

Tesis de Posgrado

Síntesis de disacáridos parcialmente benzoilados

Vázquez, Isabel María

1979

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias
Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Vázquez, Isabel María. (1979). Síntesis de disacáridos parcialmente benzoilados. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1606_Vazquez.pdf

Cita tipo Chicago:

Vázquez, Isabel María. "Síntesis de disacáridos parcialmente benzoilados". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1979.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1606_Vazquez.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

SINTESIS DE DISACARIDOS PARCIALMENTE BENZOILADOS

ISABEL MARIA VAZQUEZ

Tesis presentada para optar al título de

DOCTOR EN QUIMICA
(Orientación Química Orgánica)

1979

1600 3
2j.2

A mis padres

A mis hijos

A Mario

Mi profunda gratitud a la
Dra Inge M. E. Thiel que me
propuso el tema de Tesis y
me guió en su realización,
brindandome sus continuas
enseñanzas, su apoyo y su
constante dedicación.

Agradezco también:

- Al Dr Jorge O. Deferrari, sus consejos y continuo interés en este trabajo.
- A la Dra Blanca B. de Deferrari, su apoyo.
- Al Instituto Nacional de Farmacología y Bromatología, la beca otorgada.
- Al UMYMFOR (CONICET-FCEN), los espectros y microanálisis realizados.
- A los profesores, compañeros y demás miembros del Departamento de Química Orgánica, el apoyo brindado.

Abreviaturas utilizadas en las fórmulas:

Ac : acetilo

Bz : benzóilo

Ph : fenilo

ClBz : cloruro de benzóilo

Et : etilo

Los compuestos sintetizados por nosotros llevan numeración romana.

INTRODUCCION

En este trabajo se buscaron las condiciones experimentales que permitieran obtener derivados parcialmente benzoilados de disacáridos por un método que condujera a la obtención de sustancias puras o sin mayores requerimientos para su purificación, sin necesidad de realizar varios pasos de protección y desprotección de hidroxilos. Se encontraron así las condiciones para obtener hepta-O-benzoil-disacáridos con el hidroxilo del carbono 3 de la parte reductora sin benzoilar, y se demostraron las estructuras de los compuestos obtenidos.

En el primer capítulo del presente trabajo se recopilan las diferentes condiciones de acilación, especialmente de benzoilación selectiva de monosacáridos descritas en la literatura.

Las demostraciones de las posiciones de los hidroxilos libres en los hepta-O-benzoil-disacáridos obtenidos por nosotros, se realizaron por metilación y posterior hidrólisis. En el segundo capítulo se revisan los antecedentes de las técnicas de metilación en el campo de los hidratos de carbono.

En el tercer capítulo se analizan los resultados obtenidos por nosotros y se comparan los mismos con los informados en la literatura para compuestos similares. Se postulan las interacciones que explicarían los resultados obtenidos y se analiza la estabilidad de los grupos 6-O-benzoilo frente a la reacción de amonólisis en el caso de las 6-O-benzoil-aldobiosas, como así también la ausencia de N-benzoil-aldobiosilaminas y 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-aldoheptosidos en el tratamiento con amoníaco de los hepta-O-benzoil-disacáridos descritos en este trabajo.

CAPITULO I

BENZOILACIONES DE MONOSACARIDOS

ESTERIFICACIONES DE HIDRATOS DE CARBONO

BENZOILACIONES DE MONOSACARIDOS

Las acilaciones selectivas de hidratos de carbono, sin utilizar grupos protectores, conducen frecuentemente a mezclas de productos. La selectividad de la reacción depende del agente acilante, de su concentración, de factores estéricos y de la temperatura de reacción.

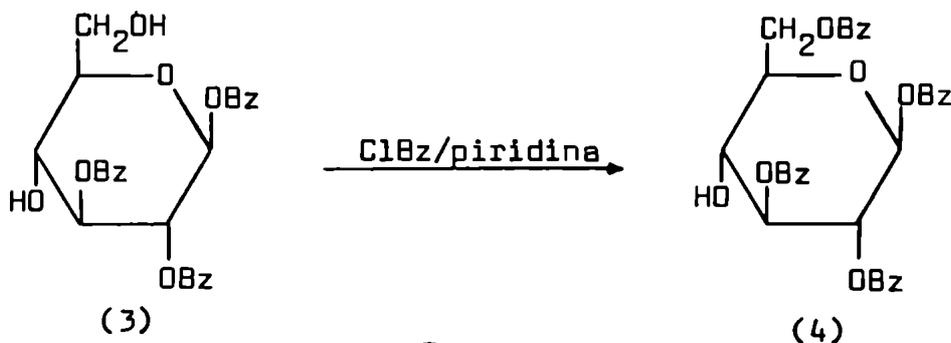
En 1898 Einhorn y Hollandt¹ encontraron que los grupos hidroxilos primarios se benzoilan selectivamente frente a los secundarios, ya que obtuvieron el 1,6-di-O-benzoil-manitol (2) al tratar manitol (1) con cloruro de benzofilo (6 moles equivalentes) y piridina.



(1) manitol

(2) 1,6-di-O-benzoil-manitol

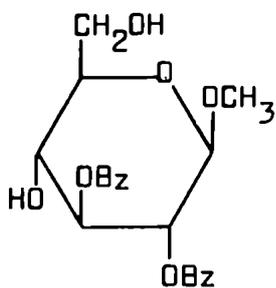
Brigl y Grüner² benzoilaron la 1,2,3-tri-O-benzoil-β-D-glucosa (3), con cloruro de benzofilo/piridina y obtuvieron la 1,2,3,6-tetra-O-benzoil-β-D-glucosa (4) con el hidroxilo en C-4 libre.



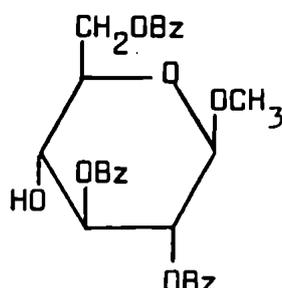
(3) 1,2,3-tri-O-benzoil-β-D-glucosa

— (4) 1,2,3,6-tetra-O-benzoil-β-D-glucosa

Levene y Raymond³ benzoilaron el metil 2,3-di-O-benzoil- β -D-glucopiranosido (5) y obtuvieron el compuesto (6), confirmando así la mayor reactividad de los grupos hidroxilo primarios.



(5).



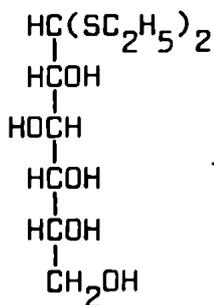
(6)

(5) metil 2,3-di-O-benzoil- β -D-glucopiranosido

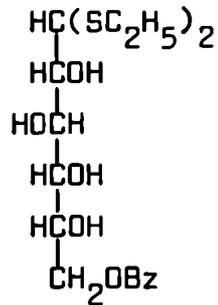
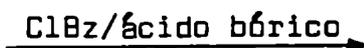
(6) metil 2,3,6-tri-O-benzoil- β -D-glucopiranosido

Otros ejemplos descritos en la literatura sobre benzoilaciones preferenciales de hidroxilos primarios se observaron en los ditioacetales.

Brigl y Grüner⁴ benzoilaron la D-glucosa dietilditioacetal (7) con un mol de cloruro de benzilo en presencia de ácido bórico y obtuvieron el 6-O-benzoil-D-glucosa dietilditioacetal (8).



(7)



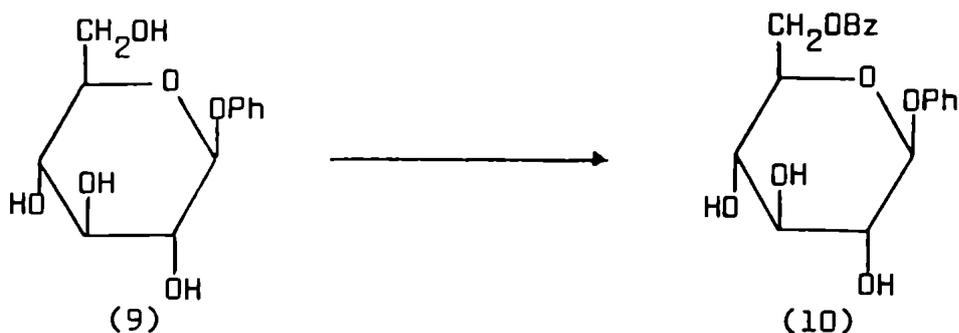
(8)

(7) D-glucosa dietilditioacetal

(8) 6-O-benzoil-D-glucosa dietilditioacetal

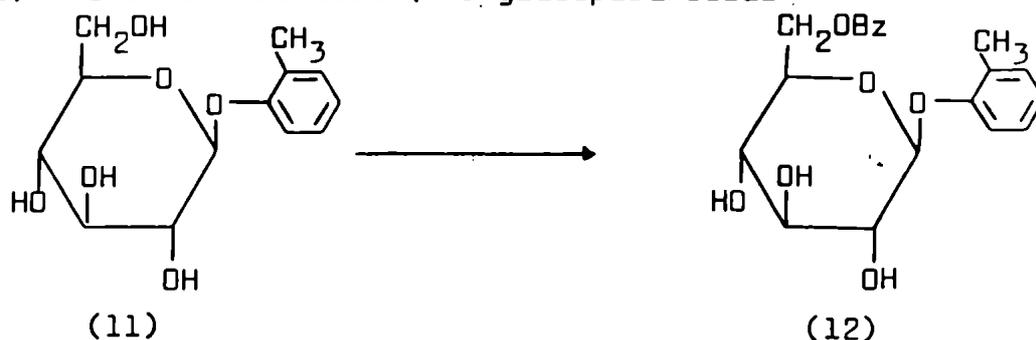
Lieser y Schweizer⁵ obtuvieron los benzoatos en el hidroxilo primario en un serie de ditioacetales, en ausencia de ácido bórico y prepararon así los siguientes compuestos: 6-O-benzoil-D-glucosa dibencilditioacetal, 5-O-benzoil-L-arabinosa dietilditioacetal y 6-O-benzoil-2-O-metil-D-glucosa dietilditioacetal. Los mismos autores⁵ obtuvieron por benzoilación del fenil β -D-glucopiranosido (9) el éster en el C-6, el fenil 6-O-benzoil- β -D-glucopiranosido (10).

Richtmeyer y Yeakel⁶ obtuvieron un resultado igual al benzoilar el o-cresil β -D-glucopiranosido (11).



(9) fenil β -D-glucopiranosido

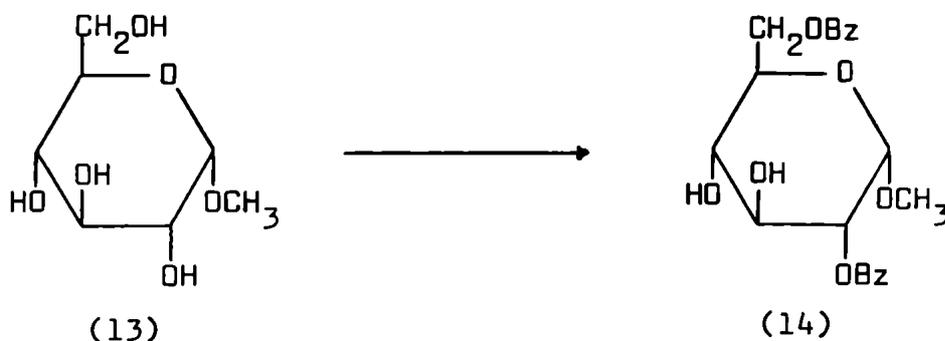
(10) fenil 6-O-benzoil- β -D-glucopiranosido



(11) o-cresil β -D-glucopiranosido

(12) o-cresil 6-O-benzoil- β -D-glucopiranosido

La benzoilación del metil α -D-glucopiranosido (13)⁵ con 2 moles de cloruro de benzoilo en piridina, condujo al 2,6-di-O-benzoil-derivado (14) con 50% de rendimiento.



(13) metil α -D-glucopiranosido

(14) metil 2,6-di-O-benzoil- α -D-glucopiranosido.

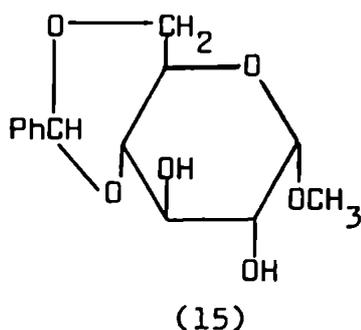
Benzoilaciones con mayores relaciones molares del agente acilante conducen a compuestos más sustituidos.

Compton⁷ también había encontrado que los hidroxilos primarios se esterifican preferentemente a los secundarios y que, de los hidroxilos secundarios el α al carbonilo, (HO-2), era el más reactivo.

Bollenback y Parrish⁸ demostraron la mayor reactividad del HO-6 al realizar transesterificaciones con laurato de metilo, palmitato de metilo, estearato de metilo y benzoato de metilo, catalizadas con bases, con el metil α -D-glucopiranosido (13), en cuyos casos obtuvieron el metil 6-O-benzoil- α -D-glucopiranosido con rendimientos del 30-40%.

Jeanloz y Jeanloz⁹ estudiaron las diferentes reactividades de los hidroxilos secundarios y encontraron que la reactividad dependía del agente acilante, o sea si era un cloruro o un anhídrido de ácido.

Estos autores⁹ observaron al acetilar el metil 4,6-O-benciliden- α -D-glucopiranosido (15) con anhídrido acético, que la mayor parte de la sustitución se produjo en la posición 3, en lugar de la posición 2 como se había esperado.



(15) metil 4,6-O-benciliden- α -D-glucopiranosido

La reacción de esterificación preferencial del HO-3, respecto al HO-2 en el compuesto (15) con los anhídridos de ácidos, se confirmó usando anhídrido benzoico como reactivo. Sin embargo fallaron los intentos de obtener 3-O-p-toluen-sulfonil-derivados empleando anhídrido p-toluensulfónico solo o en presencia de bases.

Jeanloz y Jeanloz⁹ consideraban que las esterificaciones con cloruros de ácidos deberían tener lugar en el HO-2 en el compuesto (15). Sin embargo obtuvieron rendimientos bajos del 2-O-acetil-derivado al acetilar (15) con cloruro de acetilo, y mejoraron los resultados al realizar la reacción con anhídrido acético en presencia de clorhidrato de piridina, a temperatura ambiente.

En la benzoilación de (15) con cloruro de benzóilo se obtuvo el mejor rendimiento en el 2-O-benzóil-derivado, iniciando la reacción a -10°C , manteniendo la reacción a 0°C y finalmente a temperatura ambiente.

El análisis de los rendimientos en los 2,3-di-O-acil-, el 2-O-acil- y el 3-O-acil-derivado, permitió apreciar un rendimiento similar en las condiciones de reacción indicadas en la Tabla I 1-2 y respectivamente 3-5.

En base a estos resultados los autores⁹ postularon que las reactividades de los hidroxilos de las posiciones 2 y 3 del compuesto (15) dependían del número de protones presentes en el medio de reacción, ya sea por adición externa o porque se liberan en el transcurso de la misma.

Los ésteres formados resultaron estables en las condiciones de reacción, lo cual se comprobó, ya que no se observaron migraciones del grupo

benzoiloxi del C-2, por acción de la piridina, ni del grupo acetoxi del C-3 por acción del clorhidrato de piridina.

TABLA I

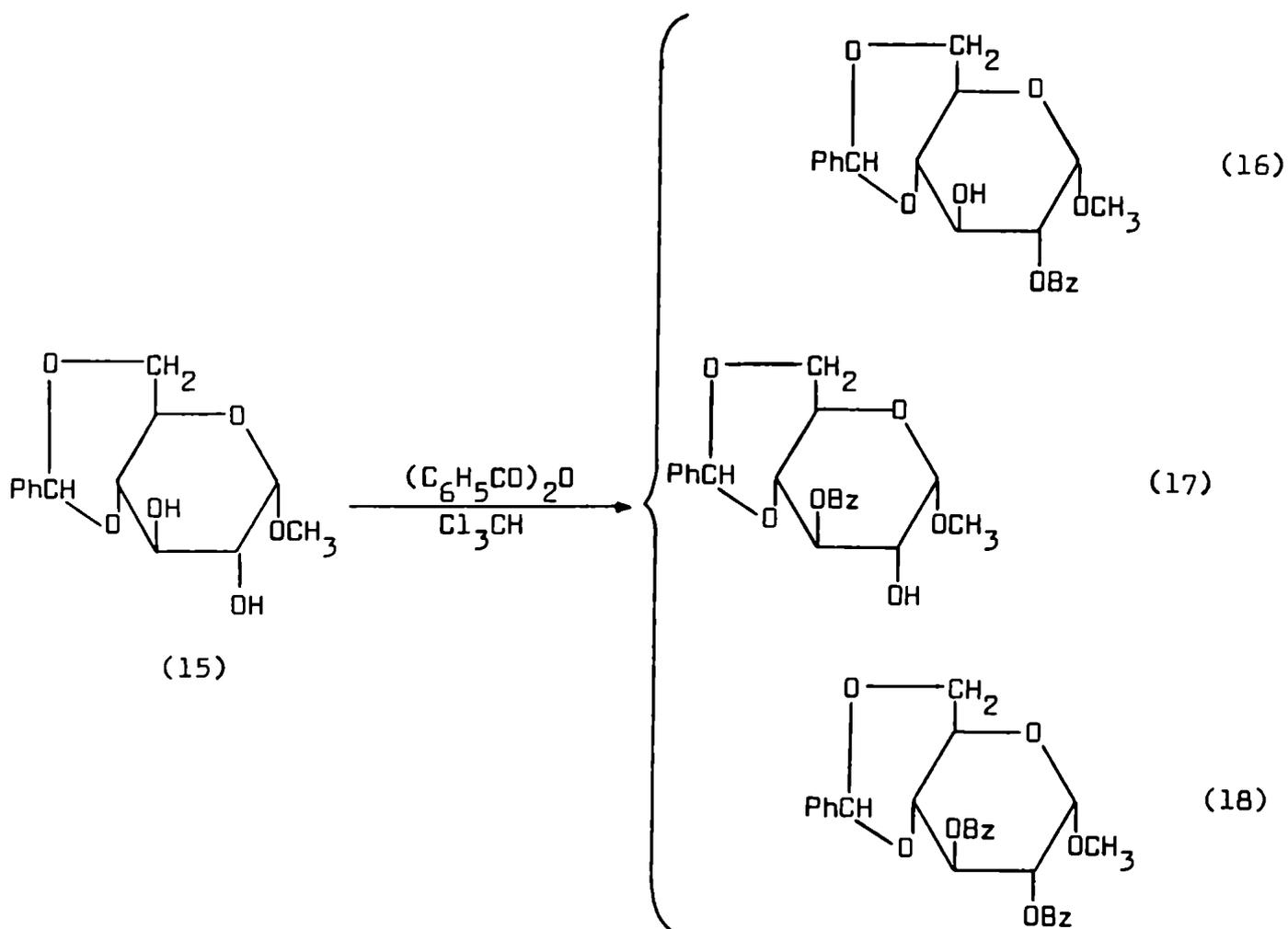
ACIL-DERIVADOS DEL METIL 4,6-O-BENCILIDEN- α -D-GLUCOPIRANOSIDO							
Reactivo	moles reactiv.	T° inicial	T° final	% en acil-derivado			% material de partida
				2,3-	2-	3-	
1. $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$	1.25	20-30	20-30	26	3 ^b	42	7
2. $(\text{C}_6\text{H}_5\text{CO})_2\text{O}$	1.10	20-30	20-30	9	13	25	23
	1.10 ^a	50	50	22	12	22	15
3. CH_3COCl	1.25	0	0	23	16	—	3
4. $\text{C}_6\text{H}_5\text{COCl}$	1.25 ^a	0	0	35	24	6	12
5. $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O} + \text{C}_6\text{H}_5\text{N} \cdot \text{HCl}$	1.05	0	20-30	21	30	5	16

tiempo de reacción: 1 día, excepto que se indique otro tiempo.
a) tiempo 5 días.
b) material crudo.

Jeanloz y Jeanloz⁹ en sus trabajos sobre acilaciones parciales del metil 4,6-O-benciliden- α -D-glucopiranosido (15), concluyeron que en la acilación con anhídrido acético en piridina, la acilación ocurre preferentemente sobre el HO-3. Con otros agentes acilantes, como el cloruro de acetilo, cloruro de benzofilo, anhídrido metan-sulfónico y cloruro de p-toluensulfonilo, realizando las reacciones en presencia de piridina, el ataque preferencial es sobre el HO-2. Usando anhídrido acético en presencia de clorhidrato de piridina, se obtiene el 2-O-acetil derivado como producto principal.

La mayor reactividad del HO-2 también ha sido confirmada por Kondo¹⁰ quien estudió la benzoilación parcial del metil 4,6-O-benciliden- α y β - glucopiranosido con anhídrido benzoico en cloroformo, obteniendo los compuestos (16) y (17) con 70% y 19% de rendimiento respectivamente y sólo trazas del compuesto (18). Estos resultados no concuerdan con los de Jeanloz y Jeanloz⁹ quienes con anhídrido benzoico habían obtenido principalmente un benzoato en la posición 3.

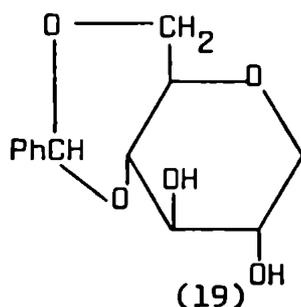
El haber obtenido un 70% del compuesto (16) es otra evidencia de la mayor reactividad del hidroxilo en el C-2.



- (15) metil 4,6-O-benciliden- α -D-glucopiranosido
 (16) metil 4,6-O-benciliden-2-O-benzoil- α -D-glucopiranosido
 (17) metil 4,6-O-benciliden-3-O-benzoil- α -D-glucopiranosido
 (18) metil 4,6-O-benciliden-2,3-di-O-benzoil- α -D-glucopiranosido

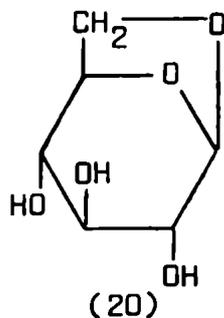
Dichos resultados también fueron confirmados por Bollenback y Parrish⁸ quienes encontraron en el compuesto (16) una mucho mayor reactividad en el HO-2, especialmente en benzoilaciones realizadas a bajas temperaturas ($-20^{\circ}C$). En reacciones de transesterificación con benzoato de metilo también se observa esta mayor reactividad en la posición 2.

Los trabajos de Newth¹¹ sobre la benzoilación y la p-toluensulfonación parcial, en piridina, del 1,5-anhidro-4,6-O-benciliden-D-glucitol (19) indican también que el HO-2 se acila preferentemente.



- (19) 1,5-anhidro-4,6-O-benciliden-D-glucitol

Los resultados obtenidos por Jeanloz y col.¹² sobre la benzoilación y la p-toluensulfonación en piridina anhidra, de la 1,6-anhidro- β -D-glucopiranososa (20), trabajando con los cloruros de los ácidos correspondientes, indican también que el HO-2 es más reactivo que el HO-3.



(20) 1,6-anhidro- β -D-glucopiranososa

Ambos grupos de investigadores coinciden en que la configuración del átomo de carbono glicosídico influye poco en la sustitución preferencial, en las acilaciones parciales.

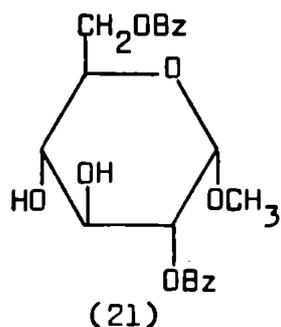
En 1967, Williams y Richardson¹³ trabajando con 3.1 equivalentes molares de cloruro de benzoílo, establecieron un orden de reactividad de los grupos hidroxilos secundarios del metil α -D-glucopiranosido y del metil α -D-manopiranosido, frente al cloruro de benzoílo. Este orden no necesariamente se cumple con otros agentes acilantes, ya que la selectividad de la acilación varía con el agente acilante y el tipo de catálisis involucrada⁸.

También para estos autores¹³ el hidroxilo primario de un hidrato de carbono es más reactivo frente a agentes esterificantes que los hidroxilos secundarios.

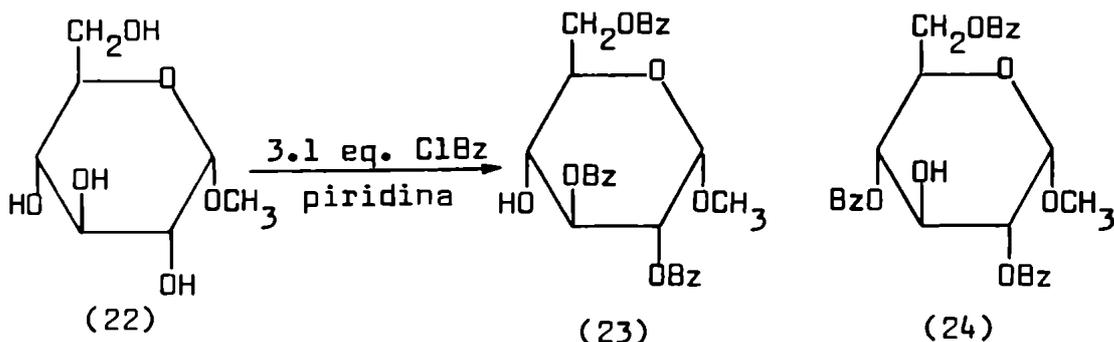
La mayor reactividad del HO-2 frente a los otros hidroxilos secundarios de la D-glucosa, con el cloruro de benzoílo, se vió en los trabajos de Lieser y Schweizer⁵ y en los trabajos de Williams y Richardson¹³ y fué atribuído por Sugihara¹⁴ a un efecto activante del centro anomérico.

En el metil 2,6-di-O-benzoil- α -D glucopiranosido (21) el grupo HO-3 experimenta interacciones gauche con los grupos O-benzoílo e hidroxilos vecinos, y que el HO-4 es adyacente al grupo 5-benzoiloximetilo, que es muy voluminoso, y a un hidroxilo, y por lo tanto está estéricamente más impedido.

Por tribenzoilación del metil α -glucopiranosido (22) se forma el 2,3,6-tri-O-benzoato (23) con 67% de rendimiento y el isómero 2,4,6-sustituido (24) con 28% de rendimiento. Estos resultados concuerdan con los argumentos antes expuestos y por lo tanto el orden de reactividad de los grupos hidroxilos secundarios en el compuesto (22) es: HO-2 > HO-3 > HO-4.



(21) metil 2,6-di-O-benzoil- α -D-glucopiranosido

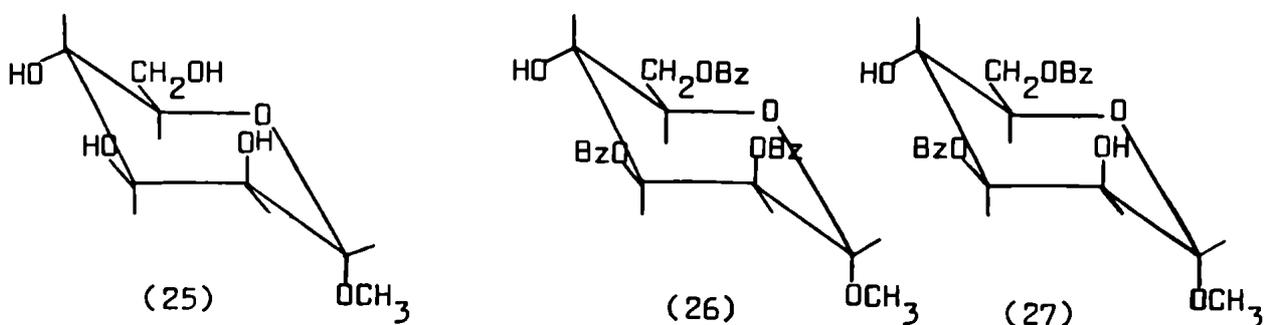


(22) metil α -D-glucopiranosido

(23) metil 2,3,6-tri-O-benzoil- α -D-glucopiranosido

(24) metil 2,4,6-tri-O-benzoil- α -D-glucopiranosido

En el caso del metil α -D-manopiranosido (25)¹³, la tribenzoilación condujo a la obtención del 2,3,6-tri-O-benzoato (26) con 56% de rendimiento y del 3,6-di-O-benzoato (27) con 26% de rendimiento.



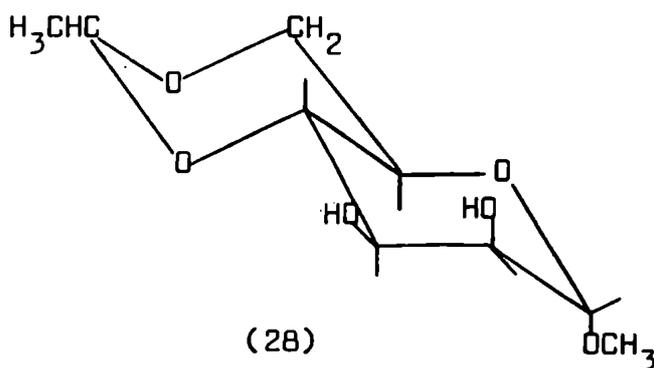
(25) metil α -D-manopiranosido

(26) metil 2,3,6-tri-O-benzoil- α -D-manopiranosido

(27) metil 3,6-di-O-benzoil- α -D-manopiranosido

La obtención del 3,6-di-O-benzoato demuestra que el HO-3 es el más reactivo de los hidroxilos secundarios en este glicósido, y por lo tanto la activación del HO-2 por el centro anomérico, está enmascarada por su desfavorable disposición axial¹³.

En concordancia con estos resultados Aspinall y Zweifel¹⁵ encontraron que el grupo hidroxilo ecuatorial del C-3 en el metil 4,6-O-etiliden- α -D-manopiranosido (28) es sulfonado más rápidamente que el grupo hidroxilo axial del C-2.

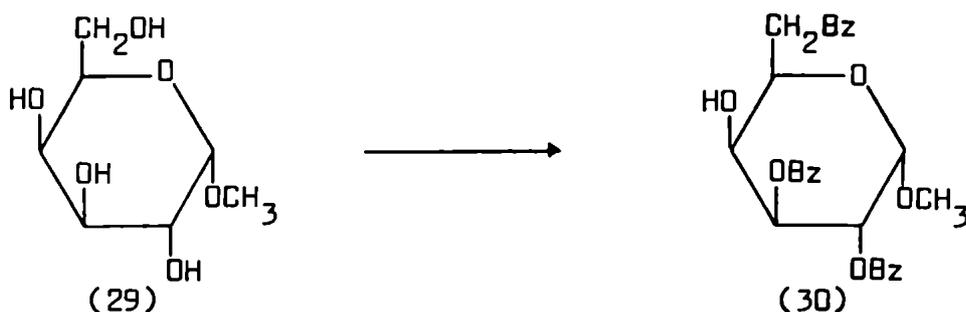


(28) metil 4,6-O-etiliden- α -D-manopiranosido

Por lo tanto el orden de reactividad de los grupos hidroxilo secundarios en el manopiranosido es HO-3 > HO-2 > HO-4.

Aspinall y Zweifel¹⁵, trabajaron además con varios derivados de azúcares, esterificándolos con derivados de ácidos carboxílicos y en todos ellos encontraron que los hidroxilos ecuatoriales son más rápidamente esterificados que los axiales, hecho éste que había sido establecido para sistemas tipo ciclohexano por Barton¹⁶.

En cuanto al orden de reactividad de los grupos hidroxilo secundarios del metil- α -D-galactopiranosido (29) este no puede predecirse en base a los resultados obtenidos por Williams y Richardson¹³ debido a la baja reactividad de este compuesto frente a la dibenzoilación. Sin embargo la alta selectividad frente a la tribenzoilación, que conduce al 2,3,6-tri-O-benzoato (30) con 65% de rendimiento, muestra que el HO-4 es el menos reactivo. Por lo tanto el orden de reactividad de los hidroxilos secundarios de este metil glicósido puede fijarse como: HO-2 y HO-3 > HO-4.



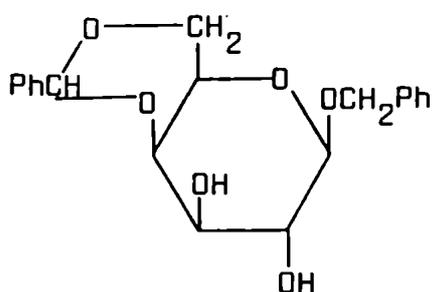
(29) metil α -D-galactopiranosido

(30) metil 2,3,6-tri-O-benzoil- α -D-galactopiranosido

Aspinall y Zweifel¹⁵ encontraron en las tosilaciones selectivas del metil 4,6-O-etiliden- α -D-glucopiranosido y del metil 4,6-O-etiliden- α -D-manopiranosido que el cloruro de p-toluén sulfonilo reacciona preferentemente con el HO-2 en el glucósido que tiene los hidroxilos de los C-2 y C-3 en posición ecuatorial. Sin considerar la discusión de la mayor reactividad del HO-2, esto implica que en el caso del manósido la reactividad preferencial del HO-3 se puede explicar por razones estereoquímicas.

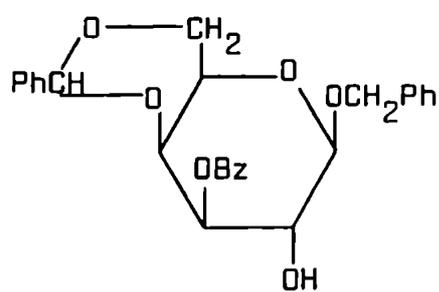
Williams y Jeanloz¹⁷ encontraron además que el hidroxilo del C-4 en los metil α - y β -galactopiranosidos es el menos reactivo frente a la metilación.

El orden de reactividad de los hidroxilos secundarios del C-2 y del C-3 encontrado por Williams y Jeanloz¹⁷ coincide con los resultados de Chittenden y col.¹⁸. Estos autores trataron el bencil 4,6-O-benciliden- β -D-galactopiranosido (31) con un equivalente de cloruro de benzoilo en piridina-diclorometano a 0° y obtuvieron el compuesto (32) como producto principal, con rendimientos del orden del 64-78%. Empleando N-benzoil imidazol como agente acilante selectivo de hidratos de carbono Staab¹⁹ obtuvo el mismo compuesto con rendimientos aún mejores, 89-93%.



(31)

(31) bencil 4,6-O-benciliden- β -D-galactopiranosido



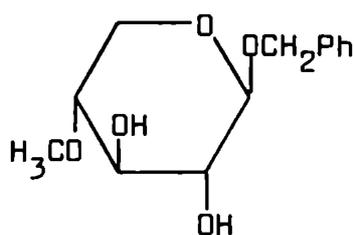
(32)

(32) bencil 4,6-O-benciliden-3-O-benzoil- β -D-galactopiranosido

Williams y Richardson¹³ descartaron la posibilidad de que ocurra migración del grupo benzoilo y ejerza un control termodinámico sobre los productos de reacción, puesto que no se observaron isomerizaciones del metil 2,4,6-tri-O-benzoil- α -D-glucopiranosido en piridina saturada con clorhidrato de piridina, (a temperatura ambiente, durante dos días).

Reactividades similares de los hidroxilos, a los observados por Williams y Richardson¹³, fueron informados por Chalk y col.²⁰ durante las mesilaciones de metil glucopiranosidos, de metil galactopiranosidos y de metil manopiranosidos.

