

14354

x/714



**Facultad de Química
Departamento de Química Orgánica
Universidad de Sevilla**

**Síntesis de Pseudooligosacáridos con puentes de tipo
Carbamida y de Glicomiméticos relacionados con las
Polihidroxiindolizidinas.
Estudios de Inhibición Enzimática.**

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'V.M. Díaz Pérez', written over a horizontal line.

VÍCTOR MANUEL DÍAZ PÉREZ

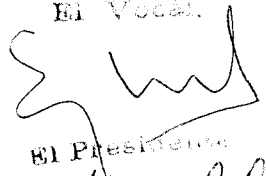
Sevilla, Septiembre 1998

UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA

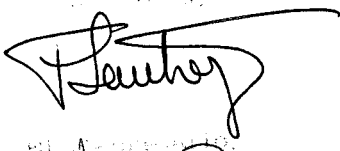
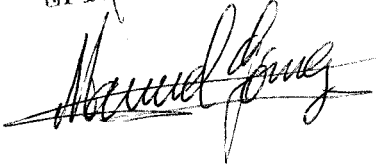
Reunido el Consejo de Facultad de Ciencias Químicas, en sus sesiones ordinarias, celebradas el día 16 de Octubre de 1988, en el día 16 de Octubre de 1988, en el aula 10 del edificio de la Facultad de Ciencias Químicas, en la ciudad de Montevideo, Uruguay, a las 10:00 horas, con la asistencia de los señores: **firmantes**
D. Víctor Manuel Díaz Pérez, Director de la Facultad de Ciencias Químicas, y los señores: **Director** y **Secretario** de la Facultad de Ciencias Químicas.

Se aprobó el título de **Victor Manuel Diaz Pérez**
titulado **Síntesis de pseudopoligopacáridos con puentes de tipo carbamida y de glicosínicos relacionados con las polihidroxiindolizinas. Estudio de inhibición enzimática.**
según el expediente N.º 10.000/88. **Dpto. Químico**
por unanimidad
Señala **16 de Octubre**

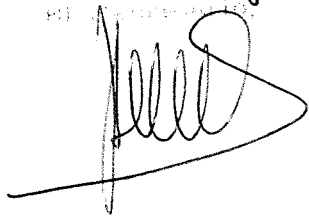
El Vocal,



El Presidente,

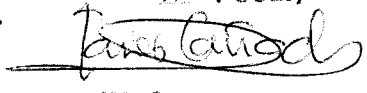


El Secretario,

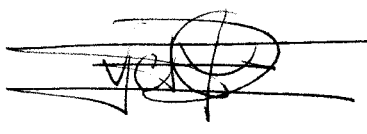


98

El Vocal,



El Doctorado,





**Facultad de Química
Departamento de Química Orgánica
Universidad de Sevilla**

**Síntesis de Pseudooligosacáridos con puentes de tipo
Carbamida y de Glicomiméticos relacionados con las
Polihidroxiindolizidinas.
Estudios de Inhibición Enzimática.**

Vº Bº de los directores

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Fuentes Mota'.

Fdo.: José Fuentes Mota
Catedrático de Química Orgánica.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Carmen Ortiz Mellet'.

Fdo.: Carmen Ortiz Mellet
Profesora Titular de Química
Orgánica.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'José Manuel García Fernández'.

Fdo.: José Manuel García Fernández
Colaborador Científico del C.S.I.C.

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
CENTRO GENERAL

Queda inscrita esta Tesis Doctoral
al folio 63 número 97 del libro
correspondiente

Sevilla, 7-JULIO-98

El jefe del Neociado de Tesis

Alena Raffelt

UNIVERSIDAD DE SEVILLA,

Depositado en Dpto de Química Orgánica
de la Facultad de Química,
de esta Universidad desde el día 9 de julio
hasta el día 5 de septiembre de 1998

Sevilla 9 de julio de 1998

EL DIRECTOR DEL Dpto

~~*J. Mendez*~~



NOTAS

1. Las "Figuras" con números en caracteres arábigos corresponden a los espectros de RMN seleccionados y se recogen en el apartado 8.
2. Las "Figuras" con números en caracteres romanos apoyan la discusión y están intercaladas en el texto.

ABREVIATURAS

Ac: Acetil.

BSA: *N,O*-Bis-(trimetilsilil)acetamida.

BTC: Bis-(triclorometil)carbonato.

DCC: *N,N'*-Diciclohexilcarbodiimida.

DIEA: *N*-Etildiisopropilamina.

DNJ: 1-Desoxinojirimicina.

c.c.f.: Cromatografía en capa fina.

conf.: Configuración.

CPG: Cromatografía de permeación sobre gel.

DMAP: 4-(*N,N*-Dimetilamino)piridina.

DMF: *N,N*-Dimetilformamida.

EM(FAB): Espectrometría de masas (bombardeo con átomos rápidos).

NJ: Nojirimicina

IR: Infrarrojo.

RMN: Resonancia magnética nuclear.

Tf: Triflato (trifluorometanosulfonato).

TFA: Ácido trifluoroacético.

THF: Tetrahidrofurano

TMS: Trimetilsilil.

TPP: Trifenilfosfina.

ÍNDICE GENERAL.

1. INTRODUCCIÓN.	1
2. ANTECEDENTES.	13
2.1. Pseudooligosacáridos con puentes de tipo carbamida.	
2.2. Polihidroxiindolizidinas.	
3. NOMENCLATURA.	19
3.1. Carbodiimido-, ureido- y tioureidoazúcares.	
3.2. 5,6-(Tio)carbamatos cíclicos y 5,6-(tio)ureas cíclicas derivadas de azúcares.	
3.3. Aza(oxa)castanosperminas.	
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	23
4.1. Pseudooligosacáridos con uniones de tipo urea, tiourea y carbodiimida.	
4.1.1. Síntesis de tioureilenglicobiosas por reacción de isotiocianatos de azúcares con aminoazúcares.	
4.1.2. Síntesis de (tio)ureilenglicobiosas via carbodiimidias. Reacción de tipo aza-Wittig entre isotiocianatos e iminofosforanos de azúcares.	
4.1.3. Análisis conformacional de (tio)ureilenoligosacáridos.	
4.2. Glicomiméticos relacionados con la Castanospermina.	
4.2.1. Síntesis y reactividad de 5,6-(tio)carbamatos cíclicos de hexosas. Preparación de 2-oxa-(+)-castanosperminas.	
4.2.2. Síntesis y reactividad de 5,6-(tio)ureas cíclicas de hexosas. Preparación de 2-aza-(+)-castanosperminas.	
4.2.3. Evaluación de las propiedades de inhibición enzimática de 2-aza(oxa)-(+)-castanosperminas frente a diversas glicosidasas.	

5. PARTE EXPERIMENTAL.	113
5.1. Métodos generales.	
5.2. Materias primas.	
5.2.1. Productos comerciales.	
5.2.2. Purificación de disolventes.	
5.2.3. Sustancias de partida.	
5.3. Nuevos productos.	
5.3.1. Reacción de 6-desoxi-6-isotiocianatoazúcares con β -D-glucopiranosilamina. Preparación de tioureilengentiobiosas.	
5.3.2. Estudio de la reacción de tipo aza-Wittig en sustratos glucídicos. Síntesis de pseudooligosacáridos con puente de carbodiimida.	
5.3.3. Reactividad de carbodiimidas de azúcares. Preparación de pseudooligosacáridos con puentes de urea y tiourea.	
5.3.4. Preparación de 5,6-(tiocarbamatos cíclicos) de D-glucosa y L-idosa.	
5.3.5. Preparación de 5,6-(carbamatos cíclicos) de D-glucosa y L-idosa.	
5.3.6. Obtención de 2-oxa-(+)-castanosperminas.	
5.3.7. 5,6-Diamino-5,6-didesoxiazúcares y precursores.	
5.3.8. Preparación de 5,6-(tioureas cíclicas) de D-glucosa y L-idosa.	
5.3.9. Preparación de 5,6-(ureas cíclicas) de D-glucosa y L-idosa.	
5.3.10. Obtención de 2-aza-(+)-castanosperminas.	
6. CONCLUSIONES.	205
7. BIBLIOGRAFÍA.	211
8. FIGURAS.	221

1. INTRODUCCION

1. INTRODUCCIÓN.

Existen sustancias naturales que presentan una gran analogía estructural con los carbohidratos, tales como *C*-glicósidos, algunos alcaloides polihidroxilados y otros compuestos relacionados, que actúan como inhibidores potentes de los enzimas encargados de procesar las glicoproteínas. Estos productos han proporcionado los primeros ejemplos de lo que se ha dado en llamar "glicomiméticos", compuestos que imitan un azúcar natural o el estado de transición de una transformación enzimática. Salvo casos aislados, el desarrollo del concepto de "imitación molecular" en el campo de los carbohidratos está mucho menos avanzado que en el campo de los péptidos, probablemente debido a la mayor complejidad química que presentan y al elevado número de combinaciones (glicanos, glicosaminoglicanos, glicolípidos, etc.) a que pueden dar lugar. No obstante, desde finales de los ochenta, con el aumento en el conocimiento de las múltiples funciones que desempeñan los carbohidratos en los procesos biológicos, se ha producido un interés creciente por la síntesis tanto de análogos de azúcares sencillos como de estructuras oligosacáridicas complejas.

Las modificaciones introducidas en los glicomiméticos, en comparación con el correspondiente carbohidrato natural, son en general más de tipo "funcional" que estructural, en el sentido de que se actúa sobre el grupo funcional implicado primariamente en el metabolismo de los azúcares, la función acetálica. Esto da lugar a compuestos incapaces de sufrir las transformaciones metabólicas normales de los carbohidratos, interfiriendo de esta manera con su metabolismo. Dos de las estrategias que han experimentado un mayor desarrollo en este sentido son: (i) la síntesis de análogos de oligosacáridos en los que el oxígeno intersacárido es sustituido por otro átomo o grupo de átomos y (ii) la preparación de análogos monosacáridicos en los que el oxígeno endocíclico ha sido reemplazado por un átomo de nitrógeno (iminoazúcares).

Ambas problemáticas han sido abordadas en esta Tesis con un objetivo común: desarrollar métodos de síntesis de glicomiméticos compatibles con la polifuncionalidad de los

azúcares y lo suficientemente versátiles como para permitir acceder a una amplia variedad de estructuras con un coste sintético reducido. En concreto, los objetivos planteados han sido:

(1) La preparación de pseudooligosacáridos con uniones de tres átomos derivadas de los ácidos carbámico o tiocarbámico.

(2) La síntesis de iminoazúcares relacionados con las polihidroxiindolizidinas que incorporan los grupos funcionales anteriores y su evaluación como inhibidores de las enzimas que hidrolizan las uniones glicosídicas.

Los puentes intermonosacáridicos de tres átomos aparecen, como un rasgo estructural fundamental, en compuestos de gran significación biológica. El grupo funcional más importante en este sentido es, con diferencia, el grupo fosfato diéster presente en los ácidos nucleicos, en los nucleósido fosfatoazúcares implicados en la biosíntesis oligosacáridica, y en los fosfoglicanos de la pared celular de muchas bacterias. La sustitución de estos puentes intermonosacáridicos por otros de distinta naturaleza permite obtener sustancias que guardan una estrecha analogía estructural con los compuestos naturales, susceptibles de encontrar aplicación en el desarrollo de ensayos de diagnóstico, vacunas o como inhibidores enzimáticos.

Los esfuerzos dirigidos a la modificación química de la agrupación fosfato han sido y son particularmente intensos en el campo de los polinucleótidos [1,2]. Entre los espaciadores más interesantes descritos se encuentran los grupos funcionales de tipo amida y pseudoamida (amida [1-6], carbamato [1,2,7], urea [2,8], tiocarbamato [9], tiourea [10]), isostéricos de fosfato y que adoptan geometrías similares. A la vista de estos resultados, en esta Tesis nos hemos planteado la síntesis y el estudio estructural de análogos de oligo(glicosil)fosfatos en los que el esqueleto fosfodiéster es reemplazado por un grupo urea o tiourea (Figura I).

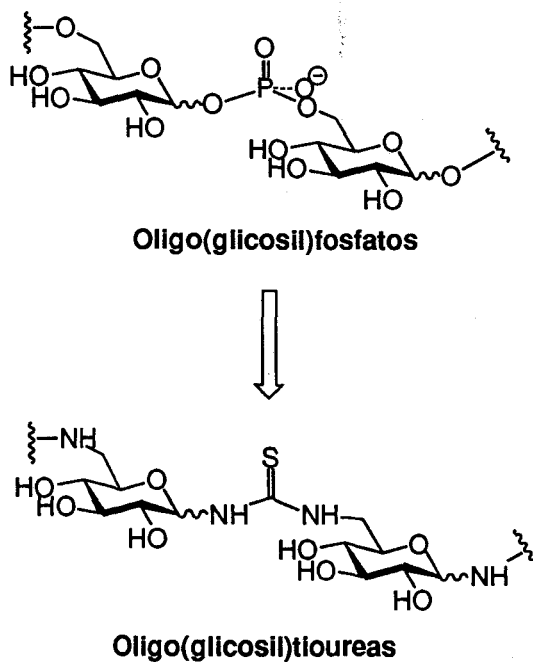


Figura I

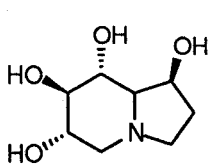
Si bien se han descrito varias aproximaciones para la síntesis de glicomiméticos oligosacáridicos con uniones de tipo carboxamida [11-14] ("sacaropéptidos"), la preparación de análogos de pseudooligosacáridos con espaciadores interglicosídicos de tipo carbamida ha sido mucho menos estudiada, limitándose en la mayoría de los casos a compuestos con los hidroxilos protegidos [15]. Un estímulo adicional para abordar la síntesis de estos derivados es que estarían directamente relacionados con una familia importante de antibióticos aminoglicosídicos naturales, las glicocinamoilespermidinas, en los que dos unidades de carbohidrato están enlazadas a través de un puente de urea [16,17].

La segunda parte de esta Tesis está dedicada a la preparación de glicomiméticos bicíclicos estructuralmente relacionados con la castanospermina. Este alcaloide polihidroxiado fué aislado en 1981 de las semillas del árbol australiano *Castanospermum australe* [18], y es un

inhibidor de varias glicosidasas [19]. La primera síntesis de la castanospermina y la determinación de su configuración absoluta se debe a Bernotas y Ganem [20].

Aunque la castanospermina es también un potente inhibidor de varias glucosidasas intestinales, su utilización con fines terapéuticos está limitada debido a su toxicidad, resultante probablemente de la inhibición inespecífica de varias glucosidasas [21].

Las modificaciones sintéticas realizadas sobre la castanospermina han demostrado que las alteraciones en la configuración del anillo de piperidina o la eliminación de grupos hidroxilos reduce drásticamente su poder como inhibidor [22-25]. Nuestra aproximación ha consistido en mantener estos rasgos estructurales esenciales e introducir un hidroxilo adicional sobre el carbono C-5, homólogo de la posición anomérica. Simultáneamente se han realizado modificaciones en el esqueleto destinadas a ejercer un control orbital sobre la configuración de este hidroxilo pseudoanomérico. La idea de partida consiste en transformar el nitrógeno amínico en un nitrógeno de tipo pseudoamida, plano, favoreciendo interacciones hiperconjugativas con un orbital antienlazante σ^*_{C-O} vecino [26].



(+)-castanospermina

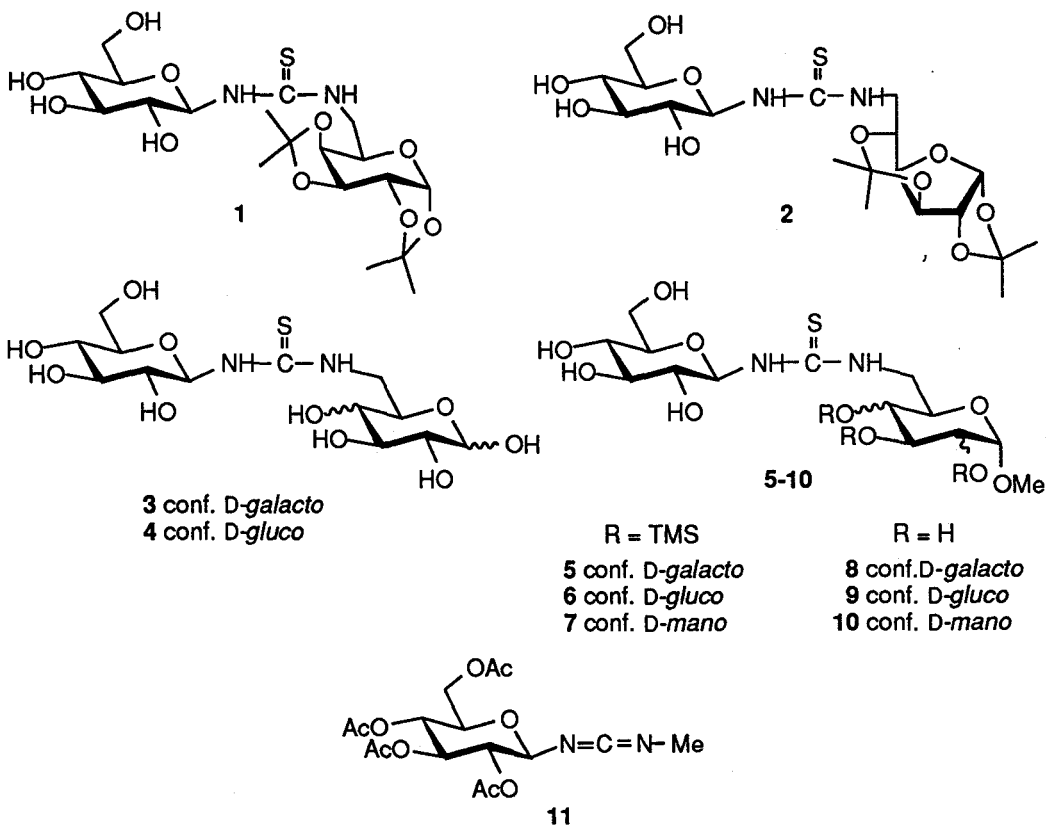


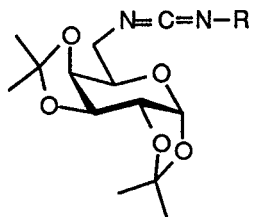
5-hidroxicastanosperminas

La preponderancia de interacciones orbitálicas sobre interacciones polares en el efecto anomérico permitiría controlar la configuración del centro aminoacetálico en disolución acuosa. El estudio de la influencia de esta modificación estructural, así como de la naturaleza del grupo funcional pseudoamida utilizado, en la afinidad y en la selectividad por diferentes glicosidasas se ha llevado a cabo, asimismo, dentro de esta Tesis en colaboración con el Dr. Francisco Javier Cañada, en el Instituto de Química Orgánica General del CSIC, en Madrid.

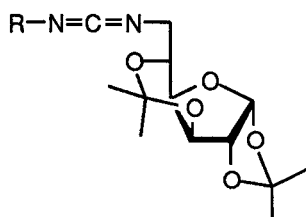
En concreto, las estructuras de los nuevos compuestos que se describen en esta Tesis son las siguientes:

Pseudooligosacáridos con puentes de tipo carbamida

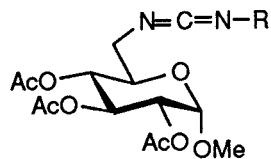




12-14



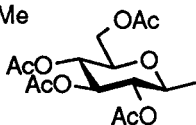
15-17



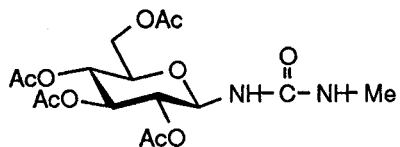
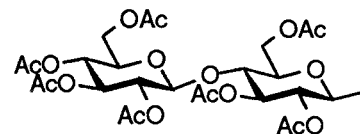
18-20

12, 15, 18 R = Me

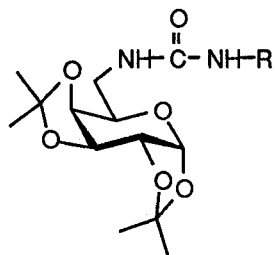
13, 16, 19 R =



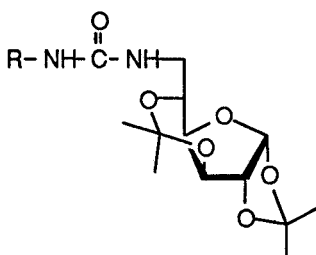
14, 17, 20 R =



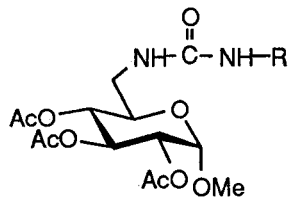
21



22-24



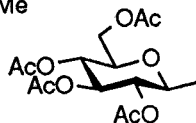
25-27



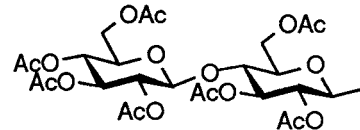
28-30

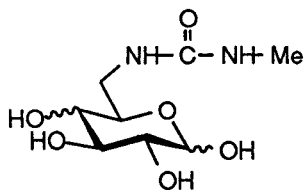
22, 25, 28 R = Me

23, 26, 29 R =

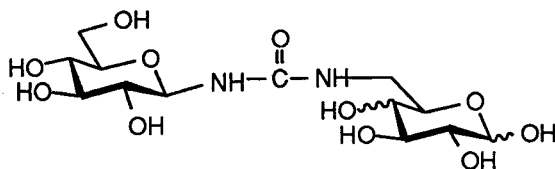


24, 27, 30 R =

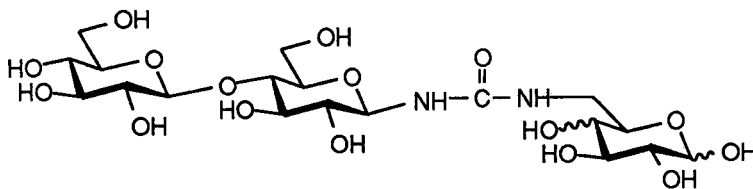




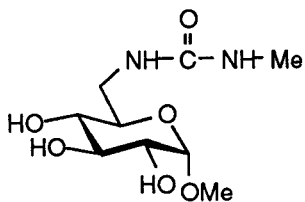
31 conf. D-galacto
34 conf. D-gluco



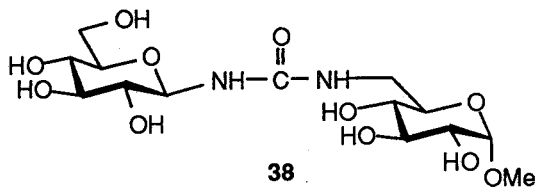
32 conf. D-galacto
35 conf. D-gluco



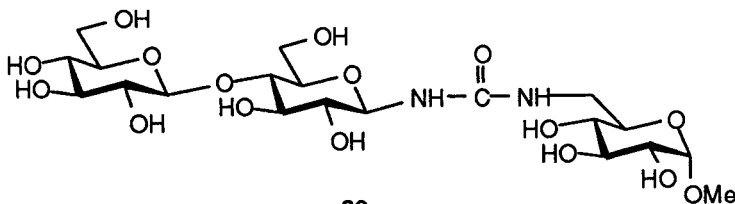
33 conf. D-galacto
36 conf. D-gluco



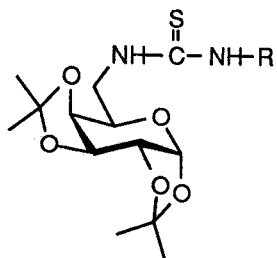
37



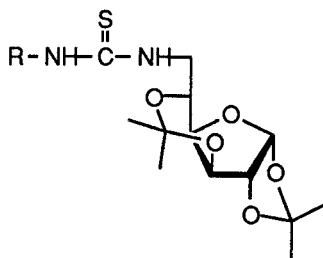
38



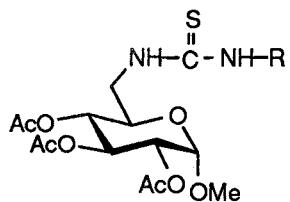
39



40, 41

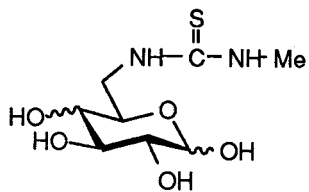
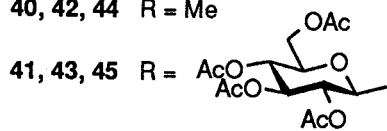


42, 43



44, 45

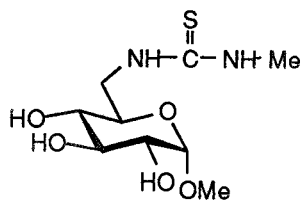
40, 42, 44 R = Me



46, 47

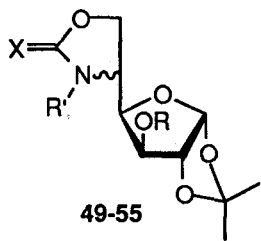
46 conf. D-galacto

47 conf. D-gluco

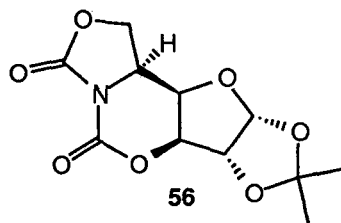


48

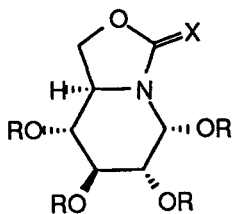
Polihidroxiindolizidinas y precursores



- 49-55
 49 X = S; R = R' = H; conf. D-gluco
 50 X = S; R = R' = Ac; conf. D-gluco
 51 X = S; R = R' = H; conf. L-ido
 52 X = S; R = R' = Ac; conf. L-ido
 53 X = O; R = R' = H; conf. D-gluco
 54 X = O; R = R' = H; conf. L-ido
 55 X = O; R = Ac; R' = H; conf. L-ido

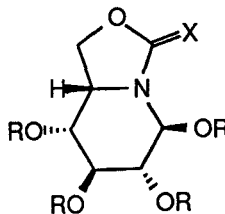


56



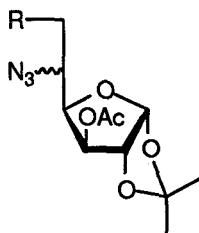
- 57 X = S; R = H
 58 X = S; R = Ac
 61 X = O; R = H
 62 X = O; R = Ac

conf. D-gluco

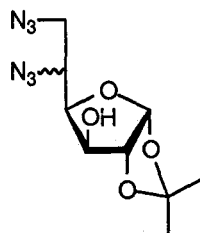


- 59 X = S; R = H
 60 X = S; R = Ac
 63 X = O; R = H
 64 X = O; R = Ac

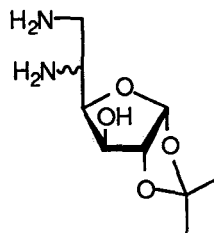
conf. L-ido



65-68



69, 70

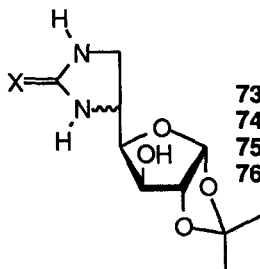


71, 72

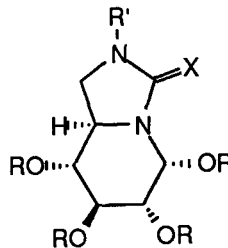
- 65 R = TsO; conf. D-gluco
 66 R = TsO; conf. L-ido
 67 R = N₃; conf. D-gluco
 68 R = N₃; conf. L-ido

- 69 conf. D-gluco
 70 conf. L-ido

- 71 conf. D-gluco
 72 conf. L-ido

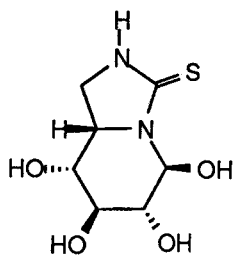


- 73 X = S; conf. D-gluco
 74 X = S; conf. L-ido
 75 X = O; conf. D-gluco
 76 X = O; conf. L-ido



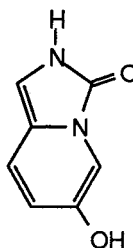
- 77 X = S; R = R' = H
 78 X = S; R = R' = Ac
 79 X = O; R = R' = H
 80 X = O; R = Ac; R' = H

conf. D-gluco



81

conf. L-ido



82

2. ANTECEDENTES

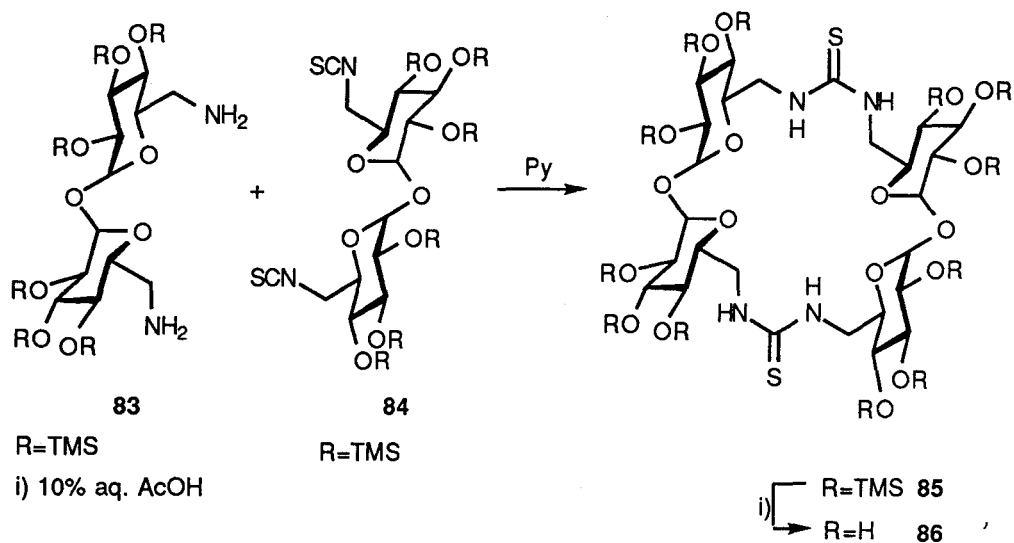
2. ANTECEDENTES

2.1. Pseudooligosacáridos con puentes de tipo carbamida.

Existen relativamente pocos ejemplos de reacciones de condensación entre isotiocianatos de azúcares y aminoazúcares, limitándose, generalmente, a la obtención de derivados *O*-protegidos [15].

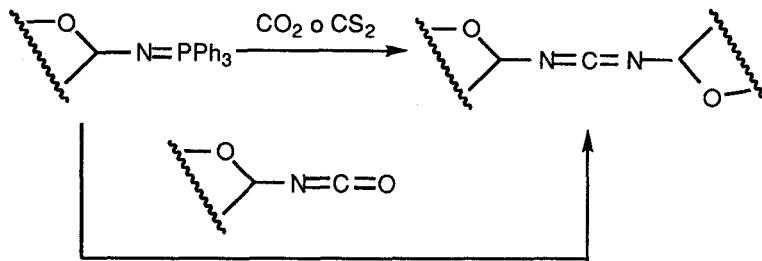
La reacción de isotiocianatos de monosacáridos *O*-acilados con aminoazúcares *O*-acilados conduce a pseudodisacáridos en los que las dos unidades de azúcar están unidas a través de un espaciador de tiourea [27-29]. Existen ejemplos de pentosas, hexosas y heptosas en las que el puente de tiourea se une bien al carbono anomérico, bien al carbono vecino (C-2). De un modo análogo, la combinación de isotiocianatos de disacáridos y los aminoazúcares homólogos ha sido empleada en la construcción de tioureilen pseudotetrasacáridos *O*-acilados [30]. Se han descrito también condensaciones de isotiocianatos conjugados con aminopoliolios [31] y de glicosilisotiocianatos acilados con aminoazúcares no protegidos [32,33].

En esta Tesis proponemos el empleo de grupos acetales o trimetilsililos, fácilmente hidrolizables en condiciones ácidas suaves, como grupos *O*-protectores. El único antecedente de utilización de estos derivados corresponde a la condensación de 6,6'-didesoxi-6,6'-diisotiocianato- α,α' -trehalosa per-*O*-trimetilsililada **84** con su amina precursora **83** [34]. La reacción proporciona un pseudotetrasacárido macrocíclico **85** que fue desprotegido con rendimiento prácticamente cuantitativo (\rightarrow **86**) por tratamiento con ácido acético diluido (Esquema 1).



Esquema 1

A pesar de su potencial sintético, los ejemplos de carbodiimidas de azúcares recogidos en la literatura son muy escasos [35-37]. Los primeros ejemplos de *N,N'*-bis(glicopiranosil)carbodiimidas descritos [35,36] fueron obtenidos por reacción de glicosil fosfiniminas con dióxido de carbono o con disulfuro de carbono. La condensación de isocianatos con glicosilfosfiniminas también ha sido empleada con anterioridad para la preparación de glicosil carbodiimidas [37] (Esquema 2).



Esquema 2

Sin embargo, no hemos encontrado antecedentes de carbodiimidoazúcares asimétricos, probablemente por la falta de metodologías compatibles con la polifuncionalidad de los carbohidratos.

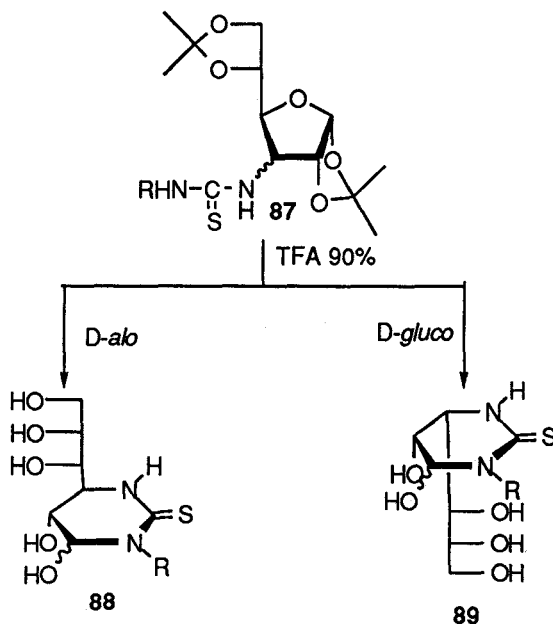
Entre los pseudooligosacáridos con puentes de urea descritos en la literatura [38], no existen tampoco ejemplos en los que estas uniones conecten dos radicales glucídicos diferentes.

2.2. Polihidroxiindolizidinas.

Aunque se han descrito muchos derivados de castanospermina con modificaciones en los sustituyentes, no hemos encontrado datos de inhibición enzimática para análogos de castanospermina con modificaciones en el esqueleto bicíclico.

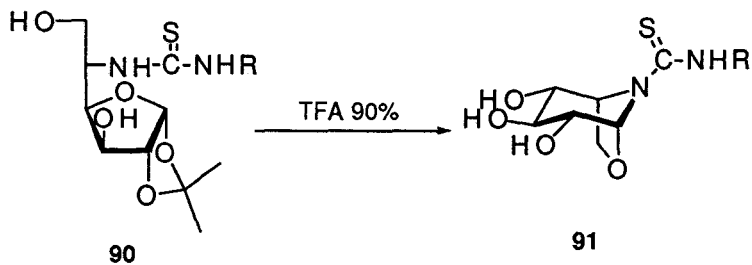
Tampoco se han descrito derivados de polihidroxiindolizidinas portando un grupo hidroxilo sobre C-5. Los glicomiméticos relacionados con la castanospermina preparados en este trabajo se caracterizan por incorporar un hidroxilo pseudoanomérico estabilizado por un grupo funcional carbámico o tiocarbámico vecino. Los únicos antecedentes de glicomiméticos de este tipo, en los que el nitrógeno amínico endocíclico característico de los azaazúcares ha sido reemplazado por un nitrógeno plano sp^2 , han sido preparados en nuestro laboratorio [39,40], y corresponden a la síntesis de polihidroxihexahidropirimidina-2-tionas (**88** y **89**) relacionadas con los ácidos 3-desoxi-2-nonulosónicos, (Esquema 3) y a la preparación de análogos de calistegina B_2 que incorporan un puente de tiourea (**91**).

En el primer caso, los compuestos de partida son 3-desoxi-3-tioureidoazúcares derivados de D-glucosa y D-alosa (**87**) que, tras hidrólisis de los grupos isopropilidenos originan hexahidropirimidinas polihidroxiladas (**88** y **89**) por simple reorganización tautomérica. En todos los casos, el hidroxilo aminoacetálico generado adopta una disposición axial determinada por el efecto anomérico (Esquema 3).



Esquema 3

Para la preparación de análogos de calistegina (91), la metodología sintética empleada implica el ataque nucleofílico intramolecular de un grupo tiourea al carbonilo enmascarado de un monosacárido, seguido de glicosidación intramolecular en el nuevo centro pseudoanomérico para cerrar el sistema bicíclico (Esquema 4).



Esquema 4

3. NOMENCLATURA

3. NOMENCLATURA

3.1. Carbodiimido-, ureido- y tioureidoazúcares.

Los derivados de carbohidratos en los que un grupo hidroxilo no anomérico ha sido reemplazado por un grupo carbodiimida se nombran de acuerdo con la nomenclatura general de carbohidratos [41], como n-desoxi-n-carbodiimido azúcares, donde "n" indica la posición que ocupa el sustituyente en la cadena glucídica (n = 6 en nuestro caso). El mismo criterio se aplica cuando el sustituyente tiene estructura de urea o tiourea.

En el caso de carbodiimidias, ureas o tioureas *N,N'*-disustituidas con dos restos de azúcar se han empleado en la literatura dos tipos de nomenclatura diferentes. En una de ellas se confiere prioridad a la función química que actúa de puente entre ambos restos de azúcar, es decir, se nombran estos compuestos como derivados de carbodiimida, urea o tiourea [28-30]. Este criterio permite nombrar cualquier compuesto de este tipo independientemente de las posiciones de unión del radical de carbohidrato.

Cuando uno de los residuos glucídicos está unido al grupo que actúa de puente por el carbono anomérico y el otro por una posición diferente, puede tomarse como base la nomenclatura de carbohidratos nombrando el radical glicosilcarbodiimido(ureido)(tioureido) como sustituyente [42,43]. En esta Tesis se ha adoptado este segundo sistema ya que permite mantener idéntica notación para los átomos independientemente de la naturaleza o del orden alfabético de los sustituyentes.

3.2. 5,6-(Tio)carbamatos cíclicos y 5,6-(tio)ureas cíclicas derivadas de azúcares.

Los precursores de los análogos de (+)-castanospermina que hemos preparado presentan una estructura heterocíclica de oxazolidina- o imidazolidina-2-ona(tiona). Aunque en la parte experimental se incluye la nomenclatura derivada del correspondiente heterociclo, para una mayor

claridad en la presentación y discusión de los datos de RMN se ha seguido la nomenclatura de carbohidratos [41].

3.3. Aza(oxa)castanosperminas.

Los glicomiméticos bicíclicos preparados en este trabajo están estructuralmente relacionados con las polihidroxiindolizidinas. Frecuentemente, se hará referencia a ellos como derivados de (+)-castanospermina ya que el objetivo final del proyecto es el estudio de sus propiedades como inhibidores de glicosidasas en comparación con las de este inhibidor de origen natural. Sin embargo, esta nomenclatura da como resultado una notación para los átomos diferente de la de los azúcares precursores.

Como norma general, en la parte experimental se incluye la nomenclatura derivada de la (+)-castanospermina [25] y la derivada de los (tio)ureido y (tio)carbamatos de azúcares, con objeto de poner de manifiesto la relación estructural con los alcaloides de la familia de las indolizidinas y con los carbohidratos. En cualquier caso, la numeración seguida en la descripción de los datos de RMN es consistente con la nomenclatura de carbohidratos.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Pseudooligosacáridos con uniones de tipo urea, tiourea y carbodiimida.

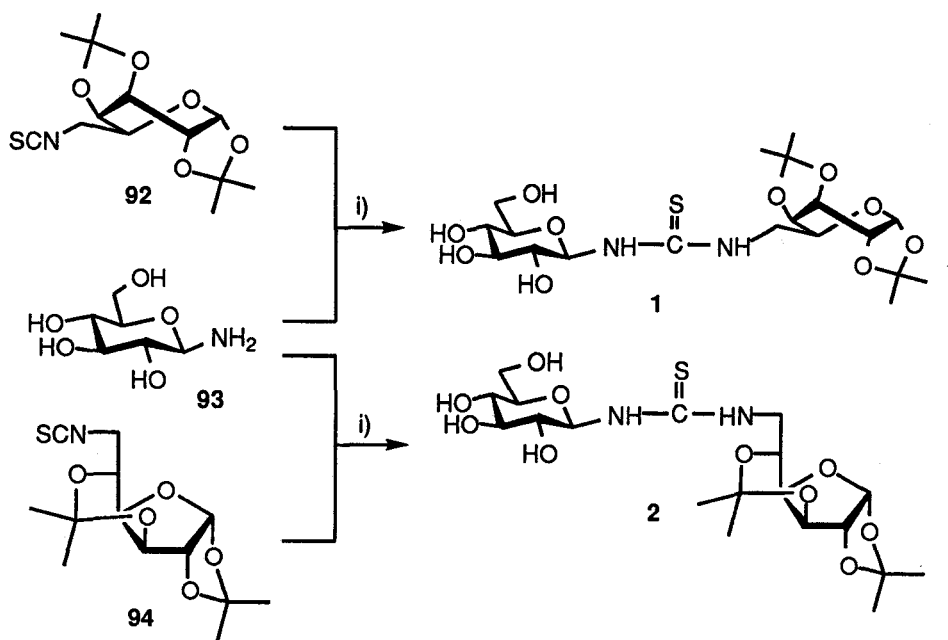
4.1.1. Síntesis de tioureilenglicobiosas por reacción de isotiocianatos de azúcares con aminoazúcares.

En el primer bloque de esta Tesis nos hemos interesado en la síntesis de pseudooligosacáridos en los que al menos dos de las unidades monosacáridicas están enlazadas por un espaciador de tres átomos de tipo carbamida (urea o tiourea). En primer lugar hemos puesto a punto la preparación de glicosiltioureidoaldopiranosas con uniones (1→6), empleando como grupos protectores el grupo isopropilidén y el grupo trimetilsililo que pueden desprotegerse fácilmente en condiciones ácidas suaves compatibles con la funcionalidad tiourea [34,42]. La estrategia empleada implica la condensación de una glicosilamina con glicopiranosas o glicofuranosas *O*-protegidas portando un grupo isotiocianato en la posición C-6.

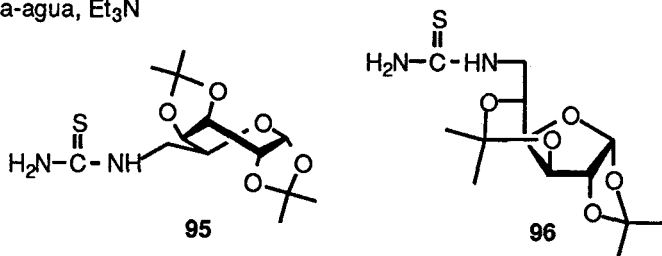
En concreto, se han preparado los aductos de 6-desoxi-1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén-6-isotiocianato- α -D-galactopiranososa (**92**) y 6-desoxi-1,2:3,5-di-*O*-isopropilidén-6-isotiocianato- α -D-glucofuranosa (**94**) con β -D-glucopiranosilamina (**93**). La reacción se lleva a cabo en piridina-agua a temperatura ambiente, en presencia de trietilamina como catalizador. Al cabo de 48 horas, se elimina el disolvente a presión reducida y el residuo se purifica por cromatografía en columna, obteniéndose los tioureilendisacáridos **1** y **2** (Esquema 5).

Los relativamente bajos rendimientos observados (30-35%) pueden atribuirse a la hidrólisis parcial de la β -D-glucopiranosilamina con la consiguiente liberación de amoníaco que, a su vez, puede adicionarse al isotiocianato. Esta hipótesis se confirma por el aislamiento por cromatografía en columna de los correspondientes derivados 6-desoxi-6-tioureido **95** y **96** [44].

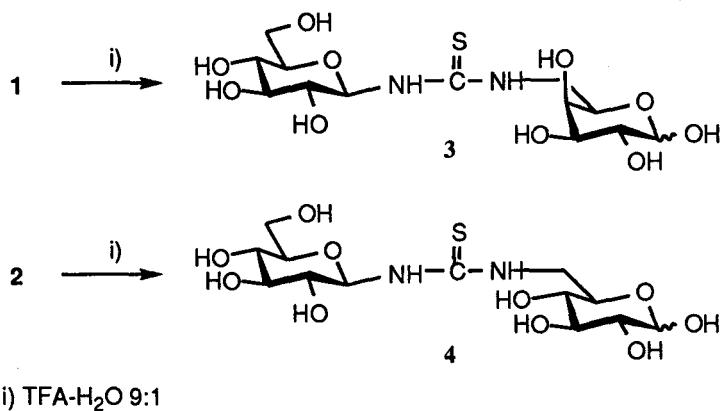
El tratamiento de los aductos 1 y 2 con ácido trifluoroacético-agua 9:1, a temperatura ambiente y presión reducida, permite aislar tras purificación por cromatografía de permeación sobre gel (GPC, Bio-Gel P-2) los correspondientes pseudodisacáridos libres 6-desoxi-6-[N'-(β-D-glucopiranosil)tioureido]-D-glucosa (3) y 6-desoxi-6-[N'-(β-D-glucopiranosil)tioureido]-D-galactosa (4) con rendimientos prácticamente cuantitativos (Esquema 6).



i) piridina-agua, Et₃N



Esquema 5



Esquema 6

Los compuestos 3 y 4 existen en disolución acuosa como una mezcla en equilibrio de los anómeros α - y β -piranosa en el extremo reductor. En ningún caso se observaron formas tautoméricas aminoacetálicas resultantes de la adición nucleofílica del grupo tiourea al grupo aldehído del azúcar.

Tabla 1. Datos de ^1H RMN (500 MHz, 323 K) de los compuestos 1-4.

Compuesto		Desplazamiento químico (δ , ppm)						
		H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6a	H-6b
1 ^{a,b}	I	5.47d	4.32dd	4.62dd	4.25dd	4.16ddd	3.83dd	3.58dd
	II	5.12da	3.27t	3.58t	3.35t	3.41m	3.85dd	3.67dd
2 ^b	I	5.95d	4.54d	4.21d	4.28dd	3.76td	4.08sa	3.95da
	II	5.17da	3.26t	3.41t	3.29t	3.36ddd	3.83dd	3.65dd
3 α^c	I	5.54d	4.08dd	4.13dd	—	4.58m	3.98-3.90m	
	II	4.77sa	3.85t	3.85t	3.71t	3.82ddd	4.17dd	4.01dd
3 β^c	I	4.85d	3.77dd	3.92dd	4.20dd	3.75m	3.98-3.90m	
	II	4.77sa	3.85t	3.85t	3.71t	3.82ddd	4.17dd	4.01dd
4 α^c	I	5.51d	3.82dd	4.03t	3.62t	4.26ddd	4.30-3.95m	
	II	5.63sa	3.86t	3.86t	3.72t	3.85m	4.18dd	4.03dd
4 β^c	I	4.93d	3.53dd	3.78t	3.63t	3.90ddd	4.30-3.95m	
	II	5.63sa	3.86t	3.86t	3.72t	3.85m	4.18dd	4.03dd
		Constantes de acoplamiento (J , Hz)						
		$J_{1,2}$	$J_{2,3}$	$J_{3,4}$	$J_{4,5}$	$J_{5,6a}$	$J_{5,6b}$	$J_{6a,6b}$
1	I	4.9	2.4	7.8	1.8	2.3	7.1	11.9
	II	8.7	8.7	8.7	8.7	6.1	4.8	11.9
2	I	3.6	0	3.8	6.9	4.5	6.9	—
	II	8.9	8.9	8.9	8.9	2.3	5.5	11.9
3 α	I	3.8	10.4	3.0	0	—	—	—
	II	9.4	9.4	9.4	9.4	2.3	5.4	12.4
3 β	I	7.9	9.9	3.5	0	—	—	—
	II	9.4	9.4	9.4	9.4	2.3	5.4	12.4
4 α	I	3.6	10.1	8.6	8.6	3.1 ^d	7.2 ^d	—
	II	9.3	9.3	9.3	9.3	4.8	5.1	12.2
4 β	I	7.9	9.4	9.4	9.4	3.1 ^e	6.6 ^e	—
	II	9.3	9.3	9.3	9.3	4.8	5.1	12.2

^a Registrado a 300 MHz. ^b En CD_3OD . ^c En D_2O . ^{d,e} Estas asignaciones pueden estar intercambiadas

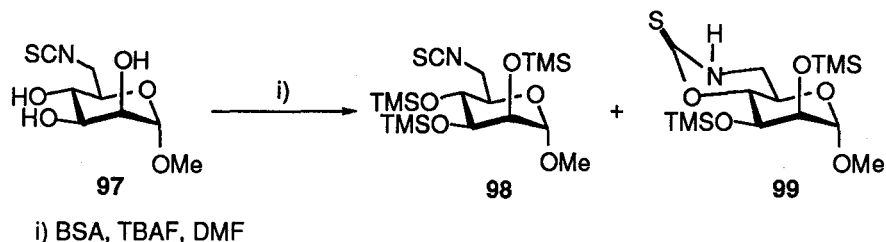
Tabla 2. Datos de ^{13}C RMN (125.5 MHz, 323 K) de los compuestos 1-4.

Compuesto		Desplazamiento químico (δ , ppm)					
		C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
1 ^{a,b}	I	97.7	72.8	72.2	72.1	67.6	46.0
	II	85.2	74.2	78.9	71.6	79.1	62.8
2 ^{a,b}	I	107.7	85.2	76.2	81.8	71.5	48.1
	II	85.2	74.2	78.9	71.9	79.2	62.7
3 α^c	I	92.2	68.1 ^d	69.5 ^d	—	—	44.8
	II	83.2	76.4	77.1	69.2	71.9	60.6
3 β^c	I	96.3	71.7	72.5	68.9	71.9	44.8
	II	83.2	76.4	77.1	69.2	71.9	60.6
4 α^c	I	92.0	71.0	72.4	70.8	69.6	45.2
	II	83.4	76.4	77.1	69.3	72.0	60.6
4 β^c	I	95.8	74.0	75.3	71.4	73.8	45.2
	II	83.4	76.4	77.1	69.3	72.0	60.6

^a Registrado a 75.5 MHz. ^b En CD₃OD. ^c En D₂O. ^d Estas asignaciones pueden estar intercambiadas.

Paralelamente, hemos investigado la preparación de este tipo de compuestos a partir de precursores monosacáridicos en los que los grupos hidroxilos se encuentran protegidos mediante formación de silil éteres. El grupo trimetilsililo es, en principio, adecuado para este fin ya que la reacción de protección ocurre con rendimientos elevados, es un grupo estable en las condiciones de obtención de tioureas y es fácilmente eliminable en condiciones ácidas suaves.

En una primera aproximación, la síntesis de los precursores 6-desoxi-6-isotiocianatoaldopiranosidos per-*O*-trimetilsililados se intentó por trimetilsililación de isotiocianatos de azúcares desprotegidos, pero sólo se obtuvieron los compuestos deseados en muy bajo rendimiento. Los productos mayoritarios fueron los productos trimetilsililados resultantes de la ciclación intramolecular implicando al hidroxilo en posición C-4 (99) (Esquema 7).



Esquema 7

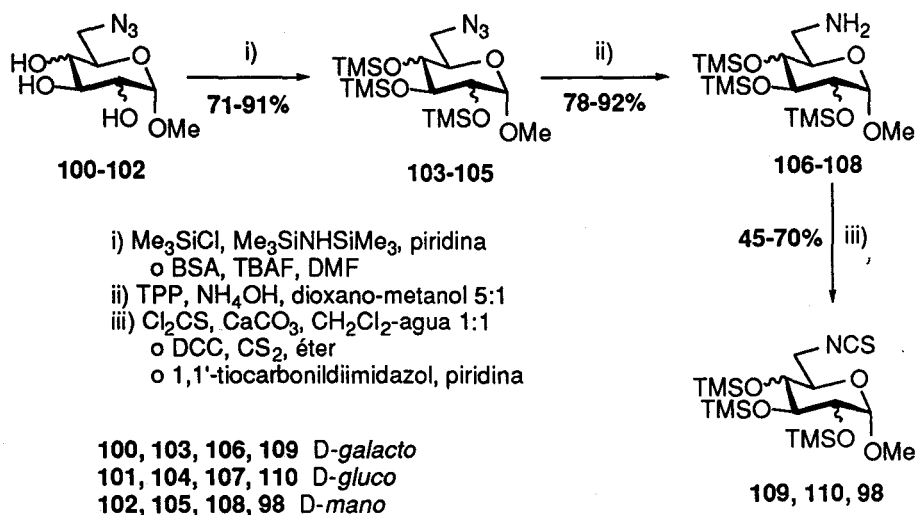
La formación de tiocarbamatos cíclicos de seis miembros a partir de γ -hidroxiisotiocianatos derivados de azúcares en presencia de catalizadores básicos ha sido previamente estudiada en nuestro grupo de investigación [45-49]. Este resultado indica que la ciclación intramolecular es, en estas condiciones, más rápida que la sililación de OH-4.

Para evitar este problema, utilizamos la estrategia de síntesis que se muestra en el Esquema 8 partiendo de los correspondientes metil 6-azido-6-desoxi- α -D-glicopiranosidos (**100-102**). La trimetilsililación usando el sistema hexametildisilazana-cloruro de trimetilsililo-piridina [50] o bien *N,O*-bis(trimetilsilil)acetamida (BSA)-fluoruro de tetrabutilamonio-*N,N*-dimetilformamida [51] (\rightarrow **103-105**), seguida de reducción de Staudinger [52] e hidrólisis, in situ, del iminofosforano intermedio conduce a las respectivas aminas selectivamente *O*-protegidas (**106-108**) que posteriormente se someten a reacciones de isotiocianación (\rightarrow **109, 110, 98**).

La reacción de una amina primaria con tiofosgeno es, probablemente, el método más útil de isotiocianación, ya que la transformación suele ser rápida y limpia [15]. Sin embargo, en nuestro caso, la isotiocianación de las aminas con tiofosgeno en presencia de carbonato cálcico condujo a los correspondientes metil 6-desoxi-6-isotiocianatos- α -D-glicopiranosidos trimetilsililados con bajos rendimientos. El seguimiento de la reacción por cromatografía en capa fina mostró la formación de productos de mayor polaridad, resultantes probablemente de la hidrólisis de los grupos trimetilsililos en el medio ligeramente ácido de la reacción. A la vista de estos resultados, examinamos otros reactivos de isotiocianación de aminas primarias descritos en la literatura:

a) La condensación de la amina con disulfuro de carbono en presencia de dicitlohexilcarbodiimida (método de Jochims y Seeliger) [53] (Esquema 9).

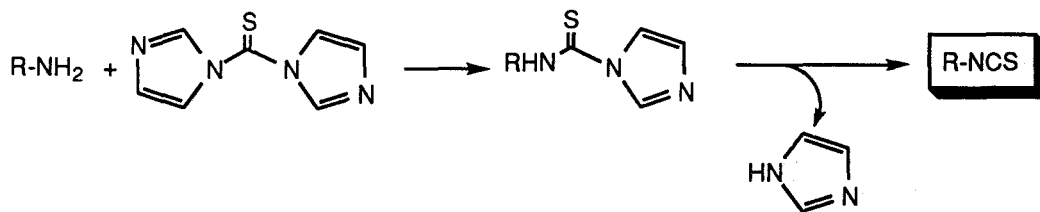
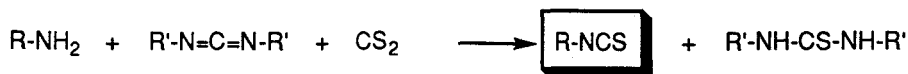
b) La reacción con 1,1'-tiocarbonildiimidazol [54,55] (Esquema 9).



Esquema 8

Ambas reacciones transcurren en medio básico o neutro, y son por tanto compatibles con el grupo protector trimetilsililo.

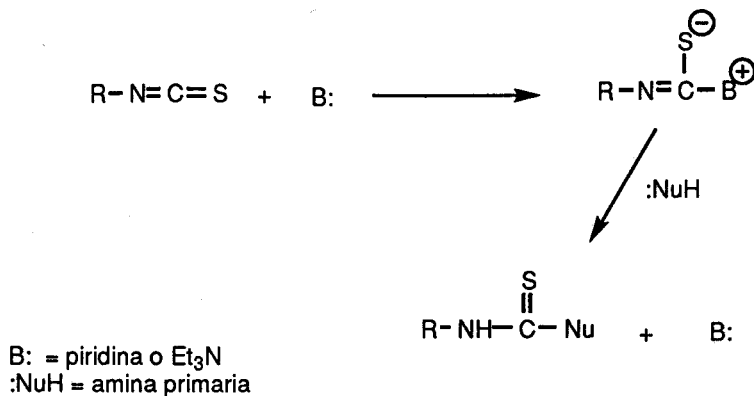
La adición de disulfuro de carbono y dicitlohexilcarbodiimida a una disolución de la correspondiente amina en éter a -10°C , seguida de agitación a temperatura ambiente durante 20-40 minutos, permite aislar los correspondientes desoxiisotiocyanatos tras purificación por cromatografía en columna. La adición nucleofílica de la amina al disulfuro de carbono da lugar al correspondiente ácido ditiocarbámico, que tras β -eliminación de ácido sulfhídrico promovida por la carbodiimida, conduce al correspondiente isotiocianato y dicitlohexiltiourea como productos de reacción.



Esquema 9

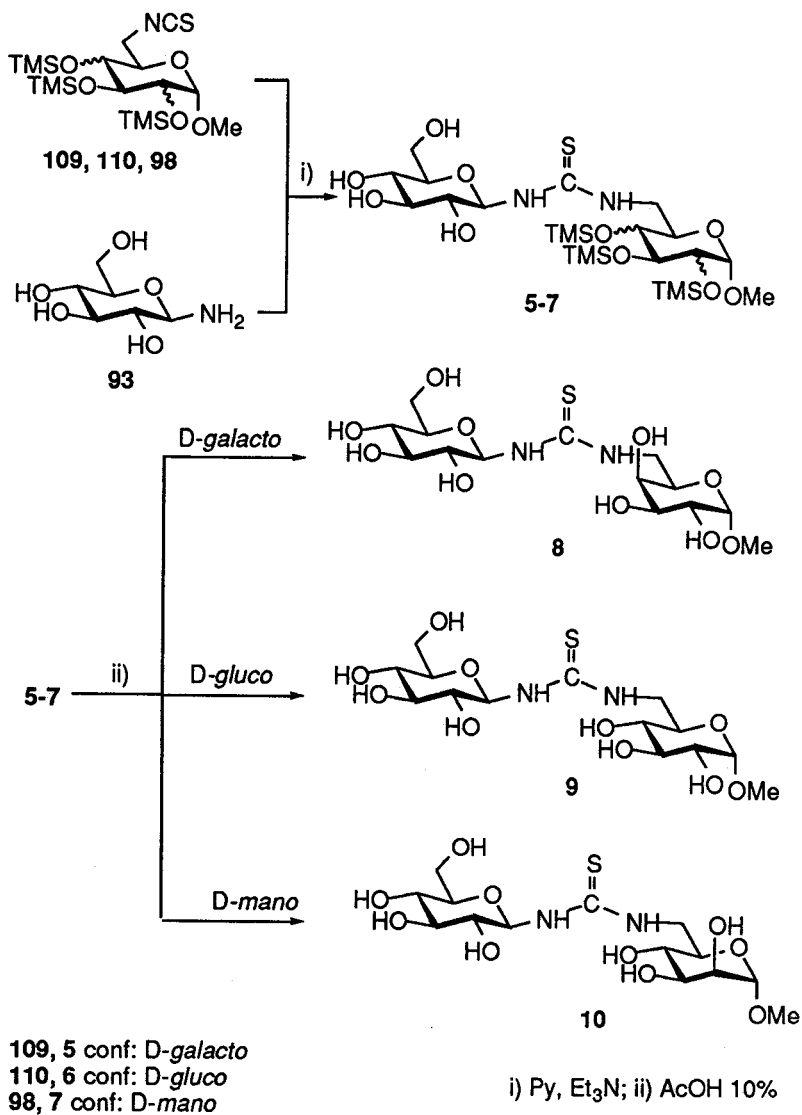
Por otro lado, el uso del 1,1'-tioarbonildiimidazol como sustituto del tiofosgeno permite, en principio, llevar a cabo la transformación de la amina en el isotiocianato en medio homogéneo usando diclorometano como disolvente. Sin embargo, durante el tratamiento de la reacción se produce de nuevo la hidrólisis de los grupos silil éter, probablemente catalizada por trazas de ácido resultantes a su vez de la hidrólisis del reactivo con la humedad. Esta desililación puede, no obstante, evitarse empleando piridina como disolvente.

La reacción de los isotiocianatos sililados **98**, **108** y **109** con β -D-glucopiranosilamina (**93**) a temperatura ambiente y empleando piridina como disolvente y trietilamina como catalizador básico condujo a los 6-desoxi-6-[N'-(β -D-glucopiranosil)tioureido]- α -D-glicopiranosidos **5-7**. La elección del disolvente para efectuar esta transformación no es trivial. Intentos de efectuar la condensación en éter o diclorometano resultaron en transformaciones incompletas, aun con tiempos de reacción prolongados. Probablemente, la piridina ejerce un efecto catalítico, activando el isotiocianato mediante la formación de un aducto zwitteriónico que posteriormente sufre el ataque de la amina (Esquema 10).



Esquema 10

La reacción se controló por cromatografía en capa fina (AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3). Tras purificación por cromatografía en columna, se aislan los compuestos 5-7 con rendimientos moderados (40-64%). La desprotección de las tioureas 5-7 se ha llevado a cabo mediante la adición de ácido acético (10%) a una disolución de las mismas en una mezcla de diclorometano-metanol-agua 2:1:1. Tras calentamiento de la mezcla de reacción a 60°C durante 3 horas se evapora el disolvente y se eliminan las trazas de ácido por coevaporación con tolueno, aislando los correspondientes metil 6-desoxi-6-tioureidoazúcares de configuración D-galacto (8), D-gluco (9) y D-mano (10) con rendimientos prácticamente cuantitativos, tras purificación por cromatografía de permeación sobre gel (Esquema 11).



Esquema 11

Tabla 3. Datos de ^1H RMN (500 MHz, CD_3OD , 313 K) de los compuestos 6-9.

Compuesto	Desplazamiento químico (δ , ppm)						
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6a H-6b	
6	4.63d	3.50dd	3.72t	3.30m	3.63m	<-----3.30m----->	
	5.20sa	3.30m	3.40t	3.24t	3.30m	3.82dd 3.63dd	
7 ^b	4.50d	3.81dd	3.67dd	3.70t	3.62m	<-----3.34m----->	
	5.20sa	3.34m	3.41t	3.24t	3.34m	3.83dd 3.61dd	
8 ^{a,b}	4.96d	<-----3.95m----->		4.11m	4.24m	<--3.87-3.78m-->	
	5.47sa	3.70t	3.70t	3.56t	3.67ddd	4.02dd 3.86dd	
9 ^a	4.99d	3.74dd	3.85t	3.51t	4.22m	<-----3.99m----->	
	5.51sa	3.75m	3.76t	3.61t	3.72ddd	4.06dd 3.91dd	
	Constantes de acoplamiento (J , Hz)						
	$J_{1,2}$	$J_{2,3}$	$J_{3,4}$	$J_{4,5}$	$J_{5,6a}$	$J_{5,6b}$	$J_{6a,6b}$
6	3.6	8.8	8.8	---	---	---	---
	---	9.1	9.1	9.1	2.3	5.6	11.9
7	1.9	2.0	8.2	8.2	---	---	---
	---	8.8	8.8	8.8	2.3	5.2	11.9
8	2.6	---	---	---	---	---	---
	9.1	9.1	9.1	9.1	2.2	5.1	12.4
9	3.7	9.4	9.4	9.4	---	---	---
	---	9.4	9.4	9.4	2.0	5.2	12.4

^a En D_2O . ^b Registrado a 300 MHz.

Tabla 4. Datos de ^{13}C RMN (75.5 MHz, CD_3OD , 323 K) de los compuestos 5-10.

Compuesto	Desplazamiento químico (δ , ppm)					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
5	102.0	70.9 ^c	71.4 ^c	72.1	74.9 ^c	47.2
	85.0	74.2	78.9	69.8	79.3	62.7
6 ^b	101.3	75.1	76.2	75.6	71.5	49.8
	85.3	74.4	79.0	71.7	79.4	62.9
7	103.2	74.9	73.9	73.7 ^d	71.6 ^d	—
	85.3	74.4	79.0	71.6	79.4	62.9
8 ^a	99.5	68.2 ^e	69.5 ^e	69.5	68.2	45.0
	83.3	76.6	77.3	69.3	72.1	60.7
99 ^a	99.3	72.2	72.9	71.3 ^f	69.8 ^f	45.4
	83.4	76.6	77.3	69.3	71.3	60.6
10 ^{a,b}	100.6	69.5	70.0	67.8	69.5	45.2
	83.0	76.3	76.9	69.2	71.8	60.4

^a En D_2O . ^b Registrado a 125.5 MHz. ^{c,d,e,f} Estas asignaciones pueden estar intercambiadas.

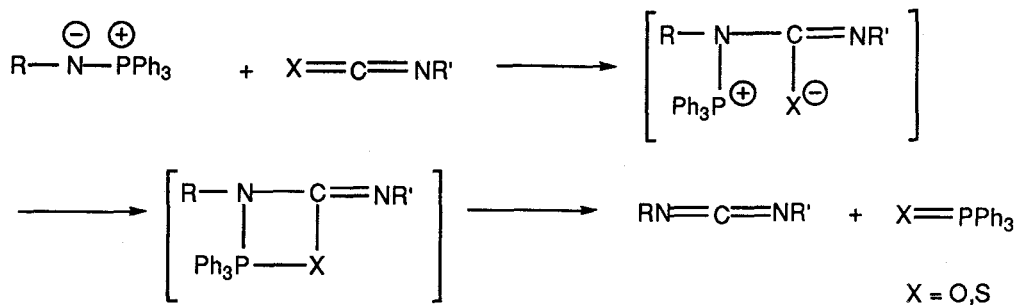
La estructura de tioureilenglicobiosa de los compuestos 1-10 está apoyada por los datos de ^1H y ^{13}C RMN (Tablas 1-4 y Figuras 1-5). En todos los casos, debido a la rotación restringida alrededor de los enlaces NH-C(=S) , se observan señales anchas indicativas de procesos de intercambio químico. A temperatura más elevada (313-323K) se obtienen señales promedio que permiten confirmar la estructura de tiourea N,N' -disustituída. Los valores de las constantes de acoplamiento alrededor del anillo indican que la unidad de glucopiranosilo presenta conformación de silla $^4\text{C}_1$ en todos los casos. El desplazamiento a campo alto de las resonancias de ^{13}C para los carbonos correspondientes a C-1 del anillo de glucopiranosilo y C-6 para la otra unidad de azúcar confirma la presencia del sustituyente nitrogenado. La señal a 183.1-186.1 ppm es asignable al carbono tiocarbónico de tiourea.

4.1.2. Síntesis de (tio)ureilenglicobiosas via carbodiimidias. Reacción de tipo aza-Wittig entre isotiocianatos e iminofosforanos de azúcares.

En el marco del programa dirigido a la síntesis de bioisómeros de oligo(glicosil)fosfatos, las (1→6)-oligo(glicosil)carbodiimidias son intermedios de reacción particularmente interesantes por la posibilidad de transformación de la funcionalidad carbodiimida en otros grupos funcionales incluyendo urea y tiourea, mediante transformaciones sencillas [56,57].

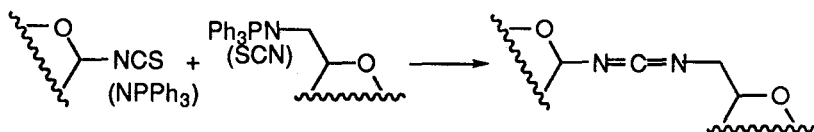
Dentro del conjunto de métodos generales para la construcción del grupo funcional carbodiimida [56-60], en esta Tesis hemos escogido la reacción tipo aza-Wittig de iminofosforanos (λ^5 -fosfazenos, fosfiniminas) y heterocumulenos [61,62], ya que tiene lugar en condiciones neutras, compatibles con un gran número de grupos protectores de los hidroxilos de los azúcares, y puede ser concebida como una estrategia de síntesis convergente para obtener estructuras asimétricas complejas [63,64].

El mecanismo general de la síntesis de carbodiimidias via reacción de aza-Wittig se describe en el Esquema 12. La reacción de isocianatos o isotiocianatos con fosfiniminas permite obtener los correspondientes heterocumulenos asimétricos con formación de óxido o tioxido de trifenilfosfina como producto secundario. En esta Tesis se han utilizado siempre isotiocianatos de azúcares como precursores de carbodiimidias debido a que pueden prepararse fácilmente por isotiocianación de haluros de azúcares o aminoazúcares, y pueden ser manipulados y conservados sin los riesgos de los isocianatos [15]. Por su parte, los iminofosforanos se preparan convenientemente a partir de las correspondientes azidas y trifenilfosfina [52,57].



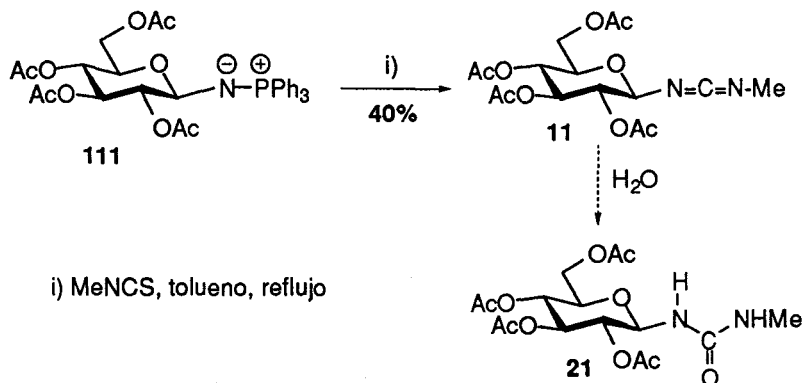
Esquema 12

De acuerdo con el mecanismo anterior, para la construcción de los (1→6)-carbodiimidoazúcares son posibles dos estrategias sintéticas alternativas: la reacción de glicosil fosfiniminas con 6-desoxi-6-isotiocianato azúcares y la condensación inversa entre glicosil isotiocianatos y trifenilfosforanilidenos derivados de 6-amino-6-desoxi aldohexosas (Esquema 13).

