

**"SINTESIS DE C-NUCLEÓSIDOS DE ACIDOS BARBITÓRICOS
Y ANALISIS CONFORMACIONAL POR MECANICA MOLECULAR
DE SUS DERIVADOS ACETILADOS"**

ANGEL MUNOZ RUIZ

R. 6711

T 416

- 2 -

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA Y FARMACÉUTICA

"SÍNTESIS DE C-NUCLEOSIDOS DE ÁCIDOS BARBITÓRICOS

Y ANÁLISIS CONFORMACIONAL POR MECÁNICA MOLECULAR

DE SUS DERIVADOS ACETILADOS"

Memoria presentada para optar

al grado de licenciado en

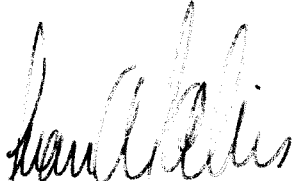
Farmacia por ANGEL MUÑOZ RUIZ

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA Y FARMACÉUTICA

V.B. EL DIRECTOR

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'Juan A. Galbis Pérez', written in a cursive style.

Rdo. JUAN A. GALBIS PEREZ

Catedrático de Química Orgánica

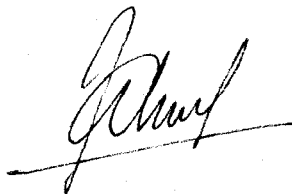
Facultad de Farmacia.

Universidad de Sevilla.

D. Felipe Alcudia González. Catedrático
Director del Departamento de Química Orgánica y
Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la
Universidad de Sevilla.

CERTIFICA: que los Trabajos correspondientes a la Tesis de
Licenciatura presentada por ANGEL MUÑOZ RUIZ, han
sido realizados en su mayor parte en este
Departamento.

Sevilla a 28 de Octubre de 1987



Felipe Alcudia Gonzalez

Esta Tesis de Licenciatura ha sido realizada en el Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla y el Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Barcelona bajo la dirección del Prof. Dr. D. Juan A. Galbís Pérez.

Asimismo deseo expresar mi sincera gratitud:

A todos los compañeros del Departamento, por su colaboración prestada en la realización de este trabajo

Al todo el personal del Centro de Cálculo

También deseo agradecer la hospitalidad y colaboración prestada a los miembros del Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Barcelona.

A la Consejería de Educación y Ciencia de la Junta de Andalucía por la financiación parcial de este trabajo.

A mis padres

A mi hermano

A Mercedes

I.	INTRODUCCIÓN.....	7
1.	C-Nucleósidos.....	8
2.	Mecánica Molecular.....	12
3.	Conjugación de Compuestos H-activos con glicósidos.....	21
II.	PARTE TEÓRICA.....	23
1.	Preparación de C-glicosil barbituratos..	24
1.1	Antecedentes.....	24
1.2	Síntesis de C-glicosil barbituratos.....	33
1.3	Nuevas investigaciones.....	40
1.3.1.	Reacción del ácido barbitúrico con hexo- sas.....	40
1.3.2.	Reacción del ácido barbitúrico y 1,3-di- metil barbitúrico con ácido glucurónico.	41
2.	Análisis conformacional por Mecánica Mo- lecular de C-glicosilbarbituratos aceti- lados.....	45
2.1.	Antecedentes.....	45
2.2.	Método de Cálculo: limitaciones y proce- dimiento.....	48
2.3.	Cálculos realizados.....	59
2.3.1.	5-(Tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)- 1,3-dimetilbarbiturico simulado.....	61
2.3.2.	5-(Tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)- barbiturico simulado.....	74

2.3.3.	5-(Tri-O-acetil- β -D-ribopiranosil)- 1,3-dimetilbarbiturico simulado.....	79
2.3.4.	5-(Tetra-O-acetil- β -D-manopiranosil) 1,3-dimetilbarbiturico simulado.....	94
2.3.5.	5-(Tri-O-acetil2-desoxi- β -D-glucopirano- sil)barbiturico simulado.....	104
III	PARTE EXPERIMENTAL.....	113
3.1	Métodos generales.....	114
3.2	Materias primas.....	117
3.3	Reacción del ácido barbitúrico con hexo- sas.....	118
3.3.1	5- β -D-Glucopiranosil barbiturato sódico.	118
3.3.2	5- β -D-Galactopiranosil barbiturato sódico.....	119
3.3.1	5- β -D-MANopiranosil barbiturato sódico..	120
3.2.	Reacción de los ácidos barbitúricos con el ácido glucurónico.....	121
3.4.1.	5- β - δ -glucuronopiranosul barbiturato di- sódico.....	121
3.4.2.	5- β - δ -glucuronopiranosul-1,3-dimetilbar- biturato disódico.....	122
IV	CONCLUSIONES.....	123
V	BIBLIOGRAFÍA.....	127
VI	APENDICES (Espectros de I.R y de R.M.N....	134

I-INTRODUCCIÓN.

1. - C-NUCLEÓSIDOS

La presente investigación es continuación a la iniciada en el Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Extremadura, tendente a la síntesis de C-glicósidos de ácidos barbitúricos, similares a los C-nucleósidos.

Los C-Nucleósidos se caracterizan por enlace no usual C-C entre el carbono anómérico de un azúcar y una base heterocíclica, diferenciándose de los N-nucleósidos, en los que la parte glicosídica y el heterociclo están unidos por un enlace C-N. De esta diferencia estructural derivan ciertas diferencias en su comportamiento químico, y así, mientras que el enlace C-N de los N-nucleósidos se hidroliza fácilmente, el enlace C-C de los C-nucleósidos es resistente a la hidrólisis.

Por otra parte, la gran analogía estructural entre los N-nucleósidos y C-nucleósidos hace que estos últimos puedan servir como sustratos enzimáticos reemplazando a los primeros.

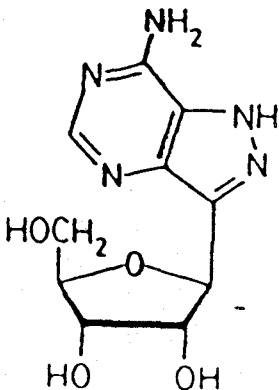
A esta diferencia de comportamiento químico y a la similitud estructural entre ambos tipos de compuestos se deben las propiedades antitumorales, antivirásicas, antiherpéticas y otras propiedades farmacológicas que presentan los C-nucleósidos ^{1,2}. Así los C-nucleósidos naturales formicina (1), formicina B (2), showdomicina (3), oxacinomicina (4), y pirazinomicina (5), poseen todas propiedades antibióticas. La pseudouridina (6) carece de este tipo de propiedades; sin embargo, uno de sus derivados la 4-tiopseudouridina inhibe el crecimiento de E.Coli auxotrofo ³.

Algunos C-Nucleósidos relacionados con la pseudouridina son también activos biológicamente así la β -pseudoisocitidina (7a) inhibe "in vitro" varios tipos de células leucémicas ^{4,5}. Su anómero α (7b) también es biológicamente activo, pero en menor extensión que 7a. Además la didesazapseudouridina (8a) y sus 2,4-dibencilderivados (8b) inhiben el crecimiento de células L1210 de leucemia. El bencilderivado también es activo frente a células TA₃ del carcinoma mamario ^{6,7}.

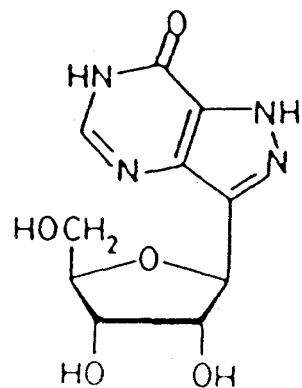
El antibiótico pirazinomicina (5), también ha demostrado propiedades antivirásicas y antitumorales ^{8,9}.

Se han sintetizado algunos otros C-nucleósidos derivados de purina, pirimidina, pirazina, pirazol, oxazol y tiazol demostrándose la actividad biológica de muchos de ellos. Fox y col. ⁹ han preparado isómeros de adenosina e inosina que han mostrado mejores propiedades antileucémicas que las correspondientes recientemente este grupo ha preparado ¹⁰ los 4-tio, 4-metiltio y 4-hidroxilamino C-nucleósidos (9, 10, 11)

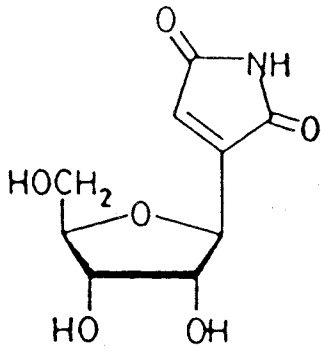
Se ha demostrado asimismo que análogos de C-nucleósidos y N-nucleósidos, con un resto de azúcar acíclico derivados de uracilo, 5-fluoruracilo, adenina y 6-mercaptopurina ¹⁰ también presentan propiedades antibióticas y antitumorales dependiendo de la configuración del azúcar.



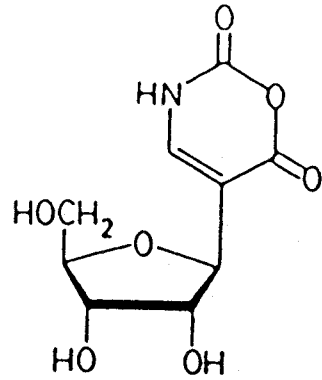
1



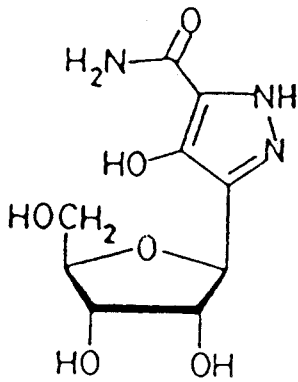
2



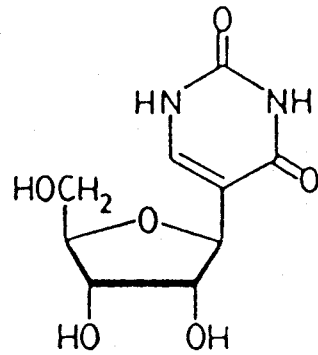
3



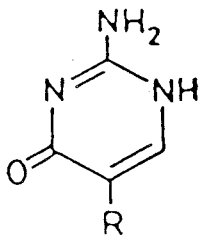
4



5

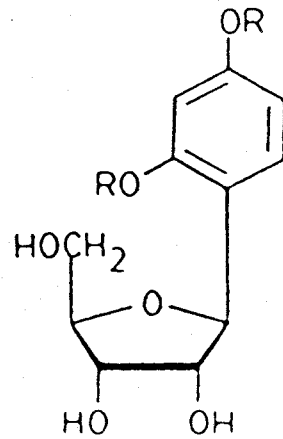


6



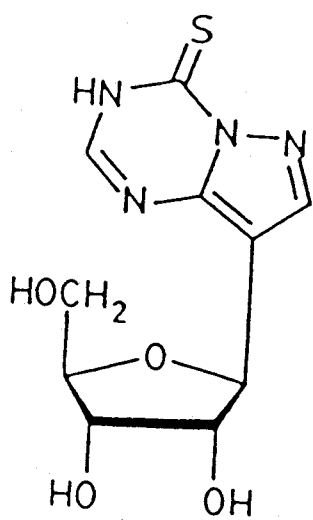
7 a R = β -D-ribofuranosilo

7 b R = α -D-ribofuranosilo

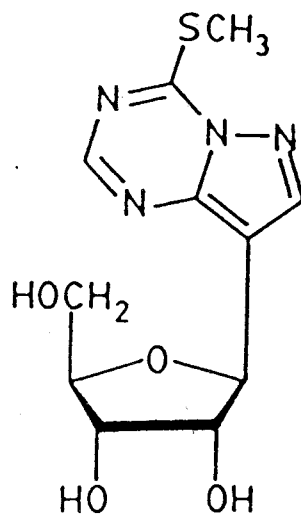


8 a R = H

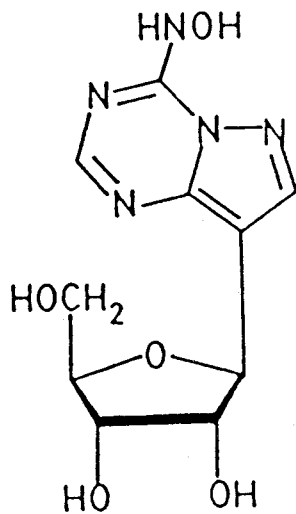
8 b R = CH₂Ph



9



10



11

2.- MECÁNICA MOLECULAR

En la actualidad existe una tendencia generalizada dentro de los investigadores químicos hacia la interpretación de sus resultados experimentales apoyándose en cálculos teóricos. Así mismo se pretende usar estos cálculos para poder predecir el resultado de sus planes futuros, o incluso para obtener información de un punto concreto difícil de estudiar o de obtener mediante métodos experimentales.

Dentro de esta línea se inscriben los cálculos realizados con objeto de esclarecer las conformaciones predominantes de los derivados acetilados de C-nucleósidos de ácidos barbitúricos. Aplicando los métodos de cálculo de la **Mecánica Molecular**.

Existen distintos programas de cálculo basados en la mecánica cuántica. Dentro de ellos existe una subdivisión en lo que se denominan métodos ab initio o no empíricos y métodos semiempíricos.

La diferencia fundamental entre estos dos métodos radica en el tipo de aproximaciones que realiza a fin de obtener la energía del sistema estudiado. A priori el método ab initio es el más fiable debido a que es el que realiza un menor número de aproximaciones. No obstante esta fiabilidad teórica de los métodos ab initio se ve ensombrecida por un larguísimo tiempo de cálculo (aproximadamente 100-1000 veces más lento que los semiempíricos) y unos resultados que parecen depender del Basis-Set escogido.

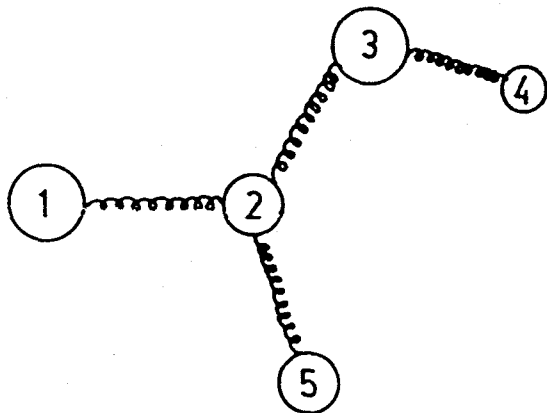
Por otro lado, los métodos semiempíricos, a pesar de efectuar un mayor número de suposiciones o aproximaciones, ofrecen unos resultados bastante concordantes con los experimentales y en un tiempo de cálculo menor que los ab initio.

Finalmente tenemos, un bloque de métodos de cálculo formado por aquellos programas que calculan la energía y la estructura de una molécula apoyándose única y exclusivamente en la mecánica clásica, a diferencia de los anteriores que lo hacen por la mecánica cuántica. Estos métodos, llamados empíricos, ofrecen unos resultados energéticos y geométricos que concuerdan con los resultados experimentales incluso dentro del margen de error experimental. Además tienen la ventaja de ser unas 10^3 veces más rápidos que los semiempíricos, o sea, unas 10^6 que los métodos ab initio''.

La diferencia entre estos métodos empíricos también conocidos como métodos de **Mecánica Molecular** y los métodos de **Mecánica Cuántica**, se basa en el principio fundamental del que parten ambos métodos; mientras que en los métodos mecánico-cuánticos se usa la aproximación de Born-Oppenheimer (se puede dividir la ecuación de Schrödinger en dos partes independientes que estudien separadamente el movimiento de los núcleos y de los electrones), en la que se fijan las posiciones de los núcleos y se estudia la estructura electrónica usando dichas posiciones nucleares fijadas, en **Mecánica Molecular** o espectroscopía vibracional, se hace justamente la aproximación contraria, es decir, se estudian el movimiento de los núcleos y los electrones no son explícitamente contemplados como tales'².

La **Mecánica Molecular** parte de una idea básica; los enlaces tienen una distancia y un ángulo "natural" a cuyo valor tienden a ajustar su geometría las moléculas. Además las interacciones estéricas son tenidas en cuenta mediante funciones de potencial de Van der Waals¹².

Los métodos de **Mecánica Molecular** se originaron en 1930 cuando a Andrews se le ocurrió imaginar un modelo mecánico de una molécula. Este modelo mecánico ¹³ es una serie de masas unidas entre sí por muelles (12), y se desarrolla entre 1955-1965 con la tercera generación de ordenadores potentes.



12

Se consideran a los átomos como masas esféricas y a los enlaces como muelles. Sabemos que estos últimos tienden adoptar unas distancias "naturales" y que si el muelle se comprime tiende a separarse y viceversa, al igual que los enlaces. En consecuencia el movimiento de tensión o de "stretching" de los enlaces puede representarse por una Ley de Hooke, ley que regula la vibración de los muelles. Una relación semejante puede aplicarse a los ángulos de enlace.

Por otra parte es sabido que los átomos poseen interacciones no enlazantes o de Van der Waals que serán atractivas a largas distancias y repulsivas a cortas. Este fenómeno viene reproducido por una función que se aplica a los átomos que no están enlazados entre sí y que tampoco están enlazados a un mismo átomo. Esto es, no considera las relaciones 1,2 y 1,3 ya que viene entendido que éstas están incorporadas en los términos de "stretching" y de "bending", respectivamente. Considera, por tanto, sólo las 1,4 en adelante.

Otro de los términos a considerar es el de torsión. Al igual que ocurre con los enlaces, los muelles tienen una cierta resistencia a la torsión, resistencia que puede venir representada por una función, normalmente de tipo cosenoidal relativa al ángulo de torsión.

También debemos de considerar una serie de términos cruzados que representa la influencia de una determinada interacción sobre otra, por ejemplo, el ángulo de enlace puede verse afectado al aumentar la longitud de enlace.

Finalmente también se considerarán otros términos como las interacciones dipolares si en la molécula existen heteroátomos.

Por consiguiente, la energía de una molécula viene representada por las diferentes contribuciones energéticas debidas a las distintas interacciones tenidas en cuenta:

$$E = E_{\text{e}} + E_{\text{b}} + E_{\text{v}} + E_{\text{t}} + E_{\text{e-b}} + \dots$$

El conjunto de ecuaciones y parámetros que utilizan los métodos de **Mecánica Molecular** se conocen con el nombre de Campo de Fuerzas (Force-Fields). Debido a esto existen distintos campos de fuerzas. No obstante, quizás uno de los más utilizados hoy en día sea el de Allinger^{14, 15, 16, 17, 18}. Este campo de fuerzas está contenido dentro del programa MM2¹⁹ que apareció en 1977 y que ha sido distribuido ampliamente en los últimos años.

El campo de fuerzas que aquí se describe corresponde al MM2(13)

$$E_S = c \cdot K_S \cdot (r - r_0)^2 \cdot (1 - 2(r - r_0))$$

$$E_b = c' \cdot K_b \cdot (\theta - \theta_0)^2 \cdot (1 + c''(\theta - \theta_0)^4)$$

$$E_V = \epsilon \cdot (c''' \cdot e^{-\frac{12.5}{P}} - 2.25 \cdot P^6) ; \quad P = \frac{r_i + r_j}{r}$$

$$E_t = \frac{V_1}{2} (1 + \cos \omega) + \frac{V_2}{2} (1 - \cos 2\omega) + \frac{V_3}{2} (1 + \cos 3\omega)$$

$$H_f = \sum \text{Enlaces} + \sum \text{Grupos} + \sum E_i$$

$$\text{Hidrocarburos : } \sigma_{H_f} = 0.42$$

$$\sigma_{\text{exp}} = 0.40$$

Para el stretching y el bending utiliza una función cuadrática (Ley de Hooke) con una ligera modificación encaminada a permitir desviaciones grandes del valor natural.

La función que representa las interacciones no enlazantes es exponencial en lo que se refiere a la parte atractiva y depende de la sexta potencia en la parte repulsiva

La función de torsión viene representada por una serie de Fourier cosenoidal.

En lo que hace referencia a los calores de formación (magnitud que da una idea de la estabilidad molecular, por lo que es importante poder calcularlo correctamente), el programa **MM2** considera que está desglosado en dos componentes: Uno depende de los diferentes enlaces existentes (C-C, C-O, C-H, etc..) y otro de los distintos grupos existentes (metilo, isopropilo, sec-butilo, etc..). De esta forma, el programa **MM2** consigue una desviación estándar en su cálculo de H_f de 0.42, valor que contrasta con el experimental de 0.40.

El campo de aplicación de la **Mecánica Molecular** viene limitado por el método en si, y podemos decir que, en principio, podemos utilizarlo siempre que no existan interacciones orbitarias importantes. Esto es, podemos utilizarlo para el análisis conformacional orgánico, pero no para un estudio de reactividad de las moléculas orgánicas.

No obstante, surge una nueva limitación en dicho campo. En las ecuaciones anteriores aparecen una serie de parámetros que deben conocerse a fin de poder establecer la energía de estos términos. Consecuentemente existen un gran número de parámetros a determinar y no todos ellos están determinados hoy por hoy.

El principal campo de aplicación de la **Mecánica Molecular** es, sin lugar a dudas, el análisis conformacional, sin que ello quiera decir que no pueda usarse en otros tipos de problemas como reactividades, diseño de fármacos, etc., pero siempre que se trate una cuestión que contenga problemas estéricos de fondo.

El análisis conformacional podemos también subdividirlo en estático y dinámico, entendiendo por análisis conformacional estático aquel que se encarga de estudiar las moléculas en sus estados fundamentales, y entendiendo por análisis conformacional dinámico aquel que estudia las moléculas en movimiento, esto es, barreras de rotación y barreras conformacionales.

Dentro del análisis conformacional estático la **Mecánica Molecular** nos puede ayudar a evaluar las diferentes interacciones existentes en una molécula, interacciones que pueden provocar cambios de conformación, o incluso, la existencia de conformaciones poco estables "a priori".

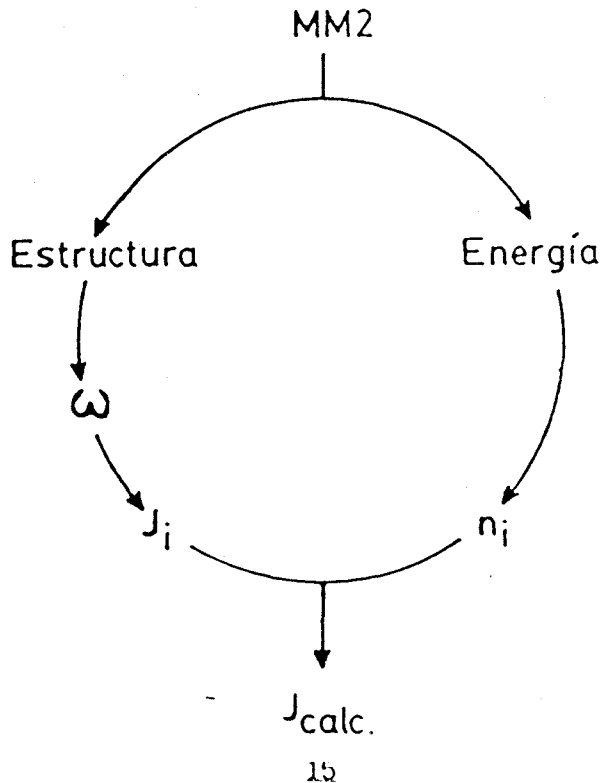
Dentro del análisis conformacional dinámico podemos incluir también los cálculos de las constantes de acoplamiento ${}^3J_{HH}$. Es sabido que las constantes de acoplamiento dependen del ángulo diedro entre los protones vecinos y que éste ángulo depende de la conformación molecular. Los cálculos de **Mecánica Molecular** pueden ayudarnos a establecer la conformación preferente y por tanto a conocer ω . Sabiendo esto mediante una ecuación de tipo Karplus podemos conocer las ${}^3J_{HH}$.²⁰

$${}^3J_{HH} = P_1 \cdot \cos^2 \omega + P_2 \cdot \cos \omega + P_3 + \Delta \chi_i [P_4 + P_5 \cos^2(\xi_i \omega + P_6 |\Delta \chi_i|)]$$

Ahora bien, la mayor aplicación de la **Mecánica Molecular** a la RMN (resonancia magnética nuclear) o al cálculo de las constantes de acoplamiento es en el caso de moléculas conformacionalmente flexibles puesto que la J observada ¹⁵ es un promedio ponderado de las J de los diferentes conformeros existentes en la molécula. Esto es:

$$^3J_{HH} = \sum_{i=1}^N n_i \cdot J_i$$

Mediante los cálculos de **Mecánica Molecular** podemos obtener tanto la estructura como la energía de un conformero dado. La estructura nos dará el ángulo dihedral, el cual se transformará en una J mediante una ecuación de tipo Karplus²⁰. Por otro lado, la energía de los diferentes conformeros es una medida de su estabilidad, o lo que es igual de la fracción molar de cada uno de ellos, necesaria para poder calcular con precisión la J global.



La ecuación de tipo Karplus utilizada para el cálculo de la constante de acoplamiento (J) ha sido la ecuación de Altona-Hasnoot. Tiene de particular que tiene en cuenta tanto la colocación (ϵ_i) como la electronegatividad de los sustituyentes.

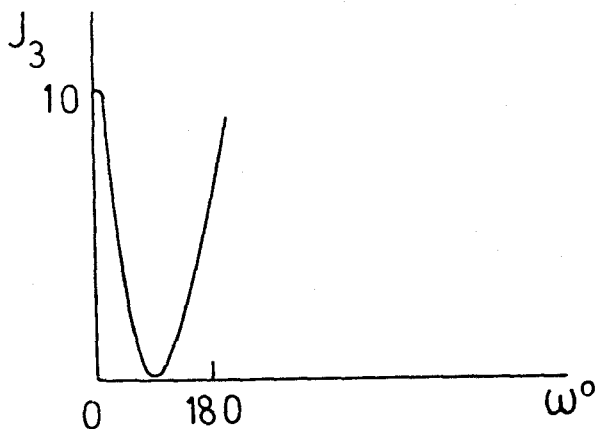
No se debe olvidar el peligro de asignar las conformaciones en base a las J exclusivamente; por varios motivos²⁰:

1. La J_{exp} puede corresponder a dos posibles ángulos dihedros, por tanto no es correcto asignar a uno de ellos una determinada J_{exp} .

2. Por otro lado la J_{exp} puede corresponder a un promedio entre distintas J_{exp} correspondientes a dos o más conformeros distintos que estén en equilibrio.

3. No se conoce la conformación exacta con rigor, pues sólo se determina el valor absoluto del ángulo pero no el signo.

Todo esto se observa en la gráfica que relaciona las J con el ángulo dihedro que forman los protones²¹

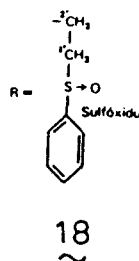
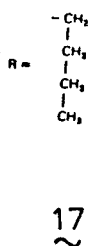
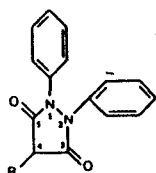


3.- CONJUGACIÓN COMPUESTO H-ACTIVOS CON GLUCOSIDOS

La conjugación de compuestos exógenos y endógenos con ácido glucurónico es una de las principales reacciones metabólicas que tienen lugar en los mamíferos. La reacción es enzimáticamente catalizada por por UDP-glucuroniltransferasa la cual trasfiere el residuo de ácido glucurónico desde la 5-difosfouridin glucurónico (UDPGA) al sustrato HX. Resultando compuestos conjugados de ácido d-glucopiraurónico en configuración β .

La catálisis enzimática no es específica con respecto a la estructura de el sustrato. Para incorporar el nuevo sustituyente es fundamental la presencia de un grupo funcional con un protón reactivo usualmente unido a un heteroátomo. Existen grupos funcionales que son reactivos; hidroxilo, carboxilo, amino, imino, carbanato, sulfonamida, tiol y ditiol. De acuerdo a la naturaleza del átomo conjugado se clasifican en O-, N-, S-glucurónidos.

La existencia de C-glucurónidos. como una nueva clase de conjugados glucurónicos, pone de manifiesto nuevas vías dentro del metabolismo de fármacos. Así la fenilbutazona **17** y la sulfipirazona **18** fármacos ambos derivados de 1,2-difenil-3,5-dioxopirazolidina se convierten en el organismo humano en conjugados en los cuales el C(1') del ácido glucurónico es directamente atacado por el C(4) del anillo de pirazolidina ²². Esta inesperada reacción de conjugación llevada a cabo antes por un átomo de carbono que por un heteroátomo se justifica ya que el protón unido en C(4) de **(17)** y **(18)** forma parte de un sistema 1,3-dicarbonílico con carácter ácido, siendo sus valores de pKa de 4.5 y 2.8 respectivamente ²²



Se ha puesto de manifiesto la existencia de metabolitos de ácidos barbitúricos y sus derivados farmacológicamente activos, en forma de conjugados glucurónicos. Estando unido el ácido glucurónico a los sustituyentes que se encuentran en C(5) del anillo del ácido barbitúrico ^{23, 24}. Sin embargo, cuando los ácidos barbitúricos no se encuentran sustituidos en C(5), la reacción con los mismos tiene lugar en dicha posición, a pH neutro y temperaturas de 50°C. En un periodo de tiempo de 5h, habiéndose realizado bajo estas condiciones la síntesis de distintos C-glicosilbarbituratos ²⁵.

Por otra parte, también se tiene conocimiento de la relación estructura-actividad de los ácidos barbitúricos. Siendo necesaria la sustitución en los mismos, de los dos hidrógenos unidos al C(5) por dos radicales alquílicos, aromáticos o bien uno alquílico y otro aromático, para que posean actividad farmacológica. ²⁴

La fácil formación de C-glicosilbarbituratos y más aún cuando el glicósido en cuestión es el ácido glucurónico, junto con la ausencia de actividad farmacológica de los ácidos barbitúricos no sustituidos o monosustituidos en la posición C(5) y la ausencia total de actividad de los conjugados glucurónicos, parecen confirmar que esta inactividad de los ácidos barbitúricos no sustituidos o monosustituidos se debería a la rapidez con que se produce la inactivación, al estar además en el organismo catalizada la reacción por la enzima UDP-glucuroniltransferasa que haría que la reacción fuese más rápida que en "in vitro", sin catálisis enzimática.

II-PARTE TEÓRICA

1.- PREPARACIÓN DE C-GLICOSILBARBITURATOS.

1.1.- Antecedentes

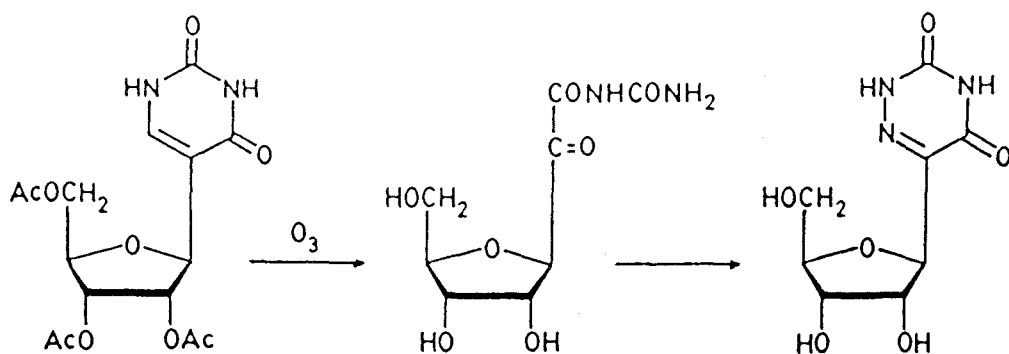
En los últimos, años se han dedicado una considerable cantidad de trabajos de síntesis a la preparación de nuevos C-nucleósidos y a la obtención de intermedios interesantes y versátiles. Se han puesto a punto varios métodos para obtener estos compuestos, que se resumen en estos cuatro grupos.

- 1.- Transformación de C-nucleósidos ya conocidos en otros nuevos.
- 2.- Unión directa de una base heterocíclica activada, generalmente como su derivado metálico, con un derivado apropiado del azúcar protegido.
- 3.- Construcción paso a paso del aglucón sobre el centro anomérico del del azúcar funcionalizado.
- 4.- Intervención de la cadena de azúcar en la construcción del anillo heterocíclico y posterior anhidrización del resto de la cadena.

Algunos ejemplos de cada uno de los métodos generales son los siguientes.

- 1.- El tri-O-acetilderivado de la pseudouridina (19) fue sometido a ozonólisis ²⁶ y el compuesto resultante (20) fue convertido en tiosémicarbazona que sufrió una ciclación catalizada por bases. El posterior tratamiento con yoduro de

metilo, seguida de la hidrólisis ácida del metiltioderivado dio 6-azapseudouridina (21).

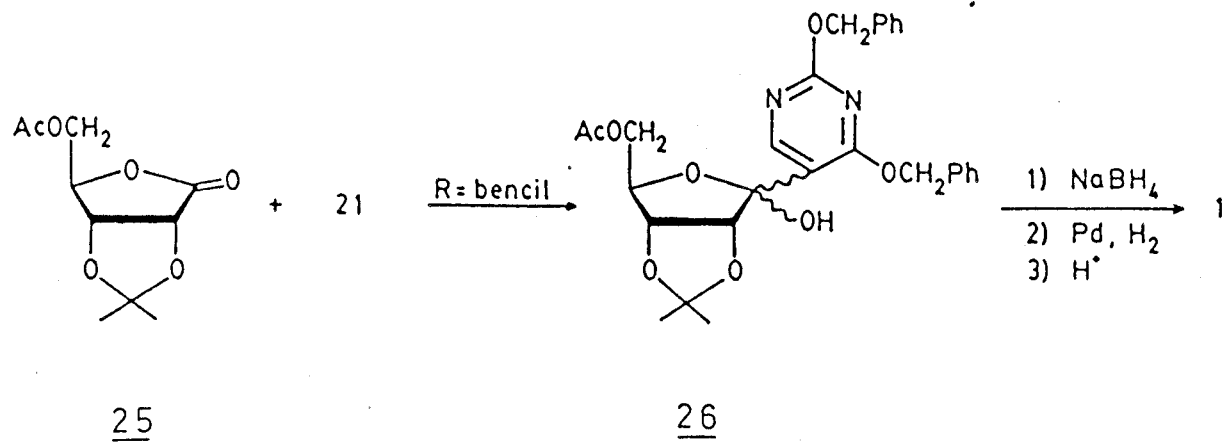
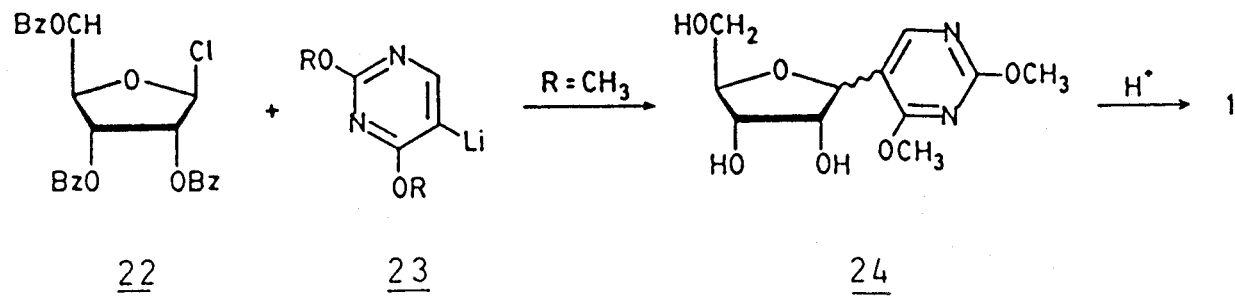


19

20

21

2.- En el segundo método general de síntesis se efectúa la unión directa de la base heterocíclica y el carbohidrato y fue usado para preparar pseudouridina. Se efectuó la condensación²⁷ de cloruro de 2,3,5,-tri-O-benzoil-β-D-ribofurasilo (22), con 2,4-dimetoxipiri-midin-5-il-litio (23) para obtener una mezcla de anómeros (24). Estos anómeros α y β, después de su separación e hidrólisis de los grupos protectores, fueron obtenidos con muy bajo rendimiento (1% y 2% respectivamente). Asbun y Binkley²⁸ obtienen pseudouridina(1) con un 10% de rendimiento total por la condensación de 2,4-bis-(benciloxi)-pirimidin-5-il-tio (25, R=bencil) y y 5-O-acetil-2,3-isopropiliden-D-ribonolactona (26), seguido por el tratamiento con borhidruro sódico, hidrogenación catalítica y desplazamiento de los grupos posteriores.