En el caso de pentosas Garegg²¹ estudió la acetilación parcial del bencil 4-O-metil- β -D-xilopiranosido (33) y encontró que el grupo HO-2



(33)

(33) bencil 4-O-metil- β -D-xilopiranosido

era el más reactivo, empleando anhídrido acético y acetato de sodio a 100° (ver Tabla II (a)) mientras que si el agente acilante era anhídrido acético y ácido perclórico (e), el más reactivo resultaba ser el grupo HO-3. Otros sistemas tales como anhídrido acético y piridina (b), cloruro de acetilo y piridina (c) y anhídrido acético y piridina, conteniendo clorhidrato de piridina (d), dieron distribuciones de los grupos acetilo que mostraron menor selectividad en la reacción que en los casos extremos mencionados anteriormente. Los resultados de estas acetilaciones se siguieron por cromatografía en columna de sílica y se resumen en la Tabla II.

TABLA II

ACETIL-DERIVADOS DEL BENCIL 4-O-METIL- β -D-XILOPIRANOSIDO (33)	
Medio de reacción	Relación del 2-acetato: 3-acetato
a) anhídrido acético-acetato de sodio	aprox. 2 : 1
b) anhídrido acético-piridina	1,7 : 1
c) cloruro de acetilo-piridina	1,1 : 1
d) anhídrido acético-piridina-clorhidrato de piridina	aprox. 1 : 1
e) anhídrido acético-ácido perclórico	aprox. 1 : 3

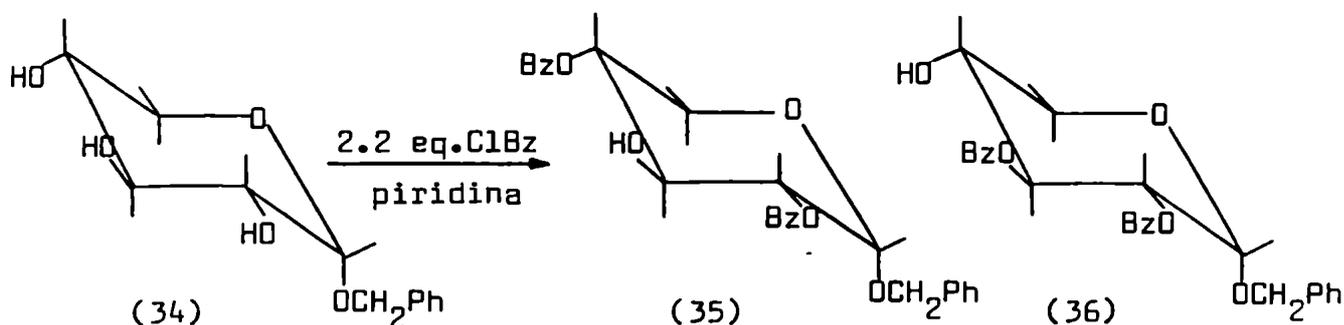
Estos resultados indican que el HO-2 del compuesto (33) se acetila más rápidamente en piridina (b) y en acetato de sodio (a) como catalizadores, y que el HO-3 se acetila preferentemente cuando se usa ácido perclórico (e) como catalizador. Esto está de acuerdo con lo descrito para el metil 4,6-O-benciliden- α -D-glucopiranosido y confirma la suposición de los grupos de investigadores^{9,11} que es poco probable que influya la configuración del átomo de carbono glicosídico en la diferente reactividad.

La diferencia entre el compuesto (33) y los compuestos anteriores, (15), (19), (29) y (31) en el resultado de las acilaciones puede atribuirse a la estructura menos rígida del xilopiranosido, comparada con las más rígidas conformaciones de los otros compuestos.

Según Garegg²¹ las acetilaciones parciales en piridina están cinéticamente controladas y durante las mismas no se producen migraciones.

Los resultados obtenidos por Sivakumaran y Jones²² en la benzoilación selectiva del bencil α -D-xilopiranosido (34) y del bencil β -L-arabinopiranosido (37) coinciden con las conclusiones a que llegan Williams y Richardson¹³. Al benzoilar selectivamente los compuestos (34) y (37), con

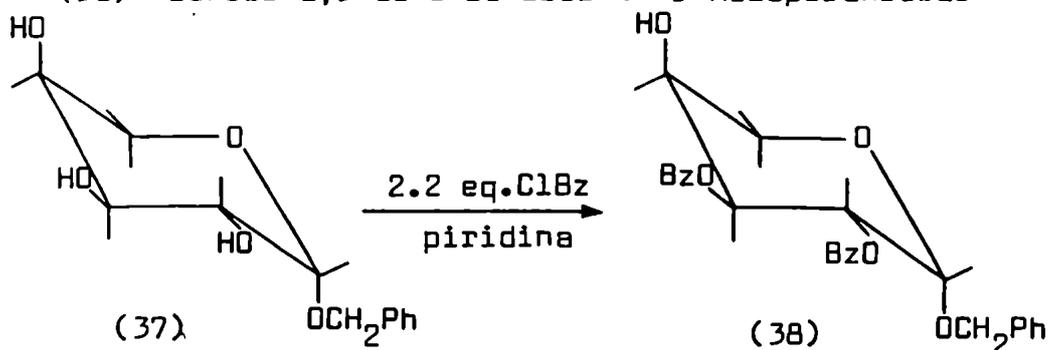
2,2 equiv. molares de cloruro de benzoflo en piridina anhidra a -30° C obtuvieron en ambos casos mezclas de productos.



(34) bencil α -D-xilopiranosido

(35) bencil 2,4-di-O-benzoil- α -D-xilopiranosido

(36) bencil 2,3-di-O-benzoil- α -D-xilopiranosido



(37) bencil β -L-arabinopiranosido

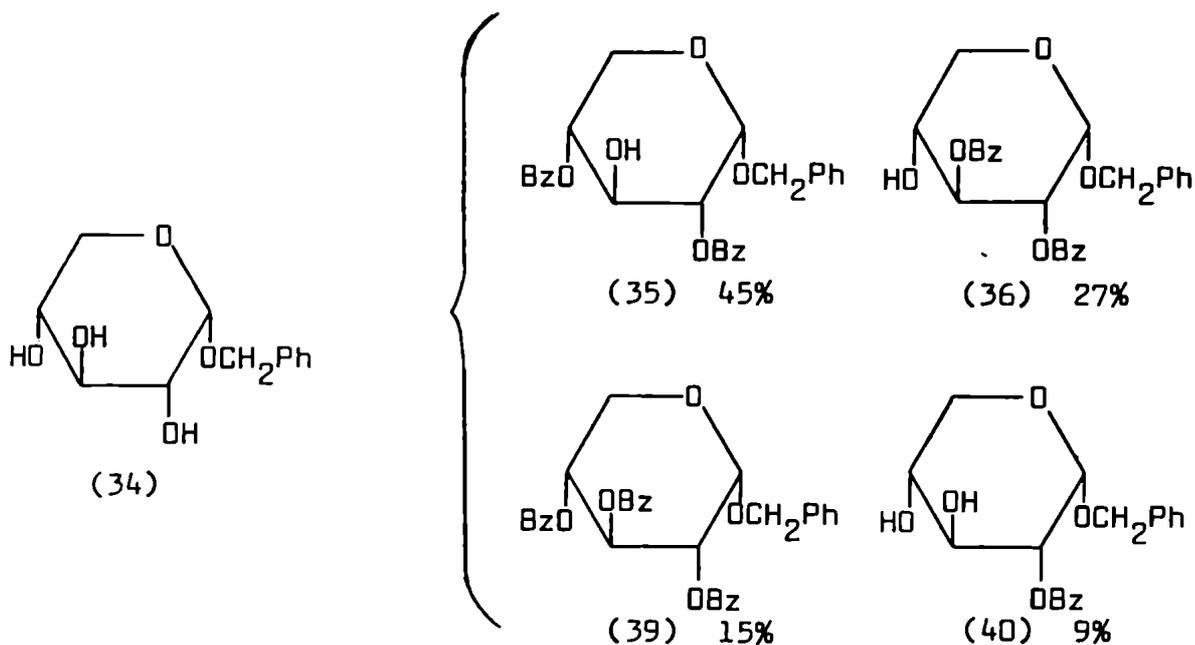
(38) bencil 2,3-di-O-benzoil- β -L-arabinopiranosido

La formación del bencil 2,3-di-O-benzoil- β -L-arabinopiranosido (38) que tiene el HO-4 en posición axial en su conformación preferida, también coincide con los trabajos de Williams y Richardson¹³ y de Eliel y Lukach²³, quienes demostraron que la acilación de grupos hidroxilo axiales procede más lentamente que la de los grupos ecuatoriales, y se comprobó también por dibenzoilación selectiva del metil- β -L-arabinopiranosido que conduce al 2,3-di-O-benzoato con mayor rendimiento.

La benzoilación del bencil- α -D-xilopiranosido (34) dió lugar a una mezcla de cuatro productos, en la cual se obtiene el 2,4-di-O-benzoato (35) como producto principal y el 2,3-di-O-benzoato (36) como secundario, lo cual era de esperar de acuerdo a los argumentos expuestos por Williams y Richardson¹³ para explicar la preponderancia del 2,3,6-tri-O-benzoato sobre su isómero 2,4,6-sustituido en la benzoilación del metil α -D-glucopiranosido.

El hidroxilo del C-3 del bencil 2-O-benzoil- α -D-xilopiranosido (40) tiene interacciones gauche con un grupo benzoflo y un grupo hidroxilo, mientras que el HO-4 es adyacente a un átomo de hidrógeno y a un grupo hidroxilo, y está estéricamente menos impedido. De modo que el HO-4 es benzoilado más rápidamente que el HO-3, causando una preponderancia del

2,4-di-O-benzoato (35) sobre el isómero (36).



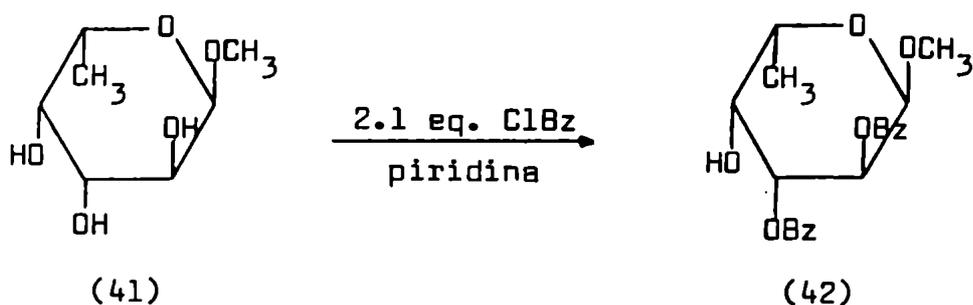
- (34) bencil α -D-xilopiranósido
 (35) bencil 2,4-di-O-benzóil- α -D-xilopiranósido
 (36) bencil 2,3-di-O-benzóil- α -D-xilopiranósido
 (39) bencil 2,3,4 tri-O-benzóil- α -D-xilopiranósido
 (40) bencil 2-O-benzóil- α -D-xilopiranósido

La posibilidad de que ocurra migración de benzóilos y ejerza un control termodinámico sobre los productos de reacción se descartó puesto que no se produjo isomerización del bencil 2,4 di-O-benzóil- α -D-xilopiranósido (35) a su isómero (36), ni viceversa, en solución de piridina saturada con clorhidrato de piridina a T⁰ ambiente durante 24 horas.

Richardson y Williams²⁴ extendieron sus estudios sobre benzoilaciones selectivas a 6-desoxi-hexosas, para determinar si la presencia de un grupo metilo en el C-5 influía en la reactividad del HO-4 más que la presencia de un grupo hidroximetilo. En los trabajos de benzoilación del metil α -D-glucopiranósido¹³ habían comprobado que el grupo HO-4 era el menos reactivo de los grupos alcohólicos secundarios.

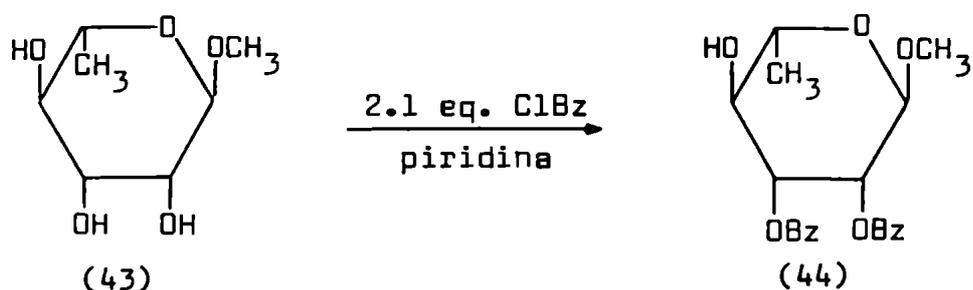
La benzoilación del metil 6-desoxi- α -L-galactopiranósido²⁴ (α -L-fucopiranósido) (41) con 2.1 moles de cloruro de benzóilo en piridina, a -40°C dió lugar al metil 2,3-di-O-benzóil-6-desoxi- α -L-galactopiranósido (42) con 80% de rendimiento. El compuesto (42) se identificó por resonancia magnética nuclear.

La benzoilación del metil 6-desoxi- α -L-manopiranósido²⁴ (α -L-ramnopiranósido) (43) en iguales condiciones condujo al metil 2,3-di-O-benzóil-6-desoxi- α -L-manopiranósido (44) con 50% de rendimiento.



(41) metil 6-desoxi- α -L-galactopiranosido

(42) metil 2,3-di-O-benzoil-6-desoxi- α -L-galactopiranosido



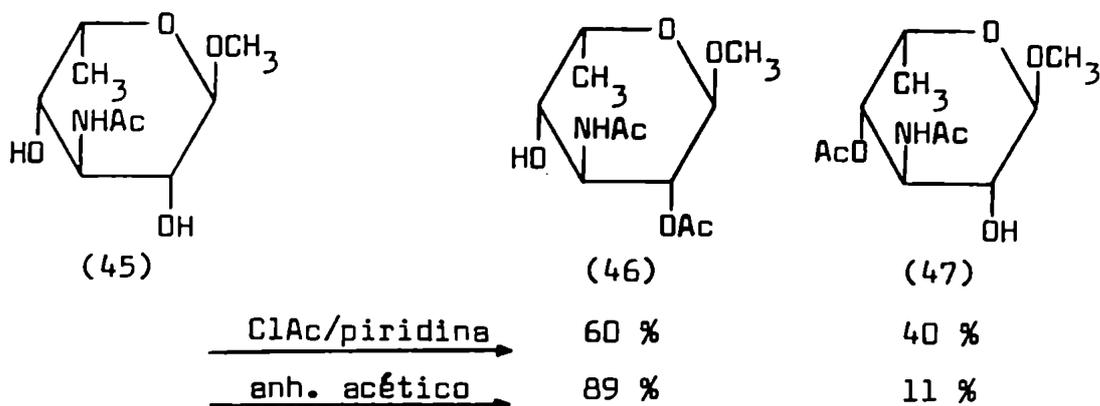
(43) metil 6-desoxi- α -L-manopiranosido

(44) metil 2,3-di-O-benzoil-6-desoxi- α -L-manopiranosido

Estos resultados²⁴ son análogos a los obtenidos por estos mismos autores¹³ cuando trabajaron con el metil- α -D-galactopiranosido y con el metil- α -D-manopiranosido y por lo tanto parece ser que la ausencia del HO-6 tiene poco o ningún efecto sobre la reactividad del HO-4. Además como en los hexopiranosidos el HO-6 es probablemente el primero que se benzofila, la comparación con los 6-desoxi-hexo-piranosidos representa una comparación de la influencia de un grupo benzofloximetilo y de un grupo metilo sobre el HO-4.

Čápek y col.²⁵, entre otros, estudiaron la diferente reactividad de los hidroxilos secundarios del metil 3-acetamido-3,6-didesoxi- α -L-idopiranosido (45) frente al cloruro de acetilo/piridina y al anhídrido acético/piridina como agentes acilantes. Con el cloruro de acetilo obtuvieron además de peracetil aldosas una mezcla 60:40 del derivado 2-O-acetilado (46) y el derivado 4-O-acetilado (47) y con anhídrido acético se obtuvieron estos compuestos en relación 89:11.

En trabajos anteriores estos autores estudiaron la acetilación parcial del metil 3-acetamido-3,6-didesoxi- α -L-glucopiranosido, con cloruro de acetilo y anhídrido acético, en piridina y la desacetilación posterior del 2,4-di-O-acetil derivado por alúmina alcalina, con el objeto también de determinar los factores que influyen en la mayor reactividad de uno de los dos hidroxilos.



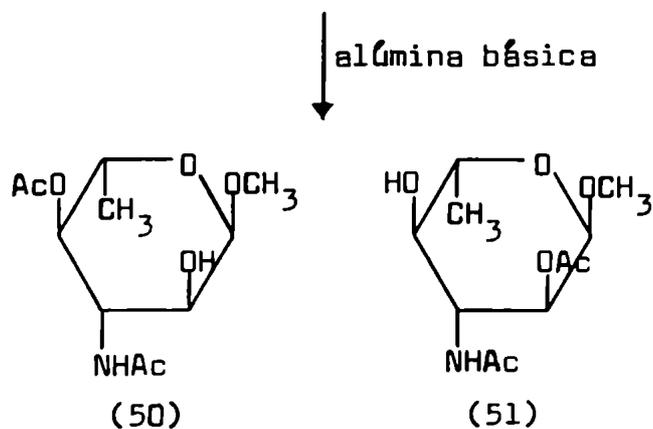
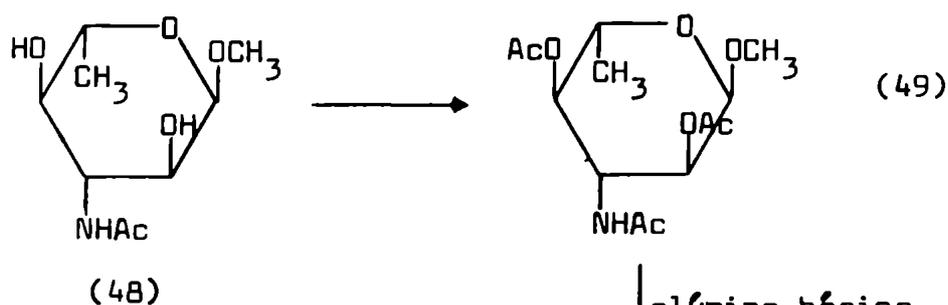
- (45) metil 3-acetamido-3,6-didesoxi- α -L-idopiranosido
 (46) metil 3-acetamido-2-O-acetil-3,6-didesoxi- α -L-idopiranosido
 (47) metil 3-acetamido-4-O-acetil-3,6-didesoxi- α -L-idopiranosido

Los autores²⁶ también encontraron que por acetilación del metil 3-acetamido-3,6-didesoxi- α -L-glucopiranosido (48) con cloruro de acetilo/piridina se obtenía el metil 3-acetamido-2,4-di-O-acetil-3,6-didesoxi- α -L-glucopiranosido (49). Por tratamiento de este último con alúmina básica ocurre una desacetilación parcial, obteniéndose un 87% del metil 3-acetamido-4-O-acetil-3,6-didesoxi- α -L-glucopiranosido (50) y un 13% del metil 3-acetamido-2-O-acetil-3,6-didesoxi- α -L-glucopiranosido (51).

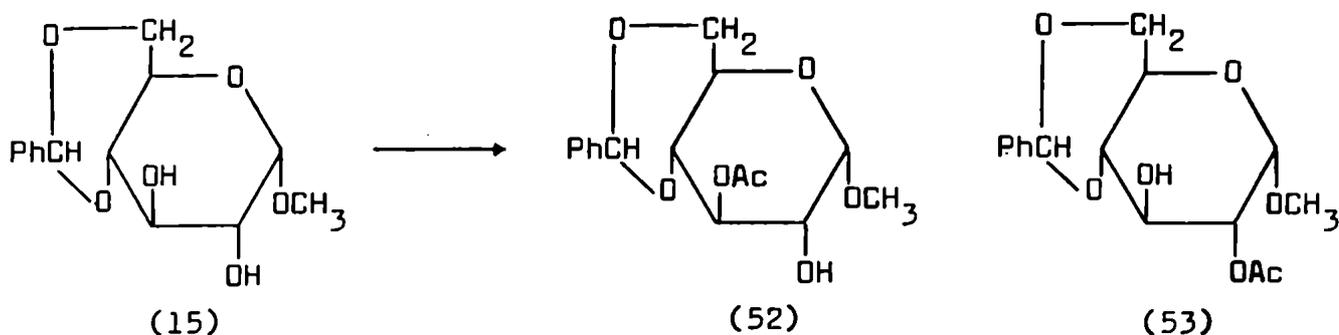
La acetilación del compuesto (48) con anhídrido acético y piridina, daba directamente una mezcla de los compuestos (50) y (51) en relación 59:41.

Hasta ahora se consideraron las reactividades relativas de los grupos hidroxilo de una molécula de azúcar, basándonos para ello en la distribución de productos obtenidos en su reacción con un dado reactivo, en determinadas condiciones. Con estos resultados se obtiene una evaluación bastante aproximada a la realidad. Sin embargo en reacciones que ocurren en varios pasos puede conducir a conclusiones completamente erróneas.

Lehrfeld²⁷ estudió el mecanismo de acetilación parcial del metil 4,6-O-benciliden- α -D-glucopiranosido (15) con anhídrido acético en piridina anhidra a 25°C, y aisló el metil 3-O-acetil-4,6-O-benciliden- α -D-glucopiranosido (52) como producto principal y el metil 2-O-acetil-4,6-O-benciliden- α -D-glucopiranosido (53) en menor cantidad.



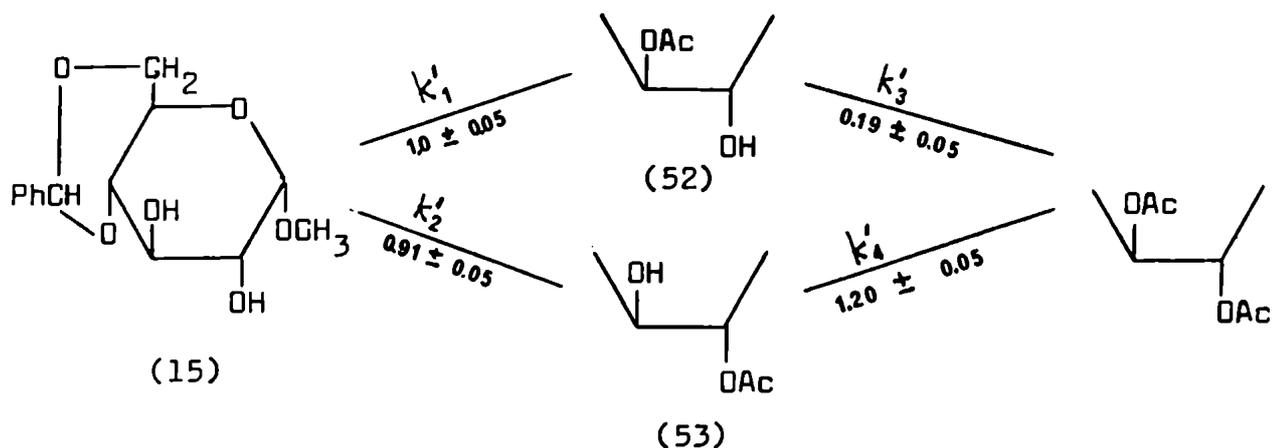
- (48) metil 3-acetamido-3,6-dideoxi- α -L-glucopiranosido
 (49) metil 3-acetamido-2,4-di-O-acetil-3,6-dideoxi- α -L-glucopiranosido
 (50) metil 3-acetamido-4-O-acetil-3,6-dideoxi- α -L-glucopiranosido
 (51) metil 3-acetamido-2-O-acetil-3,6-dideoxi- α -L-glucopiranosido



- (15) -metil 4,6-O-benciliden- α -D-glucopiranosido
 (52) metil 3-O-acetil-4,6-O-benciliden- α -D-glucopiranosido
 (53) metil 2-O-acetil-4,6-O-benciliden- α -D-glucopiranosido

Un análisis superficial indicaría que en el estado inicial de la reacción (15 \rightarrow 52 y 15 \rightarrow 53) el hidroxilo del C-3 es más reactivo frente al anhídrido acético-piridina que el hidroxilo de C-2. Esta conclusión, sin embargo es incorrecta.

En efecto, k'_1 , k'_2 , k'_3 y k'_4 son las constantes de velocidad relativa y los números son sus valores experimentales. La pequeña diferencia de reactividad de la reacción 1 con la 2 no puede por sí sola explicar la acumulación del producto (52) (que es el que se obtiene como producto principal). El principal factor contribuyente a ello es la marcada disminución



en la reactividad del HO-2 en la reacción 3. La velocidad de la reacción 3 es 1/6 de la de la reacción 4. La sustitución de un grupo acetilo en O-3 disminuye marcadamente la reactividad del hidroxilo vecinal (HO-2). Cuando el HO-2 es similarmente sustituido con un acetilo la reactividad del hidroxilo vecinal (HO-3) aumenta ligeramente.

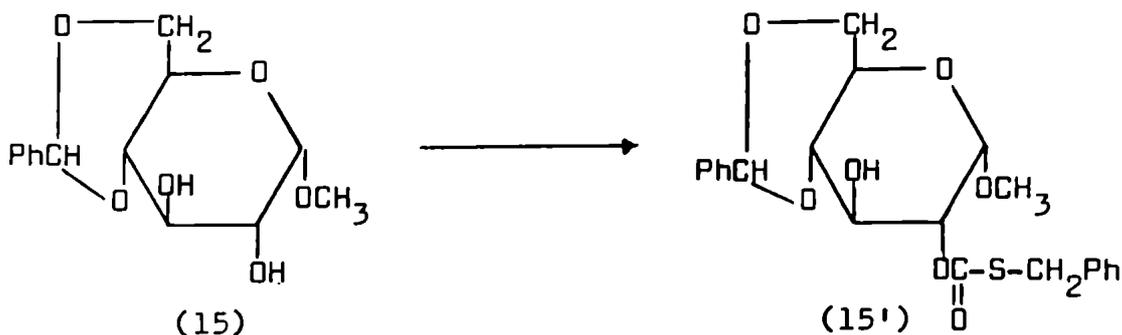
En este ejemplo se observa que la reactividad de un grupo hidroxilo en una molécula de azúcar puede cambiar durante el curso de una reacción de varias etapas. Consecuentemente, cualquier conclusión acerca de reactividades, basada únicamente en los rendimientos de los productos aislados, puede resultar errónea. Generalizaciones tales como que el HO-2 de un hidrato de carbono es más reactivo que el HO-3, deben ser determinadas no sólo por el reactivo y solvente usados, sino también por el grado y tipo de sustitución que va teniendo lugar en la molécula.²⁷

Williams y Richardson¹³ indicaron que se deben considerar también los puentes de hidrógeno, entre los muchos factores que pueden influir en la velocidad de benzoilación.

Buck y col.²⁸ efectuaron correlaciones entre la velocidad de esterificación en piridina y las uniones hidrógeno intramoleculares, en tetracloruro de carbono, y Pimentel y Mc. Clellan²⁹ consideraron que no era probable que persistiera la unión hidrógeno intramolecular en piridina, ya que éste es un solvente que forma fuertes uniones hidrógeno intermoleculares con los alcoholes. Si la unión hidrógeno con la piridina se encuentra estéricamente impedida en el estado de transición, puede adquirir importancia la unión intramolecular con un aceptor apropiadamente ubicado.

Los resultados de Williams y Richardson¹³, los de Aspinall y Zweifel¹⁵ y los de Jeanloz y Jeanloz³⁰ permiten generalizar que en aldosas y en aldósidos el HO-2 es más reactivo que los otros hidroxilos secundarios. La configuración del centro anomérico influye en tales reacciones. Así por ejemplo el metil 4,6-O-benciliden- α -D-glucopiranosido (15) reacciona con el bencil-tiocloroformiato^{31,32} para dar el éster en el C-2,(15') mientras

que el anómero β da principalmente el diéster en los C-2 y C-3.



(15) metil 4,6-O-benciliden- α -D-glucopiranosido

(15') metil 4,6-O-benciliden-2-benciltioformil- α -D-glucopiranosido

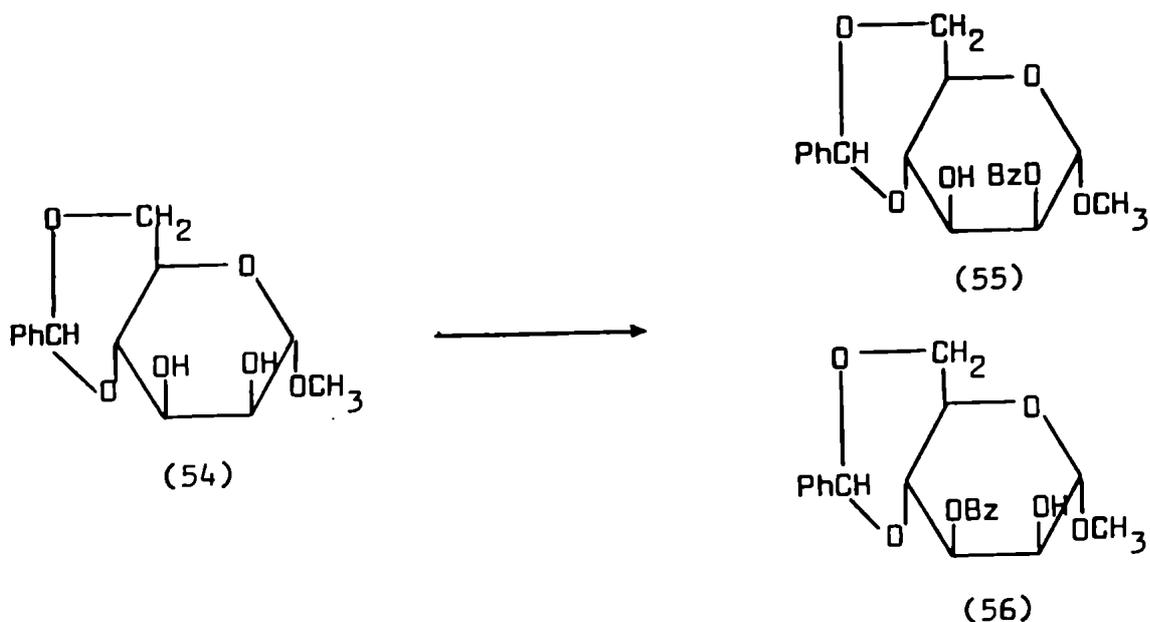
Estos resultados concuerdan con los de otros autores^{5,7,14}.

Abbas y Haines³³ encontraron que el cianuro de benzóilo es altamente selectivo como agente benzoilante de hidratos de carbono. Así la mono benzoilación del metil 4,6-O-benciliden- α -D-manopiranosido (54) con 1 equivalente de cianuro de benzóilo en acetonitrilo, en presencia de cantidades catalíticas de trimetilamina, conduce al 2-O-benzoato (55) y al 3-O-benzoato (56) en relación 7:3, mientras que con N-benzóilimidazol (considerado un agente acilante altamente selectivo) se obtenía una relación 1:1 de estos benzoatos. Parece ser que esta baja selectividad se debe a que el imidazol formado durante la acilación es capaz de catalizar una fácil migración del éster entre los dos grupos hidroxilo en cis, que lleva a una mezcla de equilibrio 1:1 del 2-O-benzoato (55) y del 3-O-benzoato (56).

En cambio en la monobenzoilación del metil 4,6-O-benciliden- α -D-glucopiranosido (15) con N-benzóilimidazol, Abbas y Haines³³ observaron que la migración de acilos es mucho más lenta y el metil 4,6-O-benciliden-2-O-benzóil- α -D-glucopiranosido (16) se forma bajo control cinético.

Un agente acilante que reaccione en un solvente neutro, no hidroxílico, con producción de un ácido débil, disminuiría la posibilidad de migración del éster, subsiguiente a la acilación, y el cianuro de benzóilo reúne estas condiciones³³.

En algunos casos los puentes de hidrógeno permiten explicar el aumento de reactividad de ciertos grupos hidroxilo frente a la esterificación. Por ejemplo el 1:4,3:6-di-anhidro-D-glucitol (57) es preferencialmente benzoilado en el grupo hidroxilo endo del C-5 usando cloruro de benzóilo en piridina, mientras que con N-benzóilimidazol o con cianuro de benzóilo no hubo apreciable selectividad por ninguno de los grupos hidroxilo, y precisamente el hidroxilo endo del C-5, relativamente impedido, es el que forma uniones de hidrógeno más fuertes en solución diluida en tetracloruro de carbono.



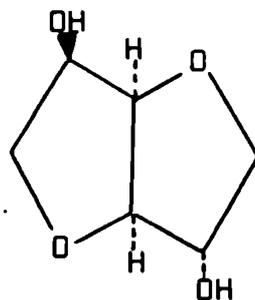
a) cianuro de benzofilo (55): (56) = 7:1

b) N-benzofilo imidazol (55) : (56) = 1:1

(54) metil 4,6-O-benciliden- α -D-manopiranosido

(55) metil 4,6-O-benciliden-2-O-benzofilo- α -D-manopiranosido

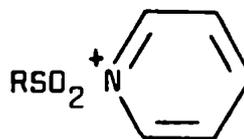
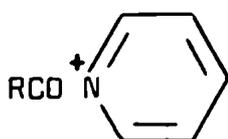
(56) metil 4,6-O-benciliden-3-O-benzofilo- α -D-manopiranosido



(57)

(57) 1:4,3:6-di-anhidro-D-glucitol

Esta explicación se basa en que los iones acil piridinium son los agentes acilantes efectivos en reacciones que involucran cloruros de ácio



do en piridina, y que las interacciones polares, especialmente entre átomos de oxígeno capaces de actuar como aceptores en la unión puente de H, y el nitrógeno cargado positivamente, serían los responsables de que el agente acilante se aproximara más al hidroxilo y aumentara su reactividad. En cambio el N-benzofilo imidazol y el cianuro de benzofilo carecen de un átomo con una carga positiva formal y no producen un incremento de reactividad del hidroxilo de C-5, del compuesto (57). La selectividad que presentan el N-benzofilo imidazol y el cianuro de benzofilo es el resultado de

factores estéricos y/o electrónicos.

Hönig y Weidmann³⁴ compararon el cloruro de benzoílo-trietilamina, el cloruro de benzoílo-piridina y el N-benzoílo-imidazol como reactivos benzoilantes selectivos para un cierto número de metil 4,6-O-benciliden-D-hexopiranosidos: α -D-gluco, α -D-mano, α -D-alo, α -D-altro y β -D-gluco. Los resultados se agrupan en la Tabla III.

TABLA III

Comparación de productos benzoilados formados por acilaciones con diferentes reactivos .				
Metil-4,6-O-benciliden-hexopiranosidos	% del compuesto obtenido con el reactivo acilante			R _f
	N-benzoíloimidazol	trietilamina: cloruro de benzoílo	piridina: cloruro de benzoílo	
α -D-gluco (A)	12	30	12	0.18
2-benzoato (A1)	44(78)	60	24	0.65
3-benzoato (A2)	33	5	6	0.55
2,3-dibenz. (A3)	11	5	35	0.75
α -D-mano (B)	24	16		0.20
2-benzoato (B1)	53	72		0.63
3-benzoato (B2)				0.52
2,3-dibenz. (B3)	23	12		0.76
α -D-alo (C)	20	64		0.23
2-benzoato (C1)	46	26		0.69
3-benzoato (C2)	19	5		0.58
2,3-dibenz. (C3)	15	5		0.78
α -D-altro (D)	23	20	18	0.20
2-benzoato (D1)	53(44)	62	19	0.63
3-benzoato (D2)	2(1)	2	20	0.52
2,3-dibenz. (D3)	22	16	33	0.75
β -D-gluco (E)	23	36		0.15
2-benzoato (E1)	26	12		0.60
3-benzoato (E2)	42	43		0.46
2,3-dibenz. (E3)	9	9		0.76

De estos resultados se deduce que la piridina es una base mucho menos selectiva para tales esterificaciones que los otros dos reactivos.

