

R.9893

500

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE QUIMICA ORGANICA Y FARMACEUTICA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
 FACULTAD DE FARMACIA  
 DEPARTAMENTO DE QUIMICA ORGANICA Y FARMACEUTICA  
 Sevilla, a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 1992

*Flora Lafitte*

**Oxazolidinas derivadas de azúcares.  
 Síntesis de análogos conformacionalmente rígidos de  
 N-Acetylmuramil-L-Alanil-D-Isoglutamina**

DPTO. Q. ORGANICA Y FARMACEUTICA  
 UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
 21 de Abril de 1992  
 21 Abril 1992  
 L DPTO.

*Flora Lafitte*

Memoria presentada por el Licenciado  
 José Luis Espartero Sánchez para  
 optar al Grado de Doctor en Farmacia

*J. Espartero*  
 Sevilla, 1992

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE QUIMICA ORGANICA Y FARMACEUTICA

VºBº

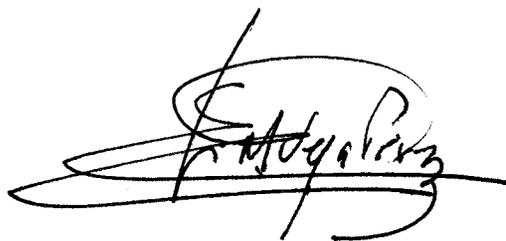
El Tutor



Felipe Alcudia González  
Catedrático de Química Orgánica  
de la Universidad de Sevilla

VºBº

El Director



José Manuel Vega Pérez  
Profesor Titular de Química Orgánica  
de la Universidad de Sevilla

La presente Memoria ha sido realizada en el Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla, bajo la dirección de D. José Manuel Vega Pérez, Profesor Titular de Química Orgánica, a quien expreso mi gratitud por su dedicación, apoyo y estímulo y, especialmente, por participarme su afán de conocer.

Asimismo, expreso mi agradecimiento a:

D. Felipe Alcudia González, Catedrático de Química Orgánica y Tutor de esta Memoria, por sus atenciones y consejos.

D. Juan Antonio Galbis Pérez, Catedrático de Química Orgánica y Director del Departamento, por permitirme la realización del presente trabajo.

D. Fernando Iglesias Guerra, Profesor Titular de Química Orgánica, por el registro de los espectros de RMN y su siempre solícita ayuda.

D. José Manuel Llera Fernández, Profesor Titular de Química Orgánica, por el registro de los experimentos NOE.

D. Francisco José Ruiz Rodríguez, Doctor en Farmacia, por su generosa aportación.

Los compañeros del Departamento, que me hicieron más agradable la realización del presente trabajo, y me prestaron su ayuda en todo momento.

La Comisión Asesora de Ciencia y Tecnología (CAYCIT), por la financiación del Proyecto de Investigación PB87-0919, en el que se encuadra esta Memoria .

El Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social (FIS) por la concesión de una beca de Iniciación a la Investigación.

Todas aquellas personas que, de un modo u otro, han soportado la realización del trabajo que se describe en esta Memoria.

*A mis padres*

La ciencia humana se parece a una bola que crece ininterrumpidamente. El número de sus puntos de contacto con lo desconocido se multiplica en la misma medida en que aumenta su volumen.

B. PASCAL

## INDICE

1. INTRODUCCION	1
2. ANTECEDENTES	6
2.1. EL SISTEMA INMUNE	7
2.1.1. Base celular del sistema inmune	8
2.1.2. Base molecular de la respuesta inmune	9
2.1.3. Modificación de la respuesta inmune	14
2.1.4. Desarrollo de la inmunoestimulación moderna. Vacunas.	15
2.2. INMUNOCOADYUVANTES	17
2.2.1. Inmunocoadyuvantes de origen no bacteriano	18
2.2.2. Inmunocoadyuvantes de origen bacteriano	18
3. MURAMILPEPTIDOS	22
3.1. ACTIVIDAD BIOLOGICA	23
3.1.1. Adyuvanticidad	23
3.1.2. Otras propiedades biológicas	26
3.1.3. Muramilpéptidos como vitaminas	28
3.2. RELACION ESTRUCTURA-ACTIVIDAD	29
3.2.1. Modificaciones en la cadena lateral	30
3.2.2. Modificaciones en la fracción de azúcar	32
3.2.3. Derivados lipofílicos del MDP	36

3.2.4. Disociación de actividades	40
3.2.5. Análogos conformacionalmente rígidos del MDP	43
<b>4. OBJETIVOS, SINTESIS Y CARACTERIZACION</b>	<b>45</b>
4.1.OBJETIVOS	46
4.1.1. Síntesis de nuevos análogos conformacionalmente rígidos de muramildipéptido (MDP), murametide y murabutide.	46
4.1.2. Determinación estructural	52
4.1.3. Reactividad	54
4.2. SINTESIS DE LAS NUEVAS SUSTANCIAS	56
4.2.1. Preparación de productos de partida	56
4.2.2. Formación del anillo de oxazolidina	60
4.2.3. Reactividad de oxazolidinas condensadas con el aminoazúcar	64
4.2.4. Introducción de la cadena peptídica	76
4.2.5. Eliminación de los grupos protectores	80
4.3. DETERMINACION ESTRUCTURAL DE LAS NUEVAS SUSTANCIAS	84
4.3.1. Determinación estructural por RMN	85
4.3.2. Determinación estructural por espectrometría de masas	171
4.3.3. Determinación estructural por IR	198
<b>5. PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>209</b>
5.1. METODOS GENERALES	210
5.1.1. Cromatografía en capa fina	210
5.1.2. Cromatografía en columna	211

5.1.3. Espectros de absorción en el infrarrojo (IR)	211
5.1.4. Espectros de resonancia magnética nuclear (RMN)	211
5.1.5. Espectros de masas	212
5.2. SUSTANCIAS DE PARTIDA	214
5.2.1. Sustancias comerciales	214
5.2.2. Sustancias descritas en la bibliografía	215
5.2.3. Sustancias no descritas previamente	216
5.3. FORMACION DEL ANILLO DE OXAZOLIDINA	222
5.3.1. Procedimiento general	222
5.3.2. Nuevas sustancias	224
5.4. REACTIVIDAD DE OXAZOLIDINAS CONDENSADAS CON EL AMINO AZUCAR	237
5.4.1. Hidrogenolisis	237
5.4.2. Apertura reductiva del grupo p-metoxibencilideno	242
5.4.3. Reducción del grupo en posición 2 del anillo de oxazolidina	244
5.4.4. Apertura del anillo de oxazolidina	251
5.5. CONDENSACION CON EL DIPEPTIDO	258
5.5.1. Procedimiento general	258
5.5.2. Nuevas sustancias	259
5.6. ANALOGOS RIGIDOS DEL MURAMILDIPEPTIDO (MDP), MURAMETIDE Y MURABUTIDE	266
6. CONCLUSIONES	275
7. BIBLIOGRAFIA	284

## INDICE DE TABLAS

Tabla I	61	Tabla XXXIX	158
Tabla II	65	Tabla XL	161
Tabla III	70	Tabla XLI	163
Tabla IV	80	Tabla XLII	165
Tabla V	81	Tabla XLIII	167
Tabla VI	86	Tabla XLIV	169
Tabla VII	87	Tabla XLVI	172
Tabla VIII	90	Tabla XLVII	173
Tabla IX	94	Tabla XLVIII	174
Tabla X	95	Tabla IL	178
Tabla XI	98	Tabla L	180
Tabla XII	99	Tabla LI	184
Tabla XIII	102	Tabla LII	186
Tabla XIV	104	Tabla LIII	189
Tabla XV	106	Tabla LIV	190
Tabla XVI	108	Tabla LV	190
Tabla XVII	110	Tabla LVI	191
Tabla XVIII	116	Tabla LVII	193
Tabla XIX	117	Tabla LVIII	195
Tabla XX	119	Tabla LIX	196
Tabla XXI	121	Tabla LX	197
Tabla XXII	122	Tabla LXI	199
Tabla XXIII	124	Tabla LXII	199
Tabla XXIV	127	Tabla LXIII	200
Tabla XXV	128	Tabla LXIV	201
Tabla XXVI	129	Tabla LXV	202
Tabla XXVII	130	Tabla LXVI	203
Tabla XXVIII	135	Tabla LXVII	204
Tabla XXIX	136	Tabla LXVIII	204
Tabla XXX	137	Tabla LXIX	205
Tabla XXXI	141	Tabla LXX	206
Tabla XXXII	143	Tabla LXXI	207
Tabla XXXIII	145	Tabla LXXII	208
Tabla XXXIV	147	Tabla LXXIII	276
Tabla XXXV	149	Tabla LXXIV	279
Tabla XXXVI	152	Tabla LXXV	280
Tabla XXXVII	154	Tabla LXXVI	281
Tabla XXXVIII	156	Tabla LXXVII	283

## **1. INTRODUCCION**

Vivimos en un mundo lleno de microorganismos; constantemente estamos expuestos a la acción de bacterias, virus, hongos y toda una diversidad de otras formas parasitarias. Esta relación constante ha dado lugar a que poseamos una microflora natural y abundante que se extiende por toda nuestra superficie corporal: boca, vías respiratorias, colon, mucosas y vías urinarias. De ella, a veces, obtenemos algún beneficio. Sirvan como ejemplos la producción de vitamina K por las bacterias presentes en el colon, o la propia prevención de enfermedades al impedir la proliferación de otros microorganismos más virulentos.

De todas formas, esta microflora está presente sólo "a las puertas del organismo" -en lo que podríamos denominar, nuestra primera línea de defensa: piel y mucosas-, precisamente porque no las pueden atravesar. En el momento que cualquier circunstancia les permita la entrada (una herida por ejemplo) la aprovechan, produciéndose una invasión (infección) de tejidos más profundos, que puede dar lugar al desarrollo de una enfermedad infecciosa. Además, intermitentemente estamos expuestos a otros microorganismos "del exterior" muy virulentos que nos pueden causar enfermedades específicas graves. Contra estas infecciones, nuestro organismo dispone de una segunda línea de defensa, denominada generalmente como "resistencia inespecífica a la infección", formada fundamentalmente por células fagocíticas: neutrófilos, monocitos y macrófagos. A esta segunda línea de defensa colaboran asimismo la inflamación de la zona afectada,

por liberación de histamina por parte de las células allí presentes, y su posterior aislamiento, así como la presencia de diversas sustancias tales como la lisozima.

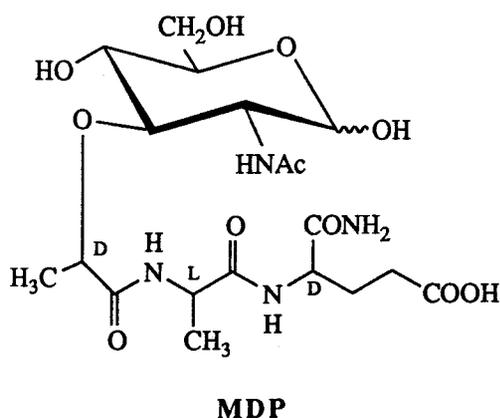
Estrechamente ligada a esta segunda línea de defensa se encuentra un mecanismo defensivo muy potente y altamente especializado, conocido con el nombre de sistema inmune, y que podemos considerar como la tercera línea de defensa (en el Apartado 2.1 se presenta una revisión sobre el sistema inmune). Mientras que las dos primeras son inespecíficas, protegiendo contra cualquier tipo de infección, esta última es específica, es decir, reconoce quién es el invasor y lo elimina de un modo selectivo mediante una compleja respuesta, conocida como respuesta inmune.

Hay agentes que, bajo ciertas condiciones, intensifican dicha respuesta. Por intensificación se puede significar el aumento en la velocidad a la cual se desarrolla la respuesta inmunitaria, un aumento en la intensidad o nivel de la respuesta, una prolongación de la misma o el desarrollo de una respuesta a la sustancia no inmunógena de otra manera. A estos agentes se les denomina inmunopotenciadores, inmunoestimulantes, inmunoadyuvantes o, simplemente, adyuvantes (Apartado 2.2).

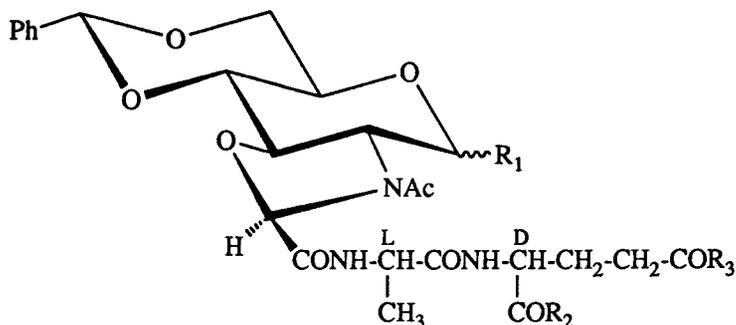
El desarrollo de la biotecnología y de los conocimientos en ingeniería genética y síntesis bioorgánica permite la preparación de vacunas sintéticas de muy alta pureza, con epítopos antigénicos hasta hoy imposibles de obtener. Desafortunadamente, no suelen tener un alto carácter inmunogénico y su tecnología es cara. Debido a ello, uno de los objetivos de la investigación inmunológica actual es la consecución de adyuvantes potentes y atóxicos para su incorporación, tanto en vacunas clásicas, como en la nueva generación de vacunas sintéticas, lo que permitiría obtener respuestas más eficaces y seguras, al tiempo que supondría una disminución en los costes de producción en aquellos casos en los que el antígeno sea difícil de conseguir.

Hace tiempo que se descubrió que los productos bacterianos ejercen una profunda influencia en las reacciones inmunológicas. Si consideramos que la mayoría de las bacterias poseen estructuras celulares externas rígidas y prácticamente idénticas en su composición de una a otra especie, y que el sistema inmune consiste básicamente en un conjunto de células especializadas en distinguir "lo propio" de "lo no propio", no es de extrañar que esta estructura molecular externa se erigiera desde tiempos remotos como una señal de alerta para el sistema inmune, siendo utilizada por éste para estimular o potenciar la respuesta inmune.

Entre estos inmunoadyuvantes de origen bacteriano destaca el denominado muramildipéptido (MDP), estructura procedente de la pared celular bacteriana. La posible aplicación del MDP en inmunoterapia se ha visto dificultada por los efectos secundarios indeseables manifestados por esta molécula (en el Apartado 3.1 se exponen resumidamente las diferentes actividades biológicas que presenta esta sustancia). En un intento de mejorar el perfil farmacológico de esta sustancia, se han preparado numerosos derivados y análogos del MDP basados en la diferente funcionalización y en cambios de las distintas unidades que constituyen la molécula del MDP (aminoazúcar y aminoácidos) (en el Apartado 3.2 se recoge un estudio de la relación estructura-actividad).



Nosotros nos propusimos como tema de investigación la síntesis de unos nuevos análogos del MDP con un perfil de diseño diferente a los hasta ahora estudiados. Tratamos de conseguir estructuras parcialmente rígidas, donde la libertad conformacional quede en parte restringida, mediante la formación de un anillo de oxazolidina entre las posiciones 2 y 3 del aminoazúcar, tal como se muestra a continuación.



Asimismo, nos propusimos estudiar la reactividad de estos anillos de oxazolidina condensados con el azúcar mediante la preparación de derivados más simples. Estos mismos derivados han sido utilizados para un amplio estudio estructural. En el Capítulo 4 se exponen los Objetivos de la presente Memoria, la Síntesis de las nuevas sustancias y la Determinación Estructural llevada a cabo.

Posteriormente, se presenta la Parte Experimental (Capítulo 5), reflejándose a continuación las Conclusiones (Capítulo 6) y la Bibliografía consultada (Capítulo 7). Finalmente, en un Apéndice se recogen los espectros registrados para las nuevas sustancias descritas en esta Memoria.

## **2. ANTECEDENTES**

## 2.1. EL SISTEMA INMUNE

El cuerpo humano presenta todas las características apropiadas (pH, temperatura, presencia de nutrientes,...) para convertirse en una masa pululante de gérmenes y parásitos. Por suerte, posee una serie de mecanismos de defensa que lo previenen. En caso de infección, la supervivencia del organismo reposa enteramente sobre su sistema de defensa. Los fármacos, particularmente antibióticos y quimioterápicos, inclinan frecuentemente la balanza a nuestro favor, pero son, primaria y principalmente, los mecanismos de defensa los que se oponen a la infección.

El sistema inmune se presenta tardíamente en la evolución (sólo lo poseen los vertebrados) y probablemente en respuesta a la necesidad de distinguir lo propio de lo extraño, de reconocer quiénes están en su propio sitio y quiénes, en caso de pasar desapercibidos, pueden poner en peligro la seguridad del organismo. Frecuentemente este sistema se ha comparado con el sistema nervioso ya que: ambos detectan y responden a alteraciones del ambiente de una forma altamente específica, ambos muestran memoria y ambos consisten en complejas organizaciones de células que tienen apariencia similar pero funciones diferentes. Una distinción fundamental entre estos dos sistemas es su diferente organización anatómica: el sistema nervioso tiene una estructura observable y relativamente estática, mientras que el sistema inmune es notable por la movilidad de sus células.

### **2.1.1. Base celular del sistema inmune**

El sistema inmune se basa en un complejo entramado de comunicación entre células sanguíneas llamadas leucocitos. Entre éstas los linfocitos juegan un papel predominante. Se conocen dos poblaciones distintas de linfocitos, morfológicamente indistinguibles: los linfocitos B y T; ambos se originan en la médula ósea. En el hombre, los linfocitos B se desarrollan allí mismo y posteriormente se diferencian en células plasmáticas que producen anticuerpos específicos. Los linfocitos T, en contraste, requieren el timo para su desarrollo. Estos no producen anticuerpos sino que expresan estructuras moleculares específicas en sus membranas celulares que son críticas en el proceso de reconocimiento molecular. Estas diferencias han dado origen a la clásica distinción entre inmunidad humoral y celular, respectivamente.

La inmunidad humoral incluye las rápidas respuestas observadas en los procesos alérgicos y en la anafilaxis, las respuestas crónicas observadas en desórdenes autoinmunes, y por supuesto el aumento de la capacidad supresora de los microorganismos invasores. La inmunidad celular incluye la reyección tisular, la hipersensibilidad de tipo retardado y la vigilancia y supresión de tumores, virus y bacterias.

En todas las situaciones anteriores existe una interdependencia entre las distintas clases de células que está estrechamente ligada al reclutamiento y activación de otros tipos de células secundarias tales como eosinófilos, neutrófilos, basófilos y macrófagos. Este reclutamiento (quimiotaxis) se efectúa por medio de la liberación de sustancias quimiotácticas específicas al comienzo de la respuesta inmune y a la migración de estas células secundarias hacia el origen de estas sustancias gracias a un efecto de gradiente. Estas células se acumulan en el lugar de la infección y liberan un gran número de enzimas

que participan en la eliminación de los organismos invasores. Estos acontecimientos son los responsables de las manifestaciones locales visibles u ocasionalmente sistémicas que conocemos como inflamación.

Los anticuerpos producidos por los linfocitos B son proteínas del tipo de las globulinas, por lo que también se conocen como inmunoglobulinas. Aunque los anticuerpos no son citotóxicos por sí mismos, activan otros sistemas que si lo son, entre ellos el sistema de complemento, y células fagocíticas como los mastocitos, los eosinófilos y los macrófagos.

Por otra parte, la población de linfocitos T puede dividirse en dos grupos: células T auxiliares ( $T_H$ ) y células efectoras ( $T_A$ ). Las células  $T_H$  están involucradas tanto en la diferenciación de las células B, como en la estimulación de células  $T_A$ . Las funciones efectoras de los linfocitos T son la lisis directa de células antigénicas extrañas, mediada por las células  $T_C$  (C de citotóxicas), y el desarrollo de las respuestas inflamatorias locales, mediadas por células  $T_D$  (D de Delayed-type hypersensitivity, hipersensibilidad de tipo diferido). La subpoblación de células citotóxicas está compuesta adicionalmente de células killer naturales (NK) y de linfocitos granulados (LGL, de large granular lymphocytes).

### **2.1.2. Base molecular de la respuesta inmune**

Las tres áreas generales que reflejan la secuencia de acontecimientos que tienen lugar en la respuesta inmune son: (i) el reconocimiento antigénico, (ii) la iniciación de la respuesta y (iii) la amplificación subsiguiente.

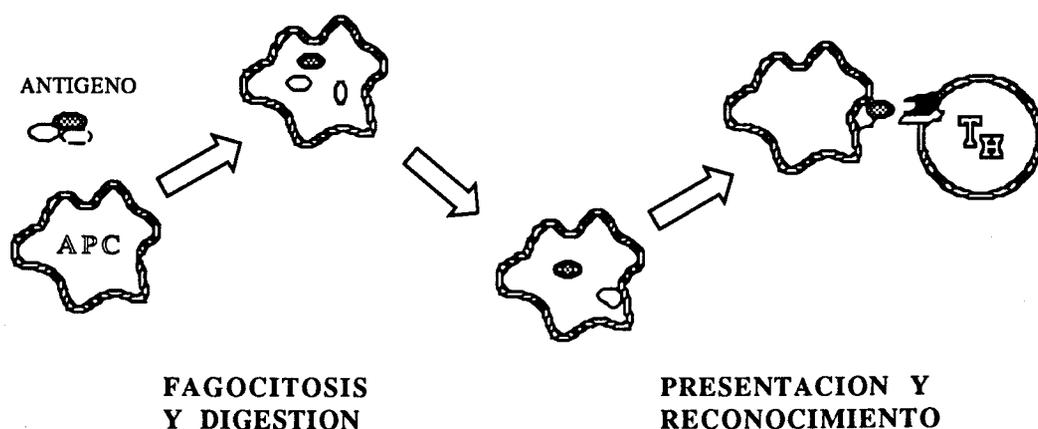
### 2.1.2.1. RECONOCIMIENTO ANTIGENICO

La capacidad de un organismo de reconocer una estructura molecular simple y de responder con una acción defensiva específica es una facultad que diferencia a los vertebrados del resto de los seres vivos. Este reconocimiento se atribuye normalmente a proteínas u otras macromoléculas ajenas a ese organismo (antígenos) y el proceso se asocia casi exclusivamente con mecanismos mediante los cuales las células invasoras son destruidas. Es importante destacar en este punto que, a veces, este reconocimiento involucra a moléculas propias del organismo, y que es así como se inician muchas enfermedades autoinmunes. Es decir, el sistema inmune de un organismo sabe reaccionar contra cualquier sustancia extraña (lo "no suyo"), pero tolera las sustancias de su propio cuerpo (lo "suyo"), las cuales pueden ser antígenos para otros organismos. El organismo aprende a distinguir entre "suyo" y "no suyo" en el curso del desarrollo fetal y neonatal, pero puede aprender a reconocer como "suyo" sustancias extrañas, si éstas se introducen en él durante ese período de desarrollo. Inversamente, la tolerancia natural puede perderse, con la consiguiente aparición de enfermedades autoinmunes, en las que el organismo se ataca a sí mismo.

La base molecular de este proceso de reconocimiento depende de la presentación por parte de una célula fagocítica (macrófago) de la molécula específica a las células centinelas del entramado inmune. Estas células centinelas son predominantemente linfocitos de la línea T (las células  $T_H$ ), aunque la población de linfocitos B también pueden presentar esta capacidad.

Este proceso de presentación implica la ingestión del antígeno por la célula presentadora del antígeno, APC (antigen presenting cell), la fragmentación proteolítica de ese antígeno y la presentación de los fragmentos antigénicos (determinantes) sobre su

superficie celular, asociada a una estructura superficial específica (Figura 1). La presencia de ésta última estructura es la que determina la capacidad del macrófago de presentar el antígeno a la célula  $T_H$  y de iniciar la respuesta inmune. Sin duda, esta trílogía funcional - el macrófago (u otra APC) y las poblaciones de linfocitos T y B- es un requisito obligado para un sistema inmune intacto. Una dramática demostración de esta interdependencia es la consecuencia de la destrucción de la población de células  $T_H$  por el virus de la inmunodeficiencia humana en el SIDA.



**Figura 1.** Fase de reconocimiento antigénico

Una célula T específica es capaz de reconocer una o más de las conformaciones moleculares presentadas por la APC aunque la afinidad asociada con este reconocimiento puede variar dramáticamente. Este proceso de reconocimiento antigénico genera una señal en esa célula que se traduce en una respuesta proliferativa posterior. Así, la célula T sensibilizada al antígeno libera una proteína (interferón- $\gamma$ ) que actúa como un potente activador de los macrófagos y estimula la presentación antigénica. Además, el interferón- $\gamma$  también potencia la respuesta inmune mediada por célula y la producción de anticuerpos. Esta proteína junto con las interleucinas 1, 2 y 4 (de las que se hablará más adelante) son verdaderos reguladores endógenos (hormonas) de la respuesta inmune.

### 2.1.2.2. INICIACION DE LA RESPUESTA INMUNE

El resultado de la fase de reconocimiento descrita antes es la producción y excreción por la APC de una o más proteínas definidas como interleucina-1 (IL-1)\* El término interleucina-1 identifica una familia de productos genéticos (polipéptidos) multifuncionales que actúan sobre una amplia variedad de células distintas, modulando muchas de las respuestas implicadas en el proceso de defensa contra la infección.

La actividad primaria sobre el sistema inmune debida a la liberación de IL-1 a partir de la APC es la activación de la célula  $T_H$  específica que está involucrada en la etapa de reconocimiento. La unión de la IL-1 a receptores específicos de la célula  $T_H$  inicia dentro de ella la producción de una segunda proteína, conocida como interleucina-2 (IL-2) (Figura 2); este acontecimiento es esencial en el proceso de amplificación. Otro efecto importante de la liberación de IL-1, estrechamente ligado a la progresión del proceso inflamatorio, es la inducción de la adhesividad celular.

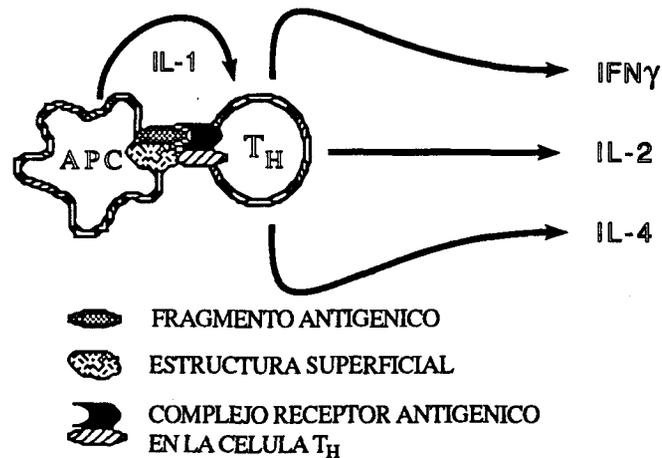


Figura 2. Iniciación de la respuesta inmune

---

\*El término interleucina fué propuesto en 1979 ya que estas sustancias son producidas por y actúan sobre *leucocitos*.

La IL-1 liberada también entra en el torrente circulatorio y estimula diversos órganos y tejidos distantes, dando origen a diferentes reacciones no específicas contra la infección. Así, actúa en el hipotálamo produciendo fiebre, induce la producción de neutrófilos por acción directa sobre la médula ósea, y altera diversos parámetros metabólicos y cerebrales. El metabolismo catabólico durante la infección es distinto al que existe durante la estarvación: hay un mayor requerimiento de aminoácidos para la proliferación de linfocitos y la producción de anticuerpos, así como para la síntesis de colágeno para reparar los tejidos dañados\*. Estos acontecimientos que suministran suficientes aminoácidos para estas funciones celulares parecen estar orquestados por la IL-1. La necesidad de suministro adicional de sustratos energéticos aparece en un momento en el que la ingesta de alimentos puede estar severamente debilitada o el apetito disminuido. Esta disminución del apetito parece estar influenciada por la IL-1. Por otra parte, entre las alteraciones cerebrales, se ha comprobado que la IL-1 induce sueño de onda lenta en animales de experimentación. Actualmente se especula que este incremento de sueño puede ser una función adaptativa para ayudar al organismo a combatir la infección (más adelante se verá que el efecto inmunocoadyuvante del MDP está relacionado, al menos en parte, con la IL-1).

Otros factores que actúan en esta etapa de iniciación de la respuesta inmune son los péptidos derivados del timo que muestran influencia sobre la maduración y la activación de células T.

---

\*Este aumento del catabolismo está favorecido por la elevación de la temperatura producida a nivel del hipotálamo por la propia IL-1. Además, ya que la fiebre producida inhibe la rápida proliferación de microorganismos termosensibles, hoy día se considera la fiebre como la más primitiva y poderosa respuesta inmune contra la infección.

### 2.1.2.3. AMPLIFICACION DE LA RESPUESTA INMUNE

La proliferación de los linfocitos es el mecanismo mediante el que el estímulo inicial es amplificado a una población efectiva de células específicas contra la sustancia reconocida como antígeno. Sin este paso, la respuesta inmune quedaría sin sentido. Anteriormente se vió que una consecuencia de la interacción APC-célula  $T_H$  es la liberación por parte de la APC (macrófago) de interleucina-1, la cual, actuando sobre la célula  $T_H$  hace que ésta libere interleucina-2 (IL-2). Esto tiene como resultado la multiplicación, o proliferación de esa célula específica y de otras células T cercanas. Si tenemos presente que esa célula  $T_H$  inicial fué seleccionada por su capacidad de reconocer el fragmento molecular (antígeno) presentado por la APC, la multiplicación que ocurre es de su población celular específica (Figura 3). La IL-2, po otra parte, aumenta la función citotóxica de los linfocitos T, así como su actividad antitumoral.

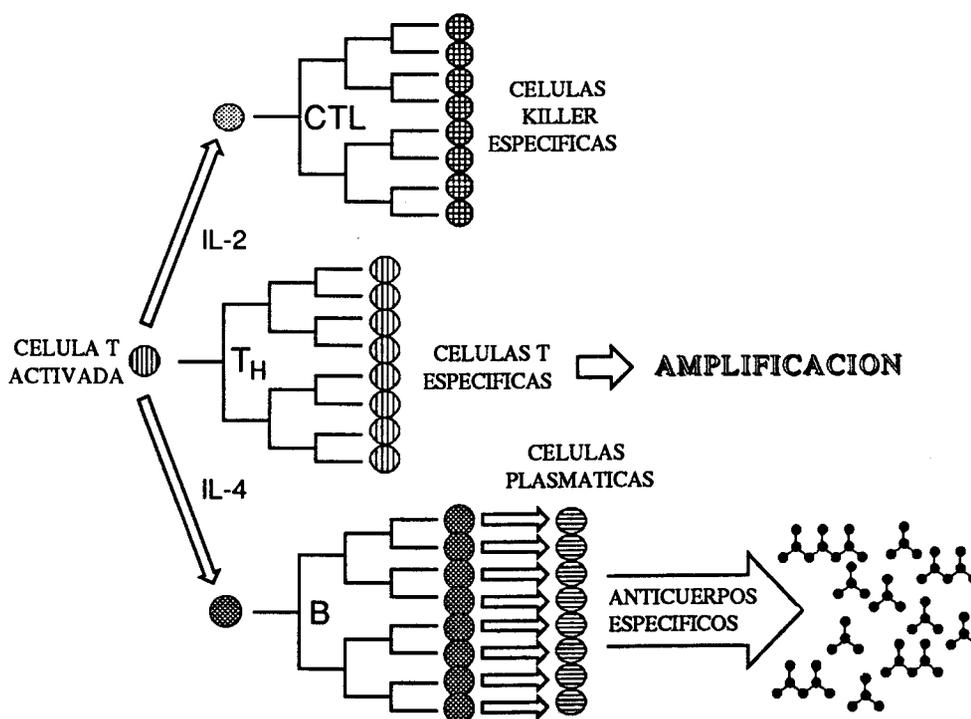


Figura 3. Amplificación de la respuesta inmune

La IL-2 interacciona con las células T uniéndose a receptores específicos existentes en sus membranas que no están presentes en el resto de células, pero que aparecen inmediatamente después de la activación de la célula  $T_H$ . La proliferación continuada de células T in vitro depende de la presencia de receptores en la membrana para la IL-2 así como de la disponibilidad de IL-2; si cualquiera de estos dos requisitos se pierde, la célula deja de proliferar y muere. Por otra parte, estos receptores para la IL-2 desaparecen rápidamente de los linfocitos T activados si el antígeno se elimina; esto limita por tanto la extensión de la expansión celular en respuesta a un antígeno particular.

Además de IL-2, el linfocito  $T_H$  activado también libera interleucina-4 (IL-4) que actúa activando los linfocitos B específicos provocando una multiplicación de esa población celular de una manera análoga a la comentada para los linfocitos T (ver Figura 3). El resultado final en este proceso de amplificación es la generación de grandes poblaciones de linfocitos T y B específicos contra la molécula u organismo que contiene la estructura que fue presentada por la APC en la etapa de reconocimiento.

### **2.1.3. Modificación de la respuesta inmune**

Dado el sutil equilibrio de comunicación intercelular que constituye el sistema inmune, no es extraño que éste se vea alterado por la presencia de ciertas sustancias extrañas al organismo. A este tipo de sustancias se las denomina inmunomodificadores. Estos inmunomodificadores pueden tanto favorecer el desarrollo de la respuesta inmune (inmunocoadyuvantes) como suprimirla o impedirla (inmunosupresores).

Uno de los retos de la investigación inmunológica actual es conseguir una modulación eficaz del sistema inmune mediante el desarrollo de inmunoadyuvantes para su incorporación en vacunas sintéticas o de inmunosupresores con objeto de realizar transplantes exentos de problemas de rechazo y curar ciertas enfermedades de tipo autoinmune.

#### **2.1.4. Desarrollo de la inmunoestimulación moderna. Vacunas.**

Aunque los antiguos médicos musulmanes sabían, hace ya muchos siglos, que era posible paliar los efectos de la viruela inoculando un preparado a partir de pústulas extraídas de un individuo que se estaba curando de la enfermedad, este proceso no estaba libre de riesgos y hubo que esperar hasta 1796, cuando el médico inglés E. Jenner logró usar esta técnica sin peligro. Este había observado que los campesinos que contraían una enfermedad benigna de la vaca (la "vacuna") no eran sensibles a la viruela o la padecían únicamente de forma muy atenuada. La vacuna y la viruela son semejantes, y Jenner demostró que la inoculación de la vacuna protegía eficazmente al hombre contra la viruela. Posteriormente, L. Pasteur demostró que agentes patógenos cuya virulencia había sido atenuada, podían ser utilizados como "vacunas" para protegerse de la enfermedad que producen.

Estas vacunas clásicas presentan, no obstante, ciertos inconvenientes como son que en algunos casos los microorganismos utilizados se activan y provocan la enfermedad que se quería prevenir o que, en la mayoría de las ocasiones, existen efectos secundarios indeseables. Por ello, hoy día, gracias al desarrollo de la inmunología, se tiende a cambiar la estrategia. La más prometedora es aquella que consiste en la producción de vacunas

artificialmente, mediante el uso del antígeno aislado en lugar de utilizar moléculas más complejas o microorganismos enteros. Muchas veces, no obstante, estos antígenos son débilmente inmunogénicos\*, o bien su producción es muy costosa. Por esta razón, se ha hecho necesario el desarrollo de adyuvantes potentes y seguros para su incorporación en tales vacunas sintéticas.

---

\*La inmunogenicidad se define como la capacidad de provocar la respuesta inmune. Así, los determinantes inmunogénicos son las estructuras propias del antígeno responsables de la producción de esta respuesta. Por otra parte, los determinantes antigénicos son aquellos capaces de reaccionar específicamente con los anticuerpos, sean o no responsables de su producción. Generalmente los determinantes inmunogénicos y antigénicos de un antígeno coinciden.

## 2.2. INMUNOCOADYUVANTES

Bajo este término se incluyen, tanto aquellas sustancias que aumentan la inmunogenicidad del antígeno (es decir, que facilitan la etapa de reconocimiento y/o presentación antigénica) que, en sentido estricto son los verdaderos inmunocoadyuvantes, como aquellas sustancias que estimulan la respuesta inmune, conocidas como inmunoestimulantes. En general, una misma sustancia puede mostrar tanto uno como otro efecto.

El desarrollo de los inmunocoadyuvantes ha sido empírico hasta hace poco tiempo, encontrándose que existe un gran número de sustancias capaces de estimular la respuesta inmune. Estas sustancias son muy diversas tanto en su composición como en su función, lo cual complica los intentos llevados a cabo para descubrir los mecanismos de esa acción. Por otra parte, esta diversidad hace que su clasificación sea complicada. Ocasionalmente se agrupan de acuerdo a su origen: mineral, bacteriano, vegetal, sintético o endógeno. También se han intentado clasificar por el mecanismo propuesto para ejercer su acción. Sin embargo, este tipo de clasificación es a veces arbitrario ya que la mayoría de tales sustancias o agentes parecen ejercer su acción por más de un mecanismo. Así pueden actuar facilitando la localización del antígeno o bien directamente sobre los macrófagos o los linfocitos. Quizá la más funcional sea aquella que los clasifica en adyuvantes bacterianos y no bacterianos, ya que una gran mayoría de ellos son productos de origen bacteriano.

### **2.2.1. Inmunocoadyuvantes de origen no bacteriano**

Entre los inmunocoadyuvantes de origen no bacteriano, podemos encontrar: sales de aluminio, polímeros sintéticos y liposomas. Este grupo de inmunocoadyuvantes han sido revisados en un reciente artículo<sup>(Warren, 1986)</sup>. Mientras que las sales de aluminio incrementan fundamentalmente sólo la inmunidad humoral y por contra provocan lesiones locales, los polímeros sintéticos se encuentran en su primera fase de desarrollo, aunque parecen ser unos candidatos prometedores para el futuro. Por otra parte, el uso de antígenos incluidos en liposomas potencia tanto la respuesta humoral como la celular. El mecanismo mediante el cual se produce esta estimulación no está totalmente claro, aunque parece ser debido, por un lado a la formación de un depósito del antígeno, y por otro a la presentación de éste en un ambiente hidrofóbico. La potencia de los liposomas además, puede aumentarse por inclusión de inmunocoadyuvantes de origen bacteriano junto con el antígeno. Más adelante se darán ejemplos de ello. Algunos autores<sup>(Baschang, 1989)</sup> sin embargo, no consideran estas sustancias como verdaderos inmunocoadyuvantes, reservándoles el nombre de transportadores.

### **2.2.2. Inmunocoadyuvantes de origen bacteriano**

Nuestro primer conocimiento de las propiedades inmunocoadyuvantes de las bacterias se deben a Lewis y Loomis<sup>(Adam, 1984)</sup>. Basado en sus observaciones, Freund<sup>(Freund, 1947)</sup> desarrolló en los años cuarenta un adyuvante constituido por micobacterias muertas suspendidas en una emulsión de agua en aceite. Este adyuvante conocido como "adyuvante completo de Freund" es todavía ampliamente utilizado en investigación animal. Sin embargo es demasiado tóxico para su uso clínico,

principalmente porque contiene aceite no metabolizable y las micobacterias producen una reacción granulomatosa severa.

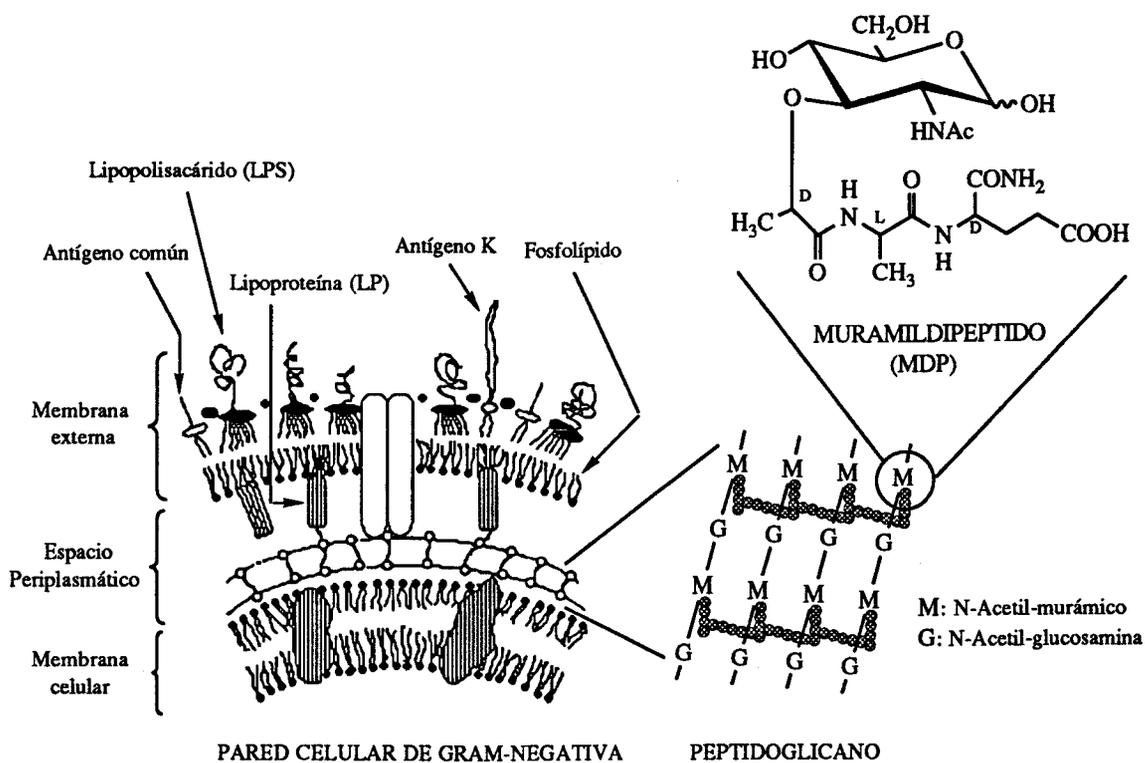
En un intento de identificar las sustancias químicas responsables de la actividad de las micobacterias muertas, se encontró en 1958(White, 1958) que fracciones liposolubles de bacterias podían reemplazar a las mismas en el adyuvante completo de Freund. Actualmente se sabe que esta actividad de la fracción liposoluble reside en los lipopolisacáridos (LPS), fundamentalmente el Lípido A, y en las lipoproteínas (LP). Ambos grupos se estudian en revisiones recientes(Baschang, 1989), (Warren, 1986).

Durante mucho tiempo se pensó que solamente los derivados liposolubles eran adyuvantes(Adam, 1984). Pero en 1972 se aislaron por primera vez adyuvantes solubles en agua procedentes de micobacterias. Adam y col.(Adam, 1972) obtuvieron un compuesto bien definido por hidrólisis con lisozima de las paredes celulares de *Mycobacterium smegmatis*. Compuestos similares se obtuvieron por diferentes investigadores a partir de otras micobacterias (*M. tuberculosis*)(Migliore, 1973). Todos estos adyuvantes hidrosolubles estaban compuestos en gran parte de peptidoglicano\*, constituyente clave de la pared celular bacteriana.

---

\* El peptidoglicano es un heteropolímero compuesto por cadenas polisacáridicas entrecruzadas a través de pequeños péptidos. La unidad polisacáridica del peptidoglicano es bastante uniforme. Normalmente consta de residuos alternados de N-acetil-D-glucosamina y ácido murámico (un 3-O-D-lactil éter de la D-glucosamina) ligados por uniones  $\beta(1\rightarrow4)$ . La unidad peptídica se enlaza a través de su grupo N-terminal al grupo carboxilo del ácido murámico, y contiene aminoácidos L y D alternativamente. Estas cadenas se unen entre sí directamente o a través de puentes de cortas cadenas peptídicas que pueden variar en su composición. La presencia de aminoácidos con la configuración D es un rasgo característico del peptidoglicano.

La degradación química y enzimática del peptidoglicano de muchas bacterias condujo a la conclusión de que la capacidad inmunoadyuvante es un rasgo común de las paredes celulares de la mayoría de las bacterias<sup>(Adam, 1974)</sup>, y permitió determinar que la fracción estructural mínima requerida para el mantenimiento de la actividad inmunoadyuvante<sup>(Ellouz, 1974)</sup>, <sup>(Kotani, 1975)</sup> es aquella compuesta por el ácido N-acetilmurámico unido al dipéptido L-alanil-D-isoglutamina. La síntesis posterior de este compuesto, N-acetilmuramil-L-alanil-D-isoglutamina (MDP, de muramildipéptido) confirmó esta observación<sup>(Merser, 1975)</sup> (Figura 4).



**Figura 4.** Muramildipéptido (MDP) como un elemento estructural del peptidoglicano, procedente a su vez, de la pared celular bacteriana

El descubrimiento de que no era necesaria una estructura polimérica compleja para la manifestación del efecto inmunoadyuvante, sino que basta con un elemento típico (MDP) de esa estructura, ha atraído desde entonces la atención de numerosos investigadores. En los últimos quince años, se han sintetizado miles de derivados y

análogos del MDP con objeto de conseguir moléculas más potentes, menos tóxicas y/o con un perfil farmacológico superior.

Antes de concluir este apartado conviene señalar que, desde un punto de vista evolutivo, parece razonable (si no esperable) que la constante exposición a las bacterias haya permitido que nuestro sistema inmune aprenda a reconocer componentes específicos de la bacteria como señales de alerta. Además, ya que lo primero que el organismo "ve" de una bacteria es su superficie, no debe extrañar que sean componentes de esa superficie (LPS, LP y MDP) los utilizados para tal fin.

### **3. MURAMILPEPTIDOS**

Esta intensa investigación ha dado como resultado una amplia familia de derivados y análogos del MDP que se engloban bajo el término de muramilpéptidos. Antes de iniciar su estudio conviene definir las bases biológicas sobre las que se asienta la actividad biológica manifestada por el propio MDP.

### **3.1. ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

Las propiedades biológicas que exhibe el MDP han sido revisadas por diferentes autores (Kotani, 1982 y Stewart-Tull, 1980). Entre ellas cabe destacar: (i) adyuvancia, (ii) estimulación de la resistencia inespecífica a la infección, (iii) pirogenicidad y (iv) somnogenicidad.

#### **3.1.1. Adyuvancia**

En Inmunología, un adyuvante se define como un agente capaz de inducir la respuesta inmune humoral o la celular o ambas.

### 3.1.1.1. INDUCCION DE INMUNIDAD HUMORAL

El MDP es capaz de inducir una respuesta humoral normal en presencia de antígenos con débil carácter inmunogénico, o en presencia de una pequeña cantidad de antígeno que por sí misma no induciría dicha respuesta. Este carácter adyuvante sólo se manifiesta en presencia del antígeno; así cuando el MDP se utiliza solo, no se observan alteraciones en los niveles de inmunoglobulinas. Por otra parte, el MDP (y sus derivados hidrosolubles) es capaz de inducir inmunidad humoral cuando se administra con un antígeno en solución salina (Audibert, 1976); es activo por vía oral e incluso cuando se administra por distinta ruta que el antígeno (Chedid, 1976).

Algunas veces, sustancias con muy débil carácter inmunogénico son unidas al MDP con buenos resultados. De esta forma, Bernard y col. (Bernard, 1987) describen una vacuna antiluteinizante totalmente sintética. Algunos ejemplos, recopilados por Audibert y col. (Audibert, 1981) son la toxina diftérica y el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B.

### 3.1.1.2. INDUCCION DE INMUNIDAD CELULAR

El MDP (y sus derivados hidrosolubles) no estimula la inmunidad mediada por células (CMI) cuando se administran en solución salina (Bonford, 1980). Para que esta estimulación se produzca es necesario el aumento de la lipofilia del MDP, el cual puede conseguirse por funcionalización química (ver Sección 3.2.3.) o por su incorporación en sistemas hidrófobos: la incorporación del MDP en emulsiones de agua en aceite mineral (un caso análogo al adyuvante de Freund), estimula la respuesta CMI (Bonford, 1980); lo mismo ocurre cuando se vehiculiza en liposomas (Masek, 1978) (ver Sección 2.2.1.).

### 3.1.1.3. MECANISMO DE LA ACCION ADYUVANTE

A pesar del alto número de publicaciones sobre las propiedades biológicas del MDP, no queda aún completamente claro la cuestión fundamental de cuál es el mecanismo de acción en la inducción de la respuesta inmune del MDP. El estudio sobre distintas células inmunocompetentes, sugiere que no existe un camino único que explique la diversidad de su comportamiento biológico.

Dado el papel clave que representa el macrófago en la producción de la respuesta inmune durante mucho tiempo se pensó que el mecanismo de acción del MDP estaba relacionado de alguna forma con él. Así, se ha demostrado que el MDP modifica muchas de las funciones del macrófago, entre ellas estimulando la fagocitosis<sup>(Tanaka, 1979)</sup>.

Por otra parte, podría pensarse que el MDP estimulara de forma directa la fase de reconocimiento antigénico (lo cual realiza de forma indirecta al aumentar la capacidad fagocítica del macrófago), pero no existen evidencias por el momento. No obstante, recientemente se han descrito<sup>(Tenu, 1989)</sup> receptores para el MDP en el interior del macrófago. La ausencia (o el muy bajo número) de receptores de membrana (externos) para el MDP en el macrófago es consistente con el hecho de que el MDP es liberado después de la fagocitosis de la bacteria y posterior ruptura de la pared celular bacteriana y demás eventos que tienen lugar dentro del macrófago<sup>(Vermeulen, 1984)</sup>. El MDP será, por tanto, presentado al macrófago principalmente a través de un mecanismo intracelular. Este hecho es asimismo consistente con los estudios farmacocinéticos realizados con el MDP<sup>(Williams, 1990)</sup> que han puesto de manifiesto que el MDP se excreta en orina sin alteración, en un 90% después de dos horas de su administración (esta rápida eliminación de la corriente sanguínea sugiere que o bien el MDP actúa inmediatamente a nivel celular o bien que bastan cantidades mínimas para su acción). De todas formas, la localización

intracelular de estos receptores para el MDP en el macrófago permanece sin definir, aunque no se puede excluir una interacción con el núcleo en vista de su capacidad para incrementar los niveles de ARNm de interleucina-1 (Vermeulen, 1987).

Por otra parte, se ha descrito que el MDP aumenta las funciones de las células  $T_H$  (Sugimoto, 1978) y la proliferación de linfocitos T (Iribe, 1984). Asimismo, es mitogénico para los linfocitos B (Damais, 1978), habiéndose encontrado recientemente que existen receptores para el MDP en la superficie de los linfocitos B activados para la producción de anticuerpos (Tenu, 1989), pero no en el resto de células B.

### 3.1.2. Otras propiedades biológicas

La acción ejercida por el MDP, fundamentalmente sobre el macrófago, implica la manifestación de una serie de efectos adicionales a la adyuvancia. Así, el aumento de la fagocitosis que produce, origina una **estimulación de la resistencia inespecífica a la infección**, hecho éste que fué demostrado por Chedid y col. (Chedid, 1977). Los derivados lipofílicos del MDP (Sección 3.2.3.) son más activos que el propio MDP, y se ha descrito que son activos incluso contra virus ADN y ARN (Leclerc, 1985).

Por otra parte, una consecuencia del aumento en la producción y liberación de IL-1 por el MDP es la manifestación de los efectos causados por ésta (ver Sección 2.1.2.2.). Como ya se indicó, el término interleucina-1 no define una única sustancia sino más bien, una familia de polipéptidos con distintos efectos. Entre estos se encuentran los denominados pirógeno endógeno (EP) y el factor activador de linfocitos (LAF). Se ha demostrado (Chedid, 1983) que el MDP produce tanto EP como LAF circulantes. La

producción de EP es la causa de la **pirogenicidad** manifestada por el MDP, aunque existe la posibilidad de una acción directa del MDP a nivel cerebral para producir esta acción. Así, recientemente se han descrito receptores específicos en el cerebro para el MDP (Silverman, 1989).

Otro efecto que presenta el MDP es la inducción de sueño de onda lenta (SWS). Aunque la **sonnogenicidad** es un efecto que produce la IL-1, se ha sugerido que el MDP podría promover el sueño por unión a receptores cerebrales para la serotonina (Masek, 1983). Esta relación del MDP con el sueño ha hecho converger a fisiólogos e inmunólogos en un mismo campo de investigación:

En 1910, el fisiólogo positivista H. Pieron consideraba que, durante el período de vigilia y actividad, el metabolismo de los tejidos produce una sustancia química que se acumula en el organismo y, cuando alcanza cierto grado de concentración, induce al cerebro a dormirse y al cuerpo a descansar. Para confirmar esta hipótesis, mantuvo a varios perros despiertos durante varias noches consecutivas, de forma que esta sustancia (a la que él denominó hipnotoxina) se acumulara en cantidad; la inyección intravenosa posterior de una muestra del líquido cefalorraquídeo de esos perros en otros que habían dormido normalmente producía en éstos un profundo sueño. Posteriormente (en 1939), Schnedorf e Ivy comprobaron que esta hipnotoxina era también pirogénica. Ya en 1975, Pappenheimer (Pappenheimer, 1975) repite estos experimentos, con la variante de extraer el líquido cefalorraquídeo de cabras para inyectarlo en perros, demostrando que la hipnotoxina (a la que él denominó Factor S) es interespecífica. Además, Pappenheimer y col. (Krueger, 1982a) aíslan en 1982 este factor S (S de sleep) de la orina y cerebro de animales privados de sueño y la identifican como un muramilo péptido de bajo peso molecular (aproximadamente 1000 D). Asimismo, comprueban que el MDP sintético induce el sueño de onda lenta (Krueger, 1982b).

### 3.1.3. Muramilpéptidos como vitaminas

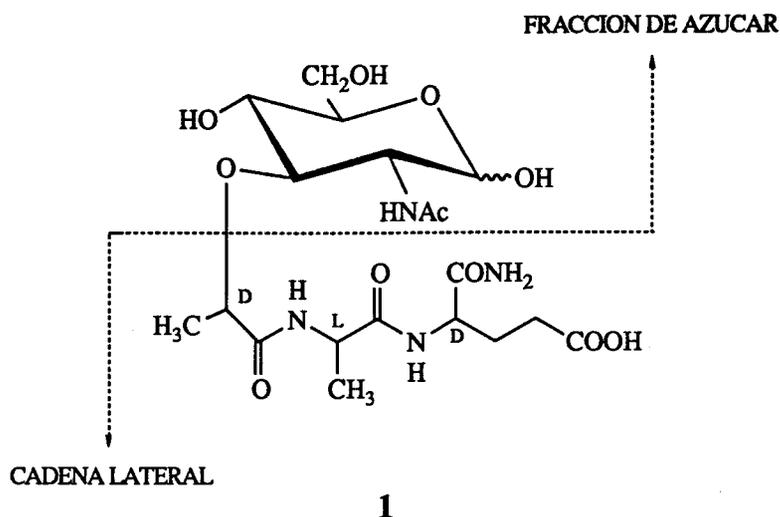
El papel natural de los fragmentos de peptidoglicano en la inmunoestimulación explica el porqué los animales "libres de gérmenes" y, en menor extensión, los animales recién nacidos son altamente susceptibles a la infección: su sistema inmune probablemente necesite la estimulación por productos bacterianos (muramilpéptidos) para llegar a ser completamente operativo. De acuerdo con esta hipótesis, asimismo, está el hecho de que los animales recién nacidos no sólo son susceptibles a la infección, sino que no presentan sueño de onda lenta. Esto hace que el Prof. Lederer y sus colaboradores (Adam, 1984) consideren a los muramilpéptidos como una nueva categoría de vitaminas: compuestos trazas, derivados de la comida (o de la flora intestinal) e indispensables para la salud normal (status inmune y sueño) de nuestro organismo.

### 3.2. RELACION ESTRUCTURA-ACTIVIDAD

Dada la importancia y variedad de efectos biológicos manifestada por el MDP no es de extrañar que su estructura haya servido como modelo o prototipo para la preparación de una amplia familia de análogos y derivados. El objetivo buscado es, por un lado, definir la relación estructura-actividad, esto es, conocer los rasgos estructurales presentes en la molécula de MDP que son imprescindibles para su actuación biológica. Por otro lado, y en parte coincidente con lo anterior, se trata de la obtención de sustancias más activas, con actividades biológicas disociadas, eliminación de efectos secundarios, etc.. Es decir, llegar a conseguir sustancias que puedan ser usadas clínicamente.

En este sentido, cabe destacar que actualmente se encuentran en fase clínica de estudio algunos análogos que no presentan pirogenicidad ni somnogenicidad para su utilización en vacunas como adyuvantes potentes y seguros.

A continuación se exponen las principales modificaciones introducidas en la molécula de MDP, así como los resultados obtenidos con éstas. Para el estudio detallado de las modificaciones, consideraremos la molécula de MDP (**1**), como compuesta de dos partes: la cadena lateral de naturaleza peptídica y la fracción de N-acetil-D-glucosamina.



Las modificaciones introducidas en cada una de las partes las estudiaremos por separado. Por otro lado, una de las líneas de investigación que ha resultado muy fructífera es la que ha conducido a la preparación de derivados lipofílicos del MDP. Debido a su importancia la consideraremos aparte, independientemente de cual sea la posición o función modificada.

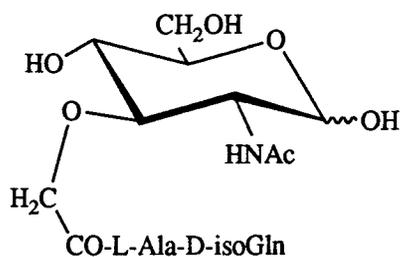
### 3.2.1. Modificaciones en la cadena lateral

En primer lugar, el punto de unión de la cadena de naturaleza peptídica al azúcar es crítico. Necesariamente el enlace éter del resto de ácido láctico debe ser con el oxígeno de la posición 3 del azúcar. Los isómeros posicionales donde la unión se realiza en C-4 o C-6 son inactivos (Hasegawa, 1981a).

En segundo lugar, la configuración de los centros quirales de la cadena también es crítica. El resto de ácido láctico debe ser de configuración D, el primer aminoácido debe ser necesariamente L, y el segundo necesariamente D. Así, el derivado N-acetilmuramyl-D-alanyl-D-isoglutamina (MDP-D-D) no solo es inactivo, sino que bajo ciertas condiciones experimentales es un antagonista del MDP (Adam, 1976) e inmunosupresor (Chedid, 1976).

También es inactivo el compuesto N-acetilmuramil-L-alanil-L-isoglutamina (MDP-L-L)(Adam, 1976), (Kotani, 1976).

En tercer lugar, los residuos ácidos que forman la cadena lateral pueden en algunos casos cambiarse, respetando lo dicho anteriormente para las configuraciones. El resto de ácido láctico puede ser cambiado por ácido acético: al compuesto se le denomina nor-MDP (2), y es menos activo(Adam, 1976) pero también menos tóxico(Dukor, 1979) que el MDP. Este hecho es frecuentemente mencionado en literatura de patentes.

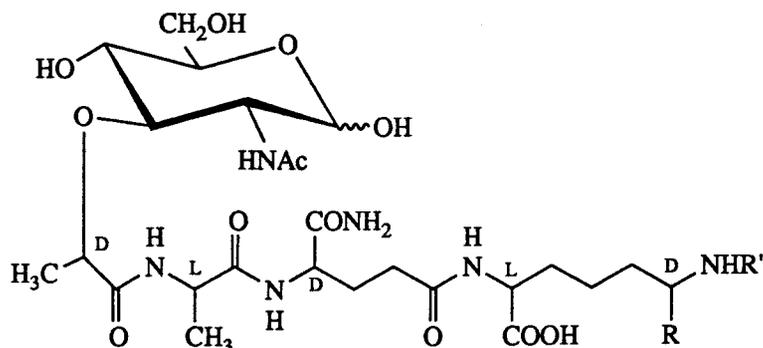


La L-alanina se puede reemplazar por diversos L-aminoácidos (o glicina): los análogos con L-serina, L-valina y ácido L-aminobutírico parecen ser más activos que el propio MDP(Dukor, 1979).

El residuo de ácido D-glutámico es, en cambio, esencial: el análogo con ácido D-aspártico(Adam, 1976), (Kotani, 1976) es inactivo. La funcionalización del D-glutámico es importante. Por ejemplo, el grupo  $\alpha$ -amido presente en el MDP no es esencial para la actividad(Audibert, 1976). La N-metilamida es activa(Chedid, 1976), mientras que la N,N-dimetilamida es inactiva(Adam, 1984). Por otra parte, los ésteres  $\gamma$ -metílicos y  $\alpha,\gamma$ -dimetílicos son fuertemente activos(Chedid, 1976).

Los compuestos con cadenas largas de péptidos, tales como el MDP-L-Lys (3), el MDP-meso-Dap (4), y el muramilpentapéptido MDP-meso-Dap-D-Ala-D-Ala (5), son

adyuvantes activos (Adam, 1974). Las largas cadenas presentes en estos compuestos mimetizan a los derivados naturales obtenidos por tratamiento hidrolítico de las paredes bacterianas.



Derivado	R	R'
3	H	H
4	CONH <sub>2</sub>	H
5	CONH <sub>2</sub>	D-Ala-D-Ala

### 3.2.2. Modificaciones en la fracción de azúcar

Con el fin de sistematizar las modificaciones más importantes, las podemos plantear en tres niveles: (i) funcionalización de los distintos hidroxilos del aminoazúcar, (ii) cambio de los heteroátomos del aminoazúcar por otras funciones y (iii) cambios configuracionales.

#### 3.2.2.3. FUNCIONALIZACION DE LOS HIDROXILOS DEL AZUCAR

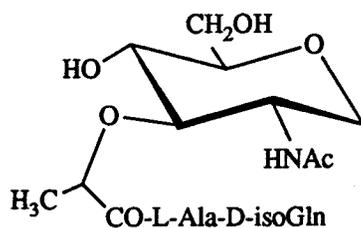
El aprovechamiento de la distinta reactividad de los diferentes hidroxilos presentes en el azúcar ha dado lugar a la síntesis de numerosos compuestos. Así, la acilación del

oxígeno anomérico con diferentes ácidos grasos ha conducido a sustancias activas(Hasegawa, 1983a). Por otra parte, se han obtenido numerosos glicósidos, tanto  $\alpha$  como  $\beta$  utilizándose diferentes aglicones. La naturaleza y el estado anomérico del aglicón puede influir profundamente en la actividad biológica de la sustancia. Así el metil  $\beta$ -glicósido es un adyuvante más potente que el correspondiente  $\alpha$ -glicósido(Nagai, 1978). Con una orientación diferente, se han preparado los  $\omega$ -aminoalquil  $\beta$ -glicósidos del MDP(Pompipom, 1983); el grupo terminal se condensó con un antígeno polisacárido de meningococo para realzar su carácter inmunogénico. Es decir, el aglicón se ha utilizado como nexo de unión entre el inmunoadyuvante y el antígeno.