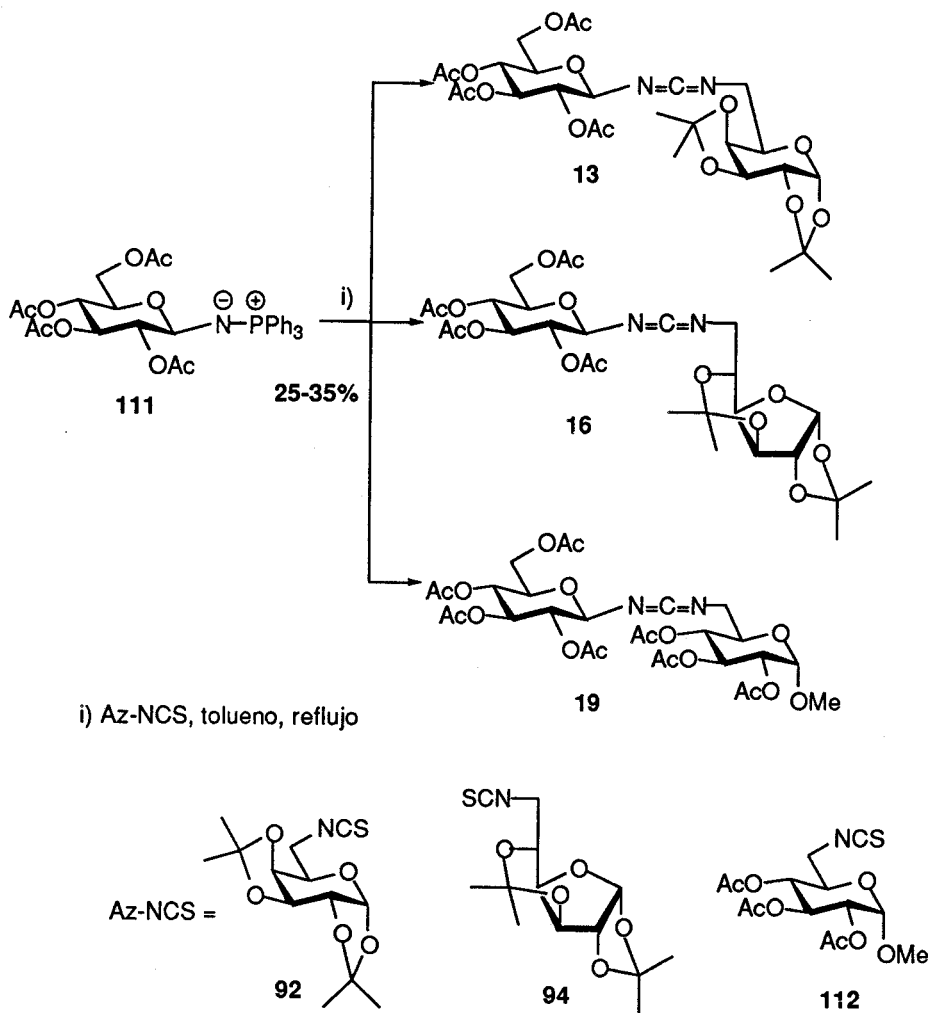


Esquema 13

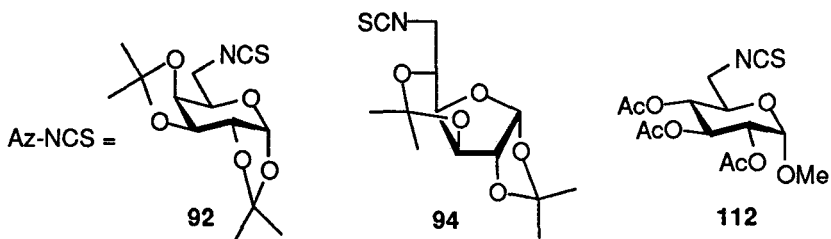
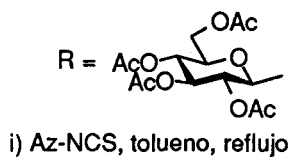
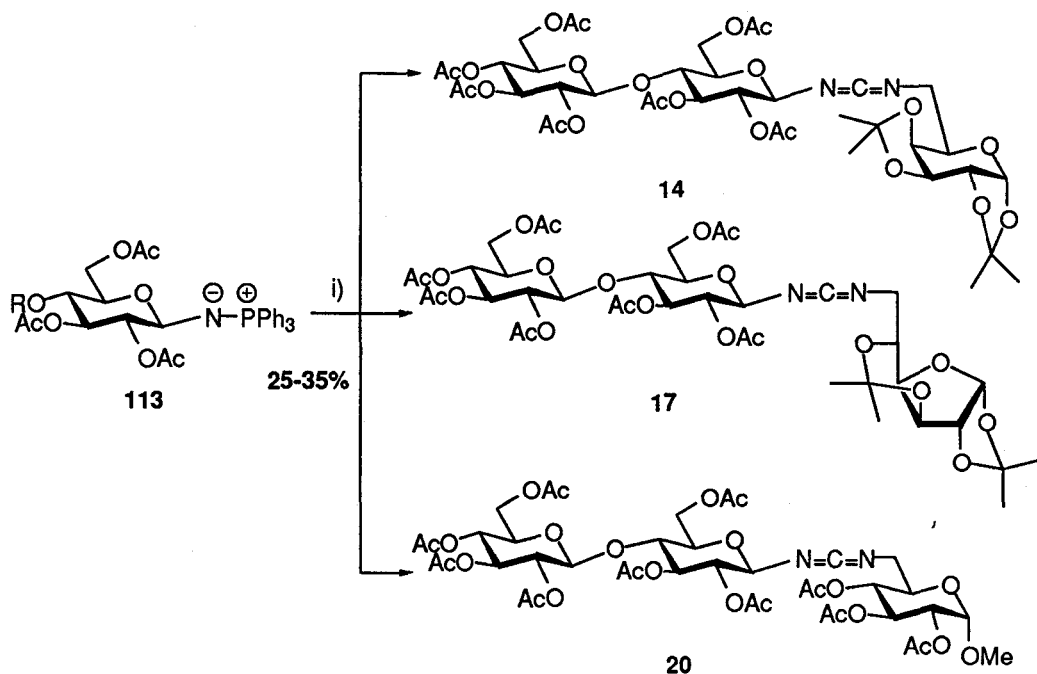
En primer lugar, se intentó la reacción de metil isotiocianato con 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-β-D-glucopiranosilfosfinimina (**111**). La reacción no progresó después de varios días a temperatura ambiente en tolueno. El calentamiento a reflujo de una mezcla estequiométrica de los reactivos durante 2 horas, condujo a la glucopiranosilcarbodiimida **11** con un rendimiento moderado (40%). El aumento en la proporción de alguno de los reactivos, o en el tiempo de reacción, dió lugar a la formación de varios productos secundarios que no pudieron aislarse, con el consiguiente descenso en el rendimiento. Durante el proceso de purificación cromatográfica se observó la formación de la correspondiente glucosilurea (Esquema 14), resultante del ataque nucleofílico del agua al grupo carbodiimida. La formación de este producto se minimizó reduciendo los tiempos de separación.



En estas condiciones de reacción, se llevó a cabo la condensación de la 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosilfosfinimina (111) con 6-desoxi-6-isotiocianatos derivados de 1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén- α -D-galactopiranososa (92), 1,2:3,5-di-*O*-isopropilidén- α -D-glucofuranosa (94) y metil 2,3,4-tri-*O*-acetil- α -D-glucopiranosido (112), obteniéndose las correspondientes carbodiimidas disacarídicas (13, 16, 19) con rendimientos del 25 al 35% (Esquema 15). La reacción de hepta-*O*-acetil- β -celobiosilfosfinimina (113) con los isotiocianatos anteriores permite obtener las carbodiimidas trisacarídicas (14, 17, 20) con rendimientos similares (Esquema 16).



Esquema 15



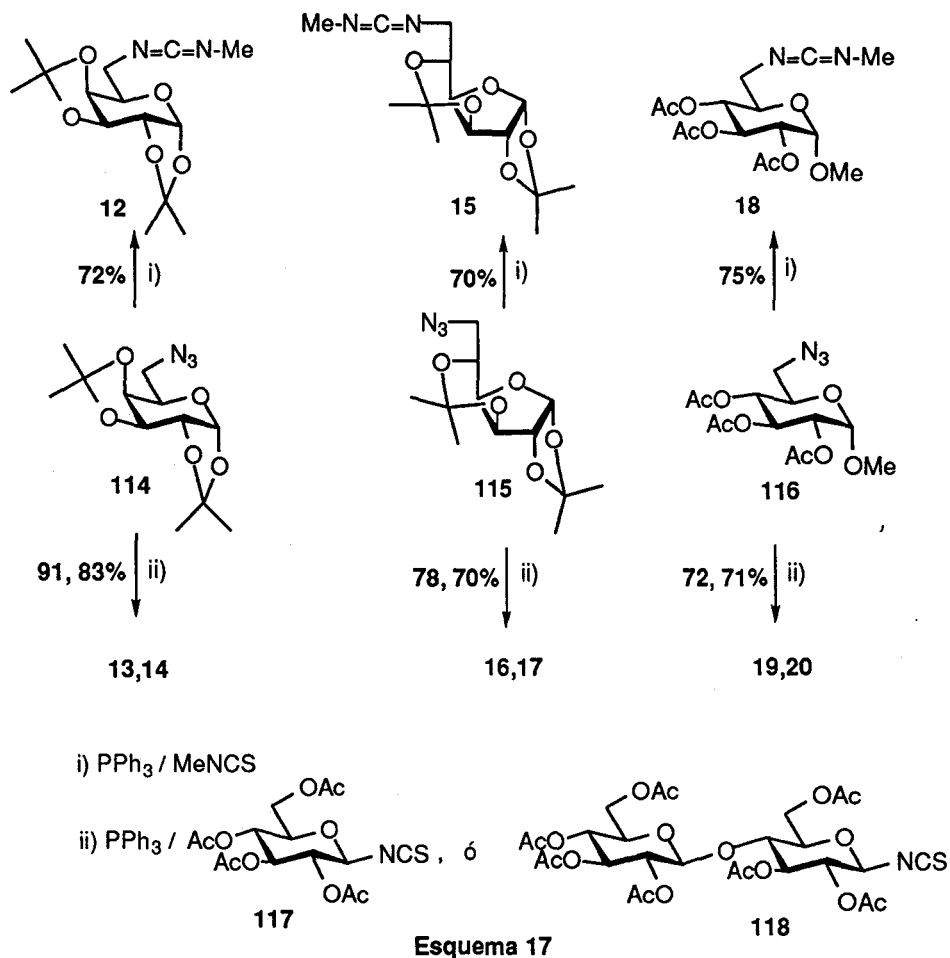
Esquema 16

La baja reactividad de las glicosilfosfiniminas en la reacción de aza-Wittig con isotiocyanatos debe ser consecuencia de las propiedades electrónicas de la posición anomérica de los

carbohidratos. El efecto -I del anillo de glicopiranosilo estabiliza la carga negativa del átomo de nitrógeno anomérico, con la consiguiente disminución en la velocidad de formación de la betaína intermedia (Esquema 12).

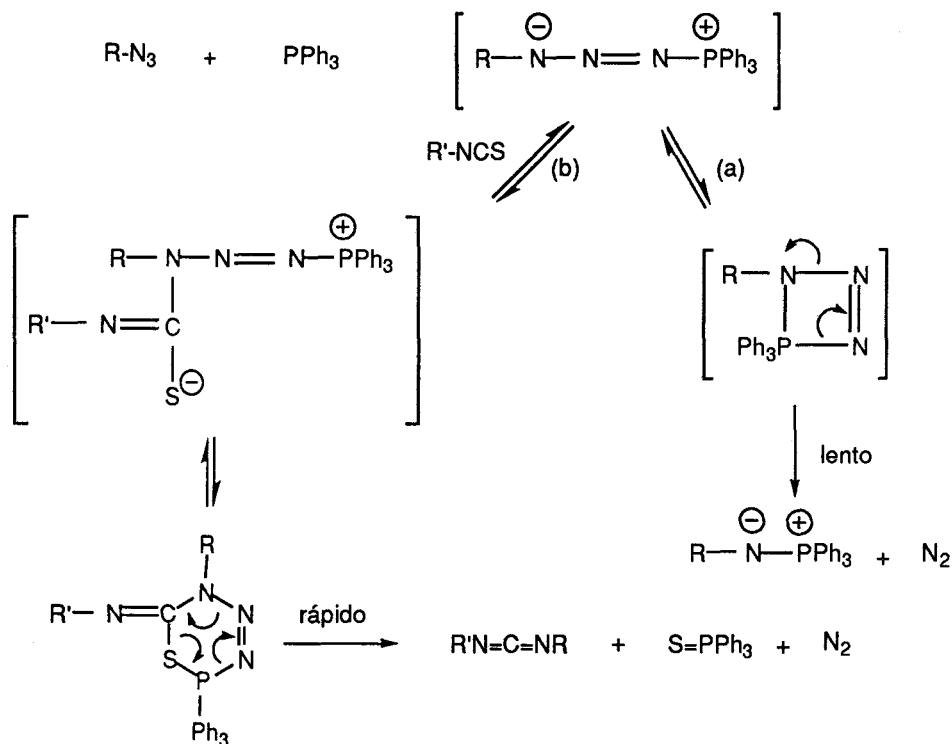
Los bajos rendimientos observados nos llevaron a examinar el camino alternativo: la reacción de un glicopiranosil isotiocianato con un iminofosforano en posición primaria (C-6), obtenido por reacción del correspondiente 6-azido-6-desoxiazúcar con trifetilfosfina. Aunque el uso de la reacción de Staudinger para la transformación de azidoazúcares en aminoazúcares es un procedimiento ampliamente utilizado en química de carbohidratos, salvo en el caso de las glicosil fosfiniminas estables el iminofosforano intermedio generalmente se hidroliza in situ, y sólo unos pocos ejemplos de monosacáridos con un grupo trifetilfosforanilidenamino en posición no anomérica han sido completamente caracterizados [47,65-67].

La reacción de 6-azido-6-desoxiazúcares con trifetilfosfina en tolueno seco requiere tiempos de reacción prolongados. Después de 24 horas a temperatura ambiente, aún queda sin reaccionar azida de partida. Además, durante el proceso de purificación ocurre la hidrólisis de la fosfinimina, con formación de la correspondiente amina y óxido de trifetilfosfina. Sin embargo, en presencia de metil isotiocianato, la transformación de las azidas de partida en las correspondientes carbodiimidias (12,15,18) tuvo lugar en una hora y con rendimientos superiores al 80% (Esquema 17), lo que sugiere un mecanismo diferente.



La reacción de 6-desoxi-6-azidoazúcares (114-116) con β -D-glucopiranosil (117) y β -celobiosil (118) isotiocianatos peracetilados, después de la adición de trietilfosfina, permite aislar en 10-15 minutos los (1 \rightarrow 6)-carbodiimidoazúcares 13, 14, 16, 17, 19 y 20 con rendimientos de entre el 70 y el 90% (Esquema 17). El incremento de la reactividad frente a reacciones de adición nucleofílica de grupos isotiocianatos en posiciones anoméricas ha sido previamente observado, y está de acuerdo con una mayor contribución de la forma $\text{R-N}^+=\text{C}=\text{S}$ al estado fundamental [15].

La reacción de Staudinger implica la formación de una fosfazida que, tras liberación de nitrógeno, da lugar al correspondiente iminofosforano. Los aductos con estructura de fosfazida han sido aislados en algunos casos [68,69] y recientemente se ha descrito una fosfazida estable derivada de carbohidrato [70]. En nuestro caso, el segundo paso es muy lento (Esquema 18, ruta a) en las condiciones de reacción. La fosfazida podría actuar entonces directamente como nucleófilo en la reacción de aza-Wittig con isotiocianatos (Esquema 18, ruta b), dando lugar a un nuevo intermedio α,δ -zwitteriónico que sufre una rápida transformación en los productos finales de la reacción a través de un intermedio cíclico de seis vértices.



Esquema 18

La estructura de los nuevos compuestos se estableció en base a sus datos espectroscópicos (Tablas 5 y 6, Figuras 6-11), EM (FAB) y análisis elemental. La presencia del grupo carbodiimido en estos compuestos se confirmó por la absorción característica en el IR, entre 2150

y 2135 cm^{-1} y la señal en ^{13}C -RMN a $141.2\text{-}137.0\text{ ppm}$ (δ_{NCN}). El desplazamiento a campo alto de las resonancias de C-1' y C-6 en los pseudooligosacáridos y de los correspondientes protones H-1' y H-6a,6b, comparados con sus azúcares homólogos, está de acuerdo con el puente (1 \rightarrow 6) de carbodiimida.

Los sistemas de enlaces π de cumulenos presentan una orientación prácticamente perpendicular, por lo que las carbodiimidas poseen una estructura quiral y pueden existir en formas ópticamente activas [56,57]. Sin embargo, la estabilidad configuracional de las carbodiimidas es baja y la isomerización se da con facilidad, aunque en algún caso se han logrado separar los dos enantiómeros. En el caso de las carbodiimidas preparadas en esta Tesis, los espectros de ^1H -RMN a baja temperatura (233 K) no mostraron señales anchas indicativas de un proceso lento de conversión de una configuración a otra, lo que sugiere que, efectivamente, las barreras de interconversión son más bajas que las observables por RMN.

Tabla 5. Datos de ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) para las carbodiimidias 11-20.

	Desplazamientos químicos (δ , ppm)						
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6a	H-6b
11	4.64d	4.92t	5.15t	5.07t	3.71ddd	4.20dd	4.11dd
12	5.49d	4.27dd	4.56dd	4.16dd	3.80ddd	3.41dd	3.22dd
13 ^a	5.55d	4.33dd	4.61dd	4.22d	3.84bdd	3.60dd	3.27dd
	4.82d	4.98t	5.19t	5.10t	3.74ddd	4.23dd	4.13dd
14 ^b	5.52d	4.32dd	4.60dd	4.17dd	3.83m	3.57dd	3.26dd
	4.81d	4.86t	5.15t	3.77t	3.65m	4.47bd	4.02dd
	4.49d	4.92t	5.13t	5.05t	3.63m	4.32dd	4.03dd
15	5.99d	4.58d	4.21d	4.31dd	3.66td	3.44dd	3.35dd
16	5.98d	4.57d	4.23d	4.27dd	3.66td	3.50dd	3.45dd
	4.73d	4.94dd	5.18t	5.09t	3.74ddd	4.24dd	4.13dd
17	5.98d	4.57d	4.22d	4.26dd	3.66m	3.49dd	3.43dd
	4.51d	4.92t	5.15t	3.78t	3.66m	4.98bd	4.10dd
	4.71d	4.85t	5.14t	5.06t	3.66m	4.37dd	4.04dd
18 ^a	4.97d	4.88dd	5.48t	5.02t	3.86dt	<-----3.33d----->	
19	4.95d	4.85dd	5.47dd	5.01dd	3.87dt	<-----3.42d----->	
	4.27d	4.97t	5.19t	5.14t	3.78ddd	4.26dd	4.17dd
20	4.93d	4.85dd	5.46dd	4.99t	3.86dt	<-----3.40d----->	
	4.69d	4.92dd	5.16t	3.82t	3.67ddd	4.52dd	4.11dd
	4.51d	4.86t	5.14t	5.06t	3.65ddd	4.37dd	4.04dd

Tabla 5 (continuación)

	Constantes de acoplamiento (J , Hz)						
	$J_{1,2}$	$J_{2,3}$	$J_{3,4}$	$J_{4,5}$	$J_{5,6a}$	$J_{5,6b}$	$J_{6a,6b}$
11	9.2	9.2	9.2	9.2	4.8	2.3	12.4
12	5.0	2.4	7.9	1.8	8.1	5.1	13.2
13	5.0	2.5	7.9	0	8.3	4.8	13.1
	8.7	8.7	8.7	8.7	4.7	2.3	12.3
14	4.9	2.4	7.8	1.8	8.4	4.8	13.1
	8.7	8.7	8.7	8.7	0	4.9	12.1
	8.1	8.1	8.1	8.1	4.1	2.0	12.5
15	3.8	0	3.8	7.0	3.4	7.1	13.4
16	3.7	0	3.4	7.0	3.6	7.0	13.8
	8.7	9.5	9.5	9.5	4.8	2.3	12.5
17	3.7	0	3.8	7.0	3.6	7.0	13.8
	8.0	8.9	8.9	8.9	—	5.0	12.9
	8.6	9.3	9.3	9.3	4.3	1.9	12.5
18	3.6	9.9	9.9	9.9	4.4	4.4	—
19	3.5	10.3	9.4	10.0	4.2	4.2	—
	8.8	9.4	9.4	9.4	4.7	2.3	12.5
20	4.0	10.3	9.4	9.4	4.4	4.4	—
	8.7	7.6	7.6	7.6	1.9	4.8	12.1
	7.9	7.9	7.9	7.9	4.4	2.2	12.6

^a A 300 MHz. ^b A 400 MHz.

Tabla 6. Datos de ^{13}C RMN (125.5 MHz, CDCl_3) para las carbodiimidias 11-20.

	Desplazamientos químicos (δ , ppm)					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
11	84.8	72.9	73.0	68.2	73.7	61.9
12	96.3	70.5	70.7	71.2	67.8	46.4
13 ^a	96.2	70.4	70.6	70.9	67.3	46.1
	84.9	72.6	73.0	68.1	73.5	61.9
14 ^b	96.2	70.7	70.6	71.0	67.5	46.2
	84.9	72.0	73.0	76.5	74.4	62.0
	100.9	71.6	72.9	67.7	73.5	61.5
15	106.2	83.8	74.9	80.2	71.5	48.4
16	106.2	83.7	74.8	80.0	71.2	47.9
	84.7	72.5	72.8	68.0	73.5	61.7
17	106.2	83.7	74.4	79.9	71.8 ^c	47.9
	84.6	72.5	72.7	76.1	74.8	61.7 ^c
	100.6	71.2	72.8	65.8	71.4 ^c	61.4 ^c
18 ^a	96.5	70.7	69.5	69.8	68.1	46.6
19	96.6	70.5	69.8	69.4	67.9	46.1
	84.6	72.6	72.8	68.0	73.6	61.7
20	96.7	70.7	69.9	69.6	68.0	46.3
	84.6	71.6	72.9	76.1	74.6	61.7
	100.7	71.9	72.9	67.8	72.6	61.5

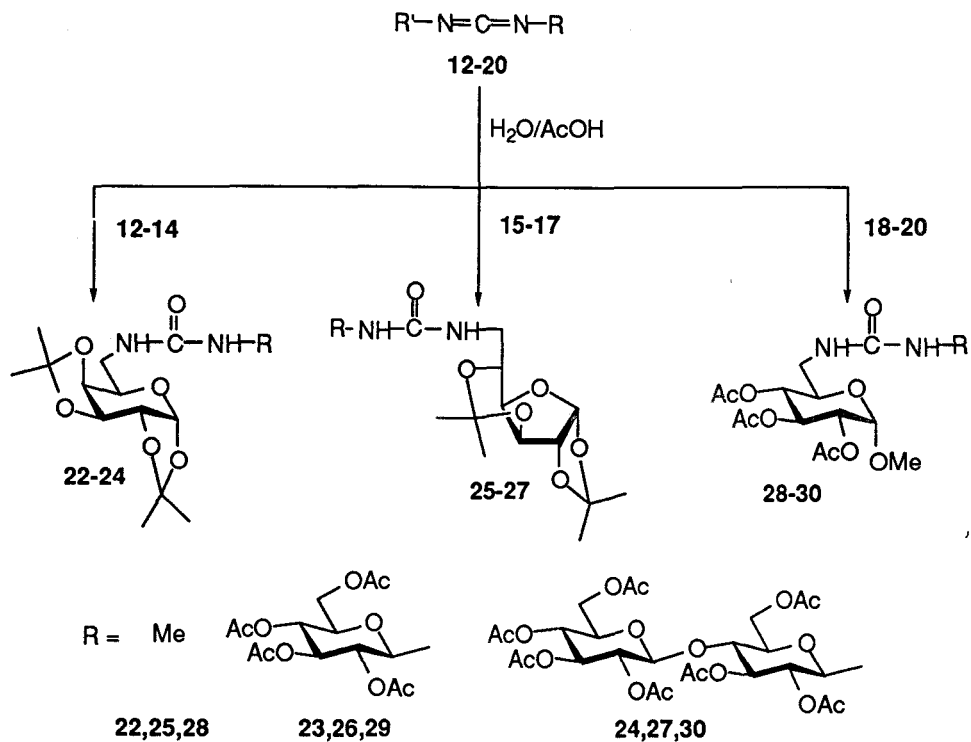
^a A 75.5 MHz. ^b A 100.6 MHz. ^c Las asignaciones pueden estar intercambiadas.

Como ya se ha comentado anteriormente, el interés fundamental de las carbodiimidias de carbohidratos radica en su versatilidad como intermedio de reacción en la preparación de pseudooligosacáridos que incorporan un puente de tres átomos entre dos unidades de azúcar. En primer lugar hemos examinado la síntesis de (1→6)-oligo(glicosil)ureas, por adición de agua a las

carbodiimidas previamente preparadas, en medio ligeramente ácido compatible tanto con el grupo urea como con los grupos protectores en los carbodiimidoazúcares de partida (Esquema 19).

La adición de agua a las carbodiimidas 12-20 en tolueno, a temperatura ambiente y en presencia de una cantidad catalítica de ácido acético, condujo a las correspondientes ureas derivadas de azúcares 22-30 en tiempos de reacción muy cortos (10-15 min.) y con rendimientos prácticamente cuantitativos. La purificación de estas ureas se llevó a cabo por cromatografía en columna de gel de sílice, con los eluyentes que se indican en la *Parte Experimental* de esta Tesis.

La estructura de los compuestos 22-30 está apoyada por el desplazamiento químico de las señales de H-1' y H-6_{a,b} en los espectros de ¹H RMN (Tabla 7, Figuras 12, 14, 15) así como por los desplazamientos químicos de las señales correspondientes a C-1' y C-6, que confirman la presencia de un puente de urea, y por la señal correspondiente al carbonilo de urea ($\delta_{\text{CO urea}}$) a 156.0-168.1 ppm (¹³C RMN, Tabla 8, Figuras 13, 16). Los espectros de masas en modo FAB así como los análisis elementales, se corresponden con la adición de una molécula de agua a las correspondientes carbodiimidas de partida.



Esquema 19

Tabla 7. Datos de ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) para las ureas 21-30.

	Desplazamientos químicos (δ , ppm)						
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6a	H-6b
21 ^a	5.14dd	4.92t	5.33t	5.07t	3.85ddd	4.31dd	4.11dd
22 ^a	5.51d	4.30dd	4.59dd	4.23dd	3.92ddd	3.56dd	3.18dd
23 ^a	5.51d	4.31dd	4.60dd	4.19dd	3.85m	3.60bd	3.20dd
	5.16t	4.91t	5.30t	5.06t	3.82ddd	4.29dd	4.07dd
24	5.48d	4.29dd	4.58dd	4.16dd	3.82bd	3.54m	3.17bdd
	5.05t	4.79t	5.25t	3.53t	3.68ddd	4.43dd	4.09dd
	4.48d	4.91t	5.12t	5.05t	3.63ddd	4.35dd	4.02dd
25	5.97d	4.55d	4.17d	4.25d	3.60ddd	3.53bd	3.26dd
26	5.91d	4.49d	4.14d	4.15dd	3.54m	3.45m	3.17m
	5.10t	4.82t	5.23t	4.98t	3.76ddd	4.24dd	4.00dd
27	5.97d	4.55d	4.18d	4.20dd	3.60td	3.51bs	3.24ddd
	5.07t	4.80t	5.25dd	3.74t	3.69ddd	4.44dd	4.12dd
	4.49d	4.91dd	5.13t	5.06t	3.65ddd	4.36dd	4.02dd
28 ^a	4.90d	4.83dd	5.46t	4.91t	3.86m	3.48bd	3.29dd
29	4.89d	4.78dd	5.42t	4.81t	3.82dd	3.46bdd	3.24bdd
	5.12t	4.86t	5.28t	5.0t	3.78ddd	4.28dd	4.04dd
30	4.80d	4.79dd	5.44t	4.90m	3.83m	3.47m	3.24m
	5.05t	4.82t	5.27t	3.75t	3.68ddd	4.43dd	4.11dd
	4.49d	4.90m	5.12t	5.06t	3.64ddd	4.36dd	4.02dd

Tabla 7 (continuación)

	Constantes de acoplamiento (J , Hz)						
	$J_{1,2}$	$J_{2,3}$	$J_{3,4}$	$J_{4,5}$	$J_{5,6a}$	$J_{5,6b}$	$J_{6a,6b}$
21	9.5	9.5	9.5	9.5	4.7	2.0	12.5
22	5.0	2.4	7.9	1.8	3.7	8.6	14.2
23	4.9	2.4	7.8	1.6	—	9.3	13.7
	9.4	9.4	9.4	9.4	4.0	1.9	12.4
24	4.9	2.4	7.9	1.5	—	8.0	12.0
	9.6	9.6	9.6	9.6	1.4	4.4	12.1
	8.5	8.5	8.5	8.5	4.3	2.1	12.5
25	3.6	0	3.8	7.0	—	6.9	14.2
26	3.7	0	4.2	—	—	—	—
	9.5	9.5	9.5	9.5	4.2	2.0	12.4
27	3.7	0	3.9	7.0	3.6	7.0	13.1
	9.4	9.4	8.9	8.9	1.8	4.5	12.2
	7.8	9.2	9.2	9.2	4.3	2.3	12.4
28	3.6	9.7	9.7	9.7	—	5.6	14.4
29	3.5	9.8	9.8	9.8	4.6	6.0	15.1
	9.5	9.5	9.5	9.5	4.3	2.0	12.5
30	3.6	10.1	10.1	—	—	—	—
	9.4	9.4	9.4	9.4	1.7	5.6	12.2
	8.0	9.3	9.3	9.3	4.3	2.2	12.5

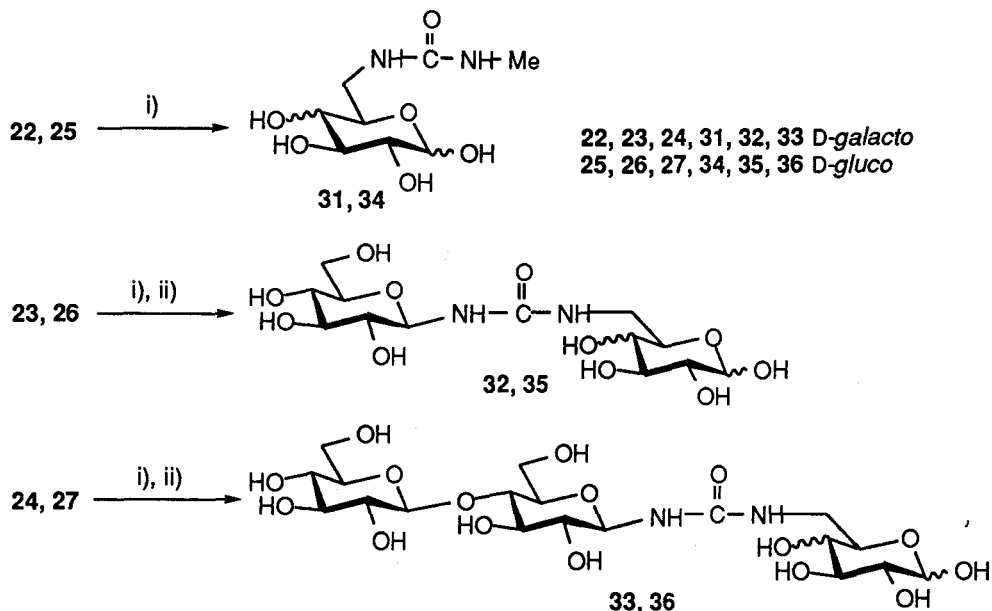
^a A 300 MHz.

Tabla 8. Datos de ^{13}C RMN (125.5 MHz, CDCl_3) para las ureas 21-30.

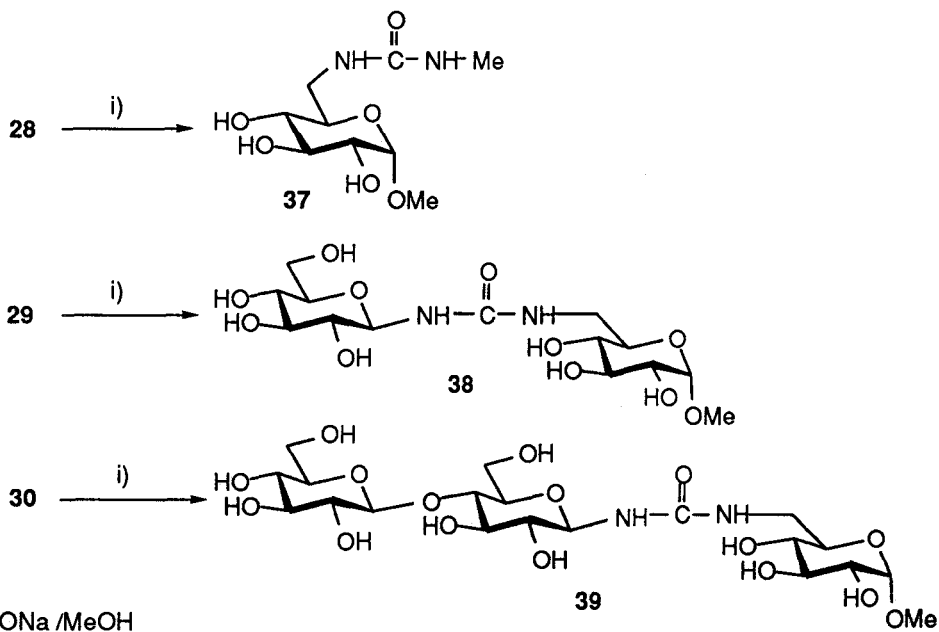
	Desplazamientos químicos (δ , ppm)					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
21 ^a	80.0	70.4	72.6	68.2	73.0	61.8
22 ^a	96.1	70.5	70.6	71.4	67.1	40.8
23 ^a	96.1	70.4	70.6	70.9	66.9	40.6
	80.1	71.4	72.8	68.1	72.9	61.7
24	96.0	70.4	70.6	71.4	67.0	40.6
	80.0	70.6	72.3	76.1	73.7	61.8
	100.5	71.4	72.8	67.6	72.3	61.4
25	106.1	83.7	74.8	80.3	71.4	42.9
26	106.3	83.8	74.9	79.9	71.4	42.9
	80.5	73.0	73.0	68.3	70.5	61.8
27 ^a	106.3	83.7	73.9	80.0	71.4	42.5
	80.5	72.8	70.7	76.2	74.8	61.8
	100.5	71.4	72.3	67.7	71.8	61.5
28	96.2	70.2	69.2	69.8	68.1	39.8
29	96.6	70.5	69.9	69.3	68.3	40.1
	80.2	70.9	72.9	68.0	73.1	61.8
30 ^a	96.5	70.8	69.1	69.7	67.8	40.3
	79.9	70.6	72.2	76.2	73.9	61.8
	100.5	71.4	72.8	67.7	71.8	61.4

^a A 75.5 MHz.

La desacetilación (metóxido sódico 1M) e hidrólisis de los grupos acetales (trifluoroacético-agua 9:1) de los ureidoazúcares 22-30 permite aislar, tras purificación por cromatografía de permeación sobre gel, los correspondientes (1→6)-glicosilureidos libres 31-39 con rendimientos prácticamente cuantitativos (Esquemas 20 y 21).



Esquema 20



Esquema 21

Tabla 9. Datos de ^1H RMN (500 MHz, D_2O) para las ureas 31-39.

Compuesto		Desplazamientos químicos (δ , ppm)						
		H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6a	H-6b
31	I α	5.07d	3.61dd	3.67dd	3.77bd	3.90ddd	3.20dd	3.09dd
	I β	4.38d	3.31dd	3.43dd	3.71d	3.51ddd	3.22dd	3.12dd
32	I α	5.10d	3.65dd	3.70dd	3.82d	3.96m	3.28m	3.16m
	I β	4.41d	3.34t	3.49dd	3.76d	3.57m	3.31dd	3.19m
	II	4.69d	3.25t	3.40t	3.24t	3.36m	3.74bd	3.59m
33 ^a	I α	5.63d	4.19dd	4.23dd	4.35dd	---	---	---
	I β	4.94d	3.89m	4.01dd	4.29d	---	---	---
	II	4.90d	3.72dd	3.849m	3.82t	3.89m	4.30da	4.12dd
	III	5.22d	3.79t	4.07t	4.01t	4.06m	4.32d	4.18da
34	I α	5.12d	3.44dd	3.61t	3.21t	3.73ddd	3.40dd	3.26dd
	I β	4.53d	3.14dd	3.39t	3.22t	3.26m	3.46dd	3.22dd
35	I α	5.06d	3.38dd	3.55t	3.16t	3.70ddd	3.41dd	3.24dd
	I β	4.48d	3.08dd	3.24t	3.16t	3.22m	3.47dd	3.19dd
	II	4.69d	3.23t	3.40t	3.21t	3.35m	3.74bd	3.56dd
36 ^a	I α	5.57d	3.89dd	4.07t	3.647t	3.90m	4.22m	3.76dd
	I β	4.948d	3.68t	3.85t	3.60dd	3.83m	3.98da	3.74m
	II	5.22d	3.78t	<-----4.00m----->		4.06m	3.21da	4.17da
	III	4.89d	3.71dd	3.89t	3.80t	3.87m	4.29da	4.11dd
37	I	4.62d	3.38dd	3.49t	3.15t	3.47ddd	3.40dd	3.12dd
38	I	4.66d	3.22dd	3.51t	3.17t	3.52m	3.47dd	3.42dd
	II	4.70d	3.26t	3.40t	3.21t	3.36ddd	3.74dd	3.57dd
39	I	4.64d	3.41dd	3.51t	3.15d	3.44ddd	3.42dd	3.21dd
	II	4.37d	3.18dd	3.36t	3.28t	3.34m	3.78bd	3.59dd
	III	4.72d	3.25t	3.51t	3.14dd	3.46m	3.79bd	3.66bdd

Tabla 9 (continuación).

		Constantes de acoplamiento (J , Hz)						
		$J_{1,2}$	$J_{2,3}$	$J_{3,4}$	$J_{4,5}$	$J_{5,6a}$	$J_{5,6b}$	$J_{6a,6b}$
31	I α	3.8	10.4	3.2	0	5.8	7.8	14.4
	I β	8.0	9.7	3.4	0	5.6	7.8	14.4
32	I α	3.7	9.3	3.2	0	—	—	—
	I β	7.8	7.8	3.1	0	5.8	—	10.3
	II	9.2	9.2	9.2	9.2	—	—	10.5
33	I α	4.5	10.0	3.9	0	—	—	—
	I β	7.9	9.8	3.9	0	—	—	—
	II	8.0	7.8	9.0	9.0	—	5.4	12.4
	III	9.3	9.3	9.3	9.3	—	—	12.3
34	I α	3.8	9.6	9.6	9.6	3.5	6.3	14.2
	I β	8.0	9.2	9.2	9.2	2.5	6.2	14.4
35	I α	3.7	9.5	9.5	9.5	2.5	5.4	14.1
	I β	8.1	9.2	9.2	9.2	1.8	7.9	14.2
	II	9.1	9.1	9.1	9.1	—	4.6	12.5
36	I α	4.2	9.0	9.0	9.0	—	5.7	14.5
	I β	8.1	8.1	8.1	9.2	—	—	14.0
	II	9.2	9.2	—	—	—	—	12.5
	III	8.0	9.0	9.0	9.0	—	5.5	12.6
37	I	3.8	9.6	9.6	9.6	2.6	7.0	12.6
38	I	3.2	9.3	9.3	9.3	2.7	3.8	14.5
	II	9.3	9.3	9.3	9.3	2.1	5.5	12.3
39	I	3.4	9.2	9.2	10.1	4.5	6.4	14.5
	II	8.0	9.3	9.3	9.3	—	5.3	12.6
	III	9.3	9.3	9.3	8.2	—	—	12.1

^a A 343K.

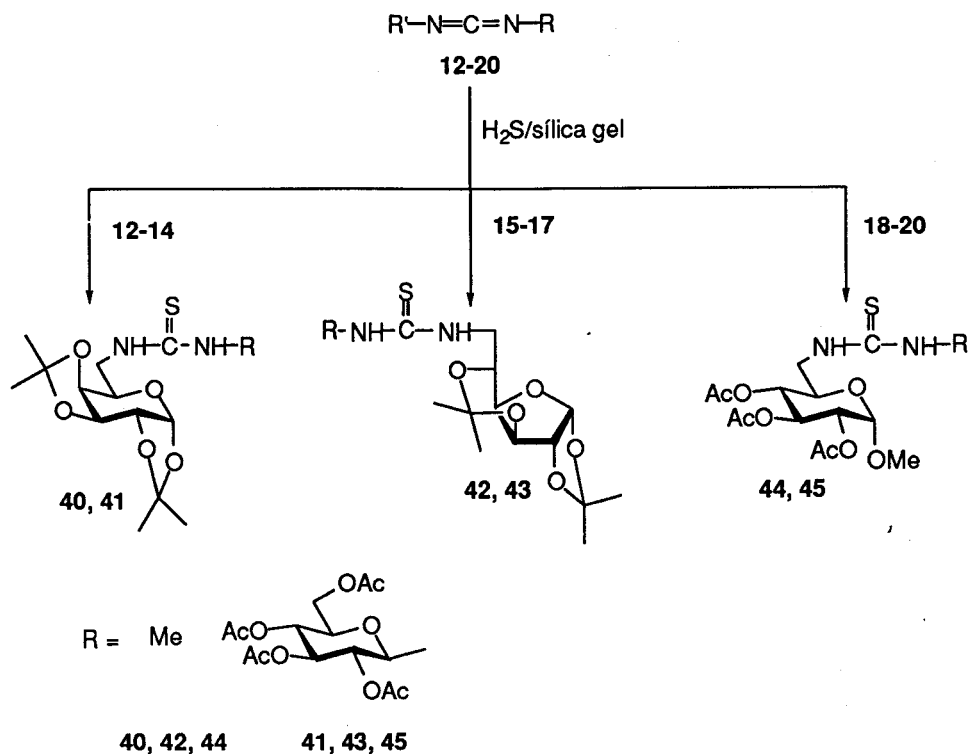
Tabla 10. Datos de ^{13}C RMN (125.5 MHz, D_2O) para las ureas 31-39.

		Desplazamientos químicos (δ , ppm)					
		C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
31 ^a	I α	92.4	69.0	69.2	69.4	68.3	40.4
	I β	96.5	71.9	72.8	68.9	73.6	40.4
32 ^a	I α	92.2	68.8	69.2	69.4	68.2	40.0
	I β	96.4	71.7	72.6	68.6	73.3	40.0
	II	80.9	76.4	77.0	69.0	71.8	60.5
33	I α	91.8					39.6
	I β	96.0					39.6
	II	80.4					60.1
	III	102.3					59.4
34	I α	92.0	71.5	72.5	70.9	70.3	40.7
	I β	95.8	74.7	75.3	70.7	74.1	40.7
35 ^b	I α	92.0	71.4	72.4	70.9	70.1	40.4
	I β	95.8	74.4	75.3	70.7	74.1	40.4
	II	80.9	76.5	77.0	69.3	71.9	60.6
36	I α	91.6					40.1
	I β	95.4					40.1
	II	80.4					59.4
	III	102.0					60.1
37 ^a	I	99.4	71.3	73.2	70.8	71.6	40.9
38 ^a	I	99.2	71.1	73.0	70.3	71.3	40.5
	II	81.1	76.7	77.1	69.5	72.0	60.7
39	I	99.1	71.0	72.8	70.2	71.2	40.4
	II	80.9	73.1	75.0	78.2	75.4	59.9
	III	102.5	71.7	75.8	69.4	75.9	60.5

^a A 75.5 MHz. ^b A 100.6 MHz.

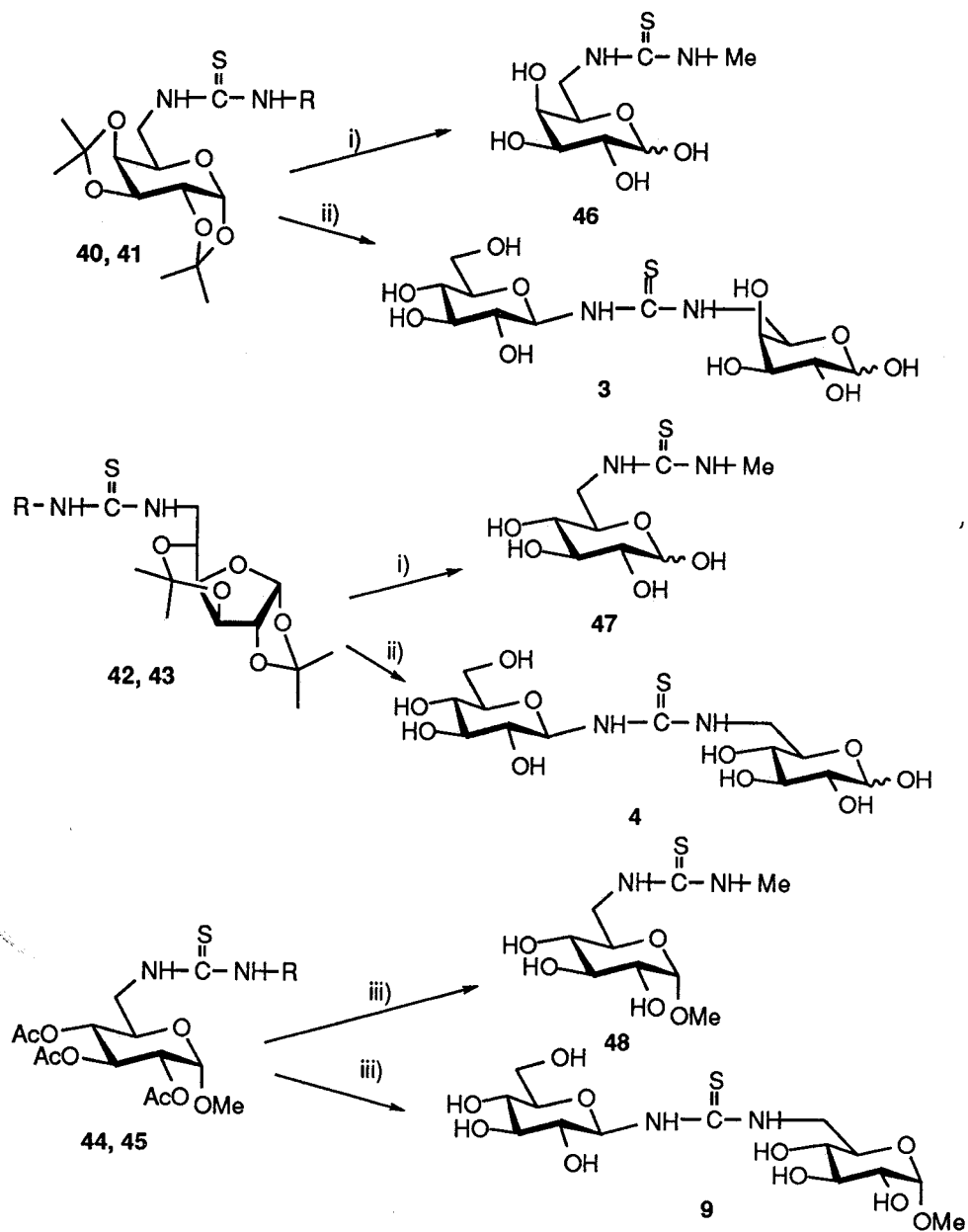
Síntesis de (1→6)-oligo(glicosil)tioureas.

Nuestro siguiente objetivo ha sido la síntesis de (1→6)-oligo(glicosil)tioureas a partir de las correspondientes carbodiimidas, por adición de sulfuro de hidrógeno. Los primeros intentos de efectuar esta transformación burbujeando sulfuro de hidrógeno, generado por reacción de ácido clorhídrico con sulfuro ferroso, sobre una disolución de la correspondiente carbodiimida en tolueno a 0°C, fueron infructuosos. Cuando utilizamos una cantidad catalítica de ácido acético para favorecer la adición, se observó la formación de la correspondiente urea, por reacción del carbodiimido azúcar correspondiente con el agua que lleva el ácido acético comercial. Sin embargo, cuando llevamos a cabo la reacción en tolueno, a 0°C y en presencia de sílica gel como catalizador, burbujeando sulfuro de hidrógeno secado sobre cloruro de calcio, la transformación de las correspondientes carbodiimidas en tioureas tuvo lugar en unas cinco o seis horas, con rendimientos que oscilan entre el 62 y el 90% (Esquema 22).



Esquema 22

De manera análoga a la descrita en el caso de las ureas, la desprotección de las tioureas 40-45 empleando metóxido sódico 1M para la desacetilación de los grupos ésteres y trifluoroacético-agua 9:1 para la hidrólisis de los grupos isopropilideno condujo con rendimientos excelentes, a las tioureilénglicobiosas 3, 4, 9, y 46-48 (Esquema 23).



Esquema 23

Tabla 11. Datos de ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3 , 313K) para las tioureas 40-48.

Compuesto		Desplazamientos químicos (δ , ppm)						
		H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6a	H-6b
40	I	5.44d	4.25dd	4.55dd	4.20dd	4.08m	3.90m	3.39ddd
41	I	5.50d	4.30dd	4.59dd	4.19dd	3.94m	<-----3.45m----->	
	II	5.54m	4.96t	5.29t	5.05t	3.83ddd	4.29dd	4.08dd
42	I	5.97d	4.56d	4.20d	4.28dd	3.70td	3.76m	3.52ddd
43	I	5.97d	4.57d	<-----4.25-4.19m----->		3.66m	<-----3.49m----->	
	II	5.65bt	4.94t	5.34t	5.05t	3.84ddd	4.30dd	4.10dd
44	I	4.94d	4.83dd	5.48t	4.90t	3.98ddd	3.93ddd	3.59dt
45	I	4.94d	4.81dd	5.46t	4.84t	3.94m	<-----3.70-3.30m----->	
	II	5.72dd	4.96t	5.44t	5.08t	3.83ddd	4.31dd	4.09dd
46 ^{a,b}	I α	5.43d	3.99dd	4.03dd	4.15bd	4.40bt	3.95m	3.78m

Tabla 11 (continuación).

		Constantes de acoplamiento (J , Hz)						
		$J_{1,2}$	$J_{2,3}$	$J_{3,4}$	$J_{4,5}$	$J_{5,6a}$	$J_{5,6b}$	$J_{6a,6b}$
40	I	5.0	2.4	7.9	1.8	—	8.2	14.1
41	I	5.0	2.3	7.9	1.6	—	—	—
	II	9.5	9.5	9.5	9.5	4.3	2.0	12.4
42	I	3.7	0	4.0	4.4	7.1	7.1	12.7
43	I	3.7	0	—	—	—	—	—
	II	9.5	9.5	9.5	9.5	4.4	2.2	12.4
44	I	3.7	9.8	9.8	9.8	2.7	5.9	14.5
45	I	4.2	9.8	9.8	9.8	—	—	—
	II	9.4	9.4	9.4	9.4	4.7	2.2	12.4
46	I α	3.7	10.3	3.2	0	6.4	6.4	—
	I β	7.9	10.0	3.5	0	—	—	—
47	I α	3.8	9.8	9.8	9.8	6.4	3.0	—
	I β	8.4	8.8	8.8	8.8	6.6	2.8	—
48	I	3.7	9.7	9.7	9.7	2.6	6.7	13.7

^a A 500 MHz. ^b En D₂O. ^c A 343K.

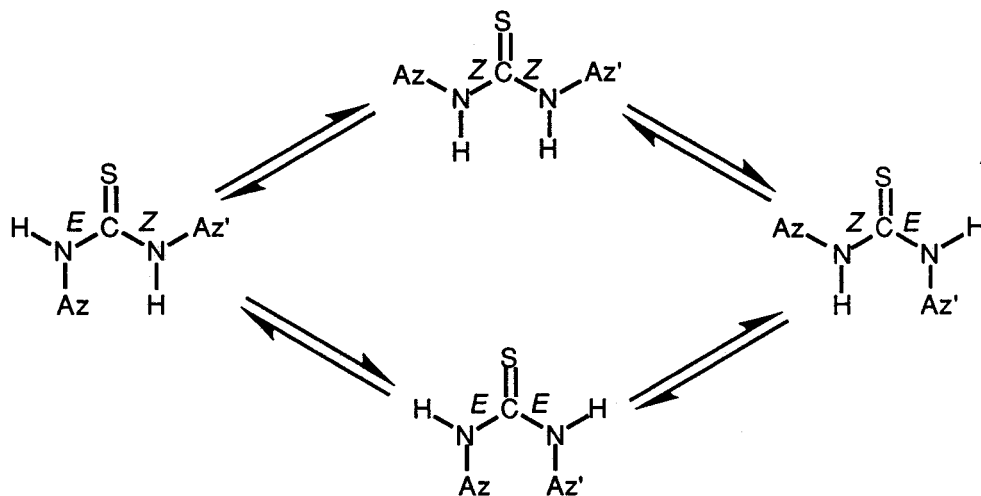
Tabla 12. Datos de ^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3 , 313K) para las tioureas 40-48.

		Desplazamientos químicos (δ , ppm)					
		C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
40	I	96.1	70.4 ^c	70.5 ^c	71.4	66.4	44.8
41	I	96.1	70.4	70.5	70.5	66.2	45.2
	II	82.6	71.2	72.7	68.1	73.9	61.6
42	I	106.3	83.9	74.9	80.0	71.3	46.8
43	I	106.4	83.9	75.0	80.3		46.7
	II	83.1			68.3		61.6
44	I	96.8	70.9	69.7	69.8	68.2	44.8
45	I	96.6	70.6	69.6	69.5	68.4	44.5
	II	82.8	70.8	72.8	67.7	73.3	61.7
46 ^b	I α	92.5	68.4	69.1	69.5	68.5	44.5
	I β	96.6	71.9	72.7	68.9	73.0	44.5
47 ^{a,b}	I α	91.8	71.2	72.2	71.0	69.7	44.6
	I β	95.6	73.9	75.1	70.6	73.9	44.6
48 ^b	I	102.4	74.4	76.2	73.1	74.4	48.0

^a A 125.5 MHz. ^b En D_2O . ^c Estas asignaciones pueden estar intercambiadas.

4.1.3. Análisis conformacional de (tio)ureilenoligosacáridos.

Los datos disponibles sobre las propiedades conformacionales de ureido y tioureido azúcares en disolución son escasos y se limitan a derivados *O*-protegidos y a disolventes orgánicos [15]. En principio, un grupo urea o tiourea 1,3-disustituído puede existir en cuatro formas rotaméricas diferentes, dependiendo de la orientación relativa entre el átomo de oxígeno ó azufre y los sustituyentes sobre los nitrógenos (Esquema 24).



Esquema 24

En general, las uniones pseudoamida sustituidas por anillos de piranosa existen exclusivamente en la conformación *Z*, tanto si la posición de unión del átomo de nitrógeno al anillo es el carbono anomérico o no [29,30,71,72]. Además, en todos los casos el enlace $\text{HC}_{\text{ciclo}}-\text{NH}$ adopta una disposición en la que los dos protones se encuentran en *anti*. La conformación *anti-Z* en estas uniones es también la que se observa en las estructuras cristalinas descritas [73,74].

El equilibrio conformacional de un grupo tiourea unido al carbono C-6 (exocíclico) de

una hexosa es mucho más complejo y ha sido objeto de varios trabajos en nuestro laboratorio [34,42,44]. Los resultados obtenidos indican que la correspondiente unión pseudoamida presenta un equilibrio conformacional *Z/E*. El análisis de las barreras rotacionales, los coeficientes de temperatura para los desplazamientos químicos de protones NH y el efecto de la polaridad del disolvente en la proporción de rotámeros indica que la configuración *E* está estabilizada por un enlace de hidrógeno intramolecular de siete vértices que implica, en el caso de hexopiranosas, al átomo de oxígeno endocíclico O-5. La unión C-5—C-6 [75] adopta una conformación *gauche-trans* en este rotámero, mientras que existe en equilibrio *gauche-trans/gauche-gauche* en el conformero *Z* [42] (Figura II).

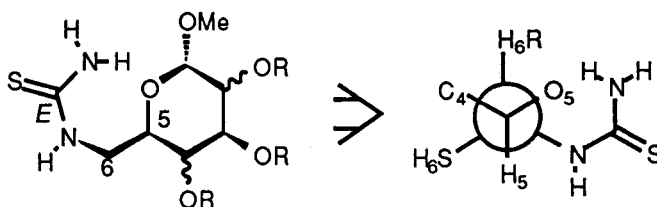


Figura II. Puente de hidrógeno intramolecular en el rotámero *E* de metil 6-desoxi-6-tioureido hexapiranosidos mostrando la disposición *gauche-trans* alrededor del enlace C-5—C-6.

Este marco general puede verse significativamente alterado al pasar a un medio acuoso. En disolución acuosa, las interacciones por enlace de hidrógeno con moléculas de agua deben estar fuertemente favorecidas frente a las interacciones intramoleculares.

Con objeto de determinar las propiedades conformacionales de esta familia de pseudooligosacáridos en agua hemos realizado, en colaboración con el Dr. Pedro Nieto del Instituto de Investigaciones Químicas del CSIC, un estudio por RMN en mezclas H₂O-D₂O 9:1 para el compuesto 38. A temperaturas entre 5 y 10°C, el intercambio químico entre los protones de NH y el disolvente es lo suficientemente lento como para que las señales correspondientes aparezcan resueltas en el espectro de ¹H RMN. Un espectro NOESY registrado a 10°C en estas condiciones mostró señales de cruce intensas entre las resonancias de los protones NH y N'H así como entre N'H y H-2' (Figura III). Estos datos apoyan la existencia del rotámero *Z,Z* con una

disposición *anti* entre H-1' y N'H, y concuerdan con los resultados recientemente publicados para la conformación del segmento amida análogo en sacaropéptidos [13]. Los valores de constantes de acoplamiento $J_{5,6a}$ y $J_{5,6b}$ indican la existencia de un equilibrio conformacional *gauche-gauche/gauche-trans* en el enlace C-5—C-6. Aunque la participación en el equilibrio conformacional de rotámeros con conformación *E* en la unión NH—C(=S) no puede descartarse, la intensidad de la señal de cruce NH/N'H indica que la conformación *Z,Z* es, probablemente, mayoritaria.

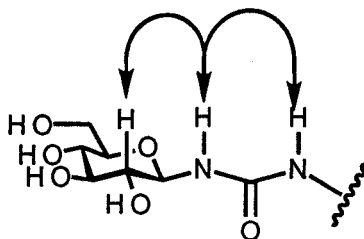


Figura III. Contactos NOE observados en el espectro NOESY (H_2O-D_2O 9:1) de **38**

Dado el carácter fuertemente donador de enlace de hidrógeno de los grupos NH en las funcionalidades urea y tiourea, es probable que la conformación *Z,Z* esté favorecida en disolución acuosa por el establecimiento de interacciones simultáneas de los dos protones, en disposición *sin*-1,3-paralela, con un mismo átomo de oxígeno de una molécula de agua (Figura IV). Estructuras supramoleculares análogas entre ureas o tioureas y aceptores de enlace de hidrógeno oxigenados han sido previamente caracterizadas [76,77] y, a la vista de nuestros resultados, podrían ser determinantes en las propiedades estructurales de estos compuestos en medio biológico.

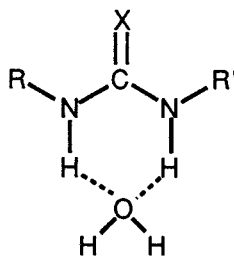


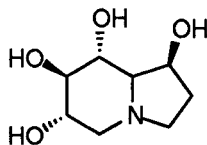
Figura IV

4.2. Glicomiméticos relacionados con la castanospermina.

4.2.1. Síntesis y reactividad de 5,6-(tio)carbamatos cíclicos de hexosas.

Preparación de 2-oxa-(+)-castanosperminas.

En la segunda parte de esta Tesis nos hemos planteado la síntesis de sistemas bicíclicos fusionados [4.3.0] estructuralmente relacionados con los alcaloides de la familia de las polihidroxiindolizidinas (ej., (+)-castanospermina). Estos compuestos pueden considerarse como análogos de monosacáridos en los que el átomo de oxígeno endocíclico ha sido sustituido por un átomo de nitrógeno y en los que la conformación alrededor del enlace homólogo a C-5—C-6 ha sido fijada mediante un puente de etilideno.

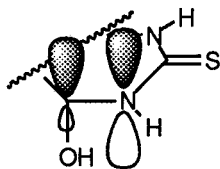


(+)-castanospermina

No existen ejemplos en la literatura de polihidroxiindolizidinas que incorporen un hidroxilo sobre el carbono pseudoanomérico C-5 [25]. Nuestro objetivo ha sido la puesta a punto de un método de preparación de derivados de este tipo y el estudio de la influencia de la configuración de la posición pseudoanomérica en las propiedades de inhibición de glicosidasas.

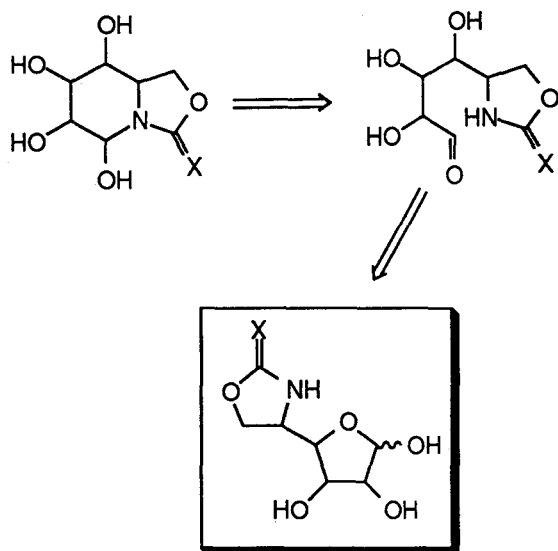
Los problemas que se presentan son fundamentalmente dos: (i) la baja estabilidad de las funcionalidades aminoacetálicas, y (ii) la rápida anomerización característica de los azúcares e iminoazúcares reductores [78]. Para superarlos, la idea que hemos desarrollado consiste básicamente en la transformación del nitrógeno piramidal sp^3 cabeza de puente de las indolizidinas en un nitrógeno amídico plano sp^2 . Este cambio en la hibridación debe tener importantes consecuencias en las propiedades estereoelectrónicas asociadas a la posición

pseudoanomérica adyacente. Así, de acuerdo con resultados anteriores del laboratorio sobre estructura y reactividad de hexahidropirimidina-2-tionas polihidroxiladas, la simetría π del orbital que aloja ahora el par de electrones no compartidos del átomo de nitrógeno (p) permite un solapamiento más eficaz con el orbital antienlazante de un enlace C-O vecino (σ^*) [39,79]. Consecuentemente, el efecto anomérico se ve fuertemente reforzado, lo que se traduce en un control eficaz de la anomería y en una mayor estabilidad.



En este sentido, en esta Tesis Doctoral hemos preparado una serie de azaazúcares reductores configuracionalmente relacionados con la (+)-castanospermina en los que el átomo de nitrógeno forma parte de un grupo carbamato o tiocarbamato.

El esquema retrosintético que planteamos para la preparación de derivados de 2-oxa-(+)-castanosperminas se presenta en el Esquema 25 y se basa en la capacidad del grupo *N*-(tio)carbonilo para actuar como nucleófilo de nitrógeno frente al grupo aldehído enmascarado de un monosacárido.

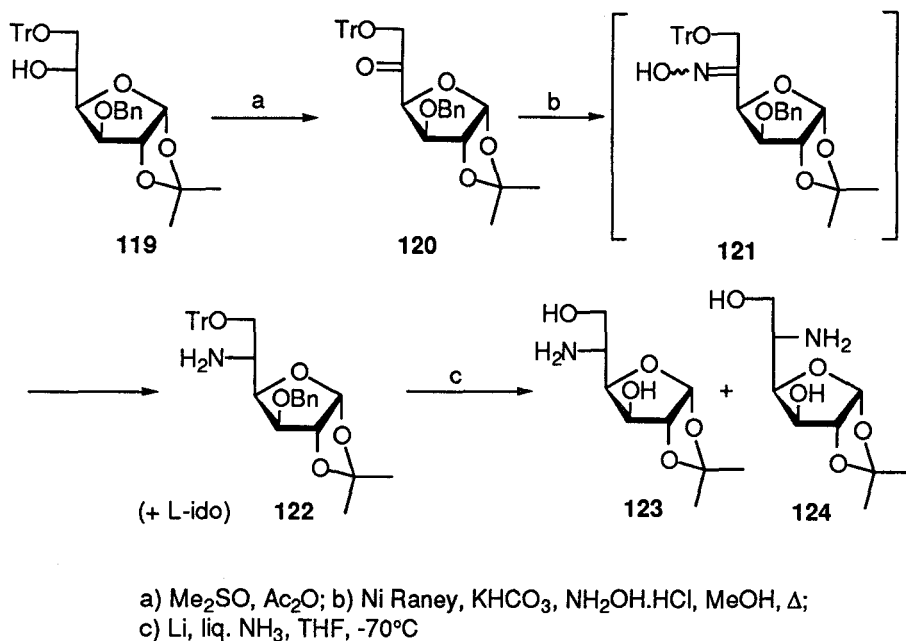


Esquema retrosintético para la preparación de 5-hidroxi-2-oxacastanosperminas

Esquema 25

Para verificar las posibilidades de esta estrategia sintética, hemos abordado en primer lugar la síntesis de los intermedios claves, los 5,6-(tio)carbamatos cíclicos derivados de la D-glucofuranosa, así como los correspondientes epímeros en C-5 derivados de la L-idofuranosa, por tiocarbonilación de 5-amino-5-desoxi-1,2-O-isopropilidén- α -D-glucofuranosa (**123**) y 5-amino-5-desoxi-1,2-O-isopropilidén- β -L-idofuranosa (**124**).

La preparación de 5-amino-5-desoxihexofuranosas no es trivial. Probablemente, el método de síntesis menos costoso consiste en la oxidación del hidroxilo sobre C-5 en precursores furánicos selectivamente protegidos hasta grupo ceto. La reducción catalítica de la correspondiente oxima conduce a los 5-amino-5-desoxiazúcares como mezcla de derivados de configuración D-*gluco* (**123**) y L-*ido* (**124**) en una proporción relativa 9:1, por lo que el procedimiento no resulta de utilidad práctica cuando es esta última la configuración deseada [80-83] (Esquema 26).

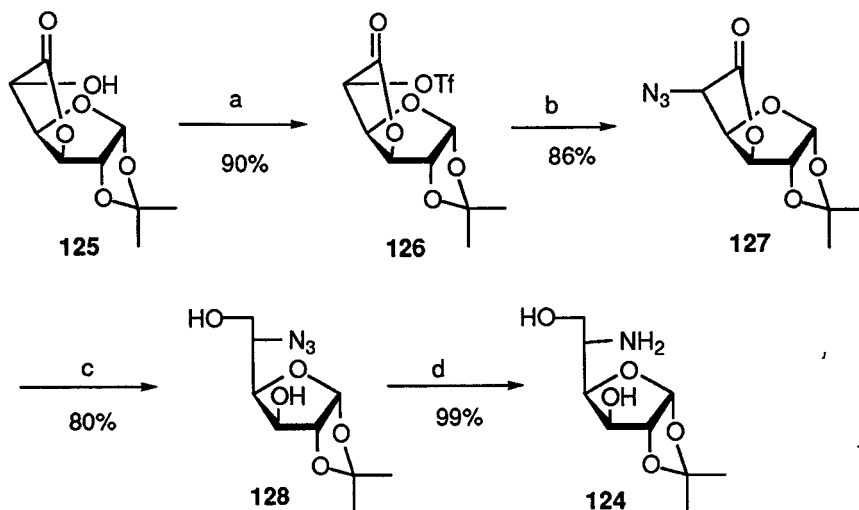


Esquema 26

En principio, una estrategia de síntesis basada en la inversión de la configuración en C-5 de un precursor de D-glucosa parece más apropiada. Sin embargo, este procedimiento conduce a bajos rendimientos debido a reacciones paralelas de eliminación [84,85]. Estos problemas pueden solventarse en gran medida utilizando 1,2-O-isopropilidén-α-D-glucofuranurono-6,3-lactona (**125**) como producto de partida [86]. La inversión en C-5 por el anión azida vía triflato [87] conduce al correspondiente derivado de L-idofuranurono-6,3-lactona **127**, que tras apertura y reducción de la lactona seguida de reducción del grupo azido a amino proporcionaría el compuesto deseado **124** (Esquema 27).

Recientemente, Stütz y col. [88] han optimizado esta aproximación para la síntesis estereoselectiva de 5-amino-5-desoxy-1,2-O-isopropilidén-α-D-glucosaminas (**123**). Aunque la preparación del epímero en C-5 no está especificada en el trabajo, los autores indican que el

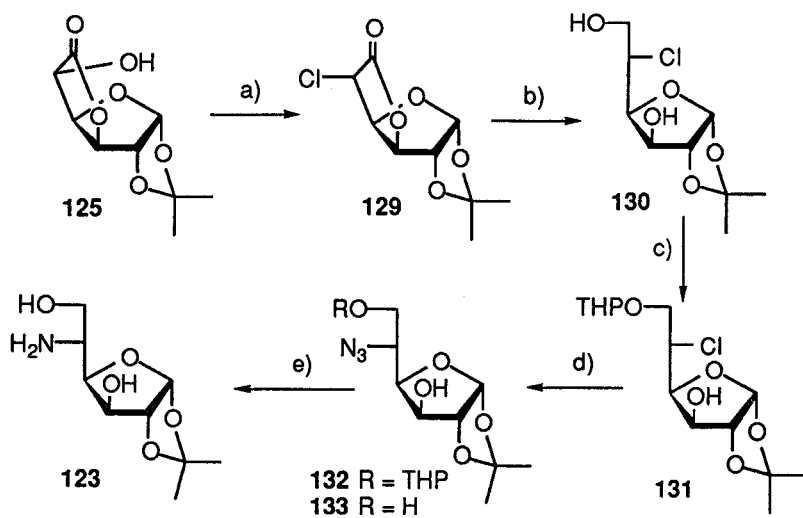
método podría modificarse para su obtención, también estereoselectiva, mediante transformaciones sencillas. Comunicaciones posteriores en las que se utiliza el derivado de L-idosa [89,90] tampoco detallan su preparación, haciendo referencia a la publicación anterior.



a) Tf_2O , CH_2Cl_2 , piridina, -20°C , 1 h; b) butanona, NaN_3 , t.a., 2 h;
c) THF, LiBH_4 , -25°C , 3 h; d) 1) PPh_3 , dioxano-metanol, 1 h, 2) NH_4OH 30%, 24 h.

Esquema 27

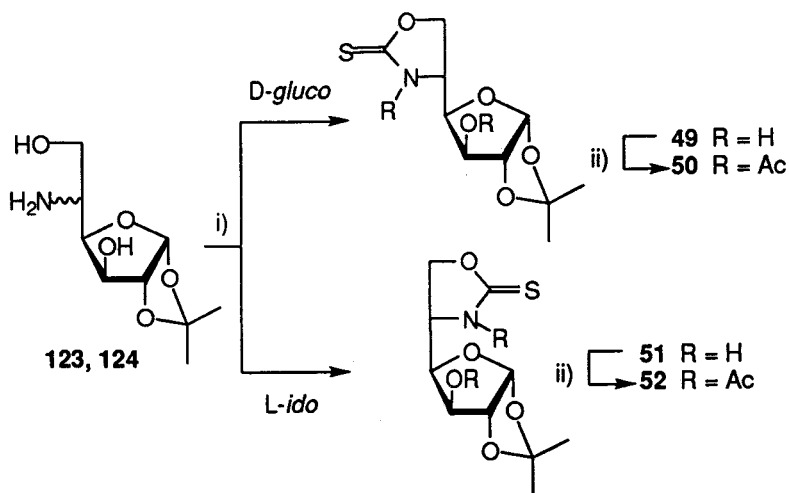
Básicamente, el esquema de síntesis que hemos seguido en este trabajo para la obtención de 5-amino-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén- α -D-glucofuranosa (123) y de su epímero de configuración *L-ido* (124) resulta de combinar los resultados de Fleet y col. [87] y Stütz y col. [88] (Esquemas 27 y 28). Las modificaciones introducidas se refieren a las condiciones experimentales (ver Parte Experimental) y al método de reducción del grupo azido a amino, optándose por la hidrólisis de un iminofosforano intermedio obtenido vía reacción de Staudinger con trifenilfosfina [46-49].



a) Cl_2SO_2 , CH_2Cl_2 ; b) LiBH_4 , MeOH ; c) DHP, CH_2Cl_2 ; d) NaN_3 , DMF ;
 e) PPh_3 , NH_4OH , dioxano-MeOH 5:1

Esquema 28

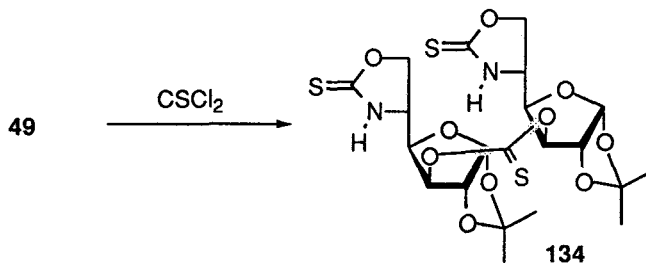
El tratamiento de 5-amino-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén- α -D-glucofuranosa (123) y 5-amino-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén- β -L-idofuranosa (124) con disulfuro de carbono y dicitclohexilcarbodiimida en diclorometano a 10°C conduce a los 5,6-(tiocarbamatos cíclicos) de configuración *D*-gluco 49 y *L*-ido 51 con excelentes rendimientos (80-85%). La acetilación convencional con anhídrido acético-piridina de 49 y 51 permitió aislar los derivados peracetilados 50 y 52 con rendimientos prácticamente cuantitativos (Esquema 29).



i) CS_2 , DCC, -10°C , 6h; ii) Ac_2O -piridina 1:1

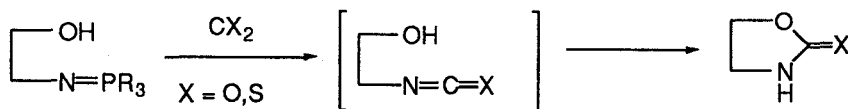
Esquema 29

Intentos de llevar a cabo la reacción con otros reactivos como tiosfosgeno o N,N' -tiocarbonildiimidazol rindieron los productos deseados con bajos rendimientos debido, probablemente, a la formación simultánea de tiocarbamatos y/o tiocarbonatos que implican al hidroxilo libre en la posición 3. De acuerdo con esto, la reacción de la 5-amino-5-desoxi-1,2- O -isopropilidén- α -D-glucofuranosa con tiosfosgeno permitió aislar como producto minoritario una especie dimérica 134 con un puente de tiocarbonato conectando las posiciones C-3 de dos unidades de glucosa (Esquema 30). Su estructura se confirmó por los datos de ^1H y ^{13}C RMN así como por la presencia en el espectro de masas (FAB) de un pico pseudomolecular a m/z 587 que corresponde a $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

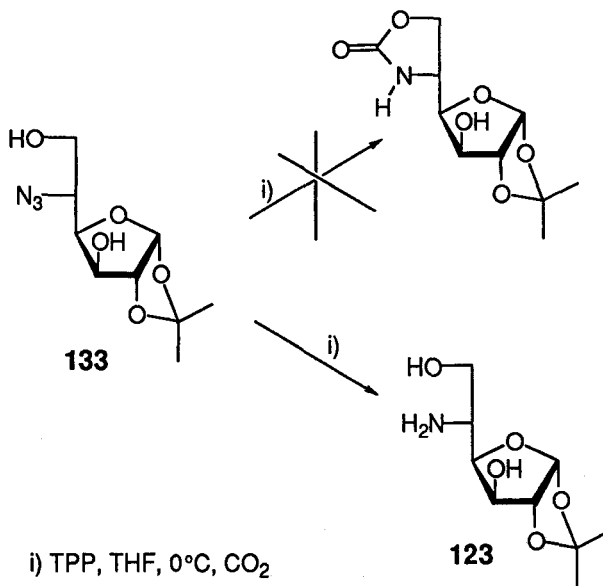


Esquema 30

Para la obtención de los 5,6-(carbamatos cíclicos), ensayamos en primer lugar la reacción de las correspondientes fosfiniminas con CO_2 . De acuerdo con métodos descritos [91], la reacción de λ^5 -fosfazenos con CO_2 o CS_2 permite obtener heterocumulenos (isocianatos o isotiocianatos) que, en presencia de un grupo hidroxilo vecino, originarían de manera espontánea la correspondiente oxazolidina-2-ona(tiona) (Esquema 31) [46, 47, 92-95]. Sin embargo, en nuestro caso, cuando se ensayó la reacción de 5-azido-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén- α -D-glucofuranosa con trifenilfosfina y CO_2 en THF a 0°C sólo se aisló el derivado 5-amino resultante de la hidrólisis de la fosfinimina intermedia (Esquema 32).



