

120664412

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

DEPARTAMENTO DE QUIMICA ORGANICA

31-10-78
Código N.º 37

7/1148

ESTUDIOS SOBRE LA QUIMICA DE LA NEAMINA
(NEOMICINA A)

María Eugenia Blanco González

Octubre de 1978

Esta Tesis ha sido realizada en el Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Sevilla, bajo la dirección del Dr. D. Antonio Gómez Sánchez, Profesor de Investigación del C.S.I.C., estando apadrinada por el Dr. D. José María Viguera Lobo, Catedrático y Director del Departamento de Química Orgánica de dicha Facultad.

UNIVERSIDAD
DE
SEVILLA

DEPARTAMENTO
DE
QUIMICA ORGANICA

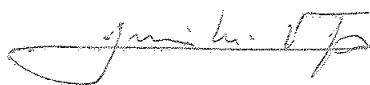
Tesis presentada por
MARIA EUGENIA BLANCO GONZALEZ
para optar al grado de Doctor
en Ciencias, Sección de Químicas



Fdo. María Eugenia Blanco González

VºBº

El Catedrático Padrino



Fdo. José María Viguera
Lobo

VºBº

El Director de la Tesis



Fdo. Antonio Gómez Sánchez

Sevilla, Octubre de 1978

Deseo expresar mi agradecimiento:

A los citados profesores Viguera Lobo, padrino de la Tesis y Gómez Sánchez por su dirección y ayuda.

A los doctores A. Caña Rodríguez y E. Pando Ramos y a los licenciados M. Hernández Zarandieta y J.L. Ferrer Herranz, por la colaboración prestada.

A Laboratorios del Dr. Esteve S.A., por las materias primas suministradas y por la ayuda económica concedida para la realización de este trabajo.

Al Dr. J. Calderón, de la Sección de Microanálisis del Instituto de Química "Alonso Barba", por una parte de los microanálisis incluidos.

A los compañeros del Laboratorio por su constante ayuda y estímulo.

INDICE

1.	<u>INTRODUCCION</u>	1
2.	<u>ANTECEDENTES SOBRE LA QUIMICA DE LA NEAMINA.</u>	12
	2.1. <u>Estructura de la neamina</u>	13
	2.2. <u>Derivados de la neamina.</u>	24
	2.2.1. Derivados <u>N</u> -sustituídos	24
	2.2.2. Derivados <u>N</u> - y <u>O</u> -sustituídos	28
	2.2.3. Derivados per- <u>N</u> - sustituídos parcial- mente sustituídos en los oxígenos	31
3.	<u>OBTENCION DE NEAMINA A PARTIR DE LA NEOMICINA COMERCIAL</u>	45
4.	<u>NUEVOS DERIVADOS DE NEAMINA</u>	52
	4.1. <u>Derivados N-sustituídos.</u>	53
	4.2. <u>Derivados N, O-sustituídos.</u>	60
	4.2.1. Reacciones de acetilación	60
	4.2.2. Reacciones de carbonatación.	64
	4.2.3. Reacciones de cetalación.	70
	4.2.4. Derivados obtenidos a partir de la 5,6- <u>O</u> -ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra- <u>N</u> -me- toxicarbonilneamina	83
	4.2.5. Reacciones de bencilación	92
5.	<u>DEGRADACION DE DERIVADOS DE NEAMINA. SINTESIS DE NUEVOS DERIVADOS DE 2-DESOXIESTREPTAMINA.</u>	95

5.1.	<u>Metanolisis de derivados de neamina.</u>	97
5.1.1.	Metanolisis de la 1,3,2',6'-tetra-N- etoxicarbonilneamina	98
5.1.2.	Intentos de metanolisis de la 5,6,3',4'- tetra-O-bencil-1,3,2',6'-tetra-N-eto- xicarbonilneamina	100
5.2.	<u>Degradaciones oxidativas de derivados de la neamina</u>	102
5.2.1.	Oxidación con periodato de la 5,6-O- ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-me- toxicarbonilneamina: Formación del "dial- dehido"	105
5.2.2.	Obtención del "dialcohol"	108
5.2.3.	Hidrólisis del "dialcohol"	110
5.3.	<u>Degradación básica del "dialdehido". Ob- tención de la 5,6-O-ciclohexiliden-2-de- soxi-1,3-di-N-metoxicarbonilestreptamina .</u>	113
5.4.	<u>5,6-O-ciclohexiliden-2-desoxiestreptamina.</u>	125
6.	<u>PARTE EXPERIMENTAL</u>	127
6.1.	<u>Métodos generales.</u>	128
6.2.	<u>Materias primas</u>	131
6.3.	<u>Clorhidrato de neamina</u>	135
6.4.	<u>Derivados de la 2-desoxiestreptamina</u>	138
6.5.	<u>Derivados N-sustituídos de neamina</u>	142

6.5.1. 1,3,2',6'-Tetra- <u>N</u> -metoxicarbonil-	
neamina.	142
6.5.2. 1,3,2',6'-Tetra- <u>N</u> -etoxicarbonil-	
neamina.	143
6.5.3. 1,3,2',6'-Tetra- <u>N</u> -[2-(4-oxo-2-pentenil)	
amino]neamina.	146
6.6. <u>Derivados N, O-sustituídos</u>	148
6.6.1. Reacciones de acetilación.	148
6.6.1.1. 5,6,3',4'-Tetra- <u>O</u> -acetil-1,3,2',6'-	
tetra- <u>N</u> -metoxicarbonilneamina.	148
6.6.1.2. Desacetilación catalítica de	
5,6,3',4'-tetra- <u>O</u> -acetil-1,3,2',6'-	
tetra- <u>N</u> -metoxicarbonilneamina.	149
6.6.1.3. 5,6,3',4'-Tetra- <u>O</u> -acetil-1,3,2',6'-	
tetra- <u>N</u> -etoxicarbonilneamina	149
6.6.1.4. Desacetilación catalítica de	
5,6,3',4'-tetra- <u>O</u> -acetil-1,3,2',6'-	
tetra- <u>N</u> -etoxicarbonilneamina	151
6.6.2. Reacciones de carbonatación. Prepara-	
ción de 5,6:3',4'-di- <u>O</u> -carbonato-	
1,3,2',6'-tetra- <u>N</u> -etoxicarbonil-	
neamina	152
6.6.3. Reacciones de cetalación	153
6.6.3.1. Acetonación de la 1,3,2',6'-tetra-	
<u>N</u> -etoxicarbonilneamina	153

6.6.3.2. Ciclohexilidenación de 1,3,2',6'- tetra- <u>N</u> -metoxicarbonilneamina. Obtención de 5,6:3',4'-di- <u>O</u> -ciclo- hexiliden-1,3,2',6'-tetra- <u>N</u> -metoxi- carbonilneamina y 5,6- <u>O</u> -ciclohexiliden- 1,3,2',6'-tetra- <u>N</u> -metoxicarbonil- neamina	154
6.6.4. Derivados obtenidos a partir de la 5,6- <u>O</u> -ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra- <u>N</u> -me- toxicarbonilneamina	159
6.6.4.1. 5,6- <u>O</u> -ciclohexiliden-3',4'-di-(2,2,2- tricloroetoxicarbonil)-1,3,2',6'-te- tra- <u>N</u> -metoxicarbonilneamina	159
6.6.4.2. 3',4'-di- <u>O</u> -(2,2,2-tricloroetoxicarbo- nil)-1,3,2',6'-tetra- <u>N</u> -metoxicarbonil- neamina	160
6.6.4.3. 5,6- <u>O</u> -acetil-3',4'-di-(2,2,2-tricloro- etoxicarbonil)-1,3,2',6'-tetra- <u>N</u> -me- toxicarbonilneamina.	161
6.6.4.4. Intentos de separar los grupos tricloro- roetoxicarbonilos de 5,6- <u>O</u> -acetil- 3',4'-di-(2,2,2-tricloroetoxicarbonil)- 1,3,2',6'-tetra- <u>N</u> -metoxicarbonilnea- mina	162
6.6.5. Reacciones de bencilación	163

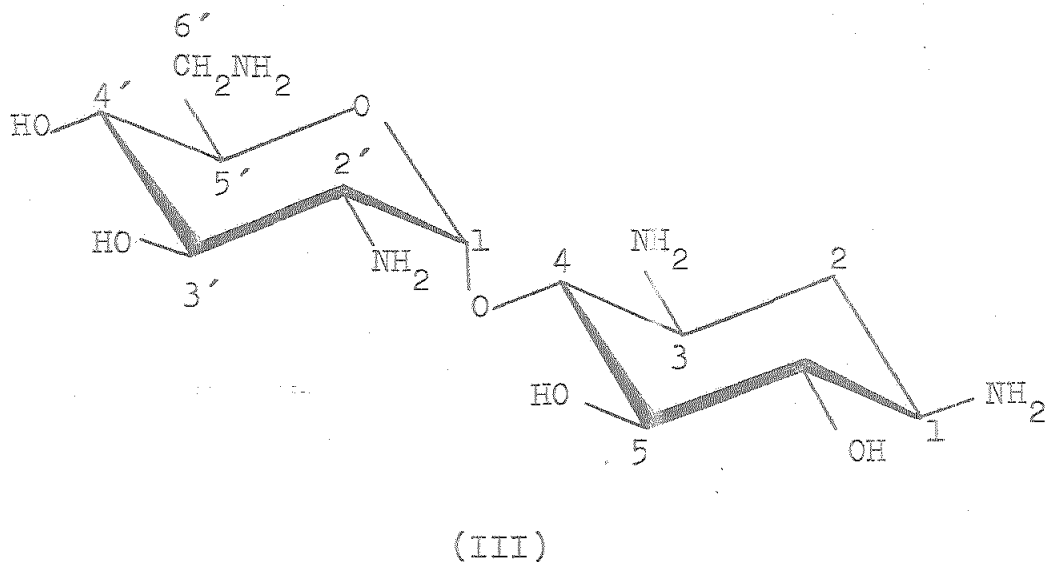
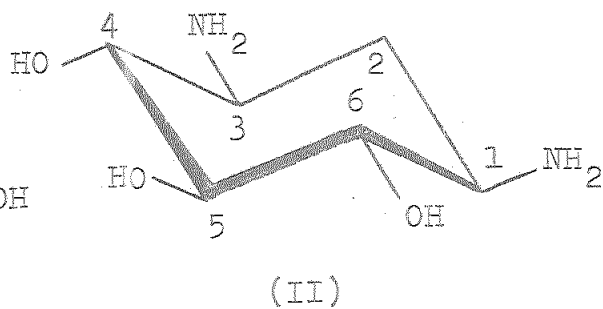
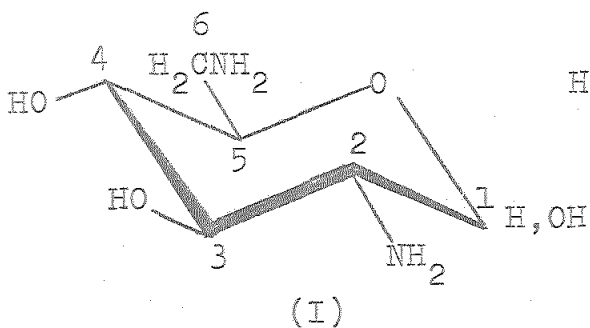
6.6.5.1. Preparación de 5,6,3',4'-tetra-O-bencil-1,3,2',6'-tetra-N-metoxi-carbonilneamina.	163
6.6.5.2. Preparación de 5,6,3',4'-tetra-O-bencil-1,3,2',6'-tetra-N-etoxi-carbonilneamina.	164
6.7. <u>Metanolisis de derivados de neamina</u>	166
6.7.1. Metanolisis de la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina. Formación del metil-2,6-di-etoxicarbonilamino-2,6-didesoxi- α -D-glucopiranosido y 2-desoxi-1,3-di-N-etoxicarbonilestreptamina	166
6.7.2. Intentos de metanolisis de la 5,6,3',4'-tetra-O-bencil-1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina.	167
6.8. Degradaciones oxidativas de derivados de la neamina.	169
6.8.1. Oxidación con periodato de la 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina. Formación de "dialdehído".	169
6.8.2. Reducción del "dialdehído".	171
6.8.3. Hidrólisis del "dialcohol".	172
6.8.3.1. Hidrólisis total	172

6.8.3.2. Hidrólisis parcial.	172
6.9. <u>Degradaciones básicas del "dialdehído"</u> .	174
6.9.1. Obtención del 5,6- <u>O</u> -ciclohexiliden- 1,3-di- <u>N</u> -metoxicarbonil-2-desoxiestrep- tamina	174
6.9.2. 4- <u>O</u> -acetil-5,6- <u>O</u> -ciclohexiliden-1,3-di- <u>N</u> -metoxicarbonil-2-desoxiestreptamina .	175
6.9.3. 5,6- <u>O</u> -ciclohexiliden-2-desoxiestrepta- mina	177
7. CONCLUSIONES.	179
8. BIBLIOGRAFIA.	186

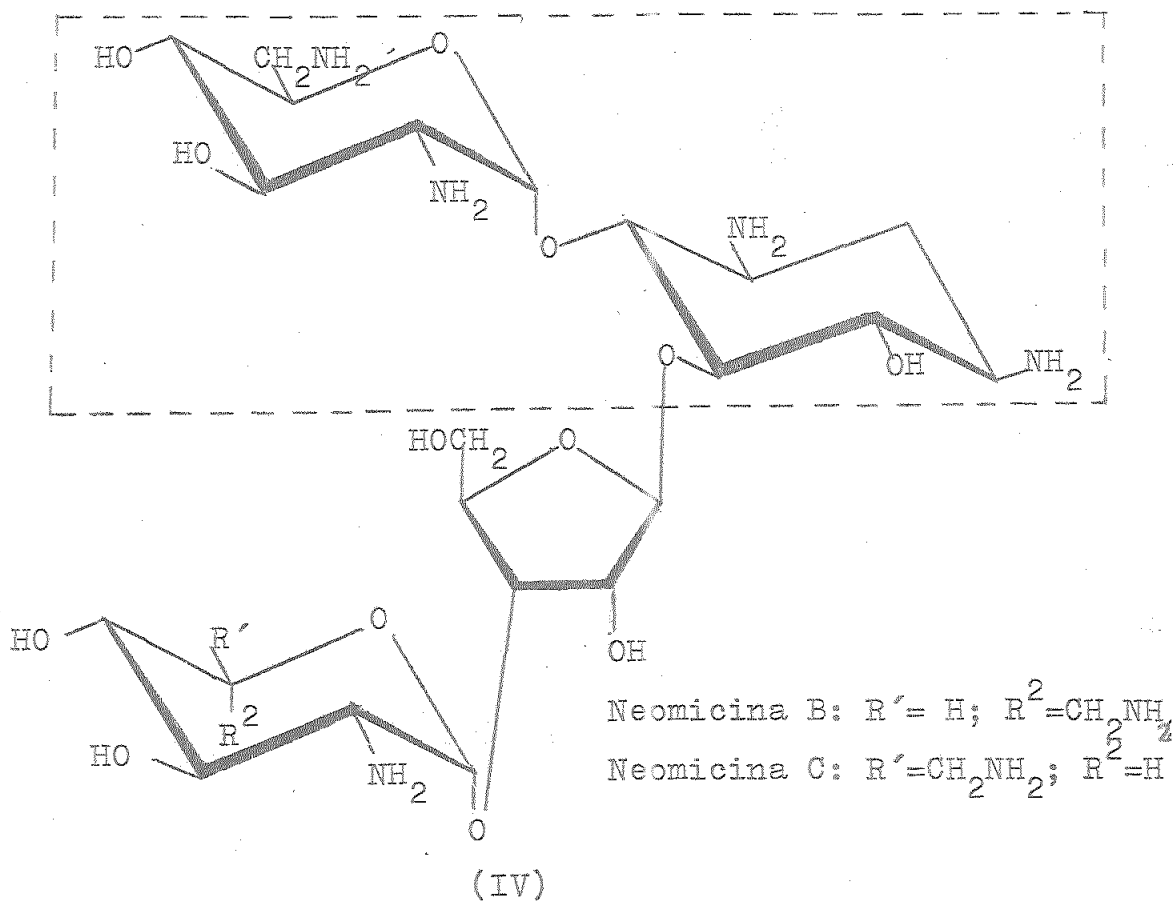
1. INTRODUCCION

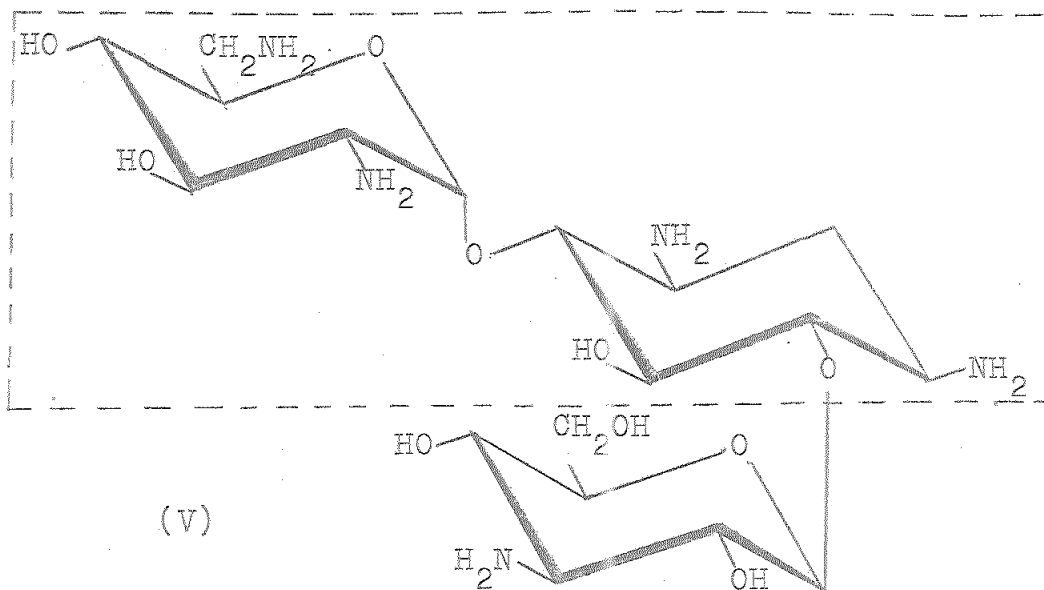
1. INTRODUCCION

La neamina o neomicina A es un aminoglicósido formado por la diaminohexosa 2,6-diamino-2,6-dideoxi-D-glucosa (neosamina C, glucosa-2,6-diamina, fórmula I) y el aglicón 2-desoxiestreptamina (II); su nombre, según el sistema de nomenclatura recomendado por la IUPAC, es 4-(2,6-diamino-2,6-dideoxi- α -D-glucopiranosil)-2-desoxiestreptamina (III).



La neamina (neomicina A) es una sustancia natural que se encuentra, mezclada con las neomicinas B y C, formando parte del antibiótico comercial "neomicina", aislado por Waksman¹ del Streptomyces fradiae y del S. albogriseus, que tiene un amplio uso clínico. La neamina posee propiedades antibióticas, aunque débiles en comparación con las de otros antibióticos aminoglicosídicos. Pero la importancia especial que tiene la neamina proviene de que es una unidad estructural que está contenida en otros antibióticos más poderosos; este hecho se puede apreciar bien comparando la estructura de la neamina (III) con las correspondientes a las neomicinas B y C (IV) y a la kanamicina B (V) (en estas fórmulas la porción de la neamina se ha destacado enmarcándola en un recuadro).





Por consiguiente, un gran número de antibióticos aminoglicosídicos de importancia terapéutica son glicosil-derivados de la neamina o, dicho en otros términos, glicósidos en los cuales la neamina es el aglicón, resultando evidente que la glicosilación del hidroxilo en 5 ó en 6 de la neamina refuerza grandemente las propiedades antibióticas débiles de ésta.

No obstante el interés que suscita la neamina, su química ha sido relativamente poco investigada. Casi todo lo que se conoce en relación con el comportamiento químico de esta sustancia está basado en el estudio realizado por Rinehart y colaboradores con objeto de establecer las estructuras de las neomicinas y que aparecen recopilados en la monografía "The Neomycins and Related Antibiotics"² de este autor.

En la actualidad son objeto de investigación intensa las modificaciones por vía química o microbiológica de algunos de los grupos funcionales existentes en los anillos de azúcar que forman los antibióticos aminoglicosídicos o las sustituciones de unos anillos de azúcar por otros. La finalidad que tienen estas transformaciones es preparar antibióticos modificados o semisintéticos que sean menos tóxicos y más potentes farmacológicamente que el antibiótico original y, por otra parte, sean activos frente a mutantes de bacterias patógenas que han desarrollado un factor R (de resistencia). De estas investigaciones es posible, además, deducir interesantes conclusiones sobre las relaciones existentes entre la estructura química del antibiótico y su actividad. Hay dos revisiones bibliográficas^{3,4} en que se discuten estos aspectos de la química de los antibióticos aminoglicosídicos.

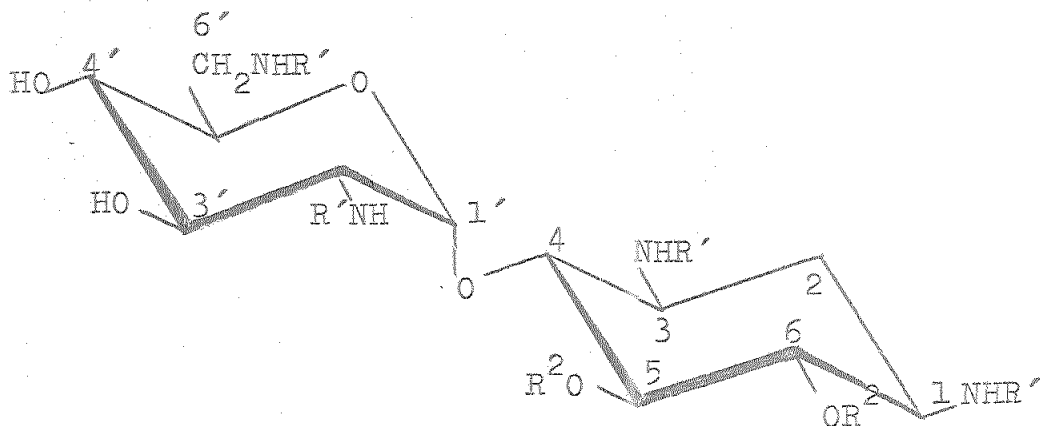
Dos estrategias son posibles al abordar la modificación de un antibiótico. Una consiste en actuar sobre el antibiótico íntegro modificando selectivamente una o varias de las funciones químicas que contiene; en este caso, el antibiótico modificado mantiene usualmente el esqueleto carbonado e incluso la trabazón de anillos existentes en la sustancia original. En la segunda estrategia se parte de un fragmento relativamente simple del antibiótico a modificar y a este fragmento se van adicio-

nando las otras unidades estructurales (usualmente nuevos grupos glicosilos) que han de recomponer el nuevo aminoglicósido semi-sintético cuya actividad se habrá de probar. Este segundo camino puede ser más complejo químicamente, pero la mayor dificultad química se compensa por la posibilidad de introducir cambios más profundos en la estructura original.

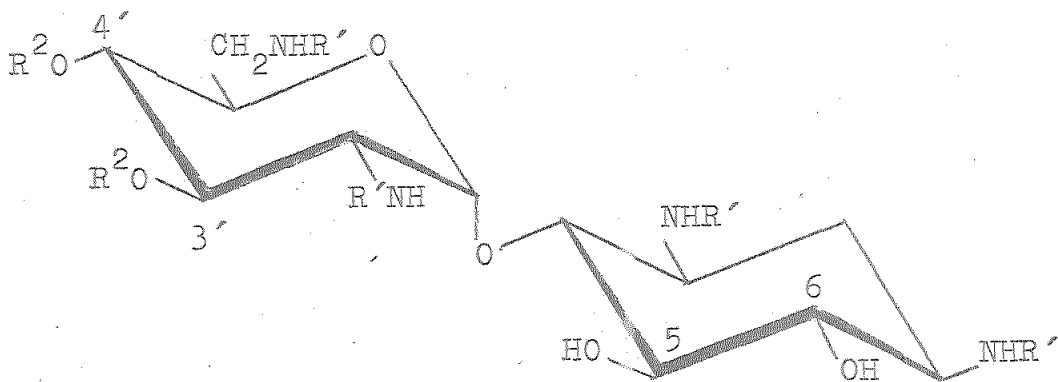
En un programa de investigación sobre síntesis de aminoglicósidos con actividad farmacológica potencial, actualmente en desarrollo en este Departamento, se proyectó la modificación de antibióticos del tipo de las neomicinas y kanamicinas siguiendo la segunda de las vías anteriormente indicadas. Como estructuras simples de partida se consideraron derivados adecuadamente polisustituídos de la neamina (III) y de la propia 2-desoxiestreptamina (II) las cuales serían asequibles por la degradación apropiada de los aminoglicósidos naturales que contienen estas unidades.

Entre los derivados de neamina requeridos se encontraban los de las estructuras siguientes:

Tipo A: Derivados tetra-N-sustituídos, di-O-sustituídos en las posiciones 5 y 6, y conservando libres los hidroxilos en 3' y 4'.



Tipo B: Derivados tetra-N-sustituídos, di-O-sustituídos en las posiciones 3' y 4', y conservando libres los hidroxilos en 5 y 6.

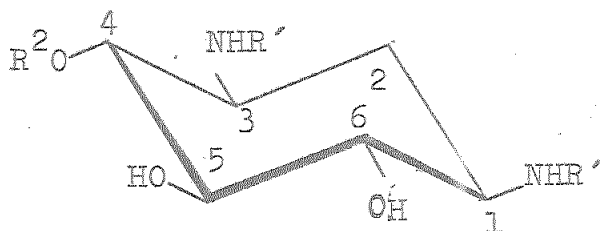


Como sustancia de partida para estos compuestos se ofrecía como más atractiva la propia neamina.

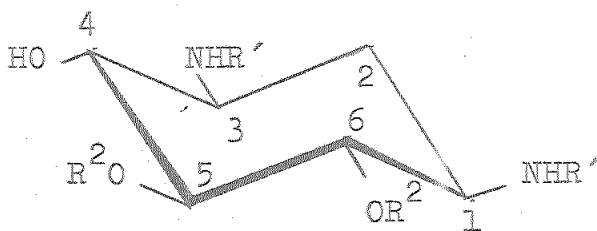
Los derivados de 2-desoxiestreptamina que

se requerían habían de tener las estructuras siguientes:

Tipo C: Derivados di-N-sustituidos, 4-O-sustituidos, manteniendo libres los hidroxilos en las posiciones 5 y 6.



Tipo D: Derivados di-N-sustituidos, 5,6-di-O-sustituidos, conservando libre la posición 4.



A primera vista podría parecer que la sustancia de partida más apropiada para obtener estos dos últimos tipos de derivados es la propia 2-desoxiestrep-tamina. Se debe observar, sin embargo, que mientras las

sustancias de los Tipos C y D son asimétricas (quirales), la 2-desoxiestreptamina (II) posee un plano de simetría (perpendicular al plano medio de la cadena carbonada y que pasa por las posiciones 2 y 5), lo cual determina que las posiciones 4 y 6 sean enantiotópicas, y frente a reactivos no quirales se comporten como químicamente equivalentes. Por consiguiente, la modificación por un reactivo aquiral de la 2-desoxiestreptamina 1,3-di-N-sustituída para obtener, por ejemplo, un derivado 4-O-sustituído del Tipo C llevaría a la formación simultánea, en igual proporción, del correspondiente derivado 6-O-sustituído formándose una mezcla equimolecular de enantiómeros (racemato) de separación problemática. Si el reactivo empleado para introducir el sustituyente es asimétrico (es decir, si en el derivado R² es un grupo quiral se formaría una mezcla de diastereoisómeros; este último caso se ha presentado en las síntesis publicadas de algunos aminoglicósidos (kanamicinas, neamina, etc)⁵ en que se usaron derivados racémicos de la 2-desoxiestreptamina con el OH en 4 (o en 6) sin proteger: la siguiente glicosilación de este racemato dió una mezcla del 4-O- α y 6-O- α -glicosil derivados diastereoisómeros que sólo se lograron separar, con bajos rendimientos, tras cuidadosas cromatografías en columna. Estas síntesis hubieran sido más efectivas si se hubiera dispuesto, separadamente, de los derivados del Tipo D, con el OH en 4 libre y los 5-OH

y 6-OH sustituidos, y sus enantiómeros con el OH-6 libre y los hidroxilos en 4 y 5 sustituidos. Para salvar estas dificultades, en nuestras investigaciones hemos evitado el uso de racematos, trabajando con los compuestos asimétricos de los Tipos C y D señalados. Estos compuestos podrían ser asequibles partiendo de derivados de la 2-desoxiestreptamina que sean de antemano quirales, por ejemplo, la propia neamina (III).

La presente Tesis ha tenido como objetivo el desarrollo de métodos para la preparación de los compuestos de los Tipos A-D. Su exposición es como sigue:

En la sección 2 se presentan los datos existentes en la literatura sobre la química de la neamina, haciendo especial referencia a los derivados de los tipos A y B que pudieran existir o a sus posibles precursores.

Dado que en esta investigación se necesitaba disponer de cantidades grandes de neamina, era necesario disponer de antemano de un método que hiciera asequible este aminoglicósido de una manera fácil partiendo de una sustancia comercial. En la Sección 3 se examinan críticamente los diferentes métodos conocidos que permiten obtener este compuesto y basándose en el conocimiento así adquirido se describe el desarrollo de un procedimiento en que se parte de la neomicina comercial.

La Sección 4 está dedicada a describir nuevos derivados de neamina o perfeccionar métodos para obtener derivados conocidos, que sean de los Tipos A y B o intermedios para su preparación. En sus dos diferentes subsecciones, la (4.1) está dedicada a los derivados tetra-N-sustituídos y la (4.2) a los derivados sustituídos en el nitrógeno y sustituídos también, total o parcialmente, en los oxígenos.

Los diferentes ensayos de conversión de derivados de neamina en derivados asimétricamente sustituidos de la 2-desoxiestreptamina se describen en la Sección 5. Algunos de estos derivados corresponden ya a las estructuras Tipos C y D, o pueden ser inmediatos precursores de ellas.

La Sección 6 comprende la PARTE EXPERIMENTAL.

La exposición de la Tesis se completa con la presentación de las Conclusiones obtenidas en este estudio (Sección 7), y en la Sección 8 se reúne la bibliografía manejada.

2. ANTECEDENTES SOBRE LA QUIMICA DE LA NEAMINA

2. ANTECEDENTES SOBRE LA QUIMICA DE LA NEAMINA

2.1. La estructura de la neamina.

Como se ha indicado anteriormente, el desarrollo de la química de la neamina está asociado en sus comienzos, al estudio de la neomicina. Este antibiótico había sido descubierto en 1949 por Waksman y Lechevalier¹ y había despertado un enorme interés por ser activo frente al bacilo de la tuberculosis y a otras bacterias resistentes a la estreptomycin. El intenso estudio químico a que fue sometida subsiguientemente la neomicina indicó que se trataba de una mezcla de por lo menos tres especies químicas que fueron aisladas y designadas como neomicinas A, B y C. La primera descripción del componente minoritario, la neomicina A, es debida a Peck y colaboradores⁶ que obtuvieron preparados cristalinos bastante puros del clorhidrato, del p-hidroxifenilazobencenosulfonato y de otros sulfonatos. Independientemente, Dutcher y colaboradores⁷ hicieron un estudio de las neomicinas B y C, y encontraron que las metanolisis con cloruro de hidrógeno de estas sustancias dan un fragmento no reductor común a ambas, el cual caracterizaron como clorhidrato cristalino así como mediante una serie de derivados (N-acetil, N-benzoil, acetato, peracetato) igualmente cristalinos. Casi simultáneamente Leach y Teeters⁸

comunicaron que la hidrólisis con ácido sulfúrico 6N de la neomicina da igualmente un fragmento no reductor, que denominaron neamina, del cual obtuvieron cristalinos el clorhidrato y la base libre, así como un N-acetil y un peracetil derivados. Estas sustancias mostraron constantes físicas iguales, o similares, a los obtenidos del producto de las metanolisis de las neomicinas B y C y a los obtenidos directamente de la neomicina A. Posteriormente los mismos autores demostraron que, efectivamente, el producto obtenido por fermentación (neomicina A), y el fragmento (neamina) obtenido por hidrólisis de la neomicina eran idénticos al comparar los puntos de fusión, espectros i.r., movilidades cromatográficas y actividad antimicrobiana de muestras de ambas sustancias y por la prueba del punto de fusión mixto. Los datos analíticos de neomicina A o neamina y de sus derivados, así como la determinación del peso molecular permitió también a estos autores^{8,9} establecer su fórmula empírica $(C_6H_{12-14}N_2O_3)_2$. Casi simultáneamente Dutcher y Donin¹⁰ confirmaron estas conclusiones y establecieron la identidad del producto de las metanolisis de las neomicinas B y C con el producto de la hidrólisis (neamina) y con la neomicina A. Es habitual en la bibliografía designar a este producto con el nombre de neamina abandonando el de neomicina A. Las propiedades físicas de la sustancia

y sus sales se han indicado en la Tabla I.

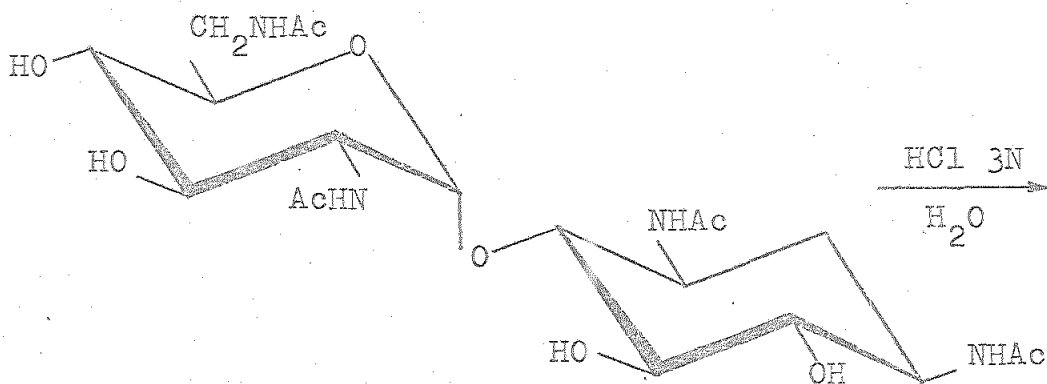
TABLA I
PROPIEDADES DE LA NEAMINA Y SUS SALES

	PF	$[\alpha]_D$ (solvente)	Ref
<u>NEAMINA BASE</u>			
	256°(desc.)	123°(H ₂ O)	8,9
	280°(desc.)	123°(H ₂ O)	
	250-260°(desc.)	112,8°;123,5°(H ₂ O)	6
<u>SALES DE NEAMINA</u>			
Clorhidrato	250-260°	83°(H ₂ O)	6
Sulfato	300°		6
Picrato	262-265°(desc.)		6
Heliantato	170-230°	50°(H ₂ O)	6
p-(p'-hidroxifenil- azo)-bencensulfonato	204-214°		6

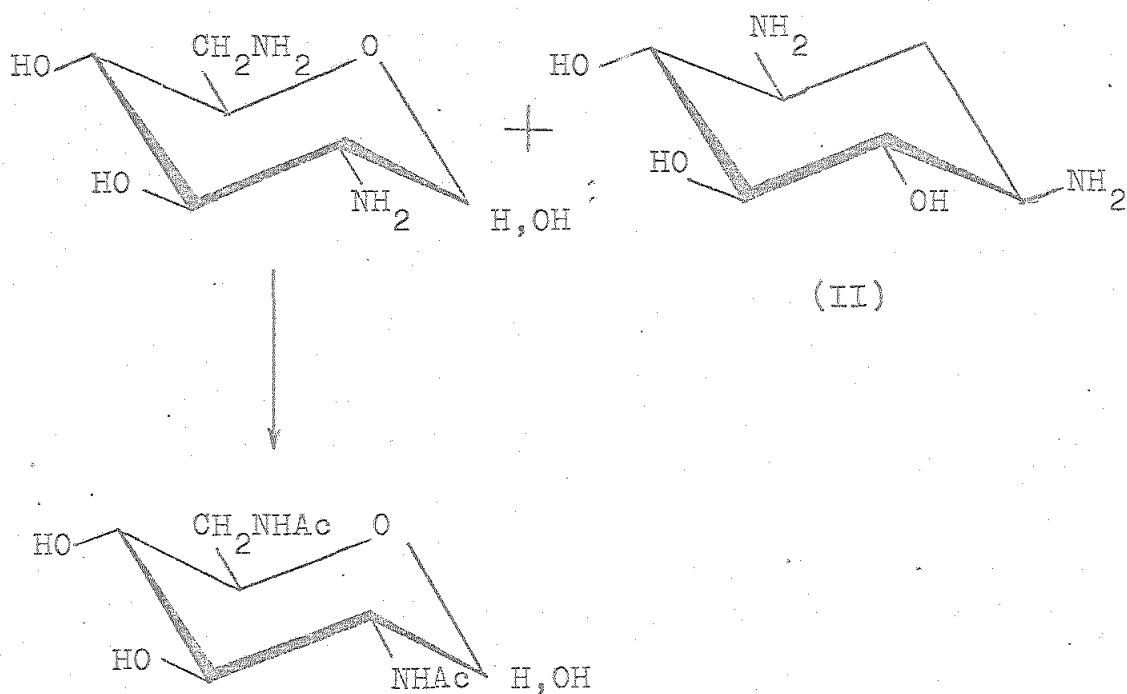
El establecimiento de la estructura de la neamina fué el resultado de los trabajos de varios grupos de investigadores; estos trabajos se inician en 1951 y culminan con la formulación completa en todos sus detalles de la sustancia por Hichens y Rinehart¹¹ en 1963. Estas investigaciones aparecen descritas con detenimiento en la monografía de Rinehart² antes mencionada; no obstante, vamos a hacer a continuación una breve reseña de los hechos básicos que apoyan la estructura de la neamina y, que por otra parte, son de especial interés

y relevancia en relación con las investigaciones que forman esta tesis.

La neamina es una base tetraácida débil, de carácter no reductor, extraordinariamente resistente a la hidrólisis lo cual es una consecuencia de que el enlace glicósido está flanqueado por dos grupos NH_2 y tiene otros dos próximos; solamente en condiciones muy drásticas (ebullición con ácido clorhídrico 12N o con ácido bromhídrico al 48%) se logra escindir en dos fragmentos aproximadamente iguales, la 2-desoxiestreptamina (II) y la 2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucosa o neosamina C (I)¹². En estas condiciones sólo se consigue aislar la 2-desoxiestreptamina; la neosamina C se descompone y sólo se puede detectar cromatográficamente². Por el contrario y como es de prever, la tetra-N-acetilneamina (VI), que carece de carácter básico, se hidroliza¹³ en condiciones relativamente suaves (ácido clorhídrico 3N) dando 2-desoxiestreptamina y una diaminohecosa cuyo N,N'-diacetil derivado se identificó con la 2,6-diacetamido-2,6-didesoxi-D-glucosa que se obtiene¹⁴ por síntesis.

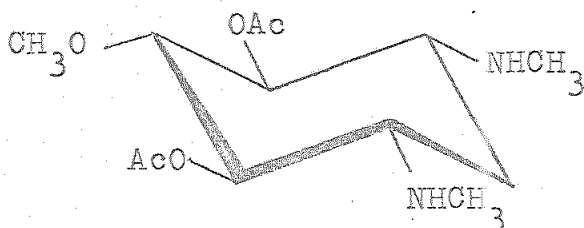


(VI)



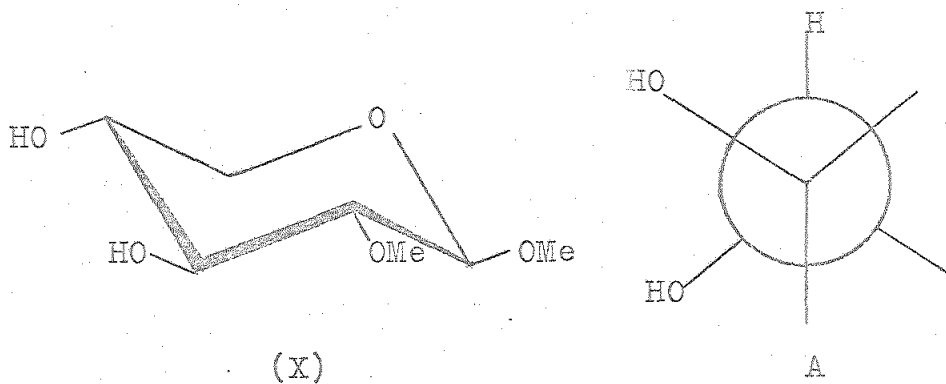
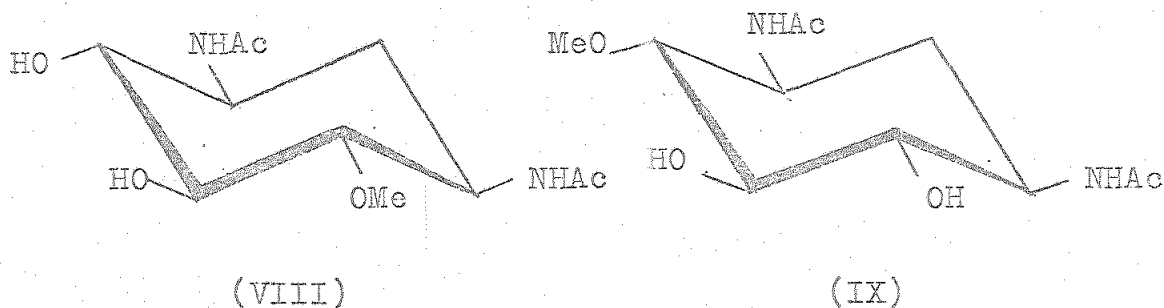
Por otra parte, la estructura de la 2-desoxiestreptamina (II) como un 1,3-diamino-4,5,6-trihidroxiciclohexano fue establecida por Kuehl, Bishop y Folkers¹² mediante estudios de degradación peryódica; estos autores ya establecieron el carácter meso del compuesto por su falta de actividad óptica, lo que implica la existencia de un plano de simetría en la molécula y

la disposición cis de los dos grupos amino y los hidroxilos en 4 y 6; también sugirieron que, por analogía con la estreptamina conocida anteriormente, los grupos amino e hidroxilo deberían estar todos en disposición trans. La prueba principal de esta estructura "toda-trans" se derivó¹⁵ del espectro de RMN de la 2-didesoxiestreptamina y su 4,6-di-O-acetil-1,3-N-dimetil-5-O-metil derivado (VII): las constantes de acoplamiento observadas sólo son compatibles con esta estereoquímica.

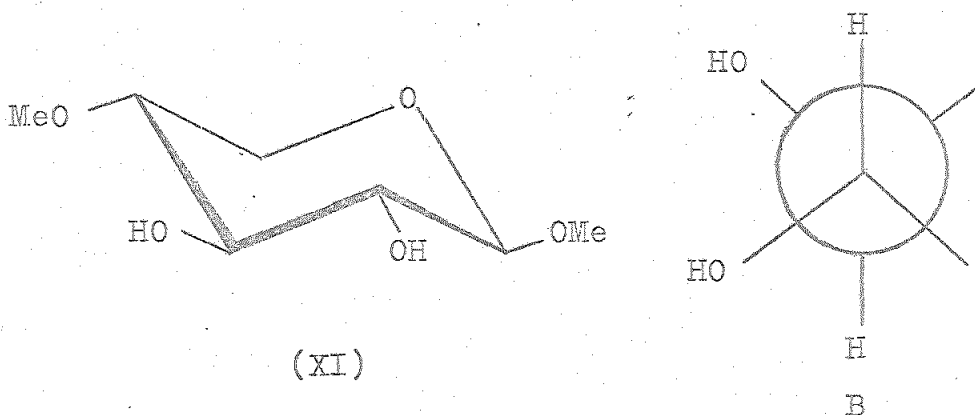


La posición de la unión glicosídica, 1→4 ó 1→6, de la neamina y la existencia de la neosamina C en forma piranósica se dedujo¹³ de los estudios de la oxidación con peryodato de la 1,3-di-N-acetilneamina (VI), y la configuración anomérica α de estudios polarimétricos¹³ y de los espectros de RMN¹⁶. Finalmente, la decisión por la unión 1→4, excluyendo la 1→6, se hizo¹¹ al obtenerse por hidrólisis de la hexa-N-acetil-hepta-O-

metil neomicina B (una molécula que, como se ha indicado anteriormente, contiene la neamina como elemento estructural) la di-N-acetil-2-desoxi-6-O-metilestreptamina (VIII); la configuración absoluta de esta molécula quedó establecida teniendo en cuenta el fuerte incremento positivo de la rotación molecular en solución de cupramonio ($\Delta M_{\text{cupra B}} = +1590$)¹⁷, característica de los glicoles vecinales piranósicos de la configuración relativa A (como, por ejemplo, el metil-2-O-metil- β -D-glucopiranosido, X, $\Delta M_{\text{cupra B}} = +2190$).