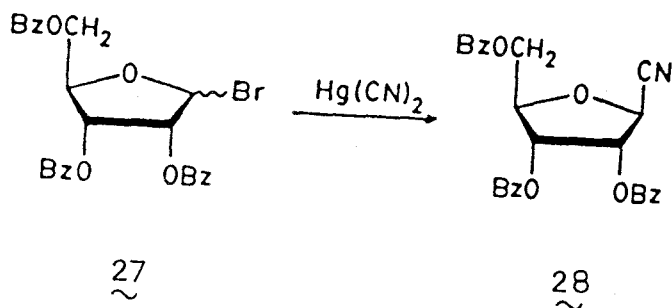


3.-Funcionalización anómerica de D-ribofuranosilderivados.

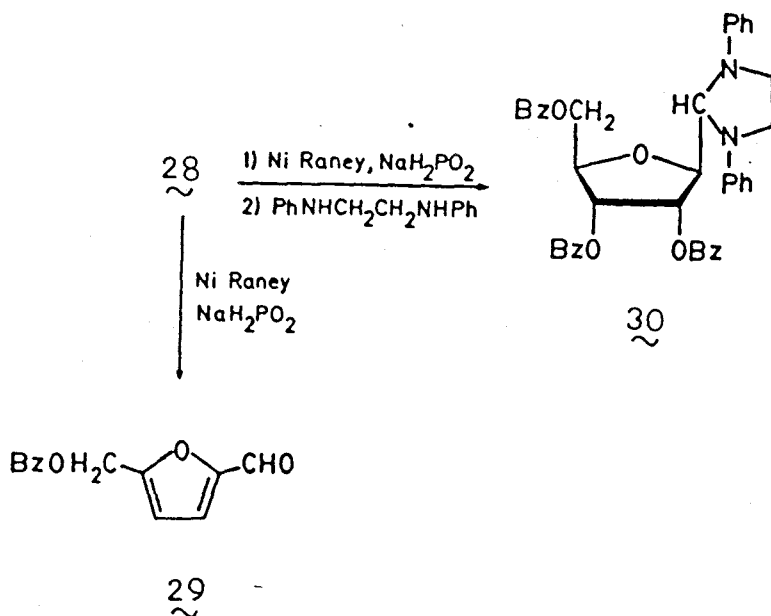
La tercera ruta para sintetizar C-nucleósidos supone la funcionalización del centro anómerico del azúcar para obtener el deseado enlace carbono-carbono. Estos derivados de azúcar son los precursores más versátiles e importantes, ya que a partir de ellos se puede construir una gran variedad de heterocícllos, dando lugar a nuevos e interesantes C-nucleósidos.

Uno de los factores más importantes en cada síntesis es la elección de los grupos protectores para las funciones -OH del azúcar. Esto se hace para obtener una funcionalización selectiva en C-1 y también para evitar reacciones laterales. Los grupos bloqueantes más comunes utilizados en la serie de la D-ribosa son los grupos benzoil, acetil, bencil-éter, y grupos isopropiliden. La elección del grupo protector depende de las condiciones de reacción de que se van a usar y de la naturaleza de los productos finales. Se han preparado y utilizado numerosos derivados anómericamente funcionalizados y convenientemente bloqueados. A continuación se describen las aplicaciones de dos sistemas de este tipo.

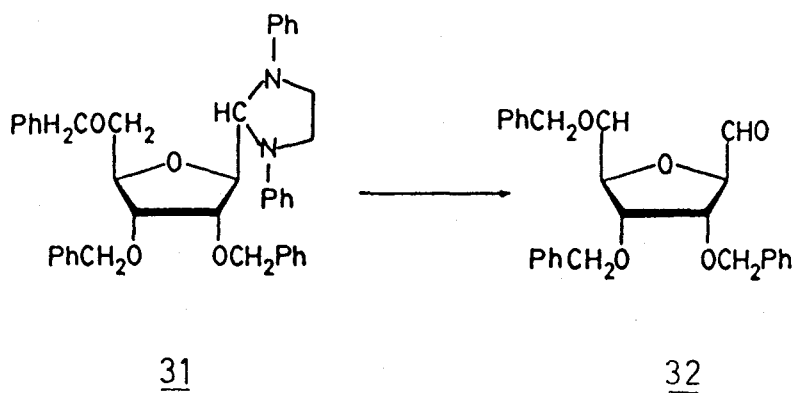
a) Cianuros de β -D-ribofuranosilo.- El acceso a los cianuros de glicosilo anómericamente funcionalizados está suficientemente esclarecido y estos compuestos pueden ser convertidos en otros varios intermedios potenciales para la síntesis de C-nucleósidos. Bobek y Farkas ^{29,30} preparan el cianuro de 2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosilo (27) con cianuro mercuríco.



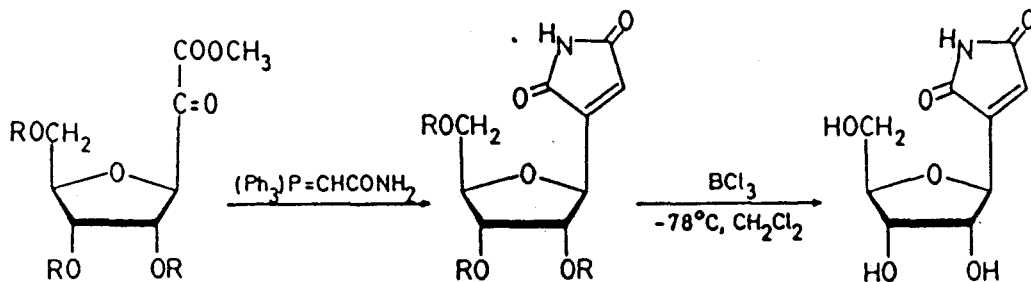
Se intento efectuar la conversión del nitrilo azúcar (28) en el correspondiente aldehído, por hidrólisis reductora, pero el resultado fue la formación del producto de eliminación 5-(benzoiloximetil)-2-furaldehído (29). La formación de productos indeseables fue evitada ³¹, atrapando el aldehído resultante con *N,N'*-difeníl-etilendiamina. El producto deseado, 2,5-anhidro-3,4,6-tri-*O*-benzoil-D-aloza fue aislado como su derivado cristalino *N,N'*-difenílimidazolina (30).



Se ha descrito ³² que los aldehidos de este tipo son inestables en disolución y deben ser generados antes de usarlos. Moffatt y col ³³ usaron el derivado (31) para generar el correspondiente aldehido (32), que fue posteriormente convertido por un proceso de cinco pasos en el importante y útil intermedio (33). Este compuesto fue usado también por el grupo checoslovaco ³⁴, pero el procedimiento usado por Moffatt.



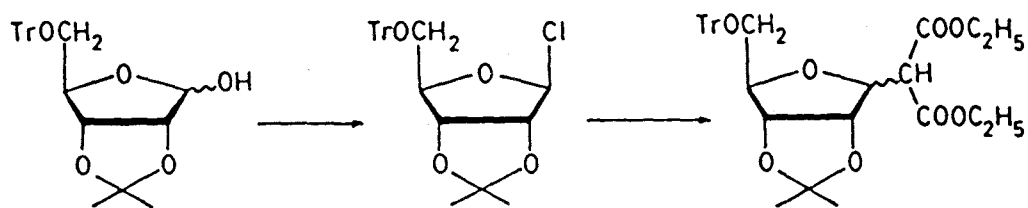
es más simple, convirtiendo (34) o (31) en sólo dos pasos en showdomicina.



33 R=CH₂Ph

34 R=Ac

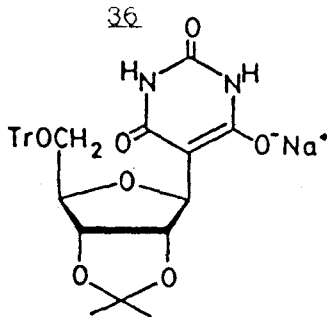
b) D-Ribofuranosilmalonatos.- La condensación un haluro de glicosilo O-sustituido como un reactivo carbaniónico adecuado es otra aproximación directa a la funcionalización anómerica de los derivados azucarados. Ohuri y Fox ³⁵ prepararon los D-ribofuranosilmalonatos por una secuencia de reacciones caracterizada por una cuidadosa selección de los grupos protectores. Así, un adecuado material de partida es el cloruro de 2,3-O-isopropiliden-5-O-tritil-β-D-ribofuranosilo (36), se preparó por tratamiento de 2,3-O-isopropiliden-D-ribofuranosa con cloruro tritilo en piridina. El compuesto resultante (35) se hizo reaccionar trifenílfosfina y tetracloruro de carbono en dimetilformamida para obtener (36). La posterior condensación con la sal sódica de malonato de dietilo proporciona una mezcla anómerica de (37). Este malonato fue utilizado para obtener el correspondiente derivado del ácido barbitúrico (38), aunque no se ha descrito la preparación del C-nucleósido libre.



35

36

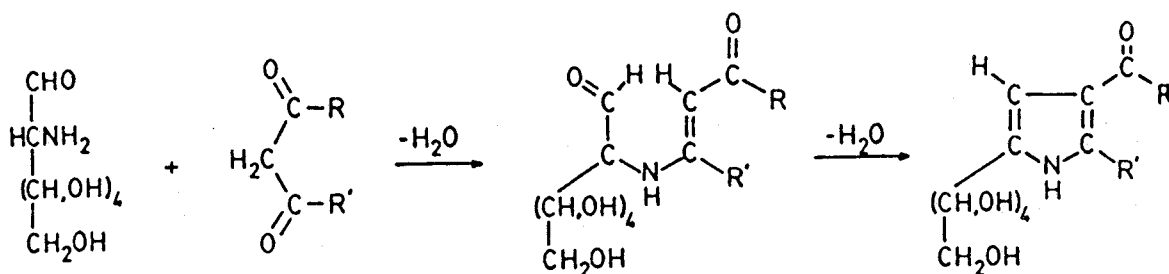
37



38

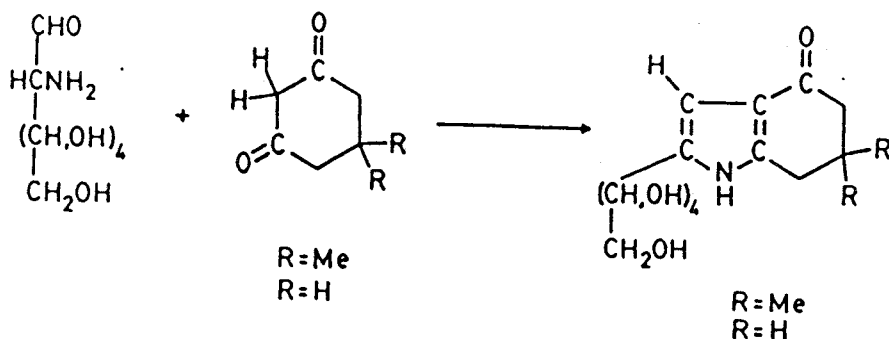
4.-Intervención de la cadena de azúcar en la formación del anillo heterocíclico de y posterior anhidrización del resto de la cadena.

En el Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Extremadura se vienen sintetizando C-nucleósidos análogos a los naturales por la reacción de 2-amino-2-desoxi-heptosas con compuestos β -dicarbonílicos acíclicos ³⁶ y cíclicos ³⁷. Esta reacción transcurre a través de una enamina intermedia (39) en el caso de los compuestos β -dicarbonílicos acíclicos.



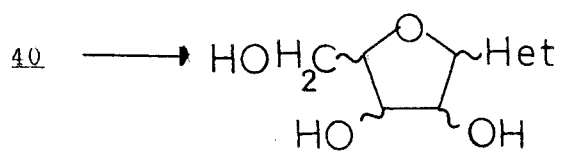
39

Cuando la reacción se efectúa con compuestos β -dicarbonílicos cíclicos, la enamina intermedia no se aísla.



40

La posterior anhidrización de (40) en medio ácido ^{3e} da lugar a los correspondientes anhidros (41).



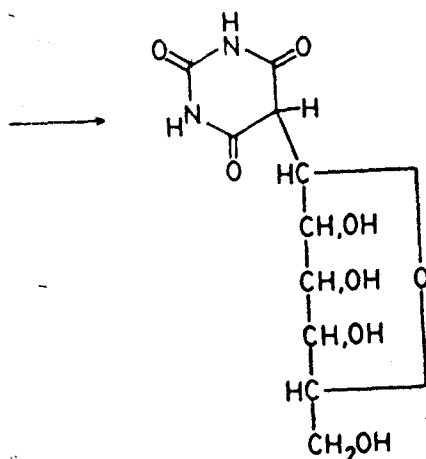
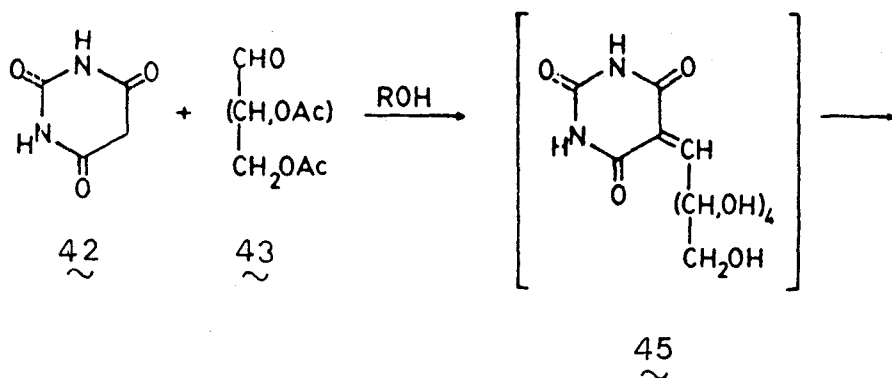
41

Las propiedades farmacológicas de los compuestos (41) están siendo actualmente investigados en el National Cancer Institute de EE.UU.

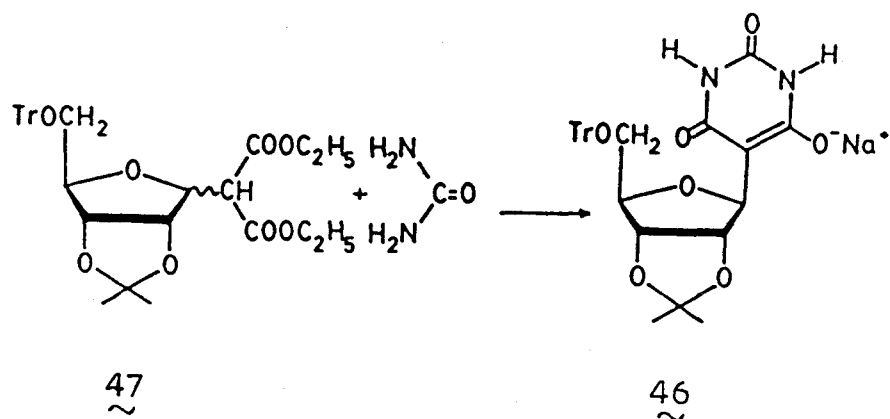
1.2- Síntesis de C-glicosilbarbituratos

Como se ha podido observar los métodos existentes de síntesis de C-nucleósidos son en general laboriosos. No existe hasta el momento un método en el que el azúcar no se tenga que "preparar" convenientemente para la síntesis. Zhdanov y Bodganova ³⁹ publicaron la reacción de condensación del ácido barbitúrico (42) con aldehído-azúcares pentacetilados (43) para obtener los anhidros (44), a través del intermedio (45)

No obstante, en este trabajo los autores no aportan pruebas objetivas suficientes que apoyen la estructura de los compuestos que describen.



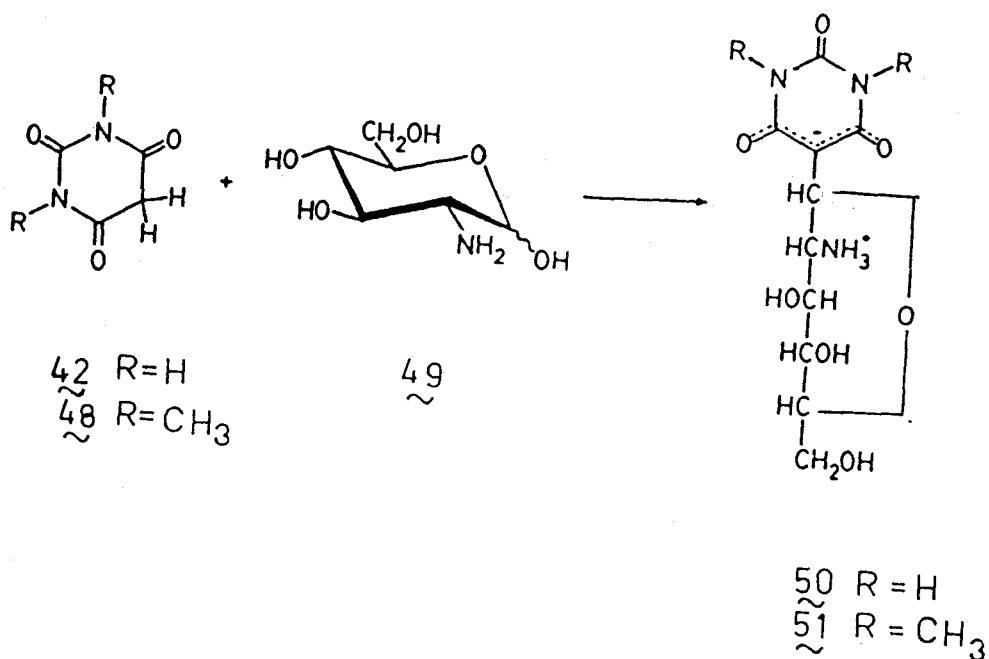
Por otra parte, existen intentos de preparación de C-nucleósidos del ácido barbitúrico y el grupo de J.J.Fox ha descrito la obtención de (46) por reacción de urea con el D-ribofuranosilmalonato(47).



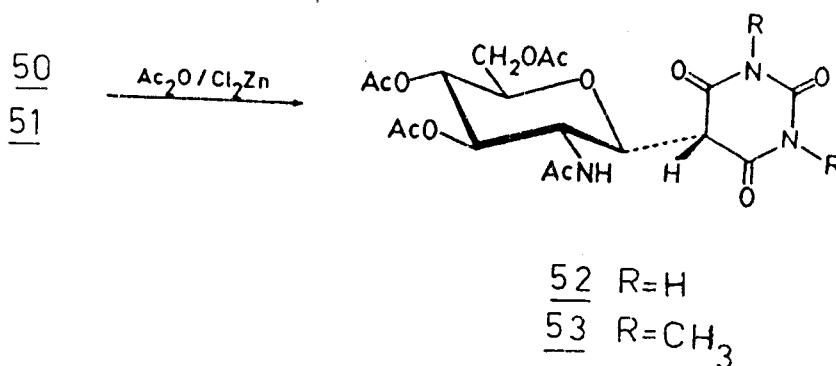
Hanessian y Pernet han propuesto este camino como una ruta general de síntesis de C-glicósidos y han preparado una serie de C-glicosilmalonatos, aunque hasta el momento no se ha publicado su transformación en C-glicósidos del ácido barbitúrico.

En el Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Extremadura se han venido sintetizando C-nucleósidos de los ácidos barbitúrico (42) y 1,3-dimetilbarbitúrico (48), de la forma más directa posible haciendo reaccionar sin preparación alguna con aminohexosas, hexosas y pentosas. Salvando las dificultades de los métodos anteriores.

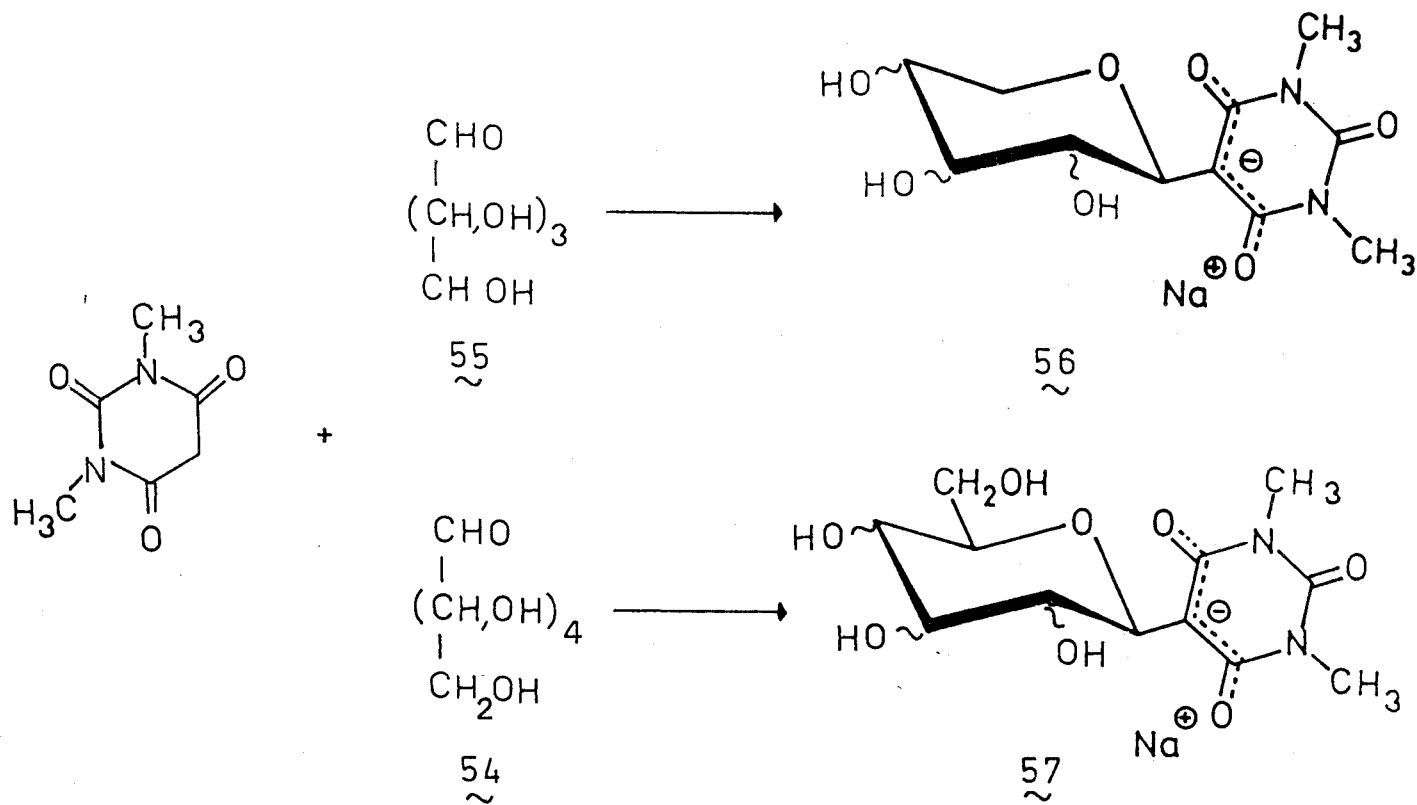
Se efectuó la condensación del ácido barbitúrico y el 1,3-dimetilbarbitúrico con 2-amino-2-desoxi-D-glucosa (49), obteniéndose con buenos resultados los compuestos (50) y (51).



La acetilación de (50) y (51) con anhídrido acético y cloruro de zinc condujo a los C-nucleósidos (52) y (53).



Cuando se efectuó la reacción con el ácido 1,3-dimetilbarbitúrico con hexosas(54) y pentosas(55) se obtienen resultados análogos. Esquema 1.

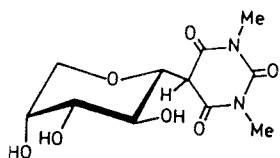


Esquema 1

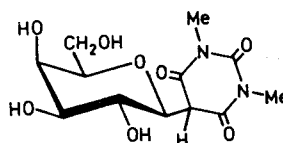
En algunos casos se han obtenido los ácidos libres, cuando cristalizan en una disolución concentrada a la que se añadió ácido trifluoroacético. Aislándose los compuestos:

5- α -D-arabinopiranosil-1,3-dimetilbarbitúrico(58) y

5- β -D-galactopiranosil-1,3-dimetilbarbitúrico(59).



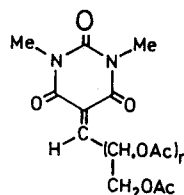
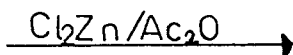
58
~



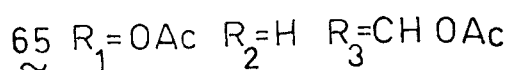
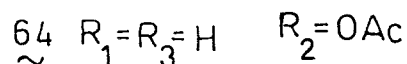
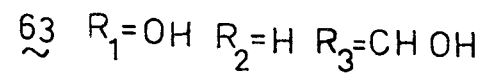
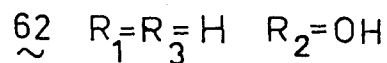
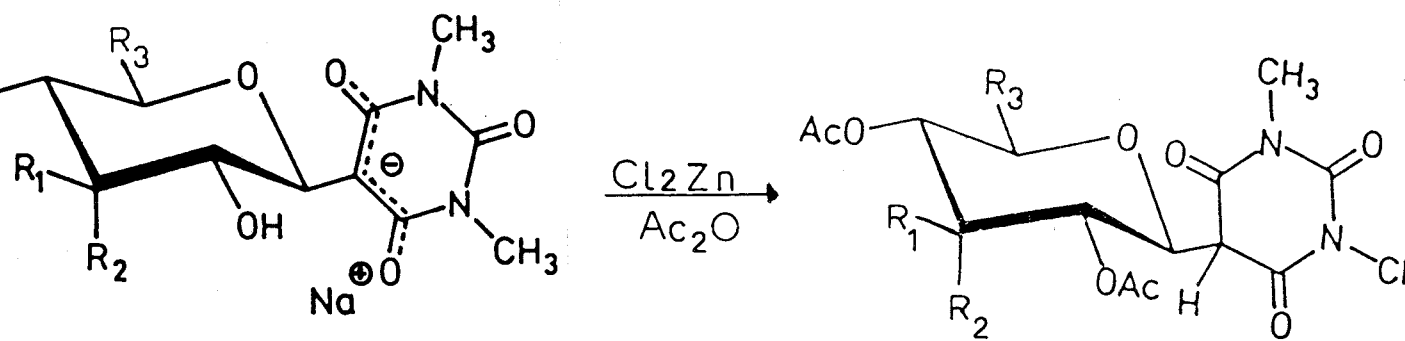
59
~

El tratamiento de los C-Glicosilbarbituratos sodicos de pentosas(56) y hexosas(57) con cloruro de zinc en anhídrido acético anhídrido conduce a los correspondientes derivados Tri-O-acetil-1,3-dimetil-2,4,6-trioxo-1H,3H,5H-pirimidin-5-ilidenos (60) Tetra-O-acetil-1,3-dimetil-2,4,6-trioxo-1H,3H,5H-pirimidin-5-ilideno(61), sólo para los C-Glicosil-1,3-dimetilbarbituratos sodicos de ribosa (62) y glucosa(63) se obtuvieron los correspondientes ácidos: 5-(Tri-O-acetil- β -D-ribopiranosil)-1,3-dimetilbarbitúrico (64) y 5-(Tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-1,3-dimetilbarbitúrico(65).

56
~
57
~



n = 3 60
~
n = 4 61
~



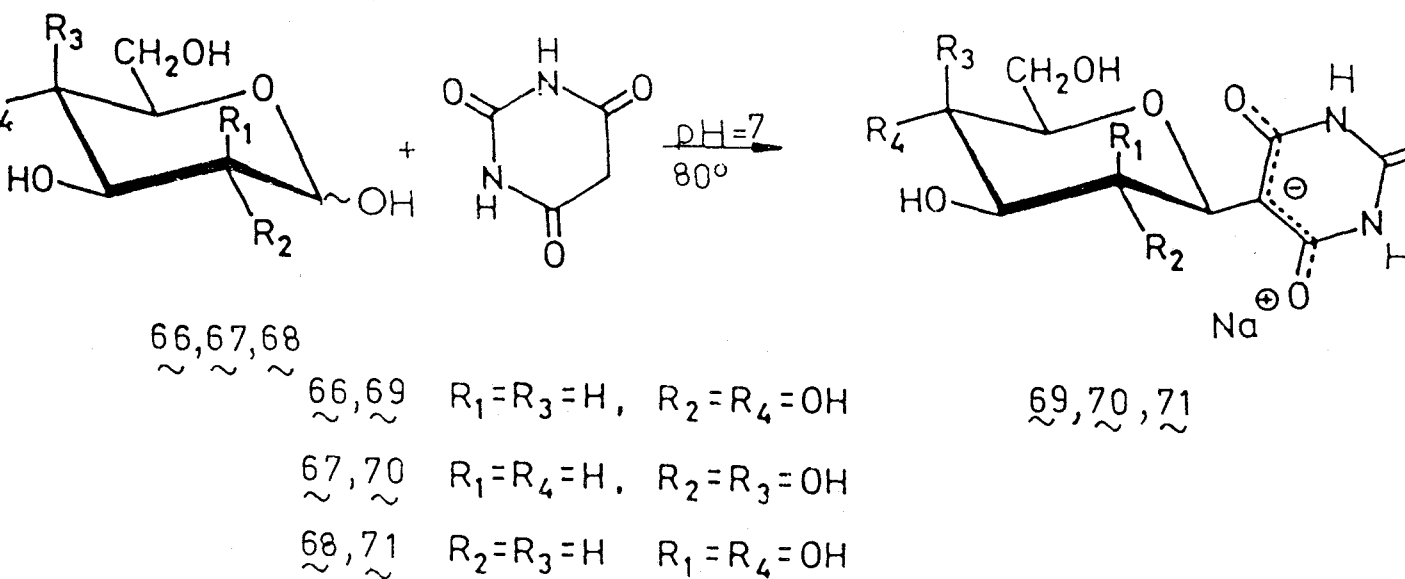
Los rendimientos de la reacción del ácido-1,3-dimetil-barbitúrico con 2-amino-2-desoxi-D-glucosa, hexosas y pentosas son en general superiores al 70%, lo que aumentó el interés por esta nueva vía de síntesis de C-nucleósidos de los ácidos barbitúricos.

La presente tesina, como continuación a la investigación de esta nueva vía de síntesis, pretende abarcar las reacciones de distintos azúcares: manosa, galactosa, glucosa, sal sódica del ácido glucurónico y ácido glucurónico en forma de γ -lactona con los ácidos barbitúricos. Reacción que "in vivo" tendría lugar aumentando la solubilidad de los ácidos barbitúricos no sustituidos en C5, al conjugarse con el ácido glucurónico, facilitando de esta manera su excreción y eliminando su acción farmacológica.

1.3 Nuevas Investigaciones

1.3.1.- Reacción del ácido barbitúrico con hexosas

El ácido barbitúrico (42) reacciona con D-glucosa (66), D-galactosa (67), D-manosa (68), en disolución acuosa a pH neutro y temperatura de 80° para dar con rendimientos superiores al 75%, las sales sódicas de los 5-D-glicosilbarbituratos; 5-β-D-glucopiranosilbarbiturato sódico (69), 5-β-D-galactopiranosilbarbiturato sódico (70) y 5-β-D-manopiranosilbarbiturato sódico (71).

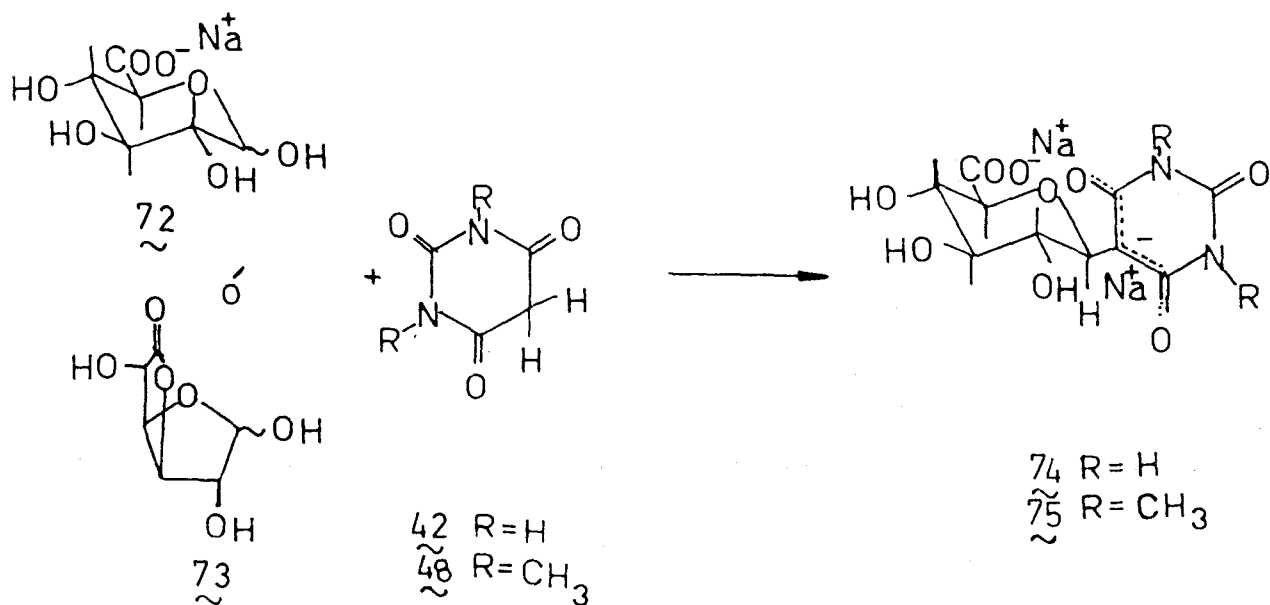


Los ácidos libres no son fáciles de obtener, y no han podido aislarse ya que, al permanecer en disolución, evolucionan rápidamente a una mezcla compleja de productos que no ha podido resolverse.