En otro sentido, el hidroxilo en C-6 también ha sido acilado o alquilado. Mientras que la acilación ha originado numerosos compuestos activos, la alquilación conduce generalmente a compuestos inactivos(Okumura, 1983).

#### 3.2.2.2. CAMBIO DE LOS HETEROATOMOS DEL AZUCAR

La sustitución de un hidroxilo o el grupo acetamido por otros radicales ha conducido, asimismo, a la síntesis de numerosos compuestos. Los casos estructuralmente más simples son los de la obtención de desoxiazúcares. Así, el cambio del OH anomérico por hidrógeno da lugar al 1-desoxi-MDP (6), de actividad adyuvante comparable al propio MDP(Durette, 1982). Cuando la modificación se efectúa en C-4 o C-6 se obtienen productos inactivos(Durette, 1982), (Hasegawa, 1981b). Asimismo, el cambio del grupo acetamido por hidrógeno, cambio que origina el 2-desoxi-MDP(Hasegawa, 1981c), conduce a un compuesto inactivo.

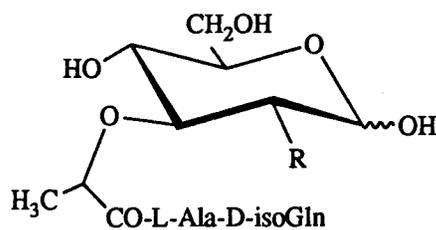


6

Otra línea muy fructífera ha sido la de cambiar algún grupo OH por SH o por NH<sub>2</sub> (cambios isostéricos). En este sentido, se ha sustituido por azufre el oxígeno anomérico y el oxígeno de las posiciones 3, 5 y 6 del azúcar. Mientras que la sustitución en C-1 conduce a un compuesto (1-tio-MDP)(Hasegawa, 1982a) de actividad comparable a la del MDP, la sustitución en C-3, C-5 o C-6 conduce a compuestos poco activos o inactivos(Hasegawa, 1984a), (Hasegawa, 1983b).

Los cambios de oxígeno por nitrógeno se han efectuado en C-3(Calvo, 1986a), (Calvo, 1986b) y en C-6(Hasegawa, 1980a), (Hasegawa, 1980b), (Hasegawa, 1982b), originando en este último caso compuestos activos. En cambio, la sustitución del oxígeno anomérico por nitrógeno(Durette, 1982) conduce a sustancias inactivas.

Finalmente es interesante considerar el cambio del grupo acetamido en C-2 por otros grupos. Así, la sustitución de dicho grupo por un grupo amino (desacetil-MDP), metilamina, amida sustituida (metilacetamida) o hidroxilo conduce a compuestos activos (7-10)(Hasegawa, 1981a),(Hasegawa, 1981c). Sin embargo, como ya se ha mencionado, no puede cambiarse por hidrógeno (11). Estos y otros resultados obtenidos sugieren que la presencia de grupos capaces de participar en enlaces por puentes de hidrógeno es esencial para la actividad.



Derivado	R
7	NH <sub>2</sub>
8	NHMe
9	N(Me)Ac
10	OH
11	H

### 3.2.2.3. CAMBIOS CONFIGURACIONALES

El último nivel de modificación de la fracción azucarada del MDP que consideramos consiste en cambios configuracionales realizados. Hasegawa y col. (Hasegawa, 1981a), (Kiso, 1980), (Hasegawa, 1978) han sintetizado los derivados *D-alo*, *D-gulo*, *D-galacto*, *D-mano* y *L-ido*. Sólo los derivados *D-mano* y *D-galacto*, epímeros en C-2 y C-4 del compuesto natural, muestran actividad. Estos resultados sugieren que la configuración de los centros C-3 y C-5 es crítica para la manifestación de la actividad biológica, mientras que la de C-2 y C-4 es poco importante. Por otra parte el enantiómero del compuesto natural, derivado de la L-glucosa es inactivo (Hasegawa, 1981a). Asimismo es importante señalar que es fundamental la presencia del carbono C-6 funcionalizado con las posibilidades antes comentadas, ya que el derivado de la D-xilosa es inactivo.

### 3.2.3. Derivados lipofílicos del MDP

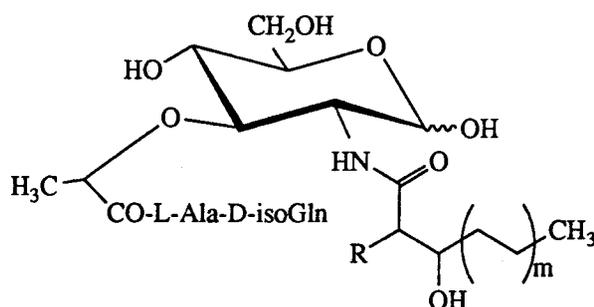
Como ya se ha mencionado, el MDP aumenta la respuesta humoral incluso cuando se administra en solución salina, aunque la estimulación de la respuesta inmune mediada por células (CMI) requiere la presencia de un ambiente lipófilo. Así, el adyuvante completo de Freund debe, al menos en parte, su actividad sobre la CMI a la presencia de aceite mineral (ver Sección 2.2.2.). Para evitar los inconvenientes del aceite mineral (el cual no es metabolizable), se tiende por una parte, a su sustitución por otros sistemas lipófilos, tales como los liposomas (ver Sección 2.2.1.) y por otra a la funcionalización química con grupos lipófilos de la propia molécula de MDP, lo que ha dado origen a un amplio grupo de derivados y análogos lipofílicos del MDP. Con frecuencia, estos derivados lipofílicos del MDP se preparan para su incorporación en liposomas, consiguiéndose los adyuvantes más potentes. Por otra parte, los derivados lipofílicos del MDP presentan una marcada actividad antitumoral, casi inexistente en el MDP. Por último, recientemente se está estudiando la posibilidad de la utilización de tales derivados como tratamiento del SIDA, habiendo aparecido en los últimos años numerosas patentes y publicaciones a este respecto. Por todo ello, la síntesis y el estudio de este tipo de derivados es de gran interés.

La introducción de una cadena lipofílica en C-6 del resto de N-acetil-D-glucosamina del MDP conduce a compuestos tales como 6-O-micolil-MDP, 6-O-nocardomicolil-MDP y 6-O-corinomicolil-MDP, investigados por diferentes autores japoneses (Azuma, 1978), (Shiba, 1978), (Vemiya, 1979), (Inage, 1980) que exhiben fuerte actividad antitumoral y son sólo débilmente pirogénicos.

Compuestos más simples como el 6-O-estearoil-MDP se muestran muy activos (Kusumoto, 1978). La introducción de la cadena lipofílica en C-6 a través de una

función amida (6-O-acilamido-MDP)(Hasegawa, 1980a), (Hasegawa, 1980b), (Hasegawa, 1982b) conduce también a compuestos antitumorales basados en la fuerte estimulación de la inmunidad celular.

Por otra parte, los 2-acilamido análogos en los que el resto acilo proviene de ácidos grasos de cadena lineal, en lugar del resto acetilo natural, son compuestos con capacidad antitumoral o, al menos, supresores del crecimiento tumoral(Hasegawa, 1980b), (Okumura, 1982), (Kiso, 1981). El nitrógeno en C-2 también se ha acilado con restos ácidos presentes en el Lípido A(Kiso, 1981), componente de los lipopolisacáridos de las paredes bacterianas (ver Sección 2.2.2.). Los compuestos así obtenidos (12-15), son fuertemente activos.

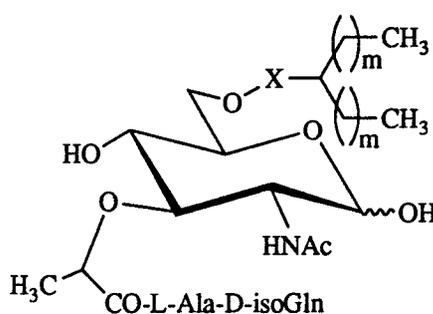


Derivado	R	m
12	H	5
13	H	6
14	H	7
15	(CH <sub>2</sub> ) <sub>13</sub> CH <sub>3</sub>	7

La cadena lipofílica puede ser introducida en C-1, bien como éster(Hasegawa, 1983a) o como tioéster(Hasegawa, 1982a), (Hasegawa, 1983c), (Hasegawa, 1984b) presentando en ambos casos actividad inmunoadyuvante y antitumoral. Asimismo, la alquilación del azufre anomérico del 1-tio-MDP ya mencionado, con cadenas grasas conduce a productos activos(Hasegawa, 1983c).

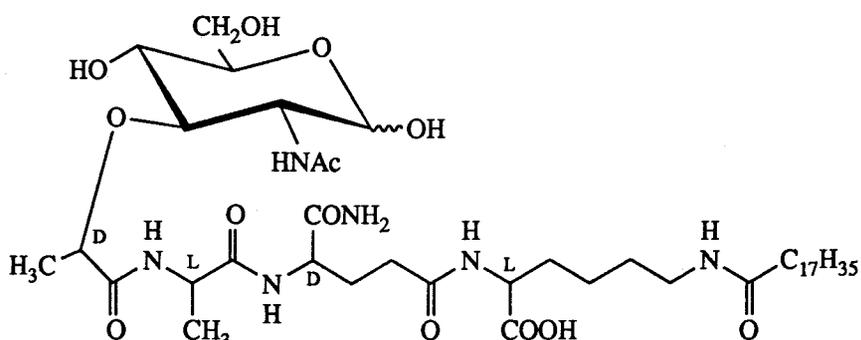
Entre los derivados grasos de cadenas complejas cabe destacar el B30-MDP (6-O-(2-tetradecilhexadecanoil)-MDP) (**16**), el cual ha sido propuesto como un candidato seguro y potente adyuvante para mejorar la eficacia de las vacunas<sup>(Kotani, 1982)</sup>. El derivado 6-O--(2-docosiltetracosanoil)-MDP (**17**), muestra potente actividad en los test como supresor de tumores<sup>(Kusumoto, 1978)</sup>.

En un afán de mimetizar las estructuras externas bacterianas, aunque simplificando su complejidad, Imoto y col.<sup>(Imoto, 1986)</sup> sintetizaron el 6-(2-docosiltetracosil hidrogenofosfato)-MDP (**18**), compuesto que guarda gran similitud con **17**. Ambos productos responden de forma similar al test supresor de tumores, pero **18** se muestra muy activo en el test de la regresión tumoral, para el cual es inactivo **17**. La evaluación de la capacidad antitumoral por el test de la regresión tumoral es más cercano a las condiciones actuales de la inmunoterapia clínica. A la luz de estos resultados se podría especular que el parecido estructural entre el compuesto **18** y los fosfolípidos podría ser el responsable de su alta actividad biológica, basándose en la facilitación de la interacción del compuesto con las membranas de las células animales<sup>(Imoto, 1986)</sup>.



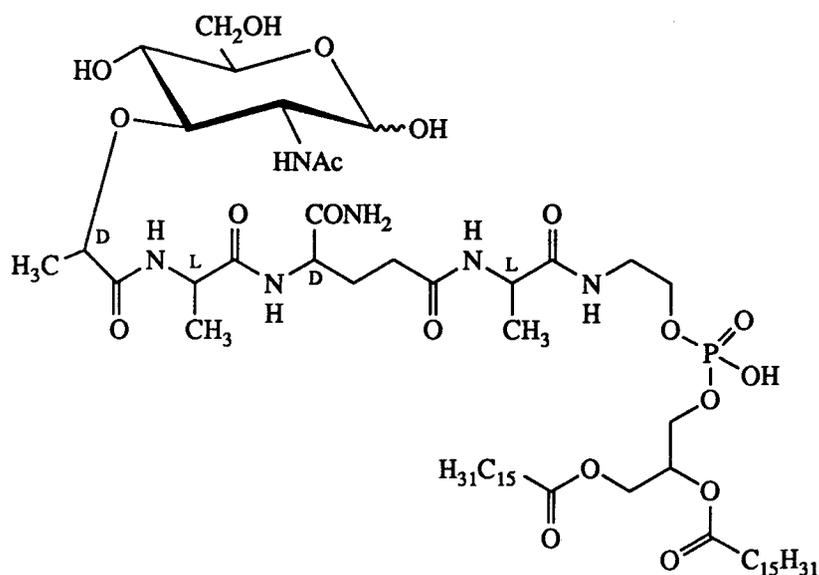
Derivado	X	m
<b>16</b>	-CO-	13
<b>17</b>	-CO-	21
<b>18</b>	-PO <sub>2</sub> (OH)-	21

Un tipo diferente de derivados lipofílicos complejos del MDP es el que porta la unidad lipídica al final de la cadena peptídica. El derivado MDP-L-Ala-glicerol-micolato produce una fuerte estimulación de la resistencia inespecífica contra infecciones bacterianas (Lefrancier, 1979), (Parant, 1980) y conduce a una marcada respuesta de hipersensibilidad, incluso cuando se administra en solución salina (Carelli, 1981). Un derivado especialmente interesante es el llamado muroctasin (MDP-Lys-L18) (19), el cual no presenta muchos de los efectos secundarios del MDP, y actualmente está en fase clínica de estudio (Tsubura, 1989).



19

Muchos derivados lipofílicos del MDP se han incorporado en liposomas con excelentes resultados. Este es el caso de MTP-PE (MDP-L-Ala-[1',2'-dipalmitoil-sn-glicerol-3'-hidroxifosforil]-oxietanolamina) (20) (Sackmann, 1981). Cuando esta sustancia se administra en liposomas, puede erradicar metástasis pulmonares después de repetidas inyecciones. Recientemente (Lazdins, 1990) se ha demostrado que este derivado (MTP-PE) es activo *in vitro*, tanto profiláctica como terapéuticamente, contra el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) ya sea administrado solo ó, mejor aún, incorporado en liposomas, por lo que podría suponer una esperanza para el tratamiento del SIDA.



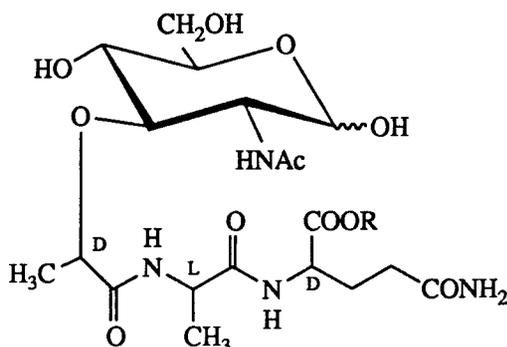
20

### 3.2.4. Disociación de actividades

Los diversos efectos del MDP y sus derivados pueden ser disociados, dependiendo de su estructura química.

En principio se creyó que adyuvancia y pirogenicidad estaban asociadas, ya que sólo los análogos activos como adyuvantes eran capaces de producir una respuesta febril en los animales de experimentación (Kotani, 1976). Por tanto, era importante modificar la estructura de modo que disminuyera la pirogenicidad, mientras que se mantuvieran las propiedades adyuvantes. Esto se ha conseguido: partiendo de la observación de que la modificación química de la funcionalización del residuo D-glutamil podía conducir a compuestos menos pirogénicos, se sintetizó una serie de análogos en los que la D-isoglutamina se sustituyó por ésteres alquílicos de D-glutamina de diversos tamaños (con cadenas alquílicas desde uno hasta diez átomos de carbono) (Lefrancier, 1982). Todos estos análogos son adyuvantes y son mucho menos pirogénicos que el MDP. Entre ellos, los

más interesantes resultaron ser los ésteres metílicos y n-butílicos, que dan lugar a los llamados murametide (21) y murabutide (22) respectivamente.



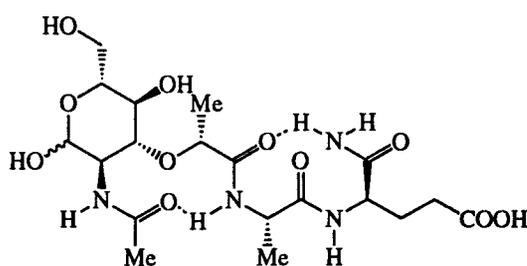
Derivado	R
21	CH <sub>3</sub>
22	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>

Estos compuestos no producen ninguna respuesta febril ni siquiera cuando se inyectan por vía intracerebroventricular y, sin embargo, son tan activos como adyuvantes y tan potentes como el MDP para estimular la resistencia inespecífica (Chedid, 1982). Las aplicaciones clínicas de estos compuestos (fundamentalmente murabutide) en vacunas están en estudio (Warren, 1986).

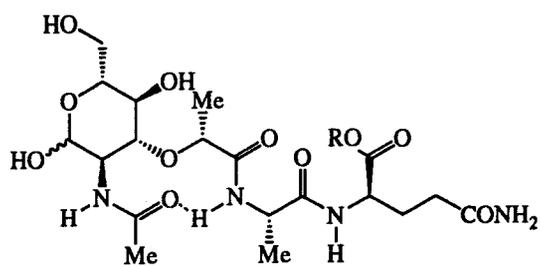
Además, curiosamente, estos compuestos tampoco son somnogénicos. Parece ser que el desplazamiento del grupo amido desde la posición  $\alpha$  del residuo de D-glutamil a la posición  $\gamma$  conduce a compuestos sin actividad somnogénica. Por ello, se ha sugerido que pueden existir enzimas en nuestro organismo que, mediante su actividad sobre grupos amido, controlan la actividad somnogénica del MDP (y sus derivados) (Lefrancier, 1987).

Mediante estudios de <sup>1</sup>H-RMN sobre la conformación de la molécula de MDP en solución (Sizun, 1988), (Femandjian, 1987) se ha demostrado la existencia de dos hélices  $\beta$

adyacentes, gracias a la formación de dos puentes de hidrógeno intramoleculares: uno entre el NH de la L-Ala y el grupo acetilo en posición 2 del aminoazúcar, y otro entre el grupo  $\alpha$ -carboxamido del residuo de D-isoGln y el grupo carbonilo de la L-Ala, tal y como se muestra en la Figura 5. En los  $\alpha$ -alquil ésteres, **21** y **22**, sólo se observa la primera hélice  $\beta$ , por lo que se cree que la conformaciones en solución de estos compuestos podrían estar íntimamente ligadas a sus propiedades biológicas<sup>(Sizun, 1988)</sup>.



MDP



**21**, R = Me, Murametide  
**22**, R = n-Bu, Murabutide

El uso de análogos ha permitido también la disociación entre adyuvancia y inducción de resistencia inespecífica a las infecciones. La diamida del MDP es adyuvante pero no estimula la resistencia inespecífica; la N,N-dimetilamida es inactiva en ambos test. Mientras que derivados sustituidos con L-aminoácidos, tales como MDP-L-Ala, MDP-L-Lys ó MDP-L-Lys-L-Ala, son completamente activos como adyuvantes y en la protección contra infecciones bacterianas, el derivado MDP-D-Ala ó incluso el muramiltetrapéptido MDP-L-Lys-D-Ala (el cual es similar al constituyente natural de muchos peptidoglicanos) son adyuvantes, pero no presentan actividad antiinfecciosa<sup>(Audibert, 1977)</sup>.



Por último, indicar que, a medida que se están conociendo los resultados del estudio de la relación estructura-actividad (el cual está aún lejos de estar terminado), y se está consiguiendo una completa disociación de los diversos efectos biológicos que presentaba la molécula original de MDP, van apareciendo con mayor frecuencia en la bibliografía nuevos análogos y derivados de éste, cuya síntesis se encuentra protegida bajo patentes, pertenecientes fundamentalmente a grandes laboratorios farmacéuticos internacionales. A modo de ejemplo, se recoge en la bibliografía las últimas patentes aparecidas de los laboratorios SANDOZ(Dukor, 1991), DAIICHI(Kuroda, 1991), MERCK(Durette, 1990), TOHO PHARMACEUTICAL INDUSTRIES(Hasegawa, 1990), CIBA-GEIGY(Baschang, 1988) y BAYER(Lockhoff, 1988).

#### **4. OBJETIVOS, SINTESIS Y CARACTERIZACION**

## **4.1.OBJETIVOS**

El objetivo que se ha pretendido cubrir con la realización de la presente Tesis Doctoral ha sido triple. A continuación se expone cada uno de ellos.

### **4.1.1. Síntesis de nuevos análogos conformacionalmente rígidos de muramildipéptido (MDP), murametide y murabutide.**

La actividad biológica de la mayoría de los fármacos se debe a mecanismos de acción químicos. En tales casos los fármacos son de acción muy potente; es decir, que actúan a dosis muy pequeñas, estando relacionada la acción farmacológica con la presencia de ciertos grupos funcionales que interaccionan con estructuras macromoleculares conocidas como receptores.

Los receptores son macromoléculas, generalmente de naturaleza proteica, situados normalmente en la superficie, pero también en el interior de la célula efectora (biofase), con los cuales interacciona la sustancia biológicamente activa para producir una respuesta determinada.

La interacción neta fármaco-receptor es el resultado de la suma de numerosas interacciones débiles de diversa naturaleza entre los grupos funcionales del fármaco, adecuadamente insertos en una estructura hidrocarbonada, y los del receptor. Para que sea

eficaz debe establecerse un número suficiente de interacciones, por lo que ambos, fármaco y receptor, deben ser complementarios.

Como por otra parte, y según se ha dicho, los receptores son de naturaleza proteica, con un alto grado, por tanto, de información quiral, se comprende la repercusión que las características estereoquímicas de una sustancia tienen sobre su actividad biológica.

Tal repercusión ha quedado de manifiesto, en lo que respecta al MDP, en el apartado anterior (Apartado 3.2) en el que se comenta cómo cambios configuracionales en determinados centros quirales del MDP conducen a pérdida de actividad.

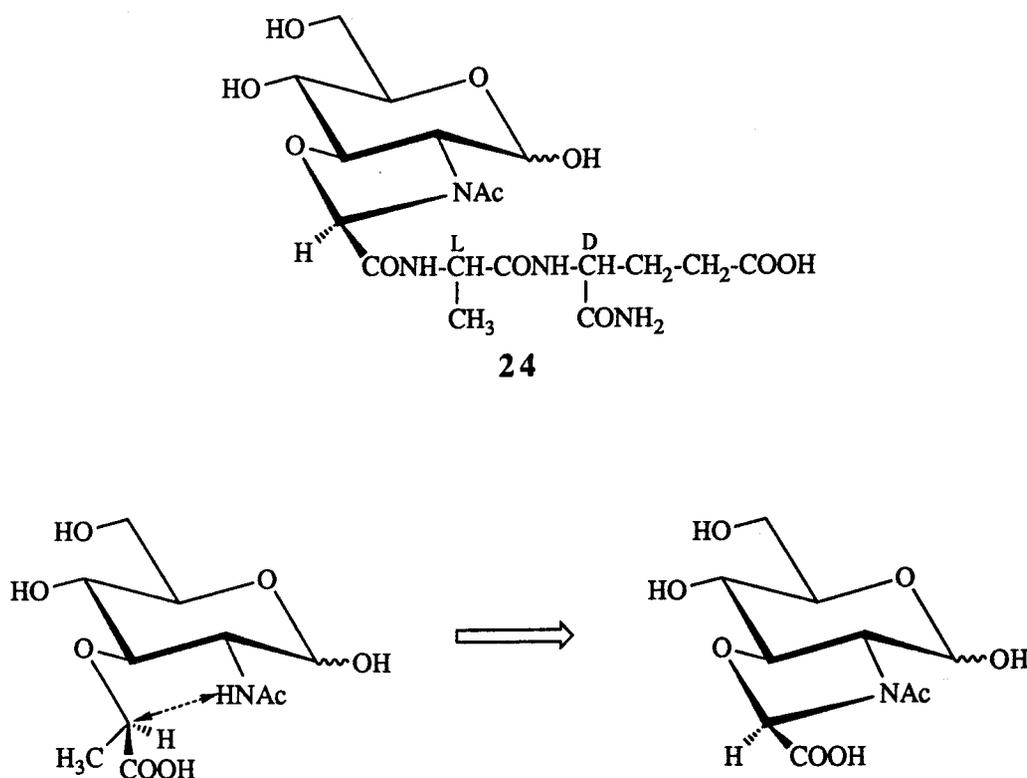
El grado de asimetría del receptor suele ser tan grande y la necesidad de su complementariedad con el fármaco tan estricta, que éste no solo debe ser de configuración definida sino que interacciona con el receptor a través de una o muy pocas de sus conformaciones posibles. En fármacos conformacionalmente flexibles esto puede significar una pérdida de eficacia, ya que la conformación complementaria al receptor (conformación farmacófora) puede no ser la más estable de las posibles que el fármaco pueda adoptar y, por tanto, no será la más abundante en el equilibrio.

Efectivamente el MDP es un fármaco que responde a esta situación, al menos en cuanto a flexibilidad conformacional se refiere. Es evidente que si se consiguiera "congelar" el equilibrio, fijando de alguna manera la conformación (o una de las conformaciones) reactiva(s), se obtendría un compuesto que exhibiría una gran actividad, al mismo tiempo que suministraría información acerca de los receptores con los que interacciona el MDP (Sección 3.1.1.3.) para ejercer las acciones que presenta.

En síntesis, la cuestión estriba en obtener sustancias análogas al prototipo (MDP) menos flexibles conformacionalmente, rigidez conformacional que se puede alcanzar mediante la formación de ciclos.

Esta ha sido la principal idea que ha guiado la realización de la presente Memoria, en la que se describe la síntesis de cinco análogos conformacionalmente rígidos del MDP.

La sustancia **24** es un análogo rígido del MDP. Formalmente puede considerarse derivada de él mediante la formación de un enlace entre el carbono 2 del resto de ácido láctico de la cadena lateral y el nitrógeno de la posición 2 del aminoazúcar, tal como se presenta en la Figura 6. Esto supone la formación de un anillo de oxazolidina condensado con el aminoazúcar. Por lo demás, posee los rasgos constitucionales y configuracionales propios del MDP, con la excepción de no ser derivado del ácido láctico (R=Me) sino del ácido 2-hidroxiacético (R=H) siendo éstos menos tóxicos (Sección 3.2.1.).



En la Figura 7 se muestra la proyección de Newman alrededor del enlace O3-C3 del azúcar, tanto del compuesto natural (MDP) como de la sustancia **24**. Se observa cómo el resto de lactoildipéptido, representado por X, que antes podía ocupar, en principio, todas las posiciones punteadas (Figura 7a), queda obligado a ocupar una única posición en el espacio por la creación de un nuevo enlace C-N que supone la formación del anillo de oxazolidina (Figura 7b).

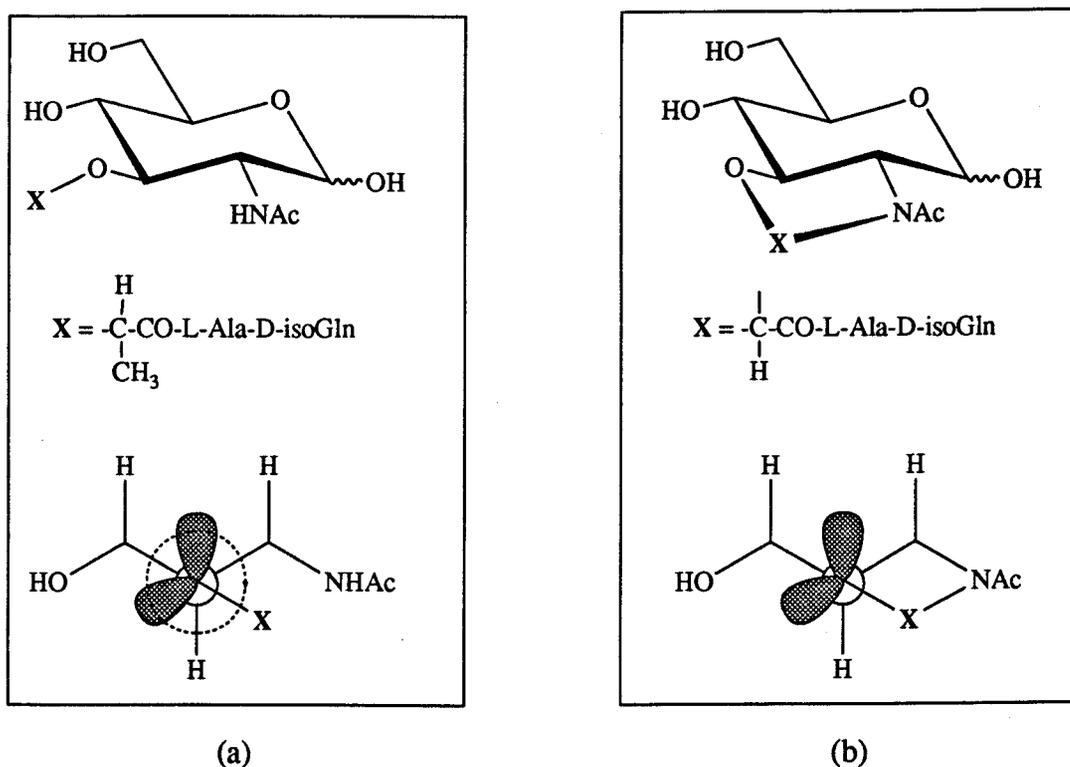
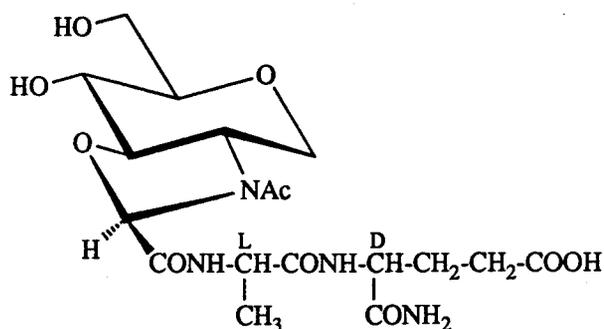


Figura 6

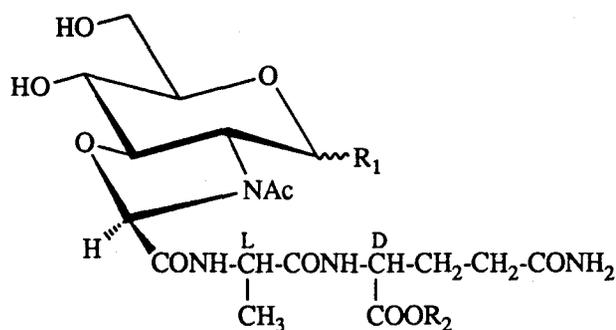
Como se ha comentado (Sección 3.2.2.2), los derivados del MDP en los que el hidroxilo anomérico ha sido sustituido por hidrógeno, modificación que da lugar a los 1-desoxi-MDP, son sustancias activas, cuya síntesis se encuentra a menudo protegida bajo patentes (Durette, 1990) (Hasegawa, 1990). Por ello también se ha planteado como objetivo de esta Memoria la síntesis del correspondiente análogo rígido del 1-desoxi-MDP, **25**.



25

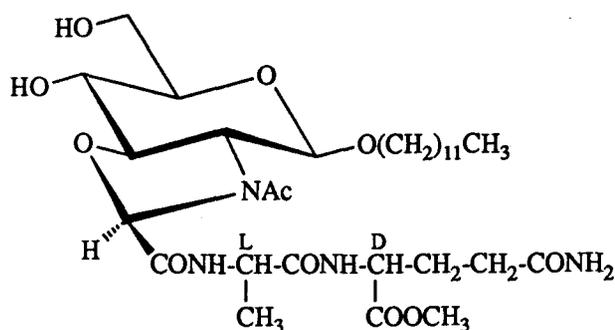
La razón por la que se aborda la síntesis de esta sustancia es la siguiente: Dada la existencia de un anillo de oxazolidina condensado con el aminoazúcar, es lógico pensar que en estos análogos rígidos del MDP como **24**, el equilibrio forma hemiacetálica ↔ forma aldehídica libre esté más desplazado hacia la derecha que en el compuesto natural (MDP). Ello introduce un factor de incertidumbre a la hora de analizar unos resultados biológicos hipotéticamente negativos de los análogos rígidos del MDP sintetizados en esta Memoria, ya que se podrían atribuir a la presencia del anillo de oxazolidina, cuando es posible que se debieran a la mayor proporción de forma aldehídica en el equilibrio. Dicho de otra manera, la restricción del equilibrio conformacional aumenta la posibilidad de desplazar el equilibrio constitucional.

Puesto que el cambio del residuo de D-isoglutamina por ésteres alquílicos de D-glutamina conduce a derivados del MDP con un mejor perfil farmacológico (así por ejemplo, los denominados murametide y murabutide, ésteres metílico y butílico respectivamente, no presentan pirogenia -Sección 3.2.4), nos propusimos la introducción de dicha modificación en los análogos rígidos del MDP ya mencionados, **24** y **25**. Así se ha procedido a la síntesis de las sustancias **26**, **27** y **28**, que se pueden considerar formalmente como análogos rígidos del murametide (**26** y **28**) y del murabutide (**27**).



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
26	OH	CH <sub>3</sub>
27	OH	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>
28	H	CH <sub>3</sub>

Por otra parte, también ha quedado de manifiesto que la introducción de cadenas lipofílicas en el MDP origina generalmente sustancias con una mayor actividad que el propio prototipo (Sección 3.2.3). Asimismo, se ha comentado que los derivados del MDP en los que el hidroxilo está bloqueado en forma de glicósido (preferentemente  $\beta$ -anómero) son sustancias activas (Sección 3.2.2.1). Por ello, y teniendo en cuenta todo lo anteriormente expuesto, nos propusimos finalmente la síntesis de una sustancia que aunara todos los rasgos considerados: rigidez conformacional como modificación básica, presencia de glicósido para mantener la "forma", presencia de grupos que aumenten la lipofilia de la molécula y sustitución del residuo de D-isoglutamina por un éster alquílico de D-glutamina. Se trata de la síntesis de la sustancia **29**, formalmente análogo rígido lipofílico de murametide.



29

#### 4.1.2. Determinación estructural

La formación del anillo de oxazolidina condensado con el aminoazúcar provoca la aparición de un nuevo centro quiral en la molécula -el carbono en posición 2 de dicho anillo-, existiendo por tanto la posibilidad de obtener los dos isómeros (véase Figura 6). No obstante, y como se verá más adelante, sólo se obtiene uno de ellos.

La determinación configuracional de este tipo de compuestos se ha visto dificultada por la imposibilidad de obtener un buen cristal que permitiera abordar su estudio mediante difracción de rayos X. Además, la utilización de la resonancia magnética nuclear de protones con este fin era, en principio, inabordable debido a la complejidad que presentan los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN de estas sustancias, complejidad motivada por la presencia a temperatura ambiente de isómeros conformacionales de la función amida en la posición 3 del anillo de oxazolidina (Figura 8), lo que da lugar a la aparición de dobles señales para todos los protones cercanos.

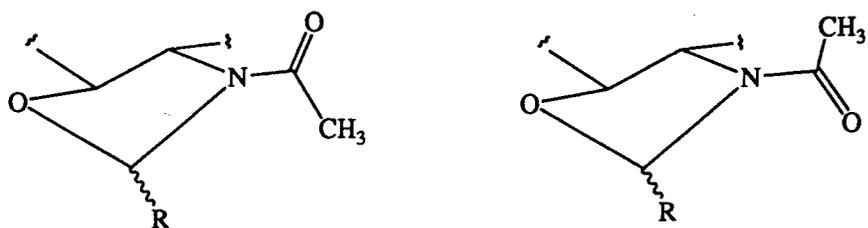
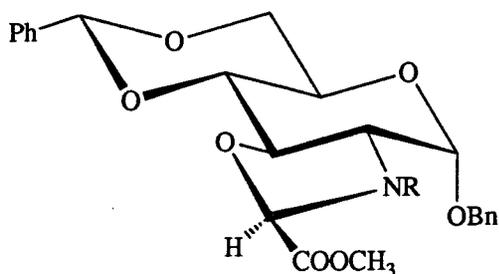


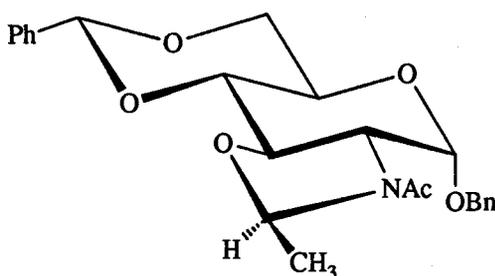
Figura 8

Una forma de evitar este problema sería disponer de sustancias de este tipo cuyos espectros de  $^1\text{H-RMN}$  no presentaran tal complejidad. Por esta razón, un objetivo de esta Memoria ha sido la síntesis de diversas oxazolidinas condensadas con el aminoazúcar, modificadas precisamente en la posición 3 de dicho anillo. Para ello, o bien se han escogido grupos que *a priori*, y debido a su volumen, dificultaran o impedirían la rotación a través del enlace C-N, lo cual ha dado lugar a la síntesis de las sustancias **30**, **31** y **32**, o bien se ha escogido un grupo que no pudiera presentarla, lo que ha dado origen a la síntesis de la sustancia **33**.



Sustancia	R
<b>30</b>	$\text{COC}(\text{CH}_3)_3$
<b>31</b>	$\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$
<b>32</b>	$\text{COPh}$
<b>33</b>	$\text{SO}_2\text{Bn}$

Otra forma de abordar el problema sería el disponer de una sustancia que presentara un sustituyente en la posición 2 del anillo de oxazolidina tal que facilitara la existencia de efecto nuclear Overhauser (NOE) con alguno de los protones presentes en las posiciones 4 ó 5 del propio anillo de oxazolidina. Para ello, y por reducción del grupo metoxicarbonilo presente inicialmente, se ha sintetizado la sustancia **34**, la cual posee un grupo metilo en dicha posición.



34

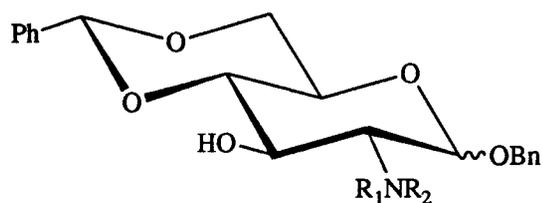
#### 4.1.3. Reactividad

Dado que la formación del anillo de oxazolidina se produce con un buen rendimiento, hemos considerado la posibilidad de utilizar esta metodología como grupo protector simultáneo del hidroxilo en posición 3 y del NH en posición 2 respectivamente del aminoazúcar.

Por una parte, se ha estudiado su comportamiento en reacciones de eliminación de otros grupos protectores presentes en la molécula. Así, se ha estudiado su comportamiento en la hidrogenolisis catalítica de los grupos bencilo y bencilideno, en la apertura reductiva de la función acetálica presente en las posiciones 4 y 6 del aminoazúcar, y en la hidrólisis ácida de esa misma función. Por otra parte, se ha

estudiado la apertura selectiva de este anillo de oxazolidina mediante el uso de diversos nucleófilos.

Una consecuencia de dicho estudio ha sido la puesta a punto de un nuevo método de obtención de N-alquil y N,N-dialquil-D-glucosaminas, ejemplificado por la preparación de las sustancias 35-39.



Sustancia	Anómero	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
35	α	Me	H
36	α	Me	Et
37	β	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	Et
38	β	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	H
39	α	Pr	H

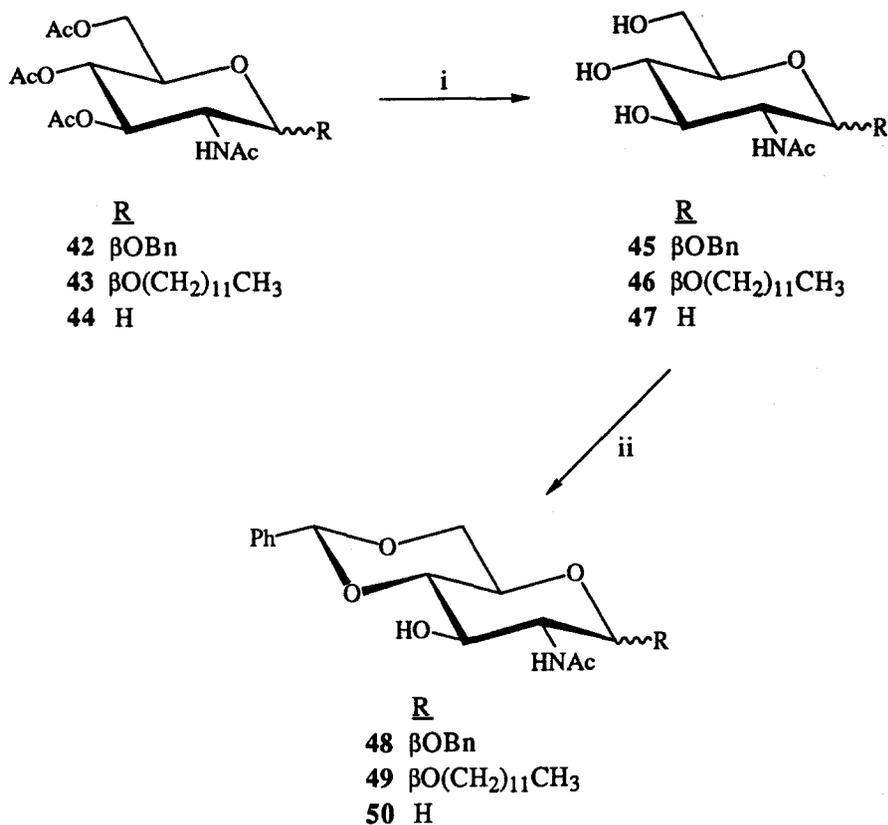
## 4.2. SINTESIS DE LAS NUEVAS SUSTANCIAS

Con objeto de sistematizar la descripción de la síntesis de las nuevas sustancias recogida en la presente Memoria, este apartado se ha dividido en cinco grupos: i) Preparación de compuestos de partida; ii) Formación del anillo de oxazolidina condensado con el amino azúcar; iii) Reactividad de oxazolidinas condensadas con el aminoazúcar; iv) Introducción de la cadena peptídica, y v) Eliminación de los grupos protectores.

### 4.2.1. Preparación de productos de partida

La síntesis de todas las nuevas sustancias descritas se ha realizado a partir de N-acetil-D-glucosamina (**40**). En el primer paso de la síntesis se obtiene el cloruro de 2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetil-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopiranosilo (**41**) por reacción de **40** con cloruro de acetilo (Horton, 1973). La posterior reacción de **41** con alcohol bencílico en presencia de cianuro mercurico (Charon, 1985), conduce al bencil 2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetil-2-desoxi- $\beta$ -D-glucopiranosido (**42**). Igualmente por el método de Köenigs-Knorr se ha obtenido, por reacción de **41** con alcohol dodecílico, el dodecil 2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetil-2-desoxi- $\beta$ -D-glucopiranosido (**43**), sustancia no descrita previamente en la literatura. Por otra parte, la reducción de **41** con hidruro de tributilestano en presencia de  $\alpha,\alpha'$ -azoisobutironitrilo (AiBN) en tolueno a reflujo (Hasegawa, 1986), permite obtener el 2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetil-1,5-anhidro-2-desoxi-D-glucitol (**44**) (Esquema 1).

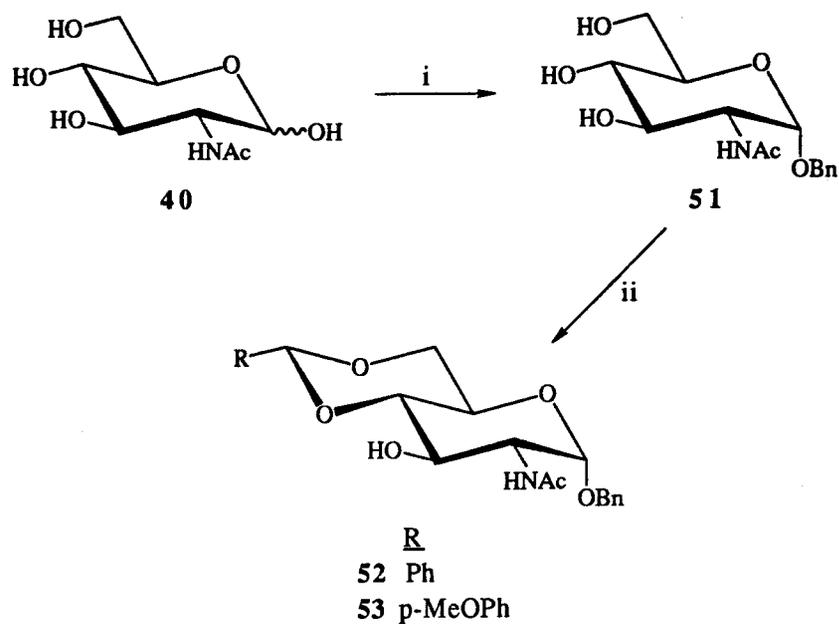




i = MeONa / MeOH ; ii = PhCHO / ZnCl<sub>2</sub>

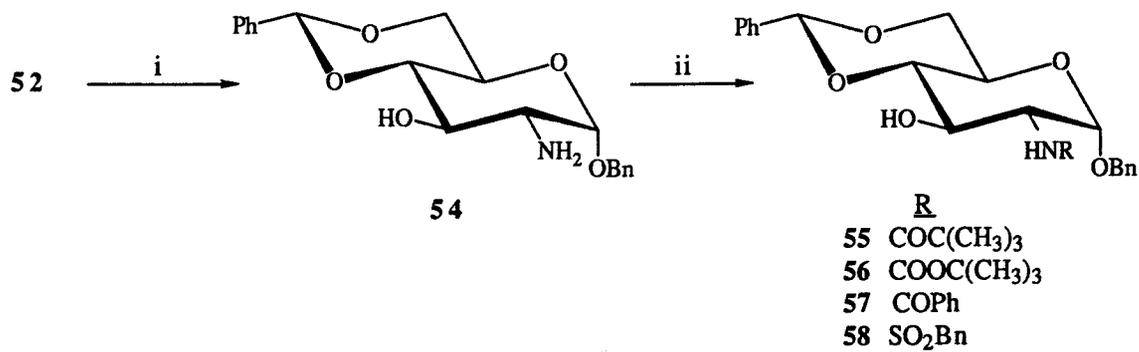
Esquema 2

Por otra parte, la reacción de N-acetil-D-glucosamina (40) con alcohol bencílico en medio ácido a 75° conduce al conocido bencil 2-acetamido-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopiranosido<sup>(Gross, 1967)</sup> (51), que posteriormente se hace reaccionar con benzaldehído o anisaldehído (p-metoxibenzaldehído) en presencia de cloruro de cinc para rendir los correspondientes derivados (52 y 53) (Esquema 3). La hidrólisis de la amida presente en 52 con hidróxido potásico en etanol hirviente<sup>(Gross, 1967)</sup> conduce al bencil 2-amino-4,6-O-bencilidén-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopiranosido (54) que es susceptible de posterior acilación con cloruro de pivaloilo, dicarbonato de di-t-butilo, cloruro de benzoilo o cloruro de bencensulfonilo, para rendir las sustancias 55-58 respectivamente (Esquema 4).



i = BnOH / HCl / 75° ; ii = RCHO / ZnCl<sub>2</sub>

**Esquema 3**



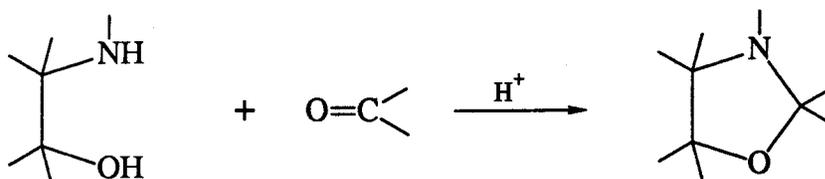
i = KOH / EtOH ; ii = RX

**Esquema 4**

#### 4.2.2. Formación del anillo de oxazolidina

El paso clave en la obtención de los nuevos análogos rígidos del MDP consiste en la formación del anillo de oxazolidina condensado con el aminoazúcar.

La forma habitual de preparación de oxazolidinas implica la reacción de un  $\beta$ -aminoalcohol con un compuesto carbonílico (libre o en forma de acetal) en medio ácido (Katritzky, 1984), tal como se recoge en el Esquema 5.



Esquema 5

La presencia de un sustituyente electroatrayente en el compuesto carbonílico dificulta este tipo de reacciones, como queda recogido en la bibliografía, en la síntesis de cetales del ácido pirúvico (Collins, 1989).

Por otra parte, el empleo de estas condiciones de reacción en nuestro caso presentaría problemas de transacetalación, por la existencia de acetales en la molécula (glicosídico y grupo bencilideno). Además, nuestro aminoalcohol de partida presenta características, tales como la disposición trans-diecuaatorial de los grupos reactivos y la presencia de un resto acilo sobre el grupo amino, que hacen poco aconsejable el uso de este tipo de reacción reversible.

Por ello consideramos la utilización de una estrategia diferente, mediante una reacción de tipo irreversible como la sustitución nucleófila sobre un sustrato *gem*-dihalogenado.

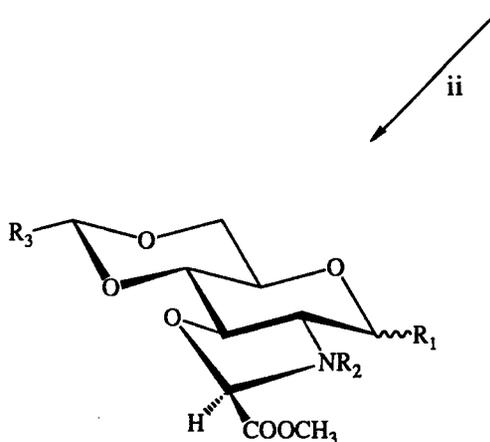
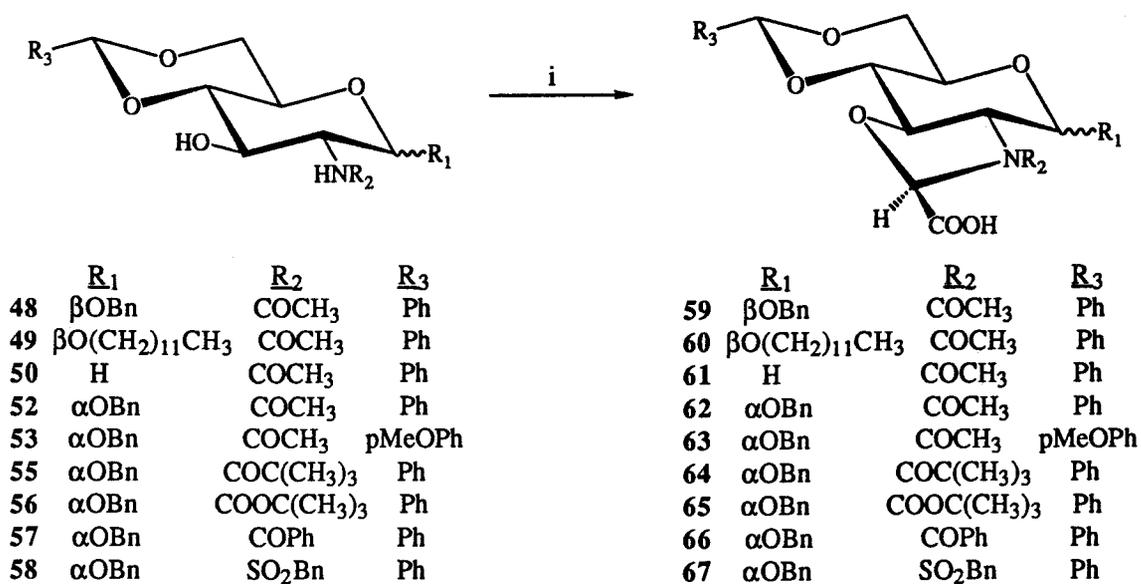
De esta forma, por reacción de **48-50**, **52**, **53**, **55-58**, con la sal sódica del ácido dicloroacético en presencia de un exceso de hidruro sódico en dioxano a 85°, se han obtenido los ácidos **59-67**, los cuales han sido caracterizados en forma de ésteres metílicos (**68-72** y **30-33**) por su reacción con diazometano (Esquema 6)\*.

En todos los casos estudiados sólo se obtiene uno de los dos isómeros posibles (más adelante, en la Sección 4.3.1.1.2, se discutirá su determinación estructural). Los rendimientos obtenidos en la síntesis de las nuevas sustancias **68-72** y **30-33** están recogidos en la Tabla I.

**Tabla I**  
Rendimientos obtenidos en la reacción de N-acil-D-glucosaminas con ácido dicloroacético y posterior esterificación con diazometano

Sustancia	Producto de partida	Rendimiento (%)
<b>68</b>	<b>48</b>	89
<b>69</b>	<b>49</b>	70
<b>70</b>	<b>50</b>	86
<b>72</b>	<b>53</b>	69
<b>30</b>	<b>55</b>	62
<b>31</b>	<b>56</b>	61
<b>32</b>	<b>57</b>	89
<b>33</b>	<b>58</b>	58

\* Las sustancias **62** y **71** han sido obtenidas previamente en este Departamento (Ruiz, 1990).

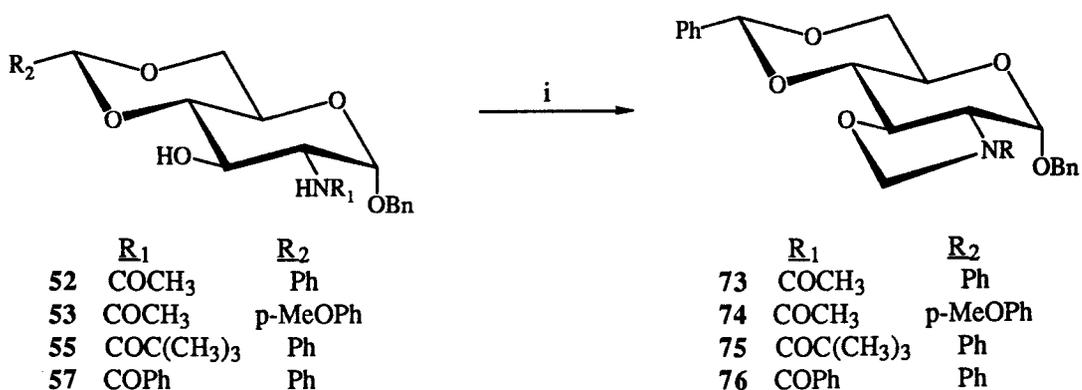


<u>R<sub>1</sub></u>	<u>R<sub>2</sub></u>	<u>R<sub>3</sub></u>
68 βOBn	COCH <sub>3</sub>	Ph
69 βO(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> CH <sub>3</sub>	COCH <sub>3</sub>	Ph
70 H	COCH <sub>3</sub>	Ph
71 αOBn	COCH <sub>3</sub>	Ph
72 αOBn	COCH <sub>3</sub>	pMeOPh
30 αOBn	COC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	Ph
31 αOBn	COOC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	Ph
32 αOBn	COPh	Ph
33 αOBn	SO <sub>2</sub> Bn	Ph

i = Cl<sub>2</sub>CHCOONa / NaH ; ii = CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>

Esquema 6

Siguiendo esta misma estrategia, se han obtenido otras oxazolidinas condensadas con el aminoazúcar por reacción de éste con dibromometano en condiciones de transferencia de fases, método utilizado por Kim et al. (Kim, 1978) en la protección de los hidroxilos en posición 2 y 3 de derivados de la D-glucosa entre otros. Así, la reacción de **52**, **53**, **55** ó **57** con dibromometano en estas condiciones rinde las 3-acil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidinas (**73-76**) con excelentes rendimientos (Esquema 7).



Esquema 7

### 4.2.3. Reactividad de oxazolidinas condensadas con el aminoazúcar

Con objeto de investigar la posible utilidad del anillo de oxazolidina como grupo protector simultáneo de las funciones amino e hidroxilo presentes en las posiciones 2 y 3 de la D-glucosamina, se han estudiado diversas reacciones, usando como sustratos las sustancias obtenidas en el apartado anterior. En algunas de estas reacciones el anillo de oxazolidina ha resultado ser estable, mientras que en otras el resultado ha sido la apertura de dicho anillo. Estas reacciones las hemos dividido, por tanto, en dos grupos, recogidos bajo los epígrafes : i) Estabilidad del anillo de oxazolidina, y ii) Apertura del anillo de oxazolidina.

#### 4.2.3.1. ESTABILIDAD DEL ANILLO DE OXAZOLIDINA

El anillo de oxazolidina ha resultado ser estable en reacciones de eliminación de grupos protectores generalmente utilizados en Química de Hidratos de Carbono, como son la hidrogenólisis catalizada por Paladio y la apertura reductiva de la función acetálica presente en las posiciones 4 y 6. Es igualmente estable en la reducción con borohidruro de sodio del grupo carboxílico presente en posición 2 de dicho anillo.

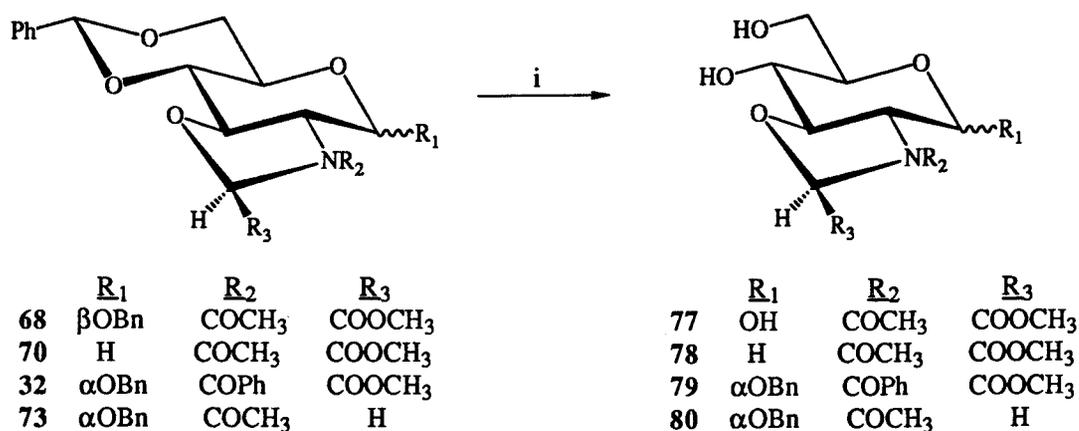
##### 4.2.3.1.1. Hidrogenólisis

La reacción de **32**, **68**, **70** y **73** con hidrógeno en presencia de Paladio sobre carbón al 10% permite obtener las sustancias **77-80** (Esquema 8)\*.

---

\* La sustancia **77** ha sido obtenida previamente, a partir del anómero  $\alpha$  (**71**) en este Departamento (Ruiz, 1990).

En la Tabla II se recogen las condiciones de reacción y los rendimientos obtenidos en la preparación de dichas sustancias.



$i = H_2 / Pd (C) 10\%$

Esquema 8

Tabla II

Rendimientos obtenidos en la hidrogenólisis de 30, 68, 70 y 73

Entrada	Sustancia	Producto de partida (p.s.i.)	Presión (horas)	Tiempo	Rendimiento (%)
1	77	68	40	40	96
2	77	71	100	96	64 <sup>a</sup>
3	78	70	40	16	96
4	79	32	40	48	78
5	80	73	40	16	82

<sup>a</sup> Datos pertenecientes a la Tesis Doctoral de F. J. Ruiz<sup>(Ruiz, 1990)</sup>

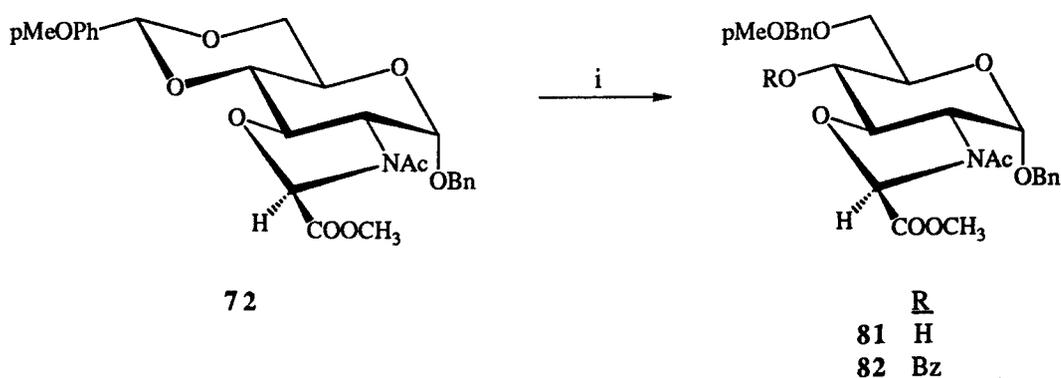
Es interesante destacar que en el caso de las sustancias **32** y **73** (en las que  $R_1$ =bencil  $\alpha$ -glicósido) la hidrogenolisis controlada permite obtener los compuestos parcialmente hidrogenados (entradas 4 y 5), en los que se ha eliminado solamente el grupo bencilideno permaneciendo el bencil glicósido, mientras que en el caso de la sustancia **68** (en la que  $R_1$ = bencil  $\beta$ -glicósido) este control no ha sido posible, obteniéndose el derivado completamente hidrogenado, **77** (entrada 1). Esta misma sustancia se obtiene asimismo, a partir del  $\alpha$ -anómero<sup>(Ruiz, 1990)</sup> (**71**), pero las condiciones de reacción varían drásticamente (entrada 2). Así, a partir de **68** se obtiene la sustancia **77** tras 40 horas de reacción a 40 p.s.i. con un 96% de rendimiento, mientras que en el caso de **71** hacen falta 96 horas a 100 p.s.i. para obtenerlo con un 64% de rendimiento. Estos resultados indican la existencia de un fuerte impedimento estérico en el caso del anómero  $\alpha$  debido a que el anillo de oxazolidina impide el libre giro del enlace C(2)-N, lo cual hace que el resto acilo en dicho átomo de nitrógeno se oriente sobre la posición anomérica, dificultando la hidrogenolisis del grupo bencilo presente en esta posición.

