

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Departamento de Química Orgánica I



TESIS DOCTORAL

**Síntesis de análogos de nucleosidodifosfatohexosas con
actividad antiviral potencial**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Ana Rosa San Félix García

DIRECTOR:

Federico Gómez de las Heras Martín-Maestro

Madrid, 2015

BIBLIOTECA UCM

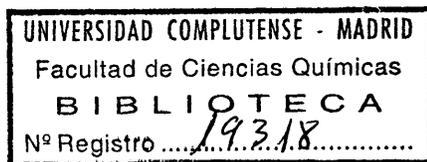


5300124924

SINTESIS DE
ANALOGOS DE NUCLEOSIDODIFOSFATOHEXOSAS
CON ACTIVIDAD ANTIVIRAL POTENCIAL

Memoria presentada para optar al grado de
Doctor en Ciencias Químicas

Director: Dr. Federico Gómez de las Heras Martín Maestro
Investigador Científico del C.S.I.C.



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
Departamento de Química Orgánica
Madrid, Abril 1986

I N D I C E

	Pág.
INTRODUCCION	1
1. Introducción general	1
PARTE TEORICA	10
2. Preparación de cianuros de glicosilo, azúcares <u>C</u> -ciano ramificados y otros cianoazúcares por reacción de cianuro de trimetilsililo con derivados de hidratos de carbono portadores de distintos grupos funcionales	11
2.1. Antecedentes	11
2.2. Preparación de cianuros de glicosilo	24
2.2.1. Preparación de cianuros de glucopiranosilo ...	24
2.2.2. Reducción de cianuros de glucopiranosilo	27
2.2.3. Preparación de cianuros de hex-2-enopiranosilo.	30
2.2.3.1. Reacción de 3,4,6-tri- <u>O</u> -acetil- <u>D</u> -glucal con cianuro de trimetilsililo	33
2.2.3.2. Reacción de 2,3,4,6-tetra- <u>O</u> -acetil-2-hidroxi- <u>D</u> -glucal con cianuro de trimetilsililo	38
2.3 Preparación de cianuros de desoxihexopiranosilo por hidrogenación catalítica de cianuros de hex-2-enopiranosilo	44
2.3.1. Hidrogenación de cianuros de 4,6-di- <u>O</u> -acetil-2,3-didesoxi- <u>D</u> -eritro-hex-2-enopiranosilo	45
2.3.2. Hidrogenación del cianuro de 2,4,6-tri- <u>O</u> -acetil-3-desoxi- α - <u>D</u> -eritro-hex-2-enopiranosilo....	49
2.4. Preparación de azúcares <u>C</u> -ciano ramificados	51
2.4.1. Preparación de etil 4,6-di- <u>O</u> -acetil-2,3-anhidro	

- α - <u>D</u> -mano y <u>alo</u> - hexopiranosidos	52
2.4.2. Reacción de etil 4,6-di- <u>O</u> -acetil-2,3-anhidro- α - <u>D</u> -mano y <u>alo</u> -hexopiranosidos con cianuro de trimetilsililo	55
2.5. Reacción de bencilidén derivados de hexopiranosas con cianuro de trimetilsililo	58
2.5.1. Reacción de metil 4,6- <u>O</u> -bencilidén-2,3-anhidro- α - <u>D</u> - <u>alo</u> -hexopiranosido y 2,3-di- <u>O</u> -Tosil- α - <u>D</u> - glucopiranosido con cianuro de trimetilsililo...	60
3. Preparación de isotiocianatos de glicosilo	67
3.1. Reacción de isotiocianatos de glicosilo con nucleófilos.	80
4. Preparación de otros intermedios glicosídicos	83
4.1. Preparación de glucopiranosilazidas y reducción de las mismas a glucopiranosilaminas	83
4.2. Preparación de 3-bromopropil y 3-iodopropil 2,3,4,6- tetra- <u>O</u> -benzoil- α y β - <u>D</u> -glucopiranosidos	88
4.3. Preparación de 2',3'- <u>O</u> -isopropilidén-5'- <u>O</u> -[[sulfamido] carbonil]uridina	94
5. Preparación de análogos de uridinadifosfatoglucosa	96
5.1. Preparación de derivados de UDP-glucosa en los que el puente análogo a difosfato tiene diferente estructura..	101
5.1.1 Preparación de derivados de 5'- <u>O</u> -[[(glucopira- nosil)ureido]sulfonil]uridina	101
5.1.2 Preparación de derivados de 5'- <u>O</u> -[[(glucopira- nosil)sulfamido]carbonil]uridina	105

5.2. Preparación de derivados de UDP-glucosa en los que el puente análogo a difosfato tiene diferente longitud	109
5.2.1. Preparación de derivados de 5'- <u>O</u> -[[<u>(glucopiranosil)metil]ureido]sulfonil]uridina</u>	109
5.2.2. Preparación de 5'- <u>O</u> -[[<u>(glucopiranosil)amino]tiocarbonil]uridina</u>	111
5.3. Preparación de 3- <u>N</u> -[[<u>(glucopiranosil)oxi]propil]uridina</u>	113
TABLAS	117
PARTE EXPERIMENTAL	127
7. Preparación y origen de los productos de partida	129
8. Preparación de cianoazúcares	145
8.1. Preparación de cianuros de glicosilo.....	145
8.1.1. Procedimiento general.....	145
8.1.2. Reducción de cianuros de 2,3,4,6-tetra- <u>O</u> -bencil- <u>D</u> -glucopiranosilo	149
8.1.2.1. Síntesis de 1-amino-1-desoxi-heptitoses	149
8.1.2.2. Acetilación de 1-amino-1-desoxi-heptitoses	150
8.1.2.3. 2,6-Anhidro-3,4,5,7-tetra- <u>O</u> -bencil- <u>D</u> -glicero- <u>D</u> -ido-heptopiranososa	151
8.2. Preparación de cianuros de desoxihexopiranosilo por hidrogenación catalítica de cianuros de hex-2-enopiranosilo	152
8.2.1. Procedimiento general	152

8.3.	Preparación de azúcares <u>C</u> -ciano ramificados	154
8.3.1.	Etil 4,6-di- <u>O</u> -acetil-2,3-anhidro- α - <u>D</u> - <u>mano</u> - y <u>alo</u> - hexopiranosidos	154
8.3.2.	Etil 4,6-di- <u>O</u> -acetil-2- <u>C</u> -ciano-2-desoxi- α - <u>D</u> -glucopiranosido	156
8.4.	Reacción de bencilidén derivados de hexopirano- sas con cianuro de trimetilsililo	156
8.4.1.	Reacción de metil 4,6- <u>O</u> -bencilidén-2,3- anhidro- α - <u>D</u> -alopiranosido con cianuro de trimetilsililo	156
8.4.2.	Reacción de metil 4,6- <u>O</u> -bencilidén-2,3- di- <u>O</u> - <u>p</u> -toluensulfonil- α - <u>D</u> -glucopirano- sido con cianuro de trimetilsililo	161
9.	Preparación de isotiocianatos de glicosilo	163
9.1.	Procedimiento general	163
9.2.	Reacción de isotiocianatos de glicosilo con nucleófilos	167
9.2.1.	2,3,4,6-Tetra- <u>O</u> -acetil-1-[[<u>(etoxi)tiocar-</u> <u>bonil</u>]amino]1-desoxi- β - <u>D</u> -glucopiranososa	167
9.2.2.	2,3,4,6-Tetra- <u>O</u> -acetil-1-[[<u>(etoxi)tio-</u> <u>carbonil</u>]amino]-1-desoxi- α - <u>D</u> -manopiranososa	167
9.2.3.	<u>N</u> -[[<u>(2,3,4,6-Tetra-<u>O</u>-acetil-1-desoxi-β</u> <u>-<u>D</u>-glucopiranosil)amino</u>]tiocarbonil]urea	168
10.	Preparación de otros intermedios glicosídicos	169
10.1.	Preparación de glucopiranosil azidas	169
10.2.	Preparación de glucopiranosil aminas	171

10.3. Preparación de 3-halopropil 2,3,4,6-tetra- O-benzoil-D-glucopiranosidos	172
10.4. Preparación de 2',3'-O-isopropilidén-5'-O- [[sulfamido]carbonil]uridina	174
11. Preparación de análogos de uridinadifosfatoglucosa	175
11.1. Preparación de derivados de 5'-O-[[[(glucopi- ranosil)ureido]sulfonil]uridina	175
11.2. Preparación de derivados de 5'-O-[[[(glucopi- ranosil)sulfamido]carbonil]uridina	178
11.3. Preparación de derivados de 5'-O-[[[(glucopi- ranosil)metil]ureido]sulfonil]uridina	180
11.4. Preparación de uridina 5'-O-[[[(hexopiranosil) amino]tiocarbonil] sustituida	182
11.5. Preparación de derivados de 3-N-[[[(glucopira- nosil)oxi]propil]uridina.....	183
APENDICE ACTIVIDAD BIOLOGICA	192
CONCLUSIONES	192
BIBLIOGRAFIA	199

I N T R O D U C C I O N

1. INTRODUCCION GENERAL

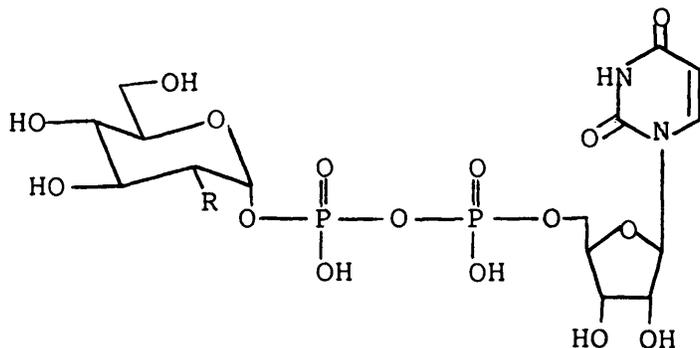
Durante mucho tiempo se ha creído que el ciclo replicativo del virus seguía exactamente las rutas metabólicas de la célula y que, por lo tanto, sería imposible bloquear la replicación viral sin afectar al metabolismo de la célula normal. Afortunadamente, en los últimos años se ha demostrado que algunas de las etapas del proceso infectivo de la célula por parte del virus, son procesos específicos del virus o de la célula infectada por él, en relación a la célula normal. Dicha especificidad puede deberse a la existencia de procesos absolutamente necesarios para la replicación viral que sólo se producen en células infectadas. Este es el caso de los procesos catalizados por las enzimas RNA transcriptasas de los virus influenza y parainfluenza, las transcriptasas reversas de los virus RNA tumorales, las RNA replicasas de los enterovirus y rinovirus. Pero también puede deberse a la existencia de enzimas inducidas por el virus, para catalizar reacciones que también se producen normalmente en la célula no infectada, pero que presentan suficientes diferencias con respecto a las análogas de la célula no infectada como para permitir una acción selectiva. Algunas de dichas enzimas son Timidina Kinasa, DNA polimerasa, Ribonucleotido reductasa o desoxicitidina desaminasa.

Existen varios libros y monografías, que tratan de las diferencias existentes entre virus y célula infectada por un lado y célula no infectada por otro, y de como un escaso arsenal de productos químicos, los agentes antivirales, pueden aprovechar dichas diferencias con fines terapéuticos.^{1,2,3,4,5}

Una de las etapas en la formación de algunos tipos de viriones maduros es la formación de la cubierta viral. Esta, está formada por una bicapa lipídica y glicoproteínas situadas

en su cara externa. El proceso de glicosilación de las glicoproteínas con uniones N-Glicosílicas, se inicia en el retículo endoplásmico por la unión de un oligosacárido, previamente formado por la ruta del dolicol, a restos de asparagina de la cadena proteica. Posteriormente, el oligosacárido unido ya a la proteína se procesa hasta llegar a su estructura definitiva. En el proceso de síntesis del oligosacárido y en su procesamiento desempeñan un papel fundamental los nucleosidodifosfatohexosas, que son los intermedios que aportan los restos glicosilo en dicho proceso. Estos compuestos son intermedios más generales, ya que también ceden restos glicosilo en la biosíntesis de polisacáridos, glicolípidos y algunos componentes de la pared bacteriana.

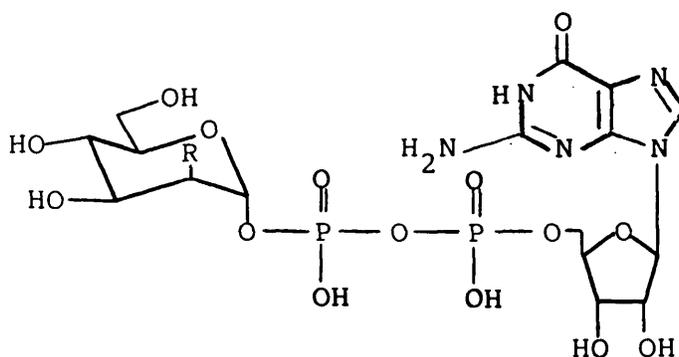
Los compuestos que interfieren con la glicosilación de proteínas tienen una amplia variedad de efectos biológicos^{6,7} entre los que se encuentra la inhibición de la replicación de virus animales con cubierta.¹⁻⁴ Por ejemplo, la 2-desoxiglucosa es un inhibidor de la glicosilación que tiene actividad antiviral,^{2-4y8-10} que se transforma en UDP-2dGlc 3 y GDP-2dGlc 5, y como tal interfiere con la biosíntesis del oligosacárido unido al dolicol que es precursor de las glicoproteínas N-Glicosiladas.¹¹ Estas interferencias se deben principalmente a la sustitución de la glucosa y de la manosa por 2-desoxiglucosa, es decir a la sustitución de UDP-Glc 1 y GDP-Man 4 por UDP-2dGlc 3 y GDP-2dGlc 5.



1, R= OH

2, R= NHAc

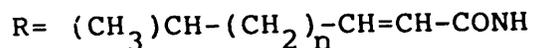
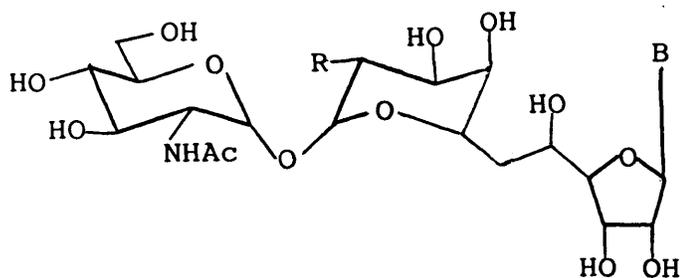
3, R= H



4, R= OH

5, R= H

Por otra parte, los nucleósidos antibióticos Tunicamicinas¹² 6 y Estreptovirudinas¹³ 7 son inhibidores muy efectivos de la glicosilación de proteínas. Las Tunicamicinas bloquean las enzimas que transfieren reversiblemente fosforil-N-acetil-D-glucosamina desde UDP-Glc-NAc 2 al dolicol fosfato⁷ para dar lugar al primer eslabón de la cadena de oligosacárido unido a dolicol. No obstante, el uso de la Tunicamicina como agente antiviral tropieza con su elevada toxicidad.



6, n = 8-11

B = uracil-1-il

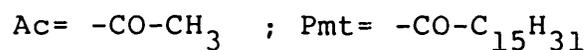
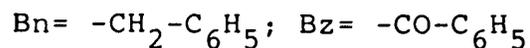
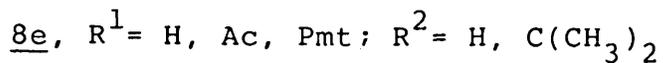
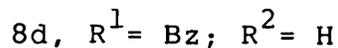
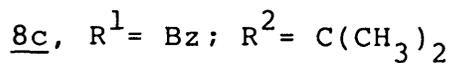
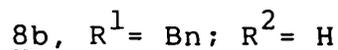
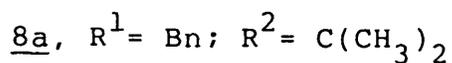
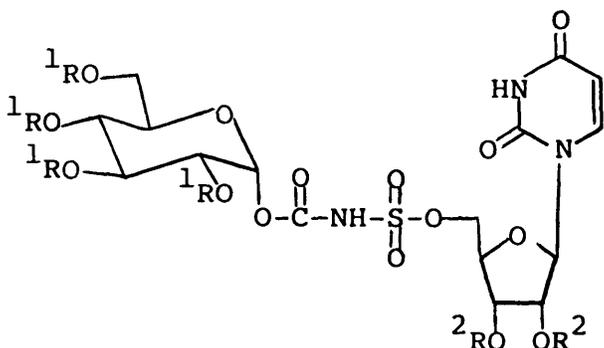
7, n = 6-8

B = uracil-1-il

B = 5,6-dihidrouracil-1-il

Los metabolitos activos de 2-desoxiglucosa GDP-2dGlc 5 y UDP-2dGlc 3, las Tunicamicinas y las Estreptovirudinas están relacionadas estructuralmente a los nucleosidodifosfatohexosas naturales, ya que todos ellos contienen un nucleósido (uridina o guanosina) y un resto de hexosa (glucosa, manosa, N-acetilglucosamina, 2-desoxiglucosa) unidos por un puente de cinco átomos. Esto hizo concebir la hipótesis de que los aspectos estructurales comunes mencionados son los requerimientos esenciales para que estos compuestos puedan interferir con el proceso de la glicosilación, bien como sustratos, bien como inhibidores. Por ello, en el Instituto de Química Médica, se emprendió un programa de diseño, síntesis y evaluación biológica como agentes antivirales y como inhibidores de la glicosilación de proteínas de una serie de análogos de uridinadifosfatoglucosa.

Los primeros estudios llevados a cabo dentro de este programa consistieron en la síntesis de una serie de analógos de UDP-Glc de fórmula 8, en los que el puente difosfato $\text{-O-P(=O)(OH)-O-P(=O)(OH)-O-}$, se había sustituido por una cadena de cinco átomos $\text{-O-CO-NH-SO}_2\text{-O-}$, análoga.

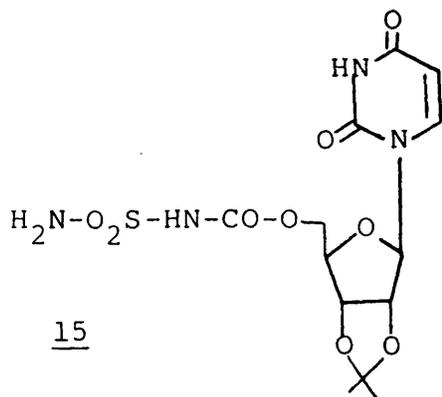
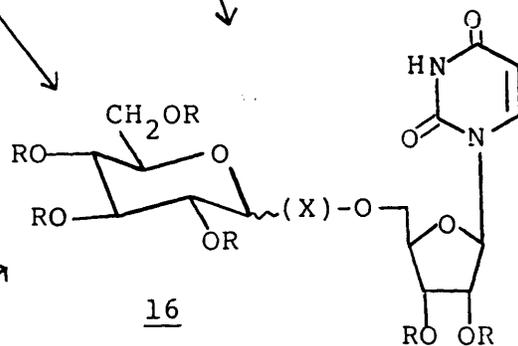
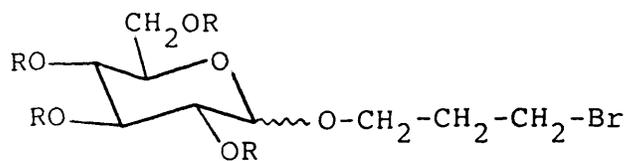
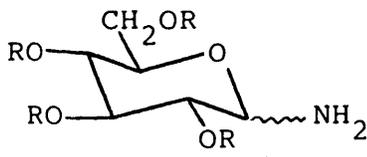
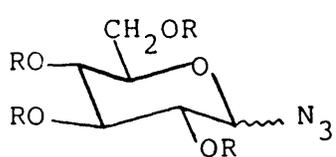
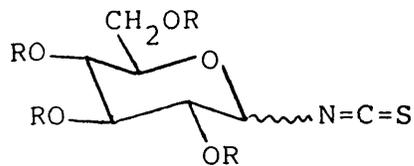
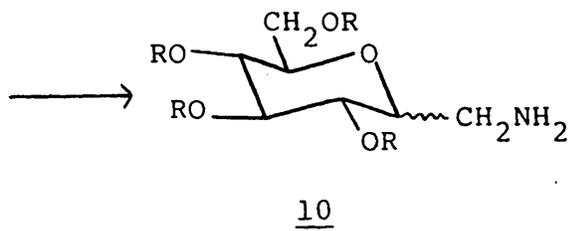
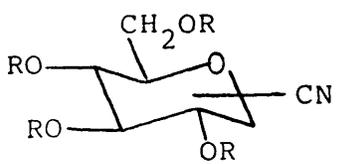


De los compuestos 8, aquellos en los que los grupos hidroxilo de la glucosa están protegidos por grupos bencilo o benzoilo 8a-8d presentan actividad antiviral interesante y selectiva

mientras que los derivados 8e (desprotegido y los que tienen grupos protectores acetilo y palmitoilo) son inactivos. Esta diferencia se atribuye a que los compuestos 8a-8d tienen un coeficiente de partición favorable, mientras que los compuestos 8e son muy lipófilos (grupos protectores palmitoilo) o muy poco lipófilos (glucosa desprotegida o protegida con grupos acetilo). Además, los compuestos 8a y 8d son inhibidores de la glicosilación de proteínas y al contrario de lo que sucede con la 2-desoxiglucosa y con la Tunicamicina, la inhibición de la glicosilación de las proteínas virales es más importante que la inhibición de la glicosilación de las proteínas celulares. Por otra parte, existen ciertas diferencias de comportamiento biológico entre 8a y 8d, que hace que sea de gran interés la determinación de las características estructurales necesarias para la interferencia con el proceso de glicosilación de proteínas y para la producción de una actividad antiviral. Por ello, este programa de investigación de agentes antivirales pretende la preparación de compuestos análogos de UDP-Glc en los que se han introducido modificaciones estructurales en las tres partes de la molécula: la glucosa, la uridina y el puente difosfato.

En esta memoria se describe la preparación de distintos intermedios de síntesis, derivados de glucosa funcionalizados en 1 y derivados de uridina funcionalizados en 5' y su empleo en la preparación de análogos de uridinadifosfatoglucosa en los que el puente difosfato se ha sustituido por otras cadenas de tres a seis átomos de longitud, que tienen además diferente naturaleza química. Más concretamente y tal como se indica en el Esquema 1, en la primera parte de esta memoria se describen nuevos métodos para la preparación de azúcares C-cianoramificados y cianuros de

glicosilo 9 y su transformación en los correspondientes glucopiranosil metilamino derivados 10, también se describe un nuevo método, barato y experimentalmente sencillo para la preparación de isotiocianatos de azúcares 11, así mismo se describe la preparación de glucosilaminas 13, bromopropilglucopiranosidos 14 y 5'-O-[[sulfamido]carbonil]uridina 15. En la segunda parte de esta memoria, todos los intermedios de síntesis preparados anteriormente se transforman en los análogos de uridinadifosfatoglucosa 16 en los que se ha modificado el puente difosfato.



Esquema 1

P A R T E T E O R I C A

2. PREPARACION DE CIANUROS DE GLICOSILO, AZUCARES C-CIANO RAMIFICADOS Y OTROS CIANOAZUCARES POR REACCION DE CIANURO DE TRIMETILSILILO CON DERIVADOS DE HIDRATOS DE CARBONO PORTADORES DE DISTINTOS GRUPOS FUNCIONALES

2.1 ANTECEDENTES

Los cianoazúcares, tanto cianuros de glicosilo como azúcares C-ciano ramificados, son intermedios útiles para la preparación de derivados C-glicosídicos y azúcares ramificados.

Los cianuros de glicosilo han sido utilizados como productos de partida para la obtención de la mayoría de los antibióticos C-nucleosídicos naturales^{14,15}: formicina, pyrazomycina y showdomycina y para la de muchos de sus análogos sintéticos.¹⁴⁻¹⁶

Los azúcares C-ciano ramificados son adecuados intermedios para la preparación de azúcares ramificados¹⁷ naturales de interés biológico como la D-vancosamina^{18,19}, L-evernitrosa,^{18,20} D-kijanosa,²¹ L-rubanitrosa²² o 3-amino-2,3,6-trideoxi-3-C-metil-L-xilo-hexopiranos. Los azúcares C-ciano ramificados también se han utilizado para la preparación de compuestos no relacionados con los azúcares entre los que destacan las penicilinas.^{23,24}

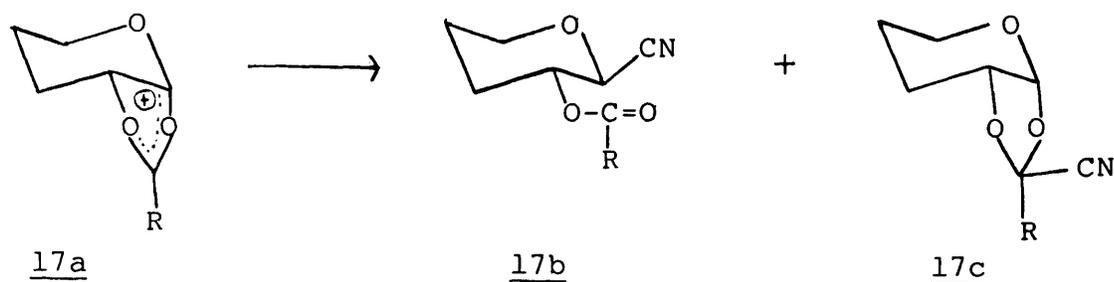
Además, debido a la gran variedad de esqueletos carbonados que pueden tener los cianoazúcares, a sus muy diferentes estereoquímicas y a las transformaciones que puede experimentar el grupo ciano para dar lugar a otras funcionalidades, estos cianoazúcares son excelentes sintones quirales útiles para la

preparación estereoselectiva de productos naturales o sintéticos de quiralidad definida.

Por ello, recientemente se han desarrollado distintos métodos para la preparación de cianuros de glicosilo y de azúcares ramificados algunos de los cuales se exponen a continuación.

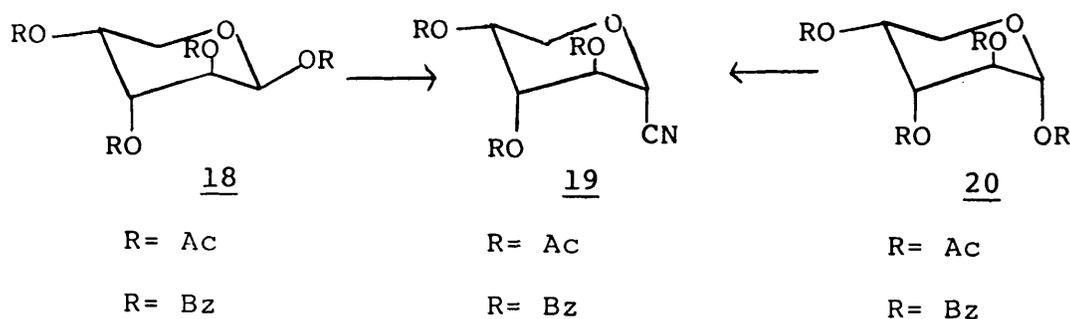
Síntesis de cianuros de glicosilo

El método más comúnmente utilizado hasta hace poco para la obtención de cianuros de glicosilo consiste en la reacción de haluros de glicosilo peracilados con cianuro de plata o mercurio¹⁴ (II) en un disolvente polar aprótico. Esta reacción conduce a cianuros de glicosilo de estereoquímica 1,2-trans, debido a la participación del grupo vecino 2-O-acilo que orienta la entrada del grupo ciano por la cara opuesta del carbohidrato. En esta reacción también pueden obtenerse otros productos secundarios tales como isocianuros²⁵, azúcares insaturados²⁶ y 1,2-O-(cianoalquilidén)glicosil derivados²⁷.

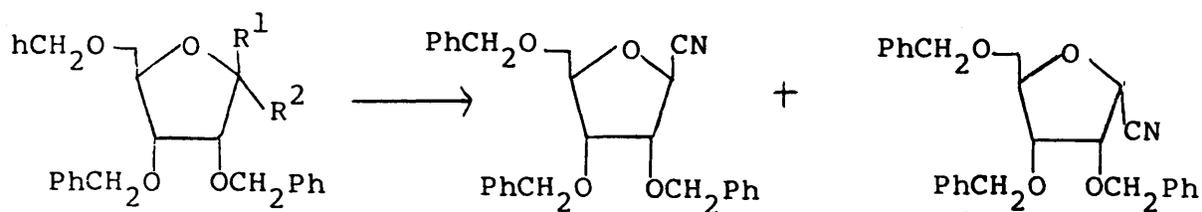


La formación de este tipo de cianoalquilidenderivados 17c es posible por la formación de los iones aciloxonio 17a, como intermedios de la reacción, los cuales pueden reaccionar con el ion cianuro por el carbono anómero para dar el cianuro de glicosilo 17b y por el carbono carbonílico del grupo protector en 2 dando lugar al cianoalquilidén derivado 17c. A pesar del carácter de producto secundario de los compuestos 17c en la preparación de los C-ciano azúcares, Kochetkov ha demostrado su utilidad como intermedios adecuados para la síntesis estereoespecífica de di y polisacáridos^{28,29}. Las características y posibilidades de este método fueron objeto de una revisión en 1976¹⁴. Además de los métodos allí descritos, posteriormente en nuestro laboratorio se ha desarrollado un nuevo procedimiento para la síntesis de cianuros de glicosilo por reacción de 1-O-acil derivados de azúcares con cianuro de trimetilsililo en un disolvente polar aprótico en presencia de un ácido de Lewis como catalizador³⁰. Se sabe que el cianuro de trimetilsililo, reacciona fácilmente con compuestos que tienen distintos tipos de átomos de carbono electrófilos^{31,32}. En estas reacciones, el grupo ciano, que actúa como un anión estabilizado por el átomo de silicio adyacente, reacciona con el centro electrófilo para dar, según el catalizador de ácido de Lewis empleado, nitrilos³³ (con tricloruro de aluminio o cloruro de dietilaluminio) o isonitrilos (con yoduro o cloruro de zinc)³⁴. Este método se ha aplicado para la preparación de distintos cianuros de ribosilo y de arabinosilo con distintos tamaños de anillo, furanosa y piranosa, con distintos grupos protectores, acetilo, benzoilo y bencilo de los hidroxilos del azúcar y con distintos grupos salientes, acilo, cloro y metoxilo, en la posición

anomérica. Independientemente de la configuración anomérica β o α del 1-O-acil azúcar de partida 18 o 20, respectivamente, cuando el grupo protector en posición 2 es de tipo acilo, que participa en la reacción, se obtiene un cianuro de glicosilo 19 de configuración 1,2-trans. Cuando el grupo protector en 2 es de tipo éter, que no participa en la reacción, se obtiene una mezcla de los dos cianuros de glicosilo anómeros α y β .



que es también independiente de la configuración anomérica α o β del 1-O-acil azúcar de partida 21 o 22



21, R¹ = p-NO₂-C₆H₄-CO₂⁻; R² = H

22, R¹ = H; R² = p-NO₂-C₆H₄-CO₂⁻

Síntesis de azúcares C-cianoramificados

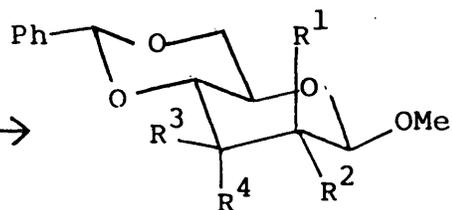
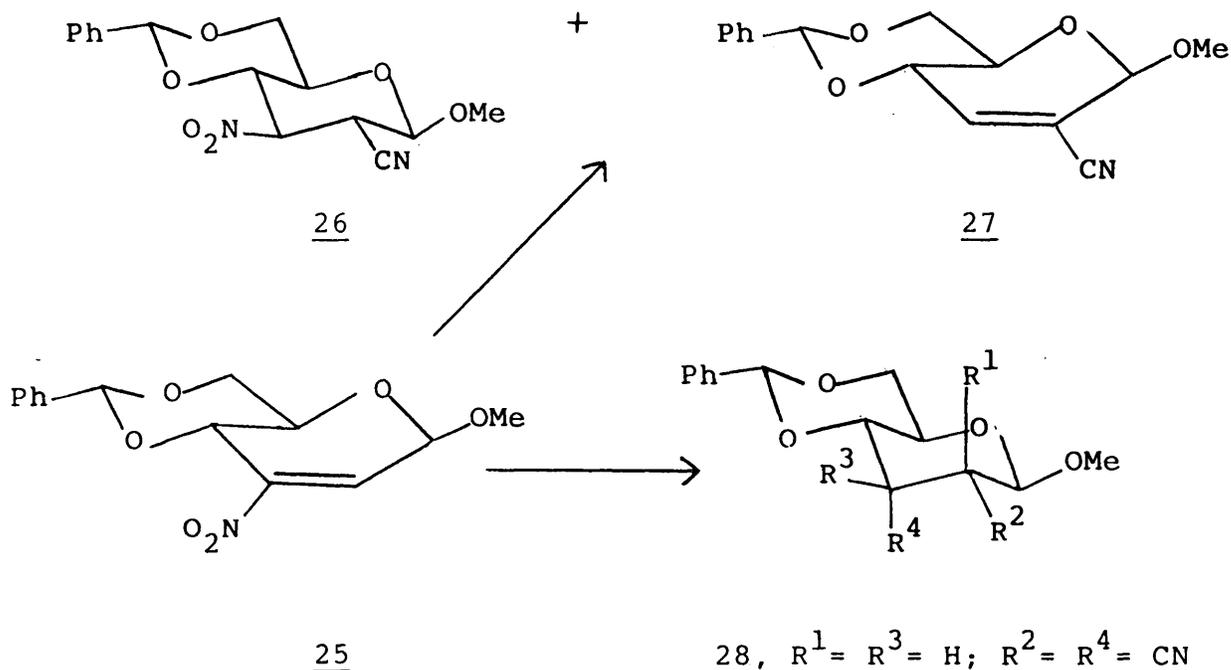
Los C-cianoazúcares pueden prepararse por introducción directa del grupo ciano de un cianuro alcalino, de hidrógeno u organometálico mediante una reacción de adición a un doble enlace o mediante una reacción S_N2 en sustratos con buenos grupos salientes. El grupo ciano también puede ser generado a partir de otros grupos funcionales preexistentes en la molécula.

Adición a dobles enlaces

Debido al carácter aniónico o de anión enmascarado del cianuro que se emplea como reactivo, el doble enlace debe ser de tipo carbonílico o conjugado con un grupo fuertemente atractor de electrones que permiten situar una carga positiva parcial en uno de los dos átomos que forman el doble enlace.

La reacción de cianuro de hidrógeno o cianuros alcalinos con cetoazúcares, da lugar a la correspondiente cianhidrina^{18-20,35} cuya estereoquímica depende de la estructura y conformación del azúcar de partida y de las condiciones de control cinético o termodinámico empleadas en la reacción¹⁸.

La adición de cianuro de hidrógeno en presencia de cantidades catalíticas de cianuro potásico o de trietilamina a nitroolefinas da lugar a los correspondientes 2-C-ciano-2,3-dideoxi-3-nitro-azúcares y 2-C-ciano-alquenos^{36,37}. Sin embargo, la adición de cianuro de hidrógeno, generado haciendo pasar KCN a través de una resina intercambiadora de cationes, da lugar a una



28, $R^1 = R^3 = \text{H}$; $R^2 = R^4 = \text{CN}$

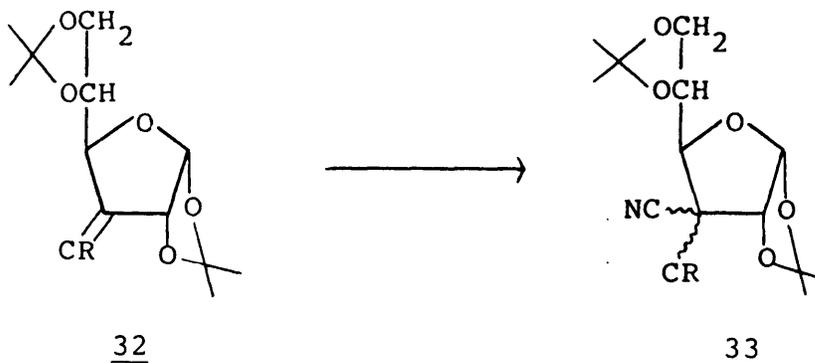
29, $R^2 = R^3 = \text{H}$; $R^1 = R^4 = \text{CN}$

30, $R^2 = R^4 = \text{H}$; $R^1 = R^3 = \text{CN}$

31, $R^1 = R^4 = \text{H}$; $R^2 = R^3 = \text{CN}$

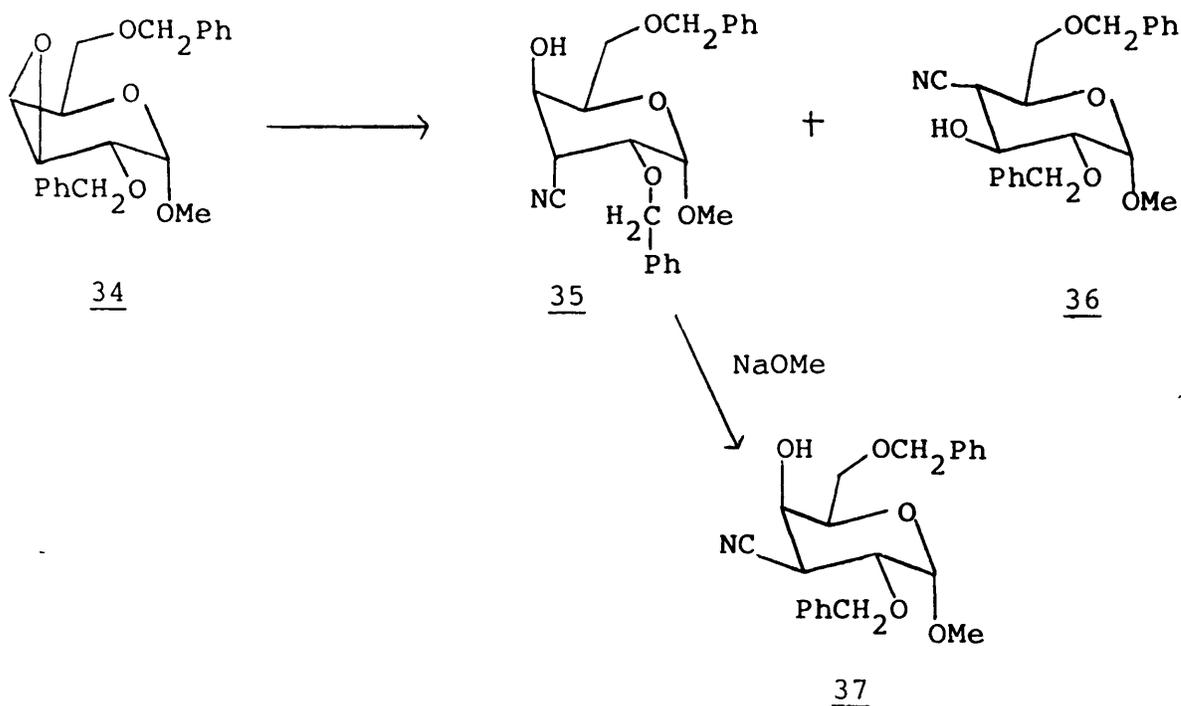
mezcla de las cuatro 2,3-diciano-hexopiranosas de configuración alo (28), altro (29), mano (30) y gluco (31)³⁸.

Los derivados de azúcares C-ciano-gem-di-C-sustituidos se han obtenido por adiciones nucleófilas de tipo Michael de ión cianuro a los azúcares 3-C-metilén ramificados 32³⁹.

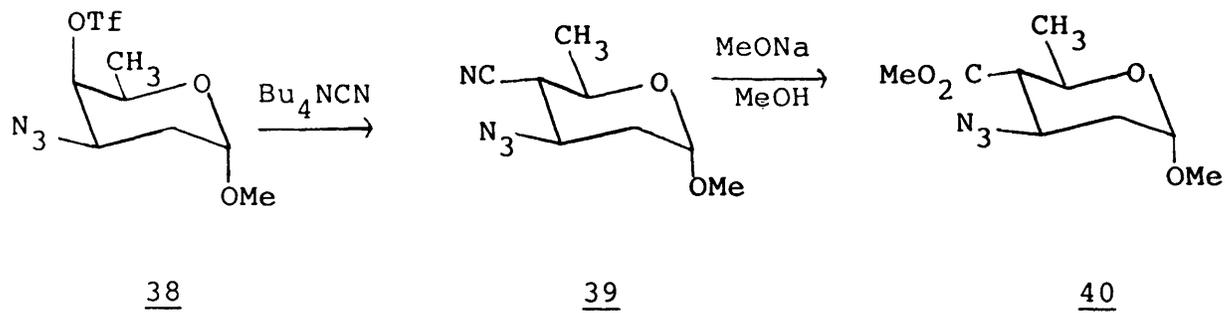


Sustitución nucleófila

La reacción de cianuro sódico⁴⁰, cianuro de hidrógeno-trietilaluminio⁴¹ y cianuro de dietilaluminio^{24,42} con epóxidos de piranosas da los correspondientes C-ciano- α -hidroxiazúcares en los que los grupos CN y OH están en disposición trans-di-axial de acuerdo con la regla de Fürst-Plattner⁴³. No obstante, en algunos casos se obtienen pequeñas cantidades del producto trans-diecuatorial⁴² 36. Debido a la acidez del protón en α al grupo CN, el compuesto en el que el CN ocupa una posición axial se isomeriza en presencia de una base, tal como metóxido sódico en cantidades catalíticas, al isómero en el que dicho grupo CN ocupa una posición ecuatorial como en 37, estéricamente más favorable^{41,42}. Esta posibilidad de isomerización aumenta las aplicaciones sintéticas del método. En cualquier caso, el empleo de



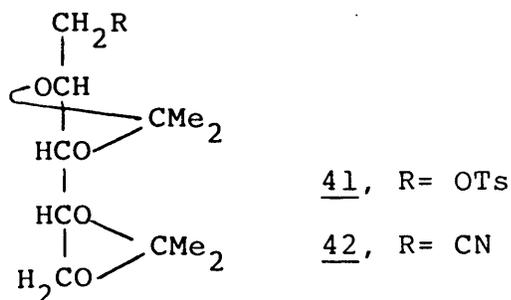
metóxido sódico como base está limitado a su empleo en cantidades catalíticas, ya que el tratamiento de cianuros como 39 con MeONa en MeOH da lugar a la formación de los ésteres metílicos correspondientes^{23,44} 40.



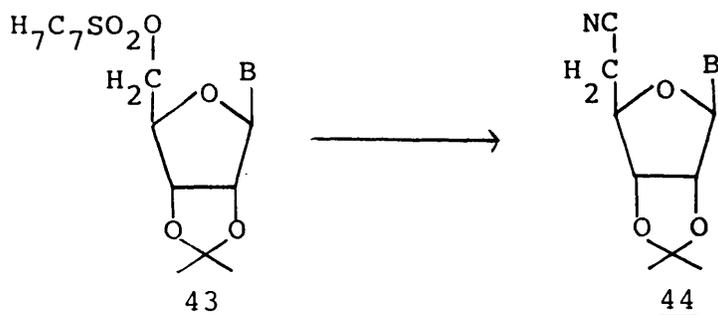
En otros casos, la reacción de epoxiazúcares con los cianuros anteriores produce mezclas complejas⁴¹ o subproductos que no tienen el C-ciano ramificado.⁴²

También se han preparado C-ciano derivados de azúcares por reacción de cianuros alcalinos y de tetrabutilamonio con compuestos que poseen alguno de sus OH sustituidos por buenos grupos salientes tales como Tosilo y Trifilo.

A este grupo pertenecen la reacción del 4-O-trifil derivado 38 con cianuro de tetrabutilamonio para dar el 4-C-ciano azúcar 39²³ y la reacción del compuesto 41 con cianuro sódico para dar el arabinonitrilo 42⁴⁵.

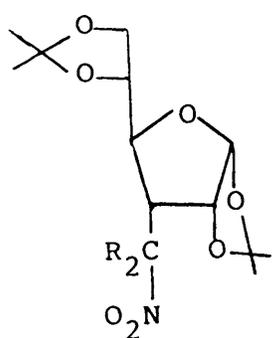


Así mismo, la adición de cianuros alcalinos en presencia de un éter corona como catalizador a 5'-O-Tosil derivados de diferentes nucleósidos 43 da lugar a los correspondientes 5'-desoxi-5-cianonucleósidos 44⁴⁶



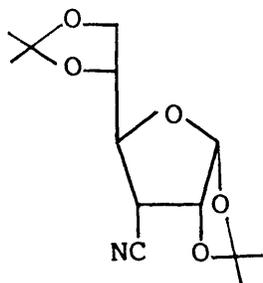
Generación a partir de otros grupos funcionales

Los desoxi-C-nitrometilfuranósidos 45 se transforman en el 3-C-ciano azúcar 47 por dihalogenación del grupo metileno en α al grupo nitro con hipoclorito sódico acuoso y cloruro de tetrabutilamonio para dar 46 que por tratamiento con tres equivalentes de trifenilfosfina da el cianoderivado 47^{39,47,48}

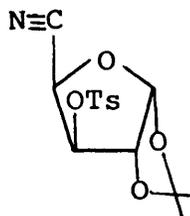


45, R= H

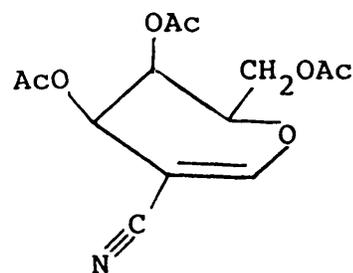
46, R= Cl, Br



47



48



49

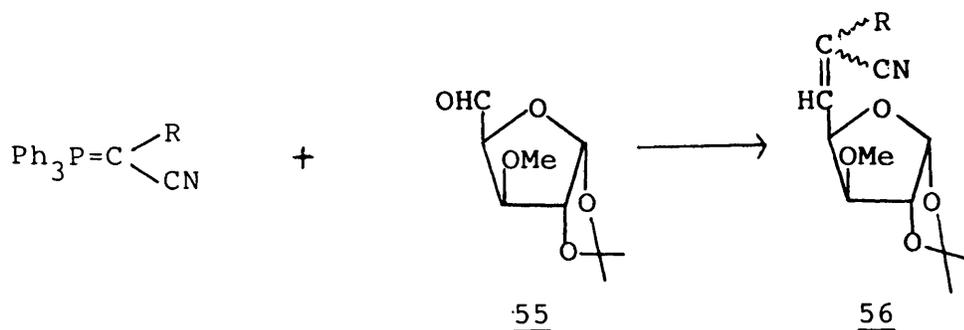
El xilurononitrilo 48 se obtiene por reacción del carboxaldehído correspondiente con cloruro de hidroxilamonio, que conduce a la oxima, seguida de deshidratación en anhídrido acético/piridina de dicha oxima.⁴⁸

La reacción de clorosulfonil isocianato con glicales, conduce a 2-C-ciano-1,2-didesoxi-1-enitol derivados, como por ejemplo el compuesto 49, obtenido a partir de galactal.

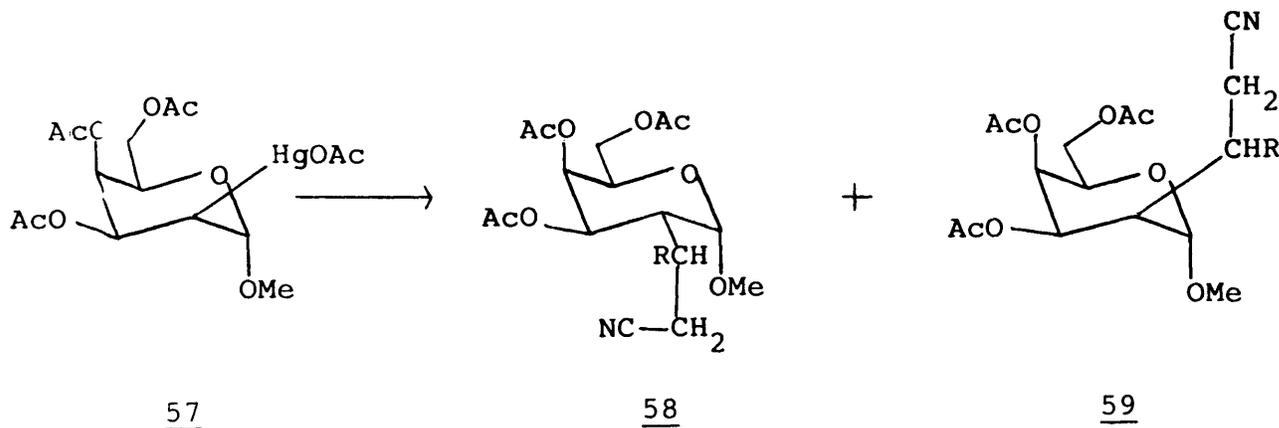
Síntesis de azúcares C-cianoalquil ramificados

También se han preparado otros cianoazúcares ramificados en los que el grupo CN forma parte de una cadena lateral, pero no está unido directamente al esqueleto del hidrato de carbono. Para la preparación de este tipo de compuestos se aprovecha generalmente la reactividad de la posición α al grupo ciano, por lo que este tipo de reacciones son totalmente análogas a las que experimentan los derivados carbonílicos y carboxílicos análogos

Análogamente, la reacción de un reactivo de Wittig del tipo cianometilen-trifenil-fosforano con cetonas y aldehidos^{51,52} 55 conduce a los correspondientes azúcares cianoalquil ramificados 56.



