

R.6808

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE QUÍMICA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA

$\frac{x}{502}$



“NUEVOS POLÍMEROS DERIVADOS DE QUITOSANA
Y COMPUESTOS β -DICARBONÍLICOS”

148

192

Maria Lopez

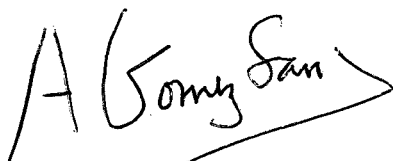
Memoria presentada por la Licenciada
María Eloísa Martín Zamora para optar
al Grado de Doctor en Química.

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE QUÍMICA

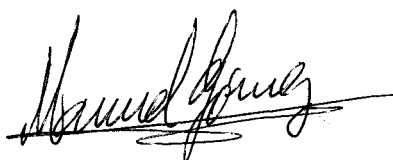
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA

Vº Bº El Director de la Tesis

Handwritten signature of Antonio Gómez Sánchez in black ink, written in a cursive style.

Fdo. Antonio Gómez Sánchez
Profesor de Investigación del
C.S.I.C.

Vº Bº El Director de la Tesis

Handwritten signature of Manuel Gómez Guillén in black ink, written in a cursive style.

Fdo. Manuel Gómez Guillén, Catedrático
del Departamento de Química Orgánica
de la Facultad de Química de Sevilla.

Esta Tesis Doctoral se ha realizado en el Departamento de Química Orgánica "Profesor García González" de la Facultad de Química de la Universidad de Sevilla, dirigida por el Dr. Antonio Gómez Sánchez, Profesor de Investigación del C.S.I.C., y por el Dr. Manuel Gómez Guillén, Catedrático del Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Química de la Universidad de Sevilla, a quienes deseo expresar mi agradecimiento por su dirección y ayuda.

Asimismo lo deseo expresar:

A los Servicios de R.M.N. y Espectrometría de Masas de la Universidad de Sevilla.

Al Dr. Jesús Sanz y a Isabel Sobrados del Instituto de Ciencias de Materiales de Madrid por la realización de los espectros de R.M.N. en estado sólido.

Al Departamento de Química Analítica de esta Universidad y, especialmente, a Emilio Morales por las facilidades dadas para las determinaciones de metal.

Al mismo Departamento y a la Sección de Microanálisis del Instituto de Química Orgánica General, por la realización de los análisis elementales.

Al Dr. Enrique Sánchez y a Rafael Rodríguez del Departamento de Química Física de esta Universidad por la ayuda prestada en la realización de los cálculos teóricos.

Al Dr. Gustavo González del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Sevilla por el interés mostrado en los estudios de complejación.

A los compañeros del Departamento de Química Orgánica, por su ayuda y amistad.

A todos los que sin conocer nada acerca de la quitosana me han animado a seguir adelante con este trabajo.

Al Ministerio de Educación por la concesión de una Beca de P.F.P.I. para la realización de esta Tesis.

A mis padres y a Rafa, por su apoyo, ayuda y estímulo en todo momento.

ÍNDICE

	Índice	i
1.	INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	1
1.1.	Introducción	2
1.2.	Antecedentes	13
2.	PARTE TEORICA	27
2.1.	Síntesis de <i>N</i> -acilvinil derivados de los metil 2-amino-2-desoxi- α (γ β)-D-glucopiranosidos por reacción de éstos con compuestos 1,3-dicarbonílicos	28
2.1.1.	Antecedentes	29
2.1.2.	Síntesis	34
2.1.3.	Caracterización	39
2.2.	Reacción de quitosana con compuestos 1,3-dicarbonílicos	45
2.2.1.	Caracterización química de la quitosana	46
2.2.2.	Reacción con 2,4-pentanodiona	50
2.2.2.1.	Caracterización de los nuevos productos	51
2.2.3.	Reacción con 1-fenil-1,3-butanodiona	60
2.2.3.1.	Caracterización	61
2.2.4.	Reacción con benzoilacetaldehído	66
2.2.4.1.	Caracterización	66
2.2.5.	Reacción con acetoacetato de metilo	70
2.2.5.1.	Caracterización	70
2.2.6.	Reacción con acilviniléteres	71
2.2.6.1.	Caracterización	72
2.2.7.	Reacción con 5,5-dimetil-anilinometilén-1,3-ciclohexanodiona	74

2.2.7.1.	Caracterización	75
2.2.8.	Estabilidad de los polímeros 7, 47 y 48 frente a ácidos y bases	78
2.3.	Preparación de vinamidinas del malondialdehído mediante reacción de transaminación con aminos sencillas y amino azúcares monoméricos . .	79
2.3.1.	Introducción	80
2.3.2.	Nuevas experiencias	88
2.3.2.1.	Reacción con aminos sencillas	88
2.3.2.1.1.	Caracterización	89
2.3.2.2.	Reducción de las sales de vinamidinio . . .	101
2.3.2.3.	Derivados del metilmalondialdehído y aminos sencillas	102
2.3.2.3.1.	Caracterización	104
2.3.2.4.	Derivados de amino azúcares monoméricos y malondialdehído	109
2.4.	Reacciones de malondialdehído y de metilmalondialdehído con quitosana y con amino azúcares siples modelos	120
2.4.1.	Antecedentes de la química del malondialdehído	121
2.4.2.	Reacción de MDA con ciclohexilamina	125
2.4.2.1.	Caracterización de la 3-(ciclohexilamino)acroleína (78)	126
2.4.3.	Reacción de MDA con D-glucosamina	128
2.4.4.	Reacciones de MeMDA con los clorhidratos de	

	1,3,4,6-tetra-O-acetil-2-amino-2-desoxi- α -D- y β -D-glucopiranosas (α y β tetraacetilglucosaminas, 76 α y 76 β)	129
2.4.5.	Reacción de quitosana con MDA	134
2.4.5.1.	Propiedades de Q-MDA-1 (81)	135
2.4.5.2.	Propiedades de Q-MDA-2 (82)	137
2.4.5.3.	Discusión de los resultados	137
2.4.6.	Reacción de quitosana con MeMDA	138
2.4.6.1.	Caracterización	139
2.4.7.	Reacción de quitosana con perclorato de 1,5-diaza-1,5-difenil-1H-pentadienonio (13)	140
2.5	Estudio de las propiedades quelatantes de los nuevos productos derivados de la quitosana	142
2.5.1.	Introducción	143
2.5.2.	Reacción de N-acilvinil derivados de quitosana con iones metálicos	145
2.5.3.	Reacciones de los polímeros derivados de malondialdehído y metilmalondialdehído con iones metálicos	153
2.6.	Estimación de las estabilidades relativas de los distintos conformeros de perclorato de 1,5-diaza-1,5-dimetil-1H-pentadienonio (51)	157
2.6.1.	Métodos de cálculo	159
2.6.1.1.	Introducción	159
2.6.1.2.	Propiedades termodinámicas	163
2.6.2.	Resultados y discusión	166
2.6.2.1.	Optimización de la geometría	166

2.7.	Discusión general	174
3.	PARTE EXPERIMENTAL	185
3.1.	Métodos generales	186
3.2.	Materias primas	195
3.2.1.	Productos comerciales	195
3.3.1.	Síntesis de <i>N</i> -acilvinil derivados de los metil 2-amino 2-desoxi- α (y β)- <i>D</i> -glucopiranosidos .	198
3.3.1.1.	Metil 2-[<i>Z</i> -(2-acetil-1-metilvinil)amino]-2-desoxi- α - <i>D</i> -glucopiranosido (42 α)	198
3.3.1.2.	Metil 2-[<i>Z</i> -(2-acetil-1-metilvinil)amino]-2-desoxi- β - <i>D</i> -glucopiranosido (42 β)	199
3.3.1.3.	Metil 2-[<i>Z</i> -(2-benzoil-1-metilvinil)amino]-2-desoxi- α - <i>D</i> -glucopiranosido (43 α)	201
3.3.1.4.	Metil 2-[<i>Z</i> -(2-benzoil-1-metilvinil)amino]-2-desoxi- β - <i>D</i> -glucopiranosido (43 β)	202
3.3.2.	Reacción de quitosana con compuestos 1,3-dicarbónicos	204
3.3.2.1.	Preparación de <i>N</i> -acilvinil derivados de quitosana	204
3.3.2.2.	Hidrólisis de <i>N</i> -acilvinil derivados de quitosana	209
3.3.3.	Preparación de vinamidinas del malondialdehído y metilmalondialdehído	211
3.3.3.1.	Reacción con aminas alifáticas	211
3.3.3.2.	Perclorato de 1,5-diaza-1,5-difenil-3-metil-1 <i>H</i> -pentadieno (55)	214
3.3.3.3.	Derivados de aminas alifáticas y metilmalon-	

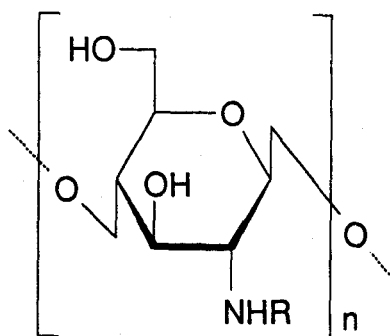
	dialdehído	215
3.3.3.4.	Reducción de perclorato de 1,5-diaza-1,5-diciclohexil-1 <i>H</i> -pentadieno (53). Preparación de diciclohexilpropilendiamina	218
3.3.3.5.	Derivados de amino azúcares y malondialdehído	219
3.3.4.	Reacción de quitosana con malondialdehído. Formación de Q-MDA-1 (81) y Q-MDA-2 (82)	224
3.3.5.	Reacciones de metilmalondialdehído con quitosana y con amino azúcares simples	226
3.3.5.1.	Reacciones de los clorhidratos de 1,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil-2-amino-2-desoxi- α - <i>D</i> -y β - <i>D</i> -glucopiranososa con metilmalondialdehído	226
3.3.5.2.	Reacción de quitosana con 3-etoxi-2-metilpropenal. Preparación de (1-4)-2-desoxi-2-[<i>E</i> -(2-metil-3-oxo-1-propen-1-il)amino]- β - <i>D</i> -glucana (83)	228
3.3.6.	Reacción de quitosana con perclorato de 1,5-diaza-1,5-difenil-1 <i>H</i> -pentadieno (13). Formación de la sal de vinamidinio 84	229
3.3.7.	Reacciones de 7a-d, 47a-b y 48 con acetatos de cobre y cobalto. Preparación de complejos de cobre y cobalto	230
3.3.7.1.	Estabilidad de los complejos de cobre(II) y de cobalto(II) frente a otros agentes quelatantes	231
4.	CONCLUSIONES	235
5.	BIBLIOGRAFÍA	245

1.- INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.

1.1.- INTRODUCCIÓN.

La quitina (1), el polímero $\beta(1\rightarrow4)$ de la 2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa, es, tras la celulosa, el segundo biopolímero más abundante en la Naturaleza. Está presente en el exoesqueleto de la mayoría de los invertebrados, siendo máxima su proporción, respecto al peso seco total, en el caso de los crustáceos, especialmente en los decápodos. Esto explica que los caparazones de los crustáceos constituyan la principal fuente industrial de quitina, más aún teniendo en cuenta que tales caparazones son producto de desecho de las industrias conserveras de mariscos.¹

Pero, además, la quitina es sintetizada por otros seres vivos. Así, algunos organismos unicelulares, como diatomeas, crisoflagelados y protozoos, en especial los ciliados, producen quitina. También se encuentra la quitina, junto con su derivado desacetilado, la quitosana (2), en la



1 R= Ac
2 R= H (85-100%)

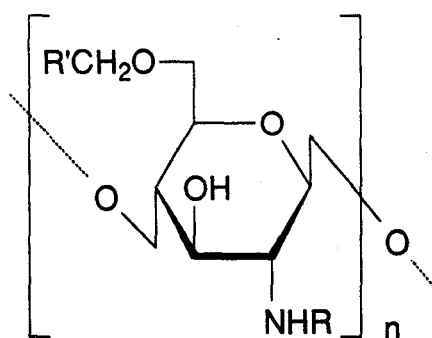
pared celular de la mayoría de los hongos, mohos y levaduras.¹ A pesar de ser natural, la quitosana (2) es mucho menos abundante y suele prepararse por desacetilación de la

quitina.²

Aparte del papel biológico natural de estos polímeros, desde hace unos veinte años existe un interés creciente por las aplicaciones tecnológicas, biotecnológicas y médicas de ellos mismos y de sus derivados. La quitina misma es muy resistente a la mayoría de los agentes físicos y químicos más corrientes, pero puede biodegradarse por diversos microorganismos quitinolíticos, una propiedad del máximo interés desde el punto de vista ecológico. Asimismo, existen en el suelo bacterias y hongos productores de quitosanas³, y la lisozima también degrada a la quitosana. Puesto que la quitosana es biodegradable, biocompatible tanto para tejidos animales como vegetales y no es tóxica, se está empezando a usar en medicina (por ejemplo, para lentes de contacto⁴), en farmacia⁵ y en agricultura.⁶

Por otra parte, estos biopolímeros han sido transformados químicamente en una amplia variedad de derivados, muchos de los cuales presentan propiedades de gran utilidad tecnológica. Incluso la quitosana, sin necesidad de modificación, tiene aplicaciones técnicas. Así, se utiliza en el tratamiento de aguas residuales como floculante, en alimentos dietéticos por su actividad hipocolesterolemica, en rellenos de columnas para inmovilizar enzimas o células, o como agente quelatante de metales, etc.⁷ Derivados de la quitina o de la quitosana con interesantes propiedades

tecnológicas son, por ejemplo,⁷ algunos cuya solubilidad en agua se ha conseguido introduciendo en O-6 de cada unidad monómera grupos carboximetilo o hidroxietilo (3); estos derivados pueden utilizarse como emulgentes, humectantes (la carboximetilquitina o "quitina líquida" se usa en productos cosméticos para la piel), o como cristales líquidos. Otros derivados forman geles, membranas o fibras de variada utilidad; otros sirven como intermedios en síntesis orgánica; otros son anticoagulantes o inhibidores del crecimiento de microorganismos, etc. Estas propiedades y usos han hecho que las ventas de quitina/quitosana en el mercado internacional hayan aumentado en los últimos años hasta llegar a casi 2×10^9 dolares/año⁸ en el año 1990, y han provocado un renovado interés en la química de estos polisacáridos y, en particular, en la preparación de nuevos derivados susceptibles, por sus propiedades, de aplicaciones tecnológicas.



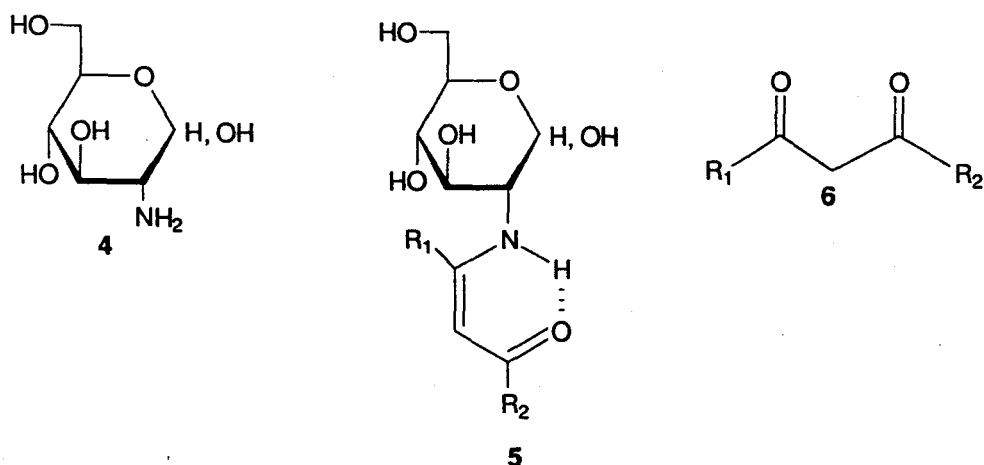
3

R= H, Ac
R'= COOH, CH₂OH

OBJETIVOS.

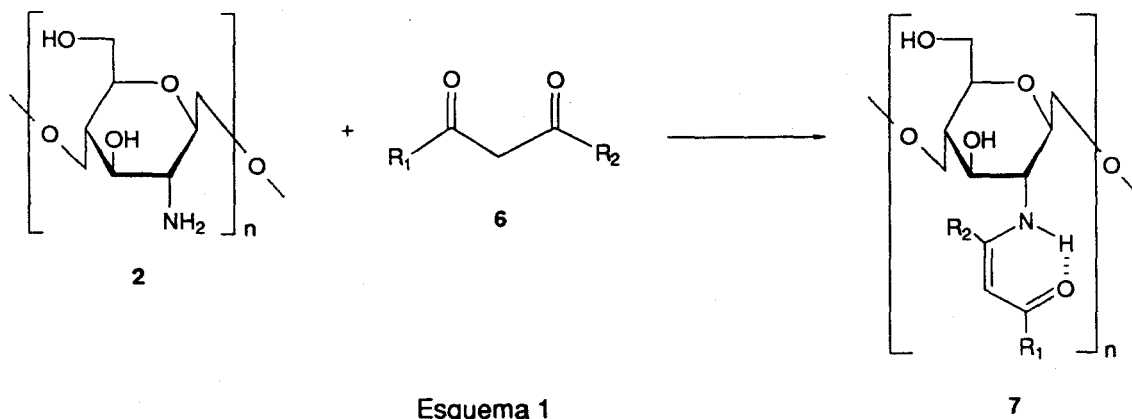
El primer objetivo del presente estudio ha sido la preparación de nuevos derivados de la quitosana que pudieran tener propiedades quelatantes superiores, en algún aspecto, a las de la propia quitosana y a las de otros derivados descritos.

En trabajos anteriores, realizados en este Departamento⁹ se habían preparado *N*-acilvinil derivados de la 2-amino-2-desoxi-D-glucosa (D-glucosamina, 4) de fórmula general 5, mediante reacción de ese aminoazúcar con diversos compuestos 1,3-dicarbonílicos (6). Teniendo en cuenta, por



otra parte, que amino-enonas semejantes derivadas de aminas sencillas presentan buena capacidad quelatante,¹⁰ se proyectó la preparación de derivados (7) de la quitosana (2) mediante reacción de ésta con compuestos 1,3-dicarbonílicos (6) (Esquema 1). Una de las diferencias obviamente más notables entre esta reacción y la descrita con la D-glucosa-

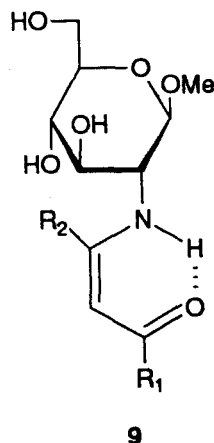
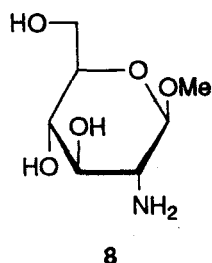
mina radica en la naturaleza polimérica de 2 y de 7, que tiene consecuencias experimentales inmediatas. En efecto,



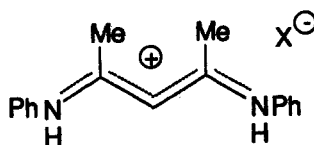
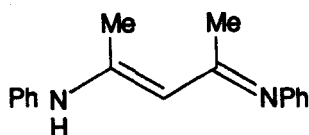
Esquema 1

mientras la D-glucosamina y sus amino-enonas (5), por su pequeño tamaño, presentan propiedades de solubilidad "normales", la quitosana (2) sólo es soluble⁶ a pH < 6.5 y eso debido a su grupo amino libre que le permite formar sales de amonio con los ácidos, por ejemplo, con ácido acético, y ya los primeros ensayos para obtener 7 pusieron de manifiesto la gran insolubilidad de esos productos en diversos disolventes, incluso en medio ácido acuoso. Como consecuencia, la caracterización de los nuevos productos sólo es posible mediante técnicas que no obliguen a tener la muestra en disolución, aparte de procedimientos químicos clásicos como análisis elemental cuantitativo y degradación hidrolítica. Para facilitar esa caracterización y entender mejor la formación y propiedades de los productos 7, se proyectó también -y esto constituye un segundo objetivo de la presente Tesis Doctoral- la preparación de compuestos modelo cuya semejanza con 7 fuera aún mayor que la de las aminoenonas de la D-glucosamina

5; concretamente, la configuración β propia de la quitosana puede mimetizarse con el metil 2-amino-2-desoxi- β -D-glucopiranosido (8) y, análogamente, las aminoenonas polímeras 7 deberían tener unidades monómeras semejantes estructuralmente a las aminoenonas 9 derivadas de 8.

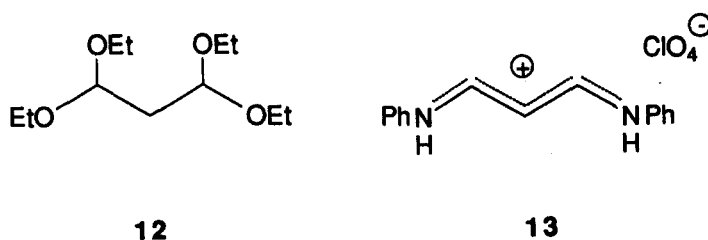


Una complicación que puede surgir en estas reacciones es que el grupo carbonilo de la aminoenona reaccione con una segunda molécula de amina para formar¹¹ una "vinamidina". Así, es conocido que la 2,4-pentanodiona (6, $R^1=R^2=Me$) reacciona con dos moles de anilina¹² para dar una vinamidina (10) que, en medio ácido, se estabiliza como sal de vinamidinio (11).

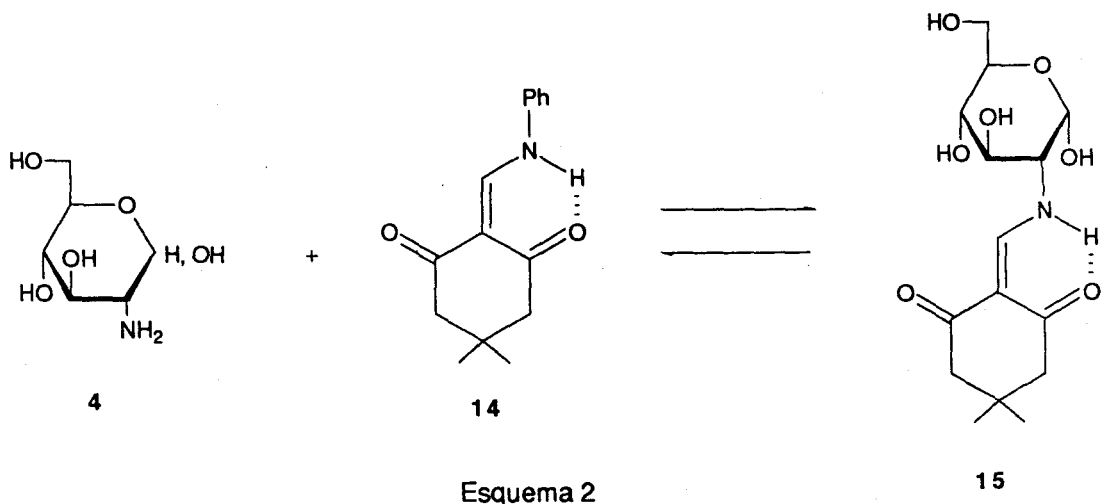


En el caso de la quitosana es probable que esta posibilidad de reacción con un segundo grupo amino lleve a un

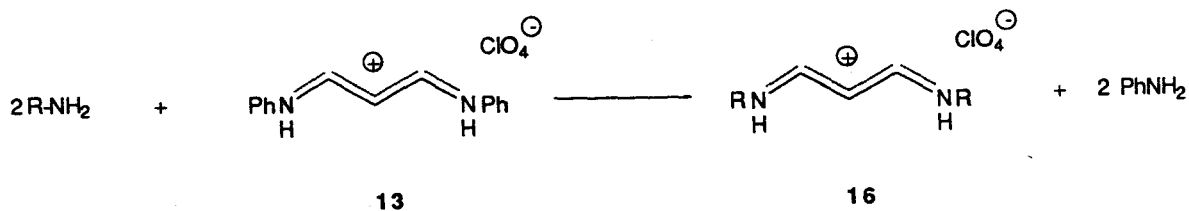
entrecruzamiento de cadenas polímeras. Esto es aún más probable si se parte del compuesto 1,3-dicarbonílico más simple, el malondialdehído (MDA, 6, $R^1=R^2=H$), dada su gran reactividad, que incluso hace aconsejable practicar la reacción utilizando en su lugar su diacetal, por ejemplo el tetraetoxipropano (12); éste reacciona¹³ con anilina fácilmente en presencia de ácido perclórico para dar la sal de vinamidinio 13.



Como consecuencia de lo anterior, otro objetivo de esta Tesis ha sido la preparación de vinamidinas derivadas de glicósidos de la D-glucosamina como compuestos modelo, cuyas propiedades -especialmente las espectroscópicas- puedan servir de referencia en el estudio estructural de los posibles polímeros entrecruzados derivados de la quitosana. Para preparar esas vinamidinas modelo se ha seguido una estrategia distinta. Hace pocos años fue puesto a punto en este Departamento un nuevo procedimiento de preparación de N-acilvinil derivados de aminoazúcares, que consiste¹⁴ en una reacción de transaminación entre el aminoazúcar, por ejemplo la D-glucosamina, y una aminoenona derivada de la anilina, por ejemplo 14 (Esquema 2). Esta estrategia, aplicada a la síntesis de vinamidinas derivadas del malon-



dialdehído llevaría a una reacción como la del Esquema 3, en la que una amina primaria $R-NH_2$ se transforma en la sal de vinamidinio **16**.



El estudio estructural de estos últimos compuestos (**16**) se ha complementado en el caso de $R=Me$ con cálculos teóricos *ab initio* que permiten estimar la estabilidad relativa de los isómeros configuracionales y conformacionales del sistema deslocalizado. Estos resultados también pueden arrojar luz, si se admite la extrapolación, sobre la estructura conformacional más probable de los análogos derivados de la quitosana.

Un último objetivo, ya indicado más arriba, ha sido el estudio de las propiedades quelatantes de los nuevos productos, incluyendo compuestos modelo, ya que el aprovechamiento técnico de la quitosana es del máximo interés económico. En esta Tesis el estudio se ha limitado a dos cationes, el Cu(II) y el Co(II).

La presente Memoria se ha ordenado, para un mejor entendimiento, en los siguientes apartados:

1.- INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.

1.1.- INTRODUCCIÓN.

1.2.- ANTECEDENTES.

2.- PARTE TEÓRICA.

2.1.- Síntesis de *N*-acilvinil derivados de los metil 2-amino-2-desoxi- α (y β)-D-glucopiranósidos por reacción de éstos con compuestos 1,3-dicarbonílicos (6, R_1 =Me, Ph; R_2 =Me, Me), y estudio de sus propiedades, especialmente las espectroscópicas.

2.2.- Reacción de quitosana con compuestos 1,3-dicarbonílicos y caracterización de los productos obtenidos.

2.3.- Preparación de vinamidinas del malondial-

dehído mediante reacción de transaminación con aminos sencillas y los metil α - y β -glucosamínidos.

2.4.- Estudio de la reacción del malondialdehído y metilmalondialdehído con la quitosana y con amino azúcares simples modelo y de la reacción de transaminación entre la quitosana y la sal de vinamidinio 13.

2.5.- Estudio de las propiedades quelatantes de los nuevos productos derivados de la quitosana y de los análogos derivados de la D-glucosamina y de los metil α - y β -glucosamínidos, así como de los análogos derivados de aminos sencillas (en el caso de derivados de malondialdehído).

2.6.- Estimación de las estabilidades relativas de los distintos confórmeros del catión vinamidinio de la sal 16 (R=Me) mediante cálculos *ab initio*.

Cada apartado de esta Parte Teórica vendrá precedido de una breve exposición de antecedentes bibliográficos.

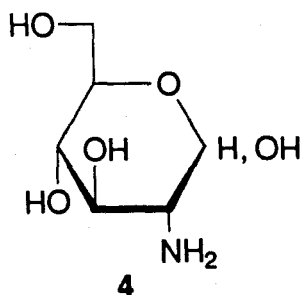
3.- PARTE EXPERIMENTAL.

4.- CONCLUSIONES.

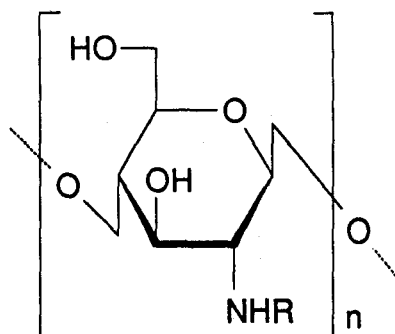
5.- BIBLIOGRAFÍA.

1.2.- ANTECEDENTES

La 2-amino-2-desoxi-D-glucosa (D-glucosamina, 4) es el aminoazúcar más abundante. Se encuentra habitualmente



N-acetilada formando parte de polisacáridos y glicoproteínas. La quitina (1), el polímero $\beta(1\rightarrow4)$ de la 2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa y su derivado desacetilado, la quitosana (2), han suscitado un gran interés en los últimos años por sus propiedades químicas y sus aplicaciones tecnológicas. Se han publicado recientemente monografías¹⁵ y revisiones



1 R= Ac
2 R= H (85-100%)

bibliográficas¹⁶ sobre la quitina y quitosana, y desde 1977 viene celebrándose una Conferencia Internacional sobre quitina/quitosana cuya quinta edición ha tenido lugar en Octubre de 1991.

A principios del siglo pasado, Braconnot dio

cuenta¹⁷ de la existencia de una nueva sustancia resistente a los álcalis obtenida a partir de hongos. En esa publicación describió el tratamiento de la misma con álcali diluido, su degradación causada por ácido sulfúrico, etc. Ésta es la primera referencia conocida sobre quitina; sin embargo, dicho nombre se debe a Odier¹⁸. La presencia de *N*-acetilglucosamina en este polímero fue claramente demostrada por Ledderhose¹⁹ y confirmada por Gilson²⁰. Por otra parte, Rouget²¹ encontró que tratando quitina con una disolución concentrada de hidróxido potásico se obtiene un material soluble en ácidos orgánicos que Hoppe-Seyler²² denominó quitosana.

La quitina en estado nativo no está acetilada homogéneamente. El término quitosana se emplea²³ generalmente para quitinas desacetiladas artificialmente. Este término se prefiere cuando el contenido de N en peso, obtenido del análisis elemental, en el polímero es mayor que el 7%; valores inferiores corresponden a quitinas. Por poliglucosamina se entiende una quitina totalmente desacetilada.

Si se trata quitina con base, los grupos acetamido se hidrolizan transformándose en grupos amino. El número de grupos acetamido que se hidrolizan expresado en tanto por ciento se conoce como grado de desacetilación de la quitosana obtenida. Esta hidrólisis para obtener quitosana se lleva a cabo, habitualmente calentando a reflujo con hidróxido sódico o potásico en condiciones heterogéneas. La desacetilación

del polímero lleva consigo degradación que acorta la cadena del polímero en un proceso oxidativo promovido por radicales.

Recientemente, Rinaudo y colaboradores²⁴ han puesto a punto un procedimiento para obtener quitina completamente desacetilada en presencia de tiofenol; este reactivo ejerce un efecto catalítico previniendo la oxidación y la degradación. El procedimiento consiste en tratar quitosanas comerciales a 100° y durante una hora con hidróxido sódico en una mezcla de agua-dimetilsulfóxido en presencia de tiofenol. Puede obtenerse así poliglucosamina repitiendo tres veces este proceso si se parte de quitosanas de 80% de desacetilación.

La presencia en la quitosana de grupos hidroxilo y amino de una reactividad variada, permite obtener una amplia gama de derivados de este polímero. El número de grupos amino que se modifican en una reacción determinada expresado en tanto por uno, se conoce como grado de sustitución. Se obtiene fácilmente de la relación C/N de los datos de microanálisis de los nuevos polímeros.

Los derivados de quitosana descritos en la literatura pueden clasificarse atendiendo a que la modificación tenga lugar en el grupo amino o en el hidroxilo primario de la manera siguiente:

1.- N-Derivados:

1.1.- *N*-Acilderivados.

1.2.- Bases de Schiff y sus productos de reducción.

1.3.- *N*-Alquilderivados.

2.- *O*-Derivados.

1.- *N*-Derivados.

1.1.-*N*-Acilderivados.

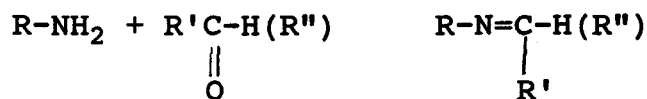
El ejemplo más simple de *N*-acilación lo constituye la preparación de quitina completamente *N*-acetilada. Roberts y Moore²⁵ han investigado la influencia del medio de reacción en este proceso, encontrando que las mezclas de etanol y metanol o metanol y formamida constituyen los solventes óptimos para obtener *N*-acetilquitina.

Hirano y colaboradores²⁶ han obtenido una gama de *N*-acilderivados por reacción de quitosana con anhídridos carboxílicos en ácido acético metanólico a temperatura ambiente. Estos productos son de interés por su efecto de agregación selectiva de ciertas células cancerígenas. Se caracterizaron por sus datos analíticos y de espectroscopia I.R.. El grado de sustitución encontrado varió entre 0.8 y 1.0.

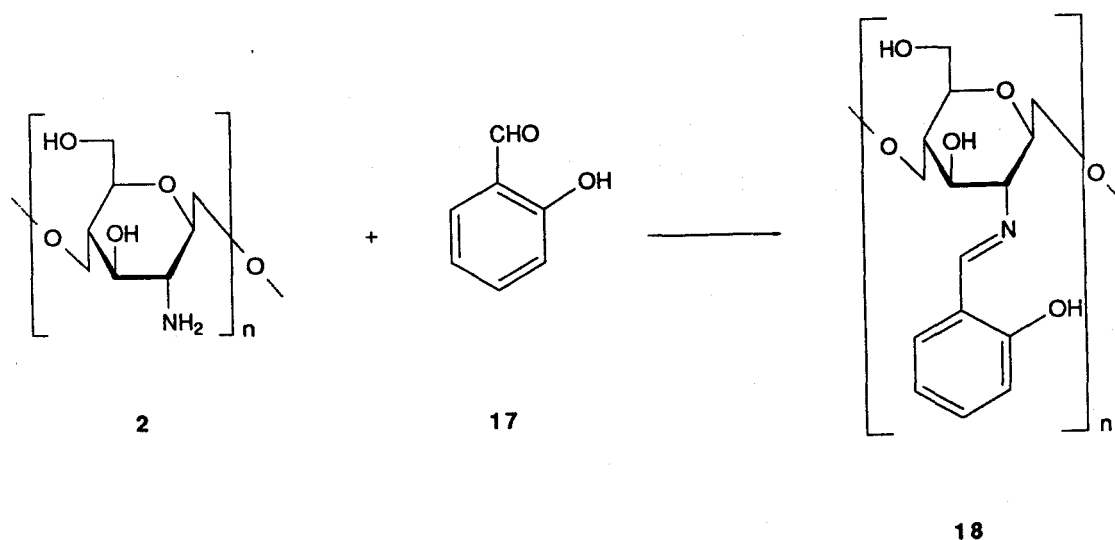
Estos mismos autores²⁷ obtuvieron también por reacción con anhídridos dicarboxílicos, *N*-carboxiacilquitosanas.

1.2.- Bases de Schiff y sus productos de reducción.

La reacción de un grupo amino primario con un aldehído o cetona origina una imina o base de Schiff.



Por reacción de quitosana con aldehídos aromáticos, por ejemplo salicilaldehído (17) (Esquema 4), se obtiene



Esquema 4

la correspondiente base de Schiff 18.

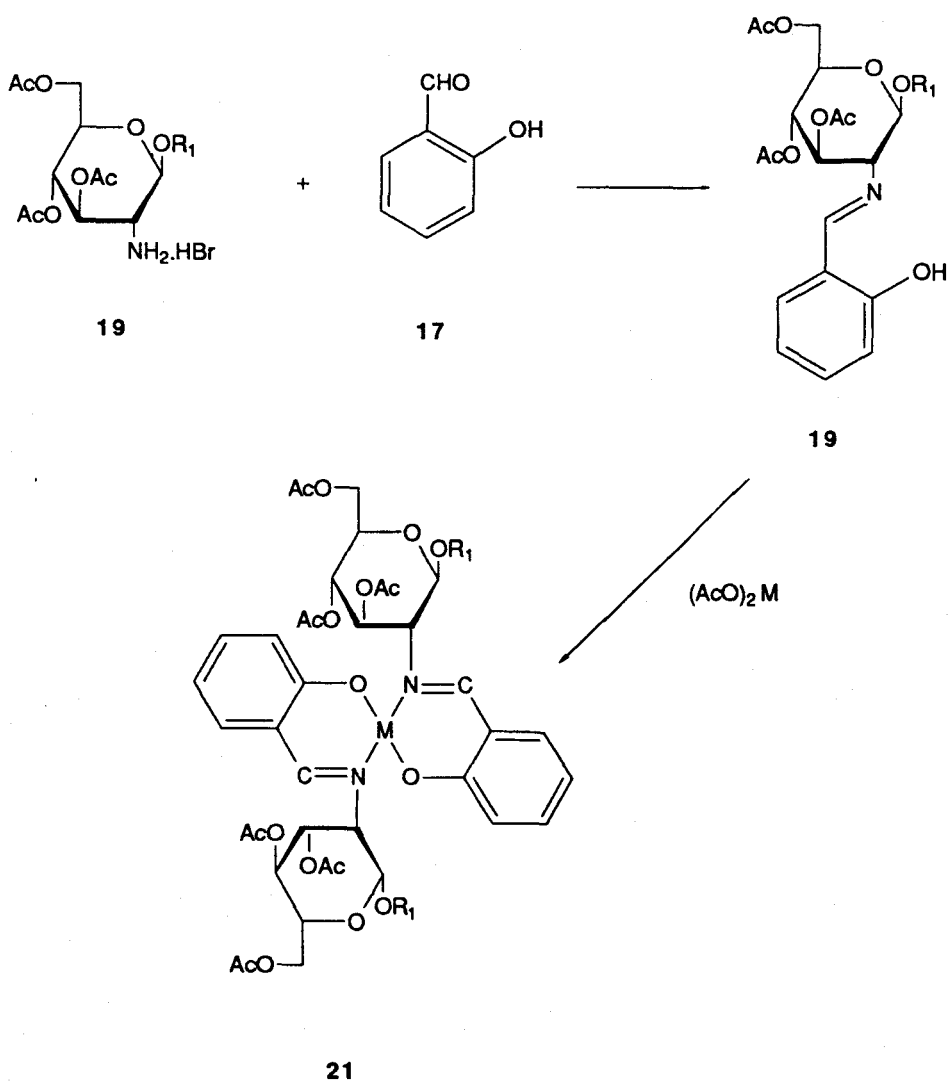
Este polímero fue preparado inicialmente por Nud'ga y colaboradores²⁸ por reacción de quitosana suspendida en agua o en etanol con un mol del aldehído recién destilado. Tras la purificación del producto, su análisis elemental indicó que el polímero obtenido poseía un grado de

sustitución 1.0. Cuando el aldehído empleado, en iguales condiciones, fue benzaldehído o bien el 4-metoxi- o el 2-nitrobenzaldehído, el grado de sustitución fue menor, oscilando entre 0.2 y 0.75. Todos estos compuestos resultaron ser insolubles en disolventes orgánicos y descomponían sin fundir por encima de 220°.

Posteriormente, Hirano y colaboradores²⁹ extendieron esta reacción a un mayor número de arilaldehídos sustituidos empleando una relación molar arilaldehído/amino azúcar 4:1 y, en la primera Conferencia Internacional sobre quitina/quitosana celebrada en Boston en 1977, dieron cuenta de las posibles aplicaciones tecnológicas de los productos obtenidos como soportes cromatográficos. El grado de sustitución conseguido varió entre 0.8 y 1.0.

La quitosana y la propia D-glucosamina,³⁰ tienen propiedades quelatantes, que se ejercen a través de la función $-NH_2$ y algunos de los hidroxilos. Investigando productos en los que la capacidad quelatante de la quitosana se viera incrementada, Hall y colaboradores³¹ prepararon de nuevo el derivado de quitosana y salicilaldehído. Encontraron que esta base de Schiff reaccionaba con Cu(II) en disolución acuosa metanólica, y prepararon el correspondiente complejo, que fue caracterizado por su espectro de resonancia de espín electrónico (e.s.r.). Asimismo, y para corroborar la estructura de las bases de Schiff y de los complejos preparados,

estudiaron³² los espectros de resonancia magnética nuclear en estado sólido, así como los de los monómeros relacionados 20-21 sintetizados según el Esquema 5.

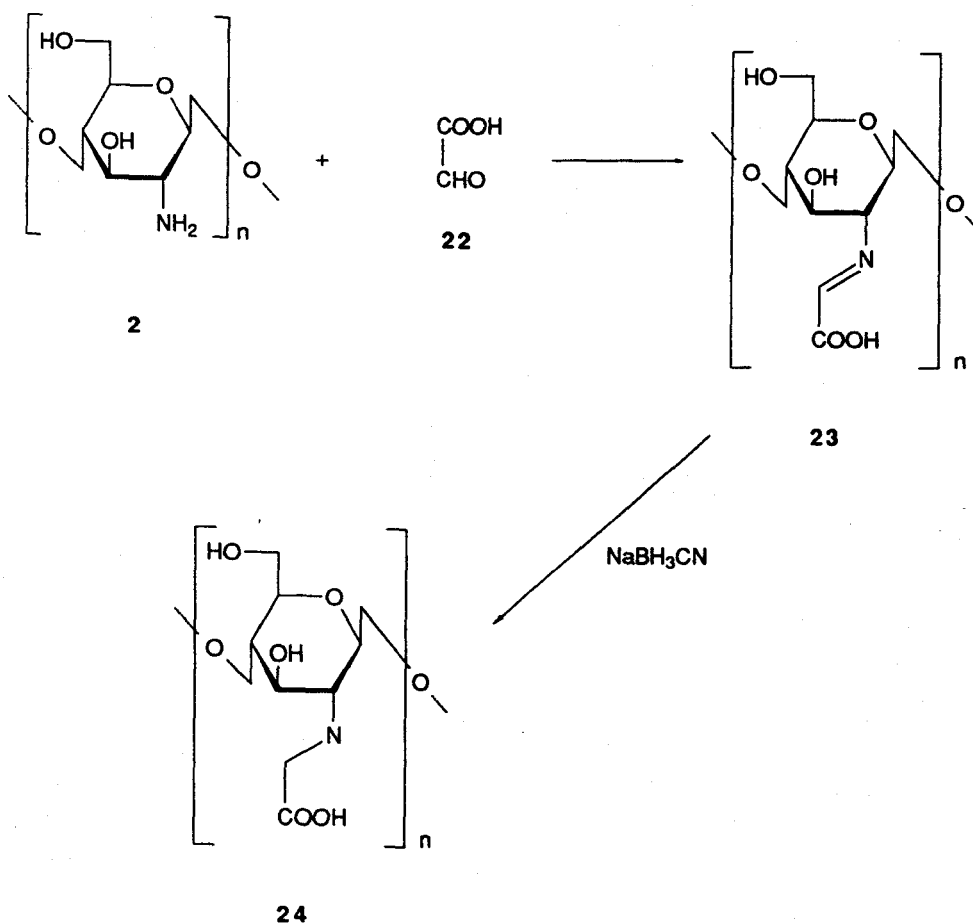


Esquema 5

La formación de bases de Schiff seguida de reducción, por ejemplo, con cianoborohidruro sódico, se conoce como aminación reductiva. Este procedimiento, puesto a punto por Muzzarelli³³ para la quitosana, consiste en la

reacción de ésta con aldehídos, cetonas o cetoácidos y posterior reducción del doble enlace C=N de la azometina formada, y se ha empleado ampliamente, sobre todo en los últimos años para obtener polímeros más resistentes a la hidrólisis que los originales.

La reacción, por ejemplo, con el ácido glioxílico (22), (Esquema 6) llevada a cabo en diferentes proporciones y tiempos rindió *N*-carboximetilenuquitosanas (23) con diferentes grados de sustitución que, por reducción con NaBH₃CN,



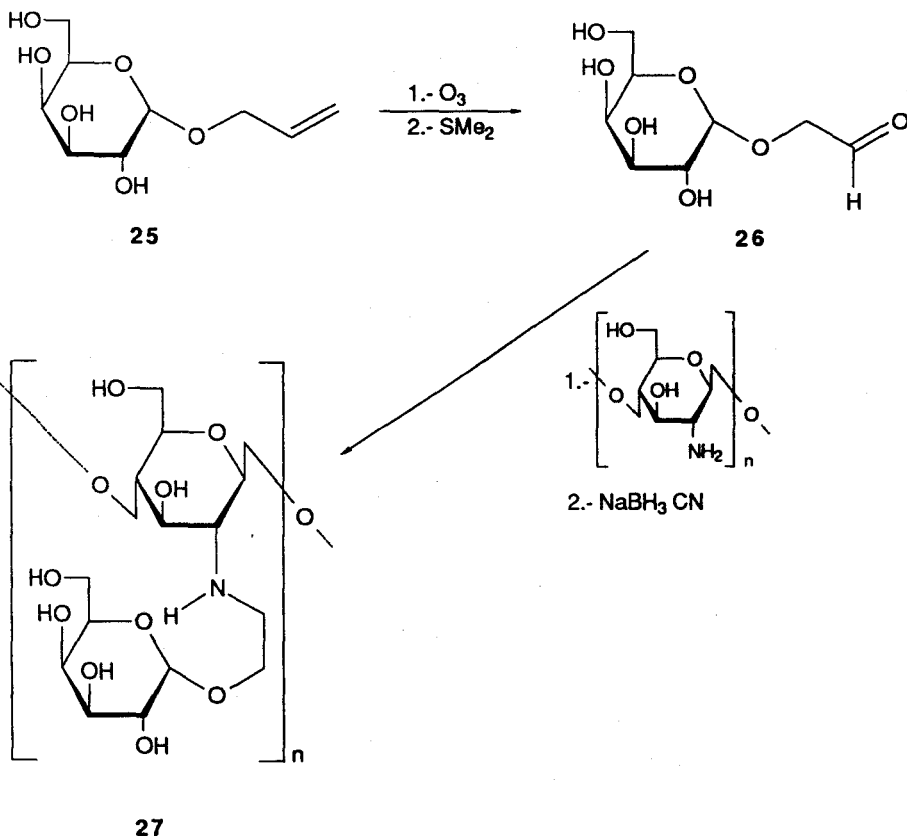
Esquema 6

originaron *N*-carboximetilquitosanas (NCMC, 24). Las propiedades de NCMC se pueden comparar a las del ácido etilendiaminotetraacético (AEDT), ya que en su estructura se encuentra la secuencia N-C-C-O que permite la formación de quelatos en el AEDT; estos nuevos polímeros, solubles a cualquier valor de pH, se mostraron particularmente efectivos en la complejación de iones metálicos.