#### 4.2.3.1.2. Apertura reductiva de la función acetálica

La reducción selectiva de acetales con cianborohidruro de sodio en medio ácido<sup>(Horne, 1978)</sup>, introducida en la Química de Hidratos de Carbono por Garegg<sup>(Garegg,1981)(Garegg, 1982)</sup>, permite obtener regioselectivamente, a partir de 4,6-O-bencilidén derivados de azúcares, los correspondientes 6-O-bencil éteres. La aplicación de estas condiciones de reacción a un 4,6-O-p-metoxibencilidén derivado conduce al 6-O-p-metoxibencil éter<sup>(Johansson, 1984)</sup> (grupo que posteriormente puede ser selectivamente eliminado en presencia de grupos bencilo<sup>(Oikawa, 1982)</sup>, introduciendo así una mayor versatilidad en la utilización de grupos protectores de azúcares). El grupo hidroxilo que queda libre en posición 4 es susceptible de posterior funcionalización.

Esta metodología es aplicable, por ejemplo en la preparación de disacáridos, en los que sea necesaria una unión [1→4]. Un inconveniente, no obstante, en esta última reacción es la presencia de sustituyentes voluminosos en posición 3 del propio azúcar, lo que dificulta la formación del enlace glicosídico.

Por ello, consideramos la posibilidad de utilizar el anillo de oxazolidina como grupo protector simultáneo de las funciones 2 y 3 del aminoazúcar: Al estar el átomo de oxígeno en posición 3 involucrado en dicho anillo (y, por tanto, con una orientación fija) podría favorecer la reactividad del OH libre en posición 4, por disminución del impedimento de tipo estérico. Para ello, se hizo necesario comprobar si el anillo de oxazolidina era estable en las condiciones necesarias para la reducción de la función acetálica presente en 4 y 6. Así, la reacción de 3-acetil-2-metoxicarbonil-(1-O-bencil-2,3-didesoxi-4,6-O-p-metoxibencilidén- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (**72**) con cianborohidruro de sodio en medio ácido (cloruro de hidrógeno en éter) rinde la sustancia **81**, que ha sido caracterizada como se 4-O-benzoil derivado (**82**), obtenido por su reacción con cloruro de benzoilo en piridina (Esquema 9).



i = a) NaCNBH<sub>3</sub> / HCl (gas) ; b) BzCl / Py

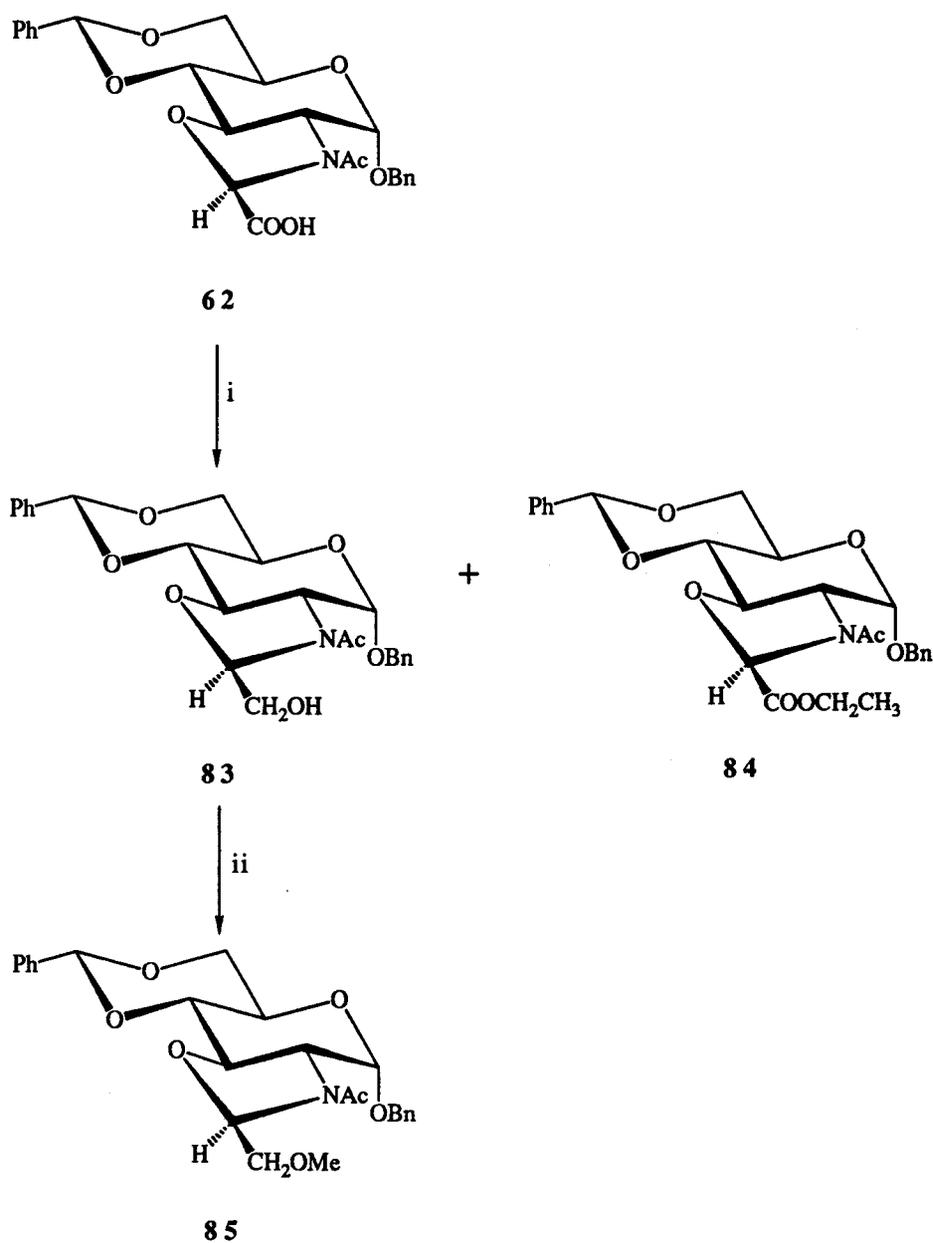
Esquema 9

El rendimiento global de ambas reacciones ha sido sólo moderado (42%), aunque el análisis por c.c.f. ha indicado la presencia de un único producto de reacción, el cual se ha demostrado tratarse del 4-O-benzoil derivado mencionado por RMN (véase Sección 4.3.1.1.4).

#### *4.2.3.1.3. Reducción del grupo en posición 2 del anillo de oxazolidina*

Como ha quedado recogido (Sección 4.1.2), uno de los objetivos de la presente Memoria ha sido la síntesis de 3-acetil-2-metil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (**34**) con objeto de estudiar su comportamiento espectroscópico en relación con la determinación configuracional del carbono 2 del anillo de oxazolidina. La ruta sintética planeada para llevar a cabo dicho objetivo consistía en la reducción inicial del grupo carboxilo presente en **62** a alcohol, la transformación de éste en un buen grupo saliente y su posterior reducción a grupo metilo. Estas reacciones además, había que realizarlas en las condiciones lo más suave posible (fundamentalmente la primera de ellas), para evitar la posible epimerización del carbono cuya configuración se desea determinar. Por otra parte, el agente reductor debía ser lo bastante selectivo para no producir la apertura del anillo de oxazolidina (véase Sección siguiente). Después de varios intentos infructuosos, se escogió un método suave de reducción que consiste en la activación previa del grupo carboxilo con N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC) y N-hidroxisuccinimida (SuOH) y la posterior reducción del éster activado formado con borohidruro de sodio a temperatura ambiente<sup>(Larock,1989)</sup>. En esta condiciones, el anillo de oxazolidina resultó ser estable, si bien en los primeros intentos realizados en presencia de etanol se recogía, junto con el alcohol deseado (**83**) el éster etílico (**84**) del ácido utilizado, como un producto secundario de reacción (Esquema 10). Por ello, en posteriores ensayos se han utilizado, tetrahidrofurano (THF) como único disolvente y un mayor tiempo de reacción (12 horas), aumentando el rendimiento

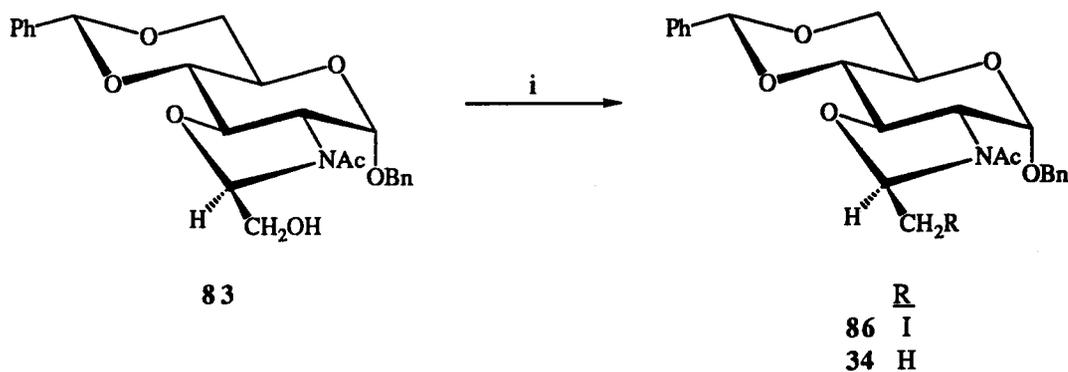
de la reacción hasta el 67%. Este alcohol ha sido transformado, por reacción con sulfato de dimetilo en condiciones de transferencia de fases, en su éter metílico (**85**) con un rendimiento del 90% (Esquema 10).



i = DCC / SuOH / NaBH<sub>4</sub> ; ii = Me<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> / NaOH 50% / Bu<sub>4</sub>N<sup>+</sup>Br<sup>-</sup>

Esquema 10

Se han intentado diversas reacciones para la reducción del grupo alcoxilo presente en **83** (Esquema 11), cuyos resultados se recogen en la Tabla III.



i = a)  $(\text{PhO})_3\text{PMeI}$  ; b)  $\text{NaBH}_4$  (HMPA)

Esquema 11

Tabla III  
Rendimientos obtenidos en la reducción de **83**

Entrada	Sustancia	Producto de partida	Reactivo	Rendimiento (%)
1	<b>86</b>	<b>83</b>	$\text{I}_2 / \text{ImH} / \text{Ph}_3\text{P}$	0
2	<b>34</b>	<b>83</b>	a) $(\text{PhO})_3\text{PMeI}$ b) $\text{NaCNBH}_3$	0
3	<b>86</b>	<b>83</b>	$(\text{PhO})_3\text{PMeI}$ (HMPA) / $20^\circ$	80
4	<b>34</b>	<b>86</b>	$\text{NaCNBH}_3$ (HMPA) / $\Delta$	0
5	<b>34</b>	<b>86</b>	$\text{NaBH}_4$ (THF) / $\Delta$	0
6	<b>34</b>	<b>86</b>	$\text{NaBH}_4$ (HMPA) / $20^\circ$	92

En un primer intento, se ensayó la reacción de **83** con iodo en presencia de trifenilfosfina e imidazol<sup>(Garegg,1980)</sup> (entrada 1) con objeto de obtener el iodo derivado **86**. Sin embargo, con estas condiciones, ni aún en presencia de un gran exceso de reactivo, se produjo reacción alguna.

Posteriormente se ensayaron condiciones descritas para la reducción de un alcohol (incluso neopentílico) a alcano en una reacción "one-pot" con ioduro de trifenoximetilfosfonio y cianborohidruro de sodio en hexametilfosforotriamida (HMPA)<sup>(Hutchins, 1971)</sup>, pero en lugar de obtenerse el producto reducido, **34**, se obtuvo el iodo derivado **86** (entrada 2).

Por ello, se pensó en la realización de estas dos reacciones por separado (primero la obtención del iodo derivado intermedio (**86**) y, una vez aislado, su reducción al 2-metil derivado (**34**). Así, la reacción de **83** con ioduro de trifenoximetilfosfonio en HMPA conduce al iodo derivado **86** con un 80% de rendimiento (entrada 3). Para la reducción de éste, se han ensayado diversas condiciones: mientras que los intentos realizados con cianborohidruro de sodio en HMPA y con borohidruro de sodio en THF a 60° resultaron infructuosos (entradas 4 y 5), la reacción del iodo derivado **86** con borohidruro de sodio en HMPA (entrada 6) rinde la sustancia deseada (**34**) con un 92% de rendimiento en tan solo quince minutos de agitación a temperatura ambiente.

#### 4.2.3.2. APERTURA DEL ANILLO DE OXAZOLIDINA

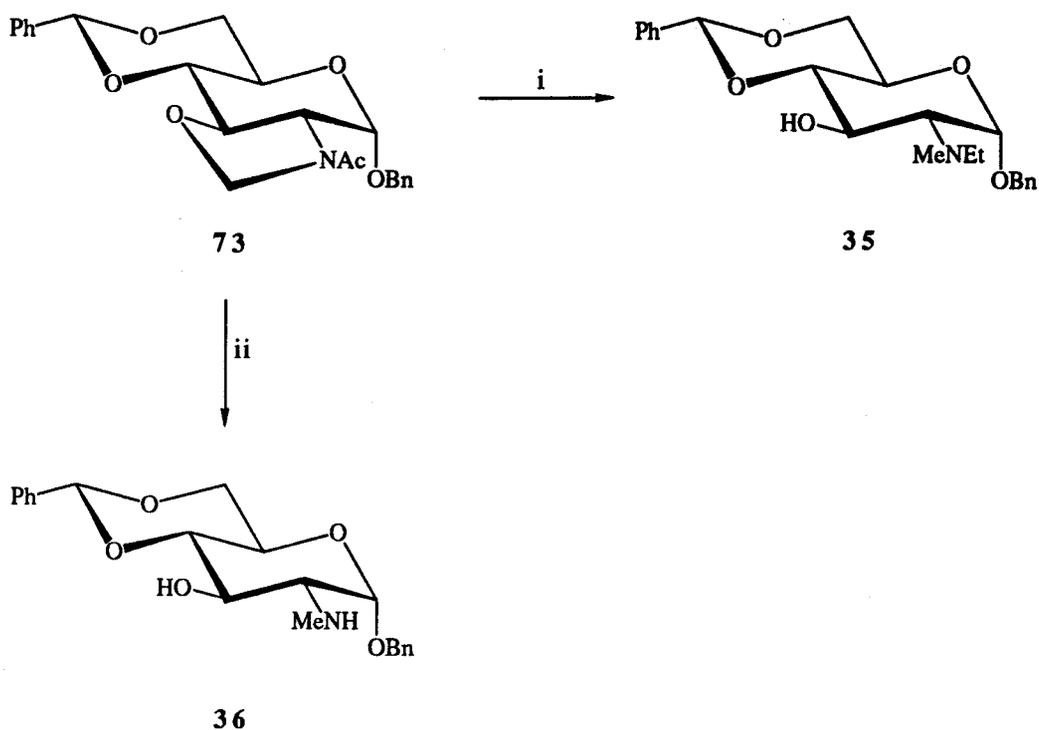
Con objeto de continuar el estudio de la reactividad de oxazolidinas condensadas con el aminoazúcar, se han ensayado reacciones en las que dicho anillo es susceptible de ser abierto.

##### 4.2.3.2.1. Apertura reductiva

Es conocido que los 1,1-aminoéteres lineales o cíclicos (oxazolidinas entre otros) son reducidos por el hidruro de aluminio y litio (LAH) con ruptura del enlace C-O, con formación de alquilamina y el correspondiente alcohol<sup>(Gaylord, 1956) (Barton, 1979)</sup>.

Por otra parte, mientras que la reducción de amidas terciarias con diversos hidruros, tales como LAH, procede con ruptura del enlace C-O, dando lugar a las correspondientes aminas terciarias, la reducción con trietilborohidruro de litio (Superhidruro<sup>®</sup>) procede con ruptura del enlace C-N, originando el alcohol y no la amina terciaria<sup>(Brown, 1977)</sup>.

Teniendo en cuenta estos antecedentes, se ensayó la reacción de la sustancia **73** con estos dos agentes reductores. Como se muestra en el Esquema 12, la reacción de **73** con LAH conduce a la obtención de bencil 4,6-O-bencilidén-2-desoxi-2-N-etil,N-metilamino- $\alpha$ -D-glucopiranosido (**35**) con un rendimiento del 70%, mientras que la reacción con superhidruro da origen al bencil 4,6-O-bencilidén-2-desoxi-2-N-metilamino- $\alpha$ -D-glucopiranosido (**36**) con un rendimiento del 91%. Estas reacciones proceden con gran suavidad y rapidez, habiendo desaparecido el producto de partida (c.c.f.) tras cinco minutos de reacción a temperatura ambiente.

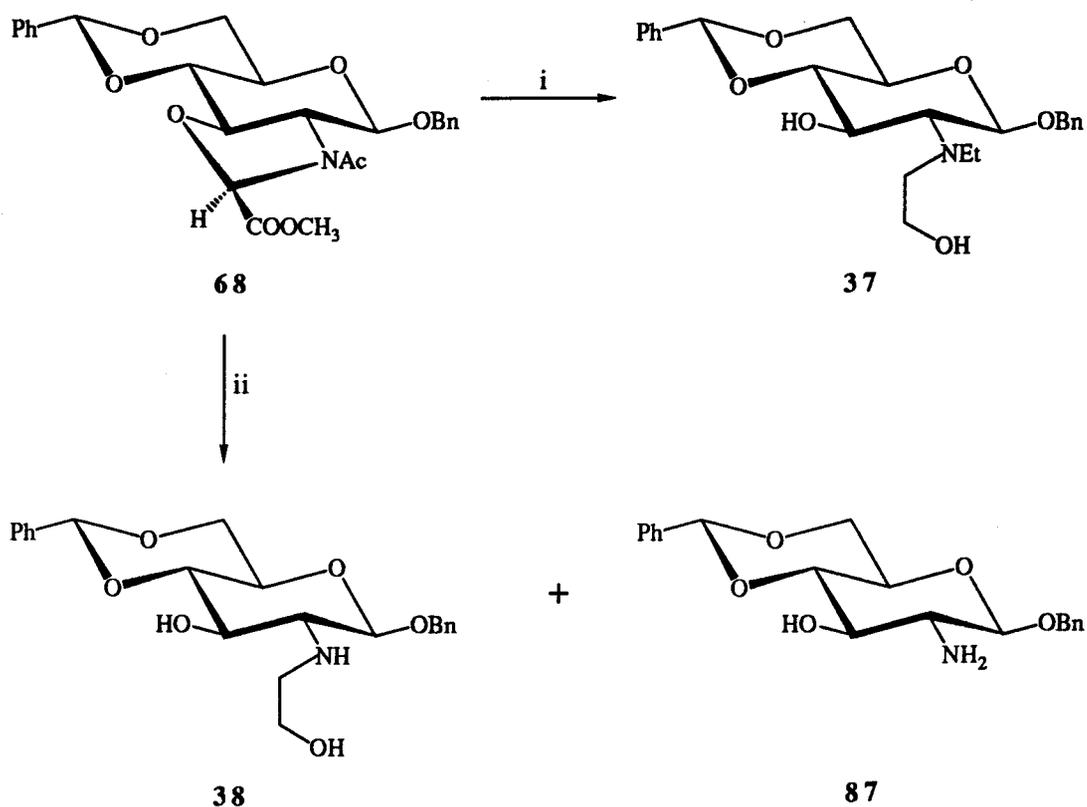


i =  $\text{LiAlH}_4$ , THF ; ii =  $\text{LiEt}_3\text{BH}$ , THF

### Esquema 12

La aplicación de esta metodología sobre un sustrato más complejo, como es la sustancia **68**, conduce a las sustancias **37** y **38** con rendimientos moderados (54 y 48% respectivamente). Hay que indicar que en la reacción de **68** con superhidruro se aísla, además de **38**, otro producto de reacción que resultó ser bencilidén-2-amino-4,6-O-bencilidén-2-desoxi- $\beta$ -D-glucopiranosido (**87**), con un 21% de rendimiento. (Esquema 13).

La aplicación de estas reacciones a otras oxazolidinas condensadas con aminoazúcares, diferentemente sustituidas, daría lugar a otros N-alquil y N,N-dialquil derivados de aminoazúcares, por lo que proponemos esta estrategia como un nuevo método de preparación de este tipo de sustancias.

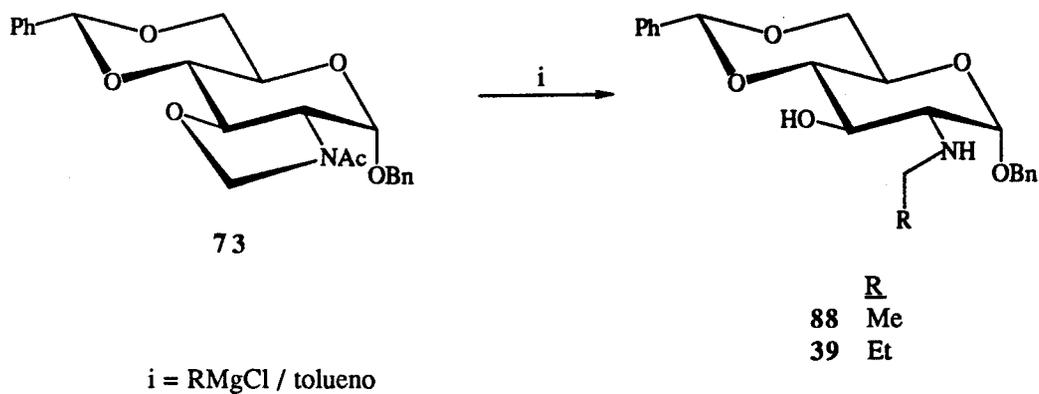


*i* = LiAlH<sub>4</sub> / THF ; *ii* = LiEt<sub>3</sub>BH / THF

Esquema 13

#### 4.2.3.2.2. Apertura con reactivos de Grignard

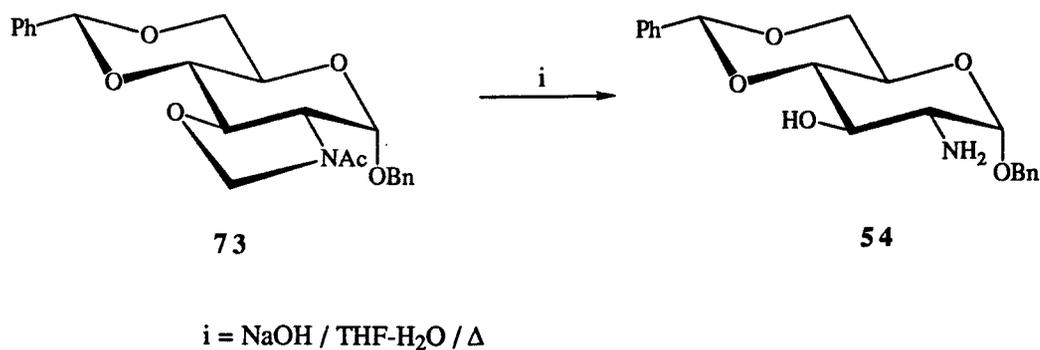
La reacción de oxazolidinas con reactivos de Grignard conduce a los correspondientes aminoalcoholes sustituidos<sup>(Barton,1979)</sup>. Así, mientras que la reacción de **73** con cloruro de metil magnesio a temperatura ambiente durante una noche conduce al conocido bencil 4,6-O-bencilidén-2-desoxi-2-etilamino- $\alpha$ -D-glucopiranosido (**88**), la reacción con cloruro de etil magnesio rinde en las mismas condiciones bencil 4,6-O-bencilidén-2-desoxi-2-propilamino- $\alpha$ -D-glucopiranosido (**39**) con excelentes rendimientos ( y % respectivamente) (Esquema 14).



Esquema 14

## 4.2.3.2.3. Apertura hidrolítica

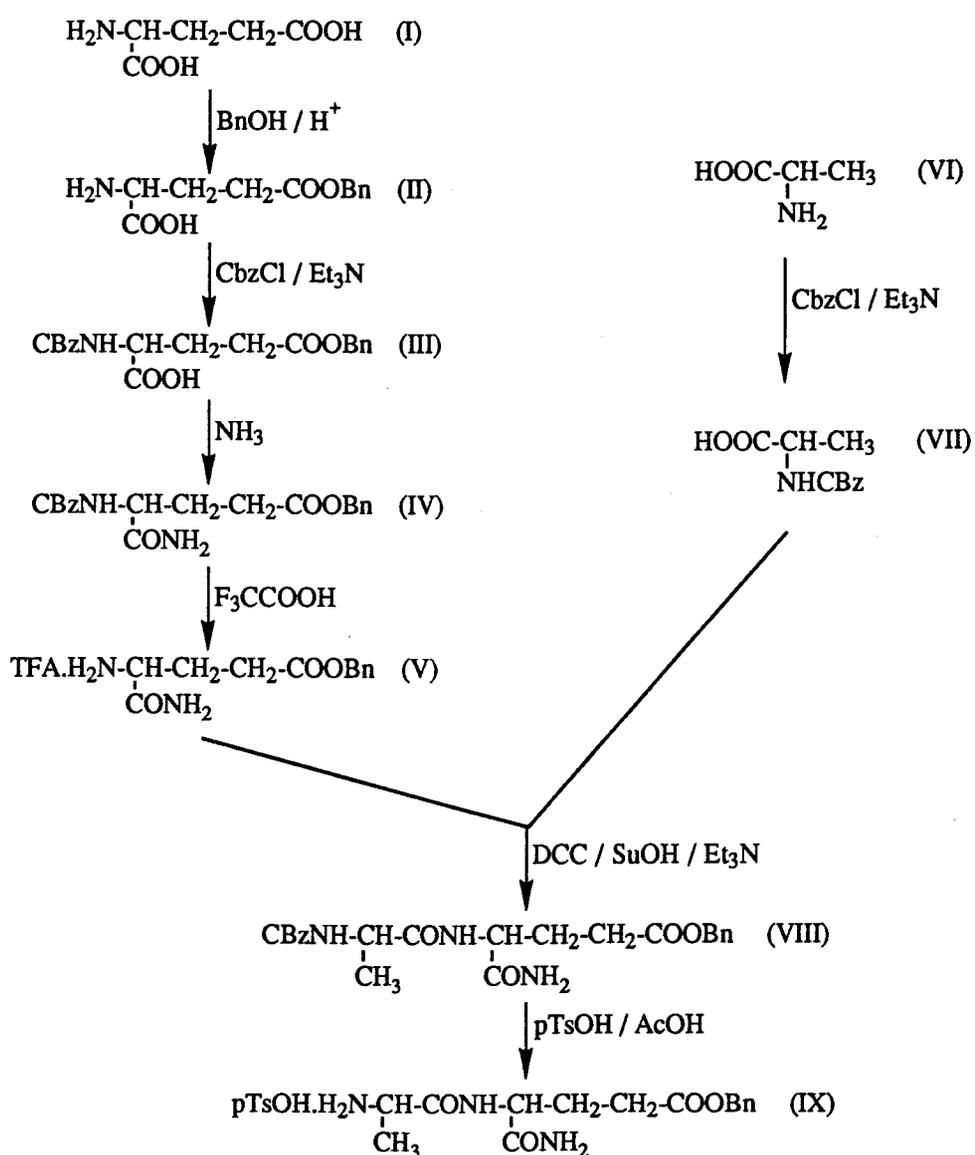
El anillo de oxazolidina se ha mostrado susceptible de ser eliminado en medio alcalino. Así, la reacción de **73** con hidróxido sódico en tetrahidrofurano acuoso rinde, tras calentamiento a reflujo durante cuatro horas, el conocido bencil 2-amino-4,6-O-bencilidén-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopiranosido (**54**) (Esquema 15).



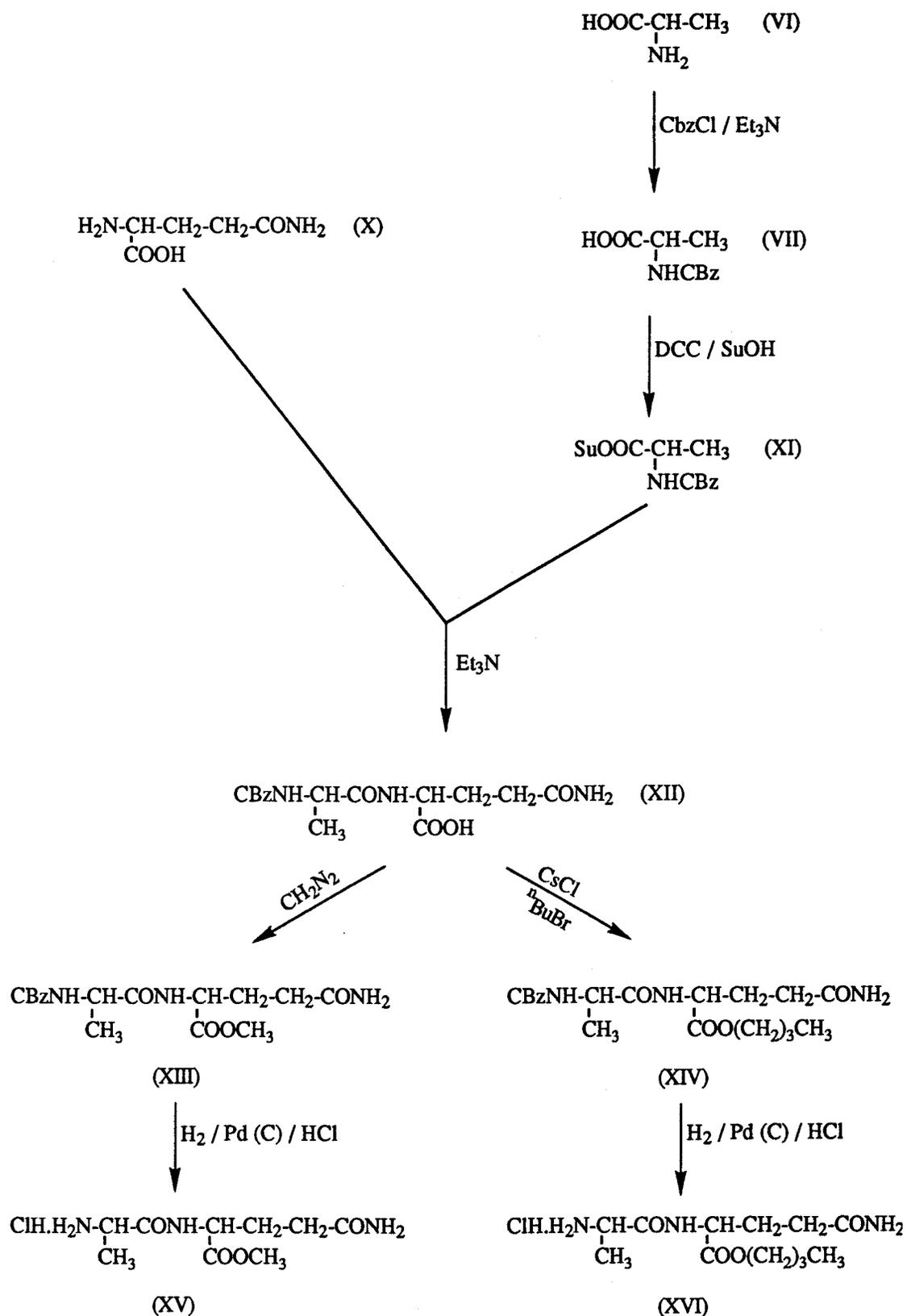
Esquema 15

#### 4.2.4. Introducción de la cadena peptídica

El objetivo principal de esta tercera fase de síntesis ha consistido en la introducción de la cadena peptídica a través de la función carboxílica presente en **59**, **60** y **61**. Para ello se hacía necesario disponer de dichos dipéptidos convenientemente funcionalizados y protegidos. Estos se han preparado por una serie de reacciones descritas en la bibliografía, que se recogen en los Esquemas 16 y 17.

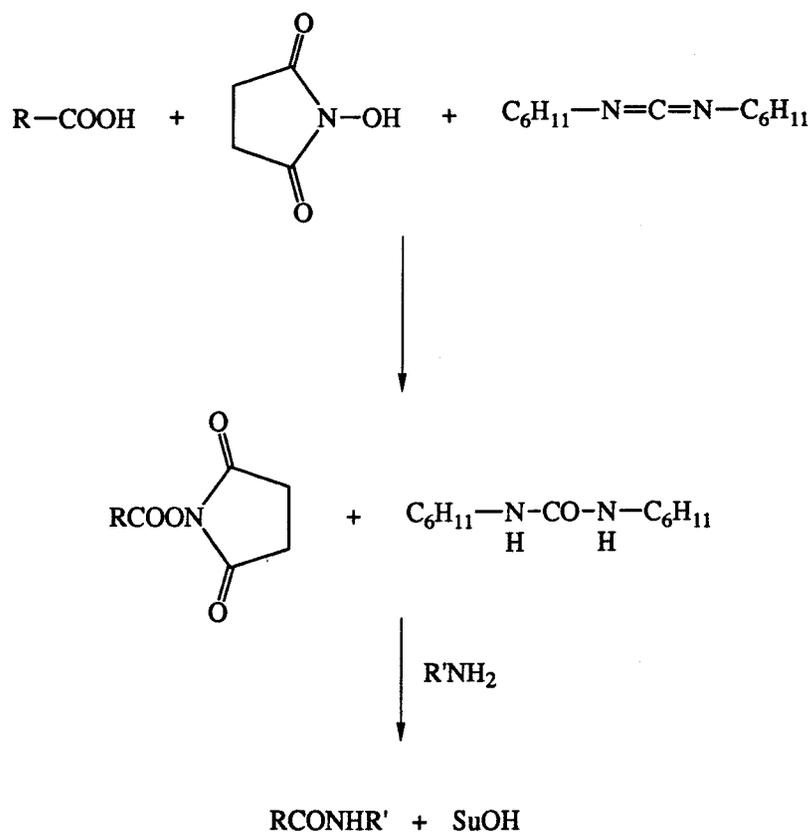


Esquema 16



Esquema 17

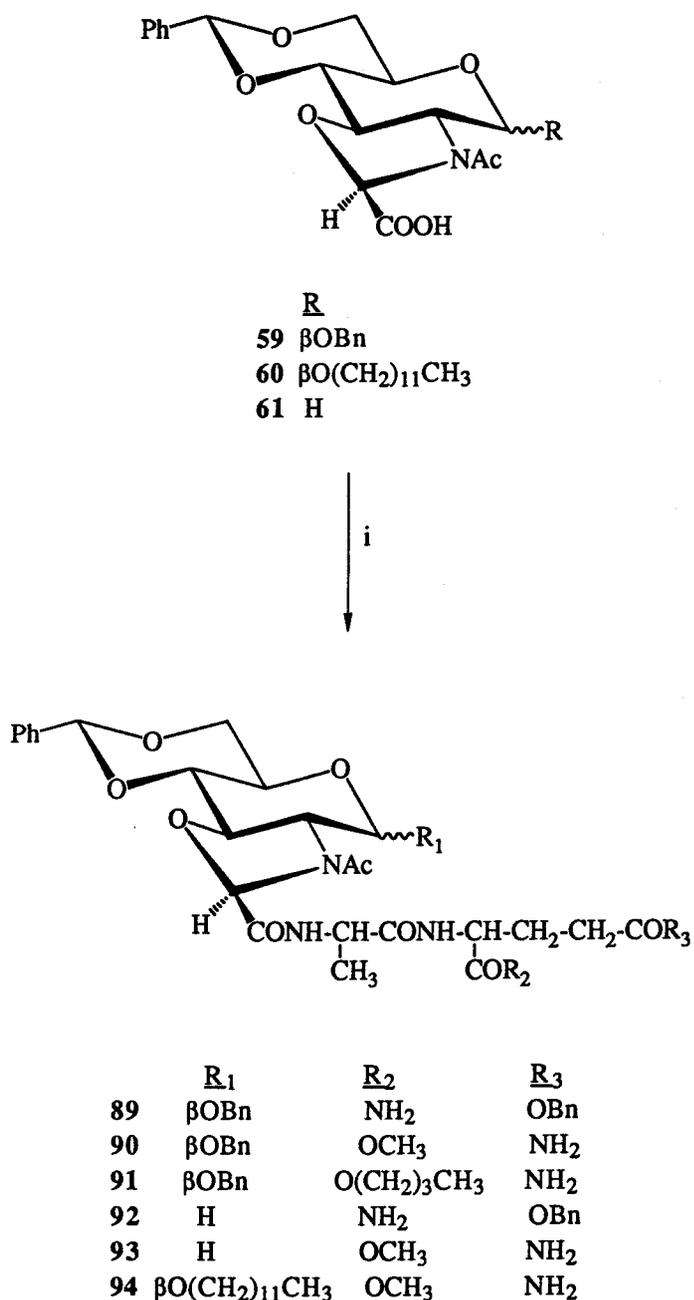
Para esta etapa de condensación se ha realizado la activación previa del grupo carboxilo con N-hidroxisuccinimida (SuOH) en presencia de N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC). Este método, conocido como el método del éster activado, es ampliamente conocido y empleado en la Química de Péptidos<sup>(Gross,1981)</sup>, tratándose de un método suave, que da lugar a buenos rendimientos y exento prácticamente de problemas de racemización. Los ésteres activados se obtienen en presencia de DCC y se tratan directamente, sin necesidad de aislarlos, con las diferentes aminas para producir las amidas correspondientes (Esquema 18).



Esquema 18

De esta forma, por reacción del ácido 59 con el p-toluensulfonato del éster bencílico de L-alanina-D-isoglutamina (IX), el clorhidrato del éster metílico de L-alanina-D-glutamina (XV) y con el clorhidrato del éster butílico de L-alanina-D-glutamina (XVI) en

presencia de SuOH y DCC, se han obtenido las sustancias **89**, **90** y **91** respectivamente. Por el mismo método, la reacción del ácido **61** con los dipéptidos IX y XV, ha permitido obtener los correspondientes derivados **92** y **93**. Por último, mediante la reacción del ácido **60** con el dipéptido XV se ha obtenido la sustancia **94** (Esquema 19).



i = a) SuOH / DCC ; b)  $\text{Et}_3\text{N}$  / IX, XV ó XVI

**Esquema 19**

Los rendimientos obtenidos en esta fase de la síntesis se recogen en la Tabla IV.

**Tabla IV**  
Rendimientos obtenidos en la etapa de condensación con el dipéptido

Sustancia	Producto de partida	Dipéptido	Rendimiento (%)
89	59	IX	78
90	59	XV	63
91	59	XVI	58
92	61	IX	81
93	61	XV	73
94	60	XV	72

#### 4.2.5. Eliminación de los grupos protectores

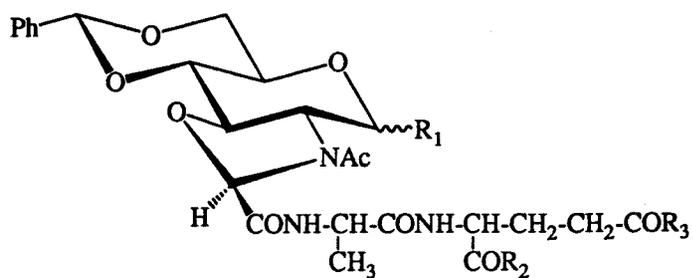
La última fase en la síntesis de los nuevos análogos rígidos del MDP ha consistido en la eliminación de los grupos protectores presentes en las sustancias **89-94**. Todos los grupos protectores han sido escogidos de forma que fuera posible eliminarlos en un solo paso, mediante hidrogenolisis catalizada por Paladio sobre carbón. Entre éstos se encuentran el grupo bencilo que bloquea la posición anomérica en las sustancias **89-91**, el grupo bencilideno que bloquea los hidroxilos 4 y 6, y que está presente en todas ellas (**89-94**) y el éster bencílico presente en el aminoácido terminal en **89** y **92**.

De esta forma, la hidrogenolisis de las sustancias **89-94** con Pd/C al 10% en mezcla de dioxano-metanol (las proporciones varían en función de la solubilidad de cada sustancia) ha permitido obtener la 3-acetil-(2,3-didesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-isoglutamina (**24**), la 3-acetil-(1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-isoglutamina (**25**), el éster metílico de 3-acetil-(2,3-didesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (**26**), el éster butílico de 3-acetil-(2,3-didesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (**27**), el éster metílico de 3-acetil-(1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (**28**) y el éster metílico de 3-acetil-(2,3-didesoxi-1-O-dodecil- $\beta$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (**29**) (Esquema 20). Asimismo, se ha ensayado la hidrólisis del grupo bencilideno, presente en la sustancia **92**, con ácido clorhídrico diluido, lo que ha dado lugar a la síntesis del éster bencílico de 3-acetil-(1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (**95**) (Esquema 21).

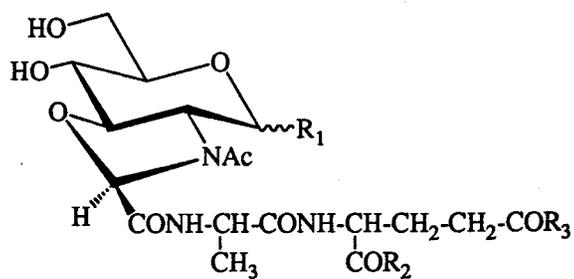
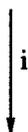
Los rendimientos obtenidos en esta fase se encuentran tabulados en la Tabla V.

**Tabla V**  
Rendimientos obtenidos en la eliminación de los grupos protectores presentes  
en las sustancias **89-94**

Sustancia	Producto de partida	Condiciones	Rendimiento (%)
<b>24</b>	<b>89</b>	40 psi/24 horas	81
<b>25</b>	<b>90</b>	40 psi/16 horas	91
<b>26</b>	<b>91</b>	40 psi/16 horas	91
<b>27</b>	<b>92</b>	40 psi/16 horas	88
<b>28</b>	<b>93</b>	40 psi/16 horas	95
<b>29</b>	<b>94</b>	40 psi/16 horas	92
<b>95</b>	<b>92</b>	HCl/acetona	



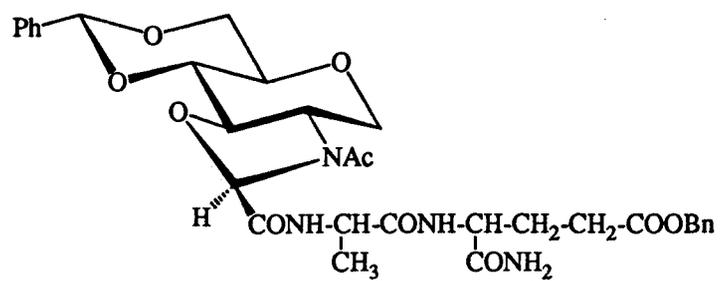
	$R_1$	$R_2$	$R_3$
89	$\beta$ OBn	$NH_2$	OBn
90	$\beta$ OBn	OCH <sub>3</sub>	$NH_2$
91	$\beta$ OBn	O(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	$NH_2$
92	H	$NH_2$	OBn
93	H	OCH <sub>3</sub>	$NH_2$
94	$\beta$ O(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	$NH_2$



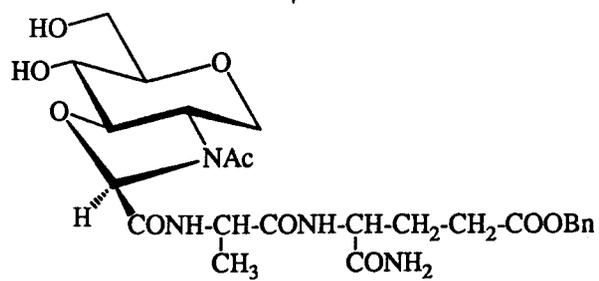
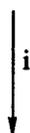
	$R_1$	$R_2$	$R_3$
24	OH	$NH_2$	OH
25	OH	OCH <sub>3</sub>	$NH_2$
26	OH	O(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	$NH_2$
27	H	$NH_2$	OH
28	H	OCH <sub>3</sub>	$NH_2$
29	$\beta$ O(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	$NH_2$

i = H<sub>2</sub>/Pd(C)

Esquema 20



92



95

*i* = HCl

Esquema 21

### 4.3. DETERMINACION ESTRUCTURAL DE LAS NUEVAS SUSTANCIAS

La determinación estructural de las sustancias descritas en la presente Memoria se ha realizado en base a los datos obtenidos por la aplicación de técnicas espectroscópicas tales como la espectroscopía de resonancia magnética nuclear ( $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -RMN), la espectrometría de masas de baja resolución (realizada con diversas formas de ionización como son la ionización por impacto electrónico -e.i.-, la ionización química -c.i.-, y la ionización mediante bombardeo con átomos ligeros -FAB-), la espectrometría de masas de alta resolución (e.i. y FAB) y la espectroscopía de infrarrojo (IR).

Este apartado se divide, por tanto, en primer lugar en función de la técnica empleada (RMN, masas e IR) y, posteriormente, dentro de cada técnica, se dividen las sustancias a estudiar en función de las similitudes estructurales que presenten.

Para mayor comodidad, los espectros registrados se recogen en un Apéndice aparte, numerados como Figuras n-A, donde n es un número natural desde el 1 en adelante.

### 4.3.1. Determinación estructural por RMN

Para el estudio estructural mediante espectroscopía de RMN, las nuevas sustancias se han dividido en tres grupos.

En primer lugar se estudia la estructura de las sustancias que presentan el anillo de oxazolidina, obtenidas por la reacción de N-acil-D-glucosaminas con compuestos gem-dihalogenados (dibromometano y ácido dicloroacético), así como sus derivados más simples. Es decir, se trata de estudiar la reacción de formación del anillo de oxazolidina en aquellos compuestos bien obtenidos directamente de esta reacción o bien de los derivados simples de éstos en los que dicho anillo se mantiene.

En segundo lugar se consideran los compuestos obtenidos por la apertura del anillo de oxazolidina con diversos nucleófilos.

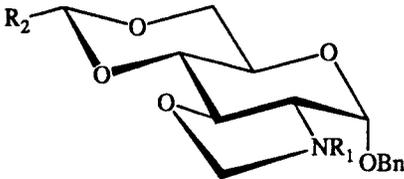
En tercer y último lugar se estudian todas aquellas sustancias que presentan la cadena peptídica, independientemente del grado de protección que posean.

#### 4.3.1.1. OXAZOLIDINAS CONDENSADAS CON EL AMINO AZUCAR

##### *4.3.1.1.1. Derivados de la reacción de N-acil-D-glucosaminas con dibromometano*

Las sustancias estudiadas en primer lugar, obtenidas por reacción de N-acil-D-glucosaminas con dibromometano, se presentan en la Tabla VI, mientras que en la Tabla VII se recogen los desplazamientos químicos ( $\delta$ , en p.p.m.), multiplicidad y asignaciones de las diferentes señales detectadas en sus espectros de  $^1\text{H}$ -RMN, registrados en  $\text{Cl}_3\text{CD}$  a 200 MHz.

Tabla VI



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
73	Ac	Ph
74	Ac	p-MeOPh
75	Piv	Ph
76	Bz	Ph

El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de 3-acetil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (73) (Figura 1A, Tabla VII), muestra a campo alto un singulete a 1,99 ppm, con una integral para tres protones, asignado al metilo de la amida. A 3,33 ppm se detecta un doble doblete con integral para un protón que se asigna a H-2; esta señal muestra dos constantes de acoplamiento conforme a lo esperado para este protón: una constante pequeña ( $J_{1,2}$  2,8 Hz) por su disposición *gauche* respecto a H-1, y otra constante grande ( $J_{2,3}$  10 Hz) por su disposición *anti* respecto a H-3.

A 3,80 ppm aparece una señal compleja, asignada a H-5, solapada en parte con otra, que aparece como triplete centrado a 3,86 ppm que se asigna a H-4; esta última señal presenta una constante de acoplamiento de 9,6 Hz. Junto a ésta, aparece un triplete centrado a 3,97 ppm que ha sido asignado a H-6<sub>ax</sub>, con una  $J_{5,6\text{ax}}$  de 8,5 Hz.

Entre 4,1 y 4,4 ppm aparece un conjunto de señales con una integral para dos protones, que se resuelve en un doble doblete centrado a 4,21 ppm asignado a H-6<sub>eq</sub>, el

Tabla VII

Datos de  $^1\text{H-RMN}$  de las sustancias 73-76 ( $\text{Cl}_3\text{CD}$ , TMS, 200 MHz)

Sustancia	Grupos protectores					Azúcar						
	Ar	PhCH	O-CH <sub>2</sub> -N	PhCH <sub>2</sub>	COR	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6eq	H-6ax
73	7,32 m	5,61 s	5,04 y 4,93 dos d J <sub>gem</sub> 3,4	4,68 Sist AB <sup>2</sup> J 11,5	1,99 s CH <sub>3</sub>	5,90 d J <sub>1,2</sub> 2,8	3,33 dd J <sub>2,3</sub> 10	4,28 t J <sub>3,4</sub> 9,9	3,86 t J <sub>4,5</sub> 9,6	3,80 m	4,21 dd J <sub>5,6eq</sub> 3,8 J <sub>6ax,6eq</sub> 9,3	3,97 t J <sub>5,6ax</sub> 8,5
74	7,43 y 7,14 m m (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) (C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> )	5,56 s	5,02 y 4,92 dos d J <sub>gem</sub> 3,5	4,66 Sist AB <sup>2</sup> J 11,6	2,00 s CH <sub>3</sub>	5,89 d J <sub>1,2</sub> 2,9	3,32 dd J <sub>2,3</sub> 10,1	4,26 t J <sub>3,4</sub> 10,1	3,84 t J <sub>4,5</sub> 9,8	3,76 m	4,19 dd J <sub>5,6eq</sub> 3,8 J <sub>6ax,6eq</sub> 9,4	3,94 t J <sub>5,6ax</sub> 8,6
75	7,39 m	5,61 s	5,27 y 4,96 dos d J <sub>gem</sub> 3,7	4,66 Sist AB <sup>2</sup> J 12	1,21 s C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	5,86 d J <sub>1,2</sub> 2,7	3,43 dd J <sub>2,3</sub> 10,3	4,21 t J <sub>3,4</sub> 10,4	3,88 t J <sub>4,5</sub> 9,9	3,81 ddd	4,25 dd J <sub>5,6eq</sub> 3,8 J <sub>6ax,6eq</sub> 9,2	3,97 t J <sub>5,6ax</sub> 8,7
76	7,38 m	5,61 s			-	5,84 s(ancho)	3,59 dd(ancho) J <sub>2,3</sub> 10,3	4,40 t J <sub>3,4</sub> 10,4			4,22 d(ancho)	4,01 t J <sub>5,6ax</sub> 8,7

cual presenta una constante de acoplamiento pequeña ( $J_{5,6eq}$  3,8 Hz) y otra grande ( $J_{6ax,6eq}$  9,3 Hz), y un triplete centrado a 4,28 ppm asignado a H-3, con una  $J_{3,4}$  de 9,9 Hz.

A 4,68 ppm aparece un conjunto de cuatro señales con una integral correspondiente para dos protones, asignado al sistema AB formado por los protones del metileno del grupo bencilo presente en posición anomérica. Este sistema presenta una constante de acoplamiento geminal de 11,5 Hz.

Centrados a 4,93 ppm y 5,04 ppm aparecen dos dobletes con integral para dos protones, que se asignan a los dos protones diastereotópicos en posición 2 del anillo de oxazolidina recién formado. Estos presentan una constante de acoplamiento geminal de 3,4 Hz. Este bajo valor de  $J_{gem}$  indica que estos dos protones pertenecen a un anillo de cinco miembros<sup>(Bothner-By, 1965)</sup>.

A 5,6 ppm aparece un singulete para un protón, que ha sido asignado al protón de tipo acetálico presente en el grupo bencilideno en posiciones 4 y 6 del amino azúcar. A 5,90 ppm aparece un doblete con una integral para un protón, que se asigna a H-1. La constante de acoplamiento que presenta ( $J_{1,2}$  2,8 Hz) está de acuerdo con la disposición *gauche* respecto de H-2.

Finalmente, a 7,32 ppm aparece un conjunto de señales con integral para diez protones, pertenecientes a los protones aromáticos de los grupos bencilo y bencilideno.

El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de 3-acetil-(1-O-bencil-4,6-O-p-metoxibencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (74) (Figura 2A, Tabla VII) es en todo idéntico al ya comentado, observándose además las señales correspondientes al grupo

metoxilo a 3,79 ppm como un singulete para tres protones y a campo bajo, el típico patrón de acoplamiento correspondiente para un anillo fenilo disustituido en para.

El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de 3-pivaloil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (75) (Figura 3A, Tabla VII) presenta como señal principal un singulete a 1,21 ppm con una integral para nueve protones, de fácil asignación a los protones pertenecientes al grupo t-butilo de la amida. El resto del espectro es prácticamente idéntico al ya comentado para la sustancia 73.

En el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de 3-benzoil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (76) (Figura 4A, Tabla VII) se observan, en general, señales que no están bien resueltas. Aún así, por comparación con los tres anteriores, se pueden asignar: un doble doblete ancho a 3,59 ppm para H-2, con una  $J_{2,3}$  de 10,3 Hz; un triplete a 4,01 ppm para H-6<sub>ax</sub> con una  $J_{5,6ax}$  de 8,7 Hz; un doblete ancho a 4,22 ppm para H-6<sub>eq</sub>; un triplete a 4,40 ppm para H-3 con una  $J_{3,4}$  de 10,4 Hz; un singulete a 5,61 ppm para el protón metínico del grupo bencilideno; un singulete ancho a 5,84 ppm para H-1 y, a campo bajo, un multiplete para quince protones aromáticos (bencilo, bencilideno y benzamido).

Este ensanchamiento generalizado de las señales en el espectro de la sustancia 76 podría estar motivado por una lenta rotación a través del enlace N-COPh de la amida. Por ello se ha realizado un estudio de  $^1\text{H}$ -RMN a temperatura variable sobre esta sustancia, cuyos resultados se recogen en la Tabla VIII.

Tabla VIII

Datos de  $^1\text{H}$ -RMN para la sustancia 76 (DMSO- $d_6$ , TMS, 200 MHz) a temperatura variable

Temperatura	Grupos protectores				Azúcar						
	Ar	PhCH	O-CH <sub>2</sub> -N	PhCH <sub>2</sub>	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6eq	H-6ax
20°	7,4 m	5,74 s									
60°	7,65-7,27 m	5,75 s	5,11 y 4,97 dos d J <sub>gem</sub> 4,2		5,5-5,2	3,56 dd J <sub>2,3</sub> 9,6		3,91 t J <sub>4,5</sub> 10			
100°	7,61-7,26 m	5,72 s	5,08 y 4,97 dos d J <sub>gem</sub> 4,3	4,57 Sist AB <sup>2</sup> J 12,1	5,37 s(ancho)	3,58 dd J <sub>1,2</sub> 2,8 J <sub>2,3</sub> 9,6	4,26 t J <sub>3,4</sub> 9,8	3,90 t J <sub>4,5</sub> 10,2	3,66 ddd	4,15 dd J <sub>5,6eq</sub> 4,8	4,16 t J <sub>5,6ax</sub> 8,5 J <sub>6ax,6eq</sub> 10

En la Figura 5A se recoge la zona entre 3,5 y 6 ppm de los espectros registrados para esta sustancia en DMSO- $d_6$  a: 20° (a), 60° (b) y 100° (c). Mientras que en el registro realizado a 20° sólo se observa una única señal resuelta, quedando el resto del espectro como una serie de abultamientos imposible de asignar, a 60° comienzan a diferenciarse las distintas señales, las cuales se resuelven completamente a 100°.

Así, en el espectro registrado a esta temperatura (Figura 5A [c], Figura 6A) se observa a campo alto un doble doblete centrado a 3,58 ppm que ha sido asignado a H-2, presentando una  $J_{1,2}$  de 2,8 Hz y una  $J_{2,3}$  de 9,6 Hz. En parte solapada a ésta, aparece un sistema de señales que se resuelve como un doble doblete de dobletes centrado a 3,66 ppm, asignado a H-5. A 3,90 ppm aparece un triplete aislado con una constante de acoplamiento de 10,2 Hz que se asigna a H-4.

Entre 4 y 4,3 ppm aparece un conjunto de señales cuya integral corresponde a tres protones que se resuelve en: un doble doblete centrado a 4,15 ppm asignado a H-6<sub>eq</sub>, con  $J_{5,6eq}$  de 4,8 Hz y  $J_{6ax,6eq}$  de 10 Hz; un triplete centrado a 4,16 ppm con una constante  $J_{5,6ax}$  de 8,5 Hz, asignado a H-6<sub>ax</sub> y un triplete centrado a 4,26 ppm que se asigna a H-3 con un valor  $J_{3,4}$  de 9,8 Hz.

El sistema AB del grupo bencilo aparece bien resuelto y centrado a 4,57 ppm, con una constante de acoplamiento geminal de 12,1 Hz. A 4,97 y 5,08 ppm aparecen dos dobletes con una  $J_{gem}$  de 4,3 Hz, de fácil asignación a los protones del metileno en posición 2 del anillo de oxazolidina. Al igual que antes, el bajo valor de esta constante se debe a que estos protones pertenecen a un anillo de cinco miembros.

A 5,37 ppm aparece la única señal que no queda bien resuelta a esta temperatura (compárese con los registros a 20 y 60° en la Figura 5A). Esta señal, que aparece como

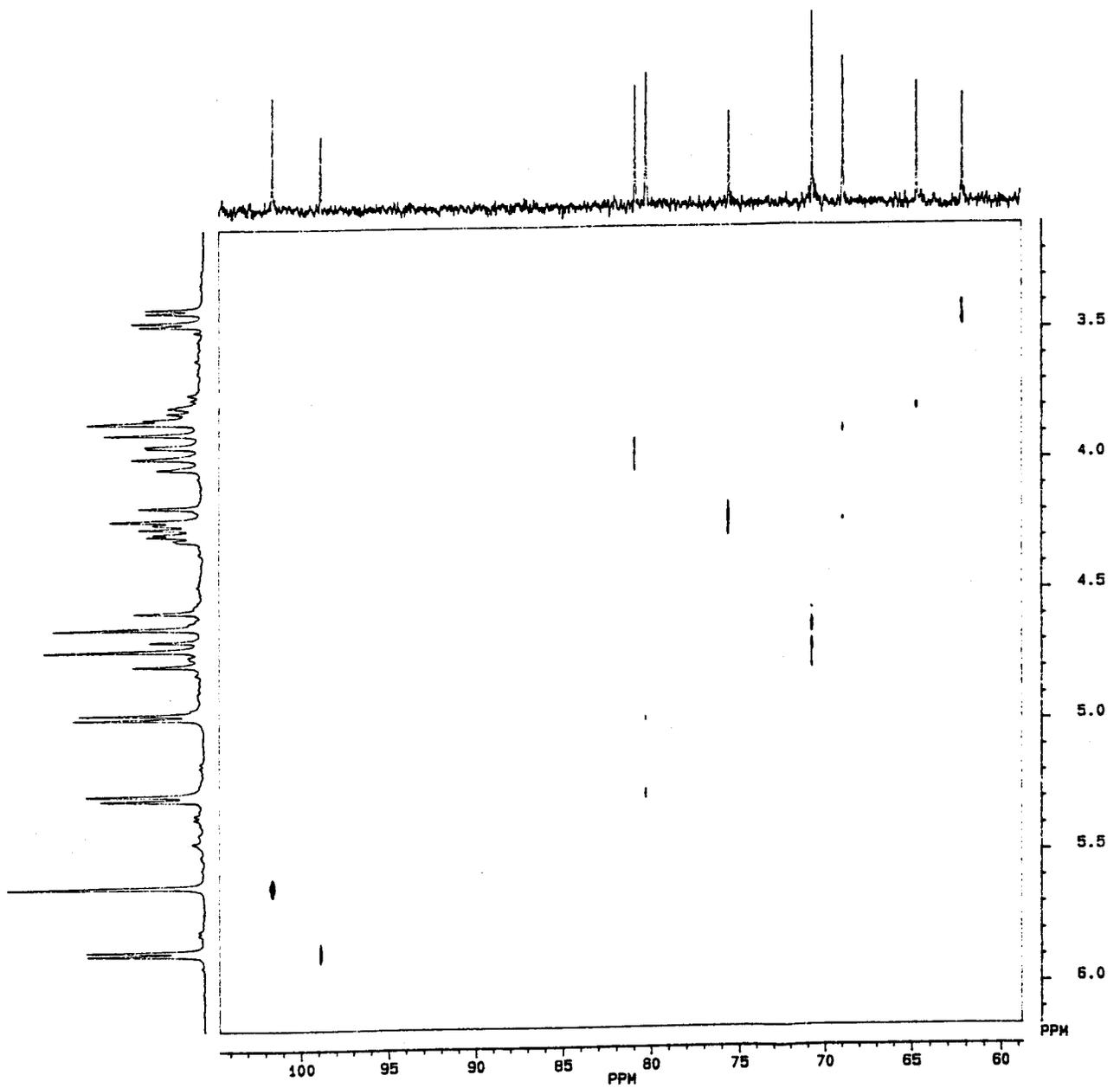
un singulete ancho, con integral para un protón, se asigna a H-1. A 5,72 ppm aparece un singulete, asignado al protón metínico del grupo bencilideno. Finalmente, entre 7,26 y 7,61 ppm aparece un conjunto de señales con integral para quince protones, que se asigna a los protones aromáticos presentes (bencilo, bencilideno y benzamido).

El resultado de este estudio a temperatura variable indica que, en esta sustancia (en la que el resto acilo de la amida proviene del ácido benzoico), el giro de este grupo amida está parcialmente impedido por la presencia precisamente del anillo aromático en esta posición, encontrándose la temperatura de coalescencia ligeramente por encima de la temperatura ambiente.



Con objeto de asignar inequívocamente las distintas señales registradas en los espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN de las sustancias que se vienen estudiando (73-76), se ha llevado a cabo un registro bidimensional de correlación C-H (COSY C-H) sobre la sustancia 75, el cual además permite confirmar las asignaciones realizadas en los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN comentados. El espectro bidimensional completo se recoge en el apéndice (Figura 7A), mientras que en la Figura 9 se presenta una ampliación de dicho espectro.

En base a este resultado, se han asignado las distintas señales de los espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN de las sustancias 73-76 (Figuras 8A-11A), cuyos datos se encuentran tabulados en la Tabla IX.