Repeticiones de las benzoilaciones con N-benzoil-imidazol por Carey y Hodgson³⁵ y por Holder y Fraser Reid³⁶ produjeron resultados sólo parcialmente reproducibles. Así Carey y Hodgson³⁵ obtuvieron el compuesto A1 (Tabla III) con 78% de rendimiento en lugar de 44% como informan Hönig y Weidmann,³⁴ y Holder y Fraser Reid³⁶, en la benzoilación en pequeña escala del compuesto D (Tabla III) obtuvieron el 2-O-benzoato (D1) como único producto y trabajando en una escala 4,5 veces mayor obtuvieron 44% del mismo (D1) y menos del 1% del 3-O-benzoato (D2).

Comparando los resultados obtenidos con N-benzoil-imidazol y con cloruro de benzoilo-trietilamina que figuran en la Tabla III vemos que:

-- con N-benzoil imidazol el compuesto (A) de configuración α -D-glucoproduce cantidades del 3-benzoato (A2) cuya proporción aumenta al aumentar el tiempo de reacción, lo cual se debe, al menos en parte, a la migración de benzoilos.

-- El derivado de configuración α -D-mano (B) conduce con ambos reactivos a una mezcla siruposa de 2-O-benzoato (B1) y 3-O-benzoato (B2).

-- En el compuesto de configuración α -D-alo (C) se observa un aumento nítido de reactividad del hidroxilo del C-2 frente al hidroxilo del C-3 cuando se lleva a cabo la reacción con cloruro de benzoilo-trietilamina, en cambio en el compuesto (E) de configuración β -D-glucop, con este mismo agente acilante, se obtiene preferentemente el 3-O-benzoato (E2) al igual que ocurría con N-benzoil-imidazol.

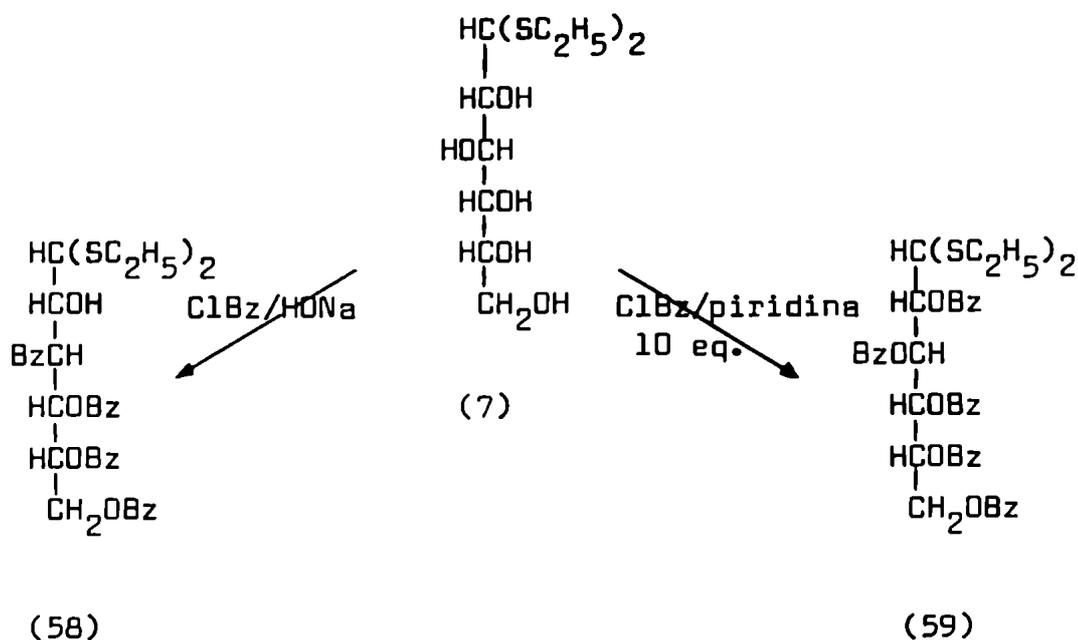
-- La reacción del reactivo trietilamina-cloruro de benzoilo sobre el derivado de configuración α -D-altro (D) dió resultados similares a los obtenidos con N-benzoil-imidazol, pero mostró una selectividad aún mayor por el isómero 2-benzoilado (D1).

Los autores concluyen que el cloruro de benzoilo-trietilamina es tan bueno, si no mejor, que el N-benzoil-imidazol como agente benzoilante selectivo de grupos hidroxilo.

La benzoilación selectiva del HO-2 de la metil 4,6-O-benciliden- α -D-glucopiranosido con N-benzoil-imidazol con 78% de rendimiento también fué descrita por Box y col.³⁷

Brigl y Mühlischlegel³⁸ también observaron la influencia de la base presente, ya que al benzoilar la D-glucosa dietilditioacetal (7) con cloruro de benzoilo (6 moles) en piridina obtuvieron una mezcla de tetra-O-benzoato (58) y penta-O-benzoato (59). Cuando utilizaron 10 moles de cloruro de benzoilo obtuvieron principalmente el penta-O-benzoato (59).

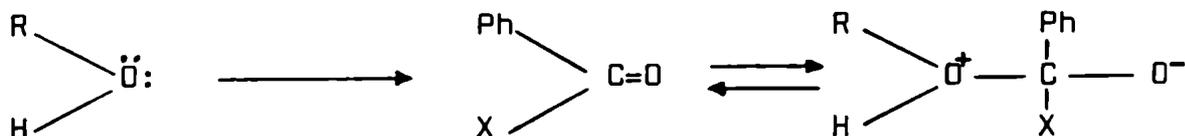
En cambio cuando benzoilaron con cloruro de benzilo en solución de HONa 10% obtuvieron principalmente el tetra-O-benzoil derivado (58).



- (7) D-glucosa dietilditioacetal
- (58) 3,4,5,6-tetra-O-benzoil-D-glucosa dietilditioacetal
- (59) 2,3,4,5,6-penta-O-benzoil-D-glucosa dietilditioacetal

En toda la discusión anterior no se ha considerado el efecto electrónico del grupo benzilo y éste no puede predecirse sin conocer el mecanismo de benzoilación.

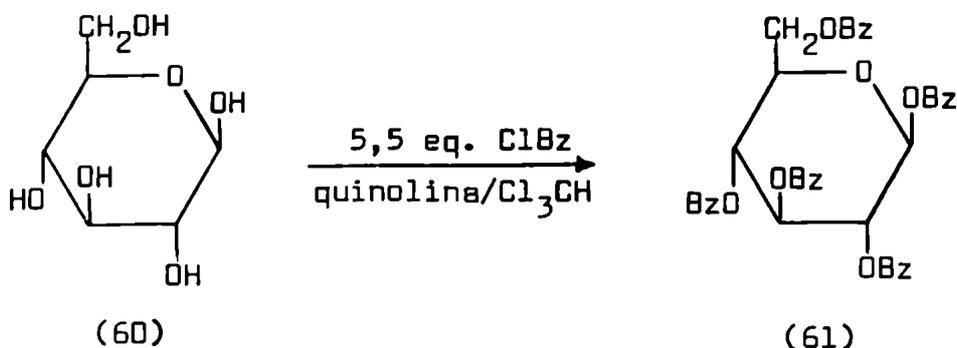
El efecto atractor de electrones de un grupo éster puede esperarse que disminuya la disponibilidad del par de electrones sin compartir del grupo hidroxilo, y esto podría disminuir la velocidad de reacción, si el paso determinante involucra el ataque nucleofílico del alcohol sobre el agente acilante:



Esto sería contrario a una sugerencia previa de que un éster vecinal activa el grupo hidroxilo³⁹ y podría llevar a concluir que el HO-2 sería desactivado por el efecto atractor de electrones del centro anomérico. Es evidente que no es posible evaluar estos efectos con los datos obtenidos hasta ahora y que se requerirán estudios más detallados.

Para obtener derivados totalmente benzoilados se usaron generalmente relaciones de números de hidroxilos esterificables a cloruro de benzilo de 1:1 hasta 1:7.

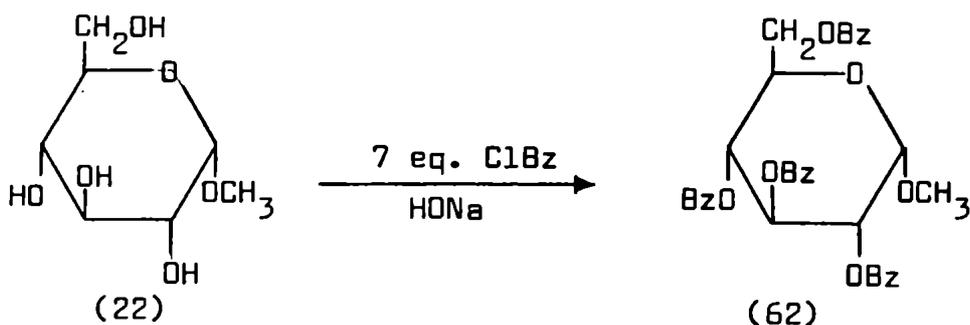
Fischer y Freudenberg⁴⁰ en 1912 benzoilaron la D-glucosa (60) con cloruro de benzóilo en quinolina y con cloroformo como solvente y obtuvieron con 67 % de rendimiento la 1,2,3,4,6-penta-O-benzóil- β -D-glucosa (61).



(60) D-glucosa

(61) 1,2,3,4,6-penta-O-benzóil- β -D-glucopiranososa.

Schmidt y col.⁴¹ benzoilaron el metil α -D-glucopiranosido (22) con una relación 1:7 de cloruro de benzóilo, en presencia de hidróxido de sodio y obtuvieron el metil 2,3,4,6-tetra-O-benzóil- α -D-glucopiranosido (62) con 76% de rendimiento.



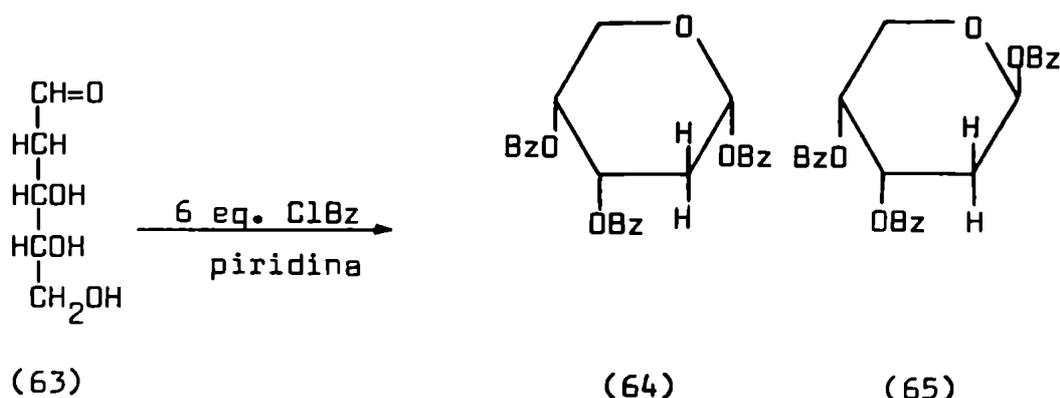
(22) metil α -D-glucopiranosido

(62) metil 2,3,4,6-tetra-O-benzóil- α -D-glucopiranosido

Odén⁴² preparó derivados totalmente acilados con cloruros de benzóilo "para" sustituidos, utilizando quinolina como base y cloroformo como solvente. Empleando 1.3 veces la cantidad de cloruro de acilo por hidroxilo, obtuvo productos totalmente acilados de monosacáridos al mantener la mezcla de reacción 4 a 6 días entre 40 y 60°C, según el azúcar utilizado.

Zinner y col.⁴³ observaron en la benzoilación de la 2-desoxi-D-ribosa (63) diferentes productos, según las condiciones de reacción. Utilizando 6 moles de cloruro de benzóilo por mol de azúcar y realizando la reacción a -10° con piridina como base, obtuvieron 21% de tri-O-benzóil-2-desoxi- α -D-ribopiranososa (64) y 32% de tri-O-benzóil-2-desoxi- β -D-ribopiranososa, (65) utilizando 2-desoxi-D-ribosa en forma de jarabe. La misma reacción llevada a cabo con 2-desoxi-D-ribosa cristalina conduce a un 41% del anómero β (65).

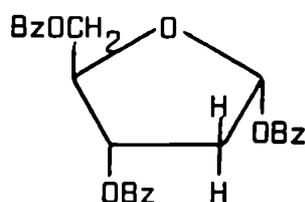
Utilizando igual relación de reactivos pero realizando la reacción durante 3 minutos a 110° y enfriando luego a 20° se obtuvo un 12% de la tri-O-benzoil-2-desoxi- α -D-ribofuranosa (66), con un reordenamiento de la estructura piranósica a la furanósica por el calentamiento en medio básico .



(63) 2-desoxi-D-ribosa

(64) 1,3,4-tri-O-benzoil-2-desóxi- α -D-ribopiranososa

(65) 1,3,4-tri-O-benzoil-2-desoxi- β -D-ribopiranososa



(66)

(66) 1,2,5-tri-O-benzoil-2-desoxi- α -D-ribofuranosa

En estos casos se obtienen productos totalmente benzoilados, pero las condiciones de reacción, calentamiento o no, influyen en los productos obtenidos.

La influencia de la base usada y de la presencia de solventes surge de la comparación de diferentes trabajos. Las primeras publicaciones describen casi exclusivamente la utilización de hidróxido de sodio en medio acuoso (método de Schotten Baumann) y se obtienen mezclas de productos benzoilados y rendimientos bajos. Actualmente predomina el uso de bases orgánicas, especialmente piridina, cuyo uso en la benzoilación de la D-glucosa lo describen Levene y Meyer⁴⁴. Anteriormente se utilizaba la quinolina^{40,42} pero no hay datos que indiquen la ventaja de una de las dos bases para la síntesis de derivados acilados de hidratos de carbono, a no ser el menor precio de la piridina y su solubilidad en agua en cualquier proporción, lo cual permite una más fácil eliminación de la misma de la mezcla de reacción.

Las reacciones con hidróxido de sodio como base, condiciones de Schotten-Baumann, dan mezclas de productos y en general bajos rendimientos. Las reacciones con bases orgánicas conducen a benzoilaciones totales y mejores rendimientos.

El solvente usado, si se requiere de tal, es en la mayoría de los casos el cloroformo y tiene por finalidad realizar la reacción en un medio homogéneo. En el caso de usar piridina en exceso, la función de la misma es en parte la de solvente.

Benzoilaciones en presencia de otras bases orgánicas, como trietilamina, o dicitclohexiletamina, 1,4-diazabicyclo-(2,2,2)-hexano (DABCO), 1,8-diazabicyclo(5,4,0)undec-7-eno (DBU), 4-dimetilaminopiridina, colidina y 1,8-bis(dimetilamino)-naftaleno fueron descritas por Höning y Weidmann³⁴, quienes también informan los diferentes solventes utilizados con resultados similares, como cloroformo, 1,4-dioxano, acetato de etilo, acetona y acetonitrilo.

De los resultados experimentales agrupados hasta aquí se establece la mayor reactividad de los hidroxilos primarios sobre los secundarios. Entre los hidroxilos secundarios los ecuatoriales son más reactivos que los axiales y el orden de reactividad de los mismos está indicado en la Tabla IV.

TABLA IV

Reactividad relativa de los hidroxilos secundarios en anillos piranósicos, frente a la benzoilación con cloruro de benzoilo/piridina	
Configuración	reactividad relativa de los hidroxilos secundarios
D-gluco	2 > 3 > 4
D-mano	3 > 2 > 4
D-galacto	2 y 3 > 4
D-alo	2 > 3
D-altro	2 > 3
L-arabino	2 y 3 > 4
D-xilo	2 > 4 > 3

De los resultados experimentales se deduce que se deben tener en cuenta una serie de parámetros para tratar de interpretar las acilaciones y especialmente las benzoilaciones selectivas de monosacáridos; tales como: el mecanismo de la acilación, el agente acilante, la catálisis involucrada, la configuración anomérica, el entorno estérico de los grupos hidroxilo, las uniones hidrógeno, el tamaño del ciclo, la conformación de la molécula y la relación molar del agente acilante.

CAPITULO II

METIL ETERES DE HIDRATOS DE CARBONO

METIL ÉTERES DE HIDRATOS DE CARBONO

Los éteres, particularmente los metil éteres, ocupan un importante lugar en la química de los hidratos de carbono. Los O-metil éteres son muy frecuentemente utilizados para la determinación de la estructura de monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos, ya que la estabilidad de la unión éter provee un medio eficiente para determinar la posición de grupos hidroxilo libres y no son afectados por condiciones drásticas de temperatura, acidez, alcalinidad, oxidación o reducción. Por otra parte, los O-metil éteres pueden ser purificados fácilmente por cristalización, destilación al vacío o cromatografía. La obtención relativamente fácil de compuestos de referencia, facilita la caracterización de estos derivados de azúcares por cromatografía en fase gaseosa.

Se agrupan a continuación los procedimientos de metilación más usuales:

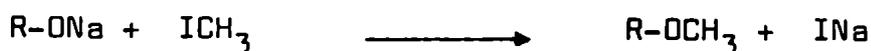
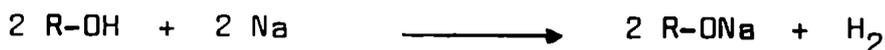
I.- El método de Haworth⁴⁵ utiliza sulfato de metilo, hidróxido de sodio en medio acuoso, como agente metilante. Presenta el inconveniente de un estricto control de la temperatura para evitar alteraciones del hidrato de carbono y la frecuente necesidad de repetir el procedimiento para conseguir una metilación total, sobre todo en el caso de oligo- y polisacáridos.

II.- El método de Purdie⁴⁶ emplea ioduro de metilo en presencia de óxido de plata. Este método no puede ser usado en medio acuoso y requiere generalmente que el hidroxilo hemiacetalico del azúcar sea protegido de la acción oxidativa del óxido de plata, transformándolo previamente en el correspondiente glicósido. Por esta técnica también suelen ser necesarias varias remetilaciones para obtener una metilación total.

Kuhn y colaboradores⁴⁷ incorporaron la N,N-dimetilformamida a la mezcla de reacción, obteniendo resultados más satisfactorios debido a que se obtuvieron metilaciones totales de monosacáridos, en un solo paso. Estos mismos autores también reemplazaron ventajosamente el hidróxido de plata por hidróxido de bario⁴⁸.

III.- El método de Muskat⁴⁹ es una adaptación de la síntesis de éteres de Williamson. Muskat usó ioduros de metilo con alcoholatos de sodio o de

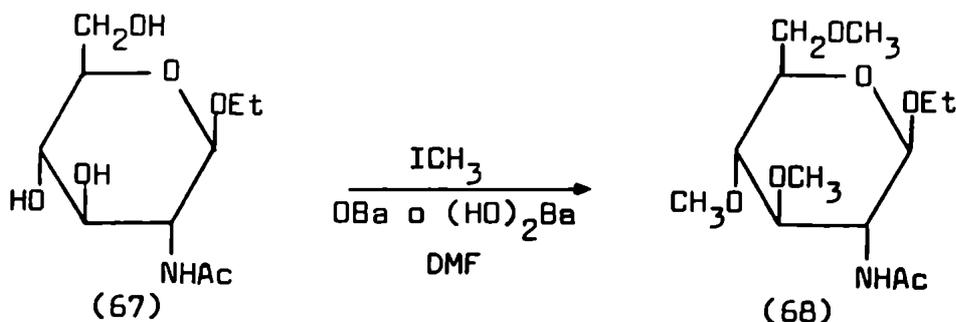
potasio de hidratos de carbono, obtenidos por la acción de estos metales sobre el azúcar disuelto en amoníaco líquido. Este método es una aplicación del descrito por Schmidt y colab.⁵⁰, para la formación de alcoholatos alcalinos disueltos o suspendidos en amoníaco líquido, seguido del clásico método de Williamson⁵¹ para la alquilación de alcoholes.



Los métodos tradicionales de Purdie e Irvine⁴⁶, de Haworth⁴⁵ y de Muskat⁴⁹ en general requieren remetilaciones consecutivas para lograr la etrificación de todos los grupos hidroxilo del hidrato de carbono. Por esta razón se introdujeron modificaciones a los mismos. Una de las primeras modificaciones fue la introducida por Menzies y Fear⁵² quienes utilizaron ioduro de metilo e hidróxido talioso para metilar azúcares no protegidos.

Kuhn y col.⁵³ en 1955 emplearon ioduro de metilo y óxido de plata en N,N-dimetilformamida como solvente, para permetilar solanina, tomatina y fructosa. También permetilaron sacarosa, en una operación única, trabajando a 20°C con ioduro de metilo y óxido de plata en N,N-dimetilformamida. El empleo de la N,N-dimetilformamida resultó muy conveniente por la alta solubilidad de los azúcares en este solvente y la lenta mutarrotación que en él ocurre.

Posteriormente, en 1958, Kuhn y col.⁴⁸ reemplazaron el óxido de plata por óxido de bario y/o hidróxido de bario en N,N-dimetilformamida como solvente en la metilación del etil 2-acetamido-2-desoxi-β-D-glucopiranosido (67), y obtuvieron el etil 2-acetamido-2-desoxi-3,4,6-tri-O-metil-β-D-glucopiranosido (68) con buen rendimiento.



(67) etil 2-acetamido-2-desoxi-β-D-glucopiranosido

(68) etil 2-acetamido-2-desoxi-3,4,6-tri-O-metil-β-D-glucopiranosido

Kuhn y Trischmann⁵⁴ utilizaron ioduro de metilo y óxido de bario para permetilar azúcares y oligosacáridos en una sola etapa, en N,N-dimetilformamida como solvente.

Wallenfels y col.⁵⁵ emplearon dimetilsulfóxido como solvente para metilar pululanos (un polisacárido de la Pullularia pullulans) y dextranos con ioduro de metilo y óxido de plata. Anteriormente habían utilizado ioduro de metilo y/o hidróxido de bario en mezclas de N,N-dimetilformamida/dimetilsulfóxido (1:1). La metilación de cantidades superiores a 20 gr. de sustrato en dimetilsulfóxido puro no era conveniente, dado que la reacción se hacía demasiado violenta. En estos casos resultó conveniente disolver la sustancia en dimetilsulfóxido y luego agregar N,N-dimetilformamida hasta una relación de 1:1. Se logra así que las sustancias queden en solución y que la reacción proceda nuevamente. Por otra parte el dimetilsulfóxido funde a 18,7°C y por lo tanto no puede ser usado en metilaciones con sulfato de dimetilo sin diluir, ya que estas reacciones se llevan a cabo a 0°C⁵⁶.

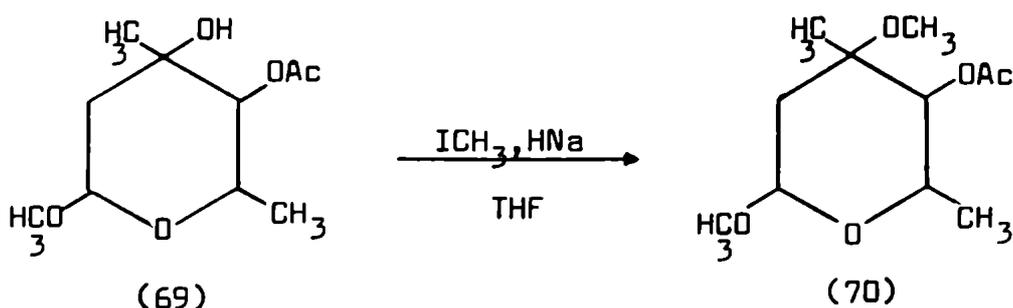
En 1963 Kuhn y Trischmann⁵⁶ permetilaron mesoinositol con sulfato de dimetilo y óxido de bario y/o hidróxido de bario usando como solvente N,N-dimetilformamida o una mezcla de N,N-dimetilformamida y dimetilsulfóxido y probaron que el sulfato de dimetilo era mucho más conveniente que el ioduro de metilo cuando se trabajaba en estos solventes. Asimismo estos autores reemplazaron ventajosamente el óxido de plata por el óxido de bario y/o hidróxido de bario pues evitaban la formación de complejos en el medio de reacción heterogéneo y las deshidrogenaciones producidas por el óxido de plata⁴⁸.

Estos mismos autores⁴⁸ realizaron permetilaciones de lactosa trabajando a temperaturas que variaban entre 0° y 20°C y con baches de 50 mgs. hasta 20 gr., obteniendo rendimientos aceptables.

Wallenfels y col.⁵⁵, metilaron totalmente y el pullulano, tratándolo primero con sulfato de dimetilo e hidróxido de bario en medio acuoso y posteriormente con ioduro de metilo y óxido de bario en dimetilsulfóxido.

Lemal y col.⁵⁷ metilaron el hidroxilo terciario del metil 4-O-acetil-micarósido (69) con ioduro de metilo e hidruro de sodio en tetrahidrofurano, y obtuvieron el metil 3-O-metil-4-O-acetil-micarósido (70).

La metilación con ioduro de metilo e hidruro de sodio en benceno o en tetrahidrofurano también fué empleada por Haines y Symes⁵⁸ para obtener derivados parcialmente metilados de ramnosa, con rendimientos del 80%, y más adelante por Kováč y Hirsch⁵⁹ para sintetizar los metil 2,4-di-O-metil y 3,4-di-O-metil-D-xilopiranósidos.



(69) metil 4-O-acetil-micarósidio

(70) metil 3-O-metil-4-O-acetil-micarósidio

Anderson y Cree⁶⁰ empleando yoduro de metilo e hidruro de sodio en dimetilsulfóxido como solvente, lograron la metilación de ácidos urónicos, aislados de la Acacia Nubica (Benth.), sin necesidad de remetilaciones sucesivas.

Kefurt y Kefurtova⁶¹ prepararon metil éteres del metil 4,6-didesoxi- α -D-xilohexo-piranósidio y del metil-4,6-didesoxi- α -L-xilopiranósidio empleando yoduro de metilo e hidróxido de sodio en polvo, en N,N-dimetilformamida.

Una técnica similar había sido empleada por Hakomori⁶² para metilar glicoproteínas y polisacáridos neutros. Luego este método fué extendido a la metilación de mono y disacáridos, empleando como solventes N,N-dimetilformamida y N-metil-2-pirrolidona, e incluso adaptado para la butilación, octilación y alilación de hidratos de carbono, empleando en estos últimos casos tetrahidrofurano como solvente. Así se logró la alilación completa de sacarosa en un solo paso, mientras que los otros procedimientos requieren tratamientos repetitivos.

Hellerquist y col.⁶³ metilaron el pustulano en dimetilsulfóxido por tratamiento con metilsulfinil carbanión y luego con yoduro de metilo y lograron así una metilación total del polisacárido.

Bose y Soni⁶⁴ emplearon yoduro de metilo y óxido de aluminio anhidro en las metilaciones de D-galactosa, celobiosa y 6-O- β -D-galactopiranosil-D-galactosa, en N,N-dimetilformamida. Los resultados de estas metilaciones fueron comparados con los obtenidos empleando el reactivo de Purdie en N,N-dimetilformamida (modificación de Kuhn y Brederick⁶⁵). Los azúcares neutros, galactosa y celobiosa, fueron completamente metilados en una operación con el nuevo reactivo y los rendimientos del producto metilado fueron entre 15% y 20% mayores que los obtenidos por el método de Purdie modificado⁶⁵ y se evitaron productos secundarios provenientes del efecto oxidante del óxido de plata, dado que en ese medio de reacción el óxido de

aluminio no presenta carácter oxidante.

Se observó además que la metilación total del ácido aldobiónico, que no era posible con el reactivo de Purdie en N,N-dimetilformamida, se completaba en 36 horas empleando ioduro de metilo y óxido de aluminio en N,N-dimetilformamida.

La preparación de hidratos de carbono parcialmente metilados se realiza bloqueando selectivamente los grupos hidroxilo, con sustituyentes estables a las condiciones usadas en la metilación. Para este propósito puede usarse la formación de acetales cíclicos o la formación de ésteres de ácidos carboxílicos. Si bien estos últimos se pueden obtener fácilmente, no son muy útiles para este propósito debido a su gran sensibilidad frente a los álcalis, lo que produce frecuentemente migraciones de grupos acilo⁶⁶ aún en las condiciones débilmente básicas del método de Purdie⁴⁶.

En la metilación del 2-acetamido-3,4-di-O-benzofl-2-desoxi- α -D-manopiranosido con ioduro de metilo y óxido de plata y posterior hidrólisis alcalina, Nasir-ud-Din y col.⁶⁷ obtuvieron el metil-2-acetamido-2-desoxi-6-O-metil- α -D-manopiranosido con 37% de rendimiento. Comprobaron además que al metilar en estas condiciones el metil 2-acetamido-4-O-benzofl 2-desoxi- α -D-manopiranosido ocurría, aunque en baja proporción, migración del grupo benzofl del C-4 al C-6.

Se evitan estas migraciones utilizando diazometano como agente metilante.

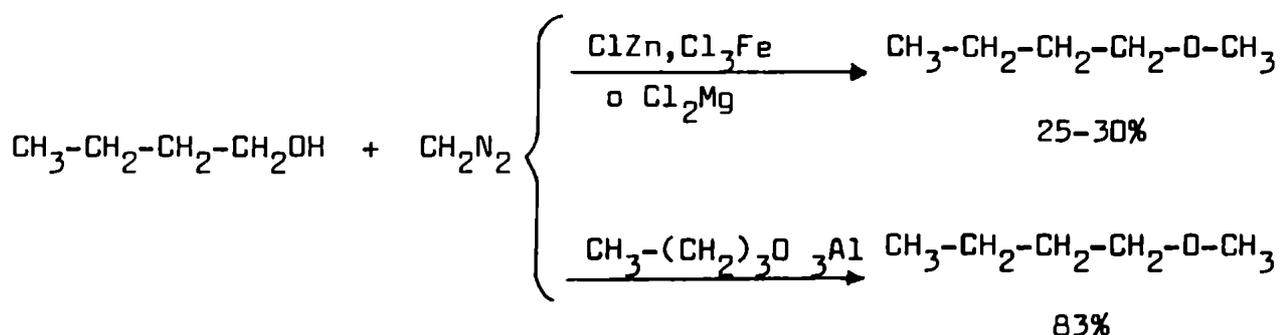
El diazometano metila preferentemente grupos hidroxilo acídicos, de modo que los alcoholes neutros son mucho menos reactivos que los fenoles y los ácidos carboxílicos.

El diazometano fué descubierto por H. Von Pechmann⁶⁸ en 1894 al tratar nitroso-metil-benzamida, nitroso-metil-uretano o derivados nitrosados de la metilamina con álcalis, pero ya Franchimont en 1890⁶⁹ lo había descrito, aunque aparentemente no habría continuado los trabajos en esta línea. Von Pechmann⁶⁸ obtuvo el diazometano puro, como un gas amarillo, inodoro y sumamente tóxico. Para disminuir la posibilidad de intoxicaciones continuaron sus estudios trabajando con solución éterea de diazometano.

En 1914, Geake y Nierenstein⁷⁰ utilizaron diazometano en solución éterea para metilar caseína, sin que se produjera la hidrólisis de la proteína. Trabajaban en la oscuridad y con tiempos muy largos (4 meses).

Meerwein y Hinz⁷¹ estudiaron la influencia del solvente y de distintos tipos de catalizadores en las metilaciones de alcoholes con diazometano. Estos autores comprobaron que los resultados eran mucho más satisfactorios si no se usaba éter como solvente y se burbujeaba directamente el diazometano a través del compuesto a metilar.

Utilizando diferentes catalizadores metilaron n-butanol, isopropanol y n-propanol. Tratando n-butanol con diazometano en presencia de cloruro de zinc, cloruro de magnesio o cloruro férrico anhidros obtuvieron el correspondiente n-butil-metil-éter con rendimientos entre el 25 y 30%.



Estos mismos autores obtuvieron mejores rendimientos en la síntesis de metil alquil éteres mediante el empleo de catalizadores básicos. Así la metilación del n-butanol con butóxido de aluminio como catalizador condujo al butil-metil-éter con 83% de rendimiento; y la metilación del isopropanol en idénticas condiciones dió 77% del metil-isopropil-éter.

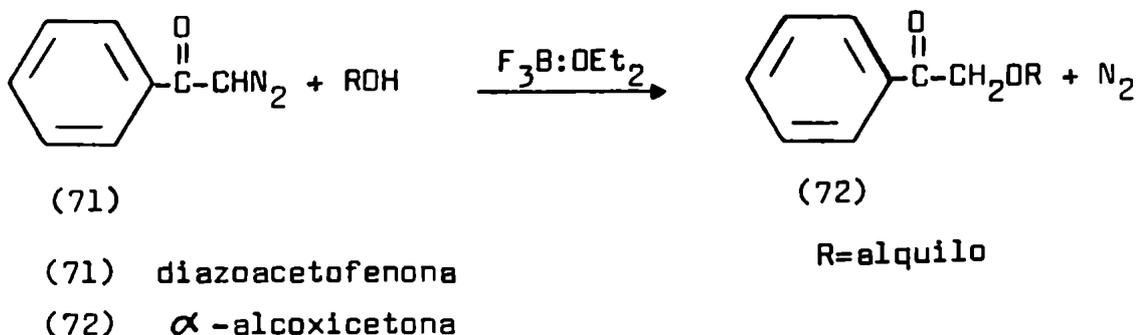
Con borato de etilo como catalizador y alcohol etílico, los autores⁷¹ obtuvieron etil-metil-éter con 24,7% de rendimiento y en estas condiciones no se logró la metilación de otros alcoholes.

En 1958, Caserio y colab.^{72,73} metilaron grupos hidroxilo alcohólicos en presencia de cantidades catalíticas de ácido fluor-bórico. Los metil éteres de alcoholes primarios y secundarios no impedidos se obtuvieron rápidamente con rendimientos del 84 al 98%, empleando diazometano disuelto en éter etílico o dicloro metano a 0-25 C y en presencia de 0.006 a 0.08 moles de ácido fluorbórico. Los alcoholes secundarios moderadamente impedidos y los terciarios reaccionan más lentamente y los rendimientos son menores, observándose además la formación de polimetileno, aún trabajando a temperaturas bajas para minimizar su formación.

Las experiencias comparativas, realizadas con alcoholes butílicos isoméricos, indicaron que los rendimientos son menores a medida que aumenta el impedimento estérico (primario, secundario, terciario) lo cual indica que las metilaciones, con esta catálisis ácida, tiene un alto grado de selectividad estérica.

El ácido fluorbórico resultó también un catalizador efectivo para la metilación con diazometano de moléculas que contienen grupos lábiles.

Simultáneamente con estos trabajos Müller y Rundel⁷⁴ metilaron el hidroxilo del β -colestanol con 70-80 % de rendimiento y de otros alcoholes primarios y secundarios, empleando diazometano en solución de éter absoluto y en presencia de trifluoruro de boro-eterato como catalizador. Este catalizador ya había sido empleado por Neuman y Beal⁷⁵ para obtener α -alcoxicetonas a partir de diazoacetonas. Estos mismos autores obtuvieron con buen rendimiento α -alcoxicetonas, al tratar diazoacetofenona con alcoholes en presencia de trifluoruro de boro eterato.



El diazometano es un agente metilante suave y en general con él no se logran metilaciones totales de macromoléculas como polisacáridos. Por ésto su uso es limitado, en la determinación de estructuras de estos hidratos de carbono. Schmid⁷⁶ y Head⁷⁷ encontraron que la celulosa de algodón era apenas metilada por tratamiento con diazometano.