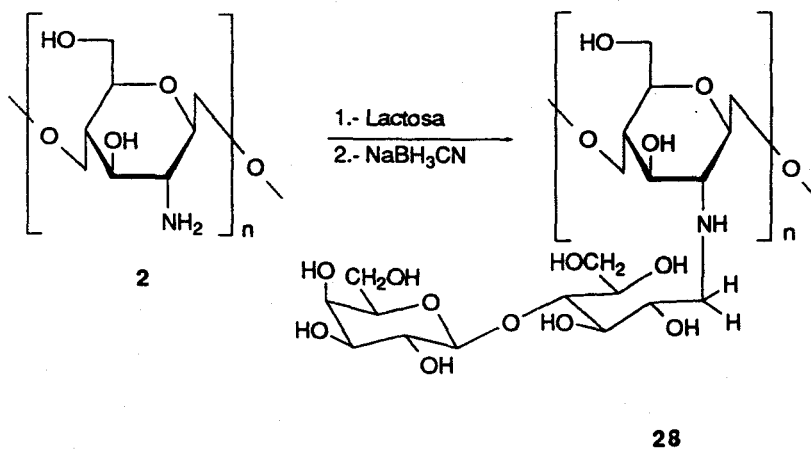
De igual modo, puede hacerse la reacción con ácido pirúvico o con ácido oxalacético, obteniéndose una amplia gama de aminoácidoglucanas³⁴ que se han empleado para purificar aguas residuales de cationes metálicos.

Con objeto de obtener bases de Schiff de quitosana solubles, se han usado como aldehídos, azúcares reductores. Además, Hall y colaboradores³⁵ han usado el aldehído obtenido por ozonólisis reductiva del alil- α -D-galactopiranosido (25) (Esquema 7) y, tras reducir con NaBH₃CN, obtienen productos, 27, solubles en agua cuyas aplicaciones reológicas dependen del grado de sustitución, es decir de la proporción reactivo/quitosana empleada. De igual modo puede hacerse la reacción con lactosa³⁶ y posterior reducción, obteniéndose el derivado 28 (Esquema 8).

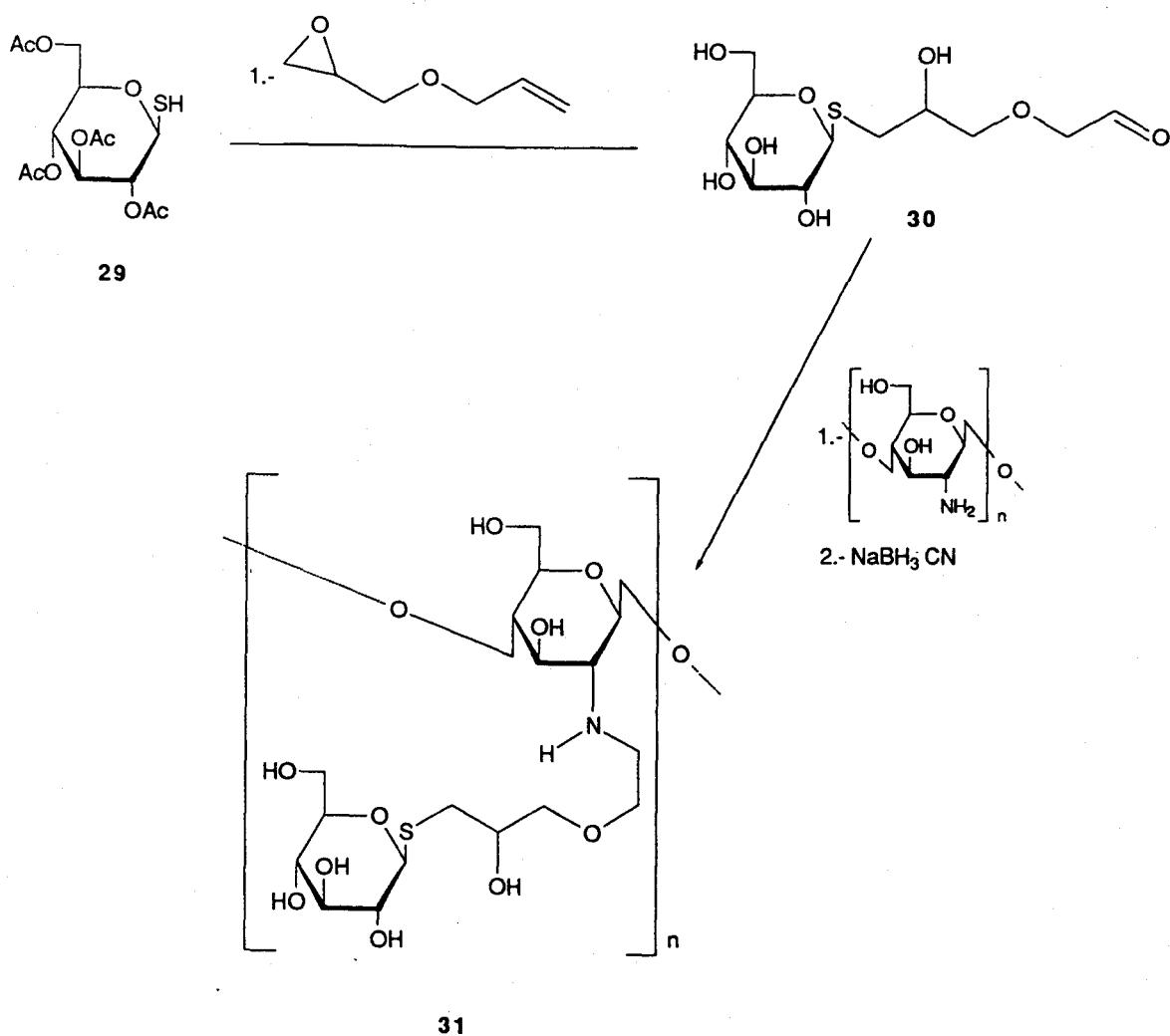
Por aminación reductiva se han preparado también productos que se usan en cromatografía de afinidad. Así, por reacción de quitosana con el tioglicósido 30 que se obtiene según el Esquema 9 y posterior reducción, se obtienen



Esquema 7



Esquema 8



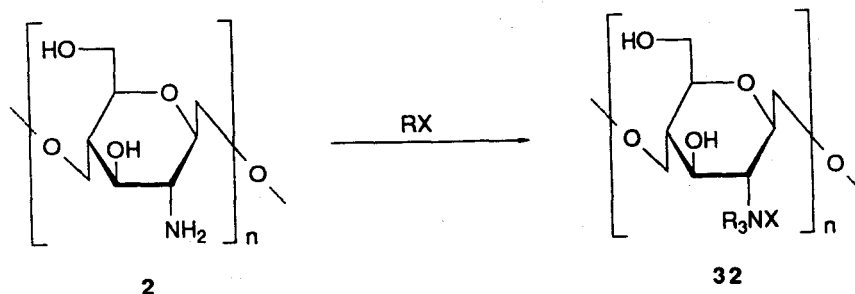
Esquema 9

productos, con la estructura de 31, solubles en agua que se emplean en ese tipo de cromatografía³⁷.

1.3.- N-Alquilderivados.

Otros derivados en el N de la quitosana se obtienen por reacción de ésta con haluros de alquilo. Esta reacción, que supone la cuaternización del átomo de N

(Esquema 10), proporciona derivados, 32, solubles, que Muzzarelli y colaboradores³⁸ han empleado en ensayos de complejación con metales de transición, y Rinaudo³⁹ en un amplio estudio de resonancia magnética nuclear de ¹H y de ¹³C.



Esquema 10

2.- O-Derivados. (Esquema 11)

O-Carboximetilación.

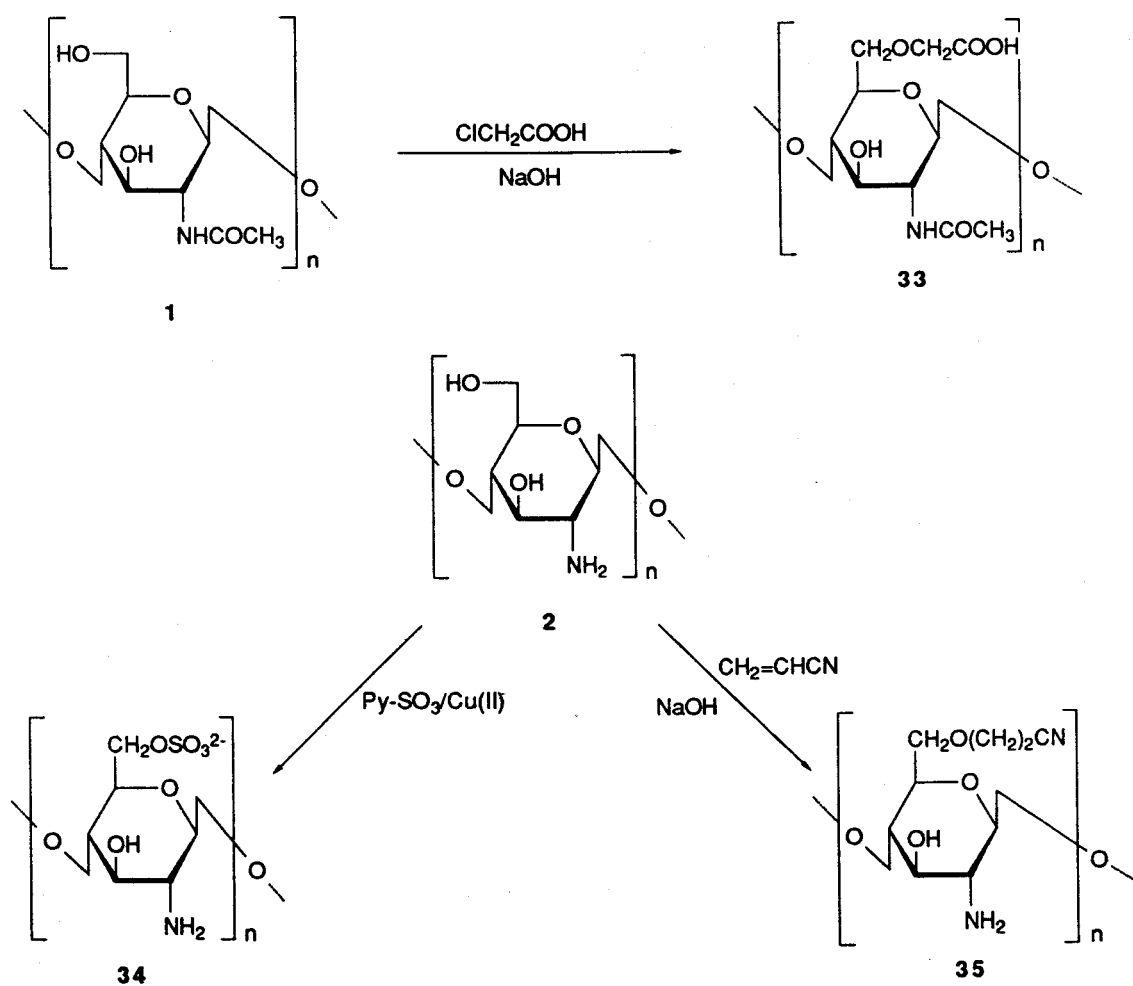
Esta reacción se lleva a cabo por tratamiento de quitina con ácido monocloroacético e hidróxido sódico⁴⁰ y tiene lugar preferentemente en el hidroxilo primario obteniéndose el producto 33.

O-Sulfatación.

La sulfatación selectiva de quitosana se ha llevado a cabo protegiendo el grupo amino con iones cúpricos y tratando con trióxido de azufre en piridina.⁴¹ Se obtiene el 6-O-derivado 34.

Cianoetilación.

Por reacción de quitosana con acrilonitrilo se obtienen también 6-O-derivados 35.⁴²



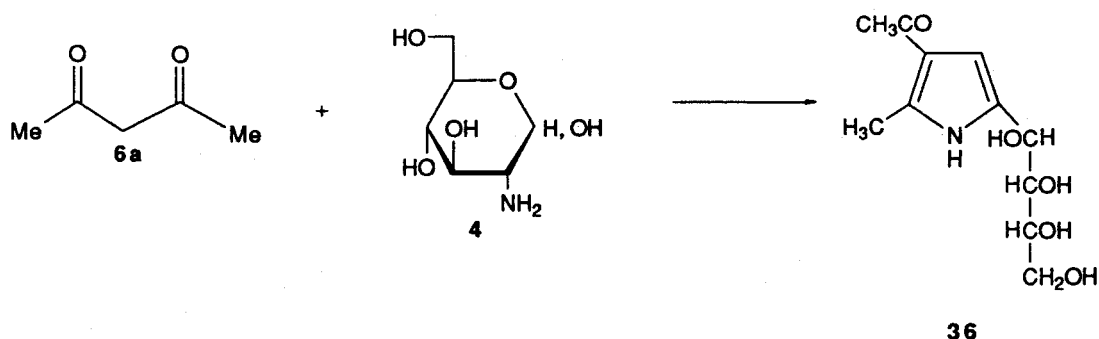
Esquema 11

2. PARTE TEÓRICA.

**2.1.- SÍNTESIS DE N-ACILVINIL DERIVADOS DE LOS
METIL 2-AMINO-2-DESOXI- α (y β)-D-GLUCOPI-
RANÓSIDOS POR REACCIÓN DE ÉSTOS CON
COMPUESTOS 1,3-DICARBONÍLICOS.**

2.1.1. Antecedentes.

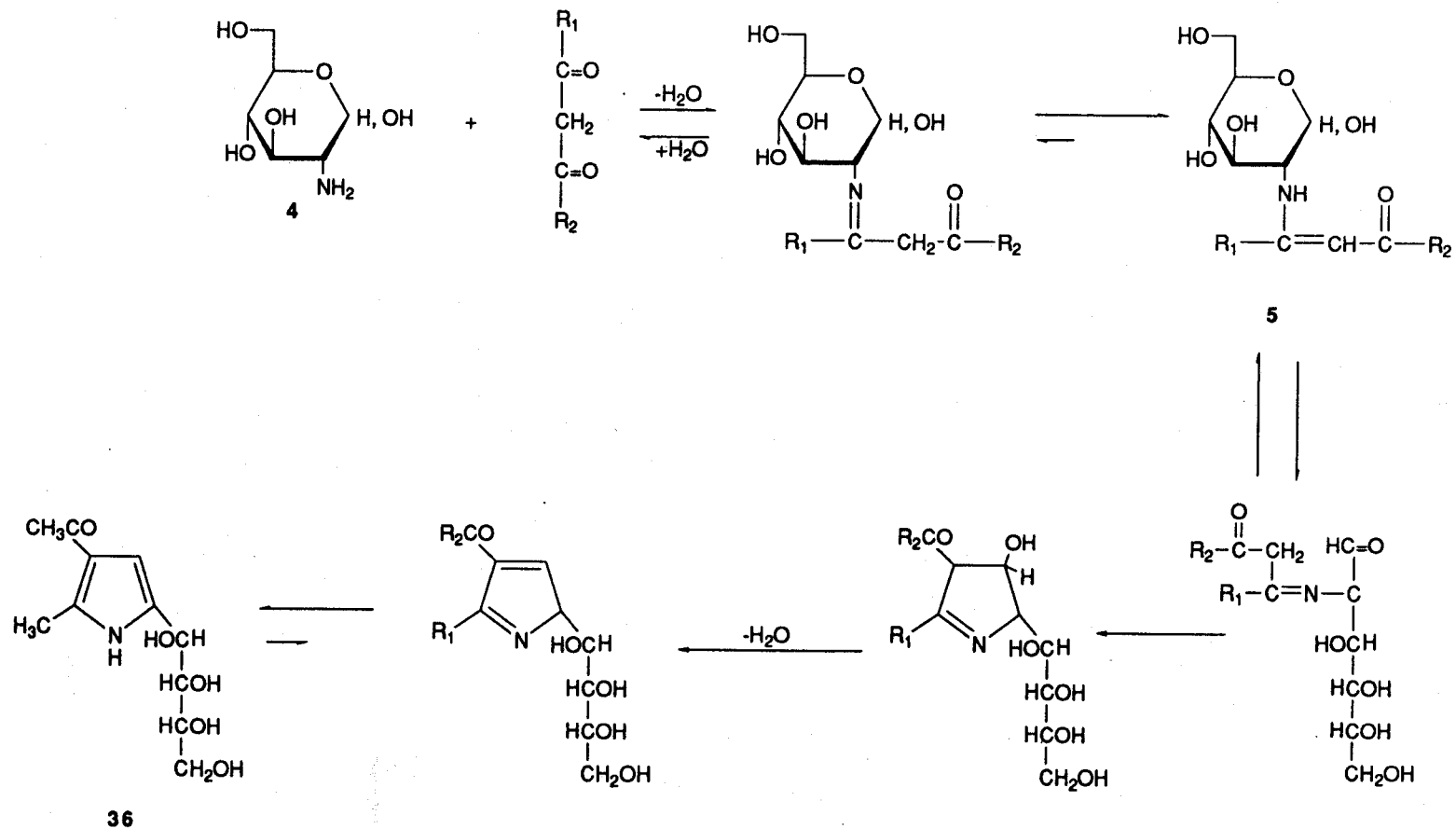
La reacción de amino azúcares con compuestos 1,3-dicarbonílicos ha sido ampliamente investigada en este Departamento de Química Orgánica, ha sido objeto de tres revisiones bibliográficas,⁴³ varias Tesis Doctorales⁴⁴ y numerosas publicaciones. Se trata de una reacción compleja en la que se forma como producto final un 4- (o 5-) (alditol-1-il)pirrol. En el Esquema 12 se representa esta reacción en el caso de la D-glucosamina y la 2,4-pentanodiona, uno de los primeros estudiados.⁴⁵



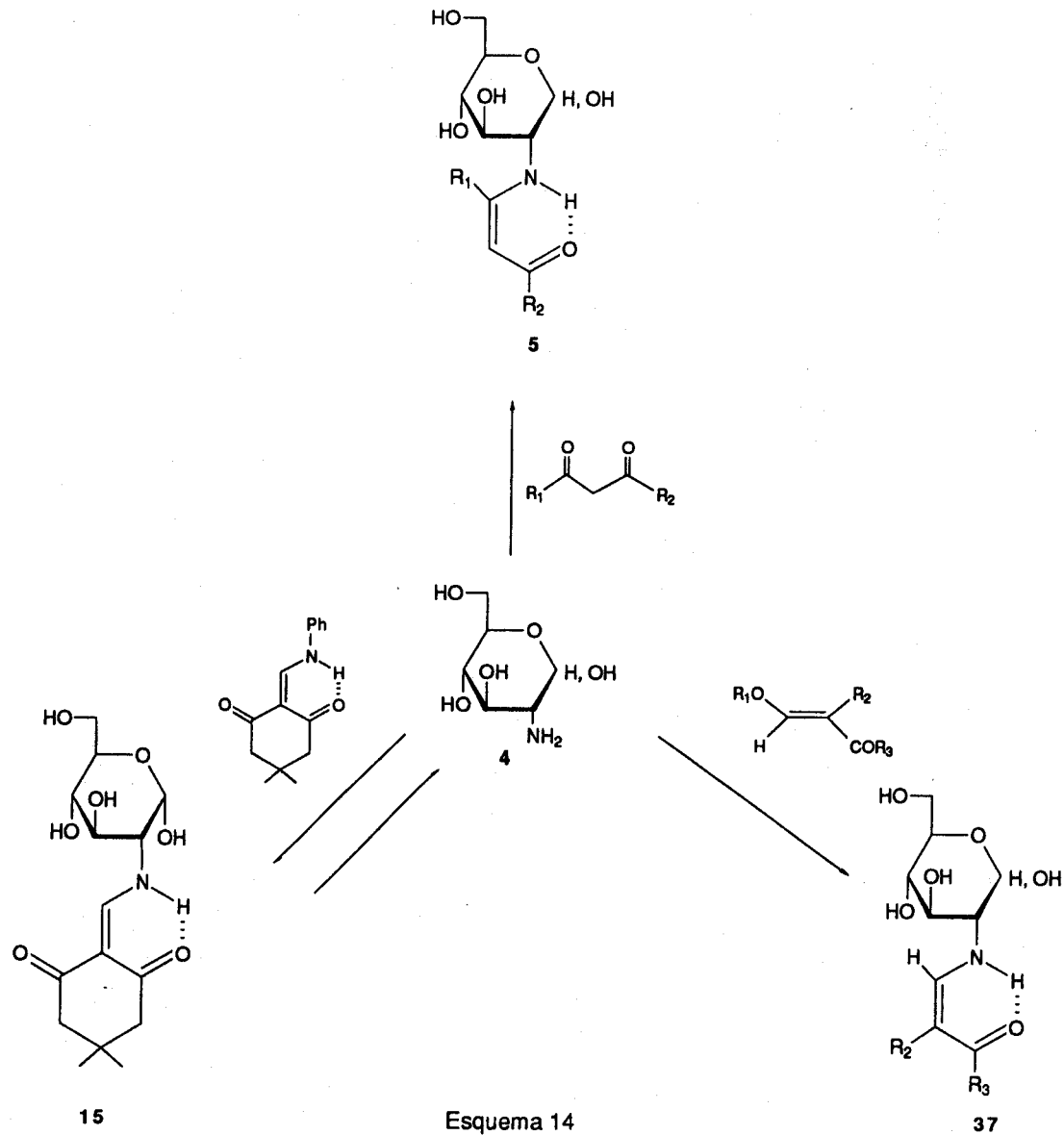
Esquema 12

Se ha investigado esta reacción para 2-amino-2-desoxialdosas o 1-amino-1-desoxicetosas y una amplia variedad de compuestos 1,3-dicarbonílicos.

En cuanto al mecanismo, los datos experimentales indican la formación de una enaminona por reacción del grupo amino del azúcar y uno de los carbonilos del compuesto 1,3-dicarbonílico en una primera etapa (Esquema 13). A continuación, tiene lugar la ciclación a pirrolina mediante



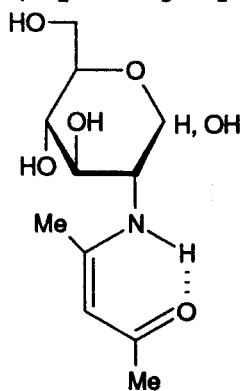
Esquema 13



condensación aldólica intramolecular del metileno activo de la forma imina con el carbonilo en posición 1 en el tautómero acíclico. La deshidratación y el reordenamiento prototrópico subsiguiente da el pirrol 36.

Este mecanismo está apoyado por el aislamiento de numerosos intermedios del tipo enaminona, los cuales son particularmente estables cuando la geometría de la agrupación de enaminona permite una estructura quelatada, por formación de puente de hidrógeno intramolecular, y los grupos R_1 y/o R_2 facilitan la deslocalización electrónica del sistema de enaminona. Estas ciclan fácilmente originando el pirrol final.

Un estudio más reciente⁴⁶ sobre las mismas ha permitido generalizar y esquematizar la preparación de *N*-acilvinil derivados (enaminonas) de amino azúcares por tres procedimientos principales (Esquema 14). El más general de ellos⁹ se basa en la reacción del amino azúcar con un compuesto 1,3-dicarbonílico, por ejemplo la 2,4-pentanodiona,



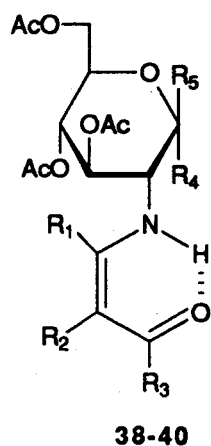
5a

obteniéndose con buen rendimiento 5a.

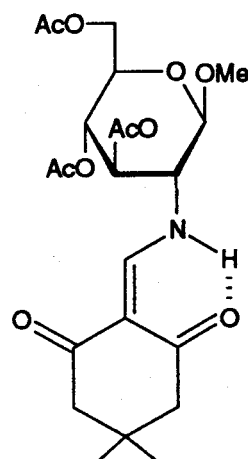
Mediante un segundo procedimiento, la D-glucosamina se hace reaccionar con un acilviniléter de fórmula general $R_1O-CH=C(R_2)COR_3$ (por ejemplo el etoximetilénmalonato de dietilo). De esta forma se obtienen con rendimientos cuantitativos,⁴⁷ los N-diacilvinilderivados 37 de la 2-amino-2-desoxi- α -D-glucopiranososa.

Por último como se comentó en la Introducción, la reacción de transaminación entre el amino azúcar y la 2-anilinometilén-5,5-dimetil-1,3-ciclohexanodiona origina la aminoenona de la D-glucosamina 15 con un rendimiento¹⁴ del 75%.

Estos N-acilvinilderivados mostraron ser excelentes sustratos para obtener buenos rendimientos de α - (a partir de 37, $R_2=CO_2Et$, $R_3=OEt$) y β -D-glucosamínidos (a partir de 15). Su empleo en reacciones de glicosidación por los procedimientos de Fischer y Koenings-Knorr ha permitido obtener con facilidad una amplia gama de α - y β -glucopiránosidos de fórmulas 38-40 y 41 β , entre otros.

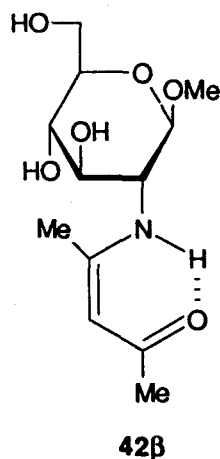
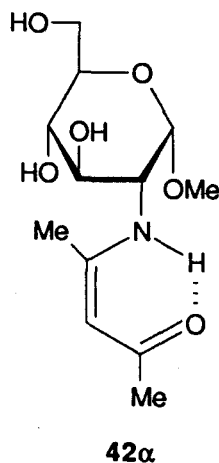


	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
38 α	H	CO_2Me	OMe	OMe	H
38 β	H	CO_2Me	OMe	H	OMe
39 α	H	CO_2Et	OEt	OEt	H
39 β	H	CO_2Et	OEt	H	OEt
40	Me	H	Me	H	OMe

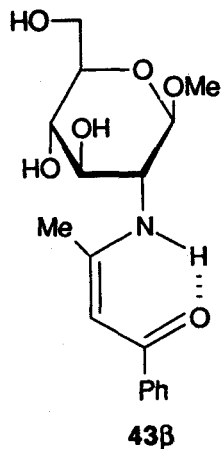
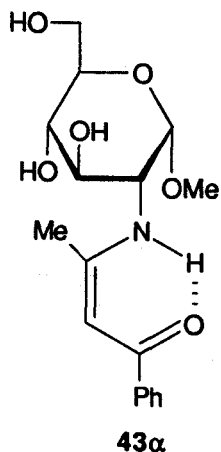


41 β

En la Tesis Doctoral de P. Borrachero^{46a} se prepararon otros metil 2-acilvinilamino-2-desoxi- α -D-glucopiranosidos **42 α** y **43 α** no asequibles por los métodos anteriores.



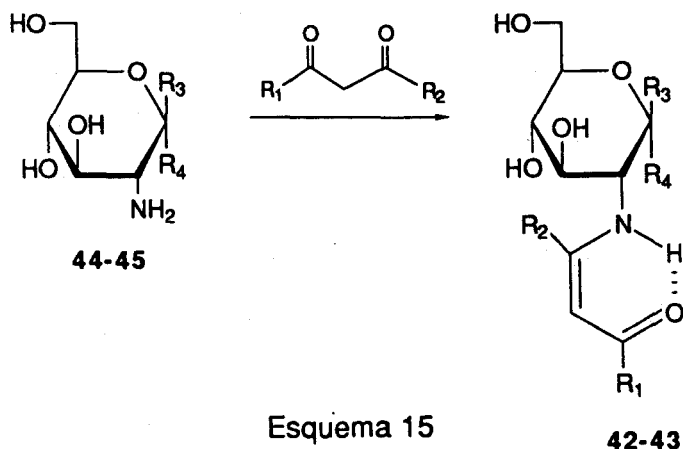
En esta Tesis se han preparado los metil *N*-acilvinil- β -D-glucosamínidos **9 a-b** (numerados **42 β** y **43 β** a partir de ahora) que, como presentan la configuración de la quitosana, constituyen compuestos modelos en el estudio estructural de los nuevos derivados de este polímero.



2.1.2. Síntesis.

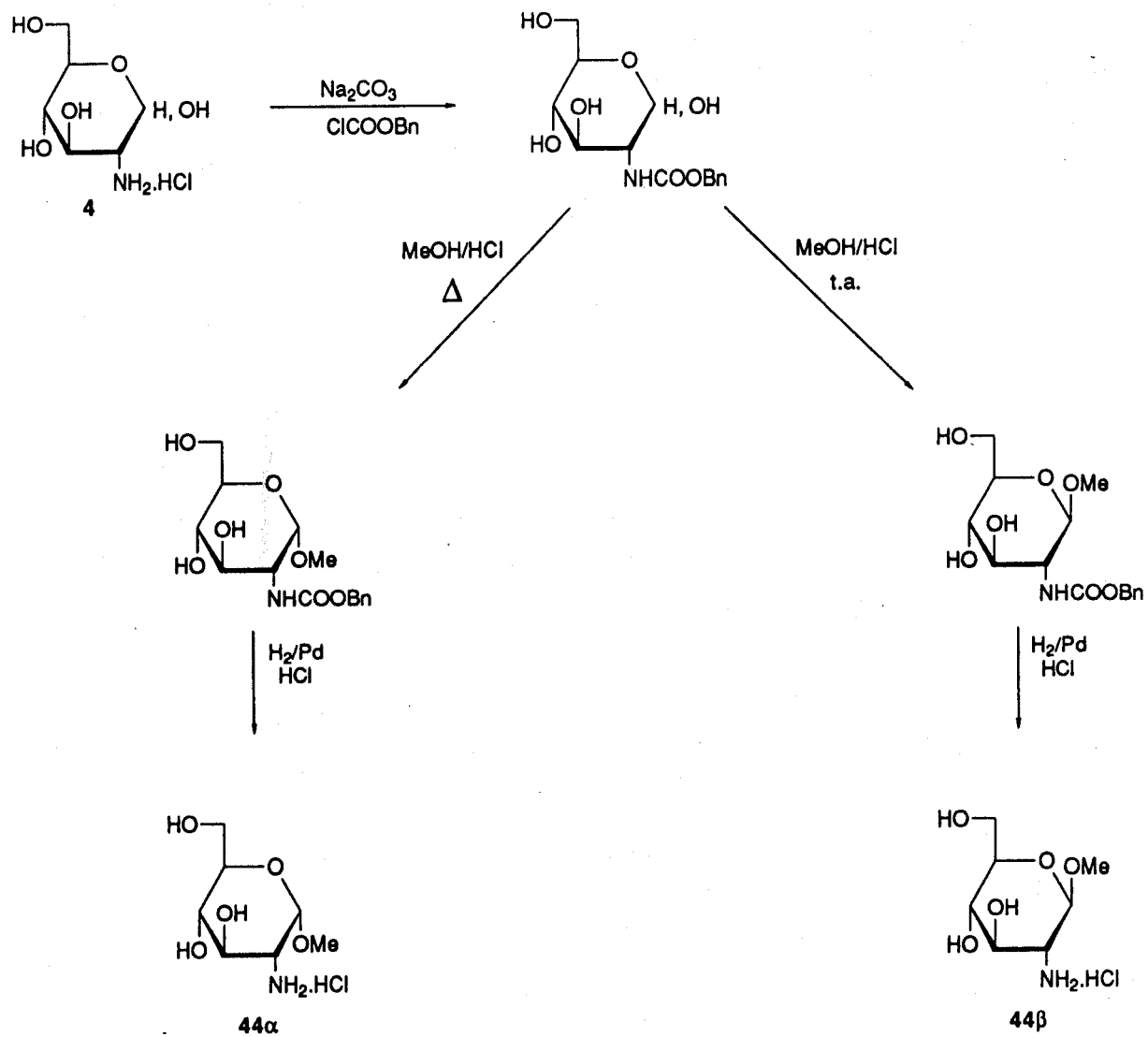
Se han preparado los metil *N*-acilvinil- α -D-glucosamínidos **42 α** y **43 α** (descritos en la literatura)⁴⁸ por

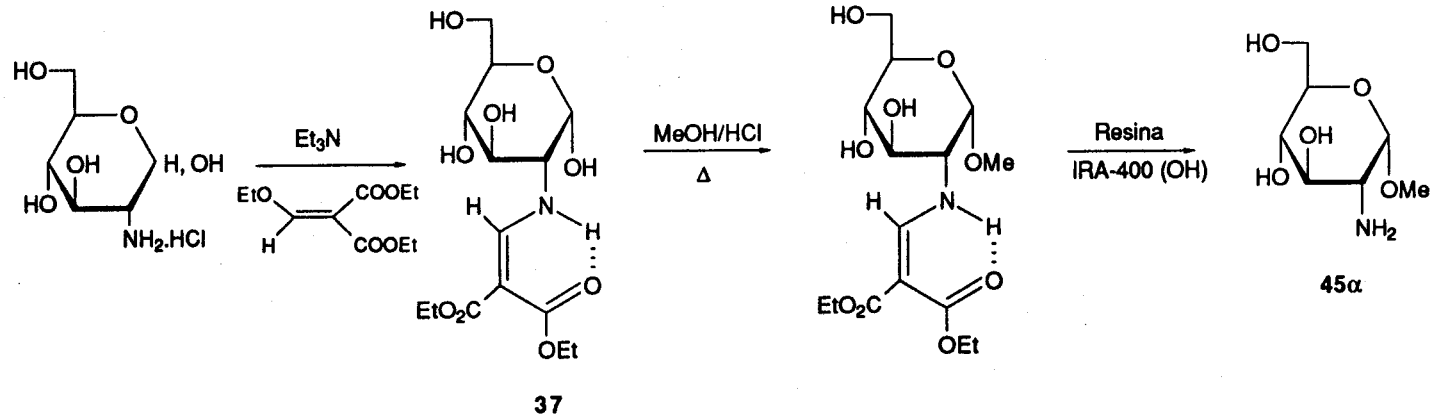
reacción del metil α -D-glucosamínido (en forma de clorhidrato (44 α), o bien de su base libre (45 α)) con el compuesto 1,3-dicarbonílico correspondiente (Esquema 15).



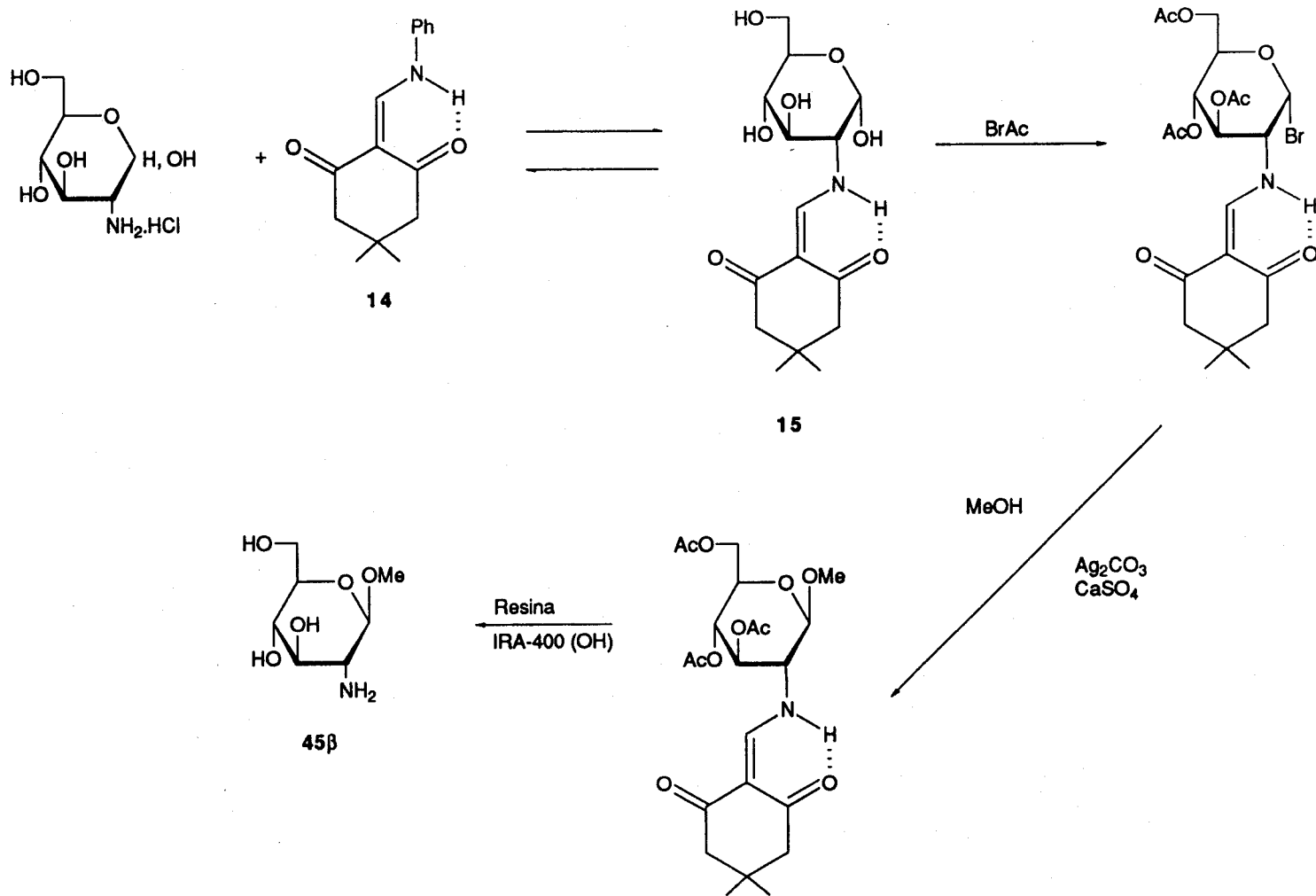
Previamente se han obtenido los hidroccloruros de los anómeros α y β del metil 2-amino-2-desoxi-D-glucopirano-sido (44 α y 44 β) siguiendo el procedimiento descrito por Foster, Horton y Stacey⁴⁹ según se indica en el Esquema 16. En otras ocasiones, se prepararon las bases libres (45 α y 45 β) usando procedimientos puestos a punto en este Departamento de Química Orgánica y que se recogen en los Esquemas 17 y 18.

La reacción de formación del enaminoglicósido se lleva a cabo calentando a reflujo en metanol (y en presencia de trietilamina si se parte del clorhidrato del producto de partida). El seguimiento de las reacciones se lleva a cabo por cromatografía sobre capa fina de gel de sílice, utilizando como eluyente mezclas de diclorometano y metanol en diversas proporciones. Tras la eliminación del disolvente a





Esquema 17



Esquema 18

presión reducida el producto crudo se purifica por recristalizaciones sucesivas de etanol absoluto.

En la preparación de los nuevos β -glucosamínidos **42 β** y **43 β** se opera de forma semejante y la purificación de los mismos implica cromatografía en columna sobre gel de sílice del producto bruto de reacción.

Los rendimientos, sus propiedades físicas y sus datos analíticos y espectrales de U.V. e I.R., concordantes con las estructuras que se asignan, se encuentran en la Parte Experimental.

2.1.3. Caracterización.

Estos productos presentan máximos de absorción en el ultravioleta correspondientes a la agrupación de cetona β -amino- α,β -insaturada. Aparecen a los mismos valores de longitud de onda y con absortividades molares muy similares a las de las enaminonas relacionadas derivadas de la D-glucosamina,⁹ λ ~310 nm para los compuestos derivados de la 2,4-pentanodiona y λ ~340 nm para los que derivan de la 1-fenil-1,3-butanodiona.

En cuanto a los espectros de infrarrojo, de igual modo, se aprecian las similares absorciones que en las enaminonas correspondientes. Aparece una banda ancha y fuerte entre 3400-3300 cm^{-1} correspondiente a $\nu(\text{O-H})$ y $\nu(\text{N-H})$. En la

región de doble enlace se aprecian dos bandas fuertes que se asignan a $\nu_{C=O}$ y modo acoplado de enamina $\nu_{(C=C)} + \nu_{(C-N)} + \delta_{(N-H)}$. Además, pueden distinguirse bandas de intensidad fuerte o media para flexiones de O-H ($1200-1000 \text{ cm}^{-1}$).

Los valores de poder rotatorio medidos confirman la anomería asignada en cada caso, verificándose que los metil α -D-glucosamínidos son más dextrorrotatorios que los β -análogos.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C confirman la existencia de la agrupación de *N*-acilvinilo (para esta agrupación se empleará la numeración n' , mientras que la porción de azúcar se numerará con n). Así, en el espectro de ^1H de 42α en dimetilsulfóxido- d_6 pueden distinguirse las tres señales características del sistema, las dos señales de metilo a δ 1.84 y 1.94 ppm y la del protón etilénico a δ 4.90 ppm. Para 42β se observan también señales análogas a valores de desplazamiento químico de 1.86, 1.89 y 4.92 ppm, respectivamente. La diferencia entre ambos anómeros 42α y 42β se manifiesta en la señal del protón anomérico. En general, la señal de éste para los anómeros β sale a campo más alto que la correspondiente a los anómeros α . Esto se comprueba, en este caso, ya que $\delta_{\text{H-1},\alpha}$ vale 4.60 ppm y $\delta_{\text{H-1},\beta}$ 4.21 ppm. Las señales de H-1 para ambos compuestos son dobletes. El valor de la constante de acoplamiento entre los protones de azúcar H-1 (anomérico) y H-2 ($J_{1,2}$) es otro

argumento a favor de las anomerías asignadas. Generalmente, $J_{1,2}$ es mayor en el caso de los anómeros β que en el de los α . Para este par de anómeros, en 42α $J_{1,2}$ vale 3.0 Hz y para 42β $J_{1,2}$ 7.5 Hz. La señal de $-\text{OCH}_3$ aparece, respectivamente, a 3.3 y 3.6 ppm (Tabla 1).

El resto de señales en el espectro de ambos compuestos en dimetilsulfóxido- d_6 corresponde a los protones hidroxílicos: se aprecian dos dobletes y un triplete en consonancia con la existencia de dos hidroxilos secundarios, OH-3 y OH-4, y uno primario, OH-6. Al deuterar la muestra estas señales desaparecen. No se asigna el resto de los protones de azúcar ya que aparecen no resueltos entre 3 y 4 ppm.

Los espectros de ^{13}C para este par de anómeros son, también, muy similares entre sí. Hay diferencias significativas en los desplazamientos químicos de los carbonos de azúcar C-1, C-2, C-3 y C-5 que aparecen más apantallados en los anómeros β . Este efecto es más acusado en la señal del carbono anomérico ($\Delta\delta \sim 7.5$ ppm). Las diferencias entre los desplazamientos químicos de los otros carbonos oscilan entre 2.5 y 3.5 ppm. El resto de señales de azúcar y del sistema *N*-acilvinilo presentan, respectivamente, valores de desplazamiento químico semejantes. Los metilos $\text{CH}_3\text{-C-1}'$ y $\text{CH}_3\text{-C-3}'$ aparecen, respectivamente, a δ 19.4-19.6 ppm y δ 28.8 ppm. La señal a δ 57.1-59.5 ppm se asigna a OCH_3

Tabla 1. Datos de $^1\text{H-RMN}$ de los compuestos 42α , 42β , 43α y 43β (DMSO-d_6).

	H-1	H-2,3...H-6	OH	OMe	H-2'	R ₁	R ₂
42α	4.60 d $\downarrow_{1,2}$ 3.0 Hz	<----3-4---->	4.65 t 5.09 d 5.21 d	3.3 s	4.90 s	1.90 s	1.84 s
42β	4.21 d $\downarrow_{1,2}$ 7.5 Hz	<----3-4---->	4.63 t 5.17 d 5.29 d	3.6 s	4.92 s	1.89 s	1.86 s
43α	4.73 d $\downarrow_{1,2}$ 3.0 Hz	<---3-3.8--->	4.63 t 5.11 d 5.33 d	3.36 s	5.73 s	7.41-7.43	2.12 s
43β	4.35 d $\downarrow_{1,2}$ 7.3 Hz	<---3-3.8--->	4.63 t 5.17 d 5.35 d	3.39 s	5.77 s	7.45-7.84	2.08 s

mientras que las de C-4 y C-6 del azúcar resuenan a δ 70.4-70.6 ppm y δ 60.8-61.0 ppm, respectivamente. En cuanto a los tres carbonos restantes del sistema *N*-acilvinilo originan señales a 163-164 ppm (C-1'), 95.5-98.5 ppm (C-2') y 193-195.5 ppm (C-3'). En la Tabla 2 (apartado 2.2.2.1.) se recogen los valores de $\delta(^{13}\text{C})$ de estos compuestos junto con los del derivado de la quitosana relacionado, con el fin de facilitar la interpretación del espectro de éste último.

Todo lo que se ha comentado respecto a los compuestos 42α y 42β es extensible a 43α y 43β , derivados de la 1-fenil-1,3-butanodiona. Las señales del sistema *N*-acilvinilo en los espectros de ^1H , aparecen a δ 2.12 ppm ($\text{CH}_3\text{-C-1}'$), 5.73 ppm (H-3') y 7.41-7.83 ppm (C_6H_5) para 43α y a δ 2.08, 5.77 y 7.45-7.84 ppm para 43β . También, en este caso, la distinción entre ambos anómeros puede hacerse mediante la señal de H-1. El desplazamiento químico de ésta para 43α es 4.73 ppm y para 43β 4.35 ppm. Los valores de la constante de acoplamiento $J_{1,2}$ son, respectivamente, 3.0 y 7.3 Hz. Los valores de $J_{1,2}$ y δ confirman las anomerías respectivas para 43α y 43β .

Aparte de estas señales, pueden comentarse también las de los protones hidroxílicos, que como en los casos anteriores, originan dos dobletes (OH-3 y OH-4) y un triplete (OH-6) (Tabla 1) y la de OCH_3 , que es un singulete a δ 3.36 y 3.39 ppm. No se asignan individualmente las

restantes señales de azúcar que aparecen como un multiplete complejo entre δ 3 y 3.8 ppm.

En cuanto a los espectros de ^{13}C de estos dos anómeros, las señales de C-2, C-3 y C-5 del anómero β aparecen apantalladas en un valor de δ que oscila entre 2.5 y 3.5 ppm respecto a las mismas señales en el anómero α , y la del carbono anomérico en casi 10 ppm. Los desplazamientos químicos de las señales de azúcar tiene valores muy parecidos a las del par de anómeros derivados de la 2,4-pentanodiona (42α y 42β). Las señales restantes corresponden a $\text{CH}_3\text{-C-1'}$, $\text{C}_6\text{H}_5\text{-}$ y C-1', C-2' y C-3' del sistema *N*-acilvinilo.

Los valores de desplazamiento químico (^{13}C) para estos compuestos se recogen en la Tabla 4 del siguiente apartado de esta Parte Teórica, en el que se incluyen para facilitar la interpretación de espectros de derivados de quitosana relacionados.