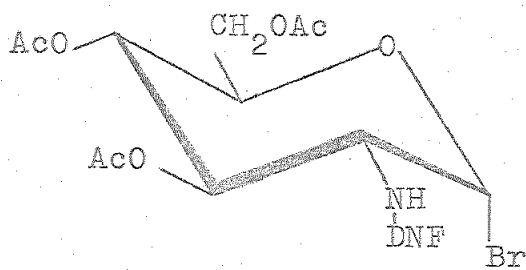
Si la neamina fuese un derivado 6-O-sustituido de la 2-desoxiestreptamina, la hidrólisis del derivado per-N-acetilado y per-O-acetilado de las neomicinas tendría la estructura IX (o sea, sería un 4-O-Me derivado),



en que la configuración relativa del agrupamiento glicol es la B caracterizada por un valor de $\Delta M_{\text{cupra B}}$ fuertemente negativo, como, por ejemplo, el del metil 4-O-metil- β -D-glucopiranosido (XI, $\Delta M_{\text{cupra B}} = -2020$)¹¹.

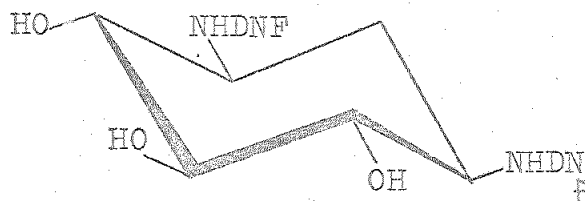
La estructura (III) de la neamina fue confirmada posteriormente al llevarse a cabo su síntesis (Esquema 1) por Umezawa y colaboradores^{18,19}. La reacción de Koenigs-Knorr del bromuro de 3,4,6,-tri-O-acetil-2-(2,4-dinitroanilino)-2-desoxi- α -D-glucopiranosilo (XII) con 2-desoxi-1,2-di-(2,4-nitrofenil) estreptamina (XIII) dió una mezcla de glicósidos de la cual se aisló después de acetilar, el isómero (XIV). La eliminación de los grupos protectores de este compuesto suministró el pseudodi-

Esquema 1



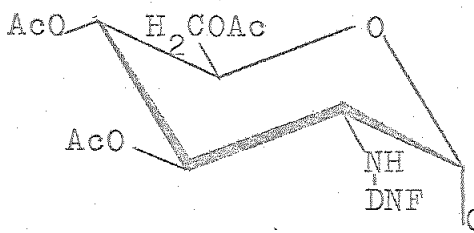
(XII)

+

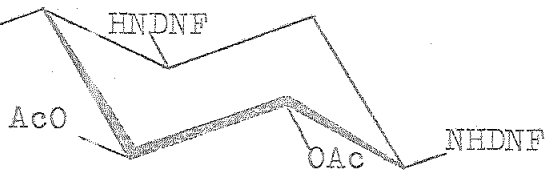


(XIII)

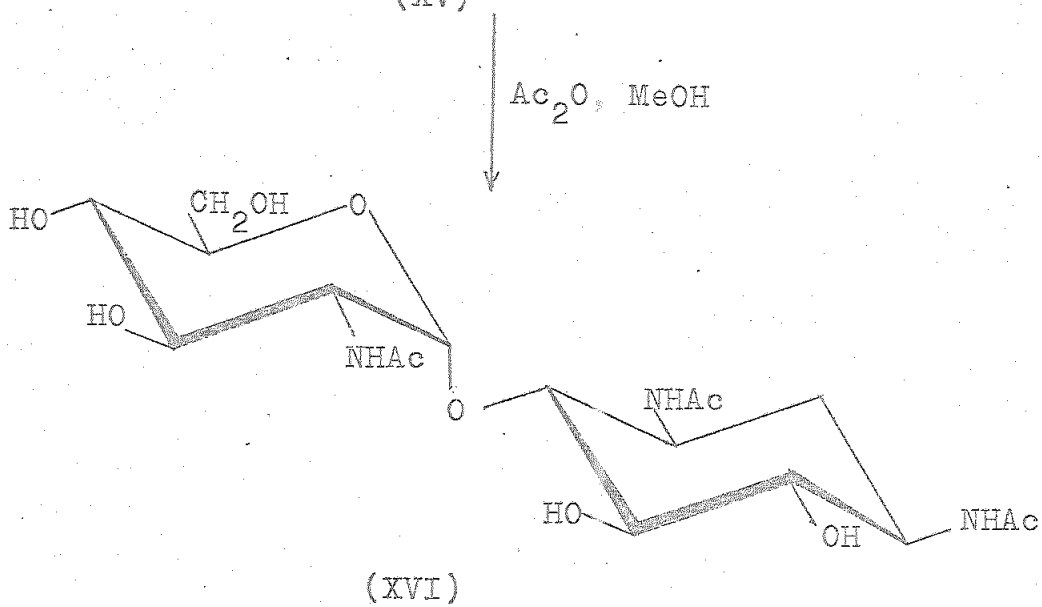
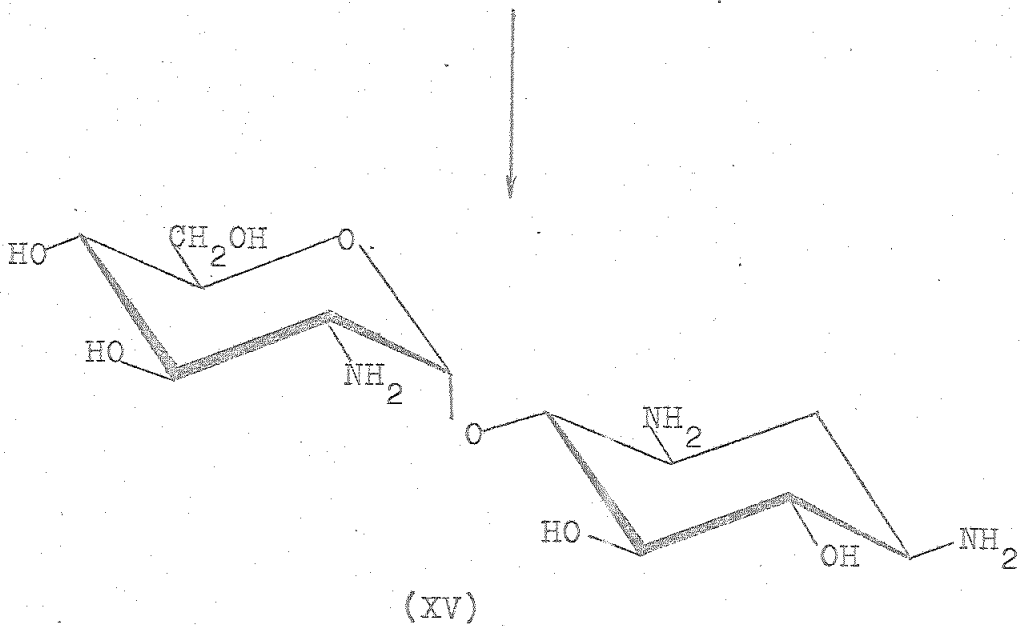
- 1) $(CN)_2Hg, Br_2Hg$
2) acetilación



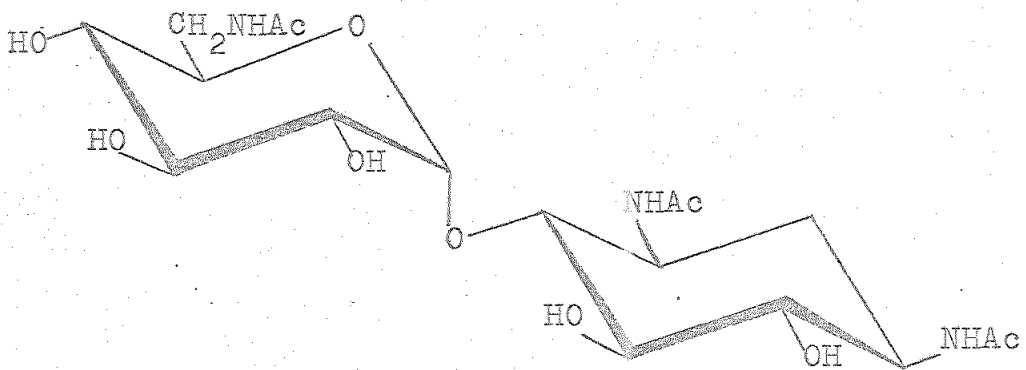
(+ isómeros)



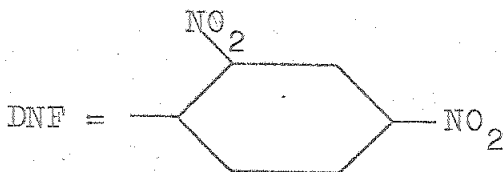
(XIV)



- 1) Tosilación selectiva
2) N_3Na , DMF
3) H_2 , PtO_2
4) Ac_2O , MeOH



(VI)



sacárido XV que se mostró idéntico a la paromamina natural, cuya estructura había sido previamente demostrada por estudios de degradación. El tri-N-acetil derivado de la paromamina (XVI) se convirtió en la tetra-N-acetil neamina (VI) por la secuencia de reacciones "standard" que se indica en el Esquema 1. El producto sintético y el obtenido a partir de la neamina producida por fermentación fueron idénticos. Las transformaciones resumidas en el Esquema 1, juntamente con la síntesis de la 2-desoxiestreptamina²⁰, constituyen la síntesis total de la neamina.

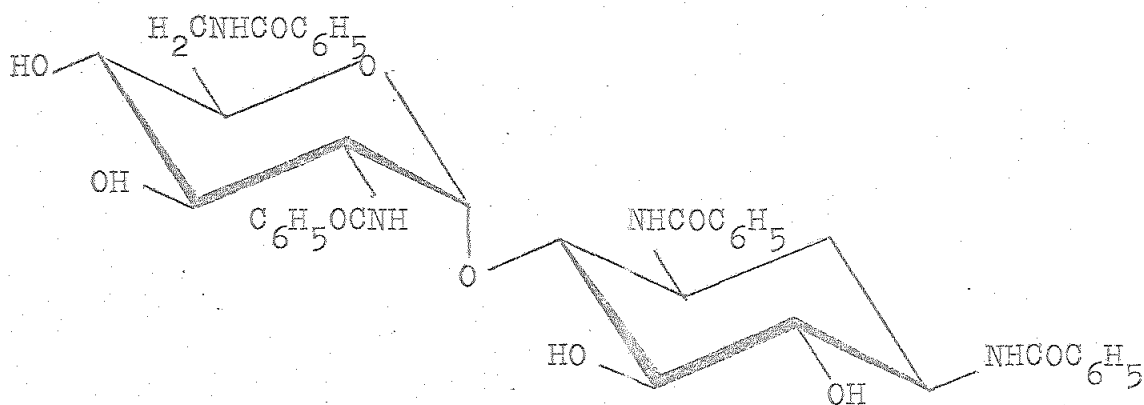
2.2. Derivados de la neamina.

2.2.1. Derivados N-sustituidos.

Los derivados N-sustituidos de la neamina que aparecen descritos en la literatura son amidas y uretanos. Las primeras fueron preparadas en un principio, como hemos ido viendo en la sección anterior (2.1.), en relación con la determinación de la estructura de la sustancia y su caracterización, siendo el tetra-N-acetil derivado [1,3,2',6'-tetra-N-acetilneamina (VI)] el compuesto más usado con este fin. Esta sustancia fué preparada por primera vez por Dutcher y colaboradores^{7,10} por tratamiento de una mezcla de clorhidrato de neamina y acetato de plata con anhídrido acético en metanol; posteriormente fué obtenido completamente puro y con análisis correctos por Peck y otros⁶ por des-O-acetilación del per-

acetato de neamina que se menciona más adelante con amoníaco en metanol, y por el grupo de Rinehart¹³ mediante acetilación de la neamina base con la mezcla metanol-anhídrido acético.

La 1,3,2',6'-tetra-N-benzoilneamina (XVII) también fué descrito por primera vez por Dutcher y colaboradores^{7,10} y obtenido por tratamiento del clorhidrato

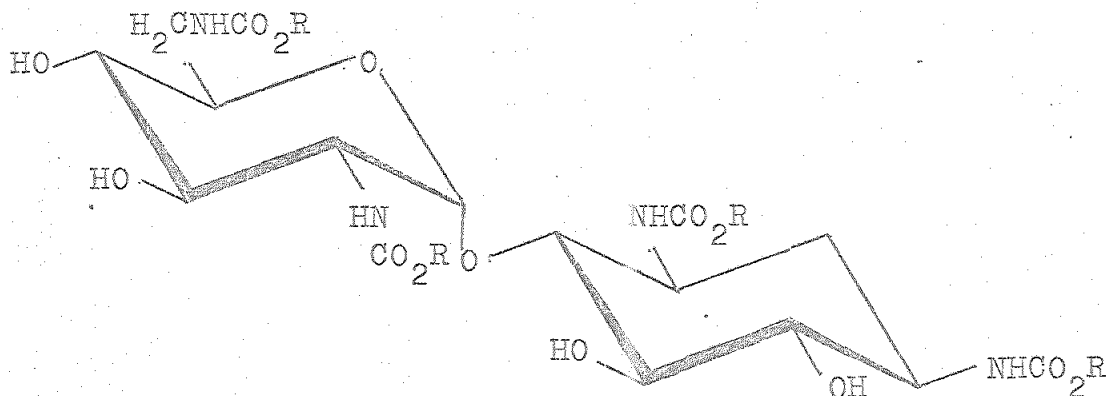


(XVII)

de neamina con cloruro de benzoilo en presencia de hidróxido de sodio según el procedimiento de Schotten-Bauman y saponificación subsiguiente del perbenzoato así producido. Con poca diferencia de tiempo Leach y Teeters⁸ des-

criben la misma sustancia partiendo de neamina base de otro origen y siguiendo fundamentalmente el mismo método; estos autores obtuvieron la fórmula empírica correcta del derivado.

El segundo grupo de derivados N-sustituidos de la neamina, los uretanos (XVIII), han sido descritos por el grupo de Umezawa en sus trabajos sobre síntesis de antibióticos aminoglicosídicos modificados.



(XVIII)

- a) $R = CH_3$
- b) $R = C_2H_5$
- c) $R = CH_2C_6H_5$

TABLA II

DERIVADOS DE LA NEAMINA N-SUSTITUIDOS

	PF	$[\alpha]_D$ (Solvente)	Referencias
1,3,2',6'-tetra-N-acetilneamina (VI)	~ 300°(desc.)	+ 88°(H ₂ O)	6,7,10,13
1,3,2',6'-tetra-N-benzoinneamina (XVII)	299-300°(desc.)	+ 70°(MeOH)	7,8,10
1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XVIIIa)	-----	+ 67°(H ₂ O)	21,22
1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina (XVIIIb)	-----	-----	23
1,3,2',6'-tetra-N-benzoxicarbonilneamina (XVIIIc)	259°(desc.)	+ 44°(DMF)	24

Estos uretanos tienen la ventaja sobre las amidas anteriormente descritas de que el grupo sustituyente CO_2R introducido en el nitrógeno se elimina con mayor facilidad (por hidrólisis básica o por hidrogenólisis) que el grupo acilo y también por su buena solubilidad en disolventes orgánicos. La 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XVIIIa) fué obtenida²¹ por tratamiento del clorhidrato de neamina con clorocarbonato de metilo en presencia de carbonato de plomo y purificada²² por desalinificación del producto bruto mediante extracciones con dioxano caliente. En cuanto a la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina (XVIIIb) existe una referencia²³ de haber sido usada en ciertas transformaciones de la neamina pero los autores no dan indicaciones sobre la preparación del producto ni sus propiedades. La 1,3,2',6'-tetra-N-benzoxicarbonilneamina (XVIIIc) fué preparada²⁵ como sustancia intermedia en la síntesis de la kanamicina B haciendo reaccionar la neamina base con clorocarbonato de bencilo en presencia de carbonato sódico. Las propiedades físicas de estas sustancias se incluyen en la Tabla II.

2.2.2. Derivados N- y O- sustituidos.

Los derivados de la neamina persustituidos en los grupos amínicos e hidroxílicos que se conocen son ésteres y acetales de las amidas o uretanos.

De los ésteres amida aparecen descritos el

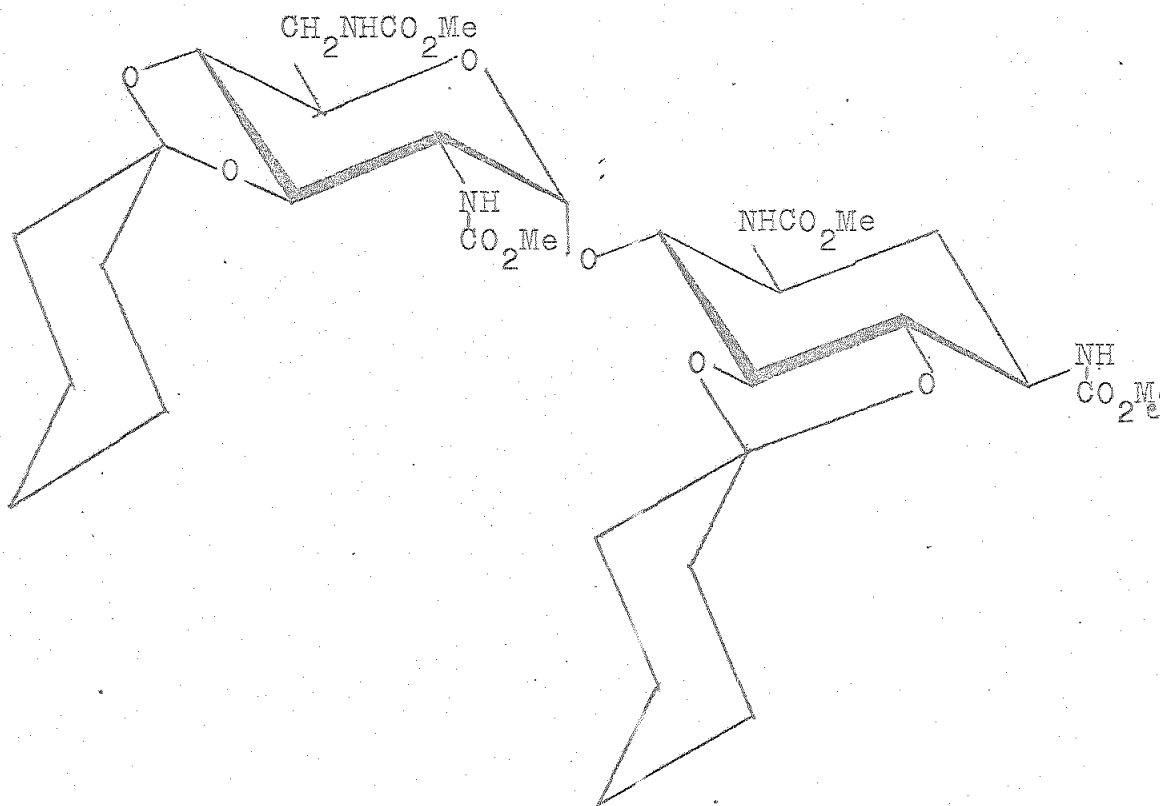
peracetato (1,3,2',6'-tetra-N-acetil-5,6,3',4'-tetra-O-acetilneamina) y el perbenzoato (1,3,2',6'-tetra-N-benzoil-5,6,3',4'-tetra-O-benzoilneamina). El primero de estos compuestos fué preparado con fines analíticos por primera vez por Dutcher y colaboradores^{7,10} por acetilación del N-acetilderivado (VI); y poco después por Leach y Teeters⁸ por acetilación directa de la neamina base. Peck y otros también describen una acetilación del clorhidrato de neamina con piridina y anhídrido acético. El octabenzoato se debe también a Leach y Teeters⁸ y fué obtenido por benzoilación directa de la neamina; el grupo de Peck⁶ describen también la benzoilación del clorhidrato del aminoglicósido. Ambos preparados eran sólidos amorfos que no dieron análisis correctos.

De los acetales de uretanos completamente sustituidos en la literatura sólo se menciona el diacetal (XIX). Este compuesto fué obtenido por Umezawa y colaboradores²² como producto minoritario de la reacción de la 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XVIIIa) con 1,1-dimetoxiciclohexano en presencia de ácido p-toluenosulfónico, sin que estos autores den los datos analíticos ni las constantes físicas. La estructura asignada al compuesto se dedujo del espectro de RMN. Las propiedades físicas de estas sustancias se incluyen en la Tabla III.

TABLA III

DERIVADOS DE LA NEAMINA N- Y O-SUSTITUIDOS

	PF	$[\alpha]_D$ (Solvente)	Referencias
5,6,3',4'-tetra-O-acetil-1,3,2',6'- tetra-N-acetilneamina	260-262° 261°	+49°(MeOH) +38°(MeOH)	7, 8, 10 6
5,6,3',4'-tetra-O-benzoil-1,3,2',6'- tetra-N-benzoilneamina	135-140° 175-180°	+105°(MeOH) +97°(MeOH)	8 6
5,6:3',4'-di-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'- tetra-N-metoxicarbonilneamina (XIX)			22

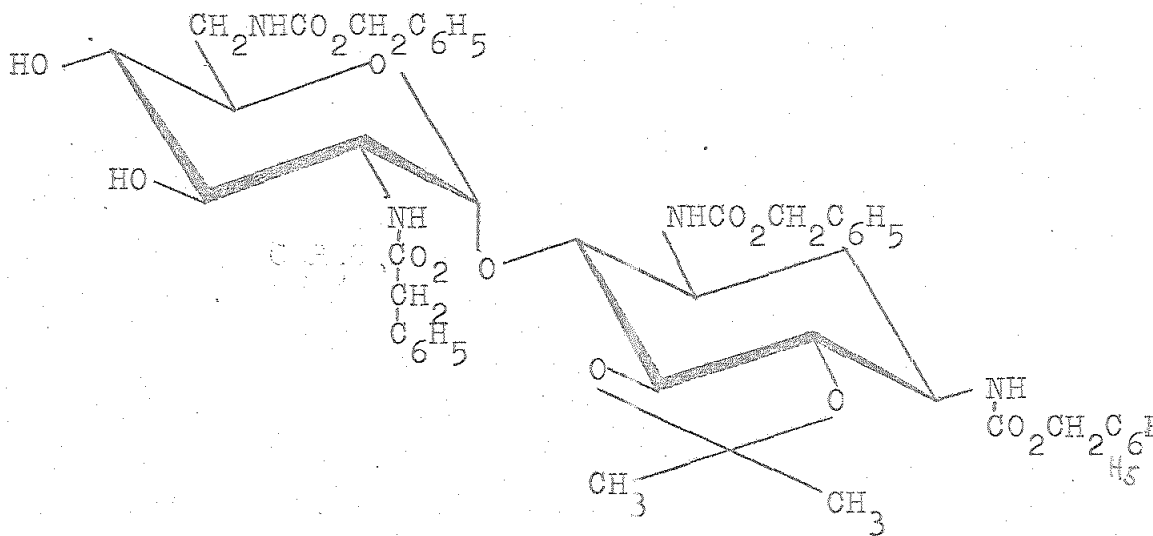


(XIX)

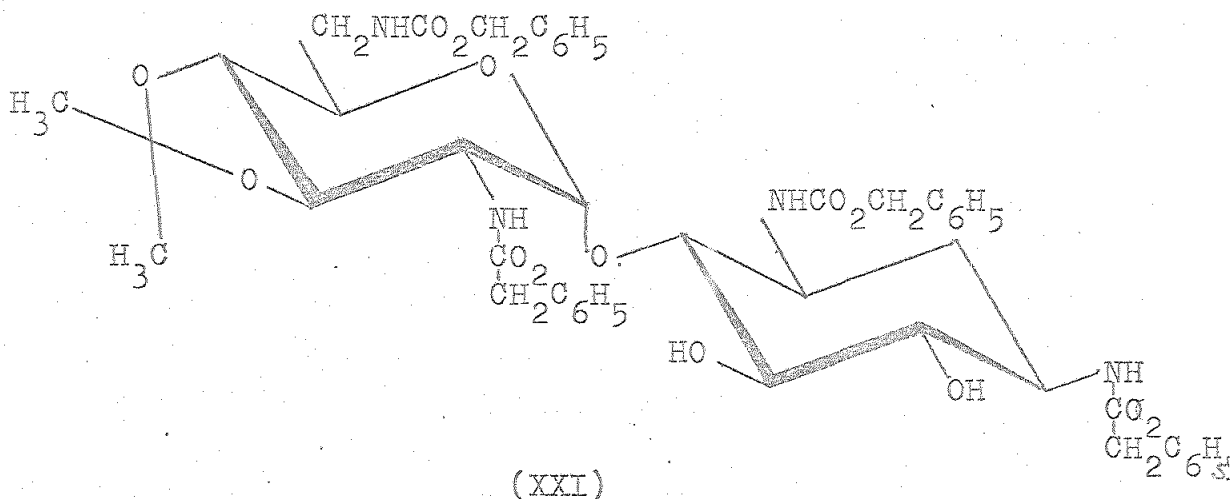
2.2.3. Derivados per-N-sustituídos parcialmente sustituidos en los oxígenos.

Estos tipos de compuestos han sido preparados como sustancias intermedias en la síntesis total o en

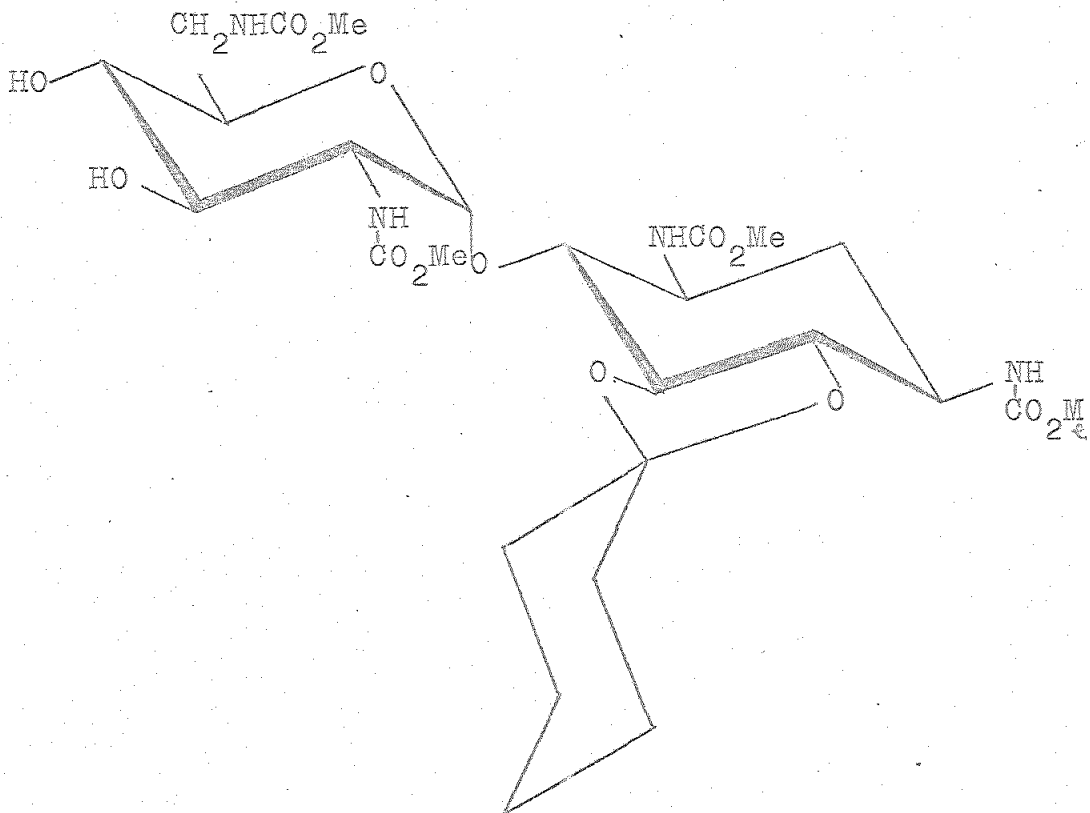
la modificación por vía química de antibióticos aminoglicosídicos. Existe primeramente un grupo de sustancias que son monoacetales de los uretanos antes mencionados que se obtienen como mezclas en la acetalación de estos compuestos. Así, por ejemplo, en relación con la síntesis de la kanamicina B, el grupo de Umezawa ha descrito²⁴ la acetona de la 1,3,2',6'-tetra-N-benzoxicarbonilnea-
mina (XVIIIc) por tratamiento con 2,2-dimetoxipropano y ácido p-toluenosulfónico; en la reacción se produce una mezcla de los derivados monoacetona en posiciones 5,6 (XX) y 3',4'(XXI) que no se separó siendo utilizada como



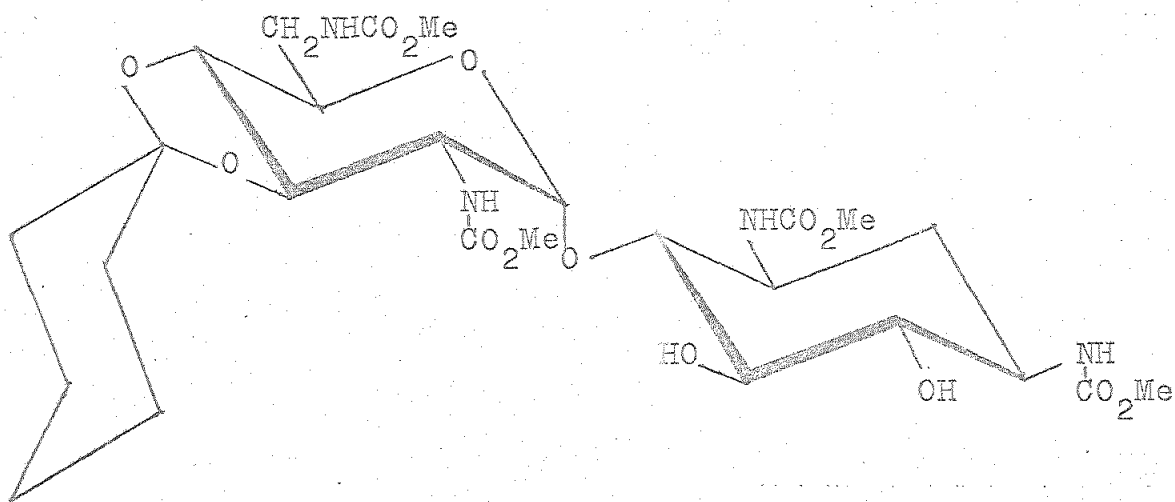
(XX)



tal en una posterior etapa de la síntesis. En una investigación similar, este grupo ha descrito²², como se ha mencionado anteriormente, la reacción de la 1,3,2',6'-tetra-N-metoxycarbonilneamina (XVIIIa) con 1,1-dimetoxi-ciclohéxano y ácido p-toluenosulfónico en la que se produce junto al diacetal (XIX), una mezcla de los dos monoacetales (XXII) y (XXIII) lográndose la separación por cromatografía sobre columna de gel de sílice del isómero



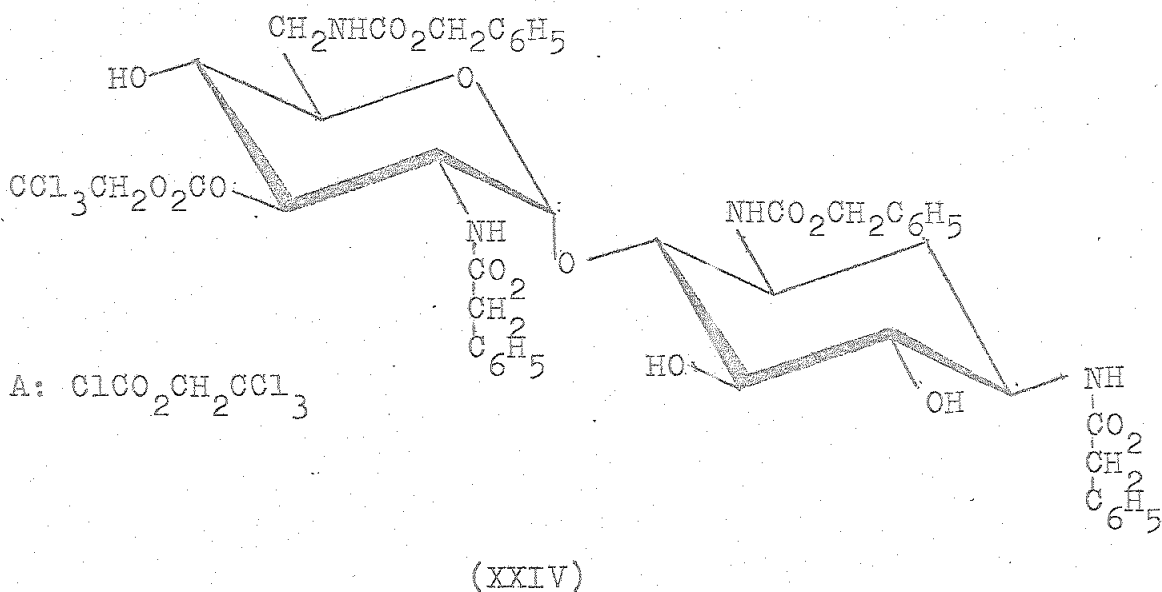
(XXII)



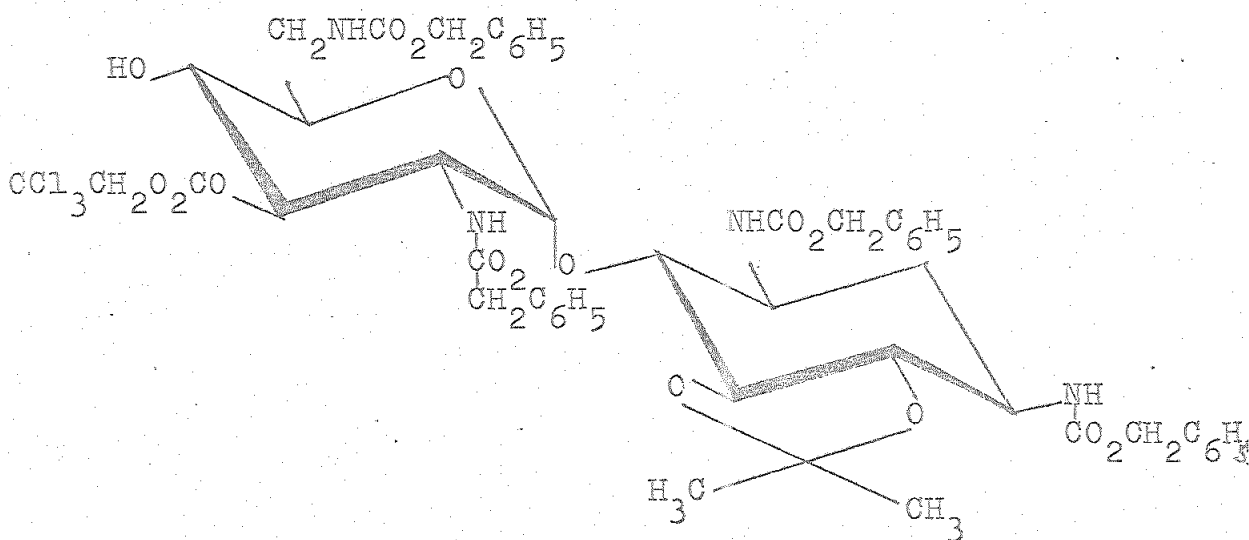
(XXIII)

con el grupo ciclohexilideno en posición 5,6 (XXII).

Muy recientemente, y cuando la Parte Experimental de la presente Tesis estaba completada, Tanabe, Yasuda y Detre²⁵ han comunicado en forma muy abreviada y sin detalles experimentales un método para obtener los monoacetales en posición 5,6 que presumiblemente puede tener carácter general. El procedimiento se basa en la observación de que, de los cuatro hidroxilos existentes en los uretanos de neamina, el que está en posición 3' parece ser el más reactivo frente a cloruros de ácidos y, por tanto, es posible obtener con facilidad ésteres en esta posición. De esta manera se observa que el tratamiento de la 1,3,2',6'-tetra-N-benzoxicarbonilneamina (XVIIIc) con cloruro de 2,2,2-tricloroetoxicarboniló (A) en piridina a temperatura baja da un rendimiento aceptable (65%) del 3'-tricloroetilcarbonato (XXIV). Esta sus-

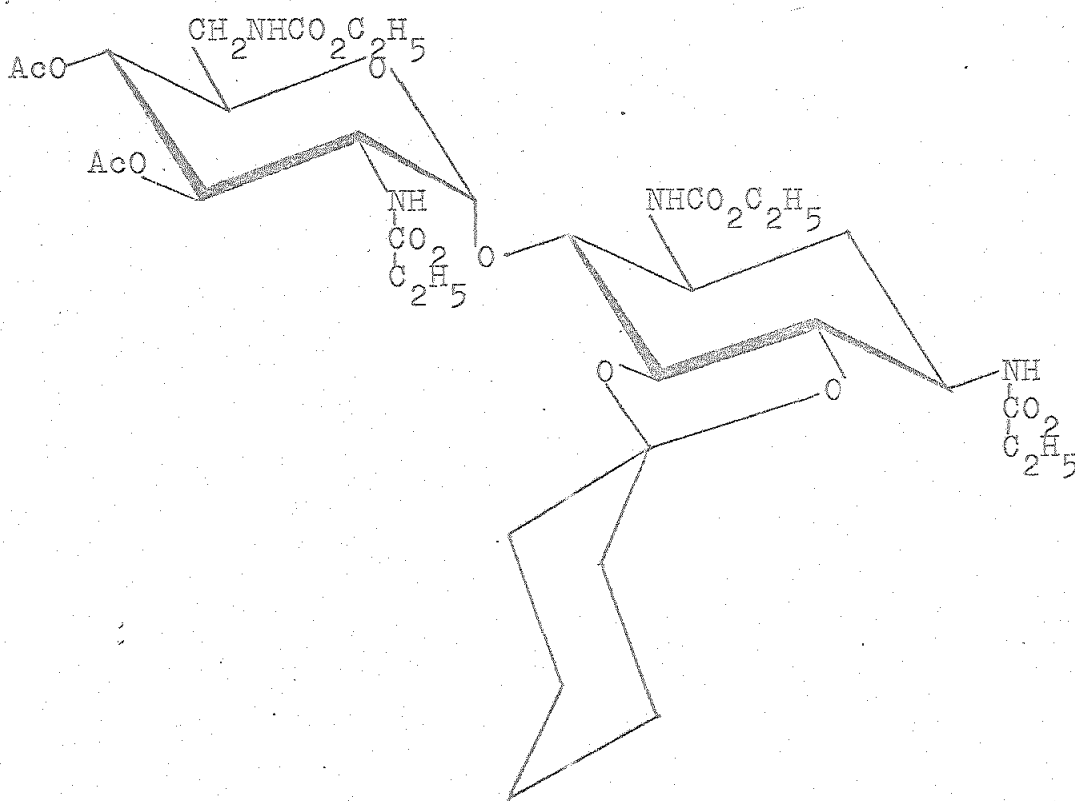


tancia es clave en el procedimiento ya que posteriormente se puede hacer reaccionar selectivamente en uno o algunos de los grupos hidroxilos en 5,6 y 4' restantes. Así, por ejemplo, el tratamiento del carbonato (XXIV) con 2,2-dimetoxipropano y ácido p-toluenosulfónico suministró el isopropilidenderivado (XXV) del cual se separó la función carbonato de tricloroetilo con amoniaco metanólico obteniéndose la 1,3,2',6'-tetra-N-benzoxicarbonil-2-desoxi-5,6-O-isopropilenneamina (XX) que, como se ha indicado previamente, había sido obtenido por Umezawa y colaboradores²⁴ en mezcla con el isómero con el grupo isopropilideno en posición 3',4'(XXI).

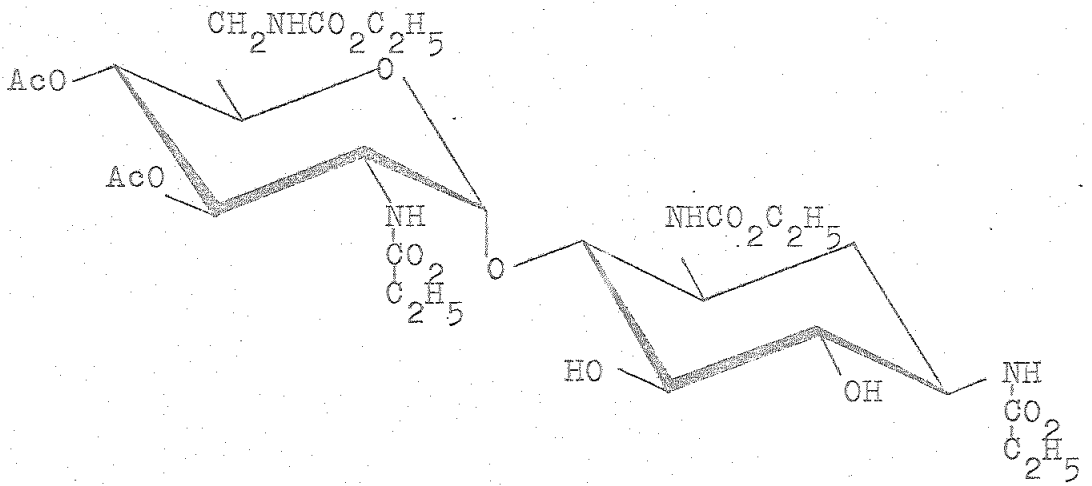


(XXV)

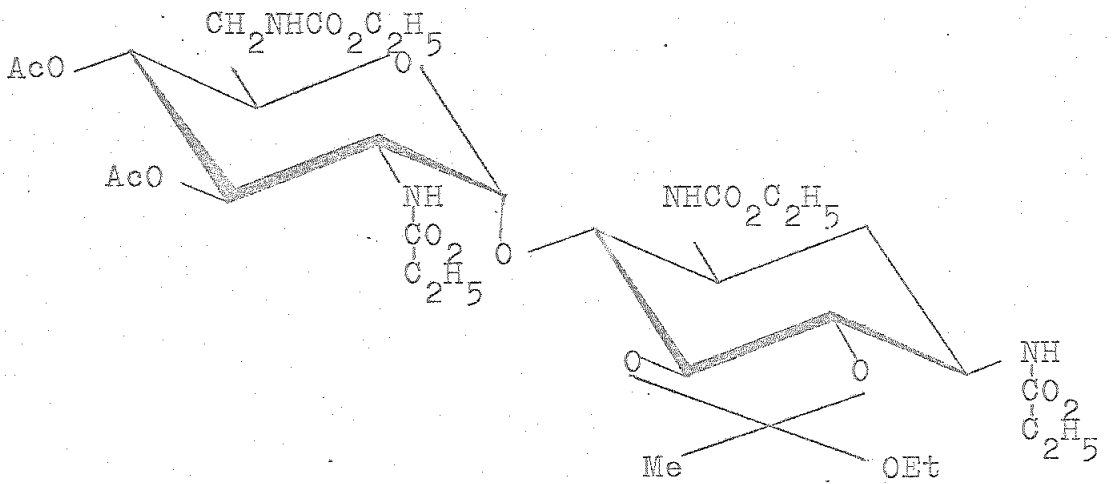
Un segundo grupo de esta clase de sustancias lo constituyen un conjunto de uretanos de neamina parcialmente O-acetilados que ha sido descrito por Suami y colaboradores²⁶. Partiendo de la 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina antes mencionado (XXII) obtienen el correspondiente 3',4'-di-O-acetato (XXVI) que se puede transformar subsiguientemente en la 3',4'-di-O-acetil-1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina (XXVII) por hidrólisis.