Nierenstein⁷⁸ obtuvo una metil celulosa con 1.5 - 4.2 % de metoxilo empleando polvo de cobre como catalizador en la metilación directa de celulosa con diazometano.

Hough y Jones⁷⁹ encontraron que la metilación es rápida hasta un 20% de metoxilo y es catalizada por la presencia de agua o metanol. Según estos autores, con condiciones adecuadas, sería posible la metilación total y aún cuando ésto no se logre los productos de metilación parcial dan buena información en la determinación de estructuras de compuestos que contienen grupos lábiles a los otros agentes metilantes, como son los ácidos nucleicos, las glicoproteínas u otros derivados de hidratos de carbono.

En la literatura se mencionan varios de los catalizadores usados para la metilación con diazometano, tales como cobre en polvo⁷⁸ y boro amorfo⁸⁰.

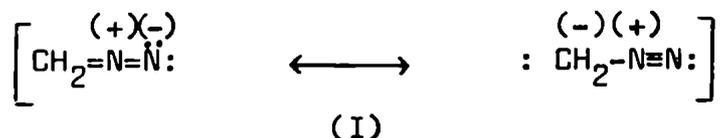
Micheel y Michaelis⁸¹ comprobaron la influencia de una espátula metálica

lica como inductora de la reacción en la metilación de la 1-fluor-N-tosil-3,4,6-tri-O-acetil- β -D-glucosamina en solución metanólica.

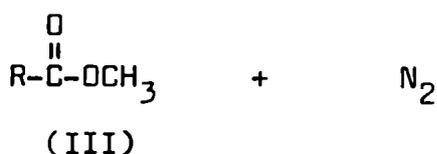
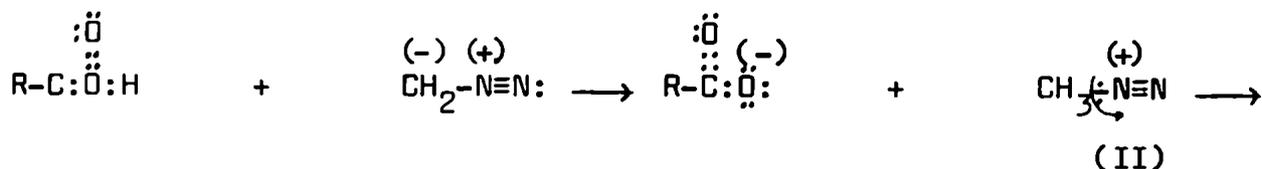
Se han utilizado distintos solventes para llevar a cabo las metilaciones con diazometano en fase homogénea.

Haworth y Porter⁸² utilizaron dioxano; Kuhn y Baer⁸³ metilaron la N-acetil-D-glucosamina disuelta en agua-metanol a 0°C empleando diazometano disuelto en éter y obtuvieron únicamente el metil glicósido. Bonner⁸⁴ empleó una solución bencénica de diazometano para metilar la 2,3,4,6 tetra-O-acetil- β -D-manosa disuelta en cloroformo.

El diazometano se representa mejor por las estructuras de resonancia siguientes:



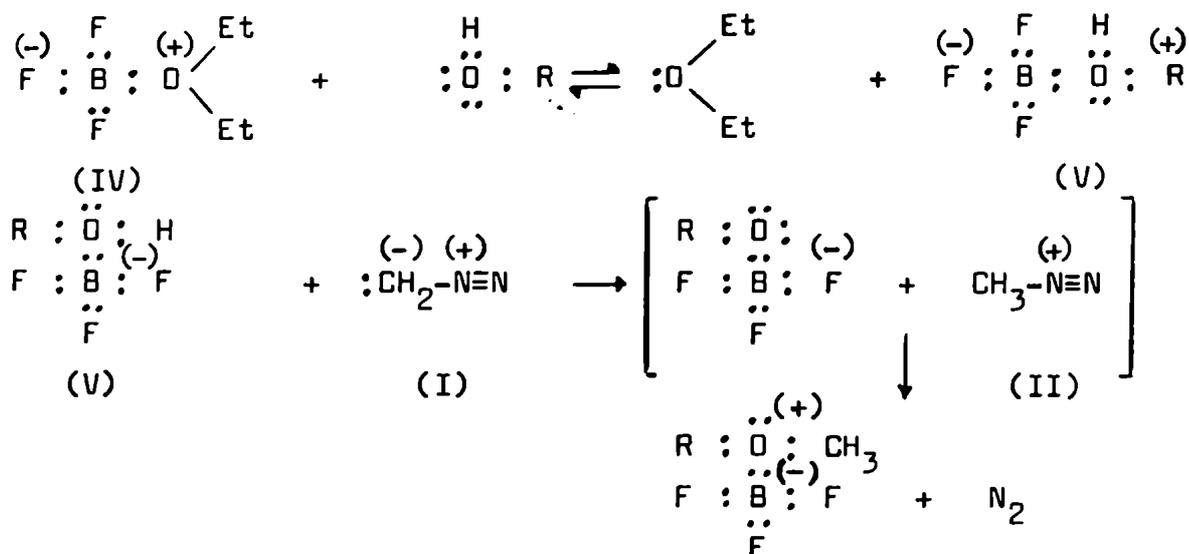
Los ácidos carboxílicos son suficientemente ácidos para transferir un protón al grupo metileno y dar una sal de metildiazonio (II). El ataque nucleofílico por el ión carboxilato al catión metil-diazonio produce el metil éster (III) con desprendimiento de nitrógeno molecular, cuya estabilidad facilita su formación.



La reacción de esterificación ocurre espontáneamente cuando la solución éterea de diazometano se agrega a otra del ácido carboxílico, y se obtiene el metil éster. La persistencia del color amarillo debido a la presencia de un exceso de diazometano y el cese del desprendimiento de nitrógeno, indican que el ácido ha reaccionado completamente. El hidrógeno de los grupos alcohólicos no es suficientemente ácido como para formar el ión metildiazonio (II) y por ello la metilación directa de los alcoholes con diazometano se produce con malos rendimientos. Si esta reacción es catalizada con trifluoruro de boro eterato, conduce a la formación de metil éteres con rendimientos aceptables del 60-80 %.

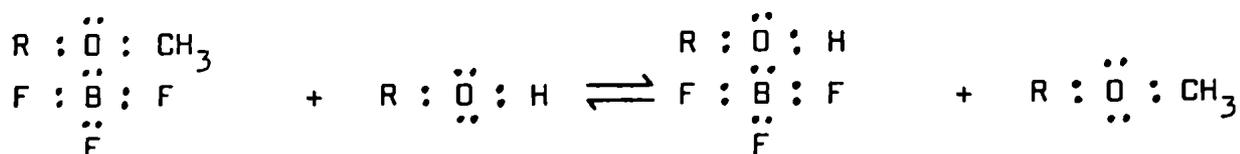
La molécula de éter del complejo trifluoruro de boro eterato (IV) es desplazada por el exceso de alcohol, formándose un nuevo complejo (V) donde

el oxígeno del alcohol ha cedido un par de electrones al átomo de boro del trifluoruro de boro. Este nuevo complejo se comporta como un ácido fuerte debido a que el oxígeno, al adquirir una carga positiva, facilita la salida del protón unido a él. Este protón se une al grupo metileno de una de las estructuras de resonancia del diazometano (I), y al formar el catión metil diazonio (II) produce un grupo lábil (el catión metilo) debido a que la formación de nitrógeno molecular, de gran estabilidad, facilita la ruptura de la unión metilo-nitrógeno.



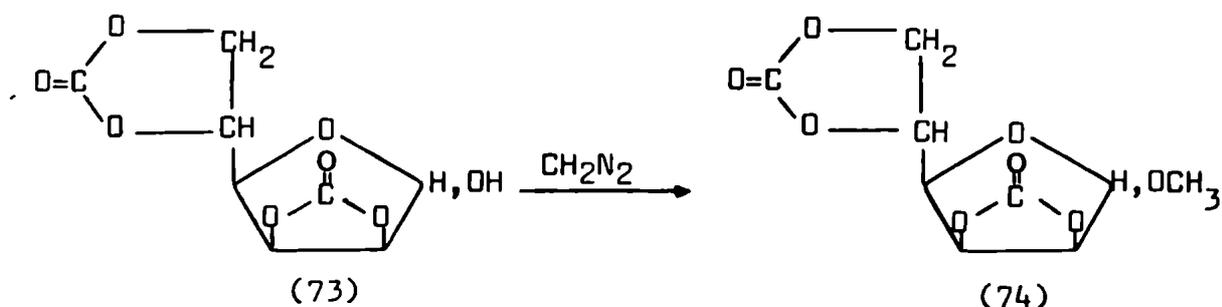
Esta reacción tiene lugar a temperatura ambiente y, debido al equilibrio entre el alcohol y el éter, complejado con el trifluoruro de boro, sólo se requieren cantidades catalíticas de trifluoruro de boro.

La acción catalítica del trifluoruro de boro también puede interpretarse de la siguiente manera:



El diazometano ha sido empleado, en el campo de los hidratos de carbono, para la esterificación de ácidos urónicos⁸⁵, pectinas⁸⁶, y otros polímeros y, en menor extensión, para la formación de metil glicósidos. El hidroxilo hemiacetalico del C-1 es más ácido que los demás hidroxilos de la molécula y reacciona con este reactivo. No obstante como la acidéz es menor que la del hidrógeno del grupo carboxílico, la conversión en el metil-éter no es específica ni se produce con buenos rendimientos.

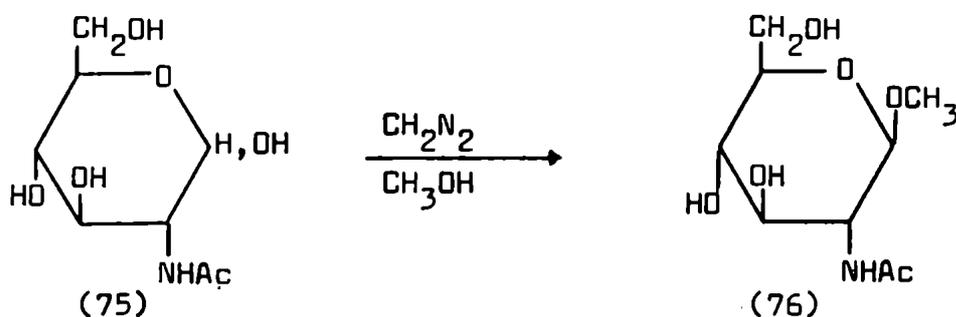
Haworth y Porter⁸² obtuvieron un 20% del metil glicósido (74) por metilación de 2,3 ; 5,6-dicarbonato de D-manofuranosa (73).



(73) 2,3 ; 5,6-dicarbonato de D-manofuranosa

(74) metil D-manofuranósido 2,3 ; 5,6-dicarbonato

Kuhn y Baer⁸³ metilaron la 2-acetamido-2-desoxi-D-glucopiranososa (75) disuelta en metanol con dos tratamientos sucesivos con solución etérea de diazometano y obtuvieron el metil 2-acetamido-2-desoxi- β -D-glucopiranosido (76) con 40% de rendimiento junto con trazas del anómero α y otros productos no identificados.



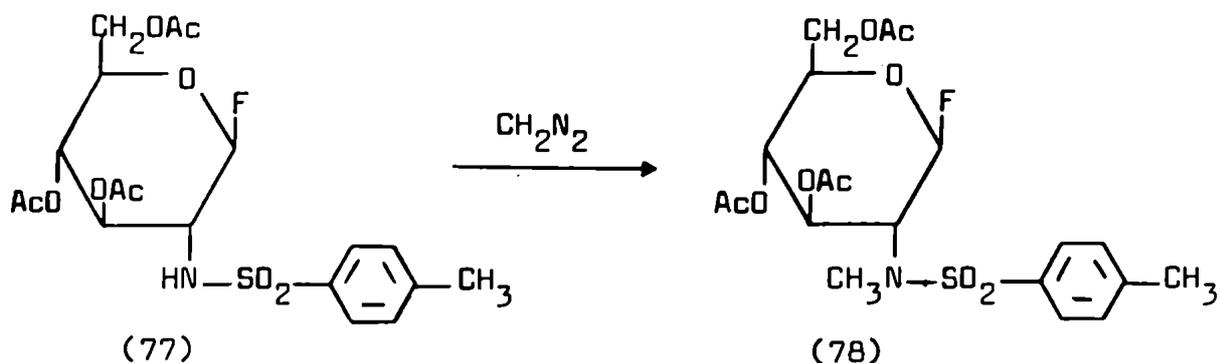
(75) 2-acetamido-2-desoxi-D-glucopiranososa

(76) metil 2-acetamido-2-desoxi- β -D-glucopiranosido

Este resultado indica que el hidroxilo hemiacetálico, a pesar de su mayor acidéz, no da lugar a la metilación con rendimientos satisfactorios.

Bonner⁸⁴ extendió la reacción de la 2,3,4,6 tetra-O-acetil- β -D-manopiranososa y luego de 72 horas obtuvo el metil 2,3,4,6 tetra-O-acetil- β -D-manopiranosido con 15% de rendimiento, resultado que coincide con lo encontrado por Haworth y Porter⁸² y Kuhn y Baer⁸³ respecto de los bajos rendimientos, aún en los casos en que el hidroxilo del C-1 esté disponible para la metilación.

Micheel y Michaelis⁸¹ metilaron el grupo amida del fluoruro de 3,4,6 tri-O-acetil-2-p-toluénsulfamido-2-desoxi- β -D-glucopiranosilo (77). Esta metilación está favorecida por el efecto inductivo del grupo p-toluénsulfonílico que confiere carácter ácido al grupo amino.



(77) fluoruro de 3,4,6-tri-O-acetil-2-p-toluensulfamido-2-desoxi- β -D-glucopiranosilo

(78) fluoruro de 3,4,6-tri-O-acetil-2-(N-metil)-p-toluensulfamido-2-desoxi- β -D-glucopiranosilo.

Schmidt y Kraft⁸⁷ observaron que las lactonas derivadas de hidratos de carbono tratadas con diazometano, se metilaban más rápidamente en el grupo hidroxilo del carbono-2, activado por la presencia del carbonilo adyacente, que en otras posiciones de la molécula.

Las metilaciones de polisacáridos con diazometano llevadas a cabo por distintos autores dieron en general resultados contradictorios.

Lucas y Stewart⁸⁸ esterificaron la totalidad de los grupos carboxilo del ácido algínico por tratamiento directo con diazometano, encontrando una muy escasa metilación del resto manurónico y poca o ninguna degradación del polímero.

Más adelante Vollmert⁸⁹ esterificó cuantitativamente pectinas y ácido péctico a baja temperatura, sin que ocurriera despolimerización, y con una metilación muy baja de los grupos hidroxilo. Análogos resultados obtuvo Pippen y col.⁸⁶ en la esterificación de pectinas con diazometano trabajando a -20°C .

En los trabajos de Deuel y col.⁹⁰ se recalca la necesidad de emplear bajas temperaturas durante la metilación de macromoléculas, con el objeto de evitar la degradación del polímero.

Contrariamente a estos resultados, Neukom y Deuel⁸⁵ encontraron que en la esterificación de ácido péctico y ácido trigalacturónico se producen rupturas de la unión glicosídica, aún trabajando a -20°C .

Algunos autores observaron que la presencia de ciertos sustituyentes en la molécula conducían a resultados anómalos.

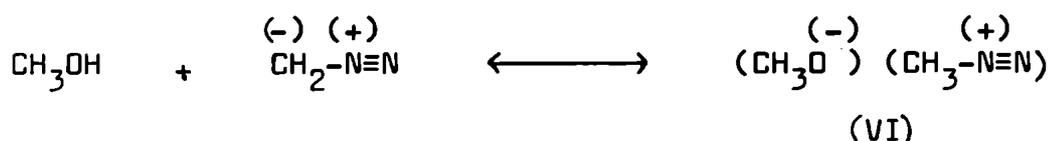
El diazometano, además de ser utilizado como reactivo para la síntesis de metil-ésteres y de metil-éteres de grupos hidroxilo reactivos, se ha uti

lizado como catalizador para transesterificaciones.

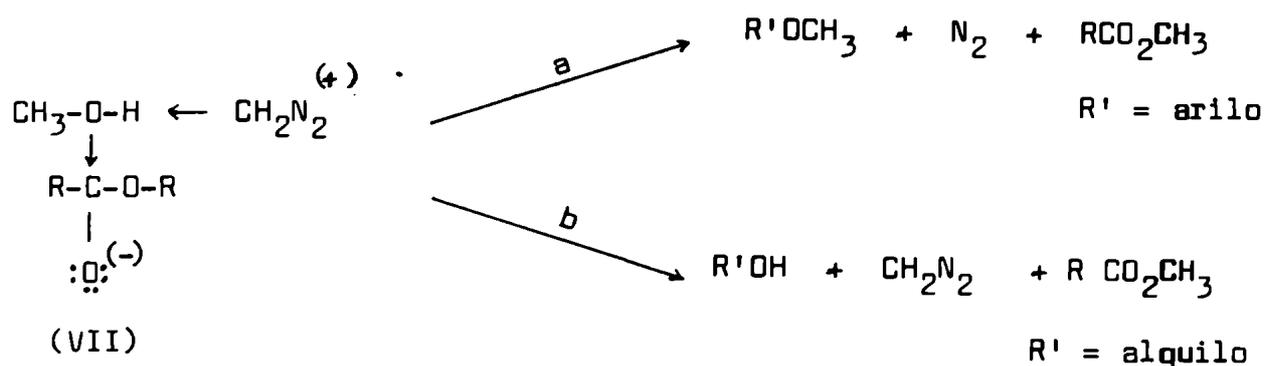
Bredereck y colab.⁹¹ estudiaron el efecto del diazometano, en soluciones alcohólicas, sobre diferentes ésteres. No pudieron detectar descomposiciones del acetato de fenilo, ni del benzoato de fenilo con diazometano en solución etérea, pero si la reacción se realiza en metanol se forma acetato de metilo con 90% de rendimiento y benzoato de metilo con 60% de rendimiento. Las reacciones de los mismos ésteres, en iguales condiciones con etanol dieron 30% del acetato de etilo y no produjeron transesterificaciones con el benzoato de fenilo. En isopropanol, n-propanol y n-butanol no se modifica el éster original.

La cantidad de diazometano usada por los autores es de 0.25 moles por mol de éster y parte del mismo se pierde, ya que se descompone con formación de polimetileno, o sea que su reacción es catalítica.

Los autores⁹¹ suponen que el diazometano inicialmente reacciona con el alcohol formando un aducto(VI) tal como lo propusieron inicialmente Eister y Arndt⁹².



y este aducto se adicionaría al carbono del carboxilo dando (VII):



El compuesto(VII) se descompone por la vía a, si el grupo R' es aromático, o por la vía b si R' es alifático.

Con R' aromático se observó así la formación del metil éter y la liberación de nitrógeno, además de la formación del metil éster del ácido. Con R' alifático se regenera el diazometano y se libera el alcohol alifático, además del metil éster del ácido.

La reacción del metil-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosido en metanol, con diazometano en solución etérea, conduce al metil- α -D-glucósido con

80% de rendimiento, con lo cual se destaca la fundamental importancia del solvente usado, ya que según el mismo se producen metilaciones y/o transesterificaciones.

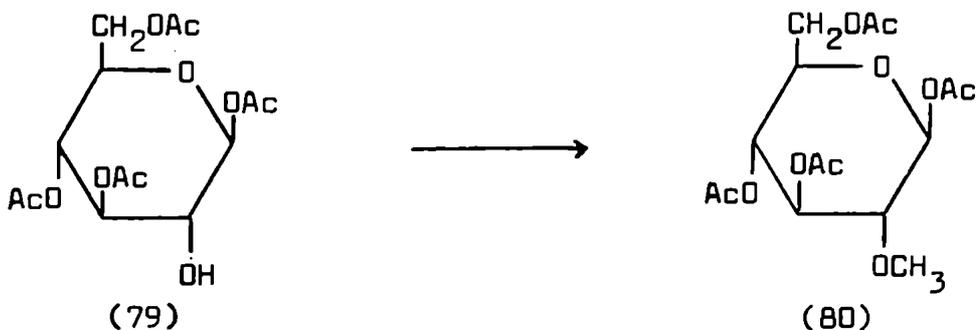
Durante un intento de metilar completamente los hidroxilos libres del acetato de celulosa, Rebenfeld y Pacsu⁹³ observaron una metilación anómala consistente en desacetilación acompañada de introducción de grupos metoxilo en la celulosa. Cuando trataron el acetato de celulosa comercial conteniendo un 39.2% de acetilos con una solución 0.4 M de diazometano en éter, durante 80 horas a temperaturas menores de 5°C, encontraron desacetilaciones y metilaciones en proporciones que dependían del grado de humedad de la muestra empleada.

Las metilaciones con diazometano evitan las migraciones de O-acilos, descritos en los casos de los agentes de metilación de Haworth⁴⁵, Purdie e Irvine⁴⁶ y Muskat⁴⁹.

Pike y col.⁹⁴ encontraron que el tratamiento de adenosina con diazoetano en 1,2-dimetoxietano acuoso, conducía a la obtención de 2' y 3'-O-etil y metil derivados. La metilación se producía con aproximadamente la misma extensión que la etilación y se vió que el dimetoxietano era la fuente de grupos metilos. Al realizar la reacción en éter etílico solo se observaba etilación.

Metilaciones de hidratos de carbono parcialmente acilados en condiciones en las cuales no se producían migraciones de acilos se realizaron con diazometano y trifluoruro de boro eterato en diclorometano.

Mastronardi y col.⁹⁵ describieron entre otros, la metilación de 1,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranososa (79) con diazometano trifluoruro de boro eterato en diclorometano y obtuvieron la 1,3,4,6-tetra-O-acetil-2-O-metil- β -D-glucopiranososa (80) con 78% de rendimiento.



(79) 1,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranososa

(80) 1,3,4,6-tetra-O-acetil-2-O-metil- β -D-glucopiranososa

La reacción se extendió a otros acetyl-derivados de D-glucosa,⁹⁵ D-galactosa⁹⁶ y D-manosa⁹⁷⁻¹⁰⁰.

Kováč y Longauerova¹⁰¹ emplearon diazometano y trifluoruro de boro eterato en diclorometano trabajando a -20°C , para sintetizar 4,6-di-O-metil- β -D-glucosa a partir de 1,2,3-tri-O-acetil- β -D-glucopiranososa con rendimientos del orden del 90% .

Baker y Whistler¹⁰² emplearon este reactivo para la metilación del metil 4-O-acetil-2,3-di-O-metil- α -D-manopiranosido en diclorometano como solvente, obteniendo el metil 4-O-acetil-2,3,6-tri-O-metil- α -D-manopiranosido con 99% de rendimiento.

O'Donnell y Richards¹⁰³ lo emplearon para la síntesis de 1,6,6'-tri-O-metil-sacarosa a partir de la 2,3,3',4,4'-penta-O-acetil sacarosa.

Este reactivo se usó también para metilar hidratos de carbono parcialmente benzoilados.⁹⁶

Kováč y Palovčik¹⁰⁴ la usaron para sintetizar el metil 2,4-di-O-metil- β -L-arabinopiranosido a partir del metil 3-O-benzoil-2-O-metil- β -L-arabinopiranosido y el metil 2,3-di-O-metil- β -L-arabinopiranosido a partir del metil 4-O-benzoil-2-O-metil- β -L-arabinopiranosido.

Abbas y col.¹⁰⁵ trabajaron a -25°C con diazometano en diclorometano y trifluoruro de boro eterato recién destilado para metilar el metil-3-O-benzoil- α -D-lixopiranosido, repitiendo el agregado de catalizador cuando la velocidad de la reacción disminuía.

Seymour¹⁰⁶ sintetizó el 4-metil, el 2,4 di-metil y el 2,3,6-tri-metil éter del metil α -D-manopiranosido usando el grupo benzilo y el grupo letoxietilo como protectores, y metilando a -20°C con diazometano y trifluoruro de boro eterato en diclorometano como solvente, obteniendo rendimientos del orden del 80 al 90 %.

La reacción también fué aplicada por Thiel y col.¹⁰⁷ a la metilación de disacáridos parcialmente benzoilados.

Metilaciones realizadas con diazometano sobre azúcares libres disueltos en metanol, conducían a la preferencial metilación del HO-1 y metilaciones parciales de los hidroxilos secundarios. Así, por metilación de D-glucopiranososa, D-galactopiranososa¹⁰⁸ y melibiososa¹⁰⁹ con diazometano en solución metanólica, completando luego la reacción con ioduro de metilo/óxido de bario en N,N-dimetilformamida, se obtenía preferentemente el anómero β . En el caso de D-manosa¹¹⁰ y L-ramnosa^{106,110} estas mismas condiciones de reacción conducían al anómero α .

Metilaciones de ésteres de mono y disacáridos^{109,110} realizadas con diazometano en metanol, conducen a la simultánea desacilación y metilación, como ya lo informaron Bredereck y col.¹¹¹ .

También se usó el cloruro de estaño como catalizador en metilaciones con diazometano¹¹² .

Otros estudios realizados por Arnarp y col.¹¹³ con el metil-trifluorometanosulfonato han demostrado que la alta reactividad de este compuesto lo hace adecuado para la metilación de hidratos de carbono bajo condiciones suaves. La alquilación con este reactivo requiere la presencia de una base para neutralizar el ácido liberado. En los ensayos preliminares se trató el metil 2,4,6-tri-O-metil- β -D-glucopiranosido en diclorometano a 80°C con metil-triflato usando carbonato de potasio como base. La reacción se siguió por cromatografía y se comprobó que a los 30 minutos ya había desaparecido todo el material de partida pero, además del 2,3,4,6-tetra-O-metil- β -D-glucopiranosido se formaba también el correspondiente α glucósido. La relación de α a β glucósido era aproximadamente 1:1 pero crecía si se aumentaba el tiempo de reacción. La anomerización era causada por el ácido fuerte lo cual indicó que la neutralización con carbonato de potasio no era suficientemente efectiva.

Luego se empleó 2,4,6-trimetilpiridina como base, pero este compuesto no resultó efectivo porque se metila por el mismo reactivo. Resultaron en cambio muy efectivas la 2,6-di-ter-butilpiridina y la 2,6-di-ter-butil-4-metilpiridina que son bases estéricamente muy impedidas. Se metilaron así el metil 2,3-di-O-acetil- α -D-glucopiranosido, el metil 2,3,4-tri-O-acetil- β -D-glucopiranosido, la 1,2,3,2',3',4',6'-hepta-O-acetil- β -maltosa y la 1,2:5,6-di-O-isopropilidén- α -D-glucofurano, disolviendo la sustancia a metilar y la base en diclorometano seco y agregando luego el metil-triflato a la mezcla de reacción en un recipiente cerrado y bajo atmósfera de nitrógeno. La solución se calentó a 80°C durante 2,5 horas y luego se enfrió y se filtró el producto. Los rendimientos fueron del orden del 80% o más y se obtuvo un único componente en cada reacción.

La alta reactividad del metil triflato limita la elección del solvente para la metilación. Esta es una restricción para la metilación de hidratos de carbono hidrofílicos tales como glicósidos no protegidos y polisacáridos. Sin embargo ha sido empleado con buenos resultados para la metilación de polisacáridos parcialmente sustituidos con grupos liofílicos.

La reacción con metil triflato y una base débil, estéricamente impedida, parece ser un método alternativo bueno para la metilación de carbohidratos conteniendo grupos lábiles en medio alcalino o ácido, y abre interesantes posibilidades en la elucidación de estructuras de productos naturales.

CAPITULO III

BENZOILACIONES DE DISACARIDOS

ANALISIS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

BENZOILACIONES DE DISACARIDOS

ANALISIS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

En las benzoilaciones agrupadas en el caso de monosacáridos, se describen varios agentes benzoilantes y el uso de bases y/o solventes. El reactivo más utilizado es el cloruro de benzoflo.

Los primeros trabajos publicados sobre disacáridos benzoilados se encuentran agrupados en la Tabla V, y son los de Baumann¹¹⁴, Skraup¹¹⁵, Kueny¹¹⁶, Panormoff¹¹⁷ y Hintikka¹¹⁸ y corresponden a benzoilaciones parciales. Estas reacciones se realizaron con cloruro de benzoflo en presencia de hidróxido de sodio al 10% o 20% y conducían probablemente a mezclas de productos.

Fischer y Freudenberg¹¹⁹ utilizaron quinolina como base, en la benzoilación de la sacarosa, pero no informan las constantes físicas del octa-benzoato obtenido por ellos. Ness y Fletcher jr.¹²⁰ sintetizaron 40 años más tarde la octa-O-benzofl-sacarosa utilizando cloruro de benzoflo/piridina, con 94% de rendimiento.

La técnica de Ness y Fletcher jr.¹²⁰ fue aplicada por Deferrari y col. para sintetizar octa-O-benzofl- β -celobiosa¹²¹, octa-O-benzofl- β -maltosa¹²², octa-O-benzofl- β -lactosa y octa-O-benzofl- α -lactosa¹²³. Los compuestos obtenidos se encuentran agrupados en la Tabla VI.

En las benzoilaciones de maltosa, realizadas con cloruro de benzoflo/piridina se observó la formación de un 54% de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzofl- β -maltosa¹⁰⁷, en condiciones en las cuales lactosa, celobiosa y sacarosa conducían con altos rendimientos a la obtención de los octabenzoatos. Este resultado se explicó por un mayor impedimento en la posición 3 de la parte reductora debido al enlace glicosídico α .

En la literatura se encuentran estudios con rayos X, realizados sobre cristales de maltosa monohidrato, en los cuales se demuestra la existencia de un puente hidrógeno entre el HO-3 y el HO-2' (de la parte no reductora).

Hybl y Rundle¹²⁴ y Chu y Jeffrey¹²⁵ proponen para la maltosa en base a los datos de rayos X, la estructura de la fórmula (79) y Casu y col.¹²⁶ la confirmaron por datos de resonancia magnética protónica y espectroscopía infrarroja.

TABLA V
DISACARIDOS BENZOILADOS (I)

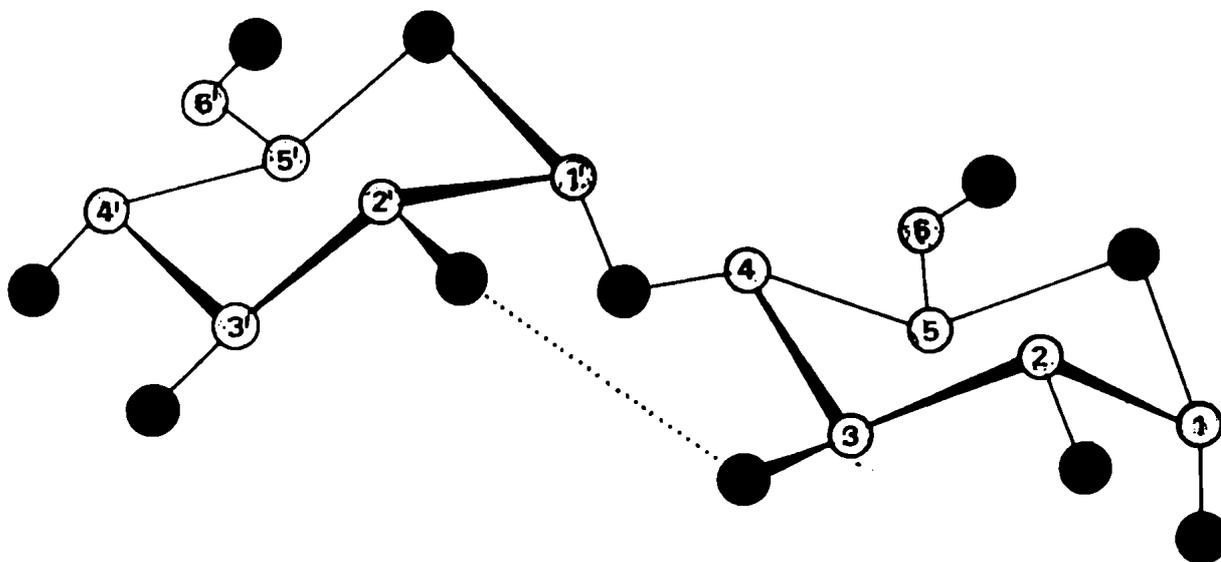
disacárido	Medio de reacción	Moles ClBz	sustancia obtenida	p.f.	ref.	
celobiosa	NaOH 19%	8	hepta-0-benzofl-celobiosa	202-204	118	
lactosa	NaOH 10%	8	octa-0-benzofl-lactosa	-	116	
	NaOH 20%		octa-0-benzofl-lactosa	188	117	
	NaOH 10%		hepta-0-benzofl-lactosa	200	117	
		8	hexa-0-benzofl-lactosa	130-136	115,116	
maltosa	NaOH 20%	8	hepta-0-benzofl-maltosa	115	117	
	NaOH 10%	8	hexa-0-benzofl-maltosa	120	116	
			penta-0-benzofl-maltosa	110-115	115	
sacarosa	quinolina	9	octa-0-benzofl-sacarosa	amorfo	119	
	NaOH 10%	8	hepta-0-benzofl-sacarosa	98	117	
				hexa-0-benzofl-sacarosa	109	114
				penta-0-benzofl-sacarosa	106	116

TABLA VI
DISACARIDOS BENZOILADOS (II)

disacárido	Medio de reacción	Moles ClBz	sustancia obtenida	p. f.	$[\alpha]_D^{20}$	rend. %	ref.
celobiosa	piridina	10	octa-O-benzofl- β -celobiosa	188-191	+37	98	121
			octa-O-benzofl- α -celobiosa	185-192	+76.5	a	121
lactosa	piridina	10	octa-O-benzofl- α, β -lactosa	119-120	+88	90	123
			octa-O-benzofl- α -lactosa	124-126	+113	66	123
			octa-O-benzofl- β -lactosa	140-142	+36.7	34	123
maltosa	piridina	10	octa-O-benzofl- β -maltosa	190-192	+76.6	94	122
			octa-O-benzofl- α -maltosa	132-133	+136.8	a	122
sacarosa	piridina	10	octa-O-benzofl-sacarosa	60-63	+32.6	94	120

a) obtenido por anomerización.

b) separado por cromatografía.



(79) maltosa

En solución, dichos puentes hidrógeno pueden cambiar o ser reemplazados por puentes hidrógeno con el solvente, pero su existencia permitiría justificar la obtención de la hepta-O-benzoil- β -maltosa con el HO-3 libre con 54% de rendimiento en las condiciones en las cuales la lactosa, la celobiosa y la sacarosa conducen con altos rendimientos a los respectivos octabenoatos.

Dick y col.¹²⁷ acetilaron la maltosa en condiciones en las cuales los monosacáridos conducían a una acetilación total (cloruro de acetilo/piridina, + 50°C) y obtuvieron la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-acetil- β -maltosa con 70% de rendimiento. La formación del hepta-acetato con el HO-3 libre indicaría un serio impedimento en la molécula del disacárido en dicha posición, ya que el grupo acetilo presenta un menor impedimento estérico.

La benzoilación de β -maltosa monohidrato realizada por Takeo y Okano¹²⁸ con 10 equivalentes de cloruro de benzilo/piridina a -40°C, condujeron con 87% de rendimiento a la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -maltosa (80). La reacción llevada a cabo con 8 equivalentes de cloruro de benzilo condujo a rendimientos del 79% en el compuesto (80) con el HO-3 libre, 3% de la octa-O-benzoil- β -maltosa (81) y 12% de la 1,2,6,2',3',6'-hexa-O-benzoil-maltosa (82) en la cual se encuentran libres las posiciones HO-3 y HO-4'. Este resultado vuelve a confirmar el gran impedimento de la posición 3 de la parte reductora y una menor reactividad en la posición 4 de la parte no

reductora de la molécula. Los resultados de estas experiencias se encuentran agrupados en la tabla VII.