**Figura 9**

Ampliación del espectro de correlación heteronuclear C-H (COSY C-H) para 3-pivaloil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán) -[2,3-d]-oxazolidina (75), registrado en  $\text{Cl}_3\text{CD}$  a 200 MHz

**Tabla IX**  
 Datos de  $^{13}\text{C}$ -RMN de las sustancias 73-76 ( $\text{Cl}_3\text{CD}$ , TMS, 50 MHz)

Sustancia	Grupos protectores						Azúcar					
	CO	Ar	PhCH	O-CH <sub>2</sub> -N	PhCH <sub>2</sub>	COR	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
73	168,0	137,2 a 126,2	101,5	80,2	71,1	22,6 CH <sub>3</sub>	98,5	60,5	76,8	80,8	64,6	68,8
74	168,0	137,2 a 127,4	101,4	80,2	71,0	22,5 CH <sub>3</sub>	98,4	60,5	76,8	80,6	64,5	68,7
75	177,7	137,5 a 126,2	101,5	80,2	70,7	39,1 27,2 C-(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	98,8	62,1	75,5	80,9	64,6	68,8
76		136,7 a 126,2	101,5	82,2	70,8	-	98,2	61,2	77,0	80,8	64,7	68,8

En el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN de 3-acetil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (**73**) (Figura 8A, Tabla IX) registrado en  $\text{Cl}_3\text{CD}$  a 50 MHz se observan, a campo bajo (168,0 ppm) y campo alto (22,6 ppm), las señales debidas al grupo acetilo de la amida.

Entre 60 y 100 ppm aparecen todas las señales debidas a los carbonos del azúcar, junto con aquellas pertenecientes al metileno del grupo bencilo (71,1 ppm) y al metileno del anillo de oxazolidina (80,2 ppm). A 101,5 ppm se observa la señal correspondiente al carbono metínico del grupo bencilideno presente en posiciones 4 y 6 del azúcar. Por último, las señales debidas a los anillos aromáticos aparecen entre 126,2 y 137,2 ppm.

Es interesante destacar el desplazamiento que sufren algunas señales de los carbonos del azúcar en el compuesto **73**, cuando se las compara con las registradas para el producto de partida, bencil 2-acetamido-4,6-O-bencilidén-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopiranosido (**52**). En la Tabla X se presentan los datos pertenecientes a ambos productos para los mencionados carbonos.

Tabla X

Comparación de los desplazamientos químicos ( $\delta$ , ppm) para los carbonos de azúcar de la sustancia **73** respecto al producto de partida (**52**)<sup>a</sup>

Sustancia	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
<b>52</b>	97,7	54,1	68,8	82,5	62,9	67,5
<b>73</b>	98,5 (+0,8)	60,5 (+6,4)	76,8 (+8)	80,8 (-1,7)	64,6 (+1,7)	68,8 (+1,3)

<sup>a</sup> Los valores entre paréntesis indican el desplazamiento sufrido por cada carbono en particular

En esta tabla se observa que los carbonos 2 y 3 del azúcar son, como era de esperar, los que sufren un mayor desplazamiento (+6,4 y +8 respectivamente) tras la formación del anillo de oxazolidina. Estos desplazamientos se pueden explicar, en una primera aproximación, en base a los efectos  $\beta$  debido a la presencia del metileno introducido (Figura 10).

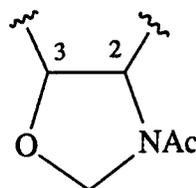


Figura 10

El mayor desplazamiento sufrido por C-3 frente a C-2 se debería a la diferente electronegatividad de los nuevos sustituyentes en  $\gamma$  que ambos presentan. Así, mientras que C-3 presenta un átomo de nitrógeno en esta posición, C-2 presenta un átomo de oxígeno. Ambos sustituyentes tienen un efecto  $\gamma$  apantallante, contrario al efecto  $\beta$  desapantallante considerado; ese efecto apantallante es mayor en el caso del oxígeno, lo que da como resultado un menor desplazamiento global para C-2.

El espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN de 3-acetil-(1-O-bencil-4,6-O-p-metoxibencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (74) (Figura 9A, Tabla IX) registrado en  $\text{Cl}_3\text{CD}$  a 50 MHz es prácticamente idéntico al comentado, con la aparición adicional de varias señales correspondientes al grupo p-metoxibencilideno en posiciones 4 y 6 del amino azúcar. Estas son: la correspondiente al metoxilo en para (posición 4), que aparece a 55,2 ppm; la debida a los carbonos C-3 y C-5 del anillo aromático a 113,5 ppm; y la correspondiente a C-4 de dicho grupo protector a 160,1 ppm.

En el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN de 3-pivaloil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (75) (Figura 10A, Tabla IX) registrado en  $\text{Cl}_3\text{CD}$  a 50 MHz se observan las señales diferenciadoras para este producto respecto al ya comentado, pertenecientes al grupo pivaloilo de la amida. Así, a campo bajo se detecta la señal del carbono carbonílico a 177,7 ppm (180,9 ppm es el valor para la pivalamida), en lugar de a 168,0 ppm que aparecía para el grupo carbonilo de 73 (172,7 ppm es el valor para la acetamida), mientras que a campo alto aparecen las señales correspondientes para los carbonos primarios, a 27,2 ppm, y cuaternario, a 39,1 ppm, del mismo grupo pivaloilo.

En el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN de 3-benzoil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (76) (Figura 11A, Tabla IX) registrado en  $\text{Cl}_3\text{CD}$  a 50 MHz no se detecta la señal correspondiente al carbonilo de la amida. Esta ausencia podría estar motivada, como ya se comentó, por la rotación parcialmente impedida de esta función amida, lo cual unido a la naturaleza cuaternaria del carbono considerado, ensancharía esta débil señal hasta límites no detectables. De hecho, en el registro DEPT (Figura 11A, parte superior) se observa cómo las señales correspondientes a los carbonos C-1, C-3 y O- $\text{CH}_2$ -N aparecen ensanchados y por ello con baja intensidad, hasta el punto que éste último casi desaparece del espectro\*. El resto del mismo está de acuerdo con la estructura propuesta y no presenta variaciones significativas respecto del ya comentado para la sustancia 52.

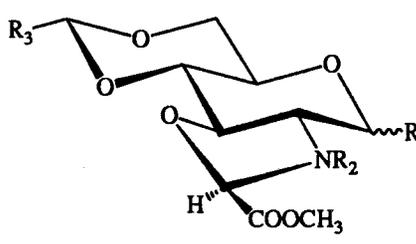
---

\* Hay que tener en cuenta que en un experimento DEPT las intensidades de las señales dependen de las poblaciones de protones, no de las de carbonos (Neuhaus, 1989).

4.3.1.1.2. Derivados de la reacción de N-acil-D-glucosaminas con ácido dicloroacético

Las sustancias estudiadas en este apartado, obtenidas por reacción de N-acil-D-glucosaminas con ácido dicloroacético, se presentan en la Tabla XI.

Tabla XI



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
68	βOBn	Ac	PhCH
69	βODodecil	Ac	PhCH
70	H	Ac	PhCH
72	αOBn	Ac	p-MeOPhCH
30	αOBn	Piv	PhCH
31	αOBn	BOC	PhCH
32	αOBn	Bz	PhCH
33	αOBn	BnSO <sub>2</sub>	PhCH

El espectro de <sup>1</sup>H-RMN de 3-acetil-2-metoxicarbonil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi-β-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (68) (Figura 12A, Tabla XII) registrado en DMSO-d<sub>6</sub> a 200 MHz a temperatura ambiente presenta a campo alto (2,08 ppm) un singulete para tres protones, asignado al metilo del grupo acetamido. Entre 3 y 5 ppm aparecen varios grupos de señales, no siempre bien definidas, que se asignan como sigue: un singulete a 3,68 ppm con integral para tres protones para el grupo metilo del

Tabla XII

Datos de  $^1\text{H}$ -RMN para la sustancia 68 (DMSO- $d_6$ , TMS, 200 MHz) a temperatura variable

Temperatura	Grupos protectores				Oxazolidina			Azúcar					
	Ar	PhCH	PhCH <sub>2</sub>	COCH <sub>3</sub>	OCHN	COOCH <sub>3</sub>	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6eq	H-6ax
20°	7,36 m	5,73 s	4,77 Sist AB 2J 11,1	2,08 s	5,56 s(ancho)	3,68 s	5,35 d(ancho)					4,29 dd J <sub>5,6eq</sub> 4,6 J <sub>6ax,6eq</sub> 10,3	
60°	7,36 m	5,70 s	4,78 Sist AB 2J 11,4	2,06 s	5,57 s(ancho)	3,69 s	5,34 d J <sub>1,2</sub> 8,0	3,34 t J <sub>2,3</sub> 8,5			3,50 m	4,28 dd J <sub>5,6eq</sub> 4,9 J <sub>6ax,6eq</sub> 10,1	3,90 t J <sub>5,6ax</sub> 10

éster en posición 2 del anillo de oxazolidina recién creado; un doble doblete a 4,29 ppm para un protón, asignado a H-6<sub>eq</sub>, que presenta  $J_{5,6eq}$  de 4,9 Hz y una  $J_{6ax,6eq}$  de 10,3 Hz; y un sistema AB con integral para dos protones, debido a los protones del metileno del grupo bencilo, con una constante de acoplamiento geminal de 11,1 Hz.

Entre 5 y 6 ppm aparecen tres señales que, al igual que antes no están completamente resueltas. Centrado a 5,35 ppm aparece un doblete ancho que se asigna a H-1. A 5,57 ppm aparece un singulete ancho para un protón que ha sido asignado al protón en posición 2 del anillo de la oxazolidina, mientras que a 5,73 ppm aparece un singulete bien definido que se asigna al protón metínico del grupo bencilideno. Finalmente, a campo bajo aparece un multiplete centrado a 7,36 ppm con integral para diez protones que es debido a los protones aromáticos de los grupos bencilo y bencilideno presentes.

La falta de resolución que presentan las señales registradas a temperatura ambiente podría estar motivada, al igual que ocurría anteriormente (Apartado 4.3.1.1.1.), a la falta de libertad para el giro de la función amida presente. Por ello, se ha realizado un registro a 60° (Figura 13A, Tabla XII), apareciendo ahora las señales bien definidas. Así, se observa como aparece un triplete centrado a 3,34 ppm, con integral para un protón que se asigna a H-2. Esta señal presenta una constante de acoplamiento de 8,4 ppm. A su vez, el protón anomérico aparece bien resuelto como un doblete a 5,34 ppm con una constante  $J_{1,2}$  de 8,0 Hz. Estos valores de  $J$  indican la disposición *anti* existente entre estos dos protones. También se pueden asignar: un multiplete centrado a 3,50 ppm correspondiente a H-5 y un triplete a 3,90 ppm con una  $J_{5,6ax}$  de 10 Hz, asignado a H-6<sub>ax</sub>.

El resto de señales se asignan a los mismos protones que en el registro a temperatura ambiente\*\*.

En el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de 3-acetil-2-metoxicarbonil-(4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi-1-O-dodecil- $\beta$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (69) (Figura 14A, Tabla XIII) registrado en  $\text{Cl}_3\text{CD}$  a 200 MHz a temperatura ambiente, se observan a campo alto las señales debidas al grupo dodecilo en posición anomérica. Así, a 0,91 ppm aparece un triplete con integral para tres protones con un valor de J vecinal de 9,3 Hz asignado al metilo terminal de esta cadena alifática; a 1,26 ppm aparece un ancho singulete con integral para veinte protones, de fácil asignación a los diez metilenos intermedios de dicha cadena, mientras que a 1,62 ppm aparece un triplete mal definido, con integral para dos protones que se asigna al metileno en  $\alpha$  al oxígeno anomérico.

A 2,22 y 3,73 ppm aparecen dos singuletes con integral para cada uno correspondiente a tres protones, que se asignan a los metilo de la amida y del éster, respectivamente. A 4,29 ppm aparece un doble doblete, que presenta una integral para un protón, asignado a  $\text{H-6}_{\text{eq}}$ , con las dos constantes típicas de este protón ( $J_{5,6\text{eq}}$  4,7 Hz y  $J_{6\text{ax},6\text{eq}}$  10,2 Hz). A 4,89 ppm se observa un doblete ancho que se asigna a H-1. A 5,52 y 5,55 ppm aparecen dos singuletes, que tentativamente se asignan al protón 2 del anillo de oxazolidina y al protón metínico del grupo bencilideno, respectivamente. Finalmente, a campo bajo se observa un multiplete para cinco protones aromáticos a 7,42 ppm.

---

\*\* El hecho de que aparezcan señales únicas para cada protón considerado indica la presencia de solamente uno de los dos isómeros que se podrían producir en la reacción de obtención de esta sustancia. Debido a que esta estereoespecificidad es común a todas las sustancias obtenidas mediante este método (véase apartado 4.2.2.), se pospone la determinación de la configuración de estas sustancias hasta el final de este apartado.

**Tabla XIII**  
 Datos de  $^1\text{H}$ -RMN para la sustancia 69 ( $\text{Cl}_3\text{CD}$ , TMS, 200 MHz, 20°)

Grupos protectores						Oxazolidina			Azúcar					
Ar	PhCH	COCH <sub>3</sub>	O-CH <sub>2</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> -CH <sub>3</sub>			OCHN	COOCH <sub>3</sub>	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6eq	H-6ax
7,42 m	5,52 s	2,22 s	1,62 m	1,26 s(ancho)	0,91 t J 9,3	5,55 s	3,73 s	4,89 d(ancho)					4,29 dd J <sub>5,6eq</sub> 4,7 J <sub>6ax,6eq</sub> 10,2	

En el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de 3-acetil-2-metoxicarbonil-(4,6-O-bencilidén-1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (**70**) (Figura 15A, Tabla XIV) registrado en  $\text{DMSO-d}_6$  a 200 MHz a temperatura ambiente, se observan señales dobles que hacen que el espectro general no esté bien resuelto. Así, se observan dos señales, a 1,86 y 2,01 ppm para el metilo de la amida, al igual que para el metilo del éster (3,67 y 3,77 ppm). Entre 4,5 y 5 ppm aparecen dos dobles dobletes anchos que corresponderían a  $\text{H-1}_{\text{eq}}$ . Entre 5 y 6 ppm aparecen dos singuletes a 5,41 y 5,82 ppm para el protón 2 del anillo de oxazolidina, y un singulete, a 5,71 ppm, asignado al protón metínico del grupo bencilideno en posiciones 4 y 6 del amino azúcar.

Este juego de dobles señales para cada protón considerado podría deberse, bien a la presencia de dos estereoisómeros en la posición 2 de la oxazolidina, o bien a la presencia de dos rotámeros por la lenta rotación de la amida. Gracias al registro de los espectros de esta sustancia a alta temperatura se ha podido confirmar ante cuál de estas dos posibilidades nos encontramos. Así, en el registro a  $60^\circ$  (Figura 16A, Tabla XIV) se observa cómo estas dobles señales colapsan a señales simples aunque aún no bien definidas, las cuales se resuelven completamente a  $100^\circ$  (Figura 17A, Tabla XIV). En este espectro son claramente diferenciables: un singulete a 1,94 ppm con integral para tres protones, asignado al metilo de la amida; un singulete a 3,76 ppm asignado al metilo del éster; un doble doblete con integral para un protón, asignado a  $\text{H-6}_{\text{eq}}$ , con  $J_{5,6\text{eq}}$  4,8 Hz y  $J_{6\text{ax},6\text{eq}}$  10,1 Hz; un doble doblete centrado a 4,72 ppm con integral correspondiente para un protón que se asigna a  $\text{H-1}_{\text{eq}}$ , presentando una constante pequeña ( $J_{1\text{eq},2}$  4,1 Hz) por su disposición *gauche* respecto a  $\text{H-2}$ , y una constante grande ( $J_{1\text{eq},1\text{ax}}$  10,4 Hz) por su situación geminal respecto a  $\text{H-1}_{\text{ax}}$ ; dos singuletes, a 5,62 y 5,71 ppm asignados respectivamente al protón en posición 2 del anillo de oxazolidina y al protón metínico del grupo bencilideno presente; y un multiplete a 7,36 ppm con integral para 5 protones, que corresponden a los protones aromáticos de este último grupo protector.

**Tabla XIV**  
 Datos de  $^1\text{H}$ -RMN para la sustancia 70 (DMSO- $d_6$ , TMS, 200 MHz) a temperatura variable

Temperatura	Grupos protectores			Oxazolidina			Azúcar						
	Ar	PhCH	COCH <sub>3</sub>	OCHN	COOCH <sub>3</sub>	H-1 <sub>eq</sub>	H-1 <sub>ax</sub>	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6 <sub>eq</sub>	H-6 <sub>ax</sub>
20°	7,40 s(ancho)	5,71 s	2,01 y 1,86 dos s	5,82 y 5,41 dos s	3,77 y 3,67	4,75 y 4,60 dos dd(anchos)							
60°	7,37 m	5,71 s	1,96 s(ancho)	5,62	3,76 s(ancho)	4,70 s(ancho)						4,25 dd J <sub>5,6eq</sub> 4,7 J <sub>6ax,6eq</sub> 10,1	
100°	7,36 m	5,71 s	1,94 s(ancho)	5,62 s	3,76 s	4,72 dd J <sub>1eq,2</sub> 4,1 J <sub>1ax,1eq</sub> 10,4						4,25 dd J <sub>5,6eq</sub> 4,8 J <sub>6ax,6eq</sub> 10,1	

El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de 3-acetil-2-metoxicarbonil-(1-O-bencil-4,6-O-p-metoxibencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (72) (Figura 18A, Tabla XV) registrado en  $\text{Cl}_3\text{CD}$  a 200 MHz a temperatura ambiente presenta el mismo problema que el anterior, apareciendo dobles señales para casi todos los protones. Este mismo problema se presenta de nuevo en el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de 3-t-butoxicarbonil-2-metoxicarbonil-(1-O-bencil-4,6-O-p-metoxibencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (31) (Figura 19A, Tabla XV) registrado en las mismas condiciones que el anterior. En ambos casos aparecen dobles señales para los protones pertenecientes al resto acilo de la amida, al metilo del éster, al metileno del grupo bencilo, al protón en posición del anillo de oxazolidina y a H-1. Es decir, todos los protones cercanos espacialmente a la función amida se ven afectados por la ausencia de libertad de giro de ésta, apareciendo a temperatura ambiente las señales debidas a ambos conformeros.

Sin embargo, en el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de 2-metoxicarbonil-3-pivaloil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (30) (Figura 20A, Tabla XV) registrado en  $\text{Cl}_3\text{CD}$  a 200 MHz a temperatura ambiente se observan señales simples para cada protón considerado. Así, a campo alto (1,16 ppm) aparece un intenso singulete con integral para nueve protones, que se asigna a los protones del grupo t-butilo de la amida. A 3,63 ppm aparece claramente diferenciado un doble doblete, con integral correspondiente para un protón que se asigna a H-2; las dos constantes que presenta ( $J_{1,2}$  2,8 Hz y  $J_{2,3}$  10,0 Hz) están de acuerdo con su disposición *gauche* y *anti* con H-1 y H-3 respectivamente.

Entre 3,7 y 4 ppm aparece un conjunto de señales con integral para seis protones, de las que se resuelven: un singulete intenso asignado al metilo del éster, un triplete centrado a 3,82 ppm asignado a H-4, con una  $J_{4,5}$  de 9,6 Hz y un triplete centrado a 3,93

**Tabla XV**  
 Datos de <sup>1</sup>H-RMN para la sustancias 72, 30 y 31 (Cl<sub>3</sub>CD, TMS, 200 MHz, 20°)

Sustancia	Grupos protectores			Oxazolidina			Azúcar						
	Ar	PhCH	PhCH <sub>2</sub>	COR	OCHN	COOCH <sub>3</sub>	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6eq	H-6ax
72	7,33 m	5,52 s	4,62 m	1,92 y 1,81 dos s CH <sub>3</sub>	5,47 y 5,44 dos s	3,77 s	6,02 y ¿?	3,62 y 3,50 dos d(anchos)					
31	7,27 m	5,51 s	4,64 m	1,35 y 1,32 dos s OC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	5,33 y 5,23	3,71 s	5,78 y 5,48 dos s(anchos)	3,49 dd					3,92 t J <sub>5,6ax</sub> 9,5
30	7,32 m	5,58 s	4,64 Sist AB <sup>2</sup> J 11,4	1,16 s C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	5,75 s	3,79 s	6,00 d J <sub>1,2</sub> 2,8	3,63 dd J <sub>2,3</sub> 10,0	4,28 t J <sub>3,4</sub> 9,7	3,82 t J <sub>4,5</sub> 9,6			3,93 t J <sub>5,6ax</sub> 9,2

ppm que se asigna a H-6<sub>ax</sub>, con una constante de acoplamiento de 8,7 ppm. Queda por asignar en este conjunto de señales la correspondiente a H-5.

A 4,28 ppm aparece un triplete asignado a H-3 con una constante de acoplamiento de 9,7 Hz, y solapada con esta existe otra (la integral del conjunto es para dos protones), que debe corresponder a H-6<sub>eq</sub>. Centrado a 4,64 ppm aparece el sistema AB formado por los protones del metileno del grupo bencilo, con una constante geminal de 11,4 Hz.

Entre 5 y 6 ppm se observan tres señales diferenciadas: a 5,58 y 5,75 ppm aparecen dos singuletes asignados respectivamente al protón metínico del grupo bencilideno y al protón en posición 2 del anillo de oxazolidina (esta asignación es inequívoca como se verá más adelante); a 6,00 ppm se observa un doblete asignado a H-1, que presenta una  $J_{1,2}$  de 2,8 Hz. Finalmente, a 7,32 ppm se detecta un conjunto de señales con integral para 10 protones, correspondiente a los protones aromáticos presentes (bencilo y bencilideno).

El espectro de <sup>1</sup>H-RMN de 3-benzoil-2-metoxicarbonil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (32) (Figura 21A, Tabla XVI) registrado en DMSO-d<sub>6</sub> a 200 MHz a temperatura ambiente, al igual que ocurría con el análogo obtenido por reacción con dibromometano (apartado 4.3.1.1.1), muestra una serie de abultamientos imposible de asignar. Por ello se ha llevado a cabo un seguimiento a diferentes temperaturas. En la Figura 22A (Tabla XVI) se recoge la zona entre 3,2 y 6,2 ppm de los registros efectuados para esta sustancia a 20°, 60° y 100°. Se observa cómo al aumentar la temperatura las señales se van resolviendo, comenzando a ser visibles a 60° los protones H-2, H-3 y H-4 del azúcar. La variación más significativa se encuentra entre 5 y 6 ppm. En esta zona se ve cómo el protón en posición 2 de la oxazolidina, que a 20° aparece como un singulete muy ancho, va resolviéndose, y desplazándose a la vez a

Tabla XVI

Datos de  $^1\text{H}$ -RMN para la sustancia 32 (DMSO- $d_6$ , TMS, 200 MHz) a temperatura variable

Temperatura	Grupos protectores			Oxazolidina		Azúcar						
	Ar	PhCH	PhCH <sub>2</sub>	OCHN	COOCH <sub>3</sub>	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6eq	H-6ax
20°	7,35 m	5,71 s		5,86 s(ancho)		5,22 y 4,96 dos d						
60°	7,35 m	5,71 s		5,80 s			3,73 dd(ancho)	4,35 t J <sub>3,4</sub> 10	3,86 t J <sub>4,5</sub> 10			
100°	7,49 a 7,26 m	5,71 s	4,54 y 4,21 dos d J <sub>gem</sub> 11,7	5,74 s	3,59 s	5,10 s(ancho)	3,72 dd J <sub>1,2</sub> 2,8 J <sub>2,3</sub> 9,7	4,35 t J <sub>3,4</sub> 9,9	3,87 t J <sub>4,5</sub> 10,1	3,61 m	4,12 dl J <sub>5,6eq</sub> 4,4	4,16 t J <sub>5,6ax</sub> 9,6 J <sub>6ax,6eq</sub> 10,0

campo ligeramente más alto, mientras que el protón H-1, que a 20° aparece como dos pequeños dobletes (a 4,96 y 5,22 ppm), deja de aparecer en el registro a 60°, volviendo a aparecer a 100° como un singulete muy ancho. En este último registro (Figura 23A) las diferentes señales se encuentran casi resueltas, pudiendo asignarse: un singulete a 3,59 ppm al metilo del éster, que en parte se encuentra ocultando la señal correspondiente a H-5, que aparece como un multiplete a 3,61 ppm; junto a éstas, aparece un doble doblete con integral para un protón asignado a H-2, que presenta una  $J_{1,2}$  de 2,8 Hz y una  $J_{2,3}$  de 9,7 Hz; entre 4 y 4,2 ppm aparece un conjunto de señales, con integral para tres protones que consta de un doble doblete centrado a 4,12 ppm asignado a H-6<sub>eq</sub> ( $J_{5,6eq}$  4,4 Hz,  $J_{6ax,6eq}$  10 Hz), un triplete a 4,20 ppm asignado a H-6<sub>ax</sub> con  $J_{5,6ax}$  de 9,6 Hz, y un doblete ancho con una constante de acoplamiento de 11,8 Hz, que se asigna a uno de los dos protones diasterotópicos del metileno del grupo bencilo; centrado a 4,35 ppm aparece un triplete para un protón que ha sido asignado a H-3, con una  $J_{3,4}$  de 9,9 Hz; aislado a 4,54 ppm aparece el otro protón diasterotópico del grupo bencilo como un doblete con una  $J_{gem}$  de 11,7 Hz; a 5,10 ppm aparece H-1 como un singulete ancho, quedando pues sin resolver a esta temperatura; a 5,71 ppm aparece la única señal que no ha sufrido variación por el aumento de temperatura, como un singulete asignado al protón metínico del grupo bencilideno; junto a esta se encuentra otro singulete que se asigna al protón en posición 2 del anillo de oxazolidina; por último, entre 7,26 y 7,49 ppm aparece un conjunto de señales con integral para 15 protones, correspondiente a los protones aromáticos de los grupos bencilo, bencilideno y benzamido presentes.

El espectro de <sup>1</sup>H-RMN de 3-bencilsulfonil-2-metoxicarbonil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (33) (Figura 24A, Tabla XVII) registrado en DMSO-d<sub>6</sub> a 200 MHz a temperatura ambiente muestra, como era de esperar, señales simples para cada protón considerado. Para la asignación de las

**Tabla XVII**  
 Datos de <sup>1</sup>H-RMN para la sustancia 33 (DMSO-d<sub>6</sub>, TMS, 200 MHz, 20°)

Ar	Grupos protectores			Oxazolidina		Azúcar						
	PhCH	PhCH <sub>2</sub>	SO <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph	OCHN	COOCH <sub>3</sub>	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6eq	H-6ax
7,33 m	5,74 s	4,82 Sist AB 2J 11,1	4,47 Sist AB 2J 13,4	4,84 s	3,70 s	5,64 d J <sub>1,2</sub> 2,8	3,63 dd	4,26 t J <sub>3,4</sub> 9,7	3,89 t J <sub>4,5</sub> 10,2		4,20 dd J <sub>5,6eq</sub> 4,7	4,11 t J <sub>5,6ax</sub> 9,4 J <sub>6ax,6eq</sub> 9,4

diferentes señales se han realizado experimentos de doble resonancia (Figura 25A). A 3,63 ppm, y solapada con otras señales, aparece la señal correspondiente a H-2, aunque sólo se observa uno de los dos dobletes esperados, con un valor de  $J_{1,2}$  de 2,8 Hz. Sobre ésta aparece un singulete intenso asignado al metilo del éster, que a su vez está justamente encima de otra señal (el conjunto de estas tres señales presenta una integral para cinco protones), que debe corresponder a H-5. A su lado aparece un triplete centrado a 3,89 ppm, asignado a H-4 con una  $J_{4,5}$  de 10,2 Hz.

Entre 4 y 4,3 ppm aparece otro conjunto de señales con integral global para tres protones, que se resuelve en: un triplete a 4,11 ppm, asignado a H-6<sub>ax</sub>, con un valor de  $J_{5,6ax}$  de 9,4 Hz; un doble doblete a 4,20 ppm asignado a H-6<sub>eq</sub> con  $J_{5,6eq}$  de 4,7 Hz y  $J_{6ax,6eq}$  de 9,4 Hz; y un triplete centrado a 4,26 ppm que se asigna a H-3 con un valor de  $J_{3,4}$  de 9,7 Hz.

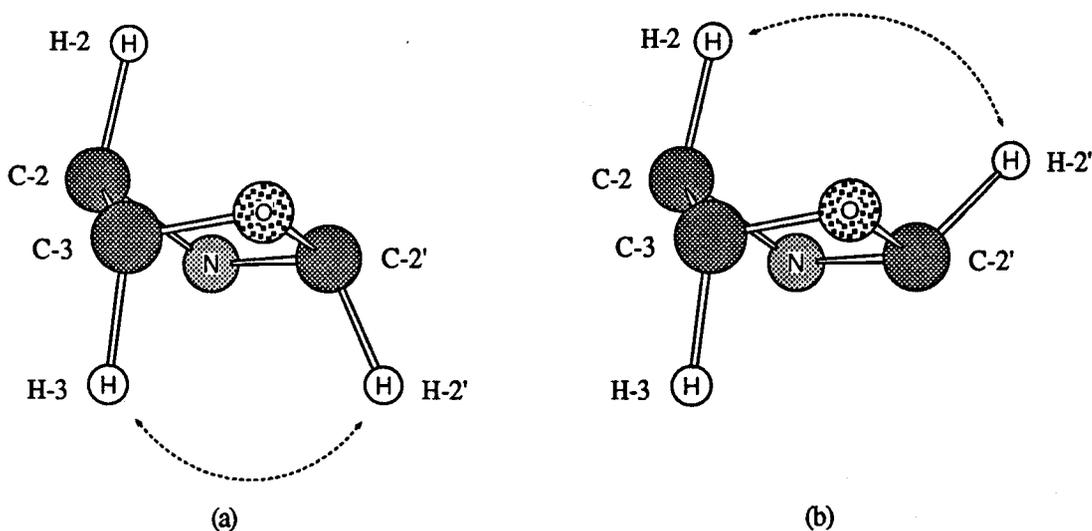
Centrado a 4,47 ppm aparece un sistema AB formado por los protones diastereotópicos del bencilo del grupo bencilsulfonilo, con una constante de acoplamiento geminal de 13,4 Hz. A su lado aparece un conjunto de señales con integral para tres protones que se resuelve fácilmente en: un sistema AB correspondiente a los protones del metileno del grupo bencilo en posición anomérica, con una  $J_{gem}$  de 11,1 Hz; y un singulete a 4,84 ppm asignado al protón en posición 2 del anillo de oxazolidina.

A 5,64 ppm aparece un doblete con integral para un protón que se asigna a H-1; presenta una  $J_{1,2}$  de 2,8 Hz. A su lado aparece el singulete debido al protón metínico del grupo bencilideno, a 5,74 ppm. Por último, a 7,33 ppm, se observa un conjunto de señales, con integral para quince protones correspondiente a los protones aromáticos de los grupos protectores presentes (bencilo, bencilideno y bencilsulfonilo).

Como ha quedado de manifiesto por el estudio de resonancia magnética nuclear de protones que se acaba de exponer, la reacción de N-acil-D-glucosaminas con ácido dicloroacético conduce a la formación de un anillo de oxazolidina entre las posiciones 2 y 3 del amino azúcar, siendo esta reacción estereoespecífica, produciéndose sólo uno de los dos diastereoisómeros posibles.

La cuestión estriba ahora en determinar qué isómero es el que se produce, y si los sustituyentes en posición anomérica y/o sobre el nitrógeno en posición 2 tienen influencia sobre la configuración de éste.

Para ello, y dado que, por una parte todos los intentos de obtener buenos cristales para su estudio por difracción de rayos X han resultado infructuosos, y por otra que el protón en posición 2 de la oxazolidina no presenta ningún tipo de acoplamiento a larga distancia, este estudio configuracional se ha basado en el posible efecto nuclear Overhauser (NOE) que dicho protón pudiera presentar con los protones del amino azúcar cercanos (H-2 o H-3) (Figura 11).



**Figura 11**

(a) Configuración R en C-2': posible NOE con H-3

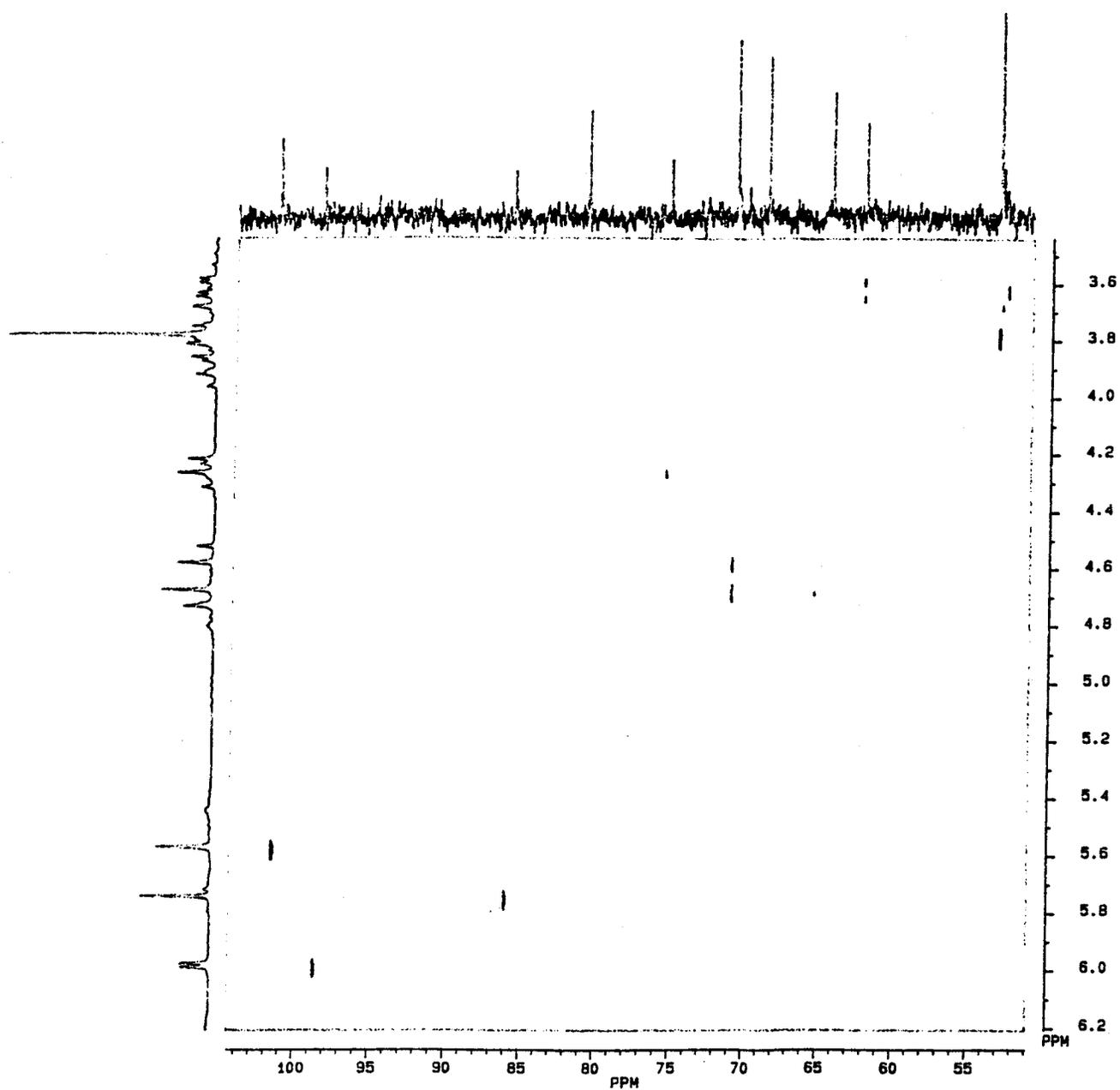
(b) Configuración S en C-2': posible NOE con H-2

En caso de que el isómero que se obtiene tuviera configuración R en el carbono 2 de la oxazolidina (C-2') (Figura 11[a]), podría existir NOE entre H-3 y el protón sobre dicho carbono (al que en adelante denominaremos H-2'). En el caso contrario, en el que el carbono C-2' presentara configuración S, podría existir NOE entre H-2 y H-2' (Figura 11[b]).

Este estudio comienza con la determinación configuracional en el compuesto **30**, dado que es el único que, como ha quedado recogido, presenta señales bien resueltas en su espectro de  $^1\text{H}$ -RMN a temperatura ambiente. El primer paso ha consistido en la asignación inequívoca de la señal correspondiente a H-2'. Esta se ha realizado de dos formas: (a) mediante el registro de un espectro bidimensional de correlación heteronuclear (COSY C-H), y (b) mediante un experimento NOE en estado estacionario<sup>(Neuhaus, 1989)</sup>.

El espectro bidimensional (COSY C-H) de la sustancia **30**, se recoge el apéndice (Figura 26A), presentándose su ampliación en la Figura 12. En esta ampliación se puede ver que el singlete que aparece a 5,75 ppm en el espectro de protones, se correlaciona con la señal a 85,9 ppm en el espectro de carbonos, mientras que el que aparece a 5,58 ppm se correlaciona con la que aparece a 101,5 ppm. Los valores de  $\delta$  de las señales de carbono consideradas indican que la primera correlación es debida a C2'-H-2', mientras que la segunda corresponde al metino del grupo bencilideno presente en posiciones 4 y 6 del amino azúcar. Es decir, que la señal correspondiente a H-2' es aquella que aparece a 5,75 ppm.

Esta asignación se ha visto confirmada por la realización de un experimento NOE en el que por saturación de la señal correspondiente al grupo t-butilo presente en la molécula, aparece NOE negativo para la señal debida a H-2', a 5,75 ppm (Figura 27A).



**Figura 12**

Ampliación del espectro de correlación heteronuclear C-H (COSY C-H) para 2-metoxicarbonil-3-pivaloil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán) -[2,3-d]-oxazolidina (30), registrado en  $\text{Cl}_3\text{CD}$ -acetona 3:1 a 200 MHz

Una vez asignada la señal de H-2', se ha llevado a cabo un experimento NOE, irradiando en esta ocasión esta señal (5,75 ppm), dando lugar a la aparición de NOE negativo para las señales correspondientes al grupo t-butilo de la amida (singulete a 1,16 ppm), al grupo metilo del éster (singulete a 3,79 ppm) y a H-3 (tripleto a 4,28 ppm) (Figura 28A).

Por tanto, en el compuesto **30**, la configuración del carbono en posición 2 del anillo de oxazolidina es R (Figura 11[a]).

La otra sustancia de este grupo sobre la que se ha realizado la determinación configuracional del carbono 2 del anillo de oxazolidina, mediante experimentos NOE, es la 3-acetil-2-metoxicarbonil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\beta$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (**68**). Al igual que antes, el primer paso ha consistido en la asignación inequívoca de la resonancia debida a H-2'. Para ello, se ha realizado un experimento NOE irradiando la señal correspondiente al metilo del grupo acetilo existente sobre el átomo de nitrógeno en esta sustancia (2,15 ppm), lo que ha puesto de manifiesto la existencia de NOE con el protón H-2', cuya señal es aquella que aparece a 5,50 ppm (Figura 29A). La posterior saturación de esta señal muestra la existencia de NOE entre H-2' y H-3 (Figura 30A). Es decir, nos encontramos en el mismo caso que antes, presentando C-2' de nuevo configuración R.

---

En base al espectro bidimensional de correlación heteronuclear registrado para la sustancia **30**, presentado anteriormente, se han asignado las distintas señales de los espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN de las sustancias **68-70**, **72** y **30-33** (Figuras 31A-38A) cuyos datos se encuentran tabulados en la Tabla XVIII.

**Tabla XVIII**  
 Datos de  $^{13}\text{C}$ -RMN de las sustancias 68-70, 72 y 30-33 ( $\text{Cl}_3\text{CD}$ , TMS, 50 MHz)

Sustancia	Grupos protectores					Oxazolidina				Azúcar				
	CO (Amida)	Ar	PhCH	PhCH <sub>2</sub>	COR	CO (Ester)	OCHN	OCH <sub>3</sub>	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
68 <sup>a</sup>	170,5	136,9-126,4	101,3	71,6	23,6 CH <sub>3</sub>	167,6	87,6	52,6	101,6	62,5	79,4	80,8	68,3	68,6
69	170,6	136,4-126,1	101,3	-	23,5	167,4	87,4	52,7	101,9	62,1	78,9	80,6	67,9	68,3
70 <sup>a</sup>	168,1	137,0-126,4	101,7	-	22,6 CH <sub>3</sub>	167,7	86,8	52,9	72,4	58,3	82,8	80,3	68,8	69,5
72 <sup>a</sup>	¿?	131,7-127,6	101,6	71,2	22,3 CH <sub>3</sub>	167,7	86,8	52,8	98,2	60,9	77,0	80,9	64,7	68,7
30	178,1	137,1-126,2	101,5	70,9	40,3C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> 27,8C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	168,3	85,9	53,1	98,6	62,1	75,4	80,9	64,4	68,8
31	151,7 (Uretano)	137,5-126,2	101,5	71,2 70,4	81,6C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> 28,1C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	168,1	86,0 86,5	52,6	98,4 97,9	59,9	77,0 77,7	80,8	64,5	68,7
32 <sup>b</sup>	166,4	136,9-125,7	100,1	69,6	-	¿?	86,6	52,1	97,0	60,6	76,9	79,0	64,3	67,3
33	-	136,5-126,1	101,4	71,1	61,1 SO <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph	168,0	87,2	52,9	97,0	60,3	77,2	80,6	64,5	68,5

<sup>a</sup> Espectros registrados a 20 MHz

<sup>b</sup> Espectro registrado en DMSO-d<sub>6</sub> a 60°

En esta Tabla se observa cómo los desplazamientos químicos de los carbonos C-3 y C-5 de las tres primeras sustancias (68-70) aparecen ligeramente a campo más bajo que en el resto de las sustancias consideradas (entre 1,2 y 5,1 ppm para C-3 y de 3,2 a 4,1 ppm para C-5). Ello es debido al efecto  $\gamma$ -anti que se manifiesta en estos últimos por la presencia del grupo benciloxi en posición anomérica  $\alpha$  (en disposición axial respecto de C-3 y C-5), efecto que no existe en las tres primeras sustancias consideradas, al tratarse de los anómeros  $\beta$  (benciloxi en 68 y dodeciloxi en 69) o del correspondiente 1-desoxi (70). Asimismo, en este último compuesto, el carbono C-2 resuena a campo ligeramente más alto que en el resto al faltar el sustituyente en posición anomérica, lo cual hace que no se manifieste el efecto  $\beta$  del mismo, presente en las demás sustancias consideradas.

Atendiendo al sustituyente sobre el nitrógeno, se comprueba cómo en las sustancias 68-70 y 72, en las que este es el grupo acetilo, aparece las señales propias de esta función, a 170 ppm aproximadamente para el carbono carbonílico (excepto para 72, en cuyo espectro no se observa, debido posiblemente al problema rotacional de esta función amida) y a 23 ppm aproximadamente para el carbono metílico. En el caso de la sustancia 69, esta última señal se encuentra junto a las señales debidas a la larga cadena alifática presente en posición anomérica, cuya asignación se encuentra en la Tabla XIX.

Tabla XIX

Desplazamientos químicos ( $\delta$ , ppm) para los carbonos de la cadena dodecífica en 69

O-CH <sub>2</sub> -	-CH <sub>2</sub> -	-CH <sub>2</sub> -	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> -	-CH <sub>2</sub> -	-CH <sub>2</sub> -	-CH <sub>3</sub>
70,1	29,2	25,8	29,5	31,8	22,5	14,0

Al pasar a la sustancia **31** se observa, ahora a 151,7 ppm, la señal del carbono carbonílico al tratarse de un carbonilo de uretano (el sustituyente es el t-butoxicarbonil), mientras que la señal para el carbono cuaternario aparece a 81,6 ppm y la señal debida a los tres carbonos metílicos aparece a 28,1 ppm. La diferencia entre este compuesto y el compuesto **30** radica sólomente en que en éste último falta un átomo de oxígeno (el sustituyente sobre el nitrógeno es el grupo pivaloilo), y ello se nota como era de esperar en los desplazamientos químicos de los carbonos considerados, que aparecen en esta ocasión a 178,1, 40,3 y 27,8 ppm respectivamente (carbonos carbonílico, cuaternario y primarios).

En el caso de la sustancia **32**, en la que el sustituyente que venimos considerando es el grupo benzoilo, aparece la señal correspondiente a este carbono carbonílico a 166,4 ppm. Por último, para la sustancia **33** se observa una nueva señal a 61,1 ppm, asignada al metileno del grupo bencilsulfonilo presente en dicha posición.

Un hecho que hay que destacar es la presencia, en el espectro de la sustancia **31** de dobles señales para varios de los carbonos, el cual atribuimos a la presencia de los dos conformeros posibles, como ya ha quedado recogido en el estudio de su espectro de  $^1\text{H}$ -RMN\*\*\*.

Basándonos en los desplazamientos químicos e intensidades de las diferentes señales desdobladas y según los antecedentes bibliográficos consultados, se puede

---

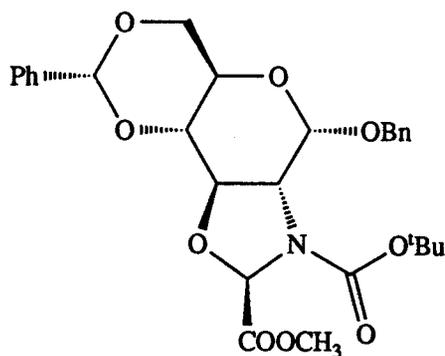
\*\*\* Este problema rotacional se puso de manifiesto, igualmente por  $^1\text{H}$ -RMN, para las sustancias **70**, **72** y **32**. El hecho de que en sus espectros no aparezcan tales dobles señales se debería, por una parte a que sus espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN de las sustancias **70** y **72** han sido registrados a 20 MHz (véase, no obstante, la escasa resolución que presentan algunas de sus señales), mientras que para la sustancia **32** se ha registrado a 60° (en un registro DEPT realizado a esta temperatura curiosamente han desaparecido las señales correspondientes al carbono 1 del aminoazúcar y al metilo del éster en posición 2 de la oxazolidina. Compárese con el registro DEPT realizado para la sustancia **75** [Apartado 4.3.1.1.1.]).

determinar qué conformero corresponde a cada una de las poblaciones detectadas por espectroscopía de  $^{13}\text{C}$ -RMN. Así, según Levy y Nelson<sup>(Levy, 1976)</sup>, los carbonos cercanos al nitrógeno de amidas, están sometidos a diferentes efectos estéricos y anisotrópicos debido a la rotación del carbonilo, de tal manera que, para cada par de señales (en  $^{13}\text{C}$ -RMN), la resonancia a campo más alto corresponde al carbono en *syn* respecto al oxígeno del carbonilo. En la Tabla XX se recogen los valores  $\delta$  para las resonancias de los carbonos C-1 y C-2'. Estos valores, para el conformero mayoritario de 31 son 98,4 y 86,0 ppm respectivamente, mientras que, para el conformero minoritario son 97,9 y 86,5 ppm respectivamente. De aquí se deduce que, en el conformero mayoritario, el carbono metínico de la oxazolidina (C-2') está en disposición *syn* respecto del carbonilo (Figura 13).

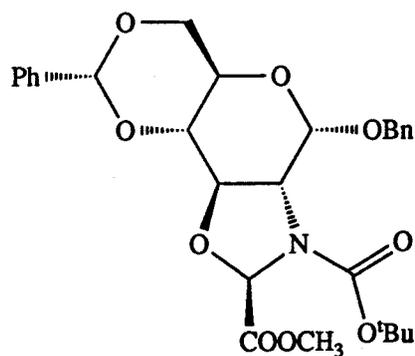
Tabla XX

Desplazamientos químicos ( $\delta$ , ppm) para los carbonos C-1 y C-2' de los conformeros presentes en el espectro de la sustancia 31

Conformero	C-1	C-2'
mayoritario	98,4	86,0
minoritario	97,9	86,5



Conformero mayoritario

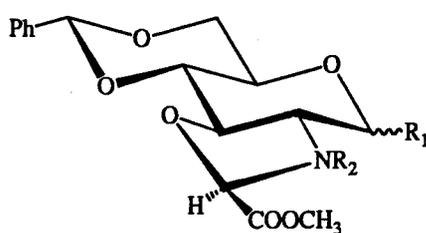


Conformero minoritario

Figura 13

4.3.1.1.3. *Derivados de la 3-acetil-2-carboxi-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina, 62*

En el apartado anterior se ha determinado la configuración del centro quiral creado en el anillo de oxazolidina obtenido por la reacción de N-acil-D-glucosaminas con ácido dicloroacético. Gracias a la utilización de técnicas especiales de RMN, se ha demostrado que esta configuración es R en el caso de las sustancias **30** y **68**. Ya que las diferencias entre estas dos sustancias estriban en los sustituyentes  $R_1$  y  $R_2$  (Figura 14), parece que la naturaleza de los mismos no tiene influencia sobre la configuración del isómero que se obtiene. No obstante, y dado que se han introducido dos modificaciones simultáneamente al pasar de una a otra, a saber: la diferente anomería y el resto acilo sobre el átomo de nitrógeno, hemos creído conveniente realizar la determinación configuracional sobre una tercera sustancia, en la que sólo se modificara uno de estos sustituyentes. Para ello, la sustancia de elección sería la 3-acetil-2-metoxycarbonil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (**71**) (Figura 14). Sin embargo, esta sustancia presenta un espectro de  $^1\text{H}$ -RMN tal que, a temperatura ambiente, aparecen dobles señales para casi todos los protones (Vega-Pérez, 1992).



Sustancia	$R_1$	$R_2$
<b>30</b>	$\alpha\text{OBn}$	Piv
<b>62</b>	$\alpha\text{OBn}$	Ac
<b>68</b>	$\beta\text{OBn}$	Ac

Figura 14

Por esta razón, se procedió a la síntesis de derivados más simples, con la esperanza de, por una parte simplificar el espectro y, por otra, de disponer de un sustituyente en posición 2 del anillo de oxazolidina que facilitara la existencia de NOE con alguno de los protones cercanos del amino azúcar. En definitiva, se ha tratado de obtener la 3-acetil-2-metil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (**34**), mediante reducción sucesiva del grupo carboxílico a alcoximetilo y de éste a metilo.

En este apartado se estudian, por tanto, los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN de las sustancias obtenidas en esta serie (Tabla XXI) para, posteriormente, recoger el estudio configuracional llevado a cabo sobre la sustancia **34**. Por último, se estudiarán sus espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN y se abordará el estudio conformacional de los mismos.

Tabla XXI

Sustancia	R
<b>83</b>	OH
<b>85</b>	OMe
<b>86</b>	I
<b>34</b>	H

En la Tabla XXII se recogen los desplazamientos químicos ( $\delta$ , en ppm), multiplicidad y asignaciones de las diferentes señales detectadas en los espectros de  $^1\text{H}$ -

Tabla XXII

Datos de  $^1\text{H}$ -RMN para las sustancias 83, 85, 86 y 34 ( $\text{Cl}_3\text{CD}$ , TMS, 200 MHz,  $20^\circ$ )<sup>a</sup>

Sustancia	Grupos protectores				Oxazolidina		Azúcar	
	Ar	PhCH	PhCH <sub>2</sub>	COCH <sub>3</sub>	OCHN	CH <sub>2</sub> R	H-1	H-2
83 (1:1)	7,35 m	5,62 s	4,71 Sist AB $^2J$ 11,7	2,01 s	5,38 d(ancho)? J 2,6		6,03 d $J_{1,2}$ 2,8	3,46 dd $J_{2,3}$ 9,8
			4,69 Sist AB $^2J$ 11,3	1,88 s	5,28 t? J 2,9		5,48 d $J_{1,2}$ 2,8	3,41 dd $J_{2,3}$ 9,8
85 (2:1)	7,38 m	5,61 s	4,69 m	2,07 s	5,32 t? J 2,9	3,40 s OCH <sub>3</sub>	6,04 d $J_{1,2}$ 2,7	
				1,89 s	5,42 s?	3,36 s OCH <sub>3</sub>	5,50 d $J_{1,2}$ 2,7	
86 (1:2)	7,36 m	5,64 s	4,69 Sist AB $^2J$ 11,8	1,86 s	4,93 d?		5,48 d $J_{1,2}$ 2,9	i?
			4,67 Sist AB $^2J$ 11,2	2,02 s	5,63 d?		6,02 d $J_{1,2}$ 2,8	3,67 dd $J_{2,3}$ 10
34 (4:1)	7,33 m	5,60 s	4,68 Sist AB $^2J$ 11,3	2,02 s	5,32 q J 5,2	1,51 d(CH <sub>3</sub> ) J 5,2	6,01 d $J_{1,2}$ 2,8	3,36 dd $J_{2,3}$ 9,6
			4,67 Sist AB $^2J$ 11,8	1,85 s	5,41 q J 5,2	1,53 d(CH <sub>3</sub> ) J 5,2	5,48 d $J_{1,2}$ 2,8	3,43 dd $J_{2,3}$ 9,6

<sup>a</sup> Entre paréntesis se recogen las proporciones de los dos conformeros presentes, en base a la integral que presentan las diferentes señales, apareciendo en primer lugar las señales correspondientes al más abundante en cada caso.

RMN ( $\text{Cl}_3\text{CD}$ , 200 MHz,  $20^\circ$ ) registrados para las sustancias **83**, **85**, **86** y **34** (Figuras 39A-42A).

En todos estos espectros aparecen dobles señales para aquellos protones cercanos a la función amida debido a que, a temperatura ambiente existen, en mayor o menor proporción, los dos confórmeros. No obstante, estas proporciones varían según la sustancia de que se trate. Así, mientras que en el alcohol (**83**) esta proporción es 1:1, aumenta a 2:1 en su derivado metilado (**85**). Esta misma proporción se presenta en el iodo derivado (**86**), aunque en esta ocasión la conformación mayoritaria es la contraria, la cual vuelve a ser minoritaria en el metil derivado (**34**) siendo el equilibrio conformacional en esta ocasión de 4:1\*.

De nuevo, el registro a alta temperatura simplifica los espectros, haciendo que estas dobles señales colapsen a señales simples. A modo de ejemplo, en la Tabla XXIII se recogen los datos de los espectros registrados a  $100^\circ$  para el alcohol (**83**) y el metil derivado (**34**) respectivamente ( $\text{DMSO-d}_6$ , 200 MHz), recogiendo en las Figuras 43A y 44A, las zonas comprendidas entre 3 y 6 ppm para cada uno de ellos.



Antes de llevar a cabo la determinación configuracional del carbono quiral en posición 2 del anillo de oxazolidina (C-2') en el metil derivado (**34**), se hacía necesaria la asignación inequívoca de todas las resonancias de los protones que podrían estar implicados en un efecto nuclear Overhauser con los protones sobre dicha posición. Es

---

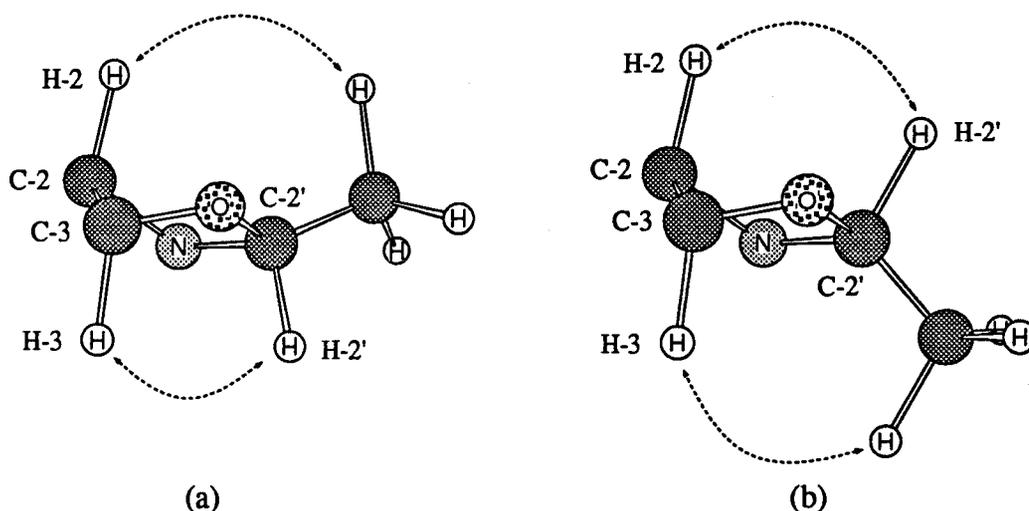
\* Más adelante, con el apoyo de los datos de  $^{13}\text{C}$ -RMN, se asignará cada una de estas conformaciones.

Tabla XXIII

Datos de  $^1\text{H}$ -RMN para las sustancias 83 y 34 (DMSO- $d_6$ , TMS, 200 MHz, 100°)

Sustancia	Grupos protectores				Oxazolidina			Azúcar					
	Ar	PhCH	PhCH <sub>2</sub>	COCH <sub>3</sub>	OCHN	CH <sub>2</sub> R	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6eq	H-6ax
83	7,35 m	5,69 s	4,68 Sist AB 2J 11,7	1,99 s	5,28 t J 2,7		5,82 s(ancho)	3,37 d(ancho)		3,87 t J <sub>4,5</sub> 10,1		4,15 dd J <sub>5,6eq</sub> 4,7 J <sub>6ax,6eq</sub> 10,0	
34	7,32 m	5,69 s	4,67 Sist AB 2J 11,7	1,95 s	5,35 q J 5,1	1,39 d J 5,1 R=H	5,79 s(ancho)	3,39 m		3,86 t J <sub>4,5</sub> 10,2	3,64 m	4,14 dd J <sub>5,6eq</sub> 4,7 J <sub>6ax,6eq</sub> 10,0	

decir, se trataba de asignar las señales correspondientes a H-2, H-3, H-2' y CH<sub>3</sub> (Figura 15). Ello se ha llevado a cabo por el registro de un espectro de correlación homonuclear protón protón (COSY H-H) realizado en Cl<sub>3</sub>CD (Figura 45A).



**Figura 15**

- (a) Configuración R: posible NOE H-3/H-2' y H-2/CH<sub>3</sub>  
 (b) Configuración S: posible NOE H-2/H-2' y H-3/CH<sub>3</sub>

Todos los intentos realizados de poner de manifiesto efecto nuclear Overhauser, por irradiación sobre H-2 o sobre el metilo en posición 2 de la oxazolidina, así como diversos experimentos NOESY llevados a cabo en diferentes disolventes han resultado infructuosos. Sin embargo, la saturación de H-2' pone de manifiesto la existencia de NOE con el metilo del grupo acetamido, con el metilo en posición 2 de la oxazolidina y con H-3 (Figura 46A).

Por tanto, en el compuesto **34** la configuración en el carbono 2 del anillo de oxazolidina es nuevamente R (Figura 15[a]).

Este resultado, extrapolado a la 3-acetil-2-carboxi-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (**62**), de la cual deriva, y su éster

metílico (71) implica que, en todos los casos estudiados se obtiene siempre el mismo diastereoisómero, por lo que podemos concluir que los diversos sustituyentes sobre la posición anomérica y sobre el átomo de nitrógeno investigados, influyen todos en el mismo sentido sobre la estereoquímica de este tipo de reacción estereoespecífica.



En la Tabla XXIV se recogen los desplazamientos químicos ( $\delta$ , en ppm) y asignaciones de las diferentes señales detectadas en los espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN registrados para las sustancias 83, 85, 86 y 34 (Figuras 47A-50A) en  $\text{Cl}_3\text{CD}$  a 50 MHz a temperatura ambiente.

En base a los datos recogidos en esta Tabla, apoyados en los datos de  $^1\text{H}$ -RMN presentados en la Tabla XXII, y de acuerdo con la bibliografía (véase apartado anterior), según la cual, para cada par de señales (en  $^{13}\text{C}$ -RMN), la resonancia a campo más alto corresponde al carbono *syn* respecto al oxígeno carbonílico de la función amida, podemos determinar qué conformero corresponde a cada una de las poblaciones detectadas en cada uno de los compuestos estudiados en este apartado. Los resultados de este estudio se recogen en la Tabla XXV.

Tabla XXIV

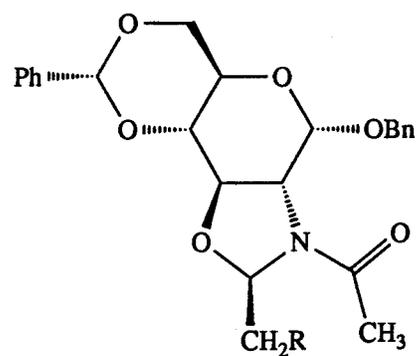
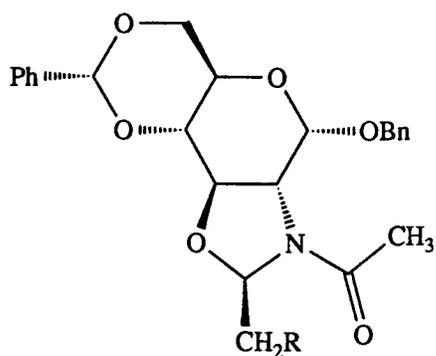
Datos de  $^1\text{H}$ -RMN para las sustancias 83, 85, 86 y 34 ( $\text{Cl}_3\text{CD}$ , TMS, 50 MHz) a temperatura ambiente<sup>a</sup>

Sustancia	Grupos protectores					Oxazolidina		Azúcar					
	$\text{COCH}_3$	Ar	PhCH	PhCH <sub>2</sub>	$\text{COCH}_3$	OCHN	CH <sub>2</sub> R	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
83	168,7	137,2	101,8	69,9	23,1	92,8	64,3	96,6	61,2	75,5	80,2	63,0	68,6
		a		71,4	22,5	89,9		R=OH	98,5	61,7	76,0	80,9	63,3
85	?	137,5	101,6	71,4	22,5	89,0	73,5	98,6	61,1	75,4	81,0	64,3	68,9
		a		69,8	23,3	90,4		R=OMe			96,8		
86	167,8	137,2	101,9	70,6	23,5	89,0	9,6	98,0	61,8	76,9	80,6	65,4	68,9
		a		71,6	22,5	88,2	10,6	99,2	62,3	76,3	81,2	65,6	69,1
34	166,8	137,1	101,6	71,4	22,6	87,4	21,6	98,7	60,6	75,3	80,9	64,3	68,9
		a		69,9	23,4	89,0	19,7	97,4	60,4	76,1	80,4		
		126,2					R=H						68,6

<sup>a</sup> En cada caso, se presenta en la fila superior el desplazamiento químico correspondiente al confórmero en mayor proporción

Tabla XXV

Porcentaje de los rotámeros A y B para las sustancias 83, 85, 86 y 34 en base a los datos de resonancia magnética nuclear ( $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -RMN)



Sustancia	R	Rotámero A	Rotámero B
83	OH	50	50
85	OMe	66	33
86	I	33	66
34	H	80	20

## 4.3.1.1.4. Otros derivados de oxazolidinas condensadas el amino azúcar

Las sustancias estudiadas en esta sección se presentan en la Tabla XXVI, mientras que en la Tabla XXVII se recogen los desplazamientos químicos ( $\delta$ , en ppm), multiplicidad y asignaciones de las diferentes señales detectadas en sus espectros de  $^1\text{H}$ -RMN.

