

Tesis de Posgrado

Acción del amoníaco sobre disacáridos benzoilados

Thiel, Inge María E.

1963

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Thiel, Inge María E. (1963). Acción del amoníaco sobre disacáridos benzoilados. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1174_Thiel.pdf

Cita tipo Chicago:

Thiel, Inge María E. "Acción del amoníaco sobre disacáridos benzoilados". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1963.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1174_Thiel.pdf

1174

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

-----o-----

ACCION DEL AMONIACO SOBRE
DISACARIDOS BENZOILADOS

Inge María E. Thiel

R. de Tesis: 1174

RESUMEN DE TESIS

Presentada para optar al Título de
Doctor en Química (Orientación Química Biológica)

1963

ACCION DEL AMONIACO SOBRE DISACARIDOS BENZOILADOS

Se extendió el estudio de la acción del amoníaco a los disacáridos benzoilados, para comparar los resultados obtenidos con los de las amonólisis de los monosacáridos acilados y los disacáridos acetilados.

Se ha hecho una revisión del estado actual de las reacciones y métodos de benzoilación de los monosacáridos y disacáridos.

Se hizo una revisión de la reacción de amonólisis de los derivados acilados de los monosacáridos y disacáridos que conduce a la formación de las N,N'-diacil-aldosilidendiaminas y a las N-acil-aldosilaminas.

Se estudió la reacción de benzoilación de la celobiosa, lactosa y maltosa y se efectuó la amonólisis de la octa-O-benzoíl-celobiosa, octa-O-benzoíl-lactosa y hepta-O-benzoíl-maltosa.

Se encontró que la reacción de amonólisis era de carácter general también para los disacáridos benzoilados estudiados, obteniéndose además de las N,N'-dibenzoíl-aldobiosilidendiaminas y N-benzoíl-aldobiosilaminas esperados, los mono-O-benzoíl-derivados. En el caso de la maltosa, en la cual se realizó la amonólisis de una hepta-O-benzoíl-maltosa, no se obtuvieron derivados N-acilados.

Las conclusiones anteriores se basan en los siguientes hechos cuyo detalle se encuentra en la parte teórica y experimental de este trabajo:

a.) De la celobiosa se preparó la octa-O-benzóil-celobiosa y por la amonólisis de esta última se obtuvieron los siguientes productos: Celobiosa de pf. 232-234 $\frac{1}{2}$ con 48,8% de rendimiento; mono-O-benzóil-celobiosa de $\{\alpha\}_D$ 82 $\frac{1}{2}$ (a las 24 horas, en etanol) con 6,5% de rendimiento; N-benzóil-celobiosilamina de $\{\alpha\}_D$ +33,8 (piridina) con 0,9% de rendimiento; N,N'-dibenzóil-celobiosilidendiamina de pf. 148-150 $\frac{1}{2}$ y $\{\alpha\}_D$ -33,2 (agua) con 7,9% de rendimiento.

Se prepararon los siguientes derivados: una octa-O-benzóil-celobiosa isómera de la obtenida por benzoilación directa de la celobiosa; la hepta-O-acetil-Nbenzóil-celobiosilamina y la octa-O-acetil-N,N'-dibenzóil-celobiosilidendiamina. Por benzoilación de la mezcla de amonólisis cruda se obtuvo una penta-O-benzóil-N-benzóil-celobiosilamina cuya benzoilación dió lugar a la hepta-O-benzóil-N-benzóil-celobiosilamina.

b.) De la lactosa se preparó la octa-O-benzóil-lactosa y por amonólisis de esta se obtuvo la N,N'-dibenzóil-lactosilidendiamina de pf. 196-198 $\frac{1}{2}$ y $\{\alpha\}_D$ -20,9 $\frac{1}{2}$ (agua) con 9,6% de rendimiento; lactosa de pf. 220-222 $\frac{1}{2}$ con 28,3% de rendimiento y una mono-O-benzóil-lactosa. Se prepararon la octa-O-acetil-N,N'-dibenzóil-lactosilidendiamina y por

benzoilación de la mezcla de amonólisis cruda y separación por cromatografía en columna, se obtuvo la hepta-O-benzoil-N-benzoil-lactosilamina.

c.) De la maltosa se prepararon la octa-O-benzoil-maltosa y una hepta-O-benzoil-maltosa. Por amonólisis de la hepta-O-benzoil-maltosa obtuvimos maltosa de pf. 129-130 \pm con 18,5% de rendimiento, mono-O-benzoil-maltosa de pf. 140-145 \pm de $[\alpha]_D^{+117,7}$ (16 horas, agua) con 44% de rendimiento y una di-O-benzoil-maltosa de pf. 90-92 \pm y $[\alpha]_D^{+92,1}$ (etanol) con 0,4 % de rendimiento. Se preparó la hepta-O-acetil-O-benzoil-maltosa, por acetilación de la mono-O-benzoil-maltosa.

La obtención de derivados O-benzoilados se atribuye al efecto estérico debido a la influencia mutua de las dos mitades del disacárido y a la menor polarización del carbonilo del grupo benzoilo debido al efecto mesomérico ejercido por el núcleo bencénico, en comparación con la del grupo acetilo, lo cual se traduce en una mayor estabilidad del grupo benzoilo frente a la reacción de amonólisis.

Comparativamente la amonólisis del benzoilo es más lenta que la del acetilo y la migración del primero al carbono 1 podría ser mayor, lo cual se traduciría en un

aumento del rendimiento de las N,N'-dibenzoil-aldobiosilidendiaminas.

El rendimiento del azúcar libre es menor que en el caso de los disacáridos acetilados y en su lugar obtuvimos los derivados mono-O-benzoilados de la celobiosa, lactosa y maltosa.

Lp. Alan E. Paul

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES



ACCION DEL AMONIACO SOBRE

DISACARIDOS BENZOILADOS

Inge María E. Thiel

T E S I S

TESIS: 117A

Presentada para optar al Título de
Doctor en Química (Orientación Química Biológica).

1963

Deseo expresar mi profundo agradecimiento al Dr. Jorge O. Deferrari, director de este trabajo, por su asesoramiento e interés en el desarrollo del mismo.

Así mismo mi sincero reconocimiento al Dr. Raúl A. Cadenas por su desinteresada colaboración y los abundantes consejos dados en el transcurso de este trabajo.

Por los microanálisis que figuran en el trabajo, mi sincero agradecimiento a la Dña. Blanca B. de Deferrari.

Agradezco a la Universidad de Buenos Aires haberme concedido una de sus becas para graduados por el término de cuatro meses, y a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales mi designación como Ayudante de Trabajos Prácticos, dedicación exclusiva, para completar el presente trabajo.

Mi reconocimiento al Personal de la Cátedra de Química Orgánica por la colaboración prestada durante la realización de esta tesis.

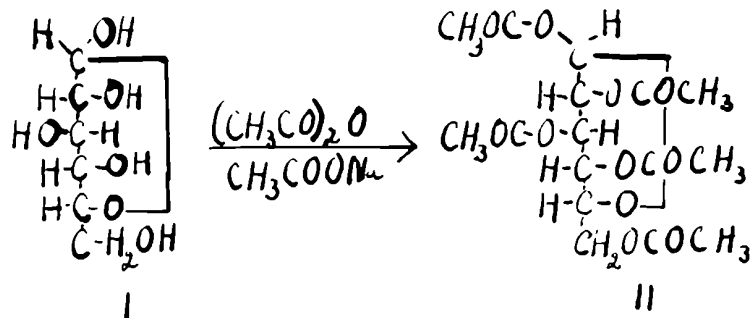
DERIVADOS ACILADOS DE MONOSACARIDOS Y DISACARIDOS.

Los acilderivados más empleados de los hidratos de carbono son los acetatos y benzoatos y en menor escala los propionatos, ésteres de otros ácidos grasos y ácidos inorgánicos.

Merecen especial consideración las técnicas de acetilación y benzoilación por ser las más empleadas.

Las acetilaciones de azúcares fueron iniciadas en 1860 por Berthelot (1), el cual obtuvo ésteres siruposos al calentar D-glucosa con anhídrido acético.

Esta técnica se modificó por agregado de catalizadores. Así por ejemplo Liebermann y Hörmann (2) introdujeron el uso de anhídrido acético y acetato de sodio y Franchimont en 1879 (3) obtuvo la penta-O-acetil- β -D-glucopiranososa (II) cristalina por aplicación de esta técnica a la D-glucosa (I). Erwig y Koenigs (4) en 1889 acetilaron la

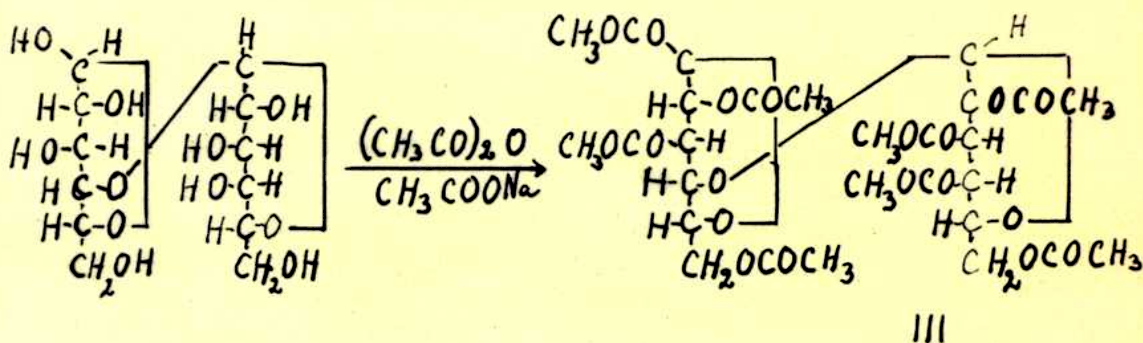


D-glucosa con anhídrido acético y cloruro de zinc, obteniendo la penta-O-acetil- α -D-glucopiranososa. Skraup y König (5) introdujeron la acetilación en presencia de ácido sulfúrico; Behrend y Roth (6) obtuvieron, por aplicación de la técnica de Verley y Bösling (7) con anhídrido acético y piridina a la D-glucosa, la penta-O-acetil- α -D-glucopiranososa, Krüger y Roman (8) efectuaron en 1936 la acetilación de la D-glucosa con anhídrido acético, ácido acético glacial y ácido peralóxico, y obtuvieron la penta-O- α -D-glucosa.

Las acetilaciones con anhídrido acético en presencia de 2% de resinas de intercambio iónico (Amberlite IR 120) fueron usadas por Christensen (9) quién obtuvo a partir de la D-glucosa la 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- α -D-glucosa con 58% de rendimiento; a partir de la fructosa obtuvo la 1,3,4,5,-tetra-O-acetil- β -D-fructosa con 40% de rendimiento y a partir de la sacarosa preparó la octa-O-acetil-sacarosa con 44,2 % de rendimiento.

Assalon y Frey (10) obtuvieron la 1,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucosa por acetilación con anhídrido acético en presencia de iones hidroxilo (en medio acuoso a pH 8-10) y encontraron que en estas condiciones no se producía la acetilación de los hidroxilos en el carbono 2.

Los derivados acetilados son los ésteres más estudiados de los disacáridos. Los acetatos cristalinos de algunos disacáridos fueron descritos por Hudson y Johnson (11). Estos autores repitieron la síntesis de la β -octa-O-acetil-lactosa (III) descrita por Schutzenberger y Naudin (12).



de la β -octa-O-acetil-maltosa descrita por Herzfeld (13) y de la α -octa-O-acetil-celobiosa descrita por Maquenne y Goodwin (14), por acción del anhídrido acético en presencia de acetato de sodio sobre los disacáridos libres y prepararon los anómeros correspondientes.

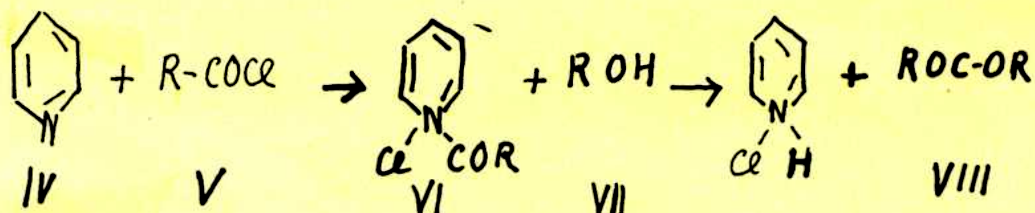
Para las benzoylaciones de los hidratos de carbono se utilizó durante mucho tiempo la reacción de Schotten-Baumann, que consiste en el tratamiento del azúcar con cloruro de benzoylo en presencia de solución al 10-20% de hidróxido de sodio. En 1836 Baumann (15) aplicó esta reacción a la glicerina, la glucosa y a la sacarosa, obteniendo respectivamente

la di-O-benzoil-glicerina, la tetra-O-benzoil-glucosa y la hexa-O-benzoil-sacarosa.

El método fué modificado por Claisen (16), quién trabajó en medio etéreo usando carbonatos a alcalinotérreos u otras sustancias básicas para eliminar ácido clorhídrico librado durante la reacción.

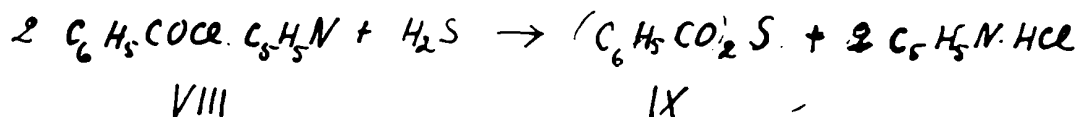
Posteriormente Einhorn y Holland (17) usaron bases orgánicas, piridina y quinolina, facilitándose así la aplicación eficaz de esta técnica a los polialcoholes e hidratos de carbono.

Dannsted y Zimmermann (18) interpretaron la reacción como la formación de un producto de adición (VI) entre la base orgánica (piridina) (IV) y el cloruro del ácido (V), el cual reaccionaría posteriormente con el alcohol (VII) dando lugar al ester (VIII).



Adkins y Thompson (19) consideraron un mecanismo similar en las reacciones de diacilación del agua y del ácido

sulfhídrico con los complejos de cloruros de acil con bases nitrogenadas (trietilamina y piridina). Estos autores aislaron los complejos de piridina - cloruro de benzoílo, piridina - cloruro de propionilo y trietilamina - cloruro de acetilo, a -20° , en éter de petróleo y los hicieron actuar sobre agua y sobre ácido sulfhídrico. Por ejemplo en la reacción del complejo de cloruro de benzoílo -piridina (VIII) con ácido sulfhídrico obtuvieron el sulfuro de benzoílo (IX) con un rendimiento del 85%.

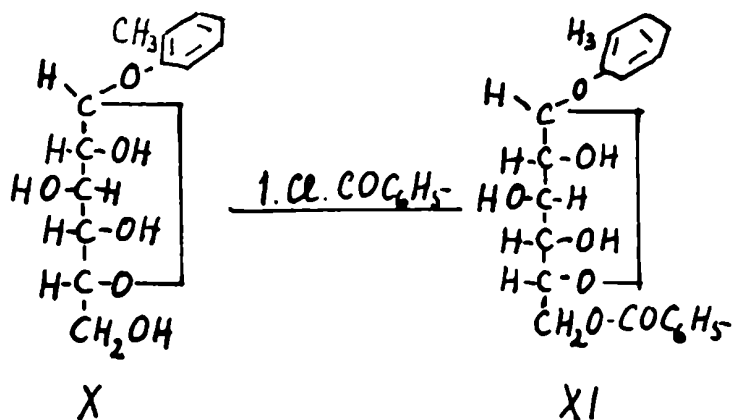


Del estudio de los trabajos sobre la preparación de derivados benzoíloados de monosacáridos por estos métodos, se llega a la conclusión que los factores que influyen en las benzoilaciones se pueden agrupar en cuatro grupos.

- a) La proporción de cloruro de benzoílo usada.
- b) El tiempo y la temperatura de la reacción.
- c) La base usada.
- d) La presencia de solventes.

La proporción de cloruro de benzoílo usada influye claramente en el caso de la benzoilación del hidroxilo primario

que es el más reactivo en estas reacciones. Efectuado la reacción con 1 mol de cloruro de benzilo por mol de hidrato de carbono se obtiene el derivado monosustituído en dicha posición, como lo demostraron Richtmeyer y Yaeke^B (20) en la benzoilación del o-cresil-glucósido (X) a partir del cual obtuvieron el 6-O-benzoil-o-cresil-glucósido (XI) y Lieser y Schweizer (21) en los derivados mercaptálicos de monosacáridos.



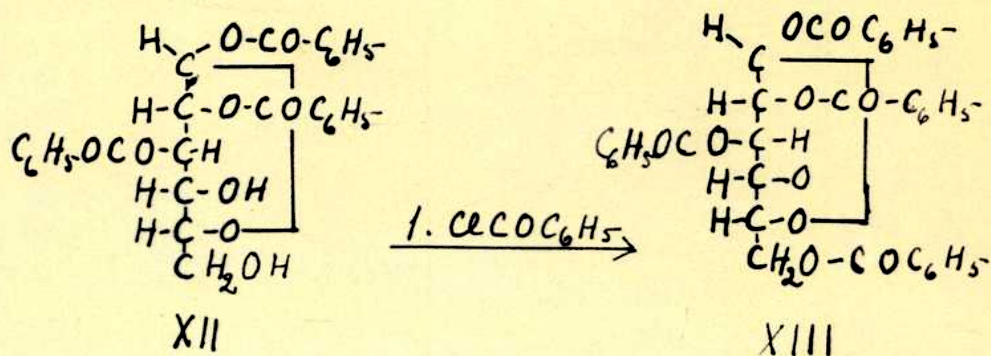
Por ejemplo obtuvieron a partir de la glucosa etilmercaptal la 6-O-benzoil-glucosa-etilmercaptal; de la galactosa-etilmercaptal la 6-O-benzoil-galactosa-etilmercaptal y de la arabinosa etilmercaptal la 5-O-benzoil-arabinosa-etilmercaptal. Los derivados mercaptálicos utilizados por estos autores, las condiciones de reacción y los productos obtenidos están indicados en la tabla I.

TABLE I

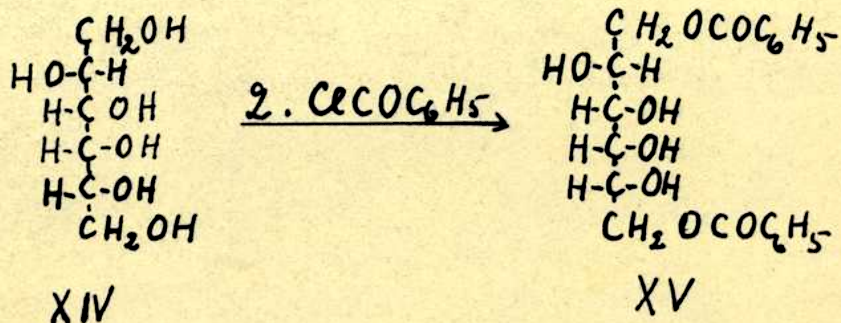
benzoylación de mercaptales de aldósas efectuadas con un mol de cloruro de benzofilo, en piridina, manteniendo la mezcla de reacción 30 minutos a 0°, 3 horas a temperatura ambiente.

Compuesto original	O-benzofil-derivado obtenido	Rendimiento	Cita
Glucosa-etilmercaptal	6-O-benzofil-glucosa-etilmercaptal	54%	21
Galactosa-etilmercaptal	6-O-benzofil-galactosa-etilmercaptal	42%	21
Arabinosa-etilmercaptal	5-O-benzofil-arabinosa-etilmercaptal	73,4%	21
Glucosa-bencilmercaptal	6-O-benzofil-glucosa-bencilmercaptal	36%	21
2-O-metil-glucosa-etilmercaptal	2-O-metil-6-O-benzofil-glucosa-etilmercaptal	70%	21

La especial reactividad del hidroxilo primario fué puesta de manifiesto también por Brigl y Grüner (22) quiénes trataron la 1,2,3-tri-O-benzoil- α -D-glucopiranososa (XII) con 1 mol de cloruro de benzoilo y obtuvieron la 1,2,3,6-tetra-O-benzoil- α -D-glucopiranososa (XIII)

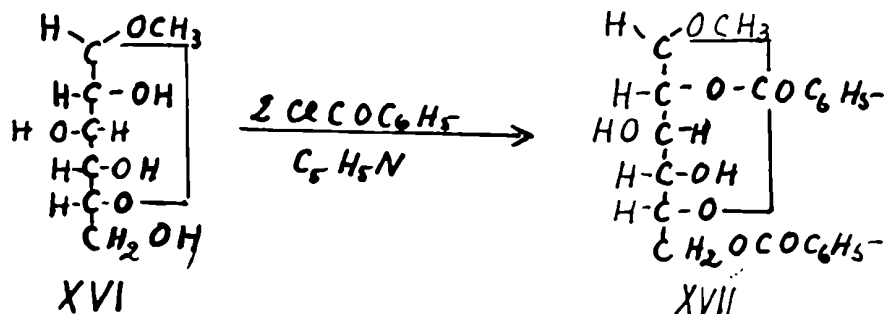


Al benzoilar polialcoholes con dos equivalentes de cloruro de benzoilo, Rammler y Dekker (23) obtuvieron los respectivos α -O-benzoil derivados en los hidroxilos primarios. Por ejemplo cuando el D-arabitol (XIV) disuelto en piridina se trató con 2 moles de cloruro de benzoilo; se obtuvo el 1,6-di-O-benzoil-D-arabitol (XV); disolviendo



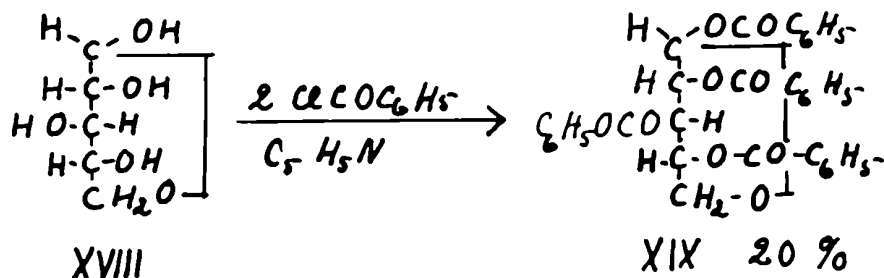
2,4-monobenzal-D-sorbitol en piridina y benzoylando con 2 moles de cloruro de benzofilo, V. Vargha (24) obtuvo el 1,6-di-O-benzoyl-2,4-monobenzal-D-sorbitol con 65% de rendimiento.

Al aumentar la proporción de cloruro de benzofilo a dos moles por mol de azúcar, se benzoyla otro hidroxilo además del primario. Así obtuvieron Lieser y Schweiser (21) a partir de la α -metil-D-glucopiranososa (XVI) y de la β -metil-D-glucopiranososa los respectivos derivados dibenzoylados en las posiciones 2 y 6 (XVII).



El sustituyente existente en el carbono anamérico influye mucho sobre el derivado benzoylado obtenido. Los mismos autores, al benzoylar en iguales condiciones la xilosa (XVIII) con dos moles de cloruro de benzofilo, no obtuvieron el derivado dibenzoylado esperado sino la tetra-O-benzoyl-xilosa (XIX) con un rendimiento del 20%. En este caso se produjo, además de la benzoylación del hidroxilo pri-

mario, la benzoilación de todos los hidroxilos secundarios en igual proporción, aunque con rendimiento bajo.

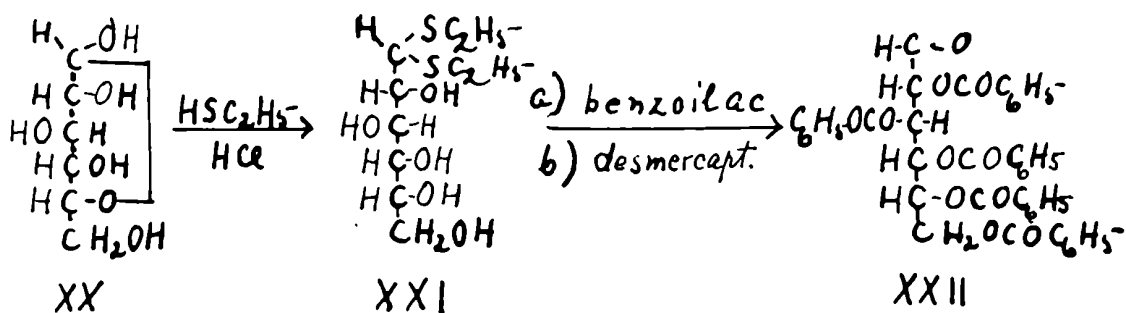


La obtención de derivados benzoilados en el carbono primario de los hidratos de carbono es posible por el uso de cantidades equimoleculares de reactivos (hidrato de carbono - cloruro de benzilo) como se vió en los trabajos de Lieser y Schweizer (21), debido a la mayor reactividad de dicho hidroxilo. Usando cantidades mayores de cloruro de benzilo se obtiene mezclas de productos parcialmente benzoilados, como por ejemplo en el caso de la benzoilación de la fructuosa efectuado por Brigl y Schinle (25) con 6,2 moles de cloruro de benzilo que daba lugar a la 1,3,4,5,-tetra-O-benzoil-fructosa y la 1,3,4,5,6-penta-O-benzoil-fructosa, o a productos totalmente benzoilados como por ejemplo en la benzoilación de la α -D-glucosa efectuada por Fischer y Freudenberg (26). Para lograr un acilación selectiva en otras posiciones diferentes del carbono primario, es indis-

pensable la introducción previa de grupos bloqueantes, fácilmente eliminables después de la acilación.

Brigl y Grüner (27) benzoilaron el derivado dibórico de la D-glucosa con exceso de cloruro de benzoílo, y obtuvieron, después de la eliminación de los grupos bloqueantes, la 2,6-di-O-benzoil-D-glucopiranososa.

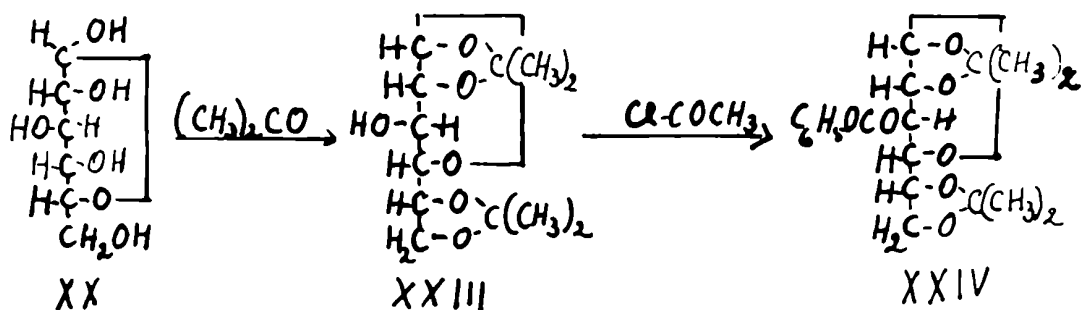
El bloqueo del grupo aldehídico lo realizaron, por ejemplo Brigl y col. (28) con etilmercaptán. Al tratar la D-glucosa (XX) con este reactivo, en presencia de ácido clorhídrico obtuvieron la glucosa dietil-mercaptal (XXI), cuya benzoilación en piridina y posterior desmercaptalización llevó a la 2,3,4,5,6-penta-O-benzoil-aldehído-D-glucosa (XXII).

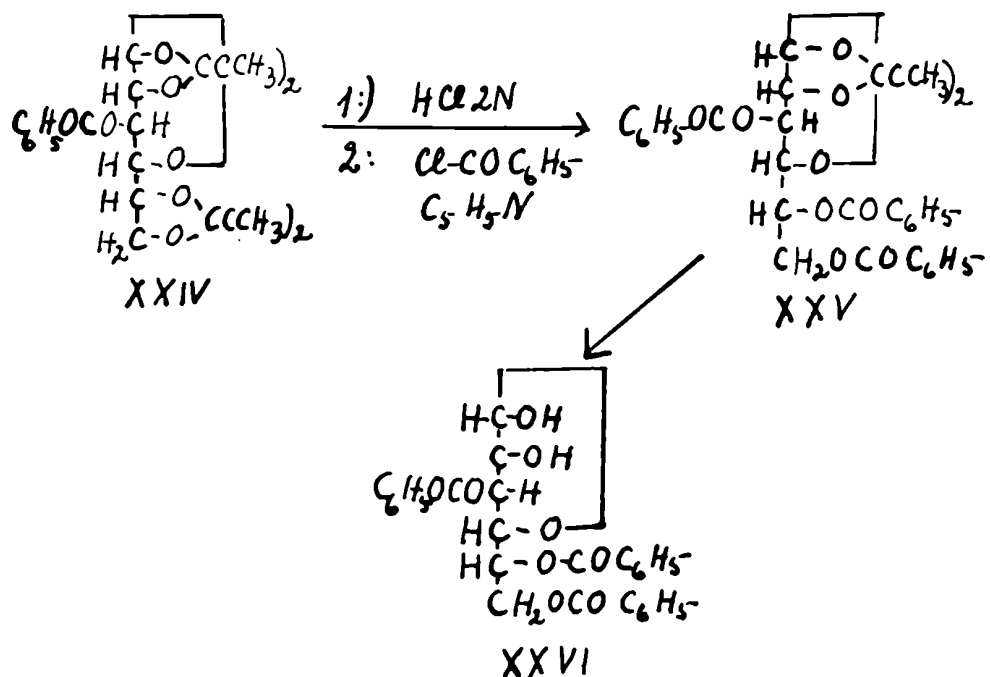


Helferich y col. (29) obtuvieron la 1-flúor-2,3,5-tri-O-benzoil- α -D-glucosa partiendo de la aceto-flúor-glucosa; con trifenil-clorometano en piridina obtuvieron el 6-trife-

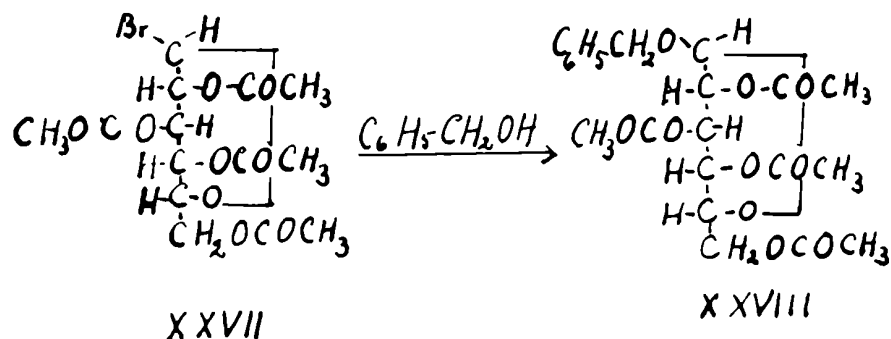
nilmetil-flúor-glucósido, logrando de esta manera el bloqueo del hidroxilo primario; por benzoilación del producto de reacción con cloruro de benzofilo en piridina y eliminación del grupo trifenilmetano en cloroformo con clorhidrico seco obtuvieron la 1-flúor-2,3,5-tri-O-benzoil- α -D-glucosa.

Fischer y Heth (30) usaron isopropiliden derivados para la obtención de glucosa parcialmente benzoilada. Por calentamiento de la glucosa (XX) con acetona obtuvieron la 1,2-5,6-di-O-isopropiliden-D-glucosa (XXIII), cuya benzoilación daba lugar a la 3-O-benzoil-1,2-5,6-di-O-isopropiliden-D-glucosa (XXIV); por hidrólisis con ácido clorhídrico 2N en alcohol y posterior benzoilación obtuvieron el derivado 3,5,6-tri-O-benzoilado (XXV), cuya hidrólisis daba lugar a la 3,5,6-tri-O-benzoil-D-glucosa (XXVI).





Las primeras aplicaciones de haluros acilados de hidratos de carbono se deben a Bodart y Fischer y Fischer (31) quiénes obtuvieron la hepta-acetil-bromo-lactosa por tratamiento de la lactosa con bromuro de acetilo o tratando la octa-O-acetil-lactosa con bromhídrico en acético glacial. El halogenuro ofrece un buen intermediario para sustituir el halógeno por otros grupos, como por ejemplo el metilo, etilo, fenilo, bencilo y naftilo. Slotta y Heller (32) obtuvieron la O-bencil-2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucosa (XXVIII) por tratamiento de la acetobromo-glucosa (XXVII) con alcohol bencílico, en éter.



Algunos metil-glicósidos de monosacáridos fueron descritos por Fischer (33), quién preparó los metil-glicósidos por tratamiento de la D-glucosa en metanol con ácido clorhídrico seco o por calentamiento en presencia de 0.25% de ácido clorhídrico, manteniendo la mezcla en reacción a ebullición.

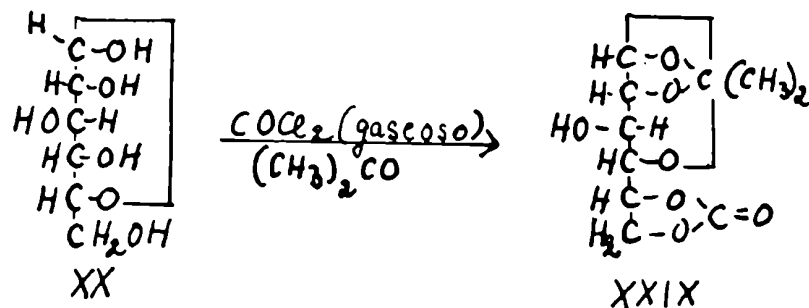
Los metil-ésteres también se pueden obtener por sustitución de otros grupos, como por ejemplo el grupo nitrato, como fué demostrado por O'Meara y Shepherd (34) en el caso de la 1-O-metil-2-O-benzil-4,6-O-etiliden- β -D-glucosa-3-nitrato, obteniendo por Dewar y Mort (35), que la transformaban en la 1,3-di-O-metil-4,6-O-etiliden-2-O-benzil- β -D-glucosa por tratamiento con yoduro de metilo y óxido de plata.

Heffrich y Gnüchtel (36) entre otros, estudiaron los ésteres de ácidos sulfónicos, p-toluen-sulfónicos y metan-

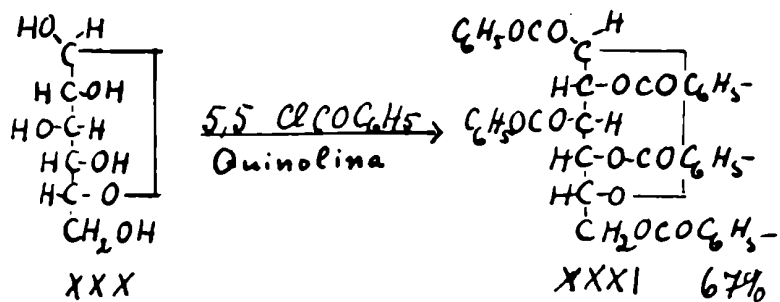
sulónicos. Tratando el monosacárido libre en piridina con 1 mol de cloruro de p-toluensulfonilo e de cloruro de metansulfonilo se obtiene primero el bloqueo del grupo hidroxilo primario; el reactivo reacciona también con los otros hidroxilos al estar el primario bloqueado, como por ejemplo en el caso de la 1,2,3,6-tetra-O-acetil- β -D-glucosa que daba lugar a la 1,2,3,6-tetra-O-acetil-4-metansulfonil- β -D-glucosa por tratamiento con el cloruro del ácido metansulfónico (cloruro de mesilo).

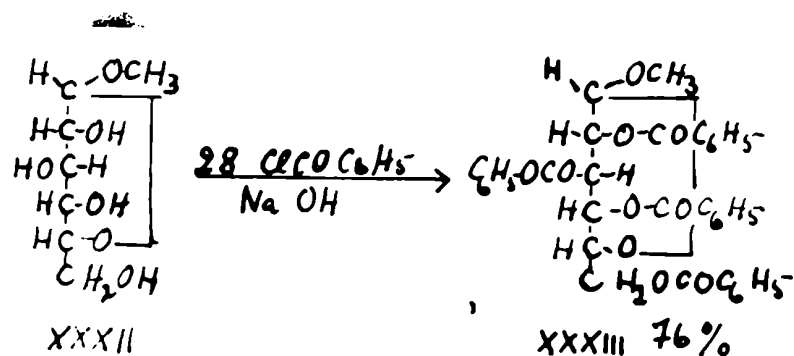
Freudenberg y col. (37) obtuvieron según la técnica de Irvine y Scott (38) los dos benzal-derivados del α -metil-glucósido, por tratamiento de este último con benzaldehído y cloruro de zinc.