Los espectros de ¹³C-R.M.N. confirman la estructura piranósica de los mismos, no existiendo mezclas de formas furanósicas y piranósicas. La similitud de los espectros con los correspondientes compuestos análogos con el ácido 1,3-dimetilbarbitúrico confirman las estructuras propuestas.

1.3.2.- Reacción del ácido barbitúrico y ácido 1,3 dimetilbarbitúrico con ácido glucurónico

La reacción del ácido bárbitúrico(42) y el 1,3-dimetilbarbitúrico(48) con la sal sódica del ácido glucurónico(72) y el ácido glucurónico en forma de γ -lactona(73) se lleva a cabo en agua a 37° y con carbonato sódico suficiente para pH neutro, obteniéndose los correspondientes glucuronil barbituratos(74) y 1,3-dimetilbarbituratos(75), con rendimientos superiores al 70%.



La ausencia de banda de absorción a 1770cm^{-1} en el espectro de IR, propia de los carbonilos de γ -lactona, confirma la estructura piranósica del ácido glucurónico en sus conjugados con el ácido barbitúrico.

Esta estructura se ve apoyada por el desplazamiento químico de C-3' en ambos compuestos ($\sim 79\text{ppm}$) a campos mucho más altos que el que debería presentar en el caso de que la estructura fuera una γ -lactona ($\sim 85.6\text{ppm}$)⁴⁰.

En la Tabla I se han recogido las frecuencias más características de estas sustancias y su asignación . La Tabla II presenta los espectros de ^{13}C -R.M.N. En ambas tablas se han incluido como compuestos de referencia los obtenidos a partir del ácido 1,3-dimetilbarbitúrico y glucosa, galactosa y manosa (63, 76, y 77)²⁵.

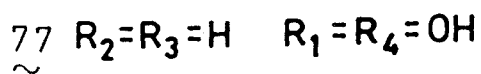
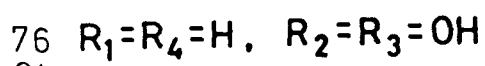
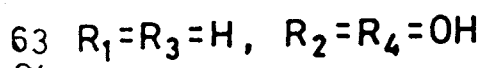
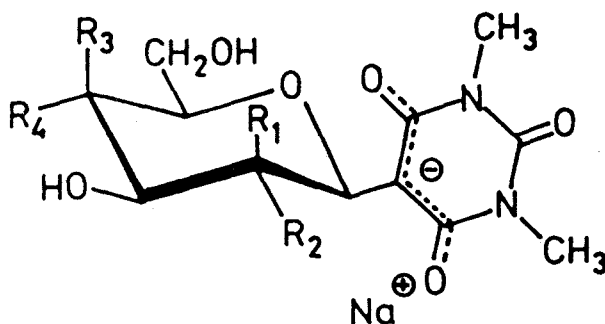


Tabla I

Absorción en el IR de los compuestos 66-68, 71 y 72, registrados en pastillas de BrK.

Comp.	ν_{OH}	$\nu_{C=O}$ Heterociclo
<u>69</u>	3500-3300	1685, 1590
<u>63</u>	3400-3300	1665, 1575
<u>70</u>	3400-3300	1690, 1585
<u>76</u>	3400-3300	1670, 1580
<u>71</u>	3400-3300	1690, 1585
<u>72</u>	3500-3300	1630, 1580
<u>74</u>	3500-3200	1690, 1600*
<u>75</u>	3500-3300	1670, 1590*

*La banda de $\nu_{C=O}$ de ácido se solapa con estas bandas.

Tabla II

Espectros de ^{13}C -RMN de los compuestos 66-68, 71 y 72 a 20,15 MHz.

Comp.	Parte glicosídica						Aglicón.			
	1'	2'	3'	4'	5'	6'	2	4,6	5	Me
<u>69</u>	80,65	70,66	75,68*	70,66	79,31*	61,91	154,28	167,83	86,43	-
<u>63</u>	80,59	70,71	77,09*	70,71	79,38*	61,88	155,27	166,23	87,08	28,66
<u>70</u>	79,86	70,95	76,25*	68,64	76,52*	62,30	154,29	167,92	86,59	-
<u>76</u>	79,66	70,91	76,21	68,61	77,67	62,61	155,33	166,33	87,23	28,69
<u>71</u>	81,75	73,91	74,86	68,13	76,47	62,40	153,89	168,07	89,20	-
<u>72</u>	81,68	74,12	75,77	67,91	76,47	62,22	154,67	166,33	89,91	28,94
<u>74</u>	81,85	75,52	79,03	70,53*	73,57*	177,74	154,30	167,86	86,37	-
<u>75</u>	81,79	76,76	79,11	70,62*	73,47*	177,91	155,27	166,29	86,98	28,72

*La asignación puede estar intercambiada

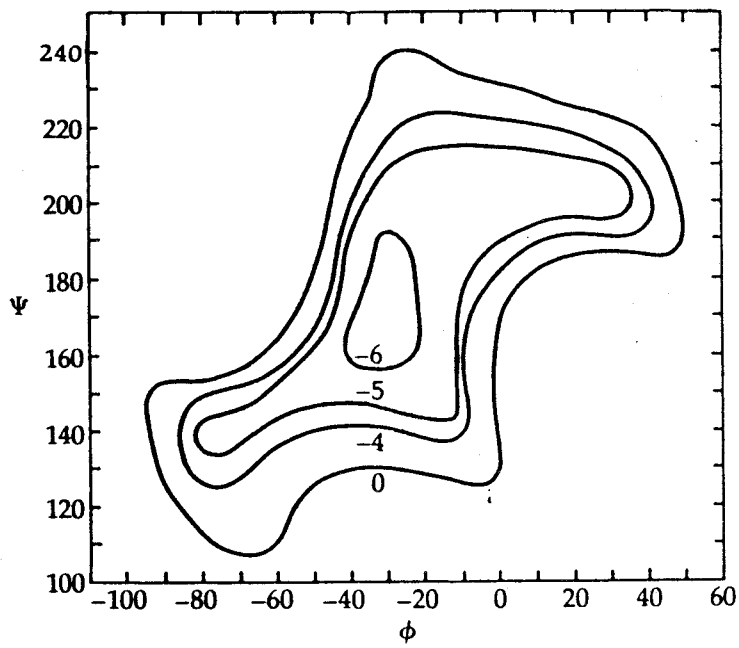
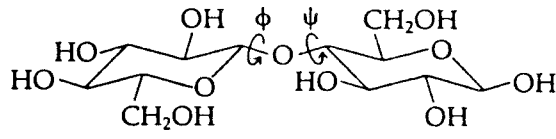
Los espectros han sido realizados utilizando D_2O como disolvente.

2.- ANALISIS CONFORMACIONAL POR MECANICA MOLECULAR DE C-GLICOSILBARBITURATOS ACETILADOS.

2.1.- Antecedentes

La primera aplicación de las funciones de potencial y la minimización de la energía obtenida por dichas funciones aplicadas al análisis conformacional de carbohidratos fue realizada por el grupo de Ramachandran⁴¹, tomando como datos la geometría de los anillos de glucopiranososa, distancias de enlace exocíclicas y ángulos de enlace que se encontraron en el análisis de las estructuras por Rayos X y dejando libertad de giro para los enlaces O-H de los hidroxilos unidos a los anillos de monosacáridos y los enlaces C-O-C entre las distintas unidades de disacáridos en los polisacáridos. Se establecieron dos ángulos de enlace que determinaban la disposición de los anillos de monosacáridos y se dibujó un mapa bidimensional de energía representándose las superficies de energía mínima. (mapa de Ramachandran) Esquema 2.

Los estudios de **Mecánica Molecular** en carbohidratos se encuentran con el problema del elevado número de conformaciones posibles, dependiendo de la posición del protón hidroxílico. El número de cálculos necesarios para un estudio completo es de 3^n donde n es el número de enlaces en los cuales pueden existir tres posibles conformaciones, G+, G- y Anti. La primera solución a este problema consistió en determinar primeramente la posición preferente del protón hidroxílico, luego se calcula el incremento de energía que supone el tener en cuenta el girar el protón en O2 sobre el enlace C2-O2. El mismo procedimiento se repite para cada uno de los grupos hidroxilo. En el grupo hidroxilo anomérico hay que tener en cuenta además el efecto anomérico, después de cuatro o cinco interacciones la optimización converge.



Esquema 2

Rao y colaboradores⁴² han mejorado el método mediante los numerosos cálculos realizados del equilibrio conformacional y configuracional de un elevado número de anillos de piranosa. Los cálculos indican la preferencia para la forma 4C_1 en la mayoría de las hexopiranosas y el posible equilibrio conformacional ${}^4C_1 \rightleftharpoons {}^1C_4$ para las pentopiranosas.

Esta preferencia por la forma 4C_1 se confirma en el caso de los derivados acetilados para ambos tipos de anillos. Este método se emplea también para aldopiranosas pentaacetiladas, tetraacetiladas y metil-D-aldopiranosidos. Los cálculos de los derivados acetilados muestran una mayor distancia de enlace de los sustituyentes axiales unidos al anillo. Esto puede ser interpretado como una menor tensión entre los acetatos en sindiaxial con respecto a la existente entre grupos hidroxilo.

Ninguno de estos métodos de cálculo de las conformaciones de los monosacáridos es enteramente satisfactorio desde el punto de vista del procedimiento de minimización de energía. Lugovski y Dashevskii⁴³ calcularon la geometría de varios carbohidratos empleando un método de Newton-Raphson para optimización de geometría. Kildeby y otros alrededor de 1970 calcularon la estructura y energía de las conformaciones: silla, bote y otras intermedias para la α y β D-glucopiranosas, empleando también un procedimiento de minimización de Newton-Raphson, pero con los parámetros idóneos para este campo de fuerzas.

2.2- Método de Cálculo: Limitaciones y Procedimiento.

La **Mecánica Molecular** usa un Método similar al empleado por Rao que mantiene fijos los ángulos del anillo pero no usa un término de corrección para el efecto anomérico (efecto que tiende a estabilizar aquella disposición del hidroxilo unido al carbono anomérico que anula el dipolo creado por el enlace entre el C2 y el oxígeno unido al mismo anulando o disminuyendo el momento dipolar total). En los estudios de **Mecánica Molecular** el efecto anomérico no es tenido en cuenta, si bien, en los cálculos realizados en carbohidratos, la omisión del mismo no impide una buena concordancia entre los datos experimentales de Rayos X o ¹H-R.M.N. y los resultados de los cálculos teóricos. Se conoce experimentalmente que el efecto anomérico produce un incremento en la distancia de enlace exocíclica entre C1-O de los α -D-glucopiranosidos. Esta distancia de enlace, por tanto, no cabe esperar que pueda reproducirse correctamente con estos cálculos, al ser consecuencia el efecto anomérico de una deslocalización de electrones.

El **MM2** usa para los piranosidos los parámetros característicos de los éteres obtenidos de la espectroscopia vibracional, existiendo gran similitud entre los resultados experimentales (Rayos X) y los calculados, salvo en lo referente a la geometría del carbono anomérico.

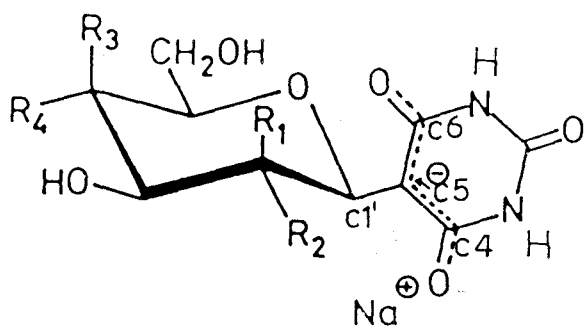
Los métodos de cálculo no tienen en cuenta los puentes de hidrogeno que pueden determinar la existencia de conformeros más estables que los obtenidos por los cálculos y por tanto puede ocurrir que el equilibrio conformacional calculado sea incorrecto. La posibilidad de que existan puentes de hidrogeno debido a los hidrógenos unidos a átomos electronegativos (como los -OH de los piranosidos) supondría una menor validez para los resultados obtenidos por los cálculos al no tener en cuenta dicha posibilidad. En el caso de los derivados acetilados de los piranosidos se suprime la posibilidad de formación de los puentes de hidrogeno, por lo que, en principio, el equilibrio conformacional puede considerarse válido.

Por otra parte si son moléculas con varios dipolos que interaccionen entre sí, los métodos de **Mecánica Molecular** pueden llevar a conformaciones distintas de las experimentales, sobre todo, en moléculas disueltas en disolventes fuertemente polares. Para mejorar la contribución de los efectos electrostáticos así como de la solvatación con distintos disolventes N.L. Allinger⁴⁴ introdujo algunas constantes y correcciones al término que tiene en cuenta la energía correspondiente a las contribuciones dipolares. En **MM2** no se han tenido en cuenta estas correcciones.

El estado de agregación también influye de manera decisiva en la conformación de las moléculas. Cuando se realizan los cálculos se considera que las moléculas se encuentran en estado de gas ideal, sin embargo, los datos experimentales que se recogen de ¹H-R.M.N. corresponden a moléculas en estado de disolución y en disolventes con distinta polaridad (cloroformo, dimetilsulfoxido, agua, etc) lo que puede contribuir a que exista cierta discrepancia entre la J_{exp} y la J_{cal} mediante **MM2**.

El análisis conformacional de los compuestos descritos anteriormente (69-71) puede llevarse a cabo por los métodos de **Mecánica Molecular**, sin embargo, se plantean varias dificultades:

1. Posible formación de puentes de hidrógeno, debido a los numerosos grupos hidroxilo, que daría como resultado unas conformaciones teóricas irreales.
2. Imposibilidad de contrastar los resultados del análisis conformacional con datos experimentales. La disposición de los anillos entre sí, determina un ángulo dihedro entre los protones vecinales (unidos a carbonos contiguos) que puede apreciarse mediante las constantes de acoplamiento J_{3HH} ; en este caso entre los protones unidos al C1' del anillo de glicopiranososa y al C5 del anillo de barbitúrico, sin embargo, al tratarse de sales sódicas y no de ácidos libres, sobre los átomos C4-C5-C6 del anillo barbitúrico y oxígenos unidos a C4 y C6 se deslocaliza una carga negativa, no existiendo hidrógeno sobre C5, por tanto, no puede apreciarse la J_{3HH} .



- | | |
|----|-------------------------|
| 69 | $R_1=R_3=H, R_2=R_4=OH$ |
| ~ | |
| 70 | $R_1=R_4=H, R_2=R_3=OH$ |
| ~ | |
| 71 | $R_2=R_3=H, R_1=R_4=OH$ |
| ~ | |

69 70 71
~ ~ ~

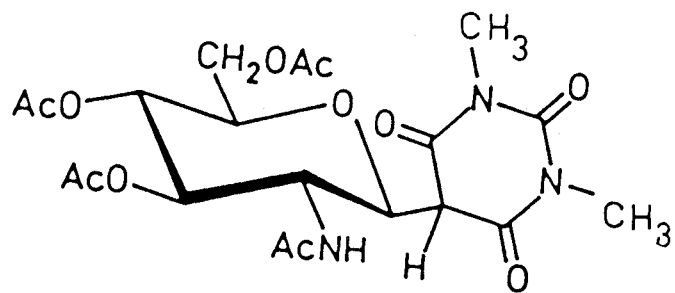
La conformación en estado sólido del ácido libre (59) pudo ponerse de manifiesto mediante difracción de Rayos X⁴⁵, pero esta conformación puede venir determinada por las necesidades estéricas de la red de empaquetamiento del cristal. Además, en estado sólido sólo se detecta una única conformación y no los distintos conformeros que puedan resultar de un análisis conformacional de **Mecánica Molecular** para compuestos en disolución o en estado gaseoso.

En los derivados acetilados los inconvenientes anteriores se eliminan. Por un lado, existen hidrógenos sobre los carbonos C1' de la glucopiranososa y C5 del barbitúrico que nos permite medir la correspondiente constante de acoplamiento y por otro, no existen hidroxilos libres y por tanto, posibilidad de formación de puentes de hidrógeno.

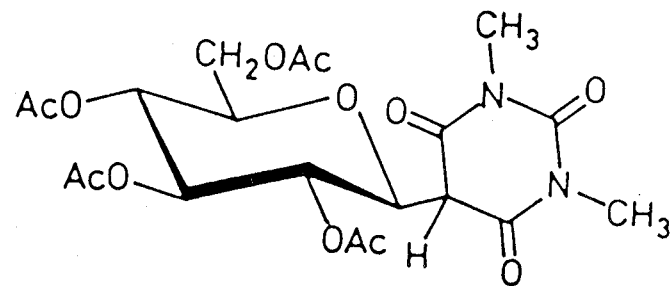
En los derivados acetilados de glicosil-1,3-dimetilbarbituratos de la siguiente página (53, 64, 65) se ha medido la constante de acoplamiento entre dichos protones y se ha asignado una conformación basándose exclusivamente en dicha constante obteniendo los resultados expuestos en la Tabla III²⁵. Se ha utilizado para asignar dicha conformación las ecuaciones de Coxon⁴⁶ y Altona²⁰.

Eq. Coxon

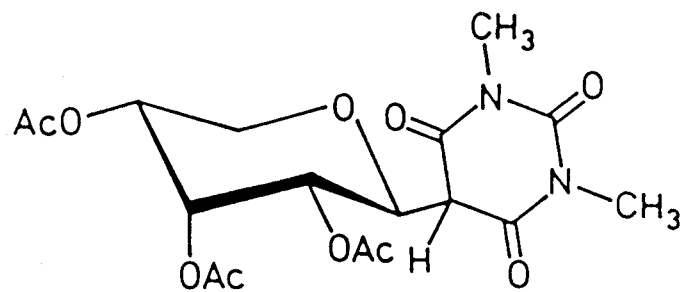
$$\Phi = \cos^{-1} \left\{ \frac{0.5 \pm [0.25 + 36(^3J + 0.28)]^{1/2}}{18} \right\}$$



53
~



65
~



64
~

Tabla III

Angulos(°) dihedros entre los protones vecinales H-1' y H-5,

Compuesto	J _{1,5'}	$\Phi_{1,5'}$	
		Eq, Coxon ^a	Eq, Altona ^b
<u>53°</u>	1,9	118(59)	99(45)
<u>64°</u>	2,2	120(56)	102(42)
<u>65°</u>	2,2	120(56)	102(42)

a. Calculado usando la ecuación propuesta por Coxon,

b. Calculado usando la ecuación propuesta por Altona

c. En solución de C₆D₆ a 300 MHz,

d. En solución de Cl₃CD a 90 MHz,

En la Tabla anterior se puede observar que a partir de las constantes de acoplamiento y según la expresión que tomemos obtenemos dos ángulos entre los protones vecinales que corresponden a dos determinadas disposiciones de los anillos entre si.

Este análisis conformacional está muy limitado, ya que:

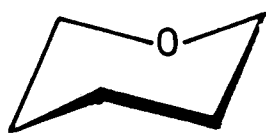
- 1.- No se sabe con exactitud si corresponde a una u otra disposición (cada ecuación da dos posibles resultados para un valor de la J_{HH}) y depende de la expresión tomada para obtener el ángulo a partir de la J_{HH} , pues son diferentes los valores según se tome Coxon o Altona.
- 2.- Para este tipo de moléculas no simétricas y al estar las ecuaciones anteriores limitadas en sus resultados a valores comprendidos entre 0-180, no se podría distinguir si la disposición de los anillos corresponde a un determinado valor del ángulo dihedro o al mismo ángulo en sentido contrario, es decir, que el valor sea n o bien $180+n$.
- 3.- En moléculas cuyas barreras energéticas de rotación interna sobre un determinado enlace no sean demasiado elevadas (12Kcal), al poder ser superadas estas barreras, a temperatura ambiente, las moléculas se encuentran girando sobre este enlace, existiendo unos mínimos en esta curva que corresponden a las disposiciones más estables con respecto al giro sobre dicho enlace, lo cual, supone que la J_{HH} obtenida es un promedio de las J_{HH} de los distintos mínimos de esa curva y no corresponde a sólo un conformero.

4.- Una vez que se han realizado la curva de energía estérica en función del ángulo que se gira O-C1'-C5-C4 (O1-C2-C7-C8 de acuerdo con la nomenclatura que siguen los ficheros que permiten realizar los cálculos) se obtienen unos mínimos, los cuales, no son mínimos reales pues mantienen una variable (ángulo dihedro) constante, pero se encuentran próximos a estos mínimos reales. Se introduce nuevamente como ficheros de entrada dichos mínimos para reminimizarlos dejando libertad al programa para que realice el giro del enlace que en el cálculo anterior se había fijado a unos determinados valores siendo los resultados obtenidos de los mismos los mínimos reales.

5.- El cálculo de las constantes de acoplamiento se realiza a continuación, para lo cual, se introduce los mínimos obtenidos anteriormente en el programa "3JHH" y se obtiene una ${}^3J_{HH}$ teórica que puede contrastarse con la experimental.

Los estudios de **Mecánica Molecular** suministran información sobre la energía, conformación y momento dipolar de la molécula, que también podría contrastarse con el experimental siempre que se tuvieran datos del mismo. En este caso al hacer una simulación de sustitución de unos átomos por otros no tiene sentido el cálculo del momento dipolar.

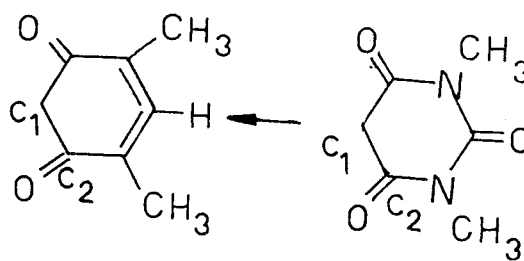
6.- Por último los ficheros de los mínimos se manipulan mediante "COORD" para hacer ficheros de entrada adecuados para el dibujo mediante el programa "ORTEP"



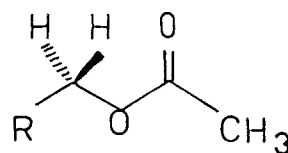
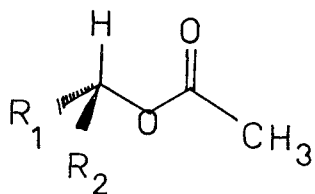
1C_4
~



4C_1
~



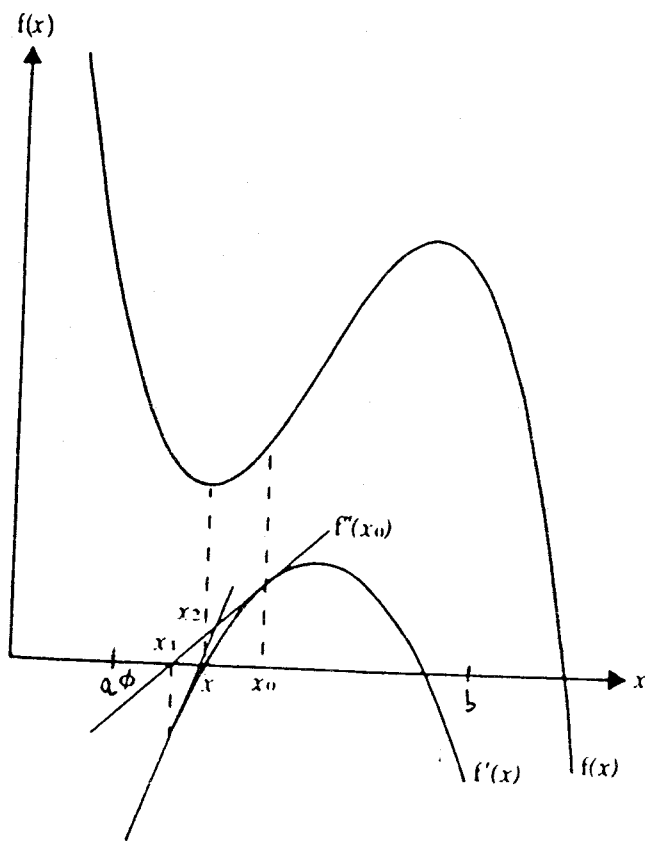
a. barbiturico



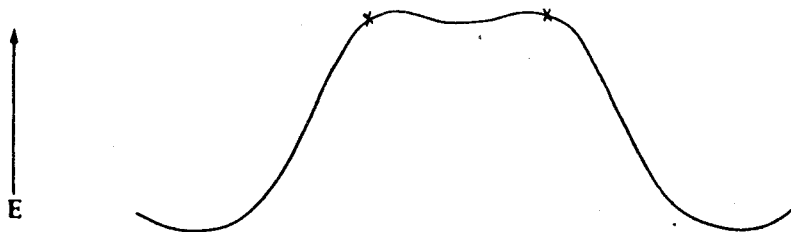
Esquema 3

Mediante la opción DRIVER de MM2 se obtienen curvas que relacionan la Energía Estérica con un ángulo dihedro fijado. Para este cálculo se define el intervalo de giro así como la distancia entre los ángulos de dos giros consecutivos, esta diferencia dependerá en todo caso de la precisión deseada, no obstante, a mayor precisión mayor tiempo de CPU (unidad central de procesos) y mayor costo.

El problema que surge al usar una excesiva distancia entre dos ángulos consecutivos radica en el tipo de minimización usada, MM2 emplea Newton-Raphson, (sea una función $f(x)$ continua y derivable en un intervalo $[a, b]$ tal $f(a) > 0$ y $f(b) < 0$ existe un X_1 que pertenece a dicho intervalo tal $f'(X_1)$ corta el eje de las X en punto X_2 cuya $f(X_2)$ tiene una derivada $f'(X_2)$ que corta al eje de las X en un punto X_3 que se va acercando al valor de X para el cual la función se hace cero, existiendo un X_n para el cual $f(X_n) = 0$. Esquema 4) si entre dos valores de ángulos consecutivos existe un mínimo y la curva en esos puntos no tiene una pendiente elevada, estamos suprimiendo un conformero del equilibrio conformacional real de la molécula, aunque el hecho de que la pendiente no sea elevada indica al mismo tiempo que la conformación que se ha suprimido no contribuye en gran manera al propio equilibrio conformacional. Esquema 5.



Esq. 4



Esq. 5

4.- Una vez que se han realizado la curva de energía estérica en función del ángulo que se gira C2'-C1'-C5-C4 (C1-C2-C7-C8 de acuerdo con la nomenclatura que siguen los ficheros que permiten realizar los cálculos) se obtienen unos mínimos, los cuales, no son mínimos reales pues mantienen una variable (ángulo dihedro) constante, pero se encuentran próximos a estos mínimos reales. Se introduce nuevamente como ficheros de entrada dichos mínimos para reminimizarlos dejando libertad al programa para que realice el giro del enlace que en el cálculo anterior se había fijado a unos determinados valores siendo los resultados obtenidos de los mismos los mínimos reales.

5.- El cálculo de las constantes de acoplamiento se realiza a continuación, para lo cual, se introduce los mínimos obtenidos anteriormente en el programa "3JHH" y se obtiene una ${}^3J_{HH}$ teórica que puede contrastarse con la experimental.

Los estudios de **Mecánica Molecular** suministran información sobre la energía, conformación y momento dipolar de la molécula, que también podría contrastarse con el experimental siempre que se tuvieran datos del mismo. En este caso al hacer una simulación de sustitución de unos átomos por otros no tiene sentido el cálculo del momento dipolar.

6.- Por último los ficheros de los mínimos se manipulan mediante "COORD" para hacer ficheros de entrada adecuados para el dibujo mediante el programa "ORTEP"

2.3- Cálculos realizados.

Se realizaron los cálculos teóricos para el análisis conformacional mediante Mecánica Molecular, para las moléculas 5-(Tetra-O-Acetil- β -D-glucopiranosil)-1,3-dimetilbarbitúrico(65), 5-(Tetra-O-Acetil- β -D-glucopiranosil)barbitúrico(78), 5-(Tri-O-Acetil- β -D-ribopiranosil)-1,3-dimetilbarbitúrico(64), 5-(Tetra-O-Acetil- β -D-manopiranosil)-1,3-dimetilbarbitúrico(79) y 5-(Tetra-O-Acetil-2-desoxi- β -D-glucopiranosil)-1,3-dimetilbarbitúrico(80)

Se utilizó un paquete de programas para los cálculos consistente en:

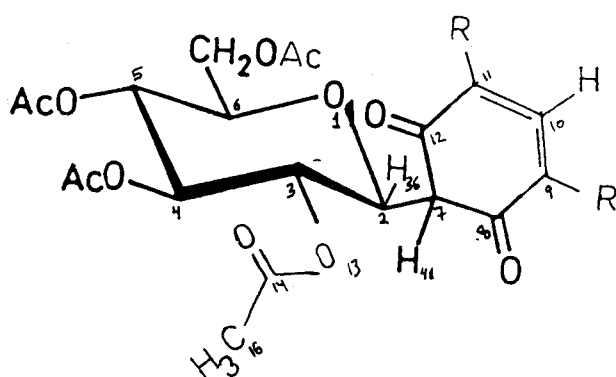
a) "MM2:77 Force-Field" original de N.L.Allinger, modificado por Eiji Osawa (Septiembre 1980, Mayo 1981 y Junio 1983) y por Carlos Jaime y Eiji Osawa (Abril 1983). Programa que minimiza la energía de las moléculas mediante la Mecánica Molecular.

b) "3JHH" original de Eiji Osawa y Carlos Jaime. Calcula las $^3J_{HH}$ a través $C_{sp^3}-C_{sp^3}$ en moléculas conformacionalmente flexibles (con más de un conformero) a partir de ficheros de OUT de MM2.

c) "COORD" interconvierte ficheros de OUT de MM2, MNDO, MINDO, PSI77B, ORTEP.

d) "ORTEP" original del Oak Ridge National Laboratory (Union Carbide Corporation). Realiza la salida gráfica mediante plotter de los mínimos obtenidos del análisis conformacional; permite orientar las moléculas sobre distintos ejes así como dibujar celdas unidad y otras posibilidades gráficas.

2.3.1- 5-(Tetra-O-Acetil-β-D-glucopiranosil)-1,3-dimetilbarbitúrico
(65) simulado



R=CH₃

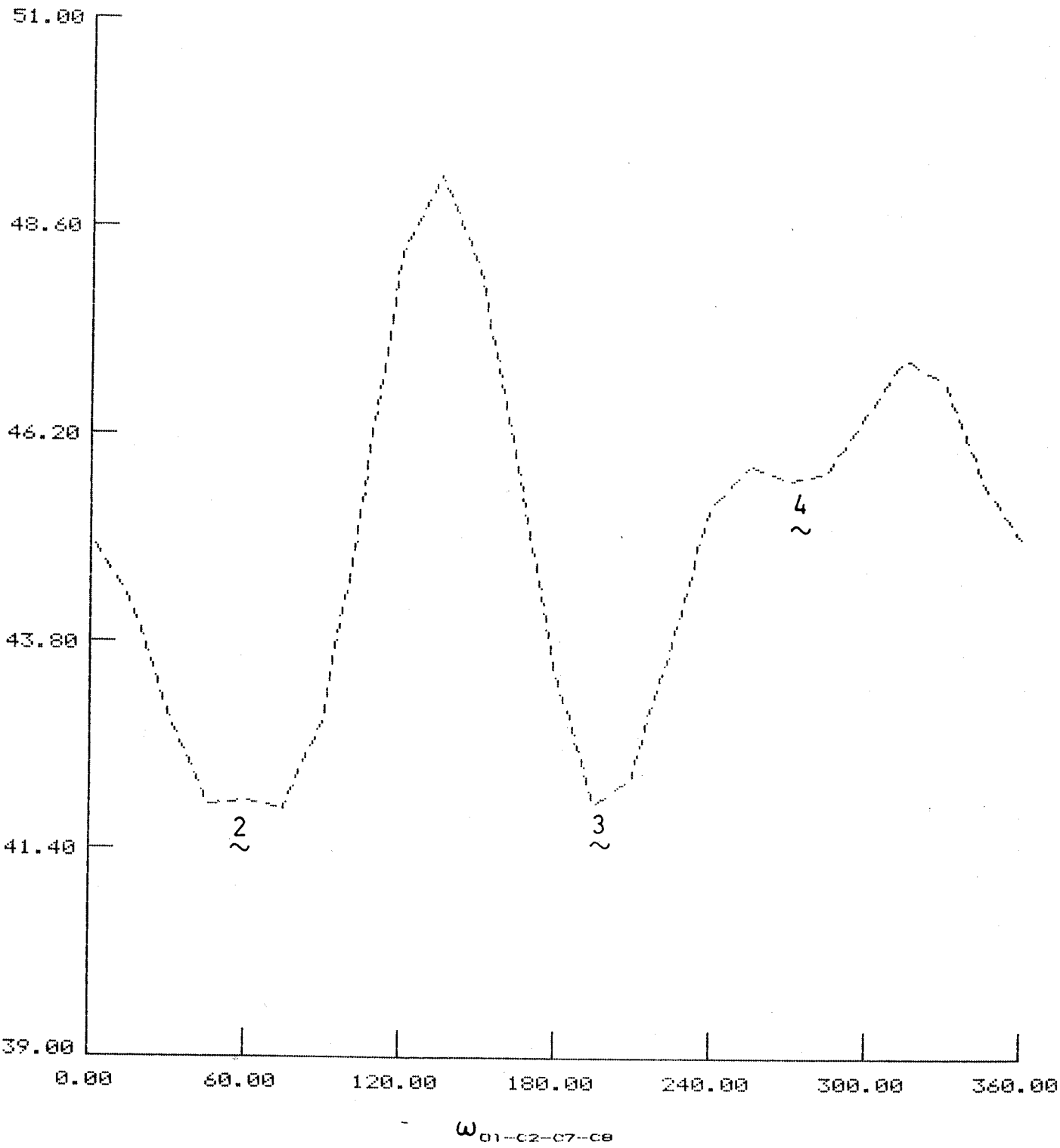
Tabla IV Energía Estérica en función del ángulo dihedro con OPCION DRIVER. Compuesto 65. (cada punto es una minimización realizada por MM2). Representada en la Gráfica 1.