**2.2. REACCIÓN DE QUITOSANA CON COMPUESTOS
1,3-DICARBONÍLICOS.**

2.2.1. Caracterización química de la quitosana.

Grado de desacetilación

Previamente a cualquier reacción con quitosana, ya que éste es un término general que engloba a quitinas desacetiladas, interesa conocer algún parámetro que permita caracterizar cada muestra en concreto. Desde el punto de vista químico, el que más interesa es el grado de desacetilación. Una vez conocido éste, sabremos el grado de sustitución máximo que se puede conseguir. El grado de desacetilación que, puede definirse como el porcentaje de grupos amino libres que hay en la quitosana, se ha cuantificado por procedimientos muy variados: espectroscopia $^1\text{H-r.m.n.}$, espectroscopia i.r. y uv, titulación coloidal y diversos métodos colorimétricos.²³ Todos se basan en alguna propiedad de los grupos acetamido existentes: absorción en el infrarrojo de las bandas de amida, del grupo metilo en resonancia magnética nuclear, reacciones de derivatización, etc.

De todos ellos hemos elegido los que se basan en la espectroscopia de infrarrojo por ser ésta una técnica rápida y fácil de aplicar.

En general, una amida puede originar tres bandas de absorción en el infrarrojo, que se conocen como banda de amida I a 1655 cm^{-1} , banda de amida II a 1555 cm^{-1} y banda III a 1310 cm^{-1} .

El primer procedimiento en que se hizo uso de esta técnica fue descrito por Sannan y colaboradores,⁵⁰ quienes propusieron la absorción de la banda II de amida para cuantificar los grupos acetamido, y como referencia interna, la absorción de la banda de tensión de C-H a 2870 cm^{-1} . Posteriormente, Miya y colaboradores⁵¹ encontraron que, para muestras altamente desacetiladas, la absorción de la banda de amida II podía aparecer desplazada de su valor habitual hasta 1595 cm^{-1} , por lo que en su lugar usaron la banda I de amida, más concretamente el cociente A_{1655}/A_{2870} , y establecieron una relación entre este valor y el grado de desacetilación determinado por titulación coloidal. Esta relación, que expresaron gráficamente, permite determinar con precisión el grado de desacetilación siempre que las muestras estén muy desacetiladas (90-100%).

Otra posibilidad es usar como referencia interna la banda de tensión de O-H a 3450 cm^{-1} ; sin embargo, Rinaudo²⁴ encuentra esta referencia más útil cuando el contenido en grupos acetilo es más alto. En concreto, para quitinas completamente acetiladas el cociente A_{1655}/A_{3450} vale 1.33 y el porcentaje de N-acetilo lo determinan según la expresión:

$$\% \text{ N-acetilo} = A_{1655}/A_{3450} \cdot 100/1.33$$

En nuestro caso, teniendo en cuenta que la absorbancia para una banda dada se define como $A = \log I_0/I$, encontramos un valor de 0.436 para el cociente A_{1655}/A_{2870} en

la muestra más desacetilada, lo que supone, según la relación gráfica propuesta por Miya y colaboradores,⁵¹ un grado de desacetilación del 86.4%.

Las líneas de base empleadas para calcular la absorbancia de una banda se indican en la Figura 1.

El análisis elemental encontrado para esta muestra es acorde con el grado de desacetilación calculado. Calculado para $[(C_6H_{11}NO_4)_{0.87} (C_8H_{13}NO_5)_{0.13} \cdot 0.8H_2O]$: C, 41.53; H, 7.16; N, 7.74. Encontrado: C, 41.21; H, 6.77; N, 7.68.

Teniendo en cuenta un error del $\pm 1\%$ en las determinaciones del grado de desacetilación de la quitosana por infrarrojo, a partir de ahora nos referiremos a esta quitosana como quitosana de grado de desacetilación 87%. Esta es la quitosana que se ha usado en todas las preparaciones llevadas a cabo en esta Tesis.

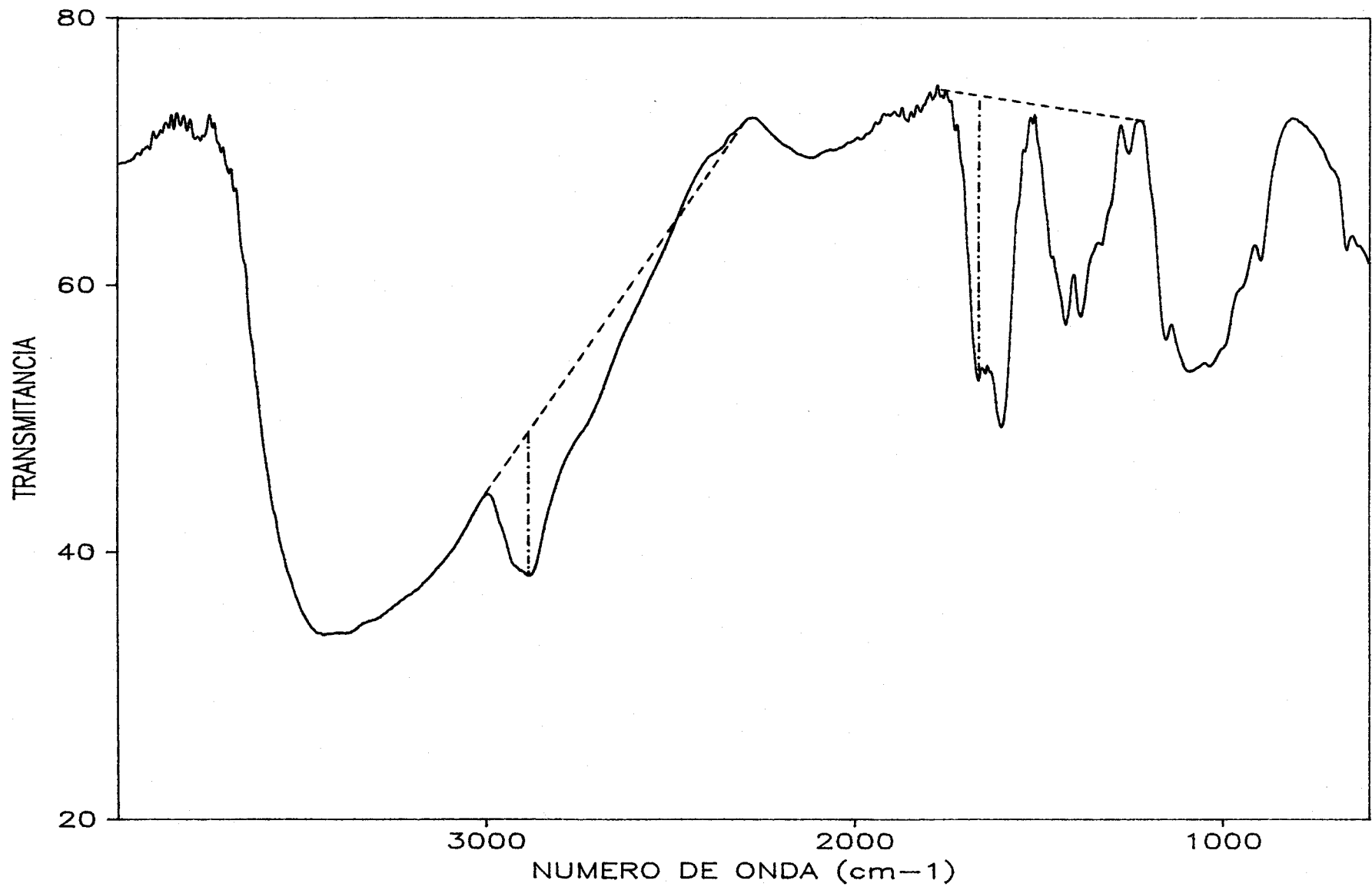
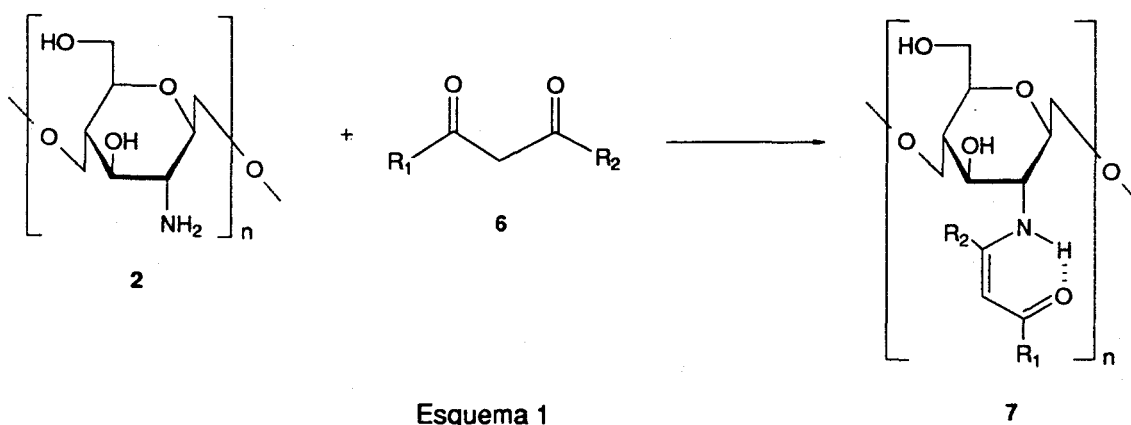


Figura 1.- Espectro de I.R. de quitosana de grado de desacetilación 87%

2.2.2. Reacción con 2,4-pentanodiona.

A la vista de los antecedentes comentados respecto a la reactividad de la quitosana y los buenos rendimientos con que se obtienen *N*-acilvinilderivados de glucosamina, decidimos estudiar la reacción de quitosana de grado de desacetilación conocido con algunos compuestos 1,3-dicarbonílicos (Esquema 1) o equivalentes sintéticos de los mismos.



Se eligió en primer lugar la 2,4-pentanodiona ya que es un producto comercial fácilmente asequible y es bien conocida su alta capacidad para formar quelatos estables con un buen número de metales de transición. La introducción de este grupo en la quitosana supondría, por tanto, un aumento de su propia capacidad quelatante.

Asimismo, su reacción con la *D*-glucosamina, tal como se ha visto en los Antecedentes, ha sido estudiada ampliamente.

La adición de una disolución de acetilacetona en

metanol a otra de quitosana en ácido acético acuoso origina un aumento de la viscosidad de la mezcla resultante, de forma que transcurridas cuatro horas a temperatura ambiente la mezcla gelifica. Esta reacción se ha llevado a cabo en proporciones reactivo/quitosana que variaron desde 1:1 hasta 5:1. Los productos se purificaron por diálisis y liofilización sucesivas hasta formar "xerogeles" de color blanco que resultaron ser insolubles en ácido acético acuoso y disolventes orgánicos polares y apolares.

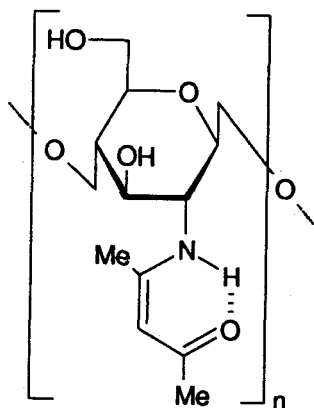
2.2.2.1. Caracterización de los nuevos productos.

La caracterización de estos productos se llevó a cabo mediante sus datos analíticos (relación C/N) y espectroscópicos (espectroscopia de infrarrojo y de resonancia magnética nuclear de ^{13}C en estado sólido empleando la técnica de ángulo mágico de giro y polarización cruzada, ^{13}C -r.m.n.-c.p.-m.a.s.). La insolubilidad de los mismos impidió el empleo de técnicas espectroscópicas en disolución (espectroscopia UV, ^1H y ^{13}C -r.m.n. en disolución, medida de poder rotatorio, etc.) habituales en la determinación de estructuras de compuestos orgánicos.

La relación C/N derivada de los datos de microanálisis mostró que el grado de sustitución aumenta al crecer la relación molar reactivo/quitosana empleada. Sólo cuando se usaron relaciones ≥ 3 , el grado de sustitución conseguido fue 1.0. En estas condiciones, todos los grupos amino libres

(87%) se transforman. Relaciones molares inferiores originaron sustituciones parciales. Para cuantificar el grado de sustitución conseguido se empleó también la espectroscopia de infrarrojo. La relación entre la absorbancia de la banda a 1605 cm^{-1} , característica del nuevo sistema formado como se verá más adelante, y la banda a 2870 cm^{-1} (C-H), (A_{1605}/A_{2870}) , proporciona el grado de sustitución una vez conocido el valor de dicho cociente para una quitosana totalmente sustituida. Se trata de una extensión del método de Miya y colaboradores⁵¹ que, como se expuso en el apartado anterior, estima la proporción de grupos acetilo mediante la relación de la absorbancia de la banda II de amida y la de tensión de C-H a 2870 cm^{-1} .

Conocida la relación reactivo/quitosana óptima, todas las preparaciones posteriores se realizaron de este modo, obteniéndose con un rendimiento del 94% el compuesto (1→4)-2-[Z-(2-acetil-1-metilvinil)amino]-2-desoxi-β-D-glucana (7a). Este producto es muy estable al aire, pero tiene una



7a

gran tendencia a hidratarse, por lo que para posteriores determinaciones espectroscópicas se secó a alto vacío (0.02 Torr.) y a 100°. Descompone sin fundir por encima de 200°.

A) Hidrólisis ácida.

El nuevo polímero, que es estable en disolución acuosa, se hidroliza en medio ácido a temperatura ambiente, rindiendo quitosana (que se puede aislar en forma de clorhidrato si el ácido que se emplea es el ácido clorhídrico) y el compuesto 1,3-dicarbonílico de partida. La cuantificación de éste (Parte Experimental) para una cantidad exactamente pesada de polímero ratifica que el grado de sustitución conseguido es 1.00.

A pesar de que la acetilacetona es un compuesto orgánico muy conocido y empleado desde hace tiempo, no existen muchos procedimientos en la bibliografía para su cuantificación. Uno de ellos,⁵² basado en la determinación espectrofotométrica de la 2,4-dinitrofenilhidrazona derivada obtenida en medio metanólico alcalino, presenta un gran número de interferencias. Su empleo no proporcionó, en este caso, datos consistentes. Incluso las trazas de acetona en metanol interfieren; por otro lado, la alta proporción de forma enólica que presenta este compuesto dificulta muchas de las reacciones sobre el grupo carbonilo.

Un segundo procedimiento,⁵³ que fue el que se

empleó con éxito en este caso, consiste en la determinación colorimétrica del complejo $[\text{FeL}]^{2+}$, siendo HL acetilacetona; la formación del complejo tiene lugar de forma instantánea a pH ácido. Para obtener datos reproducibles fue preciso un control riguroso del pH por lo que el reactivo (disolución de nitrato férrico) se preparó en una disolución tampón fosfórico/fosfato de pH 3.1. Asimismo, se comprobó que el pH de la disolución final fue constante. Se construyó previamente una recta de calibrado para disoluciones con concentraciones conocidas en el intervalo 10^{-4} a 10^{-5} M que es en el que se cumple la ley de Beer. La interpolación de la absorbancia medida para las muestras problema dió la cantidad de acetilacetona hidrolizada en cada ocasión.

Otro método descrito para valorar acetilacetona⁵⁴ no se usó dado los resultados satisfactorios encontrados con el anterior y las rigurosas condiciones experimentales exigidas. El reactivo empleado es la sal de diazonio interna del ácido antranílico, que sólo es estable durante un día. Este método se emplea para cantidades más pequeñas de acetilacetona (del orden de ppm).

La cantidad de clorhidrato de quitosana que se recupera tras la hidrólisis (Parte Experimental) es consistente con la cantidad de compuesto 1,3-dicarbonílico valorado y está de acuerdo, por tanto, con la estructura propuesta.

B) Espectroscopia IR.

El espectro de IR del nuevo polímero realizado sobre pastilla de KBr es el característico de una cetona β -amino- α,β -insaturada o enamínona. Junto con las bandas de vibración correspondientes a flexiones o tensiones de enlace N-H y O-H, las absorciones más interesantes son dos que aparecen a 1605 y 1566 cm^{-1} atribuibles al sistema de aminoenona ($\nu_{\text{C=O}}$ y modo acoplado de enamina [$\nu_{(\text{C=C})} + \nu_{(\text{C-N})} + \delta_{(\text{N-H})}$]), de igual modo que ocurre en el compuesto análogo derivado de la D-glucosamina, 2-[Z-(2-acetil-1-metilvinil)amino]-2-desoxi- α -D-glucopiranososa (5a) o con los metil α - (42 α) y β -glucosamínidos (42 β) relacionados.

C) Espectroscopia de RMN.

El espectro de resonancia magnética nuclear de ^{13}C en estado sólido, registrado empleando la técnica de ángulo mágico y polarización cruzada, corrobora la asignación estructural que hemos hecho para este nuevo polímero. Para facilitar la interpretación del mismo, a efectos comparativos se registró también el del monómero correspondiente derivado de la glucosamina (5a). No fue factible obtener los espectros de los metil α - y β -glucosamínidos relacionados, ya que éstos no se obtienen como sólidos cristalinos.

Asimismo, se registró el espectro de r.m.n. de ^{13}C del monómero 5a en disolución, utilizando como disolven-

tes dimetilsulfóxido-d₆, metanol-d₄ y óxido de deuterio. La asignación individual de las distintas señales pudo efectuarse con ayuda de experimentos APT⁵⁵ para distinguir entre carbonos de distinta multiplicidad y por la comparación con datos de la bibliografía para derivados de la 2-amino-2-desoxi-D-glucosa. Los desplazamientos químicos de los carbonos de 5a en dimetilsulfóxido-d₆ se recogen en la Tabla 2. Los carbonos del azúcar se numeran como C-n y para los del sustituyente se emplea la notación C-n'. Los metilos CH₃-C-1' y CH₃-C-3' del sistema N-acilvinilo originan dos señales a δ 20 y 30 ppm respectivamente, C-1' aparece entre δ 160-168 ppm, C-2' entre δ 95-100 ppm y el carbono carbonílico entre δ 190-195 ppm. La posición de la señal del carbono anomérico (δ 91-93 ppm) permite concluir que el compuesto existe, en dimetilsulfóxido-d₆, exclusivamente como un isómero de configuración α. Los demás carbonos de azúcar aparecen a valores de δ: 56-58 ppm (C-2), 72-75 ppm (C-3), 70-71 ppm (C-4), 73-76 ppm (C-5) y a 60-62 ppm (C-6). La presencia de más de una señal por cada átomo de carbono, en los espectros realizados en óxido de deuterio y metanol-d₄, podría indicar que en estos disolventes el compuesto puede existir como una mezcla de isómeros, si bien es también posible que durante el tiempo de adquisición del espectro tenga lugar la hidrólisis de 5a (que no es estable en disolución acuosa) y lo que se observa sean los espectros de las distintas especies existentes en disolución.

Tabla 2.- Datos de ^{13}C -RMN de los compuestos **5a**, **42 α** y **42 β** en DMSO-d_6 .

	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-1'	C-2'	C-3'	$\underline{\text{CH}_3-}$ C-1'	$\underline{\text{CH}_3-}$ C-3'	$\underline{\text{CH}_3-}\text{O}$
5a	91.3	57.8	72.5	70.9	73.1	61.3	163.0	95.2	192.9	19.6	28.9	-
42α	95.4	57.1	73.0	70.5	73.4	60.8	162.9	98.4	193.0	19.4	28.8	54.7
42β	102.8	59.6	75.6	70.6	76.8	61.0	164.0	95.4	193.3	19.6	28.8	56.6

Se han registrado también y se recogen en la Tabla 2 los datos de los espectros en disolución de los metil α - y β -glucosaminidos (42α) y (42β) realizados en dimetilsulfóxido- d_6 . La asignación de señales se hace análogamente a como se ha comentado para el compuesto $5a$, teniendo en cuenta que la señal del carbono anomérico (C-1) aparece a campo más bajo para los anómeros β ; así, en el caso de 42α aparece a δ 95.2 ppm mientras que para 42β lo hace a δ 102.8 ppm.

El espectro en estado sólido de la enaminona modelo $5a$ (Tabla 3) se asigna de igual modo. Aparecen las seis señales de los carbonos del azúcar y las cinco del sistema *N*-acilvinilo; pero, además de la señal del carbono anomérico del anómero α (δ 91.3 ppm), hay otra señal "extra" a δ 96.3 ppm que puede corresponder al carbono anomérico del anómero β . Otra posible explicación sería que existiera más de un isómero conformacional en estado sólido por la posible isomería geométrica del grupo $-NH-C(CH_3)=CH-C(CH_3)=O$ y que esa señal a δ 96.3 ppm correspondiera a C-2' de otro conformero. Este hecho no se ve reflejado en el resto de los carbonos del sistema *N*-acilvinilo, por lo que parece más lógico pensar que este compuesto en estado sólido exista tanto en configuración α como β .

El espectro del polímero en estado sólido es muy similar al del monómero $5a$, como puede apreciarse en la Figura en la que se presentan ambos espectros. Aparecen las

Tabla 3.- Datos de ^{13}C -n.m.r.-c.p.-m.a.s. de los compuestos 5a y 7a.

	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-1'	C-2'	C-3'	$\underline{\text{CH}}_3\text{-C-1}'$	$\underline{\text{CH}}_3\text{-C-3}'$
5a	91.3	57.4	70.4	69.3	76.0	60.5	166.4	95.3	195.2	20.1	28.0
	96.3										
7a	105.5	60.9	75.5	84.6	79.5	60.9	168.0	98.8	195.4	20.0	27.8

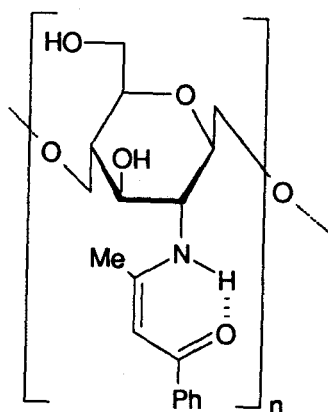
mismas señales localizadas prácticamente a los mismos valores de δ . Estas señales tienen una anchura considerable, lo cual se atribuye al gran número de átomos de carbono que contribuyen, en este caso, a cada señal. Los desplazamientos químicos y la asignación de señales se recogen en la Tabla 3, junto con las del compuesto 5a. El valor de δ para C-1, 105.5 ppm, es característico de la configuración β del polímero y es muy próximo al encontrado por Hirano y colaboradores para C-1 en la *N*-acetilquitosana (δ 104 ppm).⁵⁶ Conviene destacar que en estos polímeros la señal de C-4 es, exceptuando la del carbono anomérico, la señal de azúcar que aparece a campo más bajo (δ 84.6 ppm, para 7a), a diferencia de lo observado en los monómeros correspondientes en los que esto ocurre para C-5.

2.2.3. Reacción con 1-fenil-1,3-butanodiona.

Ya que la reacción de la 2,4-pentanodiona con quitosana transcurre con alto rendimiento y grado de sustitución, intentamos generalizar la reacción para otros compuestos 1,3-dicarbonílicos. Así, esta reacción se llevó a cabo análogamente con otra dicetona, la 1-fenil-1,3-butanodiona. La relación reactivo/quitosana empleada fue 3:1 y transcurridas dos horas a temperatura ambiente se formó un gel que se purificó por diálisis y liofilización sucesivas.

2.2.3.1. Caracterización.

Los datos de análisis elemental para el nuevo polímero indicaron que el grado de sustitución conseguido con la proporción reactivo/quitosana 3:1 fue 1.0. En estas condiciones todos los grupos amino se sustituyen y el polímero (1→4)-2-[Z-(2-benzoil-1-metilvinil)amino]-2-desoxi-β-D-glucana (7b) se obtiene con un rendimiento del 96%. Descompone sin fundir a 215°.



Es insoluble en todos los disolventes orgánicos e inorgánicos empleados, a saber: agua, ácido acético 10%, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida-cloruro de litio, etanol, metanol y éter.

A) Hidrólisis ácida.

Este polímero es estable a temperatura ambiente en disolución acuosa. Se hidroliza al tratar con ácido clorhídrico 0.1M en caliente rindiendo clorhidrato de quitosana y la dicetona de partida que es insoluble en el

medio hidrolítico. Al ser un compuesto sólido puede determinarse directamente por pesada. La extracción y cuantificación de la misma (Parte Experimental) corrobora el grado de sustitución obtenido.

B) Espectroscopia IR.

El espectro de IR realizado sobre pastilla de KBr, presenta junto con las absorciones correspondientes a O-H y N-H, dos absorciones características del sistema de enaminona a 1605 y 1541 cm^{-1} , que coinciden con los valores de las mismas bandas para el compuesto modelo **5b** (1603 y 1538 cm^{-1}) y los metil α -D- y β -D-glucosamínidos (**43 α** y **43 β**) relacionados.

C) Espectroscopia de RMN.

Se ha registrado el espectro de resonancia magnética nuclear de ^{13}C en estado sólido de **7b**, que se compara en la Figura con el del compuesto modelo **5b**. También en este caso, para facilitar la interpretación de ambos espectros, se registraron el de la enaminona modelo **5b** y los de los metil α - y β -glucosamínidos (**43 α** y **43 β**) en disolución. En dimetilsulfóxido- d_6 , el compuesto **5b** existe como un único isómero con configuración α . La asignación de los carbonos de azúcar se hace de forma análoga al compuesto **5a**. El desplazamiento químico del C anomérico (δ 91.2 ppm) confirma la anomería asignada.

En cuanto a los glucosamínidos 43α y 43β , las señales se asignan de igual forma, verificándose también en este caso que el carbono anomérico de los isómeros β aparece a campo más bajo que los de los correspondientes α (Tabla 4).

Cuando se registró el espectro del compuesto **5b** en estado sólido, éste resultó ser más complejo de lo que cabría esperar. Así, las señales del sistema *N*-acilvinilo aparecen, al menos, duplicadas. Pueden apreciarse dos señales para C-1', tres para el carbono carbonílico y sólo una para C-2'. No se distingue de forma tan acusada, en este espectro, el desdoblamiento de la señal del carbono anomérico. Así, a δ 96.4 ppm aparece sólo un pequeño hombro de la señal a δ 91.9 ppm (C-1, α). Esta enaminona existe en estado sólido, pues, en configuración α . Cuando se realizó el espectro en dimetilsulfóxido- d_6 de la misma muestra se apreciaron señales correspondientes a un isómero predominante con configuración α .

El espectro del polímero en estado sólido se asigna fácilmente. Los valores de desplazamiento químico se recogen en la Tabla 5. La posición de C-1 (δ 105.0 ppm) confirma la configuración β del polímero. El resto de señales presenta un valor de desplazamiento químico normal para este tipo de compuestos.

Tabla 4.- Datos de ^{13}C -r.m.n. de los compuestos **5b**, **43 α** y **43 β** en DMSO-d_6 .

	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-1'	C-2'	C-3'	$\frac{\text{CH}_3-}{\text{C-1}'}$	$\text{CH}_3\text{O-}$	C_6H_5
5b	91.2*	58.1	72.6	70.9	73.1	61.3	165.4	91.8*	185.6	20.2	-	126.8 128.5 130.6 140.5
43α	91.9	57.5	73.1	70.5	73.4	60.9	165.4	98.3	185.8	20.0	54.8	126.8 128.4 130.6 140.3
43β	102.7	59.9	75.5	70.6	76.8	61.0	166.4	91.9	185.8	20.1	56.6	126.7 128.4 130.6 140.1

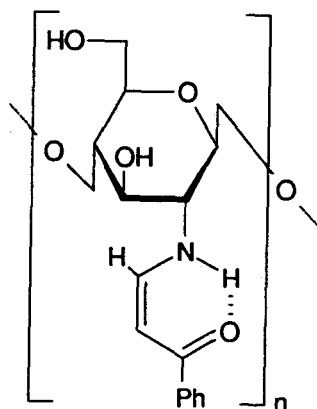
*Estas asignaciones pueden estar intercambiadas.

Tabla 5.- Desplazamientos químicos de ^{13}C -n.m.r.-c.p.-m.a.s. de los compuestos 5b y 7b.

	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-1'	C-2'	C-3'	$\text{CH}_3\text{-C-1}'$	C_6H_5
5b	91.8	57.6	72.2	70.1	74.0	59.4	166.4	96.3	183.8	18.3	127.8
					75.5		169.2		184.6	19.8	137.2
									189.6	20.8	139.9
											141.9
7b	105.0	61.0	75.5	84.5	80.0	61.0	167.9	94.0	187.4	21.0	127.2
											139.1

2.2.4. Reacción con benzoilacetaldehído.

La adición de una disolución de este cetoaldehído en metanol a otra de quitosana en ácido acético al 10% origina la precipitación inmediata de un sólido amarillento que se purifica lavando sucesivamente con metanol, etanol y éter. Tras esto, se dializa frente a agua y se liofiliza repetidas veces. El producto final, con la estructura de (1→4)-2-[Z-(2-benzoilvinil)amino]-2-desoxi-β-D-glucana (7c),



7c

se obtiene con un rendimiento del 96% siempre que la relación reactivo/quitosana empleada sea 3:1.

2.2.4.1. Caracterización.

Los datos de análisis elemental son consistentes con la existencia de 0.6 moléculas de agua por unidad monómera e indican que la sustitución de los grupos amino tiene lugar cuantitativamente.

El nuevo polímero es insoluble en disolventes

orgánicos polares y apolares: agua, ácido acético 10%, diemtilsulfóxido, dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida-cloruro de litio, etanol, metanol y éter.

A) Hidrólisis ácida.

Similarmente a como ocurre con el derivado de la *D*-glucosamina y benzoilacetaldehído (5c) en relación con los derivados de β -dicetonas 5a y 5b, este compuesto es más resistente a la hidrólisis por ácidos que los derivados de 2,4-pentanodiona y 1-fenil-1,3-butanodiona; así, sólo tras cuatro horas a reflujo en ácido clorhídrico 0.1 M comienza a detectarse clorhidrato de quitosana en el medio. En estas condiciones, se descompone el cetoaldehído liberado impidiéndose la valoración del mismo, por lo que en este caso sólo pudo estimarse la cantidad de clorhidrato de quitosana producida en la hidrólisis.

B) Espectroscopia de IR.

Al igual que en los espectros de infrarrojo de los dos polímeros anteriores, lo más significativo de éste es la presencia de dos bandas características del sistema de enaminona a 1632 y 1547 cm^{-1} que se asignan a tensiones del grupo C=O y de la agrupación C=C-N-H. Para el derivado correspondiente de la glucosamina, 5c, estas absorciones aparecen a 1631 y 1520 cm^{-1} .

C) Espectroscopia de RMN.

La interpretación de los espectros de resonancia magnética nuclear de ^{13}C en estado sólido de los compuestos **5c** y **7c** (derivados de glucosamina y quitosana, respectivamente) es más compleja que en los casos anteriores debido al parcial solapamiento de algunas señales. Aunque se aprecian bien resueltas las señales del sistema *N*-acilvinilo, no aparecen claramente resueltas las señales de los carbonos de azúcar. No hay duda en la asignación del carbono anomérico, señal que en ambos casos engloba a la de C-2', que tanto en el polímero (δ 103.8 ppm) como en el monómero (δ 92.6 ppm) es concordante con las respectivas anomerías β y α asignadas. En el espectro de **7c**, las señales de C-3 y C-5 aparecen solapadas a δ 75.3 ppm, mientras que la de C-4 aparece, como es habitual, a campo más bajo (δ 83.3 ppm).

En la Tabla 6 se presentan también los datos del espectro de **5c** en dimetilsulfóxido- d_6 , que tiene la característica común con los anteriores comentados en estado sólido de la pequeña diferencia en desplazamiento químico entre las señales del C anomérico α (δ 91.3 ppm) y la de C-2' (δ 89.3 ppm), por lo que la asignación de esas señales se pueden intercambiar. El resto de señales de azúcar y del sistema *N*-acilvinilo aparecen a valores habituales de desplazamiento químico para los compuestos de tipo 5.

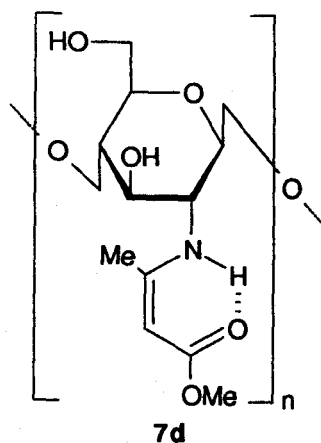
Tabla 6.- Desplazamientos químicos de ^{13}C -r.m.n. del compuesto **5c** en DMSO- d_6 y de los compuestos **5c** y **7c** en estado sólido.

	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-1'	C-2'	C-3'	C_6H_5
5c	91.3*	61.2	72.4	70.8	72.6	63.8	155.4	89.3*	187.9	126.9
										128.6
										131.0
										139.9
5c	92.6	57.1	72.4	72.4	72.4	58.5	158.8	92.6	192.7	128.6
										130.9
										139.4
										140.3
7c	103.8	61.8	75.3	83.3	75.3	65.3	156.5	92.1	190.8	127.7
										138.6

*Estas asignaciones pueden estar intercambiadas.

2.2.5. Reacción con acetoacetato de metilo.

Esta reacción se lleva a cabo del mismo modo que las anteriores si bien la formación del gel no tiene lugar hasta transcurridas cuarenta y ocho horas desde la adición del reactivo. Una vez formado, se dializa y liofiliza rindiendo el compuesto (1→4)-2-desoxi-2-[Z-(1-metilvinil-2-metoxycarbonil)amino]-β-D-glucana (7d) con un rendimiento del 85%.



2.2.5.1. Caracterización

Los datos de análisis elemental y el espectro de infrarrojo son los únicos que se aportan para demostrar la estructura del polímero. El análisis elemental es consistente con la reacción cuantitativa de todos los grupos amino.

A) Hidrólisis ácida.

Al igual que el polímero derivado de la 2,4-pentanodiona, éste se hidroliza a temperatura ambiente y en

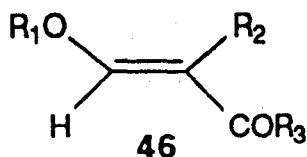
medio ácido clorhídrico 0.1M, aislándose clorhidrato de quitosana (Parte Experimental).

B) Espectroscopia IR.

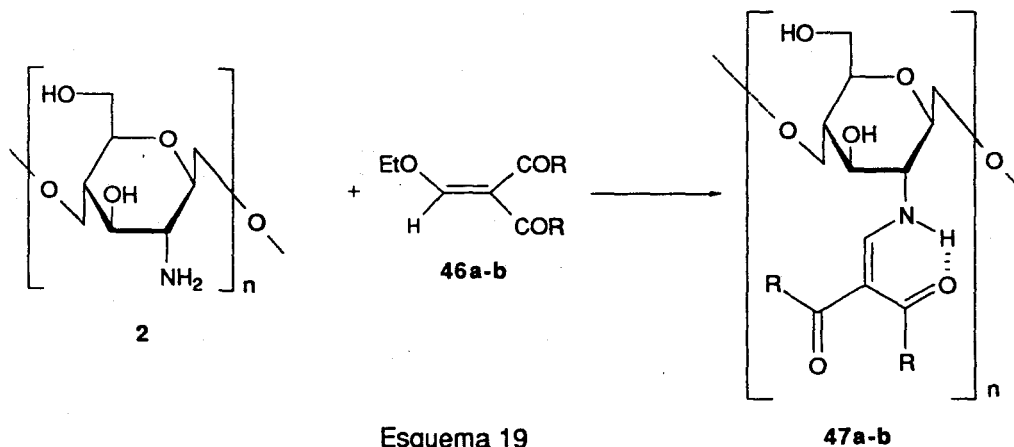
El espectro de infrarrojo de este polímero **7d** es similar a los de los polímeros anteriores en cuanto a la presencia de bandas anchas y fuertes que corresponden a tensiones y flexiones de O-H. En la región comprendida entre 1650 y 1500 cm^{-1} presenta dos absorciones a 1645 y 1572 cm^{-1} que se asignan al C=O de éster y a la agrupación C=C-N-H del sistema conjugado de enaminoéster, de forma análoga a los otros compuestos.

2.2.6. Reacción con acilviniléteres.

Dados los resultados tan satisfactorios conseguidos en las reacciones de compuestos 1,3-dicarbonílicos con quitosana, se ensayó la reacción con equivalentes sintéticos de los mismos. En primer lugar, con acilviniléteres de fórmula general **46**.



Éstos reaccionan cuantitativamente con la



glucosamina.⁴⁷ Para la quitosana, la reacción se ha llevado a cabo con dos de estos compuestos: uno de ellos comercial, etoximetilénmalonato de dietilo (46a) y el otro, preparado *in situ* a partir de ortoformiato de trietilo y acetilacetona, etoximetilénacetilacetona (46b).

2.2.6.1. Caracterización.

Los geles que se obtienen se purifican por diálisis y liofilización sucesivas. La relación C/N, derivada de los microanálisis elementales, indicó, en ambos casos, que el grado de sustitución conseguido fue 1.0.

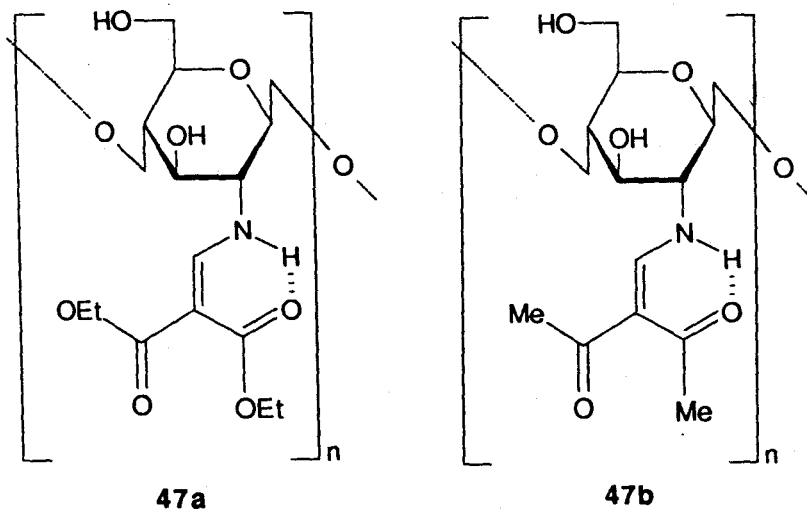
Los compuestos obtenidos, con rendimientos del 91 y 83%, son:

(1→4)-2-Desoxi-2-[(2,2-dietoxicarbonilvinil)amino]-β-D-glucana, (47a).

(1→4)-2-[(2,2-Diacetilvinil)amino]-2-desoxi-β-D-

glucana, (47b).

Son estables a temperatura ambiente y descomponen sin fundir por encima de 215°. Se hidrolizan en medio ácido clorhídrico 0.1M en caliente, rindiendo clorhidrato de quitosana, que se aísla (Parte Experimental).



A) Espectroscopia IR.

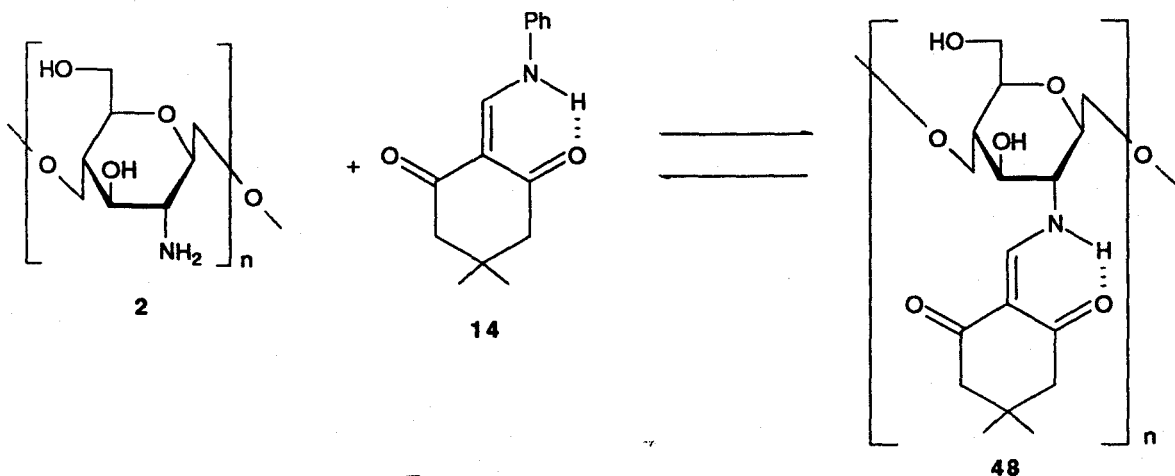
Los espectros de infrarrojo de estos productos son similares. A 3400-3300 cm^{-1} aparece la banda ancha de tensión de O-H y N-H. Además, presentan otra banda ancha y fuerte entre 1620 y 1635 cm^{-1} correspondiente a la absorción del sistema insaturado, que, al ser tan ancha, debe englobar $\nu(\text{C}=\text{O})$ y $\nu(\text{C}=\text{C}) + \delta(\text{N}-\text{H})$. No se distinguen con claridad las vibraciones del sistema acoplado de los dos grupos carbonilo.

No se han podido conseguir espectros de ^{13}C en estado sólido de estos compuestos, pero los datos de análisis elemental, los espectros de infrarrojo y el comportamiento de

los mismos en medio ácido rindiendo clorhidrato de quitosanos nos permiten afirmar que, por analogía con los compuestos 7a-d, la estructura de los polímeros responde a las representadas por 47a y 47b.

2.2.7. Reacción con 5,5-dimetil-anilinoetilén-1,3-ciclohexanodiona.

Este reactivo, que se prepara a partir de ortoformiato de trietilo, anilina y dimedona, reacciona con la glucosamina mediante una reacción de transaminación puesta a punto en este Departamento de Química Orgánica.¹⁴ Ya que la quitosana parece comportarse, en cuanto a reactividad del mismo modo que la glucosamina, se llevó a cabo la reacción del polímero con este reactivo. El medio acético insolubiliza al reactivo, por lo que la cantidad de metanol empleada es mayor que en los casos anteriores. La reacción se hace en condiciones más diluidas y tras cuarenta y ocho horas, el gel formado se dializa y liofiliza.



Esquema 20

2.2.7.1. Caracterización.

La caracterización del nuevo producto se hace mediante sus datos analíticos y espectroscópicos (espectroscopia IR).

La relación C/N indica que el compuesto formado posee la estructura (1→4)-2-desoxi-2-[(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexilidénmetil)amino]-β-D-glucana (48).

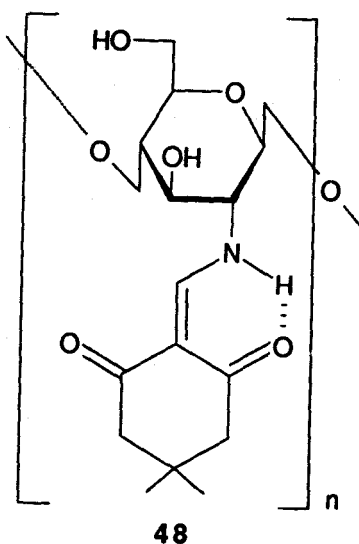
Al igual que todos los compuestos anteriores, descompone sin fundir a 195° y es insoluble en disolventes orgánicos e inorgánicos: agua, ácido acético 10%, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida-cloruro de litio, etanol, metanol y éter.

A) Espectroscopia IR.

La asignación de las absorciones que aparecen en este espectro se hace por comparación con lo descrito para el derivado de la glucosamina. Junto con la banda de tensión de O-H, que aparece a 3428 cm⁻¹, el espectro del polímero presenta dos absorciones anchas y fuertes a 1670 y 1589 cm⁻¹, que se atribuyen al sistema acoplado de los dos grupos carbonilo. La de frecuencia más alta se asigna a la vibración simétrica con contribución principal del grupo carbonilo libre ($[\nu(\text{C=O})_{\text{cis}} + \nu(\text{C=O})_{\text{trans}}]_{\text{sim.}}$), y la de frecuencia menor a la vibración asimétrica en la que predomina la participa-

ción del grupo carbonilo ligado intramolecularmente ($[v(C=O)_{cis} + v(C=O)_{trans}]_{asim.}$). Esta última absorción puede englobar a la vibración $v(C=C) + \delta(N-H)$, que en el compuesto modelo aparece a 1585 cm^{-1} . Hay dos bandas más a 1330 y 1270 cm^{-1} que se asignan a la vibración $v(C=N) + \delta(N-H)$.

Tampoco para este derivado de quitosana pudo registrarse el espectro de resonancia magnética nuclear de ^{13}C en estado sólido. El resto de características observadas indican que la reacción de transenaminación es efectiva en el caso de la quitosana y que el compuesto formado responde a la estructura 48.



De todo lo que se acaba de exponer se deduce que la quitosana reacciona cuantitativamente con compuestos 1,3-dicarbonílicos y equivalentes sintéticos de los mismos para originar polímeros homogéneos en los que la unidad de repetición es una enamínona con la misma estructura que las derivadas de glucosamina o los metil α - y β -glucosamínidos,

y a esto se debe la similitud en los datos espectroscópicos de estos tipos de compuestos (espectroscopia IR y ^{13}C -r.m.n.-c.p.-m.a.s.).

Los nuevos polímeros son productos altamente insolubles. Se ha intentado la solubilización de los mismos por preparación de derivados que permitan un estudio más exhaustivo. Así, se ha intentado la acetilación de 7a empleando una amplia gama de reactivos y condiciones. Por el procedimiento convencional con anhídrido acético y piridina, no se consiguió disolver el polímero de partida ni calentando a reflujo en piridina durante tiempos prolongados. Tratamientos progresivos originan descomposición parcial de la muestra. La sustitución de piridina por ácido acético tampoco favorece la acetilación. Otras condiciones empleadas implicaron el uso de catalizadores ácidos como ácido sulfúrico concentrado o ácido perclórico y anhídrido acético como agente acetilante. Ni siquiera el reactivo cloruro de litio preparado en N,N-dimetilacetamida proporcionó resultados satisfactorios.

Esta inercia frente a disolventes y reactivos tan habituales, así como la estabilidad térmica que presentan estos polímeros pueden favorecer su uso industrial.

2.2.8. ESTABILIDAD DE LOS POLIMEROS 7, 47 y 48 FRENTE A ACIDOS Y BASES.

La posible aplicación tecnológica de estos nuevos polímeros derivados de quitosana ha motivado el estudio de las condiciones en que pueden emplearse, es decir, en qué condiciones son estables y cuándo pueden alterarse por el medio en que se van a utilizar. El pH es uno de los factores más influyentes.

