

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE QUIMICA

DEPARTAMENTO DE QUIMICA ORGANICA

+  
481

ESTUDIO SOBRE LAS  
 REACCIONES DE MALONDIALDEHIDO CON AMINO AZUCARES  
 Y  
 SUS POSIBLES IMPLICACIONES EN LA  
 REACCION DE OSCURECIMIENTO NO ENZIMATICO  
 (REACCION DE MAILLARD)

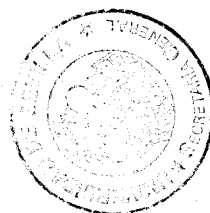


UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
 SECRETARIA GENERAL

Queda registrada esta Tesis Doctoral  
 al folio 107 número 25 del libro  
 correspondiente  
 Sevilla, 15 NOV. 1990

El jefe del Negociado de Tesis

*Rosa Caffre*



*Hermosin*

Memoria presentada por el  
 Licenciado Isidro Hermosín  
 Gutiérrez para optar al grado  
 de Doctor en Química

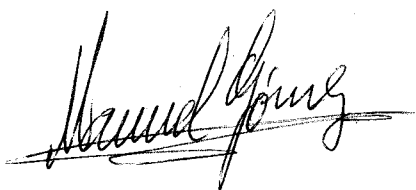
UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE QUIMICA

DEPARTAMENTO DE QUIMICA ORGANICA

V° B°

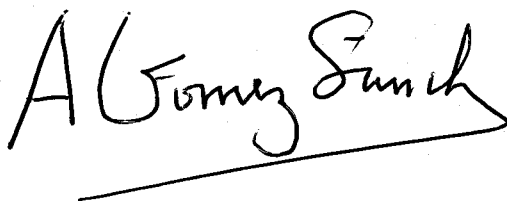
El Catedrático Ponente



Fdo.: M. Gómez Guillén  
Catedrático del Dep. de  
Química Orgánica de la  
Facultad de Química de la  
Universidad de Sevilla.

V° B°

El Director



Fdo.: A. Gómez Sánchez  
Profesor de Investigación,  
C.S.I.C.

Esta Tesis Doctoral se ha realizado en la Unidad Estructural de Calidad y Caracterización de los Alimentos, del Instituto de la Grasa y sus Derivados (Sevilla), C.S.I.C, desde enero de 1987 hasta noviembre de 1990. Ha sido dirigida por el Dr. Antonio Gómez Sánchez, Profesor de Investigación del C.S.I.C., y apadrinada por el Dr. Manuel Gómez Guillén, Catedrático y Director del Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Sevilla, a quienes deseo expresar mi agradecimiento.

Asímismo lo deseo expresar:

- A la Dra. Inés Maya Castilla, quién con su ayuda ha contribuido en gran medida a la realización de este trabajo.

- Al Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Sevilla, por las facilidades prestadas durante la realización de este trabajo, sobre todo en el registro de espectros de r.m.n., i.r. y de masas de alta resolución.

- Al Dr. Gustavo González, por las medidas de  $pK_a$ .

- Al Departamento de Química Analítica de la Universidad de Sevilla, por los análisis elementales.

- A la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología y al Consejo Superior de Investigaciones Científicas, por la subvención del Proyecto de Investigación "Interacción lípido (oxidado)-proteína-carbohidrato", del que este trabajo forma parte.

- Al Ministerio de Educación y Ciencia por la concesión de una Beca de Formación de Personal Investigador,

durante los años 1987-1990.

- A todos los compañeros del Instituto, en especial a los compañeros de la Unidad, por los ánimos prestados, el interés demostrado y los buenos ratos pasados.

INDICE DE MATERIAS

Indice de materias	i
Indice de Esquemas	vi
Indice de Figuras	viii
1. INTRODUCCION Y ANTECEDENTES	1
2. PARTE TEORICA	9
2.1. Malondialdehido. Estudio de su preparación y propiedades	9
2.1.1. <u>Antecedentes sobre la química y propiedades biológicas del malondialdehido</u>	9
2.1.2. <u>Preparación del malondialdehido</u>	22
2.1.3. <u>Desdoblamiento y copolimerización del malondialdehido</u>	28
2.1.4. <u>Oligomerización del malondialdehido</u>	31
2.1.5. <u>Transformación del malondialdehido en 2,4-dihidroximetilen-3-alkuilglutaraldehydos</u>	36
2.1.6. <u>Propiedades químicas de los 2,4-dihidroxi-metilen-3-alkuilglutaraldehydos</u>	39
2.2 Reacciones de amino azúcares con malondialdehido y metilmalondialdehido	45
2.2.1. <u>Reacciones de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa con malondialdehido y metilmalondialdehido</u>	47
2.2.2. <u>Formación de compuestos pirrólicos por ciclación de la 2-desoxi-2-[(3-oxo-1-propen-1-il)amino]-<math>\alpha,\beta</math>-D-glucopiranosas (40)</u>	56
2.2.3. <u>Reacciones de <math>\beta</math>-D-glucopiranosilamina con</u>	

	<u>malondialdehido y metilmalondialdehido</u>	61
2.2.4.	<u>Reacciones de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa con malondialdehido y metilmalondialdehido</u>	66
2.2.5.	<u>Ciclación de la 1-desoxi-1-[(3-oxo-1-propen-1-il)amino]-D-fructosa (52)</u>	84
2.2.6.	<u>Reacción de 1-(n-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa con malondialdehido</u>	94
2.2.7.	<u>Ciclación de la 1-desoxi-1-[(n-butil)(3-oxo-1-propen-1-il)amino]-D-fructosa (68)</u>	99
2.2.8.	<u>Influencia del malondialdehido en el oscurecimiento no enzimático de la 1-(n-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa</u>	108
2.3.	Discusión general	111
3.	PARTE EXPERIMENTAL	121
3.1.	Métodos generales	121
3.2.	Preparación de los reactivos	125
3.2.1.	<u>Reactivos no específicos y materias primas</u>	125
3.2.2.	<u>Preparación de amino azúcares</u>	126
3.2.3.	<u>Preparación de los compuestos 1,3-dicarbonílicos</u>	126
3.2.3.1.	Sal sódica de malondialdehido (14)	126
3.2.3.2.	3-Etoxi-2-metil-2-propenal (36) y sal sódica de metilmalondialdehido (37)	128
3.3.	Sales monosódicas de 2,4-dihidroxi metilen-3-(2,2-dimetoxietil)glutaraldehido (21), 2,4-dihidroxi metilen-3-metilglutaraldehido (22) y E-(3-oxo-1-propen-1-il)malondialdehido	

	(23)	130
3.4.	2,4-Dihidroxi metilen-3-metilglutaraldehido	
	(24)	133
3.5.	Sal monosódica de 2,4-dihidroxi metilen-3-	
	(2-oxoetil)glutaraldehido (28)	135
3.5.1.	<u>Por hidrólisis de la sal sódica del</u>	
	<u>dihidroxi metilen-3-(2,2-dimetoxietil)-</u>	
	<u>glutaraldehido (21)</u>	135
3.5.2.	<u>A partir de 1,1,3,3-tetrametoxipropano (15)</u>	136
3.5.3.	<u>A partir de sal sódica de malondialdehido</u>	
	<u>(14)</u>	137
3.6.	3-Alquil-2,4-dihidroxi metilenglutaraldehydos	138
3.7.	1,4-Dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhydidos	140
3.7.1.	<u>Derivados de aminas alifáticas</u>	140
3.7.2.	<u>Derivados de amino azúcares</u>	144
3.8.	4-Alquil-4(H)-pirano-3,5-dicarbaldéhydidos	148
3.9.	Preparación de enaminales derivados de	
	amino azúcares	150
3.9.1.	<u>Derivados del malondialdehido</u>	150
3.9.1.1.	2-Desoxi-2-[(3-oxo-1-propen-1-il)amino]-	
	$\alpha,\beta$ -D-glucopiranososa (40)	150
3.9.1.2.	3-( $\beta$ -D-Glucopiranosilamino)-2-propenal	
	(49)	151
3.9.1.3.	1-Desoxi-1-[(3-oxo-1-propen-1-il)amino]-	
	D-fructosa (52)	152
3.9.1.4.	1-Desoxi-1-[(n-butil)(3-oxo-1-propen-1-il)	
	amino]-D-fructosa (68)	154

<u>3.9.2.</u>	<u>Derivados del metilmalondialdehido</u>	155
3.9.2.1.	2-Desoxi-2-[(2-metil-3-oxo-1-propen-1-il)amino]- $\alpha,\beta$ -D-glucopiranososa (41)	155
3.9.2.2.	3-( $\beta$ -D-Glucopiranosilamino)-2-metil-2-propenal (50)	156
3.9.2.3.	1-Desoxi-1-[(2-metil-3-oxo-1-propen-1-il)amino]-D-fructosa (53)	157
3.10.	N,N'-Di-(1-desoxi-D-fructos-1-il)-1-amino-3-iminopropeno (54)	158
3.11.	Ciclación de los enaminales derivados de amino azúcares y malondialdehido	160
<u>3.11.1.</u>	<u>Ciclación de la 2-desoxi-2-[(3-oxo-1-propen-1-il)amino]-<math>\alpha,\beta</math>-D-glucopiranososa (40). Formación de los 3-pirrolcarbaldehidos 45, 46 y 47</u>	160
<u>3.11.2.</u>	<u>Ciclación de la 1-desoxi-1-[(3-oxo-1-propen-1-il)amino]-D-fructosa (52)</u>	163
3.11.2.1.	Formación de los 3-pirrolcarbaldehidos 57 y 59 y de las 4-piridonas 58 y 60	163
3.11.2.2.	Aislamiento de los derivados acetilados del 3-pirrolcarbaldehido 57 (61) y de la 4-piridona 58 (62)	167
<u>3.11.3.</u>	<u>Ciclación de la 1-desoxi-1-[(n-butil)(3-oxo-1-propen-1-il)amino]-D-fructosa (68)</u>	169
3.11.3.1.	Formación de los 3-pirrolcarbaldehidos 69-71 y de la 4-piridona 72	169
3.11.3.2.	Obtención del derivado acetilado de la	



4-piridona 72 (73)	173
4. CONCLUSIONES	175
APENDICE. Tablas de datos de r.m.n.	184
BIBLIOGRAFIA	211

INDICE DE ESQUEMAS

<i>Esquema 1.</i>	Reacción de 2-amino-D-glucosa con 2,4-pentanodiona	1
<i>Esquema 2.</i>	Reacción de 2-amino-2-desoxialdosas con compuestos 1,3-dicarbonílicos	1
<i>Esquema 3.</i>	Reacción de 1-amino-1-desoxicetosas con compuestos 1,3-dicarbonílicos	1
<i>Esquema 4.</i>	Ruta principal del mecanismo de reacción de amino azúcares con compuestos 1,3- dicarbonílicos	3
<i>Esquema 5.</i>	Ruta secundaria del mecanismo de reacción de amino azúcares con compuestos 1,3- dicarbonílicos	4
<i>Esquema 6.</i>	Intercambio prototrópico del protón enólico del isómero <i>EE</i> del MDA	16
<i>Esquema 7.</i>	Equilibrio ácido-base del compuesto 22	25
<i>Esquema 8.</i>	Mecanismo de la ruptura hidrolítica del MDA	29
<i>Esquema 9.</i>	Mecanismo de copolimerización del MDA	31
<i>Esquema 10.</i>	Mecanismo de dimerización del MDA	31
<i>Esquema 11.</i>	Intercambio prototrópico del protón enólico del trímero del MDA	33
<i>Esquema 12.</i>	Equilibrio ácido-base de los compuestos 29 y 30	37
<i>Esquema 13.</i>	Mecanismo de ciclación del enaminal 40	59
<i>Esquema 14.</i>	Mecanismo de anhidrización (medio básico) del 3-pirrolcarbaldehído 47	60

<i>Esquema 15.</i> Equilibrio de hidrólisis del 1-amino-3- iminopropeno 54	74
<i>Esquema 16.</i> Mecanismo de ciclación del enaminal 52	91
<i>Esquema 17.</i> Mecanismo de formación de la 4-piridona 58	91
<i>Esquema 18.</i> Desdoblamiento retroaldólico de la 1-amino-1-desoxi-D-fructosa. Formación de los compuestos 59 y 60	98
<i>Esquema 19.</i> Mecanismo de anhidrización (medio ácido) del 3-pirrolcarbaldehído 69	107

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Espectro u.v. (agua) de 22 en función de la concentración y del pH	24
Figura 2. Espectros i.r. (KBr) comparativos de 22 y 24	26
Figura 3. Espectro de $^1\text{H}$ -r.m.n. ( $\text{D}_2\text{O}$ ) de 23	26
Figura 4. Espectro i.r. (KBr) de 23	27
Figura 5. Espectro u.v. (agua) de 23 en función del pH	27
Figura 6. Contenido de acetaldehído de preparaciones de MDA en función del pH	29
Figura 7. C.c.f. del contenido de 22 en preparaciones de NaMDA en función del tiempo	29
Figura 8. Espectro u.v. (agua) de 28 en función del pH	32
Figura 9. Espectro i.r. (KBr) de 28	33
Figura 10. Espectro de $^1\text{H}$ -r.m.n. ( $\text{D}_2\text{O}$ ) de 28	33
Figura 11. Espectro u.v. (agua) de 30 en función del pH y de la concentración	37
Figura 12. Espectro i.r. (KBr) de 30	37
Figura 13. Espectros u.v. (agua) de 33 y 34	40
Figura 14. Espectro i.r. (KBr) de 34	40
Figura 15. Espectro de $^1\text{H}$ -r.m.n. ( $\text{CDCl}_3$ ) de 24	42
Figura 16. Isómeros de 24	42
Figura 17. Espectros u.v. (metanol) de 35-37	43
Figura 18. Espectro i.r. (KBr) de 36	43
Figura 19. Test del TBA (espectro u.v.) de 22 y 28	44

Figura 20. Isómeros del enaminal 40	50
Figura 21. Espectro de $^1\text{H}$ -r.m.n. ( $\text{CDCl}_3$ ) de 44	52
Figura 22. Espectro de $^{13}\text{C}$ -r.m.n. ( $\text{CDCl}_3$ ) de 44	52
Figura 23. Perspectiva parcial y proyección de Newman de las 1,4-dihidropiridinas-3,5-dicarbaldedos 42 y 43	55
Figura 24. Espectro i.r. (KBr) de 52	68
Figura 25. Espectro i.r. (KBr) de 53	68
Figura 26. Isómeros del enaminal 52	68
Figura 27. Espectro de $^1\text{H}$ -r.m.n. ( $\text{D}_2\text{O}$ ) de 52	69
Figura 28. Espectro de $^{13}\text{C}$ -r.m.n. ( $\text{D}_2\text{O}$ ) de 52	70
Figura 29. Espectro de $^1\text{H}$ -r.m.n. ( $\text{D}_2\text{O}$ ) de 53	71
Figura 30. Espectro de $^{13}\text{C}$ -r.m.n. ( $\text{D}_2\text{O}$ ) de 53	72
Figura 31. Espectro u.v. (agua) del 1-amino-3-iminopropeno 54 en función del pH	73
Figura 32. Espectro i.r. (KBr) de 54	74
Figura 33. Espectro de $^1\text{H}$ -r.m.n. ( $\text{D}_2\text{O}$ ) de 54	75
Figura 34. Isómeros del 1-amino-3-iminopropeno 54	76
Figura 35. Espectro de $^{13}\text{C}$ -r.m.n. ( $\text{D}_2\text{O}$ ) de 54	78
Figura 36. Espectros u.v. de 57, 59 (agua) y de 61 (etanol)	85
Figura 37. Espectros u.v. de 58, 60 (agua) y de 62 (etanol)	86
Figura 38. Espectros i.r. (KBr) de 59 y 61	86
Figura 39. Espectro i.r. (KBr) de 58	86
Figura 40. Espectro i.r. (KBr) de 60	86
Figura 41. Espectro i.r. (KBr) de 62	86

Figura 42. Espectros de masas (ionización electrónica) de 59 y 60	87
Figura 43. Espectro de $^1\text{H}$ -r.m.n. ( $\text{D}_2\text{O}$ ) de 59	88
Figura 44. Espectro de $^1\text{H}$ -r.m.n. ( $\text{CDCl}_3$ ) de 61	88
Figura 45. Espectro de $^1\text{H}$ -r.m.n. ( $\text{MeOD}$ ) de 60	90
Figura 46. Espectro i.r. ( $\text{KBr}$ ) de 68	95
Figura 47. Espectro de $^1\text{H}$ -r.m.n. ( $\text{D}_2\text{O}$ ) de 68	96
Figura 48. Espectro de $^{13}\text{C}$ -r.m.n. ( $\text{D}_2\text{O}$ ) de 68	96
Figura 49. Isómeros del enaminal 68	96
Figura 50. Espectro u.v. (etanol) de 69	101
Figura 51. Espectro i.r. ( $\text{KBr}$ ) de 69	101
Figura 52. Espectro i.r. ( $\text{KBr}$ ) de 70	101
Figura 53. Espectro i.r. ( $\text{KBr}$ ) de 71	101
Figura 54. Espectro de $^1\text{H}$ -r.m.n. ( $\text{DMSO-d}_6$ ) de 69	102
Figura 55. Espectro de $^1\text{H}$ -r.m.n. ( $\text{MeOD}$ ) de 70	102
Figura 56. Espectro de $^1\text{H}$ -r.m.n. ( $\text{MeOD}$ ) de 71	102
Figura 57. Espectro de $^{13}\text{C}$ -r.m.n. ( $\text{DMSO-d}_6$ ) de 69	104
Figura 58. Espectro de $^{13}\text{C}$ -r.m.n. ( $\text{MeOD}$ ) de 70	104
Figura 59. Espectro u.v. (etanol) de 72	104
Figura 60. Espectro i.r. ( $\text{KBr}$ ) de 72	104
Figura 61. Espectro de $^1\text{H}$ -r.m.n. ( $\text{DMSO-d}_6$ ) de 72	105
Figura 62. Espectro de $^{13}\text{C}$ -r.m.n. ( $\text{DMSO-d}_6$ ) de 72	105
Figura 63. Espectro u.v. (etanol) de 73	106
Figura 64. Espectro i.r. ( $\text{KBr}$ ) de 73	106
Figura 65. Espectro de $^1\text{H}$ -r.m.n. ( $\text{CDCl}_3$ ) de 73	106
Figura 66. Espectro de $^{13}\text{C}$ -r.m.n. ( $\text{CDCl}_3$ ) de 73	107
Figura 67. Curva de oscurecimiento de la 1-( <i>n</i> -butil-	

amino)-1-desoxi-D-fructosa en presencia  
de MDA, pH 7 108

Figura 68. Espectro u.v. (agua) del oscurecimiento  
de la 1-(*n*-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa  
en presencia de MDA, pH 4 109

Figura 69. Curva de oscurecimiento de la 1-(*n*-butil-  
amino)-1-desoxi-D-fructosa en presencia  
de MDA, pH 4 109

## **1. INTRODUCCION Y ANTECEDENTES**



Las investigaciones que constituyen la presente Tesis Doctoral han tenido un doble objetivo. En primer lugar, obtener un conocimiento más profundo y sistemático de la manera cómo los compuestos 1,3-dicarbonílicos reaccionan con los amino azúcares. En segundo lugar, la influencia que el malondialdehído (MDA), un metabolito de los mamíferos y un producto de oxidación de los lípidos poliinsaturados, pueda tener en el proceso de oscurecimiento no enzimático que se produce en medios fisiológicos y en alimentos.

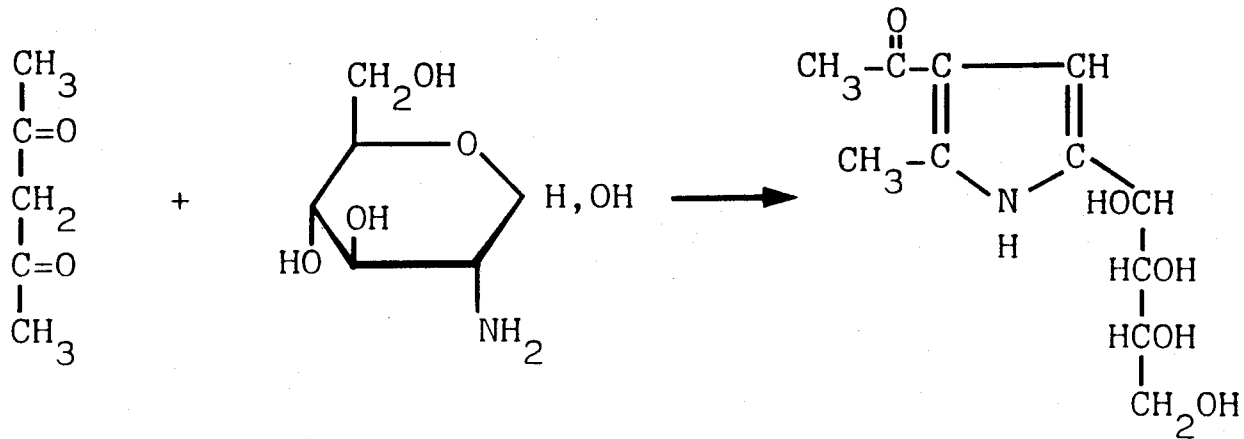
Las reacciones de compuestos 1,3-dicarbonílicos (1) con amino azúcares (2 y 4) han sido estudiadas con detalle, existiendo tres revisiones bibliográficas.<sup>1,2,3</sup> Se trata de reacciones complejas en que se forma como producto final un 4- (o 5-) (alditol-1-il)pirrol. En el *Esquema 1* se representa esta reacción en el caso de la 2-amino-2-desoxi-D-glucosa y la 2,4-pentanodiona, uno de los primeros estudiados.<sup>4</sup>

De una manera general la reacción se puede formular como se indica en el *Esquema 2* y *3* para las 2-amino-2-desoxi-D-aldosas (2) y 1-amino-1-desoxi-D-cetosas (4), respectivamente.

Las investigaciones sobre esta reacción se han centrado en tres puntos principales:

1.- Extensión de la reacción, en lo que se refiere a los compuestos 1,3-dicarbonílicos y amino azúcares que son susceptibles de reaccionar.

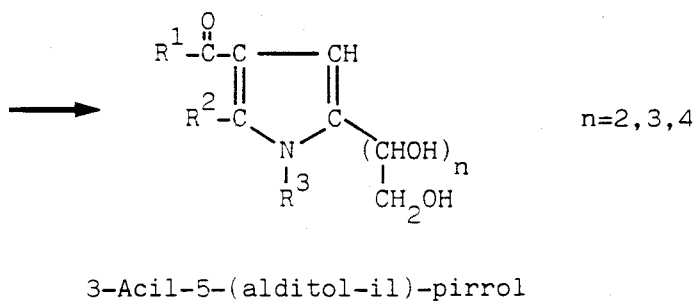
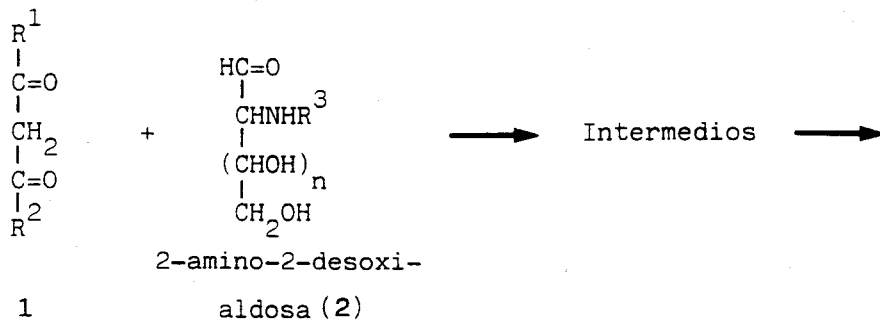
2.- Mecanismo y naturaleza química de los



Compuesto

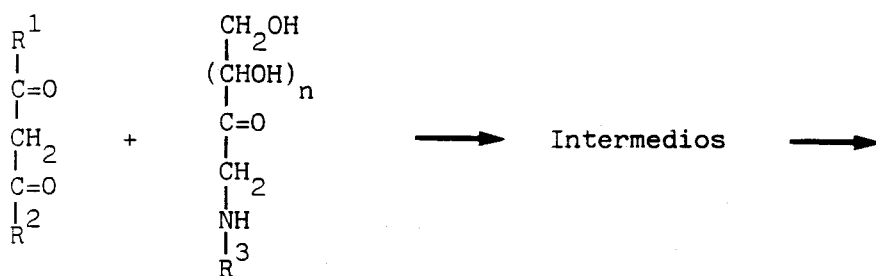
1,3-dicarbonílico

Esquema 1. Reacción de 2,4-pentanonodiona con 2-amino-2-desoxi-D-glucosa.

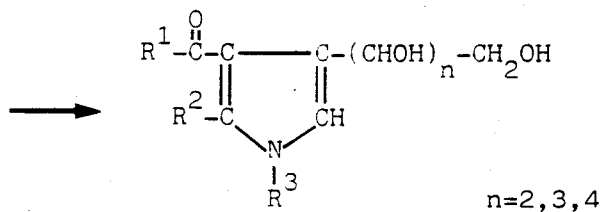


3

Esquema 2. Reacción de 2-amino-2-desoxi-aldosas con compuestos 1,3-dicarbonílicos.



1            1-amino-1-desoxi-  
                  cetosa (4)



3-Acil-4-(alditol-1-il)-pirrol

5

Esquema 3. Reacción de 1-amino-1-desoxi-D-cetosas con  
compuestos 1,3-dicarbonílicos.

intermedios de reacción.

3.- Aspectos biológicos o posibles propiedades biológicas (o farmacológicas) de los productos finales o de productos de su transformación (deshidratación de la cadena polihidroxílica).

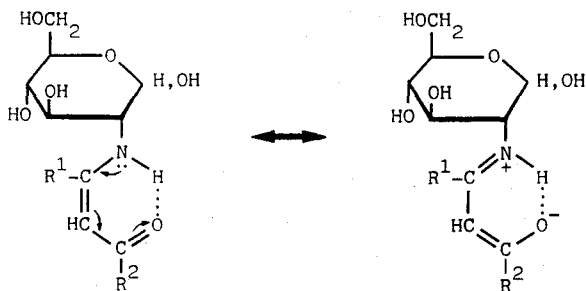
En lo que concierne a la extensión de la reacción, hay que indicar de antemano que la formación del pirrol final requiere que los grupos carbonilo y amino del azúcar estén en posiciones contiguas. Todos los azúcares estudiados han sido bien 2-amino-2-desoxialdosas o 1-amino-1-desoxicetosas con cadenas carbonadas de 5 a 7 átomos de carbono. Aunque la reacción usando azúcares con los grupos C=O y NH<sub>2</sub> en posiciones diferentes de las 1,2 es teóricamente posible, nunca se ha ensayado. En lo que se refiere al compuesto 1,3-dicarbonílico, la variedad es muy extensa. Se han ensayado 1,3-cetoaldehidos, 1,3-dicetonas y 3-oxoésteres de naturaleza muy diversa, y con contenido en forma de enol que van desde aproximadamente el 100% (caso de la dimedona)<sup>7</sup> hasta unas pocas unidades por ciento (caso de los 3-oxoésteres).<sup>6</sup> Conviene indicar, sin embargo, el caso del dibenzoilmetano, con un contenido de enol de aproximadamente el 100%, que se ha intentado<sup>7</sup> hacer reaccionar con 2-amino-2-desoxi-D-glucosa con resultado negativo. No existe antecedente alguno en la literatura sobre la reacción del MDA con azúcares, ni con amino azúcares, habiéndonos parecido de interés su investigación.

En relación con el mecanismo y la naturaleza

química de los intermedios de la reacción, los datos experimentales indican que hay una ruta mecanística principal, que, en algunos casos, es completada por una segunda vía, energéticamente más desfavorable.

En la ruta principal,<sup>2</sup> la reacción tiene como primera etapa la formación de una enamina o enamionona (6b) (o su forma tautomérica, imina, 6a) por interacción del grupo amino del azúcar y uno de los carbonilos del compuesto 1,3-dicarbonílico (Esquema 4). Sigue una segunda etapa consistente en la ciclación a pirrolina mediante una condensación aldólica intramolecular del metileno activo de la forma imina con el carbonilo en posición 1 en el tautómero acíclico (6c). La deshidratación y el reordenamiento prototrópico subsiguiente da el pirrol final.

En apoyo de la existencia de esta ruta se puede aducir el aislamiento de numerosos intermedios del tipo enamionona (6b), los cuales son especialmente estables cuando la geometría de la agrupación de enamionona permite una estructura quelatada (6d) y los grupos R<sup>1</sup> y/o R<sup>2</sup> facilitan una deslocalización electrónica eficiente del sistema mesómero de enamionona:



6d

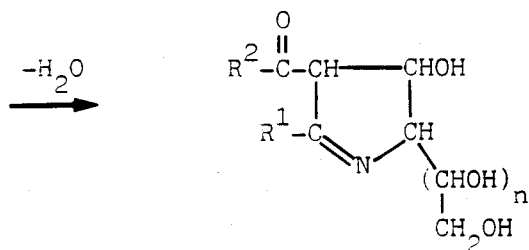
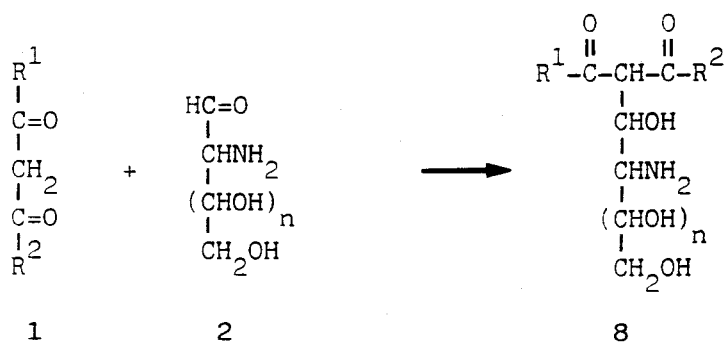


Estos intermedios ciclan dando el pirrol final (3), y la facilidad de la ciclación está en relación inversa con la previsible fuerza del enlace de hidrógeno intramolecular en 6d y la eficiencia de la deslocalización electrónica en el sistema mesómero.<sup>7</sup>

En la segunda ruta de reacción considerada (*Esquema 5*),<sup>2</sup> la primera etapa consiste en la condensación aldólica de la forma abierta del amino azúcar (2) con el metileno activo del compuesto 1,3-dicarbonílico (1) para dar el aldol (8), que, por deshidratación, forma una imina o base de Schiff cíclica (7), idéntica a la considerada en el mecanismo alternativo. Como se puede observar, en las dos rutas mecanísticas hay una condensación aldólica y la formación de una imina (base de Schiff), difiriendo en el orden secuencial en que se producen estos hechos. La menor energía requerida para la formación de la base de Schiff, en relación con la energía requerida para la condensación aldólica, favorece la primera ruta, en la que la condensación aldólica se hace, además, fácil por tratarse de un proceso intramolecular. Las pruebas de esta segunda ruta consisten básicamente en el aislamiento de compuestos aldólicos del tipo 8 en aquellos casos en que la función amino del amino azúcar se ha bloqueado por amidación, como en el caso de la síntesis del ácido *N*-acetil neuramínico y sus análogos por condensación de 2-acetamido-2-désoxialdohexosas con ésteres oxalacéticos.<sup>8</sup> Estas pruebas se detallan en la ref. 2.

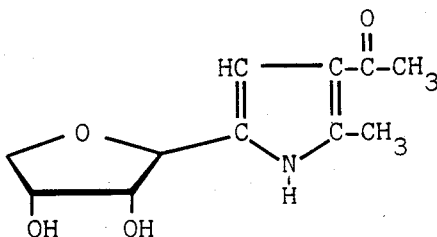
Por ser tanto los compuestos 1,3-dicarbonílicos

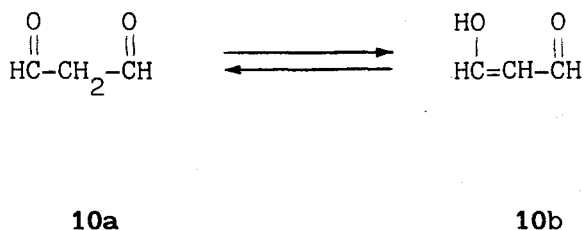




Esquema 5. Mecanismo de reacción de amino azúcares con compuestos 1,3-dicarbonílicos. Ruta secundaria.

como los amino azúcares de ocurrencia fisiológica, se ha suscitado la cuestión, y se ha especulado bastante,<sup>9</sup> sobre si la reacción entre ellos ocurre en medios fisiológicos. Hay que señalar que Pauly y Ludwig<sup>4</sup> estudiaron las reacciones de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa con 2,4-pentanodiona y con acetoacetato de etilo con objeto de obtener datos sobre la biosíntesis de los pirroles naturales (porfirinas, clorofilas y sustancias relacionadas). Sin embargo, no se ha podido, hasta ahora, aducir prueba de que esta reacción ocurra *in vivo*. Otro aspecto de tipo biológico que ha provocado interés en los productos de esta reacción es su relación estructural con los C-nucleósidos. En los pirroles 3 y 5, un heterociclo nitrogenado está unido por un enlace carbono-carbono a un alditol, lo cual los hace análogos a los C-nucleósidos de cadena abierta. Ocurre además que los pirroles 3 y 5 pueden perder con facilidad<sup>1,2,10,11</sup> un mol de agua entre los hidroxilos 1 y 4 (o 1 y 5)<sup>12</sup> del grupo alditolilo, dando C-glicosilpirroles (por ejemplo 9), cuya analogía estructural con los C-nucleósidos es aun mayor.





El MDA (10) es un compuesto 1,3-dicarbonílico singular en muchos aspectos. Es el más sencillo de ellos; sin embargo, su preparación en forma pura tardó mucho tiempo en conseguirse.<sup>13</sup> La causa de ello es su gran reactividad que lo hace descomponerse (polimerizarse) con rapidez. No obstante esta inestabilidad, el MDA es una sustancia natural que existe en medios fisiológicos y en alimentos grasos como producto de la oxidación de lípidos insaturados.<sup>14</sup> Por razones obvias es muy reactivo biológicamente y se ha asociado con procesos tales como el entrecruzamiento de proteínas<sup>15</sup> y la aparición de la rancidez en los alimentos.<sup>16</sup> La química del MDA es poco conocida y sus posibles reacciones con azúcares nunca se ha investigado. Pudiendo coexistir el MDA con azúcares, y en particular, con amino azúcares, en medios biológicos, y dada su reactividad, se puede pensar que, como ocurre con las proteínas, reaccione con ellos con consecuencias de tipo fisiológico. Por otro lado, el MDA puede coexistir con amino ácidos, péptidos y proteínas y con azúcares en alimentos ricos en lípidos, pudiendo concurrir en reacciones con estas sustancias, o con productos de su interacción. Como es sabido, los amino compuestos mencionados

y los azúcares reductores existentes en medios fisiológicos y en los alimentos son los responsables de la llamada "reacción de oscurecimiento no enzimático" o "reacción de Maillard".<sup>17</sup>

La reacción de Maillard es un proceso complejo en el que los primeros intermedios son las glicosilaminas, producidas por la interacción del azúcar reductor y el amino compuesto, y las 1-amino-1-desoxicetosas *N*-sustituidas (compuestos de Amadori) resultantes de la transposición de Amadori de las glicosilaminas. En razón de su alta reactividad y de la naturaleza de los grupos funcionales que contiene, el MDA podría reaccionar con las glicosilaminas y los compuestos de Amadori en medios biológicos y en alimentos, haciendo aun más compleja la reacción de Maillard y contribuyendo al oscurecimiento del medio. Obviamente, el conocimiento de los modos de reacción con amino azúcares podría ayudar a esclarecer este punto, y este ha sido el segundo objetivo de nuestra investigación.

La exposición de la Tesis se ha organizado de la manera siguiente:

En la PARTE TEORICA (sección 2) se hace primeramente (sección 2.1) una breve revisión de la química del MDA, y se expone a continuación el método de preparación usado en esta investigación, los subproductos aislados en la preparación, y un estudio de la estabilidad del MDA en solución acuosa a valores de temperatura y pH similares a los fisiológicos.

En la sección 2.2 se estudian las reacciones del

MDA con los amino azúcares. Las secciones 2.2.1 y 2.2.2 se dedican al estudio de la reacción del MDA con la 2-amino-2-desoxi-D-glucosa. Para poder interpretar los resultados se estudia la reacción del metilmalondialdehído (MMDA) con el mismo amino azúcar, presentándose los resultados con ambos aldehídos comparativamente.

En la sección 2.2.3 se hace un estudio similar con la  $\beta$ -D-glucosilamina.

El estudio de la reacción del MDA y del MMDA con el compuesto de Amadori más sencillo, la 1-amino-1-desoxi-D-fructosa, se aborda en las secciones 2.2.4 y 2.2.5, y en las secciones 2.2.6, 2.2.7 y 2.2.8, con la 1-(n-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa, un compuesto de Amadori más similar a los (1-desoxi-D-fructos-1-il)amino ácidos existentes en los alimentos y medios biológicos.

En la sección 2.3 se hace una discusión de los resultados, encuadrándolos en el contexto más general de la reacción de los compuestos 1,3-dicarbonílicos y amino azúcares, y bajo el punto de vista de la incidencia que la reacción MDA-amino azúcar pueda tener en la reacción de oscurecimiento no enzimático.

La sección 3 la constituye la PARTE EXPERIMENTAL y en la sección 4 se exponen las CONCLUSIONES a las que se han llegado en el trabajo que constituye la presente Tesis Doctoral.

## **2. PARTE TEORICA**

## 2.1. Malondialdehido. Estudio de su preparación y propiedades

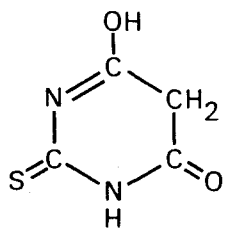
### 2.1.1. Antecedentes sobre la química y propiedades biológicas del malondialdehido

El MDA es una sustancia natural existente en los seres vivos y en los alimentos. Se produce en cantidad sustancial en los tejidos de los mamíferos como producto de la peroxidación de lípidos insaturados, y como subproducto en la biosíntesis de prostaglandinas y tromboxanos.<sup>18-21</sup> También se forma fácilmente al irradiar con luz u.v. ácidos grasos poliinsaturados,<sup>22</sup> y al irradiar con rayos  $\gamma$  hidratos de carbono<sup>23</sup> y amino ácidos.<sup>24</sup>

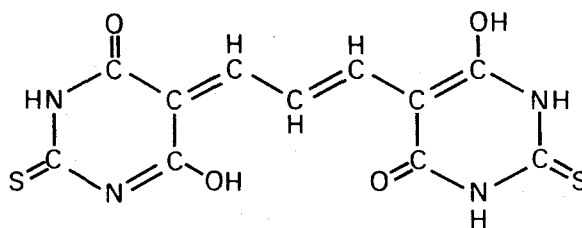
En la peroxidación lipídica, el MDA se forma a partir de ácidos grasos con 3 o más dobles enlaces.<sup>14</sup> En los alimentos de origen animal, el precursor más importante, por su abundancia, es el ácido araquidónico, con cuatro dobles enlaces. Sin embargo, en alimentos tales como los aceites de pescado, predominan ácidos grasos altamente insaturados (5 o 6 dobles enlaces) de la serie n-3 (ácidos grasos con el último doble enlace en el carbono en posición 3, contando desde el final de la cadena grasa).<sup>25</sup> En cambio, en los alimentos de origen vegetal, el principal precursor del MDA es el ácido linolénico, con tres dobles enlaces.

La rancidez que se produce en los alimentos grasos oxidados se debe a los compuestos carbonílicos resultantes de la oxidación, entre los cuales se encuentra el MDA. Los

alimentos rancios tienen la propiedad de dar una coloración roja intensa al ser tratados con el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA, 11), siendo el MDA la sustancia responsable principal de esta reacción coloreada. Tanto el MDA como la rancidez se valoran fácilmente con TBA,<sup>26</sup> y la rancidez se expresa habitualmente en mg equivalentes de MDA. El colorante producido por el MDA y el TBA tiene un máximo de absorción a 532 nm y se le asigna la estructura 12.<sup>27</sup>



11



12

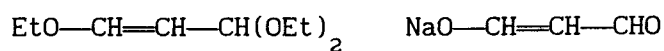
La reacción positiva con TBA, con máximo a 532 nm, se considera habitualmente prueba de la presencia del MDA, y esta reacción ha permitido la detección del MDA en diferentes medios y tejidos.

A pesar de su simplicidad estructural e importancia biológica, la química del MDA se ha desarrollado tardía y lentamente. La causa de ello se debe a la alta reactividad del MDA, que hace difícil su síntesis y el estudio de sus propiedades.

La primera observación referente al MDA se debe a Claisen,<sup>28</sup> que parece haberlo obtenido en solución acuosa,



por hidrólisis del dietil acetal (13) de la 3-etoxiacroleína.



13

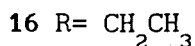
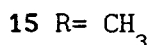
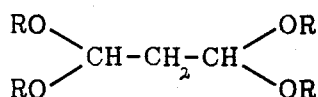
14

Posteriormente, partiendo de soluciones de MDA obtenidas por el método de Claisen, se obtuvieron derivados tales como la semicarbazona, productos de copulación con sales de fenildiazonio, el correspondiente dianilo (1-fenilamino-3-feniliminopropeno), y el derivado con dimedona.

La primera síntesis del MDA puro se debe a Hüttel.<sup>13</sup> Este autor sintetizó la sal sódica del MDA (NaMDA, 14), en forma cristalina, por neutralización con hidróxido sódico de una disolución de MDA obtenida por el método de Claisen. El tratamiento con cloruro de hidrógeno en éter de la NaMDA le permitió obtener el MDA cristalino (p. f. 72-74°C), purificable por sublimación a alto vacío. El MDA así obtenido resultó ser higroscópico, volátil e inestable, teniendo, por tanto, un tiempo de vida media corto. Las preparaciones de MDA por este método que estén impuras o sean siruposas, se convierten rápidamente en una masa anaranjada no volátil, resultante probablemente de la polimerización del dialdehído.

Por estas razones el MDA no es un producto comercial en forma pura, ni siquiera en disolución acuosa, puesto que largos periodos de almacenamiento, altas

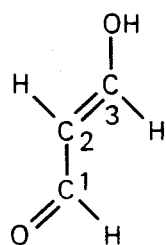
concentraciones y la exposición a temperaturas relativamente altas de sus disoluciones conducen a su polimerización irreversible.<sup>29</sup> En la actualidad, existen productos comerciales como el 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP, 15) y el 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP, 16), acetales ambos del MDA, fácilmente purificables por destilación, que se usan como precursores y patrones del MDA.



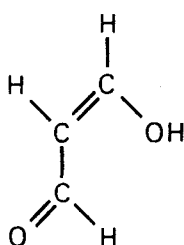
A partir de estos acetales se preparan disoluciones patrones de MDA por hidrólisis con ácido clorhídrico diluido o con resina de intercambio iónico ácida (p. ej. Dowex 50Wx8). La neutralización de estas soluciones con hidróxido sódico o potásico lleva a la correspondiente sal del MDA, que se puede purificar por cristalización.<sup>30</sup> Sin embargo, aunque la transformación del acetal en estas hidrólisis sea completa (el TEP se transforma totalmente tras 90 minutos y TMP en 4 horas),<sup>31</sup> se forman productos secundarios, tales como 3-alcoxiacroleinas o 3,3-dialcoxipropanales.<sup>32</sup> Por otra parte, un seguimiento cromatográfico de estas hidrólisis muestra que, incluso durante el proceso de hidrólisis, se forman sustancias consideradas polímeros del MDA de bajo peso molecular,<sup>30,33</sup>

con absorciones en la región u.v. y visible, que reaccionan con el TBA dando diferentes coloraciones a temperatura ambiente. La calefacción con ácido tricloroacético produce la despolimerización y la formación del complejo característico entre el MDA y el TBA, con absorción a 532 nm.

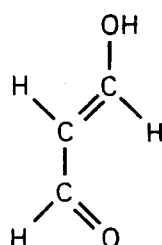
El MDA es un compuesto 1,3-dicarbonílico fácilmente enolizable, que se encuentra en su forma enólica en un 96%, en disolución acuosa.<sup>34</sup> El tautómero enólico (3-hidroxiacroleína) puede a su vez adoptar distintas geometrías por cambios conformacionales y configuracionales alrededor de los enlaces formales C-1—C-2 y C-2=C-3 (10a-10d):



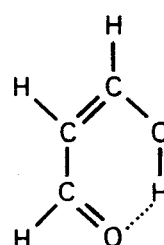
10a (EE)



10b (EZ)



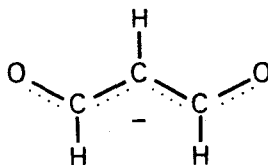
10c (ZE)



10d (ZZ)

Los símbolos Z y E indican, en el orden citado, la conformación *s-cis* (Z) o *s-trans* (E) alrededor del enlace C-1—C-2, y la configuración *cis* (Z) o *trans* (E) en torno al enlace C-2=C-3. Así, por ejemplo, EE significa que la conformación es *s-trans* en el enlace C-1—C-2 y la configuración es *trans* en el enlace C-2=C-3.

En solución acuosa, el equilibrio ácido-base adicional implica al anión enolato (10e):



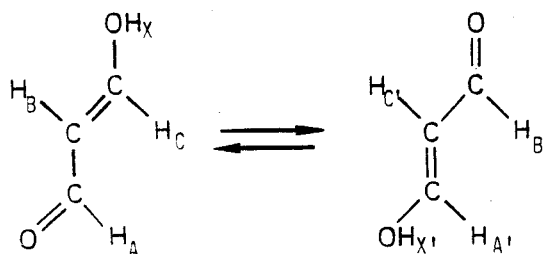
10e

El espectro u.v. del MDA en agua es dependiente del pH. Por debajo de pH 3.0 el MDA tiene un máximo de absorción a 245 nm, con un coeficiente de extinción molar ( $\epsilon$ ) de  $1.34 \times 10^4$  que corresponde al enol no disociado. Por encima de pH 7.0, el MDA está totalmente disociado, presentando el anión un máximo de absorción a 267 nm ( $\epsilon$   $3.18 \times 10^4$ ). Del estudio de la variación del espectro en función del pH se dedujo un  $pK_a$  de 4.6,<sup>34</sup> estimado más exactamente<sup>35</sup> en 4.46 por titulación de NaMDA frente a ácido clorhídrico. La acidez del MDA es bastante grande para ser un pseudo-ácido, siendo del orden de la acidez del ácido acético a temperatura ambiente ( $pK_a$  4.76, 25°C). Sin embargo, mientras que la acidez del ácido acético apenas varía al aumentar la temperatura, la del MDA aumenta rápidamente con la temperatura, hasta un valor máximo,<sup>29</sup> de forma análoga a como le ocurre a la acetilacetona.<sup>36</sup>

Con respecto a la configuración que la forma enólica adopta en disolución, inicialmente hubo evidencias aparentemente contradictorias. Así, las frecuencias del

espectro i.r. del MDA en diclorometano<sup>37</sup> fueron interpretadas en términos de la geometría ZZ (10d), con enlace de hidrógeno intramolecular; por otra parte los datos de r.m.n. en cloroformo<sup>38</sup> habían sido usados como evidencia de la geometría EE (10a), en contraste con el acetoacetaldehído, para el cual se dedujo una geometría del tipo ZZ en el mismo disolvente. Estudios posteriores<sup>39</sup> eliminaron tal contradicción, al registrar los espectros de r.m.n. exentos de las impurezas polares presentes en las disoluciones que se usaron previamente. De esta forma, en disolventes halogenados ( $\text{CCl}_4$ ,  $\text{CHCl}_3$  y  $\text{Cl}_2\text{CH}_2$ ), los datos corresponden a la configuración ZZ (10d), mientras que en agua, la configuración es EE (10a). El espectro de r.m.n. de protones que cabe esperar para el MDA, tanto en su forma ZZ (10d) o EE (10a), debe ser complicado. Por un lado, el espectro debe ser el correspondiente a un sistema ABCX. Por otro, la situación puede complicarse con la posibilidad de un intercambio prototrópico del protón enólico, que originaría un segundo sistema A'B'C'X' (en el *Esquema 6*, se ilustra la situación para el isómero EE, 10a). Afortunadamente, el intercambio prototrópico del protón enólico es lo suficientemente rápido, en todos los disolventes indicados, de tal forma que su señal se ensancha hasta resultar indistinguible del ruido de fondo. Aún más, el intercambio del protón enólico es tan rápido, que el sistema observado no es ni siquiera ABC, sino  $\text{AB}_2$ , con constantes de acoplamiento  $J_{\text{AB}} = 3.4\text{-}3.8$  Hz (disolventes halogenados) y 10.3 Hz (agua). Estos valores resultan ser

aproximadamente el promedio de los valores de constante de acoplamiento en enlaces simples y dobles *cis* ( $J_{cis}^{simple} = 2.6$  Hz,  $J_{cis}^{doble} = 5.7$  Hz) y enlaces simples y dobles *trans* ( $J_{trans}^{simple} = 8.0$  Hz,  $J_{trans}^{doble} = 12.8$  Hz), respectivamente, obtenidos para algunos compuestos relacionados estructuralmente con el MDA.<sup>38</sup>



Esquema 6. Intercambio prototrópico del protón enólico del isómero *EE* del MDA.

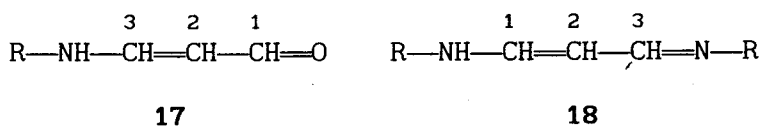
En lo que respecta al anión enolato del MDA (10e), sus datos de i.r. (en disolución acuosa y en estado sólido) y de r.m.n. en agua deuterada,<sup>40</sup> son consistentes con una configuración *EE* simétrica, siendo su espectro de r.m.n. el típico de un sistema  $AB_2$ , con  $J_{AB} = 10.1$  Hz.

La química del MDA es desde hace tiempo de interés en ciencia y tecnología de alimentos, y en los últimos tiempos ha recibido gran atención debido a que se ha sugerido que el MDA está implicado en el envejecimiento celular y en otras transformaciones biológicas degenerativas relacionadas con la peroxidación lipídica. Estos efectos perjudiciales del MDA se han atribuido a su capacidad de reacción con los grupos amino primarios presentes en algunas biomoléculas. Se

ha estudiado la reacción de MDA con una gran variedad de biomoléculas, que se pueden reunir en tres grupos:

- Acidos nucleicos
- Proteinas y amino ácidos
- Fosfolípidos

En principio, la reacción de una amina primaria con MDA puede conducir a dos tipos de estructuras, que se representan a continuación:



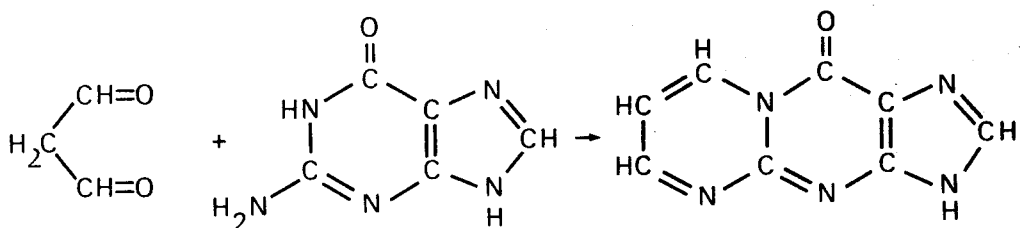
La primera de ellas, el aducto 1:1, es un 3-amino-2-propenal (17)<sup>\*</sup>; la segunda, el aducto 2:1, es un 1-amino-3-iminopropeno (18).

En los estudios que se han llevado a cabo, se han aislado compuestos con las estructuras citadas, así como otros con estructuras no esperadas.

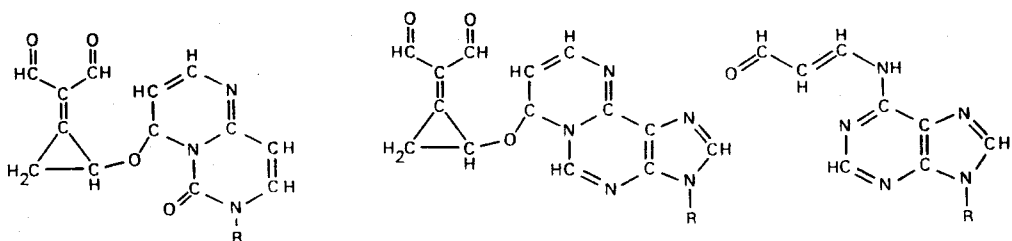
Así, en lo que respecta a los ácidos nucleicos, el MDA reacciona principalmente con las unidades de guanina y citosina del ADN.<sup>41</sup> Se han preparado productos fluorescentes cíclicos por reacción de guanina con varios derivados de MDA:<sup>42</sup>

---

\* Este tipo de estructuras también pueden denominarse como enaminales. En adelante, usaremos este tipo de nomenclatura para simplificar.



De forma similar, se han preparado<sup>43</sup> nucleósidos fluorescentes de pirimidinopurina partiendo de 2'-desoxiguanosina y guanosina. Nair y col.<sup>44</sup> han encontrado unos aductos 3:1 de MDA con citosina y adenina. La última de estas bases origina además el aducto 1:1 con el grupo amino de la posición 6:



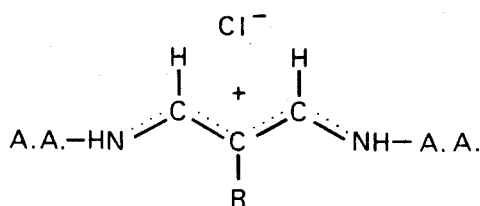
Aunque la importancia de estos descubrimientos en los sistemas biológicos no ha sido claramente establecida, se sabe que la reacción de MDA con los ácidos nucleicos produce una pérdida de la actividad replicadora del ADN.<sup>45</sup> Esta pérdida puede ser debida a la modificación de las bases, al entrecruzamiento entre las bases, o al entrecruzamiento entre las bases y proteínas.

En cuanto a la reacción con proteínas, desde que Kwon y Brown<sup>46</sup> demostraron que el MDA se enlaza covalentemente con la albumina del suero bovino, se ha verificado que la unión covalente del MDA a las proteínas



origina alteraciones funcionales, como la inhibición de la actividad enzimática<sup>47</sup> o la alteración de la especificidad de los centros activos de la proteína.<sup>48</sup> En otros casos, se produce desarrollo de fluorescencia, o alteración de las propiedades físicas de significación funcional desconocida. La reacción más frecuente tiene lugar entre la forma enólica del MDA y a los grupos amino terminales de los residuos de lisina de la proteína, formándose aductos 1:1 (17).<sup>49</sup> La reacción con otro grupo amino del 3-amino-2-propenal formado, conduce al entrecruzamiento de la proteína, que puede ser inter- o intramolecular.<sup>50</sup>

Se han preparado gran cantidad de 3-amino-2-propenales derivados de amino ácidos y de sus ésteres.<sup>51,52</sup> También se han preparado 1-amino-3-iminopropenos derivados de amino ácidos y de sus ésteres,<sup>53,54</sup> así como sus correspondientes sales (19):<sup>55</sup>



19 R= H, Me

Los 1-amino-3-iminopropenos derivados de amino ácidos son bases de Schiff conjugadas fluorescentes, con  $\lambda_{\text{max}}^{\text{excitación}}$  a 350-400 nm y  $\lambda_{\text{max}}^{\text{emisión}}$  a 450-470 nm,<sup>53</sup> siendo su intensidad de fluorescencia menor que la del sulfato de

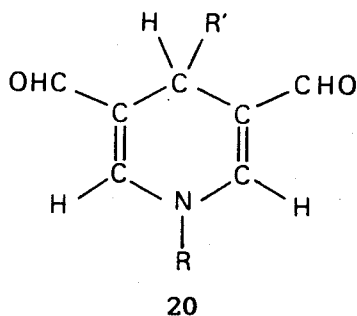
quinina de referencia. El sistema fluorogénico de estos compuestos es el grupo  $\text{—NH—CH=CH—CH=N—}$ . Estas propiedades fluorescentes son similares a las de la lipofuscina, el pigmento, de consistencia ceroide, fluorescente, que se acumula en los tejidos envejecidos de mamíferos, y que se considera es una de las causas del envejecimiento. La lipofuscina tiene una  $\lambda_{\text{max}}^{\text{excitación}}$  a 340-380 nm y  $\lambda_{\text{max}}^{\text{emisión}}$  a 420-470 nm. Por ello, tanto el entrecruzamiento de las proteínas como el desarrollo de fluorescencia (formación de lipofuscina) en tejidos envejecidos, se ha atribuido a la acción del MDA, por formación de bases conjugadas de Schiff (1-amino-3-iminopropenos).

Sin embargo, las condiciones de acidez relativamente fuertes, con respecto a la de los medios fisiológicos, en que se obtienen estas bases de Schiff conjugadas, hacen dudar de la posibilidad de su formación *in vivo*. Además, existen dudas<sup>56</sup> acerca de la asignación de estructura de las bases de Schiff conjugadas, debido a que son compuestos inestables obtenidos en estado amorfo.

Se ha llevado a cabo<sup>57</sup> las reacciones de una gran cantidad de amino ácidos y compuestos relacionados con MDA en condiciones fisiológicas (solución acuosa, pH neutro y temperatura ambiente). La mayoría de los compuestos ensayados producen unos nuevos derivados fluorescentes, que son 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhdos (20).

Las propiedades fluorescentes de estos nuevos

compuestos son también semejantes a las de la lipofuscina, con  $\lambda_{\text{max}}^{\text{excitación}}$  a 365 y 403 nm y con  $\lambda_{\text{max}}^{\text{emisión}}$  a 440-460 nm, con una intensidad de fluorescencia mayor que la del sulfato de quinina de referencia.

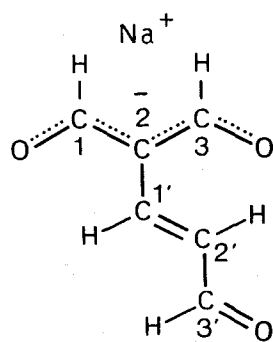
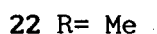
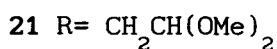
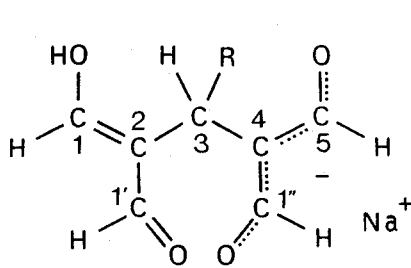


Este último modelo para la formación de productos fluorescentes en tejidos envejecidos parece tener mayor consistencia que el de las bases de Schiff conjugadas, ya que puede tener lugar bajo condiciones fisiológicas, y las estructuras han sido establecidas sin ningún tipo de ambigüedad.

Finalmente, en relación con la reacción de MDA con fosfolípidos, se ha detectado<sup>25</sup> la presencia de aductos del MDA con etanolamina y serina en la orina de ratas tratadas con MDA. Ello pone de manifiesto que los fosfolípidos que pueden reaccionar *in vivo* con MDA son la fosfatidilserina y la fosfatidiletanolamina. Hay descritos cantidad de estudios de reacciones de MDA con fosfolípidos, encaminados a encontrar la relación que el MDA pueda tener con los cambios funcionales, asociados a la peroxidación lipídica, que ocurren en las membranas externas de las células, así como en membranas subcelulares.

### 2.1.2. Preparación del malondialdehido

En nuestras investigaciones, hemos preparado la sal sódica de MDA (NaMDA) siguiendo el método descrito por Kikugawa y col.,<sup>30</sup> por hidrólisis de TMP catalizada por resina de intercambio iónico ácida Dowex 50Wx8, y posterior neutralización con hidróxido sódico *M* hasta pH 7. La NaMDA así obtenida es un monohidrato (75% después de recrystalizar de agua-acetona) de p. f. 240°C (descomposición; lit.,<sup>51</sup> 245°C, descomposición, recrystalizado de etanol-éter). Además de la NaMDA, la c.c.f. del crudo de reacción muestra la presencia de otras tres manchas, también visibles con luz u.v. de 254 nm y con reactivo TBA. Estos productos quedan preferentemente en las aguas madres de recrystalización de la NaMDA. La cromatografía en columna de un concentrado de estas aguas, permitió el aislamiento en estado cristalino de las sales monosódicas del 2,4-dihidroximetilen-3-(2,2-dimetoxi-etil)glutaraldehido monohidrato (**21**, 6%), del 2,4-dihidroximetilen-3-metilglutaraldehido dihidrato (**22**, 1%) y del *E*-(3-oxo-1-propenil)malondialdehido (**23**, 0.5%).

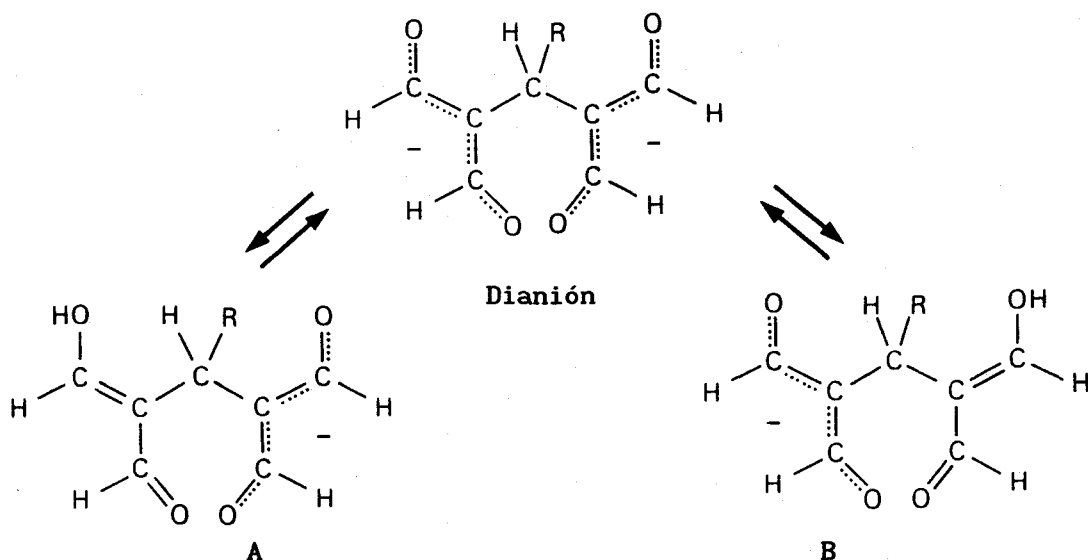


Las estructuras 21-23 se han deducido de sus datos analíticos y espectroscópicos, así como de sus propiedades químicas que se exponen más adelante.

Los análisis elementales de los compuestos 21 y 22 mostraron que a estos compuestos les corresponden las fórmulas  $C_{11}H_{15}NaO_6 \cdot H_2O$  y  $C_8H_9NaO_4 \cdot 5/2H_2O$ . Estas fórmulas, si se comparan con las de la NaMDA,  $C_3H_3NaO_2$ , indican que ésta ha debido reaccionar consigo misma y/o con otras sustancias con más o menos de 3 átomos de carbono en su estructura. Por tanto, los compuestos 21 y 22 deben ser, estructuralmente, más complejos que la NaMDA.

Sin embargo, los espectros de r.m.n. de los compuestos 21 y 22 son muy simples. Esto sería posible si las estructuras de estos compuestos tuvieran algún elemento de simetría. Así, en los espectros de  $^1H$  (Tabla I), aparece una única señal (integral para 4 H) que se asigna a los protones H-1, H-1', H-1'' y H-5 a  $\delta$  8.16 ppm en el compuesto 21 y a  $\delta$  8.24 ppm en el compuesto 22. En los espectros de  $^{13}C$  (Tabla I) también aparece una única señal de los carbonos C-1, C-1', C-1'' y C-5 a  $\delta$  188.6 ppm en el compuesto 21 y a  $\delta$  188.8 ppm en el compuesto 22, así como otra única señal de los carbonos C-2 y C-4, a  $\delta$  124.3 ppm en 21 y a  $\delta$  126.6 ppm en 22. El espectro de r.m.n. del compuesto 21 contiene una señal adicional a  $\delta$  3.21 ppm que no está acoplada con ninguna otra, y cuya integral es de 6 protones. También en su espectro de r.m.n. de  $^{13}C$  se observa una única señal a  $\delta$  54.3 ppm. Esta señales son características de un grupo metoxilo y, según la

integral de la señal del espectro de protones, en la estructura de 21 hay dos grupos metoxilo equivalentes. La simetría de estas estructuras se considera debida a que los aniones de 21 y 22 son ácidos en solución acuosa, y puede establecerse un rápido equilibrio prototrópico (en la escala de tiempo de la r.m.n.) entre las dos formas equivalentes A y B, a través del dianión de 21 o 22:



Los espectros u.v. en solución acuosa de 21 y 22 y sus variaciones en función del pH y de la concentración, evidencian también el carácter ácido de estas sustancias. Así, una disolución acuosa de 22 presenta un máximo de absorción (Figura 1) a 250 nm, junto con un hombro a 270 nm. Este hombro disminuye al diluir la disolución empleada para registrar el espectro, y crece al añadir más cantidad de 22 a la misma disolución, apareciendo, en este caso, un hombro adicional sobre los 320 nm. Si el espectro de 22 se registra en disolución de ácido clorhídrico 0.1M, sólo se observa un

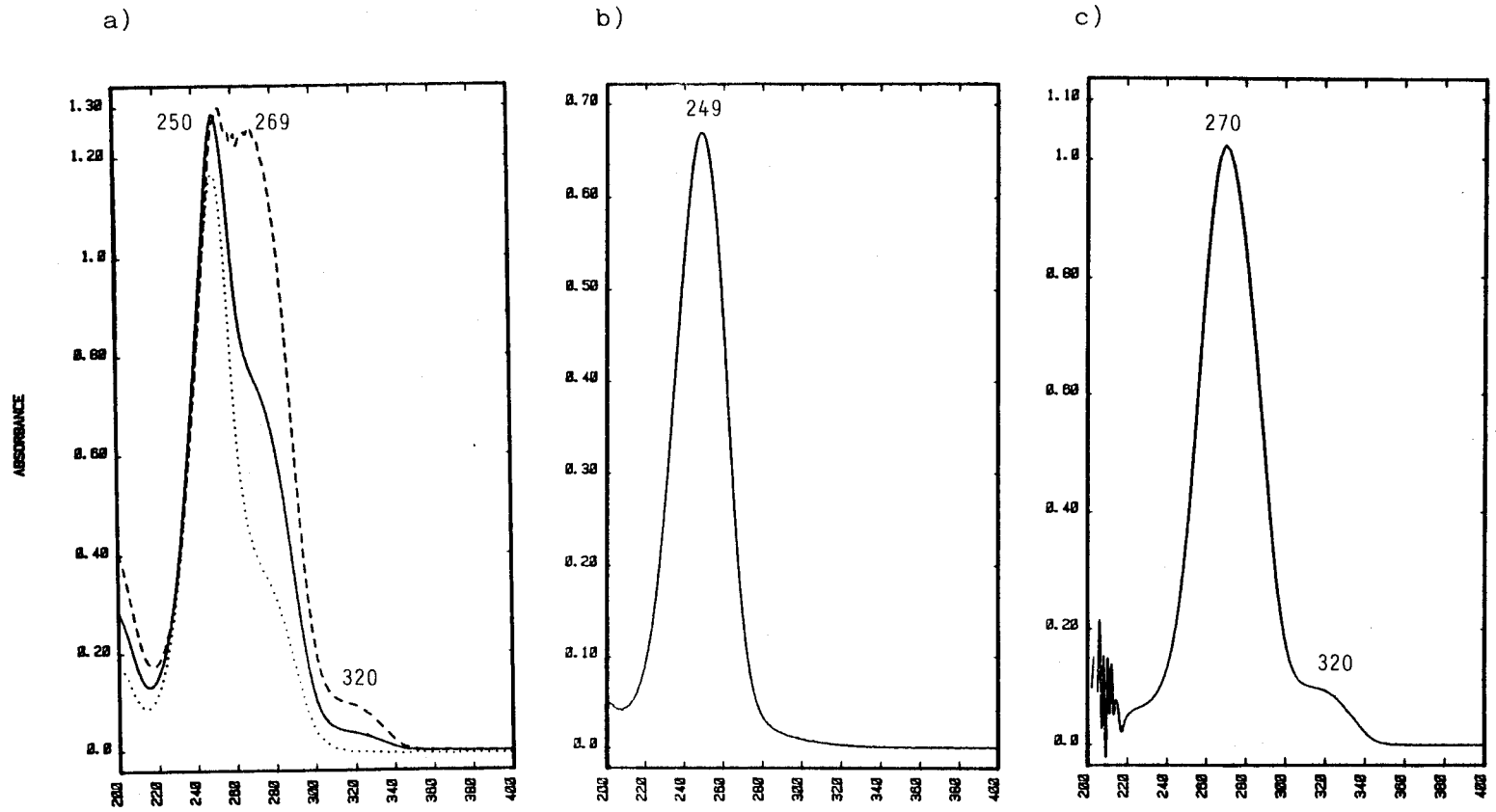


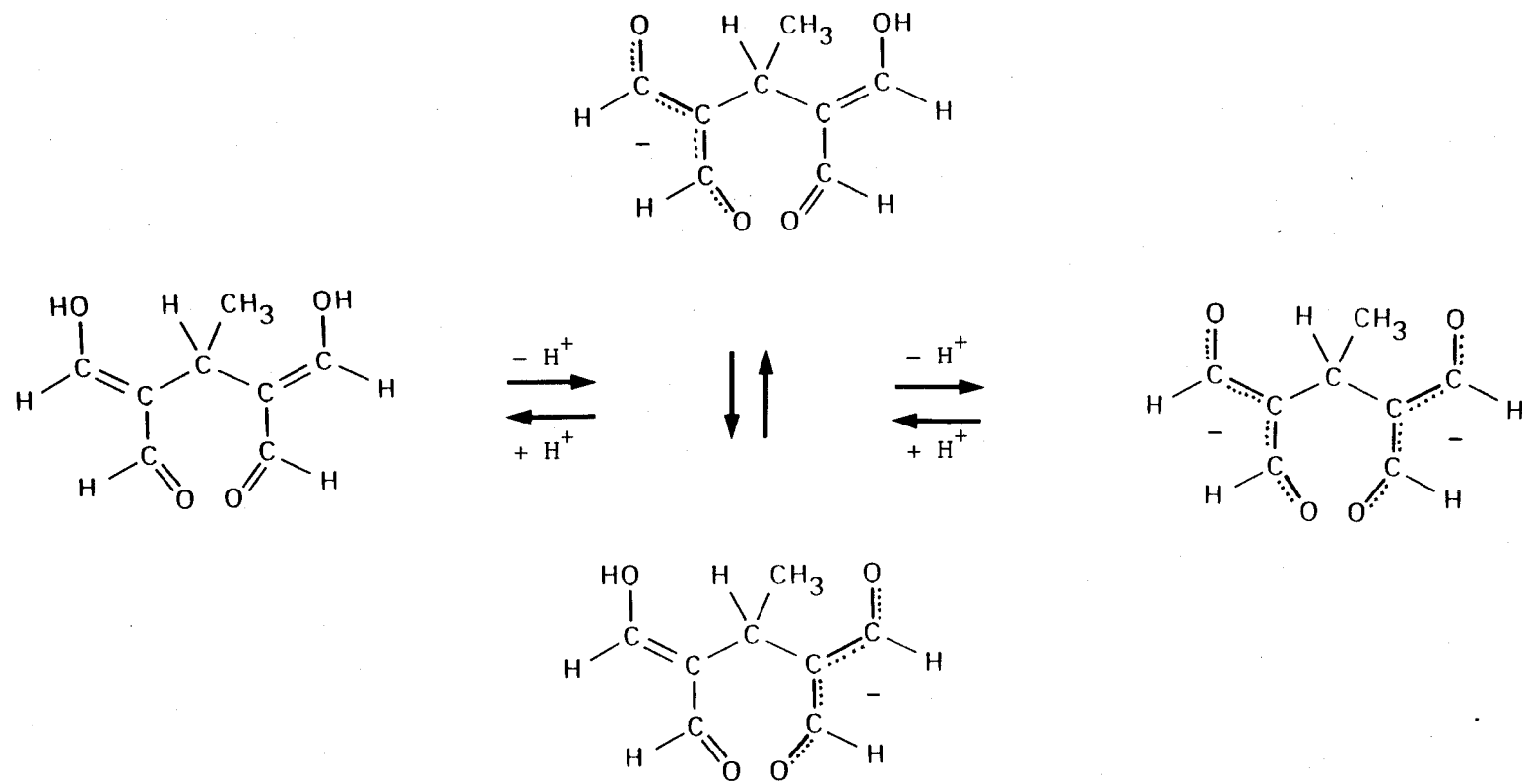
Figura 1. Espectros u.v. del compuesto 22 en función de la concentración y del pH. a) En agua, a concentración alta (---), media (—) y baja (....); b) en ácido clorhídrico 0.1N; c) en hidróxido sódico 0.2N.

máximo a 249 nm; al registrar el espectro en disolución de hidróxido sódico 0.2M, la máxima absorción ocurre a 270 nm, y aparece un hombro adicional a 320 nm. La absorción a 249 nm se atribuye al 2,4-dihidroxi metilen-3-metilglutaraldehído (24) sin disociar, la de 270 nm a su monoanión (A o B) y a su dianión y la de 320 nm a una transición  $n \rightarrow \pi^*$ , al igual que se observa para disoluciones concentradas o fuertemente básicas de MDA.<sup>29</sup> El incremento de la longitud de onda del máximo de absorción u.v. del compuesto 22, cuando se pasa de su forma no disociada a alguna de las disociadas (21 nm), es del mismo orden que el apreciado en los casos del MDA o del MMDA (22 nm en ambos casos). En disolución acuosa, el compuesto 22 está parcialmente hidrolizado para dar la forma diácida 24, y parcialmente desprotonado para dar su dianión, según indica el *Esquema 7*.

El compuesto 21 tiene un espectro u.v. en agua muy similar al de 22, que varía también de forma muy parecida con la concentración y el pH.

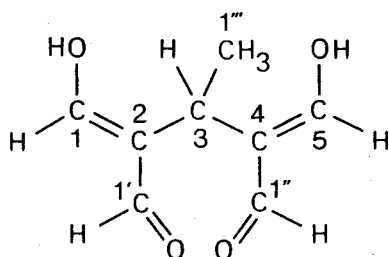
Con objeto de confirmar lo anterior, el compuesto 22 se acidificó con un exceso de ácido clorhídrico 0.5M, y la mezcla se tituló con hidróxido sódico 0.1006M a 25°C y manteniendo constante la fuerza iónica del medio (I=0.1, cloruro potásico); los valores de  $pK_a$  que se obtuvieron para el 2,4-dihidroxi metilen-3-metilglutaraldehído (24) fueron (con correcciones de actividad)  $pK_{a(1)} = 4.93$  y  $pK_{a(2)} = 8.00$ . El primero de estos valores es muy próximo al  $pK_a$  del MDA (4.46).<sup>35</sup>





22

Esquema 7. Equilibrio ácido-base del compuesto 22 en agua



24

Los espectros i.r., en pastilla de bromuro potásico, de los compuestos 21 y 22 muestran las absorciones típicas de una agrupación  $\text{—C=CH—CH=O}$  a 1682-1690 ( $\text{C=O}$ ) y 1548-1574  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{C=C}$ ). Cuando el compuesto 22 se acidula, se obtiene el compuesto 24, cuyo espectro i.r. (Figura 2) tiene absorciones a 3275, 1726, 1665 y 1622  $\text{cm}^{-1}$ . Estas absorciones son similares a las encontradas para el MDA en disolución de diclorometano:<sup>37</sup> 3100, 1710, 1665 y 1618  $\text{cm}^{-1}$ . En el MDA, las absorciones a 3100 y 1618  $\text{cm}^{-1}$  se interpretan en base a la existencia de un puente de hidrógeno intramolecular. En el compuesto 24, las absorciones a 3275 y 1622  $\text{cm}^{-1}$  pueden también atribuirse a la existencia de un puente de hidrógeno intramolecular.

Los datos analíticos de la sal sódica del *E*-(3-oxo-1-propen-1-il)malondialdehído (23) corresponden a la fórmula  $\text{C}_6\text{H}_5\text{NaO}_3$ , que comparada con la de la NaMDA, indica que 23 proviene de la dimerización del MDA con pérdida de un mol de agua. Esta estructura "quasi dimérica" se confirmó por los datos espectroscópicos, deduciéndose la posición 1',2' del doble enlace y la configuración *E* de la presencia en el espectro de  $^1\text{H}$ -r.m.n. (Figura 3), en agua deuterada, de

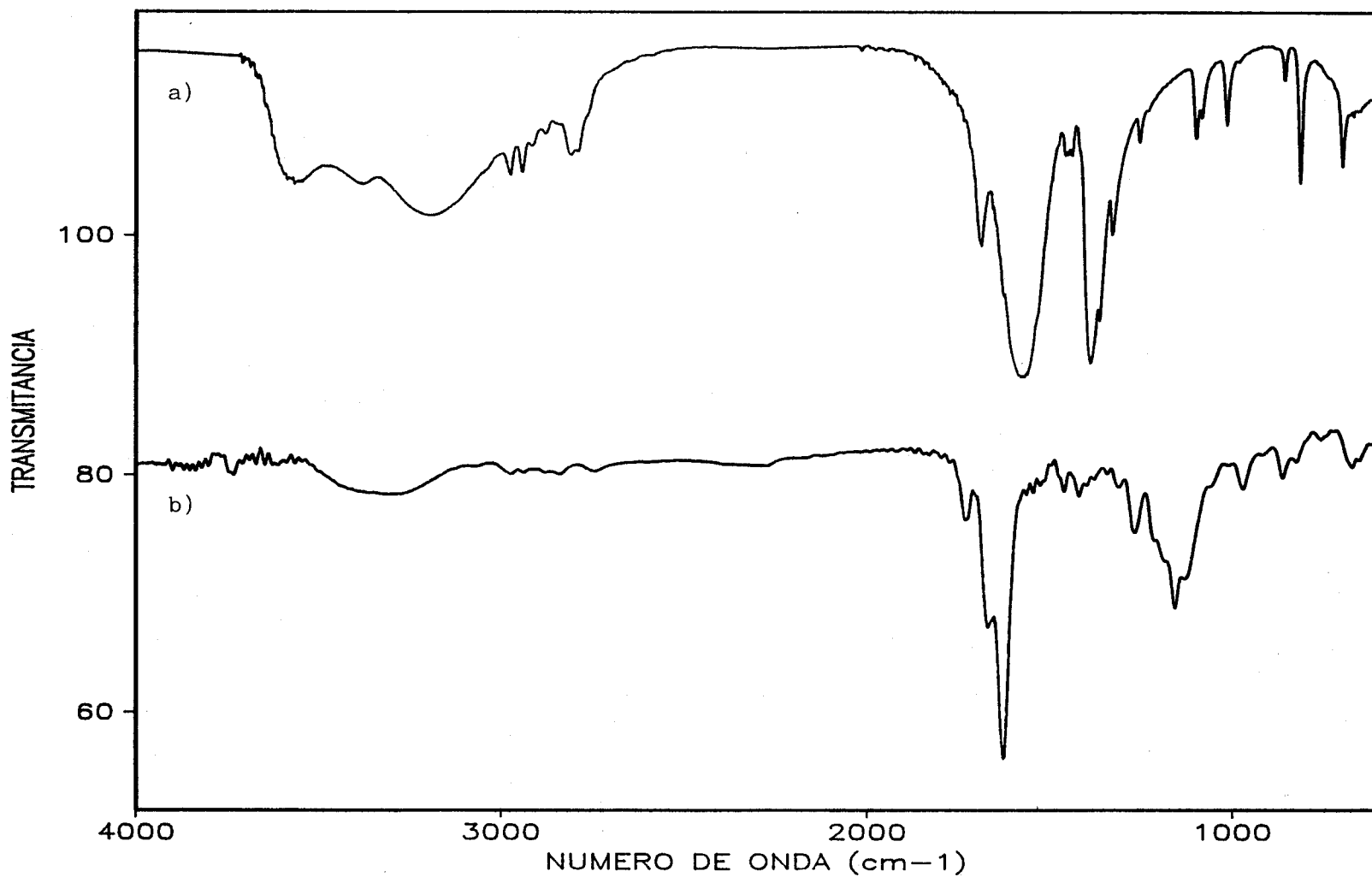


Figura 2. Espectros i.r. (pastilla de bromuro potásico) comparativos de los compuestos 22 (a) y 24 (b).

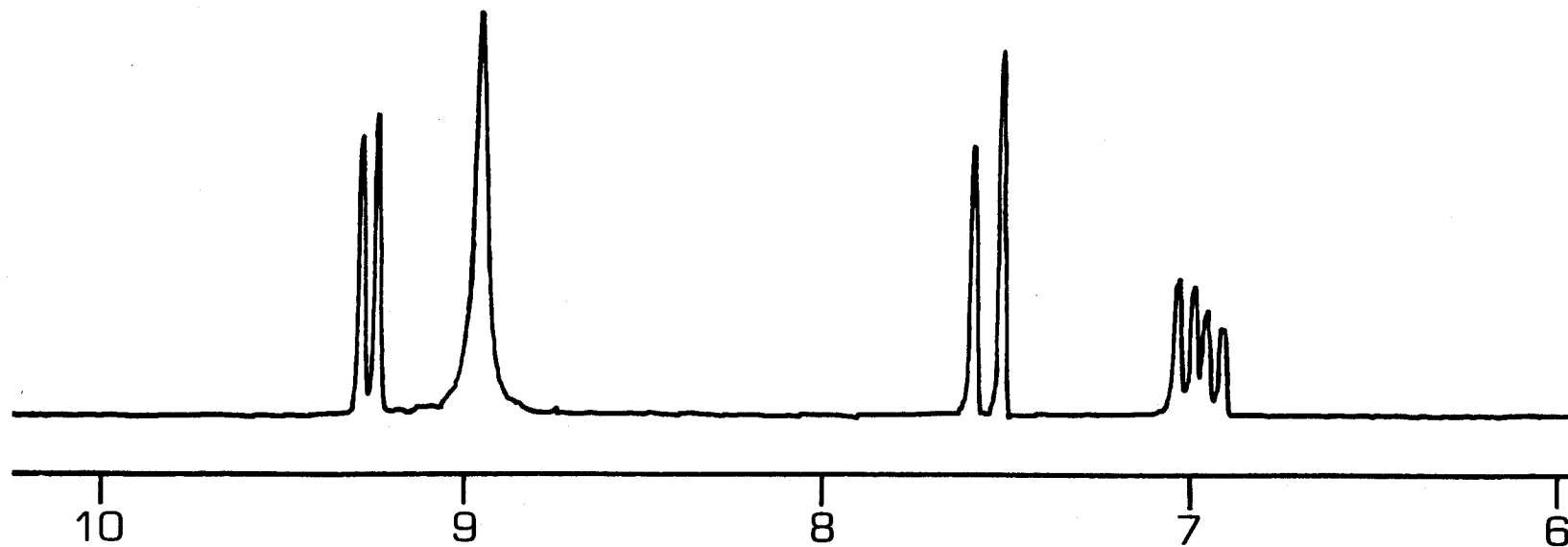


Figura 3. Espectro de  $^1\text{H}$ -r.m.n. (agua deuterada) del compuesto 23.

señales a  $\delta$  7.55 (doblete,  $J_{1',2'} = 15.4$  Hz, integral para 1H, H-1'), 6.97 (doble doblete,  $J_{1',2'} = 15.5$  Hz,  $J_{2',3'} = 8.7$  Hz, integral para 1H, H-2') y 9.26 (doblete,  $J_{2',3'} = 8.7$  Hz, integral para 1H, H-3'), junto con un singulete a  $\delta$  8.94, que integra para 2H, debido a H-1 y H-3.