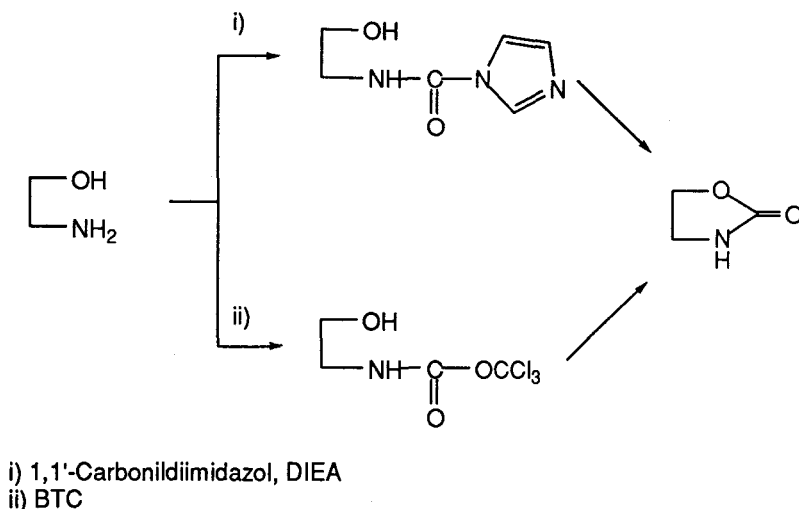
Esquema 31



Esquema 32

La reacción de carbonilación de los 5-aminoazúcares con 1,1'-carbonildiimidazol en presencia de diisopropiletilamina (DIEA) (amina de Hünig) en diclorometano condujo a los 5,6-(carbamatos cíclicos) deseados como productos mayoritarios con rendimientos moderados (60%) (Esquema 33).

Alternativamente, ensayamos el carbonato de bis(triclorometilo) (BTC, carbonato de hexaclorodimetilo o trifosgeno), un equivalente sintético del fosgeno que reacciona con aminas primarias alifáticas y aromáticas o con sus sales para dar carbamatos de triclorometilo que se transforman fácilmente en isocianatos [96]. En nuestro caso, la presencia del hidroxilo vecino en la posición C-6 debe conducir al 5,6-(carbamato cíclico) (Esquema 34).

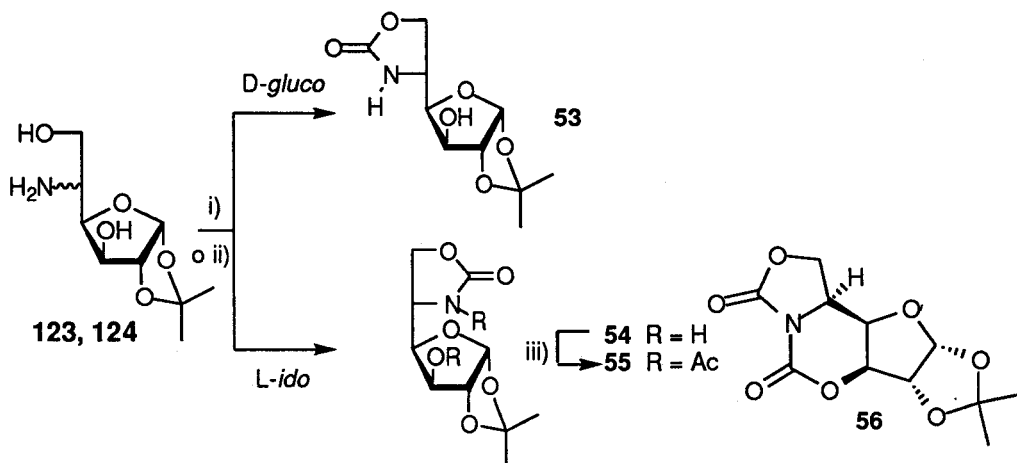


Esquema 33

Los primeros ensayos de reacción de los 5-amino-5-desoxi derivados de configuración *D-gluco* y *L-ido* **123** y **124** con BTC en diclorometano, proporcionaron mezclas complejas de productos de reacción, debido, probablemente, a la posibilidad de los grupos hidroxilos presentes en la molécula de reaccionar simultáneamente con trifosgeno o a reacciones secundarias de hidrólisis de los grupos acetales en el medio ácido de la reacción. De acuerdo con esto, la reacción del aminoderivado de configuración *D-gluco* con cinco equivalentes de trifosgeno permitió aislar con un 15% de rendimiento el derivado tetracíclico **56** (Esquema 33). La estructura de bis-(carbamato cíclico) para **56** se confirmó a partir de su espectro de masas y de sus datos espectroscópicos. En el espectro de ^{13}C RMN (Figura 32) se observan dos señales muy características a 150.9 y 144.2 ppm que corresponden a los dos grupos carbonilos de los carbamatos entre los átomos de carbono C-5 y C-6 y entre C-5 y C-3.

Finalmente, la reacción de las aminas **123** y **124** con BTC en presencia de DIEA en proporciones 1:1.5:10, en diclorometano a temperatura ambiente, siguiendo un procedimiento recientemente propuesto para la preparación de ureas en fase sólida [97], condujo de modo cuantitativo y con tiempos de reacción inferiores a cinco minutos a los 5-amino-5-desoxi-1,2-*O*-

isopropilidén- α -D-glucofuranosa 5,6-(carbamato cíclico) (**53**) y 5-amino-5-desoxi-1,2-O-isopropilidén- β -L-idofuranosa 5,6-(carbamato cíclico) (**54**), respectivamente. A diferencia de lo observado para el tiocarbamato análogo **51**, la acetilación del carbamato **54** condujo al derivado selectivamente *O*-acetilado **55** (Esquema 34).



i) 1,1'-Carbonildiimidazol, DIEA, 60%; ii) BTC, DIEA, 5min, > 95%; iii) Ac₂O-piridina 1:1

Esquema 34

Tabla 13. Datos de ^1H RMN (500 MHz, CD_3OD) de los compuestos 49-56.

	Desplazamientos químicos (δ , ppm)						
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6a	H-6b
49	5.91d	4.46d	4.11d	4.23dd	4.31ddd	4.69dd	4.64t
50 ^{a,b}	5.95d	4.51d	5.21d	4.62t	4.98dt	4.83dd	4.42t
51 ^a	5.93d	4.48d	4.18d	4.13dd	4.30dt	4.73t	4.47dd
52 ^b	5.97d	4.48d	5.09d	4.91dd	5.16ddd	4.83dd	4.46t
53 ^{a,b}	5.94d	4.54d	4.31d	4.15d	4.14t	5.99dd	4.47dd
54 ^{a,b}	5.99d	4.53d	4.27dd	4.12dd	4.21ddd	4.55t	4.32dd
55 ^{a,b}	5.96d	4.57d	5.20d	4.28dd	4.00ddd	4.41t	4.21dd
56 ^b	6.00d	4.81d	4.91d	4.65dd	4.59td	4.54t	4.48t
	Constantes de acoplamiento (J , Hz)						
	$J_{1,2}$	$J_{2,3}$	$J_{3,4}$	$J_{4,5}$	$J_{5,6a}$	$J_{5,6b}$	$J_{6a,6b}$
49	3.6	0	3.2	4.4	6.6	9.2	9.2
50	3.8	0	3.4	3.4	3.4	9.1	9.1
51	3.6	0	3.2	6.6	9.3	6.6	9.3
52	3.7	0	3.1	8.8	5.8	9.6	9.6
53	3.6	0	1.6	0	5.0	5.0	8.9
54	3.6	0	3.2	4.0	8.7	5.7	8.7
55	3.7	0	3.1	7.4	9.0	5.4	9.0
56	3.6	0	3.1	1.5	8.8	8.8	8.8

^a A 300 MHz. ^b En CDCl_3 .

Tabla.14 Datos de ^{13}C RMN (75.5MHz, CD_3OD) para los compuestos 49-56

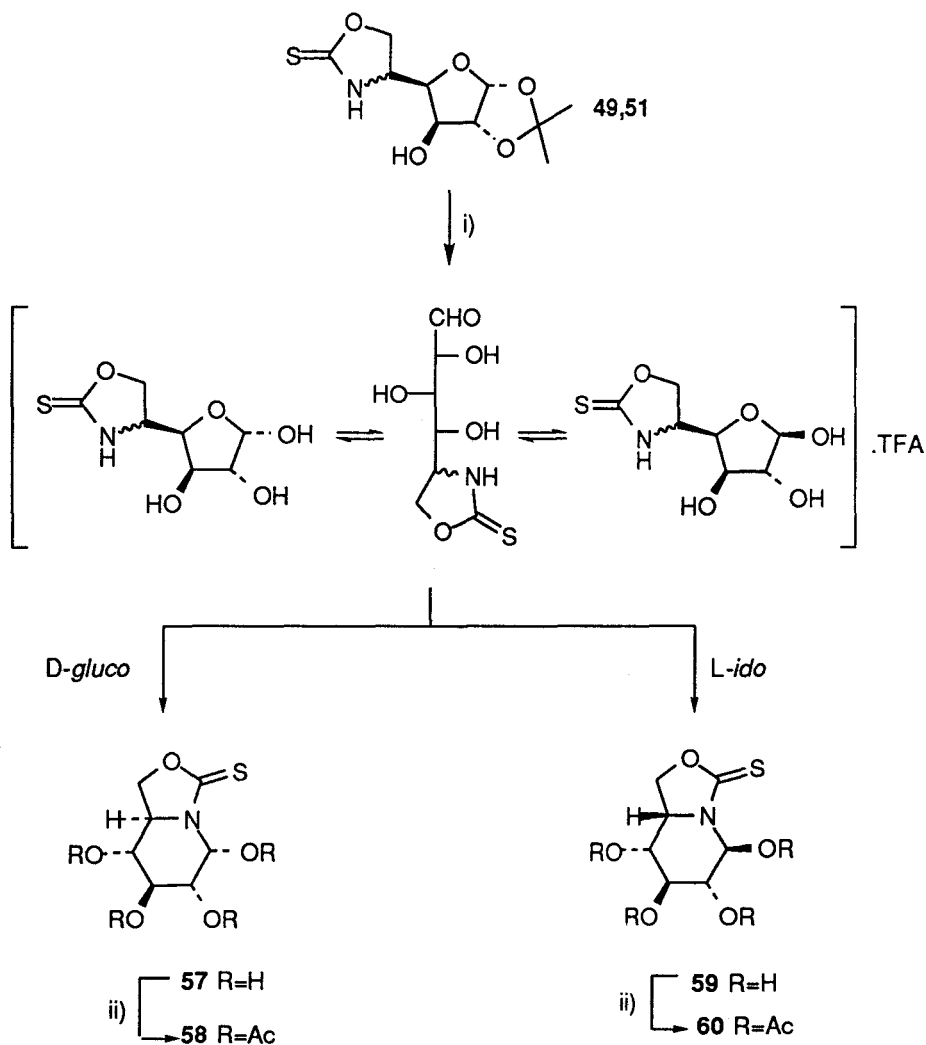
	Desplazamientos químicos (δ , ppm)					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
49	106.6	86.7	75.4	81.7	56.9	73.1
50 ^a	104.7	83.2	76.9	76.8	57.1	67.4
51	106.6	87.1	75.6	83.2	57.8	73.2
52 ^{a,b}	104.9	83.2	75.9 ^c	75.1 ^c	56.2	68.1
53 ^a	104.1	84.4	71.9	81.8	49.5	66.8
53 ^b	106.6	86.9	75.5	83.0	52.7	68.6
54	106.6	87.1	75.6	83.8	53.7	68.3
54 ^a	104.9	85.4	75.6	80.6	52.0	67.4
55 ^a	104.6	83.4	75.7	80.3	51.2	66.3
56 ^a	105.3	83.5	83.6	70.0	52.5	63.7

^a En CDCl_3 , ^b A 125.5 MHz. ^c Estas asignaciones pueden estar intercambiadas.

La estructura de tiocarbamato o carbamato cíclico de los compuestos 49-55 está apoyada por los datos analíticos y de ^1H y ^{13}C RMN (Tablas 13 y 14, Figuras 28-31). En todos los casos se observa un desplazamiento a campo alto de las señales correspondientes a H-6a y H-6b cuando se comparan con las de los 5-amino-5-desoxi derivados de partida. La señal a 185.7-191.4 ppm en los espectros de 49-52 es asignable al carbono tiocarbonílico mientras que la señal a 159.2-162.2 ppm en los espectros de 53-55 corresponde al carbonilo del grupo carbamato.

De acuerdo con el esquema retrosintético propuesto (Esquema 25), la siguiente etapa en la síntesis de 2-oxacastanosperminas supone la liberación del grupo aldehído del monosacárido. La desprotección del grupo 1,2-*O*-isopropilideno de 49 en condiciones ácidas (TFA- H_2O 9:1) conduce inicialmente a una mezcla de α - y β -furanosas en las que el grupo tiocarbamato se

encuentra probablemente protonado, a la vista de los espectros de ^{13}C RMN de los crudos de reacción. Tras eliminación del ácido por coevaporación con agua, se produce una reorganización tautomérica a través de la forma de cadena abierta del azúcar para dar el azaazúcar bicíclico **57** (Esquema 35).



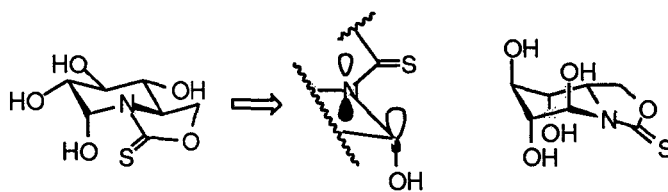
i) TFA-H₂O 9:1; ii) Ac₂O/Py

Esquema 35

Las posibilidades de esta estrategia de síntesis para el diseño de glicomiméticos relacionados con las indolizidinas se confirmó con la preparación del diastereómero **59** a partir del derivado de configuración *L-ido* **51**.

Los espectros de ^1H y ^{13}C de RMN (Figuras 33 y 34) del azaazúcar de configuración *D-glucó* **57** en D_2O , mostraron la presencia de una sola forma tautomérica con configuración *R* en el centro pseudoanomérico, es decir, una estructura análoga a la de la α -*D*-glucopiranososa. No se encontraron trazas del epímero *S* o de formas furanósicas, incluso después de la acetilación convencional de este compuesto (\rightarrow **58**). Del mismo modo, **59** existe en disolución acuosa en la forma aminoacetálica de configuración *S* en el carbono pseudoanomérico, con todos los hidroxilos en posición axial. Su acetilación condujo al tetra-*O*-acetato **60** como único producto.

Los resultados anteriores ponen de manifiesto la preponderancia de las interacciones orbitales estabilizantes (hiperconjugativas) frente a las interacciones electrostáticas en las propiedades estereoelectrónicas de este tipo de sistemas (Esquema 36), permitiendo un control total de la configuración del carbono aminoacetálico incluso en disolventes polares. El solapamiento $n_{\text{N}}-\sigma^*_{\text{C-O}}$ es suficientemente eficaz como para superar las interacciones estéricas *sin*-1,3-paralelas en **59** y estabilizar la forma aminoacetálica.

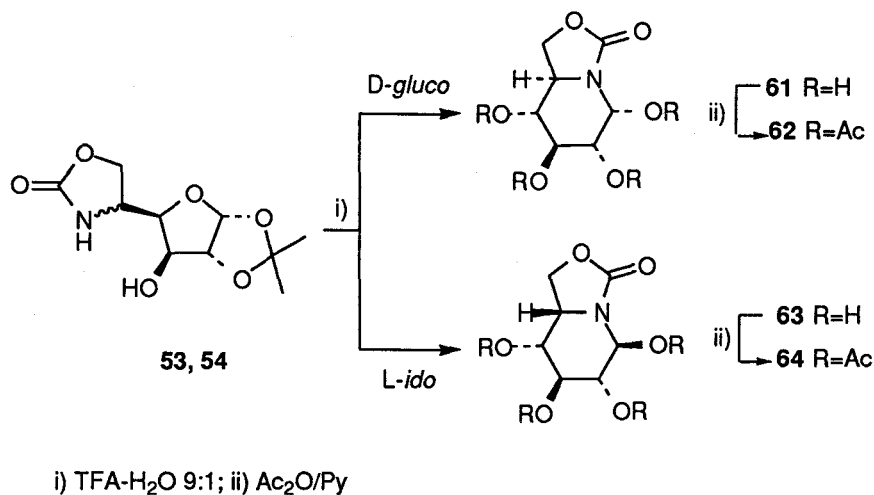


Esquema 36

En principio, la sustitución del átomo de azufre del grupo tiocarbamato por un átomo de oxígeno debe resultar en una disminución del carácter sp^2 de la hibridación del nitrógeno vecino. Así, las barreras rotacionales de enlaces $\text{N}-\text{C}(=\text{O})$ son, en general, menores que las de los

correspondientes enlaces N–C(=S) [98]. Esto supone un menor carácter p del orbital que aloja el par de electrones no conjugados que debe resultar, a su vez, en una disminución de la estabilización de un hidroxilo axial adyacente debida al efecto anomérico. No obstante, esta estabilización orbitalica es todavía intensa, y el comportamiento de los derivados carbámicos preparados en este trabajo fue similar al comentado para los tiocarbamatos homólogos.

La desprotección en medio ácido del grupo isopropilideno en **53** y **54** condujo a los azaazúcares **61** y **63**, respectivamente. Como en el caso de los tiocarbamatos **57** y **59**, sólo se observó la presencia de un anómero en disolución acuosa, con el hidroxilo pseudoanomérico en disposición axial, y sólo se formó un tetra-*O*-acetato por acetilación convencional de los productos libres (Esquema 37).



Esquema 37

Tabla 15. Datos de ^1H RMN (500 MHz, D_2O) para los compuestos 57-64.

	Desplazamientos químicos (δ , ppm)						
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6a	H-6b
57	5.78d	4.56dd	3.70t	3.50t	4.12ddd	4.77t	4.48dd
58 ^a	7.15d	5.16dd	5.52t	5.01t	4.20c	4.66t	4.47t
59 ^b	5.48d	3.72dda	3.77ta	3.61sa	4.50td	4.62dd	4.44t
60 ^{a,c}	6.87sa	5.08dda	5.14td	4.98dda	4.64ddd	4.67t	4.37dd
61	5.32d	3.54dd	3.65t	3.49t	3.92ddd	4.58t	4.27dd
62 ^a	6.68d	5.09dd	5.48t	4.99t	4.04c	4.43t	4.27t
63	5.17d	3.86t	3.95t	3.82dd	4.22td	4.53t	4.46t
64 ^{a,d}	6.32da	4.99ddd	5.11td	4.92m	4.44m	4.45dd	4.16dd
	Constantes de acoplamiento (J , Hz)						
	$J_{1,2}$	$J_{2,3}$	$J_{3,4}$	$J_{4,5}$	$J_{5,6a}$	$J_{5,6b}$	$J_{6a,6b}$
57	4.0	9.6	9.6	9.6	9.2	7.3	9.2
58	3.9	10.2	10.2	10.2	10.2	10.2	10.2
59	1.4	3.4	0	2.0	9.4	7.9	7.9
60	---	3.0	3.0	2.0	7.6	4.6	7.6
61	4.1	9.4	9.4	9.4	8.8	6.8	8.8
62	3.9	10.4	10.4	10.4	10.4	10.4	10.4
63	3.0	3.0	3.0	2.6	7.9	7.9	7.9
64	1.8	2.5	2.5	---	10.0	10.0	15.0

^a En CDCl_3 , ^b En $\text{DMSO}-d_6 + \text{D}_2\text{O}$. ^c $J_{3,5}$ 1.0 Hz. ^d $J_{1,3}$ 0.9 Hz; $J_{2,4}$ 0.8 Hz.

Tabla 16. Datos de ^{13}C RMN (125.5 MHz, D_2O) para los compuestos 57-64

	Desplazamientos químicos (δ , ppm)					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
57	77.4	69.8	71.6	72.4	56.1	71.4
58 ^a	74.8	68.3	68.6	71.6	56.1	71.3
59 ^b	80.8	70.6	68.8	68.2	53.4	68.2
60 ^c	76.5	66.0	65.4	65.7	52.4	67.9
61	77.0	73.5	74.8	76.0	55.6	70.0
62 ^a	72.2	68.9	68.9	72.1	52.5	66.8
63	76.8	69.7	69.5	67.8	49.4	64.2
64 ^a	74.4	65.7	65.7	65.4	48.4	63.2

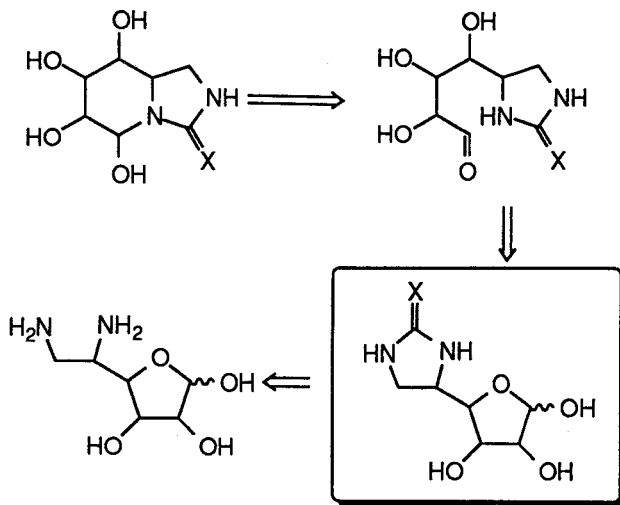
^a En CDCl_3 . ^b En $\text{DMSO}-d_6 + \text{D}_2\text{O}$. ^c A 75.5 MHz.

4.2.2. Síntesis y reactividad de 5,6-(tio)ureas cíclicas de hexosas.

Preparación de 2-aza-(+)-castanosperminas.

A la vista de los resultados anteriores y con objeto de disponer de una serie amplia de derivados para estudios de inhibición enzimática, nos propusimos la síntesis de análogos de castanospermina en los que el ciclo de piperidina se encuentra fusionado con un anillo de imidazolidina-2-ona(tiona). La sustitución del segmento de tiocarbamato o carbamato de los compuestos descritos en el apartado anterior por un grupo funcional tiourea o urea, debe modificar sustancialmente las propiedades ácido-base de los compuestos resultantes, un aspecto particularmente importante a la hora de evaluar su actividad biológica. Además, la conjugación del par de electrones del segundo átomo de nitrógeno en el grupo tiocarbonilo o carbonilo disminuye el carácter parcial de doble enlace de las uniones $N-C(=X)$, que adquieren mayor simetría sp^3 . Es de esperar, consecuentemente, una disminución importante de la contribución orbitalica al efecto anomérico para las 2-azacastanosperminas de este tipo, en comparación con las 2-oxacastanosperminas descritas en el apartado anterior.

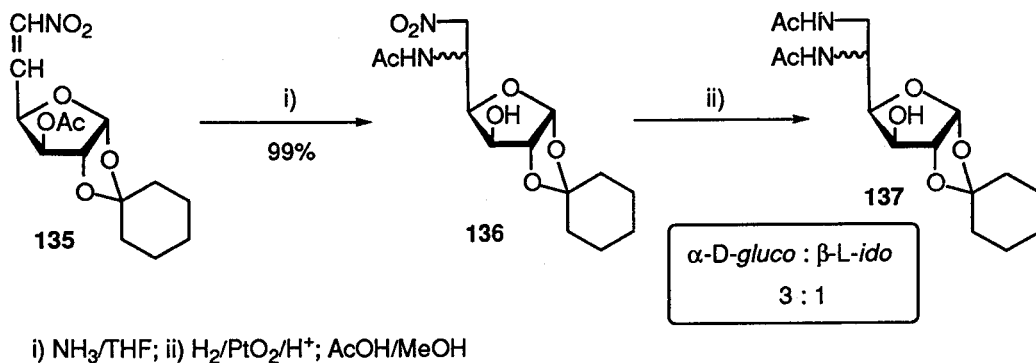
La aplicación de la metodología previamente utilizada en la síntesis de 2-oxacastanosperminas a la preparación de los análogos nitrogenados, requiere disponer de 5,6-diamino-5,6-didesoxiazúcares, los cuales, por tiocarbonilación o carbonilación conducirían a las tioureas (ureas) cíclicas precursoras del esqueleto de 2-azacastanospermina-3-tiona(ona) (Esquema 38).



Esquema retrosintético para la preparación de 5-hidroxi-2-azacastanosperminas

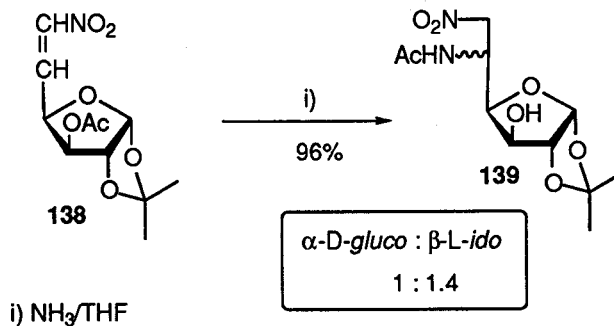
Esquema 38

Los métodos de preparación de 5,6-diaminoazúcares recogidos en la literatura son escasos. Paulsen obtiene una mezcla de derivados acetilados de 5,6-diamino-5,6-dideoxi-1,2-*O*-ciclohexilideno (137) de configuración *D*-gluco y *L*-ido en proporción 3:1, por tratamiento de un precursor nitroalquénico (135) con amoníaco en THF y posterior reducción de los nitroalcanos resultantes (136) [99] (Esquema 39).



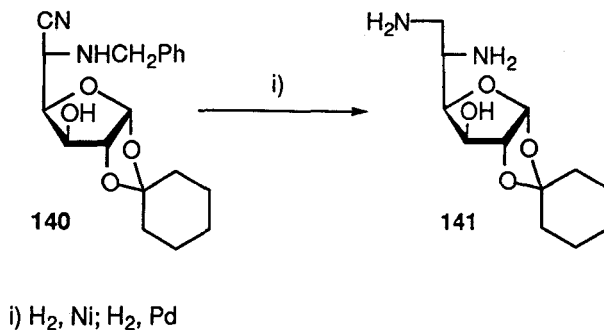
Esquema 39

Baer indica que la aminación del derivado 1,2-*O*-isopropilidén de la nitroolefina anterior **138** en las mismas condiciones procede con menor estereoselectividad y permite aislar un 40% de la 5-acetamido-5,6-didesoxi-1,2-*O*-isopropilidén-6-nitro- α -D-glucofuranosa **139** y un 56% de su isómero β -L-ido [100] (Esquema 40).



Esquema 40

Posteriormente, Paulsen y Todt han mejorado la preparación de derivados de 5,6-diamino-5,6-didesoxi-L-idosa **141** mediante un procedimiento que implica la hidrogenación catalítica de 5-(bencilamino)-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén- β -L-iduronitrilo **140** en medio neutro [101] (Esquema 41).



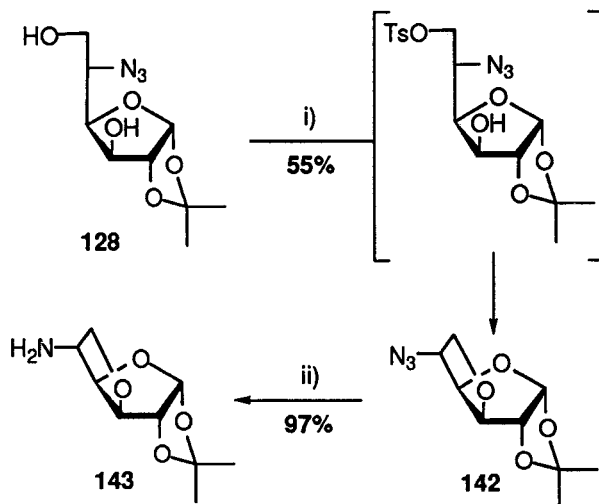
Esquema 41

Los métodos de preparación de 5,6-diaminoazúcares comentados tienen un coste sintético relativamente alto y bien conducen a mezclas de epímeros, bien son poco versátiles. Teniendo en cuenta que la introducción del sustituyente nitrogenado sobre C-5 puede realizarse con un control absoluto de la estereoquímica y a escala de varios gramos, parece lógico explorar una aproximación alternativa consistente en la introducción posterior del segundo sustituyente nitrogenado sobre el carbono primario C-6.

En nuestro caso, el esquema de síntesis que hemos empleado para la obtención de 5,6-diamino-5,6-didesoxi-1,2-*O*-isopropilidén- $\alpha(\beta)$ -D(L)-gluco(ido)furanosa (71, 72), parte de las correspondientes 5-azido-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén- $\alpha(\beta)$ -D(L)-gluco(ido)furanosas (133, 128). La tosilación del hidroxilo primario seguida de desplazamiento nucleofílico del grupo tosilato por el anión azida y posterior reducción rinde las diaminas deseadas.

La tosilación del grupo hidroxilo primario en el caso del derivado 5-azido de configuración *L-ido* (128) presenta algunas dificultades. La reacción con cloruro de tosilato en piridina a temperatura ambiente conduce mayoritariamente al derivado 3,6-anhidro (142) por ataque nucleofílico intramolecular del hidroxilo sobre C-3 al carbono C-6. Este compuesto ha sido previamente preparado por Wolfrom y col. a partir de 1,2-*O*-isopropilidén-5-*O*-(*p*-toluensulfonil)- α -D-glucofuranosa [102]. La estructura se confirmó por sus propiedades espectroscópicas. En el espectro de IR se observa una banda a 2103 cm⁻¹, característica de la presencia de grupos azida. El

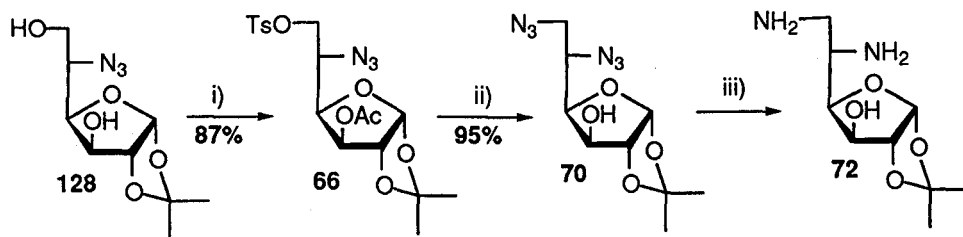
espectro de ^{13}C RMN presenta la señal correspondiente a C-3 a δ 86.0 ppm, indicativa de la formación de un puente 3,6-anhidro. La reducción de la azida con trifenilfosfina en dioxano-metanol (5:1), y posterior hidrólisis alcalina con hidróxido amónico condujo a la correspondiente 5-amino-3,6-anhidro-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén- β -L-idofuranosa (**143**) [102] (Esquema 42).



i) TcCl/Py , t.a.; ii) TPP, NH_4OH , dioxano-metanol 5:1

Esquema 35

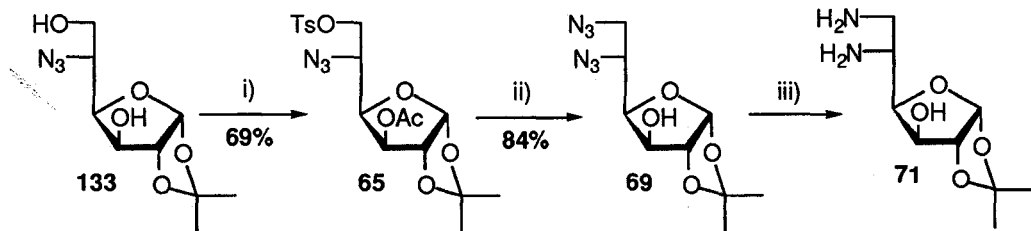
La formación del 3,6-anhidro pudo evitarse llevando a cabo la tosilación a $-15\text{ }^\circ\text{C}$. La acetilación en el medio de reacción del hidroxilo en la posición 3 por adición de anhídrido acético permite aislar la 3-*O*-acetil-5-azido-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén-6-*p*-toluénsulfonil- β -L-idofuranosa (**66**) con un rendimiento del 87%. El tratamiento de **66** con azida de sodio en *N,N*-dimetilformamida, a $70\text{ }^\circ\text{C}$ durante una noche, conduce a la 3-*O*-acetil-5,6-diazido-5,6-didesoxi-1,2-*O*-isopropilidén- β -L-idofuranosa (**68**) con rendimiento prácticamente cuantitativo. La desacetilación de **68** (\rightarrow **70**) seguida de reducción rindió la correspondiente diamina **72** que se utilizó sin purificar en las transformaciones siguientes (Esquema 43).



i) TsCl/Py, -15°C ; Ac_2O ; ii) NaN_3 , DMF, 70°C ; MeONa/MeOH
iii) TPP, NH_4OH , dioxano-MeOH 5:1

Esquema 43

En el caso del tosilato de configuración *D*-gluco 66, el desplazamiento nucleofílico del grupo tosilo sobre C-6 por el hidroxilo en C-3 no está tan favorecido, ya que el sustituyente sobre C-5 quedaría en disposición endo en el correspondiente derivado 3,6-anhidro, por lo que el impedimento estérico es importante. El tratamiento con azida de sodio en *N,N*-dimetilformamida conduce a la 3-*O*-acetil-5,6-diazido-5,6-didesoxi-1,2-*O*-isopropilidén- α -*D*-glucofuranosa (67). La desacetilación (\rightarrow 69) y reducción por el método de Staudinger conduce a la correspondiente diamina de configuración *D*-gluco (71) (Esquema 44).



i) TsCl/Py, t.a.; Ac_2O ; ii) NaN_3 , DMF, 70°C ; MeONa/MeOH
iii) TPP, NH_4OH , dioxano-MeOH 5:1

Esquema 44

Tabla 17. Datos de ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) de los compuestos 65-70.

	Desplazamientos químicos (δ , ppm)						
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6a	H-6b
65	5.80d	4.47d	5.18d	4.00dd	3.86ddd	4.39dd	3.97dd
66 ^a	5.91d	4.52d	5.11d	4.22dd	3.92td	4.07dd	3.98dd
67	5.76d	4.42d	5.15d	4.04dd	3.68dd	3.60dd	3.36dd
68	5.89d	4.48d	5.12d	4.25dd	3.69ddd	3.34dd	3.26dd
69 ^a	5.93d	4.53d	4.25d	4.07dd	3.92ddd	3.71dd	3.51dd
70	5.96d	4.52d	4.19dd	4.15dd	3.84ddd	3.54dd	3.47dd
	Constantes de acoplamiento (J , Hz)						
	$J_{1,2}$	$J_{2,3}$	$J_{3,4}$	$J_{4,5}$	$J_{5,6a}$	$J_{5,6b}$	$J_{6a,6b}$
65	3.7	0	0	5.0	2.5	4.2	10.6
66	3.7	0	3.2	7.2	4.2	7.2	10.6
67	3.7	0	3.1	9.6	2.8	7.4	12.8
68	3.7	0	3.1	7.7	4.3	6.9	12.9
69	3.6	0	2.8	9.0	3.0	7.3	13.0
70	3.7	0	2.8	7.7	5.0	6.4	12.7

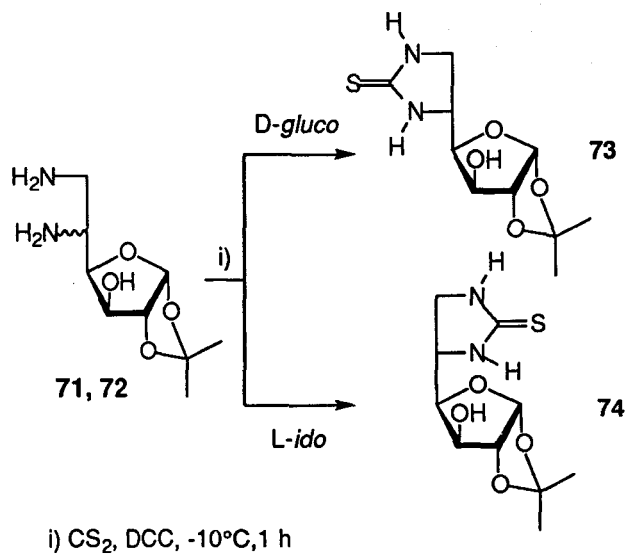
^a A 500 MHz. ^b En D_2O . ^{c,d} Estas asignaciones pueden estar intercambiadas.

Tabla 18. Datos de ^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3) para los compuestos 65-70.

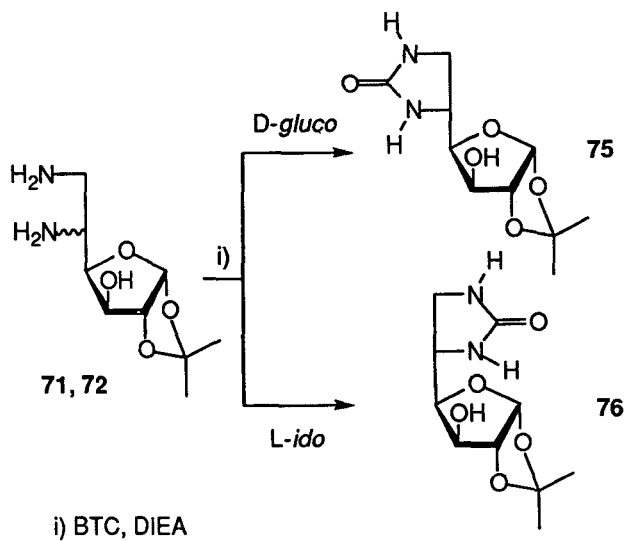
	Desplazamientos químicos (δ , ppm)					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
65	104.8	82.6	75.7	76.7	58.5	70.0
66	104.2	83.4	75.8	78.0	59.2	68.1
67	104.8	82.8	75.8	77.2	59.7	52.7
68	104.2	83.4	75.9	78.8	60.1	51.5
69 ^a	105.0	85.2	74.4	79.3	59.5	52.8
70	104.4	85.3	74.9	80.6	60.4	51.5

^a A 125.5 MHz. ^b En D_2O .

El tratamiento de las diaminas 71 y 72 con disulfuro de carbono y dicitclohexilcarbodiimida, o con trifosgeno en presencia de DIEA, siguiendo los procedimientos utilizados previamente para la preparación de los tiocarbamatos y carbamatos homólogos, conduce a las correspondientes tioureas cíclicas (73 y 74) o ureas cíclicas (75 y 76) de configuración D-*gluco* y L-*ido*, respectivamente (Esquemas 45 y 46). La estructura de los compuestos preparados se confirmó a partir de sus datos analíticos y espectroscópicos (Figuras 41 y 42, Tablas 19 y 20).



Esquema 45



Esquema 46

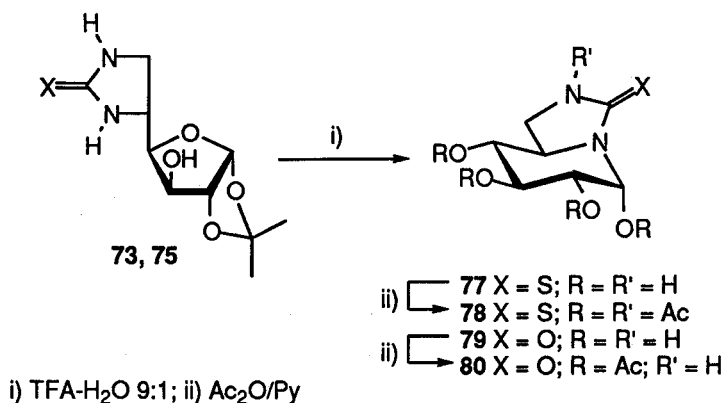
Tabla 19. Datos de ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) para los compuestos 73-76.

	Desplazamientos químicos (δ , ppm)						
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6a	H-6b
73 ^a	5.89d	4.50d	4.15d	4.13dd	4.22dt	3.76t	3.69dd
74	5.92d	4.47d	4.14d	4.09dd	4.22dt	3.80t	3.48dd
75	5.87d	4.49d	4.12d	4.03dd	3.99ddd	3.60t	3.47dd
76 ^a	5.91d	4.47d	4.13d	4.07dd	4.06dt	3.63t	3.29dd
	Constantes de acoplamiento (J , Hz)						
	$J_{1,2}$	$J_{2,3}$	$J_{3,4}$	$J_{4,5}$	$J_{5,6a}$	$J_{5,6b}$	$J_{6a,6b}$
73	3.6	0	2.9	6.7	10.3	6.7	10.3
74	3.6	0	3.1	7.0	10.2	7.0	10.2
75	3.6	0	2.7	8.8	9.5	5.7	9.5
76	3.6	0	2.3	7.0	9.2	7.0	9.2

^a A 313 K.Tabla 20. Datos de ^{13}C RMN (75.5 MHz, CD_3OD) para los compuestos 73-76.

	Desplazamientos químicos (δ , ppm)					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
73 ^a	106.4	86.8	75.1	82.7	56.6	49.2
74	106.5	87.0	75.6 ^c	83.6 ^c	57.9	47.9
75 ^b	106.5	86.9	75.2	83.8	52.2	45.1
76	106.5	87.1	75.6	84.4	53.6	44.1

^a A 313K. ^b A 125.5 MHz. ^c Estas asignaciones pueden estar intercambiadas.



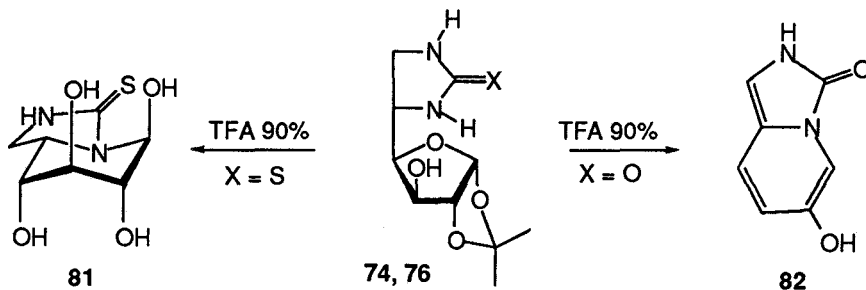
Esquema 47

El comportamiento de la tiourea cíclica de configuración *D*-gluco **73**, así como de la correspondiente urea **75**, tras la hidrólisis del grupo isopropilideno con ácido trifluoroacético-agua 9:1 es análogo al mostrado por el tiocarbamato y carbamato cíclico de la misma configuración. Tras la hidrólisis del grupo isopropilideno y ataque nucleofílico al grupo aldehído del monosacárido se aislaron las correspondientes 2-azacastanospermina-3-tiona **77** y 2-azacastanospermina-3-ona **79** que se transformaron en el pentaacetato **78** y el tetraacetato **80**, respectivamente, por acetilación convencional (Esquema 47).

La estructura bicíclica de los compuestos **77-80** se confirmó por sus datos espectroscópicos (Tablas 21, 22), espectrometría de masas y análisis elementales. Tanto los compuestos libre (**77** y **79**) como los derivados acetilados (**78** y **80**), mostraron valores de constantes de acoplamiento vecinales alrededor del anillo de piperidina característicos de una conformación próxima a la silla 4C_1 (D) y de la configuración α para la posición pseudoanomérica. En el caso de **77** y **78** se observó un máximo de absorción en el UV en torno a 238 nm, característico de la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ del grupo tiocarbonilo de anillo de imidazolidina-2-tiona.

Los derivados análogos de configuración *L*-ido mostraron, sin embargo, una reactividad

diferente. Si bien el tratamiento de la imidazolidina-2-tiona **74** con ácido trifluoroacético-agua condujo al azaazúcar bicíclico esperado (**81**), la desprotección de la imidazolidina-2-ona **76** en las mismas condiciones rindió, en lugar de al derivado de polihidroxiindolizidina, un producto de naturaleza aromática (**82**) (Esquema 48).



Esquema 48

Trabajos anteriores han puesto de manifiesto la elevada tendencia de los derivados de 5-amino-5-desoxi-L-idopiranososa a sufrir reacción de deshidratación en medio ácido [78,99]. La aromatización por eliminación espontánea de tres moléculas de agua según indica el espectro de masas (FAB) da lugar al derivado de indolizina **82**. Los espectros de ^1H RMN (*Figura 45*) y ^{13}C RMN (*Figura 46*) muestran señales en la región aromática que confirman la estructura de 3-oxo-indolizina **82**.

Tabla 21. Datos de ^1H RMN (500 MHz) para los compuestos 77-80.

	Desplazamientos químicos (δ , ppm)						
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6a	H-6b
77 ^a	5.79d	3.81dd	3.95t	3.71t	4.23td	4.13t	3.86dd
78 ^{b,c}	7.43d	5.15dd	5.55t	5.09t	4.10c	4.29dd	3.87t
79 ^a	5.54d	3.73dd	3.90t	3.67t	4.04dt	3.85t	3.55dd
80 ^b	6.76d	5.10dd	5.45t	5.04t	3.98dt	3.52t	3.37t

	Constantes de acoplamiento (J , Hz)						
	$J_{1,2}$	$J_{2,3}$	$J_{3,4}$	$J_{4,5}$	$J_{5,6a}$	$J_{5,6b}$	$J_{6a,6b}$
77	4.0	9.8	9.8	9.8	9.8	6.3	9.8
78	3.9	9.7	9.7	9.7	9.7	9.7	11.7
79	4.0	9.4	9.4	9.4	9.4	7.2	9.4
80	4.0	8.2	8.2	8.2	8.4	8.4	8.4

^a En D₂O ^b En CDCl₃ ^c A 300 MHz.

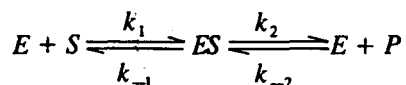
Tabla.22 Datos de ^{13}C RMN (125.5 MHz) para los compuestos 77-80.

	Desplazamientos químicos (δ , ppm)					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
77 ^a	87.2	73.6	75.7	76.2	59.6 ^d	58.6 ^d
78 ^b	74.2	68.5	69.3	71.7	52.8	48.3
79 ^{a,c}	79.9	72.0	73.2	74.2	53.8	42.5
80 ^b	72.5	69.5	69.7	72.0	52.7	42.4

^a En D₂O. ^b En CDCl₃. ^c A 75.5 MHz. ^d Estas asignaciones pueden estar intercambiadas.

4.2.3. Evaluación de las propiedades de inhibición enzimática de 2-oxa(aza)-(+)-castanosperminas frente a diversas glicosidasas.

En una reacción enzimática simple en la que un sustrato S , se transforma en un producto P , la velocidad inicial es directamente proporcional a la cantidad de enzima presente. Sin embargo, para altas concentraciones de sustrato, existe un valor límite de velocidad, que se denomina *velocidad máxima*, V . La concentración de sustrato a la que la velocidad de la reacción es $V/2$ se denomina K_m , *constante de Michaelis*, e indica la afinidad de la enzima por el sustrato. Las enzimas que muestran este tipo de comportamiento siguen una cinética clásica de Michaelis-Menten, y se ajustan, por lo general, al siguiente esquema de reacción:



donde E representa la enzima libre, ES el complejo enzima-sustrato, y k_1 , k_{-1} , k_2 , k_{-2} son constantes específicas de velocidad.

Aplicando la hipótesis del estado estacionario, y considerando un estado inicial de la reacción donde $[P] \ll [S]$ llegamos a la siguiente expresión para la velocidad de reacción, v :

$$v = V \cdot \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

que es lo que se conoce como ecuación de Michaelis-Menten [103].

Para el cálculo de los parámetros cinéticos K_m y V no es adecuada la llamada representación hiperbólica de Michaelis-Menten (velocidad frente a concentración de sustrato) por lo que se emplean otros tipos de representaciones gráficas lineales como el método de los dobles inversos o de Lineweaver-Burk. La reordenación de los términos de la ecuación básica nos lleva a la siguiente expresión:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V}$$

Al representar $1/v$ frente a $1/[S]$ se obtiene una recta de pendiente K_m/V que corta al eje de ordenadas en $1/V$, y, extrapolando, al eje de abscisas en $-1/K_m$. Este tipo de representación también permite identificar el modo de acción (competitivo o no competitivo) de un inhibidor de la enzima presente en el medio de reacción y la correspondiente constante de inhibición K_i .

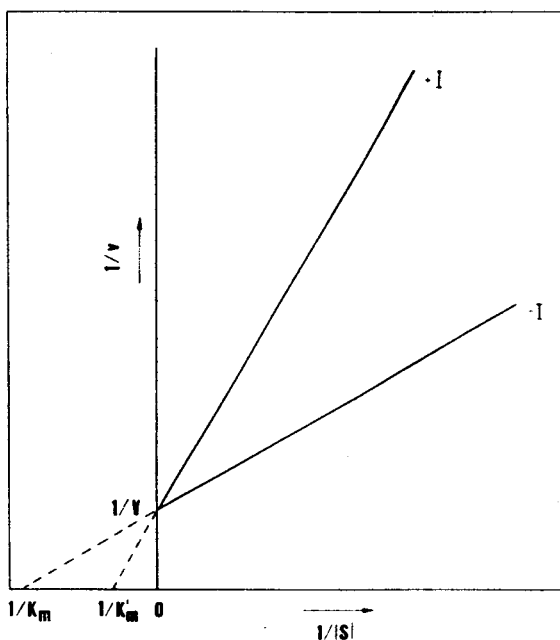


Figura V. Representación de dobles recíprocos, mostrando el efecto de un inhibidor competitivo.

En una inhibición *competitiva*, el inhibidor es un análogo estructural del sustrato que compete con él por el sitio activo disminuyendo la velocidad de la reacción (Figura V). Un inhibidor de este tipo afecta a la K_m de la enzima, pero no a V .

Un inhibidor *no competitivo* se une al azar tanto al enzima como al complejo enzima-sustrato. El inhibidor se une a la enzima en un sitio diferente del sitio activo, por lo que no existe competencia con el sustrato y la K_m no se ve afectada (Figura VI), pero sí V .

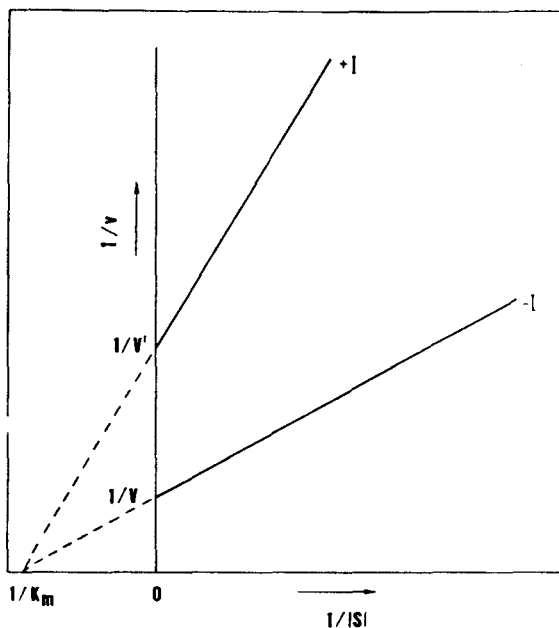
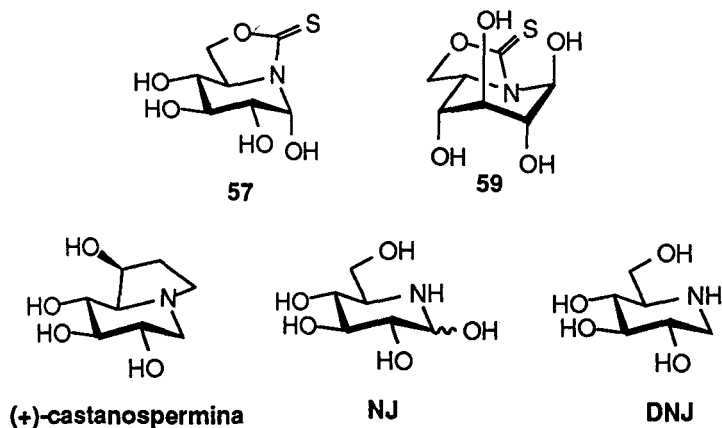


Figura VI. Representación de dobles recíprocos, mostrando el efecto de un inhibidor no competitivo.

La constante de disociación del complejo enzima-inhibidor (K_i) da una idea de la afinidad del enzima por el inhibidor. Cuanto menor sea el valor de K_i mayor es la eficacia del inhibidor. Se calcula mediante la representación de Lineweaver-Burk. En el caso del inhibidor competitivo, la representación de $1/V$ frente a $1/[S]$ en ausencia de inhibidor permite calcular la K_m de la enzima. Si posteriormente se representan los valores $1/V$ frente a $1/[S]$ en presencia de una concentración determinada de inhibidor, obtenemos una recta que nos permite calcular, la constante aparente, K'_m , que se relaciona con K_m y K_i mediante la expresión:

$$K'_m = \frac{K_m}{(1 + [I]/K_i)}$$



En primer lugar se llevaron a cabo ensayos de inhibición preliminares de las 2-oxa-3-tioxindolizidinas **57** y **59** respecto a la β -glucosidasa de almendra y la α -glucosidasa de levadura de cerveza a los valores de pH óptimos de acción para estas enzimas (pH 5 y 7, respectivamente). Para ambas enzimas existen numerosos datos de valores de K_i con diferentes inhibidores, lo que permite comparar nuestros datos con los de la literatura [19]. Por otra parte, la marcada diferencia estructural entre el compuesto de configuración *D*-gluco **57** y el de configuración *L*-ido **59** permitiría detectar una posible inhibición inespecífica debida, por ejemplo, a la presencia del grupo tiocarbonilo. Como sustratos se emplearon los correspondientes *p*-nitrofenil glucopiranosidos de configuración anomérica β y α , determinándose la actividad enzimática por medidas de absorbancia a 400 nm. Los valores de las constantes de inhibición (K_i , mM) determinados fueron 150 y 0.04 respectivamente, lo que indica una especificidad inversa a la mostrada por la castanospermina, que presenta valores de K_i de 0.0015 y >1.5 mM, respectivamente. En el caso de la nojirimicina, los valores de K_i respecto a las mismas glucosidasas son 0.00089 y 0.0063 mM respectivamente. Si bien los valores respecto a la α -glucosidasa de levadura de cerveza muestran que el compuesto **57** es un orden de magnitud más débil como inhibidor que la nojirimicina, la especificidad frente a α - y β -glucosidasas del derivado **57** es 2.7×10^4 veces mayor. Por su parte, **59** no mostró actividad frente a ninguna de las dos enzimas consideradas.

En la Tabla 23 se muestran los valores de K_i (mM) para estas enzimas con la castanospermina, nojirimicina, 1-desoxinojirimicina y los compuestos 57 y 59.

Tabla 23. Inhibición de glucosidasas [19] por castanospermina, NJ, DNJ, 57 y 59.

Enzima (procedencia)	K_i (mM)				
	Castanosp.	NJ	DNJ	57	59
β -Glucosidasa (almendra)	0.0015	0.00089	0.047	150	n.i.
α -Glucosidasa (levadura)	>1.5	0.0063	0.0123	0.04	n.i.

A la vista de los prometedores resultados obtenidos en el caso del compuesto 57, se ha llevado a cabo un estudio comparativo de los análogos de castanospermina 57, 61, 77 y 79 obtenidos a partir de (tio)carbamatos y (tio)ureas de configuración D-*gluco* con diferentes α - y β -glucosidasas. Para ello se han empleado las siguientes enzimas:

- β -Glucosidasa (de almendra) ($K_m = 3.5$ mM)
- β -Glucosidasa A (2,3) (de *Bacillus polymyxa*) ($K_m = 1$ mM).
- β -Glucosidasa B (2,3) (de *Bacillus polymyxa*) ($K_m = 6$ mM).
- α -Glucosidasa (de levadura de cerveza) ($K_m = 0.25$ mM).
- α -Glucosidasa (de arroz) ($K_m = 3.5$ mM).
- Amiloglucosidasa (de *Aspergillus niger*) ($K_m = 3$ mM).
- Trehalasa (de riñón de cerdo) ($K_m = 4$ mM).
- Lactasa intestinal (de cordero lechal) ($K_m = 5$ mM).

Como sustratos se han empleado los *p*-nitrofenil α - y β -glucopiranosidos salvo en el caso de la trehalasa, en el que se ha utilizado trehalosa, y en el de la lactasa intestinal de cordero lechal en el que se empleó *o*-nitrofenil β -D-galactopiranosido. La medida de la inhibición enzimática se llevó a cabo utilizando el procedimiento descrito en los Métodos Generales (apartado 5.1.). Los valores de K_i obtenidos se recogen en la Tabla 24.

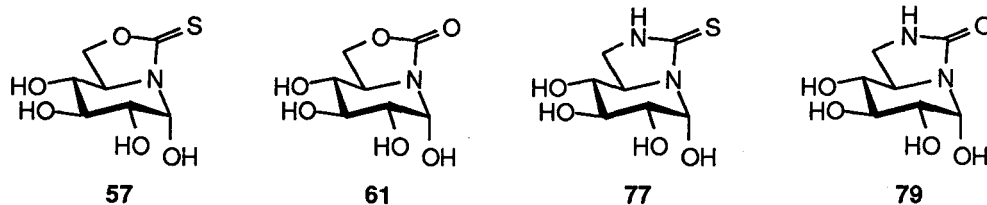


Tabla 24. Inhibición de glicosidasas por los compuestos 57, 61, 77 y 79.

Enzima (procedencia)		K _i (mM)			
		57	61	77	79
β-Glucosidasa (almendra)	pH 5	150	---	---	---
	pH 7	0.097	n.i.	n.i.	n.i.
β-Glucosidasa A (<i>Bacillus polymixa</i>)	pH 7	10	---	---	---
β-Glucosidasa B (<i>Bacillus polymixa</i>)	pH 7	4	---	---	---
α-Glucosidasa (levadura)	pH 7	0.04	0.0022	4.2	5.7
α-Glucosidasa (arroz)	pH 4.5	1.6	1.6	n.i.	4.3
Aamiloglucosidasa (<i>Aspergillus niger</i>)	pH 4.5	22	8.2	15	1.6
Trehalasa (riñón de cerdo)	pH 6	2	---	---	---
Lactasa intestinal (cordero lechal)	pH 6	30	---	---	---

Los mejores resultados de inhibición se obtuvieron para los compuestos que incorporan los grupos funcionales tiocarbamato (57) y carbamato (61) frente a la α-glucosidasa de levadura. Para estos casos se llevó a cabo un estudio cinético detallado con objeto de establecer el modo de inhibición.

En las Figuras VII y VIII se representan los inversos de velocidad frente a los inversos de las concentraciones de sustrato para la reacción de la α-glucosidasa de levadura y el α-p-

nitrofenilglicósido a distintas concentraciones de **57** y **61** como inhibidores, respectivamente. En el caso de **57** se han empleado concentraciones de 0, 50, 100, 200 y 400 μM y para **61** las concentraciones empleadas han sido de 0, 10, 20, 40 y 80 μM . En ambos casos las concentraciones de sustrato fueron 0, 0.1, 0.15, 0.25, 0.50, 1 y 2 mM. Se obtienen rectas de pendiente K'_m/V que cortan al eje de ordenadas en $1/V$ y al eje de abcisas en $-1/K'_m$, mostrando claramente que el tipo de inhibición observado es competitiva. A partir de los valores de la pendiente y de la ordenada en el origen se obtienen los valores de K_i para estos inhibidores con esta enzima. Un estudio estadístico de los datos utilizando el algoritmo desarrollado por Cleland [104] confirmó que, si bien no puede descartarse una cierta participación de inhibición no competitiva, el modo de acción es esencialmente competitivo. En ambos casos, la formación del complejo enzima-sustrato es rápida, alcanzándose una situación de equilibrio estacionario al cabo de 5 minutos de incubación.

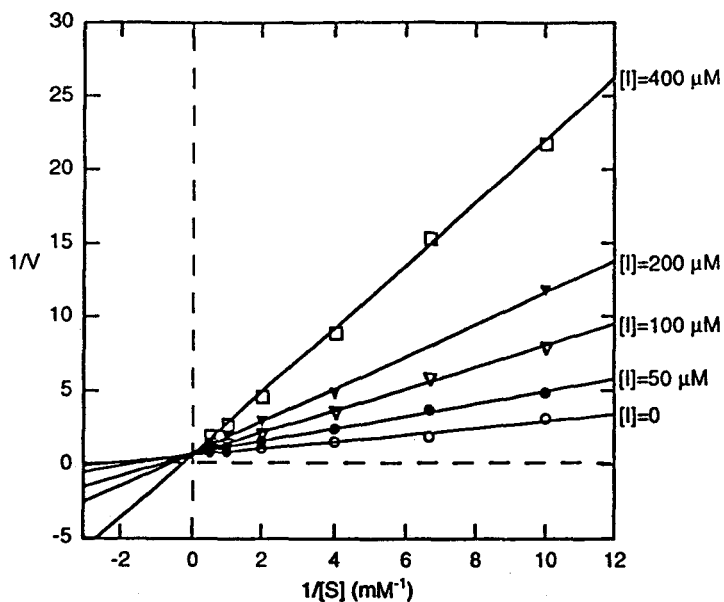


Figura VII. Representación de Lineweaver-Burk para la determinación de la K_i de 57 frente a la α -glucosidasa de levadura de cerveza.

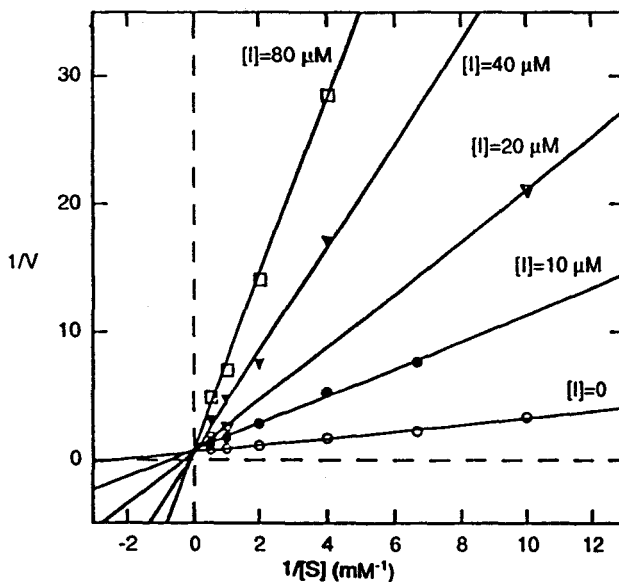


Figura VIII. Representación de Lineweaver-Burk para la determinación de la K_i de 61 frente a la α -glucosidasa de levadura de cerveza.

A la vista de los resultados que se recogen en la Tabla 24, pueden extraerse las siguientes conclusiones:

- Los análogos de castanospermina que incorporan un grupo funcional tiocarbamato o carbamato (**57** y **61**) son inhibidores fuertes, en el rango de valores micromolares para K_i , de la α -glucosidasa de levadura.

- La sustitución del átomo de oxígeno del anillo de oxazolidina por un grupo NH (**77** y **79**) resulta en una disminución en las propiedades como inhibidor de dos a tres órdenes de magnitud.

- Los compuestos **57** y **61** muestran una alta selectividad por la α -glucosidasa de levadura de cerveza frente a β -glucosidasas y frente a otras α -glucosidasas de distinta procedencia.

Es destacable que mientras que la castanospermina es un inhibidor potente de la α -glucosidasa de arroz ($K_i=0.015 \mu\text{M}$) [19], **57** y **61** sólo inhiben esta enzima moderadamente, con valores de K_i en el rango milimolar. Por tanto, no sólo se produce una inversión en la selectividad de inhibición de α -glucosidasas frente a β -glucosidasas, sino también entre diferentes α -glucosidasas.

Las diferencias estructurales entre la (+)-castanospermina y los compuestos preparados por nosotros son fundamentalmente tres: (i) la basicidad del nitrógeno cabeza de puente está drásticamente disminuida en **57** y **61** en comparación con el derivado de amina, (ii) la conformación relativa entre los átomos homólogos a C-4 y O-6 en la D-glucosa (enlace homólogo a C-5-C-6) pasa de ser cercana a *gauche* en la castanospermina a ser próxima a *trans* en **57** y **61**, y (iii) el carbono pseudoanomérico, que no es un centro quiral en la castanospermina, porta en **57** y **61** un grupo hidroxilo en disposición axial (configuración α) (Figura IX).

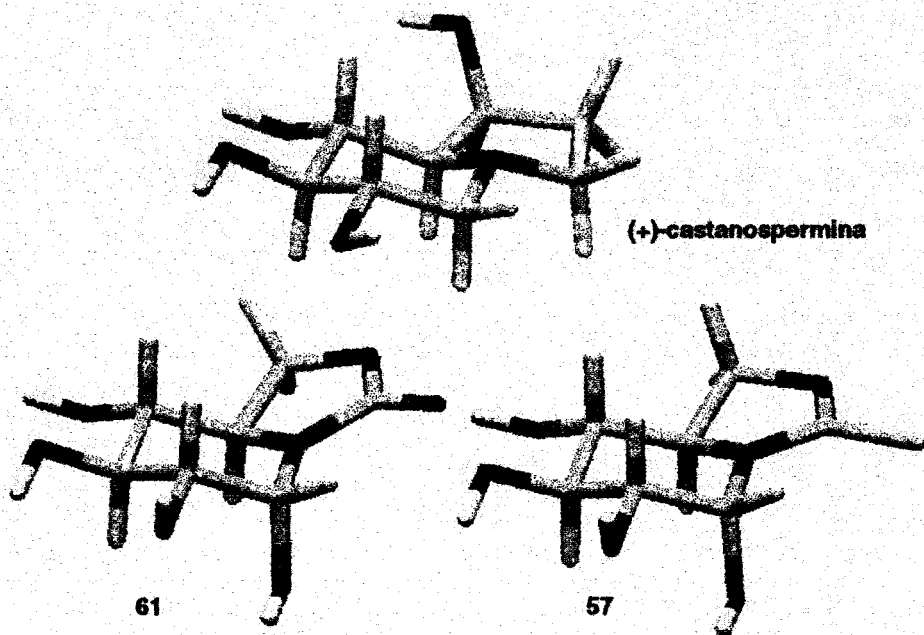


Figura IX. Comparación de las conformaciones de mínima energía (MM2*) en la (+)-castanospermina y en las 2-oxacastanosperminas 57 y 61.

El carácter básico del átomo de nitrógeno amínico en los iminoazúcares y, en consecuencia, su facilidad para ser protonado por un grupo ácido carboxílico presente en el sitio activo del enzima, se considera una característica fundamental a la hora de explicar su comportamiento como inhibidores de glicosidasas [19, 105-107]. El correspondiente catión amonio es un análogo del catión oxocarbenio postulado como estado de transición de la hidrólisis enzimática de un glicósido.

La α -glucosidasa de levadura de cerveza es una enzima que actúa con retención de la configuración anomérica. Las primeras etapas del mecanismo generalmente aceptado para este tipo de glicosidasas son: (1) un α -glicósido (sustrato), en su estado fundamental, se une al sitio activo del enzima; (2) el aglicón del complejo sustrato-enzima es protonado por un grupo ácido; y (3) se produce una eliminación de tipo E2 entre el par de electrones no compartido del oxígeno endocíclico y el aglicón protonado. Como los dos componentes de la eliminación están en disposición antiperiplanar, este proceso es rápido y conduce al estado de transición de tipo oxocarbenio [19, 108 y 109] (Figura X).

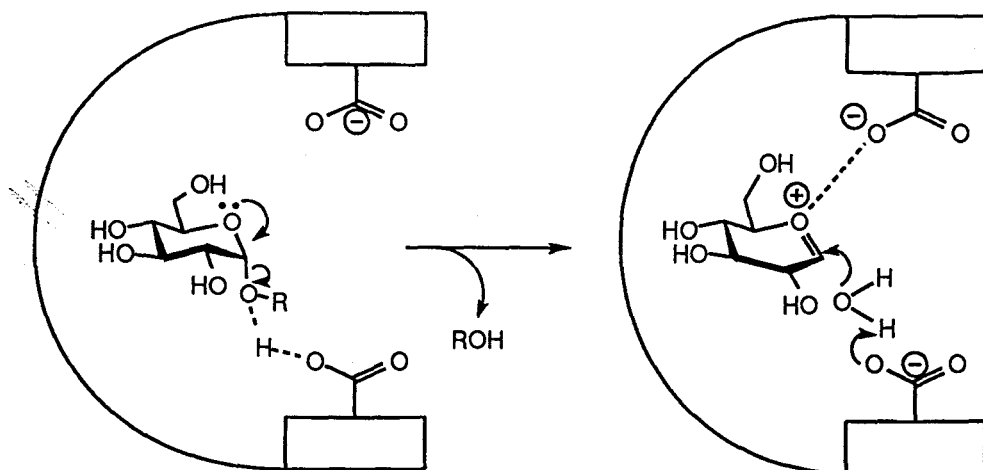


Figura X. Mecanismo propuesto para glicosidasas que actúan con retención de la configuración.

Los resultados de la literatura parecen indicar que los análogos catiónicos del estado de

transición son, en general, inhibidores de glicosidasas potentes pero poco específicos [110-114]. En nuestro caso, los compuestos estudiados guardan una estrecha relación estructural con los α -D-glucopiranosidos sustratos, sin posibilidad de adoptar la configuración β en la posición pseudoanomélica o siendo ésta energéticamente muy desfavorable. Este hecho probablemente explica la gran selectividad observada en general entre α - y β -glicosidasas, mucho mayor que la que presentan los azaazúcares clásicos.

Nuestros resultados también indican que una basicidad elevada del heteroátomo endocíclico no es imprescindible para que la inhibición sea eficaz, y están en la línea de las publicadas por otros autores, en el sentido de que un verdadero análogo del estado de transición debe ser esencialmente neutro o zwitteriónico a pH fisiológico si se pretende conservar la especificidad de acción [110-114].

Dada la estructura electrónica de los compuestos **57** y **61**, con el par de electrones del átomo de nitrógeno parcialmente deslocalizados en el grupo (tio)carbonilo, la inhibición de la enzima puede deberse a su interacción con el sitio activo de dos maneras diferentes: bien la densidad de carga positiva sobre el nitrógeno, debida a la contribución de la forma resonante $^+N=C-X^-$ al estado fundamental, es suficiente para formar un par iónico estable con el carboxilato, bien el hidroxilo pseudoanomélico en el inhibidor es protonado de manera análoga a como sucede con el sustrato, sufriendo la consiguiente eliminación para dar el catión azacarbenio que interacciona con el carboxilato presente en el sitio activo del enzima (Figura XI). Este segundo mecanismo estaría apoyado por la elevada tendencia a sufrir reacciones de glicosidación catalizadas por ácidos vía cationes azacarbenios observada previamente en otros ejemplos de N-tiocarbonilazaheterociclos polihidroxilados [39,40,115].

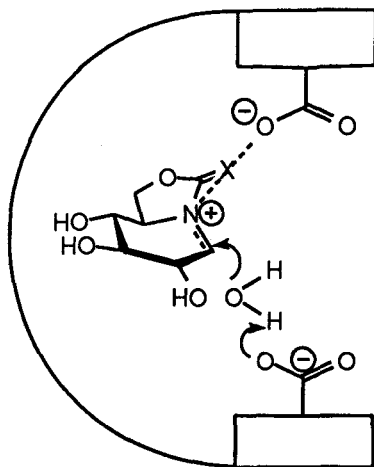


Figura XI. Catión azacarbenio (análogo del estado de transición ocupando el sitio activo del enzima

La disminución drástica del poder de inhibición frente a la α -glucosidasa de levadura de cerveza observada al sustituir el átomo de oxígeno del anillo de oxazolidina, homólogo a O-6 en los D-glucopiranosidos, por un grupo NH indica claramente que la presencia del mismo es imprescindible para una interacción fuerte con el enzima. Probablemente este átomo actúe como aceptor de enlace de hidrógeno en el sitio activo. Un dato importante es que la presencia del átomo de oxígeno equivalente en la castanospermina (O-1) es, análogamente, vital para su actividad como inhibidor [22,23]. Sin embargo, la especificidad dentro de la serie de α -glucosidasas estudiadas es completamente diferente: la α -glucosidasa de levadura no es inhibida por la castanospermina, en tanto que la de arroz, por ejemplo, es fuertemente inhibida [19]. Además, la configuración de este hidroxilo (S) es, asimismo, crucial [22,23].