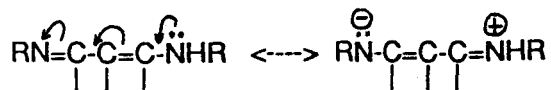
Así, una cantidad exactamente pesada de cada polímero (7a-d, 47-48) se suspendió en disoluciones tampón con valores de pH comprendidos entre 0 y 10. Las suspensiones se mantuvieron a temperatura ambiente (20°) durante cuarenta y ocho horas y cada treinta minutos se tomaron alícuotas en las que se investigó la cantidad de quitosana o de compuesto 1,3-dicarbonílico formado.

Para 7a, se analizó, por el procedimiento espectrofotométrico comentado anteriormente, la cantidad de acetilacetona liberada en la hidrólisis tras diluir la alícuota tomada. El polímero se mantuvo estable para valores de pH entre 3 y 10. En este mismo intervalo de pH fue estable el polímero 7d. Los demás polímeros pueden emplearse a cualquier valor de pH, ya que no se alteran en ninguna de las disoluciones tampón empleadas, tras cuarenta y ocho horas a temperatura ambiente.

**2.3. PREPARACION DE VINAMIDINAS DEL MALON-
DIALDEHÍDO MEDIANTE REACCIÓN DE TRANSA-
MINACIÓN CON AMINAS SENCILLAS Y AMINO
AZÚCARES MONOMÉRICOS.**

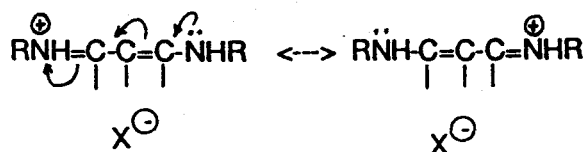
2.3.1. Introducción.

El nombre de vinamidinas ha sido propuesto para 1,5-diazapentadienos ya que estos compuestos son vinílogos de amidinas; constituyen, más concretamente, sistemas insaturados "push-pull" con 6 electrones π



El sistema de vinamidina (1,5-diaza-1,3-pentadieno) está presente en la estructura de productos naturales tales como pigmentos de tipo cianina que se encuentran en remolachas, cactus y otras plantas. Forma parte también de la porfirina y de los sistemas cíclicos de la clorofila, citocromos y vitamina B₁₂.

Más interesantes son las sales de vinamidinio porque son especies simétricas y particularmente estables.

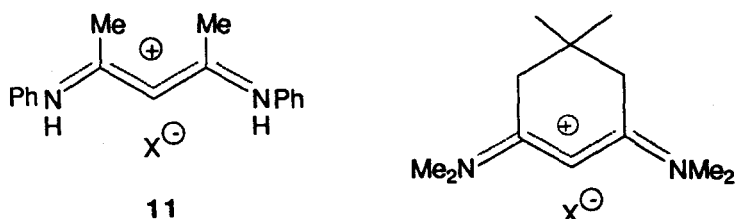


Son sistemas completamente deslocalizados, en los que hay una alternancia de densidad electrónica en la cadena carbonada. Los átomos de nitrógeno terminales soportan una gran densidad de carga, mientras que los C α y β son, respectivamente, deficiente y excedente en electrones.

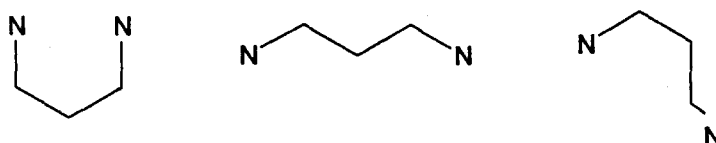
En las discusiones que siguen los átomos del sistema de 1,5-diaza-1,3-pentadieno se van a nombrar siguien-

do la numeración propuesta en la fórmula anterior.

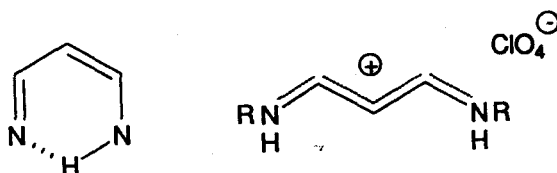
Las vinamidinas y sales de vinamidinio pueden ser de cadena abierta o estar incluidas en sistemas cíclicos.



El sistema de vinamidina puede disponerse en tres conformaciones distintas: todo *cis* (U), todo *trans* (W) y *cis-trans*.

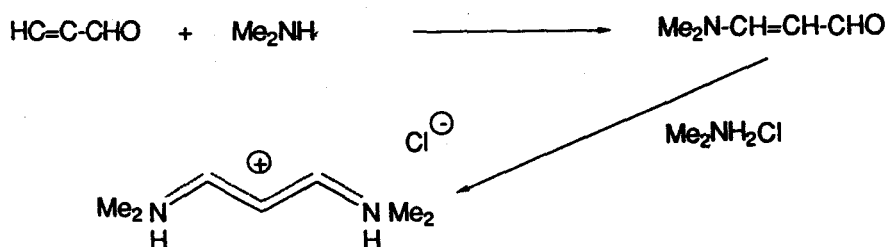


Una vinamidina de cadena abierta con un grupo NH existe predominantemente en la forma U, que está estabilizada por la formación de un puente de hidrógeno intramolecular, mientras que las sales de vinamidinio, habitualmente, adoptan, a causa de la repulsión electrostática entre los átomos de nitrógeno con carga positiva y por razones estéricas, la configuración más extendida (W).



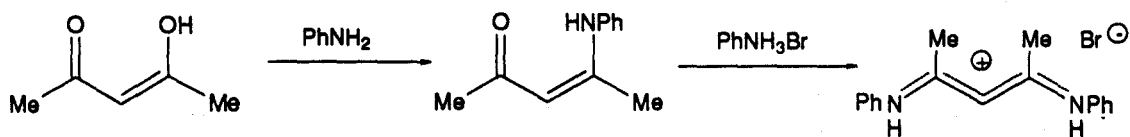
La conformación de las vinamidinas cíclicas está forzada por la forma de los anillos implicados en el sistema.

Los dos métodos más comunes para preparar vinamidinas y sus sales consisten¹¹ en la reacción de aminas con α,β -alquinonas o compuestos β -dicarbonílicos. Así, una de las sales de vinamidinio más empleadas en síntesis se obtiene a partir del aldehído propargílico (Esquema 21).



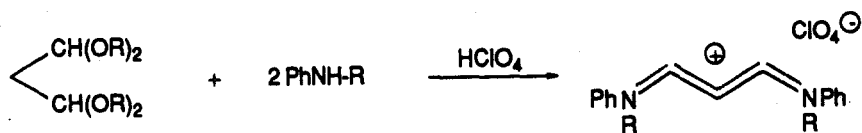
Esquema 21

Otro ejemplo es el representado en el Esquema 22:



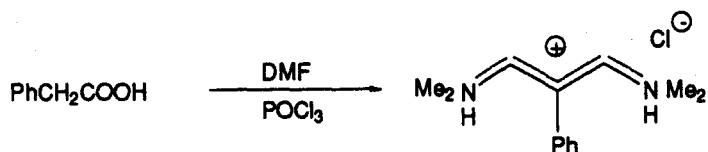
Esquema 22

A veces, en lugar de compuestos β -dicarbonílicos se emplean sus mono o diacetales (Esquema 23).



Esquema 23

Un tercer procedimiento para obtener este tipo de compuestos implica una reacción de Vilsmeier (Esquema 24) sobre acetales derivados de aldehídos, ácido acéticos sustituidos en α por grupos halógeno, fenilo o ciano, ácido malónico o alquenos.



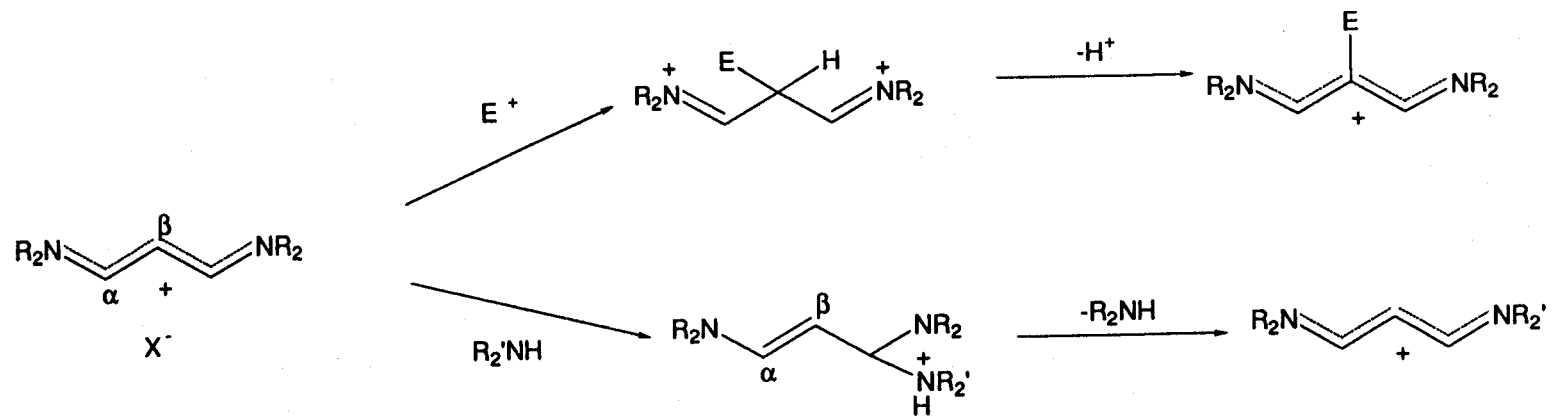
Esquema 24

Debido a la alternancia de densidad electrónica en el sistema carbonado de las vinamidinas, los C α y β son, respectivamente, electrofílico y nucleofílico, por lo que la reacción de las mismas con nucleófilos y electrófilos transcurrirá según el Esquema 25.

La última reacción es muy útil ya que variando el nucleófilo nitrogenado puede obtenerse una amplia gama de vinamidinas sin acudir a procedimientos complicados de síntesis. Se trata de una reacción de transaminación que, en general, puede formularse de la siguiente forma:



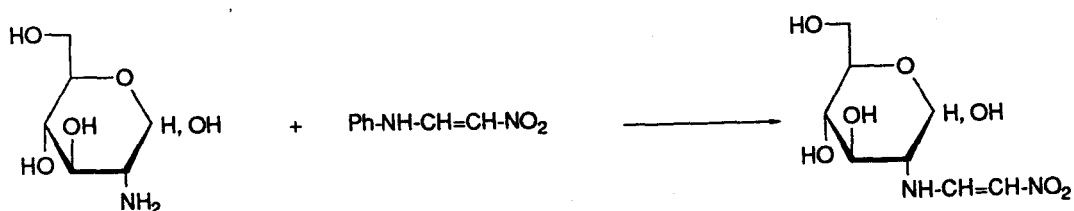
Consiste en el desplazamiento nucleofílico de un grupo amino NHR_4 por otro de diferente nucleofilia (R_5NH_2) en un carbono



Esquema 25

olefínico.

En la literatura aparecen descritas algunas reacciones de transaminación aplicadas a la síntesis de nitroenaminas. Así, por ejemplo, la preparación de la 2-desoxi-2-nitrovinilamino-D-glucosa se ha basado en la reacción entre el 1-anilino-2-nitroetano y la 2-amino-2-desoxi-D-glucosa (Esquema 26).⁵⁷



Esquema 26

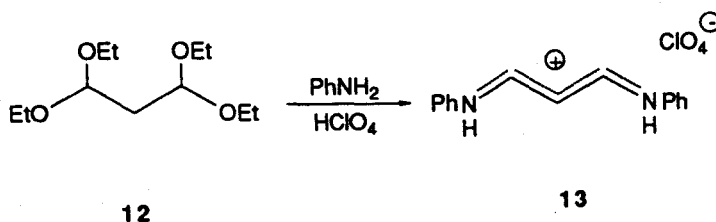
Por otro lado, este tipo de reacciones ha sido empleado también en este Departamento de Química Orgánica para obtener con buen rendimiento el derivado de la glucosamina y la 2-anilinoetilendimetilona (Esquema 2, Introducción).¹⁴

En esta Tesis se ha llevado a cabo la reacción de transaminación formulada anteriormente usando como sustancia de partida el perclorato de 1,5-diaza-1,5-difenil-1H-pentadienonio 13. Se aplicó esta reacción a una gama variada de aminas. En primer lugar, se ensayó la reacción con aminas simples, posteriormente con aminoazúcares monoméricos y, por último con la quitosana. La reacción con la quitosana

proporcionaría un nuevo polímero con unidades de vinamidinas con capacidad quelatante presumiblemente superior a la de la propia quitosana.

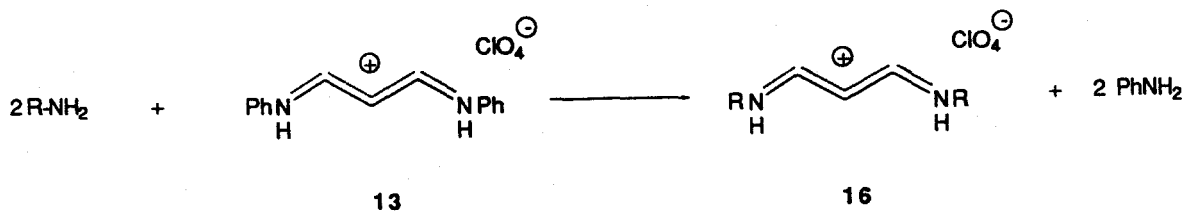
Posteriormente, y para generalizar dicha reacción de transaminación, se obtuvieron vinamidinas derivadas de amins sencillas y metilmalondialdehído.

La sal de vinamidinio 13 se prepara con buen rendimiento por reacción del tetraacetal del malondialdehído con anilina en medio etanólico¹³.



Esquema 27

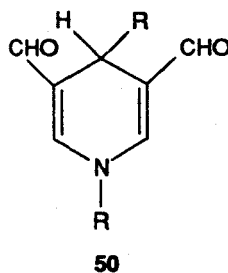
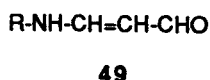
Si se hace reaccionar 13 con una amina de fórmula RNH₂, puede tener lugar el desplazamiento de uno o dos de los grupos anilino según la relación molar amina/sal que se emplee:



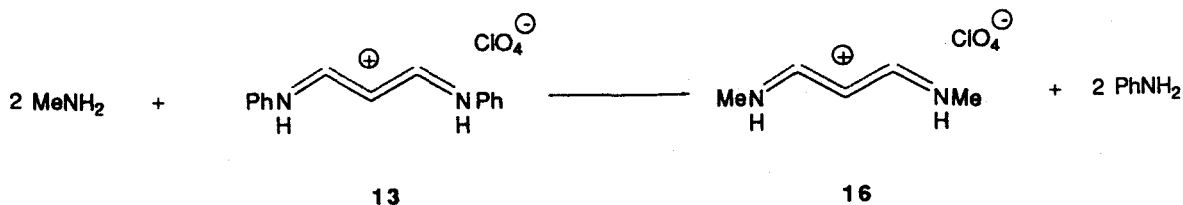
Esquema 3

La reacción es un equilibrio que se desplaza hacia la formación de la sal de vinamidinio derivada de la amina más básica. Esta reacción supone, pues, un procedimiento útil para obtener de forma sencilla y con alto rendimiento sales de vinamidinio derivadas de cualquier tipo de aminas, que no se obtengan fácilmente por reacción directa de éstas con malondialdehído o cualquiera de los procedimientos comentados anteriormente.

Así, por ejemplo, la reacción de alquilaminas con malondialdehído, estudiada ampliamente por Kikugawa y colaboradores,⁵⁸ no rindió el correspondiente 1-amino-3-iminopropeno sino productos de tipo enaminal o 1,4-dihidropiridina, por ejemplo 49 y 50.



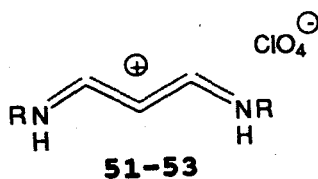
Como describimos en el apartado siguiente cuando llevamos a cabo la reacción de la sal 13 con una disolución acuosa de metilamina al 40% se obtuvo con un rendimiento del 70% la correspondiente sal de vinamidinio (Esquema 28).



2.3.2. NUEVAS EXPERIENCIAS

2.3.2.1. Reacción con aminas sencillas

En esta Tesis se ha llevado a cabo la reacción de transaminación comentada anteriormente con objeto de obtener sales de vinamidinio derivadas de quitosana. En primer lugar, como modelo sencillo de la reacción con el polímero, se ha estudiado la reacción de perclorato de 1,5-diaza-1,5-difenilpentadienonio (13) con aminas alifáticas sencillas como la metil o la *n*-butilamina. La reacción se lleva a cabo calentando a reflujo en metanol y controlando el avance de la misma por espectrofotometría ultravioleta-visible. El producto de partida, la sal de vinamidinio 13, tiene un máximo de absorción característico a λ 380 nm que se desplaza conforme avanza la reacción hasta λ ~ 300 nm. Cuando la absorción a este valor de longitud de onda es máxima se evapora el disolvente a sequedad y se purifican los productos obtenidos, que se caracterizan por sus datos analíticos y espectroscópicos. En ambos casos resultaron ser las correspondientes sales de vinamidinio 16 (numerado 51 a partir de ahora) y 52.



- | | |
|----|--|
| 51 | R= CH ₃ |
| 52 | R= <i>n</i> -C ₄ H ₉ |
| 53 | R= C ₆ H ₁₁ |

En estas condiciones, la reacción de transaminación tiene lugar completamente. De igual modo, se llevó a cabo la reacción con ciclohexilamina, si bien la reacción es más lenta requiriendo para completarse 24 horas. Tras la evaporación del disolvente y purificación del producto, sus datos analíticos y propiedades espectroscópicas se mostraron en consonancia con la estructura propuesta 53.

2.3.2.1.1. Caracterización.

Los nuevos productos tienen espectros de ultravioleta con máximos de absorción característicos entre 298 y 305 nm, como otros 1-amino-3-iminopropenos derivados de aminoácidos descritos en la literatura ($\lambda_{\text{máx}}$ 298-302 nm, ϵ 33000-35000).⁵⁹

Los espectros de infrarrojo presentan absorciones a 3400-3200 cm^{-1} (N-H), así como una absorción a 1630-1610 cm^{-1} característica del sistema deslocalizado de sal de vinamidinio.⁵⁹

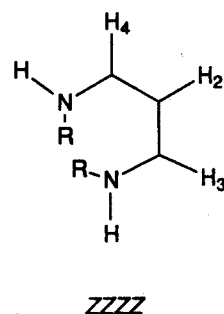
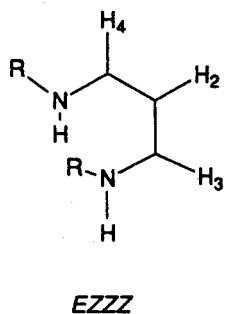
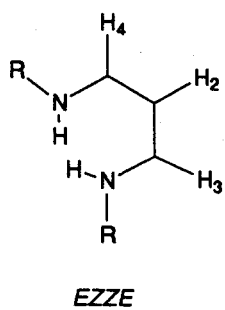
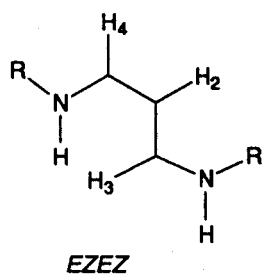
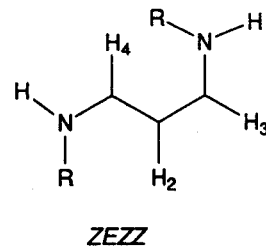
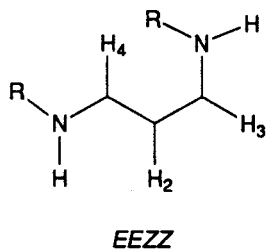
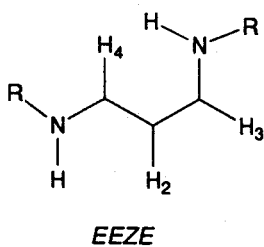
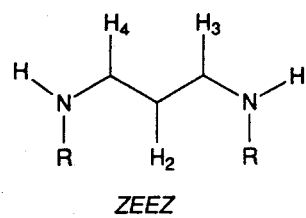
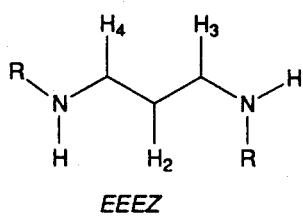
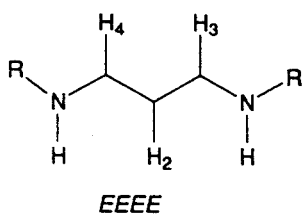
Los espectros de masas de estos tres compuestos no presentan ion molecular. El pico base del espectro corresponde a M^+-HClO_4 , al igual que en compuesto similares descritos en la bibliografía (cloruros de vinamidinio derivados de aminoácidos, en los que el pico base es M^+-HCl).⁵⁹ Las fragmentaciones más habituales corresponden a las pérdidas, sucesivas o no, de R seguidas de roturas del sistema de 1,5-

diazapentadieno.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y de ^{13}C indican que estos compuestos existen en disolución como mezclas de isómeros. Si se tiene en cuenta la posible isomería geométrica de la agrupación $\text{NH}=\text{CH}=\overset{\oplus}{\text{C}}\text{H}=\text{CH}=\text{NH}$, estos compuestos pueden existir en varias formas isómeras. En general, para una sal de vinamidinio derivada de una amina RNH_2 son posibles $2^4 = 16$ isómeros que, por simetría, se reducen a los diez que están representados en la Figura . La notación *E* o *Z* se refiere a la disposición relativa de los sustituyentes en los enlaces N-C1, C1-C2, C2-C3 y C3-N.

Los espectros de ^1H -RMN y de ^{13}C -RMN descritos⁵⁹ para este tipo de compuestos presentan un triplete a δ 5.5 ppm correspondiente a un protón que asigna a H-2 y un doblete a δ 7.7-7.9 ppm que corresponde a dos protones (H-1 y H-3) que son equivalentes. Los valores de las constantes de acoplamiento medidas indican una geometría todo *trans* de la cadena carbonada. En los espectros de ^{13}C aparece una señal para C-2 entre δ 90 y 95.5 ppm y otra para C-1 y C-3 en el intervalo δ 158.1 y 166.5 ppm, consistente con la distribución de carga alternada a lo largo del sistema carbonado.

Los espectros de resonancia magnética nuclear observados para los compuestos 51-53 están en consonancia con lo comentado anteriormente para compuestos análogos recogidos en la bibliografía. Los valores de las constantes de acopla-



miento $J_{1,2}$ y $J_{2,3}$ para los compuestos 51-53 descartan la existencia de gran parte de los isómeros formulados. Los valores medidos 11.5-12.0 Hz, en los tres compuestos, indican que la geometría de la cadena carbonada es "todo trans" (W).

Una vez establecida la geometría central existente, los isómeros posibles se reducen a tres: *EEEE*, *EEEZ* y *ZEEZ*. Habría un *ZEEE* que no se ha considerado ya que es idéntico al *EEEZ* por simetría.

Los protones H-1 y H-3 son magnéticamente equivalentes en cada uno de los isómeros *EEEE* y *ZEEZ*. Si el espectro se hace en un disolvente que intercambie protones, deben originar un doblete ($J_{1,2}$ ó $J_{2,3}$) por cada isómero, mientras que en el isómero *EEEZ*, al estar en entornos magnéticos distintos, originarán otros dos dobletes ($J_{1,2}$ ó $J_{2,3}$). Esto quiere decir que si uno de estos compuestos existe como mezcla de los tres isómeros, se observará un total de cuatro dobletes para las señales de H-1 y H-3.

El protón H-2 existe en tres entornos magnéticos distintos correspondientes a cada uno de los isómeros, por lo que su señal corresponderá a tres tripletes.

Cuando se registra el espectro de la sal de vinamidinio de la ciclohexilamina (53) en metanol- d_4 , junto con las señales de ciclohexilo que se distinguen a campo alto, se aprecian dos multipletes centrados a δ 5.56 y 7.70

ppm. Examinando detenidamente los mismos y estudiando sus multiplicidades, el primer multiplete corresponde realmente a tres tripletes de intensidades 1:2:1 centrados a δ 5.51, 5.56 y 5.71 ppm y con constantes de acoplamiento ($J_{1,2}$ ó $J_{2,3}$) que varían entre 11.6 y 12 Hz. El segundo multiplete corresponde a la superposición de cuatro dobletes. La asignación de estas señales se hace por el valor de desplazamiento químico y las multiplicidades observadas, como se indica a continuación: cada triplete del primer multiplete (δ 5.56 ppm) corresponde a H-2 de cada uno de los tres isómeros que existen en disolución. Los cuatro dobletes que constituyen el segundo multiplete (δ 7.70 ppm) se asignan a H-1 y H-3, que son equivalentes en dos de los isómeros (un doblete por cada isómero) y se encuentran en entornos magnéticos distintos en el tercer isómero, *EEEE*, por lo que originan otros dos dobletes distintos. En total resultan cuatro dobletes.

La asignación individual de qué señal corresponde a cada isómero puede hacerse para H-2 si se tiene en cuenta el efecto γ -desapantallante⁶⁰ que sobre el mismo ejerce un grupo ciclohexilo. Así, el desplazamiento químico de H-2 crece al pasar de un isómero *E* a uno *Z*, de forma que los tres tripletes se asignan como: *EEEE* a δ 5.51 ppm, *EEEE* a δ 5.56 ppm y *ZEEZ* a δ 5.71 ppm. Suponiendo que el efecto γ -desapantallante es aproximadamente aditivo, la presencia de dos ciclohexilos hacen que el isómero *ZEEZ* sea el que aparezca a campo más bajo.

De igual forma se asignan fácilmente las tres señales originadas en el espectro de ^{13}C por C-2. Teniendo en cuenta, en este caso, que el efecto ejercido por el resto de ciclohexilo es γ -apantallante,⁶¹ las señales que aparecen a δ 90.1, 92.3 y 93.9 ppm se asignan, respectivamente, a los isómeros *ZEEZ*, *EEEZ* y *EEEE*. La relación entre la intensidad de las tres señales es aproximadamente también 1:2:1, lo que está de acuerdo con la asignación que se ha hecho en el espectro de ^1H -RMN. Las señales que aparecen a campo más alto en el espectro se asignan a los carbonos de ciclohexilo, y un grupo de cuatro señales a campo bajo corresponden a los cuatro tipos de carbonos C-1 y C-3 de los tres isómeros presentes en disolución. De estos espectros se deduce que el isómero mayoritario es *EEEZ*.

Este mismo comportamiento se observa cuando se registra el espectro del perclorato de 1,5-diaza-1,5-di-*n*-butil-1*H*-pentadienonio (52) en metanol- d_4 . La señal de H-2 consiste en la superposición de tres tripletes y la de H-1 y H-3, de cuatro dobletes.

Cuando se cambia el disolvente no hay variaciones apreciables en la señal de H-2. Ésta sigue resultando de la superposición de tres tripletes, cada uno de ellos correspondiente a H-2 de los tres isómeros que existen en disolución. En el espectro de ^{13}C se observan también los dos grupos de señales que se asignan el primero a C-2 y el

segundo a C-1 y C-3, a δ 90.2, 92.1 y 94.1 ppm y δ 161.8, 162.9, 164.6 y 166.2 ppm, respectivamente. Esto corrobora la presencia de los tres isómeros en disolución.

El espectro del compuesto perclorato de 1,5-diaza-1,5-dimetil-1*H*-pentadienonio (51) se ha registrado en agua deuterada, metanol- d_4 y dimetilsulfóxido- d_6 . Junto con las señales de N-CH₃ que se comentarán a continuación, en todos los disolventes aparecen dos multipletes centrados a δ 5.5-5.7 ppm y δ 7.2-7.9 ppm, que integran respectivamente a uno y dos protones. Los valores de desplazamiento químico, multiplicidad e integral de estas señales permiten asignar el primer multiplete a H-2 y el de δ 7.2-7.9 ppm a H-1 y H-3.

Independientemente del disolvente, a campo alto se observan siempre cuatro señales de distinta intensidad con un desplazamiento químico (2.9-3.2 ppm) que permite asignarlas a N-CH₃. La presencia de más de una señal de metilo indica la existencia de más de un isómero del compuesto en disolución. Las diferentes intensidades revelan la distinta proporción en que se encuentran los isómeros en disolución. La presencia de cuatro señales de metilo indica que al igual que en los compuestos 52 y 53, para 51 el número de isómeros presentes en disolución debe ser tres. El isómero *EEEE* originará una señal, otra el *ZEEZ* y dos el *EEEZ*. La integración de estas señales, por ejemplo en el espectro en dimetilsulfóxido- d_6 , revela que los tres isómeros se encuentran en

este disolvente en una relación de concentraciones aproximada a 70:25:5. Se asignan fácilmente las señales de N-CH₃ del isómero *EEEZ*, ya que éste origina dos señales de aproximadamente igual intensidad, cuya integral corresponde al 25% del total. En este disolvente todas estas señales aparecen desdobladas por el acoplamiento con N-H, lo que no aporta ninguna información estructural ya que es idéntico en todos los casos ($J \sim 5$ Hz).

En cuanto a los multipletes característicos del sistema conjugado, en todos los disolventes se aprecian a δ 5.5-5.7 ppm dos tripletes ($J_{1,2}$ ó $J_{2,3}$ 12 Hz) con una relación de intensidades 70:30 que se asignan a H-2 de dos isómeros mayoritarios. En el espectro en dimetilsulfóxido-d₆ se observan, además, señales que corresponden a otro isómero claramente minoritario. El efecto γ -desapantallante que ejercen los grupos metilo sobre H-2 permite concluir que el isómero mayoritario tiene mayor número de enlaces con geometría *Z*, ya que es en el que aparece H-2 a campo más bajo (en metanol-d₄ y en dimetilsulfóxido-d₆). El efecto contrario que se observa en el espectro de ¹³C (Figura) es consistente con esta apreciación: debido al efecto γ -apantallante⁶¹ ejercido por los metilos sobre C-2, este carbono tiene menor valor de desplazamiento químico en el isómero mayoritario.

Hay, pues, dos posibilidades respecto a los dos isómeros más abundantes:

- que el isómero mayoritario sea *EEEZ* y el siguiente en proporción sea *EEEE*.

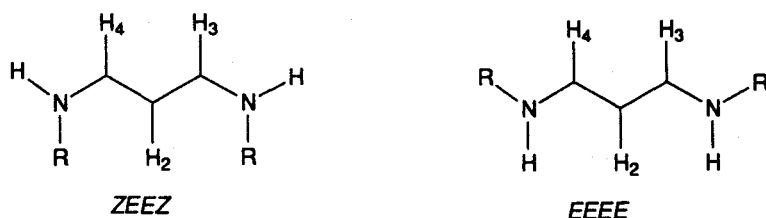
- que el isómero mayoritario sea *ZEEZ* y el siguiente, *EEEZ*.

Si se considera en este momento lo comentado anterioremente respecto a las señales de N-CH₃, se puede afirmar que el isómero mayoritario es el *ZEEZ*, el intermedio *EEEZ* y el minoritario, *EEEE*.

Esta conclusión es compatible también con las intensidades relativas de las cuatro señales originadas por C-1 y C-3 en el espectro de ¹³C. La señal de mayor intensidad (a δ 163.8 ppm) se asigna al isómero *ZEEZ*, dos prácticamente iguales (a δ 162.2 y 167.6 ppm), de intensidad intermedia, al *EEEZ* y la minoritaria, a δ 166.1 ppm, al *EEEE*.

Las señales correspondientes a los dobletes de H-1 y H-3 para este compuesto aparecen solapadas, pero en disolventes como metanol-d₄ y dimetilsulfóxido-d₆ se aprecian señales de distinta intensidad originadas por los tres isómeros. En dimetilsulfóxido-d₆ se aprecia, en las señales que corresponden a H-1 y H-3, el acoplamiento vecinal H-N-C-H, que no es concluyente respecto a la geometría del enlace N-C, ya que el valor observado para $J_{\text{NH,H-1,3}}$ (8 Hz), sin ningún otro dato de referencia, puede corresponder tanto a disposición *cis* como *trans* de los dos protones.

En conclusión, mientras que para 52 y 53, la proporción de isómeros en disolución es más similar, cuando R=Me hay variaciones significativas, estabilizándose un isómero frente a los otros dos. No obstante, es interesante destacar que el isómero favorecido sea el ZEEZ cuando en principio se podría pensar que el EEEE, completamente trans estaría más estabilizado. El valor de desplazamiento químico para H-2 y C-2 corrobora la asignación anterior.



El estudio de la composición del equilibrio isomérico de 51 se ha completado con cálculos teóricos realizados a nivel *ab initio* que se presentan en el apartado 2.6 de esta Parte Teórica.

Tabla 7.- Datos de ^1H -RMN del sistema de diazapentadieno de los compuestos 51-53 en CD_3OD .

	H-2	H-1, 3
R= Me, 51	5.51 t	7.64 d
	5.54 t	7.74 d
R= ^nBu , 52	5.53 t	7.62 d
	5.55 t	7.68 d
	5.62 t	7.72 d
R= C_6H_{11} , 53	5.51 t	7.59 d
	5.56 t	7.72 d
	5.71 t	7.83 d

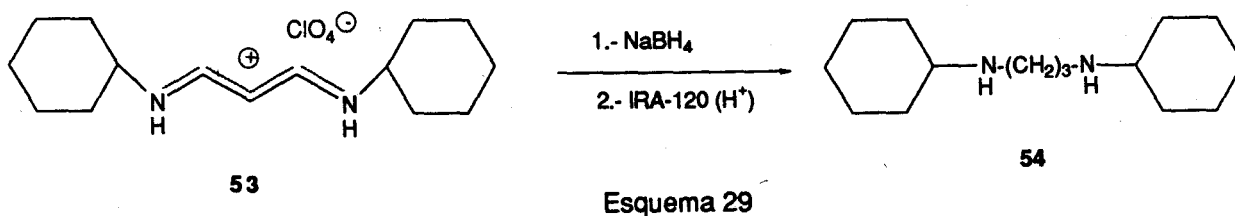
Tabla 8.- Datos de ^{13}C -RMN del sistema de diazapentadieno de los compuestos 51-53 en CD_3OD .

	C-1, C-3	C-2
R= Me, 51	162.2	89.5
	163.8	91.4
	166.1	93.5
	167.6	
R= n Bu, 52	161.8	90.2
	162.9	92.1
	164.6	94.1
	166.2	
R= C_6H_{11} , 53	160.4	90.1
	162.1	92.3
	163.6	93.9
	165.1	

2.3.2.2. Reducción de las sales de vinamidinio.

Ya que estos compuestos (51-53) son modelos de los que se obtienen cuando se lleva a cabo la reacción con la quitosana, interesa conocer su comportamiento frente a determinadas reacciones que pueden resultar interesantes en el caso de la quitosana, como son la reducción del sistema de diazapatadienonio para dar una diamina y el comportamiento frente a metales.

Así, se llevó a cabo la reacción de reducción del compuesto 53. El agente reductor empleado fue borohidruro sódico en metanol y el control de la reacción se llevó a cabo por espectrofotometría ultravioleta visible. La desaparición del máximo a λ 305 nm indicó que la reducción había tenido lugar completamente. Seguidamente se neutralizó el medio de

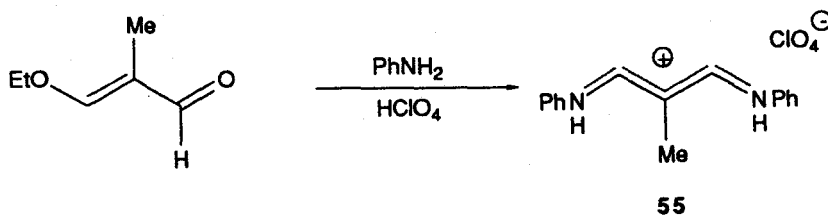


reacción con resina Amberlita IRA-120 (H^+) y se evaporó a sequedad obteniéndose diciclohexilpropilendiamina (54) (Esquema 29). Además de la desaparición del máximo de absorción a λ 305 nm, los multipletes complejos a δ 5.5 y 7.7, que aparecen en el espectro de 1H de 53, se transforman

al reducir en dos tripletes a δ 0.97 y 3.48 ppm, que integran respectivamente para dos y cuatro protones.

2.3.2.3. Derivados del metilmalondialdehído y amins sencillas.

La reacción de transaminación se ha empleado también para obtener derivados del metilmalondialdehído. En este caso, la sal de vinamidinio que se ha usado como sustancia de partida es el compuesto perclorato de 1,5-diaza-1,5-difenil-3-metilpentadienonio (55), que se prepara fácilmente y con buen rendimiento a partir de anilina, 3-etoxi-2-metilpropenal y ácido perclórico en medio etanólico (Esquema 30).



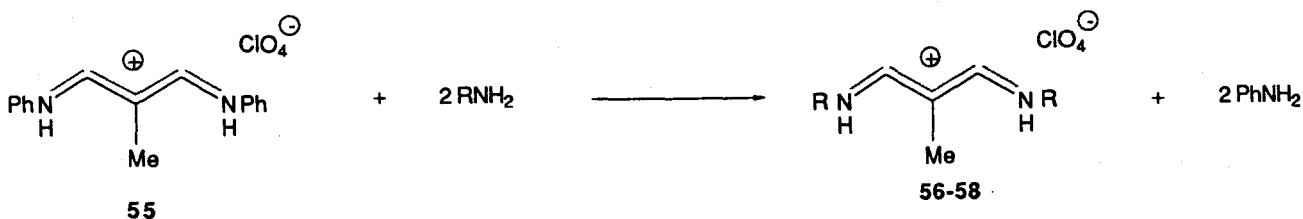
La caracterización de este producto se hizo mediante sus datos analíticos y propiedades espectroscópicas. Presenta el máximo de absorción, característico de las sales de vinamidinio con sustituyentes fenilo, a λ 378.4 nm. En el espectro de infrarrojo presenta bandas $\nu(\text{N-H})$ a 3466 y 3183 cm^{-1} y, en la región de los dobles enlaces, la banda a 1624 cm^{-1} características del sistema conjugado.

En los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C , realizados en DMSO-d_6 , se aprecian junto con las señales de metilo y fenilo, las del sistema de diazapentadieno. En el espectro de ^1H aparece un doblete (J 14 Hz) a δ 8.67 ppm que se asigna a los protones H-1 y H-3. La geometría alrededor del enlace N-C-1(3) queda determinada inequívocamente gracias al valor de la constante de acoplamiento $J_{\text{NH,H-1,3}}$ (14 Hz), que corresponde a una disposición *E* de los protones N-H y H-1(o H-3). Por analogía con las sales de vinamidinio anteriores, se puede suponer que la geometría central (C1-C2, C2-C3) del sistema será también *EE*, por lo que el compuesto perclorato de 1,5-diaza-1,5-difenil-3-metil-1H-pentadienonio existe en dimetilsulfóxido como el isómero *EEEE*. En el espectro de ^{13}C , tanto C-2 como los carbonos equivalentes C-1 y C-3 originan, en cada caso, una única señal a δ 106.7 y 158.9 ppm, respectivamente.

El espectro de masas de este compuesto presenta pico molecular a 336 de pequeña intensidad. El pico base del espectro, M^+-HClO_4 , corresponde a una masa molecular exacta de 236.1293 (Calculada para $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_2$, 236.1313).

La reacción de la sal de vinamidinio 55 con metil, *n*-butil y ciclohexilamina en metanol a reflujo proporcionó las sales de vinamidinio 56-58 correspondientes con buenos rendimientos (Esquema 31). Los tiempos de reacción son más largos que en las reacciones anteriores y la reacción

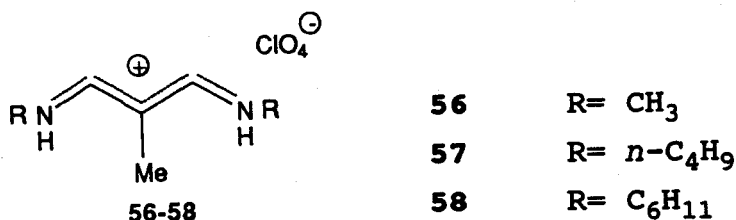
se controla fácilmente por espectrofotometría ultravioleta. Inicialmente se forma otro compuesto con un máximo de absorción a λ 340 nm, que es una sal de vinamidinio con uno de los grupos R ciclohexilo, metilo o *n*-butilo y el otro, fenilo, que evoluciona hasta λ ~ 310 nm conforme avanza la reacción hasta la sal de vinamidinio correspondiente.



Esquema 31

2.3.2.3.1. Caracterización.

Las sales de vinamidinio derivadas del metilmalondialdehído presentan máximos de absorción en el ultravioleta a valores de $\lambda_{\text{máx}}$ ~ 310 nm, análogamente a otros iminopropenos derivados de aminoácidos y metilmalondialdehído descritos en la bibliografía.⁵⁹



Las absorciones en el infrarrojo son similares a las de los análogos derivados de malondialdehído: las más

interesantes aparecen a $3400-3300\text{ cm}^{-1}$ (N-H) y $1640-1610\text{ cm}^{-1}$, característica del sistema insaturado.

Los espectros de masas, como los descritos anteriormente, no presentan pico molecular y el pico base es, en este caso, $M^+-\text{HClO}_4\text{-R}$. El pico $M^+-\text{HClO}_4$ tiene, en todos los casos, masa molecular exacta concordante con la calculada.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y de ^{13}C son más simples que los análogos de los derivados del malondialdehído. Las señales indican la existencia de un solo isómero en disolución, que debe ser por razones estéricas el de geometría más extendida *trans*, *s-trans*. Esto puede comprobarse analizando el espectro de ^1H del derivado de la metilamina, por ejemplo en dimetilsulfóxido- d_6 . El espectro es muy sencillo, pues sólo se distinguen cuatro señales. Comenzando desde campo alto, a δ 1.75 ppm aparece un singulete que se asigna a $\text{CH}_3\text{-C-2}$, a δ 3.02 ppm se observa la señal de N- CH_3 ligeramente desdoblada ($J_{\text{Me, NH}}$ 5 Hz) por el acoplamiento con N-H, a δ 7.55 ppm hay un doblete ($J_{\text{H-1(3), N-H}}$ 14.5 Hz) de intensidad correspondiente a dos protones que se asigna a H-1 y H-3, y a δ 8.73 ppm, una señal ancha correspondiente a los dos N-H. El valor de la constante de acoplamiento ($J_{\text{H-1(3), N-H}}$) para ese doblete indica que la geometría alrededor del enlace C-1-N y C-3-N es *trans*, *s-trans*. El valor de esta constante de acoplamiento puede servir de referencia para el compuesto análogo derivado del malondial-

dehído (51), anteriormente discutido. En aquel caso, la constante $J_{H-1(3), N-H}$ medida fue de 8 Hz, lo que permite ahora concluir que ese valor ha de corresponder a una geometría *cis* para dicho enlace. Esto corrobora que el isómero mayoritario sea, en aquel caso, *ZEEZ*, ya que esa constante se midió en el doblete mayoritario (asignado al isómero *ZEEZ*) de H-1 y H-3.

El espectro de ^{13}C de la sal de vinamidinio 56 confirma la existencia de un sólo isómero, pues tanto C-2 como conjuntamente C-1 y C-3 originan una única señal a δ 101.6 y 165.3 ppm.

Estos datos indican que la presencia de un grupo metilo sustituyendo al C-2 del sistema de 1,5-diazapentadieno restringe la libertad de giro de los enlaces de dicha agrupación, favoreciendo claramente el conformero de geometría más extendida *EEEE*.

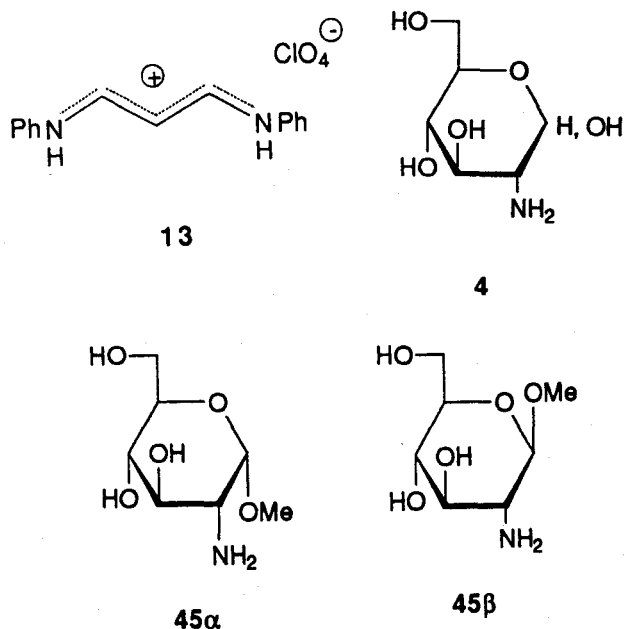
Los espectros de 1H y ^{13}C de los derivados de la ciclohexil y *n*-butilamina son similares e indican también la existencia de un sólo isómero en disolución, que es el de geometría más extendida.

Tabla 10.- Datos de ^{13}C -RMN del sistema de diazapentadieno de los compuestos **55-58** en CD_3OD .

	C-1, C-3	C-2	Me
R= Me, 56	165.3	101.6	8.0
R= ^nBu , 57	162.1	100.5	7.9
R= C_6H_{11} , 58	160.1	100.9	7.6
R= Ph, 55	158.9	106.7	8.8

2.3.2.4. Derivados de amino azúcares monoméricos y malondialdehído.

Hemos investigado también las reacciones de la sal de vinamidinio **13** con D-glucosamina (**4**) y los metil 2-amino-2-desoxi- α (y β)-D-glucopiranosidos (**45 α** y **45 β**), como modelos de la reacción con quitosana. Las condiciones

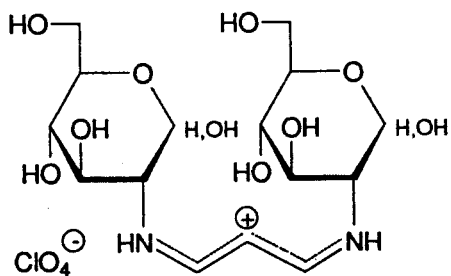


empleadas son las mismas que las descritas para las aminas sencillas: calentamiento en metanol a reflujo y control del progreso de la reacción por espectrofotometría ultravioleta-visible y por cromatografía sobre capa fina de gel de sílice usando como revelador reactivo de ácido tiobarbitúrico,⁶² específico de los derivados del malondialdehído. Para estos compuestos, conforme avanza la reacción, además de la banda de absorción a λ 300-310 nm aparece otra a λ ~ 340-345 nm que nunca llega a desaparecer incluso con prolongados tiempos de reacción. Cuando la relación de absorbancias $A_{300-310}/A_{340-345}$

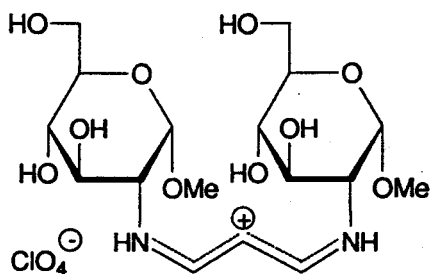
es máxima se da por concluida la reacción. El control cromatográfico revela la formación de dos productos de R_F 0.2 y 0.6 (eluyente acetato de etilo-metanol-ácido acético-agua 6:2:1:1) que se separan por cromatografía sobre capa fina de gel de sílice usando el eluyente anterior. El producto de menor R_F es el mayoritario en todos los casos y presenta propiedades espectroscópicas que indican que se trata de una sal de vinamidinio simétrica (59-61), es decir, con dos grupos R que son azúcares. El producto de mayor R_F , que posee un máximo de absorción en el ultravioleta a λ 340-345 nm es una sal de vinamidinio asimétrica (62-64), uno de los grupos R es la agrupación de azúcar y el otro, fenilo.