Haworth y Porter (39) sintetizaron los dicarbonatos de la glucosa, galactosa y fructosa por tratamiento de las aldosas con cloruro de carbonilo en piridina; por ejemplo por tratamiento de la D-glucosa (XX) en acetona, con cloruro de carbonilo gaseoso obtuvieron la 1,2-isopropilidén-5,6-monocarbonato-D-glucosa (XXIX)



Para obtener derivados totalmente benzoilados, se usaron generalmente relaciones de número de hidroxilos esterificables a cloruro de benzilo de 1:1 hasta 1:7. Una relación 1:1 la utilizaron Fischer y Freudenberg (26) al benzoilar con cloruro de benzilo y quinolina la β -D-glucosa (XX), obteniendo con 67% de rendimiento la 1,2,3,4,6-penta-O-benzoil- β -D-glucosa (XXXI); Schmidt y col. (40) emplearon una relación 1:7 al benzoilar la 1-O-metil- α -D-glucosa (XXXII) con hidróxido de sodio y cloruro de benzilo, obteniendo la 1-O-metil-2,3,4,6-tetra-O-benzoil- α -D-glucosa (XXXIII) con 76% de rendimiento.





En la tabla II se presentan algunos ejemplos de benzolaciones totales.

A pesar de emplearse frecuentemente excesos de cloruro de benzofio, no siempre se logró una benzolación total. Brigl y Schmie (25) benzollaron fructosa con 4 a 6 moles de cloruro de benzofio por mol de azúcar y obtuvieron, respectivamente tetra-O-benzofio y penta-O-benzofio-derivados según las condiciones experimentales.

La influencia del tiempo y de la temperatura de reacción se ve en los trabajos de Odén, de Fiesner y Freudenberg y de Zinner y col.

Odén (42), para obtener derivados totalmente benzollados de azúcares, utilizó 1,3 veces la cantidad teórica de cloruros de benzofio sustituidos en la posición "para" y obtuvo rendimientos cuantitativos empleando tiempos y temperaturas algo mayores a las usadas comúnmente para estas reacciones, compensando así el exceso relativamente pequeño del

TABLA II

Algunos ejemplos de benzilaciones totales.

Producto original	moles de reactivo p.mol de azúcar	medio de reacción	Producto obtenido	rendimiento	Cita
O-metil- α -D-glucosa	28	NaOH	O-metil-2,3,4,6-tetra-O-benzil- α -D-glucosa	76 %	40
α -D-glucosa	5,5	quinolina-cloroformo	1,2,3,4,6-penta-O-benzil- α -D-glucosa	75 %	26
β -D-glucosa	5,5	quinolina-cloroformo	1,2,3,4,6-penta-O-benzil- β -D-glucosa	67 %	26
β -D-manosa	6	quinolina-cloroformo	1,2,3,4,6-penta-O-benzil- β -D-manosa	92 %	41

cloruro de ácido usado. Efectuó la acilación de la α -D-glucosa y de la β -D-glucosa con cloruro de p-bromo-benzóilo en quinolina, manteniendo la mezcla de reacción 4 días a 40°, o la acilación de la α -L-arabinosa y de la β -L-arabinosa con el mismo cloruro de acilo dejando la mezcla de reacción 4 días a 60° (más datos se pueden ver en la tabla III), mientras Fischer y Freudenberg (26) obtuvieron la 1,2,3,4,6-penta-O-benzóil- β -D-glucosa dejando la mezcla del azúcar con cloruro de benzóilo, en quinolina durante 4 horas a temperatura ambiente. (para más datos, vease tabla IV).

Zinner y col. (43) llegaron con la 2-desoxi-D-ribosa a los siguientes resultados: al benzóilar la 2-desoxi-D-ribosa en forma de jarabe, con 6 moles de cloruro de benzóilo en piridina a -10°, obtuvieron con 21% de rendimiento la tetra-O-benzóil-2-desoxi- α -D-ribopiranososa y con 23% de rendimiento la tetra-O-benzóil-2-desoxi- β -D-ribopiranososa, y por benzóilación de la 2-desoxi-D-ribosa cristalina en las mismas condiciones obtuvieron con 41% de rendimiento la tetra-O-benzóil-2-desoxi- β -D-ribopiranososa. Al efectuar la reacción en iguales condiciones, pero cambiando la temperatura (3 minutos a 110°, y enfriando luego a 20°), obtuvieron la tri-O-benzóil- α -D-ribofuranosa con 12% de rendimiento. En el último caso se produjo un cambio de

TABLE III.

Benzoylaciones efectuadas con cloruros del ácido benzóico sustituidos en la posición "para", en quinolina y cloroformo.

Compuesto original	Reactivo acilante	Condiciones de la reacción	Compuesto obtenido	Cita
α -D-glucosa	$\text{P-NO}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{COCl}$	2 días, 30°	penta-O-p.NO ₂ -benzoyl- α -D-glucosa (235°)	42
β -D-glucosa	$\text{P-NO}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{COCl}$	2 días, 30°	penta-O-p.NO ₂ -benzoyl- β -D-glucosa (265°)	42
α -D-glucosa	$\text{P-BrC}_6\text{H}_5\text{COCl}$	4 días, 40°	penta-O-p.Br-benzoyl- α -D-glucosa (180-197°)	42
β -D-glucosa	$\text{P-BrC}_6\text{H}_5\text{COCl}$	4 días, 40°	penta-O-p.Br-benzoyl- β -D-glucosa (2120219°)	42
α -D-galactosa	$\text{P-BrC}_6\text{H}_5\text{COCl}$	5 días	penta-O-p.Br-Benzoyl- α -D-galactosa (207°)	42
β -D-galactosa	$\text{P-BrC}_6\text{H}_5\text{COCl}$	5 días	penta-O-p.Br-benzoyl- β -D-galactosa (130°)	42
α -L-arabinosa	$\text{P-BrC}_6\text{H}_5\text{COCl}$	4 días, 60°	tetra-O-p.Br-benzoyl- α -L-arabinosa (210°)	42
β -L-arabinosa	$\text{P-BrC}_6\text{H}_5\text{COCl}$	4 días, 60°	tetra-O-p.Br-benzoyl- β -L-arabinosa (125°)	42

TABLA IV

Algunos benzoatos de hexosas obtenidos por benzilación directa.

Hexosa	Moles de reactivo p.mol de hexosa	Base y solvente	Tiempo y temperatura	Producto obtenido	pf.	Rendimiento	Nota
D-glucosa	8	NaOH 10%	--	penta-O-benzil-D-glucosa	179°	--	45
D-glucosa	10	NaOH 10%	--	penta-O-benzil-D-glucosa	160-162°	--	48
D-glucosa	6	NaOH 20%	--	penta-O-benzil-D-glucosa	77-79	--	47
D-glucosa	8	NaOH 10%	--	1,2,3,4,6-penta-O-benzil- α -D-glucosa	186-188	15%	26
D-glucosa	5,5	quinolina cloroformo	24 hs t.amb.	1,2,3,4,6-penta-O-benzil- α -D-glucosa	157°	57%	26
D-glucosa	5,5	piridina Cl ₃ CH	-10° 18hs, 0°	1,2,3,4,6-penta-O-benzil- α -D-glucosa	187°	--	44
D-glucosa	5,5	quinolina Cl ₃ CH	4 hs t.amb.	1,2,3,4,6-penta-O-benzil- β -D-glucosa	180°	67%	26
D-glucosa	5,5	piridina Cl ₃ CH	2 hs, 15°	1,2,3,4,6-penta-O-benzil- β -D-glucosa	157°	--	44

TABLA IV (continuación)

Hexosa	Moles de reactivo P.mol de hexosa	Base y solvente	Tiempo y temperatura	Producto obtenido	pf.	Rendimiento	Cita
D-glucosa	9	NaOH 10%	- - -	tetra-O-benzofl-D-glucosa	60-64°	- -	15
galactosa	8	NaOH 10%	- - -	penta-O-benzofl-galactosa	165°	- -	45
galactosa	6	NaOH 20%	- - -	penta-O-benzofl-galactosa	78-82°	- -	47
manosa	6	quinolina Cl ₃ CH	0°, 24hs	1,2,3,4,6-penta-O-benzofl-manosa	161-161,5°	91%	41
fructosa	6	NaOH 20%	- - -	1,3,4,5,6-penta-O-benzofl-fructosa	78-79°	- -	47
fructosa	6	piridina Cl ₃ CH	1 hs -10° 30 hs t.amb.	1,3,4,5,6-penta-O-benzofl-fructosa	124-125°	17%	25
fructosa	8	NaOH 10%	- - -	tetra-O-benzofl-fructosa	108°	- -	45
fructosa	5	piridina Cl ₃ CH	-15°	1,3,4,5-tetra-O-benzofl-fructosa	124°	70%	25
fructosa	5	piridina	15 min. t.amb.	1,3,4,6-tetra-O-benzofl-fructosa	124°	70%	25

estructura, pasando de la forma piranósica a la furanósica, debido al calentamiento en medio básico.

La influencia de la base usada y de la presencia de solventes surge de la comparación de diferentes trabajos. Los primeros trabajos se efectuaron casi exclusivamente con hidróxido de sodio en medio acuoso (método de Schotten-Baumann), obteniéndose mezclas de productos benzilados y rendimientos bajos. Actualmente predomina el uso de bases orgánicas, especialmente piridina. Levene y col. (44) efectuaron la benzilación de la glucosa en presencia de piridina; Fischer y col. (26) en quinolina, pero no hay datos que indiquen la ventaja de una de las dos bases para la síntesis de derivados acilados de hidratos de carbono a no ser el menor precio de la piridina y su solubilidad en agua en cualquier proporción, lo cual permitiría una más fácil eliminación de la misma de la mezcla de reacción.

Usando el método de Schotten-Baumann en presencia de soluciones de hidróxido de sodio al 10-20 %, las condiciones de reacción son más drásticas y se obtienen mezclas de productos y rendimientos bajos de los derivados totalmente benzilados, como por ejemplo en la benzilación de la α -D-glucosa efectuada por Fischer y Freudenberg (26) que daba

lugar a la 1,2,3,4,6-penta-O-benzosil-K-D-glucosa con 15% de rendimiento. Utilizando quinolina como base, en lugar del hidróxido de sodio, los mismos autores obtuvieron la 1,2,3,4,6-penta-O-benzosil-β-D-glucosa con 67% de rendimiento y Briq̄ y Schinle (25) obtuvieron al benzosilar la fructosa en piridina la 1,3,4,6-tetra-O-benzosil-fructosa con 70% de rendimiento, de esta comparación de los rendimientos resulta la ventaja de la aplicación de bases orgánicas introducida por Rinhorn y Holland (17).

El solvente usado en la mayoría de los casos es el cloroformo y tiene por finalidad llevar a cabo la reacción en un medio homogéneo y atenuar las condiciones de reacción. En el caso de usar piridina en exceso, la función es la misma que la mencionada anteriormente.

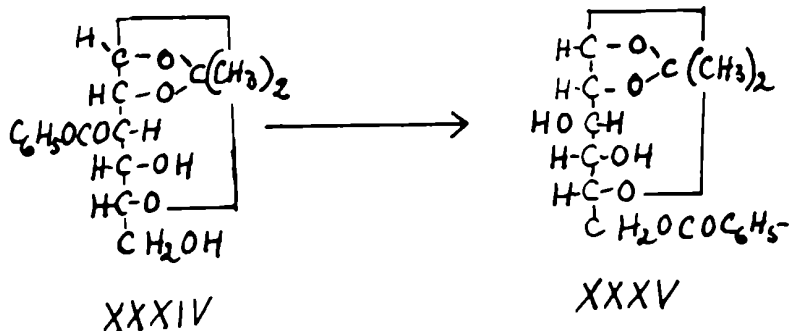
Los trabajos sobre diacéridos benzosilados datan de 1889. Skraup (45), Baumann (15), Hintikka (46), Panomoff (47), Miery (48) y Gatterbauer (49) obtuvieron por aplicación de la reacción de Schotten-Baumann mezclas de benzoatos de diacéridos. Nos referiremos a los mismos en el capítulo III.

Alteraciones estructurales observadas en algunos derivados parcialmente benzoylados.

En los derivados parcialmente benzoylados pueden tener lugar migraciones de los grupos esterificantes. Los primeros trabajos sobre migraciones de grupos benzoylo fueron efectuados por Fischer (50) sobre el mono-O-benzoyl-glicol. Fischer observó que al calentar mono-O-benzoyl-glicol en cloroformo obtenía glicol y di-O-benzoyl-glicol; tratando el di-O-benzoyl-glicol con glicol llegaba a aislar mono-O-benzoyl-glicol; en este caso se trata de una reacción reversible de transesterificación.

Hudson y col. (51) observaron migraciones de un grupo benzoylo por fusión del 1,4-di-O-benzoyl-galactitol, que daba lugar al 1,6-di-O-benzoyl-galactitol.

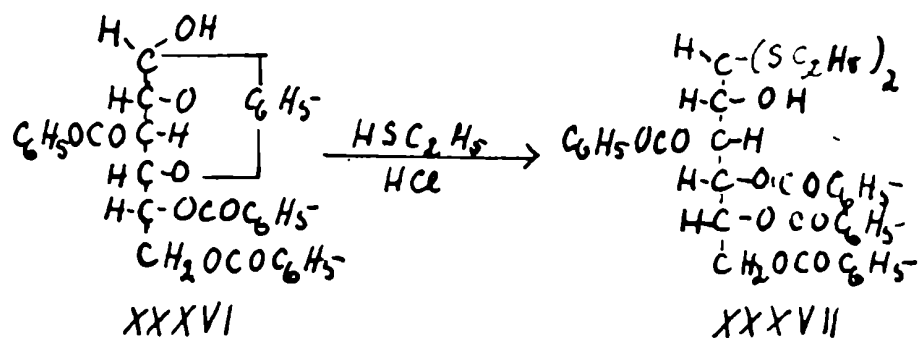
Ohle (52) y Josephson (53) describieron la migración del grupo benzoylo de la 3-O-benzoyl-1,2-isopropiliden-D-glucosa (XXXIV) y del acetilo de la 3-acetil-1,2-isopropiliden-D-glucosa a la posición 6, obteniéndose la 6-O-benzoyl-1,2-isopropiliden-D-glucosa (XXXV) y la 6-acetil-1,2-isopropiliden-D-glucosa. Dichas migraciones se producen en medio acuoso y se pueden seguir polarimétricamente entre pH 5 y 8 (a pH 9 son tan rápidas que no se pueden medir.



En estos casos se trata de migraciones de sustituyentes de carbonos secundarios hacia carbonos primarios, pero se conocen también otras migraciones, como la descrita por Ness y Fletcher (54) en el caso de la 1,3,5-tri-O-benzoyl- α -D-ribofuranosa en piridina acuosa, que se transpone en la 2,3,5-tri-O-benzoyl- α -D-ribofuranosa en cuyo caso el benzoylo del carbono 1 migró al carbono 2, y las descritas por Schmidt y Schmadel (55) en que el grupo galofilo de la 1-galofil- α -D-glucopiranososa migra a la posición 2 dando lugar a la 2-galofil- α -D-glucopiranososa en solución de piridina acuosa, de metanol amoniacal, o de metanol - metóxido de sodio.

Existen también casos de migraciones de grupos benzoylos en medio ácido como la descrita por Brigl y Schinle (56) en el caso de la 2,3,5,6-tetra-O-benzoyl-D-glucosa (XXXVI) que reacciona en medio clorhídrico con etilmer-

captán, dando la 3,4,5,6-tetra-O-benzoil-D-glucosa-diethyl-mercaptal (XXXVII).

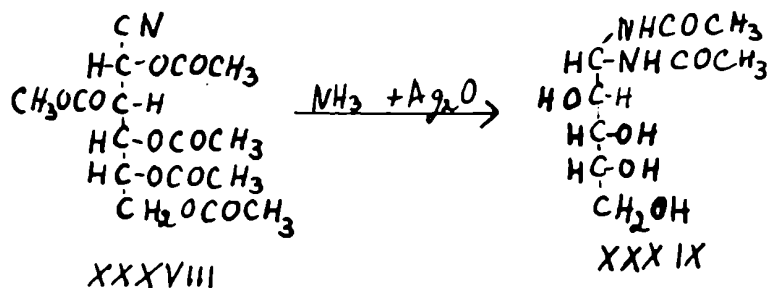


y la migración descrita por Hess y col. (54) de la 2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-ribose que en un medio de diclorometano con ácido bromhídrico en acético daba lugar a la 1,3,5-tri-O-benzoil- α -D-ribose.

ACCION DEL AMONIACO SOBRE MONOSACARIDOS ACILADOS.

Por la acción del amoníaco sobre los derivados acilados de las aldosas se obtienen con rendimientos variables las N,N'-diacil-aldosilidendiaminas y las N-acil-aldosilaminas. dicha reacción va acompañada de una degradación en el caso de los nitrilos de los ácidos aldónicos acilados, de los que se obtienen las N,N'-diacil-aldosilidendiaminas con un carbono menos que el nitrilo original.

Los primeros trabajos sobre la obtención de derivados N-acilados en el carbono 1 de los hidratos de carbono datan de 1893. A. Wohl (57) obtuvo a partir de los nitrilos acetilados de monosacáridos, por acción del amoníaco en presencia de óxido de plata, N,N'-diacetil-aldosilidendiaminas con un átomo de carbono menos que el azúcar original. Obtuvo por ejemplo a partir del 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-glucosonitrilo (XXXVIII) la N,N'-diacetil-D-arabinosilidendiamina (XXXIX).



Maquenne (58) y Hockett (59) demostraron que la reacción de degradación de nitrilos acilados también se producía en ausencia del óxido de plata; obtuvieron por degradación en medio amoniacal, a partir del tetra-O-acetil-D-xilononitrilo la N,N'-diacetil-D-treosilidendiamina.

La obtención de N,N'-diacil-aldosilidendiaminas con un carbono menos que el nitrilo original, se aplicó a los nitrilos acetilados, propionilados y benzoylados de los ácidos aldónicos indicados en la tabla B.

Esta reacción era general para los nitrilos acilados de los ácidos aldónicos estudiados, obteniéndose las N,N'-diacil-aldosilidendiaminas correspondientes, excepto en el caso del 2,3,4,5,6,7-hexa-O-acetil-D-glicero-D-guloheptononitrilo (XI) estudiado por Hockett y Chandler (60) que daba lugar a la N-acetil-D-glucofuranosilamina (XLI) de pf. 189-191° y $[\alpha]_D^{20}$ 86,7; esta fué también obtenida por los mismos autores por amonólisis de la 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-aldehído-D-glucosa (XLII) y por Nieman y Hays (61) por amonólisis de la 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- β -D-glucosa (XLIII).

TABLA V

Acción del amoníaco sobre nitrilos acilados de ácidos aldónicos.

Cumpuesto original	Medio de reacción	Compuesto obtenido	Rendimiento	pf ; $\langle \alpha \rangle_D$	Nota
2,3,4,5-tetra-O-acetil-D-arabonitrilo	H ₂ O	N,N'-diacetil-D-eritrosilidendiamina	40%	210° - -	95
2,3,4,5-tetra-O-acetil-L-arabonitrilo	H ₂ O	N,N'-diacetil-L-eritrosilidendiamina	45%	210°; -7,9 (agua)	96
2,3,4,5-tetra-O-acetil-D-xilonitrilo	H ₂ O	N,N'-diacetil-D-treosilidendiamina	30%	- - - - -	58
			78%	165-7°; -10,8 (agua)	59
2,3,4,5-tetra-O-acetil-L-xilonitrilo	H ₂ O-AG ₂ O	N,N'-diacetil-L-treosilidendiamina	30%	165-7°; +10,2 (agua)	85
	H ₂ O		70%	- - - - -	87
2,3,4,5-tetra-O-acetil-D-fuconitrilo	H ₂ O-AG ₂ O	5-desoxi-N,N'-diacetil-D-lixosilidendiamina	40%	233° - - -	97
2,3,4,5-tetra-O-acetil-L-ramnonitrilo	etanol	5-desoxi-N,N'-diacetil-L-arabosilidendiamina	35%	202-4°; +19,8 (agua)	86

TABLA V (continuación)

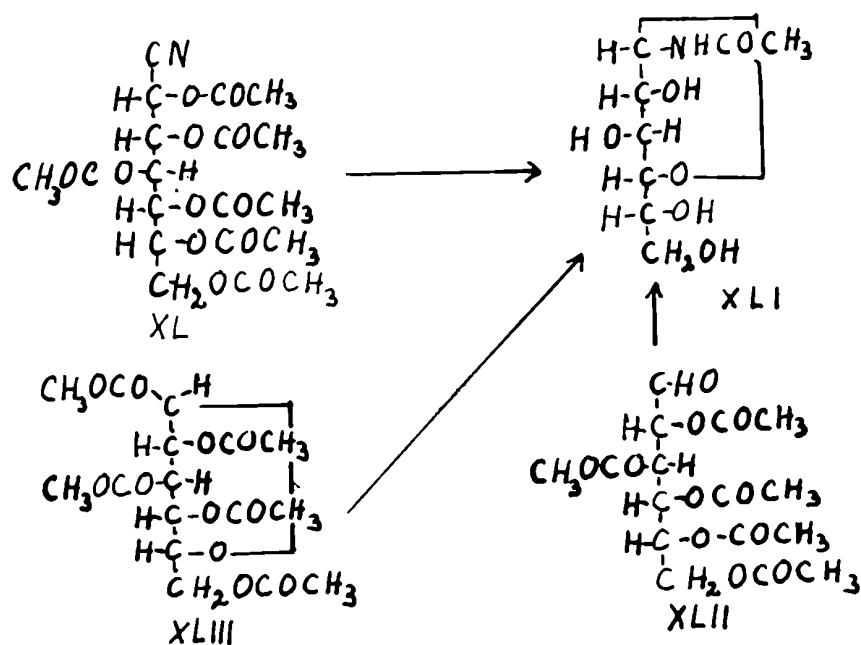
Compuesto original	Medio de reacción	Compuesto obtenido	Rendimiento	pf. (K)	Cita
2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-manononitrilo	H ₂ O -Ag ₂ O	N,N'-diacetil-D-arabinosilidendiamina	30%	187°; -9,5 (agua)	95
2,3,4,5,6-penta-O-acetil-D-galactononitrilo	H ₂ O -Ag ₂ O	N,N'-diacetil-D-lixosilidendiamina	40% 72%	220-2° -9,2 (agua)	104 84
2,3,4,5,6,7-hexa-O-acetil-D-glicero-D-galactononitrilo	metanol	N,N'-diacetil-D-manosilidendiamina	34%	219°	67
2,3,4,5,6-penta-O-acetil-7-desoxi-L-glicero-L-galactononitrilo	metanol	N,N'-diacetil-L-ramnosilidendiamina	40%	239-240° +23,1 (agua)	68 66
2,3,4,5,6,7-hexa-O-acetil-D-glicero-L-manononitrilo	metanol	N,N'-diacetil-D-galactosilidendiamina	34,6%	186-7°	69
2,3,4,5,6,7-hexa-O-acetil-D-glicero-D-guloheptononitrilo	H ₂ O	N-acetil-D-glucofuranosilamina	26% 30%	189-191° +86,7 (agua)	60 77
2,3,4,5,6,7-hexa-O-acetil-D-glicero-D-idoheptononitrilo	metanol	N-acetil-D-glucofuranosilamina	24,9%	201-2° +86,2 (agua)	71

TABLA V (continuación)

Compuesto original	Medio de reacción	Compuesto obtenido	Rendimiento	pf. <i>(α_D)</i>	Cita
2,3,4,5,6-penta-O-propionil-D-glucononitrilo	H ₂ O - Ag ₂ O	N,N'-dipropionil-D-arabinosilidendiamina	33%	177-8°; -9,8 (agua)	101
2,3,4,5,6-penta-O-propionil-D-galactononitrilo	H ₂ O - Ag ₂ O	N,N'-dipropionil-D-lisosilidendiamina	30%	180-2°; -8,5 (agua)	101
2,3,4,5-tetra-O-benzofl-L-ramnononitrilo	etanol	5-desoxi-N,N'-dibenzofl-L-arabinosilidendiamina	13%	225-6°; -2,1 (piridina)	86
2,3,4,5-tetra-O-benzofl-L-arabononitrilo	metanol	N,N'-dibenzofl-L-eritrosilidendiamina	19%	220°; +13,1 (piridina)	98
2,3,4,5-tetra-O-benzofl-D-xilononitrilo	metanol	N,N'-dibenzofl-D-treosilidendiamina	18,3%	189-190°; +1,7 (piridina)	98
2,3,4,5,6-penta-O-benzofl-D-glucononitrilo	metanol	N,N'-dibenofl-D-arabinosilidendiamina	41,7%	198-9°; +5,19 (piridina)	98
	etanol	5-O-benzofl-N,N'-dibenzofl-D-arabinosilidendiamina	25%	206-8°; +8,5 (piridina)	86

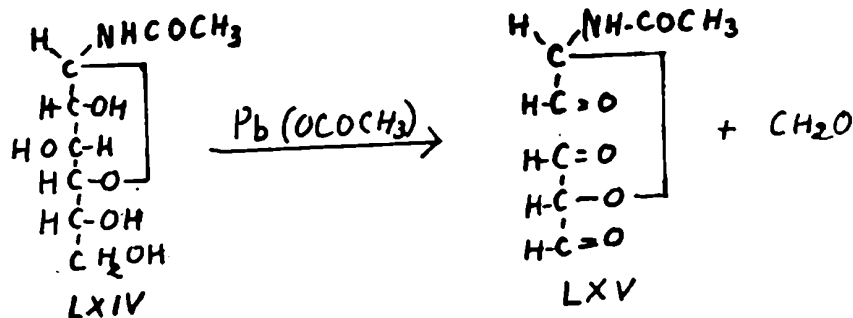
TABLE I (continuación)

Compuesto original	Medio de reacción	Compuesto obtenido	Rendimiento	mp, (decoloración)
2,3,4,5,6-penta-O-benzofl-D-mannonitrilo	etanol	5-O-benzofl-N,N'-di-benzofl-D-arabinosilidendiamina	14%	205-7°; +8,5 (piridina)
2,3,4,5,6-penta-O-benzofl-D-galactonitrilo	metanol	N,N'-dibenzofl-D-11-xosilidendiamina	30,5%	244-5°; +4,6 (piridina) 100
	etanol	5-O-benzofl-N,N'-di-benzofl-D-11-xosilidendiamina	22%	224°; +36,1 (piridina) 86
2,3,4,5,6,7-hexa-O-benzofl-D-glucos-D-galactonitrilo	metanol Ag ₂ O	N,N'-dibenzofl-D-mannosilidendiamina N-benzofl-D-mannopiranosilidamina	33%	226°; +3,6 (piridina) 67
			--	254° 67



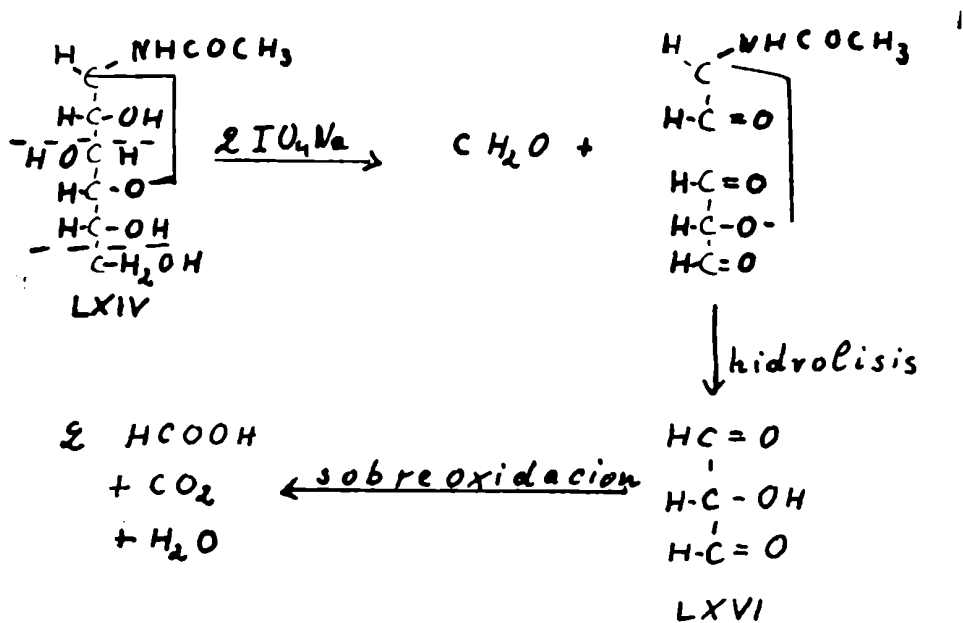
La existencia de un ciclo furanésico se demostró por oxidación con tetraacetato de plomo y con periodato de sodio. Hockett y col. (62) efectuaron estudios sobre la oxidación con tetraacetato de plomo de N,N' -diacil-aldosilidendiaminas (N,N' -diacetil-D-treosilidendiamina, N,N' -diacetil-D-arabinosilidendiamina, N,N' -diacetil-D-eritrosilidendiamina y N,N' -diacetil-D-lixosilidendiamina) y de polialcoholes. Extendieron los resultados obtenidos a la N -acetil-D-glucosilidendiamina en la cual comprobaron por el consumo de oxidante que se trataba de una monoamida y

además confirmaban la existencia de un ciclo furanósico por la obtención de formaldehído durante la oxidación, el cual se identificó como su 2,4-dinitro-fenilhidrazona. La reacción de oxidación sería la siguiente,



Nieman y Hays (61) aplicaron la oxidación con tetraacetato de plomo y con periodato de sodio a la N-acetil-D-glucofuranosilamina (LXIV) de pf. 193-42 y $[\alpha]_D^{20}$ 86,3 (agua) obtenida por amonólisis de la 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-aldehído-D-glucosa y de la 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- β -D-glucosa y a la N-acetil-D-glucopiranosilamina de $[\alpha]_D^{20}$ 2,2 obtenida por ellos por acción de cetena sobre la 1-amino-D-glucosa (63) y por Brigl y Keppler (64) por acetilación y amonólisis de la 1-amino-D-glucosa. Fenómenos de sobreoxidación observados en el caso de la N-acetil-D-glucofu-

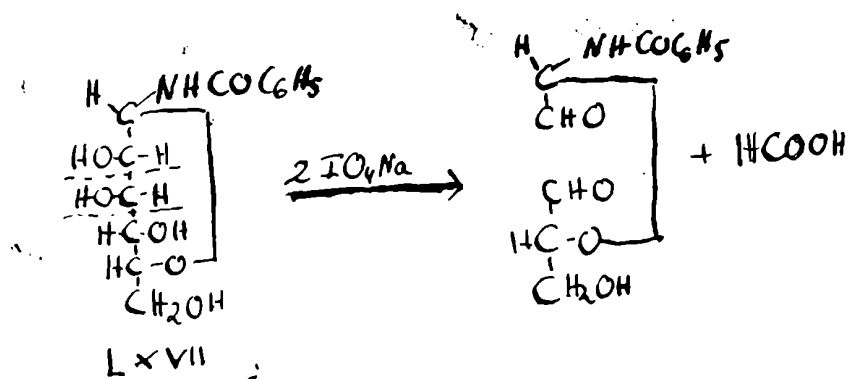
ranosilamina por Nieman y Hays (61) condujeron a gastos mayores de oxidante que los esperados teóricamente. Fleury (65) explicó este fenómeno como un ataque lento del exceso de oxidante presente sobre el dialdehído tartárico (LXVI), obtenido por hidrólisis lenta en medio ácido, ataque que va acompañado de desprendimiento de anhídrido carbónico. Se confirmó la existencia de ciclos por acetilación y se adoptó la estructura furanósica por el formaldehído producido durante las oxidaciones.



Paulofeu y Deferrari (66) sometieron la N-acetilglucofuranosilamina a la oxidación con periodato de sodio a 35° y observaron que después de 15 minutos se habían consumido 1,19 moles de oxidante y se había formado 1 mol de formaldehído, que corresponde al proceso de oxidación normal; a los 135 minutos, con un consumo de 2,16 moles de periodato de sodio solo se habían producido 0,32 moles de ácido fórmico, lo cual indica que la oxidación procedía hasta ese momento en forma casi normal para una estructura furanósica. A partir de ese momento continuó aumentando el consumo de oxidante y a los 1195 minutos se habían consumido 4,21 moles de periodato de sodio y se habían formado 2,11 moles de ácido fórmico, cuya obtención solo se puede explicar en base a la sobreoxidación propuesta por Fleury (65).

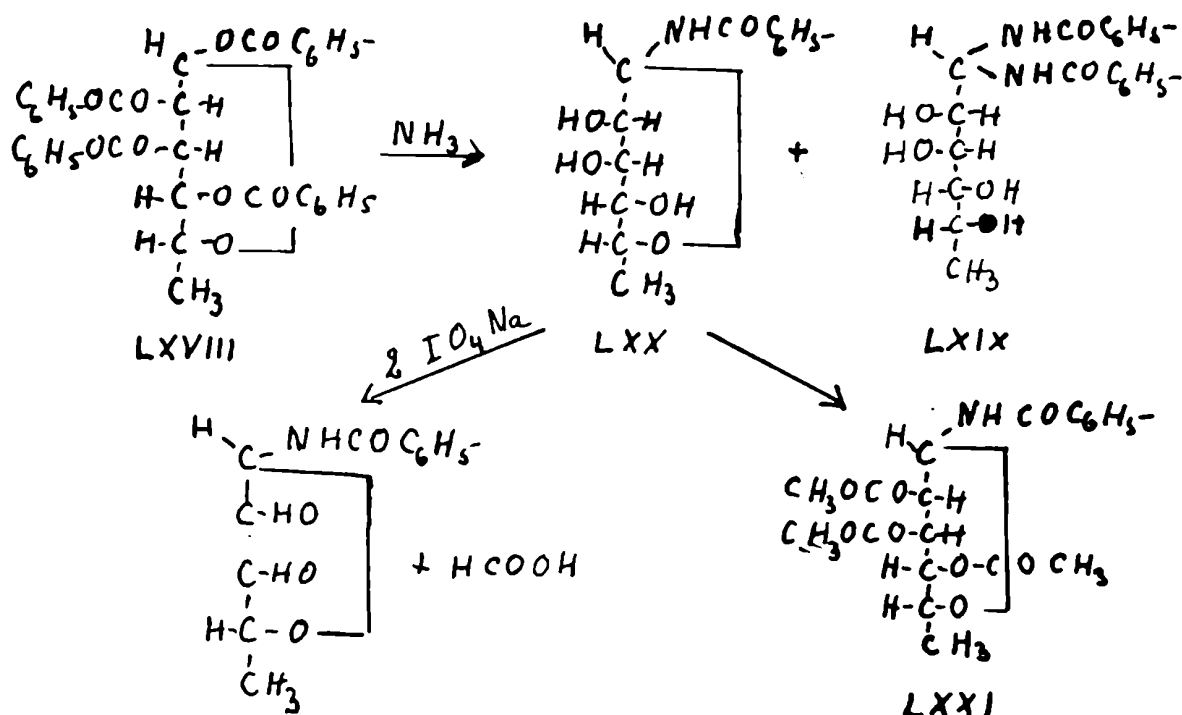
Rizzi y col. (67) obtuvieron por amonólisis del 2,3,4,5,6,7-hexa-O-benzóil-D-glicero-D-gala-heptonitrilo N,N'-dibenzóil-D-manoalidendiamina y N-benzóil-D-manopiranosilamina (LXVII). La estructura de la última, que también fué obtenida por amonólisis de la penta-O-benzóil-D-manosa fué estudiada por Paulofeu y Deferrari (66) por oxidación con periodato de sodio; esta sustancia

despues de 24 horas consumió 2 moles de periodato de sodio y produjo un mol de ácido fórmico sin poderse detectar formaldehido. Este resultado confirma la existencia de un ciclo piranósico.



