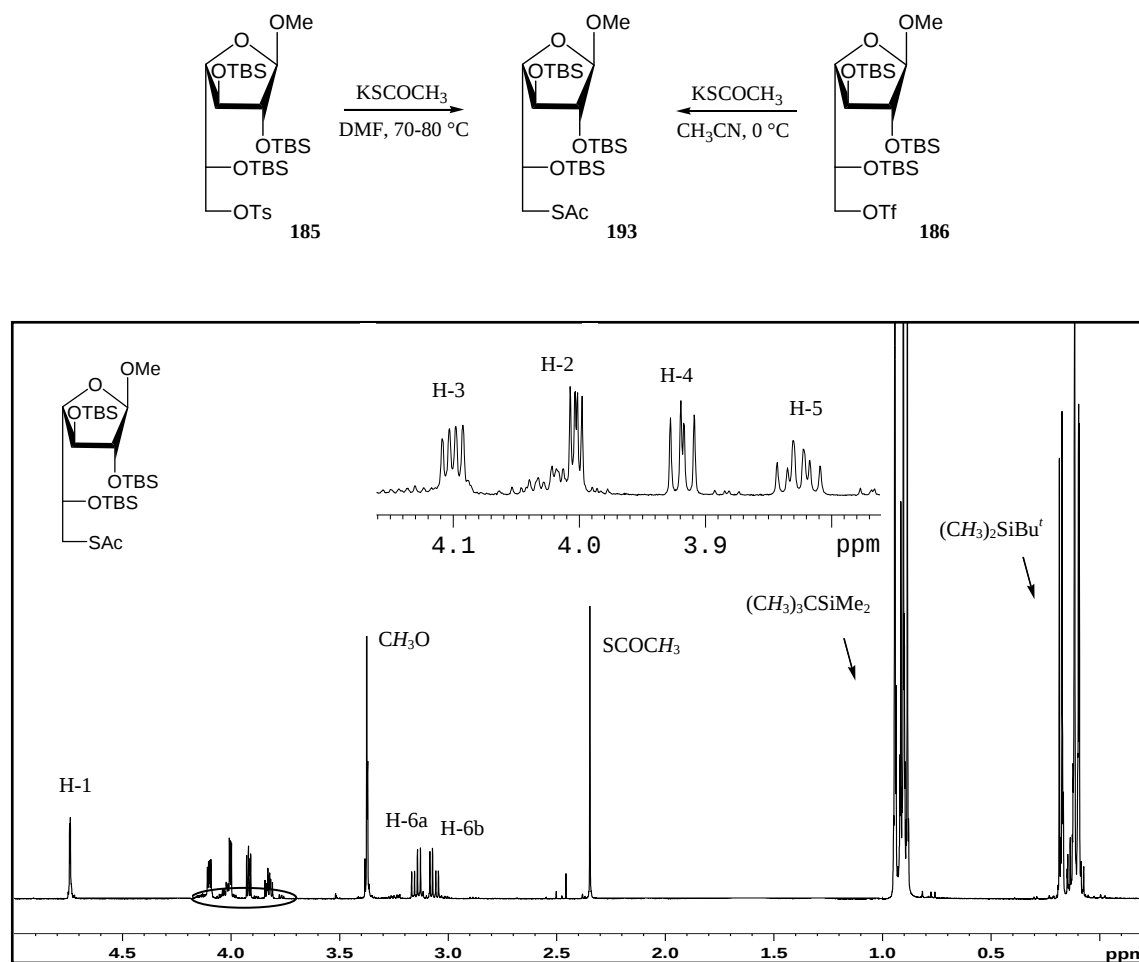


Figura 60a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **193**.

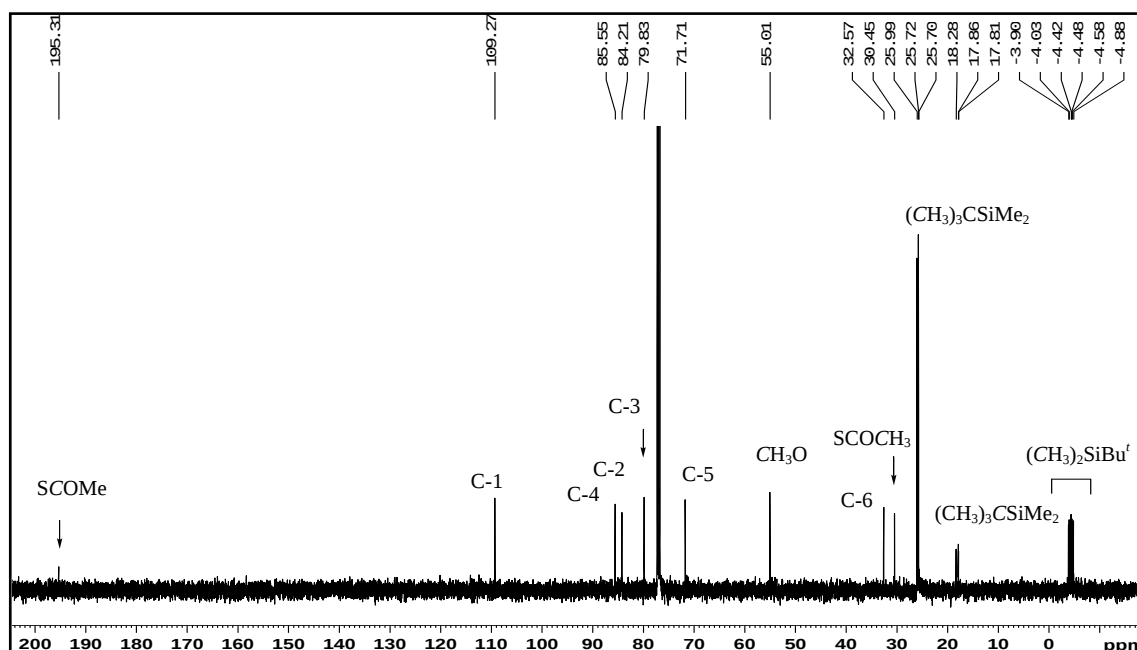
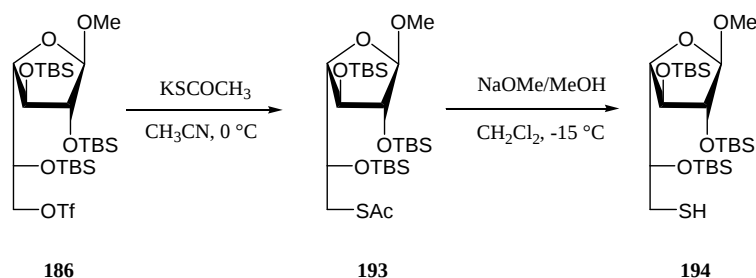


Figura 60b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de **193**.

Por sustitución $\text{S}_{\text{N}}2$ del triflato de **186** por tioacetato de potasio se obtuvo el compuesto **193**. Éste se *S*-desacetiló con una solución de metóxido de sodio a baja temperatura para producir **194**. Cabe destacar que se intentó llevar a cabo la reacción de *S*-desacetilación con cisteamina pero no se observó formación del producto **194**, con el tiol libre.



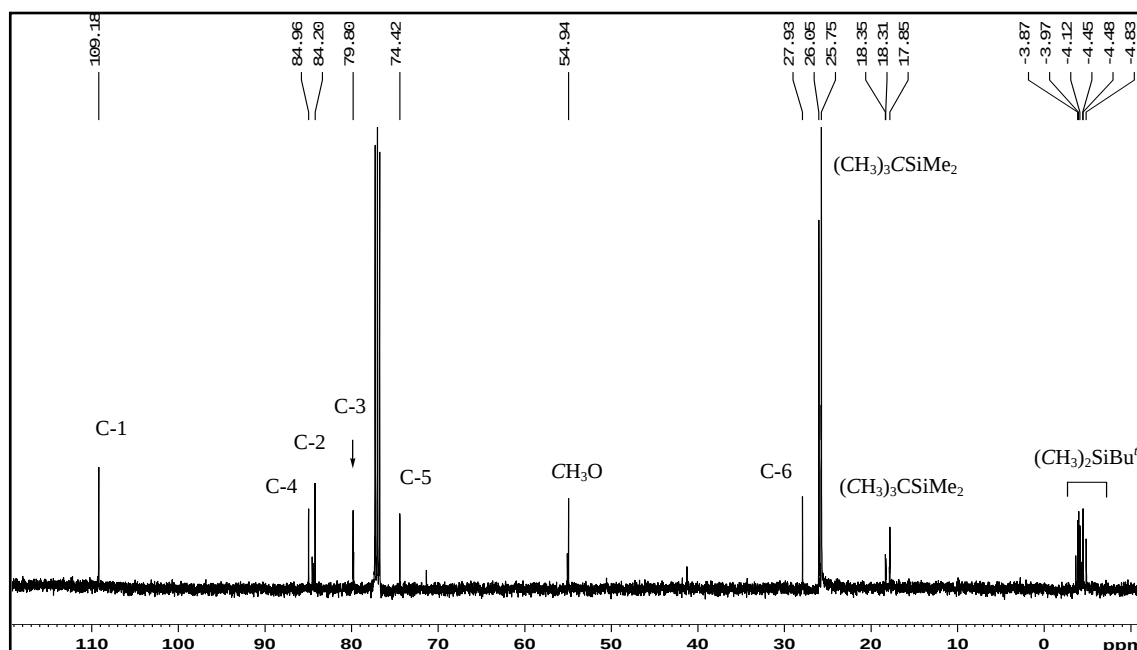
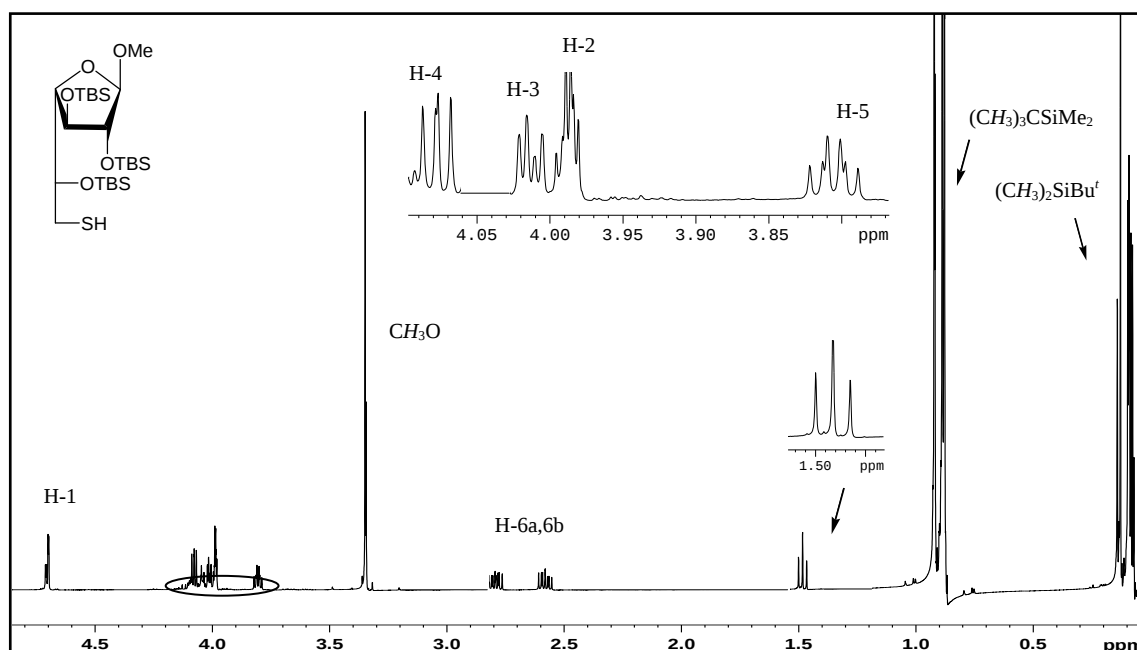


Figura 61a. Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) de 194. **Figura 61b.** Espectro de RMN-¹³C (125,7 MHz, CDCl₃) de 194.

El espectro de RMN-¹H de **194** (Fig. 61a) mostraba un claro desplazamiento a campos más altos de las señales correspondientes a los H-6a y H-6b (2,79 y 2,58 ppm, respectivamente). Este mismo efecto también se observó en su espectro de RMN-¹³C (Fig. 61b) para la señal del C-6 (27,9 ppm).

Teniendo el tiol **194**, se procedió al acoplamiento con el imidato **192**.²³ En primera instancia se disolvieron aceptor y donador en CH₂Cl₂ anhidro a baja temperatura y en presencia de molecular sieves (MS) en polvo (4 Å) para eliminar humedad, debido a la sensibilidad del imidato. La glicosidación procedió en presencia de TMSOTf como catalizador ácido de Lewis.

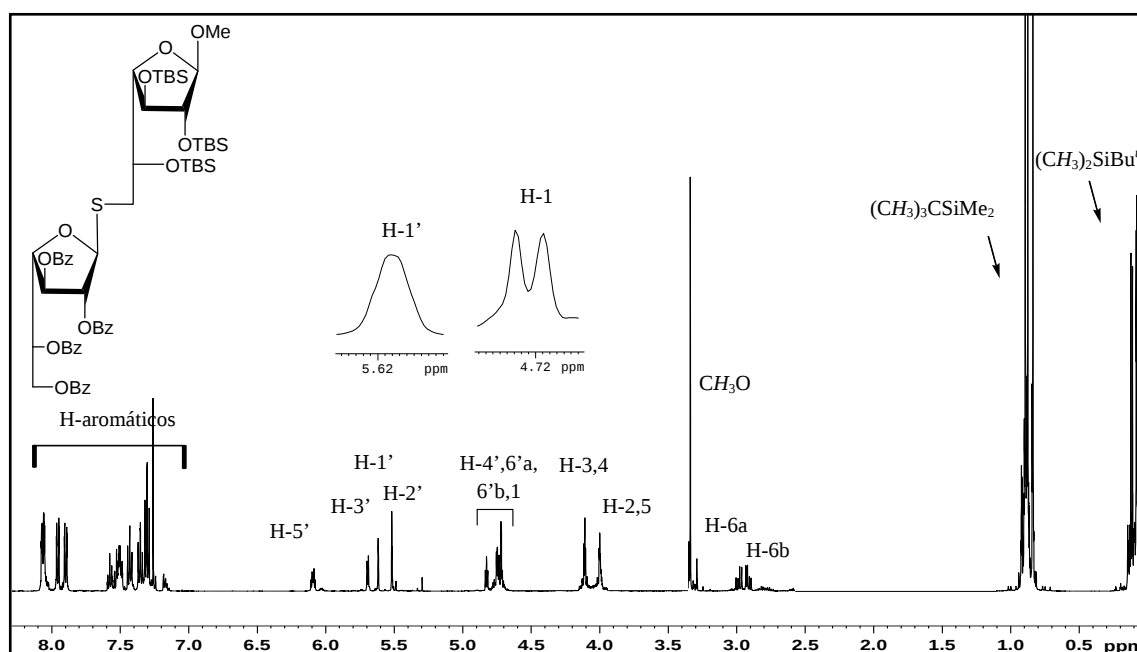
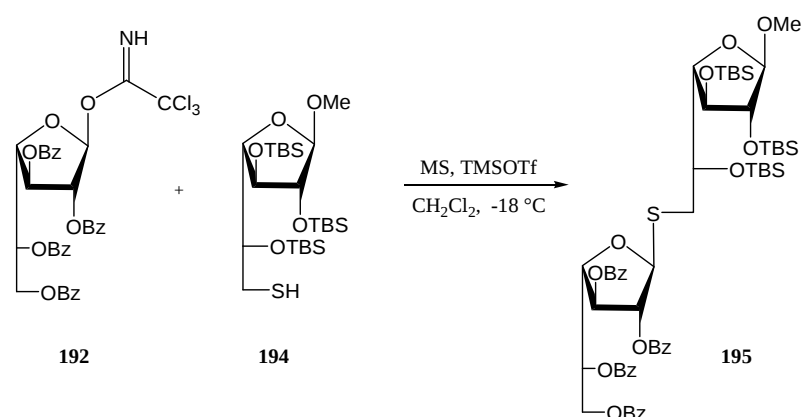


Figura 62a. Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) de **195**.

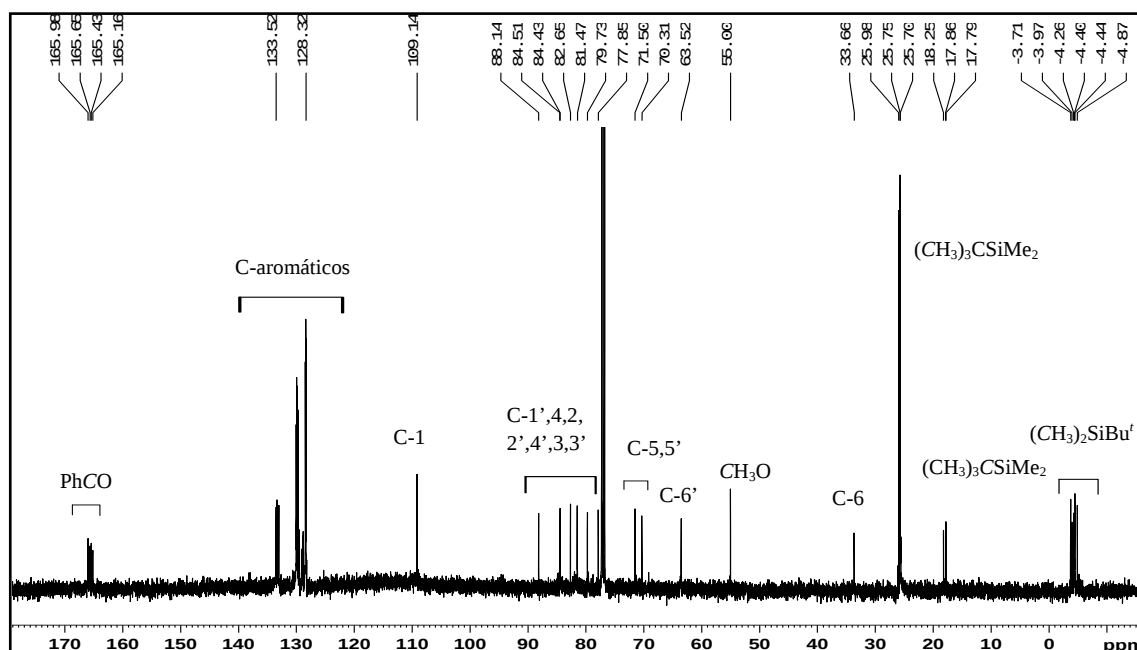


Figura 62b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de **195**.

Se obtuvo el tiodisacárido protegido **195** con un rendimiento del 47%, en las mejores condiciones ensayadas, constituido por dos unidades de galactofuranosa unidas (1 $\rightarrow$ 6), análogo a los compuestos descritos en el capítulo 1, que se encuentran en una gran variedad de microorganismos.

En este capítulo se pone de manifiesto que, para los sistemas estudiados, es factible la glicosilación del grupo tiol que reemplaza al grupo hidroxilo de una unidad de Gal f , por un derivado de Gal f anoméricamente activado. Esta metodología es más conveniente que la alternativa basada en una reacción $\text{S}_{\text{N}}2$ entre la 1-tioGal f (generada in situ a partir de la glicosil isotiourea) y un buen grupo saliente en otro derivado adecuado de Gal f .

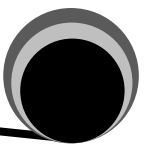
La metodología descrita se aplicó satisfactoriamente para la primera síntesis de un tiodisacárido constituido por dos unidades de galactosa en configuración furanósica.

Bibliografía.

1. Ibatullin, F. M.; Selivanov, S. I.; Shavva, A. G. *Synthesis* **2001**, *3*, 419–422.
2. Ibatullin, F. M.; Shabalin, K. A.; Jänis, J. V.; Selivanov, S. I. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 4565–4567.
3. Reed, L. A.; Goodman, L. *Carbohydr. Res.* **1981**, *94*, 91–100.
4. Moreau, V.; Norrild, J. C.; Driguez, H. *Carbohydr. Res.* **1997**, *300*, 271–277.
5. Sternberg, D.; Mandels, G. R. *J. Bacteriol.* **1980**, *144*, 1197–1199.
6. Fritscher, C.; Messner, R.; Kubicek, C. P. *Exp. Mycol.* **1990**, *14*, 405–415.
7. Hamacher, K. *Carbohydr. Res.* **1984**, *128*, 291–295.
8. Defaye, J.; Guillot, J.-M. *Carbohydr. Res.* **1994**, *253*, 185–194.
9. Petrusová, M.; Lattová, E.; Matulová, M.; Petrus, L.; BeMiller, J. N. *Carbohydr. Res.* **1996**, *283*, 73–80.
10. Deferrari, J. O.; Gros, E. G.; Mastronardi, I. O. *Carbohydr. Res.* **1967**, *4*, 432–434.
11. Wang, L.-X.; Lee, Y. C. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1996**, 581–591.
12. Owen, D. J.; von Itzstein, M. *Carbohydr. Res.* **2000**, *328*, 287–292.
13. Iriarte Capaccio, C. A. Tesis Doctoral, “*Síntesis de dihidropirranonas ópticamente activas derivadas de hidratos de carbono. Su uso como dienófilos de cicloadiciones [4+2]*”; Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, 2003.
14. Binkley, R. W.; Hehemann, D. G. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 3244–3245.
15. Bordoni, A.; Lima, C.; Mariño, K.; de Lederkremer, R. M.; Marino, C. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1863–1869.
16. Mariño, K.; Marino, C.; de Lederkremer, R. M. *Anal. Biochem.* **2002**, *301*, 325–328.
17. Soai, K.; Ookawa, A. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4000–4005.

18. Orgueira, H. A. Tesis Doctoral, "*Obtención de monómeros asimétricos bifuncionales a partir de productos naturales abundantes. Su uso para la síntesis de poliamidas quirales*"; Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, 1998. Ravid, U.; Silverstein, R. M.; Smith, L. R. *Tetrahedron* **1978**, *34*, 1449–1452.
19. Guillard, J. W.; Israel, M. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 513–516.
20. Schmidt, R. R. In *Modern Methods in Carbohydrate Synthesis*; Khan, S. H., O'Neill, R. A., Eds.; Harwood Academic Publishers: Amsterdam, **1996**; p 20. Schmidt, R. R.; Kinzy, W. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, *50*, 21–123.
21. Isobe, M.; Takahashi, H.; Goto, T. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 717–718.
22. Fugedi, P.; Liptak, A.; Nanasi, P. *Carbohydr. Res.* **1982**, *107*, C5–C8.
23. Choudhury, A. K.; Roy, N. *Carbohydr. Res.* **1998**, *308*, 207–211.
24. Gallo-Rodriguez, C.; Gandolfi, L.; de Lederkremer, R. M. *Org. Lett.* **1999**, *1*, 245–247.
25. Zhang, G.; Fu M.; Ning, J. *Carbohydr. Res.* **2005**, *340*, 155–159.
26. Bohn, M. L.; Colombo, M. I.; Stortz, C. A.; Rúveda E. A. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 1096–1104. Bohn, M. L.; Colombo, M. I.; Pisano, P. L.; Stortz, C. A.; Rúveda, E. A. *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 2522–2536.

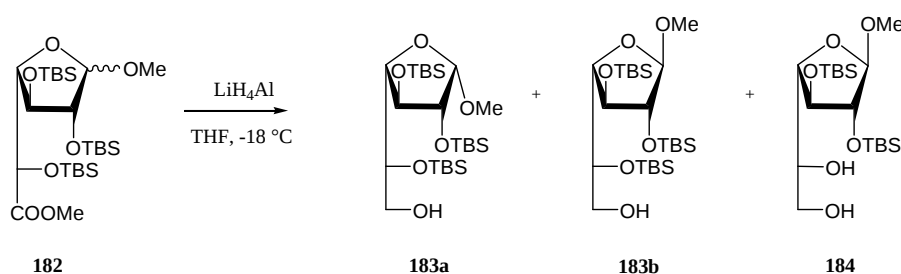
CAPITULO 7



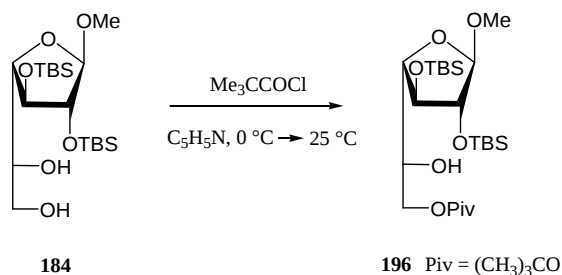
Reacciones de apertura de tiiranos de azúcares por una
1-tioaldosa.

Reacciones de apertura de tiiranos de azúcares por una 1-tioaldosa.

En el capítulo 6 se describió la reducción del metil 2,3,5-tri-*O*-*ter*-butildimetilsilil- α,β -D-galactofuranosiduronato de metilo (**182**). Esta reacción condujo a la mezcla anomérica del producto hidroxilado en la posición 6 (**183a** y **183b**) y el producto dihidroxilado en las posiciones 5 y 6 (**184**) de configuración anomérica β . Como se mencionó anteriormente, este último resultaría de utilidad en el camino sintético que se describe en este capítulo, como precursor de 5,6-episulfuros (tiiranos).



El primer paso de síntesis consistió en la obtención del derivado de Galf**196** con el grupo HO de C-5 libre. Para ello se protegió selectivamente el hidroxilo primario de **184** por tratamiento con cloruro de pivaloílo-piridina para dar **196**.¹



En el espectro de RMN- ^1H de **196** (Fig. 63a) se observó la desaparición de la señal del HO-6 y aparición de un singlete a 1,22 ppm correspondiente a los metilos del grupo protector pivaloílo ($\text{COC}(\text{CH}_3)_3$). Además, las señales de H-6a y H-6b se desplazaron a campos más bajos respecto de las mismas señales de **184** por efecto de la acilación (H-6a: 4,23; H-6b: 4,09 ppm). En forma análoga, en el espectro de RMN- ^{13}C (Fig. 63b), se confirmó la protección de la posición 6 principalmente, por la aparición de las señales a 178,3, 38,8 y 27,2 ppm correspondientes al grupo protector mencionado.

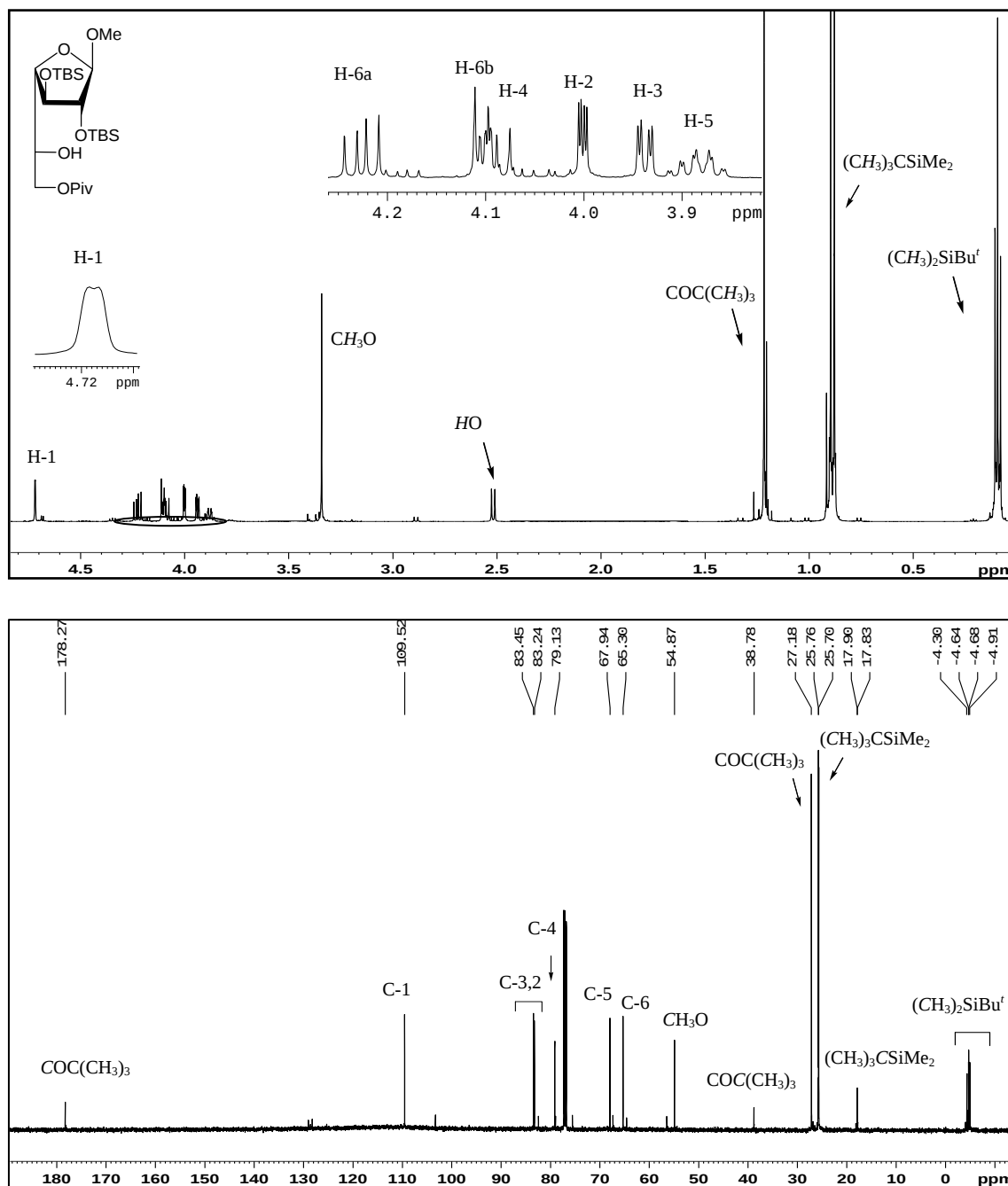
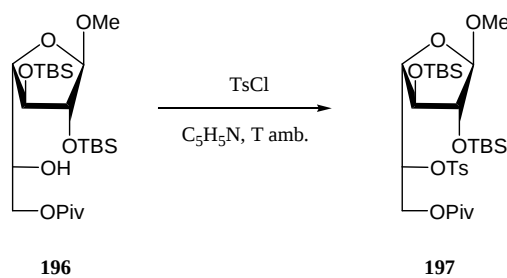
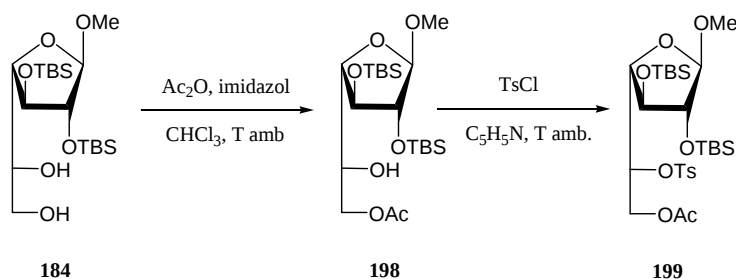


Figura 63a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 196. **Figura 63b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 196.

A continuación, se tosilo el hidroxilo de la posición 5, para tener un buen grupo saliente para la subsecuente epoxidación. En el espectro de RMN- ^1H de **197** ya no se observaba la señal correspondiente al HO-5 y en cambio se observaron señales características del tosilo (H-aromáticos: 7,83 y 7,31; CH_3Ph : 2,43 ppm) y el desplazamiento de H-5 a mayor δ debido al efecto desprotector del tosilo.



En forma análoga se llevó a cabo esta secuencia sintética por acetilación selectiva del HO-6 y posterior tosilación del HO-5. Se obtuvo así el derivado **199**. En ambos casos los rendimientos resultaron prácticamente iguales, alrededor del 70% para el paso de protección del HO-6 (**196** ó **198**) y 90% para el paso de tosilación (**197** ó **199**).



El espectro de RMN- ^1H de **198** (Fig. 64a) mostraba además de la desaparición de la señal del HO-6, una señal característica del grupo CH_3CO a 2,10 ppm. En su espectro de RMN- ^{13}C (Fig. 64b) se observaban dos señales a 171,0 y 20,9 ppm, correspondientes a MeCO y CH_3CO , respectivamente.

Los espectros de RMN- ^1H y ^{13}C de **199** eran coincidentes con la estructura propuesta y similares a los del análogo **197**.

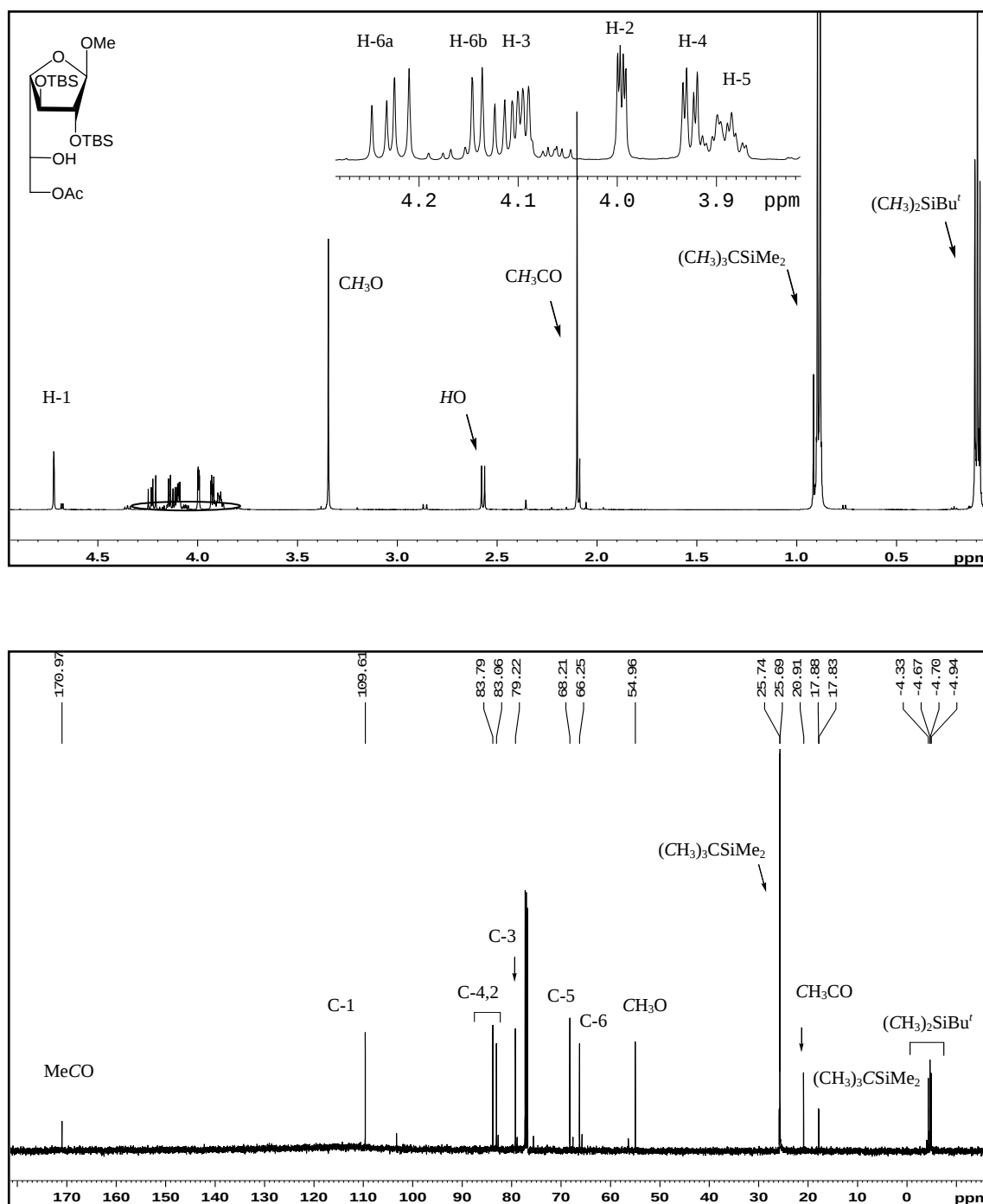


Figura 64a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 198. **Figura 64b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 198.

Ambos derivados, **197** y **199**, se trataron con una solución de NaOMe/MeOH , y así, en un único paso de reacción se desprotegió el hidroxilo de la posición 6, el cual atacó al C-5 con desplazamiento nucleofílico del tosilo, para dar el 5,6-epóxido de configuración *L-altro* (**200**), por inversión de la configuración del C-5.

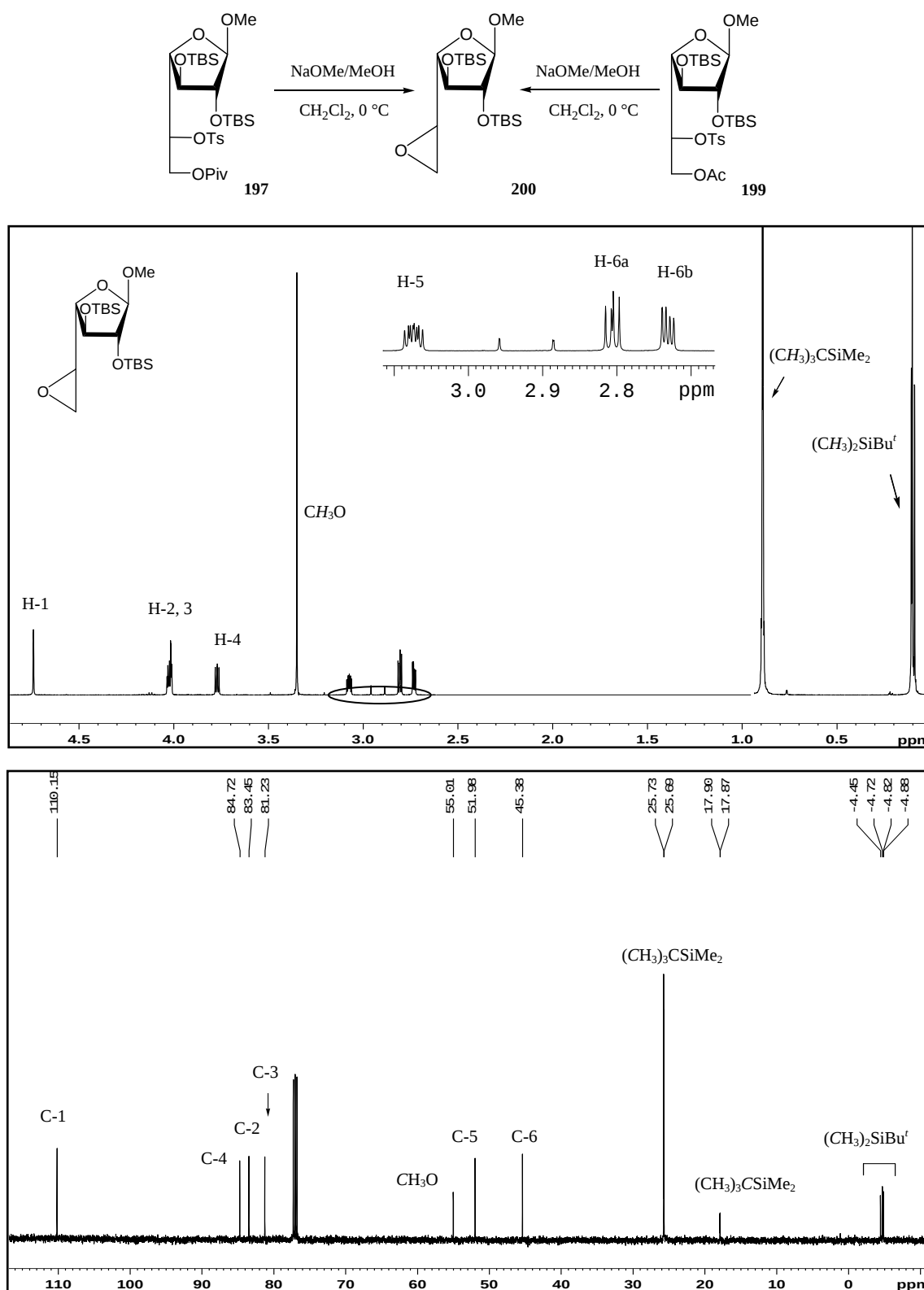


Figura 65a. Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) de 200. **Figura 65b.** Espectro de RMN-¹³C (125,7 MHz, CDCl₃) de 200.

El último paso para la obtención del tiirano consistió en tratar el epóxido **200** con tiourea en MeOH anhidro. En esta reacción se recupera la configuración *D-galacto* en **201**, de acuerdo al mecanismo descrito en el capítulo 2.

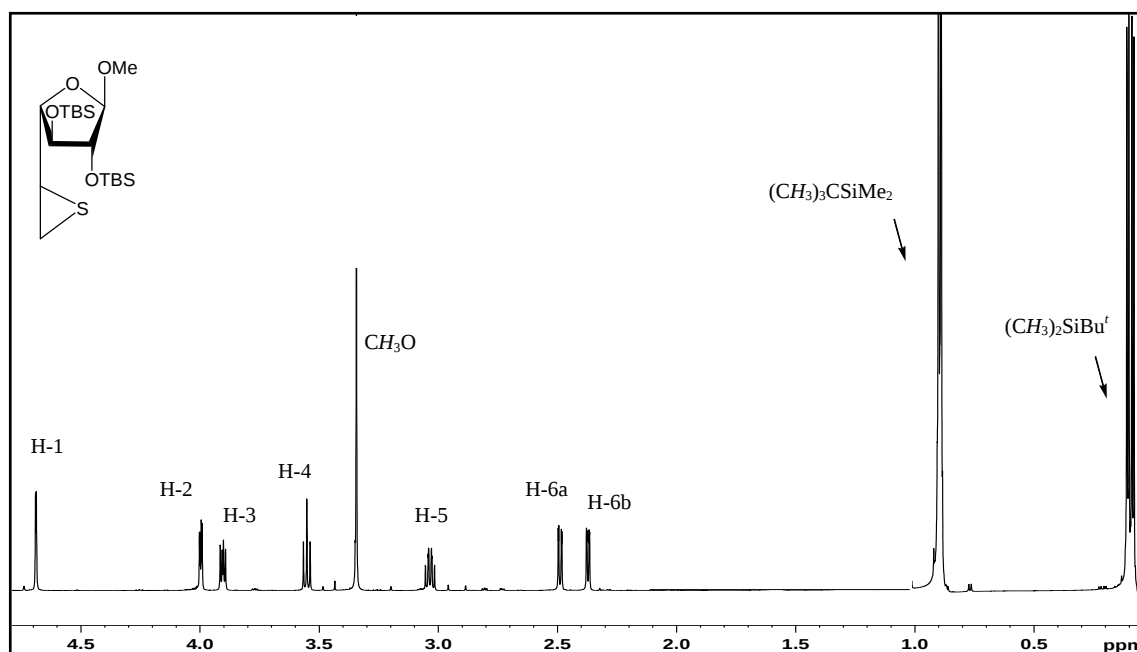
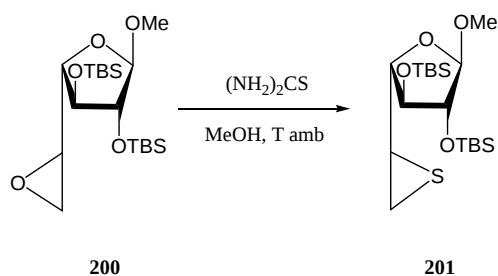


Figura 66a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **201**.

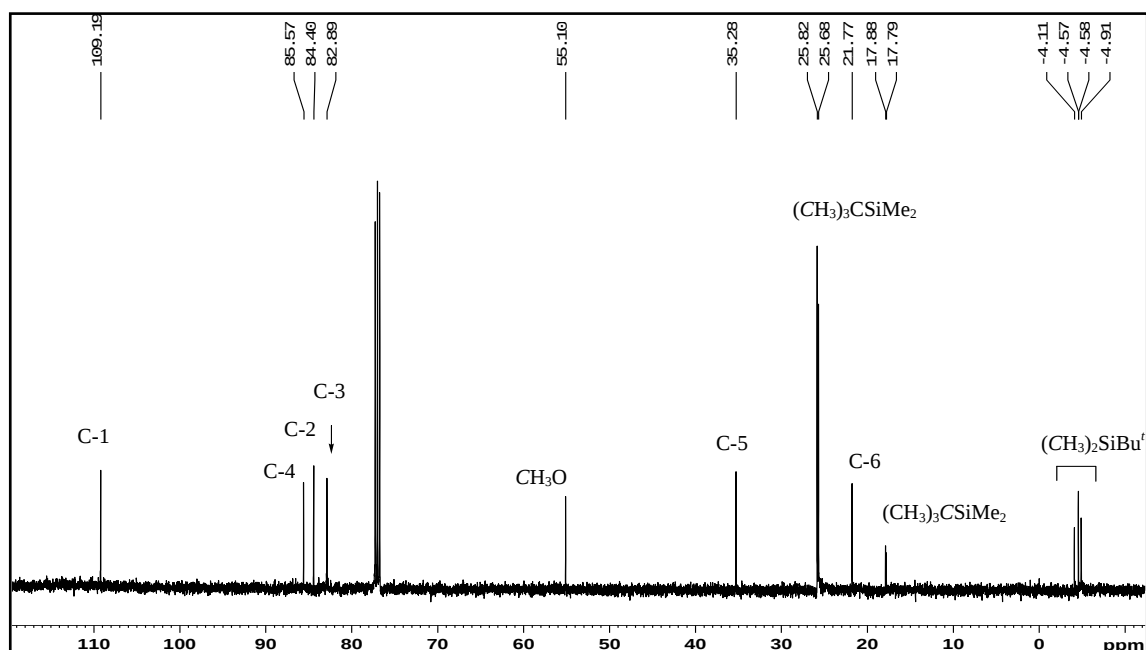


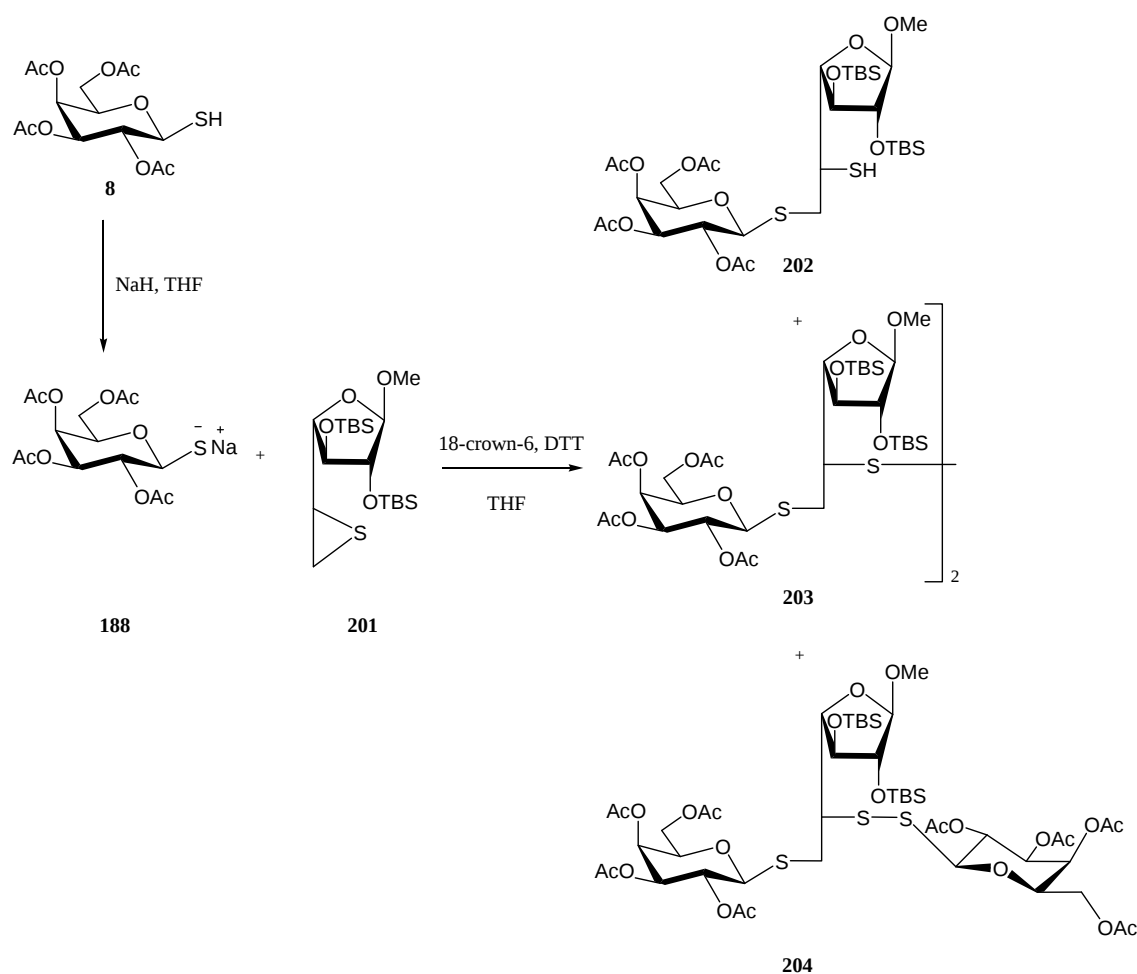
Figura 66b. Espectro de RMN-¹³C (125,7 MHz, CDCl₃) de **201**.