El control cromatográfico de la reacción permite observar que inicialmente, se forma la sal de vinamidinio asimétrica (62-64) que se transforma más lentamente en la sal de vinamidinio simétrica (59-61). Sin embargo, la adición de más cantidad de amina no favorece la formación de 59-61.

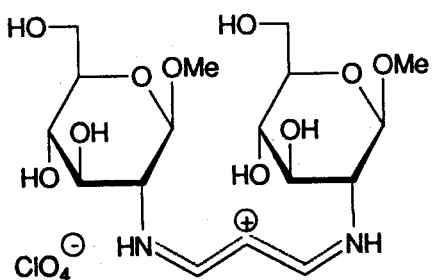
Como se ha indicado anteriormente una sal de vinamidinio asimétrica se detecta también por espectroscopia UV en la reacción de la sal de vinamidinio derivada del metilmalondialdehído y aminas sencillas. En ese caso no llega a aislarse, ya que en las condiciones empleadas se produce rápidamente la transaminación total. Esto puede explicarse en términos de distinta reactividad y basicidad de los dos tipos de aminas: las aminas sencillas son más básicas y tienden a



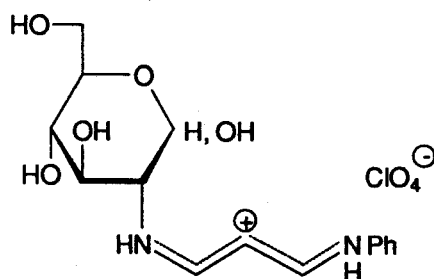
59



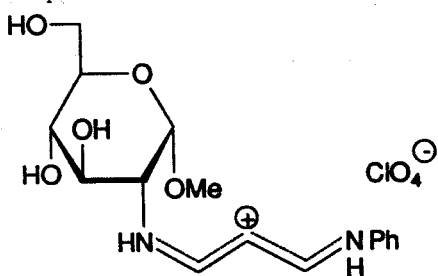
60



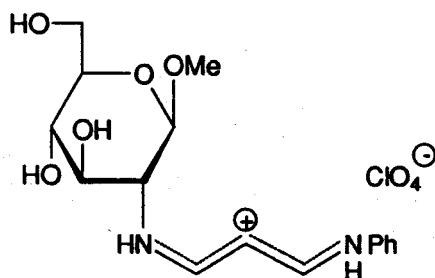
61



62



63



64

formar, preferentemente, la sal simétrica. Por el contrario, la basicidad del amino azúcar no es suficiente para que se forme exclusivamente el derivado doble. La reacción de transaminación no es completa.

Los compuestos 58-61 y 62-64 se caracterizaron por sus propiedades analíticas y espectroscópicas. Sus espectros de infrarrojo presentan, junto con las absorciones correspondientes a la agrupación de azúcar, dos absorciones entre 1650 y 1550 cm^{-1} que se asignan a vibraciones del sistema de diazapentadieno. La primera de estas dos absorciones aparece a valores de frecuencias más altas para las sales de vinamidinio asimétricas (62-64) debido a la extensión de la conjugación que produce el grupo fenilo.

Los espectros de ultravioleta de 59-61 presentan el máximo característico a λ 300-310 nm, mientras que los de 62-64 presentan dos absorciones a λ 230-235 y 340-345 nm.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y de ^{13}C , realizados en óxido de deuterio, están de acuerdo con las estructuras propuestas para ambos tipos de compuestos. Son espectros más complejos que los de los compuestos modelos descritos en la sección 2.3.2.1.1. debido a las señales de azúcar que en los espectros de ^1H no llegan a resolverse ni siquiera parcialmente. Las sales de vinamidinio dobles originan dos multipletes complejos a δ 5.4-5.9 y δ 7.4-7.8 ppm, que por analogía con los modelos anteriores se

asignan, el primero a los protones H-2, y el segundo a H-1 y H-3 del sistema de diazapentadieno.

Comentaremos como ejemplo representativo de los compuestos 59-61, el espectro del derivado del metil α -D-glucopiranosido (60): H-2 aparece como un multiplete centrado a δ 5.67 ppm resultante de la superposición de tres tripletes a δ 5.56, 5.65 y 5.71 ppm con constantes de acoplamiento $J_{H-1(3),H-2}$ de 11.9 Hz. Estos tripletes se asignan, como en los compuestos modelo, a los isómeros *EEEE*, *EEEZ* y *ZEEZ*, respectivamente, por el efecto γ -desapantallante que ejerce el resto de azúcar sobre H-2 en el confórmero Z.

El otro multiplete (H-1 y H-3) corresponde a la superposición de cuatro dobletes a δ 7.56, 7.59, 7.63 y 7.66 ppm. Las intensidades relativas de tripletes y dobletes indican que los tres isómeros se encuentran, aproximadamente, en la misma proporción en disolución acuosa.

El resto del espectro de protones consiste en un singulete a δ 3.28 ppm correspondiente a -OMe, y un multiplete complejo entre δ 3.2 y 4.0 ppm, que se asigna a los protones de azúcar.

Los espectros de ^1H -rmn de las sales de vinamidinio derivadas de la D-glucosamina (59) y del metil β -D-glucosamínido (61) presentan también tres multipletes complejos entre valores de δ : 3-4, 5.40-5.85 y 7.45-7.75 ppm,

que se asignan, respectivamente, a los protones de las agrupaciones de azúcar, a los protones H-2 y el último, a los protones H-1 y H-3, magnéticamente equivalentes. En el espectro de la sal de vinamidinio **61** aparece un singulete adicional a 3.42 ppm correspondiente a -OMe.

En cuanto a los espectros de ^{13}C de **59-61**, hay que destacar los dos conjuntos de señales que aparecen a valores de δ : 95-100 ppm y 160-165 ppm que se asignan, el primero a los carbonos C-2, y el segundo a C-1 y C-3. Para **60**, aparecen tres señales a δ 94.5, 98.1 y 99.0 ppm y otras cuatro a δ 164.1, 165.3, 166.8 y 168.1 ppm, que confirman la existencia de los tres isómeros *EEEE*, *EEEZ* y *ZEEZ* en disolución.

En los espectros de ^{13}C de **59** y **61** se observan también esos dos conjuntos de señales. Los desplazamientos químicos de los carbonos de azúcar son análogos a los de otros derivados de D-glucosamina y metil α - y β -D-glucosamínicos. La presencia de más de una señal para algunos de los carbonos de azúcar es compatible con la existencia de los tres isómeros.

En las sales asimétricas **62-64**, los protones H-1 y H-3 ya no son equivalentes, por lo que no aparecen al mismo valor de desplazamiento químico. Los espectros de los tres compuestos son equivalentes por encima de δ 5 ppm. Se aprecian multipletes centrados a δ 5.75, 7.2, 7.7 y 8.1 ppm,

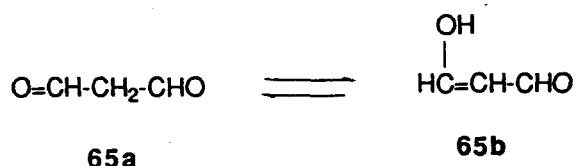
que se asignan respectivamente a los protones H-2, a los protones de fenilo, a H-1 y a H-3. La multiplicidad observada indica la presencia de más de un isómero en disolución.

Todo esto se comprueba también en los espectros de resonancia magnética nuclear de ^{13}C . Los carbonos C-1 y C-3 originan cuatro señales , dos a campo más bajo que se asignan al carbono más próximo a la agrupación de azúcar y dos a campo más alto correspondientes al carbono más próximo al grupo fenilo. En cuanto a las señales de C-2, aparecen a δ 94-100 ppm.

2.4. REACCIONES DE MALONDIALDEHÍDO Y DE METILMALONDIALDEHÍDO CON QUITOSANA Y CON AMINO AZÚCARES SIMPLES MODELOS.

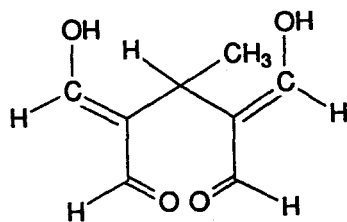
2.4.1. Antecedentes de la química del malondialdehído.

El malondialdehído (MDA, 65) es el compuesto 1,3-dicarbonílico más simple. Se encuentra en los seres vivos y



en los alimentos, aunque no es estable en condiciones fisiológicas (medio acuoso, temperatura ambiente y pH próximo a la neutralidad). Recientemente⁶³ se ha realizado un estudio sobre la química del MDA y, en particular, su reacción con amino hexosas y sus implicaciones en la reacción de oscurecimiento no enzimático (reacción de Maillard).

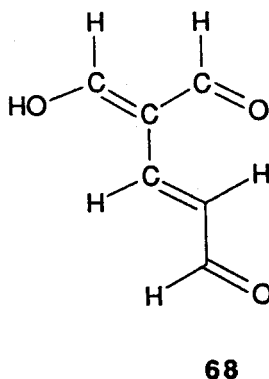
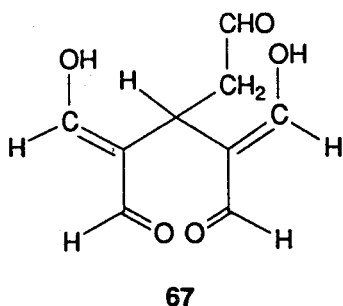
La química del MDA, que se maneja habitualmente como su sal sódica, NaMDA, es bastante compleja. Así, en el intervalo de pH 4-7, sufre una ruptura hidrolítica originando ácido fórmico y acetaldehído. Este último reacciona rápidamente con el exceso de MDA originando 2,4-dihidroximetilén-3-



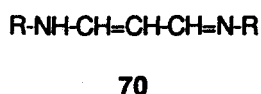
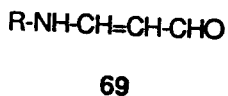
66

metilglutaraldehído (66).

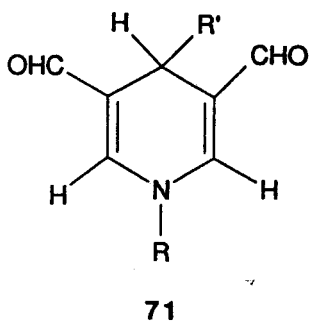
Por otro lado, a pH 4.5-5.0 el MDA se oligomeriza transformándose en un "quasi trímero" (67), junto con el compuesto 66 y el "quasi dímero" (68) como productos minoritarios.



La reacción de MDA con una amina primaria puede originar dos tipos de productos, el aducto 1:1 o enaminal (69) y el aducto 2:1 ó 1-amino-3-iminopropeno (70). A partir de ahora para los aductos 2:1 usaremos la nomenclatura 1,5-diaza-1,3-pentadieno.



El 2,4-dihidroximetilén-3-metilglutaraldehído (66) reacciona también con aminas alifáticas y amino azúcares que contengan grupos amino primarios dando compuestos con la estructura de 71.



En el citado trabajo⁶³ se describen las reacciones de MDA con la D-glucosamina, la β -D-glucopiranosilamina, la 1-amino-1-desoxi-D-fructosa y la 1-butilamino-1-desoxi-D-fructosa. A temperatura ambiente se forman los correspondientes enaminales G-NH-CH=CH-CHO. Sólo en el caso^{63a} de la 1-amino-1-desoxi-D-fructosa se observa la formación adicional de un 1-amino-3-iminopropeno F-NH-CH=CH-CH=N-F, siendo F la agrupación 1-desoxi-D-fructos-1-il. Ambos tipos de productos pueden existir en varias formas isómeras, debido a la posibilidad de isomería geométrica en los grupos: -NH-CH=CH-CH=O y -NH-CH=CH-CH=N-.

Como el MDA se rompe y oligomeriza en las condiciones de las reacciones anteriores, se observa también la formación de compuestos de tipo 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhdos (71) procedentes de la reacción de los aminos azúcares con 66.

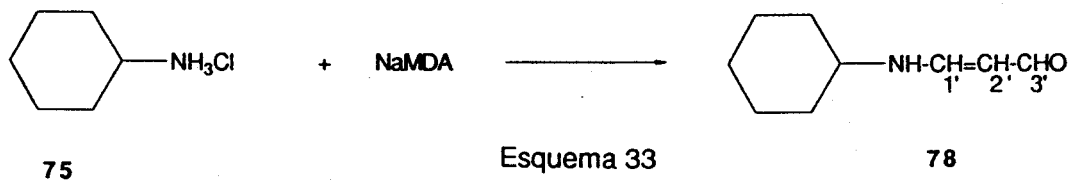
Los enaminales de tipo 69 ciclan al calentar en medio acuoso originando 3-pirrolcarbaldéhdos 4- ó 5-sustituidos, por ejemplo 72 procedente de la D-glucosamina. En el caso de enaminales derivados de la D-fructosamina se observa, además, la formación de 4-piridonas 3-sustituidas (73).

Estos compuestos heterocíclicos son inestables y se oscurecen con el tiempo. La presencia de compuestos de esta clase, derivados de aminoácidos, en los alimentos puede contribuir al oscurecimiento de éstos en las condiciones de

reacción con clorhidrato de ciclohexilamina (75) como compuesto modelo. Se repitió la preparación^{63a,b} del derivado de MDA y la D-glucosamina con objeto de llevar a cabo su hidrólisis y la cuantificación con TBA del MDA liberado en la misma. A efectos comparativos, se investigó paralelamente la reacción de los clorhidratos de 1,3,4,6-tetra-O-acetil-2-amino-2-desoxi- α -D- y β -D-glucopiranososa (76 α y 76 β) con metilmalondialdehído (MeMDA, 77) ya que la química de este compuesto es más simple y, por último, la reacción de MeMDA con quitosana.

2.4.2. Reacción de MDA con ciclohexilamina.

La reacción de ciclohexilamina, empleada como clorhidrato,* y la NaMDA se llevó a cabo en agua a temperatura ambiente. El progreso de la reacción se siguió mediante



cromatografía sobre capa fina de gel de sílice usando como eluyente diclorometano-acetona 4:1. La separación de la mezcla de productos de reacción por cromatografía en columna, usando como eluyente diclorometano:acetona 6:1, originó la

*El clorhidrato de ciclohexilamina se preparó previamente por tratamiento de la amina con la cantidad equimolar de ácido clorhídrico en metanol. La sal formada cristalizó en el medio de reacción, se filtró y se lavó con agua fría.

3-(ciclohexilamino)acroleína (78) como un amorfo cromatográficamente puro, con un rendimiento del 52%.

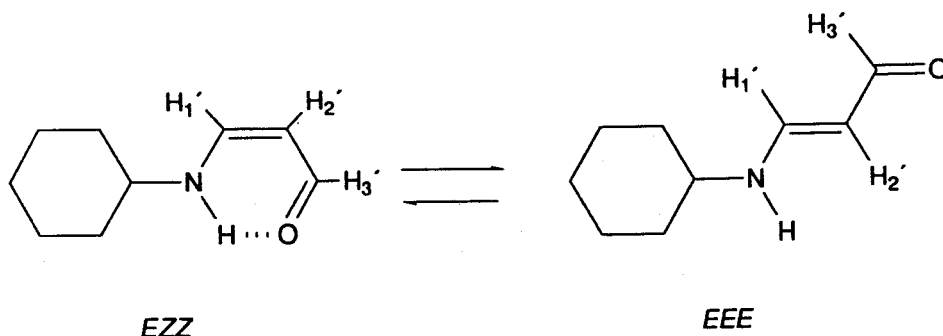
2.4.2.1. Caracterización de la 3-(ciclohexilamino)acroleína (78).

Este producto se caracterizó por sus datos analíticos y propiedades espectroscópicas. Su espectro de infrarrojo realizado en pastilla de bromuro potásico, presenta las bandas características de la 3-aminoacroleína a 3500 (N-H), 1635 (C=O) y 1550 cm^{-1} (-NH-CH=CH-). El espectro en disolución clorofórmica sugiere la existencia de al menos dos isómeros del compuesto, ya que las bandas se observan duplicadas: $\nu(\text{N-H})$ a 3434 y 3407, $\nu(\text{C=O})$ a 1636 y 1611 y $\nu(\text{C=C})+\delta(\text{N-H})$ a 1566 y 1520 cm^{-1} . Las dos primeras bandas desaparecen al deuterar la muestra. Se aprecian, además, bandas asignables a C-H de aldehído a 2814 y 2739 cm^{-1} .

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C , realizados en deutериocloroformo, confirman la presencia de dos isómeros en disolución. Debido a las restricciones al giro de los enlaces simples y dobles de la agrupación -NH-CH=CH-CH=O, son posibles $2^3=8$ isómeros. Las constantes de acoplamiento entre los protones H-1'*, H-2' y H-3' ($J_{1',2'}$ 7.1 y 12.9 Hz y $J_{2',3'}$ 2.3 y 8.6 Hz) y entre H-1' y el protón amínico ($J_{1',\text{NH}}$ 13.2 y 12.7 Hz) indican que 78

*Se emplea esta numeración y notación, aunque no es la correcta, por analogía con la usada posteriormente para los derivados de azúcares.

existe en disolución como mezcla de los isómeros *EEE* y *EZZ*.*



En cuanto al espectro de ^{13}C de **78**, las señales correspondientes a C-1' (δ 151.4 y 157.2 ppm), C-2' (δ 93.9 y 100.7 ppm) y C-3' (δ 187.3 y 189.2 ppm) aparecen duplicadas, confirmando la existencia de los dos isómeros comentados.

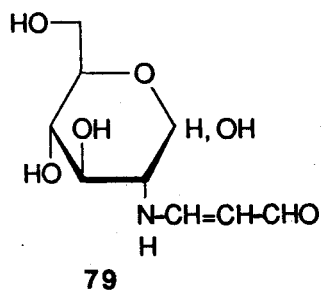
La hidrólisis de la 3-(ciclohexilamino)acroleína (**78**) se llevó a cabo por calentamiento a reflujo con ácido clorhídrico *M*. La cromatografía sobre capa fina de gel de sílice reveló que tras dos horas la hidrólisis de **78** había sido completa. La mezcla de reacción se diluyó y una alícuota se trató con TBA y TCA como se describe en la Parte Experimental. Se midió la absorbancia del colorante obtenido frente a blanco. Previamente se construyó una recta de calibrado para disoluciones con concentraciones en el intervalo 10^{-7} a 10^{-6}M en el que se cumple la ley de Beer. La interpolación de la absorbancia medida para la muestra problema indicó que, en esas condiciones, la hidrólisis fue cuantitativa, al obtenerse un mol de MDA por cada mol de 3-(ciclohexilamino)-

*Los símbolos indican, en este orden, las geometrías alrededor de los enlaces N-C(1'), C(1')=C(2') y C(2')-C(3').

acroleína empleado.

2.4.3. Reacción de MDA con D-glucosamina.

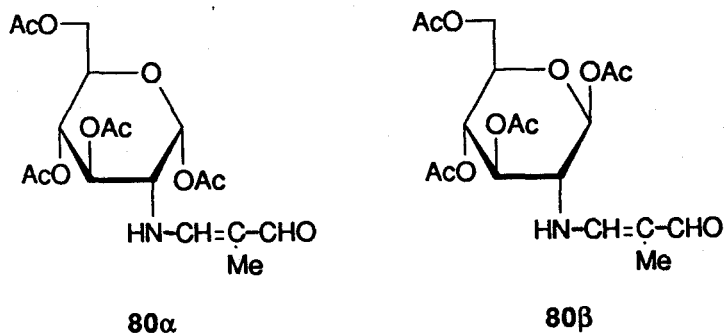
La reacción de clorhidrato de D-glucosamina con la cantidad equimolar de NaMDA en agua a temperatura ambiente, dio lugar a la 2-desoxi-2-[(3-oxo-1-propen-1-il)amino]- α,β -D-glucopiranososa (79) que mostró propiedades físicas y características espectrales idénticas a las del producto descrito.^{63a,b}



El compuesto 79 es estable en agua a temperatura ambiente y se hidroliza lentamente al tratar con ácido clorhídrico *M* a temperatura ambiente. Se estudió la hidrólisis de 79 calentando a reflujo en ácido clorhídrico *M*. Cada quince minutos se tomaron alícuotas de la mezcla de reacción en las que se analizó el MDA liberado. Tras dos horas la hidrólisis fue completa, obteniéndose MDA en la proporción de 1 mol por cada mol de la aminoacroleína 79 empleada.

2.4.4. Reacciones de MeMDA con los clorhidratos de 1,3,4,6-tetra-O-acetil-2-amino-2-desoxi- α -D- y β -D-glucopiranososa (α y β tetraacetilglucosaminas, 76 α y 76 β).

Como compuestos modelo de la reacción de quitosana con MeMDA se prepararon los derivados correspondientes de las tetraacetilglucosaminas α y β . Las reacciones se llevaron a cabo en medio acuoso, disolviendo cantidades equimoleculares del clorhidrato α - (76 α) ó β - (76 β) de la tetraacetilglucosamina y de la sal sódica del metilmalondialdehído. Los compuestos formados (80 α y 80 β), insolubles en agua, cristalizaron en el medio de reacción.



La caracterización de los mismos se llevó a cabo mediante sus datos analíticos y propiedades espectroscópicas. Los espectros de infrarrojo presentan bandas intensas, características de los grupos funcionales presentes. Junto con las bandas procedentes de las vibraciones del grupo carbonilo de acetato (1750, 1225-1215 cm^{-1}), aparecen bandas a 3200 cm^{-1} ($\nu(\text{N-H})$); y en la región de doble enlace bandas a 1620 y 1572 cm^{-1} que se asignan al sistema conjugado de

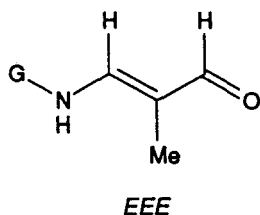
aminoacroleína ($\nu(\text{C}=\text{C}) + \delta(\text{N}-\text{H})$).

Los máximos de absorción en el ultravioleta se localizan a longitudes de onda típicas (λ 275-280 nm) de estos compuestos.

Los valores $[\alpha]_D^{25}$ medidos para 80α y 80β son consistentes con la anomería de cada compuesto.

Los espectros de resonancia magnética nuclear confirman las estructuras propuestas. En los espectros de resonancia magnética nuclear de protones registrados en CDCl_3 , los protones de azúcar aparecen claramente resueltos y se asignan por sus valores de desplazamiento químico y constantes de acoplamiento (Tabla 15). Como es habitual para cualquier par de anómeros, el protón H-1 de azúcar aparece a campo más bajo para el anómero α (δ 6.23 ppm) que para el correspondiente β (δ 5.56 ppm). Las constantes de acoplamiento $J_{1,2}$ para ambos anómeros cumplen también que $J_{1,2}(\alpha) < J_{1,2}(\beta)$. En este caso, los valores encontrados son 3.8 y 8.6 Hz, respectivamente. En cuanto a las señales del sistema de enaminal, los protones H-1' y H-3' aparecen como doblete y singulete, respectivamente, a δ 6.66 y 8.95 ppm en el anómero β y a δ 6.67 y 9.02 ppm en el α . La constante de acoplamiento entre H-1' y el protón amínico ($J_{\text{H-1},\text{NH}}$ 13 Hz), para ambos compuestos, está en concordancia con una disposición *E* de estos protones. Por analogía con otras 3-aminoacroleínas

descritas^{63a,b} derivadas de MeMDA, puede suponerse que la disposición relativa de los otros sustituyentes alrededor de los enlaces C1'-C2' y C2'-C3' sea también, *E*. Por consiguiente ambos compuestos existen en disolución en la conformación *EEE*.



En cuanto a los espectros de ¹³C, la asignación de las señales de azúcar se ha hecho por comparación con otros derivados descritos de tetraacetilglucosamina.⁶⁴ El carbono anomérico del anómero β resuena a campo más bajo que el del anómero α (δ 92.6 y 90.9 ppm, respectivamente), como es habitual para pares de anómeros derivados de glucosamina. Los demás carbonos de azúcar y los del sistema de aminoacroleína aparecen a valores de desplazamiento químico esperados para este tipo de compuestos (Tabla 16).

Tabla 15.- Datos de ^1H -RMN de los compuestos 80β y 80α en CDCl_3 .

	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	H-6'	H-1'	H-3'	$\text{CH}_3\text{-C-2}'$	OAc
80β	5.56 d	3.37 q	5.23 t	5.09 t	3.82 ddd	4.27 dd	4.08 dd	6.66 d	8.95 s	1.52 s	2.01 s
	$J_{1,2}$ 8.6	$J_{2,3}$ 9.8	$J_{3,4}$ 9.8	$J_{4,5}$ 9.8	$J_{5,6'}$ 2.2	$J_{6,6'}$ 12.4	$J_{5,6}$ 4.7	$J_{\text{H,NH}}$ 13			2.03 s
		$J_{2,\text{NH}}$ 9.1									2.06 s
											2.09 s
80α	6.23 d	3.61 m	5.35 t	5.18 t		<---- 4-4.49 ---->		6.67 d	9.02 s	1.58 s	2.02 s
	$J_{1,2}$ 3.8	$J_{2,3}$ 10	$J_{3,4}$ 10	$J_{4,5}$ 10				$J_{\text{H,NH}}$ 13			2.06 s
		$J_{2,\text{NH}}$ 9.9									2.09 s
											2.24 s

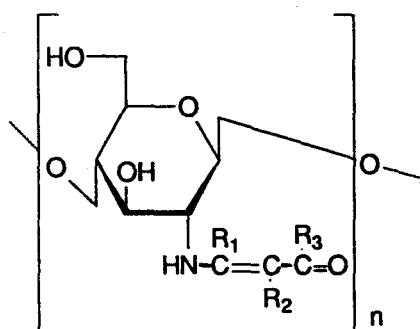
Tabla 16.- Datos de ^{13}C -RMN de los compuestos 80β y 80α en CDCl_3 .

	<u>C</u> -1	<u>C</u> -2	<u>C</u> -3	<u>C</u> -4	<u>C</u> -5	<u>C</u> -6	<u>C</u> -1'	<u>C</u> -2'	<u>C</u> -3'	<u>CH</u> ₃ - <u>C</u> -2'	OAc	
											<u>CH</u> ₃	<u>COO</u>
80β	92.6	61.4	72.4	67.3	72.8	62.6	156.0	112.4	189.5	6.4	20.4	168.8
											20.5	169.3
											20.6	170.5
											20.7	171.1
80α	90.9	61.9	70.2	67.5	70.9	62.4	157.2	110.1	191.2	6.2	20.3	167.5
											20.5	168.2
											20.6	169.1
											20.9	170.6

2.4.5. Reacción de quitosana con MDA.

Ya que el MDA reacciona muy fácil y rápidamente con amino azúcares, hemos llevado a cabo un estudio de su reacción con quitosana.

El MDA, empleado en forma de NaMDA recién preparada, podría reaccionar con la quitosana originando polímeros de tipo aminoacroleína, es decir con la estructura de 7 ($R^1=R^2=R^3=H$), aunque la presencia de grupos amino de distintas cadenas poliméricas puede favorecer la formación de



productos entrecruzados con estructuras de tipo 1,5-diaza-1,3-pentadieno. Estos productos tendrían interés en sí mismos por su peculiar estructura entrecruzada pero, si se realizara después la reducción del sistema conjugado, se tendrían unidades de propilendiamina entrecruzando el polímero que podrían incrementar en gran medida la capacidad quelatante de la quitosana de partida.

La reacción se lleva a cabo en condiciones similares a las usadas con otros compuestos 1,3-dicarboníli-

cos, añadiendo NaMDA en ácido clorhídrico *M* a una disolución de quitosana en ácido acético metanólico, en proporción molar quitosana/NaMDA 1:3. La mezcla se deja estar a temperatura ambiente formándose un gel anaranjado que se purifica por diálisis frente a agua y posterior liofilización. Este polímero se nombrará en adelante Q-MDA-1 (81). Es insoluble en todos los disolventes ensayados: agua, ácido acético, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, etanol, metanol y en el sistema *N,N*-dimetilacetamida-cloruro de litio.

2.4.5.1. Propiedades de Q-MDA-1 (81).

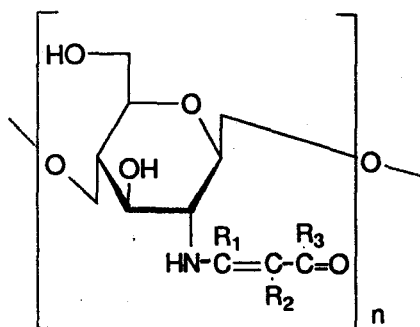
Este nuevo polímero se ha caracterizado por sus datos analíticos y propiedades espectroscópicas.

En el espectro de infrarrojo de Q-MDA-1 destacan las bandas que aparecen a 3418, 2888, 1605 y 1543 cm^{-1} , que son características de un sistema carbonílico α,β -insaturado derivado de un azúcar, más concretamente de una aminoacroleína, siendo su posición parecida a la que se da en el derivado de la *D*-glucosamina.^{63a,b}

El espectro de resonancia magnética nuclear en estado sólido (^{13}C -r.m.n.-c.p.-m.a.s.) del polímero Q-MDA-1 es más complejo que los que se han comentado para los polímeros 7 (apartado 2.2). Aunque el número de señales es menor, éstas son más anchas y están peor resueltas. Corresponde a un

derivado de quitosana, ya que presenta las señales características de esta amino glucana: a δ 108.1 (C-1), concordante con la anomería β , a δ 60.6 (C-2), una señal ancha a δ 75.2 ppm que engloba a C-3, C-4 y C-5, y a δ 62.2 ppm (C-6). Además, aparecen señales resueltas a δ 102.0 ppm y δ 191.0 y 197.0 ppm. La primera se asigna a un carbono de tipo $C=C-C=O$ y las últimas a carbonos carbonílicos. Se observa también un conjunto de señales que aparecen entre 120 y 170 ppm correspondientes a carbonos olefínicos de tipo $NH-C=C-$.

Estos datos sugieren que el polímero Q-MDA-1 no posee una estructura homogénea sencilla. Esto parece confirmarse cuando se llevó a cabo la hidrólisis del polímero en medio ácido. Suponiendo que Q-MDA-1 tuviese una estructura tipo 7 ($R_1=R_2=R_3=H$), el tratamiento en medio ácido daría



7

lugar a clorhidrato de quitosana y MDA, que se podría valorar con TBA, en la proporción de 1 mol de MDA por mol de unidad de hexosamina. Sin embargo, lo que se observa es que Q-MDA-1 no se hidroliza completamente en las condiciones habituales en que lo hacen los polímeros 7. Después de tratar con ácido

clorhídrico *M* durante varias horas a reflujo, el análisis del MDA liberado indicó que, en estas condiciones, el compuesto 1,3-dicarbonílico no se escinde completamente. Se obtienen 0.5 moles de MDA por mol de unidad monomérica y queda siempre un residuo sólido, que denominaremos Q-MDA-2 (**82**), que no se altera, pero no se obtiene clorhidrato de quitosana. La hidrólisis completa de Q-MDA-1 (**81**) sólo se consigue calentando a reflujo en HCl 6*M*, liberándose 1 mol de MDA por cada mol de unidad monómera y quedando clorhidrato de quitosana.

2.4.5.2. Propiedades de Q-MDA-2 (82**).**

El espectro de infrarrojo de este producto muestra bandas a 3399, 2901, 1649 y 1520 cm^{-1} . La señal ancha y fuerte a 3399 cm^{-1} (O-H) sugiere que se trata de un derivado de quitosana, **82**. La señal a 1649 cm^{-1} sigue indicando la presencia de grupo carbonilo.

Q-MDA-2 se hidroliza al tratar con ácido clorhídrico 6*M* originando clorhidrato de quitosana de forma cuantitativa y 0.5 moles de MDA por mol de unidad de hexosamina. Este análisis confirma una composición de un mol de MDA por mol de unidad de hexosamina en el polímero Q-MDA-1.

2.4.5.3. Discusión de los resultados.

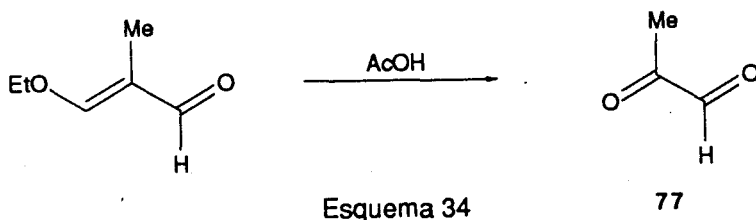
Estos resultados y los de los análisis elementales que indican una proporción C/N para **81** de 8.61 y para **82**

de 7.36 pueden interpretarse suponiendo que el polímero Q-MDA-1 posee una estructura no homogénea. Si es así, el tratamiento con ácido clorhídrico *M* a reflujo liberaría MDA sólo de las posiciones en que éste estuviera unido más lábilmemente, dejando inalterados los grupos sustituyentes en las demás posiciones. Teniendo en cuenta que, como se ha citado en los apartados 2.4.2.1 y 2.4.3., la 3-(ciclohexilamino)acroleína (78) y la glucosaminoacroleína (79) se hidrolizan totalmente con HCl *M* a reflujo, mientras que la sal de vinamidinio derivada de quitosana (84) (apartado 2.4.7.) sólo se hidroliza con HCl 6*M*, se podría imaginar para Q-MDA-1 (81) una estructura en la que ciertas unidades C₃ procedentes de MDA fueran más vulnerables al ataque ácido que las demás, debido a una especial "estructura terciaria" entrecruzada del polímero de manera similar a como ocurre en las proteínas.

Ambos polímeros, 81 y 82, son térmicamente estables y resistentes a los ácidos y bases a temperatura ambiente. Reaccionan con acetato de cobre y de cobalto originando complejos que se abordarán en el siguiente apartado de esta Parte Teórica.

2.4.6. Reacción de quitosana con MeMDA.

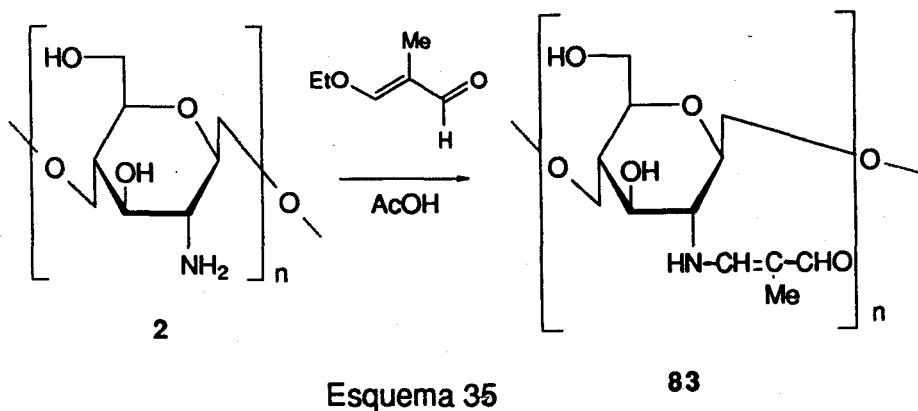
La reacción con MeMDA, que se libera a partir de 3-etoxi-2-metilpropenal en medio ácido, transcurre análoga-



mente, obteniéndose un gel blanco muy viscoso que se lava varias veces con agua y se purifica por diálisis y liofilización sucesivas. Este producto se nombrará Q-MeMDA y es, asimismo, insoluble en todos los disolventes ensayados: agua, ácido acético, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, etanol, metanol y el sistema *N,N*-dimetilacetamida-cloruro de litio.

2.4.6.1. Caracterización.

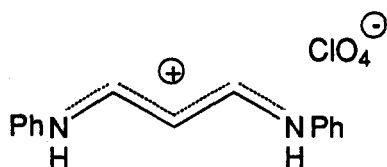
La reacción con MeMDA transcurre como es de esperar para un compuesto 1,3-dicarbonílico no tan reactivo como el MDA. Se forma exclusivamente el enaminal, **83**, que se caracteriza por su espectro de infrarrojo y su análisis elemental. Las absorciones más interesantes aparecen a 3450, 1659 y 1591 cm^{-1} , de forma análoga a lo encontrado para el compuesto 2-desoxi-2-[(2-metil-3-oxo-1-propen-1-il)amino]-



drico *M* en caliente proporciona clorhidrato de quitosana y un compuesto que da positivo el ensayo del ácido tiobarbitúrico.

2.4.7. Reacción de quitosana con perclorato de 1,5-diaza-1,5-difenil-1*H*-pentadienonio (13).

Dado que la reacción directa de MDA con quitosana no proporciona el correspondiente 1,5-diaza-1,3-pentadieno, se llevó a cabo la reacción con un equivalente sintético del mismo, el perclorato de 1,5-diaza-1,5-difenil-1*H*-pentadienonio, 13. La reacción de 13 con compuestos modelo ha sido



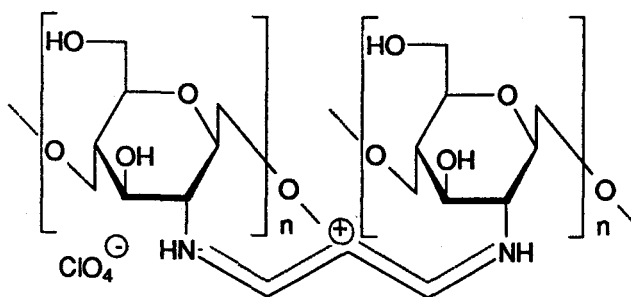
13

estudiada en el apartado anterior de esta Parte Teórica (2.3). La reacción con quitosana se llevó a cabo en ácido acético metanólico, calentando a reflujo y purificando el gel formado por diálisis exhaustiva y liofilización. La diálisis se controló por espectrofotometría ultravioleta-visible, y se mantuvo hasta que no se detectó nada de la sustancia de partida 13 ni de anilina en el medio. El producto obtenido (84), tras la liofilización, se caracterizó por sus datos analíticos y propiedades espectroscópicas.

Su espectro de infrarrojo presenta fuertes

absorciones a 3400 (O-H), 1630 y 1586 cm^{-1} . Las dos últimas corresponden al sistema insaturado de la sal de vinamidinio obtenida. Estos valores son próximos a los encontrados para los derivados correspondientes de D-glucosamina (59) y los metil α y β -D-glucosamínidos (60 y 61).

Este polímero sólo se hidroliza al tratar con ácido clorhídrico 6M en caliente rindiendo clorhidrato de quitosana y malondialdehído que se cuantifica espectrofotométricamente por su reacción con ácido tiobarbitúrico. La cantidad de malondialdehído encontrada, así como los datos de análisis elemental, indican que la estructura de 84 debe ser la de perclorato de 1,5-diaza-1,5-di-[(1 \rightarrow 4)-2-amino-2-desoxi- β -D-glucan-2-il]-1H-pentadienonio (84).



84

**2.5. ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES QUELATANTES
DE LOS NUEVOS PRODUCTOS DERIVADOS DE LA
QUITOSANA.**

2.5.1. Introducción.

La formación de complejos entre carbohidratos y sales inorgánicas se conoce desde hace muchos años. Ya en 1825 se describieron los primeros aductos cristalinos constituidos por D-glucosa y cloruro sódico.⁶⁵ Desde entonces, se han sintetizado numerosos complejos de este tipo y se han publicado tres revisiones bibliográficas⁶⁶ sobre este tema que abordan tanto la formación y caracterización de compuestos cristalinos como el estudio y detección de complejos en disolución.

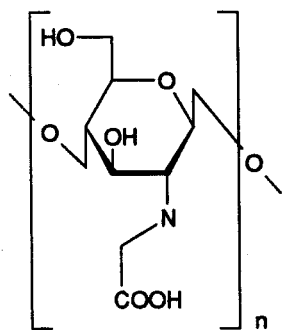
La capacidad de los azúcares y sus derivados para secuestrar metales es una propiedad de gran interés en relación con el desarrollo de nuevos materiales que pueden emplearse como sustratos en cromatografía de afinidad, como catalizadores homogéneos quirales y como quelatantes metálicos de uso clínico.

Se han descrito aductos de amilosa, celulosa, D-arabinosa y celobiosa con hidróxidos de metales alcalinos y alcalino-térreos.^{66b}

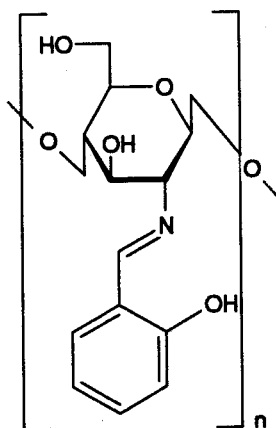
La propia D-glucosamina, la D-manosamina y los metil α -D-manosamínido y β -D-glucosamínido forman complejos en disolución acuosa con cobre, níquel y cobalto que han sido estudiados por métodos espectroscópicos y potenciométricos, y se han calculado los valores de las constantes de estabili-

dad de los distintos complejos formados.⁶⁷

También hay polímeros que forman complejos con metales. Así, la quitosana se ha empleado para separar metales de aguas contaminadas. A nivel preparativo, se ha estudiado su interacción con algunos iones metálicos como aluminio(III), magnesio(II), cromo(III), níquel(II), hierro(III), cinc(II), cerio(IV) y uranio(VI).⁶⁸ Esa misma utilidad se ha encontrado también en derivados de este polímero. Así, Muzzarelli³³ y colaboradores han preparado *N*-carboximetilquitosana (24) y una amplia variedad de aminoácidos glucanos que, en contacto con disoluciones de iones de metales de transición, originan complejos metálicos insolubles.³⁴ Por otra parte, Hall y colaboradores³¹ emplearon el salicilidén derivado de quitosana (18) en ensayos de quela-



24

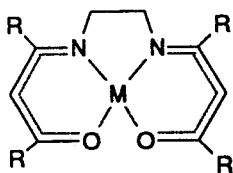


18

ción, encontrando que la cantidad de metal retenido por el mismo fue de 0.62 mmol de cobre(II) por gramo de polímero, incrementando en diez veces la capacidad quelatante de la

propia quitosana (0.06 mmol de cobre(II) por gramo).³¹ Este complejo fue caracterizado mediante su espectro de resonancia de spín electrónico (e.s.r.). Los mismos autores prepararon también los complejos metálicos de los monómeros correspondientes tri-O-acetilados (Esquema 5, Antecedentes).

Teniendo en cuenta estos antecedentes y que Mc Arthy y colaboradores¹⁰ habían preparado aminoenonas derivadas de 1,3-dicetonas y etilendiamina que forman complejos metálicos con Cu(II), Co(II) y Ni(II), se pensó que los



85

nuevos derivados de quitosana, preparados ahora, podrían ser también agentes quelatantes de metales.

2.5.2. Reacción de *N*-acilvinil derivados de quitosana con iones metálicos.

Los nuevos polímeros derivados de quitosana son capaces de retener iones metálicos presentes en disoluciones acuosas, ya que decoloran disoluciones de los mismos. Se ha estudiado la interacción de estos polímeros con dos de ellos, cobre(II) y cobalto(II). Así, todos los polímeros 7 reaccio-

nan con los acetatos de cobre y cobalto en disolución acuosa saturada, formando complejos tan insolubles como los polímeros de partida. La formación de dichos complejos tiene lugar tras agitar una suspensión del polímero en la disolución saturada del metal doce horas a temperatura ambiente. Se han empleado estas condiciones para comparar los resultados con los de otros complejos derivados de quitosana descritos por Hall y colaboradores.³¹

La formación del complejo de cobre del polímero 7a se llevó a cabo a distintos valores de pH. Una vez formado, se purificó lavando con agua varias veces, se dializó y liofilizó. Tras secar a vacío, una cantidad exactamente pesada del complejo formado para cada valor de pH se trató con mezclas de ácido clorhídrico y nítrico en caliente hasta destruir toda la materia orgánica presente. Se obtuvo, en cada caso, un residuo soluble en agua que se diluyó con ácido nítrico 1% v/v hasta que el valor de su concentración entró en el rango de la linealidad de las medidas de absorción atómica, procediéndose entonces a la cuantificación del metal por esta técnica. La cantidad de cobre que quelata el polímero a cada valor de pH se recoge en la Tabla 17. Como puede observarse, la cantidad máxima corresponde a un valor de pH de 5. A pH inferiores a 3.5 se forma acetilacetato de cobre y por encima de 6 comienza a precipitar hidróxido cúprico. Los complejos derivados de los polímeros 7 se prepararon ajustando el pH de la disolución saturada del metal a

5.

Tabla 17.- Cantidad de cobre quelatada por 7a a distintos valores de pH.

pH	mg Cu/g polímero
3.5	52
4	97
4.5	110
5	145
5.5	132
6	102

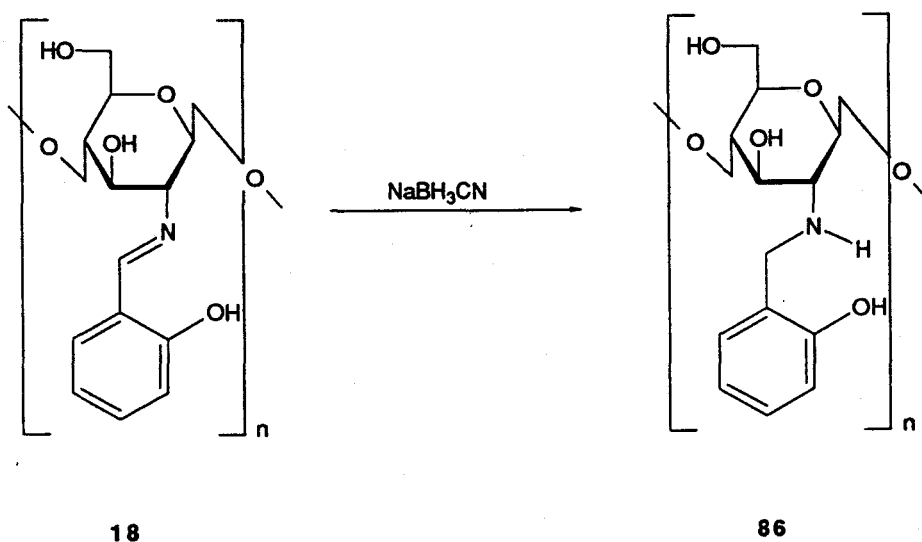
En la Tabla 18 se recogen los datos correspondientes a la cantidad de cobre y cobalto que quelatan los polímeros 7, así como la relación encontrada entre el número de mmol de metal y polímero, que puede ser útil para determinar la estequiometría del complejo formado. Sólo en el caso del derivado de la 2,4-pentanodiona, 7a, esa relación tiene un valor alto (0.41) próximo a 0.5 que sería el correspondiente a un complejo de estequiometría metal/polímero 1:2. Teniendo en cuenta que la quitosana de partida tiene un grado de desacetilación del 87%, y que el grado de modificación conseguido en los nuevos polímeros tiene ese mismo valor, para un complejo 1:2 la máxima relación que puede encontrarse

Tabla 18 .- Cantidad de metal quelatada por los polímeros 7, 47 y 48.