Estos resultados apuntan a que el hidroxilo primario sobre C-6 en D-glucopiranosidos se une al enzima de manera específica, es decir, en una conformación alrededor de la unión C-5-C-6 determinada y característica para cada tipo de enzima. En el caso de las glucosidasas inhibidas por la (+)-castanospermina, la conformación sería próxima a *gauche-gauche* [75], en tanto que la α -glucosidasa de levadura requiere una conformación próxima a *gauche-trans* [75] análoga a la

existente en el correspondiente enlace homólogo de **57** y **61** (Figura XII).

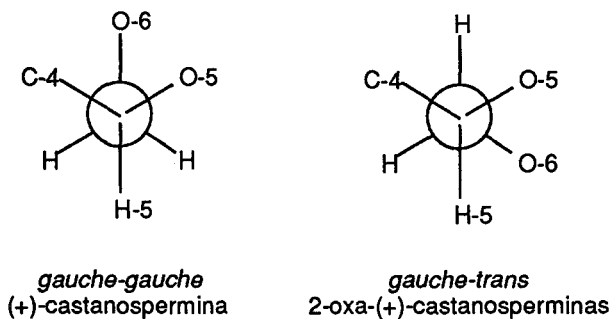


Figura XII. Conformaciones *gauche-gauche* y *gauche-trans* alrededor de los enlaces C-5-C-6.

La diferencia observada entre el derivado tiocarbonílico **57** y el correspondiente carbamato **61**, aproximadamente veinte veces mejor inhibidor, pueden deberse a un efecto estérico en el sitio activo, dado el volumen considerablemente mayor del átomo de azufre (radio covalente 1.04 Å) en comparación con el del oxígeno (radio covalente 0.66 Å).

5. PARTE EXPERIMENTAL

5. PARTE EXPERIMENTAL.

5.1 Métodos Generales.

Las evaporaciones de disolventes se han efectuado a presión reducida y a temperaturas inferiores a 50 °C.

Para las reacciones llevadas a cabo en atmósfera inerte se ha utilizado Nitrógeno de calidad comercial *N-50*.

La cromatografía analítica en capa fina (c.c.f.) se ha realizado empleando cromatoplasmas de Aluminio prefabricadas *Alugram® Sil GIUV₂₅₄* y *Sílica Gel 60 F₂₅₄ Merck* de 0.25 mm de espesor en ambos casos. La detección de los compuestos en las placas se ha realizado por exposición de las mismas a una fuente de luz UV ($\lambda=254$ nm) y mediante revelado con ácido sulfúrico al 10% en etanol o con el revelador de Mostain (20 g de molibdato amónico tetrahidrato, 0.4 g de $Ce(SO_4)_2$ y 10% de H_2SO_4 en 400 ml de agua).

Con fines preparativos se han utilizado: cromatoplasmas *Sílica Gel 60 F₂₅₄ Merck* de 0.25 y 1 mm de espesor, cromatografía en columna empleando como relleno *Sílica Gel Merck 60* (tamaño de partícula 0.20-0.06 mm / 70-230 mesh y 0.06-0.04 mm / 230-400 mesh) y eluyendo por gravedad o sometiendo a ligera presión. La cromatografía de permeación sobre gel (GPC) se ha llevado a cabo en columnas *Pharmacia Biotech* (2.6 x 31 cm y 2.6 x 25 cm) rellenas con *Bio-Gel P-2* (*Bio-Rad Laboratories*) y *Sephadex G-10* (*Pharmacia Fine Chemicals*), empleando como eluyente en ambos casos mezclas de agua-metanol 1:1 (20 ml/h) y como impulsor una bomba peristáltica *Pharmacia Biotech Pump P-1*.

Las proporciones de las mezclas de anómeros se han determinado mediante integración de las señales correspondientes a H-1 en los espectros de 1H RMN.

Los **poderes rotatorios** se han medido a 20 ± 2 °C en un espectropolarímetro *Perkin-Elmer 241 MC* empleando luz amarilla de sodio ($\lambda = 589$ nm) y celdas de 1 cm y 1 dm indistintamente.

Los **análisis elementales** se han realizado en el Servicio Central de Análisis (CNRS, Vernaison, Francia) y en el Centro de Investigaciones Científicas "Isla de la Cartuja" (CSIC, Sevilla).

Los **espectros de absorción en el IR** se han realizado en un espectrofotómetro *FT-IR Bomem MB-120*, y se han procesado mediante el programa *Spectra Calc. Collect Arithmetic C2.12, Galactic Industries Corp. (1988)*. Se han registrado a partir de muestras preparadas en pastilla de bromuro potásico o dispuestas en película entre dos celdas de cloruro sódico, presentándose los datos indicando los números de onda correspondientes a los máximos de absorción.

Los **espectros de absorción en el UV** se han registrado en espectrofotómetros *Philips PU 8710* y *Shimadzu Corporation UV-1203*, siendo en ambos casos el camino óptico de 1 cm. Las concentraciones empleadas están comprendidas entre 10^{-4} y 10^{-5} M.

Los **espectros de ^1H RMN** se han registrado en espectrómetros *Bruker AMX 300* (300 MHz), *Bruker DRX 400* (400 MHz), *Bruker DRX 500* (500 MHz) y *Bruker AMX 500* (500 MHz). Se han usado disoluciones en CDCl_3 , CD_3OD , D_2O , acetona- d_6 , $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ y H_2O . La asignación de las señales se ha completado con la realización de experimentos de correlación homonuclear 2D COSY (Correlated Spectroscopy) y 1D y 2D TOCSY y NOESY. Los valores de desplazamiento químico (δ) se dan en ppm, usando como referencia interna el disolvente (en el caso de D_2O y CD_3OD) o tetrametilsilano (TMS) para el CDCl_3 ; los valores de las constantes de acoplamiento (J) se miden en Hz. Las abreviaturas para indicar la multiplicidad de las señales son: s (singulete), d (doblete), t (triplete), c (cuartete) y m (multiplete).

Los espectros de ^{13}C RMN se han registrado a 75.5, 100.6 y 125.5 MHz en espectrómetros *Bruker AMX 300*, *Bruker DRX 400*, *Bruker DRX 500* y *Bruker AMX 500*. Se han usado las referencias internas indicadas para espectros de ^1H RMN, excepto en D_2O , donde se utiliza la señal de la acetona deuterada. Para la interpretación de algunos espectros se ha empleado la técnica HETCOR.

Los espectros de masas se han realizado en espectrómetros *Kratos MS-80 RFA* y *Micromass AutoSpecQ*. Las muestras se introdujeron mediante una sonda de sólidos calentada entre 30 y 280 °C. Las experiencias realizadas fueron de:

- Ionización por impacto electrónico (IE) a 70 eV; corriente de ionización 100 μA ; voltaje acelerador de 4 KV; resolución 1000 (definición del 10% de valle) y velocidad de barrido de 10 s/dec.

- Ionización por bombardeo con átomos acelerados (FAB), para lo cual se emplearon Argon y/o Xenon. Velocidad de barrido 3s/dec y voltaje acelerador de 4 KV en la fuente. Voltaje acelerador de 7 KV en el cañón de Argon y/o Xenon; 1 mA, 2×10^{-4} mbar. Las matrices usadas fueron tioglicerol y alcohol *m*-nitrobenzílico. Como agente cationizante se usó NaI. Los datos se presentan indicando los valores de la relación masa/carga (m/z) de los picos más representativos, junto con su intensidad relativa referida al pico más intenso.

- Ionización Química (CI), a 150 eV, usando como gas reactivo isobutano a una presión de 0.8 bar, corriente de ionización a 500 μA , voltaje acelerador de 4 u 8 kV, resolución 1000 (definición del 10% de valle) y velocidad de barrido de 10 s/dec.

Los cálculos computacionales se realizaron en un ordenador *Silicon Graphics O2 R-10000* usando el campo de fuerzas MM2* integrado en MACROMODEL 6.0 [116]. Los cálculos se efectuaron utilizando el modelo continuo de disolvente GB/SA para el agua [117]. Las conformaciones se optimizaron usando iteraciones con gradientes conjugados (<0.01). Los correspondientes mínimos globales se usaron como estructuras iniciales en búsquedas

conformacionales siguiendo el protocolo MONTECARLO (MC) integrado en MACROMODEL 6.0. Los resultados fueron idénticos a los obtenidos por el procedimiento de generación/minimización anterior.

Las reacciones de acetilación se llevaron a cabo disolviendo el compuesto en una mezcla de Ac₂O-piridina (1:1, 10 ml por 1 g de compuesto). La mezcla de reacción se agita durante 12 h a temperatura ambiente y se vierte sobre agua-hielo, se extrae con diclorometano, la fase orgánica se lava sucesivamente con H₂SO₄ 2 N y disolución saturada de NaHCO₃ en agua, se seca (MgSO₄ o Na₂SO₄) y se concentra.

Para las reacciones de desacetilación se siguió el método de Zemplén, usando NaOMe M (0.1 mol por mol de acetatos) en MeOH seco.

La desililación de derivados trimetilsililados se efectuó por tratamiento con AcOH diluído (10%, 0.2 ml por mmol de grupo trimetilsililado) en mezclas CH₂Cl₂-MeOH-H₂O 4:2:1 a 60 °C durante 3 h. Las trazas de AcOH se eliminan por coevaporación con tolueno, y el residuo se disuelve en H₂O y se liofiliza.

Las reacciones de desacetilación se han llevado a cabo por tratamiento con TFA-agua 9:1 a temperatura ambiente y presión reducida (15 mm Hg) hasta que cesa la destilación de acetona. El ácido se elimina a vacío (0.1 mm Hg) añadiendo agua varias veces para coevaporar las trazas de ácido. Los productos desacetinados resultantes se purifican por cromatografía de permeación sobre gel (CPG) Bio-Gel P-2, usando agua-metanol 1:1 como eluyente.

La reducción de las azidas a las correspondientes aminas se llevó a cabo haciendo uso de la reacción de Staudinger [52]. A una disolución de la azida en una mezcla de dioxano-MeOH 5:1 se añade, con agitación y bajo atmósfera de N₂, TPP (3.5 mol por mol de azida). Al cabo de 1 h se añade NH₄OH al 30% (1 ml por mmol de azida) y se mantiene la agitación durante 24 h a

temperatura ambiente. Se concentra, el residuo se extrae con agua y la fase acuosa se lava con tolueno para eliminar el exceso de TPP y el óxido correspondiente.

Las **actividades enzimáticas** se han determinado usando en cada caso el correspondiente *p*-nitrofenil glicósido o disacárido. Las incubaciones se llevaron a cabo a 37 °C durante 10-30 minutos a pH = 4.5 (α -glucosidasa de arroz), pH = 6 (lactasa y trehalasa) y pH = 7.2 (β -glucosidasas A y B, α -glucosidasas de levadura y de arroz y β -glucosidasa de almendra). En el caso de la amilglucosidasa la incubación se realizó a 55 °C y pH = 4.5. La reacción se detiene por adición de Na₂CO₃ 1M y el *p*-nitrofenol liberado se determina espectrofotométricamente por medida de la absorbancia a 400 nm. En el caso de los ensayos con trehalasa, la reacción se detiene por adición de glc-Trinder (*Sigma*) determinando la glucosa liberada por medidas de la absorbancia a 505 nm.

Como **sustratos** se han utilizado los correspondientes *p*-nitrofenilglicósidos (*Sigma*) salvo en el caso de la lactasa intestinal (*o*-nitrofenilglicósido, *Sigma*) y la trehalasa (trehalosa, *Sigma*).

5.2. Materias primas.

5.2.1. Productos comerciales.

Se han empleado los siguientes:

- Ácido bromhídrico (disolución al 30% en ácido acético) (*Aldrich*).
- Ácido *p*-toluensulfónico (*Merck*).
- Ácido trifluoroacético (TFA) (*Fluka*).
- Anhídrido trifluorometanosulfónico (*Fluka*).
- Azida sódica (*Fluka*).
- Bisulfato de tetrabutilamonio (*Aldrich*).
- Borohidruro de litio (*Fluka*).
- N,O*-Bis(trimetilsilil)acetamida (BSA) (*Aldrich*).
- 1,1'-Carbonildiimidazol (*Fluka*).
- D(+)-Celobiosa octaacetato (*Fluka*).
- Cloruro de sulfurilo (*Fluka*).
- Cloruro de trimetilsililo (*Fluka*).
- 3,4-Dihidro-2H-pirano (*Fluka*).
- N,N'*-Diciclohexilcarbodiimida (DCC) (*Fluka*).
- 4-(*N,N*-Dimetilamino)piridina (*Aldrich*).
- N*-Etil-diisopropilamina (DIEA) (*Fluka*).
- Fenilisotiocianato (*Fluka*).
- Fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF, 1 M en THF) (*Fluka*).
- D-Galactosa (*Fluka*).
- D-Glucosa (*Fluka*).
- D-Glucofuranurono-6,3-lactona (*Fluka*).
- Hexametildisilazana (*Fluka*).
- Hidruro de aluminio y litio (*Fluka*).

- Imidazol (*Merck*).
- 1,2-*O*-Isopropilidén- α -D-glucofuranosa (*Fluka*).
- Metil α -D-galactopiranosido (*Fluka*).
- Metil α -D-glucopiranosido (*Fluka*).
- Metil α -D-manopiranosido (*Fluka*).
- Metilisotiocianato (*Fluka*).
- 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetil- β -D-glucopiranososa (*Aldrich*).
- Resina de intercambio iónico Amberlite IR-120 (H⁺) (*Fluka*).
- Resina de intercambio iónico Amberlite IRA-68 (OH⁻) (*Fluka*).
- Tamiz molecular 4 Å (*Merck*).
- 1,1'-Tiocarbonildiimidazol (*Fluka*).
- Tiocianato potásico (*Fluka*).
- Tiofosgeno (*Aldrich*).
- Tosilato de piridinio (*Fluka*).
- Bis*-Triclorometilcarbonato (BTC, trifosgeno) (*Fluka*).
- Trietilamina (*Merck*).
- Trifenilfosfina (*Fluka*).
- Yodo resublimado (*Probus*).

Para los ensayos de **inhibición enzimática** se han empleado las siguientes enzimas:

- Lactasa intestinal (de cordero lechal) (EC 3.2.1.23).
- β -Glucosidasa A (2,3) (de *Bacillus polymyxa*) (EC 3.2.1.21).
- β -Glucosidasa B (2,3) (de *Bacillus polymyxa*) (EC 3.2.1.21).
- α -Glucosidasa (de levadura de cerveza) (EC 3.2.1.20) (*Sigma*).
- α -Glucosidasa (de arroz) (EC 3.2.1.20) (*Sigma*).
- β -Glucosidasa (de almendra) (EC 3.2.1.21) (*Sigma*).
- Trehalasa (de riñón de cerdo) (EC 3.2.1.28) (*Sigma*).
- Amiloglucosidasa (de *Aspergillus niger*) (EC 3.2.1.3) (*Sigma*).

Como **sustratos** se han empleado los siguientes compuestos:

- *o*-Nitrofenil α -D-galactopiranosido (*Sigma*).
- *p*-Nitrofenil α -D-glucopiranosido (*Sigma*).
- *p*-Nitrofenil β -D-glucopiranosido (*Sigma*).
- Trehalosa (*Sigma*).

5.2.2. Purificación de disolventes.

- Acetonitrilo: se ha empleado destilado sobre hidruro cálcico (P.E. 82 °C).
- Anhídrido acético: se ha empleado destilado sobre NaAcO recién fundido (P.E. 138 °C).
- Butanona: se purifica por destilación fraccionada (P.E. 80 °C).
- Diclorometano: se purifica por destilación sobre pentóxido de fósforo (P.E. 40 °C).
- N,N*-Dimetilformamida (DMF): se purifica por destilación fraccionada sobre óxido de bario (P.E. 153 °C).
- Dioxano: se ha empleado siempre destilado sobre sodio (P.E. 88 °C).
- Metanol: se purifica por reflujo sobre magnesio y yodo resublimado y posterior destilación en ausencia de humedad (P.E. 64 °C).
- Piridina: se purifica por reflujo sobre KOH y posterior destilación (P.E. 115 °C).
- Tetrahidrofurano (THF): se purifica por calentamiento a reflujo sobre hidruro de aluminio y litio y posterior destilación fraccionada (P.E. 65 °C).

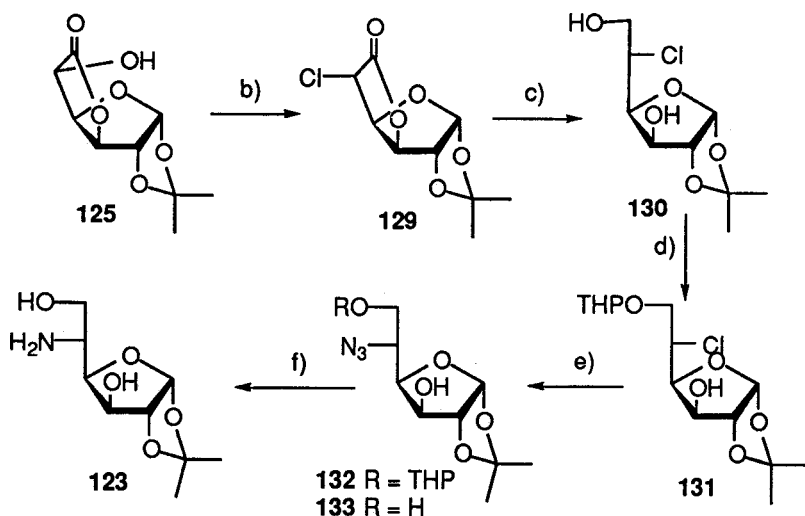
5.2.3. Sustancias de partida.

Se han preparado de acuerdo con procedimientos descritos en la literatura:

- 6-Desoxi-1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén-6-isotiocianato- α -D-galactopiranososa (92) [45,46].
- 6-Desoxi-1,2:3,5-di-*O*-isopropilidén-6-isotiocianato- α -D-glucofuranosa (94) [118].

- β -D-Glucopiranosilamina (93) [119,120].
- Metil 6-desoxi-6-isotiocianato-2,3,4-tri-*O*-trimetilsilil- α -D-galactopiranosido(109) [42].
- Metil 6-desoxi-6-isotiocianato-2,3,4-tri-*O*-trimetilsilil- α -D-glucopiranosido (110) [42].
- Metil 6-desoxi-6-isotiocianato-2,3,4-tri-*O*-trimetilsilil- α -D-manopiranosido (98) [42].
- 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil fosfinimina (111) [36,65].
- Metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-desoxi-6-isotiocianato- α -D-glucopiranosido (112) [45,46].
- 2,3,6,2',3',4',6'-Hepta-*O*-acetil- β -celobiosil fosfinimina (113) [65].
- 6-Azido-6-Desoxi-1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén- α -D-galactopiranososa (114) [121].
- 6-Azido-6-Desoxi-1,2:3,5-di-*O*-isopropilidén- α -D-glucofuranosa (115) [118].
- Metil 6-azido-6-desoxi-2,3,4-tri-*O*-acetil- β -D-glucopiranosido (116) [45,46].
- 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil isotiocianato (117) [15,122].
- 2,3,6,2',3',4',6'-Hepta-*O*-acetil- β -celobiosil isotiocianato (118) [15,123].

5.2.3.1. 5-Amino-5-desoxi-1,2-O-isopropilidén- α -D-glucofuranosa (123).



a) 1,2-O-Isopropilidén- α -D-glucofuranono-6,3-lactona (125).

Se ha preparado a partir de la D-glucofuranono-6,3-lactona según el procedimiento descrito en la literatura, confirmándose que sus datos espectroscópicos coinciden con los datos de la bibliografía [88].

b) 5-Cloro-5-desoxi-1,2-O-isopropilidén- β -L-idofuranono-6,3-lactona (129).

Se ha preparado según el procedimiento descrito en la literatura, confirmándose que sus datos espectroscópicos coinciden con los datos de la bibliografía [88].

c) 5-Cloro-5-desoxi-1,2-O-isopropilidén- β -L-idofuranosa (130).

A una disolución de **129** (2.80 g, 12 mmoles) en THF seco (20 ml) a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ se añade gota a gota una suspensión de LiBH_4 (316 mg, 14.4 mmoles) en THF seco (20 ml). La mezcla de

reacción se agita a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 2.5 h y 1 h a temperatura ambiente. Después de comprobar por c.c.f. (AcOEt-éter de petróleo 2:1) que la reacción ha concluido se añade agua (10 ml), se neutraliza con AcOH glacial y se desmineraliza con resina de intercambio iónico Amberlite IR-120 (H^+). Se filtra y se coevapora varias veces con MeOH. El residuo resultante se purifica por cromatografía en columna (AcOEt-éter de petróleo 2:1) para dar **130** (2.27 g, 80%), cuyos datos espectrocópicos coinciden con los de la bibliografía [88].

d) *5-Cloro-5-desoxi-1,2-O-isopropilidén-6-(tetrahidropiran-2-il)- β -L-idofuranosa* (**131**).

A una disolución de **130** (3.24 g, 13.3 mmoles) en CH_2Cl_2 seco (50 ml) se añade 3,4-dihidro-2H-pirano (1.6 ml, 17.6 mmoles) y tosilato de piridinio (0.25 g). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 24 h, se lava con NaHCO_3 acuoso al 5% (5 ml), se seca (MgSO_4) y se concentra. El sirupo resultante se purifica por cromatografía en columna (AcOEt-éter de petróleo 1:3 conteniendo 2% de Et_3N) para dar **131** (3.05 gr, 70%).

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): Tabla 25 y δ 4.31, 4.28 (2dd, 1 H $J_{1',2'a}$ 3.2, $J_{1',2'b}$ 6.3 Hz, H-1'), 3.92, 3.55 (2m, 2 H, H-5a' y H-5b'), 1.78 (m, 2 H, H-4a' y H-4b'), 1.58 (m, 2 H, H-2a' y H-2b'), 1.54 (m, 2 H, H-3a' y H-3b'), 1.49 y 1.31 (2s, 6 H, 2 Me).

^{13}C RMN (125.5 MHz, CDCl_3): Tabla 26 y δ 111.7, 111.6 (CMe_2), 102.2, 99.3 (C-1'), 64.4, 62.6 (C-5'), 30.7, 30.8 (C-2'), 26.6, 26.1 (CMe_2), 24.9, 24.8 (C-3'), 20.4 y 19.2 (C-4').

e) *5-Azido-5-desoxi-1,2-O-isopropilidén-6-(tetrahidropiran-2-il)- α -D-glucofuranosa* (**132**).

Se ha preparado según el procedimiento descrito [88], confirmándose que sus datos espectrocópicos coinciden con los datos de ^{13}C RNM de la bibliografía.

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): Tabla 25 y δ 4.70, 4.67 (2t, 1 H, $J_{1',2'a} = J_{1',2'b}$ 3.2 Hz, H-1'), 3.85, 3.55 (2m, 2 H, H-5'a y H-5'b), 1.80 (m, 2 H, H-4'a y H-4'b), 1.67-1.50 (m, 4 H, H-2'a, H-2'b, H-3'a y H-3'b), 1.43 y 1.31 (2s, 6 H, 2 Me).

^{13}C RMN (125.5 MHz, CDCl_3): Tabla 26 y δ 111.8 (CMe_2), 99.2, 97.8 (C-1'), 61.9, 61.2 (C-5'), 30.2, 30.0 (C-2'), 26.6, 26.1 (CMe_2), 25.2 (C-3'), 18.9 y 18.4 (C-4').

f) *5-Azido-5-desoxi-1,2-O-isopropilidén- α -D-glucofuranosa (133)*.

Se ha preparado según el procedimiento descrito en la literatura [88], confirmándose que sus datos espectroscópicos coinciden con los datos de la bibliografía.

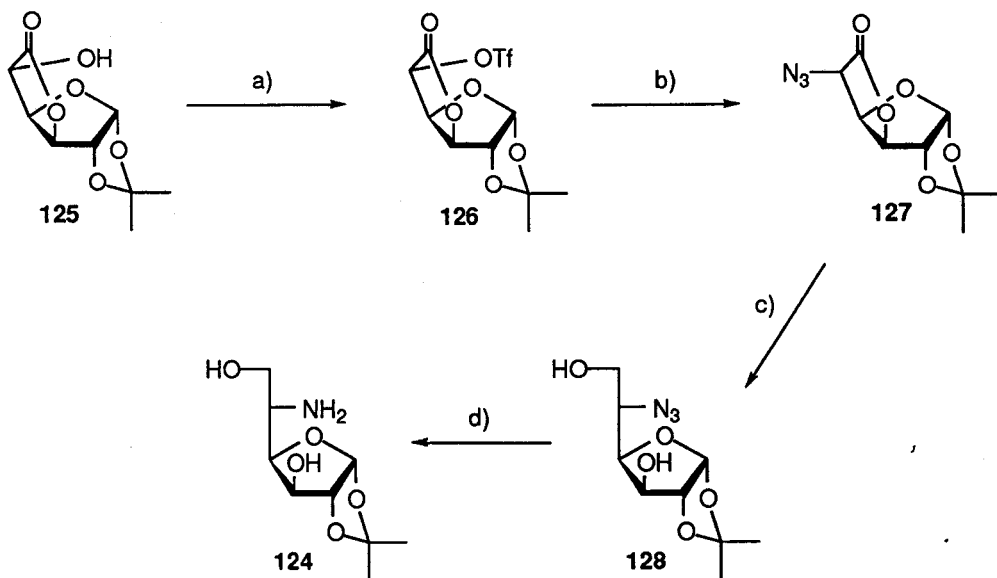
g) *5-Amino-5-desoxi-1,2-O-isopropilidén- α -D-glucofuranosa (123)*.

Se prepara a partir de **133** (0.737 g, 3 mmoles), siguiendo el procedimiento descrito en los Métodos Generales, para dar **123** (0.636 g, 95%).

^1H RMN (300 MHz, CD_3OD): Tabla 25 y δ 1.43 y 1.28 (2s, 6 H, 2 Me).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CD_3OD): Tabla 26 y δ 112.6 (CMe_2), 27.0 y 26.4 (CMe_2).

5.2.3.2. 5-Amino-5-desoxi-1,2-O-isopropilidén-β-L-idofuranosa (124).



a) *1,2-O-Isopropilidén-5-trifluorometanosulfonil-α-D-glucofuranurono-6,3-lactona* (126).

A una disolución de 125 (2.88 g, 13.3 mmoles) en CH_2Cl_2 seco (40 ml) y piridina (2.1 ml) se añade a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ y gota a gota anhídrido trifluorometanosulfónico (3.1 ml, 18.6 mmoles) y se agita durante 1 h. Se neutraliza con disolución saturada de NaHCO_3 (2 x 15 ml) a $0\text{ }^\circ\text{C}$, se separa la fase orgánica, se seca (MgSO_4) y se concentra para dar 126 (4.16 g, 90%), cuyos datos espectroscópicos son idénticos a los de la literatura [88].

b) *5-Azido-5-desoxi-1,2-O-isopropilidén-β-L-idofuranurono-6,3-lactona* (127).

A una disolución de 126 (4.16 g, 12 mmoles) en butanona seca (56 ml) se añade NaN_3 (2.17 g, 33 mmoles) y se agita a temperatura ambiente durante 2 h. Se concentra, se añade agua (30 ml) y se extrae con CH_2Cl_2 (2 x 20 ml). La fase orgánica se seca (MgSO_4) y se concentra. El

residuo se purifica por cromatografía en columna (AcOEt-éter de petróleo 1:3) para dar **127** (2.50 g, 86%).

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): Tabla 25 y δ 1.49 y 1.33 (2s, 6 H, 2 Me).

^{13}C RMN (125.5 MHz, CDCl_3): Tabla 26 y δ 170.6 (CO), 113.3 (CMe_2), 26.9 y 26.4 (CMe_2).

c) *5-Azido-5-desoxi-1,2-O-isopropilidén- β -L-idofuranosa (128)*.

A una disolución de **127** (2.49 g, 10.3 mmoles) en THF seco (20 ml) a -25°C se añade gota a gota una suspensión de LiBH_4 (267 mg, 12.4 mmoles) en THF seco (20 ml). La mezcla de reacción se agita durante 3 h a -25°C y 1 h a temperatura ambiente. Se añade agua (10 ml) gota a gota para destruir el exceso de hidruro. La disolución se neutraliza con AcOH glacial, se desmineraliza con resina de intercambio iónico IR-120 (H^+), se filtra y coevapora varias veces con MeOH. El sirupo resultante se purifica por cromatografía en columna (AcOEt-éter de petróleo 3:2) para rendir **128** (1.56g, 65%).

^1H RMN (500 MHz, CD_3OD): Tabla 25 y δ 1.45 y 1.25 (2s, 6 H, 2 Me).

^{13}C RMN (125.5 MHz, CD_3OD): Tabla 26 y δ 112.8 (CMe_2), 27.0 y 26.4 (CMe_2).

d) *5-Amino-5-desoxi-1,2-O-isopropilidén- β -L-idofuranosa (124)*.

Se prepara a partir de **128** (0.83 g, 3.4 mmoles), siguiendo el procedimiento descrito en los Métodos Generales, para dar **124** (0.74 g, 99%).

^1H RMN (300 MHz CD_3OD): Tabla 25 y δ 1.43 y 1.28 (2s, 6 H, 2 Me).

^{13}C RMN (75.5 MHz CD_3OD): Tabla 26 y δ 112.6 (CMe_2), 27.1 y 26.4 (CMe_2).

Tabla 25. Datos de ^1H RMN (500MHz, CD_3OD) para los compuestos **123**, **124**, **127**, **128**, **131** y **132**.

Comp.	Desplazamientos químicos (δ , ppm)						
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6a	H-6b
123^a	5.88d	4.48d	4.12d	3.98dd	3.19ddd	3.77d	3.58dd
124	5.89d	4.47d	4.12d	4.06dd	3.15c	3.63dd	3.52dd
127^b	5.93d	4.82d	4.94d	4.65dd	4.23s	---	---
128	5.90d	4.49d	4.07d	4.12dd	3.68ddd	3.75dd	3.60dd
131^{b,c}	5.95d	4.57d	3.93m	3.72m	3.92m	4.20dd	4.16dd
	5.93d	4.55d				4.12dd	4.10dd
132^{b,c}	5.98d	4.48d	3.84d	3.60dd	3.91m	4.26d	4.05dd
			3.74d			4.10m	

Comp.	Constantes de acoplamiento (J , Hz)						
	$J_{1,2}$	$J_{2,3}$	$J_{3,4}$	$J_{4,5}$	$J_{5,6a}$	$J_{5,6b}$	$J_{6a,6b}$
123	3.7	0.0	2.8	8.1	3.6	6.7	11.0
124	3.7	0.0	2.9	6.0	6.0	6.0	10.9
127	3.6	0.0	2.8	0.0	---	---	---
128	3.7	0.0	2.8	9.1	3.2	6.1	11.4
131	3.7	0.0	---	---	3.5	2.3	8.7
132	3.5	0.0	8.5	---	---	2.5	9.5

^aA 300 MHz. ^b En CDCl_3 . ^cLos datos para los compuestos diastereoisómeros se recogen en la línea inferior.

Tabla 26. Datos de $^{13}\text{CRMN}$ (125.5 MHz, CD_3OD) para compuestos **123**, **124**, **127**, **128**, **131** y **132**.

Comp.	Desplazamientos químicos (δ , ppm)					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
123^a	106.2	86.1	75.8	81.4	52.8	64.2
124	105.9	87.1	76.6	81.7	53.4	64.3
127^b	106.2	81.7	84.8	80.9	61.1	---
128	105.8	86.9	75.1	81.7	62.5	64.8
131^{b,c}	104.3	85.1	84.4	75.0	70.9	56.3
	104.1			74.8	68.4	56.2
132^{b,c}	104.8	84.7	78.6	74.6	59.2	68.0
					58.9	67.1

^a A 75.5 MHz. ^b En CDCl_3 . ^c Los datos para los compuestos diastereoisómeros se recogen en la línea inferior.

5.3. Nuevos productos

5.3.1. Reacción de 6-desoxi-6-isotiocianatoazúcares con β -D-glucopiranosilamina.

Preparación de tioureilénglicobiosas.

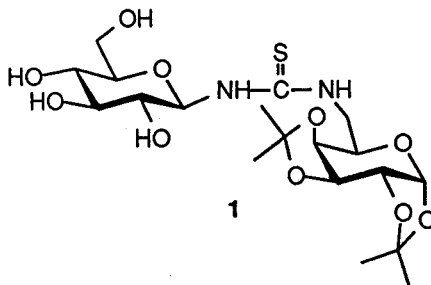
A) Obtención de (1 \rightarrow 6)-tioureidoazúcares a partir de 6-desoxi-6-isotiocianatoazúcares acetalados.

A una disolución del correspondiente 6-desoxi-6-isotiocianato derivado (1.38 g, 4.6 mmol) en piridina-agua 3:1 (4 ml) se le adicionan Et_3N (0.1 ml) y β -D-glucopiranosilamina (1.24 g, 6.9 mmol), y se agita a temperatura ambiente durante 48 h, controlando la reacción por c.c.f. (AcOEt-EtOH- H_2O 45:5:3). Se elimina el disolvente a presión reducida y se purifica el residuo por cromatografía en columna, con el mismo eluyente.

La desprotección de las tiureas **1** y **2** para dar los compuestos **3** y **4**, respectivamente, se ha llevado a cabo según el procedimiento descrito en los Métodos Generales (Apartado 5.1).

Los siguientes compuestos se han preparado siguiendo este procedimiento.

5.3.1.1. 6-Desoxi-6-[N'-(β -D-glucopiranosil)tioureido]-1,2:3,4-di-O-isopropilidén- α -D-galactopiranososa (**1**).



Rendimiento: 0.77 g (35%); $[\alpha]_D -43.7^\circ$ (*c* 0.8, CH_2Cl_2); R_f (AcOEt-EtOH- H_2O 45:5:3)

0.26.

UV (CH_2Cl_2): 252 nm (ϵ_{mM} 13.2).

IR: ν_{max} 3335, 1553, 1381 y 1069 cm^{-1} .

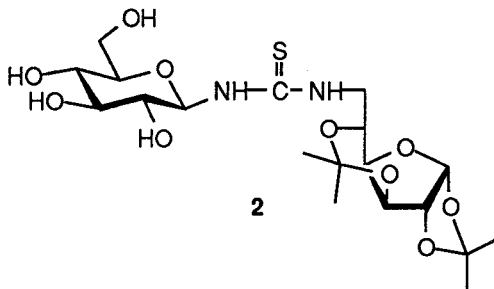
^1H RMN (300 MHz, CD_3OD , 323 K): Tabla 1 y δ 1.49, 1.42, 1.34 y 1.31 (4 s, 12 H, 4 Me).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CD_3OD , 323 K): Tabla 2 y δ 185.1 (CS), 110.7, 110.2 (2 C, 2 CMe_2), 26.5, 26.4, 25.3 y 24.7 (4 C, 4 Me).

EM (FAB): *m/z* 503 (100%, $[\text{M}+\text{Na}]^+$), 481 (33, $[\text{M}+\text{H}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{S}$: C, 47.49; H, 6.71; N, 5.83; S, 6.67. Encontrado: C, 47.43; H, 6.51; N, 5.79; S, 6.51.

5.3.1.2. 6-Desoxi-6-[N'-(β -D-glucopiranosil)tioureido]-1,2:3,5-di-O-isopropilidén- α -D-glucofuranosa (2).



Rendimiento: 0.68 g (31%); $[\alpha]_D -1.0^\circ$ (*c* 1.0, MeOH); R_f (AcOEt-EtOH- H_2O 45:5:3) 0.22.

UV (MeOH): 246 nm (ϵ_{mM} 12.1).

IR: ν_{max} 3344, 1553, 1381 y 1090 cm^{-1} .

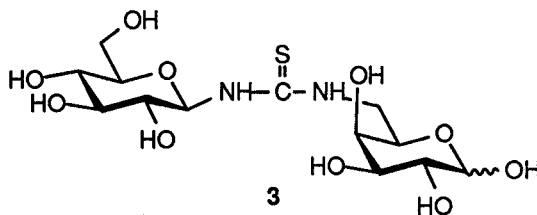
^1H RMN (500 MHz, CD_3OD , 323 K): Tabla 1 y δ 1.45, 1.34, 1.33 y 1.29 (4 s, 12 H, 4 Me).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CD_3OD , 323 K): Figura 1. Tabla 2 y δ 185.2 (CS), 113.5, 102.2 (2 C, 2 CMe_2), 27.5, 26.8, 24.5 y 24.4 (4 C, 4 Me).

EM (FAB): *m/z* 503 (100%, $[\text{M}+\text{Na}]^+$), 481 (10, $[\text{M}+\text{H}]^+$).

Análisis: Calculado para $C_{19}H_{32}N_2O_{10}S$: C, 47.49; H, 6.71; N, 5.83; S, 6.67. Encontrado: C, 47.57; H, 6.75; N, 5.80; S, 6.49.

5.3.1.3. 6-Desoxi-6-[N'-(β-D-glucopiranosil)tioureido]-D-galactopiranososa (3).



Rendimiento: 0.27 g (95%); $[\alpha]_D +28.6^\circ$ (*c* 1.0, H_2O); R_f (BuOH-AcOH- H_2O 2:1:1) 0.28.

UV (H_2O): 243 nm (ϵ_{mM} 9.9).

IR (KBr): ν_{max} 3289, 1559 y 1071 cm^{-1} .

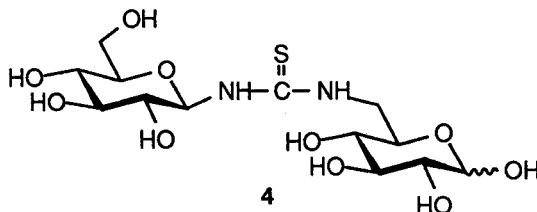
1H RMN (500 MHz, D_2O , 323 K): Tabla 1. Proporción de anómeros α/β 1:2.3 (integración de las señales correspondientes a H-1).

^{13}C RMN (125.5 MHz, D_2O , 323 K): Tabla 2 y δ 183.2 (CS).

EM (FAB): *m/z* 423 (20%, $[M+Na]^+$).

Análisis: Calculado para $C_{13}H_{24}N_2O_{10}S$: C, 38.99; H, 6.04; N, 6.99; S, 8.01. Encontrado: C, 38.72; H, 5.84; N, 7.01; S, 8.38.

5.3.1.4. 6-Desoxi-6-[N'-(β-D-glucopiranosil)tioureido]-D-glucopiranososa (4).



Rendimiento: 0.28 g (97%); $[\alpha]_D -65.8^\circ$ (*c* 1.0, H_2O); R_f (BuOH-AcOH- H_2O 2:1:1) 0.36.

UV (H₂O): 247 nm (ϵ_{mM} 5.5).

IR (KBr): ν_{max} 3289, 1559 y 1071 cm⁻¹.

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 323 K): Tabla 1. Proporción de anómeros α/β 1:2.3 (integración de las señales correspondientes a H-1).

¹³C RMN (125.5 MHz, D₂O, 323 K): Tabla 2 y δ 183.1 (CS).

EM (FAB): m/z 423 (90%, [M+Na]⁺), 405 (10, [M+Na]⁺ - H₂O).

Análisis: Calculado para C₁₃H₂₄N₂O₁₀S: C, 38.99; H, 6.04; N, 6.99; S, 8.01. Encontrado: C, 38.64; H, 6.32; N, 6.64; S, 8.12.

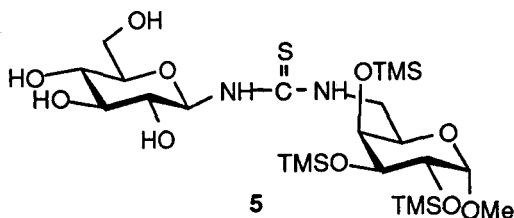
B) Obtención de (1→6)-tioureidoazúcares a partir de metil 6-desoxi-6-isotiocianato- α -D-glicopiranosidos per-*O*-trimetilsililados.

A una disolución del correspondiente metil 6-desoxi-6-isotiocianato-2,3,4-tri-*O*-trimetilsilil- α -D-galacto(gluco, mano)piranosido 7-9 (250 mg, 0.55 mmol) en piridina anhidra (6 ml) se añade β -D-glucopiranosilamina (100 mg, 0.55 mmol) y Et₃N (0.15 ml) y se agita a temperatura ambiente, controlando la reacción por c.c.f. (AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3) hasta que no se observa avance de la misma. Se evapora el disolvente y el residuo se purifica por cromatografía en columna usando el mismo eluyente.

La desililación de las tiureas 5-7 para dar lugar a los correspondientes productos libres 8-10 se ha llevado a cabo según el procedimiento descrito en los Métodos Generales (Apartado 5.1).

Los siguientes compuestos se obtuvieron por este procedimiento.

5.3.1.5. Metil 6-desoxi-6-[*N'*-(β -D-glucopiranosil)tioureido]-2,3,4-tri-*O*-trimetilsilil- α -D-galactopiranosido (5).



Rendimiento: 222mg (64%); $[\alpha]_D +57.0^\circ$ (*c* 1.0, CH₂Cl₂); *R_f* (AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3) 0.42.

UV (MeOH): 254 nm (ϵ_{mM} 16.4).

IR (KBr): ν_{max} 3342, 2961, 2897, 1552, 1256, 1101 y 847 cm⁻¹.

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD, 313 K): Tabla 3 y δ 5.42 (sa, 1 H, H-1'), 4.62 (d, 1 H, *J*_{1,2} 3.2, H-1), 3.45 (s, 3 H, OMe), 0.26 y 0.25 (2 s, 27 H, 3 OSiMe₃).

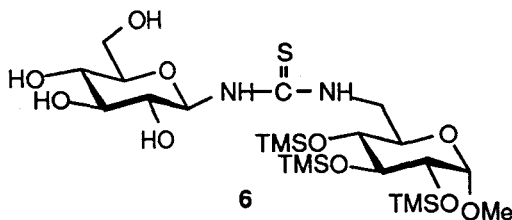
¹³C RMN (75.5 MHz, CD₃OD, 323 K): Tabla 4 y δ 183.8 (CS), 55.9 (OMe), 0.9 y 0.7 (9 C, 3 OSiMe₃).

EM (FAB): *m/z* 653 (80%, [M + Na]⁺) y 598 (50, M⁺ - MeOH).

Análisis: Calculado para C₂₃H₅₀N₂O₁₀SSi₃: C, 43.78; H, 7.99; N, 4.44; S, 5.08; Si, 13.35.

Encontrado: C, 43.47; H, 7.56; N, 4.14; S, 4.70; Si, 13.11.

5.3.1.6. Metil 6-desoxi-6-[N'-(β-D-glucopiranosil)tioureido]-2,3,4-tri-O-trimetilsilil-α-D-glucopiranosido (6).



Rendimiento: 212mg (62%); $[\alpha]_D +48.3^\circ$ (*c* 1.0, MeOH); *R_f* (AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3) 0.66.

UV (MeOH): 245 nm (ϵ_{mM} 12.9).

IR (KBr): ν_{max} 3331, 2957, 2917, 1547, 1257, 1082 y 852 cm^{-1} .

1H RMN (500 MHz, CD_3OD , 313 K): *Figura 2*. Tabla 3 y δ 3.34 (s, 3 H, OMe), 0.20, 0.15 y 0.14 (3 s, 27 H, 3 OSiMe₃).

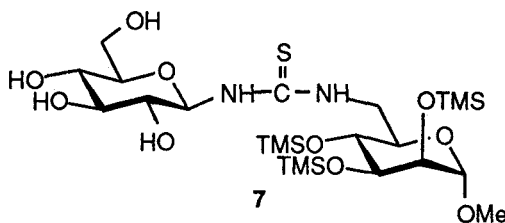
^{13}C RMN (125.5 MHz, CD_3OD , 323 K): *Figura 3*. Tabla 4 y δ 186.1 (CS), 55.8 (OMe), 1.5, 1.3 y 0.5 (9 C, 3 OSiMe₃).

EM (FAB): m/z 653 (40%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₂₃H₅₀N₂O₁₀SSi₃: C, 43.78; H, 7.99; N, 4.44; S, 5.08; Si, 13.35.

Encontrado: C, 43.71; H, 7.85; N, 4.58; S, 4.94; Si, 13.54.

5.3.1.7. Metil 6-desoxi-6-[N'-(β -D-glucopiranosil)tioureido]-2,3,4-tri-O-trimetilsilil- α -D-manopiranosido (7).



Rendimiento: 139 mg (40%); $[\alpha]_D +25.0^\circ$ (c 1.0, MeOH); R_f (AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3) 0.34.

UV (MeOH): 254 nm (ϵ_{mM} 14.6).

IR (KBr): ν_{max} 3325, 2967, 2912, 1541, 1252, 1053 y 839 cm^{-1} .

1H RMN (300 MHz, CD_3OD , 313 K): Tabla 3 y δ 3.36 (s, 3 H, OMe), 0.17, 0.15 y 0.14 (3 s, 27 H, 3 OSiMe₃).

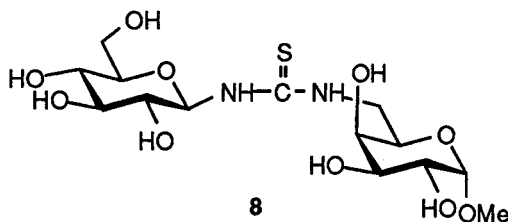
^{13}C RMN (75.5 MHz, CD_3OD , 323 K): Tabla 4 y δ 185.9 (CS), 55.6 (OMe), 1.0, 0.7 y 0.5 (9 C, 3 OSiMe₃).

EM (FAB): m/z 653 (55%, [M + Na]⁺) y 599 (30, MH⁺ - MeOH).

Análisis: Calculado para $C_{23}H_{50}N_2O_{10}SSi_3$: C, 43.78; H, 7.99; N, 4.44; S, 5.08; Si, 13.35.

Encontrado: C, 43.60; H, 7.68; N, 4.27; S, 4.81; Si, 12.99.

5.3.1.8. Metil 6-desoxi-6-[N'-(β-D-glucopiranosil)tioureido]-α-D-galactopiranosido (8).



Rendimiento: 63 mg (96%); $[\alpha]_D +64.0^\circ$ (c 1.0, H_2O); R_f (BuOH-AcOH- H_2O 2:1:1)

0.12.

UV (H_2O): 244 nm (ϵ_{mM} 15.4).

IR (KBr): ν_{max} 3289, 1559 y 1071 cm^{-1} .

1H RMN (300 MHz, D_2O , 313 K): *Figura 4.* Tabla 3 y δ 3.52 (s, 3 H, OMe).

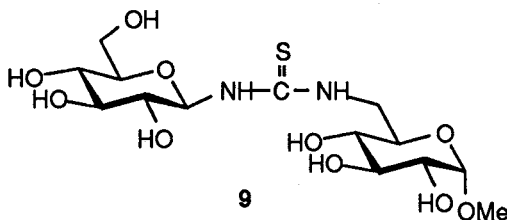
^{13}C RMN (75.5 MHz, D_2O , 323 K): *Figura 5.* Tabla 4 y δ 183.1 (CS) y 55.2 (OMe).

EM (FAB): m/z 437 (100%, $[M + Na]^+$) y 405 (10, $[M + Na]^+ - MeOH$).

Análisis: Calculado para $C_{14}H_{26}N_2O_{10}S$: C, 40.57; H, 6.32; N, 6.76; S, 7.74. Encontrado:

C, 40.22; H, 6.16; N, 6.65; S, 7.37.

5.3.1.9. Metil 6-desoxi-6-[N'-(β-D-glucopiranosil)tioureido]-α-D-glucopiranosido (9).



Rendimiento: 64 mg (97%); $[\alpha]_D +42.8^\circ$ (c 0.6, H₂O); R_f (BuOH-AcOH-H₂O 2:1:1)

0.14.

UV (H₂O): 243 nm (ϵ_{mM} 9.7).

IR (KBr): ν_{max} 3428, 1559 y 1045 cm⁻¹.

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 313 K): Tabla 3 y δ 3.54 (s, 3 H, OMe).

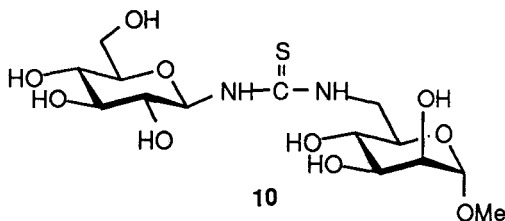
¹³C RMN (75.5 MHz, D₂O, 323 K): Tabla 4 y δ 183.8 (CS) y 55.2 (OMe).

EM (FAB): m/z 437 (60%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₁₄H₂₆N₂O₁₀S: C, 40.57; H, 6.32; N, 6.76; S, 7.74. Encontrado:

C, 40.24; H, 6.01; N, 6.57; S, 7.29.

5.3.1.10. Metil 6-desoxi-6-[N'-(β-D-glucopiranosil)tioureido]-α-D-manopiranosido (10).



Rendimiento: 60 mg (91%); $[\alpha]_D +37.7^\circ$ (c 0.9, H₂O); R_f (BuOH-AcOH-H₂O 2:1:1)

0.17.

UV (H₂O): 243 nm (ϵ_{mM} 20.6).

IR (KBr): ν_{max} 3327, 1559 y 1045 cm⁻¹.

¹H RMN (500 MHz, D₂O, 313 K): δ 5.47 (sa, 1 H, H-1'), 4.90 (d, $J_{1,2}$ 1.8 Hz, H-1), 4.08

(m, 1 H, H-6'a), 4.02 (m, 1 H, H-6'b), 3.88 (m, 2 H, H-2', H-3'), 3.85 (m, 1 H, H-5'), 3.74 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5}$ 9.6 Hz, H-4), 3.71 (t, 1H, $J_{3',4'} = J_{4',5'}$ 7.2 Hz, H-4') y 3.53 (s, 3 H, OMe).

¹³C RMN (75.5 MHz, D₂O, 323 K): Tabla 4 y δ 183.2 (CS) y 54.5 (OMe).

EM (FAB): m/z 437 (100%, [M + Na]⁺) y 415 (10, [M + H]⁺).

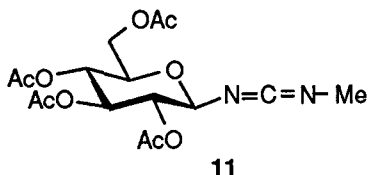
Análisis: Calculado para C₁₄H₂₆N₂O₁₀S: C, 40.57; H, 6.32; N, 6.76; S, 7.74. Encontrado:

C, 40.32; H, 6.19; N, 6.44; S, 7.42.

5.3.2. Estudio de la reacción de tipo aza-Wittig en sustratos glucídicos. Síntesis de pseudooligosacáridos con puente de carbodiimida.

A una disolución de TPP (288 mg, 1.1 mmol) y el correspondiente metil(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)[2,3,4,2',3',4',6'-hepta-*O*-acetil-D-celobiosil]isotiocianato (1.1 mmol) en tolueno seco (3 ml) se añade la correspondiente azida derivada de azúcar (1.0 mmol) en tolueno seco (3ml). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 30-60 min. Se elimina el disolvente a presión reducida, y el residuo se purifica por cromatografía en columna usando el eluyente que se indica en cada caso.

5.3.2.1. *N*-Metil-*N'*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil) carbodiimida (11).



A una disolución de 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil fosfinimina (300 mg, 0.5 mmol) en tolueno seco (3 ml) se añade metil isotiocianato (38 mg, 0.5 mmol) y se calienta a reflujo durante 2 h, controlando la reacción por c.c.f. (AcOEt-éter de petróleo 1:1). Se elimina el disolvente a presión reducida y el residuo se purifica por cromatografía preparativa.

Rendimiento: 78 mg (40%); $[\alpha]_D -11.5^\circ$ (*c* 1.0, CH₂Cl₂); *R_f*(AcOEt-éter de petróleo 1:1)

0.49.

IR (KBr): ν_{\max} 2944, 2155 (ν_{NCN}), 1755, 1377, 1227 y 1036 cm⁻¹.

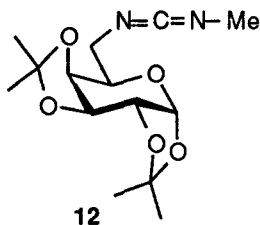
¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): Tabla 5 y δ 2.98 (s, 3 H, MeN), 2.05, 2.04, 1.98 y 1.96 (4 s, 12 H, 4 MeCO).

^{13}C RMN (125.5 MHz, CDCl_3): Tabla 6 y δ 170.7, 170.2, 169.4, 169.3 (4 CO), 136.4 (NCN), 32.0 (MeN), 20.7 y 20.6 (4 MeCO).

EM (FAB): m/z 409 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_9$: C, 49.74; H, 5.74; N, 7.25. Encontrado: C, 49.71; H, 5.69; N, 7.26.

5.3.2.2. 6-Desoxi-1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén-6-(3-metilcarbodiimido)- α -D-galactopiranosas (12).



Rendimiento: 187 mg (57%); $[\alpha]_{\text{D}} -103.5^\circ$ (c 1.0, CH_2Cl_2); $R_f(\text{Et}_2\text{O}-\text{CCl}_4$ 1:5) 0.45.

IR (KBr): ν_{max} 2985, 2957, 2135 (ν_{NCN}), 1385, 1252, 1167 y 1070 cm^{-1} .

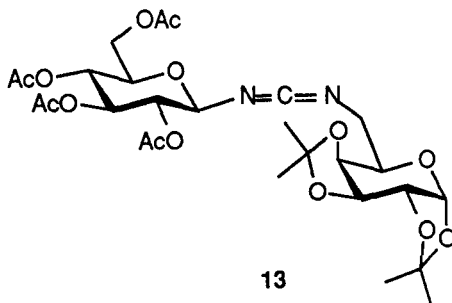
^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): Tabla 5 y δ 2.91 (s, 3 H, N'Me), 1.48, 1.39, 1.28 y 1.27 (4 s, 12 H, 4 Me).

^{13}C RMN (125.5 MHz, CDCl_3): Tabla 6 y δ 141.2 (NCN), 109.3, 108.6 (2 CMe_2), 32.7 (MeN), 25.9, 25.8, 24.9 y 24.3 (4 Me).

EM (FAB): m/z 321 (80%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$) y 299 (100, $[\text{M} + \text{H}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 56.36; H, 7.43; N, 9.39. Encontrado: C, 56.33; H, 7.41; N, 9.39.

5.3.2.3. 6-Desoxi-1,2:3,4-di-O-isopropilidén-6-[3-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)carbodiimido]-α-D-galactopiranososa (13).



Rendimiento: 618 mg (91%); $[\alpha]_D -51.5^\circ$ (c 0.8, CH_2Cl_2); $R_f(\text{Et}_2\text{O}-\text{CCl}_4$ 3:1) 0.50.

IR (KBr): ν_{max} 2988, 2938, 2143 (ν_{NCN}), 1753, 1377, 1221 y 1069 cm^{-1} .

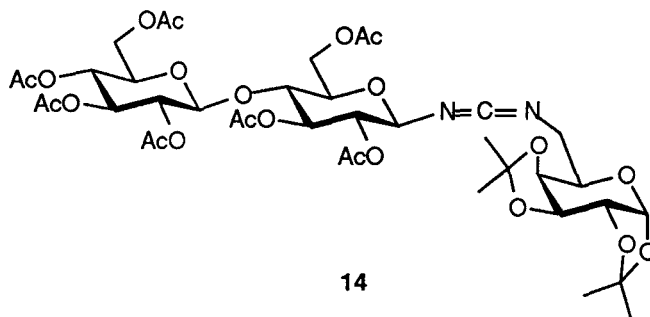
^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): Tabla 5 y δ 2.08, 2.06, 2.02, 2.00 (4 s, 12 H, 4 MeCO), 1.56, 1.44, 1.35 y 1.33 (4 s, 12 H, 4 Me).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3): Tabla 6 y δ 170.2, 169.8, 169.3 (2 C) (4 CO), 137.9 (NCN), 109.5, 108.7 (2 CMe_2), 26.0, 25.8, 24.8, (4 Me) y 20.5 (4 C, 4 MeCO).

EM (FAB): m/z 637 (70%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_{14}$: C, 52.76; H, 6.23; N, 4.56. Encontrado: C, 52.78; H, 6.41; N, 4.59.

5.3.2.4. 6-Desoxi-1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén-6-{3-[2,3,6-tri-*O*-acetil-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetil-β-D-glucopiranosil)-β-D-glucopiranosil]carbodiimido)-α-D-galactopiranososa (14).



Rendimiento: 749 mg (83%); $[\alpha]_D -28.8^\circ$ (*c* 1.2, CH₂Cl₂); *R_f*(Et₂O) 0.37.

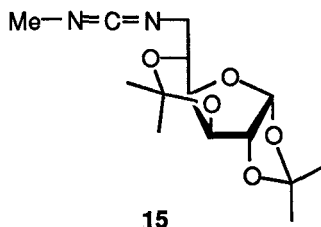
IR (KBr): ν_{\max} 2992, 2944, 2145 (ν_{NCN}), 1759, 1383, 1231 y 1047 cm⁻¹.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): Tabla 5 y δ 2.12, 2.08, 2.05, 2.02, 2.00 (6 H), 1.97 (6 s, 21 H, 7 MeCO), 1.54, 1.42, 1.34 y 1.32 (4 s, 12 H, 4 Me).

¹³C RMN (100.6 MHz, CDCl₃): Tabla 6 y δ 170.5, 170.4, 170.2, 169.9, 169.6, 169.3, 169.1 (7 CO), 138.4 (NCN), 109.6, 108.8 (2 CMe₂), 26.1, 25.9, 25.0, 24.4 (4 Me), 20.9, 20.7 (2 C) y 20.6 (4 C) (7 MeCO).

EM (FAB): *m/z* 925 (70%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₃₉H₅₄N₂O₂₂: C, 51.88; H, 6.03; N, 3.10. Encontrado: C, 51.89; H, 6.11; N, 3.11.

5.3.2.5. 6-Desoxi-1,2:3,5-di-*O*-isopropilidén-6-(3-metilcarbodiimido)- α -D-glucofuranosa (15).

Rendimiento: 229 mg (70%); $[\alpha]_D +22.3^\circ$ (c 0.9, CH_2Cl_2); R_f (CCl_4 -acetona 15:1) 0.60.

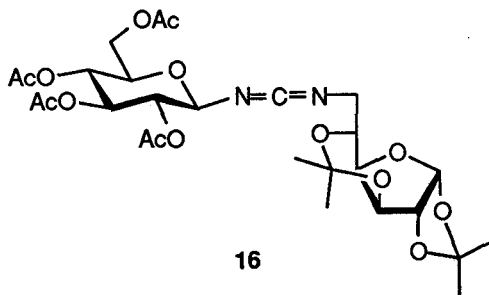
IR (KBr): ν_{max} 2986, 2934, 2139 (ν_{NCN}), 1377, 1221, 1167 y 1080 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): Tabla 5 y δ 2.95 (s, 3 H, N'Me), 1.50, 1.40, 1.39 y 1.35 (4 s, 12 H, 4 Me).

^{13}C RMN (125.5 MHz, CDCl_3): Tabla 6 y δ 140.6 (NCN), 112.1, 100.9 (2 CMe_2), 32.6 (MeN), 27.0, 26.3, 23.9 y 23.8 (4 Me).

EM (FAB): m/z 321 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$: C, 56.36; H, 7.43; N, 9.39. Encontrado: C, 56.58; H, 7.80; N, 9.12.

5.3.2.6. 6-Desoxi-1,2:3,5-di-*O*-isopropilidén-6-[3-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)carbodiimido]- α -D-glucofuranosa (16).

Rendimiento: 452 mg (67%); $[\alpha]_D +9.6^\circ$ (*c* 0.9, CH₂Cl₂); R_f(AcOEt-éter de petróleo 1:1)

0.51.

IR (KBr): ν_{\max} 2988, 2934, 2149 (ν_{NCN}), 1755, 1373, 1225 y 1034 cm⁻¹.

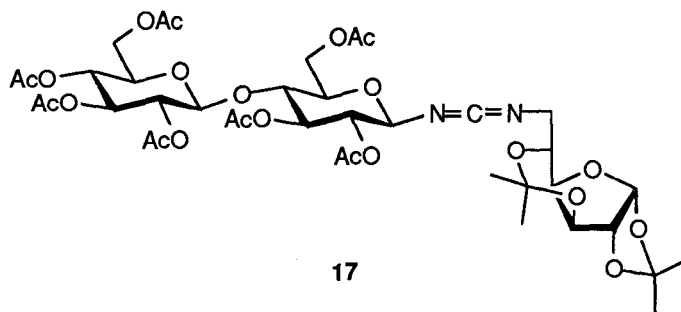
¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): Tabla 5 y δ 2.08, 2.07, 2.02, 1.99 (4 s, 12 H, 4 MeCO), 1.47, 1.37, 1.36 y 1.32 (4 s, 12 H, 4 Me).

¹³C RMN (125.5 MHz, CDCl₃): Tabla 6 y δ 170.4, 170.0, 169.1 (4 CO), 136.8 (NCN), 112.1, 101.0 (2 CMe₂), 29.4, 26.9 (2 C), 26.3 (4 Me), 23.8, 23.7, 20.5 y 20.4 (4 MeCO).

EM (FAB): *m/z* 637 (100%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₂₇H₃₈N₂O₁₄: C, 52.76; H, 6.23; N, 4.56. Encontrado: C, 52.76; H, 6.28; N, 4.42.

5.3.2.7. 6-Desoxi-1,2:3,5-di-*O*-isopropilidén-6-{3-[2,3,6-tri-*O*-acetil-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetil-β-D-glucopiranosil)-β-D-glucopiranosil]carbodiimido}-α-D-glucofuranosa (17).



Rendimiento: 536 mg (54%); $[\alpha]_D +15.0^\circ$ (*c* 1.0, CH₂Cl₂); R_f(AcOEt-éter de petróleo 1:1) 0.43.

IR (KBr): ν_{\max} 2924, 2853, 2147 (ν_{NCN}), 1755, 1373, 1229 y 1044 cm⁻¹.

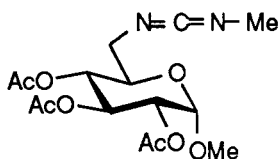
¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): Tabla 5 y δ 2.17, 2.13, 2.10, 2.09, 2.07, 2.05, 2.02 (7 s, 21 H, 7 MeCO), 1.50, 1.30, 1.25 y 1.20 (4 s, 12 H, 4 Me).

^{13}C RMN (125.5 MHz, CDCl_3): Tabla 6 y δ 170.2, 170.0, 169.9, 169.5, 169.3, 169.0, 168.8 (7 CO), 137.0 (NCN), 112.1, 101.0 (2 CMe_2), 29.4, 26.9, 26.2, 26.8 (4 Me), 20.5, 20.4 y 20.2 (7 MeCO).

EM (FAB): m/z 925 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{39}\text{H}_{54}\text{N}_2\text{O}_{22}$: C, 51.88; H, 6.03; N, 3.10. Encontrado: C, 51.62; H, 5.88; N, 3.12.

5.3.2.8. Metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-desoxi-6-(3-metilcarbodiimido)- α -D-glucopiranosido (18).



18

Rendimiento: 236 mg (60%); $[\alpha]_{\text{D}} +107.7^\circ$ (c 1.0, CH_2Cl_2); R_f (AcOEt-éter de petróleo 2:1) 0.36.

IR (KBr): ν_{max} 2988, 2934, 2141 (ν_{NCN}), 1751, 1223, y 1045 cm^{-1} .

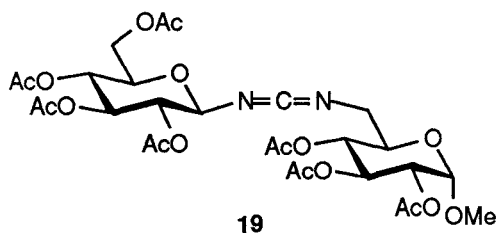
^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): Tabla 5 y δ 3.44 (s, 3 H, OMe), 2.97 (s, 3 H, N^oMe), 2.07, 2.04 y 2.01 (3 s, 9 H, 3 MeCO).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3): Tabla 6 y δ 169.9, 169.4 (2 C) (3 CO), 140.3 (NCN), 55.3 (OMe), 32.0 (MeN) y 20.5 (3 C, 3 MeCO).

EM (FAB): m/z 381 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_8$: C, 50.28; H, 6.19; N, 7.82. Encontrado: C, 50.27; H, 6.10; N, 7.56.

5.3.2.9. Metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-desoxi-6-[3-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)carbodiimido]- α -D-glucopiranosido (19).



Rendimiento: 534 mg (72%); $[\alpha]_D^{+65.2^\circ}$ (c 1.9, CH_2Cl_2); R_f (AcOEt-éter de petróleo 1:1) 0.27.

IR (KBr): ν_{max} 2944, 2851, 2151 (ν_{NCN}), 1748, 1225 y 1045 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): *Figura 6*, Tabla 5 y δ 3.43 (s, 3 H, OMe), 2.09, 2.08, 2.06, 2.04, 2.03, 2.02 y 2.01 (7 s, 21 H, 7 MeCO).

COSY (500 MHz, CDCl_3): *Figura 7*.

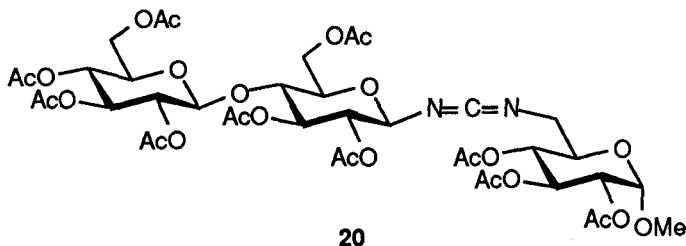
^{13}C RMN (125.5 MHz, CDCl_3): *Figura 8*, Tabla 6 y δ 170.4, 170.0, 169.9, 169.8, 169.3, 169.1 (7 C, 7 CO), 137.1 (NCN), 55.5 (OMe), 20.5 (2 C), 20.4 (3 C) y 20.3 (2 C) (7 MeCO).

HETCOR (125.5 MHz, CDCl_3): *Figura 9*.

EM (FAB): m/z 697 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_{17}$: C, 49.85; H, 5.68; N, 4.14. Encontrado: C, 49.80; H, 5.61; N, 3.93.

5.3.2.10. Metil 2,3,4-tri-O-acetil-6-desoxi-6-{3-[2,3,6-tri-O-acetil-4-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-β-D-glucopiranosil]carbodiimido}-α-D-glucopiranosido (20).



Rendimiento: 529 mg (50%); $[\alpha]_D +44.5^\circ$ (c 1.6, CH_2Cl_2); R_f (AcOEt-éter de petróleo 1:1) 0.56.

IR (KBr): ν_{max} 2947, 2149 (ν_{NCN}), 1755, 1371, 1227 y 1047 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): *Figura 10*, Tabla 5 y δ 3.42 (s, 3 H, OMe), 2.14, 2.09, 2.07, 2.03, 2.02, 2.01 y 1.99 (7 s, 30 H, 10 MeCO).

COSY (500 MHz, CDCl_3): *Figura 11*.

^{13}C RMN (125.5 MHz, CDCl_3): Tabla 6 y δ 170.3-168.9 (10 C, 10 CO), 137.4 (NCN), 55.6 (OMe) y 20.7-20.3 (10 C, 10 MeCO).

EM (FAB): m/z 985 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

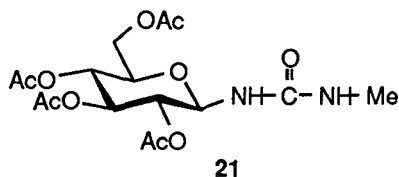
Análisis: Calculado para $\text{C}_{40}\text{H}_{54}\text{N}_2\text{O}_{25}$: C, 49.90; H, 5.58; N, 2.91. Encontrado: C, 50.20; H, 5.58; N, 2.64.

5.3.3. Reactividad de carbodiimidas de azúcares. Preparación de pseudo oligosacáridos con puentes de urea y tiourea..

A) Reactividad de carbodiimidoazúcares con agua en medio ácido.

A una disolución de la correspondiente carbodiimida de azúcar (0.5 mmol) en tolueno (3 ml), se añade AcOH glacial (0.1 ml) y agua (0.05 ml). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante quince minutos y se concentra.

5.3.3.1. *N*-Metil-*N'*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)urea (21).



Rendimiento: 198 mg (98%); $[\alpha]_D +11.4$ (*c* 1.2, CH₂Cl₂); R_f (AcOEt-éter de petróleo 3:1) 0.24.

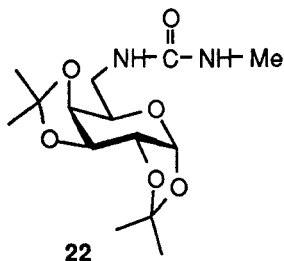
IR (KBr): ν_{\max} 3366, 2949, 1750, 1661 ($\nu_{\text{CO urea}}$), 1564, 1373, 1227 y 1036 cm⁻¹.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): Tabla 7 y δ 6.81 (sa, 1 H, NH), 5.92 (da, 1 H, $J_{1,N'H}$ 8.9 Hz, N'H), 2.77 (s, 3 H, N'Me), 2.08, 2.07, 2.04 y 2.03 (4 s, 12 H, 4 Me).

¹³C RMN (75.5 MHz, CDCl₃): Tabla 8 y δ 171.2, 170.7, 169.8, 169.6 (4 CO éster), 158.1 (CO urea), 27.0 (MeN) y 20.6 (4 MeCO).

EM (FAB): m/z 427 (100%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₁₆H₂₄N₂O₁₀: C, 47.52; H, 5.98; N, 6.93. Encontrado: C, 47.52; H, 5.81; N, 7.00.

5.3.3.2. 6-Desoxi-1,2:3,4-di-O-isopropilidén-6-(3-metilureido)- α -D-galactopiranososa (22).

Rendimiento: 153 mg (97%); $[\alpha]_D -36.9^\circ$ (*c* 1.2, CH_2Cl_2); $R_f(\text{AcOEt})$ 0.40.

IR (KBr): ν_{max} 3347, 2988, 2936, 1632 ($\nu_{\text{CO urea}}$), 1582, 1383, 1254, 1211, 1071 y 1003 cm^{-1} .

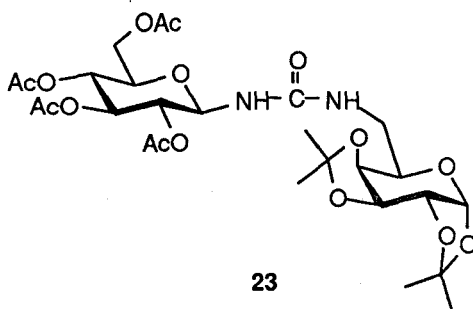
$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): Tabla 7 y δ 5.02 (sa, 2 H, 2 NH), 2.75 (s, 3 H, N^oMe), 1.50 1.44, 1.34 y 1.32 (4 s, 12 H, 4 Me).

$^{13}\text{C RMN}$ (75.5 MHz, CDCl_3): Tabla 8 y δ 168.1 (CO urea), 109.2, 108.7 (2 CMe_2), 27.9 (MeN), 27.0 (2 C), 26.9 y 25.9 (4 Me).

EM (FAB): *m/z* 339 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$) y 317 (80, $[\text{M} + \text{H}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6$: C, 53.15; H, 7.65; N, 8.85. Encontrado: C, 53.08; H, 7.99; N, 8.83.

5.3.3.3. 6-Desoxi-1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén-6-[3-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetil-β-D-glucopiranosil)ureido]-α-D-galactopiranososa (23).



Rendimiento: 304 mg (96%); $[\alpha]_D -21.5^\circ$ (*c* 1.1, CH₂Cl₂); R_f (CCl₄-acetona 3:1) 0.28.

IR (KBr): ν_{\max} 3370, 2988, 2938, 1753, 1659 ($\nu_{\text{CO urea}}$), 1562, 1377, 1229 y 1067 cm⁻¹.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): *Figura 12. Tabla 7 y* δ 5.48 (sa, 1 H, NH), 5.19 (sa, 1 H, NH),

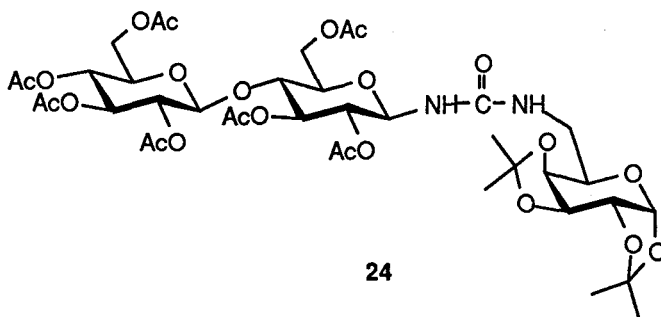
2.08, 2.06, 2.03, 2.02 (4 s, 12 H, 4 MeCO), 1.45, 1.44, 1.34 y 1.33 (4 s, 12 H, 4 Me).

¹³C RMN (75.5 MHz, CDCl₃): *Figura 13. Tabla 8 y* δ 170.8, 170.6, 169.5, 169.3 (4 CO éster), 156.4 (CO urea), 109.3, 108.7 (2 CMe₂), 27.5 (2 C), 25.9, 25.8, (4 Me) y 20.5 (4 C, 4 MeCO).