<u>$\omega_{01-02-07-08}$ (°)</u>	<u>Energía Estérica</u>
0.0	40.32
15.0	39.63
30.0	38.29
45.0	37.31
60.0	36.72*
75.0	36.76
90.0	38.11
105.0	40.65
120.0	43.63
135.0	44.61
150.0	43.24
165.0	40.95
-180.0	38.43
-165.0	36.80*
-150.0	37.02
-135.0	38.51
-120.0	40.15
-105.0	40.87
-90.0	40.76*
-75.0	41.01
-60.0	41.96
-45.0	42.47
-30.0	42.41
-15.0	41.09

* mínimos de energía

GLUCOSA

ENERGIA ESTERICA



Grafica1

Se realiza un nuevo cálculo entre para detectar un posible mínimo entre 0-15° justificado por resultar del primer cálculo un confórmero con un ángulo comprendido en este intervalo.

Tabla V

<u>$\omega_{\alpha_1-\alpha_2-\alpha_7-\alpha_8}(\circ)$</u>	<u>Energía Estérica</u>
0.0	40.32
5.0	40.03
7.8	39.97
10.0	39.81
15.0	39.63

Tabla VI

<u>$\omega_{\alpha_1-\alpha_2-\alpha_7-\alpha_8}(\circ)$</u>	<u>Energía Estérica</u>
6.0	39.99
7.0	39.94
8.0	39.90
9.0	39.85

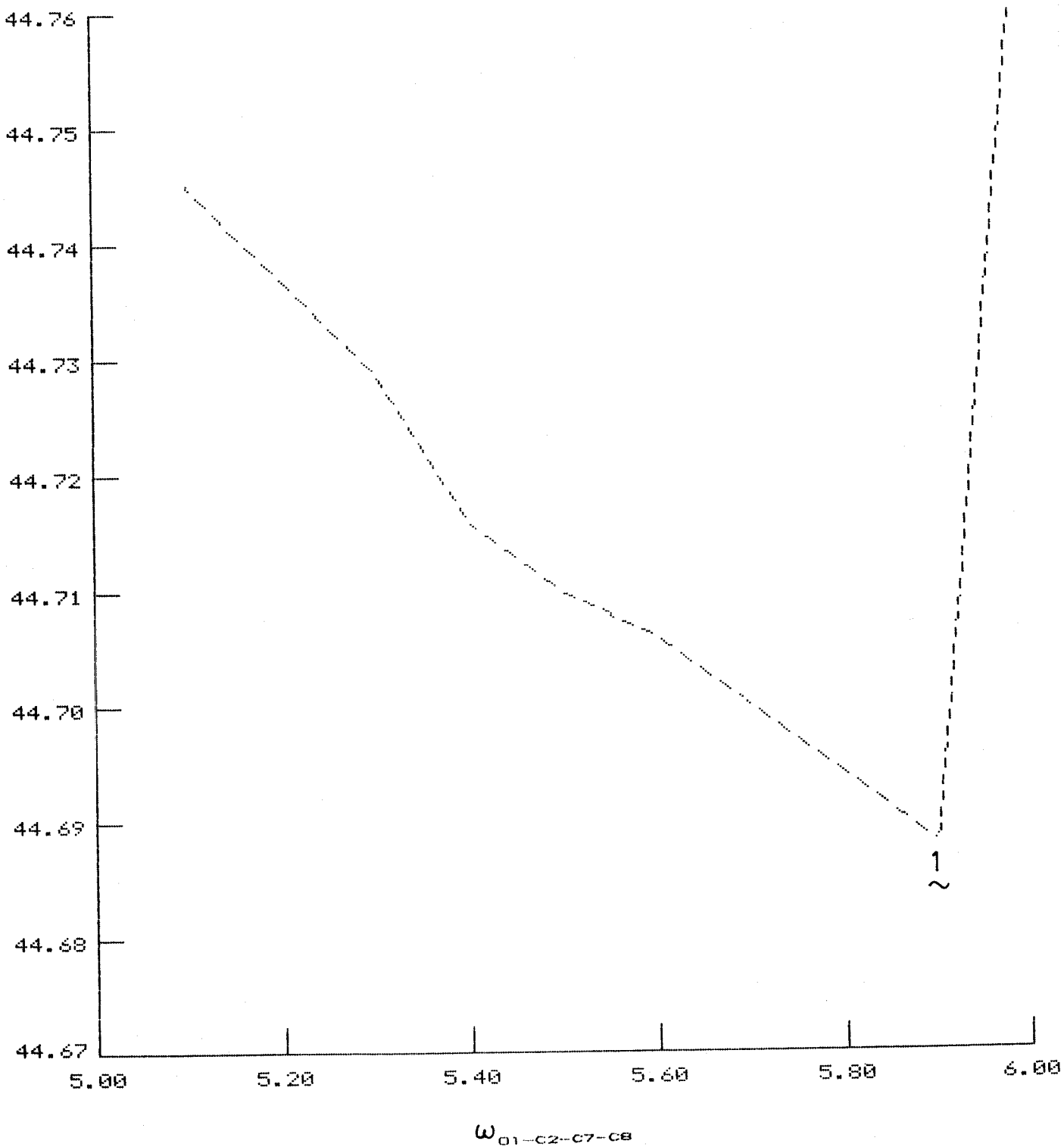
Tabla VII . Corresponde a la Gráfica 2.

<u>$\omega_{\alpha_1-\alpha_2-\alpha_7-\alpha_8}(\circ)$</u>	<u>Energía Estérica</u>
5.1	40.02697
5.2	40.01826
5.3	40.01003
5.4	40.00276
5.5	39.99534*
5.6	40.00673
5.7	39.99796
5.8	39.98986
5.9	39.98283

* mínimo de energía

GLUCOSA

ENERGIA ESTERICA



Grafica 2

Estos puntos se tomaron nuevamente como ficheros de entrada para reminimizar la energía dejando libertad de giro al ángulo fijado anteriormente, obteniendo los conformeros nº1, 2, 3 y 4 cuyos situación en la curva de la energía estérica se señala y cuyos dibujos de ORTEP se incluyen en las páginas siguientes. Los ángulos más representativos de la geometría de estos conformeros son:

El ángulo 1 da idea de la disposición de los anillos entre sí

El ángulo 2 muestra la deformación del grupo acetilo unido al C2 de la glucopiranososa (C1'). Las interacciones más importantes son las del grupo acetilo con los carbonos carbonílicos del anillo de barbitúrico ligeramente superiores (0.2-1Kcal) al resto de interacciones.

El ángulo 3 confirma la planaridad del anillo de barbitúrico

El ángulo 4 es importante ya que en función de este ángulo se haya la constante de acoplamiento, magnitud comprobable experimentalmente.

Ángulo 1=O1-C2-C7-C8

Ángulo 2=C3-O13-C14-C16

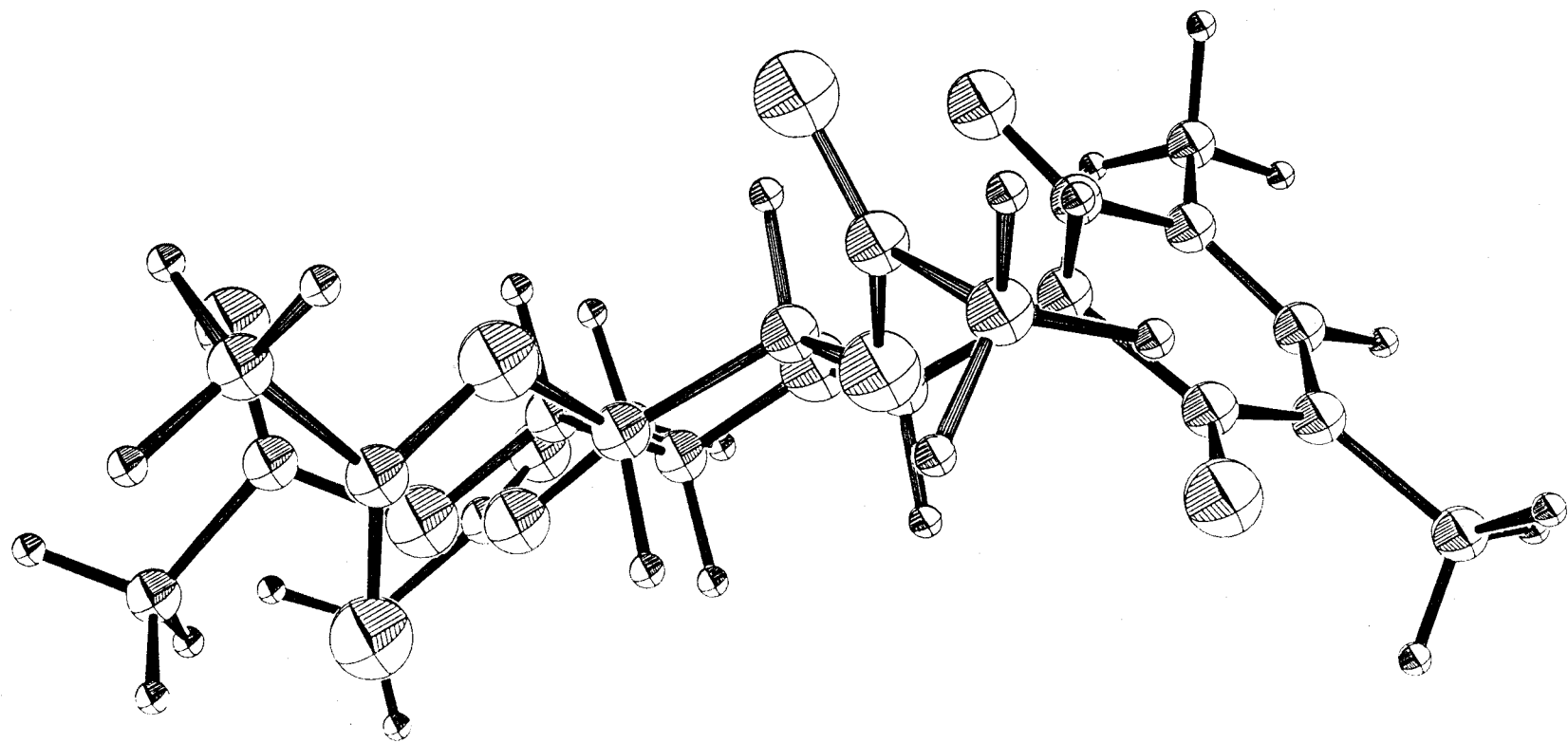
Ángulo 3=C7-C8-C9-C10

Ángulo 4=H36-C2-C7-H41

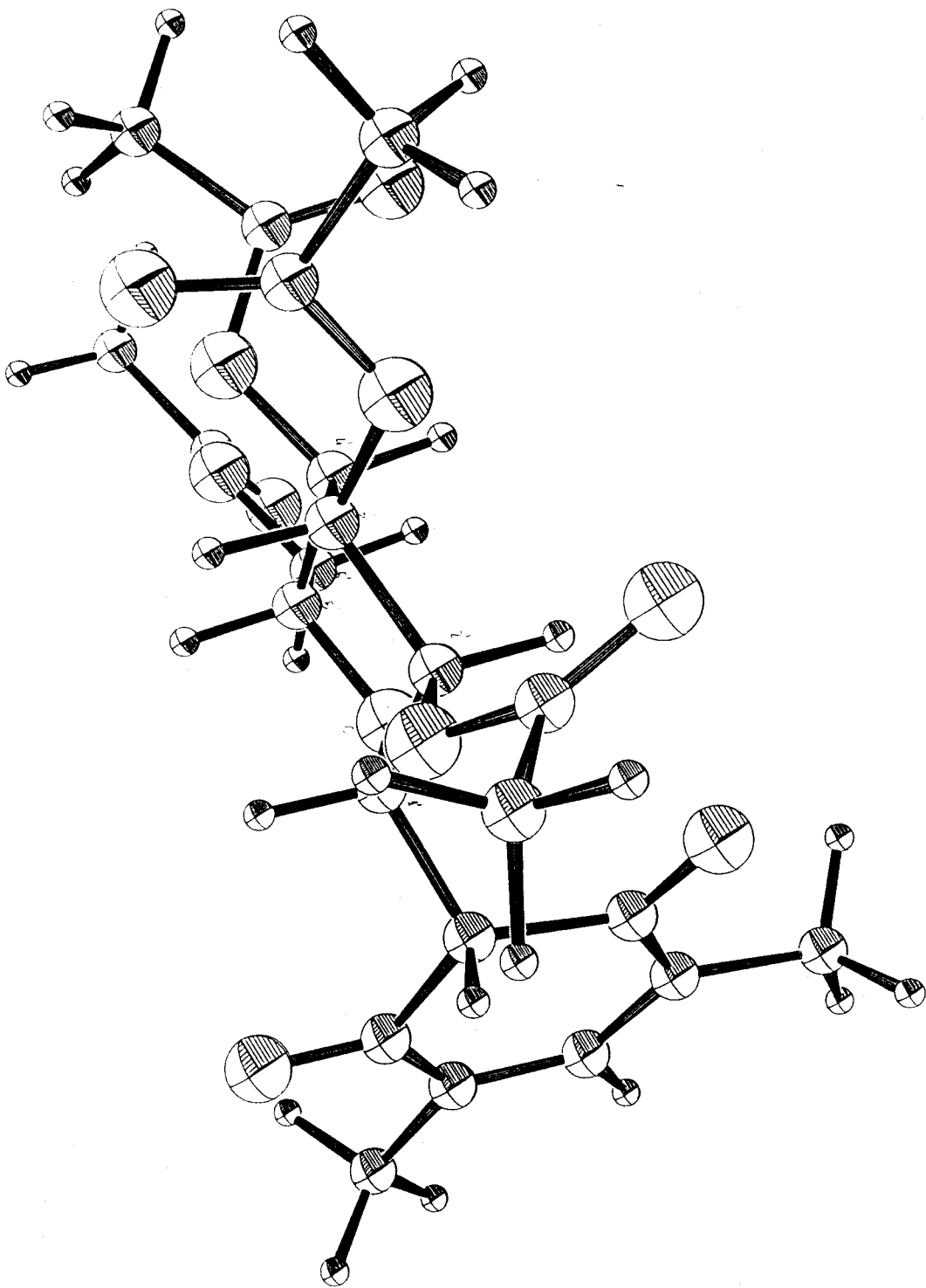
La numeración de los átomos no corresponde a la numeración química sino al fichero de simulación del programa antes indicada.

Tabla VIII

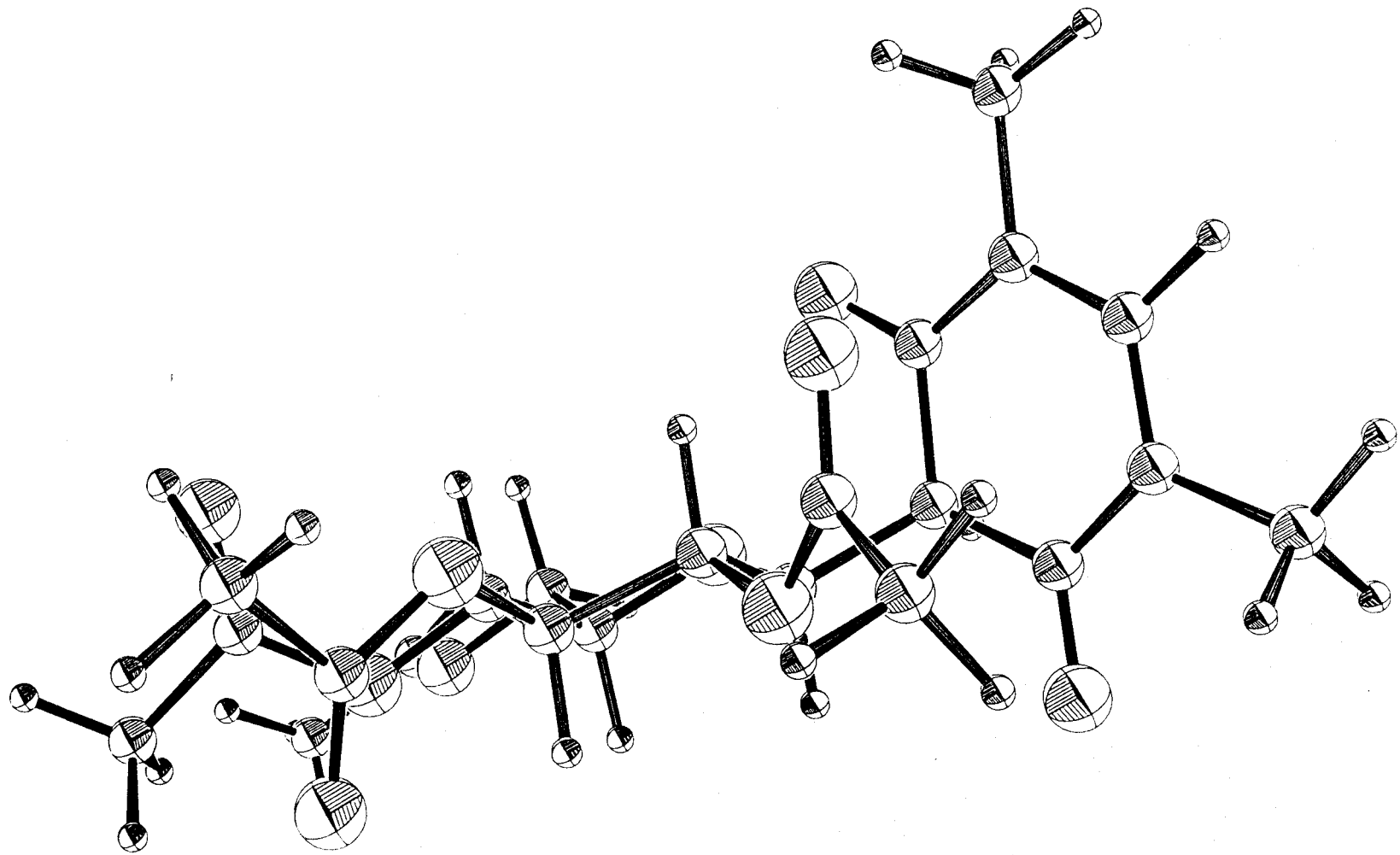
<u>Angulo</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
<u>Confórmero</u>				
1	5.26	179.81	2.64	-123.00
2	60.23	-178.24	-1.93	-65.80
3	161.86	173.79	1.04	66.80
4	-90.14	-179.60	-2.27	138.83



5 (T-O-AC-B-D-GLUCOSA)-1,3-DMB: 1- 2- 7- 8= 5. A 6. DEG (1)



-DRB2: (100R) 15XZ600RTEP. PLT / 3

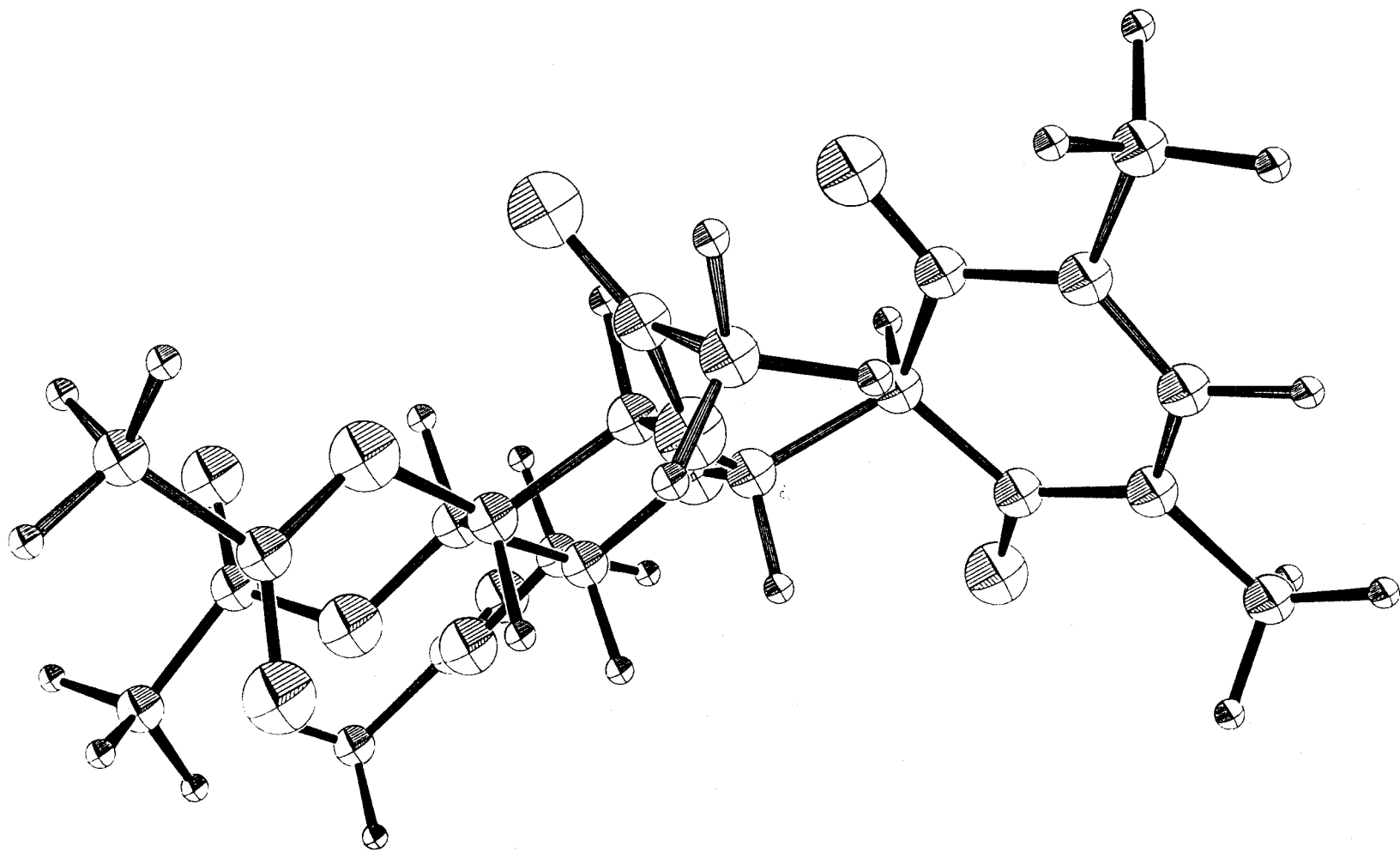


-ORP2.100R115XZ

OR1

-70-

5 (1-O-AC-B-D-GLUCOSA)-1,3-DMB: 1- 2- 7- 8=-165.0 DEG (3)



5 (T-O-AC-B-D-GLUCOSA)-1,3-DMB: 1- 2- 7- 8= -90.0 DEG (4)

Por último con los mínimos anteriores se calcula la $J_{\text{ЭНН}}$ teórica con el programa "3JHH" (que utiliza la ecuación de Altona) y usando la opción que no corrige la posición de los hidrógenos adaptandolos a una disposición tetraédrica. En este caso, se corrigieron los atomos tipos de los conformeros suprimiendo la simulación, es decir, se calculan la $J_{\text{ЭНН}}$ para dichos conformeros pero con anillos de barbitúrico sin simular.

Tabla IX Constantes de acoplamiento $J_{\text{ЭНН}}$ C1'-C5, energías y poblaciones relativas de los distintos conformeros

<u>Conformero</u>	<u>E. rel. (Kcal)</u>	<u>Población(%)</u>	<u>$J_{\text{ЭНН}}$</u>
1	3.365	0.177	4.88
2	0.053	47.656	1.13
3	0.000	52.116	2.34
4	4.092	0.052	6.26

El valor de la $J_{\text{ЭНН}}$ promedio=1.79.

Concuenda de manera satisfactoria con la experimental de la Tabla III cuyo valor es $J_{\text{ЭНН exp}}$ es 2.2, dentro del margen de error experimental (~0.5).

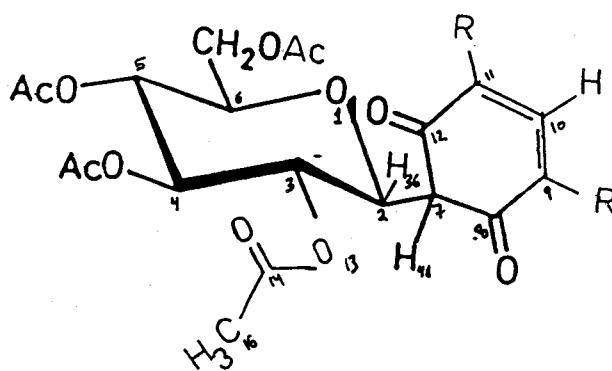
Los cálculos para el compuesto 53 (Tabla III) no se han realizado al no haber parámetros empíricos suficientes para el grupo funcional amida y encontrarse este grupo en una situación de la molécula determinante de la disposición relativa de los anillos.

La simulación realizada, en el sentido de sustituir los nitrógenos amidicos del anillo de barbitúrico así como el carbono carbonílico C-2 por carbonos C_{sp^2} , aún siendo una aberración química, puede considerarse válida en la medida en que:

- 1.- Mantiene el anillo de barbitúrico plano como se viene observando experimentalmente en los distintos trabajos de Rayos X ⁴⁵.
- 2.- Se encuentra en una parte de la molécula que no es fundamental para el análisis de la disposición de los anillos entre sí, sino que apenas interviene. El siguiente cálculo pretende demostrar que la ausencia de metilos en esta parte de la molécula no afecta al equilibrio conformacional. Las distintas interacciones con los grupos metilo son menores que 0.3Kcal no siendo determinantes de la posición del equilibrio conformacional.

La suposición de la disposición de glucopiranososa en 4C_1 es igualmente válida en la medida que se mantienen los ángulos dihedros internos del anillo con valores muy próximos a 60° .

2.3.2- 5-(Tetra-O-Acetil- β -D-glucopiranosil)barbitúrico (78)
simulado



R=H

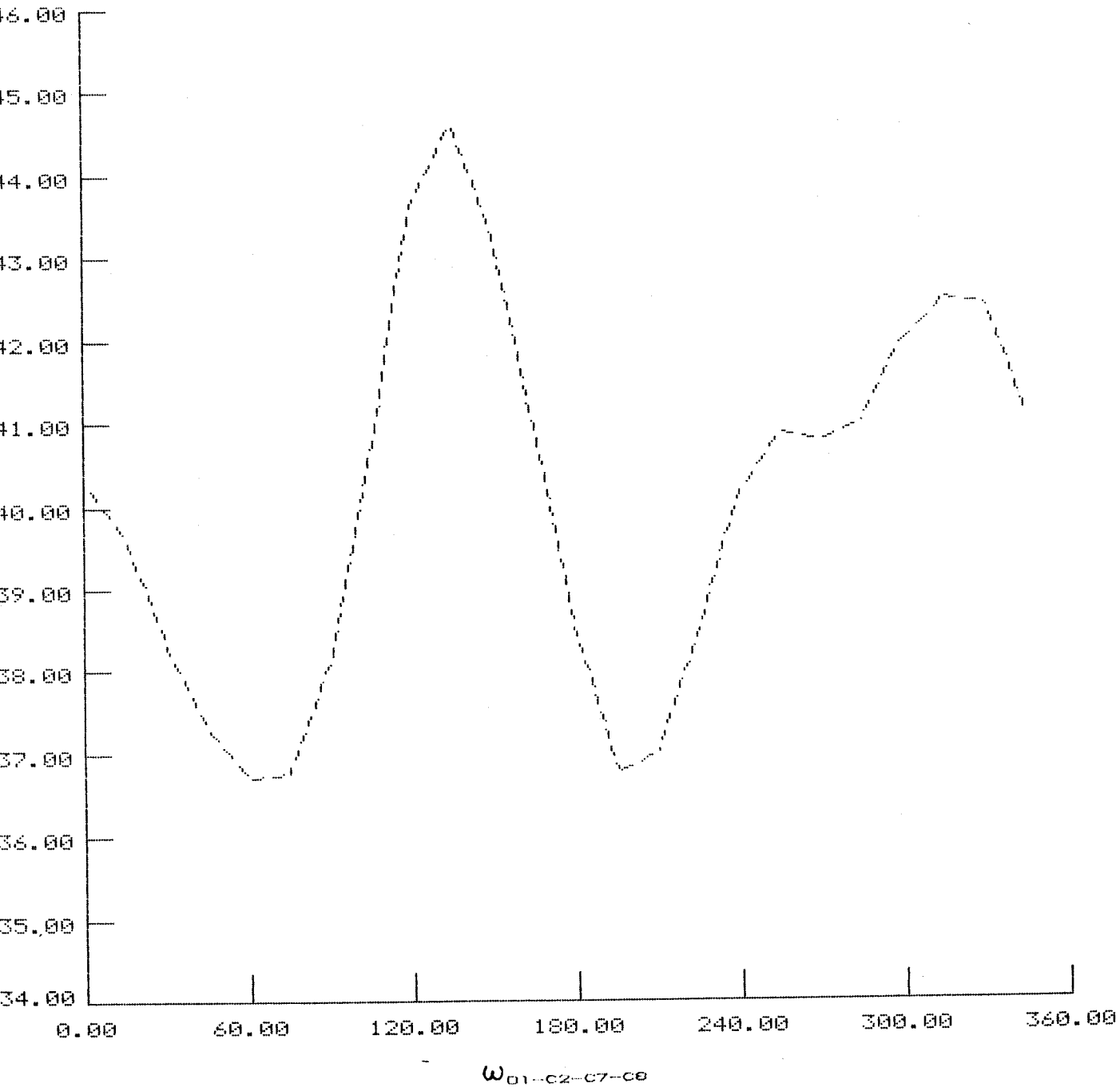
Tabla X. Energía Estérica en función del ángulo dihedral con OPCION DRIVER. Compuesto 78. (cada punto es una minimización realizada por MM2). Representada en la Gráfica 3.

ω <u>O1-C2-C7-C8 (°)</u>	<u>Energía Estérica</u>
0.0	45.00
15.0	44.28
30.0	42.99
45.0	41.92
60.0	41.48*
75.0	41.88
90.0	42.90
105.0	45.44
120.0	48.31
135.0	49.20
150.0	48.09
165.0	45.86
-180.0	43.45
-165.0	41.92*
-150.0	42.26
-135.0	43.81
-120.0	45.41
-105.0	45.85
-90.0	45.70*
-75.0	45.79
-60.0	46.46
-45.0	47.10
-30.0	46.83
-15.0	45.66

* mínimos de energía

D-GLUCOSA

ENERGIA ESTERICA



Gráfica 3

Tabla XI .Energia estérica en función del ángulo dihedro.

ω <u>O1-C2-C7-C8(°)</u>	<u>Energia Estérica</u>
5.1	44.74520
5.2	44.73758
5.3	44.72983
5.4	44.71642
5.5	44.71049
5.6	44.70681
5.7	44.70059
5.8	44.69463
5.9	44.68885*
6.0	44.74520

* mínimo de energia

Los mínimos son similares a los descritos para la simulación anterior y además la gráfica 3 es superponible a la gráfica 1. Lo que viene a representar que para el análisis conformacional de la molécula los grupos metilo no intervienen en la disposición de los ciclos entre si.

2.3.3.- 5-(Tri-O-Acetil-β-D-ribopiranosil)-1,3-dimetilbarbitúrico(64)
simulado.

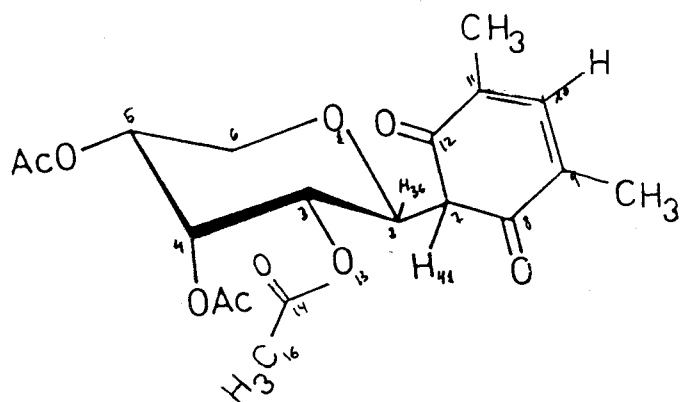


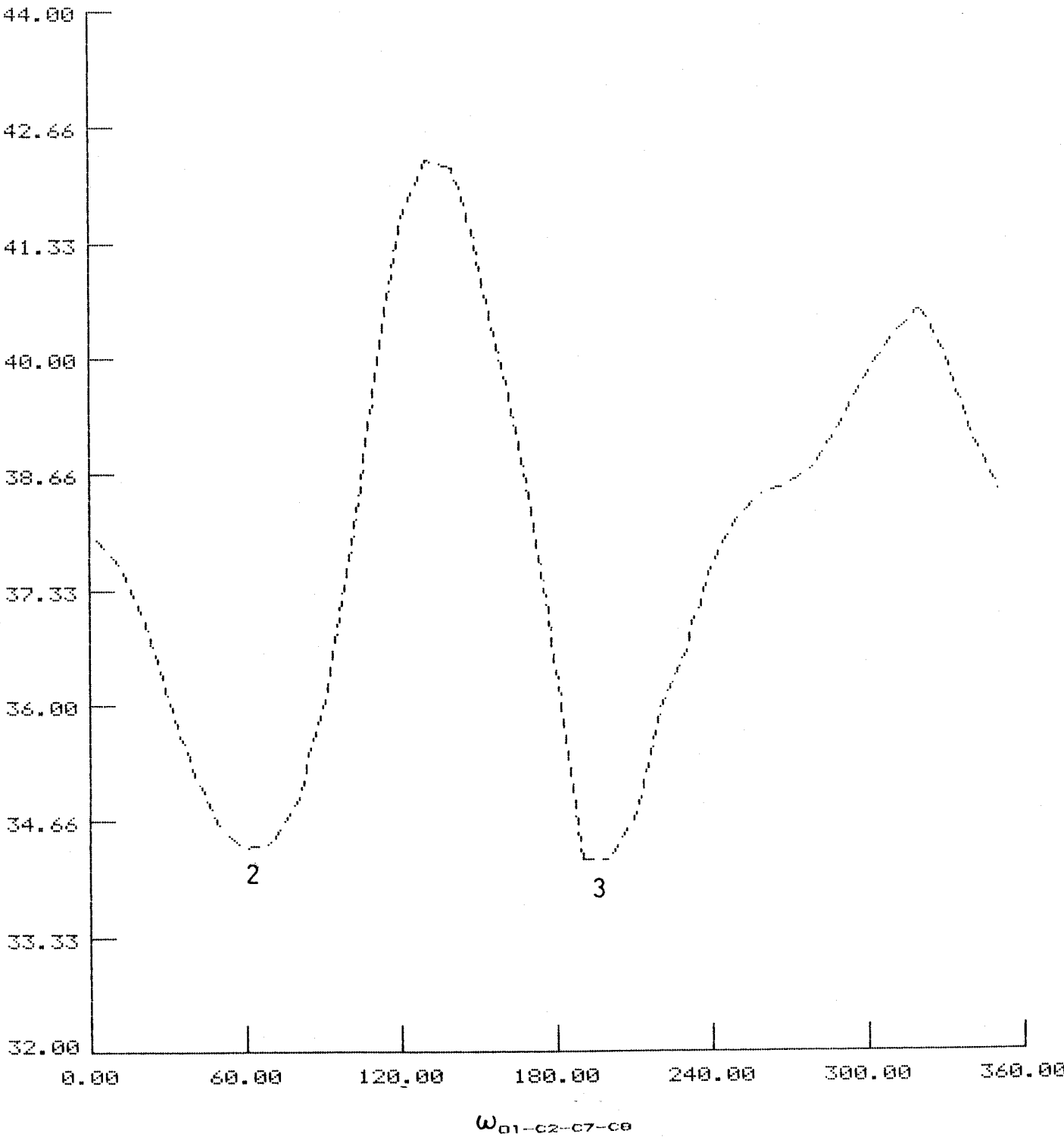
Tabla XII Energía Estérica en función del ángulo dihedro con OPCION DRIVER. Compuesto 64. (cada punto es una minimización realizada por MM2). Representada en la Gráfica 4.