Compuesto	mg Cu/g	mg Co/g	mmol Cu/	mmol Co/	mmol Cu/
	polímero	polímero	mmol pol.	mmol pol.	g polím.
7a	145	133	0.41	0.41	2.28
7b	32.5	18	0.09	0.05	0.51
7c	28.6	15	0.08	0.05	0.45
7d	47	32	0.13	0.10	0.74
47a	42	28	0.12	0.08	0.66
47b	60	51	0.17	0.16	0.94
48	90	66	0.26	0.21	1.41

es $0.87 \times 0.5 = 0.43$.

Si se expresa la cantidad de metal retenida por el polímero **7a** en mmol de cobre por gramo, el valor obtenido, 2.28, es aproximadamente 4 veces superior al del salicilidén derivado **18** descrito por Hall³¹ y 40 veces superior al valor recogido por estos autores para la quitosana. En la misma investigación describen un nuevo polímero obtenido por reducción del compuesto **18** con cianoborohidruro sódico cuya capacidad quelatante es superior a la de **18** y **7a**, siendo la cantidad de cobre quelatada 3.03 mmol por gramo, valor próximo al que se ha encontrado para el compuesto **7a**.



Esquema 36

La cantidad de metal retenida por los otros *N*-acilvinil derivados de quitosana es bastante menor, lo cual puede ser debido a la propia estructura del ligando. En algunos, un grupo metilo de la unidad de 2,4-pentanodiona ha sido sustituido por un grupo fenilo. El mayor requerimiento

estérico de este grupo puede impedir el acercamiento del ion metálico solvatado por moléculas de disolvente, en este caso, agua. En otros polímeros, los grupos éster existentes disminuyen la capacidad quelatante; éste es un comportamiento habitual cuando se comparan ligandos que tienen grupos carbonilo de éster con otros derivados de cetonas o aldehídos. Todos los polímeros preparados tienen una capacidad quelatante, expresada en mmol de cobre(II) por gramo de polímero, superior a la de la quitosana (0.06 mmol por gramo)³¹.

Una vez conocida la cantidad de metal que es capaz de retener cada polímero, interesa evaluar la estabilidad de dichos complejos. La insolubilidad de los mismos impide la determinación de sus constantes de estabilidad por los métodos analíticos habituales. Se decidió, pues, hacer una estimación semicuantitativa de la constante de estabilidad frente a las de otros ligandos conocidos y que forman complejos con cobre(II) y cobalto(II) con constantes de estabilidad ($K_{\text{estab.}}$) que están recogidas en la bibliografía.⁶⁹ Se emplearon ligandos de constante de estabilidad decreciente hasta encontrar dos de ellos entre los que encuadrar la constante de estabilidad del complejo implicado. Los ligandos elegidos fueron: ácido etilendiaminotetraacético (AEDT), acetilacetona (acac), amoníaco, ácido oxálico y ácido acético. En la Tabla 19 se recogen los valores de las constantes de estabilidad de los complejos más estables de

dichos ligandos con cobre y cobalto. En todos los casos, el nuevo complejo se agitó en una disolución de cada ligando y

Tabla 19.- Constantes de estabilidad de complejos de cobre (II) y cobalto(II).⁶⁹

Ligando (L)	$K_{\text{estabilidad}}$	$K_{\text{estabilidad}}$
AEDT	$10^{18.8}$ (CuL ₂)	$10^{16.3}$ (CoL ₂)
Acac	$10^{14.3}$ (CuL ₂)	$10^{8.9}$ (CoL ₂)
NH ₃	$10^{12.6}$ (CuL ₄)	$10^{5.6}$ (CoL ₂)
Acido oxálico	$10^{8.9}$ (CuL ₂)	$10^{5.8}$ (CoL ₂)
Acido acético	$10^{3.1}$ (CuL ₃)	$10^{1.5}$ (CoL ₂)

se procedió tal como se detalla en la Parte Experimental. Los resultados indicaron que las constantes de estabilidad para los complejos de cobre y cobalto derivados de 7, 47 y 48 tienen los valores siguientes:

$$10^{8.9} < K_{\text{estab.}} < 10^{12.6} \quad \text{Complejos de Cu(II).}$$

$$10^{5.8} < K_{\text{estab.}} < 10^{8.9} \quad \text{Complejos de Co(II).}$$

El estudio estructural de estos complejos no pudo llevarse a cabo por resonancia magnética nuclear de ¹³C en estado sólido ya que al ser tanto el cobre como el cobalto paramagnéticos, las señales aparecieron notablemente ensan-

chadas lo cual dificulta cualquier asignación, más aún teniendo en cuenta que el polímero de partida, en algunos casos, ya posee un espectro con señales anchas.

Dada la facilidad con que estos polímeros forman complejos, cabría esperar que los monómeros correspondientes se comportaran de igual modo. La caracterización de éstos podría resultar, en principio, más asequible. Así, se prepararon las aminoenonas derivadas de los metil α -D- y β -D-glucosamínidos y 2,4-pentanodiona y se hicieron reaccionar con Cu(II) para formar los complejos correspondientes. El metal se empleó como acetato en medio metanólico empleando las condiciones descritas por Hall³¹, o bien como hidróxido recién preparado en acetona a reflujo como describen Mc Carthy y colaboradores¹⁰ para derivados de 1,3-dicetonas y etilendiaminas. En ninguna de las condiciones ensayadas pudo aislarse ningún complejo constituido por la unidad de azúcar y el metal.

Ya que la propia D-glucosamina forma complejos estudiados por métodos potenciométricos,⁶³ es de esperar que las aminoenonas derivadas, en las que se introduce un grupo con capacidad quelatante en el átomo de nitrógeno, también formen quelatos estables. Así, se prepararon las aminoenonas derivadas de D-glucosamina y 2,4-pentanodiona, 1-fenil-1,3-butanodiona y benzoilacetaldehído. Ninguno de estos derivados formó quelato empleando acetato de cobre metanólico. Para el

derivado de la 2,4-pentanodiona se pudo aislar del medio de reacción un compuesto de color violáceo que se identificó como acetilacetato de cobre. La aminoenona derivada del benzoilacetaldehído, en agua y en presencia de acetato de cobre, se transforma también en un compuesto de color verde oliva que es la sal de cobre del benzoilacetaldehído.

Estas aminoenonas no forman complejos metálicos cristalinos. El estudio en disolución por métodos espectrofotométricos y potenciométricos sólo permitió detectar la formación de complejos aminoenona/cobre pero, en ningún caso, determinar la estequiometría ni las constantes de estabilidad.

2.5.3. Reacciones de los polímeros derivados de malondialdehído y metilmalondialdehído con iones metálicos.

Los polímeros derivados de malondialdehído y metilmalondialdehído reaccionan también con disoluciones de iones metálicos originando quelatos insolubles. La cantidad de metal retenida por estos polímeros se recoge en la Tabla 20 en la que se observa cómo sólo la sal de vinamidinio de la quitosana es un agente quelatante importante, lo que puede atribuirse a la presencia de dos átomos de nitrógeno por unidad de repetición en la estructura del polímero. Los

valores obtenidos para los demás polímeros son bajos, en consonancia con los obtenidos para los polímeros 7b-7g.

Tabla 20.- Cantidad de metal quelatada por polímeros derivados de malondialdehído y metilmalondialdehído.

Compuesto	mg Cu/g polímero	mg Co/g polímero
Q-MDA-1 (81)	70	67
Q-MDA-2 (82)	42	50
83	57	42
84	142.5	132

81 y 82 son los polímeros derivados de quitosana y malondialdehído.

83 es el polímero derivado de metilmalondialdehído.

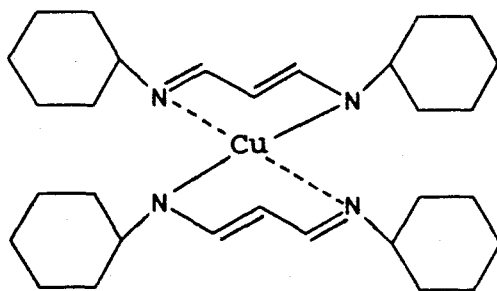
84 es el polímero derivado de la sal de vinamidinio 13.

La estimación de la estabilidad de estos complejos frente a los ligandos comentados anteriormente, permite establecer que sus constantes de estabilidad tienen valores:

$$10^{8.9} < K_{\text{estab.}} < 10^{12.5} \text{ Complejos de Cu(II)}$$

$$10^{5.8} < K_{\text{estab.}} < 10^{8.9} \text{ Complejos de Co(II)}$$

Se ensayaron también reacciones de complejación con sales de vinamidinio modelo. Así, el compuesto perclorato de 1,5-diaza-1,5-diciclohexil-1H-pentadieno se hizo reaccionar con acetato de cobre en disolución metanólica obteniéndose un compuesto de color pardo que se recristalizó de acetona-agua. Los datos espectroscópicos para este compuesto están en consonancia con la formación de un compuesto con estequiometría metal/ligando 1:2. No se consiguió análisis elemental satisfactorio para el mismo, pero en el espectro de masas se detecta un pico de pequeña intensidad cuyo valor de m/z (529) corresponde al molecular. La baja intensidad del mismo impide que se aprecie la abundancia isotópica correspondiente al átomo de cobre.



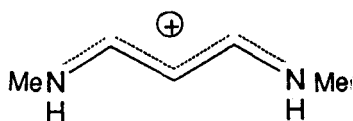
Se llevó a cabo, asimismo, la reacción de la sal de vinamidinio derivada del metil α -glucosamínido con acetato de cobre en las mismas condiciones, obteniéndose un compuesto de color pardo que contiene azúcar y metal, según se deduce de su espectro de infrarrojo y de la determinación de la cantidad de metal que quelata el compuesto.

La determinación de la cantidad de cobre quelatada por estos dos compuestos se llevó a cabo por absorción atómica, tras mineralización ácida de las muestras, y es consistente con la formación de un complejo de estequiometría 1:2 en ambos casos.

Por tanto, los polímeros derivados de quitosana y 2,4-pentanodiona y la sal de vinamidinio 13 podrían usarse como soportes para cromatografía de cambio iónico. El tratamiento de estos dos complejos con disoluciones tampón de valores de pH comprendidos en el intervalo 0-10 permite concluir que ambos polímeros son estables a temperatura ambiente en el intervalo 5-10. Bastaría, pues, el tratamiento con una disolución ácida diluida para regenerar el ligando.

2.6. ESTIMACIÓN DE LAS ESTABILIDADES RELATIVAS DE LOS DISTINTOS CONFÓRMEROS DE PERCLORATO DE 1,5-DIAZA-1,5-DIMETIL-1H-PENTADIENONIO (51).

En este apartado de la Tesis se presentan los resultados del estudio teórico llevado a cabo con el catión de la sal de vinamidinio más sencilla de las preparadas, 1,5-diaza-1,5-dimetil-1*H*-pentadienonio. Este catión constituye un



sistema con deslocalización de carga que posibilita la existencia de un gran número de isómeros. Si se tiene en cuenta la isomería geométrica de la agrupación $\text{NH}=\text{CH}=\overset{\oplus}{\text{C}}=\text{CH}=\text{NH}$, el compuesto puede existir como mezcla de $2^4=16$ isómeros, que por simetría se reducen a diez.

Los resultados del estudio por r.m.n. de la composición del equilibrio isomérico indican que el isómero mayoritario en disolución es el ZEEZ. En este isómero un grupo metilo y el C-2 del sistema de diazapentadieno se encuentran eclipsados. Esta disposición que puede parecer poco estable es la preferida, por ejemplo, por el propionaldehído que existe, mayoritariamente, en una conformación en la que el grupo carbonilo y el metilo están eclipsados.⁷⁰

Se han optimizado las geometrías de los diez isómeros teóricamente posibles (apartado 2.3.2.1.1., página 91) y se han calculado sus energías relativas. Los cálculos

se han realizado a nivel *ab initio*, empleando la base 3-21G y, a efectos comparativos, la 6-31G* y 6-31+G con el paquete de programas Gaussian 90.⁷¹

2.6.1. Métodos de cálculo.

2.6.1.1. Introducción.

La energía y otras propiedades de los estados estacionarios de las moléculas se pueden obtener resolviendo la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo,⁷²

$$H_T \Psi = E \Psi \quad (1)$$

H es el hamiltoniano, un operador diferencial que representa la energía del estado y Ψ es la función de onda, que depende de las coordenadas espaciales y de spín de todas las partículas.

Debido a la complejidad de esta ecuación, su resolución es imposible sin la aplicación de aproximaciones que la simplifiquen. La primera de ellas es la aproximación de Born-Oppenheimer que consiste en considerar los núcleos fijos y, por tanto, que el movimiento electrónico queda definido dentro de un campo nuclear constante.

A pesar de que el movimiento de cada electrón está afectado por el de los demás, se suele considerar que la función de onda electrónica total puede construirse a partir

de funciones monoeléctricas. Estas funciones dependen de las coordenadas geométricas y de spín de los electrones y se las denomina spín-orbitales. La forma más simple de expresar la función de onda es como un producto de spín-orbitales, que se conoce como producto Hartree:

$$\Psi(1,2,\dots,N) = \chi_1(1) \chi_2(2) \dots \chi_n(N) \quad (2)$$

Aplicando el método variacional, minimizando la energía respecto a los spín-orbitales, se obtienen las ecuaciones de Hartree-Fock.

$$F\chi_i = \epsilon_i \chi_i \quad (3)$$

Como el hamiltoniano no depende del spín, se puede integrar sobre las variables de spín, obteniéndose, para sistemas a capa cerrada:

$$F_i \psi_i = \epsilon_i \psi_i \quad (4)$$

donde ψ_i son los orbitales espaciales.

En la ecuación anterior F_i es el operador de Fock que tiene la forma:

$$F_i = h_i + \sum_{j=1}^N (2J_j - K_j) \quad (5)$$

siendo h el operador hamiltoniano monoeléctrico, J el operador de Coulomb y K el operador de intercambio.

A la hora de resolver las ecuaciones de Hartree-Fock, la siguiente aproximación que se establece es considerar que los orbitales espaciales pueden expresarse como una combinación lineal de orbitales atómicos. Es lo que se conoce como método LCAO (Linear Combination of Atomic Orbitals).

$$\psi_i = \sum_{\mu=1}^k C_{\mu i} \phi_{\mu} \quad (6)$$

En la práctica los ϕ_{μ} no son verdaderos orbitales atómicos sino funciones que se aproximan a ellos, ya que la resolución de las integrales en la base de orbitales atómicos es extremadamente complicada.

En los cálculos realizados en este apartado se han empleado métodos *ab initio*, siendo las funciones de base gaussianas, en concreto la base 3-21G,⁷³ en la que se utiliza una función de base formada por tres gaussianas para los orbitales internos, y dos funciones de base formadas por dos y una gaussianas primitivas para los orbitales de valencia. En las bases 6-31G*⁷⁴ y 6-31+G⁷⁵ los orbitales internos están descritos por seis funciones gaussianas y los externos por dos funciones compuestas de tres y una gaussiana, respectivamente.

La característica diferencial entre estas dos bases es que en la primera se añade un conjunto de funciones d a los átomos del segundo período, mientras que en la segunda se añade un conjunto de funciones sp

Sustituyendo la ecuación (6) en la (4), multiplicando por ϕ_v^* e integrando, se llega a las ecuaciones de Roothaan-Hall

$$\sum_{\nu} F_{\mu\nu} C_{\nu i} = \epsilon_i \sum_{\nu} S_{\mu\nu} C_{\nu i} \quad i=1,2,\dots,K \quad (7)$$

que en forma matricial quedan así:

$$FC = \epsilon SC \quad (8)$$

siendo F la matriz de Fock y S la matriz de solapamiento.

Ahora el problema se reduce a resolver un sistema de ecuaciones homogéneo, lineal en los coeficientes $C_{\mu i}$. Como la matriz de Fock depende de los coeficientes $C_{\mu i}$, los cuales hay que determinar, es necesario utilizar un procedimiento iterativo, denominado SCF (Self Consistent Field), para resolver las ecuaciones de Roothaan-Hall, que consiste en elegir un conjunto de coeficientes, C , y calcular los elementos de la matriz F , después se resuelven las ecuaciones de Roothaan-Hall obteniéndose un nuevo conjunto de coeficientes. El proceso se repite hasta que se consigue la autoconsistencia.

La energía así obtenida depende paramétricamente de las coordenadas nucleares. Es posible variar éstas buscando la estructura que proporcione una energía mínima. En nuestro caso, para optimizar las geometrías, se ha empleado el método de Berny, en el cual se calculan analíticamente las primeras derivadas de la energía respecto a las coordenadas nucleares y se estiman las derivadas segundas.

2.6.1.2. Propiedades termodinámicas.⁷⁶

La energía interna de un sistema termodinámico a temperatura T puede separarse en dos contribuciones tal que:

$$U(T) = U(0) + [U(T) - U(0)] \quad (9)$$

El primer término representa la energía de las moléculas a 0 K y el segundo lo denominado "correcciones térmicas". La expresión explícita para U(T) se deduce de la Termodinámica Estadística:

$$U(T) = U_t + U_r + U_v + U_e \quad (10)$$

Como estado de referencia se toma a los electrones y núcleos completamente separados. Los primeros tres términos son las contribuciones translacional, rotacional y vibracional, que pueden escribirse como:

El primer término de la contribución vibracional

$$\begin{aligned}
 U_t(T) &= \frac{3}{2}RT \\
 U_r(T) &= \frac{3}{2}RT \text{ (RT para una molécula lineal)} \\
 U_v(T) &= Nh \sum_i^{\text{modos normales}} \left[\frac{\nu_i}{2} + \frac{\nu_i}{e^{h\nu_i/RT} - 1} \right]
 \end{aligned} \tag{11}$$

es la energía del punto cero (ZPE). Si la energía no es demasiado alta, las moléculas estarán en su estado fundamental electrónico:

$$U_e(T) = U_e(0) = Nu_0(r_e) \tag{12}$$

Con lo cual, la energía interna a 0 K será:

$$U(0) = Nh \sum_i^{\text{modos normales}} \frac{\nu_i}{2} + Nu_0(r_e) \tag{13}$$

De esta forma, la corrección térmica será:

$$U(T) - U(0) = \frac{3}{2}RT + \frac{3}{2}RT + Nh \sum_i^{\text{modos normales}} \frac{\nu_i}{e^{h\nu_i/RT} - 1} \tag{14}$$

Así, la energía interna de un mol de gas perfecto se relaciona con la energía electrónica teórica $u_0(r_e)$ por la expresión:

$$U(T) = Nu_0(r_e) + \frac{Nh}{2} \sum_i^{\text{modos normales}} \nu_i + [U(T) - U(0)] \tag{15}$$

Suponiendo un comportamiento de gas perfecto, la entalpía se relaciona con la energía interna por:

$$H(T) = U(T) + RT \quad (16)$$

Las frecuencias teóricas pueden utilizarse para dar también la entropía. Esta propiedad de las reacciones químicas puede emplearse para corregir la información termoquímica a 0 K y añadir las correcciones de energía vibracional del punto cero.

De acuerdo con la mecánica estadística, la entropía absoluta está definida por la expresión:

$$S = S_{\text{tr}} + S_{\text{rot}} + S_{\text{vib}} + S_{\text{el}} - nR [\ln(nN) - 1] \quad (17)$$

donde

$$\begin{aligned} S_{\text{tr}} &= nR \left\{ \frac{3}{2} + \ln \left[\left(\frac{2\pi MkT}{2} \right)^{3/2} \left(\frac{nRT}{P} \right) \right] \right\} \\ S_{\text{rot}} &= nR \left\{ \frac{3}{2} + \ln \left[\frac{(\pi v_A v_B v_C)^{1/2}}{S} \right] \right\} \\ S_{\text{vib}} &= nR \sum_i \left\{ (u_i e^{u_i} - 1)^{-1} - \ln(1 - e^{-u_i}) \right\} \\ S_{\text{el}} &= nR \ln \omega_{\text{el}} \end{aligned} \quad (18)$$

n = número de moles, N = número de Avogadro, M = masa molecular

$$v_A, v_B, v_C = \frac{h^2}{8\pi I_A RT} \quad (19)$$

S = número de simetría, $u_i = hv_i/RT$ y ω_{el} = degeneración del estado electrónico.

2.6.2. Resultados y discusión.

2.6.2.1. Optimización de la geometría.

Para cada uno de los diez isómeros se ha obtenido la geometría correspondiente a un mínimo de energía. Para ello, en cada caso, se partió de una geometría inicial en la que los valores de ángulos y distancias de enlace son valores estándar.⁷⁷ Como primera aproximación, se construyó para el catión una geometría con simetría C_8 en la que el esqueleto carbonado está contenido en el plano de simetría de la molécula. Para comprobar que los valores de energía obtenidos correspondían a mínimos totales se calcularon las derivadas segundas de la energía con respecto a las coordenadas, esto es, las constantes de fuerza. En la mayor parte de los casos, algunas constantes de fuerza resultaron ser negativas indicando que la geometría obtenida correspondía a mínimos locales. Se modificaron las geometrías iniciales según la información extraída del vector propio asociado a la frecuencia negativa hasta conseguir valores de energía correspondientes a mínimos absolutos. Estas variaciones alteraron la simetría C_8 inicial, en los tres últimos isómeros, ya que la optimización lleva consigo sacar, al menos, un grupo $N-CH_3$ del plano de simetría de la molécula, debido al gran impedimento estérico que supone la presencia de más de dos enlaces con conformación Z .

En los demás isómeros, la optimización implicó

variación en la disposición relativa de los átomos de hidrógeno del grupo o grupos N-CH₃. La pequeña variación de energía existente entre las distintas conformaciones obtenidas por la rotación de los grupos CH₃ indica que éstos se encuentran girando libremente.

Los valores de energía totales de los distintos isómeros se recogen en la Tabla 21. Para el isómero ZZZZ no se obtuvo una estructura correspondiente a un mínimo absoluto de energía y a la vista de las variaciones de energía relativas de otros isómeros: EZZZ y ZZZZ, por ejemplo, no se consideró interesante realizar una optimización más exhaustiva. Las geometrías optimizadas para cada isómero se representan en las Figuras . Corresponden a estructuras que presentan una distribución de carga alternada de forma que los átomos de nitrógeno soportan la mayor densidad de carga, mientras que los carbonos α y β (respecto al átomo de nitrógeno) tienen, respectivamente, defecto y exceso de carga. Esto está de acuerdo con la reactividad observada para las sales de vinamidinio frente a nucleófilos y electrófilos.¹¹

Si se examinan los valores de energía relativa al isómero más estable que se recogen en la Tabla 21, se observa que, tal como se deduce de los espectros de resonancia magnética nuclear, sólo tres de los diez isómeros teóricamente posibles, contribuyen al equilibrio conformacional, y

son aquéllos en los que la geometría en torno a los enlaces C1-C2 y C2-C3 es *trans*: *EEEE*, *EEEZ* y *ZEEZ*. El orden de estabilidad que puede deducirse de los cálculos llevados a cabo con la base 3-21G es *ZEEZ* > *EEEZ* > *EEEE*. Este orden coincide con el encontrado experimentalmente, que puede deducirse de la interpretación de los espectros de resonancia magnética nuclear de ¹H y ¹³C. En la Tabla 21 se recoge asimismo la población de cada uno de los isómeros calculada a partir de la expresión de Boltzmann:

$$\frac{n_i}{n_j} = e^{-\Delta E/kT} \quad (20)$$

Los valores obtenidos no coinciden con los estimados a partir de las integrales medidas en el espectro de ¹H-r.m.n. (70:25:5). Los cálculos reproducen sólo de modo cualitativo la estabilidad de estos isómeros. Con objeto de verificar si este hecho es debido a una deficiencia en la base de cálculo se utilizaron, asimismo, las bases 6-31G* y 6-31+G. Con la primera base se optimizaron nuevamente las geometrías de los tres isómeros más estables, no encontrándose variación apreciable en cuanto a distancias y ángulos de enlaces en las nuevas geometrías optimizadas. Se calcularon las energías totales y energías relativas de los tres isómeros, y los resultados fueron similares a los obtenidos con la base 3-21G; el orden de estabilidad sigue siendo *ZEEZ* > *EEEZ* > *EEEE* y las poblaciones relativas, 36:34:30, tampoco reproducen los valores encontrados experimentalmente (Tabla 22).

Cuando se emplea la base 6-31+G, las geometrías optimizadas tampoco difieren en cuanto a distancias, ángulos de enlace y ángulos diedros de las obtenidas con las bases anteriores. En la Tabla 23 se recogen los resultados obtenidos, encontrándose un buen acuerdo tanto en el orden de estabilidad como en la diferencia de energía entre los tres isómeros respecto a lo encontrado experimentalmente. Esto parece indicar que la no concordancia con los resultados experimentales se debería no a una deficiente representación estructural, que es similar con las tres bases estudiadas, sino a una pobre descripción electrónica de las bases 3-21G y 6-31G*.

Los valores de energía comentados hasta ahora corresponden a energías internas, magnitud que no es estrictamente la determinada a partir de los datos experimentales, que tienen carácter de energías libres. Aplicando las correcciones térmicas sobre los sistemas optimizados, se obtienen valores de entalpías (H) y energías libres (G). El cálculo de frecuencias permite llevar a cabo las correcciones térmicas sobre el valor de la energía interna. Es conocido que las frecuencias Hartree-Fock están sobreestimadas, por lo que en las correcciones térmicas se ha empleado un escalado uniforme⁷⁸ en el cálculo de las mismas de 0.82 (base 6-31+G). Los resultados obtenidos, para los tres isómeros mayoritarios (el resto de isómeros no se ha considerado ya que no contribuyen al equilibrio conformacional), se recogen

en la Tabla 24 y siguen mostrando un buen acuerdo con los resultados experimentales. Se han incluido los valores de entalpías y energías libres.

Debido a la pequeña diferencia de energía entre los distintos isómeros y que una pequeña variación de energía relativa supone un cambio importante en las poblaciones, los resultados teóricos obtenidos pueden considerarse satisfactorios.

Tabla 21.- Energías* totales, relativas y población de los isómeros.

Isómero	E (u.a.)	ΔE (kcal mol ⁻¹)	% Población
<i>EEEE</i>	-302.748672	0.3162	24.4
<i>EEEZ</i>	-302.748968	0.1305	33.6
<i>ZEEZ</i>	-302.749176	0	42.0
<i>EEZE</i>	-302.741728	4.6734	0.0
<i>EEZZ</i>	-302.738876	6.4631	0.0
<i>ZEZZ</i>	-302.738827	6.4937	0.0
<i>EZEE</i>	-302.742005	4.4999	0.0
<i>EZZE</i>	-302.733795	9.6514	0.0
<i>EZZZ</i>	-302.727701	13.4758	0.0
<i>ZZZZ</i>	-	-	-

*Base de cálculo 3-21G.

Tabla 22.- Energías totales, relativas y población de los isómeros con la base 6-31G*.

Isómero	E (u.a.)	ΔE (kcal mol ⁻¹)	% Población
<i>EEEE</i>	-304.432652	0.111	29.7
<i>EEEZ</i>	-304.432787	0.026	34.4
<i>ZEEZ</i>	-304.432828	0	35.9

Tabla 23.- Energías totales, relativas y población de isómeros con la base 6-31+G

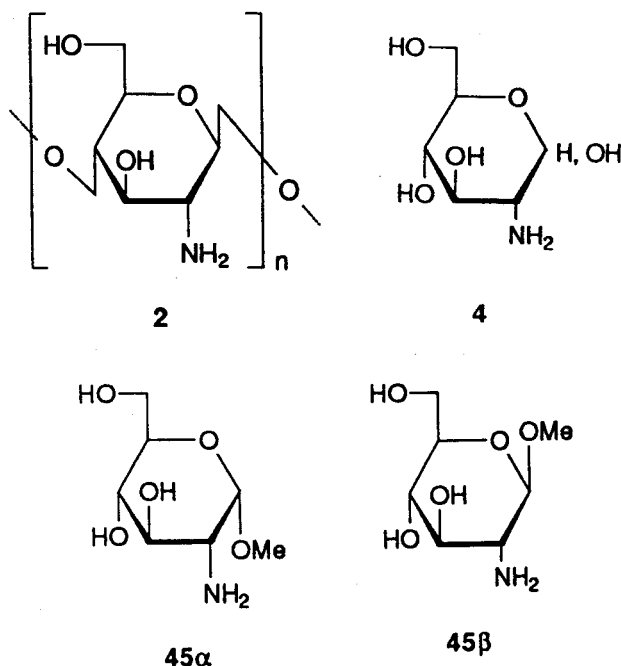
Isómero	E (u.a.)	ΔE (kcal mol ⁻¹)	% Población
<i>EEEE</i>	-304.315840	1.223	8.2
<i>EEEZ</i>	-304.316840	0.596	24.3
<i>ZEEZ</i>	-304.317789	0	67.5

Tabla 24.- Contribuciones térmicas.

Isómero	H (u.a.)	TS (u.a.)	G (u.a.)	ΔG (Kcal mol ⁻¹)	% Poblac.
<i>EEEE</i>	-304.030415	0.033032	-304.063447	0.792	13.4
<i>EEEZ</i>	-304.030933	0.033176	-304.064109	0.377	28.8
<i>ZEEZ</i>	-304.031392	0.033317	-304.064709	0.0	57.8

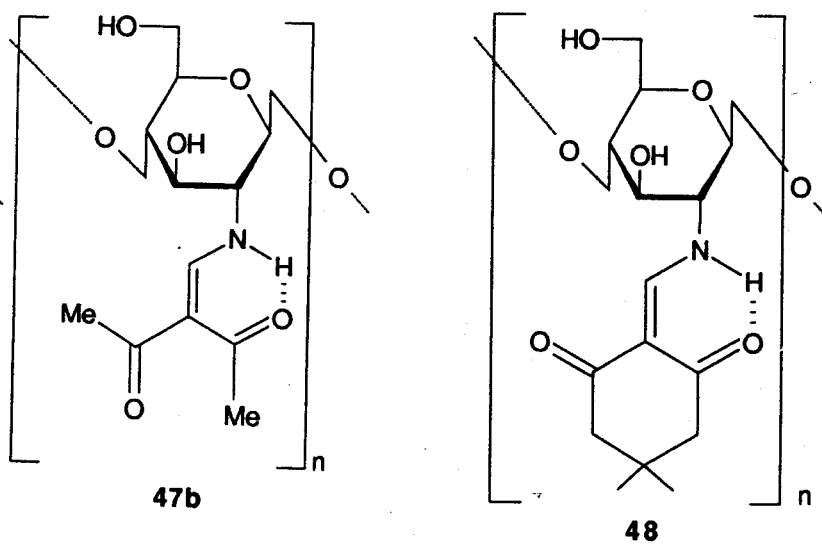
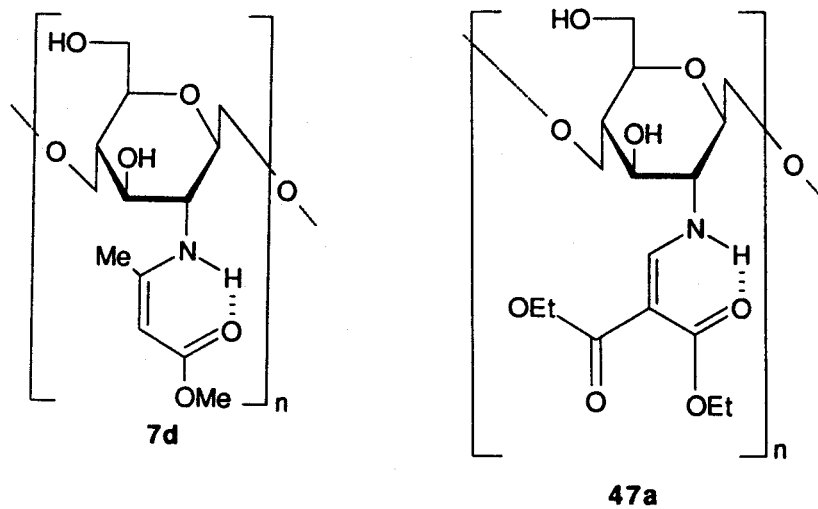
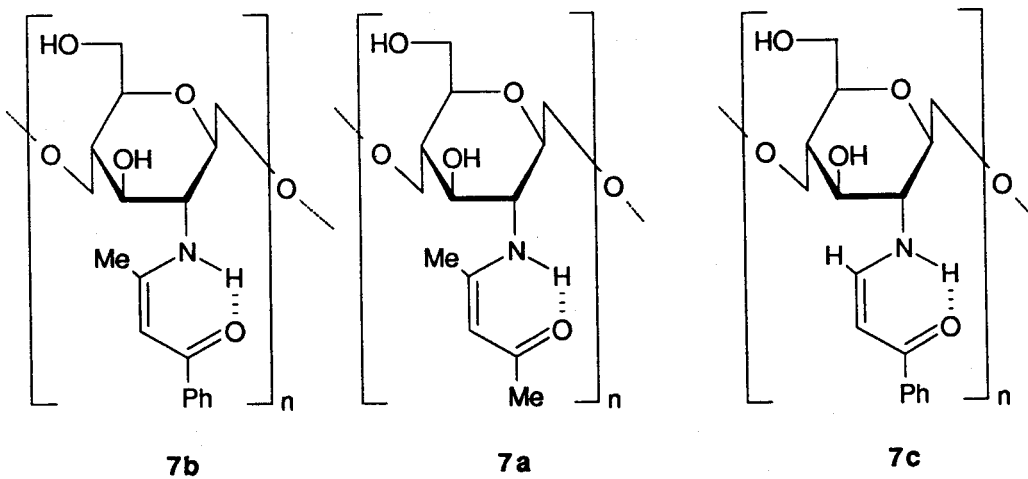
2.7. DISCUSIÓN GENERAL.

Los resultados obtenidos en esta Tesis indican que la quitosana (2) es un amino azúcar que se comporta análogamente a su monómero, la D-glucosamina (4) y a los metil 2-amino-2-desoxi- α -D- y β -D-glucopiránosidos (45 α y 45 β).



Así, la quitosana de grado de desacetilación conocido (87%, en este caso), reacciona cuantitativamente con compuestos 1,3-dicarbonílicos: 2,4-pentanodiona, 1-fenil-1,3-butanodiona, benzoilacetaldehído y acetoacetato de metilo. El grado de sustitución conseguido, en estas reacciones, puede modificarse y depende de la proporción reactivo/quitosana empleada. Los nuevos polímeros 7a-d gelifican a temperatura ambiente y se purifican por diálisis y liofilización.

Del mismo modo, la quitosana reacciona con acilviniléteres como etoximetilénmalonato de dietilo (46a) y etoximetilénacetilacetona (46b), de manera análoga a como lo



hace la D-glucosamina, originando los polímeros 47a-b y con 2-anilinoetilén-1,3-ciclohexanodiona (14), rindiendo el polímero 48.

En todos los casos, la sustitución en el átomo de nitrógeno de la quitosana es cuantitativa si se emplea una proporción molar reactivo /quitosana 1:3.

Una dificultad que hemos encontrado en el estudio de las propiedades físicas de estos polímeros ha sido su insolubilidad no sólo en disolventes apolares sino también en disolventes polares: agua, ácido acético e incluso en el sistema *N,N*-dimetilacetamida-cloruro de litio. Este hecho ha motivado que la caracterización de los mismos haya tenido que llevarse a cabo usando técnicas que no impliquen tener la muestra en disolución: espectroscopia de infrarrojo, resonancia magnética nuclear de ^{13}C usando la técnica de ángulo mágico de giro y polarización cruzada (^{13}C -r.m.n.-c.p.-m.a.s.) y procedimientos más clásicos como análisis elemental cuantitativo y degradación hidrolítica. Por otro lado, tampoco ha sido factible la preparación de derivados que permitiesen una caracterización más exhaustiva.

Los datos analíticos y propiedades espectroscópicas de los nuevos polímeros 7a-d, 47a-b y 48 se han comparado con los de los correspondientes *N*-acilvinil derivados de la D-glucosamina (4) y los de los metil 2-amino-2-desoxi- α -D- y β -D-glucopiranosidos (45 α y 45 β) relacionados: las absor-

ciones en el infrarrojo aparecen a los mismos valores de frecuencia y las señales en los espectros de ^{13}C -r.m.n.-c.p.-m.a.s. son las mismas localizadas a valores de δ similares. En los polímeros, las señales originadas por los carbonos son anchas, no permitiendo concluir acerca de la conformación que adopta el polímero en estado sólido.

Estos datos indican, por analogía con los de los derivados de 4, 45 α y 45 β , que estos polímeros están constituidos por unidades de *N*-acilvinilglucosamina unidas por enlace $\beta(1\rightarrow4)$.

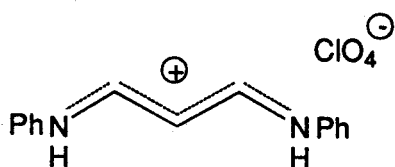
La hidrólisis de estos polímeros en ácido clorhídrico *M* origina el compuesto 1,3-dicarbonílico de partida y clorhidrato de quitosana. La valoración de la cantidad de compuesto 1,3-dicarbonílico liberado y del clorhidrato de quitosana producido es consistente con la estructura asignada para estos polímeros.

Salvo 7a y 7d, que sólo son estables en el intervalo de pH 3-10, los demás polímeros son estables a temperatura ambiente a cualquier valor de pH en el intervalo entre 0 y 10.

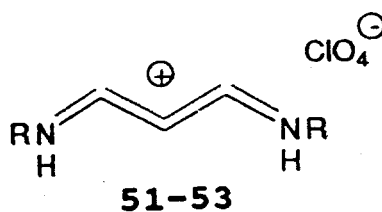
Dado que uno de nuestros objetivos era conseguir polímeros con capacidad quelatante, 7a-d, 47a-b y 48 se trataron con disoluciones saturadas de los acetatos de cobre y de cobalto obteniendo complejos insolubles. La determina-

ción de la cantidad de metal retenida por cada polímero indicó que el derivado de la 2,4-pentanodiona es un buen agente quelatante, mientras que la capacidad del resto de polímeros es bastante menor. La estabilidad de estos complejos se ha estimado de modo semicuantitativo por tratamiento con disoluciones de una serie de ligandos: ácido etilendiaminotetraacético, 2,4-pentanodiona, amoníaco, ácido acético y ácido oxálico.

Ya que el MDA reacciona con aminas primarias y amino azúcares monoméricos, ensayamos su reacción con quitosana. De los dos tipos de productos que se pueden originar en la reacción de MDA con aminas -aductos 1:1 (69) y aductos 2:1 (70)- los interesantes, en este caso, son los aductos 2:1, a los que se supone una mayor capacidad quelatante. Por ello, paralelamente se ha estudiado la reacción de transaminación con perclorato de 1,5-diaza-1,5-difenil-1H-pentadienonio (13). Esta reacción se ha ensayado, inicialmente, con aminas simples y amino azúcares monoméricos, aislando productos con estructuras de sales de vinamidinio (aductos 2:1) 51-53 y 59-61.



13



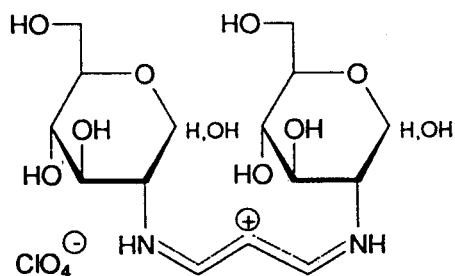
51-53

El sistema de 1,5-diazapentadienonio posibilita la existencia de un gran número de isómeros geométricos. En el caso de la sal de vinamidinio más sencilla de las sintetizadas, 51, el estudio de la composición del equilibrio isomérico por r.m.n. se ha complementado con cálculos teóricos a nivel *ab initio*. Los resultados obtenidos por ambos procedimientos, en cuanto al número de isómeros y proporción de los mismos, son equivalentes e indican la existencia de tres isómeros mayoritarios cuyo orden de estabilidad es: ZEEZ > EEEZ > EEEE.

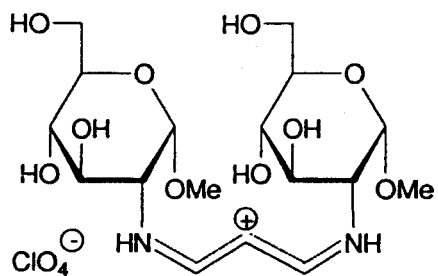
Cuando la reacción se lleva a cabo con amino azúcares, la transaminación no es total. Junto con las sales de vinamidinio simétricas 59-61, se obtienen también 62-64, en los que un grupo R es un amino azúcar y el otro fenilo. Esto puede explicarse por la menor basicidad del amino azúcar con respecto a aminas simples.

La reacción de transaminación se ha generalizado para obtener sales de vinamidinio derivadas de MeMDA. La sustancia de partida empleada, el perclorato de 1,5-diaza-1,5-difenil-3-metil-1H-pentadienonio (55) reacciona más lentamente que 13 con aminas simples, como el propio MeMDA que es menos reactivo que el MDA. Las sales de vinamidinio obtenidas 56-58 existen en disolución en conformación EEEE.

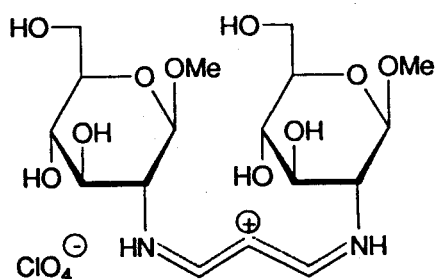
Cuando se lleva a cabo la reacción de transaminación con la quitosana, se obtiene un polímero insoluble al



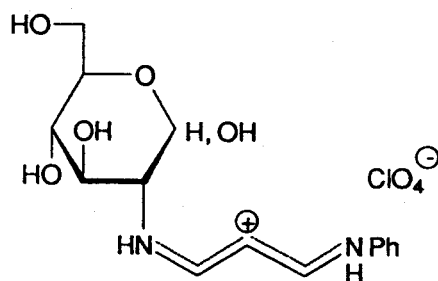
59



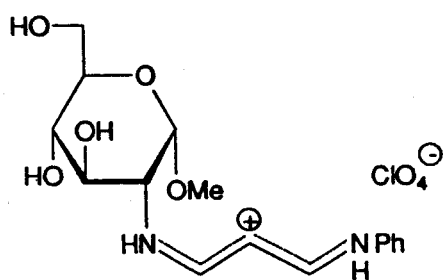
60



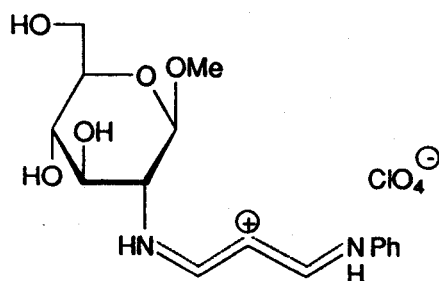
61



62



63



64

que por sus datos de análisis elemental, hidrólisis en medio ácido y espectroscopia de infrarrojo, se asigna la estructura entrecruzada de perclorato de 1,5-diaza-1,5-di-[(1→4)-2-amino-2-desoxi-β-D-glucan-2-il]-1H-pentadienonio (84). No se ha podido realizar su espectro de ¹³C-r.m.n.-c.p.-m.a.s. para corroborar esta asignación.

Dado que la química del MDA es compleja, inicialmente se ha estudiado la reacción con modelos. La ciclohexilamina y la D-glucosamina reaccionan con MDA rindiendo las correspondientes aminoacroleínas que se hidrolizan en medio ácido clorhídrico *M* liberando MDA, que se cuantifica con TBA, en proporción de 1 mol de MDA por mol de unidad de hexosamina empleado. Aunque éstos son los productos mayoritarios de la reacción, en el caso de la D-glucosamina⁵⁰ se aísla también una 1,4-dihidropiridina-3,5-dicarbaldéhido, a pesar de usar NaMDA cromatográficamente pura.

La complejidad de la química del MDA es una dificultad añadida a la reacción de este dialdehído con la quitosana. El polímero insoluble originado (Q-MDA-1) tiene propiedades espectroscópicas y analíticas que apuntan a una estructura de aminoacroleína. No obstante, su relativa inercia frente a ácido clorhídrico *M* a reflujo -sólo se libera 0.5 mmoles de MDA por mol de unidad de hexosamina empleado, y se origina Q-MDA-2- puede indicar la existencia de un entrecruzamiento parcial que constituya una estructura

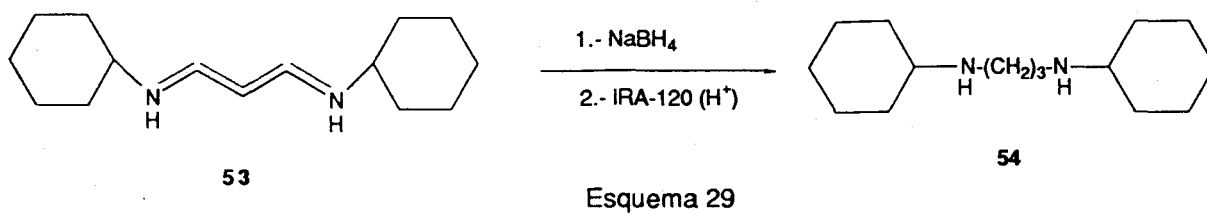
terciaria similar a la existente en las proteínas.

El MeMDA, que es menos reactivo, reacciona con los clorhidratos de 1,3,4,6-tetra-O-acetil-2-amino-2-desoxi- α -D- y β -D-glucosa y con la quitosana rindiendo las correspondientes metilaminoacroleínas, que se hidrolizan completamente con ácido clorhídrico M.

Los polímeros derivados de MDA y MeMDA preparados en esta Tesis reaccionan también con los acetatos de cobre y de cobalto originando complejos insolubles. La cantidad de metal quelatada, así como la estabilidad relativa del complejo derivado de **84**, indican que este polímero es un buen agente quelatante de metales.

Los productos **7a** y **84** podrían usarse como soportes para cromatografía de cambio iónico, para lo que bastaría el tratamiento final con una disolución ácida diluida para regenerar el ligando.

La reducción de la sal de vinamidinio 1,5-diaza-1,5-diciclohexil-1H-pentadienonio (**53**), llevada a cabo con borohidruro sódico origina la ciclohexilpropilendiamina (**54**). Si esta reacción se aplica a **84**, el polímero que se obtendría estaría constituido por unidades de propilendiamina. Teniendo en cuenta que las diaminas son los mejores quelatantes de cobre, el polímero resultante sería de mayor capacidad quelatante que los obtenidos hasta ahora.