En los espectros de RMN-¹H de **200** (Fig. 65a) y **201** (Fig. 66a), se observó claramente la desaparición de las señales correspondientes a los grupos protectores de las posiciones 5 y 6, además de las señales de los H-6a y H-6b a δ característicos, menores a 3,00 ppm. También los espectros de RMN-¹³C (Fig. 65b y 66b) mostraban apantallamiento de las señales de los carbonos C-5 y C-6, involucrados en la formación del anillo de tres miembros especialmente para el compuesto **201**, debido a la presencia del átomo de azufre (Tabla 12).

Tabla 12. Señales características en los espectros de RMN-¹H y ¹³C de los derivados **196**, **198**, **200** y **201**.

	196	198	200	201
δ H-5 (ppm)	3,88	3,89	3,07	3,04
δ H-6a/H-6b (ppm)	4,23/4,09	4,23/4,13	2,81/2,73	2,49/2,37
δ C-5 (ppm)	67,9	68,2	52,0	35,3
δ C-6 (ppm)	65,3	66,2	45,4	21,8

Como se mencionó en el capítulo 2, prácticamente no se cuenta con antecedentes de apertura de tiiranos para sintetizar tioglicósidos constituidos por unidades piranósicas,^{2,3} y no hay antecedentes de tioglicósidos obtenidos por apertura de tiiranos de configuración furanósica. Por lo tanto el procedimiento debió ser optimizado. Se encontró que la apertura del anillo episulfuro tenía lugar satisfactoriamente cuando se utilizaba como nucleófilo la sal de sodio de la 1-tioaldosa (**188**) y para aumentar la nucleofilia del sulfuro se agregaba al medio de reacción 18-crown-6. Bajo estas condiciones de reacción optimizadas, la apertura del tiirano de **201** con el tiolato derivado de galactosa (**188**),⁴ produjo el tiodisacárido **202** unido (1→6) y con una unidad furanósica como extremo reductor.



En la apertura nucleofílica del tiirano no se obtuvo el tiodisacárido **202** como único producto sino que también se aislaron el dímero **203** y el disulfuro **204**. La

formación de estos productos puede justificarse si se tiene en cuenta que el tiol **202** una vez formado está presente en el medio de reacción como tiolato de sodio. Éste es capaz de formar el disulfuro consigo mismo o con **188** para dar, respectivamente, **203** y **204**. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna y el orden que se les dio a los compuestos corresponde al orden de elución. Igualmente, cabe aclarar que los productos **203** y **204** se obtuvieron en los primeros intentos de síntesis del tiodisacárido **202**, pero una vez ajustadas las condiciones de reacción, se obtuvo prácticamente el tiodisacárido **202** como único producto (98%). Los tres compuestos fueron caracterizados mediante espectroscopía de RMN mono y bidimensional. Sus espectros se muestran a continuación.

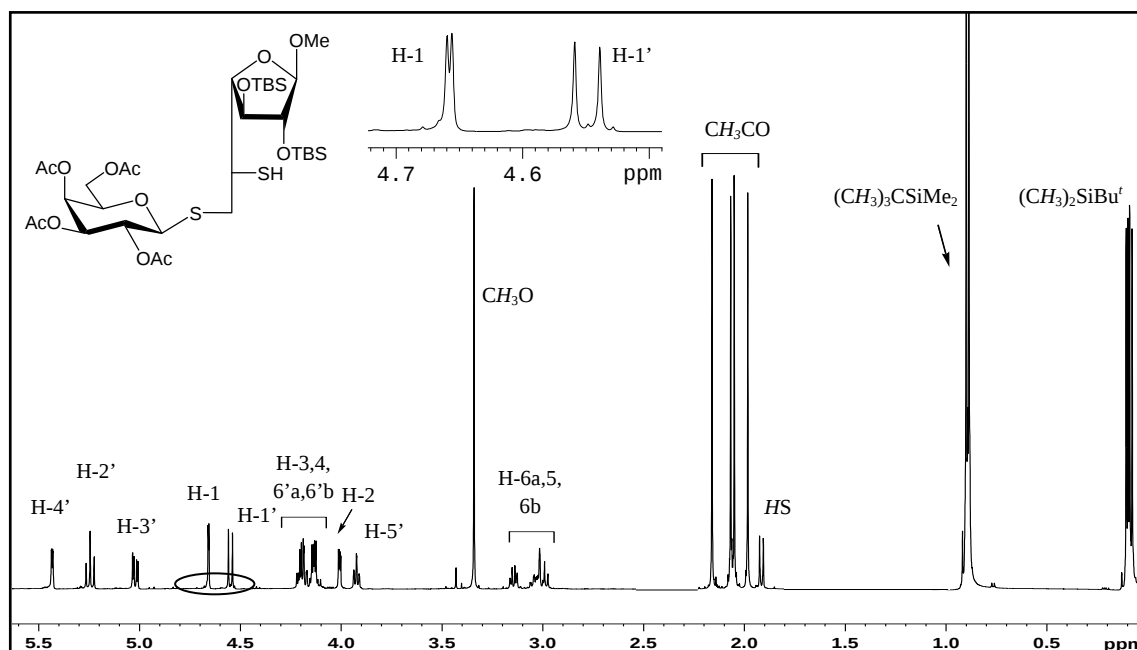


Figura 67a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **202**.

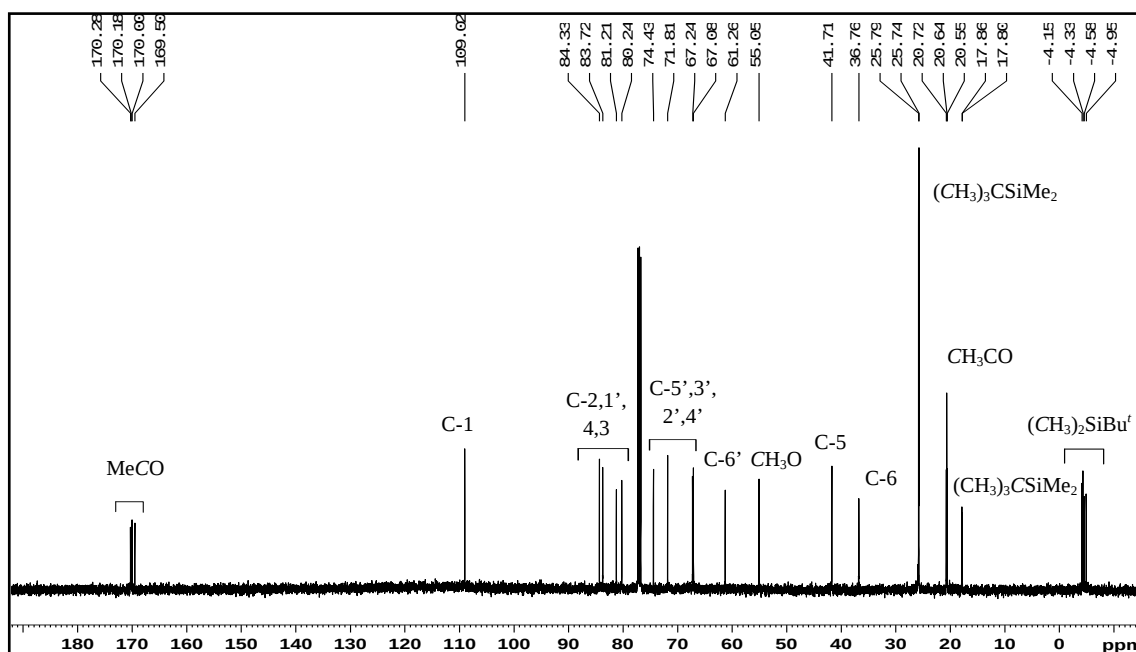


Figura 67b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 202.

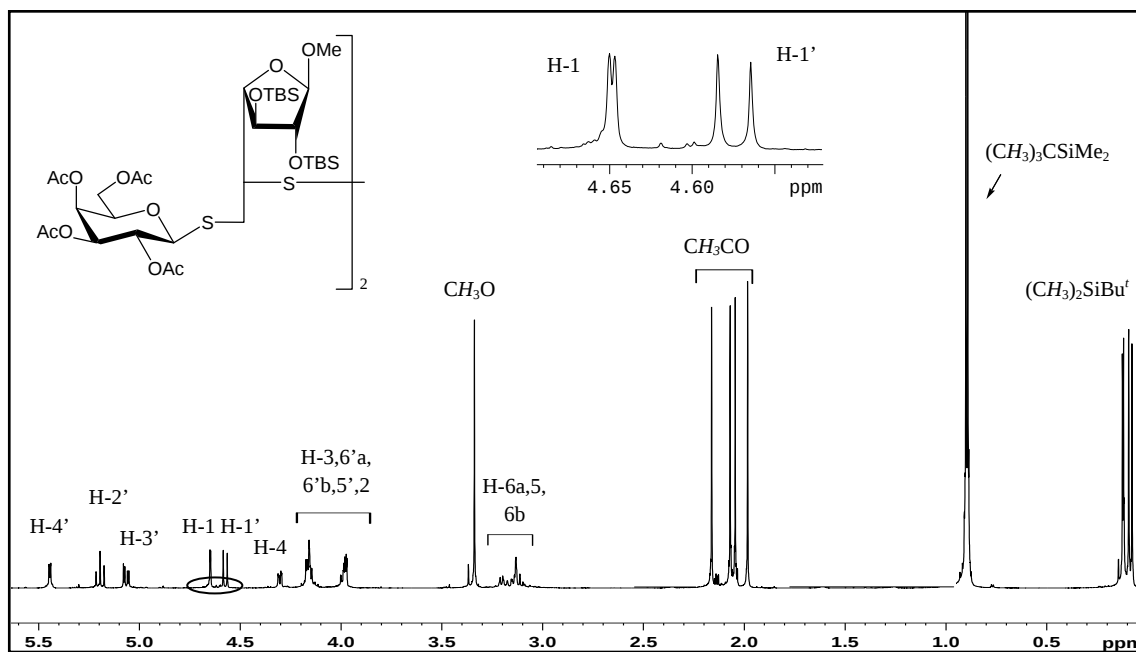


Figura 68a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 203.

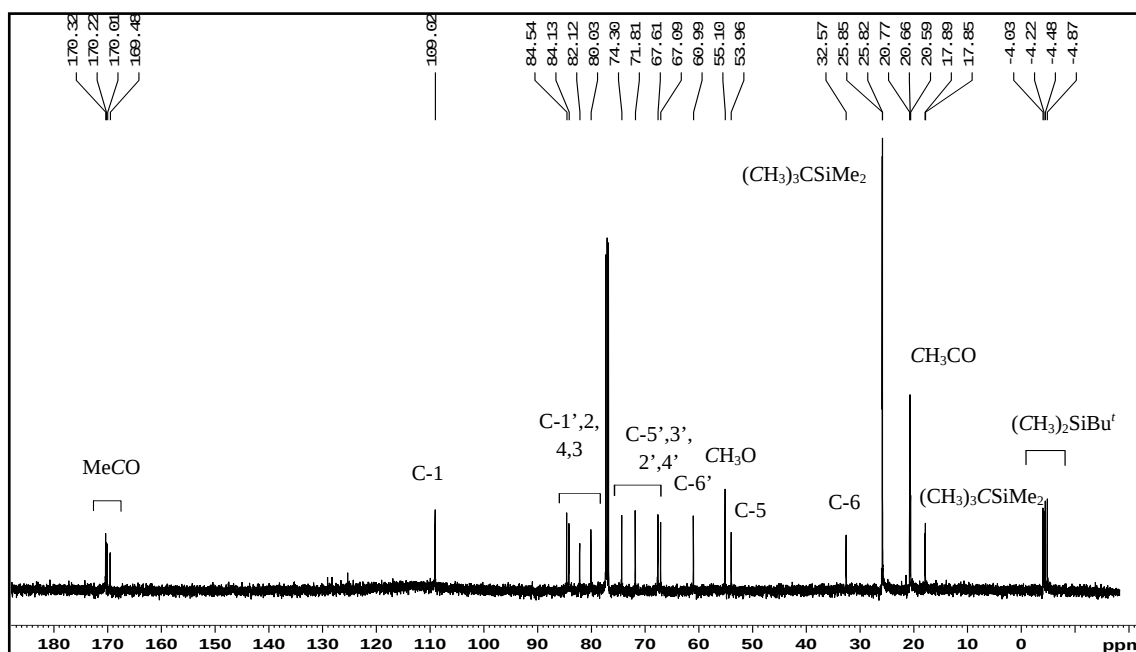


Figura 68b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 203.

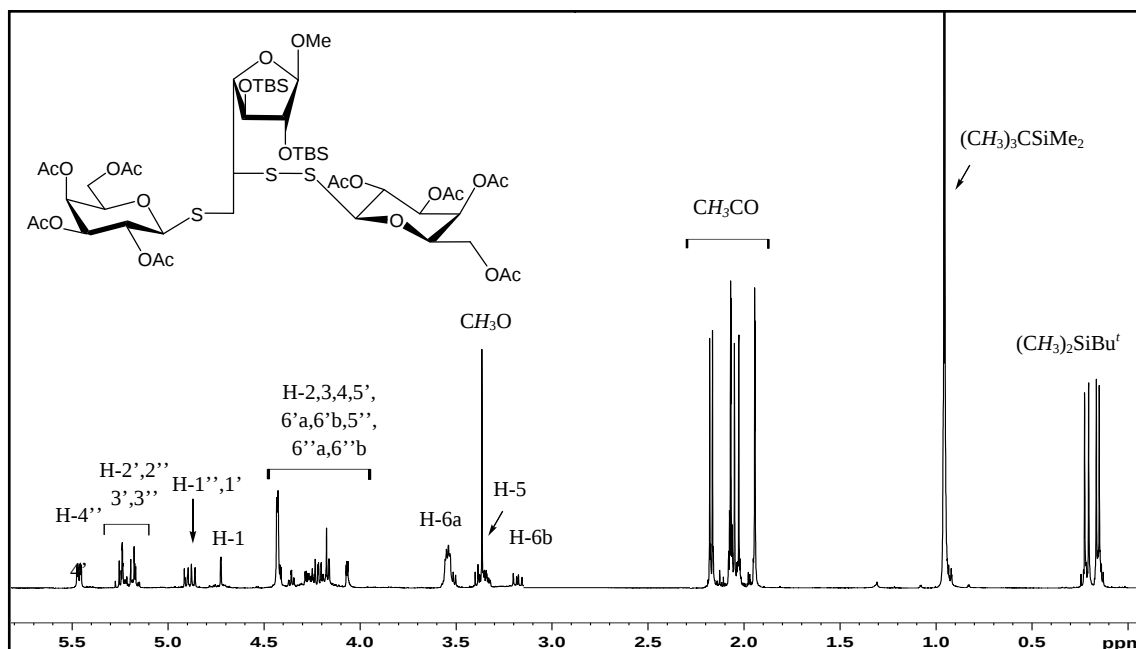


Figura 69a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de 204.

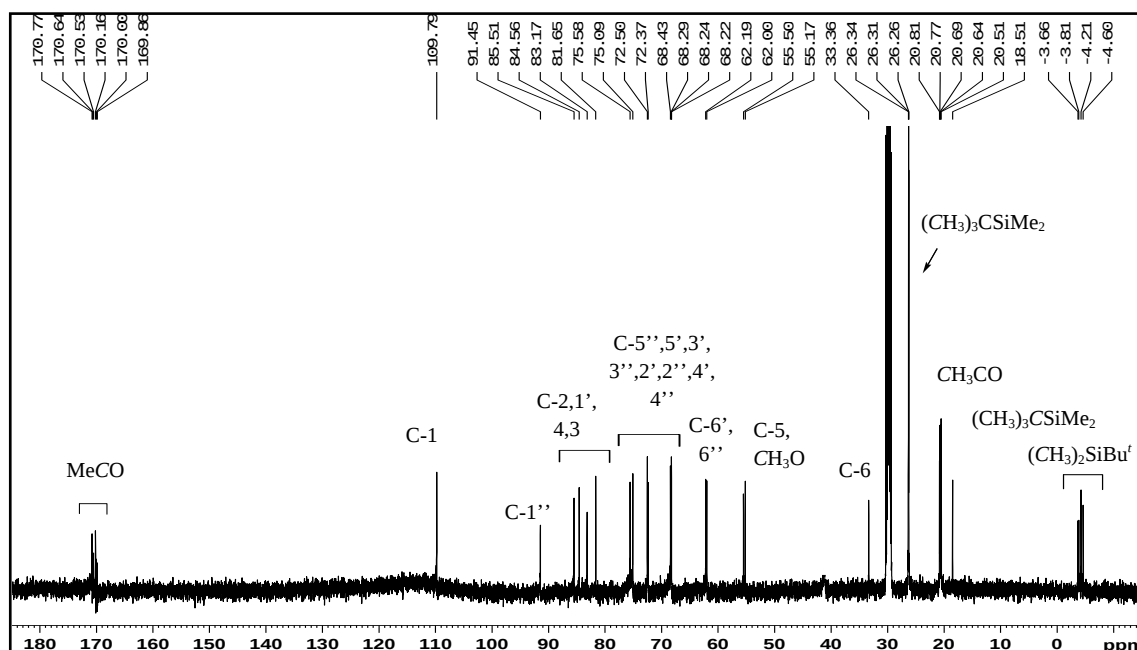
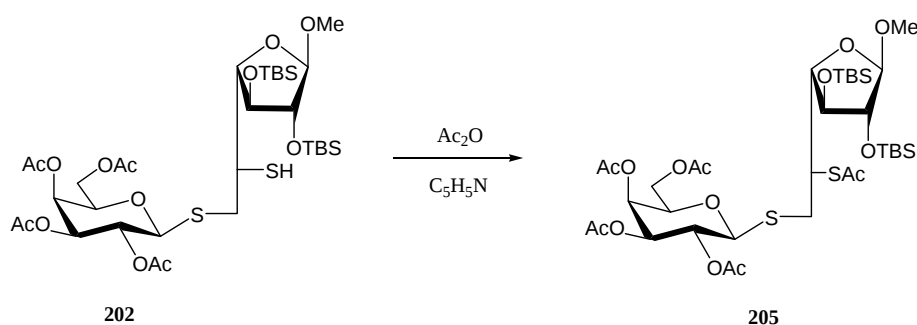


Figura 69b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de **204**.

En los tres casos pudo confirmarse que la apertura del anillo tiirano ocurrió por el ataque del tiolato **188** al C-6 de **201**. Además se acetiló una fracción del tiodisacárido obtenido y en el *S*-acetato **205** se observó el corrimiento de las señales correspondientes a la posición 5 a campos más bajos (δ H-5: 3,77; C-5: 45,1 ppm, Fig. 70) respecto de las mismas señales en **202** (δ H-5: 3,04; C-5: 41,7 ppm, Fig. 67).



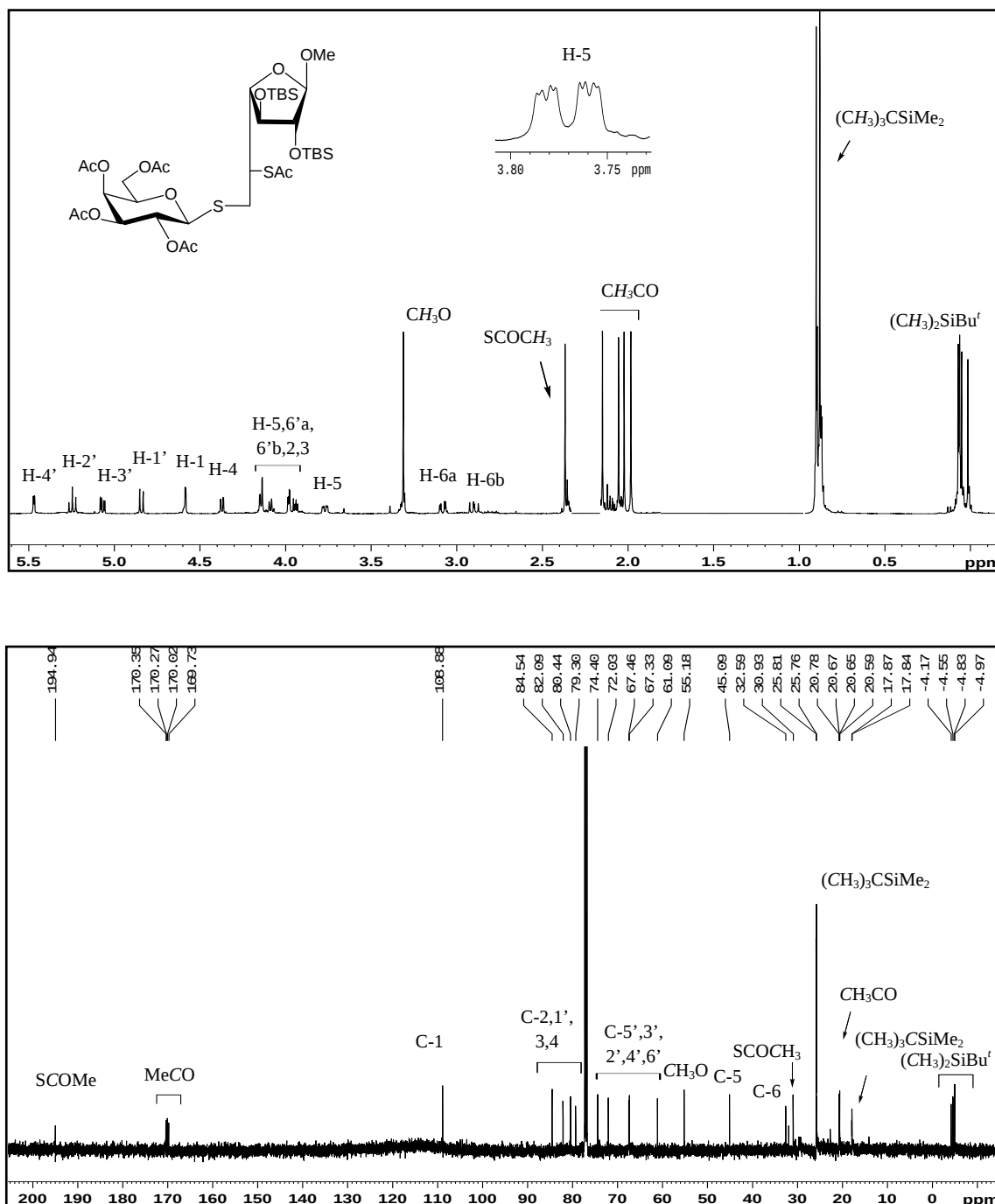


Figura 70a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 205. **Figura 70b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 205.

En base a los resultados satisfactorios que se obtuvieron utilizando este procedimiento para obtener un tiodisacárido con una unidad *galactofuranósica* diazufrada en el extremo reductor, se llevó a cabo también a partir del tiirano de configuración opuesta para obtener así tiodisacáridos con una unidad

altrofuranósica, de configuración L, en dicho extremo. Para ello, fue necesario sintetizar previamente el epóxido **207**, de configuración opuesta en C-5 respecto de **200**.

Para sintetizar el epóxido mencionado, se procedió en forma análoga a la descripta para sintetizar **200**, pero en este caso se empleó el derivado tosilado en HO-6 y HO-5 libre. Este compuesto (**206**) se preparó a partir del precursor **184** por tosilación selectiva del hidroxilo primario.

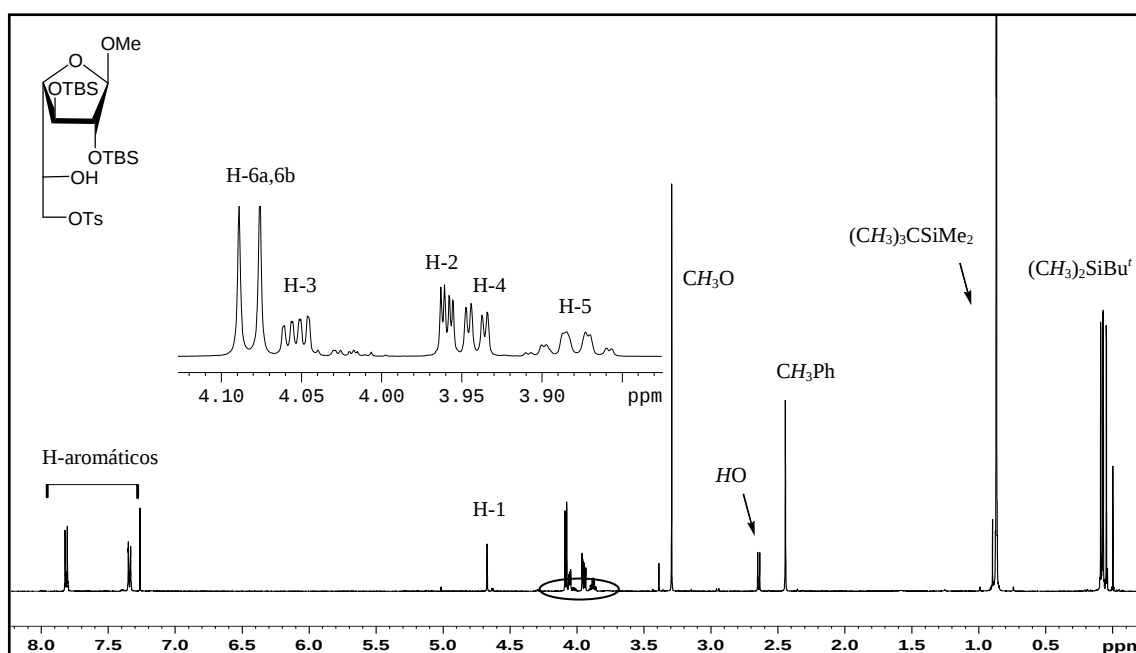
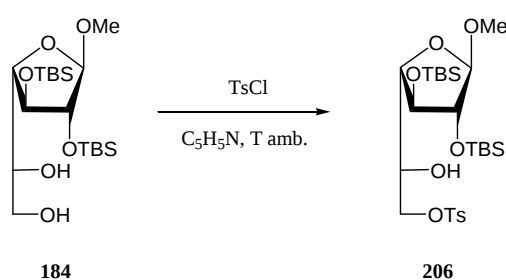


Figura 71a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **206**.

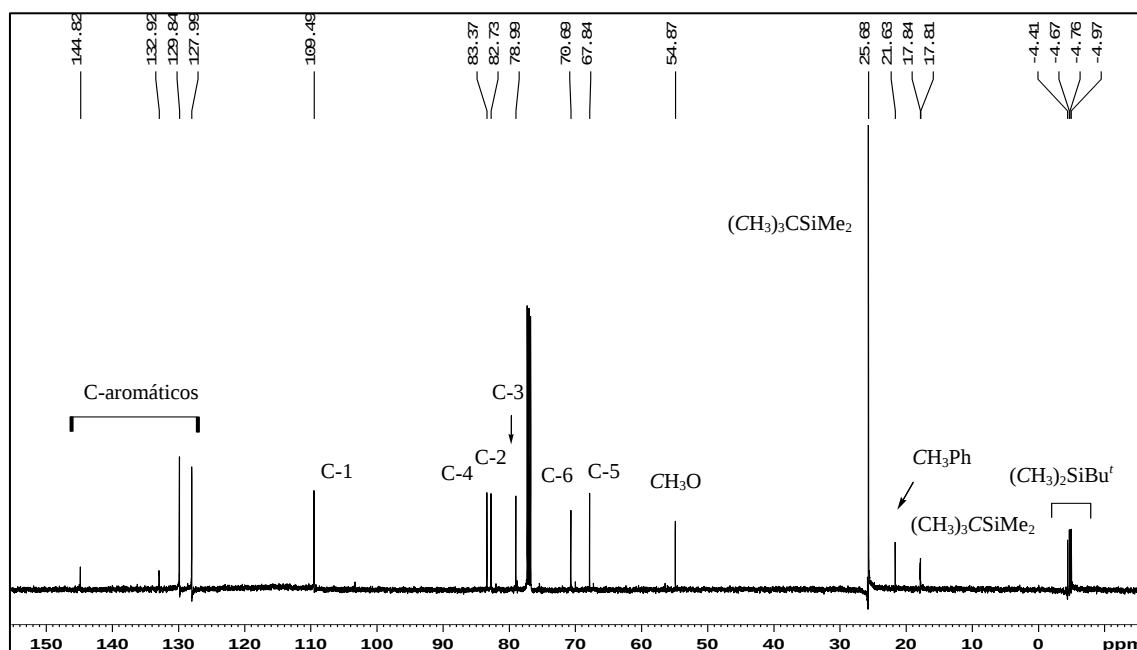
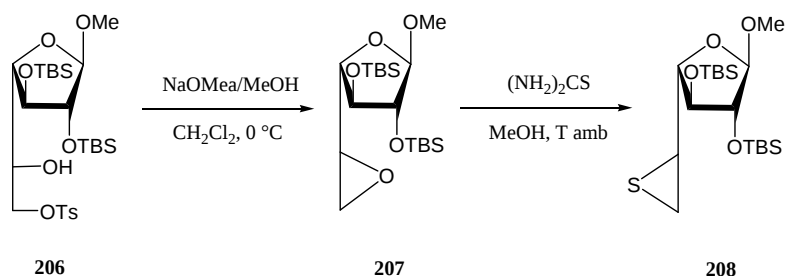


Figura 71b. Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de **206**.

Como era de esperar, en el espectro de RMN- ^1H de **206** (Fig. 71a) se observó la desaparición de la señal del H-O-6 y la aparición de señales características del grupo tosilo y las señales de los H-6a y H-6b se desplazaron a campos más bajos con respecto al compuesto que le dio origen (δ H6a y H-6b: 4,08 ppm). Este mismo efecto se observó en su espectro de RMN- ^{13}C (Fig. 71b), en el cual la señal del C-6 se desplazó 5 ppm. Este compuesto se obtuvo suficientemente puro para proceder la síntesis hasta obtener el tiirano **208**, en forma análoga, como ya se mencionó, a la descripta para obtener **201**.



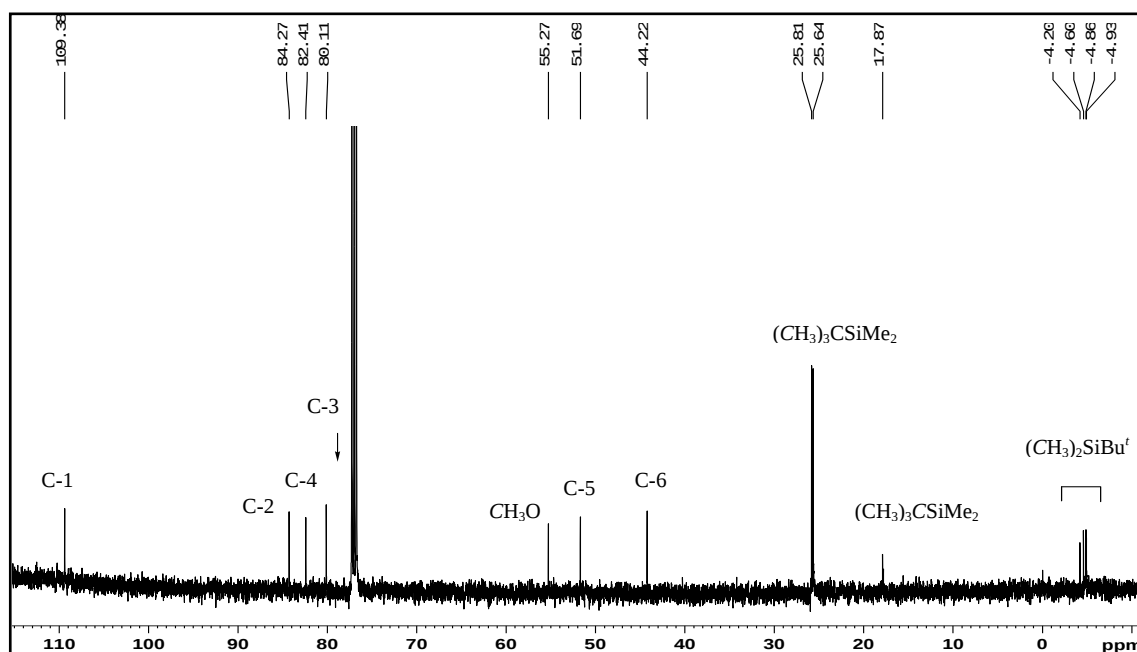
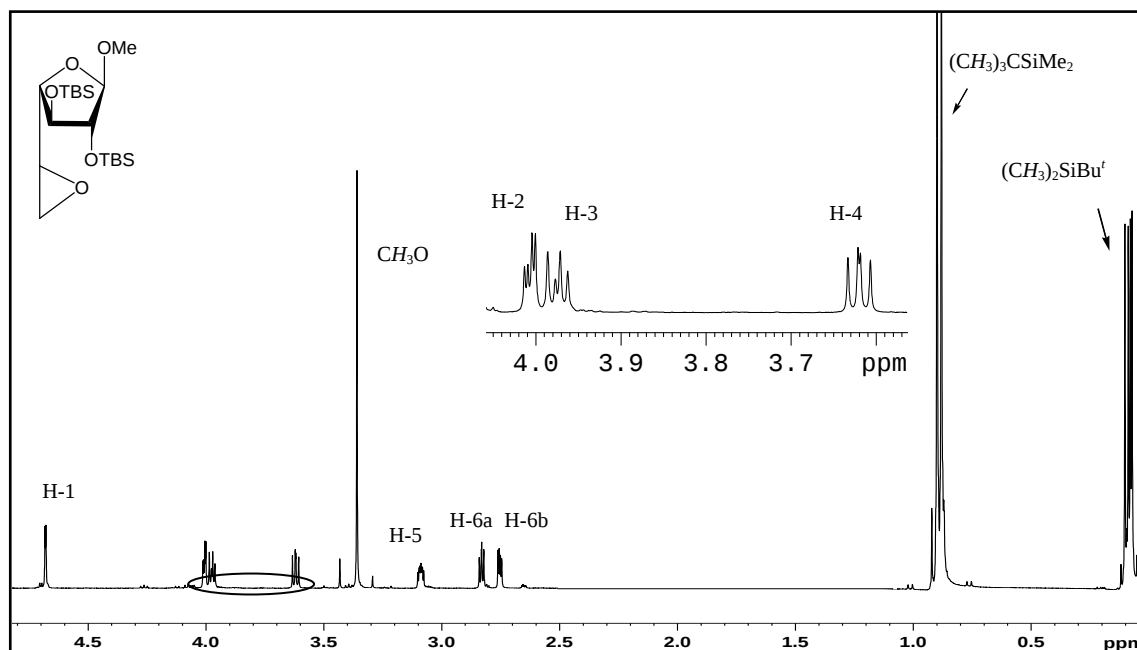


Figura 72a. Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) de 207. **Figura 72b.** Espectro de RMN-¹³C (125,7 MHz, CDCl₃) de 207.

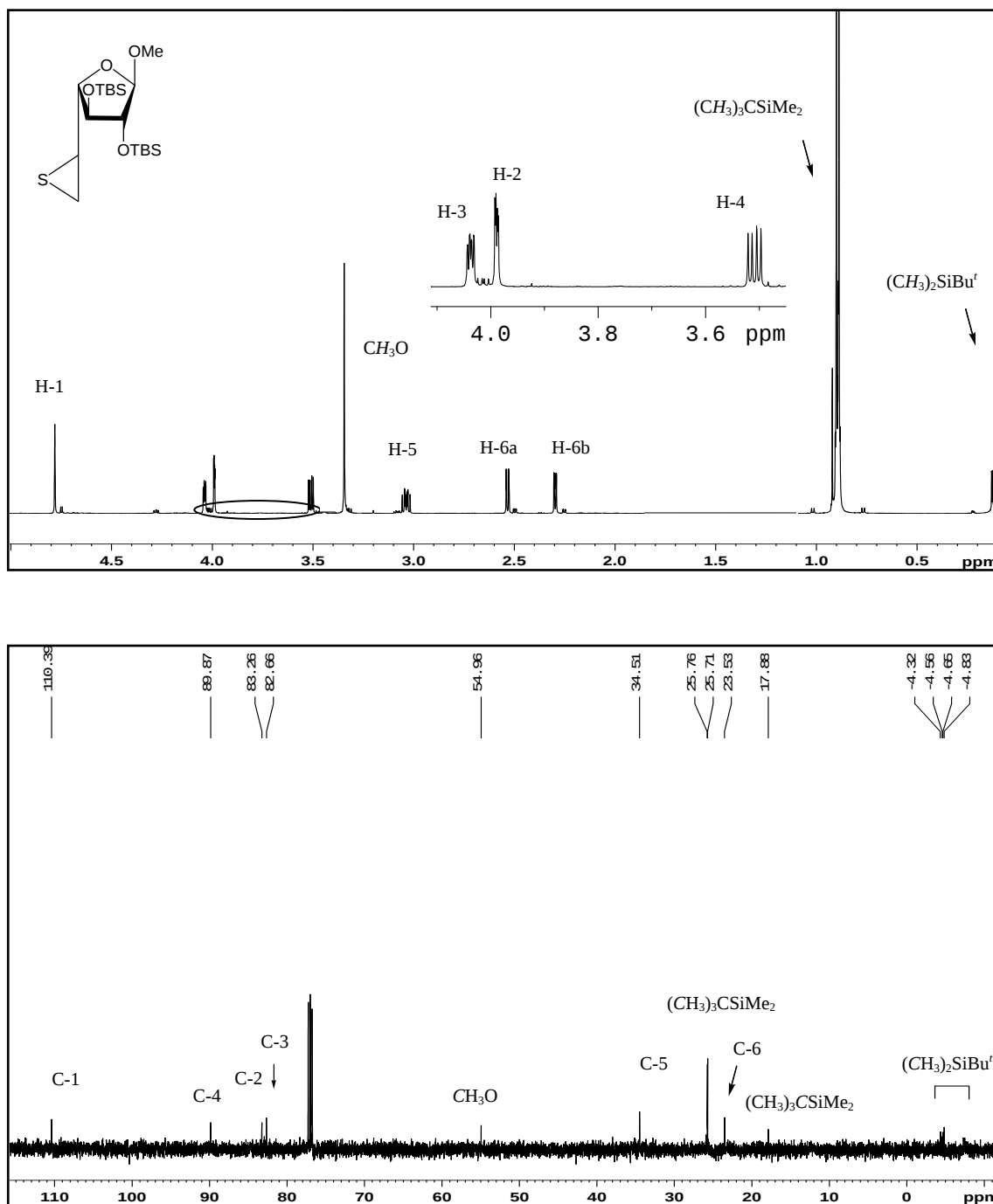


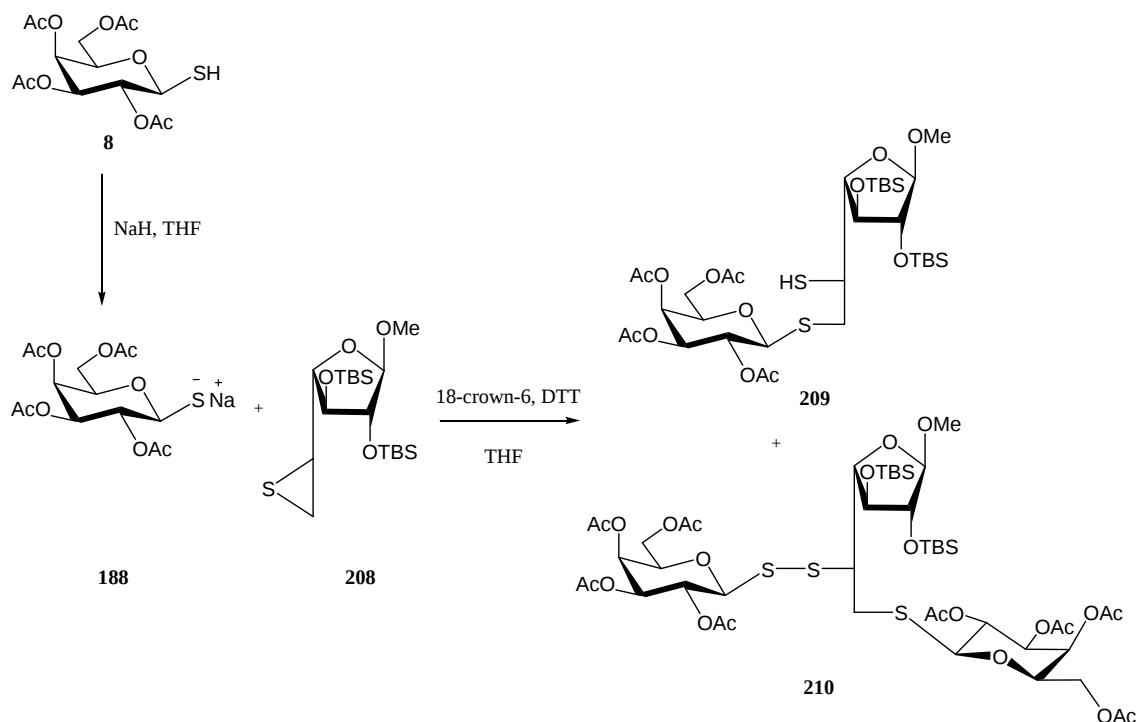
Figura 73a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 208. **Figura 73b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 208.

En los espectros de RMN- ^1H y ^{13}C de cada uno de estos compuestos se observaron señales características, análogas a las del epóxido y tiirano de configuración opuesta previamente sintetizados. Los valores de desplazamiento químico de las mismas se informan en la Tabla 13.

Tabla 13. Señales características en los espectros de RMN- ^1H y ^{13}C de los derivados **206**, **207** y **208**.

	206	207	208
δ H-5 (ppm)	3,89	3,09	3,04
δ H-6a/H-6b (ppm)	4,02 (2H)	2,83/2,75	2,53/2,30
δ C-5 (ppm)	67,8	51,7	34,5
δ C-6 (ppm)	70,7	44,2	23,5

Una vez sintetizado el tiirano **208** se llevó a cabo la reacción de glicosilación de **188** para preparar el correspondiente tiodisacárido, en las condiciones descriptas previamente para el análogo **201**. En este caso se obtuvieron dos productos, el tiodisacárido deseado (**209**) y el disulfuro (**210**). Ambos se separaron por cromatografía en columna. Luego de ajustar las condiciones, se mejoró el rendimiento para la obtención del tiodisacárido **209** hasta un 84%.



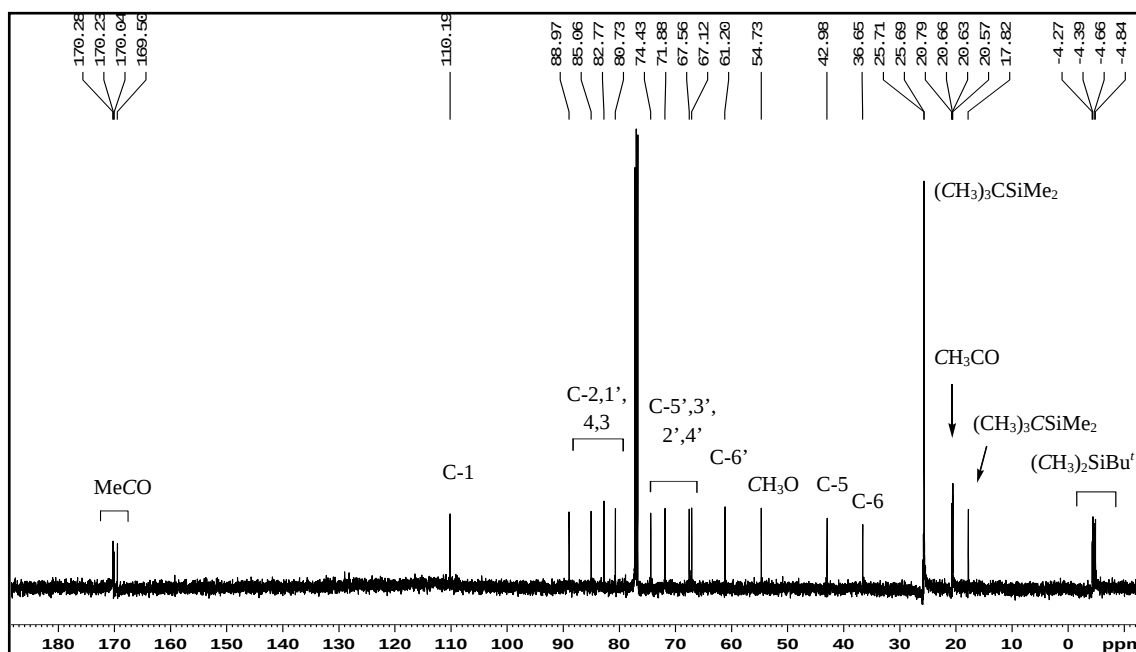
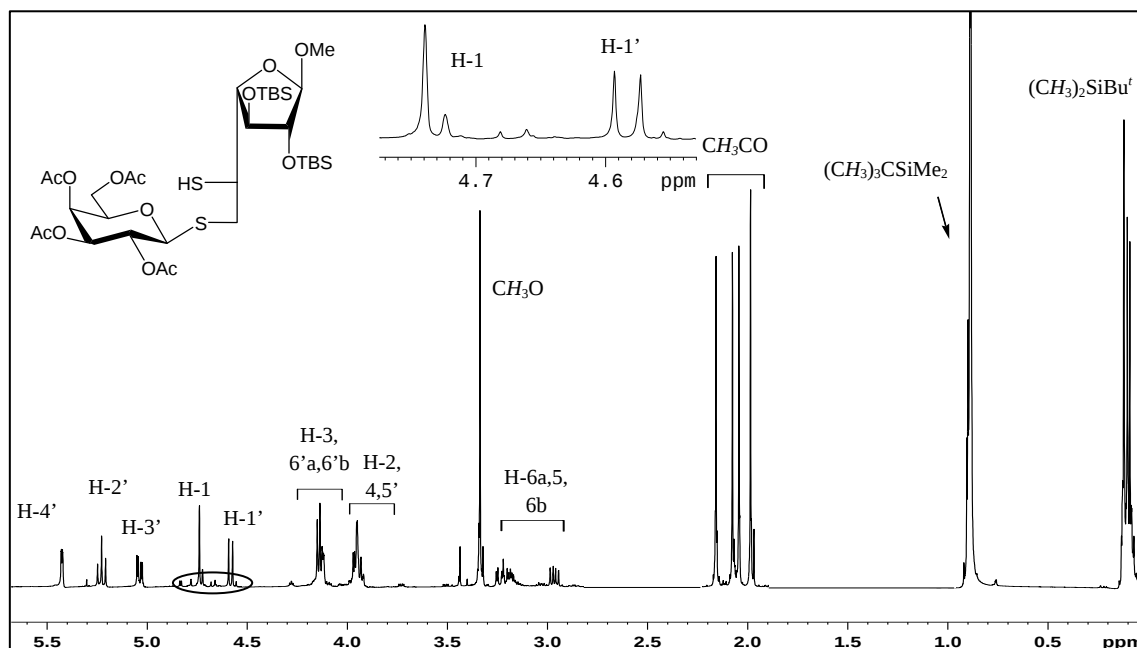


Figura 74a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 209. **Figura 74b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 209.