EM (FAB): m/z 655 (100%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₂₇H₄₀N₂O₁₅: C, 51.26; H, 6.37; N, 4.43. Encontrado: C, 51.46; H, 6.37; N, 4.47.

5.3.3.4. 6-Desoxi-1,2:3,4-di-*O*-isopropilidén-6-{3-[2,3,6-tri-*O*-acetil-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetil-β-*D*-glucopiranosil)-β-*D*-glucopiranosil]ureido}-α-*D*-galactopiranososa (24).



Rendimiento: 451 mg (98%); $[\alpha]_D -21.5^\circ$ (c 0.9, CH_2Cl_2); $R_f(\text{CCl}_4\text{-acetona } 3:1)$ 0.22.

IR (KBr): ν_{max} 3389, 2940, 1753, 1650 ($\nu_{\text{CO urea}}$), 1377, 1229 y 1040 cm^{-1} .

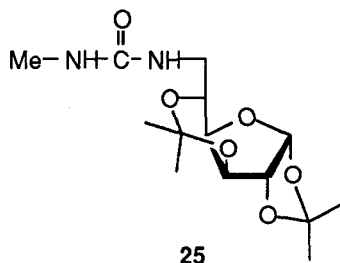
$^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CDCl_3): *Figura 14*. Tabla 7 y δ 5.41 (da, 1 H, $J_{1',\text{NH}}$ 9.5 Hz, N'H), 5.21 (sa, 1 H, NH), 2.10, 2.08, 2.02, 2.01, 2.00, 1.99, 1.97 (7 s, 21 H, 7 MeCO), 1.47, 1.42, 1.31 y 1.30 (4 s, 12 H, 4 Me).

COSY (500 MHz, CDCl_3): *Figura 15*.

$^{13}\text{C RMN}$ (75.5 MHz, CDCl_3): *Figura 16*. Tabla 8 y δ 171.0, 170.4, 170.1 (2 C), 169.3, 169.2, 168.9, 169.1 (7 CO éster), 156.3 (CO urea), 109.3, 108.7 (2 CMe_2), 25.8 (2 C), 24.8, 24.1 (4 Me), 20.7, 20.6, 20.5 y 20.4 (4 C) (7 MeCO).

EM (FAB): m/z 943 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{39}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_{23}$: C, 50.87; H, 6.13; N, 3.04. Encontrado: C, 50.83; H, 6.28; N, 3.04.

5.3.3.5. 6-Desoxi-1,2:3,5-di-O-isopropilidén-6-(3-metilureido)- α -D-glucofuranosa (25).

Rendimiento: 155 mg (98%); $[\alpha]_D^{+14.0^\circ}$ (*c* 1.1, CH₂Cl₂); R_f (CCl₄-acetona 3:1) 0.23.

IR (KBr): ν_{\max} 3364, 2988, 2936, 1643 (ν_{CO} urea), 1574, 1221, 1167 y 1003 cm⁻¹.

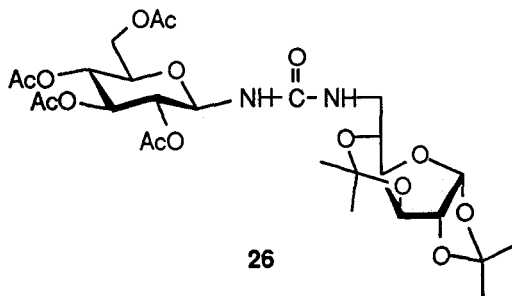
¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): Tabla 7 y δ 5.15 (sa, 2 H, 2 NH), 2.73 (s, 3 H, N'Me), 1.46
1.32 y 1.31 (3 s, 12 H, 4 Me).

¹³C RMN (125.5 MHz, CDCl₃): Tabla 8 y δ 159.3 (CO urea), 112.0, 100.7 (2 CMe₂), 26.8
(MeN), 26.9, 26.7, 24.0 y 23.3 (4 Me).

EM (FAB): *m/z* 339 (100%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₁₄H₂₄N₂O₆: C, 53.15; H, 7.65; N, 8.85. Encontrado: C, 53.14; H,
7.59; N, 8.85.

5.3.3.6. 6-Desoxi-1,2:3,5-di-O-isopropilidén-6-[3-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)ureido]-α-D-glucofuranosa (26).



Rendimiento: 310 mg (98%); $[\alpha]_D +6.9^\circ$ (c 1.1, CH_2Cl_2); $R_f(\text{CCl}_4\text{-acetona } 3:1)$ 0.27.

IR (KBr): ν_{max} 3383, 2991, 2943, 1753, 1697 ($\nu_{\text{CO urea}}$), 1562, 1230 y 1035 cm^{-1} .

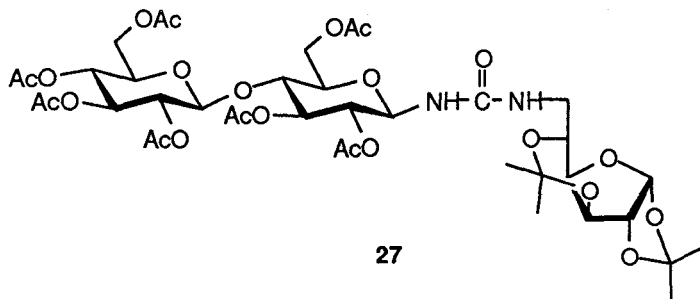
$^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CDCl_3): Tabla 7 y δ 5.87 (sa, 1 H, NH), 3.37 (sa, 1 H, NH), 1.99, 1.97, 1.95, 1.93 (4 s, 12 H, 4 MeCO), 1.40, 1.29, 1.25 y 1.24 (4 s, 12 H, 4 Me).

$^{13}\text{C RMN}$ (125.5 MHz, CDCl_3): Tabla 8 y δ 170.8, 170.7, 169.9, 169.7 (4 CO éster), 156.8 (CO urea), 112.2, 101.0 (2 CMe_2), 27.1, 26.5, 23.9, 23.8, (4 Me), 20.8, 20.7, 20.6 y 20.5 (4 MeCO).

EM (FAB): m/z 655 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_{15}$: C, 51.26; H, 6.37; N, 4.43. Encontrado: C, 51.14; H, 6.44; N, 4.42.

5.3.3.7. 6-Desoxi-1,2:3,5-di-*O*-isopropilidén-6-{3-[2,3,6-tri-*O*-acetil-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetil-β-*D*-glucopiranosil)-β-*D*-glucopiranosil]ureido}-α-*D*-glucofuranosa (27).



Rendimiento: 442 mg (96%); $[\alpha]_D -2.2^\circ$ (c 0.8, CH_2Cl_2); $R_f(\text{CCl}_4\text{-acetona } 3:1)$ 0.25.

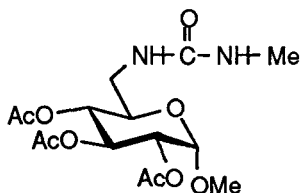
IR (KBr): ν_{max} 3389, 2928, 2857, 1753, 1645 ($\nu_{\text{CO urea}}$), 1377, 1231 y 1038 cm^{-1} .

$^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CDCl_3): Tabla 7 y δ 5.45 (sa, 1 H, N'H), 4.92 (s, 1 H, NH), 2.10, 2.08, 2.07, 2.05, 2.04, 2.00, 1.97 (7 s, 21 H, 7 MeCO), 1.34, 1.30, 1.27 y 1.24 (4 s, 12 H, 4 Me).

$^{13}\text{C RMN}$ (75.5 MHz, CDCl_3): Tabla 8 y δ 171.1, 170.4, 170.1 (2 C), 169.3, 169.2, 168.9, (7 CO éster), 156.4 (CO urea), 112.2, 100.9 (2 CMe_2), 29.6, 29.2, 27.0, 26.4 (4 Me), 20.7, 20.6, 20.5 y 20.4 (4 C) (7 MeCO).

EM (FAB): m/z 943 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{39}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_{23}$: C, 50.87; H, 6.13; N, 3.04. Encontrado: C, 51.20; H, 5.84; N, 3.15.

5.3.3.8. Metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-desoxi-6-(3-metilureido)- α -D-glucopiranosido (28).

28

Rendimiento: 180 mg (96%); $[\alpha]_D^{+96.0^\circ}$ (*c* 1.0, CH₂Cl₂); R_f (CCl₄-acetona 1:1) 0.41.

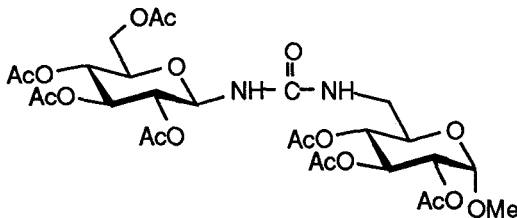
IR (KBr): ν_{\max} 3347, 2942, 1751, 1651 ($\nu_{\text{CO urea}}$), 1568, 1373, 1227 y 1045 cm⁻¹.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): Tabla 7 y δ 3.39 (s, 3 H, OMe), 2.75 (s, 3 H, N'Me), 2.08, 2.06 y 2.00 (3 s, 9 H, 3 MeCO).

¹³C RMN (125.5 MHz, CDCl₃): Tabla 8 y δ 170.1 (2 C), 169.8 (3 CO éster), 158.9 (CO urea), 55.0 (OMe), 29.8 (MeN) y 20.4 (3 C, 3 MeCO).

EM (FAB): *m/z* 399 (100%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₁₅H₂₄N₂O₉: C, 47.87; H, 6.43; N, 7.44. Encontrado: C, 47.63; H, 6.29; N, 7.63.

5.3.3.9. Metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-desoxi-6-[3-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)ureido]- α -D-glucopiranosido (29).

29

Rendimiento: 336 mg (97%); $[\alpha]_D +61.0^\circ$ (c 0.8, CH_2Cl_2); $R_f(\text{CCl}_4\text{-acetona } 1:1)$ 0.64.

IR (KBr): ν_{max} 3406, 2960, 2851, 1753, 1648 ($\nu_{\text{CO urea}}$), 1560, 1228 y 1035 cm^{-1} .

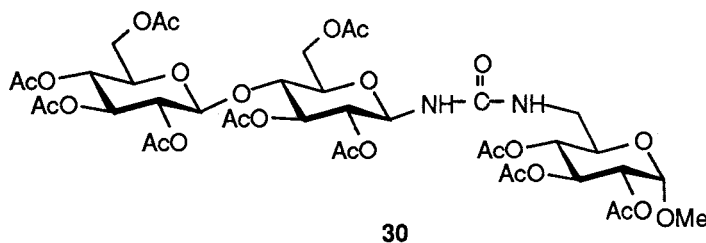
$^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CDCl_3): Tabla 7 y δ 5.15 (t, 1 H, $J_{6a,\text{NH}} = J_{6b,\text{NH}}$ 6.1 Hz, NH), 5.45 (sa, 1 H, N'H), 3.35 (s, 3 H, OMe), 2.06, 2.04 (2 C), 2.01, 1.99, 1.98 y 1.95 (6 s, 21 H, 7 MeCO).

$^{13}\text{C RMN}$ (125.5 MHz, CDCl_3): Tabla 8 y δ 171.3, 170.7, 170.4, 170.1, 170.0, 169.9, 169.7. (7 C, 7 CO éster), 156.3 (CO urea), 55.5 (OMe), 20.7 (2 C) y 20.6 (5 C) (7 MeCO).

EM (FAB): m/z 715 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_{18}$: C, 48.55; H, 5.82; N, 4.04. Encontrado: C, 48.14; H, 5.74; N, 4.29.

5.3.3.10. Metil 2,3,4-tri-*O*-acetil-6-desoxi-6-{3-[2,3,6-tri-*O*-acetil-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetil- β -D-glucopiranosil)- β -D-glucopiranosil]ureido}- α -D-glucopiranosido (30).



Rendimiento: 485 mg (99%); $[\alpha]_D +40.4^\circ$ (c 1.1, CH_2Cl_2); $R_f(\text{AcOEt-éter de petróleo } 1:1)$ 0.15.

IR (KBr): ν_{max} 3407, 3135, 2957, 1755, 1646 ($\nu_{\text{CO urea}}$), 1562, 1377, 1229 y 1040 cm^{-1} .

$^1\text{H RMN}$ (500 MHz, CDCl_3): Tabla 7 y δ 5.47 (sa, 1 H, N'H), 5.08 (sa, 1 H, NH), 3.36 (s, 3 H, OMe), 2.10, 2.07, 2.06, 2.03, 2.02, 2.01, 2.00, 1.99, 1.98 y 1.97 (10 s, 30 H, 10 MeCO).

^{13}C RMN (125.5 MHz, CDCl_3): Tabla 8 y δ 171.4, 170.4, 170.1 (2 C), 169.9 (2 C), 169.8, 169.3, 169.2, 168.9 (10 C, 10 CO éster), 156.0 (CO urea), 55.3 (OMe), 20.9, 20.8, 20.6 (2 C), 20.5 (3 C) y 20.4 (3 C) (10 C, 10 MeCO).

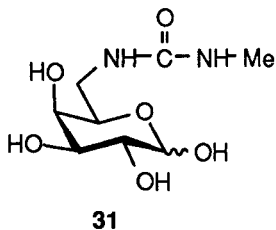
EM (FAB): m/z 1003 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_{26}$: C, 48.98; H, 5.75; N, 2.87. Encontrado: C, 49.01; H, 5.81; N, 2.87.

B) Obtención de ureidoazúcares desprotegidos.

La desprotección de las ureas **22-30** se lleva a cabo según el procedimiento descrito en los Métodos generales (Apartado 5.1), a partir de 0.4 mmol del correspondiente producto protegido.

5.3.3.11. 6-Desoxi-6-(3-metilureido)-D-galactopiranosas (31).



Rendimiento: 92 mg (98%); $[\alpha]_{\text{D}}^{+43.4^\circ}$ (c 1.3, H_2O); R_f (CH_2Cl_2 -MeOH 1:1) 0.70; proporción α/β 1:1.8 (integración de H-1).

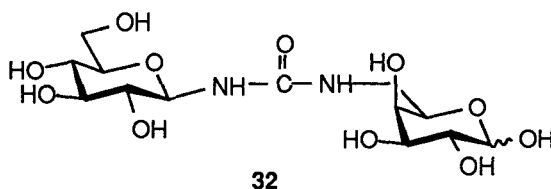
^1H RMN (500 MHz, D_2O): Tabla 9 y δ 2.52 (s, 3 H, N'Me).

^{13}C RMN (75.5 MHz, D_2O): Tabla 10 y δ 159.4 (CO urea) y 26.4 (MeN).

EM (FAB): m/z 259 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_6$: C, 40.68; H, 6.83; N, 11.86. Encontrado: C, 40.79; H, 6.68; N, 11.91.

5.3.3.12. 6-Desoxi-6-[3-(β -D-glucopiranosil)ureido]-D-galactopiranososa (32).



Rendimiento: 149 mg (97%); $[\alpha]_D +16.5^\circ$ (c 0.8, H₂O); R_f (BuOH-AcOH-H₂O 2:1:1) 0.28; proporción α/β 1:2 (integración de H-1).

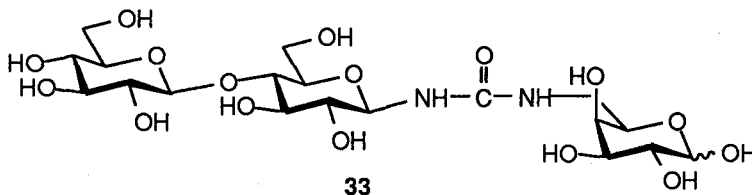
¹H RMN (500 MHz, D₂O): Tabla 9.

¹³C RMN (100.6 MHz, D₂O): Tabla 10 y δ 159.5 (CO urea).

EM (FAB): m/z 407 (50%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₁₃H₂₄N₂O₁₁: C, 40.62; H, 6.29; N, 7.29. Encontrado: C, 40.60; H, 6.22; N, 7.33.

5.3.3.13. 6-Desoxi-6-{3-[4-O-(β -D-glucopiranosil)- β -D-glucopiranosil]ureido}-D-galactopiranososa (33).



Rendimiento: 196 mg (90 %); $[\alpha]_D +16.5^\circ$ (c 0.9, H₂O); R_f (BuOH-AcOH-H₂O 2:1:1) 0.24; proporción α/β 1:1.8 (integración de H-1).

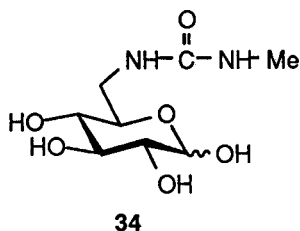
¹H RMN (500 MHz, D₂O): Tabla 9.

^{13}C RMN (125.5 MHz, D_2O): Tabla 10 y δ 159.0 (CO urea).

EM (FAB): m/z 569 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_{16}$: C, 41.76; H, 6.27; N, 5.13. Encontrado: C, 42.04; H, 6.22; N, 5.14.

5.3.3.14. 6-Desoxi-6-(3-metilureido)-D-glucopiranososa (34).



Rendimiento: 92 mg (98%); $[\alpha]_{\text{D}} +43.4^\circ$ (c 1.6, H_2O); R_f (CH_2Cl_2 -MeOH 1:1) 0.67; proporción α/β 1:1.9 (integración de H-1).

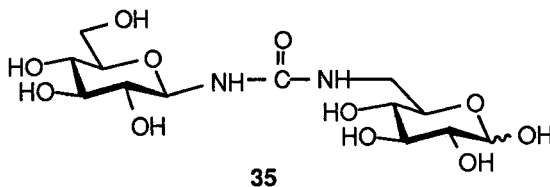
^1H RMN (500 MHz, D_2O): Tabla 9 y δ 2.60 (s, 3 H, N'Me).

^{13}C RMN (125.5 MHz, D_2O): Tabla 10 y δ 161.2 (CO urea) y 26.3 (MeN).

EM (FAB): m/z 259 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_6$: C, 40.68; H, 6.83; N, 11.86. Encontrado: C, 40.79; H, 6.81; N, 11.89.

5.3.3.15. 6-Desoxi-6-[3-(β -D-glucopiranosil)ureido]-D-glucopiranososa (35).



Rendimiento: 149 mg (97%); $[\alpha]_D +15.5^\circ$ (c 2.0, H_2O); R_f (BuOH-AcOH- H_2O 2:1:1) 0.23; proporción α/β 1:2.5 (integración de H-1).

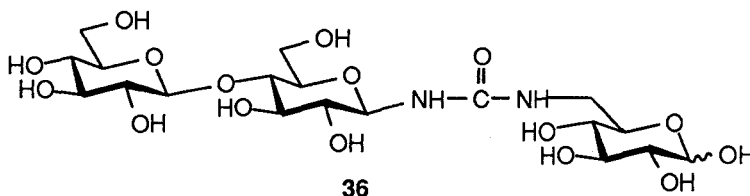
1H RMN (500 MHz, D_2O): Figura 17. Tabla 9.

^{13}C RMN (100.6 MHz, D_2O): Figura 18. Tabla 10 y δ 161.1 (CO urea).

EM (FAB): m/z 407 (50%, $[M + Na]^+$).

Análisis: Calculado para $C_{13}H_{24}N_2O_{11}$: C, 40.62; H, 6.29; N, 7.29. Encontrado: C, 40.62; H, 6.25; N, 7.32.

5.3.3.16. 6-Desoxi-6-{3-[4-O-(β -D-glucopiranosil)- β -D-glucopiranosil]ureido}-D-glucopiranososa (36).



Rendimiento: 186 mg (85 %); $[\alpha]_D +5.0^\circ$ (c 1.0, H_2O); R_f (BuOH-AcOH- H_2O 2:1:1) 0.18; proporción α/β 1:1.8 (integración de H-1).

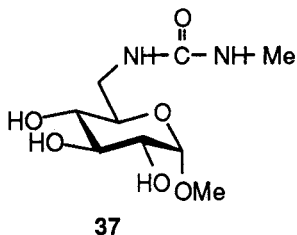
1H RMN (500 MHz, D_2O): Tabla 9.

^{13}C RMN (125.5 MHz, D_2O): Tabla 10 y δ 159.6 (CO urea).

EM (FAB): m/z 569 (70%, $[M + Na]^+$).

Análisis: Calculado para $C_{19}H_{34}N_2O_{16}$: C, 41.76; H, 6.27; N, 5.13. Encontrado: C, 41.65; H, 6.24; N, 5.13.

5.3.3.17. Metil 6-desoxi-6-(3-metilureido)- α -D-glucopiranosido (37).



Rendimiento: 96 mg (96%); $[\alpha]_D^{+95.2}$ (*c* 1.0, H_2O); R_f (BuOH-AcOH- H_2O 2:1:1) 0.48.

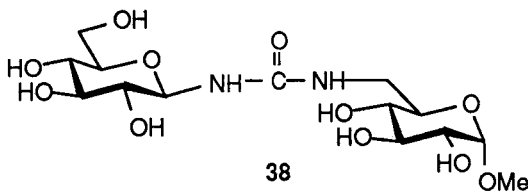
1H RMN (500 MHz, D_2O): Tabla 9 y δ 3.23 (s, 3 H, OMe) y 2.60 (s, 3 H, N'Me).

^{13}C RMN (75.5 MHz, D_2O): Tabla 10 y δ 161.6 (CO urea), 55.1 (OMe) y 26.7 (MeN).

EM (FAB): *m/z* 273 (100%, $[M + Na]^+$).

Análisis: Calculado para $C_9H_{18}N_2O_6$: C, 43.19; H, 7.25; N, 11.19. Encontrado: C, 43.25; H, 7.54; N, 11.19.

5.3.3.18. Metil 6-desoxi-6-[3-(β -D-glucopiranosil)ureido]- α -D-glucopiranosido (38).



Rendimiento: 146 mg (92%); $[\alpha]_D +71.7^\circ$ (*c* 1.2, H₂O); R_f (BuOH-AcOH-H₂O 2:1:1) 0.21.

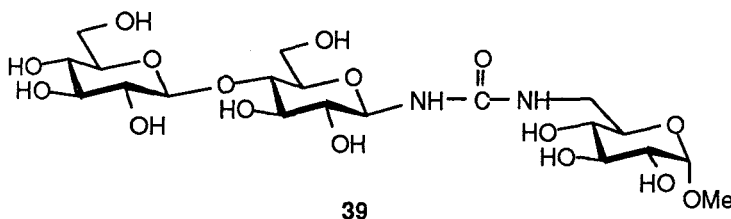
¹H RMN (500 MHz, D₂O): *Figura 19*. Tabla 9 y δ 3.29 (OMe).

¹³C RMN (75.5 MHz, D₂O): *Figura 20*. Tabla 10 y δ 159.8 (CO urea) y 55.0 (OMe).

EM (FAB): *m/z* 421 (100%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₁₄H₂₆N₂O₁₁: C, 42.21; H, 6.58; N, 7.03. Encontrado: C, 42.31; H, 6.42; N, 7.08.

5.3.3.19. Metil 6-desoxi-6-{3-[4-O-(β-D-glucopiranosil)-β-D-glucopiranosil]ureido}-α-D-glucopiranosido (39).



Rendimiento: 186 mg (83%); $[\alpha]_D +34.1^\circ$ (*c* 0.8, H₂O); R_f (BuOH-AcOH-H₂O 2:1:1) 0.10.

¹H RMN (500 MHz, D₂O): *Figura 21*. Tabla 9 y δ 3.24 (OMe).

¹³C RMN (125.5 MHz, D₂O): *Figura 22*. Tabla 10 y δ 159.7 (CO urea) y 54.9 (OMe).

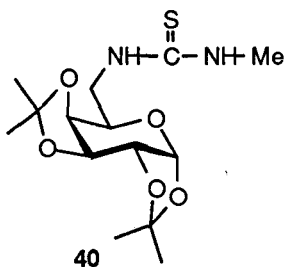
EM (FAB): *m/z* 583 (60%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₂₀H₃₆N₂O₁₆: C, 42.86; H, 6.47; N, 5.00. Encontrado: C, 42.76; H, 6.49; N, 4.99.

C) Reactividad de carbodiimidas de azúcares con sulfuro de hidrógeno.

A través de una suspensión de la correspondiente carbodiimida (1 mmol) y silica gel (0.7 g) en tolueno o CH_2Cl_2 (8 mL) a $0\text{ }^\circ\text{C}$ se burbujea H_2S seco (CaCl_2) durante 5-6 h. La mezcla de reacción se concentra, se extrae con AcOEt y se purifica por cromatografía en columna empleando el eluyente que se indica en cada caso.

5.3.3.20. 6-Desoxi-1,2:3,4-di-O-isopropilidén-6-(3-metiltioureido)- α -D-galactopiranososa (40).



Rendimiento: 299 mg (90%); $[\alpha]_D -45.9^\circ$ (c 1.0, CH_2Cl_2); R_f (AcOEt-éter de petróleo 2:1) 0.54.

UV (CH_2Cl_2): 246 nm (ϵ_{mM} 8.1).

IR (KBr): 3360, 3268, 2986, 2936, 1561, 1381, 1213 y 1069 cm^{-1} .

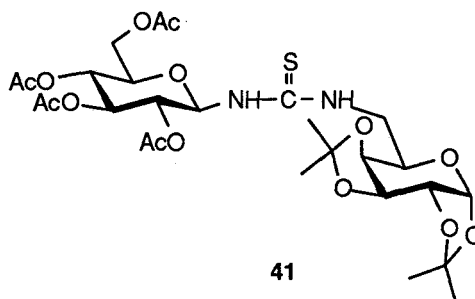
^1H RMN (300 MHz, CDCl_3 , 313K) Tabla 11 y δ 6.54 (ca, 1 H, $J_{\text{NH,Me}}$ 4.8 Hz, N'H), 6.40 (ta, $J_{\text{NH,6a}} = J_{\text{NH,6b}}$ 4.4 Hz, NH), 2.91 (d, 3 H, MeN), 1.46, 1.38, 1.28 y 1.26 (4s, 12 H, 4 Me).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3 , 313K): Tabla 12 y δ 183.1 (CS), 109.2, 108.8 (2 CMe_2), 30.4 (MeN), 25.8, 25.7, 24.7 y 24.1 (4 Me).

EM (FAB): m/z 355 (100%, $[M + Na]^+$) y 333 (30, $[M + H]^+$).

Análisis: Calculado para $C_{14}H_{24}N_2O_5S$: C, 5;0.58; H, 7.28; N, 8.43; S, 9.64. Encontrado: C, 50.52; H, 7.33; N, 8.44; S, 9.61.

5.3.3.21. 6-Desoxi-1,2:3,4-di-O-isopropilidén-6-[3-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)tioureido]- α -D-galactopiranososa (41).



Rendimiento: 421 mg (65%); $[\alpha]_D -29.9^\circ$ (c 1.0, CH_2Cl_2); R_f (AcOEt-éter de petróleo 1:1)

0.46.

UV (CH_2Cl_2): 254 nm (ϵ_{mM} 16.6).

IR (KBr): 3370, 2982, 2942, 1757, 1537, 1379, 1223 y 1040 cm^{-1} .

1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, 313K): Tabla 11 y δ 6.82 (sa, 1 H, NH), 6.65 (sa, 1 H, NH).

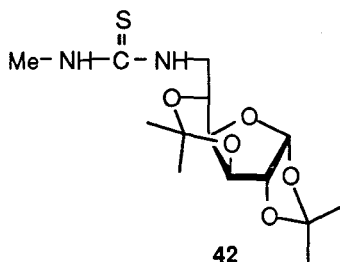
2.07, 2.05, 2.02, 2.00 (4 s, 12 H, 4 MeCO), 1.49, 1.42 y 1.31 (3s, 12 H, 4 Me).

^{13}C RMN (75.5 MHz, $CDCl_3$, 313K): Tabla 12 y δ 183.9 (CS), 171.2, 170.6, 169.8, 169.5 (4 CO), 109.4 (CMe_2), 108.8 (CMe_2), 26.9, 26.8, 24.8, 24.1 (2 CMe_2), 20.6 (2 C) y 20.4 (4C, 4 MeCO).

EM (FAB): m/z 671 (100%. $[M + Na]^+$) y 649 (35. $[M + H]^+$).

Análisis : Calculado para $C_{27}H_{40}N_2O_{14}S$: C, 49.99; H, 6.22; N, 4.32; S, 4.94. Encontrado: C, 50.06; H, 6.27 ; N, 4.32; S, 4.67.

5.3.3.22. 6-Desoxi-1,2:3,5-di-O-isopropilidén-6-(3-metilureido)- α -D-glucofuranosa (42).



Rendimiento: 288 mg (87 %); $[\alpha]_D +6.3^\circ$ (c 0.9. CH_2Cl_2); R_f (AcOEt-éter de petróleo 2:1) 0.51.

UV (CH_2Cl_2): 258 nm (ϵ_{mM} 2.3).

IR (KBr): 3324, 2986, 2936. 1557, 1377, 1219 y 1080 cm^{-1} .

1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, 313K): Tabla 11 y δ 6.55 (sa, 1 H, NH), 6.16 (sa, 1 H, NH),

3.00 (d, 3 H, $J_{Me,NH}$ 4.8 Hz, MeN), 1.47, 1.35, 1.34 y 1.31 (4 s, 12 H, 4 Me).

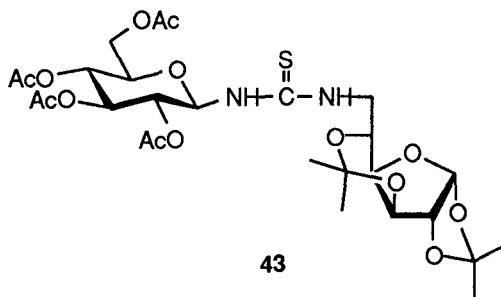
^{13}C RMN (75.5 MHz, $CDCl_3$, 313K): Tabla 12 y δ 183.7 (CS), 112.3, 101.1 (2 CMe_2), 30.9

(MeN), 27.0, 26.4, 24.1 y 23.8 (4 Me).

EM (FAB): m/z 355 (90%. $[M + Na]^+$) y 333 (50. $[M + H]^+$).

Análisis : Calculado para $C_{14}H_{24}N_2O_5S$: C, 50.58; H, 7.28; N, 8.43; S, 9.64. Encontrado: C, 50.69; H, 7.35; N, 8.40; S, 9.60.

5.3.3.23. 6-Desoxi-1,2:3,5-di-O-isopropilidén-6-[3-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)tioureido]-α-D-glucofuranosa (43).



Rendimiento: 453 mg (70%); $[\alpha]_D -5.9^\circ$ (*c* 1.0, CH_2Cl_2); R_f (AcOEt-éter de petróleo 1:1) 0.45.

UV (CH_2Cl_2): 257 nm (ϵ_{mM} 28.1).

IR (KBr) 3335, 2993, 2939, 1757, 1547, 1377, 1219 y 1033 cm^{-1} .

1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, 313K): *Figura 23*. Tabla 11 y δ 6.46 (sa, 1 H, NH), 7.00 (sa, 1 H, NH), 2.06, 2.05, 2.02, 2.01 (4 s, 12 H, 4 MeCO), 1.48, 1.40, 1.35 y 1.32 (3 s, 12 H, 4 Me).

^{13}C RMN (75.5 MHz, $CDCl_3$, 313K): *Figura 24*. Tabla 12 y δ 184.4 (CS), 170.9, 170.3, 169.6, 169.4 (4 CO), 112.4, 101.4 (2 CMe_2), 27.1, 26.4, 23.9, 23.8 (2 CMe_2), 20.6, 20.5 y 20.4 (4 MeCO).

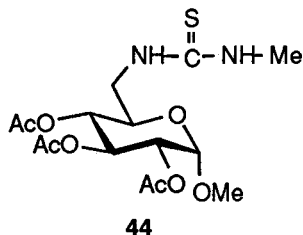
HETCOR (75.5 MHz, CDCl_3 , 313K): *Figura 25*.

EM (FAB): m/z 671 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$) y 649 (65, $[\text{M} + \text{H}]^+$).

Análisis : Calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_{14}\text{S}$: C, 49.99; H, 6.22; N, 4.32; S, 4.94. Encontrado:

C, 49.74; H, 6.07 ; N, 4.35; S, 4.98.

5.3.3.24. Metil 2,3,4-tri-O-acetil-6-desoxi-6-(3-metiltioureido)- α -D-glucopiranosido (44).



Rendimiento: 337 mg (86 %); $[\alpha]_{\text{D}} +124.0^\circ$ (c 0.7, CH_2Cl_2); $R_f(\text{AcOEt}$ -éter de petróleo 3:1) 0.16.

UV (CH_2Cl_2): 250 nm (ϵ_{mM} 9.9).

IR (KBr): 3383, 3298, 1753, 1561, 1227 y 1044 cm^{-1} .

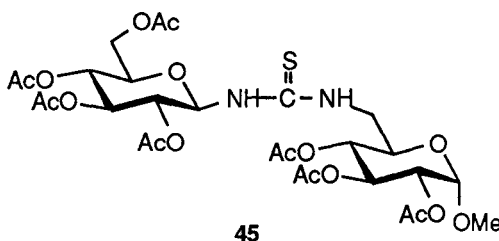
^1H RMN (300 MHz, CDCl_3 , 313K): Tabla 11 y δ 6.29 (c, 1 H, $J_{\text{NH,Me}}$ 4.8 Hz, NH), 6.10 (t, 1 H, $J_{6a,\text{NH}} = J_{6b,\text{NH}}$ 5.9 Hz, NH), 3.40 (s, 3 H, OMe), 3.00 (d, 3 H, MeN), 2.07, 2.06 y 1.99 (3 s, 9 H, 3 MeCO).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3 , 313K): Tabla 12 y δ 182.0 (CS), 170.2, 170.1, 169.8 (3 CO), 55.5 (OMe), 30.6 (MeNH), 20.6 y 20.5 (2C) (3 MeCO).

EM (IE): m/z 393 (100%, MH^+) y 359 (49, $\text{MH}^+ - \text{MeOH}$).

Análisis : Calculado para $C_{15}H_{24}N_2O_8S$: C, 45.91; H, 6.16; N, 7.14; S, 8.17. Encontrado: C, 45.95; H, 5.98; N, 7.11; S, 8.38.

5.3.3.25. Metil 2,3,4-tri-O-acetil-6-desoxi-6-[3-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)tioureido]-α-D-glucopiranosido (45).



Rendimiento: 439 mg (62%); $[\alpha]_D^{+67.0^\circ}$ (c 0.9, CH_2Cl_2); R_f (AcOEt-éter de petróleo 1:1) 0.35.

UV (CH_2Cl_2): 255 nm (ϵ_{mM} 11.0).

IR (KBr): 3368, 2955, 1748, 1537, 1371, 1230 y 1043 cm^{-1} .

1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$, 313K): Tabla 11 y δ 6.80 (sa, 1 H, N'H), 6.60 (m, 1 H, NH),

3.39 (s, 3 H, OMe), 2.08, 2.06, 2.05, 2.02, 2.01, 2.00 y 1.98 (7s, 21 H, 7 MeCO) .

^{13}C RMN (75.5 MHz, $CDCl_3$, 313K): Tabla 12 y δ 184.5 (CS), 171.2, 170.4, 170.0, 169.9,

169.7, 169.6, 169.4 (7 CO), 55.6 (OMe), 20.5 y 20.4 (7 MeCO).

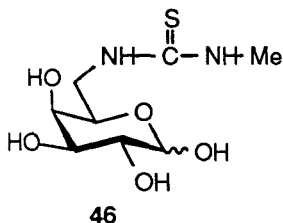
EM (FAB): m/z 731 (85%, $[M + Na]^+$) y 709 (20, $[M + H]^+$).

Análisis : Calculado para $C_{28}H_{40}N_2O_{17}S$: C, 47.45; H, 5.69; N, 3.95; S, 4.52. Encontrado:

C, 47.47; H, 5.75 ; N, 3.97; S, 4.51.

D) Obtención de tioureidoazúcares desprotegidos.

La desprotección de las tioureas **40-45** se llevó a cabo según los procedimientos descritos en los Métodos generales (Apartado 5.1).

5.3.3.26. 6-Desoxi-6-(3-metiltioureido)-D-galactosa (46).

Se obtuvo por desacetilación convencional y desacetilación de **40** (0.5 mmol).

Rendimiento: 123 mg (98%); $[\alpha]_D +46.8^\circ$ (c 0.9, H₂O); R_f (AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3) 0.23; proporción α : β 1:1.7 (integración de H-1).

UV (H₂O): 236 nm (ϵ_{mM} 9.9).

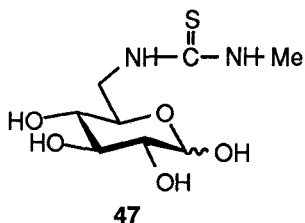
¹H NMR (500 MHz, D₂O, 313K): Tabla 11 y δ 3.01 (s, 3H, MeN).

¹³C RMN (75.5 MHz, D₂O, 313K): Tabla 12 y δ 179.9 (CS) y 30.4 (MeN).

EM (FAB): m/z 275 (100%, [M + Na]⁺).

Ánálisis : Calculado para C₈H₁₆N₂O₅S: C, 38.08; H, 6.39; N, 11.10; S, 12.71. Encontrado:

C, 38.02; H, 6.50 ; N, 11.12; S, 12.72.

5.3.3.27. 6-Desoxi-6-(3-metiltioureido)-D-glucosa (47).

Se obtuvo por desacetilación convencional y desacetilación de **42** (0.5 mmol).

Rendimiento: 121 mg (96%); $[\alpha]_D +30.6^\circ$ (c 0.8, H₂O); R_f (AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3)

0.24.; proporción $\alpha:\beta$ 1:1.8 (integración de las señales correspondientes a H-1)

UV (H₂O): 236 nm (ϵ_{mM} 5.6).

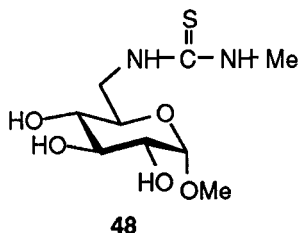
¹H NMR (500 MHz, D₂O, 313K): *Figura 26*. Tabla 11 .

¹³C RMN (125.5 MHz, D₂O, 313K): *Figura 27*. Tabla 12 y δ 180.1 (CS) y 31.1 (MeN).

EM (FAB): *m/z* 275 (90%, [M + Na]⁺).

Análisis : Calculado para C₈H₁₆N₂O₅S: C, 38.08; H, 6.39; N, 11.10; S, 12.71. Encontrado:

C, 38.25; H, 6.37 ; N, 11.10; S, 12.78.

5.3.3.28. Metil 6-desoxi-6-(3-metiltioureido)- α -D-glucopiranosido (48).

Se obtuvo por desacetilación de **44** (0.5 mmol) durante 3 h

Rendimiento: 128 mg (96%); $[\alpha]_D^{+88.0^\circ}$ (*c* 0.9, H₂O); *R_f* (CH₂Cl₂-MeOH 4:1) 0.25.

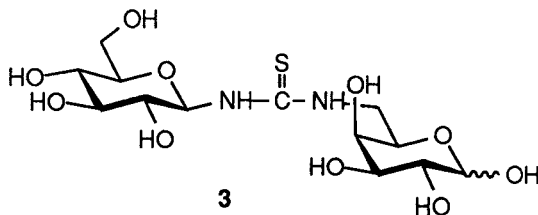
UV (H₂O): 234 nm (ϵ_{mM} 12.6).

¹H RMN (300 MHz, D₂O, 343K): Tabla 1 y δ 4.11 (s, 3 H, NMe) y 3.67 (s, 3 H, OMe).

¹³C RMN (75.5 MHz, D₂O, 313K): Tabla 2 y δ 179.1 (CS), 58.1 (OMe) y 33.4 (MeN).

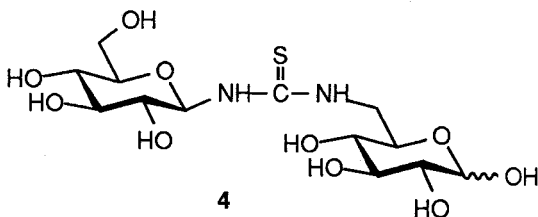
EM (FAB): *m/z* 289 (100%, [M + Na]⁺) y 267 (10, [M + H]⁺).

Análisis : Calculado para C₉H₁₈N₂O₅S: C, 40.59; H, 6.81; N, 10.52; S, 12.04. Encontrado: C, 40.60; H, 6.70 ; N, 10.41; S, 12.04.

5.3.3.29. 6-Desoxi-6-[N'-(β-D-glucopiranosil)tioureido]-D-galactopiranososa (3).

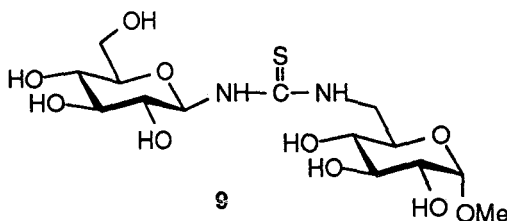
Se obtuvo por desacetilación y desacetilación de 0.5 mmol de 41.

Rendimiento: 190 mg (95%). Los datos físicos y espectroscópicos están descritos en el apartado 5.3.1.3.

5.3.3.30 6-Desoxi-6-[N'-(β-D-glucopiranosil)tioureido]-D-glucopiranososa (4).

Se obtuvo por desacetilación y desacetilación de 0.5 mmol de 43.

Rendimiento: 194 mg (97%). Los datos físicos y espectroscópicos están descritos en el apartado 5.3.1.4.

5.3.3.31. Metil 6-desoxi-6-[N'-(β-D-glucopiranosil)tioureido]-D-glucopiranosido (9).

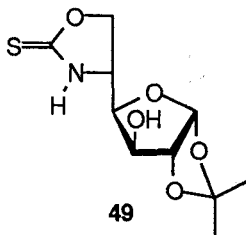
Se obtuvo por desacetilación convencional de **45** (0.5 mmol).

Rendimiento: 194 mg (94%). Los datos físicos y espectroscópicos están descritos en el apartado 5.3.1.9.

5.3.4. Procedimiento general para la preparación de 5,6-(tiocarbamatos cíclicos) de D-glucosa y L-idosa.

A una disolución de la correspondiente 5-amino-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén- α -D-glucopiranosidina (120 mg, 0.55 mmol) en CH_2Cl_2 (5 ml) se añaden con agitación a -10°C , CS_2 (0.3 ml, 4.5 mmol) y DCC (114 mg, 0.55 mmol). Una vez concluida la adición, se deja que la mezcla de reacción alcance la temperatura ambiente, y se continúa la agitación durante 6-7 horas, controlando la reacción por cromatografía en capa fina (AcOEt-éter de petróleo 2:1). El disolvente se elimina a presión reducida, y el sirupo resultante se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice, utilizando el mismo eluyente.

5.3.4.1. 5-Amino-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén- α -D-glucopiranosidina 5,6-(tiocarbamato cíclico)^a (49).



Rendimiento: 115 mg (80%); $[\alpha]_{\text{D}} -21.2^\circ$ (*c* 1.0, acetona); R_f (AcOEt-éter de petróleo 2:1) 0.38.

UV (MeOH): 242 nm (ϵ_{mM} 16.3).

IR (KBr): ν_{max} 3337, 3262, 2980, 1530, 1485, 1375, 1020 y 847 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CD_3OD): Tabla 13 y δ 1.44 y 1.29 (2 s, 6 H, 2 Me).

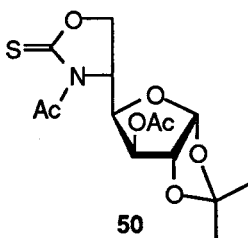
^{13}C RMN (75.5 MHz, CD_3OD): Tabla 14 y δ 191.0 (CS), 113.0 (CMe_2), 27.1 y 26.4 (2 Me).

EM (FAB): m/z 284 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

^a (4*R*)-4-[(4'*R*)-1',2'-*O*-Isopropilidén- β -L-treofuranos-4'-il]-oxazolidina-2-tiona.

Análisis: Calculado para C₁₀H₁₅NO₅S: C, 45.96; H, 5.79; N, 5.36; S, 12.27. Encontrado: C, 45.90; H, 5.62; N, 5.21; S, 12.25.

5.3.4.2. N-Acetil-3-O-acetil-5-amino-5-desoxi-1,2-O-isopropilidén- α -D-glucofuranosa 5,6-(tiocarbamato cíclico)^b (50).



Se obtuvo por acetilación convencional de **49** (80 mg, 0.31 mmol) con Ac₂O-piridina (1:1, 3 ml) y purificación por cromatografía preparativa (AcOEt-éter de petróleo 1:2).

Rendimiento: 102 mg (95%); $[\alpha]_D^{+49.5^\circ}$ (c 1.2, CH₂Cl₂); R_f (AcOEt-éter de petróleo 1:1) 0.70.

UV (CH₂Cl₂): 266 nm (ϵ_{mM} 13.4).

IR (KBr): ν_{max} 2998, 1750, 1699, 1507, 1373, 1229, 1086 y 1020 cm⁻¹.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): Tabla 13 y δ 2.83 (s, 3 H, Me amida), 2.11 (s, 3 H, Me éster), 1.49 y 1.30 (2 s, 6 H, 2 Me).

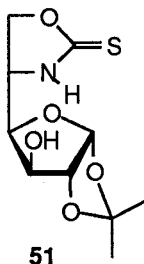
¹³C RMN (75.5 MHz, CDCl₃): Tabla 14 y δ 185.7 (CS), 171.3 (CO amida), 169.0 (CO éster), 112.4 (CMe₂), 26.2 (Me amida), 26.4, 25.9 (CMe₂) y 20.7 (Me éster).

EM (FAB): *m/z* 368 (100%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₁₄H₁₉NO₇S: C, 48.69; H, 5.54; N, 4.06; S, 9.28. Encontrado: C, 48.91; H, 5.25; N, 4.00; S, 9.31.

^b N-Acetil-(4R)-4-[(4'R)-3'-O-acetil-1',2'-O-Isopropilidén- β -L-treofuranos-4'-il]-oxazolidina-2-tiona.

5.3.4.3. 5-Amino-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén- β -L-idofuranosa 5,6-(tiocarbamato cíclico)^c
(51).



Rendimiento: 122 mg (85%); $[\alpha]_D +8.8^\circ$ (*c* 0.5, CH₂Cl₂); R_f (AcOEt-éter de petróleo 2:1) 0.38.

UV (MeOH): 242 nm (ϵ_{mM} 21.4).

IR (KBr): ν_{max} 3360, 2924, 1651, 1516, 1026 y 850 cm⁻¹.

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD): *Figura 28*. Tabla 13 y δ 1.44 y 1.29 (2 s, 6 H, 2 Me).

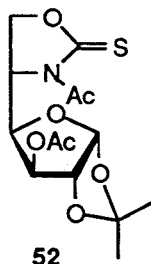
¹³C RMN (75.5 MHz, CD₃OD): *Figura 29*. Tabla 14 y δ 191.4 (CS), 113.0 (CMe₂), 27.2 y 26.4 (2 Me).

EM (FAB): *m/z* 284 (100%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₁₀H₁₅NO₅S: C, 45.96; H, 5.79; N, 5.36; S, 12.27. Encontrado: C, 46.35; H, 5.84; N, 5.27; S, 12.49.

^c (4*S*)-4-[(4'*R*)-1',2'-*O*-Isopropilidén- β -L-treofuranos-4'-il]-oxazolidina-2-tiona.

5.3.4.4. *N*-Acetil-3-*O*-acetil-5-amino-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén-β-*L*-idofuranosa 5,6-(tiocarbamato cíclico)^d (52).



Se obtuvo por acetilación convencional de **51** (100 mg, 0.38 mmol) con Ac₂O-piridina (1:1, 3 ml) y purificación por cromatografía preparativa (AcOEt-éter de petróleo 1:2).

Rendimiento: 128 mg (97%); $[\alpha]_D -76.9^\circ$ (*c* 1.2, CH₂Cl₂); R_f (AcOEt-éter de petróleo 1:1) 0.72.

UV (CH₂Cl₂): 266 nm (ϵ_{mM} 10.0).

IR (KBr): ν_{max} 2934, 1750, 1705, 1516, 1377 y 1233 cm⁻¹.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): Tabla 13 y δ 2.81 (s, 3 H, Me amida), 2.14 (s, 3 H, Me éster), 1.52 y 1.30 (2 s, 6 H, 2 Me).

¹³C RMN (125.5 MHz, CDCl₃): Tabla 14 y δ 185.8 (CS), 171.3 (CO amida), 169.5 (CO éster), 112.6 (CMe₂), 26.5 (Me amida), 26.0, 26.1 (CMe₂) y 20.9 (Me éster).

EM (FAB): *m/z* 368 (100%, [M + Na]⁺).

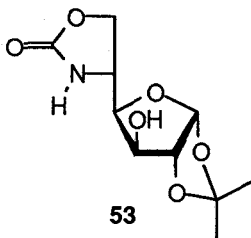
Análisis: Calculado para C₁₄H₁₉NO₇S: C, 48.69; H, 5.54; N, 4.06; S, 9.28. Encontrado: C, 48.87; H, 5.71; N, 3.98; S, 9.17.

^d *N*-Acetil-(4*S*)-4-[(4'*R*)-3'-*O*-acetil-1',2'-*O*-Isopropilidén-β-*L*-treofuranos-4'-il]-oxazolidina-2-tiona.

5.3.5. Procedimiento general para la preparación de 5,6-(carbamatos cíclicos) de D-glucosa y L-idosa.

A una disolución de la correspondiente 5-amino-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén- α -D-glucopiranosidina (120 mg, 0.55 mmol) en CH_2Cl_2 (8 ml) se añade sucesivamente DIEA (0.96 ml, 5.52 mmol) y BTC (81.6 mg, 0.29 mmol, 1.5 eq). Al cabo de 5 minutos, la mezcla de reacción se concentra y el residuo se purifica por cromatografía en columna, usando como eluyente tolueno-acetona 1:1.

5.3.5.1. 5-Amino-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén- α -D-glucopiranosidina 5,6-(carbato cíclico)^e (53).



Rendimiento: 132 mg (98%); $[\alpha]_{\text{D}} -24.6^\circ$ (*c* 1.0, MeOH); R_f (tolueno-acetona 1:1) 0.35.

IR (KBr): ν_{max} 3441, 3237, 2961, 1707, 1412, 1242, 1082 y 853 cm^{-1} .

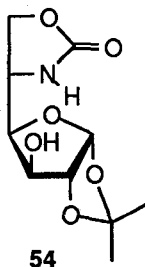
^1H RMN (300 MHz, CD_3OD): *Figura* 30. Tabla 13 y δ 6.74 (sa, 1 H, NH), 1.65 (sa, 1 H, OH), 1.51 y 1.32 (2 s, 6 H, 2 Me).

^{13}C RMN (125.5 MHz, CD_3OD): *Figura* 31. Tabla 14 y δ 162.2 (CO), 113.0 (CMe_2), 27.1 y 26.4 (2 Me); (75.5 MHz, CDCl_3): Tabla 14 y δ 158.2 (CO), 110.3 (CMe_2), 25.8 y 25.1 (CMe_2).

EM (FAB): *m/z* 268 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{NO}_6$: C, 48.98; H, 6.16; N, 5.71. Encontrado: C, 48.96; H, 6.17; N, 5.73.

^e 4*R*)-4-[(4'*R*)-1',2'-*O*-Isopropilidén- β -L-treofuranos-4'-il]-oxazolidina-2-ona.

5.3.5.2. 5-Amino-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén- β -L-idofuranosa 5,6-(carbamato cíclico)^f (54).

Rendimiento: 123 mg (91%); $[\alpha]_D +8.1^\circ$ (c 0.3, CH_2Cl_2); R_f (tolueno-acetona 1:1) 0.35.

IR (KBr): ν_{max} 3354, 2986, 2932, 1740, 1381, 1219, 1072 y 1017 cm^{-1} .

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): Tabla 13 y δ 5.95 (sa, 1 H, NH), 1.81 (sa, 1 H, OH), 1.49 y 1.32 (2 s, 6 H, 2 Me).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CD_3OD): Tabla 14 y δ 162.0 (CO), 112.9 (CMe_2), 27.1 y 26.4 (2 Me); (75.5 MHz, CDCl_3): Tabla y δ 160.1 (CO), 112.0 (CMe_2), 26.7 y 26.0 (CMe_2).

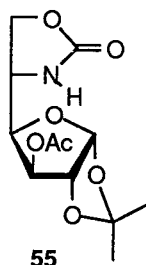
EM (FAB): m/z 268 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{NO}_6$: C, 48.98; H, 6.16; N, 5.71. Encontrado: C, 48.97; H, 6.14; N, 5.71.

El producto 54 se obtuvo también con un rendimiento del 55% por tratamiento de la amina (500 mg, 0.23 mmol) en CH_2Cl_2 (4 ml) con DIEA (0.4 ml, 2.3 mmol, 10 eq) y 1,1'-carbonildiimidazol (37 mg, 0.23 mmol, 1 eq) a temperatura ambiente durante 5 h.

^f (4*S*)-4-[(4'*R*)-1',2'-*O*-Isopropilidén- β -L-treofuranos-4'-il]-oxazolidina-2-ona.

5.3.5.3. 3-*O*-Acetil-5-amino-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén-β-*L*-idofuranosa 5,6-(carbamato cíclico)^g (55).



A una disolución de 5-amino-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén-β-*L*-idofuranosa (100 mg, 0.46 mmol) en agua-acetona (1:1, 4 ml) se añade CSCl_2 (68 μl , 0.68 mmol) y CaCO_3 (182 mg, 1.82 mmol). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 72 horas. El disolvente se elimina a presión reducida y el residuo resultante se acetila con Ac_2O -piridina (1:1, 2 ml) y se purifica por cromatografía en columna usando como eluyente AcOEt -éter de petróleo 1:2.

Rendimiento: 41 mg (31%); $[\alpha]_{\text{D}} +9.8^\circ$ (c 0.9, CH_2Cl_2); R_f (AcOEt -éter de petróleo 1:1) 0.26.

IR (KBr): ν_{max} 3356, 2990, 2934, 1750, 1375, 1231, 1165, 1024 y 855 cm^{-1} .

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): Tabla 13 y δ 6.21 (s, 1 H, NH), 2.13 (s, 3 H, MeCO), 1.52 y 1.32 (2 s, 6 H, 2 Me).

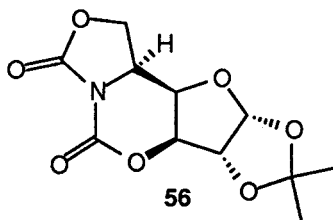
^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3): Tabla 14 y δ 170.4 (CO éster), 159.2 (CO carbamato), 112.4 (CMe_2), 26.4, 25.9 (CMe_2) y 20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 310 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}_7$: C, 50.17; H, 5.96; N, 4.88. Encontrado: C, 50.36; H, 5.86; N, 4.94.

^g (4*S*)-4-[(4'*R*)-3'-*O*-Acetil-1',2'-*O*-Isopropilidén-β-*L*-treofuranos-4'-il]-oxazolidina-2-ona.

5.3.5.4. 5-Amino-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén- β -L-idofuranosa 5,6:5,3-bis(carbamato cíclico) (56).



Se obtiene por tratamiento de la amina (100 mg, 0.46 mmol) en CH_2Cl_2 (8 ml) con DIEA (0.8 ml, 4.6 mmol) y BTC (228 mg, 0.77 mmol, 5 eq). Al cabo de 5 minutos, la mezcla de reacción se concentra y el residuo se purifica por cromatografía en columna, usando como eluyente tolueno-acetona 1:1.

Rendimiento: 41 mg (15%); $[\alpha]_D +2.4^\circ$ (c 0.5, CH_2Cl_2); R_f (AcOEt-éter de petróleo 3:1) 0.31.

IR (KBr): ν_{max} 2926, 2859, 1669, 1620, 1591, 1474, 1404, 1273, 754 y 673 cm^{-1} .

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): Tabla 13 y δ 1.53 y 1.35 (2 s, 6 H, 2 Me).

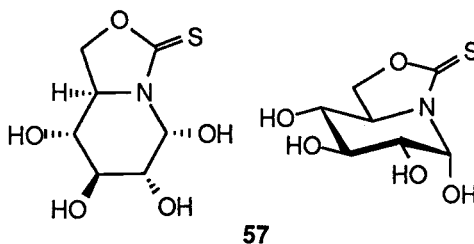
^{13}C RMN (125.5 MHz, CDCl_3): Figura 32. Tabla 14 y δ 150.9, 144.2 (2 CO carbamato), 113.4 (CMe_2), 26.7 y 26.2 (CMe_2).

EM (FAB): m/z 294 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

5.3.6. Obtención de 2-oxa-(+)-castanosperminas.

Una disolución del correspondiente 5,6-tiocarbamato(carbamato) cíclico (0.90 mmol) en TFA- H_2O (9:1, 10 ml) se agita a temperatura ambiente controlando la reacción por c.c.f. (AcOEt-EtOH- H_2O 45:5:3) hasta desaparición del producto de partida (2 h aprox.). Se elimina el disolvente a presión reducida, coevaporando varias veces con agua para eliminar las trazas de ácido. El residuo resultante se purifica por GPC (Sephadex G-10, MeOH- H_2O 1:1).

5.3.6.1. 5-Amino-5-desoxi- α -D-glucopiranososa 5,6-(tiocarbamato cíclico)^h (57).



Rendimiento: 185 mg (93%); $[\alpha]_D +0.8^\circ$ (c 0.8, H₂O); R_f (AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3) 0.61.

UV (H₂O): 245 nm (ϵ_{mM} 17.4).

IR (KBr): ν_{max} 3372, 3291, 2924, 1456, 1373 y 1084 cm⁻¹.

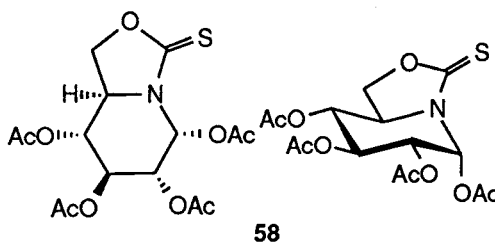
¹H RMN (500 MHz, D₂O): *Figura 33. Tabla 15.*

¹³C RMN (125.5 MHz, D₂O): *Figura 34. Tabla 16 y δ 186.4 (CS).*

EM (FAB): m/z 244 (100%, [M + Na]⁺) y 211 (40, [M + H]⁺).

Análisis: Calculado para C₇H₁₁NO₅S: C, 38.00; H, 5.01; N, 6.33; S, 14.49. Encontrado: C, 38.11; H, 5.16; N, 6.31; S, 14.23.

5.3.6.2. 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetil-5-amino-5-desoxi- α -D-glucopiranososa 5,6-(tiocarbamato cíclico)ⁱ (58).



^h (5R)-1-Desoxi-5-hidroxi-2-oxa-3-tioxo-(+)-castanospermina.

ⁱ (5R)-5,6,7,8-Tetra-*O*-acetil-1-desoxi-5-hidroxi-2-oxa-3-tioxo-(+)-castanospermina.

Se obtuvo por acetilación convencional de **57** (100 mg, 0.45 mmol) con Ac₂O-piridina (1:1, 6 ml) y purificación por cromatografía preparativa (AcOEt-éter de petróleo 1:1).

Rendimiento: 166 mg (95%); $[\alpha]_D^{+33.5^\circ}$ (c 0.8, CH₂Cl₂); R_f (AcOEt-éter de petróleo 1:1) 0.43.

UV (CH₂Cl₂): 248 nm (ϵ_{mM} 27.6).

IR (KBr): ν_{max} 2928, 1753, 1431, 1373, 1217 y 1038 cm⁻¹.

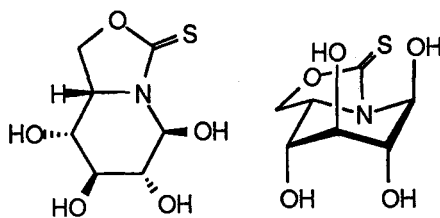
¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): Tabla 15 y δ 2.16, 2.08, 2.05 y 2.02 (4 s, 12 H, 4 MeCO).

¹³C RMN (125.5 MHz, CDCl₃): Tabla 16 y δ 187.0 (CS), 169.8, 169.7, 169.2, 168.3 (4 CO), 20.5, 20.4 y 20.2 (4 MeCO).

EM (FAB): *m/z* 412 (100, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₁₅H₁₉NO₉S: C, 46.27; H, 4.92; N, 3.60. Encontrado: C, 46.22; H, 4.82; N, 3.55.

5.3.6.3. 5-Amino-5-desoxi- α -L-idopiranosas 5,6-(tiocarbamato cíclico)^j (**59**).



59

Rendimiento: 172 mg (87%); $[\alpha]_D^{+64.0^\circ}$ (c 0.8, H₂O); R_f (AcOEt-EtOH- H₂O 45:5:3) 0.59.

UV (H₂O): 245 nm (ϵ_{mM} 16.6).

IR (KBr): ν_{max} 3584, 3324, 2924, 1672, 1522, 1472 y 1059 cm⁻¹.

¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆ + D₂O): Tabla 15.

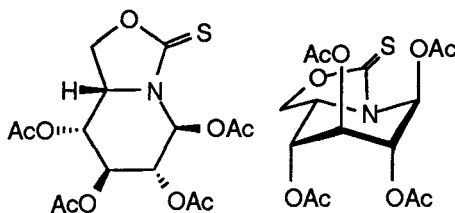
^j (**5R, 8aS**)-1-Desoxi-5-hidroxi-2-oxa-3-tioxo-(+)-castanospermina.

^{13}C RMN (125.5 MHz, $\text{DMSO}-d_6 + \text{D}_2\text{O}$): Tabla 16 y δ 187.1 (CS).

EM (FAB): m/z 244 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{NO}_5\text{S}$: C, 38.00; H, 5.01; N, 6.33; S, 14.49. Encontrado: C, 37.58; H, 5.02; N, 6.20; S, 14.02.

5.3.6.4. 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetil-5-amino-5-desoxi- α -L-idopiranososa 5,6-(tiocarbamato cíclico)^k (60).



60

Se obtuvo por acetilación convencional de **59** (100 mg, 0.45 mmol) con Ac_2O -piridina (1:1, 6 ml) y purificación por cromatografía preparativa (AcOEt -éter de petróleo 3:1).

Rendimiento: 170 mg (97%); $[\alpha]_D -35.8^\circ$ (c 1.2, CH_2Cl_2); R_f (AcOEt -éter de petróleo 3:1) 0.49.

UV (CH_2Cl_2): 250 nm (ϵ_{mM} 15.9).

IR (KBr): ν_{max} 2930, 1748, 1434, 1373, 1215 y 1048 cm^{-1} .

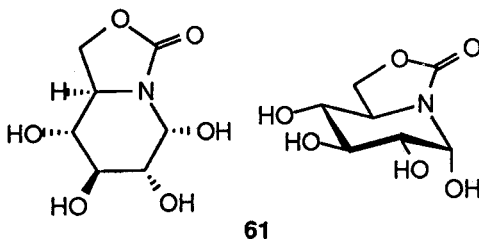
^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): Tabla 15 y δ 2.15, 2.14, 2.12 y 2.10 (4 s, 12 H, 4 MeCO).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3): Tabla 16 y δ 187.8 (CS), 169.6, 168.6, 168.2, 167.7 (4 CO), 20.5 y 20.2 (4 MeCO).

EM (FAB): m/z 412 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_9\text{S}$: C, 46.27; H, 4.92; N, 3.60. Encontrado: C, 46.25; H, 4.88; N, 3.55.

^k (5*R*, 8*aS*)-5,6,7,8-Tetra-*O*-acetil-1-desoxi-5-hidroxi-2-oxa-3-tioxo-(+)-castanospermina.

5.3.6.5. 5-Amino-5-desoxi- α -D-glucopiranososa 5,6-(carbamato cíclico)¹ (61).

Rendimiento: 181 mg (93%); $[\alpha]_D +43.6$ °(c 1.1, H₂O); R_f (BuOH-AcOH- H₂O 2:1:1) 0.30.

IR (KBr): ν_{\max} 3414, 3148, 1748, 1400, 1136 y 1063 cm⁻¹.

¹H RMN (500 MHz, D₂O): *Figura 35 y Tabla 15.*

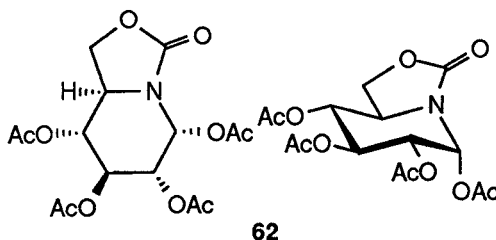
¹³C RMN (125.5 MHz, D₂O): *Tabla 16 y δ 160.1 (CO).*

HETCOR (125.5 MHz, D₂O): *Figura.36.*

EM (FAB): *m/z* 228 (50%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₇H₁₁NO₆: C, 40.98; H, 5.40; N, 6.82. Encontrado: C, 40.69; H, 5.48; N, 6.82.

5.3.6.6. 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetil-5-amino-5-desoxi- α -D-glucopiranososa 5,6-(carbamato cíclico)^m (62).



Se obtuvo por acetilación convencional de **79** (100 mg, 0.49 mmol) con Ac₂O-piridina (1:1, 6 ml) y purificación por cromatografía preparativa.

Rendimiento: 174 mg (95%); $[\alpha]_D^{+38.3^\circ}$ (*c* 0.6, CH₂Cl₂); R_f(AcOEt-éter de petróleo 2:1) 0.42.

IR (KBr): ν_{\max} 2924, 1778, 1751, 1371, 1219 y 1059 cm⁻¹.

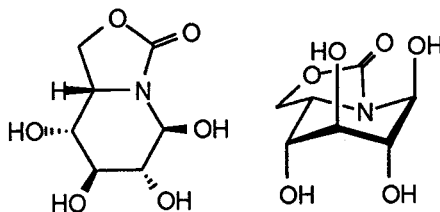
¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): Tabla 15 y δ 2.12, 2.05, 2.03 y 1.98 (4 s, 12 H, 4 MeCO).

¹³C RMN (125.5 MHz, CDCl₃): Tabla 16 y δ 169.9, 169.7, 169.2, 168.5 (4 CO éster), 154.1 (CO carbamato), 20.5, 20.4, 20.3 y 20.2 (4 MeCO).

EM (FAB): *m/z* 396 (100%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₁₅H₁₉NO₁₀: C, 48.26; H, 5.13; N, 3.75. Encontrado: C, 48.25; H, 5.09; N, 3.76.

^m (5R)-5,6,7,8-Tetra-*O*-acetil-1-desoxi-5-hidroxi-2-oxa-3-oxo-(+)-castanospermina.

5.3.6.7. 5-Amino-5-desoxi- α -L-idopiranososa 5,6-(carbamato cíclico)ⁿ (63).

63

Rendimiento: 187 mg (96%); $[\alpha]_D^{+4}$ (c 1.1, H₂O); R_f (BuOH-AcOH- H₂O 2:1:1) 0.28.

IR (KBr): ν_{\max} 3351, 2926, 1734, 1591, 1433, 1248 y 1067 cm⁻¹.

¹H RMN (500 MHz, D₂O): Tabla 15.

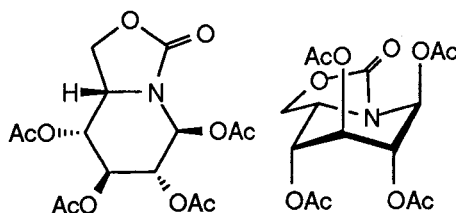
¹³C RMN (125.5 MHz, D₂O): Tabla 16 y δ 159.0 (CO).

EM (FAB): *m/z* 228 (100%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₇H₁₁NO₆: C, 40.98; H, 5.40; N, 6.82. Encontrado: C, 41.00; H, 5.35; N, 6.82.

ⁿ (5R, 8aS)-1-Desoxi-5-hidroxi-2-oxa-3-oxo-(+)-castanospermina.

5.3.6.8. 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetil-5-amino-5-desoxi- α -L-idopiranososa 5,6-(carbamato cíclico)^o (64).



64

Se obtuvo por acetilación convencional de **63** (100 mg, 0.49 mmol) con Ac₂O-piridina (1:1, 6 ml) y purificación por cromatografía preparativa (AcOEt-éter de petróleo 2:1).

Rendimiento: 155mg (85%); $[\alpha]_D -17.3^\circ$ (*c* 0.9, CH₂Cl₂); R_f (AcOEt-éter de petróleo 2:1) 0.51.

IR (KBr): ν_{\max} 2988, 2928, 1767, 1373, 1219 y 1053 cm⁻¹.

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): Tabla 15 y δ 2.13, 2.12 y 2.08 (3 s, 12 H, 4 MeCO).

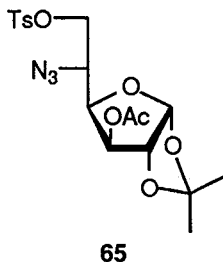
¹³C RMN (125.5 MHz, CDCl₃): Tabla 16 y δ 168.6, 168.3 168.0 (4 CO éster), 155.2 (CO carbamato), 20.6 y 20.5 (4 MeCO).

EM (FAB): *m/z* 396 (100%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₁₅H₁₉NO₁₀: C, 48.26; H, 5.13; N, 3.75. Encontrado: C, 48.30; H, 5.19; N, 3.75.

5.3.7. 5,6-Diamino-5,6-didesoxiazúcares y precursores.

5.3.7.1. 3-*O*-Acetil-5-azido-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén-6-*p*-toluénsulfonil- α -D-glucofuranosa (65).



A una disolución de 5-azido-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén- α -D-glucofuranosa (0.8 g, 3.3 mmol) en piridina seca (25 ml) se añade gota a gota y a 0°C una disolución de cloruro de *p*-toluénsulfonilo (0.7 g, 3.6 mmol, 1.1 eq) en piridina (10 ml). La mezcla se agita a temperatura ambiente una noche y se acetila con Ac₂O (10 ml) durante 5 h. El tratamiento convencional seguido de purificación por cromatografía en columna (AcOEt-éter de petróleo 1:2) permite aislar 65.

Rendimiento: 1 g (69%); $[\alpha]_D -25.2^\circ$ (*c* 1.2, CH₂Cl₂); R_f (AcOEt-éter de petróleo 1:2) 0.33.

IR (KBr): ν_{\max} 2988, 2940, 2101 (ν_{azida}), 1753, 1597 y 1454 cm⁻¹.

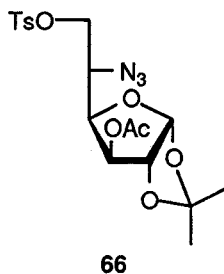
¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): *Figura 37*. Tabla 17 y δ 7.77 (d, 2 H, H-2,6 Ph, J_{orto} 13.0 Hz), 7.33 (d, 2 H, H-3,5 Ph, J_{orto} 13.0 Hz), 2.42 (s, 3 H, MePh), 2.08 (s, 3 H, MeCO), 1.42 y 1.24 (2 s, 6 H, 2 Me).

¹³C RMN (75.5 MHz, CDCl₃): *Figura 38*. Tabla 18 y δ 169.2 (CO éster), 145.1 (C-4 Ph), 132.2 (C-1 Ph), 129.8 (2 C, C-3,5 Ph), 127.8 (2 C, C-2,6 Ph), 112.4 (CMe₂), 26.4, 25.9 (2 C, CMe₂), 21.5 (MePh) y 20.6 (MeCO).

EM (FAB): *m/z* 464 (100%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para $C_{18}H_{23}N_3O_8S$: C, 48.97; H, 5.25; N, 9.52. Encontrado: C, 48.94; H, 4.91; N, 9.43.

5.3.7.2. 3-O-Acetil-5-azido-5-desoxi-1,2-O-isopropilidén-6-p-toluénsulfonil-β-L-idofuranosa (66).



A una disolución de 5-azido-5-desoxi-1,2-O-isopropilidén-β-L-idofuranosa (0.8 g, 3.3 mmol) en piridina seca (25 ml) se añade gota a gota y a -15°C una disolución de cloruro de *p*-toluénsulfonilo (1.27 g, 6.5 mmol, 2.0 eq) en piridina (10 ml). La mezcla se mantiene en el congelador durante 7 días y se acetila con Ac_2O (10 ml) durante 5 h. El tratamiento convencional seguido de purificación por cromatografía en columna (AcOEt-éter de petróleo 1:2) rinde **66**.

Rendimiento: 1.25 g (87%); $[\alpha]_{\text{D}} -9.1^{\circ}$ (c 1.0, CH_2Cl_2); R_f (AcOEt-éter de petróleo 1:3) 0.26.

IR (KBr): ν_{max} 2988, 2938, 2106 (ν_{azida}), 1750, 1370, 1219 y 1072 cm^{-1} .

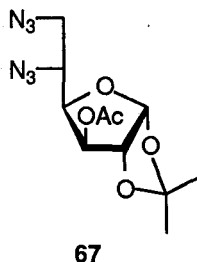
^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): Tabla 17 y δ 7.79 (d, 2 H, H-2,6 Ph, J_{orto} 13.0 Hz), 7.37 (d, 2 H, H-3,5 Ph, J_{orto} 13.0 Hz), 2.46 (s, 3 H, MePh), 2.11 (s, 3 H, MeCO), 1.49 y 1.30 (2 s, 6 H, 2 Me).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3): Tabla 18 y δ 168.3 (CO éster), 145.3 (C-4 Ph), 132.2 (C-1 Ph), 129.9 (2 C, C-3,5 Ph), 127.7 (2 C, C-2,6 Ph), 112.7 (CMe_2), 26.6, 26.2 (2 C, CMe_2), 22.0 (MePh) y 20.7 (MeCO).