TABLA VII

PRODUCTOS DE BENZOILACION DE β -MALTOSA. H ₂ O CON CLORURO DE BENZOILO/ PIRIDINA ¹²⁸					
Compuesto Nº	Moles de ClBz	Medio de reacción	Grupos benzoflos en posiciones	HO-libres	Rend %
(80)	10	piridina	1,2,6,2',3',4',6'	3	87
(80)	8	piridina	1,2,6,2',3',4',6'	3	79
(81)			1,2,3,6,2',3',4',6'	—	3
(82)			1,2,6,2',3',6'	3,4'	12

Takeo y Okano¹²⁸ benzoilaron también el metil- β -maltósido (83) a -40°C con diferentes relaciones molares de cloruro de benzoflo/piridina. Obtuvieron el metil 2,6,2',3',4',6'-hexa-O-benzofl- β -maltósido (84) con 83% de rendimiento, al trabajar con 8.9 equivalentes de cloruro de benzoflo/piridina. Al trabajar con 7 equivalentes de reactivo, en condiciones similares, aislaron un 71% del compuesto (84) y un 23% del metil 2,6,2',3',6'-penta-O-benzofl- β -maltósido (85). Estos resultados se encuentran agrupados en la tabla VIII.

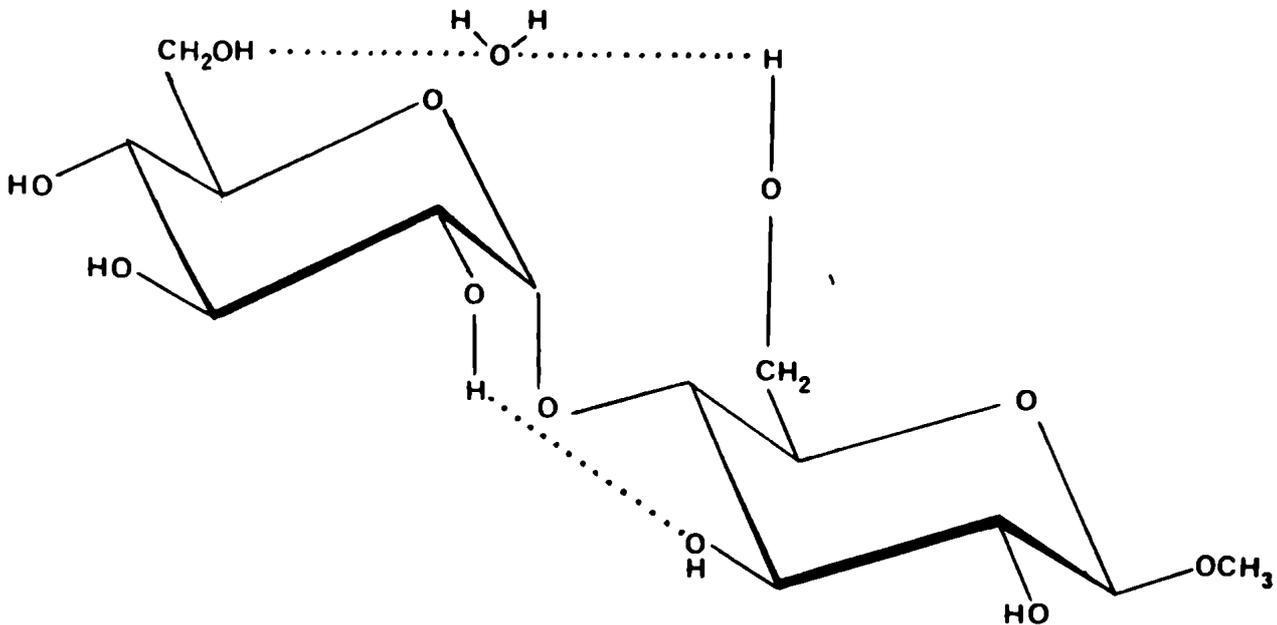
TABLA VIII

PRODUCTOS DE BENZOILACION DEL METIL β -MALTÓSIDO CON CLORURO DE BENZOILO/ PIRIDINA ¹²⁸					
Compuesto Nº	Moles de ClBz	Medio de reacción	Grupos benzoflos en posiciones	HO-libres	Rend %
(84)	8.9	piridina	2,6,2',3',4',6'	3	83
(84)	7	piridina	2,6,2',3',4',6'	3	71
(85)			2,6,2',3',6'	3,4'	23

En este caso también el HO-3 demuestra ser el más impedido o el menos reactivo, seguido por el HO-4'.

Los estudios de rayos X realizados sobre el metil β -maltósido efectuados por Chu y Jeffrey¹²⁹ y por Quigly y col.¹³⁰ demuestran la existencia

de un puente hidrógeno similar al observado en la maltosa. Dicha estructura se encuentra representada por la fórmula (83).

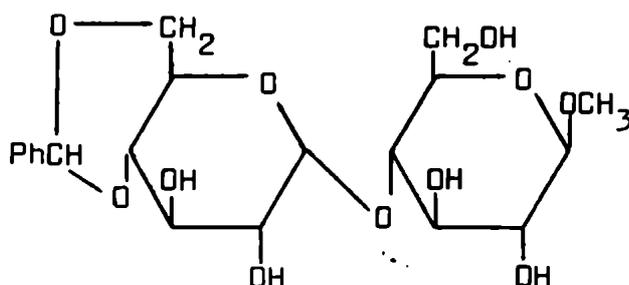


(83) metil β -maltósido. H_2O

En este caso se encuentra el puente hidrógeno entre el HO-3 y el HO-2' y además un puente hidrógeno entre el HO-6 y el HO-6' con una molécula de agua.

Estos autores¹²⁸ también comprobaron que la introducción de un grupo 4',6'-O-bencilideno en el metil β -maltósido disminuye la reactividad de los grupos hidroxilo restantes y atribuyen este hecho a posibles impedimentos estéricos. Encontraron que la benzoilación del metil 4',6'-O-benciliden- β -maltósido (85) con 10 equivalentes de cloruro de benzilo en piridina, a $-40^\circ C$, condujo a tres productos. Por cromatografía en columna aislaron el metil 4',6'-O-benciliden-2,6,2',3'-tetra-O-benzoil- β -maltósido (86) con 71% de rendimiento y otra fracción con 22% de rendimiento. Dicha fracción aparece como un único componente por cromatografía en placa delgada en varios sistemas de solventes. Es cristalina y presenta un punto de fusión doble. El análisis elemental de esta fracción les indicó que es un tri-O-benzoil-derivado y los autores demuestran por espectroscopía de resonancia magnética protónica que se trata de una mezcla en relación 1:1 del metil 4',6'-O-bencilidén-2,6,2'-tri-O-benzoil- β -maltósido (87) y del metil 4',6'-O-bencilidén-2,6,3'-tri-O-benzoil- β -maltósido (88)

Los resultados de estas experiencias se encuentran agrupados en la Tabla IX



(85)

(85) metil 4',6'-O-benciliden- β -maltósido

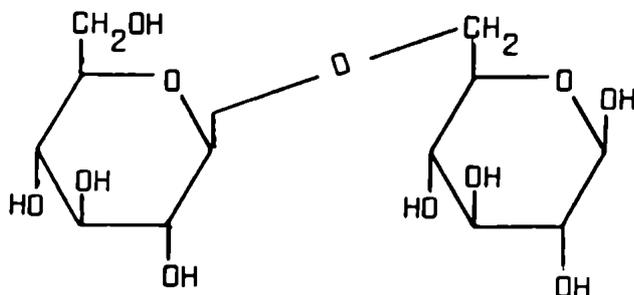
TABLA IX

PRODUCTOS DE BENZOILACION DEL METIL 4',6'-O-BENCILIDEN- β -MALTOSIDO CON CLORURO DE BENZOILO/PIRIDINA ¹²⁸					
Compuesto Nº	Moles de ClBz	Medio	Grupos benzóilos en posiciones	HO-libres	Rend %
(86)	10	piridina	2,6,2',3'	3	71
(87)			2,6,2'	3,3' }	22
(88)			2,6,3'	3,2' }	

La obtención de este tetrabenzoato (86) con 71% de rendimiento vuelve a confirmar el impedimento del HO-3. La formación de los dos tribenzoatos en aproximadamente iguales cantidades indica que los HO-2' y HO-3' tienen igual reactividad o similares impedimentos estéricos.

El orden de reactividad de los grupos hidroxilo en la maltosa que se puede deducir en base a estos trabajos de Takeo y Okano¹²⁸ es:
HO-6, HO-2 > HO-2', HO-3' > HO-3.

En la benzóilación selectiva de la β -genciobiosa (89) con cloruro de benzóilo/piridina a -40°C, Takeo¹³¹ estableció que los HO-4 y HO-4' son los menos reactivos.

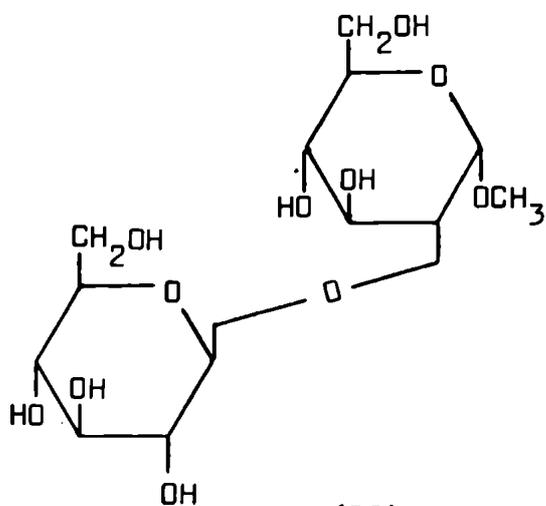


(89)

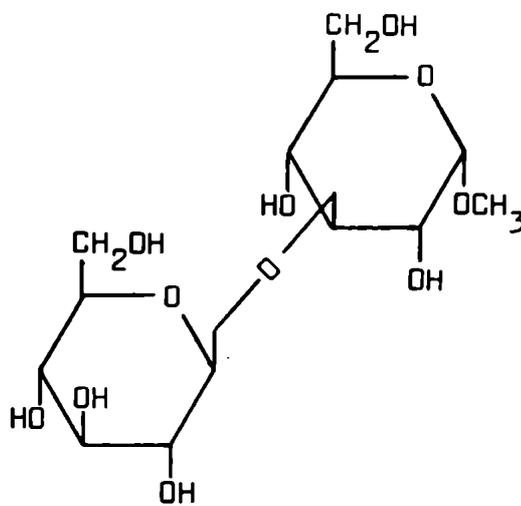
(89) β -genciobiosa6-O- β -D-glucopiranosil- β -D-glucopiranososa

El enlace β 1-6 presente en este disacárido no daría lugar a las mismas interacciones estéricas postuladas para el caso de la maltosa.

Takeo¹³¹ también benzoiló en estas condiciones el metil α -soforósido (90) y el metil α -laminarósido (91).



(90)



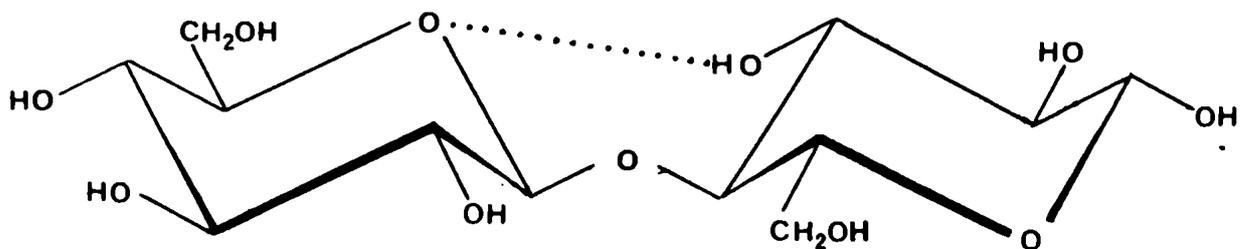
(91)

(90) metil α -soforósidometil 2-O- β -D-glucopiranosil- α -D-glucopiranosido(91) metil α -laminarósidometil 3-O- β -D-glucopiranosil- α -D-glucopiranosido

Takeo, del análisis de los resultados obtenidos a partir de (90) deduce que el HO-3 es el de menor reactividad frente a benzoilaciones, seguido por el HO-4. En el compuesto (91) la menor reactividad se encontró en el HO-4 seguido del HO-4'.

La reactividad de los grupos hidroxilo está relacionada, además de con el agente acilante y su relación molar, con su entorno estérico y con la presencia de puentes hidrógeno.

La estructura conformacional de la β -celobiosa fue propuesta por Chu y Jeffrey¹²⁵, Casu y col.¹²⁶, Jacobson y col.¹³³ y Hermans¹³⁴ en base a datos de cristalografía de rayos X. En el cristal se presenta una unión puente hidrógeno intramolecular entre el HO-3 de la parte reductora y el oxígeno del ciclo piranósico de la parte no reductora y estaría representada por la fórmula (92).



(92) celobiosa

La benzoilación de la celobiosa con cloruro de benzoflo/piridina, realizada por Deferrari y col.¹²¹, condujo a la octa-O-benzofl- β -celobiosa con 98% de rendimiento.

Nosotros, benzoilando la celobiosa en solución acuosa de NaOH a +50°C con cloruro de benzoflo, en las condiciones experimentales descritas por Hintikka¹¹⁸, obtuvimos una mezcla de benzoatos de la cual cristalizó con 54,3% de rendimiento un compuesto que se caracterizó como la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzofl- β -celobiosa (I) cuyo punto de fusión resultó idéntico al del hepta benzoato descrito por Hintikka¹¹⁸ en 1923.

Esta reacción no requiere bloqueos selectivos ni varios pasos de protección y desprotección y conduce al derivado con el HO-3 libre, por un camino rápido y sencillo. El puente hidrógeno del HO-3, observado en el cristal, puede encontrarse sustituido por puentes hidrógeno intermo-

leculares con el solvente, pero aún así se observa una menor reactividad de dicho hidroxilo.

El análisis por cromatografía en capa delgada de sílica gel, de las aguas madres de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzóil- β -celobiosa (I) mostró la presencia de (I), de octa-O-benzóil- β -celobiosa (II) y de otros benzoatos que, por su comportamiento cromatográfico corresponderían a compuestos con menor grado de benzoilación.

Para determinar la posición del hidroxilo libre en el heptabenzoato (I) lo metilamos con diazometano/trifluoruro de boro eterato, condiciones en las cuales no se producen migraciones de los grupos acilo⁹⁵⁻¹⁰⁰.

La metilación se repitió varias veces, hasta desaparición total del producto de partida. Por este procedimiento se obtuvo una hepta-O-benzóil-O-metil-celobiosa que por tratamiento con metóxido de sodio en metanol nos condujo a una O-metil-celobiosa. Para marcar la parte reductora del disacárido redujimos el mismo con borohidruro de sodio y el O-metil-celobiitol así obtenido se hidrolizó. Por cromatografía preparativa en papel del hidrolizado, se obtuvo D-glucosa y 3-O-metil-D-glucitol (VII), que se caracterizaron por su poder rotatorio y por cromatografía contra sustancias patrón.

Estos resultados indicaron que el hidroxilo libre se encontraba en el carbono 3 de la parte reductora del disacárido. La secuencia de reacciones llevada a cabo fué: 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzóil- β -celobiosa (I) \rightarrow 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzóil-3-O-metil- β -celobiosa (III) 3-O-metil-celobiosa (IV) \rightarrow 3-O-metil-celobiitol (V) \rightarrow D-glucosa + 3-O-metil-D-glucitol (VII).

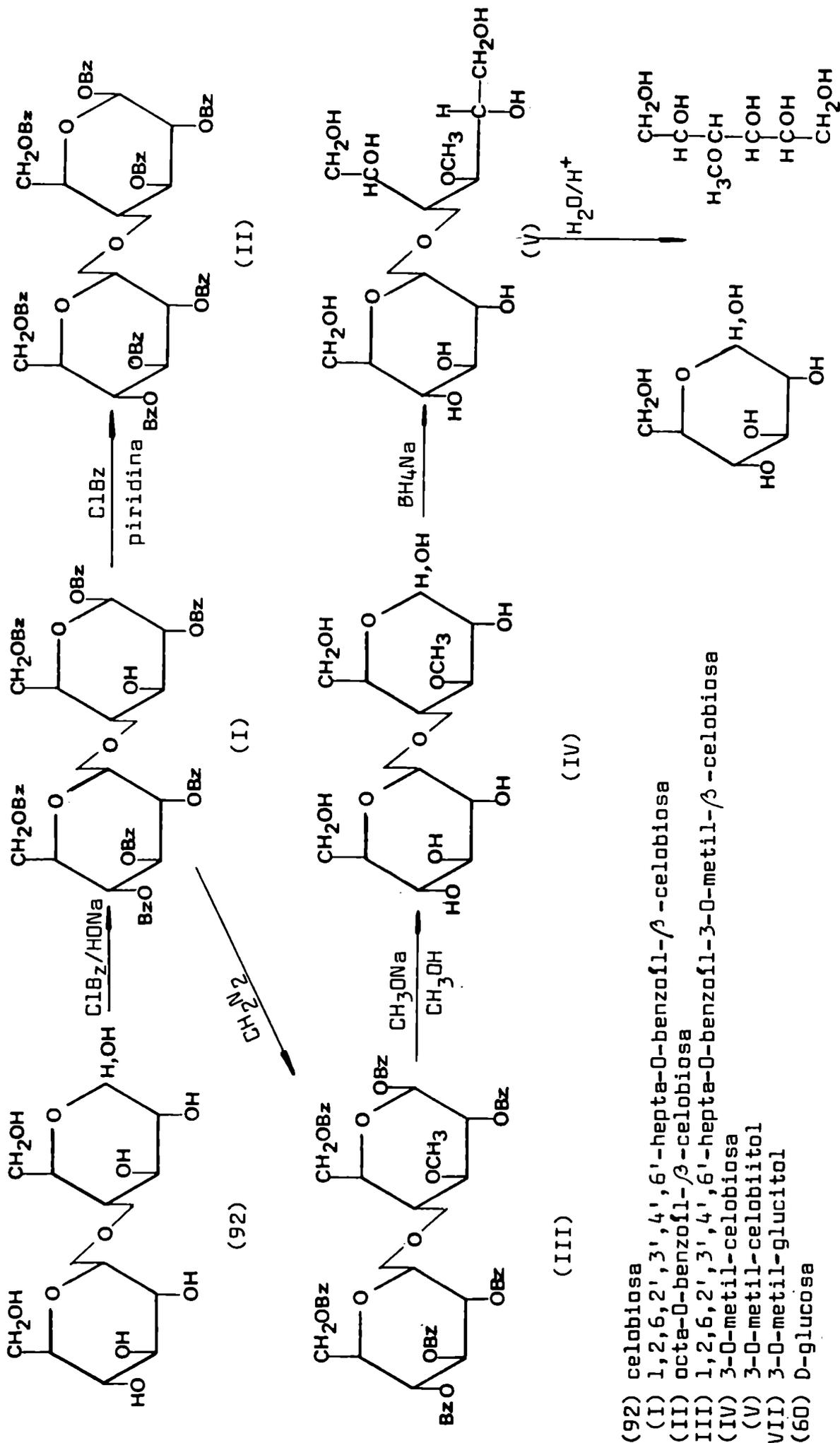
En la celobiosa el HO-3 se encuentra involucrado en uniones puente hidrógeno en su forma cristalina¹³³. En solución acuosa dichos puentes probablemente se encuentran reemplazados por puentes hidrógeno con el agua, pero aún así persiste el impedimento en este carbono que permite la obtención del derivado parcialmente benzoilado en el cual el HO-3 se encuentra libre.

Si bien en este caso no se encuentran antecedentes de compuestos similares en la literatura, nuestros resultados confirman el impedimento en esta posición. Este impedimento es mucho más débil que en el caso de la maltosa, donde ya con cloruro de benzóilo/piridina se obtenía el hepta-O-benzoato con 54% de rendimiento¹⁰⁷.

Los datos físicos de los derivados de la celobiosa, obtenidos durante este trabajo, se encuentran agrupados en la Tabla X.

TABLA X

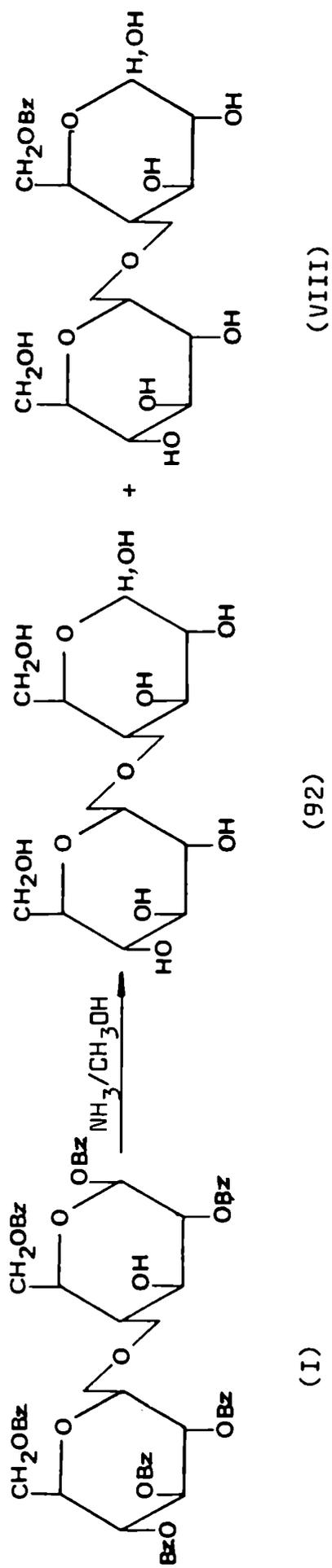
DERIVADOS DE LA CELOBIOSA						
COMPUESTOS OBTENIDOS:	Rend.	$[\alpha]_D^{20}$	P.f.	Análisis	C	H
						OCH ₃
1,2,6,2',3',4',6'-hepta-0-benzofl-β-celobiosa (I)	21,4%	-7,40	201-2040C	C ₆₁ H ₅₀ O ₁₈ Calc. % Enc. %	68,31 68,55	4,71 4,59
1,2,6,2',3',4',6'-hepta-0-benzofl 3-0-metil-β-celobiosa (III)	94%	-71,20	121-1230C	C ₆₂ H ₅₂ O ₁₈ Calc. % Enc. %	68,63 68,87	4,79 4,94
3-0-metil celobiosa (IV)	45%	+40,10	—	C ₁₃ H ₂₄ O ₁₁ Calc. % Enc. %	43,82 43,21	6,74 6,79
octa-0-benzofl-β-celobiosa (II)	83%	+36,50	147-1490C	C ₆₈ H ₅₄ O ₁₉ Calc. % Enc. %	69,48 69,34	4,64 4,51
6-0-benzofl-celobiosa (VIII) ¹²¹	59%	+43,70	—			



- (92) cellobiosa
- (I) 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoyl-β-cellobiosa
- (II) octa-O-benzoyl-β-cellobiosa
- (III) 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoyl-3-O-metil-β-cellobiosa
- (IV) 3-O-metil-cellobiosa
- (V) 3-O-metil-cellobitol
- (VII) 3-O-metil-glucitol
- (60) D-glucosa

(60)

(VII)



(I) 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoyl- β -cellobioside

(92) cellobioside

(VIII) 6-O-benzoyl-cellobioside

La configuración en el carbono anomérico de (I) se asignó como β ya que su benzoilación condujo a la octa-O-benzoil- β -celobiosa (II). En el espectro de resonancia magnética protónica tanto de (I) como de (II) no se observa señal entre τ 3.00 y 3.50, zona donde aparece la señal del H-1 ecuatorial de los anómeros α de los compuestos benzoilados con estructura glucopiránósica.¹³⁵

En el espectro de resonancia magnética protónica del compuesto (III) el grupo metoxilo aparece como singulete a τ 6.40 y se mantiene además la ausencia de señales entre τ 3.00 y 3.50, lo cual nos indica que se trata del anómero β .

La complejidad de las otras señales en el espectro de resonancia magnética protónica no permite un análisis de primer orden de las mismas.

En el espectro infrarrojo de los compuestos (I), (II) y (III) se observa la señal del carbonilo a 1715 cm^{-1} .

La octa-O-benzoil- β -celobiosa (II) que obtuvimos por benzoilación de (I), cristalizó en forma de agujas de punto de fusión $147\text{--}149^\circ\text{C}$ y de las aguas madres se obtuvo otro octabenzoato de punto de fusión $188\text{--}191^\circ\text{C}$.

La disolución de la octa-O-benzoil- β -celobiosa de p.f. $188\text{--}191^\circ\text{C}$ en acetona/metanol y sembrado con el producto de p.f. $147\text{--}149^\circ\text{C}$ condujo a la cristalización del compuesto de p.f. $147\text{--}149^\circ\text{C}$ solamente.

La disolución del compuesto de p.f. $147\text{--}149^\circ\text{C}$ y sembrado con el producto de p.f. $188\text{--}191^\circ\text{C}$, sólo condujo al compuesto de punto de fusión más bajo, lo cual demuestra que se trata de dos formas cristalinas dimorfas.

La amonólisis del compuesto (I) con amoníaco metanólico condujo sólo a celobiosa (92), con 39.5% de rendimiento, y 6-O-benzoil-celobiosa (VIII) con 59% de rendimiento y no se pudieron detectar compuestos nitrogenados. Esto se explica ya que el HO-3 de la parte reductora se encuentra sin benzoilar y el HO-4 forma parte de la unión glicosídica. De esta manera faltan los grupos acilo más importantes en las migraciones para dar lugar a las N-benzoil-aldobiosilaminas y las 1,1-bis (benzamido)-1-desoxi-aldobiosidos. La importancia de los grupos benzoilo sustituyentes de estas posiciones se demostró en los trabajos de Gros y col.¹³⁷, realizados con benzoilo ^{14}C , sobre derivados de D-glucosa y de los cuales resultó que el grupo sustituyente del carbono 3 era el que más aportaba a la formación de dichos derivados nitrogenados.

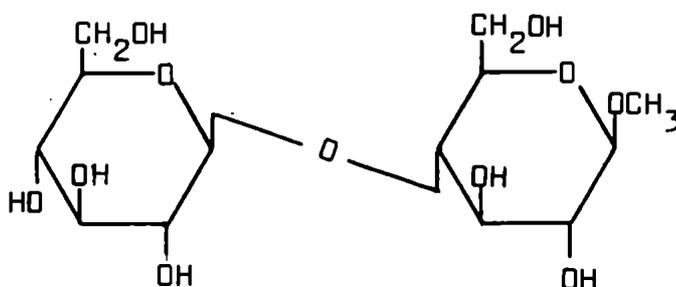
La benzoilación de celobiosa realizada por nosotros a -40°C con 10 moles de cloruro de benzoilo/piridina, (en las condiciones utilizadas por Takeo y Okano¹²⁸ para benzoilar maltosa), produjo principalmente

octa-O-benzoil- β -celobiosa (II) y sólo se obtuvo la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -celobiosa (I) con bajo rendimiento.

Una alícuota de la mezcla de reacción obtenida por esta técnica se analizó por cromatografía en columna a presión por la técnica descrita por Clark Still y col.¹³⁸. Se separó así octa-O-benzoil- β -celobiosa (II) y 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -celobiosa (I) en una relación 53:4 que corresponden a un rendimiento aproximado del 60% en (II) y 5% en (I) en la mezcla de reacción.

Las fracciones que no dieron productos puros, 10% del total, analizadas por cromatografía en placa delgada demostraron contener algo de (I) y de (II) y productos que por su comportamiento cromatográfico corresponderían a sustancias parcialmente benzoiladas.

Takeo y Okano¹²⁸ benzoilaron el metil β -celobiósido (93) con 7.9 equivalentes de cloruro de benzilo, en piridina, a -40°C y obtuvieron una mezcla compleja de la cual solo aislaron dos productos, el metil 2,3,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -celobiósido y el metil 2,6,2',3',4',6'-hexa-O-benzoil- β -celobiósido.

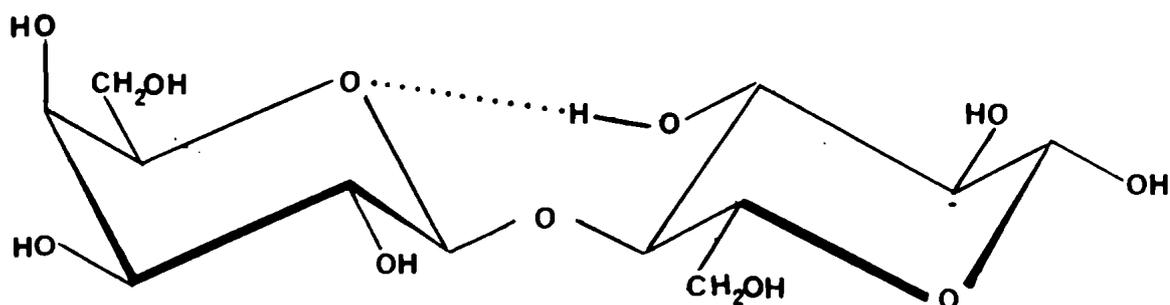


(93)

(93) metil β -celobiósido

En este caso también se observa un cierto impedimento estérico o menor reactividad del HO-3 para la benzoilación.

Hirotsu y Shimada¹³⁹, por estudios de cristalografía con rayos X observaron en la β -lactosa (94) un puente hidrógeno entre el HO-3 y el oxígeno del puente hemiacetálico de la parte no reductora.



(94) β -lactosa

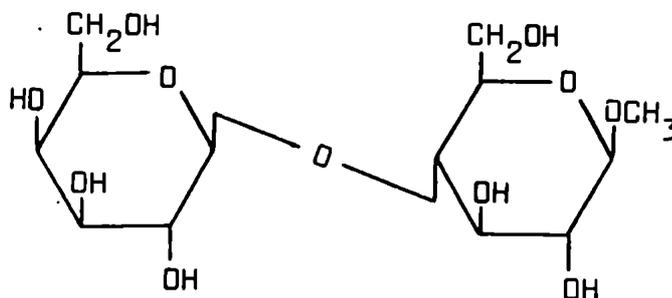
Fries y col.¹⁴⁰ y Beevers y Hansen¹⁴¹ encontraron también esta misma interacción para el caso de la α -lactosa.

La probable existencia de dichos puentes hidrógeno en solución, permitiría prever una menor reactividad o disponibilidad del HO-3 para la benzoilación.

Bhatt y col.¹⁴² benzoilaron selectivamente el metil β -lactósido (95), empleando tres relaciones molares distintas de cloruro de benzóilo/piridina a moles de azúcar, e identificaron las sustancias obtenidas por sustitución de los hidroxilos libres por cloro con cloruro de sulfurilo, separación de los productos de reacción por cromatografía en sílica gel, y por espectroscopía de masa y de resonancia magnética protónica de las sustancias aisladas.

Empleando 2.2 moles de cloruro de benzóilo/piridina, a temperaturas entre -20 y -40°C , obtuvieron una mezcla compleja de la cual aislaron el metil 3',6'-di-O-benzóil- β -lactósido (96) con 31% de rendimiento.

Empleando 5 moles de cloruro de benzóilo, obtuvieron una mezcla cuyo análisis demostró que estaba formada principalmente por cuatro componentes: el metil 2,6,2',3',6'-penta-O-benzóil- β -lactósido (9%) (97), el



(95)

(95) metil β -lactósido

metil 2,6,3',4',6'-penta-O-benzóil- β -lactósido (98) el metil 2,6,3',6'-tetra-O-benzóil- β -lactósido (22%) (99) y el metil 3',6,6'-tri-O-benzóil- β -lactósido con (31%) (100).

Benzoilado el compuesto (95) con 6.5 moles de cloruro de benzóilo se formó 33% del metil 2,6,2',3',4',6'-hexa-O-benzóil- β -lactósido (101) y cantidades menores de los otros compuestos.

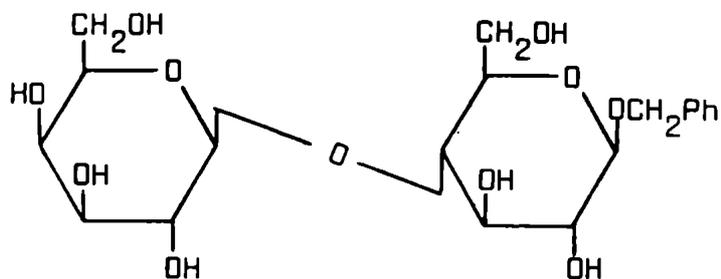
Estos resultados indican que en este metil β -lactósido (95) se observa una considerable selectividad en su reacción frente al cloruro de benzóilo y que los grupos hidroxilo adyacentes a la unión de los dos anillos, o sea HO-3, HO-2' reaccionarían con mayor dificultad.

Estos resultados están agrupados en la Tabla XI, y de ellos sus autores deducen que el orden de reactividad de los grupos hidroxilos en el metil β -lactósido sería: HO-6' > HO-3' > HO-6 > HO-2 > HO-2' y HO-4' > HO-3, o sea que el hidroxilo de menor reactividad sería nuevamente el HO-3.

Valashek y col.¹⁴³ benzoilaron el bencil β -lactósido (102) con 7.2 equivalentes de cloruro de benzóilo en piridina a -20°C y obtuvieron el bencil hepta-O-benzóil- β -lactósido con 63.69% de rendimiento, el bencil 2,6,2',3',4',6'-hexa-O-benzóil- β -lactósido (103) con 30% de rendimiento y una mezcla de (103) con el bencil 2,3,6,2',3',6'-hexa-O-benzóil- β -lactósido (104). En el compuesto (103) se encuentra el HO-3 libre, en el (104) el HO-4'.

TABLA XI
PRODUCTOS DE BENZOILACION DEL METIL β -LACTOSIDO¹⁴² CON CLORURO DE BENZOILO/PIRIDINA

Compuesto No	moles ClBz	Medio	grupos benzóilo en posiciones	HO-libres	Rendimiento
(96)	2.2	piridina	3',6'	2,3,6,2',4'	31 %
(97)	5	piridina	2,6,2',3',6'	3,4'	9 %
(98)	"	"	2,6,3',4',6'	3,2'	
(99)	"	"	2,6,3',6'	3,2',4'	22 %
(100)	"	"	3',6,6'	3,2,2',4'	31 %
(101)	6,5	piridina	2,6,2',3',4',6'	3	33 %
(97)	"	"	2,6,2',3',6'	3,4'	
(98)	"	"	2,6,3',4',6'	3,2'	

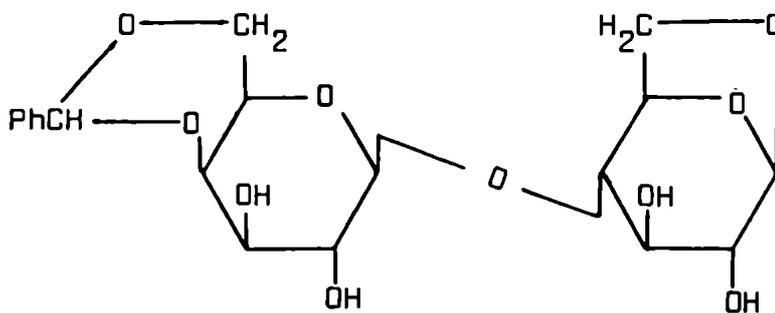


(102)

(102) bencil β -lactósido

Esto implicaría una menor reactividad del HO-3, seguido en mucho menor proporción por el HO-4'.

Chiba y col.¹⁴⁴ benzoylaron selectivamente la 1,6-anhidro-4',6'-O-bencilidén- β -lactosa (105) usando 2,1 equivalente de cloruro de benzoflo/piridina, a -20°C y obtuvieron los productos indicados en la Tabla XII.