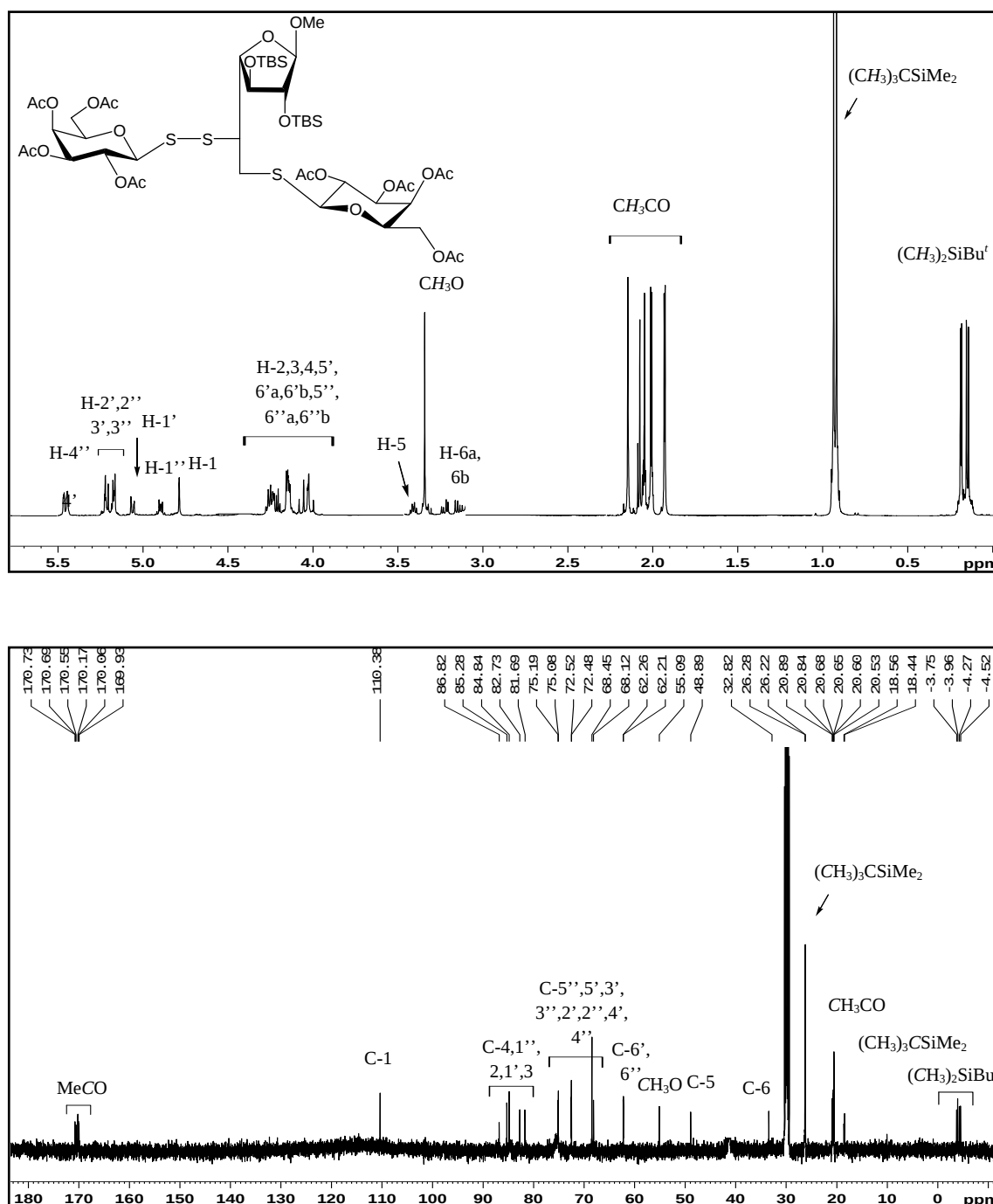


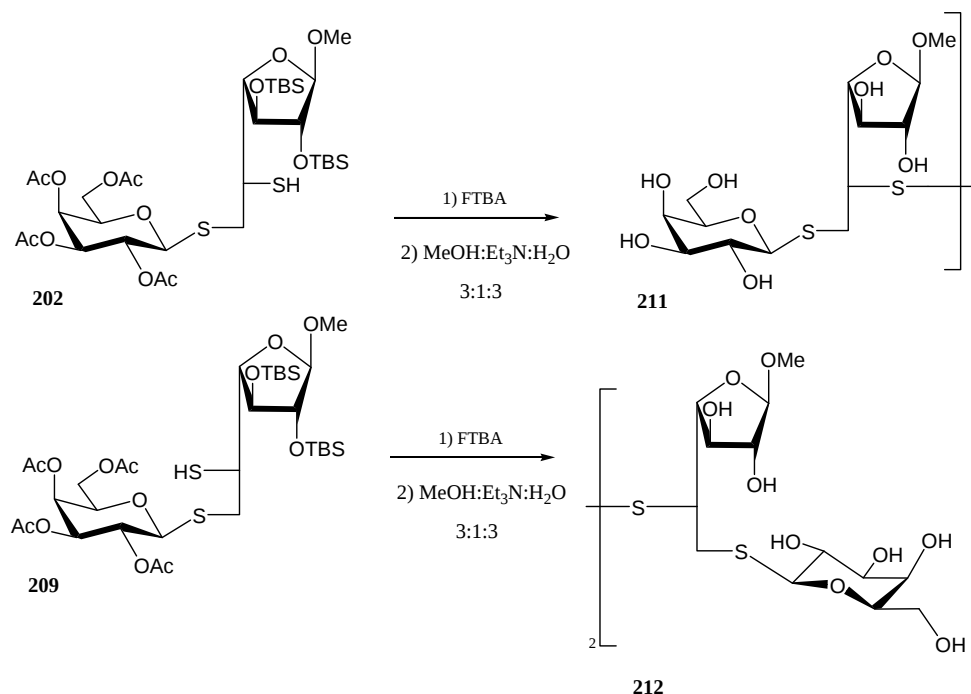
Figura 75a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de 210. **Figura 75b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) de 210.

Se mencionó que en la etapa de tioglicosilación, el grupo tiol de **8** se activó para el ataque nucleofílico al anillo tiirano por formación del correspondiente tiolato. Aún así, la configuración anomérica se mantuvo durante la reacción, porque la

anomerización del glicosiltiolato es muy lenta.⁵ Además en los espectros de RMN-¹H de todos los productos obtenidos se observó una constante de acoplamiento $J_{1',2'}$ = 10 Hz, indicativa de una configuración β piranósica.

A partir de los derivados **202** y **209** obtendríamos los tiodisacáridos libres por desililación con FTBA 1M, seguida de desacetilación con MeOH:Et₃N:H₂O 3:1:3. Una vez obtenidos los productos se purificaron por elución a través de una columna rellena de resina de intercambio iónico mixta para desionizarlos y luego a través de una mini columna de fase reversa. Sin embargo, en base al análisis elemental y los datos espectroscópicos de ambos compuestos, no se obtuvieron los metil glicósidos deseados, sino los disulfuros **211** y **212**.

Por otra parte, los compuestos **202** y **209** poseen un grupo tiol libre que es susceptible de ser glicosidado. En realidad cuando se diseñó la metodología de apertura del tiorano por una 1-tioaldosa, se previó la posibilidad de obtener tiodisacáridos ramificados en C-5 y C-6 de la Galf.



Las Figuras 76 y 77 muestran los respectivos espectros de RMN de los disulfuros **211** y **212**.

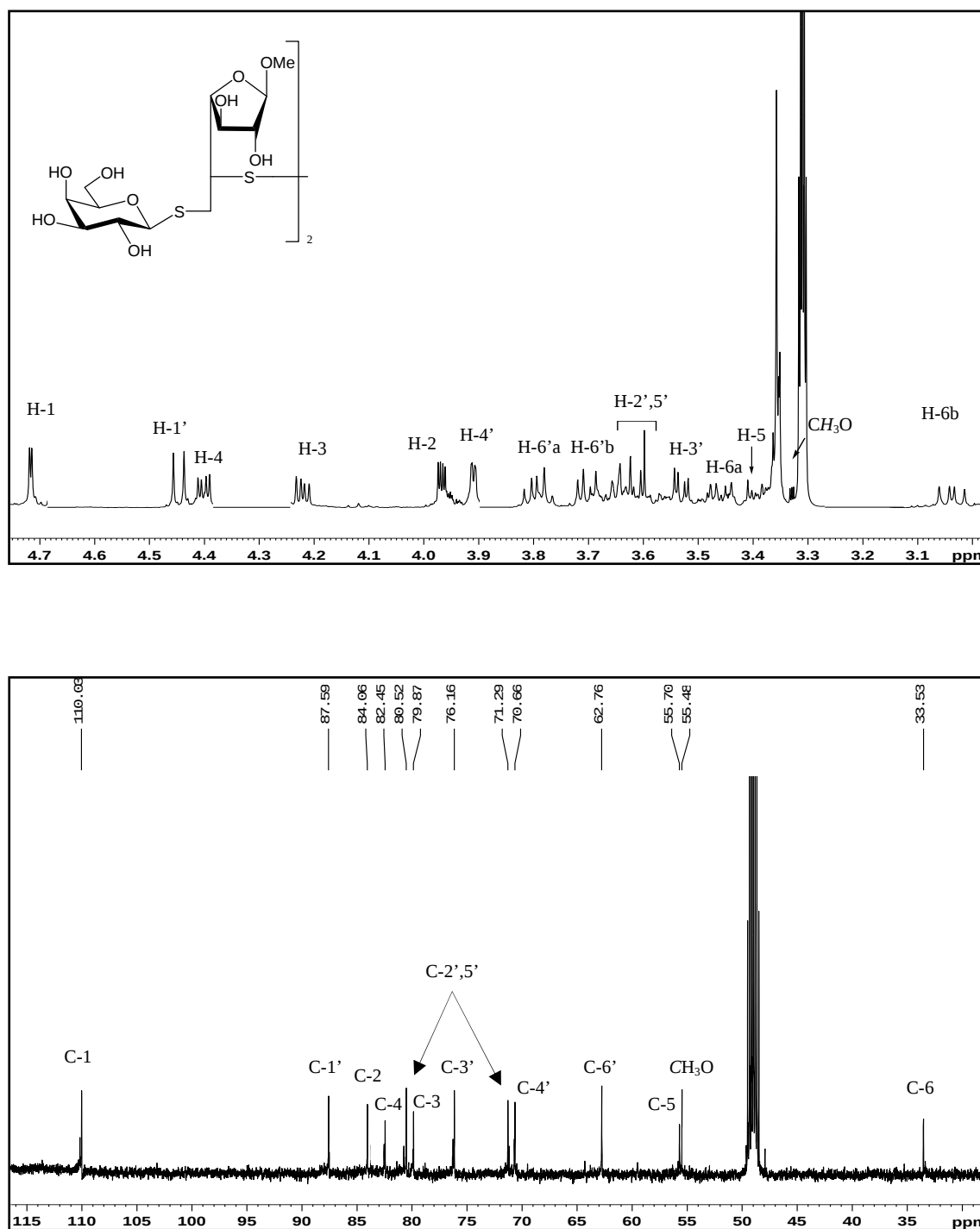


Figura 76a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CD_3OD) de 211. **Figura 76b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CD_3OD) de 211.

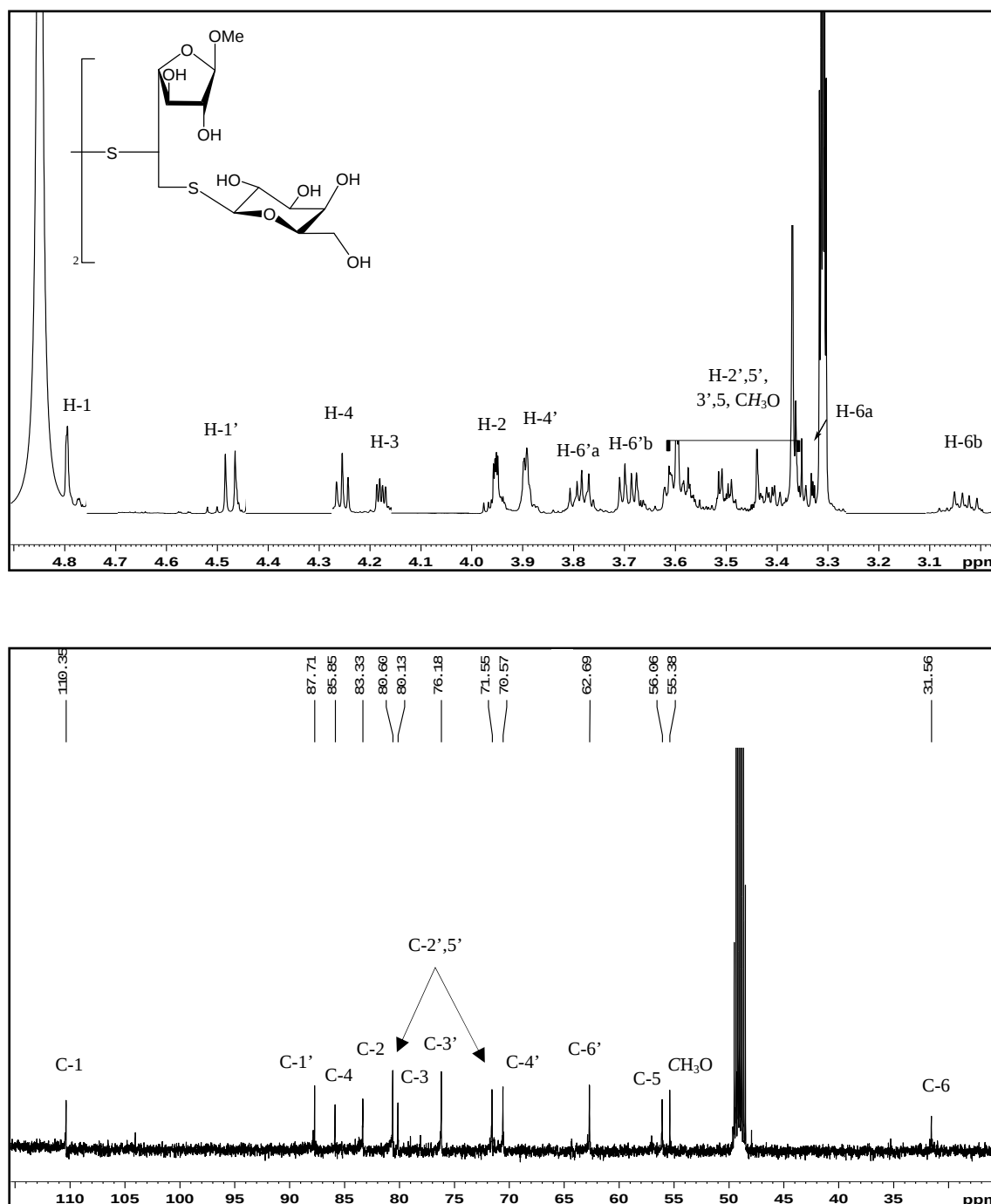
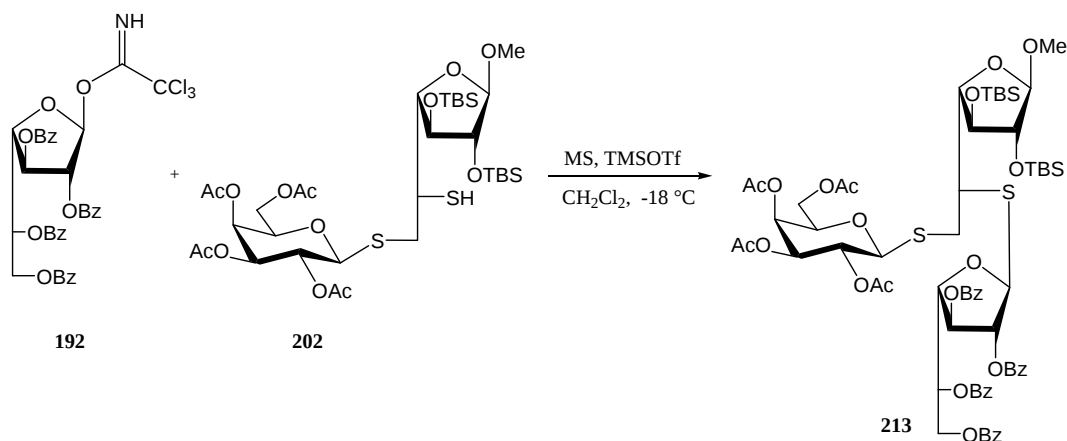


Figura 77a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CD_3OD) de 212. **Figura 77b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CD_3OD) de 212.

Entonces, a partir del tiodisacárido **202** se planteó la síntesis de un tiotrisacárido, incorporando una nueva unidad de Gal' en el grupo SH de C-5. Se consideró incorporar una furanosa porque ésta tendría menor impedimento estérico, ya que el grupo SH está impedido estéricamente por los ésteres de sililo (TBS)

voluminosos de C-2 y C-3, además de la unidad piranósica peracetilada en la posición 6. Como habíamos utilizado con éxito el método del tricloroacetimidato para sintetizar el tiodisacárido Gal β (1 $\rightarrow$ 6)-Gal β , según se describió en el capítulo anterior, decidimos utilizarlo también en este caso para obtener un tiotrisacárido.

Siguiendo la misma metodología, se acopló el tiol **202** con el tricloroacetimidato **192**, descrito previamente. Se agitó la suspensión en CH₂Cl₂ anhidro de aceptor, donador y molecular sieves (MS) en polvo (4 Å) a baja temperatura. La glicosidación procedió en presencia de TMSOTf como catalizador, con la formación del trisacárido **213** (29%).



En el espectro de RMN-¹H de **213** (Fig. 78a) se observó la desaparición de la señal del HS— (1,92 ppm) y la presencia de señales de la nueva unidad furanósica, principalmente las señales de H-aromáticos correspondientes a los grupos protectores y una nueva señal para un hidrógeno anomérico de configuración β (H-1'': 5,95 ppm, $J_{1'',2''} < 1$ Hz).

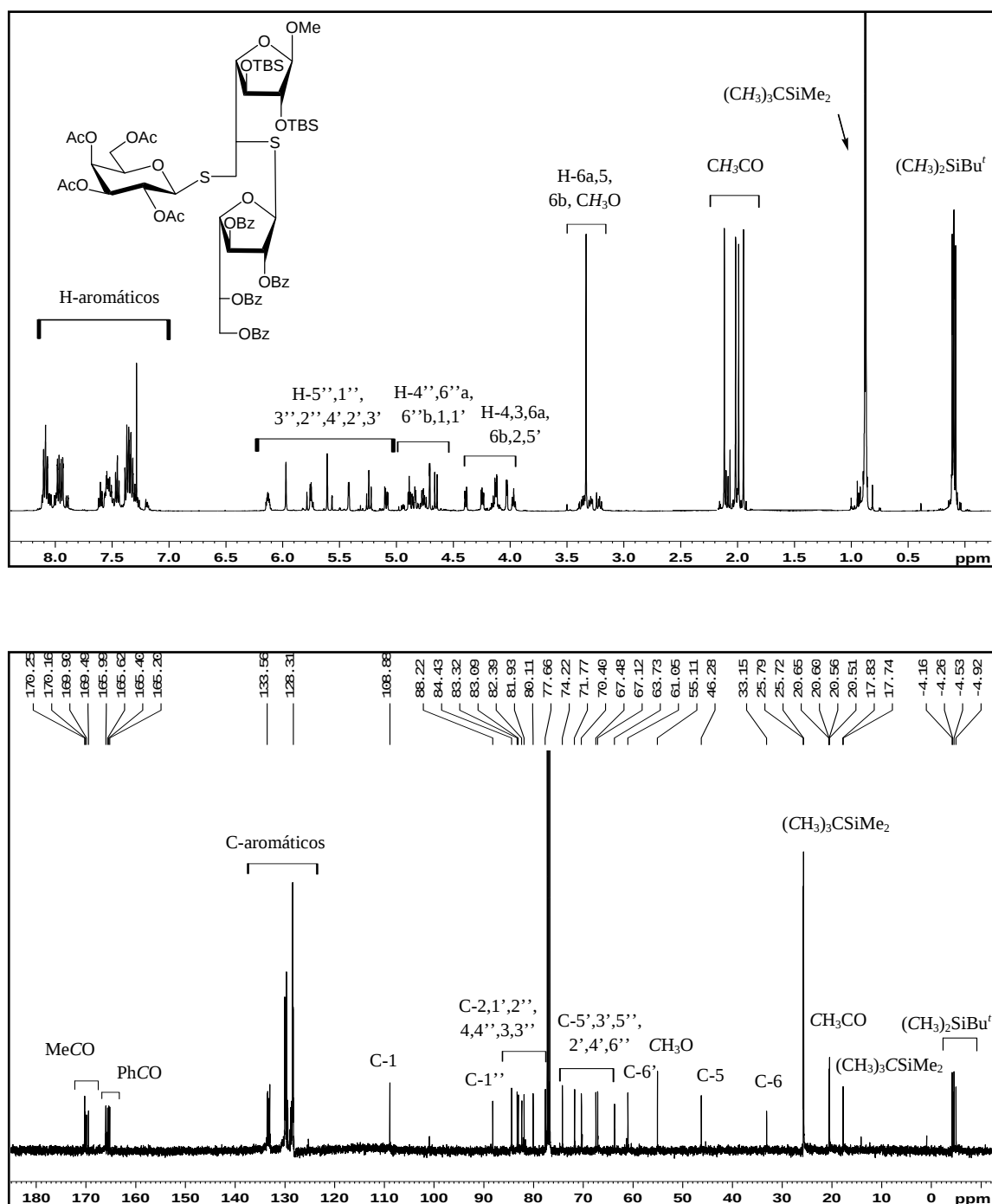


Figura 78a. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) de 213. **Figura 78b.** Espectro de RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3) de 213.

El ditiotrisacárido **213** posee la unidad $\text{Gal}\beta\text{S}(1\rightarrow5)\text{-Gal}\text{f}$ cuyo análogo oxigenado es componente de glicoconjugados de microorganismos.

En este capítulo se ha demostrado la utilidad de los tiiranos derivados de azúcares para obtener ditiotrisacáridos ramificados con enlaces tioglicosídicos, formados sobre dos carbonos vecinos del monosacárido central. El procedimiento descrito constituye una nueva metodología para la obtención de este tipo de ditiotrisacáridos cuyos pasos claves son la apertura nucleofílica de un episulfuro de azúcar por una 1-tioaldosa y la glicosilación del tiol resultante de dicha apertura.

Bibliografía.

1. Gandolfi-Donadío, L.; Gallo-Rodriguez, C.; de Lederkremer, R. M. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 6928–6935.
2. Schmidt, R. R. In *Modern Methods in Carbohydrate Synthesis*; Khan, S. H., O'Neill, R. A., Eds.; Harwood Academic Publishers: Amsterdam, **1996**; p 20.
Schmidt, R. R.; Kinzy, W. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, *50*, 21–123.
3. Choudhury, A. K.; Roy, N. *Carbohydr. Res.* **1998**, *308*, 207–211.
4. Manzano, V. E.; Uhrig, M. L.; Varela, O. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7224–7235.
5. Szilágyi, L.; Varela, O. *Curr. Org. Chem.* **2006**, *10*, 1745–1770.

Parte experimental

8.1. Instrumentos y métodos generales

Las cromatografías en capa delgada analítica (CCD) se realizaron en láminas de aluminio cubiertas de sílica gel 60 F254 (Merck) de 0,2 mm de espesor. Las mismas se revelaron por exposición a luz UV de 254 nm, y/o por inmersión en una solución de ácido sulfúrico 5% en etanol, que contenía 0,5% de *p*-anisaldehído, y posterior calentamiento. Para las cromatografías en columna se utilizó como fase fija sílica gel 60 (malla 230-400, Merck). Los solventes de desarrollo se indican en cada caso. Los puntos de fusión se determinaron con un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

Los poderes rotatorios se midieron en un polarímetro digital Perkin-Elmer modelo 343 en celdas de 1 dm de longitud a 25 °C con la concentración y los solventes indicados en cada caso en particular.

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) se adquirieron en un espectrómetro Bruker AC 200 o Bruker AMX-500 según se especifica. Para las soluciones en CDCl₃ se usó TMS como estándar interno. Los espectros de RMN-¹H fueron completamente asignados mediante experimentos COSY 2D. Para asignar los espectros de RMN-¹³C se realizaron experimentos HSQC 2D.

Los espectros de masa se realizaron en la Université de Picardie Jules Verne, Amiens, Francia y en el UMYMFOR-CONICET-FCEyN, UBA.

Los microanálisis de los productos nuevos se realizaron por UMYMFOR-CONICET-FCEyN y en algunos casos en el INQUIMAE, FCEyN, UBA.

8.2. Purificación de solventes

Todos los solventes se purificaron por destilación. En algunos casos requirieron un tratamiento adicional para poder emplearlos en las reacciones en condiciones anhidras, como se indica a continuación.

Diclorometano: se secó por reflujo sobre P_2O_5 durante 2 h y luego se destiló. Se guardó sobre tamices moleculares de 3 Å.

Metanol: se secó por tratamiento con Mg/I_2 , se reflujo durante 1 h y se destiló. Se guardó sobre tamices moleculares de 4 Å.

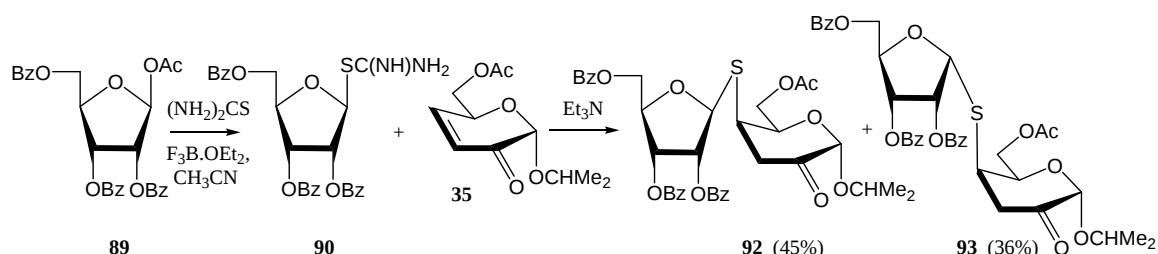
Piridina y trietilamina: se reflujoaron sobre KOH y se destilaron, conservándose luego sobre KOH.

Tetrahidrofurano: La solución azul de THF con Na/benzofenona se reflujo durante 1 h. Luego se destiló el THF y se utilizó.

Síntesis

8.3.1 Síntesis de tiodisacáridos mediante reacciones de adición conjugada.

2-Propil 6-*O*-acetil-3-desoxi-4-*S*-(2,3,5-tri-*O*-benzoil- β -D-ribofuranosil)-4-tio- α -D-*treo*-hexopiranosid-2-ulosa (92) y 2-propil 6-*O*-acetil-3-desoxi-4-*S*-(2,3,5-tri-*O*-benzoil- α -D-ribofuranosil)-4-tio- α -D-*treo*-hexopiranosid-2-ulosa (93).

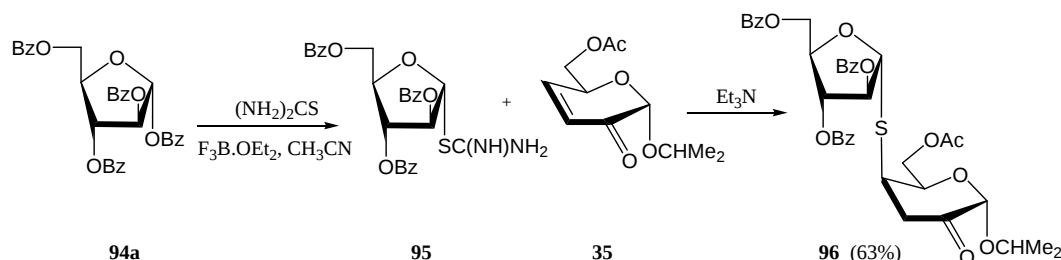


Una solución de 1-*O*-acetil-2,3,5-tri-*O*-benzoil- β -D-ribofuranosa (**89**, 300 mg, 0,59 mmol), tiourea (50 mg, 0,66 mmol) y $F_3B.OEt_2$ (78 μ L, 0,62 mmol) en acetonitrilo anhidro (10 mL) se agitó a reflujo durante 1 h. La sal de tiouronio resultante **90**, luego de evaporar el solvente, mostró los siguientes datos espectroscópicos: RMN- 1H (500 MHz, $DMSO-d_6$): δ = 9,27, 9,19 (2s, 2H cada uno, $2 \times NH_2$), 8,04–7,46 (m, H-aromáticos), 6,41 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 4,6 Hz, H-1), 5,96, 5,91 (2t, 2H, H-2, H-3), 4,91 (m, 1H, H-4), 4,67 (dd, 1H, $J_{4,5a}$ = 3,7, $J_{5a,5b}$ = 12,2 Hz, H-5a), 4,59 (dd, 1H, $J_{4,5b}$ = 4,5, $J_{5a,5b}$ = 12,2 Hz, H-5b); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, $DMSO-d_6$): δ = 166,7 ($SC(NH_2)_2$), 165,5, 164,8, 164,5 (PhCO), 134,3–128,2 (C-aromáticos), 84,2 (C-1), 81,4, 74,2, 71,7 (C-2, 3, 4), 63,7 (C-5). La solución original de **90** en acetonitrilo, se enfrió a

–18 °C y se le agregó la enona **35** (100 mg, 0,44 mmol) y Et₃N (220 µl, 1,58 mmol) en dos fracciones cada 30 min. Después de 2,5 h de agitación, la muestra reveló por CCD (CH₂Cl₂/EtOAc, 15:1) la presencia de dos compuestos principales con R_f = 0,60 y 0,49. Se llevó a cabo la purificación de la mezcla por columna cromatográfica (CHCl₃/EtOAc, 80:1→10:1) aislandose primero el compuesto menos polar **92** (140 mg, 45%); RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃): δ = 8,08–7,32 (m, 15H, H-aromáticos), 5,89 (dd, 1H, *J*_{2',3'} = 5,1, *J*_{3',4'} = 6,0 Hz, H-3'), 5,69 (dd, 1H, *J*_{1',2'} = 3,7 Hz, H-2'), 5,52 (d, 1H, H-1'), 4,77 (m, 1H, *J*_{4,5} = 1,5 Hz, H-5), 4,74 (br s, 1H, H-1), 4,71 (dd, 1H, *J*_{4',5'a} = 3,7, *J*_{5'a,5'b} = 11,6 Hz, H-5'a), 4,67 (m, 1H, H-4'), 4,58 (dd, 1H, *J*_{4',5'b} = 4,5 Hz, H-5'b), 4,27 (dd, 1H, *J*_{5,6a} = 6,8, *J*_{6a,6b} = 11,5 Hz, H-6a), 4,24 (dd, 1H, *J*_{5,6b} = 5,3 Hz, H-6b), 3,99 (m, 1H, *J* = 6,2 Hz, (CH₃)₂CHO), 3,81 (m, 1H, H-4), 3,16 (dd, 1H, *J*_{3ax,4} = 4,7, *J*_{3ax,3ec} = 15,2 Hz, H-3ax), 2,83 (dd, 1H, *J*_{3ec,4} = 2,0 Hz, H-3ec), 2,08 (s, 3H, CH₃CO), 1,17, 1,12 (2d, 6H, *J* = 6,2 Hz, (CH₃)₂CHO); RMN-¹³C (125,7 MHz, CDCl₃): δ = 198,9 (C-2), 170,4 (MeCO), 166,1, 165,2, 165,1 (PhCO), 133,6–128,4 (C-aromáticos), 97,9 (C-1), 84,2 (C-1'), 80,4 (C-4'), 75,5 (C-2'), 72,6, 71,7 (C-3', Me₂CHO), 68,4 (C-5), 64,4, 64,3 (C-5', 6), 44,8 (C-4), 42,7 (C-3), 23,3, 21,8 [(CH₃)₂CHO], 20,7 (CH₃CO). Las siguientes fracciones de la columna correspondían al compuesto mayoritario **93** (110 mg, 36%); RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃): δ = 8,09–7,30 (m, 15H, H-aromáticos), 5,96 (d, 1H, *J*_{1',2'} = 6,0 Hz, H-1'), 5,72 (dd, 1H, *J*_{3',4'} = 4,6, *J*_{2',3'} = 6,4 Hz, H-3'), 5,65 (dd, 1H, H-2'), 4,78–4,71 (m, 4H, H-1, H-4', H-5, H-5'a), 4,61 (dd, 1H, *J*_{4',5'b} = 4,0, *J*_{5'a,5'b} = 12,0 Hz, H-5'b), 4,22 (dd, 1H, *J*_{5,6a} = 6,6, *J*_{6a,6b} = 11,3 Hz, H-6a), 4,18 (dd, 1H, *J*_{5,6b} = 5,7 Hz, H-6b), 3,98 (m, 1H, *J* = 6,2 Hz, (CH₃)₂CHO], 3,63 (m, 1H, H-4), 3,23 (dd, 1H, *J*_{3ax,4} = 3,8, *J*_{3ax,3ec} = 14,8 Hz, H-3ax), 2,98 (dd, 1H, *J*_{3ec,4} = 2,0 Hz, H-3ec), 2,05 (s, 3H, CH₃CO), 1,26, 1,18, (2d, 6H, *J* = 6,2 Hz, (CH₃)₂CHO); RMN-¹³C (125,7 MHz, CDCl₃): δ = 199,5 (C-2), 170,4 (MeCO), 166,1, 165,6, 165,1 (PhCO), 133,5–128,4 (C-aromáticos), 98,0 (C-1), 88,8 (C-1'), 79,0 (C-4'), 72,0 (C-2'), 71,7 (Me₂CHO), 70,9 (C-3'), 68,5 (C-5), 64,3 (C-6), 63,5, (C-5'), 48,6 (C-4), 44,9 (C-3), 23,2, 21,8 [(CH₃)₂CHO], 20,7 (CH₃CO). Los tiodisacáridos **92** y **93** aparecían levemente contaminados con **35**, luego de la elución de la columna cromatográfica.

2-Propil 6-*O*-acetil-3-desoxi-4-*S*-(2,3,5-tri-*O*-benzoil- α -D-arabinofuranosil)-4-tio- α -D-*treo*-hexopiranosid-2-ulosa (96).

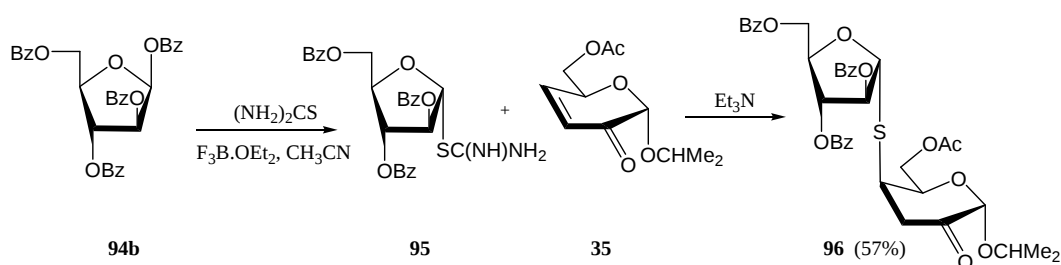
a) A partir de 1,2,3,5-tetra-*O*-benzoil- α -D-arabinofuranosa (94a)



A una solución de 1,2,3,5-tetra-*O*-benzoil- α -D-arabinofuranosa¹ (**94a**, 140 mg, 0,25 mmol) en acetonitrilo anhidro (5 mL), se le adicionó tiourea (21 mg, 0,28 mmol) y F₃B.OEt₂ (162 μ L, 1,29 mmol). La mezcla se calentó a reflujo por 1 h hasta comprobar la desaparición del compuesto de partida (**94a**) y la aparición de un compuesto de R_f = 0 (tolueno/EtOAc, 3:1). En este punto se evaporó el solvente y se obtuvo la sal de isotiuronio **95** como un jarabe, a la cual se le realizó el correspondiente análisis espectroscópico obteniéndose los siguientes resultados: RMN-¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9,29, 9,17 (2s, 2H cada uno, 2 $\times$ NH₂), 8,06–7,35 (m, H-aromáticos), 6,67 (br s, 1H, H-1), 5,74 (br s, 1H, H-2), 5,72 (d, 1H, *J*_{3,4} = 4,8 Hz, H-3), 4,88 (m, 1H, *J*_{4,5} = 3,1, *J*_{4,5'} = 4,4 Hz, H-4), 4,74 (dd, 1H, *J*_{5,5'} = 12,3 Hz, H-5), 4,70 (dd, 1H, H-5'); RMN-¹³C (125,7 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 167,9 (SC(NH₂)₂), 167,0, 166,0, 165,4, 165,2 (PhCO), 134,6–128,7 (C-aromáticos), 87,8 (C-1), 82,8, 81,9 (C-2, 4), 77,3 (C-3), 63,1 (C-5). A la mezcla original en acetonitrilo, sin más tratamiento, se la enfrió a –18 °C y se le agregó 2-propil 6-*O*-acetil-3,4-didesoxi- α -D-*glicero*-hex-3-enopiranosid-2-ulosa (**35**, 47 mg, 0,21 mmol) y Et₃N (289 μ L, 2,08 mmol) en dos fracciones cada 30 min. La mezcla se agitó a –18 °C por 3 h. La CCD (CH₂Cl₂/EtOAc, 15:1) reveló la presencia de un producto mayoritario (R_f = 0,75) y uno minoritario, correspondiente a la enona **35** (R_f = 0,54) sin reaccionar. La mezcla se concentró y el residuo se purificó mediante columna cromatográfica (CHCl₃/EtOAc, 98:1) para dar el tiodisacárido **96** (94 mg, 63%), levemente contaminado con la enona **35**. Tiodisacárido **96**: RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃): δ =

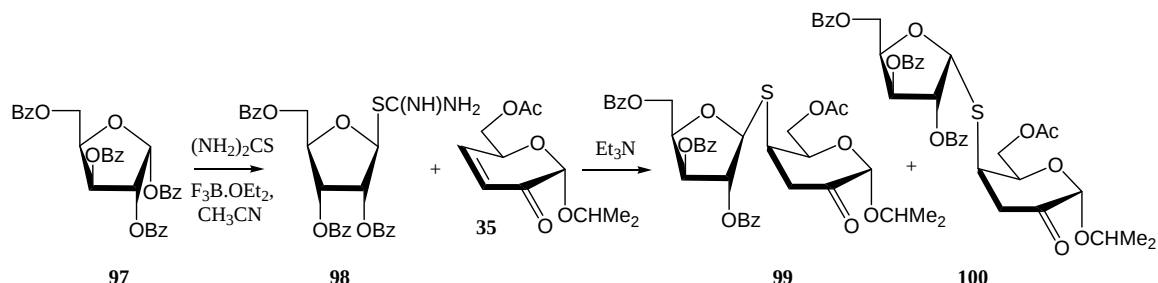
8,10–7,73 (m, 15H, H-aromáticos), 5,64 (br s, 1H, H-1'), 5,62 (d, 1H, $J_{2,3'} \sim 0$, $J_{3,4'} = 5,0$ Hz, H-3'), 5,52 (br s, 1H, H-2'), 4,84 (dd, 1H, $J_{4',5'a} = 3,0$, $J_{5'a,5'b} = 11,6$ Hz, H-5'a), 4,79–4,76 (m, 2H, H-4', H-5), 4,76 (br s, 1H, H-1), 4,73 (dd, 1H, $J_{4',5'b} = 4,6$ Hz, H-5'b), 4,39 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 7,0$, $J_{6a,6b} = 11,7$ Hz, H-6a), 4,36 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 5,2$ Hz, H-6b), 4,01 (m, 1H, $J = 6,2$ Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}$), 3,76 (m, 1H, H-4), 3,22 (dd, 1H, $J_{3\text{ax},3\text{ec}} = 14,9$, $J_{3\text{ax},4} = 4,7$ Hz, H-3ax), 2,94 (dd, 1H, $J_{3\text{ec},4} = 1,8$ Hz, H-3ec), 2,07 (s, 3H, CH_3CO), 1,28, 1,19 (2d, 6H, $J = 6,2$ Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 199,3$ (C-2), 170,5 (MeCO), 166,1, 165,6, 165,4 (PhCO), 133,7–128,4 (C-aromáticos), 98,0 (C-1), 89,6 (C-1'), 83,3 (C-2'), 81,0 (C-4'), 77,7 (C-3'), 71,7 (Me_2CHO), 68,5 (C-5), 64,4 (C-6), 63,2 (C-5'), 48,5 (C-4), 44,2 (C-3), 23,3, 21,8 [$(\text{CH}_3)_2\text{CHO}$], 20,7 (CH_3CO).

b) A partir de 1,2,3,5-tetra-*O*-benzoil- β -D-arabinofuranosa (94b)



El procedimiento que se describió anteriormente para la 1,2,3,5-tetra-*O*-benzoil- β -D-arabinofuranosa (**94a**), también se llevó a cabo para realizar la tioglicosidación de **35** a partir de su análogo de configuración anomérica α [1,2,3,5-tetra-*O*-benzoil- α -D-arabinofuranosa, **94b** (140 mg, 0,25 mmol)], reacción que condujo nuevamente a **96** (85 mg, 57%).

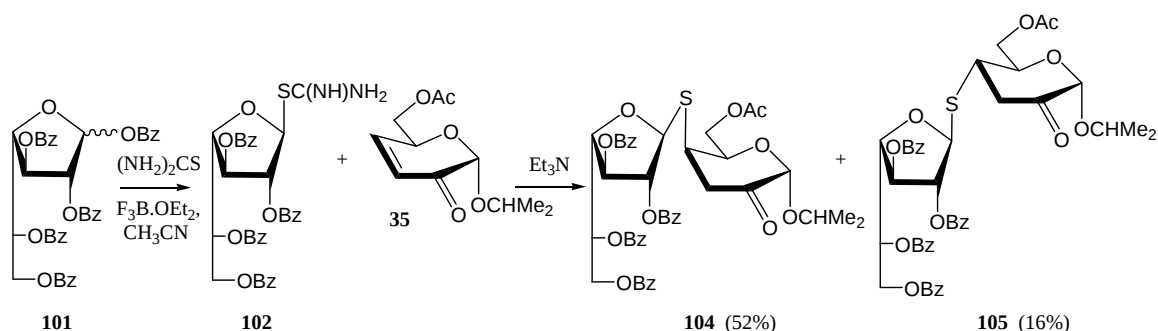
2-Propil 6-*O*-acetil-3-desoxi-4-*S*-(2,3,5-tri-*O*-benzoil- β -D-xilofuranosil)-4-tio- α -D-*treo*-hexopiranosid-2-ulososa (99) y 2-propil 6-*O*-acetil-3-desoxi-4-*S*-(2,3,5-tri-*O*-benzoil- α -D-xilofuranosil)-4-tio- α -D-*treo*-hexopiranosid-2-ulososa (100).



La sal de isotiuronio **98** [(RMN-¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9,28–9,19 (2s, 2H cada uno, 2 × NH₂), 8,10–7,48 (m, 20H, H-aromáticos), 6,44 (br s, 1H, H-1), 6,02 (d, 1H, $J_{3,4}$ = 4,6 Hz, H-3), 5,78 (br s, 1H, H-2), 5,12 (c, 1H, $J_{4,5} \sim J_{4,5'} = 5,0$ Hz, H-4), 4,64 (m, 2H, H-5, H-5'); RMN-¹³C (50,3 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 167,7, 167,4, 165,7, 164,6 (× 2) (PhCO + SC(NH₂)₂), 134,6–128,5 (C-aromáticos), 86,0 (C-1), 80,8, 80,6 (C-2, 4), 75,0 (C-3), 62,5 (C-5)] se sintetizó de manera habitual a partir del reactivo comercial: 1,2,3,5-tetra-*O*-benzoil- α -D-xilofuranosa (**97**, 200 mg, 0,35 mmol), tiourea (30 mg, 0,39 mmol) y F₃B.OEt₂ (67 μ L, 0,53 mmol) en una solución de acetonitrilo anhidro (7 mL), sometida a reflujo durante 30 min. Posteriormente, se enfrió la solución y se hizo reaccionar al compuesto **98** con la enona **35** (64 mg, 0,28 mmol) y Et₃N (350 μ L, 2,52 mmol) a 0 °C durante 3,5 h, para dar una mezcla 1,4:1 (estimada por RMN-¹H) de los tiodisacáridos **99** y **100**. El isómero β -D-xilofuranosilo (**99**), pudo ser sólo parcialmente purificado por columna cromatográfica utilizando una mezcla de CHCl₃/EtOAc (85:1→70:1) como solvente de elución. Datos espectroscópicos seleccionados para **99** y **100**: Compuesto **99**: RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃): δ = 5,47 (d, 1H, $J_{1',2'}$ = 1,4 Hz, H-1' β), 4,73 (br s, 1H, H-1), 3,87 (m, 1H, H-4), 3,22 (dd, 1H, $J_{3ax,4}$ = 4,9, $J_{3ax,3ec}$ = 15,2 Hz, H-3ax), 2,86 (dd, 1H, $J_{3ec,4}$ = 1,8 Hz, H-3ec); RMN-¹³C (125,7 MHz, CDCl₃): δ = 198,8 (C-2), 97,9 (C-1), 85,6 (C-1'), 81,6, 79,8 (C-2', 4'), 75,2 (C-3'), 45,3 (C-4), 42,6 (C-3). Compuesto **100**: RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃): δ = 6,00 (d, 1H, $J_{1',2'}$ = 6,0 Hz, H-1' α), 4,76 (br s, 1H, H-1), 3,65 (m, 1H, H-4), 3,19 (dd, 1H, $J_{3ax,4}$ = 4,7, $J_{3ax,3ec}$ = 14,9 Hz, H-3ax), 2,97

(dd, 1H, $J_{3ec,4} = 1,8$ Hz, H-3ec); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 97,9$ (C-1), 88,2 (C-1'), 78,5 (C-4'), 61,8 (C-5'), 48,1 (C-4), 44,6 (C-3).

2-Propil 6-*O*-acetil-3-desoxi-4-*S*-(2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil- β -D-galactofuranosil)-4-tio- α -D-*treo*-hexopiranosid-2-ulosa (104) y 2-propil 6-*O*-acetil-3-desoxi 4-*S*-(2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil- β -D-galactofuranosil)-4-tio- α -D-*eritro*-hexopiranosid-2-ulosa (105).



A una solución de 1,2,3,5,6-penta-*O*-benzoil- α,β -D-galactofuranosa² (**101**, 280 mg, 0,40 mmol) en acetonitrilo anhidro (8 mL) y atmósfera de argón, se le agregó tiourea (34 mg, 0,45 mmol) y $\text{F}_3\text{B}.\text{OEt}_2$ (260 μL , 2,07 mmol). La mezcla se refluxó durante 2,5 h, cuando se verificó por CCD (tolueno/ EtOAc , 9:1) el consumo completo del material de partida. Para poder realizar el análisis espectroscópico de la β -D-galactofuranosil isothiurea (**102**) obtenida como jarabe, se evaporó el solvente y se realizó RMN- ^1H y ^{13}C ; RMN- ^1H (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): $\delta = 9,34$, 9,22 (2s, 2H cada uno, $2 \times \text{NH}_2$), 8,04–7,39 (m, H-aromáticos), 6,75 (s, 1H, H-1), 6,05 (m, 1H, H-5), 5,78 (s, 1H, H-2), 5,74 (d, 1H, $J_{3,4} = 4,4$ Hz, H-3), 5,04 (t, 1H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 4,4$ Hz, H-4), 4,78 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 3,5$, $J_{6a,6b} = 12,0$ Hz, H-6a), 4,73 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 7,3$, $J_{6a,6b} = 12,0$ Hz, H-6b); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): $\delta = 168,1$ ($\text{SC}(\text{NH}_2)_2$), 166,1, 166,0, 165,5, 165,3 (PhCO), 134,8–128,8 (C-aromáticos), 88,2 (C-1), 83,5, 81,9 (C-2,4), 77,6 (C-3), 70,9 (C-5), 64,0 (C-6).

Para continuar la reacción y llevar a cabo la adición de Michael, la mezcla original de preparación de **102** se enfrió a 0 °C, y se agregó 2-propil 6-*O*-acetil-3,4-dideoxi- α -D-*glicero*-hex-3-enopiranosid-2-ulosa (**35**, 76 mg, 0,33 mmol) y Et_3N (518 μL , 3,72 mmol) en dos fracciones cada 30 min. Se agitó la mezcla a baja temperatura durante 3 h. Mediante CCD (tolueno/ EtOAc , 9:1) se observaron dos productos

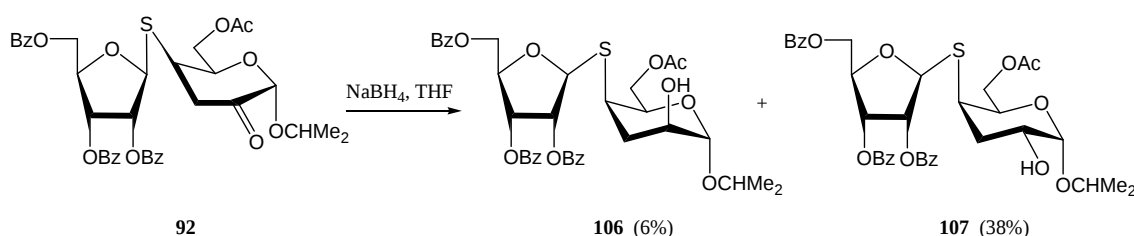
principales con $R_f = 0,34$ (mayoritario) y $0,16$ respectivamente. Luego de evaporar el solvente y co-evaporar con tolueno, se obtuvo un jarabe marrón que se purificó mediante columna cromatográfica (tolueno/EtOAc, 96:4). De las primeras fracciones de la columna se aisló el tiodisacárido **104** como producto mayoritario (145 mg, 52%). Este producto estaba ligeramente contaminado por la enona **35**. Tiodisacárido **104**: RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8,10$ – $7,16$ (m, 20H, H-aromáticos), $6,10$ (dt, 1H, $J_{4',5'} \sim J_{5',6'a} = 4,3$, $J_{5',6'b} = 6,4$ Hz, H-5'), $5,70$ (bd, 1H, $J_{2',3'} < 1,0$, $J_{3',4'} = 4,8$ Hz, H-3'), $5,69$ (br s, 1H, H-1'), $5,50$ (br s, 1H, H-2'), $4,80$ – $4,75$ (m, 3H, H-4',5,6'a), $4,79$ (br s, 1H, $J_{1,2} < 1,0$ Hz, H-1), $4,74$ (dd, 1H, $J_{5',6'a} = 6,4$, $J_{6'a,6'b} = 12,0$ Hz, H-6'b), $4,37$ (dd, 1H, $J_{5,6a} = 7,3$, $J_{6a,6b} = 11,6$ Hz, H-6a), $4,28$ (dd, 1H, $J_{5,6b} = 4,9$, $J_{6a,6b} = 11,6$ Hz, H-6b), $4,02$ (m, 1H, $J = 6,2$ Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}$), $3,70$ (dt, $J_{3\text{ec},4} = J_{4,5} = 2,4$, $J_{3\text{ax},4} = 5,0$ Hz, H-4), $3,17$ (dd, 1H, $J_{3\text{ax},4} = 5,0$, $J_{3\text{ax},3\text{ec}} = 15,2$ Hz, H-3ax), $2,82$ (dd, 1H, $J_{3\text{ec},4} = 2,4$, $J_{3\text{ax},3\text{ec}} = 15,2$ Hz, H-3ec), $2,05$ (s, 3H, CH_3CO), $1,28$, $1,18$ (2d, 6H, $J = 6,2$ Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 198,7$ (C-2), $170,4$ (MeCO), $166,1$, $165,7$, $165,5$, $165,2$ (PhCO), $133,6$ – $128,4$ (C-aromáticos), $98,0$ (C-1), $86,6$ (C-1'), $82,6$, $82,1$ (C-2',4'), $77,8$ (C-3'), $71,8$, $70,2$, $68,4$ (Me_2CHO , C-5,5'), $64,6$, $63,4$ (C-6,6'), $45,1$ (C-4), $42,6$ (C-3), $23,3$, $21,8$ [$(\text{CH}_3)_2\text{CHO}$], $20,7$ (CH_3CO).