<u>$\omega_{C1-C2-C7-C8}$ (°)</u>	<u>Energía Estérica</u>
0.0	38.65
10.0	38.37
20.0	37.44
30.0	36.33
40.0	35.42
50.0	34.92
60.0	34.81*
70.0	35.06
80.0	35.68
90.0	36.66
100.0	37.98
110.0	39.48
120.0	40.79
130.0	41.44
140.0	41.22
150.0	40.32
106.0	39.06
170.0	37.93
-180.0	36.86
-170.0	36.41*
-160.0	36.49
-150.0	37.08
-140.0	38.02
-130.0	39.04
-120.0	39.84
-110.0	40.13
-100.0	39.88
-90.0	39.37
-80.0	38.95
-70.0	38.78
-60.0	38.76
-50.0	38.71
-40.0	38.62
-30.0	38.53
-20.0	38.52
-10.0	38.65

* mínimos de energía

RIBOSA

ENERGIA ESTERICA



Grafica 4

Se realiza un nuevo cálculo entre para detectar un posible mínimo entre 0-10° por dar en este intervalo una curva discontinua

Tabla XIII. Energía estérica en función del angulo dihedro. Grafica nº5

<u>$\omega_{O1-C2-C7-C8(^{\circ})}$</u>	<u>Energía Estérica</u>
1.0	37.984
2.0	37.954
3.0	37.933
4.0	37.916
5.0	37.846*
6.0	37.849
7.0	37.797
8.0	37.751
9.0	37.717

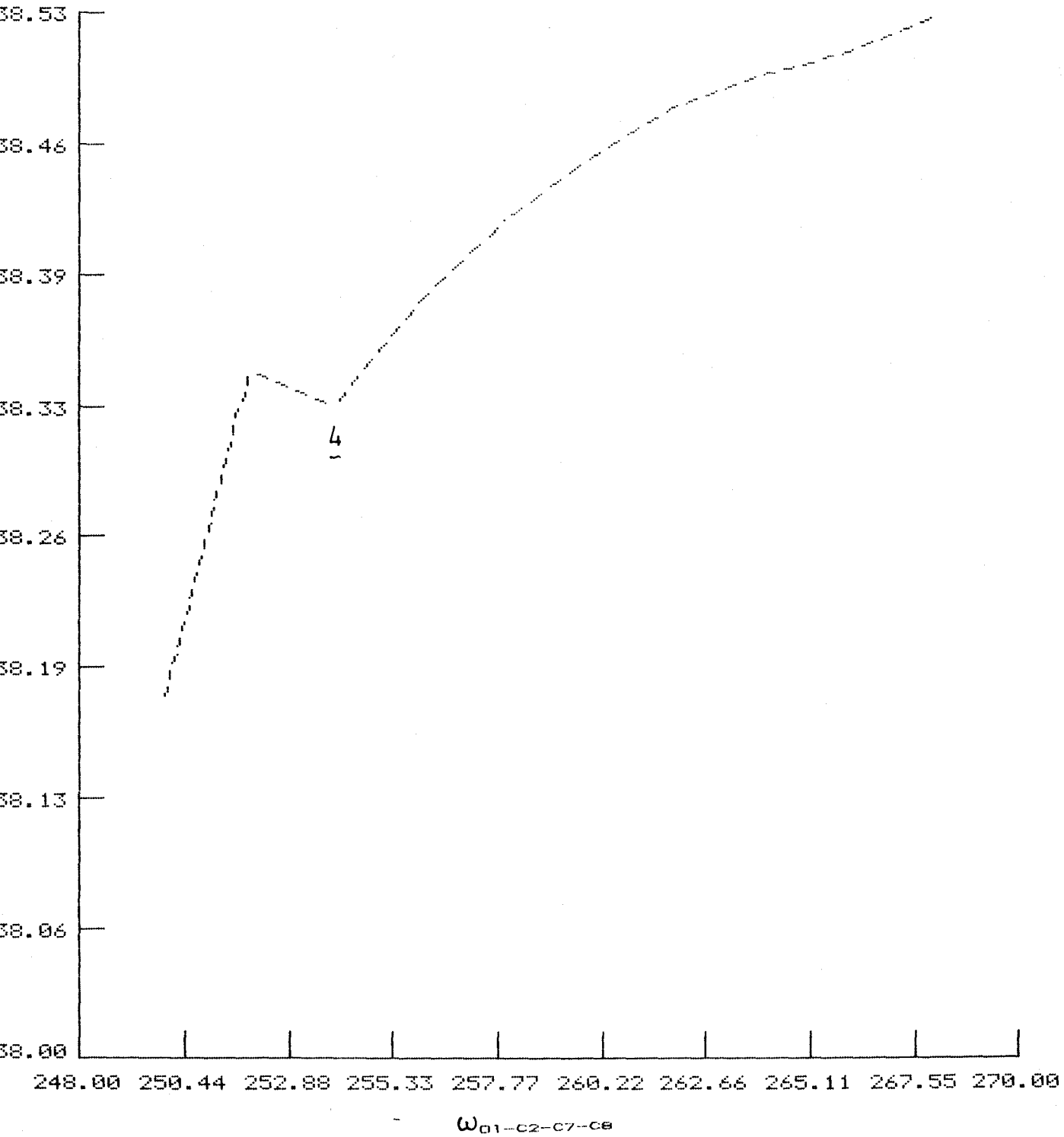
Tabla XIV . Corresponde a la Gráfica 6.

<u>$\omega_{O1-C2-C7-C8(O)}$</u>	<u>Energía Estérica</u>
4.2	37.907
4.4	37.861
4.6	37.853
4.8	37.847
5.0	37.846
5.2	37.838
5.4	37.832
5.6	37.827
5.8	37.820*
6.0	37.846

* mínimo de energia

RIBOSA

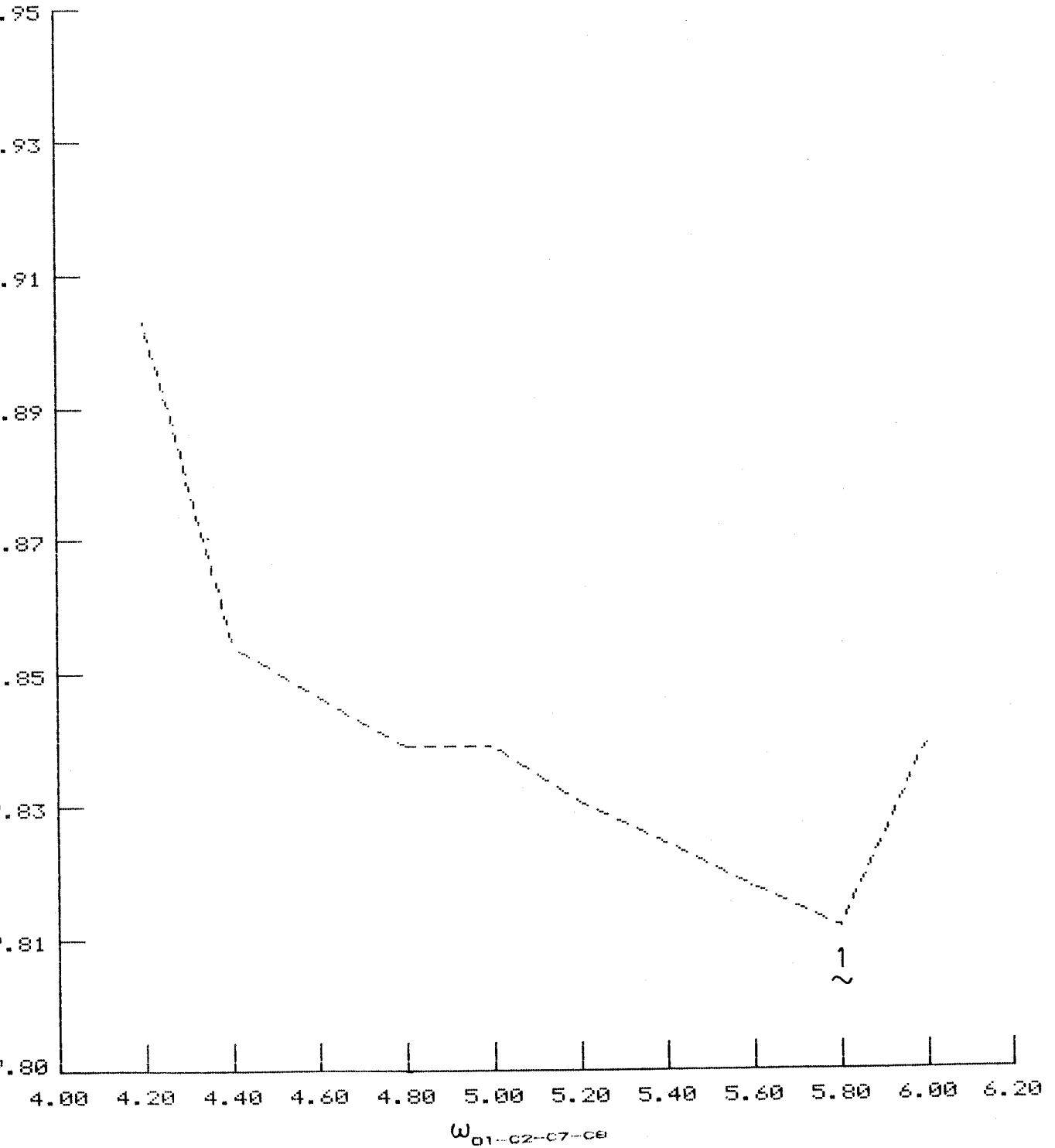
ENERGIA ESTERICA



Grafica 5

RIBOSA

ENERGIA ESTERICA



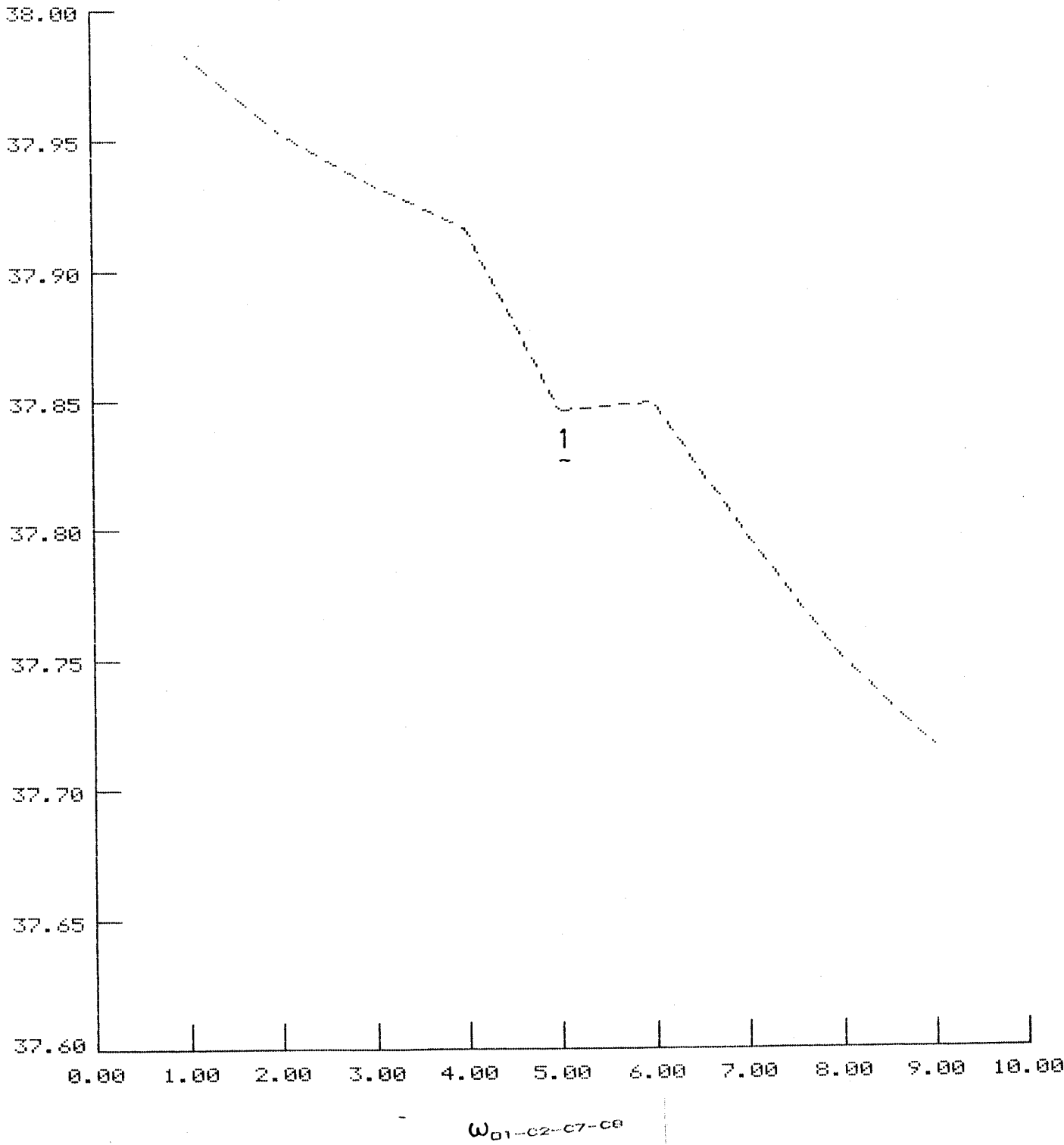
GRAFICA 6

Tabla XV .Corresponde al Gráfica 7

<u>ω</u> <u>$\omega_1-\omega_2-\omega_7-\omega_8$</u> ($^\circ$)	<u>Energía Estérica</u>
-110.0	38.130
-108.0	38.349
-106.0	38.331*
-104.0	38.385
-102.0	38.427
-100.0	38.358
-98.0	38.485
-96.0	38.499
-94.0	38.512
-92.0	38.527

RIBOSA

ENERGIA ESTERICA



Gráfica 7

Estos puntos se tomaron nuevamente como ficheros de entrada para reminimizar la energía dejando libertad de giro al ángulo fijado anteriormente, obteniendo los confórmers nº1, 2, 3 y 4 cuyos dibujos de ORTEP se incluyen en las páginas siguientes. Los ángulos más representativos de la geometría de estos confórmers son:

Ángulo 1=O1-C2-C7-C8

Ángulo 2=C3-O13-C14-C16

Ángulo 3=C7-C8-C9-C10

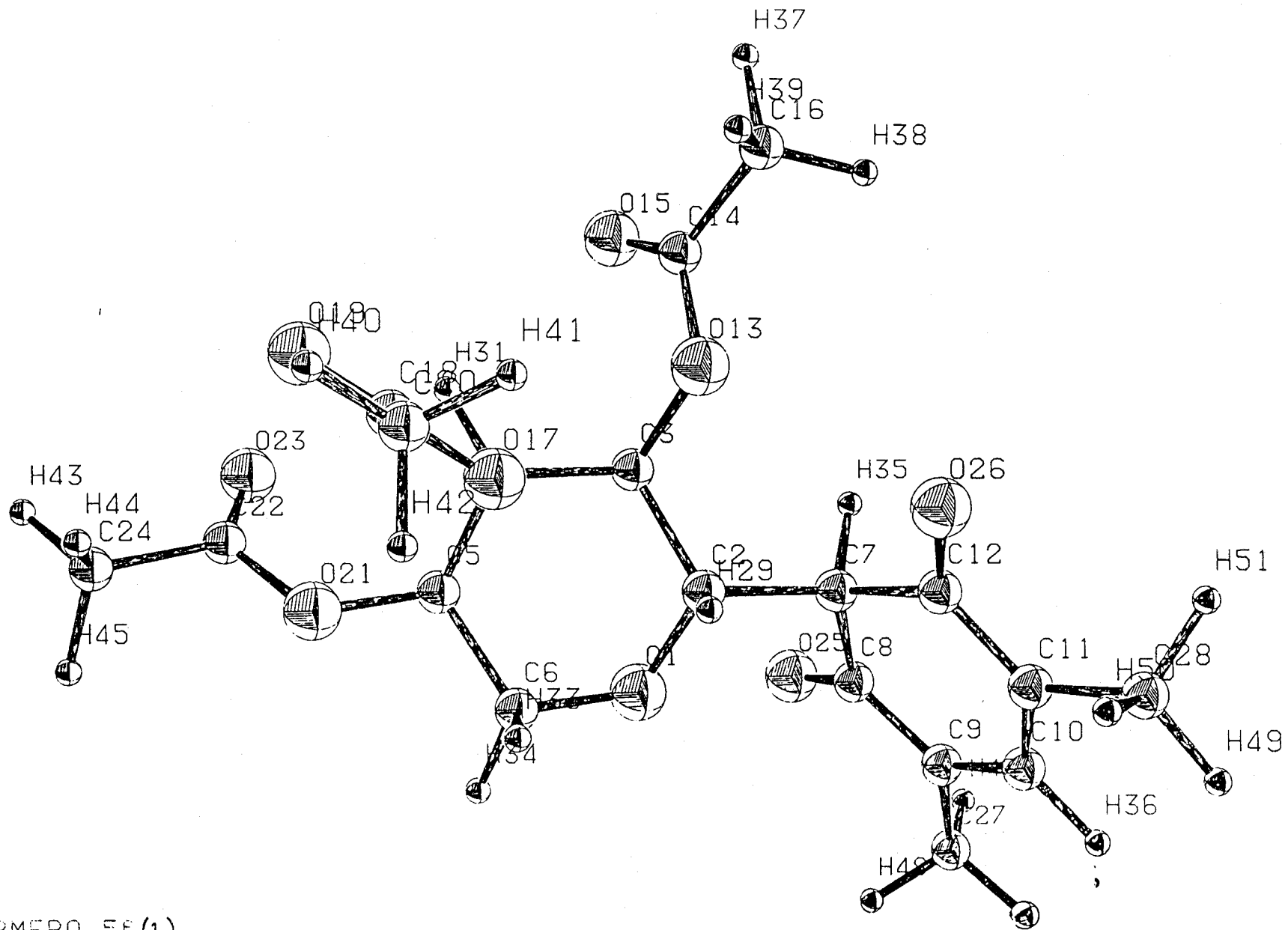
Ángulo 4=H36-C2-C7-H41

La numeración de los átomos no corresponde a la numeración química sino al fichero de simulación del programa antes indicada.

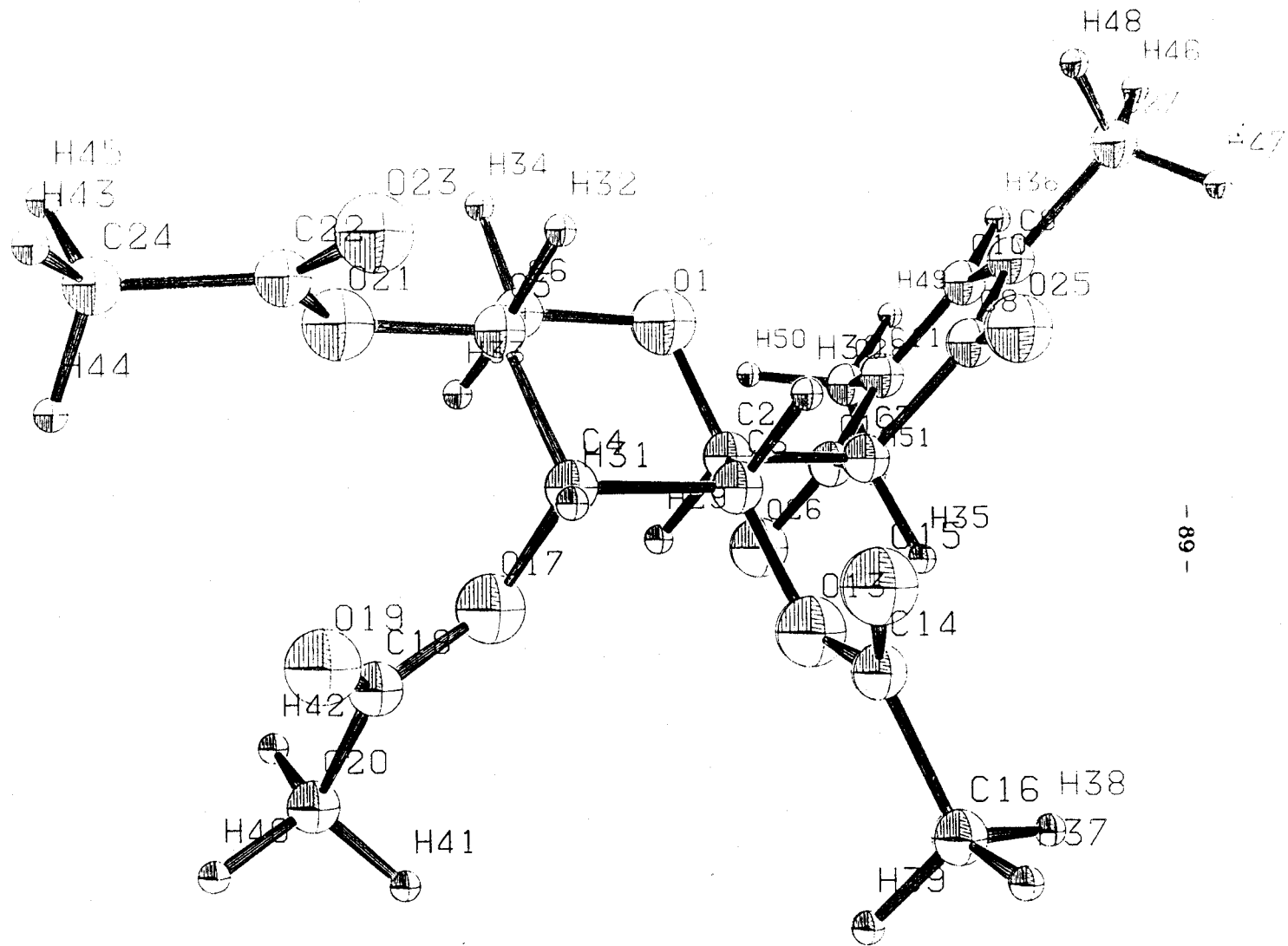
Tabla XVI

1

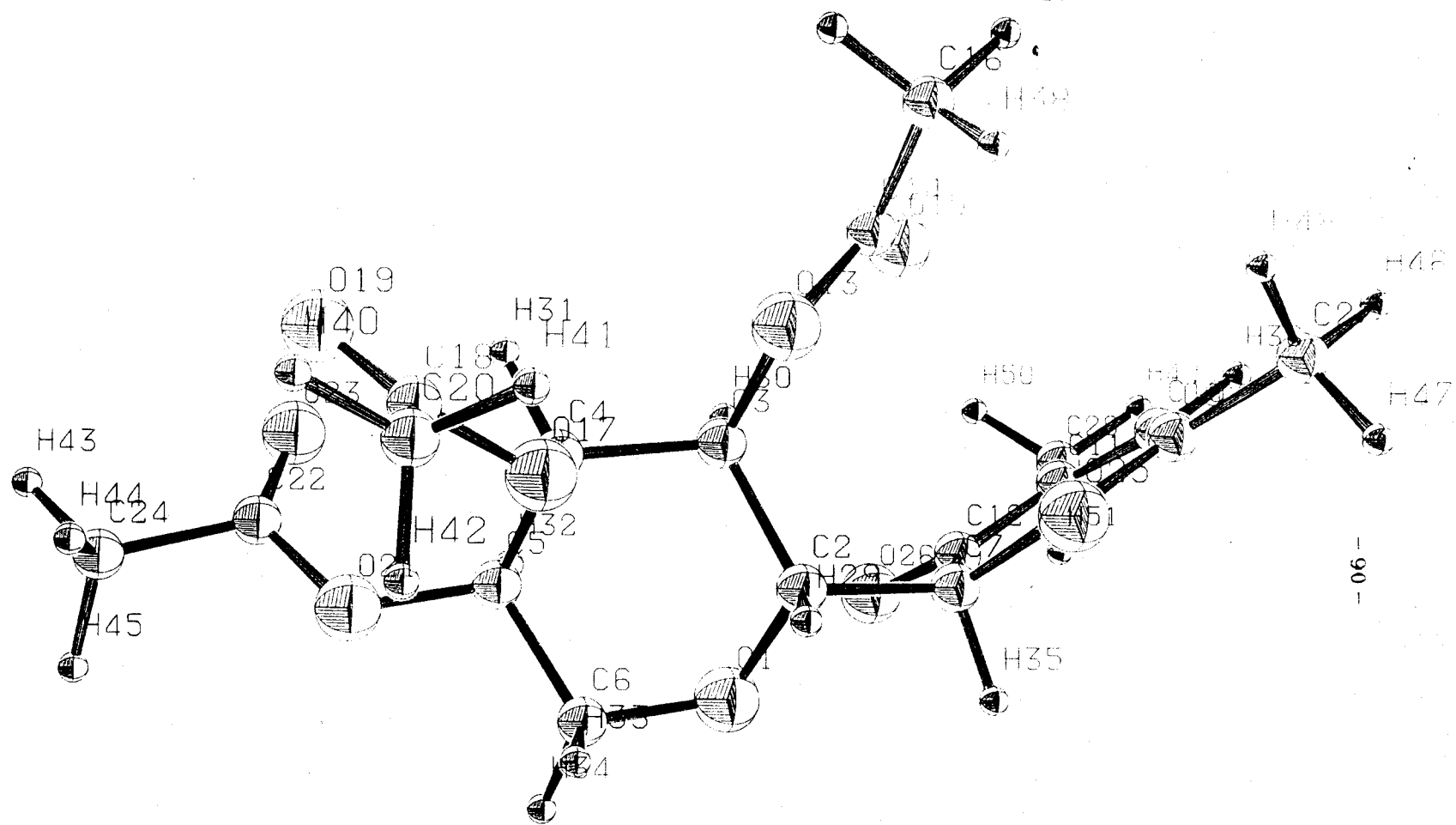
<u>Ángulo</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
<u>Confórmero</u>				
1	5.8	179.81	2.64	-123.10
2	60.23	-178.54	-2.02	-65.70
3	-173.86	175.83	1.14	66.80
4	-92.14	-179.46	-2.35	137.92



CONFORMERO 5f (1)



5-(2,3,4-tri-O-Ac-β-D-RIBOP)60(2)



5-(2,3,4-Trisubstituted-1,2,3,4-tetrahydropyridin-5-yl)pyridine (3)

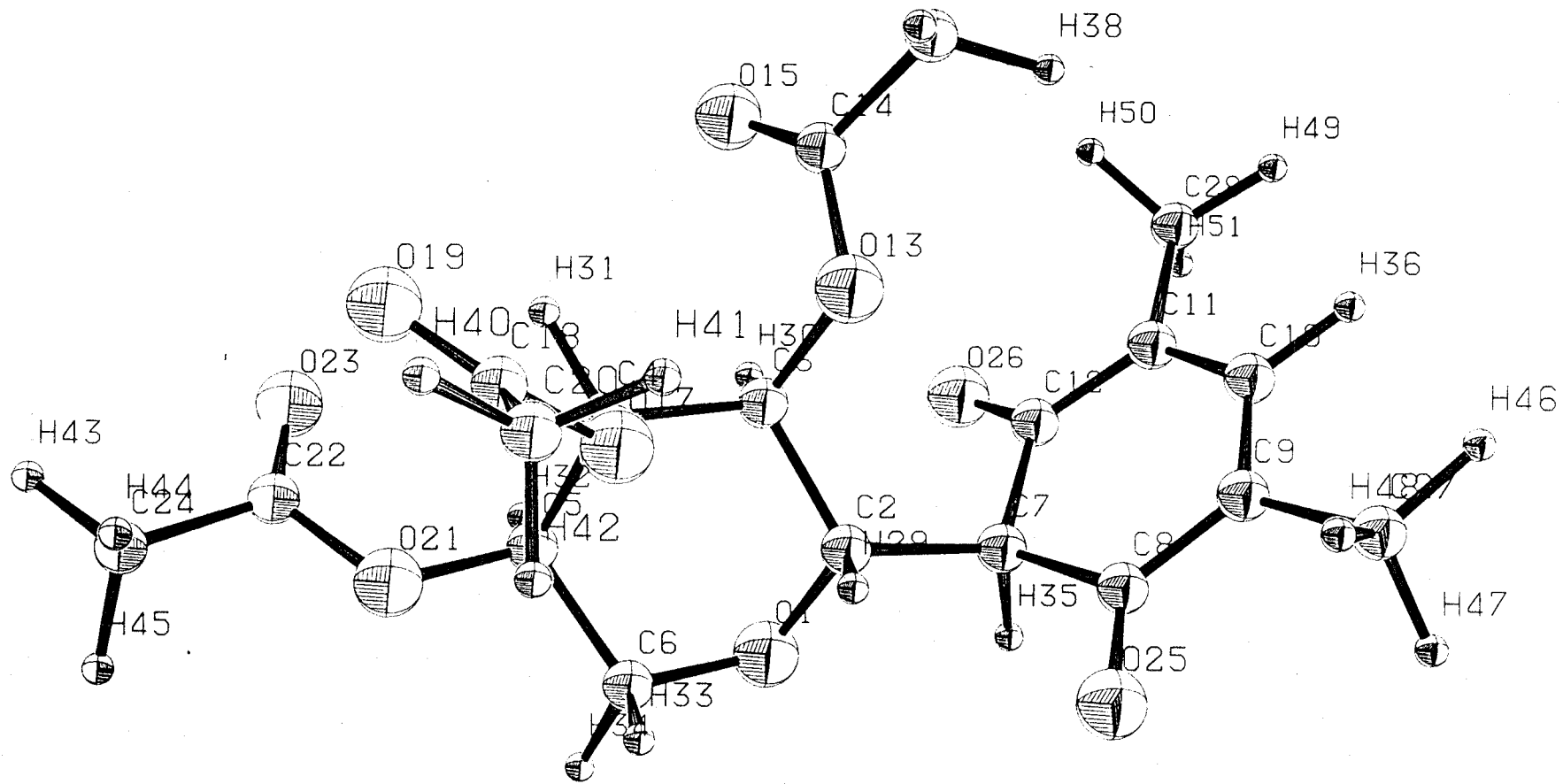


Tabla XVII. Constantes de acoplamiento J_{HH} C1'-C5, energías y poblaciones relative de los los distintos conformémeros

<u>Confórmero</u>	<u>E.rel. (Kcal)</u>	<u>Población(%)</u>	<u>J_{HH}</u>
1	3.365	0.187	4.88
2	0.052	47.745	1.15
3	0.000	52.016	2.44
4	4.098	0.052	6.26

El valor de la J_{HH} promedio=1.82.

El resultado final del cálculo de la molécula de ribosa es una gráfica superponible con la de la glucosa, por lo que, podría postularse que la conformación de los glicopiranosilbarbituratos acetilados sólo depende en lo referente al anillo de glicopiranososa de la configuración del carbono C1 (la ribosa cambia con respecto a la glucosa en la configuración C3 y en la ausencia de grupo hidroximetil en C5). No puede asegurarse que la configuración en C4 no influya en este equilibrio conformacional pero parece improbable al estar tan alejado del anillo de barbitúrico el C4 de la glicopiranososa. Podría comprobarse desde un punto de vista teórico la influencia del sustituyente en C1 realizando los cálculos para los correspondientes derivados de la 2-desoxi-glucosa y manosa aunque no existan para los mismos datos experimentales con los que contrastar los resultados obtenidos teóricamente

Al igual que con la glucosa los cálculos de análisis conformacional por MM2 concuerdan razonablemente bien con los datos experimentales de la Tabla III.

La conformación de los compuestos descritos anteriormente (69-71) no puede relacionarse con exactitud con la de los derivados acetilados, al ser en estos los radicales unidos al anillo de glicopirananosa mucho más voluminosa, sin embargo se tiene datos de la estructura en estado sólido ⁴⁵, que confirman que la disposición relativa de los anillos más estable obtenida por los cálculos de MM2 es la que existe en los cristales del ácido 5-β-D-galactopiranosil-1,3-dimetilbarbitúrico relacionado estructuralmente con los compuestos (69-71), sobre todo, teniendo en cuenta que la curva de energía no se modifica en absoluto (sólo se desplaza en el eje) cuando se pasa de compuestos glicuronilbarbituratos acetilados a los mismos análogos con glicuronil-1,3-dimetilbarbituratos acetilados.

2.3.4- 5-(Tetra-O-Acetil-8-D-manopiranosil)barbitúrico(79) simulado

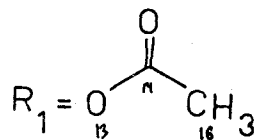
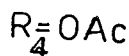
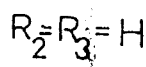
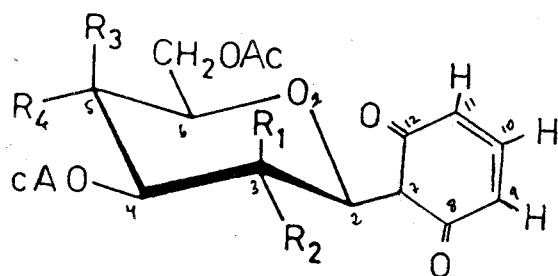


Tabla XVIII Energía Estérica en función del ángulo dihedro con OPCION DRIVER, Compuesto 79. (cada punto es una minimización realizada por MM2). Representada en la Gráfica 8.