Tabla XXVI

Sustancia	$R_1$	$R_2$	$R_3$	$R_4$	$R_5$
78	H	Ac	COOMe	H	H
79	$\alpha\text{OBn}$	Bz	COOMe	H	H
80	$\alpha\text{OBn}$	Ac	H	H	H
82	$\alpha\text{OBn}$	Ac	COOMe	Bz	p-MeOBn

El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de 3-acetil-2-metoxicarbonil-(1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (78), registrado en DMSO- $d_6$  a temperatura ambiente (Figura 51A; Tabla XXVII) presenta dobles señales para casi todos los protones. Así, a campo alto se detectan dos singuletes, a 1,98 y 1,84 ppm, para el metilo del grupo acetamido presente sobre el átomo de nitrógeno; a 3,68 y 3,78 ppm se observan dos singuletes que se asignan al metilo del éster en posición 2 del anillo de oxazolidina; a 4,46 ppm aparece centrado un doble doblete que se asigna al protón  $\text{H-1}_{\text{eq}}$ , y que presenta constantes  $J_{1\text{eq},2}$  de 3,9 Hz y  $J_{1\text{ax},1\text{eq}}$  de 10,1 Hz. A su lado, y posiblemente ocultando

Tabla XXVII

Datos de <sup>1</sup>H-RMN para la sustancias 78-80 y 82 (200 MHz)

Sustancia	Grupos protectores			Oxazolidina		Azúcar					
	Ar	PhCH <sub>2</sub>	R <sub>2</sub>	OCHN	COOCH <sub>3</sub>	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6
78 (DMSO, 20°)	-	-	1,98 y 1,84 dos s COCH <sub>3</sub>	5,36 y 5,74 dos s	3,68 y 3,78 dos s	4,46 dl J <sub>1ax,1eq</sub> 10,1 J <sub>1eq,2</sub> 3,9					
78 (DMSO, 135°)	-	-	1,91 s COCH <sub>3</sub>	5,54 s	3,76 s	4,61 dd J <sub>1ax,1eq</sub> 10,2 J <sub>1eq,2</sub> 4,0					
79 (DMSO, 120°)	7,4 a 7,29 m	4,50 y 4,09 dos d 2J 11,8	-	5,64 s	3,62 s	5,29 s(ancho)	3,52 dd J <sub>1,2</sub> 2,8 J <sub>2,3</sub> 10,2	4,15 t J <sub>3,4</sub> 9,8			
80 (Cl <sub>3</sub> CD+D <sub>2</sub> O)	7,31 m	4,66 Sist AB 2J 11,7	1,99 s COCH <sub>3</sub>	5,04 y 4,93 dos d 2J 3,5	-	5,83 d J <sub>1,2</sub> 2,8	3,22 dd J <sub>2,3</sub> 10	4,14 t J <sub>3,4</sub> 9,7	4,01 t J <sub>4,5</sub> 8,9		
82 (DMSO, 110°)	8 a 6,7	4,73 Sist AB 2J 11,8	1,92 s COCH <sub>3</sub>	5,53 s	3,73 s	5,79 d J <sub>1,2</sub> 2,7		4,40 t J <sub>3,4</sub> 9,9	5,41 t J <sub>4,5</sub> 9,8	3,95 m	3,58 d

parte de la señal correspondiente a este protón, aparece una señal compleja que debe corresponder a uno de los dos protones hidroxílicos presentes en posiciones 4 y 6 del aminoazúcar. A 5,36 y 5,74 ppm aparecen dos singuletes que se asignan al protón en posición 2 del anillo de oxazolidina (H-2'). Entre ambas señales aparece una señal que debe corresponder al otro protón hidroxílico presente. Como se puede observar, ha desaparecido toda señal debida a protones aromáticos, al ser eliminado el grupo bencilideno de las posiciones 4 y 6 del aminoazúcar.

Nuevamente al calentar la muestra se simplifica el espectro. Así, en el registro realizado a 135° (Figura 52A) se observan señales simples para todos los protones, cuya asignación se recoge en la Tabla XXVII. Además de las comentadas anteriormente, se asigna un triplete a 3,56 ppm para H-1<sub>ax</sub>, el cual presenta  $J_{1ax,2}$  de 10,2 Hz. Asimismo, han desaparecido las señales debidas a los protones hidroxílicos por intercambio con deuterio.

El espectro de <sup>1</sup>H-RMN de 3-benzoil-2-metoxicarbonil-(1-O-bencil-2,3-tridesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (**79**), registrado en DMSO-d<sub>6</sub> a temperatura ambiente (Figura 53A) es una sucesión de señales anchísimas de imposible asignación. Este problema es el mismo que presentaba la sustancia de la cual deriva (**32**) (véase su discusión en la sección 4.3.1.1.2). En la Figura 54A se muestra la zona entre 3 y 6 ppm para los espectros de la sustancia **79** registrados a diferentes temperaturas. En esta Figura se observa cómo van apareciendo las diversas señales, resultando a 120° un espectro casi normal (Figura 55A; Tabla XXVII). En este espectro se pueden asignar las siguientes señales: un doble doblete centrado a 3,52 ppm para H-2 ( $J_{1,2}$  2,8 Hz y  $J_{2,3}$  10,2 Hz); un singulete intenso a 3,62 ppm para el metilo del éster en posición 2 de la oxazolidina; un triplete a 4,15 ppm para H-3 ( $J_{3,4}$  9,8 Hz). Este triplete está solapado con, al menos, un doblete que se asigna a uno de los dos protones diasterotópicos del metileno del grupo

bencilo presente en posición anomérica; el otro protón de este metileno aparece igualmente como un doblete, centrado a 4,50 ppm ( $^2J$  11,8 Hz).

Entre 4,7 y 5,3 ppm aparecen dos singuletes anchos; de ellos, se asigna tentativamente aquel que aparece a campo más bajo (5,29 ppm) a H-1, realizándose esta asignación en base al valor del desplazamiento químico que presenta. A 5,64 ppm aparece un singulete asignado al protón H-2'; por último, se detectan las señales para los protones aromáticos entre 7,29 y 7,47 ppm.

En el espectro de  $^1H$ -RMN de 3-acetil-(1-O-bencil-2,3-tridesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (80), registrado en  $Cl_3CD$  a temperatura ambiente en presencia de agua deuterada (Figura 56A; Tabla XXVII) se observan las siguientes señales: Un singulete a 1,99 ppm asignado al metilo del grupo acetilo presente sobre el átomo de nitrógeno; un doblete a 3,22 ppm correspondiente a H-2 ( $J_{1,2}$  2,8 Hz y  $J_{2,3}$  10,0 Hz); dos tripletes centrados a 4,01 y 4,14 ppm que se asignan tentativamente, el primero de ellos a H-4 ( $J_{4,5}$  8,9 Hz) y el segundo a H-3 ( $J_{3,4}$  9,7 Hz).

Centrado a 4,66 ppm aparece el sistema AB formado por los protones diastereotópicos del metileno del grupo bencilo en posición anomérica ( $^2J$  11,7 Hz). A su lado aparecen dos dobletes que se asignan a los protones en posición 2 del anillo de oxazolidina ( $^2J$  3,5 Hz). A 5,83 ppm aparece el doblete debido a H-1 que presenta la constante  $J_{1,2}$  ya comentada de 2,8 Hz. Por último, a campo bajo (7,31 ppm) se detectan las señales correspondientes a los protones aromáticos presentes (pertenecientes al grupo bencilo en posición anomérica).

El espectro de  $^1H$ -RMN de 3-acetil-2-metoxicarbonil-(1-O-bencil-4-O-benzoil-6-O-p-metoxibencil-2,3-tridesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (82), sustancia

obtenida por apertura reductiva con cianborohidruro de sodio en medio ácido de la función acetálica presente en la sustancia **72** (Sección 4.2.3.1.2), registrado en DMSO- $d_6$  a temperatura ambiente (Figura 57A) muestra de nuevo dobles señales para todos los protones. Por ello se ha procedido a su registro a alta temperatura. Así, en la Figura 58A (Tabla XXVII) se presenta el espectro registrado a  $110^\circ$ , en el que se observa que todas las señales han colapsado a señales simples, pudiéndose realizar la asignación de casi todas las señales que aparecen en dicho espectro.

A campo alto (1,92 ppm) se detecta un singulete que se asigna al metilo de la amida. A 3,58 ppm aparece lo que parece un doblete que ha sido asignado a los protones en posición 6 del aminoazúcar. A su lado (3,76 y 3,73 ppm) aparecen dos singuletes que se asignan, respectivamente, a los metilos del grupo metoxilo en posición 4 del éter bencílico y al metilo del éster en posición 2 del anillo de oxazolidina. Centrado a 3,95 ppm aparece un multiplete que corresponde a H-5 (esta asignación se basa en un registro de doble resonancia efectuado, como se comentará a continuación). Entre 4,3 y 4,6 ppm aparece una señal compleja, formada por un sistema AB<sup>2</sup> correspondiente al metileno del éter p-metoxibencílico en posición 6 que está superpuesto con la señal correspondiente a H-3. Centrado a 4,73 ppm aparece el sistema AB del metileno del grupo bencilo en posición anomérica; presenta una constante de acoplamiento geminal de 11,8 Hz.

La zona más interesante del espectro es aquella comprendida entre 5 y 6 ppm. En esta zona se observan tres señales claramente diferenciadas, con integral para un protón cada una de ellas. De entre ellas destaca un triplete centrado a 5,41 ppm con un valor de J de 9,8 Hz; esta señal se asigna al protón H-4 del aminoazúcar. El desplazamiento de la resonancia debida a este protón a campo tan bajo es debido a la presencia del éster benzoico sobre el carbono C-4, confirmando así que la reacción de apertura del grupo acetálico anteriormente comentada origina el 6-O-p-metoxibencil derivado (**81**); la

irradiación de esta señal (Figura 58A, parte superior, permite la asignación de la señal debida a H-5 y H-3). Las otras dos señales que se registran son: un singulete ancho a 5,53 ppm para H-2' y un doblete a 5,79 ppm para H-1 ( $J_{1,2}$  2,7 Hz). Por último, a campo bajo (entre 6,7 y 8 ppm) aparece un conjunto de señales con integral para quince protones, que se asignan a los protones aromáticos presentes (bencilo en posición anomérica, p-metoxibencilo en posición 6 y benzoilo en posición 4).

Los espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN registrados para las sustancias que se vienen considerando se recogen en el apéndice (Figuras 59A-62A), mientras que en la Tabla XXVIII se presentan los datos obtenidos a partir de ellos.

Tabla XXVIII

Datos de  $^1\text{H}$ -RMN para las sustancias 78-80 y 82 a temperatura ambiente<sup>a</sup>

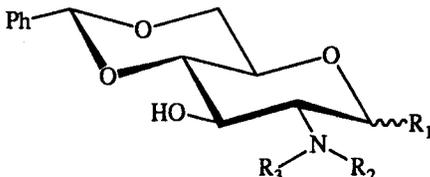
Sustancia	Grupos protectores				Oxazolidina			Azúcar		
	CO(amida)	Ar	PhCH <sub>2</sub>	R <sub>2</sub>	CO(éster)	OCHN	COOCH <sub>3</sub>	C-1	C-2	C-3
78 (DMSO) (20 MHz)	167,9 168,6 COCH <sub>3</sub>	-	-	22,2 COCH <sub>3</sub>	167,7 167,2	86,5 86,9	52,5		60,4	81,4
79 (DMSO) (50 MHz)	168,1 COCH <sub>3</sub>	131,5 a 127,6	69,6	-	¿?	87,8	52,8	97,2	61,2	75,7
80 (Cl <sub>3</sub> CD) (50 MHz)	168,2 COCH <sub>3</sub>	128,5 a 127,9	70,8	22,5	-	80,2	-	97,6	61,2	79,9
82 (Cl <sub>3</sub> CD) (50 MHz)	168,1 COCH <sub>3</sub>	137,2 a 127,9	¿?	22,2 22,4 COCH <sub>3</sub>	167,1 167,4	87,1 86,0	52,7 53,2	95,2 97,5	59,4 59,8	

<sup>a</sup> En cada caso, se presenta en la fila superior el desplazamiento químico correspondiente al confórmero en mayor proporción

## 4.3.1.2. PRODUCTOS DE APERTURA DEL ANILLO DE OXAZOLIDINA

Las sustancias estudiadas en este apartado, obtenidas por apertura del anillo de oxazolidina con diversos nucleófilos, se recogen en la Tabla XXIX, mientras que en la Tabla XXX se recogen los desplazamientos químicos ( $\delta$ , en ppm), multiplicidad y asignaciones de las diferentes señales detectadas en sus espectros de  $^1\text{H}$ -RMN, registrados en  $\text{Cl}_3\text{CD}$  a 200 MHz.

Tabla XXIX



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
35	$\alpha\text{OBn}$	Et	Me
36	$\alpha\text{OBn}$	H	Me
37	$\beta\text{OBn}$	Et	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$
38	$\beta\text{OBn}$	H	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$
39	$\alpha\text{OBn}$	H	Pr

El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de bencil 4,6-O-bencilidén-2-desoxi-2-metilamino- $\alpha$ -D-glucopiranosido (36) (Figura 63A; Tabla XXX), obtenido por reacción de la sustancia 73 con superhidruro (ver apartado 4.2.3.2) muestra a campo alto un singulete a 2,32 ppm con integral correspondiente para tres protones, que se ha asignado al metilo de la amina en posición 2 del amino azúcar. A su lado aparece un doblete centrado a 2,53 ppm con integral para un protón, que se asigna a H-2; esta señal presenta una constante

**Tabla XXX**  
 Datos de  $^1\text{H}$ -RMN de las sustancias 35-39 ( $\text{Cl}_3\text{CD}$ , TMS, 200 MHz)

Sustancia	Grupos protectores					Azúcar							
	Ar	PhCH	PhCH <sub>2</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6eq	H-6ax	
35	7,35 m	5,57 s	4,62 Sist AB 2J 11,8	2,69 m CH <sub>2</sub>	1,05 t 3J 7,1 CH <sub>3</sub>	2,43 s CH <sub>3</sub>	5,04 d J <sub>1,2</sub> 3,2	2,80 dd J <sub>2,3</sub> 10,5	4,19 t J <sub>3,4</sub> 9,0	3,60 t J <sub>4,5</sub> 8,8	3,88 m	4,24 dd J <sub>5,6eq</sub> 4,1 J <sub>6ax,6eq</sub> 9,6	3,75 t J <sub>5,6ax</sub> 10 9,6
36	7,34 m	5,54 s	4,61 Sist AB 2J 11,8			2,32 s CH <sub>3</sub>	5,02 d J <sub>1,2</sub> 3,5	2,53 dd J <sub>2,3</sub> 9,8	3,82 t J <sub>3,4</sub> 9,4	3,54 t J <sub>4,5</sub> 9,1		4,23 dd J <sub>5,6eq</sub> 4,0 J <sub>6ax,6eq</sub> 9,3	3,73 t J <sub>5,6ax</sub> 9,8 9,3
37	7,38 m	5,57 s	4,76 Sist AB 2J 11,6	2,75 q CH <sub>2</sub>	1,05 t 3J 7,1 CH <sub>3</sub>		4,64 d J <sub>1,2</sub> 8,4	2,80 t J <sub>2,3</sub> 9,2	3,79 t J <sub>3,4</sub> 9,0	3,61 t J <sub>4,5</sub> 9,1	3,48 ddd	4,38 dd J <sub>5,6eq</sub> 4,9 J <sub>6ax,6eq</sub> 10,4	3,84 t J <sub>5,6ax</sub> 10 10,4
38	7,32 m	5,50 s	4,68 Sist AB 2J 11,6			3,58 Sist ABX <sub>2</sub> 2J 13,2 -CH <sub>2</sub> OH	2,88 -CH <sub>2</sub>	4,45 d J <sub>1,2</sub> 8,0	2,62 t J <sub>2,3</sub> 8,6		3,38 m	4,31 dd J <sub>5,6eq</sub> 4,8 J <sub>6ax,6eq</sub> 10,4	3,77 t J <sub>5,6ax</sub> 10 10,4
39	7,34 m	5,55 s	4,62 Sist AB 2J 11,9			2,41 m CH <sub>2</sub>	1,39 m CH <sub>2</sub>	0,82 t 3J 7,2 CH <sub>3</sub>	4,96 d J <sub>1,2</sub> 3,5	2,61 dd J <sub>2,3</sub> 9,8		3,56 t J <sub>4,5</sub> 9,1	4,24 dd J <sub>5,6eq</sub> 4,1 J <sub>6ax,6eq</sub> 9,4

grande ( $J_{2,3}$  9,8 Hz) por su disposición *anti* respecto a H-3, y una constante pequeña ( $J_{1,2}$  3,5 Hz) por su disposición *gauche* respecto a H-1.

Centrado a 3,54 ppm aparece un triplete con integral para un protón, que se asigna a H-4; presenta una  $J_{4,5}$  de 9,05 Hz. A su lado aparece un conjunto de señales, con integral para tres protones que se resuelve como sigue: un triplete a 3,73 ppm asignado a H-6<sub>ax</sub>, con  $J_{5,6ax}$  de 9,8 Hz; un triplete a 3,82 ppm asignado a H-3 con  $J_{3,4}$  de 9,5 Hz; y un multiplete para H-5 que queda sin resolver.

A 4,23 ppm aparece un doble doblete con integral para un protón que se asigna a H-6<sub>eq</sub>, con  $J_{5,6eq}$  de 4,0 Hz y  $J_{6ax,6eq}$  de 9,3 Hz. Junto a esta señal se encuentra el sistema AB formado por los protones del metileno del grupo bencilo en posición anomérica, centrado a 4,61 ppm y con una constante  $^2J$  de 11,8 Hz.

Entre 5 y 6 ppm aparecen dos señales claramente diferenciadas: un doblete con integral para un protón que se asigna a H-1, y que presenta una  $J_{1,2}$  de 3,5 Hz, y un singulete a 5,54 ppm que se asigna al protón acetálico del grupo bencilideno presente en posiciones 4 y 6 del amino azúcar. Por último, a 7,34 ppm aparece un conjunto de señales con integral para diez protones debidas a los protones aromáticos de los grupos protectores presentes (bencilo y bencilideno).

La asignación de estas resonancias se ha visto facilitada por registros realizados con doble resonancia (Figura 64A).

La diferencia más importante observada en el espectro de  $^1H$ -RMN de bencil 4,6-O-bencilidén-2-desoxi-2-N-etil,N-metilamino- $\alpha$ -D-glucopiranosido (35) (Figura 65A; Tabla

XXX), obtenido por reacción de la sustancia **73** con hidruro de aluminio y litio, respecto al de su análogo más simple (**36**) anteriormente considerado es la presencia del grupo etilo, que se pone de manifiesto por un triplete a 1,05 ppm ( $^3J$  7,1 Hz) debido al metilo, y una señal compleja centrada a 2,69 ppm, asignada al metileno, que se resuelve como un sistema AB al irradiar la señal del metilo (Figura 65A, ampliación). Asimismo, en este espectro se observa un singulete ancho a 3,29 ppm, que desaparece al deuterar, que se asigna al protón hidroxílico en posición 3 del amino azúcar.

En el espectro de  $^1H$ -RMN de bencil 4,6-O-bencilidén-2-desoxi-2-propilamino- $\alpha$ -D-glucopiranosido (**39**) (Figura 66A; Tabla XXX), obtenido por reacción de la sustancia **73** con cloruro de etil magnesio, se observan a campo alto las señales correspondientes al grupo propilo. Así, a 2,41 ppm aparece un multiplete asignado al metileno en  $\alpha$  al nitrógeno, a 1,39 ppm aparece otro multiplete que se asigna al metileno en posición  $\beta$ , y a 0,82 ppm aparece el triplete ( $^3J$  7,2 Hz) debido al metilo terminal. El resto del espectro varía poco respecto a los que se vienen considerando en este apartado.

El espectro de  $^1H$ -RMN de bencil 4,6-O-bencilidén-2-desoxi-2-(2'-hidroxi-etil)amino- $\beta$ -D-glucopiranosido (**38**) (Figura 67A; Tabla XXX), obtenido por reacción de la sustancia **68** con superhidruro, se ha resuelto con ayuda de experimentos de doble resonancia que se recogen en la Figura 68A.

La señal más alta que se registra aparece a 2,62 ppm como un triplete con una constante de acoplamiento de 9,8 Hz. La irradiación de dicha señal (Figura 68A[b]) permite su asignación a H-2, a la vez que permite identificar la señal correspondiente a H-1 (que se simplifica a un singulete) en el espectro original como un doblete a 4,45 ppm.

La constante que presenta ( $J_{1,2}$  8,0 Hz) permite confirmar que se trata del  $\beta$ -anómero (disposición *anti* entre H-1 y H-2).

Al lado de la señal de H-2 aparece un conjunto de señales, que se resuelve como la parte AB de un sistema  $ABX_2$  formado por los metilenos de la cadena de 2-hidroxietilo presente sobre el nitrógeno. Esta señal, que se presenta como un cuartete de tripletes ( $^2J$  13,2 Hz;  $J_{AX}$  5,4 Hz;  $J_{BX}$  4,3 Hz) en el espectro original, se resuelve a un sistema AB centrado a 2,88 ppm por irradiación a 3,58 ppm (Figura 68A[c]), demostrando así que la parte  $X_2$  de este sistema se encuentra a este valor de desplazamiento. Teniendo en cuenta los valores de  $\delta$ , la parte AB del sistema (cuartete de tripletes) se ha asignado al metileno en  $\alpha$  al nitrógeno, mientras que la parte  $X_2$  se asigna al metileno en  $\beta$  (en  $\alpha$  respecto del grupo hidroxilo). Esta última señal se encuentra solapada con señales correspondientes a protones del amino azúcar (H-3 y H-4), por lo que no ha podido ser resuelta.

Centrada a 3,38 ppm aparece un multiplete que se asigna a H-5. Su irradiación (Figura 68A[d]) permite identificar las señales correspondientes a  $H_{6ax}$  y  $H_{6eq}$ . El primero (que en este experimento se simplifica a un doblete) aparece en el espectro original como un triplete centrado a 3,84 ppm ( $J_{5,6ax}$  10,1 Hz), mientras que el segundo (que también se simplifica a un doblete en el espectro de la Figura 68A[d]) aparece en el espectro original como un doblete a 4,31 ppm ( $J_{5,6eq}$  4,8 Hz;  $J_{6ax,6eq}$  10,4 Hz).

Al lado de esta última señal aparece H-1 como ya ha quedado recogido, y junto a éste aparece el sistema AB ( $^2J$  11,6 Hz) correspondiente al metileno del grupo bencilo en posición anomérica, centrado a 4,68 ppm. A 5,50 ppm aparece un singulete asignado al protón acetálico del grupo bencilideno y, finalmente, a 7,32 ppm aparece un conjunto de señales correspondiente a los protones aromáticos de estos dos grupos protectores.

La diferencia fundamental del espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de bencil 4,6-O-bencilidén-2-desoxi-2-etil,2-(2'-hidroxi-etil)amino- $\beta$ -D-glucopiranosido (37) (Figura 69A; Tabla XXX), obtenido por reacción de la sustancia 68 con hidruro de aluminio y litio es debida a la presencia del etilo sobre el nitrógeno, que se pone de manifiesto por: un triplete a 1,05 ppm (3J 7,1 Hz) para tres protones, que se asigna al metilo, y un cuartete (solapado con otras señales) a 2,75 ppm asignado al metileno de esta cadena (esta señal se ha resuelto por experimentos de doble resonancia).

La presencia del protón hidroxílico en posición 3 del amino azúcar, como resultado de la apertura del anillo de oxazolidina, en los productos que venimos considerando en este apartado, y cuya resonancia en general no aparece en los espectros registrados en  $\text{Cl}_3\text{CD}$  comentados, se ha puesto de manifiesto por el registro de sus espectros de  $^1\text{H}$ -RMN en  $\text{DMSO-d}_6$  (Figuras 70A-74A). Salvo en un caso, este protón aparece siempre como un doblete que desaparece al deuterar aproximadamente a 5 ppm. En la Tabla XXXI se recogen los desplazamientos químicos ( $\delta$ , en ppm) debidos a este protón en dichos espectros.

**Tabla XXXI**

Desplazamientos químicos ( $\delta$ , ppm) y multiplicidad del protón hidroxílico en posición 3 del amino azúcar para las sustancias 35-39 ( $\text{DMSO-d}_6$ , 200 MHz)

Sustancia	35	36	37	38	39
$\delta$ (ppm)	4,95	5,19	4,82	5,39	5,05
multiplicidad	d	s(ancho)	d	d	d

---

En la Tabla XXXII se recogen los desplazamientos químicos ( $\delta$ , en ppm) y asignaciones de las señales detectadas en los espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN de las sustancias consideradas en este apartado, registrados en  $\text{Cl}_3\text{CD}$  a 50 MHz (Figuras 75A-79A).

Lo más interesante en estos espectros es la confirmación de la presencia de las cadenas alquílicas en cada caso concreto, por la aparición de resonancias a campo alto.

Así, en el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN de la sustancia **36** (Figura 75A; Tabla XXXII), se observa la señal debida al carbono metílico unido al nitrógeno a 34,1 ppm.

En el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN de la sustancia **35** (Figura 76A; Tabla XXXII) se observan señales a 48,5 y 14,0 ppm, que se asignan a los carbonos secundario y primario respectivamente del grupo etilo sobre el nitrógeno, además de la correspondiente al grupo metilo a 37,5 ppm.

El espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN de la sustancia **39** (Figura 77A; Tabla XXXII) muestra tres señales a campo alto, que han sido asignadas a los carbonos secundarios (49,1 ppm para el metileno  $\alpha$ , y 23,4 ppm para el metileno  $\beta$ ) y primario (11,5 ppm) del propilo sobre el nitrógeno.

**Tabla XXXII**  
 Datos de  $^{13}\text{C}$ -RMN de las sustancias 35-39 ( $\text{Cl}_3\text{CD}$ , TMS, 50 MHz)

Sustancia	Grupos protectores						Azúcar							
	Ar	PhCH	PhCH <sub>2</sub>	R <sub>2</sub>		R <sub>3</sub>		C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	
35	137-126	101,7	69,3 <sup>b</sup>	48,5 CH <sub>2</sub>	14,0 CH <sub>3</sub>	37,5 CH <sub>3</sub>		97,0	62,5	67,0	83,3	65,6	69,0 <sup>b</sup>	
36 <sup>a</sup>	137-126	100,8	69,1			34,1 CH <sub>3</sub>		97,2	62,8	68,7 <sup>b</sup>	81,9	64,3	68,1 <sup>b</sup>	
37	137-126	101,6 <sup>b</sup>	70,9	44,6 CH <sub>2</sub>	14,9 CH <sub>3</sub>	52,9 CH <sub>2</sub>	60,0 CH <sub>2</sub> OH	100,7 <sup>b</sup>	66,0	69,3 <sup>b</sup>	81,9	66,1	68,7 <sup>b</sup>	
38	137-126	101,9	71,3			49,8 CH <sub>2</sub>	61,3 CH <sub>2</sub> OH	103,2	63,2	71,9	81,4	66,2	68,7	
39	137-126	101,7	69,4			49,1 CH <sub>2</sub>	23,4 CH <sub>2</sub>	11,5 CH <sub>3</sub>	95,7	62,9 <sup>b</sup>	69,1	81,8	62,7 <sup>b</sup>	68,9

<sup>a</sup> Espectro registrado en DMSO-d<sub>6</sub>

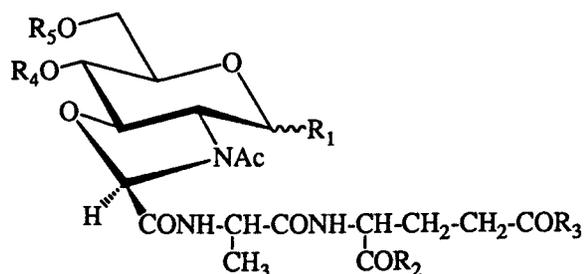
<sup>b</sup> Asignación tentativa

En los espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN de las sustancias **37** y **38** (Figuras 78A y 79A respectivamente; Tabla XXXII) se observan las señales correspondientes a los carbonos de la cadena de 2-hidroxietilo, sobre 50 ppm para el metileno en  $\alpha$  al nitrógeno y a aproximadamente 60 ppm para el metileno en  $\alpha$  al grupo hidroxilo.

## 4.3.1.3. PRODUCTOS CON CADENA PEPTIDICA

En este apartado se estudian los espectros de RMN de aquellas sustancias obtenidas por condensación de 2-acetil-3-carboxi-oxazolidinas con los dipéptidos convenientemente protegidos y funcionalizados (Apartado 4.2.4). En primer lugar se estudian las sustancias que presentan grupos protectores, estudiándose a continuación los nuevos análogos rígidos del MDP, murametide y murabutide, obtenidos por hidrogenación catalítica de las sustancias anteriores. Todas ellas se recogen en la Tabla XXXIII.

Tabla XXXIII



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
89	βOBn	NH <sub>2</sub>	OBn		PhCH
90	βOBn	OMe	NH <sub>2</sub>		PhCH
91	βOBn	OBu	NH <sub>2</sub>		PhCH
92	H	NH <sub>2</sub>	OBn		PhCH
93	H	OMe	NH <sub>2</sub>		PhCH
94	βODodecil	OMe	NH <sub>2</sub>		PhCH
26	OH	OMe	NH <sub>2</sub>	H	H
27	OH	OBu	NH <sub>2</sub>	H	H
95	H	NH <sub>2</sub>	OBn	H	H
25	H	NH <sub>2</sub>	OH	H	H
28	H	OMe	NH <sub>2</sub>	H	H
29	βODodecil	OMe	NH <sub>2</sub>	H	H

En el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN del éster bencílico de 3-acetil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\beta$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-isoglutamina (89), registrado en DMSO- $d_6$  a 200 MHz a 20° (Figura 80A) se observan las señales correspondientes a la fracción de azúcar, así como aquellas debidas a la cadena peptídica introducida, aunque casi todas son señales anchas (Tabla XXXIV). Aún así, se pueden asignar las siguientes:

Para la fracción de azúcar se observan las señales debidas a H-1 (como un doblete ancho a 5,33 ppm), al protón metínico del grupo bencilideno (como un singulete a 5,73 ppm), al protón (H-2') de la posición 2 del anillo de oxazolidina (como un singulete a 5,53 ppm), a los protones diasterotópicos del metileno del grupo bencilo en posición anomérica (que aparecen como un sistema AB centrado a 4,76 ppm, con una constante  $^2J$  de 11,1 Hz) y al metilo de la amida (a 1,99 ppm como un singulete ancho).

Para el residuo de L-alanina se observan las señales para el NH (como un singulete muy ancho a 7,76 ppm) y el metilo (como un doblete a 1,23 ppm, con una constante  $^3J$  de 7,0 Hz).

Para el residuo de D-isoglutamina se observan las señales correspondientes al NH (como un singulete ancho a 8,77 ppm)\*, a uno de los protones no equivalentes del grupo carboxamido en  $\alpha$  (como un singulete a 7,09 ppm, que se asigna al protón Z de este  $\text{NH}_2$ ), a los protones del metileno en  $\beta$  (como un multiplete a 1,89 ppm, en parte solapado con la señal del metilo de la amida ya comentada), a los protones en  $\gamma$  (como un

---

\* La asignación de los protones amídicos de la cadena peptídica se realiza en base a un amplio estudio espectroscópico realizado sobre el MDP y murabutide (Femandjian, 1987), (Sizun, 1988).

Tabla XXXIV

Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN del éster bencílico de 3-acetil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\beta$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-isoglutamina (89) (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) efectuados a 20°, 50° y 100°

Temperatura	Azúcar						L-Alanina			D-Isoglutamina					
	Ar	PhCH	PhCH <sub>2</sub>	COCH <sub>3</sub>	OCHN	H-1	H-2	NH	CH <sub>3</sub>	NH	CH <sub>2</sub> ( $\beta$ )	CH <sub>2</sub> ( $\gamma$ )	CONH <sub>2</sub> ( $\alpha$ ) (Z)	(E)	COOBn
20°	7,31 m	5,73 s	4,76 Sist AB 2J 11,1	1,99 s	5,53 s(ancho)	5,33 d(ancho)		7,76 s(ancho)	1,23 d(ancho) 3J 7,0	8,77 s(ancho)	1,89 m	2,31 t(ancho) 3J 7,2	7,09 s		5,01 s
50°	7,32 m	5,71 s	4,77 Sist AB 2J 11,2	2,02 s	5,54 s	5,34 d	3,35 t	7,68 d	1,26 d	8,59 d	1,94 m	2,32 t 3J 7,2	6,93 s	7,13 s	5,03 s
100°	7,32 m	5,71 s	4,79 Sist AB 2J 11,4	2,05 s	5,56 s	5,36 d	3,39 dd	7,53 d	1,28 d	8,29 d	2,00 m	2,36 t 3J 7,3	6,78 s		5,06 s
						J <sub>1,2</sub> 8,0	J <sub>2,3</sub> 9,6	<sup>3</sup> J <sub>H<math>\alpha</math>,NH</sub> 8,1	<sup>3</sup> J 7,1	<sup>3</sup> J <sub>H<math>\alpha</math>,NH</sub> 6,8					

triplete a 2,31 ppm, con  $^3J$  7,2 Hz) y al metileno del grupo bencilo que esterifica al carboxilo en  $\gamma$  (como un singulete a 5,01 ppm).

Finalmente, se observa a 7,31 ppm un conjunto de señales, con integral para quince protones, que se asignan a los protones aromáticos de los grupos protectores presentes (bencilo en posición anomérica, éster bencilico y bencilideno). El resto de señales queda sin resolver.

El hecho más destacable producido por la elevación de la temperatura (registros efectuados a 50 y 100°; Figuras 81A y 82A respectivamente; Tabla XXXIV), aparte de que se detecta la señal correspondiente a H-2 como un doble doblete (casi triplete) con  $J_{1,2}$  8,0 Hz y  $J_{2,3}$  9,6 Hz (asignación apoyada en un registro de doble resonancia efectuado a esta temperatura -Figura 82A, parte superior-), se detecta a campo bajo, donde aparecen los protones amidícos presentes.

Así, por un lado las señales correspondientes a los NH de la L-alanina y de la D-isoglutamina se resuelven a 100° como dos dobletes con  $^3J_{H\alpha, NH}$  de 8,1 y 6,8 Hz respectivamente, mientras que los protones del grupo carboxamido van colapsando a una única señal, apareciendo como un singulete ancho a 100°. Por otro lado, todas estas señales sufren un acusado desplazamiento en función de la temperatura (comparéense los registros a estas tres temperaturas), hecho que se estudiará al final de este apartado.

El espectro de  $^1H$ -RMN del éster metílico de 3-acetil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\beta$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (90), registrado en DMSO- $d_6$  a 200 MHz a 20° (Figura 83A, Tabla XXXV) es prácticamente idéntico al registrado para el compuesto anterior excepto que:

Tabla XXXV

Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN del éster metílico de 3-acetil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\beta$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (90) (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) efectuados a 20°, 60° y 100°

Temperatura	Azúcar						L-Alanina			D-Glutamina					
	Ar	PhCH	PhCH <sub>2</sub>	COCH <sub>3</sub>	OCHN	H-1	H-2	NH	CH <sub>3</sub>	NH	CH <sub>2</sub> ( $\beta$ )	CH <sub>2</sub> ( $\gamma$ )	CONH <sub>2</sub> ( $\gamma$ ) (Z)	CONH <sub>2</sub> ( $\gamma$ ) (E)	COOMe
20°	7,36 m	5,72 s	4,75 Sist AB $^2\text{J}$ 11,1	2,02 s	5,50 s(ancho)	5,31 d(ancho)		8,00 s(ancho)	1,24 d(ancho)	8,76 s(ancho)	1,93 m		6,71 s	7,26 s	3,61 s
60°	7,35 m	5,72 s	4,79 Sist AB $^2\text{J}$ 11,2	2,05 s	5,54 s	5,35 d	3,36 t	7,88 d	1,27 d	8,58 d	1,94 m		6,52 s	7,05 s	3,63 s
100°	7,34 m	5,71 s	4,80 Sist AB $^2\text{J}$ 11,4	2,08 s	5,59 s	5,37 d $\text{J}_{1,2}$ 8,0	3,38 dd $\text{J}_{2,3}$ 9,5	7,72 d $^3\text{J}_{\text{H}\alpha,\text{NH}}$ 7,7	1,29 d $^3\text{J}$ 7,1	8,27 d $^3\text{J}_{\text{H}\alpha,\text{NH}}$ 7,6	1,96 m	2,15	6,57 s(ancho)		3,63 s

El triplete ancho a 2,31 ppm asignado al metileno  $\gamma$  en el residuo de la D-isoglutamina en el espectro de la sustancia anterior (89) ha desaparecido, motivado por el cambio de este residuo por D-glutamina en esta sustancia (90). Esta señal se desplaza a campo más alto, solapándose con la correspondiente al metilo de la amida en posición 2 del aminoazúcar, como se verá a continuación.

El singulete correspondiente al metileno del éster bencílico, que aparecía a 5,01 ppm en la sustancia anterior desaparece, mientras que se registra un nuevo singulete a 3,61 ppm debido al metilo del éster metílico existente en esta sustancia (90).

A campo bajo se distinguen claramente las dos señales correspondientes a los protones no equivalentes del grupo carboxamido del residuo de D-glutamina, apareciendo como singuletes a 6,71 y 7,05 ppm, asignados a los protones Z y E respectivamente de dicha función.

Al igual que antes, el aumento de temperatura (Figuras 84A y 85A, para los registros a 60° y 100° respectivamente; Tabla XXXV) conduce a la resolución general de las señales del espectro, y al consiguiente desplazamiento de las señales debidas a los NH de la cadena peptídica, que aparecen como dobletes. De nuevo, los protones Z y E del grupo carboxamido presente colapsan (a 100°) a una única señal (singulete ancho a 6,57 ppm). En el espectro a 100° se observa a campo alto cómo la señal correspondiente al metileno  $\gamma$  de la D-glutamina, aunque todavía solapada en parte con otra, comienza a diferenciarse.

El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN del éster butílico de 3-acetil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\beta$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (**91**), registrado en DMSO- $d_6$  a 200 MHz a 20° (Figura 86A, Tabla XXXVI) se diferencia del anterior en la presencia de las señales debidas a la cadena n-butílica que esterifica el resto ácido en  $\alpha$  del residuo de D-glutamina. Así, aparecen: un triplete a 0,86 ppm con integral para tres protones, que se asigna al metilo terminal de esta cadena ( $^3J$  7,1 Hz); un multiplete solapado en parte con otra señal, a 1,25 ppm, y un quintuplete a 1,52 ppm que se asignan a los metilenos intermedios; y una señal no bien diferenciada, ya que se solapa con otras, a aproximadamente 4 ppm, que debe corresponder al metileno en  $\alpha$  al oxígeno del éster (esta asignación se hace en base a los espectros a alta temperatura que se presentan a continuación). El resto del espectro es prácticamente idéntico al ya comentado para **90**.

Los registros efectuados a 60° (Figura 87A) y 120° (Figura 88A) para la sustancia **91**, y cuyos datos se encuentran tabulados en la Tabla XXXVI, muestran los mismos efectos que los obtenidos para las anteriores sustancias. En el registro a 120° se observa claramente diferenciado a 4,06 ppm el triplete (integral para dos protones;  $^3J$  6,6 Hz) correspondiente al metileno en  $\alpha$  al oxígeno del éster de la cadena de n-butilo presente en esta posición.

El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN del éster bencilico de 3-acetil-(4,6-O-bencilidén-1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-isoglutamina (**92**), registrado en DMSO- $d_6$  a 200 MHz a 20° (Figura 89A, Tabla XXXVII) presenta dobles señales para casi todos los protones considerados, debidas, como ya se comentó anteriormente (apartado 4.3.1.1.2), a la falta de libertad rotacional de la amida presente en posición 2 del amino azúcar.

Tabla XXXVI

Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN del éster butílico de 3-acetil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\beta$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (91) (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) efectuados a 20°, 60° y 120°

Temperatura	Azúcar						L-Alanina			D-Glutamina					
	Ar	PhCH	PhCH <sub>2</sub>	COCH <sub>3</sub>	OCHN	H-1	H-2	NH	CH <sub>3</sub>	NH	CH <sub>2</sub> ( $\beta$ )	CH <sub>2</sub> ( $\gamma$ )	CONH <sub>2</sub> ( $\gamma$ ) (Z)	CONH <sub>2</sub> ( $\gamma$ ) (E)	COO <sup>n</sup> Bu
20°	7,37 m	5,74 s	4,77 Sist AB	2,03 s	5,58 s(ancho)	5,35 d(ancho)		8,00 s(ancho)	1,24 d(ancho)	8,77 s(ancho)	1,95 m		6,77 s	7,22 s	ver texto
60°	7,35 m	5,72 s	4,79 Sist AB 2J 11,3	2,05 s	5,59 s	5,35 d	3,36 t	7,84 d	1,27 d	8,57 d	1,96 m		6,55 s	7,01 s	
120°	7,34 m	5,71 s	4,81 Sist AB 2J 11,5	2,09 s	5,61 s	5,38 d J <sub>1,2</sub> 8,0	3,39 dd J <sub>2,3</sub> 9,5	7,63 d 3J <sub>H<math>\alpha</math>,NH</sub> 7,4	1,32 d 3J 7,1	8,12 d 3J <sub>H<math>\alpha</math>,NH</sub> 7,2	1,96 m	2,19	6,42 s(ancho)		ver texto

Así, para la fracción de azúcar se observan dobles señales para el protón en posición 2 de la oxazolidina (H-2') a 5,58 y 5,38 ppm como singuletes, y para el metilo de la amida a 1,88 y 1,83 ppm también como dos singuletes. El protón H-1<sub>eq</sub> aparece como un ancho doble doblete a 4,76 ppm, mientras que el protón metínico del bencilideno aparece como singulete a 5,73 ppm.

El residuo de L-alanina se pone de manifiesto por la presencia de las señales debidas al NH (a 8,24 y 7,57 ppm como dos dobletes) y al metilo (a 1,25 ppm como un doblete, con constante  $^3J$  de 7,1 Hz).

Para el resto de D-isoglutamina se observan asimismo señales debidas al NH (a 9,00 y 8,94 ppm, como dos dobletes), a los protones del grupo carboxamido en  $\alpha$  (aparecen tres singuletes a 7,19, 7,11 y 7,30 ppm) y al metileno del grupo bencilo que esterifica el carboxilo en  $\gamma$  (aparece como un singulete a 5,08 ppm).

Por último, a campo bajo (7,36 ppm) aparece un conjunto de señales, con integral para diez protones, que se asigna a los protones aromáticos de los grupos protectores presentes (bencilideno y bencilo del éster). El resto de señales queda sin asignar. Algunas de ellas se asignan gracias a registros a alta temperatura.

Los registros efectuados para esta sustancia (92) a 85° (Figura 90A) y 135° (Figura 91A) simplifican en parte el espectro, encontrándose tabulados los datos obtenidos a partir de ellos en la Tabla XXXVII. En el espectro a 135° se observa la señal correspondiente a H-1<sub>eq</sub> como un doble doblete bien resuelto, con  $J_{1eq,2}$  de 4,1 Hz y  $J_{1ax,1eq}$  de 10,5 Hz. En esta ocasión se asigna igualmente un triplete centrado a 3,73 ppm a H-1<sub>ax</sub>, el cual presenta una constante  $J_{1ax,2}$  de 10,4 Hz. A esta temperatura las señales

Tabla XXXVII

Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN del éster bencílico de 3-acetil-(4,6-O-bencilidén-1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-isoglutamina (92) (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) efectuados a 20°, 85° y 135°

Temperatura	Azúcar						L-Alanina			D-Isoglutamina				
	Ar	PhCH	COCH <sub>3</sub>	OCHN	H-1eq	H-1ax	NH	CH <sub>3</sub>	NH	CH <sub>2</sub> (β)	CH <sub>2</sub> (γ)	CONH <sub>2</sub> (α) (Z) (E)	COOBn	
20°	7,36 m	5,73 s	1,88 y 1,83 s s	5,58 y 5,38 s s	4,76 dd (ancho)		8,24 y 7,57 d d	1,25 d(ancho) <sup>3</sup> J 7,1	9,00 y 8,94 d d			7,19 y 7,11 s s	7,30 s	5,08 s
85°	7,34 m	5,71 s	1,90 s	5,56 s	4,74 d d(ancho)		7,72 s(ancho)	1,25 d <sup>3</sup> J 7,1	8,84 d(ancho)		2,36 t	6,88 s(ancho)		5,08 s
135°	7,32 m	5,67 s	1,90 s	5,53 s	4,72 dd	3,73 t	?	1,27 d <sup>3</sup> J 7,2	8,10 d(ancho)	1,95 m	2,38 t <sup>3</sup> J 8,2	6,57 s(ancho)		5,08 s

debidas al protón H-2' y al metilo de la amida han colapsado a señales simples a 5,53 y 1,90 ppm respectivamente. Se asignan también las señales correspondientes a los metilenos en  $\beta$  y en  $\gamma$  del residuo de D-isoglutamina, los cuales aparecen como multiplete a 1,95 ppm el primero y como un triplete a 2,38 ppm el segundo, con  $^3J$  8,2 Hz. El hecho más destacado producido por la elevación de la temperatura es, de nuevo, el desplazamiento que sufren las señales correspondientes a los protones de las amidas presentes.

El espectro de  $^1H$ -RMN del éster metílico de 3-acetil-(4,6-O-bencilidén-1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (**93**), registrado en DMSO- $d_6$  a 200 MHz a 20° (Figura 92A, Tabla XXXVIII) presenta, al igual que en el caso anterior, dobles señales para la mayoría de protones considerados, siendo la característica diferenciadora con el anterior, la motivada por la diferente sustitución. En este caso, se observa la aparición de un singulete ancho a 3,66 ppm, que se asigna al metilo del éster en posición  $\alpha$  del residuo de D-glutamina, habiendo desaparecido, evidentemente, el singulete que aparecía en el caso anterior a 5,08 ppm, y que se asignaba al metileno del éster bencílico existente en ese caso en posición  $\gamma$  de la D-isoglutamina.

Nuevamente, el registro del espectro a alta temperatura (100°; Figura 93A; Tabla XXXVIII) simplifica el espectro, permitiendo la asignación de señales de imposible asignación a temperatura ambiente. Así, en la Figura 94A se asignan: un doble doblete centrado a 4,72 ppm para H-1<sub>eq</sub>, con  $J_{1eq,2}$  de 4,4 Hz y  $J_{1ax,1eq}$  de 10,6 Hz; un triplete a 3,72 ppm para H1<sub>ax</sub>, con  $J_{1ax,2}$  de 10,5 Hz; una señal que semeja un cuartete para el metileno en  $\gamma$  del resto de D-glutamina, y un multiplete, oculto bajo otra señal, a 2,06 ppm para el metileno en  $\beta$  de este mismo residuo.



El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN del éster metílico de 3-acetil-(4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi-1-O-dodecil- $\beta$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (94), registrado en  $\text{DMSO-d}_6$  a 200 MHz a  $20^\circ$  (Figura 94A, Tabla XXXIX) es complejo, nuevamente, por la presencia de dobles señales para todos los protones considerados.

Así, para la fracción de azúcar, aparecen dos señales para: H-1 (dos dobletes a 5,67 y 5,59 ppm), H-2' (dos singuletes a 5,53 y 5,41 ppm), el protón metínico del grupo bencilideno (dos singuletes a 5,77 y 5,74 ppm) y el metilo de la amida (dos singuletes anchos, solapados con otras señales, a 2,00 y 1,77 ppm). La larga cadena alifática presente en la posición anomérica se manifiesta por la presencia de diversas señales, algunas ocultas por otras señales, otras demasiado anchas para ser asignadas, y otras más o menos diferenciadas, como son un ancho singulete a 1,23 ppm que corresponde a los metilenos intermedios de la cadena, y el triplete a 0,86 ppm que se asigna al metilo terminal de la misma. Finalmente, se observa un conjunto de señales a 7,35 ppm, que se asigna a los protones aromáticos del grupo bencilideno presente en posiciones 4 y 6.

El residuo de L-alanina se pone de manifiesto por la presencia de dos dobletes a campo bajo (8,48 y 7,75 ppm) debidos al NH, mientras que el doblete que debería registrarse para el metilo en  $\alpha$  de este aminoácido está oculto bajo el ancho singulete comentado anteriormente (a 1,23 ppm).

Al resto de D-glutamina se asignan: los dos dobletes a 9,02 y 8,90 ppm (NH), los singuletes a 7,27, 7,18 y 6,79 ppm ( $\text{CONH}_2$  en  $\gamma$ ) y los dos singuletes a 3,62 y 3,56 ppm ( $\text{COOMe}$  en  $\alpha$ ).

Tabla XXXIX

Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN del éster metílico de 3-acetil-(4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi-1-O-dodecil- $\beta$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (94) (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) efectuados a 20° y 120°

Temperatura	Azúcar						L-Alanina		D-Glutamina			
	Ar	PhCH	O-(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> -CH <sub>3</sub>		COCH <sub>3</sub>	OCHN	H-1	NH	NH	CONH <sub>2</sub> ( $\gamma$ ) (Z)	CONH <sub>2</sub> ( $\gamma$ ) (E)	COOMe
20°	7,35 m	5,77 y 5,74 s s	1,23 s	0,86 t	2,0 y 1,77 s s	5,5 y 5,4 s s	5,7 y 5,6 d d	8,5 y 7,75 d d	9,0 y 8,9 d d	6,8 s	7,3 y 7,2 s s	3,62 y 3,56 s s
120°	7,37 m	5,71 s	1,28 s	0,87 t $^3J_{6,7}$	1,91 s	5,51 s	5,68 d $J_{1,2} 3$	7,73 d $^3J_{\text{H}\alpha,\text{NH}} 6,7$	8,25 d $^3J_{\text{H}\alpha,\text{NH}} 7,1$	6,50 s(ancho)		3,64 s

Al calentar la muestra a 120° (Figura 95A) estas dobles señales colapsan a señales simples, recogiendo en la Tabla XXXIX los desplazamientos químicos y las asignaciones correspondientes.

Es destacable el hecho de que el protón anomérico presenta en este espectro una constante de acoplamiento,  $J_{1,2}$  de 3 Hz, cuando se trata de un  $\beta$ -anómero (disposición trans-diaxial?) (compárese este valor con los obtenidos para los productos previos de esta serie -Figuras 14A y - en los cuales esta constante posee un valor de ~8 Hz). Además, resulta interesante que, mientras que la sustancia 69 (éster metílico del ácido que da lugar a 94) presenta señales simples, aunque anchas, a temperatura ambiente, la introducción de la cadena peptídica provoca la aparición de dobles señales a esta misma temperatura.

---

Los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN registrados a temperatura ambiente para los nuevos análogos del MDP, murametide y murabutide, obtenidos por la eliminación de los grupos protectores presentes en las sustancias que se acaba de considerar son, en general, aún más complejos que los anteriores. Esta complejidad viene motivada, por un lado por la posibilidad de la presencia de los diferentes anómeros al desaparecer el grupo bencilo en posición anomérica (sustancias 26 y 27), así como por la aparición de las señales correspondientes a los hidroxilos en posiciones 4 y 6 del amino azúcar (al desaparecer el grupo bencilideno que los protegía) en todos los casos, y por la presencia del grupo ácido en posición  $\gamma$  del resto de D-isoglutamina (sustancia 25). Ello conlleva que muchas de las señales, además de estar desdobladas por la lenta rotación de la función amida en posición 2 del amino azúcar, aparezcan desdobladas a su vez por su acoplamiento a los protones hidroxílicos libres en posiciones 1, 4 y 6 del amino azúcar, haciendo que la mayor parte

del espectro sea una sucesión de señales anchas de muy difícil asignación. Este problema se solventa, en parte, de nuevo por el registro de los espectros a alta temperatura, así como el registro de los espectros de las muestras deuteradas (por adición de  $D_2O$ ), tanto a temperatura ambiente como a alta temperatura.

Los datos obtenidos de los espectros de  $^1H$ -RMN del éster metílico de 3-acetil-(2,3-didesoxi-D-glucopirán)-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (26) registrados en  $DMSO-d_6$  a 200 MHz a distintas temperaturas (Figuras 96A-98A) se recogen en la Tabla XL.

En el espectro a temperatura ambiente (Figura 96A) se detectan entre 7 y 9,5 ppm hasta seis dobletes y tres singuletes anchos correspondientes a los protones amídicos presentes en la cadena peptídica, los cuales colapsan a  $100^\circ$  (Figura 97A) a tres singuletes anchos, y desaparecen al deuterar (Figura 98A). Lo mismo ocurre con los protones hidroxílicos cuyas señales se observan entre 6 y 7,5 ppm.

La señal correspondiente al protón en posición 2 de la oxazolidina (H-2') aparece a temperatura ambiente como, al menos dos singuletes a 5,52 y 5,45 ppm, colapsando a un singulete a  $100^\circ$ . La debida al metilo del éster en posición  $\alpha$  del residuo de D-glutamina aparece a temperatura ambiente como un par de singuletes a 3,62 y 3,51 ppm, que de nuevo colapsan a un único singulete a  $100^\circ$ . El metilo de la amida en posición 2 del amino azúcar se presenta igualmente desdoblado a temperatura ambiente (dos singuletes a 2,05 y 1,98 ppm), que parecen no haber colapsado completamente a  $100^\circ$ . Por último, el metilo en  $\alpha$  del resto de L-alanina presente, aparece como un pseudo doblete en el espectro a temperatura ambiente (a 1,23 ppm), señal que no termina de colapsar a  $100^\circ$ .

Tabla XL

Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN del éster metílico de 3-acetil-(2,3-didesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (26) (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) efectuados a 20° y 100°

Temperatura	Azúcar		L-Alanina		D-Glutamina		
	OCHN	COCH <sub>3</sub>	NH	CH <sub>3</sub>	NH	CONH <sub>2</sub>	COOMe
20°	5,52 y 5,45 s s	2,05 y 1,98 s s	7,98, 7,92 y 7,82 d d d	1,23 m	9,35, 8,71 y 8,48 d d d	7,29, 7,21 y 7,13 s s s	3,62 y 3,51 s s
20° (Deuterado)	5,50 y 5,45 ? s s	2,04 y 1,99 s s	-	1,24 m	-	-	3,64 ? s
100°	5,59 s	2,06 y 2,03 s s	7,68 s	1,29 y 1,31 d d	8,79 s	6,60 s	3,65 s

El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN del éster butílico de 3-acetil-(2,3-didesoxi-D-glucopirán)-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (**27**) registrado en  $\text{DMSO-d}_6$  a 200 MHz a  $20^\circ$  (Figura 99A) es todavía más complejo que el anterior, registrándose hasta catorce señales pertenecientes a los protones amídicos. Esta complicación se debe en parte, a la posibilidad de la existencia en el equilibrio de la forma aldehídica libre del amino azúcar, como parece demostrarse por la presencia de un pequeño singulete a campo muy bajo (9,67 ppm). La presencia del éster butílico en posición  $\alpha$  del resto de D-glutamina se pone de manifiesto por el triplete a campo alto (0,93 ppm) correspondiente al metilo terminal de dicha cadena.

El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN del éster bencílico de 3-acetil-(1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-isoglutamina (**95**), obtenido por hidrólisis en medio ácido de la sustancia **92** (apartado 4.2.5), registrado en  $\text{DMSO-d}_6$  a 200 MHz a  $20^\circ$  (Figura 100A; Tabla XLI) presenta señales, aunque desdobladas, mucho mejor definidas.

Así, se pueden asignar dos dobletes para cada uno de los protones amídicos (amidas secundarias) presentes en la cadena peptídica: los debidos al NH de la L-alanina aparecen a 8,24 y 7,52 ppm ( $^3J_{\text{H}\alpha,\text{NH}}$  6,9 Hz), mientras que los correspondientes al NH del resto de D-isoglutamina aparecen a 8,98 y 8,87 ppm ( $^3J_{\text{H}\alpha,\text{NH}}$  6,3 Hz). Los dos protones no equivalentes del grupo carboxamido presente en posición  $\alpha$  del resto de D-isoglutamina aparecen como tres singuletes a 7,25, 7,18 y 7,10 ppm, mientras que el metileno del éster bencílico en posición  $\gamma$  de este mismo residuo aparece como un singulete a 5,07 ppm, apareciendo a 7,34 ppm un singulete intenso para los protones aromáticos de este mismo grupo. Por último, a campo alto se observan las señales

Tabla XLI

Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN del éster bencílico de 3-acetil-(1,2,3-didesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-isoglutamina (95) (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) efectuados a 20° y 100° y 90°(deuterado)

Asignación		Temperatura		
		20°	120°	90°(Deuterado)
Azúcar	OCHN	5,50 y 5,35 s s	5,50 s	5,44 s
	COCH <sub>3</sub>	1,84 y 1,80 s s	1,90 s	1,84 s
	OH-4	5,62 y 5,54 d d	5,01 d $^3J$ 5,1	-
	OH-6		3,98 t $^3J$ 5,5	-
	H-1 <sub>eq</sub>		4,59 dd $J_{1eq,2}$ 4,2 $J_{1ax,1eq}$ 10,4	4,55 d d(ancho)
	H-2		3,19 td $J_{2,3}$ 10,2	
L-alanina	NH	8,24 y 7,52 d d $^3J_{H\alpha,NH}$ 6,9	7,58 d	-
	H ( $\alpha$ )		4,32 t?	
	CH <sub>3</sub>	1,25 d(ancho)	1,29 d $^3J$ 7,1	1,26 d
D-isoglutamina	NH	8,98 y 8,87 d d $^3J_{H\alpha,NH}$ 6,3	8,22 d	-
	CH <sub>2</sub> ( $\beta$ )		1,97 m	
	CH <sub>2</sub> ( $\gamma$ )	2,34 m	2,40 t $^3J$ 7,7	2,35 t
	CONH <sub>2</sub>	7,25, 7,18 y 7,10 tres s	6,71 s(ancho)	-
	COOCH <sub>2</sub> Ph	5,07 s	5,11 s	5,06 s
	Ph	7,34 m	7,35 m	7,32 m

debidas a los metilenos  $\beta$  y  $\gamma$  de este aminoácido a 2,34 y 1,80 ppm respectivamente, como multipletes (esta última señal aparece solapada con otra), y a 1,25 ppm aparece un doblete ancho para el metilo del resto de L-alanina.

La fracción de azúcar se pone de manifiesto a esta temperatura (20°) por la aparición de dos dobletes a 5,62 y 5,54 ppm asignados al hidroxilo en posición 4 (OH-4) del amino azúcar, y a su lado, dos singuletes (5,50 y 5,35 ppm) para H-2'. Asimismo, el metilo de la amida en posición 2 aparece como un par de singuletes a 1,84 y 1,80 ppm.

La asignación del OH-4 se ha visto facilitado por el desplazamiento que sufre esta señal al aumentar la temperatura. Así, en el registro a 120° (Figura 101A; Tabla XLI), se observa cómo esta señal se ha desplazado, apareciendo ahora a 5,01 ppm como un doblete. En este espectro se observa también la señal correspondiente a OH-6 como un triplete centrado a 3,98 ppm. Ambas señales desaparecen al deuterar (Figura 102A). Gracias a registros obtenidos por doble resonancia a esta temperatura (120°), se han asignado las siguientes señales:

El doble doblete a 4,59 ppm pertenece a H-1eq ( $J_{1eq,2}$  4,2 Hz,  $J_{1ax,1eq}$  10,4 Hz). Su irradiación (Figura 101A[a]) simplifica a un triplete la señal debida a H-2, que aparecía en el espectro original como un triplete de dobletes a 3,19 ppm ( $J_{1ax,2}$  10,3 Hz,  $J_{2,3}$  10,2 Hz). La irradiación de la señal compleja entre 4 y 4,5 ppm permite confirmar la presencia en ella de los protones metínicos en  $\alpha$  de los dos aminoácidos, ya que aparecen simplificadas las señales para los NH (a 8,22 y 7,58 ppm), así como el doblete correspondiente al metilo de la L-alanina (que se simplifica a singulete a 1,29 ppm) y los dos protones diasterotópicos del metileno en  $\beta$  de la D-isoglutamina a 1,97 ppm (en parte solapada con otra señal, correspondiente al metilo de la amida del amino azúcar) (Figura 101A[b]).

El espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de 3-acetil-(1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-isoglutamina (**25**) registrado en  $\text{DMSO-d}_6$  a 200 MHz a 20° (Figura 103A; Tabla XLII) presenta un aspecto general, que por sí solo no ofrece mucha información. No obstante, gracias al registro a alta temperatura se pueden asignar algunas señales recogidas en la Tabla XLII. En este último registro a 120° (Figura 104A; Tabla XLII) se observa que todas las dobles señales han colapsado a señales simples, asignándose las siguientes:

Tabla XLII

Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN de 3-acetil-(1,2,3-didesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-isoglutamina (**25**) ( $\text{DMSO-d}_6$ , 200 MHz) efectuados a 20° y 120°

Asignación		Temperatura	
		20°	120°
Azúcar	OCHN	5,51 y 5,37 s s	5,50 s
	COCH <sub>3</sub>	1,93 y 1,85 s s	1,91 s
	H-1 <sub>eq</sub>		4,61 dd $J_{1eq,2} 3,9$ $J_{1ax,1eq} 10,3$
L-alanina	NH	8,27 y 7,56 d d	7,62 s(ancho)
	CH <sub>3</sub>	1,27 d(ancho)	1,31 d $^3J 7,0$
D-isoglutamina	NH	9,00 y 8,88 d d	8,25 s(ancho)
	CH <sub>2</sub> (β)		1,97 m
	CH <sub>2</sub> (γ)	m	2,26 t
	CONH <sub>2</sub>	7,27, 7,13 y 7,07 tres s	6,70 s(ancho)

Para la fracción de azúcar se observan un singulete a 1,91 ppm correspondiente al metilo de la amida en posición 2, un doble doblete centrado a 4,61 ppm asignado a H-1<sub>eq</sub>, que presenta una  $J_{1ax,1eq}$  de 10,3 Hz y una  $J_{1eq,2}$  de 3,9 Hz, y un singulete a 5,50 ppm asignado a H-2'.