De las fracciones posteriores de la columna, se obtuvo el compuesto minoritario **105** (45 mg, 16%) como un jarabe; RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8,09$ – $7,28$ (m, 20H, H-aromáticos), $6,08$ (dt, 1H, $J_{4',5'} = J_{5',6'a} = 4,3$, $J_{5',6'b} = 7,0$ Hz, H-5'), $5,72$ (br s, 1H, $J_{1',2'} < 1,0$ Hz, H-1'), $5,70$ (bd, 1H, $J_{2',3'} < 1,0$, $J_{3',4'} = 4,3$ Hz, H-3'), $5,47$ (br s, 1H, H-2'), $4,85$ (t, 1H, $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 4,3$ Hz, H-4'), $4,79$ (br s, 1H, $J_{1,2} < 1,0$ Hz, H-1), $4,78$ (dd, 1H, $J_{5',6'a} = 4,3$, $J_{6'a,6'b} = 11,8$ Hz, H-6'a), $4,72$ (dd, 1H, $J_{5',6'b} = 7,0$, $J_{6'a,6'b} = 11,8$ Hz, H-6'b), $4,59$ (dd, 1H, $J_{5,6a} = 1,4$, $J_{6a,6b} = 11,9$ Hz, H-6a), $4,47$ (dd, 1H, $J_{5,6b} = 5,0$, $J_{6a,6b} = 11,9$ Hz, H-6b), $4,43$ (ddd, 1H, $J_{5,6a} = 1,4$, $J_{5,6b} = 5,0$, $J_{4,5} = 10,8$ Hz, H-5), $3,98$ (m, 1H, $J = 6,2$ Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}$), $3,42$ (ddd, 1H, $J_{3\text{ec},4} = 5,0$, $J_{3\text{ax},4} = 12,8$ Hz, H-4), $3,02$ (dd, 1H, $J_{3\text{ax},4} = 12,8$, $J_{3\text{ax},3\text{ec}} = 14,6$ Hz, H-3ax), $2,86$ (dd, 1H, $J_{3\text{ec},4} = 5,0$, $J_{3\text{ax},3\text{ec}} = 14,6$ Hz, H-3ec), $2,06$ (s, 3H, CH_3CO), $1,25$, $1,17$ (2d, 6H, $J = 6,2$ Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 199,0$ (C-2), $170,6$ (MeCO), $166,0$, $165,6$, $165,4$, $165,3$ (PhCO), $133,7$ – $128,3$ (C-aromáticos), $97,7$ (C-1), $87,9$ (C-1'), $82,7$ (C-2'), $81,8$

(C-4'), 77,6 (C-3'), 71,8, 70,3, 70,2 (Me₂CHO, C-5,5'), 63,6, 63,2 (C-6,6'), 42,9, 42,7 (C-3,4), 23,2, 21,7 [(CH₃)₂CHO], 20,7 (CH₃CO).

8.3.2 Reducción del grupo carbonilo (ulosa) de los tiodisacáridos 92, 93, 96 y 104.

2-Propil 6-*O*-acetil-3-desoxi-4-*S*-(2,3,5-tri-*O*-benzoil-β-D-ribofuranosil)-4-tio-α-D-*lixo*-hexopiranosido (106) y 2-propil 6-*O*-acetil-3-desoxi-4-*S*-(2,3,5-tri-*O*-benzoil-β-D-ribofuranosil)-4-tio-α-D-*xilo*-hexopiranosido (107).



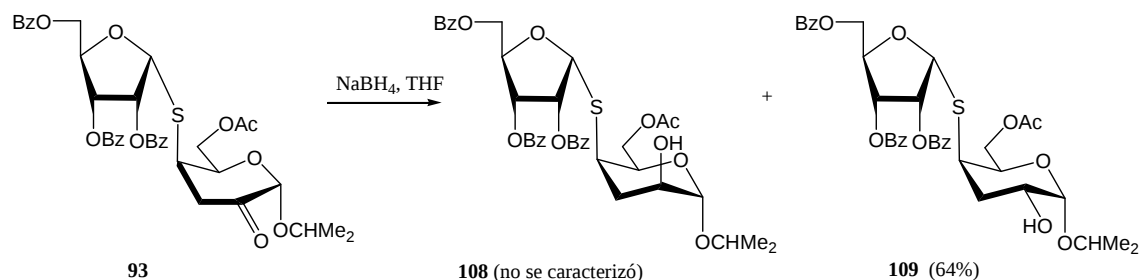
A una solución del tiodisacárido 2-propil 6-*O*-acetil-3-desoxi-4-*S*-(2,3,5-tri-*O*-benzoil-β-D-ribofuranosil)-4-tio-α-D-*treo*-hexopiranosid-2-ulosa (**92**, 95 mg, 0,13 mmol) en THF (6 ml), se le agregó NaBH₄ (70 mg, 1,84 mmol) y la mezcla se agitó a -18 °C por 30 min. Luego, la solución se neutralizó con resina Dowex 50W (H⁺), se filtró y se concentró en rotavap, co-evaporando con MeOH, para eliminar el ácido bórico. La CCD (hexano/EtOAc, 1:1) reveló la presencia de dos compuestos principales de R_f = 0,61 y 0,54. Estos compuestos se separaron parcialmente mediante columna cromatográfica (hexano/EtOAc, 70:30). El compuesto menos polar debió ser repurificado a través de una columna seca de silica gel (hexano/EtOAc, 1:1) para obtener el tiodisacárido **106** (6 mg, 6%); [α]_D²⁰ = +15,7 (*c* = 0,8, CHCl₃); RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃): δ = 8,09–7,33 (m, 15H, H-aromáticos), 5,89 (dd, 1H, *J*_{2',3'} = 5,0, *J*_{3',4'} = 5,9 Hz, H-3'), 5,73 (dd, 1H, *J*_{1',2'} = 3,6 Hz, H-2'), 5,64 (d, 1H, H-1'), 4,88 (br s, 1H, H-1), 4,73 (dd, 1H, *J*_{4',5'a} = 3,9, *J*_{5'a,5'b} = 11,2 Hz, H-5'a), 4,71 (m, 1H, H-4'), 4,58 (dd, 1H, *J*_{4',5'b} = 4,0 Hz, H-5'b), 4,41 (m, 1H, H-5), 4,26 (dd, 1H, *J*_{5,6a} = 7,9, *J*_{6a,6b} = 11,6 Hz, H-6a), 4,16 (dd, 1H, *J*_{5,6b} = 4,5 Hz, H-6b), 3,94 (m, 1H, *J* = 6,2 Hz, (CH₃)₂CHO), 3,62 (m, 1H, H-2), 3,41 (m, 1H, H-4), 2,30 (m, 2H, H-3ax, H-3ec), 2,05 (s, 3H, CH₃CO), 1,23, 1,18 (2d, 6H, *J* = 6,2 Hz, (CH₃)₂CHO); RMN-¹³C

(125,7 MHz, CDCl₃): δ = 170,5 (MeCO), 166,1, 165,2, 165,1 (PhCO), 133,6–128,4 (C-aromáticos), 98,9 (C-1), 84,5 (C-1'), 80,4 (C-4'), 75,6 (C-2'), 72,6 (C-3'), 69,4 (Me₂CHO), 67,9 (C-2), 67,6 (C-5), 64,9 (C-6), 64,3 (C-5'), 39,3 (C-4), 29,8 (C-3), 23,1, 21,5 [(CH₃)₂CHO], 20,7 (CH₃CO). Análisis calculado para C₃₇H₄₀O₁₂S: C, 62,70; H, 5,69; S, 4,52. Encontrado: C, 62,39; H, 5,77; S, 4,43.

Las siguientes fracciones de la columna correspondían al tiodisacárido mayoritario **107** (36 mg, 39%); $[\alpha]_D^{20}$ = +37,5 (c = 0,9, CHCl₃); RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃): δ = 8,09–7,33 (m, 15H, H-aromáticos), 5,87 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 5,1$, $J_{3',4'} = 5,8$ Hz, H-3'), 5,69 (dd, 1H, $J_{1',2'} = 3,7$ Hz, H-2'), 5,51 (d, 1H, H-1'), 4,89 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,8$ Hz, H-1), 4,71 (dd, 1H, $J_{4',5'a} = 4,0$, $J_{5'a,5'b} = 11,2$ Hz, H-5'a), 4,68 (ddd, 1H, $J_{4',5'b} = 4,2$ Hz, H-4'), 4,59 (dd, 1H, H-5'b), 4,25 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 2,0$, $J = 5,0$, $J = 6,9$ Hz, H-5), 4,18 (m, 2H, H-6a, H-6b), 4,02 (ddd, 1H, $J_{2,3ec} = 4,3$, $J_{2,3ax} = 11,5$ Hz, H-2), 3,93 (m, 1H, $J = 6,2$ Hz, (CH₃)₂CHO], 3,42 (br s, 1H, H-4), 2,24 (ddd, 1H, $J_{3ec,4} = 3,5$, $J_{3ec,3ax} = 13,0$ Hz, H-3ec), 2,01 (m, 4H, H-3ax, CH₃CO), 1,21, 1,18, (2d, 6H, $J = 6,2$ Hz, (CH₃)₂CHO); RMN-¹³C (125,7 MHz, CDCl₃): δ = 170,5 (MeCO), 166,1, 165,3, 165,2 (PhCO), 133,6–128,5 (C-aromáticos), 96,8 (C-1), 85,4 (C-1'), 80,2 (C-4'), 75,8 (C-2'), 72,8, 70,8 (C-3', Me₂CHO), 67,8 (C-2), 65,1 (C-6), 64,5 (C-5), 64,2 (C-5'), 43,3 (C-4), 34,2 (C-3), 23,2, 22,0 [(CH₃)₂CHO], 20,8 (CH₃CO). Análisis calculado para C₃₇H₄₀O₁₂S: C, 62,70; H, 5,69; S, 4,52. Encontrado: C, 62,89; H, 5,65; S, 4,43.

También se obtuvieron fracciones intermedias de la columna, que contenían una mezcla de los compuestos **106** y **107**, que no pudieron ser separados efectivamente (33 mg, rendimiento total 84%).

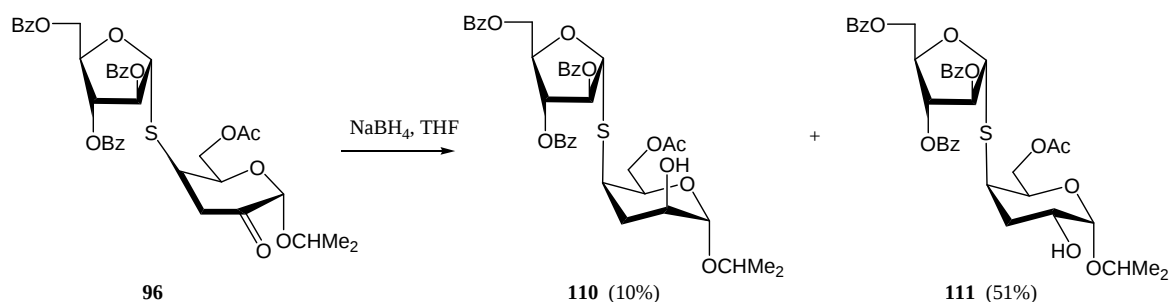
2-Propil 6-*O*-acetil-3-desoxi-4-*S*-(2,3,5-tri-*O*-benzoil- α -D-ribofuranosil)-4-tio- α -D-xilo-hexopiranosido (**109**).



La reducción de 2-propil 6-*O*-acetil-3-desoxi-4-*S*-(2,3,5-tri-*O*-benzoil- α -D-

ribofuranosil)-4-tio- α -D-*treo*-hexopiranosid-2-ulosa (**93**, 45 mg, 0,06 mmol) con NaBH_4 se llevó a cabo de la misma forma que se describió para su análogo **92**. Por posterior purificación de la mezcla de reacción a través de una columna cromatográfica (hexano/EtOAc, 7:3) se obtuvo **109** (29 mg, 64%) como producto mayoritario; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +93,2$ ($c = 0,6$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8,08$ – $7,30$ (m, 15H, H-aromáticos), 5,93 (d, 1H, $J_{1,2'} = 6,0$ Hz, H-1'), 5,74 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 6,6$, $J_{3',4'} = 4,3$ Hz, H-3'), 5,63 (t, 1H, H-2'), 4,90 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,8$ Hz, H-1), 4,76 (br s, 1H, H-4'), 4,75 (dd, 1H, $J_{5'a,5'b} = 12,8$, $J_{4,5'a} = 3,1$ Hz, H-5'a), 4,63 (dd, 1H, $J_{4,5'b} = 4,8$ Hz, H-5'b), 4,22 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 1,7$, $J_{5,6b} = 5,5$, $J_{5,6a} = 7,0$ Hz, H-5), 4,13 (dd, 1H, $J_{6a,6b} = 11,4$ Hz, H-6a), 4,08 (dd, 1H, H-6b), 4,03 (m, 1H, H-2), 3,92 (m, 1H, $J = 6,2$ Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}$), 3,28 (br s, 1H, H-4), 2,34 (ddd, 1H, $J_{2,3\text{ec}} = J_{3\text{ec},4} = 3,8$, $J_{3\text{ec},3\text{ax}} = 12,5$ Hz, H-3ec), 2,10 (ddd, 1H, $J_{3\text{ax},4} = 3,6$, $J_{2,3\text{ax}} = 12,0$ Hz, H-3ax), 2,03 (s, 3H, CH_3CO), 1,86 (d, 1H, $J_{2,\text{HO}} = 12,0$ Hz, HO), 1,24, 1,81 (2d, 6H, $J = 6,2$ Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 170,5$ (MeCO), 166,1, 165,6, 165,2 (PhCO), 133,5–128,4 (C-aromáticos), 96,8 (C-1), 89,2 (C-1'), 79,0 (C-4'), 72,2 (C-2'), 71,2 (C-3'), 70,9 (Me $_2\text{CHO}$), 67,9 (C-5), 64,7 (C-6), 63,6 (C-5'), 60,4 (C-2), 46,1 (C-4), 36,1 (C-3), 23,2, 21,9 [$(\text{CH}_3)_2\text{CHO}$], 20,7 (CH_3CO). Análisis calculado para $\text{C}_{37}\text{H}_{40}\text{O}_{12}\text{S}$: C, 62,70; H, 5,69; S, 4,52. Encontrado: C, 62,79; H, 5,81; S, 4,42.

2-Propil 6-*O*-acetil-3-desoxi-4-*S*-(2,3,5-tri-*O*-benzoil- α -D-arabinofuranosil)-4-tio- α -D-*lixo*-hexopiranosido (**110**) y 2-propil 6-*O*-acetil-3-desoxi-4-*S*-(2,3,5-tri-*O*-benzoil- α -D-arabinofuranosil)-4-tio- α -D-*xilo*-hexopiranosido (**111**).



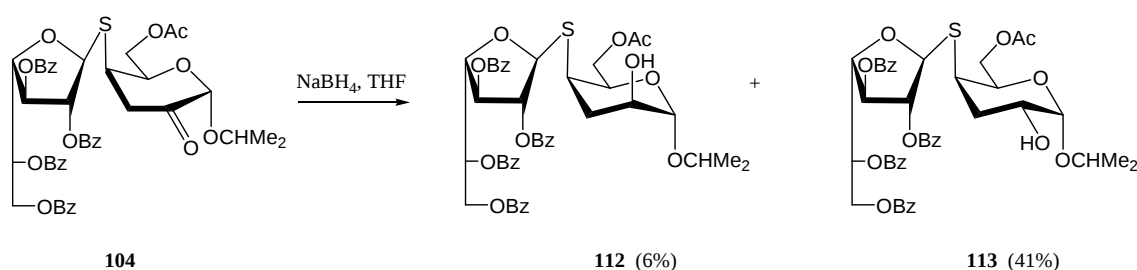
A una solución del tiodisacárido 2-propil 6-*O*-acetil-3-desoxi-4-*S*-(2,3,5-tri-*O*-benzoil- α -D-arabinofuranosil)-4-tio- α -D-*treo*-hexopiranosid-2-ulosa (**96**, 120 mg, 0,17 mmol) en THF (7 ml), se le agregó NaBH_4 (64 mg, 1,68 mmol) y la mezcla se

agitó a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 min. Luego, se repitió el tratamiento previamente descripto hasta obtener un jarabe que mostraba, por CCD (hexano/EtOAc, 1:1), dos compuestos de $R_f = 0,56$ y $0,50$. La cromatografía en columna (hexano/EtOAc, 7:3) de la mezcla dio las primeras fracciones enriquecidas en el compuesto menos polar (**110**). Éste se purificó posteriormente mediante una columna de sílica gel seca (hexano/EtOAc, 1:1) obteniéndose el tiodisacárido **110**; como un jarabe (12,0 mg, 10%); $[\alpha]_D^{20} = +80,7$ ($c = 1,0$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8,09\text{--}7,31$ (m, 15H, H-aromáticos), 5,66 (s, 1H, H-1'), 5,64 (d, 1H, $J_{3',4'} = 4,4$ Hz, H-3'), 5,56 (s, 1H, H-2'), 4,89 (br s, 1H, H-1), 4,84 (dd, 1H, $J_{4',5'a} = 3,5$, $J_{5'a,5'b} = 11,1$ Hz, H-5'a), 4,81 (m, 1H, H-4'), 4,73 (dd, 1H, $J_{4',5'b} = 4,3$ Hz, H-5'b), 4,41 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 2,4$, $J_{5,6b} = 4,6$, $J_{5,6a} = 7,5$ Hz, H-5), 4,37 (dd, 1H, $J_{6a,6b} = 11,1$ Hz, H-6a), 4,31 (dd, 1H, H-6b), 3,92 (m, 1H, $J = 6,3$ Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}$), 3,62 (m, 1H, H-2), 3,48 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz, HO), 3,32 (br s, 1H, H-4), 2,41 (ddd, 1H, $J_{2,3a} \sim J_{3a,4} = 3,0$, $J_{3a,3b} = 15,0$ Hz, H-3a), 2,35 (ddd, 1H, $J_{2,3b} \sim J_{3b,4} = 3,9$ Hz, H-3b), 2,05 (s, 3H, CH_3CO) 1,22, 1,16 (2d, 6H, $J = 6,3$ Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 170,6$ (MeCO), 166,2, 165,6, 165,3 (PhCO), 133,8–128,4 (C-aromáticos), 98,9 (C-1), 89,7 (C-1'), 83,2 (C-2'), 81,5 (C-4'), 77,8 (C-3'), 69,5 (Me_2CHO), 68,0 (C-5), 67,7 (C-2), 65,0 (C-6), 63,3 (C-5'), 42,4 (C-4), 31,8 (C-3), 23,2, 21,5 [$(\text{CH}_3)_2\text{CHO}$], 20,8 (CH_3CO). Análisis calculado para $\text{C}_{37}\text{H}_{40}\text{O}_{12}\text{S}$: C, 62,70; H, 5,69; S, 4,52. Encontrado: C, 62,82; H, 5,59; S, 4,63.

De las siguientes fracciones de la columna, se aisló el compuesto **111** como una espuma (61,0 mg, 51%); $[\alpha]_D^{20} = +73,1$ ($c = 1,0$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8,11\text{--}7,30$ (m, 15H, H-aromáticos), 5,61 (d, 1H, $J_{3',4'} = 5,3$ Hz, H-3'), 5,60 (s, 1H, H-1'), 5,55 (s, 1H, H-2'), 4,92 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,8$ Hz, H-1), 4,84 (dd, 1H, $J_{4',5'a} = 3,0$, $J_{5'a,5'b} = 11,6$ Hz, H-5'a), 4,77 (m, 1H, H-4'), 4,72 (dd, 1H, $J_{4',5'b} = 5,0$ Hz, H-5'b), 4,32 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 8,7$, $J_{6a,6b} = 12,2$ Hz, H-6a), 4,27 (m, 1H, H-5), 4,26 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 4,8$ Hz, H-6b), 4,02 (m, 1H, H-2), 3,95 (m, 1H, $J = 6,2$ Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}$), 3,38 (br s, 1H, H-4), 2,29 (ddd, 1H, $J_{2,3ec} \sim J_{3ec,4} \sim 3,9$, $J_{3ax,3ec} = 12,8$ Hz, H-3ec), 2,09 (ddd, 1H, $J_{3ax,4} = 3,7$, $J_{2,3ax} = 12,8$ Hz, H-3ax), 2,02 (s, 3H, CH_3CO), 1,26, 1,19 (2d, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 170,7$ (MeCO), 166,2, 165,4 (PhCO), 133,7–128,4 (C-aromáticos), 96,8 (C-1), 90,0 (C-1'), 83,2 (C-2'), 81,2 (C-4'), 78,0 (C-3'), 70,9 (Me_2CHO), 67,8 (C-5), 64,9 (C-6), 64,6 (C-2), 63,4 (C-5'), 45,7 (C-4),

35,7 (C-3), 23,2, 22,0 [(CH₃)₂CHO], 20,8 (CH₃CO). Análisis calculado para C₃₇H₄₀O₁₂S: C, 62,70; H, 5,69; S, 4,52. Encontrado: C, 62,64; H, 5,60; S, 4,62.

2-Propil 6-*O*-acetil-3-desoxi-4-*S*-(2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil-β-D-galactofuranosil)-4-tio-α-D-*l*-xohexopiranósido (112) y 2-propil 6-*O*-acetil-3-desoxi-4-*S*-(2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil-β-D-galactofuranosil)-4-tio-α-D-*x*ilohexopiranósido (113).



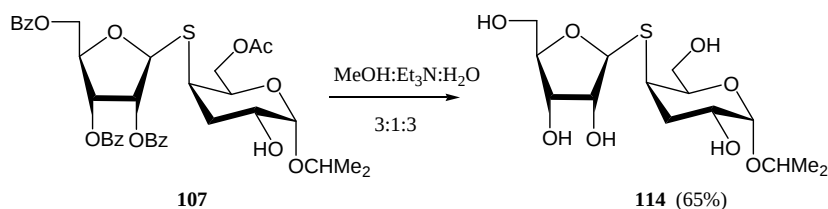
Se disolvió la 2-propil 6-*O*-acetil-3-desoxi-4-*S*-(2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil-β-D-galactofuranosil)-4-tio-α-D-*treo*-hexopiranosid-2-ulososa (**104**, 163 mg, 0,19 mmol) en THF (5 mL) y se trató con NaBH₄ (50 mg, 1,31 mmol) a -18 °C. Se agitó la mezcla durante 30 min y luego del tratamiento descrito anteriormenete, se obtuvo un jarabe que mostró en la CCD (hexano/EtOAc, 7:3) dos productos de R_f = 0,60 y 0,53. Los mismos se separaron mediante columna cromatográfica (hexano/EtOAc, 7:3). Eluyó primero el compuesto menos polar **112** (jarabe, 10 mg, 6%); [α]_D²⁰ = -32,3 (*c* = 0,9, CHCl₃); RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃): δ = 8,08–7,23 (m, 20H, H-aromáticos), 6,08 (ddd, 1H, *J*_{4',5'} ~ *J*_{5',6'a} = 4,2, *J*_{5',6'b} = 6,4 Hz, H-5'), 5,77 (br s, 1H, *J*_{1',2'} < 1,0 Hz, H-1'), 5,71 (bd, 1H, *J*_{2',3'} < 1,0, *J*_{3',4'} = 5,0 Hz, H-3'), 5,50 (br s, 1H, H-2'), 4,92 (br s, 1H, *J*_{1,2} < 1 Hz, H-1), 4,79 (m, 3H, H-4', 6'a), 4,76 (dd, 1H, *J*_{6'a,6'b} = 11,9 Hz, H-6'b), 4,45 (m, 1H, H-5), 4,38 (dd, 1H, *J*_{5,6a} = 8,0, *J*_{6a,6b} = 11,4 Hz, H-6a), 4,23 (dd, 1H, *J*_{5,6b} = 4,0 Hz, H-6b), 3,99 (m, 1H, *J* = 6,2 Hz, (CH₃)₂CHO), 3,68 (br s, 1H, H-2), 3,28 (br s, 1H, H-4), 2,31 (m, 2H, H-3ax, H-3ec), 2,05 (s, 3H, CH₃CO), 1,26, 1,20 (2d, 6H, *J* = 6,2 Hz, (CH₃)₂CHO); RMN-¹³C (125,7 MHz, CDCl₃): δ = 170,5 (MeCO), 166,1, 165,7, 165,5, 165,4 (PhCO), 133,7–128,4 (C-aromáticos), 99,0 (C-1), 86,7 (C-1'), 82,8, 82,0 (C-2',4'), 77,7 (C-3'), 70,1 (C-5'), 69,4 (Me₂CHO) 67,9 (C-5), 67,5 (C-2), 65,2 (C-6), 63,4 (C-6'), 39,4 (C-4), 29,6 (C-3), 23,2, 21,5

$[(CH_3)_2CHO]$, 20,7 (CH_3CO). Análisis calculado para $C_{45}H_{46}O_{14}S$: C, 64,12; H, 5,50. Encontrado: C, 63,98; H, 5,51.

Luego eluyó el tiodisacárido mayoritario **113** (aceite incoloro, 65 mg, 41%); $[\alpha]_D^{20} = -24,4$ ($c = 1,0$, $CHCl_3$); RMN- 1H (500 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 8,17$ – $7,23$ (m, 20H, H-aromáticos), 6,09 (bq, 1H, $J_{4',5'} = 4,2$, $J_{5',6'a} = J_{5',6'b} = 5,0$ Hz, H-5'), 5,69 (bd, 1H, $J_{2',3'} < 1,0$, $J_{3',4'} = 5,0$ Hz, H-3'), 5,65 (br s, 1H, $J_{1',2'} < 1,0$, H-1'), 5,50 (br s, 1H, H-2'), 4,93 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,7$ Hz, H-1), 4,79 (bt, 1H, $J_{3',4'} \sim J_{4',5'} = 4,5$ Hz, H-4'), 4,74 (m, 2H, H-6'a, H-6'b), 4,28 (m, 2H, H-5, H-6a), 4,16 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 7,5$, $J_{6a,6b} = 14,7$ Hz, H-6b), 4,10 (tt, 1H, $J_{1,2} = 3,7$, $J_{2,3ec} = 4,3$, $J_{2,3ax} = J_{2,H0} = 11,5$ Hz, H-2) 3,95 (m, 1H, $J = 6,2$ Hz, $(CH_3)_2CHO$), 3,33 (br s, 1H, H-4), 2,25 (ddd, 1H, $J_{3ec,4} = 3,5$, $J_{2,3ec} = 4,3$, $J_{3ax,3ec} = 13,0$ Hz, H-3ec), 2,04 (ddd, 1H, $J_{3ax,4} = 5,1$, $J_{2,3ax} = 11,5$, $J_{3ax,3ec} = 13,0$ Hz, H-3ax), 2,03 (s, 3H, CH_3CO), 1,85 (d, 1H, $J_{2,H0} = 11,5$ Hz, HO), 1,27, 1,19 (2d, 6H, $J = 6,2$ Hz, $(CH_3)_2CHO$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 170,5$ ($MeCO$), 166,1, 165,7, 165,5, 165,4 ($PhCO$), 133,7–128,4 (C-aromáticos), 96,9 (C-1), 87,6 (C-1'), 82,8 (C-2'), 81,7 (C-4'), 77,8 (C-3'), 70,9 (Me_2CHO), 70,2 (C-5'), 67,8 (C-2), 65,4 (C-6), 64,3 (C-5), 63,5 (C-6'), 43,5 (C-4), 34,0 (C-3), 23,2, 22,0 [$(CH_3)_2CHO$], 20,8 (CH_3CO). Análisis calculado para $C_{45}H_{46}O_{14}S$: C, 64,12; H, 5,50. Encontrado: C, 64,19; H, 5,78.

8.3.3 Desacilación de los tiodisacáridos **107**, **111** y **113**

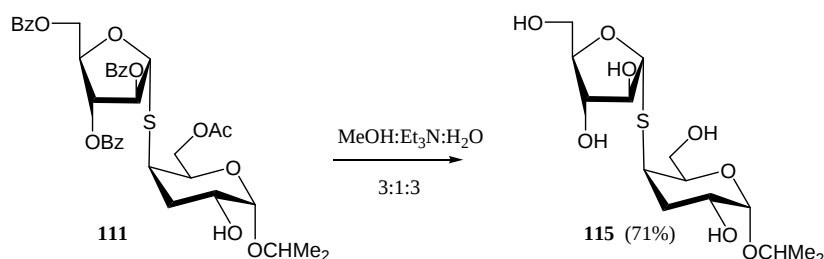
2-Propil 3-desoxi-4-*S*-(β -D-ribofuranosil)-4-tio- α -D-*xilo*-hexopiranosido (**114**).



Se suspendió el tiodisacárido **107** (65 mg, 0,09 mmol) en una solución de $MeOH:Et_3N:H_2O$, 3:1:3 (8 mL) y se agitó a temperatura ambiente. Luego de 3 h, la CCD (hexano/ $EtOAc$, 1:1) mostró un compuesto con $R_f = 0$ (UV inactivo) y consumo total del compuesto de partida **107** ($R_f = 0,54$). La muestra se concentró, co-evaporando con tolueno y el residuo, disuelto en 1 mL agua se eluyó a través de

una columna de intercambio iónico (Dowex MR-3C mixed bed) con 30 mL de dicho solvente. La solución desionizada se concentró y el tiodisacárido libre se disolvió en agua (1 mL) y se filtró a través de una mini columna octadecil C18 (Amprep, Amersham Biosciences) con 20 mL del mismo solvente. Al evaporar el solvente se obtuvo el tiodisacárido libre **114** (22 mg, 65%) como un sólido cristalino, pf 149–151 °C; $[\alpha]_D^{20} = +3,5$ ($c = 0,9$, H₂O); RMN-¹H (500 MHz, D₂O): $\delta = 5,04$ (d, 1H, $J_{1',2'} = 4,8$ Hz, H-1'), 4,88 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,7$ Hz, H-1), 4,16 (ddd, 1H, $J = 2,0$, $J = 5,5$, $J = 6,8$ Hz, H-5), 4,12 (dd, 1H, $J_{2',3'} \sim J_{3',4'} \sim 5,0$ Hz, H-3'), 4,02 (ddd, 1H, $J_{2,3ec} = 4,3$, $J_{2,3ax} = 12,0$ Hz, H-2), 3,99 (dd, 1H, H-2'), 3,92 (ddd; 1H, $J_{4',5'a} = 3,6$, $J_{4',5'b} = 5,8$ Hz, H-4'), 3,91 (m, 1H, $J = 6,2$ Hz, (CH₃)₂CHO), 3,67 (dd, 1H, $J_{5'a,5'b} = 12,4$ Hz, H-5'a), 3,63–3,60 (m, 2H, H-6a, H-6b), 3,58 (dd, 1H, H-5'b), 3,34 (m, 1H, H-4), 2,08 (ddd, 1H, $J_{3ax,3ec} = 13,1$, $J_{3ax,4} = 3,6$ Hz, H-3ax), 2,00 (ddd, 1H, $J_{3ec,4} = 3,5$ Hz, H-3ec), 1,16, 1,09 (2d, 6H, $J = 6,2$ Hz, (CH₃)₂CHO); RMN-¹³C (125,7 MHz, D₂O): $\delta = 96,1$ (C-1), 86,6 (C-1'), 84,5 (C-4'), 75,2 (C-2'), 71,1 (C-3'), 70,5 (Me₂CHO), 70,3 (C-5), 64,0 (C-2), 62,6 (C-6), 62,1 (C-5'), 42,9 (C-4), 32,2 (C-3), 22,4, 20,5 [(CH₃)₂CHO]. Análisis calculado para C₁₄H₂₆O₈S: C, 47,44; H, 7,39; S, 9,06. Encontrado: C, 47,33; H, 7,41; S, 9,19.

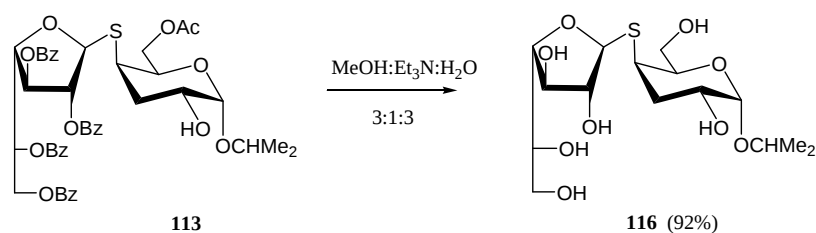
2-Propil 3-desoxi-4-*S*-(α -D-arabinofuranosil)-4-tio- α -D-*xilo*-hexopiranosido (**115**).



El compuesto **111** (60 mg, 0,08 mmol) fue sometido al mismo procedimiento de *O*-desacetilación que se describió anteriormente. La CCD (hexano/EtOAc, 1:1) mostró un compuesto con $R_f = 0$ (UV inactivo) y consumo total del compuesto de partida **111** ($R_f = 0,50$). La muestra se concentró, co-evaporando con tolueno y el residuo, disuelto en 1 mL de agua, se eluyó a través de una columna de intercambio iónico (Dowex MR-3C mixed bed, 60 mL de agua).

La solución desionizada se concentró y el tiodisacárido libre se purificó por disolución en agua (1 mL) y filtración a través de una mini columna octadecil C18 (Amprep, Amersham Biosciences, 15 mL de agua). Por evaporación del solvente se obtuvo el tiodisacárido libre **115** (21 mg, 71%) como un sólido cristalino; $R_f = 0,73$ (*n*-BuOH/EtOH/H₂O, 2,5:1:1); pf 176–177 °C; $[\alpha]_D^{20} = +196,0$ ($c = 0,9$, H₂O); RMN-¹H (500 MHz, D₂O): $\delta = 5,09$ (d, 1H, $J_{1,2'} = 4,7$ Hz, H-1'), 4,88 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,7$ Hz, H-1), 4,12 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 1,9$, $J_{5,6a} \sim J_{5,6b} \sim 6,1$ Hz, H-5), 4,00–3,96 (m, 2H, H-2, H-4'), 3,95 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 4,8$ Hz, H-2'), 3,91 (m, 1H, $J = 6,2$ Hz, (CH₃)₂CHO), 3,87 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 4,8$, $J_{3',4'} = 7,1$ Hz, H-3'), 3,73 (dd, 1H, $J_{4',5'a} = 3,0$, $J_{5'a,5'b} = 12,5$ Hz, H-5'a), 3,64 (m, 2H, H-6a, H-6b), 3,63 (dd, 1H, $J_{4',5'b} = 5,5$ Hz, H-5'b), 3,33 (m, 1H, H-4), 2,13 (ddd, 1H, $J_{3ax,4} = 4,0$, $J_{3ax,3ec} = 12,5$, $J_{2,3ax} = 12,8$ Hz, H-3ax), 2,02 (ddd, 1H, $J_{2,3ec} \sim J_{3ec,4} \sim 3,9$ Hz, H-3ec), 1,16, 1,08 (2d, 6H, $J = 6,2$ Hz, (CH₃)₂CHO); RMN-¹³C (125,7 MHz, D₂O): $\delta = 96,0$ (C-1), 89,7 (C-1'), 82,4 (C-4'), 81,6 (C-2'), 75,8 (C-3'), 70,6, 70,5 (C-5, Me₂CHO), 64,1 (C-2), 62,5 (C-6), 60,7 (C-5'), 44,7 (C-4), 33,8 (C-3), 22,3, 20,5 [(CH₃)₂CHO]. Análisis calculado para C₁₄H₂₆O₈S: C, 47,44; H, 7,39; S, 9,06. Encontrado: C, 47,32; H, 7,45; S, 9,23.

2-Propil 3-desoxi-4-*S*-(β-D-galactofuranosil)-4-tio-α-D-xilo-hexopiranósido (116).



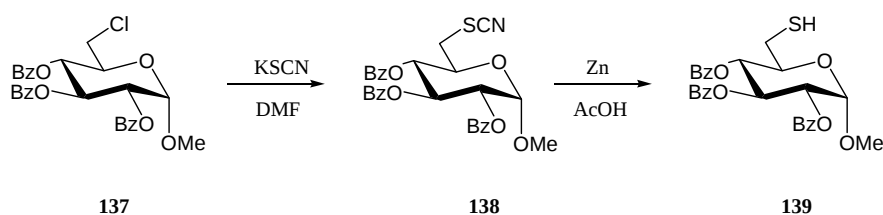
Se suspendió el tiodisacárido **113** (26 mg, 0.03 mmol) en una mezcla de MeOH:Et₃N:H₂O, 3:1:3 (3 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h, cuando la CCD mostró que se había consumido totalmente el compuesto de partida. La mezcla se concentró, co-evaporando con tolueno y el residuo se redisolvió en 1 mL de agua y se eluyó con este mismo solvente (~50 mL) a través de una columna de resina de intercambio iónico Dowex MR-3C mixed bed para eliminar sales. El tiodisacárido **116** (92%) mostró un $R_f = 0,58$ (*n*-

BuOH/EtOH/H₂O, 2,5:1:1); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -83,3$ ($c = 0,8$, MeOH); RMN-¹H (500 MHz, D₂O): $\delta = 5,12$ (d, 1H, $J_{1,2'} = 4,7$ Hz, H-1'), 4,90 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,7$ Hz, H-1), 4,16 (m, 1H, H-5), 4,03 (dd, 1H, $J_{2,3'} = 4,7$, $J_{3',4'} = 7,4$ Hz, H-3'), 4,02 (dt, 1H, $J_{1,2} = 3,7$, $J_{2,3\text{ec}} = 4,6$, $J_{2,3\text{ax}} = 12,0$ Hz, H-2), 3,97 (t, 1H, $J_{1,2'} = J_{2',3'} = 4,7$ Hz, H-2'), 3,94 (m, 1H, $J = 6,2$ Hz, (CH₃)₂CHO), 3,90 (dd, 1H, $J_{4',5'} = 3,6$, $J_{3',4'} = 7,4$ Hz, H-4'), 3,78 (ddd, 1H, $J_{4',5'} = 3,6$, $J_{5',6'a} = 4,6$, $J_{5',6'b} = 7,5$ Hz, H-5'), 3,62 (m, 2H, H-6a, H-6b), 3,61 (dd, 1H, $J_{5',6'a} = 4,6$, $J_{6'a,6'b} = 11,6$ Hz, H-6'a), 3,56 (dd, 1H, $J_{5',6'b} = 7,5$, $J_{6'a,6'b} = 11,6$ Hz, H-6'b), 3,30 (m, 1H, H-4), 2,12 (ddd, 1H, $J_{3\text{ax},4} = 3,7$, $J_{2,3\text{ax}} = 12,0$, $J_{3\text{ax},3\text{ec}} = 13,2$ Hz, H-3ax), 2,03 (dddd, 1H, $J_{3\text{ec},4} = 3,5$, $J_{2,3\text{ec}} = 4,6$, $J_{3\text{ax},3\text{ec}} = 13,2$ Hz, H-3ec), 1,18, 1,11 (2d, 6H, $J = 6,2$ Hz, (CH₃)₂CHO); RMN-¹³C (125,7 MHz, D₂O): $\delta = 96,9$ (C-1), 88,8 (C-1'), 82,4, 82,2 (C-2',4'), 77,1 (C-3'), 71,3, 71,2, 71,1 (C-5,5', Me₂CHO), 64,9 (C-2), 63,7, 63,5 (C-6,6'), 44,3 (C-4), 33,3 (C-3), 23,2, 21,3 [(CH₃)₂CHO]. Análisis calculado para C₁₅H₂₈O₉S.H₂O: C, 44,76; H, 7,51; S, 7,97. Encontrado: C, 45,25; H, 7,92; S, 7,78.

8.4. Síntesis de (1→6) tiodisacáridos mediante reacciones de transtioglicosilación

8.4.1 Síntesis 6-tioazúcares precursores

Metil 2,3,4-tri-*O*-benzoil-6-desoxi-6-tio-glucopiranósido (139)

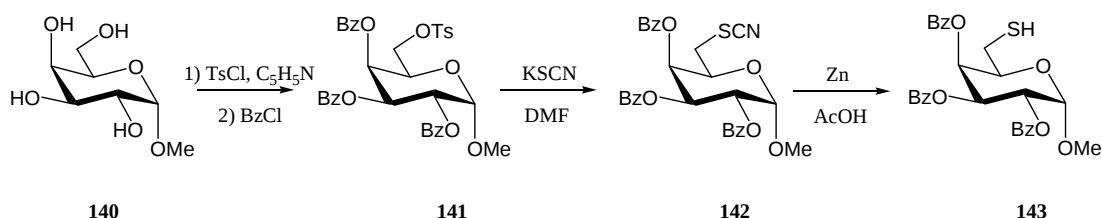


A una solución del metil 2,3,4-tri-*O*-benzoil-6-desoxi-6-cloro- α -D-galactopiranósido³ (**137**, 2,09 g, 3,98 mmol) en DMF (20 mL), se le agregó KSCN (1,48 g, 15,26 mmol) y la mezcla se reflujo a 120 °C durante 24 h. El análisis por CCD (hexano/EtOAc, 2:1) reveló la presencia de un producto con $R_f = 0,49$ y el consumo total del compuesto de partida ($R_f = 0,58$). Se realizó una extracción agua/CH₂Cl₂. La fase orgánica se secó (MgSO₄), filtró y concentró en rotavap para obtener el compuesto **138** que se purificó mediante columna cromatográfica

(hexano/EtOAc 6:1→3:1). El compuesto se identificó como metil 2,3,4-tri-*O*-benzoil-6-desoxi-6-tiociano-glucopiranosido (1,82 g, 84%), en base a datos de literatura.

El compuesto **138** (1,00 g, 1,83 mmol) se disolvió en ácido acético, se le agregó zinc metálico (1,31 g, 20,03 mmol) y se lo reflujo a 120 °C durante 6 h. Se observó mediante CCD la formación de un compuesto de $R_f = 0,66$ (hexano/EtOAc, 2:1) correspondiente a **139**⁴ acompañado por compuesto de partida sin reaccionar (**138**). La reacción se volcó en agua, se extrajo con CH₂Cl₂ y sucesivamente con solución saturada de NaHCO₃ y solución saturada de NaCl. La fase orgánica se secó (MgSO₄) y se evaporó el solvente. El residuo se purificó por columna cromatográfica (hexano/EtOAc 7:1), se recuperó el compuesto de partida para repetir la reacción, la cual continuó resultando incompleta a pesar de ensayar períodos de reacción más prolongados.

Metil 2,3,4-tri-*O*-benzoil-6-desoxi-6-tio- α -D-galactopiranosido (**143**).



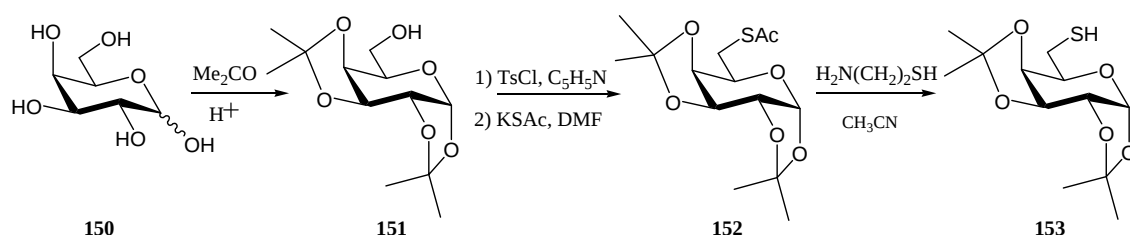
A una suspensión de metil α -D-galactopiranosido (**140**, 1,50 g, 7,73 mmol) en piridina anhidra (15 mL), se le agregó cloruro de tosilo (2,20 g, 11,54 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. Luego se agregó cloruro de benzoílo (4,5 mL, 38,73 mmol) y se mantuvo la agitación por 18 h más. Finalmente la mezcla se volcó en hielo/agua y el análisis por CCD (hexano/EtOAc, 2:1) reveló la presencia de un producto mayoritario con $R_f = 0,44$, junto con uno minoritario con $R_f = 0,59$. Ambos productos se aislaron mediante una columna cromatográfica que se eluyó con mezclas de polaridad creciente de hexano/EtOAc 9:1→3:1. El compuesto menos polar ($R_f = 0,59$) se identificó como metil 2,3,4,6-tetra-*O*-benzoil- α -D-galactopiranosido³⁶ (1,05 g, 22%). De las siguientes fracciones de la

columna se aisló el metil 2,3,4-tri-*O*-benzoil-6-*O*-tosil- α -D-galactopiranosido (**141**, 2,00 g, 39%); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +164,1$ ($c = 0,3$, CHCl_3); RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 8,00\text{--}7,10$ (m, 19H, H-aromáticos), 5,90 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3,5$, $J_{2,3} = 10,3$ Hz, H-3), 5,85 (dd, 1H, $J_{4,5} = 1,1$, $J_{3,4} = 3,5$ Hz, H-4), 5,57 (dd, 1H, $J_{1,2} = 3,6$, $J_{2,3} = 10,3$ Hz, H-2), 5,24 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,6$ Hz, H-1), 4,49 (br t, 1H, $J_{4,5} = 1,1$, $J_{5,6'} = 5,7$, $J_{5,6} = 7,0$ Hz, H-5), 4,24 (dd, 1H, $J_{5,6} = 7,0$, $J_{6,6'} = 10,3$ Hz, H-6), 4,09 (dd, 1H, $J_{6,6'} = 5,7$, $J_{5,6'} = 7,0$, $J_{6,6'} = 10,3$ Hz, H-6'), 3,45 (s, 3H, CH_3O), 2,33 (s, 3H, CH_3Ar); RMN- ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): $\delta = 166,0$, 165,8, 165,3 (PhCO), 127,9 (C-aromáticos), 97,5 (C-1), 69,0, 68,7, 68,1, 67,3, 66,6 (C-2,3,4,5,6), 55,8 (CH_3O), 21,6 (CH_3Ar). Análisis calculado para $\text{C}_{35}\text{H}_{32}\text{O}_{11}\text{S}$: C, 63,63, H, 4,88, S, 4,85. Encontrado: C, 63,25, H, 4,83, S, 4,90.

El compuesto tosilado **141** (340 mg, 0,51 mmol) se disolvió en DMF anhidra (4 mL) y se agregó KSCN (290 mg, 3,00 mmol). La mezcla se refluxó a 120 °C durante 48 h cuando la CCD (tolueno/EtOAc, 17:1) reveló la formación de un producto mayoritario de $R_f = 0,44$. El mismo se aisló por cromatografía en columna con tolueno/EtOAc, 99:1 y se identificó como metil 2,3,4-tri-*O*-benzoil-6-desoxi-6-tiociano- α -D-galactopiranosido (**142**, 160 mg, 55%); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +182,5$ ($c = 1,2$, CHCl_3); RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 8,11\text{--}7,20$ (m, 15H, H-aromáticos), 5,97 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3,4$, $J_{2,3} = 10,6$ Hz, H-3), 5,89 (dd, 1H, $J_{4,5} = 0,9$, $J_{3,4} = 3,4$ Hz, H-4), 5,67 (dd, 1H, $J_{1,2} = 3,5$, $J_{2,3} = 10,6$ Hz, H-2), 5,26 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,5$ Hz, H-1), 4,24 (br t, 1H, $J_{5,6} \sim J_{5,6'} \sim 7,1$ Hz, H-5), 3,48 (s, 3H, CH_3O), 3,13 (d, 2H, $J_{5,6} \sim J_{5,6'} \sim 7,1$ Hz, H-6, H-6'); RMN- ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): $\delta = 166,1$, 165,8, 165,4 (PhCO), 128,3 (C-aromático), 125,3 (SCN), 97,7 (C-1), 70,3, 68,9, 68,1, 67,9 (C-2,3,4,5), 56,1 (CH_3O), 34,6 (C-6). Análisis calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{25}\text{O}_8\text{SN} \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$: C, 60,62; H, 4,91; S, 5,58. Encontrado: C, 60,48; H, 4,90; S, 5,40. El tiociano derivado **142** (700 mg, 1,28 mmol) disuelto en ácido acético glacial (25 mL), se refluxó con Zn (1,67 g, 25,69 mmol) durante 24 h. La mezcla se volcó en agua y se extrajo con CH_2Cl_2 . Se lavó la fase orgánica sucesivamente con solución saturada de NaCO_3H y solución saturada de NaCl; se secó con MgSO_4 y se evaporó el solvente. El jarabe resultante mostró por CCD (tolueno/EtOAc, 17:1) un producto principal de $R_f = 0,49$. Mediante la purificación por columna cromatográfica (tolueno/EtOAc, 99:1) se aisló el compuesto **143** (520 mg, 78%); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +240,7$ ($c = 1,1$, CHCl_3); RMN- ^1H (200

MHz, CDCl_3): $\delta = 8,10\text{--}7,15$ (m, 15H, H-aromáticos), 5,99–5,93 (m, 2H, H-3, H-4), 5,64 (dd, 1H, $J_{1,2} = 3,7$, $J_{2,3} = 10,7$ Hz, H-2), 5,28 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,7$ Hz, H-1), 4,26 (dd, 1H, $J_{5,6'} = 5,8$, $J_{5,6} = 7,9$ Hz, H-5), 3,52 (s, 3H, CH_3O), 2,81 (ddd, 1H, $J_{5,6} \sim J_{6,\text{SH}} = 7,9$, $J_{6,6'} = 14,0$ Hz, H-6), 2,64 (ddd, 1H, $J_{5,6'} = 5,8$, $J_{6',\text{SH}} = 9,5$, $J_{6,6'} = 14,0$ Hz, H-6'), 1,76 (dd, 1H, $J_{6,\text{SH}} = 7,9$, $J_{6',\text{SH}} = 9,5$ Hz, SH); RMN- ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): $\delta = 166,1$, 165,8, 165,5 (PhCO), 133,6–128,3 (C-aromáticos), 97,6 (C-1), 71,0, 70,1, 69,4, 68,6 (C-2,3,4,5), 55,8 (s, 3H, CH_3O), 24,8 (C-6). Análisis calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{O}_8\text{S}$: C, 64,36; H, 5,01; S, 6,13. Encontrado: C, 64,41; H, 5,10; S, 6,18.