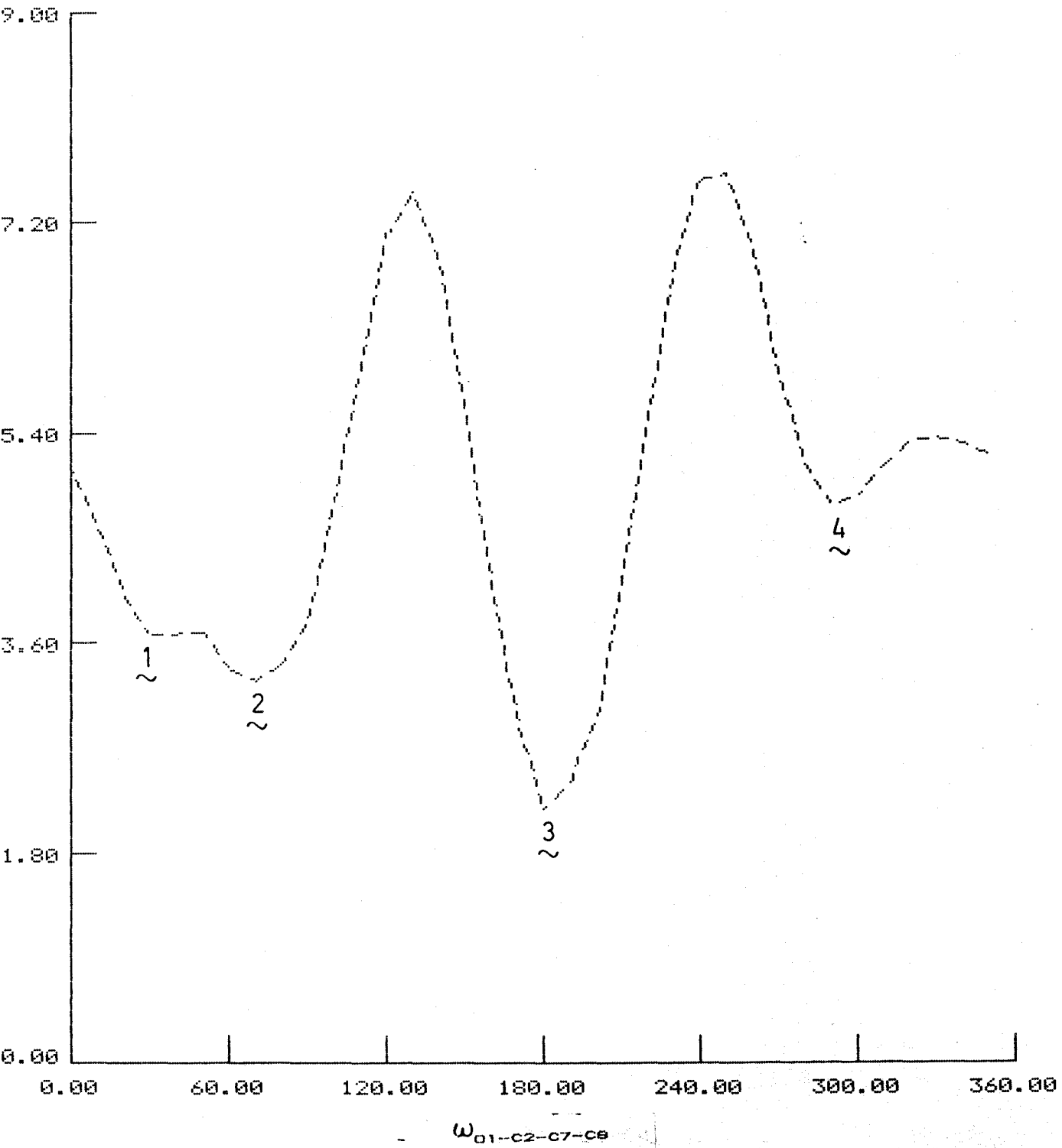
$\omega_{C1-C2-C7-C8}$ (°) Energía Estérica

0.0	45.10
10.0	44.62
20.0	44.00
30.0	43.69*
40.0	43.77
50.0	43.70
60.0	43.40
70.0	43.30*
80.0	43.45
90.0	43.98
100.0	44.85
110.0	46.01
120.0	47.09
130.0	47.48
140.0	46.88
150.0	45.67
106.0	44.09
170.0	42.91
-180.0	42.21*
-170.0	42.42
-160.0	42.99
-150.0	44.11
-140.0	45.57
-130.0	46.84
-120.0	47.59
-110.0	47.62
-100.0	46.97
-90.0	45.96
-80.0	45.15
-70.0	44.80*
-60.0	44.87
-50.0	45.13
-40.0	45.35
-30.0	45.37
-20.0	45.32
-10.0	45.23

* mínimos de energía

MANOSA

ENERGIA ESTERICA



Gráfica 8

Estos puntos se tomaron nuevamente como ficheros de entrada para reminimizar la energía dejando libertad de giro al ángulo fijado anteriormente, obteniendo los confórmers nº1, 2, 3 y 4 cuyos situación en la curva de la energía estérica se señala y cuyos dibujos de ORTEP se incluyen en las páginas siguientes. Los ángulos más representativos de la geometría de estos confórmers son:

Ángulo 1=O1-C2-C7-C8

Ángulo 2=C3-O13-C14-C16

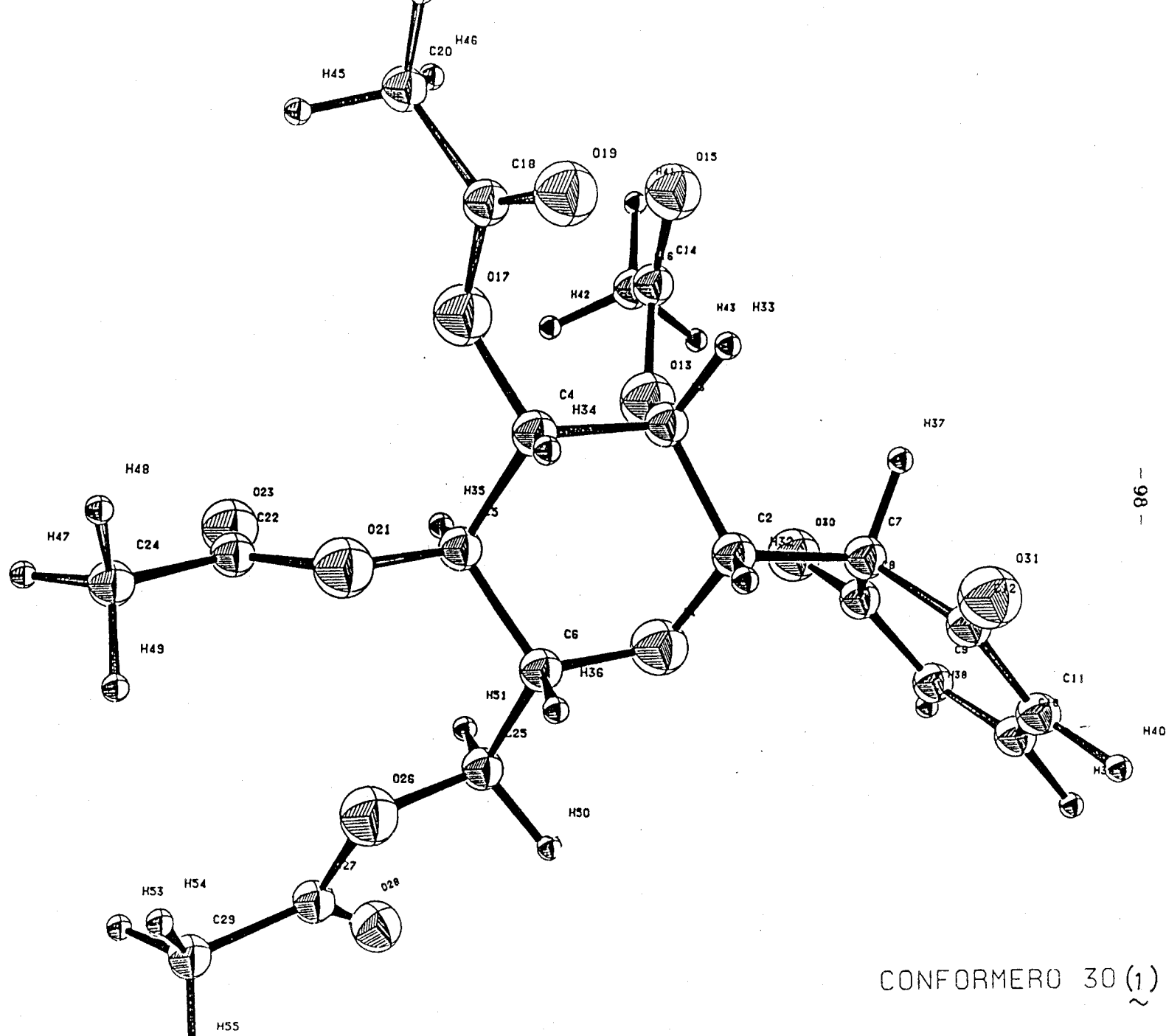
Ángulo 3=C7-C8-C9-C10

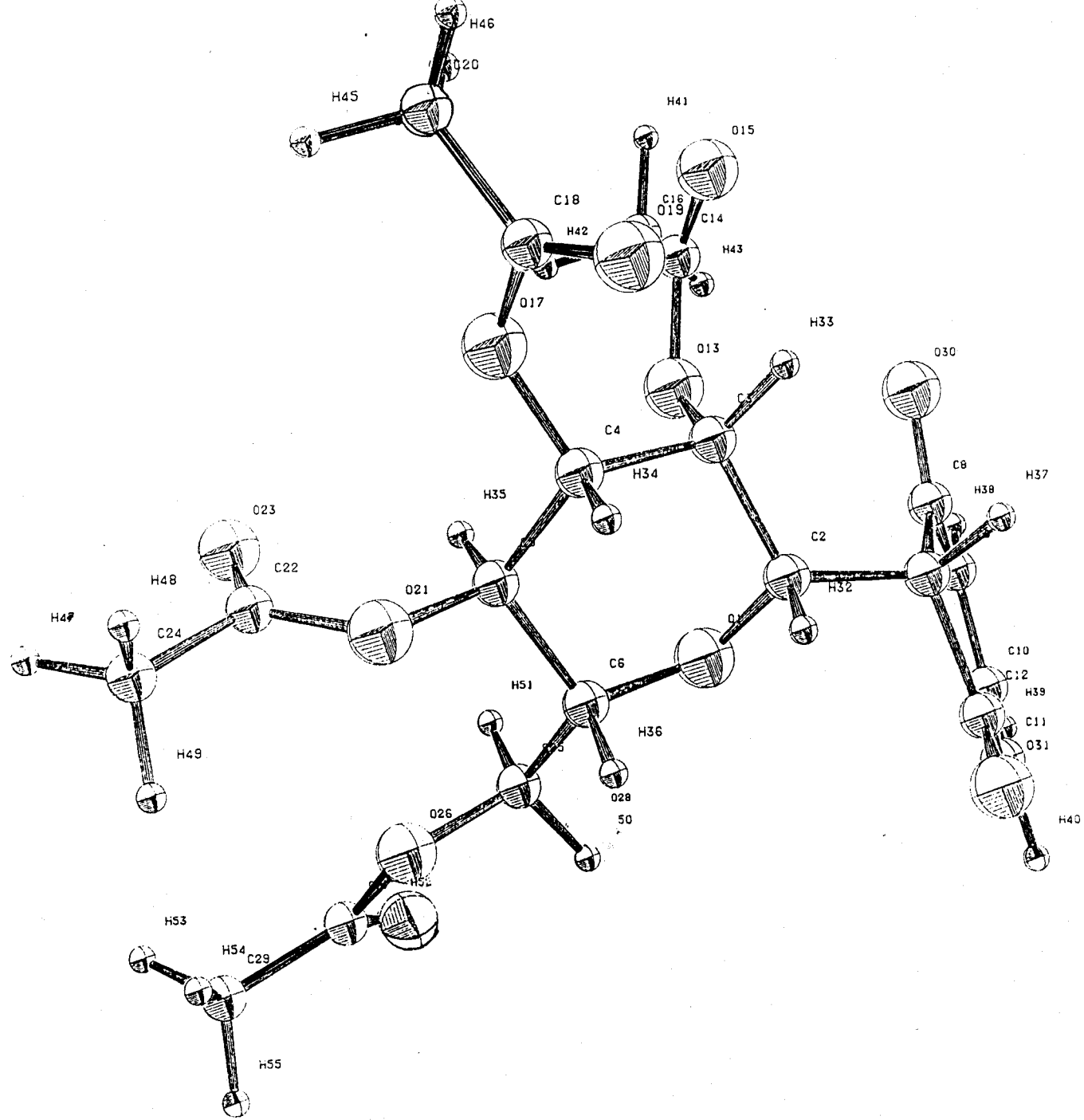
Ángulo 4=H36-C2-C7-H41

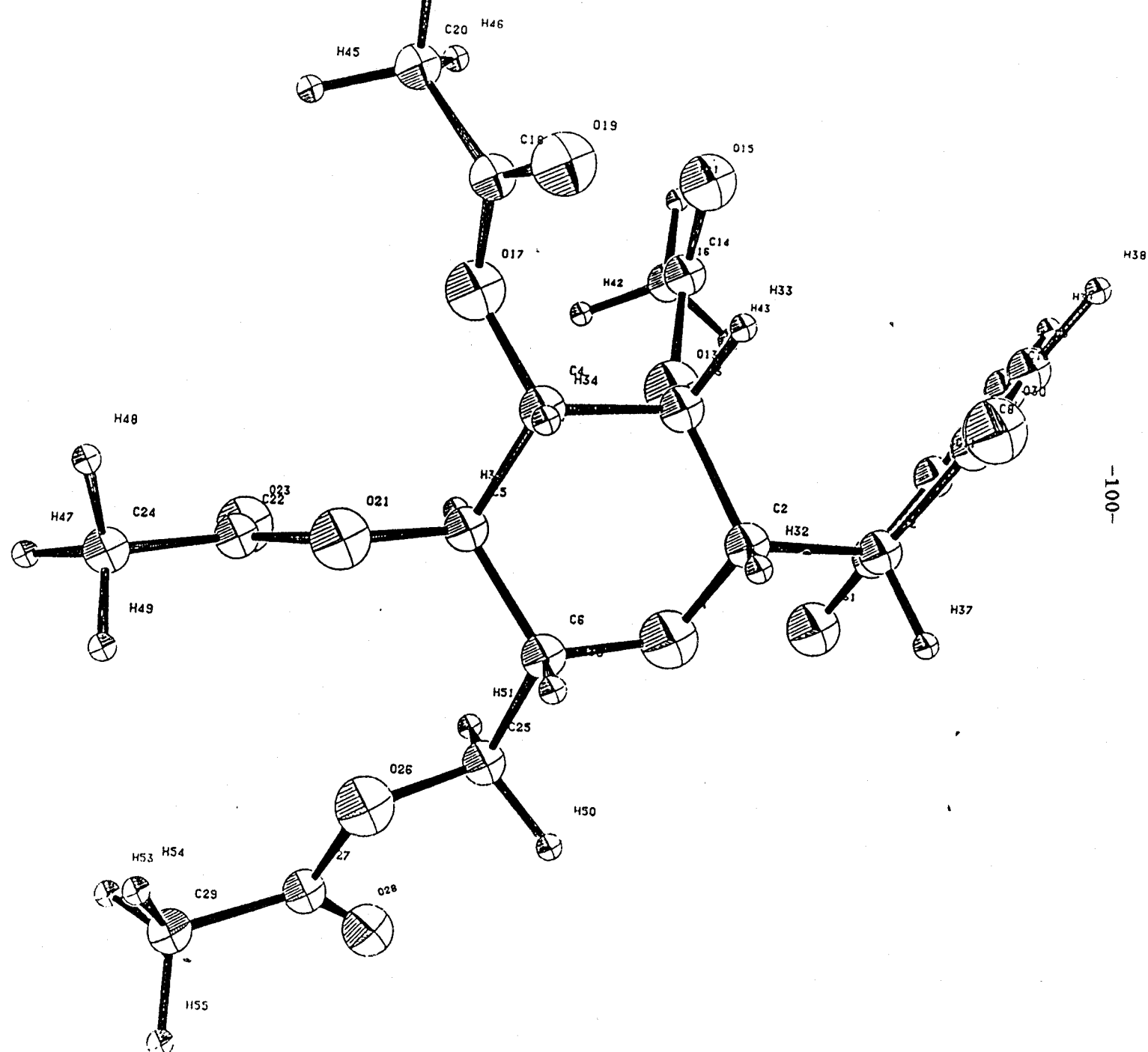
La numeración de los átomos no corresponde a la numeración química sino al fichero de simulación del programa antes indicada.

Tabla XIX

<u>Ángulo</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
<u>Confórmero</u>				
1	30.5	-179.44	-0.89	-97.90
2	70.43	178.40	-4.87	-58.35
3	-179.47	-177.43	-1.49	50.64
4	-69.68	-179.98	-4.80	163.12







CONFORMERO 180(3)

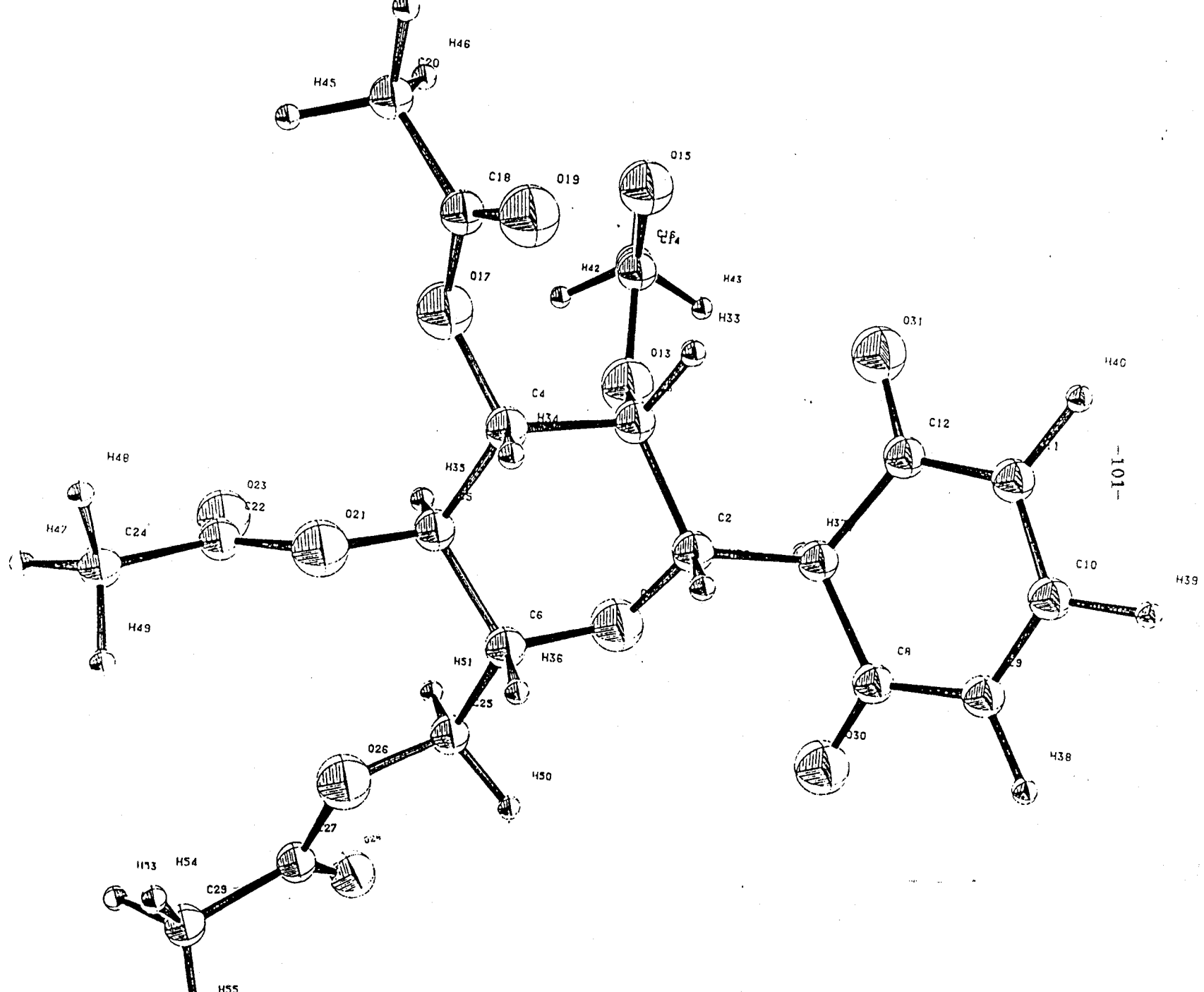


Tabla XX Constante de acoplamiento, energía y población relativa de los distintos confórmers

<u>Confórmero</u>	<u>E.rel. (Kcal)</u>	<u>Población(%)</u>	<u>J_{ЭНН}</u>
1	1.482	6.532	1.03
2	1.096	12.538	2.03
3	0.000	79.899	4.93
4	2.575	1.032	10.31

La J_{ЭНН} promedio es 4.37

Al variar la configuración en C2' varia el equilibrio conformacional de esta molécula con respecto a las anteriores que tenían en un sustituidos en C2' en axial en vez de en ecuatorial aunque existe todavía un mínimo conformacional próximo a 180°, los otros mínimos si se desplazan considerablemente en la curva, desapareciendo el mínimo que se encontraba en los otros casos a 60°.

Se observa para el este caso una mayor deformación en el anillo de glicopirano con un valor del ángulo O1-C2-C3-C4 de 70° (con respecto al de una conformación silla perfecta -60°-).

El valor de las deformaciones del anillo de barbitúrico son ligeramente superiores a los otros casos ($\sim 4.5^\circ$) debido a una mayor compresión estérica entre el grupo acetilo y los carbonos carbonílicos del anillo de barbitúrico que supone un incremento de las energías de los distintos términos que constituyen el campo de fuerzas de MM2.

2.3.5- 5-(Tri-O-Acetil-2-desoxi-β-D-glucopiranosil)barbitúrico(80)
simulado

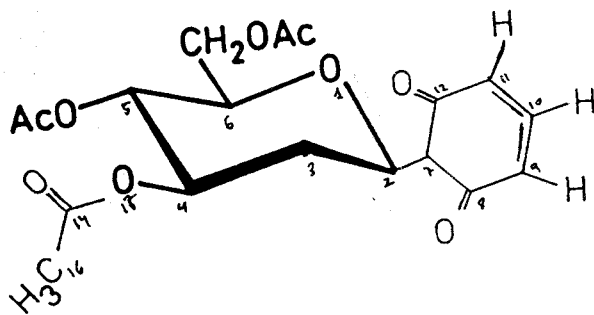


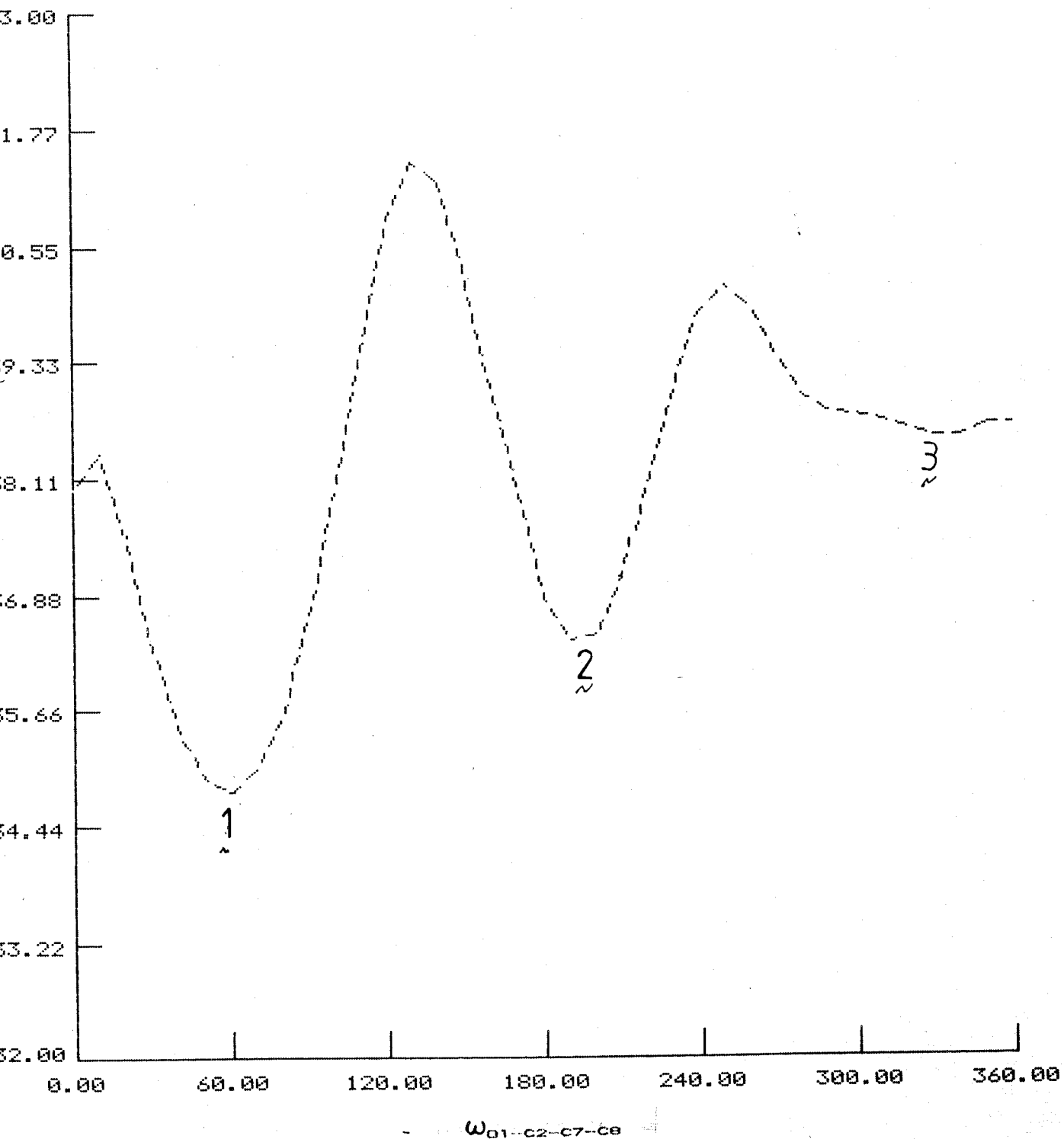
Tabla XXI Energía Estérica en función del ángulo dihedro con OPCION DRIVER. Compuesto 80. (cada punto es una minimización realizada por MM2). Representada en la Gráfica 9.

<u>ω 01-C2-C7-C8 (°)</u>	<u>Energía Estérica</u>
0.0	38.01
10.0	37.68
20.0	37.03
30.0	36.09
40.0	35.22
50.0	34.65
60.0	34.37*
70.0	34.42
80.0	34.92
90.0	35.99
100.0	37.98
110.0	39.48
120.0	40.79
130.0	41.44
140.0	41.22
150.0	40.32
106.0	39.07
170.0	37.93
-180.0	36.86
-170.0	36.41*
-160.0	36.49
-150.0	37.08
-140.0	38.02
-130.0	39.04
-120.0	39.84
-110.0	40.13
-100.0	39.88
-90.0	39.37
-80.0	38.95
-70.0	38.78
-60.0	38.76
-50.0	38.71
-40.0	38.62
-30.0	38.52*
-20.0	38.53
-10.0	38.64

* mínimos de energía

DESOXI GLUCOSA

ENERGIA ESTERICA



Gráfica 9

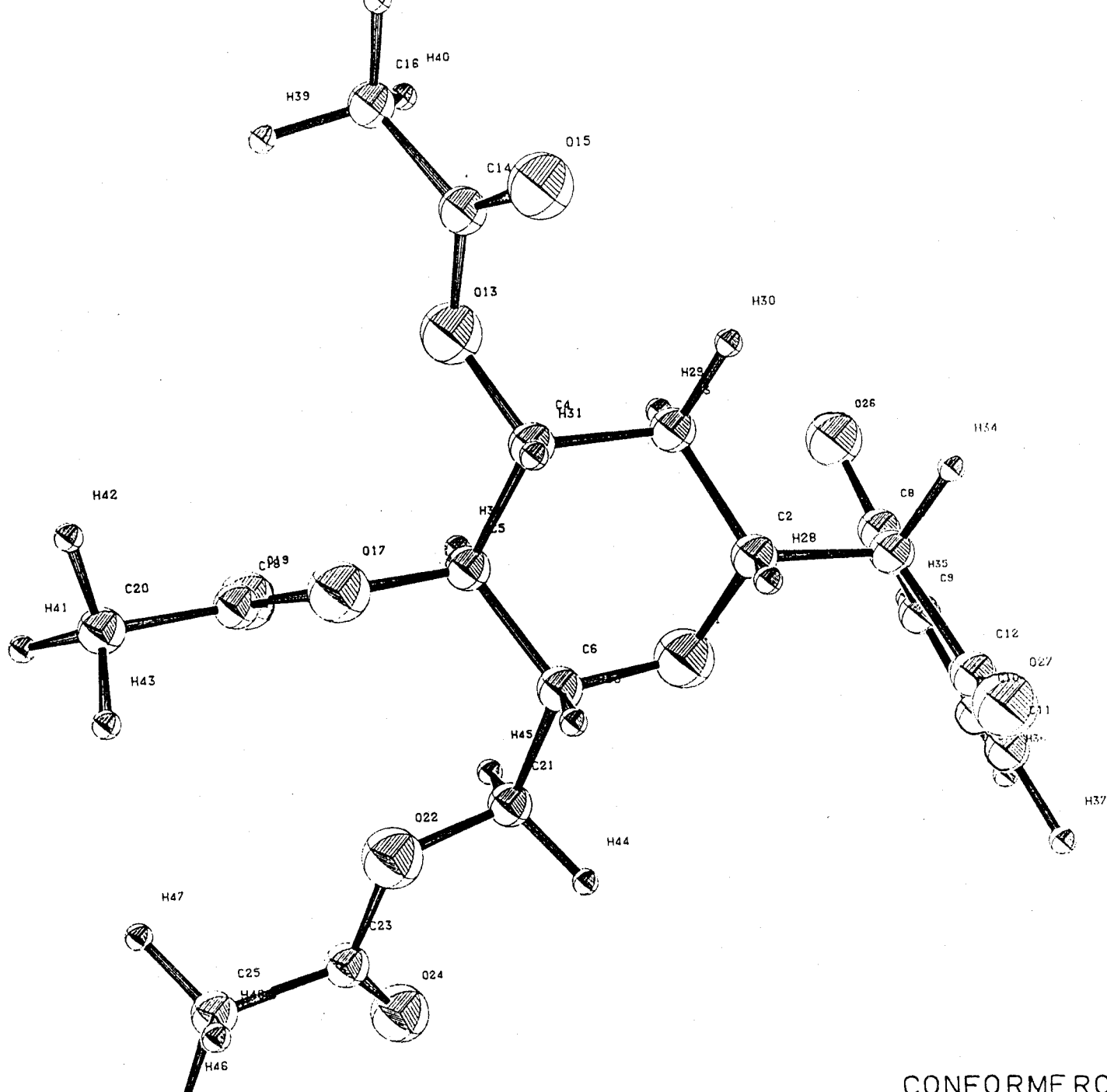
Estos puntos se tomaron nuevamente como ficheros de entrada para reminimizar la energía dejando libertad de giro al ángulo fijado anteriormente, obteniendo los conformeros nº1, 2, y 3 cuyos situación en la curva de la energía estérica se señala y cuyas dibujos de ORTEP se incluyen en las páginas siguientes. Los ángulos más representativos de la geometría de estos conformeros son:

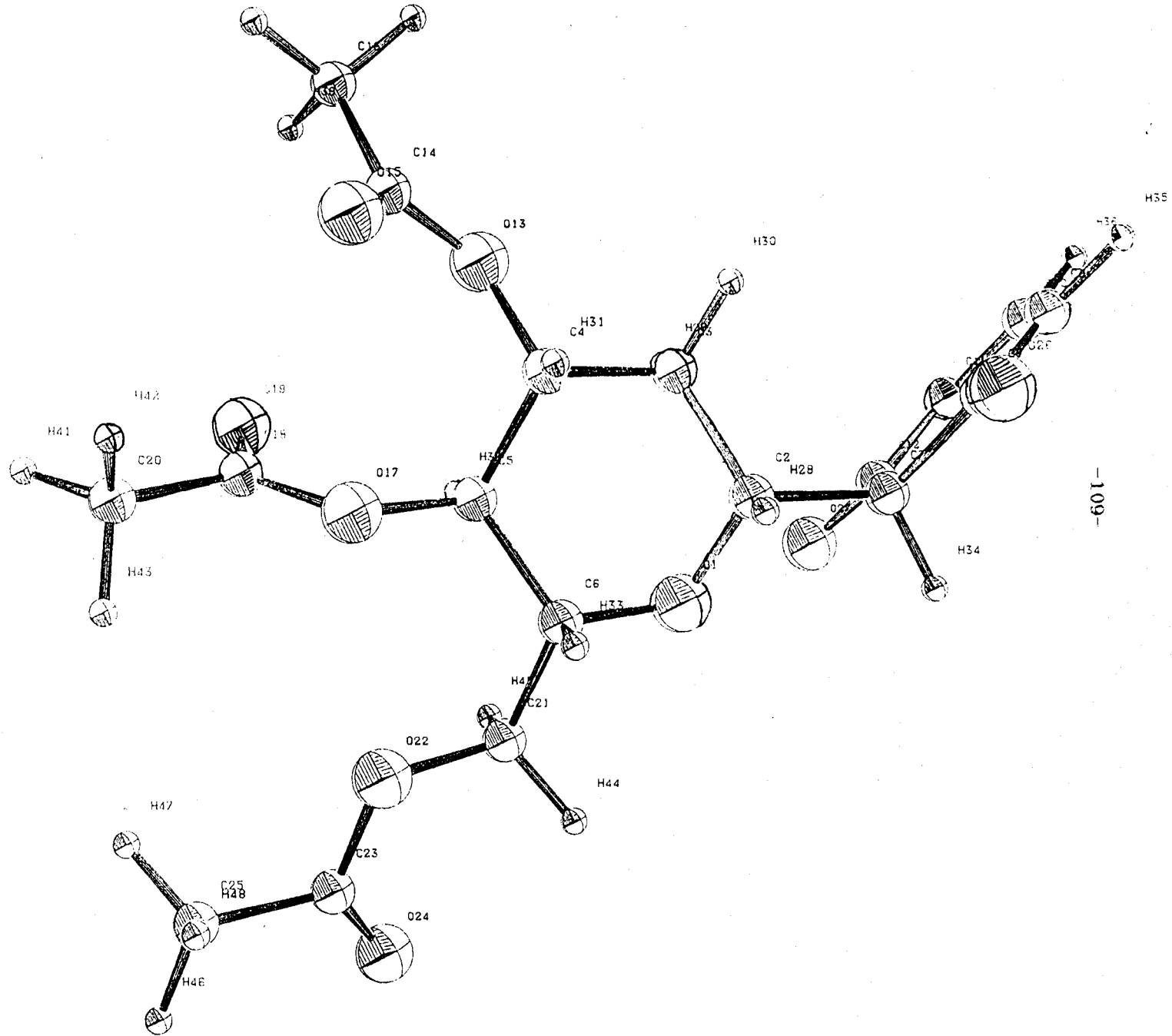
Angulo 1=O1-C2-C7-C8
Angulo 2=C4-O13-C14-C16
Angulo 3=C7-C8-C9-C10
Angulo 4=H36-C2-C7-H41

La numeración de los átomos no corresponde a la numeración química sino al fichero de simulación del programa antes indicada.