Para el resto de L-alanina se detectan un doblete a 1,31 ppm con  $^3J$  de 7,0 Hz, asignado al metilo en posición  $\alpha$  y un singulete ancho a 7,62 ppm para el NH.

Para el residuo de D-isoglutamina se detectan un multiplete a 1,98 ppm para el metileno en posición  $\beta$  y un pseudotriplete a 2,26 ppm para el metileno en posición  $\gamma$ . A 6,70 ppm aparece un singulete ancho con integral para dos protones, que se asigna a los protones del grupo carboxamido en  $\alpha$ , mientras que a 8,25 ppm aparece otro singulete ancho, con integral para un protón, que se asigna al NH de este aminoácido.

El espectro de  $^1H$ -RMN del éster metílico de 3-acetil-(1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (28) registrado en DMSO- $d_6$  a 200 MHz a 20° (Figura 105A; Tabla XLIII) presenta nuevamente dobles señales para todos los protones.

La cadena peptídica se pone de manifiesto una vez más por la presencia de los protones amídicos a campo bajo. Se detectan dos dobletes para el NH de la L-alanina, a 8,49 y 7,69 ppm, y dos dobletes también para el NH de la D-glutamina, a 9,06 y 8,84 ppm. El grupo carboxamido da origen a tres singuletes entre 7 y 7,5 ppm. El resto de las señales para la cadena peptídica aparecen a: 1,26 ppm un doblete ancho para el metilo de la L-alanina, y a 3,60 y 3,58 ppm dos singuletes para el metilo del éster en posición  $\alpha$  del resto de D-glutamina.

Tabla XLIII

Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN del éster metílico de 3-acetil-(1,2,3-didesoxi-D-glucopirán)-  
[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (28)  
(DMSO- $d_6$ , 200 MHz) efectuados a 20° y 100°

Asignación		Temperatura	
		20°	100°
Azúcar	OCHN	5,51 y 5,42 s s	5,51 s
	COCH <sub>3</sub>	1,95 y 1,79 s s	1,90 s
	OH-4	5,60 d?	5,11 s(ancho)
	H-1 <sub>eq</sub>		4,59 dd J <sub>1eq,2</sub> 4,3 J <sub>1ax,1eq</sub> 10,3
L-alanina	NH	8,49 y 7,69 d d <sup>3</sup> J <sub>H<math>\alpha</math>,NH</sub> 6,7	7,81 d(ancho)
	CH <sub>3</sub>	1,26 d(ancho)	1,30 d <sup>3</sup> J 7,2
D-glutamina	NH	9,06 y 8,84 d d <sup>3</sup> J <sub>H<math>\alpha</math>,NH</sub> 6,5	8,32 d
	CH <sub>2</sub> ( $\beta$ )		2,05 m
	CH <sub>2</sub> ( $\gamma$ )	2,34 m	2,12 m
	CONH <sub>2</sub>	7,37, 7,28 y 7,16 tres s	6,58 s(ancho)
	COOMe	3,60 y 3,58 s s	3,64 s

La fracción de azúcar se pone de manifiesto por la presencia de dos singuletes para H-2' (5,51 y 5,42 ppm) y otros dos singuletes para el metilo de la amida (1,95 y 1,79 ppm). A 5,60 ppm se observa una especie de ancho doblete, que por analogía con el espectro anteriormente comentado para la sustancia 95, se asigna al OH-4.

Esta última señal, vuelve a desplazarse al aumentar la temperatura: en el espectro registrado a 100° (Figura 106A; Tabla XLIII) aparece a 5,11 ppm como un singulete muy ancho, que desaparece al deuterar (Figura 107A).

A esta temperatura todas las señales han colapsado a señales simples, pudiéndose asignar, además de las ya comentadas, un doble doblete para H-1<sub>eq</sub> a 4,59 ppm ( $J_{1eq,2}$  4,3 Hz;  $J_{1ax,1eq}$  10,3 Hz).

El espectro de <sup>1</sup>H-RMN del éster metílico de 3-acetil-(2,3-didesoxi-1-O-dodecil-β-D-glucopirán)-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (29) registrado en DMSO-d<sub>6</sub> a 200 MHz a 20° (Figura 108A; Tabla XLIV) está dominado por un intenso y ancho singulete a 1,22 ppm que se asigna a los protones metilénicos intermedios de la larga cadena alifática presente en la posición anomérica del amino azúcar. A campo ligeramente más alto (0,83 ppm) aparece un triplete correspondiente al metilo terminal de esta misma cadena (<sup>3</sup>J 7,0 Hz). El resto de las señales vuelve a presentar desdoblamiento. Así, entre 5 y 6 ppm se observa un conjunto de señales que se asignan como sigue: Dos dobletes a 5,64 y 5,56 ppm para OH-4 (<sup>3</sup>J 5,6 Hz); dos singuletes anchos, a 5,55 y 5,42 ppm para H-1; y dos singuletes, a 5,45 y 5,34 ppm para H-2'. El metilo de la amida en posición 2 del amino azúcar aparece desdoblado en dos singuletes a 1,96 y 1,74 ppm, ocultando otras señales.

Tabla XLIV

Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN del éster metílico de 3-acetil-(2,3-didesoxi-1-O-dodecil- $\beta$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (29)  
(DMSO- $d_6$ , 200 MHz) efectuados a 20° y 120°

Asignación		Temperatura	
		20°	120°
Azúcar	OCHN	5,45 y 5,34 s s	5,44 s
	COCH <sub>3</sub>	1,96 y 1,74 s s	1,90 s
	(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub>	1,22 s(ancho)	1,28 s
	CH <sub>3</sub>	0,83 t $^3J$ 7,0	0,87 t
	OH-4	5,64 y 5,56 dos d $^3J$ 5,6	5,09 s(ancho)
	H-1	5,55 y 5,42 dos s (anchos)	5,53 dd $J_{1,2}$ 3,0
L-alanina	NH	8,48 y 7,72 d d $^3J_{\text{H}\alpha,\text{NH}}$ 7,4	7,72 d(ancho)
D-glutamina	NH	9,02 y 8,85 d d $^3J_{\text{H}\alpha,\text{NH}}$ 7,3	8,20 d $^3J_{\text{H}\alpha,\text{NH}}$ 7,5
	CH <sub>2</sub> ( $\beta$ )		1,99 m
	CH <sub>2</sub> ( $\gamma$ )		2,12 m
	CONH <sub>2</sub>	7,28 y 7,18 tres s	6,49 s(ancho)
	COOMe		3,65 s

A campo bajo se encuentran una vez más las señales correspondientes a los protones amídicos de la cadena peptídica. El NH de la L-alanina aparece como dos dobletes a 8,48 y 7,72 ppm ( $^3J_{H\alpha,NH}$  7,4 Hz), mientras que el correspondiente a la D-glutamina aparece también como dos dobletes, a 9,02 y 8,85 ppm ( $^3J_{H\alpha,NH}$  7,3 Hz). El grupo  $\gamma$ -carboxamido origina dos singuletes a 7,28 y 7,18 ppm.

En el registro a alta temperatura (120°; Figura 109A) todas las señales se han simplificado (aunque los protones amídicos aún no se han resuelto completamente), lo cual permite detectar un singulete a 3,65 ppm que se asigna al metilo del éster en posición  $\alpha$  del resto de D-glutamina. La asignación del resto de las señales no varía respecto a la realizada a temperatura ambiente, recogándose las mismas en la Tabla XLIV.

#### 4.3.2. Determinación estructural por espectrometría de masas

Se han estudiado los espectros de masas de las diversas sustancias descritas en esta Tesis, obtenidos por impacto electrónico (e.i.) con electrones de una energía nominal de 70 eV. Asimismo, con objeto de caracterización, se han obtenido los espectros de estas sustancias mediante ionización química (c.i.) y por espectrometría de masas de alta resolución (h.r.).

Por otra parte, y con el fin de establecer los mecanismos de fragmentación, se han llevado a cabo experiencias de barridos ligados (búsqueda de iones padres, iones hijos y pérdida de molécula neutra).

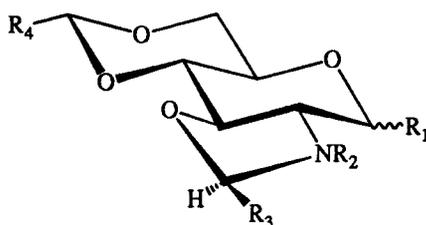
Las sustancias se han dividido en tres grupos, en función del grado de similitud estructural que presentan. Así, en el primer apartado se estudian los espectros de masas de aquellas sustancias que poseen el anillo de oxazolidina condensado con el amino azúcar, sin la cadena peptídica. En segundo lugar se estudian los productos de las reacciones de apertura de dicho anillo con distintos nucleófilos. Por último, en un tercer apartado se estudian los espectros de masas de aquellas sustancias que presentan la cadena peptídica, independientemente del grado de protección que posean.

Antes de iniciar el estudio hay que decir que el uso de una fórmula estructural determinada no implica que el ión en cuestión haya sido investigado y haya mostrado esa estructura particular; su uso se hace sólo con carácter orientativo y con el objeto de intentar facilitar la comprensión de las rutas de fragmentación que se proponen.

## 4.3.2.1. OXAZOLIDINAS CONDENSADAS CON EL AMINO AZUCAR

La estructura general de este grupo, así como las sustancias que estudian, se recogen en la Tabla XLVI.

Tabla XLVI



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
68	βOBn	Ac	COOMe	Ph
69	βODodecil	Ac	COOMe	Ph
70	H	Ac	COOMe	Ph
72	αOBn	Ac	COOMe	pMeOPh
30	αOBn	Piv	COOMe	Ph
31	αOBn	BOC	COOMe	Ph
32	αOBn	Bz	COOMe	Ph
33	αOBn	BnSO <sub>2</sub>	COOMe	Ph
83	αOBn	Ac	CH <sub>2</sub> OH	Ph
85	αOBn	Ac	CH <sub>2</sub> OMe	Ph
86	αOBn	Ac	CH <sub>2</sub> I	Ph
34	αOBn	Ac	Me	Ph
73	αOBn	Ac	H	Ph
74	αOBn	Ac	H	p-MeOPh
75	αOBn	Piv	H	Ph
76	αOBn	Bz	H	Ph

Los espectros de masas de estas sustancias obtenidos por ionización química, están recogidos en el apéndice (Figuras 110A-125A). En todos los casos se observa el ión [M+H] como una de las señales principales, generalmente siendo el pico base (100% de intensidad) del espectro. En la Tabla XLVII se recogen la relación masa/carga ( $m/z$ ) e intensidad (%) de este ión para los diversos compuestos integrantes de este grupo.

**Tabla XLVII**

Iones [M+H] y su intensidad relativa (expresada en %) para las sustancias estudiadas.  
Datos obtenidos por Ionización Química (c.i.)

Sustancia	[M+H] <sup>+</sup>	Intensidad (%)
68	470	100
69	548	100
70	364	100
72	500	100
30	512	100
31	528	21
32	532	100
33	582	27
83	442	100
85	456	60
86	552	100
34	426	100
73	412	100
74	442	100
75	454	100
76	474	78

Por otra parte, en la Tabla XLVIII se recogen los resultados del estudio por espectrometría de masas de alta resolución de estas sustancias, en los que se ha

investigado la composición del ión molecular,  $[M]^+$ , reflejándose la desviación de masa (en partes por millón, ppm) del peso molecular calculado para cada uno de ellos. Como se puede observar, en todos los casos la desviación es menor de 10 ppm.

Tabla XLVIII

Composición y masa teórica del ión molecular con expresión de la desviación de masa encontrada por espectrometría de masas de alta resolución (h.r.) para las sustancias estudiadas en este apartado

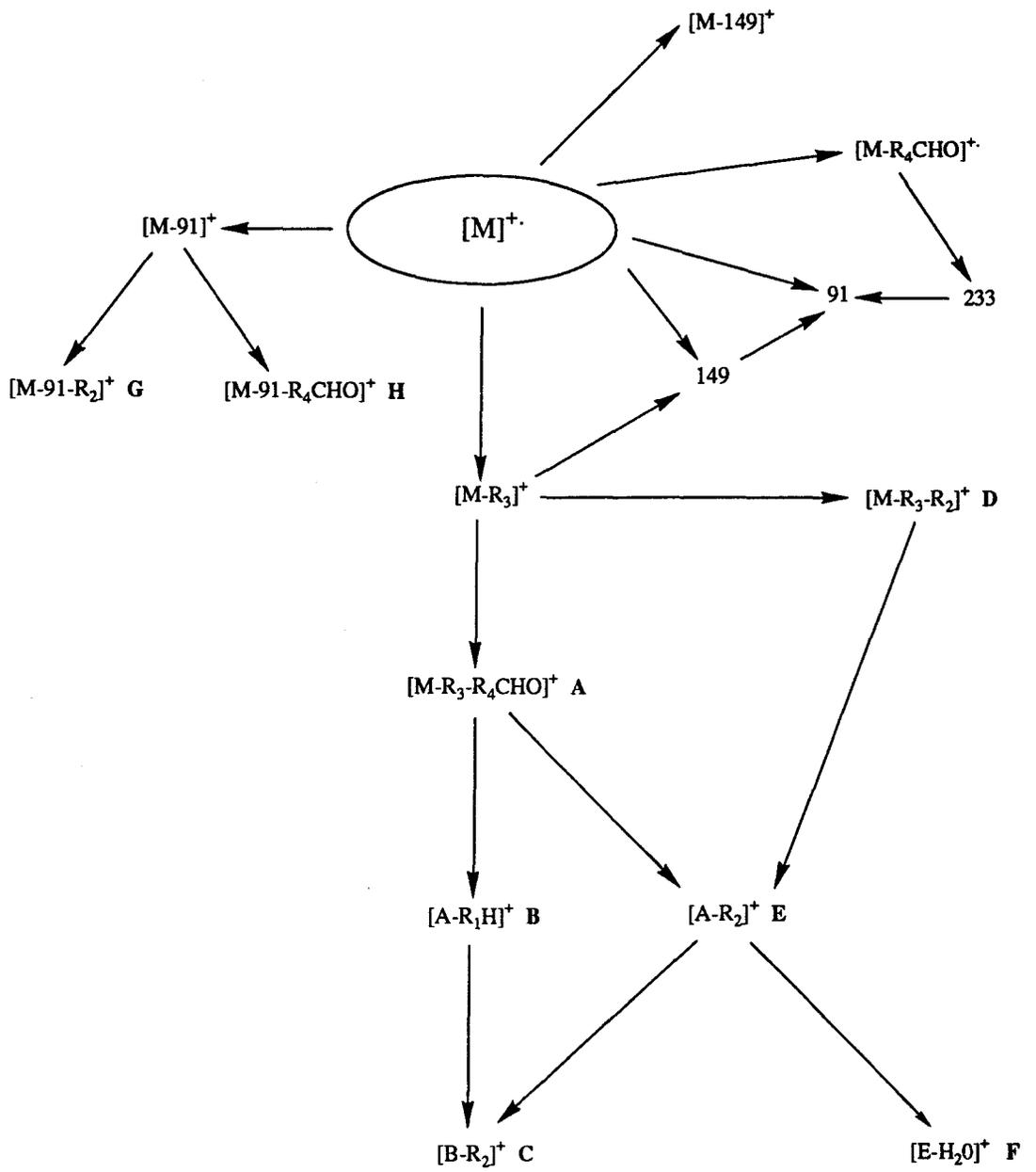
Sustancia	Composición	Masa Teórica	Desviación (ppm)
68	$C_{25}H_{27}NO_8$	469,1763	5,6
69	$C_{30}H_{45}NO_8$	547,3150	1,0
70	$C_{18}H_{21}NO_7$	363,1332	4,0
72	$C_{26}H_{29}NO_9$	499,1838	-0,8
30	$C_{28}H_{33}NO_8$	511,2206	0,0
31	$C_{28}H_{33}NO_9$	527,2164	1,6
32	$C_{30}H_{29}NO_8$	531,1886	-1,3
33	$C_{30}H_{31}NO_9S$	581,1687	-5,6
83	$C_{24}H_{27}NO_7$	441,1745	-9,7
85	$C_{25}H_{29}NO_7$	455,1956	2,8
86	$C_{24}H_{26}INO_6$	551,0787	-3,6
34	$C_{24}H_{27}NO_6$	425,1813	-5,9
73	$C_{23}H_{25}NO_6$	411,1699	4,2
74	$C_{24}H_{27}NO_7$	441,1792	1,0
75	$C_{26}H_{31}NO_6$	453,2177	5,7
76	$C_{28}H_{27}NO_6$	473,1830	-1,6

Estos resultados permiten confirmar la estructura propuesta para estas sustancias.

En un amplio estudio de espectrometría de masas realizado sobre compuestos similares<sup>(Ruiz, 1990)</sup>, se postuló un esquema de fragmentación general (Esquema 22).

En este estudio se observó que existían cuatro fragmentaciones primarias principales, las cuales daban lugar posteriormente al resto de señales importantes. Estas eran:

- 1) La escisión heterolítica del enlace O-Bn en posición anomérica (cuando tal grupo estaba presente), dando lugar al ión tropilio ( $m/z=91$ ) y al correspondiente ión  $[M-91]^+$ . Como norma general, cuando este grupo protector estaba presente, el ión tropilio se presentaba como el pico base del espectro. El ión  $[M-91]^+$  originaba posteriormente otros iones secundarios de pequeña intensidad. Esta ruta la denominamos (M-91→)#.
- 2) La ruptura del grupo protector acetálico en posiciones 4 y 6 del azúcar, conocida en la bibliografía con el nombre de *ruptura h*, la cual da lugar a los iones  $h_1$  y  $h_2$ . Estos iones toman los valores de  $m/z=149$  y  $[M-149]^+$  respectivamente cuando este grupo protector es el grupo bencilideno. Se observó que la relación entre las intensidades de estos dos iones era la inversa a la que cabía esperar según la bibliografía. Este hecho se asoció con la posibilidad de la formación del ión  $m/z=149$  a partir de un ión secundario, pero importante en todos los espectros estudiados, denominado  $[M-R_3]^+$ , así como a la presencia del grupo OBn en posición anomérica, el cual permitiría estabilizar el radical producido en la formación del ión  $m/z=149$ . Esta ruta la denominamos (M-149→)#.
- 3) La ruptura heterolítica simple del sustituyente en posición 2 del anillo de oxazolidina, dando origen al ión  $[M-R_3]^+$ . Este ión, como se demostró mediante un estudio de barridos ligados, era clave en todos los espectros



Esquema 22

estudiados, ya que a partir de él se originaban el resto de las señales importantes de todos los espectros. Esta ruta la denominamos (M-R<sub>3</sub>→)#.

- 4) Una última ruta de fragmentación que no era común a todos los espectros estudiados, era aquella que daba lugar al ión m/z=233. Se comprobó, de nuevo por estudio de barridos ligados, que este ión procedía del ión radical [M-106]<sup>+</sup>. Esta ruta la denominamos (M-106→)#.

En base a este estudio, podemos ordenar las diversas señales que aparecen en los espectros de las sustancias objeto de estudio, obtenidos por impacto electrónico (Figuras 126A-141A), como grupos de iones conocidos. Esta ordenación se recoge en la Tabla XLIX.

Como se observa, el ión tropilio (m/z=91) es, generalmente, el pico base del espectro. Las únicas excepciones son las sustancias **69** (R<sub>1</sub>= O-dodecilo) y **70** (R<sub>1</sub>=H), en los que no está presente el grupo bencilo en posición anomérica.

Por otra parte, se observa que la ruta de fragmentación (M-R<sub>3</sub>→)#, que comienza por la ruptura heterolítica del grupo R<sub>3</sub> y que da lugar a los iones [M-R<sub>3</sub>]<sup>+</sup> y A-F, es importante para aquellas sustancias en las que R<sub>3</sub>=COOMe (compuestos **68-70**, **72** y **30-33**). Es asimismo importante en las sustancias **83** (R<sub>3</sub>=CH<sub>2</sub>OH) y **85** (R<sub>3</sub>=CH<sub>2</sub>OMe). Sin embargo, esta ruta pierde su importancia, desapareciendo incluso los iones a que da lugar, en las sustancias **86** (R<sub>3</sub>=CH<sub>2</sub>I), **34** (R<sub>3</sub>=Me) y **73-76** (R<sub>3</sub>=H). Esta diferencia se basa, fundamentalmente, en la naturaleza de R<sub>3</sub>. Así, cuando R<sub>3</sub> es el grupo metoxicarbonilo, el radical que se forma en la producción del ión [M-R<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (que es el que da origen al resto de la ruta), es más estable que el que se produciría en el caso que R<sub>3</sub> sea metilo o hidrógeno. Por otra parte, cuando R<sub>3</sub> es hidroximetilo o metoximetilo esta



Tabla IL (Continuación)

Principales señales registradas y su abundancia relativa (%) para los compuestos objeto de estudio en este apartado, ordenados en grupos de iones

Ión	Sustancia															
	68	69	33	72	32	30	31	70	83	85	86	34	73	74	75	76
[D-R <sub>4</sub> CHO] (ión E)	262 (5)	340 (4.3)	- -	262 (0.9)	- -	262 (1.2)	262 (19)	156 (46)	262 (1.5)	262 (1.7)	- -	262 (0.9)	- -	- -	- -	- -
[E-H <sub>2</sub> O] (ión F)	244 (1.8)	322 (3.8)	244 (5.4)	244 (0.9)	- -	244 (2.8)	244 (12)	138 (22)	244 (4.2)	244 (2.4)	- -	- -	244 (1.2)	- -	244 (1.5)	- -
[M-91-R <sub>2</sub> (-H)] (ión G)	336 (1.8)	- -	- -	- -	- -	336 (0.5)	336 (1.8)	- -	308 (0.7)	322 (0.9)	418 (26)	292 (14)	278 (10)	308 (2.7)	278 (4.3)	- -
[M-91-R <sub>4</sub> CHO] (ión H)	272 (2.3)	- -	- -	272 (1.2)	334 (1.1)	314 (1)	- -	- -	244 (4.2)	- -	354 (3)	228 (4.8)	214 (4.6)	214 (2.5)	256 (20)	276 (21)
m/z 233	(25)	(30)	-	(15) <sup>b</sup>	(1.3)	(3.6)	(4.2)	-	(5.6)	(2.4)	(26)	(12)	(13)	(13) <sup>b</sup>	(5)	(5)
m/z 149	(35)	(100)	(29)	(39) <sup>b</sup>	(14)	(26)	(39)	(2.7)	(26)	(22)	(35)	(22)	(10)	(17) <sup>b</sup>	(12)	(6)
m/z 105	(19)	(22)	(19)	(6.7)	(86)	(13)	(19)	(39)	(15)	(38)	(22)	(16)	(17)	(27)	(13)	(100)
m/z 91	(100)	(29)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(15)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(83)
m/z 77	(12)	(8.2)	(10)	(9)	(37)	(9)	(12)	(27)	(11)	(27)	(9)	(10)	(13)	(9)	(8)	(21)
OTROS	- -	- -	- -	135 (24)	- -	57 (38)	57 (75)	- -	- -	- -	[M-I] 424(10)	- -	- -	- -	57 (29)	- -

<sup>a</sup> Correspondientes a los iones [M-179]

<sup>b</sup> Correspondientes a los iones 263 y 179

ruta mantiene su importancia, a diferencia del caso que  $R_3$  sea iodometilo, en el cual nuevamente la pierde (aunque no totalmente), en este caso por la presencia del átomo de iodo, el cual tiene tendencia a eliminarse para dar lugar al ión  $[M-I]^+$ , que representa el 10% en el espectro de este compuesto. Esta escisión impide la posterior formación del ión  $[M-R_3]^+$ . En la Tabla L se recoge la relación masa/carga y la intensidad del ión  $[M-R_3]^+$  frente a la naturaleza de este sustituyente para las sustancias estudiadas.

Tabla L

Relación masa/carga (m/z) e intensidad (%) del ión  $[M-R_3]^+$  frente a la naturaleza de  $R_3$

Sustancia	m/z	Intensidad (%)	$R_3$
68	410	18,0	COOMe
69	488	6,7	COOMe
33	522	11,0	COOMe
72	440	4,2	COOMe
32	472	2,6	COOMe
30	452	28,0	COOMe
31	468	6,7	COOMe
70	304	41,0	COOMe
83	410	7,8	CH <sub>2</sub> OH
85	410	2,7	CH <sub>2</sub> OMe
86	410	1,5	CH <sub>2</sub> I
34	-	-	Me
73	-	-	H
74	-	-	H
75	-	-	H
76	-	-	H

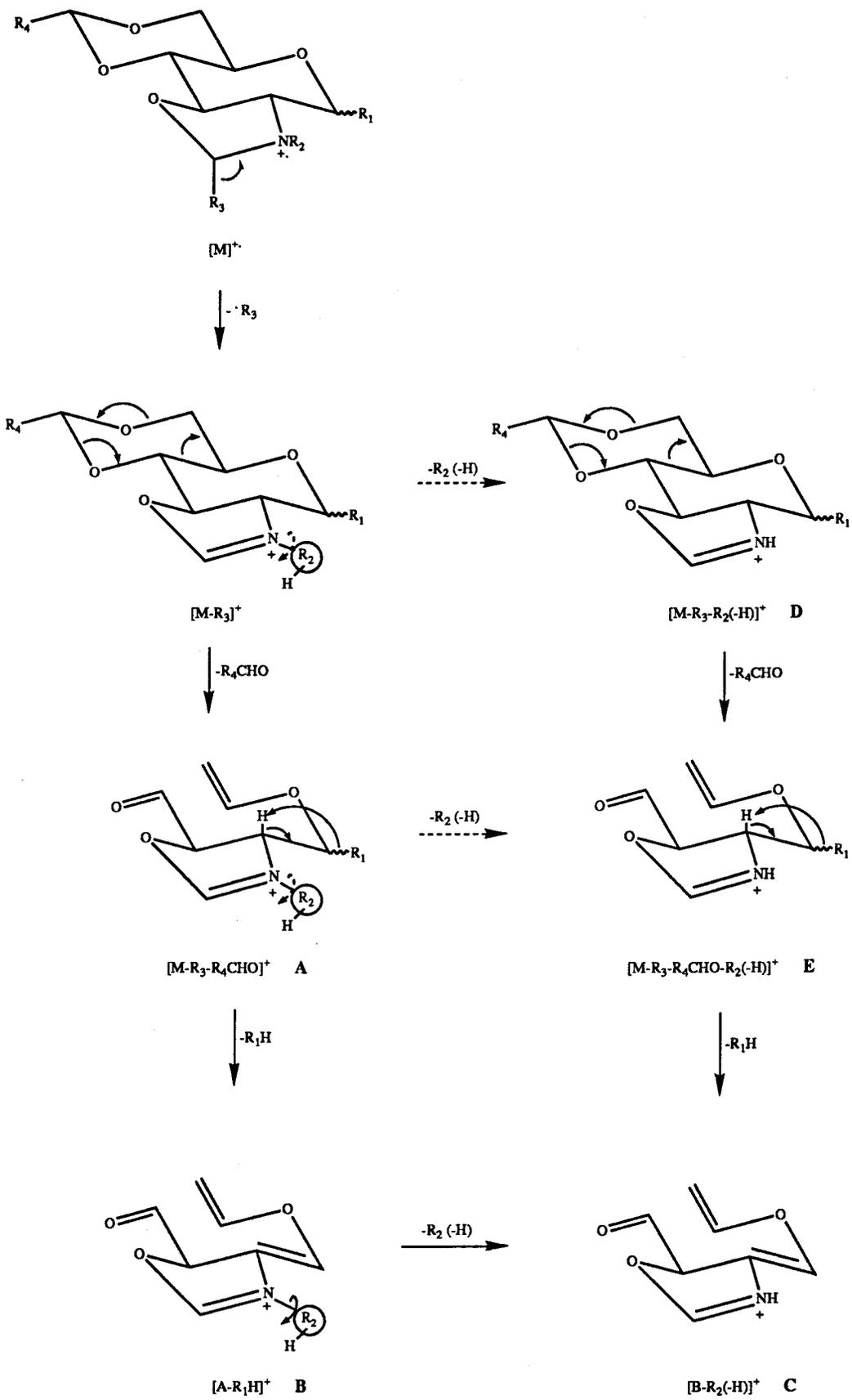
Esta ruta de fragmentación ( $M-R_3 \rightarrow$ )<sup>#</sup>, que tiene su origen en el ya comentado  $[M-R_3]^+$ , presenta como iones secundarios más importantes aquellos que se originan por

pérdida sucesiva de  $R_4\text{CHO}$ ,  $R_1\text{OH}$  y  $R_2(-\text{H})$  por este orden, dando lugar a los iones A, B y C respectivamente. La pérdida, en un orden distinto al indicado, de estas (u otras) moléculas neutras da origen a los iones D, E y F. El conjunto de esta ruta de fragmentación se representa en el Esquema 23.

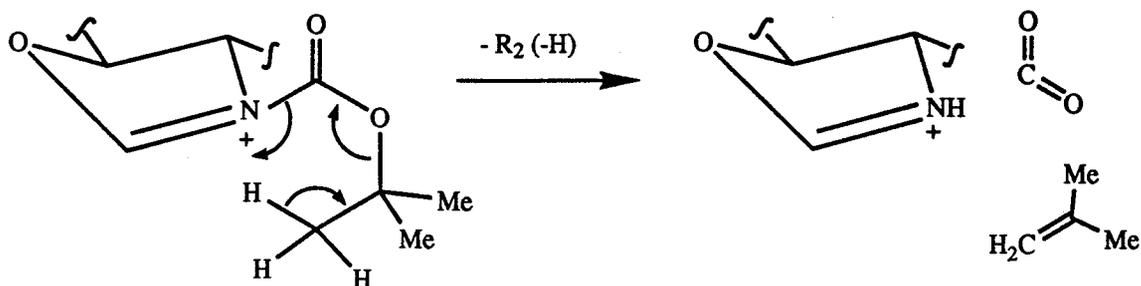
En la Tabla XLIX se observan algunas diferencias en las intensidades de estos iones, que se pasa a comentar:

1) En el espectro de la sustancia 32 faltan las señales debidas a los iones C, D, E y F, los cuales están directamente ligados a la naturaleza de  $R_2$  (por pérdida directa de este grupo, o por proceder de algún ión que lo ha perdido). Tal como se indica en Esquema 23, la escisión de  $R_2$  se produce con cesión de un átomo de hidrógeno al nitrógeno cargado positivamente, con producción de una molécula neutra, generalmente cetena. En este compuesto  $R_2=\text{Bz}$ , por lo que esta ruptura es bastante improbable.

2) En el espectro de la sustancia 31 faltan las señales debidas a los iones A y B, mientras que, por otra parte, se encuentran muy incrementadas las debidas a los iones C, D, E y F. Como se acaba de indicar, estos últimos están relacionados con  $R_2$ . En esta sustancia (31)  $R_2$  es el grupo t-butoxicarbonilo (BOC). Este grupo puede escindirse, como se indica en el Esquema 24, a través de un intermedio cíclico de 6 miembros, con formación de dos moléculas neutras, una de anhídrido carbónico y otra de isobuteno, lo que la hace estar muy favorecida. Ello explicaría la falta del ión A (y de su ión-hijo, B) y la alta abundancia de los restantes iones de esta ruta.



Esquema 23



Esquema 24

Es decir, en esta sustancia parece ser que la ruta principal de fragmentación ( $[M-R_3]^+ \rightarrow A \rightarrow B \rightarrow C$ ) se encuentra muy desfavorecida frente a la ruta, que en otras sustancias de este grupo es secundaria,  $[M-R_3]^+ \rightarrow D \rightarrow E \rightarrow C$ . Para comprobarlo, se ha realizado un estudio de metastables sobre este compuesto (Figuras 142A-145A), el cual ha permitido confirmar tal suposición.

3) Por último, en el espectro de la sustancia **70** se nota la ausencia de las señales debidas a los iones B y C. De nuevo este hecho es explicable teniendo en cuenta los sustituyentes que están implicados en las fragmentaciones que dan lugar a dichos iones. Así, en este compuesto,  $R_1=H$  mientras que en el resto de compuestos estudiados,  $R_1$  es un grupo alcoxilo (generalmente benciloxi), y la eliminación de este grupo como  $R_1H$  es la responsable de la formación, en primer lugar, del ión B y, posteriormente, por pérdida de ceteno, del ión C. Al faltar en este compuesto el grupo alcoxilo, esta fragmentación no tiene lugar. Ello implica que la ruta de fragmentación principal ya comentada ( $[M-R_3]^+ \rightarrow A \rightarrow B \rightarrow C$ ) se vea de nuevo alterada, desviándose en esta ocasión hacia la formación de los iones E y F a partir de A (ver Tabla XLIX). Nuevamente mediante estudio de barridos ligados (Figuras 146A-149A) se ha confirmado esta suposición

En la Tabla XLIX se observa -como era de esperar- que, a medida que el ión  $[M-R_3]^+$  (y los iones a que da lugar) disminuye en importancia, las rutas de fragmentación alternativas,  $(M-91 \rightarrow)^{\#}$ ,  $(M-106 \rightarrow)^{\#}$  y  $(M-149 \rightarrow)^{\#}$ , se ven potenciadas. Es destacable, no obstante, el incremento que experimenta la ruta  $(M-91 \rightarrow)^{\#}$ . En la Tabla LI se comparan las abundancias relativas de los iones de esta ruta respecto a la correspondiente a  $[M-R_3]^+$  para las sustancias estudiadas.

Tabla LI

Abundancias relativas de los iones  $[M-R_3]^+$ ,  $[M-91]^+$ , (G) y (H)

Sustancia	Ión			
	[M-R3]	[M-91]	[M-91-R2(-H)] (ión G)	[M-91-R4CHO] (ión H)
68	18	1,7	1,8	2,3
69	6,7	-	-	-
70	41	-	-	-
72	4,2	2,5	-	1,2
30	28	0,6	0,5	1
31	6,7	-	1,8	-
32	2,6	0,5	-	1,1
33	11	-	-	-
83	7,8	1,2	0,7	4,2
85	2,7	0,5	0,9	-
86	1,5	9,7	26	3
34	-	9,5	14	4,8
73	-	10	10	4,6
74	-	14	2,7	2,5
75	-	2,5	4,3	20
76	-	6,7	-	21

En esta Tabla se observa que el ión  $[M-91]^+$ , y los iones secundarios procedentes de él, adquieren importancia para las sustancias **86**, **34** y **73-76**, que son justamente aquellas en las que la anterior ruta estudiada no aparece. Para comprobar que los iones G y H proceden efectivamente del ión primario  $[M-91]^+$ , se ha llevado a cabo un estudio de barridos ligados sobre las sustancias **86** y **34** (Figuras 150A y 151A), el cual ha permitido confirmar esta ruta de fragmentación.

Por otra parte, y aunque la abundancia relativa de los iones  $[M-149]^+$  y  $m/z=149$ , procedentes de la *ruptura h*, no experimentan una variación considerable al disminuir la intensidad del ión  $[M-R_3]^+$ , si se observa un hecho destacable:

En el estudio anteriormente mencionado llevado a cabo sobre compuestos similares a los aquí estudiados, se observó que la abundancia relativa del ión  $m/z=149$  era siempre mayor que la debida al ión  $[M-149]^+$ , inversamente a lo que cabía esperar según la bibliografía consultada<sup>(Chizhov, 1968)</sup>. Esta mayor abundancia del ión  $m/z=149$  se atribuyó a diversos motivos, entre ellos el hecho de que este ión se originaba, además de por la *ruptura h*, a partir del ión  $[M-R_3]^+$ , como se demostró mediante estudio de barridos ligados. Ello implica que en los espectros de las sustancias en las que este último ión sea de menor importancia o no exista, la relación entre aquellos dos iones debería verse afectada. Y así ocurre realmente.

En la Tabla LII se presenta la relación entre las intensidades de los iones  $[M-149]^+$  y  $m/z=149$  frente a la relación entre las intensidades de los iones  $[M-R_3]^+$  y  $[M-91]^+$  (la cual puede dar una idea más exacta de la importancia del ión  $[M-R_3]^+$ , que la simple indicación de su intensidad).

Tabla LII

$$\%[M-149]^+/\%m/z=149 \text{ frente a } \%[M-R_3]^+/\%[M-91]^+$$

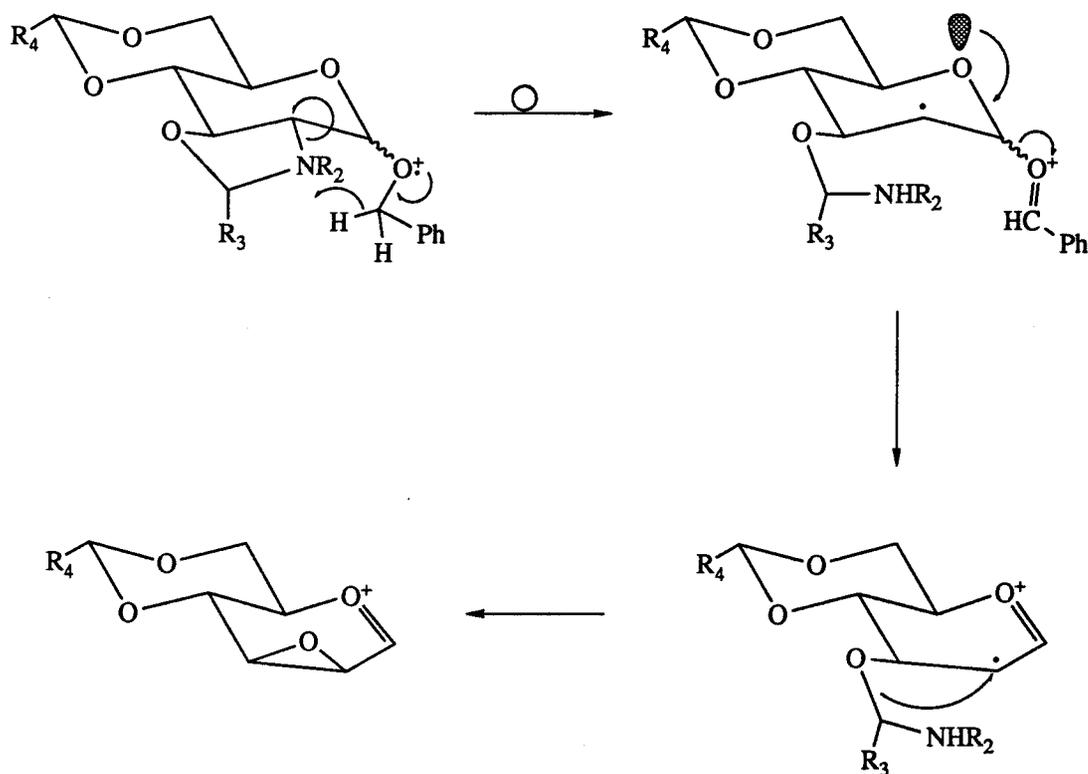
Sustancia	Relación	
	$\frac{\% [M-149]}{\%m/z 149}$	$\frac{\%[M-91]}{\%[M-R_3]}$
68	0.3	0.1
69	0.4	<0.1
72	0.8	0.6
30	0.9	<0.1
31	<0.1	<0.1
32	0.2	0.2
33	<0.1	<0.1
83	0.5	0.2
85	0.2	0.2
86	1.5	6.5
34	1.7	>10.0
73	2.1	>10.0
74	1.6	>10.0
75	2.4	>10.0
76	2.5	>10.0

Como se observa en esta Tabla, la intensidad del ión  $[M-149]^+$  es menor que la del correspondiente  $m/z=149$  (y por tanto su relación menor que la unidad) justamente en aquellos espectros en los que la ruta  $(M-R_3 \rightarrow)^{\#}$  es importante. En el momento en que esta ruta deja de serlo, esta relación se invierte, haciéndose mayor de la unidad.

Un ejemplo representativo de lo que se acaba de decir lo constituye la sustancia **86**. En su espectro se observa que, aún a pesar de que la ruta  $(M-R_3 \rightarrow)^{\#}$  existe (ver Tabla XLIX), su propia existencia no es significativa cuando se la compara con la ruta (M-

91→)<sup>#</sup> (véase su relación de intensidades en la Tabla LII). Esto tiene como consecuencia que la relación  $[M-149]^+/149$  sea mayor que la unidad.

La última ruta de fragmentación, que se pasa a comentar, es aquella que da lugar al ión  $m/z=233$ . En el estudio sobre sustancias análogas ya mencionado se estableció, gracias a la realización de barridos ligados, que este ión provenía del ión  $[M-106]^+$ , el cual a su vez, se originaba a partir del ión molecular, postulándose esta ruta tal y como se recoge en el Esquema 25.



Esquema 25

Los datos obtenidos de los espectros de las sustancias pertenecientes a esta Tesis, y que se estudian en este apartado, permiten confirmar esta ruta ya que:

- 1) Si comparamos los espectros de las sustancias **68**, **69** y **70** (entre los que la única diferencia se encuentra en el sustituyente  $R_1$ ) se observa que, mientras que para la sustancia **68** ( $R_1=OBn$ ) se detectan los iones  $[M-106]^+$  (1,1%) y  $m/z=233$  (25%), éstos no se observan en el espectro de la sustancia **69** ( $R_1=O$ -dodecil) ni de la sustancia **89** ( $R_1=H$ ).
  
- 2) Al comparar los espectros de las sustancias **68** y **72** (entre los que la única diferencia estriba en el sustituyente  $R_4$ ) se observa que en ambos se detecta el ión  $[M-106]^+$ . Si el grupo involucrado en la producción de este ión fuera  $R_4$ , en la sustancia **72** ( $R_4=p$ -MeOPh) se tendría que producir en su lugar el ión  $[M-136]^+$ . Sin embargo éste no se detecta. Por otra parte, mientras que en el espectro del compuesto **68** ( $R_4=Ph$ ) se registra el ión  $m/z=233$  -como ya se ha dicho anteriormente-, éste no se observa en el del compuesto **72**, apareciendo en su lugar un ión a  $m/z=263$  (15%), indicando que en su composición se mantiene el grupo  $R_4^*$ .
  
- 3) El ión  $m/z=233$  es independiente de la naturaleza de los sustituyentes en  $R_2$  y  $R_3$ , ya que se observa en los espectros de las sustancias **68**, **30**, **31**, **83**, **85**, **86**, **34**, **73**, **75** y **76**, las cuales se diferencian entre ellas precisamente en  $R_2$  y/o  $R_3$ .

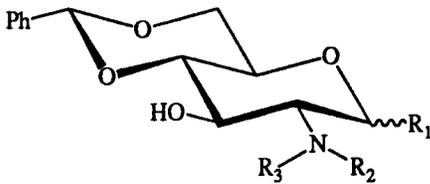
---

\* Exactamente igual ocurre al comparar los espectros de las sustancias **73** y **74**.

## 4.3.2.2. PRODUCTOS DE APERTURA DEL ANILLO DE OXAZOLIDINA

Las sustancias estudiadas en este apartado se recogen en la Tabla LIII.

Tabla LIII



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
35	αOBn	Et	Me
36	αOBn	H	Me
37	βOBn	Et	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
38	βOBn	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
39	αOBn	H	Pr

Los espectros de masas de estas sustancias, obtenidos mediante ionización química, se recogen en el apéndice (Figuras 152A-156A), mientras que en la Tabla LIV se presenta la relación masa/carga ( $m/z$ ) e intensidad relativa (%) para el ión  $[M+H]^+$  detectado en cada caso. En esta última se observa que este ión es, si no el pico base (100% de intensidad) del espectro, una de las principales señales.

Tabla LIV

Iones  $[M+H]$  y su intensidad relativa (expresada en %) para las sustancias estudiadas en este grupo.  
 Datos obtenidos por Ionización Química (c.i.)

Sustancia	$[M+H]^+$	Intensidad (%)
35	400	98
36	372	100
37	430	95
38	402	100
39	400	100

Por otro lado, se han obtenido los espectros de masas de alta resolución, presentándose en la Tabla LV la composición y masa teórica del ión molecular  $[M]^+$ , recogiendo la desviación de masa (expresada en partes por millón, ppm) del peso molecular calculado para cada uno de ellos. En todos los casos, esta desviación es menor de 4 ppm.

Tabla LV

Composición y masa teórica del ión molecular con expresión de la desviación de masa encontrada por espectrometría de masas de alta resolución (h.r.) para las sustancias estudiadas en este apartado

Sustancia	Composición	Masa Teórica	Desviación (ppm)
35	$C_{23}H_{29}NO_5$	399,2035	2,8
36	$C_{21}H_{25}NO_5$	371,1718	3,9
37	$C_{24}H_{31}NO_6$	429,2161	2,4
38	$C_{22}H_{27}NO_6$	401,1822	3,9
39	$C_{23}H_{29}NO_6$	399,2056	2,7

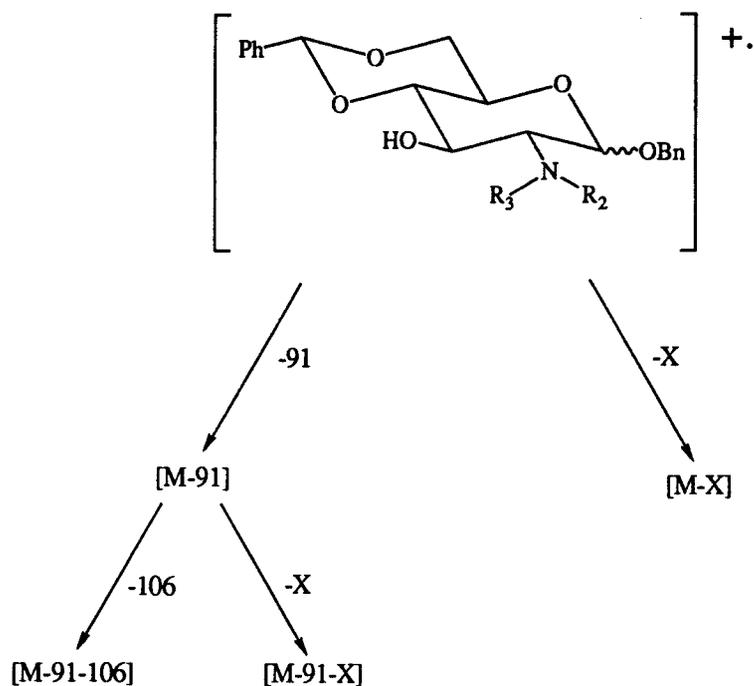
Estos datos permiten confirmar el peso molecular calculado para cada uno de ellos.

Asimismo se han registrado los espectros de masas obtenidos mediante ionización por impacto electrónico (Figuras 157A-161A). En estos espectros aparecen pocos iones de intensidad considerable. Generalmente aparecen dos o tres iones aislados en el centro del espectro, registrándose a masas bajas un grupo de iones de mediana a alta intensidad. La consideración conjunta de estos espectros ha permitido ordenar los distintos iones detectados en cada uno de ellos como grupos de iones conocidos. Esta ordenación se recoge en la Tabla LVI, mientras que en el Esquema 26 se representan las rutas de fragmentación generales encontradas.

Tabla LVI

Principales iones registrados (m/z) y su abundancia relativa (%) para las sustancias objeto de estudio en este apartado, ordenados en grupos de iones

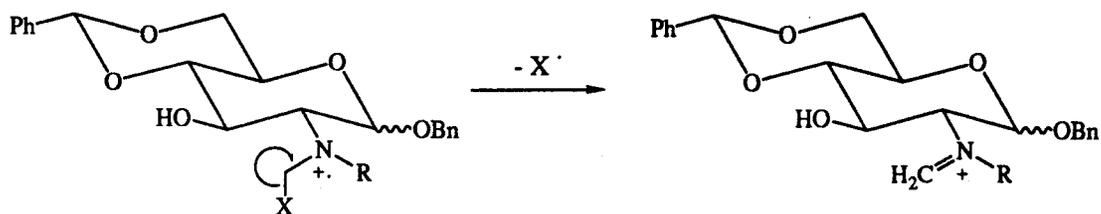
Ión	Sustancia				
	35	36	37	38	39
[M]	399 (3,2)	371 (0,5)	429 (1,9)	401 (1,2)	399 (0,6)
[M-X]	384 (1,7) X=Me	-	398 (100) X=CH <sub>2</sub> OH	370 (46) X=CH <sub>2</sub> OH	370 (3,6) X=Et
[M-91]	308 (100)	280 (70)	338 (30)	310 (65)	308 (68)
[M-91-X]	280 (30) X=CH <sub>2</sub> :CH <sub>2</sub>	-	306 (6,7) X=MeOH	264 (17) X=EtOH	-
[M-91-106]	202 (7)	174 (21)	232 (7)	204 (23)	202 (21)
m/z 101	(96)	(48)	(52)	(43)	(100)
m/z 91	(78)	(100)	(67)	(100)	(70)



Esquema 26

La ruta principal de fragmentación en estas sustancias involucra al grupo bencilo en posición 1 del amino azúcar, pudiéndose escindir este grupo como ión tropilio ( $m/z$  91) o como radical, con producción del ión  $[M-91]^+$ . Este ión da lugar, posteriormente, a los iones  $[M-91-106]^+$  y  $[M-91-X]^+$ , correspondiendo el primero a la pérdida de benzaldehído procedente del grupo bencilideno en posiciones 4 y 6 del amino azúcar, y el segundo a la pérdida de una de las cadenas alifáticas (o una parte de ella) que se encuentran sobre el nitrógeno en posición 2.

Otra fragmentación, cuya importancia varía en función de los sustituyentes sobre el nitrógeno, es aquella que se produce por fisión  $\beta$  en una de estas cadenas alifáticas, lo que da lugar al ión  $[M-X]^+$ , el cual llega a ser el pico base del espectro en la sustancia 37. Esta fragmentación se representa en el Esquema 27.



Esquema 27

En la Tabla LVII se presenta el ión  $[M-X]^+$ , junto a su intensidad relativa (%), frente al radical X producido en esta fragmentación.

Tabla LVII

Iones  $[M-X]$  y su intensidad relativa (expresada en %) para las sustancias estudiadas en este grupo, frente al radical (X) producido.

Sustancia	$[M-X]^+$	X
35	384 (1,7)	Me
36	- -	H
37	398 (100)	CH <sub>2</sub> OH
38	370 (46)	CH <sub>2</sub> OH
39	370 (3,6)	Et

Como se puede observar, el ión  $[M-X]^+$  es importante en los espectros de las sustancias 37 y 38 (llegando a ser el pico base del espectro para 37), en los que el radical que se escinde es CH<sub>2</sub>OH.

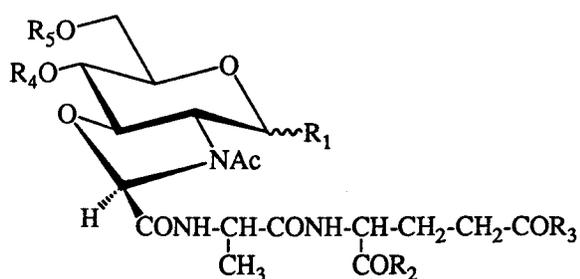
Este ión es importante desde el punto de vista de determinación estructural, como se demuestra por la comparación de los espectros de los isómeros constitucionales 35

( $R_2=Et$ ,  $R_3=Me$ ) y **39** ( $R_2=H$ ,  $R_3=Pr$ ). En la Figura 162A se comparan los espectros completos para ambas sustancias. Aparte de que se observan pequeñas diferencias en la intensidad de algunos iones, no se puede asegurar qué espectro corresponde a cada sustancia. Sin embargo, en la Figura 163A se comparan las zonas de masas altas de estos dos espectros. En ella se observa una diferencia fundamental ya que, mientras que en el espectro de la parte superior aparece el ión  $[M-X]^+$  a  $m/z$  384 (pérdida de quince unidades de masa a partir del ión molecular), en el de la parte inferior aparece a  $m/z$  370 (pérdida de veintinueve unidades de masa), demostrando así que el espectro de la parte superior corresponde a la sustancia **35** y el de la parte inferior a la sustancia **39**.

## 4.3.2.3. PRODUCTOS CON CADENA PEPTIDICA

Las sustancias cuyos espectros de masas se presentan en este apartado se recogen en la Tabla LVIII.

Tabla LVIII



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
89	βOBn	NH <sub>2</sub>	OBn		PhCH
90	βOBn	OMe	NH <sub>2</sub>		PhCH
91	βOBn	OBu	NH <sub>2</sub>		PhCH
92	H	NH <sub>2</sub>	OBn		PhCH
93	H	OMe	NH <sub>2</sub>		PhCH
94	βODodecil	OMe	NH <sub>2</sub>		PhCH
95	H	NH <sub>2</sub>	OBn	H	H
25	H	NH <sub>2</sub>	OH	H	H
26	OH	OMe	NH <sub>2</sub>	H	H
27	OH	OBu	NH <sub>2</sub>	H	H
28	H	OMe	NH <sub>2</sub>	H	H
29	βODodecil	OMe	NH <sub>2</sub>	H	H

La presencia de la cadena peptídica en estas sustancias ejerce una notable influencia en sus espectros de masas, siendo el rasgo más importante la ausencia del ión molecular, incluso en los espectros obtenidos mediante ionización química. Por ello, se han

registrado sus espectros mediante una forma de ionización más suave, tal como la ionización mediante bombardeo con átomos ligeros (FAB). En estos espectros (Figuras 164A-175A), aunque se observan los iones  $[M+H]^+$  correspondientes en cada caso, éstos presentan una intensidad variable, llegando sólo en dos casos a ser el pico base del espectro. En la Tabla LIX se recogen las relaciones masa/carga ( $m/z$ ) y la intensidad relativa (%) para este ión en cada sustancia estudiada.

**Tabla LIX**

Iones  $[M+H]^+$  y su intensidad relativa (expresada en %) para las sustancias estudiadas en este grupo.  
Datos obtenidos por Bombardeo con átomos ligeros (FAB)

Sustancia	$[M+H]^+$	Intensidad (%)
89	745	26
90	669	100
91	711	8
92	639	21
93	563	100
94	747	
95	551	5
25	461	
26	491	10
27	533	27
28	475	36
29	659	

Asimismo, en determinados casos, se han registrado los espectros mediante espectrometría de alta resolución empleando la técnica de ionización anteriormente mencionada (FAB-HR), presentándose en la Tabla LX los datos obtenidos para el ión  $[M+H]^+$  en cada caso.

Tabla LV

Composición y masa teórica del ión  $[M+H]^+$  con expresión de la desviación de masa encontrada por espectrometría de masas de alta resolución (FAB-HR) para las sustancias 93, 95 y 27

Sustancia	Composición	Masa Teórica	Desviación (ppm)
93	$C_{26}H_{35}N_4O_{10}$	563,2348	0,9
95	$C_{25}H_{35}N_4O_{10}$	551,2357	-0,7
27	$C_{22}H_{37}N_4O_{11}$	533,2458	0,2

Estos datos permiten confirmar el peso molecular calculado para cada una de estas sustancias.

### 4.3.3. Determinación estructural por IR

Se han registrado los espectros de IR de las distintas sustancias descritas en la presente Memoria, ordenándose éstas en tres grupos.

En primer lugar se estudia la estructura de las sustancias que presentan el anillo de oxazolidina, obtenidas por la reacción de N-acil-D-glucosaminas con compuestos gem-dihalogenados (dibromometano y ácido dicloroacético), así como sus derivados más simples.

En segundo lugar se consideran los compuestos obtenidos por la apertura del anillo de oxazolidina con diversos nucleófilos.

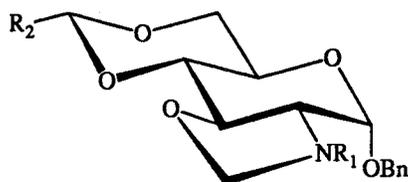
En tercer y último lugar se estudian todas aquellas sustancias que presentan la cadena peptídica, independientemente del grado de protección que posean.

#### 4.3.3.1. OXAZOLIDINAS CONDENSADAS CON EL AMINO AZUCAR

##### *4.3.3.1.1. Derivados de la reacción de N-acil-D-glucosaminas con dibromometano*

Las sustancias estudiadas en primer lugar, obtenidas por reacción de N-acil-D-glucosaminas con dibromometano, se presentan en la Tabla LXI, mientras que en la Tabla LXII se recogen los datos obtenidos de sus espectros de IR (Figuras 176A-179A).

Tabla LXI



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
73	Ac	Ph
74	Ac	p-MeOPh
75	Piv	Ph
76	Bz	Ph

Tabla LXII

Bandas de absorción en el IR para las sustancias objeto de estudio en este apartado

Sustancia	Bandas de Absorción (cm <sup>-1</sup> )				
	$\nu_{\text{CH}}$ (Ar)	$\nu_{\text{CH}}$	$\nu_{\text{CO}}$ (amida)	$\delta_{\text{COC}}$	$\delta_{\text{CH}}$ (Ar)
73	3064 3034	2906 2885	1664	1095 1050	702
74	3061 3033	2909 2835	1663	1092 1036	829 735
75	3065 3033	2971 2910	1640	1098 1043	702
76	3061 3029	2878	1640	1094 1030	702

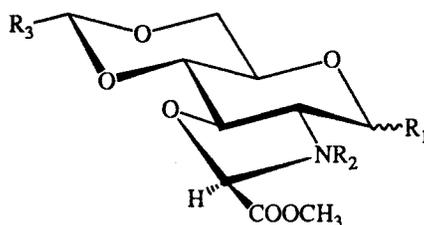
Como era de esperar, en los espectros de IR de estas sustancias no aparecen bandas de tensión de OH ni de NH. Asimismo, tampoco se observa la banda de flexión de NH

de amida (Amida II). Estas ausencias están de acuerdo con la estructura propuesta para estas sustancias.

4.3.3.1.2. *Derivados de la reacción de N-acil-D-glucosaminas con ácido dicloroacético*

Las sustancias obtenidas por reacción de N-acil-D-glucosaminas con ácido dicloroacético y posterior esterificación con diazometano se recogen en la Tabla LXIII, encontrándose los datos obtenidos de sus espectros de IR (Figuras 180A-187A) en la Tabla LXIV.

Tabla LXIII



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
68	βOBn	Ac	PhCH
69	βODodecil	Ac	PhCH
70	H	Ac	PhCH
72	αOBn	Ac	p-MeOPhCH
30	αOBn	Piv	PhCH
31	αOBn	BOC	PhCH
32	αOBn	Bz	PhCH
33	αOBn	BnSO <sub>2</sub>	PhCH

Tabla LXIV

Bandas de absorción en el IR para las sustancias objeto de estudio en este apartado

Sustancia	Bandas de Absorción (cm <sup>-1</sup> )					
	$\nu_{\text{CH}}$ (Ar)	$\nu_{\text{CH}}$	$\nu_{\text{CO}}$ (éster)	$\nu_{\text{CO}}$ (amida)	$\delta_{\text{COC}}$	$\delta_{\text{CH}}$ (Ar)
<b>68</b>	3077 3034	2966 2890	1760	1660	1096	709
<b>69</b>	3065 3031	2926 2856	1761	1655	1099	706
<b>70</b>		2926 2893	1756	1664	1097	711
<b>72</b>	3063 3030	2936 2874	1756	1656	1093 1029	835 728
<b>30</b>	3061 3031	2962 2921	1754	1650	1097 1026	703
<b>31</b>	3064 3033	2977 2933	1762	1716	1099	703
<b>32</b>	3063 3031	2953 2906	1747	1653	1095 1023	703
<b>33</b>	3064 3032	2950 2900	1753	1350 <sup>a</sup>	1101	704

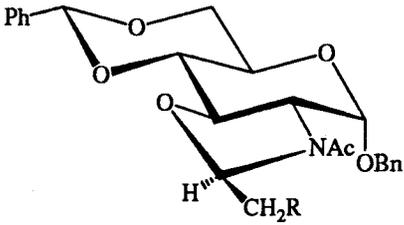
<sup>a</sup> Banda de sulfonamido

En esta Tabla se observa, al igual que ocurría anteriormente, la ausencia de bandas de tensión debidas a grupos OH y NH, al igual que la banda de flexión de NH de amida (Amida II), lo cual está de acuerdo con la estructura propuesta para estas sustancias. Por otra parte, se observa que para el compuesto **31** la banda debida al carbonilo de uretano ( $R_2 = \text{BOC}$ ) aparece a número de onda ligeramente más alto (1716 cm<sup>-1</sup>) como era de esperar. Asimismo, en el compuesto **33**, en el que  $R_2 = \text{BnSO}_2$ , aparece la banda debida a este grupo a 1350 cm<sup>-1</sup>, en lugar de la banda de amida encontrada en las demás sustancias.

4.3.3.1.3. *Derivados de la 3-acetil-2-carboxi-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina, 62*

Las sustancias estudiadas en este apartado se recogen en la Tabla LXV.

Tabla LXV



Sustancia	R
83	OH
85	OMe
86	I
34	H

En la Tabla LXVI se recogen los datos obtenidos a partir de sus espectros de IR (Figuras 188A-191A).

Tabla LXVI

Bandas de absorción en el IR para las sustancias objeto de estudio en este apartado

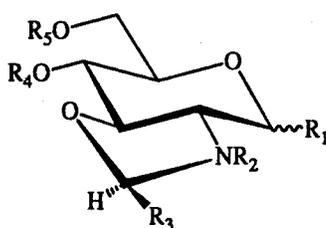
Sustancia	Bandas de Absorción (cm <sup>-1</sup> )				
	$\nu_{\text{CH}}$ (Ar)	$\nu_{\text{CH}}$	$\nu_{\text{CO}}$ (amida)	$\delta_{\text{COC}}$	$\delta_{\text{CH}}$ (Ar)
83	3063	2940	1653	1100	701
	3032	2908		1050	
85	3064	2904	1660	1101	701
	3032			1024	
86	3064	2913	1656	1096	701
	3035	2872		1025	
34	3062	2904	1645	1101	699
	3030	2857		984	

De nuevo, se comprueba que se mantiene el anillo de oxazolidina por la ausencia de las bandas de tensión de OH y NH si bien, en el espectro de la sustancia 83 (Figura 188A) se observa una intensa banda a 3506 cm<sup>-1</sup> que se asigna al OH del grupo alcohólico producido en la reducción del ácido inicialmente presente (ver apartado 4.2.3.1.3).

