

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



TESIS DOCTORAL

**Anticancerosos potenciales : síntesis de nucleósidos
alquilantes derivados de triazoles**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

María José Camarasa Ríos

DIRECTOR:

Federico Gómez de las Heras Martín-Maestro

Madrid, 2015

TP
1984
004

María José Camarasa Rius



* 5 3 0 9 8 6 2 8 1 4 *
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

x-53-044135-p

ANTICANCEROSOS POTENCIALES. SINTESIS DE NUCLEOSIDOS
ALQUILANTES DERIVADOS DE TRIAZOLES

Departamento de Química Orgánica
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Complutense de Madrid
1984



BIBLIOTECA

Colección Tesis Doctorales. Nº 4/84

© María José Camarasa Rius
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1984
Xerox 9200 XB 480
Depósito Legal: M-39677-1983

Autor: MARIA JOSE CAMARASA RIUS

ANTICANCEROSOS POTENCIALES. SINTESIS DE NUCLEOSIDOS

ALQUILANTES DERIVADOS DE TRIAZOLES.

Director: Federico Gómez de las Heras Martín

Maestro.

Investigador científico del C.S.I.C.

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Ciencias Químicas

Departamento de Química Orgánica

Año 1932

El presente trabajo ha sido realizado en la Sección de Quimioterapia del Instituto de Química Médica del C.S.I.C., bajo la dirección del Dr. Federico Gómez de las Heras Martín Maestro, a quién deseo expresar mi mas sincero agradecimiento por su constante interés y asesoramiento.

Asímismo, agradezco al Dr. Manfred - Stud Schlüter, director del Instituto, y a la Dra. María Teresa García López, jefe de la Sección de Quimioterapia, las facilidades dadas para la realización de este trabajo.

También quiero dar las gracias a todos mis compañeros por la ayuda y el apoyo recibidos.

I N D I C E

I

INTRODUCCION	1
1- Introducción general	2
2- Nucleósidos Alquilantes. Antecedentes y Diseño .	5
PARTE TEORICA	13
1- Síntesis de azidas de ribofuranosilo	14
1.1- Reacciones de cicloadición dipolar-1,3 de - azidas de glicosilo	14
1.2- Preparación de azidas de glicosilo	19
1.2.1- Síntesis de azida de 2,3-O-isopropi- liden-5-O-tritil- α -D-ribofuranosilo	21
1.2.2- Síntesis de azida de 2,3,5-tri-O-ace- til- β -D-ribofuranosilo	24
2- Síntesis de nucleósidos de 1,2,3-triazol	27
2.1- Síntesis de nucleósidos de 1,2,3-triazol -- por reacción de cicloadición dipolar-1,3 de ribofuranosilazidas a acetilenos	28
2.1.1.- Reacciones de cicloadición de ribo- furanosilazida a alcohol propargíli- co	28
2.1.2- Obtención de nucleósidos alquilan- tes monofuncionales de 1,2,3-tria- zol por cicloadición de azidas de - ribofuranosilo a haluros de propar- gilo	34
2.1.3- Obtención de nucleósidos de 1,2,3- triazol-4,5-disustituídos por ciclo	

II

adición de ribofuranosilazidas a acetilenos	39
2.2- Síntesis de nucleósidos alquilantes de 1,2,3-triazol por reacción de transhalogenación	41
3- Síntesis de nucleósidos alquilantes de 1,2,4-triazol	47
3.1- Preparación de nucleósidos por glicosidación de bases heterocíclicas	48
3.2- Síntesis de nucleósidos de 1,2,4-triazol por glicosidación	55
3.3- Hidroximetilación de 1-glicosil-1,2,4-triazoles	59
3.4- Preparación de 1-glicosil-5-halometil-1,2,4-triazoles	62
3.5- Preparación de nucleósidos de triazol con grupos alquilantes clásicos	68
4- Síntesis de N-glucósidos alquilantes derivados de acetoxi-bromometil-1,2,4-triazol	71
4.1- Glicosidación de 5-metil-1,2,4-triazolin-3-ona con bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranososa	72
4.1.1- Glucosidación de 1-glucosil-3-metil y 4-glucosil-3-metil-1,2,4-triazolin-5-onas	80
4.2- Reacción de N-glucosil-3-metil-1,2,4-triazolin-5-onas con N-bromosuccinimida	83
4.2.1- Preparación de 5-acetoxi-3-bromometil	