(105)

(105) 1,6-anhidro-4',6'-O-bencilidén- β -lactosa

TABLA XII

PRODUCTOS DE BENZOILACION DE LA 1,6-ANHIDRO-4',6'-O-BENCILIDEN- β -LACTOSA CON CLORURO DE BENZOILO/PIRIDINA ¹⁴⁴ .				
Moles ClBz	medio	grupos benzóilo en posiciones:	HO-libres	Rend.
2,1	piridina	2,2',3,3'	—	3%
		2,3,3'	HO-2'	11%
		2,2',3'	HO-3	5%
		2,3'	HO-3 y HO-2'	30%
		3'	HO-3,HO-2' y HO-2	22%

De acuerdo a estos resultados la reactividad de los hidroxilos del compuesto (105) en estas condiciones de benzoilación es:

HO-3' > HO-2 > HO-3 > HO-2' , o sea que el HO-2' y el HO-3 serían los menos reactivos.

En estos casos hay además de los impedimentos propios del hidrato de carbono, los impedimentos por los grupos voluminosos y del puente 1,6-anhidro, lo cual no permite sacar conclusiones generales.

La benzoilación de la lactosa con cloruro de benzóilo/piridina a 60°C, realizada por Deferrari y col.¹²³ condujo a un 66% de octa-O-benzóil- α -lactosa y un 34% de octa-O-benzóil- β -lactosa.

Nosotros benzoilamos la lactosa en solución de hidróxido de sodio al 20% con cloruro de benzóilo y obtuvimos una mezcla de la cual cristalizó un heptabenzoato (IX) con 40,5% de rendimiento. El punto de fusión del compuesto (IX) es 196-197°C y no coincide con el del heptabenzoato de lactosa descrito por Panormoff¹¹⁷ (p.f. 116-118°C) ni con el del hexabenzoato de lactosa dado por Skraup¹¹⁵ (p.f. 130-136°C).

Las aguas madres de cristalización del compuesto (IX) contenían el compuesto IX, octa-O-benzóil- β -lactosa (X), y algunas sustancias de menor desplazamiento y de poca intensidad en cromatografía en placa delgada.

Para demostrar la estructura en el carbono anomérico se benzoiló el compuesto (IX) y se obtuvo la octa-O-benzóil- β -lactosa (X). En ambos compuestos, (IX) y (X) no se encuentra la señal típica del H-1 del anómero α ,

en el espectro de resonancia magnética protónica, y este hecho permite asignarles la estructura anomérica β . Las demás señales no permiten un análisis de primer orden, debido a su complejidad.

Los espectros infrarrojo de (IX) y de (X) son complejos y permiten constatar la presencia del carbonilo a 1715 cm^{-1} .

Para demostrar la posición del hidroxilo libre en el compuesto (IX) realizamos su metilación con diazometano/trifluoruro de boro eterato, con condiciones en las cuales no se producen migraciones de grupos acilo, y obtuvimos una hepta-O-benzoil-O-metil-lactosa (XI) con 86% de rendimiento.

El espectro de resonancia magnética protónica del compuesto (XI) muestra la presencia del grupo O-CH₃ a δ 6.35 y la ausencia de señales entre δ 3.00 y 3.50, con lo cual se vuelve a confirmar que se trata del anómero β . En el espectro infrarrojo aparece la señal del carbonilo a 1715 cm^{-1} .

La desbenzoilación e hidrólisis del compuesto (XI) condujo a D-galactosa y 3-O-metil-D-glucosa (VI), los cuales se caracterizaron por sus constantes físicas, comparación cromatográfica con muestra auténtica y obtención de la fenilosazona de la 3-O-metil-D-glucosa (XII).

Estos resultados indicaron que el hidroxilo libre se encontraba en el carbono 3 de la parte reductora del disacárido. La secuencia de reacciones llevada a cabo fue: 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -lactosa (IX) \rightarrow 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil-3-O-metil- β -lactosa (XI) \rightarrow 3-O-metil-lactosa \rightarrow D-galactosa + 3-O-metil-D-glucosa (VI).

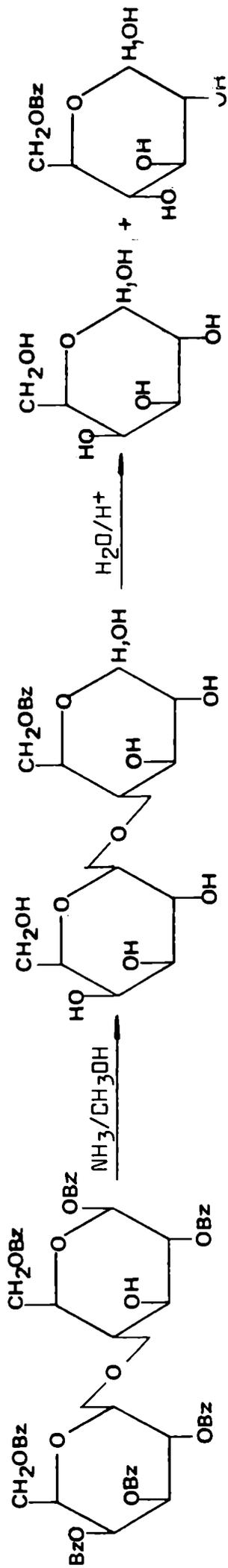
La amonólisis de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -lactosa (IX) con amoníaco metanólico sólo condujo a lactosa (75%) y 6-O-benzoil-lactosa (XIII) (21.5%) y no se detectaron productos nitrogenados. Este es otro hecho experimental en favor de una posición HO-3 libre, ya que el sustituyente en esta posición interviene fundamentalmente en la migración de acilos, para la formación de N-benzoil-aldobiosilaminas y 1,1-bis-(benzamido)-1-desoxi-aldobiitoles, como lo demostraron Gros y col.¹³⁷ en las reacciones de amonólisis realizadas con benzilos marcados con ^{14}C .

La estructura de la 6-O-benzoil-lactosa (XIII) se demostró por oxidación con periodato de sodio. Se consumieron 4 moles y no se obtuvo formaldehído, lo cual confirmaba la presencia del grupo benzilo en el C-6 de la parte reductora de la molécula. La hidrólisis de (XIII) condujo a D-galactosa y 6-O-benzoil-D-glucosa (XIV) que se caracterizaron por sus constantes físicas y por cromatografía en papel.

TABLA XIII

DERIVADOS DE LA LACTOSA

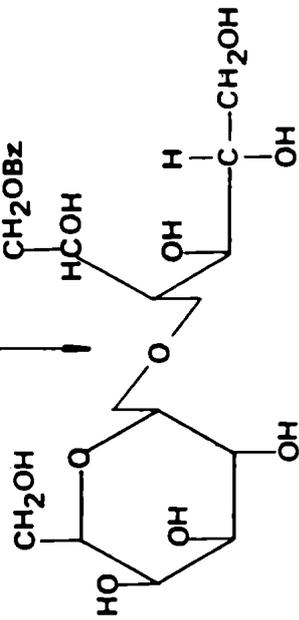
<u>Sustancia</u>	Rendimiento	$[\alpha]_D^{20}$	P.f.	Análisis	C	H	OCH ₃
1,2,6,2',3',4',6'-hepta- O-benzofl-β-lactosa (IX)	24%	+71.2	196-197	C ₆₁ H ₅₀ O ₁₈ Calc. % Enc. %	68.31 68.10	4.70 4.69	
octa-O-benzofl-β - lactosa (X)	93%	+38.1	140-142 ^o	C ₆₈ H ₅₄ O ₁₉ Calc. % Enc. %	69.48 69.20	4.64 4.73	
1,2,6,2',3',4',6'-hepta- O-benzofl-β -3-O-metil- lactosa (XI)	86%	+52.9	203-204 ^o	C ₆₂ H ₅₂ O ₁₈ Calc. % Enc. %	68.63 68.69	4.74 4.73	2.9 2.8
6-O-benzofl-lactosa (XIII)	21.4%	+55.6	125 desc.	C ₁₉ H ₂₆ O ₁₂ Calc. % Enc. %	51.12 51.17	5.87 6.04	
6-O-benzofl-lactitol (XV)	97%	+28.7	Jarabe	C ₁₉ H ₂₈ O ₁₂ Calc. % Enc. %	50.89 51.10	6.29 6.60	



(IX)

(XIII)

(XIV)



(XV)

(IX) 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoyl- β -lactosa

(XIII) 6-O-benzoyl lactosa

(XIV) 6-O-benzoyl glucosa

(XV) 6-O-benzoyl lactitol

Por reducción del compuesto (XIII) con borhidruro de sodio se obtuvo además el 6-O-benzoil-lactitol (XV), con 97% de rendimiento.

Los diferentes derivados de la lactosa preparados en este trabajo se encuentran agrupados en la tabla XIII.

Realizamos también la benzoilación de la maltosa en solución de hidróxido de sodio al 20%, a + 5°C, con cloruro de benzoilo. Por este procedimiento habíamos obtenido los respectivos heptabenoatos (I) y (IX) de celobiosa y lactosa respectivamente, en forma pura, pero en el caso de la maltosa no se logró una cristalización directa.

Por cromatografía en placa delgada observamos dos manchas intensas, que correspondían a la octa-O-benzoil- β -maltosa (XVI) y la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -maltosa (XVII) sin encontrarse rastros de productos de menor benzoilación.

Una alícuota de esta mezcla se cromatografió por una columna a presión y condujo a la separación de un 59% del compuesto (XVI) y un 40% del (XVII) lo cual corresponde a un rendimiento del 18.4% de (XVI) y del 13.7% de (XVII) respecto al rendimiento total de la reacción.

La falta de productos parcialmente benzoilados en el sólido obtenido y los relativamente bajos rendimientos totales de esta reacción, podrían explicarse por la pérdida por solubilidad de los compuestos parcialmente acilados en el medio acuoso de reacción y por los abundantes lavados que se realizaron para eliminar el hidróxido de sodio.

En el caso de la maltosa, los derivados benzoilados no pudieron ser aislados por cristalización directa de la mezcla de reacción obtenida por cualquiera de los dos métodos de acilación empleados (cloruro de benzoilo + piridina ¹⁰⁷ ó cloruro de benzoilo + hidróxido de sodio), y su cristalización fué lograda previa separación por cromatografía de adsorción.

La proporción de octa-O-benzoil- β -maltosa (XVI) y hepta-O-benzoil- β -maltosa (XVII) obtenidas al benzoilar el azúcar con cloruro de benzoilo/piridina era 0.85:1 ¹⁰⁷. En la benzoilación realizada en solución acuosa de hidróxido de sodio se obtuvo una relación 1.34:1. La inversión de la relación de las dos sustancias, (XVI): (XVII), cuando la reacción se realiza en medio acuoso se debe muy probablemente a la sustitución parcial del puente hidrógeno existente entre el HO-3 y el HO-2' por puentes hidrógeno con el agua, los cuales impedirían menos la acilación de dichos hidroxilos.

Zagrodzki y Kroll ¹⁴⁰ describen la benzoilación de sacarosa con cloruro de benzoilo e hidróxido de sodio, trabajando en heterofase, con diclo-

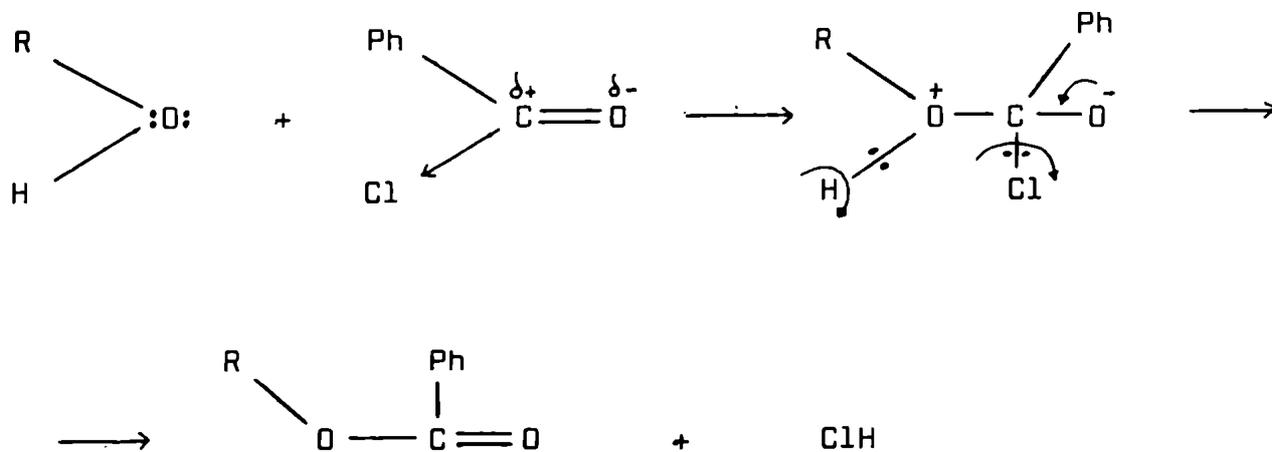
roetano como solvente. Mencionan la obtención de una serie de benzoatos diferentes, según la concentración de hidróxido de sodio utilizada, pero atribuyen las estructuras solamente por el desplazamiento cromatográfico sobre placa delgada, sin demostrar las mismas ni comparar los compuestos con muestras de estructura conocida.

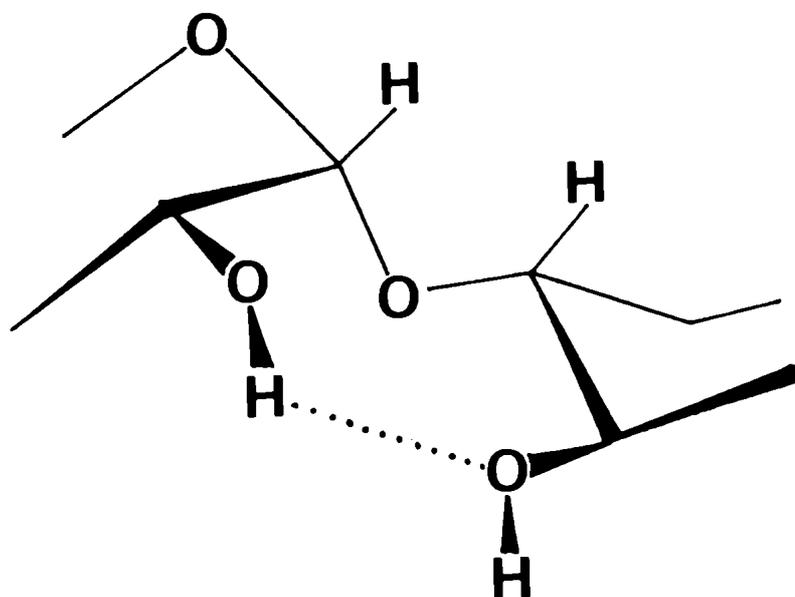
Analizando los hepta-O-benzoil derivados obtenidos por nosotros, se vé que el HO-3 es el menos reactivo o el más impedido en los tres disacáridos estudiados, celobiosa, lactosa y maltosa.

En la benzoilación de maltosa sólo se obtiene un único heptabenzoato en el cual el hidroxilo 3 se encuentra sin benzoilar. Si admitimos que se mantiene el puente hidrógeno encontrado en la maltosa cristalina, según la orientación del mismo podría formarse el hepta-O-benzoato con el HO-3 libre o el hepta-O-benzoato con el HO-2' libre.

El hecho que el único hepta-O-benzoato obtenido es el que tiene el HO-3 libre, indicaría una orientación determinada del puente hidrógeno que permitiría la benzoilación preferencial del HO-2' en la formación del heptabenzoato.

Si postulamos que en dicho enlace, el hidroxilo donador de hidrógeno es el HO-2', su oxígeno, cuyos electrones no están comprometidos en la unión puente hidrógeno, estaría más disponible para el ataque electrofílico del grupo carbonilo del cloruro de benzoilo. El oxígeno del HO-3, en cambio, tendría sus electrones no apareados involucrados en dicho puente hidrógeno lo que determinaría para dicho hidroxilo una situación electrónica menos favorable para dar lugar a un ataque electrofílico del mismo tipo.





Se demostró que en los disacáridos con unión 1 → 4 los grupos hidroxilo adyacentes a la unión de los dos anillos piranósicos, esto es HO-3 y HO-2', están sujetos a mayor interacción estérica y por lo tanto reaccionan más dificultosamente frente a la acilación.

En el caso de la maltosa, debido al enlace glicosídico α esta interacción o impedimento es más pronunciado y se produce el hepta-O-benzoato en condiciones experimentales en las cuales otros disacáridos dan octa-O-benzoatos. En la celobiosa y en la lactosa se obtuvieron los hepta-O-benzoatos con el HO-3 libre solamente por reacción en solución de hidróxido de sodio acuoso, con un 54.3% de rendimiento en el caso de la celobiosa y un 40.3% en el caso de la lactosa.

Nosotros benzoilamos celobiosa y lactosa a -40°C , en las condiciones descritas por Takeo y Okano¹²⁸ para el caso de la maltosa, y obtuvimos en ambos casos mezclas de octa y heptabenzoatos con pequeñas cantidades de otros derivados, que por su comportamiento cromatográfico en capa delgada parecieron ser los disacáridos con menor grado de benzoilación.

Esto demostraría un menor impedimento o mayor similitud en la reactividad de los hidroxilos, lo cual dificulta la obtención de productos parcialmente benzoilados.

La importancia de los benzóilos en las diferentes posiciones de las hexosas, en las reacciones de amonólisis que dan lugar a la formación de productos nitrogenados, fue estudiada con penta-O-benzóil-D-glucosas sustituidas con grupos benzóilo marcados con ^{14}C ¹³⁷. Los sustituyentes de los O-3 y O-4 son los que más contribuyen a la formación de los N-benzóil derivados en el C-1.

En los disacáridos estudiados, celobiosa, lactosa y maltosa la parte reductora tiene configuración glucopiranosica y en ellos el O-4 se encuentra involucrado en la unión glicosídica con la parte no reductora de la molécula. En los hepta-O-benzoatos faltan los grupos benzoilo de los C-3 y C-4 que son los que más aportan a la migración de acilos, lo que explicaría la no formación de N-benzoil-aldobiosilaminas y N,N-dibenzoil-1-desoxi-aldobitulos en la amonólisis de los mismos. De estos resultados se puede deducir que los benzoilos de los O-2 y O-6 y los de la parte no reductora no participan en la formación de este tipo de derivados nitrogenados en estos disacáridos.

En la amonólisis de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -celobiosa (I) se obtuvo 59% de 6-O-benzoil celobiosa (VIII) y 39,5% de celobiosa. La amonólisis de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -lactosa (IX) dió 21,5% de 6-O-benzoil-lactosa (XIII) y 75% de lactosa. Comparando estos resultados con los obtenidos a partir de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -maltosa (XVII)¹⁰⁷ se observa que en las reacciones de amonólisis de estos compuestos se forman los 6-O-benzoil derivados con rendimientos mucho más altos que a partir de los octa-O-benzoatos correspondientes, en los cuales los rendimientos son: 6,6% de 6-O-benzoil-celobiosa,¹²¹ 31,6% de 6-O-benzoil-maltosa¹²² y no se detectó la 6-O-benzoil-lactosa en la amonólisis de la octa-O-benzoil lactosa¹²³.

21,5%?

TABLA XIV

COMPUESTOS OBTENIDOS EN LAS REACCIONES DE AMONOLISIS DE LOS HEPTA-O-BENZOIL DISACARIDOS I, IX y XVII			
Comp. Nº	Sustancia	6-O-benzoil disacárido	disacárido
XVII	1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -maltosa ¹⁰⁷	40%	56%
I	1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -celobiosa	59%	39.5%
IX	1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -lactosa	21.5%	75.1%

El grupo 6-O-benzóilo de la parte reductora del disacárido presenta una notable resistencia a la amonólisis, lo cual disminuye drásticamente al reducir el disacárido a 6-O-benzóil maltitol, 6-O-benzóil celobitol o 6-O-benzóil lactitol.

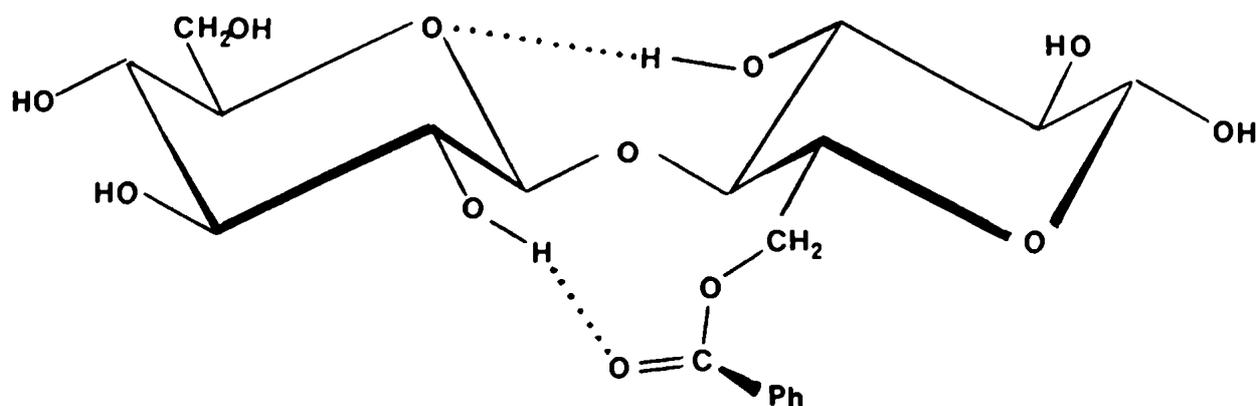
TABLA XV

AMONOLISIS DE 6-O-BENZOIL DERIVADOS	
Sustancia	tiempo *
6-O-benzóil-lactosa (XIV)	4 días
6-O-benzóil-lactitol (XV)	4 horas
6-O-benzóil-celobiosa (VIII)	7 días ^{121,122}
6-O-benzóil-celobitol	6 horas ¹²²
6-O-benzóil-maltosa	15 días ¹²²
6-O-benzóil-maltitol	2 días ¹²²
6-O-benzóil-glucosa (XV)	2 horas ¹²²
6-O-benzóil-glucitol	2 horas ¹²²

* tiempo al cual desapareció totalmente el compuesto

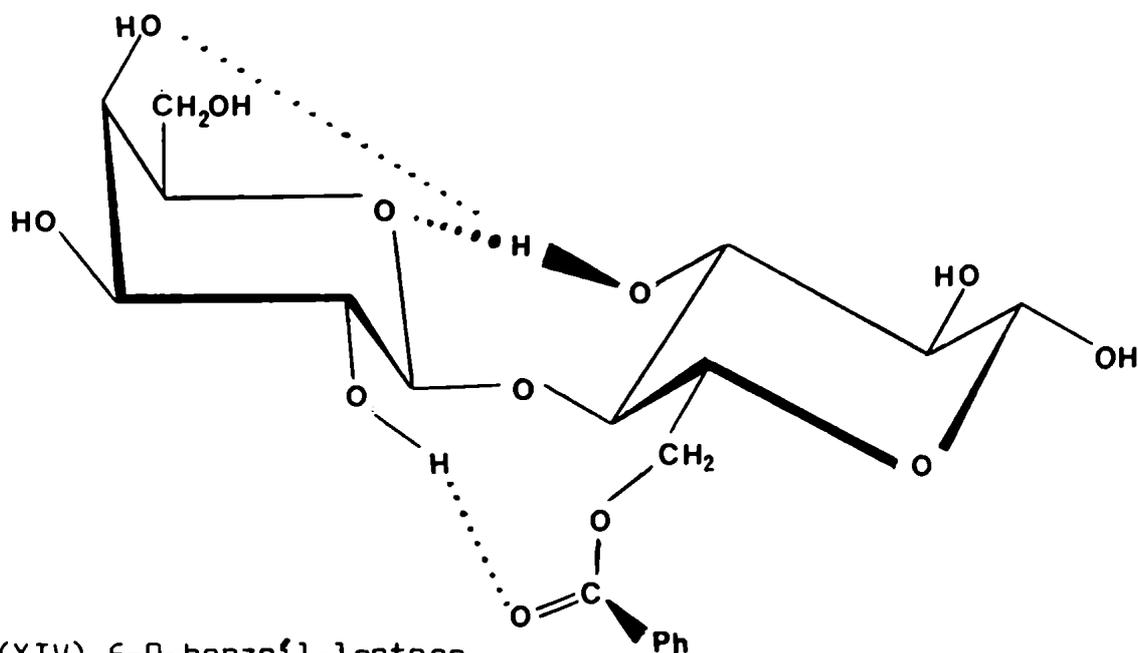
En la estructura cristalina demostrada para la celobiosa ¹²⁵ se observó un puente hidrógeno entre el HO-3 y el oxígeno del anillo no reductor. Si en el caso de la 6-O-benzóil-celobiosa se supone una interacción similar, mediante modelos moleculares se observa la posibilidad de un puente hidrógeno entre el oxígeno del grupo benzóilo y el HO-2'. Esta estabilización adicional le conferiría una mayor estabilidad al benzóilo en el C-6 frente al amoníaco.

En el caso de la lactosa se postula una interacción semejante entre el HO-3 y el oxígeno del anillo no reductor, en base a datos de cristalografía de rayos X ¹³⁹. Nosotros, estudiando la molécula con modelos moleculares observamos que también se podría postular una interacción puente hidrógeno entre el HO-3 ecuatorial y el HO-4' axial. Estas mismas interacciones se podrían suponer en la 6-O-benzóil-lactosa (XIV) lo que llevaría a que el grupo-O-benzóilo del C-6 estaría menos estabilizado por el puente hidrógeno con el HO-2' que en la 6-O-benzóil-celobiosa, debido a la competencia con el HO-4' en posición axial de la lactosa.



(VIII) 6-O-benzoyl-celobiosa

Estas suposiciones permitirían explicar que la 6-O-benzoyl-celobiosa (VIII) se forme con mayor rendimiento que la 6-O-benzoyl-lactosa (XIV) la cuál se encontraría menos estabilizada frente a la reacción de amonólisis.



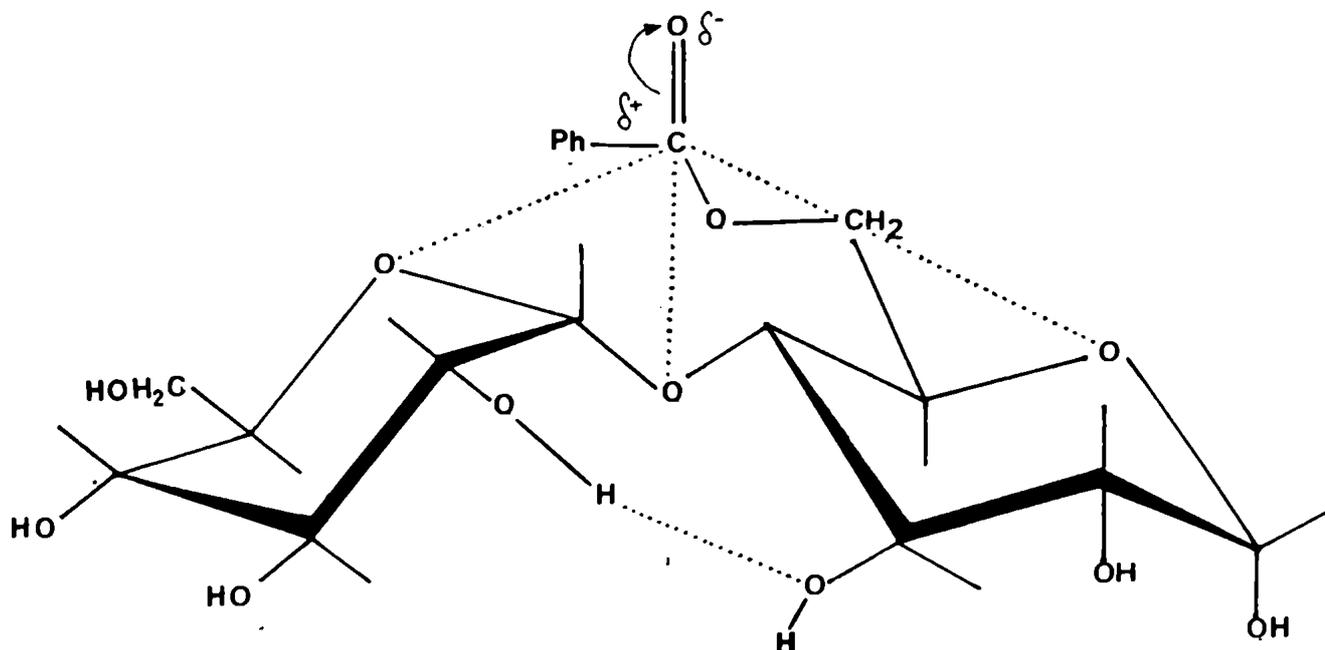
(XIV) 6-O-benzoyl-lactosa

La amonólisis del grupo 6-O-benzoyl se produce en 4 días en el caso de la 6-O-benzoyl-lactosa (XIV) menos estabilizada, y en 7 días en el caso de la 6-O-benzoyl-celobiosa (VIII) que tendría el grupo 6-O-benzoyl más estabilizado por las interacciones postuladas.

Las interacciones que permiten estas estabilizaciones se modifican notablemente al reducir los compuestos (XIV) y (VIII) a 6-O-benzoyl-lactitol y 6-O-benzoyl-celobitol¹²², cuyas amonólisis se producen en 4 y 6 horas respectivamente.

El grupo 6-O-benzóilo de la glucosa, en la cual no se pueden postular dichas estabilizaciones por puente hidrógeno, es amonolizado en 2 horas, lo mismo que el 6-O-benzóilo del 6-O-benzóil-D-glucitol¹²².

La resistencia a la amonólisis del grupo 6-O-benzóilo en la 6-O-benzóil-maltosa, cuyo enlace glicosídico α conduce a un acercamiento entre las dos unidades D-glucopiránicas, se podría explicar ya que esto facilitaría la estabilización de la molécula por puente hidrógeno entre el HO-3 y el HO-2' y además la del grupo benzóilo por interacciones con los oxígenos de los ciclos piránicos y del enlace glicosídico como los postularon Deferrari y col.¹²².



6-O-benzóil-maltosa.

El grupo 6-O-benzóilo de la 6-O-benzóil-maltosa sólo se amonoliza después de 15 días y el del 6-O-benzóil-maltitol en 2 días. Esto demuestra una mucho mayor estabilidad que la observada para los mismos grupos en los otros disacáridos y hace suponer la intervención de un efecto estabilizador distinto al observado en la 6-O-benzóil-celobiosa y en la 6-O-benzóil-lactosa.

CAPITULO IV

PARTE EXPERIMENTAL

PARTE EXPERIMENTALTECNICAS GENERALES

Las cromatografías en capa delgada se realizaron con Silica G (Merck) como fase fija, extendida sobre porta objetos o sobre placas de vidrio de 10 x 20 cm. Los eluyentes utilizados fueron:

Solvente A) benceno - acetato de etilo (95:5; v/v)

Solvente B) benceno - acetato de etilo (9:1; v/v)

Los cromatogramas se revelaron con iodo, empleando para ello una cuba saturada con vapores de iodo en equilibrio con iodo sólido.

Las cromatografías en papel se efectuaron por la técnica descendente, sobre papel Whatman Nº 1, usando como eluyentes.

Solvente C) butanol - etanol - agua (10:4:4; v/v) salvo cuando se indican expresamente otros sistemas

Los cromatogramas se revelaron con los reactivos I, II y III.

Reactivo I: Este reactivo consiste de una mezcla recién preparada de 5 partes de solución al 0.3% de nitrato de plata en metanol, 1 parte de amoníaco metanólico (16%) y 2 partes de solución de metóxido de sodio al 7%¹⁴⁷ .

Los cromatogramas se revelaron por inmersión en el reactivo y secado al aire a temperatura ambiente en el caso azúcares libres, o calentamiento a 50º en el caso de acil-derivados de los mismos.

Reactivo II: Este reactivo consiste en una solución al 1,6% de ácido ftálico en butanol y 0.1 ml. de anilina¹⁴⁸ .

Los cromatogramas se revelaron por pulverización con el reactivo, secado a temperatura ambiente y posterior calentamiento en estufa a 110º durante 10 minutos.

Reactivo III: Este reactivo consiste en una solución de IO_4Na al 2%, de la cual se mezclan 4 partes con una parte de una solución de MnO_4K al 1% en CO_3HNa al 2%¹⁴⁹ .

Los cromatogramas se revelaron por pulverización con el reactivo y secado a temperatura ambiente.

En las reacciones de amonólisis se utilizó metanol-amoníaco al 16% (v/v).

El secado en desecador se hizo a presión reducida sobre ácido sulfúrico e hidróxido de sodio.

Las muestras para microanálisis se secaron a alto vacío (0.01 mm) y a 60°C o 100°C según el punto de fusión de las mismas.

Los puntos de fusión se determinaron por el método del tubo capilar y no fueron corregidos.

Las rotaciones ópticas se determinaron en un polarímetro O.C. Rudolph & Sons, modelo 70, en tubo de 1 dm y la concentración se expresó en gramos por 100 ml de solvente.

La evaporación de los solventes de las mezclas de reacción se llevó a cabo a presión reducida y a temperaturas inferiores a 60°C.

Los espectros de resonancia magnético nuclear se realizaron en un Varian A 60, en cloroformo-d, con tetrametilsilano (TMS) de estándar interno.

Los espectros Infrarrojos se realizaron en un aparato Infracord Perkin Elmer como film, en suspensión en nujol.

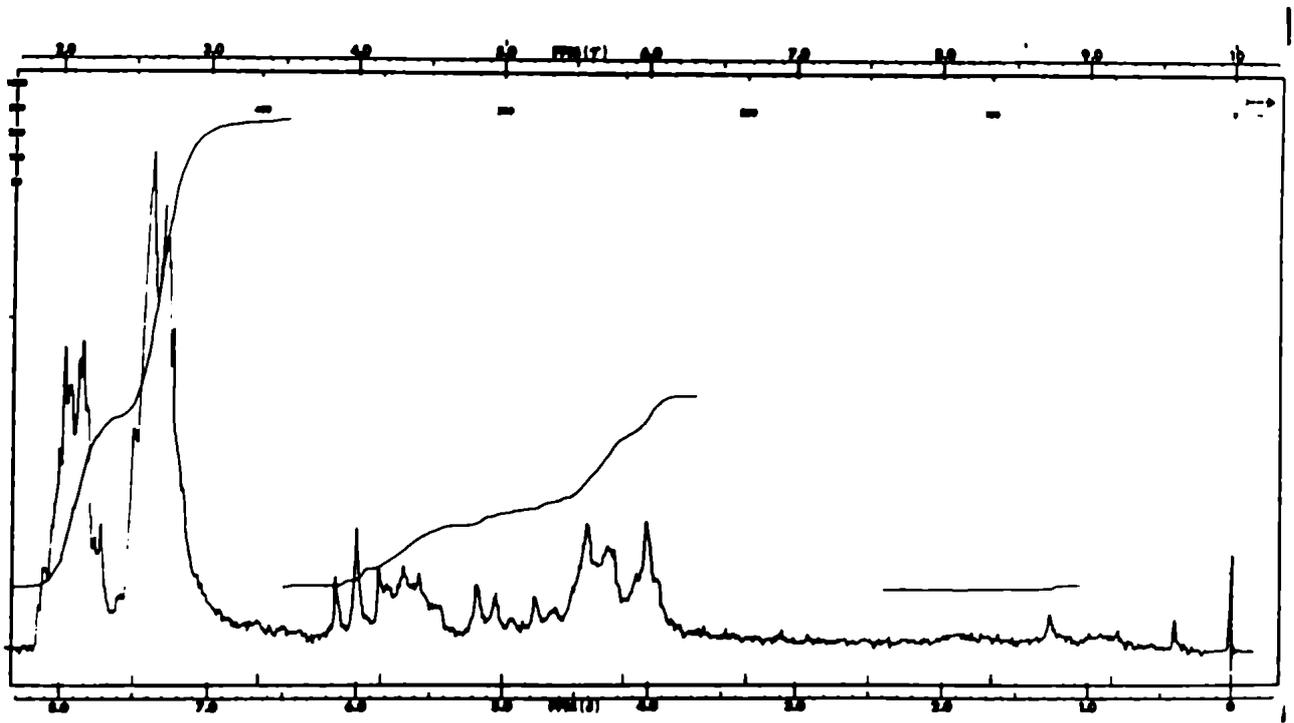
Los solventes y reactivos líquidos fueron purificados por destilación.