Deferrari y Pauloseu (66,68) obtuvieron por amonólisis de la 1,2,3,4-tetra-O-benzóil-~~X~~-L-ramnosa (LXVIII) en metanol-amoníaco la N,N'-dibenzóil-L-ramnosilidendi-
amina (LXIX) y la N-benzóil-L-ramnopiranosilamina (LXX). Efectuaron la demostración de la estructura de la última por oxidación con periodato de sodio, en la cual se consumieron 2 moles de periodato de sodio por mol de sustancia y se obtuvo un mol de ácido fórmico; con una N-benzóil-aldosilamina de estructura acíclica se hubieran gastado 3 moles de periodato de sodio y se hubieran obtenido 2 moles de ácido fórmico y un mol de aldenido acético. Estos datos de oxidación como la obtención de una tri-O-

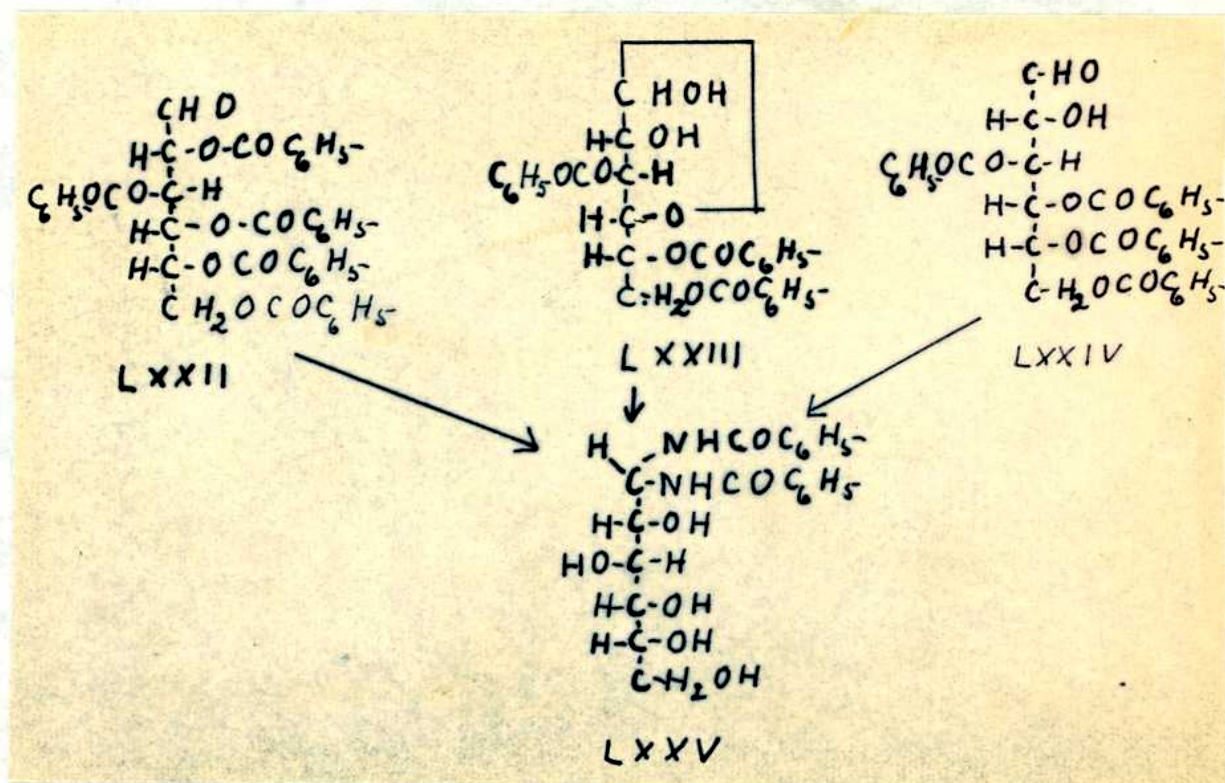
acetil-N-benzóil-ramnosilamina (LXXI) por acetilación, confirman la estructura cíclica piranósica.



22

• La amonólisis de los esteres de monosacáridos fué iniciada por Brigl y col. (67) en 1931, quienes estudiaron la acción del amoniaco metanólico sobre la 2,3,4,5,6-penta-O-benzóil-aldehído-D-glucosa (LXXII), la 3,4,5,6-tetra-O-benzóil-aldehído-D-glucosa (LXXIV) y la 3,5,6-tri-O-benzóil-D-glucofuranosa (LXXIII) y obtuvieron en

los tres casos la N,N'-dibenzoil-D-glucosilidendiamina (LXXV).



Esta reacción se aplicó en los sucesivos a monosacáridos acetilados y benzoilados con el grupo aldenídico libre (LXXII) (67), con estructura furanósica (LXXIII) (67) o con estructura piranósica como en el caso de la 1,2,3,4,6-penta-O-benzoil- β -D-galactosa (69).

Los rendimientos de N,N'-dibenzoil-aldosilidendiaminas y N-acil-aldosilaminas están indicadas en la tabla VI, resultando de la comparación de los mismos, que los rendimientos de N,N'-diacil-aldosilidendiaminas son mayores en

TABLA VI

N,N'-diacil-aldosilidendiaminas y N-acil-aldosilaminas obtenidas por amonolisis de monosacáridos acilados.

Compuesto original	Medio de reacción	Compuesto obtenido	Rendimiento	pf, $\{\alpha\}_D$	Nota
2,3,4-tri-O-acetil-aldehído-L-eritrosa	agua	N,N'-diacetil-L-eritrosilidendiamina	- - -	210°; -7,9 (agua)	103
1,2,3,4-tetra-O-acetil-β-D-ribosa	metanol	N,N'-diacetil-D-ribosilidendiamina	25,4%	154-5°; +14,7 (agua)	98
2,3,4,5-tetra-O-acetil-aldehído-L-arabinosa	metanol	N,N'-diacetil-L-arabosilidendiamina	50%	189-191°; +9,79 (agua)	78
1,2,3,4-tetra-O-acetil-α-L-arabinosa	metanol	N,N'-diacetil-L-arabosilidendiamina	7,9%	193-4°; +8,8 (agua)	98
1,2,3,4-tetra-O-acetil-α-D-lixosá	metanol	N,N'-diacetil-D-lixosilidendiamina	46%	230-1°; -9,2 (agua)	84,99 100
1,2,3,4-tetra-O-acetil-α-L-ramnosa	metanol	N,N'-diacetil-L-ramnosilidendiamina	38,6%	238-9°; +23,1 (agua)	68,66
1,2,3,4,6-penta-O-acetil-β-D-manosa	metanol	N,N'-diacetil-D-manosilidendiamina	35%	218-9°; +13,8 (agua)	102

Tabla VI (continuación)

Compuesto original	Medio de recepción	Compuesto obtenido	Rendimiento	Yf. (X)	Yf. (X)	Yf. (X)
2,3,4,5,6-pentaoacetil- β -D-galactosa	metanol	N,N'-diacetil- β -galactosil- <i>tosilidina</i>	49%	196-7°	69,81	69,81
1,2,3,5,6-pentaoacetil- α -D-galactosa	metanol	N,N'-diacetil- α -galactosil- <i>tosilidina</i>	44,5%	190-5°	69	69
1,2,3,5,6-pentaoacetil- β -D-galactosa	metanol	N,N'-diacetil- β -galactosil- <i>tosilidina</i>	41,2%	192-3°	69	69
1,2,3,4,6-pentaoacetil- α -D-galactosa	metanol	N,N'-diacetil- α -galactosil- <i>tosilidina</i>	26,5%	189-190°	69	69
1,2,3,4,6-pentaoacetil- β -D-galactosa	metanol	N,N'-diacetil- β -galactosil- <i>tosilidina</i>	24,4%	192-195°	69	69
2,3,4,5,6-pentacetil- β -D-galactosa	metanol	N-acetil- β -glucosil- <i>tosilidina</i>	45%	199-4°; 86 (agua)	61	61
1,2,3,4,6-pentacetil- β -D-galactosa	agua	"	56%	189-191°; 400,7 (agua)	60	60
1,2,3,4,6-pentacetil- β -D-galactosa	metanol	N-acetil- β -glucosil- <i>tosilidina</i>	8%	193-4°; 86,3 (agua)	61	61

Tabla VI (continuación)

Compuesto original	Medio de reacción	Compuesto obtenido	Rendie miento	pf. <i>(X₂)</i>	cita
1,2,3,4,-tetra-O-benzofl- β-D-ribosa	metanol	N,N'-dibenzofl-D-ribo- sillidendiamina	35%	190°; -7,3 (piridina)	98
1,2,3,4,-tetra-O-benzofl- β-L-arabinosa	metanol	N,N'-dibenzofl-L-ara- binosillidendiamina	35,6%	197-8°; -5,2 (piridina)	98
1,2,3,4,-tetra-O-benzofl- α-D-lixosa	metanol	N,N'-dibenzofl-D-lixo- sillidendiamina	30%		100 99
1,2,3,4,-tetra-O-benzofl- α-D-xilosa	metanol	N,N'-dibenzofl-D-xilo- sillidendiamina	30%	184-5°; -2,2 (piridina)	98
1,2,3,4,-tetra-O-benzofl- α-L-rannosa	metanol	N,N'-dibenzofl-L-ran- nosillidendiamina	19%	222-3°; +14,4 (piridina)	68 66
1,2,3,4,6-penta-O-ben- zofl-α-D-manosa	metanol	N-benzofl-L-rannopira- nosilamina	1,84%	240-1°; +10,6 (piridina)	68 66
		N,N'-dibenzofl-D-mano- sillidendiamina	20,8%	225-6°; +2,8 (piridina)	102
		N-benzofl-D-manopirano- silamina	6%	253-4°; +6,4 (piridina).	102

Tabla VI (continuación)

Compuesto original	Medio de reacción	Compuesto obtenido	Rendimiento	Pf. $\{\alpha\}$	cita
1,2,3,4,6-penta-O-benzofl- β -D-manosa	metanol	N,N'-dibenzofl-D-manosilidendiamina	20%	225-6°; +2,8 (piridina)	102
1,2,3,4,6-penta-O-benzofl- α -D-galactosa	metanol	N-benzofl-D-manopiranosilamina	8%	253-4°; +6,8 (piridina)	102
2,3,4,5,6-penta-O-benzofl-aldehído-D-glucosa	metanol	N,N'-dibenzofl-D-galactosilidendiamina	35%	207°; -6,2 (piridina)	69
3,4,5,6-tetra-O-benzofl-D-glucosa	metanol	N,N'-dibenzofl-D-glucosilidendiamina	42% 42%	202°; +1,5 (piridina)	67
3,5,6-tri-O-benzofl-D-glucosa	metanol	N,N'-dibenzofl-D-glucosilidendiamina	78%	202°;	67
1,2,3,4,6-penta-O-benzofl- α -D-glucosa	metanol	N,N'-dibenzofl-D-glucosilidendiamina	16%	202°;	67
1,2,3,4,6-penta-O-benzofl- β -D-glucosa	metanol	N,N'-dibenzofl-D-glucosilidendiamina	19-21%	201-2°; +1,3 (piridina)	71
	metanol	N,N'-dibenzofl-D-glucosilidendiamina	18,5%	197-8°	71 70

TABLA VI (continuación)

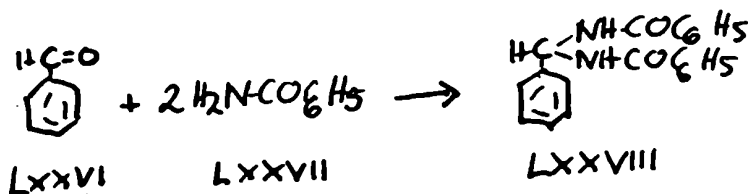
Compuesto original	Medio de reacción	Compuesto obtenido	Rendimiento	pf	literatura
2, 3, 4, 6-tetra-O-benzofl-D-glucosa	metanol	N, N'-dibenzofl-D-glucosilidendiamina	28%	- - - - -	70
2, 3, 5, 6-tetra-O-benzofl-D-glucosa	metanol	N, N'-dibenzofl-D-glucosilidendiamina	62, 3%	- - - - -	70
1, 2, 3, 6-tetra-O-benzofl-D-glucosa	metanol	N, N'-dibenzofl-D-glucosilidendiamina	cromat. detect.	- - - - -	70
1-O-acetil-2, 3, 4, 6-tetra-O-benzofl-D-glucosa	metanol	N, N'-dibenzofl-D-glucosilidendiamina	32, 5%	- - - - -	70
1, 2, 3, 4, 6-penta-O-benzofl-D-glucosa	propanol-2	6-O-benzofl-N, N'-dibenzofl-D-glucosilidendiamina	- - -	208-90; +6, 3 (piridina)	87
1, 2, 3, 4, 6-penta-O-benzofl-D-galactosa	propanol-2	6-O-benzofl-N, N'-dibenzofl-D-galactosilidendiamina	- - -	220-10;	87
3, 4, 5, 6-tetra-O-benzofl-2-tioetil-aldehido-D-glucosa	metanol	2-tioetil-N-benzofl-D-glucosilammina	89%	186-190	67

Los acetatos y benzoatos de monosacáridos con el grupo aldehídico libre o con estructura furanósica que en los ésteres con estructura piranósica. Por ejemplo Deferrari y Deulofeu (69) obtuvieron la N,N'-diacetil-D-galactosilidendiamina por amonólisis de la 2,3,4,5,6-penta-O-acetil-aldehído-D-galactosa con 49%, de la 1,2,3,5,6-penta-O-acetil- α -D-galactosa con 44,5% y de la 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- α -D-galactosa con 26,5% de rendimiento. Otros autores obtuvieron la N,N'-dibenzoil-D-glucosilidendiamina a partir de la 3,4,5,6-tetra-O-benzoil-aldehído-D-glucosa con 78% (67), de la 2,3,5,6-tetra-O-benzoil-D-glucosa con 62% (70) y a partir de la 1,2,3,5,6-tetra-O-benzoil- β -D-glucosa con 18,5% (71) de rendimiento. Pueden verse otros ejemplos en la tabla VI.

Las variaciones de rendimientos observados se explican en la mayor facilidad de apertura de los ciclos furanósicos, siendo los rendimientos de N,N'-diacil-aldosilidendiaminas en este caso similar a los de los ésteres con el grupo aldehídico libre, de cuya existencia o formación depende la obtención de los N-acil-derivados en el carbono 1. Los ciclos piranósicos son más estables; su apertura con formación del grupo aldehídico durante la amonólisis

sis se ve dificultada en relación con los ciclos furanásicos y se nota cualitativamente en el menor rendimiento en N,N'-diacil-aldosilidendiamina.

Wohl supuso que la formación de N,N'-diacetil-aldosilidendiaminas se efectuaba por un mecanismo que consistía en la eliminación en forma de acetamida de los grupos acetilos y del grupo ciano como cianuro de plata, con posterior reacción de dos grupos de acetamida del medio con el grupo aldehido libre del azúcar formado, obteniéndose la N,N'-diacil-aldosilidendiamina por pérdida de agua entre los mismos. Fundamentó el mecanismo propuesto en reacciones observadas por Roth, Schuster, Tawildarow y Nencki, quiénes prepararon N,N'-diacil-diaminas por reacción de aldehidos con amidas. Roth (72) obtuvo la N,N'-diacetil-bencilidendiamina, la N,N'-dibutir-bencilidendiamina y la N,N'-dibenzofíl-bencilidendiamina (LXXVIII) a partir de benzaldehido (LXXVI) con acetamida, butiramida y benzamida (LXXVII) respectivamente. Schuster (73)



preparó la N,N'-diacetil-anisilidendiamina y la N,N'-dibenzóil-anisilidendiamina a partir del aldehído anísico con acetanida y benzamida. Tawildarow (74) obtuvo la N,N'-diacetil-etilidendiamina a partir de acetaldehído con acetanida y Nencki (75) la N,N'-dibenzóil-etilidendiamina con acetaldehído y benzamida.

La aplicación directa de esta reacción a los hidratos de carbono no dió los resultados esperados. Brigl y col. (67) trataron el derivado bisulfítico de la aldehído-D-glucosa, preparado según la técnica descrita por Kerp (76), con amoníaco metanólico, en presencia de benzamida. En esta reacción se eliminaba el sulfito, pero no pudieron aislar la N,N'-dibenzóil-D-glucosilidendiamina esperada. Tratando el D-glicero-D-gala-heptononitrilo con benzamida, amoníaco y óxido de plata aislaron manosa libre, sin poder aislar N,N'-dibenzóil-manosilidendiamina ni N-benzóil-manosilamina, derivados estos que se forman en la degradación de Wohl del hexa-O-benzóil-D-glicero-D-gala-heptononitrilo.

Estos datos experimentales indicaban que el mecanismo propuesto por Wohl no era correcto, lo cual lo con-

firmaban también Hockett y Chandler (60), dado que al hervir penta-O-acetil-aldehído-D-glucosa con acetamida en cloroformo no lograron obtener derivados N-acilados.

Deulofeu y Deferrari (77) efectuaron la amonólisis del 2,3,4,5,6,7-hexa-O-acetil-D-glucó-heptonitrilo en etanol-amoniaco; sin agregado de amidas extrañas obtuvieron 30% de rendimiento de N-acetil-D-glucosilidendiamina y en presencia de 12 moles de acetamida el rendimiento de N-acetil-D-glucosilidendiamina era del 13,5%; en presencia de 12 moles de propionamida del 12 y 17,6% y con 12 moles de benzamida del 10,3% sin que se pudieran aislar otros derivados N-acilados. Por amonólisis del 2,3,4,5-tetra-O-acetil-L-arabonitrilo en presencia de 8 moles de amidas extrañas, tales como acetamida, propionamida y benzamida obtuvieron la N,N'-diacetil-L-eritrosilidendiamina con rendimientos del 35,7%, 30% y 29% respectivamente. Por amonólisis de la 2,3,4,5-tetra-O-acetil-aldehído-L-arabinosa en medio metanólico, en presencia de 8 moles de acetamida ó 8 moles de propionamida obtuvieron la N,N'-diacetil-L-arabosilidendiamina con 52,2% de rendimiento. Los mismos autores, al amonolizar la 1,2,3,4,6-penta-O-benzoil- α -D-glucosa (71) sin agregados de amidas

o en presencia de 10 moles de acetamida, obtuvieron la N,N'-dibenzofl-D-glucosilidendiamina con rendimientos similares.

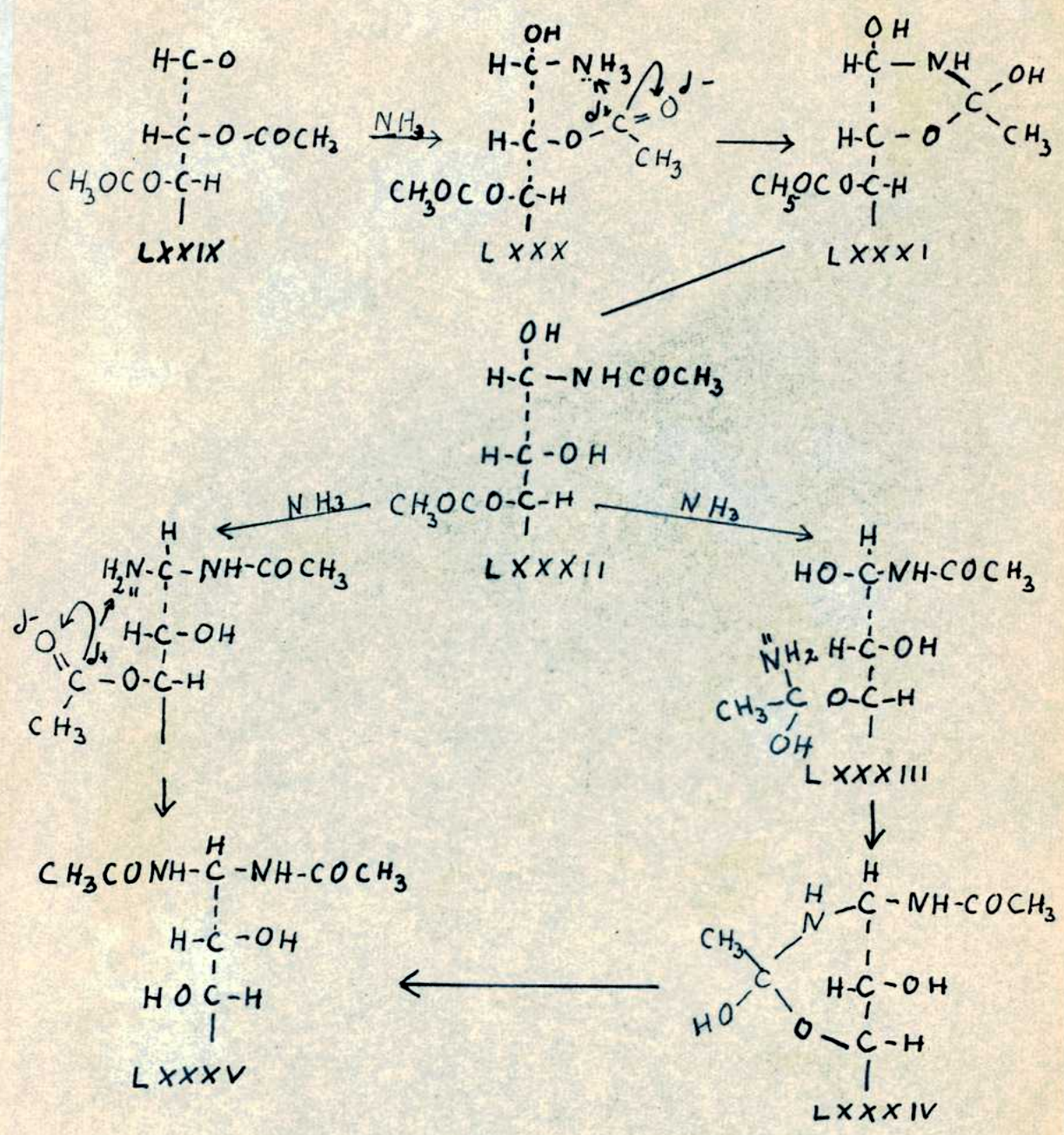
Estas experiencias indican que no se produce la reacción de la forma aldehídica libre con la acilamida presente en el medio, lo cual descarta que la reacción sea intermolecular, en cuyo caso se deberían haber obtenido mezclas de N-acil-amidas, según la amida presente en el medio de reacción.

En 1949 Isbell y Frush (78) propusieron un mecanismo intramolecular que en el caso de un derivado acetilado, consistiría en su primer etapa en la formación del grupo aldehídico libre (LXXIX) por degradación del nitrilo o por hidrólisis del sustituyente en el carbonol de las formas cíclicas de los monosacáridos acilados, con apertura de los ciclos furanósicos o piranósicos y posterior adición del amoníaco al aldehído con la consiguiente formación del aldehidato de amoníaco (LXXX). por interacción de un grupo acetilo con el nitrógeno del carbono 1 de (LXXX) se obtendría una estructura ortoéster cíclica lábil (LXXXI), que se reordenaría dando el N-acetil-derivado (LXXXII) por transposición del acetilo al nitrógeno.

La introducción del segundo grupo N-acetilo podría producirse por ataque de una molécula de amoníaco sobre el carbonilo de otro grupo O-acetilo en otra posición (LXXXIII), formación de un ortoéster cíclico lábil con el carbono 1 (LXXXIV), cuyo reordenamiento daría lugar a la N,N'-diacetil-aldosilidendiamina (LXXXV). Otra posibilidad sería el ataque de una segunda molécula de amoníaco sobre el hidroxilo del carbono 1 de (LXXXII), la formación de un ortoéster cíclico lábil con otro acetilo de otra posición y su ulterior reordenamiento dando lugar a la N,N'-diacetil-aldosilidendiamina (LXXXV) por transposición del acetilo al nitrógeno del carbono 1.

Apoya este mecanismo el resultado de la amonólisis de la 1,3,4,6-tetra-O-acetil-2-amino-2-desoxi-D-glucosa efectuada por white (79) en 1938, que daba lugar a la 2-acetamido-2-desoxi-D-glucopiranososa posiblemente por una transposición de O-acetilos hacia el nitrógeno, similar a la propuesta por Isbell y Frush (78).

Hockett, Deulofeu y Deferrari (80) efectuaron la amonólisis del 2,3,4,5-tetra-O-acetil-L-arabonitrilo con amoníaco que contenía 6,2% de nitrógeno¹⁵, en solución etanólica, en presencia de 4 y de 8 moles de acet-



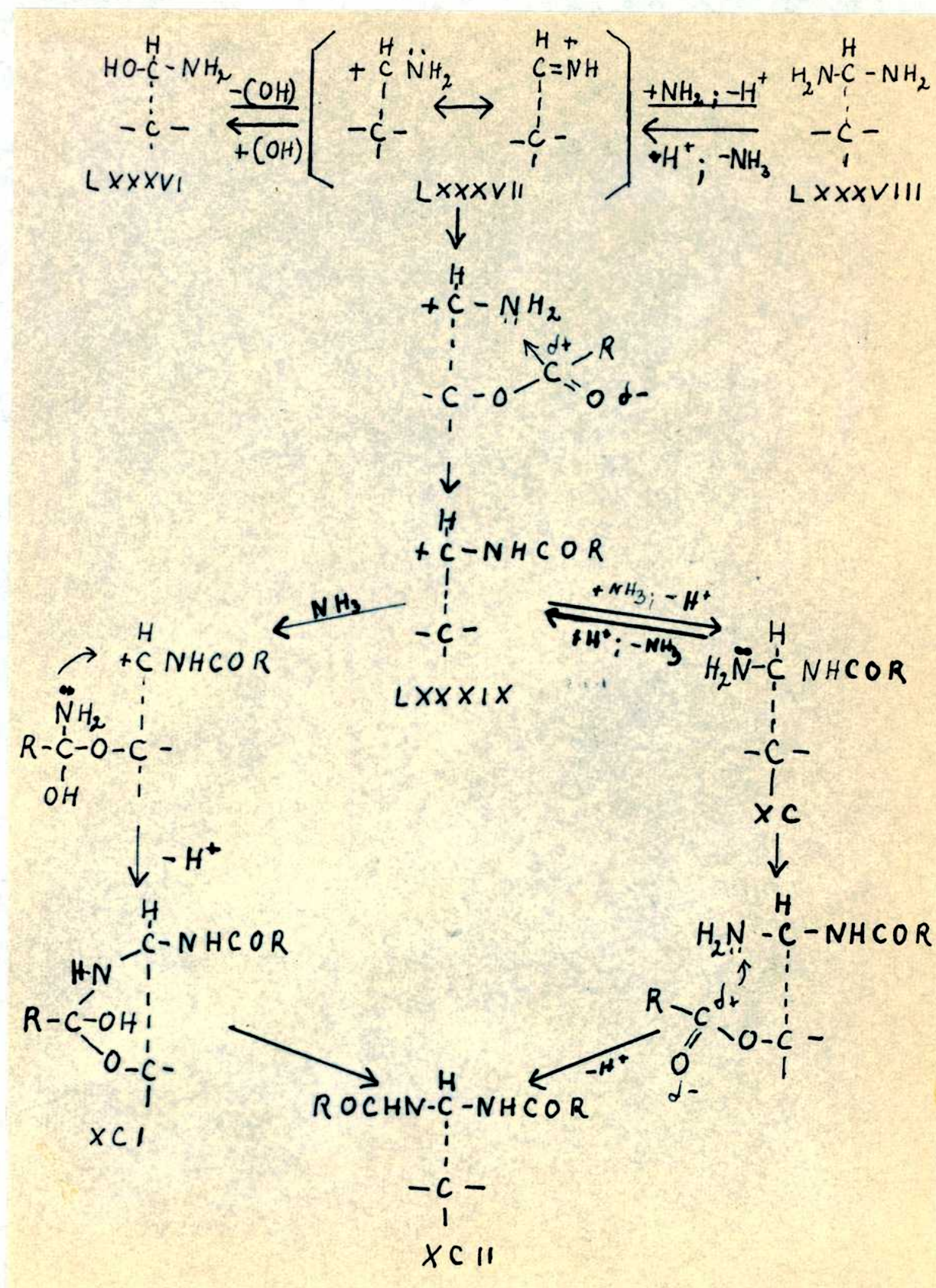
amida con nitrógeno normal. El porcentaje de N^{15} de la N,N' -diacetil-L-eritrosilidendiamina era de 5,16% y de 5,71% o sea que no se había producido la dilución por entrada de acetamida del medio, en cuyo caso el porcentaje de N^{15} en la diamida debería haber sido menor. Este experimento demuestra que el nitrógeno presente en la N,N' -diacil-aldosilidendiamina provenía solamente del amoníaco, y que no se había producido la condensación con la acetamida presente en el medio de reacción, confirmando así el mecanismo intramolecular.

Otra experiencia en favor del mecanismo intramolecular es la amonólisis de la 1,2,3,4,6-penta-O-benzóil-D-glucosa efectuada por Deulofeu y col. (70) en presencia de 1 y de 4 moles de benzamida con el grupo carbonilo marcado con carbono 14. En estas condiciones no se produjo la N,N' -dibenzóil-D-glucosilidendiamina con carbono 14, lo cual demostró que la benzamida del medio no participaba en la formación de la N,N' -diacil-aldosilidendiamina.

Allerton y Overend (81) demostraron que al tener los carbonos 2 y 3 bloqueados con grupos que no se eliminaban durante la amonólisis, no se obtenían N -acil-derivados en el carbono 1. Esto indicaba que dichos grupos impedían la

transposición de los grupos acetilos hacia el carbono 1 y que no intervenía la acetamida formada en el medio de reacción, como se vió en el caso estudiado por ellos de la amonólisis de la 4,5,6-tri-O-acetil-2,3-di-O-metil-aldehído-D-glucosa.

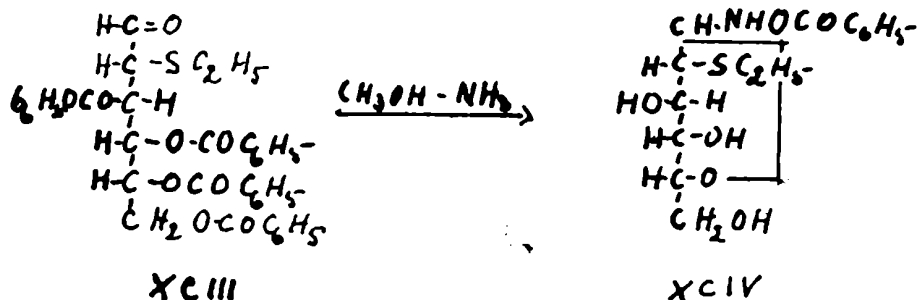
Deulofeu y col. (70) propusieron un mecanismo similar al postulado por Isbell y Frush, pero interpretado por medio de la formación de estructuras iónicas en el carbono 1. A partir del aldehidato de amoníaco (LXXXVI) se formaría por pérdida del hidroxilo el ión (LXXXVII), que podría estar en resonancia entre las dos formas indicadas. A esta estructura iónica electrofílica se podría adicionar otra molécula de amoníaco o el ión NH_2^- y daría lugar a diaminas (LXXXVIII), que por transposición de dos grupos acilos, uno a cada nitrógeno, podrían dar lugar a las N,N'-diacil-aldosilidendiaminas. Diaminas del tipo (LXXXVIII) no se conocen en las aldosas; en los aldehídos alifáticos su existencia es poco frecuente. Einhorn y Maurer (82) describieron la obtención del diamino-metano, que aislaron como su N,N'-dibenzoil-derivado ya que la diamina libre no se pudo aislar por descomponerse en formaldehído y amoníaco. Estos hechos hacen pensar que la for-



mación de un compuesto (LXXXVIII) es poco probable. Por su carácter electrofílico (LXXXVII) podría unirse a un carbono deficitario de un grupo carbonilo de un acilo en posición adecuada, que por medio de estructuras ortoéster cíclicas lábiles, y reordenamientos se transpondría al grupo amino del carbono 1 dando lugar a la N-acilamina (LXXXIX). El ión carbonio así formado podría fijar otra molécula de amoníaco para dar (XC), el cual por una nueva transposición de otro acilo a través de la formación de un ortoéster, daría lugar a la N,N'-diacil-aldosilidendiamina (XCII). También se podría considerar la fijación del amoníaco sobre un grupo carboxilo de otro acilo y el ataque del NH_2 de dicho grupo al carbono 1 electrofílico con formación de un ortoéster cíclico (XCI), cuyo reordenamiento daría lugar por transposición a la N,N'-diacil-aldosilidendiamina (XCII). El mecanismo indicado por los pasos LXXXVI - LXXXVII - LXXXIX - XC - XCII parece de mayor probabilidad que el que considera la fijación del amoníaco sobre otro grupo acilo, en cuyo caso debería favorecerse la amonólisis del acilo y su separación como amida.

Todas estas transposiciones tienen lugar en estructuras de cadena abierta y se ve la gran importancia de la estructura de los ciclos presentes, reflejada en los rendimientos de N,N'-diacil-aldosilidendiaminas obtenidas por esta reacción (pág. 41-45).

Si la reacción se detiene en la N-acilamina (LXXXII), se estabilizaría la misma con formación de ciclos hemiacetálicos. Al tener la posición 2 bloqueada como en el caso de la 2-tioetil-3,4,5,6-tetra-O-benzoil-aldehído-D-glucosa (XCIII), Brigl y col. (67) obtuvieron la N-benzoil-2-tioetil-D-glucopiranosilamina (XCIV), cuya formación podría explicarse por la imposibilidad de que el carbono 2 participe en la formación de ortoésteres cíclicos por la circunstancia de estar bloqueado por un grupo estable en el medio de reacción.



La contribución de los grupos benzóilos de los diferentes carbonos de la glucosa a la formación de la N,N'-dibenzóil-D-glucosilidendiamina fué estudiada por Deulofeu y col. (70) con benzoatos de la misma, marcados con benzóilos con carbonilo C^{14} . Las contribuciones de los diferentes sustituyentes de la 1,2,3,4,6-penta-O-benzóil-D-glucosa y de la 2,3,4,6-penta-O-benzóil-D-glucosa están indicadas en la tabla VII.

TABLA VII

Contribución aparente en moles de cada grupo benzóilo en la migración con formación de N,N'-dibenzóil-D-glucosilidendiaminas.

Sustancia	C 1	C 2	C 3	C 4	C 6
1,2,3,4,6-penta-O-benzóil-D-glucosa	0	0,12 ±0,03	0,16 ±0,02	0,82 ±0,02	0,31 ±0,02
2,3,4,6-tetra-O-benzóil-D-glucosa	- -	0,12 ±0,03	0,80 ±0,03	0,81 ±0,02	0,27 ±0,02

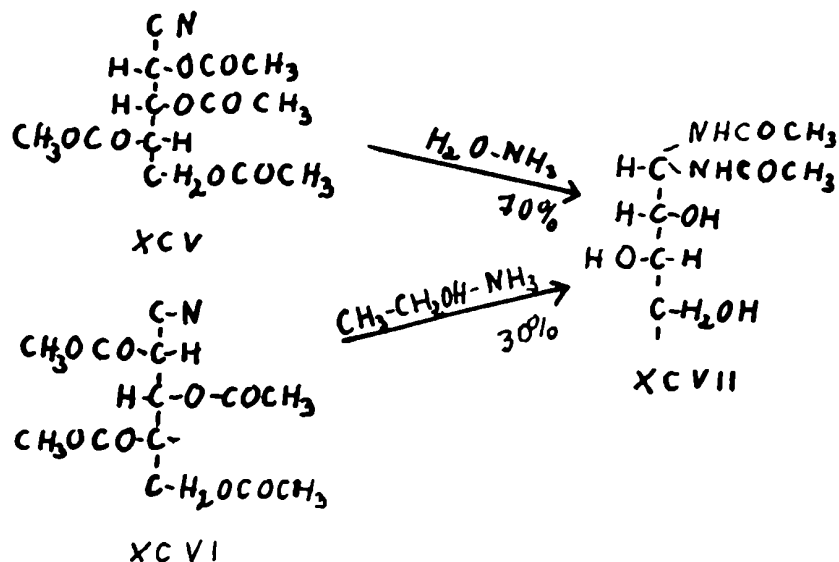
La velocidad de amonólisis del benzóilo del grupo hemiacetálico es tan rápida que es como si no estuviera presente, lo cual se demuestra por el hecho que tanto la 1,2,3,4,6-penta-O-benzóil-D-glucosa como la 2,3,4,6-tetra-O-benzóil-D-glucosa dan lugar a la N,N'-dibenzóil-D-glucosilidendiamina con igual rendimiento y por el hecho que el benzóilo del carbono 1 no participa en la formación de la N,N'-dibenzóil-D-glucosilidendiamina.