EM (FAB): m/z 464 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $C_{18}H_{23}N_3O_8S$: C, 48.97; H, 5.25; N, 9.52. Encontrado: C, 48.92; H, 4.89; N, 9.49.

5.3.7.3. 3-O-Acetil-5,6-diazido-5,6-didesoxi-1,2-O-isopropilidén- α -D-glucofuranosa (67).



Una mezcla de **65** (0.9 g, 2.04 mmol) y NaN_3 (0.7 g, 10.8 mmol) en DMF (8 ml) se agita a $70^\circ C$ durante una noche. Se concentra y el residuo se trata con $H_2O-CH_2Cl_2$. La fase orgánica se seca ($MgSO_4$), se concentra y se purifica por cromatografía en columna.

Rendimiento: 0.55 g (86%); $[\alpha]_D -71.0^\circ$ (c 0.8, CH_2Cl_2); R_f (AcOEt-éter de petróleo 1:1) 0.71.

IR (KBr): ν_{max} 2990, 2940, 2101 (ν_{azida}), 1755, 1441, 1377, 1219 y 1078 cm^{-1} .

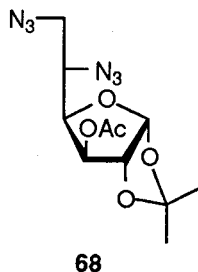
1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$): *Figura 39*. Tabla 17 y δ 2.02 (s, 3 H, MeCO), 1.38 y 1.19 (2 s, 6 H, 2 Me).

^{13}C RMN (75.5 MHz, $CDCl_3$): *Figura 40*. Tabla 18 y δ 169.1 (CO éster), 112.3 (CMe_2), 26.4, 25.9 (2 C, CMe_2) y 20.5 (MeCO).

EM (FAB): m/z 335 (100%, $[M + Na]^+$).

Análisis: Calculado para $C_{11}H_{16}N_6O_5$: C, 42.31; H, 5.16; N, 26.91. Encontrado: C, 42.17; H, 4.96; N, 26.81.

5.3.7.4. 3-O-Acetil-5,6-diazido-5,6-didesoxi-1,2-O-isopropilidén-β-L-idofuranosa (68).



Se obtiene a partir de **66** siguiendo el procedimiento descrito para **67**.

Rendimiento: 0.63 g (98%); $[\alpha]_D -18.4^\circ$ (c 1.4, CH_2Cl_2); R_f (AcOEt-éter de petróleo 1:2) 0.51.

IR (KBr): ν_{max} 2990, 2940, 2104 (ν_{azida}), 1750, 1377, 1221 y 1071 cm^{-1} .

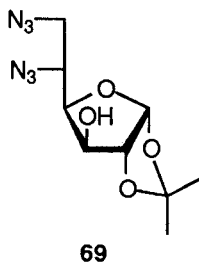
^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): Tabla 17 y δ 2.08 (s, 3 H, MeCO), 1.47 y 1.26 (2 s, 6 H. 2 Me).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3): Tabla 18 y δ 169.6 (CO éster), 112.4 (CMe_2), 26.5, 26.0 (2 C, CMe_2) y 20.6 (MeCO).

EM (FAB): m/z 335 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_5$: C, 42.31; H, 5.16; N, 26.91. Encontrado: C, 42.10; H, 5.53; N, 26.47.

5.3.7.5. 5,6-Diazido-5,6-dideoxi-1,2-O-isopropilidén-α-D-glucofuranosa (69).



Se obtiene a partir de **67** (300 mg, 1.11 mmol) por desacetilación (Métodos Generales, apartado 5.1).

Rendimiento: 290 mg (98%); $[\alpha]_D -60.8^\circ$ (*c* 2.0, CH₂Cl₂); R_f (AcOEt-éter de petróleo 1:1) 0.57.

IR (KBr): ν_{\max} 3468, 2988, 2938, 2104 (ν_{azida}), 1381, 1219 y 1076 cm⁻¹.

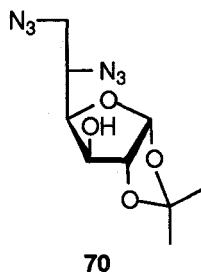
¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): Tabla 17 y δ 2.33 (sa, 1 H, OH), 1.50 y 1.33 (2 s, 6 H, 2 Me).

¹³C RMN (125.5 MHz, CDCl₃): Tabla 18 y δ 112.3 (CMe₂), 26.7 y 26.1 (2 C, CMe₂).

EM (CI): *m/z* 271 (30%, [M + H]⁺).

Análisis: Calculado para C₉H₁₄N₆O₄: C, 40.00; H, 5.22; N, 31.10. Encontrado: C, 40.00; H, 5.08; N, 31.01.

5.3.7.6. 5,6-Diazido-5,6-didesoxi-1,2-*O*-isopropilidén- β -L-idofuranosa (**70**).



Se obtiene a partir de **68** (300 mg, 1.11 mmol) por desacetilación (Métodos Generales, apartado 5.1).

Rendimiento: 287 mg (97%); $[\alpha]_D -79.7^\circ$ (*c* 0.8, CH₂Cl₂); R_f (AcOEt-éter de petróleo 1:1) 0.55.

IR (KBr): ν_{\max} 3501, 2994, 2945, 2112 (ν_{azida}), 1258 y 1069 cm⁻¹.

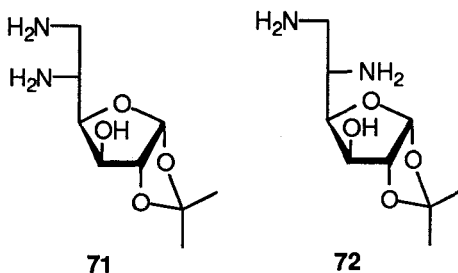
¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): Tabla 17 y δ 2.45 (d, 1 H, OH, *J*_{3-OH} 5.0 Hz), 1.50 y 1.31 (2 s, 6 H, 2 Me).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3): Tabla 18 y δ 112.1 (CMe_2), 26.6 y 26.1 (2 C, CMe_2).

EM (FAB): m/z 293 (70%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_6\text{O}_4$: C, 40.00; H, 5.22; N, 31.10. Encontrado: C, 40.06; H, 5.50; N, 30.99.

5.3.7.7. 5,6-Diamino-5,6-didesoxi-1,2-*O*-isopropilidén- α -D-glucopiranosas (**71**, **72**).

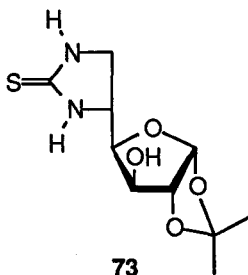


A una disolución de **69** o **70** (1.11 mmol) en dioxano-MeOH (5:1, 18 ml) se añade TPP (640 mg, 2.44 mmol) con agitación y bajo atmósfera de N_2 . Después de 3 h se añade NH_4OH (30%, 3.0 ml) y se agita a temperatura ambiente durante 24 h. El disolvente se evapora, el residuo se extrae con agua (10 ml), la fase acuosa se lava con tolueno (2 x 5 ml) y se concentra. Los espectros de masas (FAB) en ambos casos, presentan un pico base que se corresponde con el ion pseudomolecular (m/z 241, 100% $[\text{M} + \text{Na}]^+$) Las correspondientes diaminas se usan sin purificación en las siguientes reacciones.

5.3.8. Preparación de 5,6-(tioureas cíclicas) de D-glucosa y L-idosa.

A una disolución de la correspondiente diamina (290 mg, 1.33 mmol) en CH_2Cl_2 (15 ml) se añade CS_2 (0.64 ml) y DCC (290 mg, 1.40 mmol). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 1 h controlando por c.c.f. ($\text{AcOEt-EtOH-H}_2\text{O}$ 45:5:3), se concentra y se purifica usando el mismo eluyente.

5.3.8.1. 5,6-Diamino-5,6-didesoxi-1,2-*O*-isopropilidén- α -D-glucofuranosa 5,6-(tiourea cíclica)^P (73).



Rendimiento: 273 mg (79%); $[\alpha]_{\text{D}} -41.8$ °(c 0.9, MeOH); R_f ($\text{AcOEt-EtOH-H}_2\text{O}$ 45:5:3) 0.67.

UV (MeOH): 240 nm (ϵ_{mM} 14.6).

IR (KBr): ν_{max} 3374, 3247, 2984, 2928, 1528, 1377, 1213, 1074 y 1009 cm^{-1} .

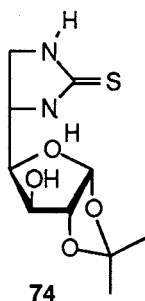
^1H RMN (300 MHz, CD_3OD , 313K): Tabla 19 y δ 1.45 y 1.29 (2 s, 6 H, 2 Me).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CD_3OD , 313K): Tabla 20 y δ 184.6 (CS), 112.9 (CMe_2), 27.0 y 26.4 (2 Me).

EM (CI): m/z 261 (50%, $[\text{M} + \text{H}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$: C, 46.14; H, 6.20; N, 10.76. Encontrado: C, 46.11; H, 5.94; N, 10.62.

5.3.8.2. 5,6-Diamino-5,6-didesoxi-1,2-*O*-isopropilidén- β -L-idofuranosa 5,6-(tiourea cíclica)⁹
(74).



Rendimiento: 252 mg (73%); $[\alpha]_D +10.3^\circ$ (c 0.5, MeOH); R_f (AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3) 0.64.

UV (MeOH): 241.6 nm (ϵ_{mM} 7.1).

IR (KBr): ν_{max} 3125, 2990, 1516, 1398, 1069 y 1015 cm^{-1} .

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD, 313K): Tabla 19 y δ 1.43 y 1.28 (2 s, 6 H, 2 Me).

¹³C RMN (75.5 MHz, CD₃OD, 313K): Tabla 20 y δ 184.3 (CS), 111.8 (CMe₂), 27.1 y 26.4 (2 Me).

EM (FAB): m/z 283 (100%, [M + Na]⁺) y 261 (25, [M + H]⁺).

Análisis: Calculado para C₁₀H₁₆N₂O₄S: C, 46.14; H, 6.20; N, 10.76. Encontrado: C, 45.88; H, 6.22; N, 10.50.

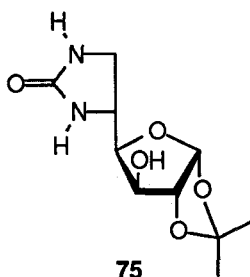
5.3.9. Preparación de 5,6-(ureas cíclicas) de D-glucosa y L-idosa.

A una disolución de la correspondiente diamina (295 mg, 1.35 mmol) y DIEA (13.5 mmol) en CH₂Cl₂ (20 ml) se añade gota a gota y con agitación una dialoción de BTC (0.45 mmol) en CH₂Cl₂ (8 ml). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente controlando por c.c.f.

⁹ (4S)-4-[(4'R)-1',2'-*O*-Isopropilidén- β -L-treofuranos-4'-il]-imidazolidina-2-tiona.

(AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3) la desaparición del producto de partida, se concentra y se purifica usando el mismo eluyente.

5.3.9.1. 5,6-Diamino-5,6-didesoxi-1,2-*O*-isopropilidén- α -D-glucofuranosa 5,6-(urea cíclica)^r (75).



Rendimiento: 229 mg (70%); $[\alpha]_D -31.7^\circ$ (c 0.2, MeOH); R_f (AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3) 0.42.

IR (KBr): ν_{\max} 3441, 3393, 2928, 2890, 1686, 1215, 1072 y 1011 cm^{-1} .

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD): *Figura 41*. Tabla 19 y δ 1.44 y 1.29 (2 s, 6 H, 2 Me).

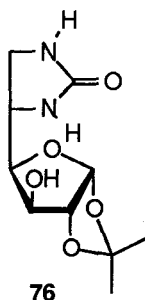
¹³C RMN (125.5 MHz, CD₃OD): *Figura 42*. Tabla 20 y δ 166.3 (CO), 112.8 (CMe₂), 27.1 y 26.4 (2 Me).

EM (FAB): m/z 267 (100%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₁₀H₁₆N₂O₅: C, 49.17; H, 6.60; N, 11.47. Encontrado: C, 49.14; H, 6.66; N, 11.44.

^r (4R)-4-[(4'R)-1',2'-*O*-Isopropilidén- β -L-treofuranos-4'-il]-imidazolidina-2-ona.

5.3.9.2. 5,6-Diamino-5,6-didesoxi-1,2-*O*-isopropilidén-β-L-idofuranosa 5,6-(urea cíclica)^s
(76).



Rendimiento: 197 mg (61%); $[\alpha]_D +10.9^\circ$ (c 0.7, MeOH); R_f (AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3) 0.37.

IR (KBr): ν_{\max} 3383, 2988, 2840, 1694, 1499, 1454, y 1072 cm^{-1} .

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD, 313K): Tabla 19 y δ 1.44 y 1.30 (2 s, 6 H, 2 Me).

¹³C RMN (75.5 MHz, CD₃OD): Tabla 20 y δ 166.4 (CO), 112.8 (CMe₂), 27.1 y 26.4 (2 Me).

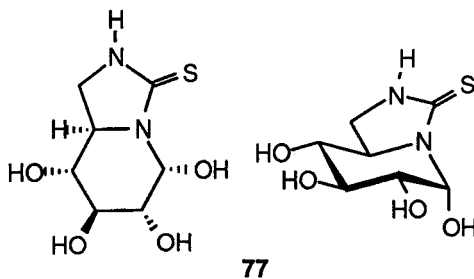
EM (FAB): m/z 267 (100%, [M + Na]⁺).

Análisis: Calculado para C₁₀H₁₆N₂O₅: C, 49.17; H, 6.60; N, 11.47. Encontrado: C, 49.17; H, 6.55; N, 11.23.

5.3.10. Obtención de 2-aza-(+)-castanosperminas.

Una disolución de la correspondiente 5,6-tiourea(urea) cíclica **73** ó **75** (0.40 mmol) en TFA-H₂O (9:1, 5 ml) se agita a temperatura ambiente controlando la reacción por c.c.f. (AcOEt-EtOH-H₂O 45:5:3) hasta desaparición del producto de partida (1 h). Se elimina el disolvente a presión reducida, coevaporando varias veces con agua para eliminar las trazas de ácido. El residuo resultante se purifica por GPC (Sephadex G-10, MeOH-H₂O 1:1).

^s (4S)-4-[(4'R)-1',2'-*O*-Isopropilidén-β-L-treofuranos-4'-il]-imidazolidina-2-ona.

5.3.10.1. 5,6-Diamino-5,6-didesoxi- α -D-glucopiranososa 5,6-(tiourea cíclica)^t (77).

Rendimiento: 86 mg (98 %); $[\alpha]_D -3.6^\circ$ (c 1.1, H_2O); R_f (MeOH) 0.48.

UV (H_2O): 238 nm (ϵ_{mM} 10.7).

IR (KBr): ν_{max} 3452, 3237 y 1645 cm^{-1} .

1H RMN (500 MHz, D_2O , 313K): Tabla 21.

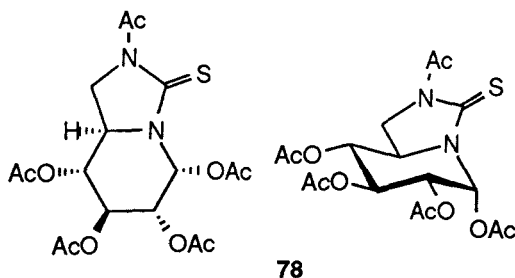
^{13}C RMN (125.5 MHz, D_2O , 323K): Tabla 22 y δ 183.7 (CS).

EM (FAB): m/z 221 (70%, $[M + H]^+$)

Análisis: Calculado para $C_7H_{12}N_2O_4S$: C, 38.17; H, 5.49; N, 12.72. Encontrado: C, 37.93;

H, 5.12; N, 12.47.

5.3.10.2. *N*-Acetil-1,2,3,4-tetra-*O*-acetil-5,6-diamino-5,6-didesoxi- α -D-glucopiranososa 5,6-(tiourea cíclica)^u (78).



Se obtiene por acetilación convencional de 98 con Ac_2O -piridina.

Rendimiento: 149 mg (85%); $[\alpha]_{\text{D}}^{+38.0}$ (c 0.8, H_2O); $R_f(\text{AcOEt}$ -éter de petróleo 1:1) 0.44.

UV (CH_2Cl_2): 237 nm (ϵ_{mM} 14.1).

IR (KBr): ν_{max} 2933, 1755, 1694, 1427, 1368 y 1231 cm^{-1} .

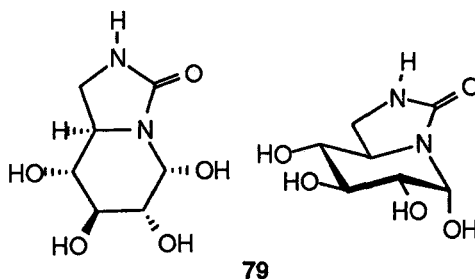
^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): *Figura 43*. Tabla 21 y δ 2.85 (s, 3H, Me amida), 2.19, 2.12, 2.08 y 2.06 (4 s, 12 H, 4 Me éster).

^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3): *Figura 44*. Tabla 22 y δ 178.6 (CS), 171.6 (CO amida), 169.9, 169.5, 169.3, 168.5 (4 CO éster), 26.6 (Me amida), 20.6, 20.4 y 20.2 (4 Me éster).

EM (FAB): m/z 453 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$)

Análisis: Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_9\text{S}$: C, 47.44; H, 5.15; N, 6.51. Encontrado: C, 47.33; H, 5.22; N, 6.48.

^u (5*R*)-5,6,7,8-Tetra-*O*-acetil-2-aza-1-desoxi-5-hidroxi-3-tioxo-(+)-castanospermina.

5.3.10.3. 5,6-Diamino-5,6-didesoxi- α -D-glucopiranososa 5,6-(urea cíclica)^v (79).

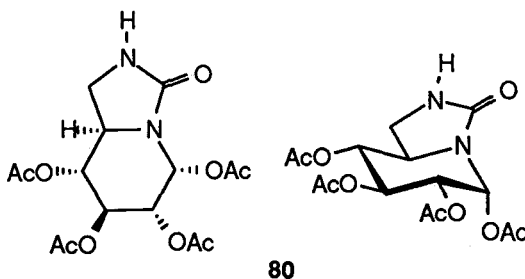
Rendimiento: 79 mg (98 %); $[\alpha]_D +69.7^\circ$ (c 0.9, H₂O).

IR (KBr): ν_{\max} 3364, 2926, 1690, 1454, 1267 y 719 cm⁻¹.

¹H RMN (300 MHz, D₂O): Tabla 21.

¹³C RMN (75.5 MHz, D₂O): Tabla 22 y δ 183.7 (CS).

Análisis: Calculado para C₇H₁₂N₂O₅: C, 41.18; H, 5.92; N, 13.72. Encontrado: C, 41.18; H, 5.66; N, 13.59.

5.3.10.4. 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetil-5,6-diamino-5,6-dideoxi- α -D-glucopiranososa 5,6-(urea cíclica)^w (80).

Rendimiento: 109 mg (75%); $[\alpha]_D +39.0^\circ$ (c 0.5, CH₂Cl₂); R_f (AcOEt) 0.51.

^v (5*R*)-2-Aza-1-desoxi-5-hidroxi-3-oxo-(+)-castanospermina.

^w (5*R*)-5,6,7,8-tetra-*O*-acetil-2-aza-1-desoxi-5-hidroxi-3-oxo-(+)-castanospermina.

IR (KBr): ν_{\max} 3441, 2924, 2855, 1753, 1647, 1373, 1221 y 712 cm^{-1} .

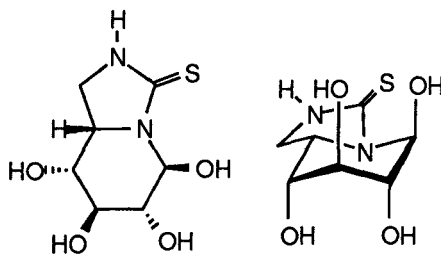
^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): Tabla 21 y δ 2.12, 2.07, 2.04 y 1.98 (4 s, 12 H, 4 Me éster).

^{13}C RMN (125.5 MHz, CDCl_3): Tabla 22 y δ 169.7 (4 CO éster), 157.4 (CO amida), 20.8, 20.5, 20.4 y 20.2 (4 Me éster).

EM (FAB): m/z 395 (100%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_9$: C, 48.39; H, 5.41; N, 7.52. Encontrado: C, 48.19; H, 5.11; N, 7.32.

5.3.10.5. 5,6-Diamino-5,6-didesoxi- α -L-idopiranosina 5,6-(tiourea cíclica)^x (81).



81

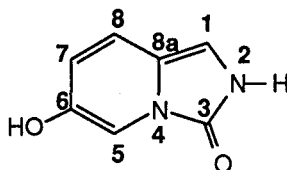
^1H RMN (300 MHz, D_2O): δ 5.76 (d, 1 H, $J_{1,2}=1.2$ Hz, H-1), 4.27 (dd, 1 H, $J_{4,5}=1.9$ Hz, $J_{3,4}=1.5$ Hz, H-4), 4.23 (dd, 1 H, $J_{2,3}=3.0$ Hz, H-3), 4.12 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}=6.9$ Hz, $J_{5,6a}=1.5$ Hz, H-6a), 4.05 (m, 1 H, H-5), 4.00 (dd, 1 H, $J_{5,6b}=3.4$ Hz, H-6b) y 3.91 (dd, 1 H, H-2).

^{13}C RMN (75.5 MHz, D_2O): δ 180.8 (CS), 78.1 (C-1), 70.0, 69.3, 68.8 (C-2, C-3, C-4), 53.1 (C-5) y 42.3 (C-6).

EM (FAB): m/z 221 (40%, $[\text{M} + \text{H}]^+$).

^x (5R, 8aS)-1-Desoxi-5-hidroxi-2-aza-3-tioxo-(+)-castanospermina.

5.3.10.6. 2-Aza-3-oxo-6-hidroxiindolizidina (82).



82

^1H RMN (500 MHz, D_2O): *Figura 45.* δ 8.71 (d, 1 H, $J_{5,7}=2.4$ Hz, H-5), 8.32 (dd, 1 H, $J_{7,8}=8.9$ Hz, H-7) y 8.19 (d, 1 H, H-8).

^{13}C RMN (75.5 MHz, D_2O): *Figura 46.* δ 156.6 (C-3), 151.3 (C-6), 144.2 (C-8a), 137.2 (C-8), 124.1 (C-7), 121.4 (C-5) y 45.2 (C-1).

EM (FAB): m/z 173 (40%, $[\text{M} + \text{Na}]^+$) y 151 (100, $[\text{M} + \text{H}]^+$).

EM (IE): m/z 150 (100%, M^+) y 121 (15, $\text{M}^+ - \text{CHO}$).

6. CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES.

PRIMERA.-

La reacción de isotiocianatos de azúcares protegidos con grupos isopropilideno y trimetilsililo con aminoazúcares proporciona pseudooligosacáridos con puentes de tiourea. En ambos casos las reacciones de protección transcurren con excelentes rendimientos, los grupos son estables en las condiciones de obtención de los tioureido derivados y son fácilmente eliminables en condiciones ácidas suaves compatibles con el grupo tiourea.

SEGUNDA.-

La condensación de tipo aza-Wittig entre 6-fosforanilidenamino-6-desoxiazúcares y glicopiranosil isotiocianatos da lugar a carbodiimidoazúcares asimétricos con rendimientos superiores al 80% y en tiempos de reacción cortos. La adición de agua en medio ligeramente ácido a las carbodiimidadas permite aislar las correspondientes ureas. La preparación de las tioureas se lleva a cabo burbujeando sulfuro de hidrógeno en presencia de sílica gel como catalizador.

Dado que los sustratos de partida se obtienen en tan solo cuatro y dos etapas, respectivamente, a partir de los azúcares comerciales y que las reacciones son aplicables a una amplia variedad de estructuras, esta metodología supone una vía general de acceso a pseudooligosacáridos con espaciadores intermonosacáridicos de tres átomos.

TERCERA.-

La tiocarbonilación con disulfuro de carbono y dicitlohexilcarbodiimida de las 5-amino-5-desoxi-1,2-*O*-isopropilidén- α -D-gluco(β -L-ido)furanosas conduce a (5,6)-tiocarbamatos cíclicos con excelentes rendimientos. Los correspondientes (5,6)-carbamatos cíclicos se obtienen por tratamiento con trifosgeno en presencia de *N,N*-diisopropiletilamina.

CUARTA.-

La hidrólisis con ácido trifluoroacético-agua del grupo protector acetálico en los (5,6)-tiocarbamatos y carbamatos cíclicos derivados de D-glucosa y L-idosa conduce a una mezcla de anómeros furánicos que tras neutralización se reordenan para dar polihidroxiindolizidinas con estructura de 2-oxacastanosperminas. Los azaazúcares bicíclicos preparados incorporan un grupo hidroxilo pseudoanomérico con configuración anomérica ("α") anclada. El control total de la estereoquímica del centro aminoacetálico en disolución acuosa, verificando el efecto anomérico, no es asignable a interacciones electrostáticas (polares). Probablemente la simetría π del orbital que aloja el par de electrones no compartidos del nitrógeno carbámico o tiocarbámico favorece las interacciones orbitálicas (hiperconjugativas) en el orbital antienlazante vecino σ^*_{C-O} .

QUINTA.-

La hidrólisis del grupo isopropilideno de las (5,6)-tiourea y urea cíclica de configuración D-*gluco* permite aislar 2-aza-(+)-castanosperminas mientras que, en las mismas condiciones, la urea cíclica de configuración L-*ido* da lugar a un derivado de naturaleza aromática.

SEXTA.-

Se ha llevado a cabo un estudio de las propiedades como inhibidores enzimáticos de las 2-oxa- y 2-aza-(+)-castanosperminas preparadas frente a diversas glicosidasas. Los derivados de configuración L-*ido* no presentan actividad mientras que los derivados de configuración D-*gluco* muestran una alta selectividad por la α -glucosidasa de levadura de cerveza frente a β -glucosidasas y otras α -glucosidasas. El tipo de inhibición es competitivo con valores micromolares de K_i .

La alta selectividad hacia α -glucosidasas frente a β -glucosidasas puede atribuirse al control de la estereoquímica del centro pseudoanomérico. Por su parte, la especificidad por la

enzima de levadura de cerveza, contraria a la que presenta la (+)-castanospermina, puede atribuirse a la diferente orientación del oxígeno homólogo a O-6 de glucosa. De hecho, la sustitución del oxígeno del anillo de indolizidina por un grupo NH causa una disminución en las propiedades como inhibidor de estos derivados indicando que la presencia de este átomo es imprescindible para la interacción con el enzima.

7. BIBLIOGRAFIA

7. BIBLIOGRAFÍA.

- [1] E. Uhlmann y A. Peyman, *Chem. Rev.*, 90 (1990) 543-584.
- [2] A. De Mesmaecker, R. Häner, P. Martin y H. E. Moser, *Acc. Chem. Res.*, 28 (1995) 366-374
- [3] A. De Mesmaecker, A. Waldner, J. Lebreton, P. Hoffmann, V. Fritsch, R. M. Wolf y S. M. Freier, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 33 (1994) 226-229.
- [4] J. Lebreton, A. De Mesmaecker, A. Wadner, V. Fritsch, R. M. Wolf y S. M. Freier, *Tetrahedron Lett.*, 34 (1993) 6383-6386.
- [5] A. De Mesmaecker, J. Lebreton, A. Waldner, V. Fritsch, R. M. Wolf y S. M. Freier, *Synlett*, (1993) 733-736.
- [6] J. Lebreton, A. Waldner, C. Lesueur y A. De Mesmaecker, *Synlett*, (1994) 137-140.
- [7] A. Waldner, A. De Mesmaecker y J. Lebreton, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 4 (1994) 405-408.
- [8] A. Waldner, A. De Mesmaecker, J. Lebreton, V. Fritsch, y R. M. Wolf, *Synlett*, (1994) 57-61.
- [9] A. Waldner y A. De Mesmaecker, *Synlett*, (1995) 108-110.
- [10] R. O. Dempcy, K. A. Browne y T. C. Bruice, *J. Am. Chem. Soc.*, 117 (1995) 6140-6141.
- [11] J. Gervay, T. M. Flaherty y C. Nguyen, *Tetrahedron Lett.*, 38 (1997) 1493-1496.
- [12] S. Sabesan, *Tetrahedron Lett.*, 38 (1997) 3127-3130.
- [13] C. M. Timmers, J. J. Turner, C. M. Ward, G. A. van der Marel, M. L. C. E. Kouwijzer, P. D. J. Grootenhuis y J. H. van Boom, *Chem. Eur. J.* 3 (1997) 920-929.
- [14] P. S. Ramamoorthy y J. Gervay, *J. Org. Chem.*, 62 (1997) 7801-7805.
- [15] J. M. García Fernández y C. Ortiz Mellet, *Sulfur Rep.*, 19 (1996) 61-169.
- [16] G. A. Ellestad, D. B. Cosulich, R. W. Broschard, J. H. Martin, M. P. Kunstmann, G. O. Morton, J. E. Lancaster, W. Fulmor, y F. M. Lovell, *J. Am. Chem. Soc.*, 100 (1978) 2515-2524.
- [17] K. Dobashi, K. Nagaoka, Y. Watanabe, M. Nishida, M. Hamada, H. Naganawa, T. Takita, T. Takeuchi, y H. Umezawa, *J. Antibiot.*, 38 (1985) 1166-1170.

- [18] L. D. Hohenschutz, E. A. Bell, P. J. Jewess, D. P. Leworthy, R. J. Pryce, E. Arnold, J. Clardy, *Phytochemistry*, 20 (1981) 811.
- [19] G. Legler, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 48 (1990) 319-384.
- [20] R. C. Bernotas y B. Ganem, *Tetrahedron Lett.*, 25 (1984) 165-168.
- [21] Z. J. Witczak. *Carbohydrates as new and old targets for future drug design en Carbohydrates in drug design*. Z. J. Witczak (Ed.) Marcel Dekker Inc., New York (1997) 1-37.
- [22] B. G. Winchester, I. Cenci di Bello, A. C. Richardson, R. J. Nash, L. E. Fellows, N. G. Ramsden y G. Fleet, *Biochem. J.*, 269 (1990) 227-331.
- [23] R. H. Furneaux, G. J. Gainsford, J. M. Mason, P. C. Tyler, O. Hartley y B. G. Winchester, *Tetrahedron*, 53 (1997) 245-268.
- [24] K. Burgess e I. Henderson, *Tetrahedron*, 48 (1992) 4045-4066.
- [25] J. Cossy y P. Vogel. *Hydroxylated Indolizidines and their Synthesis, ien Studies in Natural Products Chemistry*, Vol. 12, Atta-ur-Rahman (Ed.), Elsevier, New York, 1993, pp 275-363.
- [26] A. J. Kirby, en *The Anomeric Effect and Related Stereoelectronic Effects at Oxygen*, Springer-Verlag, Berlín, 1983, pp. 72-75.
- [27] Z. J. Witczak, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 44 (1986) 91-145.
- [28] R. Babiano Caballero, J. Fuentes Mota y J. A. Galbis Pérez, *Carbohydr. Res.*, 154 (1986) 280-288.
- [29] M. Ávalos, R. Babiano, P. Cintas, J. L. Jiménez, J. C. Palacios y J. Fuentes, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, (1990) 495-501.
- [30] J. Fuentes Mota, T. Cuevas y M. A. Pradera, *Carbohydr. Res.*, 260 (1994) 137-144.
- [31] S. Uppugunduri, J. Dakour, E. Kallin, T. Norberg, D. Zopf y A. Lundblad, *Glycoconjugate J.*, 8 (1991) 102-107.
- [32] H. Ogura, K. Furuhashi, M. Ito y Y. Shidori (Mekuto K. K.), *Jpn. Kokai Tokkyo JP 61,243,094* (1986); *Chem. Abstr.*, 106 (1987) 84995w.
- [33] J. M. García Fernández, C. Ortiz Mellet, S. Maciejewski y J. Defaye, *Chem. Commun.*, (1996) 2741-2742.

- [34] J. M. García Fernández, J. L. Jiménez Blanco, C. Ortiz Mellet y J. Fuentes, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, (1995) 57-58.
- [35] J. Kovács, I. Pintér, A. Messmer, G. Tóth y H. Duddeck, *Carbohydr. Res.*, 166 (1987) 101-111.
- [36] A. Messmer, I. Pintér y F. Szegö, *Angew. Chem.*, 76 (1964) 227-228.
- [37] E. Zbiral y W. Schörkhuber, *Liebigs Ann. Chem.*, (1982) 1879-1890.
- [38] I. Goodman, *Adv. Carbohydr. Chem.*, 13 (1958) 215-236.
- [39] J. L. Jiménez Blanco, C. Ortiz Mellet, J. Fuentes y J. M. García Fernández, *Chem. Commun.*, (1996) 2077-2078.
- [40] J. M. García Fernández, C. Ortiz Mellet, J. M. Benito y J. Fuentes, *Synlett*, (1998) 316-318.
- [41] Recomendaciones de la IUPAC-IUBMB para la nomenclatura de carbohidratos: A. D. Menaught, *Pure Appl. Chem.*, 68 (1996) 1919; *Carbohydr. Res.*, 297 (1997) 1-92.
- [42] J. M. García Fernández, C. Ortiz Mellet, V. M. Díaz Pérez, J. L. Jiménez Blanco y J. Fuentes, *Tetrahedron*, 52 (1996) 12947-12970.
- [43] T. Osawa, *J. Org. Chem.*, 31 (1966) 3839-3840.
- [44] C. Ortiz Mellet, A. Moreno Marín, J. L. Jiménez Blanco, J. M. García Fernández y J. Fuentes, *Tetrahedron:Asymmetry*, 5 (1994) 2325-2334.
- [45] J. M. García Fernández, C. Ortiz Mellet y J. Fuentes, *Tetrahedron Lett.*, 33 (1992) 3931-3934.
- [46] J. M. García Fernández, C. Ortiz Mellet y J. Fuentes, *J. Org. Chem.*, 58 (1993) 5192-5199.
- [47] J. M. García Fernández, C. Ortiz Mellet, J. L. Jiménez Blanco y J. Fuentes, *J. Org. Chem.*, 59 (1994) 5565-5572.
- [48] J. Fuentes Mota, J. L. Jiménez Blanco, C. Ortiz Mellet y J. M. García Fernández, *Carbohydr. Res.*, 257 (1994) 127-135.
- [49] J. M. García Fernández, C. Ortiz Mellet, J. L. Jiménez Blanco, J. Fuentes Mota, A. Gabelle, A. Coste-Sarguet y J. Defaye, *Carbohydr. Res.*, 268 (1994) 57-71.

- [50] R. Toubiana, B. C. Das, J. Defaye, B. Mompon y M. -J. Toubiana, *Carbohydr. Res.*, 44 (1975) 308-312.
- [51] D. A. Johnson, *Carbohydr. Res.*, 237 (1992) 313-318.
- [52] Yu. G. Gololobov, Y. N. Zhmurova y L. F. Kasukhin, *Tetrahedron*, 37 (1981) 437-472.
- [53] C. Jochims y A. Seeliger, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 6 (1967) 174-175.
- [54] C. Uchida, H. Hitahashi, S. Watanabe y S. Ogawa, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, (1995) 1707-1717.
- [55] C. Uchida y S. Ogawa, *Carbohydr. Lett.*, 1 (1994) 77-81.
- [56] A. Williams y T. Y. Ibrahim, *Chem. Rev.*, 81 (1981) 589-636.
- [57] M. Mikolajczyk y P. Kielbasinski, *Tetrahedron*, 37 (1981) 233-284.
- [58] Y. Pri-Bar y J. Schwartz, *Chem. Commun.*, (1997) 347-348.
- [59] T. Schlama, V. Gounerneur y C. Mioskowski, *Tetrahedron Lett.*, 37 (1996) 7047-7048.
- [60] P. Molina, M. Alajarín, P. Sánchez-Andrada, J. Elguero y M. L. Jimeno, *J. Org. Chem.*, 59 (1994) 7306-7315.
- [61] P. Molina y M. J. Vilaplana, *Synthesis*, (1994) 1197-1218 y referencias incluidas.
- [62] J. Barluenga y F. Palacios, *Org. Prep. Proced. Int.*, 23 (1991) 1-65.
- [63] J. M. García Fernández, C. Ortiz Mellet, V. M. Díaz Pérez, J. Fuentes, J. Kovács e I. Pintér, *Tetrahedron Lett.*, 38 (1997) 4161-4164.
- [64] J. M. García Fernández, C. Ortiz Mellet, V. M. Díaz Pérez, J. Fuentes, J. Kovács e I. Pintér, *Carbohydr. Res.*, 304 (1997) 261-270.
- [65] J. Kovács, I. Pintér, F. Szegö, G. Tóth y A. Messmer, *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.*, 101 (1979) 7-16.
- [66] I. Pintér, J. Kovács y A. Messmer, *Carbohydr. Res.*, 53 (1977) 117-122.
- [67] I. Pintér, J. Kovács, A. Messmer, A. Kálmán, G. Tóth y K. G. Lindberg, *Carbohydr. Res.*, 72 (1979) 289-296.
- [68] P. Molina, C. López-Leonardo, J. Llamas-Botia, C. Foces-Foces, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 36 (1997) 67-70.
- [69] P. Molina, C. López-Leonardo, J. Llamas-Botia, C. Foces-Foces y C. Fernández-Castellano, *Tetrahedron*, 52 (1996) 9629-9642.

- [70] J. Kovács, I. Pintér, M. Kajtár-Peredy y L. Somsák, *Tetrahedron*, 53 (1997) 15041-15050.
- [71] M. Avalos, R. Babiano, C. J. Durán, J. L. Jiménez, y J. C. Palacios, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, (1992) 2205-2215.
- [72] I. Wawer, B. Piekarska-Bartoszewics, y A. Temeriusz, *Carbohydr. Res.*, 267 (1995) 167-176.
- [73] R. Anulewicz, I. Wawer, B. Piekarska-Bartoszewics, y A. Temeriusz, *Carbohydr. Res.*, 281 (1996) 1-10.
- [74] J. M. García Fernández, C. Ortiz Mellet, J. L. Jiménez Blanco, J. Fuentes, M. J. Diánez, M. D. Estrada, A. López-Castro, y S. Pérez-Garrido, *Carbohydr. Res.*, 286 (1996) 55-65.
- [75] K. Bock y J. O. Duus, *J. Carbohydr. Chem.*, 13 (1994) 513-543.
- [76] M. C. Etter y T. W. Panunto, *J. Am. Chem. Soc.*, 110 (1988) 5896-5897.
- [77] J. Scheerder, J. F. J. Engbersen y D. N. Reinhoudt, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, 115 (1996) 307-320.
- [78] H. Paulsen y K. Todt, *Adv. in Carbohydr. Chem.*, 23 (1968) 115-232.
- [79] J. L. Jiménez Blanco, V. M. Díaz Pérez, C. Ortiz Mellet, J. Fuentes, J. M. García Fernández, J. C. Díaz Arribas y F. J. Cañada, *Chem. Commun.*, (1997) 1969-1970.
- [80] Y. Nishimura. *Glycoside and Glycosyltransferase Inhibitors*, en *Studies in Natural Products Chemistry*, Vol 10, Atta-ur-Rahman (Ed.), Elsevier, Amsterdam, 1992, pp 495-583.
- [81] S. Ionuye, T. Tsuruoka, T. Ito y T. Niida, *Tetrahedron*, 24 (1968) 2125-2144.
- [82] G. Legler y E. Jülich, *Carbohydr. Res.*, 128 (1984) 61-72.
- [38] Y. Tsuda, Y. Okuno, M. Iwaki, y K. Kanemitsu, *Chem. Pharm. Bull.*, 37 (1989) 2673-2678.
- [84] U. G. Nayak y R. L. Whistler, *J. Org. Chem.*, 33 (1968) 3582-3585.
- [85] R. E. Gramera, R. M. Bruce, S. Hirase y R. L. Whistler, *J. Org. Chem.*, 28 (1963) 1401-1403.
- [86] A. Klemer, U. Hofmeister y R. Lemmes, *Carbohydr. Res.*, 68 (1979) 391-395.

- [87] B. P. Bashyal, H. -F. Chow, L. E. Fellows y G. W. J. Fleet, *Tetrahedron*, 43 (1987) 415-422.
- [88] K. Dax, B. Gaigg, V. Grassberger, B. Kölblinger y A. E. Stütz, *J. Carbohydr. Chem.*, 9 (1990) 479-499.
- [89] A. Berger, A. de Raadt, G. Gradnig, M. Grasser, H. Löw y A. E. Stütz, *Tetrahedron Lett.*, 47 (1992) 7125-7128.
- [90] T. M. Wrodnigg, A. E. Stütz y S. G. Withers, *Tetrahedron Lett.*, 38 (1997) 5463-5466.
- [91] I. Pintér, J. Kovács y G. Tóth, *Carbohydr. Res.*, 273 (1995) 99-108.
- [92] E. Fujita y Y. Nagao, *Adv. Heterocycl. Chem.*, 45 (1989) 1-36.
- [93] L. Drobnica, P. Kristián y J. Augustín, *The Chemistry of the -NCS group, en The Chemistry of Cyanates and their Thio Derivatives*, Part 2, S. Patai, De., John Wiley & Sons, Inc., Chichester, 1997, p. 1003-1221.
- [94] Z. Eckstein y T. Urbanski, *Adv. Heterocycl. Chem.*, 23 (1978) 1-53.
- [95] Z. Eckstein y T. Urbanski, *Adv. Heterocycl. Chem.*, 2 (1963) 311-342.
- [96] L. Cotarca, P. Delogu, A. Nardelli y V. Sunjic, *Synthesis* (1996) 553-576.
- [97] N. N. Bhongle y J. Y. Tang, *Tetrahedron Lett.*, 36 (1995) 6803-6806.
- [98] M. T. Molina, M. Yáñez, O. Mó, R. Notario y J. -L. M. Abboud, *The thiocarbonyl group. en The Chemistry of double-bonded functional groups. Part 2*, S. Patai (Ed.), John Wiley & Sons, Chichester, 1997, cap. 23, pp. 1355-1496.
- [99] H. Paulsen, *Ann.*, 665 (1963) 166-187.
- [100] W. Rank y H. H. Baer, *Carbohydr. Res.*, 35 (1974) 65-72.
- [101] H. Paulsen y K. Todt, *Chem. Ber.*, 99 (1966) 3450-3460.
- [102] M. L. Wolfrom, J. Bernsmann y D. Horton, *J. Org. Chem.*, 27 (1962) 4505-4509.
- [103] J. Cárdenas, E. Fernández, F. Galván, A. J. Márquez y J. M. Vega, *Inhibición Enzimática y Cinética de las Reacciones Bisustrato*, en *Problemas de Bioquímica*, Alhambra, Madrid, 1988, 385-456.
- [104] W. W. Cleland, *Methods in Enzymol.*, 63 (1979) 103-138.

- [105] Y. Nishimura, *Glycosidase and Glycosyltransferase Inhibitors*, en *Studies in Natural Products Chemistry, Vol. 10*, Atta-ur-Rahman (Ed.), Elsevier, New York, 1993, pp. 275-363.
- [106] B. Ganem, *Acc. Chem. Res.*, 29 (1996) 340-347.
- [107] N. Asano, K. Oseki, H. Kizu y K. Matsui, *J. Med. Chem.*, 37 (1994) 3701-3706.
- [108] M. L. Sinnott, *Chem. Rev.*, 90 (1990) 1171-1202.
- [109] Comprehensive Catalysis (BUSCAR)
- [110] J. H. Jeong, B. W. Murray, S. Takayama, C. H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, 118 (1996) 4227-4234.
- [111] G. Legler y M. T. Finken, *Carbohydr. Res.*, 292 (1996) 130-115.
- [112] Y. Blériot, A. Genre-Grandpierre, A. Imbert y C. Tellier, *Carbohydr. Chem.*, 15 (1996) 985-1000.
- [113] H. Deng, A. W. Y. Chan, C. K. Bagdassanan, B. Estupiñán, B. Ganem, R. H. Callender y V. L. Schramm, *Biochemistry*, 35 (1996) 6037-6047.
- [114] P. Ermet, A. Vasella, M. Weber, K. Rupitz y S. G. Withers, *Carbohydr. Res.*, 250 (1993) 113-128.
- [115] J. L. Jiménez Blanco. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla, 1996.
- [116] F. Mohamadi, N. G. J. Richards, W. C. Guida, R. Liskamp, M. Lipton, C. Caufield, G. Chang, T. Hendrickson y W. C. Still, *J. Comput. Chem.*, 11 (1990) 440-467.
- [117] W. C. Still, A. Tempczyk, C. Hawley y T. Hendrickson, *J. Am. Chem. Soc.*, 112 (1990) 6127-6129.
- [118] M. Ramjeesingh y A. Kahlenberg, *Can. J. Chem.*, 55 (1977) 3717-3720.
- [119] H. S. Isbell y H. L. Frush, *J. Org. Chem.*, 23 (1958) 1309-1319.
- [120] A. Lubineau, J. Augé y B. Drouillat, *Carbohydr. Res.*, 266 (1995) 211-219.
- [121] W. A. Szarek y J. K. N. Jones, *Can. J. Chem.*, 43 (1965) 2345-2356.
- [122] M. J. Camarasa, P. Fernández-Resa, M. T. García-López, F. G. de las Heras, P. P. Méndez-Castrillón y A. San Felix, *Synthesis*, (1984) 509-510.
- [123] C. Ortiz Mellet, J. L. Jiménez Blanco, J. M. García Fernández y J. Fuentes, *J. Carbohydr. Chem.*, 12 (1993) 487-505.

8. FIGURAS

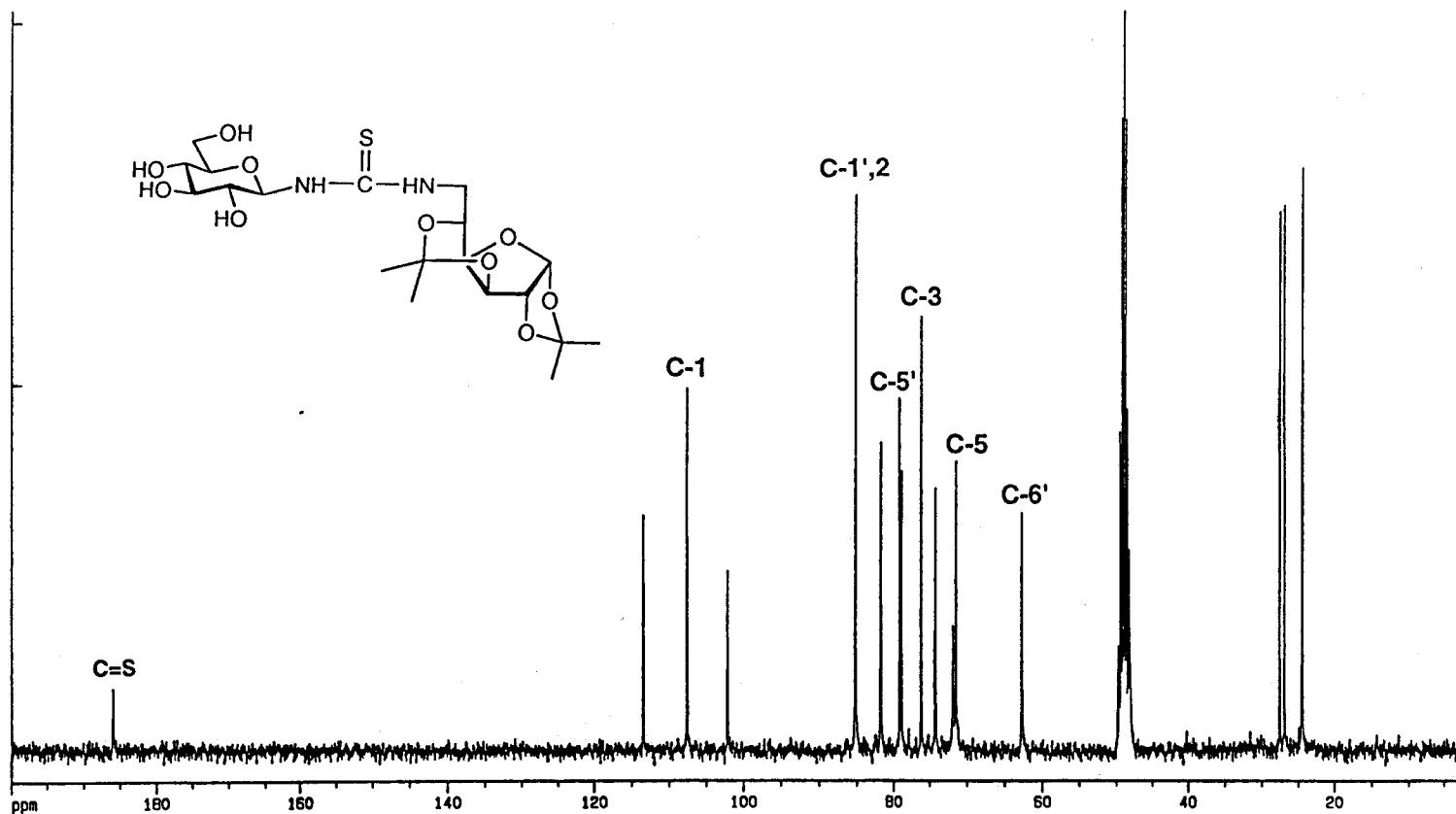


Figura 1. Espectro de ^{13}C RMN (75.5 MHz, CD_3OD , 323 K) de 2.

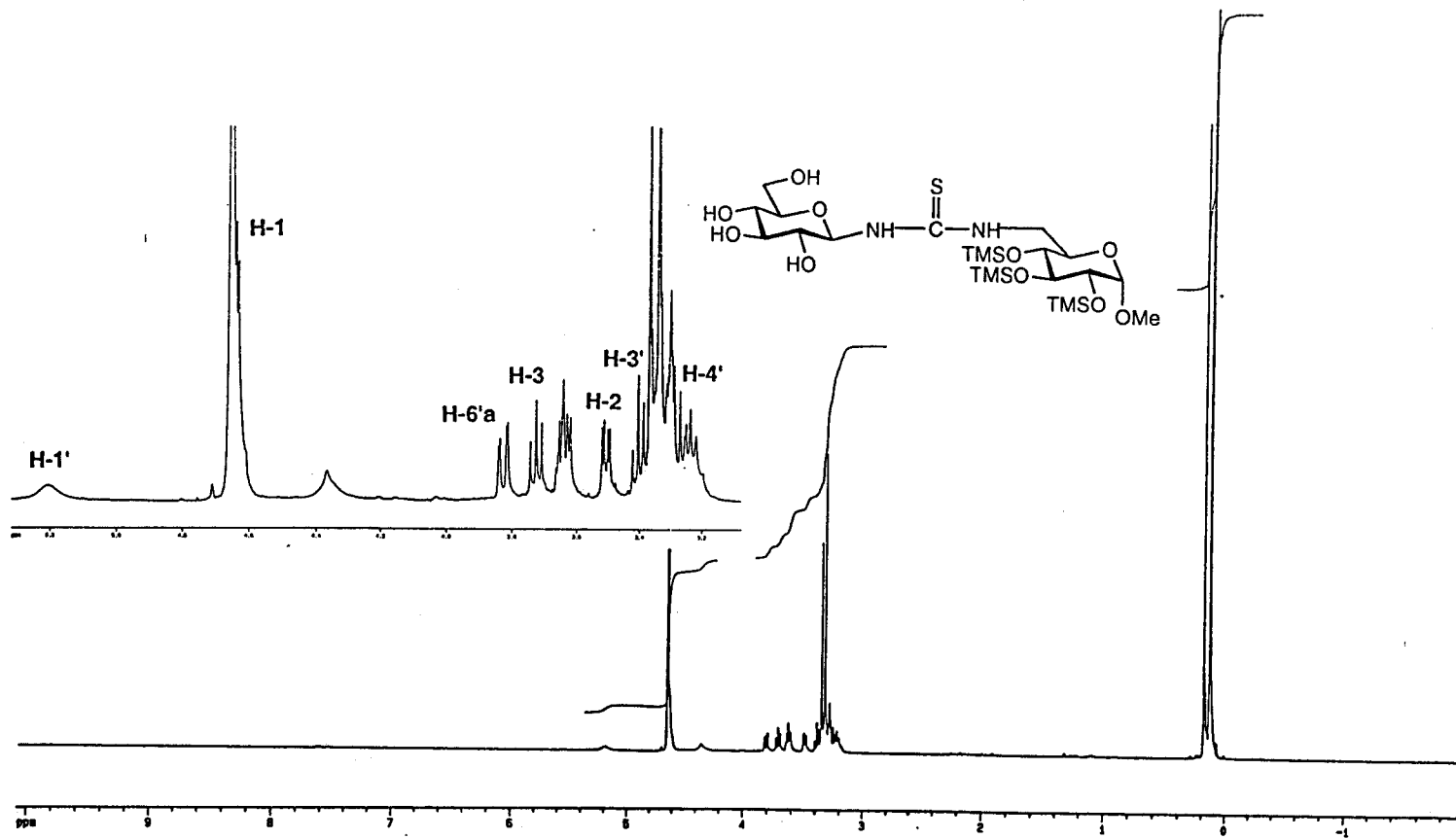


Figura 2. Espectro de ^1H RMN (500 MHz, CD_3OD , 313 K) de 6.

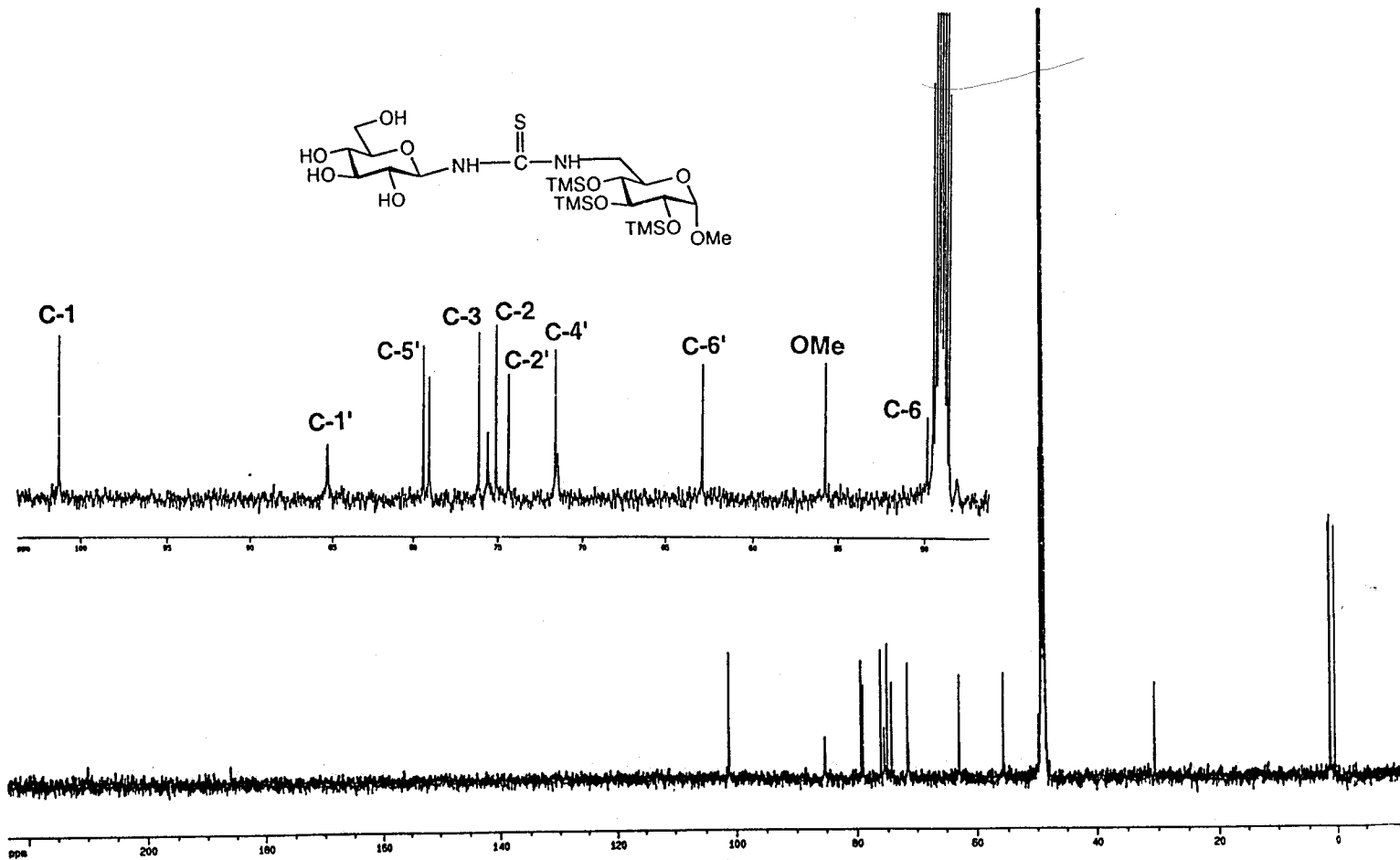


Figura 3. Espectro de ^{13}C RMN (125.5 MHz, CD_3OD , 323 K) de 6.

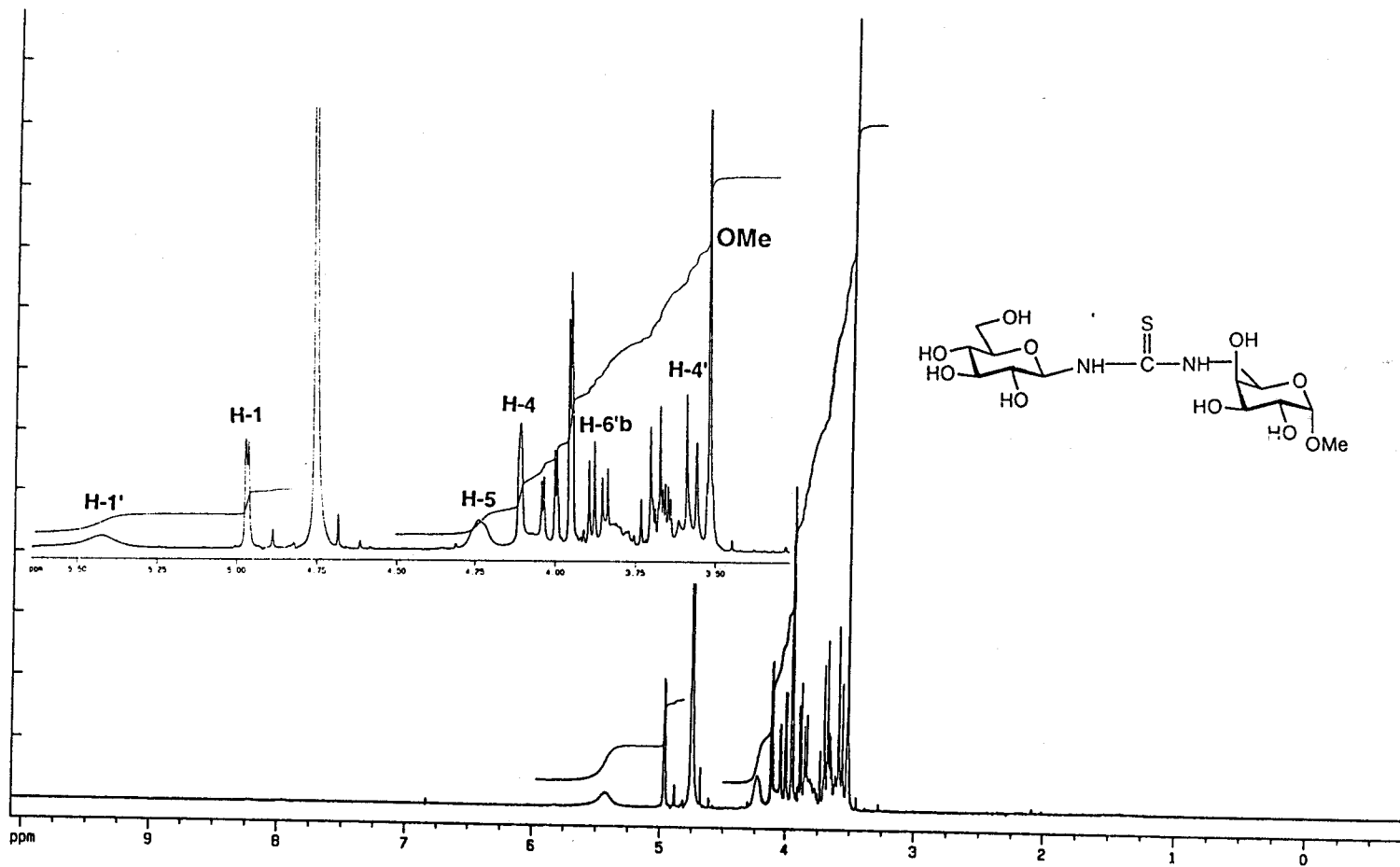


Figura 4. Espectro de ^1H RMN (300 MHz, D_2O , 313 K) de **8**.

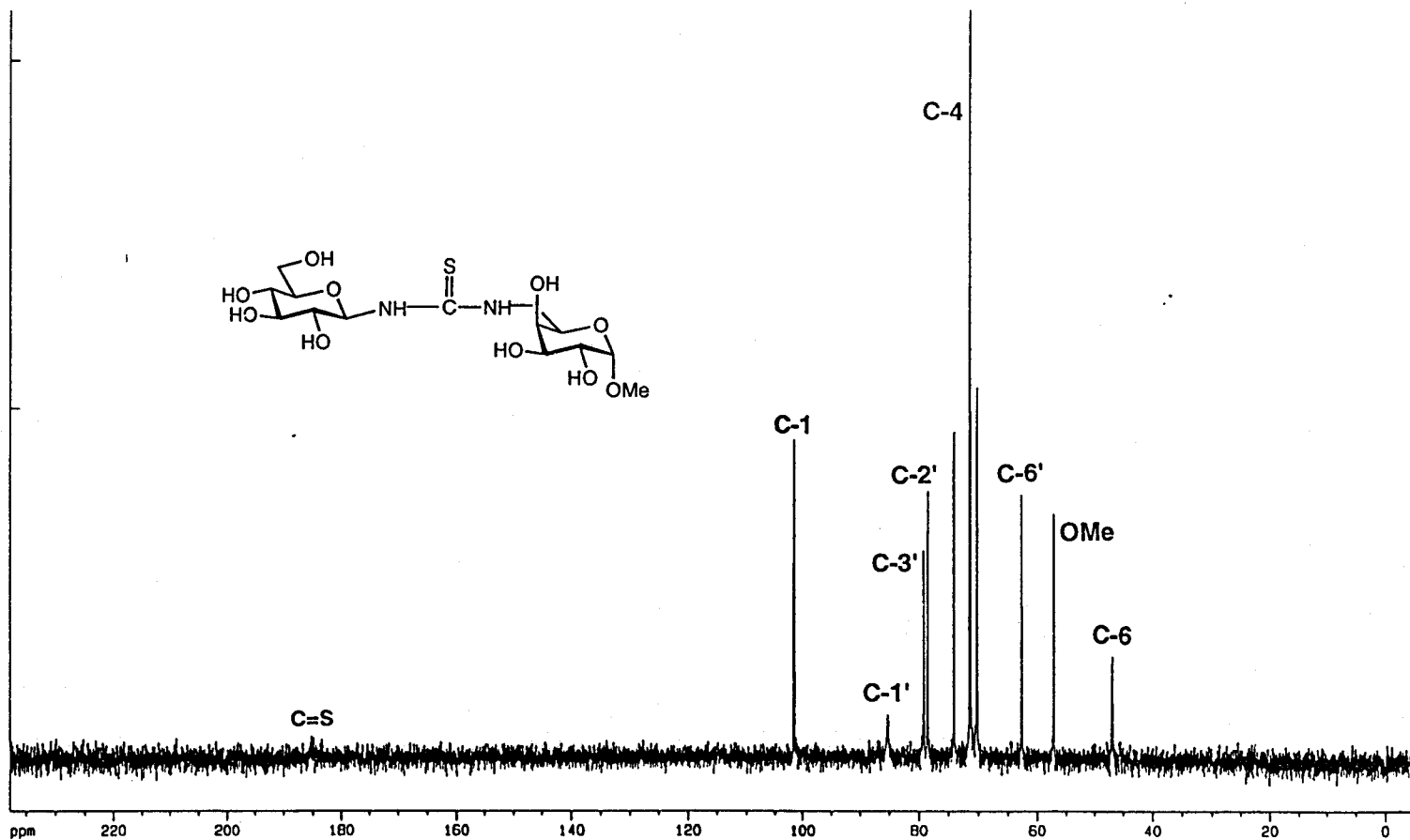


Figura 5. Espectro de ¹³C RMN (75.5 MHz, D₂O, 323 K) de 8.

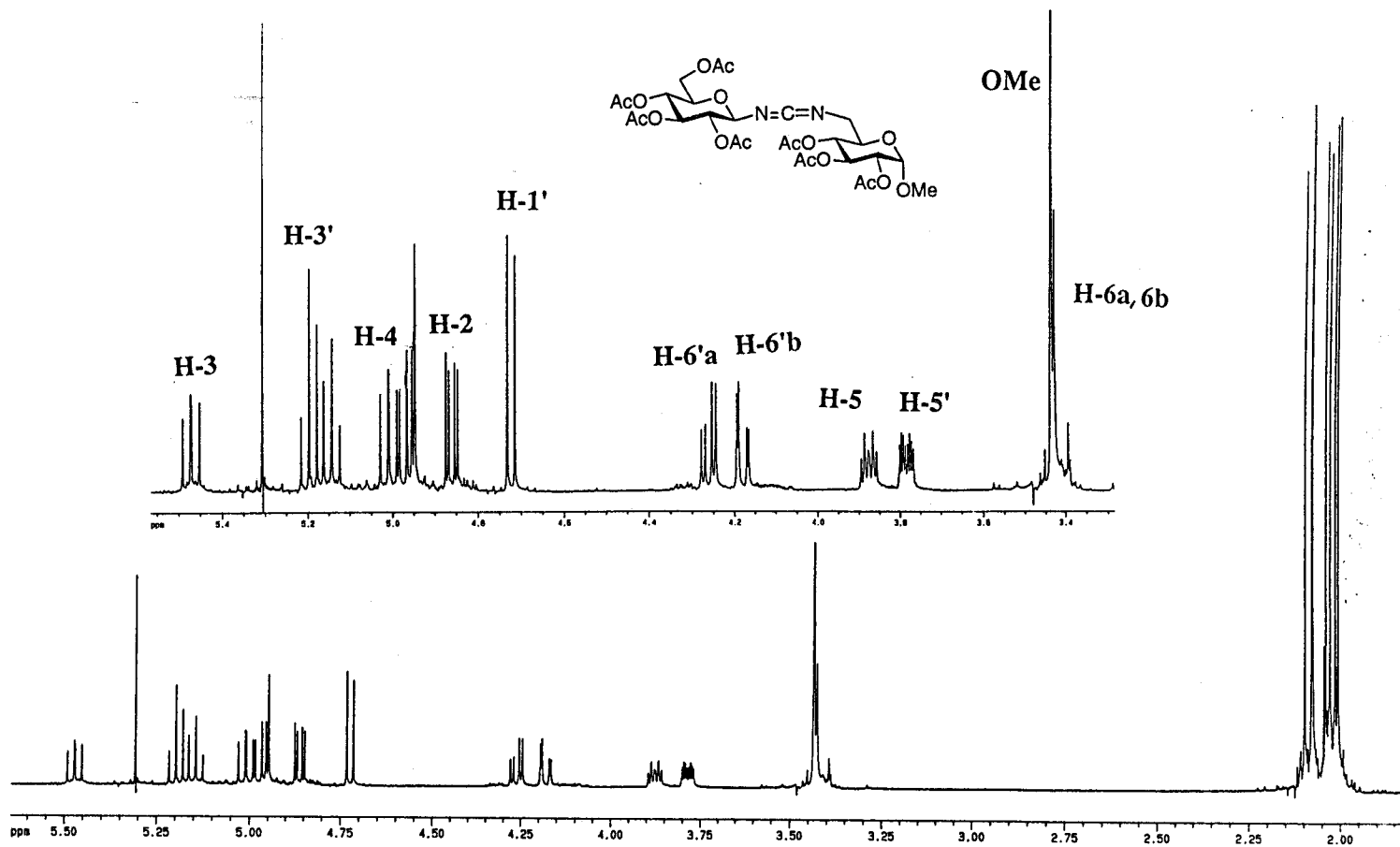


Figura 6. Espectro de ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) de 19.

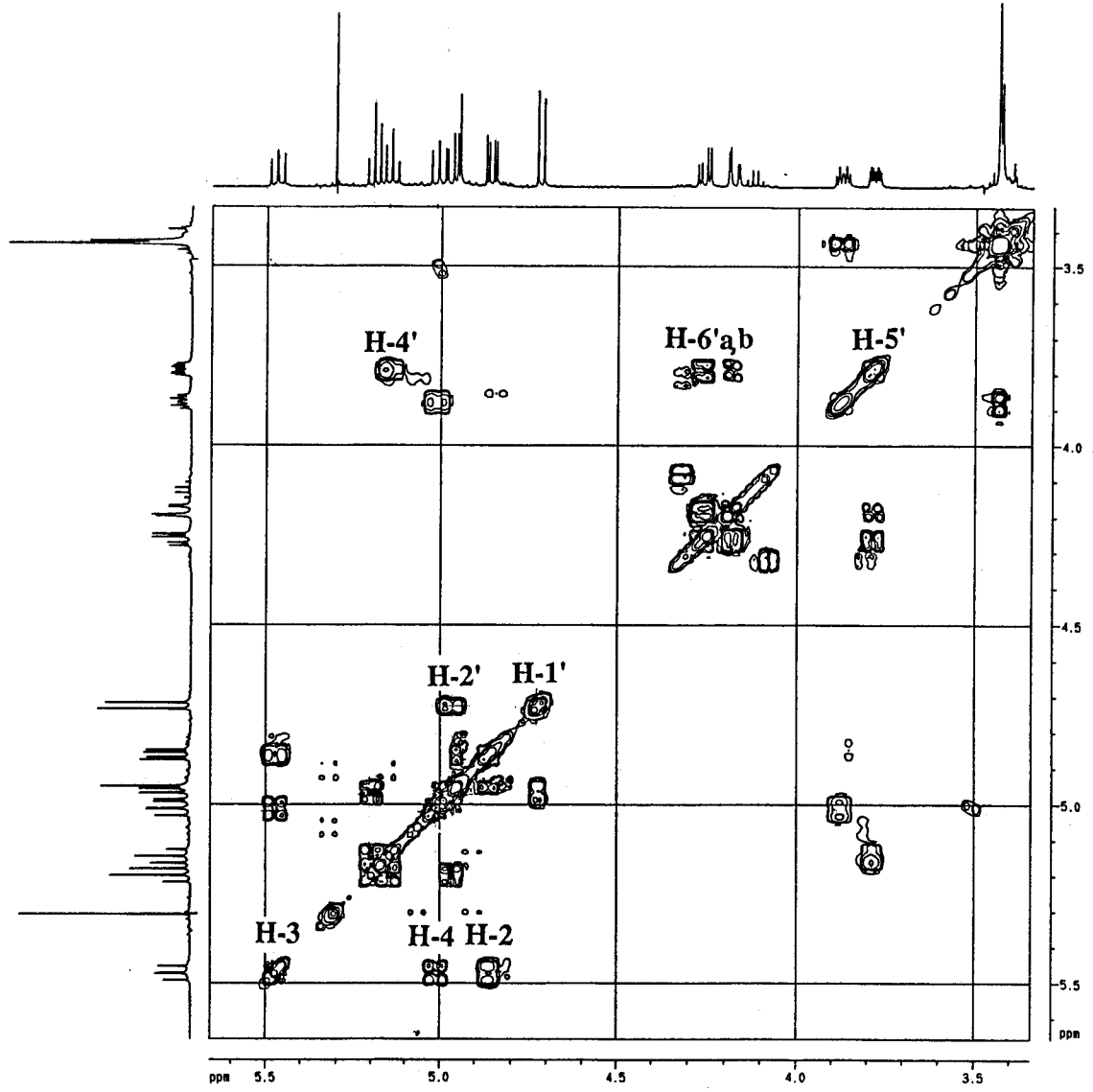
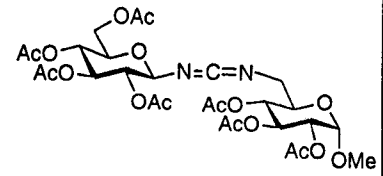


Figura 7. Espectro COSY (500 MHz, CDCl₃) de 19.