El espectro de  $^{13}\text{C}$ -r.m.n., en agua deuterada, de este compuesto (ver PARTE EXPERIMENTAL) muestra únicamente 3 señales de carbonos olefínicos y 2 señales de carbonos carbonílicos. Los núcleos de carbono olefínicos resuenan a  $\delta$  117.0 (C-2), 122.3 (C-2') y 150.0 ppm (C-1'), mientras que los carbonílicos lo hacen a  $\delta$  196.3 (C-1 y C-3) y a 200.6 ppm (C-3').

El espectro i.r. (Figura 4) también evidencia la existencia de 2 tipos de olefinas, con absorciones a 1603 y 1572  $\text{cm}^{-1}$ , conjugadas con también dos tipos de carbonilos, con absorciones a 1655 y 1642  $\text{cm}^{-1}$ .

Por último, el espectro u.v., en disolución acuosa, del compuesto 23, es invariable a pH neutro o básico, con máximos de absorción a 274 y 350 nm. A pH ácido, el espectro se transforma, con máximos a 262 y 295 nm (ver Figura 5).

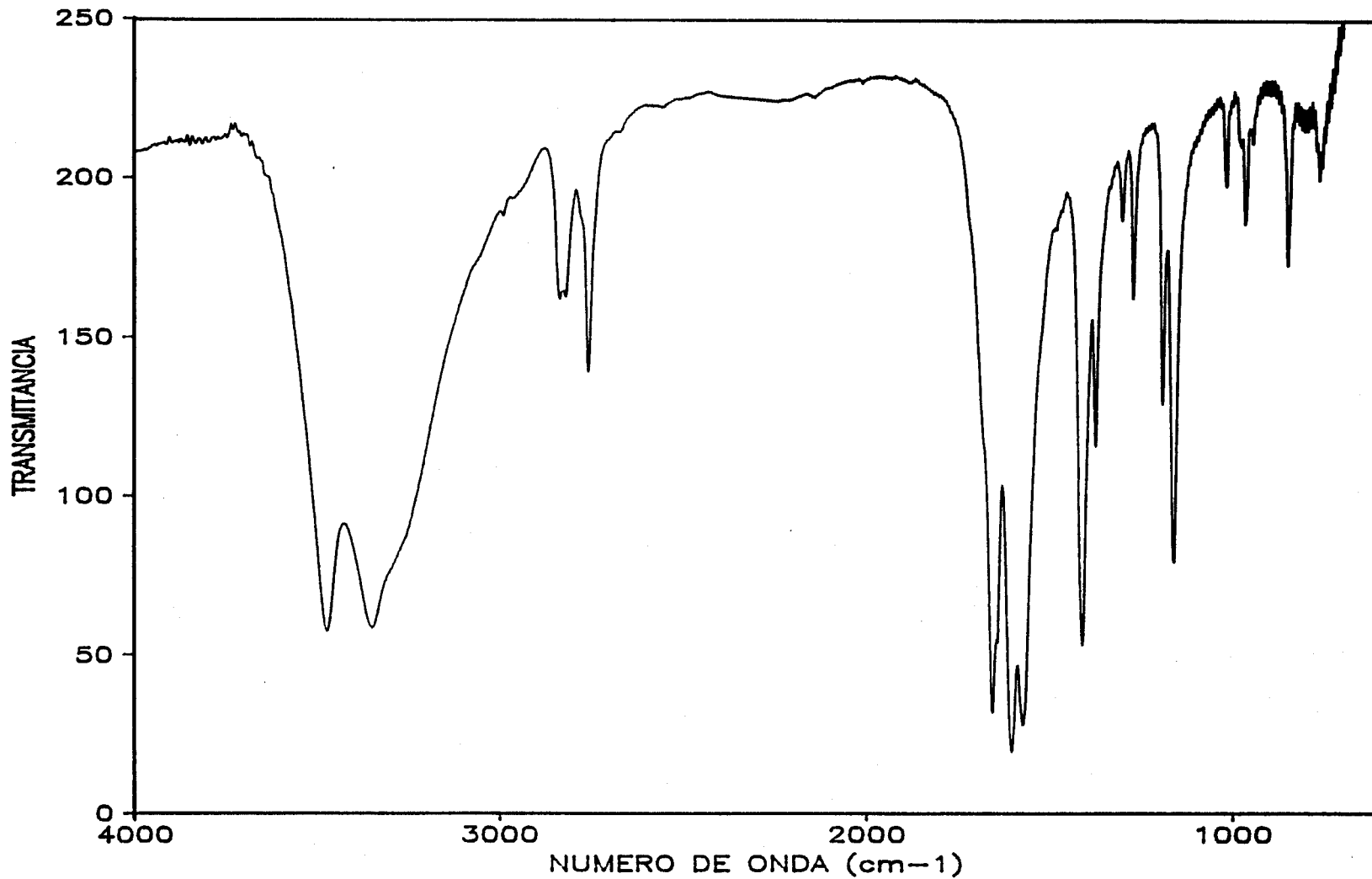


Figura 4. Espectro i.r. (pastilla de bromuro potásico) del compuesto 23.

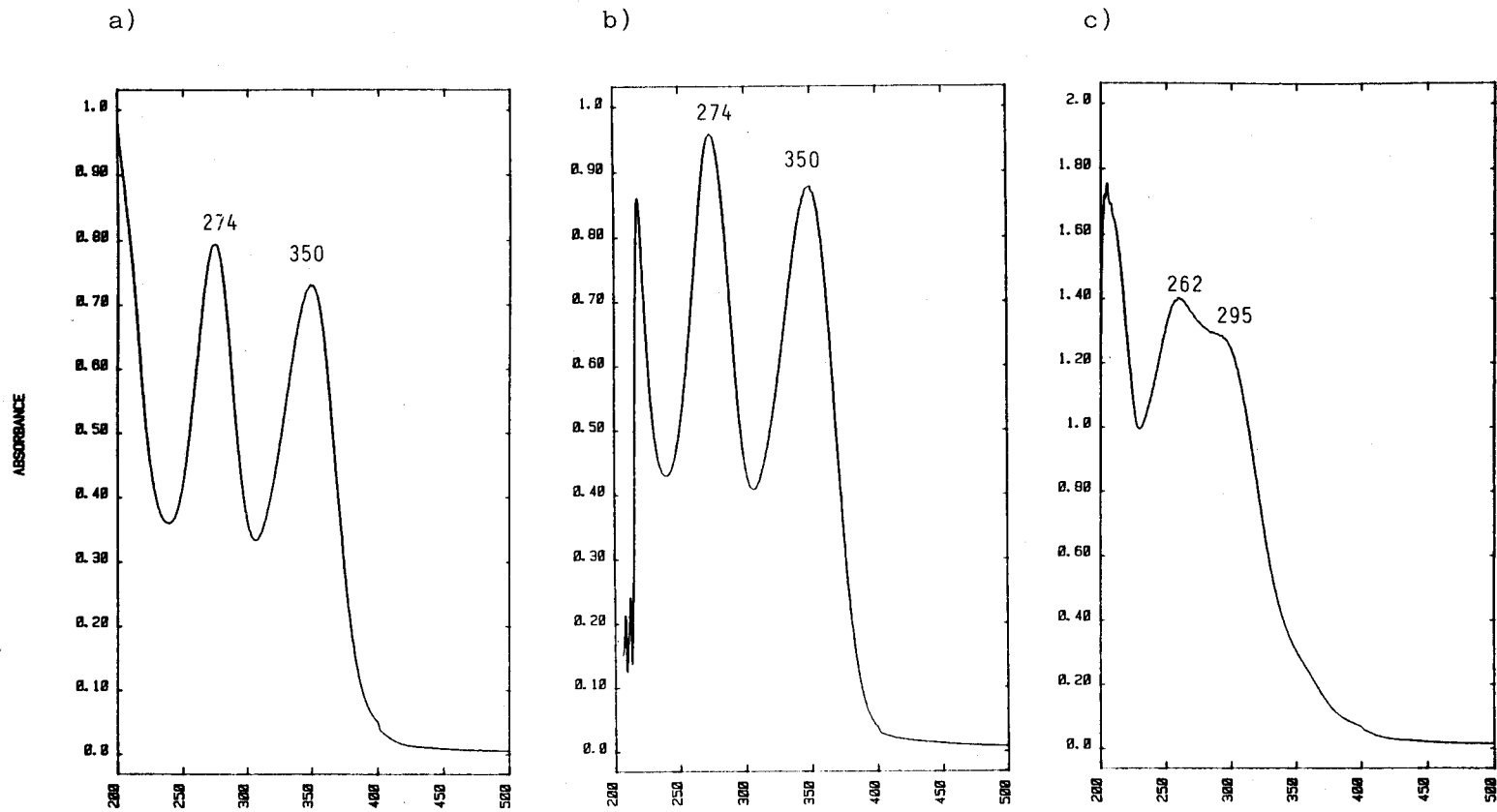


Figura 5. Espectros u.v. del compuesto 23 en función del pH. a) En agua; b) en hidróxido sódico 0.2N; c) en ácido clorhídrico 0.1N.

### 2.1.3. Desdoblamiento y copolimerización del malondialdehído

Como se ha indicado, las estructuras de los compuestos 21 y 22 sugieren que se forman por condensación de dos moles de MDA con un mol de un aldehído, el 3,3-dimetoxipropanal en el caso del compuesto 21, y el acetaldehído en el caso de 22. Se sabe que, en efecto, el 3,3-dimetoxipropanal es un producto de la hidrólisis incompleta del TMP.<sup>21</sup> En el caso del compuesto 22, su formación requiere la presencia de acetaldehído en el medio de reacción. Con objeto de probar esta posibilidad, ensayamos la reacción de la NaMDA con acetaldehído, encontrando que, efectivamente, reaccionan cuantitativamente con gran facilidad, cuando se dejan en proporción 2:1, en solución acuosa, a pH 7-8, y temperatura ambiente, dando el compuesto 22, que después de ser recristalizado de metanol, se aísla con un rendimiento del 60%.

Se suscita entonces la cuestión sobre la presencia del acetaldehído en las preparaciones de MDA y el mecanismo de su formación. Una hipótesis es que el MDA se escinde en solución acuosa, a un pH cercano a la neutralidad. Para verificar esta hipótesis, se prepararon soluciones 0.05M de MDA, tanto a partir de TMP, por hidrólisis ácida, como de NaMDA recristalizada. Estas soluciones, recién preparadas y contenidas en viales cerrados, se ajustaron a diferentes valores de pH, dentro del rango 3-8, y fueron incubadas a 35°C. Después de 15 minutos de incubación, los viales fueron



conectados a un cromatógrafo de gases, analizándose el contenido de los espacios de cabeza, detectándose la presencia de MDA y acetaldehído. En las condiciones cromatográficas empleadas (ver PARTE EXPERIMENTAL), los tiempos de retención del acetaldehído y del MDA fueron 1.58 minutos y 2.70 minutos, respectivamente. El acetaldehído fue detectado en el rango de pH 4-7, con un máximo de producción a pH 6.0 (ver Figura 6). En esas condiciones casi el 10% del contenido del espacio de cabeza es acetaldehído.

Paralelamente a la producción de acetaldehído, la cromatografía de gases muestra la disminución del contenido del espacio de cabeza en MDA, con un mínimo también a pH 6.0. La c.c.f. de la disolución muestra la formación del compuesto 22, cuya concentración también es máxima a ese valor de pH (Figura 7).

El acetaldehído se aísla (1%), como su 2,4-dinitrofenilhidrazona, de una solución de MDA dejada estar a pH 6.0 y 35°C durante 15 minutos, y subsiguiente tratamiento con 2,4-dinitrofenilhidrazina.

La formación de acetaldehído a partir de MDA se puede explicar como una ruptura hidrolítica de la forma dicarbonílica (10f) del dialdehído, similar<sup>58</sup> a la que sufren las 1,3-dicetonas en condiciones básicas más energéticas (Esquema 8).

La tendencia de 10f a la hidrólisis puede ser debida al mayor carácter electrofílico de los carbonilos de aldehído de este compuesto respecto a los carbonilos de las

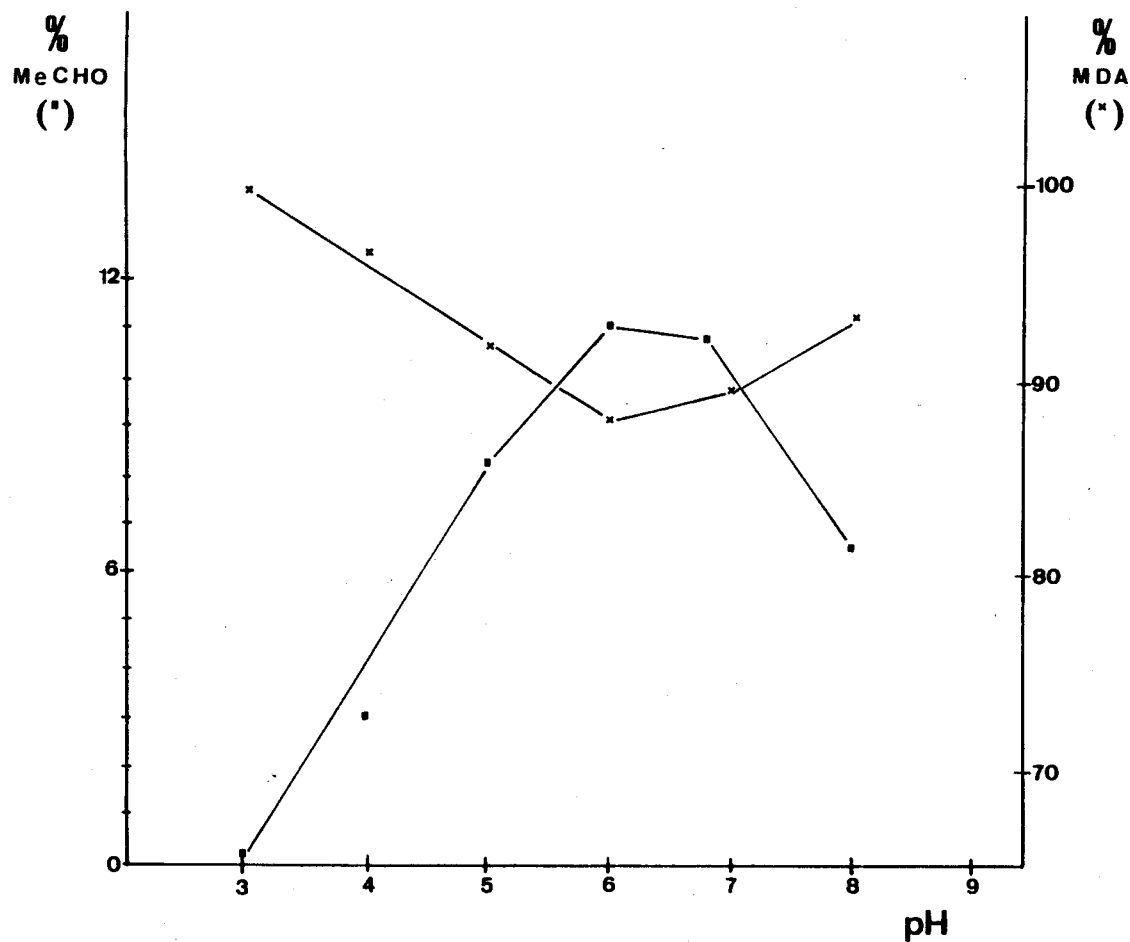


Figura 6. Contenido en acetaldehído (MeCHO) y malondialdehído (MDA) de los espacios de cabeza de viales conteniendo disoluciones 0.05M de MDA, incubadas a 35°C durante 15 min. y en distintas condiciones de pH.

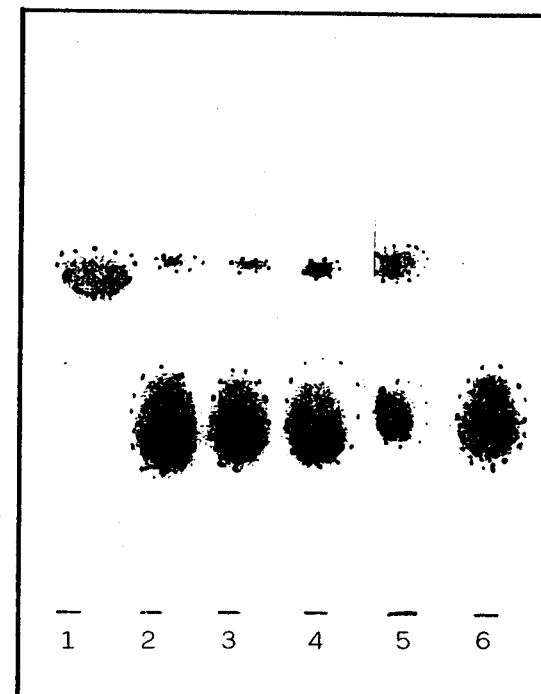
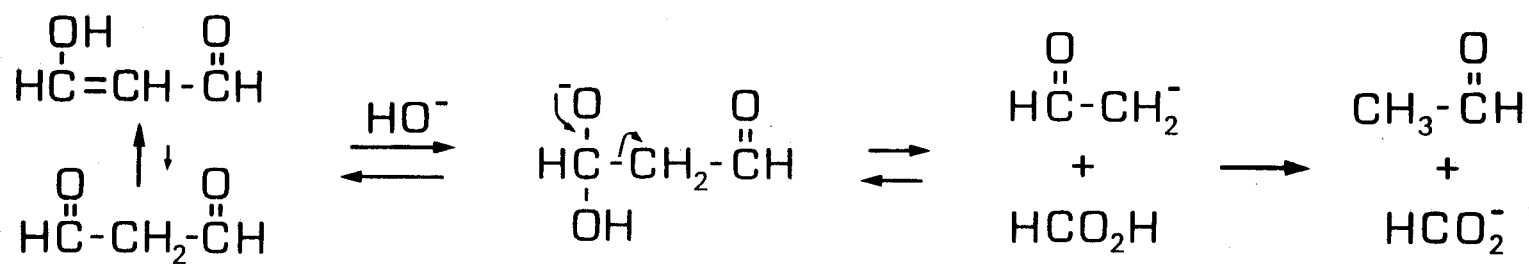


Figura 7. C.c.f. de una disolución de MDA a pH 6, en función del tiempo. 1) Referencia del compuesto 22; 2) 0.5h; 3) 1h; 4) 3h; 5) 28h; 6) Referencia de MDA. Las manchas se detectaron con luz u.v. de 254 nm y con reactivo TBA.



10f

Esquema 8. Mecanismo de ruptura hidrolítica propuesto para la formación de acetaldehído a partir de malondialdehído.

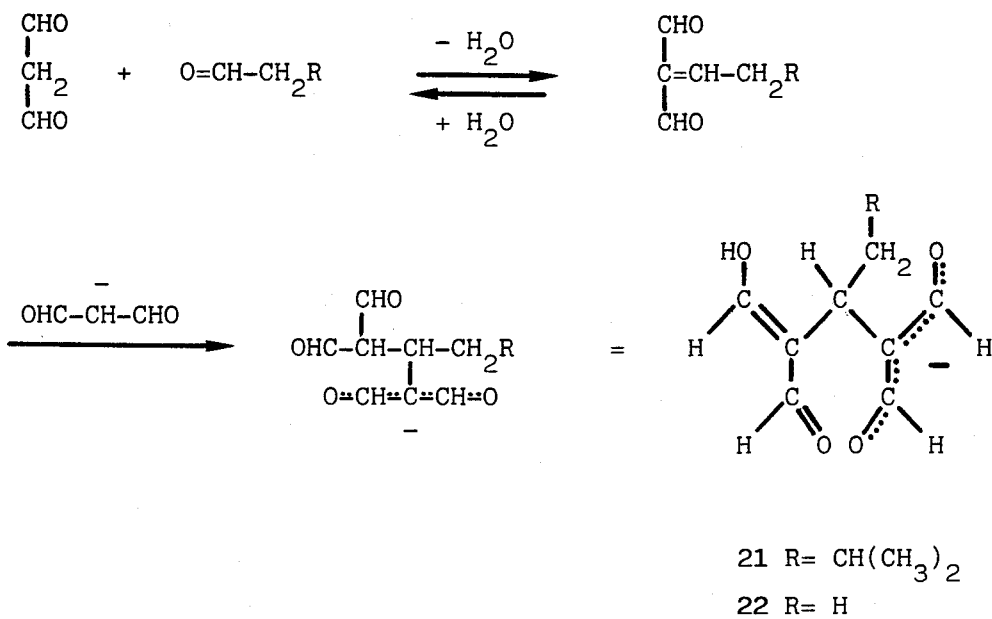
1,3-dicetonas. La escisión está restringida al rango de pH 4-7 debido a que , a valores de pH mayores, el MDA existe casi exclusivamente como su anión (10e), mientras que a valores de pH por debajo de 4, no hay concentración suficiente de iones hidroxilo.

#### 2.1.4. Oligomerización del malondialdehido

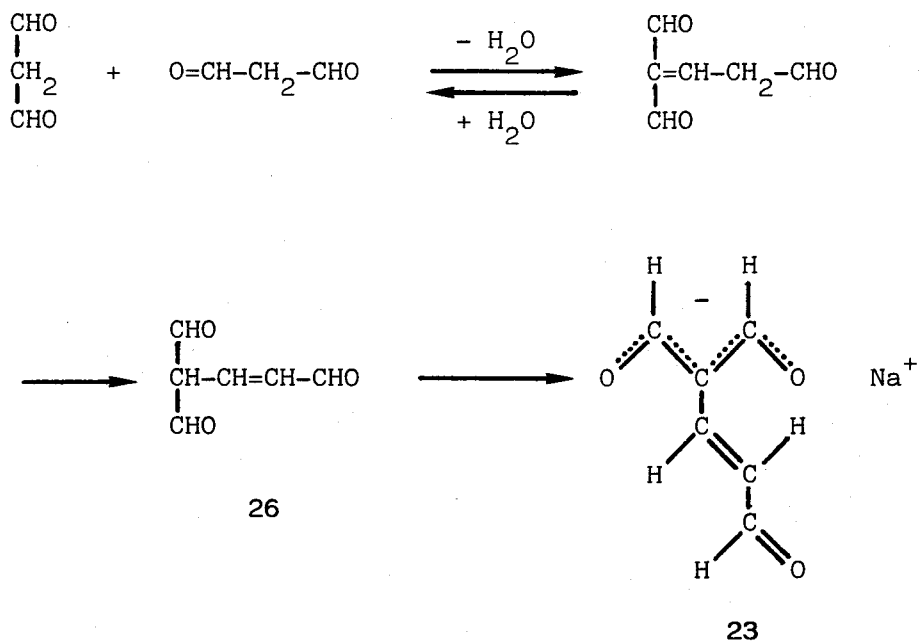
La formación de los 2,4-dihidroxi metilen-3- alquilglutaraldehydos 21 y 22 se puede explicar mediante una adición de tipo Michael del anión del MDA al alquilidenmalondialdehido (25) resultante de la condensación del MDA con 3,3-dimetoxipropanal o acetaldehido (*Esquema 9*).

Igualmente, la formación del *E*-(3-oxo-1-propen-1-il)malondialdehido (25, R= -CHO) se explicaría por la condensación de dos moléculas de MDA para dar (3-oxo-propiliden)malondialdehido, que por migración del doble enlace carbono-carbono, originaría el compuesto 26, cuya sal sódica (23) se ha aislado (*Esquema 10*).

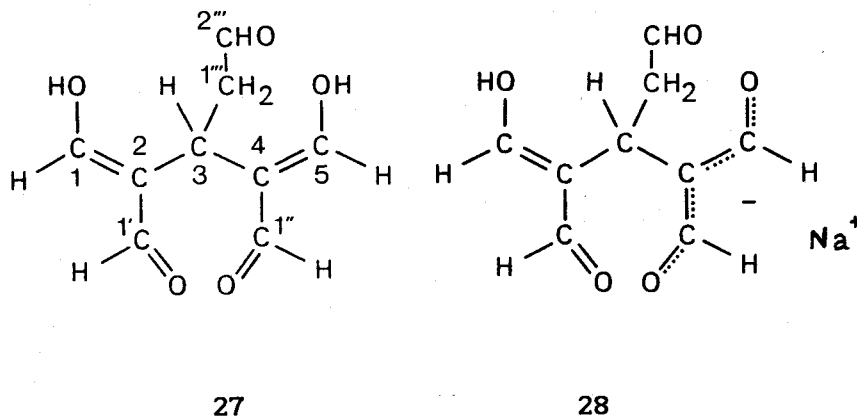
Con el fin de obtener la sal 23 en mayor cantidad, preparamos una solución de MDA por hidrólisis ácida de TMP. Inmediatamente, el pH inicial (3.4) se ajustó a un valor 4.5-5.0 (aproximadamente el valor del  $pK_a$  del MDA), para que el MDA y su anión estuviesen en proporción aproximada 1:1. Este pH lo mantuvimos constante por adiciones periódicas de pequeñas cantidades de resina de intercambio iónico ácida (Dowex 50Wx8) o de ácido clorhídrico *M*. Cromatográficamente (c.c.f.), pudimos observar la formación de pequeñas cantidades de los compuestos 22 y 23, esperados, juntamente con cantidades mayoritarias de un nuevo compuesto que, por las razones indicadas más adelante, formulamos como el 2,4-dihidroxi metilen-3-(2-oxoetil)-glutaraldehido (27), que es el "quasi trímero" del MDA.



Esquema 9. Mecanismo propuesto para la formación de 2,4-dihidroxi metilen-3-alkilglutaraldehydos, a partir de malondi-aldehido.



Esquema 10. Mecanismo propuesto para la formación de la sal sódica del E-(3-oxo-1-propen-1-il)malondialdehido (23)



Después de dos días a temperatura ambiente, la transformación del MDA se había completado (c.c.f.). La neutralización con hidróxido sódico *M* de la mezcla de reacción conteniendo 22, 23 y 27, y la concentración de la disolución y subsiguiente cromatografía en capa fina preparativa, del residuo, permitió obtener el compuesto 27 como su sal sódica (28) con un rendimiento del 31%.

El compuesto 28 fue caracterizado por sus datos analíticos y espectroscópicos. El análisis elemental, correspondiente a la estructura molecular  $C_9H_9NaO_5$ , indicó la formación del compuesto por condensación de tres moléculas de MDA y pérdida de una molécula de agua.

El espectro u.v. en solución acuosa (Figura 8), mostró un máximo a 250 nm cuando el pH es 1, y a 270 nm cuando es 13. A pH neutro, se observa un máximo intermedio, a 261 nm. El máximo a 250 nm corresponde al cromóforo del enol de la porción de MDA ( $O=CH-C=CH-OH$ ), mientras que el máximo a 270 nm corresponde al anión enolato de esa porción ( $O=CH-C=CH-O^-$ ).

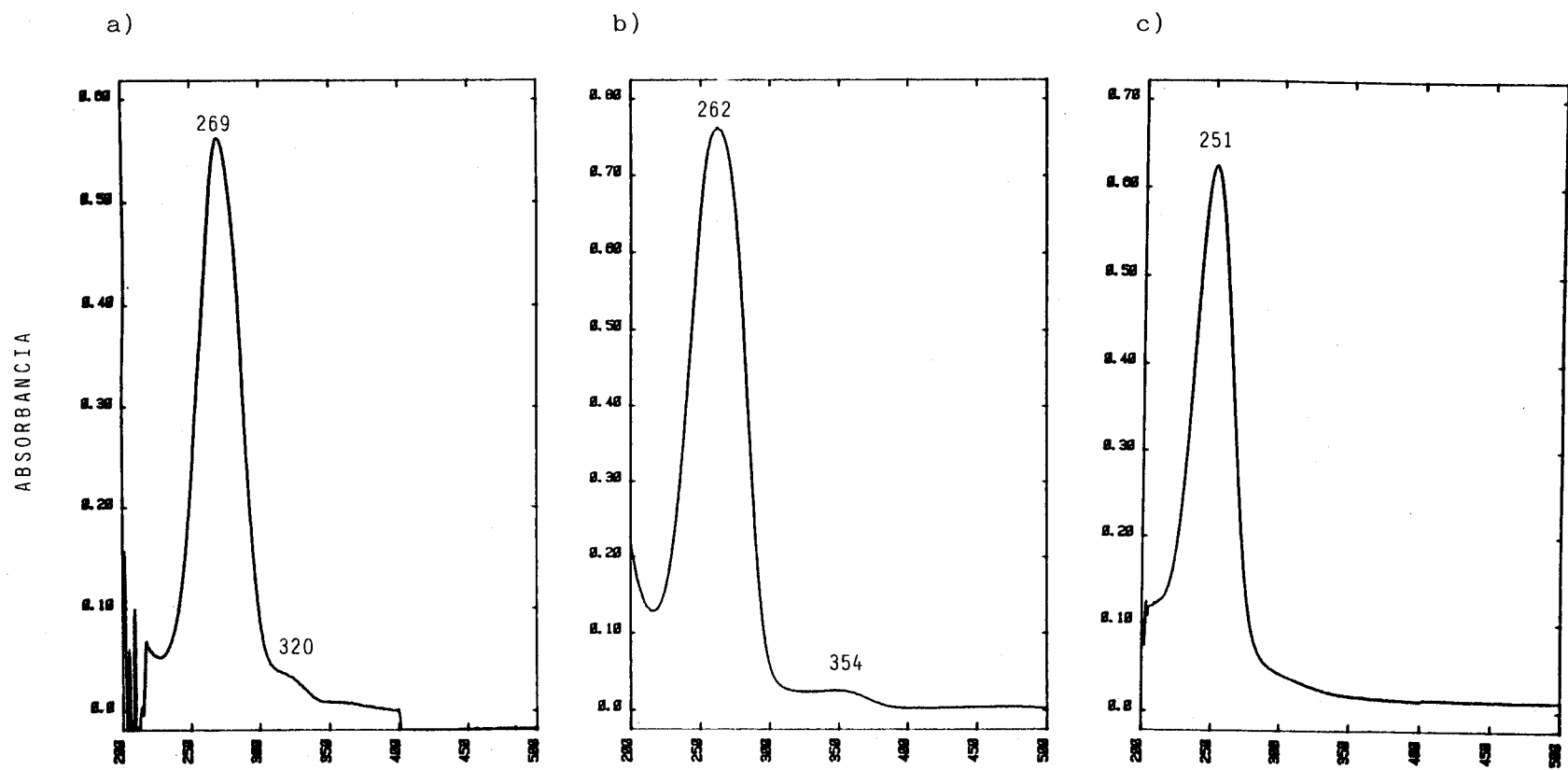
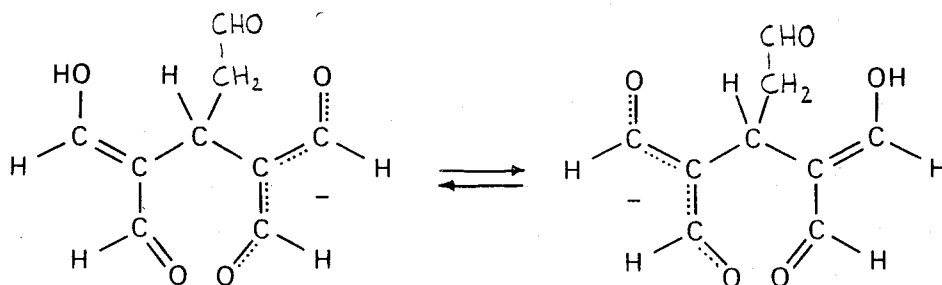


Figura 8. Espectros u.v. del compuesto 28 en función del pH. a) En hidróxido sódico 0.2N; b) en agua; c) en ácido clorhídrico 0.1N.



El espectro i.r. del compuesto **28** (Figura 9), muestra dos tipos de grupo aldehído en su estructura. Uno corresponde a un aldehído de tipo alifático no conjugado, con una banda de absorción a  $1721\text{ cm}^{-1}$ . El otro corresponde a un aldehído conjugado con un doble enlace (la porción enolizada de MDA), con una banda de absorción, que se solapa a la del doble enlace, a  $1605\text{ cm}^{-1}$ .

En disolución acuosa, el espectro de  $^1\text{H}$ -r.m.n. de **28** (Figura 10, Tabla I) muestra un único singulete, de integral para 4 H, a  $\delta$  8.2 ppm asignado a los protones H-1, H-1', H-1'' y H-5. Ello se considera debido a la existencia del compuesto **28** en un equilibrio rápido (en la escala de tiempo de la r.m.n.) entre las dos formas prototrópicas equivalentes **28A** y **28B** (Esquema 11).



Esquema 11. Intercambio prototrópico del protón enólico del compuesto **28** entre los dos restos de MDA de su estructura.

El grupo carbonilo de la agrupación 2-oxoetilo se encuentra hidratado, ya que no se observa ninguna señal por encima de  $\delta$  9 ppm, indicativa de grupo aldehído, y sí aparece

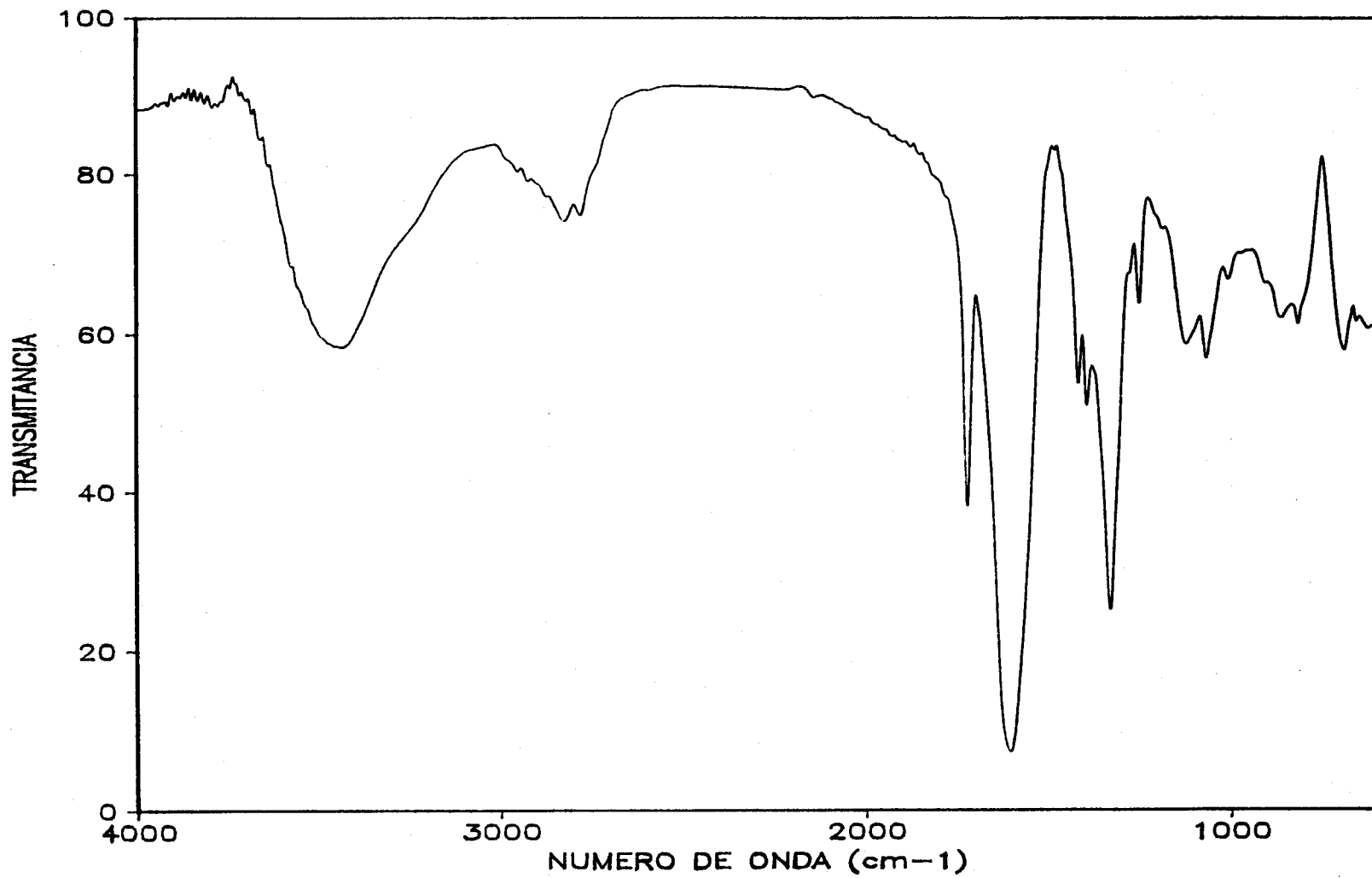


Figura 9. Espectro i.r. (pastilla de bromuro potásico) del compuesto 28.

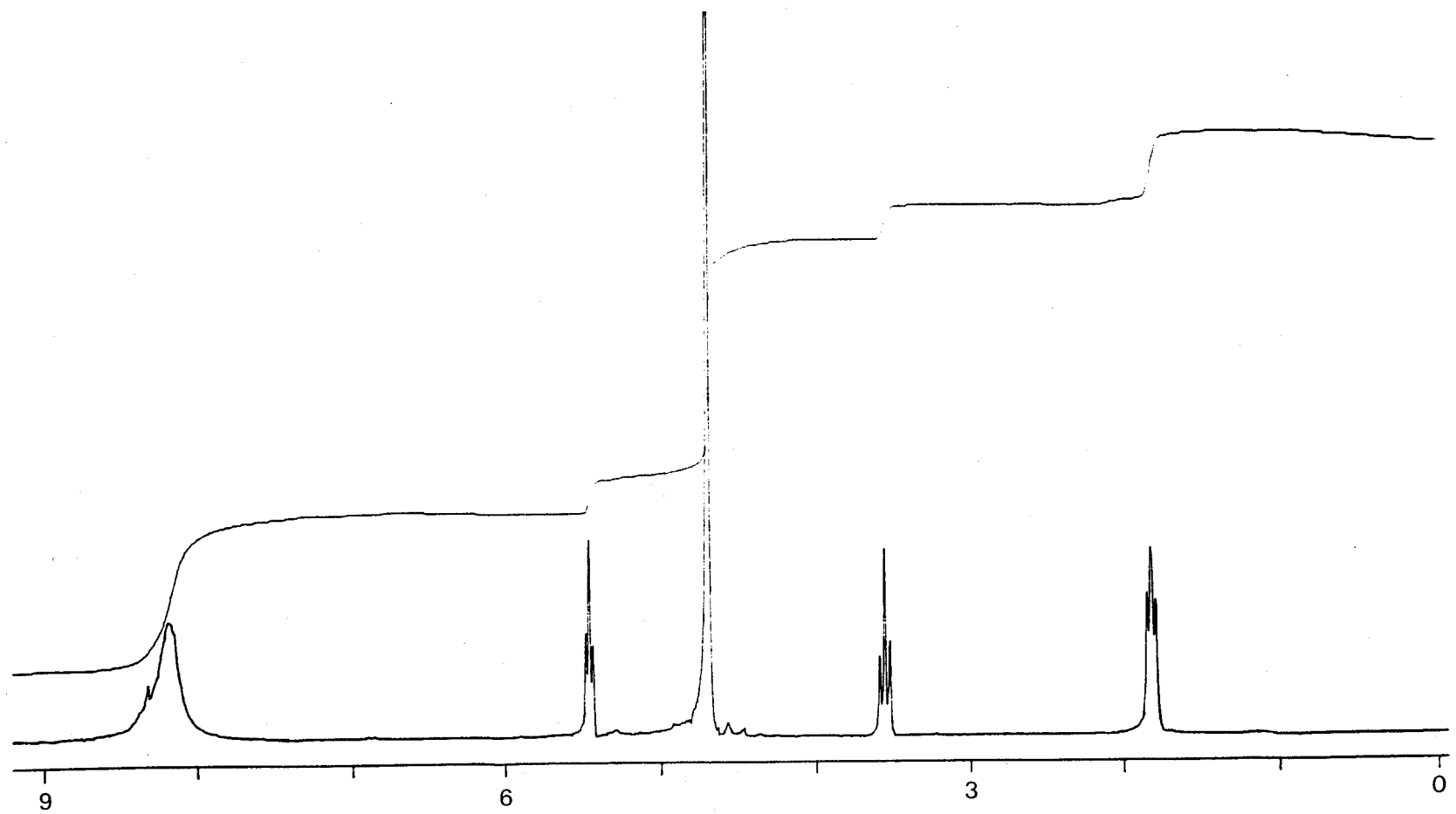


Figura 10. Espectro de  $^1\text{H}$ -r.m.n. (agua deuterada) del compuesto 28.

un triplete a  $\delta$  5.45 ppm ( $J_{1''',2'''} = 4.4$  Hz) que asignamos a H-1''', siendo este desplazamiento químico muy similar al encontrado para la forma hidratada del acetoacetaldehído en agua ( $\delta$  5.43 ppm).<sup>39</sup> Por último, también se observa un triplete a  $\delta$  3.55 ( $J_{1''',3} = 6.7$  Hz) y un doble doblete a  $\delta$  1.82 ( $J_{1''',3} = 7.0$  Hz y  $J_{1''',2'''} = 4.5$  Hz) que se asignan a H-1''' y a H-3, respectivamente.

El espectro de  $^{13}\text{C}$ -r.m.n. de **28** (Tabla I) también refleja la simetría de la estructura asignada a este compuesto. Así, se observa una única señal a  $\delta$  188.9 ppm que se asigna a los carbonos C-1, C-1', C-1'' y C-5. También se observa una única señal a  $\delta$  121.3 ppm que se asigna a los carbonos C-2 y C-4. El resto del espectro consta de señales a  $\delta$  21.6, 33.2 y 96.6, que se asignan a C-1''', C-3 y C-2''', respectivamente.

El compuesto **28** se obtuvo más fácilmente (90%) por hidrólisis ácida con ácido clorhídrico de su acetal, el compuesto **21**, seguida de neutralización (hidróxido sódico *M*), concentración y adición de acetona al residuo siruposo. La obtención de **28** por este segundo procedimiento confirma la estructura que se le asigna.

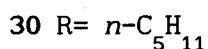
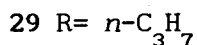
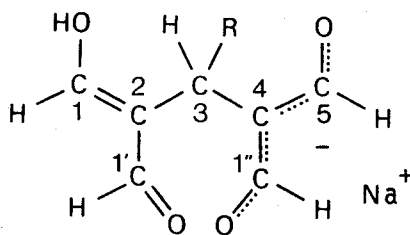
*NOTA:* Posteriormente a la obtención de estos resultados, en el periodo de escritura de la presente Tesis Doctoral, hemos tenido noticia (B. T. Golding, N. Patel y W. P. Watson, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, (1989) 688-689) de la obtención de un trímero y un dímero del MDA, cuyas

propiedades parecen ser muy similares a las encontradas para los compuestos 23 ("quasi dímero" del MDA) y 28 ("quasi trímero" del MDA) descritos en esta Tesis Doctoral.

2.1.5. Transformación de malondialdehído en 2,4-dihidroxi-metilen-3-alkilglutaraldehydos

Dada la facilidad con que la NaMDA reacciona con acetaldehído para formar la sal sódica de 2,4-dihidroxi-metilen-3-metilglutaraldehydo (22) y las reacciones análogas con 3,3-dimetoxipropanal y con el propio MDA, cabe pensar que otros aldehydos, productos de la peroxidación lipídica, reaccionen de igual manera con el MDA y originen los correspondientes 2,4-dihidroxi-metilen-3-alkilglutaraldehydos.

Hemos ensayado dos aldehydos monofuncionales representativos de los productos de la peroxidación lipídica, el butanal y el hexanal. Las reacciones de estos aldehydos con el doble de la cantidad equimolar de NaMDA en agua (pH 7-8) y temperatura ambiente (esto es, condiciones fisiológicas), condujeron a la formación de las sales sódicas del 2,4-dihidroxi-metilen-3-propilglutaraldehydo (29, 74%) y del 2,4-dihidroxi-metilen-3-pentilglutaraldehydo (30, 78%), respectivamente.

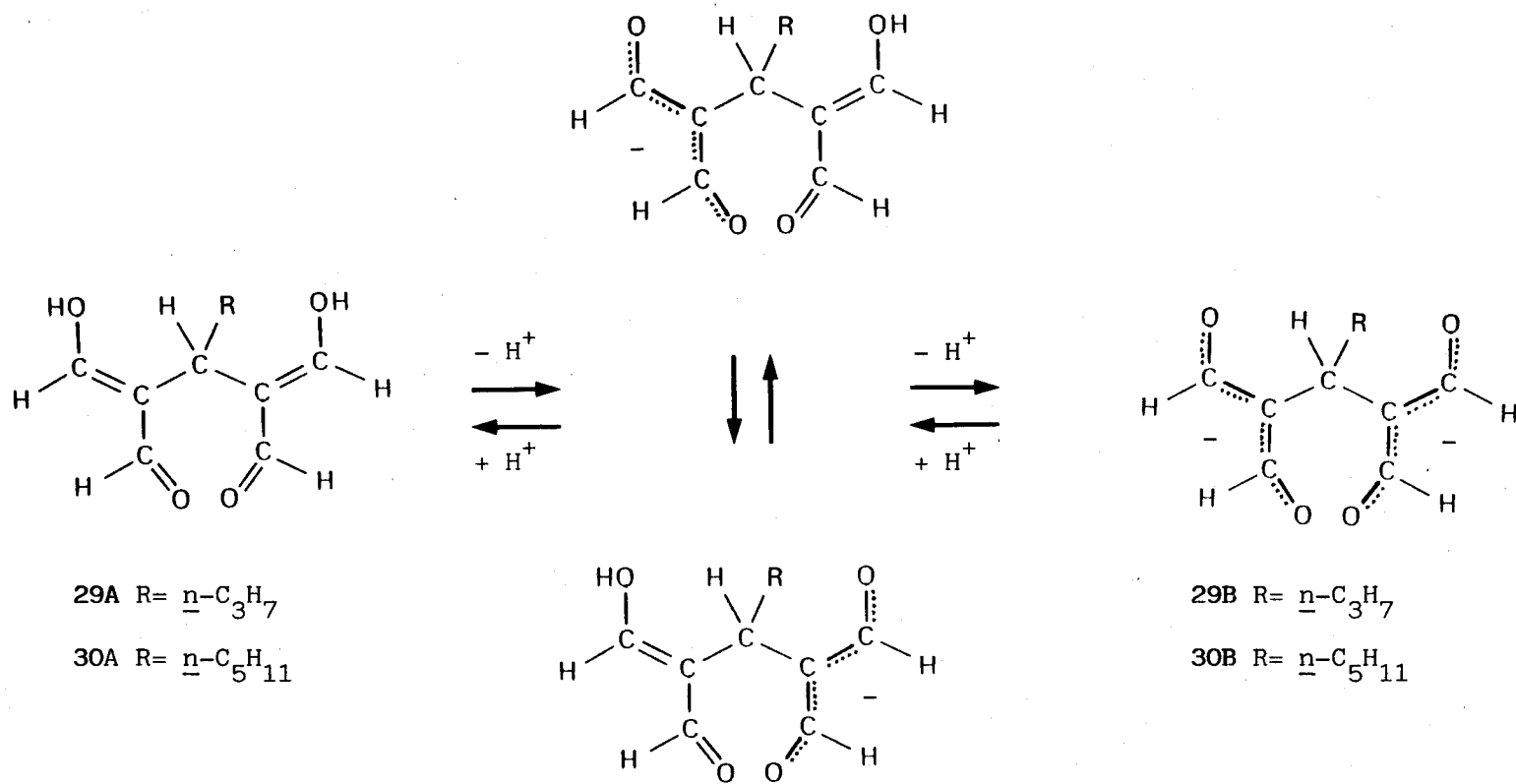


Como en casos anteriores los análisis elementales y los datos espectroscópicos para estos compuestos indicaron la estructura propuesta.

Los espectros u.v. (Figura 11) mostraron una dependencia del pH similar a la de las sales monosódicas de los derivados de 2,4-dihidroxi metilenglutaraldehído 21, 22, y 28, descritos en páginas anteriores. En medio ácido muestran un máximo a 248-249 nm que se asigna a la forma protonada 29A y 30A, y a pH básico el máximo a 270 nm característico de estos dianiones, en este caso 29B y 30B (*Esquema 12*).

Los espectros i.r. muestran las bandas de absorción a aproximadamente 3300-3100  $\text{cm}^{-1}$ , que asignamos al OH enólico de las porciones de MDA de estos compuestos, así como las bandas a aproximadamente 1609-1670 y 1568  $\text{cm}^{-1}$ , que asignamos al carbonilo y doble enlace enólico de estas mismas porciones, respectivamente. En la Figura 12 se muestra el espectro correspondiente al compuesto 30.

Al igual que las otras sales sódicas de 2,4-hidroxi metilen-3-alkilglutaraldehído (21, 22 y 28) los espectros de r.m.n. (Tabla I) de los compuestos 29 y 30 son muy sencillos e indican que en solución acuosa, estos compuestos existen como un equilibrio prototrópico entre las dos estructuras equivalentes 29A,B y 30A,B, como se indica en el *Esquema 12*. Así, en el espectro de protones sólo se observa un singulete, que asignamos a los protones H-1,1',1'' y 5, a  $\delta$  8.11-8.31 ppm, que integra para 4H. En el espectro de  $^{13}\text{C}$  se observa una única señal a  $\delta$  189.9 ppm,



Esquema 12. Equilibrio ácido-base de los 2,4-dihidroxi metilen-3-alkilglutaraldehydos en agua



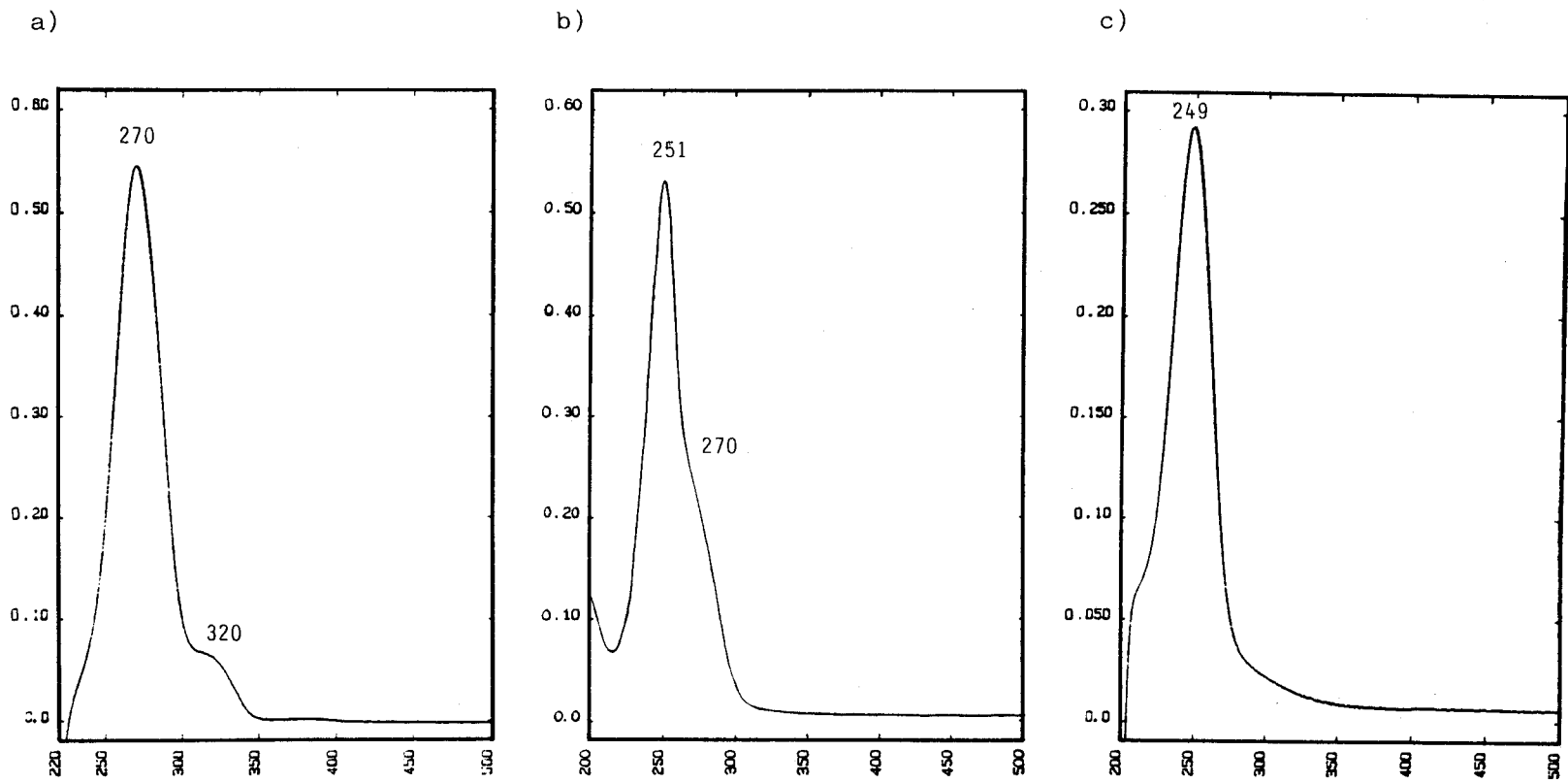


Figura 11. Espectros u.v. del compuesto 30 en función del pH. a) En hidróxido sódico 0.2N; b) en agua; c) en ácido clorhídrico 0.1N.

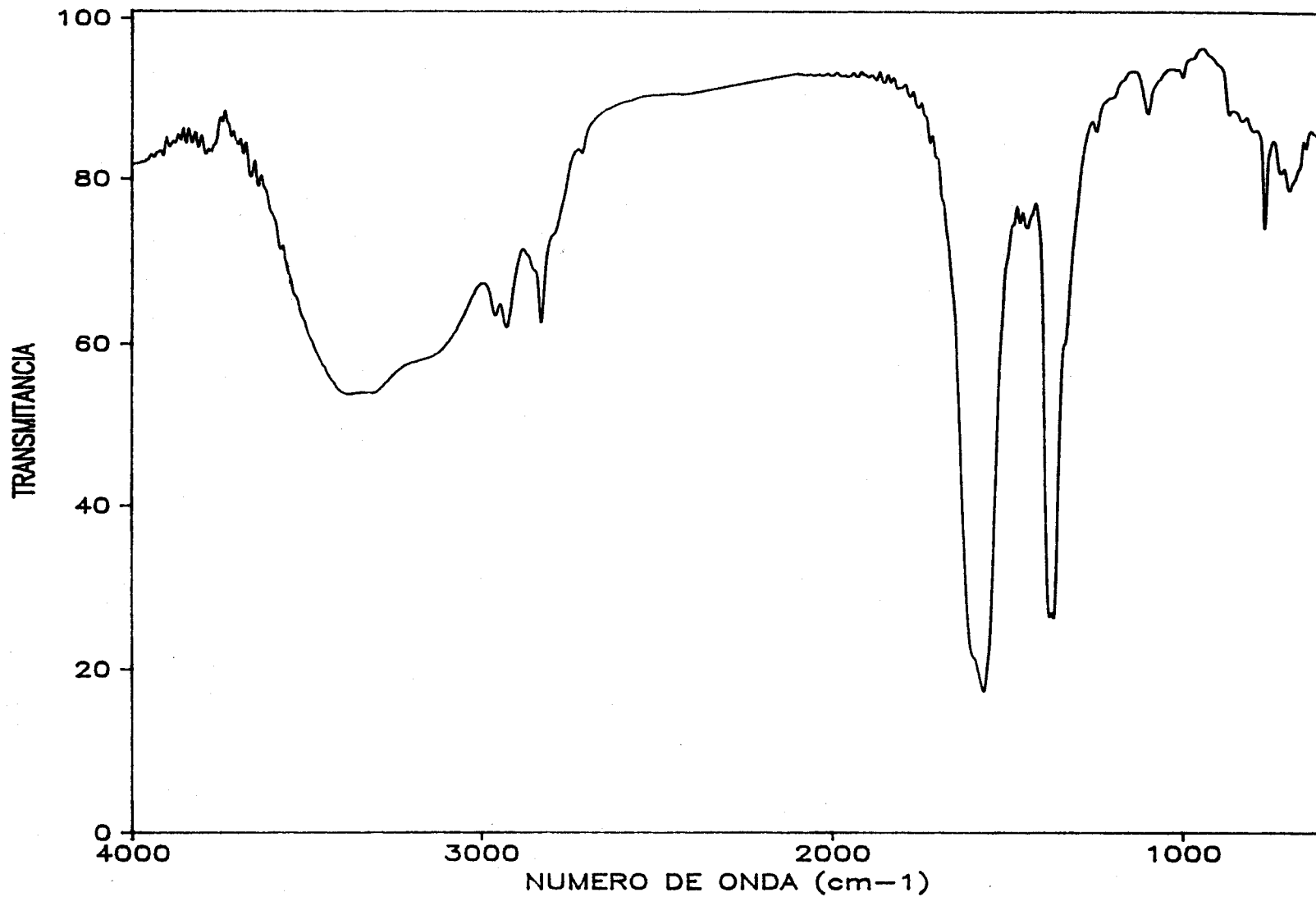
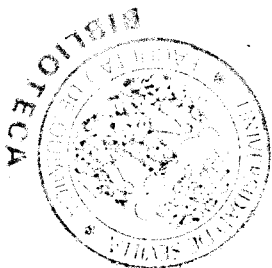


Figura 12. Espectro i.r. del compuesto 30 en pastilla de bromuro potásico.

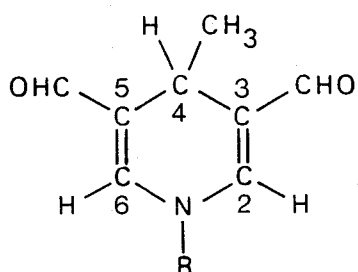


correspondiente a los carbonos C-1,1',1'' y 5, así como una única señal a  $\delta$  121.3-125.4 ppm que asignamos a C-2 y 4.

Las propiedades químicas de los compuestos 29 y 30, que comentamos a continuación, confirman las estructuras propuestas.

2.1.6. Propiedades químicas de los 2,4-dihidroxi-3-alquilglutaraldehydos

Los 2,4-dihidroxi-3-alquilglutaraldehydos descritos reaccionan muy fácilmente con aminas. Así, las reacciones de la sal sódica de 2,4-dihidroxi-3-metilglutaraldehído (22) con amoníaco o con las aminas alifáticas metilamina, *n*-butilamina y *ciclohexilamina* en solución acuosa, a pH 7-8 y temperatura ambiente (condiciones fisiológicas), llevaron a la formación de 4-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldehído (31, 16%), 1,4-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldehído (32, 55%), 1-*n*-butil-4-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldehído (33, 51%) y 1-*ciclohexil*-4-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldehído (34, 35%), respectivamente.



31 R= H

32 R= CH<sub>3</sub>

33 R= *n*-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>

34 R= *ciclo*-C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>

Las reacciones análogas con los amino azúcares 2-amino-2-desoxi-D-glucosa, β-D-glucopiranosilamina y 1-amino-1-desoxi-D-fructosa, también llevadas a cabo, se

describen en la sección 2.2.

Los compuestos 31 y 32 ya aparecen descritos en la literatura, obtenidos por otro procedimiento.<sup>59,60</sup> Los datos analíticos y espectroscópicos que hemos encontrado (Tablas II y III, PARTE EXPERIMENTAL) coinciden con los descritos. Los compuestos 33 y 34 también presentan datos analíticos coherentes con su estructura. Sus propiedades espectrales, que comentamos a continuación, son muy similares a las de sus homólogos inferiores 31 y 32.

Los compuestos 31-34 presentan un espectro u.v. característicos (Figura 13), con tres máximos de absorción en las regiones 233-239 nm, 256-267 nm y 385-402 nm. Esta última absorción es responsable de la fluorescencia que exhiben estos compuestos, con excitación a 400 nm y emisión a 465 nm, aproximadamente.

Los espectros i.r. (en la Figura 14 se muestra el espectro del compuesto 34) muestran las absorciones características a aproximadamente 1650-1670 (C=O) y a 1570  $\text{cm}^{-1}$  (C=C) que asignamos a la agrupación N—C=C—CH=O del heterociclo.

Los espectros de masas de 31-34 se caracterizan por tener un pico común de relación masa/carga (m/e) 136. Este pico corresponde a la pérdida, por parte del ion molecular, de los sustituyentes en las posiciones 1 y 4 del heterociclo, formándose un catión piridonio aromático muy estable. Por ello el pico a m/e 136 es el pico base en los espectros de estos compuestos.

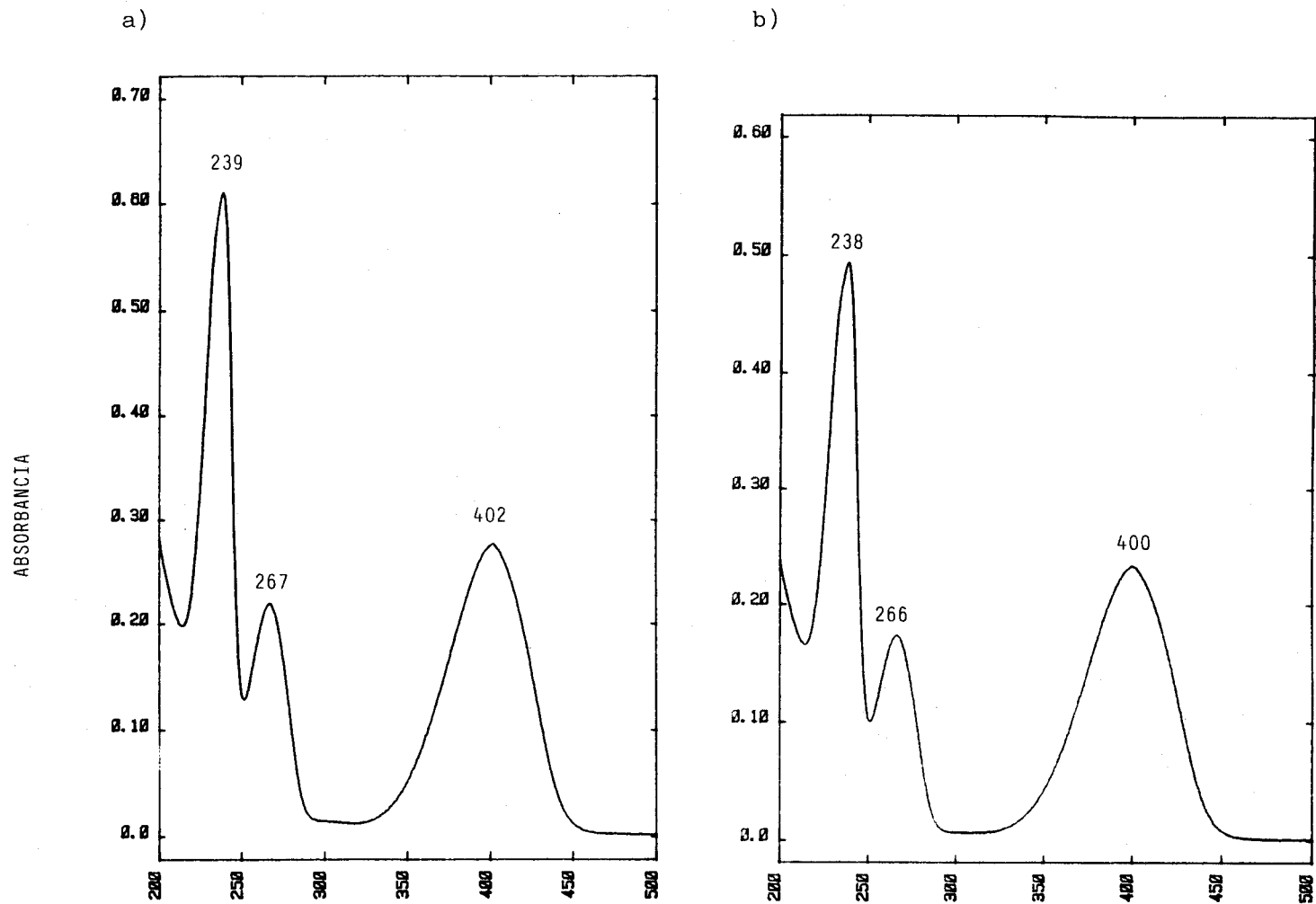


Figura 13. Espectros u.v. (agua) de los compuestos 34 (a) y 33 (b).

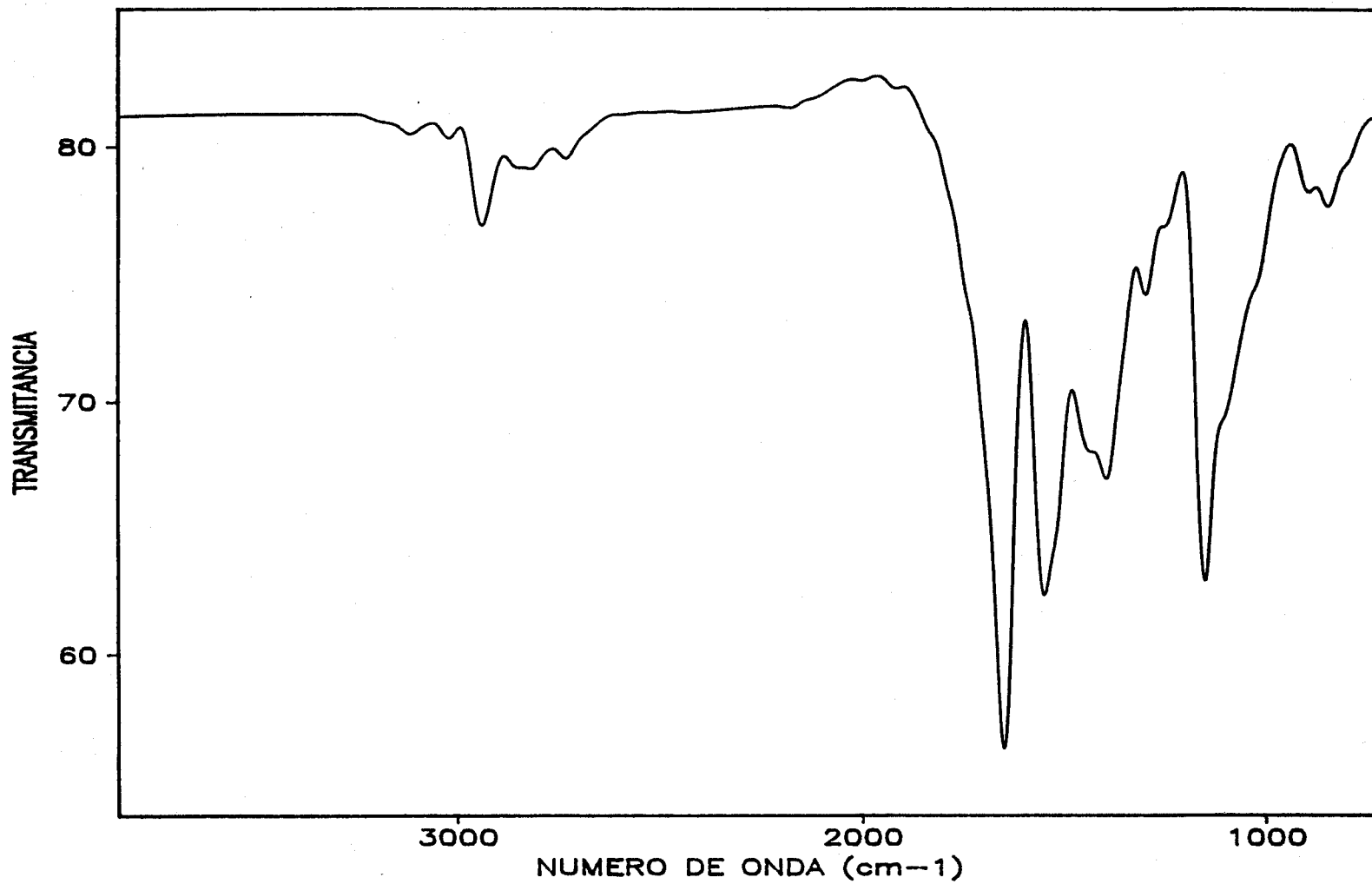


Figura 14. Espectro i.r. del compuesto 34 en pastilla de bromuro potásico.

Los espectros de r.m.n. (Tablas II y III) de estos compuestos son fáciles de interpretar. El ciclo de 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldhido es simétrico respecto al plano perpendicular al ciclo, y que contiene al N y a C-4. Esta simetría hace que los núcleos H-2 y H-6 sean equivalentes, así como los protones aldehídicos, apareciendo en los espectros de protones una única señal a  $\delta$  6.68-7.39 ppm correspondiente a H-2,6 y otra a  $\delta$  9.28-9.35 ppm, correspondiente a los protones aldehídicos. De igual forma, en los espectros de  $^{13}\text{C}$ , aparece una única señal correspondiente a cada una de las parejas de núcleos equivalentes C-2,6, C-3,5 y carbonilos de aldehido, a  $\delta$  144.6-146.2, 122.2-123.7 y 188.7-191.2 ppm, respectivamente. Es de destacar que H-4 aparece a campo muy bajo ( $\delta$  3.5-4.0 ppm) en el espectro de protones, y C-4 a campo muy alto ( $\delta$  20-25 ppm) en el espectro de  $^{13}\text{C}$ .

El tratamiento del compuesto 22 en disolución acuosa con la cantidad equimolar de ácido clorhídrico o con resina de intercambio iónico ácida (Dowex 50Wx8) condujo a la formación de un producto (2,4-dihidroximetilen-3-metilglutaraldehido, 24) de igual movilidad cromatográfica que el compuesto 22, pero que, a diferencia de éste, se extrae fácilmente con acetato de etilo (22 no es soluble en acetato de etilo, por su carácter salino). La concentración a sequedad, después del secado con sulfato sódico anhidro del extracto, rindió cuantitativamente el compuesto 24, en forma de un sirupo amarillento muy inestable que rápidamente se



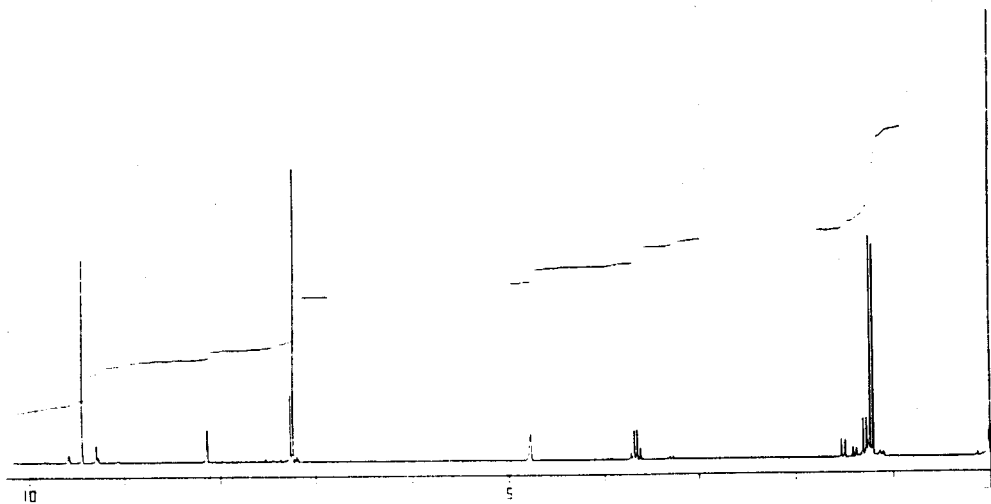
oscurece. El espectro de  $^1\text{H}$ -r.m.n. en deuteriocloroformo (Figura 15) mostró que el compuesto **24** existe en este disolvente en, al menos, cinco formas isómeras, según se deduce de la presencia de, al menos, cinco dobletes a  $\delta$  1.05 ( $J$  7.1 Hz), 1.15 ( $J$  6.7 Hz), 1.23 ( $J$  7.1 Hz), 1.33 ( $J$  7.1 Hz) y 1.45 ( $J$  7.6 Hz), de diferentes intensidades, asignables al metilo de la posición 3 de cinco isómeros de **24**. La existencia de estos isómeros es debida a la posibilidad de las diferentes conformaciones y configuraciones que pueden adoptar los dos restos de MDA. Admitiendo que el equilibrio prototrópico entre las dos posibles formas enólicas de los restos de MDA es rápido (en la escala de tiempo de la r.m.n.):



hay seis geometrías que deben ser distinguibles por sus espectros de r.m.n. (Figura 16).

Si el tratamiento ácido del compuesto **22** se realiza con la cantidad equimolar de cloruro de hidrógeno en éter, además del tetraaldehido **24**, se obtiene 4-metil-(4*H*)-pirano-3,5-dicarbaldehido (**35**, 51%), como un sólido cristalino. Un resultado similar se obtiene al acidificar con cloruro de hidrógeno en éter los compuestos **29** y **30**, obteniéndose, respectivamente, 4-*n*-propil-(4*H*)-pirano-3,5-dicarbaldehido (**36**, 54%) y 4-*n*-pentil-(4*H*)-pirano-3,5-dicarbaldehido (**37**, 45%). Los compuestos **35-37** provienen de la anhidrización de los tetraaldehidos del tipo **24**.

b)



a)

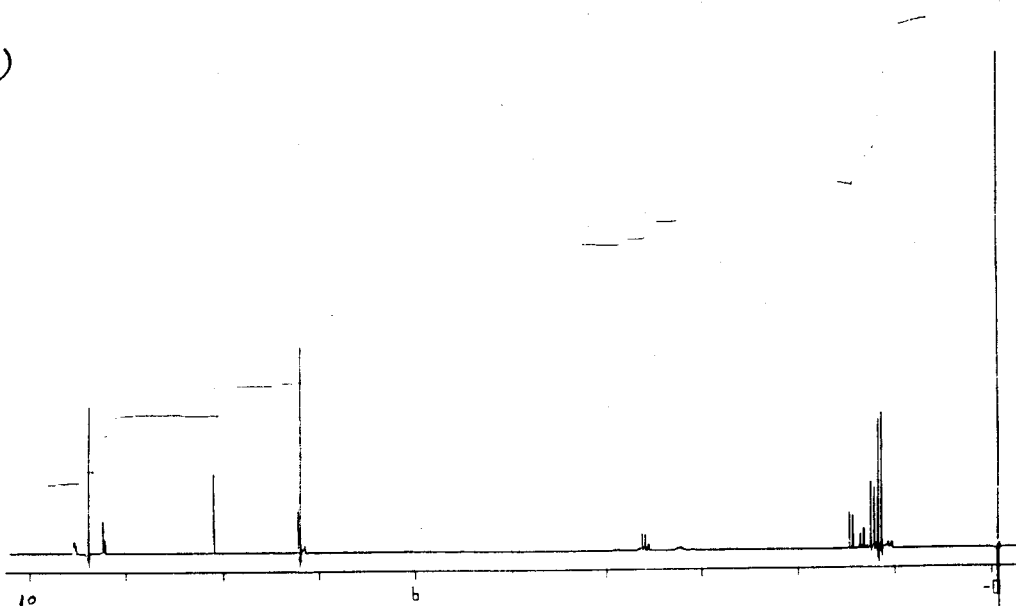
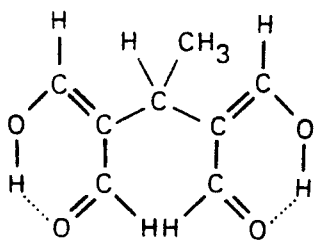
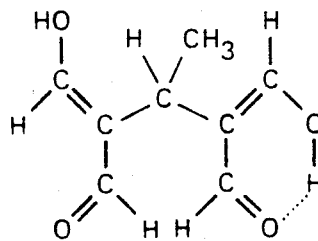


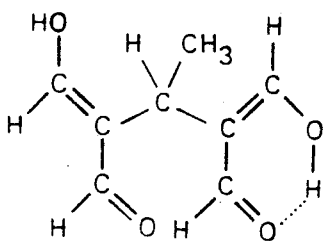
Figura 15. Espectro r.m.n. ( $\text{CDCl}_3$ ) del compuesto 24 : a) sin deuterar ; b) deuturado.



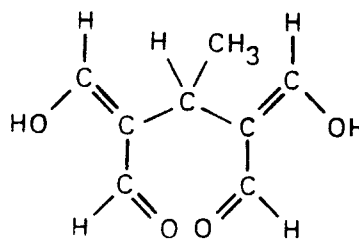
ZZ, ZZ



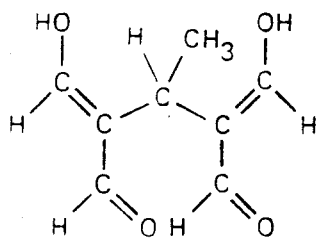
EZ, ZZ



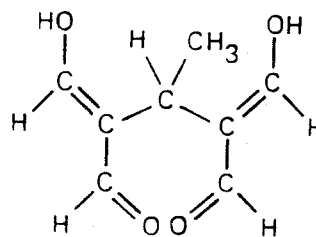
EE, ZZ



EZ, EZ

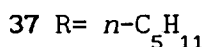
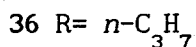
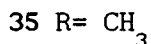
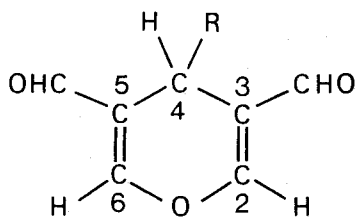


EE, EZ



EE, EE

Figura 16. Las parejas de símbolos E y Z se refieren a cada porción de MDA del compuesto 24, primero la izquierda, seguida de la derecha. El primer símbolo de cada pareja indica la conformación s-cis (Z) o s-trans (E) alrededor del enlace simple de las porciones de MDA; el segundo indica la configuración cis (Z) o trans (E) alrededor del enlace doble de dichas porciones.



Las estructuras de los nuevos compuestos 35-37 se han deducido de sus datos analíticos y espectroscópicos. Los espectros u.v. (Figura 17) de estos 4-alkil-(4H)-pirano-3,5-dicarbaldéidos recuerdan mucho a los de los 4-alkil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéidos (31-34), presentando tres máximos de absorción (metanol) a 212-213 nm ( $\epsilon$  11400-12300), 230 nm (hombro,  $\epsilon$  5600-6700) y a 295 nm ( $\epsilon$  5500-6000). La diferencia estriba en que los 4-alkil-(4H)-pirano-3,5-dicarbaldéidos 35-37 no son fluorescentes, mientras lo son fuertemente los 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéidos 31-34.

Los espectros i.r. de los compuestos 35-37 (Figura 18) carecen de absorciones a más de 3100 cm<sup>-1</sup>, característica de un grupo OH. Sí se observan absorciones a 1667-1669 (C=O) y 1605 cm<sup>-1</sup> (C=C), que asignamos al anillo de 4H-pirano-3,5-dicarbaldéido.

En los espectros de masas de 35-37 se aprecian los iones moleculares. En todos los espectros aparece un pico a

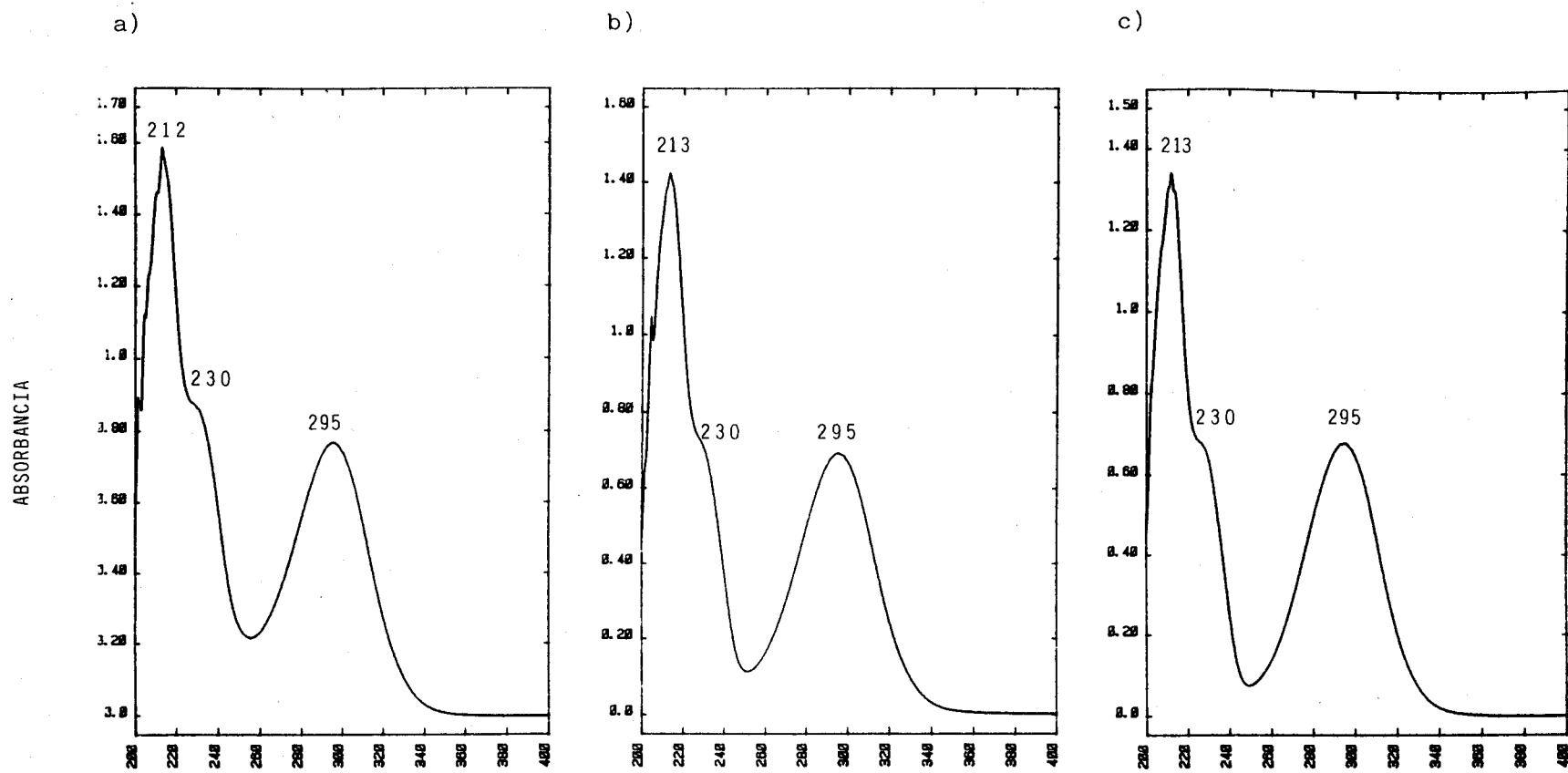


Figura 17. Espectros u.v. (metanol) de los compuestos 35 (a), 36 (b) y 37 (c).