También se ha utilizado la aproximación contraria, que parte de derivados organomercúricos de azúcares, como por ejemplo 57, que reaccionan con olefinas conjugadas con grupos atractores de electrones, por ejemplo: acrilonitrilo o el dinitrilo de ácido fumárico para dar azúcares C-ciano alquil ramificados 58 y 59 en los que la configuración del nuevo centro quiral depende de los sustituyentes de la olefina conjugada⁵³.

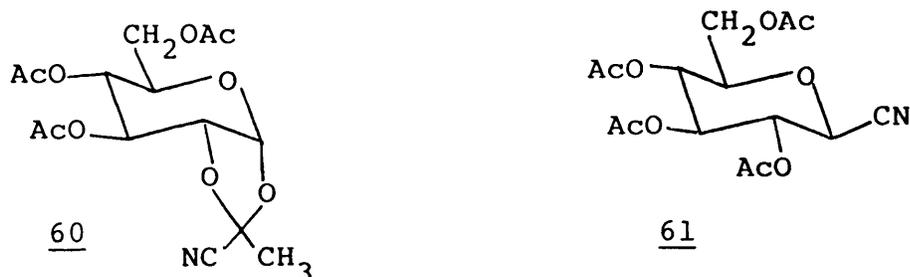


Los resultados obtenidos en nuestro laboratorio para la obtención de cianuros de glicosilo por reacción de azúcares acilados con Me_3SiCN ^{30,54} en presencia de trifluoruro de boro como catalizador, junto con la potencialidad de este reactivo para crear enlaces C-C, nos estimularon a continuar nuestros estudios sobre sus aplicaciones para la creación de enlaces C-C en hidratos de carbono. De esta forma se ha conseguido llegar de manera fácil, rápida y con altos rendimientos a la síntesis de: cianuros de glicosilo, por reacción de Me_3SiCN con derivados acilados de azúcares y glicales; azúcares C-ciano ramificados por ataque del Me_3SiCN a los carbonos electrófilos del anillo de oxirano de un epoxiazúcar y a éteres de mandelonitrilo por apertura del anillo de bencidén 1,3-dioxano del azúcar con alta o total regioselectividad.

2.2 PREPARACION DE CIANUROS DE GLICOSILO

2.2.1 PREPARACION DE CIANUROS DE GLUCOPIRANOSILO

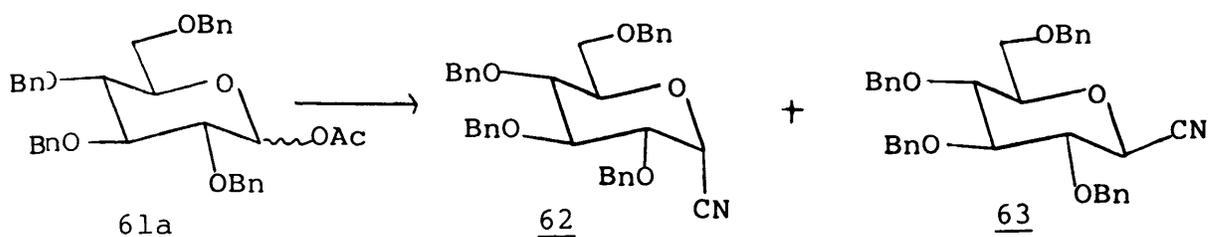
En el apartado 2.1 anterior, se han descrito dos métodos generales para la preparación de cianuros de glicosilo. El primero de ellos es totalmente inadecuado para la preparación de cianuros de glucosilo ya que conduce a mezclas en las que, debido a la participación de grupo 2-O-acilo vecino, solo se encuentran cianuros de configuración anomérica β , generalmente en bajos rendimientos. De acuerdo con este primer procedimiento, la reacción de bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo con cianuro mercúrico en nitrometano conduce a mezclas de 1,2-O-cianoetilidén derivados 60 y cianuro de tetraacetil- β -D-glucopiranosilo 61, con rendimientos de cianuro de 11,5 a 40%⁴⁴. Mediante el



segundo de los procedimientos, la reacción de las 1-O-acetil-2,3,4,5-tetra-O-acetil o 2,3,4,6-tetra-O-benzoil-D-glucopiranososa con cianuro de trimetilsililo en distintos disolventes polares apróticos; tales como nitrometano, acetonitrilo, dimetoxietano y en

presencia de varios ácidos de Lewis tales como tetracloruro de estaño, trifluoruro de boro o tetracloruro de titanio, condujo a mezclas complejas de reacción de las que no se pudo aislar ni identificar un producto definido. En cualquier caso este método también era inadecuado para la preparación de cianuros de configuración anomérica α si se utilizaban glucosas de partida peraciladas. Por ello, se intentó la preparación de los cianuros de glicosilo deseados mediante la reacción de 1-O-acetil-2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucopiranososa 61a con Me_3SiCN en acetonitrilo y en presencia de BF_3 .

De esta reacción se aislaron por métodos cromatográficos los dos cianuros de 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α -y- β -D-glucopiranososa 62 y 63 con rendimientos del 32% y 40% respectivamente.



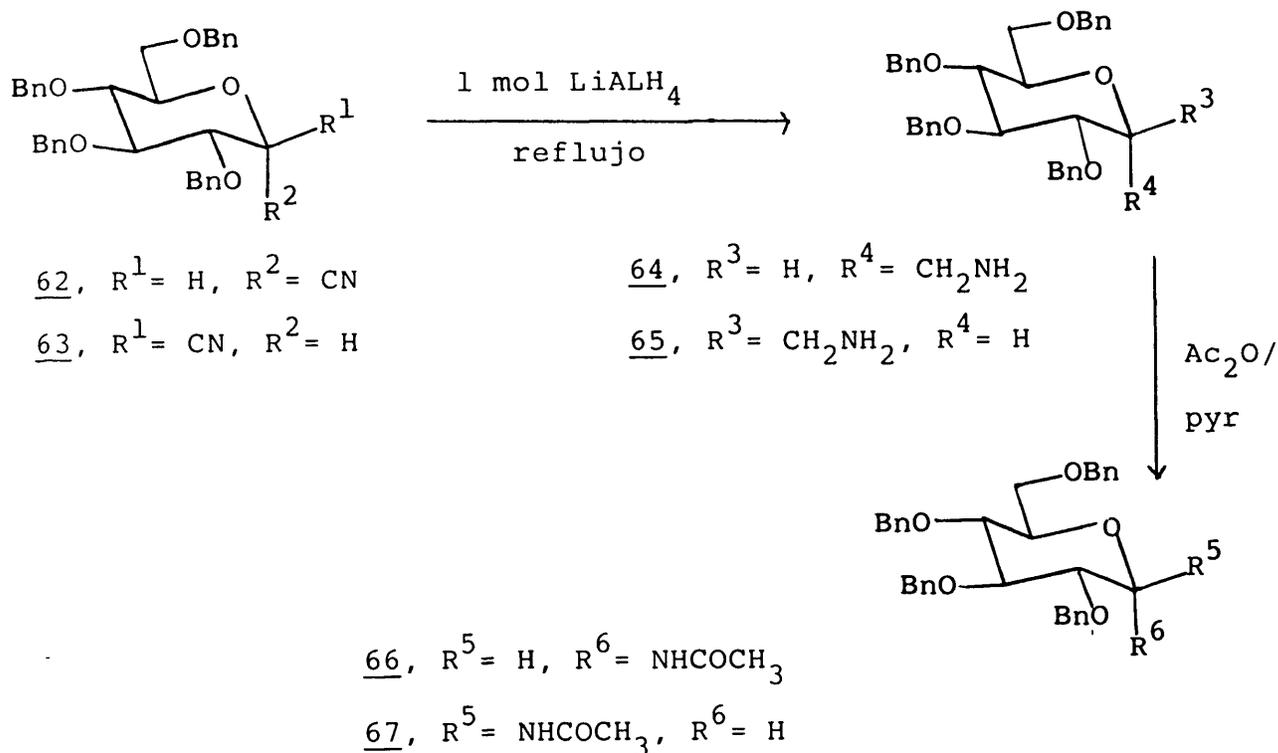
Este método ha permitido la preparación por primera vez de cianuros de glucopiranosilo con buenos rendimientos y sobre todo el acceso a cianuros de glucosilo de configuración anomérica α .

Los dos cianuros 62 y 63 fueron identificados en base a sus datos analíticos y espectroscópicos. En primer lugar, los análisis elementales demostraron la incorporación de un grupo ciano a la molécula de partida y la pérdida de un acetoxilo. Esta pérdida de acetoxilo se confirmó también por los espectros de ^1H -RMN de 62 y 63 que no mostraron las bandas correspondientes a los grupos metilos de los acetilos.

La configuración de los átomos de carbono anoméricos de 62 y 63 se determinó en base a la constante de acoplamiento $J_{1,2}$. Para el compuesto 63 el valor de dicha constante es $J_{1,2} = 8$ Hz, que demuestra la disposición axial de los protones H-1 y H-2. La disposición axial de H-2 indica que la conformación de la piranosa es $^4\text{C}_1$. Esto, unido a la disposición axial de H-1 determina la configuración anomérica β de 63. En el compuesto 62, $J_{1,2} = 4$ Hz, lo que a su vez indica que el protón anomero está en disposición ecuatorial y que su configuración anomérica es α .

2.2.2 REDUCCION DE CIANUROS DE GLUCOPIRANOSILO

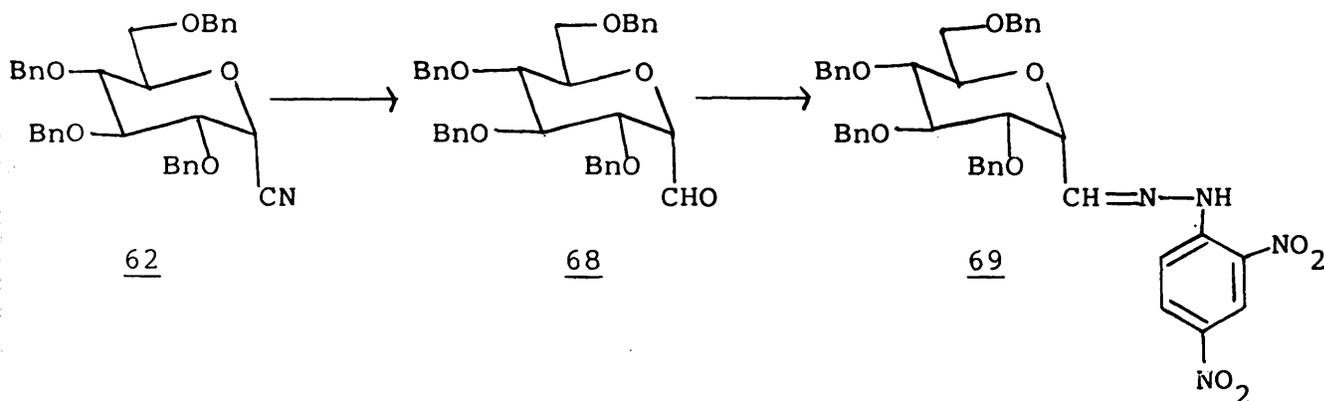
La reducción de los cianuros de 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α -y- β -D-glucopiranosilo 62 y 63 con 1 mol de LiAlH₄ por mol de nitrilo en tetrahidrofurano a reflujo dió los 1-amino-2,6-anhidro-3,4,5,7-tetra-O-bencil-1-desoxi-D-glicero-D-ido- y D-glicero-D-gulo-heptitales* 64 y 65, respectivamente, con rendimientos excelentes del orden de 90-95%.



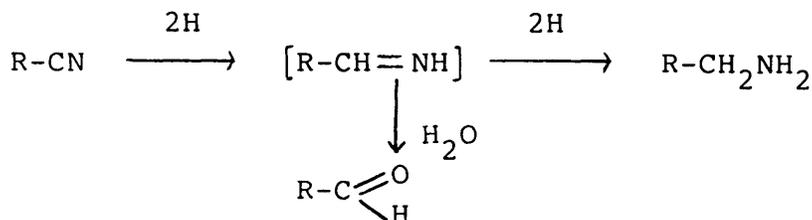
*Con el fin de relacionar más fácilmente las estructuras de los dos productos de reducción con las de los cianuros de los que proceden, al D-glicero-D-ido-heptitol 64, podría considerarsele como 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosilmetilamina y al D-glicero-D-gulo-heptitol 65 como el β -D-glucopiranosil metilamina isómero.

Debido a que tanto 64 como 65 eran productos inestables, su identificación se llevó a cabo a partir de los acetilamino derivados 66 y 67, que se obtuvieron por reacción de 64 y 65 con anhídrido acético y piridina.

Cuando la reducción del nitrilo 62 se llevó a cabo con 0,5 moles de LiAlH_4 por mol de nitrilo a 0°C utilizando tetrahidrofurano como disolvente se obtuvo con un 74% de rendimiento la 2,6-anhidro-3,4,5,7-tetra-O-bencil-D-glicero-D-ido-heptosa 68 en la que se mantenía la configuración absoluta R del átomo de carbono C-2, que manteniendo la nomenclatura de los cianuros equivaldría a una configuración anomérica α .



La obtención del aldehído puede explicarse por hidrólisis del intermedio aldimina que resulta de la adición de 1 mol de hidrógeno al cianuro de partida.



En los distintos métodos descritos en la bibliografía para la obtención de aldehidos⁵⁵⁻⁵⁷ la reacción en la que se genera este compuesto se lleva a cabo normalmente en presencia de hidrazina⁵⁸, fenilhidrazina⁵⁹, semicarbazina⁶⁰, o N,N-difeniletildiamina⁵⁷, que al reaccionar con el aldehido evitan la formación de productos secundarios⁵⁷ de descomposición de dicho compuesto. El uso de este aldehido enmascarado tiene el inconveniente de que a veces no resulta fácil su liberación del intermedio.

Aunque en nuestro caso la síntesis del aldehido se ha llevado a cabo con buen rendimiento sin necesidad de hacer la reacción en presencia de ninguno de los compuestos anteriormente mencionados, es aconsejable que dicho aldehido sea inmediatamente utilizado pues resultó ser bastante inestable. Por esta misma razón, su identificación se llevó a cabo a partir del derivado 2,4-dinitrofenilhidrazona 69.

Los 1-amino-1-desoxi-heptitales 64 y 65 y la heptosa 68 se identificaron en base a sus datos analíticos y espectroscópicos como se detalla a continuación.

Los espectros IR de los 1-acetamido-1-desoxi heptitales 66 y 67 dieron bandas a 3300 y a 1650 cm^{-1} que indicaron la existencia del agrupamiento -NHCO-. La presencia del grupo acetamido se confirmó por la aparición en el espectro de $^1\text{H-RMN}$ de una banda a δ 1,85 ppm para el compuesto 67 y otra a δ 1,95 ppm en 66 características ambas del metilo de dicho grupo acetamido.

La configuración del átomo de carbono C-1 no pudo ser determinada en base a los datos de $^1\text{H-RMN}$ por aparecer el protón H-1 incluido en multiplete complejo entre δ 3,25 y 3,90 ppm. Sin embargo, la configuración anomérica de los cianuros de los que

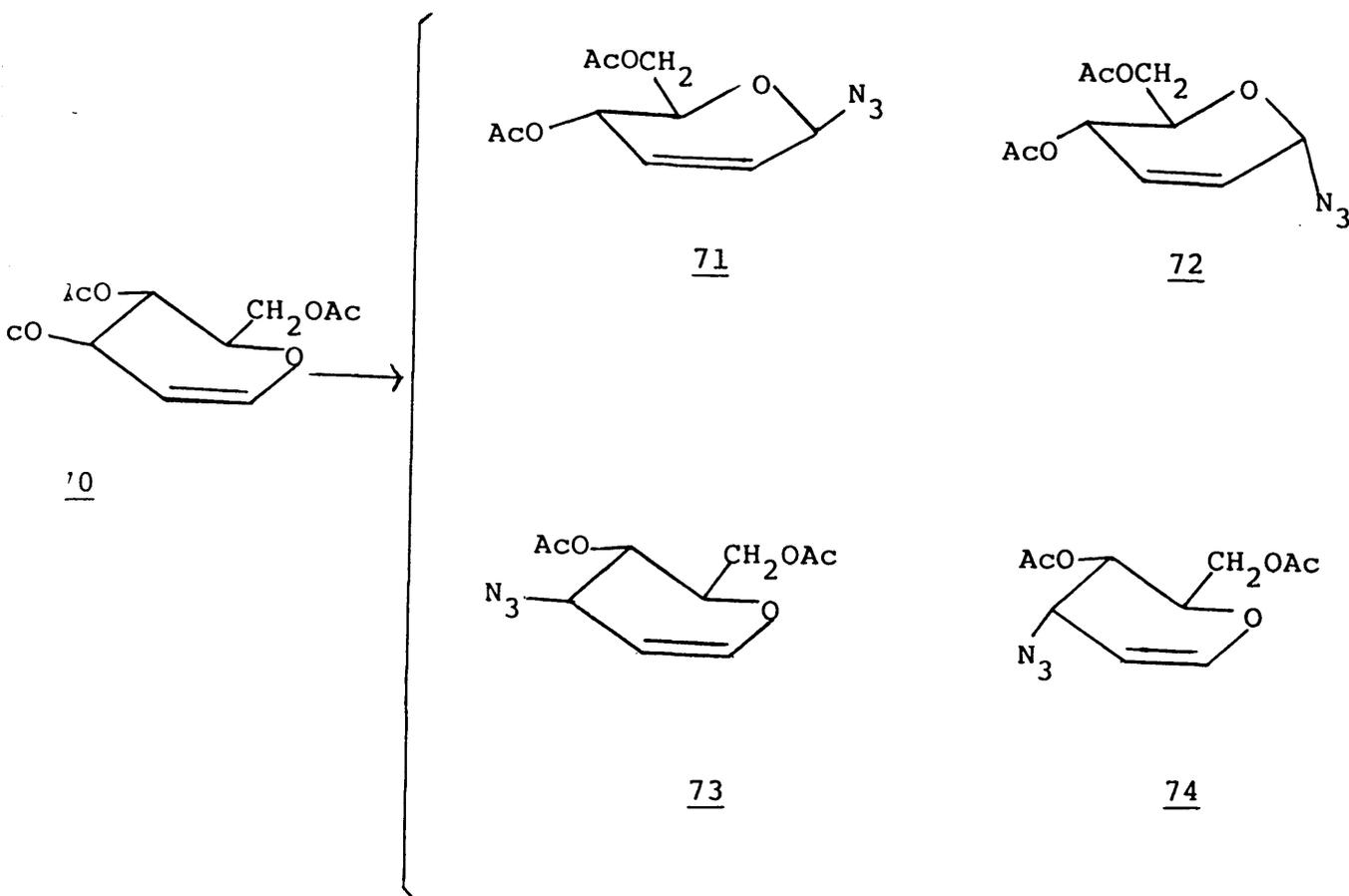
proceden y la medida de los poderes rotatorios $[\alpha]_D^{34^\circ}$ para 66 $[\alpha]_D^{17^\circ}$ para 67 sirvieron para establecer la configuración D-glicero-D-ido de 66 y D-glicero-D-gulo de 67.

La obtención de la aldohexosa 68 se comprobó por su reacción positiva con 2,4-dinitrofenilhidrazina y por sus datos de IR y $^1\text{H-RMN}$. En el espectro de IR aparece una banda a 1700 característica de C=O. El espectro de $^1\text{H-RMN}$ de la aldohexosa 68 presenta un singlete a δ 9,20 ppm característico del protón aldehídico. La configuración del carbono C-1 se determinó en base a la constante de acoplamiento $J_{1,2} = 3$ Hz, medida en la señal de H-1 que aparece a δ 5,80 ppm y que indica que dicho protón H-1 se encuentra en posición ecuatorial y por lo tanto el grupo aldehído en posición axial. La identificación de la aldohexosa 68 se completó con los datos de análisis elemental y espectroscópicos del derivado de 2,4-dinitrofenilhidrazona 69. El espectro IR de 69 muestra una banda a 3300 cm^{-1} característica del agrupamiento -NH- y dos bandas a 1350 y 1600 cm^{-1} , características del grupo nitro. El espectro de $^1\text{H-RMN}$ de 69 muestra un doblete ($J = 3$ Hz) a δ 9,10 ppm que corresponde al CH=N- de la hidrazona. La configuración del C-1 se deduce de la $J_{1,2} = 3$ Hz que indica que H-1 tiene una disposición ecuatorial.

2.1.3 PREPARACION DE CIANUROS DE HEX-2-ENOPIRANOSILO

Se sabe que los glicales reaccionan con reactivos nucleófilos⁶¹ y que dependiendo de la estructura de dicho glicol, la reacción conduce a productos de adición al doble enlace del glicol o a azúcares 2,3-insaturados. Estos azúcares olefinicos se forman por migración del doble enlace del glicol de la posición 1,2- a 2,3-, como consecuencia de la eliminación del sustituyente en 3 cuando este sustituyente está en disposición trans con respecto al sustituyente en 4.

Por ejemplo, el 3,4,6-tri-O-acetil-D-glucal 70 reacciona con azida sódica para dar una mezcla de cuatro productos isómeros 62,63,64,



las dos azidas de 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- β - y - α -D-eritro-hex-2-enopiranosilo 71 y 72 y las dos 4,6-di-O-acetil-1,2,3-tridesoxi-3-azido-D-arabino y ribo-hex-1-enopiranosas 73 y 74.

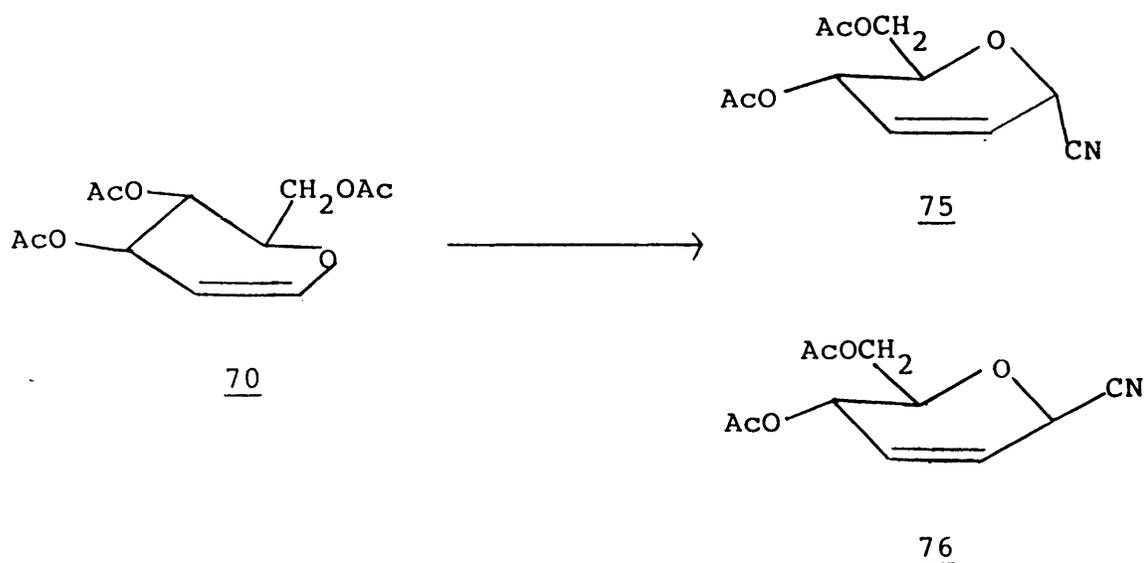
Por todo esto, se consideró de interés estudiar la reacción de glicales con Me_3SiCN , debido a que el anión cianuro, aunque está estabilizado por el grupo trimetilsililo adyacente, es un resto nucleófilo. Estos estudios pretenden determinar la potencialidad de este reactivo para la creación de enlaces C-C en azúcares y para la preparación de sintones funcionalizados que contienen varios centros asimétricos de quiralidad definida.

Como paso previo, se estudió la reacción de 3,4,6-tri-O-acetil-D-glucal con azida de trimetilsililo. Debido a la semejanza estructural de ambos reactivos y a la mejor nucleofilia del grupo azida. La obtención de resultados positivos en la reacción de glucal con azida de trimetilsililo, estimularía la realización de la reacción con el cianuro de trimetilsililo.

Así, cuando se llevó a cabo la reacción entre 3,4,6-tri-O-acetil-D-glucal y azida de trimetilsililo en disolución de acetonitrilo anhidro usando tetracloruro de estaño como catalizador y enfriando a -10°C , se aisló una mezcla de las cuatro azidas isómeras 71, 72, 73 y 74 con rendimientos de: 5, 20, 25 y 30% respectivamente.

2.2.3.1 Reacción de 3,4,6-tri-O-acetil-D-glucal con cianuro de trimetilsililo

La reacción de cianuro de trimetilsililo y 3,4,6-tri-O-acetil-D-glucal, en disolución de nitrometano a temperatura ambiente en presencia de trifluoruro de boro, condujo a los dos cianuros de 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α - y - β -D-eritro-hex-2-enopiranosilo 75 y 76.



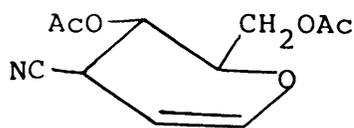
con rendimientos de 57 y 42% respectivamente.

Análogamente a lo que sucede en muchas de las reacciones del glucal^{65,66}, se produce una adición del reactivo nucleófilo a la posición 1 del azúcar y se produce la eliminación del grupo acetoxilo en posición 3 del glucal, con formación de un doble enlace entre las posiciones 2 y 3.

También se ha llevado a cabo la reacción del glucal 70 con cianuro sódico en acetonitrilo anhidro usando el mismo

ácido de Lewis como catalizador y ha conducido a los mismos cianuros de glicosilo 75 (41%) y 76 (27%). Aunque los rendimientos obtenidos son menores, este procedimiento puede ser más conveniente para preparaciones en grandes cantidades debido al menor costo del cianuro sódico en relación con el cianuro de trimetilsililo.

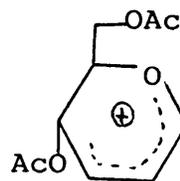
En las dos reacciones anteriores con Me_3SiCN y NaCN solo se obtuvieron los 1-C-ciano-hex-2-enopiranosil derivados 75 y 76, no detectándose ni siquiera trazas de los 3-C-ciano-hex-1-enopiranosil derivados 77 y 78 análogos de los 3-azido derivados 73 y 74. Tampoco se obtuvieron dichos 3-C-ciano compuestos 77 y 78 cuando se intentó la reacción de isomerización a partir de los 1-C-ciano isómeros 75 y 76



77



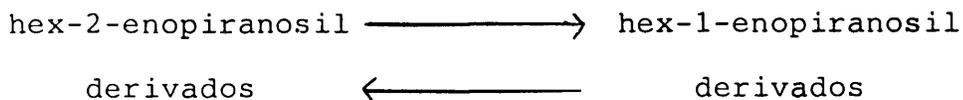
78



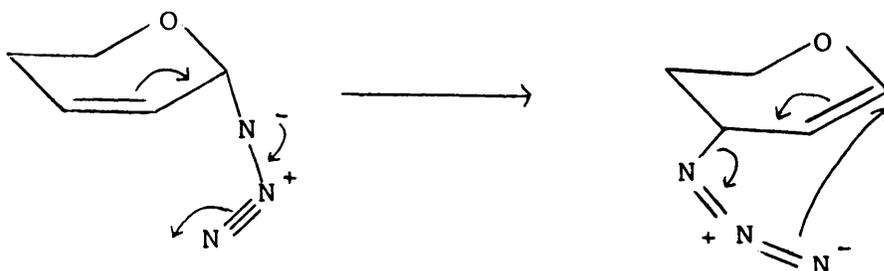
79

Estas reacciones de isomerización se intentaron calentando en tubo cerrado a 100°C y durante periodos de hasta tres días disoluciones de 75 y 76 en disolventes polares apróticos (CH_3CN , DMF, HMPTA) con catalizadores ácidos tanto protónicos (ácido trifluoroacético, ácido p-toluensulfónico) como ácidos de Lewis (Cl_4Sn , BF_3). Estas condiciones favorecen la formación de un ión

carbonio alílico 79 que se ha demostrado es el intermedio^{67,68} en el equilibrio de transformación:



al menos en aquellos casos en los que no es posible una transposición alílica sigmatrópica⁶²⁻⁶⁴ del tipo:



Sin embargo, de los intentos de isomerización

75, 76 \longrightarrow 77, 78 se recuperaron los productos de partida inalterados. La imposibilidad de obtener derivados del tipo 77 y 78 se podría atribuir fácilmente a la fuerza del enlace C₁-CN y a su escasa polaridad, que impide que se rompa dicho enlace para dar lugar al carbocatión alílico 79 y a ión CN⁻.

Las estructuras de los dos cianuros de hexenopiranosilo 75 y 76 se demostraron por métodos analíticos y espectroscópicos como se indica a continuación. En primer lugar, los análisis elementales de 75 y 76 demostraron que se había producido la incorporación de un grupo ciano a la molécula de glucal de partida

y la pérdida de un grupo acetoxilo.

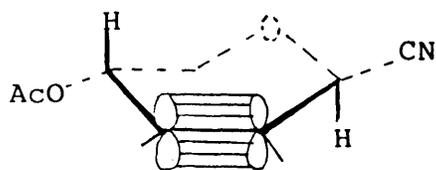
La eliminación de un grupo acetoxilo también se confirmó por los espectros de $^1\text{H-RMN}$ que mostraron en la zona correspondiente a los grupos metilo de los restos acetilo dos únicas bandas a δ 2,08 y 2,10 ppm que integran para tres protones cada una, en el caso de 76 y de una sola banda a δ 2,12 ppm, que integra para seis protones, en el caso de 75. La formación del doble enlace también se confirmó por el espectro de $^1\text{H-RMN}$, que en la zona correspondiente a los protones olefinicos mostró las señales correspondientes a los protones H-2 y H-3, cuyas frecuencias de resonancia para los compuestos 75 y 76 se incluyen en la Tabla 2.

El valor de la constante vecinal $J_{4,5} = 9,0$ Hz y 8,5 Hz de los compuestos 75 y 76, respectivamente, indica una relación quasiaxial-axial entre los protones H-4 y H-5, que es solo compatible con una conformación de semisilla $^0\text{H}_5$.

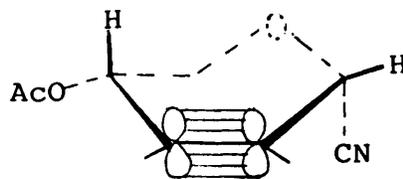
Los valores de constantes de acoplamiento $J_{3,4} = 1,3$ Hz para 75 y $J_{3,4} = 1,8$ Hz de 76 confirman la asignación anterior, ya que una constante de dicha magnitud solo se obtiene cuando el protón H-4 es quasiaxial; en el caso de encontrarse en disposición quasiecuatorial, dicha constante alcanzaría un valor $J_{3,4} = 6$ Hz⁶⁹, muy superior al valor encontrado.

La configuración del carbono anómero, se determina en base a las constantes de acoplamiento $J_{1,2}$, $J_{1,3}$ y sobre todo $J_{1,4}$. Según un tratamiento por el enlace de valencia⁷⁰, confirmado empíricamente, los acoplamientos homoalílicos $J_{1,4}$ son tanto mayores, cuanto más grande es el solapamiento entre el enlace sigma C-H y el orbital π del carbono contiguo. Este acoplamiento es máximo para el caso de los anómeros β , del orden de 2,5 Hz, ya

que la disposición es quasiaxial-quasiaxial para los protones H-1 y H-4. La magnitud del acoplamiento es algo menor (1,5 Hz) cuando estos protones adoptan una orientación quasiecuatorial-quasiaxial, y es muy próxima a cero cuando ambos protones se encuentran en una posición quasiecuatorial. De acuerdo con estos razonamientos el



anómero β



anómero α

valor de $J_{1,4} = 1,8$ Hz de 75 indica que en este compuesto el protón anómero ocupa una posición quasiecuatorial que es sólo compatible con una configuración anomérica α . Por otra parte, el valor de $J_{1,4} = 2,3$ Hz observado para 76, indica que el protón anómero ocupa una posición quasiaxial y por tanto que se trata de un compuesto con configuración anomérica β .

Así mismo, confirman estas asignaciones los valores de las constantes de acoplamiento $J_{1,2} = 2,9$ Hz para 75, que demuestra que en este compuesto el protón anómero se encuentra en posición quasiecuatorial y por el valor $J_{1,2} = 1,8$ Hz para 76 que a su vez indica que dicho protón anómero se encuentra en posición quasiaxial.

También apoyan las asignaciones realizadas la buena concordancia de los parámetros magnéticos, tanto desplazamientos químicos relativos como constantes de acoplamiento, con los de

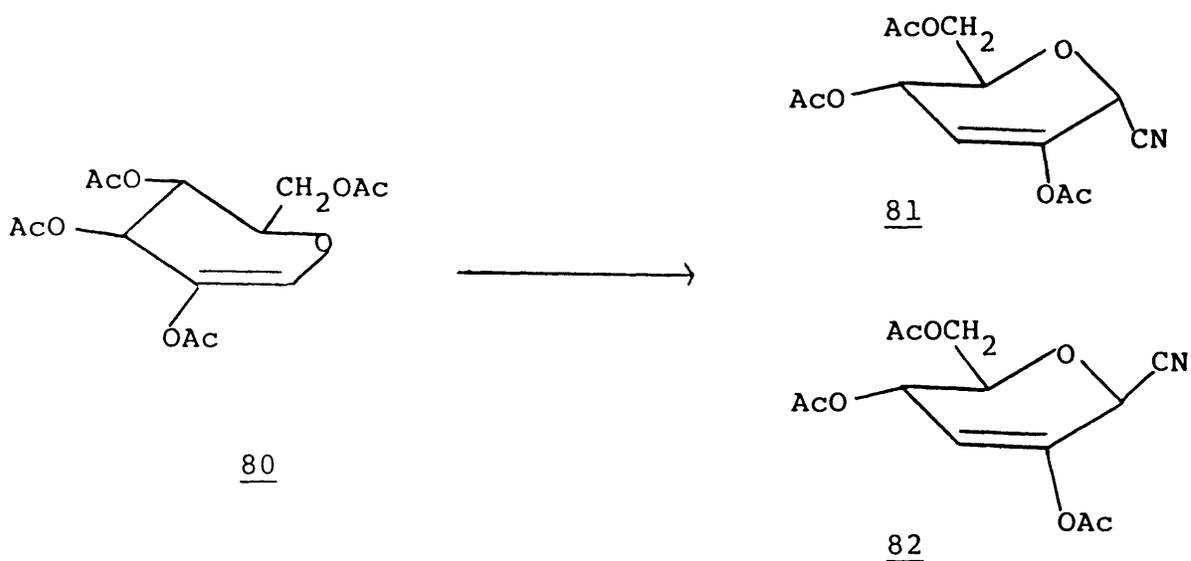
otras parejas de derivados 2,3-insaturados de configuraciones anoméricas α y β ^{68,69,71,72} conocidas.

A pesar de la buena concordancia espectroscópica observada hay que resaltar que los cianuros insaturados 75 y 76 no cumplen con la Regla de Hudson ⁷³, según la cual el anómero α es más dextrorrotatorio que el correspondiente anómero β . Los compuestos 75 y 76 vienen así a sumarse a la larga lista de excepciones a esta regla empírica ⁷⁴. Particularmente, en el caso de derivados 2,3-insaturados de piranosa ⁷⁴ y nucleósidos 2',3'-insaturados ⁷⁵, es especialmente frecuente que las parejas de anómeros no se ajusten a la Regla de Hudson.

Estas configuraciones anoméricas asignadas por métodos espectroscópicos fueron confirmadas por vía química mediante hidrogenación catalítica de los cianuros 75 y 76 como se describe en el apartado 2.3 de esta memoria.

2.2.3.2 Reacción de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-2-hidroxi-D-glucal con cianuro de trimetilsililo

La reacción a temperatura ambiente de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-2-hidroxi-D-glucal 80 con cianuro de trimetilsililo en nitrometano anhidro y en presencia de trifluoruro de boro eterato, condujo a una mezcla de los dos cianuros isómeros posibles de 2,4,6-tri-O-acetil-3-desoxi- α y β -D-eritro-hex-2-enopiranosilo 81 y 82.



con rendimientos de 46 y 34%, respectivamente. Los dos cianuros de glicosilo se separaron por cromatografía de capa fina preparativa. En este caso, debido a la disposición trans de los grupos acetoxilo en posiciones 3 y 4, también se produce la eliminación del grupo acetoxilo en 3 con formación de un doble enlace en posición -2,3-.

Los análisis elementales de 81 y 82 demostraron que en ambos compuestos se había producido la incorporación de un grupo ciano a la molécula de tetra-O-acetil-2-hidroxi-D-glucal y la pérdida de un grupo acetoxilo.

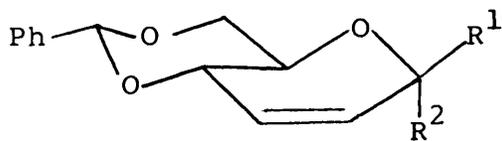
La pérdida de un grupo acetoxilo también se demostró por los espectros de ^1H -RMN que presentaron sólo tres bandas en la zona correspondiente a los grupos metilo de los restos acetilo (Tabla 2). La presencia de un doble enlace y la eliminación de un grupo acetoxilo se demostraron por la aparición en la zona de los protones olefínicos de una señal a δ 5,87 ppm asignable al H-3

de 82 y de una señal a δ 5,94 ppm atribuible al H-3 de 81.

La conformación de semisilla $^{\circ}\text{H}_5$ del cianuro α 81 se puso de manifiesto por el valor elevado de la constante de acoplamiento $J_{4,5} = 8,5$ Hz que indica que ambos protones tienen disposiciones quasiaxial-axial. Esta asignación se confirma por el valor de la constante de acoplamiento $J_{3,4} = 2,4$ Hz que es solamente compatible con una disposición quasiaxial del protón H-4. En caso de encontrarse dicho protón en disposición quasiecuatorial la constante $J_{3,4}$ alcanzaría valores próximos a 6 Hz⁶⁹.

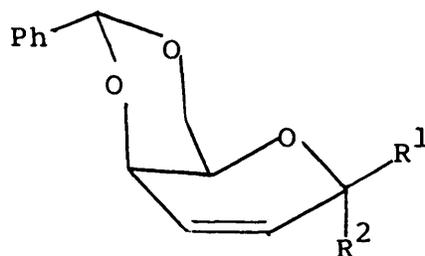
La configuración anomérica de 81 se asignó en base a las constantes de acoplamiento $J_{1,3}$ y $J_{1,4}$.

Para esta asignación se tomaron como modelos valores de $J_{1,3}$ y $J_{1,4}$ de los compuestos metil 4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- α - y - β -D-eritro y treo-hex-2-enopiranosidos 83-86⁷⁶ y los de los nucleósidos de 2,4,6-tri-O-acetil-3-desoxi- α -D-eritro y treo-hex-2-enopiranosas 87 y 88⁶⁹.



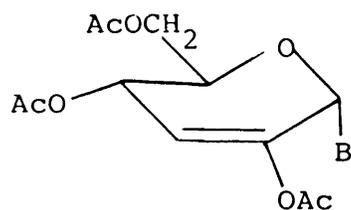
83, $R^1 = \text{H}$; $R^2 = \text{OMe}$

84, $R^1 = \text{OMe}$; $R^2 = \text{H}$

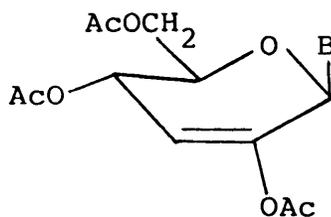


85, $R^1 = \text{H}$; $R^2 = \text{OMe}$

86, $R^1 = \text{OMe}$; $R^2 = \text{H}$



87



88

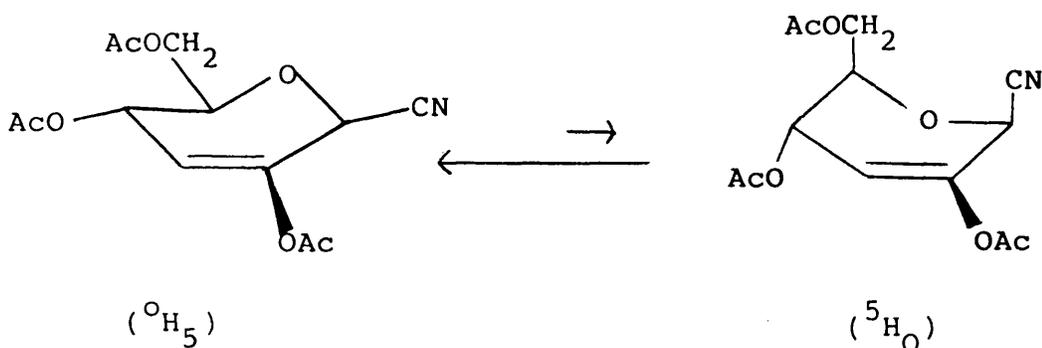
De la comparación de los valores de $J_{1,3}$ y $J_{1,4}$ de los compuestos modelo con los del cianuro 81 de $J_{1,3} = 1,3$ Hz y $J_{1,4} = 1,6$ Hz se deduce que este compuesto tiene configuración anomérica α .

En los compuestos 81 y 82 se observa, respecto a los poderes rotatorios, la misma anomalía que en la pareja de cianuros del glucal 75 y 76, puesto que los compuestos 81 y 82 tampoco cumplen la regla de Hudson⁷³.

Las constantes de acoplamiento observadas para el cianuro 82 de configuración anomérica β presentan algunas anomalías con respecto a lo que cabía esperar. En primer lugar, se observa que la constante de acoplamiento $J_{4,5} = 7,1$ Hz es menor que la que cabía esperar para un acoplamiento entre protones en disposición quasiaxial y axial, que debía ser superior a 8,5 Hz en el supuesto de que, como en el caso anterior, el azúcar estuviese en conformación de semisilla ${}^{\circ}H_5$. También se observa que el valor de la constante $J_{1,4} = 2,1$ Hz es algo menor de lo que cabía esperar para un acoplamiento homoalílico entre protones quasiaxiales, que debía

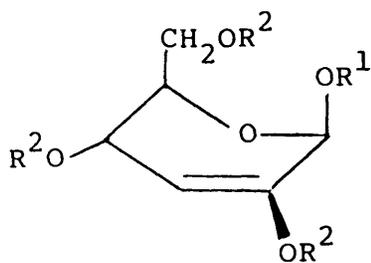
ser del orden de 2,5 Hz. De hecho esta $J_{1,4}$ es menor que las mismas constantes de acoplamiento observadas para otros derivados 2,3-insaturados de configuración anomérica (β) descritos en la bibliografía^{69,71,72}. Este menor valor de $J_{1,4}$ indica que la relación entre dichos protones no es la típica entre protones cuasiauxiales y que debe existir alguna modificación conformacional que varíe la disposición relativa de ambos átomos de hidrógeno. Análogamente la $J_{3,4} = 3,0$ Hz es mayor que la $J_{3,4}$ observada para distintos anómeros β de conformación de semisilla ${}^{\circ}H_5$.

Estas desviaciones de las constantes de acoplamiento $J_{1,4}$, $J_{3,4}$ y $J_{4,5}$ se sitúan de hecho entre las que cabrían esperar para las conformaciones ${}^{\circ}H_5$ y 5H_0 aunque están mucho más cerca de los valores esperados para la primera. Por ello, puede suponerse que existe un equilibrio conformacional entre ambas formas de semisilla claramente desplazada hacia la conformación ${}^{\circ}H_5$.

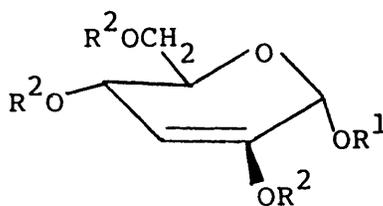


Este equilibrio explicaría la disminución del valor $J_{4,5}$, ya que en la conformación 5H_0 dichos protones H-4 y H-5 ocupan posiciones quasiecuatorial-ecuatorial, la disminución del valor $J_{1,4}$, ya que en la conformación 5H_0 los protones H-1 y H-4 también ocupan posiciones quasiecuatoriales y el aumento de la constante $J_{3,4}$, ya que en dicha conformación el protón H-4 ocupa una disposición quasiecuatorial.

La tendencia de este tipo de moléculas a presentar la conformación 5H_0 ya ha sido observada previamente, ya que los esteres de 3-desoxi- β -D-hex-2-enopiranosilo 89 existen en conformación de semisilla 5H_0 , mientras que los correspondientes anómeros α 90 existen en conformación 0H_5 ^{70,74-77}. La preferencia hacia la conformación 5H_0 de los compuestos 89 se explica en función de la tensión $A^{(1,2)}$ ⁷⁷ entre el ester en posición anómera y el grupo 2-O-acetilo por una parte, y el efecto anómero, según el cual el sustituyente en posición anomérica, cuando éste es un grupo polar con densidad de carga negativa, tiende a situarse en disposición axial o quasiaxial. Estas dos fuerzas tienen en el caso de los compuestos 89 la suficiente fuerza para vencer el efecto anómero inverso ⁷⁸, según el cual los grupos tales como el 5- CH_2OR tienden a situarse en disposición ecuatorial, y la interacción 1,3-diaxial entre los grupos 1- OR^1 y 5- CH_2OR^2 . Aunque en nuestro caso los efectos polares y estéricos no son iguales a los de los compuestos 89 debido a la sustitución del grupo 1- OR^1 por el grupo -CN, la pequeña presencia de la conformación 5H_0 propuesta para el compuesto 82 podría explicarse mediante efectos análogos.



89



90

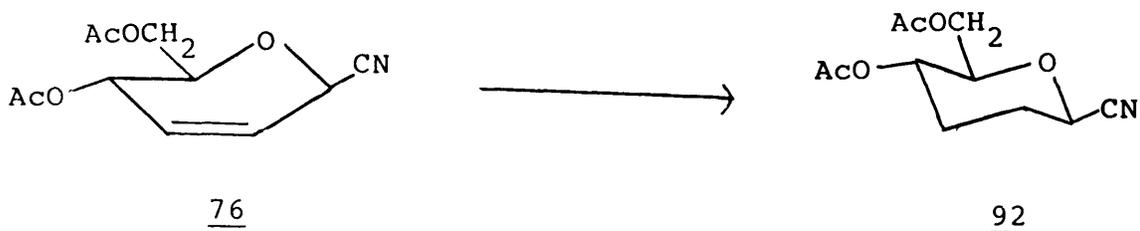
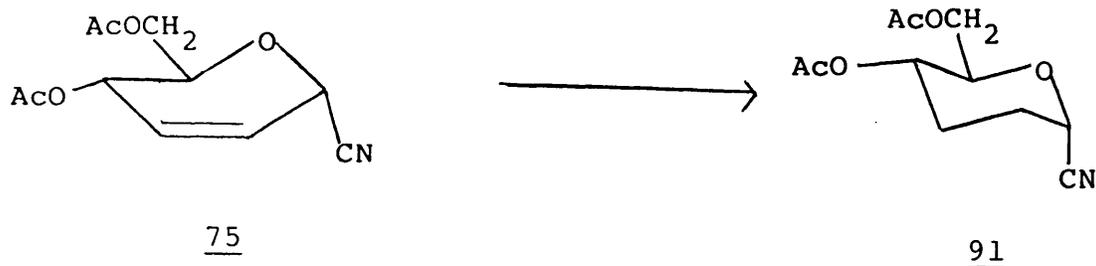
2.3 PREPARACION DE CIANUROS DE DESOXIHEXOPIRANOSILO POR HIDROGENACION CATALITICA DE CIANUROS DE HEX-2-ENOPIRANOSILO

Con el fin de utilizar los cianuros 2,3-insaturados descritos en el apartado 2.2.3 anterior en la preparación de nuevos cianuros de glicosilo se ha llevado a cabo la hidrogenación del doble enlace existente en dichos compuestos. Dicha hidrogenación ofrecía, además, la posibilidad de comprobar las configuraciones anoméricas asignadas, ya que se ha demostrado que durante la hidrogenación catalítica, no se produce variación en la configuración anomérica⁷⁹.

2.3.1 HIDROGENACION DE CIANUROS DE 4,6-DI-O-ACETIL-2,3-DIDESOXI-D-ERITRO-HEX-2-ENOPIRANOSILO

La hidrogenación catalítica de los cianuros de 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α y β -D-eritro-hex-2-enopiranosilo 75 y 76, se llevó a cabo a 2 atm. de presión de hidrógeno y a temperatura de 30-40°C, empleando paladio sobre carbono al 10% como catalizador. En ambos casos se obtiene un único producto de reducción. El cianuro insaturado 75 dió lugar al cianuro de 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hexopiranosilo 91, con un 99,2% de rendimiento y el cianuro insaturado 76 rindió el cianuro de 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- β -D-eritro-hexopiranosilo 92 con un 99.2% de rendimiento.

No se detectaron productos de reducción del grupo ciano a grupo aminometilo, que en reacciones análogas de hidrogenólisis de cianuros de 2,3,5-tri-O-bencil α y β -D-ribofuranosilo se habían observado³⁰. Tampoco se apreciaron productos de hidrogenólisis del grupo acetoxilo en posición 4, que por ocupar una posición alílica con respecto al doble enlace podían haberse producido, como de hecho se habían observado anteriormente en las reacciones de hidrogenación catalítica de derivados de azúcares 2,3-insaturados⁷⁹.



Las estructuras de los dos cianuros hidrogenados 91 y 92 se determinaron mediante datos analíticos y espectroscópicos. En primer lugar, el análisis elemental dió fórmulas empíricas coherentes con las estructuras propuestas que contenían dos átomos de hidrógeno más que los productos insaturados de partida.