1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén-6-desoxi-6-tio- α -D-galactopiranososa (**153**).



Se disolvió galactosa⁵ (**150**, 5 g, 27,78 mmol) en acetona (185 mL) y se agitó a 0 °C. Se agregó a la solución H_2SO_4 cc (5 mL), se removió el baño de agua/hielo y se continuó la agitación a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla de reacción se neutralizó con Na_2CO_3 , se filtró y evaporó el solvente en rotavap. Se obtuvo un jarabe con un $R_f = 0,37$ (hexano/ EtOAc , 1:1) correspondiente al 1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén- α -D-galactopiranososa (**151**).

A una solución de **151** crudo (~13,9 mmol) en piridina (12 mL), se le agregó cloruro de tosilo (3,26 g, 17,10 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. La reacción se volcó en agua y se extrajo con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se secó (MgSO_4), filtró y concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con hexano/ EtOAc , 8:2. Se obtuvo el compuesto tosilado con un rendimiento del 75%. La 1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén-6-tosil- α -D-galactopiranososa (1,00 g, 2,41 mmol) se disolvió en DMF (10 mL), se le agregó KSac (1,10 g, 9,63 mmol) y se agitó a 70 °C durante 24 h. Cumplido este tiempo, se volcó la mezcla en

agua y se extrajo con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se secó, filtró y concentró en rotavap. Se obtuvo el compuesto **152** suficientemente puro para proseguir la reacción. Para ello, se disolvió **152** (910 mg, 2,86 mmol) en acetonitrilo (5 mL) y se le agregó exceso de cisteamina (248 mg, 3,20 mmol). La mezcla se agitó a 65 °C durante 1 h. En ese momento la CCD (hexano/EtOAc, 2:1) reveló el consumo del compuesto de partida ($R_f = 0,63$) y la aparición del producto **153** ($R_f = 0,73$). La mezcla de reacción se concentró y purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con hexano/EtOAc, 9:1.

8.4.2 Procedimiento general para la tioglicosilación de derivados de Gal β , Ara α y Ribof

Método A) *Tioglicosilación de los compuestos **101**, **144** ó **155** promovida por SnCl_4 .*

La furanosa de partida, 1,2,3,5,6-penta-*O*-benzoil- α,β -D-galactofuranosa (**101**), 1,2,3,5-tetra-*O*-acetil- α -L-arabinofuranosa (**144**) ó 1-*O*-acetil-2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil- β -D-galactofuranosa (**155**), se disolvió en CH_2Cl_2 anhidro y se enfrió a 0 °C. a esta solución se agregó SnCl_4 y luego de 10 min se agregó el tioazúcar correspondiente (**139** ó **143**) y la mezcla se mantuvo con agitación a 0 °C. Completada la reacción, la mezcla se extrajo con solución saturada de NaHCO_3 y solución saturada de NaCl. La fase orgánica se secó con MgSO_4 y se evaporó el solvente. El residuo se purificó por columna cromatográfica con la mezcla de solventes especificada en cada caso en particular.

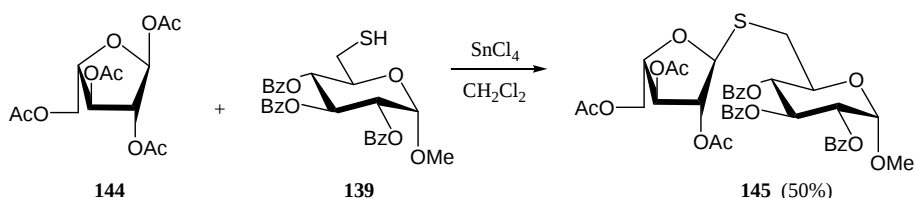
Método B) *Tioglicosilación del compuesto **89**, **144** ó **155** promovida por MoO_2Cl_2 .*

A una solución de MoO_2Cl_2 en CH_2Cl_2 anhidro y atmósfera de argón, se agregó la 1-*O*-acetil-2,3,5-tri-*O*-benzoil- β -D-ribofuranosa (**89**) 1,2,3,5-tetra-*O*-acetil- α -L-arabinofuranosa (**144**) ó 1-*O*-acetil-2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil- β -D-galactofuranosa (**155**), disuelta en CH_2Cl_2 anhidro. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente por 10 min y se agregó la solución del tioazúcar (**139** ó **153**) en CH_2Cl_2 anhidro (0,5 mL). La solución tomó coloración azul y gradualmente fue tornándose marrón. Luego de agitar a temperatura ambiente durante 24 h la reacción se diluyó con

CH_2Cl_2 (20 mL) y se extrajo con solución saturada de NaHCO_3 y solución saturada de NaCl . El extracto orgánico se secó con MgSO_4 y se concentró el solvente. El residuo resultante se purificó por columna cromatográfica con la mezcla de solventes adecuada en cada caso.

Método A)

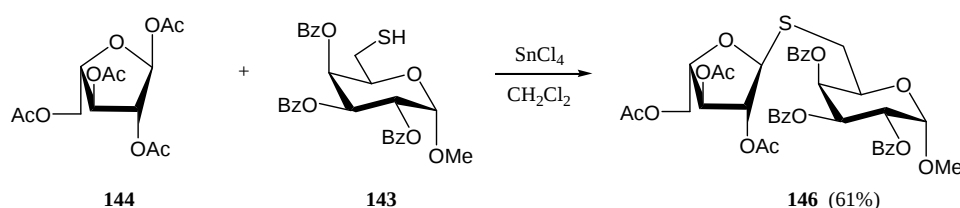
Metil 2,3,4-tri-*O*-benzoil-6-*S*-(2,3,5-tri-*O*-acetil- α -L-arabinofuranosil)-6-tio- α -D-glucopiranosido (145).



Se hizo reaccionar la 1,2,3,5-tetra-*O*-acetil- α -L-arabinofuranosa (**144**, 50 mg, 0,16 mmol) con el compuesto **139** (99 mg, 0,19 mmol) en presencia de SnCl_4 (20 μL , 0,17 mmol) como se describió anteriormente (Método A). La solución se agitó a 0 °C durante 4 h, observándose por CCD (tolueno/ EtOAc , 5:1) un compuesto mayoritario de $R_f = 0,34$. El mismo se purificó por columna cromatográfica (tolueno/ EtOAc , 95:5) y se obtuvo **145** (61 mg, 50%) como un jarabe color amarillo pálido; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -29,3$ ($c = 0,6$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8,00\text{--}7,28$ (m, 15H, H-aromáticos), 6,12 (t, 1H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9,5$ Hz, H-3), 5,61 (s, 1H, $J_{1,2'} < 1$ Hz, H-1'), 5,68 (t, 1H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,7$ Hz, H-4), 5,23 (dd, 1H, $J_{1,2} = 3,6$, $J_{2,3} = 9,5$ Hz, H-2), 5,22 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,6$ Hz, H-1), 5,08 (t, 1H, $J_{1',2'} = J_{2',3'} = 1,7$ Hz, H-2'), 5,02 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 1,7$, $J_{3',4'} = 5,1$ Hz, H-3'), 4,39 (m, 2H, H-4', H-5'a), 4,27 (m, 2H, H-5, H-5'b), 3,52 (s, 3H, CH_3O), 3,00 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 9,7$, $J_{6a,6b} = 14,5$ Hz, H-6a), 2,81 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 2,3$, $J_{6a,6b} = 14,5$ Hz, H-6b), 2,11, 2,09 (2s, 9H, CH_3CO); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 170,6$, 170,0, 169,5 (MeCO), 165,8, 165,7, 165,5 (PhCO), 133,5–128,3 (C-aromáticos), 96,7 (C-1), 88,9 (C-1'), 81,8 (C-2'), 79,7 (C-4'), 77,3 (C-3'), 72,4 (C-4), 72,1 (C-2), 71,2 (C-5), 70,1 (C-3), 62,9 (C-5'), 55,5 (CH_3O), 31,7

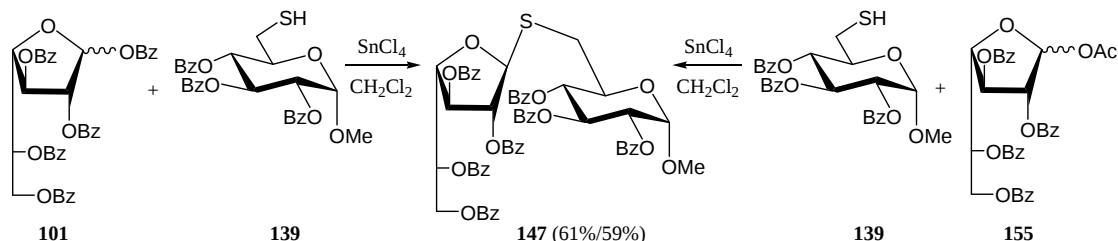
(C-6), 20,8, 20,7 (CH_3CO). Análisis calculado para $\text{C}_{39}\text{H}_{40}\text{O}_{15}\text{S}$: C, 59,97; H, 5,17. Encontrado: C, 60,07; H, 5,44.

Metil 2,3,4-tri-*O*-benzoil-6-*S*-(2,3,5-tri-*O*-acetil- α -L-arabinofuranosil)-6-tio- α -D-galactopiranosido (146).



La 1,2,3,5-tetra-*O*-acetil- α -L-arabinofuranosa (**144**, 50 mg, 0,16 mmol) y el compuesto **143** (99 mg, 0,19 mmol) reaccionaron en presencia de SnCl_4 (20 μL , 0,17 mmol, Método A). Mediante la purificación por columna cromatográfica (tolueno/ EtOAc , 95:5) se obtuvo el tiodisacárido **146** (75 mg, 61%) como un jarabe; $R_f = 0,33$ (tolueno/ EtOAc , 5:1); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +67,5$ ($c = 0,4$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8,10\text{--}7,15$ (m, 15H, H-aromáticos), 5,94 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3,5$, $J_{2,3} = 10,6$ Hz, H-3), 5,90 (dd, 1H, $J_{4,5} = 0,7$, $J_{3,4} = 3,5$ Hz, H-4), 5,62 (dd, 1H, $J_{1,2} = 3,6$, $J_{2,3} = 10,6$ Hz, H-2), 5,52 (br s, 1H, H-1'), 5,28 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,6$ Hz, H-1), 5,09 (t, 1H, $J_{1',2'} = J_{2',3'} = 1,6$ Hz, H-2'), 5,03 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 1,6$, $J_{3',4'} = 5,4$ Hz, H-3'), 4,41 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 0,7$, $J_{5,6b} = 4,2$, $J_{5,6a} = 9,2$ Hz, H-5), 4,34 (ddd, 1H, $J_{4',5'a} = 3,4$, $J_{3',4'} = 5,4$, $J_{4',5'b} = 6,1$ Hz, H-4'), 4,32 (dd, 1H, $J_{4',5'a} = 3,4$, $J_{5'a,5'b} = 12,6$ Hz, H-5'a), 4,24 (dd, 1H, $J_{4',5'b} = 6,1$, $J_{5'a,5'b} = 12,6$ Hz, H-5'b), 3,51 (s, 3H, CH_3O), 3,04 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 9,2$, $J_{6a,6b} = 14,1$ Hz, H-6a), 2,74 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 4,2$, $J_{6a,6b} = 14,1$ Hz, H-6b), 2,10, 2,09, 2,07 (3s, 9H, CH_3CO); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 170,5$, 170,0, 169,5 (MeCO), 166,1, 165,7, 165,5 (PhCO), 133,5–128,2 (C-aromáticos), 97,4 (C-1), 88,7 (C-1'), 81,7 (C-2'), 79,7 (C-4'), 77,2 (C-3'), 70,7 (C-4), 70,0 (C-5), 69,3 (C-2), 68,4 (C-3), 62,7 (C-5'), 55,7 (CH_3O), 31,1 (C-6), 20,7 (CH_3CO). Análisis calculado para $\text{C}_{39}\text{H}_{40}\text{O}_{15}\text{S}$: C, 59,97; H, 5,17. Encontrado: C, 60,10; H, 5,19.

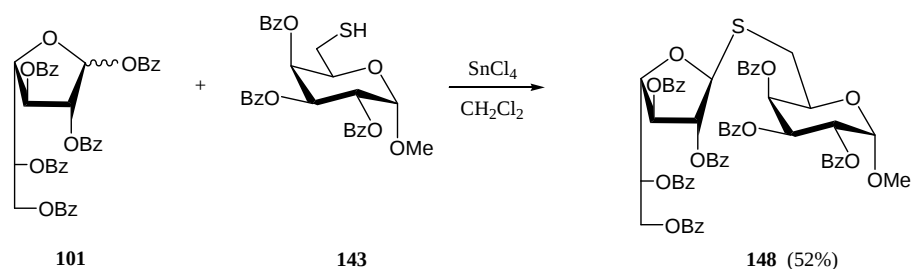
Metil 2,3,4-tri-*O*-benzoil-6-*S*-(2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil- β -D-galactofuranosil)-6-tio- α -D-glucopiranosido (147).



Se siguió el “Método A” (procedimiento de tioglicosilación promovido por SnCl_4), a partir del compuesto **101** (60 mg, 0,09 mmol). Éste se disolvió en CH_2Cl_2 anhidro (1 mL) y se le agregó SnCl_4 (12 μL , 0,10 mmol). Luego de agregar el metil 2,3,4-tri-*O*-benzoil-6-tio- α -D-glucopiranosido **139** (54 mg, 0,10 mmol) la mezcla se agitó a 0 °C por 4 h. A continuación se procedió de la forma indicada en el procedimiento general. Se llevó a cabo la purificación del producto de $R_f = 0.59$ (tolueno/EtOAc, 10:1) a través de una columna cromatográfica eluyendo con tolueno/EtOAc, 98:2, para dar el tiodisacárido **147** (58 mg, 61%); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -14,7$ ($c = 1,1$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8,12\text{--}7,27$ (m, 35H, H-aromáticos), 6,12 (t, 1H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9,8$ Hz, H-3), 6,08 (ddd, 1H, $J_{4',5'} \sim J_{5',6'a} = 4,0$, $J_{5',6'b} = 6,9$ Hz, H-5'), 5,93 (br s, 1H, $J_{1',2'} < 1$ Hz, H-1'), 5,68 (dt, 1H, $J_{2',3'} = 1,1$, $J_{3',4'} = 5,0$ Hz, H-3'), 5,46 (d, 1H, $J_{2',3'} = 1,1$ Hz, H-2'), 5,44 (t, 1H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,8$ Hz, H-4), 5,22 (dd, 1H, $J_{1,2} = 3,6$, $J_{2,3} = 9,8$ Hz, H-2), 5,19 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,6$ Hz, H-1), 4,82 (dd, 1H, $J_{4',5'} = 4,0$, $J_{3',4'} = 5,0$ Hz, H-4'), 4,77 (dd, 1H, $J_{5',6'a} = 4,4$, $J_{6'a,6'b} = 11,9$ Hz, H-6'a), 4,74 (dd, 1H, $J_{5',6'b} = 6,9$, $J_{6'a,6'b} = 11,9$ Hz, H-6'b), 4,31 (ddd, 1H, $J_{5,6b} = 2,2$, $J_{4,5} = J_{5,6a} = 9,8$ Hz, H-5), 3,49 (s, 3H, CH_3O), 3,07 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 9,8$, $J_{6a,6b} = 14,6$ Hz, H-6a), 2,85 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 2,2$, $J_{6a,6b} = 14,6$ Hz, H-6b); RMN- ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): $\delta = 165,7(\times 2)$, 165,6, 165,4 ($\times 2$), 165,3 ($\times 2$) (PhCO), 133,6–128,3 (C-aromáticos), 96,6 (C-1), 89,2 (C-1'), 82,6 (C-2'), 81,3 (C-4'), 77,8 (C-3'), 72,3 (C-4), 72,1 (C-2), 71,5 (C-5), 70,2 ($\times 2$, C-3,5'), 63,4 (C-6'), 55,5 (CH_3O), 31,3 (C-6). Análisis calculado para $\text{C}_{62}\text{H}_{52}\text{O}_{17}\text{S}$: C, 67,61; H, 4,76; S, 2,91. Encontrado: C, 67,27; H, 4,83; S, 2,55.

El mismo procedimiento (Método A) se aplicó a la reacción de la 1-*O*-acetil-2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil- β -D-galactofuranosa (**155**, 60 mg, 0,09 mmol) con **139** (59 mg, 0.11 mmol), para obtener **147** (61 mg, 59%).

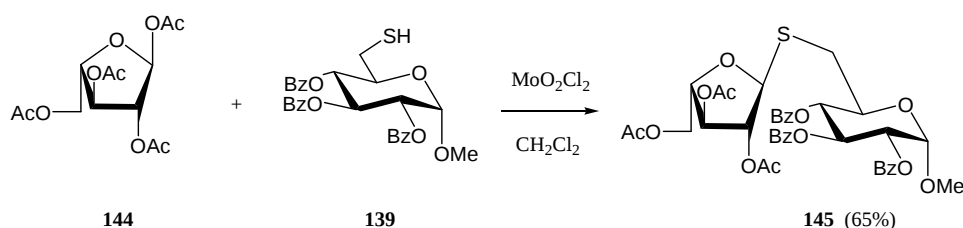
Metil 2,3,4-tri-*O*-benzoil-6-*S*-(2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil- β -D-galactofuranosil)-6-tio- α -D-galactopiranosido (148**).**



A partir del compuesto **101** (79 mg, 0,11 mmol), SnCl_4 (16 μL , 0,13 mmol) y el compuesto **143** (71 mg, 0,14 mmol), se llevó a cabo el proceso de tioglicosilación promovido por SnCl_4 (Método A), agitando la mezcla en CH_2Cl_2 anhidro, a 0 °C durante 3,5 h. Luego de purificar por columna cromatográfica (tolueno/EtOAc, 98:2) se obtuvo el tiodisacárido **148** (65 mg, 52%); $R_f = 0,52$ (tolueno/EtOAc, 10:1); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +65,0$ ($c = 0,4$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8,13\text{--}7,22$ (m, 35H, H-aromáticos), 6,03 (ddd, 1H, $J_{4',5'} = J_{5',6'a} = 4,3$, $J_{5',6'b} = 6,8$ Hz, H-5'), 5,95 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3,4$, $J_{2,3} = 10,7$ Hz, H-3), 5,89 (bd, 1H, $J_{4,5} < 1$, $J_{3,4} = 3,4$ Hz, H-4), 5,89 (br s, 1H, $J_{1',2'} < 1$ Hz, H-1'), 5,70 (d, 1H, $J_{3',4'} = 5,0$ Hz, H-3'), 5,62 (dd, 1H, $J_{1,2} = 3,6$, $J_{2,3} = 10,6$ Hz, H-2), 5,48 (br s, 1H, $J_{1',2'} \sim J_{2',3'} < 1,0$ Hz, H-2'), 5,27 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,6$ Hz, H-1), 4,79 (t, 1H, $J_{4',5'} = 4,3$, $J_{3',4'} = 5,0$ Hz, H-4'), 4,71 (dd, 1H, $J_{5',6'a} = 4,5$, $J_{6'a,6'b} = 11,8$ Hz, H-6'a), 4,67 (dd, 1H, $J_{5',6'b} = 7,0$, $J_{6'a,6'b} = 11,8$ Hz, H-6'b), 4,46 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 3,5$, $J_{5,6a} = 9,5$ Hz, H-5), 3,50 (s, 3H, CH_3O), 3,12 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 9,5$, $J_{6a,6b} = 14,3$ Hz, H-6a), 2,76 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 3,8$, $J_{6a,6b} = 14,3$ Hz, H-6b); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 166,1$, 165,9, 165,7 ($\times 2$), 165,5 ($\times 2$), 165,3 (PhCO), 133,6–128,2 (C-aromáticos), 97,4 (C-1), 89,0 (C-1'), 82,6 (C-2'), 81,3 (C-4'), 77,7 (C-3'), 70,8 (C-4), 70,4 (C-5), 70,2 (C-5'), 69,3 (C-2), 68,5 (C-3), 63,2 (C-6'), 55,7 (CH_3O), 30,7 (C-6). Análisis calculado para $\text{C}_{62}\text{H}_{52}\text{O}_{17}\text{S}$: C, 67,61; H, 4,76; S, 2,91. Encontrado: C, 67,36; H, 4,76; S, 2,63.

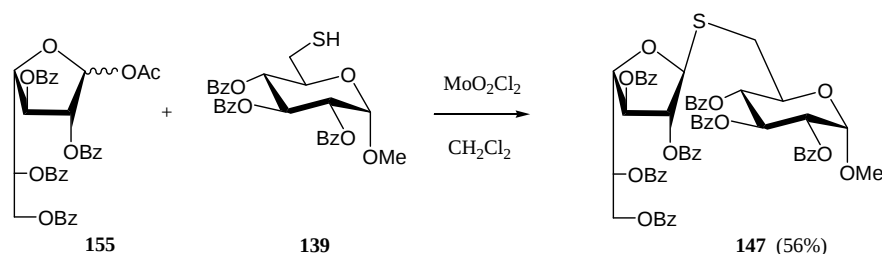
Método B)

Metil 2,3,4-tri-*O*-benzoil-6-*S*-(2,3,5-tri-*O*-acetil- α -L-arabinofuranosil)-6-tio- α -D-glucopiranosido (**145**).



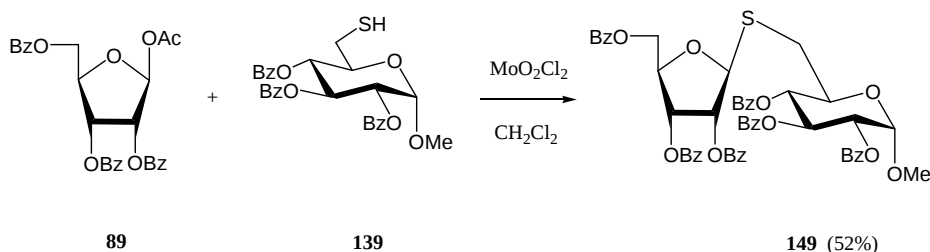
En forma alternativa, **145** (94 mg, 65%) se obtuvo a través del Método B a partir de **144** (100 mg, 0,31 mmol), **139** (97 mg, 0,19 mmol) y MoO_2Cl_2 (3,8 mg, 0,02 mmol).

Metil 2,3,4-tri-*O*-benzoil-6-*S*-(2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil- β -D-galactofuranosil)-6-tio- α -D-glucopiranosido (**147**).



En forma alternativa, el tiodisacárido **147** se sintetizó utilizando MoO_2Cl_2 como catalizador (Método B). A una solución de MoO_2Cl_2 (1,2 mg, 0,01 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (0,2 mL) en atmósfera de argón, se le agregó una solución del compuesto **155** (55 mg, 0,09 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (0,5 mL). La mezcla se agitó durante 10 min a temperatura ambiente y se le agregó el metil 2,3,4-tri-*O*-benzoil-6-tio- α -D-glucopiranosido (**139**, 24 mg, 0,05 mmol) disuelto en 0,5 mL de CH_2Cl_2 anhidro. Luego del procedimiento habitual para cortar la reacción y purificar la mezcla, se obtuvo el tiodisacárido **147** (28 mg, 56%). Este producto resultó idéntico al descrito anteriormente.

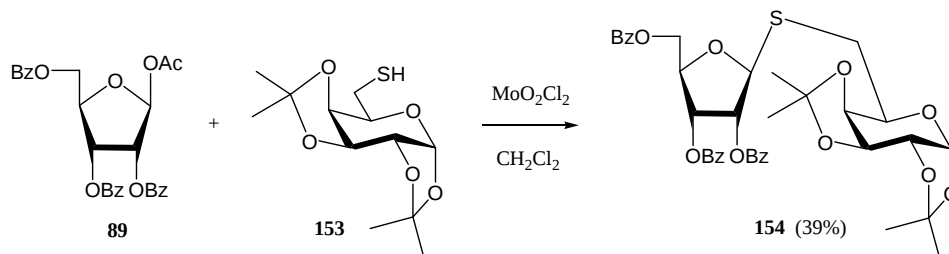
Metil 2,3,4-tri-*O*-benzoil-6-*S*-(2,3,5-tri-*O*-benzoil- β -D-ribofuranosil)-6-tio- α -D-glucopiranosido (149).



A una solución de MoO_2Cl_2 (0,9 mg, 0,01 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (0,1 mL) se le adicionó una solución del compuesto **89** (45 mg, 0,09 mmol) en el mismo solvente (0,3 mL) de acuerdo al método B. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 10 min, bajo atmósfera de argón. A dicha mezcla se le incorporó el metil 2,3,4-tri-*O*-benzoil-6-tio-D-glucopiranosido (**139**, 70 mg, 0,13 mmol) disuelto también en CH_2Cl_2 anhidro (0,2 mL). Luego de 2 h de agitación, la CCD (tolueno/EtOAc, 9:1) mostró la presencia de un producto principal de $R_f = 0,56$. Finalmente, el residuo se purificó por columna cromatográfica (tolueno/EtOAc, 95:5).

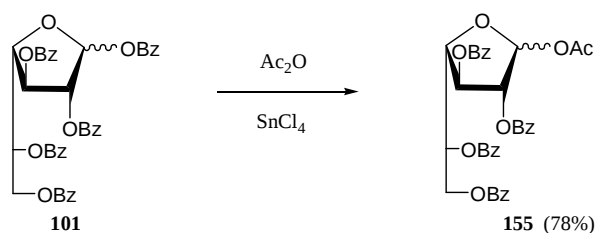
Se obtuvo así el compuesto **149** (45 mg, 52%) como un jarabe; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +22,6$ ($c = 0,8$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8,09\text{--}7,28$ (m, 15H, H-aromáticos), 6,11 (t, 1H, $J_{2,3} \sim J_{3,4} = 10$ Hz, H-3), 5,87 (t, 1H, $J_{2',3'} \sim J_{3',4'} = 5,5$ Hz, H-3'), 5,73 (dd, 1H, $J_{1',2'} = 3,3$ Hz, H-2'), 5,70 (d, 1H, H-1'), 5,45 (t, 1H, $J_{4,5} = 9,8$ Hz, H-4), 5,23 (dd, 1H, $J_{1,2} = 3,6$ Hz, H-2), 5,19 (d, 1H, H-1), 4,70 (m, 2H, H-4', H-5'a), 4,54 (dd, 1H, $J_{4',5'b} = 5,5$, $J_{5'a,5'b} = 12,9$ Hz, H-5'b), 4,26 (ddd, 1H, $J_{5,6a} = 9,5$, $J_{5,6b} = 2,2$ Hz, H-5), 3,45 (s, 3H, CH_3O), 3,06 (dd, 1H, $J_{6a,6b} = 14,4$ Hz, H-6a), 2,91 (dd, 1H, H-6b); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 166,1$, 165,8, 165,3 (PhCO), 133,5–128,2 (C-aromáticos), 96,7 (C-1), 86,9 (C-1'), 79,9 (C-4'), 75,7 (C-2'), 72,5 (C-3'), 72,2 (C-4), 72,1 (C-2), 70,8 (C-5), 70,3 (C-3), 64,0 (C-5'), 55,6 (CH_3O), 31,6 (C-6). Análisis calculado para $\text{C}_{54}\text{H}_{46}\text{O}_{15}\text{S}$: C, 67,07; H, 4,79; S, 3,31. Encontrado: C, 66,89; H, 4,89; S, 3,25.

1,2:3,4-Di-*O*-isopropilidén-6-*S*-(2,3,5-tri-*O*-benzoil- β -D-ribofuranosil)-6-tio- α -D-galactopiranososa (154).



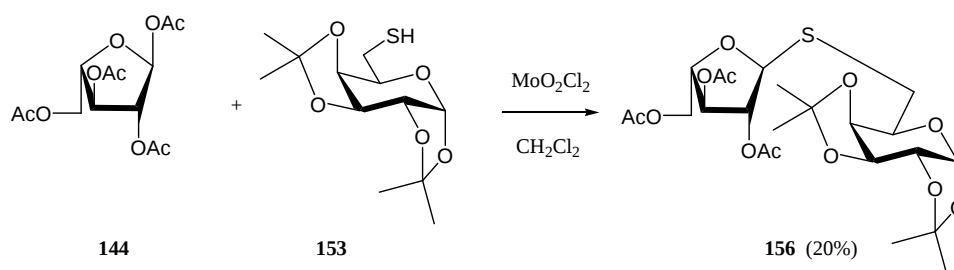
Se partió del compuesto **89** (95 mg, 0,19 mmol) y de 1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén-6-tio-D-galactosa (**153**, 78 mg, 0,28 mmol) y se siguió el procedimiento descrito anteriormente para el compuesto **149**. Luego de purificar a través de una columna cromatográfica (tolueno/EtOAc, 97:3) se obtuvo el tiodisacárido **154** (53 mg, 39%); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -48,5$ ($c = 0,9$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8,10\text{--}7,16$ (m, 15H, H-aromáticos), 5,90 (dd, 1H, $J_{2',3'} \sim J_{3',4'} = 5,3$ Hz, H-3'), 5,71 (dd, 1H, $J_{1',2'} = 3,9$, $J_{2',3'} = 5,3$ Hz, H-2'), 5,61 (d, 1H, H-1'), 5,52 (d, 1H, $J_{1,2} = 5,0$ Hz, H-1), 4,69 (dd, 1H, $J_{4'5'a} = 3,8$, $J_{5'a,5'b} = 11,1$ Hz, H-5'a), 4,66 (ddd, 1H, $J_{4',5'b} = 4,1$ Hz, H-4'), 4,61 (dd, 1H, H-5'b), 4,58 (dd, 1H, $J_{2,3} = 2,5$, $J_{3,4} = 7,8$ Hz, H-3), 4,31–4,38 (m, 2H, H-2, H-4), 3,95 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 1,4$ Hz, H-5), 3,07 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 7,3$, $J_{6a,6b} = 13,7$ Hz, H-6a), 2,90 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 6,2$ Hz, H-6b), 1,49, 1,43, 1,31, 1,30 (4s, 12H, $2 \times (\text{CH}_3)_2\text{C}$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 166,2$, 165,2, 165,1 (PhCO), 133,4–128,3 (C-aromáticos), 109,3, 108,6 [$(\text{CH}_3)_2\text{C}$], 96,5 (C-1), 86,3 (C-1'), 80,0 (C-4'), 75,7 (C-2'), 72,6 (C-3'), 71,5, 70,5 (C-2, C-4), 70,8 (C-3), 68,4 (C-5), 64,5 (C-5'), 30,5 (C-6), 26,0, 25,9, 24,9, 24,4 ($4 \times (\text{CH}_3)_2\text{C}$). Análisis calculado para $\text{C}_{38}\text{H}_{40}\text{O}_{12}\text{S}$: C, 63,32; H, 5,59; S, 4,45. Encontrado: C, 63,15; H, 5,66; S, 4,37.

1-*O*-Acetil-2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil- β -D-galactofuranósido (155).



La 1,2,3,5,6-penta-*O*-benzoil- α,β -D-galactofuranosa (**101**, 460 mg, 0,66 mmol) se disolvió en Cl_2CH_2 anhidro (11 mL). Se enfrió la solución a 0 °C y se agregó a la misma SnCl_4 (92 μL , 0,77 mmol) y luego de agitar por 10 min, se agregó también anhídrido acético (136 μL , 1,44 mmol). Se continuó la agitación a 0 °C por 6 h, cuando la CCD (tolueno/EtOAc, 9:1) mostró la conversión del compuesto de partida en **155** ($R_f = 0,48$). Se diluyó la solución con Cl_2CH_2 , y se extrajo con solución saturada de NaHCO_3 (3×20 mL) y solución saturada de NaCl. Se secó el extracto orgánico con MgSO_4 y se evaporó el solvente. El residuo se purificó mediante una columna cromatográfica (tolueno/EtOAc, 98:2) para obtener el compuesto **155** como un aceite incoloro (290 mg, 78%), que recrystalizó de EtOH; pf 115 °C; $[\alpha]_D^{20} = -5,7$ ($c = 0,9$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8,07$ – $7,28$ (m, 20H, H-aromáticos), 6,52 (br s, 1H, H-1), 6,08 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 3,6$, $J_{5,6a} = 4,0$, $J_{5,6b} = 7,3$ Hz, H-5), 5,71 (dd, 1H, $J_{2,3} = 1,0$, $J_{3,4} = 4,4$ Hz, H-3), 5,60 (d, 1H, $J_{2,3} = 1,0$ Hz, H-2), 4,80 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 4,0$, $J_{6a,6b} = 12,0$ Hz, H-6a), 4,79 (dd, 1H, $J_{4,5} = 3,6$, $J_{3,4} = 4,4$ Hz, H-4), 4,72 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 7,3$, $J_{6a,6b'} = 12,0$ Hz, H-6b), 2,19 (s, 3H, CH_3CO); RMN- ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): $\delta = 169,0$ (MeCO), 166,0, 165,7, 165,5, 165,2 (PhCO), 133,7–128,2 (C-aromáticos), 99,4 (C-1), 83,6 (C-4), 81,3 (C-2), 77,4 (C-3), 76,1 (C-5), 63,5 (C-6), 21,0 (CH_3CO). Análisis calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{30}\text{O}_{11}$: C, 67,71; H, 4,73. Encontrado: C, 67,78; H, 4,55.

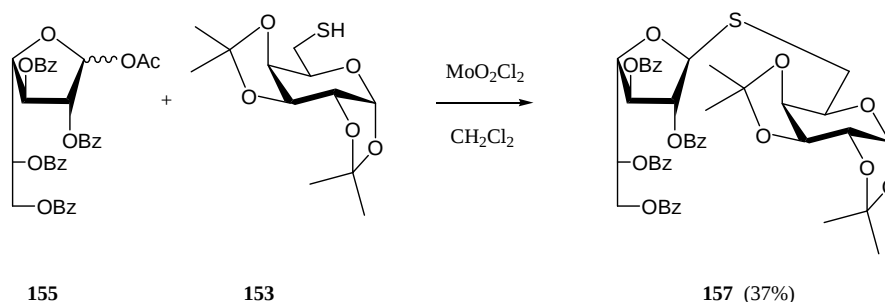
1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén-6-*S*-(2,3,5 -tri-*O*-acetil- α -L-arabinofuranosil)-6-tio- α -D-galactopiranosil (156).



Se siguió el método B: A una solución de MoO_2Cl_2 (1,4 mg, 0,01 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (0,5 mL) se le agregó el compuesto **144** (80 mg, 0,28 mmol) también disuelto en el mismo solvente (0,5 mL) y luego el compuesto **153** (47 mg, 0,17

mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. Por CCD (tolueno/MeOH, 5:1) se observó un producto principal de $R_f = 0,60$. La mezcla de reacción se sometió a una cromatografía en columna utilizando hexano/EtOAc 6:1→3:1, pero no se logró purificar completamente el producto. Por ello las fracciones impuras se repurificaron por cromatografía en columna eluyendo ahora con tolueno/EtOAc, 9:1. Se obtuvo así el tiodisacárido **156** (18 mg, 20%) $[\alpha]_D^{20} = -105,5$ ($c = 0,6$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 5,52$ (d, 1H, $J_{1,2} = 5,0$ Hz, H-1), 5,42 (d, 1H, $J_{1',2'} = 2,0$ Hz, H-1'), 5,16 (t, 1H, $J_{1',2'} = J_{2',3'} = 2,0$ Hz, H-2'), 5,03 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 2,0$, $J_{3',4'} = 4,9$ Hz, H-3'), 4,62 (dd, 1H, $J_{2,3} = 2,4$, $J_{3,4} = 7,9$ Hz, H-3), 4,39 (ddd, 1H, $J_{4',5'a} = 3,6$, $J_{3',4'} = 4,9$, $J_{4',5'b} = 6,4$ Hz, H-4'), 4,37 (dd, 1H, $J_{4',5'a} = 3,6$, $J_{5'a,5'b} = 12,8$ Hz, H-5'a), 4,31 (dd, 1H, $J_{4,5} = 1,8$, $J_{3,4} = 7,9$ Hz, H-4), 4,30 (dd, 1H, $J_{2,3} = 2,4$, $J_{1,2} = 5,0$ Hz, H-2), 4,27 (dd, 1H, $J_{4',5'b} = 6,4$, $J_{5'a,5'b} = 12,8$ Hz, H-5'b), 3,93 (m, 1H, $J_{4,5} = 1,8$, $J_{5,6b} = 6,0$, $J_{5,6a} = 7,6$ Hz, H-5), 2,99 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 7,6$, $J_{6a,6b} = 13,8$ Hz, H-6a), 2,81 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 6,1$, $J_{6a,6b} = 13,8$ Hz, H-6b); 2,11, 2,10 (2s, 9H, CH_3CO) 1,53, 1,45, 1,34, 1,33 (4s, 12H, $2 \times (\text{CH}_3)_2\text{C}$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 170,6$, 170,0, 169,5 (MeCO), 109,3, 108,6 (Me $_2\text{C}$), 96,5 (C-1), 88,2 (C-1'), 81,8 (C-2'), 79,7 (C-4'), 77,3 (C-3'), 71,7, 70,8, 70,4 (C-2, 3, 4), 68,2 (C-5), 62,8 (C-5'), 30,9 (C-6), 26,0 ($\times 2$), 24,9, 24,4 ($4 \times (\text{CH}_3)_2\text{C}$), 20,7 (CH_3CO). Análisis calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_{12}\text{S}$: C, 51,68; H, 6,41. Encontrado: C, 51,82; H, 6,57. HRMS m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_{12}\text{S} + \text{Na}$: 557,16632; Encontrado: 557,16794.

1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén-6-*S*-(2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil- β -D-galactofuranosil)-6-tio- α -D-galactopiranososa (157).

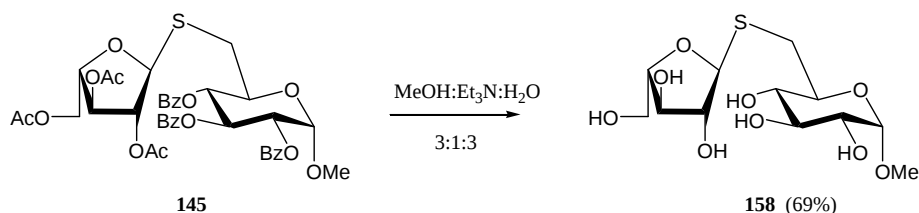


Se siguió el procedimiento en el cual el catalizador utilizado es el MoO_2Cl_2 (Método B). Se partió de una solución del compuesto **155** (160 mg, 0,25 mmol), MoO_2Cl_2

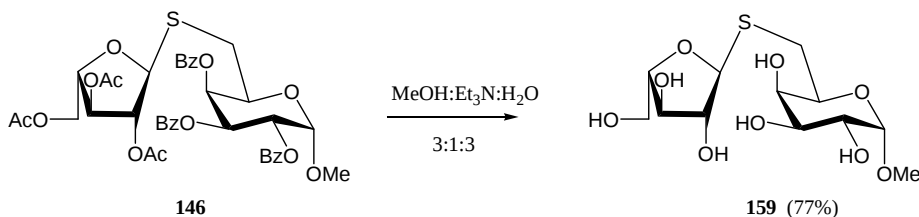
(2,7 mg, 0,01 mmol) y **153** (35 mg, 0,13 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (1,2 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. Se observó mediante CCD un producto principal de R_f = 0,48 (tolueno/EtOAc, 7:1), el cual se purificó por cromatografía en columna (tolueno/EtOAc, 97:3) para dar el tiodisacárido **157** (40 mg, 37%); $[\alpha]_D^{20} = -73,5$ ($c = 0,9$, CHCl₃); RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 8,10\text{--}7,10$ (m, 15H, H-aromáticos), 6,09 (ddd, 1H, $J_{5',6'a} = 4,2$, $J_{4',5'} = 4,8$, $J_{5',6'b} = 7,3$ Hz, H-5'), 5,75 (t, 1H, $J_{1',3'} = 0,8$, $J_{1',2'} = 1,5$ Hz, H-1'), 5,67 (dddd, 1H, $J_{1',3'} = 0,8$, $J_{2',3'} = 1,5$, $J_{3',4'} = 4,8$ Hz, H-3'), 5,55 (t, 1H, $J_{1',2'} = J_{2',3'} = 1,5$ Hz, H-2'), 5,52 (d, 1H, $J_{1,2} = 5,0$ Hz, H-1), 4,81 (t, 1H, $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 4,8$ Hz, H-4'), 4,78 (dd, 1H, $J_{5',6'a} = 4,2$, $J_{6'a,6'b} = 11,9$ Hz, H-6'a), 4,72 (dd, 1H, $J_{5',6'b} = 7,3$, $J_{6'a,6'b} = 11,9$ Hz, H-6'b), 4,60 (dd, $J_{2,3} = 2,4$, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, H-3), 4,30 (m, 2H, H-2, H-4), 3,97 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 1,7$, $J_{5,6b} = 6,3$, $J_{5,6a} = 7,5$ Hz, H-5), 3,06 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 7,5$, $J_{6a,6b} = 13,7$ Hz, H-6a), 2,89 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 6,3$, $J_{6a,6b} = 13,7$ Hz, H-6b), 1,49, 1,44, 1,32, 1,29 (4s, 12H, $2 \times (CH_3)_2C$); RMN-¹³C (125,7 MHz, CDCl₃): $\delta = 166,0$, 165,7, 165,5, 165,3 (PhCO), 133,5–128,3 (C-aromáticos), 109,4, 108,6 (Me₂C), 96,5 (C-1), 88,4 (C-1'), 82,6 (C-2'), 81,5 (C-4'), 77,9 (C-3'), 71,7, 70,5 (C-2,4), 70,8 (C-3), 70,3 (C-5'), 68,3 (C-5), 63,5 (C-6'), 30,5 (C-6), 26,0, 25,9, 24,9, 24,5 ($4 \times (CH_3)_2C$). Análisis calculado para C₄₆H₄₆O₁₄S: C, 64,61; H, 5,43. Encontrado: C, 64,94; H, 5,33.

8.4.3 Desacilación de los tiodisacáridos **145**, **146**, **147**, **148**, **154** y **157**. Procedimiento general

El derivado *O*-acilado de cada tiodisacárido se suspendió en una mezcla de MeOH:Et₃N:H₂O, 3:1:3, la cual se agitó a temperatura ambiente, hasta que la CCD (*n*-BuOH/EtOH/H₂O, 2,5:1:1) mostró el consumo total del compuesto de partida. Se evaporó el solvente y se eluyó a través de una columna rellena con resina de intercambio iónico (Dowex MR-3C mixed bed). El eluato se concentró y, según el caso, se purificó mediante una mini columna octadecil C18. Se colectaron las fracciones según CCD en *n*-BuOH/EtOH/H₂O, 2,5:1:1 o MeOH y se concentraron para obtener así el tiodisacárido libre correspondiente.

Metil 6-*S*-(α -L-arabinofuranosil)-6-tio- α -D-glucopiranosido (158).

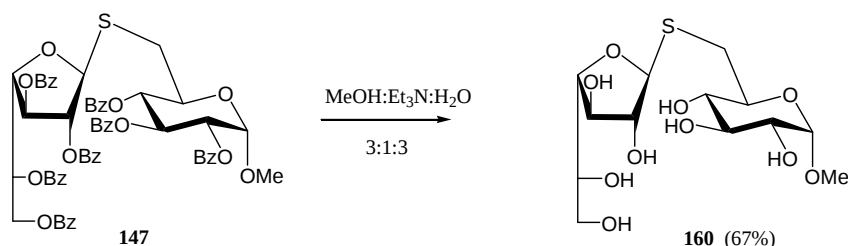
La eliminación de los grupos protectores de **145** (64 mg, 0,08 mmol) se realizó mediante el mismo procedimiento general, para dar el tiodisacárido libre **158** (19 mg, 69%); $R_f = 0,57$ (*n*-BuOH/EtOH/H₂O, 2,5:1:1); $[\alpha]_D^{20} = -13,2$ ($c = 1,0$, H₂O); RMN-¹H (500 MHz, D₂O): $\delta = 5,17$ (d, 1H, $J_{1,2'} = 4,8$ Hz, H-1'), 4,70 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,7$ Hz, H-1), 3,96 (t, 1H, $J_{1,2'} = J_{2,3'} = 4,8$ Hz, H-2'), 3,95 (m, 1H, H-4'), 3,89 (dd, 1H, $J_{2,3'} = 4,8$, $J_{3',4'} = 7,2$ Hz, H-3'), 3,73 (dd, 1H, $J_{4',5'a} = 2,9$, $J_{5'a,5'b} = 12,4$ Hz, H-5'a), 3,71 (m, 1H, H-5), 3,63 (dd, 1H, $J_{4',5'b} = 5,3$, $J_{5'a,5'b} = 12,5$ Hz, H-5'b), 3,53 (t, 1H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9,5$ Hz, H-3), 3,48 (dd, 1H, $J_{1,2} = 3,7$, $J_{2,3} = 9,5$ Hz, H-2), 3,36 (s, 3H, CH₃O), 3,23 (t, 1H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,5$ Hz, H-4), 3,08 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 2,0$, $J_{6a,6b} = 14,2$ Hz, H-6a), 2,78 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 8,8$, $J_{6a,6b} = 14,2$ Hz, H-6b); RMN-¹³C (125,7 MHz, D₂O): $\delta = 99,2$ (C-1), 89,4 (C-1'), 82,2, 81,4 (C-2',4'), 75,8 (C-3'), 72,9 (C-3), 72,7 (C-4), 71,8 (C-5), 71,2 (C-2), 60,6 (C-5'), 55,1 (CH₃O), 32,9 (C-6). Análisis calculado para C₁₂H₂₂O₉S·0,5H₂O: C, 41,00; H, 6,60. Encontrado: C, 41,36; H, 6,86.

Metil 6-*S*-(α -L-arabinofuranosil)-6-tio- α -D-galactopiranosido (159).

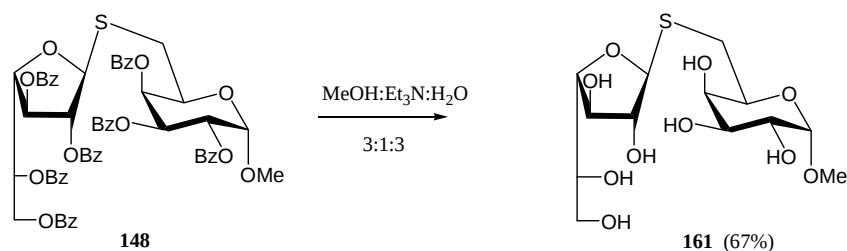
Mediante la *O*-desacilación de **146** (113 mg, 0,14 mmol) por el procedimiento general se obtuvo el tiodisacárido **159** (37 mg, 77%); $R_f = 0,79$ (MeOH); $[\alpha]_D^{20} = -44,4$ ($c = 0,9$, MeOH); RMN-¹H (500 MHz, D₂O): $\delta = 5,16$ (d, 1H, $J_{1,2'} = 4,8$ Hz, H-1'), 4,72 (d, 1H, H-1), 3,97 (ddd, 1H, $J_{4',5'a} = 3,0$, $J_{4',5'b} = 5,3$, $J_{3',4'} = 7,3$ Hz, H-4'), 3,96 (t, 1H, $J_{1,2'} = J_{2,3'} = 4,8$ Hz, H-2'), 3,93 (bdd, 1H, $J_{5,6b} = 4,5$, $J_{5,6a} = 9,0$ Hz, H-5), 3,91 (br s, 1H, H-4), 3,90 (dd, 1H, $J_{2,3'} = 4,8$, $J_{3',4'} = 7,3$ Hz, H-3'), 3,73 (dd, 1H, $J_{4',5'a} = 3,0$, $J_{5'a,5'b} = 12,6$ Hz, H-5'a), 3,72 (m, 2H, H-2, H-3), 3,64 (dd, 1H, $J_{4',5'b} = 5,3$, $J_{5'a,5'b} =$

12,6 Hz, H-5'b), 3,35 (s, 3H, CH₃O), 2,92 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 9,0$, $J_{6a,6b} = 14,0$ Hz, H-6a), 2,76 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 4,5$, $J_{6a,6b} = 14,0$ Hz, H-6b); RMN-¹³C (125,7 MHz, D₂O): δ = 99,4 (C-1), 89,2 (C-1'), 82,2, 81,3 (C-2',4'), 75,8 (C-3'), 70,7, 70,2 (C-4,5), 69,4, 68,0 (C-2,3), 60,6 (C-5'), 55,2 (CH₃O), 31,4 (C-6). Análisis calculado para C₁₂H₂₂O₉S: C, 42,08; H, 6,48. Encontrado: C, 41,58; H, 6,67.