Por otra parte, se podría extender esta investigación hacia la complejación con otros cationes metálicos de interés fisiológico o tecnológico como el calcio o el ion uranilo.

3. PARTE EXPERIMENTAL.

3.1. Métodos generales

Los puntos de fusión han sido medidos en un aparato Gallenkamp MF13-595 y se dan sin corregir; se refieren a muestras secadas sobre cloruro cálcico si no se indica otro desecante o condiciones.

El secado de las disoluciones se llevó a cabo sobre sulfato sódico o magnésico anhidro.

Los disolventes fueron eliminados a presión reducida (15 a 25 torr), manteniendo la temperatura del baño por debajo de 40°C.

Las liofilizaciones se han llevado a cabo en un liofilizador Hucoa-Erlöss.

Las muestras de polímeros para análisis elemental se secaron a alto vacío (0.02 torr).

Las rotaciones ópticas se han determinado en un polarímetro automático Perkin-Elmer modelo 241 MC, utilizándose luz de sodio de longitud de onda 589 nm. Las muestras se prepararon a concentraciones del 1%. La notación utilizada para los poderes rotatorios específicos a esta longitud de onda es $[\alpha]_D^t$ si no se indican otras condiciones.

Las medidas de pH se han llevado a cabo en un pH-

metro Crison modelo microPH 2001.

Los análisis elementales se han realizado en el Departamento de Química Analítica de la Facultad de Química de la Universidad de Sevilla y en el Instituto de Química Orgánica General del C.S.I.C. (Madrid).

Espectros de ultravioleta-visible

Los espectros de absorción en el ultravioleta y visible se han registrado en espectrofotómetros Beckman DU-7 y Philips PU 8710, usándose disoluciones con concentraciones comprendidas entre 4.5 y 5×10^{-5} M.

Espectros de infrarrojo

Los espectros de absorción en el infrarrojo se registraron en un espectrofotómetro de transformada de Fourier Bomem, modelo MB-120; las muestras sólidas se estudiaron dispersas en pastilla de bromuro potásico, y las siruposas en forma de película entre dos placas de cloruro sódico. La posición de los máximos de absorción se indican en cm^{-1} y la intensidad de la banda por las abreviaturas: mF (muy fuerte), F(fuerte), m (media), d (débil), h (hombro) y a (ancha).

Espectros de resonancia magnética nuclear

Los espectros de resonancia magnética nuclear de

protón se registraron a 200 MHz en un espectrofotómetro Varian XL-200. Los disolventes usados fueron deuterocloroformo (CDCl_3), dimetilsulfóxido (DMSO-d_6), óxido de deuterio (D_2O) y metanol- d_4 (CD_3OD). Los valores de desplazamiento químico (δ) se expresan en partes por millón (ppm) con respecto al tetrametilsilano (TMS) como referencia interna para el deuterocloroformo, o con respecto al propio disolvente en caso de espectros en D_2O , CD_3OD y DMSO-d_6 ; los valores de constantes de acoplamiento se dan en hertz (Hz). En algunos casos se efectuaron experimentos de intercambio con óxido de deuterio y de doble resonancia para apoyar las asignaciones efectuadas, así como experiencias a temperatura variable. Las abreviaturas usadas para indicar la multiplicidad de las señales son: s (singulete), d (doblete), t (triplete), q (cuartete) y a (ancha).

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^{13}C se registraron a 50.3 Hz en un espectrómetro Varian XL-200 y con desacoplamiento total de protones usando la secuencia de pulsos MLEV-16. Los desplazamientos químicos se expresan en ppm respecto al TMS. En algunos casos se efectuaron experimentos APT para apoyar las asignaciones efectuadas.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^{13}C en estado sólido se realizaron a 75.4 MHz en un espectrómetro Bruker MSL-300, empleando la técnica de ángulo mágico de giro y polarización cruzada (^{13}C -r.m.n.-c.p.-m.a.s.). Para

eliminar las bandas de rotación se emplea la secuencia TOSS.PC.

Espectros de masas

Los espectros de masas se obtuvieron en un espectrómetro KRATOS MS-80 RFA. Las muestras se introdujeron mediante una sonda de sólidos calentada de 30 a 280°. La temperatura de la fuente de ionización fue de 150 a 250°, según las experiencias realizadas.

Espectros de absorción atómica

La determinación de la cantidad de metal que quelata cada polímero se ha hecho por absorción atómica de disoluciones de concentraciones del orden de ppm, empleando la técnica de ionización de llama en un espectrómetro Perkin-Elmer 2380 y a longitudes de onda 324.8 nm (Cu) y 240.7 nm (Co). En ambos casos, se realizó un calibrado previo con disoluciones patrón de concentraciones comprendidas entre 1 y 4 ppm en el primer caso, y entre 1 y 3.5 ppm en la determinación de cobalto.

Cromatografía en columna

Se usaron columnas de gel de sílice (Merck 60, 0.063-0.200 mm) con fines preparativos, utilizándose como eluyentes mezclas de diclorometano y metanol en diversas

proporciones. El control de la separación se realizó mediante cromatografía en capa fina.

Cromatografía en capa fina

Se ha empleado con fines preparativos Silica Gel PSC-60 F₂₅₄, extendiéndola sobre placas de 20 x 20 cm, con un grosor de 0.5 mm, y con fines analíticos cualitativos Alugram Sil G/ UV₂₅₄ (Macherey-Nagel), efectuándose la visualización de las manchas por exposición con luz U.V. de 254 nm, con vapores de yodo, con reactivo de ácido 2-tiobarbitúrico y con ácido sulfúrico al 50% y calefacción a 250°. Los eluyentes utilizados se indican en cada caso.

Determinación de acetilacetona

La determinación cuantitativa de este compuesto se lleva a cabo mediante una reacción colorimétrica específica, midiendo las absorbancias y calculando las concentraciones con ayuda de una recta de calibrado construida a partir de disoluciones de referencia de concentraciones conocidas.

Se emplea como reactivo una disolución de nitrato férrico 0.2 M preparada en un tampón KH₂PO₄/H₃PO₄ de pH 3.1.

Inicialmente se prepara una disolución 0.025 M de acetilacetona en agua, que se diluye hasta $2.5 \cdot 10^{-4}$ M. De esta disolución patrón se toman muestras de 1-9 mL, a cada

una de las cuales se añaden 10 mL de reactivo, se agita, se enrasa hasta 25 mL y se miden las absorbancias a 490 nm.

Con los datos de absorbancia y de concentración de acetilacetona que se detallan en la siguiente tabla se construye la recta de calibrado cuya ecuación es :

$$A=8.0 \cdot 10^{-4} + 896 c$$

donde A es la absorbancia y c la concentración molar de acetilacetona. El coeficiente de correlación es $r=0.9993$.

Tabla 25.- Datos de calibrado de acetilacetona.

$V_{\text{disol. patrón}}$ (mL)	$C_{\text{Acac}} \cdot 10^5$ (M)	$A_{490 \text{ nm}}$
1	1	0.0084
2	2	0.0197
3	3	0.0277
4	4	0.0367
5	5	0.0459
6	6	0.0550
7	7	0.0650
8	8	0.0717
9	9	0.0804

Determinación de malondialdehído

La determinación cuantitativa de este compuesto se lleva a cabo también mediante una reacción colorimétrica específica, calculando análogamente las concentraciones con ayuda de una recta de calibrado construida a partir de disoluciones de referencia de concentraciones conocidas.

Se emplean como reactivos disoluciones acuosas de ácido tiobarbitúrico (TBA, 0.75%) y ácido tricloroacético (TCA, 70%).

Inicialmente se prepara una disolución $5.05 \cdot 10^{-3}$ M de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) en agua, que se diluye hasta $5.05 \cdot 10^{-6}$ M. De esta disolución patrón se toman muestras de 0.5 a 3.5 mL, a cada una de las cuales se añaden 4 mL de disolución de TCA 70% y 2 mL de disolución de TBA 0.75%. Las muestras se calientan a 100° durante quince minutos y al enfriar se extraen tres veces con 3 mL de cloroformo. Las fases acuosas se enrasan a 25 mL y se leen las absorbancias a 532 nm.

Con los datos de absorbancia y concentración de TEP que se tabulan a continuación se construye la recta de calibrado cuya ecuación es:

$$A = -3.4 \cdot 10^{-3} + 123550.2 c$$

donde A es la absorbancia y c la concentración molar de TEP.
El coeficiente de correlación es $r=0.999$.

Tabla 26.- Datos del calibrado de MDA.

$V_{\text{disol. patrón}} \text{ (mL)}$	$C_{\text{TEP}} 10^7 \text{ (M)}$	$A_{532 \text{ nm}}$
0.5	1.01	0.0101
1	2.02	0.0201
1.5	3.03	0.0334
2	4.04	0.0463
2.5	5.05	0.0612
3	6.06	0.0714
3.5	7.07	0.0831

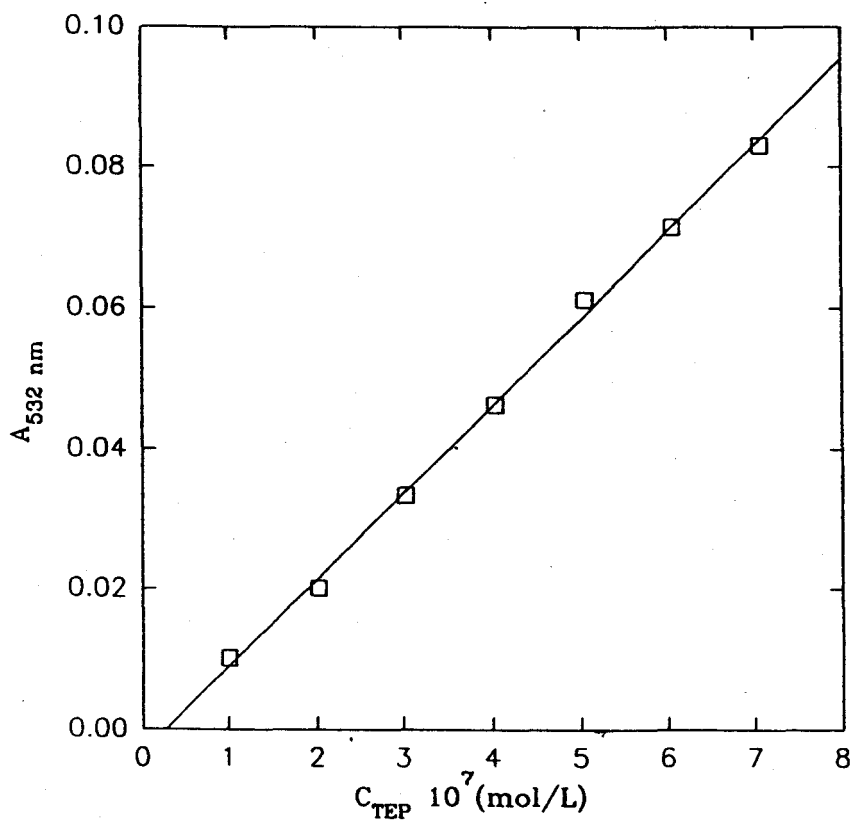
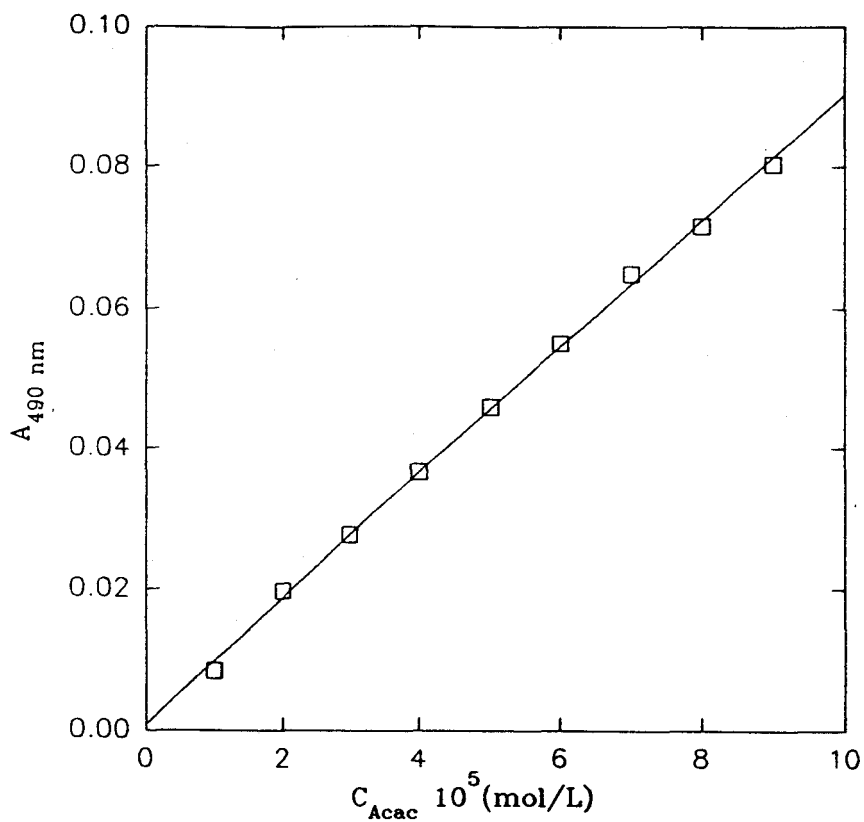


Figura .- Rectas de calibrado de Acac y MDA. 194

3.2. MATERIAS PRIMAS.

Las sustancias usadas como materias primas fueron productos comerciales o se sintetizaron según métodos descritos en la bibliografía.

3.2.1. Productos comerciales:

Acetato de cobalto tetrahidrato (Merck).

Acetato de cobre monohidrato (Merck).

Acetilacetona (Merck).

Acetoacetato de metilo (Merck).

Acido acético (Merck).

Acido oxálico dihidrato (Merck).

Acido perclórico 60% (Panreac).

Acido tricloroacético (Merck).

Anhídrido acético (Merck).

Anilina (Panreac).

Benzoilacetona (Merck).

Bromuro de acetilo (Merck).

Carbonato de plata (Panreac).

Carbón-paladio 10% (Merck).

Cloruro cálcico (Panreac).

Cloruro de acetilo (Merck).

Cloruro de litio (Aldrich).

Hidrocloruro de 2-amino-2-desoxi-D-glucosa
(Merck).

Dimedona (Merck).

Etoximetilénmalonato de dietilo (Fluka).
Ortoformiato de trietilo (Merck).
Piridina (Merck).
Resina Amberlita IRA-400 (Cl⁻) (BDH).
Resina Amberlita IRA-120 (H⁺) (BDH).
Resina Dowex 50WX8 (Fluka).
Sulfato de calcio (Panreac).
Nitrato de hierro p.a. (Merck).
Acido 2-tiobarbitúrico (Merck).
Ciclohexilamina (Merck).
Metilamina 40% (agua) (Merck).
n-Butilamina (Merck).
Tetraetoxipropano (Fluka).
3-Etoxi-2-metilpropenal (Fluka).
N,N-Dimetilacetamida (Aldrich).

3.2.2. Las siguientes sustancias se prepararon por los procedimientos descritos en la bibliografía:

2-Anilinetilén-5,5-dimetil-1,3-ciclohexanodiona.⁷⁹

Clorhidrato de metil 2-amino-2-desoxi- α -D-glucopiranosido.⁴⁹

Clorhidrato de metil 2-amino-2-desoxi- β -D-glucopiranosido.⁴⁹

Metil 2-amino-2-desoxi- α -D-glucopiranosido.^{46a}

Metil 2-amino-2-desoxi- β -D-glucopiranosido.¹⁴

Sal sódica de malondialdehído (NaMDA).^{63a}

no. 13

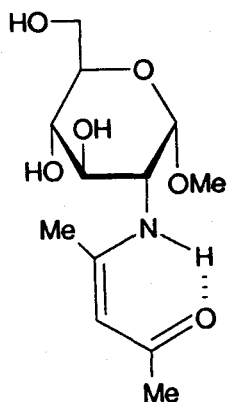
Perclorato de 1,5-difenil-1,5-diaza-1*H*-pentadie-

Etoximetilén-acetilacetona.⁸⁰

Benzoilacetaldehído.⁸¹

3.3.1. SINTESIS DE N-ACILVINIL DERIVADOS DE LOS METIL 2-AMINO-2-DESOXI- α (y β)-D-GLUCOPIRANOSIDOS.

3.3.3.1. Metil 2-[Z-(2-acetil-1-metilvinil)amino]-2-desoxi- α -D-glucopiranosido (42 α).



42 α

Una disolución de clorhidrato de metil 2-amino-2-desoxi- α -D-glucopiranosido (0.85 g, 3.7 mmol) en metanol (16 mL) se trata con trietilamina (0.6 mL) y acetilacetona (1.2 g, 12 mmol) calentando a reflujo durante una hora. Se evapora el disolvente y el residuo obtenido se lava con hexano para eliminar el exceso de acetilacetona. Se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice utilizando como eluyente diclorometano-metanol 10:1, obteniéndose 0.7 g (69%) de 42 α en forma de una espuma que no se logra cristalizar. Esta espuma se vuelve a cromatografiar sobre otra columna de gel de sílice usando el mismo eluyente anterior, obteniéndose el enaminoglicósido con pureza analítica como un sólido amorfo.

$[\alpha]_D^{25} +173^\circ$ (c 1, etanol).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}}$ 310 (ϵ 16982.2)

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3400 mF, 2924 F, 1610 mF, 1565 mF, 1445 F,

1360 F, 1135 F, 1085 F, 1045 mF cm^{-1} .

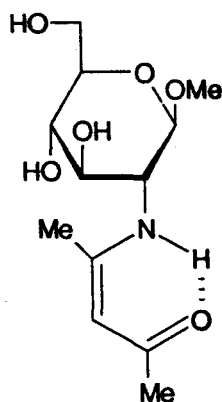
$^1\text{H-RMN}$: Tabla 1.

$^{13}\text{C-RMN}$: Tabla 2.

Análisis: Calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{NO}_6$: C, 52.35; H, 7.68; N, 5.08.

Encontrado: C, 52.05; H, 7.87; N, 4.96.

3.3.1.2. Metil 2-[Z-(2-acetil-1-metilvinil)amino]-2-desoxi- β -D-glucopiranosido (42 β).



42 β

Se disuelven 0.497 g (2.17 mmol) de clorhidrato de metil-2-amino-2-desoxi- β -D-glucopiranosido en 9.5 mL de metanol y se añaden 0.35 mL de trietilamina y 0.70 g (7 mmol) de acetilacetona. Se calienta a reflujo tres horas y quince minutos controlando el avance de la reacción por cromatografía sobre capa fina usando como eluyente diclorometano-metanol 15:1. Tras evaporar el disolvente a sequedad, se añade hexano al residuo para eliminar el exceso de acetilacetona. El producto obtenido (0.88 g) se purifica por cromatografía

en columna sobre gel de sílice usando como eluyente dicloro-
metano-metanol 15:1. Se obtienen 0.399 g (67%) de 42β como un
sólido amorfo.

$[\alpha]_D^{25} -4.1^\circ$ (c 0.3, etanol).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}}$ 312 (ϵ 18396.5).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3405 aF, 2943 F, 1605 F, 1564 F, 1310 F, 1107
F, 1078 F, 1057 F, 1035 F cm^{-1} .

^1H -RMN: Tabla 1.

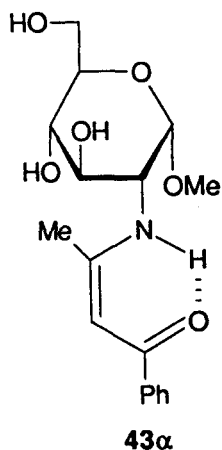
^{13}C -RMN: Tabla 2.

EM (IE): m/e (intensidad relativa) 275 (40%), 154
(60), 141 (65), 126 (40), 112 (100), 100 (58), 86 (100).

EM (AR): m/e 275.1394 (M^+).

(Calculado 275.1363, error 0.0011 %).

3.3.1.3. Metil 2-[Z-(2-benzoil-1-metilvinil)amino]-2-desoxi- α -D-glucopiranosido (43 α).



Una mezcla de clorhidrato de metil 2-amino-2-desoxi- α -D-glucopiranosido (2.0 g, 8 mmol), 1-fenil-1,3-butanodiona (2.91 g, 18 mmol) y trietilamina (2.8 mL) en metanol (40 mL), se calienta a reflujo durante treinta minutos. La solución se evapora a vacío y el residuo se lava con éter y se disuelve en etanol absoluto caliente. La refrigeración de esta solución da el producto (1.54 g, 49 %) en forma cristalina. Se recristaliza dos veces de etanol. P.f. 236-238°.

$$[\alpha]_D^{25} +204^\circ \text{ (c 1, etanol).}$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}} 340 \text{ (}\epsilon \text{ 11220.2)}$$

$$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}} 3420 \text{ aF, 1640 h, 1590 F, 1575 F, 1325 F,}$$

$$1040 \text{ F, } 1010 \text{ F cm}^{-1}.$$

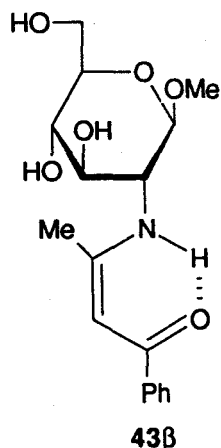
$^1\text{H-RMN}$: Tabla 1.

$^{13}\text{C-RMN}$: Tabla 4.

Análisis: Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_6$: C, 60.52; H,

6.87; N, 4.14. Encontrado: C, 60.31; H, 6.85; N, 3.98.

3.3.1.4. Metil 2-[Z-(2-benzoil-1-metilvinil)amino]-2-desoxi-β-D-glucopiranosido (43β).



Se disuelven 0.273 g (1.2 mmol) de clorhidrato de metil 2-amino-2-desoxi-α-D-glucopiranosido en metanol (6 mL) y se añaden 0.6 g (3.7 mmol) de 1-fenil-1,3-butanodiona y 0.4 mL de trietilamina. Se calienta a reflujo controlando el avance de la reacción por cromatografía sobre capa fina de gel de sílice usando como eluyente diclorometano-metanol 10:1. Tras seis horas a reflujo se evapora el disolvente a sequedad aunque sigue quedando producto de partida. El residuo se disuelve en etanol absoluto en caliente, pero al enfriar no cristaliza ningún producto, por lo que se evapora a sequedad y se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando como eluyente diclorometano-metanol 10:1. Se obtienen 0.202 g (50%) del enaminoglicósido 43β puro como una espuma.

$[\alpha]_D^{25} +24^\circ$ (c 1, metanol)

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{H}_2\text{O}}$ 343.2 (ϵ 20263.5)

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 1599 F, 1583 F, 1543 F, 1330 F, 1075 F,

1032 F cm^{-1} .

^1H -RMN: Tabla 1.

^{13}C -RMN: Tabla 4.

Análisis: Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_6$: C, 60.52; H, 6.87; N, 4.15. Encontrado: C, 60.27; H, 6.75; N, 4.27.

3.3.2. Reacción de quitosana con compuestos 1,3-dicarbonílicos.

3.3.2.1. Preparación de N-acilvinil derivados de quitosana.

Procedimiento general.-

A una disolución de quitosana (1.00 g, 5.5 mmol) en ácido acético al 10% (40mL), se añade metanol (40 mL) y una disolución del compuesto 1,3-dicarbonílico (16.5 mmol) en metanol (40 mL). Se deja estar a temperatura ambiente hasta que se forma un gel (0.5-48 horas) que se lava sucesivamente con metanol, etanol y éter. Se dializa frente a agua durante 24 horas, se liofiliza y se seca a vacío (1 Torr) a 100° obteniéndose 7a-d, 47a-b y 48.

Se usaron las cantidades y condiciones recogidas en la Tabla 27.

Cuando el compuesto 1,3-dicarbonílico es la 2-anilinometilén-5,5-dimetil-1,3-ciclohexanodiona, la cantidad de metanol necesaria para conseguir la disolución del reactivo se incrementa hasta 100 mL.

Tabla 27 .- Rendimientos de *N*-acilvinil derivados de quitosana.

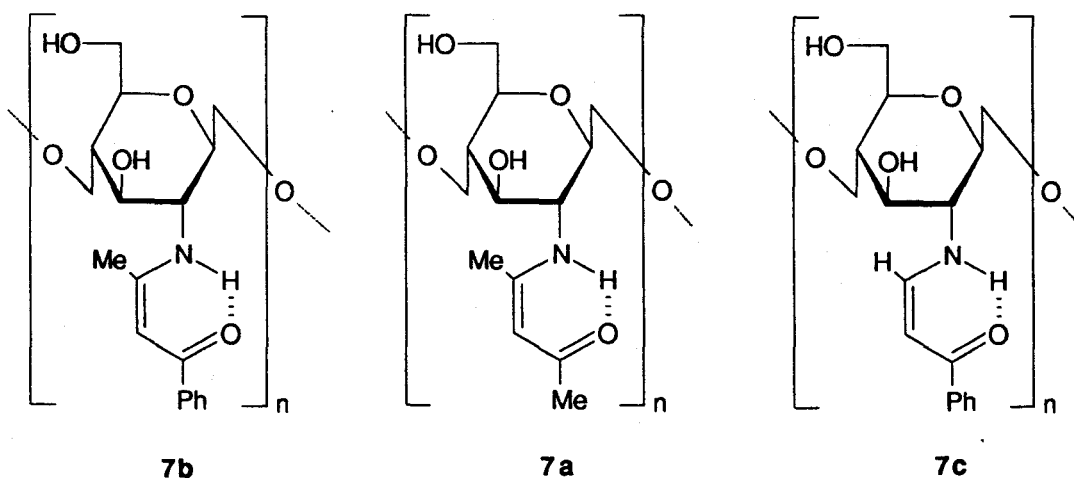
Compuesto 1,3-di-carbonílico (g)	Tiempo (horas)	Producto	Rendimiento (g, %)
6a (1.65)	4	7a	1.32, 94
6b (2.67)	2	7b	1.63, 96
6c (2.44)	0.5	7c	1.52, 96
6d (1.91)	48	7d	1.24, 85
46a (3.57)	12	47a	1.24, 91
46b (2.58)	48	47b	1.33, 83
14 (4.01)	6	48	1.47, 85

Las muestras para análisis elemental se secaron a 0.02 Torr y 100°. Los nuevos productos presentaron las siguientes propiedades analíticas y espectroscópicas:

(1→4)-2-[*Z*-(2-Acetil-1-metilvinil)amino]-2-desoxi-β-D-glucana (7a).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3426 mF, 2884 m, 1605 F, 1566 m, 1308 m, 1071 F, 1034 F cm⁻¹.

¹³C-r.m.n.-c.p.-m.a.s.: Tabla 3.



Análisis: Calculado para $[(C_{11}H_{17}NO_5)_{0.87}(C_8H_{13}NO_5)_{0.13}H_2O]_n$: C, 49.76; H, 7.27; N, 5.47. Encontrado: C, 49.71; H, 7.16; N, 5.06.

(1→4)-2-[Z-(2-Benzoil-1-metilvinil)amino]-2-desoxi-β-D-glucana (**7b**).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3443 F, 2870 m, 1605 mF, 1541 F, 1327 F, 1069 F cm^{-1} .

^{13}C -r.m.n.-c.p.-m.a.s.: Tabla 5.

Análisis: Calculado para $[(C_{16}H_{19}NO_5)_{0.87}(C_8H_{13}NO_5)_{0.13}H_2O]_n$: C, 57.95; H, 6.57; N, 4.52. Encontrado: C, 58.20; H, 6.28; N, 4.48.

(1→4)-2-[Z-(2-Benzoilvinil)amino]-2-desoxi-β-D-glucana (**7c**).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3420 F, 2860 m, 1630 F, 1584 F, 1503 F, 1279 m, 1055 F, 1022 F cm^{-1} .

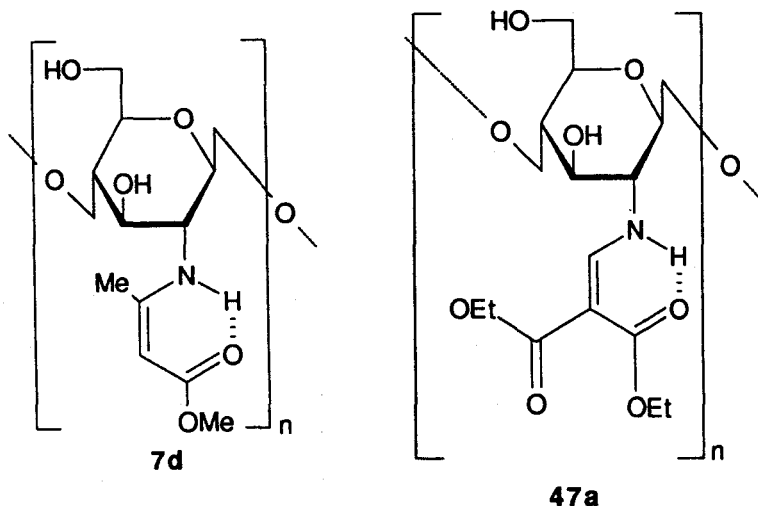
^{13}C -r.m.n.-c.p.-m.a.s.: Tabla 6.

Análisis: Calculado para $[(C_{15}H_{17}NO_5)_{0.87}(C_8H_{13}NO_5)_{0.13} \cdot 0.6 H_2O]_n$: C, 58.22; H, 6.13; N, 4.82. Encontrado: C, 58.49; H, 6.28; N, 4.41.

(1→4)-2-Desoxi-[Z-(1-metilvinil-2-metoxicarbonil)amino]-β-D-glucana (7d).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3410 aF, 2924 m, 1644 h, 1572 F, 1410 F, 1078 F cm^{-1} .

Análisis: Calculado para $[(C_{11}H_{17}NO_6)_{0.87}(C_8H_{13}NO_5)_{0.13} \cdot 0.7 H_2O]_n$: C, 48.26; H, 6.81; N, 5.26. Encontrado: C, 48.16; H, 6.32; N, 5.33.

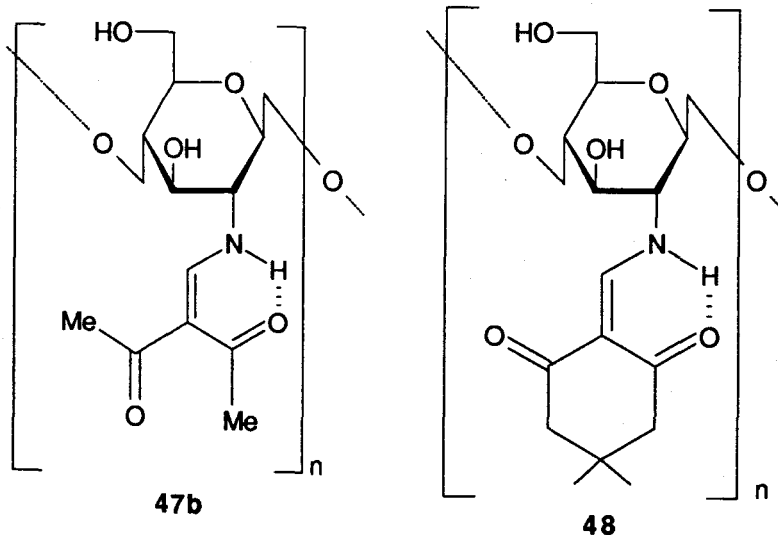


(1→4)-2-Desoxi-[(2,2-dietoxicarbonilvinil)amino]-β-D-glucana (47a).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3458 aF, 2889 F, 1653 F, 1401 F, 1102 F cm^{-1} .

Análisis: Calculado para $[(C_{14}H_{21}NO_8)_{0.87}(C_8H_{13}NO_5)_{0.13} \cdot 0.5 H_2O]_n$: C, 49.06; H, 6.53; N, 4.33. Encontrado: C, 48.92; H, 6.67; N, 3.86.

(1→4)-2-[(2,2-Diacetilvinil) amino]-2-desoxi-β-D-glucana (47b).



$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3395 F, 2884 m, 1611 F, 1404 F, 1089 F cm^{-1}

Análisis: Calculado para $[(\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}_6)_{0.87} (\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}_5)_{0.13} 1.5 \text{H}_2\text{O}]_n$: C, 47.64; H, 6.78; N, 4.84. Encontrado: C, 48.07; H, 6.72; N, 5.19.

(1→4)-2-Desoxi-[(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexilidénmetil) amino]-β-D-glucana (48).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3425 m, 2956 m, 1677 F, 1596 F, 1424 F, 1320 F, 1264 F, 1134 F, 1037 F cm^{-1} .

Análisis: Calculado para $[(\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_6)_{0.87} (\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}_5)_{0.13} \text{H}_2\text{O}]_n$: C, 53.67; H, 7.02; N, 4.44. Encontrado: C, 54.10; H, 7.32; N, 4.72.

3.3.2.2. Hidrólisis de *N*-acilvinil derivados de quitosana.

Se disuelve una cantidad exactamente pesada (0.100 g) de **7a-d**, **47** y **48** en HCl *M* (20 mL). La disolución se calienta a reflujo durante tiempos que oscilan entre media y cuatro horas salvo para **7a** que se hidroliza tras una hora a temperatura ambiente. La disolución obtenida, para cada compuesto, se dializa, liofiliza y seca a vacío obteniéndose clorhidrato de quitosana en cantidades y rendimientos que se recogen a continuación.

Tabla 28.- Cantidad de clorhidrato de quitosana obtenido en la hidrólisis.

Compuesto	Clorhidrato de quitosana (g, %)
7a	0.078, 92
7b	0.063, 90
7c	0.068, 92
7d	0.074, 90
47a	0.058, 88
47b	0.065, 87
48	0.059, 85

La cuantificación del compuesto 1,3-dicarbonílico

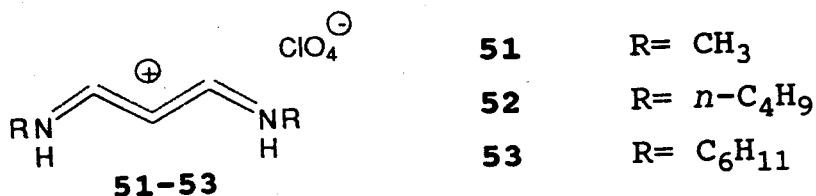
se lleva a cabo para **7a** y **7b**. En el caso de **7a**, el polímero (0.100 g) se agitan en 20 mL de ácido clorhídrico *M* a temperatura ambiente hasta disolución, se enrasa a 1 L y de esta disolución se toman 5 mL sobre los que se añaden 10 mL de una disolución de concentración 0.2 *M* en $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ y 0.1 *M* en $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$. Se diluye hasta 25 mL y se lee a 490 nm la absorbancia del complejo $(\text{Feacac})^{2+}$ formado.

En el caso de **6b**, 0.200 g se agitan con 40 mL de HCl *M* y se calienta a reflujo durante una hora. La disolución obtenida se extrae con éter (3x40 mL), los extractos etéreos se unen y se secan sobre sulfato magnésico anhidro. Se filtra el desecante y el filtrado se evapora a sequedad, obteniéndose benzoilacetona que tras secar sobre cloruro cálcico pesa 0.085 g (90%).

3.3.3. Preparación de vinamidinas del malondialdehído y metilmalondialdehído.

3.3.3.1. Reacción con aminas alifáticas.

Procedimiento general



A una disolución de perclorato de 1,5-diaza-1,5-difenil-1H-pentadienonio (13) (0.645 g, 2 mmol) en metanol (20 mL), se añaden 4 mmoles de la amina correspondiente. En el caso de 51 se añade una disolución acuosa de metilamina al 40% (0.315 g); para 52, n-butilamina (0.293 g) y para 53, ciclohexilamina (0.397 g). Se calienta a reflujo y se controla el avance de la reacción por espectrofotometría UV, hasta que el máximo de absorción se desplaza hasta ~ 300 nm.

El tiempo requerido para concluir la reacción es, en el caso del derivado de la metilamina, dos horas y quince minutos, cinco horas y quince minutos para la n-butilamina y treinta y dos horas para 53. Tras este tiempo, se evapora el disolvente a sequedad y se añade éter al residuo para extraer toda la anilina formada.

En la reacción con la metilamina, la adición de éter origina la formación de un sólido de color amarillo que se recristaliza de metanol. Se seca a vacío sobre cloruro cálcico y se obtienen 0.278 g (70%).

P.f. 97-98°.

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$ 296.0 (ϵ 48657.1).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3207 m, 3150 m, 3020 m, 1628 aF, 1329 m, 1296 F, 1223 F, 1142 F, 1086 F cm^{-1}

EM (IE): m/e (int. relativa) 160 (27 %), 98 (92), 93 (59), 83 (25), 72 (25), 68 (100), 56 (24).

EM (AR): m/e 98.0852 ($\text{M}^+ - \text{HClO}_4$)

(Calculado 98.0842, error 0.001%).

^1H -RMN: Tabla 7.

^{13}C -RMN: Tabla 8.

Análisis. Calculado para $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}_4$: C, 30.24; H, 5.58; N, 14.11. Encontrado: C, 30.54; H, 5.32; N, 13.84.

Para el derivado de *n*-butilamina, el mismo tratamiento anterior no hace que cristalice ningún producto, sino que se obtiene un aceite espeso de color oscuro que se seca a vacío (1 Torr). Pesa 0.498 g (88 %).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$ 299.2 (ϵ 36212)

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3325d, 2961d, 2874d, 1613F, 1460m, 1298m, 1231m y 1092F cm^{-1}

EM (IE): m/e (int. relativa) 202 (10%), 182 (54),

153 (45), 139 (100), 110 (20), 83 (15), 68 (12).

EM (AR): m/e 182.1780 ($M^+ - HClO_4$)

(Calculado 182.1778, error 0.0001%)

1H -RMN: Tabla 7.

^{13}C -RMN: Tabla 8.

Análisis. Calculado para $C_{11}H_{23}ClN_2O_4$: C, 46.72; H, 8.20; N, 9.91. Encontrado: C, 47.02; H, 8.12; N, 9.68.

En la reacción con ciclohexilamina se obtiene una espuma amarillenta que pesa 0.620 g (93%). Se recristaliza de metanol, rindiendo un sólido amorfo que se seca sobre cloruro cálcico (0.515 g, 77%).

P.f. 69-70°.

$\lambda_{m\acute{a}x}^{MeOH}$ 304.8 (ϵ 59569.4)

$\nu_{m\acute{a}x}^{KBr}$ 3304F, 3181F, 3028F, 2932F, 2857F, 1609aF,

1451m, 1344F, 1244F, 1144F, 1088F.

EM (IE): m/e (int. relativa) 334 (M^+ , 0.1), 268 (2.1), 234 (98), 151 (100), 136 (56), 124 (22), 109 (16).

EM (AR): m/e 234.2095 ($M^+ - HClO_4$)

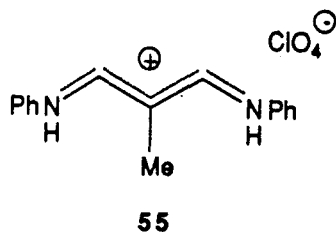
(Calculado 234.2090, error 0.0003%).

1H -RMN: Tabla 7.

^{13}C -RMN: Tabla 8.

Análisis. Calculado para $C_{15}H_{27}ClN_2O_4$: C, 53.80; H, 8.13; N, 8.37. Encontrado C, 53.65; H, 8.27; N, 8.56.

3.3.3.2. Perclorato de 1,5-diaza-1,5-difenil-3-metil-1H-pentadieno (55).



Se añaden 10 mL de HClO₄ del 60% a una disolución de 9.31 g (0.1 mol) de anilina y 5.71 g (0.05 mmol) de 3-etoxi-2-metilpropenal en 5 mL de etanol absoluto. Cristaliza inmediatamente un sólido de color amarillo que se filtra por succión y se lava con éter. Se seca a vacío sobre cloruro cálcico. Pesa 14.7 g (87%). Se recristaliza de metanol y se obtienen 11.5 g (65.6 %).

P.f. 240-241° (descomposición)

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$ 241.6 (ϵ 16559), 378.4 (ϵ 56824)

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3466, 3183, 1624, 1580, 1487, 1319, 1294 y

1078 cm⁻¹

EM (IE): *m/e* (int. relativa) 336 (M⁺, 4%), 236 (100), 235 (90), 218 (30), 144 (23), 130 (15), 117 (12), 104 (12), 93 (17), 77 (30).

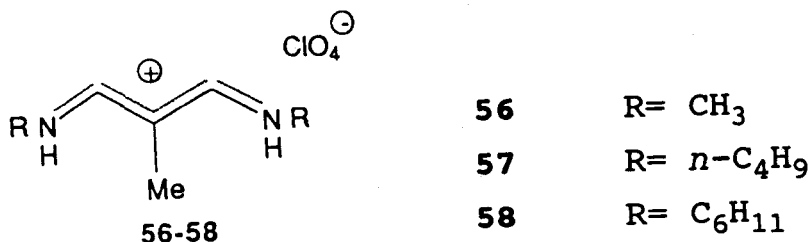
¹H-RMN: Tabla 9.

¹³C-RMN: Tabla 10.

Análisis. Calculado para C₁₆H₁₇ClN₂O₄: C, 57.06; H, 5.09; N, 8.32. Encontrado: C, 56.86; H, 4.87; N, 8.57.

3.3.3.3. Derivados de aminas alifáticas y metilmalondialdehído.

Procedimiento general



A una disolución de perclorato de 1,5-diaza-3-metil-1,5-difenil-1H-pentadieno (55) (0.675 g, 2 mmol) en metanol (20 mL) se añaden 4 mmoles de la amina correspondiente. En el caso de 56 se añade una disolución acuosa de metilamina al 40% (0.315 g); para 57, *n*-butilamina (0.293 g), y para 58, ciclohexilamina (0.397 g). Se calienta a reflujo y se controla el avance de la reacción por espectrofotometría UV, hasta que la absorción a ~ 310 nm es máxima.

El tiempo requerido para concluir la reacción en el caso del derivado de la metilamina fue de 4 horas y media, treinta horas para la *n*-butilamina y noventa y tres para 58. Tras este tiempo, se evapora a sequedad y se añade éter al residuo para extraer toda la anilina formada.

En la reacción con la metilamina, el sólido bruto formado se filtra y se recristaliza de metanol. Se seca a

vacío sobre cloruro cálcico y se obtienen 0.331 g (78 %).

P.f. 123-124°

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$ 305.6 (ϵ 48840).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3433 m, 3199 m, 1636 aF, 1434 m, 1345 F, 1280 m, 1142 F, 1112 F, 1088 F cm^{-1} .

EM (IE): m/e (int. relativa) 112 (96), 97 (27), 82 (100), 70 (23), 56 (7).

EM (AR): m/e 112.1001 ($M^+ - \text{HClO}_4$).

(Calculado 112.0998, error 0.0003%).

^1H -RMN: Tabla 9.

^{13}C -RMN: Tabla 10.

Análisis. Calculado para $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}_4$: C, 33.89; H, 6.16; N, 13.16. Encontrado: C, 33.55; H, 5.75; N, 13.00.

Para la *n*-butilamina, un tratamiento semejante origina un aceite espeso de color caramelo que se seca a vacío (0.1 Torr). Se obtienen 0.54 g (91%).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$ 310.4 (ϵ 37609).

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3327 m, 2966 m, 2874 m, 1615 F, 1456 m, 1329 m, 1221 m, 1094 F cm^{-1} .

EM (IE): m/e (int. relativa) 196 (67), 167 (48), 153 (100), 124 (61), 82 (20).

EM (AR): m/e 196.1940 ($M^+ - \text{HClO}_4$).

(Calculado 196.1934, error 0.0003%).

^1H -RMN: Tabla 9.

^{13}C -RMN: Tabla 10.

Análisis. Calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{ClN}_2\text{O}_4$: C, 48.56; H, 8.49; N, 9.44. Encontrado: C, 48.72; H, 8.67 ; N, 9.39.

En la reacción con ciclohexilamina al tratar con éter cristaliza un producto que se filtra y se lava varias veces con éter. Se recristaliza de metanol, obteniéndose 0.512 g (73%).

P.f. 116-117°.

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$ 311.2 (ϵ 51085)

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3441 m, 3362 m, 3295 am, 3169 am, 2930 am, 2855 m, 1611 F, 1499 m, 1452 m, 1368 F, 1333 aF, 1283 F, 1240 F, 1111 F, 1078 aF cm^{-1} .

EM (IE): m/e (int. relativa) 248 (75), 205 (26), 165 (100), 150 (52), 123 (12), 94 (13), 83 (25), 55 (13).

EM (AR): m/e 248.2266 ($\text{M}^+ - \text{HClO}_4$).

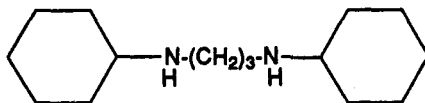
(Calculado 248.2252, error 0.0006%).

^1H -RMN: Tabla 9.

^{13}C -RMN: Tabla 10.

Análisis. Calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{ClN}_2\text{O}_4$: C, 55.08; H, 8.38; N, 8.03. Encontrado: C, 55.21; H, 8.17 ; N, 8.22.

3.3.3.4. Reducción de perclorato de 1,5-diaza-1,5-diciclohexil-1H-pentadieno (53). Preparación de dicitclohexilpropilendiamina (54).



54

A una disolución de 53 (0.170 g, 0.5 mmol) en metanol (5 mL) se añade borohidruro sódico (4 x 0.120 g) y se agita a temperatura ambiente. El avance de la reacción se controla por espectroscopia ultravioleta. A las veinticuatro horas ha desaparecido la absorción a 300 nm y se añade resina Amberlite IRA-120(H⁺) hasta pH neutro. Se filtra la resina y se lava varias veces con metanol, y los lavados se concentran hasta sequedad obteniéndose 0.101 g (80%) de dicitclohexilpropilendiamina como un sirupo incoloro.

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3442 aF, 2959 m, 1638 m, 1460 d, 1356 d, 1096 aF cm⁻¹.

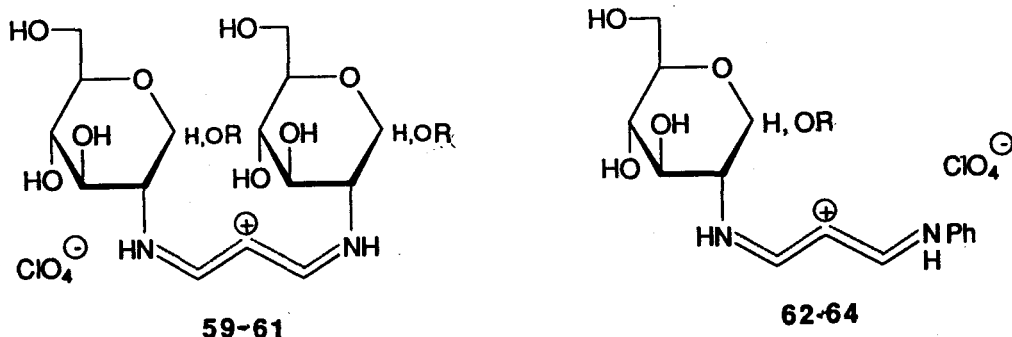
EM (IE): *m/e* (int. relativa) 132 (32), 119 (6), 100 (43), 89 (47), 75 (66), 57 (100), 45 (24).