#### 4.3.3.1.4. Otros derivados de oxazolidinas condensadas con el amino azúcar

En esta sección se estudian los espectros de IR de las sustancias que se recogen en la Tabla LXVII.

Tabla LXVII



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
78	H	Ac	COOMe	H	H
79	αOBn	Bz	COOMe	H	H
80	αOBn	Ac	H	H	H
82	αOBn	Ac	COOMe	Bz	p-MeOBn

En la Tabla LXVIII se presentan los datos obtenidos a partir de sus espectros de IR (Figuras 192A-195A).

Tabla LXVIII

Bandas de absorción en el IR para las sustancias objeto de estudio en este apartado

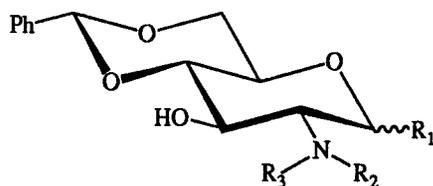
Sustancia	Bandas de Absorción (cm <sup>-1</sup> )					
	ν <sub>OH</sub>	ν <sub>CH</sub>	ν <sub>CO</sub> (éster)	ν <sub>CO</sub> (amida)	δ <sub>COC</sub>	δ <sub>CH</sub> (Ar)
78	3375 ancha	2960 2894	1757	1652	1073 1023	-
79	3325 ancha	2932 2857	1755	1651	1023	702
80	3356 3252	2961 2892	-	1658	1069 1023	701
82	-	2954 2913	1759 1730	1663	1031	717

Los espectros de IR registrados para estas sustancias están de acuerdo con la estructura propuesta. Así, en los tres primeros casos se observa una banda debida a los OH libres en posiciones 4 y 6 del amino azúcar, banda que no aparece en el espectro de la sustancia 82, al estar estas posiciones bloqueadas en forma de éter (en posición 6) y éster (en posición 4). Este último grupo se pone de manifiesto, asimismo, por la presencia de una banda a  $1730\text{ cm}^{-1}$ , que se asigna al éster del ácido benzoico en esta posición.

#### 4.3.3.2. PRODUCTOS DE APERTURA DEL ANILLO DE OXAZOLIDINA

Las sustancias estudiadas en este apartado, obtenidas por apertura del anillo de oxazolidina con diversos nucleófilos, se recogen en la Tabla LXIX, mientras que en la Tabla LXX se presentan los datos obtenidos a partir de sus espectros de IR (Figuras 196A-200A).

Tabla LXIX



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
35	$\alpha$ OBn	Et	Me
36	$\alpha$ OBn	H	Me
37	$\beta$ OBn	Et	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
38	$\beta$ OBn	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
39	$\alpha$ OBn	H	Pr

Tabla LXX

Bandas de absorción en el IR para las sustancias objeto de estudio en este apartado

Sustancia	Bandas de Absorción (cm <sup>-1</sup> )					
	$\nu_{\text{OH}}$	$\nu_{\text{NH}}$	$\nu_{\text{CH}}$ (Ar)	$\nu_{\text{CH}}$	$\delta_{\text{COC}}$	$\delta_{\text{CH}}$ (Ar)
35	3413	3210	3069 3034	2969 2914	1057 1030	701
36	3406	3345	3060 3032	2906 2866	1101 1029	705
37	3372		3063 3033	2972 2872	1095	703
38	3410 3320	3241	3068 3037	2930 2879	1102	700
39	3485	3210	3065 3037	2968 2908	1101 1028	700

Los datos extraídos de los espectros de IR de las sustancias objeto de estudio en este apartado están de acuerdo con la estructura propuesta ya que:

1) ha desaparecido la banda de amida (Amida I) que aparecía en los espectros de las sustancias precursoras (apartado anterior), así como las debidas al éster en posición 2 del anillo de oxazolidina, en el caso de las sustancias 37 y 38.

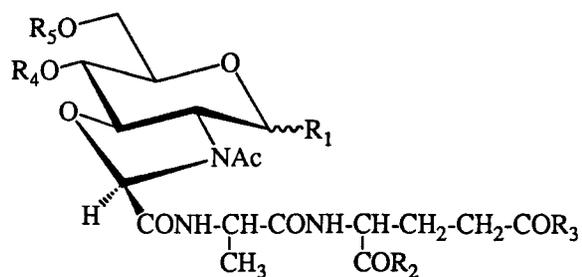
2) Aparecen las bandas de tensión de NH y OH, por la presencia de estos grupos en posiciones 2 y 3 del amino azúcar.

#### 4.3.3.3. PRODUCTOS CON CADENA PEPTIDICA

En este apartado se estudian los espectros de IR de aquellas sustancias obtenidas por condensación de 2-acetil-3-carboxi-oxazolidinas con los dipéptidos convenientemente protegidos y funcionalizados (Apartado 4.2.4). En primer lugar se estudian las sustancias

que presentan grupos protectores, estudiándose a continuación los nuevos análogos rígidos del MDP, murametide y murabutide, obtenidos por hidrogenación catalítica de las sustancias anteriores. Todas ellas se recogen en la Tabla LXXI.

Tabla LXXI



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
89	βOBn	NH <sub>2</sub>	OBn		PhCH
90	βOBn	OMe	NH <sub>2</sub>		PhCH
91	βOBn	OBu	NH <sub>2</sub>		PhCH
92	H	NH <sub>2</sub>	OBn		PhCH
93	H	OMe	NH <sub>2</sub>		PhCH
94	βODodecil	OMe	NH <sub>2</sub>		PhCH
95	H	NH <sub>2</sub>	OBn	H	H
25	H	NH <sub>2</sub>	OH	H	H
26	OH	OMe	NH <sub>2</sub>	H	H
27	OH	OBu	NH <sub>2</sub>	H	H
28	H	OMe	NH <sub>2</sub>	H	H
29	βODodecil	OMe	NH <sub>2</sub>	H	H

En la Tabla LXXII se presentan los datos obtenidos a partir de sus espectros de IR (Figuras 201A-212A), los cuales están de acuerdo con las estructuras propuestas para cada una de ellas.

Tabla LXXII

Bandas de absorción en el IR para las sustancias objeto de estudio en este apartado

Sustancia	Bandas de Absorción (cm <sup>-1</sup> )						
	$\nu_{\text{OH}}$	$\nu_{\text{NH}}$	$\nu_{\text{CH}}$ (Ar)	$\nu_{\text{CH}}$	$\nu_{\text{CO}}$ (éster)	$\nu_{\text{CO}}$ (amida I)	$\delta_{\text{NH}}$ (amida II)
89	-	3306	3064 3035	2928 2885	1741	1675 1652	1547
90	-	3317	3066 3033	2928 2888	1742	1677 1664	1551
91	-	3322	3064	2965 2933	1737	1679 1652	1560 1549
92	-	3280	3066 3036	2936 2894	1733	1677 1652	1560 1543
93	-	3282	3084	2931 2896	1741	1659	1556
94	-	3280	3083	2927 2852	1750	1660	1553
95	3425 3380	3267	3085	2937 2894	1733	1687 1650	1554
25	3330 (ancha)	¿?		2930	1673	1673	1556
26	3354 (ancha)	¿?		2961 2934	1742	1670	1545
27	3342 (ancha)	¿?		2960 2930	1741	1666	1552
28	3380 3278	3217		2960 2928	1745	1661 1623	1554
29	3414 (ancha)	3290		2924 2853	1745	1661 1640	1552

## **5. PARTE EXPERIMENTAL**

## 5.1. METODOS GENERALES

Las evaporaciones de disolventes se efectuaron a temperaturas inferiores a 60°C a presión reducida (10 a 25 mm de mercurio).

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato GALLENKAMP y están sin corregir.

Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro automático PERKIN-ELMER 241-MC, empleando luz amarilla de sodio ( $\lambda=589$  nm). La notación para esta magnitud es  $[\alpha]_D$ .

Los análisis elementales han sido realizados en el Servicio de Análisis Elemental del Departamento de Química Analítica de la Facultad de Química de la Universidad de Sevilla.

### 5.1.1. Cromatografía en capa fina (ccf)

Esta técnica se ha utilizado como método analítico cualitativo, empleando cromatoplasmas comerciales (Merck, 60 F<sub>254</sub>) de un espesor de capa de 0,25 mm y cromatofolios de aluminio (Merck 60 F<sub>254</sub>) de un espesor de capa de 0,20 mm. Los eluyentes empleados se indican en cada caso.

Los reveladores empleados fueron: luz ultravioleta de 254 nm, yodo, ácido sulfúrico al 20% y la mezcla de anisaldehído-ácido sulfúrico-ácido acético-etanol 95% (25:25:1:450). En estos dos últimos casos el revelado se ha realizado por inmersión de la placa en el revelador y posterior calentamiento en placa calefactora durante 1-2 minutos.

### 5.1.2. Cromatografía en columna

Este procedimiento se ha utilizado con fines preparativos. El soporte empleado ha sido gel de sílice 60 (Merck) usando la técnica conocida como "Flash chromatography". El eluyente empleado se indica en cada caso. Las fracciones colectadas se analizaron por c.c.f..

### 5.1.3. Espectros de absorción en el infrarrojo (IR)

Se han registrado en un espectrofotómetro MICHELSON 100 FT-IR. Los espectros de muestras sólidas se registraron en comprimidos de bromuro potásico (KBr) y los de consistencia siruposa se registraron en estado puro (película).

### 5.1.4. Espectros de resonancia magnética nuclear (RMN)

Los espectros de RMN ( $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ ) se han registrado en espectrofotómetros BRUKER WP-80-SY, BRUKER AC-200 y VARIAN XL-200 a 200 MHz ( $^1\text{H}$ ) y 20 y 50 MHz ( $^{13}\text{C}$ ), respectivamente. Como disolventes se han empleado  $\text{Cl}_3\text{CD}$ , acetona- $\text{d}_6$  y  $\text{DMSO-d}_6$  y como referencia interna TMS. Para el desplazamiento químico se usa el parámetro  $\delta$ .

La interpretación de los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN se ha facilitado mediante experiencias de intercambio con deuterio y desacoplamiento homonuclear, así como por el

registro de espectros de correlación homonuclear H-H (COSY H-H). Las constantes de acoplamiento (J) se dan en Hz y se han leído directamente sobre el espectro o en los listados del ordenador. La asignación de las señales en el caso de los espectros de  $^{13}\text{C}$ -RMN se facilitó mediante el empleo de la técnica DEPT o mediante el registro de espectros de correlación heteronuclear C-H (COSY C-H).

Los experimentos NOE realizados se han llevado a cabo, generalmente, con los siguientes parámetros:

SI: 16	D1: 1	DS: 2
NS: 4	NE: 100-400	DP: 40L

#### 5.1.5. Espectros de masas

Los espectros obtenidos mediante ionización química (CI) o por impacto electrónico (EI) se registraron en espectrómetro de masas KRATOS, modelo MS-80-RFA. Las muestras se introdujeron mediante una sonda de sólidos calentada de 30 a 280°C. La temperatura de la fuente de ionización fue de 150 a 250°C según las experiencias realizadas, que fueron las siguientes:

- Ionización por impacto electrónico a 70 eV, corriente de ionización de 100  $\mu\text{A}$ , voltaje acelerador de 4 KV, resolución 1.000 (definición del 10% del valle) y velocidad de barrido de 3 s/dec.
- Ionización por impacto electrónico a 70 eV, corriente de ionización de 100  $\mu\text{A}$ , voltaje acelerador de 4 KV, resolución 10.000 (definición del 10% del valle) y velocidad de barrido de 10 s/dec.

- Ionización química a 150 eV, usando como gas reactivo isobutano a una presión de 0,8 bar, corriente de ionización de 500  $\mu\text{A}$ , voltaje acelerador de 4 KV, velocidad de barrido de 3 s/dec.
- Adquisición de metastables mediante ionización por impacto electrónico a 70 eV, corriente de ionización de 100  $\mu\text{A}$ , voltaje acelerador de 4 KV, resolución 1.500 (definición del 10% del valle) y velocidad de barrido de 10 s/dec.

Los espectros obtenidos mediante ionización por bombardeo con átomos ligeros (FAB) se registraron en espectrómetro de masas FINNIGAN modelo MAT 95.

## 5.2. SUSTANCIAS DE PARTIDA

### 5.2.1. Sustancias comerciales

Se han utilizado las siguientes sustancias comerciales:

- 2-Acetamido-2-desoxi-D-glucosa (Aldrich)
- Acido D-glutámico (Sigma)
- Acido dicloroacético (Merck)
- Acido p-toluensulfónico monohidratado (Fluka)
- Acido sulfúrico 98% (Merck)
- Acido trifluoroacético (Merck)
- Alcohol bencílico (Merck)
- Anhídrido acético (Panreac)
- Benzaldehído (Panreac)
- Clorhidrato del éster etílico de glicina (Sigma)
- Clorhidrato del éster etílico de L-alanina (Sigma)
- Cloroformiato de metilo (Merck)
- D-glutamina (Aldrich)
- Dicarbonato de di-t-butilo (Fluka)
- Diciclohexilamina (Fluka)
- N,N'-Diciclohexilcarbodiimida (Merck)
- N-Hidroxisuccinimida (Merck)
- Hidruro sódico (Merck)

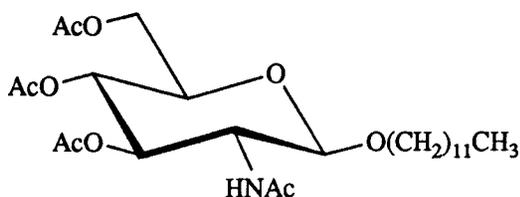
- Paladio sobre carbón al 10% (Merck)
- Resina catiónica Lewatit S100 G1 FII (Panreac)
- Trietilamina (Sigma)

### 5.2.2. Sustancias descritas en la bibliografía

- 2-Acetamido-1,5-anhidro-4,6-*O*-bencilidén-2-desoxi-D-glucitol (50)(Durette,1982).
- 3-Acetil-2-carboxi-(1-*O*-bencil-4,6-*O*-bencilidén-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (62)(Vega-Pérez, 1992).
- Bencil 2-acetamido-4,6-*O*-bencilidén-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopiranosido (52)(Gross,1967).
- Bencil 2-acetamido-4,6-*O*-bencilidén-2-desoxi- $\beta$ -D-glucopiranosido (48)(Gross,1967).
- Bencil 2-amino-4,6-*O*-bencilidén-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopiranosido (54)(Gross,1967).
- Clorhidrato del éster butílico de L-alanil-D-glutamina (XVI)(Lefrancier,1982).
- Clorhidrato del éster metílico de L-alanil-D-glutamina (XV)(Lefrancier,1982).
- Ester bencílico de N-benciloxicarbonil-D-isoglutamina (IV)(Lefrancier,1967).
- Ester bencílico de N-benciloxicarbonil-L-alanil-D-isoglutamina (VIII)(Kusumoto,1976).
- Ester butílico de N-benciloxicarbonil-L-alanil-D-glutamina (XIV)(Lefrancier,1982).
- Ester  $\gamma$ -bencílico del ácido D-glutámico (II)(Gutmann,1958).
- Ester  $\gamma$ -bencílico del ácido N-benciloxicarbonil-D-glutámico (III)(Schroder,1964).
- Ester metílico de N-benciloxicarbonil-L-alanil-D-glutamina (XIII)(Lefrancier,1982).
- N-Benciloxicarbonil-L-alanil-D-glutamina (XII)(Lefrancier,1982).
- N-benciloxicarbonil-L-alanina (VII)(Moroder, 1976).
- p-Toluensulfonato del éster bencílico de L-alanil-D-isoglutamina (IX)(Phillips,1984).
- Trifluoroacetato del éster bencílico de D-isoglutamina (V)(Lefrancier,1967).

### 5.2.3. Sustancias de partida no descritas previamente

#### 5.2.3.1. Dodecil 2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetil-2-desoxi- $\beta$ -D-glucopiranosido (43).



Pm=515

Una disolución de cloruro de 2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetil-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopiranosilo (41) (9,15 g; 25 mmol) en nitrometano seco (20 mL) se añade gota a gota sobre una disolución de alcohol dodecílico (15 mL) en benceno anhidro (20 mL) que contiene tamiz molecular de 4Å (15 g) y cianuro mercuríco (6,25 g). La mezcla se agita durante una noche a temperatura ambiente, se diluye con acetato de etilo y se filtra a través de un buchner con alumina, la cual se lava posteriormente con acetato de etilo. El filtrado (volumen final de ~200 mL) se lava con una disolución saturada de bicarbonato sódico, se seca sobre sulfato sódico anhidro, filtra y concentra a sequedad. El sólido obtenido se cristaliza de éter-hexano, rindiendo el producto del título como un sólido blanco (10 g; 78%).

P.f. °C

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> (c ; cloroformo)Análisis elemental: Calculado para C<sub>26</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>9</sub>: C, 60,56; H, 8,80; N, 2,72.

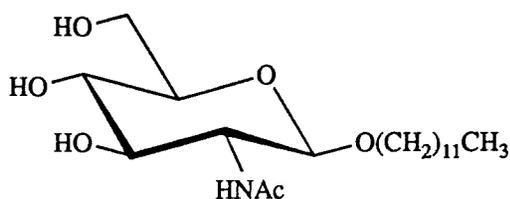
Encontrado: C, ; H, ; N, .

Espectro de IR:

Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN:

Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN:

Espectro de masas:

5.2.3.2. Dodecil 2-acetamido-2-desoxi- $\beta$ -D-glucopiranosido (46).

Pm=389

A una disolución de dodecil 2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetil-2-desoxi- $\beta$ -D-glucopiranosido (43) (7,8 g; 15,1 mmol) en metanol (200 mL) se adiciona una disolución de metóxido sódico en metanol (20 mL) (preparada a partir de 100 mg de sodio), agitándose a continuación durante 30 minutos. La disolución se neutraliza con resina ácida (Dowex 50), se filtra y concentra hasta que comienza a cristalizar. El sólido aparecido se redisuelve por calentamiento y se deja que la disolución se enfríe. El sólido cristalizado se recoge por filtración, lava con metanol frío y seca. Se obtienen 4,75 g del producto del título (81%).

P.f. 197-99°C

 $[\alpha]_D^{20}$  (c ; cloroformo)Análisis elemental: Calculado para  $C_{20}H_{39}NO_6$ : C, 61,67; H, 10,09; N, 3,60.

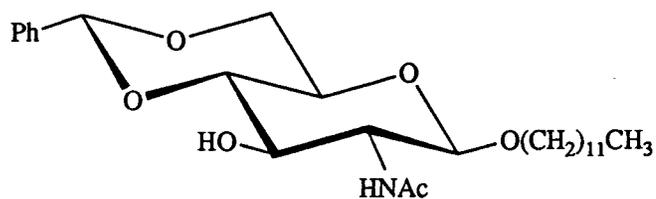
Encontrado: C, ; H, ; N, .

Espectro de IR:

Espectro de  $^1H$ -RMN:Espectro de  $^{13}C$ -RMN:

Espectro de masas:

## 5.2.3.3. Dodecil 2-acetamido-4,6-O-bencilidén-2-desoxi-β-D-glucopiranosido (49).



Pm=477

Una disolución de dodecil 2-acetamido-2-desoxi-β-D-glucopiranosido (46) (5,5 g; 14,1 mmol) y cloruro de cinc (4,5 g) en benzaldehído (80 mL) se agita a temperatura ambiente durante una noche, tras lo cual se vierte sobre una mezcla de agua-hexano 1:1 (~500 mL) y se agita durante 20 minutos. El sólido formado se filtra, lava con hexano y seca. Se cristaliza de etanol, para rendir un sólido blanco (5,6 g; 83%).

P.f. 240-242°C

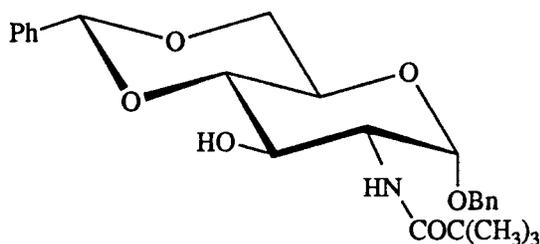
 $[\alpha]_D^{20}$  (c ; cloroformo)Análisis elemental: Calculado para  $C_{27}H_{43}NO_6$ : C, 67,89; H, 9,07; N, 2,93.

Encontrado: C, ; H, ; N, .

Espectro de IR:

Espectro de  $^1H$ -RMN:Espectro de  $^{13}C$ -RMN:

Espectro de masas:

5.2.3.4. Bencil 4,6-O-bencilidén-2-desoxi-2-pivalamido- $\alpha$ -D-glucopiranosido (55).

Pm=441

A una disolución de bencil 2-amino-4,6-*O*-bencilidén-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopiranosido<sup>(Gross, 1967)</sup> (54) (750 mg; 2,1 mmol) en piridina (15 mL) enfriada a 0°, se adiciona, gota a gota, cloruro de pivaloilo (0,3 mL; 2,4 mmol). Al cabo de dos días a temperatura ambiente se vierte sobre agua helada y el sólido formado se filtra, lava con agua y seca. El producto está cromatográficamente puro. Se cristaliza de etanol-agua, rindiendo 850 mg de un sólido blanco (91%).

P.f. 118-20°C

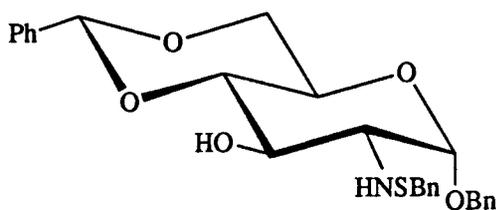
[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> (c; cloroformo)Análisis elemental: Calculado para C<sub>25</sub>H<sub>31</sub>NO<sub>6</sub>·xEtOH: C, 66,53; H, 7,59; N, 2,87.

Encontrado: C, 66,54; H, 7,35; N, 2,43.

Espectro de IR:

Espectro de <sup>1</sup>H-RMN:Espectro de <sup>13</sup>C-RMN:

Espectro de masas:

5.2.3.5. Bencil 4,6-O-bencilidén-2-bencilsulfonamido-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopiranosido (58).

Pm=511

A una disolución de bencil 2-amino-4,6-*O*-bencilidén-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopiranosido (Gross, 1967) (54) (2,5 g; 7 mmol) en piridina (30 mL) enfriada a 0°, se adiciona en pequeñas porciones, cloruro de bencilsulfonilo (1,5 g; 7,7 mmol). Después de una noche a 5° se vierte sobre agua helada y el sirupo formado se extrae con diclorometano (x3). Los extractos orgánicos reunidos se lavan con agua, ácido clorhídrico diluido y agua, secan sobre sulfato sódico, filtran y concentran a una espuma sólida (3,4 g) que se cromatografía en columna con diclorometano como eluyente. Se obtienen 2,52 g del producto del título como un sólido blanco (72%).

P.f. 131-32°C

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> (c ; cloroformo)Análisis elemental: Calculado para C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>7</sub>S: C, ; H, ; N, .

Encontrado: C, ; H, ; N, .

Espectro de IR:

Espectro de <sup>1</sup>H-RMN:Espectro de <sup>13</sup>C-RMN:

Espectro de masas:

## 5.3. FORMACION DEL ANILLO DE OXAZOLIDINA

### 5.3.1. Procedimiento general

#### 5.3.1.1. METODO A

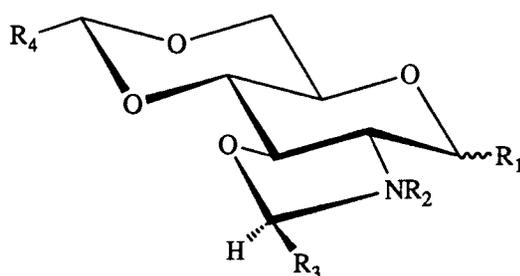
A una disolución del correspondiente producto de partida (5 mmol) en dioxano seco (200 mL) se le adiciona hidruro sódico (50 mmol) y la suspensión resultante se agita durante 15 minutos. Se adiciona gota a gota desde un embudo de adición una disolución de ácido dicloroacético (25 mmol) en dioxano seco (15 mL) y se agita a 85°C hasta que la c.c.f. (cloroformo-metanol 20:1) indica el final de la reacción (1-4 horas). Después de enfriar en baño de hielo, se destruye el exceso de hidruro por adición gota a gota de agua, tras lo cual se lleva el pH a ~8 por adición de ácido clorhídrico 1N. La mezcla se evapora a un tercio de su volumen, se diluye con agua (~100 mL) y se extrae con n-hexano (x3). La capa acuosa se acidula a pH 3 con HCl 1N, precipitando un sólido que se filtra, lava abundantemente con agua y seca. Alternativamente, si no se produce tal precipitación, la capa acuosa se extrae con diclorometano (x3) y los extractos orgánicos se lavan con agua (x2), secan sobre sulfato sódico, filtran y evaporan. El ácido así obtenido se disuelve en metanol (~100 mL) y se trata con una disolución etérea recién preparada de diazometano (50 mmol). Después de 30 minutos, la solución se concentra a sequedad y el residuo se cromatografía en columna.

### 5.3.1.2. METODO B

A una disolución del correspondiente producto de partida (5 mmol) en dibromometano (70 mL) se le adiciona una solución acuosa al 50% de hidróxido sódico y 0,5 g de bromuro de tetrabutilamonio. La mezcla se agita fuertemente a reflujo hasta que se agota el producto de partida (c.c.f.), tras lo que se decanta la fase orgánica, y la fase acuosa se extrae con cloroformo (x3). Los extractos orgánicos reunidos se lavan con agua hasta neutralidad, secan sobre sulfato sódico, filtran y evaporan. El producto buscado se purifica por cristalización o por cromatografía en columna.

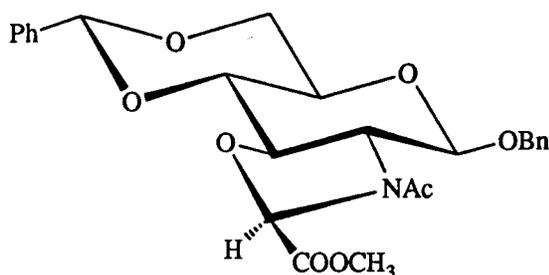
### 5.3.2. Nuevas sustancias

Las siguientes sustancias han sido obtenidas por este procedimiento general:



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
68	βOBn	COCH <sub>3</sub>	COOCH <sub>3</sub>	Ph
69	βO(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> CH <sub>3</sub>	COCH <sub>3</sub>	COOCH <sub>3</sub>	Ph
70	H	COCH <sub>3</sub>	COOCH <sub>3</sub>	Ph
72	αOBn	COCH <sub>3</sub>	COOCH <sub>3</sub>	p-MeOPh
30	αOBn	COC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	COOCH <sub>3</sub>	Ph
31	αOBn	COOC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	COOCH <sub>3</sub>	Ph
32	αOBn	COPh	COOCH <sub>3</sub>	Ph
33	αOBn	SO <sub>2</sub> Bn	COOCH <sub>3</sub>	Ph
73	αOBn	COCH <sub>3</sub>	H	Ph
74	αOBn	COCH <sub>3</sub>	H	p-MeOPh
75	αOBn	COC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	H	Ph
76	αOBn	COPh	H	Ph

5.3.2.1. 3-Acetil-2-metoxicarbonil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi-β-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (68).



Pm=469

Esta sustancia ha sido obtenida a partir de bencil 2-acetamido-4,6-*O*-bencilidén-2-desoxi-β-D-glucopiranosido (48)(Gross, 1967) mediante el método A. Se ha purificado por cromatografía en columna usando cloroformo-hexano 3:1 como eluyente. Rendimiento: 89%.

P.f. 169-70°C

$[\alpha]_D -29^\circ$  (c 1,8; cloroformo)

Análisis elemental:    Calculado para  $C_{25}H_{27}NO_8$ :    C, 63,96; H, 5,80; N, 2,98.

                          Encontrado:                                C, 63,85; H, 5,54; N, 2,89.

Espectro de  $^1H$ -RMN:    *Tabla XII, Figuras 12A y 13A*

Espectro de  $^{13}C$ -RMN:   *Tabla XVIII, Figura 31A*

Espectros de masas:    (CI): *Tabla XLVII, Figura 110A*

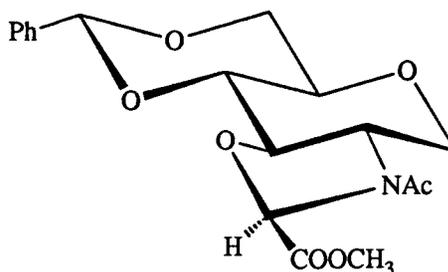
                              (EI-HR): *Tabla XLVIII*

                              (EI): *Tabla IL, Figura 126A*

Espectro de IR:           *Tabla LXIV, Figura 180A*



5.3.2.3. 3-Acetil-2-metoxycarbonil-(4,6-O-bencilidén-1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (70).



Pm=363

Esta sustancia ha sido obtenida a partir de 2-acetamido-1,5-anhidro-4,6-O-bencilidén-2-desoxi-D-glucitol (50)(Durette, 1982) mediante el método A. Se ha purificado por cromatografía en columna usando cloroformo y mezcla cloroformo-metanol 50:1 como eluyentes. Rendimiento: 86%.

P.f. 155-56°C

$[\alpha]_D +11^\circ$  (c 1,2; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{18}H_{21}NO_7$ : C, 59,49; H, 5,82; N, 3,85.

Encontrado: C, 59,11; H, 5,93; N, 3,61.

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla XIV, Figuras 15A-17A*

Espectro de  $^{13}C$ -RMN: *Tabla XVIII, Figura 33A*

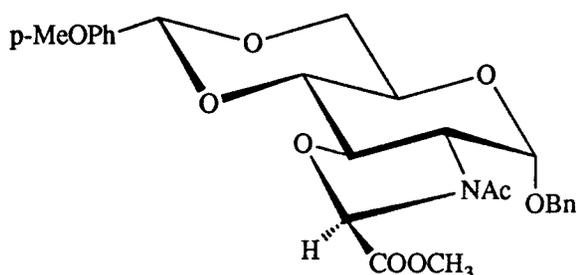
Espectros de masas: (CI): *Tabla XLVII, Figura 112A*

(EI-HR): *Tabla XLVIII*

(EI): *Tabla II, Figura 128A*

Espectro de IR: *Tabla LXIV, Figura 182A*

5.3.2.4. 3-Acetil-2-metoxicarbonil-(1-O-bencil-4,6-O-p-metoxi-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (72).



Pm=499

Esta sustancia ha sido obtenida a partir de bencil 2-acetamido-4,6-O-p-metoxi-bencilidén-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopiranosido (53) mediante el método A. Se ha purificado por cromatografía en columna usando una mezcla de cloroformo-acetona-hexano 3:2:7 como eluyente. Rendimiento: 69%.

P.f. 189-90°C

$[\alpha]_D^{25}$  (c ; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{26}H_{29}NO_9$ : C, 62,52; H, 5,85; N, 2,80.

Encontrado: C, 62,38; H, 5,58; N, 2,65.

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla XV, Figura 18A*

Espectro de  $^{13}C$ -RMN: *Tabla XVIII, Figura 34A*

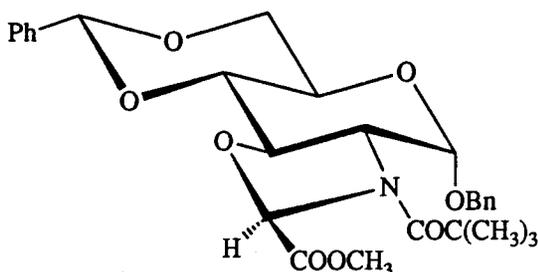
Espectros de masas: (CI): *Tabla XLVII, Figura 113A*

(EI-HR): *Tabla XLVIII*

(EI): *Tabla IL, Figura 129A*

Espectro de IR: *Tabla LXIV, Figura 183A*

5.3.2.5. 2-Metoxicarbonil-3-pivaloil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (30).



Pm=511

Esta sustancia ha sido obtenida a partir de bencil 4,6-*O*-bencilidén-2-desoxi-2-pivalamido- $\alpha$ -D-glucopiránósido (55) mediante el método A. Se ha purificado por cromatografía en columna usando eter-hexano 1:1 como eluyente. Rendimiento: 62%.

P.f. 101-02°C

$[\alpha]_D +117^{\circ}$  (c 1,1; cloroformo)

Análisis elemental:    Calculado para  $C_{28}H_{33}NO_8$ :    C, 65,74; H, 6,50; N, 2,73.

                          Encontrado:                                C, 65,20; H, 6,69; N, 2,89.

Espectro de  $^1H$ -RMN:    *Tabla XV, Figura 20A*

Espectro de  $^{13}C$ -RMN: *Tabla XVIII, Figura 35A*

Espectros de masas:    *(CI): Tabla XLVII, Figura 114A*

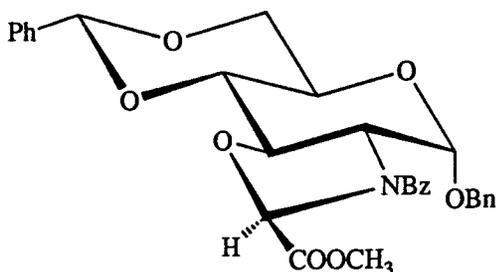
*(EI-HR): Tabla XLVIII*

*(EI): Tabla IL, Figura 130A*

Espectro de IR:         *Tabla LXIV, Figura 184A*



5.3.2.7. 3-Benzoil-2-metoxicarbonil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (32).



Pm=531

Esta sustancia ha sido obtenida a partir de bencil 4,6-*O*-bencilidén-2-benzamido-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopiranosido (57) mediante el método A. Se ha purificado por cromatografía en columna usando diclorometano como eluyente. Rendimiento: 89%.

P.f. 142-43°C

$[\alpha]_D +128^\circ$  (c 1,4; cloroformo)

Análisis elemental:    Calculado para  $C_{30}H_{29}NO_8$ :    C, 67,79; H, 5,50; N, 2,63.

                          Encontrado:                                C, 67,21; H, 5,57; N, 2,64.

Espectro de  $^1H$ -RMN:    *Tabla XVI, Figuras 21A-23A*

Espectro de  $^{13}C$ -RMN: *Tabla XVIII, Figura 37A*

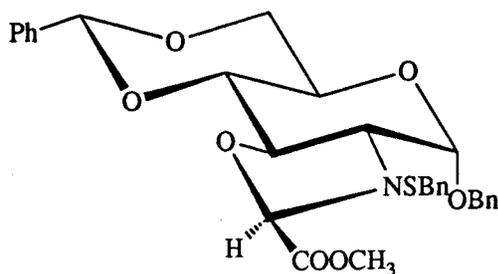
Espectros de masas:    (CI): *Tabla XLVII, Figura 116A*

                              (EI-HR): *Tabla XLVIII*

                              (EI): *Tabla IL, Figura 132A*

Espectro de IR:            *Tabla LXIV, Figura 186A*

5.3.2.8. 3-Bencilsulfonil-2-metoxicarbonil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (33).



SBn =  $\text{SO}_2\text{CH}_2\text{Ph}$

Pm=581

Esta sustancia ha sido obtenida a partir de bencil 2-bencilsulfonamido-4,6-O-bencilidén-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopiránósido (58) mediante el método A. Se ha purificado por cromatografía en columna usando diclorometano como eluyente. Rendimiento: 58%.

P.f. 160-62°C

$[\alpha]_D^{20}$  (c; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $\text{C}_{30}\text{H}_{31}\text{NO}_9\text{S}$ : C, 61,96; H, 5,37; N, 2,41.

Encontrado: C, 61,82; H, 5,31; N, 2,20.

Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN: *Tabla XVII, Figura 24A*

Espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN: *Tabla XVIII, Figura 38A*

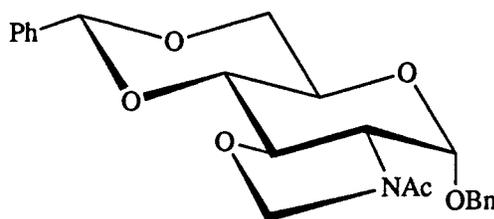
Espectros de masas: (CI): *Tabla XLVII, Figura 117A*

(EI-HR): *Tabla XLVIII*

(EI): *Tabla IL, Figura 133A*

Espectro de IR: *Tabla LXIV, Figura 187A*

5.3.2.9. 3-Acetil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (73).



Pm=411

Esta sustancia ha sido obtenida a partir de bencil 2-acetamido-4,6-*O*-bencilidén-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopiranosido (52) mediante el método B. Se ha purificado por cromatografía en columna usando diclorometano como eluyente o bien por cristalización de etanol 96%. Rendimiento: 89%.

P.f. 169-70°C

$[\alpha]_D^{20}$  (c ; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{23}H_{25}NO_6$ : C, 67,14; H, 6,12; N, 3,40.

Encontrado: C, 66,99; H, 6,41; N, 3,27.

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla VII, Figura 1A*

Espectro de  $^{13}C$ -RMN: *Tabla IX, Figura 8A*

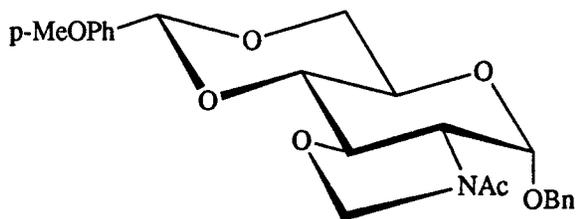
Espectros de masas: (CI): *Tabla XLVII, Figura 122A*

(EI-HR): *Tabla XLVIII*

(EI): *Tabla IL, Figura 138A*

Espectro de IR: *Tabla LXII, Figura 176A*

5.3.2.10. 3-Acetil-(1-O-bencil-4,6-O-p-metoxibencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (74).



Pm=441

Esta sustancia ha sido obtenida a partir de bencil 2-acetamido-4,6-O-p-metoxibencilidén-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopiranosido (53) mediante el método B. Se ha purificado por cromatografía en columna usando diclorometano como eluyente. Rendimiento: 84%.

P.f. °C

$[\alpha]_D^{25}$  (c ; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{24}H_{27}NO_7$ : C, 65,29; H, 6,16; N, 3,17.

Encontrado: C, 65,64; H, 5,96; N, 3,06.

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla VII, Figura 2A*

Espectro de  $^{13}C$ -RMN: *Tabla IX, Figura 9A*

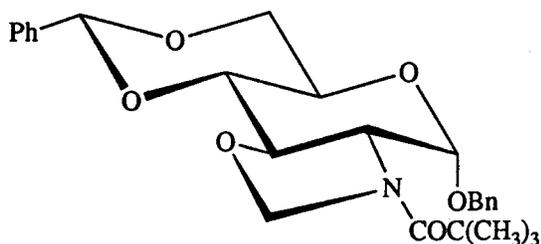
Espectros de masas: (CI): *Tabla XLVII, Figura 123A*

(EI-HR): *Tabla XLVIII*

(EI): *Tabla IL, Figura 139A*

Espectro de IR: *Tabla LXII, Figura 177A*

5.3.2.11. 3-Pivaloil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (75).



Pm=453

Esta sustancia ha sido obtenida a partir de bencil 4,6-*O*-bencilidén-2-desoxi-2-pivalamido- $\alpha$ -D-glucopiranosido (55) mediante el método B. Se ha purificado por cromatografía en columna usando una mezcla de éter-hexano 1:2 como eluyente. Rendimiento: 76%.

P.f. °C

$[\alpha]_D^{25}$  (c ; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{26}H_{31}NO_6$ : C, 68,86; H, 6,89; N, 3,09.

Encontrado: C, 68,52; H, 7,12; N, 3,24.

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla VII, Figura 3A*

Espectro de  $^{13}C$ -RMN: *Tabla IX, Figura 10A*

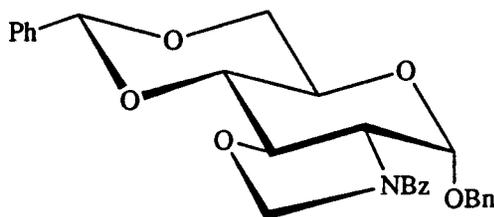
Espectros de masas: (CI): *Tabla XLVII, Figura 124A*

(EI-HR): *Tabla XLVIII*

(EI): *Tabla IL, Figura 140A*

Espectro de IR: *Tabla LXII, Figura 178A*

5.3.2.12. 3-Benzoil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (76).



Pm=473

Esta sustancia ha sido obtenida a partir de bencil 4,6-*O*-bencilidén-2-benzamido-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopiránósido (57) mediante el método B. Se ha purificado por cromatografía en columna usando diclorometano como eluyente. Rendimiento: 81%.

P.f. °C

$[\alpha]_D^{20}$  (c ; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{28}H_{27}NO_6$ : C, 71,02; H, 5,75; N, 2,96.

Encontrado: C, ; H, ; N, .

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tablas VII y VIII, Figuras 4A-6A*

Espectro de  $^{13}C$ -RMN: *Tabla IX, Figura 11A*

Espectros de masas: *(CI): Tabla XLVII, Figura 125A*

*(EI-HR): Tabla XLVIII*

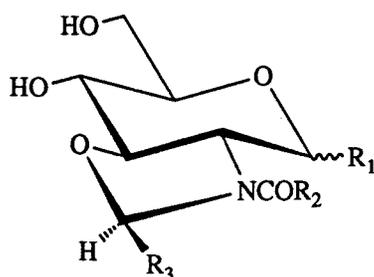
*(EI): Tabla IL, Figura 141A*

Espectro de IR: *Tabla LXII, Figura 179A*

## 5.4. REACTIVIDAD DE OXAZOLIDINAS CONDENSADAS CON EL AMINO AZUCAR

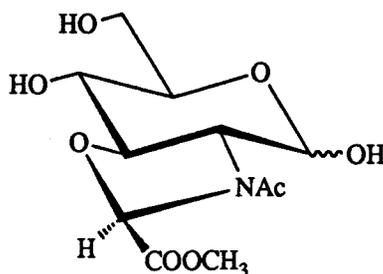
### 5.4.1. Hidrogenolisis

En este apartado se detalla la síntesis de las siguientes sustancias:



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
77	OH	CH <sub>3</sub>	COOCH <sub>3</sub>
78	H	CH <sub>3</sub>	COOCH <sub>3</sub>
79	αOBn	Ph	COOCH <sub>3</sub>
80	αOBn	CH <sub>3</sub>	H

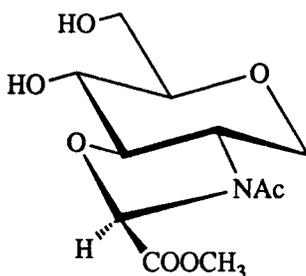
## 5.4.1.1. 2-Acetil-3-metoxicarbonil-(2,3-didesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (77).



Pm=291

Una disolución de 2-acetil-3-metoxicarbonil-(1-*O*-bencil-4,6-*O*-bencilidén-2,3-didesoxi-β-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (68) (500 mg; 1,07 mmol) en dioxano-metanol 2:1 (50 mL) se hidrogena en presencia de C/Pd a 40 p.s.i. durante 40 horas, tras lo que se filtra el catalizador por celita y lava bien con metanol. La solución obtenida se concentra a sequedad, obteniéndose un sólido blanco que se purifica por cromatografía en columna usando una mezcla de diclorometano-metanol 10:1 como eluyente. El producto del título, obtenido como sirupo (300 mg; 96%), es idéntico al obtenido a partir del α-anómero (Vega, 1992).

## 5.4.1.2. 2-Acetil-3-metoxicarbonil-(1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (78).



Pm=275

Una disolución de 2-acetil-3-metoxicarbonil-(4,6-*O*-bencilidén-1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (70) (225 mg; 0,62 mmol) en dioxano-metanol 1:2 (35 mL) se hidrogena en presencia de C/Pd a 40 p.s.i. durante una noche, tras lo que se filtra el catalizador por celita y lava bien con metanol. La solución obtenida se concentra a sequedad, obteniéndose un sólido blanco que se purifica por cromatografía en columna usando una mezcla de diclorometano-metanol 10:1 como eluyente. El compuesto del título se obtiene como un sirupo (164 mg; 96%).

$[\alpha]_D^{25}$  (c ; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{11}H_{17}NO_7$ : C, 48,00; H, 6,23; N, 5,09.

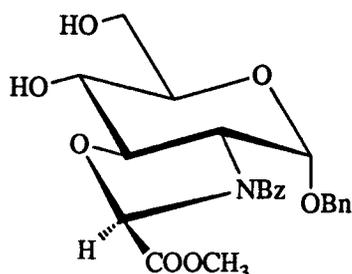
Encontrado: C, ; H, ; N, .

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla XXVII, Figuras 51A y 52A*

Espectro de  $^{13}C$ -RMN: *Tabla XXVIII, Figura 59A*

Espectro de IR: *Tabla LXVIII, Figura 192A*

5.4.1.3. 2-Benzoil-3-metoxicarbonil-(1-O-bencil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (79).



Pm=443

Una disolución de 3-benzoil-2-metoxicarbonil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (32) (2 g; 3,76 mmol) en dioxano-metanol 1:1 (100 mL) se hidrogena en presencia de C/Pd a 40 p.s.i. durante dos días, tras lo que se filtra el catalizador por celita y lava bien con metanol. La solución obtenida se concentra a sequedad, obteniéndose un sólido blanco. Por cristalización de metanol-agua se obtiene el producto buscado (1,3 g; 78%).

P.f. 163-64°C

$[\alpha]_D^{20}$  (c ; cloroformo)

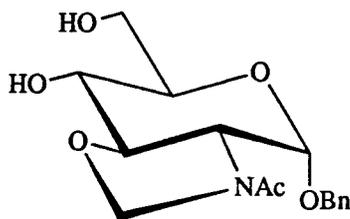
Análisis elemental: Calculado para  $C_{23}H_{25}NO_8 \cdot xH_2O$ : C, 59,87; H, 5,86; N, 3,04.

Encontrado: C, 59,59; H, 5,98; N, 3,25.

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla XXVII, Figuras 53A-55A*

Espectro de  $^{13}C$ -RMN: *Tabla XXVIII, Figura 60A*

Espectro de IR: *Tabla LXVIII, Figura 193A*

5.4.1.4. 2-Acetil-(1-O-bencil-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (80).

Pm=323

Una disolución de 2-acetil-(1-*O*-bencil-4,6-*O*-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (73) (250 mg; 0,6 mmol) en dioxano-metanol 1:2 (60 mL) se hidrogena en presencia de C/Pd a 40 p.s.i. durante una noche, tras lo que se filtra el catalizador por celita y lava bien con metanol. La solución obtenida se concentra a sequedad, obteniéndose un sólido blanco que se purifica por cromatografía en columna usando una mezcla de diclorometano-metanol 10:1 como eluyente. El compuesto del título se obtiene como un sólido blanco (160 mg; 82%).

P.f. 157-58°C

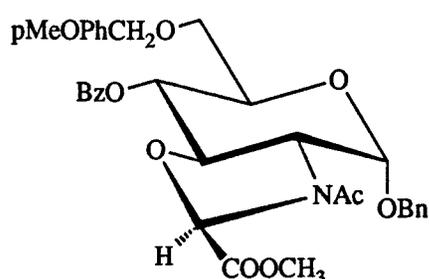
[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> (c ; cloroformo)Análisis elemental: Calculado para C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>6</sub>: C, 59,43; H, 6,55; N, 4,33.

Encontrado: C, 59,85; H, 6,27; N, 3,98.

Espectro de <sup>1</sup>H-RMN: *Tabla XXVII, Figura 56A*Espectro de <sup>13</sup>C-RMN: *Tabla XXVIII, Figura 61A*Espectro de IR: *Tabla LXVIII, Figura 194A*

## 5.4.2. Apertura reductiva del grupo *p*-metoxibencilideno

### 5.4.2.1. 3-Acetil-2-metoxicarbonil-(1-*O*-bencil-4-*O*-benzoil-2,3-didesoxi-6-*O*-*p*-metoxibencil- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-*d*]-oxazolidina (82).



Pm=605

A una disolución de 3-acetil-2-metoxicarbonil-(1-*O*-bencil-2,3-didesoxi-4,6-*O*-*p*-metoxibencilidén- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-*d*]-oxazolidina (40) (1 g; 2 mmol) en tetrahidrofurano seco (80 mL) se adiciona tamiz molecular de 3Å y cianborohidruro sódico (376 mg; 6 mmol) y la mezcla se agita a temperatura ambiente. Se adiciona una disolución de cloruro de hidrógeno en éter en pequeñas porciones hasta alcanzar un pH ~4 y se deja agitando a temperatura ambiente durante una noche. A la mañana siguiente, la mezcla de reacción se vierte sobre agua helada y se añade diclorometano. La capa orgánica se lava con agua, solución al 5% de bicarbonato sódico y agua, se seca sobre sulfato sódico anhidro, filtra y evapora, obteniéndose un sólido blanquecino (930 mg). Este sólido crudo de reacción se benzoila en piridina (15 mL) y cloruro de benzoilo (1 mL) durante una noche. La piridina se evapora y al residuo amarillento se le adiciona agua y diclorometano. La capa orgánica se decanta y lava con ácido clorhídrico diluido, solución al 5% de bicarbonato sódico y agua, se seca sobre sulfato sódico anhidro, filtra y evapora para rendir un sirupo amarillento que se cromatografía en columna usando

como eluyente una mezcla de diclorometano-acetona-hexano 3:1:3. Se recogen 508 mg de un sirupo incoloro (42%).

$[\alpha]_D^{20}$  (c ; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{33}H_{35}NO_{10}$ : C, 65,44; H, 5,82; N, 2,31.

Encontrado: C, 65,18; H, 5,92; N, 2,09.

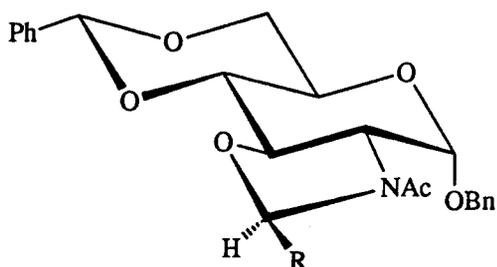
Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla XXVII, Figuras 57A y 58A*

Espectro de  $^{13}C$ -RMN: *Tabla XXVIII, Figura 62A*

Espectro de IR: *Tabla LXVIII, Figura 195A*

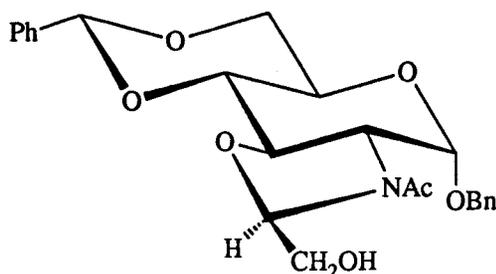
### 5.4.3. Reducción del grupo en posición 2 del anillo de oxazolidina

En este apartado se detalla la síntesis de las siguientes sustancias:



Sustancia	R
83	CH <sub>2</sub> OH
85	CH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>
85	CH <sub>2</sub> I
34	CH <sub>3</sub>

5.4.3.1. 3-Acetil-2-hidroximetil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-  
[2,3-d]-oxazolidina (83).



Pm=441

A una disolución de 3-acetil-2-carboxi-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (Vega,1992) (62) (3,6 g; 7,9 mmol) en tetrahidrofurano seco (125 mL) se adicionan N-hidroxisuccinimida (1,06 g; 9,2 mmol) y N,N'-diciclohexilcarbodiimida (1,9 g; 9,2 mmol), agitándose vigorosamente a temperatura ambiente. Al cabo de una hora se adiciona borohidruro sódico (3 g; 79 mmol) y la mezcla se deja agitando durante una noche. A la mañana siguiente la mezcla se filtra por celita y la pasta se lava bien con diclorometano destilado. Las aguas de filtrado y lavado se evaporan a un sólido (6,5 g) que se decanta entre diclorometano y agua. El agua básica separada se lava dos veces con diclorometano. Los extractos orgánicos reunidos se lavan dos veces con una disolución saturada de cloruro sódico, se secan sobre sulfato sódico anhidro y concentran para rendir un sólido blanco (3,5 g) que se cromatografía en columna con diclorometano-metanol 70:1. Se obtienen 2,3 g de un sólido blanco (67%).

P.f. 199-200°C

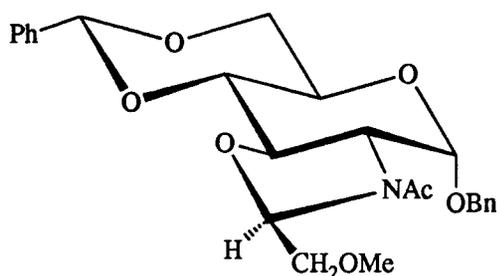
$[\alpha]_D^{20}$  (c; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{24}H_{27}NO_7$ : C, 65,29; H, 6,16; N, 3,17.

Encontrado: C, 65,10; H, 5,87; N, 3,14.

Espectro de $^1\text{H}$ -RMN:	<i>Tabla XXII, Figura 39A</i>
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN:	<i>Tabla XXIV, Figura 47A</i>
Espectros de masas:	<i>(CI): Tabla XLVII, Figura 118A</i>
	<i>(EI-HR): Tabla XLVIII</i>
	<i>(EI): Tabla IL, Figura 134A</i>
Espectro de IR:	<i>Tabla LXVI, Figura 188A</i>

5.4.3.2. 3-Acetil-2-metoximetil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-  
[2,3-d]-oxazolidina (85).



Pm=455

A una mezcla de diclorometano (20 mL) y solución acuosa de hidróxido sódico al 50% (20 mL) se adicionan, por este orden, 3-acetil-2-hidroximetil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (83) (200 mg; 0,45 mmol), sulfato de dimetilo (0,43 mL; 4,5 mmol) y bromuro de tetrabutilamonio (73 mg; 0,22 mmol). La mezcla se agita vigorosamente durante una noche a temperatura ambiente, tras lo cual se decanta la fase orgánica y la fase acuosa se extrae con cloroformo (x3). Los extractos orgánicos reunidos se lavan con agua hasta neutralidad, secan sobre sulfato sódico, filtran y evaporan para rendir un sólido que se cromatografía en columna, primero con diclorometano-hexano 1:1, diclorometano sólo y por último con diclorometano-metanol 60:1. Se recogen 185 mg de un sólido blanco (90%).

P.f. °C

$[\alpha]_D^{25}$  (c ; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{25}H_{29}NO_7$ : C, 65,92; H, 6,42; N, 3,07.

Encontrado: C, ; H, ; N, .

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla XXII, Figura 40A*

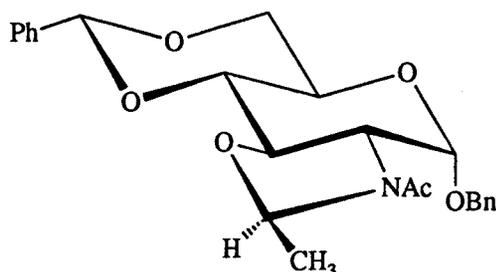
Espectro de  $^{13}C$ -RMN: *Tabla XXIV, Figura 48A*

**Espectros de masas:**      *(CI): Tabla XLVII, Figura 119A*  
                                  *(EI-HR): Tabla XLVIII*  
                                  *(EI): Tabla IL, Figura 135A*

**Espectro de IR:**         *Tabla LXVI, Figura 189A*



5.4.3.4. 3-Acetil-2-metil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (34).



Pm=425

A una disolución de 3-acetil-2-iodometil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2-desoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (86) (240 mg; 0,44 mmol) en HMPA anhidro (3 mL) bajo atmósfera de argón, se adiciona borohidruro sódico (65 mg; 1,72 mmol) y la mezcla se agita durante 30 minutos, tras lo cual se diluye con éter y lava con agua. La capa acuosa separada se lava con éter (x2) y los extractos orgánicos reunidos se lavan con agua (x3), secan sobre sulfato sódico, filtran y evaporan para rendir un sólido blanco cromatográficamente puro. Se cristaliza de éter etílico, obteniéndose agujas finas (170 mg; 92%).

P.f. 172-73°C

$[\alpha]_D^{25}$  (c ; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{24}H_{27}NO_6$ : C, 67,75; H, 6,40; N, 3,29.

Encontrado: C, 67,75; H, 6,59; N, 3,19.

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla XXII, Figura 42A*

Espectro de  $^{13}C$ -RMN: *Tabla XXIV, Figura 50A*

Espectros de masas: (CI): *Tabla XLVII, Figura 121A*

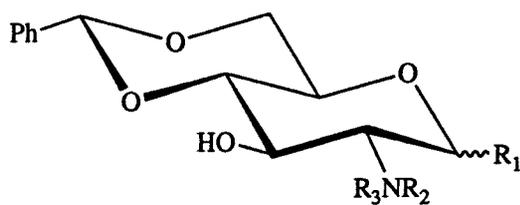
(EI-HR): *Tabla XLVIII*

(EI): *Tabla IL, Figura 137A*

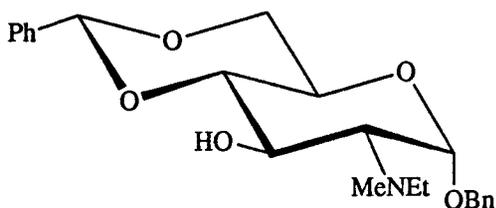
Espectro de IR: *Tabla LXVI, Figura 191A*

#### 5.4.4. Apertura del anillo de oxazolidina

En este apartado se detalla la síntesis de las siguientes sustancias:



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
35	αOBn	Et	Me
36	αOBn	H	Me
37	βOBn	Et	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
38	βOBn	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
39	αOBn	H	Pr

5.4.4.1. Bencil 4,6-O-bencilidén-2-desoxi-2-N-etil,N-metilamino- $\alpha$ -D-glucopiranosido (35).

Pm=399

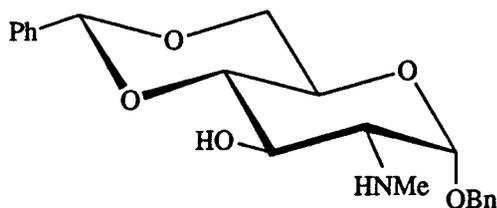
A una solución enfriada a 0°C de 3-acetil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (73) (411 mg; 1 mmol) en THF (10 mL) bajo atmósfera de argón, se adiciona una disolución 1M de hidruro de litio y aluminio en tetrahidrofurano (2 mL) y la solución se agita durante 30 minutos. Se adiciona gota a gota una solución saturada de sulfato sódico (0,6 mL) y el sólido formado se filtra a vacío y lava con THF anhidro. El disolvente se evapora a sequedad rindiendo un sólido blanco (340 mg) que se cromatografía en columna usando una mezcla de éter-hexano 2:1 como eluyente. Se obtienen 280 mg de un sólido blanco (70%).

P.f. 96-98°C

 $[\alpha]_D^{25}$  (c ; cloroformo)Análisis elemental: Calculado para  $C_{23}H_{29}NO_5$ : C, 69,15; H, 7,32; N, 3,50.

Encontrado: C, 69,34; H, 7,61; N, 3,39.

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla XXX, Figura 65A*Espectro de  $^{13}C$ -RMN: *Tabla XXXII, Figura 76A*Espectros de masas: (CI): *Tabla LIV, Figura 152A*(EI-HR): *Tabla LV*(EI): *Tabla LVI, Figura 157A*Espectro de IR: *Tabla LXX, Figura 196A*

5.4.4.2. Bencil 4,6-O-bencilidén-2-desoxi-2-N-metilamino- $\alpha$ -D-glucopiranosido (36).

Pm=371

A una solución enfriada a 0°C de 3-acetil-(1-*O*-bencil-4,6-*O*-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-*d*]-oxazolidina (73) (205 mg; 0,5 mmol) en THF (10 mL) bajo atmósfera de argón se adiciona una disolución 1M de trietilborohidruro de litio (Superhidruro®) en tetrahidrofurano (2 mL) y la solución se agita durante 30 minutos. A la disolución enfriada se adicionan con precaución 2 mL de agua y se evapora el disolvente a sequedad hasta un residuo líquido que se extrae con diclorometano (x2). Los extractos orgánicos se lavan con agua, secan sobre sulfato sódico, filtran y evaporan a un sólido blanco (200 mg) que se cromatografía en columna usando mezcla diclorometano-metanol 50:1 como eluyente. Se obtienen 170 mg de un sólido blanco (91%).

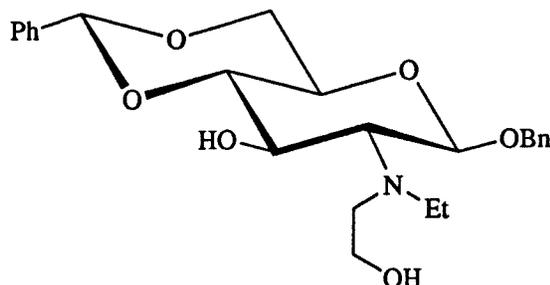
P.f. °C

 $[\alpha]_D^{25}$  (c ; cloroformo)Análisis elemental: Calculado para C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>5</sub>: C, 67,91; H, 6,78; N, 3,77.

Encontrado: C, 67,88; H, 6,51; N, 3,79.

Espectro de <sup>1</sup>H-RMN: *Tabla XXX, Figuras 63A y 64A*Espectro de <sup>13</sup>C-RMN: *Tabla XXXII, Figura 75A*Espectros de masas: (CI): *Tabla LIV, Figura 153A*(EI-HR): *Tabla LV*(EI): *Tabla LVI, Figura 158A*Espectro de IR: *Tabla LXX, Figura 197A*

5.4.4.3. Bencil 4,6-O-bencilidén-2-desoxi-2-N-etil,N-(2'-hidroxi-etil)amino-β-D-glucopiranosido (37).



Pm=429

A una disolución enfriada a 0°C de 3-acetil-2-metoxicarbonil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2-desoxi-β-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (68) (469 mg; 1 mmol) en tetrahidrofurano seco (15 mL) bajo atmósfera de argón, se adiciona una disolución 1M de hidruro de litio y aluminio en tetrahidrofurano (2 mL) y la solución se agita durante 30 minutos. Se adiciona gota a gota una solución saturada de sulfato sódico (0,6 mL) y el sólido formado se filtra a vacío y se lava con THF seco. Se evapora a sequedad el disolvente, obteniéndose una espuma (450 mg) que se cromatografía en columna usando como eluyente una mezcla de diclorometano-acetona-hexano 3:1:4. Se obtienen 230 mg de un sólido blanco (54%).