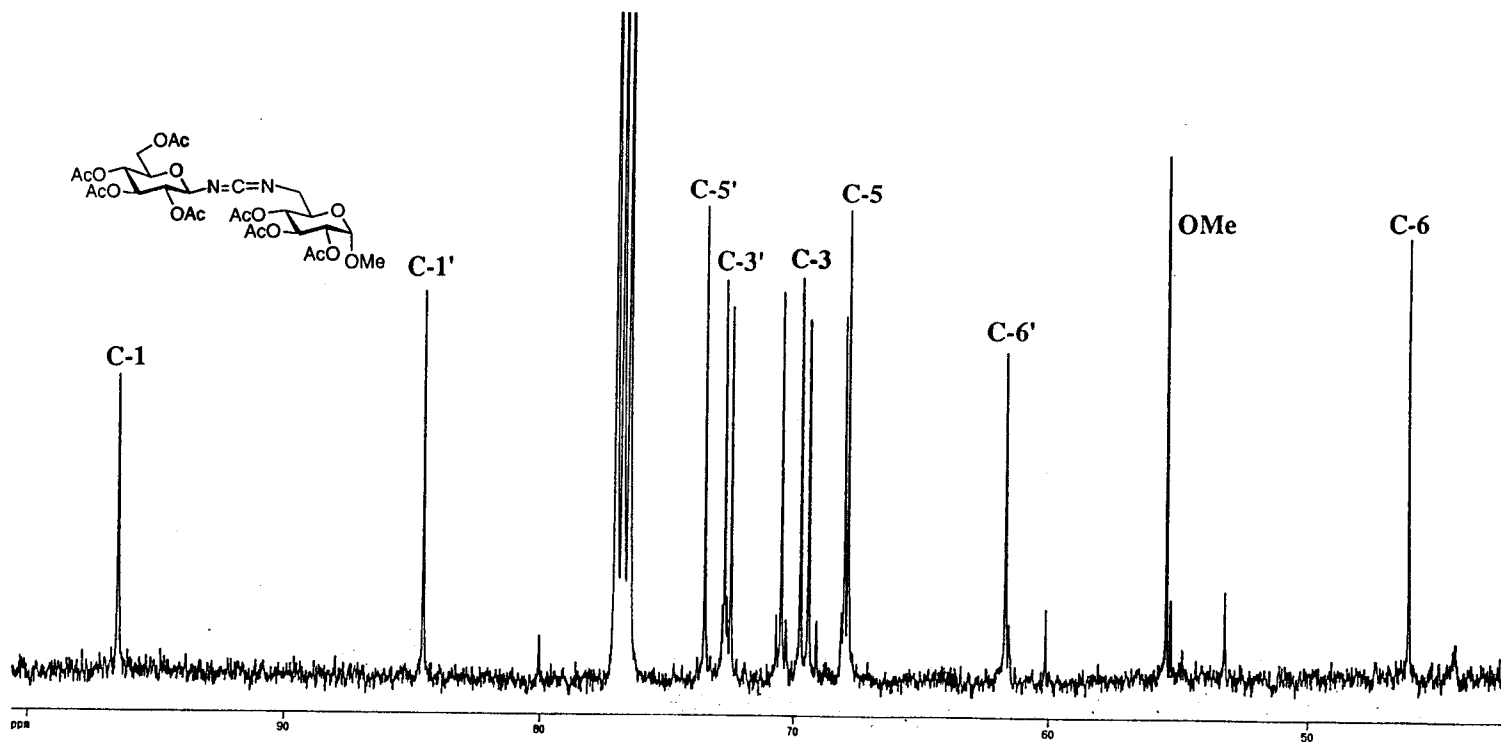


Figura 8. Espectro de ^{13}C RMN (125.5 MHz, CDCl_3) de 19.

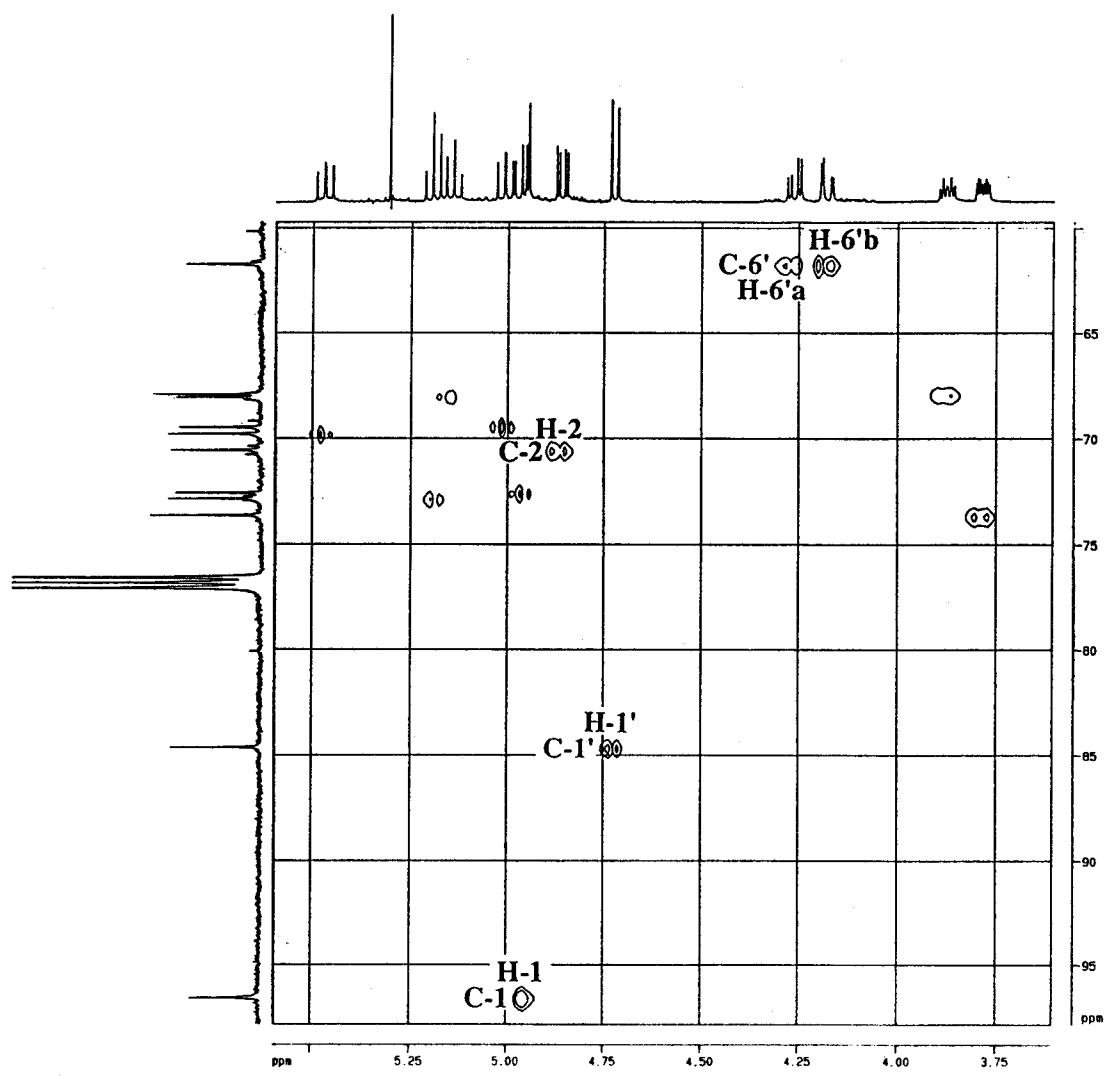
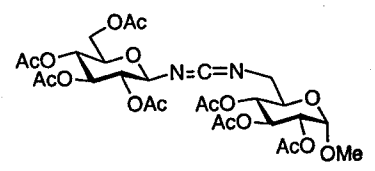


Figura 9. Espectro HETCOR (125.5 MHz, CDCl₃) de 19.



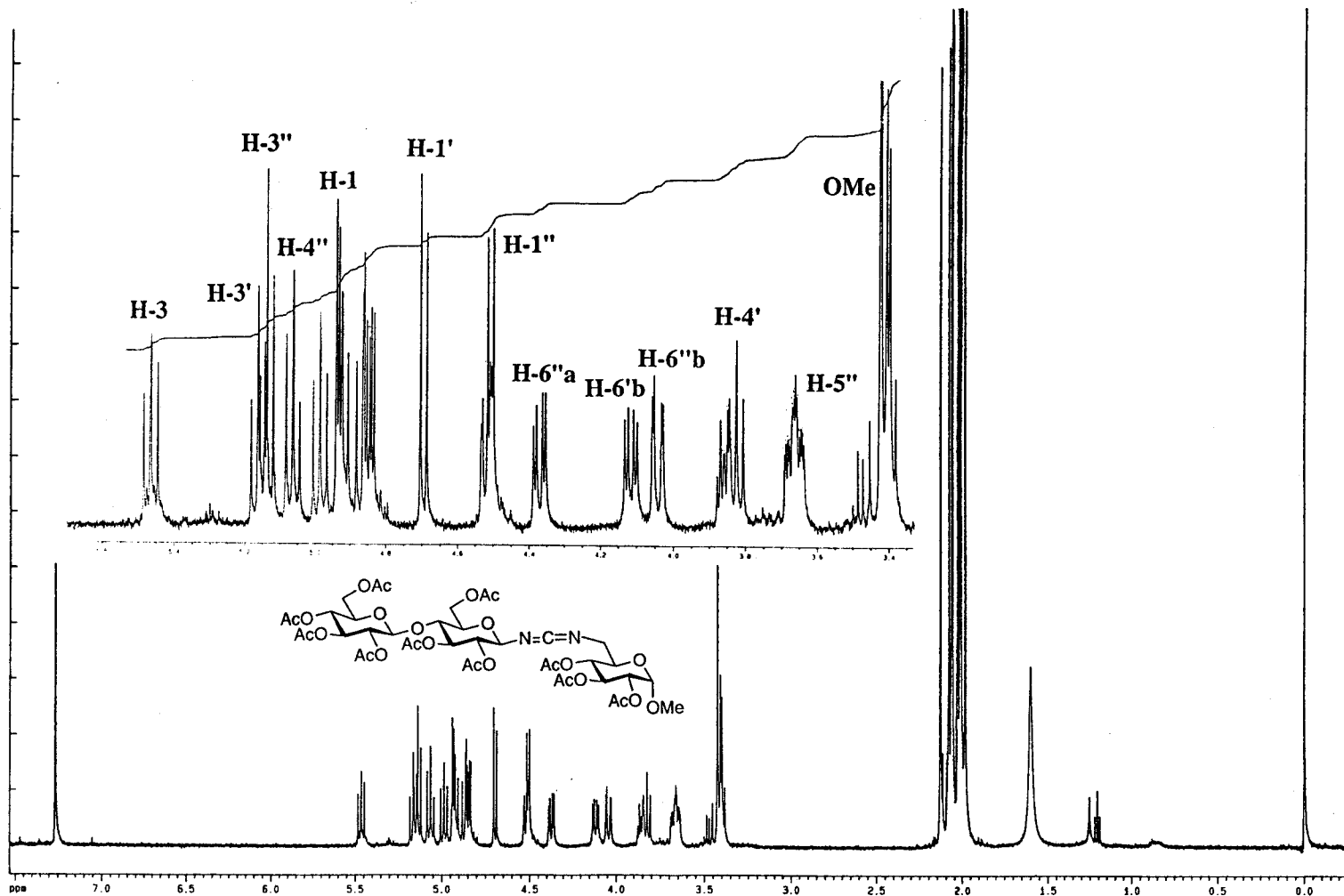


Figura 10. Espectro de ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) de 20.

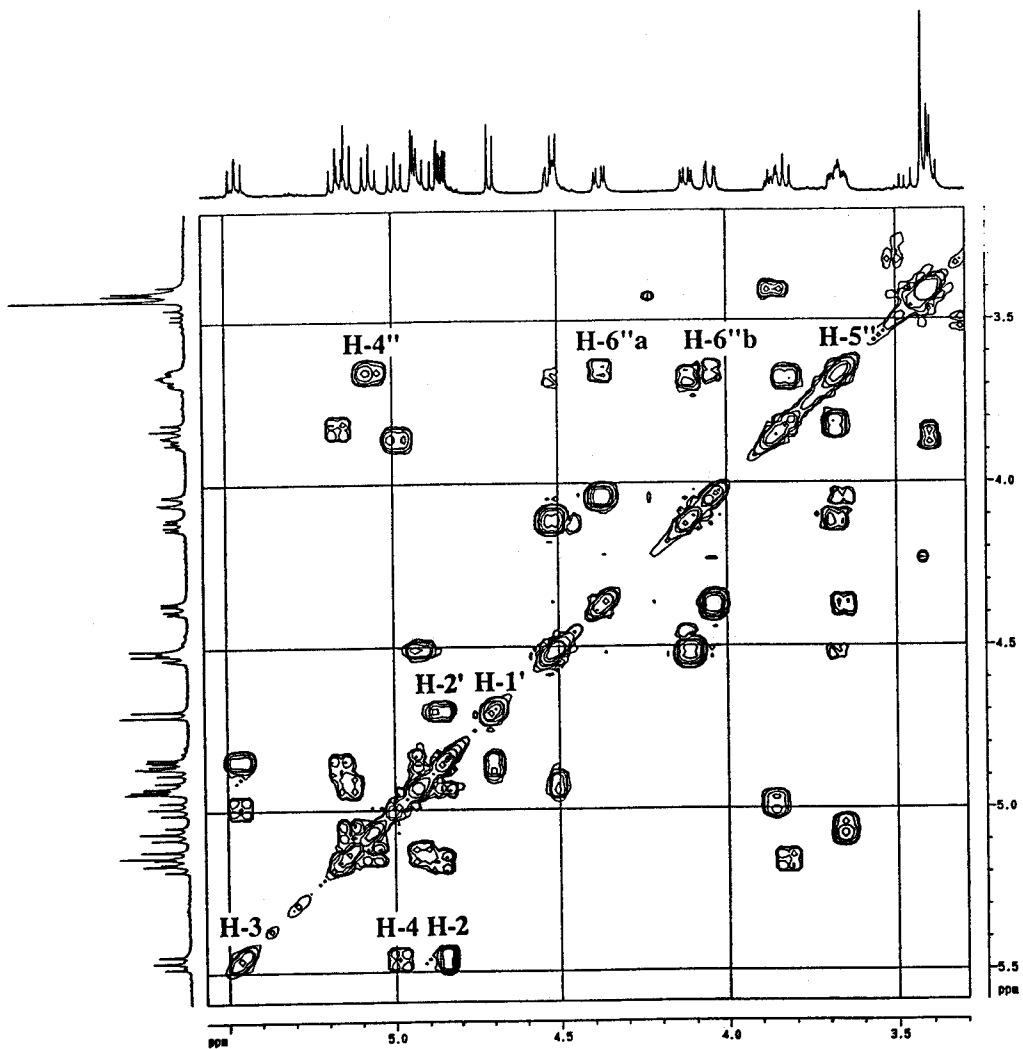
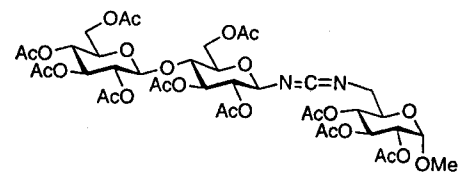


Figura 11. Espectro COSY (500 MHz, CDCl_3) de 20.



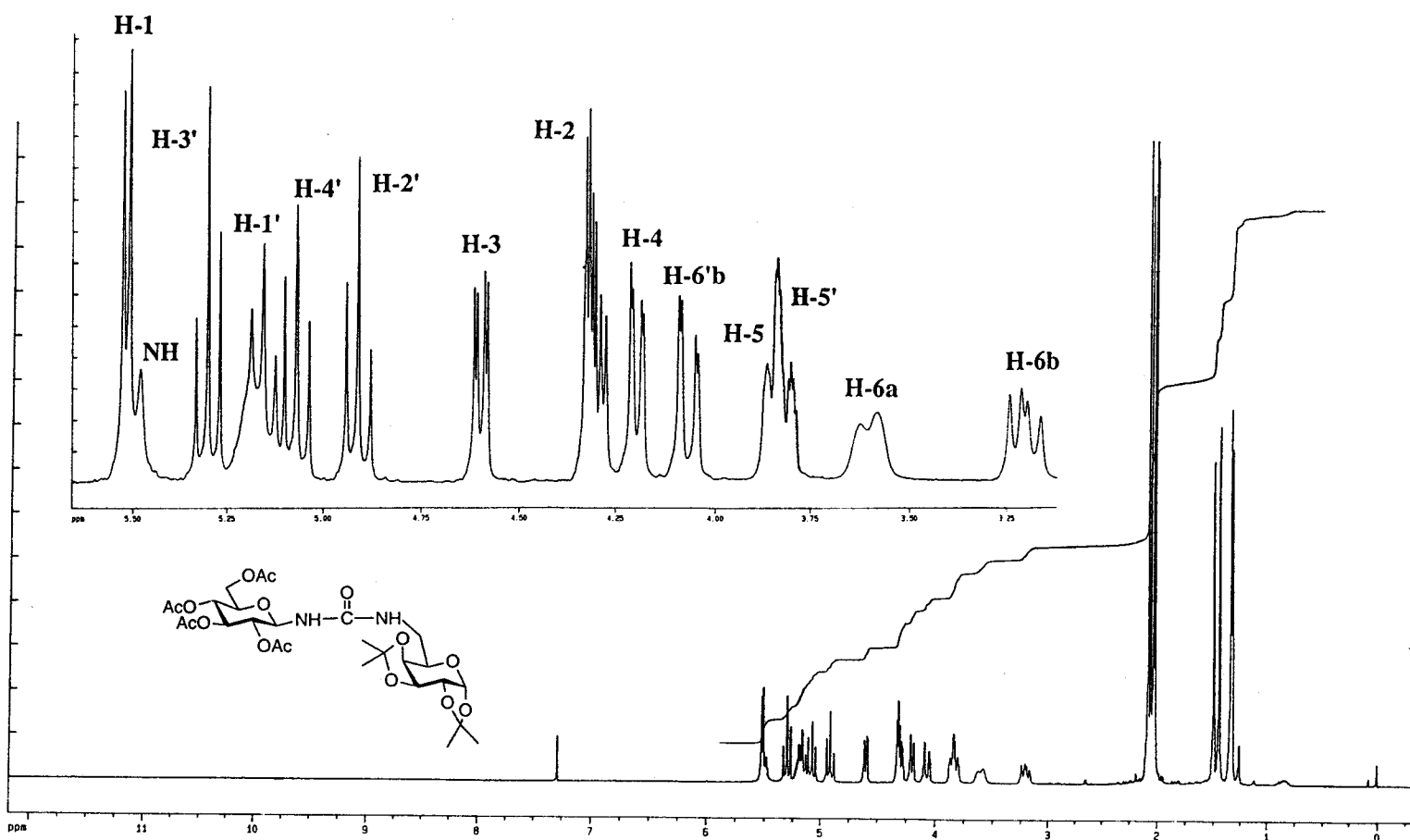


Figura 12. Espectro de ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) de 23.

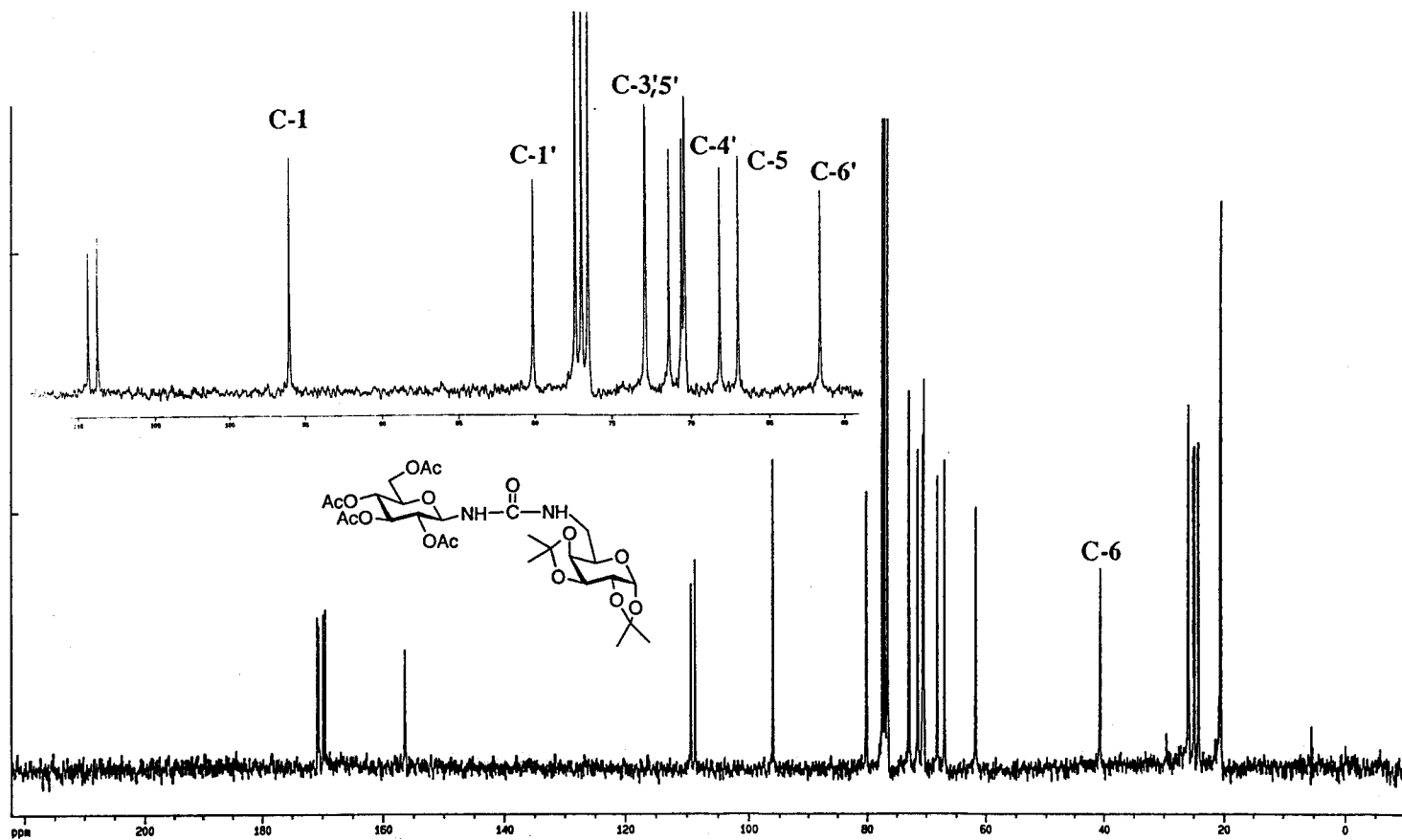


Figura 13. Espectro de ^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3) de 23.

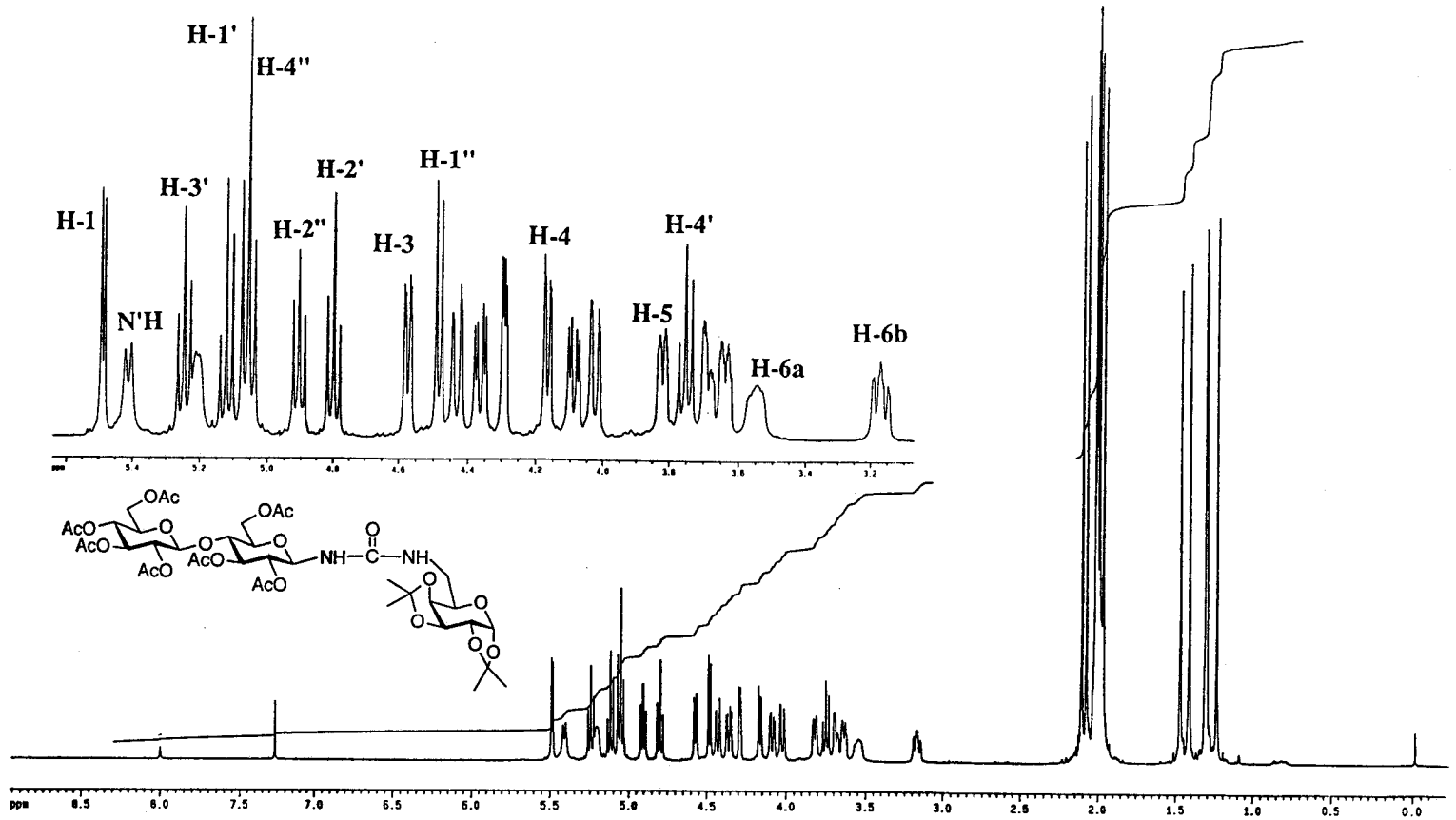


Figura 14. Espectro de ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) de 24.

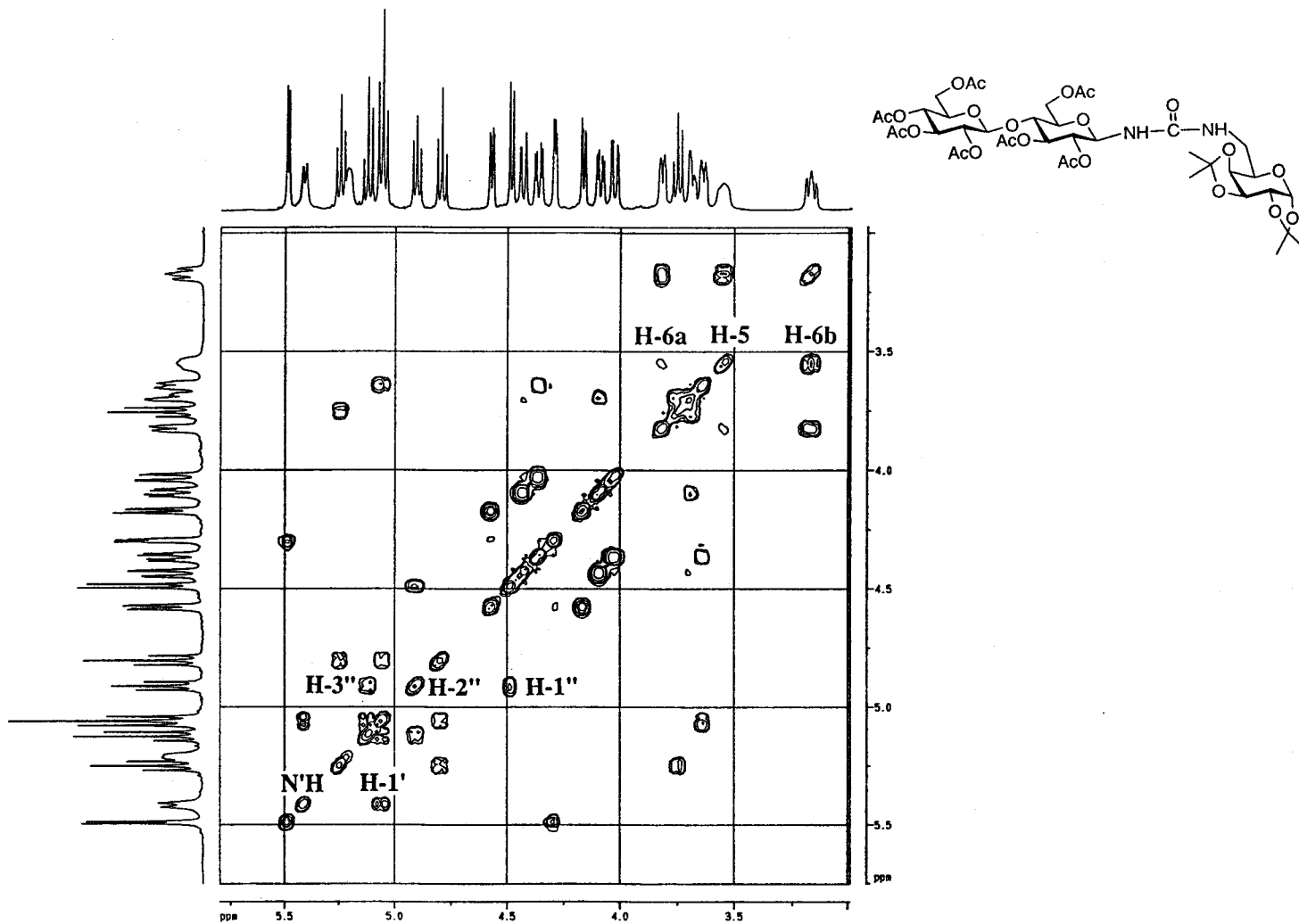


Figura 15. Espectro COSY (500 MHz, CDCl₃) de 24.

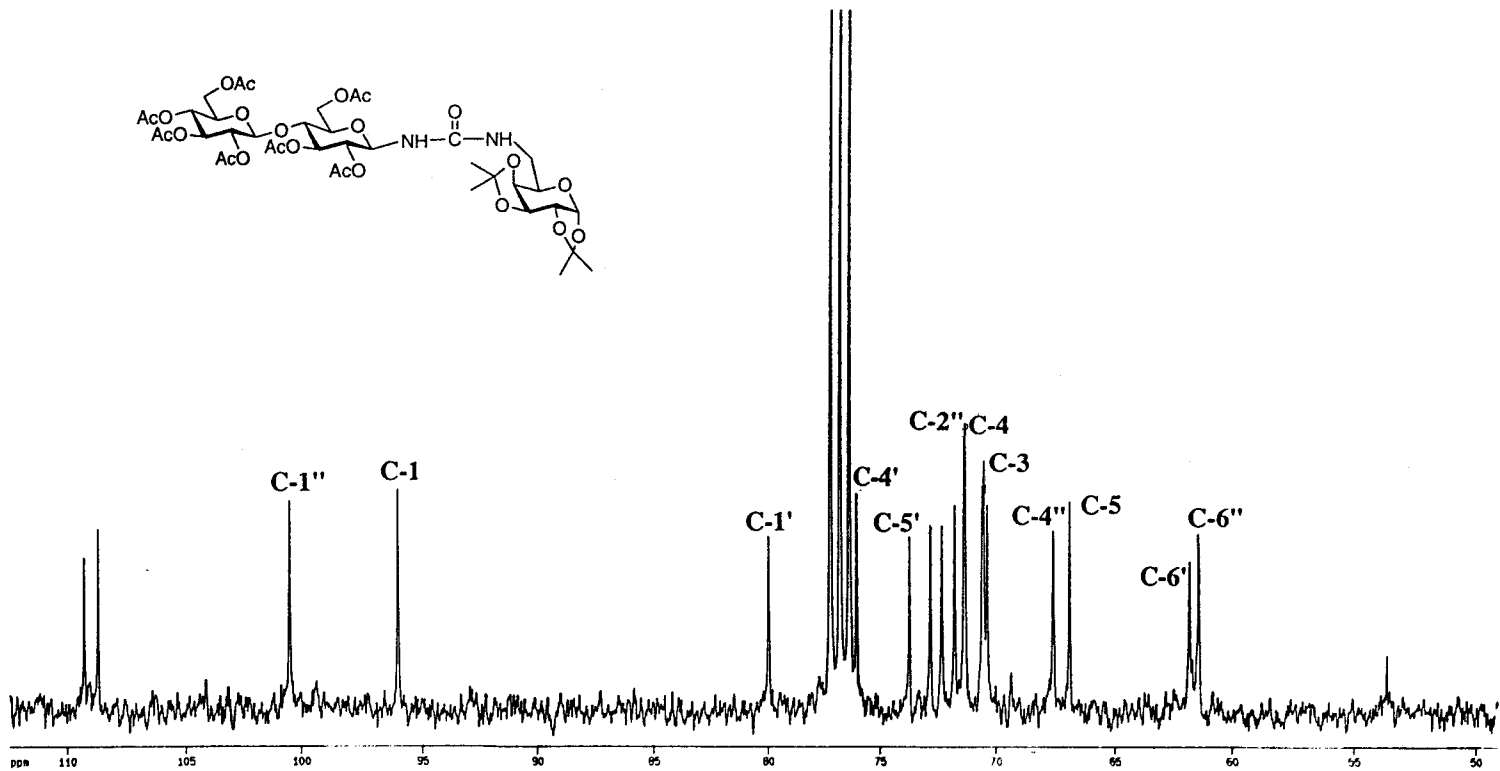


Figura 16. Espectro de ^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3) de 24.

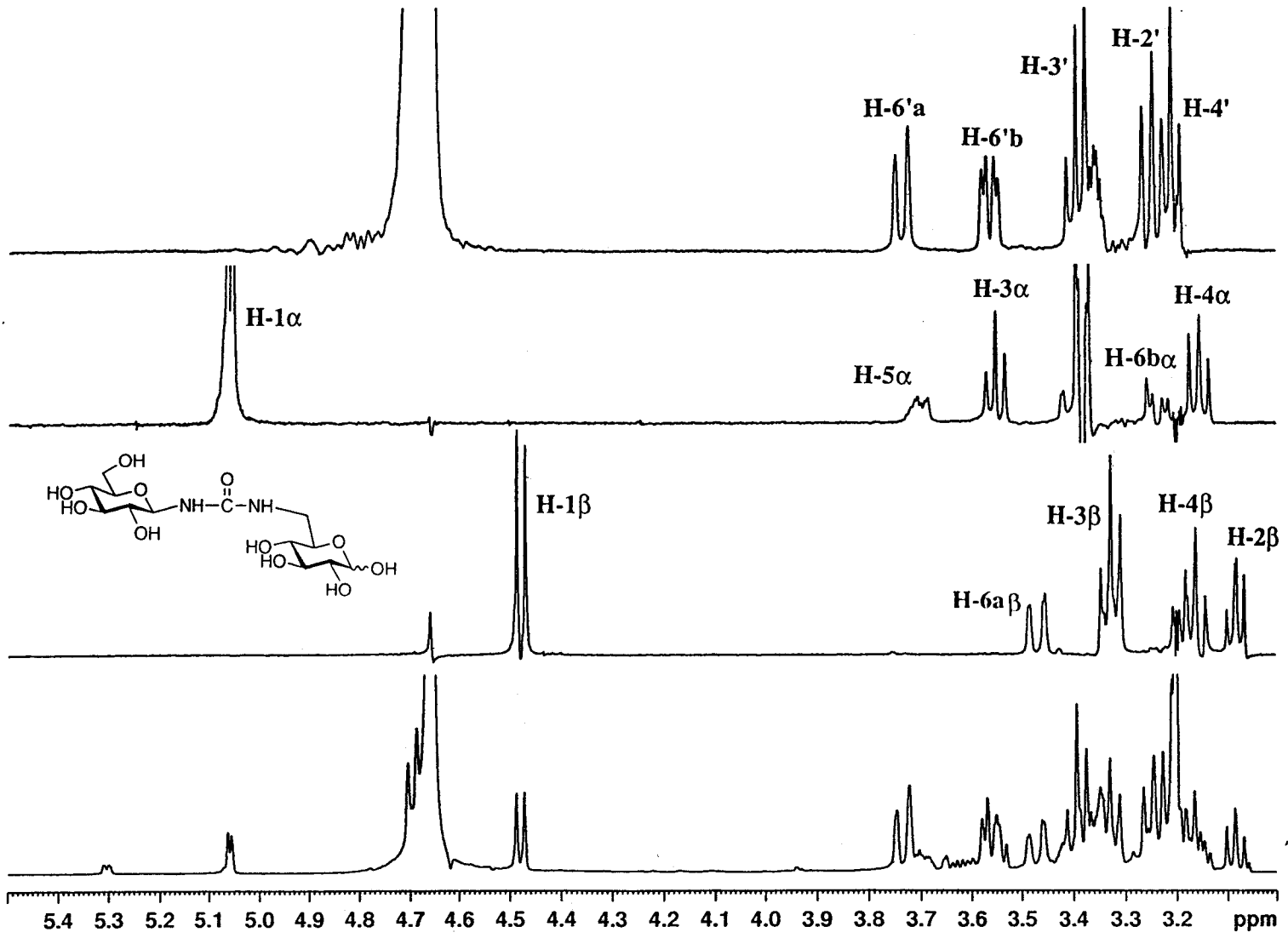


Figura 17. Espectro de ^1H RMN y TOCSY 1D (500 MHz, D_2O) de 35.

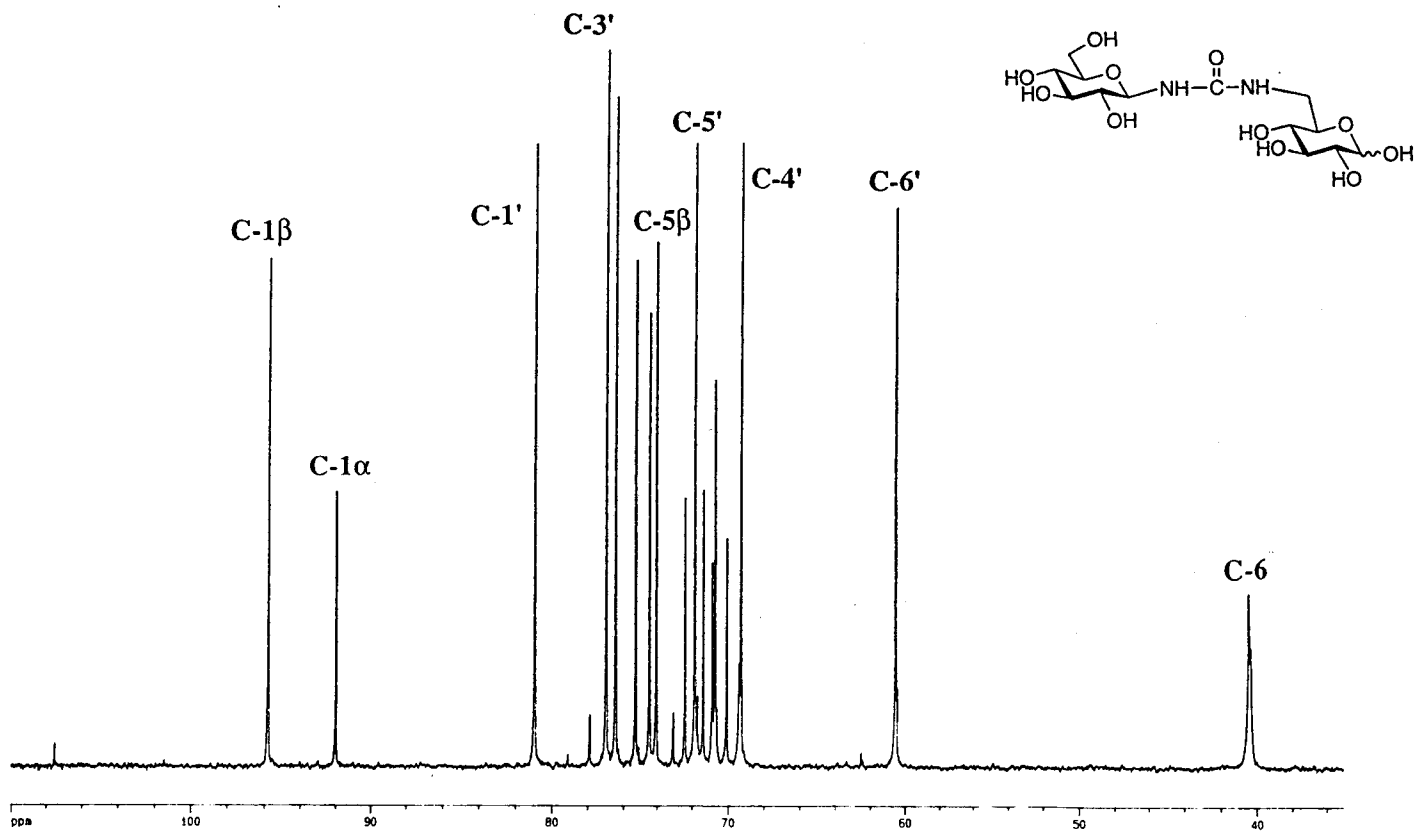


Figura 18. Espectro de ^{13}C RMN (100.6 MHz, D_2O) de 35.

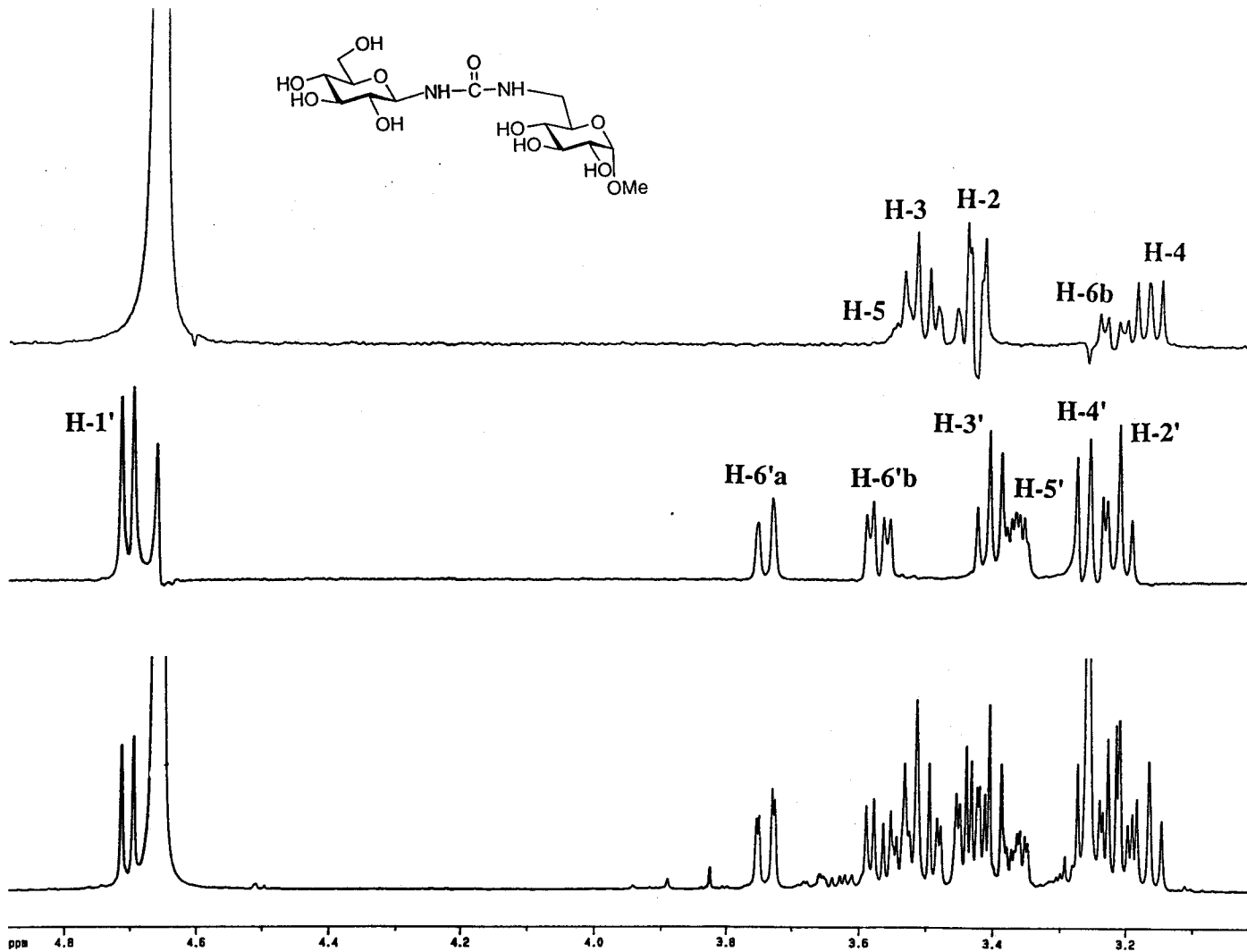


Figura 19. Espectro de ^1H RMN y TOCSY 1D (500 MHz, D_2O) de 38.

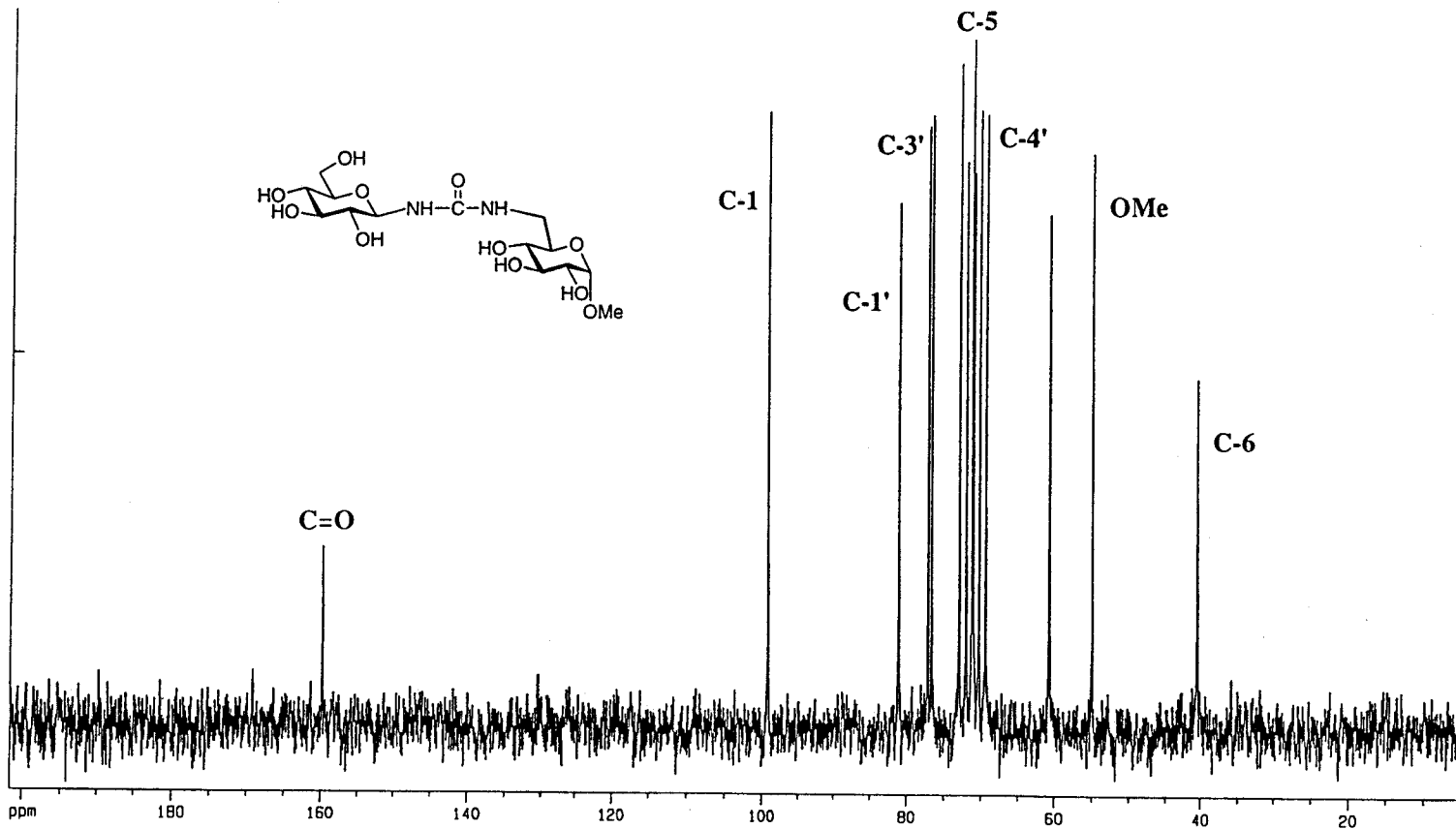


Figura 20. Espectro de ^{13}C RMN (75.5 MHz, D_2O) de 38.

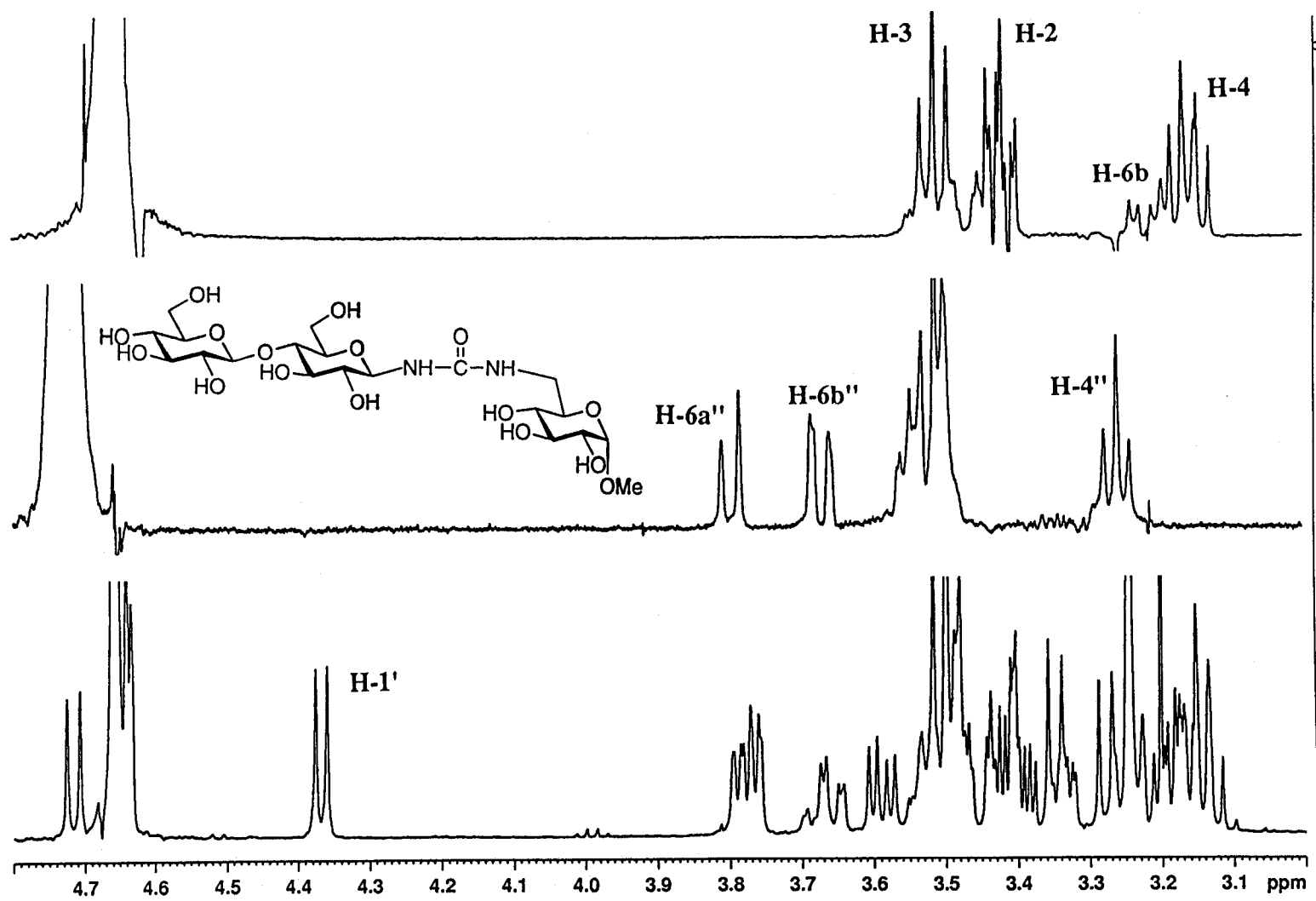


Figura 21. Espectro de ^1H RMN y TOCSY 1D (500 MHz, D_2O) de 39.

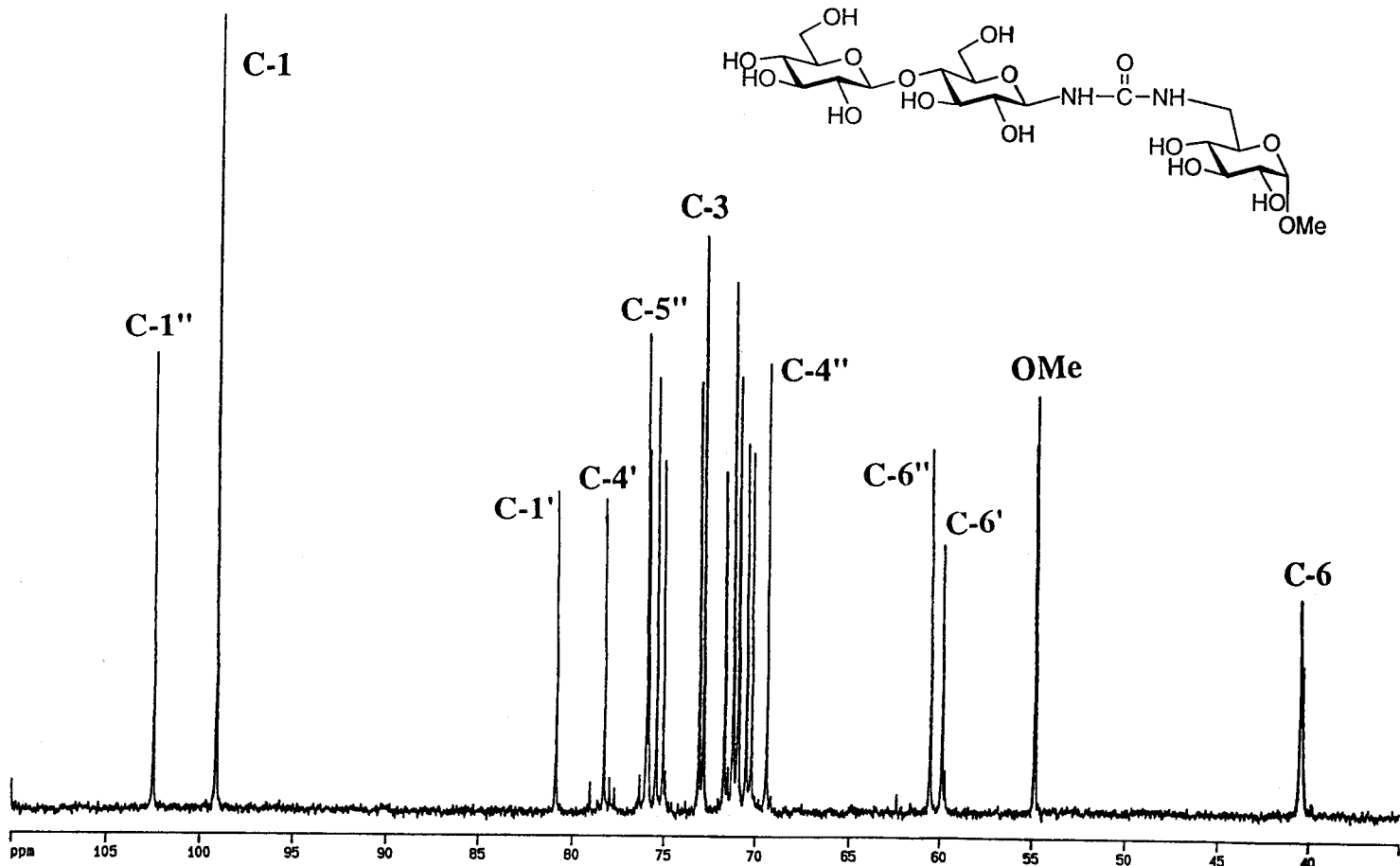


Figura 22. Espectro de ^{13}C RMN (125.5 MHz, D_2O) de 39.

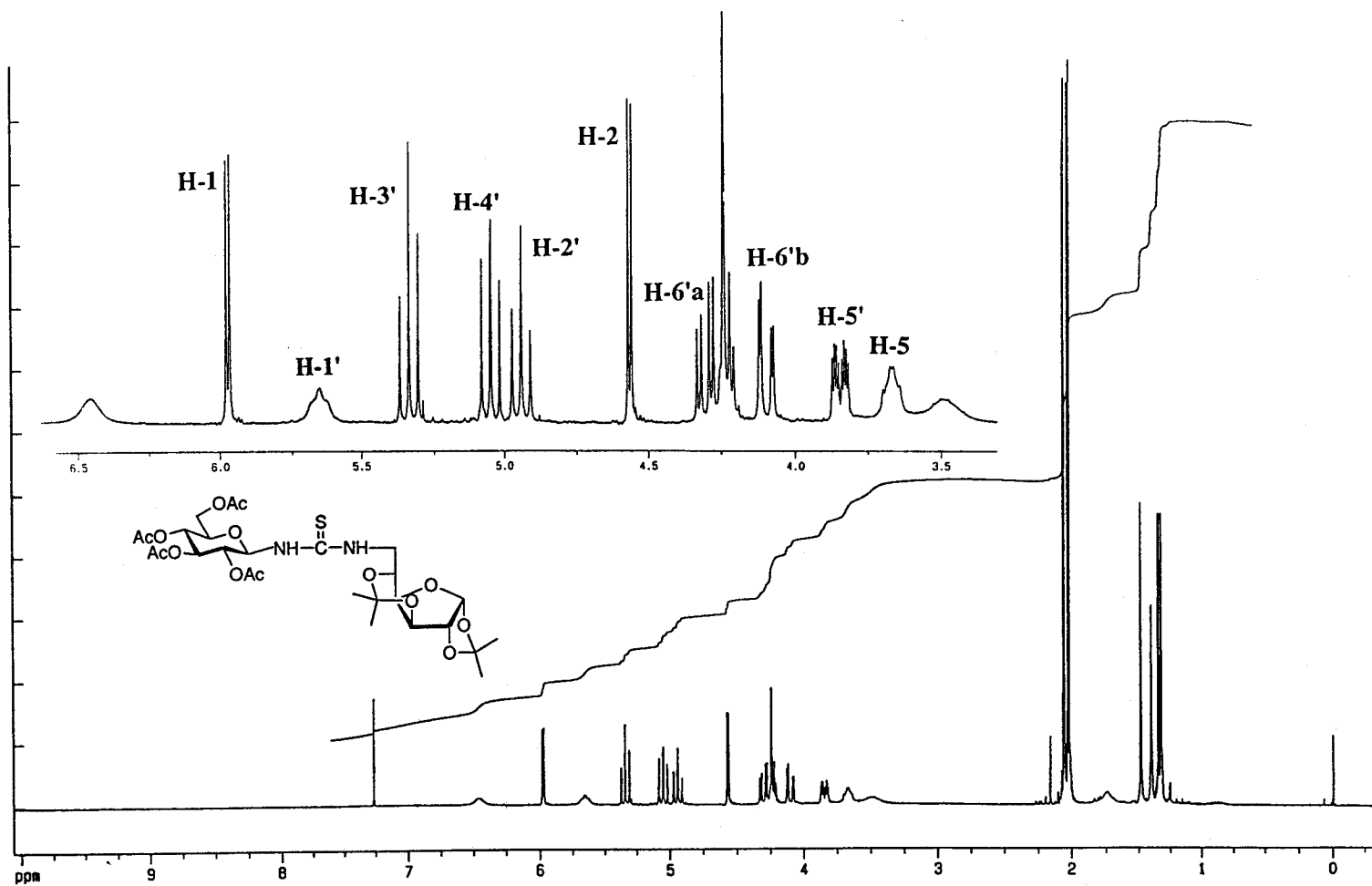


Figura 23. Espectro de ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3 , 313 K) de 43.

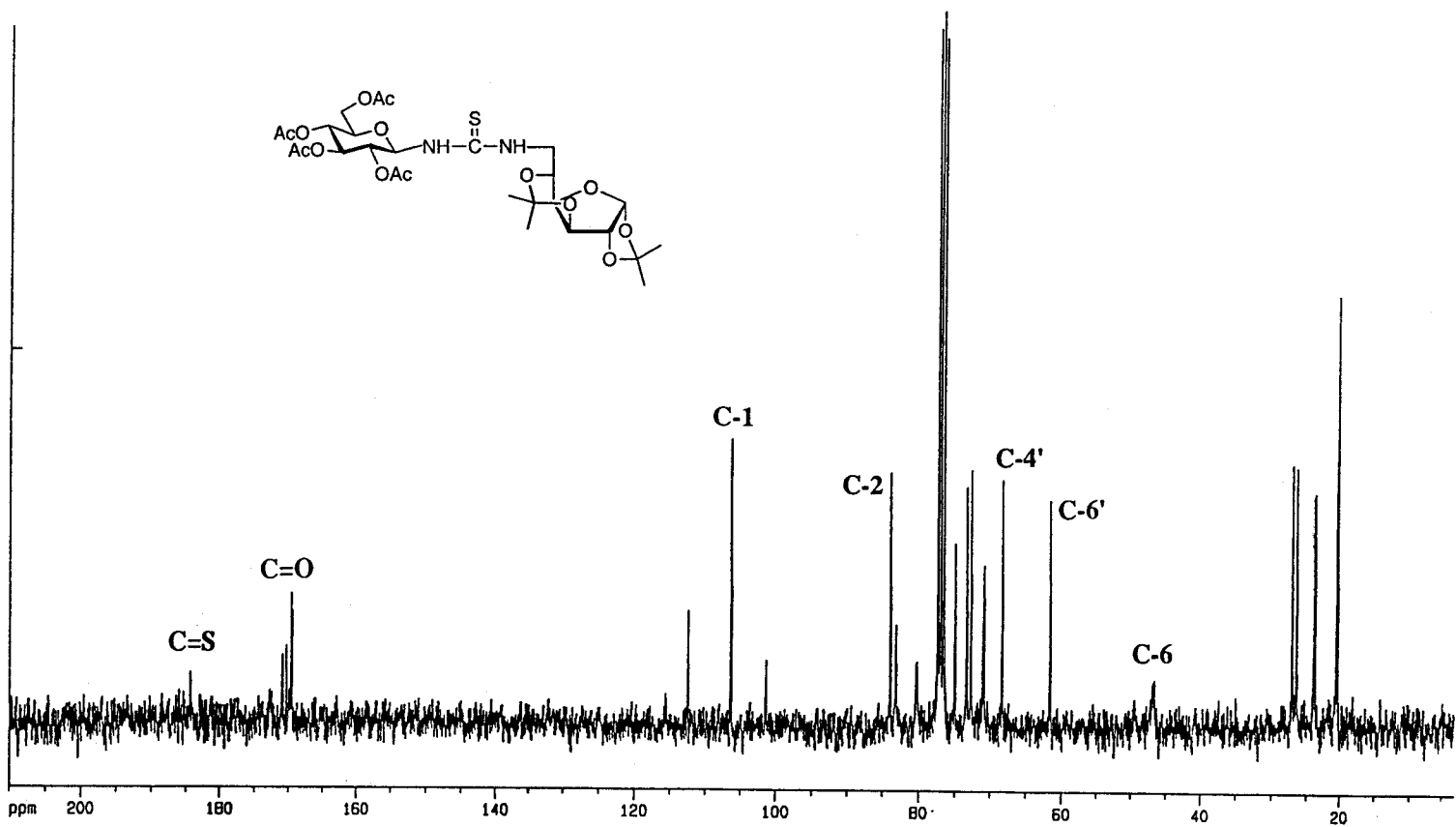


Figura 24. Espectro de ^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3 , 313 K) de 43.

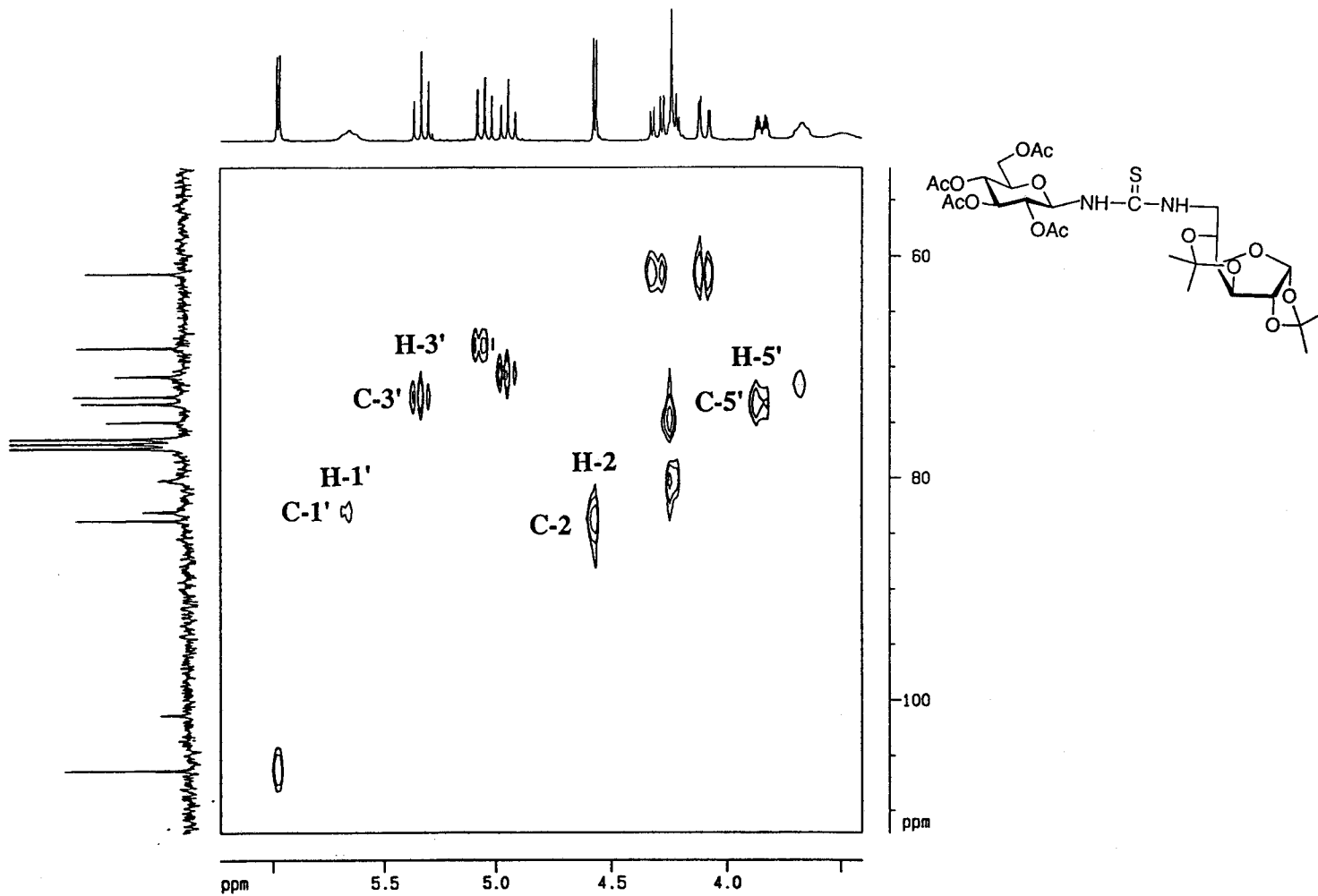


Figura 25. Espectro HETCOR (75.5 MHz, CDCl_3 , 313 K) de 43.

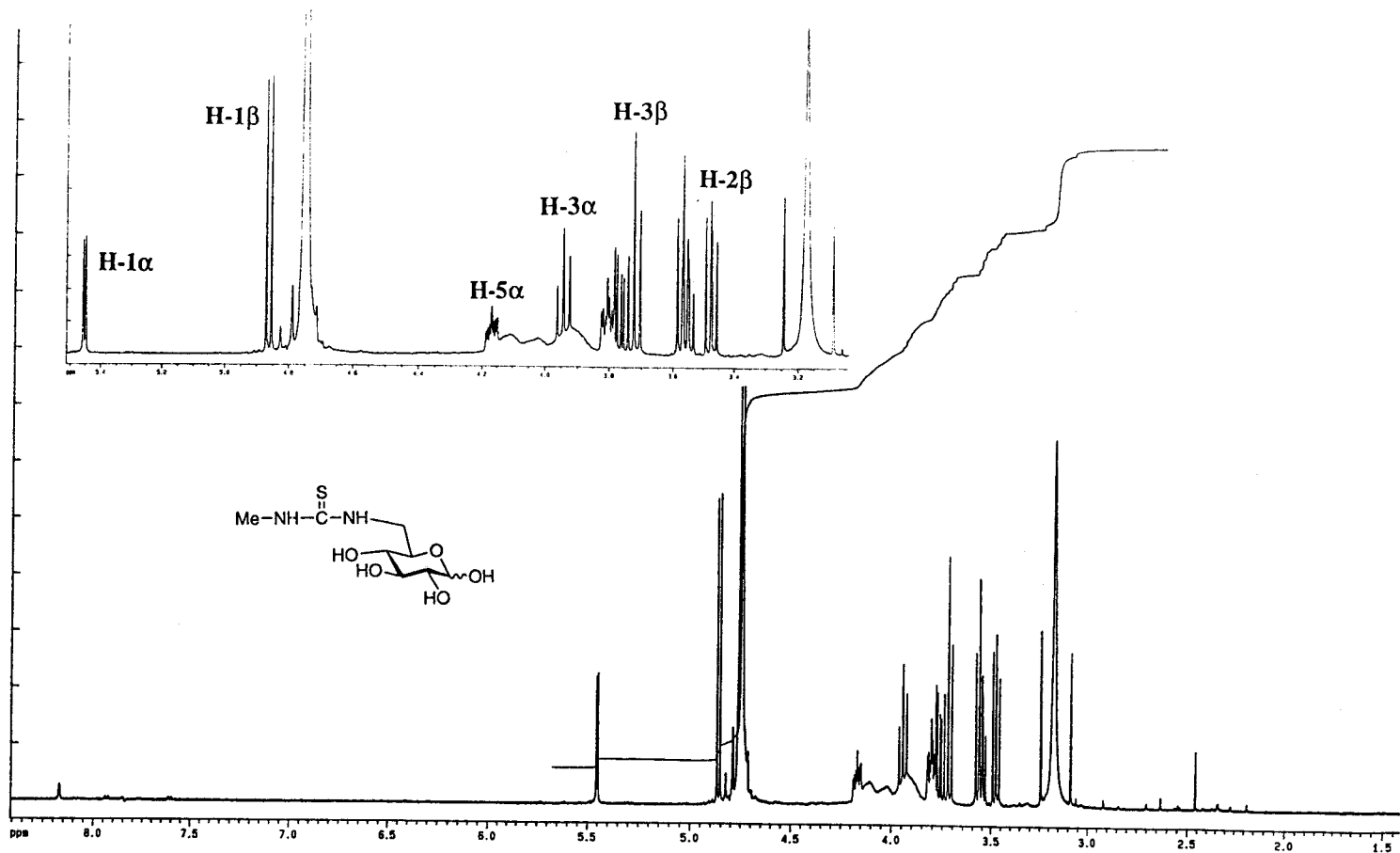


Figura 26. Espectro de ^1H RMN (300 MHz, D_2O , 313 K) de 47.