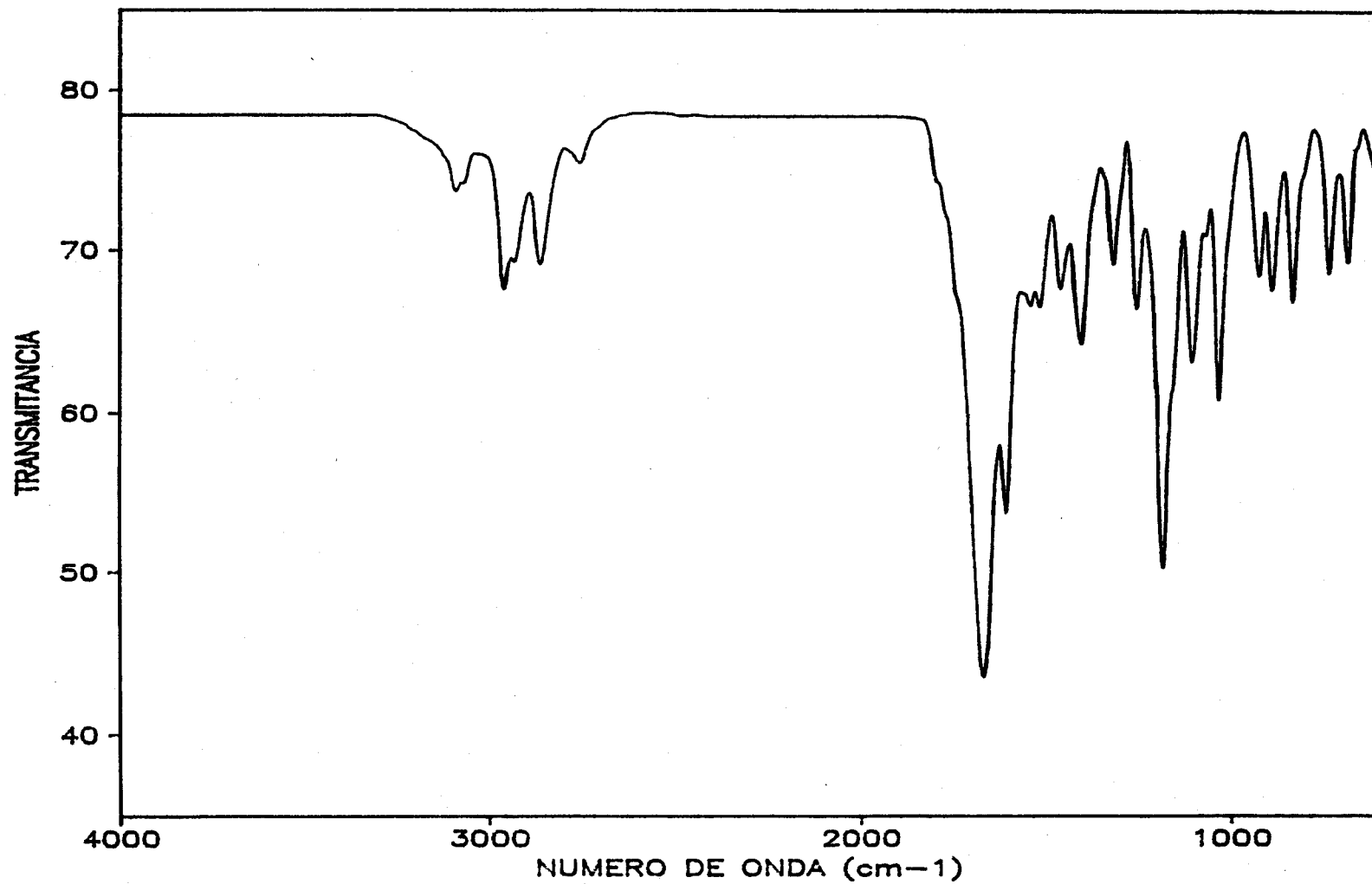


Figura 18. Espectro i.r. del compuesto 36 en pastilla de bromuro potásico.

m/e 137 que es el pico base y corresponde a la pérdida de la cadena alquílica por parte del ion molecular.

Los espectros de r.m.n. de 35-37 (Tabla IV) evidencian la simetría de las estructuras de estos compuestos. Así, en los espectros de protones, aparece una única señal correspondiente a la pareja H-2,6, a  $\delta$  7.15-7.33 ppm, y otra señal a  $\delta$  9.38-9.66 ppm correspondiente a los protones aldehídicos. En los espectros de  $^{13}\text{C}$  también se observa una única señal correspondiente a cada una las parejas de núcleos equivalentes C-2,6, C-3,5 y carbonilos de aldehído, a  $\delta$  157.4-157.8, 123.3-125.7 y 189.0-189.7 ppm, respectivamente.

Por último, los 2,4-dihidroxitileno-3-alkilglutaraldehydos 21, 22, 28, 29 y 30, así como el "quasi dímero" 23 dan reacción con TBA (Tabla V), con máximos de absorción a 532 nm. Estos resultados son una prueba de la existencia de porciones de MDA en las estructuras de estos compuestos, ya que es el MDA el responsable de la reacción con TBA. Por tanto, todos estos compuestos pueden interferir en el test del TBA para la estimación del MDA. Los "quasi dímero" (23), "quasi trímero" (28) y su dimetil acetal (21), que contienen un grupo aldehído extra en sus estructuras, presentan además absorción a 626 nm. En la Figura 19 se muestran los espectros u.v. de los test de TBA para los compuestos 22 y 28.

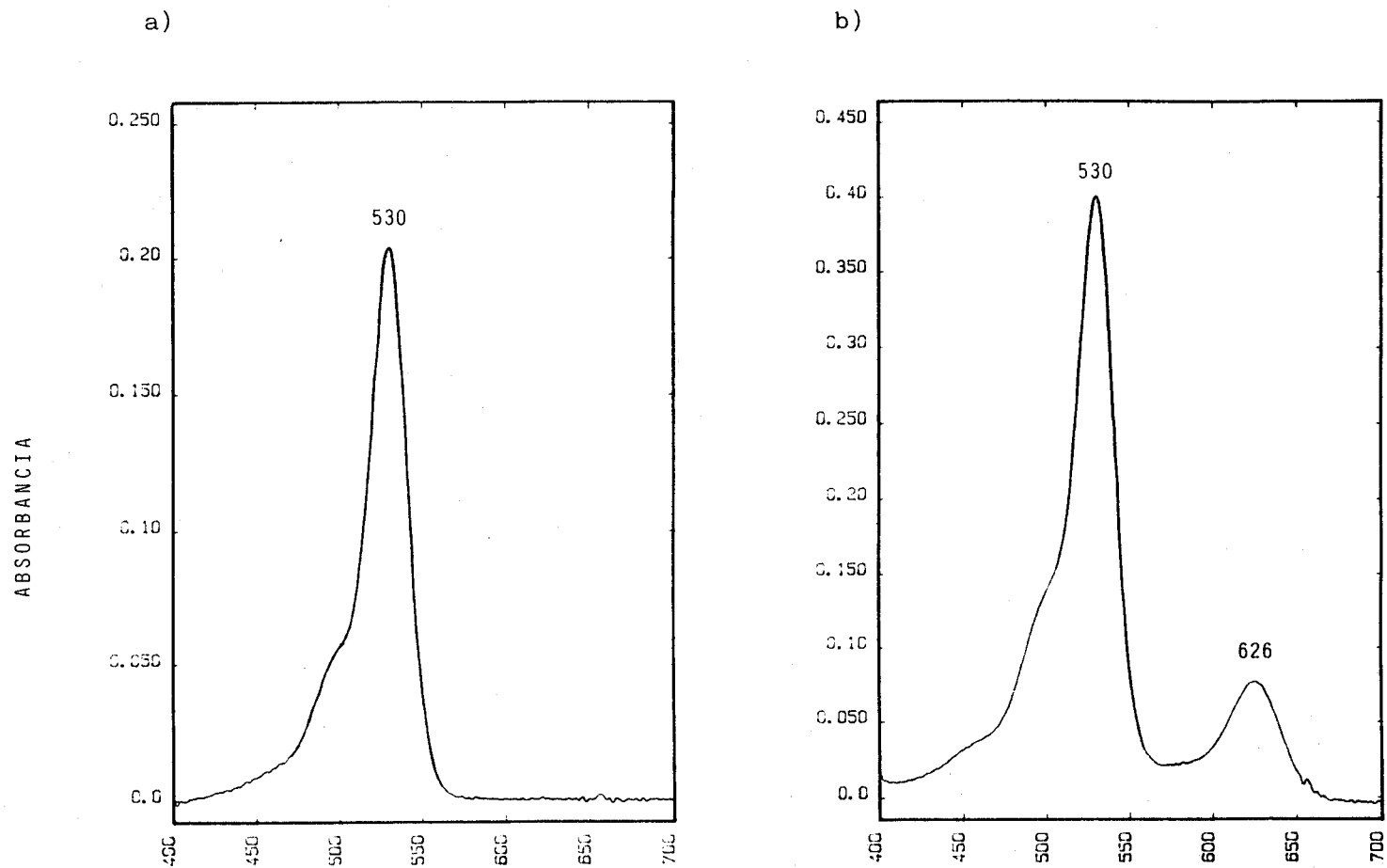


Figura 19. Espectros u.v. del test del TBA para los compuestos 22 (a) y 28 (b).



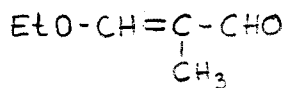
## 2.2. Reacciones de amino azúcares con malondialdehído y metilmalondialdehído

En esta sección se estudia la reactividad del MDA frente a los amino azúcares. Se han ensayado las reacciones de MDA con 2-amino-2-desoxi-D-glucosa,  $\beta$ -D-glucopiranosilamina, 1-amino-1-desoxi-D-fructosa y 1-(n-butilamina)-1-desoxi-D-fructosa. La elección de estos amino azúcares se ha realizado teniendo en cuenta que, en los primeros estadios de la reacción de oscurecimiento no enzimático (reacción de Maillard), los amino ácidos reaccionan con los azúcares reductores para dar glicosilamino ácidos. Por esta razón se ha elegido la  $\beta$ -D-glucopiranosilamina, como el representante más sencillo de las glicosilaminas. Los glicosilamino ácidos sufren posteriormente un reordenamiento de Amadori, y se convierten en (1-desoxi-D-fructos-1-il)amino ácidos. Por ello se ha elegido la 1-amino-1-desoxi-D-fructosa, el producto de reordenamiento de Amadori de la  $\beta$ -D-glucopiranosilamina. Se ha estudiado también la 1-(n-butilamina)-1-desoxi-D-fructosa como un modelo más próximo a los (1-desoxi-D-fructos-1-il)-amino ácidos. Por último, se ha elegido la 2-amino-2-desoxi-D-glucosa por ser el amino azúcar mejor conocido y de más fácil manejo, cuyo comportamiento nos ha ayudado a esclarecer la reactividad de los amino azúcares antes mencionados.

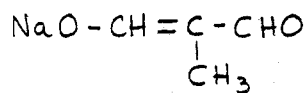
Asimismo, con el propósito de ayudar a comprender las formas de reacción del MDA con los amino azúcares, hemos

usado también el metilmalondialdehido (MMDA). El MMDA es más estable que el MDA y no experimenta las reacciones de polimerización que sufre el MDA.

Como fuente de MDA hemos usado su sal sódica (NaMDA, 14), mientras que los precursores de MMDA usados han sido tanto el 3-etoxi-2-metil-2-propenal (EMP, 36), el éter etílico de su forma enólica, como su sal sódica (NaMMDA, 37).



36

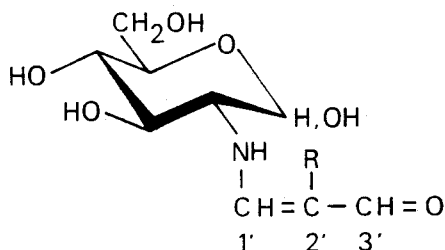


37

Comenzamos con el estudio de las reacciones con la 2-amino-2-desoxi-D-glucosa.

2.2.1. Reacciones de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa con malondialdehído y metilmalondialdehído

El clorhidrato de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa reacciona con la cantidad equimolar de NaMDA y de NaMMDA en agua (pH 7) a temperatura ambiente, para dar 2-desoxi-2-[(3-oxo-1-propen-1-il)amino]- $\alpha, \beta$ -D-glucopiranososa (**40**, 70%) y 2-desoxi-2-[(2-metil-3-oxo-1-propen-1-il)amino]- $\alpha, \beta$ -D-glucopiranososa (**41**, 65%), respectivamente.\*



**40** R= H

**41** R= CH<sub>3</sub>

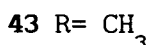
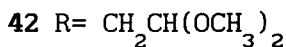
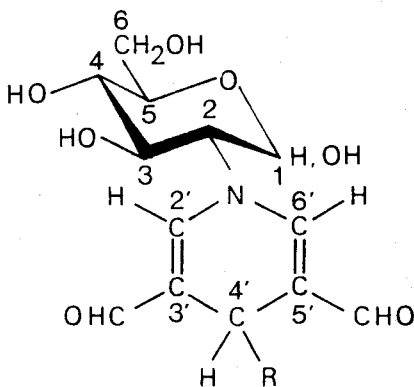
El compuesto **40** es un sólido blanco microcristalino (p.f. 179-181°C), estable al aire.

El compuesto **41** se obtiene como una mezcla de dos formas cristalinas (puntos de fusión 195-196°C y 202-203°C), probablemente correspondientes a las dos formas anoméricas,  $\alpha$  y  $\beta$ .

---

\* A partir de esta sección, para simplificar la nomenclatura, nos referiremos a los compuestos con agrupaciones  $-\text{N}(\text{R})-\text{CH}=\text{C}(\text{R}')-\text{CH}=\text{O}$ , por ejemplo **40** y **41**, con el nombre genérico de enaminales.

Si la NaMDA usada en la reacción no está recristalizada dos veces al menos, contiene pequeñas cantidades de los compuestos 21 y 22. La reacción de estas preparaciones "crudas" de NaMDA con el clorhidrato de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa, produce, además del compuesto 40, pequeñas cantidades de la 2-desoxi-2-[3,5-diformil-4-(2,2-dimetoxietil)-1,4-dihidropiridin-1-il]- $\alpha,\beta$ -D-glucopiranososa (42) y la 2-desoxi-2-(3,5-diformil-4-metil-1,4-dihidropiridin-1-il)- $\alpha,\beta$ -D-glucopiranososa (43). Estos nuevos compuestos son 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéidos y se obtienen con gran facilidad y buenos rendimientos (43% de 42 y 47% de 43) tratando el clorhidrato de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa con los compuestos 2,4-dihidroximetilén-3-(2,2-dimetoxietil)-glutaraldehído (21) y 2,4-dihidroximetilén-3-metil-glutaraldehído (22), respectivamente.



Las estructuras de los enaminales 40 y 41 se establecieron en base a sus datos analíticos y

espectroscópicos. Los análisis elementales dieron fórmulas moleculares correspondientes a los compuestos **40** y **41**.

Ambos compuestos tienen espectros u.v. con máximos de absorción a 279 nm ( $\epsilon$  20640, **40**) y 284 nm ( $\epsilon$  42470, **41**) similares a los presentados por 3-(alquilamino)-2-propenales derivados de aminas y amino ácidos ( $\lambda$  272-286 nm,  $\epsilon$  22000-40000 en el caso de **40**;  $\lambda$  285-290 nm,  $\epsilon$  32000-37000 en el caso de **41**).<sup>51,59,61</sup> Los espectros i.r. presentan bandas que se asignan a las agrupaciones N—H (3500-3100  $\text{cm}^{-1}$ ), C=O (1662-1658  $\text{cm}^{-1}$ ) y C=C (1598-1592  $\text{cm}^{-1}$ ), previsibles<sup>62</sup> para la estructura deslocalizada  $\text{NH}-\overset{+}{\text{C}}=\overset{-}{\text{C}}-\text{CH}=\text{O} \leftrightarrow \text{NH}=\overset{+}{\text{C}}-\overset{-}{\text{C}}=\text{CH}-\text{O}$ .

El compuesto **40** puede existir, en principio, en varias formas isómeras, debido a la posibilidad de isomería geométrica en el grupo  $\overset{1'}{\text{NH}}-\overset{2'}{\text{CH}}=\overset{3'}{\text{CH}}-\text{CH}=\text{O}$ , y a las diferentes formas tautoméricas (anomería  $\alpha$  o  $\beta$ ) que puede tener la parte de azúcar. La deslocalización del sistema electrónico  $\overset{+}{\text{N}}-\overset{1'}{\text{C}}-\overset{2'}{\text{C}}-\overset{3'}{\text{C}}-\overset{-}{\text{O}}$  hace que haya rotaciones restringidas alrededor de los enlaces formales simple N—C-1', doble C-1'=C-2' y simple C-2'—C-3'. El número teórico de isómeros posibles en este grupo es ocho ( $2^3$ ). Considerando la anomería del azúcar el número total de isómeros posibles es de dieciséis. Los distintos isómeros geométricos de la agrupación  $\overset{1'}{\text{NH}}-\overset{2'}{\text{CH}}=\overset{3'}{\text{CH}}-\text{CH}=\text{O}$  deben distinguirse por la constante de acoplamiento entre los protones H-1', H-2', H-3' y entre H-1' y el protón amínico. También pueden distinguirse por los desplazamientos químicos de los carbonos C-1', C-2' y C-3'.

Las formas anoméricas del azúcar se pueden diferenciar gracias a la constante de acoplamiento entre los protones de azúcar H-1 y H-2.

Los espectros de r.m.n. (Tablas VI y VII) del enaminal **40** en agua deuterada revelan que existe, en disolución acuosa, como una mezcla en equilibrio de cuatro formas isómeras. Los valores de constante de acoplamiento para el grupo  $\overset{1'}{\text{C}}=\overset{2'}{\text{C}}-\overset{3'}{\text{C}}=\text{O}$  ( $J_{1',2'}$ , 12.3-12.7 Hz y  $J_{2',3'}$ , 9.1-9.6 Hz) muestran, por analogía con los observados en los enaminales similares derivados de amino ácidos,<sup>51</sup> una geometría *trans,s-trans* (EE) para los enlaces C-1' = C-2' y C-2' - C-3' en los cuatro isómeros observados (Figura 20). Consecuentemente, los isómeros deben diferir en la configuración anomérica del azúcar y en la geometría *s-cis* (Z) o *s-trans* (E) del enlace N-C-1'.

Los anómeros  $\alpha$  de **40** con las geometrías ZEE y EEE tienen los mismos valores de desplazamiento químico de todos los protones de azúcar, y la configuración  $\alpha$  se dedujo del valor de la constante de acoplamiento  $J_{1,2}$  (3.5 Hz). Por el contrario, los anómeros  $\beta$ , con geometrías ZEE y EEE, difieren en el desplazamiento químico de H-1, pero tienen la misma  $J_{1,2}$  (8.3 Hz). El espectro de r.m.n. de  $^{13}\text{C}$  del compuesto **40** mostró cuatro señales correspondientes a los carbonos anoméricos, cuyos desplazamientos químicos ( $\delta$  91.6, 92.9, 96.1 y 97.3 ppm) indicaron una mezcla de dos pares de anómeros  $\alpha$  ( $\delta$  91.6 y 92.9 ppm) y  $\beta$  (96.1 y 97.3 ppm). La integración de los espectros indicó que las concentraciones

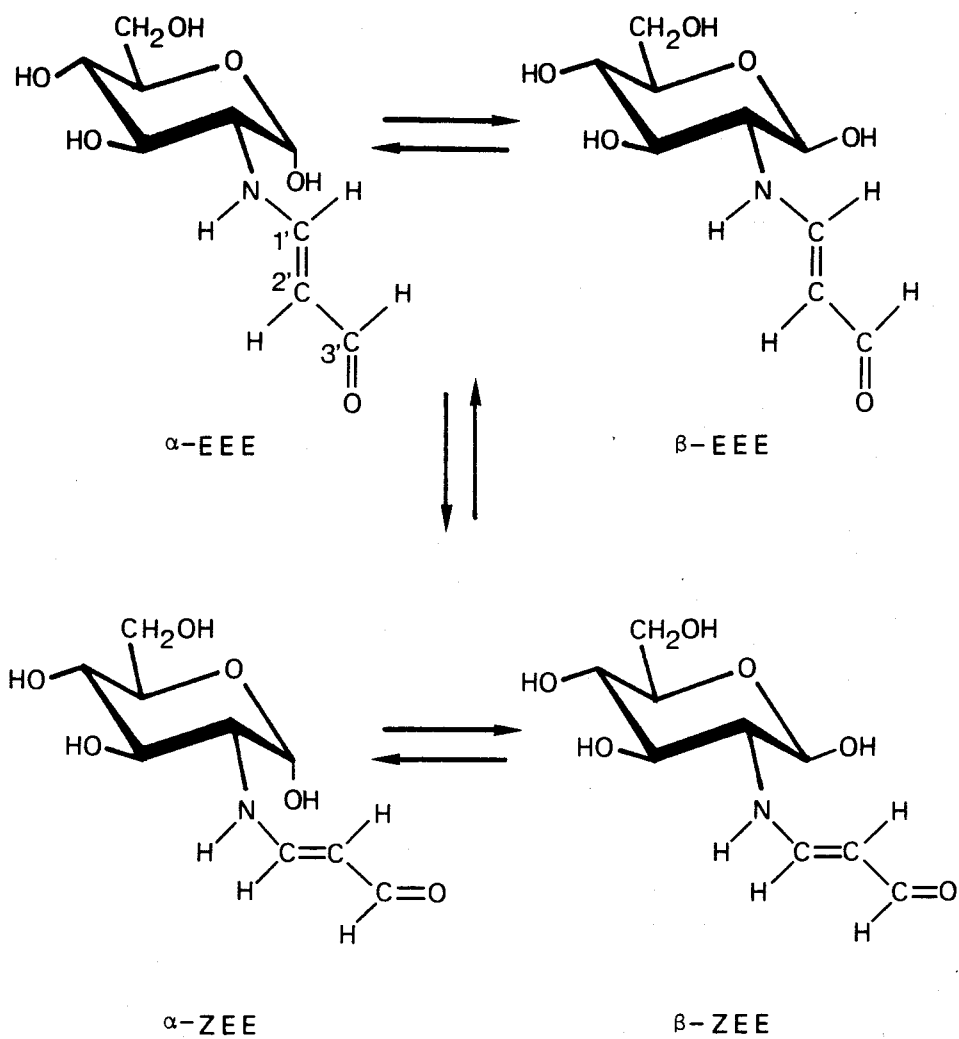


Figura 20. Equilibrio isomérico del compuesto 40. Los símbolos E y Z indican la geometría en torno a los enlaces N—C-1', C-1'—C-2' y C-2'—C-3'.

de los isómeros  $\alpha$ -EEE,  $\alpha$ -ZEE,  $\beta$ -ZEE y  $\beta$ -EEE estaban en una relación de aproximadamente 4:3:4:2.

La distinción entre los isómeros  $\alpha, \beta$ -ZEE y  $\alpha, \beta$ -EEE no pudo realizarse en base a la constante  $J_{NH,1}$ , ya que, en agua deuterada, este acoplamiento se pierde. La asignación de las señales correspondientes a cada isómero se hizo, no obstante, en base a los efectos  $\gamma$ -desapantallante<sup>63</sup> que el resto de azúcar puede ejercer sobre H-2', y  $\gamma$ -apantallante<sup>64</sup> sobre C-2', en los isómeros ZEE. Así, los valores de desplazamiento químico de H-2' más altos ( $\delta$  5.44 y 5.47 ppm) se asignaron, respectivamente, a los isómeros  $\alpha$ -ZEE y  $\beta$ -ZEE y los valores más bajos a los isómeros  $\alpha$ -EEE y  $\beta$ -EEE ( $\delta$  5.39 ppm en ambos). De forma análoga se asignan a los isómeros  $\alpha$ -ZEE y  $\beta$ -ZEE los valores de desplazamiento químico de C-2' más bajos ( $\delta$  101.7 y 102.2 ppm, respectivamente), y los valores más altos ( $\delta$  103.8 y 103.6 ppm) a los isómeros  $\alpha$ -EEE y  $\beta$ -EEE.

La rotación restringida alrededor del enlace N—C-1' también afecta a los valores de C-1' y C-3', así como a los carbonos de azúcar C-1 y C-2. El paso de la geometría ZEE a la EEE conlleva un aumento de  $2.9 \pm 0.6$  ppm en el  $\delta$  de C-1', así como una disminución de  $1.15 \pm 0.15$  ppm en el  $\delta$  de C-3'. En el caso de los carbonos de azúcar, el  $\delta$  de C-1 aumenta en 1.3 ppm para el anómero  $\alpha$  y disminuye en 1.2 ppm en el anómero  $\beta$ , y el  $\delta$  de C-2 aumenta en  $5.6 \pm 0.2$  ppm en ambos anómeros.

El análisis de los espectros de r.m.n. de la



2-desoxi-2-[(2-metil-3-oxo-1-propen-1-il)amino]- $\alpha, \beta$ -D-glucopiranososa (**41**, Tablas VI y VII) muestra la presencia de los anómeros  $\alpha$  y  $\beta$  en la relación aproximada 2:3, ambos probablemente con la misma geometría alrededor del enlace N—C-1'. Resulta razonable admitir, por analogía con el compuesto **40**, que el grupo  $\text{—CH}=\overset{1'}{\text{C}}(\overset{2'}{\text{CH}_3})\text{—}\overset{3'}{\text{CH}}=\text{O}$  adopta la geometría *EE* en los enlaces C-1' = C-2' y C-2' — C-3', en solución acuosa. También es razonable admitir una geometría *E* preferente en el enlace N—C-1', puesto que la geometría *Z* estaría impedida estéricamente por el metilo situado en C-2'.

Un dato que apoya esta estructura es la coincidencia entre los valores de los desplazamientos químicos de C-1 y C-2 en los anómeros  $\alpha$  ( $\delta$  93.1 y 65.0 ppm) y  $\beta$  ( $\delta$  96.1 y 68.1 ppm) de **41** y los valores correspondientes a los isómeros  $\alpha$ -*EEE* ( $\delta$  92.9 y 65.1 ppm) y  $\beta$ -*EEE* ( $\delta$  96.1 y 67.7 ppm) del compuesto **40**. Los carbonos C-1 y C-2 de los isómeros  $\alpha$ -*ZEE* y  $\beta$ -*ZEE* del compuesto **40** tienen valores de  $\delta$  91.6 y 59.3 ppm, y  $\delta$  97.3 y 62.3 ppm, respectivamente. Un segundo dato a favor de la geometría *EEE* lo constituye el análisis de los espectros de r.m.n. del compuesto modelo de **41**, el 3-ciclohexilamino-2-metil-2-propenal (**44**), que hemos obtenido (55%) por reacción de ciclohexilamina con EMP en etanol. Los espectros de r.m.n. (en deuterocloroformo, Figuras 21 y 22) de este compuesto indican la existencia de un único isómero. La geometría alrededor de C-1' = C-2' y C-2' — C-3' debe ser también *EE* por razones estéricas. En este caso, además, la geometría alrededor del enlace N—C-1' queda determinada

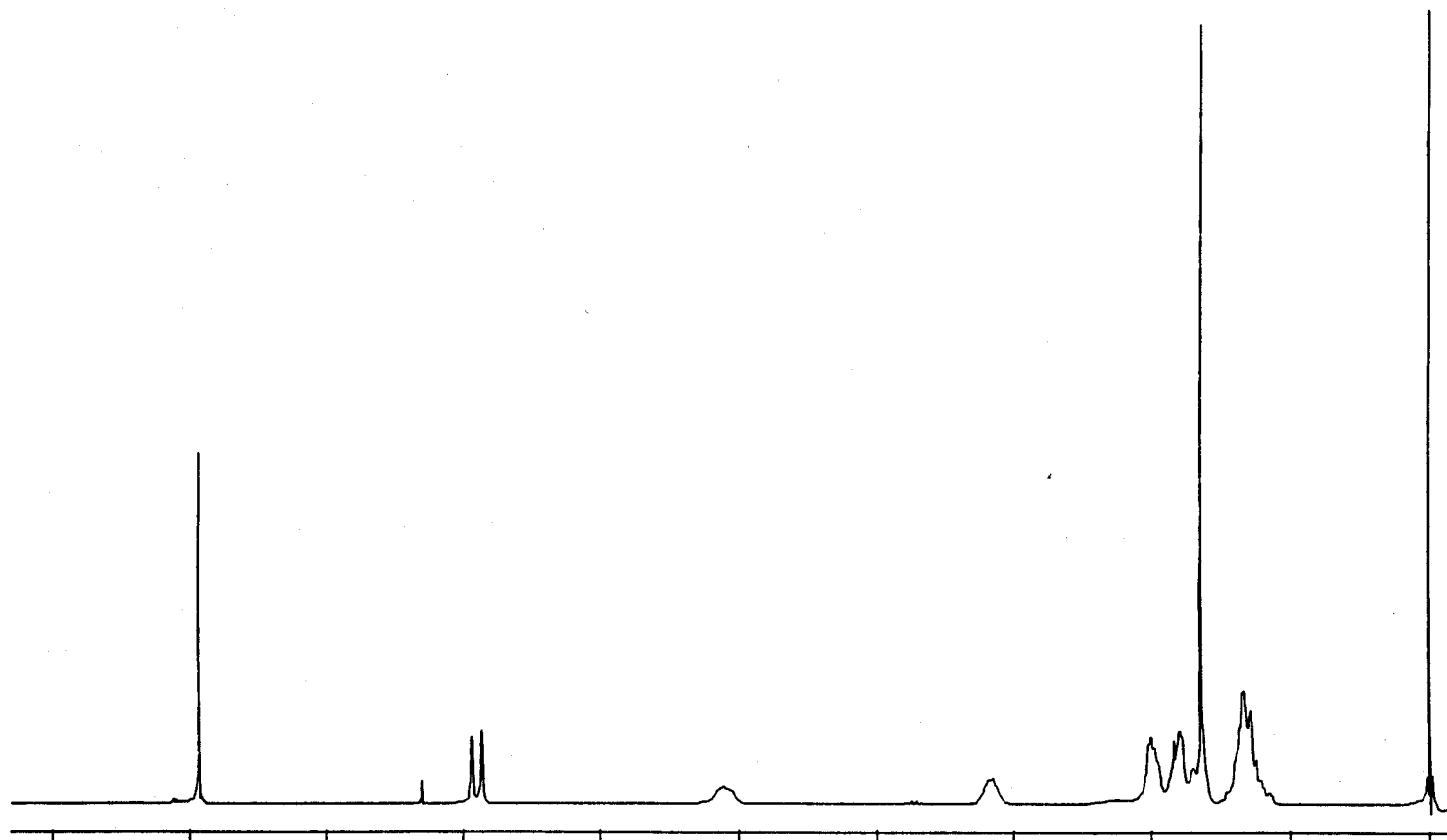


Figura 21. Espectro de r.m.n. de protones (deuteriocloroformo) del compuesto 44.

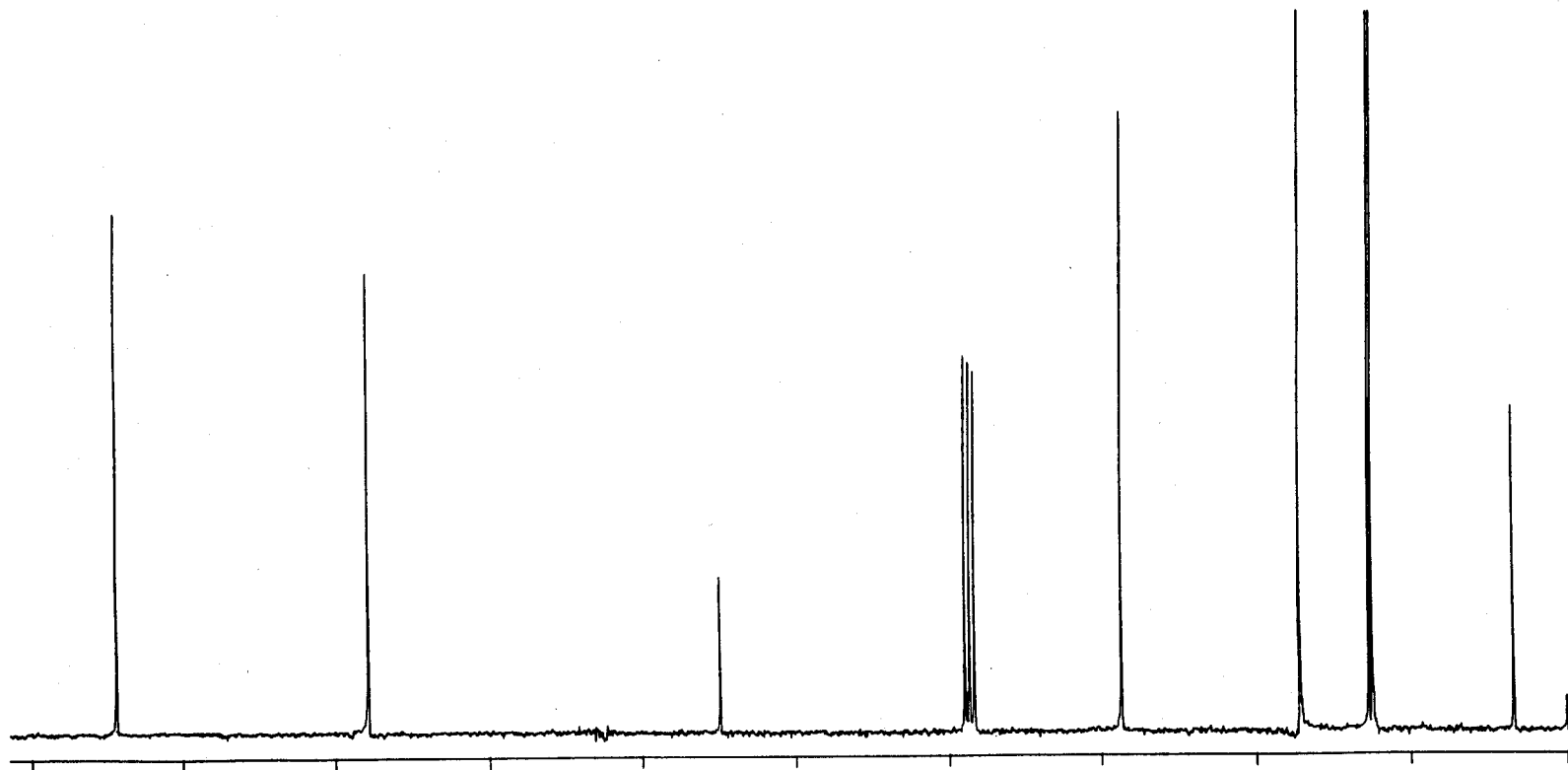
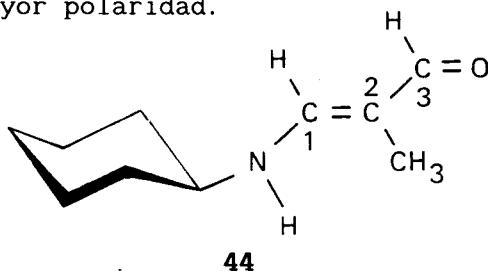


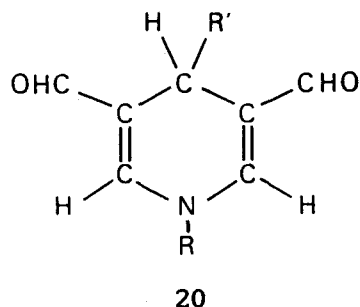
Figura 22. Espectro de r.m.n. de  $^{13}\text{C}$  (deuteriocloroformo) del compuesto 44.

inequívocamente gracias al valor de la constante de acoplamiento  $J_{\text{NH},1'}$  (14.0 Hz), que corresponde a una disposición *s-trans* (*E*) de los protones amínico y H-1'. La geometría *EEE* deducida para el compuesto **44** es la más extendida que puede adoptar y, por tanto, la de mayor momento dipolar. Si es la única existente en un disolvente apolar (deuteriocloroformo), también debe serlo en agua deuterada, que debe estabilizar el dipolo de forma más efectiva. Por razones de analogía, el compuesto **41** existirá muy probablemente también, en solución acuosa, como una mezcla en equilibrio de los anómeros  $\alpha$  y  $\beta$  de la forma *EEE*, más extendida y de mayor polaridad.



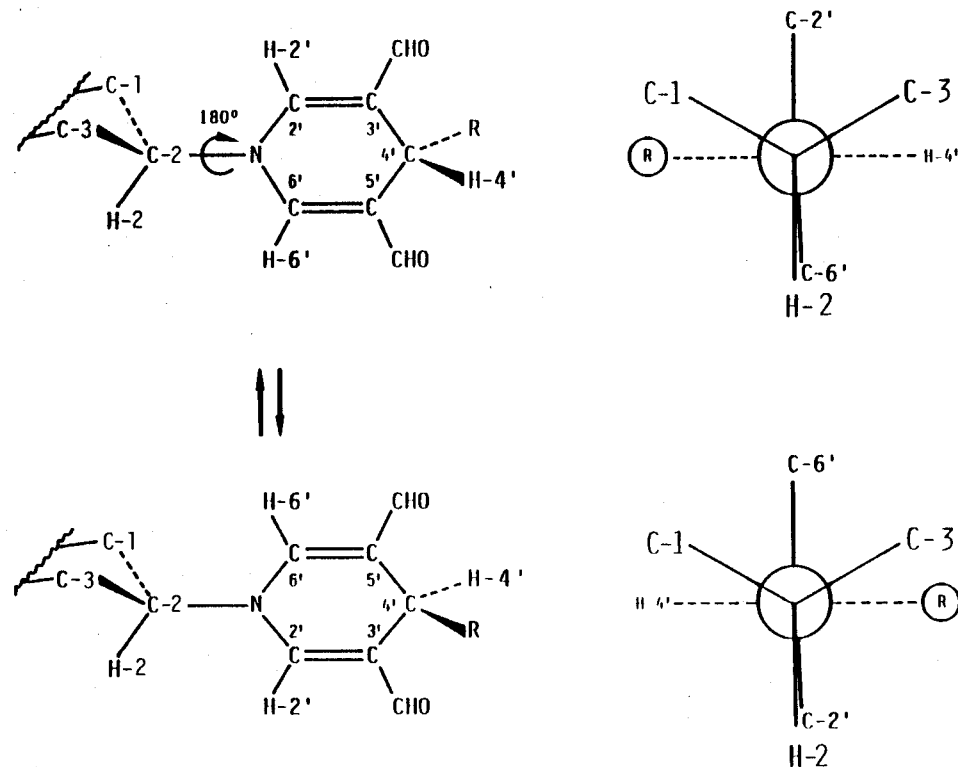
Las estructuras de las 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhdos **42** y **43** fueron también deducidas de sus datos analíticos y espectroscópicos. Estos compuestos tienen unas absorciones u.v. y visible a 237 ( $\epsilon$  14000-16000), 264-265 ( $\epsilon$  7000-9500) y 385-389 nm ( $\epsilon$  8900-9000), y unas propiedades fluorescentes, con excitación a 380-389 nm y emisión a 448-465 nm (IRM 0.5-0.7), similares a las de los 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhdos (**20**) derivados de aminas alifáticas primarias y amino ácidos,<sup>30,57,60</sup> así como a las propiedades de los también 1,4-dihidropiridina-3,5-

dicarbaldehidos **31-34**, similares estructuralmente, y que se han descrito en la sección 2.1.6. Sus espectros i.r. muestran bandas a 1666 (C=O) y 1575  $\text{cm}^{-1}$  (C=C), atribuibles<sup>62</sup> al grupo N—C=C—CH=O.



Sus espectros de r.m.n. de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  (Tablas VIII y IX) indican la existencia de mezclas de anómeros  $\alpha$  y  $\beta$  en relación 2:3 en el caso de **42** y 1:2 en el compuesto **43**. El protón anomérico, H-1, para los anómeros  $\alpha$  tiene un desplazamiento químico de  $\delta$  5.40 ppm en **42** y de  $\delta$  5.33 ppm en **43**, siendo la constante de acoplamiento  $J_{1,2}$  de 3.2 Hz en ambos compuestos. En el caso de los anómeros  $\beta$ , H-1 resuena a  $\delta$  5.00 ppm, y  $J_{1,2}$  tiene un valor de 8.4 Hz, en ambos compuestos. Es interesante destacar que los espectros de r.m.n. de protones de las porciones de 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldehido de los compuestos **42** y **43** contienen señales ligeramente separadas correspondientes a los protones H-2' y H-6', así como a los protones de los grupos aldehído de las posiciones 3' y 5'. De forma similar, los espectros de  $^{13}\text{C}$  contienen señales separadas correspondientes a las parejas de núcleos C-2',6', C-3',5' y los grupos CHO de las posiciones 3' y 5'. La no equivalencia magnética de los

núcleos de cada una de estas parejas, que son simétricas con respecto al plano perpendicular al anillo de 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldhído y que contiene a H-4' y al grupo sustituyente en C-4', se considera debida a la quiralidad del azúcar en la posición 1' y a la presencia del sustituyente en 4'. En las diferentes conformaciones alrededor del enlace C-2—N, los núcleos de cada pareja son siempre no equivalentes (Figura 23) ya que, aunque intercambian sus posiciones, no tienen idénticos entornos químicos debido a la presencia del sustituyente en 4'.



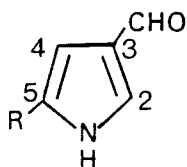
42 R =  $\text{CH}_2\text{-CH(OMe)}_2$

43 R =  $\text{CH}_3$

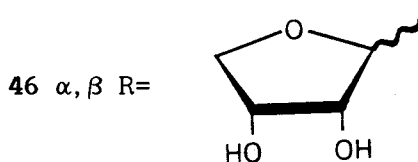
Figura 23. Perspectiva parcial y proyección de Newman de los compuestos 42 y 43, mostrando la no equivalencia magnética de los núcleos de las parejas H-2',6', C-2',6', C-3',5', y los grupos CHO. Los núcleos de estas parejas intercambian posiciones por una rotación de 180°, pero no tienen el mismo entorno magnético debido a la presencia del sustituyente en la posición 4'.

2.2.2. Formación de compuestos pirrólicos por ciclación de la 2-desoxi-2-[(3-oxo-1-propen-1-il)amino]- $\alpha,\beta$ -D-glucopiranososa (40)

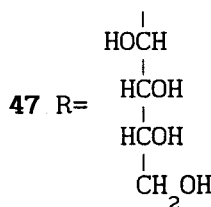
Cuando se calienta una solución acuosa de clorhidrato de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa y NaMDA en proporción 1:1, se forma una mezcla que contiene el enaminal **40** y pequeñas cantidades de varios pirroles: el 3-pirrolcarbaldehido (**45**), los anómeros  $\alpha$  y  $\beta$  del 5-(D-eritrofuranosil)-3-pirrolcarbaldehido (**46**  $\alpha,\beta$ ) y el 5-(D-arabino-tetritol-1-il)-3-pirrolcarbaldehido (**47**). Estos pirroles se forman igualmente al calentar una solución acuosa de **40**.



**45** R= H



**46**  $\alpha,\beta$  R=



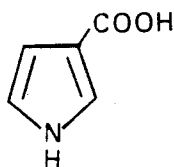
**47** R=

El rendimiento de los pirroles **45-47** aumentó al hacerlo el pH del medio de reacción. El mejor rendimiento se



obtuvo (c.c.f. y  $^1\text{H}$ -r.m.n.) al calentar a  $90^\circ$  durante 1 hora a pH 9. El seguimiento espectroscópico ( $^1\text{H}$ -r.m.n.) de la reacción en estas condiciones, indicó que la transformación del enaminal intermedio (40) fue completa y que los pirroles 45, 46  $\alpha,\beta$  y 47 se forman en la relación aproximada de 3:1:2. Estos 3-pirrolcarbaldehidos, particularmente 45, son inestables y se oscurecen durante su almacenamiento. Por esta causa, su aislamiento y purificación sólo pudo efectuarse, con dificultad, por cromatografía en columna, seguida de c.c.f. preparativa, siendo bajos los rendimientos obtenidos (ver PARTE EXPERIMENTAL).

Las estructuras de los pirroles 45-47 fueron establecidas a partir de sus datos analíticos y espectroscópicos. Los compuestos 46 $\alpha\beta$  y 47 dieron análisis correctos para las estructuras propuestas. El 3-pirrolcarbaldehido (45) fue además caracterizado por su conversión, por oxidación con óxido de plata, en ácido 3-pirrolcarboxílico (48), un compuesto conocido.<sup>65</sup>

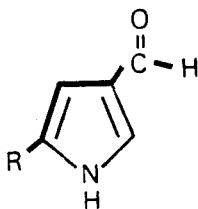


48

Los espectros u.v. de los compuestos 45-47 en metanol tienen un máximo sobre 245-247 nm ( $\epsilon$  5090-9780) y un hombro sobre 271 nm ( $\epsilon$  2370-6030), siendo similares al del

conocido 3-pirrolcarbaldehido [246 ( $\epsilon$  8800) y 266 nm (h,  $\epsilon$  7330)].<sup>65</sup> El espectro de masas del compuesto **45** mostró el pico correspondiente al ion molecular (m/e 95) que es además el pico base del espectro. La relación m/e del ion molecular, medida en alta resolución, es de 95.0345, siendo 95.1030 la calculada para la fórmula  $C_5H_5NO$ . El espectro i.r. del 5-(D-arabino-tetritol-1-il)-3-pirrolcarbaldehido (**47**) presenta bandas de absorción a 3500-3200 (NH, OH), 1647 (C=O) y  $1524\text{ cm}^{-1}$  (C=C de pirrol).

Los datos de r.m.n. de protones en agua deuterada (Tabla X) de los compuestos **45-47** indican que existe un acoplamiento de largo alcance entre H-2 y H-4 ( ${}^4J_{2,4}$  1.8 Hz), lo que es posible puesto que el camino entre estos dos protones, separados por cuatro enlaces, es en W. Por otra parte, la aparición como singulete del protón aldehídico en los compuestos **46 $\alpha\beta$**  y **47**, y como doblete en el caso del compuesto **45** sugiere que el enlace C-3—CHO adopta una disposición *s-trans*:



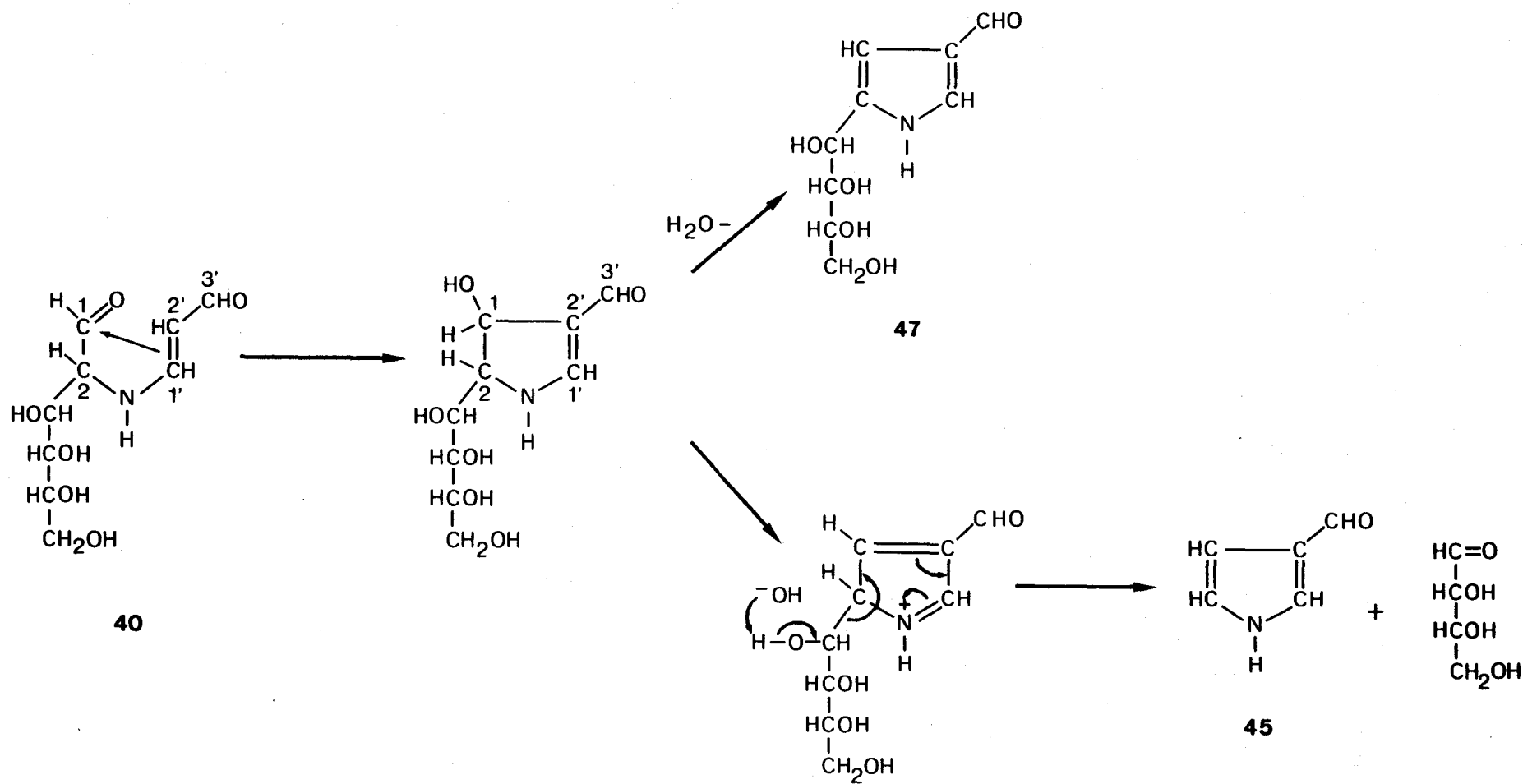
En efecto, esta disposición no favorece el acoplamiento  ${}^4J$  entre el protón aldehídico y H-2, pero en cambio sí permite el acoplamiento a través de 5 enlaces del protón aldehídico con H-5 ( ${}^5J_{5,CHO}$  0.8 Hz), en el caso del compuesto **45** (R= H),

ya que el camino entre estos dos protones sería en W.

El espectro de r.m.n. del compuesto  $46\alpha\beta$  indicó que es en realidad la mezcla de los anómeros  $\alpha$  y  $\beta$  del 5-(D-eritrofuranosil)-3-pirrolcarbaldehido. La asignación de cada anómero se realizó en base al desplazamiento químico del protón anomérico (H-1'). En eritrofuranosil derivados del furano<sup>66</sup> y de tetrahidroindol-4-onas<sup>10</sup> se ha encontrado que el protón anomérico del anómero  $\alpha$  está más desapantallado (tiene un valor de  $\delta$  más grande) que el correspondiente al anómero  $\beta$ . Así, asignamos el valor de  $\delta$  5.03 ppm al anómero  $\alpha$  y  $\delta$  4.73 ppm al anómero  $\beta$ .

Los espectros de r.m.n. de  $^{13}\text{C}$  en agua deuterada (Tabla XI) se asignaron gracias a la secuencia de pulsos APT. Los desplazamientos químicos de los núcleos C-2 ( $\delta$  132.5-134.2 ppm), C-3 ( $\delta$  125.9-126.0 ppm) y C-4 ( $\delta$  104.6-107.2 ppm) son muy similares en los tres pirroles. La sustitución de H-5 por una cadena polihidroxílica abierta o ciclada, afecta al desplazamiento químico de C-5, que se desapantalla unas 10-15 ppm.

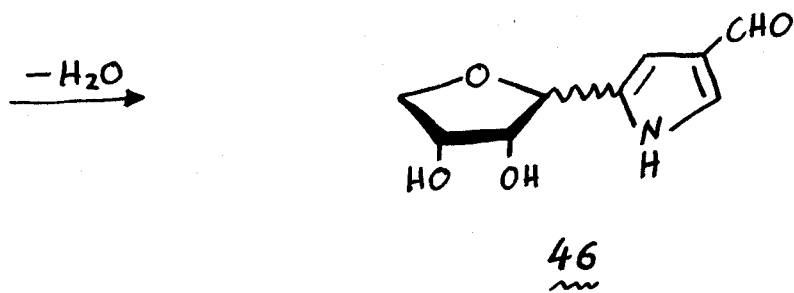
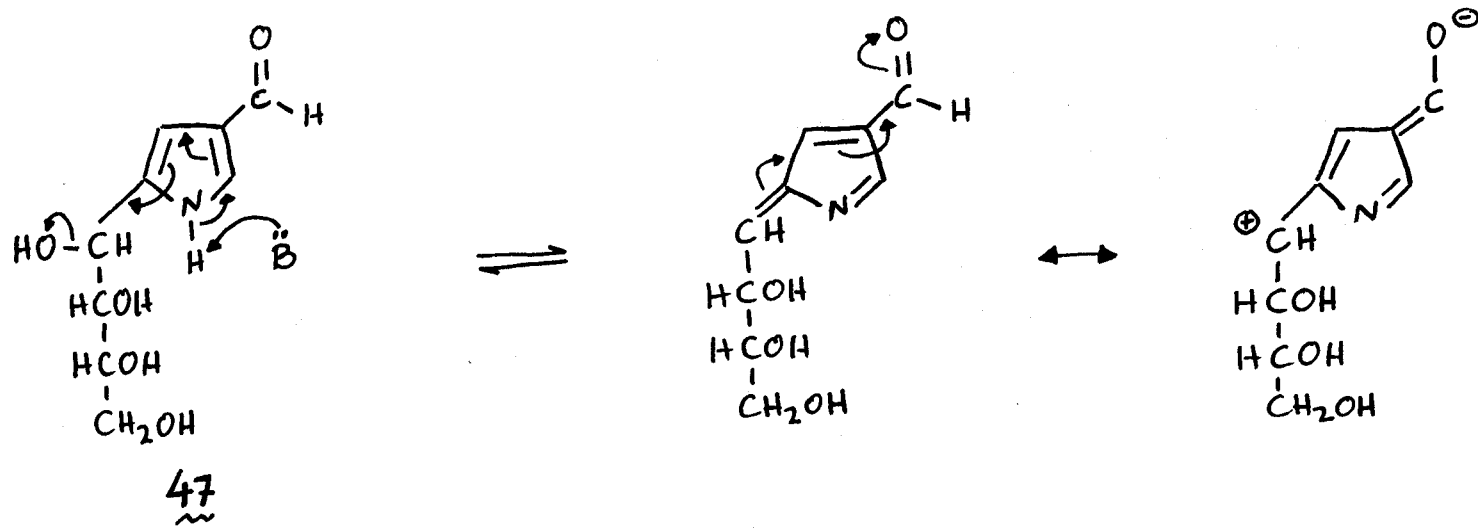
La formación de (alditol-1-il)pirroles del tipo **47** a partir de enaminonas de azúcares similares al compuesto **40** ha sido muy estudiada y ya se ha indicado en la INTRODUCCION el mecanismo propuesto para esta reacción de ciclación. También han sido propuestos mecanismos que explican la ruptura de la cadena de azúcar.<sup>2,10</sup> El *Esquema 13* muestra el mecanismo de la ciclación del enaminal **40** para dar el 3-pirrolcarbaldehido (**45**) y el 5-(D-arabino-tetritol-



Esquema 13. Mecanismo de ciclación del enaminal 40.

1-il)-3-pirrolcarbaldehido (47), siguiendo los antecedentes de la literatura.

Asímismo, la deshidratación de (D-arabino-tetritol-1-il)pirroles similares a 47 para dar ( $\alpha,\beta$ -D-furanosil)pirroles del tipo 46  $\alpha,\beta$ , también ha sido investigada con detalle.<sup>2,10</sup> Esta reacción es catalizada tanto por ácidos como por bases,<sup>10,11</sup> y en el caso presente transcurre en medio básico, como se indica en el *Esquema 14*.

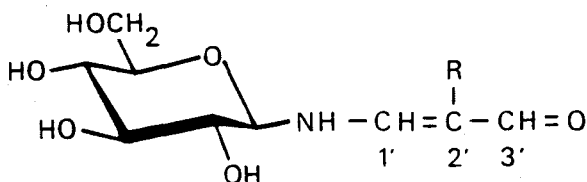


Esquema 14. Mecanismo de anhidrización en medio básico del pirrol 47.

2.2.3. Reacciones de  $\beta$ -D-glucopiranosilamina con malondi-  
aldehido y metilmalondialdehido

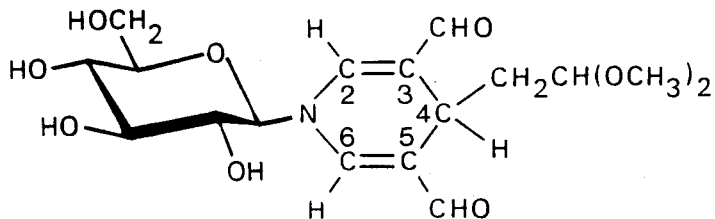
La  $\beta$ -D-glucopiranosilamina reacciona con la cantidad equimolar de NaMDA o NaMMDA en disolución acuosa conteniendo una cantidad equivalente de ácido clorhídrico para liberar el MDA o el MMDA de su sal. Las reacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente obteniéndose el 3-( $\beta$ -D-glucopiranosilamino)-2-propenal (**49**, 7%) y el 3-( $\beta$ -D-glucopiranosilamino)-2-metil-2-propenal (**50**, 5%), respectivamente. Los bajos rendimientos son probablemente debidos a la hidrólisis de la  $\beta$ -D-glucopiranosilamina o de sus derivados **49** y **50**, en el medio de reacción, según se dedujo por la detección cromatográfica de gran cantidad de glucosa en el medio. El compuesto **50** pudo obtenerse con mejor rendimiento (30%) eliminando el ácido del medio de reacción y empleando EMP en vez de NaMMDA.

Cuando se usaron preparaciones "crudas" de NaMDA contaminada con los compuestos **21** y **22**, se obtuvo, además del compuesto **49**, el 1-( $\beta$ -D-glucopiranosil)-4-(2,2-dimetoxietil)-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldehido (**51**, 5%).



**49** R= H

**50** R= CH<sub>3</sub>



51

Los espectros u.v. e i.r. de los compuestos **49** y **50** indican la presencia de una agrupación  $\text{NH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{O}$ . Así, el compuesto **49** presenta un máximo de absorción a 279 nm ( $\epsilon$  19590) y **50** a 287 nm ( $\epsilon$  34750), similares a los presentados por 3-(alquilamino)-2-propenales derivados de aminas y aminoácidos,<sup>51,59,61</sup> y sobre todo a los presentados por la 2-desoxi-2-[(3-oxo-1-propen-1-il)amino]-D-glucopiranososa (**40**, 279 nm,  $\epsilon$  20640) y la 2-desoxi-[(3-oxo-1-propen-1-il)-amino]-D-glucopiranososa (**41**, 284 nm,  $\epsilon$  42470), descritas en la sección 2.2.1. Las absorciones i.r. para el compuesto **40** a 3361 (NH, OH), 1615 (C=O) y 1550  $\text{cm}^{-1}$  (C=C) y para el compuesto **41** a 3397 (NH, OH), 1660 (C=O) y 1607  $\text{cm}^{-1}$  (C=C) son las previsible<sup>62</sup> para la estructura deslocalizada  $\text{NH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{O} \leftrightarrow \overset{+}{\text{NH}}=\text{CH}-\text{CH}=\overset{-}{\text{CH}}-\text{O}$ .

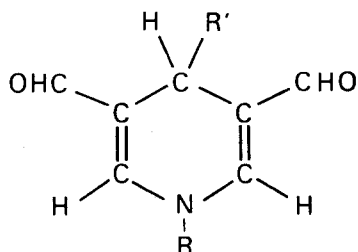
Los espectros de r.m.n. de estos compuestos (Tablas XII y XIII) muestran la presencia de un único isómero en ambos casos. Como se ha dicho para los compuestos **40** y **41**, las posibilidades geométricas del grupo  $-\overset{1}{\text{NH}}-\overset{2}{\text{CH}}=\overset{3}{\text{C}}(\text{R})-\text{CH}=\text{O}$  ( $2^3 = 8$ ), junto con las anomerías  $\alpha$  y  $\beta$  del resto de azúcar hacen que el número teórico de isómeros sea 16. Con respecto al compuesto **49**, los valores de  $J_{1,2}$  (13.0 Hz) y  $J_{2,3}$  (9.1



Hz) indican, por analogía con los observados en los enaminales derivados de amino ácidos,<sup>51</sup> una geometría *EE* para la agrupación  $\overset{1}{\text{C}}=\overset{2}{\text{C}}-\overset{3}{\text{C}}=\text{O}$  [configuración *trans* (*E*) alrededor del enlace C-1=C-2, y conformación *s-trans* (*E*) en torno a C-2—C-3], similar a la encontrada en los compuestos **40** y **41** (sección 2.2.1). La porción de azúcar presenta anomería  $\beta$ , según se deduce del valor de  $J_{1',2'}$  (8 Hz) y del desplazamiento químico de C-1' ( $\delta$  91 ppm). La aparición de un solo grupo de señales puede indicar que existe un único isómero respecto a la rotación restringida alrededor del enlace N—C-1 (*s-cis* o *Z*, o bien *s-trans* o *E*), o más bien que dicha rotación es lo suficientemente rápida (con respecto a la escala de tiempo de la r.m.n.) como para que las señales correspondientes a los isómeros  $\beta$ -*ZEE* y  $\beta$ -*EEE* estén promediadas. El compuesto **50** muy probablemente sólo existe en la geometría  $\beta$ -*EEE*, puesto que en la  $\beta$ -*ZEE* existiría una interacción estérica fuerte entre el azúcar y el grupo metilo situado en C-2.

El 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldhido **51** tiene un espectro u.v. con máximos a 233 ( $\epsilon$  18220), 259 ( $\epsilon$  9730) y 372 nm ( $\epsilon$  7110) y presenta propiedades fluorescentes con excitación a 382 nm y emisión a 446 nm (IRM 0.70) muy similares a los 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldhidos (**20**) derivados de aminas alifáticas primarias (por ejemplo los compuestos **31-34** que hemos preparado y se describen en la sección 2.1.6) y amino ácidos<sup>30,57,60</sup>. Sobre todo, estas propiedades son muy similares a la 2-desoxi-2-[3,5-diformil-

4-(2,2-dimetoxietil)-1,4-dihidropiridin-1-il]- $\alpha,\beta$ -D-glucopiranososa (42) y a la 2-desoxi-2-(3,5-diformil-4-metil-1,4-dihidropiridin-1-il)- $\alpha,\beta$ -D-glucopiranososa (43) descritos en la sección 2.2.1. Los compuestos 42 y 43 presentan máximos a 237 ( $\epsilon$  14000-16000), 264-265 ( $\epsilon$  7000-9000) y 385-389 nm ( $\epsilon$  8900-9000) y fluorescencia con excitación a 380-389 nm y emisión a 448-465 nm (IRM 0.5-0.7). El espectro i.r. de 51 presenta absorciones a 3431 (OH), 1667 (C=O) y 1580  $\text{cm}^{-1}$  (C=C), previsibles<sup>62</sup> para un sistema conjugado N—C=C—CH=O.



20

Los datos de r.m.n. del compuesto 51 (Tabla XIV) revelan que la porción de azúcar presenta anomería  $\beta$  ( $J_{1',2}$ , 9 Hz). Su espectro de protones presenta señales ligeramente separadas correspondientes a la pareja de protones H-2,6 ( $\delta$  7.54 y 7.55 ppm) y a los protones del grupo CHO de las posiciones 3 y 5 ( $\delta$  9.22 y 9.23 ppm). Asimismo, su espectro de carbono tiene señales distinguibles coreespondientes a las parejas de núcleos C-2,6 ( $\delta$  148.2 y 149.6 ppm), C-3,5 ( $\delta$  121.7 y 122.0 ppm), y a los CHO de las posiciones 3 y 5 ( $\delta$  193.7 y 193.8 ppm). La explicación es análoga a la dada para los compuestos 42 y 43. Los núcleos de cada una de estas

parejas resultan no equivalentes debido a la existencia de quiralidad en el sustituyente en el nitrógeno del heterociclo (el azúcar) y a la presencia del sustituyente 2,2-dimetoxietilo en la posición 4 del heterociclo.

2.2.4. Reacciones de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa con malondialdehído y metilmalondialdehído

El acetato de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa reacciona con la cantidad equimolar de NaMDA o de NaMMDA en agua (pH 6-7) a temperatura ambiente produciendo la 1-desoxi-1-[(3-oxo-1-propen-1-il)amino]-D-fructosa (52, 60%) o la 1-desoxi-1-[(2-metil-3-oxo-1-propen-1-il)amino]-D-fructosa (53, 70%). En el caso de la reacción con NaMDA, se produce además *N,N'*-di-(1-desoxi-D-fructos-1-il)-1-amino-3-iminopropeno (54, 10%).\*† Este último compuesto resulta mayoritario (espectrofotometría u.v.) si la reacción se lleva a cabo en metanol.

Incluso en los casos en que la reacción del acetato de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa se lleva a cabo con una preparación de la NaMDA totalmente exenta de impurezas (compuestos 21 y 22), siempre se observa la formación de pequeñas cantidades del 4-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhido (31, rendimiento de producto aislado 1%) y de la 1-desoxi-1-[(3,5-diformil-4-metil-1,4-dihidropiridin-1-

---

\* Según las reglas de nomenclatura establecidas por la IUPAC (C-814.6),<sup>67</sup> este compuesto también puede nombrarse por nomenclatura de sustitución, como 1,5-di-(1-desoxi-D-fructos-1-il)-1,5-diaza-1,3-pentadieno. Para simplificar, lo designaremos en adelante como el 1-amino-3-iminopropeno 54.

† Con objeto de simplificar la discusión de la estructura de estos compuestos, la numeración de la cadena carbonada procedente del MDA se toma como principal.



longitud de onda apenas hay absorción. Únicamente se visualiza bien al calentar la placa después de rociarla con ácido sulfúrico.

Las estructuras de los compuestos 52-55 y de 31 fueron deducidas de sus datos analíticos y espectroscópicos. Los compuestos 52 y 53 muestran unos espectros u.v. con máximos a 282 nm ( $\epsilon$  29380) y 291 nm ( $\epsilon$  31680), respectivamente. Los espectros i.r. (Figuras 24 y 25) muestran absorciones a 3335-3380 (OH, NH), 1650-1653 (C=O) y 1555-1589  $\text{cm}^{-1}$  (C=C). Estos datos son muy similares a los de los enaminales 40 y 41 derivados de la 2-amino-2-desoxi-D-glucosa (sección 2.2.1) y 49 y 50, derivados de la  $\beta$ -D-glucopiranosilamina (sección 2.2.3), y son característicos de 3-(alquilamino)-2-propenales derivados de aminas alifáticas primarias y amino ácidos.<sup>51,59,61,62</sup> Estos datos son concordantes con la presencia en los compuestos 52 y 53 de una agrupación  $\text{NH}-\text{C}=\text{C}-\text{CH}=\text{O}$ .

En relación a la estereoquímica de estos derivados de D-fructosa hay que tener en cuenta que, en relación con la agrupación  $-\text{NH}-\overset{1}{\text{C}}=\overset{2}{\text{C}}-\overset{3}{\text{CH}}=\text{O}$ , pueden existir, en principio,  $2^3 = 8$  formas estereoisómeras debidos a las restricciones alrededor de los enlaces N-C-1, C-1=C-2 y C-2-C-3, y a que la porción de azúcar puede existir en las formas  $\alpha$ - y  $\beta$ -piranosa ( $\alpha$ -p y  $\beta$ -p) y  $\alpha$ - y  $\beta$ -furanosa ( $\alpha$ -f y  $\beta$ -f), además de la forma abierta carbonílica (o). El número total de isómeros teóricos posibles es 40 (Figura 26).

Los datos de r.m.n. en agua deuterada (Figuras 27

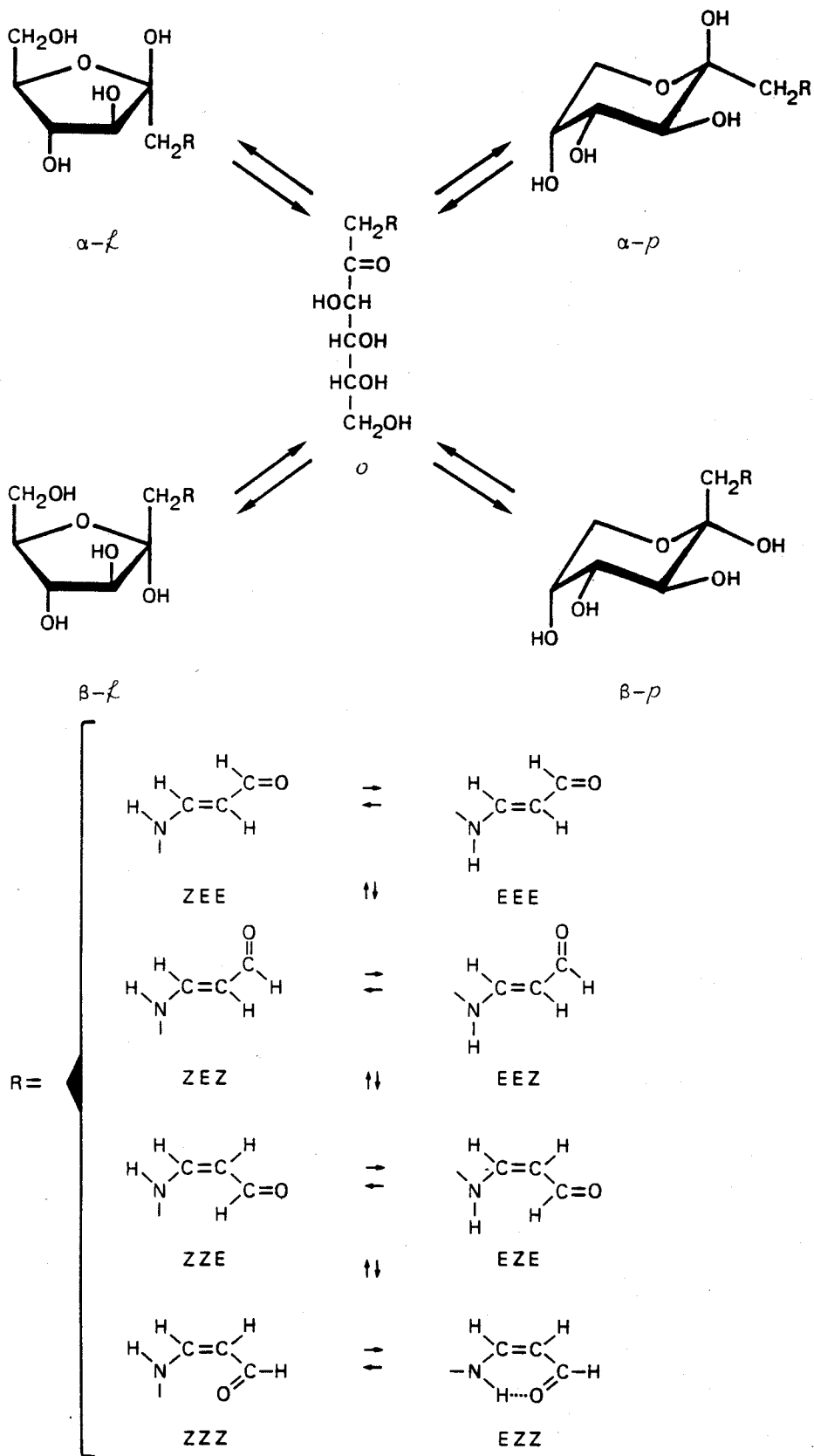


Figura 26. Isómeros posibles del compuesto 52.

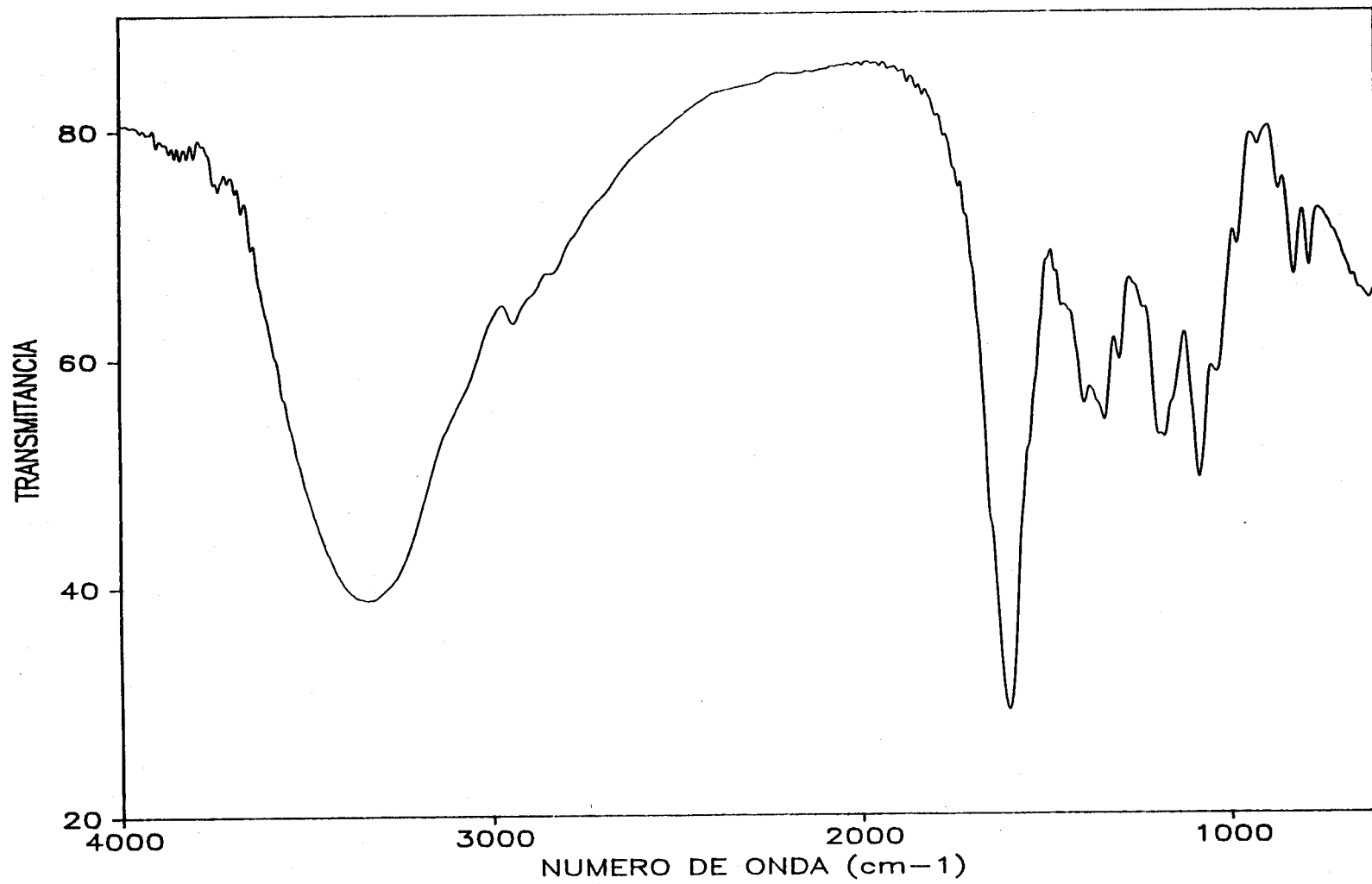


Figura 24. Espectro i.r. (KBr) del compuesto 52.



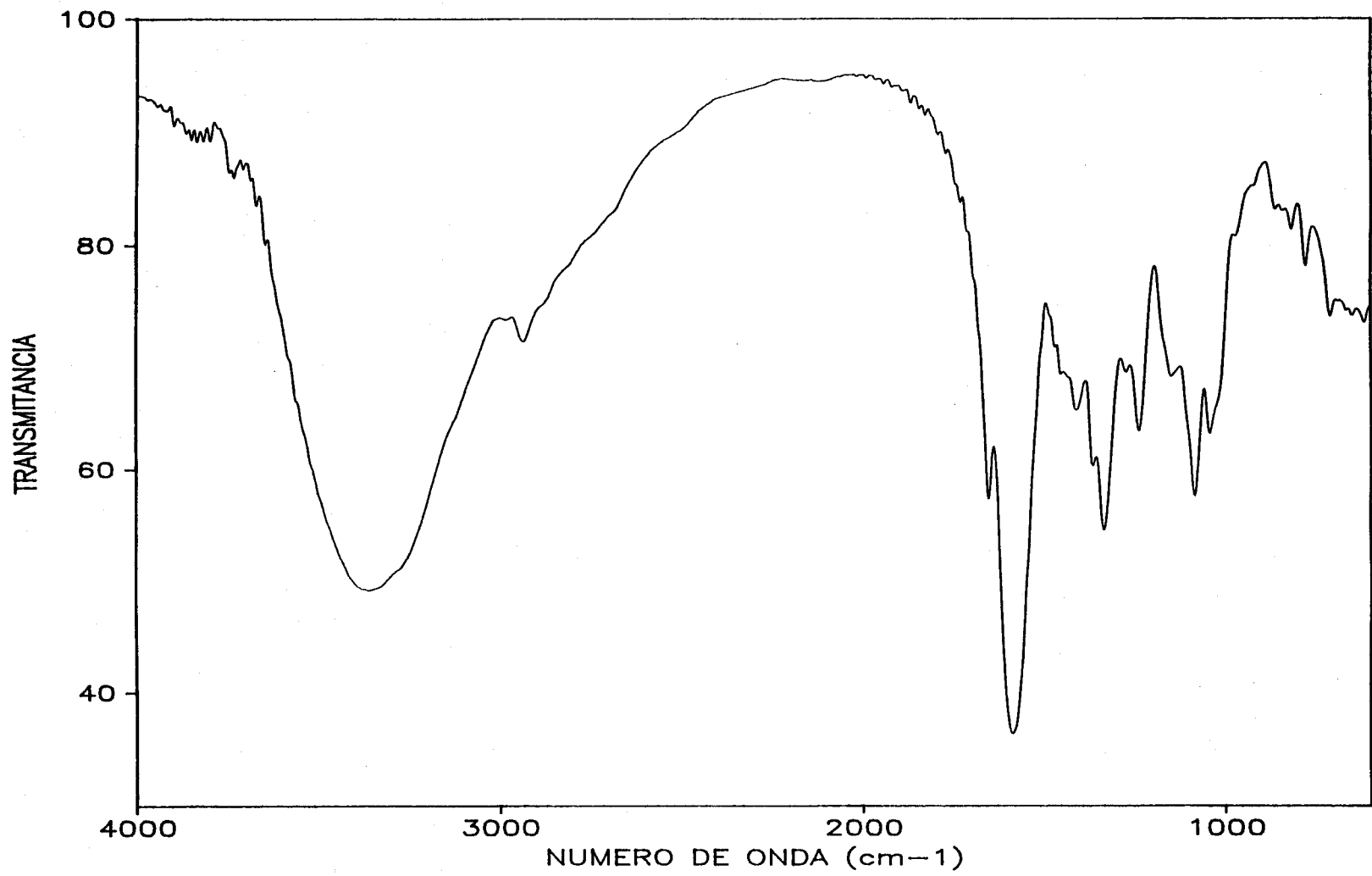


Figura 25. Espectro i.r. (KBr) del compuesto 53.

y 28 y Tablas XV y XVI) para 52 indican que este compuesto se encuentra, en disolución acuosa, como una mezcla en equilibrio de 6 isómeros distintos. En el espectro de protones (Figura 27 y Tabla XV) las señales correspondientes a los protones olefínicos (H-1,2) y aldehídico (H-3) aparecen desdobladas. Así, H-1 y H-3 aparecen predominantemente como dos dobletes, de intensidades semejantes, cada uno, y H-2 como dos dobles dobletes de aproximadamente la misma intensidad. Las constantes de acoplamiento que se miden en cada una de estas señales,  $J_{1,2}$  (12.1-12.7 Hz) y  $J_{2,3}$  (9.3-9.6 Hz), indican<sup>51</sup> que la agrupación  $-\overset{1}{\text{C}}=\overset{2}{\text{C}}-\overset{3}{\text{C}}\text{H}=\text{O}$  adopta la geometría *EE* (*trans*, *s-trans*) alrededor de los enlaces C-1=C-2 y C-2=C-3, en cada uno de sus isómeros presentes. Los isómeros deben diferir, por tanto, en la conformación alrededor del enlace N-C-1 [*s-trans* (*E*) o *s-cis* (*Z*)], y en la geometría de la parte de azúcar ( $\alpha$ - y  $\beta$ -*p*,  $\alpha$ - y  $\beta$ -*f* y *o*). En lo que respecta a esta última, la forma abierta carbonílica (*o*) se observa raramente<sup>68-71</sup> y nunca se ha observado en enaminonas de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa.<sup>72</sup> La forma cíclica  $\alpha$ -*p* es inusual y suele observarse en pequeñas proporciones.<sup>68-72</sup> De las tres formas restantes, en agua predomina<sup>68-72</sup> la forma  $\beta$ -*p* (>65%). Por tanto, las señales desdobladas predominantes asignadas a los protones H-1, H-2 y H-3, de intensidades semejantes, deben corresponder a cada uno de los confórmeros (*E* y *Z*) alrededor del enlace N-C-1, estando el resto de azúcar en la forma  $\beta$ -*p*. La asignación de los confórmeros la podemos hacer en base al efecto

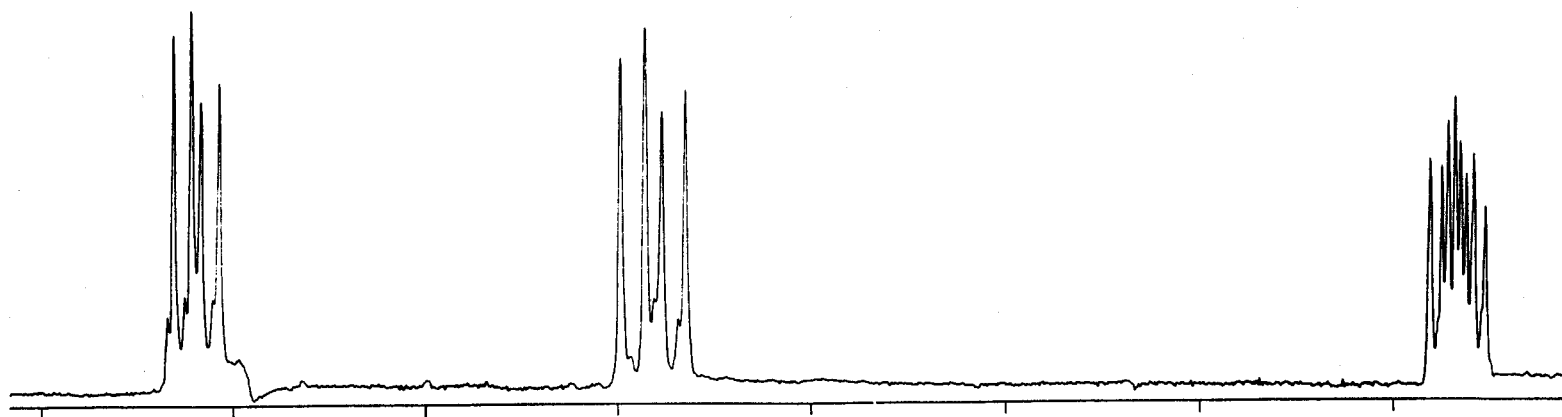


Figura 27. Espectro de r.m.n. de protones ( $D_2O$ ) del compuesto 52.