La hidrogenación del doble enlace pudo confirmarse por los espectros de ^1H RMN, en los que desaparecían las bandas de los protones H-2 y H-3 de la zona de los protones olefinicos, a δ 5,8-6,2 ppm y aparecían bandas anchas multiplete en la zona de los metilenos, entre δ 1,6-2,3 ppm, que integraban para los cuatro protones mencionados H-2 y H-3. Debido a la proximidad de desplazamientos químicos relativos de estos protones y al hecho de encontrarse superpuestos con las bandas de resonancia de los grupos acetilo, no fué posible extraer ningún parámetro magnético en dicha zona, Sin embargo, las sumas de las constantes de acoplamiento $J_{1,2a} + J_{1,2e}$ y $J_{3a,4} + J_{3e,4}$ medidas en las señales respectivas de H-1 y de H-4

permiten realizar una asignación definitiva.

Así, en el caso del cianuro α , 91, a δ 4,68 ppm aparece un triplete de dobletes que se asigna al protón H-4 que presenta constantes de acoplamiento $J_{4,5} = 10$ Hz y $J_{3a,4} + J_{3e,4} = 15,2$ Hz. Estos valores, característicos de acoplamientos entre protones axial-axial (H-4, H-5), axial-axial (H-3_a, H-4) y axial-ecuatorial (H-4, H-3_e), son sólo compatibles con una disposición axial del protón H-4 que indica que la conformación de silla es 4C_1 . Esta asignación se confirma en la señal del protón H-5 que aparece a δ 3,95 ppm ($J_{4,5} = 10$ Hz). La configuración anomérica α del cianuro 91 se deduce a partir de las constantes de acoplamiento medidas sobre el protón anómero, que aparece a δ 4,88 ppm, con valores de $J_{1,2a} + J_{1,2e} = 6,5$ Hz, propios de acoplamientos entre protones ecuatorial-axial (H-1, H-2_a) y ecuatorial-ecuatorial (H-1, H-2_e), respectivamente. Dichos valores indican claramente la disposición ecuatorial del protón anómero que en este azúcar de la serie D en conformación 4C_1 sólo es compatible con la configuración anomérica α . Las sumas mencionadas $J_{3a,4} + J_{3e,4} = 15,2$ Hz y $J_{1,2a} + J_{1,2e} = 6,5$ Hz no solo permiten realizar las asignaciones hechas con seguridad, sino que excluyen la asignación contraria, que daría valores aproximados de sumas $J_{3a,4} + J_{3e,4} = 6-9$ Hz y $J_{1,2a} + J_{1,2e} = 11-13$ Hz en caso de que H-4 y H-1 ocupasen posiciones ecuatorial y axial respectivamente.

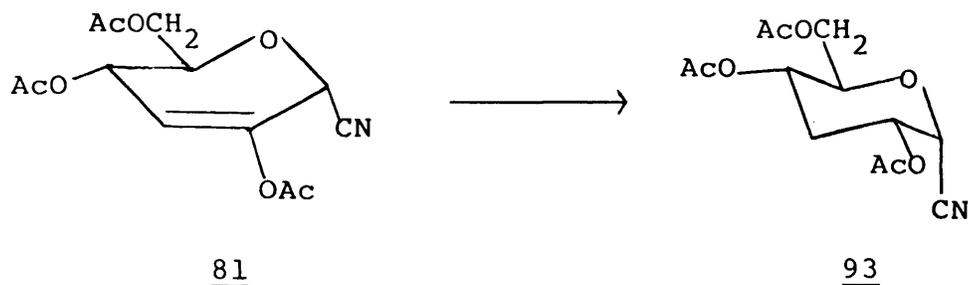
Analógicamente, en el espectro de 1H -RMN del cianuro β , 92, aparece a δ 4,69 ppm, un triplete de dobletes que se asigna a H-4, que presenta constantes de acoplamiento $J_{3e,4} + J_{3a,4} = 15,2$ Hz y $J_{4,5} = 10,2$ Hz, características de acoplamientos entre protones axial-axial (H-3_e, H-4) axial-ecuatorial (H-4, H-3_e) y axial-

axial (H-4, H-5), respectivamente, sólo compatibles con una disposición axial del protón H-4 y por tanto con una conformación de silla 4C_1 . La disposición axial de H-4 y H-5 se confirma en la señal de éste último que aparece a δ 3,53 ppm. El protón anomérico de 92 aparece a δ 4,27 ppm como un doblete de dobletes con $J_{1,2a} + J_{1,2e} = 11,1$ Hz, adecuadas para acoplamientos entre protones axial-axial (H-1, H-2_a) y axial-ecuatorial (H-1, H-2_e), respectivamente, que también indican la disposición axial de H-1 y por tanto la configuración anomérica β de 92. De nuevo, las sumas de constantes de acoplamiento demuestran la estructura asignada y permite excluir la asignación contraria.

Las configuraciones anoméricas de 91 y 92 coinciden con las configuraciones asignadas en el apartado 2.2.3.1 anterior a los productos de partida respectivos 75 y 76, lo que confirma plenamente aquellas asignaciones.

2.3.2 HIDROGENACION DEL CIANURO DE 2,4,6-TRI-O-ACETIL-3-DESOXI-
 α -D-ERITRO-HEX-2-ENOPIRANOSILO

La hidrogenación catalítica del cianuro de 2,4,6-tri-O-acetil-3-desoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosilo 81



se llevó a cabo a 2 atm. de presión de hidrógeno y a temperatura de 30-40°C, empleando paladio sobre carbono al 10% como catalizador, y condujo al cianuro de 2,4,6-tri-O-acetil-3-desoxi- α -D-ribo-hexopiranosilo 93 con un 85% de rendimiento.

Como en el caso anterior, tampoco se observaron productos de reducción del grupo ciano, ni productos de hidrogenólisis del grupo 4-acetoxilo.

La estructura del cianuro 93 se puso de manifiesto mediante su análisis elemental. La hidrogenación del doble enlace se puso también de manifiesto mediante el espectro de ^1H -RMN por la desaparición en la zona de los protones olefínicos de las señales de H-3 a δ 5,94 ppm y la aparición de un multiplete que

integra para dos protones centrado a δ 2,53 ppm que se asignó a los dos protones H-3 axial y H-3 ecuatorial.

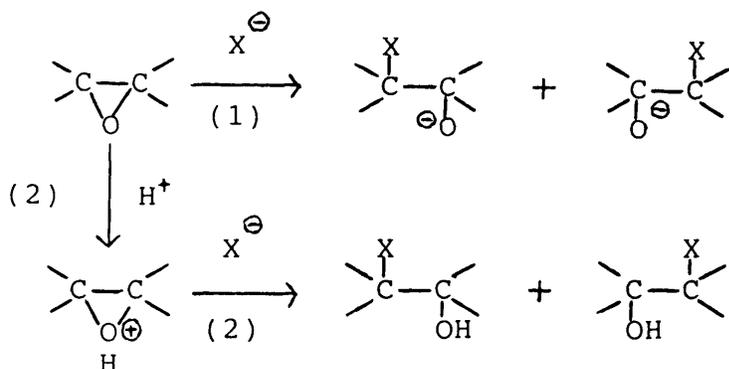
La conformación de silla 4C_1 se determinó a partir de la constante de acoplamiento $J_{4,5} = 10,1$ Hz que es sólo compatible con una disposición axial de ambos protones.

La estereoquímica de la posición 2 se determinó a partir de la suma de constantes de acoplamiento medidas en la señal del protón H-2, $J_{1,2} + J_{2,3a} + J_{2,3e} = 17$, que tiene un valor suficientemente elevado como para incluir una constante entre protones axiales y dos constantes entre protones axial-ecuatorial. De haber ocupado H-2 una disposición ecuatorial, el valor de la suma de constantes $J_{1,2} + J_{2,3a} + J_{2,3e}$ habría sido mucho menor, del orden de 6-9 Hz. Estos valores excluyen que el grupo 2-acetoxilo ocupe una posición axial. Esta asignación también es lógica desde el punto de vista químico, ya que la adición de hidrógeno debe hacerse por la cara opuesta a la que ocupa el grupo ciano que está estéricamente menos impedida. Además, esta aproximación conduce al compuesto hidrogenado en el que el grupo acetoxilo ocupa la posición ecuatorial que también es la estéricamente más favorable.

2.4 PREPARACION DE AZUCARES C-CIANO RAMIFICADOS

Como se ha mencionado en el apartado de antecedentes 2.1 anterior, los epóxidos de azúcares han sido empleados para la preparación de distintos derivados de azúcares ⁸⁰ entre los que se encuentran los azúcares C-ciano ramificados.

El mecanismo general aceptado para la apertura de epóxidos, que conduce a α -hidroxi-derivados, es el de una reacción S_N2 en uno de los átomos de carbono con inversión en este centro para dar lugar a un producto trans- α -hidroxi sustituido. La reacción puede transcurrir en condiciones neutras, básicas (vía 1) o ácidas (vía 2), según se indica en el Esquema 2.



Esquema 2

En ambos casos, pueden formarse dos productos, dependiendo de cual de los dos átomos de carbono del oxirano sea atacado por el nucleófilo. La proporción de los dos productos depende de la estructura del epóxido, el reactivo y las condiciones de reacción.

El estado de transición del paso de la sustitución requiere, para su máxima estabilidad, que el nucleófilo en su ataque sea coplanar con el anillo oxiránico, y en el caso de un epóxido de un anillo de piranosa con una conformación de semi-silla, ello origina una preponderancia del producto en la conformación de silla con una orientación trans diaxial de los dos grupos⁸¹. En esto se basa la regla de Furst-Plattner⁴³ que predice la apertura de epóxidos en anillos de seis miembros, ciclohexano, pirano, etc., para dar lugar a productos de configuración trans-diaxial.

A continuación se describe la preparación de oxiranos de azúcares y su posterior reacción con Me_3SiCN .

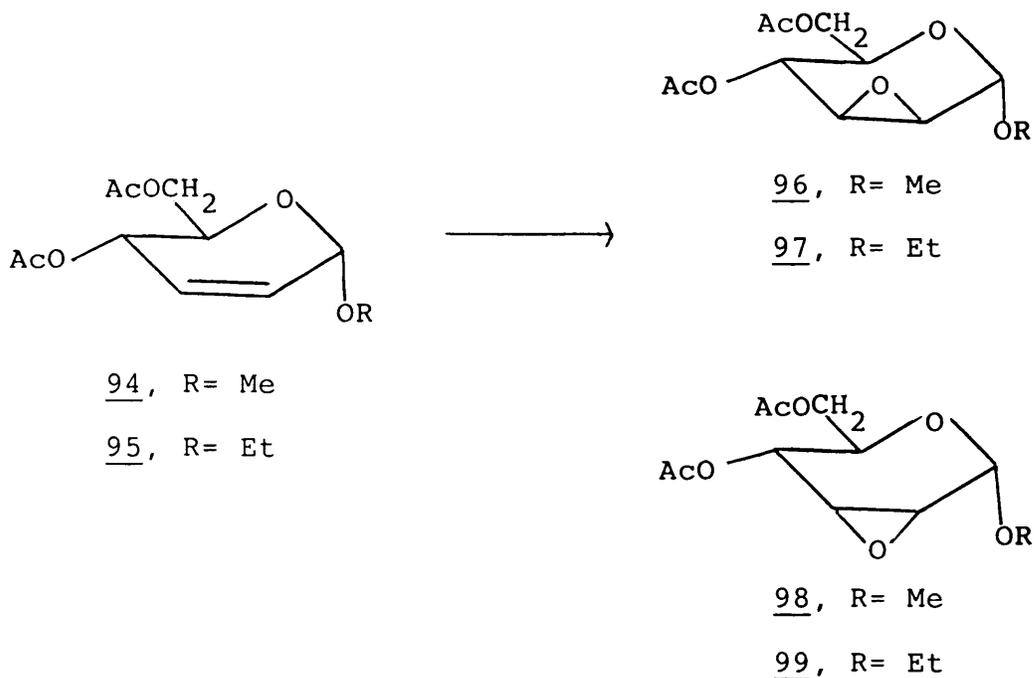
2.4.1 PREPARACION DE ETIL 4,6-DI-O-ACETIL-2,3-ANHIDRO- α -D-MANO- Y ALO-HEXOPIRANOSIDOS

Los compuestos mencionados se prepararon de acuerdo con el procedimiento de Payne⁸² que consiste en el tratamiento de un derivado olefínico con una mezcla equimolecular de peróxido de hidrógeno y benzonitrilo en medio ligeramente básico (pH= 8). Este método ha sido utilizado previamente en nuestro laboratorio para la preparación de epóxidos de azúcares a partir de hex-2-enopiranosil derivados⁸³. También ha sido empleado con éxito por Ferrier y col⁸⁴ para la preparación de varios metil 4,6-di-O-acetil-2,3-anhidro-hexopiranosidos. En el mismo trabajo⁸⁴, estos autores aluden a la preparación de los etil y t-butil 4,6-di-O-acetil-2,3-anhidro hexopiranosidos, pero no se da ni una sola característica o constante fisico-química (datos espectroscópicos de IR, ¹HRMN, punto de fusión, movilidad cromatográfica, poder rotatorio, etc.) que permita la

caracterización de dichos etil o t-butil 2,3 anhídrido piranósidos.

Por ello el primer paso fué la síntesis y la caracterización de los dos productos deseados, etil 4,6-di-O-acetil-2,3-anhídrido- α -D-mano- y -alo-hexopiranosidos 97 y 99.

El producto de partida conocido, etil 4,6-di-O-acetil- α -D-eritro-hex-2-enopiranosido⁸⁵ 95, reacciona con agua oxigenada y benzonitrilo en presencia de un medio ligeramente básico, proporcionado por bicarbonato sódico, para originar, después de reacetilación, los dos epóxidos mano y alo, 97 y 99, con rendimiento de 25 y 24% respectivamente.

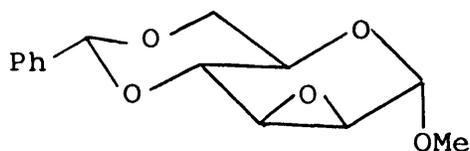


Estos dos epoxiderivados se aislan y caracterizan después de una laboriosa separación cromatográfica. La reacetilación de la mezcla de reacción es necesaria ya que en el medio ligeramente básico de la reacción de epoxidación se produce una

desacetilación parcial.

Las estructuras de los dos mano y alo oxiranos 97 y 99 se determinaron por métodos analíticos y espectroscópicos. En primer lugar, el análisis elemental indicó que las fórmulas empíricas de los productos obtenidos correspondían a la entrada de un átomo de oxígeno en las moléculas de los productos de partida.

La formación de los epóxidos se confirmó mediante el espectro de $^1\text{H-RMN}$ por la desaparición de los protones olefínicos H-2 y H-3 de 95, que aparecían como un multiplete centrado a δ 5,95 ppm y la aparición de los sistemas AB formados por los protones H-2 y H-3 del oxirano a δ 3,04 y δ 3,20 ppm para 97 y a δ 3,54 y δ 3,57 ppm para 99. De los dos protones, el que aparece a campo más bajo se asigna a H-3 y el de campo más alto a H-2, de acuerdo con experimentos de doble resonancia llevados a cabo⁸⁶ sobre el metil 4,6-O-bencilidén- α -D-mano-hexopiranosido 100.



100

Las conformaciones de las sillas se deducen de los valores de constantes de acoplamiento $J_{4,5} = 9,5$ Hz para 97 y $J_{4,5} = 9,8$ Hz para 99 que indican que en ambos casos existe una

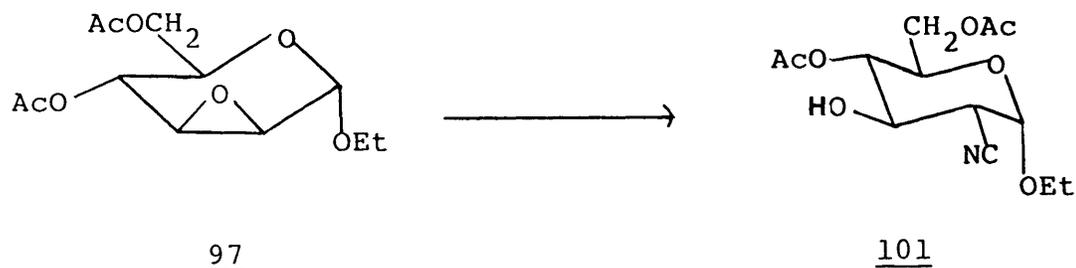
relación quasiaxial-axial entre estos dos protones, que es sólo compatible con una conformación ${}^{\circ}\text{H}_5$.

La configuración mano o alo de los dos epóxidos obtenidos se asigna en base a las constantes de acoplamiento $J_{1,2}$ y $J_{3,4}$. Dichos acoplamientos son nulos o muy próximos a cero, cuando los protones implicados están situados en trans, como sucede en el compuesto α -mano, y toman valores pequeños de 1,5 a 4,5 Hz cuando su relación es cis, como sucede en el epóxido α -alo^{84,86}. En efecto, las constantes de acoplamiento medidas para el compuesto α -D-mano, 97, $J_{1,2} = 0,5$ Hz y $J_{3,4} = 0,5$ Hz y para el compuesto α -D-alo 99, $J_{1,2} = 2,6$ Hz y $J_{3,4} = 1,5$ Hz coinciden con estos valores. Esta asignación se confirmó por comparación de las constantes de acoplamiento y desplazamientos químicos de 97 y 99 con los de los metil derivados análogos 96 y 98 conocidos⁸⁴.

2.4.2 REACCION DE ETIL 4,6-DI-O-ACETIL-2,3-ANHIDRO- α -D-MANO Y ALO-HEXOPIRANOSIDOS CON CIANURO DE TRIMETILSILILO

La reacción del mano epóxido 97 con Me_3SiCN en nitrometano anhidro y en presencia de trifluoruro de boro conduce a etil 4,6-di-O-acetil-2-C-ciano-2-desoxi- α -D-glucopiranosido 101 con rendimiento prácticamente cuantitativo.

La estructura de este 2-ciano derivado se demostró por su análisis elemental y mediante métodos espectroscópicos de ${}^1\text{H}$ -RMN. La apertura del epóxido se confirmó por la desaparición del sistema AB que forman los protones H-2 y H-3 del oxirano que aparecen a δ 3,04 y δ 3,20 ppm respectivamente.



La estereoquímica gluco-trans-2,3-diecuatorial del C-ciano derivado 101 contraria a la prevista por la regla de Furst-Plattner, se confirmó por su espectro de $^1\text{H-RMN}$. La señal de H-2, que apareció a δ 3,80 ppm, con $J_{1,2} = 5,4$ y $J_{2,3} = 7,6$ Hz, y la señal de H-3 que apareció a δ 4,37 ppm con valores de $J_{2,3} = J_{3,4} = 7,6$ Hz indicaron que H-2 y H-3 tenían una disposición trans-diaxial o lo que es lo mismo, que los dos sustituyentes en C-2 y C-3 ocupaban posiciones ecuatoriales. Esto, unido a que el valor de la constante de acoplamiento $J_{4,5} = 8,9$ Hz confirma que no ha habido inversión en la conformación de la silla, que sigue siendo $^4\text{C}_1$, y que la apertura de este anillo no cumple la regla de Furst-Plattner.

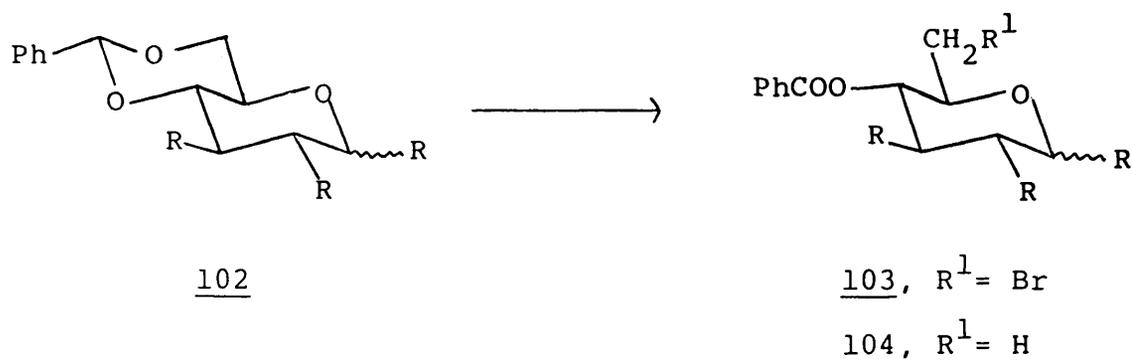
La regioselectividad del ataque del grupo ciano a la posición 2, que se demuestra por el desplazamiento químico a campo bajo de H-2, puede deberse a la participación del grupo 4-O-

acetilo vecino de forma análoga a como se ha descrito en casos análogos de apertura de epóxidos⁸⁷.

La reacción del 2,3-anhidro- α -D-alo-hexopiranosido 99 con cianuro de trimetilsililo en presencia de distintos ácidos de Lewis como catalizadores (BF_3 , SnCl_4 , AlCl_3) y en varios disolventes polares apróticos (acetonitrilo, nitrometano, N,N-dimetilformamida) condujo a mezclas complejas de productos que no se han podido identificar.

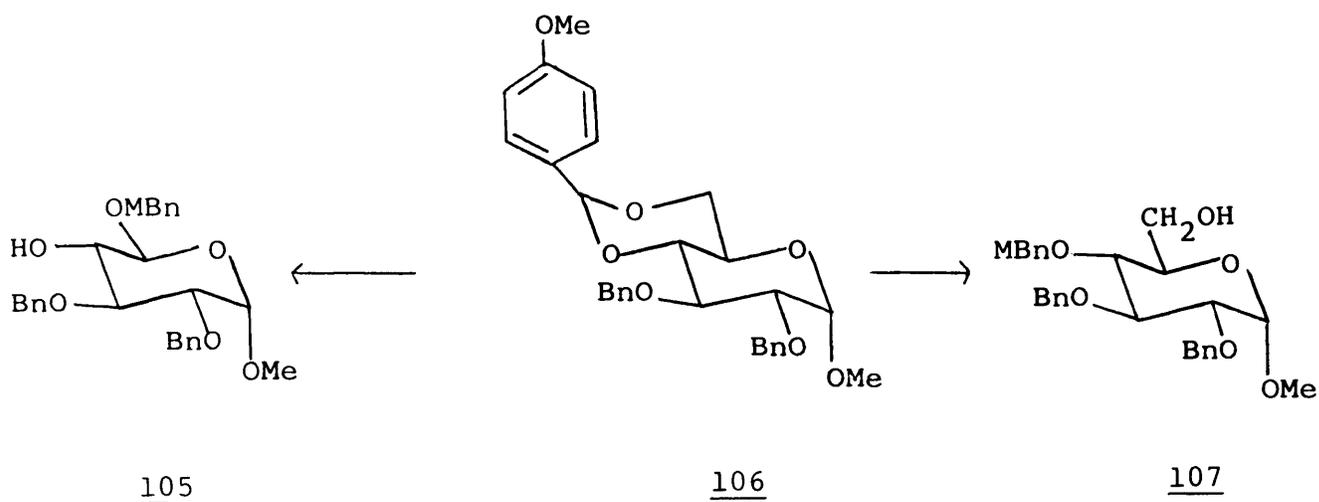
2.5 REACCION DE BENCILIDEN DERIVADOS DE HEXOPIRANOSAS CON CIANURO DE TRIMETILSILILO

Existen varios reactivos para la apertura regioselectiva de los anillos 1,3-dioxano y 1,3-dioxolano que forman los grupos protectores bencilidén en los hidratos de carbono. La reacción de Hanessian⁸⁸ supone la reacción de un 4,6-O-bencilidén-hexopiranosido 102 con N-bromosuccinimida en un hidrocarburo clorado para dar 4-O-benzoil-6-bromo-6-desoxihexopiranosidos 103. Una apertura relacionada de grupos protectores m,n-O-bencilidén para



dar m-O-benzoil-n-desoxi derivados de dicho azúcar, tal como 104, implica la reacción del bencilidén derivado con peróxido de di-terc-butilo. La reacción se ha llevado a cabo para abrir anillos de 1,3-dioxano y 1,3-dioxolano de grupos protectores bencilidén en distintas posiciones de hexosas y pentosas⁸⁹. Otros tipos de reactivos permiten la apertura regioselectiva en las dos direcciones posibles

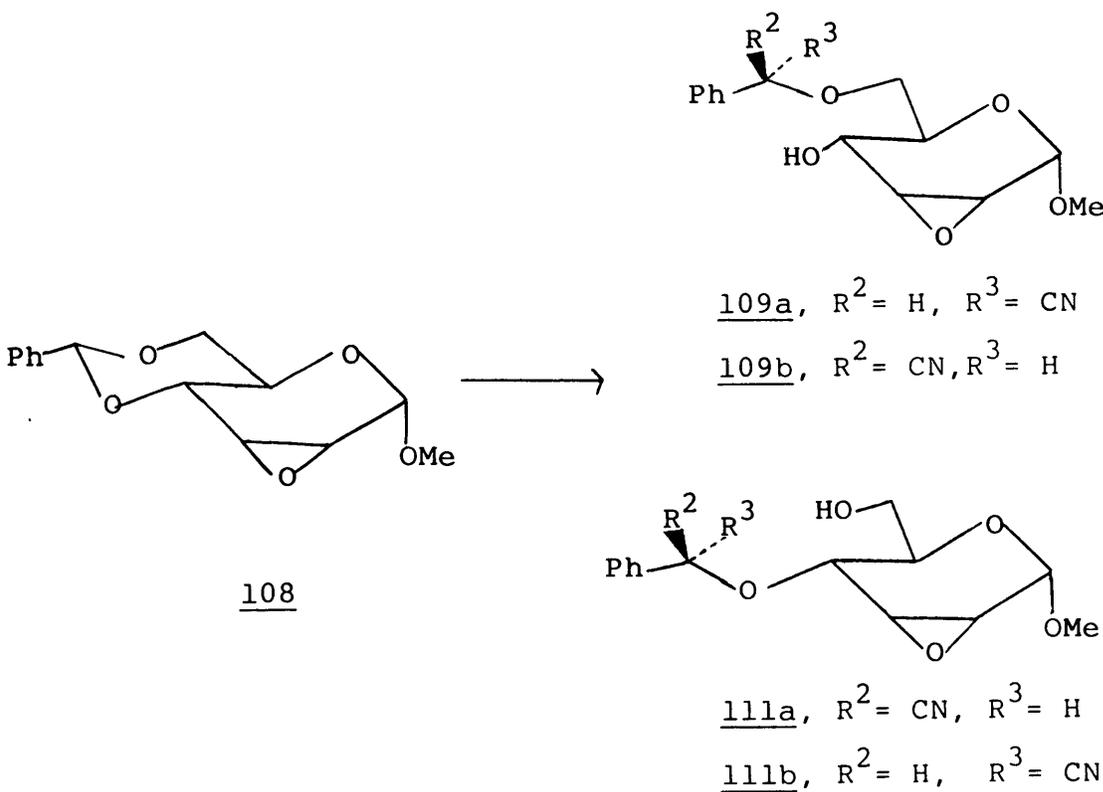
transformando el grupo protector m,n-O-bencilidén en un m- o n-éter. Por ejemplo, la reducción del 4,6-O-(4-metoxibencilidén) derivado 106 con cianoborohidruro sódico-ácido trifluoroacético en N,N-dimetilformamida da el 6-O-(4-metoxibencil)éter 105, mientras que la reducción con cianoborohidruro sódico-trimeticlorosilano en acetonitrilo da el 4-O-(4-metoxibencil)éter 107⁹⁰.



Otros reactivos, tal como el cianuro de trimetilsililo permiten la síntesis asimétrica de algunos tipos de compuestos con átomos de carbono quirales por apertura de acetales quirales^{91,92}. De acuerdo con esto parece lógico el empleo de acetales quirales tan accesibles como los bencilidénacetales de azúcares con el fin de estudiar su potencialidad para la síntesis asimétrica.

2.5.1 REACCION DE METIL 4,6-O-BENCILIDEN- 2,3-ANHIDRO- α -D-ALO-HEXO-PIRANOSIDO Y 2,3-DI-O-TOSIL- α -D-GLUCOPIRANOSIDO CON CIANURO DE TRIMETILSILILO

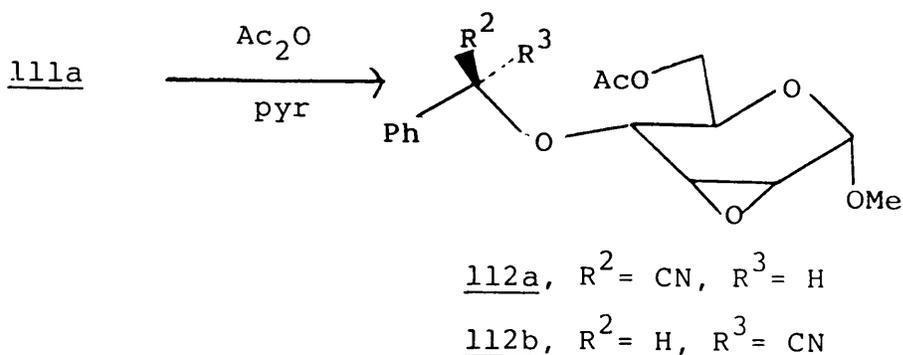
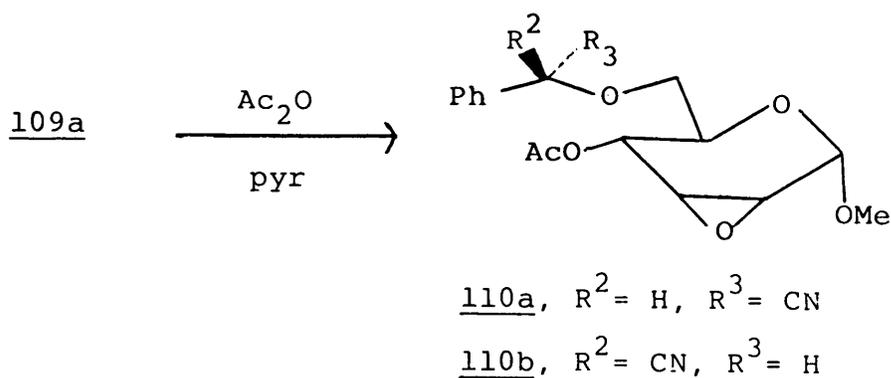
La reacción del metil 4,6-O-bencilidén-2,3-anhidro- α -D-alo-hexopiranosido 108 con Me_3SiCN a temperatura ambiente usando BF_3 como catalizador, da lugar, con un rendimiento global del 72%, a una mezcla (2:1) de los 6-O- y 4-O-(cianofenilmetil) regioisómeros 109a y 111a que se forman por apertura del anillo de 1,3-dioxano^{93,94}, que forma el grupo protector 4,6-O-bencilidén.



La regioselectividad de esta reacción aumentó al disminuir la temperatura. Así por ejemplo, a -45° se obtuvo un 81% de una mezcla 109a + 111a en proporción (15:2) y a -75° se obtuvo un 83% de dicha mezcla en proporción (15:1).

La utilización de un exceso de Me_3SiCN , no produjo la apertura del anillo oxiránico como se confirmó por $^1\text{H-RMN}$.

Los compuestos 109a y 111a presentaban en la zona a δ 3,49-3,56 ppm las señales correspondientes a los protones H-2 y H-3 lo que demuestra que el anillo oxiránico permanece intacto. La asignación de las estructuras de los regioisómeros 109a y 111a se llevó a cabo por acetilación con anhídrido acético/piridina, que condujo a los derivados 6-O-acetilados 112 y 4-O-acetilados 110.



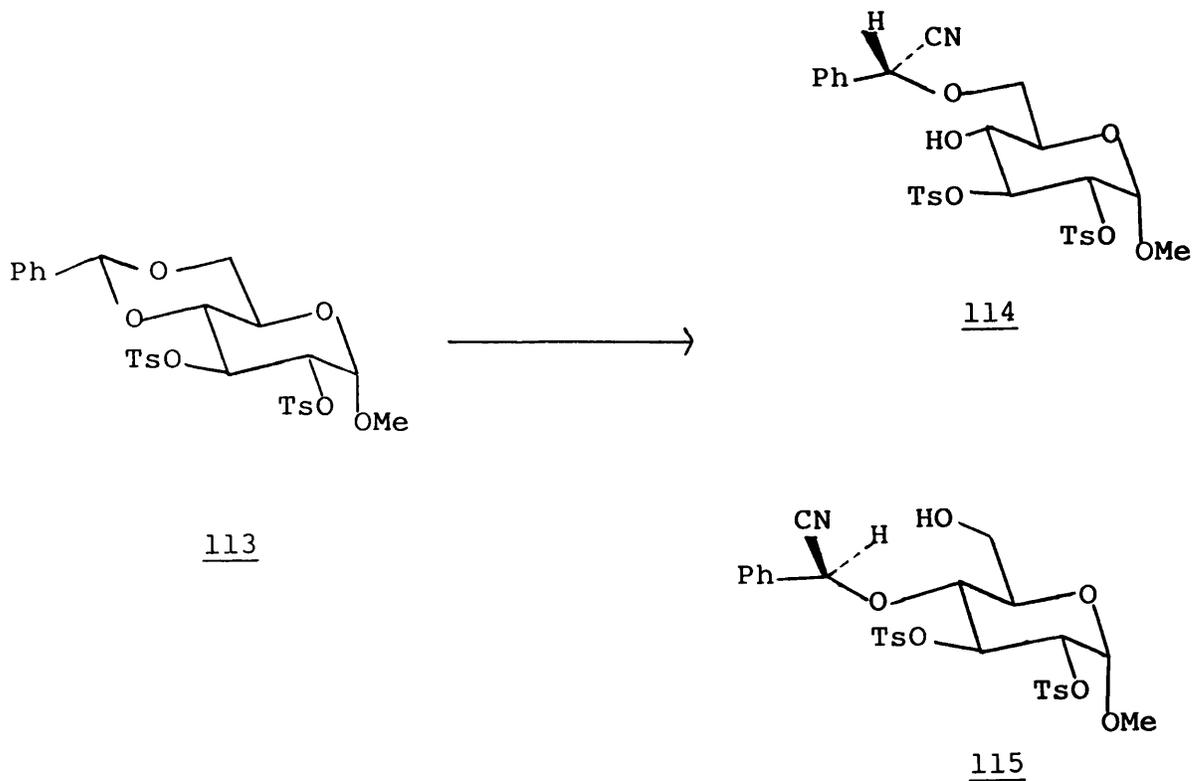
En el espectro de $^1\text{H-RMN}$, el protón H-4 de 110 y los dos protones H-6 de 112 aparecen a más de 1 ppm y 0,5 ppm respectivamente a campo más bajo que estos mismos protones en los compuestos respectivos no acetilados 109a y 111a. Estos datos demostraron qué posiciones de 109a y 111a fueron acetiladas y por

tanto en qué posiciones estaba el grupo OH libre y el éter de mandelonitrilo.

Las condiciones básicas de la acetilación de 109a y 111a, junto con la acidez del protón unido al carbono asimétrico de mandelonitrilo en α respecto al grupo ciano y al fenilo, produjeron la racemización de este átomo de carbono, lo que dió lugar a la formación de los diastereoisómeros 110a, 110b a partir de 109a y 112a, 112b a partir de 111a

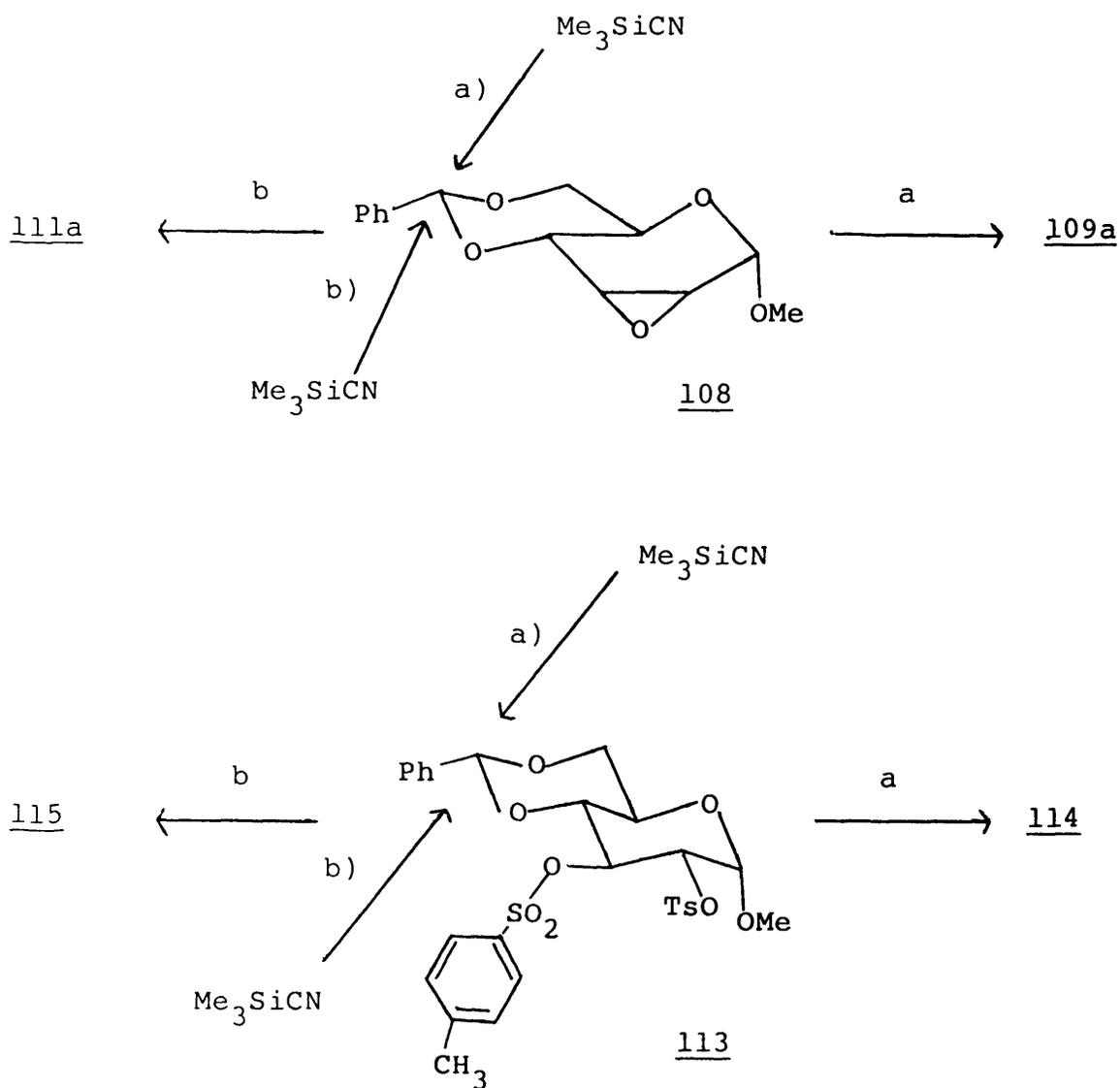
Las estructuras de 110 y 112 se dilucidaron en base a sus datos de $^1\text{H-RMN}$. Los espectros de $^1\text{H-RMN}$ de 110 y de 112 presentaron cada uno dos grupos de señales próximas, de igual intensidad, desplazamientos químicos similares y practicamente idénticas constantes de acoplamiento, que indicaron que no se había producido epimerización ni anomerización en el esqueleto de 2,3-anhidro- α -D-alopiranososa. Por lo tanto, la isomerización sólo podía producirse en el resto de mandelonitrilo. El tratamiento de 109a bajo condiciones básicas similares a las usadas para la acetilación, excepto que no se añadió anhídrido acético, dió lugar también a una mezcla de diastereoisómeros 109a y 109b. El espectro de $^1\text{H-RMN}$ de esta mezcla mostró dos grupos de señales muy próximas, también de igual intensidad, desplazamientos químicos similares y practicamente idénticas constantes de acoplamiento. Además, la rotación óptica e la mezcla también era distinta de la de 109a. Todo esto, demuestra que 109a era un compuesto diastereoisomericamente puro obtenido por adición altamente estereoselectiva de CNH al centro quiral el azúcar de partida.

De forma análoga el metil 4,6-O-bencilidén-2,3-di-O-tosil- α -D-glucopiranosido 113 reaccionó con Me_3SiCN a -50° en nitrometano y usando BF_3 como catalizador para dar metil 4,6-O-[(R)-cianofenilmetil] 2,3-di-O-tosil- α -D-glucopiranosido 114 como único producto con un 80% de rendimiento.



Como ocurría con 108, al aumentar la temperatura de reacción disminuyó la regioselectividad. Cuando 113 reaccionó con Me_3SiCN a temperatura ambiente, dió lugar a un 78% de una mezcla (2:1) de 114 y su regioisómero 115, por ataque del grupo ciano al resto acetálico y no a los átomos de carbono C-2 y C-3 ambos sustituidos con buenos grupos salientes.

La configuración absoluta de los nuevos centros quirales creados en 109a, 111a, 114 y 115 se asignó en base al mecanismo propuesto para estas reacciones que es del tipo S_N2 ⁹⁴. Cuando la aproximación del reactivo tiene lugar por la cara posterior menos impedida de la molécula, se produce ruptura del enlace 4-O—CH—C₆H₅ de 108 y 113 como se ve en el esquema 3, dando lugar a los productos 109a y 114 con una configuración absoluta R en el carbono quiral del resto de mandelonitrilo.



Esquema 3

Cuando el ataque transcurre por la cara anterior, más impedida, se produce ruptura del enlace $6-O-CH-C_6H_5$ como se observa en dicho esquema 3 para dar lugar a los productos minoritarios 111a y 115 con una configuración absoluta S en el mismo átomo de carbono.

El hecho de que la regioselectividad que se obtiene con 113, que posee un sustituyente voluminoso (OTs) en C-3 sea mayor que la obtenida para 108 confirma esta hipótesis.

El estudio de las reacciones anteriores de cianuro de trimetilsililo con bencilidén derivados de hexopiranosas y con otros derivados de azúcares portadores de átomos de carbono electrófilos, ha permitido llegar a las siguientes conclusiones:

1º) El Me_3SiCN es un buen reactivo para la preparación de cianuros de glicosilo y C-ciano azúcares ramificados, sin embargo, su empleo con este fin puede tener limitaciones cuando el azúcar de partida tiene determinados grupos protectores tales como bencilidén acetales.

2º) El Me_3SiCN permite la apertura regioselectiva de anillos de 1,3 dioxano de los grupos protectores 4,6-O-bencilidén de hexopiranósidos para dar 6-O-[(R)-cianofenilmetil]hexopiranósidos.

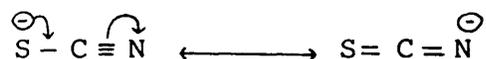
3º) El Me_3SiCN reacciona estereoespecíficamente con el átomo de carbono acetálico del grupo 4,6-O-bencilidén para dar con muy elevada o total pureza enantiomérica éteres de (R)-mandelonitrilo. Debido a que el Me_3SiCN , la trimetilsilil azida⁹⁵ y posiblemente otros aniones de trimetilsililo reaccionan fácilmente con acetales, los bencilidén derivados de hexopiranósidos y especialmente

aquellos que tienen sustituyentes voluminosos en posición 3 son compuestos de partida adecuados, quirales y de fácil acceso para la preparación enantioselectiva de derivados de fenilcarbinol sustituido.

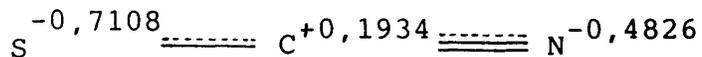
3. PREPARACION DE ISOTIOCIANATOS DE GLICOSILO

Los isotiocianatos de azúcares son importantes intermedios sintéticos que se han usado como precursores para la preparación de diferentes derivados de azúcares tales como glicosiltio-ureas⁹⁶, glicosilaminoácidos⁹⁷ y nucleósidos^{98,99,100}. Además, existen varios glicosilisotiocianatos que por sí mismos actúan como inhibidores específicos de enzimas^{101,102}. En el presente apartado se describe un nuevo método barato y sencillo para la síntesis de isotiocianatos de glicosilo. Algunos de estos compuestos se han utilizado como intermedios sintéticos para la preparación de análogos de UDP-hexosas como se verá en el apartado 5.2.2

El anión tiocianato es un nucleófilo bidentado¹⁰³ como consecuencia del equilibrio existente entre sus dos formas resonantes: tiocianato \longleftrightarrow isotiocianato



Este equilibrio da lugar a un híbrido de resonancia 116 que posee la siguiente distribución de carga negativa¹⁰⁴.



116

Por tanto, cuando se llevó a cabo una reacción de sustitución nucleófila entre un compuesto orgánico con un grupo saliente y un anión tiocianato, se pueden formar tiocianatos, isotiocianatos o mezclas de ambos.

La naturaleza del producto obtenido puede justificarse en base al principio de Ácidos y Bases duros y blandos ¹⁰⁵. Cuando se lleva a cabo una reacción entre un haloazúcar y un tiocianato metálico en condiciones que favorecen una reacción S_N2 , el tiocianato actúa como base con un extremo blando, el S, que es el átomo más polarizable y menos electronegativo y un extremo duro, que es el átomo de N. El haluro orgánico actúa como ácido y su grado de dureza aumenta al aumentar el carácter electrófilo del carbono unido a halógeno, según el orden: primario < secundario < terciario. Por lo tanto, los haluros primarios reaccionan preferentemente con el átomo de S dando fundamentalmente tiocianatos, mientras que haluros secundarios y más aún los terciarios dan productos con mayor proporción de isotiocianatos

Cuando las condiciones de reacción favorecen una S_N1 , la mayor dureza del carbocatión hace que aumente la proporción relativa de isotiocianato.

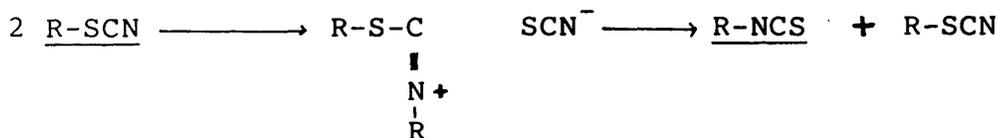
La nucleofilia relativa de los dos extremos terminales de 116 puede depender también de la temperatura y el disolvente usados. De hecho, la formación del isotiocianato se favorece al incrementar la temperatura ¹⁰⁶ de la reacción y la polaridad del disolvente ¹⁰⁷.

El isotiocianato, que es el compuesto termodinámicamente más estable puede formarse también a partir del tiocianato por una reacción de isomerización.

El mecanismo de esta isomerización depende de la estructura del compuesto ¹⁰⁸⁻¹¹⁰.

Así por ejemplo, Smith y Emerson ¹¹¹ postularon para tiocianatos primarios y secundarios un mecanismo bimolecular de

de isomerización :



Este mecanismo requiere medios polares y que el átomo de carbono sea estéricamente accesible. La presencia de sales metálicas tales como CdI_2 ^{112,113} o ZnCl_2 ^{114,115} y de ácidos fuertes^{116,117} tiene efectos catalíticos sobre la isomerización. Este hecho podría explicarse por la formación de complejos o alguna otra forma de asociación por parte de dichas sales.

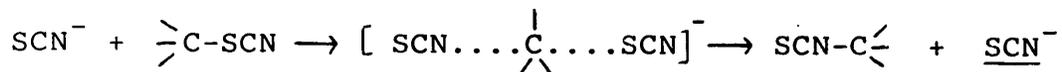
Para aquellos tiocianatos que son capaces de formar iones estables se ha propuesto^{111,118,119}, un mecanismo de isomerización unimolecular:



En este caso la isomerización también se acelera usando medios polares y catalizadores tales como ZnCl_2 . Así mismo se acelera con la introducción en la molécula orgánica de sustituyentes dadores de electrones que estabilizan la carga positiva del carbocatión formado.

Aquellos tiocianatos que no tienen tendencia a ionizar se pueden isomerizar al isotiocianato correspondiente, gracias al efecto catalítico de tiocianatos alcalinos en el medio de reacción¹⁰⁶. El tiocianato iónico ataca al orgánico, formándose un intermedio ambidentado que seguidamente conducirá al isotiocianato

correspondiente.



El método más general y más utilizado para la síntesis de isotiocianatos de glicosilo consiste en la reacción de un haluro de alquilo con isotiocianato de plata ^{120,121}.