Tabla XXII

<u>Angulo</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>
<u>Conformero</u>				
1	60.5	-179.44	-0.89	-97.90
2	-170.43	178.40	-4.87	-58.35
3	29.47	-177.43	-1.49	50.64





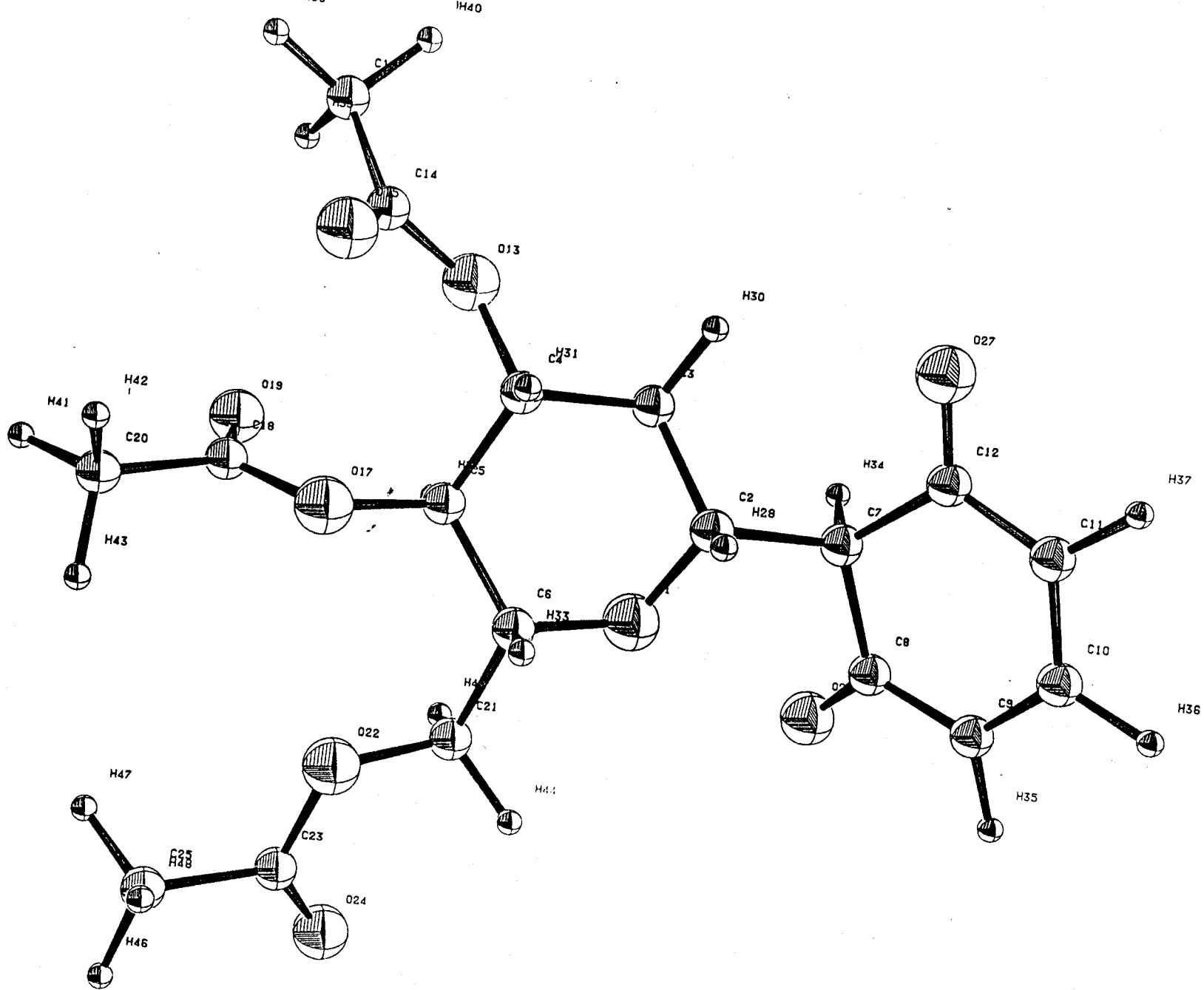


Tabla XXIII.

Constantes de acoplamiento de los $^3J_{HH}$ unidos a C1' y C5, energías y poblaciones relativas

	<u>E.rel. (Kcal)</u>	<u>Población(%)</u>	<u>J_{3HH}</u>
<u>Confórmero</u>			
1	1.482	6.532	1.03
2	1.096	12.538	2.03
3	0.000	79.899	4.93

La J_{3HH} promedio es 1.40

El equilibrio conformacional es distinto en el supuesto de que exista hidroxilo acetilado en disposición ecuatorial al supuesto en que no exista , sin embargo, los dos conformeros más estables a 60° y 180° se mantienen, luego afecta mucho menos a la posición del equilibrio que en el caso anterior (manosa) en el que existía un hidroxilo acetilado en disposición axial.

III-PARTE EXPERIMENTAL.

3.1- Métodos generales.

Los puntos de fusión se midieron en un aparato de la casa Gallenkamp y están sin corregir.

Las evaporaciones de disolvente se efectuaron siempre a temperaturas inferiores a 50°, a presiones estimadas entre 10 y 25 mm de mercurio.

Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro Perkin-Elmer 241, con luz de sodio (raya D, 589mm) y de mercurio ($\lambda = 578, 546, 436, \text{ y } 365$). En el primer caso, se utiliza como símbolo para el poder rotatorio específico $[\alpha]^t$ y en el segundo la expresión $[\alpha]^t$.

Espectros de absorción en el IR.

Los Espectros de IR se registraron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo 1310. Los espectros, todos de muestras sólidas, se realizaron en pastillas de BrK Merck, para espectroscopia. En esta parte se dan los valores de números de onda a los que aparecen los Máximos de absorción más significativos.

Espectros de RMN.

Se registraron espectros de RMN de carbono 13 en un espectrofotómetro Bruker modelo WP-80-SY (20.15 MHz). Como disolvente se empleó óxido de deuterio.

Los valores de desplazamiento químico estandarizados en unidades (ppm) utilizando Tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

Cromatografía en capa fina.

Se empleó el método con carácter analítico cualitativo, empleando el gel de sílice Merck GF₂₅₄.

Los eluyentes empleados han sido:

- a) Benceno-etanol (3:1)
- b) Acetato de etilo-etanol (3:1)

Como reveladores se usaron :

- a) Luz ultravioleta $\lambda=254\text{nm}$ proporcionada lámpara UVATOM.
- b) Yodo.
- c) Ácido sulfúrico al 50%.

Cromatografía en papel.

Se han utilizado las técnicas de ascendente y descendente utilizando como soporte papel para cromatografía Whatman nº 1.

Los desarrolladores empleados han sido:

- a) n-butanol-piridina-agua (1:1:1).
- b) n-butanol saturado de agua.

Como revelador se empleó nitrato de plata-hidróxido sódico para monosacáridos y compuestos con cadena polihidroxílica.

Cálculos Teóricos.

Se empleó un ordenador VAX 11/785 de la casa Digital Equipment Corporation con sistema operativo VAX/VMS 4.5, correspondiente al nodo 1 de la red local del Centro de Cálculo de la Universidad de Sevilla; también se utilizó un ordenador VAX 11/780 del Centro de Cálculo de la Universidad Autónoma de Barcelona.

Los cálculos fueron realizados en cola de BATCH de 5 horas de duración, siendo de una media de unas 25 horas las necesarias para estudiar el equilibrio conformacional de una molécula.

El manejo de ficheros y entrada de coordenadas se realizó mediante sesiones interactivas en dicho ordenador.

La realización de los dibujos de las distintas conformaciones de las moléculas fue realizada mediante un Plotter BENSON 1212 perteneciente a la red local del Centro de Cálculo de la Universidad de Sevilla.

3.2- Materias primas.

Se emplearon muestras comerciales de la siguientes sustancias:

D-glucosa (Panreac).

D-galactosa (Sigma).

D-manosa (Sarsyntex).

Acido Barbitúrico (Merck).

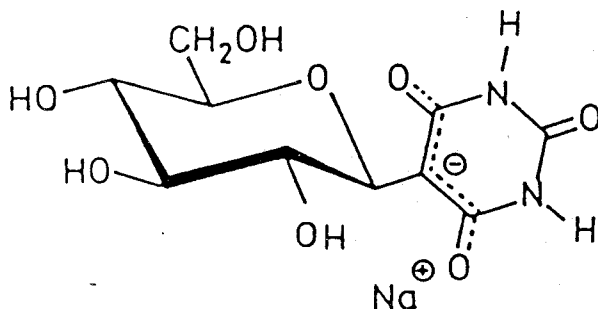
Acido 1,3-dimetilbarbitúrico (Fluka).

Acido glucurónico γ -lactona (Fluka).

Acido glucurónico sal sódica (Fluka).

3.3.- Reaccion del ácido barbitúrico con hexosas.

3.3.1.- *5-β-D-Glucopiranosilbarbiturato sódico.*



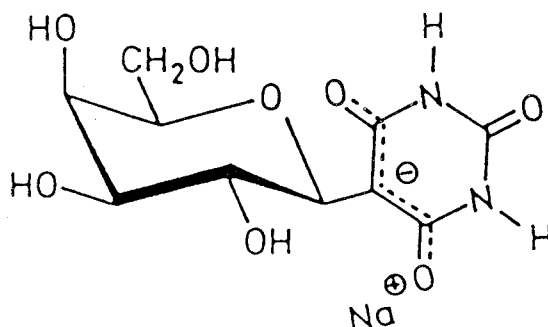
69
~

A una disolución de D-glucosa (9g, 50mmol) y ácido barbitúrico (6.3g, 50mmol) en agua (100ml) se añadió carbonato sódico hasta pH 7 y se calentó a 80° durante cinco horas, concentrándose a continuación hasta pequeño volumen (~15ml). Por adición de metanol hasta turbidez cristalizó el producto *5-β-D-Glucopiranosilbarbiturato sódico* (69) que se recrystalizó por disolución de la mínima cantidad en agua y adición de metanol hasta turbidez (12.5g, 80.1%).

P.F. 174.5° (desc); $[\alpha]_D^{25} -13^\circ$ (c, 1; agua).

Espectros IR nº1, RMN nº1 (espectro del *5-β-D-Glucopiranosil-1,3-dimetilbarbiturato sódico* nº2).

3.3.2.- *5-β-D-Galactopiranosilbarbiturato sódico.*



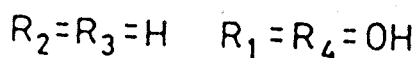
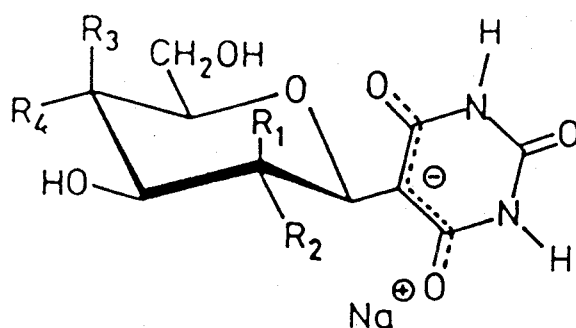
70
~

A una disolución de D-galactosa (9g, 50mmol) y ácido barbitúrico (6.3g, 50mmol) en agua (100ml) se añadió carbonato sódico hasta pH 7 y se calentó a 80° durante cinco horas, concentrándose a continuación hasta pequeño volumen (~15ml). Por adición de metanol hasta turbidez cristalizó el producto *5-β-D-Galactopiranosilbarbiturato sódico* (70) que se recrystalizó por disolución de la mínima cantidad en agua y adición de metanol hasta turbidez (11.4g, 73.1%).

P.F. 130.0°. $[\alpha]_D^{25} -6^\circ$ (c, 1; agua).

Espectros IR nº2, RMN nº3 (espectro del *5-β-D-Galactopiranosil-1,3-dimetilbarbiturato sódico* nº4).

3.3.2- 5-*B*-D-Manopiranosilbarbiturato sódico.



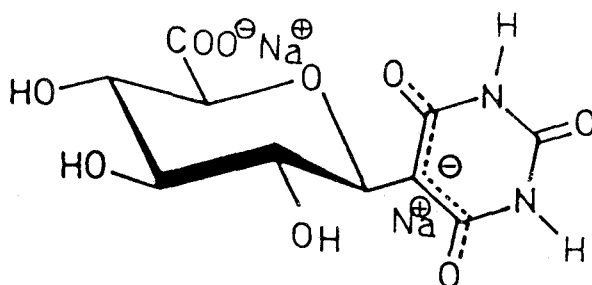
71
~

A una disolución de D-manosa (9g, 50mmol) y ácido barbitúrico (6.3g, 50mmol) en agua (100ml) se añadió carbonato sódico hasta pH 7 y se calentó a 80° durante cinco horas, concentrándose a continuación hasta pequeño volumen (~ 15ml). Por adición de metanol hasta turbidez cristalizó el producto 5-*B*-D-Manopiranosilbarbiturato sódico (71) que se recrystalizó por disolución de la mínima cantidad en agua y adición de metanol hasta turbidez (11.6g, 74.3%). P.F. 146.5° . $[\alpha]_D^{21} -21^\circ$ (c, 1; agua).

Espectros IR nº3, RMN nº5 (espectro del 5-*B*-D-Glucopiranosil-1,3-dimetilbarbiturato sódico nº6).

3.4- Reacción de los ácidos barbitúricos con el Ácido glucurónico

3.4.1- *5-β-D-Glucuronopiranosilbarbiturato disódico.*



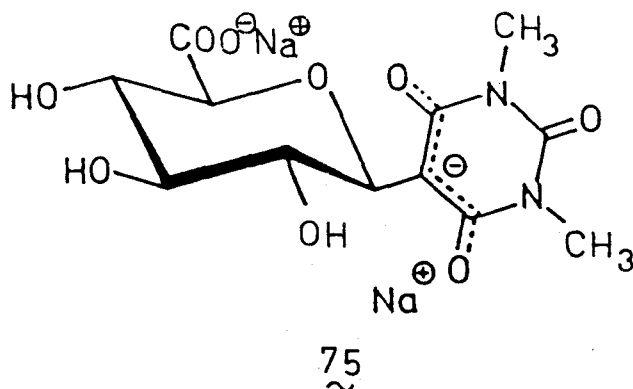
74
~

MÉTODO A) A una disolución de D-Glucurónico en forma de γ -lactona (4.4g, 25mmol) y ácido barbitúrico (3.2g, 25mmol) en agua (50ml) se añadió carbonato sódico hasta pH 7 y se calentó a 40° durante doce horas, concentrándose a continuación hasta pequeño volumen (10ml). Se filtró y por adición de metanol-éter etílico (1:1) hasta turbidez cristalizó el producto *5-β-D-Glucuronopiranosilbarbiturato disódico* (74) que se recrystalizó por disolución de la mínima cantidad en agua y adición de metanol-éter etílico (1:1) hasta turbidez (6.3g, 72.4%). P. F. 232° (desc.); $[\alpha]_D^{20} +12^\circ$ (c, 1; agua).

MÉTODO B) Se procede igual que en el método anterior pero partiendo de la sal sódica del ácido D-Glucurónico (2.2g, 10mmol) y ácido barbitúrico (1.28 g. 10mmol) en 25 ml de agua. Se obtiene el producto *5-β-D-Glucuronopiranosilbarbiturato disódico* (2.3g, 66%).

Espectros IR nº4, RMN nº7.

3.4.2- 5-β-D-Glucuronopiranosil-1,3-dimetilbarbiturato disódico.



MÉTODO A) A una disolución de D-Glucurónico en forma de γ-lactona (4.4g, 25mmol) y ácido 1,3-dimetilbarbitúrico (3.9g, 50mmol) en agua (50ml) se añadió carbonato sódico hasta pH 7 y se calentó a 40° durante doce horas, concentrándose a continuación hasta pequeño volumen (10ml). Se filtró y por adición de metanol-éter etílico (1:1) hasta turbidez cristalizó el producto

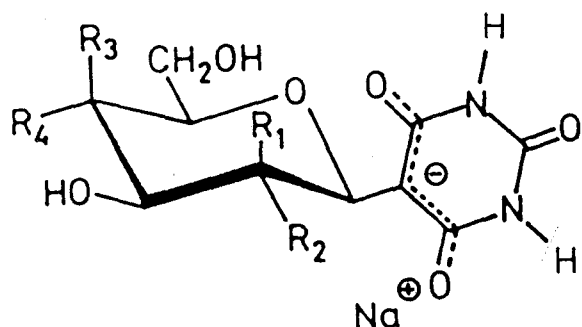
5-β-D-Glucuronopiranosil-1,3-dimetilbarbiturato disódico (75) que se recrystalizó por disolución de la mínima cantidad en agua y adición de metanol-éter etílico (1:1) hasta turbidez (7.2g, 76.6%). P.F. 126°; $[\alpha]_D^{25} +22^\circ$ (c, 1; agua).

MÉTODO B) Se procede de igual manera que en el método anterior pero partiendo de la sal sódica del ácido D-Glucurónico (2.2g, 10mmol) y ácido 1,3-dimetilbarbitúrico (1.6g, 10mmol) en 25 ml de agua. Se obtiene 5-β-D-Glucuronopiranosil-1,3-dimetilbarbiturato disódico (2.4g, 63.8%).

Espectros IR nº5, RMN nº8.

IV-CONCLUSIONES.

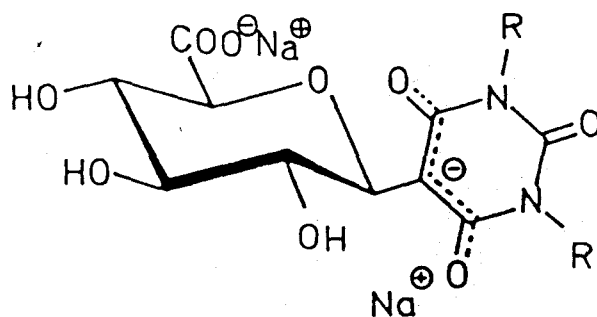
Primera. - Se describe la preparación de los 5-D-glicosilbarbiturato sódicos con estructura D-gluco, D-galacto y D-mano (69, 70 y 71) por reacción de D-glucosa, D-galactosa y D-manosa con ácido barbitúrico.



- 69 $R_1=R_3=H, R_2=R_4=OH$
 ~
 70 $R_1=R_4=H, R_2=R_3=OH$
 ~
 71 $R_2=R_3=H, R_1=R_4=OH$
 ~

69,70,71
 ~ ~ ~

Segunda. - Por reacción de la sal sódica del ácido glucurónico, o de su γ -lactona, con ácido barbitúrico y 1,3-dimetilbarbitúrico se han obtenido los correspondientes glucuronilbarbiturato sódico y glucuronil-1,3-dimetilbarbiturato sódico (74 y 75)



- 74 $R=H$
 ~
 75 $R=CH_3$
 ~

Tercera. - Las estructuras de estas sustancias se han asignado, fundamentalmente, sobre la base de sus espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ^{13}C .

Quarta. - De los estudios de MM2 de los ácidos 5-(tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-1,3-dimetilbarbitúrico (65) y 5-(tri-O-acetil- β -D-ribopiranosil)-1,3-dimetilbarbitúrico (64) se deduce que, en disolución, existe un equilibrio conformacional entre cuatro conformeros, participando dos de ellos preponderantemente. La constante de acoplamiento observada es la media ponderada de las constantes de acoplamiento de cada uno de estos conformeros, existiendo una buena concordancia entre el valor teórico y el experimental.

Quinta. - Del estudio del equilibrio conformacional del ácido 5-(tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-1,3-dimetilbarbitúrico (65) y del ácido 5-(tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)barbitúrico (76) se deduce que la existencia de los grupos metilo no afecta a la posición de dicho equilibrio.

Sexta. - Del estudio comparativo de los cálculos realizados para los acetilderivados de los glicopiranosilbarbitúricos obtenidos a partir de D-glucosa, D-manosa y 2-desoxi-D-glucosa se deduce que el tipo de sustitución en C-2 del anillo glicosídico tiene gran influencia sobre la posición del equilibrio conformacional.

Séptima. - Del estudio comparativo de los cálculos realizados para los acetilderivados de los glicopiranosil-1,3-dimetilbarbitúricos obtenidos a partir de D-glucosa y D-ribosa se deduce que el tipo de sustitución en los carbonos C-3 y C-5 del anillo glicosídico no afecta a la posición del equilibrio conformacional.

V-BIBLIOGRAFÍA.

1. R.J. Suhadolnik, "*Nucleoside Antibiotics*", Wiley-Interscience, New York, N.Y., (1970)
2. R.T. Walker, E.D. Clercq y F.Eckstein, "*Nucleoside Analogues. Chemistry Biology and Medical Applications*", NATO Advanced Study Institute Series, A-26, Plenum Press (1979).
3. G.D. Daves, C.C. Cheng, *Prog. Med. Chem*, **13**, 303 (1976).
4. J.H. Burchenal, K. Ciovacco, K. Kalaher, T. O'Toole, R.Kiefner, M.D. Dowling, C.K. Chu, K.A. Watanabe, I. Wempen, y J.J. Fox, *Cancer Res.*, **36**, 1520 (1976).
5. C.K. Chu, K.A. Watanabe y J.J. Fox, *Journal Heterocycl. Chem.*, **12**, 817 (1975).
6. K. Gerzon, D.C. Delong y J.C. Cline, *Pure Appl. Chem.*, **28**, 489, (1975).
7. R.A. Sharma, M. Bobek, A. Block, *J. Med. Chem.*, **18**, 473 (1975)
8. G.D. Daves y C.C. Cheng, *Progr. Med. Chem.*, **13**, 303 (1976).

9. S.Y-K. Tam, J.S. Hwang, F.G. de las Heras, R.S. Klein y J.J. Fox, *J. Heterocycl. Chem.*, **3**, 1305, (1976).
10. S.Y-K. Tam, I. Wempen y J.J. Fox, *Journal Org. Chem.*, **44**, 4547 (1979).
11. Carlos Jaime Cardiel, Conferencia Facultad de Ciencias Universidad de Valladolid, no impresa, (1985).
12. U. Burkert, N.L. Allinger, "*Molecular Mechanics*", **177 ACS monograph.**, pag 11, American Chemical Society, New York (1982).
13. D.H. Andrews, *Phys rev*, **36**, 544 (1930).
14. N.L. Allinger, M.T. Tribble, M.A. Miller, y D.H. Wertz, *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 1637 (1971).
15. D.H. Wertz y N.L. Allinger, *Tetrahedron*, **30**, 1579 (1974).
16. N.L. Allinger y J.T. Sprague, *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 3893, (1973).
17. N.L. Allinger, J.T. Sprague y T. Liljefors, *J. Am. Chem. Soc.*, **96**, 5100 (1974).

18. N.L. Allinger, *Advanced in Phys. Org. Chem.*, **13**, 1, (1976).
19. N.L. Allinger, *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 8127 (1977).
20. C.A.G. Haasnoot, F.A.A.M. de Leeuw, y C. Altona, *Tetrahedron*, **36**, 2783-2792, 1980.
21. Carlos Jaime Cardiel, *comunicación personal*.
22. W.J. Ritcher, K.O. alt, W. Dieterle, J.W. Faigle, H. Kriemler, H. Mori, y T. Winkler, *Helv. Chim. Acta*, **58**, 2512-2792 (1975).
23. L. Velasco, "*Farmacología y su Proyección a la Clínica*", pag 127, Ed. Oteo, Madrid (1974).
24. M. Litter, "*Compendio de Farmacología*", pag 83-85, Ed. "El Ateneo", Barcelona (1984).
25. M. Avalos González, J.L. Jiménez Requejo, J.C. Palacios Albarrán, y J.A. Gálbis Pérez, *Carbohydrate Research*, **158**, 53-56 (1986).
26. M. Bobek, J. Farkas, y F. Sorm, *Tetrahedron Lett.*, 3115 (1960).

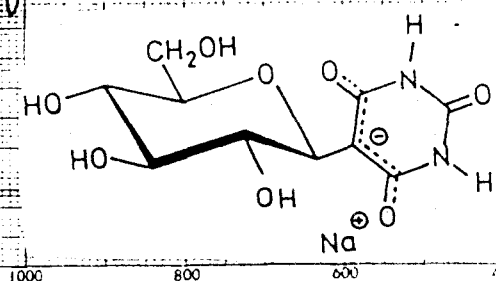
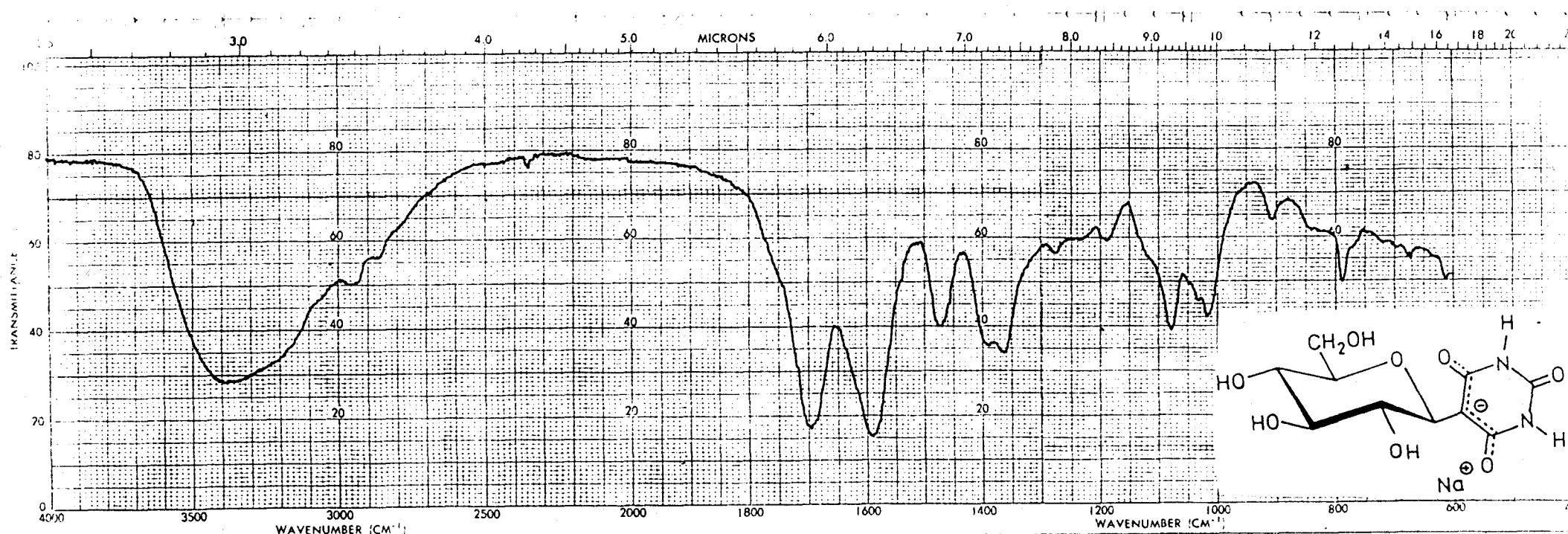
- 27 R. Shapiro y R.W. Chambers, *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 1920 (1961).
28. W.A. Asbun y S.B. Binkley, *J. Org. Chem.*, **83**, 140 (1968).
29. S. Hanessian y A.G. Pernet, *Advanced in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, **33**, 111 (1976).
30. M. Bobek y J. Farkas, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **34**, 247 (1969).
31. H.P. Albrecht, D.B. Repke y J.G. Moffatt, *J. Org. Chem.*, **38**, 1841 (1973).
32. H.P. Albrecht, D.B. Repke y J.G. Moffatt, *J. Org. Chem.*, **38**, 1843 (1973).
33. G. Trummlitz y J.G. Moffatt, *J. Org. Chem.*, **38**, 1841 (1973).
34. L. Kaldova, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **38**, 1679, (1973).
35. H. Ohuri y J.J. Fox, *Tetrahedron Lett.*, 1951 (1973).

36. F. García González, M. Gómez Guillen, J.A. Galbis Pérez y P. Areces Bravo, *An. Quim.*, **75**, 756 (1979).
37. F. García González, M. Gómez Guillen, J.A. Galbis Pérez y E. Román Galán, *Carbohydr. Res.*, **78**, 17 (1980).
38. F. García González, M. Gómez Guillen, J.A. Galbis Pérez y E. Román Galán, *Carbohydr. Res.*, **80**, 37 (1980).
39. Yu.A. Zhadnov y G.V. Bogdanova, *Khim. Geterotssiki .Soedin., Akad. Nauk. Latv.*, **56** (1966); *Chemical Abstracts.* **65**, 2337 (1966).
40. K. Bock y C. Pedersen, *Advan. Carbohydr. Chem. and Biochem.*, **41**, 27 (1983).
41. V.S.R. Rao, P.R. Sundarajan, C. Ramakrishnan, G.N. Ramachandran. "Conformación en Biopolímeros, pag 721, Ed. Academic, London (1967).
42. V.S.R. Rao, P.R. Sundarajan, *Tetrahedron*, **24**, 289 (1968).
43. A.A. Lugovski, V.G. Dashevskii, *Zh. Strukt. Khim.* **2**, 112 (1972).
44. N.L. Allinger, P. Crabbe, G. Pérez, *Tetrahedron.*, **22**, 1615 (1966).

45. M. Millán, C.F. Conde, A. Conde, y R. Márquez, *Acta Cryst.*, C41, 274-277 (1985).

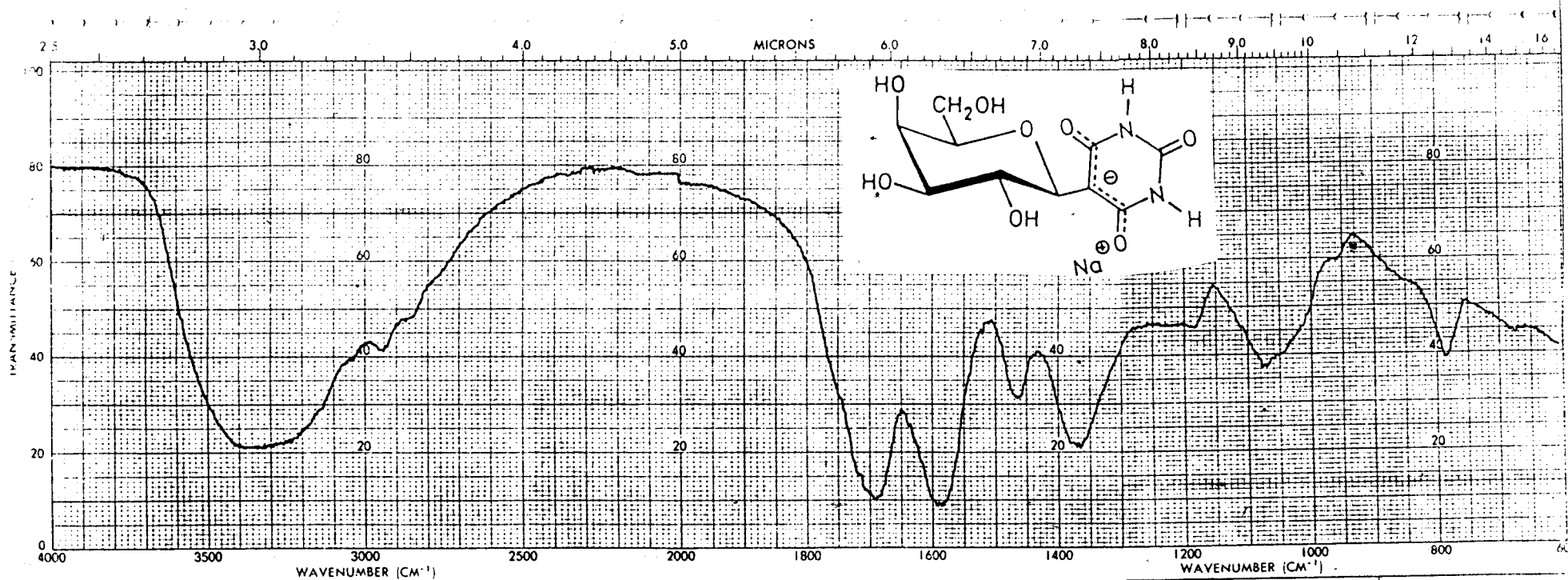
46. B. Coxon, *Carbohyd. Res.*, 8, 125 (1968).

APÉNDICE I. ESPECTROS DE IR.