SINTESIS DE LA 1,2,6,2',3',4',6', HEPTA-O-BENZOIL- β -CELOBIOSA (I)

En 480 ml de solución de hidróxido de sodio al 20% previamente enfriada en baño de agua - hielo se disolvieron 10 g de celobiosa. A dicha solución se agregaron con agitación y enfriamiento 55 ml de cloruro de benzofilo en fracciones de 5 ml. Después de finalizado el agregado, se continuó la agitación durante 20 minutos con lo que se produjo la solidificación de la mezcla de reacción; se disgregó el sólido y se agitó fuertemente hasta que la reacción dejó de ser exotérmica (aproximadamente 30 minutos). Se mantuvo con agitación ocasional durante media hora más, se dejó una hora a temperatura ambiente, se diluyó con 1 litro de agua fría y se filtró el sólido, lavándolo con abundante agua fría hasta neutralidad. Después de secado se obtuvieron 40 g de un sólido formado por una mezcla de 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -celobiosa (I) y otros productos de menor grado de benzoilación. Este sólido se extrajo 5 veces con porciones de 150 ml de metanol a ebullición. El jarabe residual se secó y se cristalizó de cloroformo-metanol (1:1). Se obtuvieron 16.5 g (54,3%) de (I) en forma de agujas de p.f. 194-200°C, que después de tres recristalizaciones de cloroformo-metanol (1:1) dieron 6.5 g (21.4%) de 1,2,6,2',3',4',6' -hepta-O-benzoil- β -celobiosa (I) como agujas de p.f. 201-204°C. $[\alpha]_D^{20} - 7,41$ (c, 0.75, cloroformo).

En el espectro de RMP no se observan señales entre δ 3.00 y 3.50; en el espectro IR se observa la presencia del C=O a 1715 cm^{-1} .

Análisis calculado para $\text{C}_{61}\text{H}_{50}\text{O}_{18}$: C, 68.31; H, 4.70
 Encontrado: C, 68.55; H, 4.59



Espectro de RMP de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoyl- β -celobiosa (I) (60 MHz)

SINTESIS DE LA OCTA-O-BENZOIL- β -CELOBIOSA (II)

La 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -celobiosa (I) (0,53 g) se disolvió en 2,5 ml de piridina anhidra y se benzoiló con 1 ml de cloruro de benzoilo. Después de 24 horas a temperatura ambiente se calentó 3 horas a 60°C y 30 minutos a 100°C, se enfrió a temperatura ambiente. Se agregó agua y se extrajo con cloroformo. La solución clorofórmica se lavó sucesivamente con solución de ácido sulfúrico 0.25 M (3 veces), con solución de bicarbonato de sodio, y con agua. Se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se llevó a sequedad. El jarabe residual se disolvió en acetona-metanol (3:7) y se obtuvieron 0.49 g (83%) de la octa-O-benzoil- β -celobiosa (II) en forma de agujas de p.f. 147-149°C; $[\alpha]_D^{20} + 36.5^\circ$ (c 0.7, cloroformo), Rf 0.52 en el solvente B.

Análisis calculado para $C_{68}H_{54}O_{19}$: C, 69.48; H, 4.64

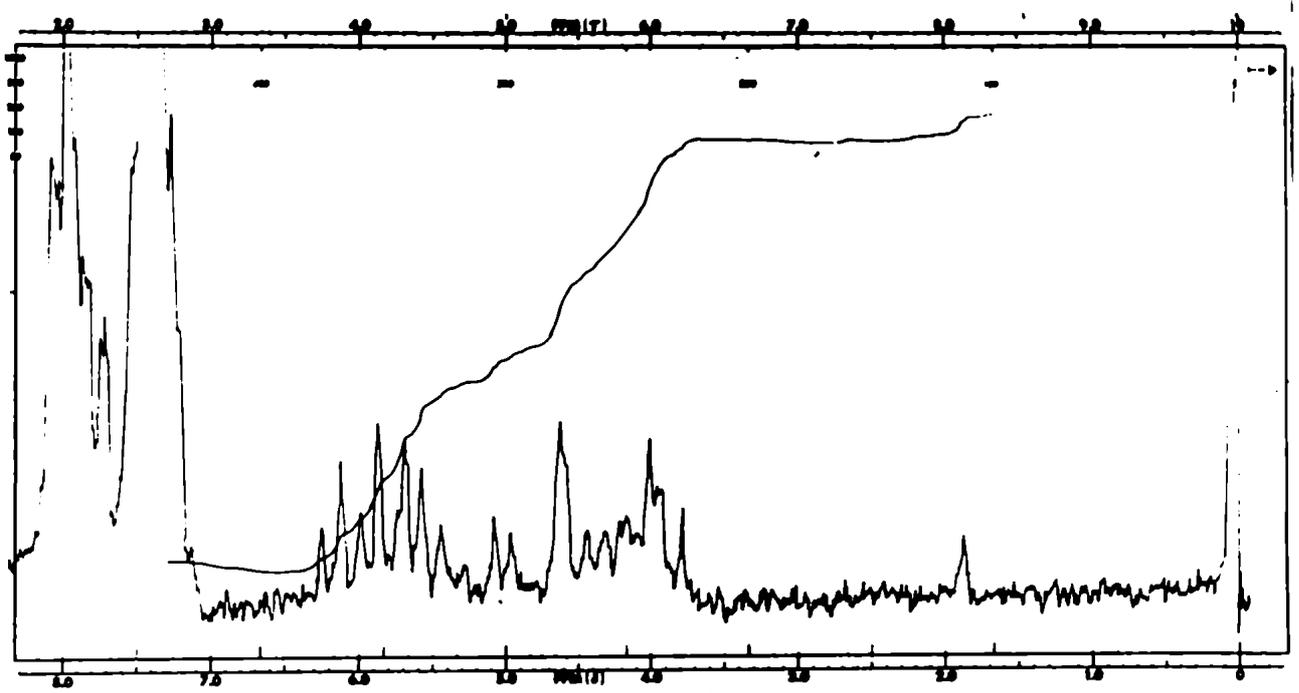
Encontrado: C, 69.34; H, 4.51

De las aguas madres cristalizó, otra octa-O-benzoil-celobiosa de p.f. 188-191°C y $[\alpha]_D^{20} + 36.2$ (c 0,7, cloroformo), {Lit.¹²¹ p.f. 188-191°C; $[\alpha]_D^{20} + 37^\circ$ (c 1.1, cloroformo)}.

Se disolvió la octa-O-benzoil- β -celobiosa de p.f. 147-149°C en acetona:metanol (3:7) y se la sembró con el benzoato de p.f. 188-191°C. Se obtuvo nuevamente el benzoato de p.f. 147-149°C.

El producto de p. f. 188-191°C se disolvió en acetona metal (3:7) y se sembró con el benzoato de p.f. 147-149°C. Sólo se obtuvo el benzoato de punto de fusión 147-149°C.

Ambos benzoatos dimorfos no presentan señal en el espectro de RMP entre $\bar{\nu}$ 3.00- y 3.50, y en el espectro IR se observa la señal del C=O a 1710 cm^{-1} .



Espectro de RMP de la octa-O-benzoyl- β -celobiosa (II) (60 MHz)

SINTESIS DE LA 1,2,6,2',3',4',6'-HEPTA-O-BENZOIL-3-O-METIL- β -CELOBIOSA (III)

Se disolvieron 2.5 g de 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -celobiosa (I) en 25 ml de diclorometano y a la solución enfriada a 0°C se le agregó 0.3 ml de trifluoruro de boro eterato, y luego, lentamente y agitando, una solución de diazometano en diclorometano obtenida a partir de 16 g de nitroso metil urea.¹⁵⁰

Este procedimiento se repitió siete veces controlando por cromatografía en capa delgada la desaparición de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -celobiosa (I). Se concentró la solución cada dos metilaciones.

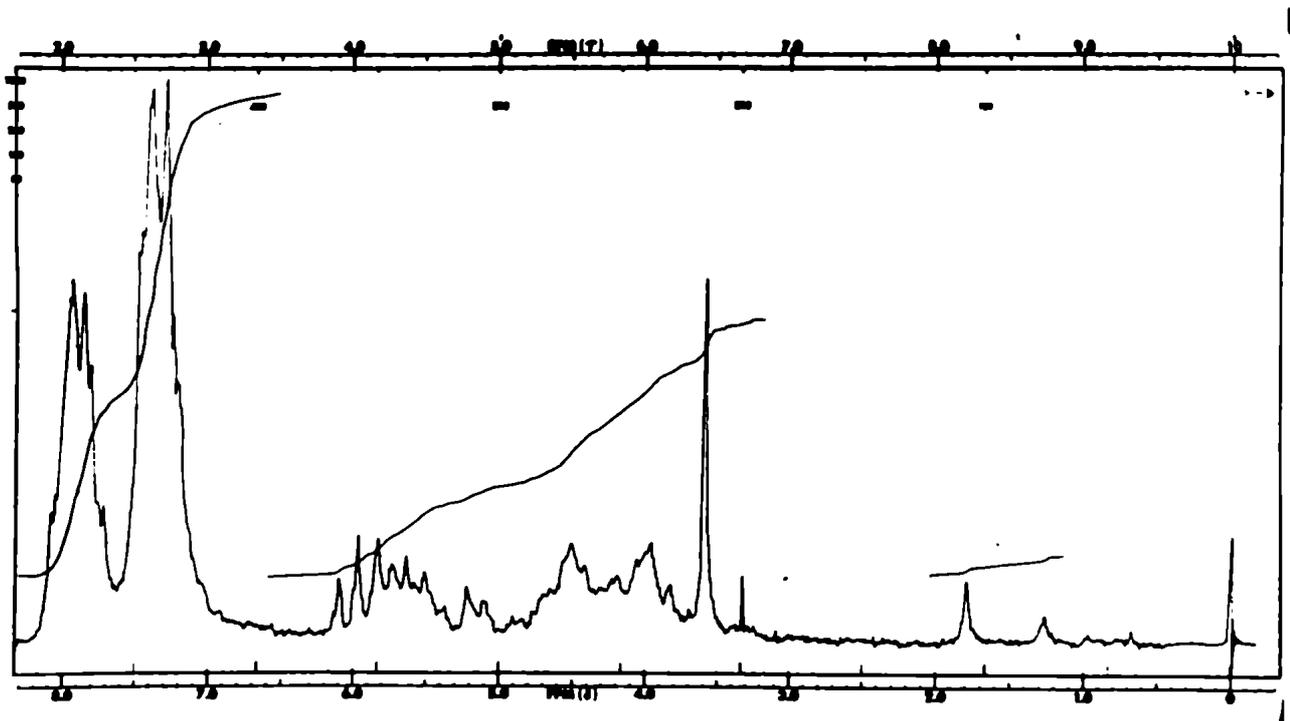
Después de 48 horas a +5°C se filtró el polimetileno y la solución se concentró hasta consistencia de jarabe; se agregó 1 ml de metanol y se concentró nuevamente a sequedad. Se tomó el jarabe con 40 ml de etanol absoluto calentado a 60°C. Después de 3 días a temperatura ambiente cristalizó (III), el sólido se filtró, se lavó con etanol absoluto helado y se secó en desecador. Se obtuvieron 1.96 g de (III) en forma de agujas de p.f. 120-122°C que por cromatografía en Sílica Gel con el solvente A mostraban una única mancha. De las aguas madres se obtuvieron 0.90 g más de producto con las mismas constantes físicas que el anterior; rendimiento total 2.86 g (94%).

Se recristalizó de cloroformo-metanol (4:1) y se obtuvieron 2.35 g de (III) (77%) en forma de agujas que después de secadas en alto vacío dieron p.f. 121-123°C; $[\alpha]_D^{20} -71.2$ (c 0.8, cloroformo).

En el espectro de RMP se observa la señal de OCH₃ a τ 6.41 y no se observan señales entre τ 3.00 y 3.50; en el espectro IR aparece el C=O a 1715 cm⁻¹.

Análisis calculado para C₆₂H₅₂O₁₈: C, 68.63; H, 4.79; OCH₃, 2.85.

Encontrado: C, 68.87; H, 4.94; OCH₃, 2.64.



Espectro de RMP de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoyl-3-O-metil- β -celobiosa (III). (60 MHz)

SINTESIS DE LA 3-O-METIL-CELOBIOSA (IV)

Se suspendieron 650 mg de 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzofl-3-O-metil- β -celobiosa (III) en 50 ml de metanol y se agregó metóxido de sodio 0.3 N hasta pH 9, agitando esporádicamente y manteniendo el pH en 9 por sucesivos agregados de metóxido de sodio 0.3 N. Después de 4 días se disolvió totalmente. Se neutralizó con resina Amberlite IR 120 (H⁺), se filtró y se eliminó el solvente por destilación a presión reducida. Se obtuvo un jarabe amarillo ámbar que por cromatografía en papel, revelado con los reactivos I y II mostró la presencia de trazas de celobiosa. Se purificó por cromatografía descendente sobre papel Whatman 3MM, eluyendo durante 48 horas para lograr una mejor partición. Se aislaron 0.094 g (44.5%) de 3-O-metil-celobiosa (IV) cromatográficamente pura en forma de un jarabe ámbar de Rf 0.19 en el solvente C, que luego de secado a alto vacío dió $[\alpha]_D^{20} + 40.1$ (equil. c 0.85, agua).

Análisis calculado para: C₁₃H₂₄O₁₁: C, 43.82; H, 6.74

Encontrado: C, 43.21; H, 6.79

SINTESIS DEL 3-O-METIL-CELOBIITOL(V) Y SEPARACION DE LOS PRODUCTOS DE SU HIDROLISIS

Se disolvieron 94.1 mg de 3-O-metil-celobiosa (IV) en 1.5 ml de agua y se agregaron 15 mg de borohidruro de sodio previamente disueltos en 1 ml de agua. Después de $2\frac{1}{2}$ horas se destruyó el exceso de borohidruro con resina Amberlite IR 120; se filtró y lavó repetidas veces la resina. La solución se evaporó a sequedad a presión reducida, agregando metanol y evaporando varias veces para eliminar el ácido bórico. Se obtuvieron 92.7 mg (98.1%) de 3-O-metil-celobiitol (V) como un jarabe de $[\alpha]_D^{20} + 19.9$, (c 1,15, agua) que por cromatografía en papel revelando con reactivo III dió una única mancha de Rf 0.20 en el solvente C.

Se disolvieron 90 mg del 3-O-metil-celobiitol en 3.5 ml de ácido clorhídrico 0.25 N y se calentaron en baño maría hirviente durante 4 horas. La solución enfriada se neutralizó con resina D-Acidite G (HO⁻), se filtró y se lavó. La solución se concentró a presión reducida. Por cromatografía en papel en el solvente C y corrido contra sustancias patrón se observaron dos manchas al revelar con los reactivos I y II. La mancha de Rf 0.27 correspondía a la D-glucosa y la mancha de Rf 0.51 correspondía al 3-O-metil-D-glucitol (VII).

Los productos de hidrólisis se separaron por cromatografía descendente sobre papel Whatman 3MM y se obtuvieron 55 mg de 3-O-metil-D-glucitol (VII) como jarabe de color ámbar, $[\alpha]_D^{20} + 17.2^{\circ}$ (c 1.08, agua) $\left\{ \text{Lit.}^{151} \right.$
 $[\alpha]_D^{20} + 16.1^{\circ}$ (c 6.5, agua) $\left. \right\}$ y 35 mg de D-glucosa, $[\alpha]_D^{20} + 53.4^{\circ}$
 (equil. c 0.97, agua); $\left\{ \text{Lit.}^{152} \right.$ $[\alpha]_D^{20} + 52.2^{\circ}$ (equil. agua) $\left. \right\}$

SINTESIS DE LA 3-O-METIL-D-GLUCOSA (VI)

La 1,2;5,6-di-O-isopropilidén-D-glucosa se sintetizó según la técnica descrita por Irvine y Scott¹⁵³. El compuesto recristalizado se obtuvo con 51% de rendimiento con p.f. 103-105°C, $[\alpha]_D -17^\circ$ (c 6.4, agua), { Lit.¹⁵³ p.f. 110-111°C, $[\alpha]_D -18.5^\circ$ (c 5, agua)}.

Se disolvieron 10 g, del producto obtenido en 17 g de ioduro de metilo, se agregó 1 ml de acetona y 14 g de óxido de plata seco y se refluja la mezcla de reacción durante 2 horas. Se agregaron 60 g más de ioduro de metilo y 48 g de óxido de plata y se refluja 8 horas.

La mezcla de reacción se extrajo con éter y la fase etérea, secada sobre sulfato de sodio anhidro, se evaporó. Se obtuvieron 7.16 g de 3-O-metil-1,2;5,6-di-O-isopropilidén-D-glucosa en forma de un jarabe cromatográficamente homogéneo en placa delgada.

El producto de reacción se disolvió en 112 ml de metanol-agua (1:1) y se calentó con 1.4 ml de ácido sulfúrico concentrado durante 3 horas en baño maría. Se neutralizó con resina De Acidite G (HO⁻), se concentró hasta la consistencia de un jarabe y se agregó metanol. Los cristales formados se filtraron, se lavaron con metanol y se obtuvieron 2.938 g de la 3-O-metil-D-glucosa (VI) (57.8%) de p.f. 157-158°C, (Lit.¹⁵³ p.f. 160-161°C).

SINTESIS DEL 3-O-METIL-D-GLUCITOL (VII)

Se disolvieron 230 mg de 3-O-metil-D-glucosa (VI) en 3 ml de agua y se agregaron 39 mg de borohidruro de sodio en 2 ml de agua. Después de 3 horas se neutralizó con resina IR 120 (H⁺) y se concentró la mezcla de reacción varias veces con metanol. Se obtuvieron 189 mg de 3-O-metil-D-glucitol (VII) (81%) en forma de jarabe de $[\alpha]_D + 16^\circ$, (c 1, agua) { (Lit.¹⁵¹ $[\alpha]_D + 16.1^\circ$ (c 6.5 agua)) }.

ANÁLISIS DE LA 1,2,6,2',3',4',6'-HEPTA-O-BENZOIL- β -CELOBIOSA (I) Y SEPARACION DE CELOBIOSA Y 6-O-BENZOIL-CELOBIOSA (VIII).

Se disolvieron con agitación 100 mg de 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -celobiosa (I) en 25 ml de amoníaco metanólico 16%. La solución se dejó 24 horas a temperatura ambiente, se evaporó el solvente a presión reducida y se eliminó la benzamida por sublimación en alto vacío.

Se obtuvieron 44.8 mg de un jarabe que, por cromatografía en papel, corrido contra sustancia patrón y revelado con el reactivo (I), mostró únicamente la presencia de celobiosa y 6-O-benzoil-celobiosa (VIII). El jarabe se cromatografió por la técnica descendente sobre papel Whatman 3MM y se obtuvieron 24.6 mg (59%) de 6-O-benzoil celobiosa (VIII) y 12.7 mg (39.5%) de celobiosa.

La 6-O-benzoil-celobiosa (VIII) presentaba un Rf de 0.58 en el solvente C, y $[\alpha]_D + 31.3^\circ \rightarrow + 43.7^\circ$ (equil. c 1, agua) y $[\alpha]_D + 29.6^\circ$ (c 0.7 metanol). { Lit.¹²¹ $[\alpha]_D + 34^\circ \rightarrow + 44^\circ$ (equil., c 1, agua) } .

La celobiosa presentaba Rf 0.50 en el solvente C y $[\alpha]_D + 34.7^\circ$ (equil., c 1.2, agua) { Lit.¹⁵² $[\alpha]_D + 35^\circ$ (equil. agua) } .

BENZOILACION DE LA CELOBIOSA

La celobiosa se benzoiló en las condiciones descritas por Takeo y Okano¹²⁸ para la benzoilación de la maltosa.

Se disolvieron 20 g de celobiosa en 800 ml de piridina anhidra, la solución se enfrió a -40°C en baño de acetona/anhidrido carbónico y se agregaron 69 ml de cloruro de benzilo gota a gota durante 30 minutos, manteniendo la temperatura y agitando la mezcla de reacción. La reacción se mantuvo luego 1 hora a -30° , 2 horas a -20°C y 20 horas a 0°C . Se agregaron 400 ml de agua y la solución se acidificó con ácido sulfúrico al 10% y se extrajo con diclorometano (8 veces con 100 ml c/u). La solución de diclorometano se lavó 6 veces con H_2SO_4 10%, luego con agua y posteriormente se agitó durante 3 horas con solución saturada de bicarbonato de sodio. Se decantó la fase de diclorometano, se lavó con agua, se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró.

Se obtuvieron 49.3 g de producto crudo de p.f. $144-149^{\circ}\text{C}$. Una alícuota del producto de reacción (0,933 g) se cromatografió por una columna de 100 g de Silicic acid Mallinckrodt mesh 100, de 3,5 cm de diámetro, con beneno-acetato de etilo (98:2), aplicando la técnica de cromatografía "flash".¹³⁸

Se recogieron 55 fracciones de 15 ml cada una, las cuales previo control por cromatografía en placa delgada se agruparon en:

fracciones 1-24, 0.4473 g; octa-O-benzoil- β -celobiosa (II).

fracciones 25-32, 0.2207 g; octa-O-benzoil- β celobiosa (II) con hepta-O-benzoil- β -celobiosa (I).

fracciones 33-42, 0.0422 g:(I),(II) y rastros de otros compuestos.

lavado de la columna: 0.0117 g.

De la fracción 1-24 disuelta en acetona-metanol (3:7) cristalizó el compuesto (II) con p.f. $147-150^{\circ}\text{C}$ y $[\alpha]_D^{20} + 33.1$ (c 0.9, cloroformo) y de aguas madres se obtuvo el octa-O-benzoato dimorfo de p.f. $191-194^{\circ}\text{C}$ y $[\alpha]_D^{20} + 31^{\circ}$ (c 1, cloroformo). { Lit.¹²¹ p.f. $188-191^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_D^{20} + 37^{\circ}$ (c 1,1; cloroformo). }

Las fracciones 25-32 se cromatografiaron en placa delgada semicuantitativa contra sustancias patrón e indicaron la presencia de un 50% del octa benzoato (II) y 18% del heptabenoato (I).

El rendimiento en la 1,2,6,2',3',4',6' hepta-O-benzoil- β -celobiosa (I) es del 5% y de la octa-O-benzoil- β -celobiosa (II) del 60%.

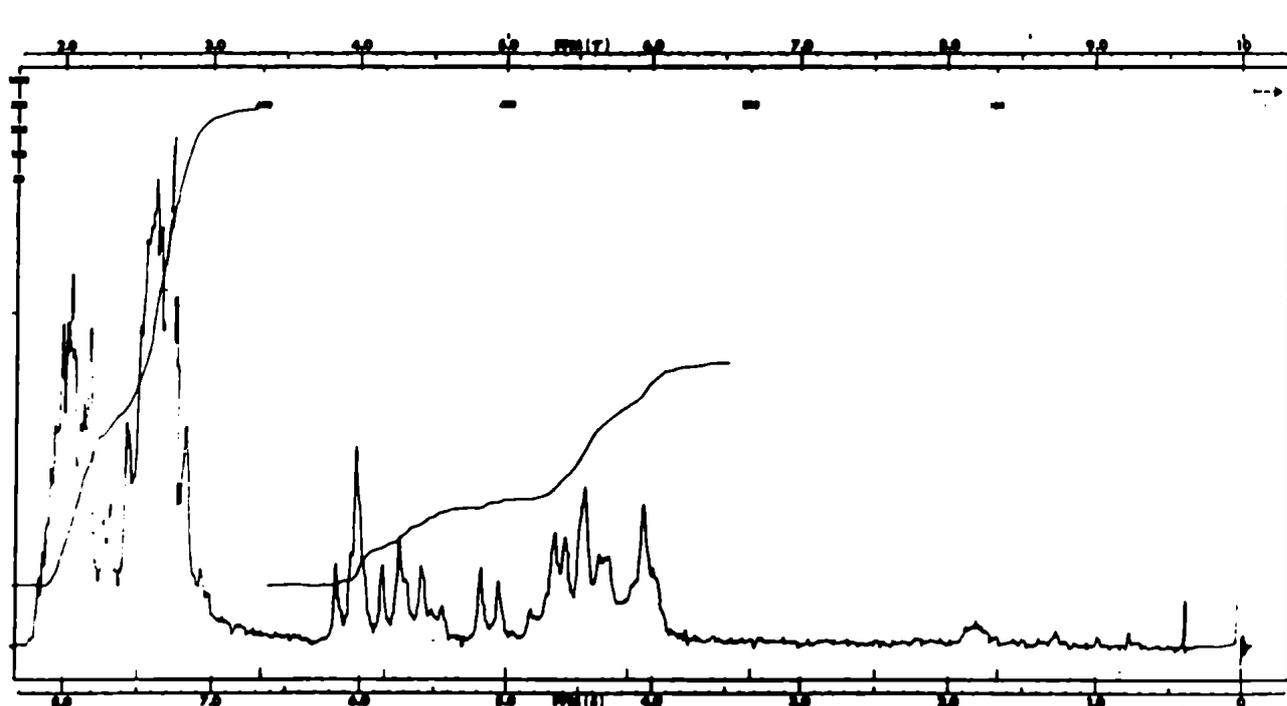
SINTESIS DE LA 1,2,6,2',3',4',6'-HEPTA-O-BENZOIL- β -LACTOSA (IX)

En 480 ml de solución de hidróxido de sodio al 20%, previamente enfriada en baño de agua hielo, se disolvieron 10 g de lactosa. A dicha solución se agregaron, con agitación y enfriamiento, 55 ml de cloruro de benzóilo, en fracciones de 5 ml. Después de concluido el agregado se continuó la agitación durante 15 min., con lo que se produjo la solidificación de la mezcla de reacción; se disgregó el sólido y se agitó fuertemente hasta que la reacción dejó de ser exotérmica (aproximadamente 30 minutos). Se mantuvo con agitación ocasional durante media hora, se dejó una hora a temperatura ambiente, se diluyó con 1 litro de agua fría y se filtró el sólido, lavándolo con abundante agua fría hasta neutralidad. Después de secado se obtuvieron 27.03 g de un sólido que se extrajo 5 veces con 100 - 150 ml de metanol hirviente. El jarabe residual cristalizó de cloroformo - metanol (1:1) y se obtuvieron 12.7 g (40,5%) de agujas de Pf. 190-192°C, que después de tres recristalizaciones de la misma mezcla de solventes dieron 7.52g (24%) de (IX) de p. f. 196-197°C; $[\alpha]_D^{20} + 71.2$ (c 1.2; cloroformo).

En el espectro de RMP no se observan señales entre τ 3.00 y 3.50; en el espectro IR se observa la presencia del C=O a 1710 cm^{-1} .

Análisis calculado para $\text{C}_{61}\text{H}_{50}\text{O}_{18}$: C, 68.31; H, 4.70.

Encontrado: C, 68.10; H, 4.69.



Espectro de RMP de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoyl- β -lactosa (IX).
(60 MHz)

SINTESIS DE OCTA-O-BENZOIL- β -LACTOSA (X)

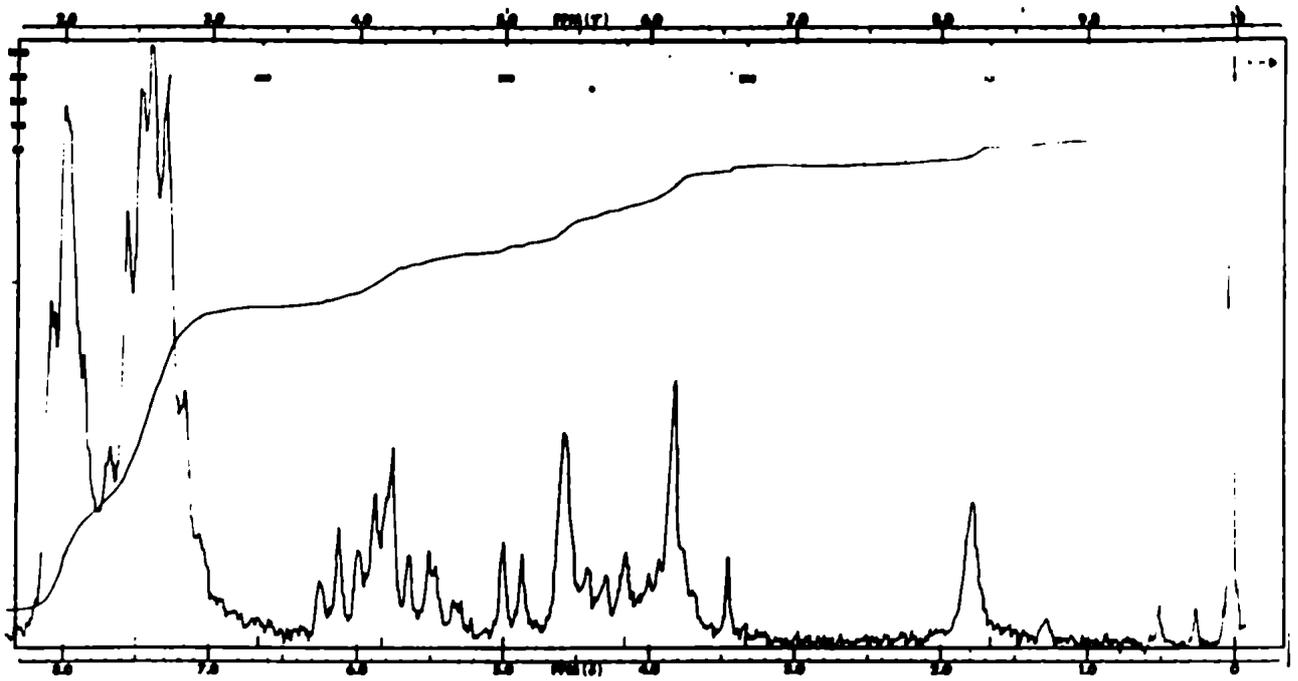
Dos gramos de 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -lactosa (IX), se disolvieron en 5 ml de piridina anhidra y se benzoilaron con 1,5 ml de cloruro de benzóilo. La mezcla de reacción se calentó 2 horas a 50°C y 30 min. a 90°C luego se enfrió y se disolvió en 50 ml de cloroformo.

La solución clorofórmica se lavó con solución fría de ácido sulfúrico 0.5 M (5 veces), con solución saturada de bicarbonato de sodio y luego con agua. Se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se llevó a sequedad. Se recristalizó de acetona-metanol (2:1) y se obtuvieron 2.05 g (93%) de la octa-O-benzoil- β -lactosa (X) en forma de prismas rectangulares de p.f. 140-142°C, $[\alpha]_D^{20} + 38.1^\circ$ (c 0.9; cloroformo).

Análisis calculado para $C_{68}H_{54}O_{19}$: C, 69.48; H, 4.64.

Encontrado: C, 69.20; H, 4.73

En el espectro de RMP no se observan señales entre δ 3.00-3.50; en el espectro IR aparece la señal del C=O a 1710 cm^{-1} .



Espectro de RMP de la octa-O-benzoyl- β -lactosa (X). (60 MHz)

SINTESIS DE LA 1,2,6,2',3',4',6'-HEPTA-O-BENZOIL-3-O-METIL- β -LACTOSA (XI)

El compuesto (IX) (3 g) se disolvió en 20 ml de diclorometano y a la solución enfriada a 0°C se le agregó 0,3 ml de trifluoruro de boro eterato, y luego lentamente y agitando una solución de diazometano obtenida a partir de 16 g nitroso metil urea¹⁵⁰.

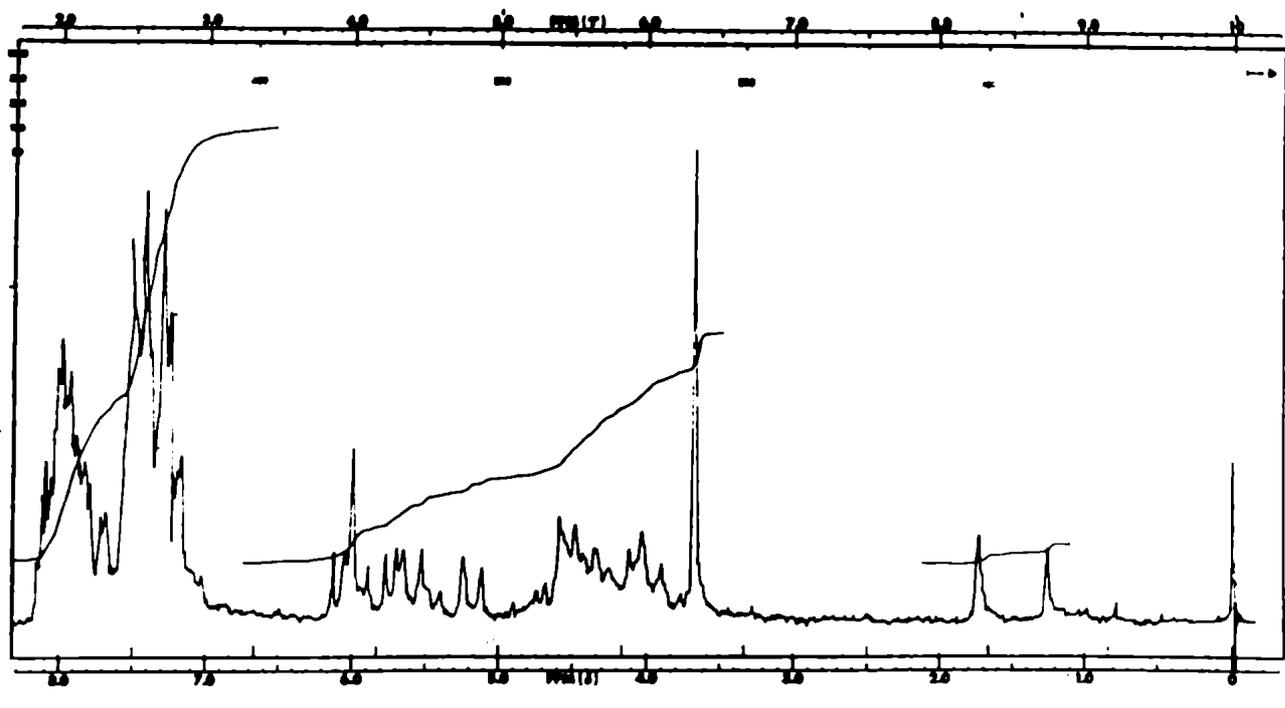
Este procedimiento se repitió 7 veces, controlando por cromatografía en placa delgada la desaparición de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -lactosa (IX) y concentrando la solución cada dos metilaciones. Después de 24 horas a + 5°C se filtró el polimetileno y la solución se concentró hasta consistencia de jarabe; se agregaron unas gotas de metanol con lo cual se inició la cristalización.