Este método ya fué utilizado en 1914 por Emil Fisher quien hizo reaccionar bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo con isotiocianato de plata en xileno seco para dar el isotiocianato de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo



Otros métodos consisten en hacer reaccionar glicosilaminas con tiofosgeno ¹⁰¹ o glicales con derivados de tiocianato e isotiocianatos ^{122,123}. Estos dos últimos métodos son menos utilizados, ya que producen bajos rendimientos, son más largos y de mayor complejidad experimental, aunque permiten la obtención de productos difícilmente accesibles por el método del isotiocianato

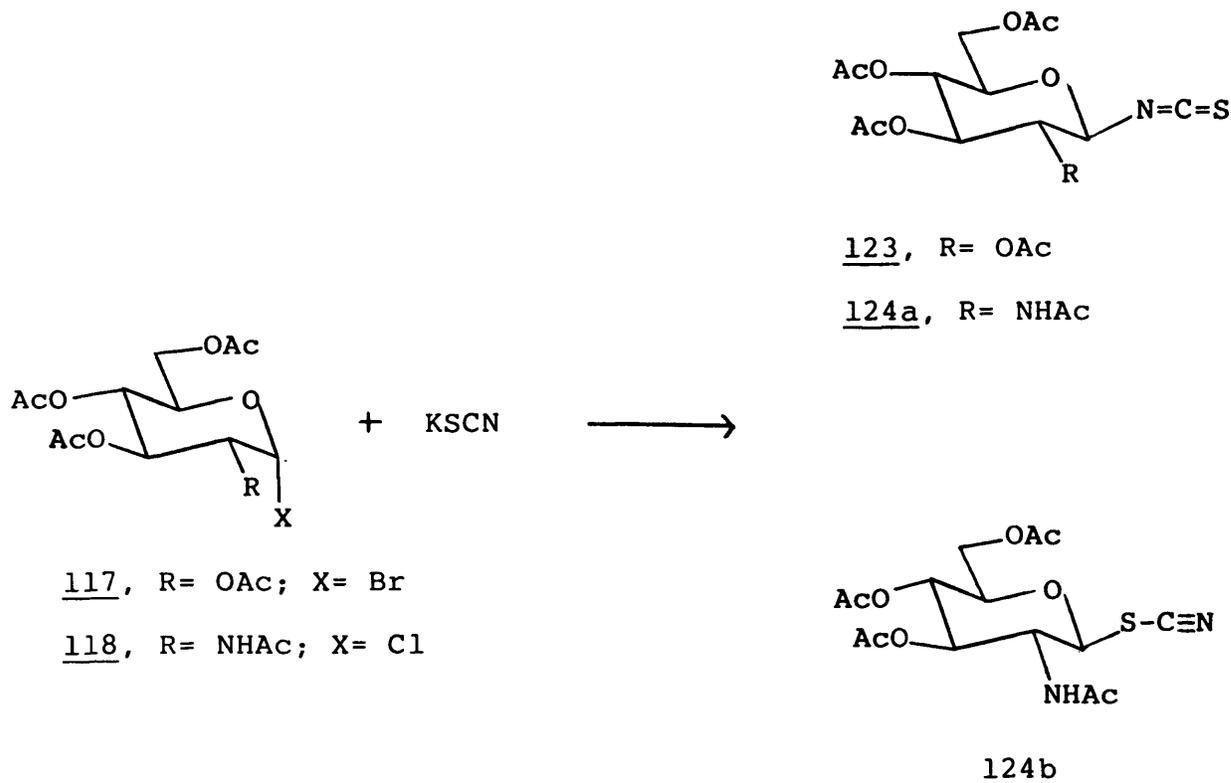
de plata.

Cuando en lugar de llevar a cabo la reacción de un haluro de glicosilo con isotiocianato de plata se le hace reaccionar con un tiocianato alcalino, en vez de formarse el isotiocianato de glicosilo se forma el tiocianato de glicosilo isómero ¹²⁴₋₁₂₆. Teniendo en cuenta la información bibliográfica anterior sobre la preparación de tiocianatos e isotiocianatos orgánicos y más concretamente de glicosilo, se ha desarrollado un nuevo procedimiento barato y experimentalmente muy simple para la síntesis de isotiocianatos de azúcares que consiste en hacer reaccionar un haluro de azúcar con tiocianato potásico en un disolvente polar aprótico (acetonitrilo, cloruro de metileno) y en presencia de una sal de amonio cuaternaria como catalizador.

La ventaja de este procedimiento está en la utilización de isotiocianato potásico que es un reactivo comercial, mucho más barato que el isotiocianato de plata.

Primero se llevó a cabo la síntesis de los isotiocianatos conocidos, 123¹²⁵ y 124a¹²⁶ por reacción de bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo 117 y el cloruro de 2-acetamido-2-deoxi-3,4,6-tri-O-acetil- α -D-glucopiranosilo 118 con tiocianato potásico en acetonitrilo y en presencia de bisulfato de tetrabutilamonio. De las dos reacciones se aislaron los isotiocianatos de glicosilo correspondientes, 123 y 124a que se identificaron fácilmente por la presencia en los espectros de IR de una banda muy intensa a $2100-2110\text{ cm}^{-1}$ característica del resto isotiocianato y por comparación de sus constantes físicas con las descritas^{127,128}. En el caso de la reacción del cloruro de 2-acetamido- α -D-glucopiranosilo 118, además del isotiocianato

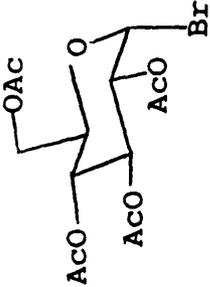
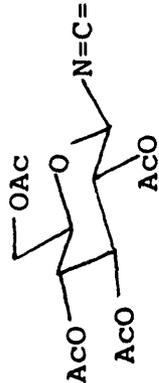
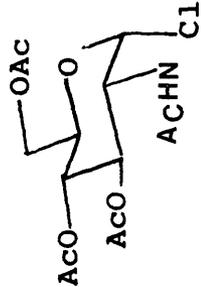
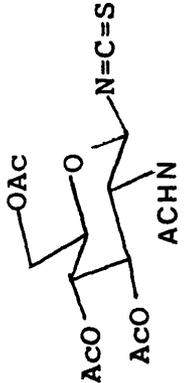
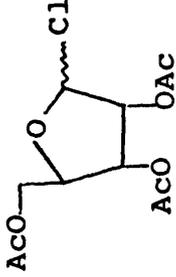
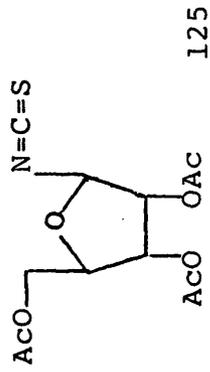
124a también se detectó la presencia de una pequeña cantidad del tiocianato isómero 124b. La estructura de dicho isómero se asignó en base al espectro IR que presentaba una banda de intensidad media a 2285 cm^{-1} que se atribuyó al grupo SCN.



A continuación y en vista de los buenos rendimientos, alrededor del 80%, con que se obtenían estos dos isotiocianatos se procedió a la generalización del método abordando la síntesis de otros isotiocianatos no descritos en la literatura. De esta forma, se han preparado los compuestos que se indican en la tabla A.

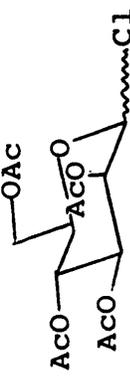
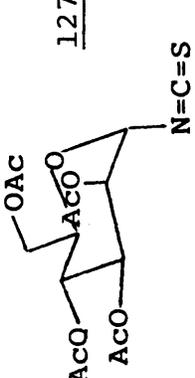
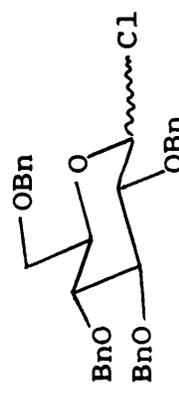
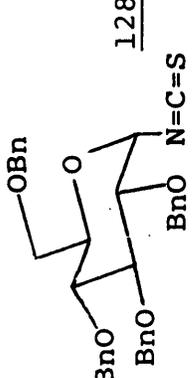
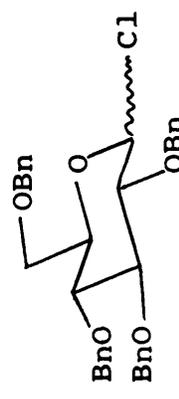
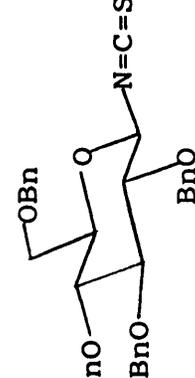
La síntesis de todos los productos reflejados en la Tabla A se llevó a cabo siguiendo el mismo procedimiento general:

TABLA A

<u>Producto de partida</u>	<u>Catalizador</u>	<u>Tiempo</u> <u>t (h)</u>	<u>Rto^a</u> (%)	<u>Isotiocianato</u>
 <p><u>117</u></p>	$(C_4H_9)_4N^+HSO_4^-$	3	71(80)	 <p><u>123</u></p>
 <p><u>118</u></p>	$(C_4H_9)_4N^+HSO_4^-$	3	66(80)	 <p><u>124</u></p>
 <p><u>119</u></p>	$(C_4H_9)_4N^+HSO_4^-$	1	55(80)	 <p><u>125</u></p>

a) Rendimiento del producto aislado puro; los valores entre paréntesis representan los rendimientos de los productos antes de su purificación. La diferencia entre ambos tipos de rendimientos son debidos a la alta reactividad/inestabilidad del grupo isocianato.

TABLA A (continuación)

<u>Producto de partida</u>	<u>Catalizador</u>	<u>Tiempo</u> <u>r (h)</u>	<u>Rto^a</u> (%)	<u>Isotiocianato</u>
 <p style="text-align: center;"><u>120</u></p>	$(C_4H_9)_4N^+HSO_4^-$	4	62 (70)	 <p style="text-align: center;"><u>126</u></p>
 <p style="text-align: center;"><u>121</u></p>	$(C_4H_9)_4N^+I^-$	2	72 (90)	 <p style="text-align: center;"><u>127</u></p>
 <p style="text-align: center;"><u>122</u></p>	$(C_4H_9)_4N^+HSO_4^-$	2	62 (75)	 <p style="text-align: center;"><u>128a</u></p>
	$(C_4H_9)_4N^+Br^-$	2	73 (80)	
 <p style="text-align: center;"><u>122</u></p>	$(C_4H_9)_4N^+HSO_4^-$	2	22 (25)	 <p style="text-align: center;"><u>128b</u></p>
	$(C_4H_9)_4N^+Br^-$	2	12 (20)	

se disolvió el derivado halogenado del azúcar en acetonitrilo o cloruro de metileno anhidro, a la disolución se le añadió tamiz molecular para retirar los posibles restos de humedad existentes en el medio. La disolución se agitó a reflujo durante dos horas aproximadamente, a continuación se añadió el derivado halogenado de azúcar y se continuó agitando la reacción a reflujo durante un tiempo que osciló desde una hora para el compuesto 125 hasta cuatro horas para el compuesto 126.

En cuanto al catalizador utilizado generalmente fué el bisulfato de tetrabutilamonio excepto en la síntesis de 127 en la que se usó el yoduro de tetrabutilamonio.

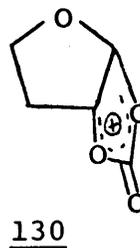
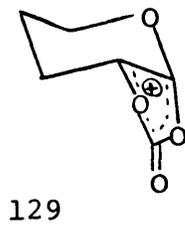
Como derivados halogenados se utilizaron cloruros y bromuros de glicosilo, así por ejemplo: los 2,3,5-tetra-O-acetil- β -D-ribofuranosil isotiocianato 125, 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosil isotiocianato 127 y 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α - y - β -D-glucopiranosil isotiocianatos 128a y 128b fueron sintetizados a partir de los correspondientes cloruros. El 2,3,4-tri-O-benzoyl- β -D-arabinopiranosil isotiocianato 126 se sintetizó a partir del correspondiente bromuro.

Aunque estas reacciones se han llevado a cabo en presencia de un catalizador de transferencia de fase, que es necesario para la obtención de los isotiocianatos de glicosilo, no deben considerarse reacciones de transferencia de fase ya que solo transcurren en fase homogénea. El efecto de la sal de amonio cuaternaria debe atribuirse a una serie de efectos polares, uno de los cuales puede ser la unión preferente del ión amonio cuaternario al extremo blando del anión tiocianato ambidente, es decir al S^- , dejando menos impedido al extremo duro N^- , que así puede reaccionar

más fácilmente con el átomo de carbono C-1 unido al haluro para dar el isotiocianato. Otro de los efectos de la sal de amonio cuaternaria puede ser el aumento de la polaridad del medio, que como se ha dicho anteriormente, favorece la formación de los isotiocianatos sobre la de los tiocianatos, bien ya por síntesis directa, bien, por isomerización a partir del tiocianato obtenido inicialmente.

El hecho de que en el caso de la reacción del cloruro de 2-acetamido-2-desoxi- α -D-glucopiranosilo se detecte la formación del tiocianato 124b además de la del isotiocianato 124a, indica que al menos en este caso, la sal de amonio puede haber facilitado la isomerización.

Con respecto al curso estereoquímico de la reacción se ha observado que la presencia de grupos acilo en posición 2 del haluro de glicosilo de partida, determina la formación de isotiocianatos con una configuración 1,2-trans. Esto se pudo comprobar en los casos de los isotiocianatos, 123, 124, 125, 126 y 127 cuya configuración anomérica se pudo determinar de forma inequívoca. La formación de este tipo de productos se debe muy probablemente a la formación de iones aciloxonio del tipo 129 y 130

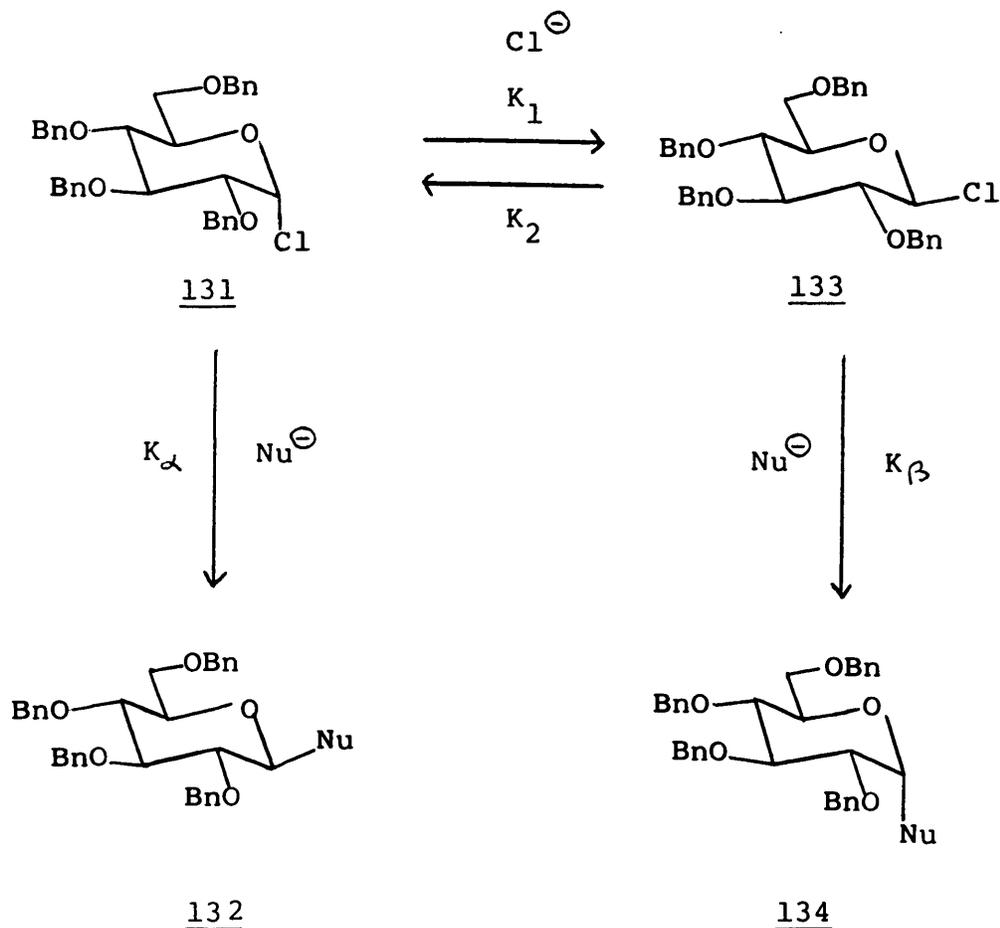


que fuerzan la entrada del ion isotiocianato por la cara opuesta a la que ocupa el sustituyente en 2. Esta hipótesis se apoya en numerosos precedentes^{27-29 y 44} que demuestran la existencia de este tipo de iones aciloxonio (por ejemplo, la obtención de los cianoalquilidén derivados mencionados en el apartado 2.1). También apoya esta hipótesis el hecho de que el cloruro de 2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucopiranosilo, que tiene grupos bencilo no participantes, cuando reacciona con tiocianato potásico en presencia de una sal de amonio cuaternaria, da una mezcla de glucosil isotiocianatos anómeros α y β 128a y 128b.

En este caso y debido al efecto catalítico del ión haluro¹²⁹ es posible modificar la proporción final de isotiocianatos anómeros. Así, cuando la reacción se lleva a cabo usando bisulfato de tetrabutilamonio como catalizador, se obtiene una proporción de anómeros $\alpha:\beta$ de (3:1) respectivamente. Cuando dicha sal de amonio es bromuro de tetrabutilamonio la proporción de anómeros $\alpha:\beta$ es (6:1). Este aumento en la proporción del anómero α , es muy deseable en nuestro caso, ya que estos glicosil isotiocianatos se emplearon para la preparación de análogos de UDP-glucosas en los que el resto de glucosa debe tener configuración anomérica α .

La alta estereoselectividad de esta última reacción en la que el anómero α se obtiene en mayor proporción es debida a los efectos catalíticos del ión haluro de la sal de amonio cuaternaria. La concentración del ión haluro debe mantenerse a un nivel adecuado para que la anomerización del 1,2-cis haloazúcar de partida 131 al 1,2-trans-haloazúcar 133, sea más rápida que su

glicosilación, que conduciría al β -glicósido 132.



El haloazúcar 133 de estructura 1,2-trans y configuración anomérica β en el que el halógeno está en posición ecuatorial es más reactivo que el haloazúcar 131 de configuración anomérica α en el que el halógeno ocupa una posición axial. Por todo esto el haloazúcar 133 reaccionará más rápidamente con el nucleófilo presente en el medio (en este caso anión tiocianato) para dar el correspondiente 1,2-cis glicósido 134. Indudablemente, en esta reacción siempre se formará algo del β glicósido aunque en mucho menor proporción que su anómero α .

Las estructuras de los compuestos reflejados en la Tabla A se determinaron en base a sus datos analíticos y espectroscópicos. Así, todos ellos presentaban en el IR una banda muy fuerte, característica del agrupamiento NCS que aparece entre 2040 y 2110 cm^{-1} que es claramente diferente de la banda de intensidad media que aparece a 2285 cm^{-1} característica del agrupamiento tiocianato y que solo se apreció en un caso, el ya mencionado de 2-acetamido-2-desoxi-3,4,6-tri-O-acetil- β -D-glucopiranosil tiocianato 124b. El análisis elemental de estos productos confirmó la incorporación del agrupamiento -NCS a todas estas moléculas.

La configuración anomérica de los glucopiranosidos 123 y 124a en los que el H-2 se encuentra en disposición axial, pudo determinarse fácilmente a partir de la constante de acoplamiento $J_{1,2} \approx 8,5$ Hz, característica de un acoplamiento entre protones axiales y por tanto de una configuración anomérica β . En el caso del derivado de glucopiranosilo 128a, el valor de la constante de acoplamiento $J_{1,2} = 3,6$ Hz indicó inequívocamente una configuración anomérica α . El valor de $J_{1,2}$ para su anómero 128b no pudo determinarse, por aparecer la señal correspondiente al H-1 englobada en un multiplete entre δ 4,47-5,00 ppm. Sin embargo, el hecho de que H-1 en 128a apareciese a δ 5,45 ppm, es decir a campo más bajo que el multiplete dentro del que se encuentra el H-1 de 128b, junto con los valores de los poderes rotatorios, más positivo ($+73^\circ$) para 128a que para 128b ($+12^\circ$) condujo a la asignación de una configuración anomérica α para 128a y β para 128b. En los casos de los derivados de ribofuranosos 125, arabinopiranosos 126 y manopiranosos 127 no pudo determinarse la configuración anomérica

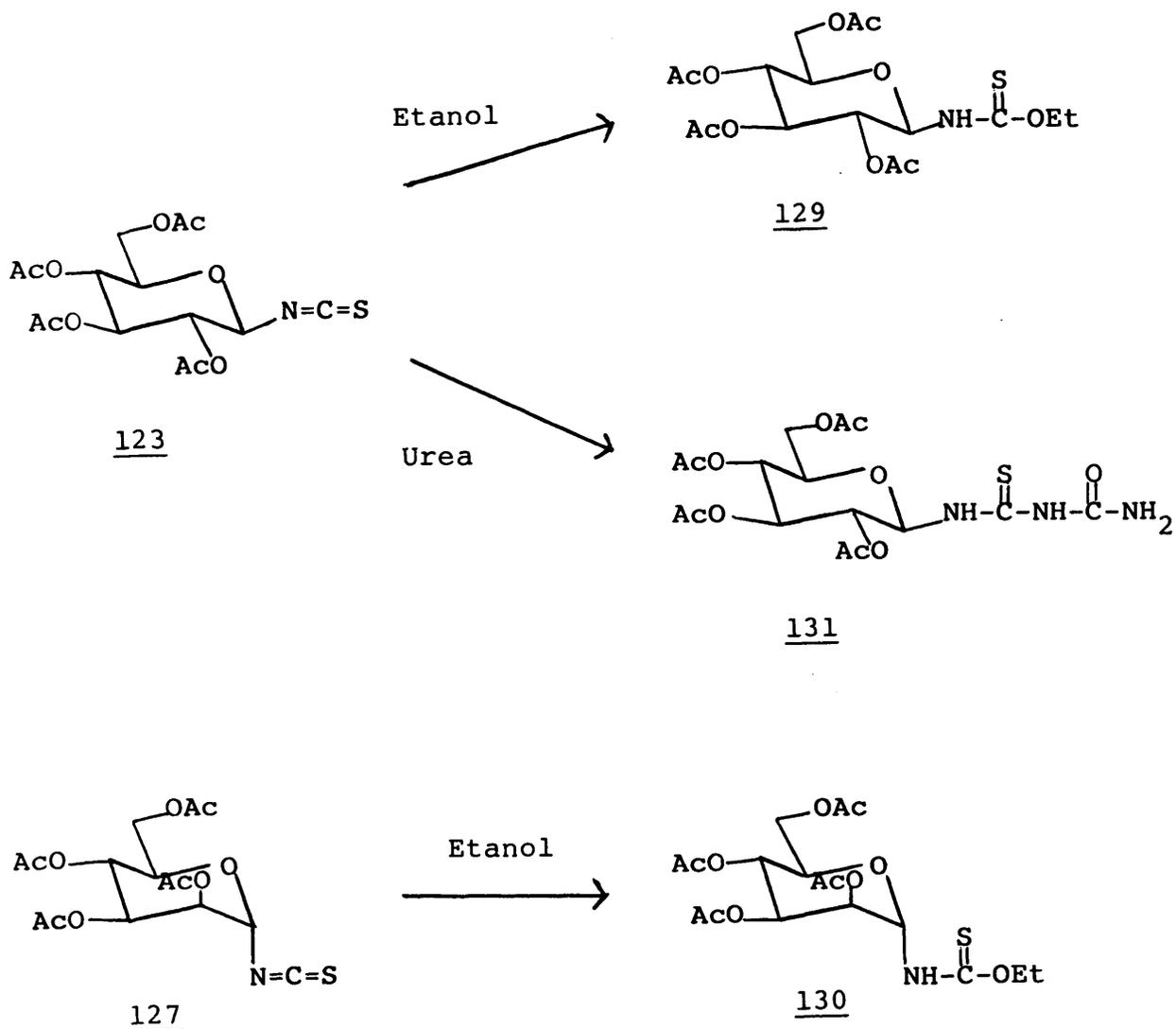
mediante la constante $J_{1,2}$ debido a la proximidad de los valores que eran de esperar para dicha constante en los dos posibles anómeros. Sin embargo, basándonos en la presencia de grupos acilo en posición 2 en los tres compuestos y su demostrada participación en la reacción para dar compuestos de estereoquímica 1,2-trans se asignó una configuración anomérica β para 125 y α para 126 y 127.

3.1 REACCION DE ISOTIOCIANATOS DE GLICOSILO CON NUCLEOFILOS

Los isotiocianatos preparados en el apartado 3 anterior, que iban a emplearse como sintones en la obtención de análogos de nucleosidodifosfatoglucosa, se hicieron reaccionar con algunos nucleófilos con el fin de evaluar su reactividad. Además, la preparación de los derivados de isotiocianato de glicosilo sirvió para confirmar por vía química su estructura.

La reacción del isotiocianato de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo 123 con etanol y urea dió el tiocarbamato 129 y el ureidoderivado 131.

Analógamente, la reacción del isotiocianato de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosilo 127 con etanol a reflujo dió el tiocarbamato 130



La estructura de los compuestos 129, 130, 131 se determinó en base a sus datos analíticos y espectroscópicos. La adición de una molécula de etanol a los grupos isotiocianato de 129 y 130 se demostró por la aparición en los espectros de $^1\text{H-RMN}$ de un triplete a $\delta \approx 1,30$ ppm y un cuadruplete a $\delta \approx 4,40$ ppm correspondiente a los grupos metilo y metileno del resto etilo. También se observó la aparición de una señal que intercambiaba con agua deuterada que se asignó al NH unido al carbono anomérico. Esta señal, para el producto 129 aparecía a δ 8,50 ppm en forma

de doblete de $J_{1,NH} = 8$ Hz. Para el producto 130 aparecía a δ 7,43 ppm en forma de siglete ancho. La configuración anomérica de 129 se determinó en base a la constante de acoplamiento $J_{1,2} = 8,5$ Hz, que demostraba la disposición axial de los protones H-1 y H-2 y por lo tanto la configuración anomérica β de 129.

La configuración anomérica de 130 se estableció como α en base a la configuración del isotiocianato de partida 127 y a la constante de acoplamiento $J_{1,2} = 2$ Hz, coherente con dicha asignación.

El espectro de ^1H -RMN de 131 mostraba a δ 10,70 ppm una señal intercambiable con D_2O atribuible al NH unido a tiocarbonilo (NH-CS) y que aparecía en forma de doblete ($J = 9$ Hz) por acoplamiento con el H-1 del azúcar, a δ 9,60 ppm aparecía un singlete ancho, intercambiable con D_2O que correspondía al NH unido a los grupos carbonilo y tiocarbonilo (CS-NH-CO) y a δ 6,02 ppm una tercera banda que integraba para dos protones, que se asignó al NH_2 . La configuración anomérica β se determinó en base a la constante de acoplamiento $J_{1,2} = 8$ Hz.

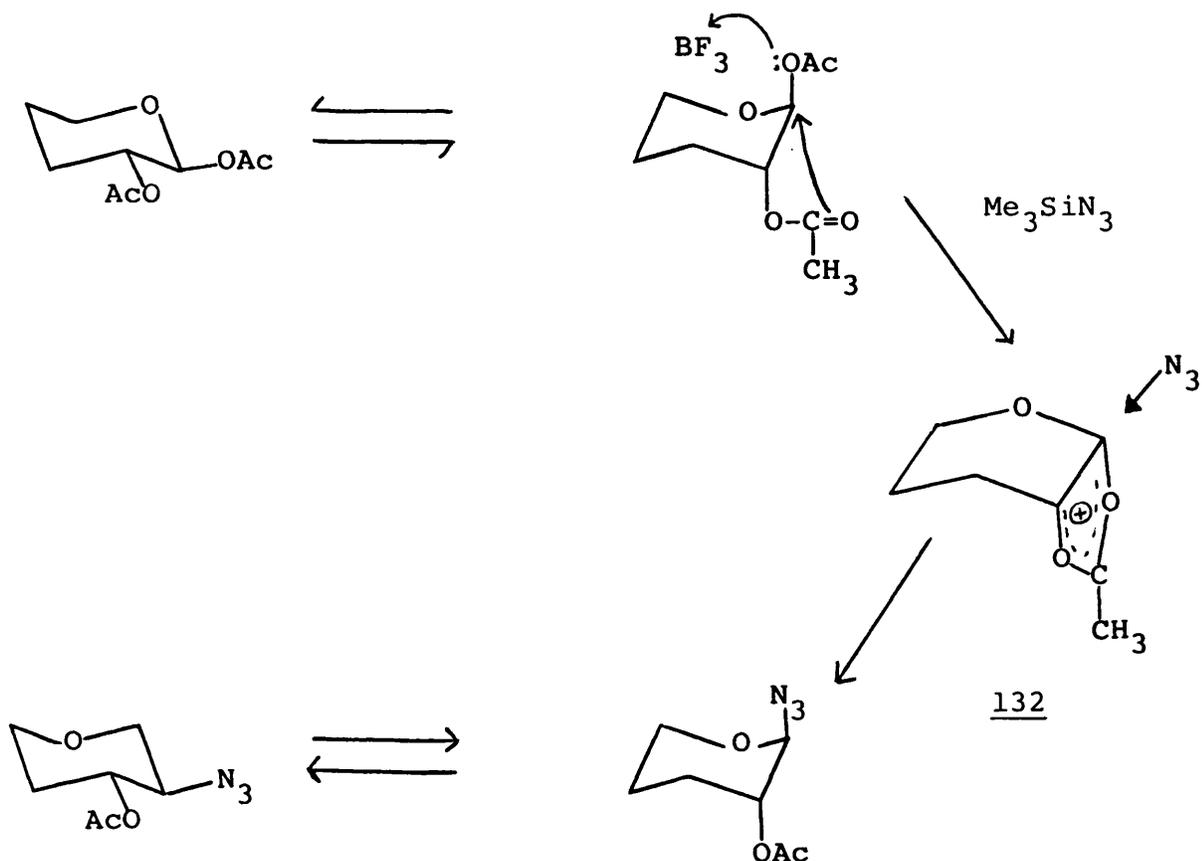
4 PREPARACION DE OTROS INTERMEDIOS GLICOSIDICOS

4.1 PREPARACION DE GLUCOPIRANOSILAZIDAS Y REDUCCION DE LAS MIS- MAS A GLUCOPIRANOSILAMINAS

El procedimiento más antiguo para la obtención de azidas de glicosilo, es el de Bertho^{130,131} que supone la reacción de un haluro de glicosilo con una azida metálica (azida de sodio o plata) en un proceso de sustitución S_N2.

Otro método más conveniente es el de Birkofer¹³² y Paulsen¹³³ que consiste en la reacción de azida de trimetilsililo con un derivado glicosídico peracilado. Esta modificación supone la obtención de un mejor rendimiento de azida y el ahorro de un paso con respecto a la utilización del haluro de glicosilo, ya que éstos se preparan a partir de los derivados glicosídicos peracilados correspondientes.

En este último método, a partir de un derivado glicosídico peracilado de estereoquímica 1,2-trans o 1,2-cis, se obtiene siempre una glicosilazida de configuración 1,2-trans, lo que permite suponer que durante la reacción se forma el ión aciloxonio cíclico 132¹³⁴, que es abierto en forma trans por el grupo azida.



En caso de que la estereoquímica del derivado glicosídico peracilado de partida sea cis, es posible que en primer lugar se produzca una anomerización al compuesto trans, catalizada por el ácido de Lewis, después de la cual la reacción prosigue de la forma ya señalada. En otro caso, debería producirse una sustitución nucleófila directa en el C-1 con inversión de la configuración.

Si el sustituyente en C-2 es un grupo éter y por tanto sin posibilidad de participación, se obtienen mezclas de azidas 1,2-cis y 1,2-trans.

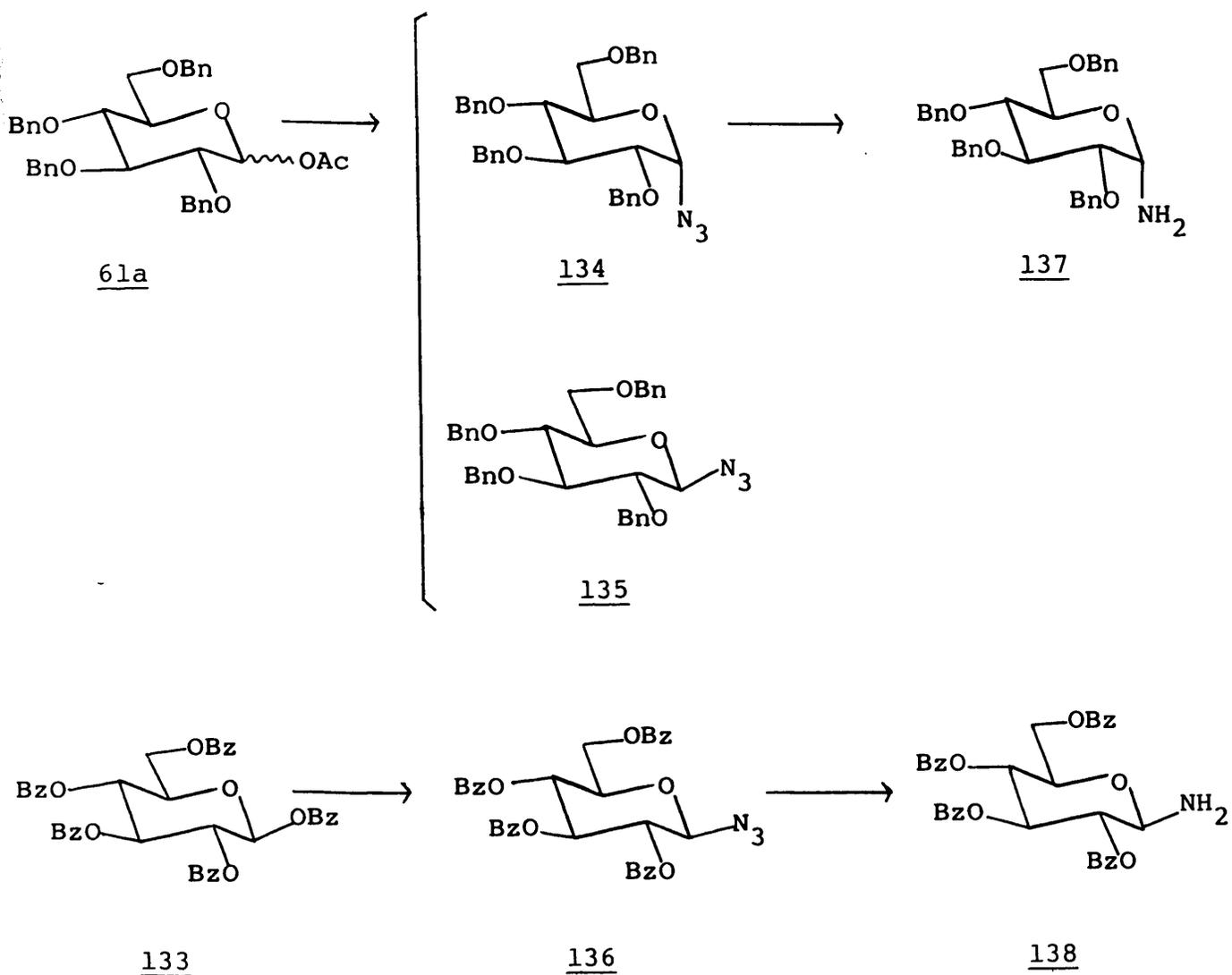
La estereoquímica de las azidas obtenidas por el

método de Bertho¹³⁰ depende analógicamente de la presencia en C-2 de un grupo protector éster o éter, participante o no, que determina o no determina, respectivamente, la formación de productos de configuración 1,2-trans¹³⁵⁻¹³⁷.

Las azidas de 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α - y - β -D-glucopiranosilo 134 y 135 y la azida de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil- β -D-glucopiranosilo 136 que querían obtenerse, habían sido preparadas por el método de Bertho con algunas modificaciones. La azida 136 se había obtenido por reacción de bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil- α -D-glucopiranosilo con NaN_3 y cloruro de benciltriethylamonio en condiciones de transferencia de fase¹³⁸, o con NaN_3 en acetonitrilo a reflujo¹³⁹. La azida 134 y su isómero β 135 también habían sido obtenidas a partir de haluros de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β - y - α -D-glucopiranosilo, respectivamente, por un procedimiento muy largo que implicaba la reacción con NaN_3 en HMPA, desacetilación y posterior bencilación¹⁴⁰.

La aplicación del método de Paulsen permitió la obtención de las azidas 134, 135 y 136 con rendimientos cuantitativos, mediante una ruta rápida y experimentalmente sencilla, que suponía una ventaja respecto a los métodos anteriores.

Así, la reacción de 1-O-acetil,2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucopiranosilazida (61a) con Me_3SiN_3 en un medio polar aprótico (CH_2Cl_2) con SnCl_4 como catalizador, dió un 100% de una mezcla (3:1) de las dos glucopiranosilazidas anómeras α y β (134) y (135) que se separó cromatográficamente. De la misma forma cuando la 1,2,3,4,6-penta-O-benzoil- β -D-glucopiranosilazida (133) se hizo reaccionar con Me_3SiN_3 , se obtuvo cuantitativamente la 2,3,4,6-tetra-O-benzoil- β -D-glucopiranosil azida 136



La azida de configuración anomérica β 135 también fué preparada por reacción de cloruro de tetrabencil glucosa 122 con azida sódica en presencia de bromuro de tetrabutilamonio. De esta forma obtuvimos exclusivamente el compuesto 135 con un 74% de rendimiento no habiéndose detectado en ningún momento la presencia de la azida 134 de configuración anomérica α .

La estructura de las tres azidas se demostró por sus datos de análisis elemental y espectroscópicos de IR y ^1H -RMN.

La incorporación del grupo azida se demostró por la aparición en el espectro de IR de los tres compuestos 134, 135 y 136 de una banda aguda a 2135 cm^{-1} característica del grupo N_3 .

La configuración anomérica de las tres glucopiranosil azidas se demostró en base a sus constantes de acoplamiento $J_{1,2}$. Para la azida de 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosilo 134, H-1 aparece a δ 5,20 ppm con $J_{1,2} = 3\text{ Hz}$ lo que confirma la posición ecuatorial de H-1. La señal correspondiente al H-1 de la glucopiranosil azida isómera 135 de configuración anomérica β queda englobada en un multiplete complejo junto con las señales de los protones metilénicos de los grupos bencilo, dicho multiplete aparece a δ 4,36-5,20 ppm. Por ello, no se pudo medir la $J_{1,2}$. Sin embargo, el hecho de ser una tetrabencil glucopiranosil azida isómera de la anterior, el que el protón anómero aparece a campo más alto que el H-1 de la azida α , como corresponde a su disposición axial, la presencia de grupos protectores éter bencilico no participantes, que deben conducir a los dos anómeros posibles y por último, el hecho de que la rotación óptica de la azida β es menor que la de la azida α antes mencionada, confirmaron para la azida 135 una configuración anomérica β .

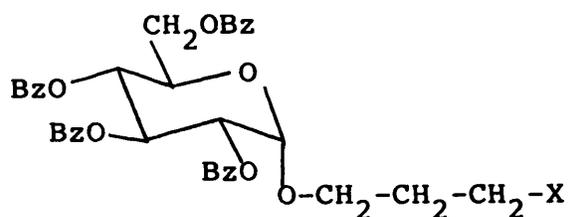
Para la azida de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil- β -D-glucopiranosilo 136 el valor de la constante de acoplamiento $J_{1,2} = 8\text{ Hz}$ indicó una posición axial para H-1 y por lo tanto una estructura 1,2-trans, es decir una configuración anomérica β .

La hidrogenación catalítica de las azidas 134 y 136 a temperatura ambiente, usando Pd/C como catalizador, condujo con rendimiento cuantitativo a las aminas 137 y 138 con retención

de las configuraciones anoméricas α y β respectivamente. La amina 137 se caracterizó en base al espectro de IR que mostraba a 3350 cm^{-1} una banda con dos picos característica de una amina primaria y en el que no aparecía la banda aguda a 2135 cm^{-1} característica de la azida. Su configuración anomérica α se determinó por el mayor valor obtenido para su poder rotatorio ($[\alpha]_D 21,67^\circ$) frente al asignado en la bibliografía para la amina isómera β ($[\alpha]_D 7,92^\circ$)¹⁴⁰. La amina 138 se caracterizó por comparación de sus datos espectroscópicos con los descritos en la bibliografía¹³⁸.

4.2 PREPARACION DE 3-BROMOPROPIL Y 3-IODOPROPIL 2,3,4,6-TETRA-O-BENZOIL- α Y β -D-GLUCOPIRANOSIDOS

Otro de los derivados de azúcares que se han sintetizado para su posterior empleo en la preparación de análogos de nucleósidos difosfato hexosas es el derivado 3-halopropil 2,3,4,6-tetra-O-benzoil- α -D-glucopiranosido 139.



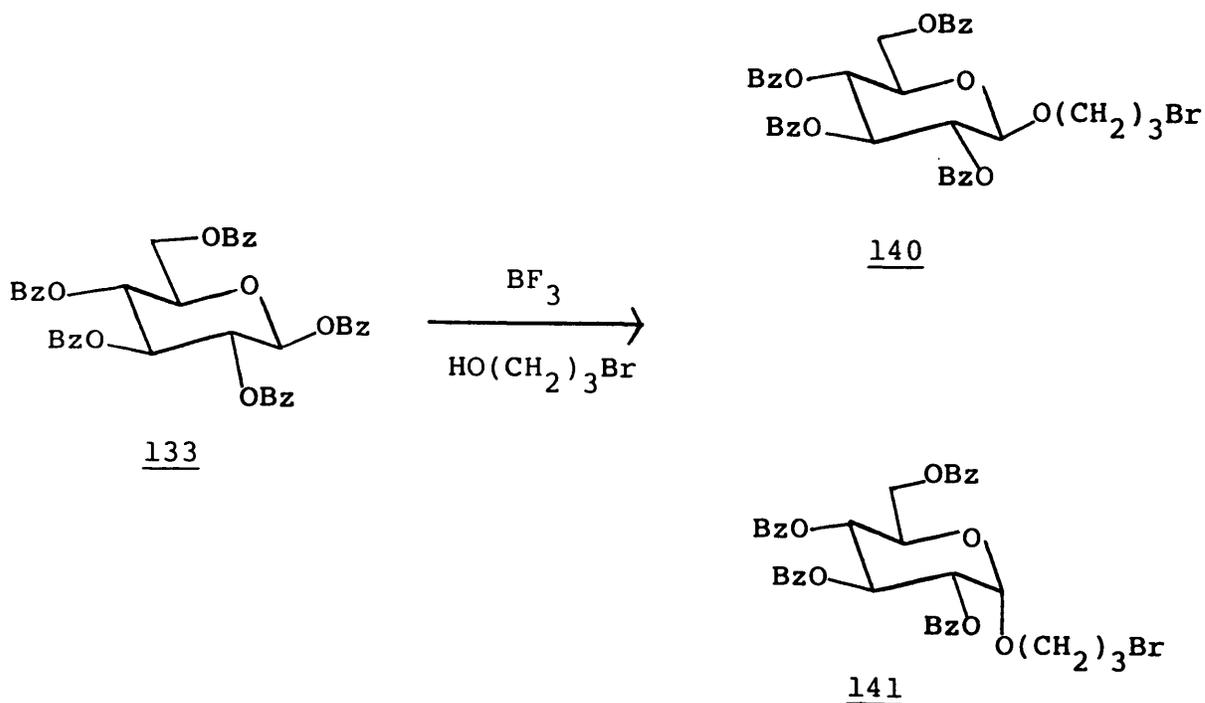
139, X= Br, I

Como se ha mencionado anteriormente, la presencia de grupos 2-O-acilo en el resto de azúcar condiciona generalmente la formación de glicósidos 1,2-trans, que en el caso de la glucosa

significa una configuración anomérica β . Puesto que los intermedios que querían prepararse debían tener configuración anomérica α fué necesario estudiar las condiciones experimentales de esta reacción de glicosilación.

Existían precedentes de preparación de 2-Bromoetil tetra-O-acetil-glucopiranosidos por reacción de 2-Bromoetanol con penta-O-acetilglucopiranosas en presencia de BF_3 ¹⁴¹ y de otros catalizadores tales como triflato de plata, sales de amonio cuaternario y oxazolina¹⁴². El empleo de BF_3 como catalizador daba mayoritariamente los 1,2-trans-glucósidos con trazas de los 1,2-cis- glucósidos de configuración anomérica α , mientras que el empleo de los otros catalizadores daba únicamente los 1,2-trans-glucósidos de configuración anomérica β .

En nuestro caso, los primeros intentos, se llevaron a cabo usando como catalizador BF_3 . Así, cuando se hizo reaccionar la penta-O-benzoil- β -D-glucopiranososa (133) disuelta en cloruro de metileno con 3-Bromopropanol en presencia de BF_3 a temperatura ambiente durante varios días, se obtuvo, junto con una gran cantidad de producto de partida inalterado, una mezcla de 3-Bromopropil glucósidos anómeros 140 (β) y 141 (α) en proporción (5:1).



Proporción a temperatura ambiente $\underline{140}/\underline{141} = (5:1)$

Proporción a reflujo de cloroformo $\underline{140}/\underline{141} = (1:2)$

Con el fin de aumentar la proporción del isómero α , la reacción se llevó a cabo calentando la mezcla de reacción a reflujo de cloroformo durante dos horas bajo atmósfera de Nitrógeno, que son unas condiciones análogas a las utilizadas por Ferrer¹⁴³ para la síntesis de α -tioglicósidos a partir de un azúcar peracetilado. Esta reacción dió una mezcla de los dos anómeros $\underline{140}$ y $\underline{141}$ en proporción (1:2). Es decir, se había producido un incremento de diez veces en la proporción del anómero α deseado.

Los dos 3-Bromopropil glucósidos isómeros $\underline{140}$ y $\underline{141}$ se separaron por cromatografía preparativa. El anómero β , de menor Rf, aparecía siempre impurificado con la pentabenzoil glucosa de partida, que tenía una movilidad cromatográfica muy

semejante, esta fué la causa por la que el anómero β no pudo ser aislado puro ni identificado. Sin embargo, el empleo de una técnica especial de detección ¹⁴⁴ nos permitió distinguir entre la pentabenzoil glucosa y 140 y de esta forma determinar la proporción de anómeros (α : β) que se formaba en la reacción. Dicha técnica consiste en que una vez desarrollada y seca la placa preparativa se calienta a 160° aproximadamente durante diez minutos. Los compuestos capaces de formar un ión 1,2-acetoxonio con facilidad, tales como los azúcares per-O-acilados dan manchas coloreadas. El resto de los compuestos con restos de azúcares se revelan pulverizando la placa con la mezcla sulfúrico-etanol (1:3) y calentado.

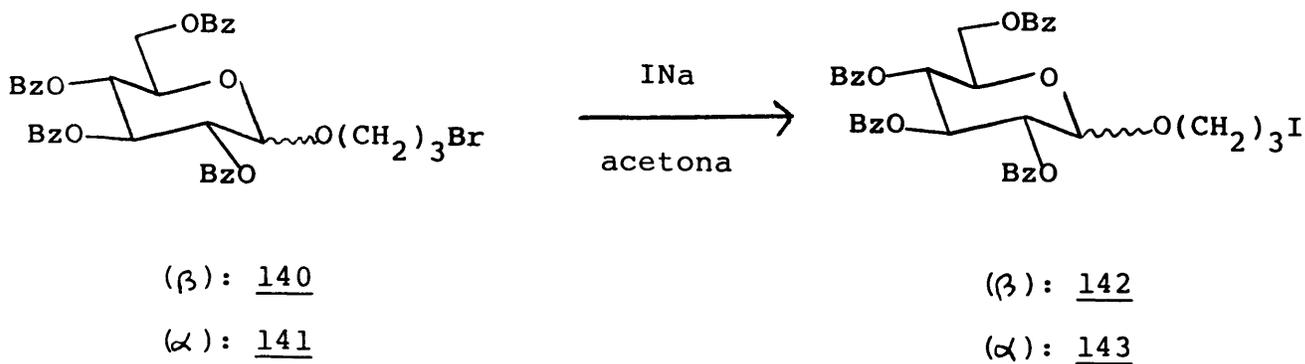
La estructura del isómero α (141) obtenido con un 32% de rendimiento se determinó en base a sus datos analíticos y espectroscópicos.

La configuración anomérica α de 141 en el que H-2 se encuentra en disposición axial, pudo determinarse a partir de la constante de acoplamiento $J_{1,2} = 3$ Hz, característica de un acoplamiento axial-ecuatorial. La presencia del resto de 3-Bromo-peopilo se confirmó por la señal del metileno unido a bromo, que aparece en forma de triplete a δ 3,42 ppm, por la señal correspondiente a los protones del metileno central que aparece como un multiplete centrado a δ 2,10 ppm y por la señal del metileno unido al oxígeno anomérico que aparece desdoblada en dos multipletes uno de ellos a δ 3,80 - 4,10 ppm y el otro a δ 3,30-3,70 ppm, superpuesto con el triplete del metileno unido a bromo.

Tanto el rendimiento como la identificación del isómero β no se pudo establecer con seguridad por aparecer este

producto siempre impurificado con la pentabenzoil glucosa de partida , por este motivo su identificación se llevó a cabo a partir del 3-iodopropil derivado correspondiente.

La síntesis de los 3-iodopropil glucósidos 142 y 143 se llevó a cabo a partir de los 3-bromopopil glucósidos correspondientes 140 y 141, mediante reacción de intercambio de halógeno. Así, la reacción de 140 y 141 con INa en acetona a temperatura ambiente condujo a los correspondiente iodo derivados 142 y 143.



La estructura de los compuestos 142 y 143 se determinó en base a sus datos analíticos y espectroscópicos. En primer lugar, los análisis elementales de ambos productos revelan la presencia de iodo.

El espectro de $^1\text{H-RMN}$ del 3-iodopropil- α -glucósido 143 muestra a δ 5,35 ppm un doblete ($J_{1,2} = 3 \text{ Hz}$) correspondiente a H-1. El valor de dicha constante de acoplamiento indica

la disposición ecuatorial de H-1, lo que implica una configuración anomérica α para 143.

El 3-iodopropil- β -glucósido 142 muestra a δ 4,80 ppm un doblete ($J_{1,2} = 8$ Hz) correspondiente a H-1. El valor de $J_{1,2}$ está de acuerdo con un acoplamiento H-1, H-2 axial-axial, lo que implica para 142 una configuración anomérica β .