¹H-RMN: δ 0.97 t (2 H₂), 1.3-1.6 m (C₆H₁₁), 3.53-3.69 m (C₆H₁₁), 3.48 t (4 H, 2H₁ y 2H₃).

Análisis. Calculado para C₁₅H₃₀N₂: C, 75.56; H, 12.68; N, 11.75. Encontrado: C, 75.21; H, 12.30; N, 12.02.

3.3.3.5. Derivados de amino azúcares y malondialdehído.

Procedimiento general



A una disolución de 1 mmol de clorhidrato del amino azúcar (0.230 g en los casos de los clorhidratos de metil 2-amino-2-desoxi α - y β -D-glucopiranosidos y 0.216 g en el caso del clorhidrato de D-glucosamina) en metanol (5 mL) se añaden 10 mL de disolución de metóxido sódico en metanol al 1%. Se agita a temperatura ambiente durante varios minutos y se filtra la sal formada. Sobre la disolución del amino azúcar libre se añade otra de perclorato de 1,5-diaza-1,5-difenil-1H-pentadienonio (13) (0.165 g, 0.5 mmol) en metanol (5 mL). Se calienta a reflujo controlando el avance de la reacción por cromatografía en capa fina (eluyente acetato de etilo-metanol-ácido acético-agua 6:2:1:1) y por espectrofotometría ultravioleta visible. Se observa la formación de dos productos de R_F 0.2 y R_F 0.6. La mezcla de reacción se sigue calentando a reflujo hasta que la relación entre las absor-

bancias de esos productos $A_{RF0.2}/A_{RF0.6}$ es máxima. El tiempo óptimo de reacción es de ocho horas. Tras este tiempo, se evapora el disolvente a sequedad y el residuo se purifica por cromatografía preparativa sobre capa fina de gel de sílice empleando el eluyente anterior. Se rascan bajo la luz ultravioleta las bandas correspondientes a ambos productos y éstos se extraen de la sílice con metanol. Se evapora el disolvente a vacío y se coevaporan las trazas de ácido acético del eluyente repetidas veces con metanol.

Cuando el producto de partida es el clorhidrato de metil 2-amino-2-desoxi- α -D-glucopiranosido, los productos que se obtienen son:

Perclorato de 1,5-diaza-1,5-di-(2'-desoxi-1'-O-metil- α -D-glucopiranos-2'-il)-1H-pentadienonio (60), como un sólido amorfo (0.147 g, 56 %).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$ 305.3 nm (ϵ 28511)

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3339 aF, 2930 m, 1615 F, 1570 m, 1412 F,

1346 m, 1101 m, 1044 F cm^{-1} .

$^1\text{H-RMN}$: Tabla 11.

$^{13}\text{C-RMN}$: Tabla 12.

Análisis. Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{ClN}_2\text{O}_{14}$: C, 39.05; H, 5.98; N, 5.36; Cl, 6.78. Encontrado: C, 38.69; H, 6.20; N, 4.99; Cl, 7.21.

Perclorato de 1,5-diaza-1-(2'-desoxi-1'-O-metil-

α -D-glucopiranos-2'-il)-5-fenil-1H-pentadienonio (63) como un sólido amorfo (0.069 g, 22%)

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$ 232.1 nm (ϵ 6280) 344.0 nm (ϵ 35232)

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3422 aF, 2930 m, 1638 F, 1564 F, 1414 F, 1344 m, 1022 m cm^{-1} .

^1H -RMN: Tabla 13.

^{13}C -RMN: Tabla 14.

Análisis. Calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{ClN}_2\text{O}_9$: C, 45.45; H, 5.48; N, 6.63. Encontrado: C, 45.27; H, 5.62; N, 6.42.

Cuando el producto de partida es el clorhidrato de metil 2-amino-2-desoxi- β -D-glucopiranosido, los productos que se obtienen son:

Perclorato de 1,5-diaza-1,5-di-(2'-desoxi-1'-O-metil- β -D-glucopiranos-2'-il)-1H-pentadienonio (61), como un sólido amorfo (0.122 g, 47 %).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$ 304.8 nm (ϵ 32565)

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3369 aF, 2930 m, 1620 F, 1571 F, 1418 F, 1240 d, 1078 h, 1037 F cm^{-1} .

^1H -RMN: Tabla 11.

^{13}C -RMN: Tabla 12.

Análisis. Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{ClN}_2\text{O}_{14}$: C, 39.05; H, 5.98; N, 5.36. Encontrado: C, 39.36; H, 6.10; N, 5.30.

Perclorato de 1,5-diaza-1-(2'-desoxi-1'-O-metil- β -D-glucopiranos-2'-il)-5-fenil-1H-pentadienonio (64), como

un sólido amorfo (0.080 g, 28%)

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$ 232.1 nm (ϵ 5528) 344.8 nm (ϵ 31596)

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3340 aF, 2928 m, 1628 F, 1588 F, 1414 F,

1344 m, 1076 m, 1048 m cm^{-1} .

^1H -RMN: Tabla 13.

^{13}C -RMN: Tabla 14.

Análisis. Calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{ClN}_2\text{O}_9$: C, 45.45; H, 5.48; N, 6.63. Encontrado: C, 45.12; H, 5.27; N, 6.79.

Si el producto de partida es el clorhidrato de D-glucosamina, se obtienen los siguientes productos:

Perclorato de 1,5-diaza-1,5-di-(2-desoxi-D-glucos-2-il)-1H-pentadienonio (59) como un sólido amorfo (0.128, 52%).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$ 304.0 nm (ϵ 33208)

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3337 aF, 2934 d, 1616 F, 1568 F, 1412 m,

1260 d, 1080 F, 1040 F cm^{-1} .

^1H -RMN: Tabla 11.

^{13}C -RMN: Tabla 12.

Análisis. Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{ClN}_2\text{O}_{14}$: C, 36.41; H, 6.10; N, 5.30. Encontrado: C, 36.22; H, 5.98; N, 5.57.

Perclorato de 1,5-diaza-1-(2-desoxi-D-glucos-2-il)-5-fenil-1H-pentadienonio (62) como un sólido amorfo (0.060 g, 20%)

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$ 230.7 nm (ϵ 6731.8) 345.3 nm (ϵ 36842.7)

$v_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3350 aF, 2980 m, 1632 F, 1582 F, 1416 F,

1341 m, 1086 m, 1050 m cm^{-1} .

^1H -RMN: Tabla 13.

^{13}C -RMN: Tabla 14.

Análisis. Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{ClN}_2\text{O}_9$: C, 44.07;
H, 5.18; N, 6.85. Encontrado: C, ; H, ; N, .

**3.3.4. Reacción de quitosana con malondialdehído.
Formación de Q-MDA-1 (81) y Q-MDA-2 (82).**

A una disolución de quitosana (1.00 g, 5.5 mmol) en ácido acético 10% (40mL), se añade metanol (40 mL) y una disolución de sal sódica de malondialdehído (16.5 mmoles) en 40 mL de metanol que contiene 16.5 mL de ácido clorhídrico *M*. Se deja estar a temperatura ambiente dos horas hasta que se forma un gel anaranjado que se lava sucesivamente con metanol, etanol y éter. Se dializa frente a agua durante 24 horas, se liofiliza y se seca a vacío (1 Torr) a 100°, obteniéndose 1.3 g (92%) de Q-MDA-1 (81) que descompone a 220°.

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3418 F, 2888 d, 1605 F, 1341 m, 1188 m,
1069 F, 1032 F cm^{-1}

^{13}C -r.m.n.-c.p.-m.a.s.: δ 197.0 y 191.0 (C=O),
120-170 (NH-C=C-), 108.1 (C-1 β), 102.0 (C=C-C=O), 75.2 (C-3,
C-4, C-5), 62.2 (C-6), 60.6 (C-2) ppm.

Análisis: Calculado para $[(\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}_5)_{0.87}$
 $(\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}_5)_{0.13} \cdot 2.25 \text{H}_2\text{O}]_n$: C, 41.91; H, 6.94; N, 5.51.
Encontrado: C, 42.17; H, 6.41; N, 4.90.

0.10 g del producto anterior se suspenden en 10 mL de ácido clorhídrico *M* y se calienta a reflujo durante dos horas. Se enfría y se filtra el sólido en suspensión que se lava abundantemente con agua. Se dializa frente a agua

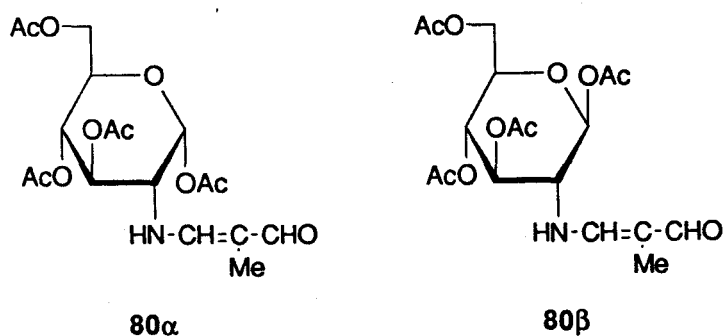
durante 24 horas y se liofiliza obteniéndose 0.092 g de Q-MDA-2 (82) que tiene las siguientes características espectrales y analíticas:

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3399 F, 2901 d, 1649 F, 1520 m , 1155 d,
1082 F cm^{-1} .

Análisis elemental: Encontrado: C, 40.29; H, 5.50; N, 5.47.

3.3.5. Reacciones de metilmalondialdehído con quitosana y con aminoazúcares simples.

3.3.5.1. Reacciones de los clorhidratos de 1,3,4,6-tetra-O-acetil-2-amino-2-desoxi- α -D-y β -D-glucopiranosas con metilmalondialdehído.



Procedimiento general.-

0.8 g (2.1 mmol) del aminoazúcar se disuelven en 10 mL de agua y se añaden 0.264 g (2.4 mmol) de sal sódica de metilmalondialdehído. Se deja a temperatura ambiente y comienza a cristalizar un producto. Se enfría hasta que la cristalización es completa, y el producto se filtra y se lava con agua fría. Se recrystaliza de metanol.

Se obtienen las cantidades que se indican de los productos:

1,3,4,6-Tetra-O-acetil-2-desoxi-2-[E-(2-metil-3-oxo-1-propen-1-il)amino]- α -D-glucopiranósido, (80α), 0.580 g (67%).

P.f. 151-152°.

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3300 m, 2967 m, 1753 F, 1620 F, 1375 F,

1225 aF, 1123m, 1038 F, 937 m.

$^1\text{H-RMN}$: Tabla 15.

$^{13}\text{C-RMN}$: Tabla 16.

Análisis: Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_{10}$: C, 52.04; H, 6.07; N, 3.37. Encontrado: C, 51.83; H, 6.03; N, 3.22.

1,3,4,6-Tetra-O-acetil-2-desoxi-2-[*E*-(2-metil3-oxo-1-propen-1-il)amino]- β -D-glucopiranosido, (80 β), 0.530 g (61%).

P.f. 129-130°

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3352 d, 3250 d, 2984 d, 1751 F, 1657 h, 1620

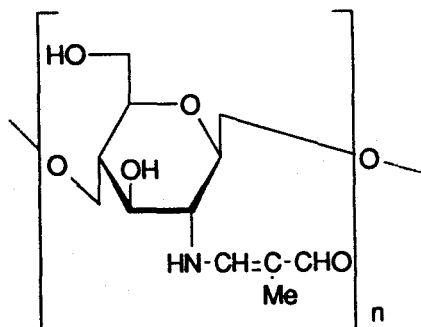
F, 1371 m, 1217 F, 1038 F.

$^1\text{H-RMN}$: Tabla 15.

$^{13}\text{C-RMN}$: Tabla 16.

Análisis: Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_{10}$: C, 52.04; H, 6.07; N, 3.37. Encontrado: C, 52.23; H, 5.78; N, 3.31.

3.3.5.2. Reacción de quitosana con 3-etoxi-2-metilpropenal. Preparación de (1→4)-2-desoxi-2-[E-(2-metil-3-oxo-1-propen-1-il)amino]-β-D-glucana (83).



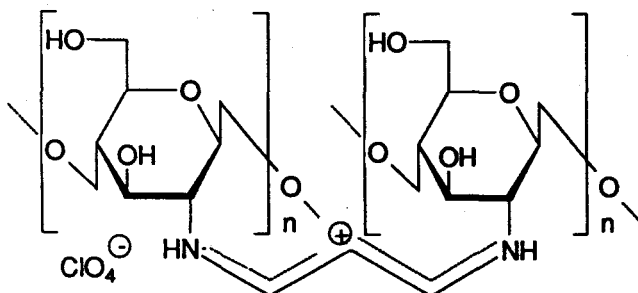
83

1.00 g (5.5 mmol) de quitosana se disuelve en 40 mL de ácido acético al 10% y se añaden 40 mL de metanol y 1.94 g (2 mL, 16.5 mmol) de 3-etoxi-2-metilpropenal. Se deja estar 48 horas a temperatura ambiente formándose un gel blanquecino muy denso que se fragmenta y se lava con agua varias veces. Se dializa frente a agua durante 24 horas y se liofiliza obteniéndose 1.26 g (89 %) de (1→4)-2-desoxi-2-[E-(2-metil-3-oxo-1-propen-1-il)amino]-β-D-glucana que descompone a 210°.

$v_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3450 aF, 2926 m, 1659 h, 1591 F, 1373 m, 1317 m, 1254 m, 1094 F, 1024 F.

Análisis: Calculado para $[(C_{10}H_{15}NO_5)_{0.87}(C_8H_{13}NO_5)_{0.13}H_2O]_n$: C, 47.97; H, 6.91; N, 5.74. Encontrado: C, 47.63; H, 6.50; N, 5.29.

3.3.6. Reacción de quitosana con perclorato de 1,5-diaza-1,5-difenil-1*H*-pentadienonio (13). Formación de la sal de vinamidinio 84.



84

1.00 g (5.5 mmol) de quitosana se disuelve en 40 mL de ácido acético al 10% y se añaden 40 mL de metanol y una disolución de 2.64 g (8.25 mmol) de perclorato de 1,5-diaza-1,5-difenil-1*H*-pentadienonio (13) en metanol (80 mL). Se calienta a reflujo durante dos horas, formándose un gel que se dializa exhaustivamente hasta que las aguas de diálisis no tienen producto de partida (13) ni anilina. Se obtienen 1.75 g (70%) de 84 de color amarillento que descompone sin fundir a 215°.

$\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3400 aF, 2983 m, 1630 F, 1586 F, 1495 m,

1346 m, 1144 m, 1099 F, 1030 m.

Análisis: Calculado para $[(\text{C}_6\text{H}_9\text{O}_4)_2(\text{C}_3\text{H}_5\text{N}_2\text{ClO}_4)]_{0.87} [(\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}_5)_{0.13}]_2$: C, 40.20; H, 5.19; N, 6.20; Cl, 6.82.
Encontrado: C, 39.93; H, 5.46; N, 6.22; Cl, 7.10.

3.3.7. Reacciones de 7a-d, 47a-b y 48 con acetatos de cobre y cobalto. Preparación de complejos de cobre y cobalto.

Una cantidad exactamente pesada de 7a-d, 47a-b y 48 (0.100 g) se suspende en 50 mL de una disolución acuosa saturada de acetato de cobre (II) o de cobalto (II). Se agita vigorosamente a temperatura ambiente durante doce horas. Tras este tiempo, el complejo formado se filtra y se lava abundantemente con agua. Se dializa y se liofiliza obteniéndose complejos de cobre y de cobalto, respectivamente.

La cantidad de metal que quelata cada polímero se determina por absorción atómica de una disolución de metal obtenida como sigue:

0.100 g de complejo se tratan con ácido nítrico concentrado en caliente hasta destruir la materia orgánica existente. Queda un residuo que se disuelve en agua y se enrasa a 100 mL, de esa disolución se toman alícuotas de 1 mL que se diluyen hasta 25 mL con ácido nítrico al 1% v/v si se determina cobre, o con ácido clorhídrico al 1% v/v si se determina cobalto. Previamente, se construye una recta de calibrado con disoluciones patrón de concentraciones conocidas. El intervalo de linealidad para la determinación de cobre es entre 1 y 4 ppm y, para la de cobalto, entre 1 y 3.5 ppm.

La cantidad de cobre y de cobalto que retienen los polímeros 7a-d, 47a-b y 48 se recoge en la Tabla 18 (Apartado 2.5, página 148).

Para los demás polímeros preparados (derivados de malondialdehído o metilmalondialdehído) se empleó un procedimiento análogo y las cantidades de metal que quelatan se recogen en la Tabla 20 (Apartado 2.5, página 154).

3.3.7.1. Estabilidad de los complejos de cobre(II) y de cobalto(II) frente a otros agentes quelatantes.

La estabilidad del complejo se estima semicuantitativamente de la siguiente forma:

Una cantidad exactamente pesada (próxima a 10 mg) de complejo de cobre o de cobalto se suspenden en 5 mL de agua y se añade la cantidad estequiométrica del ligando correspondiente en 5 mL de agua, suponiendo que se formaría, en cada caso, el complejo de cobre o de cobalto más estable. La suspensión se agita a temperatura ambiente. Los ligandos empleados para los complejos de cobre y la cantidad de los mismos añadida se recogen en la Tabla 29.

Tabla 29.- Cantidad de ligando añadida y constantes de estabilidad de sus complejos más estables.

Ligando (L)	m añadida (mg)	$K_{\text{estabilidad}}$
AEDT	17	$10^{18.8}$ (CuL ₂)
Acac	4.6	$10^{14.3}$ (CuL ₂)
NH ₃	1.6	$10^{12.6}$ (CuL ₄)
Acido oxálico	5.9	$10^{8.9}$ (CuL ₂)
Acido acético	9.3	$10^{3.1}$ (CuL ₃)

El ácido etilendiaminotetraacético (AEDT) se emplea como su sal disódica, que fue previamente secada a 80° durante 24 horas. Tras la adición del ligando se agita la suspensión a temperatura ambiente observándose la coloración de la disolución. A las 24 horas se filtra el residuo en suspensión, se lava repetidas veces con agua y se liofiliza. Se hace su espectro de infrarrojo que resulta ser idéntico al de una muestra auténtica de 7.

La adición de acetilacetona (Acac) origina la formación inmediata de un sólido de color violáceo, que se filtra a vacío, se lava con agua y se seca sobre cloruro cálcico. Su espectro de infrarrojo es idéntico al de una muestra de acetilacetato de cobre: $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 1578 F, 1553 m,

1532 m, 1408m, 1090 F.

En el caso del amoníaco, éste se burbujea a través de una suspensión de 7 (10 mg) en metanol (5 mL). Tras 48 horas a temperatura ambiente, el sólido se filtra, se lava con agua, se liofiliza y se registra su espectro de infrarrojo, que corresponde al del complejo de cobre de partida.

En el caso del ácido oxálico (que se emplea como dihidrato) tras 48 horas a temperatura ambiente, se filtra un sólido que se lava con agua repetidas veces y se seca sobre cloruro cálcico. Se registra su espectro de infrarrojo que corresponde al complejo de cobre de partida.

La cantidad estequiométrica que se añade para el ácido acético, en forma de su sal sódica trihidratada, es suponiendo que se forma el complejo CuL_3 que es el de constante de estabilidad más alta. Tras cuarenta y ocho horas a temperatura ambiente, se filtra el sólido en suspensión y se trata como en los casos anteriores resultando ser el complejo de partida.

Todos los complejos de cobre derivados de los polímeros 7, 47 y 48 tienen una constante de estabilidad que cumple $10^{12.6} < K_{estab.} < 10^{14.3}$.

En cuanto a los derivados de MDA y MeMDA, las constantes de estabilidad tienen valores:

$$10^{8.9} < K_{\text{estab.}} < 10^{12.6}$$

Para los complejos de cobalto, el procedimiento empleado es semejante al descrito para los complejos de cobre. Los ligandos y cantidades que se usan en este caso se recogen en la Tabla 30.

Tabla 30.- Cantidad de ligando añadida y constantes de estabilidad de sus complejos más estables.

Ligando (L)	m añadida (mg)	$K_{\text{estabilidad}}$
AEDT	16.8	$10^{16.3}$ (CoL ₂)
Acac	4.5	$10^{8.9}$ (CoL ₂)
Acido oxálico	7	$10^{5.8}$ (CoL ₂)
Acido acético	6.2	$10^{1.5}$ (CoL ₂)

La constante de estabilidad de los complejos de cobalto derivados de 7, 47, 48 y derivados de MDA y de MeMDA tiene un valor:

$$10^{5.8} < K_{\text{estab}} < 10^{8.9}$$

4. CONCLUSIONES.

Primera.- Se ha realizado un estudio sobre la reacción de la quitosana, polímero de la 2-amino-2-desoxi-D-glucosa (D-glucosamina), con compuestos 1,3-dicarbonílicos, en la que se han obtenido nuevos productos sustituidos en todos los átomos de N del polímero inicial.

Segunda.- La quitosana utilizada como materia prima procede de la desacetilación de la quitina natural y su grado de desacetilación se ha determinado por espectroscopia i.r., empleando el procedimiento de Miya y colaboradores, y mediante análisis elemental. Los resultados obtenidos por ambas técnicas son coincidentes (87%).

Tercera.- Los compuestos 1,3-dicarbonílicos empleados han sido: 2,4-pentanodiona, 1-fenil-1,3-butanodiona, benzoilacetaldehído y acetoacetato de metilo, cuya reacción con quitosana de grado de desacetilación 87% ha llevado a la formación de los siguientes nuevos polímeros insolubles, respectivamente:

(1→4)-2-[Z-(2-Acetil-1-metilvinil)amino]-2-desoxi-β-D-glucana (7a).

(1→4)-2-[Z-(2-Benzoil-1-metilvinil)amino]-2-desoxi-β-D-glucana (7b).

(1→4)-2-[Z-(2-Benzoilvinil)amino]-2-desoxi-β-D-glucana (7c).

(1→4)-2-Desoxi-2-[Z-(1-metilvinil-2-metoxicarbonil)amino]-β-D-glucana (7d).

Cuarta.- Los nuevos polímeros 7a-d se han caracterizado mediante sus datos analíticos y propiedades espectroscópicas (espectros i.r. y ^{13}C -r.m.n.-c.p.-m.a.s.). Estos polímeros están constituidos por unidades de *N*-acilvinilglucosamina unidas por enlaces $\beta(1\rightarrow4)$ tal como se han denominado en la conclusión anterior, pero lógicamente contienen un 13% de unidades monómeras en las que permanece el grupo *N*-acetilo.

Quinta.- Con objeto de comparar propiedades y corroborar las estructuras propuestas se han preparado el metil 2-[*Z*-(2-acetil-1-metilvinil)amino]-2-desoxi- β -*D*-glucopiranosido (42 β) y el metil 2-[*Z*-(2-benzoil-1-metilvinil)-amino]-2-desoxi- β -*D*-glucopiranosido (43 β) mediante reacción del metil 2-amino-2-desoxi- β -*D*-glucopiranosido (45 β) con 2,4-pentanodiona y con 1-fenil-1,3-butanodiona, respectivamente.

Sexta.- Los compuestos monómeros citados se han caracterizado por sus datos analíticos y propiedades espectroscópicas. Se han estudiado con especial interés sus espectros de resonancia magnética nuclear de ^{13}C que se han comparado, posteriormente, con los de los derivados de quitosana relacionados.

Séptima.- Se ha llevado a cabo la hidrólisis ácida de 7a-d con ácido clorhídrico *M* en la que se forman clorhidrato de quitosana y el compuesto 1,3-dicarbonílico de

partida. La cuantificación de la 2,4-pentanodiona se ha realizado espectrofotométricamente por formación de su complejo de Fe (III). La 1-fenil-1,3-butanodiona liberada se ha determinado gravimétricamente. La cantidad molar de clorhidrato de quitosana formado en la hidrólisis es congruente con la cantidad molar de compuesto 1,3-dicarbonílico valorado y está de acuerdo con las estructuras propuestas.

Octava.- Se han preparado otras acilvinilaminoglucanas por reacción cuantitativa de la quitosana con acilviniléteres de fórmula general $RO-CH=C(COR)_2$. Los nuevos polímeros insolubles se han caracterizado por sus datos analíticos y propiedades espectroscópicas, así como por la cuantificación del clorhidrato de quitosana producido en la hidrólisis en medio ácido. Los productos que se han obtenido son:

(1→4)-2-Desoxi-2-[(2,2-dietoxicarbonilvinil)amino]-β-D-glucana (47a).

(1→4)-2-[(2,2-Diacetilvinil)amino]-2-desoxi-β-D-glucana (47b).

Novena.- Se ha llevado a cabo la reacción de transaminación entre la 2-anilinoetilén-1,3-ciclohexanodiona (14) y la quitosana obteniéndose el compuesto (1→4)-2-desoxi-2-[(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexilidénmetil)amino]-β-D-glucana (48), que se caracteriza por su análisis elemental y su espectro de i.r.

Décima.- Se ha estudiado la estabilidad de estos polímeros (7a-d, 47a-b y 48) frente a ácidos y bases a temperatura ambiente. Salvo los derivados de la 2,4-pentano-diona y acetoacetato de metilo, que son estables en el intervalo de pH 3-10, los demás no se alteran en ninguna de las disoluciones tampón empleadas en el intervalo 0-10.

Undécima.- Estos polímeros (7a-d, 47a-b y 48) reaccionan con los acetatos de cobre y cobalto originando complejos insolubles. La cantidad de metal retenida por cada polímero se determinó por absorción atómica, encontrándose que el derivado de la 2,4-pentano-diona es un agente quelatante efectivo.

Duodécima.- Se ha realizado un estudio semicuantitativo de la estabilidad de estos complejos frente a una serie de agentes quelatantes de ambos metales. El valor de las constantes de estabilidad de los complejos obtenidos es:

$$10^{8.9} < K_{\text{estab. LCu}} < 10^{12.6}$$

$$10^{5.8} < K_{\text{estab. LCo}} < 10^{8.9}$$

Decimotercera.- La reacción de transaminación entre el perclorato de 1,5-diaza-1,5-difenil-1H-pentadienonio (13) y aminas simples ha permitido obtener con buenos rendimientos derivados entrecruzados de malondialdehído (MDA), que son sales de vinamidinio o vinamidonio, no asequibles fácilmente por reacción directa de esas aminas con este dialdehído. De esta forma, se han obtenido los compues-

tos:

Perclorato de 1,5-diaza-1,5-dimetil-1*H*-pentadienonio (51).

Perclorato de 1,5-diaza-1,5-di-(*n*-butil)-1*H*-pentadienonio (52).

Perclorato de 1,5-diaza-1,5-diciclohexil-1*H*-pentadienonio (53).

Decimocuarta.- Se ha realizado un estudio de las propiedades físicas (espectroscopia i.r., r.m.n., masas) de 51-53 . Estos compuestos existen en disolución como mezclas de distintos conformeros. En el caso de 51, los resultados del estudio por r.m.n. de la composición del equilibrio isomérico se han confirmado con cálculos *ab initio*, optimizando las geometrías y obteniendo las energías totales y relativas de los distintos conformeros. Los resultados obtenidos son coincidentes e indican el siguiente orden de estabilidad de los tres isómeros mayoritarios: *ZEEZ* > *EEEZ* > *EEEE*.

Decimoquinta.- La sal de vinamidinio 53 se reduce con borohidruro sódico originando la diciclohexilpropilendiamina (54).

Decimosexta.- Se ha generalizado la reacción de transaminación comentada en la conclusión decimotercera a derivados de metilmalondialdehído (MeMDA). La sustancia de partida empleada es el perclorato de 1,5-diaza-1,5-difenil-3-

metil-1*H*-pentadienonio (55), obteniéndose los siguientes compuestos:

Perclorato de 1,5-diaza-1,3,5-trimetil-1*H*-pentadienonio (56).

Perclorato de 1,5-diaza-1,5-di-(*n*-butil)-3-metil-1*H*-pentadienonio (57).

Perclorato de 1,5-diaza-1,5-diciclohexil-3-metil-1*H*-pentadienonio (58).

Decimoséptima.- El análisis de los espectros de r.m.n. de 56-58 indica la existencia de un único isómero en disolución, el de geometría más extendida *EEEE*.

Decimooctava.- Se ha extendido la reacción de transaminación a amino azúcares sencillos como la *D*-glucosamina y los metil 2-amino-2-desoxi- α -*D*- y β -*D*-glucopiranosidos. La reacción de transaminación no es completa y se obtienen, tras separar por cromatografía preparativa sobre capa fina de gel de sílice, dos tipos de sales de vinamidinio, las simétricas 59-61 y las asimétricas 62-64:

Perclorato de 1,5-diaza-1,5-di-(2-desoxi-*D*-glucos-2-il)-1*H*-pentadienonio (59).

Perclorato de 1,5-diaza-1,5-di-(2'-desoxi-1'-*O*-metil- α -*D*-glucopiranos-2'-il)-1*H*-pentadienonio (60).

Perclorato de 1,5-diaza-1,5-di-(2'-desoxi-1'-*O*-metil- β -*D*-glucopiranos-2'-il)-1*H*-pentadienonio (61).

Perclorato de 1,5-diaza-1-(2-desoxi-*D*-glucos-2-

il)-5-fenil-1H-pentadienonio (62).

Perclorato de 1,5-diaza-1-(2'-desoxi-1'-O-metil- α -D-glucopiranos-2'-il)-5-fenil-1H-pentadienonio (63).

Perclorato de 1,5-diaza-1-(2'-desoxi-1'-O-metil- β -D-glucopiranos-2'-il)-5-fenil-1H-pentadienonio (64).

Estos productos se han caracterizado por sus datos analíticos y por sus propiedades espectroscópicas, que se comparan con las de sales de vinamidinio derivadas de aminas simples.

Decimonovena.- La reacción de transaminación entre el perclorato de 1,5-diaza-1,5-difenil-1H-pentadienonio (13) y la quitosana origina el derivado perclorato de 1,5-diaza-1,5-di-[(1 \rightarrow 4)-2-amino-2-desoxi- β -D-glucan-2-il]-1H-pentadienonio (84). Este polímero se hidroliza con ácido clorhídrico 6M a reflujo originando MDA y clorhidrato de quitosana cuya cuantificación es consistente con la estructura asignada.

Vigésima.- Se han preparado las aminoacroleínas 78 y 79 formadas en las reacciones de MDA con ciclohexilamina y D-glucosamina, con objeto de estudiar su hidrólisis en medio ácido y cuantificar con TBA el MDA liberado en la misma. Se obtiene un mol de MDA por mol de aminoacroleína empleado.

Vigesimoprimera.- La reacción de los clorhidratos

de 1,3,4,6-tetra-O-acetil-2-amino-2-desoxi- α -D- y β -D-glucopiranosas y NaMeMDA lleva a las correspondientes metilaminoacroleínas 80 α y 80 β , que existen en disolución en la conformación *EEE*. Son compuestos modelo de la reacción de quitosana con MeMDA.

Vigesimosegunda.- La reacción de quitosana con NaMDA origina un nuevo polímero Q-MDA-1 que se transforma en medio ácido originando Q-MDA-2. Ambos polímeros son estables a temperatura ambiente frente a ácidos y bases. Q-MDA-1 se hidroliza completamente al tratar a reflujo con ácido clorhídrico 6*M*, originando un mol de MDA por mol de unidad de hexosamina empleado.

Vigesimotercera.- La reacción de quitosana con MeMDA proporciona el producto (1 \rightarrow 4)-2-desoxi-2-[*E*-(2-metil-3-oxo-1-propen-1-il)amino]- β -D-glucana (83), que se caracteriza por su análisis elemental y su espectro de i.r.. Este polímero se hidroliza en ácido clorhídrico *M* a reflujo.

Vigesimocuarta.- Los polímeros derivados de MDA y MeMDA preparados en esta Tesis reaccionan con los acetatos de cobre y de cobalto, originando complejos insolubles. Se ha determinado la cantidad de metal quelatada por los mismos mediante absorción atómica y se ha realizado un estudio semicuantitativo de la estabilidad de los complejos frente a otros agentes quelatantes. Las constantes de estabilidad de estos complejos tienen valores:

$10^{8.9} < K_{\text{estab.}} < 10^{12.5}$ Complejos de Cu(II).

$10^{5.8} < K_{\text{estab.}} < 10^{8.9}$ Complejos de Co(II).

El polímero 84 es un buen agente quelatante de estos dos cationes.

Vigesimoquinta.- Las sales de vinamidinio modelo, 53 y 60, derivadas de la ciclohexilamina y del metil 2-amino-2-desoxi- α -D-glucopiranosido reaccionan con acetato de cobre. El análisis de la cantidad de metal para ambos complejos indica la formación de un complejo en proporción metal:ligando 1:2.

5. BIBLIOGRAFÍA.

1. C. Jeuniaux, M.F. Voss-Foucart, M. Poulicek y J.C. Bussers en G. Skjak-Braek, T. Anthousen y P. Sandford, Eds., *Chitin and Chitosan*, Elsevier Science Publishers Ltd., England (1989), pp. 3-11.
2. a) R.A.A. Muzzarelli, *Chitin*, Pergamon Press, Oxford, 1977, pp. 94-101.
b) R.A.A. Muzzarelli, *Chitin and Chitosan: Unique Cationic Polysaccharides*, Symposium Towards Carbohydrate Based Chemistry. Amiens, Francia, 23-26 Octubre 1989.
3. M. Jabuki, en G. Skjak-Braek, T. Anthousen y P. Sandford, Eds., *Chitin and Chitosan*, Elsevier Science Publishers Ltd., England (1989), pp. 197-206.
4. M.L. Markey, L.M. Bowman y M.V. W. Bergamini, *ibidem*, pp. 713-717.
5. J. Knapczyk, L. Krówczyúsk, J. Krzek, M. Brzeski, E. Nürnberg, D. Schenk y H. Struszyk, *ibidem*, pp. 657-663 y 665-669.
6. P.A. Sandford, *ibidem*, pp. 51-69.
7. S. Hirano, *ibidem*, pp. 37-43.
8. *Chitin and Chitosan: Specialty Biopolymers for Foods, Medicine, and Industry*, Technical Insights, Inc., N.I., 1989.
9. F. García González, A. Gómez Sánchez y M.I. Goñi de Rey, *Carbohydr. Res.*, 1 (1965) 261-273. A. Gómez Sánchez, M. Gómez Guillén y U. Scheidegger, *ibidem*, 3

- (1967) 486-501.
10. P.J. McCarthy, R. J. Hovey, K. Ueno y A.E. Martell, *J. Am. Chem. Soc.*, **77** (1955) 5820-5824. R.J. Hovey, J.J. O Connell y A.E. Martell, *ibidem*, **81** (1959) 3189-3192.
 11. D. Lloyd y H. McNab, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **15** (1976) 459-468.
 12. G. Scheibe, *Ber.*, **56** (1923) 137-148.
 13. W.J. Barry, I.L. Finar y E.F. Mooney, *Spectrochimica Acta* **21**, 1095 (1965).
 14. a) C. Gash Illescas, *Tesis de Licenciatura*, Facultad de Química, Universidad de Sevilla (1984).
b) M.G. García Martín, C. Gash, A. Gómez Sánchez, M.J. Diáñez y A. López, *Carbohydr. Res.*, **162** (1987) 181-197.
 15. a) R.A.A. Muzzarelli, *Chitin*, Pergamon Press, Oxford, 1977.
b) *Chitin in Nature and Technology*, Plenum Press, New York, 1986.
c) *Chitin and Chitosan*, Elsevier Science Publishers Ltd., England (1989).
 16. a) *Chitin*; R.A.A. Muzzarelli, *The polysaccharides* Vol 3, Academic Press 1985, pp 417-449.
b) *Chitin*, R. Pont Lezica and L. Quesada-Allué. *Methods in Plant Biochemistry*, Vol 2, P.M. Dey and J.B. Harborne Eds, Academic Press 1990.
 17. H. Braconnot, *Ann. Chim. Phys.* **79** (1811) 265-304.
 18. A. Odier, *Mem. Soc. Hist. Nat. Paris* **1** (1823) 29-42.

19. G. Ledderhorse, *Z. Physiol. Chem.* **2** (1878) 213-227.
20. E. Gilson, *Bull. Soc. Chim. Paris* **3** (1894) 1099.
21. C. Rouget, *Comp. Rend.* **48** (1859) 792-795.
22. F. Hoppe-Seyler, *Ber. Deut. Chem. Gesell* **27** (1894) 3329-3331.
23. R.A.A. Muzzarelli, F. Tanfani, G. Scarpini and G. Laterza. *Journal of Biochemistry and Biophysical Methods*, **2** (1980) 299-306.
24. A. Domard and M. Rinaudo, *Int. J. Biol. Macromol.*, **5** (1983) 49-52.
25. G.K. Moore and G.A.F. Roberts, *Int. J. Biol. Macromol.*, **3** (1981) 292-296.
26. S. Hirano and Y. Yagi, *Carbohydr. Res.*, **83** (1980) 389-393.
27. S. Hirano and T. Moriyasu, *Carbohydr. Res.*, **92** (1981) 323-327.
28. L.A. Nud'ga, E.A. Plisko and S.N. Danilov, *Zh. Obshch. Khim.*, **43** (1973) 2752-2756.
29. S. Hirano, N. Matsuda, O. Miura and H. Iwaki, *Carbohydr. Res.*, **71** (1979) 339-343.
30. G. Micera, S. Deiana, A. Dessi', P. Decock, B. Dubois and H. Kozlowski, *Inorg. Chim. Acta*, **107** (1985) 45-48.
31. L.D. Hall and M. Yalpani, *Carbohydr. Res.*, **83** (1980) C5-C7.
32. L.D. Hall and T.K. Lim, *Carbohydr. Res.*, **148** (1986) 13-23.

33. R.A.A. Muzzarelli, F. Tanfani, M. Emanuelli and S. Mariotti, *Carbohydr. Res.*, **107** (1982) 199-214.
34. R.A.A. Muzzarelli, F. Tanfani and M. Emanuelli, *Biotechnol. and Bioengineer.*, **27** (1985) 1115-1121.
35. L.D. Hall and K.R. Holme, *J. Chem. Soc., Chem Commun.* (1986) 217-219.
36. L.D. Hall and M. Yalpani, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, (1980) 1153-1154.
37. K.R. Holme, L.D. Hall, C.R. Armstrong and S.G. Withers, *Carbohydr. Res.*, **173** (1988) 285-291.
38. R.A. Muzzarelli and F. Tanfani, *Carbohydr. Polymer.*, **5** (1985) 297-307.
39. A. Domard, C. Gey, M. Rinaudo and C. Terrasin, *Int. J. Biol. Macromol.*, **9** (1987) 233-237.
40. A. Zimmermann, *Swed.*, **136** (1952) 717.
41. B. Focher, A. Massoli, G. Torri, A. Gervasini and F. Morazzoni, en R. Muzzarelli, C. Jeuniaux and G.W. Gooday Eds., *Chitin in Nature and Technology*, Plenum Press, New York (1986) pp. 306-308.
42. K. Kurita; *ibidem*, pp. 287-293.
43. a) F. García González, *Advan. Carbohydr. Chem.*, **11** (1956) 97-143.
b) F. García González y A. Gómez Sánchez, *Advan. Carbohydr. Chem.*, **20** (1965) 303.
c) F. García González, J. Fernández-Bolaños y F.J. López Aparicio, *Synthetic Methods for Carbohydrates*,

- Hassan S. El Khadem, *A.C.S. Symposium Series*, Vol. 39, 1977.
44. a) M.I. Goñi, Tesis Doctoral, Universidad de Sevilla, 1965.
b) M. Gómez Guillén, Tesis Doctoral, Universidad de Sevilla, 1966.
c) A. Cert Ventulá, Tesis Doctoral, Universidad de Sevilla, 1969.
45. H. Pauly y E. Ludwig, *Z. Physiol. Chem.*, **121** (1922) 170.
46. A. Gómez Sánchez y P. Borrachero Moya, *Carbohydr. Res.*, **135** (1984) 101-116.
47. a) A. Gómez Sánchez, A. Cert Ventulá y U. Scheidegger, *Carbohydr. Res.*, **17** (1971) 275.
b) A. Gómez Sánchez, A. Cert Ventulá y U. Scheidegger, *ibid.*, **18** (1971) 173.
c) A. Gómez Sánchez, M. Gómez Guillén, A. Cert Ventulá y U. Scheidegger, *An. Fís. Quím.*, **64B** (1968) 579-590.
d) A. Gómez Sánchez, M. Gómez Guillén, A. Cert Ventulá y U. Scheidegger, *ibid.* **67B** (1971) 545.
48. P. Borrachero Moya, Tesis Doctoral, Universidad de Sevilla, 1983.
49. A.B. Foster, D. Horton y M. Stacey, *J. Chem. Soc.* **81** (1957) 81-86.
50. T. Sannan, K. Kurita, K. Ogura e Y. Iwakura, *Polymer.* **19** (1978) 458.

51. M. Miya, R. Iwamoto, S. Yoshikawa y S. Mima, *Int. J. Biol. Macromol.*, Vol 2 (1980) 323-324.
52. Lapin y Clark, *Anal. Chem.*, 23 (1951) 541-542.
53. I. M. Korenman y M.I. Gryaznova, *Tr. Khim. Khim. Teknol.*, (1970) 72-73. (*Chem. Abstr.* 76 (1972) 135383).
54. S.A. Rahim, B. Ibraheem y W. Bashir, *Microchem. J.*, 36 (1987) 297-300.
55. a) D. L. Rubenstein y T.T. Nakashima, *Anal. Chem.*, 51 (1979) 1465 A.
b) S.L. Patt y J.N. Shoolery, *J. Magn. Reson.*, 46 (1982) 535.
c) R. Benn y H. Gunther, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 22 (1983) 350-380.
56. S. Hirano, R. Yamaguchi, N. Fukui y M. Iwata, *Carbohydr. Res.*, 201 (1990) 145-149.
57. F.J. Hidalgo García, Tesis de Licenciatura, Universidad de Sevilla (1983).
58. K. Kikugawa y T. Beppu, *Chem. Phys. Lipids*, 44 (1987) 277-296.
59. V. Nair, C.S. Cooper, D.E. Vietti y G.A. Tumer, *Lipids*, 21 (1986) 6-10.
60. D.D. Tavernier y M.J.O. Anteunis, *Magn. Resonn.*, 11 (1978) 628-631.
61. a) A. S. Perlin, *MTP Int. Rev. Sci., Org. Chem. Ser. Two Carbohydrates*, 7 (1976) 134.
b) L. Scilagy y Z. Gyorgydeak, *Carbohydr. Res.*, 143

- (1985) 21-41.
- c) R. Kasai, M. Okihara, J. Asakawa, K. Mizutani y O. Tanaka, *Tetrahedron*, **35** (1979) 1422-1432.
- d) V.S. Rao y A.S. Perlin, *Carbohydr. Res.*, **92** (1981) 141-148.
- e) E.L. Elielm M. Manoharan, K. M. Pitrusiewicz y K.D. Hagrave, *Org. Mag. Resonn.*, **21** (1983) 94-107.
62. V. Nair y G.A. Turner, *Lipids*, **19** (1984) 804.
63. a) I. Hermosín Gutiérrez, Tesis Doctoral, Universidad de Sevilla, 1990.
- b) A. Gómez Sánchez, I. Maya e I. Hermosín, *Carbohydr. Res.*, **200** (1990) 167-180.
- c) A. Gómez Sánchez, I. Hermosín e I. Maya, *Tetrahedron Letters*, **31** (1990) 4077-4080.
64. K. Bock y C. Pedersen, *Adv. Carbohydr. Chem. and Biochem.*, **41** (1983) 27-66.
65. F. Calloud, *Mém Soc. Acad. Savoie*, **1** (1825) 34; *J. Pharm.* **11** (1825) 562-564.
66. a) R.E. Reeves, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **6** (1951) 107-134.
- b) J.A. Rendleman, *ibidem*, **21** (1966) 209-271.
- c) S.J. Angyal, *ibidem*, **47** (1989) 1-43.
67. H. Kozlowski, P. Decock, I. Olivier, G. Micera, A. Pusino y L.D. Pettit, *Carbohydr. Res.*, **197** (1990) 109-117.
68. P.L. López de Alba, M.A. Pacheco y G.A. Andreu de

- Riquer, *Bol. Soc. Chil. Quím.*, **33** (1988) 59-64.
69. A. Ringbom, *Formación de complejos en Química Analítica*, Alhambra, Madrid, 1979, pp. 351-379.
70. R.J. Abraham and J.A. Pople, *Mol. Phys.*, **3** (1960) 609.
71. M.J. Frish, M. Head-Gordon, G.W. Trucks, J.B. Foresman, H.B. Schlegel, K. Raghavachari, M. Robb, J.S. Binkley, C. González, D.J. Defrees, D.J. Fox, R.A. Whiteside, R. Seeger, C.F. Melius, J. Baker, R.L. Martin, L.R. Kahn, J.J.P. Stewart, S. Topiol y J.A. Pople, *Gaussian 90*, Rev. G, Gaussian Inc. Pittsburg PA, 1990.
72. I.N. Levine, *Química Cuántica*, Editorial Ac, Madrid, 1985.
73. J.S. Binkley, J.A. Pople y W.J. Hehre, *J. Am. Chem. Soc.*, **102** (1980) 939.
74. P.C. Hariharan y J.A. Pople, *Theor. Chim. Acta*, **28** (1973) 213.
75. W.J. Hehre, L. Radom y J.A. Pople, *J. Am. Chem. Soc.*, **94** (1976) 1496.
76. W.J. Hehre, L. Radom, P.R. Schleyer y J.A. Pople, *Ab initio Molecular Orbital Theory*, Wiley, Nueva York, 1986.
77. S. Mariott y R.D. Topson, *J. Mol. Struct. (Theochem)*, **110** (1984) 337-340.
78. S.A. Pople, M. Head-Gordon, D.J. Fox, K. Raghavachari y L. A. Curtiss, *J. Chem. Phys.* **90** (1989) 5622-5629.
79. O.S. Wolfbeis y E. Ziegler, *Z. Naturfor.*, **31B** (1976)

1519.

80. Claisen y Haase, *Ann.* 297, (1878) 5.

81. C. Bülow y W. von Sicherer, *Ber.*, 34 (1901) 3889.

M^o ELISA MARTIN FERRAZ
"Nuevos polímeros derivados de quitosana y
compuestos β -D-carbonílicos"

Apto "Cum Laude"

19

Diciembre

91

Felipe

Humberto

Antonio

J. Lopez

Alibranz Beauz

Salvador
Diego