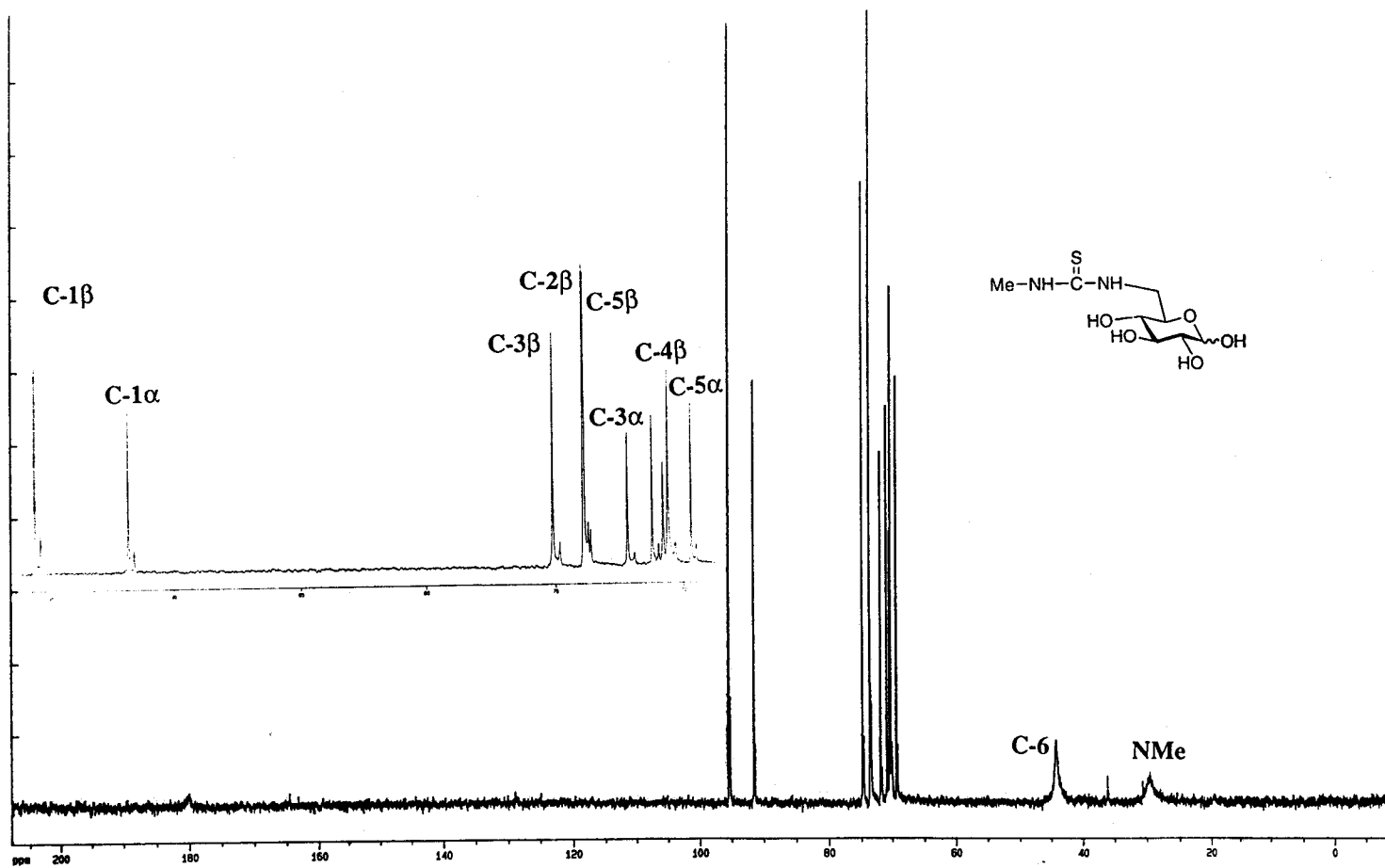


Figura 27. Espectro de ^{13}C RMN (125.5 MHz, D_2O , 313 K) de 47.

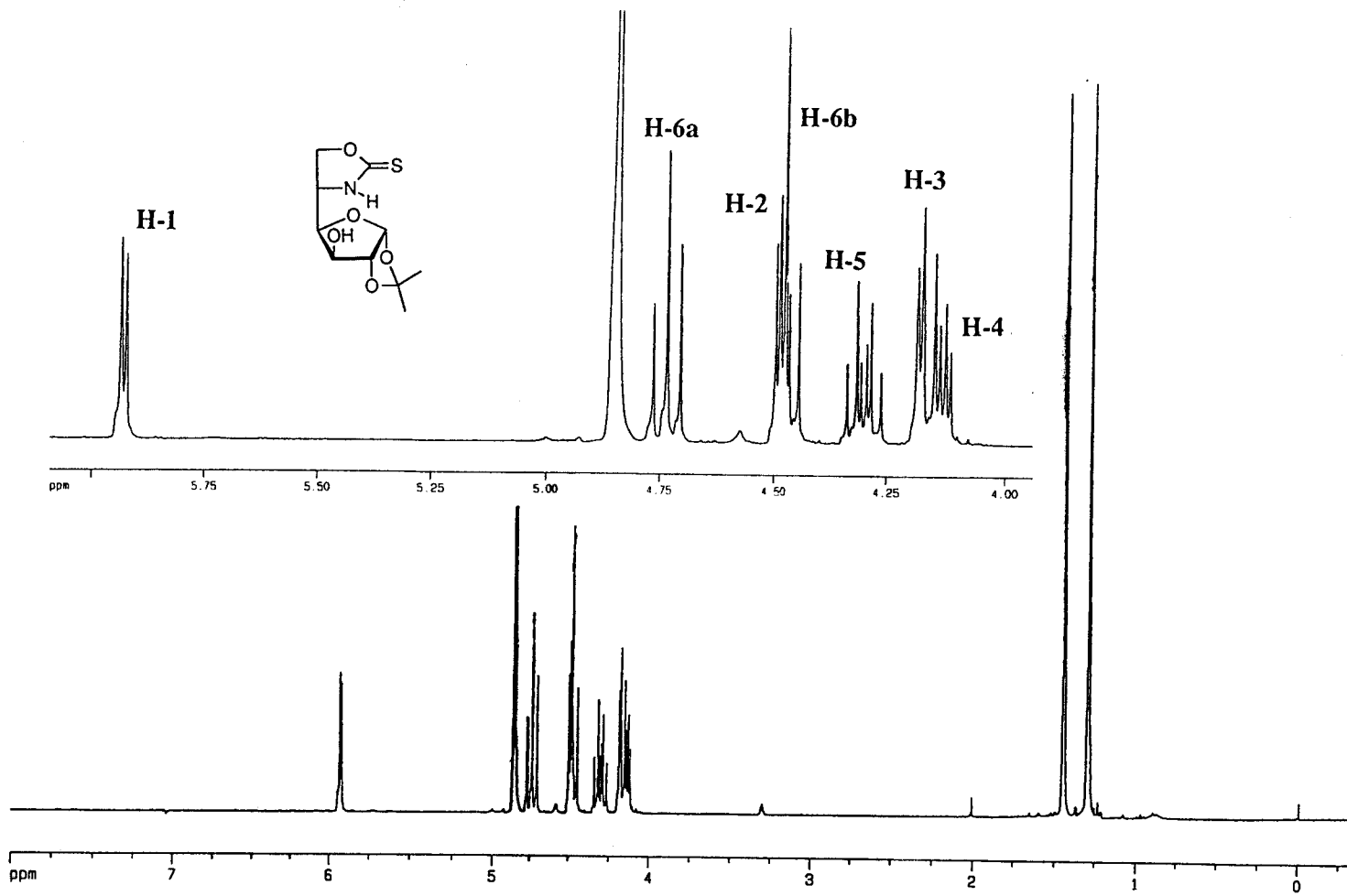


Figura 28. Espectro de ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) de 51.

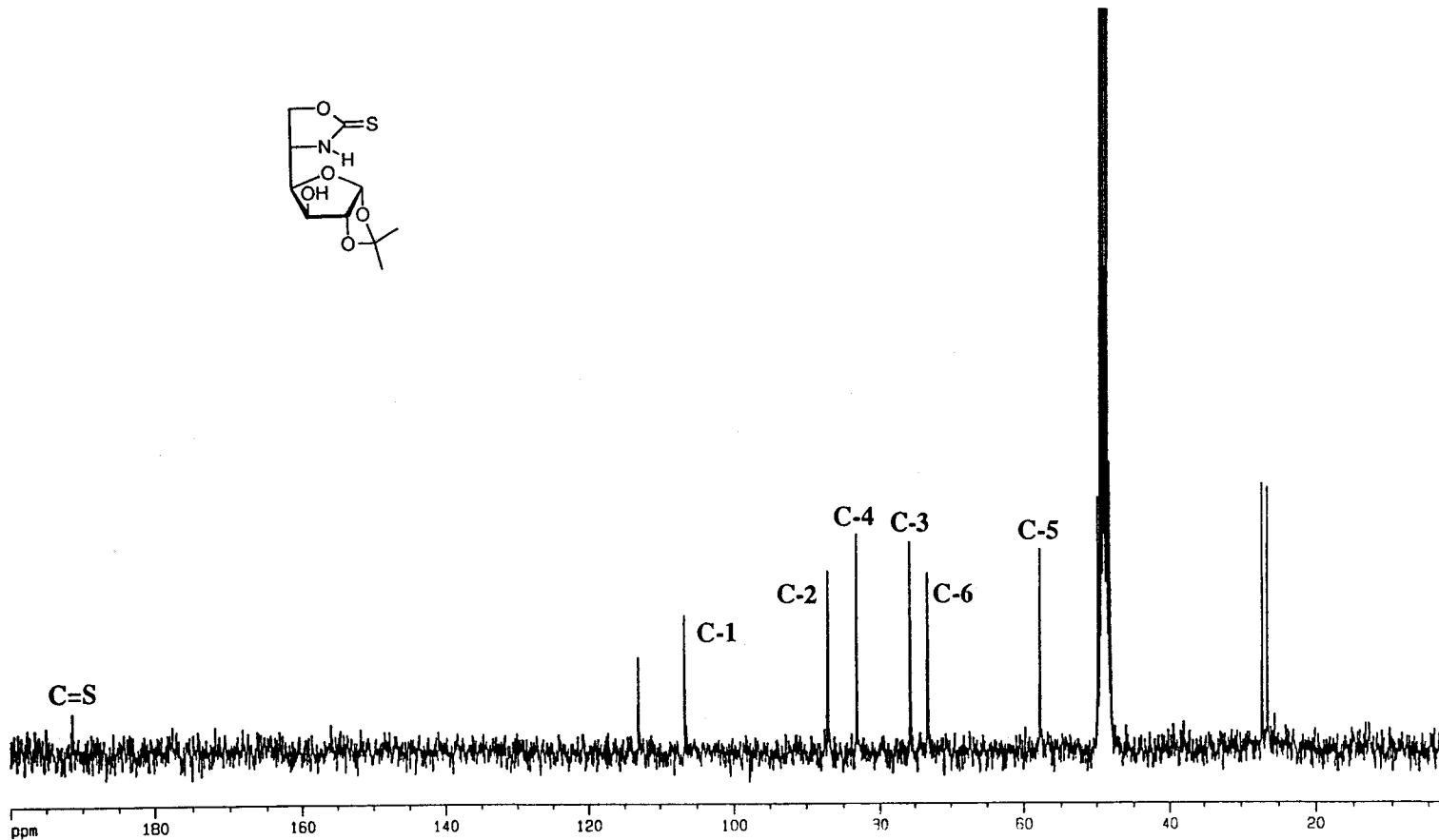


Figura 29. Espectro de ^{13}C RMN (75.5 MHz, CD_3OD) de 51.

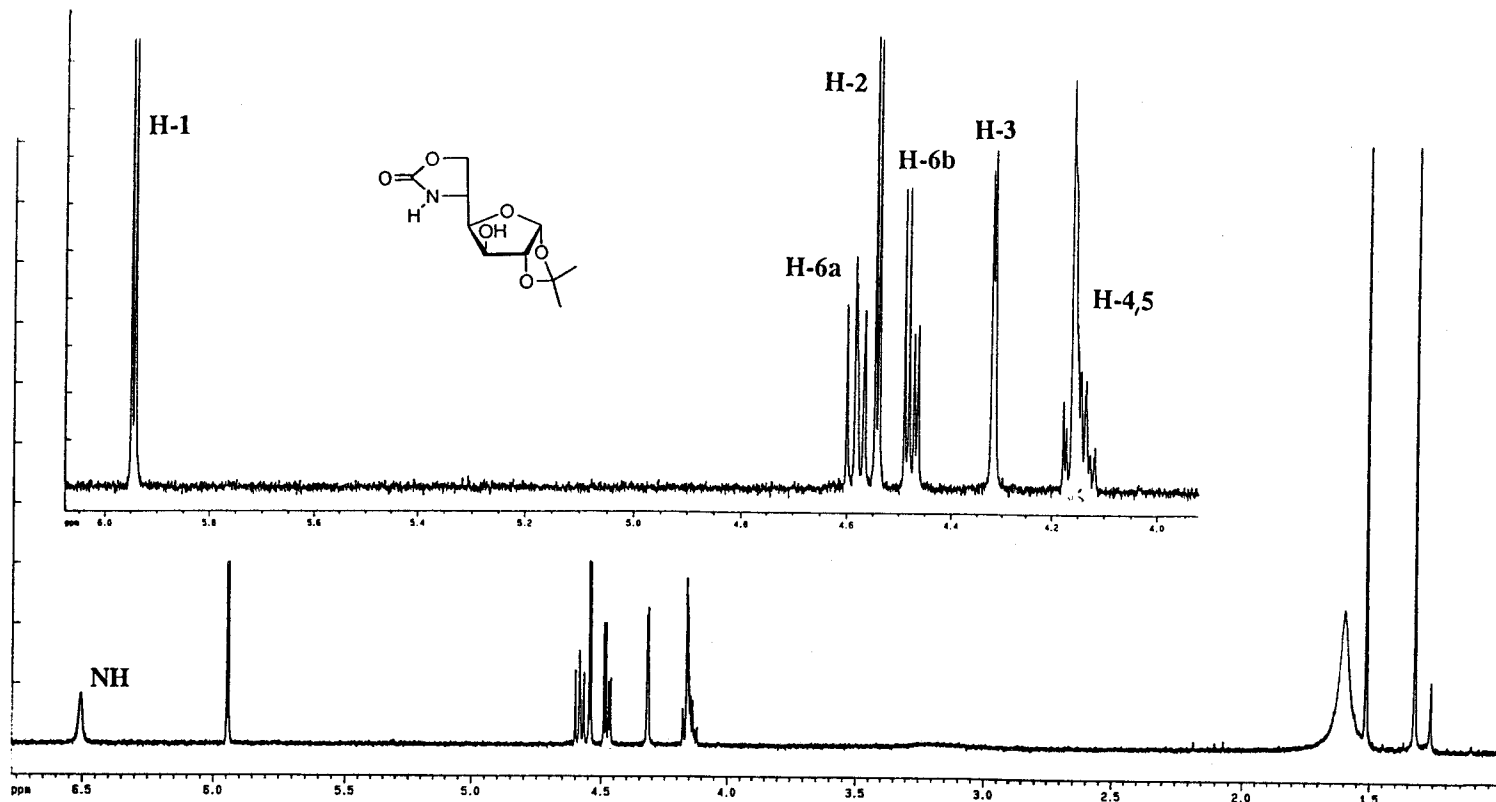


Figura 30. Espectro de ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) de 53.

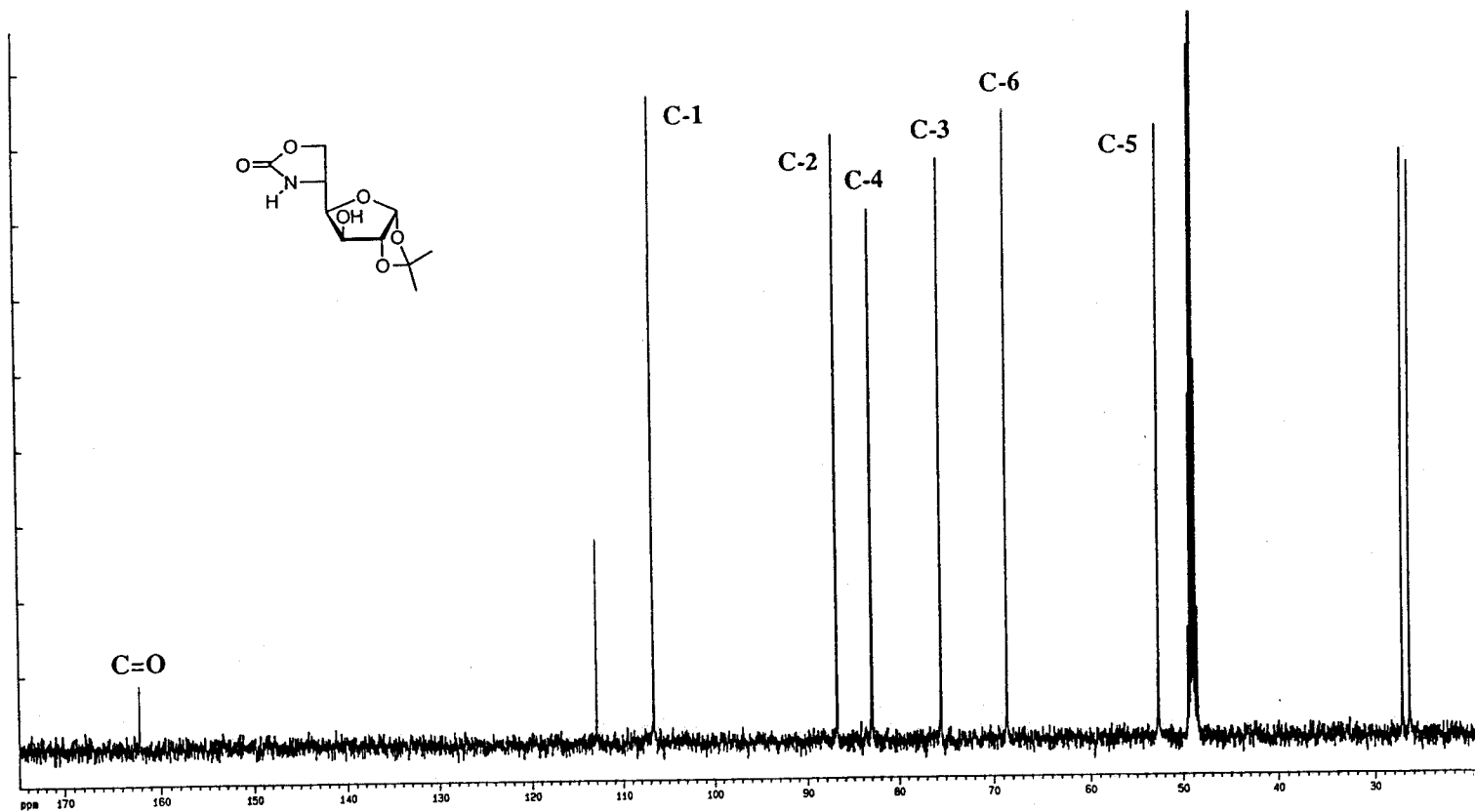


Figura 31. Espectro de ^{13}C RMN (125.5 MHz, CD_3OD) de 53.

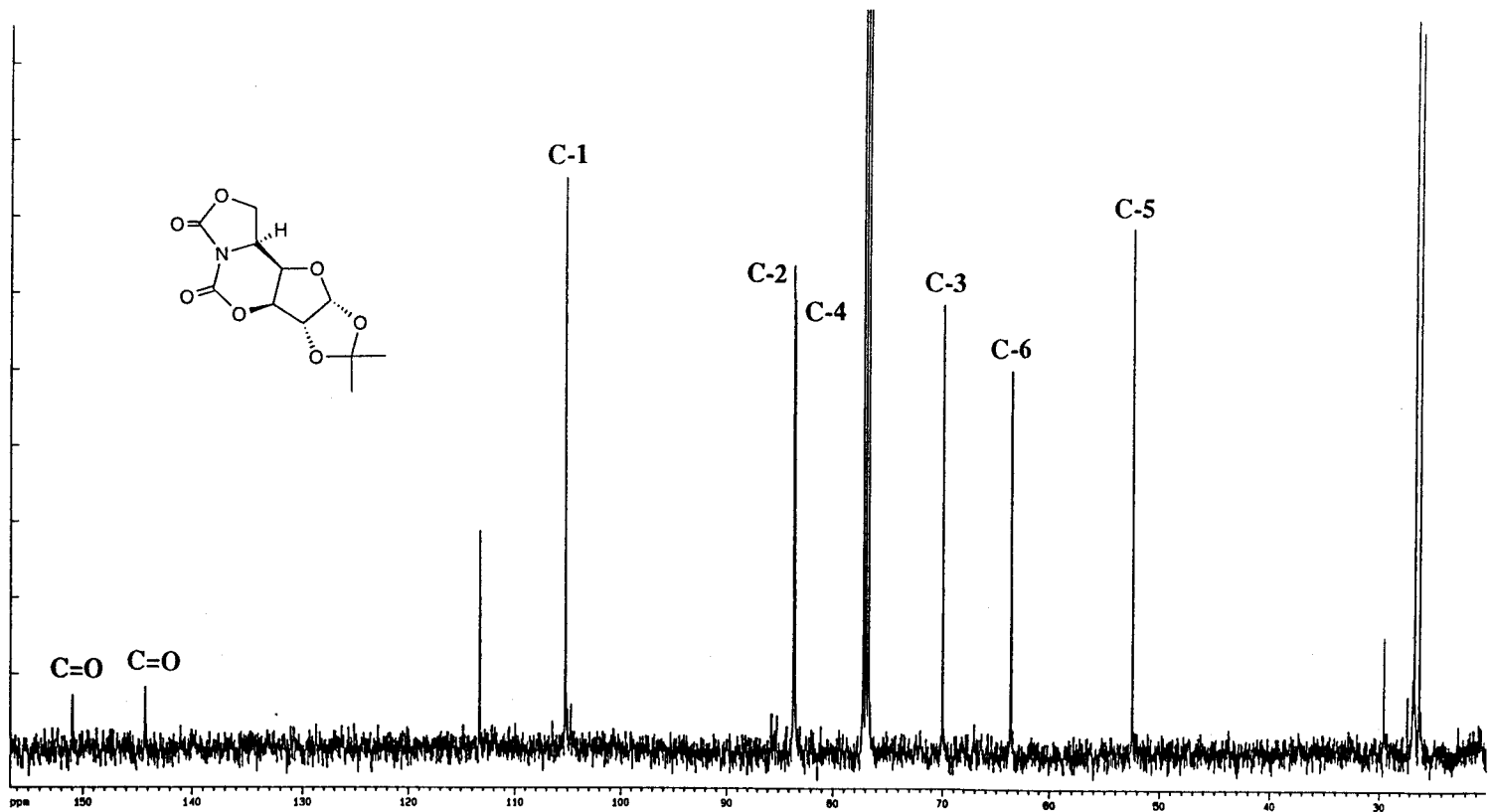


Figura 32. Espectro de ^{13}C RMN (125.5 MHz, CDCl_3) de 56.

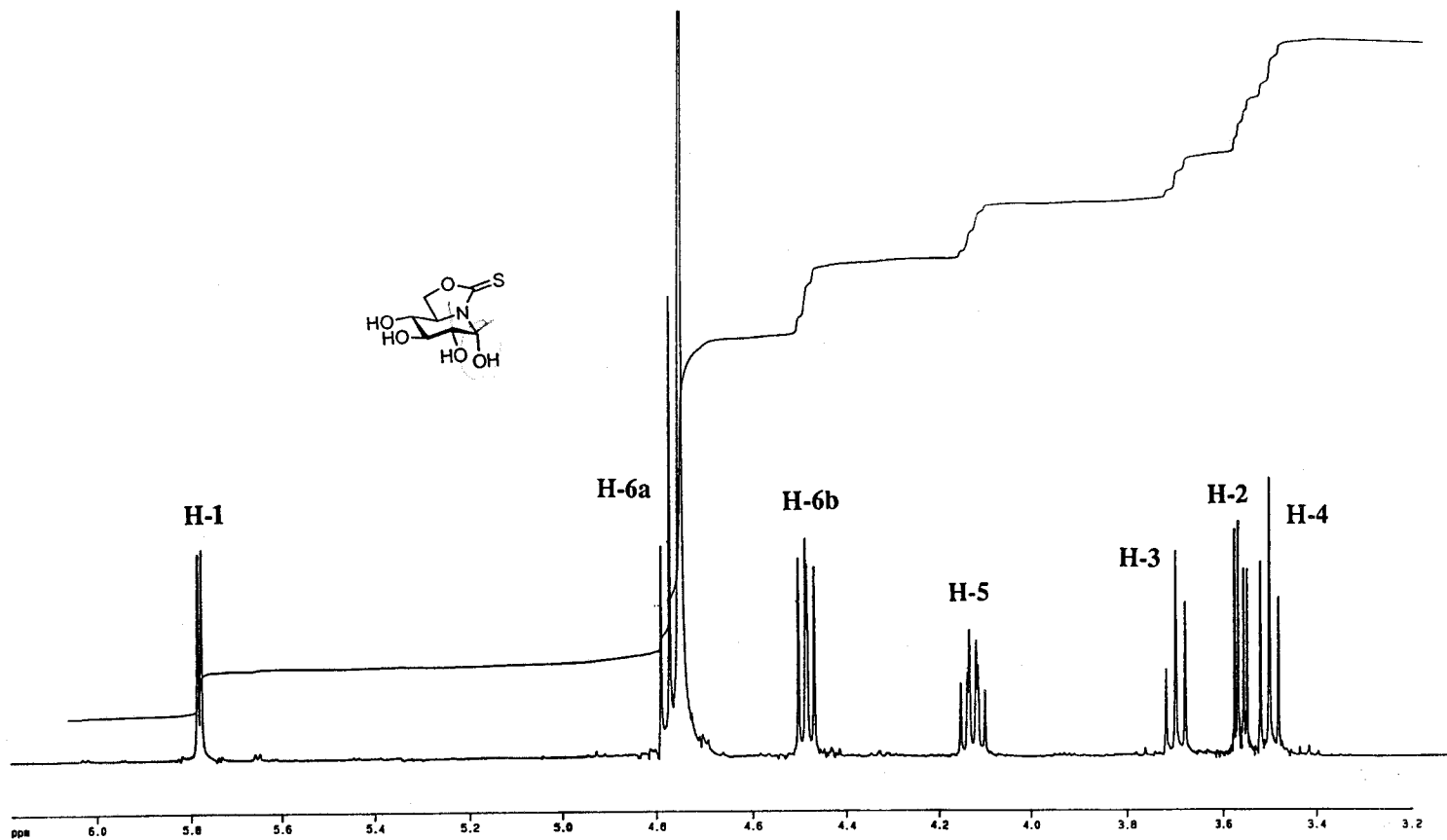


Figura 33. Espectro de ^1H RMN (500 MHz, D_2O) de 57.

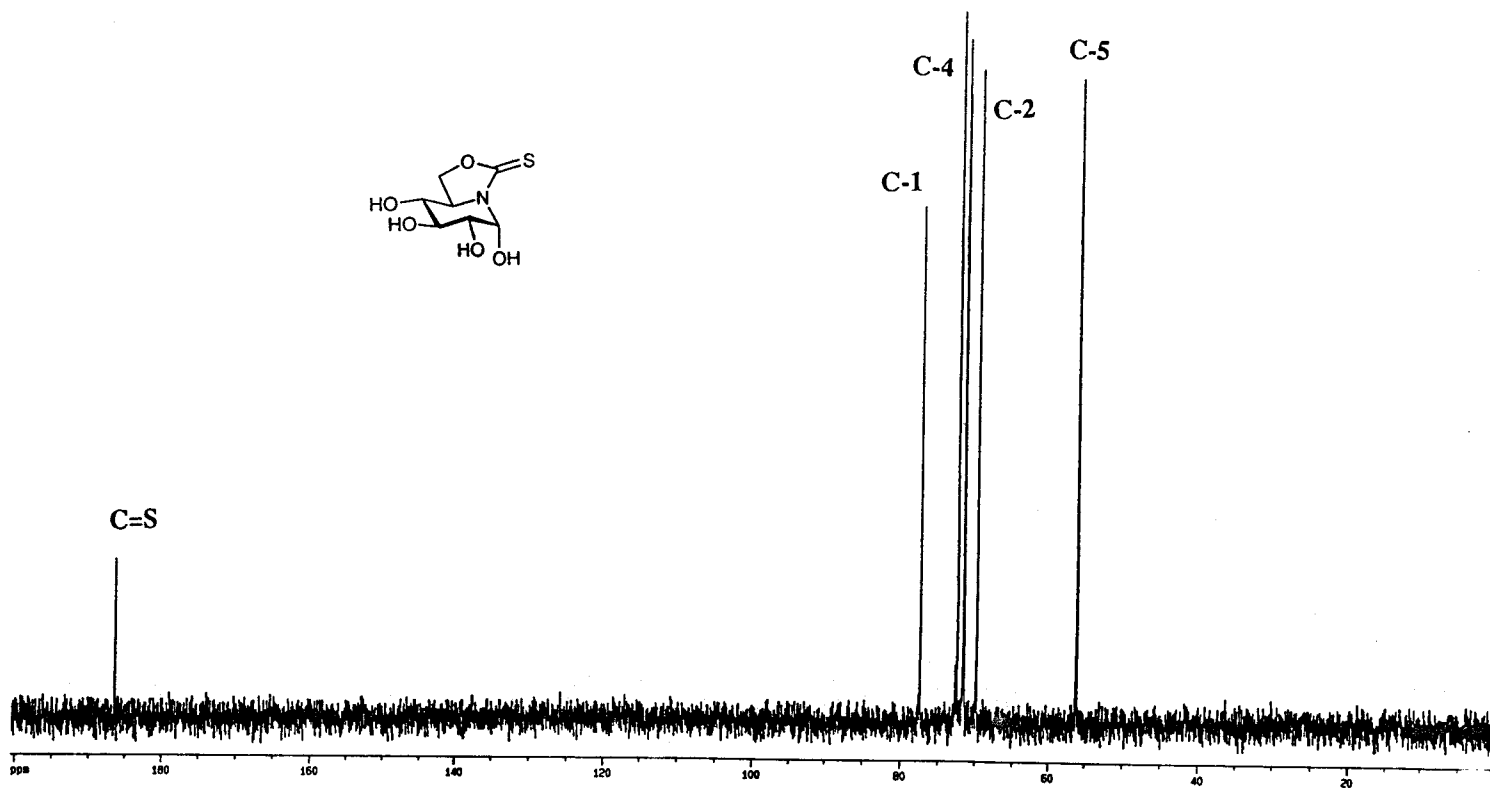


Figura 34. Espectro de ^{13}C RMN (125.5 MHz, D_2O) de 57.

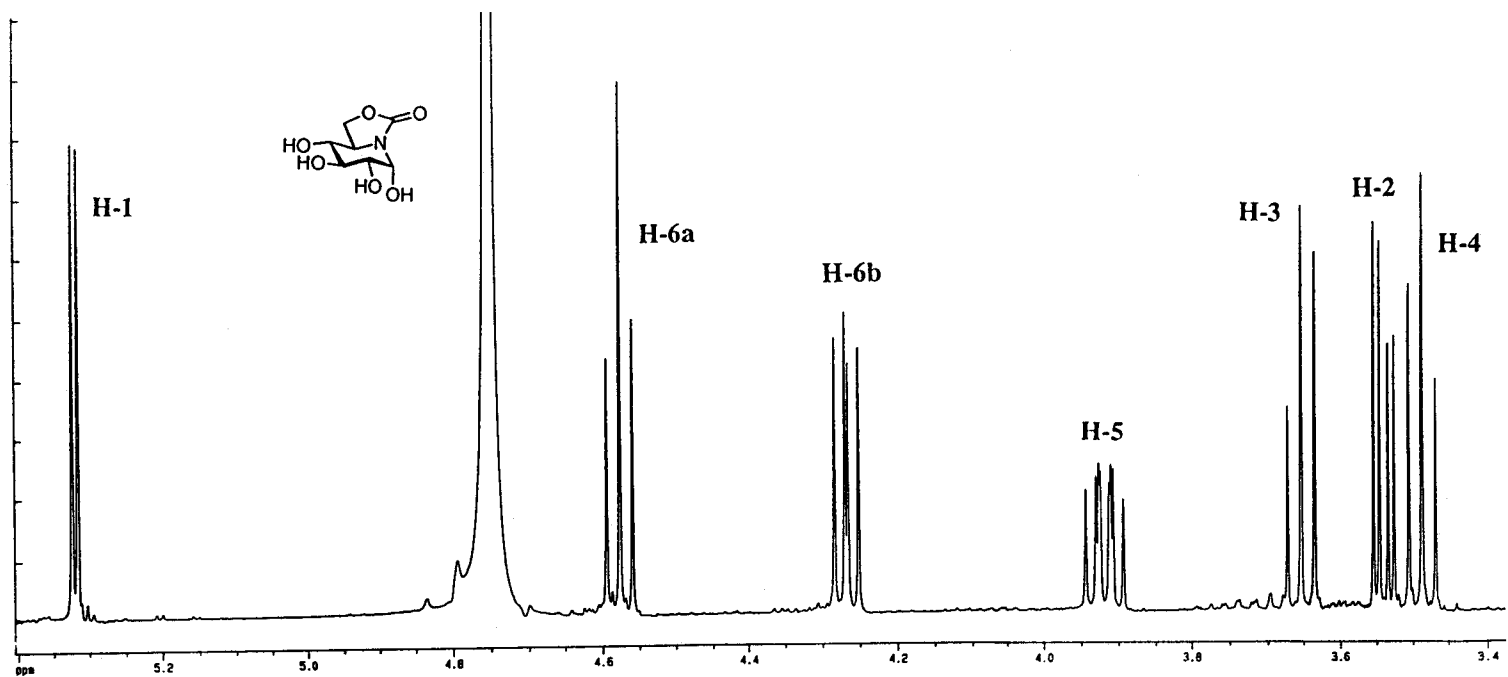


Figura 35. Espectro de ^1H RMN (500 MHz, D_2O) de **61**.

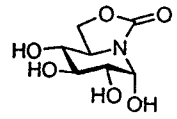
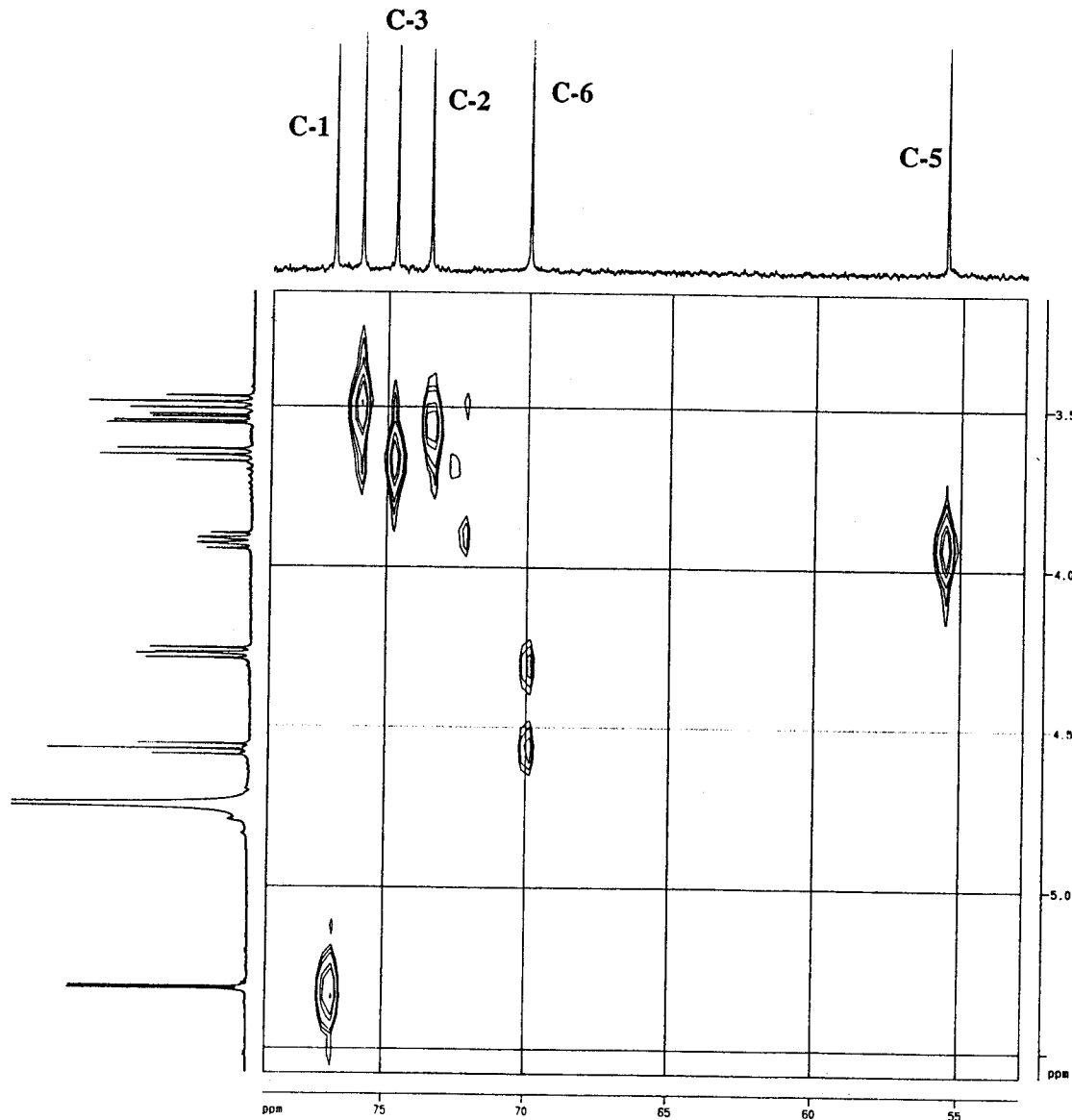


Figura 36. Espectro HETCOR (125.5 MHz, D_2O) de 61.

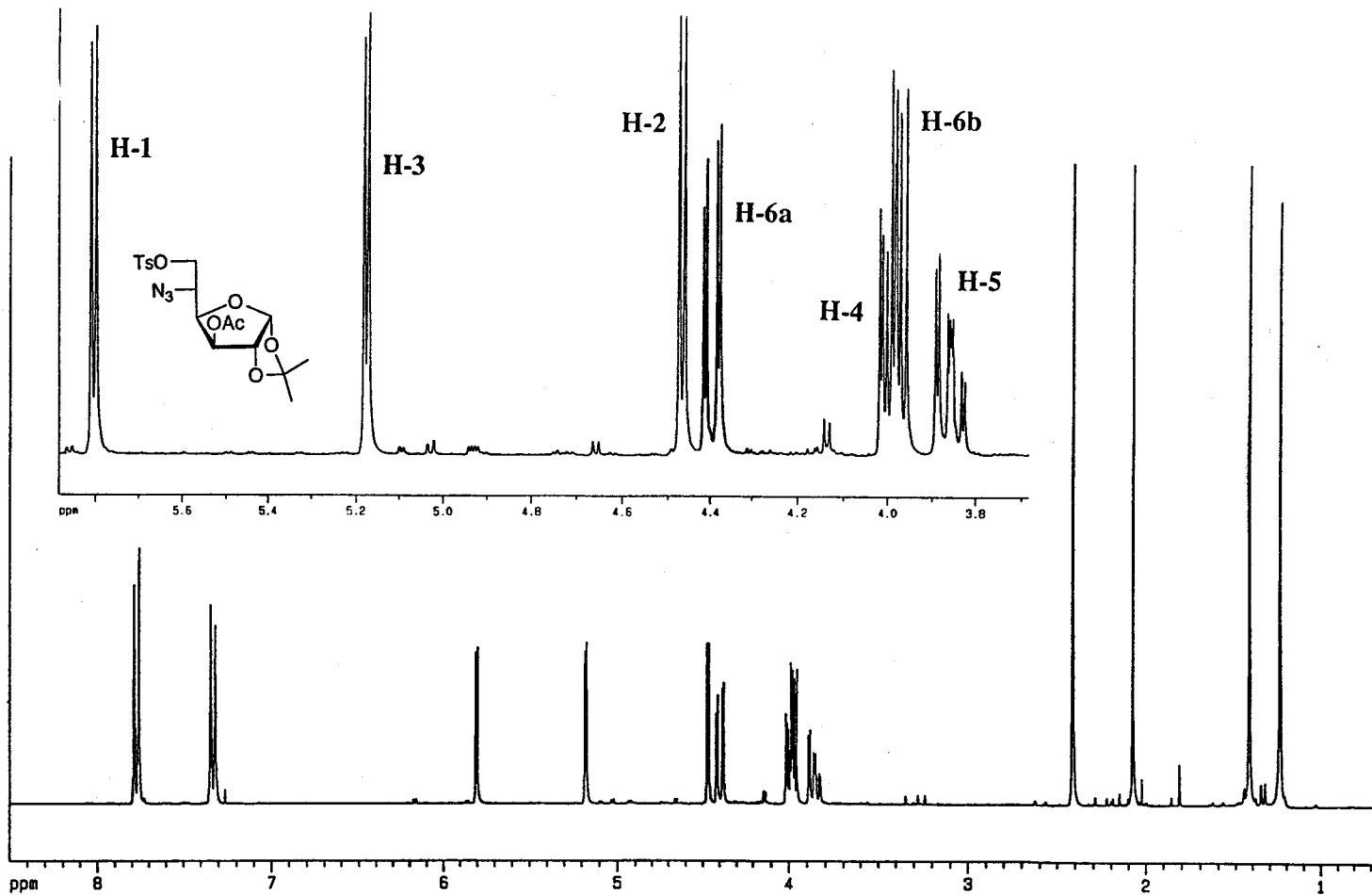


Figura 37. Espectro de ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) de **65**.

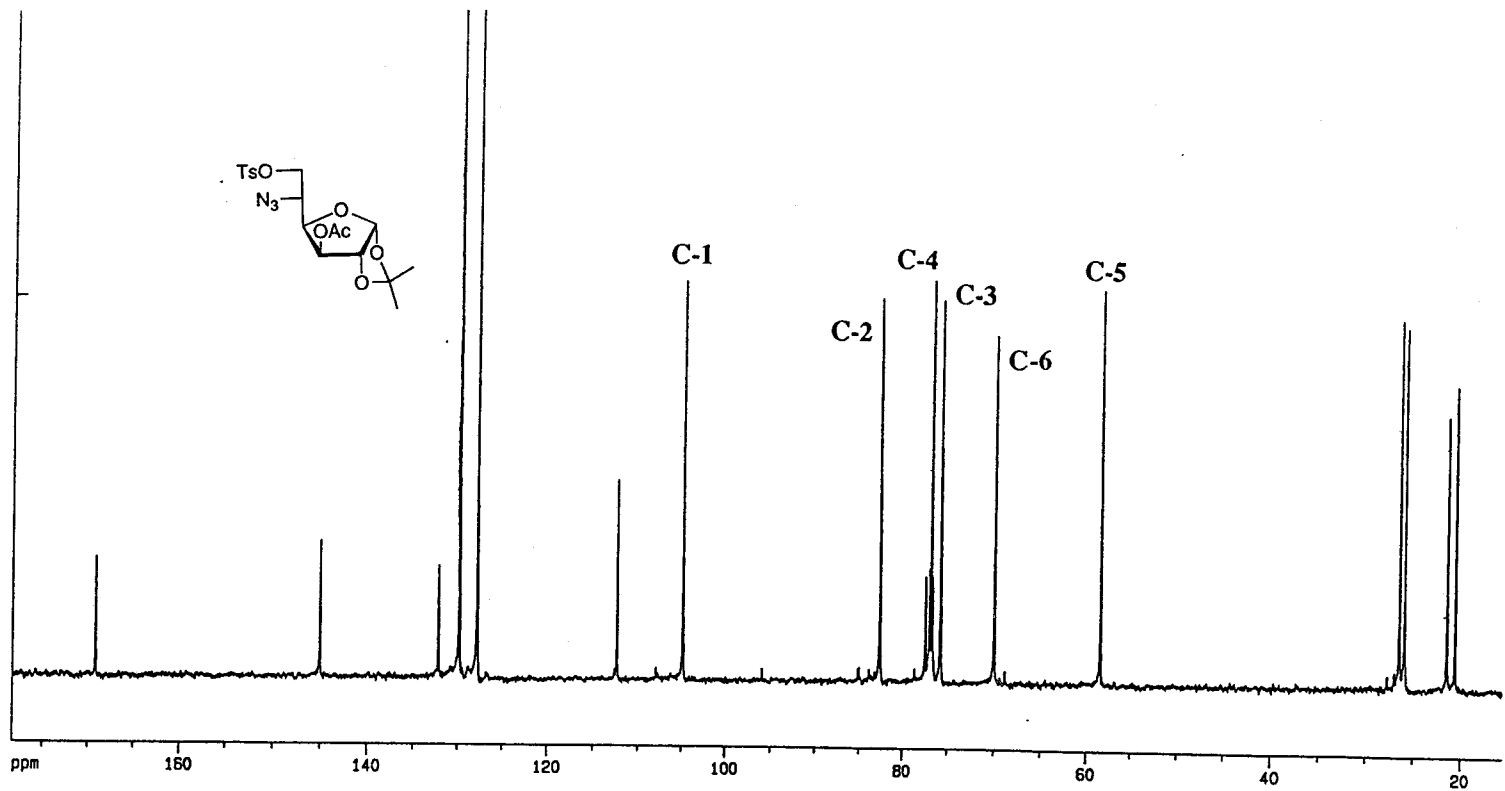


Figura 38. Espectro de ^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3) de 65.

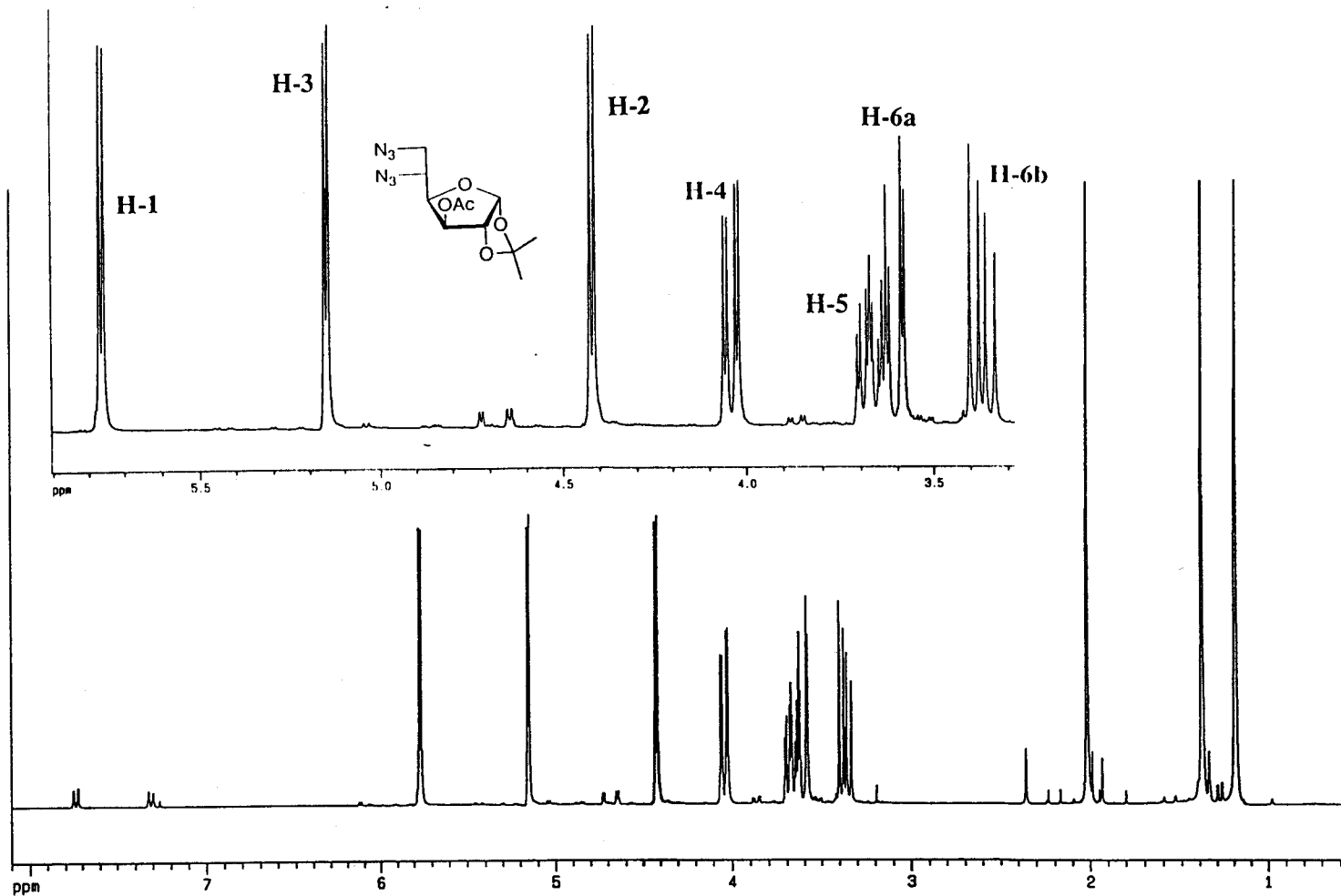


Figura 39. Espectro de ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) de 67.

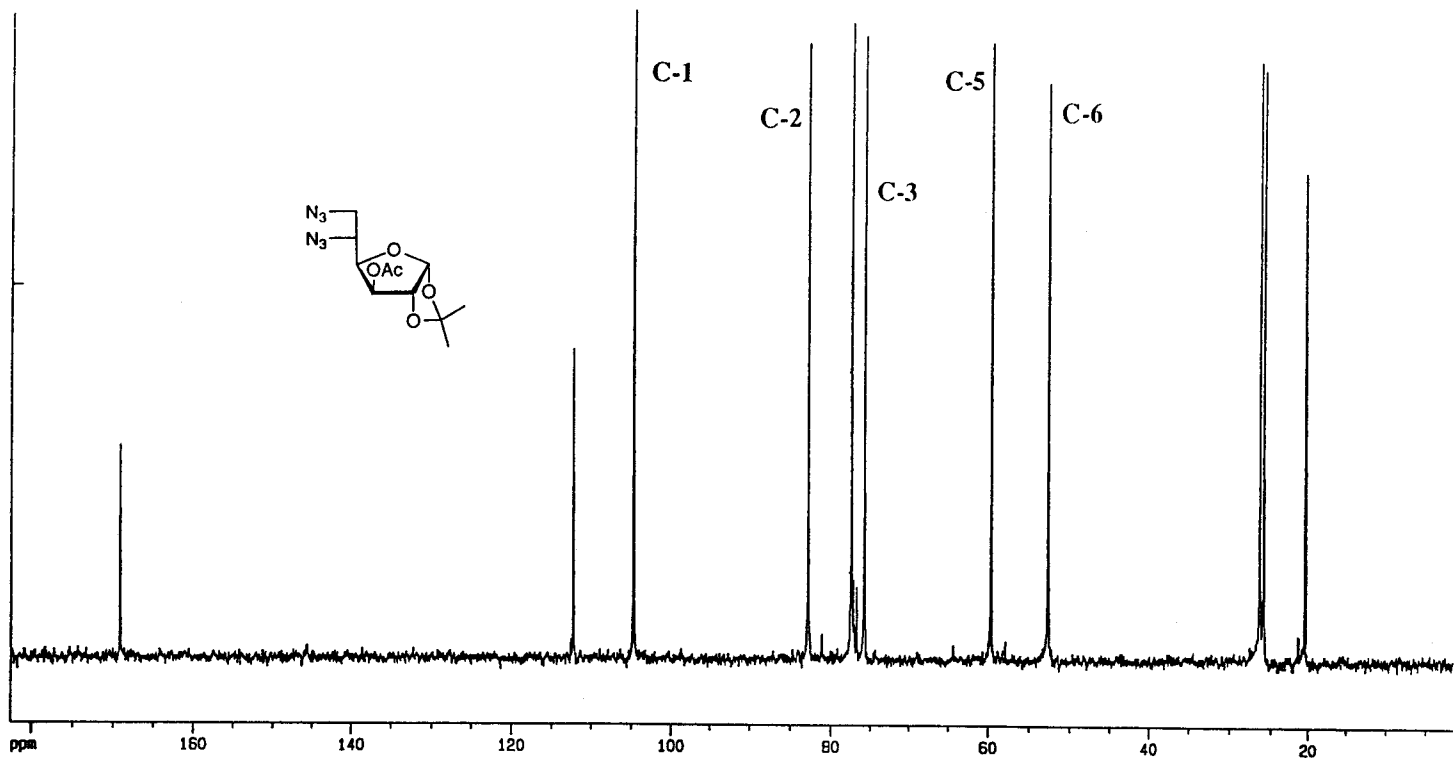


Figura 40. Espectro de ^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3) de 67.

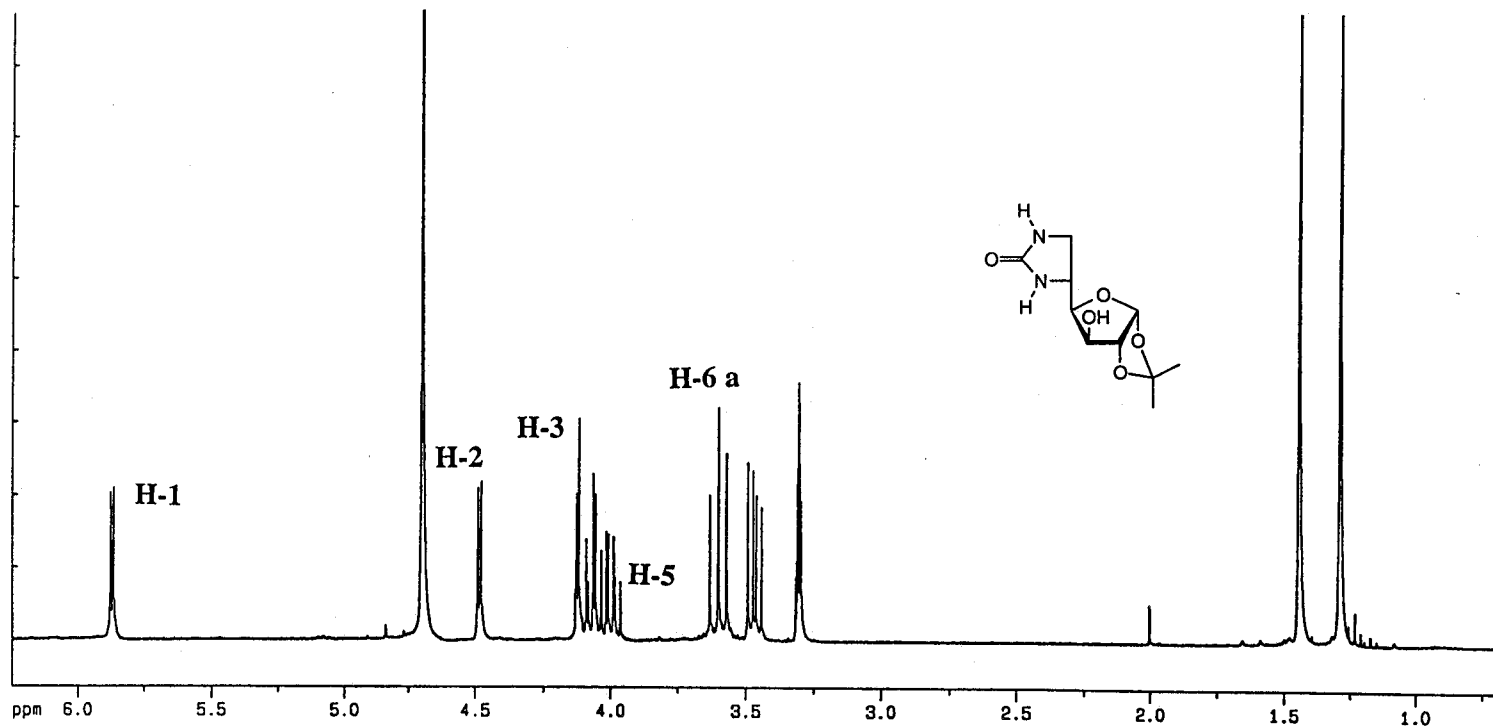


Figura 41. Espectro de ^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) de 75.

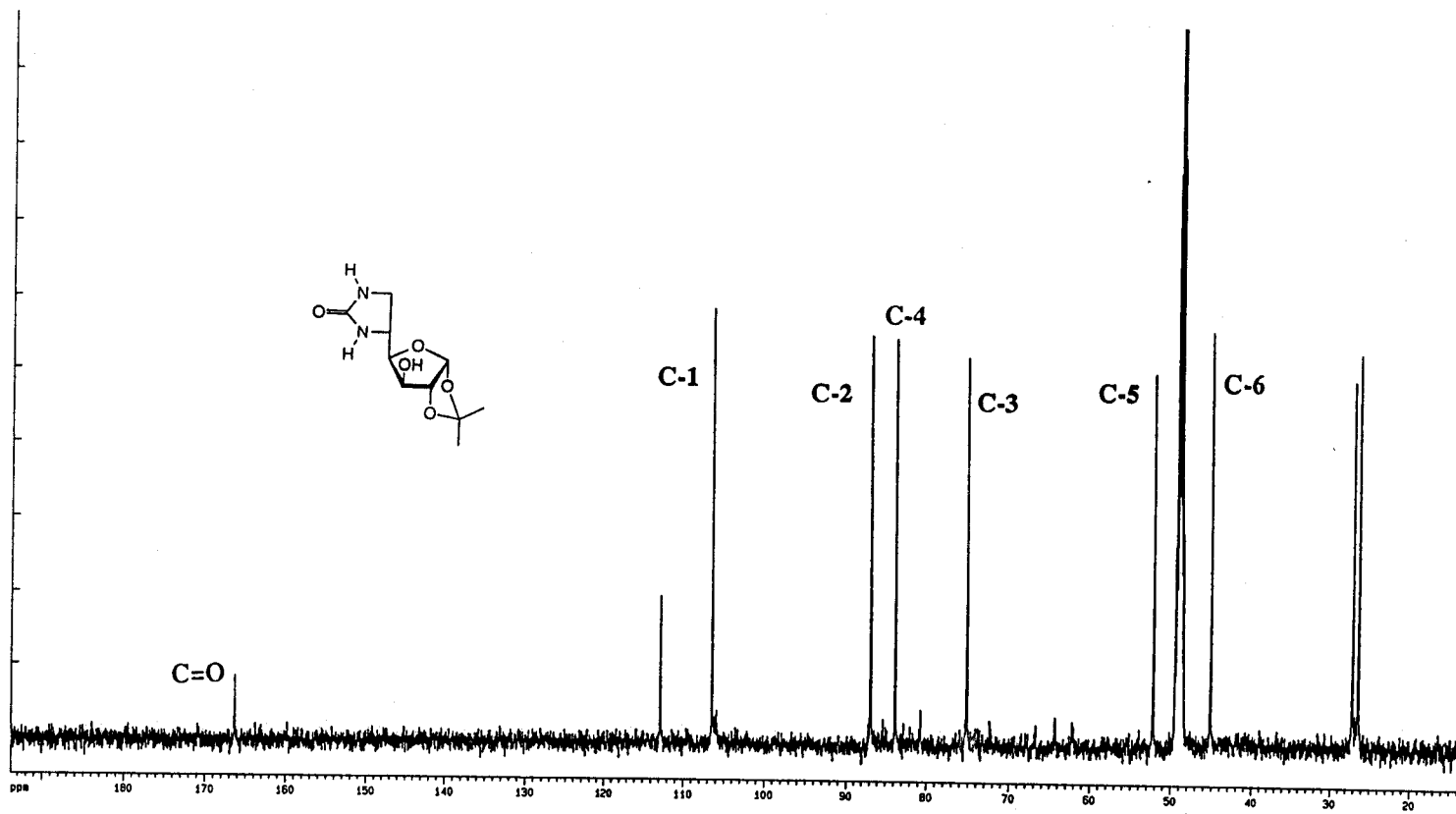


Figura 42. Espectro de ^{13}C RMN (125.5 MHz, CD_3OD) de 75.

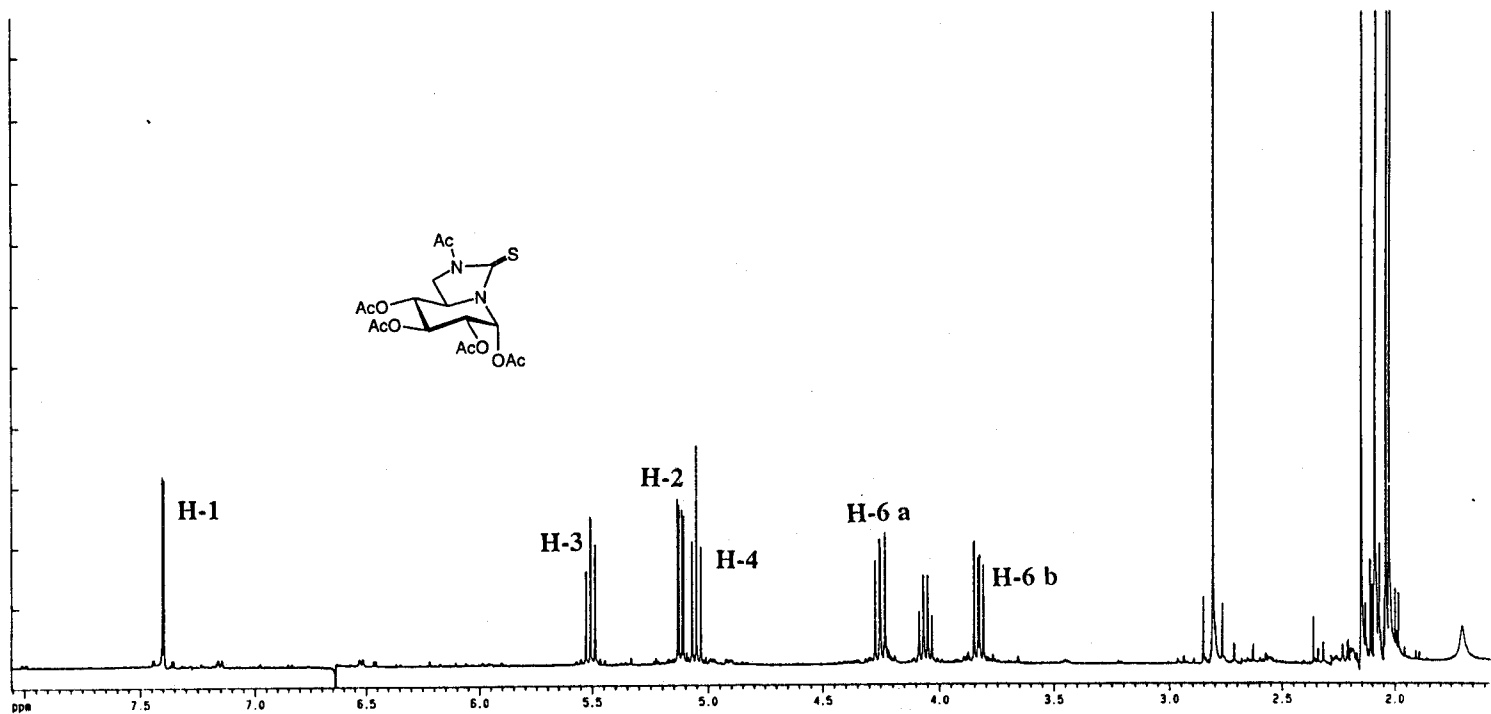


Figura 43. Espectro de ^1H RMN (500 MHz, CDCl_3) de 78.

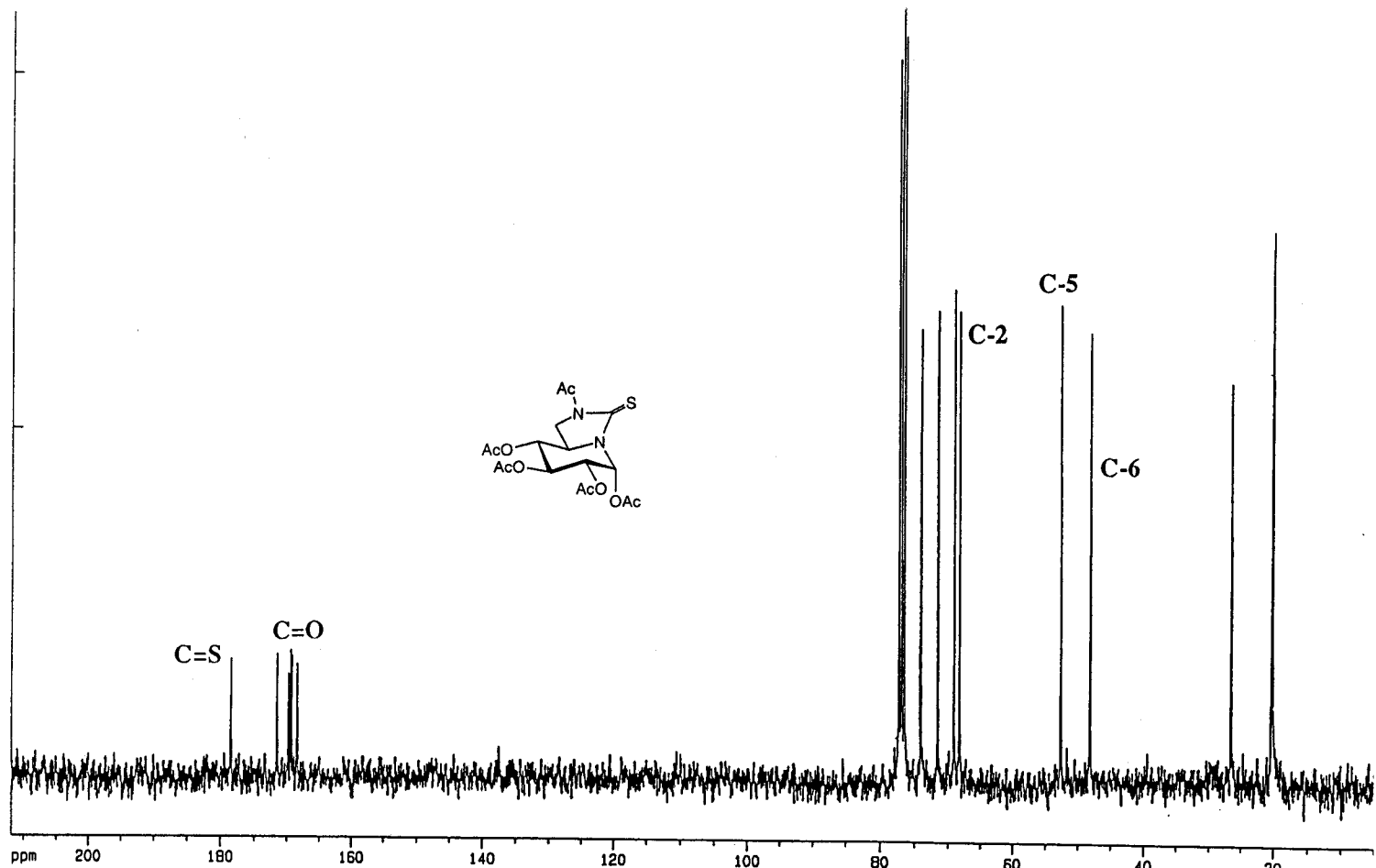


Figura 44. Espectro de ^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3) de 78.

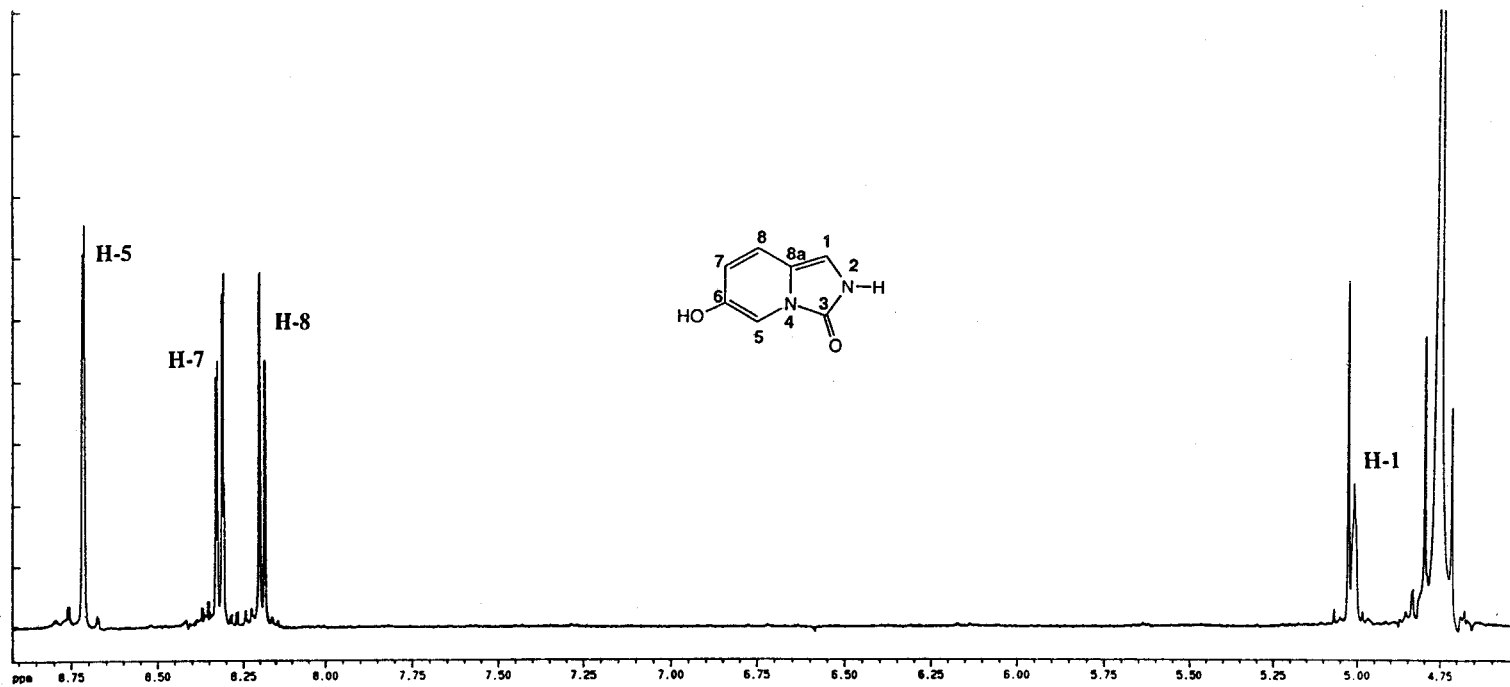


Figura 45. Espectro de ^1H RMN (500 MHz, D_2O) de 82.

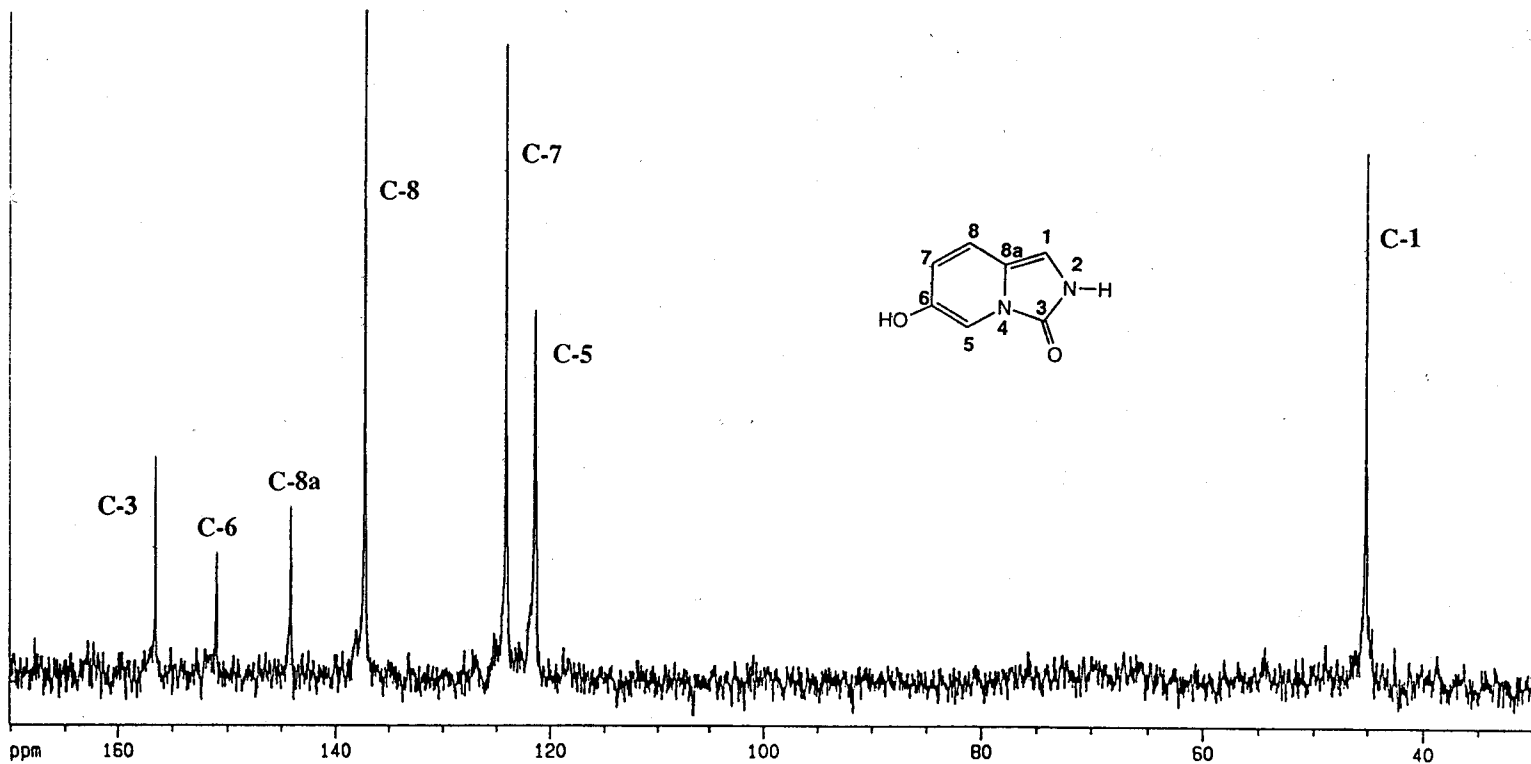


Figura 46. Espectro ^{13}C RMN (75.5 MHz, D_2O) de 82.