(XXVI)

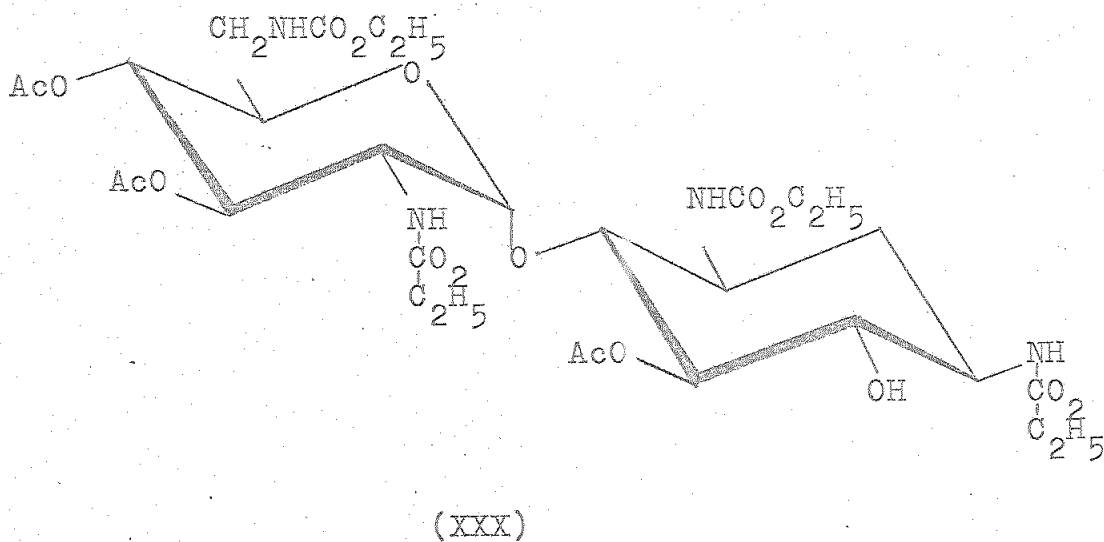
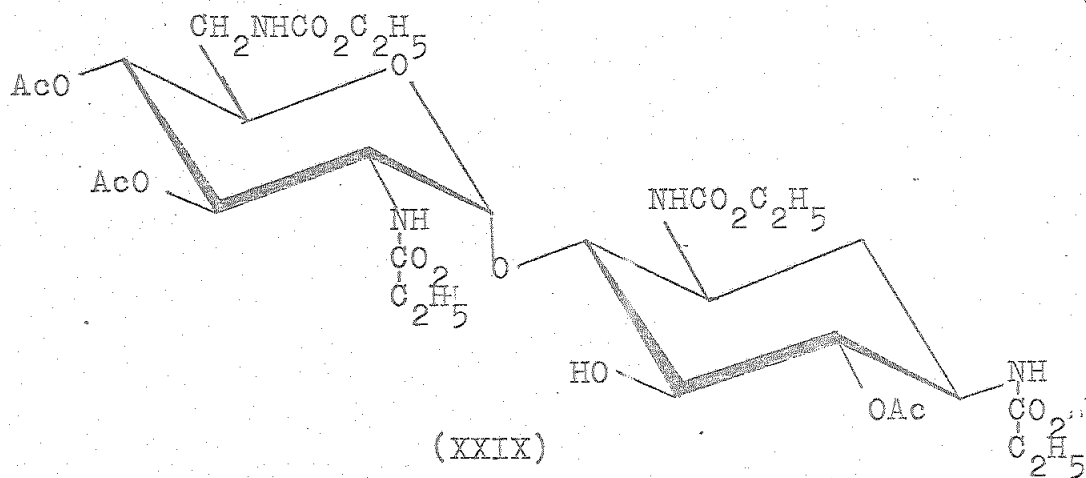


(XXVII)

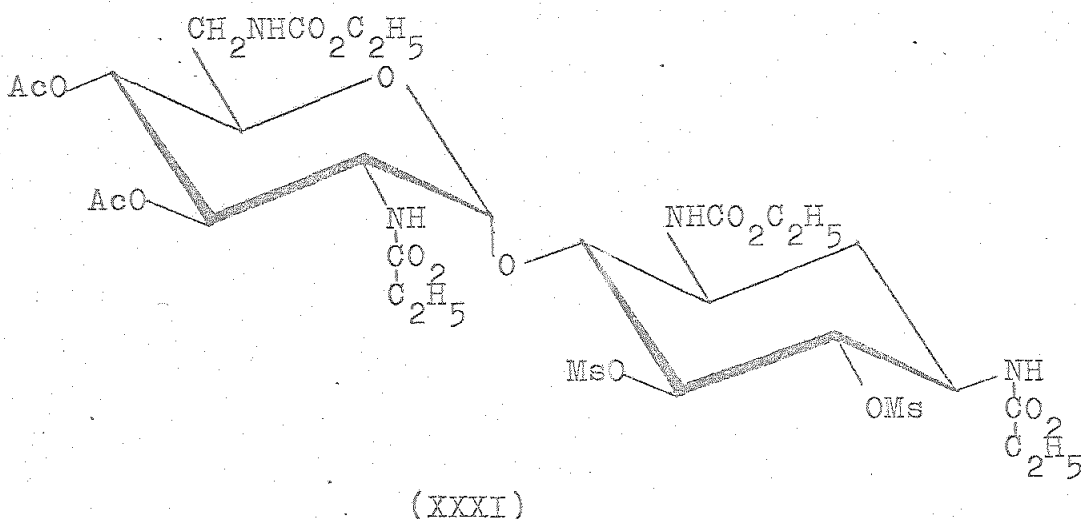


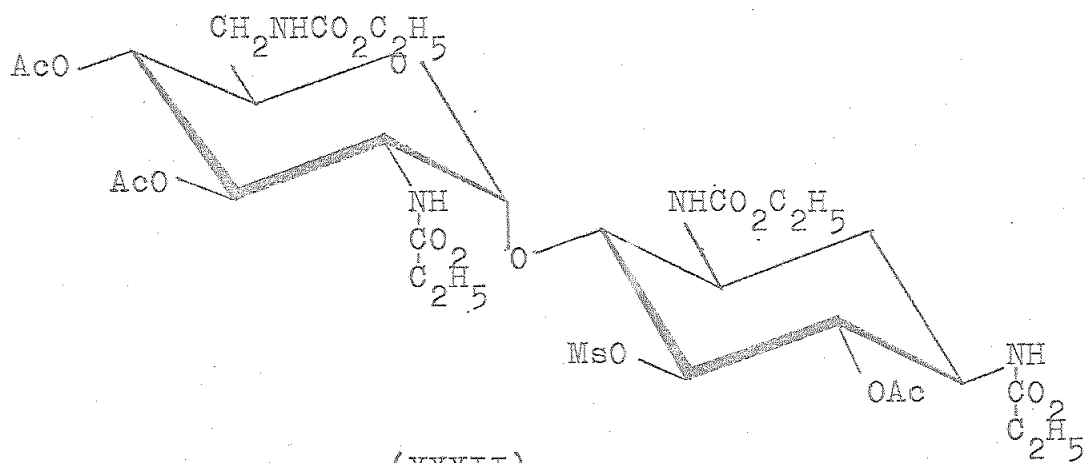
(XXVIII)

El tratamiento de este acetato con ortoacetato de trietilo en presencia de ácido p-toluenosulfónico suministra el 5,6-O-(etoxietiliden)-derivado (XXVIII), cuya hidrólisis parcial da una mezcla de la 6,3',4'-tri-O-acetil- y 5,3',4'-tri-O-acetil-1,3,2',4'-tetra-N-etoxycarbonilneamina (XXIX y XXX, respectivamente). Estos productos son separables cromatográficamente obteniéndose con rendimientos del 22% y 25%.

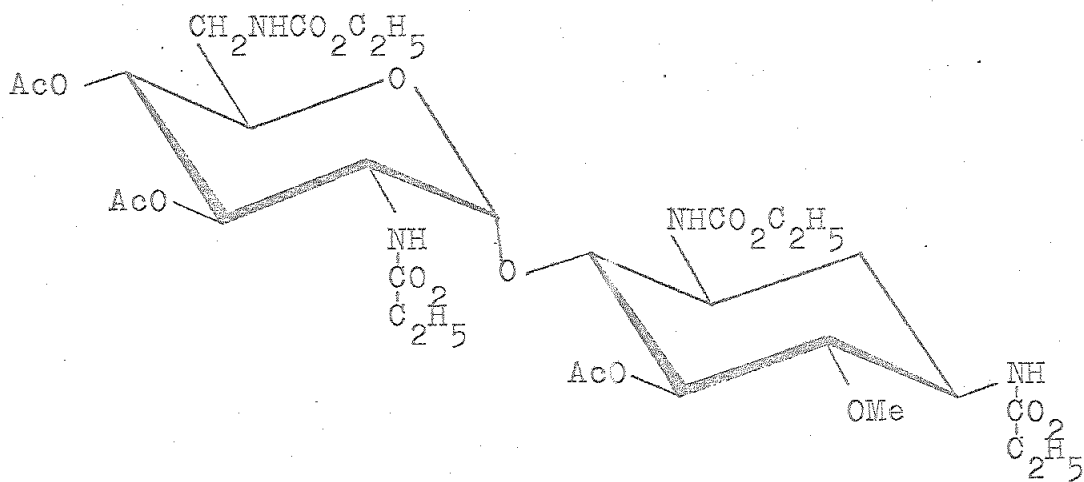


Los uretanos de neamina parcialmente O-acetilados han sido utilizados²⁷ para modificar químicamente la neamina, por ejemplo, para transformarla en monodesoxi-derivados y en el 5,6-didesoxi derivado. En el caso de este último compuesto sirvió de intermedio el 5,6-di-O-mesilato (XXXI) que se puede obtener del 3',4'-di-O-acetil-derivado (XXVII) siguiendo el procedimiento convencional. También aparecen descritos²⁷ el 6,3',4'-tri-O-acetil-5-O-mesil derivado (XXXII) y su isómero (XXXIII) con el grupo O-mesilo en posición 6. Las propiedades físicas de estos compuestos se incluyen en la Tabla IV.





(XXXII)



(XXXIII)

TABLA IV

DERIVADOS DE LA NEAMINA N-SUSTITUIDOS PARCIALMENTE SUSTITUIDOS EN O

	PF	$[\alpha]_D$ (solvente)	Referencias
1,3,2',6'-tetra-N-benzoxicarbonil-5,6-O-iso-propileneamina (XX)	185°	+57° (DMF)	24
1,3,2',6'-tetra-N-benzoxicarbonil-3',4'-O-iso-propileneamina (XXI)	230-231°	+33° (DMF)	24
5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XXII)		+37° (MeOH)	22
3',4'-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XXIII)			22
1,3,2',6'-tetra-N-benzoxicarbonil-3'-(β,β,β-tri-cloroetoxicarbonil)neamina (XXIV)	165-168°	+33° (CHCl ₃)	25
1,3,2',6'-tetra-N-benzoxicarbonil-3'-(β,β,β-tri-cloroetoxicarbonil)-5,6-O-iso-propileneamina (XXV)			25

TABLA IV (continuación)

	PF	$[\alpha]_D$ Solvente	Referencias
3',4'-di-O-acetil-5,6-O-ciclohexilidene-1,3,2',6'			21, 22
tetra-N-etoxicarbonilneamina (XXVI)			
3',4'-di-O-acetil-1,3,2',6'-tetra-N-etoxi-	209-212°	+44° (MeOH)	25
carbonilneamina (XXVII)			
3',4'-di-O-acetil-1,3,2',6'-tetra-N-etoxi-			
carbonil-5,6-O-etoxietilideneamina (XXVIII)			25
6,3',4'-tri-O-acetil-1,3,2',6'-tetra-N-etoxi-	99-106°	+64,1° (CHCl ₃)	25
carbonilneamina (XXIX)			
5,3',4'-tri-O-acetil-1,3,2',6'-tetra-N-etoxi-	206-207°	+33,7° (CHCl ₃)	25
carbonilneamina (XXX)			
3',4'-di-O-acetil-1,3,2',6'-tetra-N-etoxi-	188-189°	+35° (CHCl ₃)	26
carbonil-5,6-di-O-mesilneamina (XXXI)			

TABLA IV (continuación)

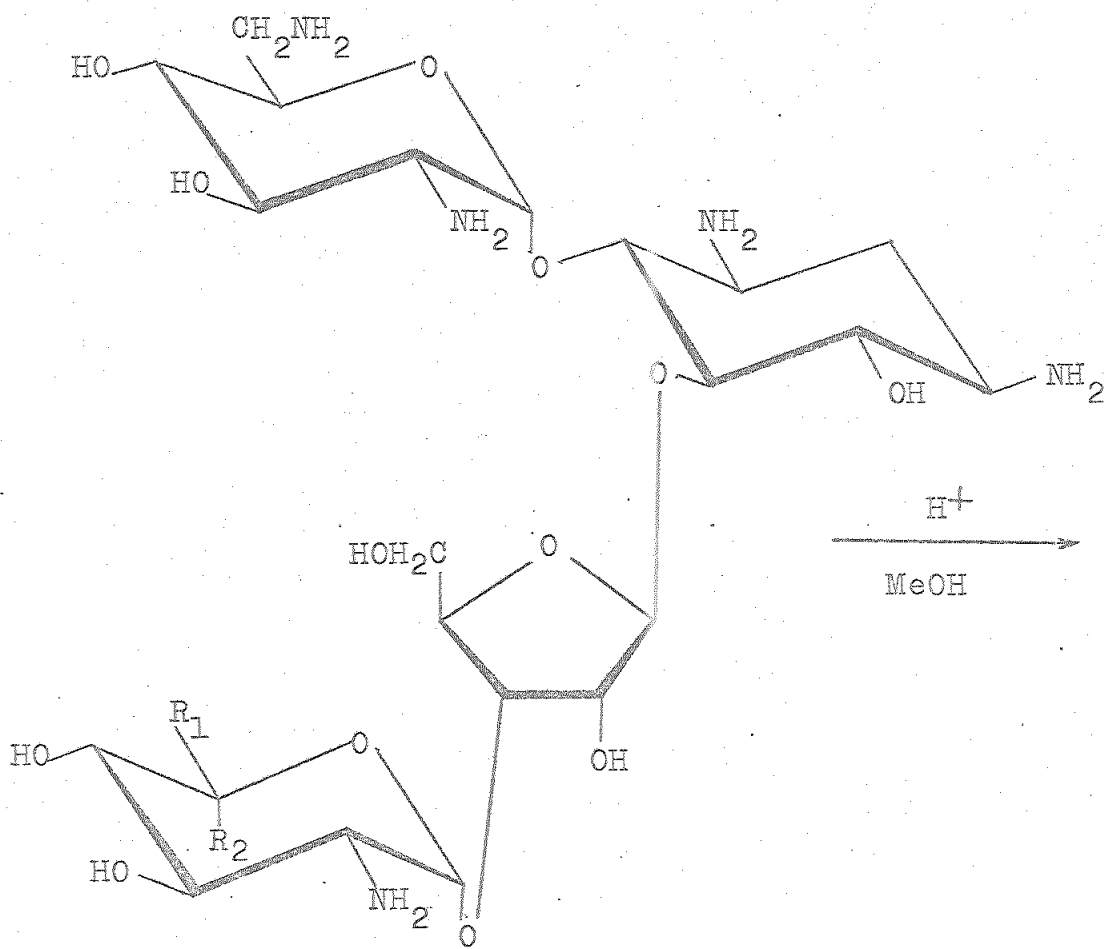
	PF	$[\alpha]_D$ (Solvente)	Referencia
6,3',4'-tri-O-acetil-1,3,2',6'-tetra-N-etoxi-carbonil-5-O-mesilneamina (XXXII)	205-206° (desc.)	+43,7° (Py)	26,27
5,3',4'-tri-O-acetil-1,3,2',6'-tetra-N-etoxi-carbonil-6-O-mesilneamina (XXXIII)	192-193°	+59,3° (Py)	26,27

3. OBTENCION DE NEAMINA A PARTIR DE LA NEOMICINA
COMERCIAL

3. OBTENCION DE NEAMINA A PARTIR DE LA NEOMICINA COMERCIAL

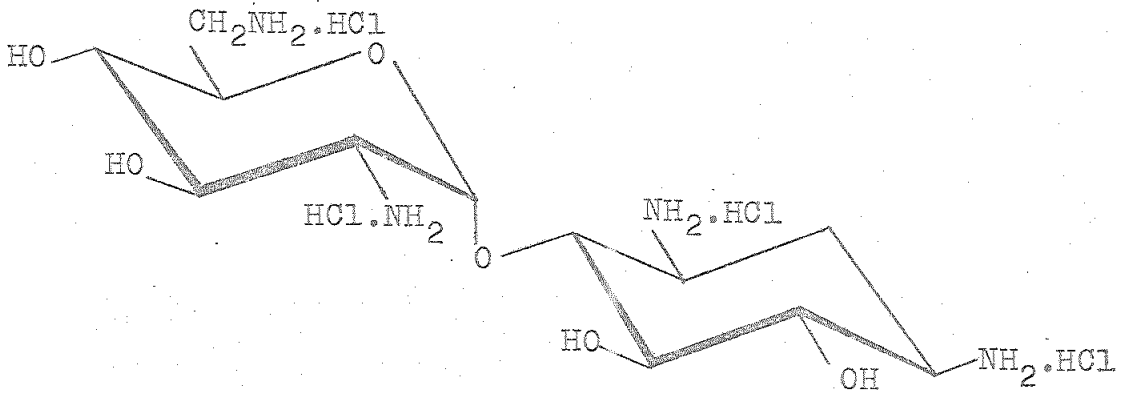
Al iniciar esta investigación se presentó el problema de que hacían falta cantidades del orden de los Hgs de neamina. Como se ha indicado anteriormente, esta sustancia se puede obtener por fermentación o bien por metanolisis de las neomicinas B y C aisladamente.^{7,27}
^{28,29}. Dado que ni la neamina, ni las neomicinas B y C separadas existen en el comercio, y en cambio es comercial la mezcla de los sulfatos de las tres sustancias, que es lo que se denomina comercialmente sulfato de neomicina, se consideró que sería posible obtener neamina de esta mezcla sin tener que recurrir a la separación previa de sus componentes. Como se ha visto en la Introducción, las neomicinas B y C se pueden considerar formadas por una molécula de neamina a uno de cuyos hidroxilos, el OH-5, está unido glicosídicamente un disacárido (neobiosamina B o C) constituido a su vez por una unidad de β -D-ribofuranosa y otra de 2,6-diamino-didesoxi-aldohexopiranososa que es diferente según se trate de la neomicina B o de la C. Cuando se hacen las metanolisis de una de las neomicinas separadamente, la escisión (Esquema 2) de la molécula tiene lugar por la unión glicosídica más vulnerable que es la β -D-ribofuranósido la cual, por otra parte, es la única que no está flanqueada por grupos amino; como se sabe, estos grupos al ionizarse en medio

Esquema 2

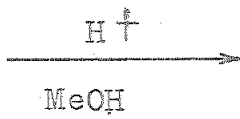


Neomicina B: $R_1 = H$
 $R_2 = CH_2NH_2$

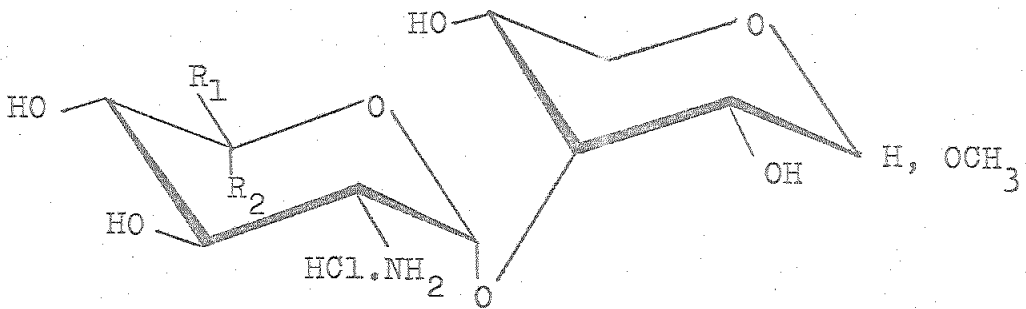
Neomicina C: $R_1 = CH_2NH_2$
 $R_2 = H$



Clorhidrato de neamina



+



Cloruro de metilneobiosaminidos

ácido protegen, las uniones glicosídicas, por un efecto electrostático, previniendo la aproximación de los cationes acídicos CH_3OH_2^+ que efectúan la metanolisis. Se forman, por tanto, en las metanolisis dos fragmentos, uno constituido por la neamina, y el otro que es el disacárido (neobiosamina) unido a ella el cual aparece como una mezcla del α - y β -metilglicósido correspondientes (α - y β -metil neobiosaminidos B ó C, según que la neomicina sea B ó C). Del medio fuertemente ácido de la reacción se separa fácilmente, al añadir éter, el clorhidrato de neamina, mientras los clorhidratos de los metilneobiosaminidos, más solubles, quedan en solución. Parece, por tanto, que a los efectos de obtención de la neamina debe ser indiferente que se parta de la neomicina B o C separadamente o bien de una mezcla de ellas tal como la constituida por el sulfato de neomicina comercial.

Basándonos en estas consideraciones se elaboró un procedimiento de obtención de neamina a partir del sulfato de neomicina comercial el cual se somete a la reacción de metanolisis que la literatura indica para la neomicina B o C puras. El sulfato de neomicina comercial se suspende en metanol conteniendo cloruro de hidrógeno (0,38N) y se reflujo durante 2,5 horas. La solución que se obtiene, una vez fría, se trata con un volumen igual de éter con lo que precipita el clorhidrato de neamina quedando en solución la mezcla de los cuatro metil-

neobiosaminidos.

En una variante del proceso anterior, que evita el enojoso manejo del cloruro de hidrógeno gaseoso, se usa una solución 0,35M de cloruro de acetilo en metanol. Dejada estar esta solución hasta que se complete la metanolisis del cloruro de ácido se obtiene una solución metanólica aproximadamente 0,3N en cloruro de hidrógeno a la que se añade el sulfato de neomicina.

El clorhidrato de neamina obtenido tuvo p.f. 260°, y $[\alpha]_{\lambda} +95^{\circ}(\text{H}_2\text{O})$. Estos datos son muy similares a los indicados en la literatura (ver Tabla I).

El preparado así obtenido se usó ordinariamente sin posterior purificación. Su cromatografía en papel indicó que contenía trazas de neomicinas inalteradas las cuales se pueden eliminar mediante un nuevo tratamiento con cloruro de hidrógeno 0,35N en metanol repitiendo el proceso completo. El producto así obtenido lavado con metanol éter tuvo p.f. 256°, $[\alpha]_{\lambda} +90^{\circ}(\text{H}_2\text{O})$ y dió el análisis correcto.

Para una mejor purificación y caracterización del producto, transformamos el clorhidrato de neamina en la base libre, siguiendo el procedimiento indicado por Leach y Teeters^{8,9} y Dutcher y Donin²⁹.

El clorhidrato de neamina bruto se disuelve en amoniacó y se trata con amoniacó gaseoso hasta que se inicia la cristalización de la neamina, que se completa por refrigeración durante 24 horas. El producto así obtenido tiene p.f. 250° y $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +123^{\circ}(\text{H}_2\text{O})$ de acuerdo con la literatura.

4. NUEVOS DERIVADOS DE NEAMINA

4. NUEVOS DERIVADOS DE NEAMINA

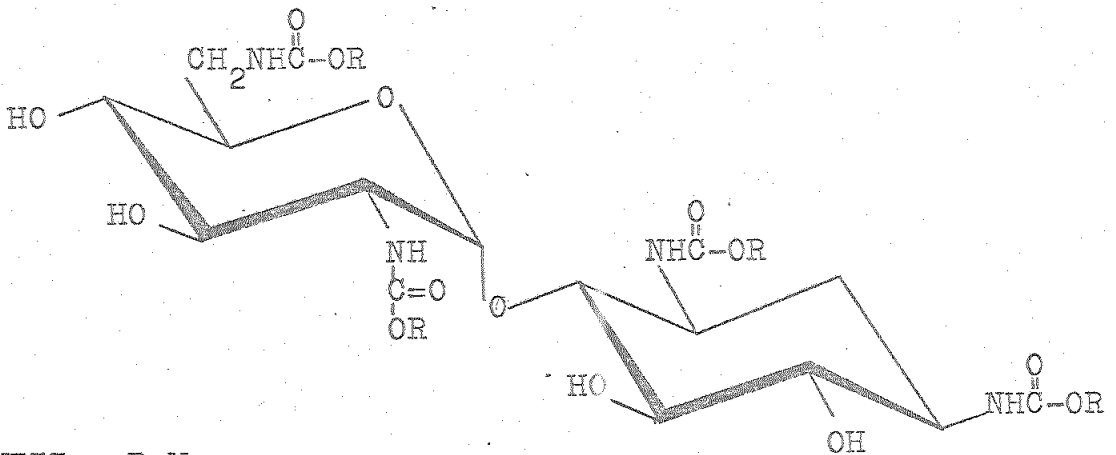
La preparación de los derivados de neamina 1,3,2',6'-tetra-N-sustituidos con los hidroxilos total o parcialmente protegidos que se describen en esta Sección ha tenido por objeto disponer de los derivados de este aminoglicósido asimétricamente sustituidos mencionados en la introducción y, a partir de ellos por degradación, derivados asimétricamente sustituidos de la 2-desoxi-treptamina.

4.1. Derivados N-sustituidos.

Como hemos indicado en la Sección 2, el derivado N-sustituido de la neamina más fácil de obtener y mejor caracterizado es la 1,3,2',6'-tetra-N-acetilneamina. Por las condiciones relativamente drásticas que requiere la hidrólisis posterior de los grupos acetamidos de los aminoazúcares, este derivado no era conveniente para nuestros propósitos. Hemos usado en su lugar los uretanos derivados de neamina así como la enamina que se obtiene al tratar la neamina con 2,4-pentanediona.

De los uretanos, en nuestros experimentos hemos usado la 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonil, la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonil y la 1,3,2',6'-tetra-N-benzoxicarbonilneamina (fórmulas XVIIIa, XVIIIb y XVIIIc respectivamente). De estos compuestos sólo la

1,3,2',6'-tetra-N-benzoxicarbonilneamina (XVIIIc) aparece bien caracterizada en la literatura (vease Tabla II).



XVIIIa, R=Me

XVIIIb, R=Et

XVIIIc, R= $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$

Para la preparación de las 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonil- y 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina hemos adaptado el método de Chargaff para la preparación de la 2-benzoxicarbonilamino-2-desoxi-D-glucosa³⁰. Por ejemplo, en el caso del 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonil derivado, el clorhidrato de la neamina en solución acuoso-acetónica se trata con cloroformiato de metilo en presencia de un exceso de carbonato sódico. La extracción con dioxano de la fase sólida, constituida por una mezcla del derivado XVIIIa y sales inorgánicas, que se separa

durante el tratamiento, y del residuo sólido que queda al evaporar el líquido sobrenadante de esta fase sólida, y la subsiguiente evaporación de los extractos reunidos proporciona la 1,3,2',6'-tetra-N-metoxycarbonilneamina prácticamente pura con un rendimiento del 28,5%. El procedimiento se consigue simplificar, mejorando además considerablemente el rendimiento, sustituyendo el carbonato sódico por una resina de carácter básico, concretamente Amberlita IR-400 (OH⁻); en este caso la reacción tiene lugar en un medio heterogéneo. La separación de la resina por filtración, una vez terminado el proceso, da una solución del producto prácticamente puro. La evaporación de esta solución y recristalización del residuo sólido de metanol proporciona la 1,3,2',6'-tetra-N-metoxycarbonilneamina (XVIIIa) pura con un rendimiento del 83%.

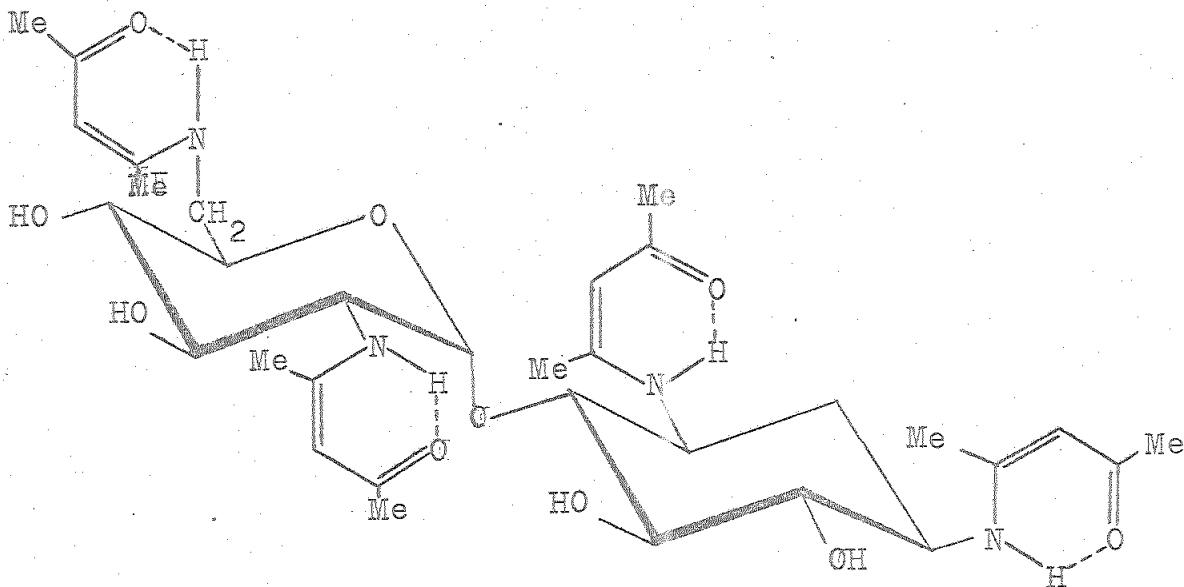
En el caso de la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxycarbonilneamina (XVIIIb), los mejores rendimientos (91%) se obtienen por tratamiento del clorhidrato de neamina con cloroformiato de etilo en solución acuosa-acetónica y usando carbonato sódico como base. El sólido que se separa en este proceso está constituido por el producto casi puro que se purifica fácilmente por recristalización de metanol. Los rendimientos son peores si la reacción se lleva a cabo usando sólo agua como medio de reacción (rendimiento 46%) o si el clorhidrato de neamina se sustituye por

la base libre (rendimiento 84%). Sustituyendo el carbonato sódico por Amberlita IR-400 (OH^-) el rendimiento fué sólo del 80%.

Nos pareció también de interés el probar la protección de los grupos aminos de la neamina mediante la formación de la enamina que resultaría al tratarla con 2,4-pentanediona. La protección de grupos aminos por reacción con compuestos 3-dicarbonílicos es relativamente frecuente en la química de aminoácidos y péptidos³¹, y se ha extendido también a la química de aminoazúcares³² y de antibióticos aminoglicosídicos complejos³³. Los derivados protegidos de este tipo son especialmente estables debido a la estructura de quelato que tiene la enamina y el grupo amino se puede regenerar fácilmente por hidrólisis en condiciones muy suaves³¹ o por tratamiento con halógenos³² o con ácido nitroso³¹. El derivado de neamina de este tipo que hemos preparado posee la estructura XXXIV y se obtiene fácilmente tratando el clorhidrato de neamina con 2,4-pentanediona en metanol en presencia de trietilamina. El producto cristaliza fácilmente del medio de reacción concentrado obteniéndose con un rendimiento del 71%. Curiosamente, el intento de obtener el derivado de la benzoina análogo a XXXIV usando un procedimiento similar resultó fallido.

TABLA V

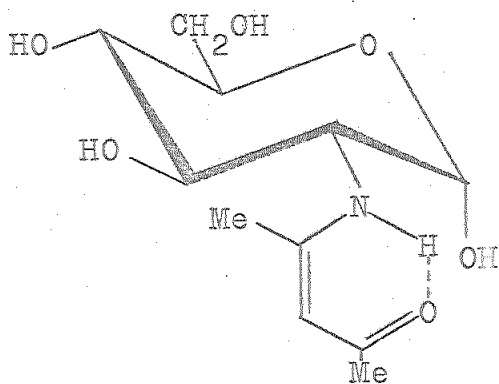
	PF	$[\alpha]_D^{25}$ (Solvente)
1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarboni neamina (XVIIIa)	280-285°	+80° (agua)
1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarboni neamina (XVIIIb)	247-249°	+60 (metanol)
1,3,2',6'-tetra-N-[2-(4-oxo-2-pentenil) amino] neamina (XXXIV)	182-184°	-13, 3° (cloroformo)



(XXXIV)

Los uretanos XVIIIa y XVIIIb son sólidos pulverulentos estables que se disuelven bien en disolventes orgánicos. La 1,3,2',6'-tetra-enamina XXXIV es un sólido cristalino que se altera lentamente al aire. Los tres derivados cromatografían bien en capa fina. Las estructuras de estos compuestos, cuyas propiedades físicas se han recogido en la Tabla V, se confirmaron mediante los correspondientes análisis elementales que estuvieron de acuerdo con las fórmulas previstas (la enamina XXXIV cristaliza como un hidrato) y los espec-

tros de infrarrojo que en los casos de los uretanos XVIIIa y XVIIIb mostraron la banda de carbonilo (banda I de amida) a las frecuencias 1709 cm^{-1} y 1685 cm^{-1} , respectivamente y la banda de deformación del grupo NH (banda II de amida) a 1515 cm^{-1} y 1535 cm^{-1} , respectivamente, de acuerdo con las indicaciones de la literatura³⁴ para uretanos más sencillos. La tetra-enamina (XXXIV) tiene un máximo de absorción en el ultravioleta a 310 nm o sea a la misma longitud de onda ($\lambda_{\text{max}}\ 310\text{ nm}$) que la enamina (XXXV) similar que se obtiene³⁵ de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa; el espectro de infrarrojo de la tetra-enamina



(XXXV)

(XXXIV) muestra una banda fuerte (banda de amida I) a 1600 cm^{-1} (en estado sólido; a 1605 cm^{-1} en disolución de cloroformo) que se asigna al grupo carbonilo enlazado intramolecularmente de la cetoenammina, y la otra a 1560 cm^{-1} (banda de amida II) atribuible³⁶ a una vibración acoplada de los grupos C=C y N-H del sistema C=C-NH. El compuesto (XXXV), que se puede tomar de referencia, presenta estas mismas absorciones a 1613 cm^{-1} y 1543 cm^{-1} (en nujol).

4.2. Derivados N, O-sustituídos.

A los efectos de una mejor caracterización de los derivados N-sustituídos de la neamina descritos en la Sección anterior y su posterior transformación en otros compuestos que puedan ser útiles sintéticamente, hemos estudiado las reacciones de acetilación, carbonatación, cetalación (isopropilidenación y ciclohexilidenación), y bencilación de la 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonil y 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina.

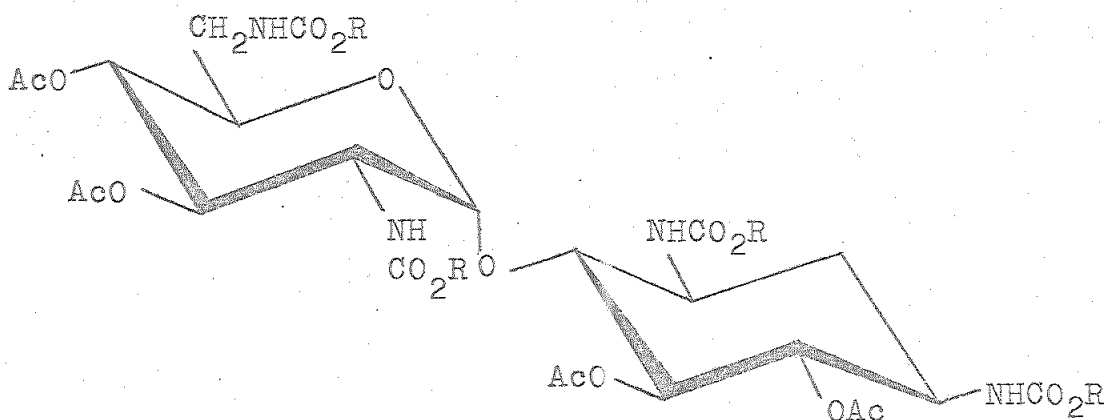
4.2.1. Reacciones de acetilación.

Tanto la 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XVIIIa) como la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina (XVIIIb) se acetilan fácilmente por el procedimiento habitual en química de hidratos de carbono consistente en tratar el poliol con una mezcla de anhídrido

acético y piridina a temperatura de aproximadamente 0°. En el caso del uretano (XVIIIa), el producto esperado (XXXVI) se obtiene con un buen rendimiento (79%) como un sólido cromatográficamente homogéneo que se puede purificar fácilmente por recristalización de etanol-agua. La estructura (XXXVI) de esta sustancia se confirmó por su análisis elemental, su espectro infrarrojo que muestra la banda de tensión del NH amídico a 3390 cm^{-1} , la banda fuerte de acetato a 1739 cm^{-1} , la banda de amida I a aproximadamente 1700 cm^{-1} , superpuesta a la de acetato, y la de amida II a 1550 cm^{-1} y la ausencia de las bandas debidas al grupo hidroxilo. La O-desacetilación catalítica del producto por tratamiento con metanol y metilato sódico regenera la 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina idéntica a la sustancia de partida.

La reacción resultó algo más compleja en el caso de la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina (XVIIIb). El producto bruto que se obtiene al acetilar, como se ha indicado anteriormente, una muestra de uretano XVIIIb, purificado por cristalización y cromatográficamente homogéneo, es una mezcla de un componente mayoritario de R_F 0,33 (cloroformo-etanol 95:5) y cantidades minoritarias de dos sustancias de R_F 0,29 y 0,25 (en el mismo eluyente) que no se lograron eliminar por recristalización. El producto principal se obtuvo puro después de cromatografiar la mezcla en una columna de sílica-gel con una pér-

dida considerable de rendimiento (36%), resultando ser un sólido cristalino de p.f. 123-126° y $[\alpha]_D^{25} +90^\circ$ (cloroformo). Esta sustancia dió el análisis elemental ($C_{32}H_{50}N_4O_{18}$) correspondiente a la 5,6,3',4'-tetra-O-acetil-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina y su espectro infrarrojo (Figura 1) mostró las bandas correspondientes a las funciones acetato (1739 y 1242 cm^{-1}), uretano [$3390\text{ }cm^{-1}$ (ν -NH), $1700\text{ }cm^{-1}$ (amida I, superpuesta a la banda de acetato a $1739\text{ }cm^{-1}$), $1538\text{ }cm^{-1}$ (amida II)] , y la ausencia de la banda ν (OH); su O-desacetilación catalítica por tratamiento con etilato sódico en etanol regenera la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina. Se le asigna por consiguiente la estructura XXXVII.



XXXVI, $R=CH_3$

XXXVII, $R=C_2H_5$

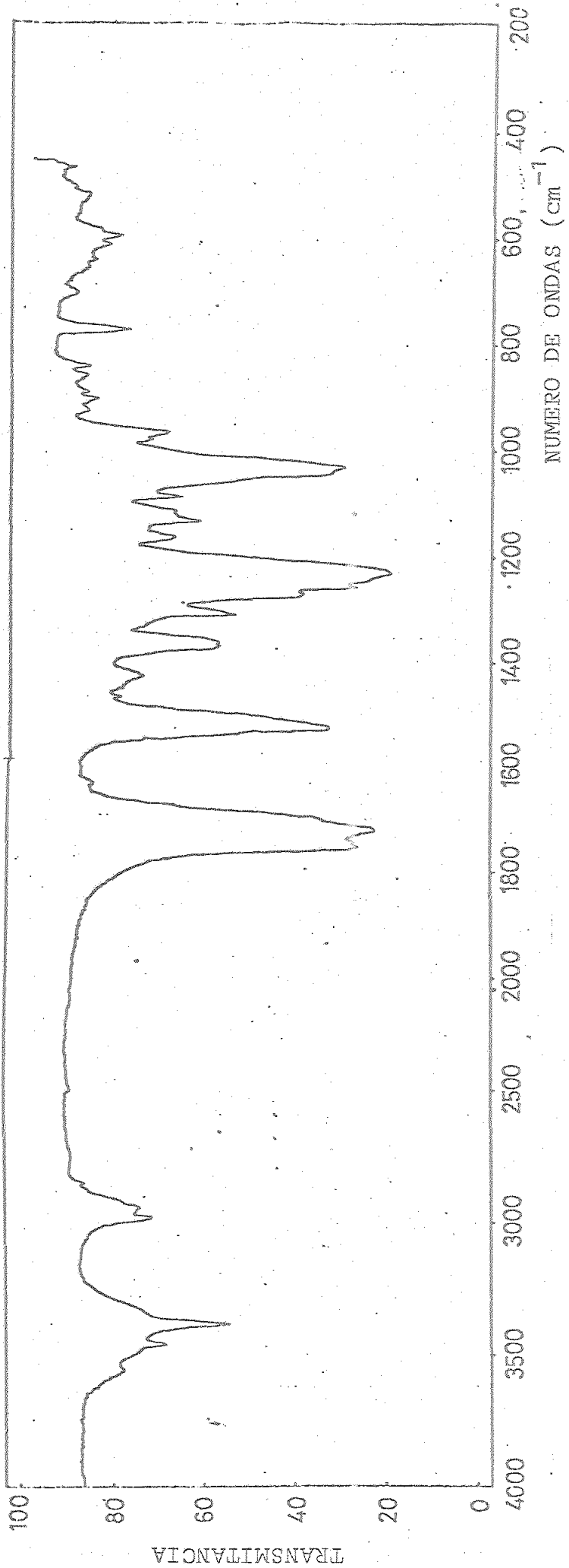


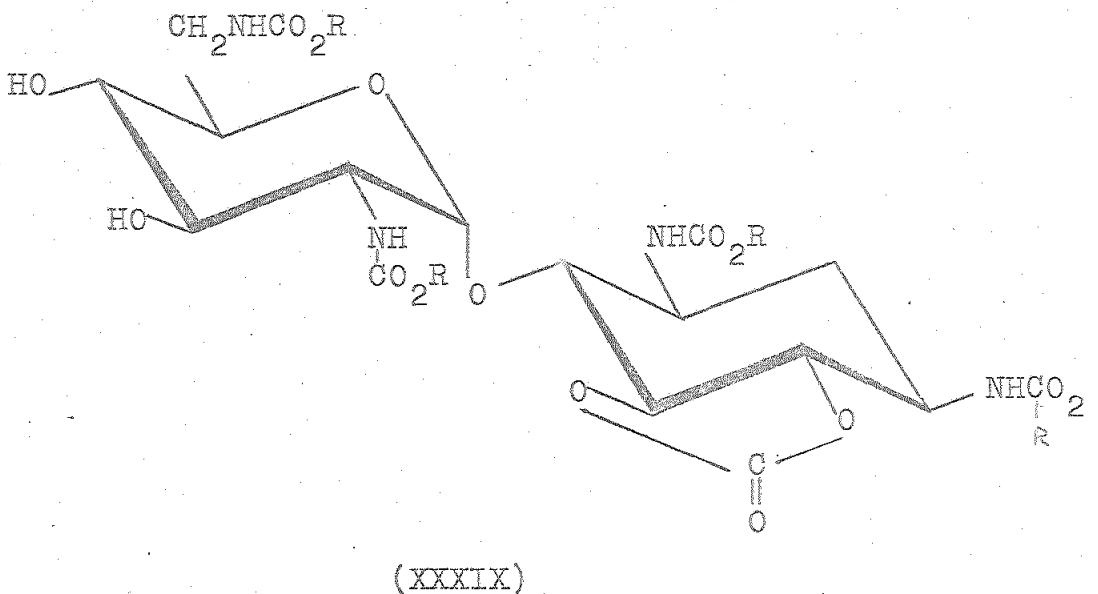
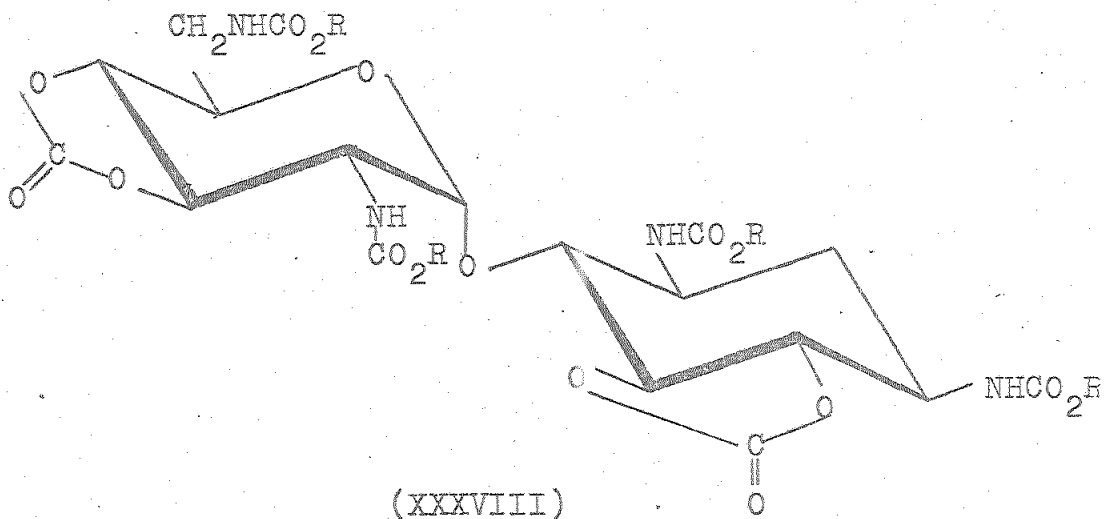
Figura 1. Espectro de infrarrojo del 5,6,3',4'-tetra-O-acetil-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonil-neamina (XXXVII).