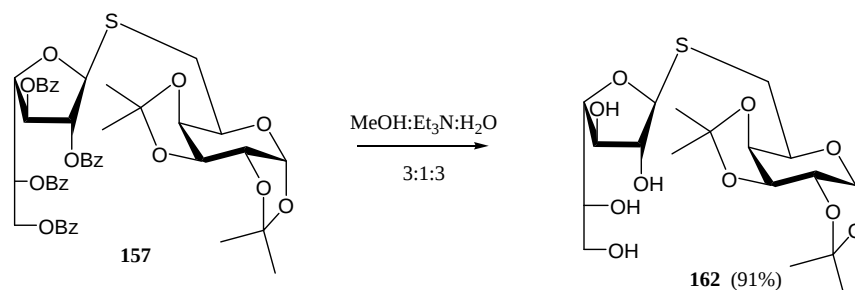
Metil 6-*S*-(β -D-galactofuranosil)-6-tio- α -D-glucopiranosido (160).



El compuesto **147** (70 mg, 0.06 mmol) se dejó reaccionar durante 30 h en la solución de MeOH:Et₃N:H₂O, 3:1:3 (10 mL). Transcurrido ese tiempo se concentró el solvente y se aplicó el residuo a una columna rellena con resina de intercambio iónico (Dowex MR-3C mixed bed) que se eluyó con metanol:agua 1:1. El eluato se concentró y se purificó nuevamente mediante una mini columna octadecil C18, la cual se eluyó con 10 mL de agua y 3 mL de MeOH. Se obtuvo así el tiodisacárido libre **160** (15 mg, 67%), $R_f = 0,44$ (*n*-BuOH/EtOH/H₂O, 2,5:1:1); $[\alpha]_D^{20} = -31,8$ ($c = 0,5$, H₂O); RMN-¹H (500 MHz, D₂O): δ = 5,15 (d, 1H, $J_{1',2'} = 5,3$ Hz, H-1'), 4,70 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,7$ Hz, H-1), 4,03 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 5,4$, $J_{3',4'} = 7,5$ Hz, H-3'), 3,94 (t, 1H, $J_{1',2'} = J_{2',3'} = 5,3$ Hz, H-2'), 3,88 (dd, 1H, $J_{4',5'} = 3,5$, $J_{3',4'} = 7,5$ Hz, H-4'), 3,75 (ddd, 1H, $J_{4',5'} = 3,5$, $J_{5',6'a} = 4,7$, $J_{5',6'b} = 7,7$ Hz, H-5'), 3,70 (ddd, 1H, $J_{5,6a} = 2,2$, $J_{5,6b} = 8,8$, $J_{4,5} = 9,0$ Hz, H-5), 3,60 (dd, 1H, $J_{5',6'a} = 4,7$, $J_{6'a,6'b} = 11,6$ Hz, H-6'a), 3,56 (dd, 1H, $J_{5',6'b} = 7,7$, $J_{6'a,6'b} = 11,6$ Hz, H-6'b), 3,54 (t, 1H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9,8$ Hz, H-3), 3,49 (dd, 1H, $J_{1,2} = 3,7$, $J_{2,3} = 9,8$ Hz, H-2), 3,36 (s, 3H, CH₃O), 3,23 (dd, 1H, $J_{4,5} = 9,0$, $J_{3,4} = 9,8$ Hz, H-4), 3,07 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 2,2$, $J_{6a,6b} = 14,3$ Hz, H-6a), 2,78 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 8,8$, $J_{6a,6b} = 14,3$ Hz, H-6b); RMN-¹³C (125,7 MHz, D₂O): δ = 99,2 (C-1), 89,4 (C-1'), 81,3 (C-4'), 81,1 (C-2'), 76,0 (C-3'), 72,9 (C-3), 72,6 (C-4), 71,9 (C-5), 71,2 (C-2), 70,4 (C-5'), 62,8 (C-6'), 55,2 (CH₃O), 32,4 (C-6). Análisis calculado para C₁₃H₂₄O₁₀S.0,5H₂O: C, 40,92; H, 6,61. Encontrado: C, 40,82; H, 6,85.

Metil 6-*S*-(β-D-galactofuranosil)-6-tio-α-D-galactopiranosido (161).

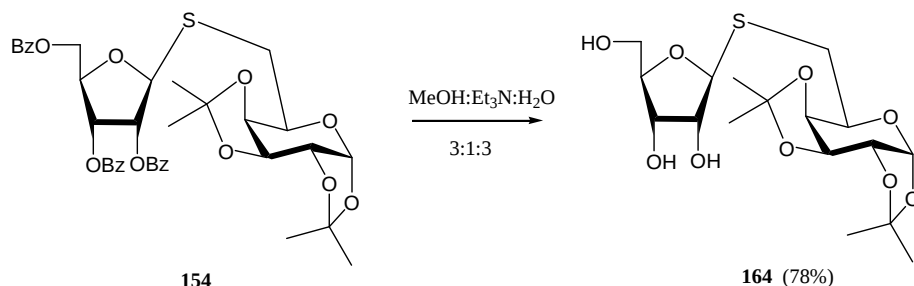
La *O*-desbenzoilación de **148** (110 mg, 0,10 mmol) en 15 mL de solución MeOH:Et₃N:H₂O, 3:1:3 condujo a **161** luego de 25 h de reacción y el mismo proceso de purificación descrito para el compuesto **160** (67%); *R_f* = 0,68 (MeOH); [α]_D²⁰ = -13,5 (*c* = 0,9, H₂O); RMN-¹H (500 MHz, D₂O): δ = 5,12 (d, 1H, *J*_{1',2'} = 5,3 Hz, H-1'), 4,71 (d, 1H, H-1), 4,03 (dd, 1H, *J*_{2',3'} = 5,3, *J*_{3',4'} = 7,4 Hz, H-3'), 3,93 (t, 1H, *J*_{1',2'} = *J*_{2',3'} = 5,3 Hz, H-2'), 3,92–3,86 (m, 2H, H-4, H-5), 3,88 (dd, 1H, *J*_{4',5'} = 3,5, *J*_{3',4'} = 7,5 Hz, H-4'), 3,76 (ddd, 1H, *J*_{4',5'} = 3,5, *J*_{5',6'a} = 4,6, *J*_{5',6'b} = 7,6 Hz, H-5'), 3,71 (m, 2H, H-2, H-3), 3,60 (dd, 1H, *J*_{5',6'a} = 4,6, *J*_{6'a,6'b} = 11,6 Hz, H-6'a), 3,55 (dd, 1H, *J*_{5',6'b} = 7,6, *J*_{6'a,6'b} = 11,6 Hz, H-6'b), 3,35 (s, 3H, CH₃O), 2,90 (dd, 1H, *J*_{5,6a} = 8,9, *J*_{6a,6b} = 14,0 Hz, H-6a), 2,74 (dd, 1H, *J*_{5,6b} = 4,8, *J*_{6a,6b} = 14,0 Hz, H-6b); RMN-¹³C (125,7 MHz, D₂O): δ = 99,5 (C-1), 89,1 (C-1'), 81,3 (C-4'), 81,0 (C-2'), 76,0 (C-3'), 70,9, 70,3, 70,1 (C-4,5,5'), 69,5, 67,9 (C-2,3), 62,7 (C-6'), 55,2 (CH₃O), 31,4 (C-6). Análisis calculado para C₁₃H₂₄O₁₀S: C, 41,91; H, 6,50. Encontrado: C, 42,26; H, 6,70.

1,2:3,4-Di-*O*-isopropilidén-6-*S*-(β-D-galactofuranosil)-6-tio-α-D-galactopiranososa (162).

La desprotección del compuesto **157** (60 mg, 0,07 mmol) con la solución de MeOH:Et₃N:H₂O 3:1:3 (10 mL) condujo al tiodisacárido libre **162** (29 mg, 91%) luego de 30 h de reacción y posterior purificación a través de una columna rellena

con resina de intercambio iónico (Dowex MR-3C mixed bed) que se eluyó con MeOH:acetona 1:1; $R_f = 0,64$ (MeOH); $[\alpha]_D^{20} = -150,8$ ($c = 1,0$, H_2O); RMN- 1H (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 5,46$ (d, 1H, $J_{1,2} = 5,0$ Hz, H-1), 5,12 (d, 1H, $J_{1',2'} = 4,3$ Hz, H-1'), 4,63 (dd, 1H, $J_{2,3} = 2,4$, $J_{3,4} = 7,9$ Hz, H-3), 4,38 (dd, 1H, $J_{4,5} = 1,8$, $J_{3,4} = 7,9$ Hz, H-4), 4,34 (dd, 1H, $J_{2,3} = 2,4$, $J_{1,2} = 5,0$ Hz, H-2), 4,05 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 4,8$, $J_{3',4'} = 7,4$ Hz, H-3'), 3,96 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 1,6$, $J_{5,6b} = 6,7$, $J_{5,6a} = 7,0$ Hz, H-5), 3,94 (dd, 1H, $J_{4',5'} = 3,1$, $J_{3',4'} = 7,4$ Hz, H-4'), 3,90 (t, 1H, $J_{1',2'} = J_{2',3'} \sim 5,0$ Hz, H-2'), 3,73 (ddd, 1H, $J_{4',5'} = 3,1$, $J_{5',6'a} = J_{5',6'b} = 6,8$ Hz, H-5'), 3,60 (m, 2H, H-6'a, H-6'b), 2,87 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 7,0$, $J_{6a,6b} = 13,7$ Hz, H-6a), 2,77 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 6,8$, $J_{6a,6b} = 13,7$ Hz, H-6b), 1,51, 1,40, 1,34, 1,33 (4s, 12H, $2 \times (CH_3)_2C$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CD_3OD): $\delta = 110,3$, 109,9 (Me $_2C$), 97,9 (C-1), 90,7 (C-1'), 83,9 (C-2'), 83,2 (C-4'), 78,5 (C-3'), 72,8 (C-4), 72,3 (C-5'), 72,2 (C-3), 71,9 (C-2), 69,8 (C-5), 64,6 (C-6'), 31,3 (C-6), 26,4, 26,3, 25,1, 24,6 ($4 \times (CH_3)_2C$). Análisis calculado para $C_{18}H_{30}O_{10}S$: C, 49,30; H, 6,90. Encontrado: C, 50,00; H, 7,39.

1,2:3,4-Di-*O*-isopropilidén-6-*S*-(β -D-ribofuranosil)-6-tio- α -D-galactopiranososa (164).

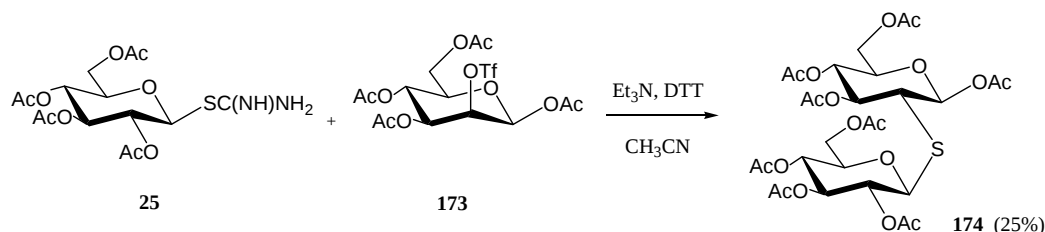


El tiodisacárido **154** (75 mg, 0,10 mmol) se trató con la solución de MeOH:Et $_3$ N:H $_2$ O 3:1:3 (10 mL) a temperatura ambiente durante 3 h. El producto *O*-desbenzoilado se purificó mediante una columna rellena con resina de intercambio iónico (Dowex MR-3C mixed bed), eluída con solución metanol:acetona 1:1. Posteriormente, el eluato se concentró y se repurificó con una mini columna octadecil C18 con MeOH (10 mL). Se obtuvo así el tiodisacárido libre **164** (32 mg, 78%); $R_f = 0,69$ (*n*-BuOH/EtOH/H $_2$ O, 2,5:1:1); $[\alpha]_D^{20} = -101,9$ ($c = 1,0$, $CHCl_3$); RMN- 1H (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 5,48$ (d, 1H, $J_{1,2} = 5,0$ Hz, H-1), 5,06 (d, 1H, $J_{1',2'} =$

4,1 Hz, H-1'), 4,64 (dd, 1H, $J_{2,3} = 2,4$, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, H-3), 4,36 (dd, 1H, $J_{4,5} = 1,8$, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, H-4), 4,35 (dd, 1H, $J_{2,3} = 2,3$, $J_{1,2} = 5,0$ Hz, H-2), 4,09 (t, 1H, $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 5,4$ Hz, H-3'), 3,95 (m, 2H, H-2', H-5), 3,91 (ddd, 1H, $J_{4',5'a} = 3,8$, $J_{3',4'} = J_{4',5'b} = 5,3$ Hz, H-4'), 3,70 (dd, 1H, $J_{4',5'a} = 3,8$, $J_{5'a,5'b} = 12,0$ Hz, H-5'a), 3,61 (dd, 1H, $J_{4',5'b} = 5,3$, $J_{5'a,5'b} = 12,0$ Hz, H-5'b), 2,89 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 7,2$, $J_{6a,6b} = 13,7$ Hz, H-6a), 2,83 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 6,7$, $J_{6a,6b} = 13,7$ Hz, H-6b), 1,51, 1,41, 1,34, 1,33 (4s, 12H, $2 \times (CH_3)_2C$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CD_3OD): $\delta = 110,3$, 109,9 (Me_2C), 97,9 (C-1), 89,7 (C-1'), 86,1 (C-4'), 77,1 (C-2'), 72,9, 71,8 (C-2, 4), 72,8 (C-3'), 72,1 (C-3), 69,5 (C-5), 63,8 (C-5'), 31,5 (C-6), 26,3 ($\times 2$), 25,1, 24,5 ($4 \times (CH_3)_2C$). Análisis calculado para $C_{17}H_{28}O_9S$: C, 49,99; H, 6,91. Encontrado: C, 50,35; H, 7,11.

8.5 Síntesis de tiodisacáridos mediante reacciones de sustitución nucleofílica

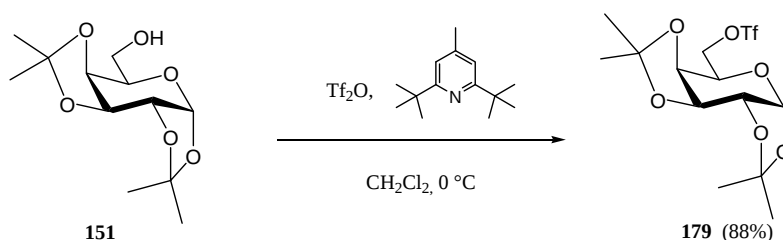
1,3,4,6-Tetra-*O*-acetil-2-*S*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)-2-tio- α -D-manopiranososa (**174**).



En un balón se disolvió la sal de isotiuronio de la Galp **25**⁶ (195 mg, 0,40 mmol) en DMF (6 mL) y se agregó ditiotretol (DTT, 62 mg, 0,40 mmol), la 1,3,4,6-tetra-*O*-acetil-2-*O*-trifilil- β -D-manopiranososa⁷ (**173**, 172 mg, 0,36 mmol) y Et_3N (68 μ L, 0,48 mmol). Se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 2,5 h, cuando se observó por CCD (tolueno/ $EtOAc$, 1:1), el consumo total de la Man-2-OTf (**173**). Se diluyó la reacción con CH_2Cl_2 (25 mL) y se extrajo con HCl ac. 5% (2×10 mL), solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y H_2O (10 mL). La fase orgánica se secó ($MgSO_4$) y se evaporó el solvente. El crudo de reacción se purificó mediante columna cromatográfica (tolueno/ $EtOAc$, 8:2). Se obtuvo un compuesto con $R_f = 0,30$ (tolueno/ $EtOAc$, 1:1) que se asignó como el tiodisacárido **174** (62 mg, 25%); RMN- 1H (500 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 5,67$ (d, 1H, $J_{1,2} = 9,3$ Hz, H-1), 5,19 (dd, 1H, $J_{3,4} = 9,6$, $J_{2,3} = 11,0$ Hz, H-3), 5,16 (t, 1H, $J_{2',3'} = J_{3',4'} = 10,2$ Hz, H-3'), 5,06 (t, 1H, $J_{3',4'} =$

$J_{4',5'} = 10,2$ Hz, H-4'), 4,99 (t, 1H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9,6$ Hz, H-4), 4,91 (t, 1H, $J_{1',2'} = J_{2',3'} = 10,2$ Hz, H-2'), 4,68 (d, 1H, $J_{1',2'} = 10,2$ Hz, H-1'), 4,31 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 4,6$, $J_{6a,6b} = 12,3$ Hz, H-6a), 4,28 (dd, 1H, $J_{5',6'a} = 5,2$, $J_{6'a,6'b} = 12,3$ Hz, H-6'a), 4,11 (dd, 1H, $J_{5',6'b} = 2,2$, $J_{6'a,6'b} = 12,3$ Hz, H-6'b), 4,08 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 2,0$, $J_{6a,6b} = 12,3$ Hz, H-6b), 3,81 (dddd, 1H, $J_{5,6b} = 2,0$, $J_{5,6a} = 4,6$, $J_{4,5} = 9,6$ Hz, H-5), 3,68 (dddd, 1H, $J_{5',6'b} = 2,2$, $J_{5',6'a} = 5,2$, $J_{4',5'} = 10,2$ Hz, H-5'), 3,08 (dd, 1H, $J_{1,2} = 9,3$, $J_{2,3} = 11,0$ Hz, H-2), 2,14, 2,08, 2,06, 2,03, 2,02, 2,00 ($\times 2$), 1,98 (8s, 24H, CH_3CO); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 170,6$, 170,5, 170,2, 169,8, 169,5, 169,3, 169,2, 168,7 (MeCO), 92,3 (C-1), 83,8 (C-1'), 75,9, 73,7, 73,6, 72,5, 70,8, 68,8, 68,0 (C-3, 4, 5, 2', 3', 4', 5'), 62,0, 61,6 (C-6, 6'), 49,1 (C-2), 22,7, 20,7 ($\times 4$), 20,6 ($\times 2$), 20,5 ($8 \times \text{CH}_3\text{CO}$).

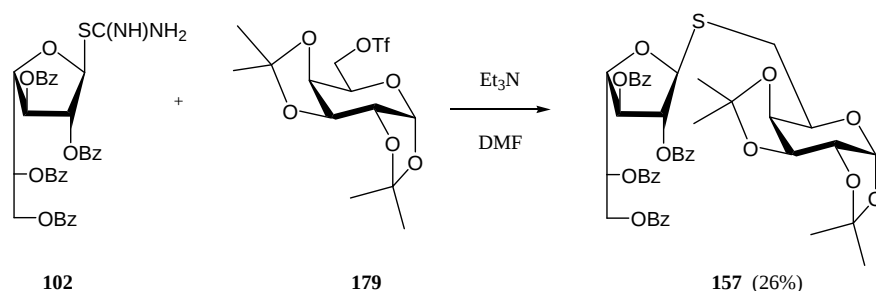
1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén-6-*O*-triflil- α -D-galactopiranososa (**179**).



En un balón provisto con septum se disolvió, 1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén- α -D-galactopiranososa (**151**, 200 mg, 0,77 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (30 mL) y se enfrió la solución externamente a 0 °C.⁸ Se agregó 2,6-di-*ter*-butil-4-metil piridina (476 mg, 2,32 mmol) y se agitó la solución durante unos minutos, luego se le agregó, con jeringa, anhídrido triflico (200 μL , 1,16 mmol). Se dejó agitando a 0 °C durante 1,5 h, momento en que se observó, por CCD (hexano/EtOAc, 1:1) la desaparición del compuesto de partida ($R_f = 0,36$) y aparición de un único producto de $R_f = 0,79$. Se volcó la reacción en agua helada y se extrajo con CH_2Cl_2 (2×25 mL). La fase orgánica se secó con MgSO_4 y se evaporó el solvente. Se obtuvo un sólido blanco, que se purificó mediante columna cromatográfica (hexano/EtOAc, 5:1) para obtener el compuesto **179** (267 mg, 88%); RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 5,55$ (d, $J_{1,2} = 4,9$ Hz, 1H, H-1), 4,68 (dd, 1H, $J_{2,3} = 2,5$, $J_{3,4} = 7,7$ Hz, H-3), 4,66–4,57 (m, 2H, H-6a, H-6b), 4,36 (dd, 1H, $J_{2,3} = 2,5$, $J_{1,2} = 4,9$ Hz, H-2), 4,25 (dd, 1H, $J_{4,5} = 2,0$, $J_{3,4} = 7,7$ Hz, H-4), 4,11 (dddd, 1H, $J_{4,5} = 2,0$, $J_{5,6} = 5,1$, $J_{5,6} = 7,0$ Hz, H-5), 1,54, 1,45, 1,34,

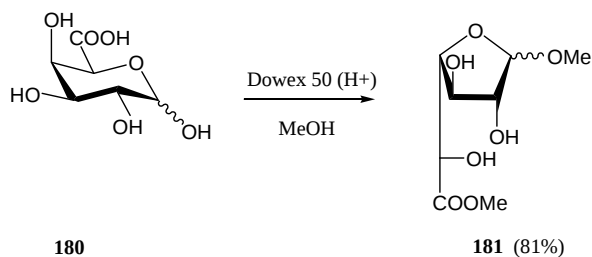
1,33 (4s, 12H, $2 \times (\text{CH}_3)_2\text{C}$); RMN- ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): $\delta = 110,1, 109,1$ (Me_2C), 96,1 (C-1), 77,6, 70,6, 70,3, 70,2, 66,0 (C-2, 3, 4, 5, 6), 25,9, 25,8, 24,8, 24,4 ($4 \times (\text{CH}_3)_2\text{C}$).

1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén-6-*S*-(2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil- β -D-galactofuranosil)-6-tio- α -D-galactopiranososa (157).



Se sintetizó la sal de tiouronio de Gal f (**102**) a partir de **101** (50 mg, 0,08 mmol), según técnica ya descrita. Se evaporó el solvente de reacción, se redisolvió el residuo en DMF (2 mL) y se agregó el triflato **179** (28 mg, 0,07 mmol) y Et_3N (20 μL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h y se agregaron 20 μL más de Et_3N . La solución tomó coloración naranja y se continuó la agitación a $\sim 50^\circ\text{C}$ durante 24 h. Se evaporó el solvente y el residuo se extrajo con CH_2Cl_2 /agua, la fase orgánica se secó (MgSO_4) y se evaporó el solvente. El producto crudo se purificó mediante columna cromatográfica (tolueno/ EtOAc , 98:2 $\rightarrow$ 96:4) para obtener el compuesto **157** (16mg, 26%), previamente descrito.

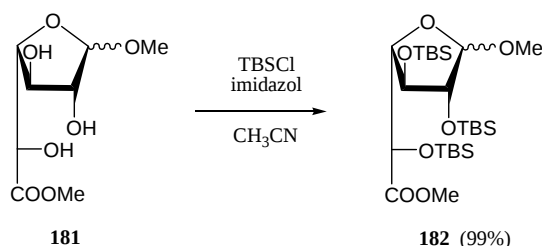
Metil α,β -D-galactofuranosiduronato de metilo (181).



Se siguió la técnica descrita por Bordoni y col.⁹ Se agitó una suspensión de ácido D-galacturónico (2 g, 10,31 mmol) con la misma cantidad de resina Dowex 50 (H^+) en MeOH (60 mL) a 35°C durante 4 días.

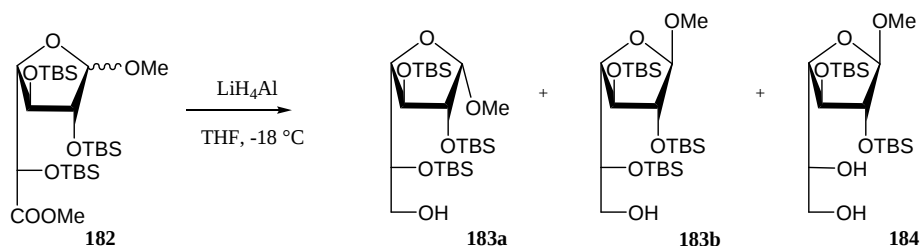
Transcurrido este tiempo se filtró y concentró la solución obteniéndose un jarabe color naranja, que se purificó a través de una columna de sílica rápidamente eluída con solución de EtOAc/tolueno 50:1. Se obtuvo el producto final (1,85 g, 81%) como mezcla de anómeros.

Metil 2,3,5-tri-*O*-*ter*-butildimetilsilil- α,β -D-galactofuranosiduronato de metilo (182**).**



Se disolvió la mezcla de anómeros **181** (885 mg, 3,99 mmol) en acetonitrilo anhidro (12 mL) y se le agregó TBSCl (2 g, 13,27 mmol) e imidazol (1,80 g, 26,43 mmol). Se agitó la suspensión blanquecina a temperatura ambiente durante 24 h para asegurar sililación completa de los grupos hidroxilos. Se evaporó el solvente, el jarabe resultante se redisolvió en CH_2Cl_2 y se lavó con agua. La fase orgánica se secó (MgSO_4), filtró y concentró. La CCD (hexano/EtOAc, 10:1) mostró que el compuesto **182** ($R_f = 0,58$) se encontraba suficientemente puro para ser utilizado sin más tratamiento en el siguiente paso de síntesis (2,23 g, 99% $\beta:\alpha$ 9:1); $[\alpha]_D^{20} = -17,1$ ($c = 1,1$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) anómero β : $\delta = 4,75$ (d, 1H, $J_{1,2} = 1,8$ Hz, H-1), 4,34 (d, 1H, $J_{4,5} = 3,1$ Hz, H-5), 4,19 (dd, 1H, $J_{2,3} = 2,6$, $J_{3,4} = 5,6$ Hz, H-3), 4,16 (dd, 1H, $J_{4,5} = 3,1$, $J_{3,4} = 5,6$ Hz, H-4), 3,99 (dd, 1H, $J_{1,2} = 1,8$, $J_{2,3} = 2,6$ Hz, H-2), 3,75 (s, 3H, CH_3CO_2), 3,32 (s, 3H, CH_3O), 0,93, 0,88, 0,87 (3s, 27H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), 0,13, 0,09 ($\times 2$), 0,08, 0,07, 0,06 (5 s, 18H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 172,0$ (C-6), 109,5 (C-1), 85,4 (C-4), 84,3 (C-2), 79,2 (C-3), 72,1 (C-5), 55,0 (CH_3O), 51,9 (CH_3CO_2) 25,9, 25,7 ($\times 2$) [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 18,5, 17,9, 17,8 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], -4,1, -4,4, -4,5 ($\times 2$), -4,9, -5,1 [$(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$]. Análisis calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{56}\text{O}_7\text{Si}_3$: C, 55,27; H, 9,99. Encontrado: C, 55,39; H, 10,02.

Metil 2,3,5-tri-*O*-*ter*-butildimetilsilil- α -D-galactofuranósido (**183a**), metil 2,3,5-tri-*O*-*ter*-butildimetilsilil- β -D-galactofuranósido (**183b**) y metil 2,3-di-*O*-*ter*-butildimetilsilil- β -D-galactofuranósido (**184**).



Se disolvió **182** (1 mmol) en THF anhidro (15 mL) y se enfrió la solución a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se agregó LiH_4Al (1,3 mmol) y se agitó la mezcla de reacción durante 30 ó 50 min (Tabla 14). Para detener la reacción se agregó EtOAc (15 mL), MeOH (15 mL) y AcOH hasta neutralidad y se concentró la mezcla. El precipitado gris se resuspendió en CH_2Cl_2 y se centrifugó para eliminar restos del agente reductor. Esta operación se repitió 4–5 veces.

Para completar la purificación se realizó una columna cromatográfica eluyendo con tolueno/EtOAc, 60:1→EtOAc. Se obtuvieron tres compuestos, con los siguientes valores de R_f en tolueno/EtOAc, 20:1: **183a** ($R_f = 0,47$), **183b** ($R_f = 0,43$) y **184** ($R_f = 0,00$).

Tabla 14. Rendimientos para la síntesis de los derivados **183a**, **183b** y **184**, dependiendo del tiempo de reacción.

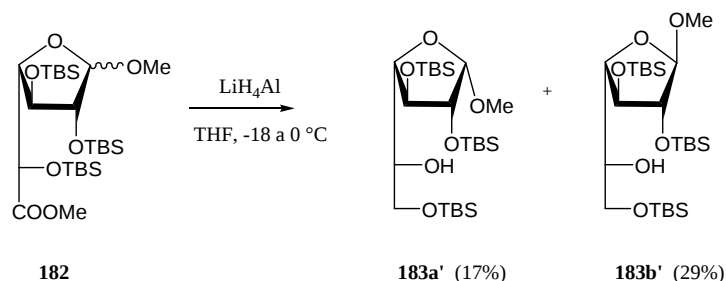
Compuesto	Rendimiento 30 min de reacción	Rendimiento 50 min de reacción
183a	13 %	20 %
183b	43 %	
184	23 %	62%
	Rend. Total 79%	Rend. Total 82%

183a: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +42,2$ ($c = 1,1$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 4,77$ (d, 1H, $J_{1,2} = 3,8$ Hz, H-1), 4,19 (t, 1H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 4,8$ Hz, H-3), 3,94 (dd, 1H, $J_{1,2} = 3,8$, $J_{2,3} = 4,8$ Hz, H-2), 3,85 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 4,8$ Hz, H-5), 3,83 (t, 1H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 4,8$ Hz, H-4), 3,69 (dddd, 1H, $J_{5,6a} = 4,8$, $J_{6a,\text{HO}} = 6,4$, $J_{6a,6b} = 11,2$ Hz, H-6a), 3,62 (dddd, 1H, $J_{5,6b} = 4,8$, $J_{6a,\text{HO}} = 6,4$, $J_{6a,6b} = 11,2$ Hz, H-6b), 3,40 (s, 3H, CH_3O), 2,34 (t, 1H, $J_{6a,\text{OH}} = J_{6b,\text{OH}} = 6,4$ Hz, OH), 0,92, 0,90, 0,87 (3s, 27H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), 0,14, 0,12, 0,11, 0,10, 0,07, 0,06 (6s, 18H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 103,5$ (C-1), 85,4 (C-4), 78,6 (C-2), 76,6 (C-3), 72,8 (C-5), 64,5 (C-6), 55,9 (CH_3O), 25,9 ($\times 2$), 25,7 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 18,3, 18,2, 17,9 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], -3,8, -4,2, -4,5, -4,6, -4,7, -4,8 [$(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$]. Análisis calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{56}\text{O}_6\text{Si}_3$: C, 55,92; H, 10,51. Encontrado: C, 55,76; H, 10,59.

183b: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -19,1$ ($c = 1,1$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 4,74$ (br s, 1H, H-1), 4,09 (dd, 1H, $J_{2,3} = 2,0$, $J_{3,4} = 4,9$ Hz, H-3), 4,01 (dd, 1H, $J_{1,2} = 1,2$, $J_{2,3} = 2,0$ Hz, H-2), 3,98 (t, 1H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 4,9$ Hz, H-4), 3,89 (c, 1H, $J_{4,5} = J_{5,6a} = J_{5,6b} = 4,9$ Hz, H-5), 3,71 (ddd, 1H, $J_{5,6a} = 5,0$, $J_{6a,\text{HO}} = 6,3$, $J_{6a,6b} = 11,3$ Hz H-6a), 3,66 (ddd, 1H, $J_{5,6b} = 5,0$, $J_{6b,\text{HO}} = 6,3$, $J_{6a,6b} = 11,3$ Hz H-6b), 3,36 (s, 3H, CH_3O), 2,35 (br s, 1H, HO), 0,94, 0,92, 0,90 (3s, 27H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), 0,16, 0,15, 0,13, 0,12, 0,11 ($\times 2$) (5s, 18H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 109,2$ (C-1), 86,8 (C-4), 83,7 (C-2), 79,4 (C-3), 72,5 (C-5), 64,5 (C-6), 54,8 (CH_3O), 26,0, 25,7 ($\times 2$) [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 18,4, 17,9, 17,8 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], -4,1, -4,4 ($\times 2$), -4,5, -4,6, -4,8 [$(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$]. Análisis calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{56}\text{O}_6\text{Si}_3$: C, 55,92; H, 10,51. Encontrado: C, 55,52; H, 10,89.

184: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -11,6$ ($c = 1,0$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 4,72$ (d, 1H, $J_{1,2} = 1,4$ Hz, H-1), 4,13 (dd, 1H, $J_{2,3} = 3,1$, $J_{3,4} = 5,7$ Hz, H-3), 3,99 (dd, 1H, $J_{1,2} = 1,4$, $J_{2,3} = 3,1$ Hz, H-2), 3,94 (dd, 1H, $J_{4,5} = 1,7$, $J_{3,4} = 5,7$ Hz, H-4), 3,76–3,68 (m, 3H, H-5, H-6a, H-6b), 3,35 (s, 3H, CH_3O), 2,62, 2,23 (2d, 2H, $J \sim 7,7$ Hz, HO-5 y HO-6), 0,90, 0,88 (2s, 27H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), 0,11, 0,10, 0,90 ($\times 2$) (3s, 12H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 109,7$ (C-1), 84,9 (C-4), 83,1 (C-2), 79,1 (C-3), 69,8 (C-5), 65,3 (C-6), 55,1 (CH_3O), 25,7 ($\times 2$) [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 17,9, 17,8 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], -4,3, -4,7 ($\times 2$), -4,9 [$(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$]. Análisis calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{O}_6\text{Si}_2$: C, 53,99; H, 10,01. Encontrado: C, 53,68; H, 10,10.

Metil 2,3,6-tri-*O*-*ter*-butildimetilsilil- α -D-galactofuranósido (183a'), metil 2,3,6-tri-*O*-*ter*-butildimetilsilil- β -D-galactofuranósido (183b').



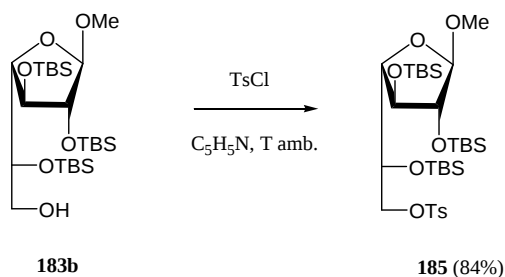
Se variaron las condiciones de reacción para obtener los compuestos con la posición 5 libre, es decir productos de migración del grupo protector TBS, desde la posición 5 a la 6. Se disolvió el compuesto **182** (70 mg, 0,12 mmol) en THF anhidro (3 mL) y se enfrió la solución a -18°C . Se agregó LiH_4Al (10 mg, 0,26 mmol) y se agitó la mezcla de reacción hasta alcanzar los 0°C , pasadas aproximadamente 1,5 h. Para detener la reacción se procedió de la forma previamente descripta, agregando EtOAc (5 mL), MeOH (5 mL) y HOAc hasta neutralidad y luego se concentró la mezcla. El residuo gris obtenido se resuspendió en CH_2Cl_2 y se centrifugó. Se purificó la mezcla de anómeros a través de una columna cromatográfica eluyendo con hexano/EtOAc 80:1 y utilizando hexano/EtOAc 10:1 como solvente para CCD. Se obtuvieron los compuestos **183a'** ($R_f = 0,39$, 11 mg, 17%) y **183b'** ($R_f = 0,32$, 19 mg, 29%)

183a': RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 4,68$ (d, 1H, $J_{1,2} = 4,4$ Hz, H-1), 4,33 (dd, 1H, $J_{3,4} = 6,3$, $J_{2,3} = 7,1$ Hz, H-3), 4,07 (dd, 1H, $J_{1,2} = 4,4$, $J_{2,3} = 7,1$ Hz, H-2), 4,04 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 6,2$, $J_{6a,6b} = 11,0$ Hz, H-6a), 4,03 (dddd, 1H, $J_{5,6a} = 6,2$, $J_{5,\text{HO}} = 7,5$ Hz, H-5), 3,66–3,54 (m, 2H, H-4, H-6b), 3,45 (s, 3H, CH_3O), 2,80 (d, 1H, $J_{5,\text{OH}} = 7,5$ Hz, HO), 0,92, 0,88 ($\times 2$) (2s, 27H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), 0,10 ($\times 2$), 0,09 ($\times 2$), 0,06, 0,05 (4s, 18H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 103,1$ (C-1), 81,7 (C-4), 79,0 (C-2), 75,6 (C-3), 69,9 (C-5), 63,5 (C-6), 56,2 (CH_3O), 25,8, 25,7, 25,3 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 18,1 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], -4,6, -5,4 [$(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$]. Análisis calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{56}\text{O}_6\text{Si}_3$: C, 55,92; H, 10,51. Encontrado: C, 55,84; H, 10,61.

183b': RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 4,72$ (d, 1H, $J_{1,2} = 1,1$ Hz, H-1), 4,10 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3,0$, $J_{2,3} = 5,6$ Hz, H-3), 4,04 (dd, 1H, $J_{1,2} = 1,1$, $J_{2,3} = 5,6$ Hz, H-2), 4,00 (dd, 1H,

$J_{4,5} = 1,3$, $J_{3,4} = 3,0$ Hz, H-4), 3,73–3,60 (m, 3H, H-5, H-6a, H-6b), 3,35 (s, 3H, CH_3O), 2,57 (d, 1H, $J_{5,\text{HO}} = 5,9$ Hz, HO), 0,90, 0,89, 0,88 (3s, 27H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), 0,10, 0,09 ($\times 2$), 0,08 ($\times 2$), 0,07 (4s, 18H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 109,4$ (C-1), 83,3 (C-4), 82,7 (C-2), 79,2 (C-3), 70,3 (C-5), 64,1 (C-6), 54,9 (CH_3O), 25,9, 25,8, 25,7 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 18,2, 17,9, 17,8 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], -4,3, -4,6, -4,7, -4,9, -5,4, -5,5 [$(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$]. Análisis calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{56}\text{O}_6\text{Si}_3$: C, 55,62; H, 10,70. Encontrado: C, 55,76; H, 10,59.

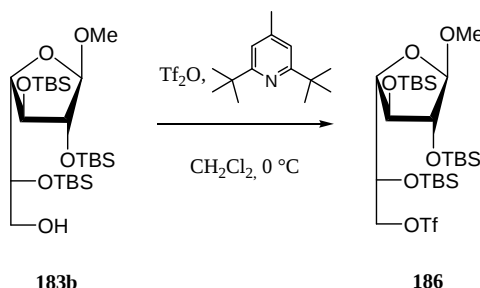
Metil 2,3,5-tri-*O*-*ter*-butildimetilsilil-6-*O*-tosil- β -D-galactofuranósido (**185**).



A una solución de **183b** (110 mg, 0,20 mmol) en piridina anhidra (2 mL), se le agregó cloruro de tosilo (100 mg, 0,52 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. Para detener la reacción se agregó MeOH (5 mL) y se concentró. El jarabe obtenido se redisolvió en CH_2Cl_2 y se realizaron lavados con agua. La fase orgánica se secó (MgSO_4), filtró y concentró, co-evaporando con tolueno para eliminar restos de piridina. La CCD (hexano/EtOAc, 10:1) mostró un compuesto principal de $R_f = 0,58$, que fue purificado mediante columna cromatográfica eluyendo con hexano/EtOAc 25:1. Así se obtuvo el compuesto **185** (116 mg, 84%); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,78$, 7,33 (2d, 4H, $J \sim 8,2$ Hz, H-aromáticos), 4,65 (d, 1H, $J_{1,2} = 1,5$ Hz, H-1), 4,12 (dd, 1H, $J_{5,6} = 3,2$, $J_{6a,6b} = 9,3$ Hz, H-6a), 4,01 (dd, 1H, $J_{2,3} = 2,7$, $J_{3,4} = 5,7$ Hz, H-3), 3,98 (ddd, 1H, $J_{5,6a} = 3,2$, $J_{4,5} = 3,7$, $J_{5,6b} = 7,2$ Hz, H-5), 3,95 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 7,2$, $J_{6a,6b} = 9,3$ Hz, H-6b), 3,94 (dd, 1H, $J_{1,2} = 1,5$, $J_{2,3} = 2,7$ Hz, H-2), 3,79 (dd, 1H, $J_{4,5} = 3,7$, $J_{3,4} = 5,7$ Hz, H-4), 3,28 (s, 3H, CH_3O), 2,44 (s, 3H, CH_3Ph), 0,87 ($\times 2$), 0,85 (3s, 27H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), 0,08, 0,07 ($\times 3$), 0,05, 0,04 (6s, 18H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 144,7$, 133,0, 129,8, 128,0 (C-aromáticos), 109,3 (C-1), 84,4 (C-4), 84,1 (C-2), 79,4 (C-3), 71,3 (C-6),

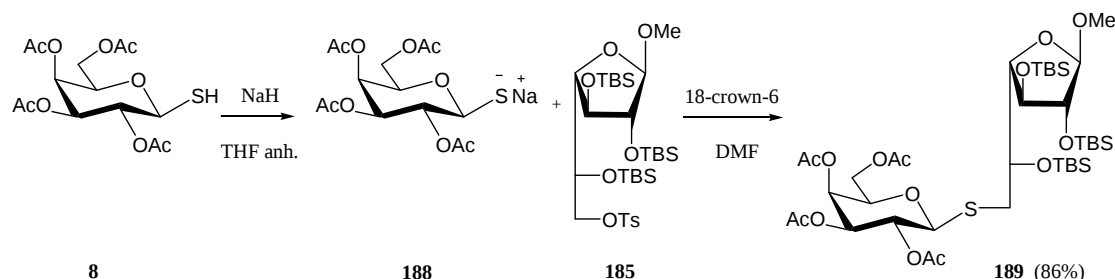
70,5 (C-5), 54,9 (CH₃O), 25,9, 25,7 (× 2) [(CH₃)₃CSiMe₂], 21,6 (CH₃Ph), 18,3, 17,9, 17,8 [(CH₃)₃CSiMe₂], -4,0, -4,1, -4,4, -4,6 (×2), -4,9 [(CH₃)₂SiBu^t].

Metil 2,3,5-tri-*O*-*ter*-butildimetilsilil-6-*O*-trifilil-β-D-galactofuranósido (186).



A una solución del compuesto **183b** (130 mg, 0,24 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (10 mL) previamente enfriada a 0 °C, se le agregó 2,6-di-*ter*-butil-4-metil-piridina (195 mg, 0,95 mmol) y anhídrido trifílico (80 μL, 0,47 mmol) bajo atmósfera de N₂. Se agitó la reacción durante 1 h y luego se volcó en hielo/agua. La mezcla se disolvió con CH₂Cl₂ y se extrajo con agua; la fase orgánica se secó (MgSO₄), filtró y evaporó el solvente. Se obtuvo un sólido blanco de R_f = 0,78 (hexano/EtOAc, 10:1), que se utilizó sin más tratamiento en el paso siguiente de síntesis; RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃): δ = 4,71 (br s, , *J*_{1,2} < 1,0 Hz, 1H, H-1), 4,62 (dd, 1H, *J*_{5,6} = 3,3, *J*_{6a,6b} = 10,1 Hz, H-6a), 4,37 (dd, 1H, *J*_{5,6b} = 7,7, *J*_{6a,6b} = 10,1 Hz, H-6b), 4,14 (dddd, 1H, *J*_{5,6a} = 3,3, *J*_{4,5} ~ 4,2, *J*_{5,6b} = 7,7 Hz, H-5), 3,99 (m, 2H, H-2, H-3), 3,92 (dd, 1H, *J*_{3,4} = *J*_{4,5} ~ 4,2 Hz, H-4), 3,34 (s, 3H, CH₃O), 0,92, 0,89, 0,87 (3s, 27H, (CH₃)₃CSiMe₂), 0,13, 0,10, 0,08 (3s, 18H, (CH₃)₂SiBu^t); RMN-¹³C (50,3 MHz, CDCl₃): δ = 109,4 (C-1), 85,4 (C-4), 83,4 (C-2), 79,1 (C-3), 77,9 (C-6), 70,6 (C-5), 54,9 (CH₃O), 25,8, 25,7 (× 2) [(CH₃)₃CSiMe₂], 18,2, 17,9, 17,8 [(CH₃)₃CSiMe₂], -4,0, -4,4, -4,5, -4,6, -4,7, -4,9 [(CH₃)₂SiBu^t].

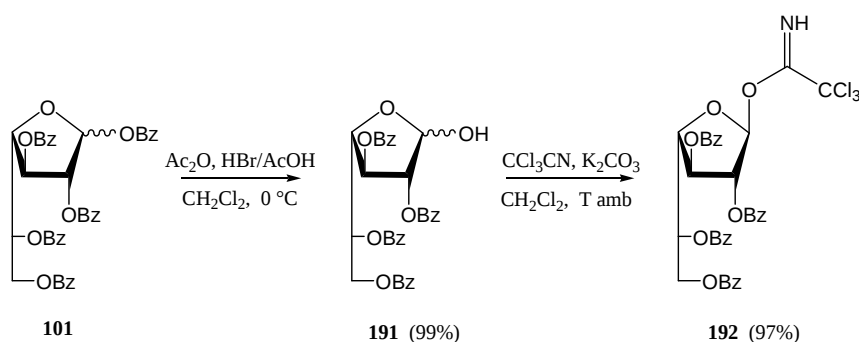
Metil 2,3,5-tri-*O*-ter-butildimetilsilil-6-*S*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-galactopiranosil)-6-tio- β -D-galactofuranósido (189).



La 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio-galactopiranososa (**8**, 36 mg, 0,10 mmol) y NaH (5 mg, 0,21 mmol) se disolvieron en THF anhidro (5 mL) y se dejó que proceda la reacción a temperatura ambiente durante 30 min. Transcurrido este tiempo se evaporó el solvente y la sal obtenida se agregó a una solución de **188** (30 mg, 0,04 mmol) en DMF (2 mL) y se agregó también 18-crown-6 (15 mg, 0,06 mmol). La mezcla de reacción, que tomó coloración amarilla y luego se oscureció, se agitó a temperatura ambiente durante 26 h. Al evidenciar mediante CCD (hexano/EtOAc, 2:1) la presencia de un nuevo compuesto de $R_f = 0,56$ se finalizó la reacción evaporando el solvente. Se realizó cromatografía en columna eluyendo con hexano/EtOAc 20:1→5:1. Así se obtuvo el tiodisacárido **189** (33 mg, 86%); $[\alpha]_D^{20} = -35,2$ ($c = 1,2$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 5,44$ (dd, 1H, $J_{4',5'} = 0,9$, $J_{3',4'} = 3,4$ Hz, H-4'), 5,24 (t, 1H, $J_{1',2'} = J_{2',3'} = 10,0$ Hz, H-2'), 5,02 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 3,4$, $J_{2',3'} = 10,0$ Hz, H-3'), 4,70 (d, 1H, $J_{1,2} = 2,0$ Hz, H-1), 4,46 (d, 1H, $J_{1',2'} = 10,0$ Hz, H-1'), 4,15 (dd, 1H, $J_{5',6'a} = 7,2$, $J_{6'a,6'b} = 11,3$ Hz, H-6'a), 4,11 (dd, 1H, $J_{5',6'b} = 6,4$, $J_{6'a,6'b} = 11,3$ Hz, H-6'b), 4,10 (dd, 1H, $J_{2,3} = 3,1$, $J_{3,4} = 6,0$ Hz, H-3), 4,02 (dd, 1H, $J_{4,5} = 2,9$, $J_{3,4} = 6,0$ Hz, H-4), 3,99 (dd, 1H, $J_{1,2} = 2,0$, $J_{2,3} = 3,1$ Hz, H-2), 3,92 (m, 2H, H-5, H-5'), 3,35 (s, 3H, CH_3O), 2,93 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 7,8$, $J_{6a,6b} = 13,2$ Hz, H-6a), 2,87 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 6,0$, $J_{6a,6b} = 13,2$ Hz, H-6b), 2,15, 2,05, 2,04, 1,99 (4s, 12H, CH_3CO), 0,92, 0,88 ($\times 2$) (2s, 27H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), 0,16, 0,14, 0,10, 0,09 ($\times 2$), 0,07 (5s, 18H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 170,3$, 170,2, 170,1, 169,4 (MeCO), 109,1 (C-1), 84,6 (C-2), 84,0 (C-4), 83,7 (C-1'), 79,6 (C-3), 74,5, 71,8, 71,7 (C-3', 5, 5'), 67,2, 67,0 (C-2', 4'), 61,2 (C-6'), 55,1 (CH_3O), 32,4 (C-6), 26,0, 25,7 ($\times 2$) [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 20,7 ($\times 2$), 20,6 ($\times 2$) (CH_3CO), 18,2, 17,9 ($\times 2$) [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], -3,5, -4,0, -4,2, -4,3, -4,4,

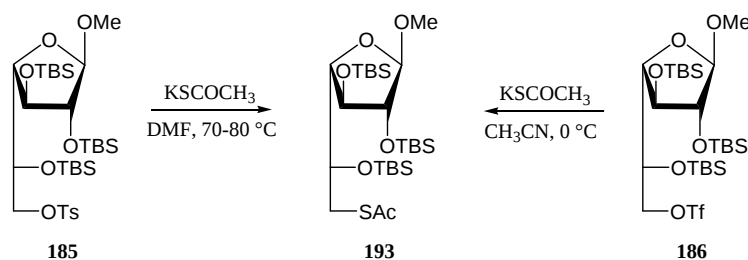
-4,9 [(CH₃)₂SiBu^f]. Análisis calculado para C₃₉H₇₄O₁₄SSi₃: C, 53,03; H, 8,44. Encontrado: C, 52,92; H, 8,39. HRMS *m/z* [M+Na]⁺ calculado para C₃₉H₇₄O₁₄SSi₃+Na: 905,39993; Encontrado: 905,40263.