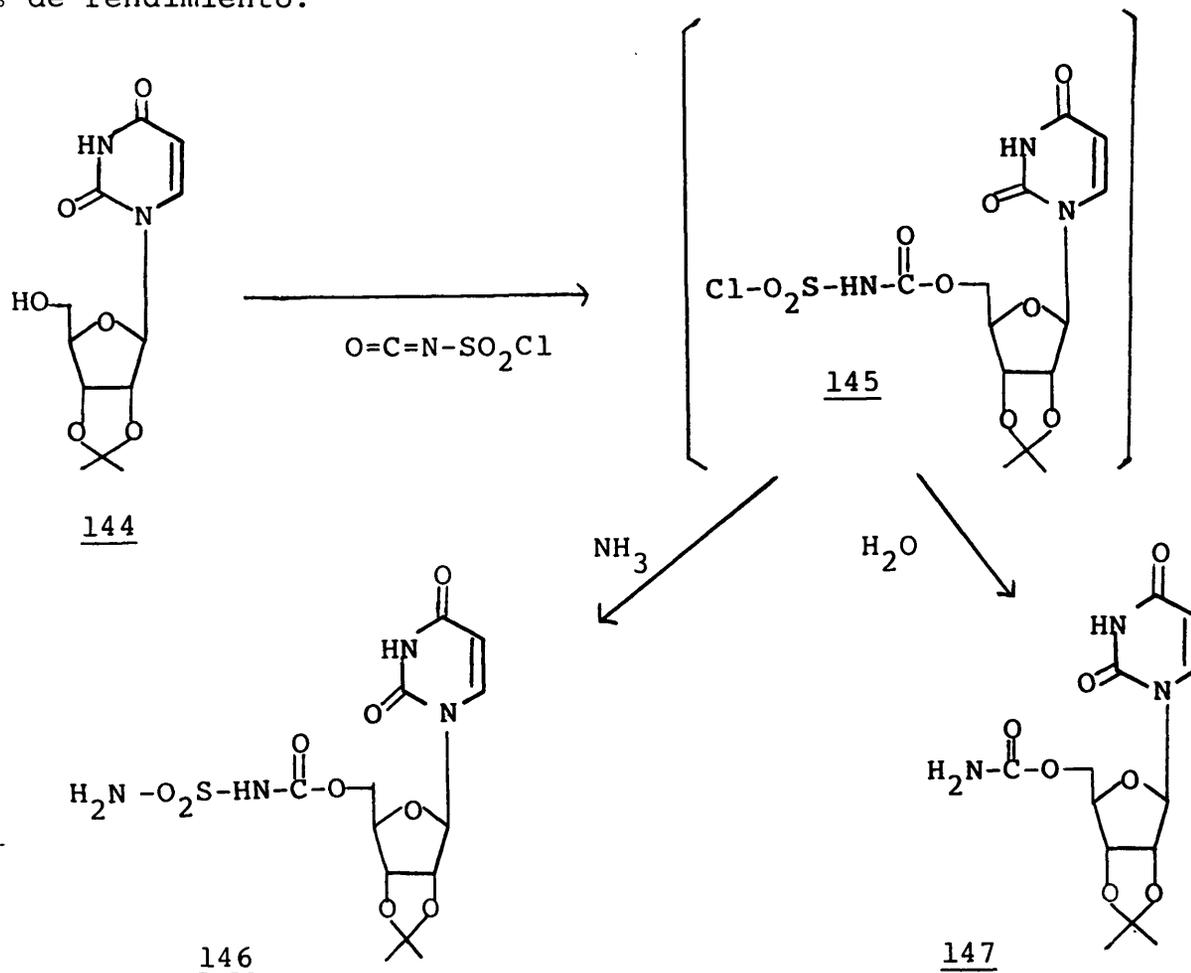
Los espectros de ^1H -RMN de los dos anómeros 142 y 143 presentaron así mismo los tres grupos de señales correspondientes a los tres grupos metilénicos de la cadena 3-iodopropílica. Así el compuesto 142 presenta a δ 3,05 ppm el triplete correspondiente al CH_2I . Los dos protones del grupo metilénico unido al oxígeno aparecieron como dos multipletes a δ 3,40-3,70 ppm y a δ 3,80-4,05 ppm debido a su no equivalencia magnética producida por la quiralidad del azúcar. El metileno central aparece en forma de multiplete centrado a δ 1,90 ppm.

Analógamente el compuesto 143 presenta a δ 3,20 ppm el triplete correspondiente al metileno unido a iodo, que apareció a campo más alto ($\Delta\delta$ 0,2 ppm) que la señal análoga del precursor 3-bromopropilglucósido 141. Los dos protones del grupo metilénico unido al oxígeno aparecieron como dos multipletes a δ 3,32-3,65 ppm y a δ 3,75-4,05 ppm ya que como ocurre para 142 la quiralidad del azúcar hace que estos dos protones no sean magnéticamente equivalentes. El metileno central aparece en forma de multiplete centrado a δ 2,05 ppm.

4.3 PREPARACION DE 2',3'-O-ISOPROPILIDEN-5'-O-[[SULFAMIDO]-CARBONIL]-URIDINA

El último de los intermedios que se prepararon para su posterior empleo en la síntesis de análogos de nucleosidodifosfatohexosas fué la 5'-O-[[sulfamido]-carbonil]uridina 146. Este compuesto se preparó como se indica a continuación.

La reacción de 2',3'-O-isopropilidenuridina 144 con clorosulfonilisocianato en acetonitrilo a baja temperatura dió el derivado 5'-O-[[[clorosulfonil]amino]carbonil]-2',3'-O-isopropilidénuridina 145. Este compuesto inestable reaccionó "in situ" con amoníaco seco en acetonitrilo para dar lugar al correspondiente 2',3'-O-isopropilidén-5'-O-[[sulfamido]carbonil]-uridina 146 con un 70% de rendimiento.



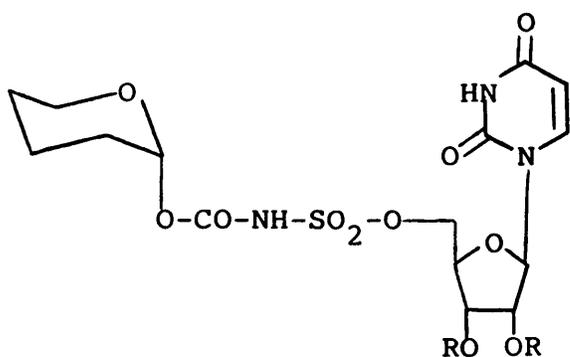
La formación de 146 se produce por reacción del grupo isocianato, más reactivo frente a nucleófilos que el grupo clorosulfonilo del clorosulfonilisocianato, con el OH e 5' de la uridina. Esto se demostró por la obtención de la 5'-O-carbamoil-2',3'-O-isopropilidénuridina 147 con un rendimiento del 40% cuando el bruto de la reacción entre el clorosulfonilisocianato y la 2',3'-O-isopropilidénuridina se dejó en contacto con la humedad ambiental. La obtención del carbamato demostró por tanto, que se había formado el intermedio 145 y no el O=C=N-SO₂-O-uridina isómero.

Este procedimiento para la obtención de 5'-O-carbamoil uridina es una vía rápida y experimentalmente sencilla para llegar a este tipo de compuestos, que supone una alternativa interesante a los métodos descritos previamente en el nuestro¹⁴⁵ y en otros laboratorios¹⁴⁶.

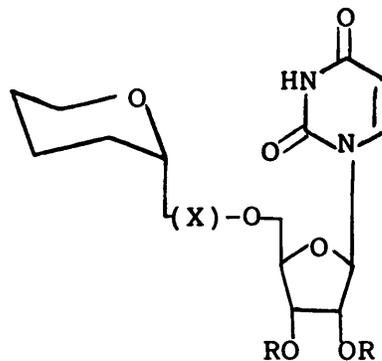
La formación del compuesto 146 se determinó en base a sus datos de análisis elemental y espectroscópicos. La unión del fragmento [[amino]sulfonil]amino]carbonilo al oxígeno hidroxílico de la posición 5' de la uridina y no al NH en 3 se demostró por la presencia en el espectro de ¹H-RMN de un singlete a δ 11,43 ppm intercambiable con D₂O que corresponde al NH-3 libre de la uridina, y por el desplazamiento a campo más bajo $\Delta\delta$ 0,17 y $\Delta\delta$ 0,5 ppm que experimentan las señales de los protones H-4' y H-5', respectivamente, del compuesto 146 en comparación con las señales de los mismos protones en la 2',3'-O-isopropilidénuridina.

5 PREPARACION DE ANALOGOS DE URIDINADIFOSFATOGLUCOSA

Como se ha indicado en la Introducción, el objetivo global en el que se enmarca este trabajo es el estudio de las características estructurales necesarias para que una serie de derivados de uridinadifosfatoglucosa 148 ejerzan su acción antiviral. Estos derivados 148, diseñados originalmente, actúan, entre otros posibles mecanismos a través de la inhibición de la glicosilación de proteínas. En el estudio de los requisitos estructurales importantes para la actividad antiviral se han abordado tres aspectos :



148



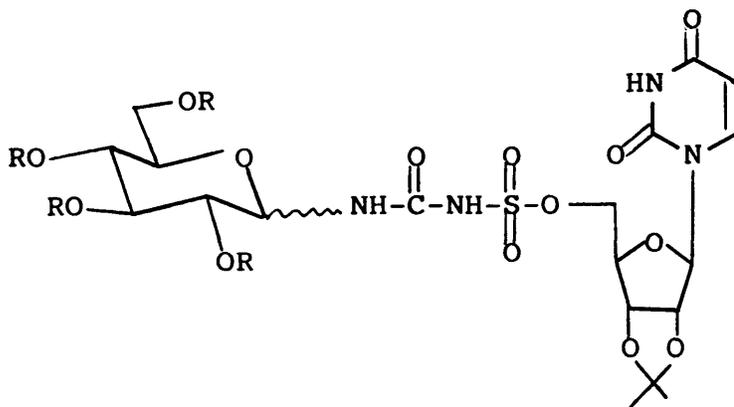
149

la modificación del resto nucleosídico, la del resto de glucosa y la del puente entre ambos que mimetiza al grupo difosfato. El objeto de este trabajo es el estudio de este último aspecto, es decir, la variación estructural de la cadena de cinco átomos que une nucleósido y glucosa. Por ello, en los apartados 2,3 y 4 anteriores

se ha descrito la preparación de distintos intermedios, que incluyen restos de glucosa (glicosilaminas, glicosilisotiocianatos, halopropilglicósidos) y de uridina (5'-O-[[[sulfamido]carbonil]uridina) debidamente funcionalizados con grupos reactivos que en este apartado se van a transformar en distintos análogos de uridinadi-fosfatoglucosa (149) en los que el puente difosfato se ha sustituido por otras cadenas de diferentes estructuras y longitudes como se indica a continuación.

1) Variaciones en la estructura del puente

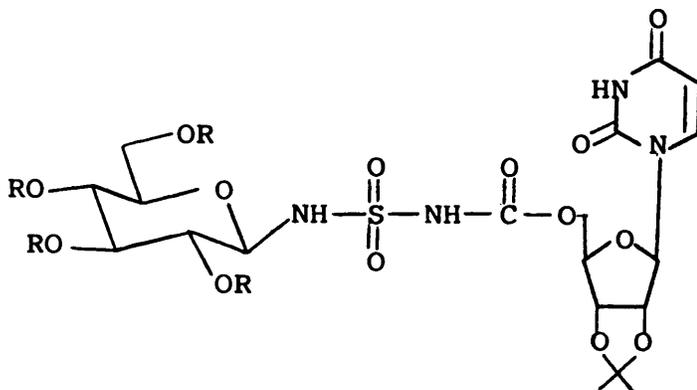
Para comprobar hasta qué punto un cambio bioisómero de un grupo -O- por uno -NH- en la cadena puente influía sobre la acción antiviral se sintetizaron las 5'-O-[[[[[(2",3",4",6"-tetra-O-bencil- α -D y 2",3",4",6"-tetra-O-benzoil- β -D-glucopiranosil) amino]carbonil]amino]sulfonil]-2',3'-O-isopropilidénuridinas 150 y 151



150, R= Bn (α)

151, R= Bz (β)

Para comprobar de qué forma el orden en el que estaban colocados los grupos funcionales influía en la actividad se sintetizaron las 5'-O-[[[(2'',3'',4'',6''-tetra-O-benzoil y 2'',3'',4'',6''-tetra-O-acetil- (β -D-glucopiranosil)amino]sulfonil]amino]carbonil]-2',3'-O-isopropilidénuridinas 152 y 153

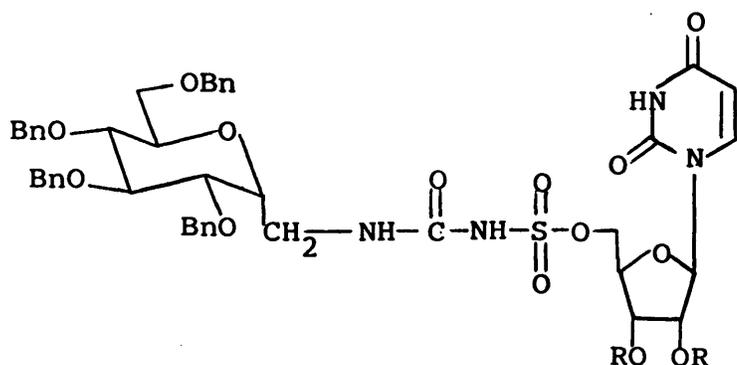


152, R= Bz

153, R= Ac

2) Variaciones en la longitud del puente

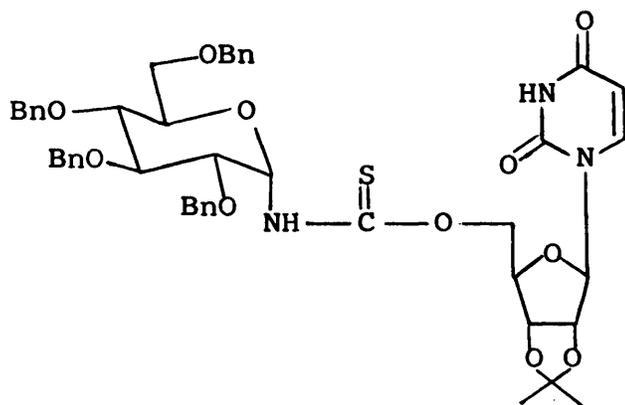
Con el fin de determinar si la longitud del puente influía en la actividad de estos compuestos se sintetizaron la 5'-O-[[[[[(2'',3'',4'',6''-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosil)metil amino]carbonil]amino]sulfonil]2',3'-O-isopropilidénuridina 154a y su correspondiente 2',3'-O-desisopropilidén derivado 154b en los que la cadena puente está aumentada en un eslabón.



154a, R = C(CH₃)₂

154b, R = H

Asimismo, se sintetizó la 5'-O-[[[(2'',3'',4'',6''-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosil)amino]tiocarbonil]-2',3'-O-isopropilidénuridina 155 en la que la cadena puente está disminuida en dos eslabones.

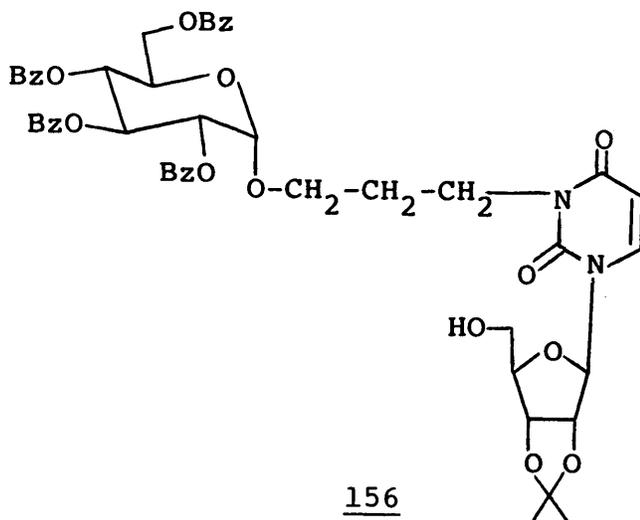


155

3) Variación en el punto de enlace

Finalmente se estudió el efecto que produciría una variación en el esqueleto estructural de estos análogos de UDP-glucosa, cambiando la posición de unión del puente análogo de difosfato al nucleósido. Para ello la glucosa con el resto propílico en posición 1 se unió al átomo de nitrógeno N-3 de la uridina en lugar de al átomo de oxígeno O-5' de dicho nucleósido.

De esta forma se sintetizó 3-N-[(2",3",4",6"-tetra-O-benzoil- α -D-glucopiranosil)oxipropil]-2',3'-O-isopropilidénuridina 156.

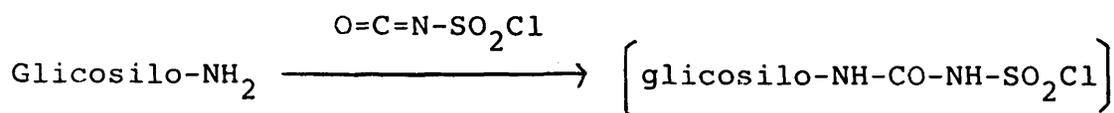


5.1 PREPARACION DE DERIVADOS DE UDP-GLUCOSA EN LOS QUE EL PUENTE

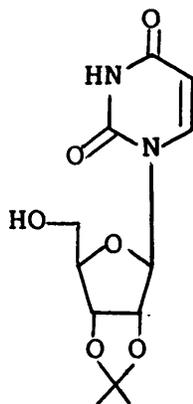
ANALOGO A DIFOSFATO TIENE DIFERENTE ESTRUCTURA

5.1.1 PREPARACION DE DERIVADOS 5'-O-[[(GLUCOPIRANOSIL)UREIDO]
SULFONIL]URIDINA

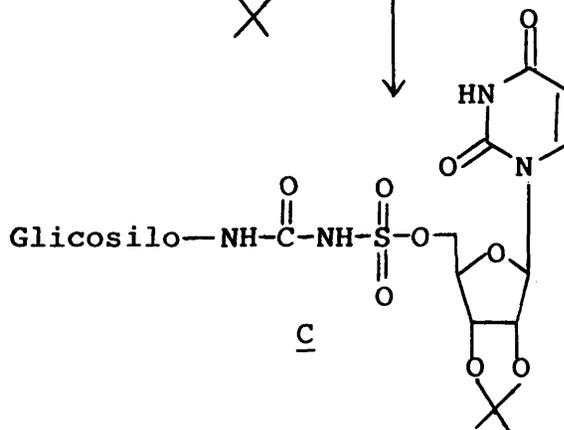
La síntesis de estos productos se llevó a cabo mediante el procedimiento general que se indica en el esquema 4.



A



B



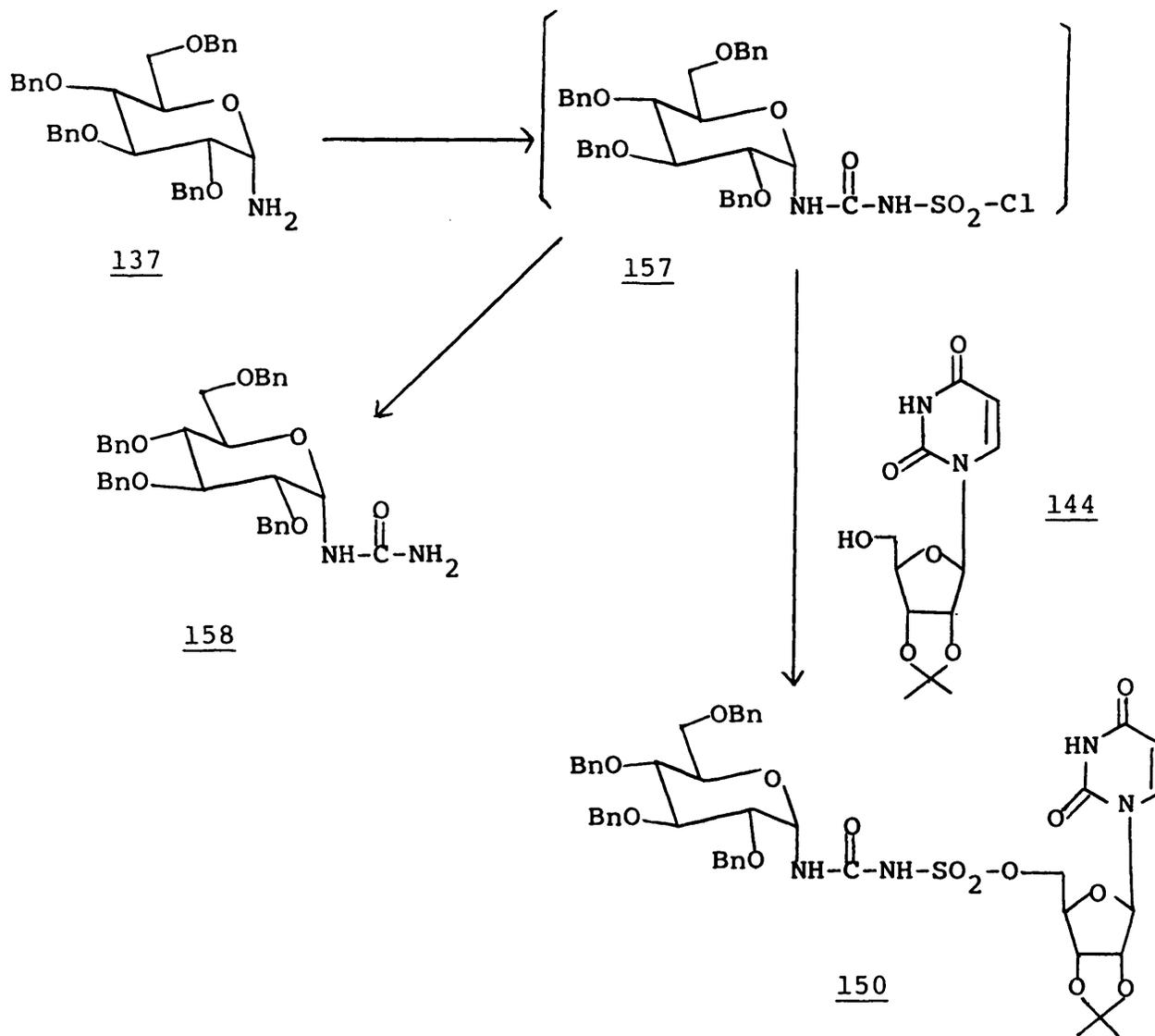
C

La reacción de las glucopiranosilaminas A cuya síntesis se describió en el apartado 4.1 anterior, con clorosulfonil-isocianato dió los clorosulfonilaminocarbonilamino glucósidos B que por posterior reacción "in situ" con 2',3'-O-isopropilidénuridina dió los compuestos deseados C.

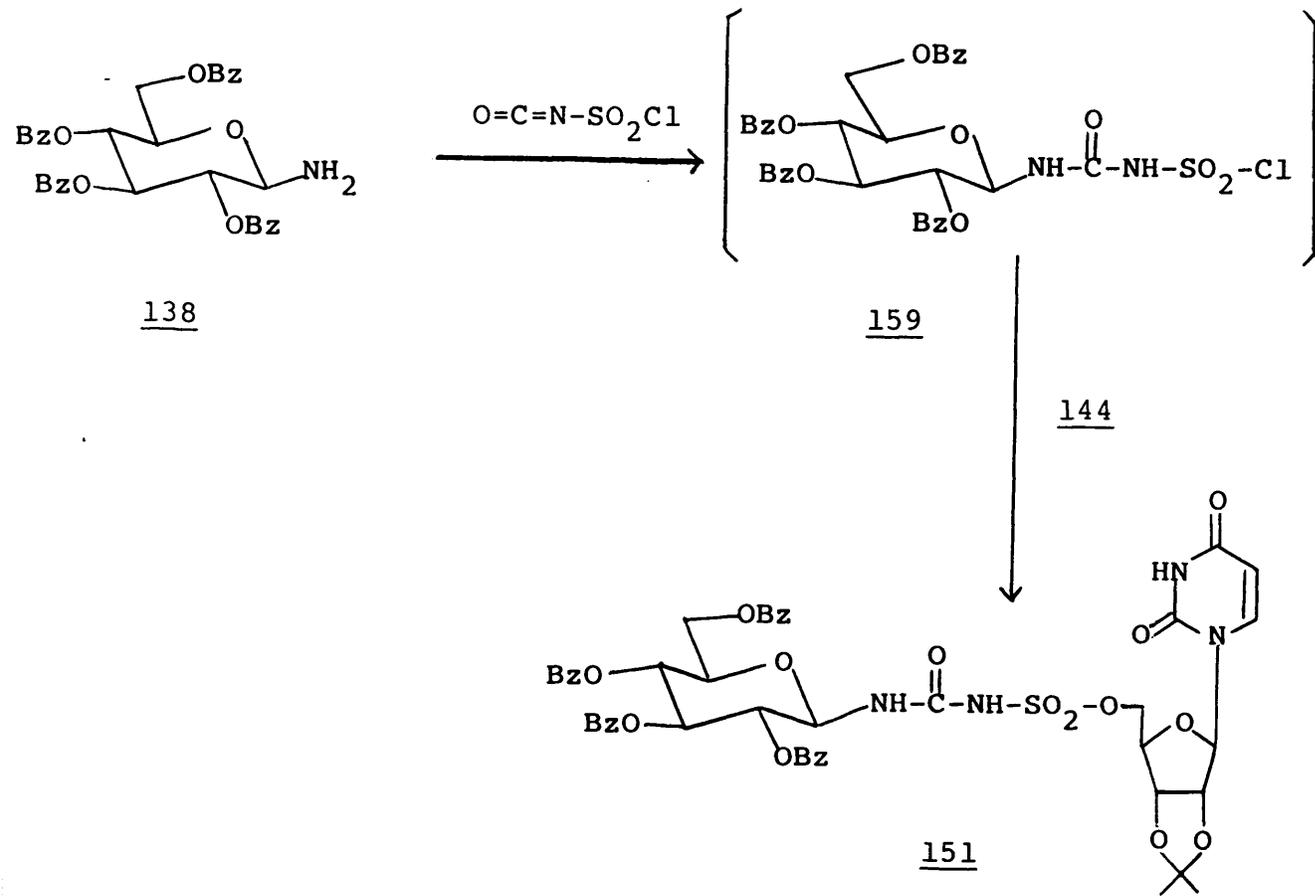
A continuación se describen los diferentes métodos de síntesis empleados para la obtención de los compuestos mencionados.

Concretamente, la reacción de 1-amino 2,3,4,6-tetra-O-bencil-1-desoxi- α -D-glucopiranososa 137 con clorosulfonilisocianato en cloruro de metileno seco, a una temperatura comprendida entre -15° y -20°C, seguida de tratamiento "in situ" del intermedio 157 así formado con 2',3'-O-isopropilidénuridina 144 en presencia de piridina como aceptor de hidrácido condujo al 5'-O-[[[[[2",3",4",6"-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosil)amino]carbonil]amino]sulfonyl]-2',3'-O-isopropilidénuridina 150 con un 45% de rendimiento.

El intermedio 157 se forma por reacción del grupo isocianato, más reactivo frente a nucleófilos que el grupo clorosulfonilo del clorosulfonilisocianato, con el grupo 1-amino de 137, como se demostró por la detección de 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosil urea 158, cuando la mezcla de reacción se dejó en contacto con la humedad ambiental.



Análogamente la reacción de la 1-amino 2,3,4,6-tetra-O-benzoil-1-desoxi- β -D-glucopiranososa 138 con clorosulfonil-isocianato y 2',3'-isopropilidénuridina 144 en acetonitrilo siguiendo un procedimiento idéntico al utilizado para la preparación de 150 condujo como se indica en el esquema 5 al correspondiente análogo de UDP-glucosa 5'-O-[[[(2'',3'',4'',6''-tetra-O-benzoil- β -D-glucopiranosil)-amino]carbonil]amino]sulfonil]-2',3'-O-isopropilidénuridina 151 con rendimiento del 28%.



Esquema 5

Las estructuras 150, 151 se determinaron en base a sus datos analíticos y espectroscópicos.

La configuración anomérica α del resto de tetrabencil glucosa del compuesto 150 no se pudo establecer con seguridad a partir del espectro ^1H -RMN ya que la señal del protón anómero de la glucosa aparece englobada en un multiplete complejo que corresponde a los $-\text{CH}_2-$ de los grupos bencilo del azúcar y a los protones H-2' y H-3' de la uridina. Sin embargo, se asignó como α debido a que el derivado de glucosa de partida poseía dicha configuración y la reacción del grupo amino con el isocianato al ser instantánea no da lugar a isomerizaciones.

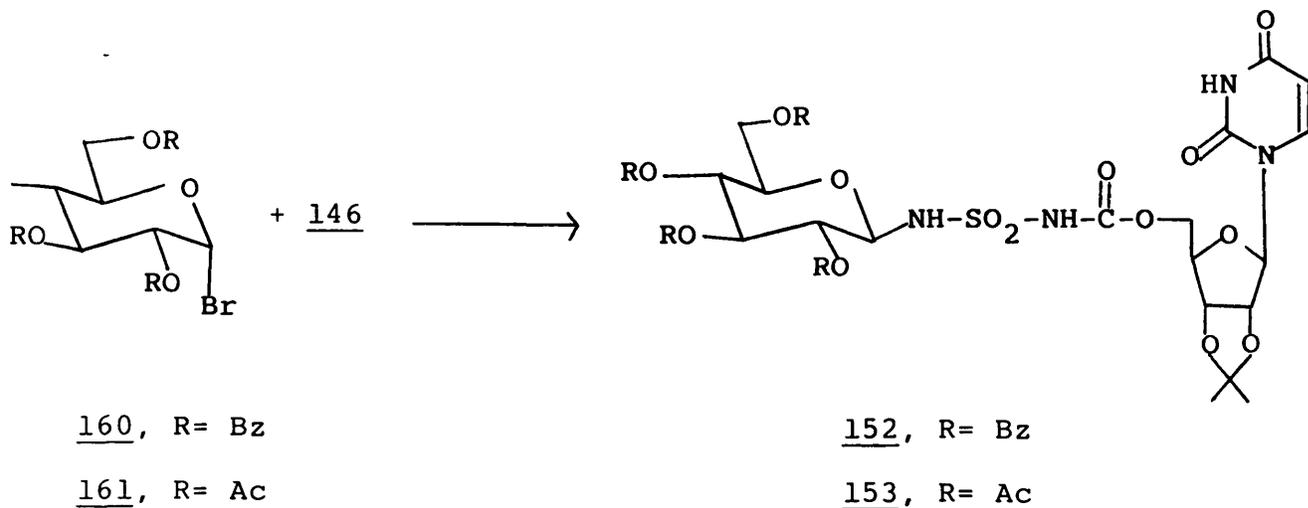
La configuración anomérica del resto de glucosa en el compuesto 151 se estableció como β por el valor de la constante de acoplamiento $J_{1'',2''} = 8$ Hz que está de acuerdo con un acoplamiento axial-axial entre H-1'' y H-2''.

La unión del grupo clorosulfonilo de los intermedios 157 y 158 al oxígeno hidroxílico de la posición 5' de la uridina y no al NH de la posición 3, se demostró por la presencia en los espectros de $^1\text{H-RMN}$ de 150 y 151 de un singlete a δ 11,45 intercambiable con D_2O que se asignó al 3-NH y que fué totalmente similar al 3-NH de la 2',3'-O-isopropilidénuridina que aparece a δ 11,43 ppm. Esta asignación fué confirmada por el desplazamiento a campo bajo de las señales correspondientes a los protones H-4' y H-5' del resto de uridina en los espectros de $^1\text{H-RMN}$ de 150 y 151 que aparecían a δ 4,26 ; δ 4,05 ppm (para 150) y δ 4,23 ; δ 3,97 ppm (para 151) respectivamente, si se comparan con los desplazamientos químicos de los mismos protones de la 2',3'-O-isopropilidénuridina que aparecieron a δ 4,06 y 3,56 ppm.

5.1.2 PREPARACION DE DERIVADOS DE 5'-O-[[(GLUCOPIRANOSIL)SULFAMIDO] CARBONIL]URIDINA

La preparación de este nuevo tipo de análogo de UDP-glucosa se llevó a cabo por reacción de los bromuros de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil y 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo conocidos 160 y 161 con la 5'-O-[[sulfamido]carbonil]-2',3'-O-isopropilidénuridina 146, cuya preparación se describió en el apartado

4.3 anterior, en disolución de nitrometano y en presencia de cianuro mercúrico como aceptor de hidrácido. De estas reacciones se aislaron los análogos de UDP-hexosas 5'-O-[[[(2",3",4",6"-tetra-O-benzoil- y 2",3",4",6"-tetra-O-acetil- (β -D-glucopiranosil)amino]sulfonil]amino]carbonil]-2',3'-O-isopropilidénuridina 152 y 153 con rendimientos del 31% y 32% respectivamente.

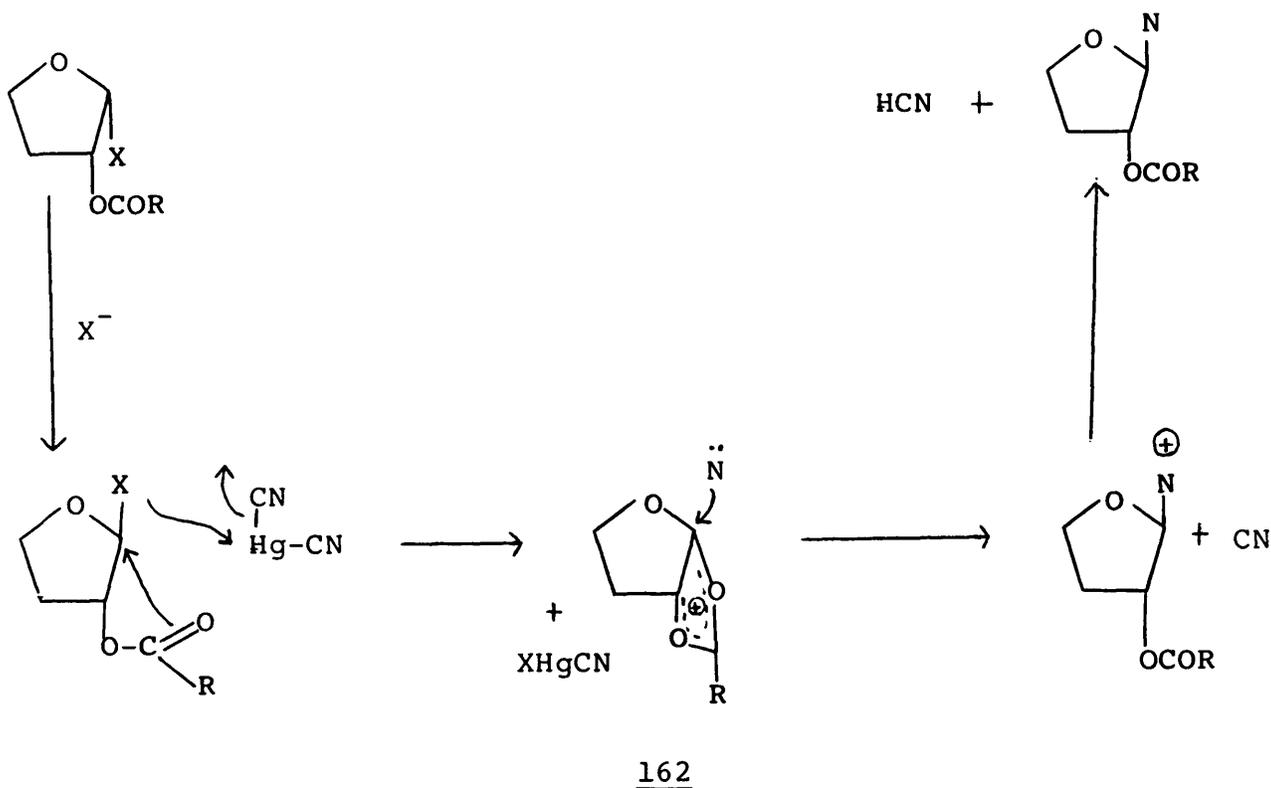


La asignación de la configuración anomérica β de los restos de glucopiranosilo de los productos obtenidos 152 y 153 se basa en el mecanismo propuesto para este tipo de reacción de glicosilación y en varios antecedentes de reacciones de glicosilación de sulfamidas con azúcares acilados mediante este mismo procedimiento, que condujo a glicósidos de configuración anomérica β ¹⁴⁷.

Según el mecanismo aceptado ¹⁴⁸ (esquema 6) la reacción de glicosilación en el método del cianuro mercúrico-nitrometano es iniciada por el átomo de mercurio, que con su

electrofilia, facilita la disociación del ión haluro del haloazúcar. Si la posición 2 de dicho azúcar está sustituida con grupos aciloxi, estos participan en la reacción para formar el ión aciloxonio cíclico 162, que obliga a la base a atacar al azúcar por el lado contrario al que ocupa dicho grupo aciloxi. A continuación se forma la sal cuaternaria del nucleósido que se estabiliza por pérdida de un protón para dar lugar al nucleósido deseado.

Esquema 6



Si la disposición de los sustituyentes unidos a los C-1 y C-2 del azúcar es *cis*, como ocurre en el caso de la α -haloribosa y la α -haloglucosa, para que tenga lugar la asistencia anquimérica es necesaria una anomerización previa. Esta anomerización está catalizada precisamente por iones haluro. De hecho,

este control estereoquímico es una de las ventajas más importantes del método, puesto que conduce en el caso de ribosa y glucosa a nucleósidos de configuración anomérica β .

La estructura de los compuestos 152 y 153 sintetizados se estableció en base a sus datos analíticos y espectroscópicos.

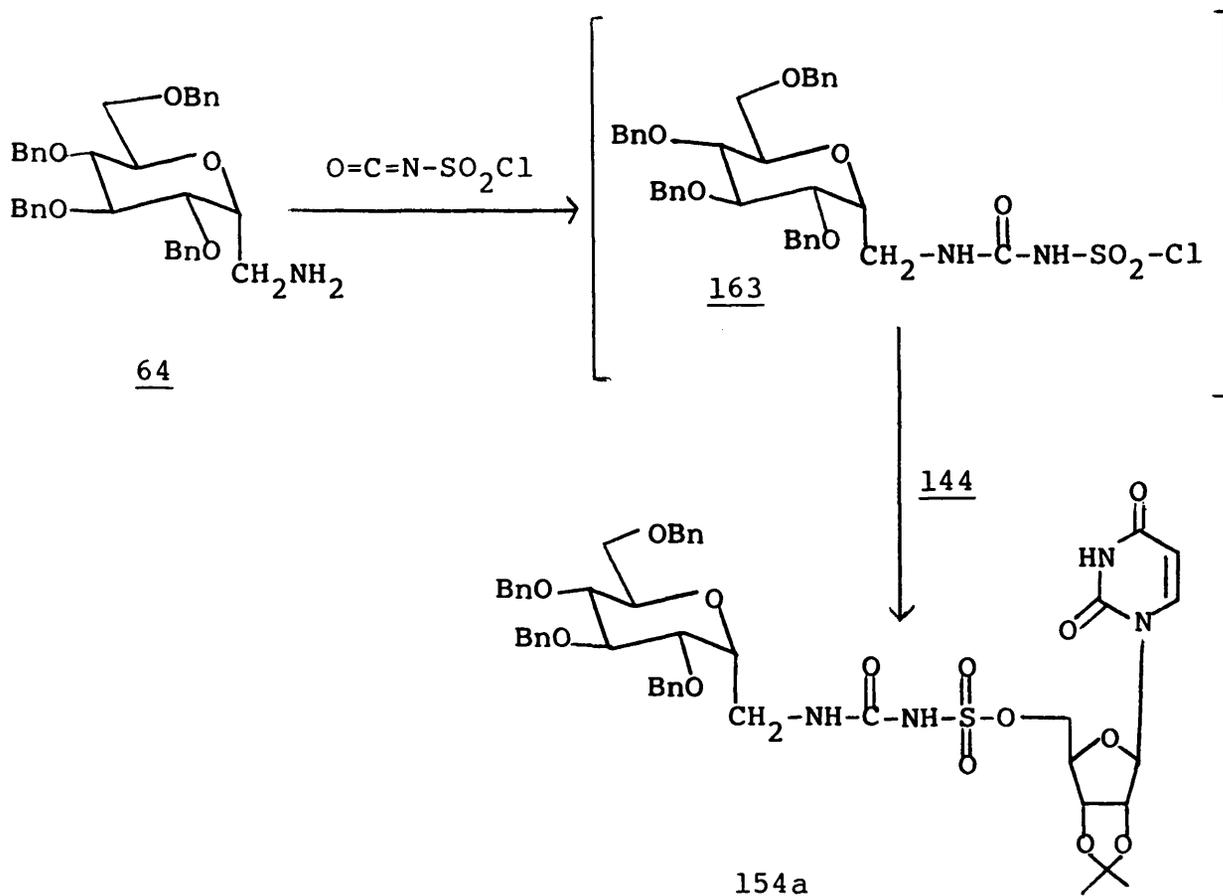
La configuración β del resto de tetraacetil glucosa de 153 no pudo determinarse a partir del espectro de $^1\text{H-RMN}$ ya que la señal correspondiente al protón anómero de la glucosa aparece englobada junto a las señales de H-5 y H-2" en un multiplete complejo a δ 5,58-5,63 ppm. Sin embargo, la estructura de 1,2-glicósidos a que da lugar el método de glicosilación empleado, permitió asignar la configuración anomérica β al resto de glucopiranosilo de 153.

La configuración β del resto de tetrabenzoil glucosa de 152 se determinó en base al espectro de $^1\text{H-RMN}$ en el que aparecía una señal a δ 5,40 ppm correspondiente a H-1" y que presentaba una $J_{1'',2''} = 7 \text{ Hz}$, cuyo valor está de acuerdo con una configuración axial para dicho protón.

5.2 PREPARACION DE DERIVADOS DE UDP-GLUCOSA EN LOS QUE EL PUENTE ANALOGO A DIFOSFATO TIENE DIFERENTE LONGITUD

5.2.1 PREPARACION DE DERIVADOS DE 5'-O-[[[(GLUCOPIRANOSIL)METIL]UREIDO]SULFONIL]URIDINA

La reacción de 1-amino-2,6-anhidro-3,4,5,7-tetra-O-bencil-1-desoxi-D-glicero-D-ido-heptitol 64 con clorosulfonil-isocianato en cloruro de metileno seco, a una temperatura comprendida entre -15 y -20°C, seguida de tratamiento "in situ" del intermedio 163 así formado con 2',3'-O-isopropilidénuridina en presencia de piridina como aceptor de hidrácido condujo al 5'-O-[[[(2",3",4",6"-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosil)metilamino]carbonyl]amino]sulfonil]-2',3'-O-isopropilidénuridina 154a con un rendimiento del 40%.



En este caso y con vistas a una mayor homogeneidad en la nomenclatura que permita relacionar entre sí las estructuras de los distintos análogos de nucleosidodifosfatohexosa, el compuesto 154a se considera derivado de glucosa en vez de derivado de D-glicero-D-ido-heptitol.

La estructura de 154a se determinó en base a sus datos analíticos y espectroscópicos.

La configuración anomérica del resto de glucosa de este compuesto no pudo determinarse a partir del valor de la constante de acoplamiento $J_{1'',2''}$, pues la señal correspondiente al protón anomero, aparece englobada en un multiplete complejo que incluye las señales de los metilenos de los grupos bencilos. Sin embargo, dado que la estructura del producto de partida 64 se había establecido inequívocamente como α y que dicha estructura en las condiciones de reacción empleadas no era previsible que experimentase isomerizaciones, se dedujo que la configuración anomérica α se mantenía para el resto de glucosa de 154a, es decir, configuración D-glicero-D-ido para el heptitol.

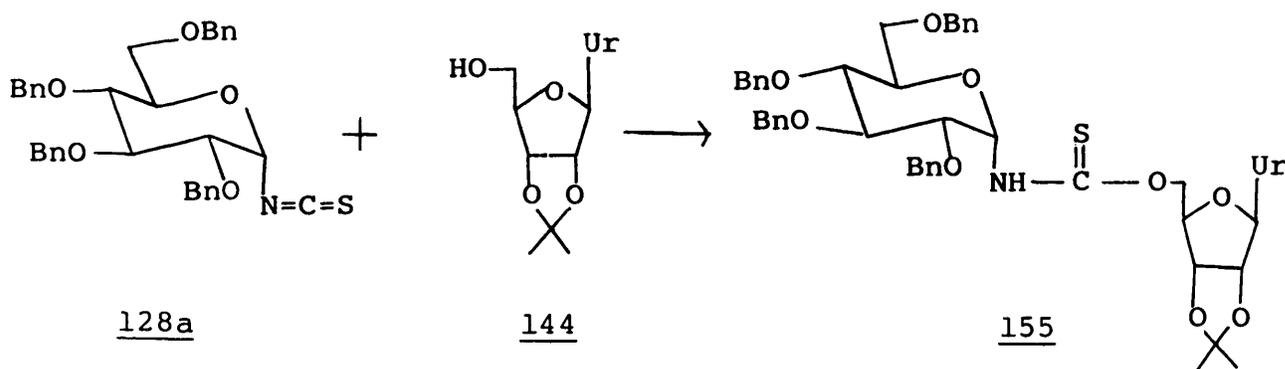
La unión del grupo sulfonilo del fragmento puente a la posición 5' de la uridina en 154a se demostró por la presencia en el espectro de $^1\text{H-RMN}$ de un singlete ancho a δ 10,85 ppm intercambiable con D_2O que se asignó al 3-NH de la uridina, así como por el desplazamiento a campo más bajo $\Delta\delta$ 0,1 y $\Delta\delta$ 0,5 ppm de las señales de los protones H-4' y H-5' respectivamente, en comparación con las señales de los mismos protones de la 2',3'-isopropilidénuridina.

Con el fin de disminuir la toxicidad que presentaba

el compuesto 154a debida a la presencia del grupo protector isopropilidén, fué necesaria la preparación de 154b al que se llegó por tratamiento de 154a con ácido trifluoroacético/agua (5:1) a temperatura ambiente. La formación de 154b se constató en el espectro de ^1H -RMN por la desaparición de los dos singletes a δ 1,25 y δ 1,50 ppm correspondientes al grupo isopropilidén de 154a.

5.2.2 PREPARACION DE 5'-O-[[[(GLUCOPIRANOSIL)OXI]PROPIL]URIDINA

La obtención del 5'-O-[[[(2",3",4",6"-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosil) amino]tiocarbonil]-2',3'-O-isopropilidén-uridina 155, se llevó a cabo mediante reacción del isotiocianato de 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosilo 128a (previamente sintetizado en el apartado 3) con el 5'-OH de la 2',3'-O-isopropilidénuridina en acetonitrilo seco a reflujo.



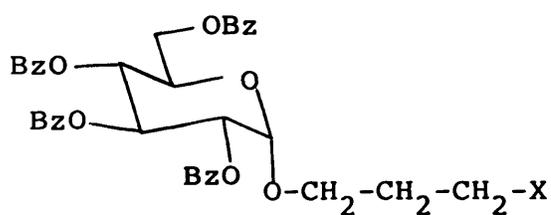
La síntesis de 155 está basada en la gran reactividad del grupo isotiocianato frente a nucleófilos tales como alcoholes, aminas, etc.

La identificación de 155 se realizó basándose en datos analíticos y espectroscópicos. La desaparición en IR de la banda a 2050 cm^{-1} , característica de la función NCS, junto con la aparición a 3200 cm^{-1} de una banda característica de amina y otra a 1680 cm^{-1} característica del grupo carbonilo de naturaleza imídica de la uridina, demostraba que se había producido el ataque de ésta al grupo isotiocianato de 128a. Este ataque tenía lugar por el OH en 5' de la uridina ya que en el espectro de $^1\text{H-RMN}$ aparecía a $\delta\ 9,10$ ppm la señal correspondiente al 3-NH libre del resto uridina de 153. En este caso las señales correspondientes a los protones H-5' de la ribosa aparecen menos desplazadas con respecto a las de estos mismos protones en la isopropilidénuridina que en las demás UDP-hexosas sintetizadas, por no ser el agrupamiento tiocarbonilo unido a la posición 5'-O suficientemente desapantallante.

La configuración anomérica del resto de glucosa se estableció como α en base al valor de la constante de acoplamiento $J_{1'',2''} = 3,66\text{ Hz}$ medida en la señal correspondiente al H-1'' que aparecía a $\delta\ 4,66\text{ ppm}$ y que indicaba una disposición ecuatorial para dicho protón.

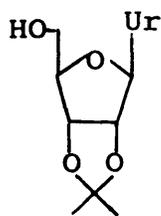
5.3 PREPARACION DE 3-N-[[(GLUCOPIRANOSIL)OXI] PROPIL] URIDINA

La síntesis de este producto se llevó a cabo por reacción de los 3-halopropil 2,3,4,6-tetra-O-benzoil- α -D-glucopiranosidos 141 y 143, cuya síntesis se describió en el apartado 4.2 anterior con 2',3'-O-isopropilidénuridina para dar el análogo de UDP-glucosa 3-N-[[(2",3",4",6"-tetra-O-benzoil- α -D-glucopiranosil)oxi]propil]-2',3'-O-isopropilidénuridina 156.

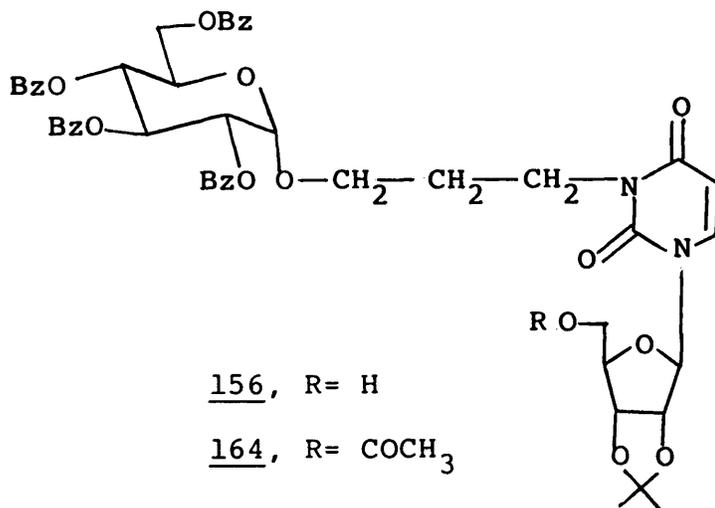


141, X= Br

143, X= I



144



156, R= H

164, R= COCH₃

La reacción se llevó a cabo en acetonitrilo seco a reflujo y en presencia de tamiz molecular y condujo al producto deseado 156 con un 37% de rendimiento.