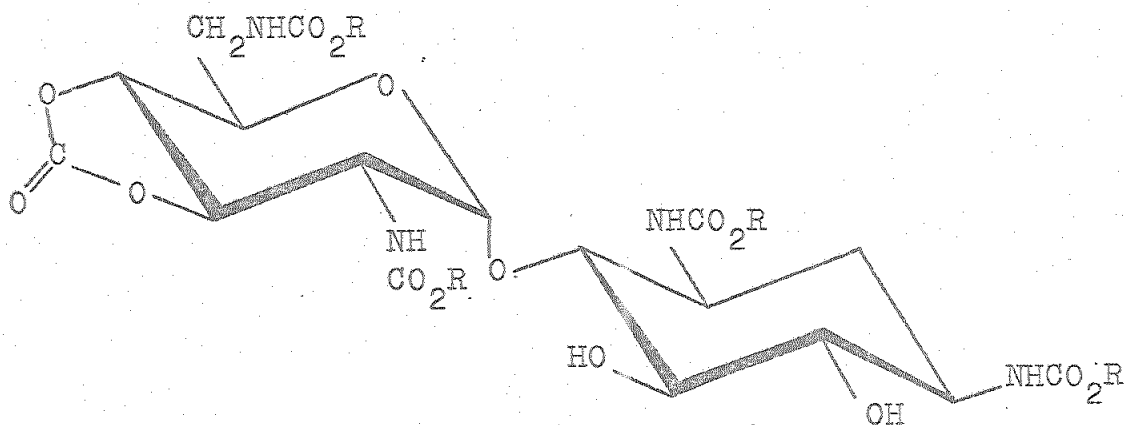
El producto minoritario de R_F 0,29 se obtuvo igualmente puro siendo su p.f. y rotación óptica similares a las del compuesto XXXVII, del cual difiere, no obstante, en la movilidad cromatográfica y en el espectro infrarrojo. Este mostró bandas correspondientes a las funciones OAc (1740 cm^{-1}) y amida (amida I, 1710 cm^{-1} ; amida II, 1525 cm^{-1}) y la ausencia de bandas de OH; su análisis elemental, correspondiente también a la fórmula $C_{32}H_{50}N_4O_{18}$, indicó que se trata de un isómero de XXXVII. La explicación más probable de este anómalo resultado es que la neamina de partida estuviese impurificada por un isómero que provendría de la metanolisis de un aminoglicósido no identificado que acompañase a las neomicinas B y C en la neomicina comercial usada en nuestros experimentos. Existen efectivamente datos³⁷ de que la neomicina que se usa clínicamente contiene cantidades del orden del 3% de hasta nueve congéneres de las neomicinas B y C algunos de ellos de estructuras desconocidas. La naturaleza del acetato de R_F 0,29 así como la del tercer producto de la acetilación de R_F 0,25 no se investigaron con más detalle.

4.2.2. Reacciones de carbonatación.

Las reacciones de carbonatación a que nos referimos en este apartado son las de formación de ésteres carbónicos cíclicos con participación de las dos parejas

de hidroxilos en disposición trans existentes en la neamina. Tres carbonatos de este tipo se podrían formar en estas reacciones, el dicarbonato cíclico (XXXVIII) y los monocarbonatos isómeros (XXXIX) y (XL). La posibilidad





(XL)

de obtener los derivados parcialmente sustituidos (XXXIX) y (XL) era de especial interés ya que estos compuestos son, respectivamente, de los tipos A y B indicados en la introducción.

Los ésteres carbónicos de hidratos de carbono se usan frecuentemente como intermedios en síntesis y se preparan habitualmente por tratamiento del carbohidrato con un cloroformiato de alquilo en presencia de una base. El tipo de carbonato formado depende de la estructura del azúcar y de la base elegida³⁸. Los piranósidos que poseen grupos hidroxilos en disposición cis dan carbonatos cíclicos de cinco miembros cuando se tratan con un cloroformiato de alquilo en un álcali acuoso, mientras

que si la base es orgánica sólo se producen carbonatos acíclicos mixtos. En cualquiera de estas condiciones, los piranósidos que sólo tienen grupos hidroxilos vecinales en disposición trans dan exclusivamente carbonatos acíclicos. No obstante, según una observación reciente de Doane y colaboradores³⁹, la obtención de los carbonatos cíclicos de estos piranósidos puede tener lugar si se usa trietilamina como catalizador. En nuestros intentos de preparar carbonatos cíclicos de la neamina, la cual sólo posee hidroxilos en disposición trans, hemos seguido las condiciones indicadas por estos autores.

Cuando la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina, suspendida en dioxano, se trata con un exceso (60 moles) de cloroformiato de etilo y trietilamina (10 moles) se produce una reacción vigorosa y la cromatografía en capa fina (benceno-etanol 85:15) de la mezcla de reacción muestra el consumo total del aminoglicósido y la formación de un producto (R_F 0,8) al que acompañan trazas de dos sustancias de carácter más polar de menor movilidad (R_F 0,72 y 0,5). El producto mayoritario (R_F 0,8) se puede obtener prácticamente puro de la mezcla de reacción (45%) y se puede conseguir cromatográficamente homogéneo tras una cromatografía sobre gel de sílice. Esta sustancia es un sólido amorfo de p.f. 245-250°, que se

altera (lentamente) al aire, lo que dificultó la obtención de análisis completamente correctos. El compuesto se formula provisionalmente como el 5,6:3',4'-di-O-carbonato de 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina (XXXVIII, $R=C_2H_5$) teniendo en cuenta los datos analíticos que fueron muy próximos a los correspondientes a esta estructura y, especialmente, el espectro de infrarrojo (Figura 2) que no muestra la banda de ν (OH), y presenta bandas ν (C=O) a 1862 y 1832 cm^{-1} que son características³⁹ de ésteres carbónicos de cinco eslabones con la configuración trans; en este espectro se observaron además las absorciones a 1724 cm^{-1} y 1531 cm^{-1} debidas a las agrupaciones de uretano (bandas de amida I y II).

Se hicieron intentos de obtener los monoésteres carbónicos reduciendo la proporción de cloroformiato de etilo usado en la reacción hasta uno o dos moles por mol de 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina, pero en estas condiciones no se consume la sustancia de partida y se forman mezclas de los ésteres carbónicos cíclicos y acíclicos, según se dedujo de los espectros de infrarrojo de los productos brutos que mostraron bandas a 1750 cm^{-1} debida al grupo $RO-CO-OC_2H_5$ además de las bandas a 1840, 1825 y 1810 cm^{-1} de éster carbónico cíclico trans. El diol trans, cloroformiato de alquilo y la tri-

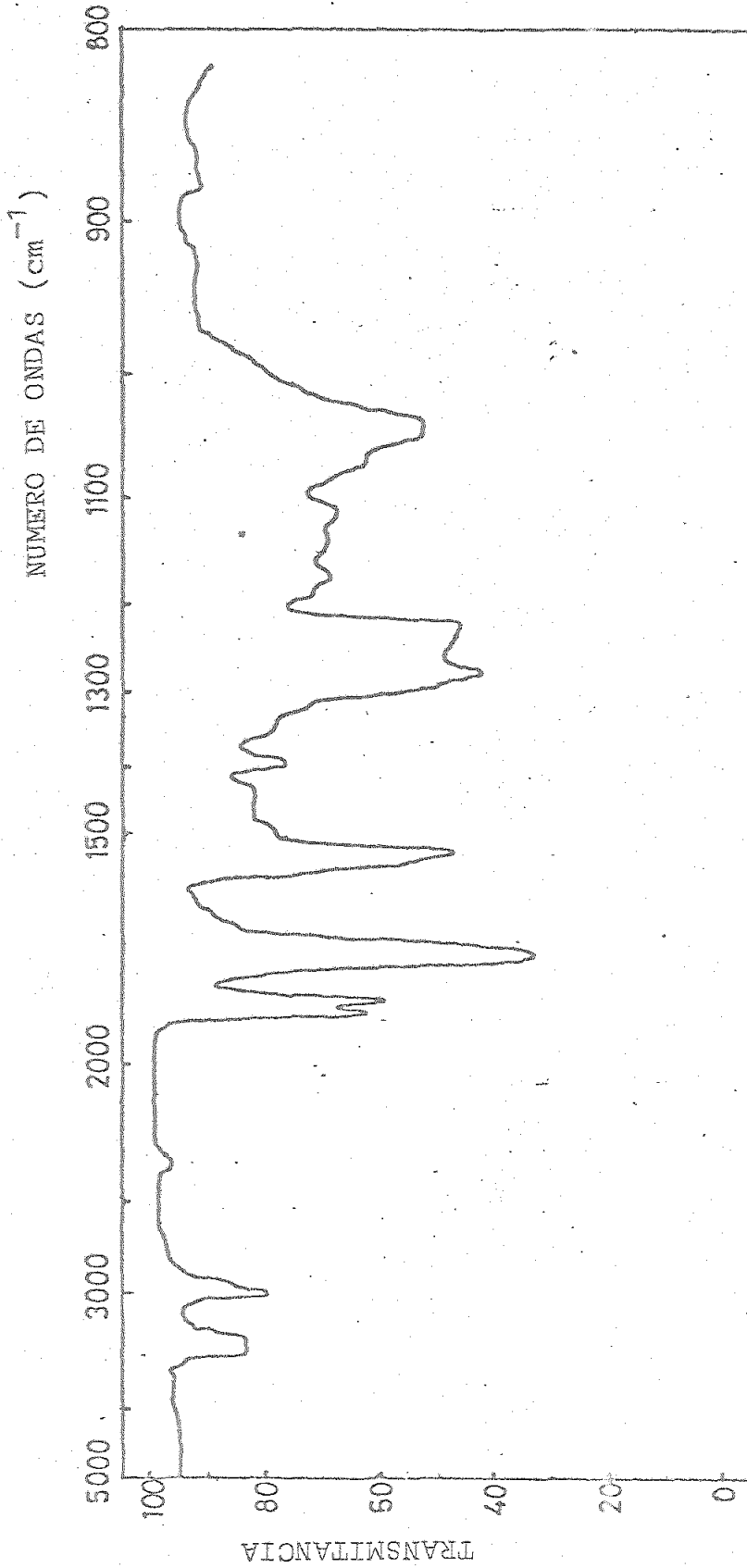


Figura 2. Espectro de infrarrojo del 5,6:3',4'-di-O-carbonato de 1,3,2',6'-tetra-N-
etoxicarbonilneamina (XXXVIII, R=C₂H₅).

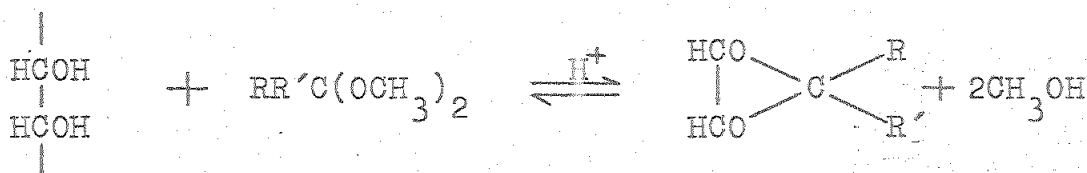
etilamina deben estar en la proporción molar 1:30:10.

4.2.3. Reacciones de cetalación.

Las reacciones de formación de cetales de neamina que hemos investigado son la de acetona (isopropilidenación) y ciclohexilidenación. Como se ha indicado en las Secciones 2.2.2. y 2.2.3., en la literatura aparecen descritos experimentos de acetona²⁴ de la 1,3,2',6'-tetra-N-benzoxicarbonilneamina (XVIIIc), en la que se produce una mezcla de los derivados acetona en posiciones 5,6 y 3',4' (fórmulas XX y XXI, respectivamente), y de ciclohexilidenación²² de la 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XVIIIa), en la que los autores logran aislar y purificar un producto que formulan como 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XXII), y detectan la formación de otros dos productos que eran probablemente el 3',4'-O-ciclohexiliden-derivado (XXIII) y el producto 5,6:3',4'-di-O-sustituido, los cuales no fueron caracterizados.

La formación de acetales y cetales de 1,2-dioles con los hidroxilos en disposición trans no se consigue por los métodos de acetalación convencionales consistentes en tratar el diol con un aldehído o cetona en presencia de un catalizador ácido que es habitualmente un ácido anhídrido o un ácido de Lewis (Cl_2Zn , SO_4Cu), los

cuales actúan como deshidratantes⁴⁰. Justamente, la formación de un isopropilideno derivado de un 1,2-diol de un azúcar se considera con frecuencia como un criterio para diagnosticar la disposición cis de los hidroxilos. Evans, Parrish y Long⁴¹ encontraron, sin embargo, que la acetilación es posible en estos casos mediante una reacción de transacetilación en la que el diol se trata con un exceso de un dialquilacetal (usualmente, dimetil acetal) de la cetona en presencia de un catalizador ácido:



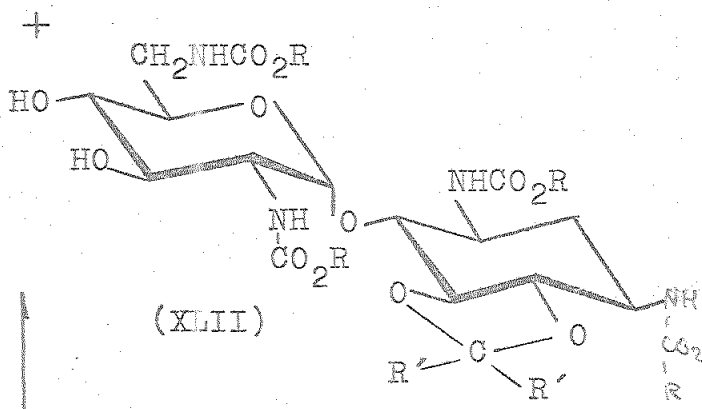
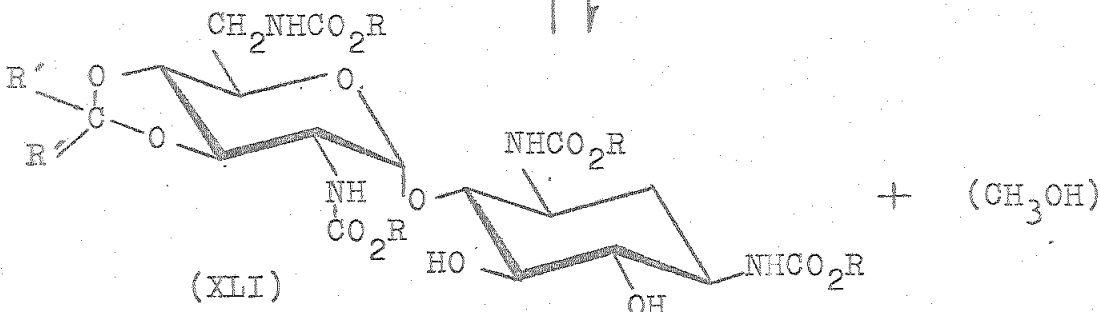
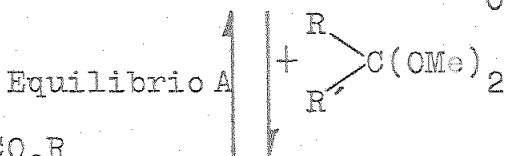
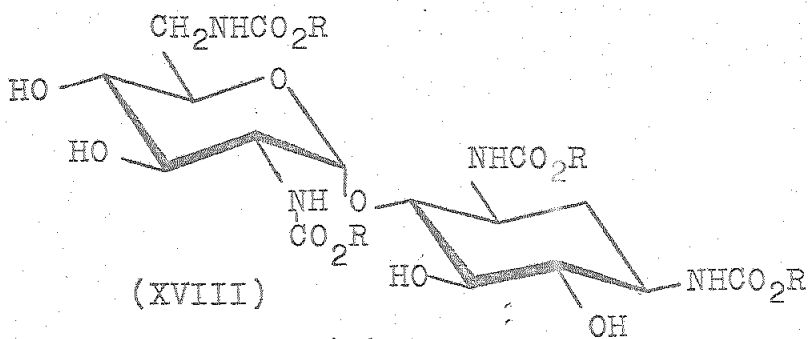
El equilibrio está fuertemente desplazado hacia la derecha en el caso de un cis-dioles y hacia la izquierda en el caso en que los grupos hidroxilos estén en disposición trans, debido a la tensión estérica del ciclo que se forma, pero aún en este caso, la formación del acetal se consigue con buen rendimiento si el equilibrio se va perturbando por eliminación del alcohol (metanol) que se produce en la reacción. Esto se consigue operando a una temperatura y presión tales que el alcohol se vaya separando por evaporación sin que hierva simultáneamente el dial-

quilacetal que se pone en gran exceso. Por consiguiente, resulta conveniente emplear dialquilacetales cuyos puntos de ebullición sean más elevados y bien distintos del alcohol que los constituye y que no formen con éste mezclas azeotrópicas; en este sentido, el 1,1-dimetoxi-ciclohexano (p.e. 54,5-55,5° / 14 mm Hg), o sea el acetal de la ciclohexanona y el metanol (p.e. 64-65°), ha sido preferido y recomendado⁴²; otro cetal frecuentemente usado ha sido el 2,2-dimetoxipropano (p.e. 79-81°), o sea el dimetil acetal de la acetona, que es un producto comercial barato, pero que codestila fácilmente con el metanol.

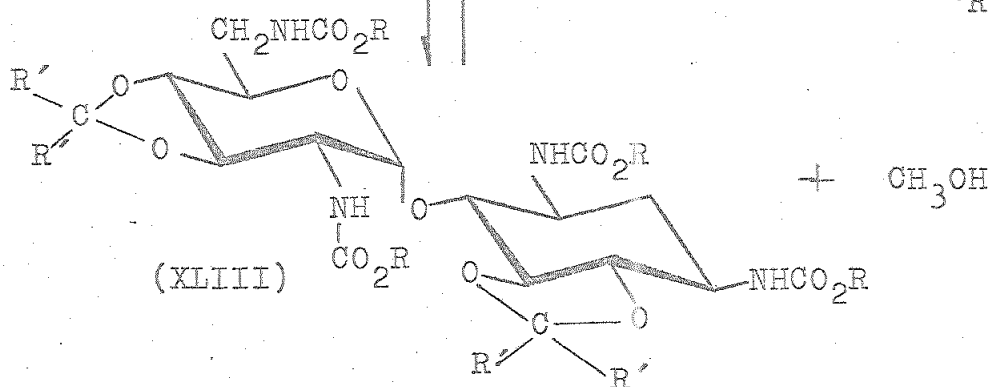
En los experimentos de acetona de la 1,3,2',6'-tetra-N-benzoxicarbonilneamina²⁴ y en los de ciclohexilidenación²² de la 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina, antes reseñados, así como en las cetalaciones de otros aminoglicósidos³, Umezawa y colaboradores ya usan este procedimiento. Por nuestra parte, nos ha parecido de interés estudiar con más detalle estas reacciones que en el caso de una sustancia con cuatro grupos hidroxilos, como son los uretanos derivados de la neamina (XVIII), deben ser complejas pudiéndose prever los equilibrios indicados en el Esquema 3.

Para unas determinadas condiciones de concentraciones iniciales de reactantes y de temperatura, y

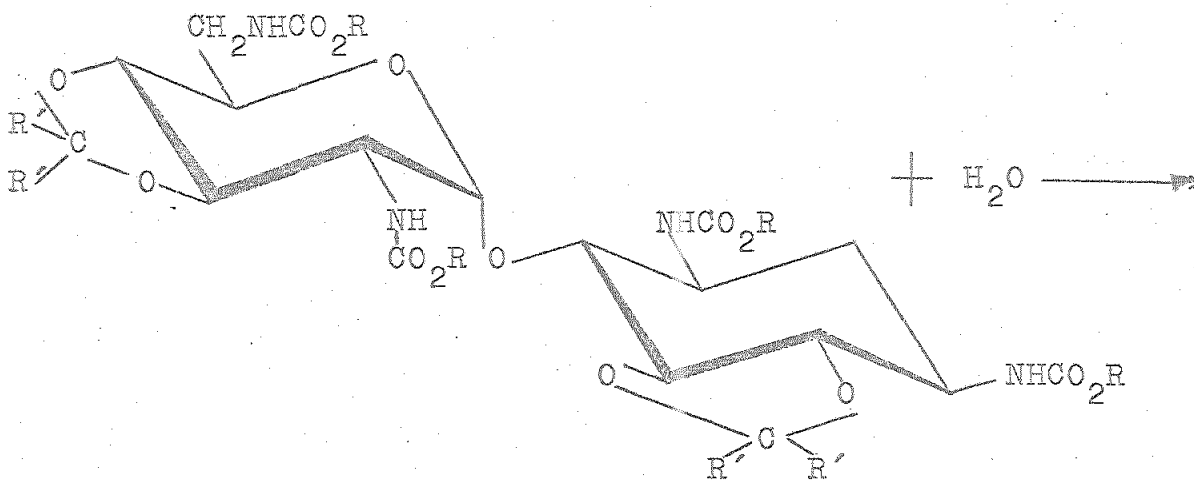
Esquema 3

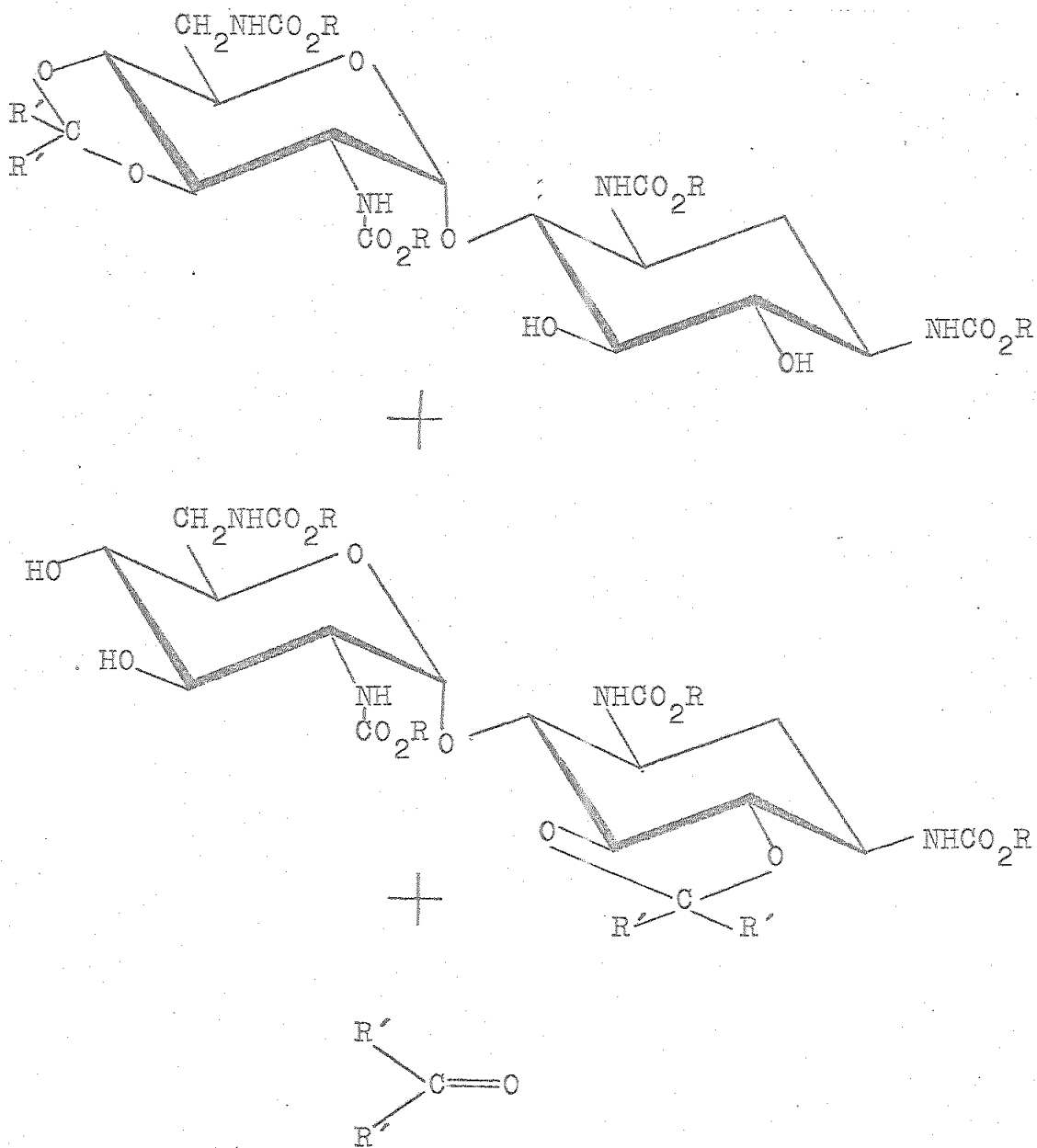


Equilibrio B



dejando que la reacción transcurra durante un tiempo suficientemente largo para que se asegure el equilibrio químico, los productos formados serán el resultado del control termodinámico de la reacción y las concentraciones en que aparezcan en el equilibrio reflejarán sus estabildades termodinámicas relativas. La posibilidad de obtención fácil de los monoacetales (XLI) y (XLII) por este procedimiento se ofrecía como interesante ya que estas sustancias corresponden a los tipos A y B que se han indicado en la introducción. Por otra parte, en el caso de que el diacetal (XLIII) se pudiera conseguir con rendimientos aceptables forzando los equilibrios en el sentido de la formación de este compuesto por eliminación de metanol, el tratamiento de este diacetal puro, o concentrados de él, con un mol de metanol en presencia de catalizador ácido debería formar, por una reversión del equilibrio B, una mezcla de los dos monoacetales (XLI) y (XLII) en la proporción de sus estabildades relativas. Similarmente, el tratamiento del diacetal (XLIII) con un mol de agua produciría la reacción:





Esquema 4

que sería irreversible en virtud de la incapacidad, antes indicada de una cetona para cetalizar un trans-1,2-diol; por tanto, esta reacción estará sometida a un control cinético, es decir, el producto principal será el que se forme con mayor velocidad que no tiene necesariamente que ser el mismo que el monoacetal más estable resultante del control termodinámico que actúa en la reacción de trans-cetalación.

Con objeto de esclarecer estos procesos, hemos ensayado las reacciones de acetona de la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina (XVIIIb) y la de ciclohexilideneación de la 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XVIIIa). Cuando el etil uretano (XVIIIb) se calienta a 50-60° con diez veces la proporción molar de 2,2-dimetoxipropano y cantidades catalíticas de ácido p-toluenosulfónico anhidro en disolución de dimetilformamida, se forman casi inmediatamente dos productos bien diferenciados de la sustancia de partida según revela la cromatografía en capa fina de la masa de reacción. Dejando que el proceso transcurra un tiempo suficientemente largo para asegurar la consecución del equilibrio, el uretano (XVIIIb) inicial continua siendo el componente principal de la mezcla. Esta situación no se logró alterar sustancialmente cuando la temperatura de reacción se elevó a 100° o se aumentó la proporción de catalizador ácido, e igual re-

sultado se obtuvo si la reacción se hizo con un exceso de 2,2-dimetoxipropano, que actuó de disolvente, en ausencia de dimetilformamida. Si en estas últimas condiciones se procede a la eliminación de metanol (y simultáneamente de 2,2-dimetoxipropano) por destilación se produce una descomposición apreciable y oscurecimiento de la masa de reacción. Los resultados anteriores indican que en el caso de la reacción de acetona del etil uretano (XVIIIb) los equilibrios A y B están desplazados desfavorablemente hacia la izquierda y los derivados acetona sólo se podrían obtener con rendimientos bajos y probablemente tras un largo proceso de purificación.

En busca de una alternativa más favorable de la situación anterior, ensayamos a continuación la reacción de ciclohexilidenación del metil uretano (XVIIIa) con 1,1-dimetoxiciclohexano. Calentando el compuesto (XVIIIa) disuelto en dimetilformamida con un exceso de seis veces la cantidad molar de 1,1-dimetoxiciclohexano y 1,48 mmoles de ácido p-toluenosulfónico anhídrido a 50-60° y 30 mm de presión, destila metanol con pequeñas proporciones de 1,1-dimetoxiciclohexano y ciclohexanona; la cromatografía en capa fina de la mezcla de reacción permite apreciar que la sustancia de partida se ha consumido después de 10 horas, habiéndose formado un producto

de R_F 0,90 (cloroformo-etanol 8:1) y cantidades menores de otros dos de R_F 0,50 (trazas) y 0,43. Después de neutralizar y evaporar la mezcla de reacción se obtiene una mezcla de la que se logra obtener, después de una cromatografía sobre columna de sílica-gel, el producto principal de R_F 0,90 con un rendimiento del 74% y el producto de R_F 0,43.

La sustancia de R_F 0,90 resultó ser un sólido pulvurulento que se puede recrystalizar de etanol y tiene un p.f. de 219-221° y $[\alpha]_D +44^\circ$ (cloroformo). Es la 5,6:3',4'-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XIX) según se dedujo de su análisis ($C_{32}H_{50}N_4O_{14}$), su espectro infrarrojo que mostró la ausencia de banda de tensión del grupo hidroxilo, su espectro de RMN que dió una señal amplia correspondiente a diez grupos metílenos a 1,45 τ , y de las transformaciones que se describen más adelante.

El producto de R_F 0,43 se obtuvo por este procedimiento con muy bajo rendimiento y fué igualmente un sólido microcristalino que se puede recrystalizar bien de tetrahidrofurano-agua y tiene un p.f. de 133-137° y $[\alpha]_D +36,5^\circ$ (cloroformo). El análisis elemental correspondiente a la fórmula $C_{26}H_{42}N_4O_{14}$ indicó que se trataba de un monociclohexiliden derivado del uretano (XVIIIa)

de partida lo cual se confirmó mediante el espectro infrarrojo, que mostró fuerte absorción del tipo ν (OH) además de las bandas de amida [a 3320 cm^{-1} ν (NH); 1710 y 1685 cm^{-1} ν (C=O); 1525 cm^{-1} (amida II)], y el espectro de RMN que mostró una señal amplia a δ correspondiente a los cinco metilenos de un anillo de ciclohexilideno. La posición del anillo acetal en los hidroxilos en 5,6 del anillo de 2-desoxiestreptamina se dedujo de los experimentos de degradación de este producto en derivados de 2-desoxiestreptamina que se describen en las Secciones 5.3. y 5.4., con lo cual su fórmula queda establecida como 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XXII). Este producto ya había sido obtenido y descrito por Umezawa el cual da el valor de $[\alpha]_D^{37}$ (cloroforno) casi igual al encontrado por nosotros, y el análisis, pero no demostró la estructura.

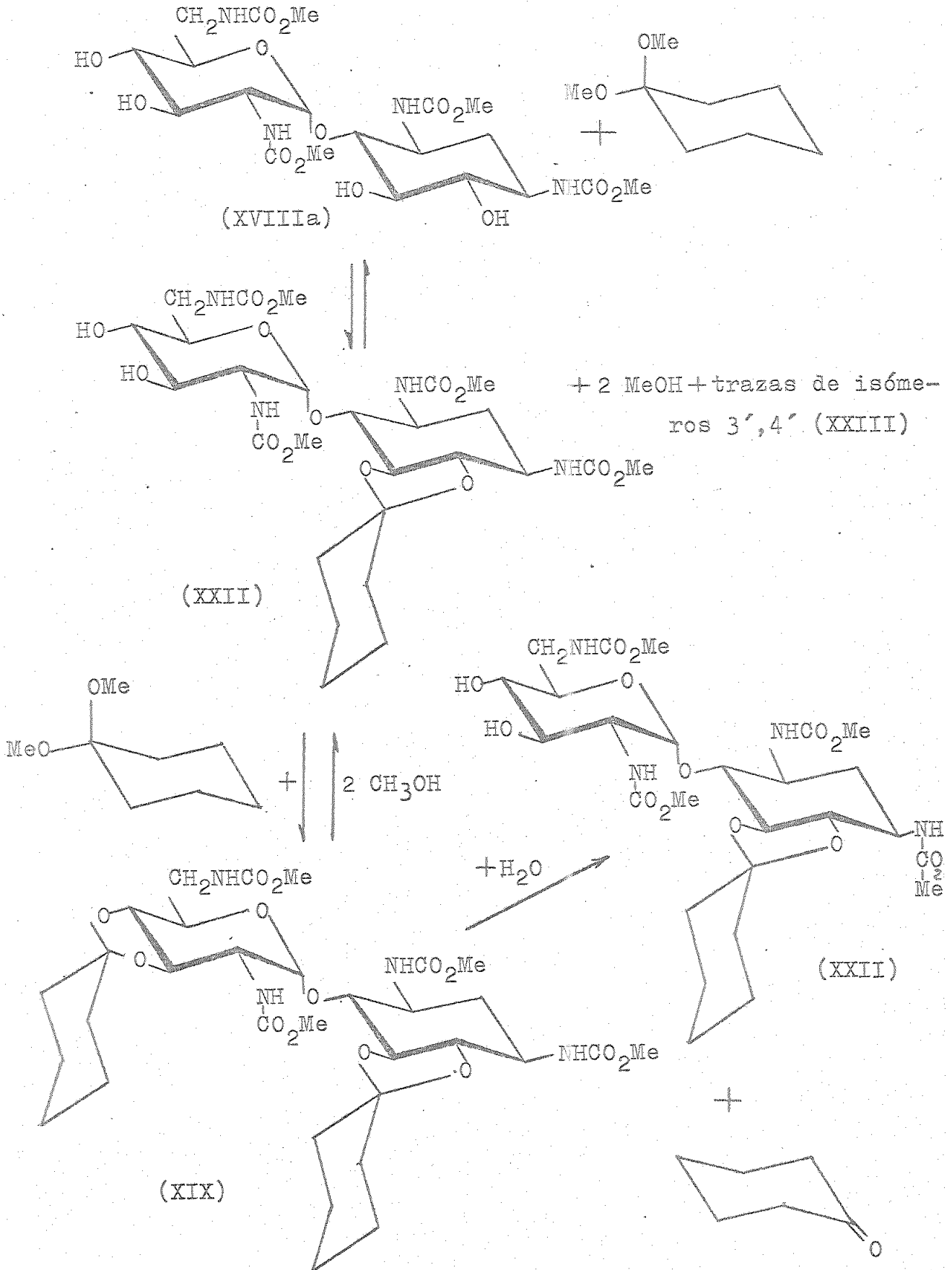
El mono-ciclohexiliden derivado (XXII) se puede obtener con mayor facilidad y rendimiento por hidrólisis parcial del diciticlohexiliden derivado (XIX) de acuerdo con la reacción indicada en el Esquema 4. Al tratar una disolución del diacetal (XIX) en dimetilformamida con un equivalente molar de agua en presencia de cantidades catalíticas de ácido p-toluenosulfónico, y seguir la reacción por cromatografía en capa fina, se puede observar la gradual desaparición del diacetal y la formación del 5,6-

O-ciclohexiliden derivado (XXII) y cantidades trazas de 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina. El producto (XXII) se puede aislar puro de la mezcla de reacción sin tener que recurrir a procedimientos cromatográficos, con un rendimiento del 62%. Alternativamente, el tratamiento del 5,6:3',4'-di-O-ciclohexiliden acetal (XIX) con metanol en dimetilformamida a 45° provoca una metanolisis selectiva de la sustancia formándose exclusivamente el 5,6-O-monociclohexiliden acetal (XXII) (el isómero con el grupo acetálico en posiciones 3',4', que posiblemente es el compuesto de R_F 0,50 mencionado anteriormente, no se detecta) el monoacetal (XXII) queda, aparentemente en equilibrio, con una cantidad residual de la sustancia de partida que no se llega a consumir aunque se prolongue indefinidamente el tiempo de reacción; el producto mayoritario (XXII) se aísla con un rendimiento del 79%, después de cromatografiar la mezcla de los productos en una columna de gel de sílice, e incluso, en algunos experimentos especialmente favorables, la proporción de impureza de sustancia inicial resulta tan pequeña que el producto se logra purificar con rendimiento más alto por simple recristalización del producto crudo de tetrahydrofurano-agua. Este resultado pone claramente de manifiesto el carácter reversible de la reacción de ciclohexilidenación en estas condiciones y nos señala que el 5,6 acetal ciclo-

hexiliden derivado (XXII) es más estable termodinámicamente que su isómero el acetal en posiciones 3',4' (XXIII). El resultado de la hidrólisis selectiva nos indica, por otra parte, que la ruptura hidrolítica del anillo acetálico en posiciones 3',4' es más rápida que la hidrólisis de los enlaces acetálicos en posiciones 5,6. Estas propiedades facilitan, como se ha visto, la obtención del compuesto (XXII), pero no hicieron posible la formación en cantidad suficiente para su aislamiento de su isómero (XXIII) que era uno de los objetivos que se perseguían al planear los experimentos.

Las ecuaciones que expresan estas reacciones están indicadas en el Esquema 5. Basándose en estas reacciones y en los resultados anteriormente discutidos, el mejor método para obtener el monoacetal (XXII) a escala preparativa consiste en transformar el uretano en el diacetal (XIX) por calefacción con 1,1-dimetoxiciclohexano y ácido p-toluenosulfónico en dimetilformamida a presión reducida, y tratar directamente la solución del diacetal así producido sin aislar éster con agua o con metanol para producir la hidrólisis selectiva o el equilibrio de metanolisis. De la solución final que contiene el acetal como producto predominante se puede lograr el producto puro por cristalización o cromatografía, con rendimientos del 60 al 80%.

Esquema 5



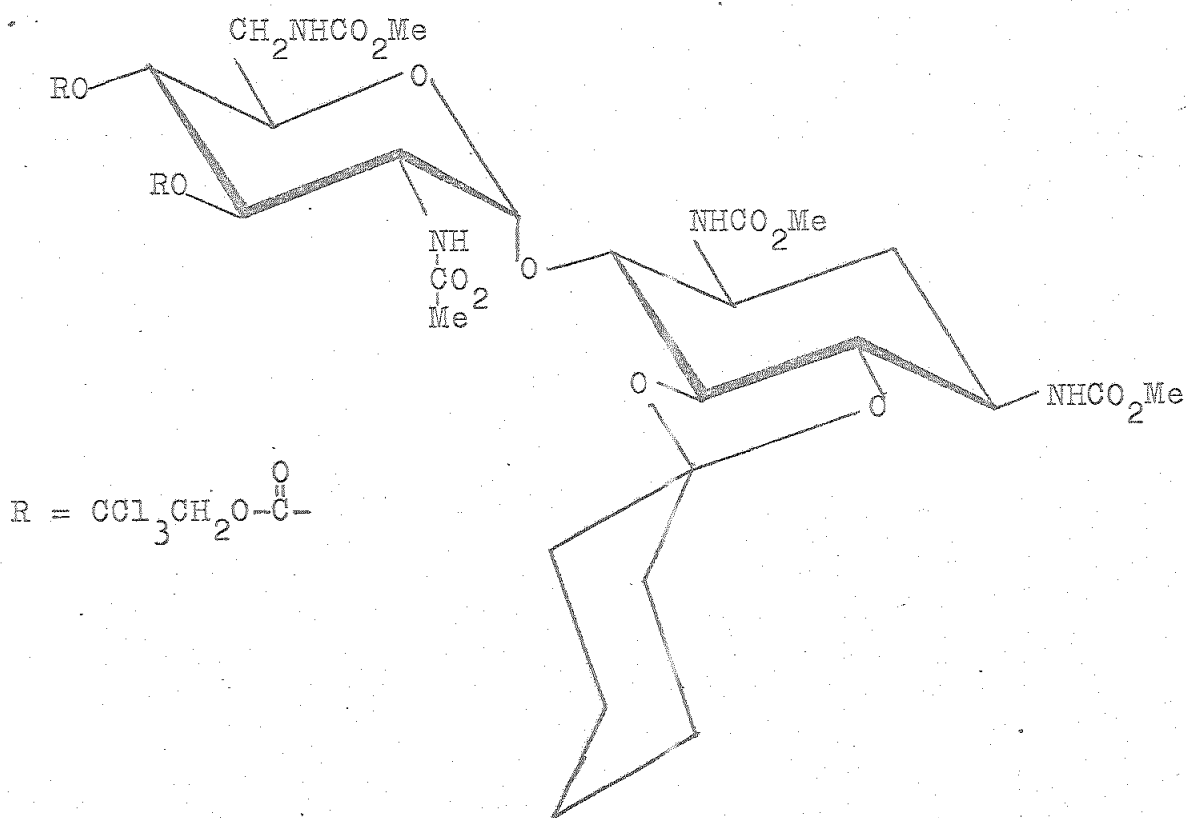
4.2.4. Derivados obtenidos a partir de la 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxycarbonilneamina.

La 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxycarbonilneamina (XXII) que se puede obtener con facilidad y buen rendimiento como se acaba de describir, es interesante porque su estructura corresponde a las del tipo A indicado en la Introducción y, por otra parte, porque puede servir como sustancia intermedia para preparar otros derivados de los tipos A y B. Los experimentos que se describen a continuación tuvieron por objetivo la conversión de (XXII) en estas dos clases de derivados.

La transformación de la 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxycarbonilneamina en un derivado del tipo B se podría conseguir en principio por sustitución de las posiciones 3',4' libres por un grupo apropiado y eliminación subsiguiente del grupo acetal en posición 5,6. Para la primera etapa parecía apropiada la formación de un 3',4'-di-O-acil derivado, puesto que la función éster es compatible con las condiciones hidrolíticas suaves que se requerirían para la posterior separación del grupo acetal. De los grupos acilos que se pueden tomar en consideración, nos pareció el más conveniente el grupo 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo ($\text{CCl}_3\text{CH}_2\text{OC}=\text{O}$) ya que los carbonatos mixtos a que da lugar se pueden convertir en el alcohol de partida bien por hidrólisis o bien por

reducción en medio ácido o neutro⁴³. El uso del grupo protector 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo no ha sido ensayado en la química de los hidratos de carbono, según se dedujo de una revisión de la bibliografía, pero se ha revelado como eficaz en las transformaciones de esteroides y cefalosporinas^{43a}.