La velocidad relativa de hidrólisis del acilo del carbono 2 parece ser mayor que la de los sustituyentes de los otros carbonos secundarios, según se demostró por los trabajos de Hodge y Rist (83) quienes trataron la 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucosa con piperidina, y obtuvieron la N-(3,4,6-tri-O-acetil-D-glucopiranosil)-piperidina, lo cual implica la eliminación del grupo acetilo del carbono 2.

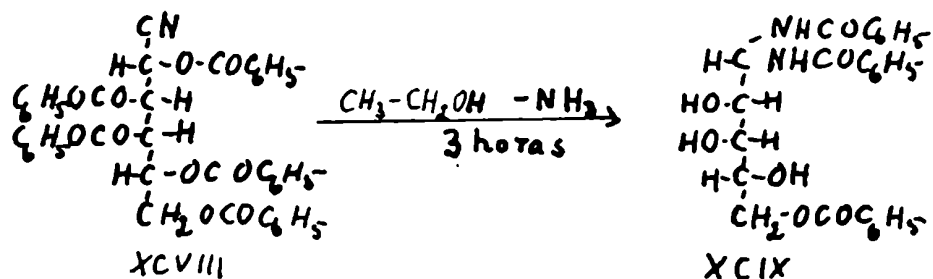
Aunque el grupo que esterifica al carbono 2 participa poco en la formación del acil-amido-derivado, como fué demostrado por Deulofeu y col. (70), dicho carbono podría participar, haciendo de intermediario en la migración de los demás grupos acilos para dar lugar a la estructura de ortoéster cíclico propuesta por Isbell y Frush.

Según los datos obtenidos por Deulofeu y col. (70) los sustituyentes de las posiciones 3 y 4 son los que participan más en la formación de los N-acil-derivados. En contra de estos resultados no pudieron obtener N-benzóil-derivados al amonolizar la 1,2,3-tri-O-benzóil-D-glucosa. Por amonólisis de la 2,6-di-O-benzóil-D-glucopiranososa no obtuvieron N-acil-derivados. Este hecho se explica en base a la escasa contribución de los sustituyentes de estas posiciones y a la hidrólisis rápida del grupo benzóilo en 2. Los mismos autores amonolizaron 1,2,3,6-tetra-O-benzóil-D-glucopiranososa y obtuvieron cantidades de N,N'-dibenzóil-D-glucosilidendiamina solo detectables cromatográficamente. Estas experiencias indican la escasa contribución del grupo benzóilo en posición 3, en ausencia de un grupo esterificante en 4 ó en 5. Por amonólisis de la 2,3,4,6-tetra-O-benzóil-D-glucosa y de la 2,3,5,6-tetra-O-benzóil-D-glucosa obtuvieron la N,N'-dibenzóil-D-glucosilidendiamina con 29% y 62% de rendimiento respectivamente. Estos hechos indican la importancia de los sustituyentes en el carbono 4 y 5 para el rendimiento de N,N'-diacil-aldosilidendiaminas.

Los rendimientos de N,N'-diacil-aldosilidendiaminas varían según el medio en que se efectúa la reacción; la amonólisis en medio acuoso produce rendimientos mayores que en medio metanólico. Por ejemplo Hockett, Deulofeu, Sedoff y Mendive (84) obtuvieron por amonólisis del 2,3,4,5-tetra-O-acetil-L-lixononitrilo (XCV) en medio acuoso la N,N'-diacetil-L-treosilidendiamina (XCVII) con 70% de rendimiento, mientras que Deulofeu (85) obtuvo la misma sustancia con 30% de rendimiento por amonólisis en medio etanólico-acuoso del tetra-O-acetil-L-xilononitrilo (XCVI).

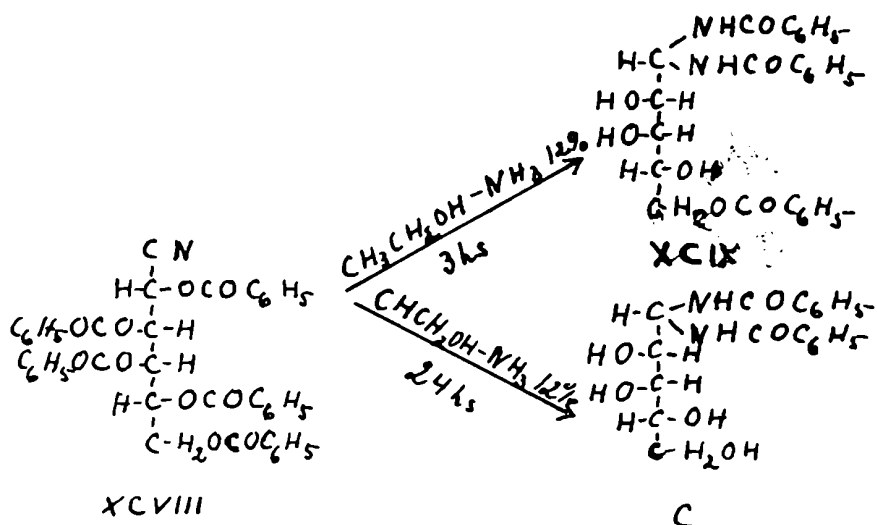


El carbono primario, carbono 6 de las hexosas, que es el más reactivo en las reacciones de esterificación como se indicó en las benzoylaciones de monosacáridos (pág. 8), resultó ser el más resistente a la amonólisis. Restelli de Labriola y Deulofeu (86) amonolizaron el 2,3,4,5,6-penta-O-benzoyl-D-galactonitrilo (XCVIII) durante 3 horas con etanol-amoníaco y obtuvieron la 5-O-benzoyl-N,N'-dibenzoyl-D-lixosilidendiamina (XCIX).



En este caso no se produjo la eliminación del grupo benzoylo del carbono primario. Una reacción de amonólisis parcial fué observada también por Deulofeu y col. (87) en los benzoatos de glucosa y galactosa con isopropanol-amoníaco al 8% y con otros alcoholes. Por ejemplo en el caso de la 1,2,3,4,6-penta-O-benzoyl-D-glucosa obtuvieron la 6-O-benzoyl-N,N'-dibenzoyl-D-glucosilidendiamina al efectuar la amonólisis con amoníaco al 8% en isopropanol y en butanol-2.

Recondo (88) repitió la experiencia de Restelli de Labriola y Deulofeu (86) para estudiar las variaciones producidas en los productos de la reacción por un mayor tiempo de contacto de la mezcla de reacción, por las variaciones de la concentración de amoníaco y por los solventes empleados. por amonólisis del 2,3,4,5,6-penta-O-benzoyl-D-galactonitrilo (XCVIII) con etanol-amoníaco al 12% durante 3 horas aisló la 5-O-benzoyl-N,N'-dibenzoyl-D-lixosilidendiamina (XCIX) pero al prolongar el tiempo de reacción a 24 horas no obtuvo el derivado parcialmente benzoilado sino la N,N'-dibenzoyl-D-lixosilidendiamina (C), lo cual indicaba la importancia del tiempo de contacto de la mezcla de reacción.



Efectuando la amonólisis con metanol-amoníaco al 18%, 12% y 9%, a las 24 horas aislaba sólo la N,N'-dibenzóil-D-lixosilidendiamina, pero con metanol-amoníaco al 18%, 9% y 4,5%, a las 3 horas de reacción obtuvo mezclas de la N,N'-dibenzóil-D-lixosilidendiamina y de la 5-O-benzóil-N,N'-dibenzóil-D-lixosilidendiamina. Resultaba de esta experiencia que el metanol era mejor solvente para la obtención de las N,N'-diacil-aldosilidendiaminas, dado que con etanol-amoníaco al 12% sólo se obtenía, en iguales tiempos de contacto, las 5-O-benzóil-N,N'-dibenzóil-derivados. Comparando la acción del metanol-amoníaco al 6% y del isopropanol-amoníaco al 6% durante 16 horas, obtuvo en el primer caso la N,N'-dibenzóil-D-lixosilidendiamina, en el segundo la 5-O-benzóil-D-lixosilidendiamina.

Deulofeu y col. (70) efectuaron la amonólisis de derivados benzóilados de nitrilos aldónicos y de aldosas, en diferentes solventes, con la misma concentración de amoníaco, para poder establecer el papel de este último y del solvente. Para esto sometieron dos nitrilos benzóilados y dos benzoatos de hexosas a la amonólisis en metanol, etanol, isopropanol y butanol-2, manteniendo la concentración de amoníaco constante para cada serie de ensayos.

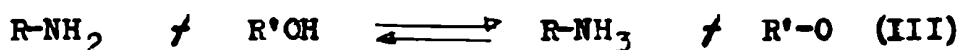
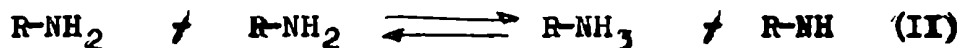
Por ejemplo en la amonólisis del 2,3,4,5,6-penta-O-benzóil-D-galactonitrilo con amoníaco al 5,5% en metanol, obtuvieron la N,N'-dibenzóil-D-lixosilidendiamina, en etanol la N,N'-dibenzóil-D-lixosilidendiamina y la 5-O-benzóil-N,N'-dibenzóil-D-lixosilidendiamina, mientras que en isopropanol aislaron solo la 5-O-benzóil-N,N'-dibenzóil-D-lixosilidendiamina. En la amonólisis con amoníaco al 5,5% del 2,3,4,5,6-penta-O-benzóil-D-glucónitrilo en medio metanólico, obtuvieron la N,N'-dibenzóil-D-arabinosilidendiamina; en medio isopropanólico la 5-O-benzóil-N,N'-dibenzóil-D-arabinosilidendiamina. Por amonólisis con amoníaco al 8% de la 1,2,3,4,6-penta-O-benzóil-D-glucosa obtuvieron en metanol la N,N'-dibenzóil-D-glucosilidendiamina; en isopropanol y en butanol-2 la 6-O-benzóil-N,N'-dibenzóil-D-glucosilidendiamina. De la 1,2,3,4,6-penta-O-benzóil-D-galactosa con amoníaco al 8% en metanol obtuvieron la N,N'-dibenzóil-D-galactosilidendiamina y en isopropanol, la 6-O-benzóil-N,N'-dibenzóil-D-galactosilidendiamina.

Estas experiencias demuestran la influencia del solvente en el transcurso de la reacción.

La cinética de la reacción de amonólisis de ésteres con formación de amidas, en solución alcohólica, fué estudiada por Betts y Hammet (89) y por Bunnet y Davis (90) quiénes consideraban dos reacciones, una de amonólisis directa (I)



y otra catalizada por bases, que tendría lugar por medio de los iones amido y alcóxido que se formarían por interacción de la amina con el solvente, según las ecuaciones II y III.



Los experimentos realizados por Bunnet y Davis (90) para determinar el tipo de catálisis de la reacción de aminólisis, llevó a estos autores a las siguientes conclusiones:

- a.) La aminólisis es una reacción de catálisis básica general.
- b.) No se puede detectar una reacción no catalizada o catalizada por el solvente.

- c.) Los iones alcóxido y amido catalizan la reacción, ya que el agregado de iones alcóxido (RO^-) provoca un fuerte aumento de la velocidad de aminólisis.
- d.) El agregado de iones amonio (RNH_3^+) tiene un efecto retardador moderado sobre la aminólisis, desplazando el equilibrio hacia la izquierda en las ecuaciones II y III, disminuyendo así la formación de iones alcóxido. Con concentraciones altas de iones amonio, se puede observar un aumento de velocidad de aminólisis, atribuido a un efecto salino positivo.

Baltzley y col. (91) estudiaron el efecto del radical R del solvente sobre la aminólisis de ésteres alifáticos. Estos autores obtuvieron por la aminólisis del acetato de etilo con n-butilamina las siguientes constantes de velocidad: en metanol $7,9 \times 10^3$, en etanol $0,25 \times 10^3$ y en ~~isopropanol~~ isopropanol $0,22 \times 10^3$; para la aminólisis del acetato de isopropilo con butilamina: en metanol $2,6 \times 10^3$, en etanol $0,054 \times 10^3$ y en isopropanol $0,011 \times 10^3$. Según estos datos se vé que la reacción de aminólisis es mayor usando metanol como solvente, que con etanol, y en este solvente es a su vez mayor que en isopropanol.

Hine y Hine (92) determinaron la acidéz de diferentes alcoholes en isopropanol y obtuvieron la siguiente secuencia;

Isopropanol	0,076
n-propanol	aprox.0,5
isobutanol	aprox.0,5
n-butanol	aprox.0,6
etanol	0,95
agua	1,20
metanol	4,0

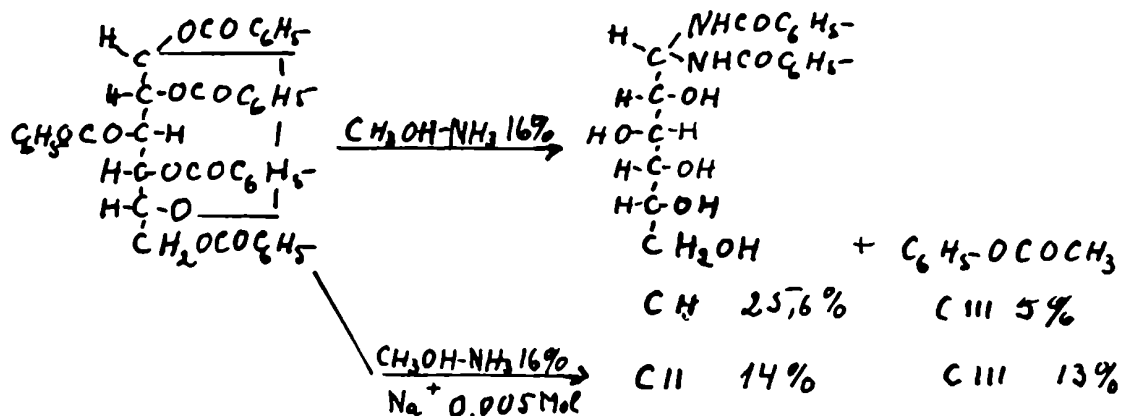
coincidiendo en ambas series de determinaciones el orden de los alcoholes, siendo máximo para el metanol, decreciendo para el etanol e isopropanol.

También en la amonólisis de los ésteres de monosacáridos se comprueba la influencia de los solventes; por amonólisis en agua o metanol se obtienen solamente N-benzoíl-derivados; en etanol se obtienen mezclas de N-benzoíl- y O-benzoíl-N-benzoíl-derivados y en isopropanol o butanol-2 se obtienen solamente los O-benzoíl-N-benzoíl-derivados, observándose una secuencia en la eficacia para la amonólisis de los grupos benzoílos igual a la indicada por Baltzley y col.(90) para la aminólisis de ésteres alifáticos o la indicada por Hine y Hine (92) para la acidéz relativa de los alcoholes.

Con estos conocimientos sin embargo no se puede explicar la mayor resistencia a la amonólisis del benzofilo en el carbono primario, ya que según Day y col. (93) son menos resistentes los ésteres de alcoholes primarios a la reacción de amonólisis que los ésteres de alcoholes secundarios. Esto se vió por ejemplo en las determinaciones de las constantes de velocidad de amonólisis determinadas a 25º para el acetato de metilo ($1,197 \times 10^3$), el acetato de etilo ($0,657 \times 10^3$), el acetato de n-propilo ($0,568 \times 10^3$) y el acetato de isopropilo ($0,171 \times 10^3$), siendo máxima para el acetato de un alcohol primario y menor para uno secundario. Pero hacen notar los autores que en el caso del monoacetato del etilenglicol se observa una resistencia a la amonólisis mayor a la observada en el acetato de metilo, indicando este hecho la influencia de la estructura del éster. En el caso de un monoacetato del etilenglicol se observan irregularidades, probablemente debidas a la presencia de un hidroxilo vecino, que pueden dar lugar a variaciones notables respecto al comportamiento esperado en los polialcoholes superiores o los hidratos de carbono, en cuyo caso se tienen varios grupos hi-

droxilo que puedan interferir y cuya influencia se podría hacer mas notable cuanto mas grande sea el resto R del alcohol usado como solvente. En el caso del agua y del metanol se obtienen así amonólisis totales con formación de N-acil-derivados, pero ya en el alcohol etílico aparecen productos parcialmente amonolizados en iguales condiciones experimentales, como fué demostrado por Deulofeu y col. (70).

La aplicación cualitativa de los resultados de aminólisis de Bunnet y Davis (90) a la amonólisis de los ésteres de hidratos de carbono fué realizada por Deferrari y Cadenas (94). Estos autores amonolizaron la 1,2,3,4,6-penta-O-benzóil- α -D-glucosa (CI) con metanol-amoniaco al 16% y aislaron la N,N'-dibenzóil-D-glucosilidendiamina (CII) con 25,6% de rendimiento y benzoato de metilo (CIII) con 5% de rendimiento. La obtención de benzoato de metilo in-



dicaba la existencia de un mecanismo de transesterificación y la presencia del ión metóxido en el medio de reacción. Efectuando la reacción en presencia de 0,005 moles de ión sodio observaron un aumento de benzoato de metilo del 5 % al 13% y una disminución del rendimiento de la N,N'-dibenzoil-D-glucosilidendiamina del 25,6% al 14%, debido al aumento de ión metóxido del medio; confirmándose así, para la amonólisis de benzoatos de monosacáridos, el hecho observado por Bunnet y Davis en la amonólisis de ésteres alifáticos.

Resumiendo podemos decir en base a los datos experimentales y los conocimientos actuales que las reacciones de amonólisis de acil-derivados de aldosas y nitrilos acilados de ácidos aldónicos se efectúan por un mecanismo iónico (10) y que los rendimientos de N-acil-aldosilaminas y N,N'-diacil-aldosilidendiaminas son el resultado de varias reacciones competitivas y simultáneas, como la transposición intramolecular de los grupos acilos, por medio de ortoésteres cíclicos y lábiles y la amonólisis de los grupos acilos esterificantes y la transesterificación con el solvente usado en la reacción.

ACCION DEL AMONIACO SOBRE DISACARIDOS BENZOILADOS.

DISCUSION DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS.

En el presente trabajo extendimos la reacción del amoníaco metanólico a los benzoatos de disacáridos, para estudiar el curso de la reacción con un grupo esterificante voluminoso y de más difícil eliminación como lo es el benzoílo en comparación con el acetilo. A tal fin tuvimos que preparar la octa-O-benzoíl-celobiosa, la octa-O-benzoíl-lactosa y la octa-O-benzoíl-maltosa.

En los trabajos sobre disacáridos benzoilados encontrados en la literatura, se describen en general productos de amplio rango de punto de fusión. Estos datos están recopilados en la tabla VIII.

Odén en 1919 (42) obtuvo octa-benzoátos "para" sustituidos de la sacarosa, empleando tiempos de reacción mayores a los utilizados para el caso análogo de los monosacáridos. Por ejemplo para obtener la penta-p-bromo-benzoíl-glucosa mantuvo la mezcla de reacción durante 4 días a 40° y en cambio para preparar la octa-O-p-bromo-benzoíl-sacarosa mantuvo la mezcla de reacción durante 6 días entre 40 y 60°. Odén efectuó las reac-

TABLA VIII

Benzotatos de disacáridos

Compuesto original	Medio de reacción	Moles de Cl. benz. p. mol de disac.	Compuesto obtenido	pf. Rendimento	Cita
celobiosa	NaOH 19%	8	hepta-0-benzofl-celobiosa	202-204°	46
lactosa	NaOH 10%	--	penta-0-benzofl-celobiosa	137-147°	46
	NaOH 20%	8	octa-0-benzofl-lactosa	-- -- --	48
	NaOH 10%	8	octa-0-benzofl-lactosa	188°	47
maltosa	NaOH 10%	8	hepta-0-benzofl-lactosa	200 (116-118)	47
	NaOH 20%	8	hexa-0-benzofl-lactosa	130-136°	45,48
	NaOH 10%	8	hepta-0-benzofl-maltosa	109-115°	47
sacarosa	quinolina	9	hexa-0-benzofl-maltosa	120°	45
	Cl ₃ CH	8	penta-0-benzofl-maltosa	110-115°	45
	piridina	10	octa-0-benzofl-sacarosa	-- -- --	26
	NaOH 10%	8	octa-0-benzofl-sacarosa	60-63°	105
	NaOH 10%	--	hepta-0-benzofl-sacarosa	98°	47
	NaOH 10%	--	hexa-0-benzofl-sacarosa	109°	45
	NaOH 10%	--	penta-0-benzofl-sacarosa	106°	48

ciones con cloruro de p-bromo-benzóilo en quinolina, utilizando cloroformo como solvente y obtuvo productos de punto de fusión nítidos.

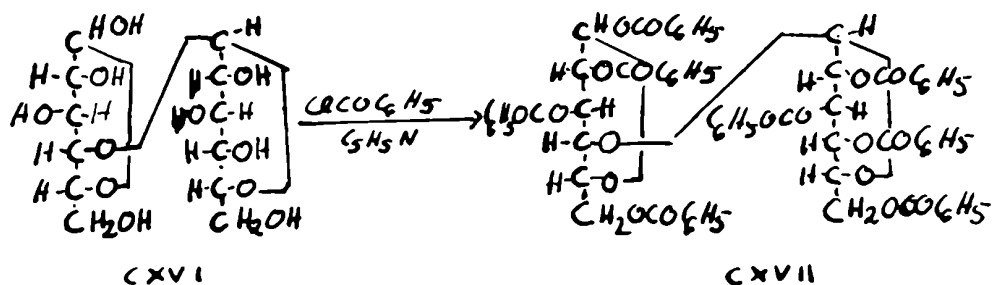
Los primeros trabajos describen en general productos parcialmente benzoilados y mezclas de ellos, ya que se emplearon cloruros de ácido en presencia de soluciones al 10-20% de hidróxido de sodio acuoso. La acilación en medio piridínico o quinolínico, sometiendo la mezcla de reacción a un ligero calentamiento dió lugar a la acilación total de la sacarosa, como fué descripta por Odén (42) y por Ness y Fletcher (105), quienes por tratamiento de la sacarosa con cloruro de benzóilo y piridina obtuvieron la octa-O-benzóil-sacarosa cristalina con un rendimiento del 94%.

Nosotros aplicamos la técnica de Ness y Fletcher algo modificada para benzoilar la celobiosa, la lactosa y la maltosa. Con ninguno de los benzoatos preparados por nosotros obtuvimos coincidencias con los productos descriptos en la literatura y recopilados en la tabla VIII, debido probablemente a las dificultades de purificación con que los autores mencionados han tropezado en su época.

Kueny (48) describió en 1890 la obtención de la octa- β -benzoil-lactosa sin indicar el punto de fusión del producto obtenido; Panormoff (47) en 1891 describió una octa- β -benzoil-lactosa de pf. 188 $\frac{1}{2}$, cuyo punto de fusión no coincide con el de 119-120 $\frac{1}{2}$ encontrado por nosotros para esa sustancia.

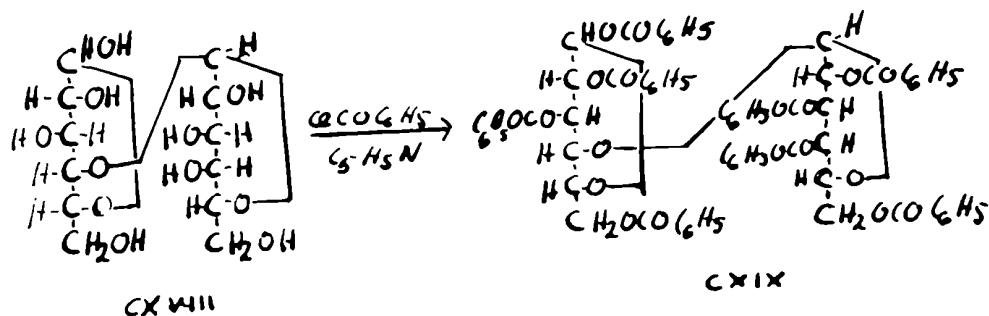
La hepta- α -benzoil-maltosa descrita por Panormoff (47) de pf. 109-115 $\frac{1}{2}$ es diferente de la hepta- α -benzoil-maltosa cristalina obtenida por nosotros.

Nosotros efectuamos la benzoilación de la celobiosa (CXVI) con cloruro de benzoilo y piridina, sometiendo la mezcla de reacción a un calentamiento a 60 $\frac{1}{2}$ durante 4 horas y a 100 $\frac{1}{2}$ durante 15 minutos y obtuvimos así después de purificaciones por disolución en acetona-metanol la octa- α -benzoil-celobiosa (CXVII) de pf. 188-190 $\frac{1}{2}$ con



80% de rendimiento. El producto amorfo se purificó por dos cromatografías sucesivas en columnas de alúmina, sin lograr la cristalización del mismo y se obtuvo la octa-O-benzoil-celobiosa amorfa de pf. 188-191°, $[\alpha]_D^{25} + 37$ (cloroformo). De las aguas madres de purificación de la octa-O-benzoil-celobiosa obtuvimos una octa-O-benzoil-celobiosa en forma de agujas de pf. 146-148°, $[\alpha]_D^{25} + 37$ (cloroformo). Ambas octa-O-benzoil-celobiosas dan lugar a una sola mancha de idéntico Rf por cromatografía en placa delgada de ácido silícico y revelando con nitrato de plata - metanol amoníaco - metóxido de sodio (117). Este hecho parecería indicar que se trata de dos formas dimórficas de la misma sustancia.

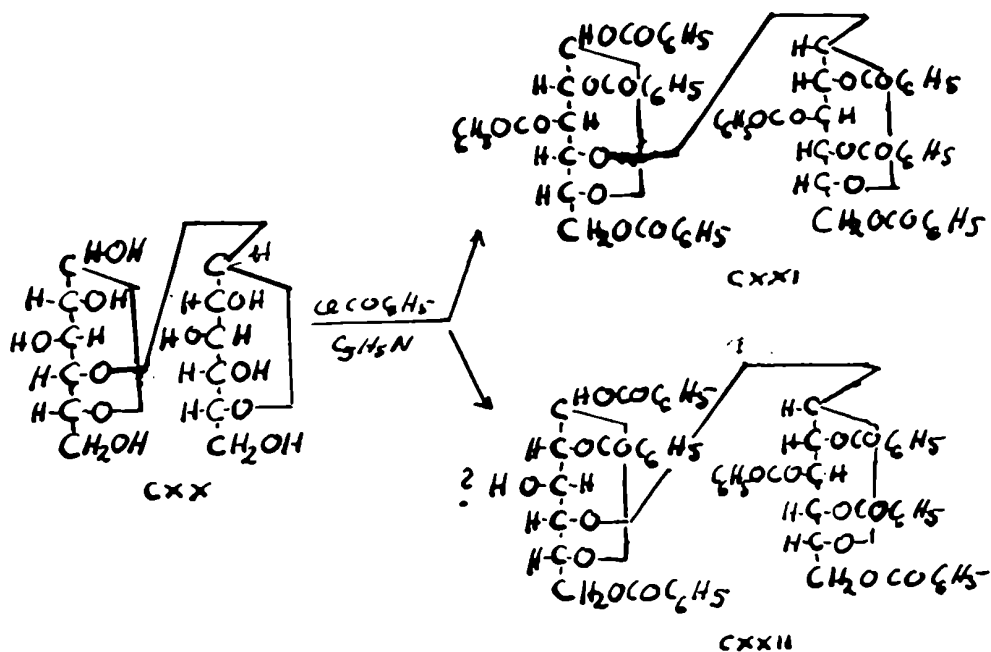
La benzoilación de la lactosa (CXVIII) se realizó con cloruro de benzilo y piridina en iguales condiciones que para la celobiosa y obtuvimos la octa-O-benzoil-lactosa (CXIX) de pf. 118-120° con 90% de rendimiento. Por



sucesivas purificaciones de este producto amorfo se obtuvo octa-O-benzoil-lactosa de pf. 119-120^o que estaba formada por dos sustancias detectables como dos manchas por cromatografía en placa delgada de ácido silícico-almidón (116), corriendo con benceno-acetato de etilo al 5% y revelando con nitrato de plata - metanol amoniacal - metóxido de sodio (117). Se intentó la separación de las mismas por cromatografía en columnas de alúmina, talco-celite, ácido silícico y alúmina-yeso sin lograr el fin propuesto. El producto amorfo de pf. 119-120^o, $[\alpha]_D^{+88}$ (cloroformo) daba un análisis de carbono e hidrógeno concordante para una octa-O-benzoil-lactosa. Cabe suponer entonces que la presencia de las dos manchas detectables por cromatografía en placa delgada se debería a la presencia de los dos anómeros.

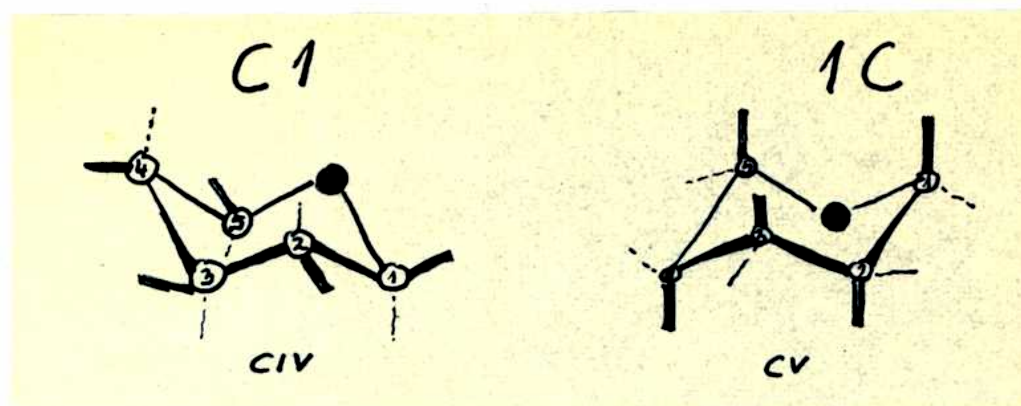
La maltosa (CXX) se benzoiló con cloruro de benzoylo y piridina en iguales condiciones a las utilizadas en el caso de la celobiosa y la lactosa y obtuvimos un producto amorfo de pf. 110-120^o. Dicho benzoato amorfo, formado por dos sustancias que daban lugar ~~lugar~~ a dos manchas por cromatografía en placa delgada de ácido silícico-almidón (116), se cromatografió dos veces en columna de alúmina, eluyendo con benceno

etanol absoluto con lo que se logró la separación de las mismas. En una primera cromatografía en columna de alúmina separamos la octa-O-benzoil-maltosa (CXXI) en forma de rombos de pf. 190-192°, $[\alpha]_D^{+58}$ (cloroformo); re-cromatografiando las fracciones amorfas de la primer cromatografía por una columna de alúmina, logramos aislar nuevas cantidades de octa-O-benzoil-maltosa de pf. 190-192° y hepta-O-benzoil-maltosa (CXXII) en forma de agglas de pf. 139-140°, $[\alpha]_D^{+47}$ (cloroformo). De esta manera se obtuvieron 45% de octa-O-benzoil-maltosa y 12% de hepta-O-benzoil-maltosa. En otras separaciones por cromatografía en columna de alúmina en mayor escala, aislamos



46% de octa-O-benzoil-maltosa y 22,5% de hepta-O-benzoil-maltosa; en una última benzoilación se logró por sucesivas recristalizaciones y sembrados con la hepta-O-benzoil-maltosa, obtener esta última en forma de agujas con 46% de rendimiento. El bajo rendimiento (46%) de octa-O-benzoil-maltosa obtenido y la formación de una hepta-O-benzoil-maltosa (12%; 46%) puede ser atribuido a una mayor resistencia a la benzoilación en la maltosa en relación a la celobiosa y lactosa, en función de su configuración espacial, debido a que la unión glicosídica entre las dos partes de monosacáridos es α en el caso de la maltosa, mientras que en la celobiosa y lactosa es β . La unión glicosídica α produce un acercamiento entre las dos partes constitutivas de la molécula del disacárido y un probable impedimento estérico al cual se podría atribuir su comportamiento diferencial tanto en las reacciones de benzoilación como en la amonólisis.

Los estudios conformacionales de monosacáridos, según fueron resumidos por Michel (106), indicaron que la mayoría de los monosacáridos existen con gran probabilidad en las conformaciones C_1 (CIV) ó C_1 (CV).

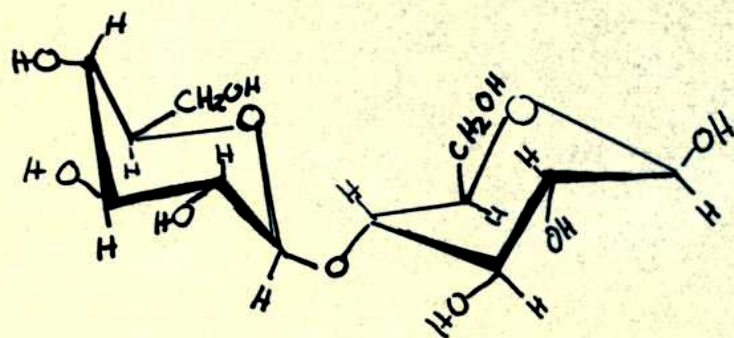


La conformación C 1 es energéticamente más favorable y por consiguiente la más estable para la α y β -D-glucosa y la α y β -D-galactosa, ya que estas conformaciones presentan la máxima cantidad de hidroxilos en posiciones ecuatoriales y por lo tanto existen menos interacciones entre ellos.

	C 1					1 C				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
α -D-glucosa	a	e	e	e	e	e	a	a	a	a
β -D-glucosa	e	e	e	e	e	a	a	a	a	a
α -D-galactosa	a	e	e	a	e	e	a	a	e	a
β -D-galactosa	e	e	e	a	e	a	a	a	e	a

La aplicación de los estudios conformacionales a los disacáridos se deben a Revees (107) y Bentley (108); según estos autores en la celobiosa la unión $-\beta-$, 1-4

es ecuatorial-ecuatorial para ambas partes de la molécula, lo cual fué confirmado por Wunderlich (109) por estudios por difracción de rayos X y por Rao y Foster (110) por espectros de resonancia magnética nuclear. En el caso de la maltosa, que es un α -glucósido, la situación es estéricamente más desfavorable y Rao y Foster (110) consideraron varias posibilidades, llegando finalmente a la conclusión de que también en este caso se trataría de una estructura C 1 en la parte reductora de la molécula o de una estructura muy similar a la misma, originada por una leve deformación del ciclo. Según estas conclusiones las conformaciones más favorecidas están representadas a continuación:

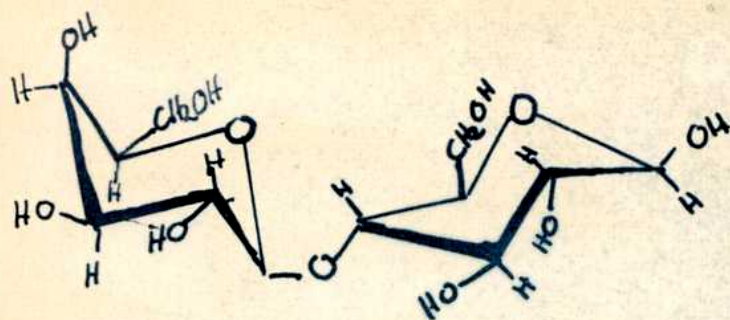


Celobiosa

4-O- β -D-glucopiranosil-
-D-glucosa.

unión: β ; 1-4

ecuatorial-ecuatorial.

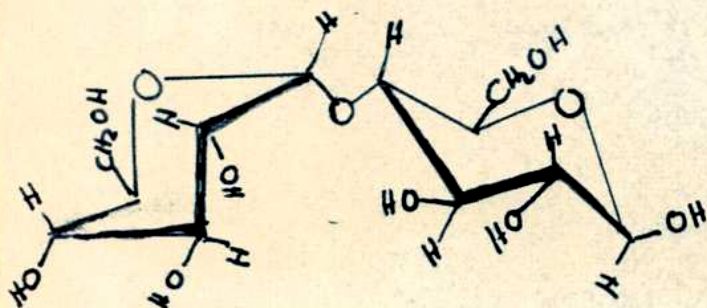


Lactosa

4-O- β -D-galactopiranosil-
-D-glucosa

unión; β ; 1-4

ecuatorial- ecuatorial.