2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil- α -D-galactofuranosil tricloroacetimidato (**192**).



La 1,2,3,5,6-penta-*O*-benzoil- α,β -D-galactofuranosa (**101**, 570 mg, 0,81 mmol) se disolvió en Cl₂CH₂ (22 mL). Se enfrió la solución a 0 °C y se agregó a la misma anhídrido acético (0,8 mL, 8,47 mmol) y HBr/AcOH (3,8 mL). Se agitó la mezcla a baja temperatura durante 2 h, cuando la CCD (tolueno/EtOAc, 9:1) mostró la conversión del compuesto de partida en la mezcla anomérica **191** (anómero mayoritario: β , *R_f* = 0,30). Se diluyó la solución con Cl₂CH₂, y se extrajo con agua fría, solución saturada de NaHCO₃ y nuevamente agua. Se secó el extracto orgánico con MgSO₄ y se evaporó el solvente. El residuo, una espuma naranja, se purificó mediante una columna cromatográfica (tolueno/EtOAc, 12:1) para obtener **191** (480 mg, 99%). A continuación la 2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil- α,β -D-galactofuranosa (**191**, 170 mg, 0,28 mmol) se disolvió en Cl₂CH₂ (2 mL) y se agregó K₂CO₃ (198 mg, 1,43 mmol) y CCl₃CN (154 μ L, 1,54 mmol). Se agitó la suspensión a temperatura ambiente durante 12 h, cuando la CCD (tolueno/EtOAc, 9:1) mostró la conversión del compuesto de partida en el anómero mayoritario **192** con un *R_f* = 0,52. Se agregó Cl₂CH₂, se filtró a través de un lecho de celite lavado bien con el mismo solvente y el filtrado se extrajo con agua. La fase orgánica se secó (MgSO₄) y se evaporó el solvente. Se obtuvo un jarabe amarillo suficientemente puro para proseguir la síntesis (200 mg, 97%).

Metil 2,3,5-tri-*O*-*ter*-butildimetilsilil-6-tioacetil-β-D-galactofuranósido (193)



a) A partir del metil 2,3,5-tri-*O*-*ter*-butildimetilsilil-6-*O*-tosil-β-D-galactofuranósido (**185**) ya descrito:

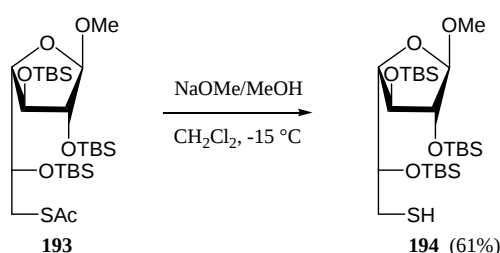
Se disolvió el compuesto **185** (40 mg, 0,06 mmol) en DMF (1,5 mL) y se agregó tioacetato de potasio (85 mg, 0,75 mmol). La mezcla se agitó a 70–80 °C durante 50 h aproximadamente, cuando se observó mediante CCD (hexano/EtOAc, 10:1) un producto principal de $R_f = 0,60$. La mezcla de reacción se había oscurecido y se evaporó la DMF en rotavap. Se redisolvió el crudo de reacción en CH_2Cl_2 y se lavó con agua. La fase orgánica se secó, se filtró y se evaporó nuevamente el solvente. Se realizó una columna cromatográfica utilizando hexano/EtOAc, 40:1 como solvente de elución, para obtener el compuesto **193** (20 mg, 58%).

b) A partir del metil 2,3,5-tri-*O*-*ter*-butildimetilsilil-6-*O*-trifilil-β-D-galactofuranósido (**186**) ya descrito:

Se disolvió el compuesto **186** crudo (0,36 mmol) en acetonitrilo anhidro (10 mL). Se agregó tioacetato de potasio (166 mg, 1,46 mmol). Se agitó la mezcla a 0 °C durante 3 h, cuando se observó mediante CCD (hexano/EtOAc, 10:1) un producto principal de $R_f = 0,60$, como ya se mencionó. Se evaporó el solvente en rotavap. Se purificó el producto mediante columna cromatográfica eluyendo con hexano/EtOAc, 90:1, obteniéndose así el compuesto **193** (117, mg 54%, en dos pasos de reacción); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 4,74$ (d, 1H, $J_{1,2} = 1,8$ Hz, H-1), 4,10 (dd, 1H, $J_{2,3} = 2,8$, $J_{3,4} = 5,3$ Hz, H-3), 4,00 (dd, 1H, $J_{1,2} = 1,8$, $J_{2,3} = 2,8$ Hz, H-2), 3,92 (dd, 1H, $J_{4,5} = 4,1$, $J_{3,4} = 5,4$ Hz, H-4), 3,83 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 4,1$ Hz, H-5), 3,37 (s, 3H, CH_3O), 3,15 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 6,8$, $J_{6a,6b} = 13,5$ Hz, H-6a), 3,06 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 6,1$, $J_{6a,6b} = 13,5$ Hz, H-6b), 2,35 (s, 3H, SCoCH_3), 0,94, 0,90, 0,88 (3s, 27H,

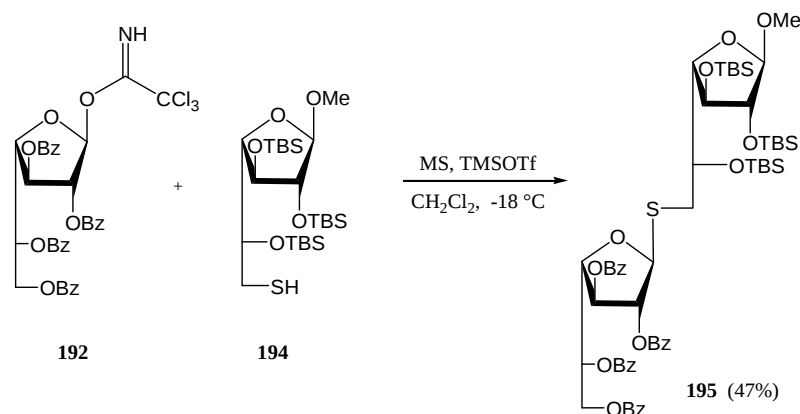
($(CH_3)_3CSiMe_2$), 0,18, 0,17, 0,11($\times 2$), 0,10, 0,09 (6s, 18H, $(CH_3)_2SiBu^t$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, $CDCl_3$): δ = 195,3 (SCOMe), 109,3 (C-1), 85,5 (C-4), 84,2 (C-2), 79,8 (C-3), 71,7 (C-5), 55,0 (CH_3O), 32,6 (C-6), 30,4 (SCOCH $_3$), 26,0, 25,7 ($\times 2$) [$(CH_3)_3CSiMe_2$], 18,3, 17,9, 17,8 [$(CH_3)_3CSiMe_2$], -3,9, -4,0, -4,4, -4,5, -4,6, -4,9 [$(CH_3)_2SiBu^t$].

Metil 2,3,5-tri-*O*-*ter*-butildimetilsilil-6-tio- β -D-galactofuranósido (**194**)



Se disolvió el compuesto **193** (84 mg, 0,14 mmol) en CH_2Cl_2 (5 mL), se enfrió externamente a -15°C y se agregó una solución 0,5M de NaOMe/MeOH (5 mL). Se agitó la reacción durante 2 h. Se evaporó el solvente y luego se redisolvió el crudo de reacción en CH_2Cl_2 y se lavó con agua. La fase orgánica se secó ($MgSO_4$), filtró y concentró. Mediante CCD (hexano/EtOAc, 10:1) se observó un compuesto de R_f = 0,82, que fue purificado mediante columna cromatográfica con hexano/tolueno 7:1 $\rightarrow$ 1:1; para dar **194** (70 mg, 61%); RMN- 1H (500 MHz, $CDCl_3$): δ = 4,70 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 1,5 Hz, H-1), 4,08 (dd, 1H, $J_{4,5}$ = 4,4, $J_{3,4}$ = 5,2 Hz, H-4), 4,01 (dd, 1H, $J_{2,3}$ = 2,5, $J_{3,4}$ = 5,2 Hz, H-3), 3,98 (dd, 1H, $J_{1,2}$ = 1,5, $J_{2,3}$ = 2,5 Hz, H-2), 3,80 (ddd, 1H, $J_{4,5}$ = 4,4 Hz, H-5), 3,35 (s, 3H, CH_3O), 2,79 (dddd, 1H, $J_{5,6a}$ = 6,4, $J_{6a,HS}$ = 8,6, $J_{6a,6b}$ = 13,6 Hz, H-6a), 2,58 (dddd, 1H, $J_{5,6b}$ = 5,8, $J_{6b,HS}$ = 8,6, $J_{6a,6b}$ = 13,6 Hz, H-6b), 1,48 (t, 1H, $J_{6a,HS} = J_{6b,HS} = 8,6$ Hz, HS), 0,92, 0,89, 0,88 (3s, 27H, $(CH_3)_3CSiMe_2$), 0,14, 0,13, 0,10, 0,09, 0,08, 0,07 (6s, 18H, $(CH_3)_2SiBu^t$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, $CDCl_3$): δ = 109,2 (C-1), 85,0 (C-4), 84,2 (C-2), 79,8 (C-3), 74,4 (C-5), 54,9 (CH_3O), 27,9 (C-6), 26,0, 25,7 ($\times 2$) [$(CH_3)_3CSiMe_2$], 18,3($\times 2$), 17,8 [$(CH_3)_3CSiMe_2$], -3,9, -4,0, -4,1, -4,3, -4,4, -4,5, -4,8 [$(CH_3)_2SiBu^t$].

Metil 2,3,5-tri-*O*-*ter*-butildimetilsilil-6-*S*-(2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil- β -D-galactofuranosil)-6-tio- β -D-galactofuranósido (195)

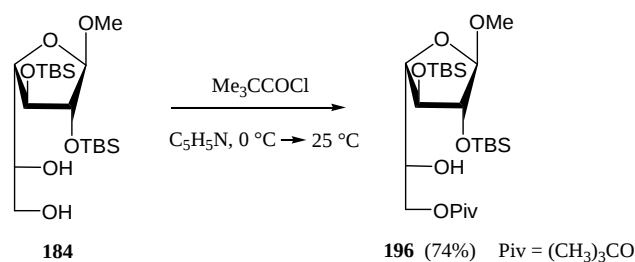


Se procedió a acoplar el tricloroacetimidato **192** con el tiol **194** según la siguiente técnica.¹⁰ A una solución del tricloroacetimidato **192** (200 mg, 0,28 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (4 mL), se le agregó el tiol **194** (58 mg, 0,10 mmol) y molecular sieves 4 Å en polvo, activado previamente 3 h. La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h en atmósfera de argón. Luego se enfrió a -18 °C, se agregó TMSOTf (12 µL, 0,07 mmol) y se continuó la agitación a baja temperatura durante 30 min. Se diluyó la mezcla de reacción con CH₂Cl₂, se filtró y se extrajo con solución saturada de NaHCO₃ y con agua. La fase orgánica se secó (MgSO₄), se evaporó el solvente y se observó mediante CCD un producto de R_f = 0,65 (tolueno/EtOAc, 15:1) que se purificó por columna cromatográfica (tolueno/EtOAc, 60:1). Se obtuvo así, el tiodisacárido **195** constituido por dos unidades furanósicas (56 mg, 47%); [α]_D²⁰ = -50,6 (*c* = 1, CHCl₃); RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃): δ = 8,09–7,28 (H-aromáticos), 6,09 (m, 1H, H-5'), 5,70 (dt, 1H, $J_{3',4'} = 4,3$ Hz, H-3'), 5,62 (br s, 1H, H-1'), 5,52 (t, 1H, $J_{1',2'} = J_{2',3'} = 1,2$ Hz, H-2'), 4,83 (t, 1H, $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 4,3$ Hz, H-4'), 4,75 (m, 2H, H-6'a, H-6'b), 4,72 (d, 1H, $J_{1,2} = 1,9$ Hz, H-1), 4,11 (t, 2H, H-3, H-4), 4,00 (t, 2H, H-2, H-5), 3,34 (s, 3H, CH₃O), 2,98 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 7,5$, $J_{6a,6b} = 13,3$ Hz, H-6a), 2,92 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 6,0$, $J_{6a,6b} = 13,3$ Hz, H-6b), 0,89, 0,87, 0,84 (3s, 27H, (CH₃)₃CSiMe₂), 0,12, 0,11, 0,08 ($\times 2$), 0,07 ($\times 2$) (6s, 18H, (CH₃)₂SiBu^t); RMN-¹³C (125,7 MHz, CDCl₃): δ = 166,0, 165,6, 165,4, 165,2 (PhCO), 133,5–128,3 (C-aromáticos), 109,1 (C-1), 88,1 (C-1'), 84,5 (C-4), 84,4 (C-2), 82,6

(C-2'), 81,5 (C-4'), 79,7 (C-3), 77,8 (C-3'), 71,5 (C-5), 70,3 (C-5'), 63,5 (C-6'), 55,0 (CH₃O), 33,7 (C-6), 26,0, 25,7 ($\times 2$), [(CH₃)₃CSiMe₂], 18,2, 17,9, 17,8 [(CH₃)₃CSiMe₂], -3,7, -4,0, -4,3, -4,4 ($\times 2$), -4,9 [(CH₃)₂SiBu^f]. Análisis calculado para C₅₉H₈₂O₁₄S₂Si₃·2H₂O: C, 60,69; H, 7,42. Encontrado: C, 60,84; H, 7,36. HRMS *m/z* [M+Na]⁺ calculado para C₅₉H₈₂O₁₄SSi₃+Na: 1153,46253; Encontrado: 1153,46564

8.6 Síntesis de tiodisacáridos mediante reacciones de apertura de tiiranos de azúcares.

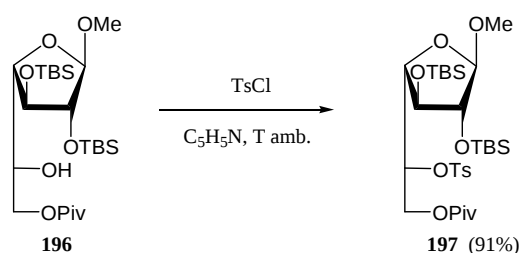
Metil 2,3-di-*O*-*ter*-butildimetilsilil-6-*O*-pivaloil-β-D-galactofuranósido (196).



A una solución de **184** (210 mg, 0,50 mmol) en piridina anhidra (3,6 mL), se le agregó cloruro de pivaloilo (135 μL , 1,10 mmol), en tres partes cada 30 min.¹¹ La mezcla se agitó a 0 °C durante 3 h y luego a temperatura ambiente 1 h más, cuando la CCD (tolueno/EtOAc, 5:1) mostró un compuesto de *R_f* = 0,66. Se agregó en el balón hielo/agua, se extrajo con CH₂Cl₂, se lavó la fase orgánica sucesivamente con HCl 5%, H₂O destilada y solución saturada de NaCO₃H. Se secó con MgSO₄ y se evaporó el solvente. El residuo se purificó mediante columna cromatográfica, eluyendo con tolueno/EtOAc, 20:1. (**196**, 185 mg, 74%); [α]_D²⁰ = -29,9 (*c* = 1,2, CHCl₃); RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃): δ = 4,72 (d, 1H, *J*_{1,2} = 1,0 Hz, H-1), 4,23 (dd, 1H, *J*_{5,6a} = 6,5, *J*_{6a,6b} = 11,0 Hz, H-6a), 4,10 (dd, 1H, *J*_{4,5} = 2,4, *J*_{3,4} = 5,6 Hz, H-4), 4,09 (dd, 1H, *J*_{5,6b} = 6,5, *J*_{6a,6b} = 11,0 Hz, H-6b), 4,00 (dd, 1H, *J*_{1,2} = 1,0, *J*_{2,3} = 1,8 Hz, H-2), 3,94 (dd, 1H, *J*_{2,3} = 1,8, *J*_{3,4} = 5,6 Hz, H-3), 3,88 (m, 1H, *J*_{5,6a} = *J*_{5,6b} ~ 6,5, *J*_{5,H0} = 8,0 Hz, H-5), 3,34 (s, 3H, CH₃O), 2,52 (d, 1H, *J*_{5,H0} = 8,0 Hz, H₀), 1,22 (s, 9H, COC(CH₃)₃), 0,90, 0,88 (2s, 18H, (CH₃)₃CSiMe₂), 0,11, 0,09 ($\times 2$), 0,08 (4s, 12H, (CH₃)₂SiBu^f); RMN-¹³C (125,7 MHz, CDCl₃): δ = 178,3 (COC(CH₃)₃), 109,5 (C-1), 83,4 (C-3), 83,2 (C-2),

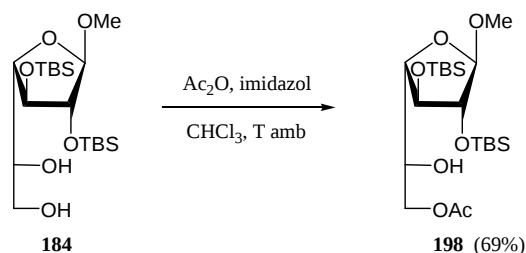
79,1 (C-4), 67,9 (C-5), 65,3 (C-6), 54,9 (CH_3O), 38,8 ($\text{COC}(\text{CH}_3)_3$), 27,2 ($\text{COC}(\text{CH}_3)_3$), 25,8, 25,7 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 17,9, 17,8 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], -4,3, -4,6, -4,7, -4,9 [$(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^\dagger$]. Análisis calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{50}\text{O}_7\text{Si}_2$: C, 56,88; H, 9,94. Encontrado: C, 56,93; H, 10,22.

Metil 2,3-di-*O*-*ter*-butildimetilsilil-6-*O*-pivaloil-5-*O*-tosil- β -D-galactofuranósido (197).



A una solución de **196** (350 mg, 0,69 mmol) en piridina anhidra (20 mL), se le agregó un importante exceso de cloruro de tosilo (1,24 g, 6,48 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. Para detener la reacción se agregó MeOH (10 mL aprox.) y se evaporó en rotavap. Se redisolvió el jarabe obtenido en CH_2Cl_2 y se realizaron lavados con agua. La fase orgánica se secó con MgSO_4 , se filtró y concentró, co-evaporando con tolueno para eliminar restos de piridina. La CCD (tolueno/EtOAc, 9:1) mostró un compuesto principal de $R_f = 0,71$, que se purificó mediante columna cromatográfica utilizando tolueno/EtOAc, 60:1 como solvente de elución. Se obtuvo así el compuesto **197** (415 mg, 91%). RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,83, 7,31$ (2d, 4H, $J \sim 8,2$ Hz, H-aromáticos), 4,95 (m, 1H, $J_{5,6a} = 5,1$, $J_{5,6b} = 6,6$ Hz H-5), 4,56 (d, 1H, $J_{1,2} = 1,1$ Hz, H-1), 4,35 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 5,1$, $J_{6a,6b} = 11,9$ Hz, H-6a), 4,12 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 6,6$, $J_{6a,6b} = 11,9$ Hz, H-6b), 3,90–4,05 (m, 3H, H-2, H-3, H-4), 3,24 (s, 3H, CH_3O), 2,43 (s, 3H, CH_3Ph), 1,19 (s, 9H, $\text{COC}(\text{CH}_3)_3$), 0,89, 0,86 (2s, 18H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), 0,09 ($\times 2$), 0,08, 0,06 (4s, 12H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^\dagger$); RMN- ^{13}C (50,3 MHz, CDCl_3): $\delta = 178,0$ ($\text{COC}(\text{CH}_3)_3$), 129,9, 128,0 (C-aromáticos), 109,5 (C-1), 83,9 (C-3), 82,5 (C-2), 79,4 (C-4), 77,5 (C-5), 62,4 (C-6), 54,9 (CH_3O), 27,1 ($\text{COC}(\text{CH}_3)_3$), 25,8, 25,7 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 21,7 (CH_3Ph), 17,9 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], -4,3, -4,5, -4,8, -4,9 [$(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^\dagger$].

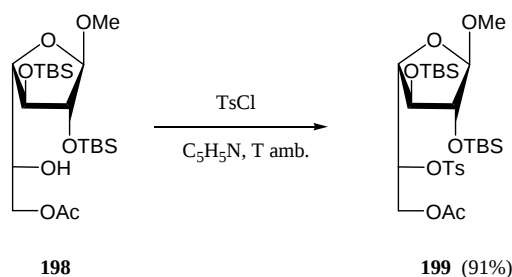
Metil 2,3-di-*O*-*ter*-butildimetilsilil-6-*O*-acetil-β-D-galactofuranósido (198).



A una solución de imidazol (73 mg, 0,82 mmol) en CHCl_3 , enfriada a 0 °C, se le agregó **184** (260 mg, 0,62 mmol) y Ac_2O (42 μL , 0,67 mmol). Se dejó agitar a baja temperatura durante 10 min y luego se continuó la agitación a temperatura ambiente durante 20 h. Por CCD (tolueno/ EtOAc , 5:1) se detectó un compuesto principal de $R_f = 0,51$. La mezcla de reacción se lavó con agua, se secó la fase orgánica con MgSO_4 , se filtró y concentró en rotavap.

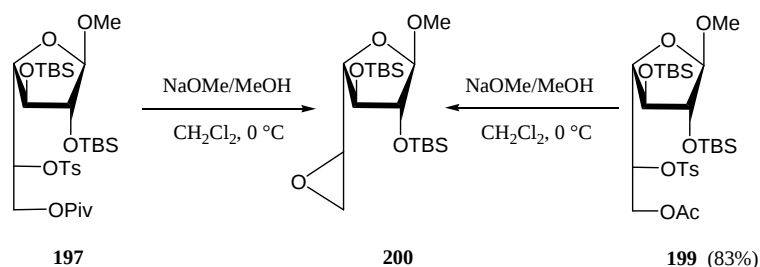
La purificación mediante columna cromatográfica (tolueno/ EtOAc , 15:1) condujo al producto **198** (196 mg, 69%); $[\alpha]_D^{20} = -28,6$ ($c = 0,7$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 4,72$ (br s, 1H, H-1), 4,23 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 7,6$, $J_{6a,6b} = 11,3$ Hz, H-6a), 4,13 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 5,0$, $J_{6a,6b} = 11,3$ Hz, H-6b), 4,10 (dd, 1H, $J_{2,3} = 2,8$, $J_{3,4} = 5,3$ Hz, H-3), 4,00 (dd, 1H, $J_{1,2} = 1,2$, $J_{2,3} = 2,8$ Hz, H-2), 3,93 (dd, 1H, $J_{4,5} = 1,8$, $J_{3,4} = 5,3$ Hz, H-4), 3,89 (m, 1H, H-5), 3,34 (s, 3H, CH_3O), 2,57 (d, 1H, $J_{5,\text{HO}} = 7,8$ Hz, HO), 2,10 (s, 3H, CH_3CO), 0,90, 0,88 (2s, 18H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), 0,11, 0,09 ($\times 2$), 0,08 (4s, 12H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 171,0$ (MeCO), 109,6 (C-1), 83,8 (C-4), 83,1 (C-2), 79,2 (C-3), 68,2 (C-5), 66,2 (C-6), 55,0 (CH_3O), 25,7 ($\times 2$) [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 20,9 (CH_3CO), 17,9, 17,8 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], -4,3, -4,7 ($\times 2$), -4,9 [$(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$]. Análisis calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{44}\text{O}_7\text{Si}_2$: C, 54,27; H, 9,54. Encontrado: C, 53,97; H, 9,37.

Metil 2,3-di-*O*-*ter*-butildimetilsilil-6-*O*-acetil-5-*O*-tosil-β-D-galactofuranósido (199).



Para obtener el compuesto **199** se siguió el mismo procedimiento descrito para **197**. A una solución de **198** (225 mg, 0,48 mmol) en piridina anhidra (10 mL), se le agregó cloruro de tosilo (670 mg, 3,52 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. Para detener la reacción se agregó MeOH (10 mL aprox.) y se evaporó en rotavap. Se redisolvió el jarabe obtenido en CH₂Cl₂ y se realizaron lavados con agua. La fase orgánica se secó con MgSO₄, se filtró y concentró, co-evaporando con tolueno para eliminar restos de piridina. La CCD (tolueno/EtOAc, 9:1) mostró un compuesto principal de R_f = 0,50, que se purificó mediante columna cromatográfica. Se utilizó tolueno/EtOAc, 50:1 como solvente de elución para obtener el compuesto **199** (270 mg, 91%).

Metil 5,6-anhidro-2,3-di-*O*-ter-butildimetilsilil- α -L-altrofuranósido (200**).**

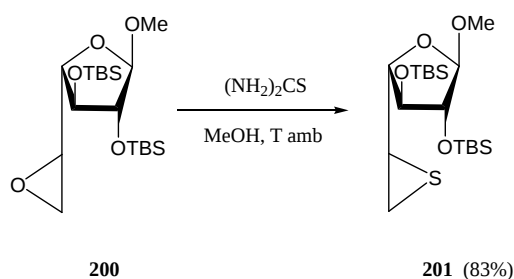


Se disolvió el compuesto **197** (160 mg, 0,24 mmol) en CH₂Cl₂ (6 mL) y se agregó a la solución, previamente enfriada a 0 °C, solución 2M de NaOMe/MeOH (1,3 mL). Se agitó la reacción durante 2 h. Transcurrido este tiempo, se detectó por CCD (hexano/EtOAc, 10:1) el consumo total del compuesto de partida y aparición de un producto de R_f = 0,48. Se diluyó con CH₂Cl₂ y se extrajo con agua. La fase orgánica se secó y se concentró en rotavap, obteniéndose así el epóxido **200** que se purificó mediante columna cromatográfica que se eluyó con hexano/EtOAc, 40:1 (80 mg, 83%); [α]_D²⁰ = -40,1 (*c* = 1,1, CHCl₃); RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃): δ = 4,74 (br s, 1H, H-1), 4,03 (dd, 1H, *J*_{2,3} = 2,4, *J*_{3,4} = 4,4 Hz, H-3), 4,01 (dd, 1H, *J*_{1,2} ~ 1,0, *J*_{2,3} = 2,4 Hz, H-2), 3,77 (dd, 1H, *J*_{3,4} = 4,4, *J*_{4,5} = 5,6 Hz, H-4), 3,35 (s, 3H, CH₃O), 3,07 (dddd, 1H, *J*_{5,6b} = 2,7, *J*_{5,6a} = 3,9, *J*_{4,5} = 5,7 Hz, H-5), 2,81 (dd, 1H, *J*_{5,6a} = 3,9, *J*_{6a,6b} = 5,2 Hz, H-6a), 2,73 (dd, 1H, *J*_{5,6b} = 2,7, *J*_{6a,6b} = 5,2 Hz, H-6b), 0,89 (× 2) (2s, 18H, (CH₃)₃CSiMe₂), 0,11, 0,10 (× 2), 0,09 (4s, 12H, (CH₃)₂SiBu^t); RMN-¹³C (125,7 MHz, CDCl₃): δ = 110,1 (C-1), 84,7 (C-4), 83,4 (C-2), 81,2 (C-3), 55,0 (CH₃O), 52,0 (C-5),

45,4 (C-6), 25,7 ($\times 2$) [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 17,9 ($\times 2$) [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], -4,4, -4,7, -4,8, -4,9 [$(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^f$]. Análisis calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{40}\text{O}_5\text{Si}_2$: C, 56,39; H, 9,96. Encontrado: C, 56,69; H, 10,26.

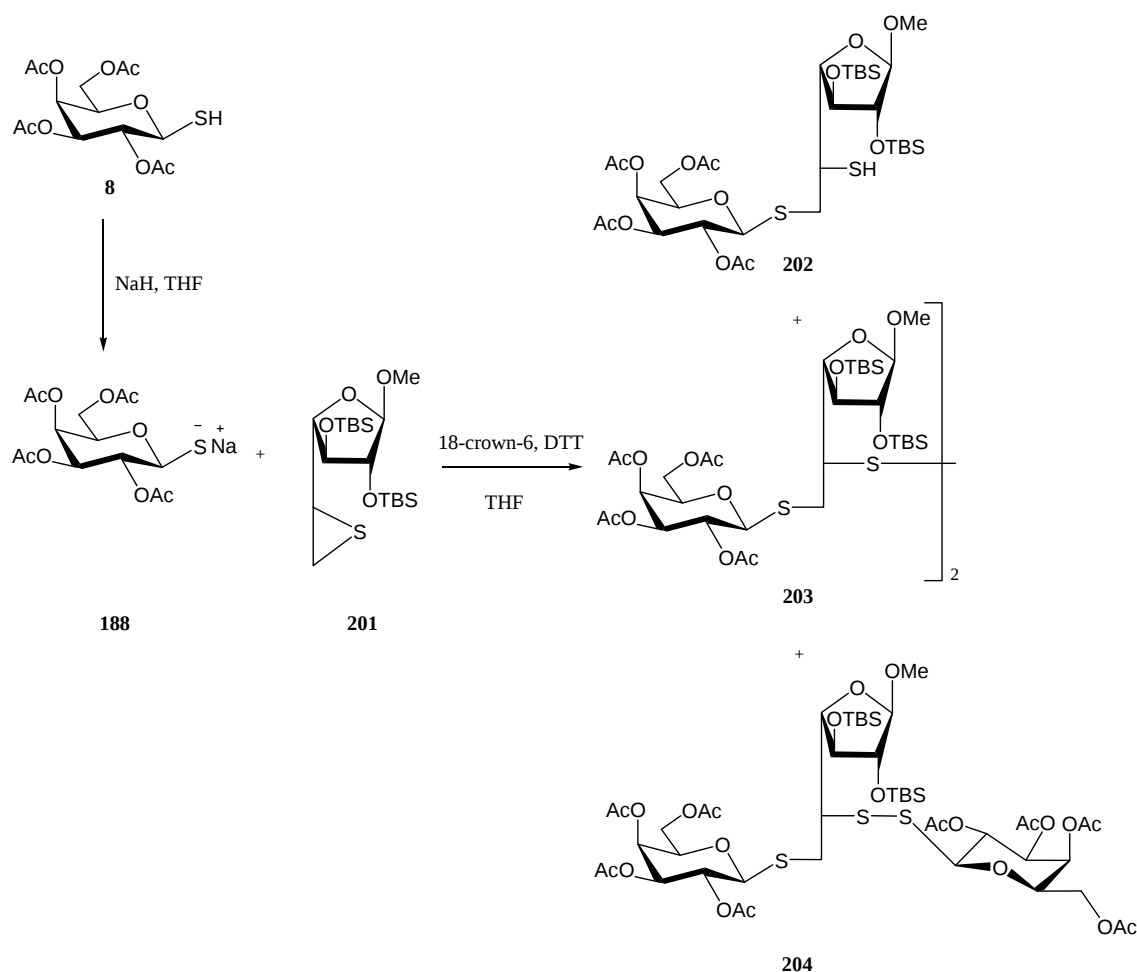
De la misma forma, se sintetizó **200** también a partir del **199** (270 mg, 0,44 mmol) en CH_2Cl_2 (10 mL) solución 2M de NaOMe/MeOH (2,5 mL) a 0 °C. Se agitó la reacción durante 1 h. Se detectó por CCD (hexano/EtOAc, 10:1) el producto de $R_f = 0,48$ (**200**) descrito anteriormente.

Metil 5,6-epitio-2,3-di-*O*-*ter*-butildimetilsilil- β -D-galactofuranósido (**201**).



A una solución del compuesto **200** (85 mg, 0,21 mmol) en MeOH anhidro (3 mL). se agregó tiourea (42 mg, 0,55 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 48 h. Se evaporó el solvente y el residuo se tomó con CH_2Cl_2 /agua. Se secó la fase orgánica con MgSO_4 , se filtró y concentró. Se observó por CCD (hexano/EtOAc, 10:1) un nuevo compuesto de $R_f = 0,68$, el cual se purificó mediante columna cromatográfica que se eluyó con hexano/EtOAc, 70:1, para dar **201** (73 mg, 83%); $[\alpha]_D^{20} = -41,2$ ($c = 0,8$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 4,69$ (d, 1H, $J_{1,2} = 1,8$ Hz, H-1), 4,00 (dd, 1H, $J_{1,2} = 1,8$, $J_{2,3} = 4,1$ Hz, H-2), 3,90 (dd, 1H, $J_{2,3} = 4,1$, $J_{3,4} = 6,8$ Hz, H-3), 3,55 (t, 1H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 7,0$ Hz, H-4), 3,34 (s, 3H, CH_3O), 3,04 (ddd, 1H, $J_{5,6b} = 5,4$, $J_{5,6a} = 6,5$, $J_{4,5} = 7,0$ Hz, H-5), 2,49 (dd, 1H, $J_{6a,6b} = 1,1$, $J_{5,6a} = 6,5$ Hz, H-6a), 2,37 (dd, 1H, $J_{6a,6b} = 1,1$, $J_{5,6b} = 5,4$ Hz, H-6b), 0,90, 0,89 (2s, 18H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), 0,11, 0,10, 0,09, 0,08 (4s, 12H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^f$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 109,2$ (C-1), 85,6 (C-4), 84,4 (C-2), 82,9 (C-3), 55,1 (CH_3O), 35,3 (C-5), 25,8, 25,7 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 21,8 (C-6), 17,9, 17,8 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], -4,1, -4,6 ($\times 2$), -4,9 [$(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^f$]. Análisis calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{40}\text{O}_4\text{SSi}_2$: C, 54,24; H, 9,58. Encontrado: C, 54,60; H, 9,65. HRMS m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{40}\text{O}_4\text{SSi}_2+\text{Na}$: 443,2084; Encontrado: 443,2083

Metil 2,3-di-*O-ter*-butildimetilsilil-6-*S*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosil)-5,6-ditio-β-D-galactofuranósido (202), bis [metil 2,3-di-*O-ter*-butildimetilsilil-6-*S*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosil)-5,6-ditio-β-D-galactofuranosil] disulfuro (203), 1-*S*[2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio-β-D-galactopiranosil]-5-*S*[metil 2,3-di-*O-ter*-butildimetilsilil-6-*S*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosil)-5,6-ditio-β-D-galactofuranosil] disulfuro (204).



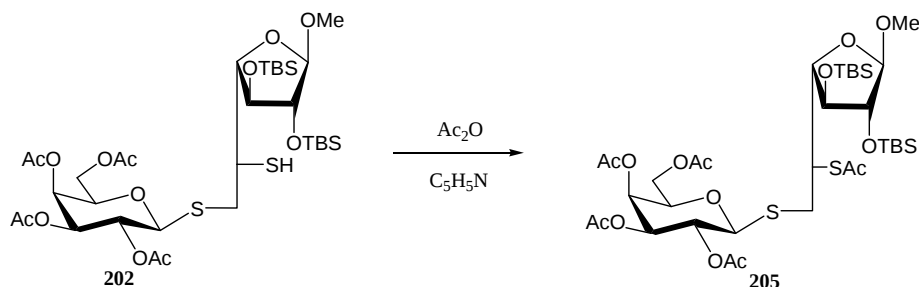
La 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio-galactopiranos¹² (142 mg, 0,39 mmol) y NaH (16 mg, 0,67 mmol) se disolvieron en THF anhidro (20 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Transcurrido este tiempo se evaporó el solvente y la sal resultante se agregó a una solución enfriada a 0 °C del tiirano **201** (82 mg, 0,19 mmol) y DTT (32 mg, 0,21 mmol) en THF anhidro (4 mL). A los 10 min se agregó 18-crown-6 (20 mg, 0,08 mmol) y se continuó la agitación. A los 30 min se agregó nuevamente 18-crown-6 (20 mg, 0,08 mmol) y se dejó reaccionar 30

min más. Por CCD (tolueno/EtOAc, 2:1) se observó la formación de tres compuestos de $R_f = 0,72$, $0,54$ y $0,44$, correspondientes al tiodisacárido **202** y los disulfuros **203** y **204**. La mezcla se separó mediante una columna cromatográfica que se eluyó con tolueno/EtOAc, 7:1→EtOAc. El compuesto mayoritario resultó ser el tiodisacárido **202** (146 mg, 98%); $[\alpha]_D^{20} = -37,8$ ($c = 0,9$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 5,43$ (dd, 1H, $J_{4',5'} = 0,9$, $J_{3',4'} = 3,3$ Hz, H-4'), $5,24$ (t, 1H, $J_{1',2'} = J_{2',3'} = 10,0$ Hz, H-2'), $5,02$ (dd, 1H, $J_{3',4'} = 3,3$, $J_{2',3'} = 10,0$ Hz, H-3'), $4,66$ (d, 1H, $J_{1,2} = 2,0$ Hz, H-1), $4,55$ (d, 1H, $J_{1',2'} = 10,0$ Hz, H-1'), $4,21$ (dd, 1H, $J_{2,3} = 3,9$, $J_{3,4} = 7,4$ Hz, H-3), $4,18$ (dd, 1H, $J_{4,5} = 1,8$, $J_{3,4} = 7,4$ Hz, H-4), $4,15$ (dd, 1H, $J_{5',6'a} = 6,7$, $J_{6'a,6'b} = 11,3$ Hz, H-6'a), $4,13$ (dd, 1H, $J_{5',6'b} = 6,7$, $J_{6'a,6'b} = 11,3$ Hz, H-6'b), $4,01$ (dd, 1H, $J_{1,2} = 2,0$, $J_{2,3} = 3,9$ Hz, H-2), $3,92$ (ddd, 1H, $J_{4',5'} = 0,9$, $J_{5',6'a} = J_{5',6'b} = 6,7$ Hz, H-5'), $3,32$ (s, 3H, CH_3O), $3,14$ (dd, 1H, $J_{5,6a} = 5,5$, $J_{6a,6b} = 12,5$ Hz, H-6a), $3,04$ (m, 1H, $J_{4,5} = 1,8$, $J_{5,6a} = 5,5$, $J_{5,6b} = 8,3$, $J_{5,HS} = 9,4$ Hz, H-5), $3,00$ (dd, 1H, $J_{5,6b} = 8,3$, $J_{6a,6b} = 12,5$ Hz, H-6b), $2,16$, $2,07$, $2,06$, $1,98$ (4s, 12H, CH_3CO), $1,92$ (d, 1H, $J_{5,HS} = 9,4$ Hz, HS), $0,90$, $0,89$ (2s, 18H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), $0,11$, $0,10$, $0,09$, $0,08$ (4s, 12H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^\wedge$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 170,2$ ($\times 2$), $170,0$, $169,5$ (MeCO), $109,0$ (C-1), $84,3$ (C-2), $83,7$ (C-1'), $81,2$ (C-4), $80,2$ (C-3), $74,4$ (C-5'), $71,8$ (C-3'), $67,2$ (C-2'), $67,1$ (C-4'), $61,2$ (C-6'), $55,0$ (CH_3O), $41,7$ (C-5), $36,7$ (C-6), $25,8$, $25,7$ [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], $21,4$, $20,7$, $20,6$, $20,5$ (CH_3CO), $17,8$ ($\times 2$) [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], $-4,1$, $-4,3$, $-4,6$, $-4,9$ [$(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^\wedge$]. Análisis calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{60}\text{O}_{13}\text{S}_2\text{Si}_2$: C, 50,48; H, 7,70. Encontrado: C, 50,80; H, 7,46. HRMS m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{60}\text{O}_{13}\text{S}_2\text{Si}_2+\text{Na}$: 807,29061; Encontrado: 807,29166.

De fracciones posteriores se aislaron **203** y **204**. **203**: $[\alpha]_D^{20} = +12,3$ ($c = 1$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 5,45$ (dd, 1H, $J_{4',5'} = 1,0$, $J_{3',4'} = 3,4$ Hz, H-4'), $5,20$ (t, 1H, $J_{1',2'} = J_{2',3'} = 10,0$ Hz, H-2'), $5,07$ (dd, 1H, $J_{3',4'} = 3,4$, $J_{2',3'} = 10,0$ Hz, H-3'), $4,65$ (d, 1H, $J_{1,2} = 1,6$ Hz, H-1), $4,58$ (d, 1H, $J_{1',2'} = 10,0$ Hz, H-1'), $4,30$ (dd, 1H, $J_{4,5} = 2,3$, $J_{3,4} = 6,7$ Hz, H-4), $4,17$ (m, 2H, H-6'a, H-6'b), $4,16$ (dd, 1H, $J_{2,3} = 3,5$, $J_{3,4} = 6,8$ Hz, H-3), $3,99$ (m, 1H, H-5'), $3,98$ (dd, 1H, $J_{1,2} = 1,6$, $J_{2,3} = 3,5$ Hz, H-2), $3,32$ (s, 3H, CH_3O), $3,16$ (m, 3H, H-5, H-6a, H-6b), $2,16$, $2,07$, $2,04$, $1,98$ (4s, 12H, CH_3CO), $0,90$, $0,89$ (2s, 18H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), $0,12$ ($\times 2$), $0,09$, $0,08$ (4s, 12H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^\wedge$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 170,3$, $170,2$, $170,0$, $169,5$ (MeCO), $109,0$ (C-1), $84,5$ (C-

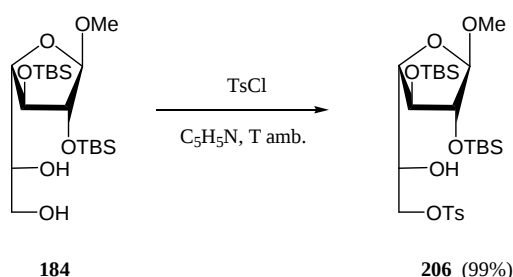
1'), 84,1 (C-2), 82,1 (C-4), 80,0 (C-3), 74,3 (C-5'), 71,8 (C-3'), 67,6 (C-2'), 67,1 (C-4'), 61,0 (C-6'), 55,1 (CH₃O), 54,0 (C-5), 32,6 (C-6), 25,8 ($\times 2$) [(CH₃)₃CSiMe₂], 20,8, 20,7 ($\times 2$), 20,6 (CH₃CO), 17,9, 17,8 [(CH₃)₃CSiMe₂], -4,0, -4,2, -4,5, -4,9 [(CH₃)₂SiBu^f]. Análisis calculado para C₆₆H₁₁₈O₂₆S₄Si₄: C, 50,55; H, 7,58. Encontrado: C, 50,52; H, 7,57. HRMS m/z [M+Na]⁺ calculado para C₆₆H₁₁₈O₂₆S₄Si₄+Na: 1589,57634; Encontrado: 1589,57115. **204**: [α]_D²⁰ = -0,59 (c = 1, acetona); RMN-¹H (500 MHz, (CD₃)₂CO): δ = 5,47, 5,45 (2dd, 2H, H-4', H-4''), 5,28-5,16 (m, 4H, H-2', H-2'', H-3', H-3''), 4,91 (d, 1H, $J_{1'',2''}$ = 9,9 Hz, H-1''), 4,87 (d, 1H, $J_{1',2'}$ = 9,7 Hz, H-1'), 4,72 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 1,2 Hz, H-1), 4,43 (d, 2H, H-6'a, H-6'b), 4,42 (dd, 1H, $J_{4,5}$ ~ 3,0, $J_{3,4}$ = 6,8 Hz, H-4), 4,36 (ddd, 1H, $J_{4'',5''}$ = 1,2, $J_{5'',6''a}$ ~ $J_{5'',6''}$ ~ 6,6 Hz, H-5''), 4,28 (dd, 1H, $J_{2,3}$ = 3,0, $J_{3,4}$ = 6,8 Hz, H-3), 4,25-4,16 (m, 3H, H-5', H-6''a, H-6''b), 4,07 (dd, 1H, $J_{1,2}$ = 1,2, $J_{2,3}$ = 3,0 Hz, H-2), 3,54 (dd, 1H, H-6a), 3,36 (s, 3H, CH₃O), 3,35 (m, 1H, H-5), 3,18 (dd, 1H, $J_{5,6b}$ = 8,7, $J_{6a,6b}$ = 13,4 Hz, H-6b), 2,17, 2,16, 2,07 ($\times 2$), 2,05, 2,03, 1,94 ($\times 2$) (8s, 24H, CH₃CO), 0,96, 0,95 (2s, 18H, (CH₃)₃CSiMe₂), 0,22, 0,20, 0,16, 0,15 (4s, 12H, (CH₃)₂SiBu^f); RMN-¹³C (125,7 MHz, (CD₃)₂CO): δ = 170,8 ($\times 2$), 170,6, 170,5, 170,1 ($\times 2$), 170,0, 169,8 (MeCO), 109,7 (C-1), 91,4 (C-1''), 85,5 (C-2), 84,6 (C-1'), 83,2 (C-4), 81,6 (C-3), 75,6 (C-5''), 75,1 (C-5'), 72,5, 72,4 (C-3', 3''), 68,4, 68,3, 68,2 ($\times 2$) (C-2', 2'', 4', 4''), 62,2, 62,0, (C-6', 6''), 55,5, 55,2 (C-5, CH₃O), 33,4 (C-6), 26,3 ($\times 3$) [(CH₃)₃CSiMe₂], 20,8 ($\times 3$), 20,7 ($\times 2$), 20,6, 20,5 ($\times 2$) (CH₃CO), 18,5 ($\times 2$) [(CH₃)₃CSiMe₂], -3,7, -3,8, -4,2, -4,6 [(CH₃)₂SiBu^f]. Análisis calculado para C₄₇H₇₈O₂₂S₃Si₂.5H₂O: C, 45,61; H, 7,17. Encontrado: C, 45,42; H, 6,49. HRMS m/z [M+Na]⁺ calculado para C₄₇H₇₈O₂₂S₃Si₂+Na: 1169,35776; Encontrado: 1169,35383.

Metil 5-*S*-acetil-2,3-di-*O*-*ter*-butildimetilsilil-6-*S*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-galactopiranosil)-5,6-ditio- β -D-galactofuranósido (205).



Se disolvió el tiodisacárido **202** (15 mg, 0,02 mmol) en piridina (0,5 mL) y se agregó Ac_2O (0,5 mL). Se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. Una vez obtenido el compuesto acetilado **205** ($R_f = 0,81$, tolueno/EtOAc, 2:1) se concentró el solvente en rotavap, co-evaporando con tolueno y la estructura del producto crudo se confirmó mediante espectroscopía; RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 5,47$ (dd, 1H, $J_{4',5'} = 0,7$, $J_{3',4'} = 3,3$ Hz, H-4'), 5,25 (t, 1H, $J_{1',2'} = J_{2',3'} = 10,0$ Hz, H-2'), 5,07 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 3,3$, $J_{2',3'} = 10,0$ Hz, H-3'), 4,84 (d, 1H, $J_{1',2'} = 10,0$ Hz, H-1'), 4,59 (d, 1H, $J_{1,2} = 1,9$ Hz, H-1), 4,27 (dd, 1H, $J_{4,5} = 1,4$, $J_{3,4} = 7,8$ Hz, H-4), 4,12 (m, 3H, H5', H-6'a, H6'b), 3,98 (dd, 1H, $J_{1,2} = 1,9$, $J_{2,3} = 4,4$ Hz, H-2), 3,94 (dd, 1H, $J_{2,3} = 4,4$, $J_{3,4} = 7,8$ Hz, H-3), 3,77 (dddd, 1H, $J_{4,5} = 1,4$, $J_{5,6a} = 3,6$, $J_{5,6b} = 11,1$ Hz, H-5), 3,32 (s, 3H, CH_3O), 3,08 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 3,6$, $J_{6a,6b} = 14,1$ Hz, H-6a), 2,90 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 11,1$, $J_{6a,6b} = 14,1$ Hz, H-6b), 2,37 (s, 3H, SCOCCH_3), 2,15, 2,05, 2,02, 1,98 (4s, 12H, CH_3CO), 0,90, 0,88 (2s, 18H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), 0,07, 0,06, 0,05, 0,01 (4s, 12H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^f$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 194,9$ (SCOMe), 170,3 ($\times 2$), 170,0, 169,7 (MeCO), 108,9 (C-1), 84,5 (C-2), 82,1 (C-1'), 80,4 (C-3), 79,3 (C-4), 74,4 (C-5'), 72,0 (C-3'), 67,5 (C-2'), 67,3 (C-4'), 61,1 (C-6'), 55,2 (CH_3O), 45,1 (C-5), 32,6 (C-6), 30,9 (SCOCH_3), 25,8 ($\times 2$) [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 20,8, 20,7 ($\times 2$), 20,6 (CH_3CO), 17,9, 17,8 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], -4,2, -4,5, -4,8, -5,0 [$(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^f$].