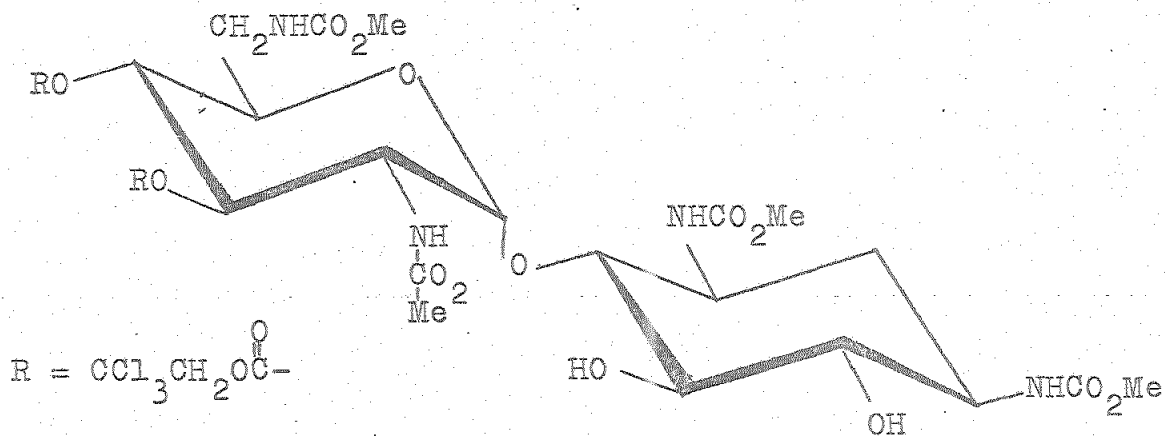
El tratamiento de (XXII) con cuatro veces la proporción molar de cloroformiato de 2,2,2-tricloroetilo a 0° en presencia de piridina proporciona un alto rendimiento (96%) de un sólido amorfo cromatográficamente homogéneo que se puede obtener analíticamente puro por cromatografía en columna sobre gel de sílice fundiendo entonces a 91-93°. Su estructura correspondiente al 5,6-O-ciclohexiliden-3',4'-di-O-(2,2,2-tricloroetoxicarbonil)-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XLIV) se dedujo de su análisis elemental ($C_{32}H_{44}N_4O_{18}Cl_6$) y de los datos de su espectro de infrarrojo que muestra una banda éster carbónico acíclico a 1780 cm^{-1} y las bandas de uretano a 3370 cm^{-1} [ν (N-H)], 1720 cm^{-1} (amida I) y 1545 cm^{-1} (amida II), y la ausencia de la banda fuerte de ν (OH).



(XLIV)

La hidrólisis de la agrupación acetal del compuesto anterior (XLIV) se puede conseguir por calefacción durante 2 horas con ácido acético al 80% y más rápidamente y en condiciones más suaves siguiendo el procedimiento de carácter general descrito por Christensen y colaboradores⁴⁴ en que se emplea ácido trifluoroacético. Siguiendo esta técnica, el acetal (XLIV) se disuelve en una mezcla de ácido trifluoroacético-agua (9:1) y la solución se deja a temperatura ambiente durante 1 hora al

cabo de cuyo tiempo la sustancia de partida se ha transformado cuantitativamente, según muestra la cromatografía en capa fina de la mezcla de reacción (R_F de XLIV, 0,61, cloroformo-etanol 85:15), en un único producto de R_F 0,37(en el mismo eluyente). Esta nueva sustancia se puede aislar prácticamente pura (48,6%) por mera evaporación de la masa de reacción y trituración del residuo con éter; es un sólido pulverulento que no se logró cristalizar pero que se puede purificar por cromatografía de columna sobre sílica gel usando cloroformo-etanol 85:15 como eluyente. En estas condiciones tiene un p.f. 139-141° y dió un análisis correcto para la fórmula empírica ($C_{26}H_{36}N_4O_{18}Cl_6$) correspondiente a la estructura 3',4'-di-O-(2,2,2-tricloroetoxicarbonil)-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XLV); su espectro de infrarrojo (Figura 3) con una fuerte banda de tensión de hidroxilo a 3360 cm^{-1} , y las bandas típicas de uretano [1735 cm^{-1} (amida I) y 1540 cm^{-1} (amida II)] confirmó esta estructura.



(XLV)

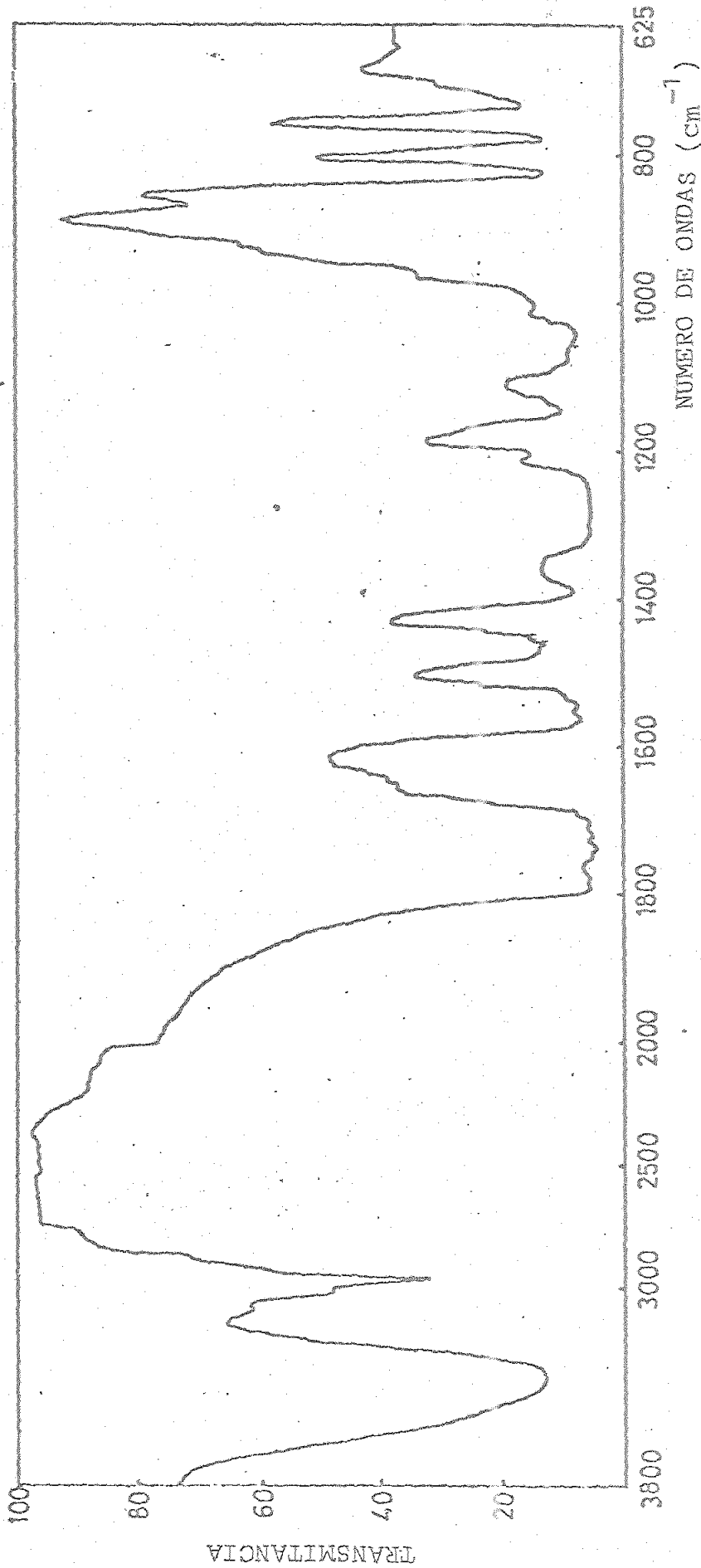
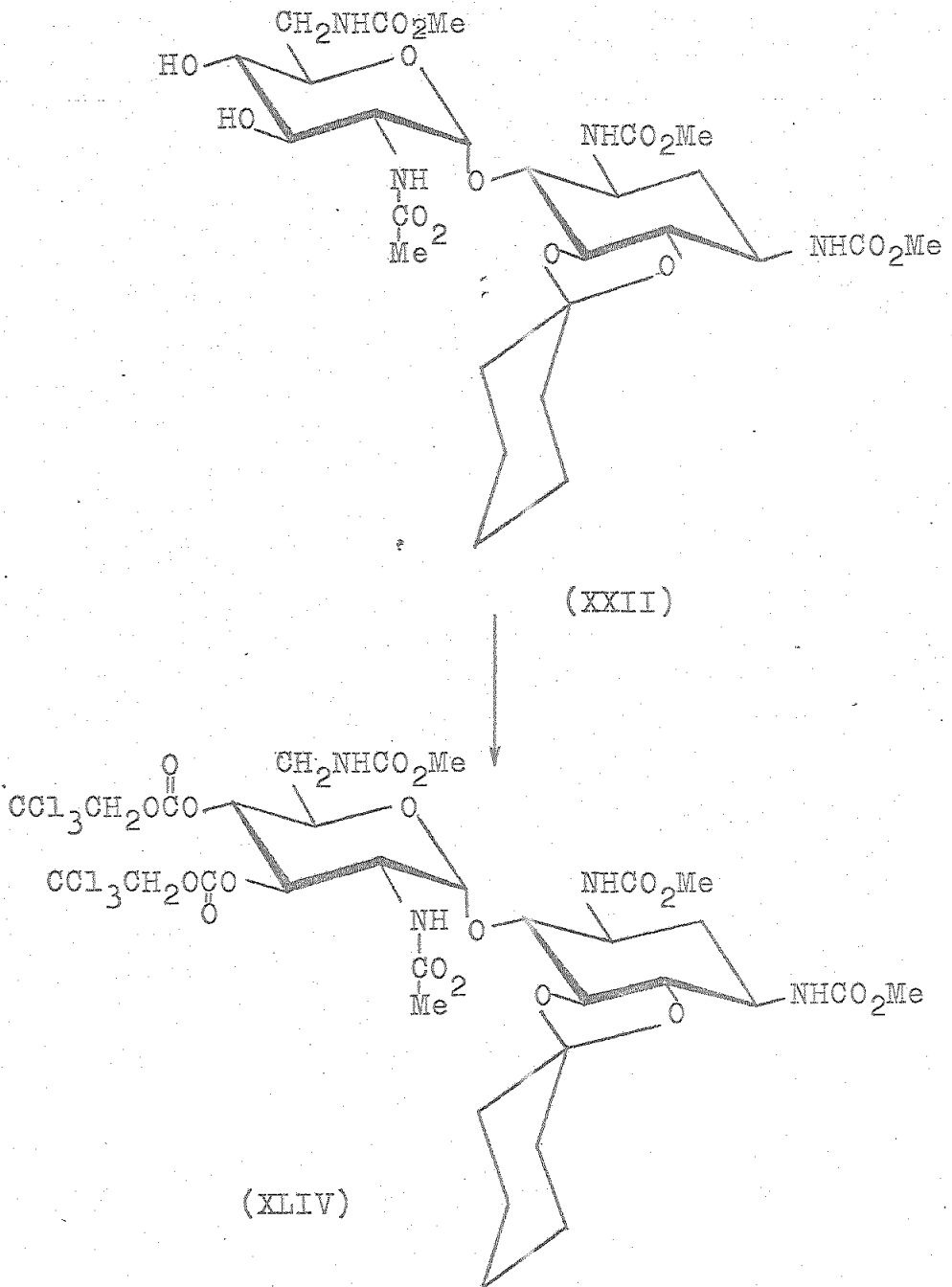


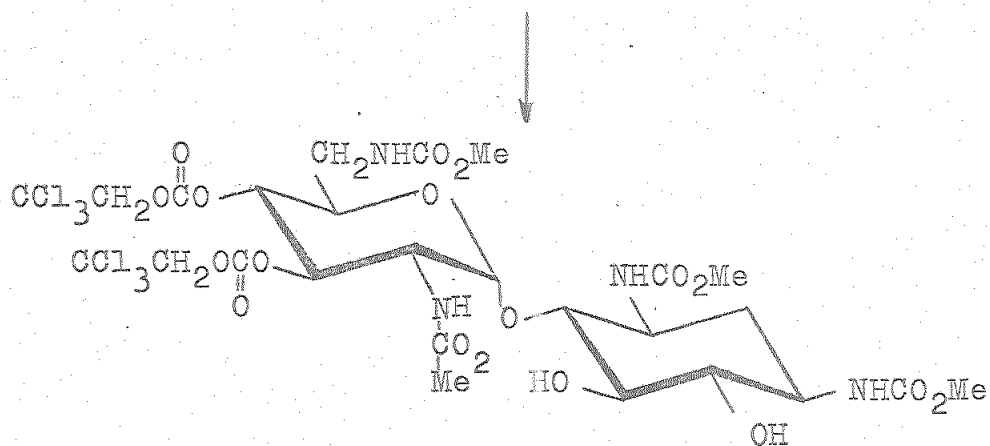
Figura 3. Espectro de infrarrojo del 3',4'-di-O-(2,2,2-tricloroetoxicarbonil)-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XIV).

El 3',4'-dicarbonato (XLV) es un compuesto de tipo B que puede ser utilizado como materia de partida en la síntesis química de aminoglicósidos que contengan neamina, pero aparte de ello se consideró que podría ser usado como intermedio para convertir el 5,6-acetal (XXII), del tipo A, en otros derivados sustituidos en las mismas posiciones (o sea, compuestos también del tipo A) por un grupo sustituyente que, a diferencia del grupo acetalico de (XXII), fuese estable en medio ácido. Con este fin se consideró la conversión del 5,6-diol (XLV) en el correspondiente 5,6-di-O-acetato (XLVI) y la posterior separación selectiva de los grupos protectores 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo en posiciones 3',4', por procedimientos que no afecten la función acetato, con lo que se obtendría el 3',4'-diol (XLVII). En el conjunto de transformaciones, representadas en el Esquema 6, partiendo del acetal (XXII), el grupo 5,6-O-ciclohexilideno de esta última sustancia se sustituye por dos grupos acetilos en las mismas posiciones.

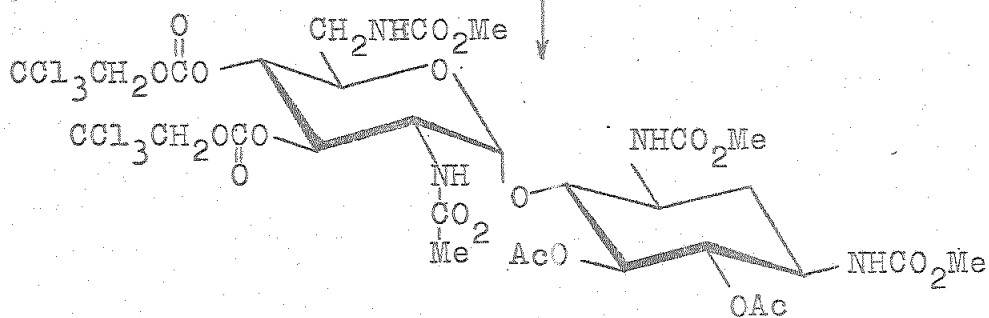
La transformación del dicarbonato (XLIV) en la 5,6-di-O-acetil-3',4'-di-O-(2,2,2-tricloroetoxicarbonil)-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XLVI) se consigue con facilidad por tratamiento con anhídrido acético y piridina por el método convencional, obteniéndose un rendimiento del 57% de un sólido amorfo, con p.f. 140-

Esquema 6

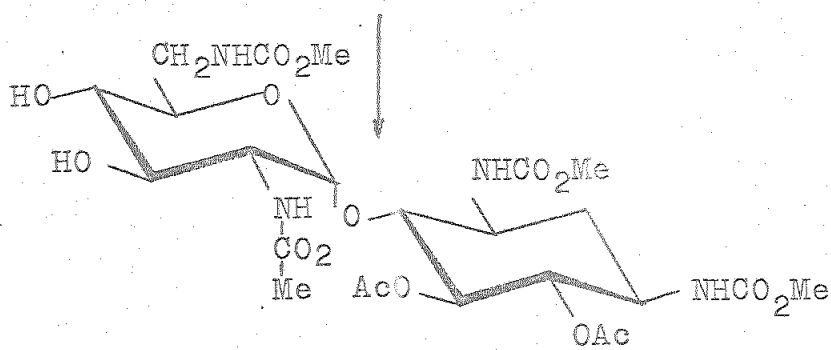




(XLV)



(XLVI)



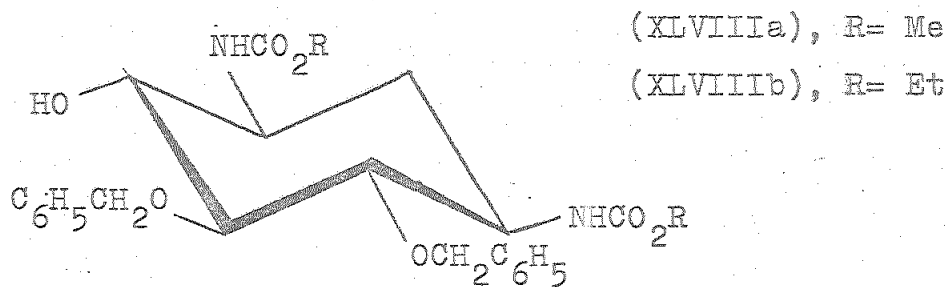
(XLVII)

142°, cromatográficamente homogéneo. Los datos del análisis elemental y el espectro infrarrojo [(ausencia de banda ν (OH); bandas de acetato a 1740 y 1240 cm^{-1} y las bandas de uretano a 3400 cm^{-1} ν (N-H), 1720 cm^{-1} (amida I) y 1545 cm^{-1} (amida II)], estuvieron de acuerdo con esta estructura. En algunas de las preparaciones de esta sustancia se observó la formación de un producto minoritario de menor movilidad cromatográfica que el producto principal que no se aisló.

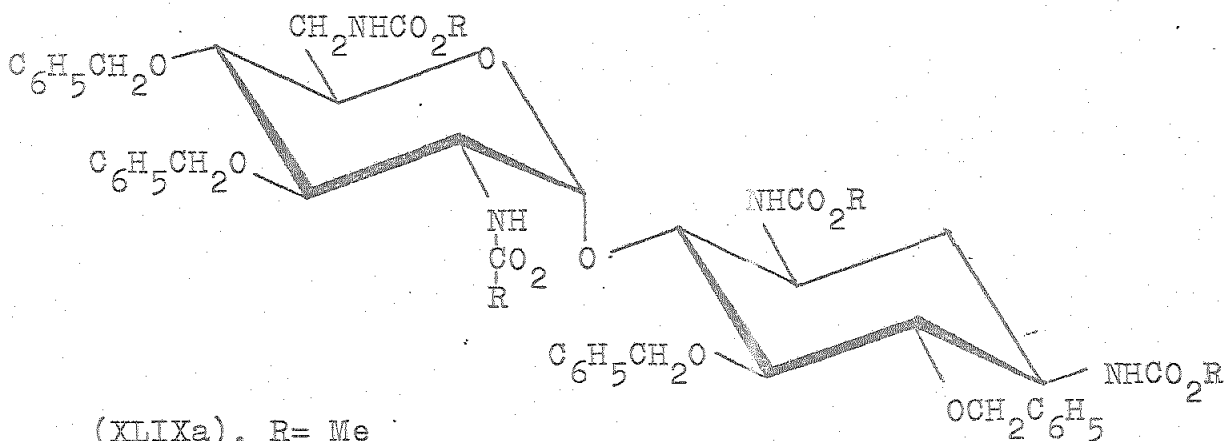
Procedía en este punto la separación de los grupos 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo del producto (XLVI) sin afectar los grupos acetales. Las condiciones no hidrolíticas que menciona la literatura^{43b} son el tratamiento con polvo de zinc en metanol o en ácido acético a temperatura ambiente. La aplicación en nuestro caso de estos procedimientos para convertir (XLVI) en el diacetato (XLVII) no tuvieron éxito. La sustancia de partida (XLVI) disuelta en metanol permaneció inalterada después de un largo tratamiento con polvo de zinc a temperatura ambiente o a reflujo, e incluso después de activar el zinc por adición de unas gotas de sulfato de cobre. Cuando se empleó zinc en polvo en presencia de ácido acético, la cromatografía en capa fina indicó que había ocurrido una reacción con formación de una mezcla compleja de productos.

4.2.5. Reacciones de bencilación.

A los efectos de obtener un derivado asimétricamente sustituido de la 2-desoxiestreptamina, concretamente, la 5,6-di-O-bencil-2-desoxi-1,3-di-N-etoxi (o metoxi) carbonilestreptamina (XLVIII), nos interesó obtener



los derivados tetra-O-bencilados (XLIXa y b) de la 1,3,2',6-tetra-N-etoxi (y metoxi) carbonilneamina. Se preveía que



la hidrólisis ácida o la metanolisis de estos compuestos sólo afectaría al enlace glicosídico y suministraría las agliconas (XLVIII) junto a la 3,4-di-O-bencil-2,6-didesoxi-2,6-dietoxi-carbonilamino-D-glucosa (o sus metil glicósidos).

El grupo bencilo se emplea con frecuencia como grupo protector de la función hidroxilo en la química de hidratos de carbono; los derivados O-bencilados se preparan con facilidad por tratamiento del poliol o el azúcar con un haluro de bencilo en presencia de una base fuerte (Na, NaH, NaOH). Existen antecedentes⁴⁵ de la reacción aplicada a aminoazúcares con la función NH₂ protegida por restos acilos o alcoxicarbonilos sin que en estos casos la reacción se complique apreciablemente por la formación de derivados N-bencilados.

En nuestro caso para obtener los bencilderivados (XLIX) hemos usado dimetilformamida como disolvente vehículo de la reacción ya que tanto la 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina como la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina son inmiscibles con cloruro o bromuro de bencilo. Como catalizador básico hemos preferido el uso de una mezcla de óxido de bario-hidróxido de bario ya que se ha observado⁴⁵ que en estas condiciones se reduce la formación de dibenciléter que es el subproducto de la ben-

cilación y que puede dificultar el aislamiento de los productos.

El tratamiento de la 1,3,2',6'-tetra-N-metoxycarbonilneamina (XVIIIa) con bromuro de bencilo en dimetilformamida en presencia de óxido de bario e hidróxido de bario octahidrato durante 4 horas a 0° y 24 horas más a temperatura ambiente lleva a la transformación cuantitativa de la sustancia de partida y formación de un producto principal además del dibenciléter, según reveló la cromatografía en capa fina de la mezcla de reacción. Este producto resultó ser un sólido cristalino de p.f. 166-168° al que corresponde la estructura de 5,6,3',4'-tetra-O-bencil-1,3,2',6'-tetra-N-metoxycarbonilneamina (XLIXa) teniendo en cuenta los datos del análisis elemental ($C_{48}H_{58}N_4O_{14}$) y el espectro de infrarrojo que no presentó la banda de vibración de tensión del grupo hidroxilo y mostró en cambio absorciones correspondientes a las funciones uretano [3325 cm^{-1} , $\nu(N-H)$; 1720 cm^{-1} (amida I) 1567 cm^{-1} (amida II)] y bandas debidas al grupo fenilo (3025, 1550, 740 cm^{-1}).

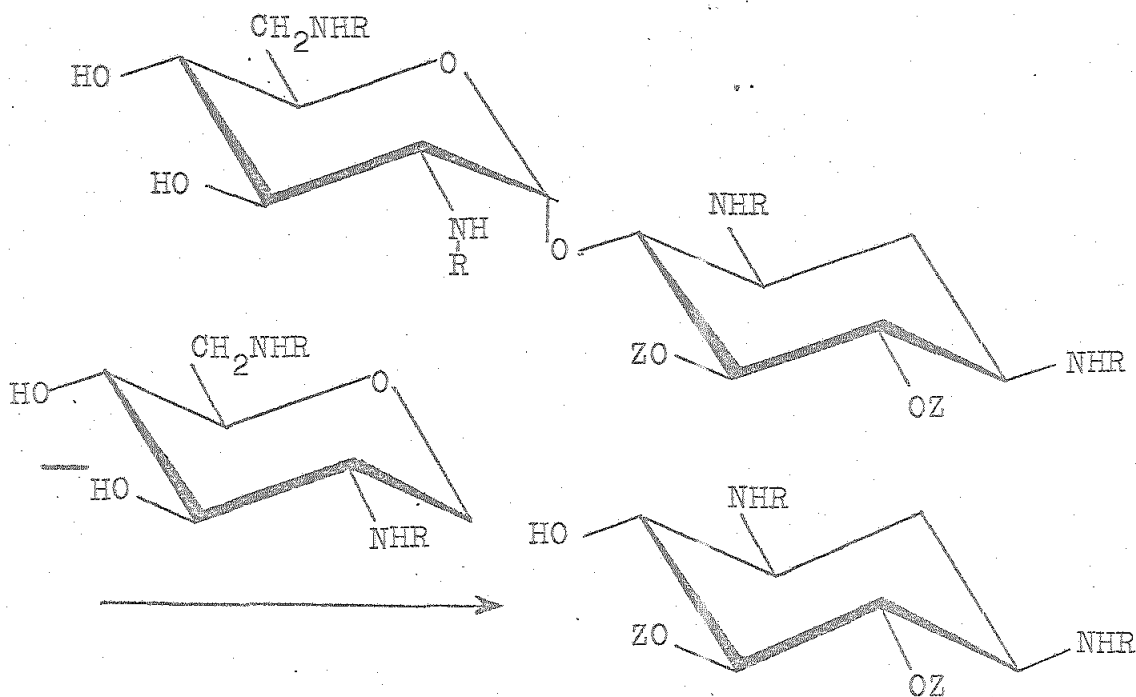
La reacción similar con el etiluretano (XVIIIb) dió la 5,6,3',4'-tetra-O-bencil-1,3,2',6'-tetra-N-etoxycarbonilneamina (XLIXb) igualmente cristalina, con p.f. 146-148°. Su análisis elemental y espectro de infrarrojo estuvieron de acuerdo con esta estructura.

5. DEGRADACION DE DERIVADOS DE NEAMINA. SINTESIS DE
NUEVOS DERIVADOS DE 2--DESOXIESTREPTAMINA

5. DEGRADACION DE DERIVADOS DE NEAMINA. SINTESIS DE NUEVOS DERIVADOS DE 2-DESOXIESTREPTAMINA.

Los experimentos que se exponen en esta Sección tuvieron como objetivo transformar por degradación algunos de los derivados de neamina descritos en la Sección anterior en derivados de la 2-desoxiestreptamina que estuviesen asimétricamente sustituidos y fuesen, por consiguiente, ópticamente activos. Estos experimentos implican, por tanto, la eliminación de la molécula de 2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucosa contenida en un derivado sustituido en la porción de 2-desoxiestreptamina de la neamina, según indica el siguiente Esquema:

Esquema 7



Dos tipos de reacciones se utilizaron en estas degradaciones:

- a) reacciones de metanolisis en las que las dos mitades de la neamina se separan conservando sus integridades, y,
- b) reacción de oxidación con periodato del anillo de 2,6-diamino-2,6-didesoxihexosa, dejando incólume el anillo de 2-desoxiestreptamina, y subsiguiente liberación del grupo hidroxilo en posición 4.

5.1. Metanolisis de derivados de neamina.

El hecho de que la neomicina se degrade a neamina por metanolisis, como se ha expuesto en la Sección 3, y la reacción no prosiga dando los componentes de la neamina, implica que la unión glicosídica de esta sustancia es bastante estable en las condiciones de la reacción, lo cual es atribuible a la presencia de las cuatro funciones amino ionizables que flanquean el enlace glicosídico y lo protegen de la acción del catión CH_3OH_2^+ que provoca la ruptura. Tal situación se debe alterar si las funciones amino se modifican transformándolas en amidas o uretanos, cabiendo esperar por ello que estos derivados de las neomicinas y de la neamina se puedan degradar por hidrólisis o metanolisis en sus monosa-

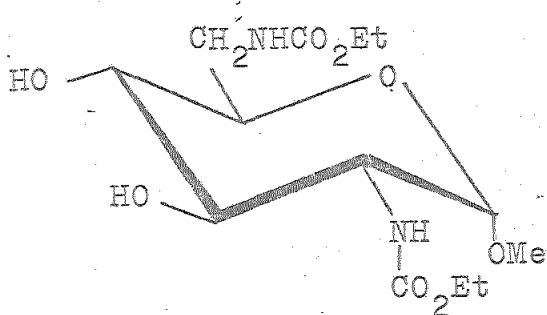
cáridos componentes y 2-desoxiestreptamina. De hecho la literatura¹³ ya menciona, como hemos reseñado en la Sección 2.1., que la 1,3,2',6'-tetra-N-acetilneamina se puede transformar por hidrólisis dando 2-desoxiestreptamina y 2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucosa. Por esta razón a los derivados de neamina que hemos sometido a metanolisis se les había protegido previamente los grupos amino mediante formación de uretanos, como hemos descrito en secciones anteriores. No existen antecedentes de reacciones de metanolisis de derivados de neamina y por ello nos pareció conveniente el buscar las condiciones experimentales usando un substrato fácilmente asequible en el que fuese fácil estudiar las estructuras de los fragmentos de la escisión. El substrato elegido fué la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina (XVIIIb) cuya metanolisis se describe a continuación.

5.1.1. Metanolisis de la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina.

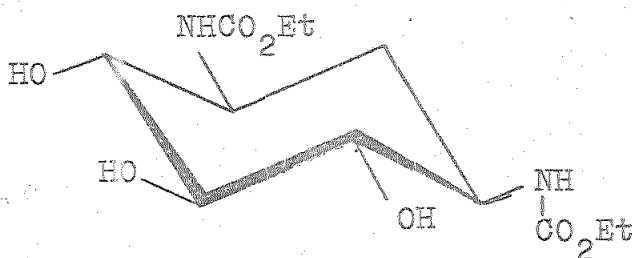
El tratamiento de la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina (XVIIIb) con cloruro de hidrógeno 0,38N en metanol a la temperatura de reflujo origina la formación de dos productos que se diferencian muy bien por cromatografía en capa fina (benceno-etanol 85:15) ya que uno, con R_F 0,21, se carboniza muy fácilmente cuando el cromatoplateo se revela con ácido sulfúrico, y el segun-

do, de menor movilidad ($R_F \sim 0,15$), se quema mal y sólo se puede visualizar cuando la solución muestra se concentra. La sustancia de partida se consumió tras aproximadamente 20 horas. La evaporación de la solución origina un residuo mezcla de los dos productos que se pueden separar fácilmente por cristalización fraccionada en etanol absoluto. Primeramente cristaliza un sólido cristalino, de p.f. 194-196° y $[\alpha]_D +45^\circ$ (etanol), que es la sustancia de R_F 0,21 que carboniza fácilmente y se obtiene con un rendimiento del 53%, y de las aguas madres, ligeramente concentradas, cristaliza el segundo producto (rendimiento 57%) que funde con descomposición a 224-232° y es ópticamente inactivo.

A la primera de estas sustancias se le asigna la estructura de metil 2,6-dietoxicarbonilamino-2,6-didesoxi- α -D-glicopiranosido (L) teniendo en cuenta los datos de microanálisis, correspondiente a la fórmula empírica ($C_{13}H_{24}N_2O_8$), su poder rotatorio y su espectro infrarrojo (ver Parte Experimental).



(L)

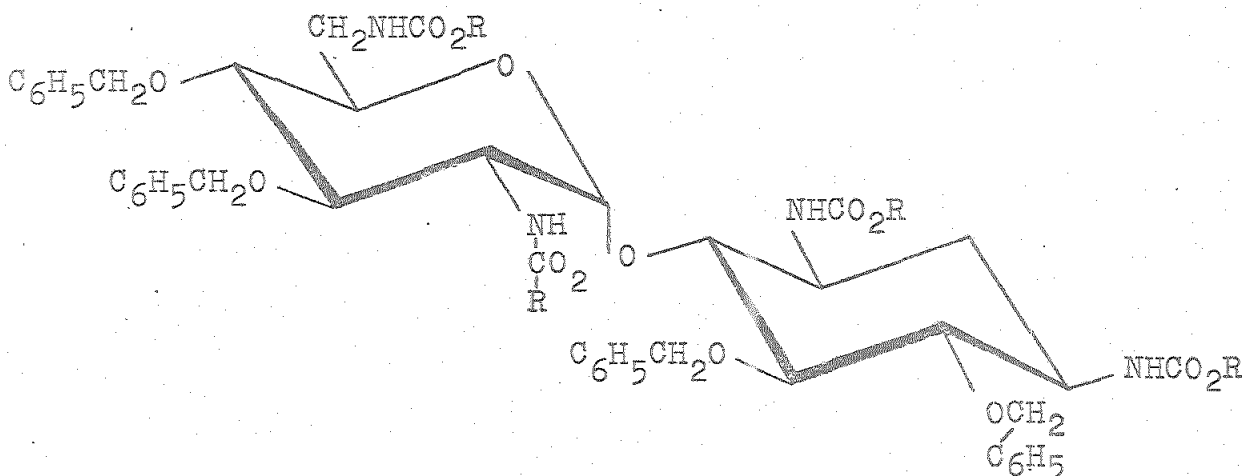


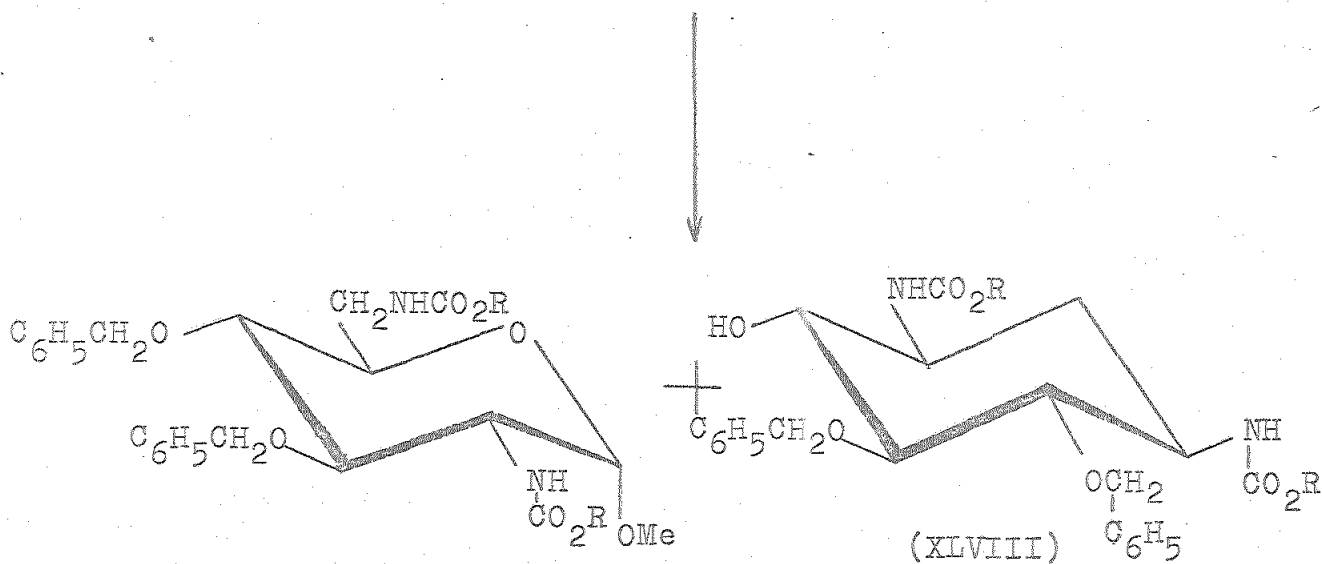
(LI)

El segundo producto se formula como la 2-desoxi-1,3-di-N-etoxicarbonilestreptamina (LI) igualmente sobre las bases del análisis ($C_{12}H_{22}O_7N_2$), la inactividad óptica y el espectro de infrarrojo (ver Parte Experimental). Este producto ha sido previamente obtenido⁵ por Umezawa y colaboradores por síntesis directa y unívoca a partir de 2-desoxiestreptamina y cloroformiato de etilo; estos autores dan un p.f. (230-232°) y espectro de infrarrojo muy similares a los encontrados por nosotros.

5.1.2. Intentos de etanolisis de la 5,6,3',4'-tetra-O-bencil-1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina.

Los resultados anteriores muestran la posibilidad de escindir los uretanos de la neamina por etanolisis y producir de esta manera derivados de 2-desoxiestreptamina. La extensión de esta reacción a los derivados tetra-O-bencilados de los uretanos de la neamina llevaría a 5,6-di-O-bencil derivados de uretanos de la 2-desoxiestreptamina (XLVIII), según formulamos a continuación:





Se hicieron experimentos preliminares usando el etiluretano (XLIXb) y etanol conteniendo concentraciones crecientes de cloruro de hidrógeno (0,4, 1, 2,2 y 4N) y tiempos de reacción de hasta 40 horas, observándose una transformación muy lenta de la sustancia de partida, que aun tras este tiempo continua inalterada en una gran cantidad, y la formación de tres productos de R_F 0,76, 0,51 y 0,44 (cloroformo-etanol 95:5; R_F de la sustancia de partida XLIXb, 0,6). Teniendo en cuenta estos resultados, se realizó un ensayo en el que una disolución al 6% del compuesto (XLIXb) en etanol-cloruro de hidrógeno 5N se reflujo durante 50 horas. La mezcla de sustancias presentes al final de este tratamiento, de composición similar a la anteriormente indicada en la que el compuesto de partida

es aún el componente mayoritario, se intentó separar en una columna de sílica gel obteniéndose fracciones enriquecidas en el producto de R_F 0,76 y en los de R_F 0,51 y 0,44 mezclados, pero con rendimientos muy bajos que impidieron una ulterior separación.

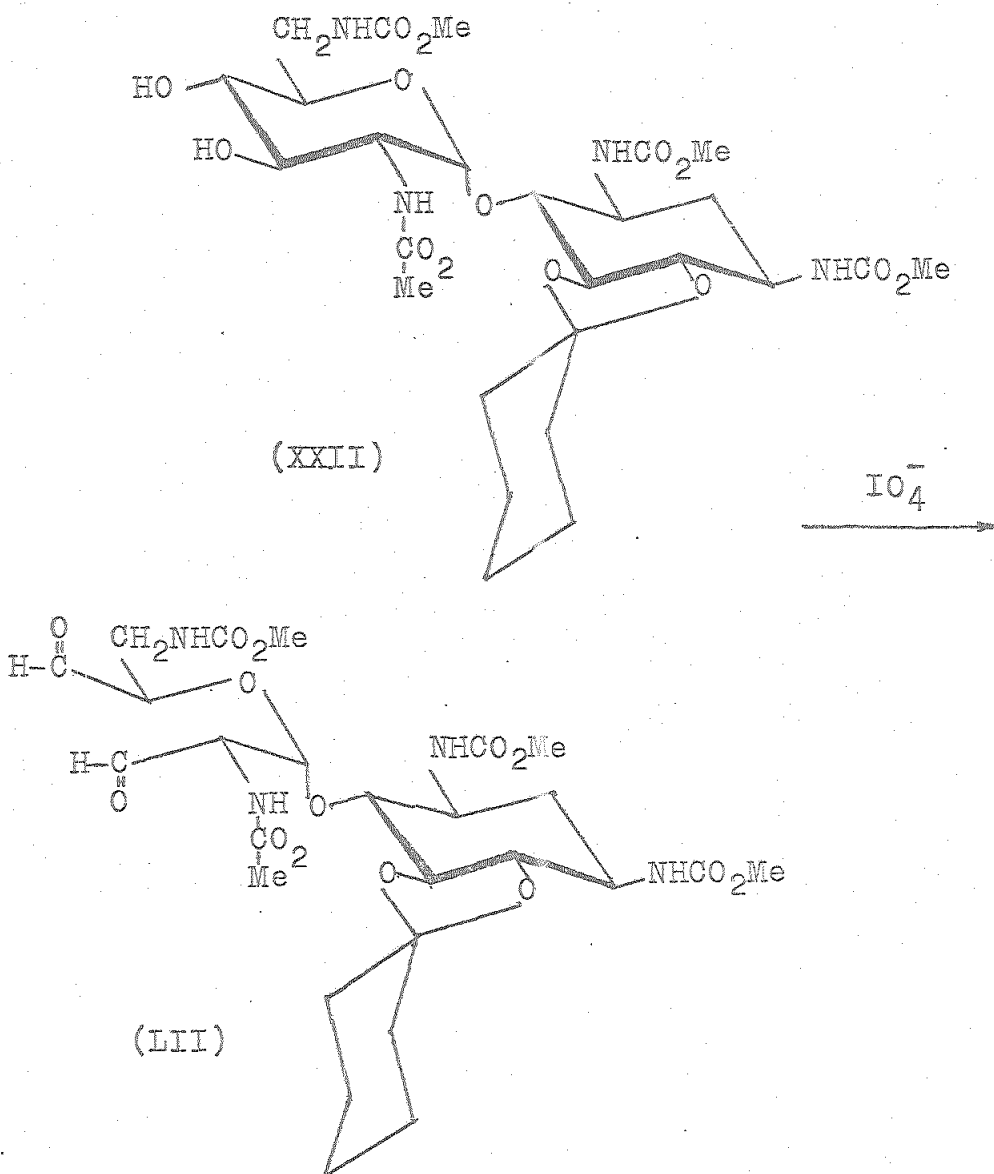
Estos resultados llevan a concluir que los enlaces bencil éter, bien por un efecto de impedimento (aglomeración) estérico o de tipo electrónico, restan reactividad a la unión glicosídica de los uretanos de neamina y, en consecuencia, que la reacción de metanolisis de los tetra-O-bencil éteres no es idónea para la preparación de los derivados de 2-desoxiestreptamina asimétricos que se desean obtener.

5.2. Degradaciones oxidativas de derivados de la neamina.

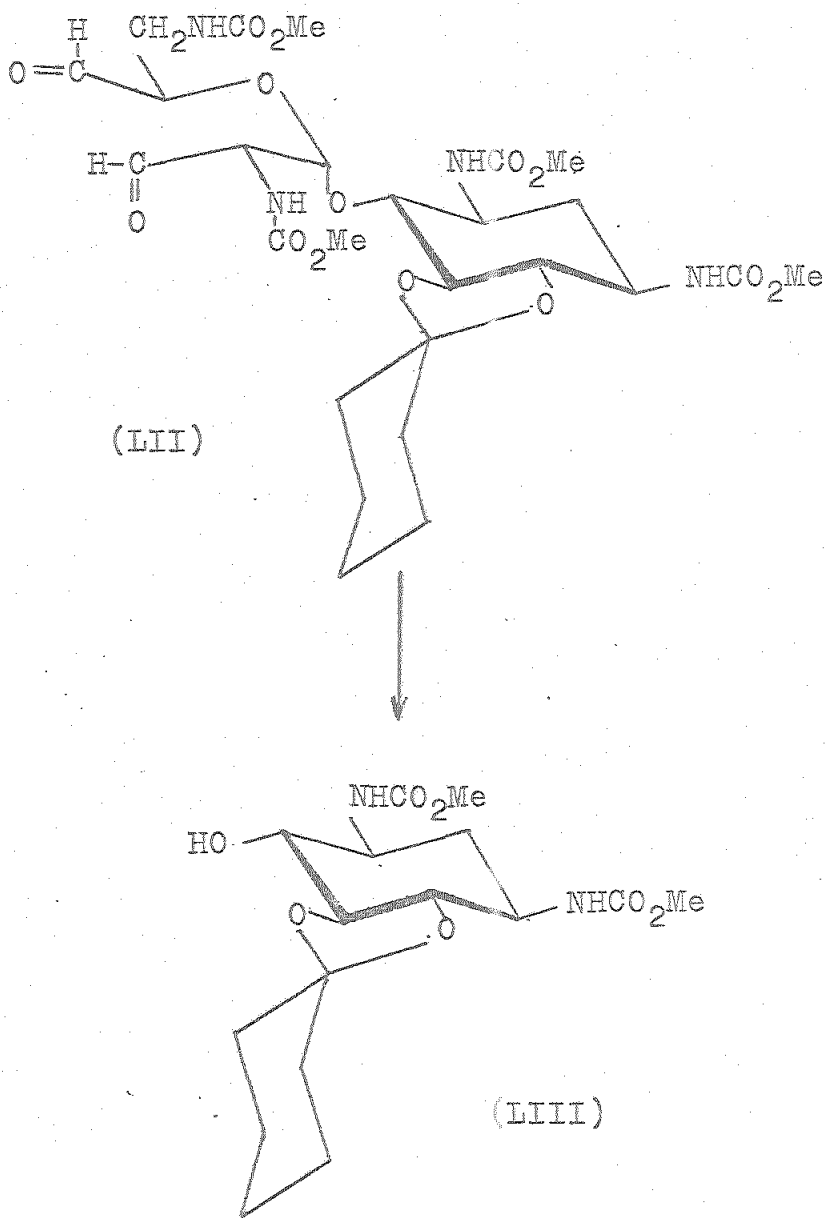
El segundo tipo de degradaciones para eliminar la molécula de 2,6-diamino-2,6-didesoxi-D-glucosa de la neamina que hemos utilizado ha consistido en la oxidación selectiva con ión periodato de esta unidad del aminoglicósido sin alterar la porción de 2-desoxiestreptamina. Con objeto de conseguir esta selectividad, hemos utilizado un derivado de la neamina en que los hidroxilos en las posiciones 5 y 6 estuviesen bloqueados, concretamente la 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxi-carbonilneamina (XXII); la reacción había de llevarse

en condiciones tales que el grupo ciclohexilideno protector de las posiciones 5 y 6 se conservase y el producto quedase sustituido en estas posiciones y pudiese transformarse posteriormente en un derivado 5,6-O-sustituido asimétrico de la 2-desoxiestreptamina. El proceso total de degradación tendría dos etapas:

a) Oxidación con periodato del derivado de neamina.