P.f. 100-101,5°C

$[\alpha]_D^{20}$  (c ; cloroformo)

Análisis elemental:	Calculado para C <sub>24</sub> H <sub>31</sub> NO <sub>6</sub> :	C, 67,11; H, 7,27; N, 3,26.
	Encontrado:	C, 66,72; H, 7,54; N, 3,41.

Espectro de <sup>1</sup>H-RMN: *Tabla XXX, Figura 69A*

Espectro de <sup>13</sup>C-RMN: *Tabla XXXII, Figura 78A*

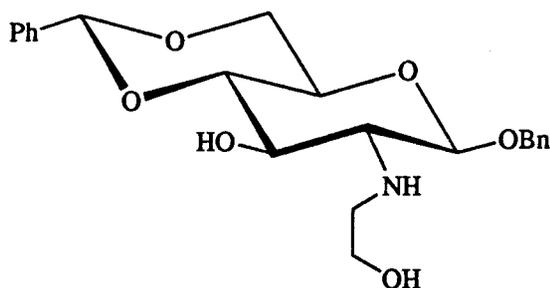
Espectros de masas: *(CI): Tabla LIV, Figura 154A*

*(EI-HR): Tabla LV*

*(EI): Tabla LVI, Figura 159A*

Espectro de IR: *Tabla LXX, Figura 198A*

## 5.4.4.4. Bencil 4,6-O-bencilidén-2-desoxi-2-N-(2'-hidroxi-etil)amino-β-D-glucopiranosido (38).



Pm=401

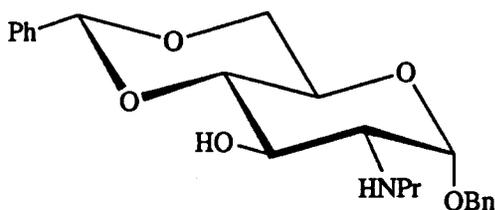
A una disolución enfriada a 0°C de 3-acetil-2-metoxycarbonil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2-desoxi-β-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (68) (400 mg; 0,85 mmol) en tetrahidrofurano seco (15 mL) bajo atmósfera de argón, se adiciona una disolución 1M de trietilborohidruro de litio (Superhidruro®) en tetrahidrofurano (4,4 mL) y la solución se agita durante 30 minutos. A la disolución enfriada se adicionan con precaución 1,2 mL de agua y, al cabo de 15 minutos, 1,5 mL de agua oxigenada al 30%. Después de una hora, se diluye con diclorometano y agua y las fases se separan. La fase acuosa se extrae con diclorometano (x3), y los extractos orgánicos reunidos se lavan con solución saturada de carbonato potásico, secan sobre carbonato potásico, filtran y concentran a un residuo (405 mg), que está compuesto por dos productos. Este residuo se cromatografía en columna usando como eluyente una mezcla de diclorometano-acetona-hexano 3:2:2, obteniéndose 65 mg del producto de mayor Rf, el cual fué identificado como bencil 2-amino-4,6-O-bencilidén-2-desoxi-β-D-glucopiranosido (87) (21%), y 164 mg del producto del título como un sólido blanco (48%).

P.f. °C

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> (c ; cloroformo)Análisis elemental: Calculado para C<sub>22</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>6</sub>: C, 65,82; H, 6,78; N, 3,49.

Encontrado: C, ; H, ; N, .

Espectro de $^1\text{H}$ -RMN:	<i>Tabla XXX, Figuras 67A y 68A</i>
Espectro de $^{13}\text{C}$ -RMN:	<i>Tabla XXXII, Figura 79A</i>
Espectros de masas:	<i>(CI): Tabla LIV, Figura 155A</i>
	<i>(EI-HR): Tabla LV</i>
	<i>(EI): Tabla LVI, Figura 160A</i>
Espectro de IR:	<i>Tabla LXX, Figura 199A</i>

5.4.4.5. Bencil 4,6-O-bencilidén-2-desoxi-2-N-propilamino- $\alpha$ -D-glucopiranosido (39).

Pm=399

A una disolución enfriada a 0°C de 3-acetil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (73) (205 mg; 0,5 mmol) en tolueno anhidro (20 mL) bajo atmósfera de argón se adiciona una disolución 2M de cloruro de etil magnesio en éter etílico (2 mL) y la disolución se agita durante una noche a temperatura ambiente. a la mañana siguiente se diluye con agua, se decanta y la fase acuosa se lava con tolueno (x2). La capa orgánica se lava con agua, seca sobre sulfato sódico, filtra y evapora a un sólido que se cromatografía en columna, usando una mezcla de diclorometano-acetona-hexano 3:1:4 como eluyente. Se recogen 164 mg (82%) de un sólido blanco.

P.f. 95-97°C

 $[\alpha]_D^{20}$  (c ; cloroformo)Análisis elemental: Calculado para  $C_{23}H_{29}NO_5$ : C, 69,15; H, 7,32; N, 3,50.

Encontrado: C, ; H, ; N, .

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla XXX, Figura 66A*Espectro de  $^{13}C$ -RMN: *Tabla XXXII, Figura 77A*Espectros de masas: (CI): *Tabla LIV, Figura 156A*(EI-HR): *Tabla LV*(EI): *Tabla LVI, Figura 161A*Espectro de IR: *Tabla LXX, Figura 200A*

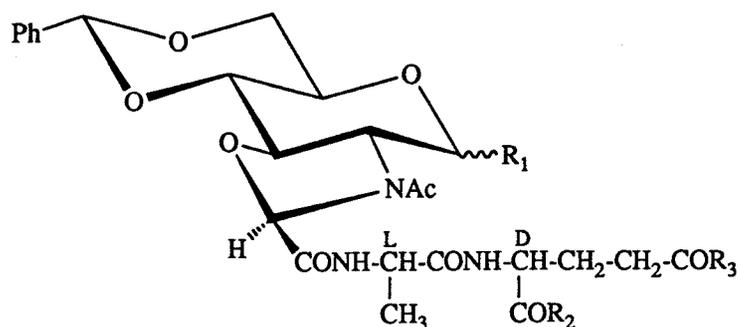
## 5.5. CONDENSACION CON EL DIPEPTIDO

### 5.5.1. Procedimiento general

A una disolución del correspondiente ácido de partida (2 mmol) en dioxano seco (50 mL) se adicionan N-hidroxisuccinimida (2,2 mmol) y N,N'-diciclohexilcarbodiimida (2,2 mmol). La mezcla se mantiene una hora en agitación, tras lo cual se filtra la diciclohexilurea formada y lava con dioxano seco (10 mL). Al combinado de filtrados se le adiciona una disolución del correspondiente dipéptido en forma de sal (2,2 mmol) en N,N-dimetilformamida (10 mL) y trietilamina (2,2 mmol). Después de una noche en agitación a temperatura ambiente se añade agua (150 mL), precipitando un sólido blanco que se filtra y lava con agua. El producto de reacción se purifica por cromatografía en columna.

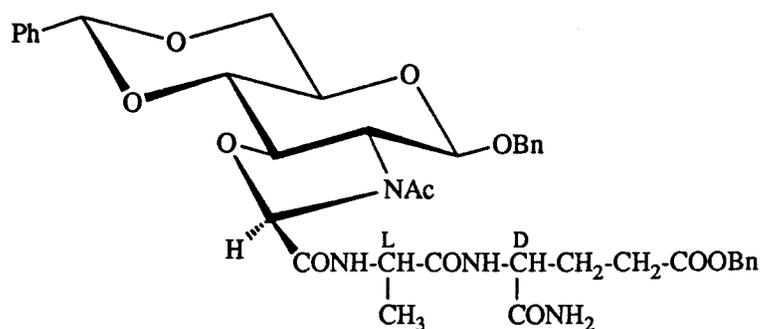
### 5.5.2. Nuevas sustancias

En este apartado se detalla la síntesis de las siguientes sustancias:



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
89	βOBn	NH <sub>2</sub>	OBn
90	βOBn	OMe	NH <sub>2</sub>
91	βOBn	OBu	NH <sub>2</sub>
92	H	NH <sub>2</sub>	OBn
93	H	OMe	NH <sub>2</sub>
94	βODodecilo	OMe	NH <sub>2</sub>

5.5.2.1. Ester bencílico de 3-acetil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi-β-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-isoglutamina (89).



Pm=744

Esta sustancia ha sido obtenida por reacción de 3-acetil-2-carboxi-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2-desoxi-β-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (59) con el p-toluensulfonato del éster bencílico de L-alanil-D-isoglutamina (IX) (Phillips, 1984), según el procedimiento descrito previamente (Apartado 5.5.1.). Se ha purificado por columna de cromatografía usando como eluyente una mezcla de diclorometano-metanol 50:1. Rendimiento: 78%.

P.f. 254-55°C

$[\alpha]_D^{20}$  (c ; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{39}H_{44}N_4O_{11}$ : C, 62,89; H, 5,95; N, 7,52.

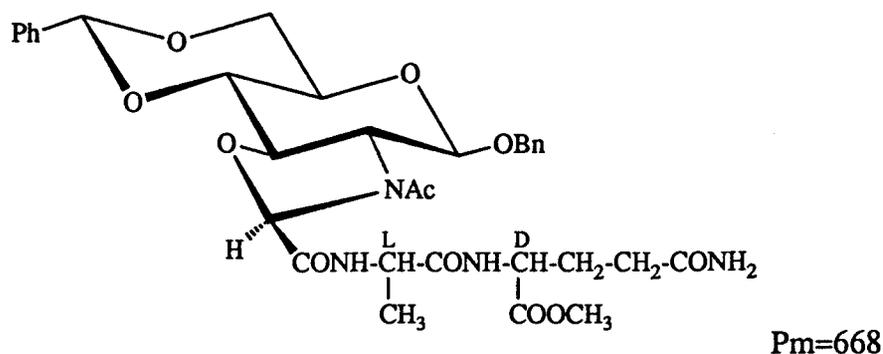
Encontrado: C, 62,19; H, 6,12; N, 6,97.

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla XXXIV, Figuras 80A-82A*

Espectro de masas: (FAB): *Tabla LIX, Figura 164A*

Espectro de IR: *Tabla LXXII, Figura 201A*

5.5.2.2. Ester metílico de 3-acetil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi-β-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (90).



Esta sustancia ha sido obtenida por reacción de 3-acetil-2-carboxi-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2-desoxi-β-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (59) con el clorhidrato del éster metílico de L-alanil-D-glutamina (XV)(Lefrancier, 1982), según el procedimiento descrito previamente (Apartado 5.5.1.). Se ha purificado por columna de cromatografía usando como eluyente una mezcla de diclorometano-metanol 40:1. Rendimiento: 63%.

P.f. 233-34,5°C

$[\alpha]_D^{20}$  (c ; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{33}H_{40}N_4O_{11}$ : C, 59,27; H, 6,03; N, 8,38.

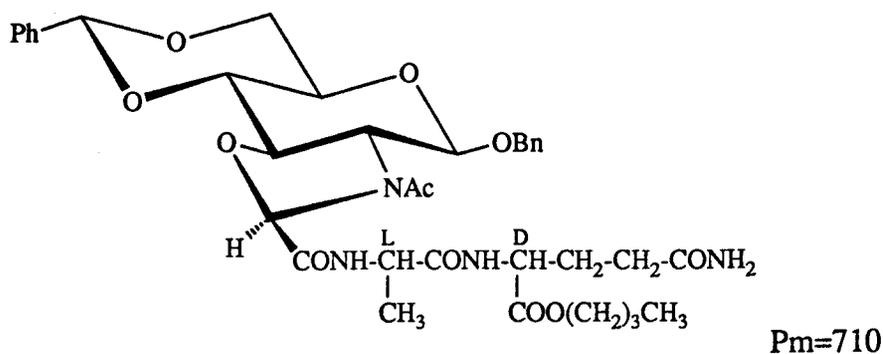
Encontrado: C, 59,78; H, 5,95; N, 7,87.

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla XXXV, Figuras 83A-85A*

Espectro de masas: (FAB): *Tabla LIX, Figura 165A*

Espectro de IR: *Tabla LXXII, Figura 202A*

5.5.2.3. Ester butílico de 3-acetil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi-β-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (91).



Esta sustancia ha sido obtenida por reacción de 3-acetil-2-carboxi-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2-desoxi-β-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (59) con el clorhidrato del éster butílico de L-alanil-D-glutamina (XVI) (Lefrancier, 1982), según el procedimiento descrito previamente (Apartado 5.5.1). Se ha purificado por columna de cromatografía usando como eluyente una mezcla de diclorometano-metanol 50:1. Rendimiento: 58%.

P.f. 210-12°C

$[\alpha]_D^{20}$  (c; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{36}H_{46}N_4O_{11}$ : C, 60,83; H, 6,52; N, 7,88.

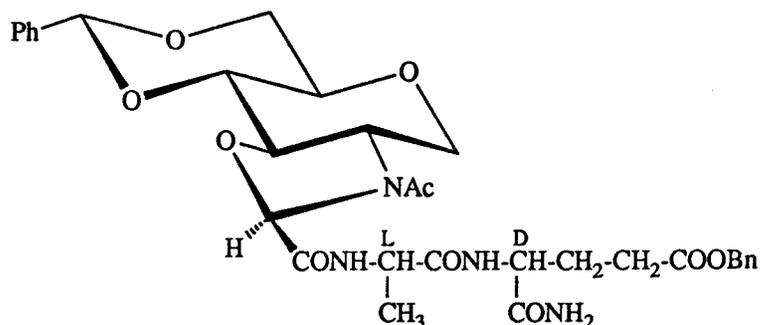
Encontrado: C, 60,24; H, 6,62; N, 7,71.

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla XXXVI, Figuras 86A-88A*

Espectro de masas: (FAB): *Tabla LIX, Figura 166A*

Espectro de IR: *Tabla LXXII, Figura 203A*

5.5.2.4. Ester bencílico de 3-acetil-(4,6-O-bencilidén-1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-isoglutamina (92).



Esta sustancia ha sido obtenida por reacción de 2-acetil-3-carboxi-(4,6-O-bencilidén-1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (61) con el p-toluensulfonato del éster bencílico de L-alanil-D-isoglutamina (IX)<sup>(Phillips, 1984)</sup>, según el procedimiento descrito previamente (Apartado 5.5.1.). Se ha purificado por columna de cromatografía usando como eluyente una mezcla de diclorometano-metanol.40:1. Rendimiento: 81%.

P.f. 238,5-40°C (d)

$[\alpha]_D^{20}$  (c ; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{32}H_{38}N_4O_{10}$ : C, 60,18; H, 6,00; N, 8,77.

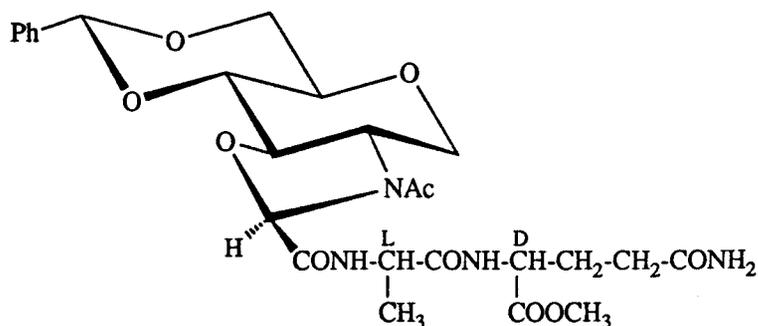
Encontrado: C, 59,69; H, 5,89; N, 8,54.

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla XXXVII, Figuras 89A-91A*

Espectro de masas: (FAB): *Tabla LIX, Figura 167A*

Espectro de IR: *Tabla LXXII, Figura 204A*

5.5.2.5. Ester metílico de 3-acetil-(4,6-O-bencilidén-1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (93).



Pm=562

Esta sustancia ha sido obtenida por reacción de 2-acetil-3-carboxi-(4,6-O-bencilidén-1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (61) con el clorhidrato del éster metílico de L-alanil-D-glutamina (XV) (Lefrancier, 1982), según el procedimiento descrito previamente (Apartado 5.5.1). Se ha purificado por columna de cromatografía usando como eluyente una mezcla de diclorometano-metanol.30:1 Rendimiento: 73%.

P.f. 282-83°C (d)

$[\alpha]_D^{20}$  (c; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{26}H_{34}N_4O_{10}$ : C, 55,51; H, 6,09; N, 9,96.

Encontrado: C, 55,68; H, 5,81; N, 9,58.

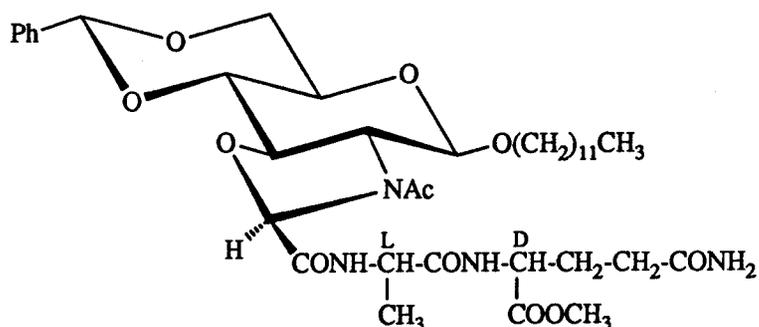
Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla XXXVIII, Figuras 92A y 93A*

Espectro de masas: (FAB): *Tabla LIX, Figura 168A*

(FAB-HR): *Tabla LX*

Espectro de IR: *Tabla LXXII, Figura 205A*

5.5.2.6. Ester metílico de 3-acetil-(4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi-1-O-dodecil-β-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (94).



Esta sustancia ha sido obtenida por reacción de 3-acetil-2-carboxi-(4,6-O-bencilidén-2-desoxi-1-O-dodecil-β-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (60) con el clorhidrato del éster metílico de L-alanil-D-glutamina (XV) (Lefrancier, 1982), según el procedimiento descrito previamente (Apartado 5.5.1.). Se ha purificado por columna de cromatografía usando como eluyente una mezcla de diclorometano-metanol. Rendimiento: 72%.

P.f. °C

$[\alpha]_D^{25}$  (c ; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{38}H_{58}N_4O_{11}$ : C, 61,11; H, 7,83; N, 7,50.

Encontrado: C, 61,14; H, 7,54; N, 7,51.

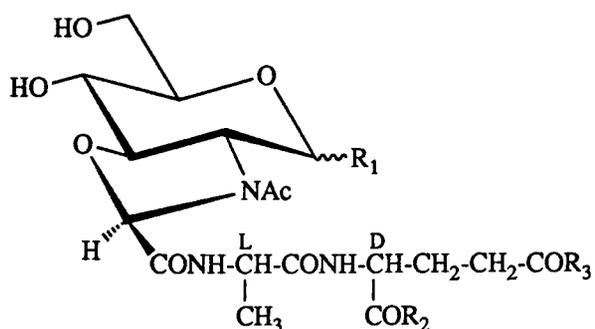
Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla XXXIX, Figuras 94A y 95A*

Espectro de masas: (FAB): *Tabla LIX, Figura 169A*

Espectro de IR: *Tabla LXXII, Figura 206A*

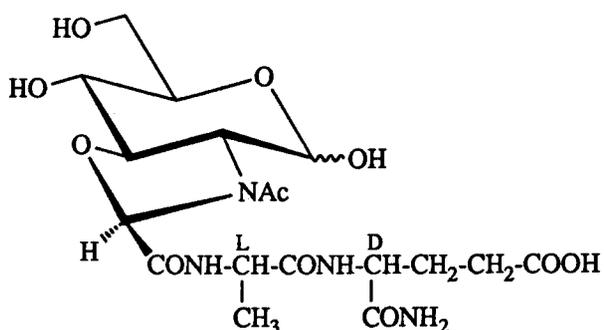
## 5.6. ANALOGOS RIGIDOS DEL MURAMILDIPEPTIDO (MDP), MURAMETIDE Y MURABUTIDE

En este apartado se detalla la síntesis de las siguientes sustancias:



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
24	OH	NH <sub>2</sub>	OH
95	H	NH <sub>2</sub>	OBn
25	H	NH <sub>2</sub>	OH
26	OH	OMe	NH <sub>2</sub>
27	OH	OBu	NH <sub>2</sub>
28	H	OMe	NH <sub>2</sub>
29	βODodecilo	OMe	NH <sub>2</sub>

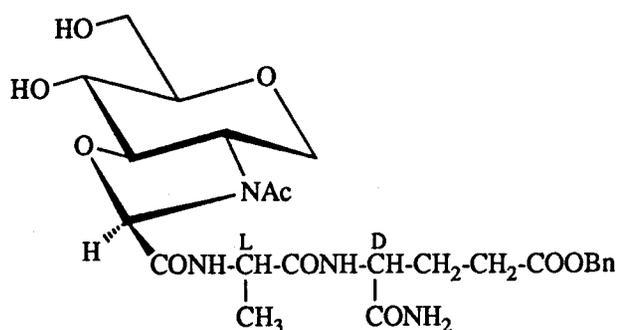
5.6.1. 3-Acetil-(2,3-didesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-isoglutamina (24).



Pm=476

Una disolución del éster bencílico de 3-acetil-(1-*O*-bencil-4,6-*O*-bencilidén-2,3-didesoxi-β-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-isoglutamina (89) (200 mg; 0,27 mmol) en dioxano-metanol 1:1 (200 mL) se hidrogena en presencia de C/Pd a 40 p.s.i. durante 24 horas, tras lo que se filtra el catalizador por celita y lava bien con metanol y agua. La solución se concentra a sequedad y el residuo se cromatografía en columna usando una mezcla de diclorometano-metanol 1:1 como eluyente. El producto del título, obtenido como sirupo (104 mg; 81%), es idéntico al obtenido a partir del α-anómero (Ruiz, 1990).

5.6.2. Ester bencílico de 3-acetil-(1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-isoglutamina (95).



Pm=550

A una disolución del éster bencílico de 3-acetil-(4,6-O-bencilidén-1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-isoglutamina (92) (500 mg; 0,8 mmol) en acetona (150 mL) se adiciona ácido clorhídrico al 8% (2 mL) y la mezcla se refluxe suavemente durante 30 minutos, tras lo que se enfría, neutraliza con carbonato básico de plomo (III), filtra y concentra a sequedad. El residuo se cristaliza de metanol-éter, rindiendo 335 mg del producto del título como un sólido blanco (76 %).

P.f. 256-58°C

$[\alpha]_D^{20}$  (c; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{25}H_{34}N_4O_{10}$ : C, 54,54; H, 6,22; N, 10,18.

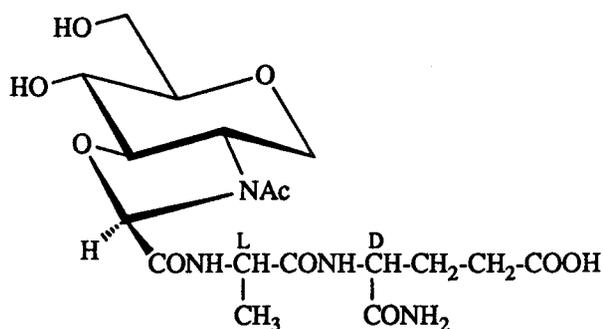
Encontrado: C, 54,75; H, 6,11; N, 10,19.

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla XLI, Figuras 100A-102A*

Espectro de masas: (FAB): *Tabla LIX, Figura 170A*  
(FAB-HR): *Tabla LX*

Espectro de IR: *Tabla LXXII, Figura 207A*

5.6.3. 3-Acetil-(1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-isoglutamina (25).



Pm=460

Una disolución del éster bencílico de 3-acetil-(4,6-O-bencilidén-1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-isoglutamina (92) (150 mg; 0,23 mmol) en dioxano-metanol 1:2 (40 mL) se hidrogena en presencia de C/Pd a 40 p.s.i. durante una noche, tras lo cual se filtra el catalizador por celita, lava bien con metanol y la solución obtenida se concentra a sequedad para rendir un sólido blanco (95 mg; 88%).

P.f. 186-89°C

$[\alpha]_D^{25}$  (c ; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{18}H_{28}N_4O_{10}$ : C, 46,95; H, 6,13; N, 12,17.

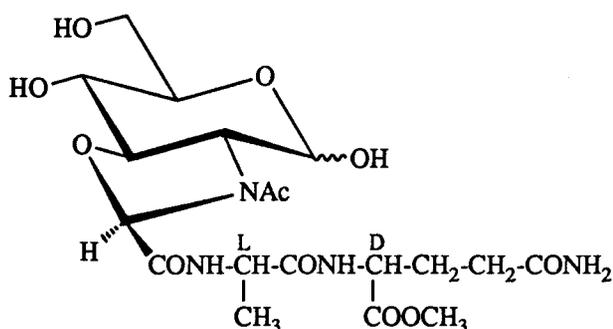
Encontrado: C, 46,46; H, 6,47; N, 11,98.

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla XLII, Figuras 103A y 104A*

Espectro de masas: (FAB): *Tabla LIX, Figura 171A*

Espectro de IR: *Tabla LXXII, Figura 208A*

5.6.4. Ester metílico de 3-acetil-(2,3-didesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (26).



Pm=490

Una disolución del éster metílico de 3-acetil-(1-*O*-bencil-4,6-*O*-bencilidén-2,3-didesoxi- $\beta$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (90) (890 mg; 1,3 mmol) en dioxano-metanol 1:1 (250 mL) se hidrogena en presencia de C/Pd a 40 p.s.i. durante una noche, tras lo cual se filtra el catalizador por celita, lava bien con metanol y la solución obtenida se concentra a sequedad para rendir un sólido blanco (730 mg) que se cromatografía en columna usando una mezcla de diclorometano-metanol 5:1 como eluyente. El producto del título se obtiene como un sólido blanco (595 mg; 91%).

P.f. 138-40°C

$[\alpha]_D^{20}$  (c ; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{19}H_{30}N_4O_{11}$ : C, 46,53; H, 6,16; N, 11,42.

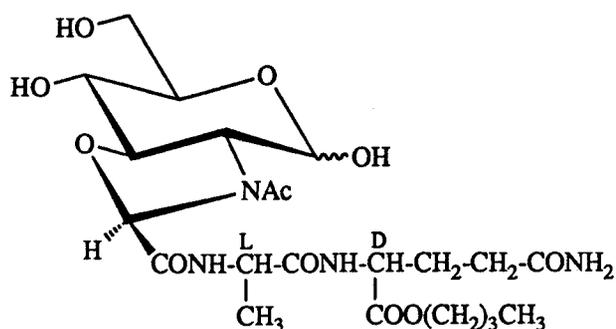
Encontrado: C, 46,89; H, 5,82; N, 11,21.

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla XL, Figuras 96A-98A*

Espectro de masas: (*FAB*): *Tabla LIX, Figura 172A*

Espectro de IR: *Tabla LXXII, Figura 209A*

5.6.5. Ester butílico de 3-acetil-(2,3-didesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (27).



Pm=532

Una disolución del éster butílico de 3-acetil-(1-*O*-bencil-4,6-*O*-bencilidén-2,3-didesoxi-β-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (91) (170 mg; 0,24 mmol) en tetrahidrofurano-metanol 1:1 (80 mL) se hidrogena en presencia de C/Pd a 40 p.s.i. durante una noche, tras lo cual se filtra el catalizador por celita, lava bien con metanol y la solución obtenida se concentra a sequedad para rendir un residuo (165 mg) que se cristaliza de metanol-éter para rendir el producto del título como un sólido blanco (116 mg; 90,6%).

P.f. 126-27°C

$[\alpha]_D^{20}$  (c ; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{22}H_{36}N_4O_{11}$ : C, 49,62; H, 6,81; N, 10,52.

Encontrado: C, ; H, ; N, .

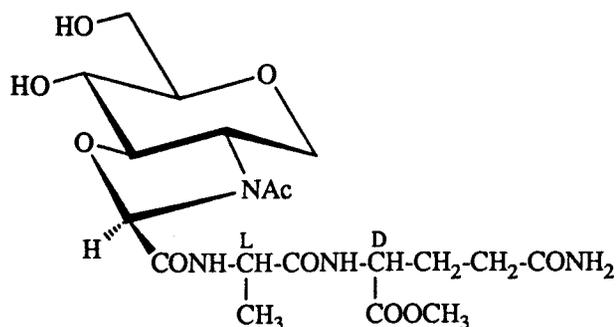
Espectro de  $^1H$ -RMN: *Figura 99A*

Espectro de masas: (*FAB*): *Tabla LIX, Figura 173A*

(*FAB-HR*): *Tabla LX*

Espectro de IR: *Tabla LXXII, Figura 210A*

5.6.6. Ester metílico de 3-acetil-(1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (28).



Pm=474

Una disolución del éster metílico de 3-acetil-(4,6-O-bencilidén-1,2,3-tridesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (93) (130 mg; 0,23 mmol) en tetrahidrofurano-metanol 1:1 (90 mL) se hidrogena en presencia de C/Pd a 40 p.s.i. durante una noche, tras lo cual se filtra el catalizador por celita, lava bien con metanol y la solución obtenida se concentra a sequedad para rendir un sólido blanco (115 mg) que se cromatografía en columna usando una mezcla de diclorometano-metanol 5:1 como eluyente. El producto del título se obtiene como un sólido blanco (98 mg; 90%).

P.f. 209-10°C (d)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  (c ; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_{10}$ : C, 48,10; H, 6,37; N, 11,81.

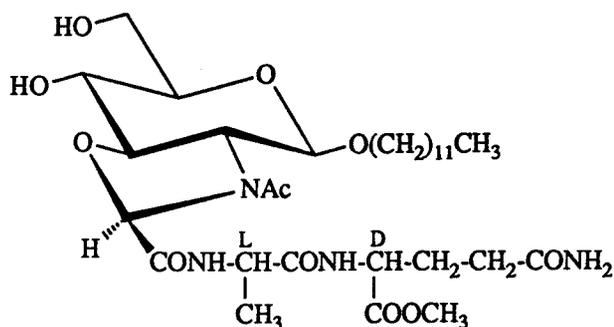
Encontrado: C, ; H, ; N, .

Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN: *Tabla XLIII, Figuras 105A-107A*

Espectro de masas: (FAB): *Tabla LIX, Figura 174A*

Espectro de IR: *Tabla LXXII, Figura 211A*

5.6.7. Ester metílico de 3-acetil-(2,3-didesoxi-1-O-dodecil-β-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (29).



Pm=658

A una disolución del éster metílico de 3-acetil-(4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi-1-O-dodecil-β-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidín-2-carbonil-L-alanil-D-glutamina (94) (200 mg; 0,27 mmol) en dioxano-metanol 3:1 (40 mL) se hidrogena en presencia de C/Pd a 40 p.s.i. durante una noche, tras lo cual se filtra el catalizador por celita, lava bien con metanol y la solución obtenida se concentra a sequedad para rendir un sólido blanco (200 mg) que se cromatografía en columna usando una mezcla de diclorometano-metanol 7:1 como eluyente. El producto del título se obtiene como un sólido blanco (162 mg; 92%).

P.f. °C

$[\alpha]_D^{25}$  (c ; cloroformo)

Análisis elemental: Calculado para  $C_{31}H_{54}N_4O_{11}$ : C, 56,52; H, 8,26; N, 8,50.

Encontrado: C, ; H, ; N, .

Espectro de  $^1H$ -RMN: *Tabla XLIV, Figuras 108A y 109A*

Espectro de masas: (*FAB*): *Tabla LIX, Figura 175A*

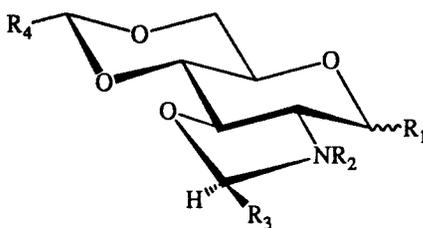
Espectro de IR: *Tabla LXXII, Figura 212A*

## **6. CONCLUSIONES**

## PRIMERA

Se han preparado diversas oxazolidinas condensadas con N-acil-D-glucosaminas (59-72, 30-33 y 73-76) (Tabla LXXIII), por reacción de éstas con compuestos gem-dihalogenados (ácido dicloroacético o dibromometano). (Apartado 4.2.2).

Tabla LXXIII



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
59	βOBn	Ac	COOH	Ph
60	βODodecil	Ac	COOH	Ph
61	H	Ac	COOH	Ph
63	αOBn	Ac	COOH	pMeOPh
64	αOBn	Piv	COOH	Ph
65	αOBn	BOC	COOH	Ph
66	αOBn	Bz	COOH	Ph
67	αOBn	BnSO <sub>2</sub>	COOH	Ph
68	βOBn	Ac	COOMe	Ph
69	βODodecil	Ac	COOMe	Ph
70	H	Ac	COOMe	Ph
72	αOBn	Ac	COOMe	pMeOPh
30	αOBn	Piv	COOMe	Ph
31	αOBn	BOC	COOMe	Ph
32	αOBn	Bz	COOMe	Ph
33	αOBn	BnSO <sub>2</sub>	COOMe	Ph
73	αOBn	Ac	H	Ph
74	αOBn	Ac	H	p-MeOPh
75	αOBn	Piv	H	Ph
76	αOBn	Bz	H	Ph

## SEGUNDA

La estructura cíclica propuesta para estas sustancias se ha confirmado en base a sus espectros de resonancia magnética nuclear ( $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN), de masas (CI, EI y EI-HR) y de infrarrojos, así como por sus análisis elementales.

## TERCERA

La reacción de N-acil-D-glucosaminas con ácido dicloroacético es estereoespecífica, conduciendo a uno sólo de los dos diastereoisómeros posibles.

## CUARTA

Se ha llevado a cabo la determinación configuracional, mediante la realización de experimentos NOE sobre las sustancias **68** y **30**. En ambos casos se ha puesto de manifiesto la existencia de efecto nuclear Overhauser entre el protón en posición 2 del anillo de oxazolidina y el protón en posición 3 del aminoazúcar, por lo que se ha asignado configuración R al carbono quiral creado en posición 2 del anillo de oxazolidina (Apartado 4.3.1).

## QUINTA

Se ha estudiado la reactividad de las sustancias que presentan el anillo de oxazolidina condensado con el aminoazúcar anteriormente mencionadas. Las reacciones estudiadas han sido: la hidrogenolisis catalítica, la reducción con

cianborohidruro de sodio catalizada por ácido, la reducción con borohidruro de sodio, la reducción con hidruro de aluminio y litio, la reducción con trietilborohidruro de litio, la reacción con reactivos de Grignard y la hidrólisis catalizada por bases (Apartado 4.2.3).

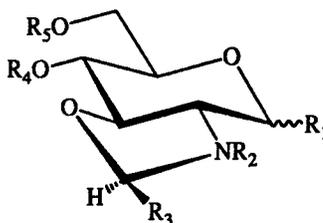
## SEXTA

La hidrogenolisis catalizada por Paladio ha permitido obtener las 3-acil-(2,3-didesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]oxazolidinas (77-80) (Tabla LXXIV). Mientras que la hidrogenolisis controlada en el caso de los anómeros  $\alpha$  permite obtener los 1-O-bencil derivados (79 y 80), este control no ha sido posible en el anómero  $\beta$ , obteniéndose el producto totalmente hidrogenado (77). Este producto se obtiene igualmente a partir del anómero  $\alpha$ , pero es necesario forzar las condiciones de reacción (mayor presión de hidrógeno y más tiempo), para obtenerlo con un menor rendimiento.

## SEPTIMA

La apertura reductiva de la función acetálica presente en posiciones 4 y 6 del aminoazúcar en la sustancia 72 rinde la 3-benzoil-2-metoxicarbonil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]oxazolidina (81), que ha sido caracterizada como su 4-O-benzoil derivado (82) (Tabla LXXIV). El anillo de oxazolidina ha resultado estable en estas condiciones.

Tabla LXXIV

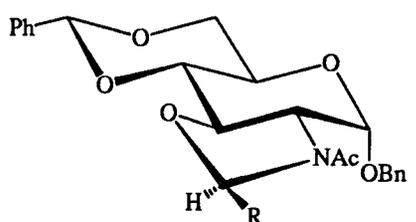


Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
77	OH	Ac	COOMe	H	H
78	H	Ac	COOMe	H	H
79	αOBn	Bz	COOMe	H	H
80	αOBn	Ac	H	H	H
81	αOBn	Ac	COOMe	H	p-MeOBn
82	αOBn	Ac	COOMe	Bz	p-MeOBn

## OCTAVA

Se ha procedido a la síntesis de 3-acetil-2-metil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (34). Esta se ha llevado a cabo en tres etapas. En la primera de ellas, por reacción del 2-carboxi derivado (62) con N-hidroxisuccinimida en presencia de N,N'-diciclohexilcarbodiimida y posterior reducción del éster activado con borohidruro de sodio se ha obtenido el alcohol (83). En la segunda etapa se ha hecho reaccionar este alcohol con ioduro de trifenoximetilfosfonio en hexametilfosforotriamida (HMPA), obteniéndose el iodo derivado (86), que en una tercera etapa se ha sometido a una nueva reducción con borohidruro de sodio en HMPA para rendir la sustancia 34 (Tabla LXXV). En estas condiciones el anillo de oxazolidina se ha mostrado estable.

Tabla LXXV



Sustancia	R
62	COOH
83	CH <sub>2</sub> OH
86	CH <sub>2</sub> I
34	CH <sub>3</sub>

## NOVENA

El registro de experimentos NOE sobre la sustancia **34** ha mostrado la existencia de efecto nuclear Overhauser entre el protón en posición 2 del anillo de oxazolidina y el protón H-3 del aminoazúcar, por lo que en esta sustancia se ha asignado nuevamente configuración R para el carbono en posición 2 de la oxazolidina.

Extrapolando este resultado a la sustancia de partida (**62**), se puede concluir que la reacción de N-acil-D-glucosaminas con ácido dicloroacético es estereoespecífica, conduciendo, en todos los casos estudiados, a la obtención del isómero de configuración R en el nuevo centro quiral creado (Apartado 4.3.1).

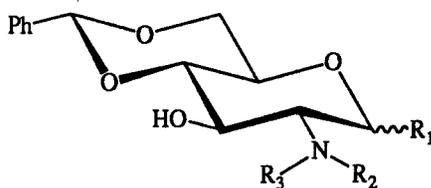
## DECIMA

La utilización de otros hidruros metálicos complejos ha conducido a la apertura del anillo de oxazolidina. Así, por reacción de 3-acil-(2,3-didesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidinas con hidruro de aluminio y litio se han obtenido las N,N-dialquil-D-glucosaminas **35** y **37** (Tabla LXXVI). Alternativamente, la reacción con trietilborohidruro de litio conduce a las N-alquil-D-glucosaminas **36** y **38** (Tabla LXXVI).

## DECIMOPRIMERA

La reacción de 3-acetil-(1-O-bencil-4,6-O-bencilidén-2,3-didesoxi- $\alpha$ -D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidina (**73**) con reactivos de Grignard ha conducido a las N-alquil-D-glucosaminas **88** y **39** (Tabla LXXVI).

Tabla LXXVI



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
<b>35</b>	$\alpha$ OBn	Et	Me
<b>36</b>	$\alpha$ OBn	H	Me
<b>37</b>	$\beta$ OBn	Et	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
<b>38</b>	$\beta$ OBn	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
<b>88</b>	$\alpha$ OBn	H	Et
<b>39</b>	$\alpha$ OBn	H	Pr

## DECIMOSEGUNDA

La metodología mencionada en los dos anteriores puntos puede ser utilizada para obtener otras N-alquil y N,N-dialquil-D-glucosaminas diferentemente sustituidas, por variación de la función amida, del sustituyente en posición 2 del anillo de oxazolidina y/o el uso de otros reactivos de Grignard, por lo que proponemos esta metodología como un nuevo método de obtención de N-alquil y N,N-dialquil-D-glucosaminas.

## DECIMOTERCERA

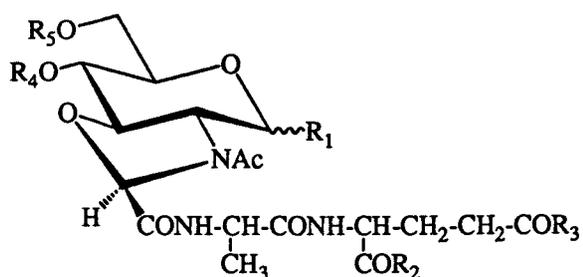
La condensación de los ácidos **68**, **69** y **70** con: el p-toluensulfonato del éster bencílico de L-alanil-D-isoglutamina (IX), el clorhidrato del éster metílico de L-alanil-D-glutamina (XIV) ó el clorhidrato del éster butílico de L-alanil-D-glutamina (XV), ha conducido a la obtención de las sustancias **89-94** (Tabla LXXVII) (Apartado 4.2.4).

La eliminación de los grupos protectores presentes en éstas, mediante hidrogenolisis catalizada por Paladio ha permitido obtener cinco nuevos análogos conformacionalmente rígidos del MDP, murametide y murabutide (**25-29**) (Tabla LXXVII). Asimismo se ha mejorado la síntesis de **24**, sustancia previamente descrita en este Departamento (Apartado 4.2.5).

## DECIMOCUARTA

Se ha llevado a cabo un amplio estudio de RMN de las sustancias descritas en la presente Memoria (Apartado 4.3.1).

Tabla LXXVII



Sustancia	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
89	βOBn	NH <sub>2</sub>	OBn		PhCH
90	βOBn	OMe	NH <sub>2</sub>		PhCH
91	βOBn	OBu	NH <sub>2</sub>		PhCH
92	H	NH <sub>2</sub>	OBn		PhCH
93	H	OMe	NH <sub>2</sub>		PhCH
94	βODodecil	OMe	NH <sub>2</sub>		PhCH
95	H	NH <sub>2</sub>	OBn	H	H
24	OH	NH <sub>2</sub>	OH	H	H
25	H	NH <sub>2</sub>	OH	H	H
26	OH	OMe	NH <sub>2</sub>	H	H
27	OH	OBu	NH <sub>2</sub>	H	H
28	H	OMe	NH <sub>2</sub>	H	H
29	βODodecil	OMe	NH <sub>2</sub>	H	H

## DECIMOQUINTA

Se ha realizado un estudio por espectrometría de masas de las nuevas sustancias. La realización de barridos ligados ha permitido confirmar el esquema de fragmentación propuesto para las 3-acil-(2,3-didesoxi-D-glucopirán)-[2,3-d]-oxazolidinas descritas (Apartado 4.3.2).

## **7. BIBLIOGRAFIA**

- (Adam, 1972). A.ADAM, R.CIORBARU, J.F.PETIT y E. LEDERER, *Proc. Nat. Acad. Sci, USA*, **69** (1972) 851.
- (Adam, 1974). A.ADAM, R. CIORBARU, F.ELLOUZ, J.F.PETIT y E.LEDERER, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **56** (1974) 561.
- (Adam, 1976). A.ADAM, M.DAVIS, V.SOUVANNAVOG, P.LEFRANCIER, J.CHOAY y E.LEDERER, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **72** (1976) 339.
- (Adam, 1984). A.ADAM y E. LEDERER, *Med. Res. Rev.*, **4** (1984) 111.
- (Anderson, 1964). G.ANDERSON, J.ZIMMERMAN y F.CALLAHAN, *J. Am. Chem. Soc.*, **86** (1964) 1839.
- (Audibert, 1976). F.AUDIBERT, L.CHEDID, P.LEFRANCIER y J.CHOAY, *Cell. Immunol.*, **21** (1976) 243.
- (Audibert, 1977). F.AUDIBERT, M.PARANT, C.DAMAIS, P.LEFRANCIER, M.DERRIEN, J.CHOAY y L.CHEDID, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **96** (1977) 915.
- (Audibert, 1981). F.AUDIBERT, C.LECLERC y L.CHEDID, en "*Biological Response Modifiers*", P.F. Torrence Ed., Academic, 1981, p.307.
- (Azuma, 1978). I.AZUMA, K.SUGIMURA, M.YAMAWAKI, M.VEMIYA, S.KUSUMOTO, S.OKADA, T.SHIBA y Y.YAMAMURA, *Infect. Immun.*, **20** (1978) 600.
- (Barton, 1979). D.BARTON y W.OLLIS, "*Comprehensive Organic Chemistry*", vol. 2, I.Sutherland ed., Pergamon, 1979, p. 104.
- (Baschang, 1988). G.BASCHANG, *Eur. pat. Appl. EP 239,543. Chem. Abstracts*, **109**:38183u.
- (Baschang, 1989). G. BASCHANG, *Tetrahedron*, **45** (1989) 6331.
- (Bernard, 1987). J.BERNARD, H.GRAS-MASSE, H.DROBECQ, A.TARTAR, P.LEFRANCIER, A.HOSMALIN, C.CARRELLI y L.CHEDID, *Int. J. Peptide Protein Res.*, **29** (1987) 445.

- (Bonford, 1980). R.BONFORD, *Clin. Exp. Immun.*, **39** (1980) 435.
- (Bothner-By, 1965). A.A. BOTHNER-BY, *Adv. Magn. Res.*, **1** (1965) 195.
- (Brown, 1977). H.BROWN y S.KIM, *Synthesis*, (1977) 635.
- (Calvo, 1986a). A.CALVO-MATEO, M.CAMARASA y F.GARCIA, *Tetrahedron*, **42** (1986) 4049.
- (Calvo, 1986b). A.CALVO-MATEO y F.GARCIA, *Carbohydr. Res.*, **115** (1986) 226.
- (Carelli, 1981). C.CARELLI, F.AUDIBERT y L.CHEDID, *Infect. immun.*, **33** (1981) 312.
- (Charon, 1985). D.CHARON, R.CHABY, A.MALINVAUD, M.MONDANGE y L.SZABO, *Biochemistry*, **24** (1985) 2736.
- (Chedid, 1976). L.CHEDID, F.AUDIBERT, P.LEFRANCIER, J.CHOAY y E.LEDERER, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **73** (1976) 2472.
- (Chedid, 1977). L.CHEDID, M.PARANT, F.PARANT, P.LEFRANCIER, J.CHOAY y E.LEDERER, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **74** (1977) 2089.
- (Chedid, 1982). L.CHEDID, M.PARANT, F.AUDIBERT, G.RIVEAU, F.PARANT, E.LEDERER, J.CHOAY y P.LEFRANCIER, *Infect. Immun.*, **35** (1982) 417.
- (Chedid, 1983). L.CHEDID, *Progress in Immunol.*, **5** (1983) 1349.
- (Chizhov, 1968). O.S.CHIZHOV, L.S.GULOVKINA y N.S.WULFSON, *Carbohydr. Res.*, **6** (1968) 138.
- (Collins, 1989). P.COLLINS, A.McKINNON y A.MANRO, *Tetrahedron Lett.*, **30** (1989) 1399.
- (Damais, 1978). C.DAMAIS, M.PARANT, L.CHEDID, P.LEFRANCIER y J.CHOAY, *Cell. Immunol.*, **35** (1978) 173.

- (Dukor, 1979). P.DUKOR, L.TARKSAY y G.BASCHANG, *Ann. Rep. in Med. Chem.*, **14** (1979) 146.
- (Dukor, 1991). P.DUKOR, P.LEFRANCIER, P.STUETZ y L.CHEDID, *Eur. Pat. Appl. EP 406,175. Chem. Abstracts*, **114**:229405f.
- (Durette, 1982). P.DURETTE, C.DORN, T.SHEN y A.FRIEDMAN, *Carbohydr. Res.*, **108** (1982) 139.
- (Durette, 1990). P.DURETTE, U.S. US 4,868,157. *Chem. Abstracts*, **112**:112074q.
- (Ellouz, 1974). F.ELLOUZ, A.ADAM, R.CIORBARU y E.LEDERER, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **56** (1974) 1317.
- (Femandjian, 1987). S.FERMANDJIAN, B.PERLEY, M.LEVEL y P.LEFRANCIER, *Carbohydr. Res.*, **162** (1987) 23.
- (Freund, 1947). J. FREUND, *Ann. Rev. Microbiol.*, **1** (1947) 201.
- (Garegg, 1980). P.GAREGG y B.SAMUELSSON, *J. Chem. Soc. Perkin I*, (1980) 2866.
- (Garegg, 1981). P.GAREGG y H.HULTBERG, *Carbohydr. Res.*, **93** (1981) C10.
- (Garegg, 1982). P.GAREGG, H.HULTBERG y S.WALLIN, *Carbohydr. Res.*, **108**(1982) 97.
- (Gaylord, 1956). N.GAYLORD y D.KAY, *J. Am. Chem. Soc.*, **78** (1956) 2167.
- (Gross, 1967). P.GROSS y R.JEANLOZ, *J. Org. Chem.*, **32** (1967) 2759.
- (Gross, 1981). E.GROSS y J.MEIENHOFER, en "*The Peptides*", Vol. 3, Academic, Londres, (1981).
- (Guttmann, 1958). S.GUTTMANN y R.BOISSONNAS, *Helv. Chim. Acta*, **41** (1958) 1852.
- (Hanessian, 1991). S.HANESSIAN y V.RATOVELOMANANA, *Synlett*, **4** (1991) 222.

- (Hasegawa, 1978). A.HASEGAWA, Y.KANEDA, M.MANO, M.KISO y I.AZUMA, *Agric. Biol. Chem.*, **42** (1978) 2187.
- (Hasegawa, 1980a). A.HASEGAWA, H.OKUMURA, M.KISO, I.AZUMA y Y.YAMAMURA, *Carbohydr. Res.*, **79** (1980) c20.
- (Hasegawa, 1980b). A.HASEGAWA, H.OKUMURA, M.KISO, I.AZUMA y Y.YAMAMURA, *Agric. Biol. Chem.*, **44** (1980) 1309.
- (Hasegawa, 1981a). A.HASEGAWA, Y.KANEDA, Y.GOH, K.NISHIBORI y M.KISO, *Carbohydr. Res.*, **94** (1981) 143.
- (Hasegawa, 1981b). A.HASEGAWA, E.TANAHASHI, Y.GOH y M.KISO, *Carbohydr. Res.*, **92** (1981) 75.
- (Hasegawa, 1981c). A.HASEGAWA y H.OKUMURA, *Carbohydr. Res.*, **97** (1981) 337.
- (Hasegawa, 1982a). A. HASEGAWA, Y.HIOKI y M.KISO, *J. Carbohydr. Chem.*, **1** (1982) 317.
- (Hasegawa, 1982b). A.HASEGAWA, E. TANAHASHI y M.KISO, *Carbohydr. Res.*, **103** (1982) 251.
- (Hasegawa, 1983a). A.HASEGAWA, Y.HIOKI y M.KISO, *Carbohydr. Res.*, **123** (1983) 63.
- (Hasegawa, 1983b). A.HASEGAWA y M.KISO, *Carbohydr. Res.*, **122** (1983) 99.
- (Hasegawa, 1983c). A.HASEGAWA, Y.HIOKI y M.KISO, *Carbohydr. Res.*, **123** (1983) 183.
- (Hasegawa, 1984a). A.HASEGAWA, M.OZAKI y M.KISO, *J. Carbohydr. Chem.*, **3** (1984) 331.
- (Hasegawa, 1984b). A.HASEGAWA, E.SEKI, Y.HIOKI y M.KISO, *Carbohydr. Res.*, **131** (1984) 61.

- (Hasegawa, 1986). A.HASEGAWA, Y.HIOKI, E.SEKI, M.KISO y I.AZUMA, *Agric. Biol. Chem.*, **50** (1986) 1873.
- (Hasegawa, 1990). A.HASEGAWA, M.KISO y K.MORIHARA, *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 01,213,298*. *Chem. Abstracts*, **112**:99267h.
- (Horne, 1978). D.HORNE y A.JORDAN, *Tetrahedron Lett.*, (1978) 1357.
- (Horton, 1973). D.HORTON, "*Organic Synthesis*", vol. V, H.E.Baumgarter ed., Wiley, 1973, p. 1.
- (Hutchins, 1971). R.HUTCHINS, B.MARYANOFF y C.MILEWSKI, *Chem. Commun.*, (1971) 1097.
- (Imoto, 1986). M.IMOTO, S.KAGEYAMA, S.KUSUMOTO, M.KOHONO, K.MATSUMOTO, S.HASHIMOTO, A.TOHGO y T.SHIBA, *Bull. Chem. soc. Jpn.*, **59** (1986) 3207.
- (Inage, 1980). M.INAGE, M.IMOTO, Y.KAMAYASHI, S.KUSUMOTO y T.SHIBA, *Tetrahedron Lett.*, **21** (1980) 3767.
- (Iribe, 1984). H.IRIBE y T.KOGA, *Cell. Immunol.*, **88** (1984) 9.
- (Johansson, 1984). R.JOHANNSON y B.SAMUELSSON, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, (1984) 2371.
- (Katritzky, 1984). A.KATRITZKY, "*Comprehensive Heterocyclic Chemistry*", vol. 6, K.T.Potts ed., Pergamon, 1984, p. 229.
- (Kim, 1978). K.KIM y W.SZAREK, *Synthesis*, (1978) 48.
- (Kiso, 1980). M.KISO, Y.KANEDA, Y.GOH, A.HASEGAWA y I.AZUMA, *Agric. Biol. Chem.*, **44** (1980) 1971.
- (Kiso, 1981). M.KISO, Y.GOH, E.TANAHASHI y A.HASEGAWA, *Carbohydr. Res.*, **90** (1981) c8.

- (Kotani, 1975). S.KOTANI, Y.WATANABE, F.KINOSHITA, T.SHIMONO, I.MORISAKI, T.SHIBA, S.KUSUMOTO, Y.TARUMI y K.IKENAKA, *Biken J.*, **18** (1975) 105.
- (Kotani, 1976). S.KOTANI, Y.WATANABE, T.SHIMONO, K.HARADA, T.SHIBA, S.KUSUMOTO, K.YOKOGAWA y M.TANIGUCHI, *Biken J.*, **19** (1976) 9.
- (Kotani, 1982). S.KOTANI, H.TAKADA, M.TSUJIMOTO, T.KUBO, T.OGAWA, I.AZUMA, H.OGAWA, K.MATSUMOTO, W.SIDDIQUI, A.TANAKA, S.NAGAO, O.KOHASHI, S.KANO, T.SHIBA y S.KUSUMOTO, en "*Bacteria and Cáncer*", J. Jeljaszewicz, G. Pulverer y W. Roszkowski Eds., Academic, 1982, p.67.
- (Krueger, 1982a). J.KRUEGER, J.PAPPENHEIMER y M.KARNOVSKI, *J. Biol. Chem.*, **257** (1982) 1664.
- (Krueger, 1982b). J.KRUEGER, J.PAPPENHEIMER y M.KARNOVSKI, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79** (1982) 6102.
- (Kuroda, 1991). H.KURODA, M.OKI y T.AKIBA, *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 02,250,899*. *Chem. Abstracts*, **114**:229407h.
- (Kusumoto, 1976). S.KUSUMOTO, Y.TARUMI, K.IKENAKA y T.SHIBA, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **49** (1976) 533.
- (Kusumoto, 1978). S.KUSUMOTO, M.INAGE, T.SHIBA, I.AZUMA y Y.YAMAMURA, *Tetrahedron Lett.*, **49** (1978) 4899.
- (Larock, 1989). R.C.LAROCK, en "*Comprehensive Organic Transformations*", VCH Ed., Nueva York, 1989.
- (Lazdins, 1990). J.LAZDINS, K.WOODS-COOK, M.WALKER y E.ALTERI, *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, **6** (1990) 1157.
- (Leclerc, 1985). C.LECLERC, F.AUDIBERT y L.CHEDID, en "*Immunochemistry of Viruses*", M.Regenmortel and A.Neurath Eds., Elsevier Science Publ., 1985.
- (Lefrancier, 1967). P.LEFRANCIER y E.BRICAS, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **49** (1967) 1257.

- (Lefrancier, 1979). P.LEFRANCIER, M.PETITOU, M.LEVEL, M.DERRIEN, J.CHOAY y E.LEDERER, *Int. J. Pept. Protein Res.*, **14** (1979) 437.
- (Lefrancier, 1982). P.LEFRANCIER, M.DERRIEN, X.JAMET, J.CHOAY, E.LEDERER, F.AUDIBERT, M.PARANT, F.PARANT y L.CHEDID, *J. Med. Chem.*, **25** (1982) 417.
- (Lefrancier, 1987). P.LEFRANCIER y E.LEDERER, *Pure and Appl. Chem.*, **59** (1987) 449.
- (Levy, 1976). G.C.LEVY y G.L.NELSON, "*Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance for Organic Chemists*", Wiley, 1976.
- (Lockhoff, 1988). O.LOCKHOFF, Y.HAYAUCHI, P.STADLER y H.BRUNNER, *Ger. Offen. DE 3,604,681*. *Chem. Abstracts*, **109**:110849k.
- (Masek, 1978). K.MASEK, M.ZAORAL, J.JEZEK y R.STRAKA, *Experientia*, **34** (1978) 1363.
- (Masek, 1983). K.MASEK y O.KADLEC, *The Lancet*, **6** (1983) 1277.
- (Merser, 1975). C.MERSER, P.SINAY y A.ADAM, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **66** (1975) 1316.
- (Migliore, 1973). D.MIGLIORE y P.JOLLES, *FEBS Lett.*, **25** (1973) 301.
- (Moroder, 1976). L.MORODER, A.HALLET, E.WUENSCH, O.KELLER y G.WERSIN, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **357** (1976) 1651.
- (Nagai, 1978). Y.NAGAI, K.AKIYAMA, S.KOTANI, Y.WATANABE, T.SHIMONO, T.SHIBA y S.KUSUMOTO, *Cell. Immunol.*, **35** (1978) 168.
- (Neuhaus, 1989). D.NEUHAUS y M.P.WILLIAMSON, "*The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis*", VCH Publishers, 1989, New York.
- (Oikawa, 1982). Y.OIKAWA, T.YOSHIOKA y O.YONEMITSU, *Tetrahedron Lett.*, **23** (1982) 885.

- (Okumura, 1982). H.OKUMURA, K.KAMISANGO, I.SAIKI, Y.TANIO, I.AZUMA, M.KISO, A.HASEGAWA y Y.YAMAMURA, *Agric. Biol. Chem.*, **46** (1982) 507.
- (Okumura, 1983). H.OKUMURA, Y.TOKUSHIMA, I.SAKI, I.AZUMA, M.KISO y A.HASEGAWA, *Carbohydr. Res.*, **122** (1983) 87.
- (Pappenheimer, 1975). J.PAPPENHEIMER, G.KOSKI, V.FENCL, M.KARNOVSKI y J.KARNOVSKI, *J. Neurophysiol.*, **38** (1975) 1299.
- (Parant, 1980). M.PARANT, F.AUDIBERT, L.CHEDID, M.LEVEL, P.LEFRANCIER, J.CHOAY y E.LEDERER, *Infect. Immun.*, **27** (1980) 826.
- (Phillips, 1984). L.PHILLIPS, O.NISHIMURA y B.FRASER, *Carbohydr. Res.*, **132** (1984) 275.
- (Pompipom, 1983). M.POMPIPOM y K.RUPPRECHT, *Carbohydr. Res.*, **113** (1983) 57.
- (Ruiz, 1990). F.J.RUIZ, Tesis Doctoral, Sevilla, 1990.
- (Sackmann, 1981). W.SACKMANN y F.DIETRICH, *Int. Current Chemother. Immunother. Am. Soc. Microbiol.*, **2** (1981) 1162.
- (Schroder, 1964). E.SCHRÖDER y E.KLIEGER, *Ann. Chem.*, **673** (1964) 196.
- (Shiba, 1978). T.SHIBA, S.OKADA, S.KUSUMOTO, I.AZUMA y Y.YAMAMURA, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51** (1978) 3307.
- (Silverman, 1989). D.SILVERMAN, K.IMAM y M.KARNOVSKI, *Pept. Res.*, **2** (1989) 338.
- (Sizun, 1988). P.SIZUN, B.PERLEY, M.LEVEL, P.LEFRANCIER y S.FERMANDJIAN, *Tetrahedron*, **44** (1988) 991.
- (Stewart-Tull, 1980). D.STEWART-TULL, *Ann. Rev. Microbiol.*, **34** (1980) 311.
- (Sugimoto, 1978). M.SUGIMOTO, R.GERMAIN, L.CHEDID y B.BENACERRAF, *J. Immunol.*, **120** (1978) 980.

- (Tanaka, 1979). A.TANAKA, S.NAGAO, S.KOTANI, T.SHIBA y S.KUSUMOTO, *Infect. Immun.*, **24** (1979) 302.
- (Tenu, 1989). J.TENU, A.ADAM, V.SOUVANNAVONG, A.YAPO, J.PETIT y K.DOUGLAS, *Int. J. Immunopharmacol.*, **11** (1989) 653.
- (Tsubura, 1989). E.TSUBURA, *Kekkaku*, **64** (1989) 731. *Chem. Abstracts*, **113**:52146y.
- (Vega-Pérez, 1992). J.M. VEGA-PEREZ, J.L.ESPARTERO, F.J.RUIZ y F.ALCUDIA, *Carbohydr. Res.*, en prensa.
- (Vemiya, 1979). M.VEMIYA, K.SUGIMURA, T.KUSAMA, I.SAIKI, M.YAMAWAKI, I.AZUMA y Y.YAMAMURA, *Infect. Immun.*, **24** (1979) 83.
- (Vermeulen, 1984). M.VERMEULEN y G.GRAY, *Infect. Immun.*, **46** (1984) 476.
- (Vermeulen, 1987). M.VERMEULEN, J.DAVID y H.REMOLD, *J. Immun.*, **139** (1987) 7.
- (Warren, 1986). H.S.WARREN, F.R.VOGEL y L.A.CHEDID, *Ann. Rev. Immunol.*, **4** (1986)369.
- (White, 1958). R. WHITE, L.BERNSTOCK, R.JOHNS y E.LEDERER, *Immunology*, **1** (1958) 54.
- (Williams, 1990). J.WILLIAMS, *Immunopharmacol. Rev.*, **1** (1990) 65.

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

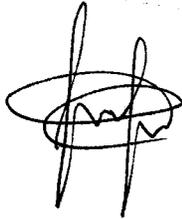
José Luis Espartaco Sánchez  
Oxatolimidinas derivadas de azúcares. Síntesis de  
análogos conformacionalmente rígidos de  
N-Acetilcumaril-L-Alanil-D-Isoglutamina  
PTO "CUM LAUDE"

Mayo

8







92  