Se obtuvieron 1.873 g de (XI) como un sólido de Pf. 195-197°C que por cromatografía en Sílica Gel con solvente A daba una sola mancha; de las aguas madres se obtuvieron 0.93 g más de producto con las mismas constantes físicas que el anterior, que se reunieron y se recrystalizaron de cloroformo-metanol (80:20) dando 2.60 g (86%) de (XI) en forma de agujas que después de secadas en alto vacío dieron p.f. 203-204°C; $[\alpha]_D^{20} + 52.9$ (c 0.89; cloroformo).

En el espectro de RMP aparece la señal del OCH₃ a τ 6.35 y no aparecen señales entre τ 3.00 y 3.50; en el espectro IR aparece la señal del C=O a 1715 cm⁻¹.

Análisis calculado para C₆₂H₅₂O₁₈: C, 68,63; H, 4.79; OCH₃, 2.9

Encontrado: C, 68.69; H, 4.73; OCH₃, 2.8.



Espectro de RMP de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoyl-3-O-metil- β -lactosa (XI). (60 MHz)

SINTESIS DE LA 3-O-METIL-LACTOSA Y SU HIDROLISIS A D-GLUCOSA Y 3-O-METIL-D-GLUCOSA (VI).

El compuesto (XI), (860 mg) se suspendió en 60 ml de metanol y se agregó metóxido de sodio 0.3 N hasta pH 9. El compuesto (VI) es poco soluble en metanol y se observa su solubilización a medida que progresa la reacción. Se mantuvo el pH a 9, por sucesivos agregados de metóxido de sodio y se controló la desbenzoilación por placa delgada. La mezcla de reacción se neutralizó con resina Amberlite IR 120 (H+), se filtró la resina, se lavó y la solución se llevó a sequedad. El producto de desbenzoilación se purificó por cromatografía en papel Whatman 3 MM y se obtuvieron 240 mg de 3-O-metil-lactosa (XII) (85%) en forma de un jarabe, que después de secado en alto vacío dió $[\alpha]_D^{20} + 60.1$ (c 1.2, agua).

La sustancia obtenida se disolvió en 5 ml de ácido clorhídrico 0.25 N y se calentó a ebullición suave durante 4 horas. Se neutralizó con resina De-Acidite G (HO⁻) y se llevó a sequedad.

Por cromatografía en papel, empleando el solvente C, y por revelado con los reactivos I y II se observaron las manchas, correspondientes a D-galactosa y 3-O-metil-D-glucosa (VI), comparándolas con sustancias patrón.

El total del jarabe obtenido se fraccionó por cromatografía sobre papel Whatman 3MM y se obtuvieron 133.5 mg de D-galactosa de $[\alpha]_D^{20} + 79.5$ (equilibrio, c 1, agua) { Lit.¹⁵² $[\alpha]_D^{20} + 80.5$ (equilibrio, agua) } y 85 mg de 3-O-metil-D-glucosa (VI) de $[\alpha]_D^{20} + 55.6$ (equilibrio c 0.9, agua), { Lit.¹⁵⁴ $[\alpha]_D^{20} + 55.5$ (equilibrio, agua) } .

SINTESIS DE LA FENILOSAZONA DE LA 3-O-METIL-D-GLUCOSA (XII)

Se preparó el compuesto (XII) según la técnica de Vargha¹⁵⁴.

La 3-O-metil-D-glucosa (VI) (50 mg) se disolvió en 0.5 ml de agua; se agregaron 0.1 ml de ácido acético y 0.15 ml de fenil-hidracina y se calentó en baño de agua durante media hora. La fenilosazona se separó como un aceite que solidificó rápidamente al enfriar. Se filtró, se lavó con ácido acético diluído al 10% y se recristalizó de etanol: agua (1:1). Se obtuvo la 3-O-metil-D-glucosa fenilosazona (XII) como agujas de p.f. 171-173°C; $[\alpha]_D^{20} - 42.12$ (c 0.2, etanol); $\left\{ \text{lit.}^{154} : \text{p.f. } 176-177^\circ\text{C}; [\alpha]_D^{20} - 41.6^\circ \text{ (c 1.08, etanol)} \right\}$.

AMONOLISIS DE LA 1,2,6,2',3',4',6'-HEPTA-O-BENZOIL- β -LACTOSA Y SEPARACION DE LACTOSA Y 6-O-BENZOIL-LACTOSA (XIII).

Veinte gramos de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzóil- β -lactosa (IX) se disolvieron con agitación en 500 ml de amoníaco metanólico 16%. La solución se dejó 24 horas a temperatura ambiente, se evaporó a sequedad y se extrajo con acetato de etilo; el residuo se disolvió en la menor cantidad posible de agua caliente y se agregó etanol hasta obtener una solución etanólica al 80% y se dejó a temperatura ambiente. La lactosa que cristalizó se filtró y las aguas madres se llevaron a sequedad y se extrajeron con acetato de etilo. El insoluble en acetato de etilo se tomó con agua-etanol nuevamente y este procedimiento se repitió varias veces obteniéndose 3.37 g de lactosa Pf 219-220°C; $[\alpha]_D^{20} + 55.4^\circ$ (equilibrio, c 1.2, agua), $\left\{ \text{lit.}^{152} [\alpha]_D^{20} + 55.3^\circ \text{ (equilibrio, agua)} \right\}$. Las aguas madres evaporadas dieron 4g de jarabe que se cromatografió en una columna de celulosa Whatman CFM de 4 cm x 70 cm sembrando el jarabe disuelto en 20 ml de butanol - etanol - agua (5:2:2), eluyendo con el mismo sistema de solventes y recogiendo fracciones de 15 ml cada una.

De las fracciones 1-48 y de las fracciones 81-300 se obtuvieron 1.44 g de lactosa. El rendimiento en lactosa es de 4.81 g (75.2%). De las fracciones 53-80 se obtuvieron 1.79 g (21,4%) de 6-O-benzóil-lactosa (XIII). Este producto se recrystalizó de 2-propanol obteniéndose un polvo blanco amorfo que comienza a ablandarse a 75°C y funde con descomposición a 125°C; $[\alpha]_D^{20} + 55.6^\circ$ (equilibrio, c 0.9, metanol).

Análisis calculado para $C_{19}H_{26}O_{12}$: C, 51.12; H, 5.87.

Encontrado: C, 51.17, H, 6.09.

OXIDACION DE LA 6-O-BENZOIL-LACTOSA (XIII) CON PERIODATO DE SODIO

6-O-Benzoil-lactosa (XIII)(3.0 mg, 6.72 μ mol) se disolvieron en 4 ml de solución de periodato de sodio 17 mM. Se tomaron muestras cada hora y se midió el consumo de periodato a 222.5 m μ ¹⁵⁵, y la obtención de formaldehído con ácido cromotrópico a 570 m μ ¹⁵⁶, en un espectrofotómetro Beckman DU. Los resultados se indican en la tabla 1.

TABLA 1

tiempo (horas)	moles IO ₄ Na consumido	formaldehído moles
1	2.6	—
4	2.6	0
6	3.2	0
10	3.4	—
26	4.0	—
48	3.8	0
72	5.0	—

HIDROLISIS DE LA 6-O-BENZOIL-LACTOSA (XIII) Y SEPARACION DE D-GALACTOSA Y 6-O-BENZOIL-D-GLUCOSA (XIV).

En un baño maría a ebullición se calentaron 187 mg de 6-O-benzóil-lactosa (XIII) con 5 ml de ácido clorhídrico 0.25 N, controlando cromatográficamente cada media hora el curso de la reacción, que se completó después de 4 horas.

La solución se neutralizó con resina De-Acidite G (OH⁻) y se concentró; el jarabe obtenido se cromatografió sobre papel, revelando con los reactivos I y II. Se detectó la presencia de galactosa y 6-O-benzóil-D-glucosa (XIV). Estos dos componentes se separaron por cromatografía sobre papel Whatman 3MM obteniéndose 40 mg de D-galactosa; $[\alpha]_D^{20} + 80.2^\circ$ (equil., c 1.1, agua), { Lit.¹⁵² $[\alpha]_D^{20} + 80.5^\circ$ (equil.,, agua) } y 32 mg de 6-O-benzóil-D-glucosa (XIV), $[\alpha]_D^{20} + 45.7^\circ$ (equilibrio, c 0.9, etanol), { Lit.¹⁵⁷ $[\alpha]_D^{20} + 48^\circ$ (equilibrio, etanol) } .

El compuesto (XIV) además de R_{2,3,4,6}-tetra-O-metil-D-glucosa 0.84 en butanol-etanol-agua (5:1:4), como el informado en Lit.¹⁵⁸ .

SINTESIS DEL 6-O-BENZOIL-LACTITOL (XV) POR REDUCCION DE LA 6-O-BENZOIL-LACTOSA (XIII).

Se disolvieron 204,1 mg de 6-O-benzóil-lactosa (XIII) en 3 ml de agua y se agregaron 33.6 mg de borohidruro de sodio previamente disueltos en 1.7 ml de agua. Después de 3 horas se destruyó el exceso de borohidruro con resina Amberlite IR-120; se filtró y lavó la resina y se evaporó a sequedad varias veces con metanol para eliminar el ácido bórico; se obtuvieron 194 mg (97%) del 6-O-benzóil-lactitol (XV), como un jarabe de $[\alpha]_D^{20} + 28.7^\circ$ (c 0.88, agua), que por cromatografía en papel, revelando con el reactivo III mostró una sola mancha de Rf 0.57.

Análisis calculado para $C_{19}H_{28}O_{12}$: C, 50.89; H, 6.29.

Encontrado: C, 51.10; H, 6.60.

AMONOLISIS DE LA 6-O-BENZOIL-LACTOSA (XIII)

En 2 ml de amoníaco metabólico 16% se disolvieron 10 mg de 6-O-benzoil-lactosa (XIII) y se tomaron muestras cada 6 horas que se controlaron cromatográficamente revelando con los reactivos I y II. A medida que disminuía la intensidad de la mancha correspondiente a la 6-O-benzoil-lactosa (XIII) se intensificaba la de la lactosa. Después de 96 horas se comprobó la desaparición total de la mancha correspondiente a la 6-O-benzoil-lactosa (XIII) observándose solamente la correspondiente a lactosa.

AMONOLISIS DE 6-O-BENZOIL-LACTITOL (XV)

En 2 ml de amoníaco metanólico 16% se disolvieron 10 mg de 6-O-benzoil-lactitol (XV). Se sembraron muestras cada hora y se controló la reacción por cromatografía en papel, revelando con los reactivos II y III. Después de 5 horas desapareció totalmente la mancha correspondiente a 6-O-benzoil-lactitol (XV) observándose solamente la correspondiente al lactitol.

BENZOILACION DE LA MALTOSA

En 480 ml de solución de hidróxido de sodio al 20%, previamente enfriada a + 5°C, se disolvieron 10 g de maltosa. A dicha solución se agregaron, con agitación y continuo enfriamiento, 55 ml de cloruro de benzofilo, en fracciones de 5 ml. Después de concluido el agregado, se continuó la agitación durante 15 minutos, con lo cual se produjo la solidificación de la mezcla de reacción. Se disgregó el sólido y se agitó fuertemente hasta que la reacción dejó de ser exotérmica (aproximadamente 0.5 horas). Se mantuvo con agitación ocasional durante media hora, se dejó una hora a temperatura ambiente, se diluyó con 1 litro de agua fría y se filtró el sólido, lavándolo con abundante agua fría hasta neutralidad. Se obtienen 20.5 g de sólido formado por 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzofil-β-maltosa (XVII) y octa-O-benzofil-β-maltosa (XVI), y que por sucesivas extracciones con metanol caliente se solubiliza todo y al enfriar se separa como jarabe.

Una alícuota de esta mezcla (1.0 g) se cromatografió por una columna "flash" de 70 g de Silica Mallinckrodt, mesh 100, de 3,5 cm. de diámetro y se desarrolló con benceno-acetato de etilo (97/3), colectando 25 fracciones de 18 ml cada una. Después de su cromatografía en placa delgada se reunieron las fracciones de igual composición:

Fracción 2-3: 0.3312 g octa-O-benzofil-β-maltosa (XVI)

Fracción 4-6: 0.1681 g octa-O-benzofil-β-maltosa (XVI)

hepta-O-benzofil-β-maltosa (XVII), en relación 53:42.

Fracción 7-25: 0.2140 g hepta-O-benzofil-β-maltosa (XVII).

La octa-O-benzofil-β-maltosa (XVI) obtenida (59% del producto cromatografiado y que corresponde a un 18,4% del rendimiento total) tenía Rf 0.77 en benceno-acetato de etilo (9:1) { Lit.¹²⁸ Rf 0.78 } y $[\alpha]_D^{20} + 68,9$ (c 1, cloroformo) { (Lit.¹²² $[\alpha]_D^{20} + 67,6^{\circ}$ (c 1, cloroformo)) }. La 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzofil-β-maltosa (XVII) obtenida (40% del producto cromatografiado que corresponde a un 13,7% del rendimiento total) tenía Rf 0.58 en benceno-acetato de etilo (9:1) { Lit.¹²⁸ Rf 0.58 }, y $[\alpha]_D^{20} + 48,7^{\circ}$ (c 1, cloroformo) { Lit.¹⁰⁷ $[\alpha]_D^{20} + 47,0^{\circ}$ (c 1, cloroformo) }.

CAPITULO V

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- 1 A. Einhorn y F. Hollandt; *Ann.*, 301, 95, (1898).
- 2 P. Brigl y H. Grüner; *Ber.*, 65, 1428, (1932).
- 3 P. A. Levene y A. L. Raymond; *J. Biol. Chem.*, 97, 763, (1932).
- 4 P. Brigl y H. Grüner; *Ann.*, 495, 60, (1932).
- 5 T. Lieser y R. Schweizer; *Ann.*, 519, 271, (1935); *Naturwissenschaften*, 23, 131, (1935).
- 6 N. K. Richtmyer y E. H. Yeakel; *J. Amer. Chem. Soc.*, 79, 2579, (1957).
- 7 J. Compton; *J. Amer. Chem. Soc.*, 60, 395, (1938).
- 8 G. N. Bollenback y F. W. Parrish; *Carbohyd. Res.*, 17, 431, (1971).
- 9 R. W. Jeanloz y D. A. Jeanloz; *J. Amer. Chem. Soc.*, 79, 2579, (1957).
- 10 Y. Kondo; *Agric. Biol. Chem.*, 41, 2089 (1977); *Chem. Abstr*; 88, 38111 s (1978).
- 11 F. H. Newth; *J. Chem. Soc.*, 2717 (1959).
- 12 R. W. Jeanloz, A. M. C. Rapin y Sen-Itiroh Hakomori; *J. Org. Chem.*, 26, 3939, (1961).
- 13 J. M. Williams y A. C. Richardson; *Tetrahedron*, 23, 1369, (1967).
- 14 J. M. Sugihara; *Adv. Carbohyd. Chem.* 8, 1, (1953).
- 15 G. O. Aspinall y G. Zweifel; *J. Chem. Soc.*, 2271, (1957).
- 16 J. Barton; *J. Chem. Soc.*, 1027, (1953); J. Barton y R. C. Cookson; *Quart. Rev.*, 10, 44, (1956).
- 17 N. R. Williams y R. W. Jeanloz; *J. Org. Chem.*, 29, 3434, (1964).
- 18 G. J. F. Chittenden; *Carbohyd. Res.*, 16, 495, (1971); G. J. F. Chittenden y J. G. Buchanan; *Carbohyd. Res.*, 11, 379, (1969).
- 19 H. A. Staab; *Angew. Chem.*, 74, 407, (1962).
- 20 R. C. Chalk, D. H. Ball y L. Long; *J. Org. Chem.*, 31, 1509, (1966).
- 21 P. Garegg; *Act. Chim. Scand.*, 16, 1849, (1962).
- 22 T. Sivakumaran y J. K. N. Jones; *Canad. J. Chem.*, 45, 2493, (1967).
- 23 E. L. Eliel y C. A. Lukach; *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 5986, (1957).
- 24 A. D. Richardson y J. M. Williams; *Tetrahedron*, 23, 1641, (1967).
- 25 K. Capek, J. Steffkova y J. Jary; *Coll. Czech. Chem. Comm.*, 33, 781, (1968).
- 26 K. Capek, J. Steffkova y J. Jary; *Coll. Czech. Chem. Comm.*, 31, 1854, (1966).
- 27 J. Lehrfeld; *Carbohyd. Res.* 39, 364, (1975).

- 28 K. W. Buck, A. B. Foster, A. R. Perry y J. M. Webber; J. Chem. Soc., 4171, (1963).
- 29 G. C. Pimentel y A. L. Mc Clellan; The Hydrogen Bond, pag. 91, Freeman and Co.. San Francisco; 1960.
- 30 R. W. Jeanloz y D. A. Jeanloz; J. Amer. Chem. Soc., 80, 5692, (1958).
- 31 J. J. Williard, J. S. Brimacombe y R. P. Brueton; Canad. J. Chem., 42, 2560, (1964).
- 32 J. J. Williard y J. Sadowski; Canad. J. Chem., 41, 1223, (1963).
- 33 S. A. Abbas y A. H. Haines; Carbohyd. Res., 39, 358, (1975).
- 34 H. Hönig y H. Weidmann; Carbohyd. Res., 39, 374, (1975).
- 35 F. A. Carey y K. O. Hodgson; Carbohyd. Res., 12, 463, (1970).
- 36 N. L. Holder y B. Fraser-Reid; Synthesis, 83, (1972).
- 37 L. L. Box, V. G. S. Box y E. V. E. Roberts; Carbohyd. Res., 69, C-1, (1979).
- 38 P. Brigl y H. Mühlischlegel; Ber., 63, 1551, (1930).
- 39 J. J. Williard, J. S. Brimacombe y R. P. Brueton; Canad. J. Chem., 42, 2560, (1964).
- 40 E. Fisher y K. Freudenberg; Ber., 45, 2709, (1912).
- 41 O. T. Schmidt, T. Auer y H. Schmadel; Chem. Ber., 93, 556, (1960).
- 42 S. Odén; Arkiv Kemi, 6, N, 18, (1918); Chem. Zentralbl. 1919-II, 254.
- 43 H. Zinner, H. Nimz y E. Wittenburg; Chem. Ber., 93, 340, (1960).
- 44 P. A. Levene y G. M. Meyer; J. Biol. Chem., 76, 513, (1928).
- 45 W. N. Haworth; J. Chem. Soc., 13, 107, (1915); Org. Synth., 20, 97, (1940).
- 46 T. Purdie y J. C. Irvine; J. Chem. Soc., 83, 1021, (1903).
- 47 R. Kuhn; Chem. Ber., 90, 203, (1957).
- 48 R. Kuhn, H. H. Baer y A. Seeliger; Ann., 611, 236, (1958).
- 49 I. E. Muskat; J. Amer. Chem. Soc., 56, 693, (1934).
- 50 L. Schmid y B. Becker; Ber., 58, 1966, (1925).
- 51 A. W. Williamson; J. Chem. Soc., 4, 229, (1852).
- 52 R. C. Menzies y C. M. Fear; J. Chem. Soc., 937, (1926).
- 53 R. Kuhn, H. Trischmann y I. Löw; Angew. Chem., 67, 32, (1955).
- 54 R. Kuhn y H. Trischmann; Chem. Ber., 94, 2258, (1961).
- 55 K. Wallenfels, G. Bechtler, R. Kuhn, H. Trischmann y H. Egge; Angew. Chem. Internat. Edit., 2, 515, (1963).
- 56 R. Kuhn y H. Trischmann; Chem. Ber., 96, 284, (1963).
- 57 D. M. Lemal, P. D. Pacht y R. B. Woodward; Tetrahedron, 18, 1275, (1962).
- 58 A. H. Haines y K. C. Symes; J. Chem. Soc., 12, 2331, (1971).
- 59 P. Kováč y J. Hirsch; Chem. Zvesti, 27, 668, (1973).
- 60 D. M. W. Anderson y G. M. Cree; Carbohyd. Res., 2, 162, (1966).

- 61 K. Kefurt, Z. Kefurtova; Coll. Czech. Chem. Comm., 38, 2627, (1973).
- 62 S. Hakomori; J. Biochem. (Tokyo), 55, 205, (1964).
- 63 C. G. Hellerqvist, B. Lindberg y S. Kurt; Acta Chem. Scand., 22, 2736, (1968).
- 64 S. Bose y P. L. Soni; Sci. Cult., 40, 368, (1974).
- 65 R. Kuhn y H. Bredereck; Chem. Ber., 87, 35, (1954).
- 66 J. Angyal y G. J. H. Melrose; J. Chem. Soc., 6501, (1965).
- 67 Nasir-ud-Din, D. A. Jeanloz y R. W. Jeanloz; Carbohyd. Res., 38, 205, (1974).
- 68 H. von Pechmann; Ber., 27, 1888, (1894) y 28, 855, (1895).
- 69 Franchimont; Rec. Trav. Chim., 9, 146, (1890).
- 70 A. Geake y M. Nierenstein; J. Biochem., 8, 287, (1914), *ibid.* 9, 309, (1915).
- 71 H. Meerwein y G. Hinz; Ann., 484, 1, (1930).
- 72 M. C. Caserio, J. D. Roberts, M. Neeman y W. S. Johnson; J. Amer. Chem. Soc., 80, 2584, (1958).
- 73 M. Neeman, M. C. Caserio, J. D. Roberts y W. S. Johnson; Tetrahedron, 6, 36, (1959).
- 74 E. Müller y W. Rundel; Angew. Chem., 70, 105, (1958).
- 75 M. S. Neuman y P. F. Beal; J. Amer. Chem. Soc., 72, 5161, (1950).
- 76 L. Schmid; Ber., 58, 1963, (1925).
- 77 F. S. H. Head; Trans. Textila Inst., 43, 1, (1952).
- 78 M. Nierenstein; Ber., 58, 2615, (1925).
- 79 L. Hough y J. K. N. Jones; Chem. and Ind., 380 (1952).
- 80 J. Herzig y R. Schönbach; Monatsch., 33, 673, (1912).
- 81 F. Micheel y E. Michaelis; Chem. Ber., 91, 188, (1958).
- 82 W. N. Haworth y C. R. Porter; J. Chem. Soc., 649, (1930).
- 83 R. Kuhn y H. H. Baer; Chem. Ber., 86, 724, (1953).
- 84 W. A. Bonner; J. Amer. Chem. Soc., 80, 3372, (1958).
- 85 H. Neukom y H. Deuel; Chem. and Ind., 683, (1958).
- 86 E. L. Phippen, T. H. Schultz y H. S. Owens; J. Colloid. Sci., 8, 97, (1953).
- 87 O. T. Schmidt y H. Kraft; Ber., 74, 33, (1941).
- 88 H. J. Lucas y W. T. Stewart; J. Amer. Chem. Soc., 62, 1070, (1940).
- 89 B. Vollmert; Makromol. Chem., 5, 101, (1950).
- 90 H. Deuel, G. Huber y R. Levenberger; Helv. Chim. Acta., 33, 1226, (1950).
- 91 H. Bredereck, R. Sieber y L. Kamphekel; Chem. Ber., 89, 1169, (1956).
- 92 B. Eistert y F. Arndt; Chem. Ber., 84, 156, (1951).
- 93 L. Rebenfeld y E. Pacsu; J. Polymer. Sci., 21, 273, (1956).
- 94 L. M. Pike, M. Kurshid, A. Khan y F. Rottman; J. Org. Chem., 39, 3674, (1974).

- 95 I. O. Mastronardi, S. M. Flematti, J. O. Deferrari y E. G. Gros; Carbohyd. Res., 3, 177, (1966).
- 96 E. G. Gros e I. O. Mastronardi; Carbohyd. Res., 10, 318, (1969).
- 97 J. O. Deferrari, E. G. Gros e I. O. Mastronardi; Carbohyd. Res., 4, 432, (1967).
- 98 J. O. Deferrari, E. G. Gros e I. M. E. Thiel - (Whistler and BeMiller Ed.); Methods in Carbohydrate Chemistry, VI, 365, Academic Press, N. Y. 1972.
- 99 E. G. Gros y E. M. Gruñeiro; Carbohyd. Res., 14, 409, (1970).
- 100 E. G. Gros y E. M. Gruñeiro; Carbohyd. Res. 23, 148, (1972).
- 101 P. Kováč y Z. Longauerova; Chem. Zvesti, 26, 179, (1972).
- 102 C. W. Baker y R. L. Whistler; Carbohyd. Res. 30, 327, (1973).
- 103 G. W. O'Donnell y G. N. Richards; Austral J. Chem., 25, 407, (1972).
- 104 P. Kováč y R. Palovčik; Carbohyd. Res., 36, 379, (1974).
- 105 S. A. Abbas, A. H. Haines y A. G. Wells; Carbohyd. Res., 42, 362, (1975).
- 106 F. Seymour; Carbohyd. Res., 30, 327, (1973).
- 107 I. M. E. Thiel, J. O. Deferrari y R. A. Cadenas; Ann., 723, 192, (1969).
- 108 M. E. Gelpi, J. O. Deferrari y R. A. Cadenas; An. Asoc. Quím. Argent., 61, 21, (1973).
- 109 M. E. Gelpi, J. O. Deferrari y R. A. Cadenas; J. Chem. Soc., 3354, (1971).
- 110 M. E. Gelpi y R. A. Cadenas; An. Asoc. Quím. Argent., 66, 327, (1978).
- 111 H. Bredereck, R. Sieber y L. Kamphenkel; Chem. Ber., 89, 1169, (1956).
- 112 M. Arilomi; Chem. Pharm. Bull., 18, 677, (1970).
- 113 J. Arnarp, L. Kenne, B. Lindberg y J. Lönngren; Carbohyd. Res., 44, C-5, (1975).
- 114 E. Baumann; Ber., 19, 3218 (1886); L. V. Udransky y E. Baumann, Ber., 21, 2744 (1888).
- 115 H. Skraup; Monatsh., 10, 398 (1889).
- 116 L. Kueny; Hoppe Seylers, 14, 330 (1890).
- 117 A. Panormoff; J. Chem. Soc. Moscú, 23, 378 (1891); Chem. Zentralbl., II, 853, (1891); Ber. Ref., 24, 971 (1891).
- 118 S. V. Hintikka; Ann. Acad. Scient. Fennicae, 9 (1923); Chem. Zentralbl., II, 1603, (1923).
- 119 E. Fischer y K. Freudenberg; Ber., 45, 2709 (1912).
- 120 R. K. Ness y H. G. Fletcher Jr., J. Amer. Chem. Soc., 74, 5344 (1952).
- 121 J. O. Deferrari, I. M. E. Thiel y R. A. Cadenas; J. Org. Chem., 30, 3053 (1965).
- 122 I. M. E. Thiel, J. O. Deferrari y R. A. Cadenas; J. Org. Chem., 31, 3704 (1966).
- 123 J. O. Deferrari, I. M. E. Thiel y R. A. Cadenas; Carbohyd. Res., 29, 141 (1973).

- 124 A. Hybl, R. E. Rundle y L. E. Williams; J. Amer. Chem. Soc., 87, 2779 (1965).
- 125 S. S. C. Chu y G. A. Jeffrey; Acta Cryst., B24, 830 (1968).
- 126 B. Casu, M. Reggiani, G. G. Gallo y A. Vigevani; Tetrahedron, 22, 3061 (1966).
- 127 W. E. Dick Jr., B. G. Baker y J. E. Hodge; Carbohyd. Res., 6, 52 (1968).
- 128 K. Takeo y S. Okano; Carbohyd. Res., 59, 584 (1977).
- 129 S. S. C. Chu y G. A. Jeffrey; Acta Cryst., 23, 1038 (1967).
- 130 G. J. Quigly, A. Sarko y R. H. Marchessault; J. Amer. Chem. Soc., 92, 5834 (1970).
- 131 K. Takeo; Carbohyd. Res., 59, 584 (1977).
- 132 K. Takeo; Carbohyd. Res., 69, 277 (1977).
- 133 R. A. Jacobson, J. A. Wunderlich, y W. N. Lipscomb; Acta Cryst., 14, 598 (1961).
- 134 P. H. Hermans, Physics and Chemistry of Cellulose Fibers, 13, Elsevier, New York, (1949).
- 135 J. O. Deferrari, I. M. E. Thiel y R. A. Cadenas; Carbohyd. Res., 26, 244 (1973).
- 136 J. O. Deferrari, I. M. E. Thiel y R. A. Cadenas; An. Asoc. Quím. Argent., 61, 107 (1973).
- 137 E. G. Gros, M. A. Ondetti, J. F. Sproviero, V. Deulofeu y J. O. Deferrari; J. Org. Chem., 27, 924, (1962).
- 138 W. Clark Still, M. Kahn y A. Mitra; J. Org. Chem., 43, 2923 (1978).
- 139 K. Hirotsu y A. Shimada; Bull. Soc. Japan., 47, 1872 (1974).
- 140 D. C. Fries, S. T. Rao y M. Sundaralingan; Acta Cryst., B27, 994 (1971).
- 141 C. A. Beevers y H. N. Hansen; Acta Cryst., B27, 1323 (1971).
- 142 R. S. Bhatt, L. Hough y A. C. Richardson; Carbohyd. Res., 32, C-4 (1974).
- 143 I. E. Valashek, M. K. Shakhova, B. M. Zolotarev y G. I. Samokhvalov Zh. Obshch. Khim., 47, 460 (1977).
- 144 T. Chiba, M. Haga y S. Tejima; Carbohyd. Res., 45, 11 (1975).
- 145 S. Zagrodzki y B. W. Kroll; Roczniki Technologii i Chimmii Zywnosci; 19, 75 (1970).
- 146 P. L. Durette, L. Hough y A. C. Richardson; J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 88 (1974).
- 147 R. A. Cadenas y J. O. Deferrari; Analyst (London), 86, 132 (1961).
- 148 S. M. Partridge; Nature, 164, 443, (1949).

- 149 R. U. Lemieux y H. F. Bauer; Anal. Chem., 26, 920, (1954).
- 150 F. Arndt; Org. Synth., Coll. Vol., 2, 165, (1943); Ed. A. H. Blatt, J. Wiley and Sons Inc., N. York.
- 151 M. Cantley, L. Hough y A. O. Pittet; J. Chem. Soc., 2527, (1963).
- 152 C. S. Hudson y E. Yanovsky; J. Am. Chem. Soc., 39, 1013, (1917).
- 153 J. C. Irvine y J. P. Scott; J. Chem. Soc., 103, 564, (1913).
- 154 L. V. Vargha; Ber., 67, 1223 (1934).
- 155 C. E. Crouthamel, H. V. Meek, D. S. Martin y C. V. Banks; J. Amer. Chem. Soc., 71 3031 (1949).
- 156 D. A. Mac Fadyen; J. Biol. Chem; 158, 107 (1945).
- 157 H. Ohle; Biochem. Z. 131, 611 (1922).
- 158 H. Zinner, W. Bock y H. P. Klöcking; Chem. Ber., 92, 1307 (1959).

RESUMEN

RESUMEN

El presente trabajo tuvo por objeto la síntesis de disacáridos parcialmente benzoilados por reacciones que no requirieran sucesivas etapas de protección y desprotección. Se encontraron las condiciones experimentales que permitieron obtener la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzofl- β -celobiosa y la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzofl- β -lactosa con rendimientos satisfactorios y posibilitaron la separación de manera sencilla de la mezcla de los mismos con otros derivados benzoilados formados también durante la reacción.

Por metilación e hidrólisis se demostraron las posiciones de los hidroxilos sin benzoilar en ambos compuestos.

Se formulan hipótesis sobre los posibles factores que pueden influir en la formación de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzofl- β -celobiosa y la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzofl- β -lactosa.

Los hepta-O-benzoflos de celobiosa y de lactosa obtenidos se sometieron a la reacción de amonólisis. En las mismas no se pudieron detectar N-benzofl-aldobiosilaminas ni 1,1-bis(benzamido)-1-desoxi-albobiitoles y en cambio se aislaron los disacáridos y sus correspondientes 6-O-benzofl-derivados.

Se analizó la influencia de los grupos benzoflo de diferentes posiciones en la formación de los productos nitrogenados y se formuló una posible estructura que estabilizaría el grupo 6-O-benzoflo en la 6-O-benzofl-celobiosa y en la 6-O-benzofl-lactosa.

Se comprobó la estabilidad de los grupos 6-O-benzoflo de la 6-O-benzofl-celobiosa, y 6-O-benzofl-lactosa respecto al mismo grupo en el

6-O-benzóil-celobiitol, el 6-O-benzóil-lactitol, la 6-O-benzóil-D-glucosa y el 6-O-benzóil-D-glucitol frente a la amonólisis y se postulan las posibles interacciones que darían lugar a la diferente estabilidad observada.

Esta tesis se divide en los siguientes capítulos:

- Capítulo 1. Contiene el resumen sobre las reacciones de benzoilación de monosacáridos, con especial énfasis en las condiciones de reacción y reactivos que pudieran dar alguna selectividad a esta reacción.
- Capítulo 2. Consiste en una revisión bibliográfica de los métodos de metilación en el campo de los hidratos de carbono, ya que aplicamos esta técnica a la demostración de la posición del hidroxilo libre en los hepta-O-benzoatos obtenidos en este trabajo.
- Capítulo 3. En él se agrupan los antecedentes sobre benzoilaciones de disacáridos descritos en la literatura y se discuten dichos resultados comparativamente con los resultados obtenidos por nosotros.
- Capítulo 4. Se presenta la parte experimental del trabajo.
- Capítulo 5. Se presenta la revisión bibliográfica.

J. de C. R.

Abel María Vazquez

INDICE

INDICE

Capítulo I	: Benzoilaciones de monosacáridos.....	1
Capítulo II	: Metilaciones de hidratos de carbono.....	27
Capítulo III	: Benzoilaciones de disacáridos	
	Análisis de los resultados obtenidos.....	43
Capítulo IV	: Parte Experimental.....	74
	Síntesis de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -celobiosa (I).....	76
	Síntesis de la octa-O-benzoil- β -celobiosa (II).....	78
	Síntesis de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil-3-O-metil- β -celobiosa (III)	80
	Síntesis de la 3-O-metil-celobiosa (IV).....	82
	Síntesis del 3-O-metil-celobitol (V) y separación de los productos de su hidrólisis.....	83
	Síntesis de la 3-O-metil-D-glucosa (VI) y del 3-O-metil-D-glucitol (VII).....	84
	Amonólisis de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -celobiosa (I) y separación de celobiosa y 6-O-benzoil-celobiosa (VIII).....	85
	Benzoilación de la celobiosa.....	86
	Síntesis de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- β -lactosa (IX).....	88
	Síntesis de octa-O-benzoil- β -lactosa (X).....	90
	Síntesis de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil-3-O-metil- β -lactosa (XI)	92
	Síntesis de la 3-O-metil-lactosa y su hidrólisis a D-glucosa y 3-O-metil-D-glucosa (VI).....	94
	Síntesis de la fenilosazona de la 3-O-metil-D-glucosa (XII).....	95

Amonólisis de la 1,2,6,2',3',4',6'-hepta-O-benzoil- - β -lactosa y separación de lactosa y 6-O-benzoil- lactosa (XIII).....	96
Oxidación de la 6-O-benzoil-lactosa (XIII) con peryo- dato de sodio.....	97
Hidrólisis de la 6-O-benzoil-lactosa (XIII) y separa- ción de D-galactosa y 6-O-benzoil-D-glucosa (XIV)....	98
Síntesis del 6-O-benzoil-lactitol (XV) por reducción de la 6-O-benzoil-lactosa (XIII).....	99
Amonólisis de la 6-O-benzoil-lactosa (XIII).....	100
Amonólisis del 6-O-benzoil-lactitol (XV).....	101
Benzoilación de la maltosa.....	102
Capítulo V Bibliografía.....	103
RESUMEN	109
INDICE	111