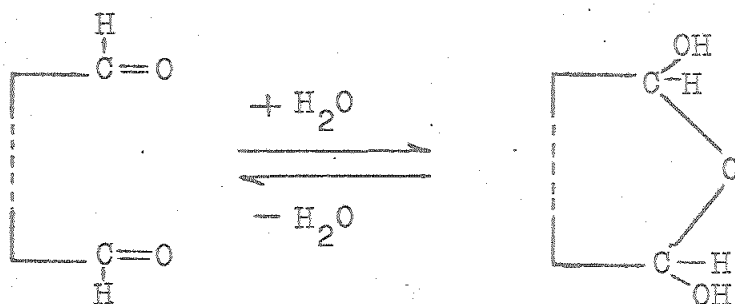
b) Eliminación del sustituyente en la posición 4 del derivado ("dialdehído") (LII) de 2-desoxi-estreptamina así obtenido:



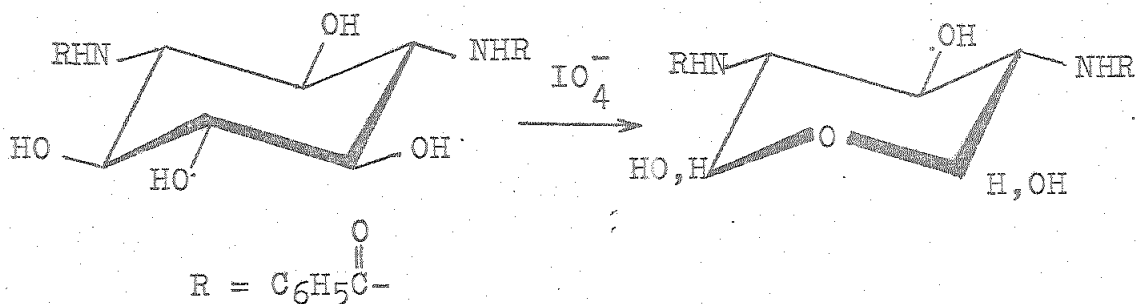
Estas dos etapas se describen en las Secciones que siguen.

5.2.1. Oxidación con periodato de la 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxycarbonilneamina.

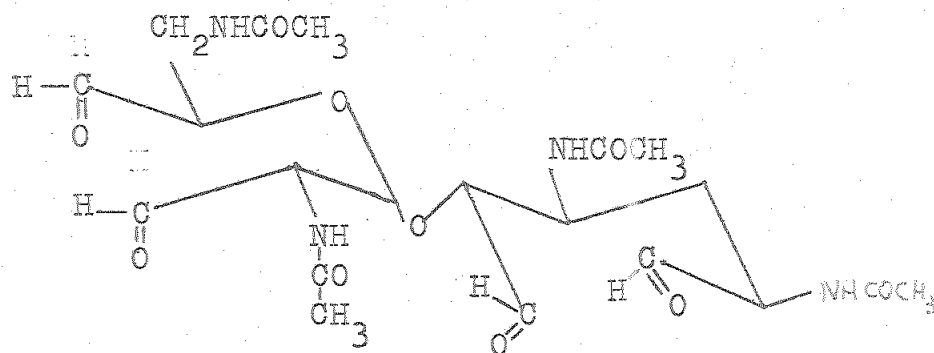
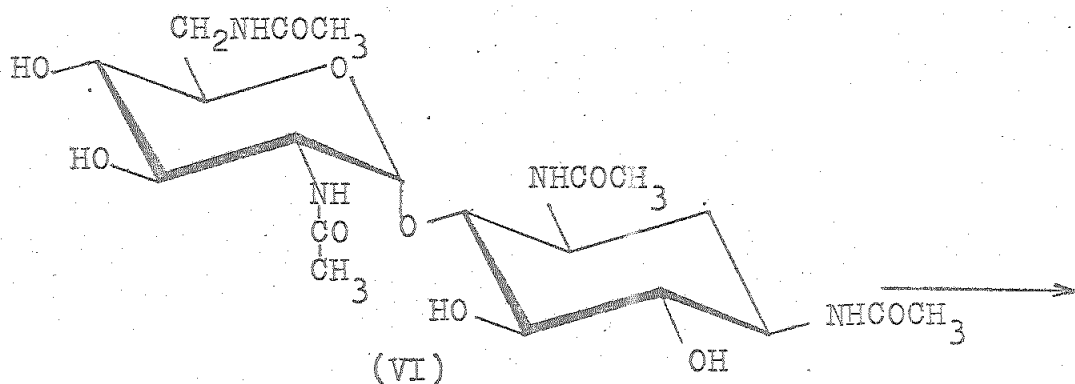
Las oxidaciones de polioles con ácido periódico y sus sales constituyen un tipo de reacción muy bien documentado⁴⁶. Los "dialdehidos" (LII) que resultan de la oxidación de dioles cíclicos raramente existen como tales sino que en solución incorporan un mol de disolvente (agua usualmente) y forman una mezcla en que la forma dicarbonílica está en equilibrio con un hemialdal:



Por esta razón los productos que cristalizan de estas soluciones muestran propiedades físicas anormales (por ejemplo, poca o nula absorción de $\text{-C}\begin{smallmatrix} \text{=O} \\ \text{H} \end{smallmatrix}$ en el infrarrojo), e imprecisas y poco reproducibles, aunque en sus propiedades químicas (reducción a dioles, oxidación a diácidos) se comportan como verdaderos dialdehidos. Como antecedente a la oxidación que aquí estudiamos, podemos mencionar la de la 1,3-di-N-benzoilestreptamina que da un hemialdal cristalino⁴⁷:



La 1,3,2',6'-tetra-N-acetilneamina (VI) se oxida con periodato consumiendo dos moles de oxidante⁴⁸ presumiblemente produciendo un "tetraaldehido" (o sus hidratos) que no fué aislado:



(no aislado)

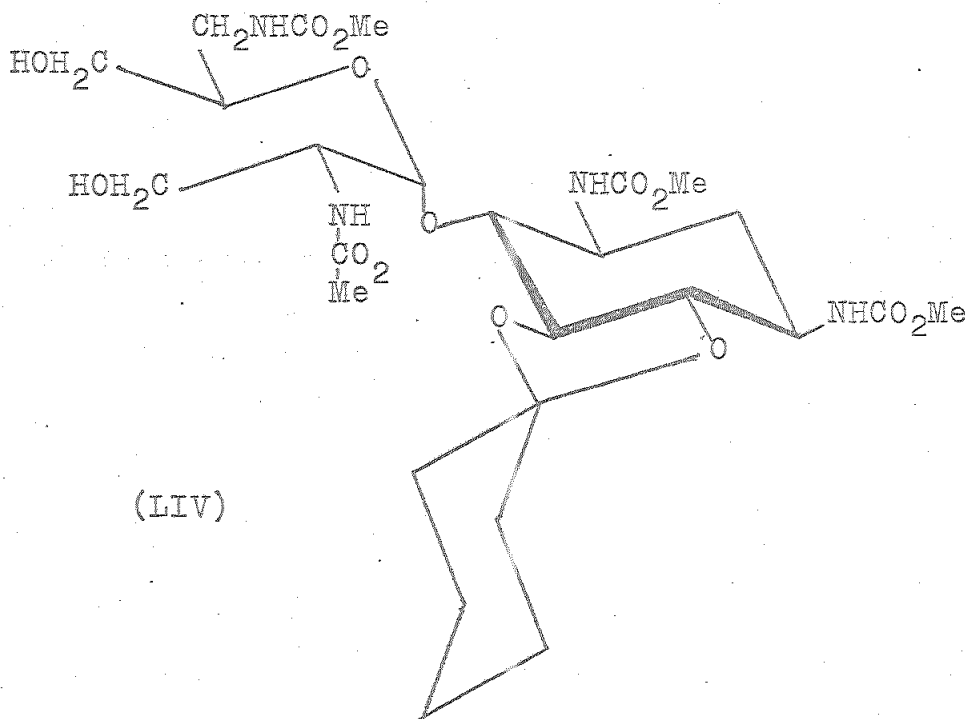
Los experimentos exploratorios de oxidación de la 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XXII) con metaperiodato de sodio en solución de tetrahidrofurano-agua (el disolvente orgánico se requiere para mantener el substrato orgánico en solución) indicaron que la reacción tiene lugar formándose un único producto, pero se observó que la velocidad de reacción dependía en gran manera de la dilución del diol (XXII) y de la proporción de tetrahidrofurano, aumentando cuando la concentración de substrato y de tetrahidrofurano disminuían. En los experimentos a escala preparativa usando soluciones de concentración inferior al 8% en tetrahidrofurano-agua 1:1, la oxidación cuantitativa requiere unas cinco horas formándose un sólo producto que se puede extraer de la mezcla de reacción concentrada con cloroformo. La sustancia así obtenida con rendimiento del 80 al 90% es un sólido homogéneo cromatográficamente y purificable por cromatografía sobre gel de sílice. El producto puro de p.f. 180-182° y $[\alpha]_{\lambda}^{25} +12^{\circ}$ (cloroformo), da reacciones positivas de aldehído con ftalato ácido de anilina y con nitrato de plata amoniacal pero da un espectro infrarrojo (en estado sólido) con absorción fuerte de ν (OH) a 3340 cm^{-1} , ausencia de las bandas atribuibles al grupo formilo en las regiones 2700-2800 cm^{-1} y por encima de 1700 cm^{-1} y un análisis elemental próximo a la fórmula

empírica ($C_{26}H_{40}N_4O_{14} \cdot H_2O$) correspondiente a un monohidrato del "dialdehído" (LII).

Las propiedades del producto así obtenido variaron de unas preparaciones a otras y las diferencias se hicieron más ostensibles al modificar ligeramente las condiciones experimentales. Por ejemplo, si la mezcla de oxidación se evapora a sequedad, se extrae con cloroformo en caliente, se elimina este disolvente y el residuo obtenido se cristaliza de etanol-agua se obtiene un producto fuertemente reductor ($AgNO_3$) de p.f. 127-133° y $[\alpha]_D^{20} -4^\circ$ (dimetilformamida), cuyo análisis corresponde a la fórmula ($C_{26}H_{40}N_4O_{14} \cdot 1/2 H_2O$) de un hemihidrato del "dialdehído" (LII). El espectro de infrarrojo de este preparado muestra banda tanto de ν (OH) (a 3290 cm^{-1}) como de carbonilo aldehídico (a 1710 cm^{-1}) además de las bandas de uretano (1695 cm^{-1}) y amida II (1530 cm^{-1}); por otra parte, el espectro de RMN muestra igualmente dos singletes a 8,30 y 9,12, de intensidad total 1,5 H, atribuibles a protones aldehídicos, junto a otras señales compatibles con la estructura dialdehídica (LII).

5.2.2. Obtención del 5,6-O-ciclohexiliden-2-desoxi-di-N-metoxicarbonil-4-O- { 1'- [3'-hidroxi-1'-(1''-hidroxi-3''-metoxicarbonilamino-2''-propiloxi)-2'-metoxicarbonilamino]-propil } estreptamina ("dialcohol" LIV).

A los efectos de una mayor caracterización del "dialdehído" (LII), este compuesto se redujo al correspondiente "dialcohol" (LIV) con hidruro de boro y sodio. La reacción tiene lugar tratando una suspensión del "dialdehído" (LII) en agua con el hidruro añadido gradualmente en pequeñas porciones. La sustancia de partida se disuelve a medida que se va transformando. El "dialcohol" (LIV) resultó ser un sólido amorfo que se purificó por cromatografía sobre sílica gel mostrando un p.f. de 138-140° y análisis elemental ($C_{26}H_{44}N_4O_{14}$) que corresponde a la estructura (LIV) asignada. El espectro de infrarrojo estuvo en concordancia con esta estructura.

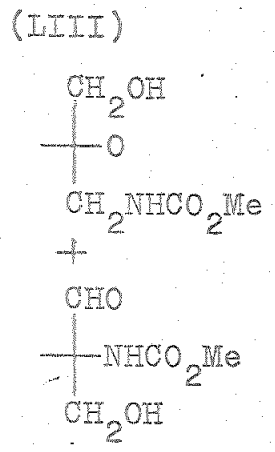
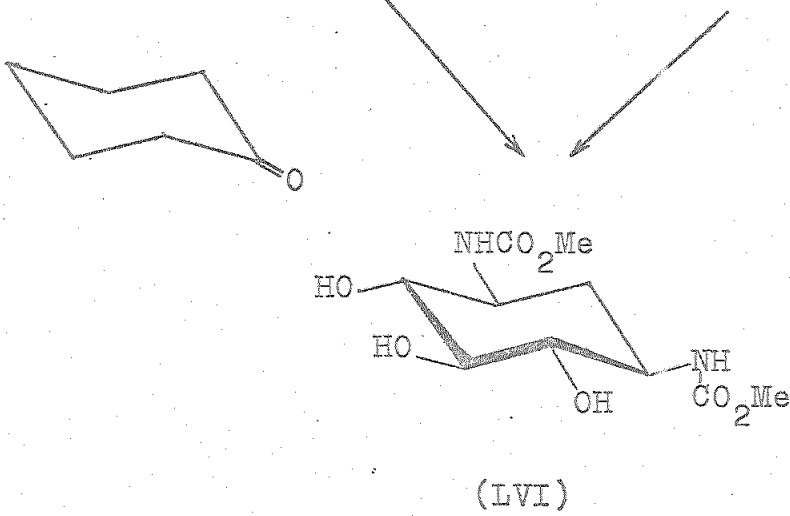
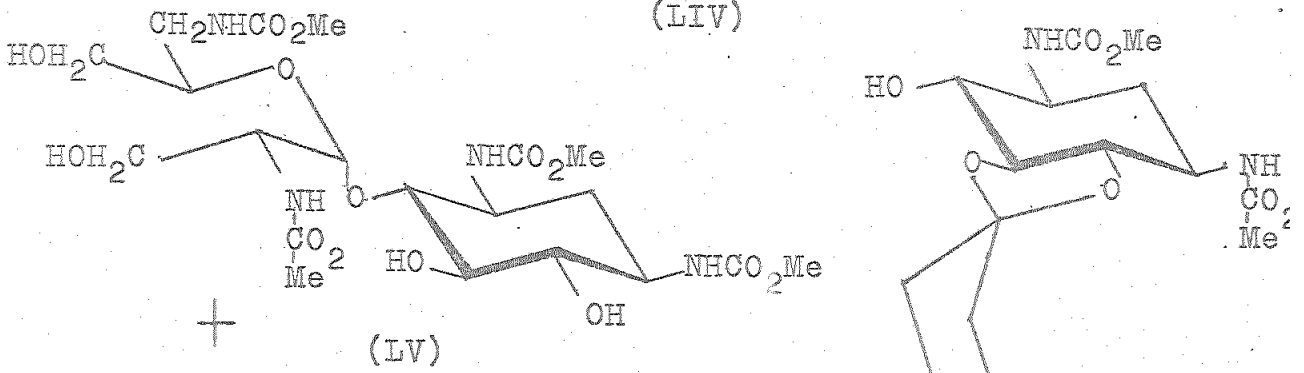
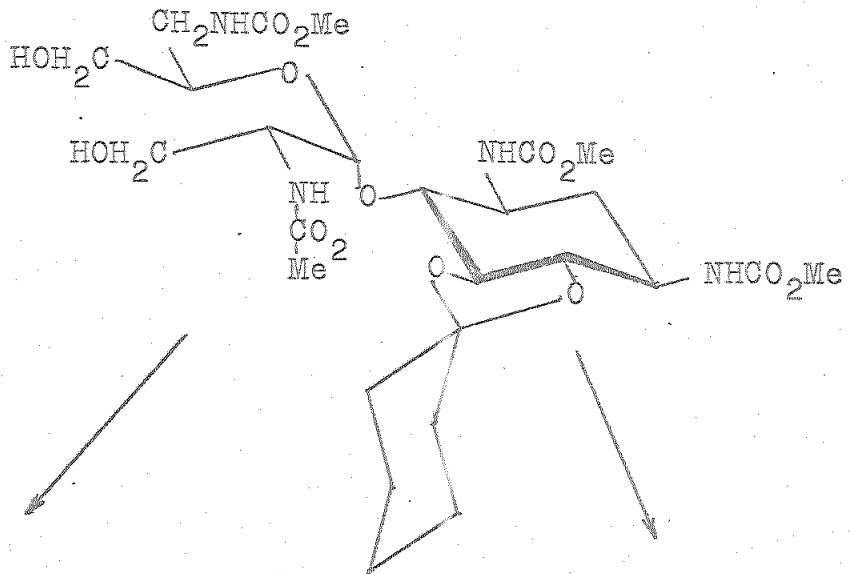


5.2.3. Hidrólisis del "dialcohol" (LIV).

Las reacciones de hidrólisis del "dialcohol" (LIV) que se describen en esta sección tuvieron un doble objetivo: en primer lugar, confirmar la estructura de este producto y, por tanto, del "dialdehído" (LIII) originario, y, en segundo lugar, ver la posibilidad de obtener productos de hidrólisis en que la porción de 2-desoxiestreptamina de la molécula de partida estuviese aún parcialmente sustituida en los átomos de oxígeno. El "dialcohol" (LIV) contiene dos funciones acetálicas y, en principio, existe la posibilidad de que se produzcan durante la reacción de hidrólisis dos monoacetales intermedios (LV) y (LIIII) diferentes, cuya posterior hidrólisis debe dar la 2-desoxi-1,3-di-N-metoxicarbonilestreptamina (LVI) producto final de la reacción (véase Esquema 8). Tanto el derivado de 2-desoxiestreptamina 4-O-sustituido (LV), como el derivado 5,6-di-O-sustituido (LIIII) son sustancias de interés de los tipos C y D indicados en la Introducción. Si las reacciones que dan lugar a estos monoacetales intermedios difieren apreciablemente en velocidad, uno de ellos se debe acumular en los primeros estadios de la reacción si esta se lleva a cabo en condiciones suaves.

La hidrólisis total del "dialcohol" (LIV) para dar 2-desoxi-1,3-di-N-metoxicarbonilestreptamina

Esquema 8



(LVI) tiene lugar fácilmente dejando estar a temperatura ambiente una solución de la sustancia en una mezcla de ácido trifluoroacético-agua 9:1. La reacción, que se puede seguir fácilmente por cromatografía en capa fina, se completa en estas condiciones en pocos minutos y el producto final se identificó con una muestra auténtica de 2-desoxi-1,3-di-N-metoxicarbonilestreptamina obtenida por un procedimiento establecido, por sus propiedades cromatográficas.

Los intentos de hidrólisis parcial del "dialcohol" con vistas a producir y aislar algunos de los monoacetales intermedios, no tuvieron éxito. La velocidad de la hidrólisis se reduce considerablemente usando como disolvente una mezcla de dioxano-agua 3:1 y concentraciones de ácido trifluoroacético del orden del 1%. En estas condiciones, la sustancia de partida se transforma casi totalmente en el transcurso de cuatro días observándose cromatográficamente casi desde el comienzo la presencia del producto de la hidrólisis total, 2-desoxi-1,3-di-N-metoxicarbonilestreptamina, ciclohexanona, pequeñas cantidades de una sustancia de igual movilidad cromatográfica que la 4,5 (5,6)-di-O-ciclohexiliden-2-desoxi-1,3-di-N-metoxicarbonilestreptamina (LVII) (R_F 0,44 en cloroformo-etanol 93:7) y otros dos productos de movilidades similares (R_F 0,21 y 0,2) al anterior. Los intentos de

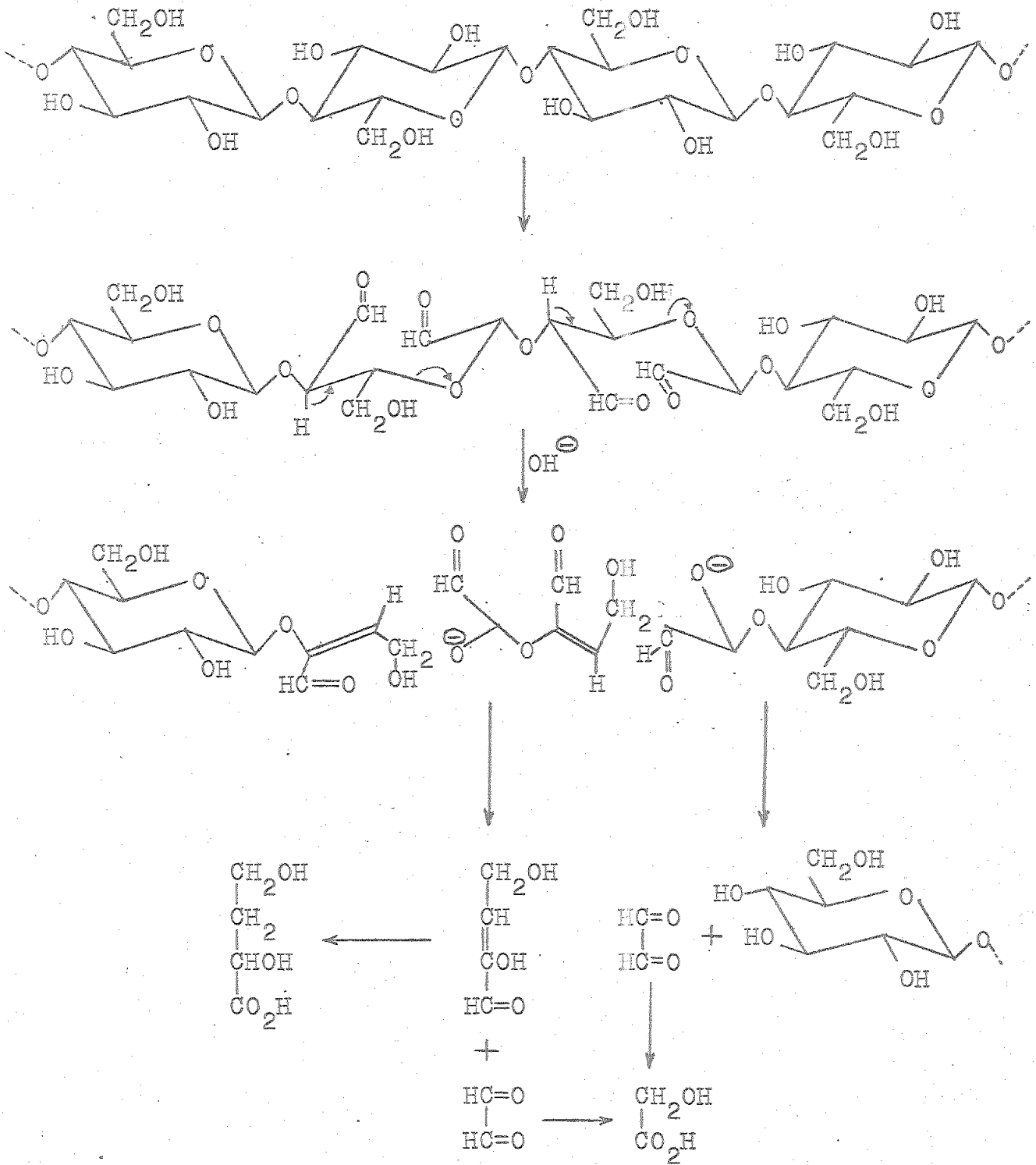
separar la mezcla de estos productos por cromatografía sobre gel de sílice no tuvieron éxito.

Los resultados expuestos demuestran plenamente las estructuras del "dialcohol" (LIV), del "dialdehído" (LII) y de la sustancia originaria de estos productos, la 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxi-carbonilneamina (XXII), pudiéndose descartar definitivamente la posibilidad de que en este último compuesto el anillo acetálico estuviese sustituyendo la porción de 2,6-diamino-2,6-didesoxihexosa de la molécula.

5.3. Degradación básica del "dialdehído" (LII). Obtención de la 5,6-O-ciclohexiliden-2-desoxi-1,3-di-N-metoxi-carbonilestreptamina

La escisión de la molécula del "dialdehído" (LII) por acción de reactivos básicos que actúen selectivamente sobre las funciones carbonílicas de la molécula podría originar derivados asimétricos de la 2-desoxiestreptamina. Existen antecedentes en la literatura⁴⁹ de que los "dialdehídos" que resultan de la oxidación con periodato de oligosacáridos y polisacáridos son inestables en medio básico sufriendo una reacción de β -eliminación que origina un oligosacárido o polisacárido con una cadena poliosica inferior. Para un polisacárido (celulosa) parcialmente oxidada con periodato, la reacción es como se indica⁵⁰ en el Esquema 9:

Esquema 9

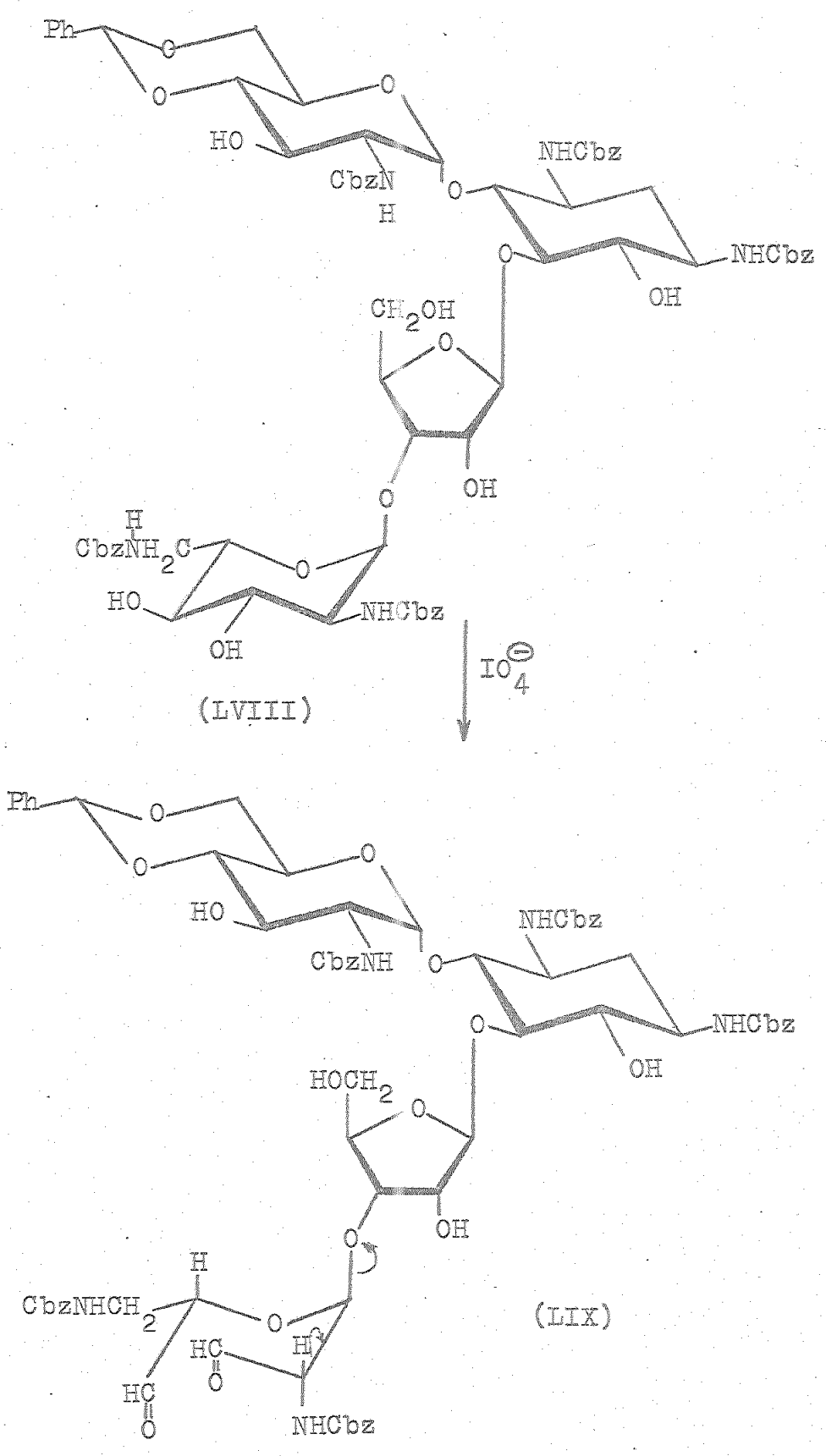


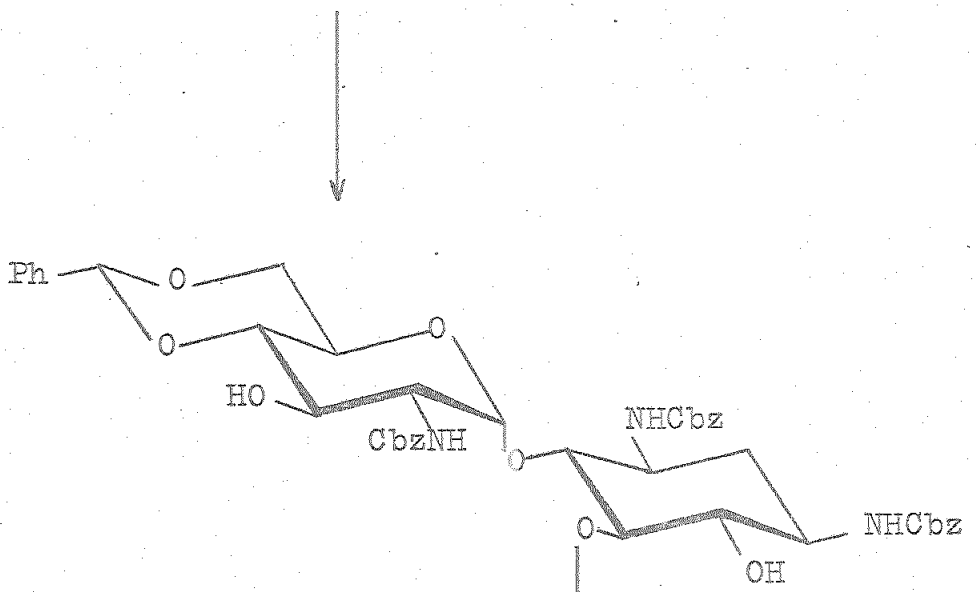
La molécula se escinde por las unidades de glucosa oxidada y se producen dos o más polisacáridos con grado de polimerización menor.

Aunque este tipo de reacciones no se ha estudiado con detalle en "dialdehidos" procedentes de la oxidación de disacáridos, existen datos de interés que se refieren precisamente a aminoglicósidos de estructura similar a los compuestos estudiados en esta Tesis. Takamoto y Hanessian⁵¹ observaron que el benciliden derivado (LVIII) del pseudotetrasacárido penta-N-benzoxicarbonil-paramomicina oxidado con ácido periódico da el "dialdehido" (LIX) el cual al ser tratado con trietilamina se escinde dando el pseudotrisacárido (LX). En el conjunto de las dos reacciones se logra separar la molécula de 2,6-diamino-2,6-didesoxihexosa terminal, interpretándose que el tratamiento con la base produce una reacción de β -eliminación según se formula en el Esquema 10. Los mismos autores, en colaboración con R. Masse⁵², han empleado reacciones similares para degradar la penta-N-benzoxicarbonil-paramomicina y la hexa-N-benzoxicarbonil-neomicina B, obteniendo aminoglicósidos con una o dos unidades menos de aminohexosa.

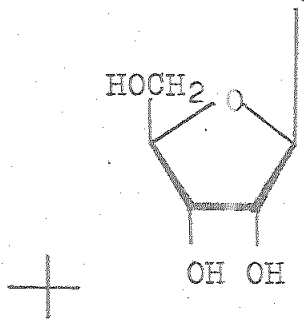
Los antecedentes anteriores permitían esperar que la aplicación de esta reacción de β -eliminación al "dialdehido" (LII) podría dar la 5,6-O-ciclohexiliden-

Esquema 10

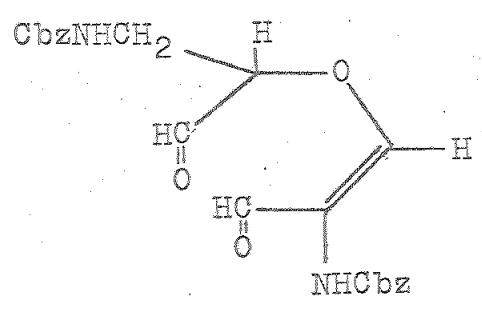




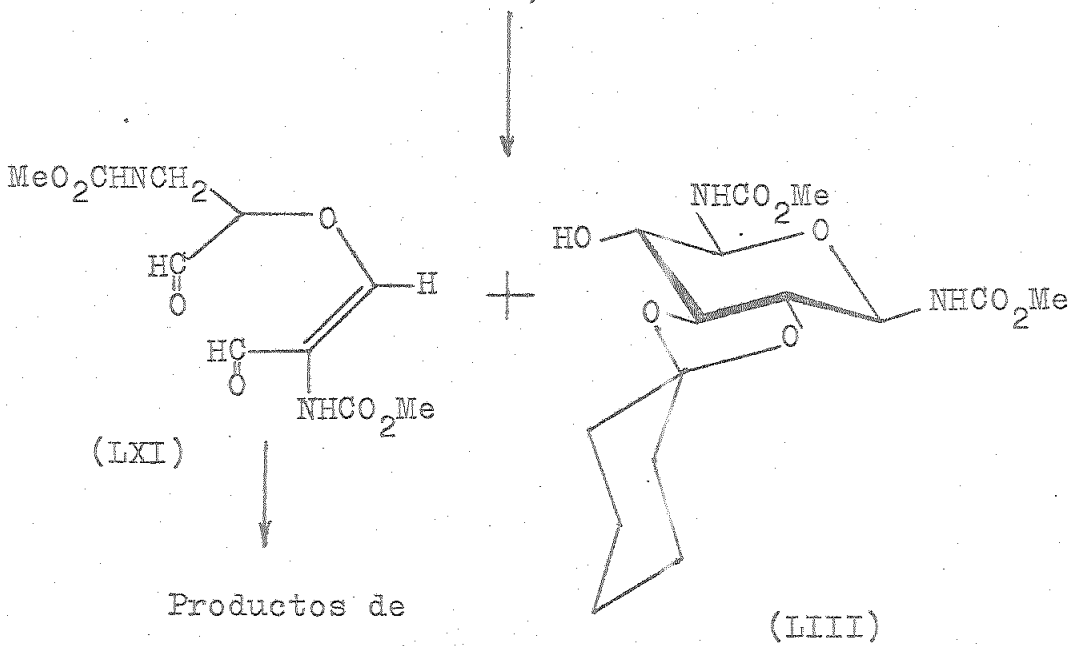
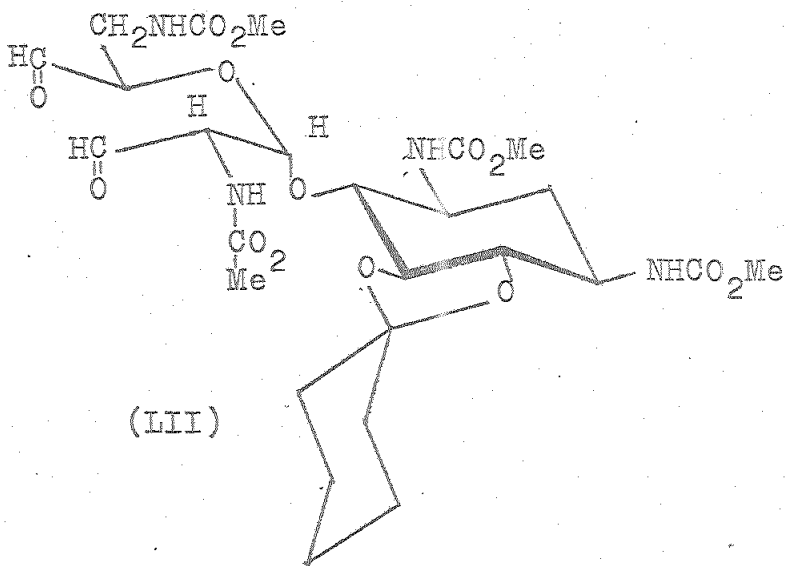
(LX)



+



Esquema 11



Productos de
degradación

2-desoxi-1,3-di-N-metoxicarbonilestreptamina (LIII) según indica el Esquema 11.

Los experimentos preliminares mostraron que cuando se trata una solución del "dialdehído" (LII) en etanol con trietilamina a temperatura ambiente, tiene lugar una lenta transformación del "dialdehído" a la par que se observa la formación de una sustancia de movilidad cromatográfica y reacciones coloreadas iguales a las del compuesto racémico 3,4(5,6)-di-O-ciclohexiliden-2-desoxi-1,3-di-N-dimetoxicarbonilneamina. En la reacción se forman además tres sustancias que dan reacción positiva de aldehído con ftalato ácido de anilina y que probablemente proceden de la degradación del fragmento olefínico (LXI) producido en la reacción de β -eliminación; estos compuestos presentaron movilidades cromatográficas similares también a la del primer producto mencionado lo cual hacía previsible que la separación cromatográfica de la mezcla de productos fuese difícil. Se observó que si la mezcla de la reacción así obtenida se trata con hidruro de boro y sodio con objeto de reducir los productos de carácter aldehído haciéndolos menos polares, los valores de los R_F de las diferentes sustancias formadas presentaban mayores diferencias. En consecuencia, en las obtenciones a escala preparativa, el método operatorio adopta-

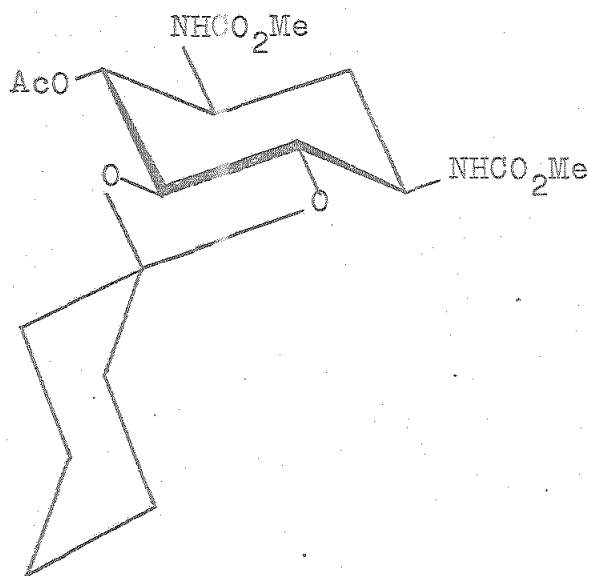
tado consistió en tratar una solución 0,1M del "dialdehído", que a estos efectos no requiere el ser purificado previamente, con trietilamina (10%) durante 24 horas a 22°. La evaporación de la mezcla de reacción deja un residuo siruposo que se disuelve en metanol y se trata con hidruro de boro y sodio durante la noche. De la mezcla de reacción se elimina el ácido bórico por varias coevaporaciones con metanol y un extracto del residuo final en acetona se cromatografía sobre sílica gel usando como eluyente una mezcla de cloroformo-acetato de etilo conteniendo el 1% de trietilamina (esta última para evitar el efecto que la acidez de la sílica gel pudiera producir sobre la función acetal existente en el producto). Las fracciones que contienen el producto de R_F 0,35 (en acetato de etilo) puro se reúnen y evaporan dando un sólido que recristaliza bien de acetato de etilo y funde a 108,5-111°. A esta sustancia se le asigna la estructura 5,6-O-ciclohexiliden-2-desoxi-1,3-di-N-metoxicarbonilestreptamina (LIIII) teniendo en cuenta los siguientes resultados:

- 1) Su análisis elemental que corresponde a la fórmula empírica ($C_{16}H_{26}N_2O_7$) prevista para esta sustancia.
- 2) Su movilidad cromatográfica en varios disolventes R_F 0,35 (acetato de etilo), 0,7 (acetato de

etilo-etanol 8:1), 0,5 (acetato de etilo-etanol 12:1) es idéntica a la de la mezcla racémica 4,5(5,6)-O-ciclohexiliden-2-desoxi-1,3-di-N-metoxicarbonilneamina.

- 3) La sustancia es ópticamente activa, siendo su poder óptico rotatorio $[\alpha]_D^{23} +14^\circ$ (en cloroformo).
- 4) Su espectro de infrarrojo en nujol que presenta bandas de tensión de hidroxilo (3390 cm^{-1}), de grupo amínico (3260 cm^{-1}), de uretano (1690 cm^{-1}) y banda de amida II (1550 cm^{-1}).
- 5) El espectro de RMN (en dimetilsulfóxido- d_6) que exhibe un paquete ancho de señales centrado a $\delta 1,48$ con intensidad total de doce protones que asignan a los cinco grupos metilenos del anillo ciclohexánico y a los hidrógenos H-2,2' del anillo de 2-desoxiestreptamina, un singlete a $\delta 3,52$ de intensidad seis protones, debido a los dos grupos metoxicarbonilo, un multiplete de intensidad un protón, (que se elimina al tratar con óxido de deuterio) que se asigna al grupo hidroxilo en posición 4, y una banda ancha, a $\delta 7,38$, de intensidad dos, que desaparece lentamente con óxido de deuterio, que proviene de los dos grupos amínicos.

- 6) El tratamiento de esta sustancia con anhídrido acético y piridina da un acetato cristalino de p.f. 164-166° (recristalizado de etanol), al que se asigna la estructura de 4-O-acetil-5,6-O-ciclohexiliden-2-desoxi-1,3-di-N-metoxicarbonil-estreptamina (LXII) tomando igualmente en cuenta:



(LXII)

- a) Su análisis elemental correspondiente a la fórmula empírica ($C_{18}H_{28}N_2O_8$) requerida para la estructura (LXII).
- b) Su espectro de infrarrojo (cloroformo) con bandas

asignables a las funciones NH (3420 y 3320 cm^{-1}), acetato y uretano (banda muy ancha centrada a 1715 cm^{-1}), y amida (1510 cm^{-1} , amida II).

- c) Su espectro de RMN (en cloroformo- d) que presenta un multiplete ancho con centro a δ 1,45, de intensidad total doce protones, debido a los cinco grupos metilénicos del anillo de ciclohexano y los dos hidrógenos en posiciones 2,2' del anillo de 2-desoxi-estreptamina; un singlete de intensidad tres protones a δ 2,10, debido al grupo AcO; un multiplete ancho, de intensidad dos protones, centrado a δ 2,30-3,00, atribuible a los protones en 1 y 6 del anillo de 2-desoxiestreptamina, dos singletes a δ 3,63 y 3,66, de intensidad total seis protones, que se asignan a los dos grupos metoxicarbonil, y un multiplete ancho a δ 4,85-6,40, correspondiente a tres protones, que se asignan a los dos grupos NH y al H-4 del anillo de desoxiestreptamina que por estar en el mismo carbono que la función acetoxilo debe aparecer a campos más bajos que los otros protones del anillo de 2-desoxiestreptamina.