La estructura del compuesto 156 se determinó en base a sus datos analíticos y espectroscópicos.

La configuración anomérica α del resto de tetrabenzoil glucosa se estableció a partir del espectro de $^1\text{H-RMN}$. La señal correspondiente al protón anómero de la glucosa a δ 5,31 ppm aparece como un doblete estrecho practicamente superpuesto con la señal de H-2" por este motivo, resultó difícil medir la constante de acoplamiento $J_{1",2"}$ en H-1". Sin embargo, dicha constante se pudo medir con facilidad en la señal correspondiente al H-2" que aparecía a δ 5,34 ppm en forma de cuadruplete, con una constante de acoplamiento grande, correspondiente al acoplamiento $J_{2",3"} = 8$ Hz y otra pequeña $J_{1",2"} = 3$ Hz debida al acoplamiento entre H-1" y H-2".

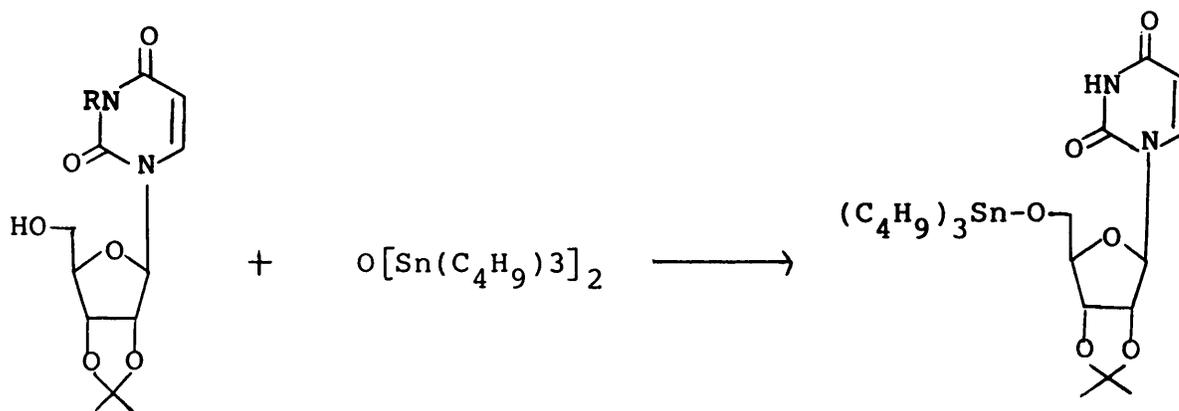
La unión del compuesto 141 al 3-NH de la uridina y no al oxígeno hidroxílico de la posición 5', se demostró por la presencia en el espectro de $^1\text{H-RMN}$ de 156, de un singlete ancho que aparece entre δ 2,50-2,80ppm intercambiable con D_2O y atribuible al grupo 5'-OH y por la ausencia de señales a δ 11,00-11,50 ppm intercambiables con D_2O , características del 3-NH libre de la uridina. La alquilación del 3-NH también se pudo comprobar por vía química. La acetilación de 156 con anhídrido acético/piridina a temperatura ambiente dió un producto (164) de recorrido cromatográfico superior al de partida. El espectro de $^1\text{H-RMN}$ de dicho producto acetilado 164 mostró, junto a la desaparición del singlete ancho correspondiente al 5'-OH de la uridina, la aparición de un singlete a δ 2,05 ppm asignable al metilo del acetilo.

El hecho de que el producto 156 pudiese ser acetilado fácilmente, junto con el desplazamiento químico a δ 2 ppm

del grupo metilo indicaron que dicho acetilo era de tipo éster y no de tipo imida, puesto que en este último caso la señal del metilo debería aparecer a campo más bajo. Esta asignación se comprobó también por el espectro de IR que dió una banda a 1790 cm^{-1} , característica del grupo carbonilo de un éster.

El hecho de que la reacción de alquilación se produzca sobre el 3-NH y no sobre el 5'-OH responde a la conocida mayor reactividad frente a la alquilación de dicho 3-NH¹⁵⁰. Por el contrario, la posición 5'-OH es más reactiva frente a la acilación, lo que explica que las reacciones con el grupo clorosulfonilo de los intermedios 157, 159 y 163 se dirijan únicamente a dicha posición 5'-OH.

Así mismo, se hicieron algunos intentos para dirigir la reacción de alquilación del bromuro de glucopiranosiloxipropilo a la posición 5'-OH de la uridina. Por ello, y en vistas de la menor reactividad de esta posición frente a la alquilación, se procedió a la activación por reacción de la isopropilidénuridina 144, con óxido de bis(tri-n-butilestaño) para dar el derivado 165¹⁴⁹.



144, R= H

166, R= CO-C₆H₅

165

La reacción de este derivado 165 con los dos bromopropil y iodo-propil glucopiranosidos 141 y 143 en condiciones de reacción análogas a las descritas anteriormente, condujo al mismo producto 3-N-alquilado 156, obtenido anteriormente

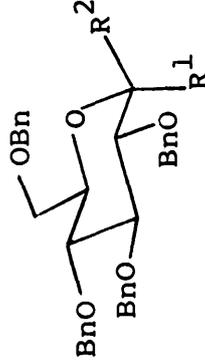
Con el fin de evitar la reacción de alquilación en la posición 3-N de la uridina se procedió a su bloqueo mediante la preparación de la 3-N-benzoil-2',3'-O-isopropilidénuridina 166. Los distintos intentos de alquilación de 166 y de su derivado organoestannico activado en posición 5', también condujeron al 3-N-[[glucosil]propil]derivado 156, debido a que en el medio de reacción se producía la 3-N-desbenzoilación, generándose el compuesto 144 o el 165 que por reacción con el halopropilglucósido correspondiente daba el producto de 3-N-alquilación 156. Resultados análogos se han obtenido en distintos intentos de O-alquilación en otros nucleósidos (citidina y adenosina) por Moffatt y colaboradores¹⁵¹.

La utilización de otros métodos de alquilación más clásicos, que utilizan bases como Ag_2O o NaH , condujeron a mezclas complejas de las que no pudo aislarse ningún producto definido.

T A B L A S

TABLA 1

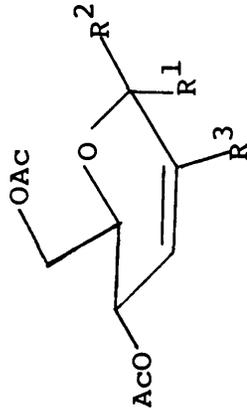
Parámetros magnéticos de cianuros de 2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucopiranosilo y de otros C-glicósidos derivados, registrados en CDCl₃ a 90 MHz.



comp	R ¹	R ²	H-1	H-2, H-3, H-4, H-5, H-6	CH ₂ Ph	J _{1,2}	Otros
<u>62</u>	CN	H	4,45 ^a)	-----3,40-4,00-----	4,40-5,00	4	
<u>63</u>	H	CN	4,05 ^b)	-----3,25-3,90-----	4,40-5,00	8	
<u>68</u>	CHO	H	5,80	-----3,57-4,48-----	4,48-4,93	3	9,20(s,1,CHO)
<u>69</u>	CH=N-NH (NO ₂)Ph	H	5,45	-----3,70-4,41-----	4,50-5,00	3	9,10(d,1,CH=N, J _{1,CH=N} =3Hz)
<u>64</u>	CH ₂ NH ₂	H	-----	-----3,70-4,41-----	4,35-5,20	-	3,20-3,30 (m, 2, CH ₂ -NH ₂)
<u>65</u>	H	CH ₂ NH ₂	-----	-----3,40-4,00-----	4,25-4,90	-	3,10-3,40(m,2, CH ₂ NH ₂)
<u>66</u>	CH ₂ NHCOCH ₃	H	-----	-----3,25-3,83-----	4,49-4,98	-	5,75 (s,1,NHCO 1,95 (s,3,CH ₃ C
<u>67</u>	H	CH ₂ NHCOCH ₃	-----	-----3,30-3,90-----	4,43-4,93	-	5,80 (s,1,NHCO 1,85 (s,3H,CH ₃

TABLA 2

Parámetros magnéticos de cianuros de hex-2-enopiranosilo, registrados en CDCl₃ a 90 MZ



Desplazamientos químicos (δ)

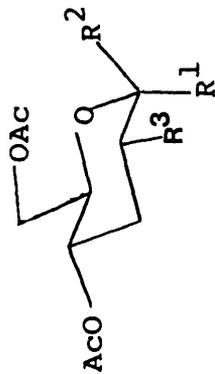
comp	R ₁	R ₂	R ₃	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	CH ₃ -CO
<u>75</u>	CN	H	H	5,08	5,89	6,03	5,36	4,03	4,27	2,12
<u>76</u>	H	CN	H	5,13	5,91	6,03	5,32	3,83	4,29	2,08 y 2,10
<u>81</u>	CN	H	OAc	5,12	-	5,94	5,50	4,08	4,30	2,12 y 2,22
<u>82</u>	H	CN	OAc	5,36	-	5,87	5,40	3,91	4,26	2,08, 2,12 y 2,23

Constantes de acoplamiento (Hz)

comp	J _{1,2}	J _{1,3}	J _{1,4}	J _{2,3}	J _{2,4}	J _{3,4}	J _{4,5}
<u>75</u>	2,9	1,3	1,8	10,2	1,4	1,3	9,0
<u>76</u>	1,8	1,8	2,3	10,2	1,8	1,8	8,5
<u>81</u>	-	1,3	1,6	-	-	2,4	8,5
<u>82</u>	-	1,9	2,1	-	-	3,0	7,1

TABLA 3

Parámetros magnéticos de cianuros de desohexopiranosilo, registrados en $CDCl_3$ a 90 Mz



Desplazamientos químicos (δ)

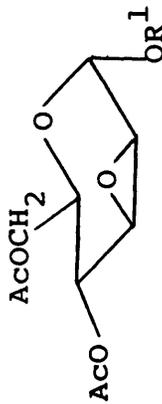
comp	R ₁	R ₂	R ₃	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	CH ₃ -CO
<u>91</u>	CN	H	H	4,88	1,68-2,38	4,68	3,95	4,22	2,06	
<u>92</u>	H	CN	H	4,27	1,83-2,63	4,69	3,53	4,15	2,03 y 2,12	
<u>93</u>	CN	H	OAc	5,00	4,75	2,53	4,87	3,97	4,17	2,06 y 2,08

Constantes de acoplamiento (Hz)

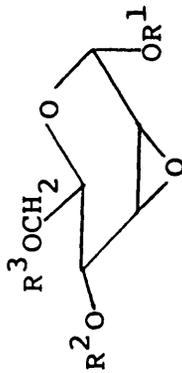
comp	R ₁	R ₂	R ₃	J _{1,2a} + J _{1,2e}	J _{2,3a} + J _{2,3e}	J _{3a,4} + J _{3e,4}	J _{4,5}
<u>91</u>	CN	H	H	6,5	-	15,2	10,0
<u>92</u>	H	CN	H	11,1	-	15,2	10,2
<u>93</u>	CN	H	OAc	3	14	-	10,1

TABLA 4

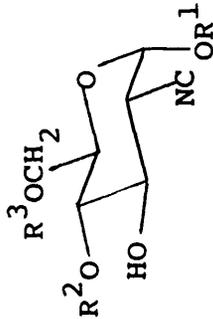
Parámetros magnéticos de 2,3-anhidro-hexopiranosidos (97, 99, 109a, 111a) y de etil 4,6-di-O-acetil-2-C-ciano-2-desoxi- α -D-glucopiranosido (101), registrados en CDCl₃ a 300 Mz



97



99, 109a, 111a



101

Desplazamientos químicos (δ)

comp	R ¹	R ²	R ³	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	Otros
97*	Et	OAC	OAC	5,00	3,04	3,20	4,83	--3,47-4,30-		1,26 (t, 3, CH ₂ CH ₃) 3,63 (c, 2, CH ₂ CH ₃) 2,06 y 2,12 (2s, 6, CH ₃ CO)
99	Et	OAC	OAC	5,05	3,54	3,57	5,08	--4,09-4,26-		1,26 (t, 3, CH ₂ CH ₃) 3,55-3,89 (c, 2, CH ₂ CH ₃) 2,08 y 2,12 (2s, 6, CH ₃ CO)
101	Et	OAC	OAC	4,67	3,80	4,37	4,46	3,95	4,21 (H-6) 4,34 (H-6') (sist. AB)	1,24 (t, 3, CH ₂ CH ₃) 3,81 y 3,57 (sist AB), J _{gem} = 9,6 Hz, 2, CH ₂ CH ₃) 2,53 (s, 1, OH)
* Registrado a 90 Mz.										

TABLA 4 (continuación)

Desplazamientos químicos (δ)

comp	R ¹	R ²	R ³	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	Otros
<u>109a</u>	Met	H	H	4,92	3,58	3,49	-----	3,77-4,01 ^{a)}	--	3,43 (s, 3, OCH ₃)
			NC-C- C ₆ H ₅							5,39 (s, 1, CH-C ₆ H ₅)
<u>111a</u>	Met	H	H	4,88	3,51	3,56	4,27	3,70-3,90		3,43 (s, 3, OCH ₃)
			C ₆ H ₅ -C- CN							5,53 (s, 1, CHC ₆ H ₅)
										1,95 (s ancho, 1, OH)

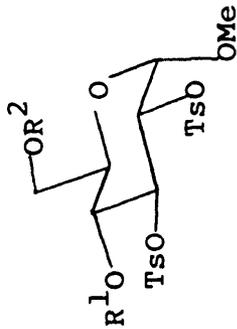
a) En este multiplete está incluida la señal correspondiente al OH.

Constantes de acoplamiento (Hz)

comp	J _{1,2}	J _{1,3}	J _{1,4}	J _{2,3}	J _{2,4}	J _{3,4}	J _{4,5}	J _{6,6'}
<u>97</u>	0,5	0,5	-	3,6	-	0,5	9,5	
<u>99</u>	2,6			4,2		1,5	9,8	
<u>101</u>	5,4			7,6		7,6	8,9	12,0
<u>109a</u>	3,1			4,2		1,8	-	
<u>111a</u>	2,9			4,2		1,5	9,3	

TABLA 5

Parámetros magnéticos de metil 4-O-[(S)-cianofenilmetil]- y -6-O-[(R)-cianofenilmetil]-2,3-di-O-p-toluensulfonil- α -D-glucopiranosido (115 y 114), registrados en CDCl₃ a 90 MHz.



Desplazamientos químicos (δ)

comp	R ¹	R ²	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	OCH ₃	CHC ₆ H ₅	Otros
<u>114</u>	H	H	4,68	4,20	5,30	4,05	3,70	3,94	3,20	5,96	2,15 (s.a, 1,OH) 2,42 (s,6,2 CH ₃ -Tos)
<u>115</u>		H	4,83	4,31	5,18	---	3,48-4,03---	3,23	3,23	5,45	1,75 (s.a, 1,OH) 2,36, 2,42 (2s,6, 2 CH ₃ -Tosil)

Constantes de acoplamiento (Hz)

comp	J _{1,2}	J _{2,3}	J _{3,4}	J _{4,5}
<u>114</u>	3,5	10	9,5	9,5
<u>115</u>	3,5	9,5	10	-

TABLA 6

Parámetros magnéticos de isotiocianatos de glicosilo , registrados en DMSO a 90 MHz

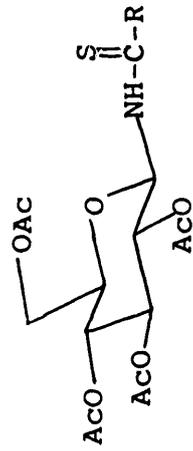
Desplazamientos químicos (δ)									
comp	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	Otros	$J_{1,2}$ (Hz)	
<u>123</u>	5,62	5,35	4,95	-----	3,90-4,25-----	-----	1,92,1,98, 2,05, 2,10 (4s, 12, $\underline{\text{CH}_3\text{CO}}$)	8,5	
<u>124a</u>	5,35	4,73-5,20		-----	3,90-4,20-----	-----	1,81, 1,92, 1,97, 2,01 (4s, 12, $\underline{\text{CH}_3\text{CO}}$); 8,21 (s,1, $\underline{\text{NHAC}}$)	9	
<u>125</u>	5,82	5,25-5,42		4,06-4,48	-	-	2,03, 2,09 (2s,9, $\underline{\text{CH}_3\text{CO}}$)	3,3	
<u>126</u>	5,38							5,5	
<u>127^{b)}</u>	5,50	-----	5,15-5,40-----	-----	3,9-4,35	-----	2,00, 2,09, 2,12, 2,20 (4s, 12, $\underline{\text{CH}_3\text{CO}}$)	2	
<u>128a^{b)}</u>	5,45	-----	-----	3,41-4,01-----	-----	-----	4,30-4,90 (m,8, $\underline{\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5}$)	3,6	
<u>128b^{b)}</u>	-a)	-----	-----	3,27-3,82-----	-----	-----	4,47-5,00 (m,8, $\underline{\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5}$)	-a)	

a) Incluido en un multiplete a δ 4,47-5,00 de los 4 $\underline{\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5}$

b) Registrados en CDCl_3

TABLA 7

Parámetros magnéticos de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil-amino-tiocarbonil derivados, registrados a 90 MHz.



Desplazamientos químicos (δ)

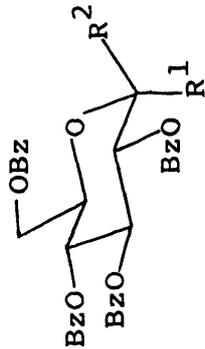
comp	R	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	CH ₃ CO	NHCS	Otros
<u>129</u> a)	OCH ₂ CH ₃	5,80	5,39	5,02	---3,88-4,29----	---	---	1,90-2,10	8,50	1,28(t,3,OCH ₂ CH ₃) 4,45(c,2,OCH ₂ CH ₃)
<u>131</u> b)	NHCONH ₂	5,75	-----4,93-5,52-----	---	---	3,70-4,45	---	1,97	10,70	6,02(s.a,1,CONH ₂) 9,60(s.a,1,CS-NH-CO)
	a) Registrado en CDCl ₃							2,03		
	b) Registrado en DMSO							2,08		

Constantes de acoplamiento (Hz)

comp	J _{1,2}	J _{2,3}	J _{3,4}	J _{1,NH}
<u>129</u>	8,5	8,5	8,5	8
<u>131</u>	8	-	-	9

TABLA 8

Parámetros magnéticos de 3-Bromopropil y 3-iodopropil 2,3,4,6-tetra-O-benzoil-D-glucopiranosidos, registrados en CDCl_3 a 90 MHz.



Desplazamientos químicos (δ)

comp	R ¹	R ²	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	O-CH ₂	Otros
<u>141</u>	O(CH ₂) ₃ Br	H	5,30 ^{a)}	5,25	6,10	5,60	4,30-4,60	3,80-4,60	3,80-4,10	3,42 (CH ₂ X)
<u>143</u>	O(CH ₂) ₃ I	H	5,35 ^{b)}	5,30	6,15	5,65	4,30-4,65	3,75-4,65	3,30-3,70	2,10 (-CH ₂ -)
<u>142</u>	H	O(CH ₂) ₃ I	4,80 ^{c)}	5,40	5,80	5,65	3,75-4,25	4,50	3,40-3,70	3,20 (CH ₂ X)
									3,80-4,05	2,05 (-CH ₂ -)
										3,05 (CH ₂ X)
										1,90 (-CH ₂ -)

a) $J_{1,2} = 3$ Hz

b) $J_{1,2} = 3$ Hz

c) $J_{1,2} = 8$ Hz

P A R T E E X P E R I M E N T A L

Los puntos de fusión se midieron en un aparato Kofler y no están corregidos.

Los análisis elementales fueron realizados por J. Prieto y por Eutiquio Barbero, bajo la dirección del Dr. Calderón en el laboratorio de microanálisis del C.N.Q.O.

Los espectros de $^1\text{H RMN}$ fueron registrados en un espectrómetro Varian EM-390 a 90 MHz, en un Varian XL-300 a 300 MHz, utilizando TMS como referencia interna.

Los espectros de IR se registraron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer, modelo 257.

Los poderes rotatorios se determinaron en un polarímetro Perkin-Elmer 141.

Las cromatografías preparativas se realizaron en placas de 2 mm de grosor, con gel de sílice HF_{254} Merck. Las cromatografías en placa fina analítica se realizaron en cromatofolios de 0,2 mm de espesor, con gel de sílice tipo 60 Merck F_{254} . Los compuestos se detectaron con una lámpara de luz UV de 254 nm y/o mediante pulverización con una disolución de ácido sulfúrico-etanol (3:7) y calentando.

Las separaciones cromatográficas en columna se realizaron con gel de sílice Merck tipo 60, 70-230 Mesh y 230-400 Mesh.

7 PREPARACION Y ORIGEN DE LOS PRODUCTOS DE PARTIDA

<u>D-(+)-Glucosa anhidra.-</u>	Procedencia comercial Carlo Erba
<u>Clorhidrato de D-Glucosamina.-</u>	Procedencia comercial F.E.R.O.S.A
<u>D-(-)-Ribosa.-</u>	Procedencia comercial Fluka A.G
<u>D-Manosa.-</u>	Procedencia comercial F.E.R.O.S.A
<u>D-(-)-Arabinosa.-</u>	Procedencia comercial Carlo Erba
<u>Uridina.-</u>	Procedencia comercial Fluka A.G
<u>Cianuro de trimetilsililo.-</u>	Procedencia comercial Fluka A.G
<u>3-Bromopropanol.-</u>	Procedencia comercial Merck
<u>Clorosulfonilisocianato.-</u>	Procedencia comercial Merck
<u>Oxido de bis-(tri-n-butilestaño).-</u>	Procedencia comercial Fluka A.G

2,3,4,6-Tetra-O-bencil- α -D-glucopiranososa¹⁵³

1.-Síntesis de metil- α -D-glucopiranósido

Se hizo pasar una corriente de cloruro de hidrógeno seco en metanol anhidro (40 g, 50 mL), enfriando con hielo y en ausencia de humedad, hasta que el peso se incrementó en 1 g. A esta disolución se le añadió metanol anhidro (360 g, 456 mL) hasta conseguir una disolución de ácido clorhídrico al 0,25%. Seguidamente la disolución se mezcló con D-glucosa finamente pulverizada (100 g, 0,55mol) y la mezcla se calentó a reflujo durante 72 h en ausencia de humedad. Se enfrió a 0 °C y se rascó para iniciar la cristalización. Después de 12 h enfriando a 0 °C se filtró

a vacío y el filtrado se lavó con metanol frío (2 × 20 mL). Con las aguas madres y de lavado se siguió el mismo proceso de reflujo y cristalización. Se unieron las distintas porciones y se recristalizaron de metanol obteniéndose 22,84 g (53%) del producto deseado. P.f 166-168°C ; P.f biblio¹⁵³ 164-165°C.

2.- 2,3,4,6-Tetra-O-bencil- α -D-glucopiranososa

Una suspensión de metil α -D-glucopiranosido (20g, 0,1 mol) e hidróxido potásico pulverizado (100g, 1,78 mol) en dioxano seco se calentó a reflujo suave con agitación mientras se añadió, durante un periodo de 15 min, cloruro de bencilo (127,2 mL 1,1 mol). Se continuó el reflujo y la agitación durante otros 30 min y a continuación se destiló el dioxano. El residuo obtenido se enfrió y se le añadió agua suficiente para disolver la masa cristalina. El metil-2,3,4,6-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosido se extrajo de la disolución acuosa con éter etílico. Los extractos étereos se lavaron con agua y se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron con carbón activo y se concentraron a presión reducida. El residuo siruposo se disolvió en ácido acético glacial caliente (1 L) y se diluyó con ácido sulfúrico 2 N (216 mL) a ebullición. Después de mantener la disolución durante 2 h a una temperatura próxima a los 100°C se diluyó de nuevo con ácido sulfúrico 2N (216 mL) y se continuó la calefacción durante 24 h. La mezcla resultante se enfrió, se vertió sobre agua (8 L) y se dejó durante dos días a temperatura ambiente. Trás recoger el producto crudo por filtración se recristalizó de metanol, dando 15,6 g (28%) del producto deseado. P.f 151-153°C; p.f bibl¹⁵³ 151-152°C .

1-O-Acetil-2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucopiranososa (61a)¹⁵⁴

A una disolución de 2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucopiranososa (4,04 g, 7,2 mmol) en 15 mL de piridina, enfriada externamente con baño de hielo se le añadieron gota a gota 10 mL de anhídrido acético. Se continuó la agitación a temperatura ambiente hasta la desaparición del producto de partida y la masa de reacción se vertió sobre agua-hielo y se extrajo con cloroformo. La fase clorofórmica se lavó sucesivamente con SO₄H₂ (2N), bicarbonato sódico y agua. Después de secar sobre sulfato sódico y evaporar el disolvente se obtuvieron 4,15 g (95%) del producto deseado en forma de jarabe amarillo. $[\alpha]_D + 47^\circ$ (c 1, cloroformo); $[\alpha]_D$ bibl¹⁵⁴ + 51° (c 4,2, benceno)

Cloruro de 2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucopiranosilo (122)¹⁵⁴

Se disolvieron 2,91 g (5 mmol) de 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranososa en cloruro de tionilo (10 mL) y la disolución resultante se calentó a 70°C durante 3 h. A continuación se evaporó el disolvente y el residuo se liberó del cloruro de tionilo que no había reaccionado por adición de tolueno y evaporación a sequedad tres veces. De esta forma se obtuvo el producto deseado (3 g, 100%) en forma de sirupe marrón. $[\alpha]_D 100^\circ$ (c 1, cloroformo); $[\alpha]_D$ bibl¹⁵⁴ 95° (c 4, benceno).

En un matraz de tres bocas, de un litro de capacidad, equipado con un agitador eficaz y un termómetro, se enfriaron 400 mL de anhídrido acético destilado con una mezcla agua-hielo. Se añadieron, gota a gota, 2,4 mL de ácido perclórico al 60-70%. Se dejó a la solución alcanzar la temperatura ambiente, y se le añadieron durante un periodo de aproximadamente 30 min, 100 g de D (+) glucosa anhidra, a una velocidad tal, que la temperatura de la reacción se mantuviese entre 30 y 40°C. Una vez acabada la adición, se enfrió la mezcla con un baño de agua hasta 20°C y se añadieron sucesivamente 30 g de fósforo rojo, 180 g (58 mL) de bromo y 36 mL de agua, gota a gota, manteniendo siempre la temperatura de la mezcla de reacción a 20°C. Cuando la mezcla alcanzó la temperatura ambiente, se agitó durante 2 h. Se adicionaron entonces 300 mL de cloroformo, filtrándose la mezcla sobre lana de vidrio. El matraz y la lana de vidrio se lavaron con 50 mL de cloroformo que se unieron al filtrado. El filtrado se vertió sobre 800 mL de mezcla agua-hielo y la mezcla se separó en un embudo de decantación. La fase acuosa se trató con 50 mL de cloroformo, y la fase clorofórmica se lavó con 300 mL de agua helada. Los extractos clorofórmicos unidos se trataron, en un embudo de separación, con 500 mL de solución saturada de bicarbonato sódico. La fase clorofórmica resultante, se agitó durante 10 min con 10 g de ácido silícico. Después de filtrar el ácido silícico, quedó una solución debilmente amarilla que se evaporó a presión reducida (temperatura del baño menor de 60°C). La masa cristalina resultante se transfirió a un

mortero con la ayuda de 500 mL de una mezcla (2:1) de éter de petróleo y éter sulfúrico, triturándose con el disolvente. La mezcla triturada se filtró y el residuo sólido se lavó con 50 mL de éter anhidro frío. El bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo crudo se secó a presión reducida sobre hidróxido sódico. Rendimiento 144 g (63%). P.f 78-84°C; p.f bibl¹⁵⁵ 79-84°. Se recristalizó de éter sulfúrico-hexano. P.f 87-89°; p.f bibl¹⁵⁵ 88-89°. $[\alpha]_D$ 198° (c 1, cloroformo); $[\alpha]_D$ bibl¹⁵⁵ 198°

3,4,6-Tri-O-acetil-D-glucal (70)¹⁵⁶

Una suspensión de α -acetobromo glucosa (161) (10 g, 0,024 mol) en 100 cc de una mezcla al 50% de ácido acético-hielo, se trató, lentamente y con agitación vigorosa, con 20 g de zinc en polvo, manteniendo la temperatura a 20°C. A esta temperatura se agitó la mezcla vigorosamente durante una hora y media, durante la cual el bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo va pasando poco a poco a la disolución. Transcurrido este tiempo, el residuo sólido de zinc se filtró, procurando que nunca quede seco, pues podría inflamarse. La solución clara resultante se concentró a vacío a una temperatura menor de 40°C hasta que apareció un precipitado blanco de sales de zinc. La mezcla se diluyó con 100 cc de agua, apareciendo un aceite que se extrajo con éter repetidamente. Los extractos étereos reunidos se lavaron sucesivamente con solución de bicarbonato sódico y agua. El extracto étereo se secó con sulfato sódico y se evaporó a vacío. La inoculación del aceite incoloro resultante da lugar a una rápida cristalización

del 3,4,6-tri-O-acetil-D-glucal.

Para la purificación se recristalizó el sólido de etanol absoluto, añadiendo luego éter de petróleo hasta turbidez. Rendimiento: 5,3 g (81%). P.f 52-53°C ; p.f bibl¹⁵⁶ 54-55°C. $[\alpha]_D$ -19,2° (c 1, cloroformo); $[\alpha]_D$ bibl¹⁵⁶ -15,76°.

2,3,4,6-Tetra-O-acetil-2-hidroxi-D-glucal (80)¹⁵⁷

METODO A

A una solución enfriada con hielo de 4,1 g (10 mmol) de bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo en 5 mL de dimetil formamida anhidra, se le añadieron gota a gota 1,67 g (11 mmoles) de 1,5 diazabicyclo [5,4,0] undec-5-eno. La reacción se dejó durante 6 h a temperatura ambiente, tratándose entonces con 15 mL de mezcla agua-hielo. Se forman 2,8 g (85%) de un sólido blanco, que cristaliza de agua. P.f 64-65°C; p.f bibl¹⁵⁷ 65-66°C. $[\alpha]_D$ -20° (c 1, etanol; $[\alpha]_D$ -20,4° (c 1, etanol)¹⁵⁷

METODO B

A una solución enfriada de 4,1 g (10 mmol) de bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranosilo en 40 mL de benceno anhidro se añaden 1,75 g de 1,5-diazabicyclo[5,4,0]undec-5-eno. Al cabo de pocos minutos aparece un precipitado blanco. La mezcla se dejó durante 16 h a temperatura ambiente, el sólido se eliminó por filtración y se lavó cuidadosamente con benceno. La

solución bencénica se lavó tres veces con porciones de 50 mL de agua y se secó con sulfato magnésico anhidro. Por evaporación se obtuvo un sirupe que cristalizó por trituración con agua. Finalmente se obtuvieron 2,25 g (68%) de cristales idénticos en todos los aspectos a los obtenidos por el método A.

Etil 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosido
(95)⁸⁵

Una solución de 5 g (18,4 mmoles) de 3,4,6-tri-O-acetil-D-glucal en una mezcla de 20 mL de benceno anhidro y 1,8 mL (1,7 mmoles) de etanol absoluto se trató con 1 mL de trifluoruro de boro eterato. Después de agitar a temperatura ambiente durante 25 min, se añadieron a la mezcla, lentamente y con agitación, 10 g de carbonato sódico hasta neutralización. Se eliminó el sólido por filtración y el disolvente se evaporó a vacío; el sirupe resultante se trituró con etanol frío dando lugar a 2,8 g de etil 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranosido. De las aguas madres se obtuvo otra porción de 0,5 g de producto idéntico al de la primera cristalización. Rendimiento total 70%. P.f 98-99°C; p.f bibl⁸⁵ 100-101°C. $[\alpha]_D$ 99° (c 1, cloroformo); $[\alpha]_D$ bibl⁸⁵ 100°.

Metil 4,6-O-bencilidén- α -D-glucopiranosido¹⁵⁸

Una mezcla de metil α -D-glucopiranosido (5 g, 26 mmol), cloruro de zinc (3,75 g, 27,5 mmol) finamente dividido y

benzaldehído (12,5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 18-48 h. La masa de reacción se vertió sobre agua-hielo (125 mL). Se inoculó la mezcla con cristales y se mantuvo bajo refrigeración 16 h. Se añadió éter de petróleo (10 mL) y se agitó durante media hora con el fin de eliminar el exceso de benzaldehído. A continuación, se extrajo la mezcla con agua fría, éter de petróleo y por último otra vez con agua fría. La fase orgánica se evaporó a vacío y el producto obtenido se secó al aire durante 16 h y luego se mantuvo a vacío a 70°C durante unas horas. De esta forma se obtuvieron 3,86 g (54%) del producto deseado.

El metil 4,6-O-bencilidén- α -D-glucopiranosido puede ser recristalizado de agua caliente o de cloroformo-éter, dando lugar al producto deseado en forma de agujas. P.f 164-165°C; p.f bibl¹⁵⁸ 163-164°C. $[\alpha]_D^{105}$ (c 1, cloroformo); $[\alpha]_D^{110}$ bibl¹⁵⁸ 110° (c 2, cloroformo).

Metil 4,6-O-bencilidén-2,3-di-O-p-tolilsulfonil- α -D-glucopiranosido (113)¹⁵⁹

A una disolución fría (5°C) de metil 4,6-O-bencilidén- α -D-glucopiranosido (1 g, 3,5 mmol) en piridina (3,5 mL) se le añadió cloruro de p-toluensulfonilo (1,4 g, 7,3 mmol) durante un periodo de 15 min, aproximadamente. La mezcla se agitó durante 48 h a 30°C y se vertió sobre agua. La fase orgánica se extrajo con cloroformo, se lavó con ácido sulfúrico al 5%, con una disolución de bicarbonato sódico y finalmente con agua. Los extractos

clorofórmicos se secaron, filtraron y evaporaron a sequedad. El residuo obtenido se recristalizó de etanol para dar el producto deseado (0,9g, 43,06%). P.f 148-149°C; p.f bibl¹⁵⁹ 148-149°C. $[\alpha]_D^{10}$ (c 1, cloroformo); $[\alpha]_D$ bibl¹⁵⁹ 13° (c 1,5, cloroformo).

Metil 2,3-anhidro-4,6-O-bencilidén- α -D-alopiranosido (108)¹⁵⁹

A una disolución de metil 4,6-O-bencilidén-2,3-di-O-p-toluil-sulfonil- α -D-glucopiranosido (1 g, 1,7 mmol) en piridina seca, se le añadió una disolución de sodio (0,14 g, 6 mmol) en metanol (3,2 mL). La mezcla se agitó durante 24 h a temperatura ambiente y se le añadió agua (4 mL). El sólido precipitado fué filtrado, lavado y recristalizado de cloroformo-éter para dar 0,37 g (82%) del producto deseado. P.f 200°C; p.f bibl¹⁵⁹ 199-200°C $[\alpha]_D$ 133° (c 1, cloroformo); $[\alpha]_D$ 140° (c 2,2, cloroformo)¹⁵⁹

Cloruro de 2-acetamido-2-desoxi-3,4,6-tri-O-acetil- α -D-glucopiranosilo (118)¹⁶⁰

1.- Acetamido-2-deoxi- α -D-glucopiranososa

Se añadieron 11,50 g (500mmol) de sodio en pequeñas porciones sobre 500mL de metanol frío. Cuando todo el sodio se había disuelto se calentó la solución a 25°C y se añadió hidrocloreuro de 2-amino-2-deoxi- α -D-glucosa (110 g, 510 mmol). La mezcla se agitó durante 5 min y a continuación se filtró

rapidamente con el fin de que la base libre no cristalizase. El filtrado se lavó dos veces con porciones de 100 mL de metanol. Los filtrados que estaban supersaturados del aminoazúcar, fueron tratados inmediatamente con 60 mL (630 mmol) de anhídrido acético, mientras se enfriaba externamente el matraz de reacción. La disolución se mantuvo durante 16 h a 25°C y a continuación se enfrió a 0°C durante unas horas para completar la cristalización. Se filtró el sólido, se lavó con 100 mL de metanol y con 3 x 100 mL porciones de éter. De esta forma se obtuvieron 102-106 g (92-96%) del producto deseado. P.f 204°C: p.f bibl¹⁶⁰ 203-205°C decomp. $[\alpha]_D^{73}$ (c 1, cloroformo); $[\alpha]_D^{75}$ (inicial, extrapolado) 41° (c 2, agua). El producto se obtiene lo suficientemente puro como para ser utilizado en el paso siguiente. No obstante se puede cristalizar disolviéndole en la mínima cantidad de agua y añadiendo 7-8 volúmenes de etanol seguido de adición de éter hasta turbidez.

2.- Cloruro de 2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetil-2-desoxi- α -D-glucopiranosilo

En un matraz con refrigerante se colocaron 50 g (226 mmol) de 2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa seca, a continuación se añadieron 100 mL de cloruro de acetilo a través del refrigerante. La mezcla se agitó durante 16 h intentando mantener la temperatura a 25°C. La mezcla de reacción hirvió espontáneamente durante la primera hora de reacción.

A través del refrigerante, se añadieron 400 mL de cloruro de metileno y la solución se vertió sobre 400 g de

hielo y 100 mL de agua. Se extrajo la fase orgánica, se vertió sobre una mezcla de agua-hielo y 400 mL de solución saturada de bicarbonato sódico extrayéndose de nuevo la fase orgánica. Dicha fase se secó sobre sulfato magnésico. Todo el proceso de lavado debe durar 15 min como máximo. Después, se concentró la disolución hasta 75 mL (50°C), se añadieron 500 mL de éter seco y se dejó en reposo hasta que el producto cristalizó. Después de filtrar y lavar con dos porciones de 150 mL de éter seco se obtuvieron 55-65 g (67-79%) del producto deseado. P.f 128-129°C; p.f bibl¹⁶⁰ 127-128°C. $[\alpha]_D^{100}$ (c 1, cloroformo); $[\alpha]_D^{160}$ 110° (c 1, cloroformo).

1,2,3,5-Tetra-O-acetil- β -D-ribofuranosa¹⁶¹

Una disolución de 32 g de D(-) ribosa en 500 mL de metanol seco se trató con 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado, y se dejó a una temperatura de 0 a 3°C durante 12-14 h, al cabo de las cuales se neutralizó con 100 mL de piridina seca. La mezcla se evaporó a sequedad y el residuo se disolvió en 250 mL de piridina seca. Esta disolución se enfrió en baño de hielo, se añadieron 100 mL de anhídrido acético y se dejó a temperatura ambiente durante dos días concentrándose a continuación a presión reducida. El residuo se disolvió en 1 L de cloroformo y la disolución se lavó tres veces con 100 mL de agua, se secó con sulfato sódico y se evaporó a sequedad. El sirupe resultante se disolvió en una mezcla de 300 mL de ácido acético y 70 mL de anhídrido acético. La disolución se enfrió en baño de hielo, se trató

con 15 mL de ácido sulfúrico concentrado y se dejó a temperatura ambiente durante 12 h, al cabo de las cuales se añadieron con agitación 400 g de hielo. La disolución resultante, se extrajo con cloroformo, se lavó con agua y luego con una disolución acuosa de bicarbonato sódico, se secó y por último se evaporó para dar un sirupe espeso, que se trató con 40 mL de etanol frío. Precipitó de esta forma el producto deseado en forma de sólido blanco, (28,70 g, 45%). Pf 77-80°C; p.f bibl¹⁶¹ 79-82°C.

Cloruro de 2,3,5-tri-O-acetil-D-ribofuranosilo (119)¹⁶²

Una disolución fría (0°C) de 1,2,3,5-tetra-O-acetil-β-D-ribofuranosa (5g, 15,7 mmol) en cloruro de metileno anhidro (32 mL) se saturó con cloruro de hidrógeno seco y se dejó a 0°C durante 1 h, manteniendo un lento burbujeo de HCl para conservar la saturación. A continuación se concentró la disolución a la temperatura de 25°C y el residuo se coevaporó con xileno (3 × 5 mL) para dar un jarabe que se conservó a vacío a -24°C hasta el momento de su utilización

1,2,3,4-tetra-O-benzoil-α-D-arabinopiranososa¹⁶³

Sobre 75 mL de piridina seca a reflujo se fueron añadiendo 10 g de β-D-arabinosa. La disolución se mantuvo durante 24 h a temperatura ambiente. A continuación se enfrió en baño de

hielo y se agitó vigorosamente mientras se fueron añadiendo de manera gradual 39 mL (5 mol) de cloruro de benzoilo. Seguidamente, se dejó la mezcla de reacción durante un día a temperatura ambiente. Se añadió 1 mL de agua y la mezcla se diluyó con 75 mL de cloruro de metileno y se lavó dos veces con ácido sulfúrico 3N frío y dos veces con solución saturada de bicarbonato sódico. La disolución de cloruro de metileno se secó con sulfato sódico, se filtró y se concentró a presión reducida (40-45°C). El sirupe resultante se disolvió en 100 mL de etanol absoluto y se concentró bajo presión reducida, cristalizando el producto deseado. La masa semi-cristalina se disolvió en 700 mL de metanol a reflujo. Después de enfriar, se obtuvo el producto deseado en forma de cristales. Rto 11,1 g (29%). P.f 164°C; p.f bibl¹⁶³ 163°. $[\alpha]_D -120^\circ$ (c 1, cloroformo); $[\alpha]_D$ bibl¹⁶³ -114° (cloroformo).

Bromuro de 2,3,4-tri-O-benzoil- β -D-arabinopiranosilo (120)¹⁶⁴

Se disolvieron 4,6 g de cualquier anómero o mezcla de anómeros de tetra-O-benzoil arabinopiranososa en 4,6 mL de cloruro de metileno. A continuación se añadieron 9,2 mL de una solución de bromuro de hidrógeno en acético glacial (32%) y se dejó la solución a temperatura ambiente 2,75 h. Seguidamente se diluyó la mezcla de reacción con 20 mL de cloruro de metileno y se vertió sobre hielo. La fase orgánica se liberó de ácido por sucesivos lavados con agua-hielo y solución acuosa de bicarbonato sódico. Después de secar con Na₂SO₄, se filtró la solución a través de una delgada capa de carbón activo, y se concentró a vacío (40-45°C) obteniéndose un

jarabe. Dicho jarabe se disolvió en 1 mL de éter seco, y se añadieron 6 mL de pentano. De esta forma se obtuvo el producto deseado en forma de cristales. P.f 148°C; p.f bibl¹⁶⁴ 147-8°C. $[\alpha]_D -355^\circ$ (c 1, cloroformo); $[\alpha]_D$ bibl¹⁶⁴ -350,7° (c 1,89, cloroformo)

Penta-O-acetil-β-D-manopiranososa¹⁶⁵

A una mezcla fría (baño de hielo) de anhídrido acético (100 mL) y piridina (130 mL) se le añadieron durante 30 min, mientras se agitaba, 12 g de D-manosa en pequeñas porciones. El enfriamiento y la agitación se prolongó durante 4 h y luego se dejó la disolución en reposo durante dos días a 0°C. Al verter esta disolución lentamente sobre agua-hielo (1,5 L), se separó un jarabe que más tarde cristalizó. Los cristales se filtraron, se lavaron con agua y se secaron para dar 21 g (79%) del producto deseado. P.f 117-118°C; p.f bibl¹⁶⁵ 117°.

Cloruro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil manopiranosilo (121)¹⁶⁶

Se disolvió 1 g de penta-O-acetil-D-manopiranososa seca en 10 mL de PCl₃, la mezcla se mantuvo a reflujo mientras se burbujeaba HCl seco durante 6-10 h. El exceso de PCl₃ se evaporó a vacío, los posibles restos de PCl₃ se eliminaron por repetidas evaporaciones a vacío con benceno y éter seco (73% de rendimiento). P.f 81°C; p.f bibl¹⁶⁶ 80°C. $[\alpha]_D 120^\circ$ (c 1, cloroformo); $[\alpha]_D$ bibl¹⁶⁶ 119,7° (3,1, benceno).

1,2,3,4,6-Penta-O-benzoil- β -D-glucopiranosa (133)¹⁶⁷

A una disolución de D-glucosa (18 g, 100 mmol) en cloroformo (80 mL) y piridina (150 mL) enfriada exteriormente con hielo se le añadió lentamente y con agitación, cloruro de benzoilo (90 mL). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. A continuación, la masa de reacción se vertió sobre agua-hielo (400 mL) y se separó la fase orgánica de la acuosa, lavándose la primera con agua fría (80 mL) y la segunda con cloroformo (2 x 40 mL). Después de secar el extracto clorofórmico sobre sulfato sódico y una vez eliminado el disolvente se obtuvieron 44,5 g (74%) del producto deseado en forma de sólido que se recristalizó de acetato de etilo. P.f 188°C; p.f bibl¹⁶⁷ 189-192°C.

Bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil- α -D-glucopiranosilo (160)¹⁶⁸

Se disolvieron 5,65 g de pentabenzoil- β -D-glucopiranososa en 6 mL de 1,2-dicloroetano. La disolución se trató con 5,8 mL de una disolución de BrH en ácido acético glacial al 30-32% en peso. La disolución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Al cabo de las cuales se coevaporó a presión reducida dos veces con tolueno (140 mL, 40 mL) y una vez con éter seco (20 mL) (baño a 40-45°C). La masa semicristalina resultante se disolvió en 50 mL de éter seco y se dejó cristalizar a 0°C. El producto cristalizó en forma de agujas (4,6 g, 86 % rendimiento). P.f 131-132°C; p.f bibl¹⁶⁸ 129-130°C. Se recristalizó de 27

partes de éter seco y 74 partes de pentano. $[\alpha]_D$ 117,2° (c 1, cloroformo); $[\alpha]_D$ bibl¹⁶⁸ 124° (c 2,15, cloroformo).

2',3'-O-Isopropilidénuridina (144)¹⁶⁹

A una suspensión bien agitada de uridina (12,2g, 50 mmol) y ácido p-toluensulfónico (0,95 g, 5 mmol) en acetona (100 mL) se le añadió gota a gota a temperatura ambiente ortoformiato de etilo (16 mL, 100 mmol) y se continuó la agitación hasta que se disolvió la uridina (aprox. 1 h). Tras filtrar el sólido formado y lavarlo con acetona, se obtuvieron 13,15 g (92%) de un sólido que se recristalizó de acetona-éter de petróleo. P.f 164°C; p.f bibl¹⁶⁹ 165°C.

3-N-Benzoil-2',3'-O-isopropilidénuridina (166)¹⁷⁰

A una disolución de isopropilidénuridina (7 g, 25 mol) en piridina seca, se le añadió clorotrimetilsilano (3 mL, 25 mol) y la disolución resultante se agitó a temperatura ambiente durante quince min. Seguidamente, se añadió cloruro de benzoilo (6 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Se añadió metanol y agua y se agitó a temperatura ambiente durante un día. Finalmente se evaporó el disolvente y el jarabe resultante se cromatografió utilizando la técnica "flash". El disolvente utilizado fué cloroformo/acetona (4:0,5). De esta forma se obtuvieron 1,2 g (63,15%) del compuesto deseado en forma de sirupe. $[\alpha]_D$ -25,68° (c 1, cloroformo).

8 PREPARACION DE CIANOAZUCARES

8.1 PREPARACION DE CIANUROS DE GLICOSILO

8.1.1 PROCEDIMIENTO GENERAL

A una disolución del azúcar peracilado o del glicial (1 g de 2,9 a 3,67 mmol) en 15 mL de acetonitrilo o nitrometano seco, se le añadió 1 mL (7,33 mmoles) de Me_3SiCN . Después de mantener la reacción a temperatura ambiente durante 15 min se añadieron tres gotas de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, y se agitó a temperatura ambiente hasta desaparición del producto de partida. Seguidamente, se eliminó el disolvente a vacío y el residuo obtenido se purificó por cromatografía de capa fina preparativa, utilizando como eluyente la mezcla hexano-acetato de etilo (4:1). Después de varios desarrollos, se separaron en todos los casos dos bandas correspondientes a los dos posibles cianuro de glicosilo anómeros.

Cianuros de 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α - y - β -D-glu- copiranosilo (62 y 63)

Una disolución de 1-O-acetil 2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucopiranososa (61a) (1 g, 2,9 mmol) en acetonitrilo se trató como se indica en el procedimiento general.

La banda de mayor movilidad cromatográfica rindió 0,38 g (40%) de un sólido que se cristalizó de acetato de etilo y que se identificó como 63. P.f 76-78°C. $[\alpha]_D^{20}$ 29,2° (c 1, cloroformo)

Análisis (%)

Calculado para $C_{35}H_{35}NO_5$	C, 76,50; H, 6,37; N, 2,55
Encontrado	76,50 6,51 2,63

De la banda de menor movilidad cromatográfica se obtuvieron 0,3 g (32%) de un jarabe que se identificó como 62. $[\alpha]_D$ 32,6° (c 1, cloroformo).

Análisis (%)

Calculado para $C_{35}H_{35}NO_5$	C, 76,50; H, 6,37; N, 2,55
Encontrado	76,16 6,72 2,61

Cianuros de 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α - y - β -D-eritro-hex-2-enopiranosilo (75 y 76)

A) Por reacción de Me_3SICN con 3,4,6-tri-O-acetil-D-glucal

Una disolución de 3,4,6-tri-O-acetil-D-glucal (70)(1 g, 3,67 mmol) en nitrometano seco se trató como se indica en el procedimiento general.