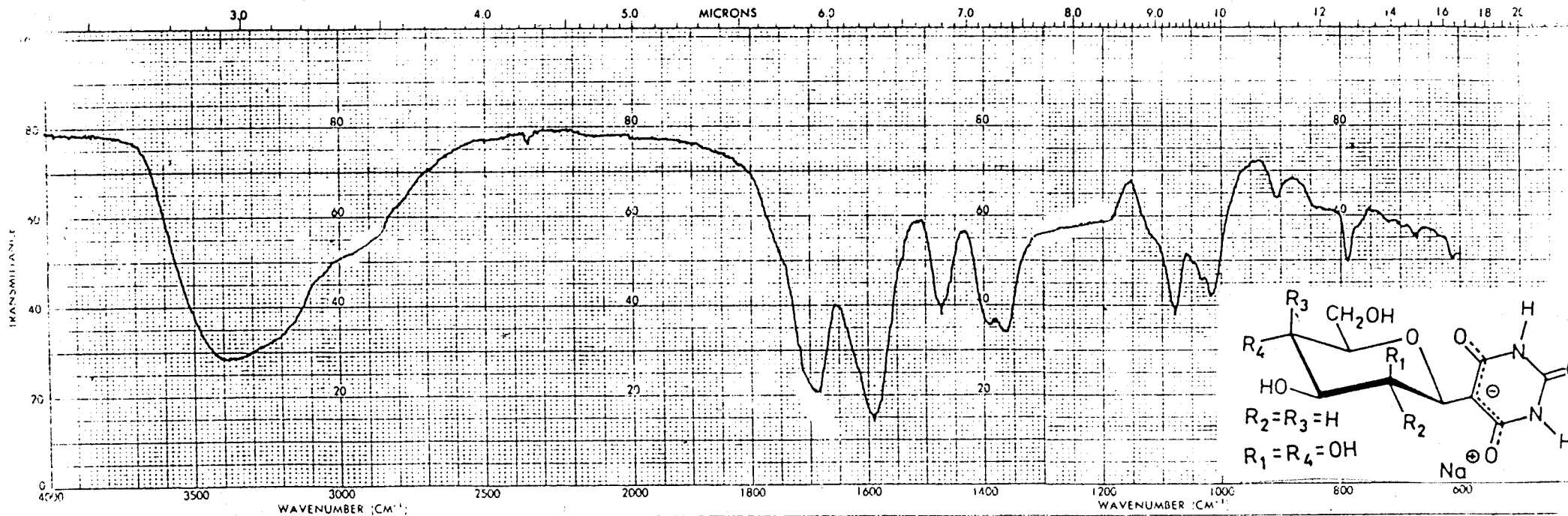


SAMPLE <i>Sodium Salt</i>	SOLVENT	REMARKS	SCAN MODE	OPERATOR
	CONCENTRATION		SLIT	DATE
ORIGIN	CELL PATH		PART No 5109-4367	REF. No
	REFERENCE <i>Nr 1</i>			

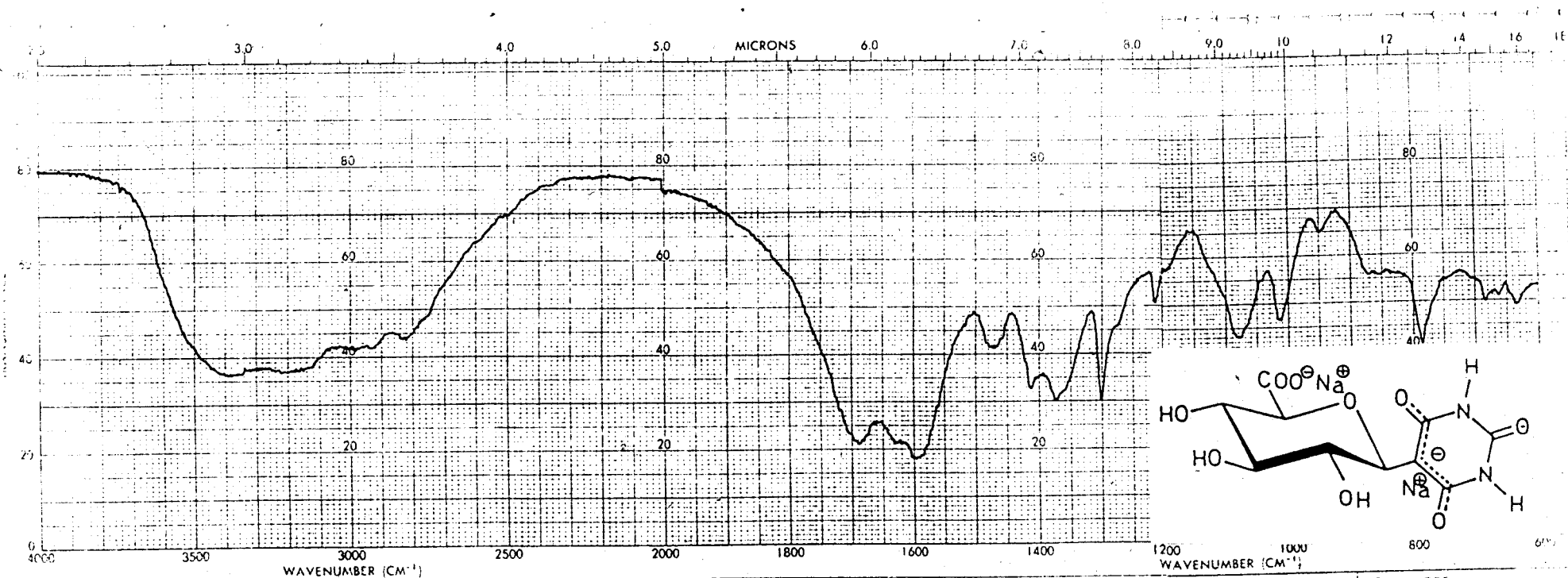
Espectro nº1. Compuesto . 69



SAMPLE <i>β-D-ribofuranose</i> ORIGIN	SOLVENT CONCENTRATION CELL PATH REFERENCE <i>W.A.</i>	REMARKS	SCAN MODE SLIT TIME CONSTANT PART No. 5100-4367
--	--	---------	--



SAMPLE #	SOLVENT	REMARKS	SCAN MODE	OPERATOR
1	CONCENTRATION		SLIT TIME CONSTANT	DATE
COPY/IN	CELL PATH		PART No 3102-4367	REF. No
	REFERENCE #1			

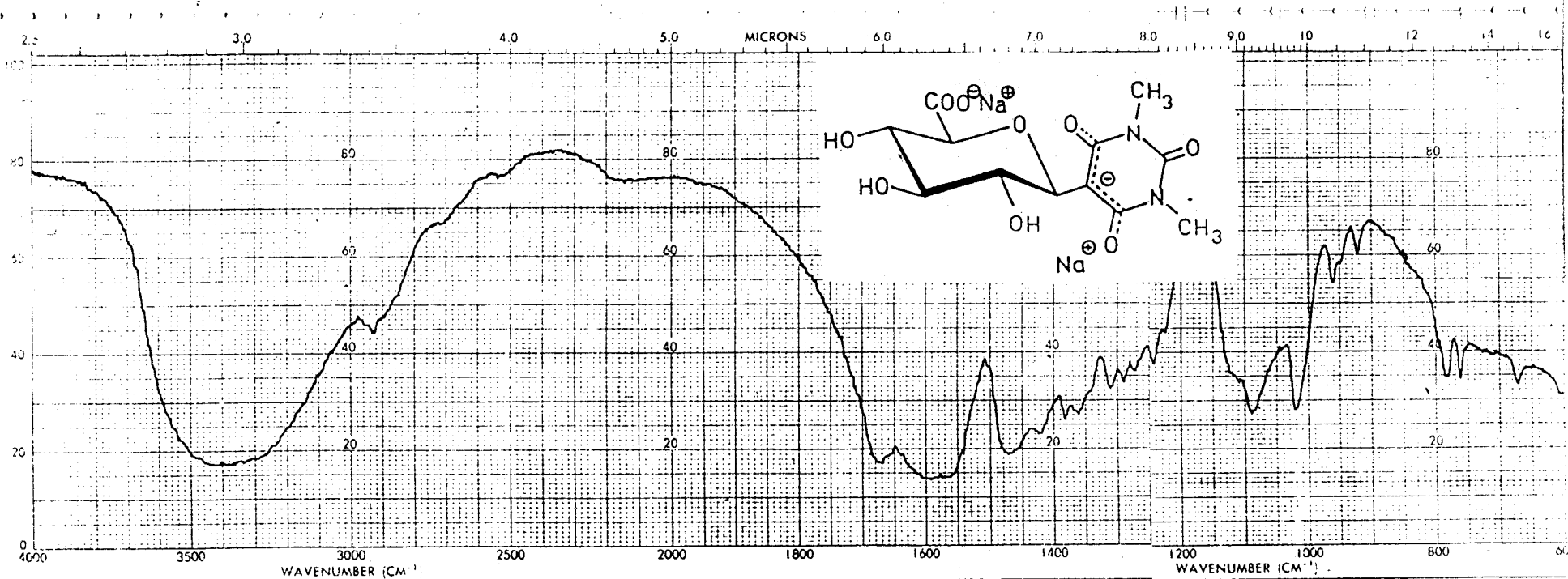


AMPLI *2.2 x 10⁻³*
 ORIGIN

SOLVENT
 CONCENTRATION
 CELL PATH
 REFERENCE *ESPECTRO 114*

REMARKS

SCAN MODE
 SEIT TIME CONSTANT
 PART No. *5100-4507*



SAMPLE
 25 mg
 SOLVENT
 CONCENTRATION
 CELL PATH
 REFERENCE N°5

SOLVENT
 CONCENTRATION
 CELL PATH
 REFERENCE N°5

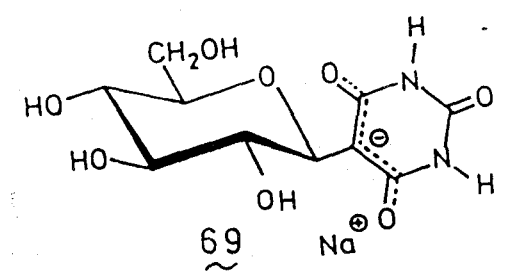
REMARKS

SCAN MODE
 SPLIT TIME CONSTANT
 PART No 5107-1567

APÉNDICE II. ESPECTROS DE ^{13}C -RMN.

FDA 004

#	CURSOR	FREQ	PPM	INTEGRAL	INTENSITY
1	753	3381.711	167.8350	1.276	3.270
2	997	3108.614	154.2812	.245	1.007
3	2218	1741.476	88.4298	1.107	3.518
4	2322	1625.005	80.6493	2.860	8.387
5	2346	1598.122	79.3151	2.742	8.577
6	2408	1528.457	75.8576	2.979	9.608
7	2502	1423.759	70.6619	6.104	14.000
8	2659	1247.393	61.9084	3.094	8.535



C-2', C-4'

C-5'
C-3'
C-1'
C-6'

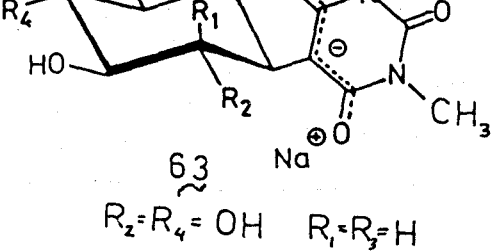
C-4
C-6

C-2

C-5

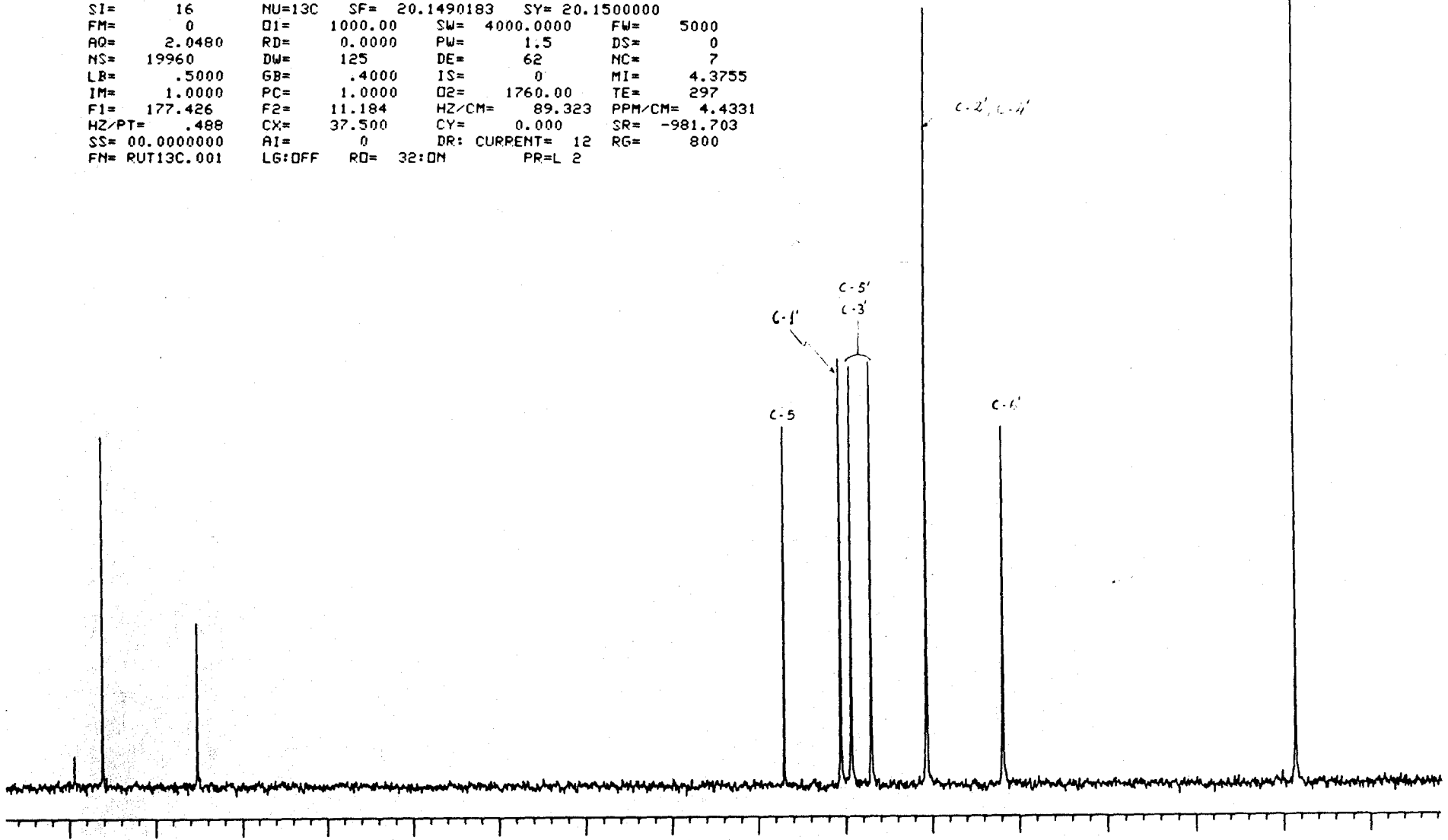
FCA. 004

1	1295	3349.363	166.2296	4.148	9.251
2	1747	3128.630	155.2746	2.018	4.375
3	4561	1754.678	87.0850	3.290	9.453
4	4829	1623.863	80.5927	7.424	11.234
5	4879	1599.507	79.3839	7.446	11.060
6	4973	1553.321	77.0916	7.339	11.175
7	5237	1424.729	70.7096	14.844	20.350
8	5601	1246.845	61.8812	7.873	9.452
9	6972	577.510	28.6620	12.688	23.807



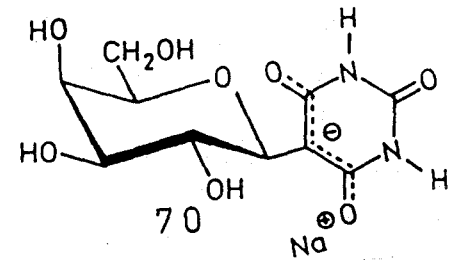
2.LP

ON QP BB HT 12H
SI= 16 NU=13C SF= 20.1490183 SY= 20.1500000
FM= 0 D1= 1000.00 SW= 4000.0000 FW= 5000
AQ= 2.0480 RD= 0.0000 PW= 1.5 DS= 0
NS= 19960 DW= 125 DE= 62 NC= 7
LB= .5000 GB= .4000 IS= 0 MI= 4.3755
IM= 1.0000 PC= 1.0000 Q2= 1760.00 TE= 297
F1= 177.426 F2= 11.184 HZ/CM= 89.323 PPM/CM= 4.4331
HZ/PT= .488 CX= 37.500 CY= 0.000 SR= -981.703
SS= 00.0000000 AI= 0 DR: CURRENT= 12 RG= 800
FN= RUT13C.001 LG:OFF RD= 32:0M PR=L 2



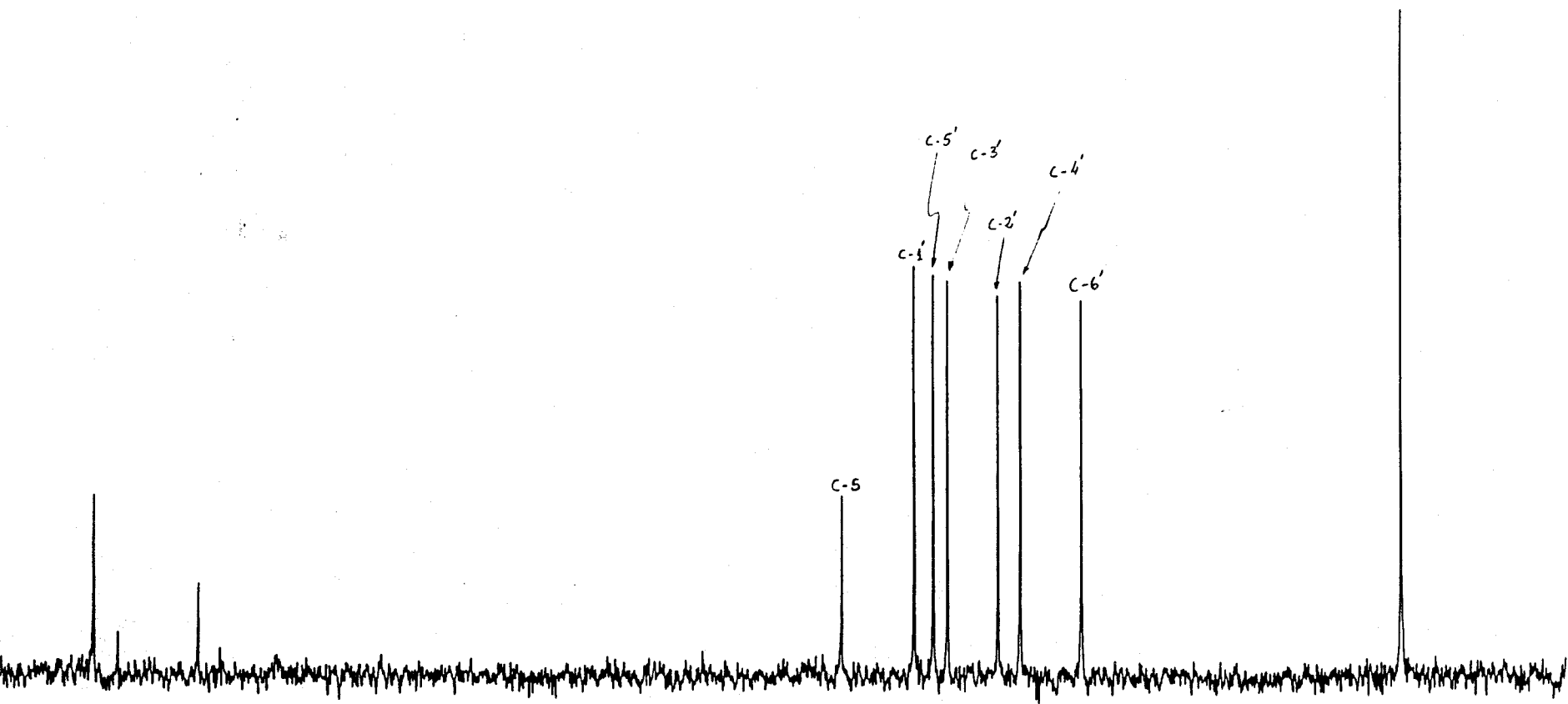
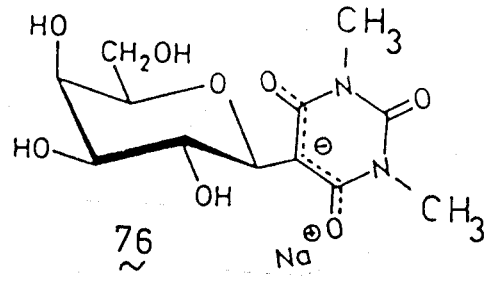
FDA.005

#	CURSOR	FREQ	PPM	INTEGRAL	INTENSITY
1	752	3383.471	167.9224	2.144	2.706
2	997	3108.761	154.2885	.777	1.311
3	2215	1744.752	86.5924	1.689	3.352
4	2336	1609.183	79.8641	5.325	11.105
5	2396	1541.975	76.5285	5.995	12.000
6	2401	1536.414	76.2525	5.645	11.706
7	2496	1429.670	70.9548	5.781	8.022
8	2538	1382.953	68.6363	5.506	11.772
9	2652	1255.226	62.2971	5.738	10.501
10	2871	1010.023	50.1276	4.647	10.585

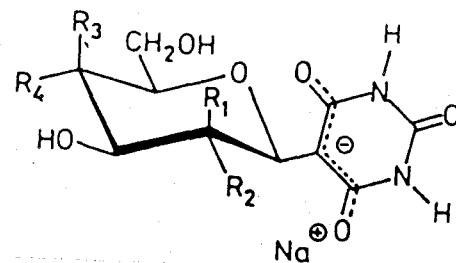


FDA.005

#	CURSOR	FREQ	PPM	INTEGRAL	INTENSITY
1	1291	3351.369	166.3292	3.880	4.317
2	1745	3129.691	155.3272	1.573	2.202
3	4555	1757.701	87.2351	2.523	4.292
4	4867	1605.161	79.6645	7.415	9.761
5	4949	1565.087	77.6756	7.835	9.552
6	5010	1535.613	76.2128	7.465	9.427
7	5228	1428.795	70.9114	6.971	9.066
8	5323	1382.373	68.6075	7.489	9.400
9	5587	1253.528	62.2128	7.604	8.940
10	6971	578.031	28.6878	13.316	15.964

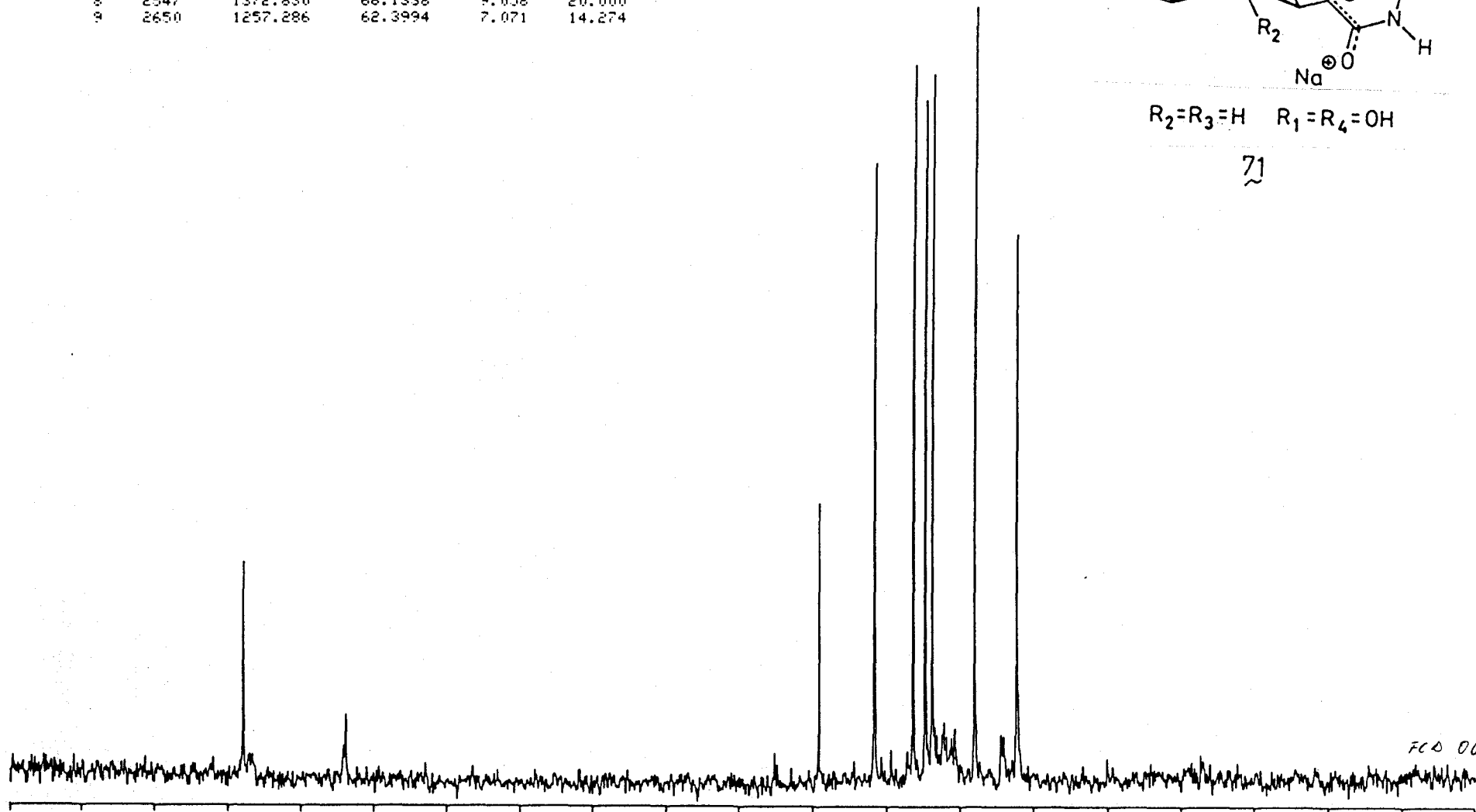


#	CUPSDF	FREQ	PPM	INTEGRAL	INTENSITY
1	749	3386.461	168.0708	2.719	5.871
2	1004	3100.843	153.8955	1.294	1.994
3	2168	1797.352	89.2030	2.816	7.494
4	2302	1647.278	81.7548	8.029	16.067
5	2397	1540.845	76.4725	7.206	18.526
6	2426	1508.373	74.8609	7.477	17.672
7	2443	1489.263	73.9125	8.215	18.312
8	2547	1372.830	68.1338	9.058	20.000
9	2650	1257.286	62.3994	7.071	14.274



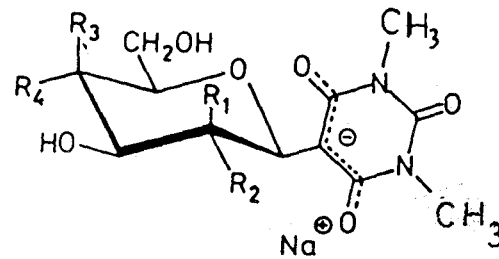
$R_2=R_3=H$ $R_1=R_4=OH$

71

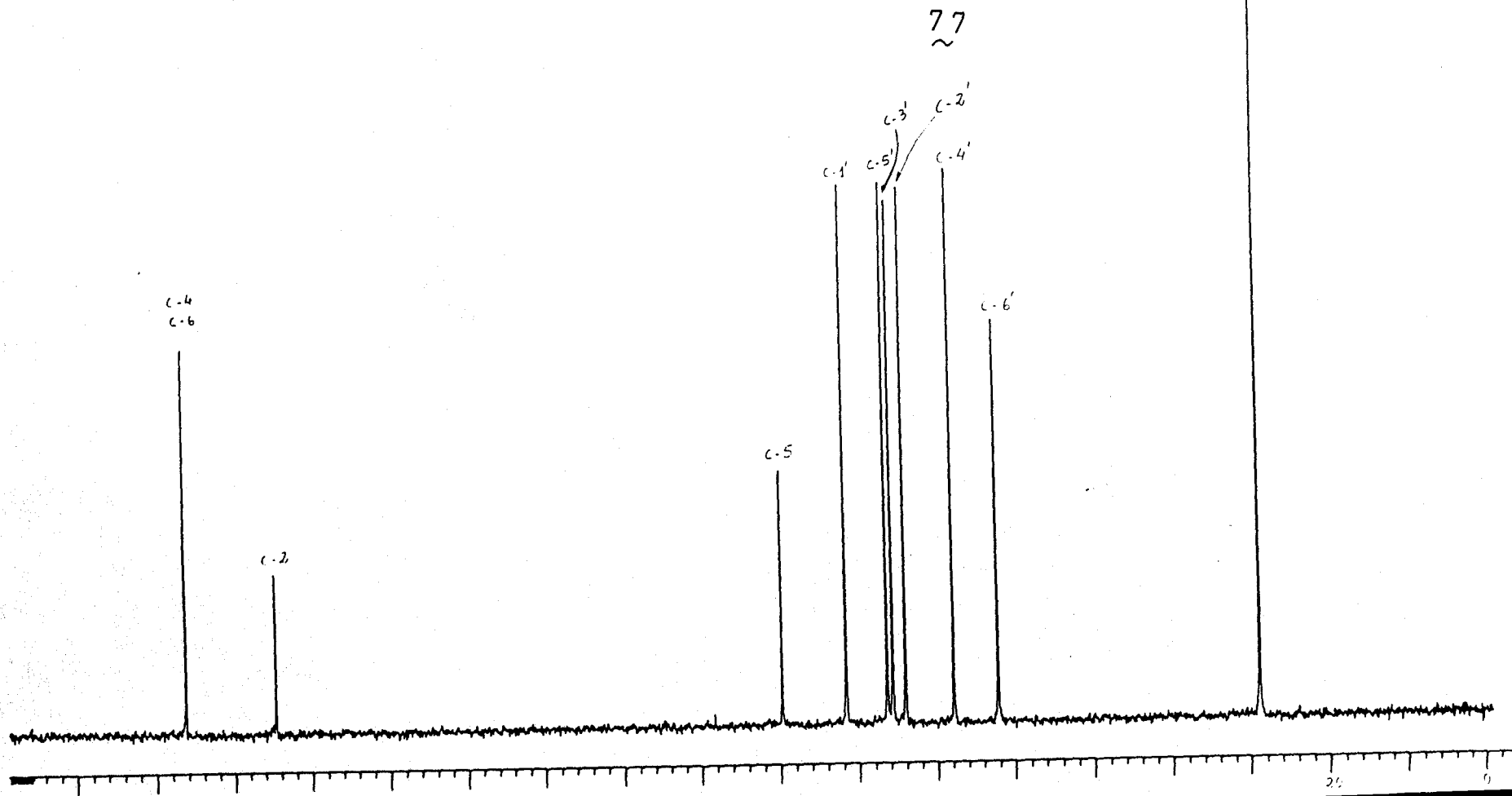


FCS 002

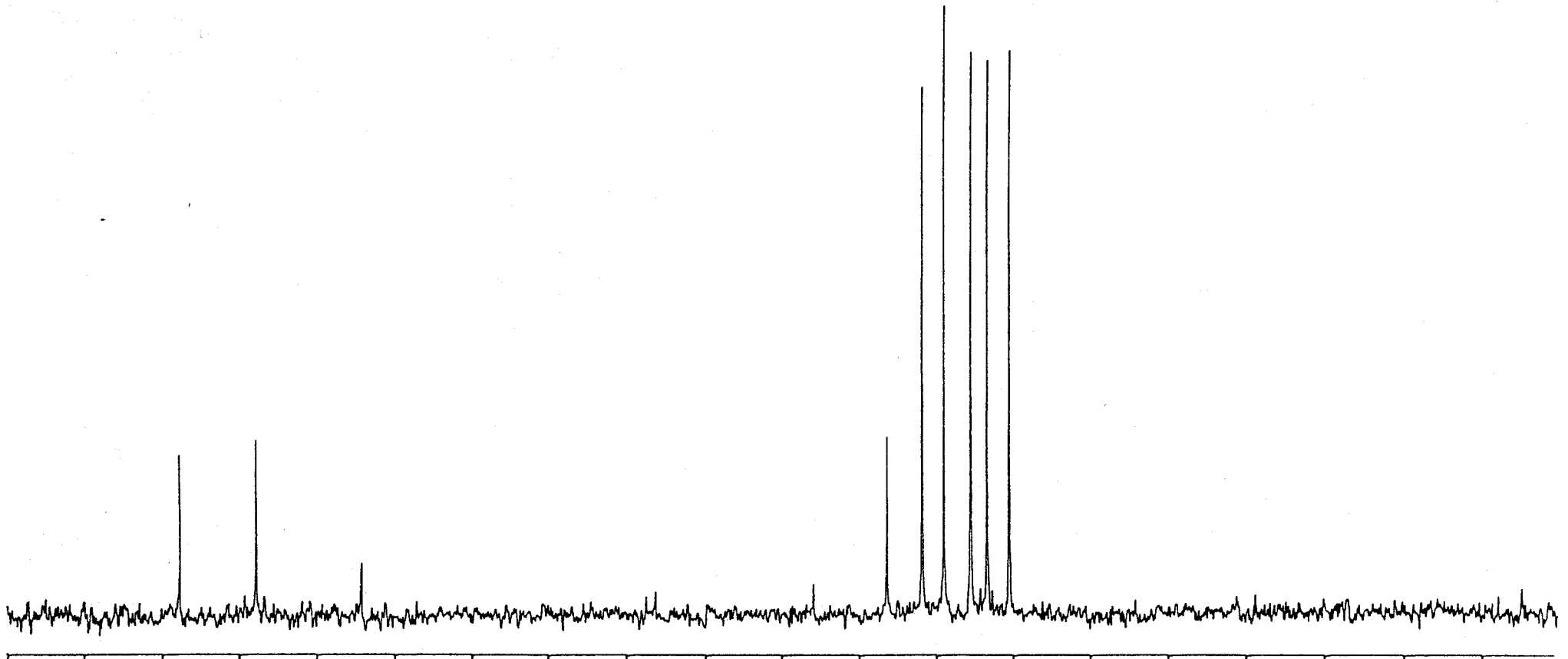
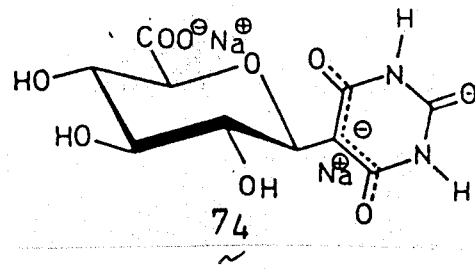
#	CURSQR	FREQ	PPM	INTEGRAL	INTENSITY
1	1291	3351.441	166.3327	3.059	9.556
2	1772	3116.521	154.6736	1.526	4.014
3	4449	1809.560	89.8088	2.563	6.353
4	4784	1645.838	81.6833	6.083	13.350
5	4999	1540.819	76.4711	5.800	13.387
6	5028	1526.729	75.7719	5.771	12.959
7	5096	1493.387	74.1171	5.646	13.272
8	5352	1368.446	67.9163	5.593	13.708
9	5587	1253.710	62.2219	5.644	10.015
10	6960	583.217	28.9452	10.026	25.000



$R_2=R_3=H$ $R_1=R_4=OH$



4	2319	1740.326	86.3727	2.515	5.984
5	2300	1649.286	81.8544	8.440	17.371
6	2351	1592.365	79.0294	8.698	20.000
7	2414	1521.712	75.5229	8.701	18.476
8	2453	1478.287	73.3677	9.212	18.233
9	2504	1421.112	70.5301	7.762	18.546



3	979	3128.478	155.2670	1.176	2.351
4	2203	1752.527	86.9783	2.000	5.707
5	2301	1647.938	81.7875	5.432	9.790
6	2349	1594.094	79.1152	5.781	9.188
7	2392	1546.693	76.7627	5.433	10.392
8	2451	1480.443	73.4747	5.676	12.022
9	2502	1422.941	70.6209	5.238	9.911
10	3256	578.786	28.7253	9.586	22.000