Maltosa

4-O- α -D-glucopiranosil-
-D-glucosa

unión: α ; 1-4.

axial- ecuatorial.

Nosotros hemos estudiado un modelo molecular de la maltosa y observamos que las posiciones de mayor impedimento estérico son las del carbono 3 de la parte reductora y del carbono 2 de la parte no reductora. Suponemos por lo tanto que la hepta-O-benzoil-maltosa de pf. 139-140 g obtenida por nosotros, tendría el hidroxilo del carbono 3 de la parte reductora sin benzoilar, lo

cual estaría en concordancia con los resultados obtenidos en la amonólisis de la misma, de la cual no se logró aislar N,N'-dibenzofl-maltosilidendiamina ni N-benzofl-maltosilamina y que se discuten en la página 99 .

La acción del amoníaco sobre esteres de disacáridos fué estudiada por los acetatos por Zechmeister y Toth (111), Micheel y col. (112) y Deferrari y Cadenas (94, 113,114).

Zechmeister y Toth (111) sometieron la octa-O-acetil-celobiosa a la acción del amoníaco líquido en tubo cerrado, a 55° durante 48 horas. Aislaron de esta manera la N-acetil-celobiosilamina de pf. 246°, $\{\alpha\}_D-20,3$ (agua). De las aguas madres aislaron por acetilación hepta-O-acetil-N-acetil-celobiosilamina de pf. 196°, $\{\alpha\}_D-8,4$ (cloroformo), y octa-O-acetil-N,N'-diacetil-celobiosilidendiamina de pf. 196°, $\{\alpha\}_D-3,3$ (cloroformo). Por eliminación de los grupos O-acetilos con hidróxido de bario obtuvieron la N,N'-diacetil-celobiosilidendiamina de $\{\alpha\}_D-20$ (agua).

Micheel y col.(112) trataron la octa-O-acetil-celobiosa con amoníaco metanólico al 40%, a 50°, durante 120 horas y aislaron celobiosilamina y diselobiosilamina.

Por acetilación de la celobiosilamina obtuvieron la hepta-O-acetil-N-acetil-celobiosilamina de pf. 188 $\frac{1}{2}$, $[\alpha]_D^{25}$ -7,5 (cloroformo).

La aplicación de la amonólisis en condiciones comparables con las reacciones realizadas con los esteres de monosacáridos fué realizada por Deferrari y Cadenas con la octa-O-acetil-celobiosa (113), la octa-O-acetil-lactosa (114) y la octa-O-acetil-maltosa (94).

Los rendimientos de derivados N-acilados obtenidos con los monosacáridos acilados oscilaban entre el 20% y el 80%, según los solventes usados. En el caso de los acetatos de disacáridos, efectuando la amonólisis en medio metanólico, Deferrari y Cadenas obtuvieron rendimientos del 70-80% del disacárido libre, alrededor del 5% de N,N'-diacetil-aldobiosilidendiaminas y rendimientos aún mas bajos de los N-acetil-aldobiosilaminas.

Deferrari y Cadenas (113) obtuvieron por amonólisis de la α -octa-O-acetil-celobiosa con metanol-amoníaco al 16%, celobiosa (89,3%), N,N'-diacetil-celobiosilidendiamina (3,7 %) de pf. 113-115 $\frac{1}{2}$, $[\alpha]_D^{25}$ -23,3 $\frac{1}{2}$ (agua) y por acetilación de las aguas madres y separación cromatográfica de los productos acetilados en columna

de talco celite, obtuvieron la hepta-O-acetil-N-acetil- α -celobiosilamina (0,5%) de pf. 242 \pm , $[\alpha]_D^{25}$ -54,09 (cloroformo).

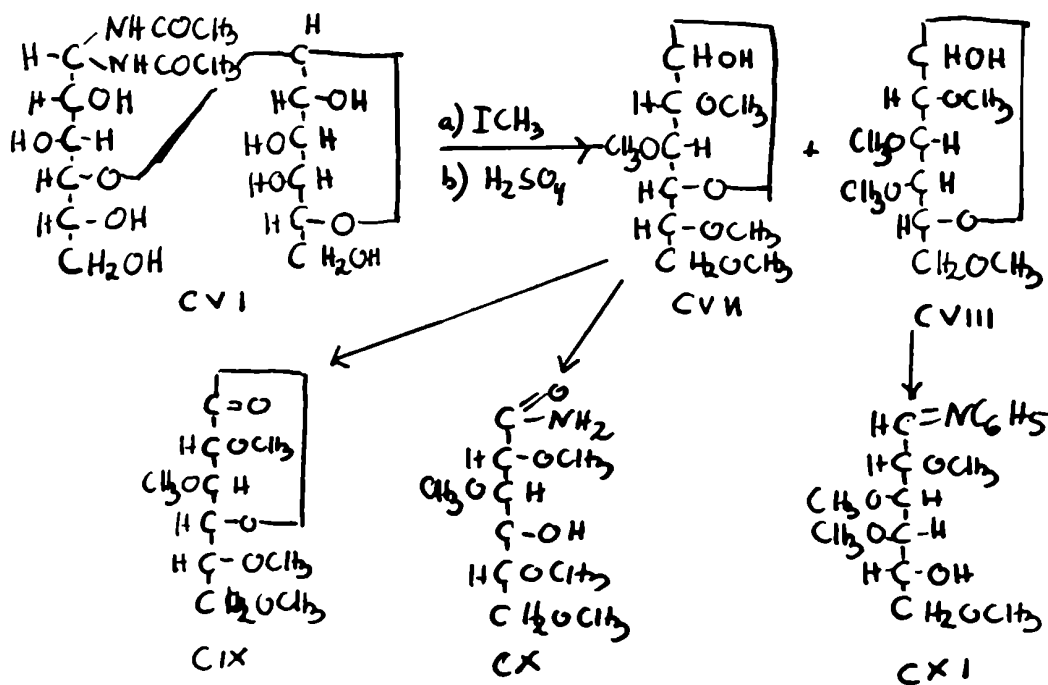
Los mismos autores (114), al amonolizar β -octa-O-acetil-lactosa con metanol-amoníaco al 16 % obtuvieron lactosa con 71% de rendimiento, la N,N'-diacetil-lactosilidendiamina (4,6%) de pf. 114-116 \pm , $[\alpha]_D^{25}$ -14,8 (agua) y por cromatografía en columna de carbón Darco G-60 - celite 503 aislaron la N-acetil-lactosilamina (0,76%) de pf. 162-163 \pm , $[\alpha]_D^{25}$ +71,5 (agua).

A partir de la β -octa-O-acetil-maltosa (94) obtuvieron por acetilación de los productos de amonólisis (en metanol-amoníaco 16%) la N,N'-diacetil-maltosilidendiamina con 0,8% de rendimiento, por amonólisis con agua-amoníaco al 25% obtuvieron la N,N'-diacetil-maltosilidendiamina con 27% de rendimiento. El producto acetilado dió por amonólisis la N,N'-diacetil-maltosilidendiamina de pf. 84-86 \pm , $[\alpha]_D^{25}$ +81,1 (agua). Este aumento de rendimiento de 0,8 a 27% tiene su paralelo en el caso de la amonólisis de los esteres de monosacáridos como se vió en la página 61.

En el caso de los disacáridos acetilados se produce en mayor proporción la eliminación de los grupos acetilos por amonólisis, lo cual compite con la formación de las N-acetil-derivados en el carbono 1; además el impedimento estérico debido al volumen de la parte no reductora del disacárido es otro factor que determina el rendimiento de N,N'-diacetil-aldobiosilidendiaminas y N-acetil-aldobiosilaminas. En estos casos las separaciones de los productos de la reacción se hace más difícil que con los monosacáridos y hay que aplicar en general cromatografías en columna para lograr una eficaz purificación de los mismos.

La estructura de las N,N'-diacetil-aldobiosilidendiaminas fué estudiada por Deferrari y Cadenas (115) por metilación de las mismas con yoduro de metilo y óxido de bario en dimetilformamida. Así, por metilación de la N,N'-diacetil-lactosilidendiamina (CVI) y por hidrólisis ácida (H_2SO_4 1 N durante 25 minutos a 100°) obtuvieron la 2,3,4,6-tetra-O-metil-D-galactosa (CVIII) y la 2,3,5,6-tetra-O-metil-D-glucosa (CVII) que separaron por cromatografía en columna de celulosa. La 2,3,5,6-tetra-O-metil-D-glucosa (CVII) fué identificada por la obtención de la lactona (CIX) y la

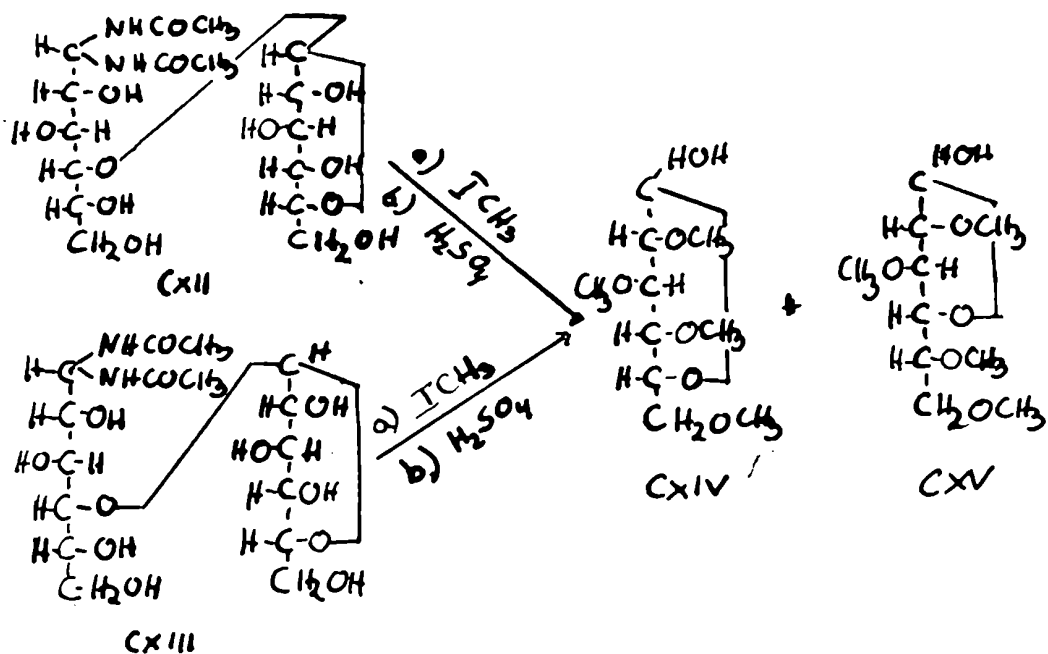
amida (CX) y la 2,3,4,6-tetra-O-metil-D-galactosa por la preparación de la anilida (CXI).



A partir de la N,N' -diacetil-celobiosilidendiamina ((CXIII)) y de la N,N' -diacetil-maltosilidendiamina (CXII), que difieren sólo en la configuración α y β de la unión glicosídica, obtuvieron por metilación y posterior hidrólisis la 2,3,4,6-tetra-O-metil-D-glucosa (CXIV) y la 2,3,5,6-tetra-O-metil-D-glucosa (CXV).

La estructura acíclica de las N,N' -diacetil-aldobiosilidendiaminas indicada en las fórmulas CVI, CXII, CXIII está de acuerdo con las estructuras conocidas en

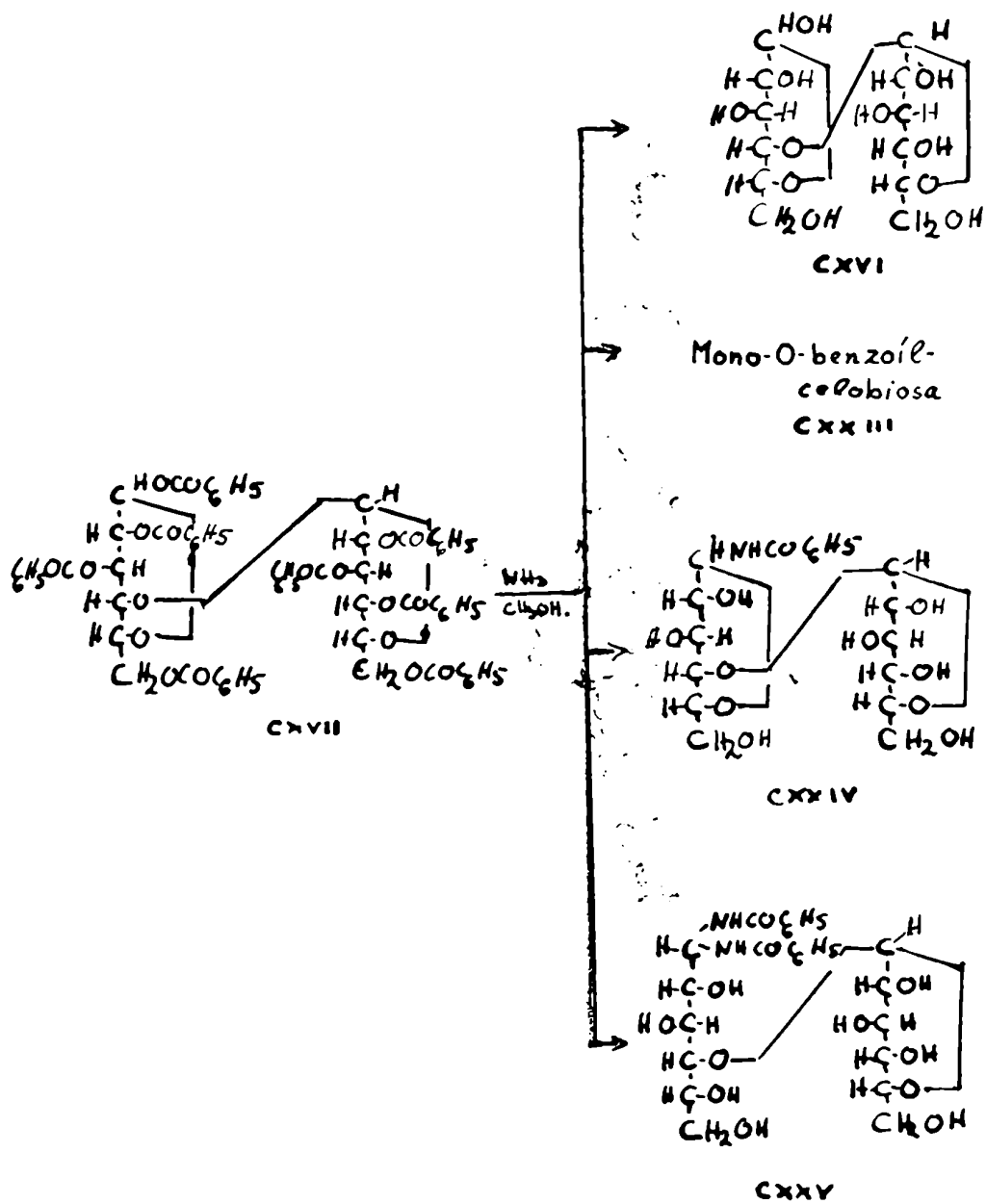
el caso de los monosacáridos.



Nosotros estudiamos la reacción de amonólisis de la octa-O-benzoilcelobiosa, la octa-O-benzoil-lactosa y de la hepta-O-benzoil-maltosa.

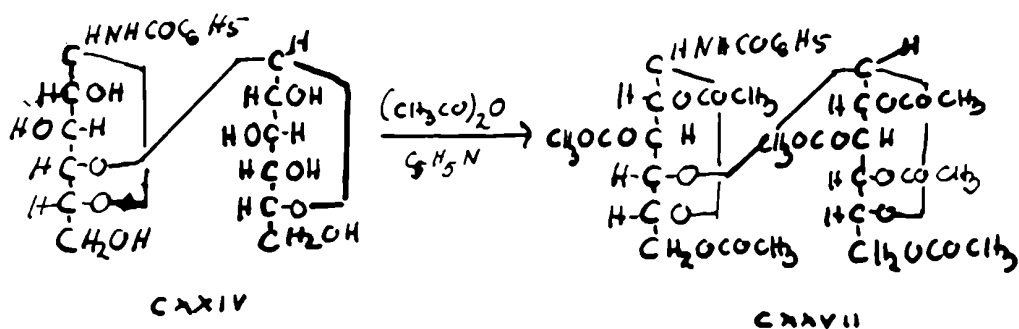
A tal fin efectuamos la amonólisis con amoníaco metanólico al 16% de la octa-O-benzoilcelobiosa (CXVII) de pf. 188-190°. De la mezcla de reacción eliminamos las sustancias básicas presentes por tratamiento con

resina sulfónica ZeoKarb 225 y separamos la benzamida por extracción con acetato de etilo. Del jarabe libre de benzamida y sustancias básicas cristalizaron varias fracciones de celobiosa (CXVI) de pf. 232-234°, $[\alpha]_D^{+46,5}$ (5 minutos) \longrightarrow +32° (24 horas) (agua), con un rendimiento del 46,6%. El jarabe resultante de evaporar las aguas madres de cristalización de la celobiosa se cromatografió en una columna de carbón Darco G-60 - celite 535 (5:1) y obtuvimos 2,2 gr más de celobiosa (rendimiento total 48,6%) y una serie de fracciones que se reunieron de acuerdo a sus características cromatográficas en papel y se recromatografiaron varias veces en columnas de celulosa con lo cual aislamos una mono-O-benzoilcelobiosa (CXVIII) (6,5%) en forma de un jarabe reductor de $[\alpha]_D^{+67,9}$ (5 minutos) \longrightarrow +82° (24 horas) (etanol absoluto); la N-benzoilcelobiosilamina (CXIX) (0,9%) en forma de un jarabe no reductor de $[\alpha]_D^{+33,8}$ (piridina) y la N,N'-dibenzoilcelobiosilidendiamina (CXX) (7,9%) en forma de agujas de pf. 148-150°, $[\alpha]_D^{-33,2}$ (agua). A partir de la mono-O-benzoilcelobiosa preparamos por benzoilación con cloruro de benzoylo y piridina una octa-O-benzoilcelobiosa, en forma de agujas de pf. 194-196°, $[\alpha]_D^{+70}$ (cloroformo),

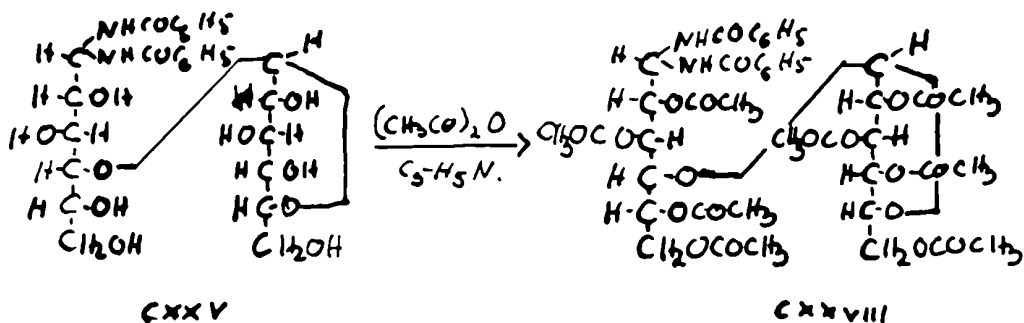


que por cromatografía en placa delgada de ácido silícico-almidón dió una sola mancha de Rf igual al del octa-benzoato de $(\alpha)_D^+ 37\%$. Comparando los poderes rotatorios de ambos octa- β -benzoatos, ya sea el obtenido directamente $(\alpha)_D^+ 37\%$, o el obtenido por benzoilación de la mono- β -benzoil-celobiosa, de $(\alpha)_D^+ 70\%$, parecería que se tratara del par α y β siendo el α el de mayor poder rotatorio. La formación diferencial del benzoato de $(\alpha)_D^+ 70$ tal vez se podría explicar considerando que si el mono- β -benzoato de partida tuviera el benzoílo en el carbono 3 de la mitad reductora o en el carbono 2 de la no reductora, el efecto estérico que dicho benzoílo ejercería sobre el carbono 1 podría determinar de esa forma la estereoespecificidad de la benzoilación.

De la N-benzoil-celobiosilamina (CXXIV) obtuvimos por acetilación con anhídrido acético y piridina la hepta- β -acetil-N-benzoil-celobiosilamina (CXXVII) en forma de jarabe, que secado a 80° , 1mm, daba lugar a un sólido amorfo, pulverulento de pf. $104-107^\circ$, $(\alpha)_D^+ 37,2$ (cloroformo).



de la N,N'-dibenzoyl-celobiosilidendiamina (CXXV) preparamos la octa-O-acetil-N,N'-dibenzoyl-celobiosilidendiamina (CXXVIII), en forma de jarabe, que secada a 80°, 1mm, daba lugar a un sólido amorfo de pf. 116-117° (ablanda 98°), de $[\alpha]_D -21,12$ (cloroformo), lo



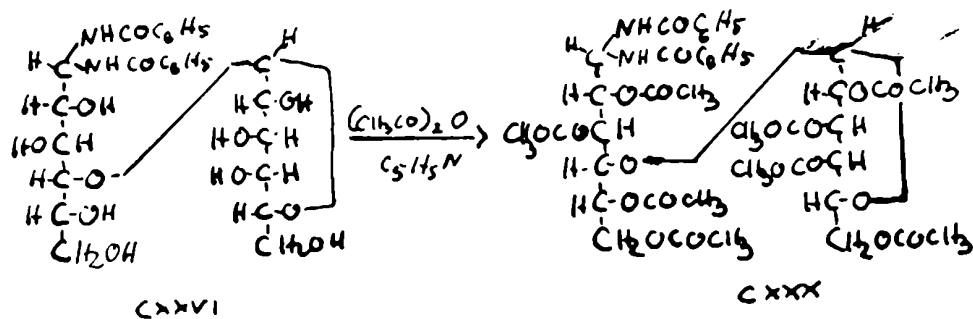
cual demostró la presencia de un ciclo en la N-benzoyl-celobiosilamina y de una estructura de cadena abierta en la N,N'-dibenzoyl-celobiosilidendiamina.

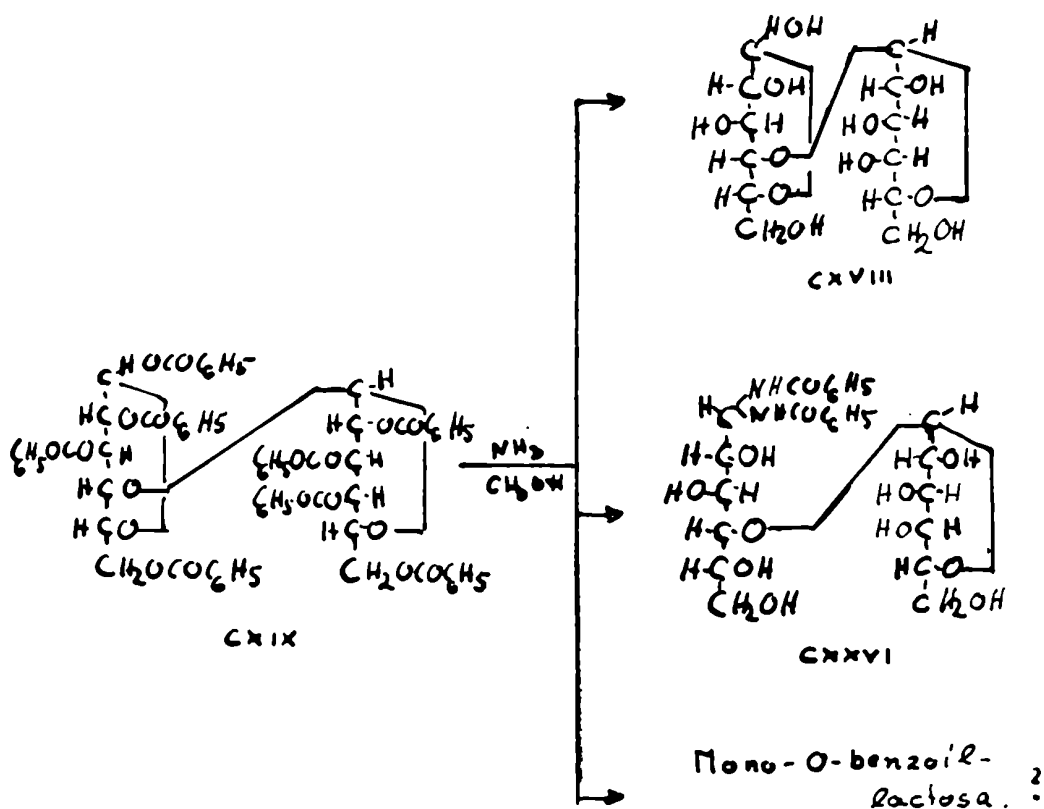
Simultáneamente efectuamos otra amonólisis de octa-O-benzóil-celobiosa, de la cual obtuvimos de la manera descrita anteriormente 56% de celobiosa. Las aguas madres del aislamiento de celobiosa que contenían los demás productos de la reacción se llevaron a sequedad y se benzoilaron con cloruro de benzóilo y piridina; de la mezcla de productos benzoilados obtuvimos, por sucesivas recristalizaciones de acetona-metanol, penta-O-benzóil-N-benzóil-celobiosilamina (0,6%) en forma de agujas de pf. 250-255 ° , cuya ulterior benzoilación con cloruro de benzóilo y piridina dió lugar a la hepta-O-benzóil-N-benzóil-celobiosilamina de pf. 202 ° , $(\alpha)_D^{25} + 71,5$ (cloroformo).

El hecho de haber obtenido una N-benzóil-celobiosilamina parcialmente benzoilada en condiciones iguales a las usadas para la benzoilación de los azúcares libres, hace pensar que en esta sustancia debe haber un impedimento estérico debido posiblemente a la influencia del grupo N-benzóilo que dificulta la entrada de los O-benzóilos.

La octa-O-benzóil-lactosa (CXIX) de pf. 119-120 ° se amonolizó con metanol-amoníaco al 16% y de la mezcla se

de reacción eliminamos las sustancias básicas por agitación con resina sulfónica Zeo Karb 225 y separamos la benzamida por extracción con acetato de etilo; del jarabe resultante disuelto en metanol cristalizó lactosa (CXVII) de pf. 220-222° (20%), $[\alpha]_D^{20} +82,4$ (8 minutos) $\longrightarrow +58,9$ (28 horas) (agua). Por cromatografía de las aguas madres del aislamiento de la lactosa en una columna de carbón Darco G-60 - celite 535 (5:1) obtuvimos 0,96 gr más de lactosa (rendimiento total 28,3%); recromatografiamos varias veces en columna de celulosa aquellas fracciones que mostraron tener una composición similar por cromatografía en papel, y obtuvimos N,N'-dibenzoil-lactosilidendiamina (CXXVI) (9,6%) de pf. 196-198°, $[\alpha]_D -20,9$ (agua). Para demostrar que se trataba de una estructura de cadena abierta preparamos por acetilación con anhídrido acético y piridina la octa-O-acetil-N,N'-dibenzoil-lactosilidendiamina (CXXX) de pf. 178-180°, $[\alpha]_D -12,5$ (cloroformo).





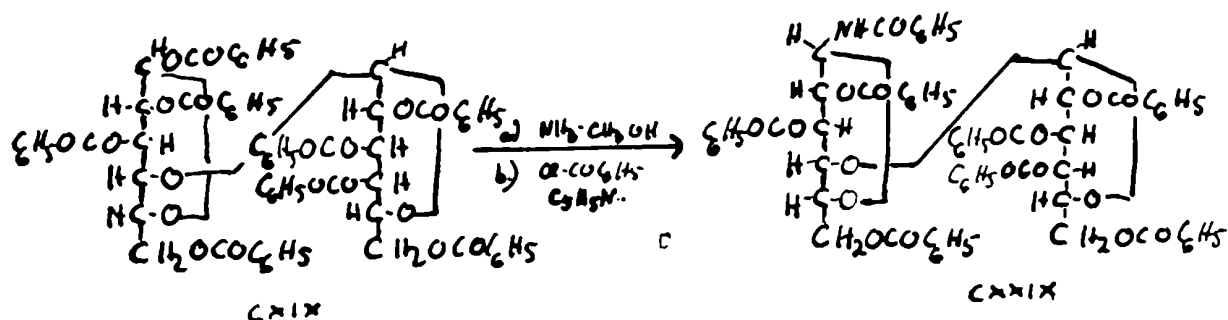
obtuvimos también un sólido de pf. 133-140°, $[\alpha]_D^{20} +49,3$ (5 minutos) $\rightarrow +60,5$ (22 horas) (agua) (4,7%), que cromatografiado en papel con butanol-etanol-agua (5:1:4, capa superior) y butanol-piridina-agua (10:3:4), revelado con nitrato de plata-metanol amoniacal -metóxido de sodio (117) y con ftalato ácido de anilina (118) daba lugar a una sola mancha reductora de Rf 0,19 respectivamente 0,28; debido a la propiedad reductora de dicho producto y a que su solución acuosa presentaba

mutarrotaçión, supusimos que se trataba de una mono-O-benzoil-lactosa. El análisis elemental de carbono e hidrógeno estaba de acuerdo con la mono-O-benzoil-lactosa pero la determinación del nitrógeno acusó un valor de 1,1%, por lo cual no podría tratarse de esa sustancia y creemos que se trata de una mezcla de mono-O-benzoil-lactosa y N-benzoil-lactosilamina ya que los valores de carbono e hidrógeno calculados para esta última son los mismos que para una mono-O-benzoil-lactosa y su única diverencia radica en el contenido de 3,14% de nitrógeno. Hemos intentado también la separación cromatográfica de esta mezcla sin lograrlo de una manera satisfactoria hasta este momento.

De otra amonólisis de octa-O-benzoil-lactosa obtuvimos de la manera ya descripta 38% de lactosa. Las aguas madres del aislamiento de la lactosa que contenían los demás productos de la reacción se concentraron a sequedad y se benzoilaron con cloruro de benzilo y piridina. Por sucesivas recristalizaciones de los productos de benzoilación se obtuvo tribenzamida en forma de agujas de pf. 200-202°. La tribenzamida puede haber tenido origen en algo de benzamida presente en la mezcla de productos que se benzoilaron, ya que uno de los métodos de obtenerla

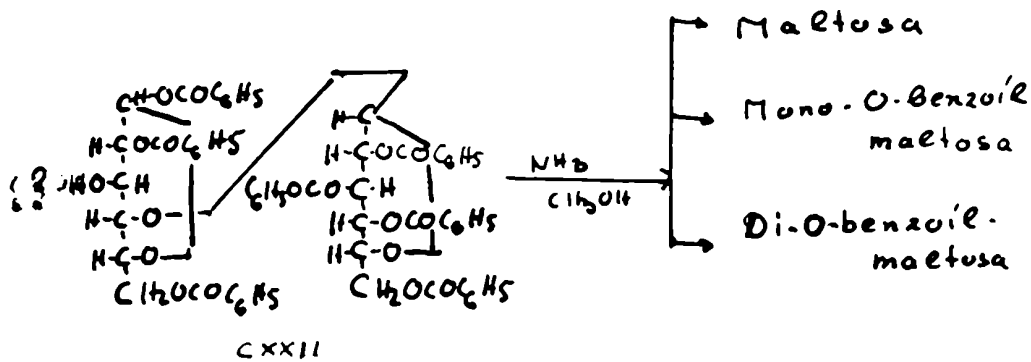
es la benzoilación de la benzamida con cloruro de benzofilo y piridina. Por otra parte sintetizamos la tribenzamida por la técnica descrita por Jaffé (119), tratando el carbonato de amonio con cloruro de benzofilo, a fin de compararla con el producto aislado de la amonólisis.

La mezcla de benzoatos amorfos se cromatografió en columna de alúmina y después de dos cromatografías logramos separar hepta-O-benzoil-N-benzoil-lactosilamina (CXXIX) (5%) de pf. 128-130°, $[\alpha]_D^{25} +62,4$ (cloroformo).



La amonólisis de la hepta-O-benzoil-maltosa (CXXII) de pf. 139-140° se realizó con metanol-amoniaco al 16% de manera similar a la descrita para la octa-O-benzoil-celobiosa y la octa-O-benzoil-lactosa; después de eliminar las sustancias básicas con resina sulfónica Zeo Karb 225 y la benzamida por extracción con acetato de etilo, tratamos de aislar la maltosa por cristalización, sin lograr-

10. El jarabe conteniendo la maltosa y los demás productos de la reacción se cromatografio en una columna de carbón Darco G-60 - celite 535 (5:1) y aislamos maltosa (CXX) (18,5%) y una mono-O-benzoil-maltosa (38,3%) reductora, de pf. 140-145°, $\{\alpha\}_D^{25}$ 131,5 (5 minutos) \longrightarrow +117,7 (16 horas) (agua). De las aguas madres de cristalización de la mono-O-benzoil-maltosa, despues de tres cromatografias en columna de celulosa, aislamos pequeñas cantidades de benzamida y maltosa y logramos la separación de una di-O-benzoil-maltosa (0,4%) de pf. 90-92°, $\{\alpha\}_D^{25}$ 97,5 (piridina) y $\{\alpha\}_D^{25}$ 92,1 (etanol) y una mezcla que por cromatografía en papel corrida con butanol-etanol-agua (5:1:4, capa superior) demostró estar formada principalmente por la mono-O-benzoil-maltosa de $\{\alpha\}_D^{25}$ 117,7, impurificada por pequeñas cantidades de la di-O-benzoil-maltosa descrita anteriormente.



Por acetilación de la mono-O-benzoil-maltosa con anhídrido acético y piridina obtuvimos una hepta-O-acetil-mono-O-benzoil-maltosa de pf. 192-193^o, $[\alpha]_D^{25} + 120,2$ (cloroformo).

El hecho que en la amonólisis de la hepta-O-benzoil-maltosa que acabamos de describir no se haya producido N,N'-dibenzoil-maltosilidendiamina ni N-benzoil-maltosilamina podría atribuirse a la falta de un benzoil en la mitad reductora de la molécula y en una posición fundamental para la transposición, como podría ser la del carbono 3, ya que en el caso de la penta-O-benzoil-D-glucosa estudiada por Deulofeu y col. (70) el benzoil de esa posición contribuye con $0,76 \pm 0,2$ moles a la formación de N,N'-dibenzoil-glucosilidendiamina.

Esta suposición es bastante plausible si se considera además que el O-benzoil del carbono 3 sería practicamente el único que podría transponerse, ya que en el caso de la hepta-O-benzoil-maltosa falta el benzoil del carbono 4 y 5 por estar dichos carbonos comprometidos en la unión glicosídica y en la formación del anillo hemiacetalico, quedando solo disponibles los de los carbonos 2 y 6 cuya participación sería apenas de 0,12 y 0,30 mol cada

uno si se comportaran como los equivalentes en la penta-O-benzoil-D-glucosa.

La formación de mono-O-benzoil-disacáridos en la amonólisis de la octa-O-benzoil-celobiosa y la octa-O-benzoil-lactosa y en particular el rendimiento relativamente elevado de mono-O-benzoil-maltosa en el caso de la amonólisis de la hepta-O-benzoil-maltosa podría explicarse solamente en base a consideraciones sobre el efecto estérico ejercido recíprocamente por ambas mitades constitutivas del disacárido, ya que la formación de este tipo de sustancias no ha sido nunca observada en la amonólisis de derivados benzoilados de monosacáridos con amoniaco metanólico.

El grupo O-benzoil de la mono-O-benzoil-maltosa presenta una resistencia muy alta a la amonólisis; esto fué comprobado por nosotros por el hecho que por disolución en amoniaco metanólico al 16%, despues de 24 horas se amonolizó en muy pequeña proporción y recién despues de 15 días a temperatura ambiente la cantidad de mono-O-benzoil-maltosa presente en la solución de amoniaco metanólico habia disminuido a rastros, lo cual se determinó por cromatografía en papel.