$\gamma$ -desapantallante<sup>63</sup> que ejerce el resto de azúcar sobre H-2 en el conformero Z. De los dos dobletes correspondientes a H-2 asignamos el de mayor  $\delta$  (5.34 ppm) al conformero Z, y el de menor  $\delta$  (5.30 ppm) al conformero E. La asignación de conformeros en las señales correspondientes a H-1 y H-3 la llevamos a cabo en base a la intensidad de las señales (predomina el conformero Z en un 55%). Así, en el conformero Z, H-1 aparece a  $\delta$  7.45 ppm y H-3 a  $\delta$  8.62 ppm. En el conformero E aparecen a  $\delta$  7.34 y 8.55 ppm, respectivamente.

Según los datos de la literatura<sup>68-72</sup> las formas tautoméricas del resto de azúcar pueden diferenciarse fácilmente por los desplazamientos químicos de los carbonos anoméricos (C-2'), y de los carbonos C-3', C-4', C-5' y C-6'.<sup>68-72</sup> El espectro de <sup>13</sup>C de la porción de azúcar de 52 (Figura 28 y Tabla XVI) confirma las asignaciones realizadas en el espectro de protones. Dicho espectro se puede analizar como la superposición de tres espectros, correspondientes cada uno de ellos a una de las formas de azúcar. Estos espectros están a su vez parcialmente desdoblados en dos subespectros. Los tres espectros principales son asignables, según el desplazamiento químico del carbono anomérico (entre paréntesis), a las formas  $\beta$ -p ( $\delta$  98.3 y 98.4 ppm),  $\beta$ -f ( $\delta$  101.2 ppm) y  $\alpha$ -f ( $\delta$  104.7 y 105.2 ppm). La asignación se confirma con los desplazamientos químicos de la serie de carbonos C-3', C-4', C-5' y C-6'. No se detectaron señales correspondientes a las configuraciones o y  $\alpha$ -p. La proporción de los isómeros de la porción de azúcar presentes en el

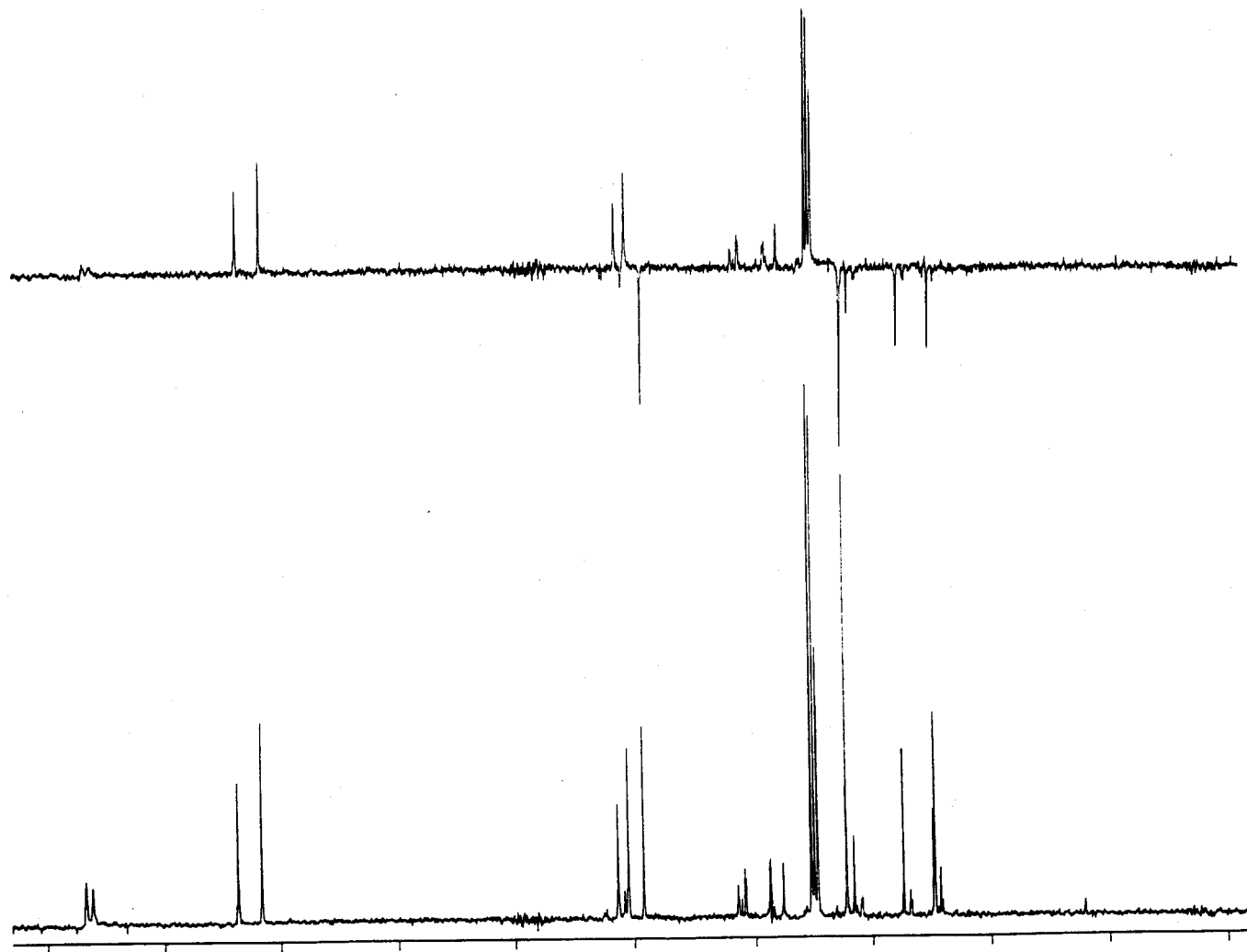


Figura 28. Espectro de r.m.n. de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) del compuesto 52.

equilibrio tautomérico, deducidas de las intensidades de las señales de cada una de ellas, es de 72:16:12, respectivamente. El desdoblamiento en dos de algunas de las señales asignables a cada isómero de la porción de azúcar indica la existencia de rotación restringida alrededor del enlace N—C-1, como ya se ha visto en el caso del enaminal **40** derivado de la 2-amino-2-desoxi-D-glucosa (sección 2.2.1). Al igual que en este caso anterior, la asignación de geometría *E* o *Z* alrededor del enlace N—C-1 se hizo en base al efecto  $\gamma$ -apantallante<sup>64</sup> que la porción de azúcar ejerce sobre C-2 cuando la geometría es *Z*. Para los isómeros *Z*, el desplazamiento químico de C-2 es de  $\delta$  101.0-101.2 ppm, mientras que para los isómeros *E* es de  $\delta$  102.8 ppm, en todos los isómeros. La disposición geométrica alrededor del enlace N—C-1 afecta también al desplazamiento químico de los carbonos C-1 y C-3, así como al C-1' del azúcar. El desplazamiento químico de C-1 aumenta en 4.0-4.3 ppm al pasar de la geometría *Z* a la *E*, el de C-3 disminuye en 1.1-1.2 ppm en el mismo sentido, y el de C-1' aumenta 5.1-5.3 ppm. La proporción de isómeros *Z*:*E* alrededor del enlace N—C-1 que se deduce de las intensidades de las señales correspondientes a estos isómeros en el espectro de <sup>13</sup>C es de 56:44. Por tanto, la composición de la mezcla en equilibrio, en disolución acuosa, de los isómeros  $\beta$ -*p*-*ZEE*,  $\beta$ -*p*-*EEE*,  $\beta$ -*f*-*ZEE*,  $\beta$ -*f*-*EEE*,  $\alpha$ -*f*-*ZEE* y  $\alpha$ -*f*-*EEE* es de 40:32:9:7:7:5, aproximadamente.

El espectro de r.m.n. de protones del compuesto **53** en agua deuterada (Figura 29 y Tabla XV) apenas suministra

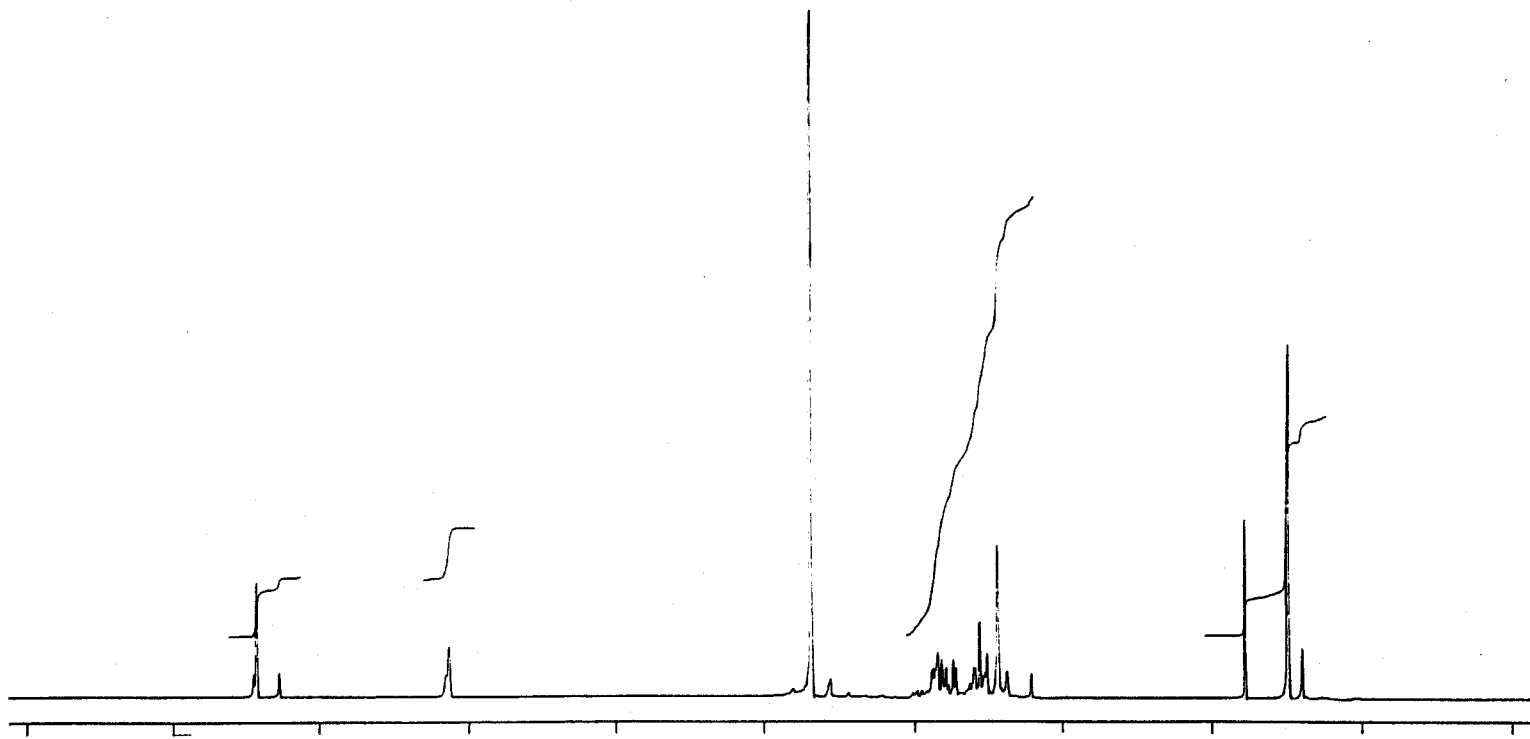


Figura 29 . Espectro de r.m.n. de protones ( $D_2O$ ) del compuesto 53.

información acerca de la geometría del grupo  
 $\text{-NH}-\overset{1}{\text{CH}}=\overset{2}{\text{C}}(\overset{3}{\text{CH}_3})-\text{CH}=\text{O}$  en disolución acuosa, debido a que en este grupo no hay acoplamiento de protones. No obstante, nos parece razonable admitir que esta agrupación tiene una geometría *EEE* en torno a los enlaces N—C-1, C-1=C-2 y C-2—C-3. Hay que resaltar que, tanto los protones del sustituyente metilo como el protón del grupo aldehído (H-3), aparecen como un conjunto de tres singuletes cada uno, lo que sugiere la presencia de tres isómeros que difieren en la estructura del azúcar. Los correspondientes al sustituyente metilo aparecen a  $\delta$  1.41, 1.50 y 1.78 ppm y los del grupo aldehído a  $\delta$  8.28, 8.43 y 8.45 ppm. Las señales del grupo metilo integran en una relación 9:74:17, respectivamente.

El espectro de  $^{13}\text{C}$  de la porción de azúcar de 53 (Figura 30, Tabla XVI) confirma, en primer lugar, que el azúcar existe en sólo tres de las cinco posibles formas isómeras. Los desplazamientos químicos de C-2' (indicados a continuación entre paréntesis) indican la presencia de las formas  $\beta$ -*p* ( $\delta$  98.4 ppm),  $\beta$ -*f* ( $\delta$  101.7 ppm) y  $\alpha$ -*f* ( $\delta$  104.6 ppm).<sup>68-72</sup> Los desplazamientos químicos de C-3', C-4', C-5' y C-6' confirman la presencia de estos isómeros.<sup>68-72</sup> En segundo lugar, las señales correspondientes a cada isómero no están desdobladas, lo que confirma la existencia de un único confórmero alrededor del enlace N—C-1, como se ha indicado antes. El mismo resultado ya ha sido observado con los enaminales similares 41 (sección 2.2.1) y 49 (sección 2.2.3). Este único confórmero sería el *s-trans* (*E*), ya que el



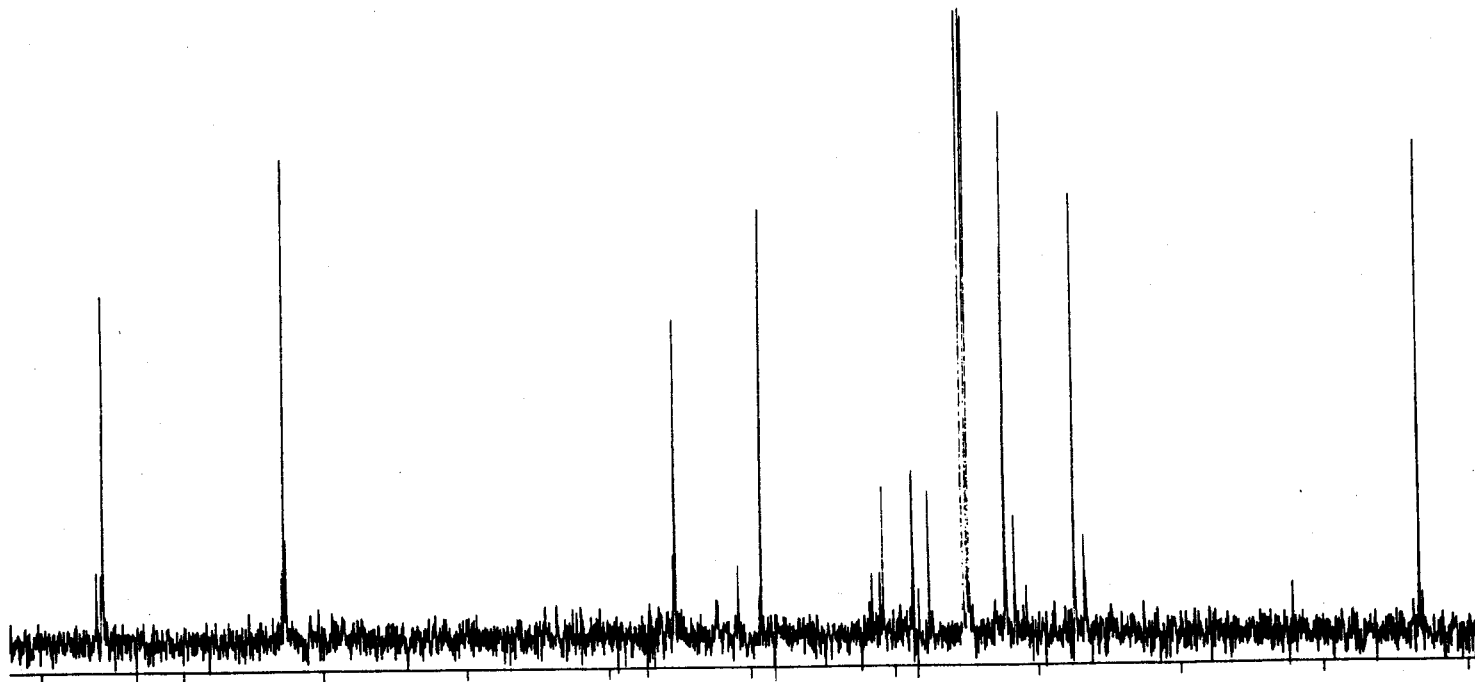


Figura 30. Espectro de r.m.n. de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) del compuesto 53.

confórmero *s-cis* (Z) estaría desfavorecido por impedimento estérico entre el grupo metilo de la posición 2 y el resto del azúcar. Un dato que apoya esta hipótesis es el valor de  $\delta$  correspondiente a C-1'. Como se ha visto en el caso del compuesto anterior, 52, el desplazamiento químico,  $\delta$ , de C-1' es unas 5 ppm más bajo en el caso del confórmero Z que en el E. Los valores de  $\delta$  de C-1' del compuesto 53 difieren en sólo 0.0-0.2 ppm de los medidos para los confórmeros E (alrededor del enlace N—C-1) de 52, y dependen sólo ligeramente de la forma en que se encuentre el resto del azúcar. La relación de intensidades de las señales del espectro de  $^{13}\text{C}$  correspondientes a los diferentes isómeros indicó que en el equilibrio en solución acuosa los isómeros  $\beta$ -*p*-EEE,  $\beta$ -*f*-EEE y  $\alpha$ -*f*-EEE están en proporción 72:18:10.

El espectro u.v. en agua (Figura 31) del *N,N'*-di-(1-desoxi-1-fructos-1-il)-1-amino-3-iminopropeno (54) presenta un único máximo de absorción a 302 nm ( $\epsilon$  30250). Se han descrito<sup>47,55</sup> varios 1-amino-3-iminopropenos (18) derivados de aminas alifáticas primarias y de amino ácidos que presentan máximos de absorción similares en sus espectro u.v. en agua ( $\lambda$  298-303 nm,  $\epsilon$  33000-38000). Si el espectro se registra en disolución de ácido clorhídrico 1M, permanece inalterable. En cambio, el espectro en disolución de hidróxido sódico 0.2M, es dependiente del tiempo: la absorción inicial a 302 nm va desplazándose rápidamente hasta alcanzar un valor constante de 283 nm después de 10 minutos. Este valor es muy próximo al del enaminal 52 (282 nm), lo que

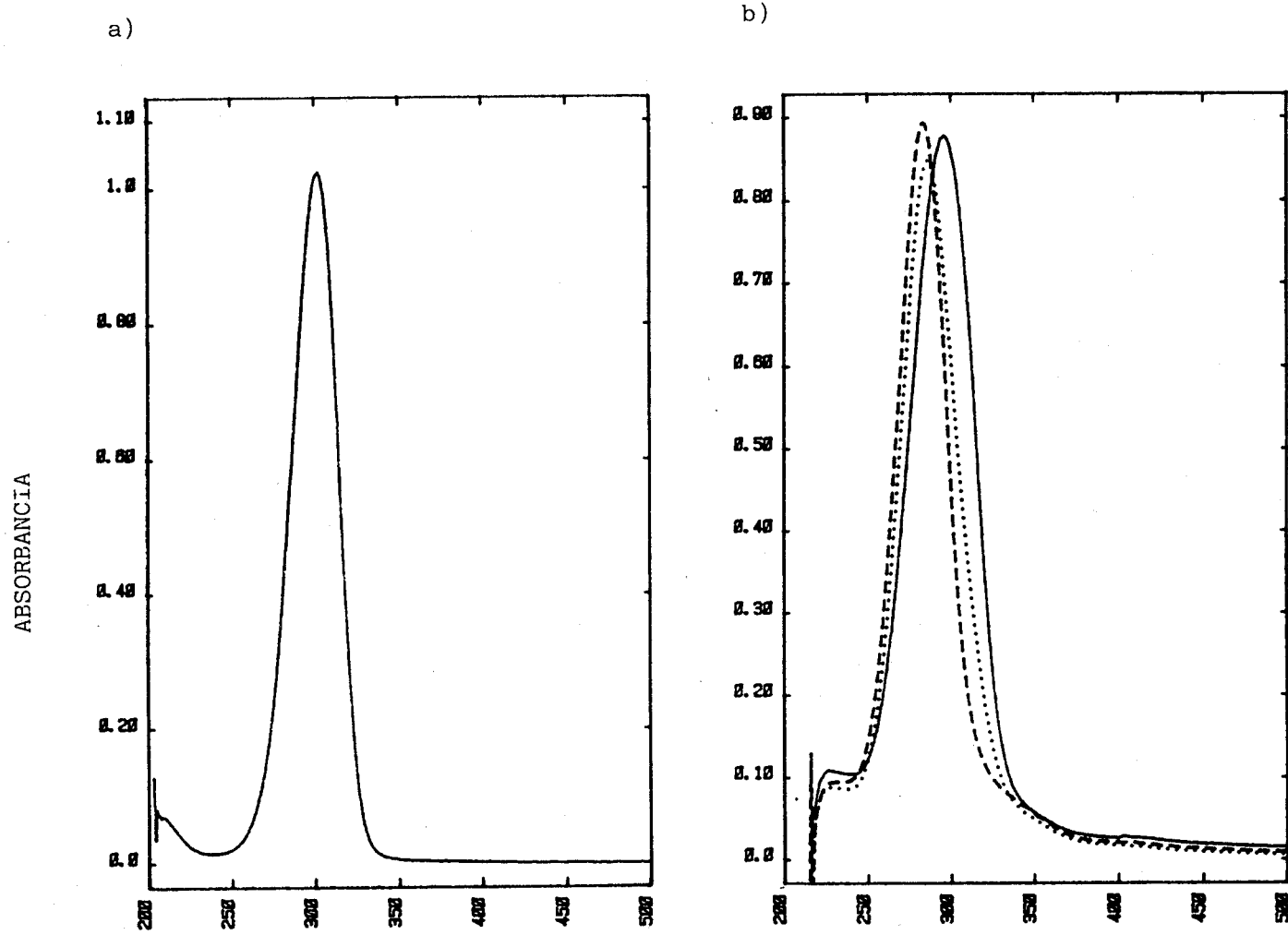
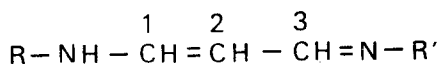


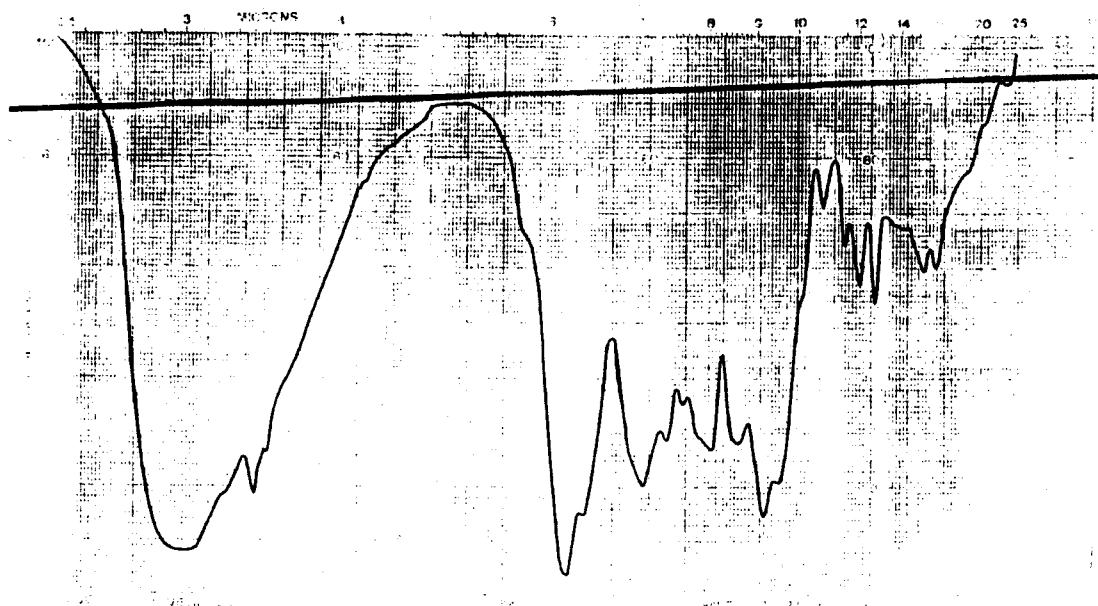
Figura 31. Espectro u.v. del compuesto 54 en función del pH. a) En agua y en ácido clorhídrico 1M; b) en hidróxido sódico 0.2M a los 30s (—), 180s (...) y 600s (---).

sugiere que el 1-amino-3-iminopropeno **54** es inestable en medio básico y se hidroliza, originando el enaminal **52** (*Esquema 15*). Este extremo se ha comprobado cromatográficamente (c.c.f.): el compuesto **54** se hidroliza en medio básico, originando el compuesto **52**. La hidrólisis de **54** también ocurre en disolución acuosa a pH neutro, aunque más lentamente (c.c.f., varios días). La reversibilidad de la reacción de hidrólisis de **54** también se ha comprobado. Así, cuando el enaminal **52** se trató con acetato de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa en metanol en presencia de tamiz molecular de 3Å, se forma el 1-amino-3-iminopropeno **54** (c.c.f.). La conversión no fue cuantitativa, alcanzándose un equilibrio después de algunas horas. La hidrólisis de **54** explicaría el bajo rendimiento de este producto en la reacción entre el acetato de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa y la NaMDA en solución acuosa, y que el rendimiento aumente si la reacción se lleva a cabo en metanol.



El compuesto **54** presenta propiedades fluorescentes (excitación a 390 nm y emisión a 457 nm) similares a las de otros 1-amino-3-iminopropenos descritos.<sup>47</sup> Su espectro i.r. (Figura 32) presenta absorciones a 3307 (OH, NH), 1621 (C=N) y 1572 cm<sup>-1</sup> (C=C). El mismo compuesto, pero deuterado, tiene

a)



b)

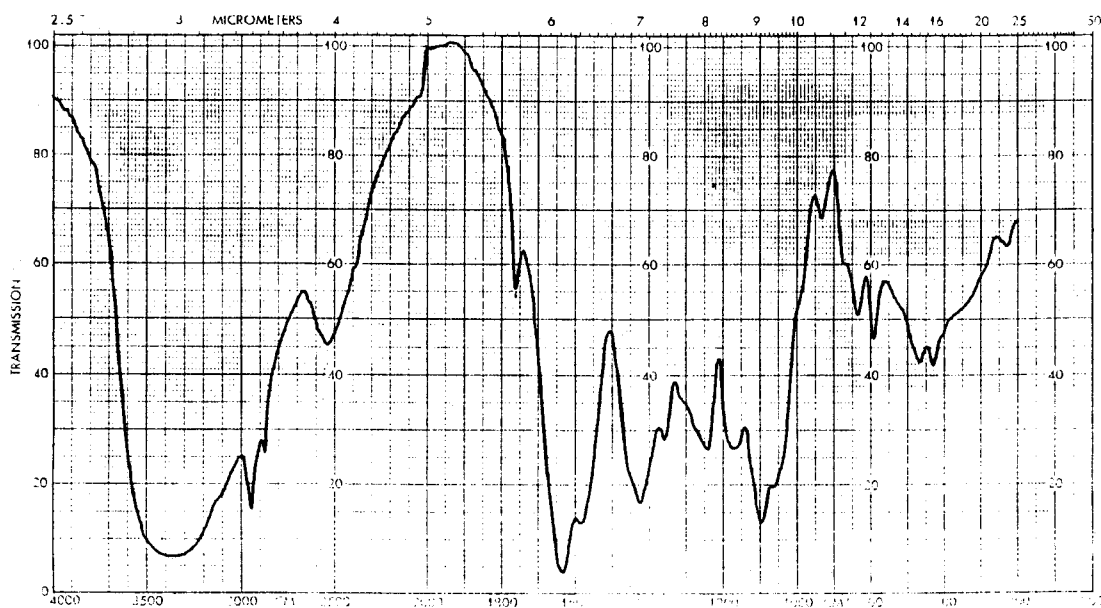
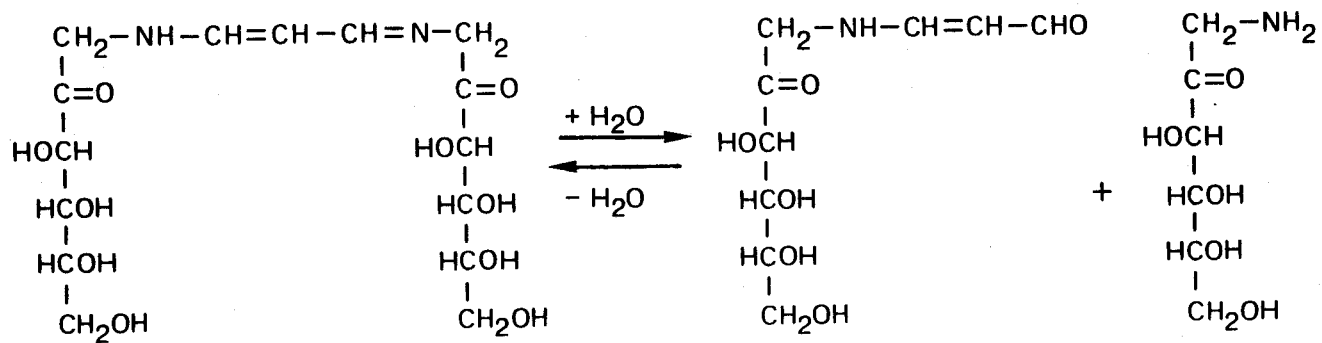


Figura 32. a) Espectro i.r. (KBr) del compuesto 54; b) espectro i.r. (KBr) del compuesto 54 deuterado.



54

52

Esquema 15. Hidrólisis del 1-amino-3-iminopropeno 54.

una absorción extra a  $2518\text{ cm}^{-1}$  en su espectro i.r., que indica la presencia de ND. El espectro i.r. del 1-amino-3-iminopropeno derivado del éster etílico de la L-leucina,<sup>47</sup> presenta absorciones similares a  $1650$  y  $1610\text{ cm}^{-1}$ .

El compuesto **54** puede existir en un gran número de formas isómeras. Por una parte, cada una de las porciones de azúcar puede adoptar hasta cinco formas tautómeras ( $\alpha$ -p,  $\beta$ -p,  $\alpha$ -f,  $\beta$ -f y o) distintas. Por otra, la porción de 1-amino-3-iminopropeno ( $-\text{NH}-\overset{1}{\text{C}}\text{H}=\overset{2}{\text{C}}\text{H}-\overset{3}{\text{C}}\text{H}=\text{N}-$ ) puede adoptar distintas geometrías, debido a las rotaciones restringidas alrededor de los enlaces N—C-1, C-1=C-2, C-2—C-3 y C-3=N.

Los espectros de r.m.n. del compuesto **54** (Tabla XVII) no presentan señales de protones a valores superiores a  $\delta$  9 ppm, o de carbonos a valores de  $\delta$  mayores de 190 ppm, lo que demuestra la ausencia de grupo CHO.

La geometría adoptada por el esqueleto carbonado de la porción de 1-amino-3-iminopropeno puede deducirse del valor de los acoplamientos  $J_{1,2}$  y  $J_{2,3}$ . El espectro de protones (Figura 33 y Tabla XVII), en agua deuterada, del compuesto **54** muestra dos multipletes centrados a  $\delta$  5.55 y 7.53 ppm que integran, respectivamente, para 1H y 2H. Estos multipletes los asignamos a los protones H-2 y H-1,3, respectivamente, basándonos en los valores de los desplazamientos químicos y de integral medidos. En los 1-amino-3-iminopropenos derivados de amino ácidos,<sup>55</sup> el protón H-2 se observa, en disolventes polares, a  $\delta$  5.49-6.20

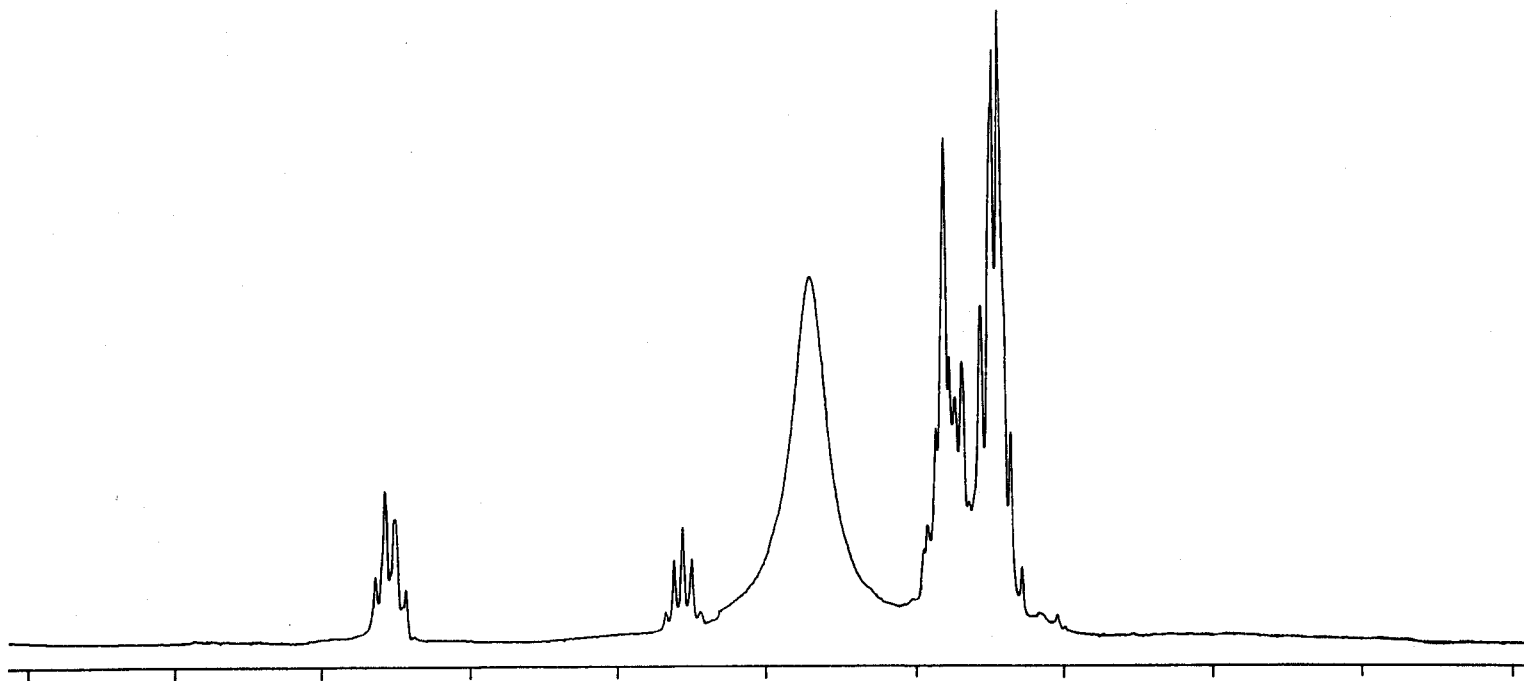


Figura 33. Espectro de r.m.n. de protones (D<sub>2</sub>O) del compuesto 54.



ppm como un triplete. Los protones H-1 y H-3 en estos 1-amino-3-iminopropenos son equivalentes, y se observan a  $\delta$  7.45-7.93 ppm, como dobletes. Los acoplamientos  $J_{1,2}$  y  $J_{2,3}$  son del orden de 11.0-11.7 Hz. Estos datos indican que los 1-amino-3-iminopropenos derivados de amino ácidos adoptan, en disolventes polares, la geometría más extendida *trans*, *s-trans* (EE) alrededor de los enlaces C-1=C-2 y C-2=C-3, respectivamente. Los multipletes que hemos asignado a los protones H-1, H-2 y H-3 pueden interpretarse en base a la geometría EE alrededor de los enlaces C-1=C-2 y C-2=C-3. Si ahora tenemos en cuenta las posibles geometrías alrededor de los enlaces N-C-1 y C-3=N, el compuesto 54 estará en las formas isómeras EEEE, ZEEE, EEEZ y ZEEZ (Figura 34). La señal correspondiente a H-2 debe aparecer como un triplete, pero este protón puede encontrarse en tres entornos magnéticos diferentes: con los dos restos de azúcar (isómero ZEEZ), con uno sólo (isómeros ZEEE y EEEZ) o con ninguno (isómero EEEE) ejerciendo efecto  $\gamma$ -desapantallante sobre él. Por tanto la señal de H-2 podemos interpretarla como la superposición de tres tripletes a  $\delta$  5.51, 5.56 y 5.62 ppm, con  $J$  12.5 Hz. La asignación de los tripletes a cada uno de los isómeros podemos hacerla considerando que, en el enaminal 52, H-2 se desapantalla 0.04 ppm en la geometría Z alrededor del enlace N-C-1. De los cuatro isómeros, el de menor  $\delta$  debe ser el EEEE, y le asignamos el valor base  $\delta$  5.51 ppm. Los isómeros ZEEE y EEEZ deben incrementar el valor base en 0.04 ppm ( $\delta$  5.55 ppm), habiéndose encontrado el valor  $\delta$  5.56 ppm. Por

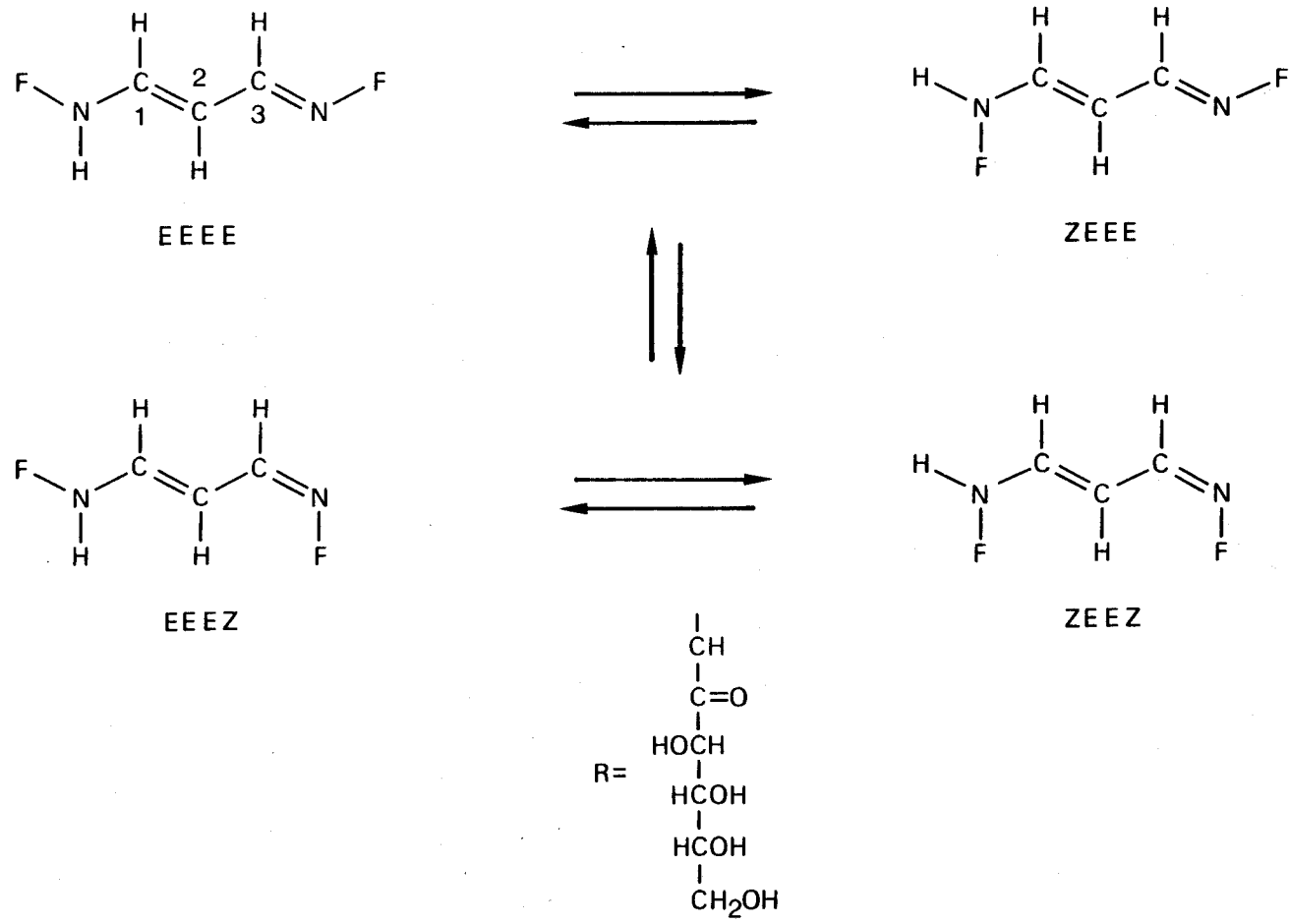


Figura 34. Equilibrio isomérico del compuesto 54.

último, el isómero ZEEZ debe incrementar el valor base en 0.08 ppm ( $\delta$  5.59 ppm), y se ha encontrado  $\delta$  5.62 ppm. La señal correspondiente a los protones H-1 y H-3 debe aparecer como un doblete, pero este protón puede encontrarse en cuatro entornos magnéticos distintos: con los dos restos de azúcar en disposición E (isómero EEEE) o Z (isómero ZEEZ), con el azúcar "cercano" en Z y el "lejano" en E (H-1 en el isómero ZEEE y H-3 en el EEEZ), y con el azúcar "cercano" en E y el "lejano" en Z (H-3 en el isómero ZEEE y H-1 en el EEEZ). Por tanto la señal correspondiente a los protones H-1,3 puede interpretarse como la superposición de cuatro dobletes a  $\delta$  7.46, 7.54, 7.56 y 7.60 ppm, con  $J= 12.9-13.5$  Hz. Como en el caso de H-2, podemos hacer un cálculo teórico de los valores de  $\delta$  correspondientes a cada isómero si tenemos en cuenta que en el enaminal 52, H-1 (con el resto de azúcar "cercano") se desapantalla 0.11 ppm en la geometría Z alrededor del enlace N—C-1, y H-3 (con el resto de azúcar "lejano") lo hace en 0.07 ppm. El valor base es ahora  $\delta$  7.46 ppm, y debe corresponder al isómero EEEE. Para los isómeros ZEEE y EEEZ debemos incrementar el valor base en 0.07 o en 0.11 ppm, según se trate de H-1 o H-3 (isómero EEEZ) o al contrario (isómero ZEEE). Los valores predichos son  $\delta$  7.53 y 7.57 ppm, siendo los encontrados  $\delta$  7.54 y 7.56 ppm. Por último, en el isómero ZEEZ debemos incrementar en 0.18 ppm el valor base ( $\delta$  7.64 ppm), habiéndose encontrado un valor de  $\delta$  7.60 ppm. Los tres tripletes asignados a H-2 están en la relación de intensidades 1:2:1. Este resultado indica que los isómeros

EEEE, ZEEE, EEEZ y ZEEZ están aproximadamente en la misma proporción en disolución acuosa.

El resto del espectro de protones de **54** consiste en un multiplete de gran complejidad a  $\delta$  4.2-5.0 ppm, de intensidad 14H, aproximadamente, que asignamos a los protones de los dos restos de azúcar.

Las formas isómeras que pueden adoptar los restos de azúcar en el 1-amino-3-iminopropeno **54** pueden deducirse del espectro de  $^{13}\text{C}$  (Figura 35, Tabla XVII).<sup>68-72</sup> Este espectro muestra una alta proporción (90%) del isómero (o isómeros) con la estructura  $\beta$ -p en los dos restos de azúcar. Dicha estructura es la única que hemos podido asignar y queda determinada por los valores de  $\delta$  correspondientes a los carbonos anoméricos C-2' y C-2'' ( $\delta$  98.0 y 98.2 ppm), así como por la serie de carbonos C-3',3'' ( $\delta$  70.3 ppm), C-4',4'' ( $\delta$  69.8 ppm), C-5',5'' ( $\delta$  69.3 y 69.5 ppm) y C-6',6'' ( $\delta$  64.5 ppm). Estos valores de  $\delta$  son muy similares a los encontrados para la forma  $\beta$ -p del enaminal **52** (Tabla XIV). Las cuatro señales de azúcar restantes, a  $\delta$  49.7, 49.9, 55.1 y 55.2 ppm, se asignan a los dos carbonos C-1',1'' de azúcar. En el compuesto **52** hemos visto que el carbono C-1' de azúcar muestra dos señales a  $\delta$  49.5 y 54.7 ppm (Tabla XIV) asignadas, respectivamente, a los conformeros Z y E alrededor del enlace N—C-1. Por analogía, las señales a  $\delta$  49.7 y 49.9 ppm del compuesto **54** se hacen corresponder a una geometría Z alrededor de los enlaces N—C-1 y C-3=N, y las señales a  $\delta$  55.1 y 55.2 ppm a la geometría E.

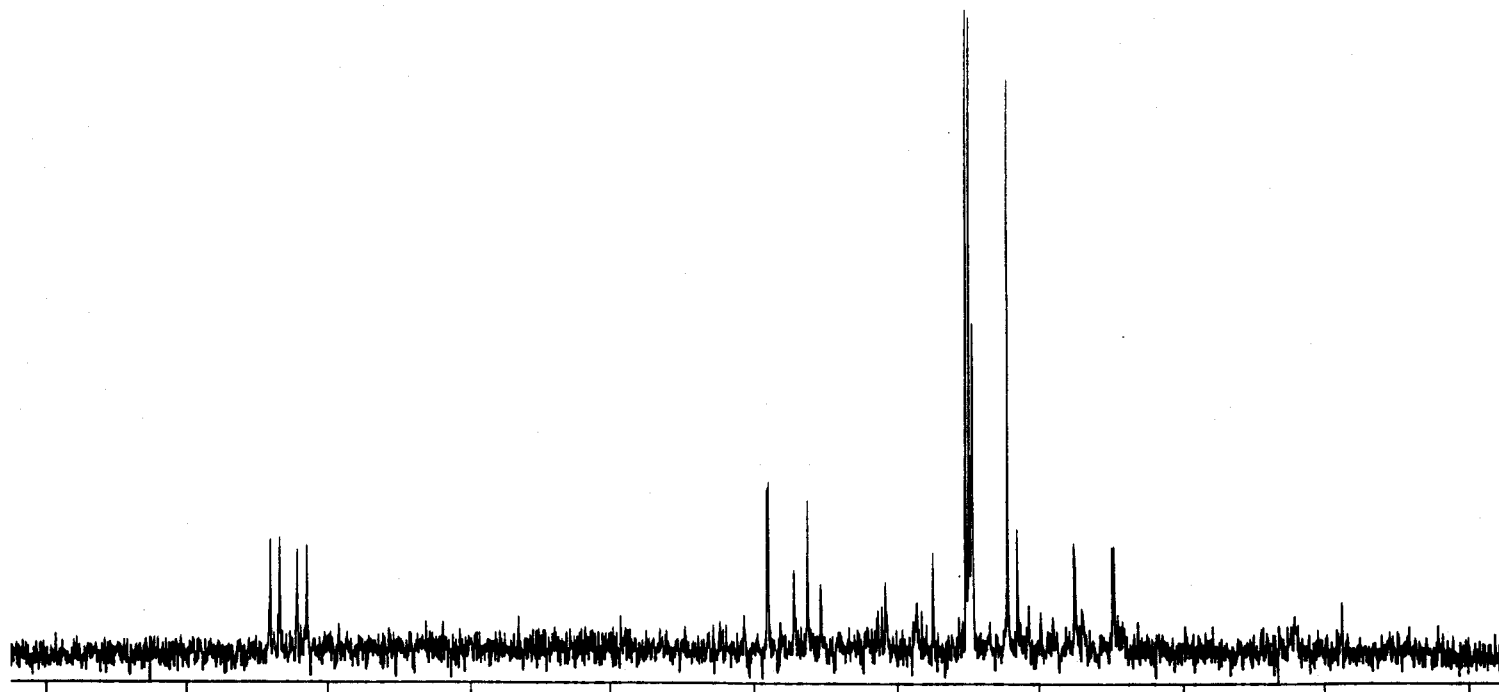


Figura 35. Espectro de r.m.n. de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) del compuesto 54.

De lo indicado hasta ahora se deduce que el 1-amino-3-iminopropeno **54** presenta una geometría *EE* alrededor de los enlaces C-1=C-2 y C-2-C-3, tiene los dos restos de azúcar predominantemente en la forma  $\beta$ -*p*, y existe en las geometrías *Z* y *E* alrededor de los enlaces N-C-1 y C-3=N. Por tanto, los isómeros posibles para el compuesto **54** son el  $\beta$ -*p*-*EEEE*, el  $\beta$ -*p*-*ZEEE*, el  $\beta$ -*p*-*EE EZ* y el  $\beta$ -*p*-*ZEEZ* (Figura 30, F=  $\beta$ -*p*).

En base a estos cuatro isómeros se pueden explicar las cuatro señales de los carbonos C-1', 1''. Si consideramos, por ejemplo, el C-1', éste puede encontrarse en las geometrías diferenciadas *Z* y *E* alrededor del enlace N-C-1. En cada una de estas geometrías, el otro resto de azúcar puede a su vez adoptar las geometrías *Z* y *E* alrededor del enlace C-3=N. Este cambio de geometría se refleja modificando ligeramente (0.1-0.2 ppm) el valor de  $\delta$  de C-1'.

De manera similar se puede interpretar el conjunto de señales que se observa para los carbonos C-1, C-2 y C-3. La explicación se basa en el efecto observado en el enaminal **52** sobre los valores de  $\delta$  de los carbonos C-1, C-2 y C-3, al cambiar la geometría alrededor del enlace N-C-1. Para la forma  $\beta$ -*p*, cuando dicha geometría cambia de *Z* a *E*, se observa (Tabla XIV) que el  $\delta$  de C-1 aumenta en 4.1 ppm, el  $\delta$  de C-2 aumenta en 1.8 ppm, mientras el  $\delta$  de C-3 disminuye en 1.1 ppm. El compuesto **54** muestra señales a  $\delta$  90.7, 92.6 y 94.5 ppm, que asignamos al C-2 por analogía con los valores encontrados para este carbono en los 1-amino-3-iminopropenos

derivados de amino ácidos ( $\delta$  90.0-95.5 ppm).<sup>55</sup> El isómero  $\beta$ -p-ZEEZ debe ser el que tenga menor  $\delta$  de C-2 y le asignamos el valor base  $\delta$  90.7 ppm. Los isómeros  $\beta$ -p-ZEEE y  $\beta$ -p-EEEZ cambian la geometría de uno de los restos de azúcar de Z a E, incrementando teóricamente el valor base en 1.8 ppm ( $\delta$  92.5 ppm), siendo el valor encontrado  $\delta$  92.6 ppm. El isómero  $\beta$ -p-EEEE, con los dos restos de azúcar en la geometría E, debe incrementar el valor base de  $\delta$  de C-2 en 3.6 ppm ( $\delta$  94.3 ppm), habiéndose encontrado un valor  $\delta$  94.5 ppm.

El espectro de  $^{13}\text{C}$  del 1-amino-3-iminopropeno **54** muestra también señales a  $\delta$  163.0, 164.4, 166.9 y 168.2 ppm, que asignamos a los carbonos C-1 y C-3, por analogía con los valores encontrados para dichos carbonos en los 1-amino-3-iminopropenos derivados de amino ácidos ( $\delta$  158.1-166.5 ppm).<sup>55</sup> Si consideramos los isómeros  $\beta$ -p-EEEE,  $\beta$ -p-ZEEE,  $\beta$ -p-EEEZ y  $\beta$ -p-ZEEZ (Figura 30, F=  $\beta$ -p), observamos que los núcleos en cuestión pueden encontrarse en cuatro entornos magnéticos distintos. Si, por ejemplo, nos fijamos en el C-1, éste puede tener el azúcar "cercano" y el "lejano" en disposición E alrededor de los enlaces N—C-1 y C-3=N (isómero  $\beta$ -p-EEEE), el "cercano" en Z y el "lejano" en E (isómero  $\beta$ -p-ZEEE), el "cercano" en E y el "lejano" en Z (isómero  $\beta$ -p-EEEZ), y ambos en Z (isómero  $\beta$ -p-ZEEZ). La geometría del resto de azúcar "cercano" puede asumirse que afecta al valor de  $\delta$  de C-1 en la misma medida que afecta al  $\delta$  de C-1 del enaminal **52**, incrementando en 4.1 ppm el valor de  $\delta$  al pasar de la geometría Z a la E. De forma análoga, el

resto de azúcar "lejano" puede asumirse que afecta al  $\delta$  de C-1 disminuyéndolo en 1.1 ppm al pasar de la geometría Z a la E. Con estos datos es plausible pensar que el isómero al que le corresponde el menor valor de  $\delta$  de C-1 es el  $\beta$ -p-ZEEE, al que asignamos el valor base  $\delta$  163.0 ppm. En el isómero  $\beta$ -p-ZEEZ, el valor base de  $\delta$  de C-1 debe incrementarse en 1.1 ppm ( $\delta$  164.1 ppm), siendo el valor encontrado  $\delta$  164.4 ppm. En el isómero  $\beta$ -p-EEEE el valor base debe incrementarse en 4.1 ppm ( $\delta$  167.1 ppm) y el valor más próximo encontrado es  $\delta$  166.9 ppm. Por último, en el isómero  $\beta$ -p-EEEZ cabe esperar un incremento de 5.2 en el valor base de  $\delta$  de C-1, siendo el valor encontrado justamente el calculado,  $\delta$  168.2 ppm. El razonamiento para los valores de  $\delta$  de C-3 es paralelo y lleva a los mismos valores de  $\delta$  calculados, aunque la asignación es ahora  $\beta$ -p-EEEZ ( $\delta$  163.0 ppm),  $\beta$ -p-ZEEZ ( $\delta$  164.4 ppm),  $\beta$ -p-EEEE ( $\delta$  166.9 ppm) y  $\beta$ -p-ZEEE ( $\delta$  168.2 ppm).

Los datos analíticos y espectroscópicos del 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldhido 55 son coherentes con la estructura propuesta. Su espectro u.v. muestra absorciones a 235 ( $\epsilon$  18080), 262 ( $\epsilon$  8440) y 384 nm ( $\epsilon$  8880). Tiene propiedades fluorescentes, con excitación a 391 nm y emisión a 453 nm (IRM 0.92). En su espectro i.r. aparecen bandas a 3405 (OH), 1666 (C=O) y 1570  $\text{cm}^{-1}$  (C=C). En el espectro de masas de 55, se observa el ion molecular ( $M^+$ , m/e 313), siendo el pico base el de relación m/e 136, correspondiente al catión aromático piridonio que se forma por pérdida de los grupos n-butilo y D-fructos-1-ilo de su estructura. Todos



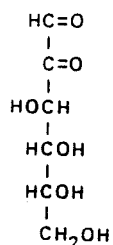
estos datos son muy similares a los de los 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhididos **42**, **43** y **51** (secciones 2.2.1 y 2.2.3).

Al ser un derivado de fructosa, en sus espectros de r.m.n. (Tabla XVIII) se observa<sup>68-72</sup> el esperado equilibrio entre las distintas formas isómeras que hemos comentado en otros casos. Según se deduce de su espectro de <sup>13</sup>C, la forma predominante es, como se ha observado habitualmente, la  $\beta$ -p ( $\delta$  de C-1, 98.4 ppm), observándose también las formas  $\beta$ -f ( $\delta$  de C-1, 101.4 ppm) y  $\alpha$ -f ( $\delta$  de C-1, 104.8 ppm); las asignaciones se confirman con los valores de  $\delta$  de C-3,4,5 y 6. Las señales correspondientes a las parejas de carbonos C-2',6', C-3',5' y los grupos CHO de las posiciones 3' y 5' se observan ligeramente separadas. Al igual que en los compuestos similares **42**, **43** y **51**, la presencia de un sustituyente quiral en la posición 1' del heterociclo y del sustituyente metilo en la posición 4', hace a los núcleos de cada una de estas parejas no equivalentes, teniendo desplazamientos químicos distintos.

Por último, una prueba química a favor de la estructura de **55** es su preparación (30%) por reacción del acetato de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa con la sal sódica de 1,4-dihidroximetilen-3-metilglutaraldehído (**22**), en solución acuosa y pH aproximadamente neutro. Esta reacción es similar a las descritas en la sección 2.1.6.

En lo que respecta al 4-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhído (**31**), resultó ser idéntico al obtenido por

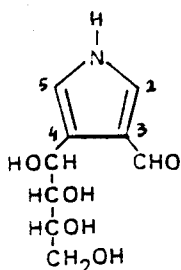
síntesis (ver sección 2.1.6). La formación de este compuesto indica que en algún momento la 1-amino-1-desoxi-D-fructosa debe escindirse, perdiendo el grupo amino. Esta escisión puede ser anterior o posterior a la formación del anillo de 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldhido. Si la escisión fuese anterior, se produciría amoniaco, que reaccionaría con el 1,4-dihidroximetilen-3-metilglutaraldehido (24), también formado en el medio de reacción a partir del MDA. Esto último es posible ya que la reacción ocurre a pH 6-7, dentro del rango de pH en que el MDA se escinde y produce el compuesto 24 (ver sección 2.1.3). En caso de ser posterior, se formaría primeramente el compuesto 55, que subsiguiente debería escindirse, produciendo el compuesto 31. En apoyo de la primera posibilidad, una disolución del compuesto 55 dejada estar en diferentes condiciones de pH (1-7) no sufre alteración (c.c.f.). Por otra parte, se sabe que en los primeros pasos de la reacción de Maillard los (1-desoxi-D-fructos-1-il)amino ácidos formados por transposición de Amadori de los glucosilamino ácidos, sufren la pérdida del grupo amino, formándose osonas (56).<sup>73</sup>



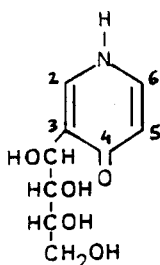
2.2.5. Ciclación de la 1-desoxi-1-[(3-oxo-1-propen-1-il)-amino]-D-fructosa (52)

Cuando una disolución del enaminal 52 preparada *in situ*, incubando a temperatura ambiente durante 24 horas cantidades equimoleculares de acetato de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa y NaMDA, se llevó a pH 9 y se calentó 1 hora a 100°, se observó (c.c.f.) la transformación cuantitativa del enaminal en, al menos, cuatro productos detectables con luz u.v. La velocidad de reacción depende del pH: a pH 7, después de 5 horas de calefacción, los nuevos productos son todavía minoritarios en relación con el enaminal de partida. Durante la calefacción, la disolución toma una coloración marrón oscura y se desarrolla un olor similar al de productos de repostería (galletas).

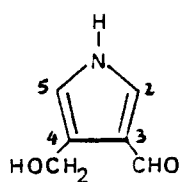
La cromatografía de los productos de reacción de un ensayo llevado a cabo a pH 9, calentando durante 1 hora, permitió el aislamiento y purificación de los dos productos mayoritarios, el 4-(D-arabino-tetritol-1-il)-3-pirrolcarbaldehído (57) y la 3-(D-arabino-tetritol-1-il)-4-piridona (58).



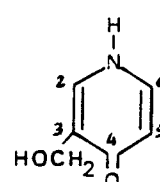
57



58

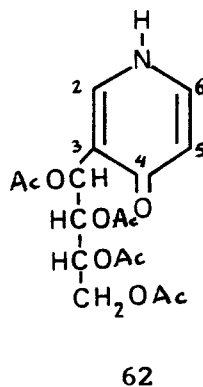
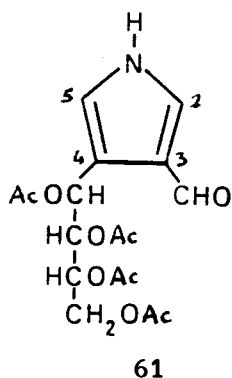


59



60

Los dos productos minoritarios, menos polares, son el 4-hidroximetil-3-pirrolcarbaldehido (59) y la 3-hidroximetil-4-piridona (60), y fueron aislados como sólidos cristalinos. Los productos 57 y 58, aislados como sólidos amorfos, son muy inestables, oscureciéndose rápidamente al contacto con el aire. También se observó que, al manipular la mezcla de reacción para su fraccionamiento cromatográfico (capas finas preparativas), se produce oscurecimiento de los extractos de gel de sílice. Ello hizo que los rendimientos fuesen bajos (menores del 5%). Debido a la inestabilidad de estos compuestos, se acetiló un ensayo de la mezcla de reacción, separándose cromatográficamente los acetatos de los compuestos 57 y 58, el 4-(1,2,3,4-tetra-*O*-acetil-*D*-arabino-tetritol-1-il)-3-pirrolcarbaldehido (61) y la 3-(1,2,3,4-tetra-*O*-acetil-*D*-arabino-tetritol-1-il)-4-piridona (62). Ambos acetatos resultaron ser sirupos igualmente inestables, que se oscurecen rápidamente.



Los espectros u.v. de los 3-pirrolcarbaldehidos 57, 59 y 61 (Figura 36), muestran un máximo de absorción a 246-253 nm ( $\epsilon$  8400-10800), junto con un hombro sobre 270-290

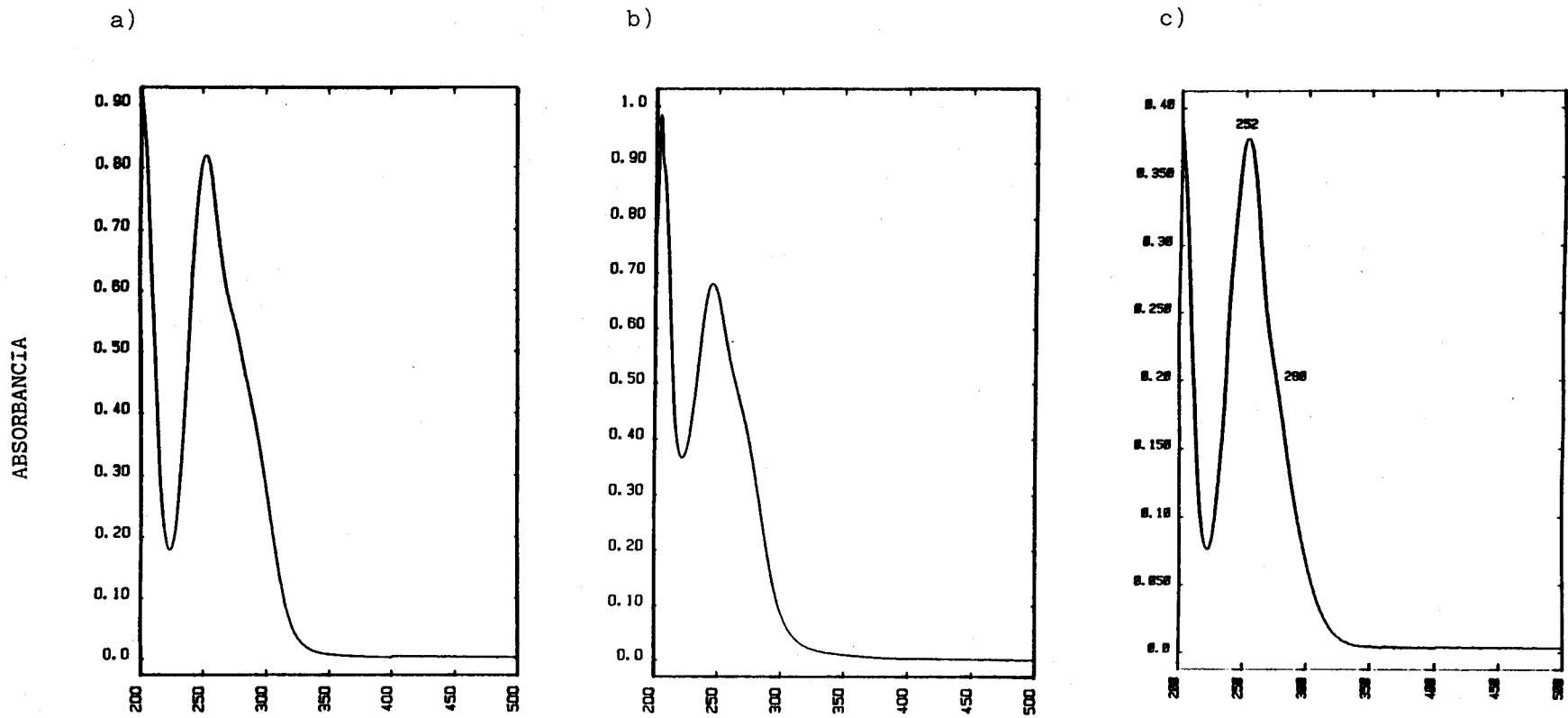


Figura 36. Espectros u.v. de los compuestos: a) 57 (H<sub>2</sub>O); b) 59 (H<sub>2</sub>O); c) 61 (EtOH).

nm ( $\epsilon$  4500-5000). Estos espectros son similares a los de los 3-pirrolcarbaldehidos **45-47**, formados en la reacción de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa con MDA (sección 2.2.2), así como otros 3-pirrolcarbaldehidos simples descritos en la literatura.<sup>5,65</sup> Los espectros u.v. de las 4-piridonas **58**, **60** y **62** (Figura 37) muestran un máximo de absorción a 291-296 nm ( $\epsilon$  13400-19500), junto con un hombro sobre 250 nm ( $\epsilon$  3200-5500).

En el espectro i.r. (Figura 38) del 4-hidroxi-metil-3-pirrolcarbaldehido (**59**) y del 4-(1,2,3,4-tetra-O-acetil-D-arabino-tetritol-1-il)-3-pirrolcarbaldehido (**61**) se observan las bandas de absorción correspondientes al CH del grupo aldehido (2855-2861 y 2760-2777  $\text{cm}^{-1}$ ), así como las correspondientes a los grupos OH y NH de **59** (3294  $\text{cm}^{-1}$ ) y NH de **61** (3372  $\text{cm}^{-1}$ ), al carbonilo aldehídico (1641-1669  $\text{cm}^{-1}$ ) y a los dobles enlaces del anillo de pirrol (1563 y 1517-1529  $\text{cm}^{-1}$ ); en el espectro de **61** se observa además la banda de acetato a 1754  $\text{cm}^{-1}$ . Los espectros i.r. de las 4-piridonas **58**, **60** y **62** (Figuras 39, 40 y 41) muestran bandas de absorción comunes a 1655-1667 y 1545-1551  $\text{cm}^{-1}$ , que se asignan al C=O y al C=C del anillo de 4-piridona, por analogía con el observado para la 4-piridona misma.<sup>74</sup> El espectro i.r. de **58** muestra además las absorciones de los grupos OH y NH a 3412 y 3210  $\text{cm}^{-1}$ , que desaparecen en el espectro del compuesto **62**, salvo la absorción de NH a 3345  $\text{cm}^{-1}$ , apareciendo en su lugar la absorción correspondiente al carbonilo de acetato a 1754  $\text{cm}^{-1}$ . En el espectro i.r. de **60**

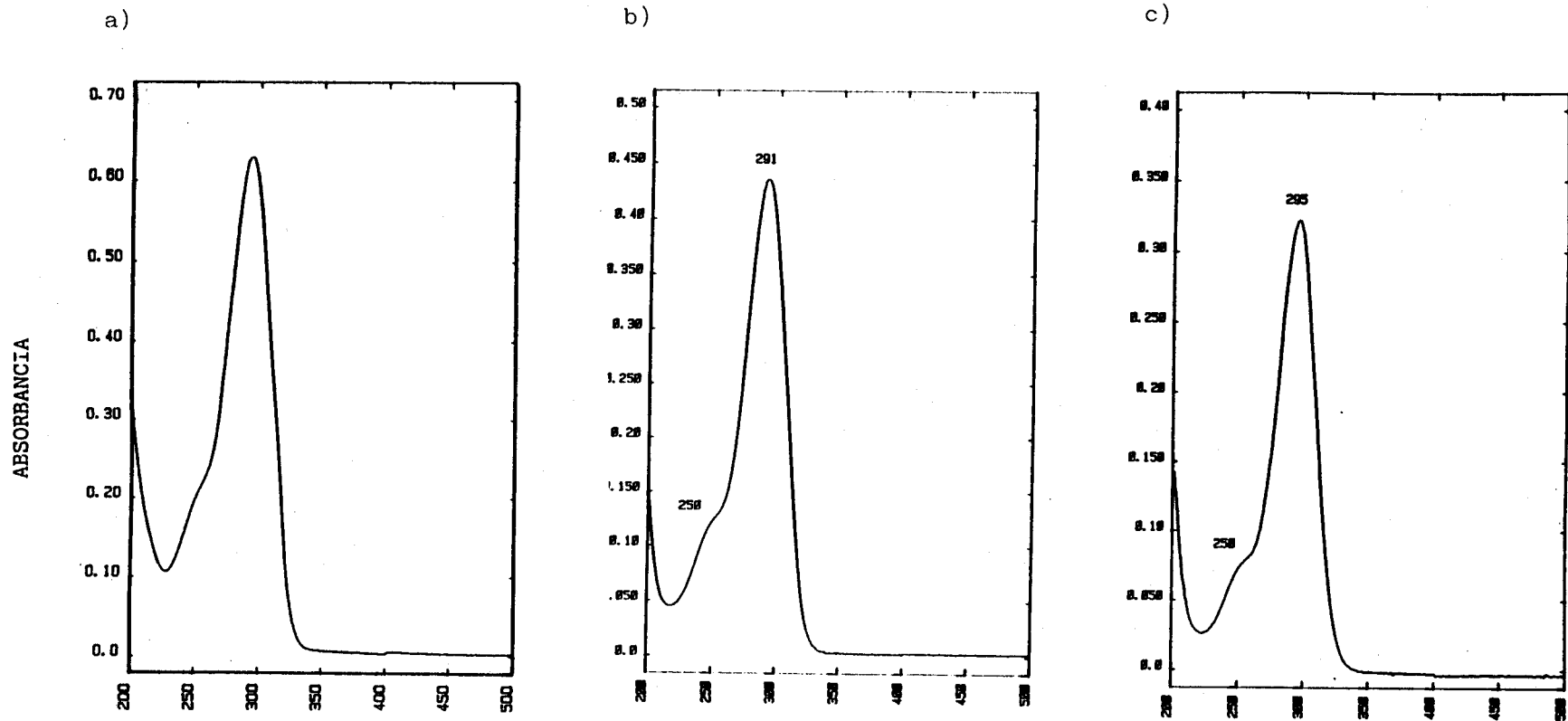
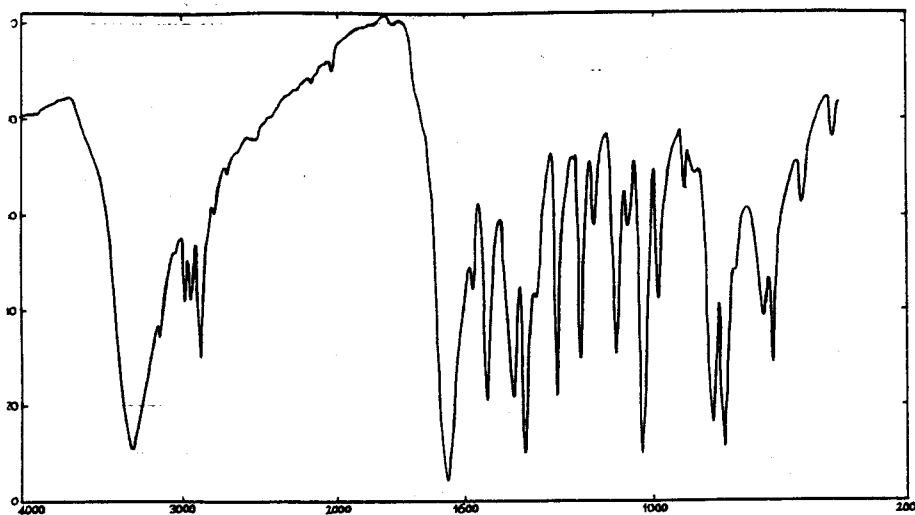


Figura 37. Espectros u.v. de los compuestos: a) 58 ( $H_2O$ ); b) 60 ( $H_2O$ ); c) 62 (EtOH).



a)



b)

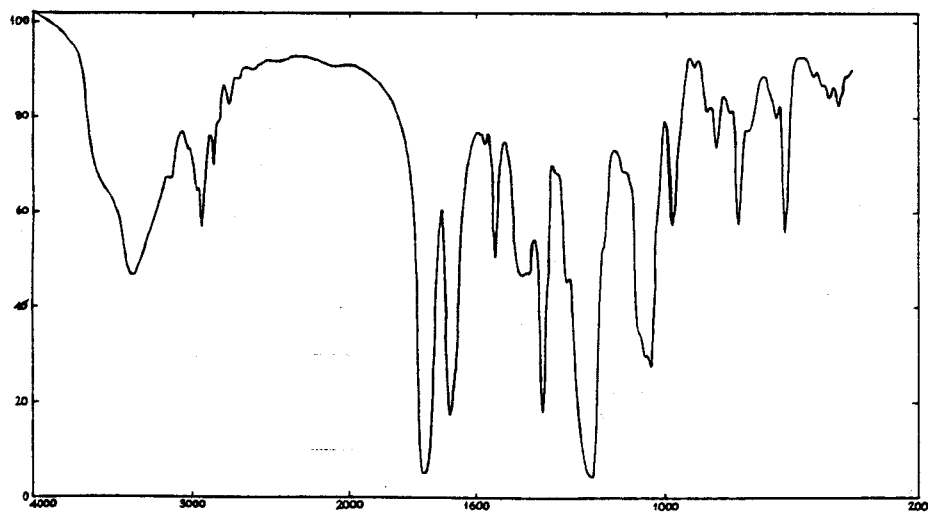


Figura 38. Espectros i.r. (KBr) de los compuestos : a) 59  
y b) 61.



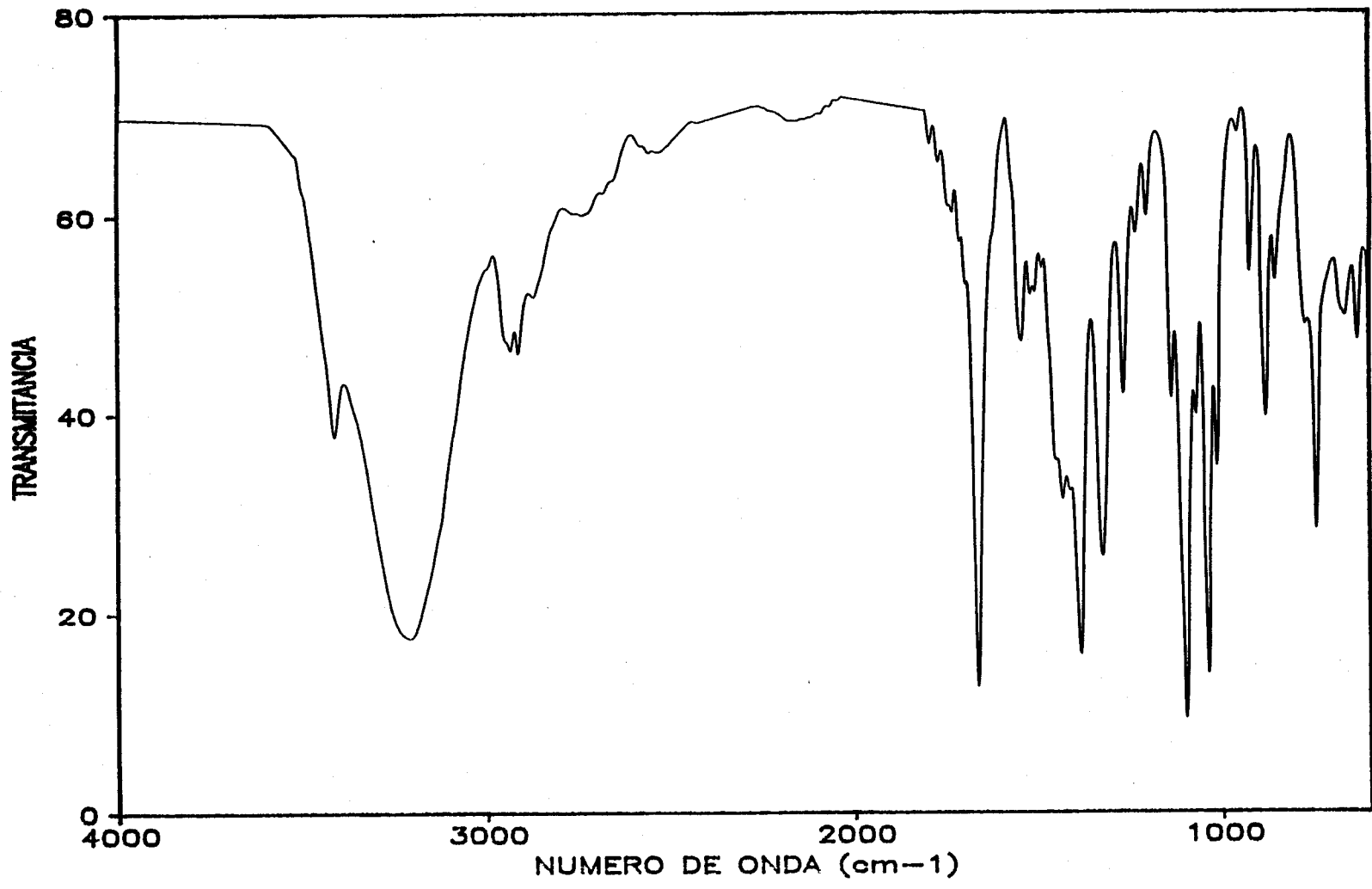


Figura 39. Espectro i.r. (KBr) del compuesto 58.

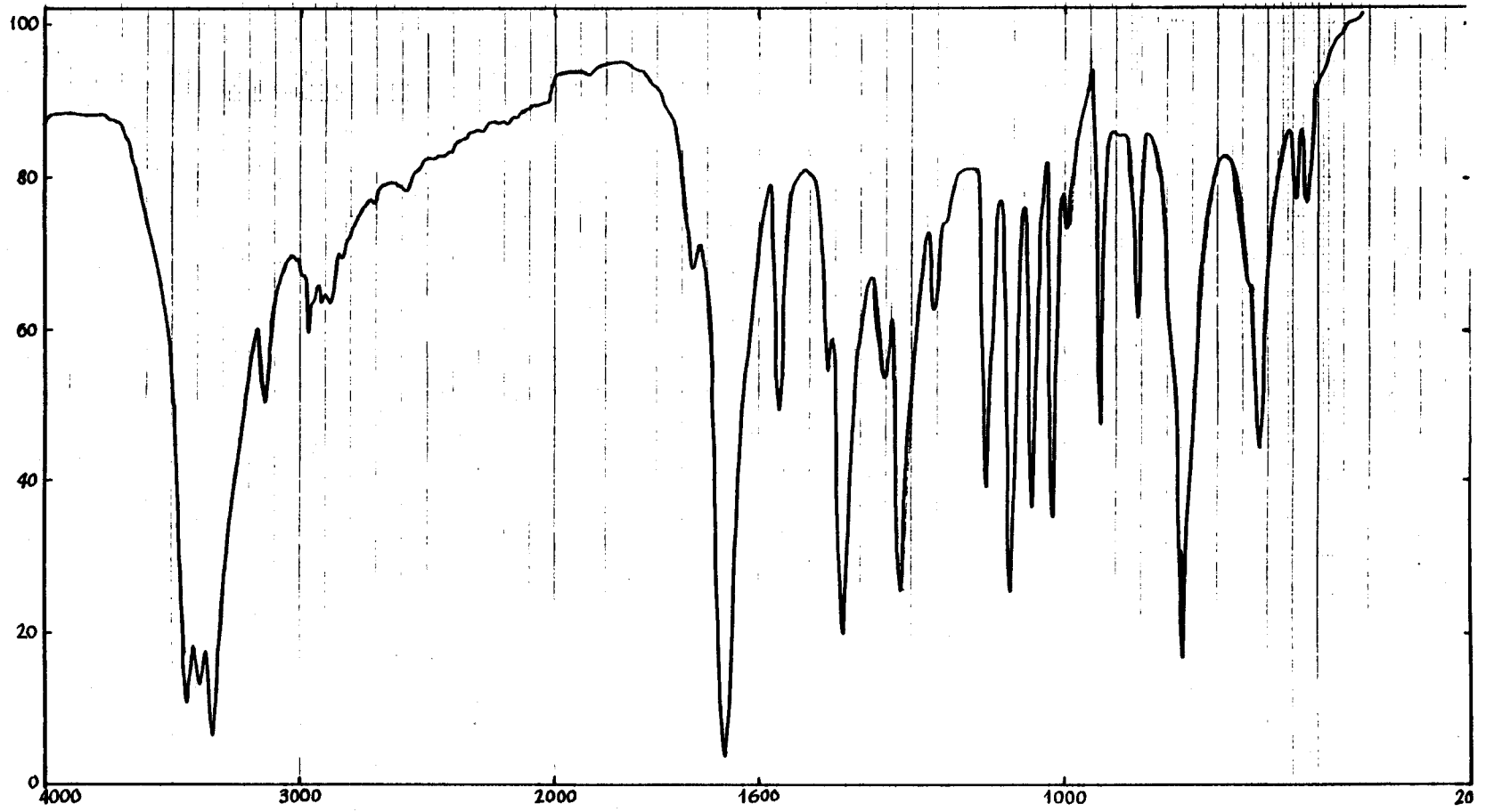


Figura 40. Espectro i.r. (KBr) del compuesto 60.