La banda de mayor movilidad cromatográfica rindió 0,5 g (57%) de un sólido blanco, estable que se recristalizó de agua y se identificó como 75. P.f= 90-91° C; $[\alpha]_D$ (c1, cloroformo) -14,6°

Análisis (%)

Calculado para $C_{11}H_{13}NO_5$	C, 55,22; H, 5,47; N, 5,85
Encontrado	55,44 5,52 5,91

De la banda de menor movilidad cromatográfica se obtuvieron 0,37 g (42%) de un jarabe que se recromatografió con el eluyente mencionado en el procedimiento general para dar un producto que descompone con el tiempo, y que se identificó como 76. $[\alpha]_D$ 197,5° (c 1, cloroformo)

Análisis (%)

Calculado para $C_{11}H_{13}NO_5$	C, 55,22; H, 5,47; N, 5,85
Encontrado	54,88 5,72 5,80

B) Por reacción de cianuro sódico con 3,4,6-tri-O-acetil-D-glucal

Una disolución de 3,4,6-tri-O-acetil-D-glucal (70) (1,36 g, 5 mmol) en acetonitrilo anhidro (250 mL), se trató a temperatura comprendida entre -20° y -15°C, con BF_3 (10 gotas). Después de agitar durante 10 min, se añadió cianuro sódico (1,22 g, 24,8 mmol), manteniéndose la temperatura indicada durante 15 min. Se continuó la agitación a temperatura ambiente. Sucesivamente se fueron añadiendo a la disolución, mientras se enfriaba entre -20 y -15°C y a intervalos de 30 min, alícuotas de 1 mL de BF_3 , hasta un total de 5 mL. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente hasta la completa desaparición del producto de partida. Se evaporó el disolvente (40°C) y el residuo se repartió entre 200 mL de cloruro de metileno y 100 mL de solución acuosa de carbonato sódico. La fase orgánica se lavó con agua y se secó con sulfato sódico. La evaporación del disolvente dió 1,24 g de un jarabe que se purificó por cromatografía de placa fina preparativa usando como

eluyente acetato de etilo-hexano (2:3) para dar varias bandas.

El producto de mayor movilidad cromatográfica (0,5g, 41%) fué idéntico en todos los aspectos al cianuro de configuración anomérica α (75), obtenido por el primer método.

Análogamente, el producto de menor movilidad cromatográfica (0,32g, 27%) resultó idéntico al cianuro de configuración anomérica β (76) obtenido por el método anterior.

Cianuros de 2,4,6-tri-O-acetil-3-desoxi- α - y - β -D-eritro-hex-2-enopiranosilo (81 y 82)

Una disolución de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-2-hidroxi-D-glucal (80)(1 g, 3 mmol) en nitrometano seco se trató como se indica en el procedimiento general.

De la banda de mayor movilidad cromatográfica se obtuvieron 0,41 g (46%) de un jarabe que con el tiempo cristalizó y que se identificó como 81. El producto se recrystalizó de agua. P.f 71-72° C; $[\alpha]_D^{20}$ (c 1, cloroformo).

Análisis (%)

Calculado para $C_{13}H_{15}NO_7$ C, 52,52; H, 5,03; N, 4,71

Encontrado 52,70 5,26 4,34

De la banda de menor movilidad cromatográfica se obtuvieron 0,31 g (34,4%) de un jarabe que se recromatografió con el mismo eluyente y que se identificó como 82. $[\alpha]_D^{66}$ (c 1, cloroformo).

Análisis (%)

Calculado para $C_{13}H_{15}NO_7$ C, 52,52; H, 5,03; N, 4,71

Encontrado

C, 52,38 ; H, 4,76 ; N, 4,52

8.1.2 REDUCCION DE CIANUROS DE 2,3,4,6-TETRA-O-BENCIL-D-GLUCOPIRA+NOSILO

8.1.2.1 Síntesis de 1-amino-1-desoxi-heptitoles

1-Amino-2,6-anhidro-3,4,5,7-tetra-O-bencil-1-desoxi-D-glicero-D-ido heptitol (64)

Una disolución del cianuro 62 (1 g, 1,82 mmol) en tetrahidrofurano seco (5 mL), se añadió lentamente sobre una suspensión de hidruro de litio aluminio (0,5 g) en tetrahidrofurano seco (15 mL). Tras calentar a reflujo la mezcla durante 1 h, se añadió lentamente sobre ella hidróxido amónico (10 mL) y se filtró. Los filtrados se volvieron a tratar con hidróxido amónico, se concentraron y se extrajeron con cloroformo. Tras eliminar el disolvente a vacío, se obtuvo el D-glicero-D-ido-heptitol 64 en forma de jarabe (0,95 g, 94%) muy inestable que se utilizó sin posterior purificación para el paso siguiente.

1-Amino-2,6-anhidro-3,4,5,7-tetra-O-bencil-1-desoxi-D-glicero-D-gulo-heptitol (65)

De forma totalmente análoga, la reducción del cianuro de β -D-glucopiranosilo 63 con hidruro de litio aluminio condujo al

D-glicero-D-gulo-heptitol (65) con un 80% de rendimiento.

La identificación de 64 y 65 se realizó a partir de sus correspondientes acetilamino derivados que son más estables.

8.1.2.2 Acetilación de 1-amino-1-desoxi-heptitales

1-Acetamido-2,6-anhidro-3,4,5,7-tetra-O-bencil-1-desoxi-D-glicero-D-ido-heptitol (66)

Una disolución de 64 (0,8g, 1,44 mmol) en piridina seca (10 mL) y anhídrido acético (1 mL) se agitó a temperatura ambiente hasta que se observó por cromatografía analítica la desaparición del producto de partida. A continuación la mezcla de reacción se vertió sobre agua y se extrajo con cloroformo. El extracto orgánico se lavó sucesivamente con ácido sulfúrico (2 N), disolución saturada de bicarbonato sódico y agua. Tras secar la fase orgánica y eliminar el disolvente a vacío se obtuvo un jarabe que se purificó por cromatografía de capa fina preparativa utilizando como eluyente cloroformo-metanol (80:1). De esta forma se obtuvieron 0,6 g (69%) de un sólido que se identificó como 66. P.f 148-149°C; $[\alpha]_D^{34}$ (c 1, cloroformo).

IR (Nujol); $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3300 (NH), 1650 (C=O)

Análisis (%)

Calculado para C ₃₇ H ₄₁ NO ₆	C, 74,62;	H, 6,89;	N, 2,35
Encontrado	74,41	7,12	2,31

1-Acetamido-2,6-anhidro-3,4,5,7-tetra-O-bencil-1-desoxi-D-glicero-D-ido-heptitol (67)

La acetilación del 1-amino heptitol 65 por un procedimiento análogo al anteriormente descrito dió sin necesidad de cromatografiar 0,54 g (63%) de un sólido amorfo que se identificó como 67. $[\alpha]_D^{20}$ (c 1, cloroformo)

IR (entre cristales); $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3300 (NH), 1650 (C=O)

Análisis (%)

Calculado para C ₃₇ H ₄₁ N ₆ O ₆	C, 74,62;	H, 6,89;	N, 2,35
Encóntrado	74,94	7,18	2,36

8.1.2.3 2,6-Anhidro-3,4,5,7-tetra-O-bencil-D-glicero-D-ido-heptopiranososa (68)

A una disolución de 64 (0,6g, 1,09 mmol) en tetrahidrofurano (20 mL) y éter seco (10 mL) enfriada externamente con hielo, se le fueron añadiendo 0,1 g de hidruro de litio aluminio en pequeñas porciones hasta desaparición del producto de partida. Se añadió a continuación, una disolución de hidróxido amónico (7mL). El precipitado resultante se filtró y se lavó con más hidróxido amónico. Los filtrados se concentraron a presión reducida y se extrajeron con cloroformo. Tras eliminar el disolvente a vacío se aisló la aldosa 68 (0,45g 75%) como un jarabe inestable, que se identificó en forma de derivado de 2,4-dinitrofenilhidrazina como se indica a continuación.

Sobre una disolución caliente de 2,4-dinitrofenilhidrazina (0,4g, 0,02 mmol), agua(2 mL) y ácido sulfúrico concentrado

(2 mL) se añadió etanol del 95% (10 mL). La disolución resultante (1,5 mL) se añadió sobre una disolución del aldehído (0,5g, 9,05 mmol) en metanol (99%) (10 mL), lo que dió lugar a la precipitación instantánea del derivado de 2,4-dinitrofenilhidrazona 69 que se filtró y recristalizó de etanol. P.f 130° C; $[\alpha]_D^{45}$ (c 1, cloroformo).

IR de 68 (entre cristales); $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 1700 (C=O)

IR de 69 (Nujol) ; $\bar{\nu}$ (cm⁻¹): 3300 (-NH-), 1350 y 1600 (-NO₂)

Análisis (%) de 69

Calculado para C₄₁H₄₀N₄O₉ C , 67,21 ; H , 5,46 ; N , 7,65

Encontrado 67,61 5,26 8,01

8.2 PREPARACION DE CIANUROS DE DESOXIHEXOPIRANOSILO POR HIDROGENACION CATALITICA DE CIANUROS DE HEX-2-ENOPIRANOSILO

8.2.1 PROCEDIMIENTO GENERAL

Una disolución del cianuro insaturado correspondiente (0,5g de 1,68 a 2,09 mmoles) en acetato de etilo anhidro (25 mL) se hidrogenó a 30 psi de presión y una temperatura comprendida entre 30 y 40° C usando paladio sobre carbono al 10% como catalizador. Después de 4 h de hidrogenación, se filtró el catalizador y la disolución clara resultante se evaporó a sequedad para dar en cada caso un residuo que aparecía como producto unitario en cromatografía de capa fina [Acetato de etilo-hexano (2:3)]

Cianuro de 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hexopiranosilo

(91)

El cianuro insaturado 75 (0,5g, 2,09 mmol) se trató como se indica en el procedimiento general para dar 0,5 g (99,2%) de un sirupe que se identificó como 91. $[\alpha]_D^{84}$ (c 1, cloroformo)

Análisis (%)

Calculado para $C_{11}H_{15}NO_5$	C, 54,76; H, 6,26; N, 5,80
Encontrado	54,86 6,43 5,68

Cianuro de 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- β -D-eritro-hexopiranosilo

(92)

Una disolución del cianuro insaturado 76 (0,5 g, 2,09 mmol) se trató según el procedimiento general para dar 0,5 g (99,2%) de un jarabe que se identificó como 92. $[\alpha]_D^{39}$ (c 1, cloroformo)

Análisis (%)

Calculado para $C_{11}H_{15}NO_5$	C, 54,76; H, 6,26; N, 5,80
Encontrado	54,62 6,38 5,50

Cianuro de 2,4,6-tri-O-acetil-3-desoxi- α -D-ribo-hexopiranosilo (93)

El cianuro 81 (0,5g, 1,68 mmol) se trató como se indica en el procedimiento general y condujo al cianuro de hexopiranosilo 93 (0,43 g, 85%) que se purificó por cristalización de acetato de etilo-hexano. P.f 94 Ω C; $[\alpha]_D^{90}$ (c 1, cloroformo)

Análisis (%)

Calculado para $C_{13}H_{17}NO_7$

C, 54,76; H, 6,26; N, 5,80

Encontrado

54,86

6,43

5,86

8.3 PREPARACION DE AZUCARES C-CIANO RAMIFICADOS

8.3.1 Etil 4,6-di-O-acetil-2,3-anhidro- α -D-mano y alo-hexopiranósidos (97 y 99)

Una disolución de etil-4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α -D-eritro-hex-2-enopiranósido (95) (1 g, 3,8 mmol) en etanol anhidro (35 mL) se trató con benzonitrilo (12,6 mL) peróxido de hidrógeno al 30% (13,3 mL) y bicarbonato sódico (2 g). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 72 h hasta que se comprobó por cromatografía de capa fina, utilizando como eluyente acetato de etilo-cloroformo (1:1) la desaparición del producto de partida. Después se añadió agua destilada (250 mL) y la fase acuosa se extrajo con un mezcla al 50% de cloruro de metileno y acetonitrilo. La fase orgánica se secó y evaporó a presión reducida. La benzamida que fué apareciendo en el transcurso de la evaporación en forma de cristales se filtró y el benzonitrilo que quedó sin reaccionar fué eliminado mediante destilación.

El jarabe obtenido se disolvió en piridina (20 mL) y se enfrió exteriormente con baño de hielo, mientras se añadía lentamente anhídrido acético (2 mL). Se dejó el baño durante cinco minutos y luego se continuó la agitación a temperatura ambiente

hasta que la acetilación fué completa. Seguidamente se evaporó la piridina a vacío y el sirupe resultante se lavó sucesivamente con disolución 2N de ácido sulfúrico, disolución de bicarbonato sódico y agua destilada para eliminar bien los restos de piridina.

El jarabe resultante se purificó por cromatografía de capa fina preparativa con la mezcla acetato de etilo-hexano (1:3) como eluyente. Después de cuatro desarrollos se separaron dos bandas que fueron extraídas con mezcla acetato de etilo-metanol (3:1).

De la banda de mayor movilidad cromatográfica se obtuvieron 0,26 g (25%) del producto puro 97 en forma de jarabe, que cristaliza con el tiempo. P.f 35-36° C; $[\alpha]_D^{68}$ (c 1, cloroformo)

Análisis (%)

Calculado para $C_{12}H_{18}O_7$	C, 52,54; H, 6,61
Encontrado	52,75 6,72

De la banda de menor movilidad cromatográfica se obtuvieron 0,25 g (24%) del producto puro 99 en forma de jarabe. $[\alpha]_D^{136}$ (c 1, cloroformo)

Análisis (%)

Calculado para $C_{12}H_{18}O_7$	C, 52,54; H, 6,61
Encontrado	52,66 6,52

8.3.2 Etil 4,6-di-O-acetil-2-C-ciano-2-desoxi- α -D-glucopiranosido

(101)

A una disolución de etil 4,6-di-O-acetil-2,3-anhidro- α -D-manopiranosido (97) (0,5 g, 1,82 mmol) en nitrometano seco (8 mL) se le añadieron gota a gota 0,7 mL de Me_3SiCN . Después de agitar a temperatura ambiente durante 15 min se añadieron 3 gotas de BF_3 y se continuó la agitación hasta la desaparición del producto de partida. La mezcla de reacción se coevaporó con metanol varias veces. Finalmente se purificó por cromatografía de capa fina preparativa utilizando acetato de etilo-hexano (1:4) como eluyente. De esta forma se obtuvo el producto deseado 101 (0,47 g, 85%) en forma de sólido que se recristalizó de acetato de etilo. P.f 55-56°C
[α]_D 4,2° (c 1, cloroformo)

Análisis (%)

Calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{NO}_7$	C, 51,82; H, 6,35; N, 4,64
Encontrado	51,80 6,65 4,41

8.4 REACCION DE BENCILIDEN DERIVADOS DE HEXOPIRANOSAS CON CIANURO DE TRIMETILSILILO

8.4.1 Reacción de Metil 4,6-O-bencilidén-2,3-anhidro- α -D-alopiranosido con Me_3SiCN

A) A temperatura ambiente

Una mezcla de metil 4,6-O-bencilidén-2,3-anhidro- α -D-alopiranosido 108 (0,8 g, 3 mmol), nitrometano seco (5 mL) y Me₃Si-CN (1,5 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 15 min. Seguidamente se añadieron cuatro gotas de BF₃. Se continuó la agitación durante 30 min, al cabo de los cuales se evaporó la disolución hasta sequedad y el residuo se purificó por cromatografía de placa fina preparativa utilizando cloroformo-etanol (15:1) como eluyente. Se aislaron dos compuestos:

De la banda de mayor movilidad cromatográfica se aisló metil 2,3-anhidro-4-O-[(S)-cianofenilmetil]- α -D-alopiranosido (111a) en forma de jarabe (0,15 g, 27%). $[\alpha]_D^{104}$ (c 1, cloroformo).

Análisis (%)

Calculado para C ₁₅ H ₁₇ NO ₅	C, 61,85; H, 5,84; N, 4,81
Encontrado	61,91 6,06 4,76

De la banda de menor movilidad cromatográfica se aisló metil 2,3-anhidro-6-O-[(R)-cianofenilmetil]- α -D-alopiranosido (109a) en forma de jarabe (0,3 g, 45%). $[\alpha]_D^{167}$ (c 1, cloroformo)

Análisis (%)

Calculado para C ₁₅ H ₁₇ NO ₅	C, 61,85; H, 5,84; N, 4,81
Encontrado	61,45 6,04 4,50

B) A -45°

Una disolución de 108 (0,05 g, 0,19 mmol), acetoni-
trilo (2 mL) y Me_3SiCN (0,3 mL) se agitó a -45°C durante 15 min.
Seguidamente se añadieron dos gotas de BF_3 y se continuo agitando du-
rante 45 min a temperatura ambiente. La disolución se procesó como
se ha indicado anteriormente, para dar una mezcla de 109a y 111a
en proporción (15:2) con un rendimiento global de 81%.

C) A -75°

De manera análoga, una mezcla de 108 (0,05 g, 0,19
mmol), dimetilformamida (2 mL), Me_3SiCN (0,3 mL) y BF_3 (2 gotas)
se hizo reaccionar durante 60 min para dar una mezcla de 109a y
111a en proporción (15:1) con un rendimiento global de 83%. En las
dos últimas reacciones la proporción de isómeros se estimó basán-
dose en datos de H^1RMN .

Isomerización de 109 a

Una disolución de 109a (0,1 g, 0,38 mmol) en piridi-
na seca (3 mL) se agitó a temperatura ambiente durante toda la no-
che. La mezcla de reacción se evaporó y el residuo, disuelto en
cloroformo, se lavó con ácido sulfúrico diluido, bicarbonato sódico
y agua. La fase orgánica se secó, filtró y evaporó a sequedad para
dar una mezcla (1:1) de 109a y 109b (0,1 g, 100%). $[\alpha]_D^{25} 59,3^\circ$ (c 1,
cloroformo)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 90 MHz): δ 3,41, 3,43 (2s, 6H, 2 OMe), 3,40-3,63 (m, 4H, 2 H-2, 2 H-3), 3,70-4,20 (m, 8H, 2 H-4, 2 H-5, 4 H-6), 4,86 (d, 1H, H-1, $J_{1,2} = 2,5$ Hz), 4,88 (d, 1H, H-1, $J_{1,2} = 2,5$ Hz), 5,52, 5,53 (2 s, 2H, 2 $\text{CH-C}_6\text{H}_5$)

Reacciones de acetilación de 109a y 111a

Metil 4-O-acetil-2,3-anhidro-6-O-[(R)-cianofenilmetil]- α -D-alopiranosido (110)

Una disolución de 109a (0,25g, 0,86 mol) en piridina seca (5 mL) se trató con anhídrido acético (0.5 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla de reacción se evaporó y el residuo se disolvió en cloroformo, se lavó con ácido sulfúrico diluido, bicarbonato sódico y agua. La fase orgánica se secó, filtró y evaporó a sequedad. El residuo se purificó por cromatografía de capa fina preparativa usando acetato de etilo-hexano (3:2) como eluyente. De esta forma, se obtuvo una mezcla cromatográficamente homogénea de 110a y 110b. $[\alpha]_D^{119^\circ}$ (c 1, cloroformo)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz): δ 2,02, 2,09 (2 s, 6 H, 2 OAc), 3,43, 3,47 (2 s, 6 H, 2 OMe), 3,51-3,57 (m, 4 H, 2 H-2, 2 H-3), 3,61 (dd, 1 H, H-6), 3,75-3,79 (m, 3 H, 3 H-6), 4,05 (m, 2 H, 2 H-5), 4,93 (d, 2H, 2 H-1, $J_{1,2} = 3,0$ Hz), 5,18 (dd, 1 H, H-4, $J_{3,4} = 1,5$, $J_{4,5} = 9,9$ Hz) 5,19 (dd, 1 H, H-4, $J_{3,4} = 2,0$, $J_{4,5} = 9,7$ Hz), 5,37 (2 s, 2 H, 2 $\text{CH-C}_6\text{H}_5$)

Análisis (%)

Calculado para $C_{17}H_{19}NO_6$	C, 61,26; H, 5,71; N, 4,20
Encontrado	60,86 5,81 4,26

Metil 6-O-acetil-2,3-anhidro-4-O-[(S)-cianofenilmetil]- α -D-alopiranosido (112)

El compuesto 111a (0,25 g, 0,86 mmol) se acetiló y procesó como se indicó anteriormente para 109a, para dar un sólido que se cristalizó de acetato de etilo-hexano y que se identificó como una mezcla (1:1) de 112a y 112b (0,25 g, 88%). P.f 90-92°C.

$[\alpha]_D^{25}$ 95 (c 1, cloroformo).

1H RMN: ($CDCl_3$, 300 MHz): δ 2,08, 2,09 (2 s, 6 H, 2 OAc), 3,44, 3,45 (2 s, 6 H, 2 OMe), 3,44 (dd, 1 H, H-3), 3,50 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2} = 3,0$, $J_{2,3} = 4,2$ Hz), 3,6 (dd, 1 H, H-2, $J_{1,2} = 2,8$, $J_{2,3} = 4,2$ Hz), 3,63 (dd, 1 H, H-3, $J_{3,4} = 1,5$ Hz), 3,97, 4,03 (m, 2 H, 2 H-5), 4,08 (dd, 1 H, H-4, $J_{4,5} = 9,5$ Hz) 4,19-4,33 (m, 5 H, 4 H-6, H-4) 4,87 (d, 1 H, H-1) 4,93 (d, 1 H, H-1), 5,48, 5,58 (2 s, 2 H, 2CH- C_6H_5)

Análisis (%)

Calculado para $C_{17}H_{19}NO_6$	C, 61,26; H, 5,71; N, 4,20
Encontrado	61,24 5,82 4,53

8.4.2 Reacción de metil 4,6-O-bencilidén-2,3-di-O-p-toluensulfonil- α -D-glucopiranosilo con cianuro de trimetilsililo

A) A temperatura ambiente

Una disolución de metil 4,6-O-bencilidén-2,3-di-O-p-toluensulfonil- α -D-glucopiranosido 113 (0,3 g, 0,5 mmol), nitrometano seco (4 mL) y Me_3SiCN (0,2 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 15 min, a continuación se añadieron dos gotas de BF_3 y la agitación se continuó durante 45 min, al cabo de los cuales se evaporó la disolución bajo presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en capa fina preparativa utilizando acetato de etilo -hexano (2:3) como eluyente. De esta forma, se obtuvieron dos compuestos.

De la banda de mayor movilidad cromatográfica, se aisló metil 6-O-[(R)cianofenilmetil]-2,3-di-O-p-toluensulfonil- α -D-glucopiranosido (114) en forma de sólido amorfo (0,16 g, 51%).

$[\alpha]_D^{59}$ (c, 1, cloroformo)

Análisis (%)

Calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{NO}_{10}\text{S}_2$	C, 56,40;	H, 5,02;	N, 2,27;	S, 10,37
Encontrado	56,27	5,10	2,61	10,08

De la banda de menor movilidad cromatográfica, se aisló metil 4-O-[(S)-cianofenilmetil]-2,3-di-O-p-toluensulfonil- α -D-glucopiranosido (115) en forma de sólido amorfo (0,091 g, 27%);

$[\alpha]_D^{42}$ (c 1, cloroformo)

Análisis (%)

Calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{NO}_{10}\text{S}_2$	C, 56,40;	H, 5,02;	N, 2,27;	S, 10,37
---	-----------	----------	----------	----------

Encontrado

C, 56,46; H, 5,15; N, 2,53; S, 10,30

B) A -50°

Una disolución de 113 (0,05 g, 0,085 mmol), acetonitrilo (2 mL), y Me₃SiCN (0,3 mL) se agitó a -50° durante 15 min y a continuación se añadieron dos gotas de BF₃. La agitación se continuó durante 60 min y la disolución se procesó como se ha indicado anteriormente, para dar el compuesto 114 con un 80% de rendimiento.

9 PREPARACION DE ISOTIOCIANATOS DE GLICOSILO

9.1 PROCEDIMIENTO GENERAL

Una mezcla de tiocianato potásico (0,2 g, 2 mmol), una sal de amonio cuaternario (1 mmol) y tamiz molecular de 4 Å (1,5 g) en acetonitrilo seco (50 mL), se agitó a temperatura ambiente durante 2-3 h. A continuación, se añadió el haloazúcar (1 mmol) y la mezcla se agitó a reflujo hasta desaparición del producto de partida. La masa de reacción se filtró y evaporó. El residuo se purificó por cromatografía de capa fina preparativa. el eluyente utilizado fué acetato de etilo-hexano (2:3) para 123, 124a, 125 y 127 y acetato de etilo-hexano (1:7) para 126 y 128.

Isotiocianato de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo (123)

Una disolución de bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-α-D-glucopiranosilo (117) (0,41 g, 1 mmol) en acetonitrilo seco se trató con bisulfato de tetrabutilamonio y tiocianato potásico como se indica en el procedimiento general para dar el compuesto 123 (71%). P.f 112°C; $[\alpha]_D^{25}$ 5° (c 1, cloroformo). P.f bibl¹²⁵ 112-113° $[\alpha]_D^{25}$ bibl¹²⁵ 1,5-1,2°. I R (KBr): $\bar{\nu}_{\text{NCS}}$ (cm⁻¹) 2110

Isotiocianato de 2-acetamido-2-desoxi-3,4,6-tri-O-acetil-β-D-glucopiranosilo (124a)

El cloruro de 2-acetamido-2-desoxi-3,4,6-tri-O-acetil

- α -D-glucopiranosilo (118)(0,36 g, 1 mmol) se trató como se indica en el procedimiento general utilizando bisulfato de tetrabutilamonio como catalizador. De esta forma se obtuvo el compuesto 124a (80%) en forma de sólido que se cristalizó de acetato de etilo.

P.f 159°C; p.f bibl¹²⁶ 161°. $[\alpha]_D$ 9 (c 1, cloroformo); $[\alpha]_D$ bibl¹²⁶ 9°

IR (Nujol): $\bar{\nu}_{NCS}$ (cm⁻¹) 2100

Isotiocianato de 2,3,5-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosilo (125)

El cloruro de 2,3,5-tetra-O-acetil-D-ribofuranosilo (119)(0,3 g, 1 mmol) se trató como se indica en el procedimiento general utilizando bisulfato de tetrabutilamonio como catalizador, para dar el compuesto 125 (80%) en forma de sirupe. $[\alpha]_D$ -3° (c 1, cloroformo)

Análisis (%)

Calculado para C₁₂H₁₅NO₇S C, 45,41; H, 4,73; N, 4,41; S, 10,09

Encontrado 45,64 4,75 4,31 10,28

IR (entre cristales): $\bar{\nu}_{NCS}$ (cm⁻¹): 2050

Isotiocianato de 2,3,4-tri-O-benzoil- β -D-arabinopiranosilo (126)

El bromuro de 2,3,4-tri-O-benzoil- β -D-arabinopiranosilo (0,52 g, 1 mmol) (120) se trató como se indica en el procedimiento general utilizando bisulfato de tetrabutilamonio como catalizador. De esta forma se obtuvo el compuesto 126 (70%)

en forma de espuma. $[\alpha]_D -114^\circ$ (c 1, cloroformo)

Análisis (%)

Calculado para $C_{27}H_{21}NO_7S$ C, 64,39; H, 4,17; N, 2,78; S, 6,36

Encontrado 64,32 4,28 2,89 6,46

IR (Nujol): $\bar{\nu}_{NCS}$ (cm^{-1}): 2040

Isotiocianato de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-manopiranosilo (127)

El cloruro de 2,3,4,6-O-acetil-D-manopiranosilo (120) (0,37 g, 1 mmol) se trató como se indica en el procedimiento general utilizando ioduro de tetrabutilamonio como catalizador. De esta forma se obtuvo el compuesto 127 con un 90% de rendimiento en forma de sólido, que se cristalizó de acetato de etilo. P.f 92-94°

$[\alpha]_D$ 132 (c 1, cloroformo)

Análisis (%)

Calculado para $C_{15}H_{19}NO_9S$ C, 46,26; H, 4,88; N, 3,60, S, 8,22

Encontrado 46,35 4,93 3,83 8,53

IR (Nujol): $\bar{\nu}_{NCS}$ (cm^{-1}): 2090

Isotiocianatos de 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α - y - β -D-glucopiranosilo (128a y 128b)

El cloruro de 2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucopiranosilo (122) (0,56 g, 1 mmol) se trató como se indica en el procedimiento general. Cuando se utilizó como catalizador bisulfato de tetrabutilamonio se obtuvo una mezcla (3:1) de los dos isotiocianatos

de glicosilo anómeros α y β , 128a y 128b, respectivamente, con un rendimiento global del 84%. Cuando el catalizador utilizado fué el bromuro de tetrabutilamonio, se obtuvo una mezcla (6:1) de 128a y 128b con un rendimiento global del 85%. La mezcla anomérica de 128a y 128b se separó mediante cromatografía de capa fina preparativa utilizando acetato de etilo-hexano (1:7) como disolvente.

De la banda de mayor movilidad cromatográfica se obtuvo el anómero β (128b) en forma de sirupe. $[\alpha]_D^{120}$ (c 1, cloroformo)

Análisis (%)

Calculado para $C_{35}H_{35}NO_5S$	C, 72,25;	H, 6,02;	N, 2,41;	S, 5,50
Encontrado	72,08	6,15	2,57	5,75

De la banda de menor movilidad cromatográfica se obtuvo el anómero α (128a) en forma de sirupe. $[\alpha]_D^{730}$ (c 1, cloroformo).

Análisis (%)

Calculado para $C_{35}H_{35}NO_5S$	C, 72,25;	H, 6,02;	N, 2,41;	S, 5,50
Encontrado	72,58	5,78	2,60	5,81

IR de 128b (entre cristales): $\bar{\nu}_{NCS}$ (cm^{-1}) 2050

IR de 128a (entre cristales): $\bar{\nu}_{NCS}$ (cm^{-1}) 2050

9.2 REACCION DE ISOTIOCIANATOS DE GLICOSILO CON NUCLEOFILOS

9.2.1 2,3,4,6-Tetra-O-acetil-1-[[etoxi]tiocarbonil]amino]-1-desoxi- β -D-glucopiranososa (129)

Una disolución del isotiocianato de glicosilo 123 (0,2 g, 0,51 mmol) en etanol (40 mL) se calentó a reflujo durante 1 h. Después, se evaporó el etanol, y el residuo se cromatografió en acetato de etilo-hexano (2:3) para dar 129 (0,12 g, 53%) en forma de sólido que se cristalizó de etanol p.f 155-157°C.

Análisis (%)

Calculado para $C_{17}H_{24}NO_{10}S$	C, 47,00;	H, 5,52;	N, 3,22;	S, 7,37
Encontrado	47,20	5,74	2,91	7,43

9.2.2 2,3,4,6-Tetra-O-acetil-1-[[etoxi]tiocarbonil]amino]-1-desoxi- α -D-manopiranososa (130)

El isotiocianato de α -D-manopiranosilo 127 (0,2 g, 0,51 mmol) reaccionó con etanol y se purificó como se ha indicado anteriormente para 129. Este procedimiento condujo a 130 (100%) en forma de espuma.

Análisis (%)

Calculado para $C_{17}H_{24}NO_{10}S$	C, 47,00;	H, 5,52;	N, 3,22;	S, 7,37
Encontrado	47,19	5,86	2,89	7,36

^1H RMN (CDCl_3 , 90 MHz) δ 1,33 (t, 3 H, O- CH_2CH_3), 1,9-2,0 (4 s, CO- CH_3), 4,46 (2 H, O- CH_2), 3,9-4,68 (m, 3 H, H-5, 2 H-6), 5,1-5,45 (m, 3 H, H-2, H-3, H-4), 5,80(d, 1H, H-1, $J_{1,2} = 2$ Hz), 7,43 (s ancho, 1 H, NH, intercambiable D_2O)

9.2.3 N[[(2,3,4,6-Tetra-O-acetil-1-desoxi- β -D-glucopiranosil)amino]tiocarbonil]urea (131)

Una mezcla del isotiocianato 123 (0,2 g, 0,51 mmol) en acetonitrilo (10 mL) y urea (0,3g, 5 mmol) se calentó a reflujo durante una hora. Al cabo de este tiempo, se evaporó el acetonitrilo y el residuo se cromatografió con la mezcla hexano-acetato de etilo (2:3). Después de varios desarrollos, se separaron tres bandas. De la central, que era la mayoritaria, se aislaron (0,11 g, 48%) del producto 131 en forma de sólido amorfo $[\alpha]_D^{31}$ (c 1, cloroformo)

Análisis (%)

Calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{S}$	C, 43,00; H, 5,12; N, 9,35; S, 7,12
	43,32 5,33 9,14 6,90

10 PREPARACION DE OTROS INTERMEDIOS GLICOSIDICOS

10.1 PREPARACION DE GLUCOPIRANOSIL AZIDAS

Azidas de 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α - y - β -D-glucopiranosilo (134 y 135)

A) Con azida de trimetilsililo

Una disolución de acetyl 2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucopiranososa (61a) (2,9g, 5 mmol) en cloruro de metileno (60 mL) se trató con Me_3SiN_3 (1 mL, 7,3 mmol) y tetracloruro de estaño (1 mL) a temperatura ambiente hasta la desaparición del producto de partida (5 min). Después se trató la mezcla de reacción con una disolución saturada de bicarbonato sódico, se lavó con agua y la fase orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro. Se concentró a presión reducida y se obtuvo un residuo que se cromatografió usando la mezcla acetato de etilo-hexano (1:7) para dar dos bandas principales.

De la banda de mayor movilidad cromatográfica se obtuvieron (2,13g, 76%) del anómero α (134) en forma de sirupe. $[\alpha]_D$ 79,1° (c 1, cloroformo); $[\alpha]_D$ bibl¹⁴⁰ 84,6° (c 0,41, cloroformo)

De la banda de menor movilidad cromatográfica se obtuvieron (0,57 g, 21%) del anómero β (135) en forma de sirupe. $[\alpha]_D$ 9,1° (c 1, cloroformo); $[\alpha]_D$ bibl¹⁴⁰ 4,52 (c 1,55, cloroformo)

B) Con Azida sódica

Azida de 2,3,4,6-Tetra-O-bencil- β -D-glucopiranosilo (135)

Una mezcla de cloruro de tetrabencil glucosa 122 (0,56 g, 1 mmol), azida sódica (0,13 g, 2 mmol), bromuro de tetrabutilamonio (0,331 g, 1 mmol) y tamiz molecular de 4 Å (3 g) en acetonitrilo seco (20 mL) se calentó a reflujo durante 1 h. A continuación se filtró la mezcla y el filtrado se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido (0,8 g) se purificó por cromatografía de columna utilizando cloroformo como eluyente. Finalmente se obtuvieron (0,42 g, 74%) de 135 en forma de sirupe, cuyos datos físicos coincidieron con los anteriormente indicados.

Azida de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil- β -D-glucopiranosilo (136)

Una disolución de 1,2,3,4,6 penta-O-benzoil-D-glucopiranososa 133 (3,5 g, 5 mmol) en cloruro de metileno (60 mL) se trató con tetracloruro de estaño (2 mL) y Me_3SiN_3 (2 mL, 14,6 mmol). Después de agitar durante 1 h y procesar la reacción como se ha indicado anteriormente para 134 y 135, se obtuvieron (3 g, 97%) de una espuma que se recristalizó de etanol y que se identificó como 136. P.f 115-116°C, p.f bibl.^{138,139} 113-114°C. $[\alpha]_D$ 10° (cl, cloroformo); $[\alpha]_D$ bibl.¹³⁹ 42°, $[\alpha]_D$ bibl.¹³⁸ -0,54° (c 5,0, cloroformo)

10.2 PREPARACION DE GLUCOPIRANOSIL AMINAS

2,3,4,6-Tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosil amina (137)¹⁴⁰

Una disolución de 134 (2,9 g, 5 mmol) en acetato de etilo seco (25 mL) se hidrogenó a una atmosfera de presión de hidrógeno a temperatura ambiente durante 15 h usando Pd/C al 10% como catalizador. Tras filtrar el catalizador y evaporar el disolvente a vacío, se obtuvieron (2,5g, 91%) de un sólido que se identificó como 137 y que se recristalizó de etanol. P.f 111-113°. $[\alpha]_D^{21,67}$ (c 1, cloroformo).

IR (KBr): $\bar{\nu}_{\text{NH}_2}$, 3350 (cm⁻¹); $\bar{\nu}_{\text{CO}}$ 1725 (cm⁻¹); ausencia de N₃
H¹RMN [(CD₃)₂CO], 90 MHz]: δ 4,45-4,95 (m, 9 H, CH₂C₆H₅, H-1),
3,40-3,85 (6 H, todos los del azúcar).

2,3,4,6-Tetra-O-benzoil- β -D-glucopiranosil amina (138)¹³⁸

Una disolución de 136 (3 g, 5 mmol) en acetato de etilo (25 mL) se hidrogenó a 3 atmósferas de presión de hidrógeno a temperatura ambiente durante 16 h en presencia de Pd/C al 10% como catalizador. Después de eliminar el disolvente se obtuvieron (3 g, 100%) de 138 en forma de espuma cromatograficamente homogénea. $[\alpha]_D^{57,84}$ (c 1, cloroformo), cuyos datos espectroscópicos coinciden con los descritos en la bibliografía¹³⁸

10.3 PREPARACION DE 3-HALOPROPIL 2,3,4,6-TETRA-O-BENZOIL-D-GLUCOPI-
RANOSIDOS

3-Bromopropil-2,3,4,6-tetra-O-benzoil- α - y - β -D-glucopiranó-
sidos (141 y 140)

A una disolución de pentabenzoil glucopiranososa (5 g, 0,07 mol) en cloroformo (50 mL) se le añadió bromopropanol (0,73 mL, 1,18 g, 8,5 mol) y trifluoruro de boro (3,04 g). La disolución se calentó en atmósfera de nitrógeno durante 2 h. Seguidamente, se lavó con solución saturada de bicarbonato sódico y con agua. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro. Se evaporó a vacío y el jarabe resultante (4 g) se cromatografió en placas preparativas utilizando hexano-acetato de etilo (4:1) como eluyente para dar dos bandas principales después de varios desarrollos.

De la banda de mayor movilidad cromatográfica se obtuvieron (1,5 g, 32%) de un sólido blanco que se identificó como 141 y que se cristalizó de metanol. P.f 110-112°C

Análisis (%)

Calculado para $C_{37}H_{33}O_{10}Br$	C, 61,92;	H, 4,60;	Br, 11,16
Encontrado	61,75	4,55	10,98

De la banda de menor movilidad cromatográfica siempre se obtuvieron mezclas del anómero β 140 junto con restos de pentabenzoil glucosa que quedaban sin reaccionar. Por ello la estructura del anómero β se asignó tentativamente en base al

espectro de H^1 RMN de la mezcla citada, aunque no se pudieron determinar constantes físicas (p.f, $[\alpha]_D$). La identificación inequívoca de su estructura se llevó a cabo a partir del 3-iodopropil glucopiranosido obtenido a partir de 140 por reacción de transhalogenación.

3-iodopropil-2,3,4,6-tetra-O-benzoil- α - y - β -D-glucopiranosidos
(143 y 142)

Sobre una disolución de ioduro sódico (0,4 g, 2,6 mmol) en acetona, se añadió la mezcla de 3-bromopropil glucósidos 140 y 141 (0,68 g, 1 mmol). La disolución se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. A continuación se filtró y el filtrado se evaporó y se purificó por cromatografía de capa fina preparativa usando como eluyente hexano-acetato de etilo (6:1). Después de varios desarrollos se separaron dos bandas.

De la banda de mayor movilidad cromatográfica se aisló un sólido blanco que se identificó como 143 (0,13 g, 30%) y se recristalizó de metanol. P.f 130°C $[\alpha]_D$ 85,49° (c 1, cloroformo)

Análisis (%)

Calculado para $C_{37}H_{33}O_{10}I$	C, 58,11; H, 4,32; I, 16,62
Encontrado	57,79 4,63 17,39

De la banda de menor movilidad cromatográfica se separó un sirupe que se identificó como 142 (0,06 g, 15%). $[\alpha]_D$ 48,11 (c 1, cloroformo)

Análisis (%)

Calculado para $C_{37}H_{33}O_{10}I$	C, 58,11; H, 4,32; I, 16,62
--------------------------------------	-----------------------------

Encontrado

C, 58,40; H, 4,42; I, 15,96

10.4 2',3'-O-isopropilidén-5'-O-[[sulfamido]carbonil]uridina (146)

A una disolución de 2',3'-O-isopropilidénuridina 144 (1,42 g, 5 mmol) en acetonitrilo seco (150 mL) enfriada entre -20 y -15°C, se le añadieron (en ausencia de humedad) 0,44 mL (5 mmol) de clorosulfonilisocianato. La mezcla de reacción se agitó hasta la desaparición de 144. Entonces se añadió una disolución de amoniaco seco en acetonitrilo. El precipitado que apareció, se filtró, se lavó con acetonitrilo frío y se trituró con más acetonitrilo frío para dar 146 (1,4 g, 69%) en forma de sólido cromatográficamente homogéneo.

Análisis (%)

Calculado para $C_{13}H_{18}N_4O_9S$	C, 38,42; H, 4,43; N, 13,79; S, 7,88
Encontrado	38,33 4,65 13,14 7,97

1H RMN [$(CD_3)_2SO$, 90 MHz]: δ 1,30 y 1,50 (2 s, 6 H, $C(CH_3)_2$), 4,08 (m, 2 H, H-5') 4,21 (m, 1 H, H-4'), 4,78 (dd, 1 H, H-3'), 4,97 (dd, 1 H, H-2'), 5,63 (d, 1 H, H-5, $J_{5,6} = 8$ Hz), 5,85 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 3$ Hz), 7,41 (s ancho, 2 H, NH_2 , intercambiable con D_2O) 7,77 (d, H-6, $J_{5,6} = 8$ Hz) 11,43 (s ancho, 1 H, NH-3, intercambiable con D_2O) 11,25 (s ancho, NH-CO, intercambiable con D_2O).

11 PREPARACION DE ANALOGOS DE URIDINADIFOSFATOGLUCOSA

11.1 PREPARACION DE DERIVADOS 5'-O-[[(GLUCOPIRANOSIL)UREIDO]SULFONIL]URIDINA

PROCEDIMIENTO GENERAL

A una disolución de la glucopiranosil amina (1 mmol) en cloruro de metileno (20 mL) enfriada exteriormente entre -10 y -20°C y en ausencia de humedad, se le añadió clorosulfonilisocianato (0,09 mL, 1 mmol). La mezcla resultante, se agitó, manteniendo el enfriamiento, hasta que se observó por cromatografía analítica la desaparición del azúcar de partida. A continuación se añadió una mezcla de isopropilidénuridina (0,3 g, 1 mmol), cloruro de metileno (5 mL) y piridina (0,08 mL, 1 mmol) y se dejó que la mezcla de reacción alcanzara la temperatura ambiente mientras se continuó la agitación durante cuatro horas. Después de este tiempo se evaporó el disolvente a presión reducida obteniéndose un residuo que se purificó por cromatografía de capa fina preparativa.

5'-O-[[[[[(2",3",4",6"-Tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosil)amino]carbonil]amino]sulfonil]-2',3'-O-isopropilidénuridina (150)

Una disolución de 2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucopiranosil amina 137 (0,54 g, 1 mmol) en cloruro de metileno (20 mL) se trató con clorosulfonilisocianato y 2',3'-O-isopropilidén-

uridina como se ha indicado en el procedimiento general.

El residuo resultante del procesado de la reacción se cromatografió usando como eluyente cloroformo-acetona (1:1). Se extrajo la banda mayoritaria y se volvió a cromatografiar con el mismo eluyente para dar(0,417 g ,45%) de 150 en forma de espuma.

Análisis (%)

Calculado para $C_{47}H_{52}N_4O_{14}S$	C, 60,77;	H, 5,60;	N, 6,03;	S, 3,45
Encontrado	60,43	5,30	5,97	3,37

1H RMN $[(CD_3)_2SO, 300 MHz]$ δ 1,30, 1,49 (2 s, 6 H, $C(CH_3)_2$), 4,05 (m, 2 H, H-5'), 4,26(m, 1 H, H-4'), 4,43-4,86 (m, 10 H, H-1", H-3', $\underline{CH}_2-C_6H_5$) , 4,92 (dd, 1 H, H-2', $J_{1',2'} = 2,6$, $J_{2',3'} = 6,3$ Hz), 5,64 (d, 1 H, H-5, $J_{5,6} = 8,0$ Hz), 5,88 (d, 1 H, H-1') 7,85 (d, 1 H, H-6), 11,45 (s ancho, 1 H, 3-NH)

5'-O-[[[[[(2",3",4",6"-Tetra-O-benzoil- β -D-glucopiranosil)amino] carbonil]amino]sulfonil]-2',3'-O-isopropilidénuridina (151)

Una disolución de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil- β -D-glucopiranosil amina 138 (0,60 g, 1 mmol) en cloruro de metileno (20 mL), se trató con clorosulfonilisocianato y 2',3'-O-isopropilidénuridina como se ha indicado en el procedimiento general.

El residuo resultante de procesar la reacción se cromatografió con la mezcla cloroformo-metanol (10:1). Se extrajo

la banda mayoritaria y el producto de ella extraído se volvió a cromatografiar con el mismo eluyente para dar(0,28 g, 20%) del producto deseado 151 en forma de espuma.

Análisis (%)

Calculado par $C_{47}H_{44}N_4O_{18}S$	C, 57,32;	H, 4,47;	N, 5,69;	S, 3,25
Encontrado	57,45	4,29	5,40	2,91

1H RMN $[(CD_3)_2SO, 300 MHz]$ δ 1,26, 1,49 (2 s, 6 H, $C(CH_3)_2$), 3,97 (m, 2 H, H-5'), 4,23(m, 1 H, H-4'), 5,38 , 5,97(2 t, 2 H, H-3", H-4"), 5,85 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 2,8 Hz$), 11,45 (s ancho, 1 H, 3-NH)

11.2 PREPARACION DE DERIVADOS 5'-O-[[(GLUCOPIRANOSIL)SULFAMIDO | CAR- BONIL | URIDINA

PROCEDIMIENTO GENERAL

Una suspensión de 2',3'-O-isopropilidén-5'-O-[[(sul-
famido]carbonil]uridina 146 (0,4 g, 1 mmol), cianuro mercurico (2
mmol) y nitrometano seco (50 mL) se agitó con tamiz molecular de
3 Å (4 g) a reflujo. Después de 30 min de agitación, se añadió una
solución del haluro de azúcar acilado (1 mmol) en nitrometano seco
(8 mL). La mezcla se reflujo durante 4 h, al cabo de las cuales se
filtró el tamiz y el filtrado se concentró a presión reducida. El
residuo resultante se disolvió en cloroformo y la disolución se
lavó dos veces con ioduro potásico acuoso al 30 % (2 x 50 mL) y una
vez con agua. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro.
Después de eliminar el disolvente a vacío se obtuvo un sirupe que
se purificó por cromatografía de capa fina preparativa.

5'-O[[[[(2",3",4",6"-Tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)amino]sul-
fonil]amino]carbonil]-2',3'-O-isopropilidénuridina (153)

El bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-α-D-glucopi-
ranosilo 161 (0,41 g, 1 mmol) se hizo reaccionar con el derivado
de uridina 146 (0,4 g, 1 mmol) como se indica en el procedimiento
general. El jarabe resultante del procesado de la reacción se

purificó por cromatografía de capa fina preparativa utilizando la mezcla cloroformo-acetona (1:1) como eluyente para dar 153 (0,24 g, 32%) en forma de espuma.

Análisis (%)

Calculado para $C_{27}H_{36}N_4O_{18}S$	C, 44,02;	H, 4,89;	N, 7,60;	S, 4,34
Encontrado	44,19	4,86	7,76	4,49

$^1\text{HRMN}$ $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 300 \text{ MHz}]$ δ 1,34, 1,52 (2 s, 6 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,92, 1,95, 1,99, 2.02 (4 s, 12 H, OAc), 4,93 (dd, 1 H, H-3', $J_{2',3'} = 6,4$ Hz, $J_{3',4'} = 3,0$ Hz), 5,0 (t, 1 H, H-4'', $J_{3'',4''} = J_{4'',5''} = 9,6$ Hz), 5,13 (dd, 1 H, H-2', $J_{1',2'} = 1,1$ Hz), 5,41 (t, 1 H, H-3''), 5,84 (d, 1 H, H-1'), 7,72 (d, 1 H, H-6, $J_{5,6} = 6$ Hz), 11,40 (s ancho, 1 H, 3-NH)

5'-O-[[[[[(2'',3'',4'',6''-Tetra-O-benzoil- β -D-glucopiranosil)amino]sulfonil]amino]carbonil]-2',3'-O-isopropilidénuridina (152)

La reacción de bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil-D-glucopiranosilo 160 (0,66 g, 1 mmol) con el derivado de uridina 146 (0,4 g, 1 mmol) según el procedimiento general, condujo a una mezcla que se purificó por cromatografía de capa fina preparativa utilizando como eluyente la mezcla cloroformo-metanol (20:1) para dar 152 (0,33 g, 31%) en forma de espuma.