Si bien la obtención de N,N'-dibenzoil-aldosilidendiaminas benzoiladas en el hidroxilo del carbono primario fué descrita por Restelli de Labriola y Deulofeu (86) y por Deulofeu y col.(87) empleando tiempos de reacción menores y alcoholes diferentes del metanol, el hecho se atribuyó a la influencia del tiempo y del solvente, ya que esas O-benzoil-N,N'-dibenzoil-aldosilidendiaminas eran fácilmente O-desbenzoiladas por tratamiento con amoníaco metanólico.

Nosotros hemos considerado modelos moleculares de la maltosa, lactosa y celobiosa y de sus respectivos octa-O-benzoatos y hemos observado que el benzoilo ubicado en el carbono 2 de la mitad no reductora y el 3 de la mitad reductora de los tres disacáridos considerados son los que estarían estéricamente más impedidos para el ataque por el amoníaco y formación del intermediario XCI (página 55) a través del cual se produciría la eliminación por amonólisis de dichos benzoilos.

Al mismo tiempo se pudo ver en el modelo estudiado que en el caso de la maltosa el hidroxilo del carbono 3 de la mitad reductora es también el que está estéricamente más impedido para el ataque por el cloruro de benzoilo en la benzoilación de la misma, lo cual

hace pensar que la hepta-O-benzoyl-maltosa obtenida por nosotros podría tener libre el hidroxilo de esa posición. Esta suposición estaría de acuerdo con los resultados experimentales obtenidos y que hemos señalado en la página 99.

En el modelo molecular se vió también que en el caso de la maltosa que tiene la unión glicosídica α , 1-4, o sea axial-ecuatorial, el factor estérico sobre los sustituyentes de los carbonos 3 de la mitad reductora y 2 y 6 de la parte no reductora, era mayor que en la celobiosa y lactosa, debido al impedimento recíproco de ambas mitades del disacárido. Esto podría explicar que en la amonólisis de la hepta-O-benzoyl-maltosa se obtenga una mono-O-benzoyl-maltosa con 44% de rendimiento mientras que de la octa-O-benzoyl-celobiosa y octa-O-benzoyl-lactosa se obtiene mono-O-benzoyl-derivados con solo 6,5% y 4,7% respectivamente. La obtención de solo 18,5% de maltosa libre en la amonólisis de su heptabenzoyl, mientras que en el caso de los octabenzoyl de celobiosa y lactosa, el azúcar libre se obtiene con 56% y 38% de rendimiento respectivamente, sería otro hecho vinculado a lo anterior, ya que esta disminución de la formación del azúcar libre, paralela

al aumento de mono-O-benzoil-derivado podría explicarse como debido a factores estéricos de mayor magnitud en el caso de la maltosa.

Considerando los dos mecanismos competitivos, el de amonólisis y el de transposición de ortoesteres que se producen por el ataque del amoniaco al átomo de carbono positivo del carbonilo polarizado y analizando las posibilidades de polarización del carbonilo del grupo acetilo y del benzoflo, vemos que el acetilo se amonolizaría mas facilmente que el grupo benzoílo, porque en este último la polarización del carbonilo estaría disminuida por el efecto mesomérico del núcleo bencénico, lo cual se traduciría en una mayor estabilidad frente a la reacción de amonólisis con lo cual la reacción de transposición de acilos al carbono 1 por formación de ortoesteres se vería tal vez facilitada, lo cual podría explicar el relativo aumento de rendimiento de N,N'-di-benzoil-aldobiosilidendiaminas observadas en nuestro caso particular con respecto al obtenido por Deferrari y Cadenas en el caso de los octa-O-acetatos de celobiosa (113), lactosa (114) y maltosa (94).

Esta suposición explicaría tambien el hecho que en el campo de los monosacáridos, en la amonólisis de

los derivados benzoilados se producen las N,N'-dibenzoil-aldosilidendiaminas con un rendimiento generalmente mayor que el de las N,N'-diacetil-aldosilidendiaminas que se obtienen por amonólisis de los derivados acetilados de los mismos azúcares, con excepción de la ramosa, manosa y lixosa en las que la distribución de los hidroxilos de los carbonos 2,3 y 4 (en la fórmula de proyección de Fischer) parecería que determina un factor estérico que invierte los resultados anteriores, ya que en el caso de la ramosa, manosa y lixosa que tienen la misma configuración estérica en dichos carbonos, las N,N'-diacetil-aldosilidendiaminas se producen con rendimientos superiores a las N,N'-dibenzoil-aldosilidendiaminas.

PARTICULAR EXPERIMENTAL

En las benzolaciones se usó cloruro de bencofio y piridina anhidra, recientemente destilados.

En las amonolisis se empleó metanol-amoníaco al 10%. Las cromatografías en papel se efectuaron sobre Whatman No. 1, usando como eluyente butanol-etanol-agua (5,1,4) capa superior) en todos los casos en los cuales no se indican expresamente otros eluyentes.

La cromatografía en placa delgada se hizo sobre ácido silícico-almidón como fué descrita por Deferrari y col. (116) empleando como revelador el reactivo B y placas de alúmina-yeso, empleando como revelador ácido sulfúrico concentrado y posterior calentamiento. Las placas de alúmina-yeso se prepararon mezclando 10 gr de alúmina y 5 gr de yeso (ambos tamizados por malla 200) con 15 ml de agua, extendiendo la mezcla sobre placas de vidrio y dejando secar a temperatura ambiente; se activaron en estufa a 120° durante 2 horas y se guardaron en desecador sobre anhídrido de sodio. Para el desarrollo de los cromatogramas se usaron mezclas de benceno-acetato de etilo al 5%, benceno-metanol al 2% y benceno-etanol absoluto al 0,5%.

Para el revelado de los cromatogramas se utilizaron de la manera descrita a continuación los siguientes reactivos:

Reactivo A₁ solución de ninhidrina al 0,1% en acetona; se pulverizaron con el reactivo los cromatogramas y después de 24 horas a temperatura ambiente se pudieron detectar sustancias básicas por la aparición de manchas azules.

Reactivo B₁ este reactivo está compuesto por una mezcla recién preparada de 5 partes de solución al 0,3% de nitrato de plata en metanol, 1 parte de metanol-acetona al 16% y 2 partes de solución de nitrato de sodio al 7%, mezclados en el orden indicado (17). Los cromatogramas se revelaron por inmersión e pulverización con el reactivo; por secado al aire a temperatura ambiente en el caso de azúcares libres, de sustancias de naturaleza polialcohólica y de benzamida e por calentamiento a 110° durante 15 minutos en el caso de derivados acilados de las sustancias anteriores, aparecieron manchas de color que variaba desde el amarillo al pardo.

Reactivo C₁ solución de ftalato ácido de anilina preparado disolviendo 0,16 gr de ácido ftálico y 0,1 ml de anh-

lina en 10 ml de butanol (118). Por pulverización de los cromatogramas con este reactivo, secado a temperatura ambiente y posterior calentamiento en estufa a 110° durante 10 minutos se revelaron las sustancias reductoras como manchas de color castaño.

Las evaporaciones se efectuaron al vacío en baño de María y a temperaturas menores de 60°.

Los puntos de fusión no están corregidos.

CELOBIOSA

Se preparó por amonolisis de la octa-O-acetil-celobiosa de pf. 213-215, según la siguiente técnica, 20 gr de octa-O-acetil-celobiosa se disolvieron en 500 ml de metanol - amoniaco al 16 % por agitación durante 10 minutos, se dejó la mezcla de reacción durante 24 horas a temperatura ambiente, se evaporó al vacío hasta consistencia siruposa y el jarabe residual se disolvió en metanol caliente, de la solución metanólica enfriada a \neq 5 ° durante varios días cristalizó la celobiosa por raspado, de ochenta gramos de octa-O-acetil-celobiosa (4 preparaciones) obtuvimos 35,6 gr (87,9 %) de celobiosa de pf. 220-225 que por dos recristalizaciones por disolución en agua caliente, decoloración con carbón y agregado de suficiente etanol, hasta obtener una solución etanólica al 90 %, dieron 28,4 gr de celobiosa de pf. 232-234 °.

REACCIÓN DE LA GALACTOSA. OCTA-O-BENZYL-GALACTOSA.

a) 25 gr de galactosa (0,073 mol) de p.f. 232-234 se suspendieron en 250 ml de piridina (2,84 mol) y se agregaron 85 ml (0,74 mol) de cloruro de bencilo en pequeñas porciones, agitando energicamente y manteniendo la mezcla de reacción en un baño de agua a 15°. Se dejó la mezcla de reacción 1 hora a temperatura ambiente, 4 horas a 100°, se enfrió y se volcó sobre un litro de agua a 90°. El jarabe obtenido se lavó primero con agua caliente, luego con agua fría hasta transformarlo en un sólido pulverulento, se filtró y se secó. Se obtuvieron 83,3 gr (93%) de p.f. 188° que se purificó por disolución en caliente en una mezcla de cinco partes de metanol y una parte de acetona. Por enfriamiento precipitaron 68 gr de octa-O-benzil-galactosa como un sólido amorfo pulverulento de p.f. 188-192°. Por repetidas purificaciones de la manera descrita no cambió el punto de fusión. Con el objeto de obtenerlo cristalino, se lo cromatografió por una columna de alúmina de la manera siguiente:

Un gramo de octa-O-benzoil-celobiosa de pf. 188-192^a se disolvió en 5 ml de benceno y se pasó por una columna de 33 cm x 2 cm de alúmina Merck neutra, eluyendo con mezclas de benceno y etanol absoluto en concentraciones crecientes de este último y recogiendo fracciones de 100 ml cada una de acuerdo al siguiente esquema :

Eluyente	Fracción Nº	Volumen ml	Peso de sustancia aislada	pf. y forma cris- talina
benceno	1 - 4	400	- - -	- - -
benceno-etanol 0,2%	5 - 7	300	- - -	- - -
benceno-etanol 0,4%	8 - 9	200	- - -	- - -
	10	100	0,20	155 ^a amorfo
	11	100	0,52	188-192 ^a amorfo
	12	100	0,12	151-154 ^a amorfo
	13-14	200	0,03	amorfo
benceno-etanol 1%	15-16	200	- - -	- - -
benceno-etanol 5%	17-24	800	0,01	amorfo
acetona		400	- - -	- - -

se recuperó el 83% del material original; ninguna de las fracciones por redisolución en metanol - acetona caliente y enfriamiento dió lugar a la obtención de productos cristalinos.

La fracción 11 que pesó 0,52 gr y fundió a 188-192^o se reconstituyó por una columna de 23 cm x 2 cm de sílica Merck neutra, eluyendo con benceno y etanol absoluto en concentraciones crecientes y separando fracciones de aproximadamente 50 ml cada una según el esquema siguiente:

Eluyente	Fracción No	Volumen ml	Peso de sustancia obtenida	Pf. y forma cristalina
benceno	1 - 2	150	---	---
benceno-etanol 0,1%	3 - 6	200	---	---
benceno-etanol 0,2%	7	50	---	---
	8	50	0,07	198 ^o amorfo
	9	50	0,21	195 ^o amorfo
	10	50	0,10	179-186 ^o amorfo
	11-12	100	0,03	151-154 ^o amorfo
	13-14	100	---	---

Disolvente	Fracción Nº	Volumen ml	Peso de sustancia aislada	pt. y forma crista- lina
benceno-etanol 0,3%	15-19	250	- - -	- - -
benceno-etanol 0,4%	20-23	200	- - -	- - -
benceno-etanol 1%	24-29	600	0,02	amorfo
benceno-etanol 5%	30-32	300	- - -	- - -
metanol		400	- - -	- - -
acetona		400	- - -	- - -

Se recuperó el 88% del material original. Cada una de las fracciones se purificó por disolución en metanol-acetona (5:1) en caliente pero no dieron material cristalino. El benceno obtenido de las fracciones 8 y 9 daba una sola mancha por cromatografía en placa delgada de ácido silícico o-alidón, corrido con benceno-acetato de etilo al 5% y revelado con el reactivo B (figura 1).

La octa-O-benzoil-celobiosa obtenida de la fracción 9, después de tres purificaciones más de metanol-acetona fundió a 188-191°; $[\alpha]_D^{26} + 37$ (c; 1,14; cloroformo).

Análisis:

Calculado para: $C_{68}H_{54}O_{19}$	C : 69,48%	H : 4,64%
Encontrados:	C : 69,45%	H : 4,89%

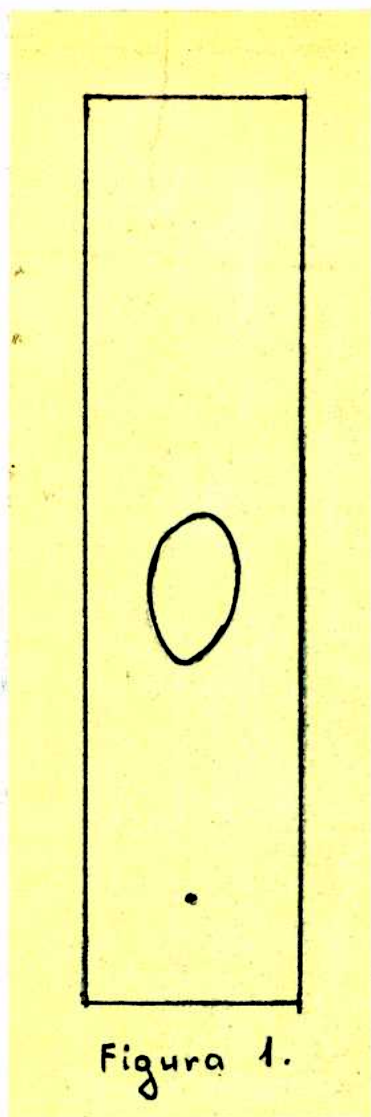


Figura 1.

Octa-O-benzoil-celobiosa
 pf. 188-191a

placa; ácido silícico-
 almidón

eluyente ; benceno-acetato
 de etilo 5 %

b.) 25 gr de celobiosa de pf. 232-234a se benzoilaron de la manera descripta anteriormente, dejando la mezcla de reacción una hora a temperatura ambiente, luego 4 horas a 60° y 15 minutos a 100°; se enfrió, se agregó agua hasta disolución del precipitado formado y se dejó durante una noche en heladera. Se volcó sobre 1 litro de agua a 90°, se lavó primero con agua caliente y luego con agua

fría hasta obtener un precipitado pulverulento; se filtró y se secó. Se obtuvieron 82,3 gr (96%) de producto amorfo de pf. 185-188° que se purificó por disolución en caliente en una mezcla de metanol-acetona (5:1); después de varias purificaciones fundió a 190-191°.

Del metanol-acetona madre, por estacionamiento y evaporación a temperatura ambiente se obtuvo octa-O-benzil-celobiosa en forma de agujas de pf. 145-146°, que después de tres recristalizaciones de metanol-acetona (1:1) fundió a 148-149°; $[\alpha]_D^{27} + 37,1$ (c; 0,85; clorofor-
me), lo cual parecería indicar que se trata de dos formas diérfas de la misma sustancia. Ambas octa-O-benzil-celobiosas dan lugar a una sola mancha de idéntico Rf. por cromatografía en placa delgada.

Análisis :

Calculado para:	$C_{68}H_{54}O_{19}$	C :	69,48%	H :	4,64%
Encontrado:		C :	69,82%	H :	4,85%

ANÁLISIS DE LA OCTA-O-BENZOIL-CELOBIOSA.

AISLAMIENTO DE CELOBIOSA, N-BENZOIL-CELOBIOSILANINA,
N,N'-DIBENZOIL-CELOBIOSILIDENDIAMINA Y MONO-O-BENZOIL-
CELOBIOSA.

Aislamiento de celobiosa.

40 gr de octa-o-benzoil-celobiosa (0,037 mol) de
pf. 190-1918 se disolvieron por agitación durante 10 ho-
ras en 1000 ml de metanol-anorface; se dejó la solución
durante 24 horas a temperatura ambiente y luego se eva-
poró al vacío hasta jarabe y se llevó a sequedad en de-
secador al vacío. El producto seco se extrajo 7 veces
con 50 ml cada vez de acetato de etilo a 60° para eli-
minar la benzamida, el residuo se disolvió en 200 ml de
metanol y por evaporación espontánea a temperatura am-
biente y luego en heladera, cristalizaron 4,28 gr de
celobiosa de pf. 230-2338. La solución metanólica se
evaporó al vacío y el residuo seco se extrajo de nuevo
con 4 fracciones de 50 ml cada una de acetato de etilo,
se disolvió en 150 ml de metanol y se agitó con 100 ml
de resina sulfónica 200 Karb 225 durante 2 horas, para
eliminar las sustancias básicas presentes. Se filtró la
resina y se lavó con 400 ml de metanol y 1000 ml de me-

tanol-agua (1:1). Las soluciones metanólicas se concentra-
 ron al vacío hasta jarabe, el cual se disolvió en 100 ml
 de una mezcla de cloroformo-metanol-acetato de etilo (2:
 5:1) de la cual precipitaron 0,78 gr de celobiosa de pf.
 2181. De la resina se recuperó por lavados con agua 0,33
 gr de celobiosa de pf. 2351. El total de celobiosa recu-
 perado fué de 5,34 gr (46,6%). La celobiosa se purificó
 por disolución en 3 ml de agua caliente, decoloración
 con carbón y agregado de etanol caliente hasta obtener
 una solución etanólica al 80%, de la cual por enfriamien-
 to a +58 durante 24 horas cristalizó celobiosa de pf.
 232-2341; $[\alpha]_D^{23} 46,5$ (6 minutos) \longrightarrow +32,07 (24 horas)
 (c; 0,96; agua) y que por cromatografía en papel corrida
 con una muestra testigo de celobiosa y revelando con el
 reactivo B y C resultó idéntica al testigo.

Las aguas madres del aislamiento de la celobiosa
 se evaporaron al vacío y el jarabe residual disuelto en
 30 ml de agua se cromatografió en una columna de 53 cm x
 3,2 cm de carbón D₂reo G-60 - Celite 535 (5:1), eluyendo
 con agua y etanol en concentraciones crecientes, reco-
 giendo fracciones de 250 ml cada una según el esquema
 siguiente, reuniendo las fracciones que por cromatogra-
 fía en papel mostraron iguales características cromato-
 gráficas.

Eluyente	Fracción Rf	Volumen ml	peso de sustancia aislada	pf. y Rf y forma cris- talina
agua	1-6	1500	- - -	- - -
agua-etanol 2,5%	7-10	1000	- - -	- - -
agua-etanol 5%	11-15	1250	0,26	232-235R Rf. 0,05
agua-etanol 7,5%	16-19	1000		
agua-etanol 10%	20-24	1250		
agua-etanol 15%	25-27	750		
agua-etanol 20%	28-31	1000		
agua-etanol 30%	32-35	1000		
agua-etanol 40%	36-38	750		
agua-etanol 50%	39-42	1000		
agua-etanol 60%	43-50	2000		
agua-etanol 65%	51-60	2500		
agua-etanol 70%	61-70	2250	- - -	- - -
agua-etanol 75%	71-74	1000	3,06	Rf. 0,05 0,34 0,49 0,85
agua-etanol 80%	75-90	4250		
agua-etanol 85%	91-101	3750		
agua-etanol 90%	102-109	1500		
agua-etanol 96%	110-118	5000		
cloroformo-metanol (3:7)	119-126	3500	- - -	- - -
cloroformo-metanol (1:1)	127-131	3000	- - -	- - -

finalmente se lavó la columna con acetona, agua y mezclas de metanol-agua y metanol-cloroformo, recuperando 1,82 gr de un jarabe que por cromatografía en papel demostró estar formado por 4 sustancias de Rf 0,05, 0,34, 0,49 y 0,85

De las fracciones 11-60 se obtuvo por evaporación al vacío, disolución del jarabe residual en 1 ml de agua caliente y agregado de 8 ml de etanol 0,26 gr de celobiosa de pf. 232-238°, que por cromatografía en papel, corrida con una muestra testigo de celobiosa y revelado con los reactivos B y C resultó idéntica al testigo; rendimiento total de celobiosa 5,6 gr (48,8%).

Aislamiento de mono-O-benzoyl-celobiosa y di-benzoyl-celobiosilamina.

De las fracciones 71-126 se obtuvo por evaporación al vacío y posterior secado en desecador al vacío sobre ácido sulfúrico e hidróxido de sodio, 3,06 gr de un producto amorfo de pf. 140-153°, el cual se lavó con 200 ml de acetato de etilo de la manera habitual para eliminar la benzamida presente. Por cromatografía en papel y revelado con los reactivos B y C se detectó la presencia de una sustancia reductora y otra no reductora además de la celobiosa. 2,16 gr de esta mezcla se cromatografiaron en una columna de 53 cm x 2,8 cm de celulosa Schushardt, eluyendo con butanol-etanol-agua (5:1:4, capa superior) y recogiendo fracciones de aproximadamente 25 ml cada una según el esquema siguiente, reuniendo las fracciones que por cromatografía en papel mostraron iguales características cromatográficas.

Eluyente	Fracción Nº	Volumen ml	Peso de sustancia aislada	Pf.; Rf. y forma cris- talina
butanol-etanol- agua (5:1:4)	1 - 2	75	- - -	- - -
	3 - 6	100	0,02	Rf. 0,03
	7 - 13	175	2,09	Rf. 0,19 0,30 0,63
	14	25	- - -	- - -
	15-26	300	- - -	- - -
isopropanol-butanol-agua (7:2:1)		300	- - -	- - -
acetona		200	- - -	- - -
agua		500	- - -	- - -

De las fracciones 3-6 se obtuvieron por evaporación al vacío 0,02 gr de substancia de pf, 230-232°.

De las fracciones 7-13 se obtuvieron por evaporación al vacío 2,09 gr de un jarabe, que después de extracciones con 150 ml de acetato de etilo, dió lugar a 1,86 gr de un polvo blanco que se purificó por cromatografía en una columna de 59 cm x 2,5 cm de celulosa Schuchardt, mojada con agua saturada con butanol y eluyendo con butanol saturado con agua. Se recogieron fracciones de aproximadamente 10 ml cada una, según el esquema siguiente, reuniendo las fracciones que por cromatografía en papel mostraron iguales características cromatográficas.

Eluyente	Fracción Nº	Volumen ml	Peso de sustancia aislada	Rf., Rf. y forma cris- talina
butanol-agua (saturado)	1 - 8	120	- - -	- - -
	9 - 21	130	0,46	Rf. 0,30
	22-26	50	0,54	0,85
	27-34	80	0,42	
	35-39	50	0,24	Rf. 0,30
	40-50	110	0,20	Rf. 0,30 0,19
	51-59	90	0,14	Rf. 0,19
	60-61	60	- - -	- - -
metanol		100	0,08	Rf. 0,05
acetona		100	- - -	- - -
agua		500	- - -	- - -

Las fracciones 35-39, evaporadas al vacío dieron lugar a 0,24 gr (1,5%) de mono-O-benzoil-celobiosa en forma de un jarabe que se disolvió en 4 ml de metanol, se decoloró con carbón y se concentró hasta consistencia de un jarabe, ligeramente amarillento, que a 60f y 1 mm tenía $[\alpha]_D^{23} +67,9$ (5 minutos) \longrightarrow +82 (24 horas) (c; 1; etanol absoluto) y que por cromatografía en papel y revelado con los reactivos B y C indicó la presencia de una sola mancha reductora de Rf 0,30; corrido con butanol-piridina-agua (10:3:4) se obtuvo también una sola mancha reductora de Rf 0,32.

Análisis:

Calculado para: $C_{19}H_{26}O_{12}$ C: 51,12% H: 5,87% N: 0%
 Encontrados: C: 51,40% H: 6,38% N: 0%

Las fracciones 51-59 dieron por evaporación al vacío 0,14 gr (0,94%) de N-bencofl-celebiocilicina en forma de jarabe, que disuelto en 3 ml de metanol caliente, decolorado con carbón y evaporado al vacío y secado a 80° y 1 mm mostró un $[\alpha]_D^{23} +33,8$ (c; 0,85; piridina); por cromatografía y revelado con los reactivos B y C indicó la presencia de una sola mancha no reductora de Rf. 0,19; corrido con butanol-piridina-agua (10:3:4) Rf. 0,25.

Análisis:

Calculado para: $C_{19}H_{27}O_{11} \cdot H_2O$
 C: 49,23% H: 6,20% N: 3,02
 Encontrados: C: 49,32% H: 6,66% N: 2,76

Por evaporación de las fracciones 9-34 se obtuvieron 1,22 gr de un jarabe formado por dos sustancias de Rf. 0,50 y 0,85; las fracciones 40-50 dieron por evaporación al vacío 0,20 gr de un jarabe formado por dos sustancias de Rf. 0,50 y 0,19. Los lavados de la columna de celulosa con metanol dieron por evaporación 0,08 gr de celobiosa (0,7%).

Aislamiento de N.5'-dibenzoil-celobiosilidindianina.

Las fracciones que por cromatografía en papel indicaban estar formadas por más de una sustancia se juntaron; por evaporación dieron lugar a 2,45 gr de un jarabe que se cromatografió nuevamente en una columna de 62 cm x 3,5 cm de celulosa Schuchardt, cargada con agua saturada con butanol y eluyente con butanol saturado con agua; se recogieron fracciones de 25 ml cada una, según el esquema siguiente y se reunieron las fracciones que presentaban iguales características cromatográficas, en papel.

Eluyente	Fracción Nº	Volumen ml	Peso de sustancia aislada	Pf. y Rf. y forma cristalina
butanol-agua (saturado)	1-14	350	- - -	- - -
	15	25	0,01	Rf. 0,82
	16-17	50	0,01	Rf. 0,82 0,8
	18	25	0,01	Rf. 0,42 0,82
	19-23	125	1,50	Rf. 0,42
	24	25	0,01	Rf. 0,42 0,70
	25-33	225	0,77	Rf. 0,70
	34-43	250	- - -	- - -
metanol		300	- - -	- - -
acetona		300	- - -	- - -
agua		800	- - -	- - -

Las fracciones 19-23 evaporadas al vacío, dieron lugar a 1,5 gr de N,N'-dibenzofl-celobiosilidendiamina (7,9%), la cual por recristalizaciones de metanol-acetate de etilo (1:1) dió agujas de pf. 148-150°;

$\left\{ \alpha \right\}_D^{26} = 33,19$ (c; 0,97 ; agua); por cromatografía en papel, revelando con los reactivos B y C indicó la presencia de una sola mancha no reductora de Rf. 0,42/

Análisis:

Calculado para: $C_{26}H_{34}O_{12}N_2 \cdot H_2O$

C: 53,59% H: 6,15% N: 4,79%

Encontrado: C: 53,62% H: 5,74% N: 5,29%

Por evaporación de las fracciones 25-33 se obtuvieron 0,77 gr de una mono-O-benzofl-celobiosa reductora, de Rf 0,3, idéntica a la descrita anteriormente (rendimiento total 1,01 gr; 6,5%).

OCTA-O-BENZOIL-CELOBIOSA.

0,17 gr de mono-O-benzoil-celobiosa se disolvieron en 5 ml de piridina y se agregaron 2,5 ml de cloruro de benzilo; se dejó la mezcla de reacción 1 hora a temperatura ambiente, 4 horas a 80° y 15 minutos a 100°, se enfrió y se volcó sobre 150 ml de agua. El aceite obtenido se lavó con agua hasta transformarlo en un sólido pulverulento, se filtró y se secó. Se obtuvieron 0,41 gr (93%) de pf. 100-185° que se purificó por re cristalizaciones de acetona-metanol (1:1), obteniéndose agujas de pf. 194-196°, $[\alpha]_D^{27} + 70,1$ (c; 0,95; cloroformo); por cromatografía en placa delgada de sílice silíceo-almidón dió una sola mancha de Rf igual a la del octa-O-benzoato obtenido por benzoilación directa de la celobiosa.

Análisis

Calculado para:	$C_{68}H_{54}O_{19}$	C: 69,48%	H: 4,64%
Encontrados:		C: 69,34%	H: 4,51%

HEPTA-O-ACETIL-N-BENZOYL-CELOBIOSILAMINA

0,035 gr de N-benzoyl-celobiosilamina se disolvieron en 1,5 ml de piridina y 1,5 ml de anhídrido acético. Se dejó la mezcla de reacción durante 24 horas a temperatura ambiente, luego 30 minutos a 60°; se evaporó en desecador al vacío sobre ácido sulfúrico e hidróxido de sodio y se obtuvieron 0,050 gr (85%) de hepta-O-acetil-N-benzoyl-celobiosilamina; por disolución en metanol dió lugar a un jarabe, que secado a 80° y 1 mm dió un sólido amorfo, pulverulento de pf. 104-107°;

$(\alpha)_D^{25} + 37,2$ (c; 0,73; cloroformo).

Análisis

Calculado para:	$C_{37}H_{41}O_{18}N$		
	C: 53,58%	H: 5,58%	N: 1,89%
Encontrados:	C: 53,50%	H: 5,79%	

OCTA-O-ACETIL-N,N'-DIBENZOIL-CELOBIOSILIDENDIAMINA.

0,22 gr de N,N'-dibenzoil-celebiosilidendiamina de pf. 148-150° se disolvieron en 3 ml de piridina y 3 ml de anhídrido acético. Se dejó la mezcla de reacción durante 24 horas a temperatura ambiente, luego 30 minutos a 60°; se evaporó en desecador al vacío sobre ácido sulfúrico e hidróxido de sodio; se obtuvieron 0,30 gr (85%) que purificados por disolución en metanol dieron un jarabe que secado a 60° y 1 mm se transformó en un sólido amorfo, pulverulento de pf. 116-117°, (ablanda 98°) de $[\alpha]_D^{26} -21,12$ (c; 0,93; cloroforme).

Análisis

Calculado para:	$C_{42}H_{50}O_{20}N_2$			
	C: 55,87%	H: 5,58%	N: 3,10%	
Encontrados:	C: 55,72%	H: 5,88%	N: 3,4 %	

ANÁLISIS DE LA OCTA-O-BENZOIL-CELOBIOSA; BENZOILACION DE LOS PRODUCTOS DE REACCIÓN.

AISLAMIENTO DE CELOBIOSA Y PENTA-O-BENZOIL-N-BENZOIL-CELOBIOSILANINA.

Aislamiento de celobiosa.

40 gr de octa-O-benzoil-celobiosa de pf. 198-198 se amonilizaron en las mismas condiciones descritas en la experiencia anterior, página 115; se eliminaron las sustancias básicas con resina sulfónica Zeo Karb 225, la benzamida con acetato de etilo y de la solución metanólica de los productos de la reacción, por evaporación lenta, cristalizó parcialmente la celobiosa, 6,51 gr (56%).

Aislamiento de penta-O-benzoil-N-benzoil-celobiosilana.

La solución metanólica del aislamiento de la celobiosa se llevó a sequedad al vacío y se cromatografió en una columna de 40 cm x 4 cm de celulosa Schuchardt, eluyendo con butanol-etanol-agua (5:1:4, capa superior); se recogieron 63 fracciones de 250 ml cada una sin lograr una resolución de la mezcla. Se evaporaron todas las fracciones al vacío y el residuo seco, 4,4 gr, se benzoiló por disolución en 44 ml de piridina fría y agregado de 15 ml

de cloruro de benzofilo; la mezcla de reacción se mantuvo 1 hora a temperatura ambiente, 4 horas a 60° y 15 minutos a 100°; se enfrió a temperatura ambiente y se agregaron 20 ml de agua hasta disolución del precipitado formado y después de 24 horas a +5° se voló sobre agua y el aceite precipitado se lavó por decantación con agua fría hasta obtener un sólido amorfo pulverulento. Se obtuvieron 9,7 gr de un producto amorfo que se disolvió en 60 ml de acetona-metanol (1:1) caliente. Precipitaron por enfriamiento 1,26 gr de un sólido amorfo de pf. 165-188°, el cual, por purificaciones sucesivas de acetona-metanol (1:1) de la manera descripta, dió 0,20 gr (0,6%) de pent-0-benzofl-celobiosilamina en forma de agujas de pf. 250-255°.

Análisis

Calculado para:	$C_{54}H_{47}O_{16}N$			
	C: 67,13%	H: 4,80%	N: 1,44%	
Encontrado:	C: 67,61%	H: 4,85%	N: 1,37%	

HEPTA-O-BENZOYL-N-BENZOYL-CELOBIOSILAMINA.

0,14 gr (0,00015 mol) de penta-O-benzoyl-N-benzoyl-celebiosilamina de pf. 250-255° se disolvieron en 2 ml de piridina (0,024 mol) fría y se agregó 1 ml de cloruro de benzoylo (0,009 mol); la mezcla de reacción se dejó durante 18 horas a temperatura ambiente, se calentó 30 minutos a 60° y 15 minutos a 100°; se enfrió, se volcó sobre 20 ml de agua y el jarabe obtenido se lavó por decantación con agua fría hasta transformarlo en un sólido pulverulento que por recristalizaciones de acetona dió

0,4 gr de hepta-O-benzoyl-N-benzoyl-celebiosilamina de pf. 208°, que después de 3 recristalizaciones fundieron a 202°; $(\alpha)_D^{22} + 71,5$ (c; 1; cloroformo).

Análisis

Calculado para: $C_{68}H_{55}O_{17}N \cdot H_2O$

C: 68,51% N: 4,82% H: 1,17%

Encontrados: C: 68,85% N: 4,98% H: 1,17%

BENZOILACION DE LA LACTOSA. OCTA-O-BENZOIL-LACTOSA.

a.) 50 gr (0,146 mol) de lactosa de pf. 216-219^o se suspendieron en 500 ml de piridina (5,68 mol) y se agregaron 170 ml (1,48 mol) de cloruro de benzofilo en pequeñas fracciones, agitando y enfriando en un baño de agua a 15^o. Se dejó 1 hora a temperatura ambiente, 4 horas a 60^o y 15 minutos a 100^o; se enfrió, se agregó agua hasta disolución del precipitado formado; se dejó una noche en heladera y se volcó la mezcla de reacción sobre 1,5 litros de agua a 90^o. Se lavó primero con agua caliente y luego con agua fría hasta transformar el jarabe obtenido en un producto pulverulento. Se filtró y se secó. Rendimiento 145,3 gr (90%) de pf. 110-120^o. Por sucesivas purificaciones por disolución en una mezcla de acetona-etanol (1:3) en caliente e insolubilización por enfriamiento, se llegó desús de 6 redisoluciones a 99,8 gr de un producto amorfo de pf. 119-120^o que daba lugar a dos manchas por cromatografía en placa delgada.

La octa-O-benzofil-lactosa amorfa de pf. 119-120^o se trató de purificar por cromatografía por columna de la siguiente manera:

1. Cromatografía en columna de alúmina

1 gr de octa-O-benzoil-lactosa de pf. 119-120° se disolvió en 2 ml de benceno y se pasó por una columna de 50 cm x 1,8 cm de alúmina Merck neutra, eluyendo con mezclas de benceno y etanol absoluto, según se indica en el esquema siguiente, recogiendo fracciones de 100 ml cada una.

Eluyente	Fracción Nº	Volumen ml	Peso de sustancia aislada	Pf. y forma cristalina
benceno	1-10	900	- - -	- - -
benceno-etanol 1%	11-15	500	0,85	116-120° amorfo
benceno-etanol 5%	16-19	400	0,05	amorfo
benceno-etanol 20%	20-23	400	- - -	- - -
acetona		900	- - -	- - -

Se recuperó el 90% del producto, sin lograr cristalizar las fracciones obtenidas por disolución en etanol caliente de donde precipitaron amorfas por enfriamiento.

De la fracción 13, por evaporación al vacío, se obtuvieron 0,82 gr de octa-O-benzoil-lactosa amorfa de pf. 116-120° que después de cuatro purificaciones de etanol fundió a 119-120°; $[\alpha]_D^{22} + 88$ (c; 1,05; cloroformo), que por cromatografía en placa delgada de ácido silícico -

almidón, corrida con benceno-acetato de etilo al 9% y revelado con el reactivo B dió dos manchas como las indicadas en la figura 2, página 133.

Análisis

Calculado para: $C_{68}H_{34}O_{19}$

C: 69,49% H: 4,64%

Encontrados: C: 69,50% H: 5,06%

El análisis de este producto amerfo dió un valor concordante para una octa-O-benzoil-lactosa, lo cual indicaría que la mezcla está formada por los dos anómeros α y β de la octa-O-benzoil-lactosa.