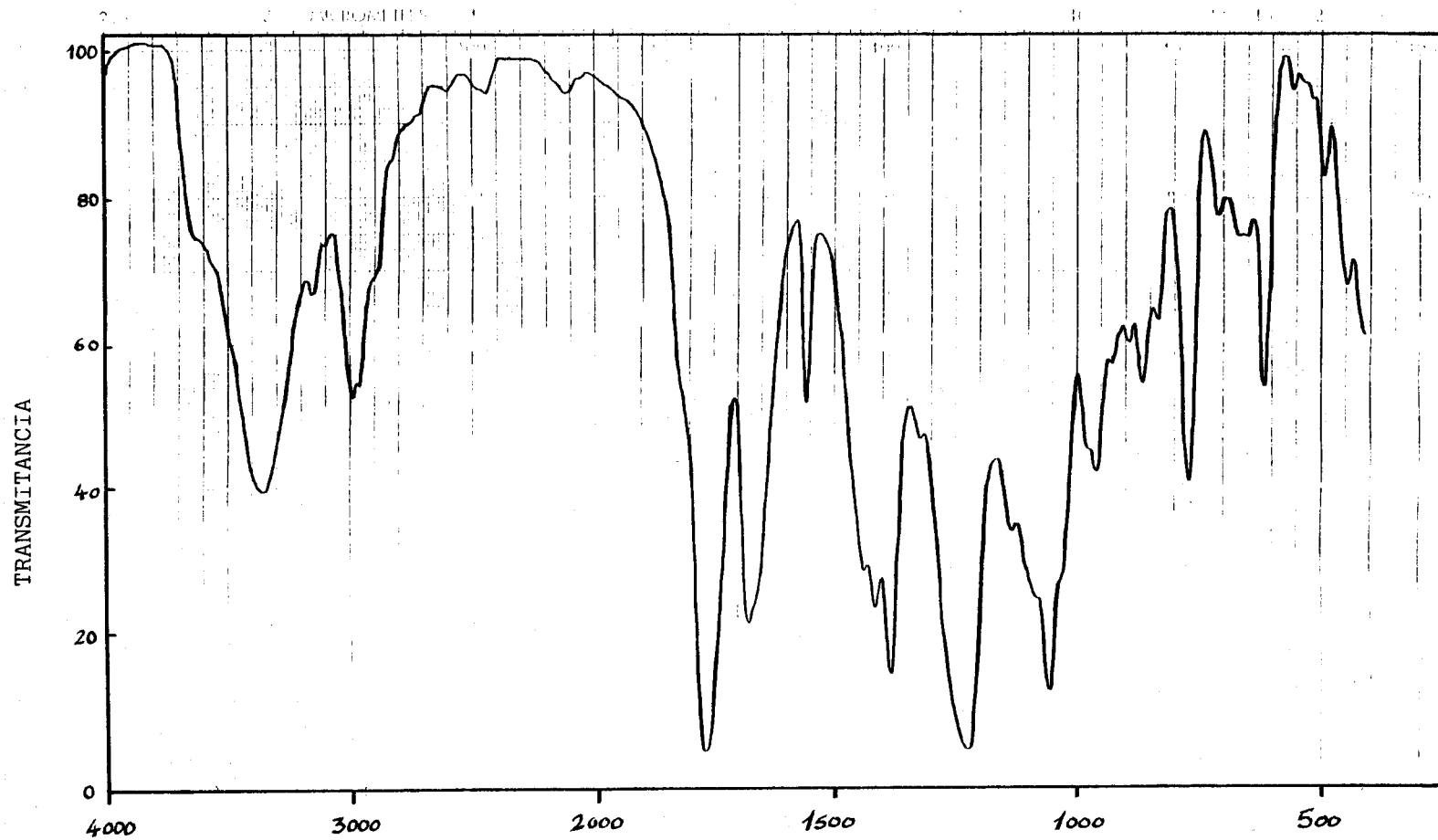
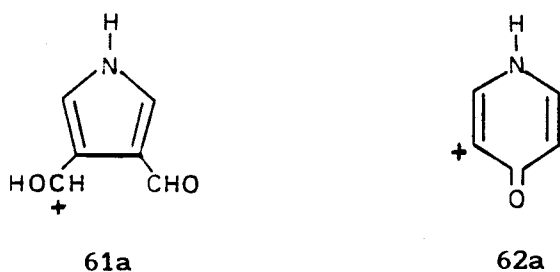


Figura 41. Espectro i.r. (KBr) del compuesto 62.

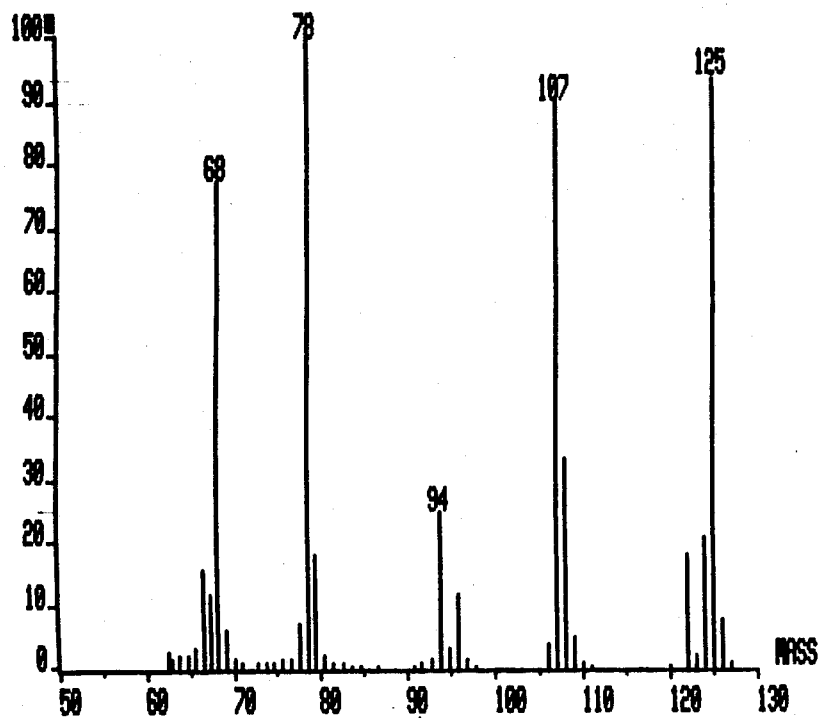
se observan también las bandas de absorción de los grupos OH y NH a 3425, 3372 y 3321  $\text{cm}^{-1}$ .

Los espectros de masas de los acetatos 61 y 62 indican la presencia del ion molecular ( $m/e$  383 en ambos casos) y las sucesivas pérdidas de acetato. En el caso de 61, el pico base es el de  $m/e$  43 ( $\text{CH}_3\text{CO}^+$ ) y el siguiente pico en intensidad es el correspondiente al ion 61a, resultante de la fragmentación de la cadena poliacetilada entre los carbonos C-1' y C-2' ( $m/e$  124). En cuanto al compuesto 62, el pico base corresponde al ion 62a, resultante de la pérdida de toda la cadena poliacetilada ( $m/e$  94). Los espectros de masas



(Figura 42) de los compuestos 59 y 60 están muy relacionados con los de los acetatos anteriores. En el caso de 59, el pico correspondiente al ion molecular ( $m/e$  125) es muy intenso (int. rel., 94). Este ion molecular es igual al ion 61a protonado, y del pico correspondiente a él pudo medirse una masa de 125.0480 (calculada para 59,  $\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}_2 = 125.123$ ; error 0.06%). En el caso del compuesto 60 el pico correspondiente al ion molecular ( $m/e$  125) no es tan intenso (int. rel., 23), pero pudo medirse una masa de 125.0479 (calculada para 60,  $\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}_2 = 125.123$ ; error 0.06%), siendo el pico base el de  $m/e$

a)



b)

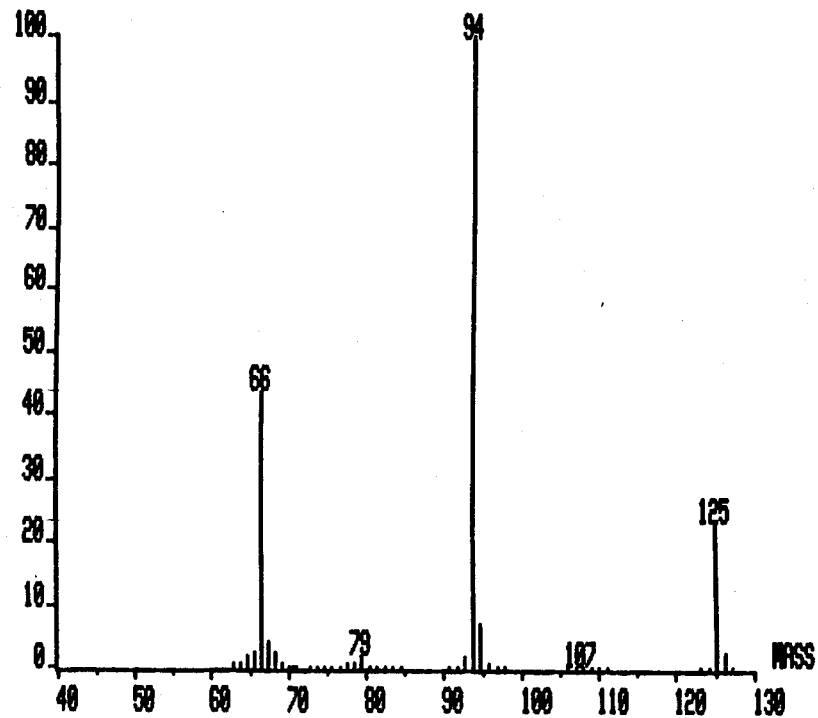


Figura 42. Espectros de masas (ionización electrónica) de los compuestos: a) 59 y b) 60.

94, como en el caso de 62, por pérdida del sustituyente hidroximetilo.

Los espectros de r.m.n. de protones (Tabla XIX) de los 3-pirrolcarbaldehidos 57 y 59 ( $D_2O$ , Figura 43) y 61 ( $CDCl_3$ , Figura 44) muestran señales características del anillo de pirrol-3,4-disustituido. En el caso del compuesto 57, el protón H-2 aparece a  $\delta$  7.58 ppm como un doblete debido a su acoplamiento con H-5 ( $J_{2,5}$  2.0 Hz); en el compuesto 59 este protón aparece a  $\delta$  7.52 ppm también como un doblete, debido a su acoplamiento con H-5 ( $J_{2,5}$  1.9 Hz); en el compuesto 61 este protón aparece a  $\delta$  7.37 ppm como un doblete debido a su acoplamiento con H-1 ( $J_{1,2}$  2.5 Hz) y con H-5 ( $J_{2,5}$  2.2 Hz). El protón H-5 aparece a  $\delta$  6.85 ppm como un doblete en el caso del compuesto 57, debido a su acoplamiento con H-2 ( $J_{2,5}$ ) y con el protón aldehídico ( $J_{5,CHO}$  0.8 Hz); en el compuesto 59 aparece a  $\delta$  6.78 ppm, con la misma multiplicidad debida a su acoplamiento con H-2 ( $J_{2,5}$ ) y con el protón aldehídico ( $J_{5,CHO}$  0.7 Hz); en el compuesto 61 aparece a  $\delta$  6.80 ppm como un triplete debido a su acoplamiento con H-2 ( $J_{2,5}$ ) y con H-1 ( $J_{1,5}$  2.2 Hz). El protón aldehídico aparece a  $\delta$  9.44 ppm como doblete, en el caso de 57, por el acoplamiento  $J_{5,CHO}$ ; en el compuesto 59 también aparece como un doblete a  $\delta$  9.48 ppm, por el acoplamiento  $J_{5,CHO}$ ; en el compuesto 61 este protón no está acoplado con ningún otro y aparece a  $\delta$  9.87 ppm. En el caso del compuesto 61, se observa también la señal del protón amínico, H-1, como una señal ancha a  $\delta$  8.80 ppm, que

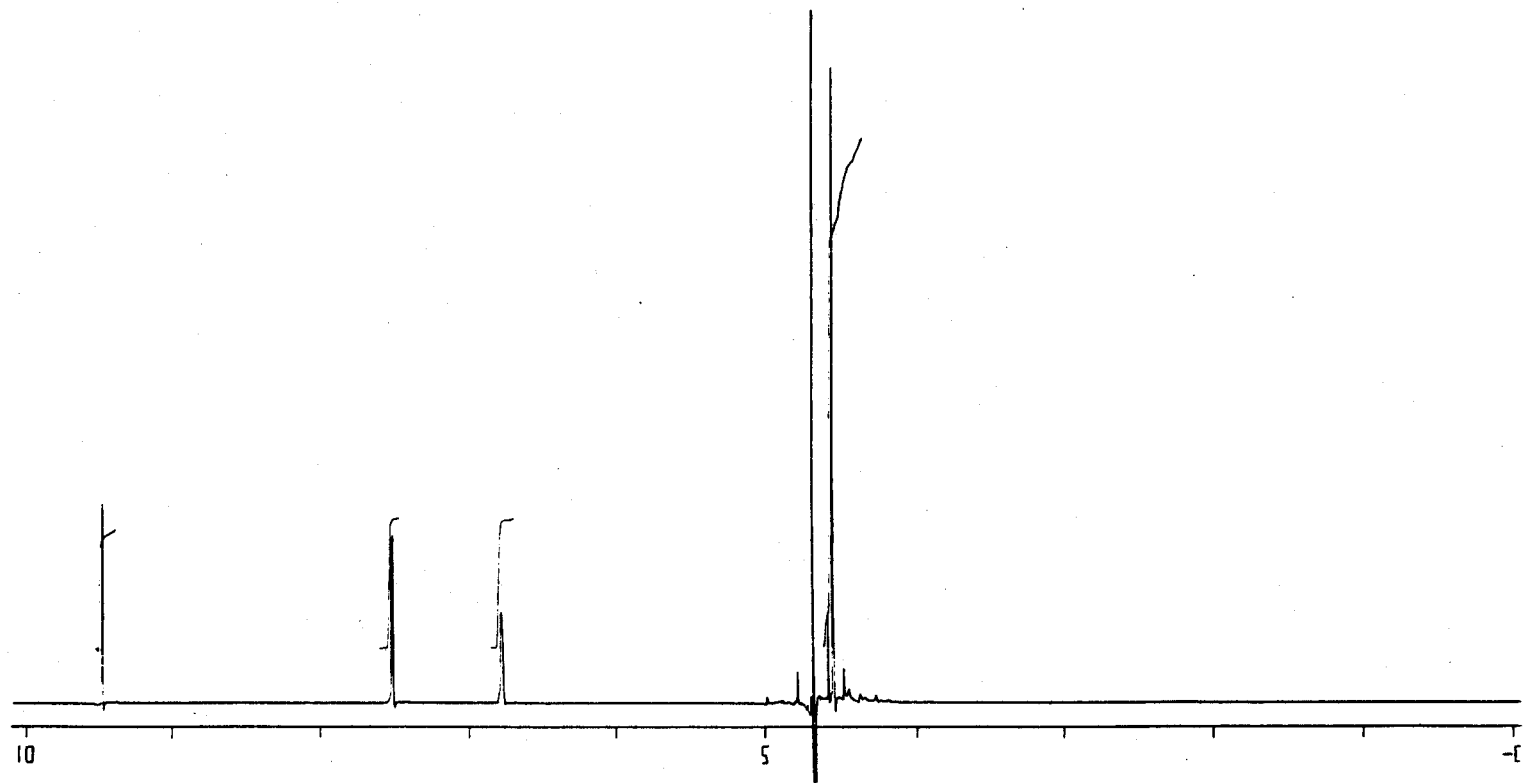


Figura 43. Espectro de r.m.n. de protones ( $D_2O$ ) del compuesto 59.

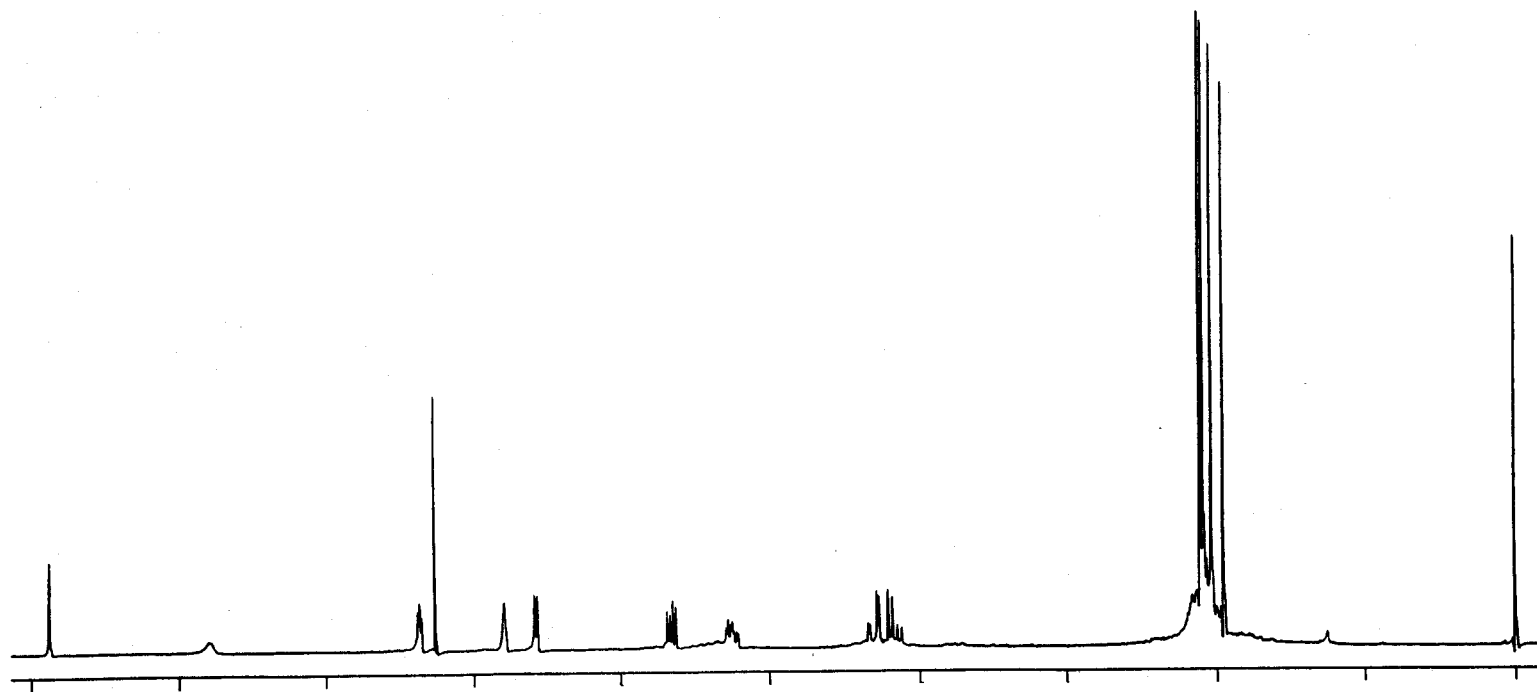


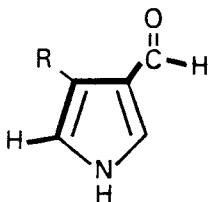
Figura 44. Espectro de r.m.n. de protones (deuteriocloroformo) del compuesto 61.



desaparece al deuterar.

En lo que respecta a los protones del sustituyente en posición 4 de estos compuestos, no hay ninguna dificultad en asignar los correspondientes a los metinos de la cadena poliacetilada de 61 (Tabla XIX), teniendo en cuenta sus multiplicidades, desplazamientos químicos, y la analogía con los numerosos productos con este sustituyente descritos.<sup>75</sup> La cadena polihidroxílica de 57 aparece como un multiplete complejo de intensidad 4H a  $\delta$  3.40-3.70 ppm, que engloba las señales de H-2',3',4' y 4''. La señal correspondiente a H-1' aparece resuelta como un doblete ( $J_{1',2'}$ , 3.6 Hz) a  $\delta$  5.05 ppm. Por último, en el espectro de 59 aparece un singulete a  $\delta$  4.56 ppm asignable a los protones metilénicos del grupo hidroximetilo, que integra para 2H.

El acoplamiento a larga distancia,  ${}^5J_{5,\text{CHO}}$ , observado en 57 y 59 indica que, en disolución acuosa, el enlace C-3—CHO adopta preferentemente la conformación *s-trans*, que permite un camino en W entre los protones acoplados:



Esta conformación es la más polar que puede adoptar dicho compuesto, y debe predominar en disolventes polares. En

cambio, no debe ser tan estable en disolventes apolares, por lo que, en el caso de **61**, cuyo espectro se registró en deuteriocloroformo, no se observa el acoplamiento  ${}^5J_{5,\text{CHO}}$ .

Los espectros de protones (Tabla XX) de los compuestos **58** ( $\text{D}_2\text{O}$ ), **60** (MeOD, Figura 45) y **62** ( $\text{CDCl}_3$ ) indican la ausencia de grupo aldehído. En el compuesto **62** aparece una señal ancha a  $\delta$  9.66 ppm, que se intercambia rápidamente por deuterio y se asigna al NH. Los protones del anillo de heterociclo de estos compuestos tienen resonancias y multiplicidades muy características. En el compuesto **58** los protones H-2, H-5 y H-6 están acoplados entre sí, apareciendo cada uno de ellos como dobles dobletes ( $J_{2,5}$  2.4 Hz,  $J_{2,6}$  1.3 Hz,  $J_{5,6}$  3.8 Hz), a  $\delta$  7.14, 6.25 y 7.06 ppm, respectivamente. La situación es análoga en el compuesto **60**, apareciendo estos protones con los mismos acoplamientos ( $J_{2,5}$  2.5 Hz,  $J_{2,6}$  1.3 Hz,  $J_{5,6}$  3.9 Hz), a  $\delta$  7.18, 6.33 y 7.06 ppm, respectivamente. El espectro de **62** es más complejo, pues H-2 y H-6 tienen unos desplazamientos químicos muy similares y, al estar acoplados, aparecen como un multiplete complejo entre  $\delta$  7.06 y 7.10 ppm; H-5 aparece a  $\delta$  6.31 ppm, y muestra la multiplicidad esperada de doble triplete, por los acoplamientos  $J_{5,6}$  (3.7 Hz),  $J_{2,5}$  (2.7 Hz) y  $J_{1,5}$  (2.7 Hz). El resto de las señales de **62** se asignan sin gran dificultad. En el caso de **58**, sólo podemos asignar el H-1' de la cadena polihidroxílica como el doblete ( $J_{1',2'}$  1.9 Hz) a  $\delta$  5.07 ppm, apareciendo los protones H-2', 3', 4' y 4'' como un multiplete de intensidad 4H a  $\delta$  3.45-3.90 ppm. Por último, los protones metilénicos del grupo

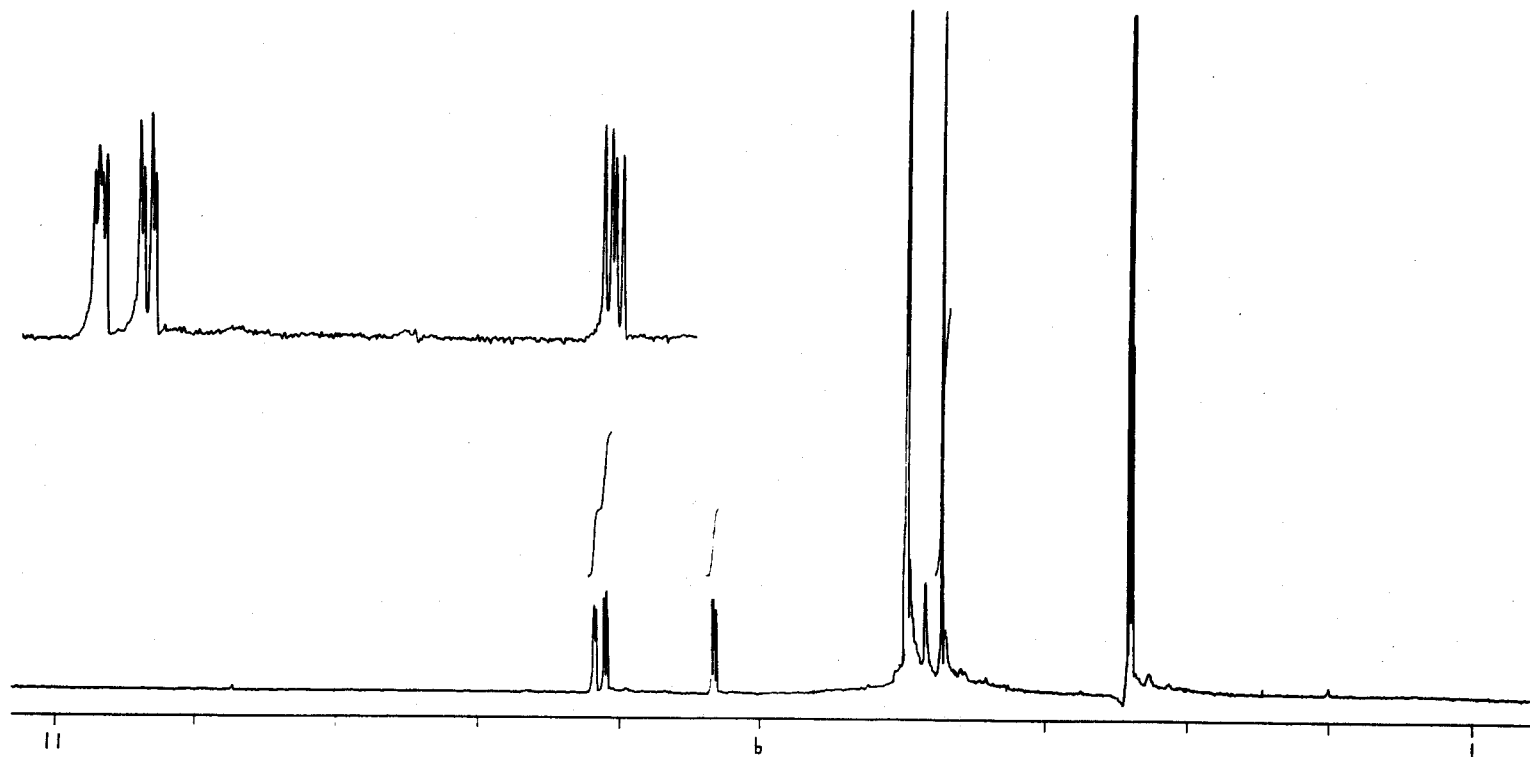
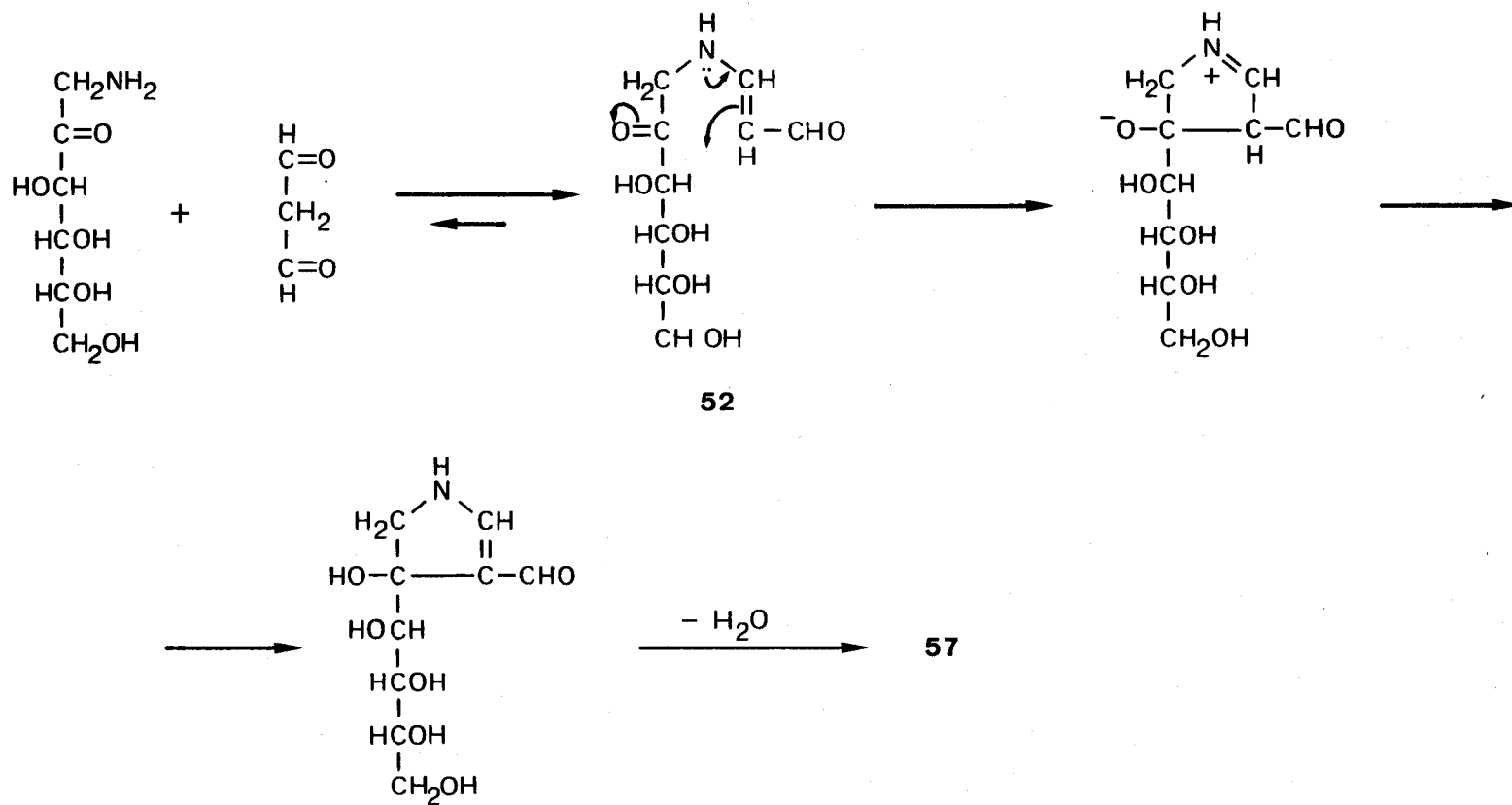


Figura 45. Espectro de r.m.n. de protones (MeOD) del compuesto 60.

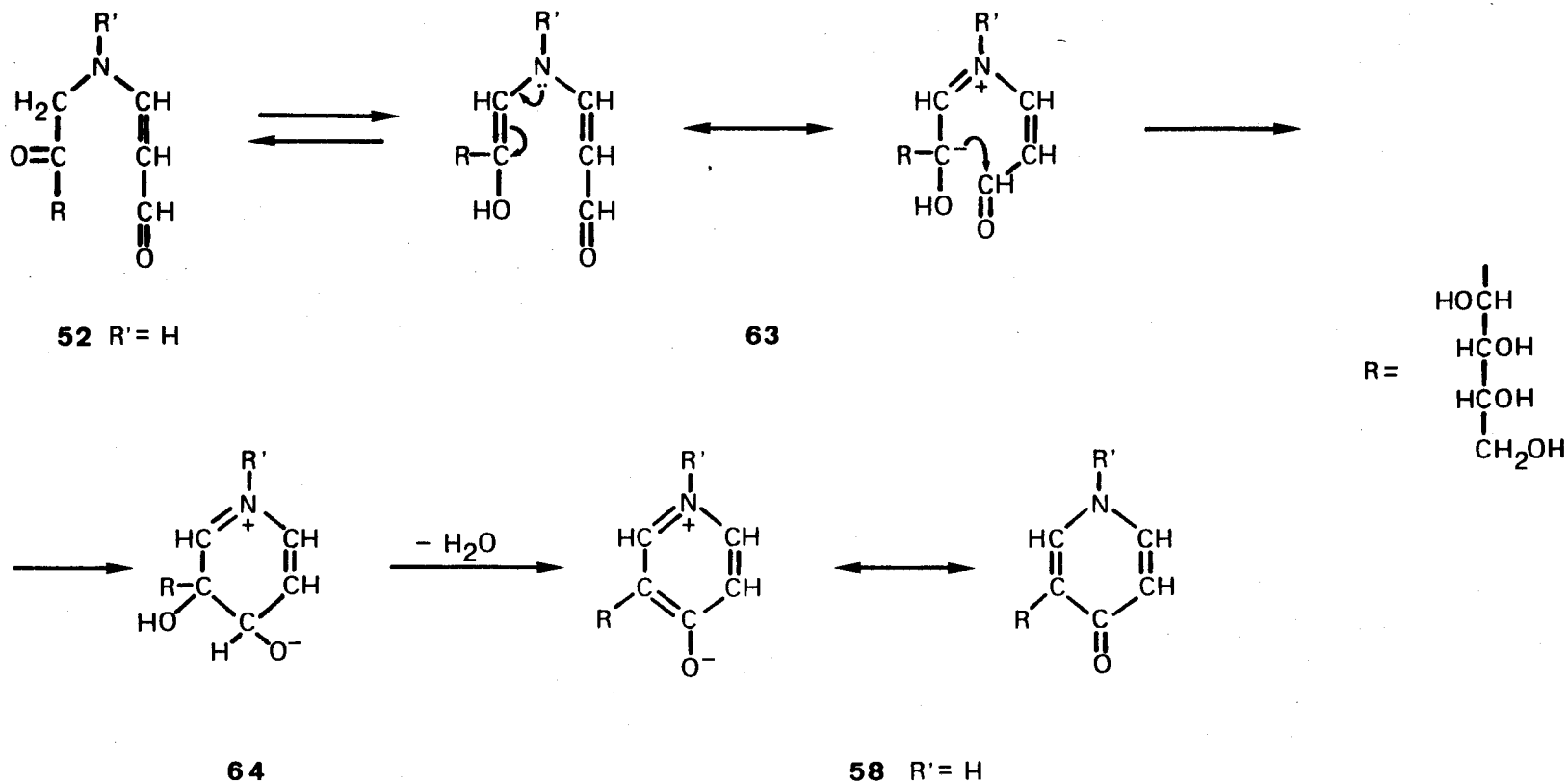
hidroximetilo del compuesto 60 aparecen como un singulete a  $\delta$  4.72 ppm, que integra para 2H. Este valor es muy similar al observado ( $\delta$  4.75)<sup>76</sup> para los protones metilénicos del sustituyente hidroximetilo del 5-hidroximetil-1-neopentil-2-pirrolcarbaldehido.

El mecanismo de formación del 3-pirrolcarbaldehido 57 es similar al de otros 4-(alditol-1-il)-3-acilpirroles (5), a partir de las enaminonas resultantes de la reacción de 1-amino-1-desoxi-cetosas (4) con compuestos 1,3-dicarbonílicos (1). Este mecanismo ha sido ampliamente estudiado<sup>2,10</sup> y se ha resumido en la INTRODUCCION. Aplicado al caso del MDA y la 1-amino-1-desoxi-D-fructosa se formularía tal como aparece en el *Esquema 16*.

Un posible mecanismo de formación de las 4-piridonas 58 y 60 (*Esquema 17*) implica, como primera etapa, la enolización de la forma abierta (forma carbonílica) del enaminal 52, formando un "enaminol" (63), que se formula en el *Esquema 17* como un sistema mesómero en el que hay una acumulación de carga negativa en el carbono que porta el hidroxilo enólico. El ataque nucleofílico del C=O aldehídico por este carbono da lugar a la formación de un intermedio cíclico dihidropiridínico (64), que por deshidratación da el sistema mesómero de 4-piridona (58). Existen antecedentes<sup>72,77</sup> de "enaminoles" resultantes de la forma abierta de enaminonas de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa. Por ejemplo,<sup>72</sup> cuando la enaminona 65 se acetila, se obtiene, además de los acetatos de las formas cíclicas del azúcar, el



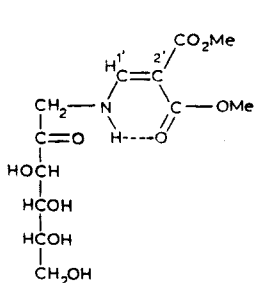
Esquema 16. Mecanismo de ciclación del enaminal 52.



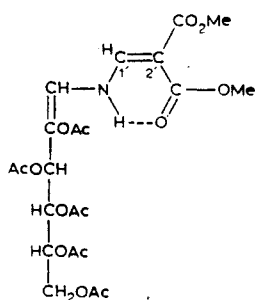
Esquema 17. Mecanismo de formación de una 4-piridona (58) a partir de un enaminal (52).

compuesto 66, que es el acetato del "enaminol" de 65.

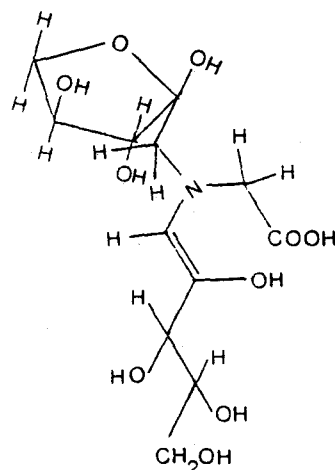
Otro caso se presenta en la reacción entre D-xilosa y glicina.<sup>76</sup> El producto mayoritario es 67, un aducto 2:1 en el que uno de los restos de azúcar se encuentra en su forma abierta de "enaminol".



65



66



67

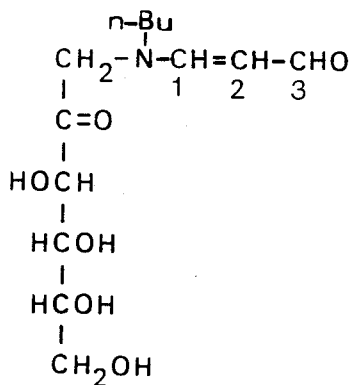
La formación del 4-hidroximetil-3-pirrolcarbaldehído (59) y de la 3-hidroximetil-4-piridona (60) implica que en algún momento la cadena carbonada del resto de azúcar se ha debido escindir. Los azúcares reductores, como la D-fructosa y la D-fructosa-1,6-difosfato, se escinden<sup>78</sup> en medio básico o por acción enzimática dando 1,3-dihidroxiopropanona (dihidroxiacetona) y gliceraldehído. Este desdoblamiento retroaldólico puede ocurrirle a la 1-amino-1-desoxi-D-fructosa cuando se calienta en medio básico, lo cual originaría, por un lado gliceraldehído, y por otro 1-amino-3-hidroxiopropanona (aminohidroxiacetona). Esta última, a su vez, reaccionaría con el MDA para dar 1-(3-oxo-1-propen-1-il)amino-3-hidroxiopropanona, que posteriormente

ciclaría dando los compuestos 59 y 60 (*Esquema 18*).

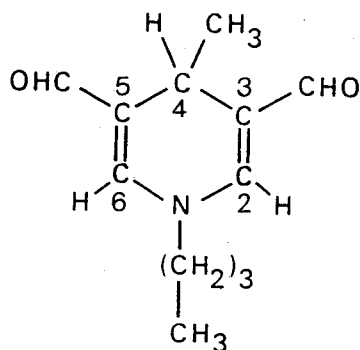


2.2.6. Reacción de 1-(n-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa con malondialdehido

El oxalato de 1-(n-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa reacciona en solución acuosa con NaMDA, usada en una proporción 2:1 respecto al amino azúcar para neutralizar el ácido oxálico (pH de la solución, 4), para dar 1-desoxi-1-[(3-oxo-1-propen-1-il)(n-butil)amino]-D-fructosa (68, 60%)\* y pequeñas cantidades (<1%) de 1-(n-butil)-4-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldehido (33). Este último producto se forma aun usando NaMDA muy pura.



68



33

La reacción entre el oxalato del amino azúcar y la NaMDA en agua también se produce cuando los reactivos se usan

\* Con objeto de simplificar la discusión de la estructura del compuesto 68, la numeración de la cadena carbonada procedente del MDA se toma como principal.

en la proporción 1:1, con un mol adicional de bicarbonato sódico para neutralizar el ácido oxálico (pH final de la solución, 6), pero los productos (68 y 33) se forman mucho más lentamente.

Los productos se aislaron por cromatografía en capa fina preparativa con los rendimientos indicados entre paréntesis.

El compuesto 33 aislado en esta reacción resultó ser idéntico al sintetizado (ver sección 2.1.6) por reacción de *n*-butilamina con 1,4-dihidroximetilen-3-metilglutaraldehído. La formación de 33 en la reacción entre 1-(*n*-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa y MDA implica que, por un lado, el MDA debe escindirse dando acetaldehído, que por condensación con MDA, origina 1,4-dihidroximetilen-3-metilglutaraldehído. Esta escisión se produce en el rango de pH 4-7 (sección 2.1.3). Por otro lado la 1-(*n*-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa debe escindirse dando *n*-butilamina, la cual reaccionaría con el 1,4-dihidroximetilen-3-metilglutaraldehído para dar 33.

El espectro u.v. de 68 muestra un máximo a 291 nm ( $\epsilon$  43980), siendo muy análogo<sup>59</sup> a los de enaminales derivados de aminas alifáticas secundarias (289-292 nm,  $\epsilon$  36000-45000). En el espectro i.r. de 68 (Figura 46) se observan bandas a 1650, 1601 y 1550  $\text{cm}^{-1}$  asignables a la agrupación

$$\text{N}-\overset{1}{\text{C}}=\overset{2}{\text{C}}-\overset{3}{\text{C}}=\text{O}.$$

La geometría alrededor de los enlaces C-1=C-2 y C-2-C-3 es, en solución acuosa, *EE* (*trans*, *s-trans*), según se dedujo de los valores de constantes de

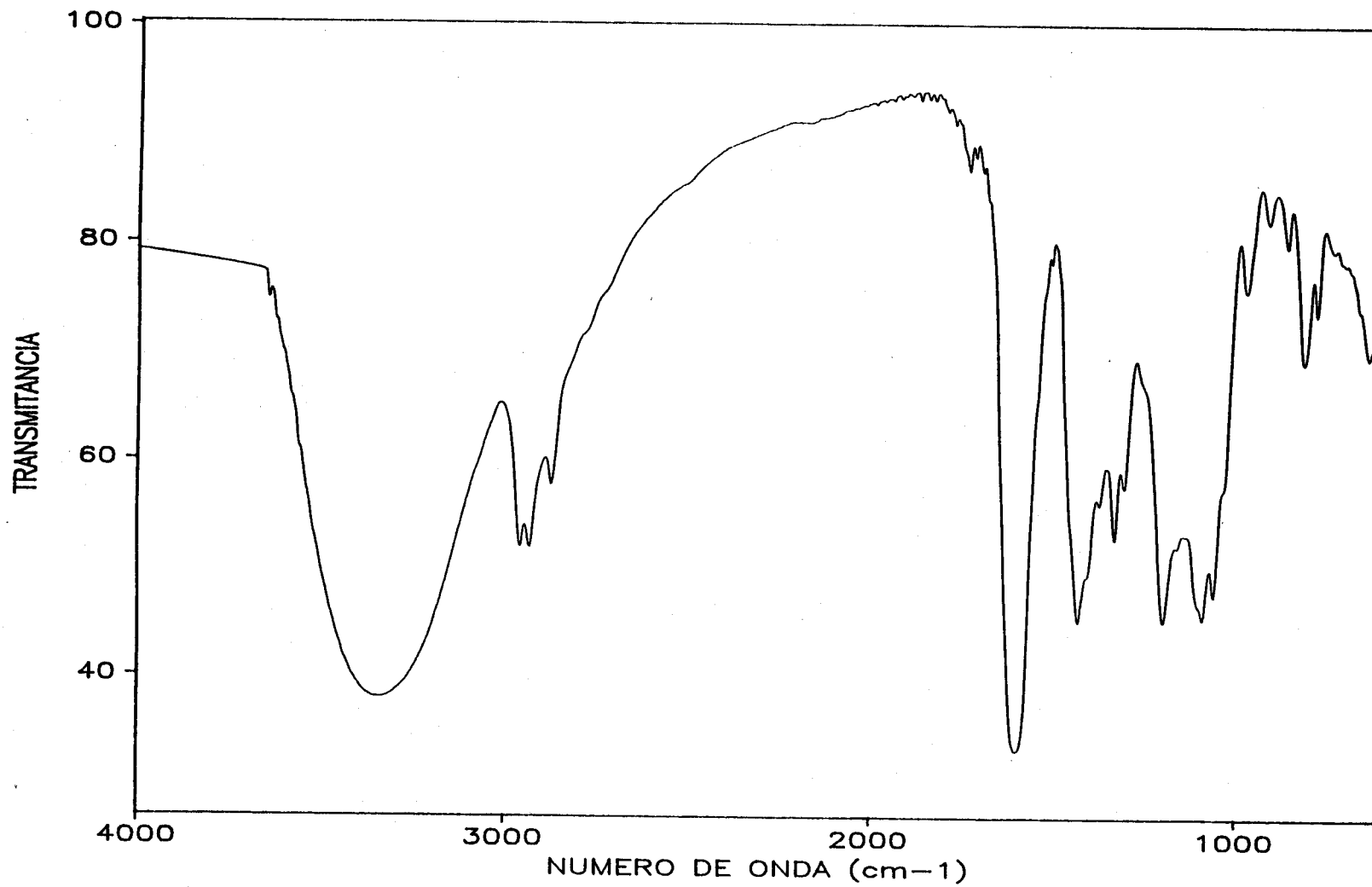


Figura 46. Espectro i.r. (KBr) del compuesto 68.

acoplamiento  $J_{1,2}$  (12.3-12.4 Hz) y  $J_{2,3}$  (9.4 Hz) medidas en  $D_2O$  (Figura 47 y Tabla XXI). El espectro de  $^{13}C$  en  $D_2O$  (Figura 48 y Tabla XXII) muestra la presencia de 6 isómeros. Como en el caso de la 1-desoxi-1-[(3-oxo-1-propen-1-il)amino]-D-fructosa (52), la diversidad de isómeros se debe, por una parte, a la posibilidad de adopción por parte del azúcar de varias formas tautómeras (abierta,  $\alpha,\beta$ -piranosa y  $\alpha,\beta$ -furanosa). Por otra parte, la rotación restringida alrededor del enlace N—C-1 permite la existencia de isómeros *E* (*s-trans*) y *Z* (*s-cis*) alrededor de este enlace. Todas las posibilidades están recogidas en el Figura 49.

Para facilitar la asignación del espectro de  $^{13}C$  de 68 en  $D_2O$ , se registró el espectro del mismo compuesto en  $DMSO-d_6$  (Tabla XXII). Se encontró que, en  $D_2O$ , 68 existe en las siguientes formas isómeras de azúcar ( $\delta$  de C-2' entre paréntesis):  $\beta$ -p ( $\delta$  99.3 y 100.0 ppm),  $\beta$ -f ( $\delta$  102.2 y 102.8 ppm) y  $\alpha$ -f ( $\delta$  105.5 ppm) en una proporción de 70:24:16 respectivamente. La composición y la proporción de isómeros varía en  $DMSO-d_6$ . Los isómeros presentes en este disolvente fueron  $\beta$ -p ( $\delta$  98.7 ppm),  $\beta$ -f ( $\delta$  102.0 y 102.5 ppm),  $\alpha$ -f ( $\delta$  104.6 ppm) y  $\alpha$ -p ( $\delta$  97.5 ppm), en una proporción de 33:35:21:11. A diferencia del compuesto 52, la asignación de geometría *E* o *Z* alrededor del enlace N—C-1 para cada una de estos isómeros no puede hacerse en base al efecto  $\gamma$ -apantallante sobre C-2. En este caso, en ambas geometrías se ejerce dicho efecto sobre C-2, ya sea por el grupo *n*-butilo o por el resto de azúcar, y probablemente no deben

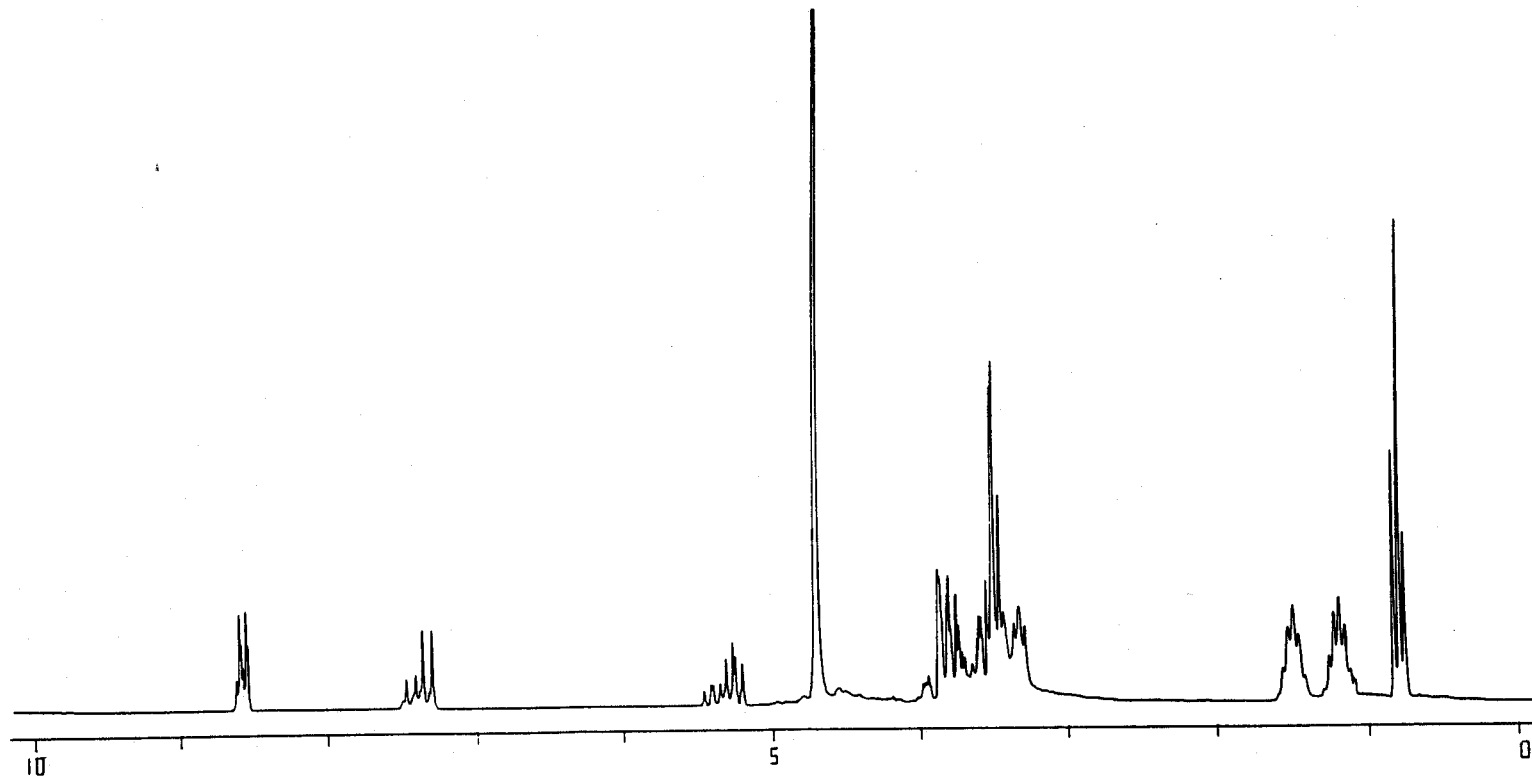


Figura 47. Espectro de r.m.n. de protones ( $D_2O$ ) del compuesto 68.

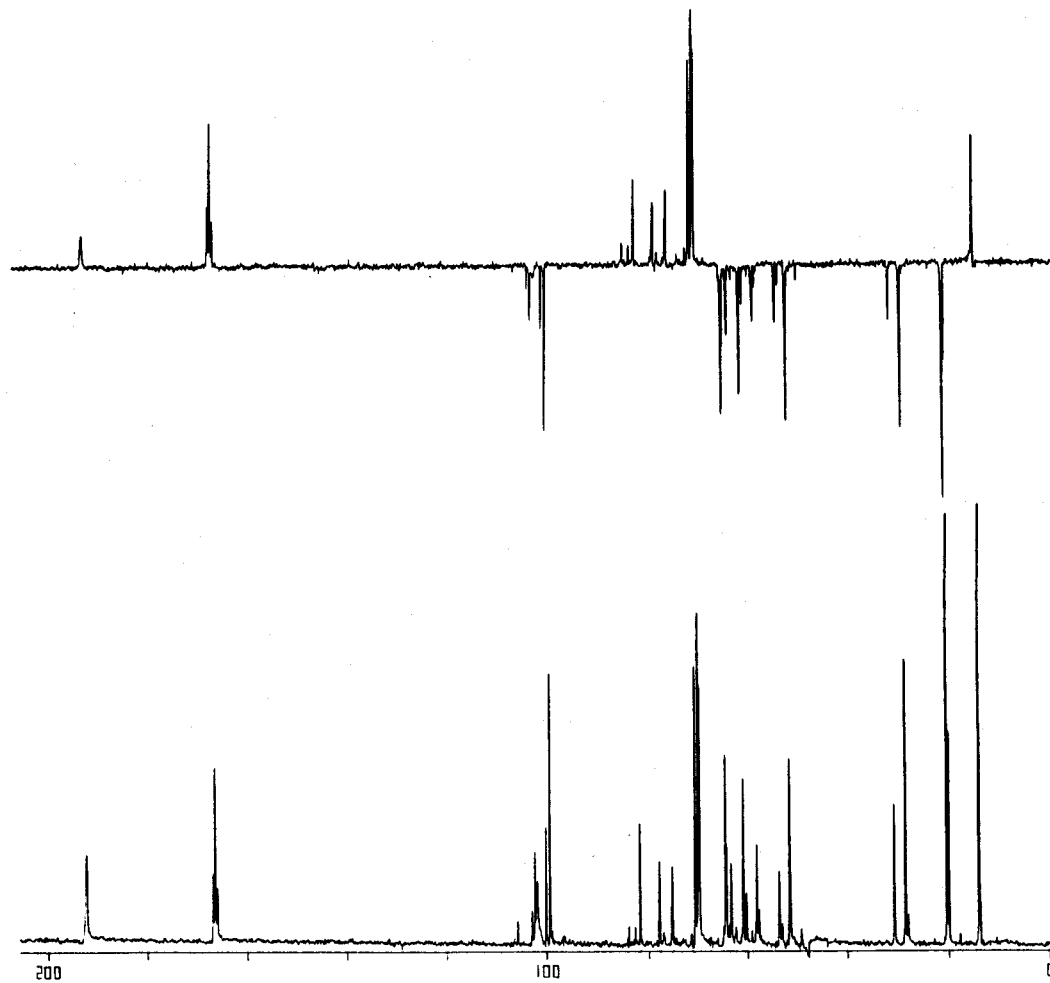


Figura 48. Espectro de r.m.n. de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) del compuesto 68.



diferir mucho. Efectivamente, en los espectros de  $^{13}\text{C}$  de **68** no se observa, como en el caso de los compuestos **40** y **52**, señales bien diferenciadas para C-2. No obstante, queda el recurso del desplazamiento químico del carbono de azúcar C-1'. Conviene recordar (ver secciones 2.2.1 y 2.2.4) que el desplazamiento químico de este carbono en  $\text{D}_2\text{O}$  es 5 ppm menor en el isómero Z que en el E. En el caso del compuesto **68**, la diferencia es algo menor (3 ppm), pero significativa y suficiente para poder distinguir los isómeros y asignar sus configuraciones.

Alternativamente, es posible calcular los valores de  $\delta$  de C-1', según sea la geometría Z o E alrededor del enlace N—C-1. El cálculo se basa en admitir que son aditivos los efectos que los grupos *n*-butilo y  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{O}$  (este último en sus geometrías ZEE y EEE) ejercen sobre el valor de  $\delta$  de C-1' del azúcar, cuando sustituyen a uno de los protones amínicos de la 1-amino-1-desoxi-D-fructosa. Comparando los espectros de  $^{13}\text{C}$  en  $\text{D}_2\text{O}$  del acetato de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa y del oxalato de 1-(*n*-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa (Tabla XXIII), encontramos que el grupo butilo incrementa el  $\delta$  de C-1', en la configuración  $\beta$ -*p*, en 8.1 ppm ( $\Delta_{\text{Bu}}$ ). Si comparamos los espectros del acetato de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa con el del enaminal **52** (Tablas XIX y XIV), encontramos que el grupo  $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{O}$  incrementa el  $\delta$  de C-1', en la configuración  $\beta$ -*p*, en 9.3 ppm para la geometría EEE ( $\Delta_{\text{EEE}}$ ) y en 4.1 ppm para la geometría ZEE ( $\Delta_{\text{ZEE}}$ ). Tomando como valor base el



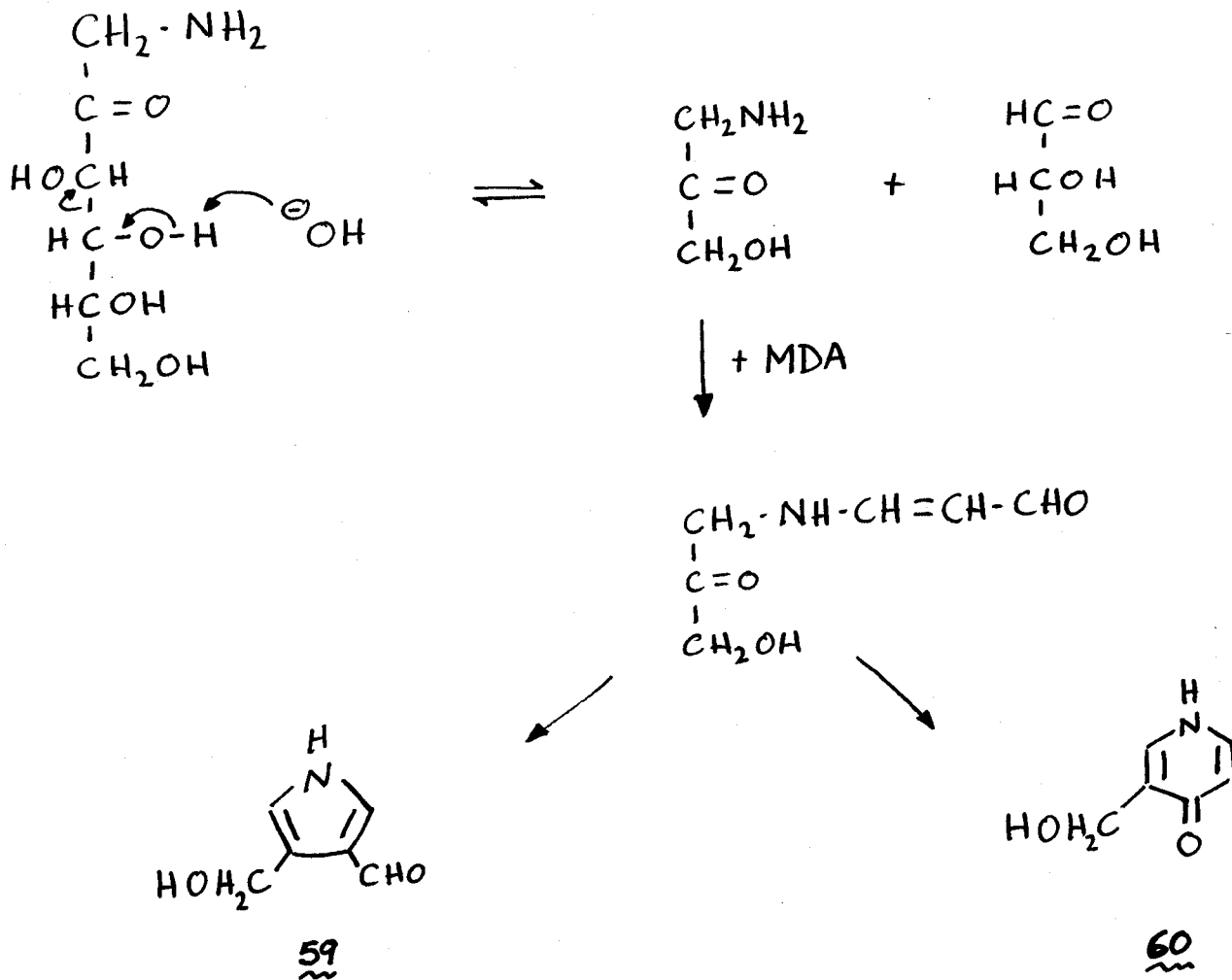
desplazamiento químico de C-1' del acetato de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa en agua deuterada, en la configuración  $\beta$ -p ( $\delta$  45.4 ppm), los valores de  $\delta$  de C-1' calculados para las geometrías  $\beta$ -p-EEE ( $\delta_{EEE}$ ) y  $\beta$ -p-ZEE ( $\delta_{ZEE}$ ) del compuesto 68 son:

$$\delta_{EEE} = \text{Valor base} + \Delta_{Bu} + \Delta_{EEE} = 45.4 + 8.1 + 9.3 = 62.8 \text{ ppm}$$

$$\delta_{ZEE} = \text{Valor base} + \Delta_{Bu} + \Delta_{ZEE} = 45.4 + 8.1 + 4.1 = 57.6 \text{ ppm}$$

Estos valores, sobre todo  $\delta_{ZEE}$ , son bastante concordantes con los valores encontrados,  $\delta_{EEE}$  60.8 y  $\delta_{ZEE}$  58.0 ppm, respectivamente.

De las intensidades de las señales del espectro de carbono del compuesto 68, se obtiene que la proporción de isómeros ZEE:EEE es de 30:70, en  $D_2O$ , y 36:64 en  $DMSO-d_6$ . Por tanto, en  $D_2O$ , la proporción en equilibrio de los isómeros  $\beta$ -p-ZEE,  $\beta$ -p-EEE,  $\beta$ -f-ZEE,  $\beta$ -f-EEE,  $\alpha$ -f-ZEE y  $\alpha$ -f-EEE es de 21:49:7:17:2:4, respectivamente. En  $DMSO-d_6$ , la composición de equilibrio la forman los isómeros  $\beta$ -p-ZEE,  $\beta$ -p-EEE,  $\beta$ -f-ZEE,  $\beta$ -f-EEE,  $\alpha$ -f-ZEE,  $\alpha$ -f-EEE,  $\alpha$ -p-ZEE y  $\alpha$ -p-EEE, en proporción 12:21:13:22:8:13:4:7, respectivamente.

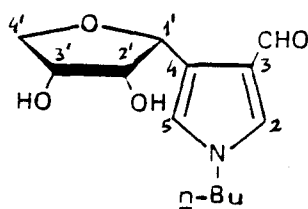
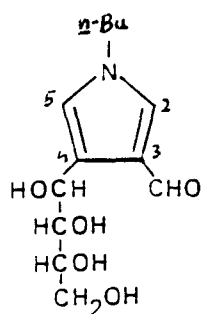


Esquema 18. Desdoblamiento retroaldólico de la 1-amino-1-desoxi-D-fructosa. Mecanismo de formación de los compuestos 59 y 60.

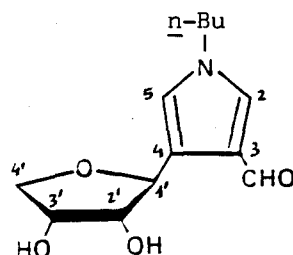
2.2.7. Ciclación de la 1-desoxi-1-[(3-oxo-1-propen-1-il)(n-butil)amino]-D-fructosa (68)

Cuando una disolución acuosa (pH 4) del enaminal 68 se calienta a 100°C, se produce su ciclación dando el 1-(n-butil)-4-(D-arabino-tetritol-1-il)-3-pirrolcarbaldehido (69), los anómeros  $\alpha$  y  $\beta$  del 1-(n-butil)-4-(D-eritro-furanosil)-3-pirrolcarbaldehido (70 y 71) y la 1-(n-butil)-3-(D-arabino-tetritol-1-il)-4-piridona (72), además de un material insoluble, sólido, de color castaño oscuro, que queda en suspensión. Durante la calefacción se produce un aroma afrutado a peras. El mismo resultado se obtiene si se calienta una disolución de 68, preparada *in situ* a partir del oxalato de 1-(n-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa y NaMDA (en la proporción 1:2; pH 4). Después de 1 hora de calefacción la ciclación del enaminal 68 no es completa (c.c.f.), y la proporción en que se encuentran los componentes principales (en disolución) de la mezcla de reacción, el enaminal 68 y los productos 69-71 (en conjunto) y 72, es de 5:10:6 (espectroscopía de r.m.n. de  $^1\text{H}$ ). El cambio de pH a valores más básicos no afectó grandemente el transcurso de la reacción, salvo que los pirroles deshidratados 70 y 71 se formaron en menor proporción, o no se formaron, quedando siempre enaminal sin transformar. La reacción a temperatura ambiente, dejada largo tiempo, da el mismo resultado. La piridona 72 cristaliza parcialmente del medio de reacción, mezclada con el sólido insoluble oscuro, del cual se puede

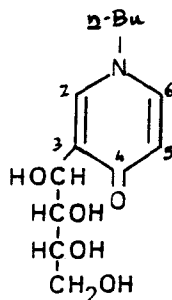
separar por extracción con etanol caliente. El producto 72 cristaliza del extracto en forma de agujas microcristalinas. El peso de sólido insoluble, que se separa, representa el 35% de los reactantes, y es el producto aislado en mayor proporción. Se trata de una sustancia oscura insoluble en todos los disolventes ensayados, que se descompone sin fundir. La proporción en que se forma este producto aumenta al aumentar el tiempo de reacción y la temperatura, resultando las condiciones de calefacción a 100°C durante una hora las más óptimas. Los compuestos heterocíclicos 69-72 tienen buenas propiedades cromatográficas (ver PARTE EXPERIMENTAL) que permite distinguirlos, y separarlos, fácilmente entre sí y del material oscuro en suspensión que tiene un  $R_F = 0$  en todos los eluyentes ensayados.



70



71



Los productos 69-71 son inestables en solución y, una vez aislados, en estado puro. Por consiguiente, su aislamiento resultó difícil y sólo se consiguió, mediante repetidas cromatografías preparativas en capa fina, con rendimientos bajos. En un experimento típico, los rendimientos de 69, 70, 71 y 72 fueron 15%, 2%, 2% y 6%, respectivamente, recuperándose el 7% del enaminal 68 de partida. Cuando el enaminal se prepara *in situ*, en la mezcla de reacción se detecta el 1-(*n*-butil)-4-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldhído (33), que se aisló con un rendimiento <1%.

Los pirroles 69 y 71 se aislaron como sólidos cristalinos, en tanto que 70 resultó ser un sirupo que se altera rápidamente al aire.

Los espectros u.v. de los 3-pirrolcarbaldhídos 69-71 (Figura 50) presentan un único máximo de absorción a 258-260 nm ( $\epsilon$  7600-12700). El máximo no es simétrico, teniendo una caída más suave hacia valores de mayor longitud de onda. Estos espectros son similares a los del 4-(*D*-arabino-tetritol-1-il)-3-pirrolcarbaldhído (58, sección 2.2.5). Con respecto a este último, se observa un aumento de la longitud de onda del máximo de 6 nm, atribuible a la sustitución del hidrógeno del nitrógeno pirrólico por un grupo *n*-butilo.

Los espectros i.r. de 69-71 (Figuras 51-53) muestran las absorciones típicas de un grupo aldehído conjugado (2816-2836, 2727-2729 y 1653-1657  $\text{cm}^{-1}$ ) y de anillo

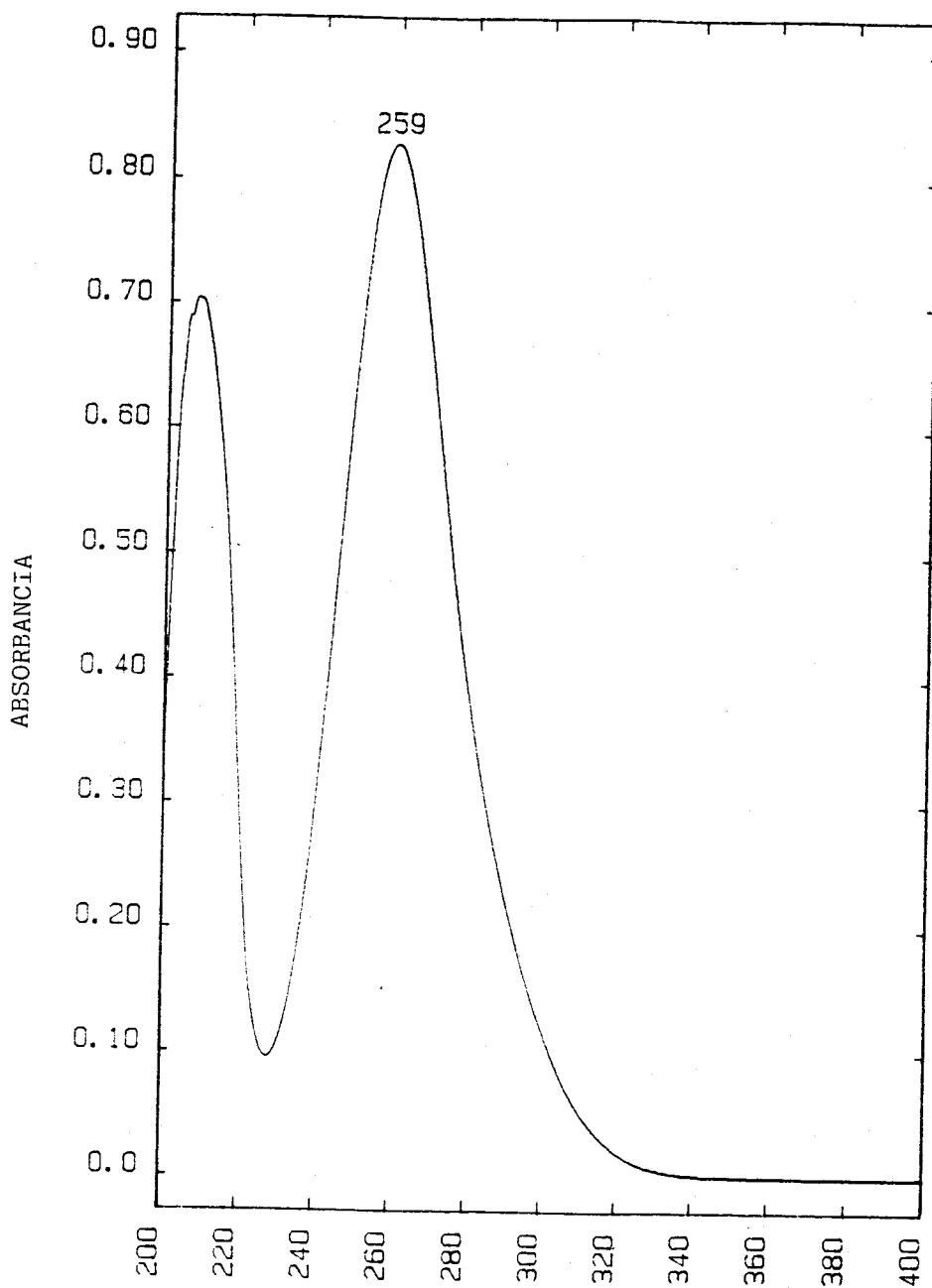


Figura 50. Espectro u.v. (EtOH) del compuesto 69.

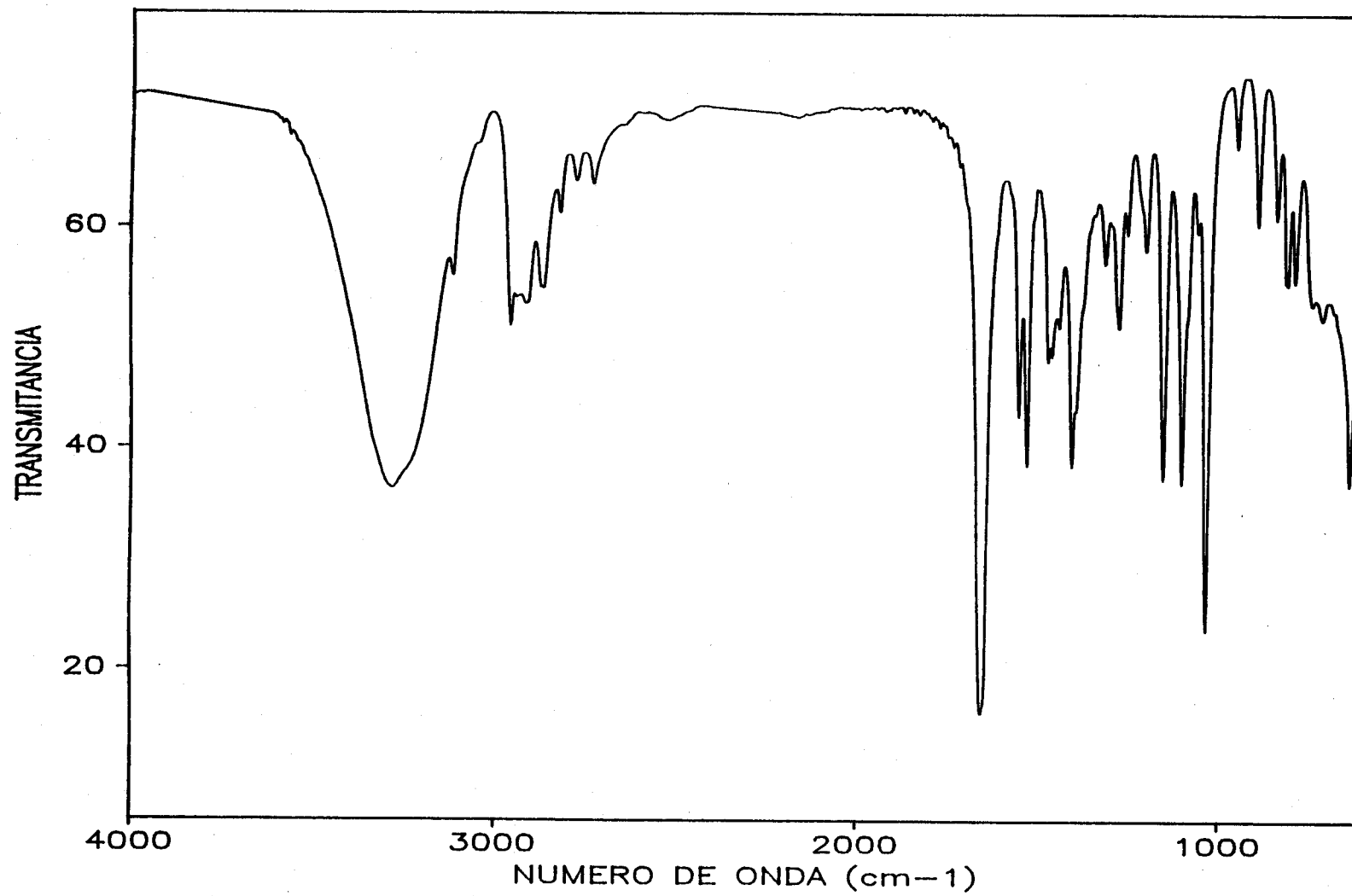


Figura 51. Espectro i.r. (KBr) del compuesto 69.

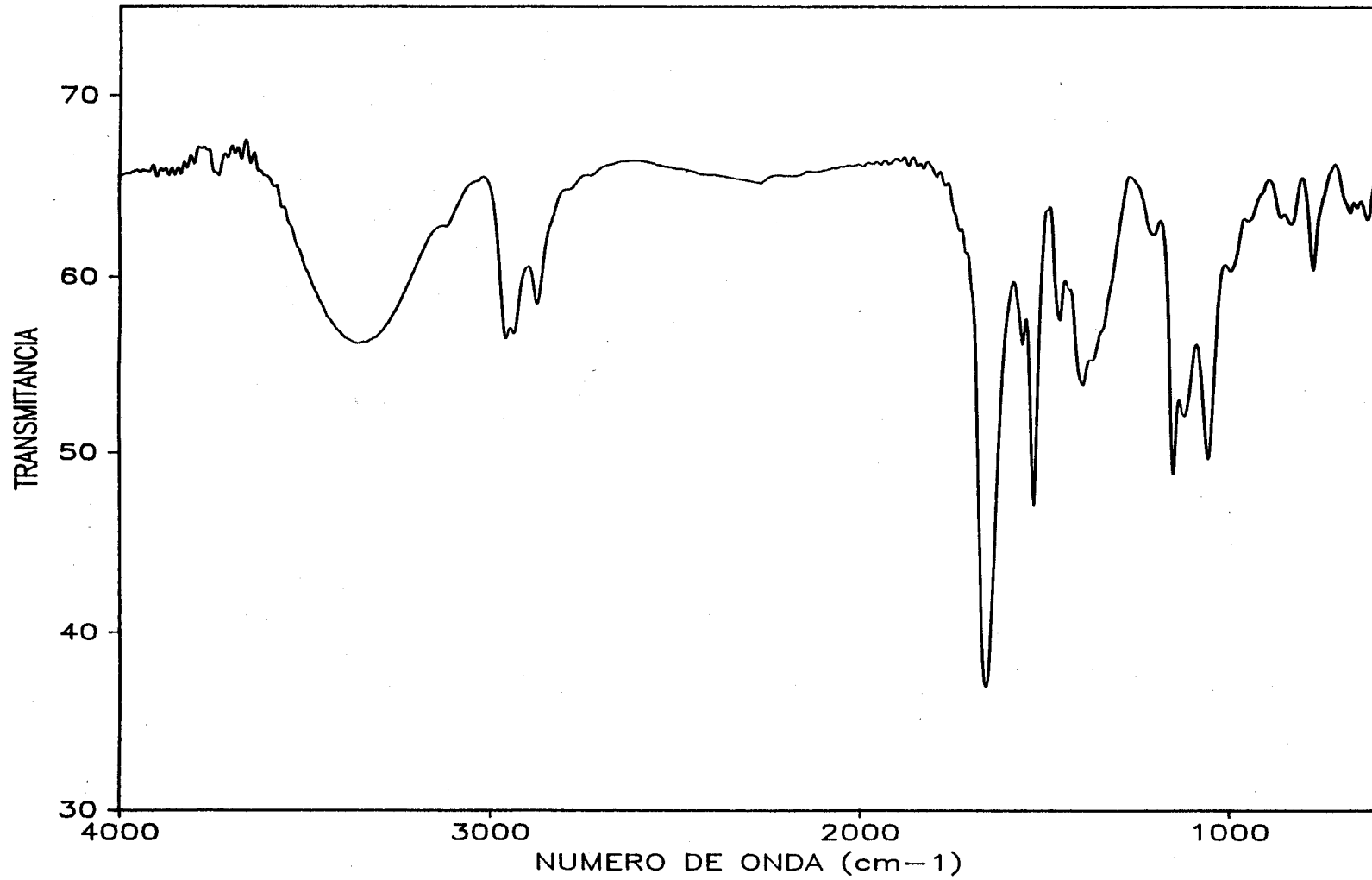


Figura 52. Espectro i.r. (KBr) del compuesto 70.



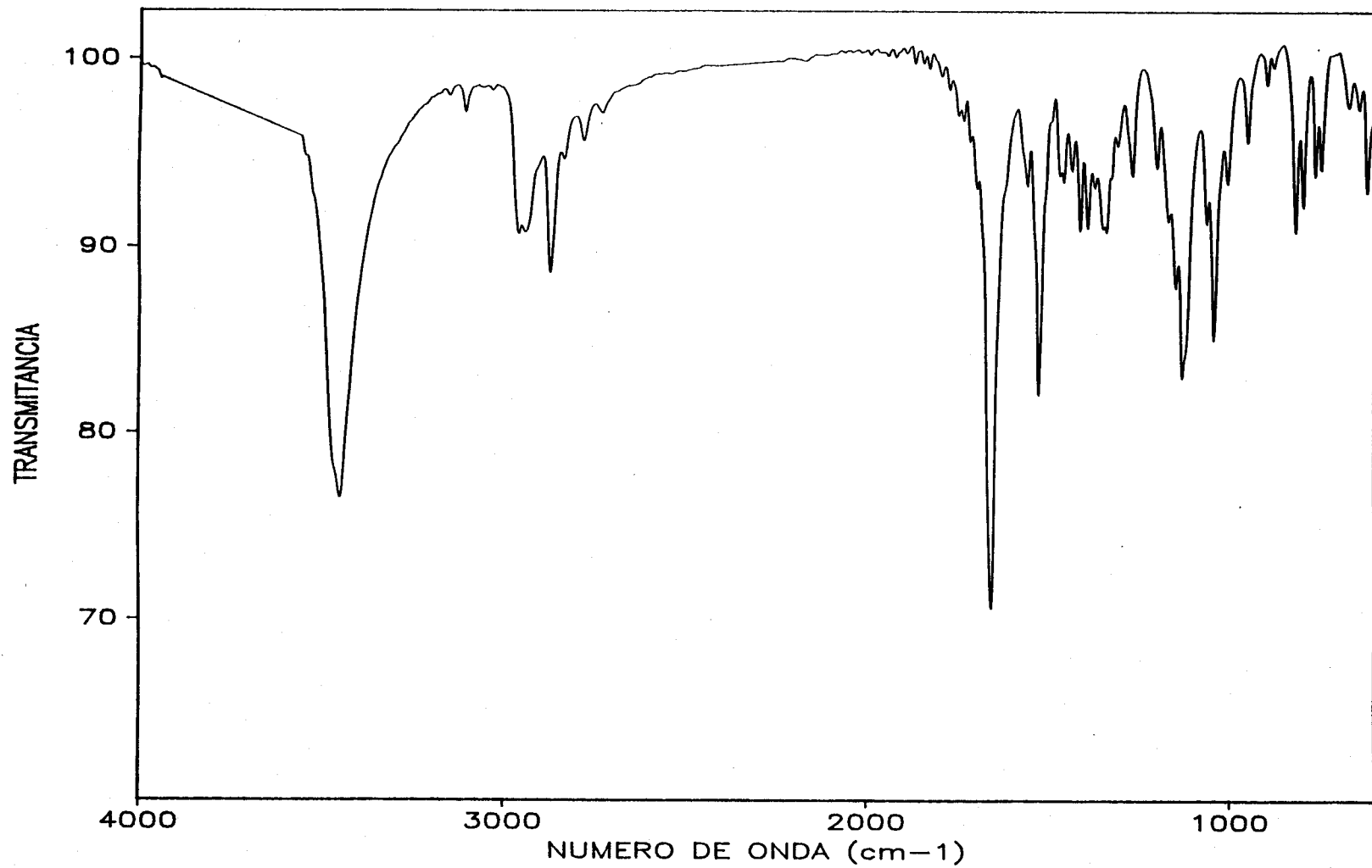
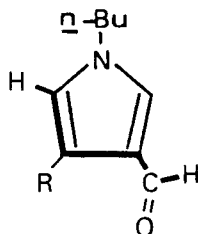


Figura 53. Espectro i.r. (KBr) del compuesto 71.

pirrónico (1550-1560 y 1524-1526  $\text{cm}^{-1}$ ).