Análisis (%)

Calculado para $C_{47}H_{44}N_4O_{18}S$	C, 57,32;	H, 4,47;	N, 5,69;	S, 3,25
Encontrado	57,02	4,42	5,96	3,35

$^1\text{H RMN}$ $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}, 300 \text{ MHz}]$ δ 1,33, 1,51 (2 s, 6 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 4,98 (dd, 1 H, H-3', $J_{2',3'} = 6,5 \text{ Hz}$, $J_{3',4'} = 2,2 \text{ Hz}$), 5,11 (d, 1 H, H-2'), 5,40 (d, 1 H, H-1", $J_{1'',2''} = 7 \text{ Hz}$), 5,60 (t, 1 H, H-4"), 5,88 (s, 1 H, H-1'), 11,48 (s. ancho, 1 H, 3-NH)

11.3 PREPARACION DE DERIVADOS DE 5'-O-[[[(GLUCOPIRANOSIL)METIL]UREIDO]SULFONIL]URIDINA

5'-O-[[[[[(2",3",4",6"-Tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosil)metilamino]carbonil]amino]sulfoni]-2',3'-O-isopropilidénuridina (154a)

A una disolución de 1-amino-2,6-anhidro-3,4,5,7-tetra-O-bencil-1-desoxi-D-glicero-D-ido-heptitol 64 (0,55 g, 1 mmol) en cloruro de metileno seco (20 mL) enfriada exteriormente entre -10 y -20°C y en ausencia de humedad, se le añadió clorosulfonil-isocianato (0,09 mL, 1 mmol). La mezcla resultante se agitó, manteniendo el enfriamiento hasta desaparición del producto de partida. Seguidamente, se añadió una mezcla de isopropilidénuridina (0,3 g, 1 mmol), cloruro de metileno seco (5 mL) y piridina (0,08 mL, 1 mmol). Se dejó que la mezcla de reacción alcanzase la temperatura ambiente mientras se continuó la agitación durante cuatro horas. Se evaporó el disolvente a presión reducida y se obtuvo un residuo

que se purificó por cromatografía de capa fina preparativa utilizando la mezcla cloroformo-acetona (1:1) como eluyente. De la banda mayoritaria se aisló 154a (0,38g, 40%) en forma de espuma.

Análisis (%)

Calculado para $C_{48}H_{54}N_4O_{14}S$	C, 61,14;	H, 5,73;	N, 5,94;	S, 3,39
Encontrado	60,80	5,73	5,60	3,69

1 HRMN $[(CD_3)_2SO, 300 MHz]$ δ 1,25, 1,50 (2 s, 6 H, $C(CH_3)_2$), 3,99 (m, 2 H, H-5'), 4,15 (m, 1 H, H-4'), 4,85 (dd, 1 H, H-3'), 4,92 (dd, 1 H, H-2'), 5,88(d, 1 H, H-5), 5,86 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 2,7 Hz$), 7,82 (d, 1 H, H-6), 10,85 (s. ancho, 1 H, 3-NH)

5'-O-[[[[[(2",3",4",6"-Tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosil)metilamino] carbonil]amino]sulfonil]uridina (154b)

Una mezcla de 154a (0,23 g, 0,25 mmol) en ácido trifluoroacético/agua (5:1) (2 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 15 min. Seguidamente, se evaporó el disolvente a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía de capa fina preparativa utilizando la mezcla cloroformo-metanol (6:1) como eluyente para dar el producto deseado 154b (0,15 g, 60%) en forma de espuma.

Análisis (%)

Calculado para $C_{45}H_{50}N_4O_{14}S$	C, 59,87;	H, 5,54;	N, 6,21;	S, 3,55
Encontrado	59,54	5,61;	N, 6,48;	S, 3,30

$^1\text{HRMN}$ | $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, 90 MHz | δ 3,1-3,75 (m, 9 H, protones del heptitol), 4,03 (m, 2 H, H-5'), 4,10 (m, 1 H, H-4'), 4,45-4,85 (m, 10 H, $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$, H-2', H-3'), 5,63 (d, 1 H, H-5), 5,84 (d, 1 H, H-1'), 7,87 (d, 1 H, H-6), 11,36 (s ancho, 1 H, 3-NH).

11.4 PREPARACION DE URIDINA 5'-O-[[(HEXOPIRANOSIL)AMINO]TIOCARBONIL] SUSTITUIDA

5'-O-[[(2",3",4",6"-Tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosil)amino]tio-
carbonil]-2',3'-O-isopropilidénuridina (155)

Una disolución de isotiocianato de 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosilo 128a (1 g, 1,72 mmol) y 2',3'-O-isopropilidénuridina (0,5 g, 1,72 mmol) en acetonitrilo seco, se calentó a reflujo durante 24 h. Seguidamente, se evaporó el disolvente a vacío, y el residuo se purificó por cromatografía de capa fina preparativa utilizando como eluyente la mezcla cloroformo-acetona (8:1). De esta forma se obtuvo el compuesto 155 (0,4g, 27%) en forma de jarabe.

Análisis (%)

Calculado para $\text{C}_{47}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_{11}\text{S}$	C, 65,20;	H, 5,89;	N, 4,85;	S, 3,69
Encontrado	65,49	5,90	4,62	3,80

¹HRMN [CDCl₃, 300 MHz] δ 1,35, 1,60 (2 s, 6 H, C(CH₃)₂), 3,75 (m, 2 H, H-5'), 4,34 (m, 1 H, H-4'), 4,62 (dd, 1 H, H-2'), 4,66 (d, 1 H, H-1" , J_{1",2"} = 3,66 Hz), 4,73 (dd, 1 H, H-3'), 5,51 (d, 1 H, H-5), 6,07 (d, 1 H, H-1', J_{1',2'} = 2,7 Hz), 7,88 (d, 1 H, H-6), 9,10 (s. ancho, 1 H, 3-NH)

11.5 PREPARACION DE DERIVADOS DE 3-N-[[(GLUCOPIRANOSIL)OXI]PROPIL] URIDINA

3-N-[[(2",3",4",6"-Tetra-O-benzoil-α-D-glucopiranosil)oxi]propil] 2',3'-O-isopropilidénuridina (156)

A una disolución de isopropilidénuridina (0,11g, 0,4 mmol) en acetonitrilo seco (10 ml) se le añadió 3-bromopropil-2,3,4,6-tetra-O-benzoil-α-D-glucopiranosido 141 (0,28 g, 0,4 mmol). La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante dos horas. Seguidamente se evaporó el disolvente a vacío y el jarabe resultante se purificó por cromatografía de capa fina preparativa utilizando como eluyente cloroformo-acetona (2:1). De la banda mayoritaria se obtuvieron (0,10 g, 37%) del producto deseado 156

Análisis (%)

Calculado para C ₄₉ H ₄₈ O ₁₆ N ₂	C, 63,91; H, 5,22; N, 3,84
Encontrado	63,61 5,31 3,90

$^1\text{HRMN}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ 2,00 (m, 2 H, $-\text{CH}_2-$), 3,5-3,94 (m, 4 H, OCH_2 , NCH_2), 4,26 (m, 1 H, H-4'), 4,30 (m, 2 H, H-5'), 4,93 (dd, 1 H, H-3'), 4,99 (dd, 1 H, H-2'), 5,31 (d, 1 H, H-1''), 5,34 (c, 1 H, H-2'', $J_{1'',2''} = 3,0$ Hz, $J_{2'',3''} = 8$ Hz), 5,60 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 2,5$ Hz), 5,73 (d, 1 H, H-5, $J_{5,6} = 8,0$ Hz), 8,00 (d, 1 H, H-6)

5'-O-Acetil-3-N-[[[(2'',3'',4'',6''-tetra-O-benzoil- α -D-glucopirano-sil)oxi]propil]-2',3'-O-isopropilidénuridina (164)

Una disolución de 156 (0,3 g, 0,3 mmol) en piridina seca (8 mL) se enfrió externamente con baño de hielo-agua mientras se añadía lentamente anhídrido acético (0,8 mL). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, se vertió sobre agua y se extrajo con cloroformo. Los extractos clorofórmicos se lavaron sucesivamente con ácido sulfúrico (1M), disolución saturada de bicarbonato sódico y agua. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida para dar el acetil derivado 164 (0,27 g, 87%) en forma de jarabe.

Análisis (%)

Calculado para $\text{C}_{51}\text{H}_{50}\text{O}_{17}\text{N}_2$	C, 63,62; H, 5,20; N, 2,91
Encontrado	63,33 5,47 2,83

$^1\text{HRMN}$ (CDCl_3 , 90 MHz) δ 2,05 (s, 3 H, CH_3CO), 2,10 (m, 2 H, $-\text{CH}_2-$), 3,33-4,05 (m, 4 H, OCH_2 , H-5'), 4,32 (m, 1 H, H-4'), 4,79 (dd, 1 H, H-3'), 4,95 (dd, 1 H, H-2'), 5,32 (d 1 H, H-1''), 5,70 (d, 1 H, H-1', $J_{1',2'} = 2,6$ Hz)

IR (entre cristales): $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ (cm^{-1}): 1790

A P E N D I C E

A C T I V I D A D B I O L O G I C A

APENDICE

RELACIONES ENTRE LA ESTRUCTURA QUIMICA Y LA ACTIVIDAD ANTIVIRAL

La actividad antiviral de todos los análogos de UDP-glucosa cuya síntesis se ha descrito en esta memoria ha sido determinada por los doctores Balbino Alarcón y Luis Carrasco del Centro de Biología Molecular de la Universidad Autónoma de Madrid, fuera del ámbito de esta memoria. Sin embargo, dada la evidente relación entre estructura química y actividad antiviral, a continuación se comentan los aspectos más sobresalientes de dichas relaciones y se trata de racionalizar desde el punto de vista estructural el comportamiento biológico observado.

La actividad antiviral se ha determinado estudiando la inhibición que los compuestos sintetizados ejercen sobre el efecto citopático (CPE) inducido por la replicación de Herpes simplex tipo 1 (HSV-1) en células Hela. También se ha ensayado bajo las mismas condiciones experimentales la actividad antiviral de dos agentes antivirales establecidos ^{3,4} (aciclovir y BVDU). Todos los datos obtenidos, junto con los de los compuestos patrón 8 se resumen en la tabla B.

Esta tabla muestra que tan sólo los compuestos 150 y 154b poseen un efecto antiviral similar al de los compuestos patrón 8. Dichos productos poseen una moderada especificidad, si se compara la protección frente al efecto citopático producido por la replicación del virus en la monocapa de células infectadas y la toxicidad del cultivo de células. Sin embargo, todos ellos son ligeramente más tóxicos que los compuestos patrón 8. La ausencia de

TABLA B: Actividad antiherpética y toxicidad "in vitro" de análogos de UDP-glucosa.

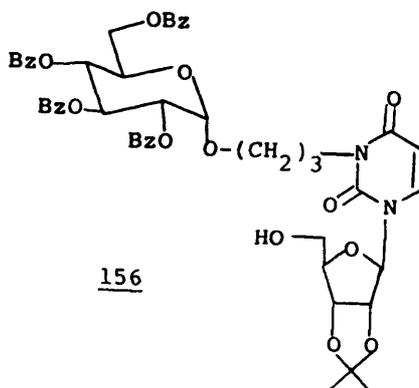
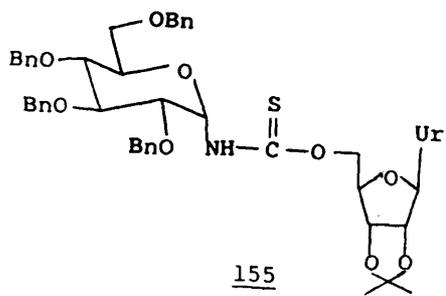
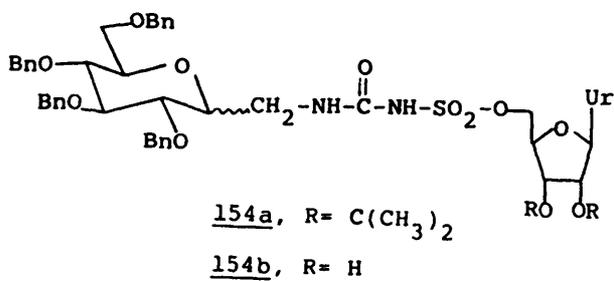
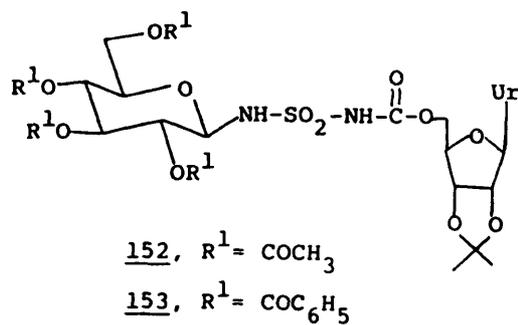
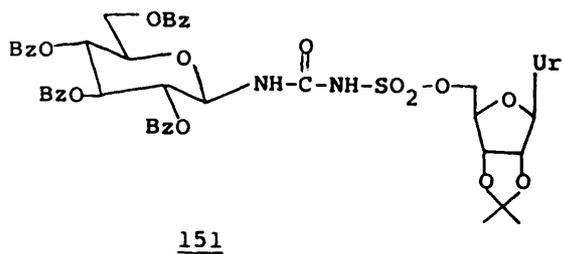
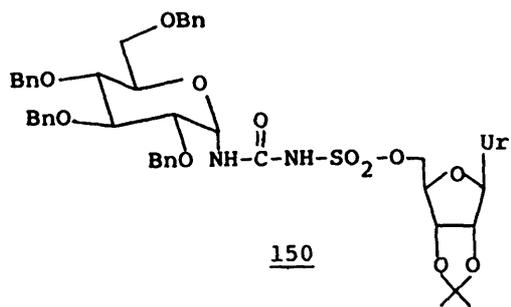
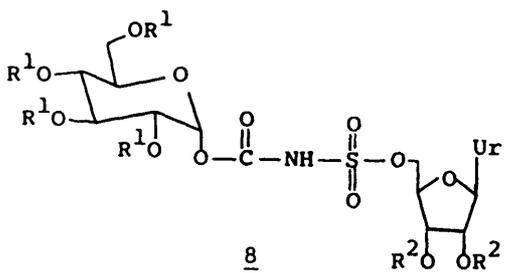
<u>Compuesto</u>	<u>CPE₅₀^{a)}, μM</u>	<u>Tox₅₀^{b)}, μM</u>
<u>8a</u> ($R^1 = \text{Bn}$, $R^2 = \text{C}(\text{CH}_3)_2$)	85	230
<u>8b</u> ($R^1 = \text{Bn}$, $R^2 = \text{H}$)	90	360
<u>8c</u> ($R^1 = \text{Bz}$, $R^2 = \text{C}(\text{CH}_3)_2$)	30	220
<u>8d</u> ($R^1 = \text{Bz}$, $R^2 = \text{H}$)	75	220
<u>150</u>	30	100
<u>151</u>	-	300
<u>152</u>	-	-
<u>153</u>	-	-
<u>154a</u>	-	50
<u>154b</u>	30	100
<u>155</u>	-	-
<u>156</u>	-	-
Aciclovir ^{c)}	60	1.000
BVDU ^{d)}	1	400

a) CPE₅₀ representa la concentración de compuesto (μ M) que protege en un 50% el efecto citopático inducido en las células Hela por el HSV-1.

b) Tox₅₀ representa la concentración de compuesto (μ M) que produce un 50% de toxicidad en las células no infectadas.

c) Aciclovir es 9-[(2-hidroxietoxi)metil]guanina.

d) BVDU es (E)-5-(2-bromovinil)-2'-desoxiuridina.



actividad antiviral del compuesto 151, si se compara con 150 puede deberse unicamente a la configuración anomérica β del resto de glicosilo, que es diferente de la configuración anomérica α de los nucleosiodifosfatohexosas naturales. Los diferentes grupos protectores del resto de glucosa de 151 (benzoilo) y 150 (bencilo) no suponen ninguna diferencia en la actividad tal y como se habia observado para los compuestos patrón 8.

Los análogos de UDP-glucosa descritos en esta memoria tienen el resto de uridina protegido con un grupo 2',3'-O-isopropilidén. Este grupo protector, como se ha visto para los compuestos patrón 8a y 8c no afecta a la potencia antiviral del producto, aunque si le comunica un toxicidad algo mayor. Debido a la elevada toxicidad del derivado de 2',3'-O-isopropilidénuridina 154a, no podia determinarse si este compuesto, que tiene un puente con un eslabón más, era activo o no a dosis superiores a la de la Tox_{50} . Por ello fué necesario preparar el derivado sin grupo protector isopropilidén 154b, con el fin de disminuir la toxicidad y que ésta no enmascarase la posible actividad. En efecto, el compuesto 154b resultó tener una actividad igual a la de 150 y similar a la de los compuestos patrón.

La longitud del puente análogo del grupo difosfato no parece ser muy importante siempre que dicho puente tenga la longitud suficiente como para que el análogo de UDP-glucosa pueda adoptar una disposición tal que mantenga a los restos de glucosa y uridina a un distancia mínima adecuada. La comparación de la distancia d entre el carbono anómero C-1" de la glucosa y el átomo de carbono C-5' de la uridina de la uridinadifosfatoglucosa

($d = 7,74 \text{ \AA}$), de las tunicamicinas ($d = 7,17 \text{ \AA}$) y de sus análogos sintéticos, los compuestos modelo 8, y los descritos en esta memoria, permite explicar por qué el compuesto 154b ($d = 8,45 \text{ \AA}$) que tiene un puente de seis átomos $0,71 \text{ \AA}$ más largo que el puente difosfato natural, tiene una actividad similar a la de los compuestos patrón 8 ($d = 7,18 \text{ \AA}$) cuyo puente es $0,56 \text{ \AA}$ más corto. La corta distancia del puente 155 debe explicar también por qué este compuesto carece de actividad antiviral.

Estos valores de distancia d se han calculado teniendo en cuenta las distancias medias de ángulos y enlaces de agrupamientos estructurales muy similares descritos en la bibliografía¹⁵³.

La inactividad de 156 parece indicar que no es sólo cuestión de distancia entre azúcar y nucleósido lo que influye en la actividad, sino que deben darse además una serie de requerimientos estructurales tales como la unión del puente análogo de difosfato a la posición 5'-O de la uridina, la ausencia de modificaciones químicas en dicho nucleósido e incluso la estructura química del puente.

En efecto, de acuerdo con datos sobre el mecanismo de acción de estos compuestos, obtenidos por los doctores Balbino Alarcón y Luis Carrasco antes mencionados, para el compuesto patrón 8d ($R^1 = \text{Bz}$, $R^2 = \text{H}$), la actividad antiviral puede ser debida no sólo a la demostrada inhibición de glicosilación de proteínas virales, sino también a la inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos. De acuerdo con este resultado, no sólo serían importantes las características estructurales necesarias para la inhibición de glicosilación de proteínas, por ejemplo: configuración anomérica α

del resto glicosilo y longitud del puente que permite una adecuada conformación para la interacción con las correspondientes glicosil transferasas, sino que también serian importantes aquellas características estructurales que hacen que estas uridinas 5'-O-sustituidas sean capaces de interferir con la síntesis de ácidos nucleicos. Por tanto, la estructura química del puente y particularmente el grupo que se une a la posición 5'-O de la uridina: SO_2 , CO, CS, podría ser importante para la actividad antiviral.

C O N C L U S I O N E S

Se han preparado una serie de análogos de uridinadifosfatoglucosa (UDP-Glc) para su posterior evaluación como agentes antivirales.

La preparación de estos compuestos se ha basado en la semejanza estructural existente entre los nucleosidodifosfatos hexosas naturales que son intermediarios bioquímicos que ceden restos glicosilo en los procesos de glicosilación, los metabolitos activos del compuesto antiviral e inhibidor de glicosilación, 2-desoxiglucosa y los nucleósidos antibióticos, también inhibidores de glicosilación, tunicamicinas y estreptovirudinas. Estos compuestos tienen en común la presencia de un resto de hexosa y de un nucleósido unidos a través de sus posiciones C-1 y C-5', respectivamente, por una cadena o puente de cinco átomos.

La hipótesis de diseño de este trabajo considera que esos aspectos estructurales comunes son esenciales para que los compuestos anteriores inhiban o participen en los procesos de glicosilación y desencadenen el efecto biológico deseado, que en este caso, es una actividad antiviral por inhibición de la glicosilación de las proteínas de la cubierta viral.

Con el fin de determinar qué influencia tiene sobre la actividad antiviral la longitud y la naturaleza química de la cadena o puente que une los restos de hexosa y nucleósido, se han sintetizado una serie de análogos de uridinadifosfatoglucosa en los que el puente difosfato de cinco átomos se ha sustituido por otros puentes de tres a seis átomos, que poseen, además diferente estructura química.

Para la obtención de estos análogos, ha sido

necesario preparar una serie de intermedios sintéticos, derivados de glucosa y de uridina, que a su vez han exigido la creación de nuevos métodos sintéticos y el mejoramiento de otros conocidos.

Los aspectos más importantes de este trabajo se resumen en las siguientes conclusiones.

1.- Se ha llevado a cabo un estudio sobre la potencialidad del reactivo cianuro de trimetilsililo (Me_3SiCN) para la creación de enlaces C-C por reacción con centros electrófilos de hidratos de carbono. Este estudio ha permitido la creación de métodos para la preparación de cianuros de glicosilo, azúcares C-ciano ramificados y éteres de cianofenilcarbinol, que, en los dos últimos casos transcurren con elevada regio y estereoselectividad.

Todos los cianoazúcares obtenidos en este estudio son interesantes intermedios quirales que pueden ser utilizados como sintones para la preparación estéricamente controlada de compuestos de quiralidad definida.

2.- Se ha desarrollado un método para la preparación de cianuro de α -D-glucopiranosilo por reacción de 1-O-acetil-2,3,4,6-tetra-O-bencil-D-glucopiranososa con Me_3SiCN .

La reducción de este cianuro con LiAlH_4 condujo, dependiendo de la cantidad de reactivo empleado y de la temperatura a 1-amino-2,5-anhidro-3,4,5,7-tetra-O-bencil-1-desoxi-D-glicero-D-ido-heptitol o a 2,6-anhidro-3,4,5,7-tetra-O-bencil-D-glicero-D-ido-heptosa.

3.- Se ha estudiado la reacción de Me_3SiCN con 3,4,6-tri-O-acetil-D-glucal y con 2,3,4,6-tetra-O-acetil-2-hidroxi-D-glucal, que conduce, en cada caso, a las correspondientes

parejas de cianuros de glicosilo 2,3-insaturado anómeros, es decir, a los cianuros de 4,6-di-O-acetil-2,3-didesoxi- α y β -D-eritro-hex-2-enopiranosilo y a los cianuros de 2,4,6-tri-O-acetil-3-desoxi- α y β -D-eritro-hex-2-enopiranosilo, respectivamente.

4.- La reducción por hidrogenación catalítica de los cianuros de hex-2-enopiranosilo, mencionados en la conclusión anterior, ha conducido a los cianuros de hexopiranosilo correspondientes. Esta reducción, por una parte, constituye un nuevo método de preparación de cianuros de desoxihexopiranosilo y por otra, permite la confirmación de las configuraciones anoméricas asignadas a los cianuros de hex-2-enopiranosilo de partida.

5.- La reacción de etil 4,6-di-O-acetil-2,3-anhidro- α -D-manopiranosido con Me_3SiCN ha conducido a etil 4,6-di-O-acetil-2-C-ciano-2-desoxi- α -D-gluco-piranosido. La estereoquímica gluco-trans-2,3-diecuatorial del C-cianoazúcar ramificado es contraria a la prevista por la regla de Fürst-Plattner.

6.- La reacción de metil 4,6-O-bencilidén-2,3-anhidro- α -D-alo-piranosido con Me_3SiCN dió los correspondientes 6-O-[(R)-ciano fenil metil]- α -D-hexopiranosidos con elevada o total regio y estereoselectividad.

Dichas regio y estereoselectividad en la apertura del anillo de 1,3-dioxano formado por el grupo protector 4,6-O-bencilidén se incrementan al disminuir la temperatura y al aumentar el volumen de los sustituyentes en posición C-3.

7.- Se ha desarrollado un nuevo procedimiento barato y experimentalmente sencillo para la síntesis de isotiocianatos de glicosilo que consiste en hacer reaccionar un haluro de glicosilo

con tiocianato potásico en un disolvente polar aprótico y en presencia de una sal de amonio cuaternario como catalizador.

8.- Se han mejorado los procedimientos para la obtención de las azida de 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α y β -D-glucopiranosilo y de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil- β -D-glucopiranosilo. Las mejoras consisten en una mayor estereoselectividad en la reacción, mayor sencillez de los procesos de aislamiento y purificación y obtención de rendimientos cuantitativos.

9.- Se han preparado los intermedios 3-bromopropil-2,3,4,6-tetra-O-benzoil- α y β -D-glucopiranosido y 2',3'-O-isopropilidén-5'-O-[(sulfamido)carbonil]uridina. En el primer caso se han estudiado las condiciones de reacción que permiten aumentar la proporción del glucósido deseado de configuración anomérica α .

10.- Se han preparado los análogos de UDP-Glc 5'-O-[[[(2",3",4",6"-tetra-O-benzoil- β -D-glucopiranosil)ureido]sulfonil]-2',3'-O-isopropilidénuridina y 5'-O-[[[(2",3",4",6"-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosil)ureido]sulfonil]-2',3'-O-isopropilidénuridina, por reacción de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil- β -D-glucopiranosil amina y 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosil amina con clorosulfonilisocianato y 2',3'-O-isopropilidénuridina. En estos análogos

se ha sustituido el puente difosfato $O-\overset{\overset{O}{\parallel}}{P}-O-\overset{\overset{O}{\parallel}}{P}-O-$ de UDP-Glc por

$$NH-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-NH-\overset{\overset{O}{\parallel}}{S}-O$$

11.- Se han preparado los análogos de UDP-Glc 5'-O-[[[(2",3",4",6"-tetra-O-benzoil- y 2",3",4",6"-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)sulfamido]carbonil]-2',3'-O-isopropilidénuridina, por reacción de los bromuros de 2,3,4,6-tetra-O-benzoil- y de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranosilo respectivamente con

2',3'-O-isopropilidén-5'-O-[(sulfamido)carbonil]uridina. En estos análogos se ha sustituido el puente difosfato $O-P(=O)(OH)-O-P(=O)(OH)-O$ de UDP-Glc por $NH-S(=O)(=O)-NH-C(=O)-O$.

12.- Se ha preparado el análogo de UDP-glucosa 5'-O-[[[(2'',3'',4'',6''-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosil)metilamino]carbonil]amino]sulfonil]-2',3'-O-isopropilidénuridina además de la 5'-O-[[[(2'',3'',4'',6''-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosil)amino]tio-carbonil]-2',3'-O-isopropilidénuridina. El primero se ha obtenido por reacción de 1-amino-2,6-anhidro-3'',4'',5'',7''-tetra-O-bencil-1-desoxi-D-glicero-D-ido-heptitol con clorosulfonilisocianato y 2',3'-O-isopropilidénuridina. El segundo se ha obtenido por reacción de isocianato de 2,3,4,6-tetra-O-bencil- α -D-glucopiranosilo con 2',3'-O-isopropilidénuridina. En estos compuestos se ha sustituido el puente difosfato $O-P(=O)(OH)-O-P(=O)(OH)-O$ de UDP-Glc por $CH_2-NH-C(=O)-NH-S(=O)(=O)-O$ y $NH-C(=O)-O$ respectivamente.

13.- Se ha preparado el compuesto 3-N-[[[(2'',3'',4'',6''-tetra-O-benzoil- α -D-glucopiranosil)oxi]propil]-2',3'-O-isopropilidénuridina por reacción de 3-bromopropil-2,3,4,6-tetra-O-benzoil- α -D-glucopiranosido con 2',3'-O-isopropilidénuridina. En este compuesto los restos de azúcar y de uridina se unen por las posiciones 1'' y 3 y no por las posiciones 1'' y 5' como en UDP-Glc.

14.- Se determinaron, fuera del ámbito de esta memoria, las actividades antivirales frente a Herpes simplex tipo 1 (HSV-1) de los análogos de UDP-Glc descritos anteriormente. Algunos de los compuestos evaluados, presentan actividad antiviral y una selectividad moderada, cuando se compara la protección de las monocapas de células infectadas y la toxicidad inducida en los cultivos

celulares por dichos compuestos.

Las características estructurales responsables de la actividad antiviral deducidas de las relaciones estructura-actividad se resumen a continuación.

La configuración anomérica del resto de glucopiranososa debe ser α , igual a la configuración anomérica del mismo resto en UDP-Glc.

La longitud del puente parece ser importante en la medida que permite que los restos de glucosa y de uridina estén a una distancia mínima adecuada.

La estructura química del puente y particularmente la del grupo unido a la posición 5'-O de la uridina también tienen importancia.

Glucosa y uridina deben estar unidas por sus posiciones 1 y 5' respectivamente.

Los grupos hidroxilo del resto de glucosa deben estar protegidos por grupos bencilo o benzoilo con el fin de que la molécula tenga un coeficiente de reparto adecuado.

El grupo 2',3'-O-isopropilidén, protector de los grupos hidroxilo en posiciones 2',3'-de la uridina, aumenta ligeramente la toxicidad del compuesto.

B I B L I O G R A F I A

1. R.W. Sidwell, J.T. Witkowski, en "Burger's Medicinal Chemistry", Part II, M.E. Wolff, Ed., Wiley, New York, 1979, p. 543.
2. R.A. Smith, R.W. Sidwell y R.K. Robins, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 20, 259, (1980).
3. D. Shuger , en "Medicinal Chemistry Advances", F. de las Heras, S.G. Vega, Eds., Pergamon Press, Oxford, 1981, p. 225.
4. De Clerk, E. Biochem. J., 205, 1 (1982).
5. "Chemotherapy of Viral Infections", P.E. Came y L.A. Caliguiri Eds., New York, 1982, Vol. 61.
6. H.D. Klenk, R.T. Schwarz, Antiviral Res., 2, 177 (1982).
7. R.T. Schwarz, R. Datema, Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., 40, 287 (1982).
8. Scholtissek, C. Curr. Top. Microbiol. Inmunol., 70, 101 (1975).
9. J.G. Spivack, W.H. Prusoff, T.R. Tritton, Virology, 123, 123 (1982).
10. H. A. Blough, R.L. Giuntoli, Am. Med. Assoc., 241 2798 (1979).
11. M.F.G. Schmidt, R.T. Schwarz, C. Scholtissek, Eurp. J. Biochem., 70, 55 (1976).
12. A. Takatsuki, K. Kawamura, M. Okina, Y. Kodama, T. Ito, G. Tamura, Agric. Biol. Chem., 41, 2307 (1977).
13. K. Eckardt, W. Ihn, D. Tresselt, D. Krebs, J. Antibiot., 34, 1631 (1981).
14. S. Hanessian y A.G. Pernet, Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., 33, 111 (1976).

15. G.D. Daves y C.C. Cheng, Progr. Med. Chem., 13, 303 (1976).
16. M.S. Poonian y E.F. Nowoswiat, J. Org. Chem., 45, 203 (1980).
17. N.R. Williams y S.D. Wander, en "The Carbohydrates", Vol. IB; W. Pigman y D. Horton, Eds., Academic Press, New York, 1980, p. 761.
18. T.T. Thang, F. Winternitz, A. Lagrange, A. Olesker y G. Lukacs, Tetrahedron Lett., 21, 4495 (1980).
19. J.S. Brimacombe, A.S. Mengech, K.M.M. Rahman y L.C.N. Tucker, Carbohydr. Res., 110, 207 (1982).
20. J. Yoshimura, M. Matsuzawa, K.I. Sato y Y. Nagasawa, Carbohydr. Res., 76, 67 (1979).
21. J.S. Brimacombe y K.M.M. Rahman, Carbohydr. Res., 123, C 19 (1983).
22. J. Yoshimura, T. Yasumori, T. Kondo y K. Sato, Bull. Chem. Soc. Jpn., 57, 2535 (1984).
23. P.L. Durette, Carbohydr. Res., 100, C 27 (1982).
24. A. Krierzinger y A. Vasella, Chem. Commun., 9 (1984).
25. M. Martin-Lomas y M.E. Chacon-Fuertes, Carbohydr. Res., 59, 604 (1977).
26. B. Coxon, Tetrahedron, 22, 2281 (1966).
27. B. Coxon y M.G. Fletcher, J. Am. Chem. Soc., 85 2637 (1963).
28. I. Betaneli, M.V. Ovchimicov, L.V. Backinowsky y N.K. Kochetkov, Carbohydr. Res., 68 C 11-13 (1979).
29. I. Betaneli, M.M. Litvak, L.V. Bachinowsky y N.K. Kochetko , Carbohydr. Res., 94, C 1-C 4 (1981).
30. F.G. de las Heras y P. Fernandez-Resa, J. Chem. Soc. Perkin I, 903 (1982).

31. W.C. Groutas y D. Felker, Synthesis, 861 (1980).
32. L. Birkofer y O. Stuhl, Fortschr. Chem. Forsch., 8, 33 (1980).
33. G.O. Spessard, A.R. Ritter, D.M. Johnson y A.M. Montgomery, Tetrahedron Lett., 24, 665.
34. J.C. Mullis y W.P. Weber, J. Org. Chem., 47, 2873 (1983).
35. J.M. Bourgeois, Helv. Chim. Acta, 56, 2880 (1973); 58, 363 (1975); 59, 2114 (1976).
36. H. Paulsen y W. Gere, Chem. Ber., 107, 3013 (1974).
37. T. Sakakibara y R. Sudoh, J. Org. Chem., 42, 1746 (1977).
38. T. Sakakibara y R. Sudoh, Carbohydr. Res., 85, 33 (1980).
39. Y. Ali, D.M. Vyas, R.C. Nabinger y W.A. Szarek, Carbohydr. Res., 104, 183 (1983).
40. N.R. Williams, Chem. Commun., 1012 (1967).
41. B.E. Davison y R.D. Guthrie, J. Chem. Soc. Perkin I, 658 (1972).
42. A. Mubarak, y B. Fraser-Reid, J. Org. Chem., 47, 4265 (1982).
43. A. Furst y P.A. Platner. Abstr. Papers Int. Congr. Pure appl. Chem., 12th, New York, p. 409 (1951).
44. M.E. Chacon Fuertes y M. Martin Lomas, An. Quim., 74, 158 (1979).
45. Ch. Shive, R.R. Macgregor, R.E. Lade, Ch. Wan y A.P. Wolf, Carbohydr. Res., 74, 323 (1979).
46. W. Meyer, E. Bohnke y M. Follmann, Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 15, 499 (1976).
47. R. H. Hall, A. Jordaan y M. Malherbe, J. Chem. Soc. Perkin I, 126 (1980).

48. A.J. Brink, O.G. de Villiers y A. Jordaan, S. Afr. J. Chem., 31, 59 (1978).
49. T. Sakakibara, A. Seta, Y. Tachimori y R. Sudoh, Bull. Chem. Soc. Jpn., 53, 2322 (1980).
50. S. Brandänge, O. Dahlman y L. Morch, J. Am. Chem. Soc., 103, 4452 (1981).
51. M. Ohrui, G.H. Jones, J.G. Moffatt, M.L. Maddox, A.T. Christensen y S.K. Byram, J. Am. Chem. Soc., 4602 (1975).
52. J.M.J. Tronchet y O. R. Martin, Carbohydr. Res., 85, 187 (1980).
53. B. Giese y K. Gröniger, Tetrahedron Lett., 25, 2743 (1984).
54. F.G. de las Heras, A. San Felix y P. Fernandez-Resa, Tetrahedron, 39, 1617 (1983).
55. Stephen, J. Chem. Soc., 127, 1874 (1925); 2786 (1930); 4695 (1956).
56. Gauld, Johnson y Ferris, J. Org. Chem., 25, 1968 (1960).
57. H.P. Albrecht, D.B. Repke y J.G. Moffatt, J. Org. Chem., 38, 10 (1973).
58. Pietra y Trinchera, Gazzetta, 85, 1705 (1955).
59. Goiffe y Pallaud, Compt Rend., 252, 1339 (1961); 254, 496 (1962).
60. Plieninger y Werst, Chem. Ber., 88, 1956 (1955).
61. R.J. Ferrier, Adv. Carbohydr. Chem., 24, 199 (1969).
62. K. Heyns y R. Hohlweg, Chem. Ber., 111, 1632 (1978).
63. J. Boivin, M. Pais y C. Moneret, Carbohydr. Res., 79, 193 (1980).

64. R.D. Guthrie y R.W. Irvine, Carbohydr. Res., 82, 207 (1980);
Ibid, 82, 225 (1980).
65. R.J. Ferrier, Advan. Carbohydr. Chem., 20, 67 (1965).
66. R.J. Ferrier, Advan. Carbohydr. Chem. Biochem., 24, 261
(1969).
67. M. Fuertes, G. Garcia-Muñoz, R. Madroñero y M. Stud, J. Heterocyclic Chem., 8, 216 (1971).
68. F. G. de las Heras y M. Stud, Tetrahedron, 33, 1513 (1977).
69. R.J. Ferrier y M.M. Ponpipom, J. Chem. Soc. (C), 560 (1971).
70. R.J. Ferrier y G.M. Sankey, J. Chem. Soc., 2345 (1966).
71. R.J. Ferrier y M.M. Pompipom, J. Chem. Soc. (C), 553 (1971).
72. M. Fuertes, G. Garcia-Muñoz, F. G. de las Heras, R. Madroñero, M. Stud y M. Rico, Tetrahedron, 28, 4099 (1972).
73. C.S. Hudson, J. Am. Chem. Soc., 31, 66 (1909).
74. R.J. Ferrier, W.G. Overend y G.H. Sankey, J. Chem. Soc., 2830
(1965).
75. T. Nishimura, B. Shimizu e I. Iwai, Biochem. Biophys. Acta,
157, 221 (1968).
76. R.V. Lemieux, E. Fraga y K.A. Watanabe, Can. J. Chem., 46, 61
(1968).
77. F. Johson, Chem. Rev., 68, 375 (1968).
78. R.V. Lemieux y A.R. Morgan, Canad. J. Chem., 43, 2205 (1965).
79. M. Fuertes, G. Garcia-Muñoz, F.G. de las Heras, R. Madroñero,
M. Rico y M. Stud, J. Heterocyclic. Chem., 10, 503 (1973).
80. N.R. Williams, Avd. Carbohydr. Chem. Biochem., 25, 109
(1970).

81. J.A. Mills, citado por F.H. Neuth y R.F. Hower en J. Chem. Soc., 989 (1953).
82. G.B. Payne, Tetrahedron, 18, 763 (1962).
83. G. Garcia-Muñoz, F.G. de las Heras, R. Madroñero y M. Stud, Ann. Quim., 70, 283 (1974).
84. R.J. Ferrier y N. Prasad, J. Chem. Soc. (C), 575 (1969).
85. R.J. Ferrier y N. Prasad, J. Chem. Soc. (C), 570 (1969).
86. F. Sweet y R.K. Brown, Can. J. Chem., 46, 2283 (1968).
87. J.G. Buchanan y H.Z. Sable, en "Selective Organic Transformations", Vol. 2, B.S. Thyagarajan, Ed. Wiley Interscience, New York, 1972, p. 1-90.
88. S. Hanessian y N.R. Plessas, J. Org. Chem., 34, 1035 (1969).
89. L.M. Jeppesen, I. Lundt y Ch. Pedersen, Acta Chem. Scan., 27, 3579 (1973).
90. R. Johansson y B. Samuelsson, J. Chem. Soc. Perkin Trans I, 2371 (1984).
91. J.D. Elliot, V.M.F. Choi y W.S. Johnson, J. Org. Chem., 48, 2294 (1983).
92. V.M.F. Choi, J.D. Elliot y W.S. Johnson, Tetrahedron Letters, 25, 591 (1984).
93. S. Kirchmeyer, A. Mertens, M. Arvanaghi y G.A. Olah, Synthesis, 498 (1983).
94. V.M.F. Choi, J.D. Elliot y W.S. Johnson, Tetrahedron Lett., 25, 591 (1984).
95. S. Kirchmeyer, A. Mertens y G.A. Olah, Synthesis, 500 (1983).
96. I. Goodman, Adv. Carbohydr. Chem., 13, 220 (1958).

97. H. Takahashi, K. Takeda, N. Nimura y H. Ogura, Chem. Pharm. Bull., 27, 1137 (1979).
98. M. Valentiny, A. Martvon y P. Kovac, Collect. Czech. Chem. Commun., 46, 2197 (1981); C.A. 96, 52610a (1982).
99. H. Takahashi, N. Nimura y H. Ogura, Chem. Pharm. Bull., 27, 1143 (1979).
100. H. Ogura, H. Takahashi y O. Sato, Chem. Pharm. Bull., 29, 1838, 1843, 2188 (1981).
101. M.L. Shulman, D.E. Cakhtina y Ya. Khorlin, Biochem. Biophys. Res. Commun., 74, 455 (1977).
102. M.L. Shulman, S.D. Shiyan y A. Ya. Khorlin, Biochem. Biophys. Acta, 445, 169 (1976).
103. N. Korhblum, R.A. Smiley, R.K. Blackwood y D.C. Iffland, J. Am. Chem. Soc., 77, 6269 (1955).
104. E.L. Wagner, J. Chem. Phys., 43, 2728 (1965).
105. R.G. Pearson y J. Songstand, J. Am. Chem. Soc., 89, 1827 (1967); Tse-Lok Ho, Chem. Revs., 75, 1 (1975).
106. A. Fava, A. Illiceto y S. Bresadda, J. Amer. Chem. Soc., 87, 4791 (1965).
107. A. Kutosikowa, J. Kovac y Frimm, Chem. Zvesti, 27, 107 (1973).
108. M. Renson, Bull. Soc. Roy. Sci. Liege, 78 (1960).
109. O. Billeter, Helv. Chim. Acta, 8, 337 (1925).
110. V. Tonellato, O. Rosseto y A. Fava, J. Org. Chem., 34, 4032 (1969).
111. P.A.S. Smith y D.W. Emerson, J. Amer. Chem. Soc., 82, 3076 (1960).

112. A. Smits, M. Vixseboxe, y K. Verslag, Akad. Wetenschappen 46 (1913); Chem. Abstr., 8, 649 (1914).
113. J. Gillis, Rec. Trav. Chim., 39, 330 (1920).
114. E. Schmidt, A. Striewsky, M. Siefelder y M. Hitzler, Ann. Chem., 568, 192 (1950).
115. P. Gillis, Bl. Acad. Belg., 792 (1919).
116. E.J. Tarlton y A.F. McKay, ger. Patent 1.148.540 (1963); Chem. Abstr., 60, 2825 (1964).
117. E. Profft, H. Teubner y W. Weuffen, Arch. Exptt. Veterinarmed., 21, 225 (1967).
118. A. Illiceto, A. Fava y V. Mazzucato, Tetrahedron Lett., 11, 27 (1960).
119. A. Illiceto, A. Fava, V. Mazzucato y A. Rossetto, J. Am. Chem. Soc., 83, 2729 (1961).
120. E. Fischer, Ber. Dtsch. Chem. Ges., 47, 1377 (1914).
121. T.B. Johnson y W. Bergman, J. Am. Chem. Soc., 54, 3360 (1932).
122. K. Heyns y R. Hohlweg, Chem. Ber., 111, 1632 (1978).
123. R.D. Guthrie y R.H. Irvine, Carbohydr. Res., 82, 207 (1980).
124. R.G.R. Bacon, en "Organic Sulfur Compounds", Vol. 1 (Ed. N. Kharasch), Pergamon Press, New York, 1961, p. 306.
125. E.E. Reid, en "The Organic Chemistry of Bivalent Sulfur", Vol. 6 (Ed. E.E. Reid), Chemical Publishing Co. Ltd., New York, 1965, pp. 5-226.
126. D. Knoke, K. Kottke y R. Pohlaudek-Fabini, Pharmazie, 28, 574, 617 (1973).

127. A. Muller y A. Wilhelms, Ber. Dtsch., Chem. Ges., 74, 698 (1941).
128. F. Michael y W. Lengsfeld, Chem. Ber., 89, 1246 (1956).
129. A.F. Bochkov y G.E. Zaidov, en "Chemistry G the O-Glycosidic Bond", Pergamon Press, Oxford, 1979, p. 59.
- R.V. Lemieux y A.R. Morgan, Can. J. Chem., 43, 2199 (1965).
130. A. Bertho y H. Nussel, Ber., 63, 836 (1930); A. Bertho y D. Aures, Ann., 592, 54 (1955).
131. F. Michael y A. Klemer, Advan. Carbohyd. Chem., 16, 95 (1961).
132. L. Birkofer y A. Ritter, Angew. Chem. Int. Ed. Eng., 4, 417 (1965).
133. H. Paulsen, Z. Gyorgydeak y M. Friedmann, Chem. Ber., 107, 1568 (1974).
134. H. Paulsen, Advan. Carbohydr. Chem., 26, 127 (1971).
135. R.E. Harman, R.A. Earl y S.K. Gupta, J. Org. Chem., 36, 2553 (1971).
136. W. Pfeleiderer y E. Buhler, Chem. Ber., 99, 3022 (1966).
137. D. Dunstan y L. Hough, Carbohydr. Res., 23, 17 (1972).
138. R. Nolte, J. Von Zomeren y D. Zwikker, J. Org. Chem., 43, 1972 (1978).
139. J.F. Sproviero, A. Salinas, E.S. Bertiche, Carbohydr. Res., 19, 81 (1971).
140. T. Ogawa, S. Nakabayashi y S. Shibata, Agic. Biol. Chem., 47, 281 (1983).

141. G. Magnusson, G. Noori, J. Dahmen, T. Frejd y T. Lave, Acta Chem. Scand, Ser. B, 35, 213 (1981).
142. J. Dahmen, T. Frejd, G. Gronberg, T. Lave, G. Magnusson y G. Noori, Carbohydr. Res., 116, 303 (1983).
143. R.J. Ferrier y R.M. Furneaux, en "Methods in Carbohydrate Chemistry", 8, 1980, p. 251.
144. G. Magnusson, G. Noori, J. Dahmen, T. Frejd y T. Lave, Acta Chem. Scand., B, 35, 213 (1981).
145. M.T. Garcia-Lopez, P. Fernandez-Resa, F.G. de las Heras y P.P. Mendez Castrillon, An. Quim., 80 C, 168 (1984).
146. W.C. Fleming, W.W. Lee y D.W. Henry, J. Med. Chem., 16 570 (1973).
147. P. Goya y M. Stud, J. Heterocyclic Chem., 15, 477 (1978).
148. K.A. Watanabe, A.H. Hollenberg y J.J. Fox, J. Carbohydr. Nucleosides, Nucleotides, 1 (1), 1 (1974).
149. I.D. Jenkins, J.P.M. Verheyden y J.G. Moffatt, J. Am. Chem. Soc., 98, 3346 (1976).
150. A.S. Jones, R.K. Patient y R.T. Walker, J. Carbohydrates, Nucleosides and Nucleotides, 4 (5), 301 (1977).
151. D. Wagner, J.P.M. Verheyden y J.G. Moffatt, J. Org. Chem., 39, 1 (1974).
152. "Molecular Structures and Dimensions", Vol. A 1, 1-12, Crystallographic Date Centre, Cambridge.
153. C.P.J. Glandemans y H.G. Fletcher Jr., en "Methods in Carbohydr. Chem.", VI, 1972, p. 373.
154. P.W. Austin, F.E. Hardy, J.G. Buchanan y J. Baddiley, J. Chem. Soc., 2128 (1964).

155. P.H. Lemieux, en "Methods in Carbohydrate Chemistry", II, L. Whistler y M.L. Wolfrom Eds., Academic Press Inc., New York y Londres, 1963, p. 221.
156. F. Fischer, Ber., 47, 196 (1914).
157. D.R. Rao y L.M. Lermer, Carbohydr. Res., 22, 345 (1972).
158. Nelson K. Richtmyer, en "Methods in Carbohydrate Chemistry", I, L. Whistler y M.L. Wolfrom Eds., Academic Press Inc., New York y Londres, 1962, p. 108.
159. L.F. Wiggins, en "Methods in Carbohydrate Chemistry", II, L. Whistler y M.L. Wolfrom Eds., Academic Press Inc., New York y Londres, 1963, p. 189.
160. Derek Horton, en "Methods in Carbohydrate Chemistry", VI, L. Whistler y J.N. Bemiller Eds., Academic Press Inc., New York y Londres, 1972, p.282.
161. R.D. Guthrie y S.C. Smith, Chem. and Ind., 1, 547 (1968).
162. R.A. Earl y L.B. Townsend, J. Carbohydrates Nucleosides, Nucleotides, 1, 177 (1974).
163. H.G. Fletcher, en "Methods in Carbohydrate Chemistry", II, L. Whistler y M.L. Wolfrom Eds., Academic Press Inc., New York y Londres, 1963, p. 235.
164. H.G. Fletcher y C.S. Hudson, J. Am. Chem. Soc., 72, 4173 (1950).
165. J. Conchie y G.A. Levvy, en "Methods in Carbohydrate Chemistry", II, L. Whistler y M.L. Wolfrom Eds., Academic Press Inc., New York y Londres, 1963, p. 346.
166. J. de Pascual Teresa y F. Hortal, An. Real Soc. Españ. Fis. Quim., Ser B, 63 (2), 221 (1967).

167. R.K. Ness, H.G. Fletcher, Jr., y C.S. Hudson, J. Am. Chem. Soc., 72, 2200 (1950).
168. Hewit G. Fletcher, Jr., en "Methods in Carbohydrate Chemistry", II, L. Whistler y M.L. Wolfrom Eds., Academic Press Inc., New York y Londres, 1963, p. 235.
169. J. Tomasz, en "Nucleic Acid Chemistry", L.B. Townsend y R.S. Tipson Eds., Wiley-Interscience, 1978, parte 2, p. 765.
170. Christopher J. Welch y Jyoti Chattopadhyaya, Acta Chem. Scand. B-37, 147 (1983).