2. Cromatografía en columna de talco-celite

Quinientos miligramos de octa-O-benzoil-lactosa de pf. 119-120° se disolvieron en 2 ml de mezcla de éter de petróleo y benceno (1:1) y se pasaron por una columna de 50 cm x 3 cm de talco-celite (5:1); se eluyó con las mezclas indicadas a continuación, recogiendo fracciones de 100 ml cada una:

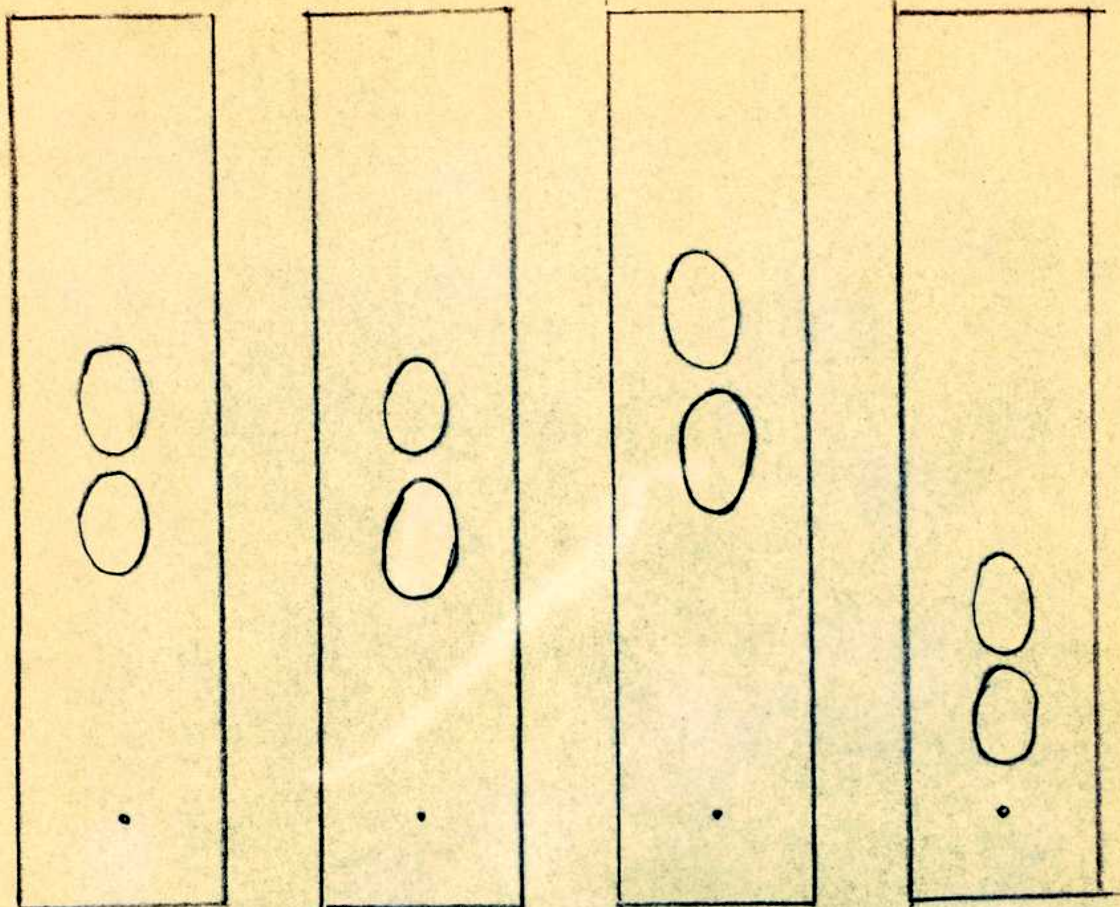


Figura 2.

Figura 3.

Figura 4.

Figura 5.

- Figura 2. Octa-O-benzoil-lactosa, pf. 119-1208.
 PLACA: ácido silícico - almidón
 ELUYENTE: benceno-acetato de etilo 5%
- Figura 3. Octa-O-benzoil-lactosa, pf. 119-1208
 PLACA: alúmina - yeso
 ELUYENTE: Benceno -acetato de etilo 5%
- Figura 4. Octa-O-benzoil-lactosa, pf. 119-1208.
 PLACA: ácido silícico-almidón
 ELUYENTE: benceno - metanol 2%
- Figura 5. Octa-O-benzoil-lactosa, pf. 119-1208.
 PLACA: ácido silícico-almidón
 ELUYENTE: benceno-etanol absoluto 0,5%

Disolvente	Fración Nº	Volumen ml	Peso de sustancia aislada	Pf. y forma crista- lina
Éter de petróleo- benceno (90:10)	1-10	1000	0,106	amorfo
Éter de petróleo- benceno (85:15)	11-20	1000	0,173	amorfo
Éter de petróleo- benceno (80:20)	21-30	1000	0,040	amorfo
Éter de petróleo- benceno (75:25)	31-40	1000	0,015	amorfo
Éter de petróleo- benceno-(50:50)	41-50	1000	0,028	amorfo
benceno	51-60	1000	0,076	amorfo
acetona		500	0,61	amorfo

Se recuperó el 88% del producto sin lograr la cristalización del sólido amorfo por purificaciones por disolución en etanol caliente e insolubilizaciones por enfriamiento. La cromatografía en placa delgada de ácido silícico-almidón, corrida con benceno-acetato de etilo al 5% y revelado con el reactivo B, indicó la presencia de dos manchas como las representadas en la figura 2, página 133.

3. Cromatografía en columna de ácido silícico.

Dos gramos de octa-O-benzofl-lactosa de pf. 119-120^o se disolvieron en 5 ml de benceno y se pasaron por una columna de 49 cm x 2,8 cm de ácido silícico (Kieselgel-Schuchardt).

malla 0,15-0,30 mm) activada 7 horas a 118°, eluyendo con mezclas de benceno y acetato de etilo en concentraciones crecientes de acetato de etilo, recogiendo fracciones de aproximadamente 50 ml cada una, según el esquema siguiente:

Eluyente	Fracción Nº	Volumen ml	Peso de sustancia aislada	Pf. y forma cristalina
benceno	1 - 3	250	- - -	- - -
benceno-acetato de etilo 0,1%	4 - 6	200	- - -	- - -
benceno-acetato de etilo 0,2%	7 -10	200	- - -	- - -
benceno-acetato de etilo 0,5%	11-14	200	- - -	- - -
benceno-acetato de etilo 1%	15-18	200	- - -	- - -
benceno-acetato de etilo 2%	19-22	200	- - -	- - -
benceno-acetato de etilo 3%	23-26	200	- - -	- - -
benceno-acetato de etilo 4%	27-71	2370	1,33	amorfo
benceno-acetato de etilo 8%	72-78	210	0,10	amorfo
benceno-acetato de etilo 10%	79-94	480	0,18	amorfo
benceno-acetato de etilo 15-30%	95-121	1850	- - -	- - -
acetato de etilo	122-131	450	- - -	- - -
metanol		500	- - -	- - -

Se recuperó el 75% del producto, sin lograr obtener productos cristalinos ni la separación de los productos presentes acusados por cromatografía en placa delgada.

4.2) Cromatografía en columna de alúmina-yese

En base a la separación observada en la placa delgada, página 133, se preparó una columna de 55 cm x 1,6 cm, constituida por una mezcla de alúmina neutra y yese en la proporción 2:1, activada 3 horas a 120°, por la que se pasó 1 gramo de octa-O-benzofl-lactosa de pf. 119-120°, eluyendo con benceno-acetato de etilo al 5% (el mismo eluyente usado en placa delgada) y recogiendo fracciones de aproximadamente 20 ml cada una, según el esquema siguiente:

Eluyente	Fracción Nº	Volumen ml	Peso de sustancia aislada	Pf. y forma cristalina
benceno-acetato de etilo 5%	1 - 3	130	0,510	118-120° amorfo
	4 - 9	120	0,15	120° amorfo
	10-13	60	0,04	119-121° amorfo
	14-17	180	0,04	118-121° amorfo
	18-24	740	0,05	108-112° amorfo
benceno-acetato de etilo 50%	25	500	0,05	108-112° amorfo
acetato de etilo		250	- - -	- - -

Se recuperó el 84% del producto inicial. Los controles por cromatografía en placa delgada de cada una de las fracciones aisladas mostraron que no se había logrado la separación y no se logró tampoco la cristalización por sucesivas purificaciones de alcohol.

b.) Se suspendieron 25 gr (0,073 mol) de lactosa de pf. 216-219^o en 250 ml (2,84 mol) de piridina y se agregaron en pequeñas porciones 85 ml (0,74 mol) de cloruro de benzofilo agitando energicamente y enfriando la mezcla de reacción en baño de agua a 15^o. Se dejó 1 hora a temperatura ambiente y 4 horas a 60^o. Se agregaron 3 ml de agua para destruir el exceso de cloruro de benzofilo y luego 300 ml de cloroformo. El extracto cloroformico se lavó con ácido sulfúrico 2 N, con solución saturada de bicarbonato de sodio y con agua; se secó con sulfato de sodio anhidro durante una noche, se filtró y se evaporó al vacío, hasta consistencia siruposa. El residuo se disolvió en etanol y se evaporó hasta sequedad, repitiendo esta operación varias veces para eliminar totalmente el cloroformo. Al enfriar esta solución se separó el benzoato como un jarabe que se logró poner pulverulento por tratamientos repetidos con etanol frío. Se ob-

tuvieron así 63,2 gr (74%) de octa-O-benzoil-lactosa de pf. 118-120°.

c.) Se suspendieron 25 gr (0,073 mol) de lactosa de pf. 217-219° en 250 ml (2,84 mol) de piridina y se agregaron en pequeñas porciones 85 ml (0,74 mol) de cloruro de benzilo, enfriando la mezcla de reacción en un baño de agua a 15°. Se dejó 1 hora a temperatura ambiente, 4 horas en baño de agua a 60° y 10 minutos a 100°. La mezcla de reacción se volcó sobre 1 litro de agua a 90° y se lavó el aceite obtenido primero con agua caliente y luego con agua fría hasta ponerlo pulverulento, se filtró y se secó: 79 gr (92%) de producto crudo que se purificaron por disolución en etanol caliente y del cual se obtuvieron 69,5 gr (81%) de pf. 112-120°.

En otra benzoilación, siguiendo esta técnica, se obtuvieron 67,6 gr (79%) de producto de pf. 105-118° después de una primera purificación por disolución en etanol caliente.

ANÁLISIS DE LA OCTA-O-BENZOIL-LACTOSA. AISLAMIENTO
DE LACTOSA Y N,N'-DIBENZOIL-LACTOSILIDINDIANINA.

Aislamiento de lactosa.

40 gr de octa-O-benzoil-lactosa de pf. 119-120^o se disolvieron en 1000 ml de metanol-amoniaco por agitación durante 30 minutos; se dejó la solución a temperatura ambiente durante 24 horas y luego se evaporó al vacío hasta jarabe y se secó en desecador al vacío. El producto obtenido se extrajo de la manera habitual con 14 fracciones de 50 ml cada una de acetato de etilo a fin de eliminar la benzocida presente y el residuo obtenido se disolvió en 200 ml de metanol; por evaporación espontánea a temperatura ambiente y luego a 5^o cristalizaron 2,24 gr de lactosa de pf. 219-220^o. La solución metanólica se llevó nuevamente con metanol a 200 ml y se agitó con 100 ml de resina sulfónica Zoo-Karb 225, a fin de eliminar las sustancias básicas detectables con el reactivo A; después de 5 horas de contacto se filtró la resina, se lavó con 1 litro de metanol; las soluciones metanólicas se evaporaron al vacío y el residuo secado se extrajo 4 veces con 50 ml de acetato de etilo cada vez; el residuo se disolvió en metanol caliente, del cual cris-

talizaron 0,13 gr de lactosa de pf. 2158. Las aguas madres de la cristalización de lactosa se llevaron a sequedad y el jarabe residual, disuelto en 20 ml de agua se cromatografio en una columna de 55 cm x 2,5 cm de carbón Darco G-60 - Celite 535 (5:1), eluyendo con agua - etanol en concentraciones crecientes, recogiendo fracciones de aproximadamente 250 ml cada una, según el esquema siguiente y reuniendo las fracciones que por cromatografía en papel mostraron iguales características cromatográficas.

Eluyente	Fracción Nº	Volumen ml	Peso de sustancia aislada	Pf.; Rf y forma crista- lina
agua	1 - 4	1160	- - -	- - -
agua-etanol 2,5%	5-10	1660	- - -	- - -
agua-etanol 5%	11-13	840	0,42	210-2128 Rf. 0,02
	14-19	2760	0,54	200-2108 Rf. 0,02
agua-etanol 7,5%	20-22	1100		
agua-etanol 10%	23-25	770		
agua-etanol 20%	26-32	1550		
agua-etanol 30%	33-34	600		
agua-etanol 40%	35-37	760		
agua-etanol 50%	38-43	1450	- - -	- - -

Eluyente	Fracción Nº	Volumen ml	Peso de sustancia aislada	Pf., Rf. y forma cristalina
agua-etanol 60%	44-55	2620	2,63	Rf. 0,02 0,19 0,29 0,82
agua-etanol 65%	56-57	500		
agua-etanol 70%	58-61	1000		
agua-etanol 80%	62-65	1000		
agua-etanol 85%	66-78	3650	- - -	- - -
agua-etanol 90%	79-82	1000	- - -	- - -
agua-etanol 96%	83-84	500	- - -	- - -
agua-etanol 50%		1000	- - -	- - -

El carbón celite se hirvió a reflujo, primero con agua-etanol (1:1), luego con metanol y finalmente con agua recuperando 1,97 gr de producto.

De las fracciones 11-37, por evaporación al vacío se obtuvieron 0,96 gr de lactosa (rendimiento total 2,43 gr; 26%). 1 gr de lactosa se recrystalizó por disolución en 2 ml de agua caliente, decolorando con carbón y agregando 16 ml de etanol caliente, cristalizaron 0,75 gr de lactosa de pf. 220-222; $[\alpha]_D^{25} + 82,4$ (8 minutos) $\longrightarrow + 58,9$ (28 horas) (c; 1,9 agua), que por cromatografía en papel, corrida con una muestra testigo de lactosa y revelado con los reactivos B y C resultó idéntico al testigo.

Aislamiento de N.H'-dibenzofil-lactosilidindianina.

Las fracciones 45-65 dieron por evaporación al vacío 2,63 gr de un jarabe, el cual después de 6 extracciones con 25 ml de acetato de etilo cada vez, para eliminar la benzamida presente, dió un sólido amorfo que se trató de purificar de metanol, etanol absolute, isopropanol y mezclas de acetato de etilo - isopropanol (3%) y cloroformo-acetato de etilo-etanol (2:1:1) sin lograr la separación de los productos presentes.

a.) Quinientos miligramos de esta mezcla se cromatografiaron en una columna de 43,5 cm x 1,8 cm de celulosa Schuchardt; eluyendo con butanol-etanol-agua (5:1:4, capa superior), recogiendo fracciones de aproximadamente 20 ml cada una según el esquema siguiente y reuniendo las fracciones que por cromatografía en papel mostraron iguales características cromatográficas.

Eluyente	Fracción Nº	Volumen ml	Peso de sustancia aislada	Pf. Rf y forma crist.
butanol-etanol- agua (5:1:4, ca- pa superior)	2 - 6	120	0,04	Rf. 0,82
	7	20	0,20	Rf. 0,28
	8	10	0,16	Rf. 0,19
	9-16	550	0,14	Rf. 0,02
acetona		500	- - -	- - -
agua		500	- - -	- - -

Las fracciones 1-6 dieron 0,04 gr de benzamida.
 Por evaporación al vacío de la fracción 7 se obtuvieron 0,20 gr (1,03%) de N,N'-dibenzofl-lactosilidendiamina; de pf. 175-178°, la cual después de dos recristalizaciones de metanol-acetato de etilo (4:1) dió agujas de pf. 196-198°, $[\alpha]_D^{24} -20,9$ (c; 0,88; agua). Por cromatografía en papel y revelando con los reactivos B y C se obtuvo una sola mancha no reductora de Rf. 0,28; desarrollado con butanol-piridina-agua (10:3:4) se obtuvo una sola mancha no reductora de Rf. 0,36.

Análisis

Calculado para:	$C_{26}H_{34}O_{12}N_2$			
	C: 55,12%	H: 6,05%	N: 4,94%	
Encontrados:	C: 55,34%	H: 5,88%	N: 4,56%	

Por evaporación de la fracción 8 se obtuvieron 0,10 gr de un sólido que por recristalización de metanol-acetato de etilo (4:1) dió un sólido amorfo de pf. 133-140°, $[\alpha]_D^{27} +49,3$ (7 minutos) \longrightarrow +60,5 (22 horas) (c; 0,9; agua), y que por cromatografía en papel, revelando con los reactivos B y C, dió lugar a una sola mancha débilmente reductora de Rf. 0,19; con butanol-piridina-agua (10:3:4) de Rf. 0,28.

AnálisisCalculado para: monoO-benzofl-lactosa : $C_{19}H_{26}O_{12}$

C: 51,12% H: 5,87% N: - - -

Calculado para :N-benzofl-lactosilamina : $C_{19}H_{27}O_{11}N$

C: 51,23% H: 6,11% N: 3,14%

Encontrado: C : 50,12% H: 6,4% N: 1,1%

b.) Los 3,27 gr. de mezcla restantes se cromatografiaron en una columna de 62 cm x 2,8 cm de celulosa Schuchardt, cargada con agua saturada con butanol y eluyendo con butanol saturado con agua, recogiendo fracciones de 25 ml cada una, según el esquema siguiente y juntando las fracciones que por cromatografía en papel mostraron iguales características cromatográficas.

Eluyente	Fración Nº	Volumen ml	Peso de sustancia aislada	Pf; Rf. y forma orist.
butanol-agua (saturado)	2 - 5	125	- - -	- - -
	6 - 9	100	0,05	Rf. 0,82
	10-14	125	1,58	Rf. 0,82 y 3 manchas
	15-19	125	0,34	Rf. 0,82 0,29
	20-29	250	0,80	Rf. 0,29
	30-37	200	0,22	Rf. 0,29 0,19

Eluyente	Fración Nº	Volumen ml	Peso de sustancia aislada	Pf. Rf forma crist.
butanol-agua (saturado)	38-48	275	0,34	Rf. 0,19 0,02
butanol-etanol- agua (5:1:4)		1200	0,10	Rf. 0,02
metanol		500		
acetona		500		
agua		1000		
			- - -	- - -

Per evaporación de las fracciones 20-29 se obtuvieron 0,8 gr (4,1%) de N,N'-dibenzofl-lactosilidendianina y de las fracciones 30-37 0,22 gr del producto reductor descrito en la página 143. Las fracciones 10-19 por evaporación al vacío dieron lugar a 1,92 gr de una mezcla formada por lactosa, benzamida, N,N'-^{di}benzofl-lactosilidendianina y del producto reductor. Se cromatografió dicha fracción de nuevo de la manera descrita anteriormente en una columna de celulosa y se obtuvieron 0,86 gr (4,49%) de N,N'-dibenzofl-lactosilidendianina y 0,40 gr del producto reductor de pf. 133-140f.

OCTA-O-ACETIL-N,N'-DIBENZYL-LACTOSILLIDENDIAMINA

0,18 gr de N,N'-dibenzil-lactosilidendiamina de pf. 196-198° se disolvieron en 6,2 ml de piridina-anhidrido acético (1,1); se dejó la mezcla de reacción durante 24 horas a temperatura ambiente, luego 30 minutos a 60°; se evaporó en desecador al vacío sobre ácido sulfúrico e hidróxido de sodio y se obtuvieron 0,26 gr (96%) de octa-O-acetil-N,N'-dibenzil-lactosilidendiamina que después de dos recristalizaciones de benceno dieron agujas de pf. 173-180°, $[\alpha]_D^{25} = -12,57$ (c; 0,875; cloroformo).

Análisis:

Calculado para:	$C_{42}H_{50}O_{20}N_2$			
	C	55,87%	H	5,53%
			N	3,10%
Encontrado:	C	55,98%	H	5,56%
			N	3,4%

AMONOLISIS DE LA OCTA-O-BENZOIL-LACTOSA. BENZOILACION
DE LOS PRODUCTOS D. REACCION

AISLAMIENTO D. LACTOSA, TRIBENZAMIDA Y HEPTA-O-BENZOILA
N-BENZOIL-LACTOSILANINA.

Aislamiento de lactosa :

40 gr de octa-O-benzoilglactosa de pf. 119-1208 se amonolisaron en iguales condiciones a las indicadas anteriormente; previa eliminación de las sustancias básicas y de la benzamida se obtuvieron por cristalización fraccionada de soluciones metanólicas 4,57 gr de lactosa (38%). El jarabe obtenido por evaporación al vacío de las aguas madres de cristalización de la lactosa se secó en desecador y se benzoiló por disolución en 44 ml de pirdina y agregado de 15 ml de cloruro de benzoilo, en pequeñas fracciones, enfriando la mezcla de reacción en un baño de agua a 158. Se dejó 1 hora a temperatura ambiente, 4 horas a 608 y 15 minutos a 1008; se enfrió, se agregó agua hasta disolución del precipitado formado y se dejó durante 24 horas en heladera. Se volcó sobre agua y se lavó el aceite obtenido con agua fría hasta obtener un sólido pulverulento. Se obtuvieron 11,1 gr de pf. 70-858. 3

Aislamiento de tribenzamida

Por sucesivas purificaciones por disolución en acetona

y agregado de etanol hasta llevar la solución a la relación 1:3, se obtuvieron 0,41 gr de agujas de pf. 170-180°, y productos amorfos de pf. 110-120°. Las agujas de pf. 170-180° recristalizadas cuatro veces de acetona dieron 0,130 gr de tribenserida de pf. 200-202°; que daba una sola mancha por cromatografía en placa delgada de ácido-silícico - almidón, eluyendo con benceno-acetato de etil al 5% y revelando con el reactivo B; dicha mancha apareció en gris sobre fondo pardo después de cuatro días a temperatura ambiente y previo calentamiento inicial durante 15 minutos a 110°; se analizó y se comparó con una muestra auténtica preparada según la técnica de Jaffe (119), con la cual no dió depresión del punto de fusión mezcla.

Análisis

Calculado para: $C_{21}H_{15}O_3N$

	C: 76,59%	H: 4,56%	N: 4,25%
Encontrado:	C: 76,17%	H: 4,69%	N: 4,28%

Alcalinamiento de hepta-O-benzofl-N-benzofl-lactosamina

Los productos amorfos reunidos, 10,12 gr, de p.f. 110-120°, se purificaron por cromatografía en una columna de 53 cm x 3 cm de alúmina soala neutra, eluyendo con benceno-metanol, recogiendo fracciones de 100 ml cada una y reuniendo las fracciones que por cromatografía en placa delgada y revelado con el reactivo B, eran cromatográficamente similares.

Eluyente	Fración Nº	Volumen ml	Peso de sustancia obtenida	P.f. y forma crist.	
benceno	1-14	1400	- - -	- - -	
benceno-metanol	0,05%	15-22	800	- - -	
	0,1%	23-26	400	- - -	
		27-31	500	0,05	amorfo
	0,15%	32-54	2300	3,64	amorfo
		55-60	600	0,38	amorfo
	0,3%	61-67	800	- - -	- - -
	0,5%	68-86	1900	0,92	amorfo
	0,75%	87-100	1400	1,23	amorfo
	1%	101-109	900		
	4%	110-113	400		
	6%	114-121	1200		
	10%	122-125	1100	0,84	amorfo
	15%	126-130	1000		
	20%	131-134	900		
	25%	135-137	500		
30%	138-139	400			

Eluyente	fracción No	Volumen ml	Peso de sustancia recibida	Pf y forma Crist.
benzeno-metanol				
35%	140-141	400	0,25	amorfo
40%	142-145	800		
45%	146-147	450		
50%	148-149	400		
55%	150-152	500		
60%	153-154	500		
65%	155-157	500		
70%	158-160	500		
75%	161-163	500		
80%	164-166	500		
85%	167-169	400		
90%	170-172	600	- - -	- - -
95%	173-175	500	- - -	- - -
metanol		2000	- - -	- - -
acetona		500	- - -	- - -

se recuperó el 87% del material inicial sin lograr una separación completa. Las fracciones obtenidas se reunieron en dos grupos cromatográficamente similares; un grupo constituido por las fracciones 27-54, que por evaporación al vacío dieron lugar a 3,65 gr de un sólido amorfo, y el otro por las fracciones 69-149, que por evaporación dieron lugar a 3,84 gr de un sólido también amorfo.

El sólido amorfo obtenido de las fracciones 27-54 (3,65 gr) se cromatógráfico por una columna de 60 cm x 2,8 cm de alúmina neutra, recogiendo fracciones de 100 ml según el esquema siguiente y reuniendo las fracciones que mostraron iguales propiedades cromatográficas en placa delgada de ácido silícico-almidón, revelando con el reactivo B.

Eluyente	Fracción No	Volumen ml	Peso de sustancia aislada	Pf y forma críst.
benceno	1 - 6	600	- - -	- - -
benceno-metanol				
0,05%	7 -11	500	- - -	- - -
0,075%	12-16	500	- - -	- - -
0,1%	17-20	400	- - -	- - -
0,25%	21-24	400	- - -	- - -
0,5%	25-28	400	- - -	- - -
1%	29-32	400	- - -	- - -
2%	33-36	400	- - -	- - -
5%	37	100	- - -	- - -
	38-39	200	2,47	126-130
	40-47	800		
7,5%	48-51	400		
10%	52-55	400		
15%	56-60	500	0,64	115-120
25%	61-66	600		
Metanol		400	- - -	- - -
Acetona		800	- - -	- - -

Por evaporación de las fracciones 38-39 se obtuvieron 2,03 gr de un sólido blanco y azulado que por tres re-cristalizaciones de metanol dió la *septu-O-benzoil-y-benzoil-lactosilamina* en forma de agujas de pf. 123-130°

$[\alpha]_D^{22} + 62,4$ (c; 1,46; cloroformo).

Análisis

Calculado para: $C_{68}H_{55}O_{18}N$

C 69,56% H 4,72% N 1,19%

Encontrado: C 69,34% H 5,19% N 1,40%

El otro grupo constituido por las fracciones 69-149 (3,84 gr) se cromatografió por una columna de 69 cm x 3 cm de alúmina neutra, eluyendo con benceno-metanol en concentraciones creciente, según los esquemas anteriores, recogiendo 82 fracciones de aproximadamente 100 ml cada una, reuniendo las fracciones cromatográficamente similares, sin haber logrado la separación de los productos de la mezcla.

TRIBENZAMIDA

Esta sustancia se preparó por la técnica descrita por Jaffé (119). Se agregaron 17 ml (0,13 mol) de cloruro de bencilo a 30 gr (0,21 mol) de carbonato de amonio, dejando la mezcla 24 horas a temperatura ambiente. Se agregó agua fría y el aceite precipitado se lavó con agua caliente y luego se disolvió en 20 ml de etanol y 10 ml de acetona. Al enfriar cristalizaron 0,21 gr de tribenzamida (1,2%) de pf. 192-195°, cuya recristalización de acetona dio lugar a agujas de pf. 202-204°. Por cromatografía en placa delgada de ácido clórico-almidón, desarrollada con benceno-acetato de etilo 5% y revelando con el reactivo B, la tribenzamida resultó idéntica a la descrita en la benzoinación de los productos de amoníacal de la octa-*o*-benzoin-lactosa, página 148.

BENZILACION DE LA MALTOZA. OCTA-O-BENZOIL-MALTOZA YHEPTA-O-BENZOIL-MALTOZA.

a.) Se suspendieron 25 gr (0,073 mol) de maltoza de pf. 120-122 en 250 ml (2,84 mol) de piridina y se agregaron 35 ml (0,74 mol) de cloruro de benzilo, en pequeñas porciones, agitando y enfriando en un baño de agua a 15°. Se dejó 1 hora a temperatura ambiente, 4 horas a 60° y 15 minutos a 100°; se volcó la mezcla de reacción sobre 1 litro de agua a 90° y se lavó el jarabe obtenido primero con agua caliente y luego con agua fría hasta obtenerlo pulverulento. El producto crudo obtenido se purificó por disolución en caliente en una mezcla de acetona-metanol (1,3) y por enfriamiento y evaporación parcial a temperatura ambiente se obtuvieron 62,8 gr (75%) de un producto amorfo de pf. 110-120°, que se purificó por cromatografía en columna de la manera siguiente; 2 gr de conzote de maltoza de pf. 110-120° se disolvieron en 2 ml de benceno y se pasaron por una columna de alúmina Merck neutra, de 50 cm x 2,8 cm, eluyendo con mezclas de benceno-etanol absoluto y recogiendo las siguientes fracciones de 100 ml cada una;

Disolvente	Fracción No	Volumen ml	Peso de sustancia aislada gr	pt. y forma crista- lina
benzoceno	1 - 6	600	---	---
benzoceno-etanol 0,1%	7	100	0,85	192
	8	100	0,80	amorfo
	9-10	200	0,11	amorfo
	11-14	400	---	---
benzoceno-etanol 0,2%	15-17	300	---	---
benzoceno-etanol 0,4%	18-22	500	---	---
benzoceno-etanol 0,6%	23-26	400	---	---
benzoceno-etanol 0,8%	27-29	300	0,05	amorfo
benzoceno-etanol 1%	30-31	200	---	---
metanol		600	---	---
acetona		300	---	---

se recuperó el 92% del producto. La fracción 7 por disolu-
ción en una mezcla de metanol-acetona (3:1) dió 0,85 gr
(42,5%) de octa-*o*-bencofil-miltoan en forma de rombos rec-
tangulares de pt. 192 que recristalizados tres veces de
la misma mezcla de solventes dieron pt. 190-192, $[\alpha]_D^{25} = +28$
(c 1,14; cloroformo).

Análisis

Calculado para: $C_{69}H_{74}O_{19}$ C: 69,48% H: 4,64%

Encontrado: C: 69,60% H: 4,74%

El material amorfo aislado por evaporación de las fracciones 8-10 y 27-29 (0,92 gr) se disuelve en 2 ml de benceno y se pasó por una columna de 33 cm x 2 cm de alúmina Merck neutra, eluyendo con benceno-etanol absoluto, en concentraciones crecientes, recogiendo fracciones de 50 ml cada una, según el esquema siguiente:

Eluyente	Fracción No	Volumen ml	Peso de sustancia aislada	pt. forma crist.
benceno	1	50	---	---
	2	50	0,05	190-191 rombos
	3-9	350	0,03	rombos
benceno-etanol	0,1% 10-13	200	---	---
	0,2% 14-17	200	---	---
	0,3% 18-27	500	---	---
	0,4% 28-31	400	0,25	130-140 agujas
	0,5% 32-40	200	0,30	amorfo
	0,6% 41-42	200		
	0,7% 43-44	200		
	0,8% 45-49	470		
	0,8% 50-51	300		

Disolvente	Fracción Nr	Volumen ml	Peso de sustancia molido	Pf. y forma crist.
Benceno-metanol				
25 - 10%	52-55	1000	0,10	unario
Metanol		800	---	---

Se recuperó el 80% del material cromatografiado. De las fracciones 2-4 se aislaron 0,08 gr de la octa-O-benzofl-maltosa en forma de rombos, de pf. 190-191°. Las fracciones 27-38 dieron por evaporación al vacío 0,25 gr de hepta-O-benzofl-maltosa en forma de agujas de pf. 130-140°, que después de cuatro recristalizaciones dió pf. 139-140°; $[\alpha]_D^{22}$ 47 (c; 1,01; cloroformo).

Análisis

Calculado para: $C_{61}H_{90}O_{18}$ C: 68,11% H: 4,70%
 Encontrado C: 68,58% H: 4,90%

Del análisis cromatográfico descrito se calculó que la octa-O-benzofl-maltosa y la hepta-O-benzofl-maltosa se produjeron con 45% y 12,5% respectivamente.

Para el control de la pureza de los benzofl de maltosa obtenidos, se utilizó la cromatografía en placa delgada de fase sílice-activada, revelada con el reactivo B. Los resultados obtenidos están indicados en las páginas 158 y 159.

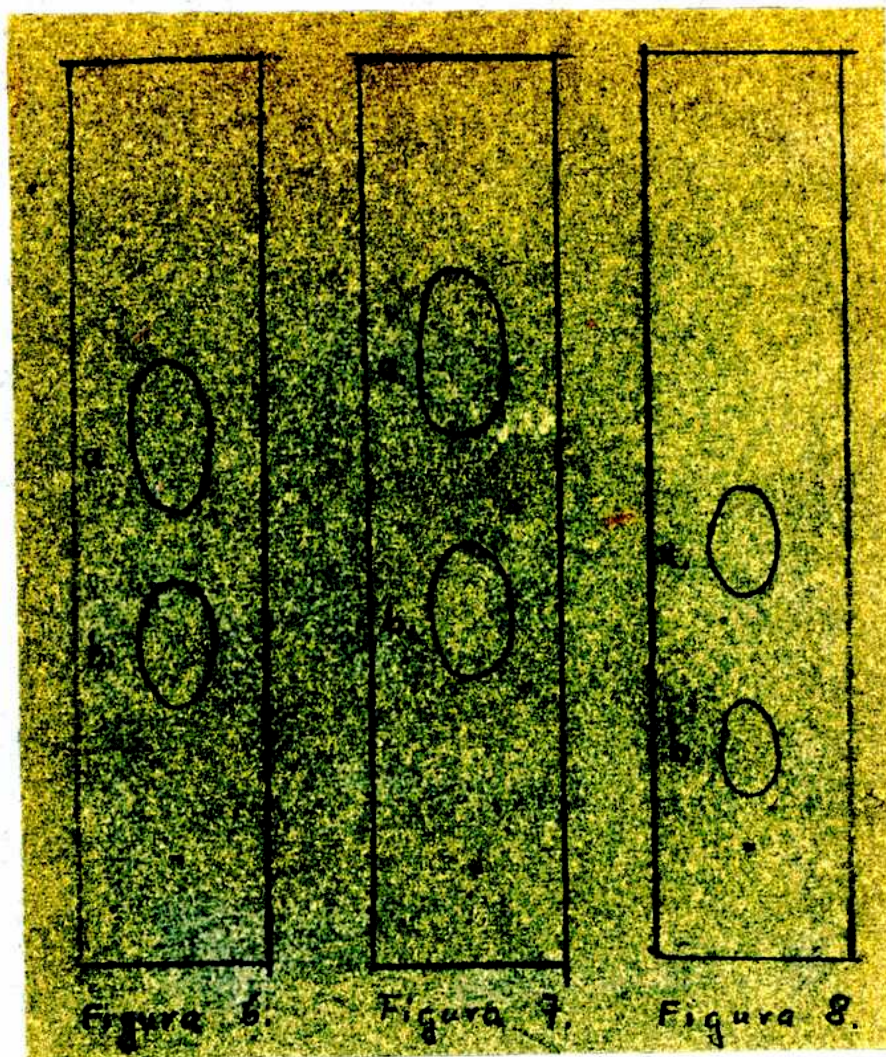


Figura 6. Octa-O-benzoyl-maltosa (a) y hepta-O-benzoyl-maltosa (b).

PLACA: ácido silíceo - almidón
 ELUYENTE: benceno-acetato de etilo 5%

Figura 7. Octa-O-benzoyl-maltosa (a) y hepta-O-benzoyl-maltosa (b).

PLACA: ácido silíceo - almidón
 ELUYENTE: benceno-metanol 2%

Figura 8. Octa-O-benzoyl-maltosa (a) y hepta-O-benzoyl-maltosa (b).