Los espectros de masas de los compuestos 69 y 71 presentan un pico base característico a  $m/e$  180 correspondiente al ion  $[\text{M}-(\text{CHOH})_2\text{CH}_2\text{OH}]^+$ . En estos espectros se observan además picos correspondientes a la pérdida de la cadena polihidroxílica  $[\text{M}-(\text{CHOH})_3\text{CH}_2\text{OH}]^+$ , así como de los grupos aldehído  $[\text{M}-\text{CHO}]^+$  y *n*-butilo  $[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_9]^+$ .

Los espectros de protones, en MeOD, de los compuestos 69-71 (Figuras 54-56 y Tabla XXIV), presentan bien diferenciadas las señales de la porción del 3-pirrolcarbaldehído. Los protones H-2, H-5 y el del grupo CHO aparecen, respectivamente, a  $\delta$  7.50-7.56, 6.86-6.90 y 9.58-9.64 ppm. Los protones H-2 y H-5, conectados a través de cuatro enlaces por un camino en W, aparecen acoplados con una constante  ${}^4J_{2,5}$  2.2-2.4 Hz. El protón H-5 aparece como un doblete de tripletes. La multiplicidad se debe al acoplamiento, ya indicado ( ${}^4J_{2,5}$ ), con H-2, además de los acoplamientos con H-1' ( ${}^4J_{5,1'}$ , 0.8-1.0 Hz) y con el protón aldehídico ( ${}^5J_{5,\text{CHO}}$  0.8-1.0 Hz). Este último acoplamiento, a través de cinco enlaces, indica una disposición preferente *s-trans* del grupo formilo alrededor del enlace C-3—CHO, que establece un camino en W entre estos dos protones:



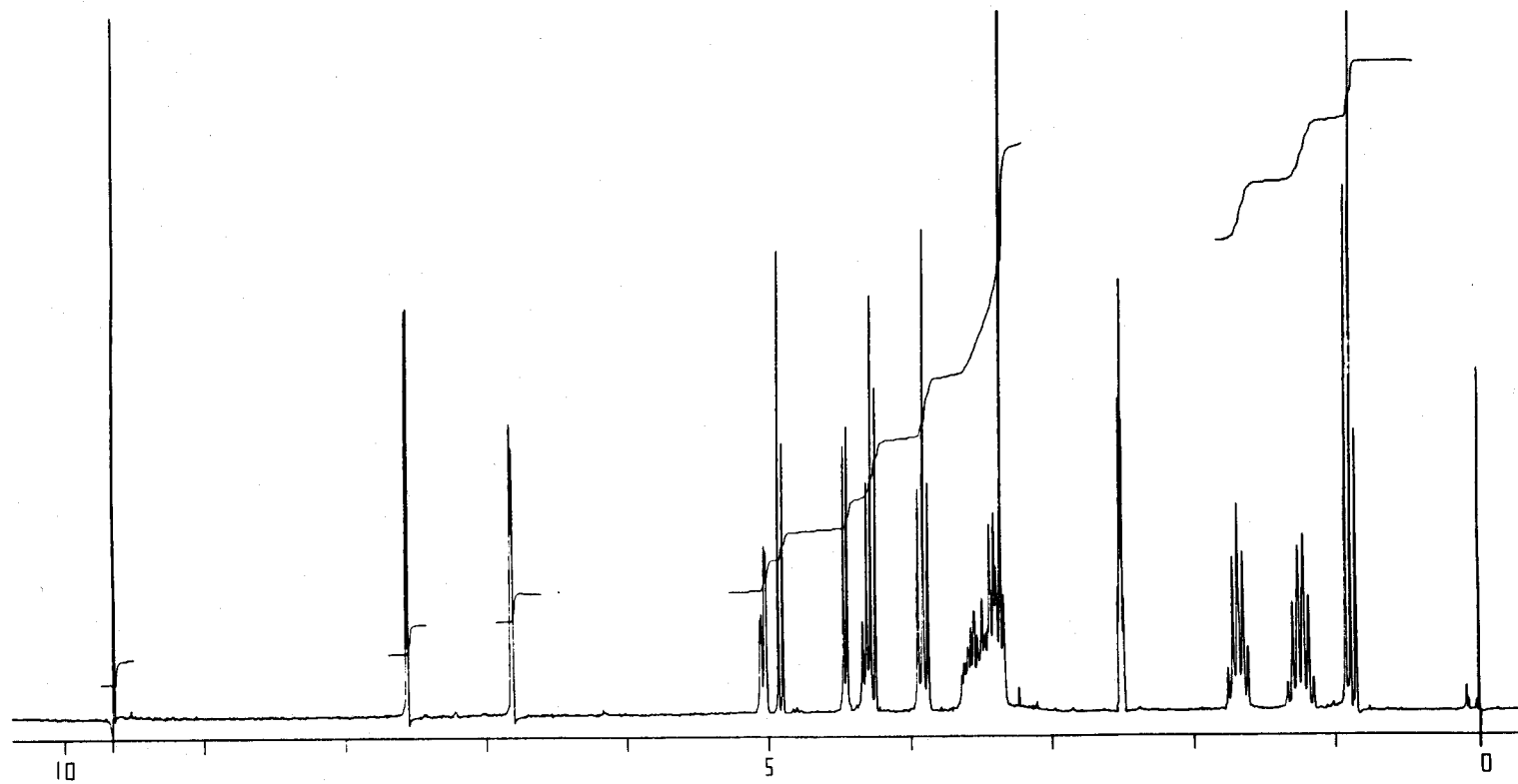


Figura 54. Espectro de r.m.n. de protones (DMSO-d<sub>6</sub>) del compuesto 69.

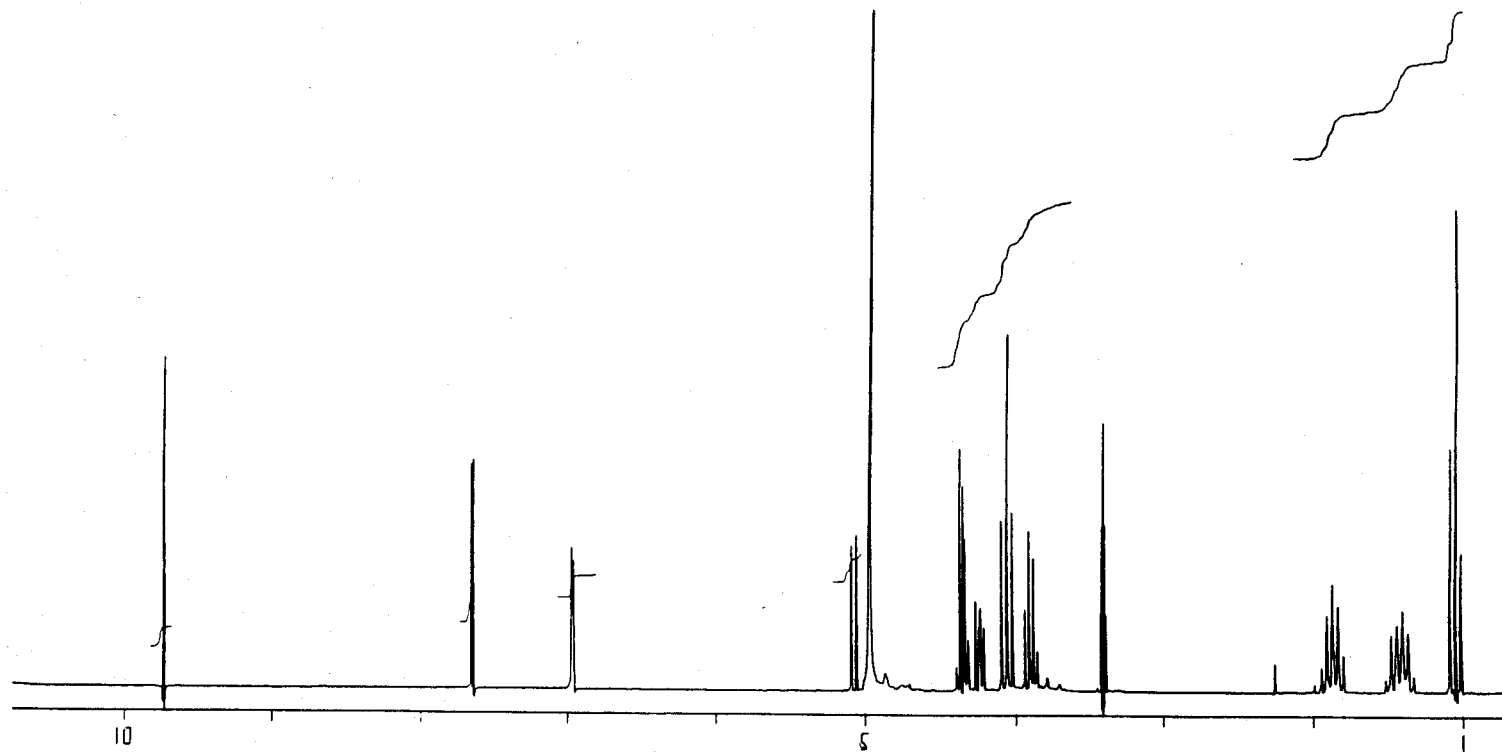


Figura 55. Espectro de r.m.n. de protones ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) del compuesto 70.

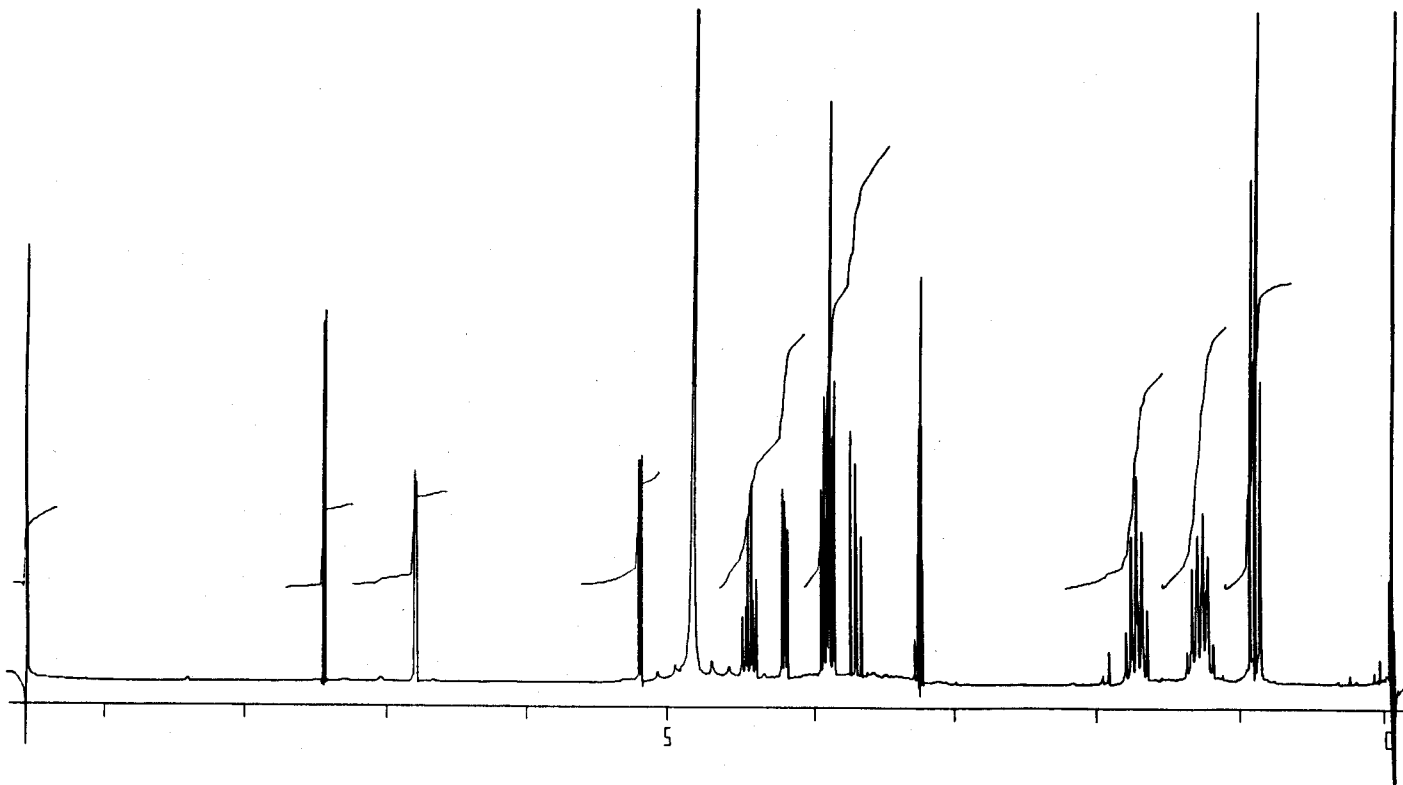


Figura 56. Espectro de r.m.n. de protones ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) del compuesto 71.

Por último, el protón aldehídico aparece como un doblete debido al acoplamiento  ${}^5J_{5,\text{CHO}}$  ya indicado.

En el caso de los C-glicosilpirroles **70** y **71**, la configuración anomérica se ha asignado en base al poder rotatorio, el desplazamiento químico de H-1' y la constante de acoplamiento  $J_{1',2'}$ . Comparando los poderes rotatorios de **70** ( $[\alpha]_D^{15} -37.6^\circ$ , metanol) y **71** ( $[\alpha]_D^{15} -96.5^\circ$ , metanol) con el del correspondiente al compuesto **69** ( $[\alpha]_D^{15} -40^\circ$ , metanol) del cual se originan por anhidrización, se observa que **71** es mucho más levorrotatorio que el producto sin anhidrizar, lo que indica que en éste ha habido una inversión en torno al C-1' que participa en la anhidrización y que está de acuerdo con los datos encontrados en la bibliografía.<sup>66,79</sup> En base a estos resultados asignamos al compuesto **71** la anomería  $\beta$ . Según la literatura,<sup>80</sup> los anómeros  $\alpha$  y  $\beta$  de los 3-(eritrosil)-pirroles se pueden distinguir porque en el anómero  $\alpha$  el protón H-1' aparece a campo más alto y tiene un acoplamiento  $J_{1',2'}$  mayor que el anómero  $\beta$ .<sup>\*4</sup> En nuestro caso, **70** presenta este protón a  $\delta$  4.98 ppm con un acoplamiento  $J_{1',2'}$  6.6 Hz, mientras que en **71** los valores observados son  $\delta$  5.25 ppm y  $J_{1',2'}$  3.4 Hz. Por tanto, al primer compuesto le asignamos la configuración  $\alpha$  y al segundo la  $\beta$ , de acuerdo con lo deducido a partir de los valores de

---

\* Obsérvese que la situación es opuesta a la que se cumple en los 2-(eritrosil)-pirroles (ver sección 2.2.2 y referencia 10).

poderes rotatorios. Ambas señales aparecen como dobles dobletes, debido a los acoplamientos  $J_{1',2'}$  y  $J_{5,1'}$ , ya indicados. El resto de los protones de azúcar aparecen resueltos y se asignan sin dificultad en los compuestos 70 y 71, en tanto que aparecen como un multiplete complejo en el caso de 69. Los protones de la cadena de *n*-butilo también se asignan sin dificultad. El espectro de 69 en DMSO- $d_6$ , proporcionó una información similar.

Los espectros de  $^{13}\text{C}$  (Figuras 57 y 58 y Tabla XXV) de los compuestos 70 y 71 se registraron en MeOD, y el de 69 en DMSO- $d_6$ . La asignación de los carbonos del heterociclo se hizo en base a la secuencia de pulsos APT.

El espectro u.v. (Figura 59) en etanol de la 1-(*n*-butil)-3-(*D*-arabino-tetritol-1-il)-4-piridona (72) muestra un máximo de absorción a  $\lambda$  290 nm ( $\epsilon$  21460), junto con un hombro a  $\lambda$  255 nm ( $\epsilon$  7570). Su espectro i.r. (Figura 60) no presenta las absorciones características de la vibración de tensión del C-H del grupo aldehído. Aparte de la absorción de los OH, el espectro muestra una banda fuerte a 1653 y otra débil a  $1520\text{ cm}^{-1}$  que se asignan al C=O y al C=C del anillo de piridona, por analogía con el observado para la piridona misma.<sup>74</sup>

En el espectro de masas de 72 aparece el ion molecular ( $m/e$  271) y el pico base a  $m/e$  150, correspondiente al fragmento resultante de la pérdida de la cadena polihidroxílica  $[\text{M}-(\text{CHOH})_3\text{CH}_2\text{OH}]^+$ .

Los espectros de r.m.n. en DMSO- $d_6$  (Figuras 61 y

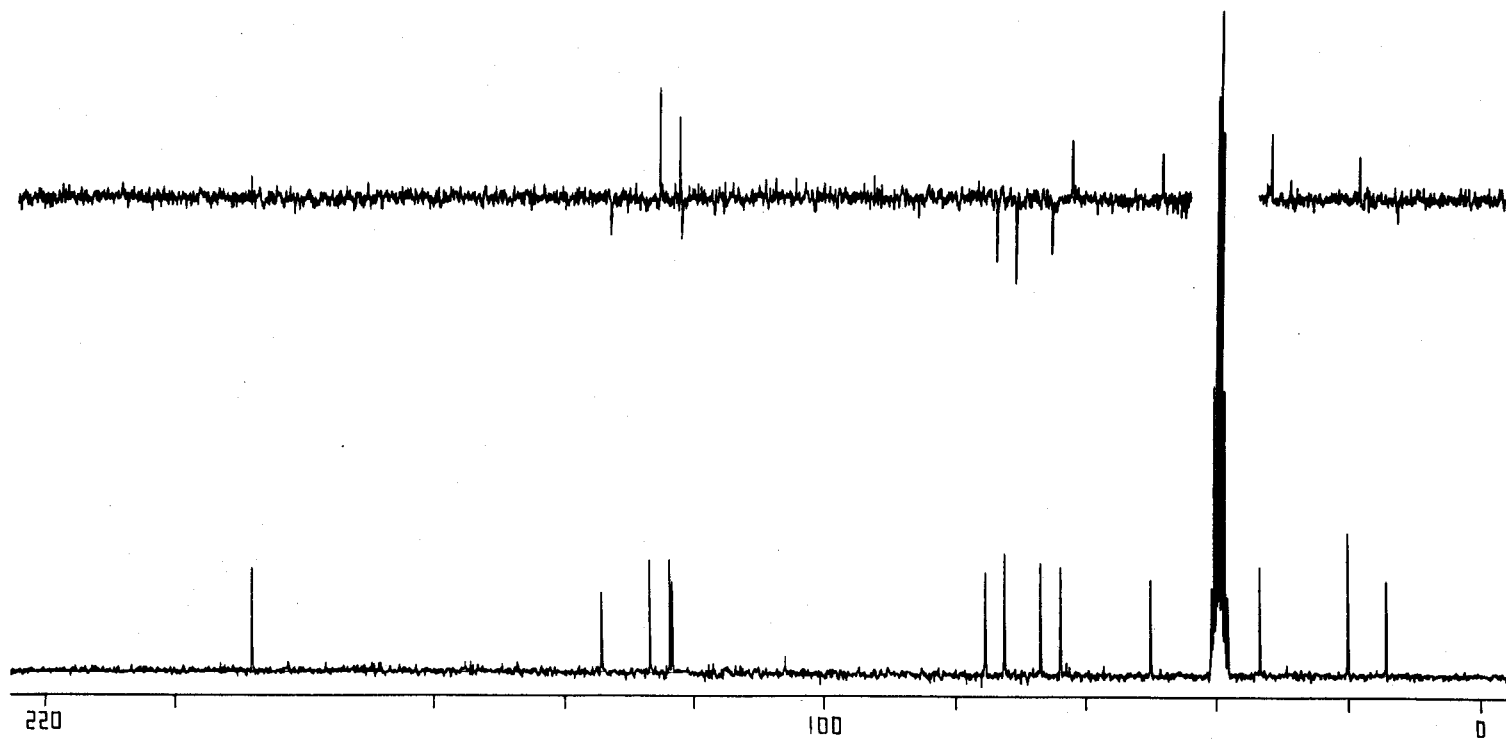


Figura 57. Espectro de r.m.n. de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ) del compuesto 69.



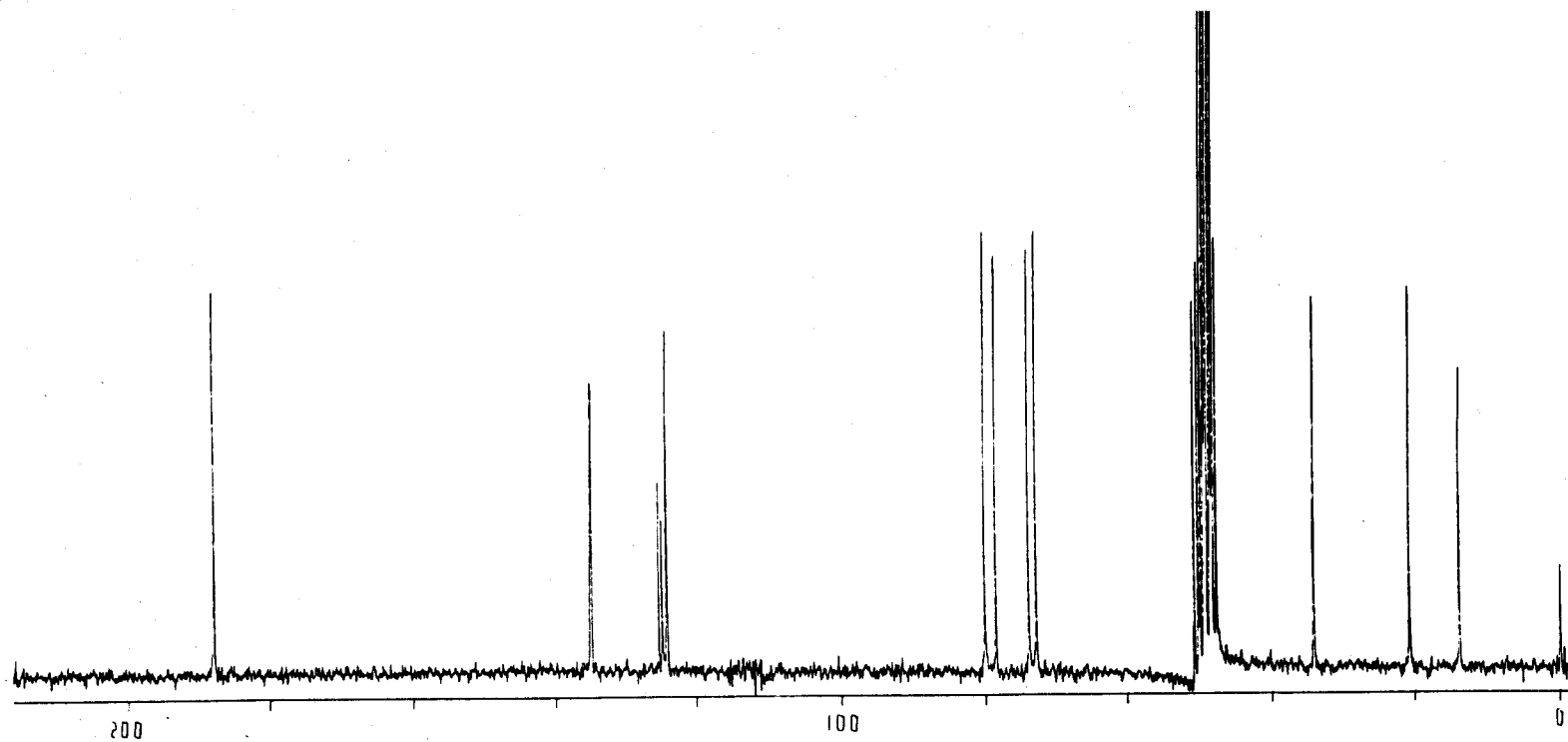


Figura 58. Espectro de r.m.n. de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) del compuesto 70.

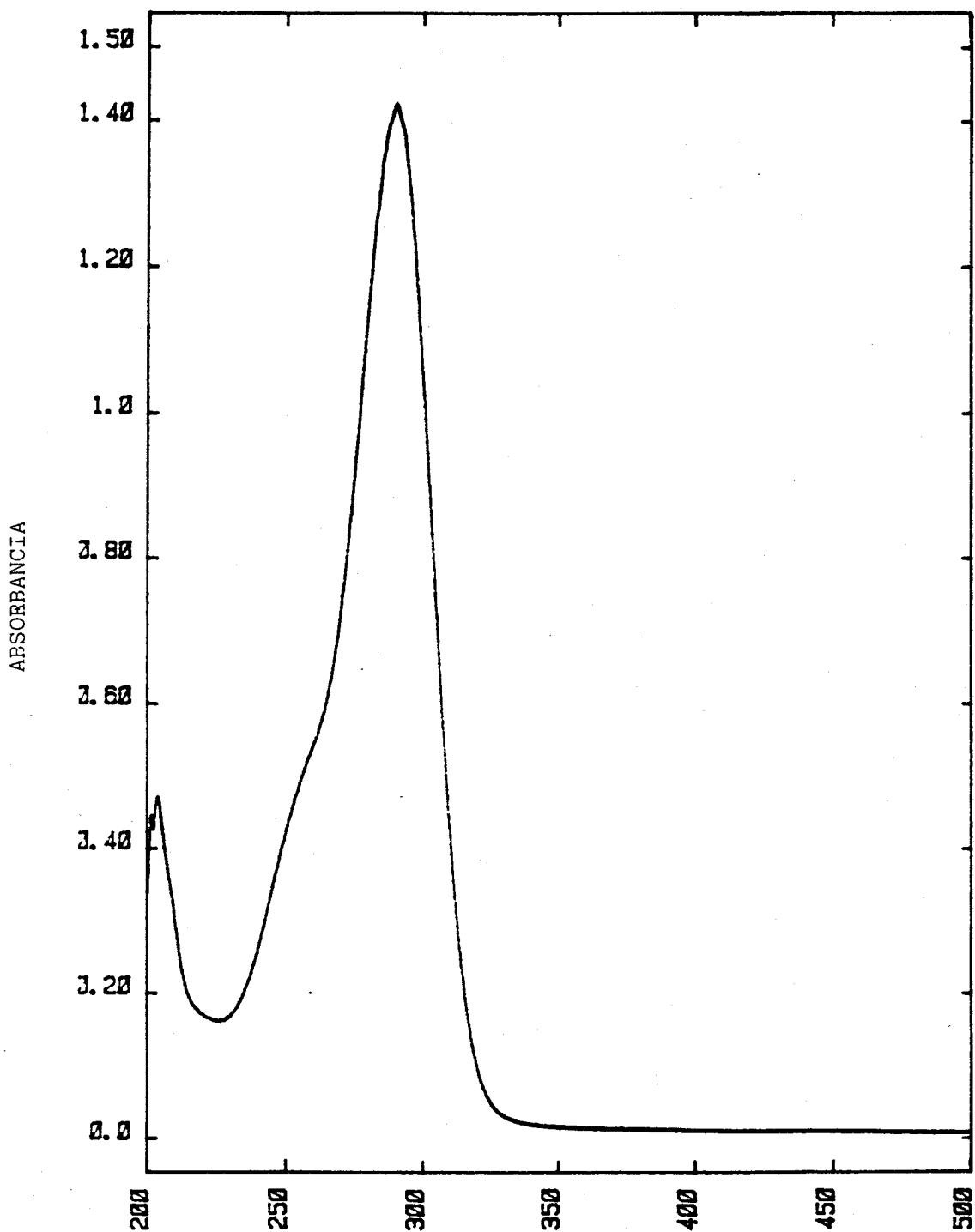


Figura 59. Espectro u.v. (EtOH) del compuesto 72.

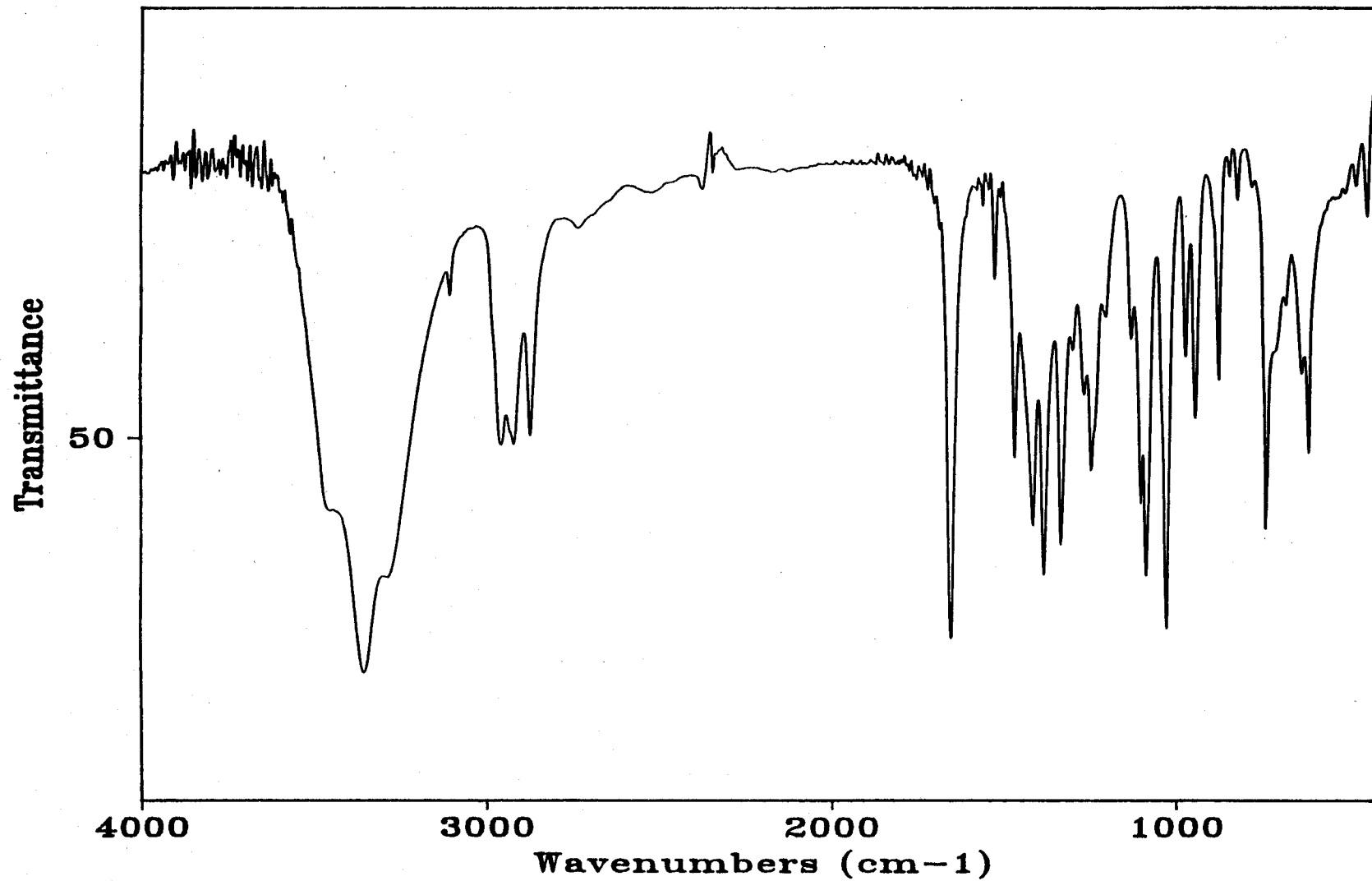


Figura 60. Espectro i.r. (KBr) del compuesto 72.

62 y Tablas XXVI y XXVII) de **72** confirman la no existencia del grupo aldehído en la molécula de este compuesto: la señal que aparece a campo más bajo en el espectro de protones lo hace a  $\delta$  7.20 ppm. Sin embargo, en el espectro de  $^{13}\text{C}$  aparece una señal a 190.5 ppm atribuible a un grupo  $\text{C}=\text{O}$ . Esta observación, unida a la absorción a  $1653\text{ cm}^{-1}$  que vimos en el espectro i.r., indica que en el compuesto **72** hay un carbonilo conjugado con un doble enlace, que debe ser cetónico. Los espectros de r.m.n. evidencian además la existencia de tres hidrógenos y cuatro carbonos de tipo olefínico consistentes con la estructura de 4-piridona. Los protones H-2, H-5 y H-6 aparecen, acoplados los tres entre sí, como tres dobles dobletes, según demuestran los experimentos de doble resonancia. Los valores de  $\delta$  y (entre paréntesis) las constantes de acoplamiento de estos protones son  $\delta$  7.20 ppm ( $J_{2,6}$  1.7 Hz,  $J_{2,5}$  2.3 Hz) para H-2,  $\delta$  6.14 ppm ( $J_{2,5}$ ,  $J_{5,6}$  4.1 Hz) para H-5, y  $\delta$  7.01 ppm ( $J_{2,6}$  y  $J_{5,6}$ ) para H-6.

Las asignaciones se han hecho considerando que los protones H-2 y H-6, más próximos al N, deben ser los más desapantallados. La distinción entre las señales para ambos protones se hace por el acoplamiento a través de tres enlaces con H-6, que debe ser el mayor de los observados.

Del resto del espectro de protones del compuesto **72**, sólo podemos asignar los del grupo *n*-butilo y los protones H-1' y OH-1' de la cadena polihidroxílica.

El espectro de  $^{13}\text{C}$  (Tabla XXII) de **72** presenta las señales esperadas. Las asignaciones se han realizado gracias

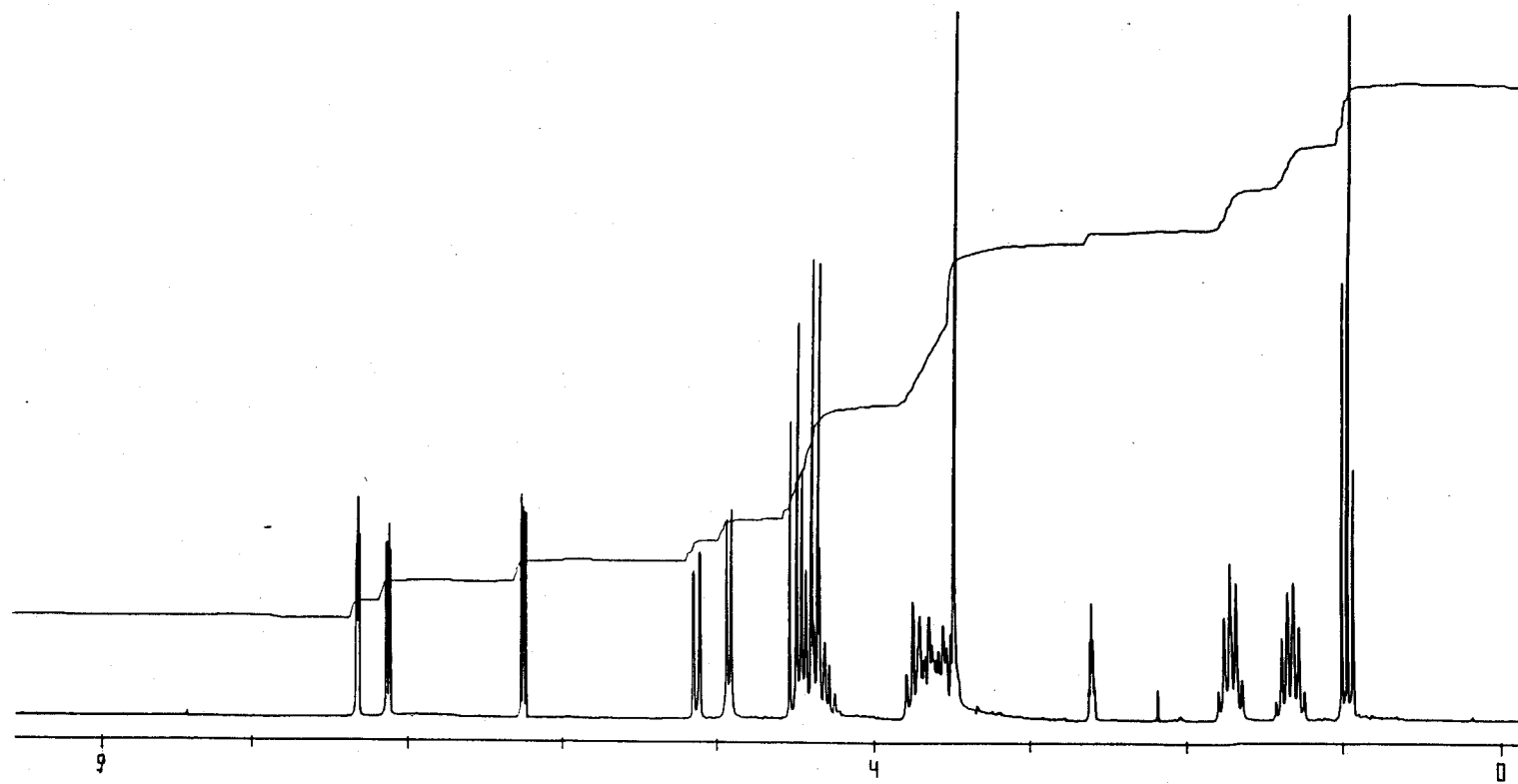


Figura 61. Espectro de r.m.n. de protones (DMSO-d<sub>6</sub>) del compuesto 72.

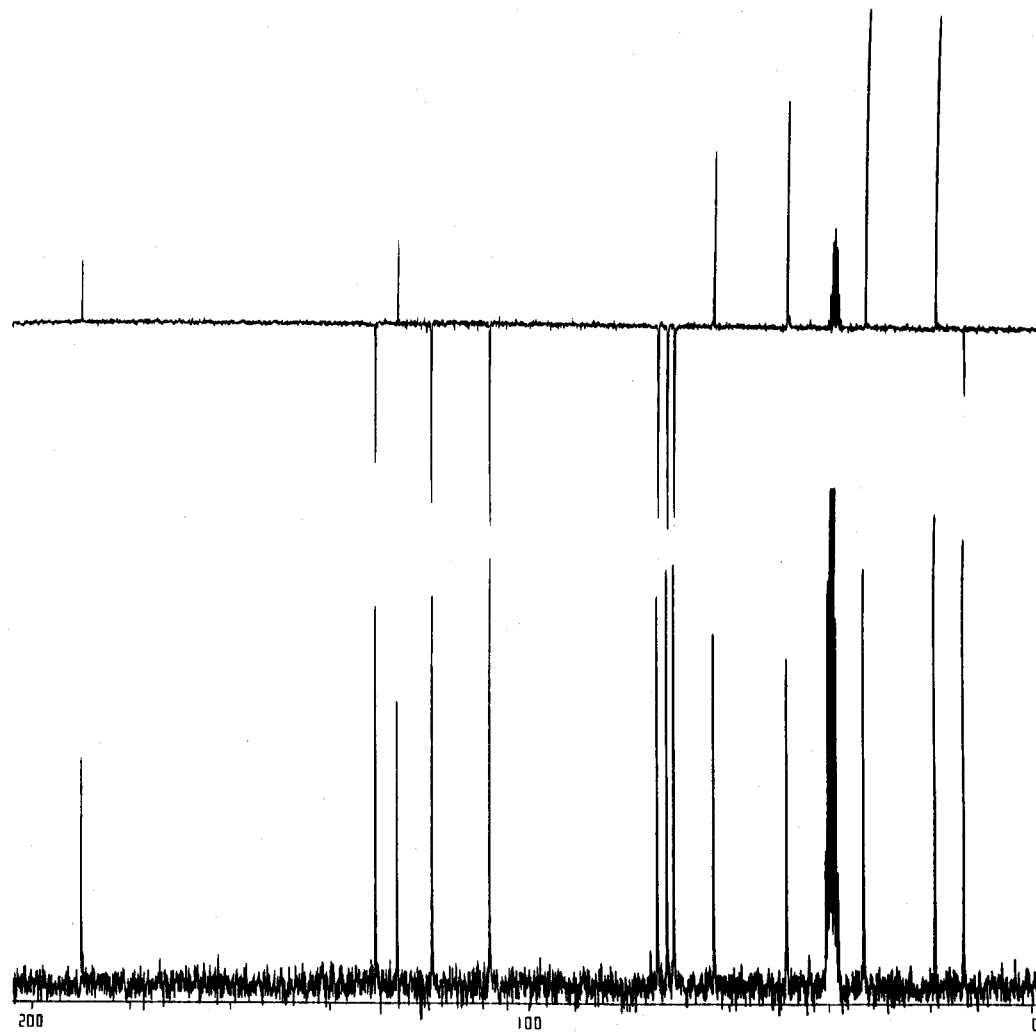


Figura 62. Espectro de r.m.n. de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) del compuesto 72.

al uso de la secuencia de pulsos APT, y a la analogía estructural del anillo de 4-piridona con los enaminales. Según esta analogía (secciones 2.2.1, 2.2.3 y 2.2.4) los núcleos de  $^{13}\text{C}$  adyacentes al carbonilo deben ser los más apantallados. A su vez, un grupo alquilo sobre este tipo de núcleo lo desapantalla unas 10-14 ppm. Teniendo en cuenta lo anterior, la señal a campo más alto,  $\delta$  108.2 ppm, debe corresponder a C-5, y la inmediata, a  $\delta$  119.8 ppm, a C-3 (sustituido por la agrupación tetritolilo). La señal a campo más bajo,  $\delta$  190.5 ppm, se asigna al C-4 (carbono carbonílico). Las dos señales restantes, con  $\delta$  intermedios 126.8 y 131.2 ppm, corresponden a C-2 y C-6, siendo la asignación de estos últimos carbonos tentativa.

La acetilación del compuesto 72 con anhídrido acético en piridina dio con rendimiento cuantitativo el derivado acetilado (PARTE EXPERIMENTAL), 3-(1,2,3,4-tetra-O-acetil-D-arabino-tetritol-1-il)-4-piridona (73). El espectro u.v. de este compuesto (Figura 63), muy similar al de la sustancia madre, tiene un máximo a  $\lambda$  296 nm ( $\epsilon$  12830), junto a un hombro a  $\lambda$  260 nm ( $\epsilon$  4620). Su espectro i.r. (Figura 64) no muestra absorción de OH en tanto que exhibe una banda fuerte de AcO a  $1750\text{ cm}^{-1}$ , además de las absorciones del heterociclo a  $1657\text{ (C=O)}$  y  $1528\text{ cm}^{-1}\text{ (C=C)}$ . En el espectro de masas, aparece el ion molecular ( $m/e$  439), y el pico base sigue siendo el de  $m/e$  150  $[\text{M}-(\text{CHOH})_3\text{CH}_2\text{OH}]^+$ , debido a la pérdida de la cadena poliacetilada. En el espectro de r.m.n. de protones, en deuteriocloroformo (Figura 65 y Tabla XXVI),

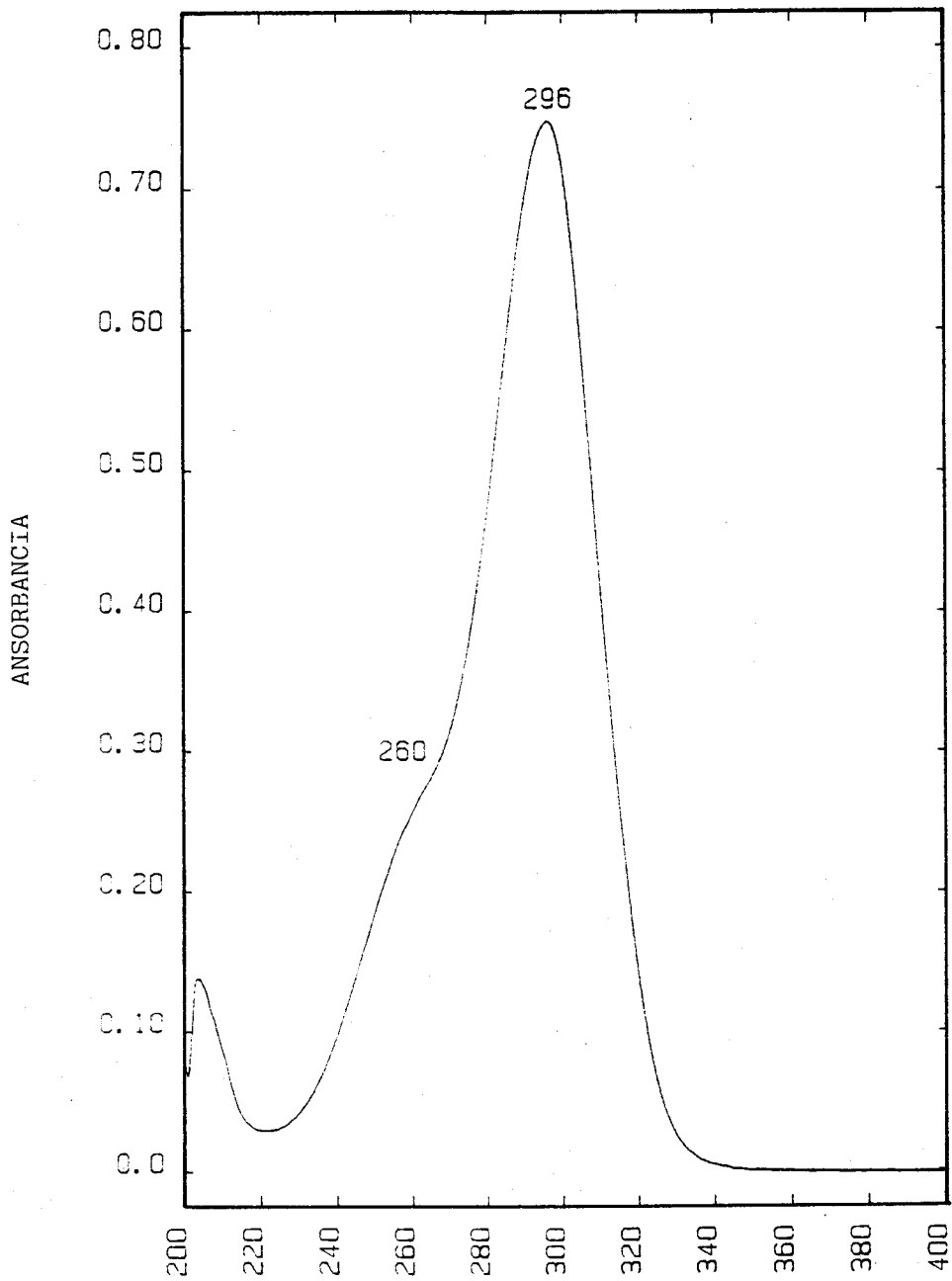


Figura 63. Espectro u.v. (EtOH) del compuesto 73.



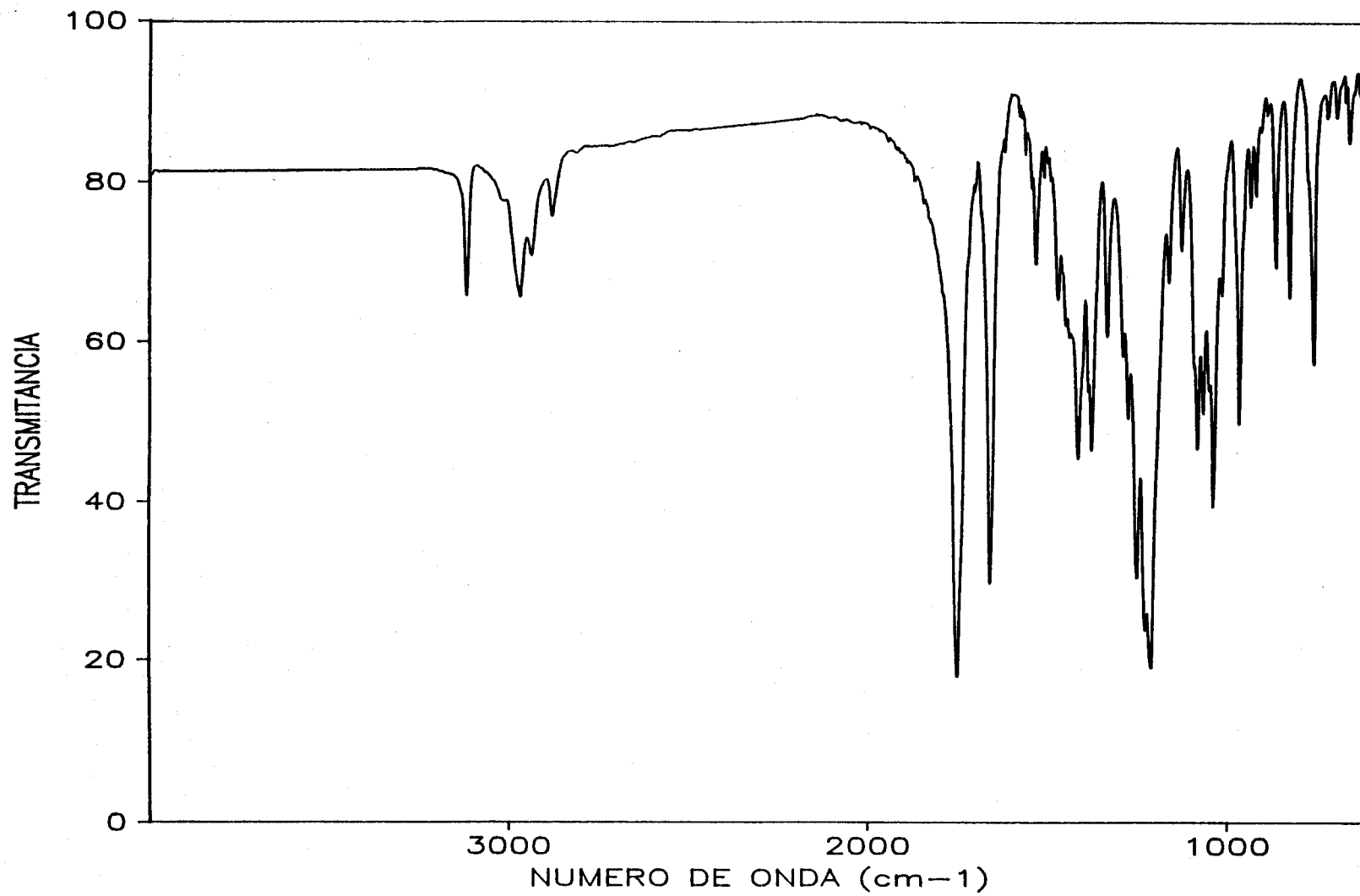


Figura 64. Espectro i.r. (KBr) del compuesto 73.

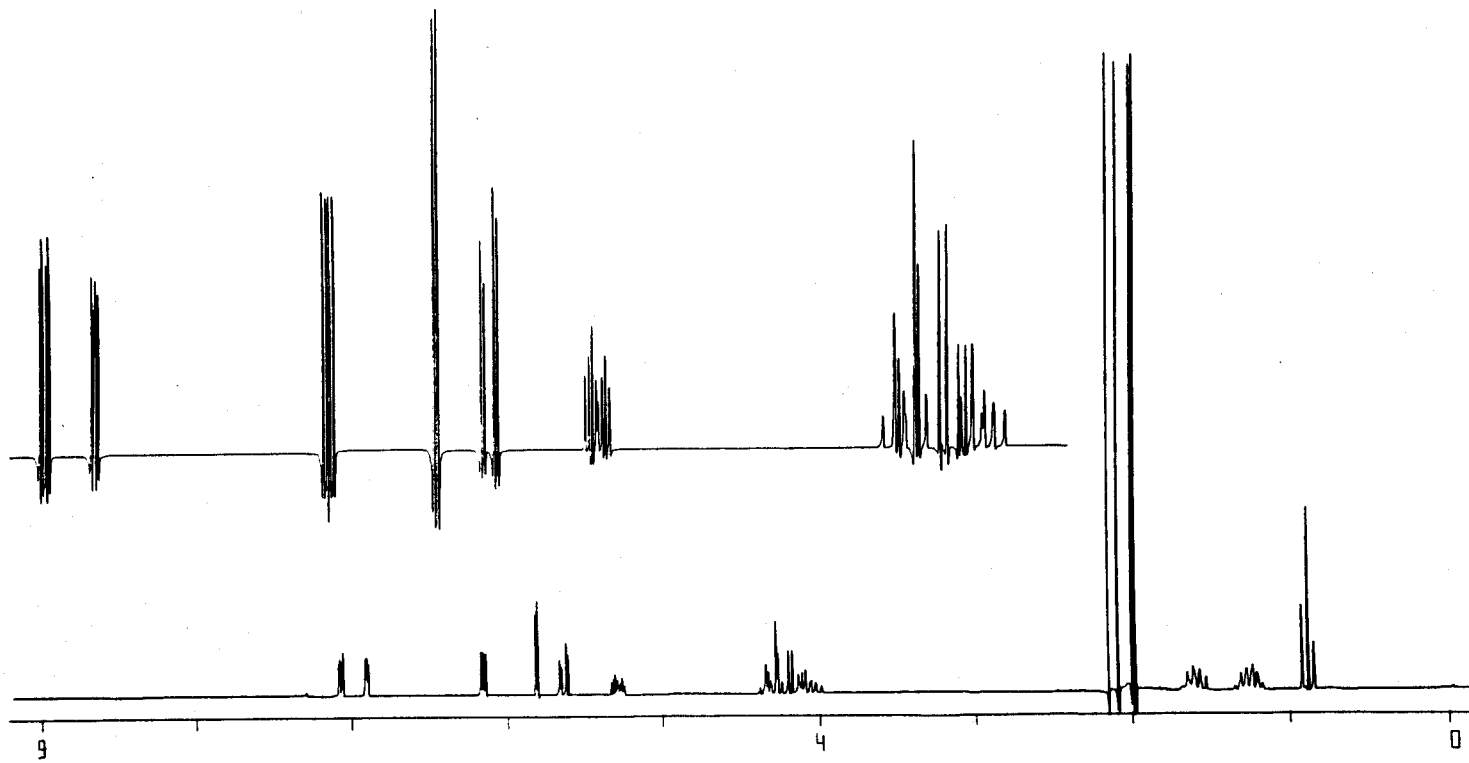


Figura 65. Espectro de r.m.n. de protones (deuteriocloroformo) del compuesto 73.

aparecen los protones H-2, H-5 y H-6, acoplados entre sí, como dobles dobletes. Los  $\delta$  y  $J$  (entre paréntesis) de estos protones son, respectivamente,  $\delta$  6.94 ( $J_{2,5}$  2.5 Hz,  $J_{2,6}$  1.6 Hz),  $\delta$  6.19 ( $J_{2,5}$ ,  $J_{5,6}$  4.3 Hz), y  $\delta$  7.11 ppm ( $J_{2,6}$  y  $J_{5,6}$ ). También aparecen cuatro singuletes a  $\delta$  2.01, 2.03, 2.12 y 2.18 ppm, correspondientes a los protones de los cuatro grupos AcO. El resto de los protones se asignan sin dificultad. En el espectro de r.m.n. de  $^{13}\text{C}$  en el mismo disolvente (Figura 66 y Tabla XXVII) aparecen las señales esperadas. Los núcleos de  $^{13}\text{C}$  del heterociclo resuenan a 108.5 (C-5), 120.0 (C-3), 127.1, 131.5 (C-2 y C-6) y 181.8 ppm (C-4).

La formación del 3-pirrolcarbaldehído 69 a partir del enaminal 68 sigue un mecanismo similar al indicado para el homólogo inferior 52 (sección 2.2.5). La anhidrización de la cadena polihidroxílica del compuesto 69 tiene lugar, en este caso, en medio ácido. En el *Esquema 19* se muestra un posible mecanismo para esta anhidrización.<sup>10</sup> En la sección 2.2.5 se ha propuesto un mecanismo (*Esquema 17*) para la formación de las 4-piridonas.

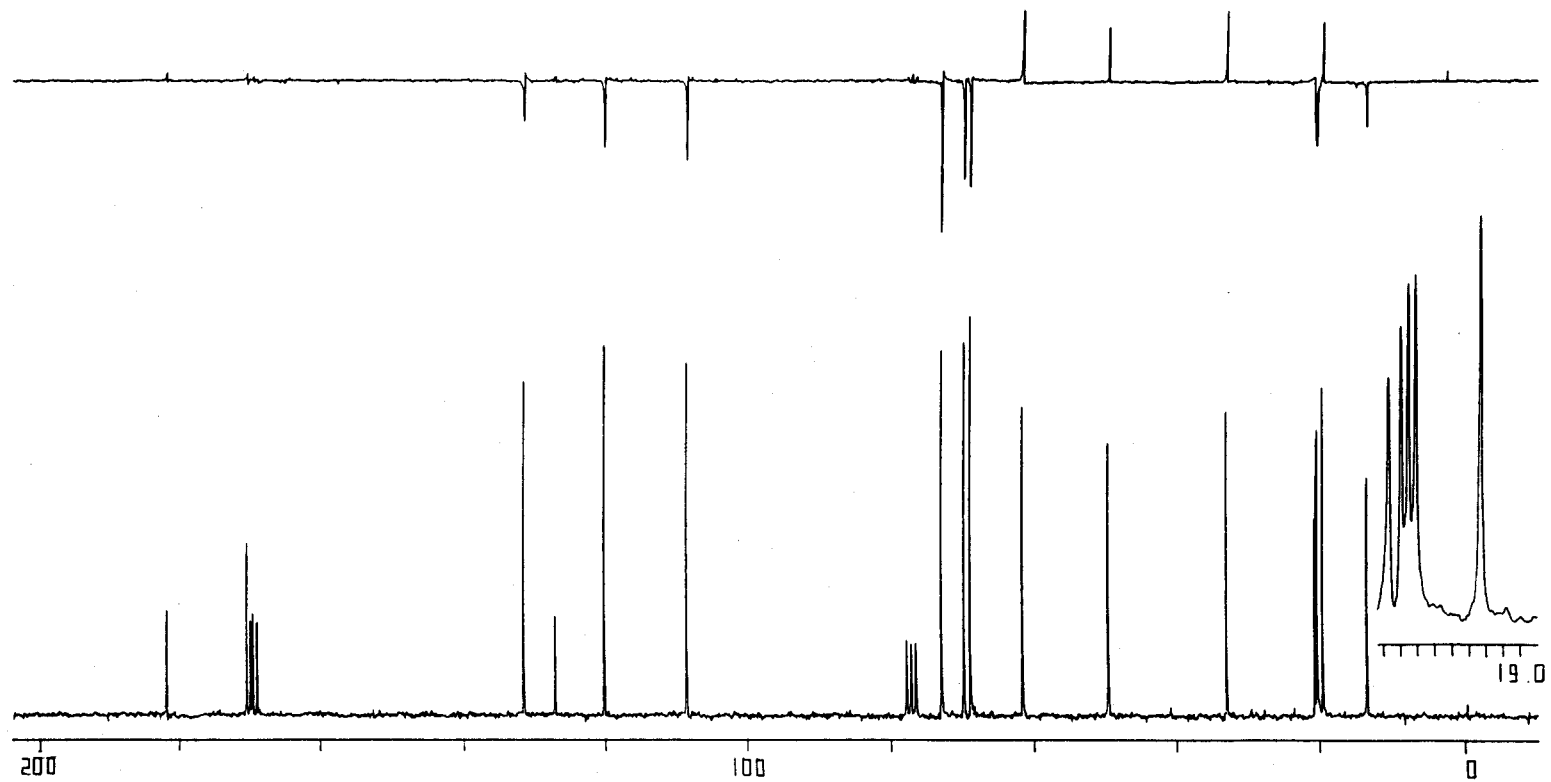
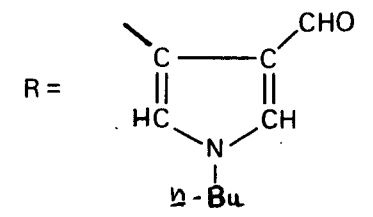
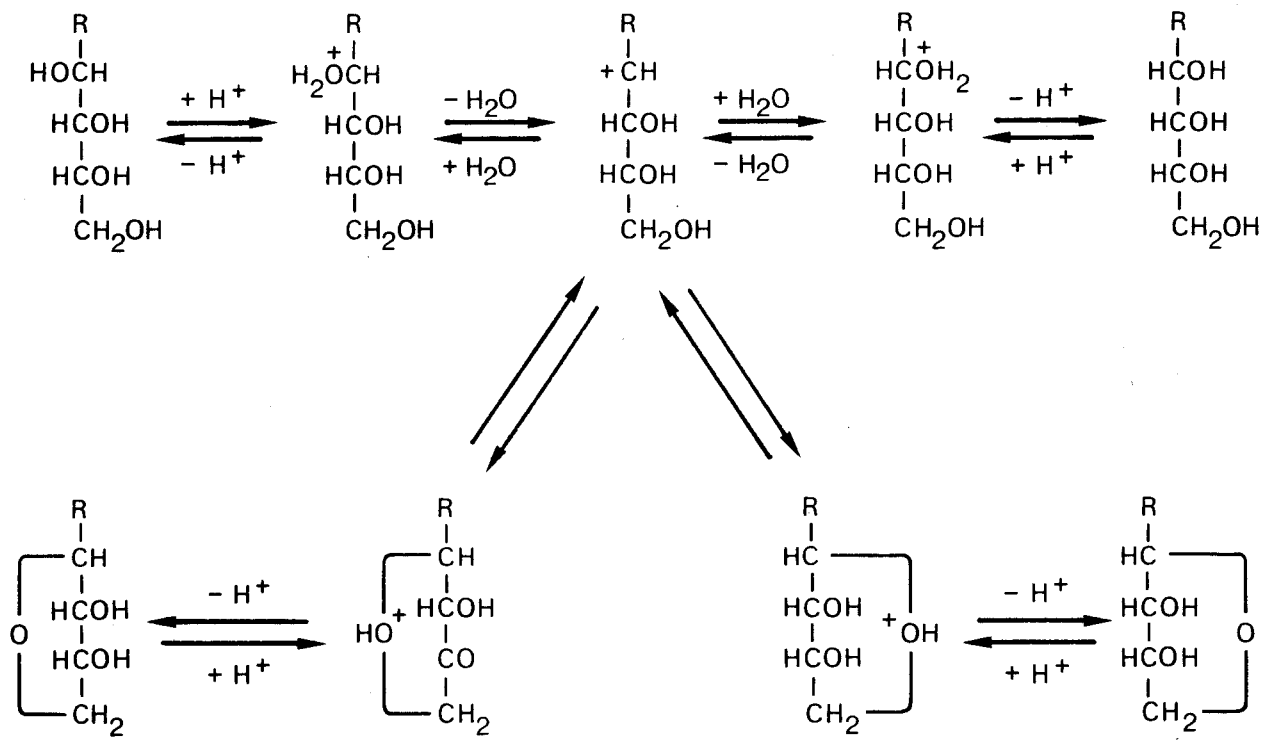


Figura 66. Espectro de r.m.n. de  $^{13}\text{C}$  (deuteriocloroformo) del compuesto 73.



Esquema 19. Mecanismo de anhidrización en medio ácido del pirolo 69.

2.2.8. Influencia del MDA en el oscurecimiento no enzimático de la 1-(n-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa

Aunque los experimentos descritos en las secciones anteriores demuestran que la 1-(n-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa se degrada en presencia de MDA y da lugar a compuestos heterocíclicos inestables que oscurecen rápidamente, la proporción molar usada de MDA dista mucho de las que pueden estar presentes en medios fisiológicos y en los alimentos. Con objeto de establecer la influencia que concentraciones proporcionalmente menores de MDA pueda tener en el oscurecimiento del amino azúcar, hemos llevado a cabo experimentos calentando disoluciones del amino azúcar y del MDA en que la proporción de este último reactivo se ha hecho proporcionalmente decreciente.

En una primera serie de experimentos, se calentaron a 100° durante una hora disoluciones 10<sup>-4</sup>M de oxalato de 1-(n-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa en buffer de fosfato de pH 7 conteniendo además concentraciones de NaMDA crecientes desde 10<sup>-5</sup>M hasta 10<sup>-4</sup>M. Después de la calefacción, estas disoluciones, que no se oscurecieron ni desarrollaron aromas afrutados, sólo mostraron absorción en el u.v. a λ 266 nm, que corresponde al máximo de absorción del anión del MDA. La representación gráfica (Figura 67) de la absorbancia medida a esta longitud de onda en función de la concentración de NaMDA es una línea recta, lo que indica que en estas condiciones, en que el MDA existe casi

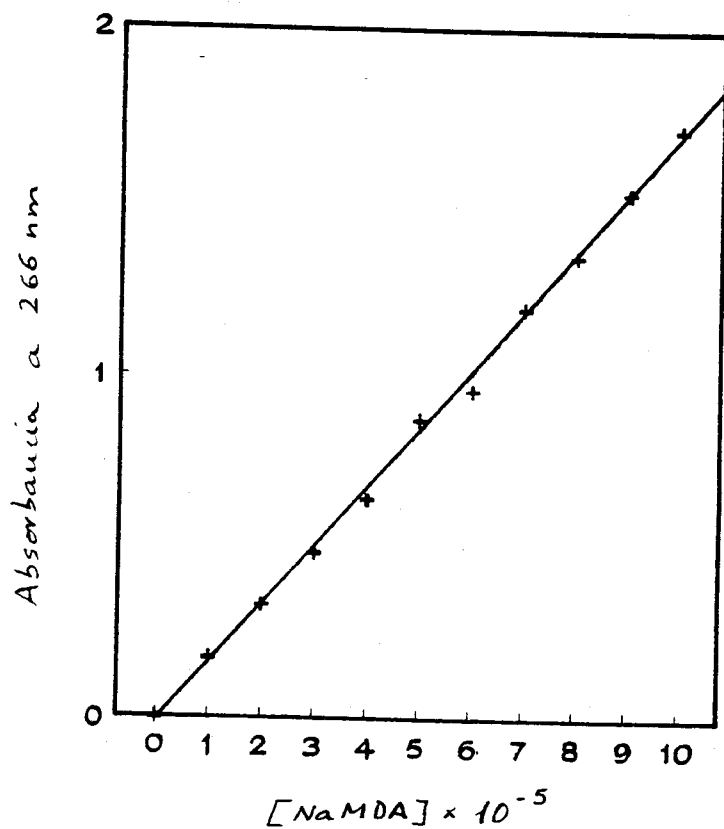


Figura 67. Absorbancia a 266 nm en función de la concentración de MDANa de disoluciones de oxalato de 1-(n-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa y NaMDA calentadas una hora a 100°C, pH 7 (buffer fosfato).

exclusivamente como anión, no se produce reacción a ninguna de las concentraciones de NaMDA usadas.

Se llevó a cabo una segunda serie de experimentos igual a la primera pero usando como disolvente agua destilada, con lo que los valores de pH de las diferentes disoluciones se mantuvieron en el intervalo 3.5-4.0. En la disolución del amino azúcar en ausencia de NaMDA no se observó cambio alguno. Por el contrario todas las disoluciones conteniendo NaMDA se oscurecieron, desarrollaron aromas afrutados, y separaron un sólido oscuro. Estas disoluciones mostraron absorciones con máximos a  $\lambda$  263, 350 y 400 nm (Figura 68), cuyas intensidades fueron función de la concentración de NaMDA presente en el medio (Figura 69).

La c.c.f. de estas soluciones, incluso las de mayor dilución, mostraron la presencia de los 3-pirrolcarbaldehidos 69-71 y de la 4-piridona 72, a los cuales se puede atribuir la absorción a 263 nm. La pendiente de esta curva disminuye al aumentar la concentración de NaMDA (Figura 64), en tanto que las pendientes de las curvas correspondientes a las absorciones a 350 y 400 nm, probablemente debidas a compuestos con conjugación más extensa, productos de polimerización (melanoidinas) de los heterociclos anteriores, aumentan con la concentración de NaMDA. Estos resultados apoyan la hipótesis de que el MDA presente en los alimentos y en los fluidos biológicos contribuye a la reacción de oscurecimiento no enzimático, siempre que el pH del medio permita la presencia de MDA en



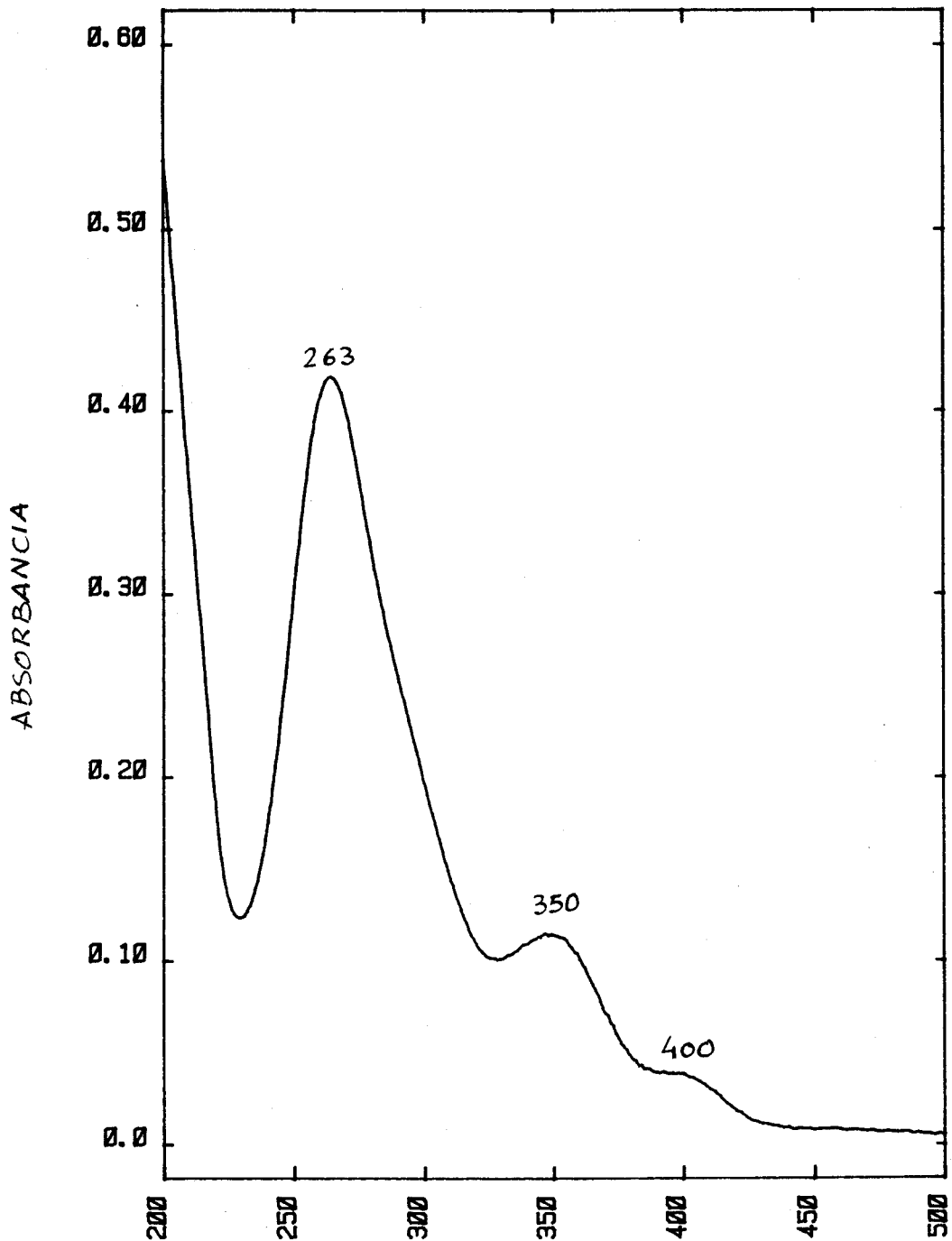


Figura 68. Espectro u.v. (agua) de las disoluciones de oxalato de 1-(n-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa y NAMDA, calentadas a 100°C durante una hora, pH 3.5-4.0.

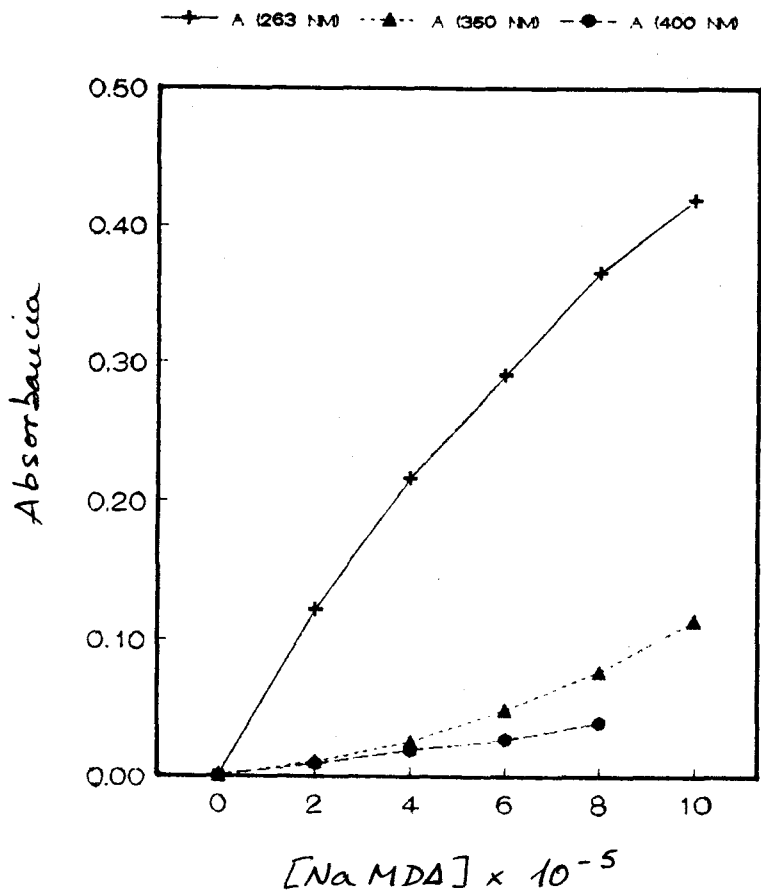


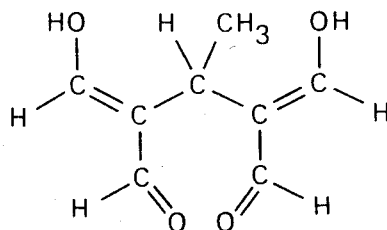
Figura 69. Absorbancia a 263, 350 y 400 nm, en función de la [NaMDA], de disoluciones de oxalato de 1-(n-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa y NaMDA, calentadas a 100°C una hora, pH 3.5-4.0

forma no dissociada (pH<6).

### 2.3. Discusión general

Los resultados obtenidos indican, en primer lugar, que el MDA es una sustancia inestable en condiciones fisiológicas (medio acuoso, temperatura ambiente y pH próximo a la neutralidad), que tiende a transformarse en otras sustancias de mayor complejidad estructural. En segundo lugar, tanto el MDA como sus productos de transformación muestran, en condiciones fisiológicas, una gran tendencia a reaccionar con los amino azúcares, contribuyendo a acentuar los efectos de la reacción de oscurecimiento no enzimático de los alimentos (reacción de Maillard): desarrollo de aromas y formación de sustancias de fuerte coloración oscura.

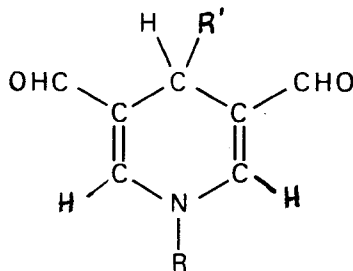
En lo referente a la inestabilidad del MDA , hemos encontrado que este dialdehído sufre una ruptura hidrolítica en el rango de pH 4-7, similar a la que sufren las 1,3-dicetonas en medio básico. La ruptura del MDA produce ácido fórmico y acetaldehído; este último reacciona rápidamente con el MDA para formar 2,4-dihidroximetilén-3-metilglutaraldehído (24). La facilidad con que el MDA



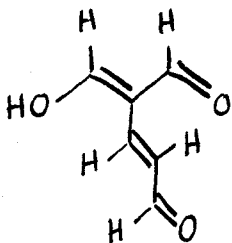
reacciona con el acetaldehído también se manifiesta con otros aldehídos de importancia biológica, como el butanal o el hexanal, produciendo los correspondientes 2,4-dihidroxi-metilen-3-alkilglutaraldehydos.

La mayor facilidad con que el MDA experimenta el desdoblamiento básico en relación con la 1,3-dicetonas se atribuye a la mayor electrofilia del carbonilo aldehídico en relación con el carbonilo cetónico. En este último caso, el efecto inductivo -I de los grupos alquílicos que flanquean la función cetónica restan a ésta electrofilia, y el ataque por el ion  $\text{OH}^-$  y la subsiguiente heterólisis del enlace C—C requiere pH básico.

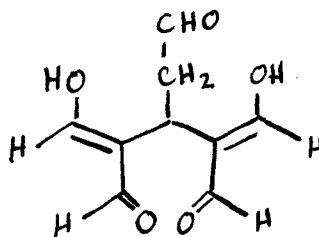
Los nuevos compuestos carbonílicos derivados del MDA muestran una gran reactividad hacia las aminas alifáticas y los amino azúcares que contienen grupos amino primarios. Las estructuras que se forman en estas reacciones son del tipo 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhído (20), y tienen propiedades fluorescentes similares a las de la lipofuscina, el pigmento ceroides que se acumula en los tejidos envejecidos de los mamíferos.



Hemos encontrado una segunda vía de degradación del MDA, a través de su oligomerización. A pH próximo al  $pK_a$  del MDA (4.5-5.0) éste se transforma cuantitativamente, formándose como producto principal el "quasi trímero" 2,4-dihidroximetilen-3-(2-oxoetil)glutaraldehído (27), y como productos minoritarios el 2,4-dihidroximetilen-3-metilglutaraldehído (24) y el "quasi dímero" E-(3-oxo-1-propen-1-il)malondialdehído (26).



26



27

La estimación de MDA en lípidos oxidados y en tejidos por el método del TBA se ha usado habitualmente como un índice de la peroxidación lipídica y de la rancidez. Sin embargo, es conocido que el test del TBA no es específico del MDA libre, dando un test positivo alguno de sus precursores (v.g. TMP) y una serie de compuestos relacionados químicamente ("sustancias reactivas al TBA"). Alguna de estas "sustancias reactivas al TBA" se considera que son polímeros del MDA de bajo peso molecular. Los productos de transformación del MDA en condiciones fisiológicas que hemos encontrado, dan todos positivo el test del TBA. Estos

productos pueden acompañar al MDA en sus preparaciones, así como en alimentos y medios fisiológicos, y ser algunas de esas "sustancias reactivas al TBA".

La fácil formación del 2,4-dihidroxi metilen-3-metilglutaraldehído (24) a partir de MDA sólo, o de los 2,4-dihidroxi metilen-3-alkilglutaraldehyidos a partir del MDA y del aldehído apropiado, así como la transformación de estos compuestos en 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhydidos (20) por tratamiento con aminas alifáticas o amino azúcares, explica la formación de compuestos con estructura de 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhído en la reacción de MDA-aldehído-amina (o amino ácido) descrita en la literatura. Aun más, compuestos con estructura de 2,4-diacilglutaraldehído similares a los 2,4-dihidroxi metilen-3-alkilglutaraldehyido podrían ser intermedios en la síntesis de Hantzsch de 1,4-dihidropiridinas a partir de compuestos 1,3-dicarbonílicos, aldehídos y amoníaco. Por último, la formación de 2,4-dihidroxi metilen-3-alkilglutaraldehyidos constituye una prueba a favor del modelo de las 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhydidos para explicar la formación de sustancias fluorescentes en la interacción MDA-proteína.

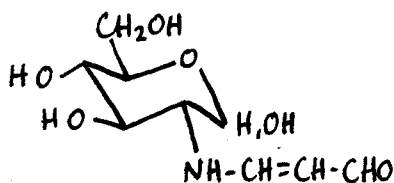
La reacción del MDA con amino azúcares puede encuadrarse dentro del marco más general de la reacción de los compuestos 1,3-dicarbonílicos con amino azúcares. La reacción del MDA responde, en principio, a este esquema general, pero tiene una serie de características que la hacen

diferente.

En principio, una amina primaria puede reaccionar con el MDA dando dos tipos de productos, el aducto 1:1 o enaminal (17), y el aducto 2:1 o 1-amino-3-iminopropeno (18). Las reacciones se han ensayado con la 2-amino-2-desoxi-D-glucosa, la  $\beta$ -D-glucopiranosilamina, la 1-amino-1-desoxi-D-fructosa y la 1-(n-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa, en agua y a pH aproximadamente neutro. Cuando las reacciones se llevan a cabo temperatura ambiente se ha observado la formación, en todos los casos, de los correspondientes enaminales (40, 49, 52 y 68, respectivamente). Unicamente en el caso de la 1-amino-1-desoxi-D-fructosa se ha observado la formación del 1-amino-1-iminopropeno (54).



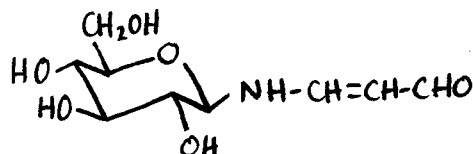
17



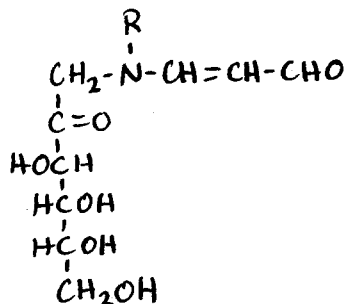
40



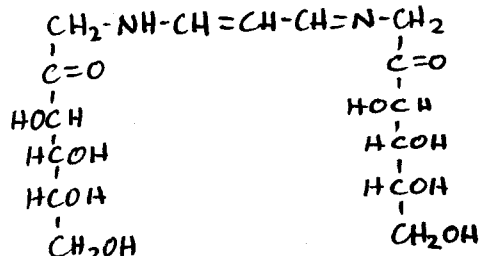
18



49



52 R= H



54

68 R= n-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>

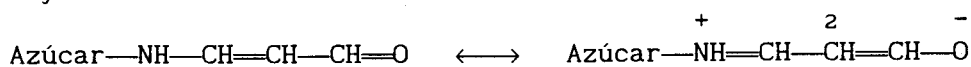


Merced a la ruptura y oligomerización que sufre el MDA en las condiciones de reacción, se ha observado la formación de 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhdos, incluso cuando se ha usado una NaMDA cromatográficamente pura, lo cual se explica porque la transformación del MDA en el 2,4-dihidroxitilén-3-metilglutaraldehydo (24) y la reacción de este último con el amino azúcar compite con la reacción directa del MDA y el amino azúcar. Excepto en el caso de la 1-(*n*-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa, las 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhdos provienen de los propios amino azúcares. En el caso excepcional, el 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhdido proviene de la *n*-butilamina, que probablemente se forma por escisión del amino azúcar. Un compuesto similar se observa también en la reacción con 1-amino-1-desoxi-D-fructosa.