El rendimiento con que se obtiene el compuesto (LXII) puro (después de la cromatografía y la recristalización) por el procedimiento anteriormente indicado es

sólo del 25%. Con objeto de mejorarlo, se ensayaron diversas variantes en el método operatorio, dos de las cuales, que se exponen a continuación, permiten tanto obtener mejor rendimiento como simplificar la separación y purificación del producto.

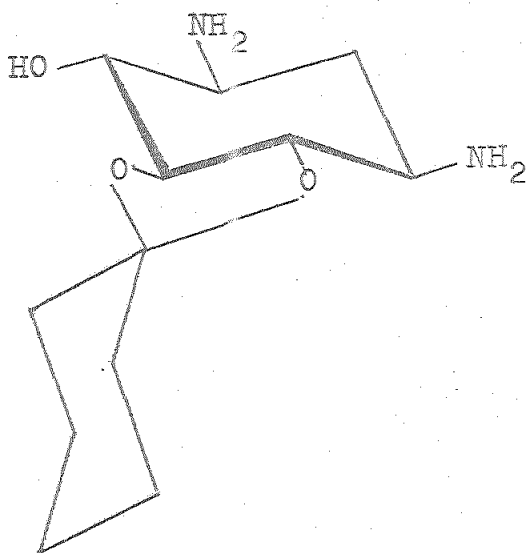
La primera modificación consiste en cambiar la base (trietilamina) por metóxido sódico comercial. En estas condiciones el tiempo de reacción se reduce a la mitad, y el producto (LXII) se purifica como anteriormente se ha descrito, obteniéndose tras la recristalización con un rendimiento del 34%.

En la segunda variante, se intentó facilitar la separación cromatográfica en columna convirtiendo previamente el producto (LXII) en su 4-O-acetil derivado previamente descrito. Por ello, la mezcla de productos de reacción después del tratamiento con trietilamina, la reducción con hidruro de boro y sodio y la eliminación del borato, se trató con anhídrido acético y piridina para obtener una mezcla de acetatos que presentan mayores diferencias en sus R_F que la mezcla de partida. De esta mezcla de acetatos se puede obtener, tras una separación cromatográfica sobre columna de gel de sílice, el 4-O-acetil-5,6-O-ciclohexiliden-2-desoxi-1,3-di-N-metoxicarbonil-estreptamina (LXII) con un rendimiento del 48%. La O-desa-

cetilación de esta sustancia con metilato sódico y metanol, según el procedimiento convencional, suministra el alcohol original (LIII) con p.f. 109-111° y un rendimiento del 98%. Por consiguiente, este método es el más conveniente de los usados para obtener la 5,6-O-ciclohexiliden-2-desoxi-1,3-di-N-metoxicarbonilestreptamina.

5.4. 5,6-O-ciclohexiliden-2-desoxiestreptamina (LXIII).

El derivado más sencillo que hemos preparado de 2-desoxiestreptamina asimétricamente sustituida y ópticamente activa, ha sido la 5,6-O-ciclohexiliden-2-desoxiestreptamina (LXIII). Este compuesto se obtiene con facilidad en forma de sulfato cristalino, con un rendimiento del 48% por hidrólisis básica con hidróxido bórico tanto de su correspondiente diuretano, el compuesto (LIII) como del 4-O-acetil derivado (LXII). La sal así



(LXIII)

obtenida funde con descomposición a 212° y muestra una rotación óptica $[\alpha]_D^{20} - 9$ (agua).

La obtención de este compuesto, aparte de confirmar las estructuras anteriormente propuestas, abre la vía para obtener otros derivados de la 2-desoxiestreptamina ópticamente activos y con diversos sustituyentes en los grupos amínicos y en el hidroxilo en posición 4.

6. PARTE EXPERIMENTAL

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1. Métodos generales.

Las evaporaciones de disolvente se realizaron al vacío (15-20 mm Hg), y a temperaturas inferiores a 50°.

El éter de petróleo se refiere a la fracción de punto de ebullición comprendido entre 50-70°.

Los puntos de fusión (p.f.) se determinaron en un aparato del Dr. Tottoli (Buchi), están sin corregir y se refieren a muestras secadas sobre cloruro de calcio a vacío.

Los análisis elementales fueron realizados en el Laboratorio de Microanálisis del Instituto de Química Orgánica General del C.S.I.C. (Madrid).

Rotaciones ópticas.

En general se midieron en un polarímetro automático 143 C Bendix-NPL empleando luz verde de mercurio ($\lambda = 5461 \text{ \AA}$). Para algunas identificaciones de productos se utilizó el polarímetro visual Zeiss Winkel que emplea luz amarilla de sodio (raya D). En el primer caso se utiliza como símbolo para el poder rotatorio específico la expresión $[\alpha]_{\lambda}^t$, y en el segundo caso $[\alpha]_D^t$.

Espectros de absorción en el IR.

Se registraron en espectrofotómetros Perkin-Elmer 621 o Beckman IR-5A. Se hicieron en pastillas de bromuro potásico (Merck, p.a.) o en disolución de cloroformo, en algunos casos se suspendieron en nujol, empleando concentraciones de 5-6 mg de sólido por gota de nujol.

Se dan los valores de los números de ondas (ν) en cm^{-1} , indicándose la intensidad de las bandas de absorción con las abreviaturas siguientes: d (débil), m (media), f (fuerte), h (hombro) y a (ancha).

Espectros de absorción en el UV.

Se midió en un espectrofotómetro Unicam SP 800 de la casa PYE Unicam Ltd.

Espectros de H^1 -RMN.

Se hicieron en disoluciones en metilsulfóxido- d_6 o cloroformo- d en un espectrómetro Perkin-Elmer R 32 a 90 MHz. Se usó tetrametilsilano como referencia interna ($\delta = 0$). Los valores de las constantes de acoplamiento (J) se dan en hercios (Hz).

Cromatografía en capa fina (c.c.f.).

Se empleó este método con carácter analítico cualitativo, siguiendo la técnica de Stahl y colaboradores⁵³. En otros casos se realizaron las c.c.f. sobre portaobjetos de microscopio⁵⁴.

Se usaron capas de gel de sílice HF₂₅₄ (Merck) y las placas se revelaron con vapores de yodo o bien pulverizándolas con ácido sulfúrico al 50%, calentándolas durante unos minutos sobre un calentador eléctrico a 150-200°. Las sustancias que absorbían en el UV se detectaron con una lámpara Uvatom con λ máxima a 254 nm.

Cromatografía en columna.

Se usó este procedimiento con fines preparativos. Como absorbente se utilizó gel de sílice Merck 60. El relleno de la columna se realizó como sigue:

Se colocó una capa de algodón en el fondo de la columna y a continuación el absorbente seco en proporción de 20-30 g por cada gramo de mezcla a separar. En la parte superior de la columna se añadió el producto mezclado íntimamente con una cantidad apropiada del absorbente. Se puso una última capa de algodón y se eluyó la columna.

6.2. Materias primas

Se emplearon muestras comerciales de las siguientes sustancias:

Sulfato de neomicina (suministrado por Laboratorios de Dr. Esteve S.A.).

Sulfato de kanamicina (suministrado por la firma Antibiótico S.A.).

Cloroformiato de etilo (Merck-Schuchardt).

Cloroformiato de metilo (Merck-Schuchardt).

Ortoformiato de metilo (Merck-Schuchardt).

Cloroformiato de 2,2,2-tricloroetilo (E.G.A.).

Bromuro de bencilo (Merck-Schuchardt).

2,2-dimetoxipropano (Fluka).

Trietilamina (Merck-Schuchardt).

Acetilacetona (Merck-Schuchardt).

Cloruro de acetilo (Merck).

Acido trifluoroacético (Fluka y Merck).

Resina Amberlita IR-120 (H)(BDH).

Resina Amberlita IRA-400 (OH)(BDH).

Resina Amberlyst 15 (H)(BDH).

Resina Amberlita CG 50 (NH_4^+)(BDH).

Acido p-toluensulfónico monohidrato (Merck).

Metaperyodato sódico (Merck).

Hidruro de boro y sodio (Fluka).

Oxido de bario (Riedel-de Haën AG).

Hidróxido de bario octahidrato (Panreac).

Las sustancias que se citan a continuación se prepararon modificando ligeramente las técnicas originales:

1,1-Dimetoxiciclohexano.

Método A⁵⁵

Se preparó una disolución de ciclohexanona al 10% en metanol absoluto (150 ml en 1500 ml) y se dejó estar una semana a temperatura ambiente. Se evaporó el metanol y el residuo líquido se destiló fraccionadamente, a presión reducida, rectificando con una columna Vigreux, repitiéndose la operación varias veces. Se recogió la fracción que pasó a 54,5-55,5°/14 mm Hg (Lit. 73°/50 mm Hg). Se comprobó la ausencia de ciclohexanona por espectroscopía de IR.

Los rendimientos variaron en cada preparación

Método B⁵⁶

A una disolución de ciclohexanona (196 g, 207 ml, 2 moles), 2,2-dimetoxipropano (208 g, 246 ml, 2 moles) y metanol absoluto (128 g, 160 ml, 4 moles) se añadió ácido p-toluenosulfónico (100 mg, 0,6 moles) como catalizador. La mezcla de reacción se dejó estar 48 horas al cabo de las cuales se rectificó varias veces, con columna Vigreux, a presión reducida, recogándose la frac-

ción que destiló a 54-56°/13 mm Hg (Lit. 80°/44 mm Hg y 82°/47 mm Hg). Se comprobó la ausencia de ciclohexanona por espectroscopía de IR.

Los rendimientos igual que en el método A fueron variables.

Método C⁵⁷

Una mezcla de ciclohexanona (23,65 g, 25 ml, 0,24 moles), ortoformiato de metilo (127,2 g, 131 ml, 1,62 moles) y resina de cambio iónico Amberlyst 15 (forma ácida, 5,9 g), se agitó magnéticamente en atmósfera de nitrógeno a 0-5°. Después de tres horas de agitación, una parte alícuota de la mezcla de reacción mostró por espectroscopía de IR la ausencia de ciclohexanona. Se filtró la resina y se evaporó de la disolución el exceso de ortoformiato de metilo. El líquido residual se destiló recogiendo la fracción que pasó a 59-60°/18 mm Hg (aproximadamente 20 ml, ~42,12%).

Los espectros de IR de las muestras de 1,1-dimetoxiciclohexano preparadas por los tres métodos descritos resultaron totalmente superponibles.

Clorhidrato de 2-desoxiestreptamina²

Una disolución al 10% de sulfato de kanamicina comercial (mezcla de kanamicinas A, B y C) en agua

(40 g en 360 ml) se pasó por una columna de Amberlita IRA-400 (OH) (275 ml, 320 meq) que luego se lavó con agua (150 ml). Todos los lavados reunidos se evaporaron a sequedad, y el residuo resultante se disolvió en agua (50 ml) y se calentó a reflujo con ácido clorhídrico 6N (200 ml) durante tres horas. La disolución se evaporó a sequedad, dando un residuo siruposo muy oscuro, que se disolvió en agua (30 ml) y la disolución formada se diluyó con metanol (250 ml). La disolución se dejó estar dos días en el frigorífico, cristalizando así el producto del título (13,38 g); p.f. 235° (desc.).

6.3. Clorhidrato de neamina

Método A

Una suspensión de sulfato de neomicina comercial (13 g, 14,3 mmoles) en metanol absoluto (1560 ml) 0,38N en cloruro de hidrógeno, se calentó a reflujo hasta disolución del sólido (una hora) y luego hora y media más. La disolución formada, de color amarillento, se dejó enfriar a temperatura ambiente, se diluyó con éter anhidro (520 ml) y se dejó en el frigorífico durante doce horas. El precipitado blanco de clorhidrato de neamina formado se filtró, se lavó con éter anhidro (50 ml) y se secó sobre cloruro de calcio a vacío. Rendimiento 6,57 g (98%), $[\alpha]_{\lambda}^{27^{\circ}} + 95^{\circ}$ (c 1,5 agua). [Lit. $[\alpha]_{D}^{25^{\circ}} + 83^{\circ}$ (c 1, agua)] El producto así preparado debe conservarse en total ausencia de humedad.

El filtrado se concentró hasta un volumen de 130 ml, se diluyó con éter anhidro (1300 ml) y se dejó estar en el frigorífico otras doce horas, formándose un precipitado blanco de la mezcla de cloruros de metilneobiosaminidos B y C, que se filtró lavando con éter anhidro (130 ml) y se dejó sobre cloruro de calcio a vacío. Una vez seco pesó 5,20 g (90%).

La mezcla de cloruros de metilneobiosaminidos B y C conservada en desecador sobre cloruro de calcio,

toma aspecto siruposo. Para evitarlo se disolvió en metanol absoluto y se precipitó de nuevo con éter anhidro. Filtrado y seco se conserva como un sólido amorfo.

Método B

Al sulfato de neomicina comercial (1 g, 1,1 mmoles) se añadió una mezcla de metanol absoluto (121 ml) y cloruro de acetilo recién destilado (3 ml). La suspensión formada se calentó a reflujo hasta disolución del sólido (una hora) y luego hora y media más. Se dejó enfriar la disolución y se diluyó con éter anhidro (40 ml), precipitando así el clorhidrato de neamina, que se filtró y secó (560 mg). Este producto bruto, bastante impuro, se trató de nuevo con cloruro de acetilo en metanol, dando así clorhidrato de neamina puro (260 mg, 49%), $[\alpha]_{\lambda}^{27^{\circ}} +95^{\circ}$ (c 1,5, agua).

Para la recuperación de los cloruros de metilneobiosaminidos B y C, se procedió de igual forma que en el método A.

Neamina base (III).

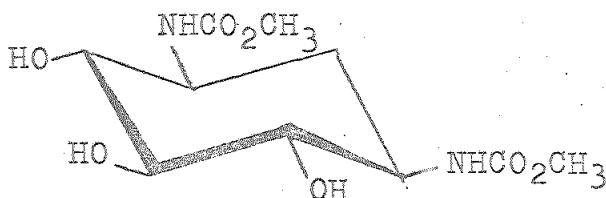
Una suspensión de clorhidrato de neamina bruto (0,8 g, 2,4 mmoles) en amoníaco concentrado (0,9 ml, $d=0,91$ g/ml, 24° Beaumé) se agitó suavemente hasta conseguir una disolución algo viscosa, ligeramente ama-

rilla. Se agregaron 75 ml de metanol absoluto, en varias porciones, agitándose. Quedó una disolución turbia que se filtró. Por el filtrado, incoloro y transparente, se pasó amoniaco seco hasta que empezó a separar un sólido blanco (media hora). El recipiente se tapó y refrigeró veinticuatro horas. El sólido se recogió por filtración y secó sobre cloruro de calcio a vacío. Se obtuvieron 340 mg de producto (62%), p.f. 250°(desc.). $[\alpha]_D^{25} = +123^\circ$ (c 0,5, agua). [Lit. $[\alpha]_D^{25} + 118,8^\circ$ (c 1, agua) y p.f. 256°].

6.4. Derivados de la 2-desoxiestreptamina.

Los compuestos que a continuación se citan y que se usaron como referencias cromatográficas, se prepararon por los procedimientos que se describen.

Di-N-metoxicarbonil-2-desoxiestreptamina.



A una disolución de clorhidrato de 2-desoxiestreptamina (6 g, 25,5 mmoles) y carbonato de sodio anhidro (27 g, 25,5 mmoles) en agua (150 ml) se añadió cloroformiato de metilo (8,5 ml, 10,39 g, 110 mmoles), poco a poco y agitando vigorosamente. La mezcla se agitó durante cuatro horas dejándola estar después durante una noche a temperatura ambiente. Se evaporó a sequedad y el residuo sólido resultante se extrajo con dioxano a reflujo (5 x 1000 ml). Los extractos de dioxano se evaporaron a sequedad dando el producto del título (5,65 g,

80%), p.f. 215-218° (descomp.).

El producto bruto se recristalizó para análisis de metanol; la muestra analítica dió p.f. 218-220° (descomposición).

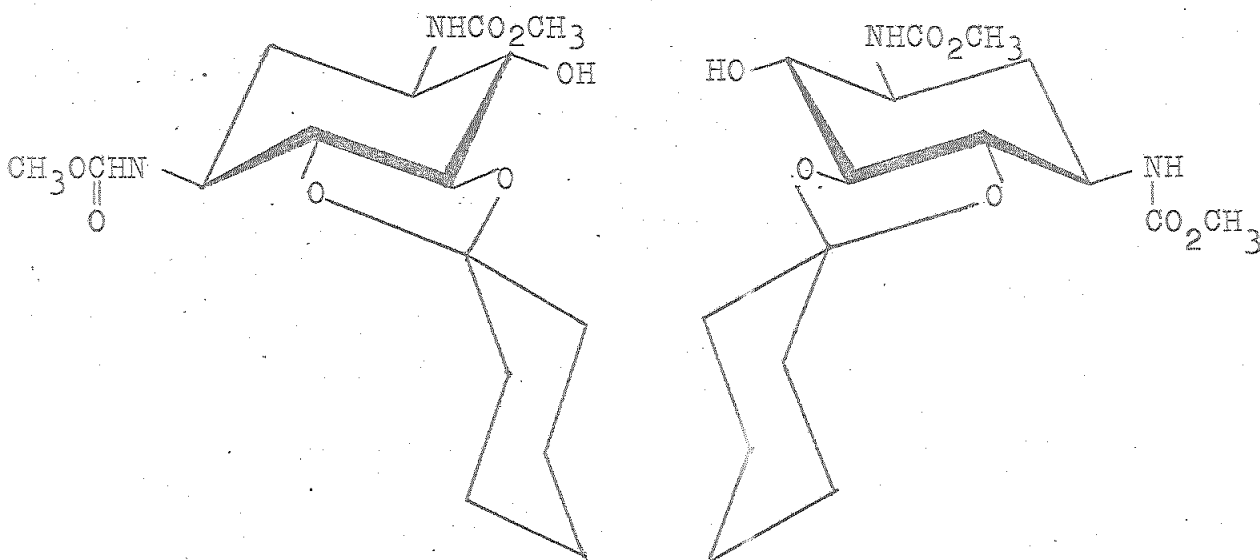
IR ν_{\max} (KBr): 3450fa, 3350f, 1695f, 1540f, 1460m, 1305f, 1250f, 1048f, 1000f, 858m y 780m cm^{-1} .

Análisis

Calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_7$. C: 43,16 H: 6,52 N: 10,06

Encontrado C: 43,33 H: 6,29 N: 9,89

4,5 y 5,6-0-ciclohexiliden-di-N-metoxicarbonil-2-desoxi-estreptamina.



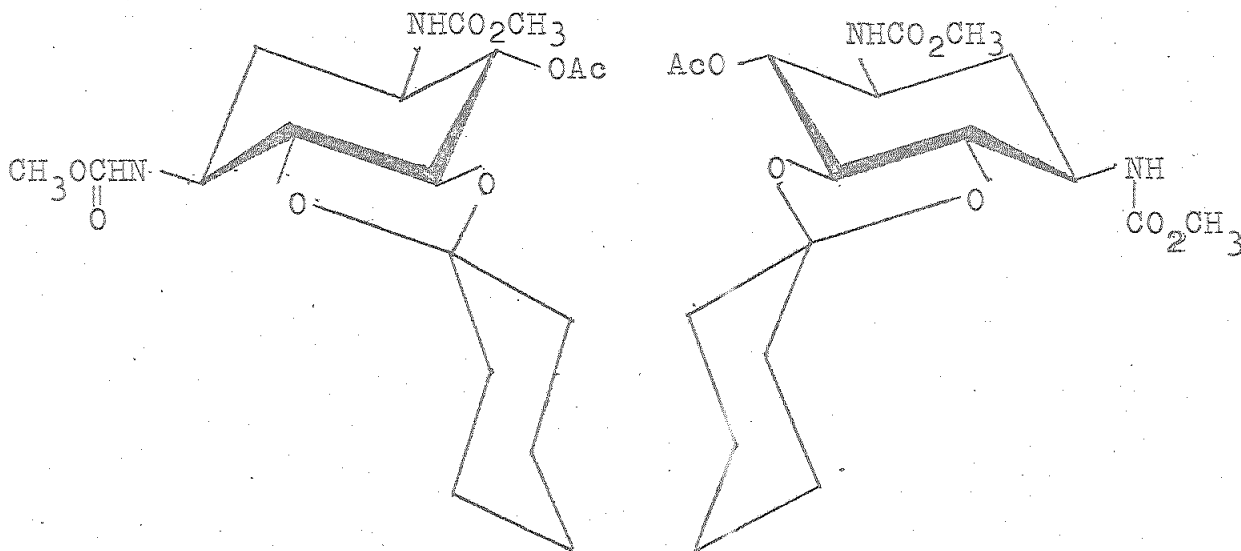
Una disolución de di-N-metoxicarbonil-2-desoxiestreptamina (2,78 g, 10 mmoles), 1,1-dimetoxici-

clohexano (10 ml) y ácido p-toluenosulfónico fundido y seco (300 mg) en dimetilformamida (60 ml) se calentó a 110-120° en un baño de glicerina durante 5 horas. La mezcla de reacción se dejó enfriar y se neutralizó cuidadosamente con Amberlita IRA-400 (OH) lavada con etanol. La solución neutra se evaporó a sequedad, coevaporando con tolueno, tolueno-acetato de etilo y acetato de etilo, dando así un residuo sólido que se recristalizó de acetato de etilo dando el producto del título cromatográficamente puro (2,59 g, 70%), p.f. 147-150°. Rf 0,44 (c.c.f. cloroformo-etanol, 93:7) y 0,69 (c.c.f. benceno-etanol, 4:1).

IR. ν_{\max} (KBr): 3440f, 3305f, 2940f, 2860m, 1690f, 1540f, 1450m, 1360m, 1280f, 1255f, 1140f, 1060f, 1040f, 900f, 840m y 780m cm^{-1} .

No se consiguió un análisis elemental correcto. Para su identificación procedimos a la preparación de su acetyl derivado.

4-O-Acetil-5,6-O-ciclohexiliden y 6-O-acetil-4,5-O-ciclohexiliden-di-N-metoxicarbonil-2-desoxiestreptamina.



El racemato 4,5 y 5,6-O-ciclohexiliden-di-N-metoxicarbonil-2-desoxiestreptamina bruto (358 mg, 1 mmol) se disolvió en la menor cantidad posible de piridina anhidra (0,5 ml) y la disolución así formada se añadió sobre anhídrido acético (1 ml) enfriado exteriormente con una mezcla hielo-sal. La mezcla de reacción se dejó estar en el frigorífico durante cuarenta y ocho horas y después se vertió sobre hielo-agua, formándose un precipitado siruposo que no se consiguió cristalizar, a pesar de rascar la vasija y cambiar repetidamente el agua. Este material siruposo se extrajo con cloroformo (5 x 20 ml) y la disolución clorofórmica se lavó con agua y se secó sobre sulfato sódico anhidro. Se evaporó a sequedad, dando un residuo siruposo que se cromatografió en una columna de gel de sílice (10 g) usando como eluyente éter-éter de petróleo (4:1), separándose así el producto del título (246 mg, 61,5%) cromatográficamente puro, Rf 0,17 (c.c.f. éter-éter de petróleo, 4:1). Se recristalizó para análisis de etanol absoluto (87,2 mg), p.f. 183-185°.

IR ν_{\max} (KBr): 3285f, 2950f, 2870m, 1745f, 1695f, 1550f, 1455f, 1375f, 1330f, 1290f, 1245f, 1135f, 1068f, 1090f, 910f, 850m, 785m y 770m cm^{-1}

Análisis

Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_8$: C: 53,99 ; H: 7,04 ; N: 6,99

Encontrado C: 54,37 ; H: 7,49 ; N: 6,43

6.5. Derivados N-sustituidos de neamina

6.5.1. 1,3,2',6'-Tetra-N-metoxycarbonilneamina (XVIIIa).

Método A

A una disolución de clorhidrato de neamina (28,08 g, 60 mmoles) en acetona-agua 1:1 (600 ml) se añadió carbonato de sodio anhidro (25,44 g, 240 mmoles) y la suspensión formada se agitó hasta disolución total del sólido (una hora). Transcurrido este tiempo, se le añadió cloroformiato de metilo (18 ml, 240 mmoles), poco a poco y sin dejar de agitar. La mezcla de reacción se dejó agitando veinticuatro horas a temperatura ambiente, formándose un sólido. El sólido se filtró y se extrajo con dioxano. La disolución se evaporó a sequedad y el sólido resultante se extrajo con dioxano (6 x 100ml). Los extractos reunidos, se evaporaron a sequedad y el sólido residual resultante se recristalizó de metanol, dando el producto del título (9 g, 28,5%) cromatográficamente puro de p.f. 280-285° (descomposición, reblandecimiento a partir de 270°). Rf 0,32 (c.c.f. acetato de etilo-etanol 5:1). $[\alpha]_{\lambda}^{22} + 80^{\circ}$ (c 0,5, agua).

IR max (KBr): 3390f, 2950d, 1709f, 1515f, 1475m, 1390m, 1307fa, 1058fa, 966m, 877m y 787m cm^{-1} .

Análisis

Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_{14}$. C: 43,31; H: 6,18; N: 10,10
Encontrado C: 43,05; H: 6,15; N: 10,02

Método B

A una disolución de clorhidrato de neamina (4,68 g, 10 mmoles) en agua (94 ml) se añadió resina Amberlita IRA-400 (OH) (120 meq, 1500 ml). La suspensión formada se agitó durante una hora a temperatura ambiente. Pasado este tiempo se añadió cloroformiato de metilo (3,78 ml, 40 mmoles), poco a poco y sin dejar de agitar y, simultáneamente, también poco a poco, acetona (94 ml). La mezcla se dejó agitando otras tres horas y luego se filtró la resina, lavándola varias veces con etanol caliente. El filtrado y los lavados reunidos, se evaporaron a sequedad y el residuo sólido resultante se recristalizó de metanol, obteniéndose la 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina cromatográficamente pura (4,60 g, 83%).

Las constantes físicas coinciden con las del producto obtenido por el método A.

6.5.2. 1,3,2',6'-Tetra-N-etoxicarbonilneamina (XVIIIb).

Método A

A partir de clorhidrato de neamina en medio agua-acetona.

A una disolución de clorhidrato de neamina (0,936 g, 2 mmoles) en agua (10 ml) se añadieron carbonato sódico anhidro (0,933 g, 8,8 mmoles) y acetona (10 ml) formándose una suspensión blanca. Con agitación se

agregó lentamente cloroformiato de etilo (0,952 g, 8,8 mmoles). Se agitó veinticuatro horas a temperatura ambiente y se dejó estar otras veinticuatro horas en el frigorífico. Se filtró, lavó y dejó secar sobre cloruro de calcio a vacío, dando 1,183 g (91%) de un producto blanco, p.f. 242-245° (descomposición). Recristalizado de metanol, presentó p.f. 247-249° (descomposición). La c.c.f. (benceno-etanol 85:15) dió una sóla mancha de Rf 0,24. $[\alpha]_D^{21} + 60^\circ$ (c 0,5, metanol).

IR max (KBr): 3330f, 2975m, 1685mf, 1535mf, 1375m, 1275m, 1170m, 1090m, 865d y 775m cm^{-1} .

Análisis

Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{42}\text{O}_{14}\text{N}_4$. C: 47,20 ; H: 6,93 ; N: 9,17

Encontrado C: 46,96 ; H: 7,06 ; N: 8,98

Método B

A partir de clorhidrato de neamina, medio acuoso.

A una disolución de clorhidrato de neamina (0,974 g, 2 mmoles) en agua (10 ml) se añadieron carbonato sódico anhidro (1,753 g, 16 mmoles) y, poco a poco y con agitación cloroformiato de etilo (0,952 g, 8,8 mmoles) Se agitó durante veinticuatro horas, llevándose otras veinticuatro horas al frigorífico. El sólido que precipitó, se filtró y secó sobre cloruro de calcio, obteniéndose 0,558 g de producto (46%), p.f. 242-245°. La c.c.f.

(benceno-etanol 85:15) dió resultados idénticos al anterior método.

Método C

A partir de neamina base, medio agua-acetona. A una disolución de neamina base (100 mg, 0,3 mmoles) en agua (1 ml) se le añadieron carbonato sódico anhídrico (75 mg, 0,7 mmoles) y acetona (1 ml). Poco a poco y con agitación, se añadió cloroformiato de etilo (85 mg, 0,8 mmoles). Se agitó durante veinticuatro horas y se llevó al frigorífico otras veinticuatro horas. Filtrado y seco sobre cloruro de calcio dió 160 mg de producto (84%), p.f. 245-247°. Recristalizado de metanol absoluto presentó p.f. 249-251°. La c.c.f. (benceno-etanol 85:15) dió idénticos resultados que en los anteriores ensayos.

Método D

A partir de clorhidrato de neamina, medio acuoso en presencia de Amberlita IRA-400 (OH).

Una suspensión de clorhidrato de neamina (0,47 g, 1 mmol) y Amberlita IRA-400 (OH) en agua (solución acuosa al 5%) se agitó fuertemente durante media hora. Se agregaron, poco a poco, cloroformiato de etilo (434 mg, 4 mmoles) y un volumen de acetona igual al de agua (9,36 ml). La agitación se continuó hasta veinticuatro horas. Se filtró y la resina se lavó con varias por-

ciones de metanol caliente. El filtrado y los lavados se evaporaron a sequedad. Se obtuvieron 0,49 g (80,24%) de producto. Recristalizado de metanol absoluto, presentó p.f. 246-248°. Cromatografiado en las condiciones anteriores, el resultado fué idéntico.

6.5.3. 1,3,2',6'-Tetra-N-2-(4-oxo-2-pentenil)amino neamina (XXXIV).

A una suspensión de clorhidrato de neamina (4,7 g, 10 mmoles) en metanol (100 ml) se añadieron trietilamina (12 ml, 20 x 4 mmoles) y acetilacetona (12 ml, 30 x 4 mmoles).

La mezcla de reacción se calentó a reflujo hasta disolución del sólido (aproximadamente una hora) y durante una hora y media más. Se dejó enfriar y se evaporó a un tercio de volumen. Dejada estar en el frigorífico cristalizó una primera cosecha de producto (3,99 g) y posteriormente las aguas madres dieron una segunda cosecha (0,675 g). Rendimiento 4,66 g (71%) y p.f. 179-181°.

La c.c.f. (cloroformo-etanol 8:1) mostró un producto de Rf 0,5, distinto del de partida y de aceptable pureza.

Recristalizado varias veces de etanol presentó un p.f. 182-184°. $[\alpha]_{\lambda}^{19} = -13,3^{\circ}$ (c 0,75, cloroformo). $\lambda_{\max} = 310 \text{ nm}$ (ϵ 584000) (Etanol, $1,25 \cdot 10^{-6} \text{ M}$).

IR ν_{\max} (KBr): 3420fa, 2960d, 2920d, 1600f, 1560m,
1440d, 1375d, 1360d, 1305m, 1205d,
1140m, 1090m, 1025m y 940m cm^{-1} .

ν_{\max} (CHCl_3): 3360m, 2950f, 2930f, 2870f, 1605f,
1537f, 1460f, 1378f, 1360f, 1305m,
1135m, 1090m, 1017m, 982m, 938d y 890d
 cm^{-1} .

Análisis

Calculado para $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_{14} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. C: 57,45; H: 7,84; N: 8,38

Encontrado C: 57,37; H: 8,11; N: 7,93

6.6. Derivados N, O-sustituídos.

6.6.1. Reacciones de acetilación

6.6.1.1. 5,6,3',4'-Tetra-O-Acetil-1,3,2',6'-tetra-N-metoxycarbonilneamina (XXXVI).

Una disolución de 1,3,2',6'-tetra-N-metoxycarbonilneamina (1 g) en piridina anhidra (5 ml) se trató con anhídrido acético destilado (6 ml) y la mezcla de reacción se dejó a temperatura ambiente durante veinticuatro horas agitando magnéticamente hasta conseguir la disolución completa del precipitado aparecido al añadir el anhídrido acético. Posteriormente se mantuvo veinticuatro horas a 0°. La disolución se volcó sobre hielo-agua, no precipitando el producto acetilado. La disolución acuosa se extrajo con cloroformo (5 x 15 ml) y la fase clorofórmica se lavó sucesivamente con ácido sulfúrico 1N, bicarbonato sódico y agua, secándose sobre sulfato de magnesio anhidro. Evaporado a sequedad proporcionó un sólido blanco cristalino (1,029 g, 78,97%) de p.f. 147°, Rf 0,34 (c.c.f. cloroformo-etanol 95:5). Recristalizado de etanol-agua 1:1 dió p.f. 151-152° y $[\alpha]_{\lambda}^{22} + 74$ (c 0,5, agua).

IR ν_{\max} (KBr): 3390f, 2967d, 1739fa, 1381m, 1242mf-a, 1151mf-a, 858md y 787m cm^{-1} .

Análisis

Calculado para $C_{28}H_{42}O_{18}N_4 \cdot H_2O$: C: 45,40; H: 5,98; N: 7,56

Encontrado C: 44,86; H: 5,66; N: 7,44

6.6.1.2. Desacetilación catalítica de 5,6,3',4'-tetra-O-acetil-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina.

Una disolución de 5,6,3',4'-tetra-O-acetil-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (50 mg, 0,06 mmoles). (p.f. 147°, Rf 0,34) en metanol absoluto (2 ml) se trató con metilato sódico al 1,5%, dejándose a temperatura ambiente durante cinco minutos. Se neutralizó con Amberlita IR-120 (H⁺) y se filtró. La disolución se refrigeró durante doce horas, precipitando 29,92 mg (80%) de un producto de p.f. 280-285° (descomposición, reblandecimiento a partir de 270°). Rf 0,32 (c.c.f. acetato de etil-etanol 5:1), $[\alpha]_D^{22} + 80^\circ$ (c 0,5, agua).

Las constantes de este producto así como el el espectro de IR y el análisis elemental coinciden con las del 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina.

6.6.1.3. 5,6,3',4'-Tetra-O-acetil-1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina(XXXVII).

Una disolución de 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina (11,22 g, 18,3 mmoles) en piridina anhidra (67,32 ml) se trató con anhídrido acético destilado (56,1 ml) y la mezcla de reacción se dejó a 0° durante

veinticuatro horas. La disolución se volcó sobre hielo-agua produciéndose la precipitación de un sólido que se filtró y lavó con agua fría. El producto una vez seco, pesó 9,79 g (68%). La c.c.f. (cloroformo-etanol 95:5) de este sólido indicó la presencia de un producto de Rf 0,33 y cantidades minoritarias de una sustancia de Rf 0,29. Las aguas madres se extrajeron con cloroformo (5 x 10 ml). La fase clorofórmica se extrajo sucesivamente con ácido sulfúrico 1N, con bicarbonato sódico y con agua. La fase clorofórmica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La disolución clorofórmica se evaporó a sequedad obteniéndose 2,28 g (15,8%) de producto. La c.c.f. (cloroformo-etanol 95:5) indicó la presencia del producto de Rf 0,33 y trazas de otros de Rf 0,29 y 0,25.

Siete gramos de la mezcla anterior, se pasó por una columna de sílica gel (210 g) usando como eluyente cloroformo-etanol 95:5. Del producto principal (Rf 0,33) se obtuvieron 2,54 g (36,25%). Recristalizado de etanol se obtuvo puro el producto del título de p.f. 123-126°. $[\alpha]_{\lambda}^{17} + 90^{\circ}$ (c 0,5, cloroformo).

IR. ν_{\max} (KBr): 3390f, 2985m, 1739mf, 1538mf, 1449f, 1399f, 1242mf-a, 1047mf-a, 896md y 787m cm^{-1} .

Análisis

Calculado para $C_{32}H_{50}N_4O_{18}$. C: 49,35; H: 6,47; N: 7,19

Encontrado C: 49,09; H: 6,77; N: 7,09

Cinco gramos de una mezcla enriquecida en los productos de Rf 0,25 y 0,29 se pasaron por una columna idéntica a la anterior obteniéndose el producto de Rf 0,29 (0,450 g, 9%) que presentó las siguientes propiedades: p.f. 123-125°. $[\alpha]_D^{18} +90^\circ$ (c 0,5, cloroformo).

IR ν_{max} (KBr): 3340m, 2970m, 2930m, 1715mf-a, 1525f, 1375m, 1230mf-a, 1030mf-a, 865d y 775m cm^{-1}

Análisis

Calculado para $C_{32}H_{50}N_4O_{18}$. C: 49,35; H: 6,47; N: 7,19

Encontrado C: 49,13; H: 6,77; N: 7,33

6.6.1.4. Desacetilación catalítica de 5,6,3',4'-tetra-O-acetil-1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina.

Una disolución de 5,6,3',4'-tetra-O-acetil-1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina (50 mg, 0,06mmoles) (p.f. 123-126°, Rf 0,33) en etanol absoluto (1 ml) se trató con etilato sódico (0,2 ml de disolución preparada al 1,5%), dejándose a temperatura ambiente durante cinco minutos. Después de neutralizar con Amberlita IR-120 (H⁺), se filtró la disolución y se refrigeró durante doce horas. Filtrado y seco el producto que precipitó dió 39,02 mg (72%) de material, Rf 0,24 (c.c.f. benceno-etanol 85:15)

p.f. 246-248°. $[\alpha]_{\lambda}^{21} + 60^{\circ}$ (c 0,5, metanol).

Las constantes de este producto así como el espectro de IR y el análisis elemental coinciden con los de la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina.

6.6.2. Reacciones de carbonatación. Preparación de la 5,6:3',4'-di-O-carbonato-1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina (XXXVIII).

A una disolución de 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina (0,610 g, 1 mmol) en dioxano (20 ml) se añadió gota a gota y agitando cloroformiato de etilo (6,75 ml, 60 mmoles) y trietilamina (3 ml, 10 mmoles) en benceno (10 ml), enfriándose exteriormente con hielo. A las cuatro horas de reacción la suspensión formada se cromatografió en capa fina (benceno-etanol 85:15) observándose el consumo total del compuesto de partida (Rf 0,24) y la formación de un producto de Rf 0,8 (mayoritario) al que acompañaban trazas de dos sustancias de menor movilidad (Rf 0,72 y 0,5). Filtrado el sólido, la disolución se evaporó a sequedad, dando un sólido amorfo (570 mg) que disuelto en cloroformo, lavado con ácido clorhídrico 1,2N (5 ml) y agua y evaporado a sequedad proporcionó el producto mayoritario (Rf 0,8) prácticamente puro (300 mg, 45%) que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando como eluyente cloroformo-etanol 9:1.

El sólido amorfo obtenido (100 mg) tuvo p.f. 245-250°. No se logró un análisis elemental correcto ya que se altera lentamente al aire.

IR ν_{\max} (KBr): 3400f, 3000f, 1862f, 1832f, 1724mf, 1531mf, 1400d, 1286f-a, 1040m, 880d y 786m cm^{-1} .

6.6.3. Reacciones de cetalación.

6.6.3.1. Acetonación de la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina.

A una mezcla íntima de 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina (610 mg, 1 mmol) y ácido p-toluenosulfónico (7 mg) se añadieron dimetilformamida (6 ml) y 2,2-dimetoxipropano (1,3 ml, 10 mmoles). Disuelto el sólido se le añadió metanol (1 ml) y se calentó a 50-60°.

A los veinte minutos de reacción se observó por cromatografía en capa fina (benceno-etanol 85:15) la aparición de dos productos nuevos sin desaparecer el de partida. Esta situación no se logró alterar a las dieciséis horas de reacción incluso elevando la temperatura a 100°. Tampoco se logró variación al aumentar la cantidad de ácido p-toluenosulfónico o la de 2,2-dimetoxipropano, que actuó como disolvente, en ausencia de dimetilformamida. En estas últimas condiciones, cuando se procede a la eliminación de metanol (y simultáneamente de 2,2-dimetoxipropano) por destilación, se produce una apreciable

descomposición y oscurecimiento de la masa de reacción.

6.6.3.2. Ciclohexilidenación de 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina. Obtención de 5,6:3',4'-di-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina y 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina. (XIX) y (XXII).

Se fundió una muestra de 1 a 2 g de ácido p-toluenosulfónico, calentándolo al baño de agua en un rotavapor al vacío de la trompa, y una vez fundido se mantuvo así durante una hora; pasado este tiempo, la masa fundida se pasó a un mortero y una vez solidificada se pulverizó. El ácido p-toluenosulfónico fundido y seco (0,255 g) se añadió a una disolución de 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (5,43 g, 9,8 mmoles) en dimetilformamida (60 ml) a 50°. A la disolución formada se añadió 1,1-dimetoxiciclohexano (5,8 ml, 54 mmoles), y el sistema se conectó a la trompa de vacío (30 mm Hg), dejando pasar un ligero borboteo de aire secado con ácido sulfúrico y se mantuvo la temperatura entre 50-60°. El sistema se mantuvo en esas condiciones durante diez horas. Pasado este tiempo, la c.c.f. (cloroformo-etanol 8:1) mostró la desaparición del producto de partida y la formación de tres productos de Rf 0,90 (mayoritario), 0,50 (trazas) y 0,43. La mezcla de reacción se neutralizó con disolución saturada de bicarbonato sódico y se evaporó a sequedad.

El residuo resultante se extrajo con cloroformo a reflujo (4 x 60 ml) y los extractos clorofórmicos reunidos se evaporaron a sequedad, coevaporando el residuo siruposo con etanol hasta que quedó un sólido blanco amorfo (5,26 g). Este material se cromatografió en una columna de gel de sílice (200 g) usando como eluyente cloroformo-etanol 12:1 con un 1% de trietilamina. Se separaron así los productos de Rf 0,90 y 0,43.

La sustancia de Rf 0,90 (5 g, 74%) resultó ser un sólido amorfo que se trató con éter y recristalizado de etanol dió p.f. 219-221° y $[\alpha]_{\lambda}^{17} +44^{\circ}$ (c 0,25, cloroformo). Es la 5,6:3',4'-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XIX).

IR ν_{\max} (KBr): 3340m, 3330f, 2940f, 2860d, 1726f, 1706f, 1675f, 1550f, 1520f, 1450m, 1430m, 1364m, 1285f, 1040f, 905f y 785f cm^{-1} .

IR ν_{\max} (CHCl_3 , 0,25%): 3440m, 2938f, 2850m, 1725f, 1600m, 1510m, 1445m, 1360m y 905m cm^{-1} .

Análisis

Calculado para $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_{14}$: C: 53,76; H: 7,05; N: 7,83

Encontrado C: 53,50; H: 7,34; N: 7,76

El producto de Rf 0,43 (0,57 g, 19%) fué un sólido microcristalino, recristalizado de tetrahidrofurano-agua tuvo p.f. 133-137° y $[\alpha]_{\lambda}^{25} +36,5$ (c 0,5, cloroformo).

mo). [Lit. $[\alpha]_D^{25} + 37^\circ$ (c 1, metanol)]. Se trata del 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XXII).

IR ν_{\max} (KBr): 3420fa, 3320fa, 2940f, 2860f, 1710f, 1685f, 1465f, 1425f, 1380fa, 1280fa, 1040f, 908f, y 785f cm^{-1} .

Análisis

Calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_{14}$. C: 49,20; H: 6,67; N: 8,83

Encontrado C: 49,27; H: 6,83; N: 8,54

Hidrólisis parcial de la 5,6:3',4'-di-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XIX).

Una disolución del 5,6:3',4'-di-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (285,6 mg, 0,4 mmoles) en dimetilformamida anhidra (8 ml) conteniendo agua (7,2 mg, 1 mol equivalente) y ácido p-toluenosulfónico anhidro (19 mg, 0,2 mol equivalente) se dejó estar dos días a temperatura ambiente. La c.c.f. (cloroformo-etanol 8:1) indicó la casi total desaparición del compuesto de partida y la formación del 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (Rf 0,43). La disolución se neutralizó con bicarbonato sódico y se evaporó a sequedad. El sólido blanco obtenido se trató con varias porciones de agua quedando una parte sin disolver (producto de partida sin reaccionar). La fracción acuosa se evaporó a sequedad y el residuo se cristalizó

de tetrahidrofurano-agua obteniéndose 0,156 g (61,5%) de 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XXII). Las constantes físicas coinciden con las del compuesto ya identificado.