PLACA: ácido silíceo - almidón
 ELUYENTE: benceno - etanol absoluto 0,5%

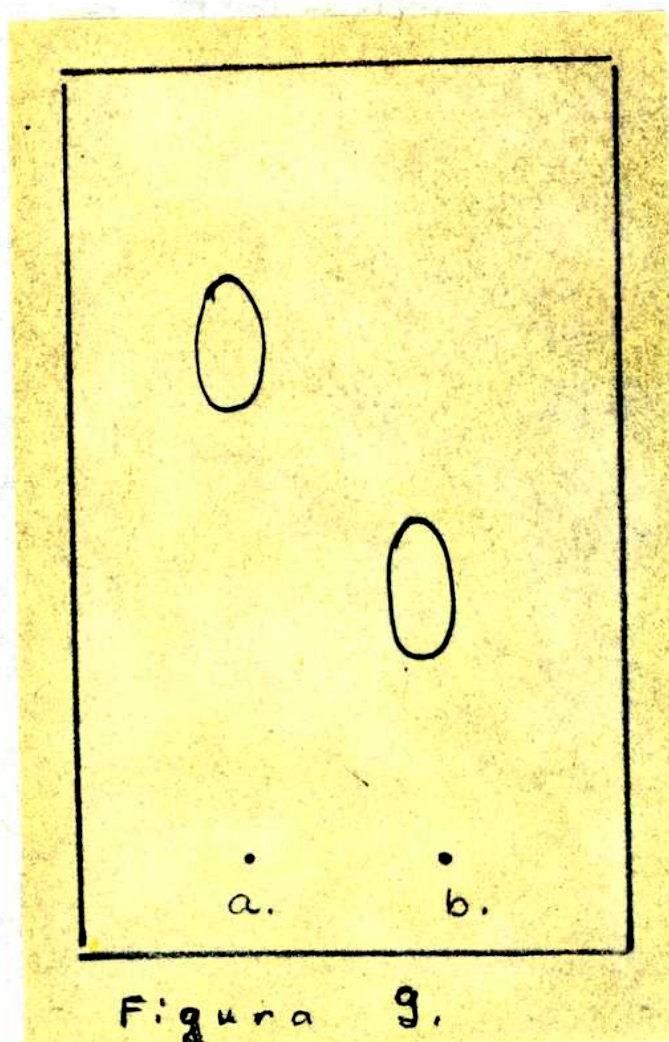


Figura 9. a. octa-O-benzoyl-maltosa
b. hepta-O-benzoyl-maltosa
PLACA: ácido silícico - almidón
ELUYENTE: benceno-acetato de etilo 5%

b.) De otra benzoinación de 25 gr de maltosa, efectuado según la técnica descripta, se obtuvieron, después de una purificación de metanol-acetona (5:1), 67,8 gr (79%) de producto amorfo de pt. 94-120, que después de tres purificaciones del mismo solvente fundió a 117-130s.

40 gr de benzoato de maltosa de pt. 117-130s, disueltos en 20 ml de benceno, se cromatografiaron en una columna de 56 cm x 4,5 cm de alúmina neutra Merck, activa 20 horas a 120° y 20 horas a 140°, eluyendo con benceno-metanol en concentraciones crecientes y recogiendo fracciones de 200 ml cada una según el esquema siguiente:

Eluyente	Fracción Nº	Volumen ml	Peso de sustancia recibida	pt. y forma cris.			
benceno	1 - 2	400	---	---			
	3-25	4600					
benceno-metanol	0,05%	26-36	}	190			
	0,1%	37-59			4,29		
	0,2%	60-64			1000		
		65-72			1600	5,83	110-130
		73-97			5000	8,99	130-140
		98-104			1400	0,74	88-110
	0,25%	105-114			2000	}	
	0,3%	115-123			1800		
	0,5%	124-126			600		
	1%	127-156			4000		

Eluyente	Fración No	Volumen ml	Peso de sustancia	pt. y forma crist.
benzene-metanol				
1,5%	157-162	1200	12,73	110s
2%	163-169	1400		
2,5%	170-174	1000		
3%	175-181	1400		
5%	182-190	1800		
7,5%	191-197	1400		
15%	198-202	1000		
30%	203-210	1600		
50%	211-215	1000		
75%	216-219	800		
metanol	220-228	1800		

Se recuperó el 97% del material original. De las fracciones 3-64 se aislaron 4,28 gr de octa-o-benzofl-maltosa de pt. 190s (10,6%); de las fracciones 73-97 se aislaron 8,99 gr de hepta-o-benzofl-maltosa cristalina de pt. 140s (22,5%) y las fracciones 65-72 y 98-209 se obtuvieron 19 gr de producto amorfo que dió lugar a dos manchas per cromatografía en placa delgada, desarrollado con benzene-acetato de etilo 5% y revelado con el reactivo B, indicando que se trataba de una mezcla de octa-o-benzofl-maltosa y hepta-o-benzofl-maltosa.

En otra cromatografía realizada con el fin de tener suficiente material para analizar, se cromatografiaron 90 gr de benzoato de naltosa de p.f. 115-130^o disueltos en 35 ml de benceno por una columna de 90 cm x 4,5 cm de alúmina neutra soala, activada 7 horas a 160^o, eluyendo con benceno-metanol y recogiendo fracciones de 200 ml cada una de la siguiente manera:

Eluyente	Fracción N ^o	Volumen ml	Peso de sustancia sólida	p.f. forma crist.	
benceno	1-7	1600	---	---	
	8-23	3200	20,9	190 rombos	
benceno-metanol	0,05%	24-31	2800	20,42	180- 190 ^o .
	0,1%	38-50	2600		
	0,15%	51-71	4200		
		72-99	5800		
	0,2%	100-135	7200		
	0,25%	136-145	2000		
	0,3%	146-153	1800		
	0,5%	154-165	2400		
	1%	166-171	1200		
	2%	172-201	6000		
	3%	202-206	1000		
	5%	207-213	1400		
10%	214-218	1000	27 gr	amarillo	

Disolvente	Fración Nº	Volumen ml	Peso de sustancia aislada	pt. y forma críst.
benzeno-metanol				
20%	219-225	1400)	
50%	226-237	2400		
metanol	238-247	1000	- - - -	- - -
metanol		3000	- - -	- - -

Se recuperó el 94,6 % del material. De las fracciones 8-23 se aislaron 20,9 gr de octa-O-benzoil-maltosa de pt. 190° (23,3%) y de las fracciones 24-71 se obtuvieron 20,42 gr (22,7%) de octa-O-benzoil-maltosa cromatográficamente pura, pero de pt. 180-190°, que recristalizados tres veces de acetona-metanol (5:1) dieron cristales de pt. 190-192°; de las fracciones 72-201 se obtuvieron 20,2 gr (22,5%) de hepta-O-benzoil-maltosa de pt. 140°, y de las fracciones 202-237 se aislaron 27 gr de material amorfo que por cromatografía en placa delgada de ácido silícico-almidón, desarrollado con benzeno-acetato de etilo al 5% y revelado con el reactivo B indicó que se trataba de mezclas de octa y hepta-O-benzoil-maltosa.

e.) 50 gr. de maltosa (0,146 mol) de p.f. 120-122° se suspendieron en 500 ml (5,68 ml) de piridina y se agregaron en pequeñas porciones 170 ml (1,48 mol) de cloruro de benzofilo, agitando y enfriando en baño de agua a 15° la mezcla de reacción, se dejó una hora a temperatura ambiente, 4 horas a 60° y 15 minutos a 100°; se enfrió, se agregó agua hasta disolución del precipitado formado y se dejó una noche en heladera, se volcó sobre agua a 90° y el jarabe obtenido se lavó primero con agua caliente, luego con agua fría hasta ponerlo pulverulento. El producto aún húmedo se purificó por disolución en caliente en una mezcla de acetona-metanol (3:1), obteniéndose por enfriamiento 166 gr (97%) de producto de p.f. 108-112° del cual por dos purificaciones sucesivas y sembrados con la hepta-O-benzofilo-maltosa cristalina, obtenida por cromatografía en columna de alúmina, según página 156-157, se obtuvieron 77,45 gr (45%) de agujas de p.f. 136-140°, que resultaron por cromatografía en placa delgada idénticas a la hepta-O-benzofilo-maltosa.

OCTA-O-BENZYL-MALTOSA A PARTIR DE HEPTA-O-BENZYL-MALTOSA

5 gr (0,004 mol) de hepta-o-benzil-maltosa de p.f. 138^o (cromatografía fuente pura), se disolvieron en 24 ml (0,27 mol) de piridina y se agregaron, en pequeñas porciones y agitando 8,1 ml (0,07 mol) de cloruro de benzilo, enfriando la mezcla de reacción en baño de agua a 15^o. Se dejó 24 horas a temperatura ambiente, luego se calentó 3 horas a 60^o y 30 minutos a 100^o; se enfrió, se volcó la mezcla de reacción sobre agua caliente y se lavó el jarabe obtenido con agua caliente y luego con agua fría hasta tenerlo pulverulento. Se obtuvieron 4,29 gr (91%) de octa-o-benzil-maltosa de p.f. 190-192^o que recristalizados de acetona-metanol (1-3) fundieron a 191-192^o; $[\alpha]_D^{30} + 58,6$ (c; 1,41; cloroforme); no dieron depresión del punto de fusión mezcla con una muestra auténtica de octa-o-benzil-maltosa y dió el mismo Rf corrido simultáneamente con octa-o-benzil-maltosa en placa de *Solus silíceo-almidón*, con benceno-metanol 2:1 y revelado con el reactivo B.

ALCOHOLINIS DE LA HEPTA-O-BENZOL-MALTOZA, AISLAMIENTO DE
MALTOZA, OCTO-O-BENZOL-MALTOZA Y DI-O-BENZOL-MALTOZA

40 gr de hepta-o-benzol-maltosa (0,037 mol) de p.f. 140° se disolvieron por agitación durante dos horas en 1000 ml de metanol-anoníaco; se dejó la solución durante 24 horas a temperatura ambiente y luego se evaporó al vacío. Hasta jarabe y se llevó a sequedad en desecador al vacío. El producto seco se extrajo 6 veces con 50 ml cada vez de acetato de etilo para eliminar la benzoina. El residual se disolvió en 300 ml de metanol y se agitó con 80 ml de resina sulfónica Zeo Barb 225 para eliminar las sustancias básicas presentes. Después de 4 días se filtró la resina y se lavó con 1 litro de metanol; las soluciones metanólicas libres de sustancias básicas detectables con el reactivo A se concentraron al vacío y el jarabe resultante se disolvió en 100 ml de metanol; se dejó primero a temperatura ambiente y luego en baladera durante 3 días, sin que ello produjera la cristalización de maltosa. Se agregaron 150 ml de isopropanol y se dejó 4 días a temperatura ambiente y luego en baladera. Se evaporó la solución y se disolvió el jarabe en isopropanol, del cual se formó un precipitado flocozante e higroscópico que no era filtrable. Se llevó todo a sequedad, se disolvió en 50 ml de

agua y se pasó por una columna de 66 cm x 5 cm de carbón
 Darco (60 - Jelite 535 (5:1), eluyendo con agua y etanol
 en concentraciones crecientes, recogiendo fracciones de
 aproximadamente 250 ml cada una, según el esquema siguiente,
 reuniendo las fracciones que por cromatografía en pa-
 pel mostraron iguales características cromatográficas.

Eluyente	Fracción Nr	Volumen ml	Peso de sustancia aislada	Rf; Rf y forma cristalina
agua	1-8	2250	---	---
agua-etanol 2,5%	9-16	2100	2,34	114-130 Rf. 0,024
5%	17-24	2200		
7,5%	25-31	3150		
10%	38-54	2950		
15%	55-65	2500		
20%	66-75	2300		
25%	76-79	1200		
30%	80-86	3250		
40%	87-93	1800		
45%	94-99	2000		
50%	100-103	1200	---	---
60%	104-118	3300	7,5	Rf. 0,02 0,26 0,6 0,8
62,5%	119-123	1750		
65%	124-128	1500		
70%	129-133	1300		
75%	134-138	1350		
80%	139-143	1350		
85%	144-149	2100		
96%	150-152	2150		

El carbono - calite se hirvió a reflujo primero con piridina y luego con metanol-agua (1,1) y con metanol; se recuperó de esta manera 1,59 gr de producto.

Aislamiento de maltosa

De las fracciones 1-99 por evaporación al vacío y disolución en del jarabe residual en 2 ml de agua caliente y añadido de etanol hirviendo cristalizaron 2,34 gr de maltosa (18,5%) que recristalizados de agua-etanol (2,3) fundió a 125-130s; $[\alpha]_D^{19} + 117,7$ (10 minutos) \longrightarrow + 130s (24 horas) (c: 0,9; agua) y que por cromatografía en papel corrida con una muestra testigo de maltosa y revelando con los reactivos B y C resultó idéntica al testigo.

Aislamiento de mono-O-benzofl-maltosa

Per evaporación al vacío de las fracciones 107-143 se obtuvieron 7,5 gr de jarabe del que se separó la benzofl por extracción con acetato de etilo de la manera habitual, quedando 5,83 gr (38,3%) de producto sólido de pf. 125-130s que por sucesivas recristalizaciones de etanol, metanol, acetato de etilo y finalmente de una mezcla de cloroformo-acetato de etilo-metanol (2,1,1) dió lugar a la cristalización de la mono-O-benzofl-maltosa en forma de agujas de pf. 140s-145s;

$\left[\text{C} \right]_{\text{D}}^{23} + 111,5$ (5 minutos) — 117,7 (16 horas) (ca 0,84
 agua), que por cromatografía en papel y revelado con los
 reactivos B y C dió una sola mancha reductora de Rf 0,30.

Análisis

Calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_{12}$

C: 51,12% H: 5,87% N: —

Encontrados

C: 50,58% H: 5,75% N: 0%

Las fracciones más impuras, 124-153 incluyendo
 el producto recuperado por ebullición a reflujo del
 carbón-activo, reunidas se extrajeron de la manera
 habitual con acetato de etilo; se obtuvo con 1,51 gr
 de un sólido amorfo e higroscópico que se cromato-
 grafó en una columna de 33 cm x 3 cm de celulosa
 whatman, eluyendo con butanol-etanol-agua (5:1:4,
 capa superior), recogiendo fracciones de aproxima-
 damente 25 ml cada una de la manera siguiente y reunien-
 do aquellas fracciones que por cromatografía en papel
 resultaron iguales.

Eluyente	Fracción Nº	Volumen ml	Peso de sustancia señalada	pt. f. y forma cristalina
butanol-eter- nol-agua (5:1:4, capa superior)	1 - 6	150	- - -	- - -
	7 -12	100	1,48	Rf. 0,8 0,6 0,3 0,02
	13-14	40	0,03	Rf. 0,02
	15-25	220	- - -	- - -
	Acetona		300	- - -
agua		800	- - -	- - -

Las fracciones 7-12 evaporadas al vacío dieron 1,48 gr de un jarabe que se extrajo de la manera habitual con acetato de etilo para separar en lo posible la benzamida presente; se obtuvieron 1,34 gr de producto sólido, más libre de benzamida que se cromatografiaron de nuevo por una columna de 59 cm x 28 cm de celulosa Whatman, eluyendo con butanol-piridina-agua (10:4:3) y con butanol-eter-agua (5:1:4, capa superior), recogiendo fracciones de 25 ml según el esquema siguiente y reuniendo las fracciones que por cromatografía en papel resultaron iguales.

Eluyente	Fracción Rf	Volumen ml	Peso de sustancia seca	PI. ; Rf forma cristala
butanol-piridina agua (10:4:3)	1-11	275	0,02	0,80
	12-14	75	0,28	Rf. 0,8 0,6; 0,3
	15-20	150	0,83	Rf. 0,8 0,6; 0,3
	21-44	600		
butanol-etanol- agua (5:1:4, ca- da superior)	45-52	400		
metanol		400	- - -	- - -
agua		500	- - -	- - -

Aislamiento de di-O-benzofl-maltosa

La cromatografía en papel de las fracciones 12-14 indicó que se trataba de una mezcla de un producto débil reductor con mono-O-benzofl-maltosa y benzamida, enriquecido en los dos últimos componentes.

La cromatografía en papel de las fracciones 15-20 indicó que se trataba de una mezcla del producto debilmente reductor presente en las fracciones 12-14 con mono-O-benzofl-maltosa y benzamida, ligeramente enriquecida en el componente debilmente reductor de Rf. 0,6. Estas fracciones evaporadas al vacío dieron 0,83 gr de un jarabe que se extrajo de la manera habitual con acetato de etilo hasta eliminar totalmente la benzamida y se

cromatografió nuevamente por una columna de 50 cm x 2,7 cm de celulosa Whatman, mojada con agua saturada con butanol y eluyente con butanol saturado con agua; se recogieron fracciones de 25 ml cada una según el esquema siguiente y se reunieron aquellas fracciones que por cromatografía en papel demostraron tener la misma composición.

Eluyente	Fracción No	Volumen ml	Peso de sustancia obtenida	Rf. Pl., forma cristal
butanol-agua (saturado)	1-5	225	---	---
	6-7	50	---	---
	8	25	0,08	Rf. 0,6
	9-14	150	0,21	Rf. 0,6 0,3
	15-18	100	0,09	Rf. 0,3
	19-36	425	---	---
metanol		200	---	---
acetona		200	---	---
agua		450	---	---

La fracción 8 evaporada al vacío dejó un jarabe que se disolvió en 4 ml de metanol, se decoloró con carbón, se filtró para análisis y se evaporó en desecador hasta consistencia siruposa. La cromatografía en papel, con butanol-etanol-agua (5:1:4, capa superior),

revelando con el reactivo By C, indicó la presencia de un solo producto débilmente reductor, de Rf 0,61.

La di-O-benzoil-maltosa obtenida, secada a 80s y 1 mm^{hg} dió lugar a un sólido amorfo de pf. 90-92s.

$[\alpha]_D^{29} + 97,5$ (c; 0,93; piridina)

$[\alpha]_D^{22} + 92,01$ (c; 0,71; etanol absoluto).

Análisis

Calculado para:	$C_{26}H_{30}O_{13}$	C:	56,72%	H:	5,49%
Encontrado:		C:	56,89%	H:	6,60%

HEPTA-O-ACETILMONO-O-BENZOIL-MALTOSA

0,10 gr de mono-O-benzoil-maltosa se disolvieron en 9 ml de una mezcla de piridina-anhídrido acético (1:1); después de 24 horas a temperatura ambiente se calentó durante 30 minutos a 60s; se evaporó en desecador al vacío sobre ácido sulfúrico e hidróxido de sodio y se obtuvieron 0,12 gr de hepta-O-acetil-O-benzoil-maltosa que recristalizada de etanol dió agujas de pf. 192-193s; $[\alpha]_D^{22} + 120,2$ (c; 0,298; cloroforno).

Análisis

Calculado para:	$C_{33}H_{40}O_{19}$	C:	53,51%	H:	5,17%
Encontrado:		C:	53,38%	H:	5,47%

ANÁLISIS DE LA MONO-O-BENZIL-MALTOSA

0,10 gr de mono-O-benzil-maltosa de p.f. 145-148^c se disolvieron en 3 ml de metanol-amoniaco; después de 24 horas a temperatura ambiente se evaporó la mezcla de reacción a sequedad al vacío y el residuo se cromatografió en papel. Al revelar con el reactivo B se observó una fuerte mancha correspondiente a la mono-O-benzil-maltosa sin amoniar, una débil mancha de Rf 0,02 correspondiente a maltosa y otra también débil de Rf 0,82 correspondiente a benzamida; por contacto con el metanol-amoniaco durante 8 días aún se observaba mono-O-benzil-maltosa sin amoniar. En otra experiencia similar, se dejó la solución amiacal de mono-O-benzil-maltosa durante 15 días en contacto y se observó por cromatografía en papel que la mayor parte de la mono-O-benzil-maltosa se había transformado en maltosa y benzamida, y que aún quedaban rastros de mono-O-benzil-maltosa sin amoniar.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

- 18 Se ha hecho una revisión del estado actual de las reacciones y métodos de benzoylación de mono y disacáridos.
- 21 Se hizo una revisión de la reacción de amonólisis de derivados acilados de monosacáridos y disacáridos que conduce a la formación de N,N'-diacil-aldosilidendiaminas y N-acil-aldosilaminas.
- 31 Se estudió la reacción de benzoylación de la celobiosa, lactosa y maltosa y se efectuó la amonólisis de la octa-O-benzoyl-celobiosa, octa-O-benzoyl-lactosa y hepta-O-benzoyl-maltosa.
- 42 Se encontró que la reacción de amonólisis era de carácter general también para los disacáridos benzoylados estudiados, obteniéndose además de las N,N'-dibenzoyl-aldobiosilidendiaminas y N-benzoyl-aldobiosilaminas esperadas los mono-O-benzoyl-derivados. En el caso de la maltosa, en el cual se realizó la amonólisis de una hepta-O-benzoyl-maltosa, no se obtuvieron derivados N-benzoylados.

Las conclusiones anteriores se basan en los siguientes hechos cuyo detalle se encuentra en la parte teórica y experimental de este trabajo:

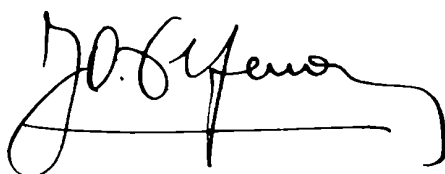
- a.) De la celobiosa se preparó la octa-O-benzofl-celobiosa y por amonólisis de esta última se obtuvieron una mono-O-benzofl-celobiosa (6,5%), N-benzofl-celobiosilamina (0,9%) y N,N'-dibenzofl-celobiosilidendiamina (7,9%) y se prepararon los siguientes derivados: una octa-O-benzofl-celobiosa isómera de la obtenida por benzoflación directa de la celobiosa; hepta-O-acetil-N-benzofl-celobiosilamina, octa-O-acetil-N,N'-dibenzofl-celobiosilidendiamina; por benzoflación de la mezcla de amonólisis cruda se obtuvo una penta-O-benzofl-N-benzofl-celobiosilamina cuya benzoflación dió lugar a la hepta-O-benzofl-N-benzofl-celobiosilamina.
- b.) De la lactosa se preparó la octa-O-benzofl-lactosa y por amonólisis de esta se obtuvo la N,N'-dibenzofl-lactosilidendiamina (9,6%) y una mono-O-benzofl-lactosa y se preparó la octa-O-acetil-N,N'-dibenzofl-lactosilidendiamina; por benzoflación de la mezcla de amonólisis cruda se obtuvo la hepta-O-benzofl-N-benzofl-lactosilamina.
- c.) De la maltosa se prepararon octa-O-benzofl-maltosa y una hepta-O-benzofl-maltosa. Por amonólisis

sis de la hepta-O-benzoil-maltosa obtuvimos una mono-O-benzoil-maltosa (44%) y una di-O-benzoil-maltosa.

- 5f La obtención de derivados O-benzoilados se atribuye a efectos estéricos debidos a la influencia mutua de las dos mitades del disacárido y a la menor polarización del carbonilo del grupo benzoil, debido al efecto mesomérico ejercido por el núcleo benzénico, en comparación con la del grupo acetilo, lo cual se traduce en una mayor estabilidad del benzoil frente a la reacción de amonólisis.

Comparativamente la amonólisis del benzoil es más lenta que la del acetilo y la migración del primero al carbono 1 podría ser mayor, lo cual se traduciría en un aumento del rendimiento de N,N'-dibenzoil-aldebiosilidendiaminas.

El rendimiento de azúcar libre es menor que en el caso de los derivados acetilados y en su lugar obtuvimos mono-O-benzoil-derivados de la celobiosa, lactosa y maltosa.



BIBLIOGRAFIA

- 1.- M. Berthelot , Ann. Chim. Phys. (3) 60, 93 (1860).
- 2.- C. Liebermann y O. Hermann, Ber. 11, 1618 (1878).
- 3.- A.P.W. Franchimont, Ber. 12, 1940 (1879).
- 4.- E. Erwig y W. Königs, Ber. 22, 1464 (1889).
- 5.- Zh. Skraup y J. König, Ber. 34, 1115 (1901).
- 6.- R. Behrend y P. Roth, Ann. 331, 362 (1904).
- 7.- A. Verley y F. Bouling, Ber. 34, 3754 (1901).
- 8.- D. Krüger y A. Roman, Ber. 69, 1830 (1936).
- 9.- G.M. Christensen, J. Org. Chem. 27, 1442 (1962)
- 10.- A. Aszalou y V. Pray, Staerke 14, 50 (1962)
- 11.- G. S. Hudson, y J. Johnson, J. Amer. Chem. Soc. 37, 1270,
1276 (1915).
- 12.- H.P. Schutzenberger y Naudin, Bull. Soc. Chim. II 12,
208, (1869).
- 13.- A. Herzfeld, Ber. 13, 265 (1880); Ann. 220, 215 (1883).
- 14.- L. Maquenne y E. Goodwin, Bull. Soc. Chim. (3) 31, 876,
(1904).
- 15.- E. Baumann, Ber. 19, 3218 (1969) .
L.V. Udransky y E. Baumann, Ber. 21, 2744 (1888).
- 16.- L. Claisen y A. Dänninger, Ber. 27, 3182 (1894).

- 17.- A. Einhorn y F. Holland, Ann. 301, 95 (1898) .
- 18.- M. Dennsted y J. Zimmermann, Ber. 19, 75 (1886).
- 19.- A. Adkins y Q. E. Thompson, J. Am. Chem. Soc. 71, 2242 (1949);
- 20.- M. K. Richtmeyer y E. H. Yaekel, J. Am. Chem. Soc. 56, 2495 (1934).
- 21.- T. Lieser y R. Schweizer, Ann. 519, 271 (1935).
- 22.- P. Briegl y H. Gruner, Ber. 65, 1428 (1932).
- 23.- D. H. Bammler y G. A. Dekker, J. Org. Chem. 26, 4615 (1962).
- 24.- L. V. Vargha, Ber. 68, 1377 (1935).
- 25.- P. Briegl y R. Schinle, Ber. 66, 325 (1933); 67, 127, 754 (1934).
- 26.- E. Fischer y K. Freudenberg, Ber. 45, 2725 (1912);
- 27.- P. Briegl y H. Gruner, Ann. 495, 60 (1932);
- 28.- P. Briegl y R. Schinle, Ber. 65, 1890 (1932).
P. Briegl y H. Mühlischlegel, Ber. 63, 1551 (1930).
- 29.- B. Helferich, K. Bauerlein y F. Weijana, Ann. 447, 27 (1926).
- 30.- E. Fischer y H. Noth, Ber. 51, 332 (1918).
- 31.- E. Fischer y H. Fischer, Ber. 43, 2521 (1910).
- 32.- K. H. Slotta y H. Haller, Ber. 63, 1024 (1930).
- 33.- E. Fischer, Ber. 26, 2400 (1893); 28, 1145 (1895).

- 34.- D. O'Keefe y D.M. Shepherd, J. Chem. Soc. (London) 4232 (1955).
- 35.- J. Dewar y G. Fort, J. Chem. Soc. (London); 496 (1944)
- 36.- B. Hülferich y A. Günchtel, Ber. 71, 712 (1938)
- 37.- K. Freudenberg, H. Töppler, O. G. Andersen, Ber. 61, 1750 (1928).
- 38.- J. G. Irvine y J. P. Scott, J. Chem. Soc. (London) 103, 564 (1913).
- 39.- W.N. Haworth y G.R. Portes, J. Chem. Soc. (London) 2796 (1929); 151 (1930).
- 40.- O.T. Schmidt, T. Auer y H. Schumadel, Ber. 93, 556 (1960).
- 41.- E. Fischer y R. Oetker, Ber. 46, 4029 (1913).
- 42.- S. Odén, Arkiv Kemi 6, N.18, (1918); Chem. Zentralbl. 1919-II, 24.
- 43.- H. Zinner y H. Hinz y E. Wittenburg, Ber. 93, 340, (1960).
- 44.- P.A. Levene y G.H. Meyer; J. Biol. Chem. 76, 513, (1925).
- 45.- H. Skraup; Monatshefte 10, 398 (1889).
- 46.- S.V. Hintikka; Chem. Zentralbl. 1923-III, 1603 An. Acad. Scient. Fennicae 2 (1923).
- 47.- A. Panormoff; J. Chem. Soc. Mosca 23, 378 (1891) Chem. Zentralbl. 1891-II, 853; Ber. Ref. 24, 971 (1891).
- 48.- L. Kuany; Hoppe Seylers, 14, 330 (1890).
- 49.- J. Gatterbauer, Chem. Zentralbl. 1911-II, 152

- 50.- E. Fischer y M. Bergmann, Ber. 53, 1621 (1920);
1634 (1920).
- 51.- R.M. Ham, W.D. MacLay y O.S. Hudson, J. Am. Chem. Soc.
61, 2432 (1939).
E. Fischer, Ber. 48, 269 (1915).
- 52.- H. Ohle, Ber. 57, 403 (1924).
- 53.- K. Josephson, Ann. 472, 217 (1929).
- 54.- R.K. Ness y H.G. Fletcher Jr. J. Am. Chem. Soc. 76,
513 (1954).
- 55.- O.T. Schmidt y H. Schudel, Ann. 649, 157 (1962).
- 56.- P. Brigl y R. Schinle, Ber. 65, 1890 (1932).
- 57.- A. Wohl, Ber. 26, 730 (1893).
- 58.- L. Maquenne, Compt. Rend. 130, 1402 (1900);
Ann. Chim. (7), 24, 399 (1901).
- 59.- R. C. Hockett, J. Am. Chem. Soc. 57, 2265 (1935).
- 60.- R. C. Hockett y L. E. Gandler, J. Am. Chem. Soc. 66, 957
(1944).
- 61.- G. Nieman y J. R. Hays, J. Am. Chem. Soc. 67, 1302
(1945).
- 62.- R. C. Hockett, M. T. Dienes, H. G. Fletcher y H. E. Ham-
den, J. Am. Chem. Soc. 66, 467 (1944).
- 63.- G. Nieman y J. R. Hays, J. Am. Chem. Soc. 62, 2960 (1940).
- 64.- P. Brigl y H. Keppler, Hoppe Sullers. 180, 38 (1929).
- 65.- P. Fleury, Bull. Soc. Chim. France. 1126 (1955).

- 66.- J.O. Deferrari y V. Deulofeu, An. Asoc. Quim. Arg. 46, 126 (1958).
- 67.- P. Brigl y H. Mühlischlegel y R. Schinle, Ber. 64 2921 (1931).
- 68.- J.O. Deferrari y V. Deulofeu, J. Org. Chem. 22, 802 (1957).
- 69.- J.O. Deferrari y V. Deulofeu, J. Org. Chem. 17, 1097 (1952).
- 70.- E.G. Gros, M.A. Ondetti, J.O. Sproviero, V. Deulofeu y J.O. Deferrari, J. Org. Chem. 21, 924 (1962).
- 71.- V. Deulofeu y J.O. Deferrari, J. Org. Chem. 17, 1087 (1952).
- 72.- E. Roth, Ann. 154, 72 (1869).
- 73.- A. Schuster, Ann. 154, 80 (1869).
- 74.- V.V. Richter, Ber. 5, 437 (1872).
- 75.- M. Nencki, Ber. 7, 158 (1874).
- 76.- Kerp, Arb. Reichs. Ges. Ant. 21, 180 (1904); 26, 231 (1907); Chem. Zentralbl. 1907-II 970-971.
- 77.- V. Deulofeu y J.O. Deferrari, An. Asoc. Quim. Arg. 38, 241 (1950).
- 78.- H.S. Isbell y H.L. Frush, J. Am. Chem. Soc. 71, 1579, (1949).
- 79.- T. White, J. Chem. Soc. (London), 1498 (1938).
- 80.- R. C. Hockett, V. Deulofeu y J.O. Deferrari, J. Am. Chem. Soc. 72, 1840 (1950).

- 81.- R. Allerton y E.G. Overand, *J. Chem. Soc. (London)* 35 (1972).
- 82.- A. Einhorn y T. Hauerwayer, *Ann.* 343, 307 (1905).
- 83.- J. E. Hodge, C.E. Rist, *J. Am. Chem. Soc.* 74, 1498 (1952).
- 84.- R.C. Hockett, V. Deulofeu, A.L. Sedoff y J.R. Mendive, *J. Am. Chem. Soc.* 60, 278 (1938).
- 85.- V. Deulofeu, *J. Chem. Soc. (London)* 2458 (1929).
- 86.- E. Restelli de Labriola, V. Deulofeu, *J. Org. Chem.* 12, 726 (1947).
- 87.- E. Gros, A. Luzerovica, R. R. Recundo, V. Deulofeu y J.O. DeFerrari, *An. Asoc. Quim. Arg.* 21, 185 (1962).
- 88.- E. Recundo, *Trab. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales*, 1957.
- 89.- R. L. Bette y L.P. Bunnet, *J. Am. Chem. Soc.* 59, 1568 (1937).
- 90.- J.F. Bunnet y G.F. Davis, *J. Am. Chem. Soc.* 82, 665 (1960).
- 91.- R. Bultzy, J.M. Berger y A.A. Rutenstein, *J. Am. Chem. Soc.* 72, 4149 (1950).
- 92.- J. Hine y M. Hine, *J. Am. Chem. Soc.* 74, 5200 (1952).
- 93.- R. H. Metzger, J.G. Miller y A.R. Day, *J. Am. Chem. Soc.* 72, 1150 (1950).
- 94.- R. A. Oudenas y J.O. DeFerrari, *J. Org. Chem.* 28, 2623 (1963).

- 95.- V. Deulofeu, J. Chem. Soc. (London). 2602 (1930).
- 96.- A. Wohl, Ber. 32, 3600 (1899).
- 97.- E. Votocak, Ber. 50, 35 (1917).
- 98.- J.O. Deferrari, M. A. Ondetti y V. Deulofeu, J. Org. Chem. 24, 183 (1959), An. Asoc. Quim. Arg. 47, 293 (1959).
- 99.- J.O. Deferrari y V. Deulofeu, E. Recondo, An. Asoc. Quim. Arg. 46, 137 (1958).
- 100.- J.O. Deferrari y V. Deulofeu, Ann. Acad. Bras. Scienc. 26, 69 (1954).
- 101.- V. Deulofeu y R. Giménez, J. Org. Chem. 15, 460 (1950).
- 102.- J.O. Deferrari y V. Deulofeu, J. Org. Chem. 17, 1093 (1952).
- 103.- V. Deulofeu, J. Chem. Soc. (London), 2973 (1932).
- 104.- A. Wohl y E. List, Ber. 30, 1101 (1897).
- 105.- R. K. Ness y H. G. Fletcher Jr. J. Am. Chem. Soc. 74, 5344 (1952).
- 106.- G. Michel, Bul. Soc. Chim. de France 2173, (1960).
- 107.- R. E. Reeves, J. Am. Chem. Soc. 76, 4595 (1954).
- 108.- R. Bentley, J. Am. Chem. Soc. 81, 1972 (1959).
- 109.- J. Munderlich, Compt. Rend. 240, 1350 (1955).
- 110.- V. S. R. Rao y J. F. Foster, J. Phys. Chem. 67, 951 (1963).
- 111.- L. Zschmelster y G. Toth, Ann. 222, 14 (1936).
- 112.- R. Michael, R. Frier, E. Plate y A. Hillier. Ber. 82, 1092 (1952).

- 113.- J.O. Deferrari y R.A. Cadenas; *J. Org. Chem.* 28, 1070 (1963).
- 114.- R.A. Cadenas y J.O. Deferrari; *J. Org. Chem.* 28, 1072 (1963).
- 115.- J.O. Deferrari y R.A. Cadenas; comunicación personal.
- 116.- J.O. Deferrari, R.M. de Lederkremer, B. Matushiro y J.F. Sproviero; *J. Chromatogr.* 283 (1962).
- 117.- R.A. Cadenas y J.O. Deferrari; *Analyst* 86, 132 (1961).
- 118.- L. Hough, J. K. Jones y W. H. Wadman; *J. Chem. Soc. (London)*; 1702 (1950).
- 119.- M. Jaffé; *Ber.* 25, 3129 (1892).

Derivados acilados de monosacáridos y disacáridos	1.
Acción del amoníaco sobre monosacáridos acilados	28.
Acción del amoníaco sobre disacáridos ben- zoylados. Discusión de los resultados ob- tenidos.....	72.
<u>PORTE EXPERIMENTAL</u>	105.
Celobiosa	108.
Benzoylación de la celobiosa	109.
Amonólisis de la octa-O-benzoyl-celobiosa...	115.
Amonólisis de la octa-O-benzoyl-celobiosa Benzoylación de los productos de reacción...	127.
Benzoylación de la lactosa	130.
Amonólisis de la octa-O-benzoyl-lactosa	139.
Amonólisis de la octa-O-benzoyl-lactosa Benzoylación de los productos de reacción...	147.
Benzoylación de la maltosa	154.
Amonólisis de la hepta-O-benzoyl-maltosa ...	166.
Resumen y conclusiones	175
Bibliografía	178