Los enaminales obtenidos son resistentes a la hidrólisis, según se deduce de los altos rendimientos en que se han aislado; la excepción es el enaminal de la  $\beta$ -D-glucopiranosilamina.

Los enaminales obtenidos que disponen de una función carbonilo potencial en la porción de azúcar (todos excepto el de la  $\beta$ -D-glucopiranosilamina), ciclan al calentar en medio acuoso. La velocidad de la reacción es dependiente del pH. Así, en los casos de la 2-desoxi-2-(3-oxo-1-propén-1-il)amino- $\alpha$ , $\beta$ -D-glucopiranososa (40) y de la 1-desoxi-1-(3-oxo-1-propén-1-il)-D-fructosa (52), la ciclación es rápida a pH 9, mientras que en el caso de la 1-desoxi-1-[(*n*-butil)(3-oxo-

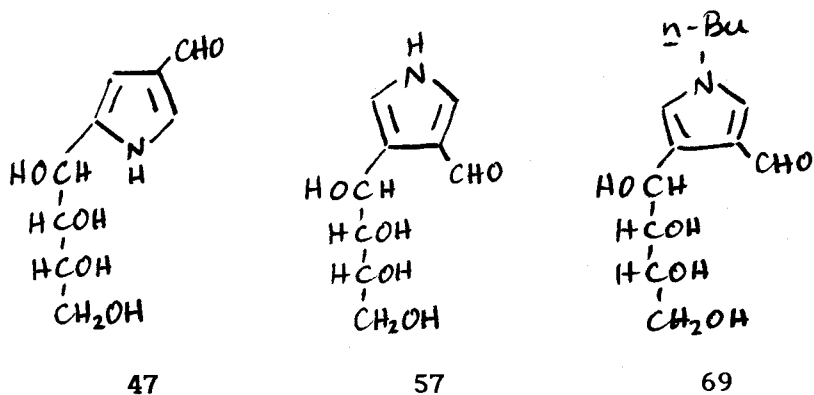
1-propen-1-il)amino]-D-fructosa (68) la reacción ocurre ya a pH 4. El producto final esperado de estas ciclaciones, un 3-pirrolcarbaldehído 4- o 5-sustituido, se forma efectivamente (47, 57 y 69). La mayor resistencia de los enaminales de azúcares a la hidrólisis y a la ciclación en relación a lo observado en el compuesto análogo derivado de la 2,4-pentanodiona (acetilacetona) se puede atribuir a la mayor estabilidad del sistema mesómero de enaminal:



en comparación con el similar existente en la enamínona:

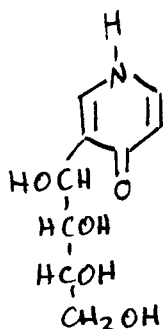


dado el mayor efecto mesómero +M del carbonilo aldehídico en relación al cetónico. La acumulación de carga en el carbono 2 del enaminal (que tiene que atacar nucleofílicamente al grupo C=O del azúcar) es más baja que en el compuesto similar cetónico y la ciclación requiere condiciones más drásticas.

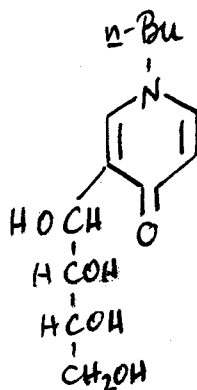


En los casos de los enaminales derivados de la D-fructosa (52 y 68) se observa además la formación de

4-piridonas 3-sustituidas (58 y 72). Estas últimas estructuras no se han observado en las reacciones de amino azúcares con compuestos 1,3-dicarbonílicos ensayadas anteriormente. Su formación puede considerarse debida, por un lado, a la capacidad de enolización del carbonilo del resto de fructosa y, por otro, al mayor carácter electrofílico del carbonilo aldehídico de estos enaminales, respecto a los carbonilos de cetona o ester de enamionas de amino azúcares anteriormente estudiados. El resultado es similar si en vez de calentar, se deja el enaminal en disolución mucho tiempo (varias semanas).



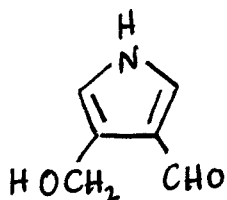
58



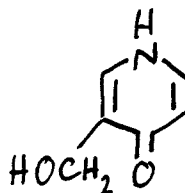
72

Mención especial merece la formación del 4-hidroximetil-3-pirrolcarbaldehido (59) y la 3-hidroximetil-piridona (60) ya que su formación se ha explicado mediante una escisión previa de la 1-amino-1-desoxi-D-fructosa para dar aminohidroxiacetona (1-amino-3-hidroxiopropanona). Esta ruptura del amino azúcar es similar a la experimentada por los azúcares reductores (por ejemplo, D-fructosa) en medio

básico dando dihidroxiacetona, y a la experimentada por la D-fructosa-6-fosfato en presencia de enzimas a pH neutro. No parece que esta ruptura requiera la presencia del MDA, y el papel de éste ha sido meramente atrapar la aminohidroxiacetona para dar los heterociclos poniéndola así de manifiesto. Es probable que este desdoblamiento retroaldólico de la 1-amino-1-desoxi-D-fructosa sea común a los compuestos de Amadori en general y se produzca siempre en el transcurso de la reacción de Maillard.



59



60

Los compuestos heterocíclicos formados en la ciclación de los enaminales son inestables y se oscurecen. De hecho, las reacciones de ciclación transcurren con oscurecimiento de las disoluciones y, en los casos de los enaminales 52 y 69, con formación de sustancias insolubles oscuras y desarrollo de aromas afrutados o parecidos a los de productos de repostería. En alimentos ricos en lípidos parcialmente oxidados, el MDA coexiste con los glucosilamino ácidos y los productos de su reordenamiento de Amadori. La formación de heterociclos similares a los estudiados a partir de glucosilamino ácidos o fructosamino ácidos y MDA, puede

contribuir a la reacción de oscurecimiento no enzimático de los alimentos, cuando estos son cocinados o se almacenan durante mucho tiempo. Así, una disolución de 1-(n-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa a pH 4 no se oscurece después de una hora de calentamiento a 100°, a no ser que en el medio esté presente el MDA. El aumento de la concentración de MDA aumenta el grado de oscurecimiento y de formación de sustancias insolubles oscuras.

### **3. PARTE EXPERIMENTAL**

### 3.1. Métodos generales

Los puntos de fusión (p.f.) se determinaron en un aparato Reichert 222127; están sin corregir y se refieren a muestras secadas a vacío sobre cloruro cálcico.

El secado de las disoluciones se llevó a cabo con sulfato sódico anhidro.

Las evaporaciones de disolventes se efectuaron a temperatura  $<45^{\circ}\text{C}$  a presión reducida (15 a 25 mm de Hg).

Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro automático Perkin-Elmer modelo 241 MC, empleando luz de sodio ( $\lambda$  5893 Å).

Los análisis elementales se han realizado en el Departamento de Química Analítica de la Universidad de Sevilla.

Los disolventes para espectroscopía (Merck-Uvasol) se utilizaron en el estado suministrado por las casas comerciales.

#### Espectros u.v.

Se registraron con un espectrofotómetro Hewlett-Packard 8450A. Se usaron disoluciones en agua, metanol o etanol de concentraciones comprendidas entre  $10^{-4}$  y  $10^{-5}M$ .

#### Espectros de fluorescencia

Se registraron en un espectrofluorímetro Perkin-Elmer LS-5. Se usaron disoluciones en agua o en metanol. La

intensidad relativa molar (IRM) de fluorescencia se ha expresado frente a una disolución de sulfato de quinina  $\mu\text{M}$  en ácido sulfúrico 0.05M, con excitación a 350 nm y emisión a 450 nm.

#### Espectros i.r.

Se registraron en espectrofotómetros Perkin-Elmer 782 y Bomem MB-120. Las medidas se realizaron sobre la muestra sólida en pastilla de KBr, o como película capilar de sustancia pura incluida entre dos placas de cloruro sódico, si la muestra era siruposa.

#### Espectros de $^1\text{H}$ -r.m.n.

Se registraron en un espectrómetro Varian XL-200 (200 MHz). Se usaron disoluciones de  $\text{D}_2\text{O}$ , MeOD,  $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\text{CDCl}_3$  y  $\text{Cl}_4\text{C}$ . En algunos casos las muestras fueron posteriormente deuteradas por la adición de una o dos gotas de  $\text{D}_2\text{O}$ , registrándose el espectro después de veinticuatro horas. En las Tablas se dan los valores de desplazamiento químico ( $\delta$ ) en ppm usando el tetrametilsilano (TMS) como referencia interna para las disoluciones en  $\text{CDCl}_3$  y en  $\text{Cl}_4\text{C}$ , acetona ( $\delta$  2.17 ppm) como referencia interna en el caso de los espectros en  $\text{D}_2\text{O}$ , y los propios disolventes en los espectros registrados en MeOD y en  $\text{DMSO-d}_6$ ; los valores de constantes de acoplamiento ( $J$ ) se dan en Hz. Las abreviaturas usadas para indicar la multiplicidad de las señales son: s (singulete), d (doblete), t (triplete), q (cuartete) y a



(ancha).

### Espectros de $^{13}\text{C}$

Se registraron en un espectrómetro Varian XL-200 (50.2 MHz), usando disoluciones de  $\text{D}_2\text{O}$ , MeOD,  $\text{DMSO-d}_6$  y  $\text{CDCl}_3$ . Como referencia interna se usó TMS para los espectros en  $\text{CDCl}_3$ , dioxano ( $\delta$  67.4 ppm) en los espectros registrados en  $\text{D}_2\text{O}$ , y los propios disolventes para los otros casos. Los espectros completamente desacoplados se tomaron usando la secuencia de pulsos MLEV-16. Para ayudar a la interpretación de los mismos se tomaron también los espectros usando la secuencia APT.

### Espectros de masas

Se registraron en un espectrómetro AEI MS 30/70 VG, Data System PDP-11/250. Los espectros en alta resolución (AR) se registraron en un espectrómetro Kratos MS-80 RFA.

### Cromatografía de gases

Se realizaron en un cromatógrafo Perkin-Elmer Sigma 3B equipado con un adaptador de espacio de cabeza, usando una columna Carbowax 20M (5% de Cromosorb G-AW, 80-100 mesh). Las condiciones cromatográficas fueron: temperatura de la muestra,  $60^\circ$ ; temperatura de la columna,  $90^\circ$ ; temperatura del detector,  $250^\circ$ ; velocidad de flujo del gas portador (nitrógeno), 20 mL/min.

Cromatografía en capa fina (c.c.f.)

Con fines analíticos se usaron cromatoplatos Alugram Sil G/UV<sub>254</sub> (Macherey-Nagel). Con fines preparativos, se usó Silica Gel F<sub>254</sub> (Merck), extendiéndola sobre placas de 20x20 cm, con un grosor de 0.5 mm. La detección de sustancias se realizó con luz u.v. de 254 nm y de 366 nm, con vapores de iodo, con ácido sulfúrico al 50% y calefacción a 250°, con reactivo Ehrlich y/o con reactivo de ácido 2-tiobarbitúrico.

Cromatografía en columna

Se usaron columnas húmedas con gel de sílice G (230-400 mesh; Merck) u óxido de aluminio 60G (neutro, Merck) como soportes, en proporción de 25 a 30 g de adsorbente por g de mezcla.

Eluyentes usados en c.c.f. y en cromatografía en columna:

- A: Acetona - agua (20:1).
- B: Acetato de etilo - metanol (7:1).
- C: Acetato de etilo - metanol - trietilamina - agua (8:2:1:1).
- D: Eter - hexano (2:1).
- E: Acetato de etilo - metanol - trietilamina - agua (6:2:1:1).
- F: Cloroformo - acetona (2:3).
- G: Acetato de etilo - metanol (6:1).
- H: Cloroformo - metanol (9:1).



- I: Acetato de etilo - metanol (5:1).
- J: Cloroformo - metanol (4:1).
- K: Acetato de etilo - metanol - ácido acético -  
agua (6:2:1:1).
- L: Acetona - agua (5:1).
- M: Acetato de etilo - metanol - agua (4:1:1).
- N: Acetato de etilo - metanol (2:1).
- O: Cloroformo - metanol (5:2).
- P: Acetona - agua (10:1).
- Q: Eter - etanol (6:1).
- R: Acetato de etilo - metanol (3:1).
- S: Acetato de etilo - metanol - agua -  
trietilamina (145:29:10:1).
- T: Cloroformo - metanol (10:1).

### 3.2. Preparación de los reactivos

#### 3.2.1 Reactivos no específicos y materias primas

Se usaron las siguientes sustancias comerciales:

- Acetato de amonio (Merck).
- Acido oxálico (Merck).
- Acido 2-tiobarbitúrico (Merck).
- Anhídrido acético (Panreac).
- n-Butilamina (Merck).
- Carbón-Paladio (10%) (Merck).
- Ciclo-hexilamina (Merck).

Cloruro de fosforilo ( $\text{POCl}_3$ ) (Fluka).  
4-(Dimetilamino)-benzaldehido (Merck).  
Dimetilformamida (Fluka).  
2,4-Dinitrofenilhidrazina (Fluka).  
Dowex 50Wx8 ( $\text{H}^+$ ) (Fluka).  
Fenilhidrazina (Fluka).  
D-Glucosa (Fluka).  
Metilamina 40% (agua) (Merck).  
Piridina (Panreac).  
Propionaldehido dietilacetal (Fluka).  
1,1,3,3-Tetrametoxipropano (Fluka).

### 3.2.2. Preparación de amino azúcares

Excepto el clorhidrato de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa, que es comercial (Fluka, >99%), los demás amino azúcares fueron obtenidos por los procedimientos descritos:

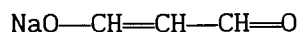
$\beta$ -D-Glucopiranosilamina.<sup>81</sup>

Acetato de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa.<sup>82</sup>

Oxalato de 1-(n-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa.<sup>83</sup>

### 3.2.3. Preparación de los compuestos 1,3-dicarbonílicos

#### 3.2.3.1. Sal sódica de malondialdehido (14, NaMDA)



Se siguió el método descrito por K. Kikugawa y colaboradores.<sup>30</sup> A 1,1,3,3-tetrametoxipropano (15; 8.2 g, 50 mmol) en agua (100 mL), se añade resina ácida Dowex 50Wx8 (forma ácida; 40 g, resina seca). La mezcla se agita durante 1 hora, hasta que la absorción u.v. a 267 nm alcanza un máximo. La resina se filtra y se lava con 25 mL de agua. El pH del filtrado y del agua de lavado, mezclados, se ajusta hasta 7 por adición de hidróxido sódico *M*, y la disolución se extrae con acetato de etilo (3x25 mL). La fase acuosa se concentra a vacío o se liofiliza. El residuo resultante se trata con acetona (150 mL) y la suspensión se sonifica. El residuo insoluble, de color naranja, se filtra (NaMDA "cruda"). La c.c.f. de este "crudo" revela la presencia mayoritaria de la NaMDA (14;  $R_F$  0.20, eluyente A), junto con pequeñas cantidades de las sales sódicas del 2,4-dihidroximetilen-3-(2,2-dimetoxietil)-glutaraldehído (21;  $R_F$  0.71) y del 2,4-dihidroximetilen-3-metilglutaraldehído (22;  $R_F$  0.0;  $R_F$  0.40, eluyente B) (ver sección 3.3). La NaMDA se cristaliza de agua-acetona. Para ell, se disuelve el "crudo" en la menor cantidad de agua posible y se añade acetona, agitando a la vez, hasta que se forma un sirupo que se decanta. Al líquido sobrenadante se añade más acetona, cristalizando en pocos segundos la NaMDA en forma de agujas. La operación se repite hasta no observar precipitación. La NaMDA así obtenida es un monohidrato (3.40 g, 75%), p.f. 240° (descomposición) [lit.,<sup>51</sup> 245° (descomposición)].

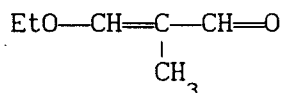
$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}}$  (pH <3) = 245 ( $\epsilon$  13400).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}}$  (pH >7) = 267 ( $\epsilon$  31800).

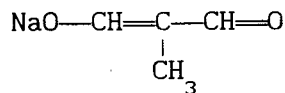
$^1\text{H}$ -r.m.n. ( $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  8.60 (d, 2H,  $J$  10.2 Hz, H-1 y H-3) y 5.25 ppm (t, 1H,  $J$  10.2 Hz, H-2) [lit.,<sup>30</sup>  $\delta$  8.65 (d) y 5.30 ppm (t)].

Análisis. Calculado para  $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}_2\text{Na}\cdot\text{H}_2\text{O}$ : C, 32.15; H, 4.50. Encontrado: C, 31.92; H, 4.47.

3.2.3.2. 3-Etoxi-2-metilpropenal (36, EMP) y sal sódica de metilmalondialdehído (37, NaMMDA)



36



37

Se siguió el procedimiento descrito por V. Nair y colaboradores.<sup>51</sup> Se añade dimetilformamida (DMF; 187 mL, 2.4 mol) gota a gota a 322 g (2.2 mol) de cloruro de fosforilo ( $\text{POCl}_3$ ), agitando vigorosamente y enfriando en baño de hielo, para mantener la temperatura por debajo de  $30^\circ\text{C}$ . Cuando se completa la adición, se añaden lentamente 132 g (1.0 mol) de 1,1-dietoxipropanal agitando vigorosamente y calentando ligeramente. Cuando comienza la reacción exotérmica se retira la fuente de calor y se mantiene la temperatura de la reacción entre  $60-70^\circ\text{C}$  mediante el lento goteo del acetal. La disolución cambia de un ligero color naranja a marrón oscuro a medida que la reacción va progresando. Cuando se termina de añadir el acetal, se calienta la disolución a  $70^\circ\text{C}$  durante 2

horas, se enfria después a temperatura ambiente, se vierte sobre 1.5 kg de hielo y se deja estar durante toda la noche. Se añade carbonato potásico anhidro hasta reacción básica y 1 L de agua para disolver las sales precipitadas. La disolución acuosa se extrae con diclorometano (5x250 mL). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre carbonato potásico anhidro y se evaporan a presión reducida. El residuo líquido se destila fraccionadamente. Después de eliminar la DMF, se recoge un líquido amarillo a 75-80°C (0.3-0.5 torr). Se redestila a 62-64°C (0.3 torr) [lit., <sup>51</sup>40°C (0.26 torr)], obteniéndose el EMP (26 %) como un líquido incoloro.

<sup>1</sup>H-r.m.n. (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.40 (t, 3H, J 7.1 Hz, CH<sub>3</sub>), 1.67 (d, 3H, J 1.1 Hz, H-2'), 4.20 (q, 2H, J 7.1 Hz, CH<sub>2</sub>), 7.06 (d, 1H, J 1.1 Hz, H-1) y 9.23 ppm (s, 1H, H-3) [lit., <sup>51</sup> δ 1.34 (t, J 7.2), 1.60 (s), 4.25 (q, J 7.2), 7.37 (s) y 9.25 ppm (s)].

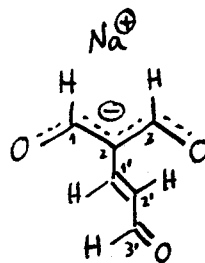
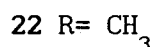
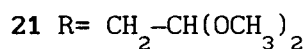
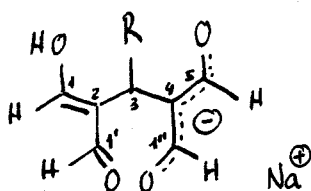
Se recoge una segunda fracción a 110-115°C (0.3 torr) que corresponde al 2-metil-3-(dimetilamino)propenal (27 %). Esta fracción (23.7 g, 0.21 mol) y 9.3 g (0.23 mol) de hidróxido sódico se agitan vigorosamente en 30 mL de agua y se calienta a 70°C hasta obtener una disolución homogénea (5 minutos). La solución se concentra hasta casi sequedad bajo presión reducida, y la sal sódica del MMDA (37) se precipita añadiendo una mezcla acetona-etanol 1:1. El producto se filtra y las aguas madres se evaporan casi a sequedad. Se obtiene una porción adicional de la misma manera y la

operación anterior se repite una vez más. La NaMMDA se recristaliza de etanol-éter y se seca durante la noche sobre cloruro cálcico en desecador a vacío [rendimiento del 62%, respecto al 2-metil-3-(dimetilamino)propenal]. La sal sódica 36 es un fino polvo blanco de p. f. 360°C (descomposición) [lit.,<sup>51</sup> 360°C (descomposición)].

<sup>1</sup>H-r.m.n. (D<sub>2</sub>O): δ 8.90 (s, 2H, CHO) y 2.00 ppm (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

Análisis. Calculado para C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>O<sub>2</sub>Na: C, 44.49; H, 4.67. Encontrado: C, 44.33; H, 4.70.

3.3. Sales monosódicas de 2,4-dihidroxi metilen-3-(2',2'-dimetoxietil)glutaraldehído (21), 2,4-dihidroxi metilen-3-metilglutaraldehído (22) y E-(3'-oxo-1'-propen-1'-il)-malondialdehído (23)



23

Se hizo una preparación de NaMDA (sección 3.2.3.1) pero con un tiempo de agitación de sólo media hora. Después de neutralizar, la mezcla de reacción se extrajo con acetato



de etilo (3x25 mL). La disolución acuosa extraída se concentró a presión reducida y el sirupo resultante se trató con acetona. El sólido que precipitó, formado por la NaMDA "cruda", se filtró y el filtrado se guardó. La NaMDA "cruda" se aplicó a una columna de gel de sílice y se eluyó con el eluyente A. La elucción proporcionó primeramente el compuesto 21 (0.8 g). La cristalización y posterior recristalización dió la muestra analítica de 21 como un hidrato, p.f. 140°C (descomposición).

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{HCl } 0.1\text{N}} = 251 \text{ nm } (\epsilon 22310).$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{NaOH } 0.2\text{N}} = 268 \text{ nm } (\epsilon 32825).$$

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ : 3470, 3223 (OH, enol), 2834, 2772 (C-H, aldehído), 1690 (C=O, aldehído) y 1548  $\text{cm}^{-1}$  (C=C, enol).

$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tabla I.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{NaO}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ : C, 46.69; H, 6.02. Encontrado: C, 46.61; H, 5.78.

El segundo eluato contenía una mezcla de la NaMDA (14) y el compuesto 22. La cromatografía en capa fina preparativa de la mezcla (eluyente B, 3 desarrollos), rindió el compuesto 22, que se recristalizó de agua-acetona (50 mg, 0.5%), p.f. 250°C (descomposición).

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{HCl } 0.1\text{N}} = 249 \text{ nm } (\epsilon 14040).$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{NaOH } 0.2\text{N}} = 270 \text{ nm } (\epsilon 32060).$$

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ : 3500, 3208 (OH, enol), 2808, 2790 (C-H, aldehído), 1682 (C=O, aldehído) y 1574  $\text{cm}^{-1}$  (C=C,

enol).

$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tabla I.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_8\text{H}_9\text{NaO}_4 \cdot 5/2 \text{H}_2\text{O}$ : C, 40.51; H, 5.94. Encontrado: C, 40.28; H, 5.73.

El filtrado (aguas madres) de la NaMDA "cruda" se concentró a presión reducida hasta sequedad. El residuo siruposo resultante se trató con acetato de etilo. Se observó la aparición de unos cristales blancos y de un sirupo naranja oscuro en forma de bolitas. Se filtró y con una espátula se separan los cristales de las bolitas. Los cristales (10 mg) se identificaron (c.c.f.) con el compuesto 21. Las bolitas naranjas se disolvieron en agua-acetona. Al concentrar a presión reducida esta disolución, comenzaron a cristalizar unas agujas. Se añadió un poco de etanol y se filtraron las agujas del compuesto 23 (rendimiento 40 mg, 0.5%), p.f.  $245^\circ\text{C}$  (descomposición).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}} = 278$  ( $\epsilon$  11690) y  $349$  nm ( $\epsilon$  16255).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ : 3470, 3347 (OH, enol), 2822, 2760 (C-H, aldehído), 1655, 1642 (C=O, aldehído), 1603 (C=C) y  $1572 \text{ cm}^{-1}$  (C=C, enol).

$^1\text{H}$ -r.m.n. ( $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  6.97 (dd,  $J_{1',2'}$  15.5 Hz,  $J_{2',3'}$  8.7 Hz), 1H, H-2'), 7.55 (d,  $J_{1',2'}$  15.4 Hz, 1H, H-1'), 8.94 (s, 2H, H-1 y H-3) y 9.26 ppm (d,  $J_{2',3'}$  8.7 Hz, 1H, H-3').

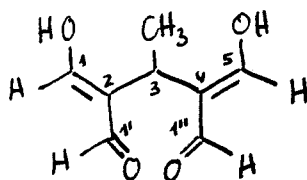
$^{13}\text{C}$ -r.m.n. ( $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  117.0 (C-2), 122.3 (C-2'), 150.0 (C-1'), 196.3 (C-1 y C-3) y 200.6 ppm

(C-3').

Análisis. Calculado para  $C_6H_5O_3Na$ : C, 48.66; H,

3.40. Encontrado: C, 48.30; H, 3.13.

### 3.4. 2,4-dihidroxi metilen-3-metilglutaraldehido (24)



24

La sal sódica de 2,4-dihidroxi metilen-3-metilglutaraldehido (22; 300 mg, 1.27 mmol) se disolvió en 30 mL de ácido clorhídrico 0.1M (3 mmol). Después de 10 minutos, la disolución acuosa se extrajo con cloroformo (3x20 mL). El extracto se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida. Se obtuvo así el 2,4-dihidroxi metilen-3-metilglutaraldehido (24) como un sirupo amarillento (195 mg, 90%). Sólo pudieron conseguirse evidencias espectroscópicas (i.r. y r.m.n.) de la estructura de este compuesto. Los intentos de obtención de un análisis fueron infructuosos debido a la inestabilidad mostrada por este compuesto.

La sal sódica de 2,4-dihidroxi metilen-3-metilglutaraldehido (22, 50 mg, 0.211 mmol) se disolvió en agua

(25 mL). Se añadió un exceso de ácido clorhídrico 0.5 M (2 mL) y cloruro sódico, para mantener la fuerza iónica de la disolución constante ( $I = 0.1$ ). La mezcla se valoró potenciométricamente (pH-metro) con hidróxido sódico 0.1006M. Los cálculos pertinentes,<sup>84</sup> indicaron que el 2,4-dihidroxi-metilen-3-metilglutaraldehído (24), es un ácido diprótico, con valores de  $pK_a$ , con correcciones de actividad,  $pK_{a(1)} = 4.93$  y  $pK_{a(2)} = 8.00$ .

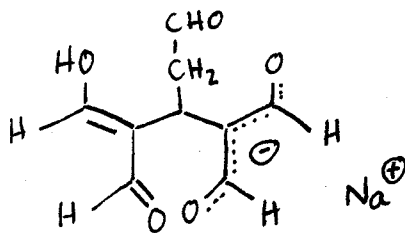
Es de destacar que este compuesto y su sal sódica (22) son indistinguibles cromatográfica (eluyente C). Ello se considera debido a que, por ser el gel de sílice un ácido más fuerte que 24, su sal sódica (compuesto 22) se descompone en la capa fina, dando 24 y emigrando como tal. Sin embargo, la sal sódica (22) es insoluble en cloroformo.

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}} = 3412, 3275$  (OH, enol), 2839, 2745 (C-H, aldehído), 1726, 1665, 1622 (C=O, aldehído) y 1559  $\text{cm}^{-1}$  (C=C, enol).

$^1\text{H-r.m.n. (CDCl}_3\text{): } \delta$  1.05 (d,  $J$  7.1 Hz), 1.15 ( $J$  6.7 Hz), 1.23 (d,  $J$  7.1 Hz), 1.33 (d,  $J$  7.1 Hz) y 1.45 ppm (d,  $J$  7.6 Hz) (integral conjunta para 3H, H-1''');  $\delta$  3.16 (dq,  $J$  7.0 Hz,  $J'$  3.3 Hz), 3.28 (dq,  $J$  7.0 Hz,  $J'$  3.2 Hz), 3.66 (q,  $J$  6.7 Hz), 3.73 (q,  $J$  7.1 Hz) y 3.94 ppm (q,  $J$  7.5 Hz) (integral conjunta para 1H, H-3);  $\delta$  7.18 (s), 7.22 (s), 7.24 (s), 8.14 (s), 9.25 (s), 9.27 (s), 9.43 (s), 9.55 (s), 9.56 (s) y 9.57 ppm (s) (integral conjunta para 4H, H-1, 1', 1'', 5). Un día después de

añadir un par de gotas de  $D_2O$ , en el espectro predominan las señales a  $\delta$  1.15 (d, 3H,  $J$  6.7 Hz, H-1'''), 3.66 (q, 1H,  $J$  6.7 Hz, H-3), 7.24 (s, 2H, H-1', 1'') y 9.43 ppm (s, 2H, H-1, 5).

3.5. Sal sódica de 2,4-dihidroxi metilen-3-(2'-oxoetil)-glutaraldehido (28)



28

3.5.1. Por hidrólisis de la sal sódica del 2,4-dihidroxi metilen-3-(2,2-dimetoxietil)glutaraldehido (21)

A una disolución de la sal sódica de 2,4-dihidroxi metilen-3-(2,2-dimetoxietil)glutaraldehido (21, 54 mg, 0.2 mmol) en agua (3 mL) se añadió ácido clorhídrico 1N hasta pH 1. El control cromatográfico (c.c.f. eluyente E) y espectrofotométrico (u.v.) indicó que la hidrólisis se completó después de una hora a temperatura ambiente. La disolución se extrajo con acetato de etilo (4x5 mL), y el extracto se secó sobre sulfato sódico anhidro y concentró a presión reducida. El residuo siruposo amarillento que resultó se disolvió de en agua (3 mL) y el pH se ajustó a 7 por adición de hidróxido sódico 0.1 N. La disolución se concentró

a presión reducida y el residuo siruposo anaranjado se trató con acetona, separándose el compuesto 28 como un sólido débilmente anaranjado (90%) de p. f. 174-176 °C.

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{HCl } 0.1\text{N}} = 250 \text{ nm } (\epsilon \text{ 14540}).$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{NaOH } 0.2\text{N}} = 270 \text{ nm } (\epsilon \text{ 24480}).$$

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ : 3450 (OH, enol), 2827, 2783 (C-H, aldehído), 1721 (C=O, aldehído), 1605 (C=O, enol) y 1550  $\text{cm}^{-1}$  (C=C, enol).

$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tabla I.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_5\text{Na}$ : C, 49.09; H,

4.12. Encontrado: 49.08; H, 4.23.

### 3.5.2. A partir de 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP, 15)

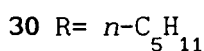
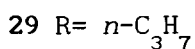
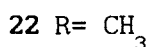
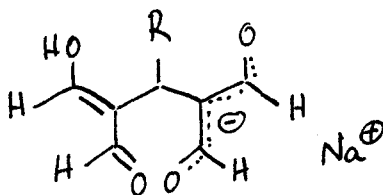
A TMP (8.2 g, 50 mmol) en agua (100 mL), se añadió resina Dowex 50Wx8 (forma ácida; 40 g de resina seca) y la suspensión se agitó a temperatura ambiente durante una hora. La resina se filtró, se lavó con agua (25 mL), y al filtrado y líquido de lavado reunidos se añadió hidróxido sódico 2N, hasta que el pH es 4.5 ( $\text{pK}_a$  del MDA). La disolución de NaMDA y MDA así obtenida se dejó a temperatura ambiente, manteniéndose el pH a 4.5 añadiendo, de cuando en cuando, pequeñas cantidades de resina Dowex 50Wx8 (forma ácida). El seguimiento cromatográfico (c.c.f., eluyente C) de la reacción indicó la transformación del MDA ( $R_F$  0.32) en el compuesto 28 ( $R_F$  0.35). Aunque ambos compuestos tienen movilidades cromatográficas similares, la mancha correspondiente a 28 da una intensa coloración naranja al

pulverizar con reactivo TBA y calentar, mientras que el MDA da una mancha mucho más débil. Después de dos días (c.c.f. y espectro u.v.) la transformación del MDA es completa. La disolución rojo-anaranjada se llevó a pH 7 por adición de hidróxido sódico 2*N*, y se concentró a presión reducida. El residuo siruposo resultante se trató con acetona, separándose un sólido anaranjado (2.97 g). Este sólido se fraccionó cromatográficamente en capa fina preparativa de gel de sílice (eluyente E), obteniéndose el compuesto 28 como un sólido amorfo blanco (rendimiento del 31%) que se torna anaranjado al filtrarlo.

### 3.5.3. A partir de sal sódica de malondialdehído (NaMDA (14))

La NaMDA recristalizada (336 mg, 3 mmol) se disolvió en agua (20 mL) y a la disolución se añadió resina Dowex 50Wx8 (forma ácida) hasta que el pH alcanzó el valor 4.5. La resina se filtró y la disolución se dejó estar a temperatura ambiente. Se continuó como se ha descrito en el apartado anterior (sección 3.7.2). Después de dos días, el pH se ajustó a 7 por adición de hidróxido sódico 2*N*. Se concentró a presión reducida y el residuo se trató con acetona, separándose un sólido anaranjado que se filtró (210 mg) y se recristalizó de metanol-acetona.

### 3.6. 3-Alquil-2,4-dihidroximetilglutaraldehydos



Estos compuestos se sintetizaron según el siguiente procedimiento general. A 2 mmol de NaMDA disueltos en agua (5 mL), se añaden 1.5 mmol (0.5 mmol de exceso) del aldehído apropiado (acetaldehído para 22, *n*-butanal para 29 y *n*-hexanal para 30). En el caso del *n*-hexanal se añade metanol hasta que el aldehído se disuelve. La mezcla se deja en un matraz tapado a temperatura ambiente. La reacción se sigue espectrofotométricamente (u.v., el máximo a 266 nm de la NaMDA se va desplazando hacia 250 nm).

La formación del compuesto 22 fue cuantitativa después de una noche (c.c.f.). La disolución acuosa se diluyó con acetona (5 mL) y se dejó en un baño de agua-hielo, cristalizando el compuesto 22 en forma de agujas amarillentas que se filtraron. El compuesto 22 se recrystalizó de metanol (rendimiento del 60%). Las constantes físicas (p.f., movilidad cromatográfica, reacción con TBA) y



espectroscópicas (u.v., i.r. y r.m.n.) de este compuesto son idénticas a las de la sal sódica del 2,4-dihidroxi metilen-3-metilglutaraldehído (sección 3.3).

El compuesto 29 requirió cinco días para su formación con rendimiento cuantitativo. La disolución se concentró a presión reducida obteniéndose un residuo que se trató con etanol, dando un sólido blanco que se filtró (rendimiento del 74%). La recrystalización de metanol de este sólido dió la sal sódica del 2,4-dihidroxi metilen-3-(n-propil)glutaraldehído (29), p.f. 255°C (descomposición).

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{HCl } 0.1\text{N}} = 248 \text{ nm } (\epsilon 15475).$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{NaOH } 0.2\text{N}} = 270 \text{ nm } (\epsilon 28820).$$

$$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}} = 3287, 3125 \text{ (OH, enol)}, 2872, 2791 \text{ (C-H, aldehído)}, 1690 \text{ (C=O, aldehído)} \text{ y } 1568 \text{ cm}^{-1} \text{ (C=C, enol)}.$$

$^1\text{H-}$  y  $^{13}\text{C-r.m.n.}$ : Tabla I.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NaO}_4 \cdot 1/4\text{H}_2\text{O}$ : C, 53.45; H, 6.05. Encontrado: C, 53.66; H, 6.19.

El compuesto 30 requirió tres días para su formación cuantitativa. La disolución se concentró a presión reducida, y el sirupo resultante se trató con etanol. Se separó un sólido blanco (rendimiento del 78%) que se recrystalizó de metanol, obteniéndose la sal sódica del 2,4-dihidroxi metilen-(n-pentil)glutaraldehído (30), p.f. 270°C (descomposición).

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{HCl } 0.1\text{N}} = 251 \text{ nm } (\epsilon 17340).$$

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{NaOH } 0.2\text{N}} = 270 \text{ nm } (\epsilon 17820).$

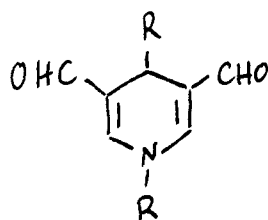
$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ : 3378, 3320 (OH, enol), 2832, 2718 (C-H, aldehído), 1670 (C=O, aldehído) y 1568  $\text{cm}^{-1}$  (C=C, enol).

$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tabla I.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{O}_4\text{Na} \cdot 5/2\text{H}_2\text{O}$ : C, 49.14; H, 7.21. Encontrado: C, 49.17; H, 6.75.

### 3.7. 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhdos

#### 3.7.1. Derivados de aminas alifáticas.



31 R= H

32 R=  $\text{CH}_3$

33 R=  $n\text{-C}_4\text{H}_9$

34 R= *ciclo*- $\text{C}_6\text{H}_{11}$

*Procedimiento general.* Una disolución de la sal monosódica del 2,4-dihidroximetilen-3-metilglutaraldehído (22; 0.475 g, 2 mmol) en agua (10 ml) se trata con amoníaco o la amina apropiada (2 mmol). En el caso de 31 se añade acetato de amonio (0.154 g); para 32, una disolución de metilamina al 40% (156  $\mu\text{L}$ ); para 33, *n*-butilamina (0.146 g);

y para **34**, ciclo-hexilamina (0.218 g). Excepto en el caso del acetato de amonio, en los demás ensayos se añade 2 mL de ácido clorhídrico *M*, para neutralizar la sal **22**. Por último, las disoluciones se dejan a temperatura ambiente.

En el caso de la reacción con acetato de amonio, ésta quedó completada en tres días (c.c.f., eluyente F; espectro u.v.). La disolución se concentró a presión reducida y se aplicó sobre capas finas preparativas de gel de sílice (eluyente F). Se rascó el producto de  $R_f$  0.62, que al extraer de la gel de sílice con metanol y eliminar el disolvente a presión reducida, rindió el 4-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldhído (**31**) como un sólido amarillo cristalino (48 mg, 16%) de p.f. 169-171 °C (lit.,<sup>59</sup> 155-168 °C).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}}$  = 233, 256 y 385 nm [lit.,<sup>59</sup> 234 ( $\epsilon$  21200), 256 ( $\epsilon$  6200) y 385 ( $\epsilon$  11500)].

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{Exc}}$  = 390 nm y  $\lambda_{\text{máx}}^{\text{Em}}$  = 457 nm (IRM 0.82).<sup>59</sup>

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ : 3343, 3282 (NH), 2853, 2746 (C-H, aldehído), 1648 (C=O, aldehído) y 1609  $\text{cm}^{-1}$  (C=C).

EM (IE): m/e (int. relativa) 151 ( $M^+$ , 13), 136 (100), 108 (7), 80 (16) y 53 (16) [lit.,<sup>59</sup> m/e 151 ( $M^+$ , 10), 136 (100)].

EM (AR): m/e 151.06112 (calc. 151.168, error 0.07%).

$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tablas II y III.

La reacción con metilamina requirió tres días y medio para completarse (c.c.f., eluyente G; espectro u.v.).

La disolución se extrajo con cloroformo (4x10 mL). El extracto se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó sobre capas finas preparativas de gel de sílice (eluyente G), y se rascó el producto de  $R_F$  0.56. La gel de sílice se extrajo con metanol y el disolvente se eliminó a presión reducida. Se obtuvo el 1,4-dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldhido (32) como un sólido amarillo cristalino (0.191 g, 58%) de p.f. 145-148 °C (lit.,<sup>58</sup> 144-147 °C).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}} = 237$  ( $\epsilon$  20800), 265 ( $\epsilon$  7200) y 400 nm ( $\epsilon$  10400) [lit.,<sup>58</sup> 236 ( $\epsilon$  21000), 264 ( $\epsilon$  6800) y 399 nm ( $\epsilon$  10900)].

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{Exc}} = 403$  nm y  $\lambda_{\text{máx}}^{\text{Em}} = 460$  nm.<sup>58</sup>

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}: 1640$  (C=O), 2750 y 2850  $\text{cm}^{-1}$  (C-H, aldehido).<sup>58</sup>

EM (IE): m/e (int. relativa) 165 ( $M^+$ , 37), 164 (10), 151 (34), 150 (100), 136 (6), 122 (12), 121 (11), 106 (6), 94 (13) y 93 (12).

$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tablas II y III

La reacción con *n*-butilamina se completó (c.c.f., eluyente H; espectro u.v.) en dos días. La disolución se extrajo con cloroformo, se eliminó el disolvente y el residuo se aplicó sobre de gel de sílice, que se eluyó con cloroformo. De esta forma, tras eliminar el disolvente a presión reducida, se obtuvo el 1-(*n*-butil)-4-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldhido (33) como un sólido

amarillo cristalino (209 mg, 51%) de p.f. 116-117°C.

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}} = 238$  ( $\epsilon$  19915), 266 ( $\epsilon$  7125) y 400 nm ( $\epsilon$  9650).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{Exc}} = 400$  nm y  $\lambda_{\text{máx}}^{\text{Em}} = 465$  nm (IRM 1.73).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}: 2871, 2737$  (C-H, aldehído), 1651 (C=O) y 1568  $\text{cm}^{-1}$  (C=C).

EM (IE): m/e (int. relativa) 207 ( $\text{M}^+$ , 10), 192 (100) y 136 (70).

EM (AR): m/e 207.12240 (calc. 207.276, error 0.07%).

$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tablas II y III.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}_2$ : C, 69.54; H, 8.27; N, 6.76. Encontrado: C, 69.38; H, 8.25; N, 6.84.

La reacción con *ciclo*-hexilamina se completó en dos días y medio. Al concentrar la disolución a presión reducida, precipitó un sólido amarillo verdoso, que se recrystalizó de metanol-agua. Se obtuvo el 1-(*ciclo*-hexil)-4-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhidó (34) como un sólido amarillo cristalino (0.160 g, 34%) de p.f. 151-152°C.

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}} = 239$  ( $\epsilon$  26520), 267 ( $\epsilon$  9560) y 402 nm ( $\epsilon$  12050).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{Exc}} = 400$  nm y  $\lambda_{\text{máx}}^{\text{Em}} = 465$  nm (IRM 1.37).

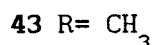
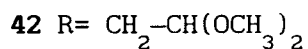
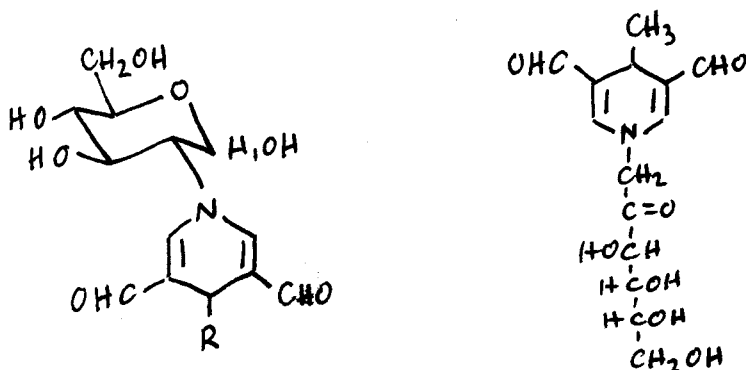
$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}: 2824, 2733$  (CH, aldehído), 1649 (C=O), 1549, 1515 (h)  $\text{cm}^{-1}$  (C=C).

EM (IE): m/e (int. rel.) 233 (M<sup>+</sup>, 7), 218 (50), 136 (100), 83 (37) y 55 (65).

<sup>1</sup>H- y <sup>13</sup>C-r.m.n.: Tablas II y III.

Análisis. Calculado para C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>: C, 72.07; H, 8.21; N, 6.00. Encontrado: C, 72.11; H, 8.17; N, 5.72.

3.7.2. Derivados de amino azúcares.



55

*Procedimiento general.* Los compuestos 42, 43 y 55 se obtienen disolviendo las sales monosódicas del 2,4-dihidroximetilen-3-(2,2-dimetoxietil)glutaraldehído (21; 0.568 g, 2 mmol) o del 2,4-dihidroximetilen-3-metilglutaraldehído (22; 0.475 g, 2 mmol) en agua y añadiendo clorhidrato de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa (0.432 g, 2 mmol) en los casos de los compuestos 42 y 43, y acetato de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa (0.478 g, 2 mmol) en en caso del compuesto 55. Las reacciones se dejan estar a temperatura

ambiente 24 horas. Después, se concentran las disoluciones a presión reducida, aplicando el residuo sobre capas finas preparativas de gel de sílice (eluyente A para 42, eluyente I para 43 y eluyente J, 2 desarrollos, para 55). Se rascan las manchas correspondientes a estos productos y se extraen de la gel de sílice con metanol.

La 2-desoxi-2-[3,5-diformil-4-(2,2-dimetoxietil)-1,4-dihidropiridin-1-il]- $\alpha,\beta$ -D-glucopiranososa (42) se obtuvo como un sirupo naranja (0.341 g, 43%).

$$[\alpha]_D^{15} = +74^\circ \text{ (c 1, agua).}$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}} = 237 \text{ (}\epsilon \text{ 14740), 264 (}\epsilon \text{ 9130) y 385 nm (}\epsilon \text{ 8920).}$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{Exc}} = 380 \text{ nm y } \lambda_{\text{máx}}^{\text{Em}} = 465 \text{ nm (IRM, 0.68).}$$

$$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}} = 3391 \text{ (OH), 1666 (C=O) y 1575 cm}^{-1} \text{ (C=C).}$$

$^1\text{H-}$  y  $^{13}\text{C-r.m.n.}$ : Tablas VIII y IX.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{NO}_9 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ : C, 51.44; H, 6.59; N, 3.53. Encontrado: C, 51.01; H, 6.23; N, 3.56.

La 2-desoxi-2-(3,5-diformil-4-metil-1,4-dihidropiridin-1-il)- $\alpha,\beta$ -D-glucopiranososa (43) también se obtuvo como un sirupo anaranjado (0.294 g, 47%).

$$[\alpha]_D^{15} = +43^\circ \text{ (c 0.3, agua).}$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}} = 237 \text{ (}\epsilon \text{ 15600), 265 (}\epsilon \text{ 7220) y 389 nm (}\epsilon \text{ 8900).}$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{Exc}} = 389 \text{ nm y } \lambda_{\text{máx}}^{\text{Em}} = 448 \text{ nm (IRM, 0.50).}$$

$$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}} = 3417 \text{ (OH), 1663 (C=O) y 1570 cm}^{-1} \text{ (C=C).}$$

$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tablas VIII y IX.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_7 \cdot 3/4\text{H}_2\text{O}$ : C, 51.45; H, 6.09; N, 4.29. Encontrado: C, 51.88; H, 5.78; N, 4.40.

La 1-desoxi-1-(3,5-diformil-4-metil-1,4-dihidropiridin-1-il)-D-fructosa (55) se obtuvo como un sólido amorfo amarillo (0.188 g, 30%) de p.f. 110-111°C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{15} = -30.1^\circ$  (c 0.83, agua).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}} = 235$  ( $\epsilon$  18080), 262 ( $\epsilon$  8440) y 384 nm ( $\epsilon$  8880).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{Exc}} = 391$  nm y  $\lambda_{\text{máx}}^{\text{Em}} = 453$  nm (IRM 0.92).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}} = 3400$  (OH), 1666 (C=O) y 1570  $\text{cm}^{-1}$  (C=C).

EM (IE): m/e (int. relativa) 313 ( $\text{M}^+$ , 1), 151 (11), 136 (100), 108 (10), 80 (40) y 53 (20).

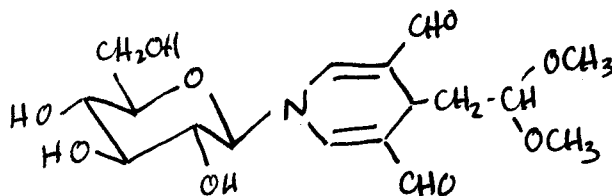
$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tabla XVIII.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_7$ : C, 53.67; H, 6.11; N, 4.47. Encontrado: C, 53.38; H, 6.04; N, 4.30.

El 1-( $\beta$ -D-glucopiranosil)-4-(2,2-dimetoxietil)-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldhido (51) se obtuvo cuando se hizo reaccionar la  $\beta$ -D-glucopiranosilamina (0.5 g, 2.8 mmol) en agua (2 mL) con preparaciones no purificadas de NaMDA (0.26 g), añadiendo ácido clorhídrico M (3 mL). Después de 24 horas, se concentró a presión reducida y el residuo se cromatografió sobre capas finas preparativas de gel de sílice



(eluyente A). Se rascó el producto de  $R_F$  0.54, que se extrajo de la gel de sílice con metanol. Se obtuvo el compuesto 51 como un sirupo amarillo (50 mg, 5%).



51

$[\alpha]_D^{15} = +26^\circ$  (c 0.5, agua).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}} = 233$  ( $\epsilon$  18220), 259 ( $\epsilon$  9730) y 372 nm ( $\epsilon$  7110).

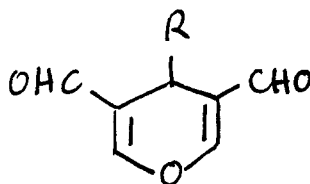
$\lambda_{\text{máx}}^{\text{Exc}} = 382$  nm y  $\lambda_{\text{máx}}^{\text{Em}} = 446$  (IRM, 0.70).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}: 3431$  (OH), 1667 (C=O) y  $1580 \text{ cm}^{-1}$  (C=C).

$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tabla XIV.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{NO}_9$ : C, 52.70; H, 6.50; N, 3.61. Encontrado: C, 52.95; H, 6.68; N, 3.70.

3.8. 4-Alquil-4(H)-pirano-3,5-dicarbaldéhdos 35-37



35 R= CH<sub>3</sub>

36 R= n-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>

37 R= n-C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>

El compuesto 22 (200 mg, 0.84 mmol) se trató con cloruro de hidrógeno (32 mg, 0.88 mmol) en éter (30 mL), en frío y agitando. Después de 45 minutos, se filtró el cloruro sódico formado. El filtrado se concentra a sequedad, resultando una mezcla del compuesto 24 siruposo (c.c.f. y espectro u.v.) y de unos cristales blancos en forma de agujas. La mezcla se fraccionó en capas finas preparativas de gel de sílice (eluyente D), obteniéndose el 4-metil-4(H)-pirano-3,5-dicarbaldéhdido (35) como un sólido blanco cristalino (65 mg, 51%) de p. f. 85-87°C.

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}} = 212$  ( $\epsilon$  11840), 230 (h,  $\epsilon$  5640) y 295 nm ( $\epsilon$  6000).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}: 1669$  (C=O) y 1605 cm<sup>-1</sup> (C=C).

EM (IE): m/e (int. rel) 152 (M<sup>+</sup>, 17), 137 (100), 109 (5) y 81 (10).

<sup>1</sup>H- y <sup>13</sup>C-r.m.n.: Tabla IV.

Análisis. Calculado para C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>: C, 63.15; H,

5.30. Encontrado: C, 62.83; H, 5.46.

El compuesto 29 (200 mg, 0.89 mmol) se trató con cloruro de hidrógeno (37 mg, 1 mmol) en éter etílico (15 mL) y se agitó durante 45 minutos enfriando. Después de filtrar el cloruro sódico y concentrar a presión reducida, se obtuvo un residuo siruposo (121 mg). La cromatografía en placas preparativas (eluyente D) rindió el 4-(*n*-propil)-4(*H*)-pirano-3,5-dicarbaldhido (36) como un sólido microcristalino blanco (87 mg, 54%) de p. f. 99-100°C.

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}} = 213$  ( $\epsilon$  14470), 230 (h,  $\epsilon$  5680) y 295 nm ( $\epsilon$  5580).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}} = 1669$  (C=O) y 1605  $\text{cm}^{-1}$  (C=C).

EM (IE): m/e (int. rel.) 180 ( $\text{M}^+$ , 3), 137 (100), 109 (4) y 81 (7).

$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tabla IV.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3$ : C, 66.65; H, 6.72. Encontrado: C, 66.63; H, 7.07.

El compuesto 30 (300 mg, 1.02 mmol) se trató con cloruro de hidrógeno (50 mg, 1.4 mmol) en éter etílico (20 mL), agitando en frío. Después de 45 minutos, se filtró el cloruro sódico. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se cromatografió en capa fina preparativa de gel de sílice (eluyente D). El 4-(*n*-pentil)-4(*H*)-pirano-3,5-dicarbaldhido (37) se obtuvo como un sólido blanco (97 mg, 45%) de p. f. 85-86°C.

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}} = 213$  ( $\epsilon$  12220), 230 (h,  $\epsilon$  6680) y 295 nm ( $\epsilon$  5930).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}} = 1667$  (C=O) y  $1605 \text{ cm}^{-1}$  (C=C).

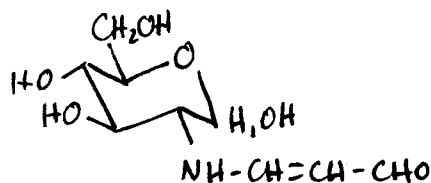
$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tabla IV.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_3$ : C, 69.20; H, 7.74. Encontrado: C, 69.25; H, 7.85.

### 3.9. Preparación de enaminales derivados de amino azúcares

#### 3.9.1. Derivados del malondialdehido

3.9.1.1. 2-Desoxi-2-[(3-oxo-1-propen-1-il)amino]- $\alpha,\beta$ -D-gluco-  
piranosa (**40**)



40

A una disolución de clorhidrato de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa (1.0 g, 4.6 mmol) en agua (4 ml) se añadió NaMDA (0.45 g, 4.0 mmol) y se dejó estar a temperatura ambiente durante toda una noche. La disolución se liofilizó y una porción (0.5 g) del residuo siruposo amarillo resultante, conteniendo el compuesto **40** (c.c.f.;  $R_F$  0.54, eluyente K) como componente mayoritario, se aplicó sobre capas finas preparativas de gel de sílice (eluyente E). Se rascó la

mancha mayoritaria bajo la luz u.v. de 254 nm, y la gel de sílice se extrajo con metanol. La eliminación del disolvente a presión reducida, rindió el compuesto **40** como un sólido blanco amorfo (0.34 g, 70%) de p.f. 179-181°C. El resto se aplicó sobre una columna cromatográfica de alúmina neutra (eluyente L), obteniéndose el compuesto **40** en menor rendimiento (15%).

$$[\alpha]_D^{15} = -24^\circ \text{ (c 0.3, agua).}$$

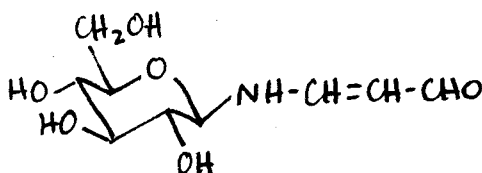
$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}} = 279 \text{ nm } (\epsilon 20640).$$

$$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}: 3395 \text{ (OH. NH), } 1662 \text{ (C=O) y } 1592 \text{ cm}^{-1} \text{ (C=C-NH).}$$

$^1\text{H-}$  y  $^{13}\text{C-r.m.n.}$ : Tablas VI y VII.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{NO}_6$ : C, 46.55; H, 6.47; N, 6.00. Encontrado: C, 46.47; H, 6.48; N, 5.72.

### 3.9.1.2. 3-( $\beta$ -D-Glucopiranosilamino)-2-propenal (**49**)



A una disolución de  $\beta$ -D-glucopiranosilamina (1 g, 5.6 mmol) en agua (2 ml) se añadió NaMDA (0.6 g, 5.6 mmol) y ácido clorhídrico *M* (6 ml). Se dejó a temperatura ambiente

durante una noche y la disolución se liofilizó. El residuo siruposo se trató con etanol. Se filtró el cloruro sódico insoluble y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se cristalizó de metanol, dando el compuesto 49 (79 mg, 7%) como un sólido blanco amorfo de p.f. 182-184°C.

$R_f$  0.35 (eluyente E).

$[\alpha]_D^{15} = -61^\circ$  (c 0.8, agua).

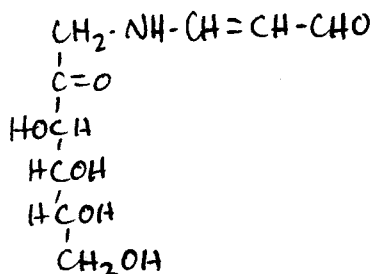
$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}} = 279 \text{ nm}$  ( $\epsilon$  19590).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ : 3361 (OH, NH), 1615 (C=O) y 1550  $\text{cm}^{-1}$   
(C=C-NH).

$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tablas XII y XIII.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{NO}_6$ : C, 46.55; H, 6.47; N, 6.00. Encontrado: C, 46.17; H, 6.41; N, 5.95.

3.9.1.3. 1-Desoxi-1-[(3-oxo-1-propen-1-il)amino]-D-fructosa (52)



A una disolución de acetato de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa (0.478 g, 2 mmol) en agua (10 ml) se añadió NaMDA

(0.224 g, 2 mmol) y se dejó estar a temperatura ambiente. Después de 24 horas se observó (u.v., agua) cómo el máximo de absorción de la disolución ( $\lambda$  266 nm) se había desplazado hasta  $\lambda$  282 nm. Cromatográficamente (c.c.f., eluyente K) se observó una mancha mayoritaria de  $R_f$  0.46 visible bajo la luz u.v. de 254 nm. La disolución se concentró y el residuo se cromatografió sobre capas finas preparativas de gel de sílice (eluyente M). Se rascó la banda mayoritaria y se extrajo la gel de sílice con metanol. La eliminación del disolvente a presión reducida, dió el compuesto 52 como una espuma sólida blanca (0.280 g, 60%), higroscópica.

$$[\alpha]_D^{15} = -61.2^\circ \text{ (c 0.49, agua).}$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}} = 282 \text{ nm } (\epsilon 29380).$$

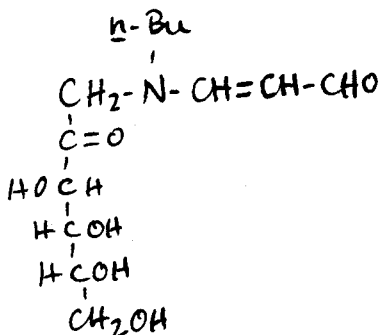
$$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}: 3335, \text{ (OH, NH)}, 1650 \text{ (h)}, 1601 \text{ y } 1555 \text{ (h)}$$

$$\text{cm}^{-1} \text{ (NH-C=C-C=O).}$$

$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tablas XV y XVI.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_{9,15}\text{H}_{15}\text{NO}_6$ : C, 46.35; H, 6.48; N, 6.01. Encontrado: C, 46.31; H, 6.53; N, 5.87.

3.9.1.4. 1-Desoxi-1-[(3-oxo-1-propen-1-il)-*n*-butilamino]-*D*-fructosa (68)



68

A una disolución de oxalato de 1-(*n*-butil)-amino-1-desoxi-*D*-fructosa (1.63 g, 5 mmol) en agua (10 ml) se añadió NaMDA (1.12 g, 10 mmol) y se dejó a temperatura ambiente una noche. En ese tiempo, el máximo de absorción u.v. (agua) del reactivo ( $\lambda$  266 nm) se había desplazado hasta  $\lambda$  291 nm. Cromatográficamente (c.c.f., eluyente N), se observó una mancha mayoritaria de  $R_f$  0.53 que absorbía la luz u.v. de 254 nm. La disolución se concentró a presión reducida. El residuo siruposo se trató con metanol (10 ml) y se filtró el oxalato ácido de sodio insoluble. La disolución se concentró a presión reducida, cromatografiando el residuo sobre capas finas preparativas de gel de sílice (eluyente O). Se rascó la mancha mayoritaria bajo la luz u.v. de 254 nm y se extrajo la gel de sílice con metanol. El extracto se filtró a través de un lecho de carbón activo (3 cm de espesor) para decolorarlo, y se lavó con un volumen igual de metanol. Al eliminar el disolvente a presión reducida, se



obtuvo el compuesto 68 como una espuma amarillenta e higroscópica (0.854 g, 60%).

$$[\alpha]_D^{15} = -42^\circ \text{ (c 0.45, agua).}$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}} = 291 \text{ nm } (\epsilon 43980).$$

$$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}: 3347 \text{ (OH, NH), } 1650 \text{ (h), } 1601 \text{ y } 1550 \text{ (h)}$$

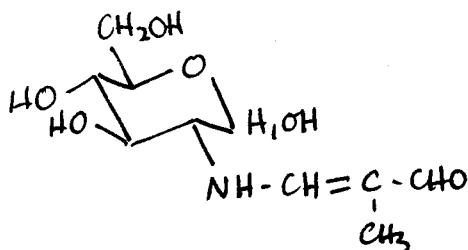
$$\text{cm}^{-1} \text{ (NH-C=C-C=O).}$$

$^1\text{H-}$  y  $^{13}\text{C-r.m.n.}$ : Tablas XXI y XXII.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{NO}_6$ : C, 53.97; H, 8.01; N, 4.84. Encontrado: C, 53.83; H, 8.02; N, 4.64.

### 3.9.2. Derivados del metilmalondialdehido

3.9.2.1. 2-Desoxi-2-[(2-metil-3-oxo-1-propen-1-il)amino]- $\alpha,\beta$ -D-glucopiranososa (41).



41

A una disolución de clorhidrato de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa (2.0 g, 9.2 mmol) en agua (4 ml) se añadió NaMMDA (1.0 g, 9.2 mmol) y se dejó estar a temperatura ambiente durante una noche. Cromatográficamente (c.c.f., eluyente A), se observó un producto mayoritario de  $R_F$  0.62, y

la desaparición del MMDA. la disolución acuosa se liofilizó, y el residuo se aplicó sobre una columna cromatográfica de alúmina neutra (eluyente P). Las fracciones enriquecidas en el compuesto **41** se reunieron y se concentraron a presión reducida. El compuesto **41** se obtuvo (1.49 g, 65%) como un sólido amorfo blanco. Se recristaliza de metanol, p.f. 195°C y 202-203°C.

$$[\alpha]_D^{15} = -16^\circ \text{ (c 0.5, agua).}$$

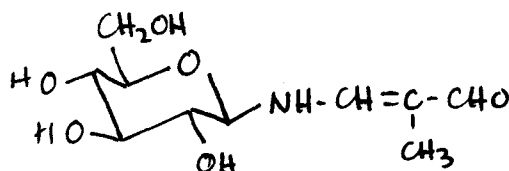
$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}} = 284 \text{ nm } (\epsilon 42470).$$

$$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}: 3500\text{-}3100 \text{ (OH, NH)}, 1658 \text{ (C=O)} \text{ y } 1598 \text{ cm}^{-1} \text{ (C=C-NH)}.$$

<sup>1</sup>H- y <sup>13</sup>C-r.m.n.: Tablas VI y VII.

Análisis. Calculado para C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>N<sub>6</sub>O: C, 48.58; H, 6.92; N, 5.66. Encontrado: C, 48.72; H, 6.86; N, 5.61.

### 3.9.2.2. 3-(β-D-Glucopiranosilamino)-2-metil-2-propenal (50)



Una disolución de β-D-glucopiranosilamina (0.5 g, 2.8 mmol) en agua (2 ml) se agitó durante una noche, a temperatura ambiente, con EMP (0.33 g, 3 mmol). Se liofilizó,

y el residuo se aplicó sobre una columna cromatográfica de alúmina neutra (eluyente L). De las fracciones enriquecidas en el compuesto 50 ( $R_F$  0.42; c.c.f., eluyente A), se obtuvo el producto puro como un sirupo incoloro (0.19 g, 30%).

$$[\alpha]_D^{15} = -12^\circ \text{ (c 0.3, agua).}$$

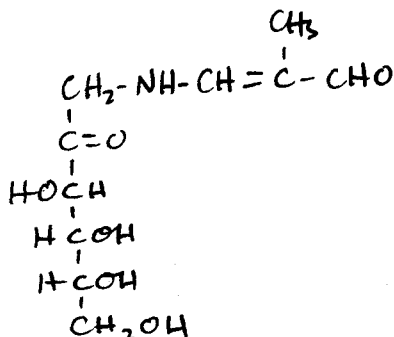
$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}} = 287 \text{ nm } (\epsilon \text{ 34750}).$$

$$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}: \text{ 3397 (OH, NH), 1660 (C=O) y 1607 cm}^{-1} \text{ (C=C-NH).}$$

$^1\text{H-}$  y  $^{13}\text{C-r.m.n.}$ : Tablas XII y XIII.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{NO}_6$ : C, 48.58; H, 6.92; N, 5.66. Encontrado: C, 48.58; H, 6.76; N, 5.79.

3.9.2.3. 1-Desoxi-1-[(2-metil-3-oxo-1-propen-1-il)amino]-D-fructosa (53).



53

A una disolución de acetato de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa (0.478 g, 2 mmol) en agua (10 ml), se añadió NaMMDA (0.216 g, 2 mmol) y se calentó a  $90^\circ\text{C}$  durante hora y

media. Cromatográficamente (c.c.f., eluyente E), se observó la formación de un producto mayoritario de  $R_F$  0.42 que absorbía la luz u.v. de 254 nm. El espectro u.v. (agua) varió de los 277 nm iniciales (NaMMDA) hasta 290 nm. La disolución se concentró a presión reducida y se cromatografió sobre capas finas preparativas de gel de sílice (eluyente E). Se rascó la banda de  $R_F$  0.42 y el gel de sílice se extrajo con metanol, Después de concentrar a presión reducida, se obtuvo el compuesto 53 como una espuma sólida blanca e higroscópica (0.345 g, 70%).

$$[\alpha]_D^{15} = -31.0^\circ \text{ (c 0.58, agua).}$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}} = 290 \text{ nm } (\epsilon \text{ 31680}).$$

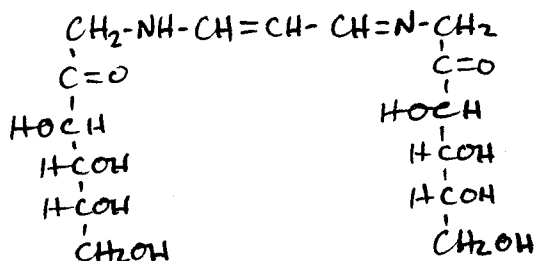
$$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}: \text{ 3380 (OH, NH), 1653 (C=O) y 1589 cm}^{-1}$$

(C=C-NH).

$^1\text{H-}$  y  $^{13}\text{C-r.m.n.}$ : Tablas XV y XVI.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{NO}_6 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ : C, 46.86; H, 7.08; N, 5.47. Encontrado: C, 46.70; H, 7.07; N, 5.18.

3.10. *N,N'*-di-(1-Desoxi-D-fructos-1-il)-1-amino-3-iminopropeno (54)



A una suspensión de acetato de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa (0.480 g, 2 mmol) en metanol (5 ml) se añadió NaMDA (0.112 g, 1 mmol) y tamiz molecular de 3Å y se agitó a temperatura ambiente en un matraz cerrado. Después de 24 horas el máximo de absorción u.v. (metanol) de la disolución ( $\lambda$  268 nm) se había desplazado hasta  $\lambda$  302 nm. Cromatográficamente (c.c.f., eluyente K) se observó una mancha mayoritaria de  $R_F$  0.07, débilmente visible bajo la luz u.v. de 254 nm, pero muy intensa al pulverizar con ácido sulfúrico al 50% y calentar a 250°C. Se filtró el tamiz molecular y la disolución se concentró a presión reducida. Se cromatografió el residuo sobre capas finas preparativas de gel de sílice (eluyente K, 3 desarrollos). Se rascó la banda de  $R_F$  0.07, correspondiente al compuesto 54, con cuidado de no rascar una banda inmediatamente superior ( $R_F$  0.11) y que es fluorescente amarilla bajo la luz u.v. de 366 nm. Se extrajo el gel de sílice con metanol y se eliminó el disolvente a presión reducida. De esta forma se obtuvo un sirupo que se redisolvió en etanol del 96% y se volvió a concentrar a presión reducida, para coevaporar las trazas de ácido acético del eluyente. Por último, el residuo se redisolvió en agua, y se liofilizó. El compuesto 54 se obtuvo como una espuma sólida amarillenta e higroscópica (95 mg, 10%).

$$[\alpha]_D^{15} = -43.8^\circ \text{ (c 0.48, agua)}$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}} = 302 \text{ nm } (\epsilon 30250).$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{Exc}} = 390 \text{ nm y } \lambda_{\text{máx}}^{\text{Em}} = 457 \text{ nm (IRM 0.38)}.$$

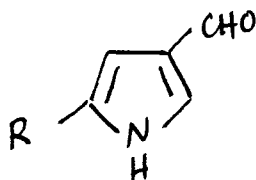
$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ : 3307 (OH, NH), 1621 (C=N) y 1572  $\text{cm}^{-1}$  (C=C).

Una muestra deuterada (disuelta en agua deuterada y liofilizada) tiene una banda adicional a 2518  $\text{cm}^{-1}$  (ND).

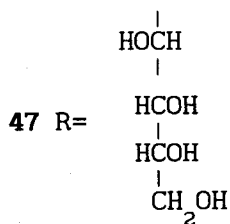
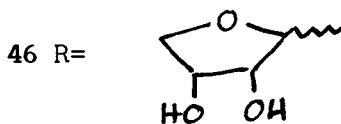
$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tabla XVII.

### 3.11. Ciclación de los enaminales derivados de amino azúcares y malondialdehído

3.11.1. Ciclación de la 2-desoxi-2-(3-oxo-1-propen-1-il)-amino- $\alpha,\beta$ -D-glucopiranososa (40). Formación de 3-pirrolcarbaldehído (45), 5-( $\alpha,\beta$ -D-eritrofuranosil)-3-pirrolcarbaldehído (46 $\alpha\beta$ ), y 5-(D-arabino-tetritol-1-il)-3-pirrolcarbaldehído (47)



45 R= H



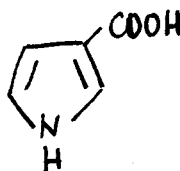
a) Una disolución del enaminal **40**, preparada *in situ* dejando estar a temperatura ambiente una disolución de clorhidrato de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa (1.0 g, 4.4 mmol) y NaMDA (0.5 g, 4.4 mmol) en agua (3 mL) se trató con una disolución saturada de carbonato sódico hasta que el pH alcanzó el valor 9, y se calentó después a 90°C durante una hora. Cromatográficamente (c.c.f., eluyente Q), se observó la transformación cuantitativa de **40** en los pirroles **45** ( $R_F$  0.83), **46 $\alpha\beta$**  ( $R_F$  0.50) y **47** ( $R_F$  0.36, eluyente R). La disolución marrón oscura resultante se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó sobre una columna cromatográfica de gel de sílice. Al eluir con éter, se obtuvo el 3-pirrolcarbaldehído (**45**) como un sirupo amarillo (60 mg, 14%) que se volvió rojo.

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}} = 245$  ( $\epsilon$  9775) y 271 (h) nm ( $\epsilon$  6030).

EM (IE): m/e (int. relativa) 95 ( $M^+$ , 100), 94 (83) y 60 (11).

EM (AR): 95.0345 (Calculada 95.097, error 0.07%).

$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tablas X y XI.



**48**

Para su posterior caracterización, el compuesto **45** se convirtió en ácido 3-pirrolcarboxílico (**48**) por

tratamiento<sup>63</sup> con óxido de plata, p.f. 140-143°C (lit.,<sup>63</sup> 144°C).

La subsiguiente elución de la columna con éter-etanol (6:1) proporcionó la mezcla de anómeros  $\alpha$  y  $\beta$  del 5-(D-eritrofuranosil)-3-pirrolcarbaldehído (**46 $\alpha\beta$** ) como un sirupo (32 mg, 3%).

$$[\alpha]_D^{15} = -20^\circ \text{ (c 0.9, agua).}$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}} = 245 \text{ (}\epsilon \text{ 6570)} \text{ y } 271 \text{ (h) nm (}\epsilon \text{ 4820).}$$

<sup>1</sup>H- y <sup>13</sup>C-r.m.n.: Tablas X y XI.

Análisis. Calculado para  $C_9H_{11}NO_4$ : C, 54.81; H, 5.62; N, 7.10. Encontrado: C, 55.12; H, 5.88; N, 7.31.

Por último, se eluyó la columna con metanol. El eluato se evaporó a presión reducida, y el residuo se cromatografió en capas finas preparativas de gel de sílice (eluyente R, 2 desarrollos). Se obtuvo así el 5-(D-arabino-tetritol-1-il)-3-pirrolcarbaldehído (**47**), como un sólido amorfo blanco (80 mg, 8%) que se recristaliza de etanol, p.f. 149-150°C.

$$[\alpha]_D^{15} = -28^\circ \text{ (c 0.4, agua).}$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}} = 247 \text{ (}\epsilon \text{ 5090)} \text{ y } 271 \text{ (h) nm (}\epsilon \text{ 2370).}$$

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ : 3500-3200 (OH, NH), 1647 (C=O) y 1524 (C=C, pirrol).

<sup>1</sup>H- y <sup>13</sup>C-r.m.n.: Tablas X y XI.

Análisis. Calculado para  $C_9H_{13}NO_5$ : C, 50.23; H, 6.08; N, 6.50. Encontrado: C, 49.97; H, 6.05; N,

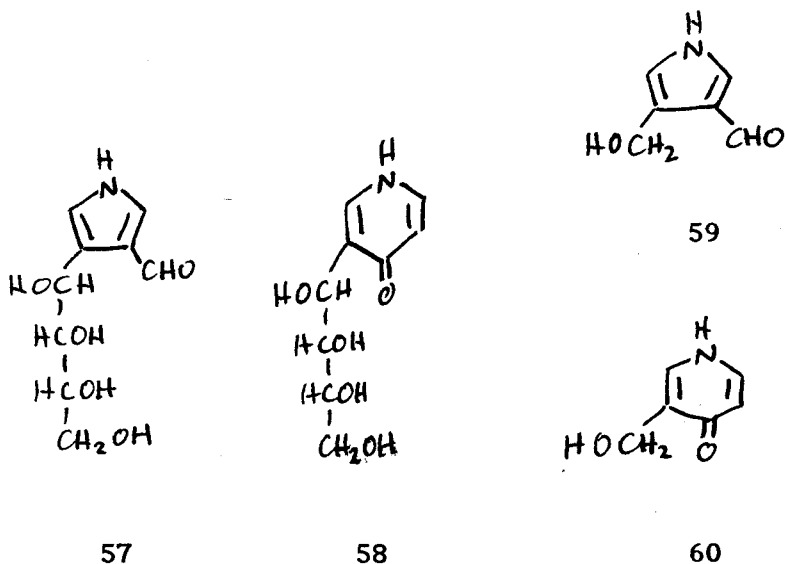


6.20.

b) Una disolución del compuesto **40** (28 mg, 0.8 mmol) y carbonato sódico (14 mg) en agua deterada (0.5 mL, pH 9) se calentó a 90°C. La reacción se siguió cromatográfica (c.c.f., eluyente Q) y espectroscópicamente (<sup>1</sup>H-r.m.n.). La transformación de **40** fue completa en aproximadamente 1 hora, convirtiéndose en los compuestos **45**, **46αβ** y **47** en una relación 3:1:2, según se dedujo de la integración de las señales correspondientes del espectro de protones de r.m.n.

3.11.2. Ciclación de la 1-desoxi-1-(3-oxo-1-propen-1-il)-amino-D-fructosa (52)

3.11.2.1. Formación de 4-(D-arabino-tetritol-1-il)-3-pirrolcarbaldehído (**57**), 3-(D-arabino-tetritol-1-il)-4-piridona (**58**), 4-hidroximetil-3-pirrolcarbaldehído (**59**) y 3-hidroximetil-4-piridona (**60**).



A una disolución del enaminal 52, preparada *in situ* dejando estar a temperatura ambiente una disolución de acetato de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa (1.434 g, 6 mmol) y NaMDA (0.672 g, 6 mmol) en agua (45 mL), se añadió disolución de carbonato sódico hasta que el pH alcanzó el valor 9, y se calentó después una hora y media a 90°C. Cromatográficamente (c.c.f., eluyente K), se observó entonces la transformación cuantitativa de 52 en los compuestos del título. La disolución marrón oscura resultante se extrajo con acetato de etilo (4x25 mL).

El extracto se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo (130 mg) se cromatografió en capas finas preparativas de gel de sílice (eluyente Q). Las distintas fracciones se rascaron de los cromatoplatos, se extrajeron con acetato de etilo y se recromatografiaron con acetato de etilo. Se rascaron los compuestos de  $R_f$  0.82 y 0.51 (acetato de etilo) y se extrajeron de la gel de sílice con etanol. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se trató con éter. De esta forma se obtuvo el 4-hidroximetil-3-pirrolcarbaldehído (59;  $R_f$  0.51; 10 mg, <1%) como un sólido cristalino de p.f. 93-95°C.

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}} = 252$  ( $\epsilon$  10730) y 290 nm (h,  $\epsilon$  4850).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}: 3294$  (OH, NH), 2861, 2777 (CH, aldehído),  
1641 (C=O), 1563 y 1517  $\text{cm}^{-1}$  (C=C).

EM (IE): m/e (int. rel.) 125 ( $\text{M}^+$ , 94), 107 (90),  
94 (25) y 78 (100).

EM (AR): m/e 125.048 (calculada 125.123, error 0.06%).

<sup>1</sup>H-r.m.n.: Tabla XIX.

Análogamente se obtuvo la 3-hidroximetil-4-piridona (60; R<sub>F</sub> 0.82; 5 mg, <1%) también como un sólido cristalino de p.f. 105-107°C.

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}} = 250$  (h,  $\epsilon$  5500) y 291 nm ( $\epsilon$  19420).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}: 3425, 3372, 3321$  (OH, NH), 1655 (C=O) y 1551 cm<sup>-1</sup> (C=C).

EM (IE): m/e (int. rel.) 125 (M<sup>+</sup>, 23), 94 (100) y 66 (44).

EM (AR): m/e 125.0479 (calculada 125.123, error 0.06%).

<sup>1</sup>H-r.m.n.: Tabla XX.

La fracción acuosa que queda después de la extracción con acetato de etilo, se concentró a presión reducida. El residuo se extrajo con etanol en caliente. Se eliminó el disolvente a presión reducida y el residuo se cromatografió en capas finas preparativas de gel de sílice (eluyente S). Se rascaron separadamente las franjas de R<sub>F</sub> 0.36 y 0.53 y se extrajeron cada uno de ellos con metanol. Después de concentrar a presión reducida, los residuos se redisolviéron rápidamente en agua y se liofilizaron. Se obtuvo así el 4-(D-arabino-tetritol-1-il)-3-pirrol-carbaldehido (57; R<sub>F</sub> 0.36; 35 mg, 2%) como un sirupo que

oscurece al contacto con el aire.

$$[\alpha]_D^{15} = -35^\circ \text{ (c 0.80, agua).}$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}} = 253 \text{ (}\epsilon \text{ 9800)} \text{ y } 290 \text{ (h, } \epsilon \text{ 4835) nm.}$$

$^1\text{H-r.m.n.}$ : Tabla XIX.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}_5$ : C, 50.23; H, 6.09; N, 6.51. Encontrado: C, 49.87; H, 6.28; N, 6.19.

La 3-(D-arabino-tetritol-1-il)-4-piridona (58;  $R_F$  0.53) se obtuvo como un sólido blanco (20 mg, 1%) que se recristaliza de agua. Este compuesto se torna gris al contacto con el aire y se descompone sin fundir a partir de  $190^\circ\text{C}$ .

$$[\alpha]_D^{15} = -4.8^\circ \text{ (c 0.42, dimetilsulfóxido).}$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}} = 255 \text{ (h, } \epsilon \text{ 3450)} \text{ y } 296 \text{ nm (}\epsilon \text{ 16610).}$$

$$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}: 3412 \text{ (NH), } 3210 \text{ (OH), } 1665 \text{ (C=O) y } 1545 \text{ cm}^{-1} \text{ (C=C).}$$

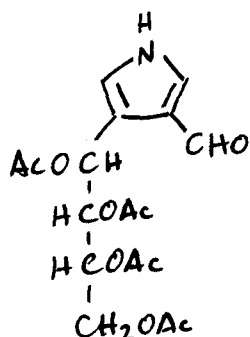
EM (IE): m/e (int. rel.) 215 ( $\text{M}^+$ , 2), 125 (30), 94 (100), 67 (25) y 60 (30).

Análisis. Calculado para  $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}_5$ : C, 50.23; H, 6.09; N, 6.51. Encontrado: C, 50.00; H, 6.04; N, 6.51.

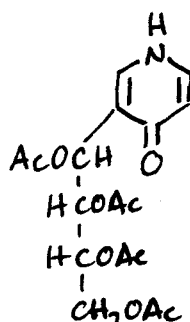
$^1\text{H-r.m.n.}$ : Tabla XX.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}_5$ : C, 50.23; H, 6.09; N, 6.51. Encontrado: C, 50.00; H, 6.04; N, 6.51.

3.11.2.2. Aislamiento del 4-(1,2,3,4-tetra-O-acetil-D-arabino-tetritol-1-il)-3-pirrolcarbaldehido (61) y de la 3-(1,2,3,4-tetra-O-acetil-D-arabino-tetritol-1-il)-piridona (62).