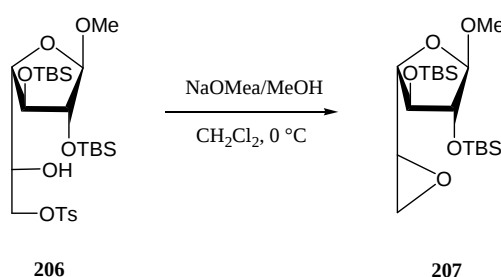
Metil 2,3-di-*O*-*ter*-butildimetilsilil-6-*O*-tosil- β -D-galactofuranósido (**206**).



Se tosiloó selectivamente el hidroxilo primario del compuesto **184**. Para ello se preparó una solución de **184** (250 mg, 0,59 mmol) en piridina anhidra (6 mL) y se agregó un exceso de cloruro de tosilo (226 mg, 1,18 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. La solución tomó coloración amarilla y ta. Para detener la reacción se agregó MeOH (10 mL) y se evaporó el solvente. Se

redisolvió el jarabe obtenido en CH_2Cl_2 y se realizaron lavados con agua. La fase orgánica se secó (MgSO_4), filtró y concentró, co-evaporando con tolueno para eliminar restos de piridina. La CCD (hexano/ EtOAc , 4:1) mostró un compuesto principal de $R_f = 0,47$. Se obtuvo así el compuesto **206** (337 mg, 99%) suficientemente puro para la reacción siguiente; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -25,5$ ($c = 0,9$, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,81, 7,34$ (2d, 4H, $J \sim 8,2$ Hz, H-aromáticos), 4,67 (br s, 1H, H-1), 4,08 (d, 2H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6,4$ Hz, H-6a, H-6b), 4,05 (dddd, 1H, $J_{2,3} = 2,6$, $J_{3,4} = 5,1$ Hz, H-3), 3,96 (dd, 1H, $J_{1,2} = 1,1$, $J_{2,3} = 2,6$ Hz, H-2), 3,94 (dd, 1H, $J_{4,5} = 1,6$, $J_{3,4} = 5,1$ Hz, H-4), 3,89 (dddd, 1H, $J_{4,5} = 1,6$, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6,4$, $J_{5,\text{HO}} = 7,3$ Hz, H-5), 3,29 (s, 3H, CH_3O), 2,64 (d, 1H, $J_{5,\text{HO}} = 7,3$ Hz, HO), 2,44 (s, 3H, CH_3Ph), 0,87 ($\times 2$) (2s, 18H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), 0,09, 0,07 ($\times 2$), 0,05 (4s, 12H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^\wedge$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 144,8, 132,9, 129,8, 128,0$ (C-aromáticos), 109,5 (C-1), 83,4 (C-4), 82,7 (C-2), 79,0 (C-3), 70,7 (C-6), 67,8 (C-5), 54,9 (CH_3O), 25,7 ($\times 2$) [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 21,6 (CH_3Ph), 17,8 ($\times 2$) [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], -4,4, -4,7, -4,8, -5,0 [$(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^\wedge$]. Análisis calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{48}\text{O}_8\text{SSi}_2$: C, 54,13; H, 8,39. Encontrado: C, 54,03; H, 8,43.

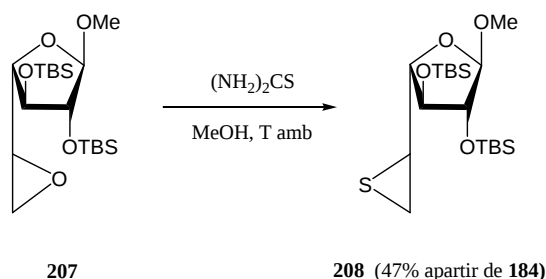
Metil 5,6-anhidro-2,3-di-*O*-*ter*-butildimetilsilil- β -D-galactofuranósido (**207**).



Se procedió según la metodología descrita para sintetizar el compuesto **200**. Se disolvió el compuesto **206** crudo (337 mg, 0,58 mmol) en CH_2Cl_2 (14 mL) y se agregó a la solución, previamente enfriada a 0°C , una solución 2M de NaOMe/MeOH (3 mL). Se agitó la reacción durante 1 h; cuando se detectó por CCD (tolueno) el consumo total del compuesto de partida y aparición de un producto de $R_f = 0,40$. La mezcla de reacción se diluyó con CH_2Cl_2 y se extrajo con agua. La fase orgánica se secó (MgSO_4) y se concentró para dar el epóxido **207** como un jarabe

amarillo, que se empleó crudo para el siguiente paso de síntesis; RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ = 4,68 (d, 1H, $J_{1,2}$ = 2,0 Hz, H-1), 4,01 (dd, 1H, $J_{1,2}$ = 2,0, $J_{2,3}$ = 4,4 Hz, H-2), 3,98 (dd, 1H, $J_{2,3}$ = 4,4, $J_{3,4}$ = 7,3 Hz, H-3), 3,62 (dd, 1H, $J_{4,5}$ = 6,0, $J_{3,4}$ = 7,3 Hz, H-4), 3,36 (s, 3H, CH_3O), 3,09 (dddd, 1H, $J_{5,6b}$ = 2,7, $J_{5,6a}$ = 4,3, $J_{4,5}$ = 6,0 Hz, H-5), 2,83 (dd, 1H, $J_{5,6a}$ = 4,3, $J_{6a,6b}$ = 5,2 Hz, H-6a), 2,75 (dd, 1H, $J_{5,6b}$ = 2,7, $J_{6a,6b}$ = 5,2 Hz, H-6b), 0,90, 0,88 (2s, 18H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), 0,10, 0,09, 0,08, 0,07 (4s, 12H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): δ = 109,4 (C-1), 84,3 (C-2), 82,4 (C-4), 80,1 (C-3), 55,3 (CH_3O), 51,7 (C-5), 44,2 (C-6), 25,8, 25,6 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 17,9 ($\times 2$) [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], -4,2, -4,6, -4,9 ($\times 2$) [$(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$].

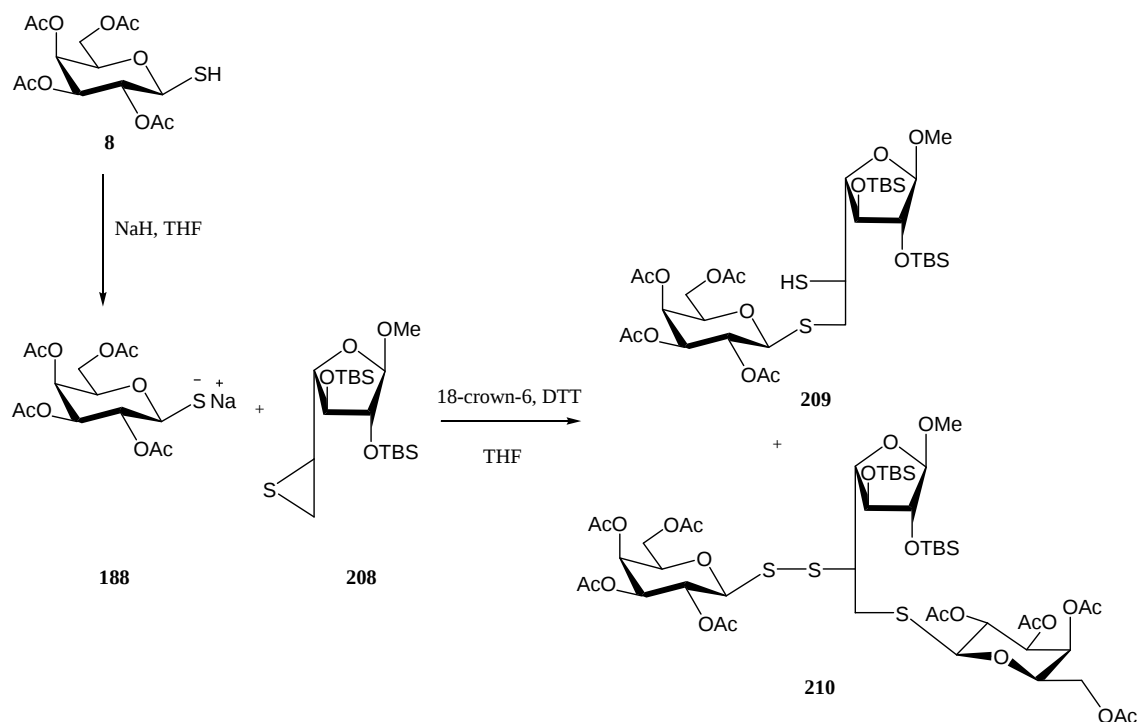
Metil 5,6-epitio-2,3-di-*O*-*ter*-butildimetilsilil- α -L-altrofuranósido (**208**).



Se disolvió el compuesto **207** crudo (221 mg, 0,55mmol) en MeOH anhidro (8 mL) y se agregó tiourea (110 mg, 1,45 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. Se evaporó el solvente y se realizó una partición entre CH_2Cl_2 /agua. Se secó la fase orgánica (MgSO_4), se filtró y concentró. El jarabe amarillo obtenido mostró por CCD (tolueno) un R_f = 0,57. El producto se purificó mediante columna cromatográfica eluyendo con hexano/EtOAc, 50:1, para dar **208** (116 mg, 47% en tres pasos a partir del **184**); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = -17,3 (c = 0,7, CHCl_3); RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ = 4,78 (br s, 1H, H-1), 4,04 (dd, 1H, $J_{2,3}$ = 2,1, $J_{3,4}$ = 3,7 Hz, H-3), 3,99 (dd, 1H, $J_{1,2}$ = 0,8, $J_{2,3}$ = 2,1 Hz, H-2), 3,51 (dd, 1H, $J_{3,4}$ = 3,7, $J_{4,5}$ = 8,2 Hz, H-4), 3,34 (s, 3H, CH_3O), 3,04 (dddd, 1H, $J_{5,6b}$ = 5,3, $J_{5,6a}$ = 6,1, $J_{4,5}$ = 8,2 Hz, H-5), 2,53 (dd, 1H, $J_{6a,6b}$ = 1,2, $J_{5,6a}$ = 6,1 Hz, H-6a), 2,30 (dd, 1H, $J_{6a,6b}$ = 1,2, $J_{5,6b}$ = 5,3 Hz, H-6b), 0,90, 0,89 (2s, 18H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), 0,11 ($\times 2$), 0,10 ($\times 2$) (4s, 12H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): δ = 110,4 (C-1), 89,9 (C-4), 83,2 (C-2), 82,6 (C-3), 54,9 (CH_3O), 34,5 (C-5), 25,8, 25,7 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 23,5 (C-6), 17,9 ($\times$

2) $[(CH_3)_3CSiMe_2]$, -4,3, -4,5, -4,6, -4,8 $[(CH_3)_2SiBu^t]$. Análisis calculado para $C_{19}H_{40}O_4SSi_2$: C, 54,24; H, 9,58. Encontrado: C, 54,07; H, 9,81. HRMS m/z $[M+Na]^+$ calculado para $C_{19}H_{40}O_4SSi_2+Na$: 443,2084; Encontrado: 443,2083

Metil 2,3-di-*O*-*ter*-butildimetilsilil-6-*S*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-galactopiranosil)-5,6-ditio- α -L-altrofuranósido (209), 1-*S*[2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio- β -D-galactopiranosil]-5-*S*[metil 2,3-di-*O*-*ter*-butildimetilsilil-6-*S*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-galactopiranosil)-5,6-ditio- α -L-altrofuranósil]-disulfuro (210).



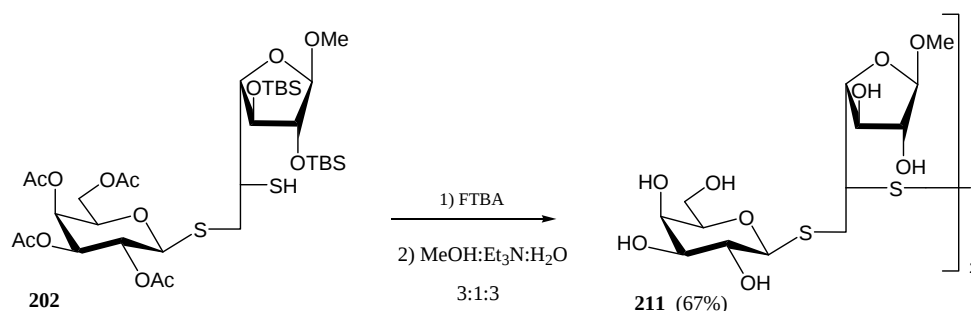
Se procedió en forma análoga a la apertura del tiirano **201** descrita anteriormente, excepto que el tiempo que llevó la reacción de acoplamiento fue 2,5 h y solo se obtuvieron dos productos, el tiodisacárido (**209**) y el disulfuro (**210**) con valores de $R_f = 0,67$ y $0,32$ respectivamente (tolueno).

209: (157 mg, 87%); $[\alpha]_D^{20} = -29,5$ ($c = 0,9$, $CHCl_3$); RMN- 1H (500 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 5,43$ (dd, 1H, $J_{4',5'} = 0,9$, $J_{3',4'} = 3,4$ Hz, H-4'), 5,23 (t, 1H, $J_{1',2'} = J_{2',3'} = 10,0$ Hz, H-2'), 5,04 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 3,4$, $J_{2',3'} = 10,0$ Hz, H-3'), 4,74 (s, 1H, H-1), 4,59 (d, 1H, $J_{1',2'} = 10,0$ Hz, H-1'), 4,14 (d, 2H, H-6a, H-6b), 4,12 (dd, 1H, $J_{2,3} = 1,2$, $J_{3,4} = 3,4$ Hz, H-3), 3,96 (dd, 1H, $J_{3,4} = 3,4$ Hz, H-4), 3,98–3,92 (2H, H-2, H-5'), 3,32 (s, 3H, CH_3O), 3,24

(dd, 1H, $J_{5,6a} = 4,0$, $J_{6a,6b} = 13,4$ Hz, H-6a), 3,19 (dddd, 1H, $J_{4,5} \sim J_{5,6a} = 4,0$, $J_{5,6b} = 7,5$ Hz, H-5), 2,97 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 7,5$, $J_{6a,6b} = 13,4$ Hz, H-6b), 2,16, 2,08, 2,04, 1,99 (4s, 12H, CH_3CO), 0,89, 0,88 (2s, 18H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), 0,12 ($\times 2$) 0,10, 0,09 (4s, 12H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 170,3$, 170,2, 170,0, 169,5 (MeCO), 110,2 (C-1), 89,0, 82,4 (C-2, 4), 85,0 (C-1'), 80,7 (C-3), 74,4 (C-5'), 71,9 (C-3'), 67,6 (C-2'), 67,1 (C-4'), 61,2 (C-6'), 54,7 (CH_3O), 43,0 (C-5), 36,6 (C-6), 25,7 ($\times 2$) [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 20,8, 20,6 ($\times 3$) (CH_3CO), 17,8 ($\times 2$) [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], -4,3, -4,4, 4,7, -4,8 [$(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$]. Análisis calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{60}\text{O}_{13}\text{S}_2\text{Si}_2$: C, 50,48; H, 7,70. Encontrado: C, 50,81; H, 7,81. HRMS m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{60}\text{O}_{13}\text{S}_2\text{Si}_2+\text{Na}$: 807,29061; Encontrado: 807,29166.

210: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -41,5$ ($c = 1$, acetona); RMN- ^1H (500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 5,47$, 5,46 (2dd, 2H, H-4', H-4''), 5,23–5,16 (m, 4H, H-2', H-2'', H-3', H-3''), 5,06 (d, 1H, $J_{1',2'} = 9,9$ Hz, H-1'), 4,90 (d, 1H, $J_{1'',2''} = 9,9$ Hz, H-1''), 4,78 (br s, 1H, H-1), 4,25 (m, 1H, H-5''), 4,23 (dd, 1H, $J_{2,3} = 2,2$, $J_{3,4} = 5,0$ Hz, H-3), 4,21 (t, 1H, $J_{3,4} \sim J_{4,5} \sim 5,2$ Hz, H-4), 4,16–4,01 (m, 6H, H-2, H-5', H-6'a, H-6'b, H-6''a, H-6''b), 3,41 (m, 1H, $J_{4,5} \sim J_{5,6a} \sim 5,6$ Hz, H-5), 3,34 (s, 3H, CH_3O), 3,22 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 5,6$, $J_{6a,6b} = 13,6$ Hz, H-6a), 3,14 (dd, 1H, $J_{6a,6b} = 13,6$ Hz, H-6b), 2,15 ($\times 2$), 2,08, 2,05, 2,01, 2,00, 1,93 (8s, 24H, CH_3CO), 0,93, 0,92 (2s, 18H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), 0,19 0,18, 0,15, 0,14 (4s, 12H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): $\delta = 170,7$ ($\times 2$), 170,5 ($\times 2$), 170,2 ($\times 2$), 170,0 ($\times 2$) (MeCO), 110,4 (C-1), 86,8 (C-4), 85,3 (C-1''), 84,8 (C-2), 82,7 (C-1'), 81,7 (C-3), 75,2, 75,1 (C-5', 5''), 72,5 ($\times 3$), 68,4 ($\times 2$), 68,1 (C-2', 2'', 3', 3'', 4', 4''), 62,2 ($\times 2$) (C-6', 6''), 55,1 (CH_3O), 48,9 (C-5), 32,8 (C-6), 26,3 ($\times 2$), 26,2 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 20,9, 20,8, 20,7 ($\times 2$), 20,6 ($\times 2$), 20,5 ($\times 2$) (CH_3CO), 18,6, 18,4 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], -3,7, -3,9, -4,3, -4,5 [$(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^t$]. Análisis calculado para $\text{C}_{47}\text{H}_{78}\text{O}_{22}\text{S}_3\text{Si}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: C, 44,96; H, 7,22. Encontrado: C, 45,42; H, 6,49.

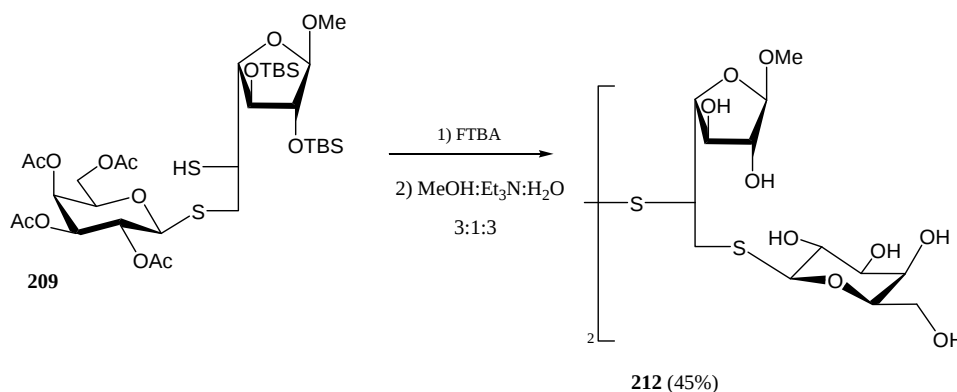
Bis [metil 6-*S*-(β-D-galactopiranosil)-5,6-ditio-β-D-galactofuranosil] disulfuro (211).



A una solución del tiodisacárido **202** (181 mg, 0,23 mmol) en THF (6,5 mL) enfriada a 0 °C, se le agregó FTBA 1M en THF (160 µL, 0,55 mmol), para hidrolizar los ésteres de sililo. La mezcla se agitó durante 10 min a 0 °C y luego a temperatura ambiente durante 18 h. La CCD (tolueno/EtOAc, 2:1) mostró un compuesto de $R_f = 0$. Se concentró la solución y se redisolvió el residuo en CH_2Cl_2 . La fase orgánica se lavó con agua, se secó (MgSO_4) y se evaporó el solvente. Se obtuvo un jarabe marrón ($R_f = 0,59$, $n\text{-BuOH/EtOH/H}_2\text{O}$, 2,5:1:1) que se redisolvió en solución de $\text{MeOH:Et}_3\text{N:H}_2\text{O}$ 3:1:3 (25 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 h, luego se concentró co-evaporando con tolueno y metanol. Se obtuvo un jarabe naranja que se purificó mediante una columna rellena con resina de intercambio iónico (Dowex MR-3C mixed bed), que se eluyó con solución metanol:agua 1:1 (15 mL). El eluato se concentró y se repurificó con una mini columna octadecil C18 con MeOH:agua 1:1 (10 mL). Se obtuvo así el disulfuro **211** (60 mg, 67%); $[\alpha]_D^{20} = -176,8$ ($c = 1$, MeOH); RMN- ^1H (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 4,72$ (d, 1H, $J_{1,2} = 2,1$ Hz, H-1), 4,45 (d, 1H, $J_{1,2'} = 9,6$ Hz, H-1'), 4,40 (dd, 1H, $J_{4,5} = 3,1$, $J_{3,4} = 7,4$ Hz, H-4), 4,22 (dd, 1H, $J_{2,3} = 4,3$, $J_{3,4} = 7,4$ Hz, H-3), 3,97 (dd, 1H, $J_{1,2} = 2,1$, $J_{2,3} = 4,3$ Hz, H-2), 3,91 (dd, 1H, $J_{4',5'} = 0,7$, $J_{3',4'} = 3,4$ Hz, H-4'), 3,80 (dd, 1H, $J_{5',6'a} = 6,7$, $J_{6'a,6'b} = 11,5$ Hz, H-6'a), 3,70 (dd, 1H, $J_{5',6'b} = 5,1$, $J_{6'a,6'b} = 11,5$ Hz, H-6'b), 3,62 (t, 1H, $J_{1,2'} = J_{2',3'} = 9,2$ Hz, H-2'), 3,53 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 3,4$, $J_{2',3'} = 9,2$ Hz, H-3'), 3,46 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 5,3$, $J_{6a,6b} = 13,6$ Hz, H-6a), 3,40 (m, 1H, $J_{5,6a} = 5,3$, $J_{5,6b} = 9,3$ Hz, H-5), 3,32 (s, 3H, CH_3O), 3,04 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 9,3$, $J_{6a,6b} = 13,8$ Hz, H-6b), 1,92 (s, 1H, HS); RMN- ^{13}C (125,7

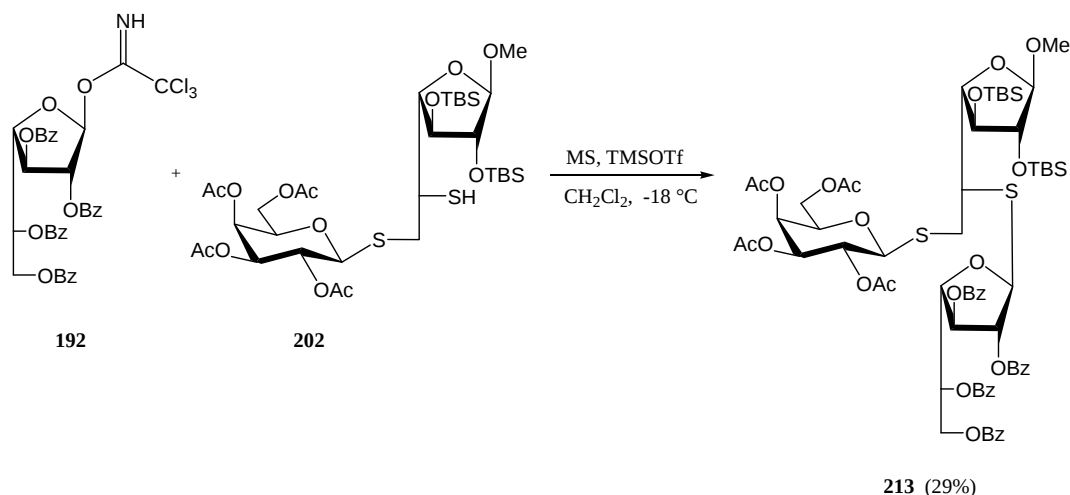
MHz, CD₃OD): δ = 110,0 (C-1), 87,5 (C-1'), 84,0 (C-2), 82,4 (C-4), 80,5, 71,2 (C-5',2'), 79,8 (C-3), 76,1 (C-3'), 70,6 (C-4'), 62,7 (C-6'), 55,7 (C-5), 55,4 (CH₃O), 33,5 (C-6). HRMS m/z [M+Na]⁺ calculado para C₂₆H₄₆O₁₈S₄+Na: 797,14592; Encontrado: 797,14575.

Bis [metil 6-*S*-(β -D-galactopiranosil)-5,6-ditio- α -L-altrofuranosil] disulfuro (212).



Se procedió según la metodología descrita anteriormente para obtener **211**, a partir del tiodisacárido **209** (148 mg, 0,19 mmol). Se obtuvo el disulfuro **212** (R_f = 0,58, *n*-BuOH/EtOH/H₂O, 2,5:1:1) aunque con un rendimiento más bajo (33 mg, 45%); $[\alpha]_D^{20}$ = -97,8 (c = 1, MeOH); RMN-¹H (500 MHz, CD₃OD): δ = 4,7 (br s, 1H, H-1), 4,47 (d, 1H, $J_{1,2'} = 9,6$ Hz, H-1'), 4,25 (t, 1H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 5,6$ Hz, H-4), 4,18 (dd, 1H, $J_{2,3} = 2,7$, $J_{3,4} = 5,6$ Hz, H-3), 3,95 (dd, 1H, $J_{1,2} = 1,4$, $J_{2,3} = 2,7$ Hz, H-2), 3,90 (dd, 1H, $J_{4',5'} = 0,8$, $J_{3',4'} = 3,3$ Hz, H-4'), 3,79 (dd, 1H, $J_{5',6'a} = 6,9$, $J_{6'a,6'b} = 11,5$ Hz, H-6'a), 3,69 (dd, 1H, $J_{5',6'b} = 5,1$, $J_{6'a,6'b} = 11,5$ Hz, H-6'b), 3,62-3,57 (m, 2H, H-5', H-2'), 3,50 (dd, 1H, $J_{3',4'} = 3,3$, $J_{2',3'} = 9,2$ Hz, H-3'), 3,42 (m, 1H, H-5), 3,37 (s, 3H, CH₃O), 3,33-3,36 (m, 1H, H-6a), 3,03 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 7,8$, $J_{6a,6b} = 14,3$ Hz, H-6b), 1,92 (s, 1H, HS); RMN-¹³C (125,7 MHz, CD₃OD): δ = 110,3 (C-1), 87,7 (C-1'), 85,8 (C-4), 83,3 (C-2), 80,6, 71,5 (C-5',2'), 80,1 (C-3), 76,2 (C-3'), 70,6 (C-4'), 62,7 (C-6'), 56,1 (C-5), 55,4 (CH₃O), 31,6 (C-6). HRMS m/z [M+Na]⁺ calculado para C₂₆H₄₆O₁₈S₄+Na: 797,14592; Encontrado: 797,14431.

Metil 2,3-di-*O*-ter-butildimetilsilil-5-*S*-(2,3,5,6-tetra-*O*-benzoil-β-D-galactofuranosil)-6-*S*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-galactopiranosil)-5,6-ditio-β-D-galactofuranósido (213).



Se procedió a acoplar el tiodisacárido **202** con el tricloroacetimidato **192** según la técnica descrita previamente para la obtención de **195**. A una solución del tricloroacetimidato **192** (195 mg, 0,26 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (5 mL) se le agregó el tiodisacárido **202** (82 mg, 0,10 mmol) y molecular sieves 4 Å en polvo, activado previamente 3 h. La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h en atmósfera de argón. Luego se enfrió a -18 °C, se agregó TMSOTf (12 μL, 0,07 mmol) y se continuó la agitación 1,5 h cuando la CCD (hexano/EtOAc, 2:1) mostró un producto de R_f = 0,24. Se diluyó la mezcla de reacción con CH₂Cl₂, se filtró y se extrajo con solución saturada de NaHCO₃ y con agua. La fase orgánica se secó (MgSO₄) y se evaporó el solvente. El residuo se purificó por columna cromatográfica eluyendo con mezclas de hexano/EtOAc, 5:1→2:1 (40 mg, 29%); [α]_D²⁰ = -36,8 (*c* = 1, CHCl₃); RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃): δ = 8,09–7,28 (H-aromáticos), 6,10 (dddd, 1H, *J*_{5'',6''a} = 3,6, *J*_{4'',5''} = 4,6, *J*_{5'',6''b} = 7,3, Hz H-5''), 5,95 (br s, 1H, H-1''), 5,73 (d, 1H, *J*_{3'',4''} = 4,7 Hz, H-3''), 5,58 (br s, 1H, H-2''), 5,39 (d, 1H, *J*_{3',4'} = 3,4 Hz, H-4'), 5,22 (t, 1H, *J*_{1',2'} = *J*_{2',3'} = 10,0 Hz, H-2'), 5,07 (dd, 1H, *J*_{3',4'} = 3,4, *J*_{2',3'} = 10,0 Hz, H-3'), 4,86 (t, 1H, *J*_{3'',4''} = *J*_{4'',5''} = 4,6 Hz, H-4''), 4,82 (dd, 1H, *J*_{5'',6''a} = 3,6, *J*_{6''a,6''b} = 12,1 Hz, H-6''a), 4,73 (dd, 1H, *J*_{5'',6''b} = 7,3, *J*_{6''a,6''b} = 12,1 Hz, H-6''b), 4,68 (d, 1H, *J*_{1,2} = 1,8 Hz, H-1), 4,63 (d, 1H, *J*_{1',2'} = 10,0 Hz, H-1'), 4,36 (dd, 1H, *J*_{4,5} = 2,1, *J*_{3,4}

= 7,2 Hz, H-4), 4,22 (dd, 1H, $J_{2,3} = 4,0$, $J_{3,4} = 7,2$ Hz, H-3), 4,10(m, 2H, H-6'a, H6'b), 4,00 (dd, 1H, $J_{1,2} = 1,8$, $J_{2,3} = 4,0$ Hz, H-2), 3,94 (t, 1H, H-5'), 3,33 (dd, 1H, $J_{5,6a} = 5,6$, $J_{6a,6b} = 13,0$ Hz, H-6a), 3,31 (s, 3H, CH_3O), 3,27 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 1,9$, $J_{5,6a} = 5,6$, $J_{5,6b} = 8,3$ Hz, H-5), 3,19 (dd, 1H, $J_{5,6b} = 8,3$, $J_{6a,6b} = 13,0$ Hz, H-6b), 2,09, 1,99, 1,96, 1,92 (4s, 12H, CH_3CO), 0,85, 0,84 (2s, 18H, $(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$), 0,09, 0,07 ($\times 2$), 0,06 (4s, 12H, $(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^\wedge$); RMN- ^{13}C (125,7 MHz, CDCl_3): $\delta = 170,2$ ($\times 2$), 169,9, 169,5 (MeCO), 166,0, 165,6, 165,4, 165,2 (PhCO), 133,5–128,3 (C-aromáticos), 108,9 (C-1), 88,2 (C-1''), 84,4 (C-2), 83,3 (C-1'), 83,1 (C-2''), 82,4 (C-4), 81,9 (C-4''), 80,1 (C-3), 77,7 (C-3''), 74,2 (C-5'), 71,8 (C-3'), 70,4 (C-5''), 67,5 (C-2'), 67,1 (C-4'), 63,7 (C-6''), 61,0 (C-6'), 55,1 (CH_3O), 46,3 (C-5), 33,1 (C-6), 25,8, 25,7 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 20,6 ($\times 3$), 20,5 (CH_3CO), 17,8, 17,7 [$(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$], 4,2, -4,3, -4,5, -4,9 [$(\text{CH}_3)_2\text{SiBu}^\wedge$]. Análisis calculado para $\text{C}_{67}\text{H}_{86}\text{O}_{22}\text{S}_2\text{Si}_2$: C, 59,01; H, 6,36. Encontrado: C, 58,63; H, 5,96. HRMS m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{67}\text{H}_{86}\text{O}_{22}\text{S}_2\text{Si}_2+\text{Na}$: 1385,44829; Encontrado: 1385,44979.

8.7 Ensayos de inhibición de la β -D-galactofuranosidasa

Para evaluar la actividad enzimática de la exo β -D-galactofuranosidasa aislada a partir *Penicillium fellutanum*, se utilizó el 4-nitrofenil- β -D-galactofuranósico como sustrato y la D-galactono-1,4-lactona como inhibidor de referencia (IC_{50} 0,02 mM).¹³ La reacción enzimática se llevó a cabo en presencia de los posibles inhibidores (**114**, **115**, **116**, **158**, **159**, **160**, **161** y **162**) en concentraciones comprendidas entre 0,2 y 10 mM, a pH 4,0 (buffer acetato).

La reacción enzimática comenzaba con el agregado de la enzima y luego de 1,5 h a 37 °C, se agregó buffer carbonato (pH 9) para detener la reacción. Se determinó la cantidad de 4-nitrofenol liberado a partir del 4-nitrofenil β -D-galactofuranósido, espectrofotométricamente (410 nm).

Bibliografía.

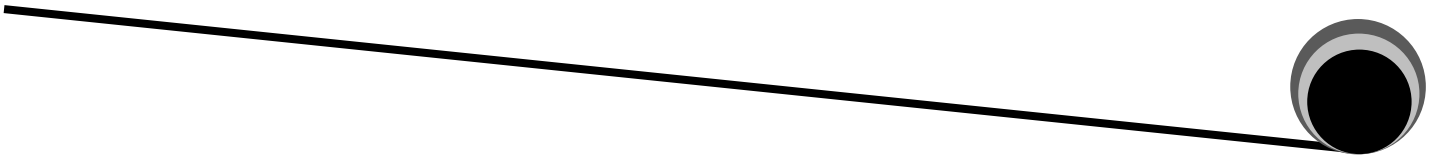
1. Gandolfi-Donadío, L.; Gallo-Rodriguez, C.; Lederkremer, R. M. *Can. J. Chem.* **2006**, *84*, 486–491.
2. D'Accorso, N. B.; Thiel, I. M. E.; Schüller, M. *Carbohydr. Res.* **1983**, *124*, 177–184.
3. Lemieux, R. U. Tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosyl chloride. In *Methods Carbohydr. Chem*, Vol II, Academic Press, New York, **1963**, 223.
4. Sherry, B. D.; Loy, R. N.; Toste, F. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4510–4511.
5. Martins Alho, M. A.; D'Accorso, N. B.; Thiel, I. M. E. *J. Heterocycl. Chem.* **1996**, *33*, 1339–1343.
6. Ibatullin, F. M.; Selivanov, S. I.; Shavva, A. G. *Synthesis* **2001**, *3*, 419–422.
Ibatullin, F. M.; Shabalin, K. A.; Jänis, J. V.; Selivanov, S. I. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 4565–4567.
7. Hamacher, K. *Carbohydr. Res.* **1984**, *128*, 291–295. Deferrari, J. O.; Gros, E. G.; Mastronardi, I. O. *Carbohydr. Res.* **1967**, *4*, 432–434.
8. Iriarte Capaccio, C. A. Tesis Doctoral, “*Síntesis de dihidropiranoas ópticamente activas derivadas de hidratos de carbono. Su uso como dienófilos de cicloadiciones [4+2]*”; Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, 2003.
9. Bordoni, A.; Lima, C.; Mariño, K.; de Lederkremer, R. M.; Marino, C. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1863–1869.
10. Choudhury, A. K.; Roy, N. *Carbohydr. Res.* **1998**, *308*, 207–211.
11. Gandolfi-Donadío, L.; Gallo-Rodriguez, C.; de Lederkremer, R. M. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 6928–6935.
12. Ding, Y.; Contour-Galcera, M-O.; Ebel, J.; Ortiz-Mellet, C.; Defaye, J. *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 11432–1152

13. Marino, C.; Mariño, K.; Miletto, L.; Manso Alves, M. J.; Colli, W.; Lederkremer, R. M. *Glycobiology* **1998**, *8*, 901–904.



Abreviaturas.

BzCl	cloruro de benzoílo
CCD	cromatografía en capa delgada
DMF	dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
DTE	ditioeritritol
DTT	ditiotreitol
EtOAc	acetato de etilo
FTBA	fluoruro de tetra <i>n</i> -butilamonio
<i>J</i>	constante de acoplamiento escalar
<i>n</i> -BuOH	<i>n</i> -butanol
pf	punto de fusión
PivCl	cloruro de pivaloílo
ppm	partes por millón
R _f	relación de frente
RMN	resonancia magnética nuclear
TBSCl	cloruro de <i>ter</i> -butildimetilsililo
TFA	ácido trifluoro acético
Tf ₂ O	anhídrido tríflico
THF	tetrahidrofurano
TMSBr	bromuro de trimetilsililo
TMSOTf	triflato de trimetilsililo
TsCl	cloruro de tosilo



Resumen.

Resumen.

Por tratarse de los componentes mayoritarios de la biomasa renovable, por sus propiedades bioquímicas destacables y por su utilidad síntesis de variadas moléculas, los hidratos de carbono han despertado un inusitado interés en la comunidad científica. Es conocido que cambios estructurales relativamente menores en un azúcar resultan en alteraciones importantes en su comportamiento químico y propiedades biológicas. Así, en el área de la glicobiología, se han desarrollado análogos de oligosacáridos en los cuales el oxígeno interglicosídico se ha sustituido por azufre u otros heteroátomos. Los glicomiméticos resultantes son usualmente resistentes a los procesos metabólicos y suelen ser reconocidos por enzimas, con las cuales interactúan e inhiben su actividad biológica. En particular, numerosos tiooligosacáridos han sido descritos como potentes inhibidores de glicosidasas. Por estos motivos la síntesis de tiooligosacáridos ha atraído considerable atención. Dada la importancia de los tiooligosacáridos como inhibidores enzimáticos y que prácticamente no se encuentran ejemplos de tiodisacáridos y tiooligosacáridos de azúcares furanósicos se planteó como objetivo general de esta tesis el diseño y síntesis de tiodisacáridos constituidos por al menos una unidad furanósica (pentofuranosa o hexofuranosa) para ser evaluados como posibles inhibidores enzimáticos.

El interés en tiomiméticos de azúcares en configuración furanósica reside en que las furanosas se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza y que presentan variadas propiedades bioquímicas. Por ejemplo, la arabinofuranosa se encuentra en bacterias del suelo, hongos y plantas y tanto la arabinosa como la galactosa son constituyentes, en configuración furanósica, de polisacáridos de micobacterias como el *Mycobacterium tuberculosis*, agente causante de la tuberculosis. La Galf es esencial para la sobrevivencia o virulencia de varios microorganismos patogénicos, pero por el momento no se ha encontrado en mamíferos, lo cual constituye un hecho destacable. La degradación de los glicoconjugados que contienen Galf en algunos microorganismos es resultado de la acción de una β -D-galactofuranosidasa, la cual es un blanco adecuado para la

acción de inhibidores de la misma. Se presume que la inhibición de las enzimas involucradas en la biosíntesis o degradación de dichos polifuranósidos evitaría la proliferación de las micobacterias, protozoarios u hongos. Además, estos inhibidores serían inocuos para los mamíferos, ya que éstos no procesan Gal β .

Por las razones enunciadas precedentemente, en este trabajo de Tesis se desarrollaron metodologías generales de síntesis de tiooligosacáridos que poseen como constituyentes azúcares en configuración furanósica, en particular Gal β y Ara β . Como resultado de estas investigaciones, se han obtenido tiodisacáridos con unidades furanósicas localizadas tanto en el extremo reductor como el no reductor. También se presenta una síntesis satisfactoria de un tiodisacárido constituido exclusivamente por dos azúcares furanósicos. Asimismo, se ha descrito una nueva metodología, basada en la apertura de tiiranos de azúcares por una 1-tioaldosa, para la construcción de ditiotrisacáridos con unidades furanósicas.

La introducción de este trabajo de tesis comprende dos capítulos, en el primero de los cuales se reseñan la glicobiología de azúcares furanósicos y las características conformacionales de este tipo de anillos, destacándose la presencia de Gal β en oligosacáridos de microorganismos, muchos de ellos patogénicos. Se describe también el uso de glicomiméticos como inhibidores de enzimas que participan en el metabolismo de azúcares furanósicos.

En el segundo capítulo introductorio se presentan sucintamente las reacciones clave para la construcción de enlaces tioglicosídicos, que se emplean en las distintas aproximaciones sintéticas de tiooligosacáridos. Se detallan, asimismo, los escasos ejemplos en los cuales dichas metodologías han sido empleadas para obtener tiodisacáridos con un componente furanósico. Para las reacciones más relacionadas con el presente trabajo, se detallan los mecanismos aceptados.

En el capítulo 3 se describen los objetivos generales y específicos de la Tesis, haciéndose hincapié en cual era nuestro interés por obtener particularmente determinados tiooligosacáridos de azúcares furanósicos.

El capítulo cuarto se refiere a la metodología basada en la reacción de Michael para preparar tiodisacáridos. Se comienza con una breve introducción del uso de esta reacción para la síntesis de tiodisacáridos de azúcares piranósicos, incluyendo los antecedentes de esta temática en nuestro laboratorio. Se detallan luego los avances realizados en el marco de la Tesis, en reacciones en las cuales se emplea como aceptor de Michael una enona de azúcar y como donores de tioglicosilo derivados furanósicos convenientemente sustituidos de Araf, Ribof, Xilof y Galf. Se estableció que los procedimientos que resultan adecuados para obtener 1-tiopiranosas no eran adecuados para las 1-tiofuranosas. Esta seria dificultad se superó utilizando glicofuranosil isotioureas estables como precursores de 1-tiofuranosas. Estas últimas, generadas in situ, fueron atrapadas por la enona para dar glicofuranosil-*S*-(1→4)-hexopiranos-2-ulósidos. El carbonilo de la ulosa se redujo diastereoselectivamente y los productos resultantes (3-desoxi-(1→4)-tiodisacáridos) poseían una unidad furanósica como extremo no reductor. Luego de la desprotección de los grupos hidroxilo, los tiodisacáridos libres se evaluaron como inhibidores de la β -galactofuranosidasa de *Penicillium fellutanum*.

En el capítulo 5 se detallan los estudios de síntesis de (1→6)-tiodisacáridos con una unidad furanósica como extremo no reductor, análogos de disacáridos naturales encontrados en una gran variedad de microorganismos. Se verificó la utilidad del SnCl_4 y del MoO_2Cl_2 como promotores de reacciones de tioglicosilación en derivados convenientes de 6-tioazúcares, que se sintetizaron para estos efectos. Los (1→6)-tiodisacáridos libres, con unidades de Galf o Araf, se analizaron como inhibidores de la β -galactofuranosidasa de *P. fellutanum*.

En el capítulo 6 se describen los resultados de la aplicación de reacciones de sustitución $\text{S}_\text{N}2$ de 1-tioaldosas nucleofílicas sobre derivados de Galf portadores de buenos grupos salientes. Estos compuestos se sintetizaron mediante metodologías adecuadas. Los procedimientos desarrollados produjeron ditiodisacáridos con una unidad Galf como extremo reductor. También se estudiaron reacciones de la 6-tioGalf sobre el centro anomérico de otra unidad de Galf activado para la tioglicosidación. En este sentido, es de destacar que cuando el C-1 de la Galf se

activó como tricloroacetimidato fue posible el acoplamiento con la 6-tioGal β para dar, por primera vez, un tiodisacárido constituido por dos unidades furanósicas, un tioanálogo de estructuras encontradas en diversos microorganismos.

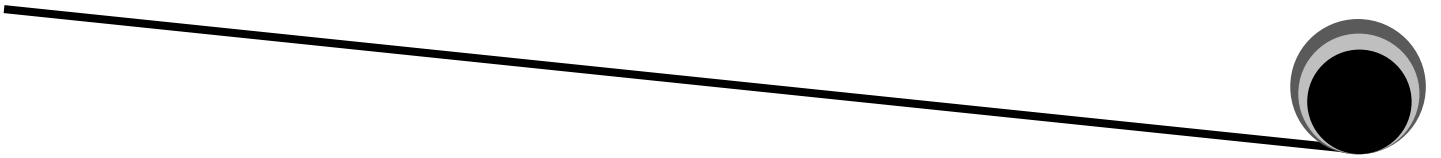
En el último capítulo de discusión, el capítulo 7, se diseñó y ejecutó una nueva metodología para formación del enlace tioglicosídico mediante la apertura de un tiirano de azúcar (un 5,6-episulfuro de Gal β y Alt β). Interesantemente, el producto de apertura deja un grupo tiol libre sobre el C-5 de Gal β , que se demostró puede dar lugar, aunque con cierta dificultad estérica, a la incorporación de otra unidad de Gal β , obteniéndose así un ditiotrisacárido ramificado. Uno de los productos obtenidos contiene la unidad Gal β S-(1 $\rightarrow$ 5)-Gal β cuyo análogo oxigenado es componente de glicoconjugados de microorganismos.

Estos resultados alentadores incentivan la profundización de estos estudios en el futuro.

En el capítulo 8 se detallan los métodos experimentales utilizados.

Parte de este trabajo de Tesis dio lugar a las siguientes publicaciones:

- *"Synthesis of 2,3,4,6-Tetra-O-Acetyl-1,5-Anhidro-D-lyxo-Hex-1-enitol and its Conversion into Benzyl 3,4-Dideoxy- α -D-glycero-Hex-3-enopyranosid-2-ulose."* Verónica Manzano, Evangelina Repetto, Maria Laura Uhrig, Markus Baráth, Oscar Varela. *Carbohydrate Chemistry: Proven Methods*. En prensa, 2010.
- *"Thiodisaccharides with galactofuranose or arabinofuranose as terminal units: Synthesis and inhibitory activity of an exo β -D-galactofuranosidase."* Evangelina Repetto, Carla Marino, Maria Laura Uhrig, Oscar Varela. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2009**, *17*, 2703–2711.
- *"Two Straightforward Strategies for the Synthesis of Thiodisaccharides with a Furanose Unit as the Nonreducing End."* Evangelina Repetto, Carla Marino, Maria Laura Uhrig, Oscar Varela. *European Journal of Organic Chemistry* **2008**, *3*, 540–547.



Indice.

Índice.

INTRODUCCIÓN

Capítulo 1	1
Glicobiología de azúcares furanósicos.	1
Glicomiméticos.	11

Capítulo 2	15
Síntesis de tiooligosacáridos.	15
Adiciones de Michael o tipo Michael de tioles de azúcares a aceptores insaturados.	17
Desplazamiento nucleofílico de buenos grupos salientes por parte de azúcares que contienen un sustituyente tiol.	19
Apertura de anillos de aziridinas y oxiranos por tioazúcares.	21
Acoplamiento de tioazúcares catalizados por enzimas.	25

Capítulo 3	29
Objetivos de la Tesis.	29
Bibliografía.	31

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Capítulo 4. Síntesis de tiodisacáridos mediante reacciones de adición conjugada	39
Introducción.	39
Tiodisacáridos con unidades furanósicas en el extremo no reductor.	42
Reducción de tiodisacáridos.	60
Obtención de tiodisacáridos libres.	75
Evaluación de la actividad inhibitoria.	79
Bibliografía.	81

Capítulo 5. Síntesis de (1→6) tiodisacáridos mediante reacciones de transtioglicosilación	83
Introducción.	83
Tiodisacáridos con unidades furanósicas en el extremo no reductor.	
Tioglicosilaciones promovidas por SnCl ₄ .	88
Tioglicosilaciones promovidas por MoO ₂ Cl ₂ .	95
Obtención de tiodisacáridos libres.	104
Evaluación de la actividad inhibitoria.	113
Bibliografía.	115
 Capítulo 6. Síntesis de tiodisacáridos mediante reacciones de sustitución Nucleofílica	 117
Introducción.	117
Reacciones S _N 2 a partir de monosacáridos con grupo saliente tosilo ó triflato	118
Activación del centro anomérico de la Galf como halogenuro de glicosilo.	139
Activación del centro anomérico de la Galf como tricloroacetimidato	141
Bibliografía.	149
 Capítulo 7. Reacciones de apertura de tiiranos de azúcares por una 1-tioaldosa	 151
Bibliografía.	177
 EXPERIMENTAL	
 Capítulo 8. Parte experimental	 179
Instrumentos y métodos generales.	179
Purificación de solventes.	179
Síntesis.	180
Síntesis de tiodisacáridos mediante reacciones de adición conjugada.	180
Síntesis de (1→6) tiodisacáridos mediante reacciones de transtioglicosilación.	195

Síntesis de tiodisacáridos mediante reacciones de sustitución nucleofílica.	214
Síntesis de tiodisacáridos mediante reacciones de apertura de tiiranos de azúcares.	228
Ensayos de inhibición de la β -D-galactofuranosidasa	244
Bibliografía.	245

APÉNDICE

Abreviaturas	247
Resumen	249