Metanolisis de 5,6:3',4'-di-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XIX).

A una disolución del 5,6:3',4'-di-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina en dimetilformamida se añadieron unas gotas de metanol absoluto y se dejó estar a 45° durante tres horas, formándose exclusivamente el 5,6-O-monociclohexiliden acetal (Rf 0,43) (el isómero con el grupo acetálico en posiciones 3',4', que posiblemente es el compuesto de Rf 0,50 no se detecta), sin llegar a consumirse el compuesto de partida aunque se prolongue el tiempo de reacción. El producto de Rf 0,43 se purificó en una columna de sílica-gel, aislándose con un rendimiento del 79%. En algunos experimentos se logró purificar recristalizándolo de tetrahidrofurano-agua.

Obtención del 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XXII).

A una disolución de 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (5,43 g, 9,8 mmoles) en dimetilformamida (60 ml) se añadieron 1,1-dimetoxi-ciclohexano (5,8 ml, 54

mmoles) y ácido p-toluenosulfónico fundido y seco (0,255 g). El sistema se conectó a la trompa de vacío (25 mm Hg), dejando pasar un ligero borboteo de aire seco con ácido sulfúrico y se elevó la temperatura a 53°, manteniéndose la mezcla en estas condiciones durante dos horas y media. La c.c.f. (cloróformo-etanol 8:1) después de la calefacción nos indicó la formación de tres productos de Rf 0,9, 0,5 y 0,43, siendo el producto de Rf 0,43 el más abundante.

La mezcla de reacción se dejó estar una noche a 25°, se le añadió metanol absoluto (3 ml) y se dejó estar a 45° durante tres horas, con lo que el producto de Rf 0,50 desapareció y disminuyó la proporción del de Rf 0,90, mientras que el de Rf 0,43 aumentó su proporción.

La mezcla de reacción se neutralizó con solución saturada de bicarbonato sódico y después se evaporó a sequedad a presión reducida, quedando un sólido semi-siruposo que se extrajo con cloroformo (4 x 60 ml); los extractos clorofórmicos reunidos se evaporaron a sequedad a presión reducida, coevaporándose el residuo con etanol, hasta que quedó un sólido blanco amorfo de peso 5,226 g. Este producto así obtenido dió en cromatografía en capa fina (cloroformo-etanol 8:1) una mancha muy fuerte de Rf 0,43 y como impureza la mancha de Rf 0,9.

Para eliminar la impureza de ésta última se colocó el producto en una columna de sílica gel (200 g) utilizándose como eluyente cloroformo-etanol 12:1 con un 1% de trietilamina. Se consiguió obtener así 4,9 g de producto (5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina) completamente puro lo que supone un rendimiento global en la reacción del 79%.

Las constantes físicas de este producto fueron idénticas a las indicadas anteriormente.

6.6.4. Derivados obtenidos a partir de la 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina.

6.6.4.1. 5,6-O-ciclohexiliden-3',4'-di-(2,2,2-tricloroetoxicarbonil)-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XLIV).

A una disolución de 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (1,6 g, 2,5 mmoles) en piridina anhidra (10 ml) se añadió gota a gota y agitando, cloroformiato de 2,2,2-tricloroetilo (1,5 ml, 8 mmoles) enfriando exteriormente con un baño de hielo. Se formó un precipitado blanco siruposo. Se dejó estar la mezcla en el frigorífico durante un fin de semana, volcándose posteriormente sobre hielo-agua. Se obtuvo un sirupo que se transformó en un sólido amorfo al renovar el agua

varias veces. El sólido filtrado y seco pesó 2,34 g (96%), Rf 0,36 (cloroformo-etanol 95:5) y 0,61 (cloroformo-etanol 85:15).

La purificación del sólido se consiguió por cromatografía en columna de sílica-gel (85 g) usando como eluyente cloroformo-etanol (95:5). La fracción más pura se pasó por una segunda columna. El producto puro dió p.f. 91-93°, $[\alpha]_{\lambda}^{24} + 10^{\circ}$ (c 1, cloroformo).

IR ν_{\max} (KBr): 3370f, 2960f, 1788f-a, 1735m, 1720f, 1560f, 1545f, 1460m, 1390d, 1270d-a, 1260h, 1145d, 1050d-a, 960m, 930m, 910m, 825f, 780f, y 725f cm^{-1} .

Análisis

Calculado para $\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_{18}\text{Cl}_6$: C:39,00; H:4,50; N:5,69;
Cl:21,59

Encontrado C:39,08; H:4,53; N:5,39
Cl: 21,60

6.6.4.2. 3',4'-di-O-(2,2,2-tricloroetoxicarbonil)-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XLV).

La 5,6-O-ciclohexiliden-3',4'-di-O-(2,2,2-tricloroetoxicarbonil)-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (2,7 g, 2,73 mmoles) se disolvió en ácido trifluoroacético-agua 9:1 (30 ml). Tras cinco horas de reacción se observó (c.c.f. cloroformo-etanol 85:15) la desaparición

ción del producto de partida y la existencia de un nuevo producto de Rf 0,37. La disolución se evaporó a sequedad coevaporando con éter. El sirupo obtenido se trató con éter-éter de petróleo transformándose en un sólido amorfo (1,2045 g, 48,56%), que se purificó por cromatografía de columna sobre sílica-gel usando como eluyente cloroformo-etanol 85:15. El producto puro dió p.f. 139-141° y $[\alpha]_{\lambda}^{24} + 14$ (c 1, cloroformo).

IR ν_{\max} (KBr): 3360f, 2970m, 1735f-a, 1565m, 1540m, 1460m, 1390d, 1200h, 1145d, 965d, 825f, 780f y 735f cm^{-1} .

Análisis

Calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_{18}\text{Cl}_6$. C: 34,48; H: 4,00; N: 6,18;
Cl: 23,52.

Encontrado C: 34,16; H: 4,21; N: 6,18;
Cl: 23,36.

6.6.4.3. 5,6-O-acetil-3',4'-di-(2,2,2-tricloroetoxicarbonil)-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XLVI).

A una disolución de 3',4'-di-O-(2,2,2-tricloroetoxicarbonil)-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (1,2045 g, 1,33 mmoles) en piridina anhidra (3 ml) se añadió anhídrido acético (1 ml) y se refrigeró durante dos días volcándose posteriormente sobre hielo-agua; el

precipitado blanco amorfo obtenido se filtró y secó pesando 2 g. Se purificó por cromatografía de columna sobre sílica-gel (40 g) usando como eluyente cloroformo-etanol 95:5. El producto puro (0,8 g, 57%) dió p.f. 140-142° y Rf 0,6 (cloroformo-etanol 95:5). $[\alpha]_{\lambda}^{24} = -5$ (c 1, cloroformo).

IR ν_{\max} (KBr): 3400f, 2960f, 1790f, 1740f, 1720f, 1555m, 1545m, 1460d, 1390d, 1280m-a, 1070m-a, 870d, 810f y 735m cm^{-1} .

Análisis

Calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{N}_4\text{O}_{20}\text{Cl}_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. C: 34,52; H: 4,44; N: 5,36
Encontrado: C: 34,55; H: 4,17; N: 5,00

6.6.4.4. Intentos de separar los grupos tricloroetoxicarbonilos del 5,6-O-acetil-3',4'-di-(2,2,2-tricloroetoxicarbonil)-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina.

A una disolución de 5,6-O-acetil-3',4'-di-(2,2,2-tricloroetoxicarbonil)-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (100 mg, 0,1 mmol) en metanol (2 ml) se añadió zinc en polvo (100 mg) y se calentó a reflujo. La reacción se siguió por cromatografía en capa fina usando como eluyente cloroformo-etanol (95:5). Tras treinta y seis horas de reacción la sustancia de partida permaneció inalterada, incluso después de añadir a la mezcla de reac-

ción unas gotas de sulfato de cobre.

Cuando se empleó zinc en polvo (100 mg) en presencia de ácido acético (1 ml), la cromatografía en capa fina tras treinta horas de reacción indicó la formación de una mezcla compleja de productos cuya identificación no fué posible.

6.6.5. Reacciones de bencilación.

6.6.5.1. Preparación de 5,6,3',4'-tetra-O-bencil-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XLIXa).

A una disolución de 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (0,554 g, 1 mmol) en dimetilformamida anhidra (10 ml) se le añadió una mezcla íntima de óxido de bario (2,3 g, 15 mmoles) e hidróxido de bario octahidrato (1,261 g, 4 mmoles). Poco a poco y con agitación, se le agregó bromuro de bencilo (2,052 ml, 12 mmoles). La mezcla se agitó durante cuatro horas a 0° y hasta un total de veinticuatro horas a temperatura ambiente. Se le añadieron 20 ml de cloroformo y se filtró sobre un lecho de celita (aproximadamente 3 mm de espesor), lavándose el filtro con cloroformo. Los filtrados y lavados se evaporaron a sequedad, obteniéndose un material siruposo amarillo al que se le añadió éter, precipitando 0,90 g de un polvo blanco de carácter inorgánico.

A la fracción etérea se le añadió éter de petróleo hasta turbidez, dejándose en el frigorífico para completar la precipitación. El sólido se filtró obteniéndose 50 mg de producto de p.f. 166-168°. La c.c.f. (acetato de etilo-éter de petróleo 1:1) de este producto recristalizado de etanol, reveló la existencia de un producto mayoritario de Rf 0,50 y trazas de otro producto de Rf 0,45 $[\alpha]_{\lambda}^{22} + 20^{\circ}$ (c 0,5, cloroformo).

IR ν_{\max} (KBr): 3325f, 3025d, 2950d, 2900d, 1720mf, 1567h, 1550f, 1470m, 1380m, 1275f, 740m y 703f cm^{-1} .

Análisis

Calculado para $\text{C}_{48}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_{14}$: C: 63,07; H: 6,39; N: 6,13

Encontrado C: 62,98; H: 6,11; N: 5,91

6.6.5.2. Preparación de 5,6,3',4'-tetra-O-bencil-1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina (XLIXb).

A una disolución de 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina (1,220 g, 2 mmoles) en dimetilformamida anhidra (10 ml) se añadió una mezcla íntima de óxido de bario (4,6 g, 30 mmoles) e hidróxido de bario octahidrato (2,322 g, 8 mmoles). Poco a poco y con agitación se le agregó bromuro de bencilo (4,124 ml, 20 mmoles). La mezcla se refrigeró a 0° durante las cuatro primeras horas de agitación, continuándose durante veinte horas más a tempera-

tura ambiente. Se le añadieron 40 ml de cloroformo y se filtró sobre un lecho de celita (espesor aproximado 3 mm), lavándose el filtro con cloroformo. Los filtrados y lavados se evaporaron hasta obtener un material siruposo que pesó 4,64 g. Este material siruposo fué tratado con éter de petróleo, eliminándose el éter dibencílico formado en el transcurso de la reacción. Posteriormente se trató con éter hasta conseguir un polvo blanco (2,27 g) formado por una mezcla de sales inorgánicas.

La fracción etérea se concentró a pequeño volumen, añadiéndosele éter de petróleo hasta turbidez llevándose al frigorífico para completar la precipitación. Se obtuvieron 1,040 g (58,7%) de producto, p.f. 146-148°.

La c.c.f. en éter de este producto reveló la existencia de un producto de Rf 0,73 y trazas de otro producto de Rf 0,65. $[\alpha]_{\lambda}^{22} + 5^{\circ}$ (c 2, metanol).

IR. ν_{\max} (KBr): 3390f, 2976d, 1706mf, 1550f, 1471m, 1389m, 1272f, 881d, 784m y 703f cm^{-1} .

Análisis

Calculado para $\text{C}_{52}\text{H}_{66}\text{N}_4\text{O}_{14}$. C: 64,31; H: 6,85; N: 5,77

Encontrado C: 64,60; H: 7,00; N: 5,50

6.7. Metanolisis de derivados de neamina.

6.7.1. Metanolisis de la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina. Formación del metil-2,6-dietoxicarbonilamino-2,6-didesoxi- α -D-glucopiranosido (L) y 2-desoxi-1,3-di-N-etoxicarbonilestreptamina (II).

Una suspensión de 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina (0,780 g, 1,27 mmoles) en metanol absoluto 0,38N en cloruro de hidrógeno (95 ml) se calentó a reflujo durante diecinueve horas. El sólido se disolvió durante los primeros cuarenta y cinco minutos de calefacción. La disolución, ligeramente amarilla, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se evaporó a sequedad obteniéndose 0,690 g de un sólido amarillento.

El sólido se disolvió en etanol absoluto, se filtró y refrigeró durante veinticuatro horas. El precipitado obtenido, filtrado y seco, pesó 0,230g (53%) de un producto blanco de p.f. 194-196°, Rf 0,21 (benceno-etanol 85:15). Recristalizado de etanol proporcionó el metil-2,6-dietoxicarbonilamino-2,6-didesoxi- α -D-glucopiranosido (L) puro, p.f. 194-196° y $[\alpha]_D^{20} + 45^\circ$ (c 0,5, etanol).
IR ν_{\max} (KBr): 3333f, 2985m, 1709mf, 1563mf, 1460m, 1399m, 1290m, 1258m, 1190m, 1058f, 966d, 796d y 787 m cm^{-1} .

Análisis

Calculado para $C_{13}H_{24}N_2O_8$. C: 46,42; H: 7,19; N: 8,32
Encontrado C: 46,67; H: 6,93; N: 8,55

Las aguas madres de la cristalización del producto anterior se dejaron en el frigorífico durante veinticuatro horas, produciéndose la cristalización de un nuevo producto (0,250 g, 57%), p.f. 224-232° (descomposición). La c.c.f. (benceno-etanol 85:15) de este producto no reveló mancha alguna. Recristalizado de etanol se obtuvo la 2-desoxi-1,3-di-N-etoxicarbonilestreptamina (LI) pura, p.f. 224-230° (descomposición)

IR ν_{max} (KBr): 3333mf, 2941m, 1709mf, 1550mf, 1481m, 1399m, 1316f-a, 1266f, 1190m, 1130m y 1058mf cm^{-1} .

Análisis

Calculado para $C_{12}H_{22}O_7N_2$. C: 47,05; H: 7,23; N: 9,14
Encontrado C: 47,21; H: 6,87; N: 9,32

6.7.2. Intentos de metanolisis de la 5,6,3',4'-tetra-O-bencil-1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina.

Una disolución de 5,6,3',4'-tetra-O-bencil-1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina (3 g) en etanol-cloruro de hidrógeno 5N (50 ml) se reflujo durante cincuenta horas. La marcha de la reacción se siguió por cromatografía en capa fina usando como eluyente cloroformo-

etanol 95:5, observándose la formación de tres compuestos de Rf 0,76, 0,51 y 0,44 consumiéndose totalmente el compuesto de partida (Rf 0,6). La disolución se neutralizó con carbonato sódico anhidro y se evaporó a sequedad. El sólido amorfo de color oscuro formado pesó 1,898 g.

Con objeto de identificar los productos, se intentó una separación en columna de sílica-gel (50 g) usando como eluyente cloroformo-etanol 95:5, obteniéndose fracciones enriquecidas en el producto de Rf 0,76 y en los de Rf 0,51 y 0,44 mezclados, pero con rendimientos tan bajos que impidieron una ulterior separación.

6.8. Degradaciones oxidativas de derivados de la neamina.

6.8.1. Oxidación con periodato de la 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina. Formación del "dialdehído" (LII).

Método A

A una disolución de 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (15 g, 23,7 mmoles) en tetrahidrofurano (100 ml) se añadió otra de metaperiodato de sodio (15,2 g) en agua (100 ml) y la mezcla se agitó a 25° durante cinco horas en la oscuridad. La disolución se evaporó a sequedad extrayéndose el residuo con cloroformo caliente (3 x 50 ml) y el extracto clorofórmico se lavó con agua, secó sobre sulfato de magnesio y se evaporó a sequedad. El sólido obtenido (15 g) se recristalizó de etanol-agua y el producto puro (13,2 g, 88%) tuvo p.f. 127-133° y Rf 0,60 (acetato de etilo-etanol 8:1), 0,30 (acetato de etilo), $[\alpha]_D^{20} = -4,4^\circ$ (c 0,57, dimetilformamida).

IR ν_{\max} (nujol): 3290f, 1710f, 1695f y 1530f cm^{-1} .

RMN (DMS- d_6): δ 1,55 (bm, 12H, H-2,2 y protones del grupo ciclohexilideno), 3,52 (m, 12H, $-\text{COOCH}_3$), 5,62 (m, 1H, H-1'), 6,80-7,50 (b, 4H, $-\text{NH}-$) 8,30 y 9,12 (2s, 1,5H, $-\text{CHO}$).

Análisis

Calculado para $C_{26}H_{40}N_4O_{14} \cdot 1/2H_2O$. C:48,66; H:6,44; N:8,73

Encontrado C:48,75; H:6,53; N:8,73

Método B

A una disolución de 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (3,08 g, 4,8 mmoles) en tetrahidrofurano (22,5 ml) se añadió, enfriando exteriormente, metaperiodato sódico (3,13 g, 14 mmoles) disuelto en agua (22,5 ml). La mezcla de reacción así formada se agitó durante veinticuatro horas a temperatura ambiente. Pasado este tiempo la c.c.f. (cloroformo-etanol 95:5) de la mezcla mostró la formación de un nuevo producto de Rf 0,40 y la desaparición del producto de partida (Rf 0,24). El revelador utilizado fué ptalato ácido de anilina. Se evaporó el tetrahidrofurano formándose un precipitado que se redisolvió al diluir con agua (22,5 ml). La disolución se extrajo con cloroformo (20 x 10 ml), y los extractos clorofórmicos se evaporaron a sequedad, coevaporando con etanol, dando un residuo sólido (2,688g, 87,5%) de p.f. 180-182° (reblandecimiento desde 160°). $[\alpha]_{\lambda}^{20} + 17^{\circ}$ (c 1, cloroformo). $[\alpha]_{\lambda}^{25} + 12^{\circ}$ (c 4, cloroformo).

IR ν_{\max} (KBr): 3340f, 2950f, 2860m, 1690f, 1520f, 1438f, 1300m, 1245fa, 1180f, 1045fa, 892m, 830m, 785m y 765m cm^{-1} .

El análisis elemental no fué correcto.

Análisis

Calculado para $C_{26}H_{40}N_4O_{14} \cdot H_2O$. C: 47,99; H: 6,50; N: 8,61

Encontrado C: 48,07; H: 6,25; N: 7,51

6.8.2. Reducción del "dialdehído" (LII).

A una suspensión del "dialdehído" (2,69 g, 4,25 mmoles) en agua (42,5 ml) se añadió hidruro de boro y sodio (0,321 g, 8,5 mmoles). La suspensión se agitó durante veinticuatro horas a temperatura ambiente, disolviéndose el sólido poco a poco. La c.c.f. (cloroformo-etanol 93:7) de la disolución formada, mostró la desaparición del producto de partida (Rf 0,39) y la formación de un producto mayoritario (Rf 0,21) y trazas de otro (Rf 0,28). La disolución (pH=10) se neutralizó con ácido clorhídrico 1,2N y se evaporó a sequedad; el residuo resultante se extrajo con cloroformo (4 x 50 ml) y los extractos clorofórmicos se evaporaron a sequedad, coevaporándolos con etanol, dando un residuo sólido que se cromatografió en una columna de gel de sílice (90 g) eluyendo con cloroformo-etanol 93:7, separándose así el "dialcohol" (LIV) puro, (Rf 0,21) (1,75 g, 63,5%), p.f. 138-140°. $[\alpha]_{\lambda}^{25} +17^{\circ}$ (c 0,5, cloroformo).

IR ν_{\max} (KBr): 3340fa, 2925f, 2860m, 1705fa, 1540fa, 1450fa, 1275fa, 1040fa, 900f y 775f cm^{-1} .

IR ν_{\max} (CHCl₃, 0,5%): 3440f, 3315f, 2940f, 2860m, 1710f, 1620f, 1510fa, 1450m, 1365m, 905m y 860m cm⁻¹.

Análisis

Calculado para C₂₆H₄₄N₄O₁₄·H₂O. C: 47,70; H: 7,08; N: 8,55

Encontrado C: 47,65; H: 6,92; N: 8,40

6.8.3. Hidrólisis del "dialcohol" (LIV).

6.8.3.1. Hidrólisis total.

Una disolución del "dialcohol" (LIV) (50 mg) en ácido trifluoracético-agua 9:1 (2 ml) se dejó estar a temperatura ambiente. La reacción se siguió por c.c.f. (cloroformo-etanol 95:5). Tras cinco minutos de reacción se detectó la presencia de un producto de igual movilidad cromatográfica que la di-N-metoxicarbonil-2-desoxiestreptamina.

6.8.3.2. Hidrólisis parcial.

A una disolución del "dialcohol" (500 mg) en dioxano-agua (3:1) se añadió ácido trifluoracético (0,1 ml). La reacción se dejó estar cuatro días a temperatura ambiente, al cabo de los cuales se observó en c.c.f. (cloroformo-etanol 95:5) la formación de tres productos, uno que no avanza en este eluyente (di-N-metoxicarbonil-2-desoxiestreptamina) y otros dos de R_f 0,45 (5,6-O-ciclo-

hexiliden-1,3-di-N-metoxicarbonil-2-desoxiestreptamina) y 0,93 (ciclohexanona), no habiéndose consumido totalmente el "dialcohol" de partida.

La disolución (pH 2,5) se neutralizó con resina Amberlita IR-400 (OH). Se filtró la resina y se lavó con varias porciones de dioxano. El filtrado y los lavados reunidos se evaporaron obteniéndose un sirupo amarillo (164,6 mg). Se intentó la purificación del sirupo por cromatografía en columna de sílica-gel utilizando como eluyente cloroformo-etanol 95:5. La separación cromatográfica no tuvo éxito.

6.9. Degradaciones básicas del "dialdehído" (LII).

6.9.1. Obtención del 5,6-O-ciclohexiliden-1,3-di-N-metoxicarbonil-2-desoxiestreptamina (LIII).

Método A. Con trietilamina

A una disolución de "dialdehído" (LII) (1,6 g, 2,52 mmoles) en etanol (25 ml) se añadió trietilamina (25 ml) y se agitó a 22° durante veinticuatro horas. La mezcla se concentró hasta obtener un sirupo que se disolvió en etanol (25 ml). La disolución etanólica se mezcló con una disolución de borohidruro de sodio (0,2 g) en agua (5 ml) y se mantuvo a temperatura ambiente durante una noche. La disolución se concentró y el residuo se coevaporó con metanol y acetona. El sólido obtenido se cromatografió en columna de sílica-gel usando como eluyente cloroformo-acetato de etilo conteniendo un 1% de trietilamina. El sólido cristalino (0,226 g, 25%) así obtenido se recrystalizó de acetato de etilo, p.f. 108,5-111°. $[\alpha]_D^{23} +14^\circ$ (c 1, cloroformo). Rf 0,35 (acetato de etilo), 0,7 (acetato de etilo-etanol 8:1) y 0,5 (acetato de etilo-etanol 12:1).

IR ν_{\max} (nujol): 3390f, 3260f, 1690f y 1550f cm^{-1} .

RMN ($\text{dm}_s - \text{d}_6$): δ 1,48 (bm 12H, H-2,2' y protones del grupo ciclohexilideno), 3,52 (s, 6H, 2 COOCH₃), 5,14 (m, 1H, OH) y 7,38 (banda b, 2H, 2NH)

Método B. Con metóxido sódico.

Una disolución de "dialdehido" (2 g, 3,1 mmoles) en metanol (30 ml) fué tratada con metóxido sódico (0,2 g) a 22° durante veinticuatro horas. La disolución fué concentrada y el sirupo disuelto en etanol (50 ml) fué tratado con borchidruro de sodio (0,3 g) en agua (10 ml) durante una noche. La mezcla fué concentrada y coevaporada con metanol obteniéndose un sirupo (1,8 g) que fué extraído con cloroformo. El extracto filtrado dió al ser evaporado un producto que se purificó por cromatografía en columna de sílica-gel como se ha indicado en el método A. El producto puro pesó 0,38 g (34%), p.f. 109-111°.

$[\alpha]_D^{23} +14^\circ$ (c 1, cloroformo), Rf 0,7 (acetato de etil-etanol 8:1).

Los espectros de IR y RMN fueron idénticos a los del compuesto aislado en el método A.

Análisis

Calculado para $C_{16}H_{26}N_2O_7$. C: 53,62; H: 7,31; N: 7,81

Encontrado C: 53,52; H: 7,20; N: 7,53

6.9.2. 4-O-Acetil-5,6-O-ciclohexiliden-1,3-di-N-metoxicarbonil-2-desoxiestreptamina (LXII).

Una suspensión del "dialdehido" (16 g, 25,2 mmoles) en etanol (250 ml) y trietilamina (25 ml) se agitó a temperatura ambiente durante veinticuatro horas. La

disolución se concentró y el sirupo obtenido, disuelto en agua (150 ml) se trató con borchidruro de sodio (2 g) en agua (50 ml) durante doce horas. La mezcla se concentró obteniéndose un sólido que se extrajo con cloroformo (3 x 30 ml). El extracto clorofórmico se filtró, lavó con agua, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a sequedad. El sólido obtenido se disolvió en piridina (50 ml) y se acetiló con anhídrido acético (5 ml) durante veinticuatro horas. La mezcla se volcó sobre hielo-agua obteniéndose un sirupo que fué purificado por cromatografía en columna de sílica-gel, eluida con acetato de etilo. Se obtuvieron 4,84 g (48%) del producto del título que fué recristalizado de etanol, p.f. 164-166°, $[\alpha]_D^{23} = -5^\circ$ (c 1,2, cloroformo). Rf 0,5 (acetato de etilo). Rf 0,3 (acetato de etilo-cloroformo 1:1).

IR ν_{\max} (CHCl₃): 3420f, 3320f, 1715a, 1510f y 1230fcm⁻¹

RMN (CDCl₃): δ 1,10-1,80 (bm, 12H, H-2,2' y 10 protones del grupo ciclohexilideno), 2,10 (s, 3H, -CO-CH₃), 2,30-3,00 (bm, 2H, H-1,3), 3,63 y 3,66 (2s, 6H, -N-COOCH₃), 4,85-6,40 (bm, 3H, H-4 y 2-NH-).

Análisis

Calculado para C₁₈H₂₈N₂O₈: C: 53,99; H: 7,05; N: 6,99

Encontrado C: 54,01; H: 6,97; N: 6,52

Desacetilación catalítica.

A una disolución de 4-O-acetil-5,6-O-ciclohexiliden-1,3-di-N-metoxicarbonil-2-desoxiestreptamina (2 g, 5 mmoles) en metanol absoluto (40 ml) se añadió metilato sódico (50 mg) a 22° dejando estar la reacción durante doce horas. La mezcla se neutralizó con dióxido de carbono y se evaporó a sequedad. El residuo se extrajo con cloroformo y los extractos clorofórmicos filtrados se concentraron a sequedad. El residuo (1,75 g) se recristalizó de etanol dando 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina puro, p.f. 109-111°.

6.9.3. 5,6-O-ciclohexiliden-2-desoxiestreptamina (LXIII).

A una disolución de 4-O-acetil-5,6-O-ciclohexiliden-1,3-di-N-metoxicarbonil-2-desoxiestreptamina (0,2 g, 0,05 mmoles) en metanol (4 ml) se añadió hidróxido de bario octahidrato (0,6 g) en agua (3 ml). La mezcla de reacción se calentó a 80° durante veinticuatro horas. La disolución obtenida fué neutralizada con anhídrido carbónico y centrifugada. El líquido sobrenadante se concentró a sequedad y el residuo se extrajo con varias porciones de metanol. Los extractos metanólicos se concentraron hasta un sirupo que se purificó por absorción en una columna de resina Amberlita CG 50 (NH_4^+) y se eluyó con una disolución de amoniaco metanólico 0,1-0,2N. Los eluidos se

evaporaron a sequedad y el residuo siruposo se disolvió en agua (0,5 ml) y se neutralizó con ácido sulfúrico 0,25M. A la disolución obtenida se le añadió dioxano, precipitando el compuesto del título como sulfato (83 mg, 48%), p.f. 212° (descomposición), $[\alpha]_D^{20} = -9$ (c 0,57, agua), Rf 0,4 (cloroformo-metanol-amoniaco concentrado 100:30:3) y 0,65 (metanol-amoniaco concentrado 8:1).

Análisis

Calculado para $C_{12}H_{22}N_2O_3 \cdot H_2SO_4$. C:42,34; H:7,10; N:8,23

Encontrado C:42,45; H:7,20; N:8,17

7. CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

- 1^a. Se pone a punto un procedimiento simple para la obtención del clorhidrato de neamina por metanolisis del sulfato de neomicina comercial. El método da un rendimiento del 98% y es susceptible de ser aplicado a escala industrial.
- 2^a. Se describen diversos procedimientos para obtener con buenos rendimientos dos uretanos de la neamina, a saber: la 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina (rendimiento 83%) y la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina (rendimiento 91%).
- 3^a. Se describe un nuevo derivado N-sustituido de la neamina, a saber, la 1,3,2',6'-tetra-N- [2''-(4''-oxopent-2''-enil)] neamina, que se obtiene fácilmente por reacción del antibiótico con la 2,4-pentanonona con un rendimiento del 71%.
- 4^a. Las acetilaciones de los uretanos indicados en la conclusión 2^a dan lugar, con buenos rendimientos, a la 5,6,3',4'-tetra-O-acetil-1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina. Se trata de dos nuevos derivados de la neamina especialmente apropiados para su caracterización.

- 5^a. Se ha estudiado la reacción de carbonatación de la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina. En presencia de trietilamina y un gran exceso del agente carbonatante, el cloroformiato de etilo, el producto principal es un dicarbonato cíclico: el 5,6:3',4'-di-O-carbonato de la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina. Este producto va acompañado de dos productos minoritarios que son, presumiblemente, el 5,6-O- y el 3',4'-O-monocarbonato.
- 6^a. Se ha hecho un estudio detallado de la formación de los acetales de la ciclohexanona y la 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina. Mediante una reacción de transacetalación catalizada con ácido p-tolueno-sulfónico usando un exceso de 1,1-dimetoxiciclohexano (ciclohexanona dimetil acetal) en dimetilformamida se obtiene con buen rendimiento (74%) el diacetal previsible: la 5,6:3',4'-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina. Un subproducto (19%) de esta reacción es el 5,6-monoacetal, o sea, la 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina.
- 7^a. La hidrólisis selectiva con un mol de agua en dimetilformamida del 5,6:3',4'-diacetal, mencionado en la conclusión anterior, da un buen rendimiento

(61,5%) de la 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina.

- 8^a. La metanolisis, en condiciones de control termodinámico, del mismo diacetal lleva igualmente a la 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina con un rendimiento del 79%.
- 9^a. Basándose en las reacciones mencionadas en las conclusiones 6^a, 7^a y 8^a, se pone a punto un procedimiento que permite obtener, en una sóla operación y con buen rendimiento (79%), la 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina. El método se puede aplicar para la obtención a escala industrial del producto que es un intermedio apropiado para la modificación por vía química del anillo de 2,6-diaminohexosa de la neamina.
- 10^a. La reacción de la 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina con cloroformiato de tricloroetilo da el correspondiente diestercarbónico: la 5,6-O-ciclohexiliden-3',4'-di-O-(2,2,2-tricloroetoxicarbonil)-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina.
- 11^a. La hidrólisis del acetal anterior da la 3',4'-di-O-(2,2,2-tricloroetoxicarbonil)-1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonilneamina. Se trata éste de un deriva-

do apropiado para modificar químicamente el anillo de 2-desoxiestreptamina de la neamina.

- 12^a. Se estudian las reacciones de O-bencilación de la 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonil- y 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina con bromuro de bencilo obteniéndose los correspondientes derivados tetra-O-bencilados.
- 13^a. Se estudian las metanolisis de varios derivados de uretanos de la neamina. La metanolisis de la 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina con cloruro de hidrógeno en metanol origina el metil 2,6-dietoxicarbonilamino-2,6-didesoxi- α -D-glucopiranosido y la 2-desoxi-1,3-di-N-etoxicarbonilestreptamina. Por el contrario, las metanolisis en condiciones similares de los derivados tetra-O-bencilados de la 1,3,2',6'-tetra-N-metoxicarbonil- y 1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina son procesos muy lentos que van acompañados de otras reacciones de descomposición compleja.
- 14^a. La oxidación con metaperiodato sódico de la 5,6-O-ciclohexiliden-1,3,2',6'-tetra-N-etoxicarbonilneamina produce un "dialdehído" al que se asigna la estructura 5,6-O-ciclohexiliden-2-desoxi-4-O-{(1R, 2R)-1- [(1R)-1-formil-2-(metoxicarbonilamino)-eto-

xi]-2-formil-2-(metoxicarbonilamino)etil}-1,3-di-
N-(metoxicarbonil)estreptamina.

Este producto se obtiene, según las condiciones de la reacción, como un hidrato (hemialdal) o como un semi-hidrato.

- 15^a. La reducción con hidruro de boro y sodio del "dialdehído" mencionado en la conclusión anterior da lugar al correspondiente "dialcohol", a saber la 5,6-O-ciclohexiliden-2-desoxi-di-N-metoxicarbonil-4-O-
{1'-[3'-hidroxi-1'-(1''-hidroxi-3''-metoxicarbonil-amino-2''-propiloxi)-2'-metoxicarbonilamino]-propil}
estreptamina.
- 16^a. La degradación catalizada por diversas bases (tri-
etilamina, metóxido de sodio) del mismo "dialdehído"
permite obtener la 5,6-O-ciclohexiliden-2-desoxi-
1,3-di-N-metoxicarbonilestreptamina. Se trata éste
de un interesante derivado asimétricamente sustitui-
do y ópticamente activo de la 2-desoxiestreptamina
que puede servir como intermedio en la síntesis de
antibióticos aminoglicosídicos.
- 17^a. Se describen las reacciones de O-acetilación e hi-
drólisis básica del compuesto mencionado en la con-
clusión anterior que dan lugar, respectivamente, a
la 4-O-acetil-5,6-O-ciclohexiliden-2-desoxi-1,3-di-

metoxycarbonilestreptamina y a la 5,6-0-ciclohexiliden-2-desoxiestreptamina (aislado como sulfato), dos nuevos derivados de la 2-desoxiestreptamina.

- 18^a. Se presentan pruebas químicas y espectroscópicas (Infrarrojo y Resonancia Magnética Nuclear) que demuestran las estructuras de las sustancias mencionadas en las conclusiones precedentes.

8. BIBLIOGRAFIA

8. BIBLIOGRAFIA

1. S.A. Waskman y H.A. Lechevalier, Science, 109, 305 (1949).
2. Kenneth L. Rinehart, Jr., "The Neomycins and Related Antibiotics", E.R. Squibb, Lectures on Chemistry, Wiley and Sons, New York, 1964.
3. S. Umezawa, "Structure and Synthesis of Aminoglycoside Antibiotics", en Advan. Carbohydr. Chem. Biochem. 30, 111 (1974).
4. D.A. Coxon, K. Richardson, y B.C. Ross, "The Aminoglycosides", en Topics in Antibiotic Chemistry, 1, 1 (1977).
5. S. Umezawa, T. Miyazawa y T. Tsuchiya, J. Antibiot., 25, 530 (1972); S. Koto, K. Tatsuda, E. Kitazawa y S. Umezawa, Bull. Chem. Soc. Japan, 41, 2769 (1968); A. Hasegawa, N. Kurihara, D. Nishimura, y M. Nakajima, Agr. Biol. Chem., 32, 1123 (1968); S. Umezawa, S. Koto, K. Tatsuda, y T. Tsumura, Bull. Chem. Soc. Jpn., 42, 529 (1969); Y. Nishimura, T. Tsuchiya, y S. Umezawa, ibid., 43, 2960 (1970); 44, 2521 (1971); 46, 1263 (1973); R.U. Lemieux, T.L. Nagabhushan, K.J. Clemetson, y L.C.N. Tucker, Com. J. Chem., 51, 53 (1973).
6. R.L. Peck, C.E. Hoffhine, Jr., P.H. Gale y K. Folkers J. Am. Chem. Soc. 75, 1018 (1953).

7. J.D. Dutcher, N. Hosansky, M.N. Donin, y D. Winterteiner, J. Am. Chem. Soc. 73, 1384 (1951).
8. B.E. Leach y M. Teeters, J. Am. Chem. Soc., 73, 2794-97 (1951).
9. B.E. Leach y M. Teeters, J. Am. Chem. Soc., 74, 3187 (1952).
10. J. Dutcher y N. Donin, J. Am. Chem. Soc., 74, 3420 (1952).
11. M. Hichens y K.L. Rinehart, Jr., J. Am. Chem. Soc., 85, 1547 (1963).
12. F.A. Kuehl, Jr., M.N. Bishop, y K. Folkers, J. Am. Chem. Soc. 73, 881 (1951).
13. H.E. Carter, J.R. Dyer, P.D. Shaw, K.L. Rinehart, Jr., y M. Hichens, J. Am. Chem. Soc. 83, 3723 (1961).
14. K.L. Rinehart, Jr., M. Hichens, K. Striegler, K.R. Rover, T.P. Culbertson, S. Tatsuoka, S. Horii, T. Yamaguchi, H. Hitomi, A. Mikaye, J. Am. Chem. Soc. 83, 2964 (1961).
15. R.U. Lemieux y R.J. Crishley, Can. J. Chem., 41, 858 (1963).
16. K.L. Rinehart, Jr., W.S. Chilton y W.v. Phillipsborn, J. Am. Chem. Soc., 84, 3216 (1962).
17. Para la definición del parámetro $\Delta[M]_{\text{cupra B}}$, véase la referencia 11.
18. S. Umezawa y S. Koto, Bull. Chem. Soc. Japan, 39, 2014 (1966).

19. K. Tatsuda, E. Kitazawa y S. Umezawa, Bull. Chem. Soc. Japan, 40, 2371 (1967).
20. M. Nakajima, A. Hasegawa y N. Kurihara, Tetrahedron Lett., 967 (1964); Ann., 689, 235 (1965).
21. S. Umezawa, Y. Okaraki y T. Tsuchiya, Bull of the Chem. Soc. Japan, 45, 3619 (1972).
22. T. Jikihara, T. Tsuchiya, S. Umezawa y H. Umezawa, Bull. Chem. Soc. Japan., 46, 3507-3510 (1973).
23. T. Suami, S. Nishiyama, Y. Ishikawa y S. Katsura, Carbohyd. Res., 52, 187-196 (1976).
24. S. Umezawa, S. Koto, K. Tatsuda, H. Hineno, Y. Nishimura y T. Tsumira, Bull. Chem. Soc. Japan, 42, 537-541 (1969).
25. M. Tanabe, D.M. Yasuda y G. Detre, Tetrahedron Lett., 41, 3607-3610 (1977).
26. T. Suami, S. Nishiyama, Y. Ishikawa y S. Katsura, Carbohyd. Res., 53, 239-246 (1977).
27. K.L. Rinehart, Jr., A.D. Argoudelis, W.A. Goss, A. Sohler y C.P. Schaffner, J. Am. Chem. Soc., 82, 3938 (1960).
28. J.H. Ford, M.E. Bergy, A.A. Brooks, E.R. Garrett, J. Alberti, J.R. Dyer y H.E. Carter, J. Am. Chem. Soc., 77, 5311 (1955).
29. J.D. Dutcher y M.N. Donin, J. Am. Chem. Soc., 74, 3420 (1952).

30. E. Chargaff y M. Bovarnick, J. Biol. Chem., 118, 421 (1937).
31. J.W. Barton, en "Protective Groups in Organic Chemistry", editado por J.F.W. McDmie, Plenum Press, London and New York, 1973, página 67.
32. A. Gómez Sánchez, M. Gómez Guillen y U. Scheidegger, Carbohyd. Res., 3, 468 (1967); A. Gómez Sánchez, A. Cert Ventulá y U. Scheidegger, ibid., 17, 275 (1971); A. Gómez Sánchez, P. Borrachero y J. Bellanato, resultados sin publicar.
33. M.J. Cron, R.E. Smith, I.R. Hooper, J.G. Keil, E.A. Ragan, R.H. Schreiber, G. Schwab y J.C. Godfrey, Antimicrobial Agents Chemotherapy, 219 (1969).
34. L.J. Bellamy, "The Infrared Spectra of Complex Molecules", Methuen, London, segunda edición, 1958, página 221.
35. F. García González, A. Gómez Sánchez y M.I. Goñi de Rey, Carbohyd. Res., 1, 261 (1965).
36. J. Dabrowski y U. Dabrowska, Chem. Ber., 101, 3392 (1968).
37. P. Claes y H. Vanderhaegue, Proceedings of the VIIth International Symposium on Chromatography and Electrophoresis, Bruselas (Septiembre 1972) y referencias contenidas en este trabajo.
38. L. Hough, J.E. Priddle y R.S. Theobald, Advan. Carbohyd. Chem., 15, 91 (1960).

39. W.M. Doane, B.S. Shasha, E.I. Stont, C.R. Russell, y C.E. Rist, Carbohyd. Res., 4, 445 (1967).
40. A.N. De Belder, Advan. Carbohyd. Chem., 20, 219 (1965).
41. M.E. Evans, F.W. Parrish y L. Long, Jr., Carbohyd. Res., 3, 453 (1967).
42. F.H. Bissett, M.E. Evans, y F.W. Parrish, Carbohyd. Res., 5, 184 (1967).
43. a) R.B. Woodward, K. Heusler, J. Gosteli, P. Naegeli, W. Oppolzer, R. Ramage, S. Ranganatham y H. Vorbrüggen, J. Am. Chem. Soc., 88, 852 (1966).
b) T.W. Windholz y D.B.R. Johnston, Tetrahedron Lett. 2555 (1967).
44. J.E. Christensen y L. Goodman, Carbohyd. Res., 7, 510 (1968).
45. S. Koto, T. Tsumura, Y. Kato y S. Umezawa, Bull. Chem. Soc. Jpn., 41, 2765 (1968).
46. a) J.M. Bobbit, Advan. Carbohyd. Chem., 11, 1 (1956);
b) R.D. Guthrie, ibid., 16, 105 (1961).
47. H.E. Carter, R.K. Clark, Jr., S.R. Dickman, Y.H. Loo, P.S. Skell y W.A. Strong, Science, 103, 540 (1946).
48. H.E. Carter, J.R. Dyer, P.D. Shaw, K.L. Rinehart, Jr. y M. Hichens, J. Am. Chem. Soc., 83, 3723 (1961).
49. R.D. Guthrie, Advan. Carbohyd. Chem., 16, 105 (1961).
(Ver en particular las páginas 153 a 157).

50. Referencia 1, pag. 156 y 157. Véase también D. O'Mear y G.N. Richards, J. Chem.Soc., 4504 (1958).
51. T. Takamoto y S. Hanessian, Tetrahedron Lett., 4009 (1974).
52. S. Hanessian, T. Takamoto y R. Masse, J. Antibiotics, 28, 835 (1975).
53. J.M. Bobbit, "Thin-Layer Chromatography", Reinhold Publishing Co, New York and London (1963).
54. D.J. Pasto y C.R. Johnson, "Determinación de estructuras orgánicas", Edit. Reverté, S.A. (1974).
55. R.E. McCoy, A.W. Baker y R.S. Gohlke, J. Org. Chem., 22, 1175 (1957).
56. N.B. Lorette y W.L. Howard, J. Org. Chem., 25, 521 (1960).
57. S.A. Patuwardhan y Sukh Dev, Synthesis, 348, May 1974.

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE CIENCIAS

Reunido el Tribunal integrado por los abajo firmantes,
en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de
D. = M^e Eugenia Blanca Fausole
titulada "Estudios sobre la penencia de la unidad
(Carcenaria - A)"

acordó otorgarle la calificación de Sobresaliente con
lode

Sevilla, el de Diciembre 1978

El Vocal,

[Signature]

El Vocal,

[Signature]

El Vocal,

[Signature]

El Presidente,

[Signature]

El Secretario,

[Signature]

El Doctorado,

[Signature]