61



62

Una disolución del enaminal 52, preparada como se ha visto en la sección anterior se mantuvo a pH 9 a 90°C durante una hora y media. La disolución se liofilizó y el residuo se extrajo con metanol-etanol (2:1). El extracto se concentró a presión reducida y el residuo se acetiló con una mezcla de anhídrido acético/piridina en frío. Después de una noche a 4°C se vertió sobre hielo. El sirupo que se formó se decantó y se disolvió en cloroformo. Esta disolución, junto con la resultante de extraer la disolución acuosa con cloroformo (4x25 mL), se secó sobre sulfato sódico anhidro. Se concentró a sequedad y el residuo se cromatografió en capas finas preparativas de gel de sílice (éter). Se rascaron los productos de  $R_F$  0.18 (61) y 0.82 (62), que se extrajeron con cloroformo de la gel de sílice. Al concentrar a presión

reducida el primer extracto seco, se obtuvo el compuesto 62 (93 mg, 3%) como un sirupo.

$$[\alpha]_D^{15} = +5.7^\circ \text{ (c 0.35, cloroformo).}$$

$$\lambda_{\text{máx}} = 246 (\epsilon 8470) \text{ y } 270 (\text{h}, \epsilon 4980) \text{ nm.}$$

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ : 3372 (NH), 1754 (C=O, acetato), 1669 (C=O, aldehído) y 1529 (C=C, pirrol).

EM (IE): m/e (int. relativa) 383 ( $M^+$ , 1), 124 (50) y 43 (100).

$^1\text{H-r.m.n.}$ : Tabla XIX.

Análisis. Calculado para  $C_{17}H_{21}NO_9$ : C, 53.26; H, 5.52; N, 3.65. Encontrado: C, 53.11; H, 5.38; N, 3.70.

Al concentrar el segundo extracto seco se obtuvo el compuesto 62 (150 mg, 5%) como un sirupo que se oscurece, al igual que el compuesto 61.

$$[\alpha]_D^{15} = -1.7^\circ \text{ (c 0.58, cloroformo).}$$

$$\lambda_{\text{máx}} = 250 (\text{h}, \epsilon 3200) \text{ y } 295 (\epsilon 13410) \text{ nm.}$$

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ : 3345 (NH), 1754 (C=O, acetato), 1667 (C=O, piridona) y  $1548 \text{ cm}^{-1}$  (C=C, piridona)

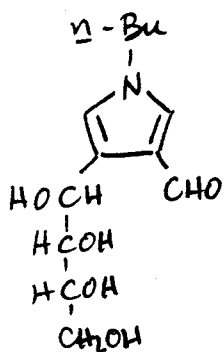
EM (IE):

$^1\text{H-r.m.n.}$ : Tabla XX.

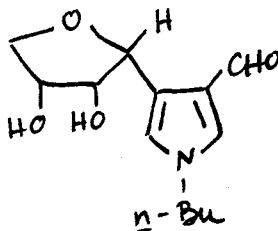
Análisis. Calculado para  $C_{17}H_{21}NO_9$ : C, 53.26; H, 5.52; N, 3.65. Encontrado: C, 52.96; H, 5.72; N, 3.53.

3.11.3. Ciclación de la 1-desoxi-1[(n-butil)(3-oxo-1-propen-1-il)amino)-D-fructosa (68)

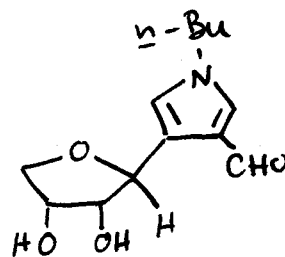
3.11.3.1. Formación de 1-(n-butil)-4-(D-arabino-tetritol-1-il)-3-pirrolcarbaldehido (69), 1-(n-butil)-4-( $\alpha$ -D-eritro-furanosil)-3-pirrolcarbaldehido (70), 1-(n-butil)-4-( $\beta$ -D-eritrofuranosil)-3-pirrolcarbaldehido (71) y 1-(n-butil)-3-(D-arabino-tetritol-1-il)-4-piridona (72)



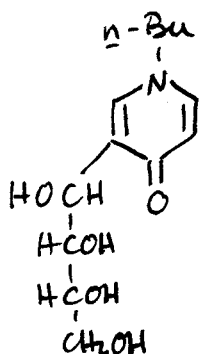
69



70



71



72

a) Una disolución del enaminal 68, preparada dejando estar a temperatura ambiente oxalato de 1-(n-butil)-amino-1-desoxi-D-fructosa (1.620 g, 5 mmol) y NaMDA (1.120 g,

10 mmol) en agua (25 mL), hasta que la transformación del amino azúcar en 68 es completa (c.c.f., u.v.), se calentó a 90°C durante una hora. Se obtuvo una disolución marrón oscura con un sólido negro en suspensión que se filtró y lavó con agua (sólido A, peso 0.151 g). El sólido A contiene (c.c.f., eluyente T) la 4-piridona 72 y un material resinoso negro de  $R_F$  0. La extracción con etanol caliente y enfriamiento del extracto a 0°C proporcionó 14 mg (1%) de 73.

El filtrado y el agua de lavado reunidos se concentraron a presión reducida, y el residuo se trató con metanol. El precipitado de oxalato ácido de sodio que se formó se separó por filtración, y el filtrado se concentró a presión reducida obteniéndose un residuo siruposo que contenía (c.c.f., eluyente T) parte del enaminal de partida sin reaccionar ( $R_F$  0.15), los 3-pirrolcarbaldehidos 69 ( $R_F$  0.32), 70 ( $R_F$  0.58) y 71 ( $R_F$  0.63), y la 4-piridona 72 ( $R_F$  0.37). Esta mezcla se fraccionó en una columna de gel de sílice empleando el eluyente T. Se recogieron fracciones enriquecidas en cada uno de los productos reseñados, que se evaporaron a vacío y se recromatografiaron cada una de ellas en capas finas preparativas de gel de sílice (eluyente T), obteniéndose los productos 69, 70, 71 y 72 puros.

El 1-(*n*-butil)-4-(*D*-arabino-tetritol-1-il)-3-pirrolcarbaldehido (69; 0.200g, 15%) es un sólido blanco, que se recristaliza de etanol, p.f. 125-126°C.

$$[\alpha]_D^{15} = -40^\circ \text{ (c 0.45, metanol)}.$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}} = 260 \text{ nm } (\epsilon 12620).$$



$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ : 3277 (OH), 2816, 2727 (C-H, aldehído), 1653 (C=O), 1549 y 1526  $\text{cm}^{-1}$  (C=C, pirrol).

EM (IE): m/e (int. relativa) 271 ( $\text{M}^+$ , 1), 253 (3), 235 (4), 180 (100), 150 (8), 124 (12) y 94 (5).

$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tablas XXIV y XXV.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{NO}_5$ : C, 57.55; H, 7.80; N, 5.16. Encontrado: C, 57.73; H, 7.81; N, 5.02.

El 1-(n-butil)-4-( $\alpha$ -D-eritrofuranosil)-3-pirrol-carbaldehído (70; 25 mg, 2%) se obtuvo como un sirupo incoloro que se oscurece rápidamente.

$[\alpha]_{\text{D}}^{15} = -37.6^\circ$  (c 0.35, metanol).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}} = 258 \text{ nm}$  ( $\epsilon$  7680).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ : 3360 (OH), 1657 (C=O), 1559 y 1526  $\text{cm}^{-1}$  (C=C, pirrol).

$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tablas XXIV y XXV.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{NO}_4$ : C, 61.64; H, 7.56; N, 5.53. Encontrado: C, 61.27; H, 7.75; N, 5.31.

El 1-(n-butil)-4-( $\beta$ -D-eritrofuranosil)-3-pirrol-carbaldehído (71; 28 mg, 2%) se obtuvo como un sólido cristalino que se recristalizó de metanol, p.f. 134-136°C.

$[\alpha]_{\text{D}}^{15} = -96.5^\circ$  (c 0.43, metanol).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}} = 258 \text{ nm}$  ( $\epsilon$  11910).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ : 3449 (OH), 2836, 2729 (C-H, aldehído), 1655

(C=O), 1559 y 1524  $\text{cm}^{-1}$  (C=C, pirrol).

$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tablas XXIV y XXV.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{NO}_4$ : C, 61.64; H, 7.56; N, 5.53. Encontrado: C, 61.62; H, 7.25; N, 5.66.

La 1-(*n*-butil)-3-(*D*-arabino-tetritol-1-il)-4-piridona (72; 65 mg, 5%) se obtuvo como un sólido blanco cristalino, que se recristalizó de etanol, p.f. 180-182°C.

$[\alpha]_D^{15} = 0^\circ$  (c 0.5, dimetilsulfóxido).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}} = 290$  ( $\epsilon$  21460) y 255 (h) nm ( $\epsilon$  7570).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}: 3451, 3354, 3285$  (OH), 1653 (C=O) y 1520  $\text{cm}^{-1}$  (C=C).

EM (IE): m/e (int. relativa) 271 ( $\text{M}^+$ , 3), 150 (100), 122 (10), 94 (35) y 66 (10).

EM (AR): 271.14640 (calculada 271.319, error 0.06%).

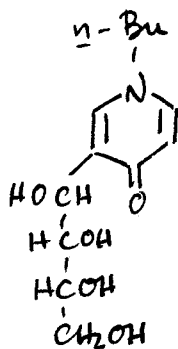
$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tablas XXVI y XXVII.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{NO}_5$ : C, 57.55; H, 7.80; N, 5.16. Encontrado: C, 57.27; H, 8.02; N, 4.83.

b) Una disolución del enaminal 68 (50 mg) en agua deuterada (0.5 mL) se calentó a 90°C, y el transcurso de la reacción se siguió mediante c.c.f. (eluyente F) y espectroscopía  $^1\text{H}$ -r.m.n.. Después de una hora de calentamiento se observó la casi total desaparición del compuesto 68, y su transformación en los compuestos 69, 70, 71 y 72. La

integración de las señales del espectro de  $^1\text{H-r.m.n.}$ , correspondientes al enaminal 68, a los 3-pirrolcarbaldéhdos 69, 70 y 71 (tomados en conjunto, no distinguibles) y a la 4-piridona 72, mostró que están en relación 5:10:6, respectivamente.

3.11.3.2. 1-(*n*-butil)-3-(1,2,3,4-tetra-*O*-acetil-*D*-arabino-teritol-1-il)-4-piridona (73)



73

Una disolución enfriada a  $0^\circ\text{C}$  de la 1-(*n*-butil)-3-(*D*-arabino-tetritol-1-il)-4-piridona (72; 0.240 g, 0.9 mmol) en piridina (2.5 mL) se trató con anhídrido acético (1.2 mL) y se dejó a  $4^\circ\text{C}$  durante 24 horas. La mezcla se vertió sobre hielo, y el sirupo que se separó se extrajo con cloroformo. La disolución acuosa se extrajo con cloroformo (4x15 mL). Los extractos reunidos se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron a presión reducida. El residuo se cromatografió en capas finas preparativas (cloroformo). Se obtuvo de esta forma el compuesto 73 como un sólido blanco cristalino (0.235 g, 60%), p.f.  $81\text{-}82^\circ\text{C}$ .

$[\alpha]_D^{15} = +37^\circ$  (c 0.6, cloroformo).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}} = 260$  (h) ( $\epsilon$  4620) y 296 nm ( $\epsilon$  12830).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ : 1750 (C=O, acetato), 1657 (C=O, piridona) y 1528  $\text{cm}^{-1}$  (C=C, piridona).

EM (IE): m/e (int. relativa) 439 ( $M^+$ , 4), 150 (100), 122 (10), 94 (20) y 43 (65).

EM (AR): 439.18440 (calculada 439.471, error 0.07%).

$^1\text{H}$ - y  $^{13}\text{C}$ -r.m.n.: Tablas XXVI y XXVII.

Análisis. Calculado para  $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{NO}_9$ : C, 57.39; H, 6.65; N, 3.19. Encontrado: C, 57.34; H, 6.66; N, 3.42.

#### **4. CONCLUSIONES**

*Primera.* El malondialdehido (MDA, 10) es un compuesto 1,3-dicarbonílico inestable en disolución acuosa a pH neutro o débilmente ácido, que sufre una ruptura hidrolítica originando acetaldehido. Este último compuesto reacciona con el exceso de MDA dando 2,4-dihidroxi-metilen-3-metilglutaraldehido (24). A valores de pH próximos al  $pK_a$  del MDA (4.46), este dialdehido se oligomeriza lentamente originando, además del compuesto 24, el "quasi dímero" *E*-(3-oxo-1-propen-1-il)-malondialdehido (26) y el "quasi trímero" 2,4-dihidroxi-metilen-3-(2-oxoetil)glutaral-dehido (27).

*Segunda.* En las preparaciones de sal sódica de MDA (NaMDA, 14), a partir de 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP, 15), se obtienen como subproductos las sales sódicas del 2,4-dihidroxi-metilen-3-metilglutaraldehido (22) y del *E*-(3-oxo-1-propen-1-il)malondialdehido (23), además de la sal sódica del 2,4-dihidroxi-metilen-3-(2,2-dimetoxietil)glutaral-dehido (21). Este último producto proviene de la reacción del 3,3-dimetoxipropanal, un producto de la hidrólisis parcial del TMP, con el MDA en exceso.

*Tercera.* Otros aldehidos monofuncionales de interés biológico (productos de oxidación de lípidos insaturados), como el *n*-butanal o el *n*-hexanal, reaccionan con el MDA de forma similar a como lo hace el acetaldehido. De esta forma, se han obtenido las sales sódicas del

2,4-dihidroxi metilen-3-(*n*-propil)glutaraldehido (29) y del 2,4-dihidroxi metilen-3-(*n*-pentil)glutaraldehido (30).

*Cuarta.* Se hace un estudio de las propiedades físicas (medidas de  $pK_a$ , espectros u.v., i.r. y de r.m.n.) y químicas (reacción con aminas alifáticas y amino azúcares con grupos amino primarios, tratamiento con cloruro de hidrógeno en éter, test del ácido 2-tiobarbitúrico) de los compuestos reseñados en las conclusiones anteriores. Estos estudios confirman las estructuras propuestas para estos compuestos.

*Quinta.* La sal sódica del 2,4-dihidroxi metilen-3-metilglutaraldehido (22) reacciona, a pH 7-8, con amoníaco, aminas alifáticas primarias (metilamina, *n*-butilamina y ciclo-hexilamina) y con amino azúcares con grupos amino primarios (clorhidrato de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa y acetato de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa) originando productos con propiedades fluorescentes, con estructura de 4-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhdos. Se han obtenido de esta forma los siguientes compuestos (los marcados \* ya han sido descritos en la literatura):

4-Metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhdido (31).\*

1,4-Dimetil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhdido (32).\*

1-(*n*-Butil)-4-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhdido (33).

1-(ciclo-Hexil)-4-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhdido (34).

2-Desoxi-2-(3,5-diformil-4-metil-1,4-dihidropiridin-1-il)-  
 $\alpha, \beta$ -D-glucopiranososa (43).

1-Desoxi-1-(3,5-diformil-4-metil-1,4-dihidropiridin-1-il)-  
D-fructosa (55).

*Sexta.* Las sales sódicas de los 2,4-dihidroxi-  
metilen-3-alkilglutaraldehydos 22, 29 y 30 se descomponen en  
los ácidos correspondientes que se anhidrizan, ciclando, al  
ser tratadas con cloruro de hidrógeno en éter. De esta forma  
se han obtenido los siguientes compuestos:

3-Metil-4(H)-pirano-3,5-dicarbaldehido (35).

3-(n-Propil)-4(H)-pirano-3,5-dicarbaldehido (36).

3-(n-Pentil)-4(H)-pirano-3,5-dicarbaldehido (37).

*Séptima.* Se hace un estudio de las propiedades  
físicas (espectros u.v., de fluorescencia, i.r., de r.m.n. y  
de masas) de los 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldehydos  
31-34, 43 y 55 y de los 4(H)-pirano-3,5-dicarbaldehydos 35-37  
reseñados en las conclusiones anteriores, que confirman las  
estructuras propuestas. El derivado de D-fructosa (55) existe  
en disolución acuosa como una mezcla en equilibrio de las  
formas  $\beta$ -piranososa, y  $\alpha$ - y  $\beta$ -furanosa, predominando la  
primera.

*Octava.* Los derivados del 2,4-dihidroxi metilen-  
glutaraldehido y los oligómeros del MDA (los compuestos 21-23  
y 28-30), relacionados estructuralmente con el MDA, dan una



reacción positiva con el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), con máximo de absorción en el visible a  $\lambda$  530 nm, similar al del propio MDA. Los compuestos 21, 23 y 28 dan un máximo de absorción adicional a  $\lambda$  626 nm en este test. El test del TBA no es, por tanto, específico del MDA y lo dan también una serie de compuestos polímeros del MDA de bajo peso molecular.

*Novena.* El MDA reacciona muy fácil y rápidamente con los amino azúcares, dando *N*-(3-oxo-1-propen-1-il)amino azúcares (enaminales de azúcar). En las reacciones con 2-amino-2-desoxi-D-glucosa,  $\beta$ -D-glucopiranosilamina, 1-amino-1-desoxi-D-fructosa y 1-(*n*-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa, se han obtenido los siguientes enaminales:

2-Desoxi-2-[(3-oxo-1-propen-1-il)amino]- $\alpha$ , $\beta$ -D-glucopiranososa (40).

3-( $\beta$ -D-Glucopiranosilamino)-2-propenal (49).

1-Desoxi-1-[(3-oxo-1-propen-1-il)amino]-D-fructosa (52).

1-[(*n*-Butil)(3-oxo-1-propen-1-il)amino]-1-desoxi-D-fructosa (68).

*Décima.* El metilmalondialdehido (MMDA), un 1,3-dialdehido más estable que el MDA, reacciona de forma similar a este último con los amino azúcares, dando *N*-(2-metil-3-oxo-1-propen-1-il)amino azúcares (2-metil-enaminales de azúcar). En las reacciones con de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa,  $\beta$ -D-glucopiranosilamina y 1-amino-1-desoxi-D-fructosa, se han obtenido los siguientes

2-metilenaminales:

2-Desoxi-2-[(2-metil-3-oxo-1-propen-1-il)amino]- $\alpha, \beta$ -D-glucopiranososa (41).

3-( $\beta$ -D-Glucopiranosilamino)-3-metil-2-propenal (50).

1-Desoxi-1-[(2-metil-3-oxo-1-propen-1-il)amino]-D-fructosa (53).

*Undécima.* En la reacción del MDA con los amino azúcares derivados de la D-fructosa se han aislado, como productos minoritarios, compuestos con estructuras de 4-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhidó aun cuando se haya usado preparaciones puras de NaMDA. En la reacción con 1-amino-1-desoxi-D-fructosa se han aislado la 1-desoxi-1-(3,5-diformil-4-metil-1,4-dihidropiridin-1-il)-D-fructosa (55) y el 4-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhidó (31). En la reacción con 1-(n-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa se ha aislado el 1-(n-butil)-4-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhidó (33). La formación de los 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhidós 31 y 33 en las reacciones del MDA con amino azúcares derivados de la D-fructosa implica la escisión del amino azúcar en las condiciones de reacción, con formación del amoníaco o la n-butilamina necesarios para la formación de dichos compuestos.

*Duodécima.* En la reacción con 1-amino-1-desoxi-D-fructosa en agua también se ha aislado como producto minoritario el N,N'-di-(1-desoxi-D-fructos-1-il)-1-amino-

3-iminopropeno (54). Este compuesto es el producto principal cuando la reacción se lleva a cabo en metanol.

*Decimotercera.* El 1-amino-3-iminopropeno 54 se hidroliza lentamente en medio acuoso neutro, originado 1-desoxi-1-[(3-oxo-1-propen-1-il)amino]-D-fructosa (52). La hidrólisis es muy rápida en medio acuoso básico; en medio ácido el compuesto 54 es estable.

*Decimocuarta.* Se hace un estudio de las propiedades físicas (espectros u.v, de fluorescencia, i.r. y de r.m.n.) de los enaminales 40, 49, 52 y 68, de los 2-metil-enaminales 41, 50 y 53 reseñados en las conclusiones 9 y 10 y del 1-amino-3-iminopropeno 54 mencionado en la conclusión 11, que confirma las estructuras propuestas. En todos estos compuestos el esqueleto carbonado de la porción de MDA adopta la geometría más extendida (EE) en disolventes polares, existiendo rotación restringida (isómeros Z y E) en torno a los enlaces que unen a los átomos de N con la porción de MDA. Los enaminales derivados de D-fructosa (52, 53 y 68), así como el 1-amino-3-iminopropeno 54, existen en solución acuosa con la porción de azúcar en las formas  $\beta$ -piranosa y  $\alpha$ - y  $\beta$ -furanosa, predominando la primera de ellas.

*Decimoquinta.* Los enaminales derivados de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa (40), 1-amino-1-desoxi-D-fructosa (52) y, en especial 1-(n-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa

(68), son inestables en medio acuoso en caliente, ciclando a 4- o 5-(D-arabino-tetritol-1-il)-3-pirrolcarbaldehidos. En los casos de los enaminales 52 y 68, derivados de la D-fructosa, se forman además otro tipo de compuestos heterocíclicos, 4-piridonas 3-sustituidas. La velocidad de la reacción de ciclación de los enaminales es dependiente del pH. En el caso de los enaminales 40 y 52 la reacción es muy lenta a pH neutro o débilmente ácido, siendo completa en medio débilmente básico (pH 9). Se han obtenido y aislado los siguientes productos en la ciclación del enaminal 40:

3-Pirrolcarbaldehido (45).

5-( $\alpha,\beta$ -D-Eritrofuranosil)-3-pirrolcarbaldehido (46).

5-(D-arabino-Tetritol-1-il)-3-pirrolcarbaldehido (47).

Se han aislado los siguientes productos en la ciclación del enaminal 52:

4-(D-arabino-Tetritol-1-il)-3-pirrolcarbaldehido (57).

3-(D-arabino-Tetritol-1-il)-4-piridona (58).

4-Hidroximetil-3-pirrolcarbaldehido (59).

3-Hidroximetil-4-piridona (60).

En el caso del enaminal 68, la reacción ya es rápida en medio débilmente ácido. Se han aislado los siguientes productos en la ciclación de este enaminal:

1-(n-Butil)-4-(D-arabino-tetritol-1-il)-3-pirrolcarbaldehido (69).

1-(n-Butil)-4-( $\alpha$ -D-eritrofuranosil)-3-pirrolcarbaldehido (70).

1-(n-Butil)-4-( $\beta$ -D-eritrofuranosil)-3-pirrolcarbaldehido

(71).

1-(n-Butil)-3-(D-arabino-tetritol-1-il)-4-piridona (72).

*Decimosexta.* Se hace un estudio de las propiedades físicas (espectros u.v., i.r., de r.m.n. y de masas) y químicas (oxidación, acetilación) de los compuestos heterocíclicos 45-47, 57-60 y 69-72 reseñados en la anterior conclusión, que confirma las estructuras propuestas.

*Decimoséptima.* Se propone un mecanismo para la formación de 4-piridonas 3-sustituídas a partir de enaminales de azúcares derivados de la D-fructosa (52 y 68), basado en la facilidad de enolización del carbonilo cetónico de azúcar de la forma abierta de estos enaminales, y en el mayor carácter electrofílico del carbonílico aldehídico del enaminal, en relación al carbonilo cetónico de las enaminonas.

*Decimoctava.* Se propone un mecanismo para explicar la formación del 4-hidroximetil-3-pirrolcarbaldehído (59) y la 3-hidroximetil-4-piridona (60), basado en una escisión previa de la 1-amino-1-desoxi-D-fructosa para dar 1-amino-3-hidroxi-propanona, la cual es atrapada por el MDA, dando los dos compuestos heterocíclicos 59 y 60 mencionados. Esta nueva degradación de la 1-amino-1-desoxi-D-fructosa, formulada como una reacción retroaldólica similar a la experimentada por la D-fructosa (o su difosfato) en medio débilmente básico (o por

acción de enzimas), transcurre probablemente en ausencia de MDA, en las condiciones usuales de la reacción de Maillard.

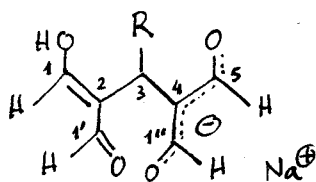
*Decimonovena.* La 1-(n-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa experimente fácilmente la reacción de oscurecimiento (reacción de Maillard) al ser calentada en presencia de proporciones decimolares de MDA mucho más rápidamente que en ausencia de MDA. Este resultado sugiere que la presencia de pequeñas cantidades de MDA (o de los productos de oxidación de lípidos precursores de MDA) contribuyen a la reacción de oscurecimiento no enzimático.

*Vigésima.* Los compuestos heterocíclicos formados en estas reacciones son inestables y se oscurecen con el tiempo. Su presencia en alimento podría contribuir al oscurecimiento de éstos en las condiciones de la reacción de Maillard.

*Vigésimoprimera.* Los resultados obtenidos en la reacción del MDA con 1-(n-butilamino)-1-desoxi-D-fructosa, un modelo muy similar a los N-(1-desoxi-D-fructos-1-il)amino ácidos presentes en medios fisiológicos y en alimentos, sugieren que los N-(1-desoxi-D-fructos-1-il)amino ácidos y el MDA, que coexisten en alimentos y en medios fisiológicos, pueden reaccionar de una manera similar.

APENDICE. Datos de r.m.n.

TABLA I. Datos de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )\*  
 $^{13}\text{C}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )<sup>†</sup> de los compuestos 21, 22, 28, 29 y 30.



21 R=  $\text{CH}_2\text{CH}(\text{OCH}_3)_2$

22 R=  $\text{CH}_3$

28 R=  $\text{CH}_2\text{CHO}$

29 R=  $\text{n-C}_3\text{H}_7$

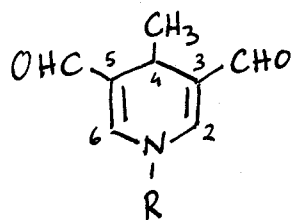
30 R=  $\text{n-C}_5\text{H}_{11}$

Núcleo	21	22	28	29	30
H-1,1',1'',5	8.16s	8.24s	8.2s	8.31s	8.11s
H-3	4.05t ( $J_{3,1''}$ 8.3)	4.15q ( $J_{3,1''}$ 7.6)	3.55t ( $J_{3,1''}$ 7.0)	3.84t ( $J_{3,1''}$ 8.3)	3.88t ( $J_{3,1''}$ 8.1)
H-1'''	1.95dd ( $J_{1'',2''}$ 6.0)	1.25d	1.82dd ( $J_{1'',2''}$ 4.5)	1.68m	1.55m
H-2'''	4.16t		5.45t	1.13m	
H-3'''				0.82m	1.06m
H-4'''					
H-5'''					0.68m
$\text{OCH}_3$	3.21s				
C-1,1',1'',5	188.6	188.8	188.9	188.9	188.9
C-2,4	124.3	126.6	121.3	125.4	125.4
C-3	33.1	20.0	33.2	32.1	31.6
C-1'''	21.5	16.8	21.6	25.1 <sup>a</sup>	22.7 <sup>b</sup>
C-2'''	105.1		99.6	25.4 <sup>a</sup>	25.3 <sup>b</sup>
C-3'''				13.9	27.7 <sup>b</sup>
C-4'''					29.7 <sup>b</sup>
C-5'''					14.1
$\text{OCH}_3$	54.3				

\* Registrado a 200 MHz. † Registrado a 50.2 MHz. <sup>a,b</sup> Las asignaciones pueden estar intercambiadas.



TABLA II. Datos de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}^*$  de los compuestos 31-34.



31 R= H

32 R=  $\text{CH}_3$

33 R=  $n\text{-C}_4\text{H}_9$

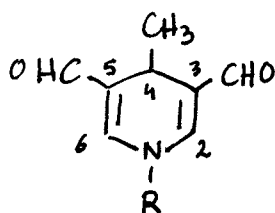
34 R= ciclo- $\text{C}_5\text{H}_{11}$

Núcleo	31 <sup>a</sup>	32 <sup>b</sup>	33 <sup>c</sup>	34 <sup>c</sup>
H-2,6	7.26s	7.30s	6.68s	6.79s
CHO	9.30s	9.30	9.28s	9.28s
H-4	3.93q ( $J_{4,4'}$ 6.6)	3.63q	3.94q ( $J_{4,4'}$ 6.6)	3.95q ( $J_{4,4'}$ 6.7)
H-4'	1.13d	0.93d	1.11d	1.10d
H-1	-			
$\text{CH}_3$		3.39s		
$n\text{-C}_4\text{H}_9$			3.46t ( $J_{1,2'}$ 7.1) 1.70m, 1.40m	
$\text{ciclo-C}_6\text{H}_{11}$			1.00t ( $J_{3',4'}$ 7.2)	3.29m
				1.2-2.1m

\* Registrados a 200 MHz. <sup>a</sup>En CD OD. <sup>b</sup>En DMSO-d (referencia 58).

<sup>c</sup>En  $\text{CDCl}_3$ .

TABLA III. Datos de resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}^*$  de los 1-alkil-4-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhididos 31-34.



- 31 R= H  
 32 R=  $\text{CH}_3$   
 33 R=  $\text{n-C}_4\text{H}_9$   
 34 R= ciclo-C $_6\text{H}_{11}$

Núcleo	31 <sup>†</sup>	32	33 <sup>#</sup>	34 <sup>#</sup>
C-2,6	145.9	149.1	146.2	144.6
C-3,5	122.2	122.0	123.7	123.6
CHO	191.2	189.0	188.7	188.7
C-4	23.1 <sup>a</sup>	21.92 <sup>b</sup>	23.1 <sup>c</sup>	23.5 <sup>d</sup>
C-4'	22.7 <sup>a</sup>	21.86 <sup>b</sup>	22.2 <sup>c</sup>	21.9 <sup>d</sup>
CH <sub>3</sub>		41.1		
<u>n-C</u> $_4\text{H}_9$			54.9	
			32.1	
			19.5	
			13.6	
<u>ciclo-C</u> $_6\text{H}_{11}$				63.8
				32.3
				25.3
				24.8

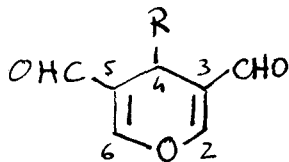
\*Registrados a 50.2 MHz

<sup>†</sup>En DMSO-D<sub>6</sub>

<sup>#</sup>En CDCl<sub>3</sub>

a-d. Las asignaciones pueden estar intercambiadas.

TABLA IV. Datos de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}^*$  y  $^{13}\text{C}^\dagger$  de los 4-alkil-4(H)-piranos-3,5-dicarbaldehidos 35-37.



35 R=  $\text{CH}_3$

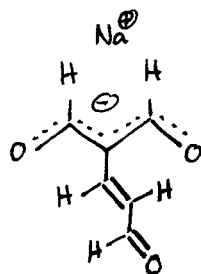
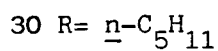
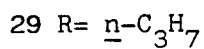
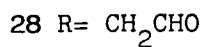
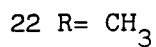
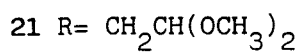
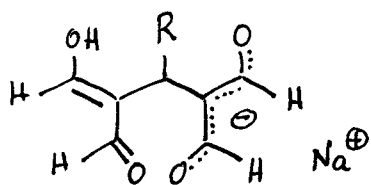
36 R=  $n\text{-C}_3\text{H}_7$

37 R=  $n\text{-C}_5\text{H}_{11}$

Núcleo	35 <sup>a</sup>	36 <sup>b</sup>	37 <sup>b</sup>
H-2,6	7.15s	7.31s	7.33s
CHO-3,5	9.38s	9.46s	9.66s
H-4	3.59q	3.81t	3.81t
H-1'	1.99d ( $J_{4,1'}$ 6.6)	( $J_{4,1'}$ 4.6) 1.58m	( $J_{4,1'}$ 5.0) 1.56m
H-2'		1.15m	↑
H-3'		0.85t	1.22m
H-4'		( $J_{2,3'}$ 7.1)	↓
H-5'			0.83m
C-2,6	157.4	157.8	157.7
C-3,5	125.7	123.5	123.3
CHO-3,5	189.7	189.1	189.0
C-4	21.6 <sup>c</sup>	34.4	31.7 <sup>d</sup>
C-1'	21.5 <sup>c</sup>	25.9	31.4 <sup>d</sup>
C-2'		18.1	25.7
C-3'		13.8	24.2
C-4'			22.3
C-5'			13.8

\* Registrados a 200 MHz; † Registrados a 50.2 MHz; <sup>a</sup> Protones en  $\text{CCl}_4$  y  $^{13}\text{C}$  en  $\text{CDCl}_3$ ; <sup>b</sup> en  $\text{CDCl}_3$ ; <sup>c-d</sup> Las asignaciones pueden estar intercambiadas.

TABLA V. Test de TBA de los compuestos 21, 22, 23, 28, 29 y 30.

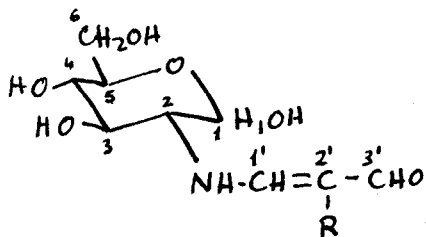


23

Compuesto	$\epsilon(530 \text{ nm})$	$\epsilon(626 \text{ nm})$
MDA	144500	--
21	50500	11000
22	205600	--
23	23600	10400
28	49500	9500
29	168800	--
30	90900	--

TABLA VI. Datos de resonancia magnética nuclear de protones\*

(D<sub>2</sub>O) de los compuestos 40 y 41.



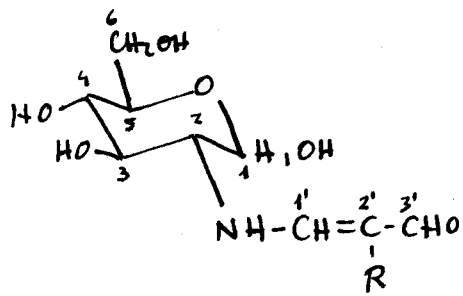
40 R= H

41 R= CH<sub>3</sub>

Núcleo	40				41	
	$\alpha$ -ZEE	$\alpha$ -EEE	$\beta$ -ZEE	$\beta$ -EEE	$\alpha$ -EEE	$\beta$ -EEE
H-1	5.19d (J <sub>1,2</sub> 3.5)		4.69d (J <sub>1,2</sub> 8.3)	4.67d (J <sub>1,2</sub> 8.3)	5.19d (J <sub>1,2</sub> 3.5)	4.70d (J <sub>1,2</sub> 8.4)
H-2	3.28dd (J <sub>2,3</sub> 10.1)		2.98dd (J <sub>2,3</sub> 10.1)		3.44dd (J <sub>2,3</sub> 10.0)	3.02dd (J <sub>2,3</sub> 10.1)
H-3						
H-4						3.7-3.4m
H-5		3.9-3.4m		3.9-3.4m		
H-6					3.81dd (J <sub>6,5</sub> 2.4 J <sub>6,6'</sub> 10.0)	3.82dd (J <sub>6,5</sub> 1.7 J <sub>6,6'</sub> 10.0)
H-6'						3.71dd
H-1'	7.50d (J <sub>1',2'</sub> 12.7)	7.43d (J <sub>1',2'</sub> 12.3)	7.55d (J <sub>1',2'</sub> 12.7)	7.42d (J <sub>1',2'</sub> 12.3)	7.21s	
H-2'	5.44dd (J <sub>2',3'</sub> 9.1)	5.39dd (J <sub>2',3'</sub> 9.6)	5.47dd (J <sub>2',3'</sub> 9.1)	5.39dd (J <sub>2',3'</sub> 9.6)		
H-3'	8.68d	8.62d	8.68d	8.65d	8.48s	8.50s
CH <sub>3</sub>					1.53s	1.53s

\* Registrados a 200 MHz.

TABLA VII. Datos de resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )\* de los compuestos 40 y 41.

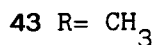
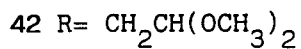
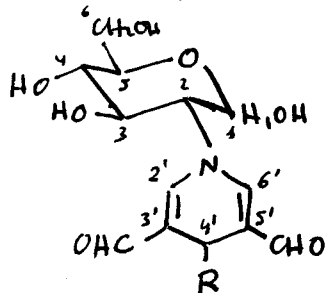


Núcleo	40				41	
	$\alpha$ -ZEE	$\alpha$ -EEE	$\beta$ -ZEE	$\beta$ -EEE	$\alpha$ -EEE	$\beta$ -EEE
C-1	91.6	92.9	97.3	96.1	93.1	96.1
C-2	59.3	65.1	62.3	67.7	65.0	68.1
C-3	73.1 <sup>a</sup>	72.7 <sup>a</sup>	75.9	75.2	72.4	75.2
C-4	71.2 <sup>b</sup>	71.2 <sup>b</sup>	71.1 <sup>b</sup>	71.1 <sup>b</sup>	71.3	71.1
C-5	73.1 <sup>a</sup>	73.1 <sup>a</sup>	77.4	77.4	73.0	77.4
C-6	61.9 <sup>c</sup>	61.9 <sup>c</sup>	62.1 <sup>c</sup>	62.1 <sup>c</sup>	61.9	62.1
C-1'	163.8	167.3 <sup>d</sup>	164.6	166.9 <sup>d</sup>	164.5	165.1
C-2'	101.7	103.8 <sup>e</sup>	102.2	103.6 <sup>e</sup>	111.5	111.6
C-3'	194.6	193.6 <sup>f</sup>	194.7	193.4 <sup>f</sup>	192.3	192.2
CH <sub>3</sub>					7.3	7.4

\* Registrados a 50.2 MHz. <sup>a-f</sup> Las asignaciones pueden estar intercambiadas.

TABLA VIII. Datos de resonancia magnética nuclear de protones

(D<sub>2</sub>O) \* de los compuestos 42 y 43.



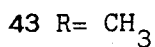
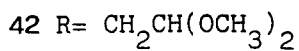
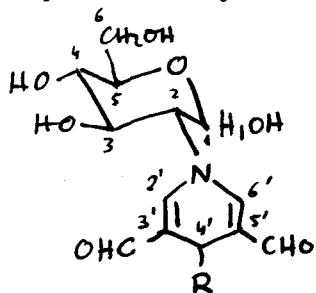
Núcleo	42		43	
	α	β	α	β
H-1	5.40d (J <sub>1,2</sub> 3.2)	5.00d (J <sub>1,2</sub> 8.4)	5.33d (J <sub>1,2</sub> 3.2)	5.00d (J <sub>1,2</sub> 8.4)
H-2	-	3.32dd (J <sub>2,3</sub> 10.9)	-	3.32dd (J <sub>2,3</sub> 10.9)
H-3	4.14dd (J <sub>3,4</sub> 8.8)	-	4.14dd (J <sub>3,4</sub> 8.8)	-
H-4				
H-5		3.9-3.5m		3.9-3.5m
H-6,6'				
H-2'	7.45d <sup>a</sup> (J <sub>2',4'</sub> 1.2)	7.38d <sup>b</sup>	7.36s <sup>c</sup>	7.28s <sup>d</sup>
H-4'†	-	-	-	-
H-6'	7.39d <sup>a</sup> (J <sub>4',6'</sub> 1.2)	7.34d <sup>b</sup> (J <sub>4',6'</sub> 1.2)	7.30s <sup>c</sup>	7.26s <sup>d</sup>
-CH <sub>2</sub> -CH O O	1.66t, 4.32t (J 5.5)	1.66t, 4.33t (J 5.5)		
OMe	3.17s	3.17s		
CHO	9.07s (1H), 9.11s (3H)		9.07s (1H), 9.09s (3H)	
Me			0.97d (J 7.5)	0.96d (J 7.5)

\* Registrado a 200 MHz. † Oculta en las señales del azúcar.

a-d. Las asignaciones pueden estar intercambiadas

TABLA IX. Datos de resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) \*

de los compuestos 42 y 43.

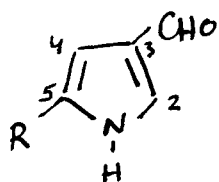


Núcleo	42		43	
	$\alpha$	$\beta$	$\alpha$	$\beta$
C-1	92.8	94.8	92.7	94.8
C-2	69.8	68.5	69.8	68.5
C-3	72.0	73.1	71.9	73.0
C-4	71.6	71.4	71.5	71.4
C-5	72.9	77.3	73.0	77.3
C-6	61.9	62.0	61.8	61.9
C-2'	151.3 <sup>a</sup>	152.7 <sup>b</sup>	149.8 <sup>c</sup>	149.6 <sup>c</sup>
C-6'	150.1 <sup>a</sup>	151.0 <sup>b</sup>	150.5 <sup>c</sup>	
C-4'	25.6	25.5	23.6	23.8
C-3'	122.1 <sup>d</sup>	124.7 <sup>e</sup>	121.7	125.0 <sup>f</sup>
C-5'	122.0 <sup>d</sup>	124.6 <sup>e</sup>		124.9 <sup>f</sup>
CHO	194.2		194.6	194.6
$-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}$	37.7	38.1		
	104.5	104.1		
OMe	54.3	54.3		
	54.7	54.5		
Me			22.5	22.7

\* Registrados a 50.2 MHz. <sup>a-f</sup> Las asignaciones pueden estar intercambiadas.

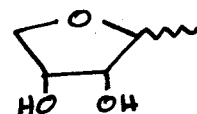


TABLA X. Datos de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )\* de los compuestos 45, 46 y 47.

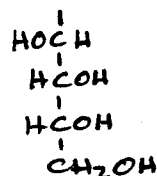


45 R= H

46 R=



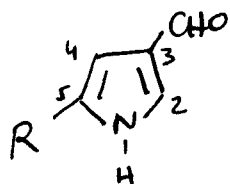
47 R=



Núcleo	45		46		47	
		$\alpha$	$\beta$			
H-2	7.64t ( $J_{2,4}=J_{2,5}$ 1.8)	7.67d ( $J_{2,4}$ 1.8)	7.69d ( $J_{2,4}$ 1.7)	7.65d ( $J_{2,4}$ 1.8)		
H-4	6.57dd ( $J_{4,5}$ 3.1)	6.59d	6.65d	6.54d		
H-5	6.90ddd ( $J_{5,\text{CHO}}$ 0.8)					
CHO	9.49d	9.47s	9.49s	9.48s		
H-1'		5.03d ( $J_{1',2'}$ 4.9)	4.73d	4.94d ( $J_{1',2'}$ 2.5)		
H-2'		4.5-4.4m	4.25dd ( $J_{2',3'}$ 4.6)			
H-3'			4.34m			
H-4'		3.96dd ( $J_{3',4'}$ 6.0, $J_{4',4''}$ 9.3)	4.23dd ( $J_{3',4'}$ 4.1, $J_{4',4''}$ 10.4)			
H-4''		3.82dd ( $J_{3',4''}$ 3.0)	3.84dd ( $J_{3',4''}$ 1.8)			

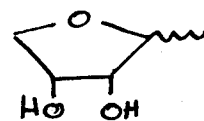
\* Registrados a 200MHz

TABLA XI. Datos de resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )<sup>\*</sup> de los compuestos 45, 46 y 47.

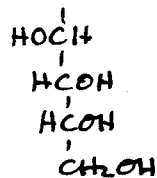


45 R= H

46 R=



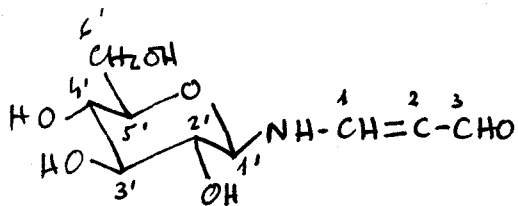
47 R=



Núcleo	45	46		47
		$\alpha$	$\beta$	
C-2	132.5	134.2	133.4	132.7
C-3	125.9	126.0	126.0	125.9
C-4	106.9	107.2	106.3	104.6
C-5	122.5	133.2	133.2	136.5
CHO	190.3	190.2	190.2	190.3
C-1'		77.1 <sup>a</sup>	76.3 <sup>b</sup>	63.5 <sup>c</sup>
C-2'		73.2 <sup>a</sup>	73.6 <sup>b</sup>	74.5 <sup>c</sup>
C-3'		72.1 <sup>a</sup>	--	72.0 <sup>c</sup>
C-4'		71.5 <sup>a</sup>	71.6 <sup>b</sup>	67.2 <sup>c</sup>

\* Registrados a 50.2 MHz. <sup>a-c</sup> Las asignaciones pueden estar intercambiadas.

TABLA XII. Datos de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )<sup>\*</sup> de los compuestos 49 y 50.



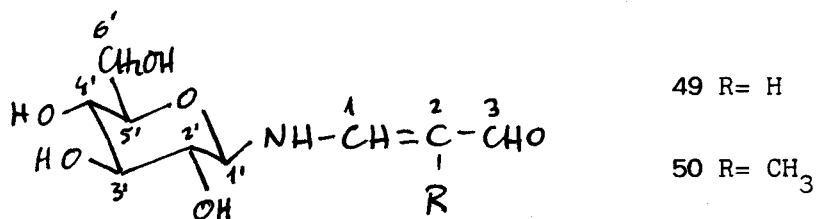
49 R= H

50 R=  $\text{CH}_3$

Núcleo	49	50
H-1'	4.64d	4.50d ( $J_{1,2}$ 8.3)
H-2'	↑	↑
H-3'	3.6-3.4m	3.6-3.4m
H-4'	↓	↓
H-5'	↓	↓
H-6'	3.90dd ( $J_{6',5'}$ 1.7, $J_{6',6''}$ 12.4)	3.79dd ( $J_{6',5'}$ 1.7, $J_{6',6''}$ 12.3)
H-6''	3.73dd ( $J_{6'',5'}$ 4.8)	3.65dd ( $J_{6'',5'}$ 4.3)
H-1	7.62d ( $J_{1,2}$ 13.0)	7.29s
H-2	5.56dd ( $J_{2,3}$ 9.1)	
H-3	8.89d	8.66s
$\text{CH}_3$		1.55s

\* Registrados a 200 MHz.

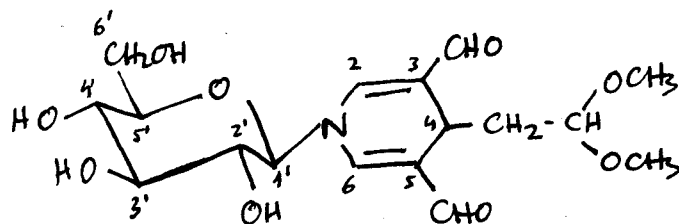
TABLA XIII. Datos de resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )<sup>\*</sup> de los compuestos 49 y 50.



Núcleo	49	50
C-1'	90.7	90.8
C-2'	74.8	74.7
C-3'	80.1	80.2
C-4'	71.8	71.7
C-5'	78.8	78.8
C-6'	63.1	63.1
C-1	166.4	163.6
C-2	106.8	114.8
C-3	196.4	195.5
CH <sub>3</sub>		8.6

\* Registrados a 50.2 MHz.

TABLA XIV. Datos de r.m.n. ( $\delta$  en ppm, J en Hz) de  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )\* y  $^{13}\text{C}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )<sup>†</sup> del compuesto 51.

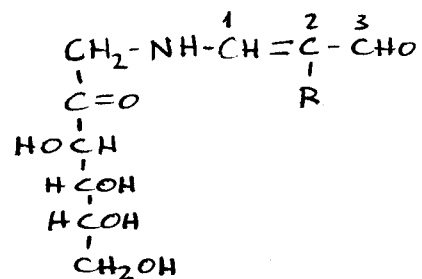


51

Núcleo	$\delta_{\text{H}}$	Núcleo	$\delta_{\text{C}}$
H-2	7.57s <sup>a</sup>	C-2	149.6 <sup>b</sup>
H-4 <sup>#</sup>	--	C-6	148.2 <sup>b</sup>
H-6	7.54s <sup>a</sup>	C-4	25.1
$-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}$	1.76t (2H) (J 5.5)	C-3	122.0 <sup>c</sup>
	4.42t (1H) (J 5.5)	C-5	121.7 <sup>c</sup>
$\text{OCH}_3$	3.27s (6H)	CHO	193.7, 193.8
CHO	9.22s, 9.23s	$-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}$	37.3
H-1'	4.84d		103.9
H-2'	$\updownarrow$ 3.5-4.0m $\updownarrow$	$\text{OCH}_3$	54.1
H-3'		C-1'	91.7
H-4'		C-2'	69.7
H-5'		C-3'	79.2
H-6'		C-4'	71.9
H-6''		C-5'	76.9
		C-6'	61.3

\* Registrado a 200 MHz; <sup>†</sup> Registrado a 50.2 MHz; <sup>a-c</sup> Las asignaciones pueden estar intercambiadas.

TABLA XV. Datos de r.m.n. ( $\delta$  en ppm, J en Hz) de  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )<sup>\*</sup> de 52<sup>†</sup> y 53.



52 R= H

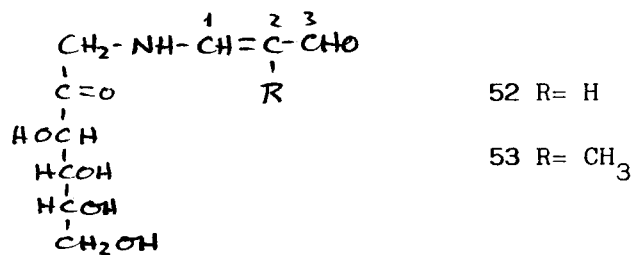
53 R=  $\text{CH}_3$

Núcleo	52		53		
	$\beta$ -p-ZEE	$\beta$ -p-EEE	$\beta$ -p-EEE	$\beta$ -f-EEE	$\alpha$ -f-EEE
H-1	7.45d ( $J_{1,2}$ 12.7)	7.34d ( $J_{1,2}$ 12.1)	7.14s	7.16s	---
H-2	5.34dd ( $J_{2,3}$ 9.3)	5.30dd ( $J_{2,3}$ 9.6)			
H-3	8.62d	8.55d	8.43s	8.28s	8.45s
$\text{CH}_3$			1.50s	1.78s	1.41s
Protones de azúcar	3.2-4.0m		3.2-4.0m		

\* Registrados a 200 MHz; <sup>†</sup>Sólo se pudieron asignar los isómeros mayoritarios

- 198 -

TABLA XVI. Datos de resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )\* de los compuestos 52 y 53.

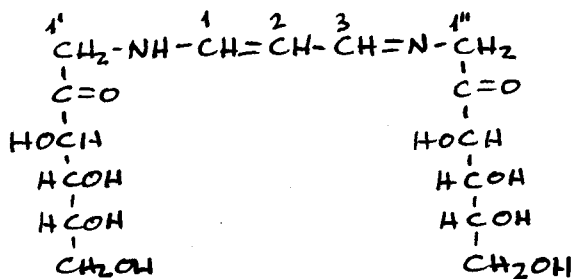


Núcleo	52						53		
	$\beta$ -p-ZEE	$\beta$ -p-EEE	$\beta$ -f-ZEE	$\beta$ -f-EEE	$\alpha$ -f-ZEE	$\alpha$ -f-EEE	$\beta$ -p-EEE	$\beta$ -f-EEE	$\alpha$ -f-EEE
C-1	49.5	54.7	48.5	53.6	48.2	53.3	54.7	53.4	53.2
C-2	98.4	98.3	101.2	101.2	104.7	105.2	98.4	101.7	104.6
C-3	70.4	70.4	77.2	77.4	82.2	82.6	70.4	77.2	82.1
C-4	69.9	69.9	75.1	75.1	76.7	77.1	69.9	75.1	76.4
C-5	69.4	69.3	81.7	81.4	82.8	82.8	69.5	81.5	83.2
C-6	64.4	64.4	63.1	63.1	61.7	61.9	64.4	63.1	61.6
C-1'	163.3	167.4	163.3	167.3	163.3	167.6	165.5	165.2	--
C-2'	101.0	102.8	101.2	102.8	101.0	102.8	110.6	110.8	--
C-3'	193.4	192.3	193.4	192.2	193.3	--	191.2	192.2	191.5
CH <sub>3</sub>							6.6	--	--

\* Registrados a 50.2 MHz

-199-

TABLA XVII. Datos de r.m.n. ( $\delta$  en ppm, J en Hz) de  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )\* y  $^{13}\text{C}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )<sup>†</sup> del compuesto 54<sup>#</sup>.



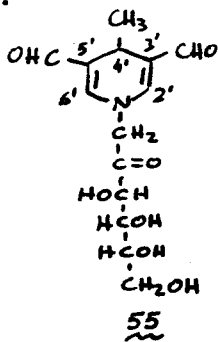
54

Núcleo	$\beta$ -p-EEEE	$\beta$ -p-ZEEE	$\beta$ -p-EEEZ	$\beta$ -p-ZEEZ
H-1	7.46d (J 13.5)	7.54d (J 13.2)	7.56d (J 13.0)	7.60d (J 12.9)
H-2	5.51t (J 12.5)	5.56t (J 12.5)	5.56t (J 12.5)	5.62t (J 12.5)
H-3	7.46d	7.56d	7.54d	7.60d
Protones de azúcar	3.3-4.0m			
C-1	166.9	163.0	168.2	164.4
C-2	94.5	92.6	92.6	90.7
C-3	166.9	168.2	163.0	164.4
C-1'	55.2 <sup>a</sup>	49.9 <sup>b</sup>	55.1 <sup>a</sup>	49.7 <sup>b</sup>
C-1''	55.2 <sup>c</sup>	55.1 <sup>c</sup>	49.9 <sup>d</sup>	49.7 <sup>d</sup>
C-2', 2''	98.0, 98.2			
C-3', 3''	70.3			
C-4', 4''	69.8			
C-5', 5''	69.3, 69.5			
C-6', 6''	64.5			

\* Registrado a 200 MHz; <sup>†</sup> Registrado a 50.2 MHz; <sup>#</sup> Sólo se pudieron asignar los isómeros  $\beta$ -p; <sup>a-d</sup> Las asignaciones pueden estar intercambiadas.



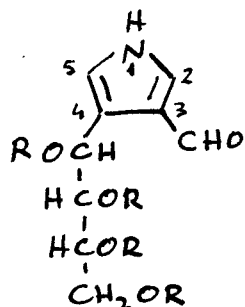
TABLA XVIII. Datos de r.m.n. ( $\delta$  en ppm, J en Hz) de  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )\* y  $^{13}\text{C}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )<sup>†</sup> del compuesto 55.<sup>#</sup>



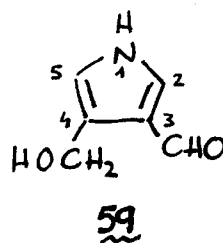
Núcleo	55		
	$\beta$ -p	$\beta$ -f	$\alpha$ -f
H-2,6	7.14s		
CHO	9.03s		
H-4	0.95d (J 6.4)		
CH <sub>3</sub>	3.59m		
Protones de azúcar	3.4-5.1m		
C-1	60.2	59.3	58.8
C-2	98.4	101.4	104.8
C-3	70.5	77.5	82.7
C-4	69.8	74.8	77.1
C-5	69.4	81.6	82.8
C-6	64.5	63.0	62.0
C-2'	152.36 <sup>a</sup>	151.9 <sup>d</sup>	152.7 <sup>f</sup>
C-6'	152.44 <sup>a</sup>	152.0 <sup>d</sup>	152.9 <sup>f</sup>
C-4'	22.7 <sup>b</sup>	22.4 <sup>e</sup>	22.5 <sup>g</sup>
C-3'	123.4 <sup>c</sup>	123.6	123.2
C-5'	123.5 <sup>c</sup>		
CHO	193.7	193.7	193.7
CH <sub>3</sub>	22.2 <sup>b</sup>	22.4 <sup>e</sup>	22.5 <sup>g</sup>

\* Registrado a 200 MHz; <sup>†</sup> Registrado a 50.2 MHz; <sup>#</sup> Sólo se pudo asignar el isómero  $\beta$ -p en el espectro de protones; <sup>a-g</sup> Las asignaciones pueden estar intercambiadas.

TABLA XIX. Datos de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}^*$  de los compuestos 57, 59 y 61.



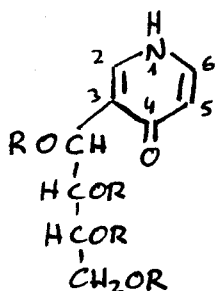
57 R= H  
61 R= Ac



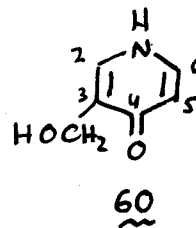
Núcleo	57 <sup>a</sup>	61 <sup>b</sup>	59 <sup>a</sup>
H-2	7.58d (J <sub>2,5</sub> 2.0)	7.37dd (J <sub>2,5</sub> 2.5, J <sub>2,4</sub> 2.2)	7.52 d (J <sub>2,5</sub> 1.9)
H-5	6.85dd (J <sub>5,CHO</sub> 0.8)	6.80t (J <sub>5,4</sub> 2.2)	6.78 dd (J <sub>5,CHO</sub> 0.7)
NH	--	8.80a	--
CHO	9.44d	9.87s	9.48 d
H-1'	5.05d (J <sub>1',2'</sub> 3.6)	6.58d (J <sub>1',2'</sub> 3.8)	4.56 s
H-2'	$\updownarrow$ 3.40-3.70m	5.66dd (J <sub>2',3'</sub> 7.9)	
H-3'		5.25ddd (J <sub>3',4'</sub> 2.7, J <sub>3',4''</sub> 5.9)	
H-4'		4.31dd (J <sub>4',4''</sub> 12.4)	
H-4''		4.17dd	
Ac	--	1.96s 2.04s 2.09s 2.12s	

\* Registrados a 200 MHz; <sup>a</sup> En D<sub>2</sub>O; <sup>b</sup> En CDCl<sub>3</sub>

TABLA XX. Datos de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}^*$  de los compuestos 58, 60 y 62.



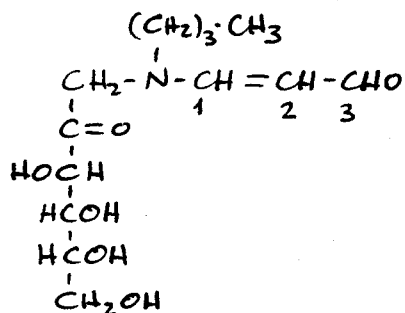
$\left\{ \begin{array}{l} 58 \text{ R= H} \\ 62 \text{ R= Ac} \end{array} \right.$



Núcleo	58 <sup>a</sup>	62 <sup>b</sup>	60 <sup>c</sup>
H-2	7.14dd ( $J_{2,5}$ 2.4, $J_{2,6}$ 1.3)	7.06-7.10m	7.18 dd ( $J_{2,5}$ 2.5; $J_{2,6}$ 1.3)
H-5	6.25dd ( $J_{5,6}$ 3.8)	6.31dt ( $J_{5,6}$ 3.7, $J_{5,1} = J_{5,2}$ 2.7)	6.33 dd ( $J_{5,6}$ 3.9)
H-6	7.06dd	7.06-7.10m	7.10dd
NH	--	9.66a	--
H-1'	5.07d ( $J_{1',2'}$ 1.9)	5.74d ( $J_{1',2'}$ 2.6)	4.56 s
H-2'	$\updownarrow$ 3.45-3.90m	5.68dd ( $J_{2',3'}$ 8.6)	
H-3'		5.32 ( $J_{3',4'}$ 2.7, $J_{3',4''}$ 4.8)	
H-4'		4.33dd ( $J_{4',4''}$ 12.5)	
H-4''		4.19dd	
Ac		1.96s 2.05s 2.11s 2.19s	

\* Registrados a 200 MHz; <sup>a</sup> En  $\text{D}_2\text{O}$ ; <sup>b</sup> En  $\text{CDCl}_3$ ; <sup>c</sup> En MeOD.

TABLA XXI. Datos de r.m.n. ( $\delta$  en ppm, J en Hz) de  $^1\text{H}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ )\* del compuesto 68.†

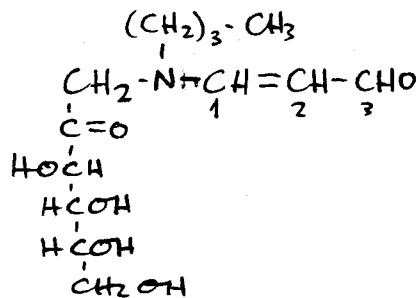


68

Núcleo	$\beta$ -p-EEE	$\beta$ -p-ZEE
H-1	7.34d (J <sub>1,2</sub> 12.4)	7.45d (J <sub>1,2</sub> 12.3)
H-2	5.25dd (J <sub>2,3</sub> 9.4)	5.40dd (J <sub>2,3</sub> 9.4)
H-3	8.57d	8.56d
Protones de azúcar	3.2-4.1m	
$n\text{-C}_4\text{H}_9$	3.2-4.1m	
	1.41-1.55m	
	1.10-1.29m	
	0.79t (J 7.3)	

\* Registrado a 200 MHz; † Sólo pudieron asignarse los isómeros mayoritarios.

TABLA XXII. Datos de resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}^*$  en  $\text{D}_2\text{O}$  (en  $\text{DMSO-d}_6$  entre paréntesis) del compuesto 68.



68

Núcleo  $\beta$ -p-ZEE  $\beta$ -r-EEE  $\beta$ -f-ZEE  $\beta$ -f-EEE  $\alpha$ -f-ZEE  $\alpha$ -f-EEE  $\alpha$ -p-ZEE  $\alpha$ -p-EEE

C-1	166.8	166.4	166.2	165.9 (161.6-162.6)	---	---		
C-2		101.6-101.9 (100.7-101.0)						
C-3		192.1-192.3 (188.2-188.6)						
C-1'	58.1 (56.2)	60.8 (59.9)	57.6 (55.5)	60.2 (59.0)	---	---	(55.6)	(58.1) (---) (59.3)
C-2'	100.0 (---)	99.3 (98.7)	102.8 (102.5)	102.2 (102.0)	---	105.5	(---)	(104.6) (---) (97.5)
C-3'	70.5 (69.9)	70.5 (69.8)	77.9 (77.5)	77.7 (77.1)	82.5 (82.3)	82.5 (82.3)		(70.7) (70.7)
C-4'	69.9 (69.1)	69.9 (69.1)	75.2 (75.0)	75.1 (74.8)	76.8 (76.4)	76.8 (76.4)		(71.5) (71.5)
C-5'	69.6 (68.2)	69.6 (68.2)	81.6 (82.3)	81.6 (82.3)	83.8 (82.4)	83.8 (82.4)		(---) (---)
C-6'	64.2 (63.8)	64.4 (63.8)	63.2 (62.8)	63.2 (62.8)	---	---		(61.7) (61.7) (---) (---)
$n\text{-C}_4\text{H}_9$		53.5 (ZEE), 51.5 (EEE)						
		30.7 (ZEE), 28.5 (EEE)						
		20.0 (ZEE), 20.3 (EEE)						
		13.9 (ZEE), 14.1 (EEE)						

\* Registrados a 50.2 MHz

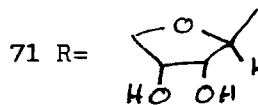
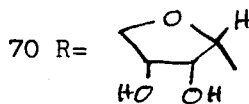
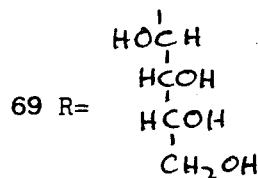
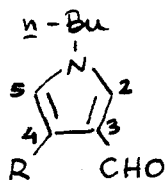
TABLA XXIII. Datos de r.m.n. ( $\delta$  en ppm) de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ) del acetato de 1-amino-1-desoxi-D-fructosa (FA)\* y del oxalato de 1-(n-butylamino)-1-desoxi-D-fructosa (BFA)†.

Núcleo	FA				BFA			
	$\beta$ -p	$\beta$ -f	$\alpha$ -f	$\alpha$ -p	$\beta$ -p	$\beta$ -f	$\alpha$ -f	$\alpha$ -p
C-1	45.4	43.7	44.7	40.9	53.5	53.0	51.6	--
C-2	95.6	99.1	102.1	96.3	96.2	99.6	102.6	--
C-3	69.8	77.8	82.5	70.6	70.4	78.6	81.6	71.1
C-4	69.6	74.5	76.3	71.9	70.1	74.8	76.7	72.2
C-5	69.2	81.1	82.6	66.0	69.7	83.2	83.1	63.2
C-6	64.1	62.2	61.0	62.9	64.7	62.5	61.5	--

\* Registrado a 75.43 MHz, referencia 72; † Registrado a 50.2 MHz.

-206-

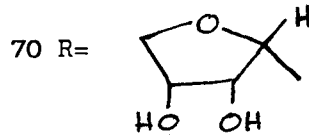
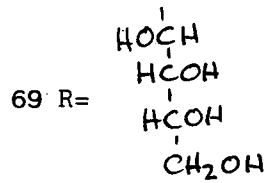
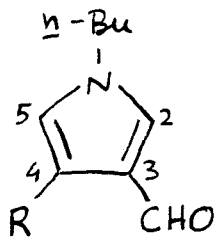
TABLA XXIV. Datos de r.m.n. ( $\delta$  en ppm, J en Hz) de  $^1\text{H}$  (MeOD)\* de los compuestos 69-71.



Núcleo	69	70	71
H-2	7.58d ( $J_{2,5}$ 2.2)	7.56d ( $J_{2,5}$ 2,3)	7.50d ( $J_{2,5}$ 2.3)
H-5	6.90d	6.87dt ( $J_{5,CHO} = J_{5,1'}$ 0.8)	6.86dt ( $J_{5,CHO} = J_{5,1'}$ 0.8)
CHO	9.58s	9.64d	9.61d
H-1'	5.16d ( $J_{1',2'}$ 2.2)	4.98dd ( $J_{1',2'}$ 6.6)	5.25dd ( $J_{1',2'}$ 3.4)
H-2'	$\updownarrow$ 3.5-3.9m	4.14dd ( $J_{2',3'}$ 4.4)	4.24dd ( $J_{2',3'}$ 4.9)
H-3'		4.25m	4.48dt ( $J_{3',4'} = J_{3',4''}$ 7.1)
H-4'a		3.80m <sup>a</sup>	3.76dd <sup>b</sup> ( $J_{4',4''}$ 8.4)
H-4'b		4.25m <sup>a</sup>	3.96dd <sup>b</sup>
$n\text{-C}_4\text{H}_9$	3.97t (J 7.1)	3.95t (J 7.1)	3.95t (J 7.1)
	1.78m	1.73m	1.77m
	1.30m	1.31m	1.37m
	0.95t (J 7.3)	0.94t (J 7.3)	0.95t (J 7.3)

\* Registrados a 200 MHz; <sup>a-b</sup> Las asignaciones pueden estar intercambiadas.

TABLA XXV. Datos de r.m.n. ( $\delta$  en ppm) de  $^{13}\text{C}^*$  de los compuestos 69 (DMSO- $d_6$ ) y 70 (MeOD).

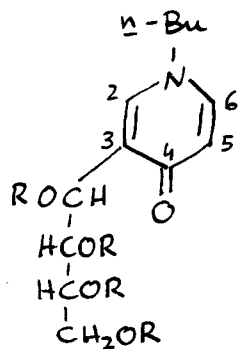


Núcleo	69	70
C-2	134.4	134.7
C-3	126.9 <sup>a</sup>	125.0 <sup>c</sup>
C-4	123.9 <sup>a</sup>	124.6 <sup>c</sup>
C-5	123.5	123.9
CHO	188.1	187.5
C-1'	75.6 <sup>b</sup>	79.7 <sup>d</sup>
C-2'	72.7 <sup>b</sup>	78.2 <sup>d</sup>
C-3'	67.1 <sup>b</sup>	72.6 <sup>d</sup>
C-4'	64.1	73.6
$n\text{-C}_4\text{H}_9$	50.2	50.8
	33.4	34.1
	20.2	20.7
	14.4	13.9

\* Registrados a 50.2 MHz.



TABLA XXVI. Datos de r.m.n. ( $\delta$  en ppm, J en Hz) de  $^1\text{H}^*$  de los compuestos 72 (DMSO- $d_6$ ) y 73 ( $\text{CDCl}_3$ ).



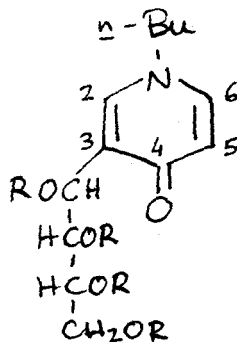
72 R= H

73 R= Ac

Núcleo	72	73
H-2	7.20dd ( $J_{2,6}$ 2.3, $J_{2,5}$ 1.8)	7.11dd ( $J_{2,6}$ 2.5, $J_{2,5}$ 1.6)
H-5	6.14dd ( $J_{5,6}$ 4.1)	6.19dd ( $J_{5,6}$ 4.3)
H-6	7.01dd	6.94dd
H-1'	5.02dd ( $J_{1',OH}$ 8.4, $J_{1',2'}$ 1.2)	5.58d ( $J_{1',2'}$ 2.3)
H-2'	$\updownarrow$ 3.4-3.8m	5.67dd ( $J_{2',3'}$ 8.6)
H-3'		5.32ddd ( $J_{3',4'}$ 4.9, $J_{3',4''}$ 2.7)
H-4'a		4.19dd <sup>a</sup> ( $J_{4',4''}$ 12.7)
H-4'b		4.34dd <sup>a</sup>
RO-1'	4.27d	2.01s <sup>b</sup>
RO-2'	4.40d ( $J_{2',OH-2'}$ 5.7)	2.03s <sup>b</sup>
RO-3'	4.81d ( $J_{3',OH-3'}$ 8.6)	2.12s <sup>b</sup>
RO-4'	4.35t ( $J_{4',OH-4'} = J_{4'',OH-4''}$ 6.0)	2.18s <sup>b</sup>
$n\text{-C}_4\text{H}_9$	4.26m	4.21m
	1.61m	1.65m
	1.22m	1.28m
	0.85t (J 7.3)	0.91t (J 7.2)

\* Registrados a 200 MHz; <sup>a-b</sup> Las asignaciones pueden estar intercambiadas.

TABLA XXVII. Datos de r.m.n. ( $\delta$  en ppm) de  $^{13}\text{C}^*$  de los compuestos 72 ( $\text{DMSO-d}_6$ ) y 73 ( $\text{CDCl}_3$ ).



72 R= H

73 R= Ac

Núcleo	72	73
C-2	131.2 <sup>a</sup>	131.5 <sup>c</sup>
C-3	119.8	120.0
C-4	190.5	181.8
C-5	108.2	108.5
C-6	126.8 <sup>a</sup>	127.1 <sup>c</sup>
C-1'	74.6 <sup>b</sup>	72.7 <sup>d</sup>
C-2'	72.7 <sup>b</sup>	69.5 <sup>d</sup>
C-3'	71.4 <sup>b</sup>	68.7 <sup>d</sup>
C-4'	63.4	61.5
$\text{n-C}_4\text{H}_9$	48.7	49.5
	33.3	32.9
	19.4	19.5
	13.8	13.4
Ac		20.2, 20.3, 20.4, 20.6
		169.0, 169.6, 169.9, 170.3

\* Registrados a 50.2 MHz; <sup>a-d</sup> Las asignaciones pueden estar intercambiadas.

**BIBLIOGRAFIA**

1. F. García González, *Advan. Carbohydr. Chem.*, **11** (1956) 97.
2. F. García González y A. Gómez Sánchez, *Advan. Carbohydr. Chem.*, **20** (1965) 303.
3. F. García González, J. Fernández-Bolaños y F.J. López Aparicio, "Synthetic Methods for Carbohydrates", Hassan S. El Khadem, *A.C.S. Symposium Series*, Vol. 39, 1977.
4. H. Pauly y E. Ludwig, *Z. Physiol. Chem.*, **121** (1922) 170.
5. F. García González, A. Gómez Sánchez, M. Gómez Guillén y M. Tena Aldave, *Anales Real Soc. Españ. Fís. Quím.*, **67** (1971) 389.
6. A. Gómez Sánchez, A. Cert Ventulá y U. Scheidegger, *Carbohydr. Res.*, **17** (1971) 275.
7. M. Gómez Guillén, Tesis Doctoral, Universidad de Sevilla, 1966.
8. R. Kuhn y G. Baschang, *Ann.*, **659** (1962) 156.
9. Referencia 2, pág. 343 y referencias citadas.
10. A. Gómez Sánchez, E. Toledano y M. Gómez Guillén, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, (1974) 1237 y referencias citadas.
11. M. J. Dianez, J. Galán, A. Gómez Sánchez, A. López-Castro y M. Rico, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, (1987) 581.

12. F. García González, J. Fernández-Bolaños y J. A. Galbis Pérez, *An. Quím.*, **70** (1974) 1082; F. García González, M. Gómez Guillén, J. A. Galbis Pérez y E. Román Galán, *Carbohydr. Res.*, **80** (1980) 37.
13. R. Hüttel, *Ber.*, **74** (1941) 1825.
14. W. A. Pryor, J. P. Stanley y E. Blair, *Lipids*, **11** (1976) 370.
15. W. A. Pryor, "Free Radicals in Biology", Academic Press. New York, Vol. 1 y 2 (1976).
16. K. Vidyasagar, S. S. Arya, K. S. Premavalli, D. B. Parihar y H. Nath, *J. Food Sci. Technol.*, **11** (1974) 73.
17. Revisiones recientes de la reacción de Maillard:
  - (a). "Progress in Food and Nutrition Science. Maillard Reactions in Food", editado por C. Eriksson, Pergamon Press, Oxford, 1981.
  - (b). "The Maillard Reaction in Food and Nutrition", editado por G. R. Waller y M. S. Feather, *ACS Symposium Series 215* (1983).
  - (c). "Development in Food Science 13. Amino-carbonyl Reaction in Food and in Biological Systems", editado por M. Fujimaki, M. Namiki y H. Kato, Elsevier, Amsterdam, 1986.
  - (d). "The Maillard Reaction in Food Processing, Human Nutrition and Physiology", editado por P. A. Finot,

- H. U. Aeschbacher, R. F. Hurrell y R. Liardon,  
Birkhäuser Verlag, Basel, 1990.
18. W. A. Pryor, editor (1976-84), "Free Radicals in Biology", Vol. I-VI, Academic Press, New York.
  19. M. G. Simic y M. Karel, editores (1980), "Autoxidation in Food and Biological Systems", Plenum Press, New York.
  20. R. S. Bhatnager, editor (1980), "Molecular Basis of Environmental Toxicity", Ann Arbor Science, Ann Arbor.
  21. H. Esterbauer (1982) en "Free Radicals, Lipid Peroxidation, and Cancer" (D. McBrien y T. Slater, editores), pp. 101-128, Academic Press, London.
  22. T. C. Kwon y H. S. Olcott, *J. Food Sci.*, **31** (1966) 552.
  23. T. Bucknall, H. E. Edwards, K. G. Kemsley, J. S. Moore y G. O. Phillips, *Carbohydr. Res.*, **62** (1978) 49.
  24. K. Ambe y A. L. Tappel, *J. Food Sci.*, **26** (1961) 448.
  25. H. H. Draper, S. N. Dhanokoti, M. Hadley y L. A. Piché en "Cellular Antioxidant Defense Mechanisms", Vol. II, editado por Ching Kuang Chown, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1988, pp. 97-109.
  26. R. O. Sinnhuber, T. C. Yu y Te Chang You, *Food Res.*, **23** (1958) 626.
  27. V. Nair y G. A. Turner, *Lipids*, **19** (1984) 804.

28. L. Claisen, *Ber.*, **36** (1903) 3664.
29. T. W. Kwon y B. M. Watts, *J. Food Sci.*, **29** (1964) 294-302.
30. K. Kikugawa y Y. Ido, *Lipids*, **19** (1984) 600.
31. J. M. C. Gutteridge, *Anal. Biochem.*, **69** (1975) 518-526.
32. L. J. Marnett y M. A. Tuttle, *Cancer Res.*, **40** (1980) 276.
33. J. M. C. Gutteridge, A. D. Heys J. Lunec, *Anal. Chim. Acta*, **94** (1977) 209-211.
34. F. Mashio y Y. Kimura, *Nippon Kagaku Zasshi*, **81** (1960) 434.
35. M. M. Osman, *Helv. Chim. Acta*, **55** (1972) 239.
36. G. Schwarzenbach, H. Suter y K. Lutz, *Helv. Chim. Acta*, **23** (1940) 1191.
37. J. Saunders y J. R. K. May, *Chem. & Ind.*, (1963) 1355.
38. A. A. Bothner-By y R. K. Harris, *J. Org. Chem.*, **30** (1965) 254.
39. W. O. George y V. G. Mansell, *J. Chem. Soc. (B)*, (1968) 132-134.
40. N. Bacon, W. O. George y B. H. Stringer, *Chem. & Ind.*, (1965) 1377-1378.

41. B. R. Brooks y O. L. Klammerth, *Eur. J. Biochem.*, **5** (1968) 178.
42. R. C. Moschel y N. J. Leonard, *J. Org. Chem.*, **41** (1976) 294.
43. H. Seto, T. Okuda, T. Takesue y T. Ikemura, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **56** (1983) 1799.
44. V. Nair, G.A. Turner y R. J. Offerman, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **106** (1984) 3371.
45. O. L. Klammerth y H. Levinsky, *FEBS Lett.*, **3** (1969) 205.
46. T. W. Kwon y W. D. Brown, *Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, **24** (Abstr.), (1965) 592.
47. K. S. Chio y A. L. Tappel, *Biochemistry*, **8** (1969) 2827.
48. M. E. Haberland, A. M. Fogelman y P. A. Edwards, *Proc. Natl Acad. Sci. U. S. A.*, **79** (1982) 1712.
49. D. L. Crawford, T. C. Yu y R. O. Sinnhuber, *J. Food Sci.*, **32** (1967) 332.
50. K. Kikugawa, H. Kosugi y T. Asakura, *Arch. Biochem. Biophys.*, **229** (1984) 7.
51. V. Nair, D. E. Vietti y C. S. Cooper, *J. Am. Chem. Soc.*, **103** (1981) 3030-3036.
52. D. J. Pietrzyk y J. Stodola, *Anal. Biochem.*, **117** (1981)



245.

53. K. S. Chio y A. L. Tappel, *Biochemistry*, **8** (1969) 2821.
54. E. Sawicki, T. W. Stanley y H Johnson, *Anal. Chem.*, **35** (1963) 199.
55. V. Nair, C. S. Cooper, D. E. Vietti y G. A. Turner, *Lipids*, **21** (1986) 6-10.
56. H. Buttkus y R. J. Bose, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **49** (1972) 440-443.
57. K. Kikugawa, Y. Machida, M. Kida y T. Kurechi, *Chem. Pharm. Bull.*, **29** (1981) 3003-3011.
58. E. S. Gould, "Mecanismos y Estructuras en Química Orgánica", Ed. Kapalusz. 1967. Barcelona.
59. J. Dabrowski y K. Kamienska-Trela, *J. Am. Chem. Soc.*, **98** (1976) 2826-2834.
60. K. Kikugawa, t. Nakahara y K. Sakurai, *Chem. Pharm. Bull.*, **35** (1987) 4656-4660.
61. D. L. Crawford, T. C. Yu y R. O. Sinnhuber, *J. Agr. Food Chem.*, **14** (1966) 182-184.
62. J. Terpinski y J. Dabrowski, *J. Mol. Struct.*, **4** (1969) 285-291.
63. D. D. Tavernier y M. J. O. Anteunis, *Magn. Resonn.*, **11** (1978) 628-631.

64. a) A. S. Perlin, *MTP Int. Rev. Sci., Org. Chem. Ser. Two Carbohydrates*, **7** (1976) 134.
- b) L. Scilagy y Z. Gyorgydeak, *Carbohydr. Res.*, **143** (1985) 21-41.
- c) R. Kasai, M. Okihara, J. Asakawa, K. Mizutani y O. Tanaka, *Tetrahedron*, **35** (1979) 1422-1432.
- d) V. S. Rao y A. S. Perlin, *Carbohydr. Res.*, **92** (1981) 141-148.
- e) E. L. Eliel, M. Manoharan, K. M. Pitrusiewicz y K. D. Hagrave, *Org. Mag. Resonn.*, **21** (1983) 94-107.
65. H. J. Anderson y H. Nagy, *Can. J. Chem.*, **50** (1972) 1961-1965.
66. A. Gómez Sánchez y A. Rodríguez Roldán, *Carbohydr. Res.*, **22** (1972) 53-62.
67. "Nomenclature of Organic Chemistry. Sections A, B, C, D, E, F and H". 1979 Edition. Pergamon Press.
68. W. Funcke y A. Klemer, *Liebigs Ann. Chem.*, (1975) 1232-1235.
69. W. Funcke y A. Klemer, *Carbohydr. Res.*, **50** (1976) 9-13.
70. W. Funcke, C. von Sonntag y C. Triantaphylides, *ibid.*, **75** (1979) 305-309.
71. H. Röper, S. Röper, K. Heyns y B. Meyer, *ibid.*, **116** (1983) 183-195.

72. A. Gómez Sánchez, M. G. García Martín y C. Pascual, *ibid.*, **149** (1986) 329-345.
73. J. Beck, F. Ledl y T. Severin, *Carbohydr. Res.*, **177** (1988) 240-243.
74. D. Smith y P. J. Taylor, *Spectrochim. Acta*, **32A** (1976) 1477-1488.
75. A. Gómez Sánchez, F. J. Hidalgo y J. L. Chiara, *Carbohydr. Res.*, **167** (1987) 55-66.
76. F. G. Njoroge, L. M. Sayre y V. M. Monnier, *Carbohydr. Res.*, **167** (1987) 211-220.
77. L. Benzing-Purdie y J. H. Nikiforuk, *J. Carbohydr. Chem.*, **4** (1985) 15-27.
78. "The Carbohydrates", Ed. W. Pigman y D. Horton, Academic Press, New York-London, 1976, Vol. IA.
79. J. Fernández-Bolaños, J. Fuentes Mota, J. Barragán Pérez y M. A. Pradera de Fuentes, *Anales Quím.*, **74** (1978) 336.
80. J. Fernández-Bolaños, J. Fuentes Mota e I. Robina Ramírez, *Anales Quím.*, **80C** (1984) 123-126.
81. A. R. Ling y D. R. Nanji, *J. Chem. Soc.*, **121** (1922) 1682.
82. R. Kuhn y H. J. Hass, *Ann.*, **600** (1956) 148.
83. F. Micheel y G. Hagemann, *Chem. Ber.*, **92** (1959) 2836.

84. A. G. González, D. Rosales, J. L. Gómez Ariza y A. Guiraum Pérez, *Talanta*, 35 (1988) 249-252.

# UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Reunido el Tribunal integrado por los abajo firmantes  
en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de

Dr. Ricardo Hensson Gutierrez  
sobre Estudio de las reacciones de malindialdehído  
en aminoácidos y sus posibles implicaciones en la  
reacción de oscuramiento no enzimático (R. Maillard)  
se acordó otorgarle la calificación de apto "cum laude" por  
Unanimidad

Sevilla, 19 de diciembre de 1970

El Vocal,

Enríque

El Vocal,

Herrera

El Vocal,

M. Haro

El Presidente

J. López

El Secretario,

F. Ghera

El Doctorado,

Spencer



500412885

FQU I T/481