III

-glucosil-1,2,4-triazoles	84
5- Síntesis de nucleósidos derivados de 1,2,4-triazoles sustituidos	91
5.1- Preparación de nucleósidos de amino-1,2,4-triazol y nitro-1,2,4-triazol	91
5.1.1- Glicosidación de 3-amino-1,2,4-triazol	93
5.1.2- Preparación de nucleósidos de nitro-1,2,4-triazol por glicosidación	101
5.1.3- Obtención de nucleósidos de amino-1,2,4-triazol por reducción de nucleósidos de nitro-1,2,4-triazol ...	104
5.2- Tentativas de obtención de nucleósidos alquilantes a partir de 1-glucósidos de 3-nitro-1,2,4-triazol y 3-amino-1,2,4-triazol .	111
5.2.1- Tentativas de preparación de nucleósidos alquilantes derivados de 3-nitro-1,2,4-triazol	112
5.2.2- Tentativas de preparación de nucleósidos alquilantes derivados de 3-amino-1,2,4-triazol	113
5.3- Reacciones de sustitución nucleófila en 1-glucosil-5-nitro-1,2,4-triazoles	119
TABLAS	128
PARTE EXPERIMENTAL	141
1- Preparación y origen de los productos de partida	143

IV

2- Síntesis de azidas de ribofuranosilo	152
3- Síntesis de nucleósidos de 1,2,3-triazol	154
4- Síntesis de nucleósidos alquilantes de 1,2,4-tri azol	164
5- Síntesis de N-glucósidos alquilantes derivados - de acetoxi-bromometil-1,2,4-triazol	173
6- Síntesis de nucleósidos derivados de 1,2,4-tria- zoles sustituidos	180
APENDICE . ACTIVIDAD CITOSTATICA	191
CONCLUSIONES	202
BIBLIOGRAFIA	208

I N T R O D U C C I O N

1.- INTRODUCCION GENERAL

Dentro del campo de la Quimioterapia del cáncer, los agentes alquilantes^{1,2} junto con los antimetabolitos -- constituyen el grupo de fármacos antineoplásicos de mayor aplicación clínica, destacando por su utilidad en el control de determinadas situaciones neoplásicas. Ambos tipos de compuestos actúan fundamentalmente sobre los ácidos nucleicos, ya sea inhibiendo su síntesis al interfeerir en alguna etapa del ciclo celular, como es el caso de los antimetabolitos, o bien alterando su estructura al intervenir en todas las fases del mencionado ciclo, como es el caso de los agentes alquilantes.

Los agentes alquilantes son, químicamente compuestos electrófilos, capaces de alquilar centros nucleófilos biológicos. En su estructura contienen un grupo alquilo R-CH₂- en el que R desempeña el papel de parte vectora. Su unión a los centros nucleófilos biológicos se realiza a través de un átomo de carbono saturado -CH₂-.

De acuerdo con la estructura del centro reactivo, los agentes alquilantes se clasifican² en mostazas nitrogenadas, etileniminas, alcanosulfonatos, epóxidos, N-alquil-N-nitrosoureas y triazenos. Estos compuestos pueden reaccionar mediante un mecanismo S_N1, como por ejemplo las mostazas nitrogenadas, o mediante un mecanismo S_N2, como por ejemplo los epóxidos y las aziridinas C-insustituídas. No obstante, esta diferencia mecanística no se traduce generalmente en diferencias en el espectro de citotoxicidad. En cualquier caso, el agente alquilante reacciona fá

cilmente con centros nucleófilos tales como grupos ácido carboxí-lico y fosfórico, grupos hidroxilo y tiol ionizados a pH fisioló-gico, así como grupos amino en forma no disociada, que forman -- parte de muchas moléculas biológicas importantes, como ácidos nu-cleicos, proteínas estructurales, enzimas, lípidos y aminoácidos. Aunque a la vista de esto los agentes alquilantes tienen la posi-bilidad de reaccionar con moléculas muy diversas dentro de la cé-lula, estudios del efecto de estos agentes a dosis mínimas han - puesto de manifiesto que el DNA es la molécula mas sensible a la alquilación, siendo el principal centro de alquilación el N-7 de la guanina, debiéndose a esta alteración su carácter antitumoral. Desafortunadamente, los agentes alquilantes presentan en su mayo-ría una falta de especificidad hacia el tejido neoplásico y, de-bido a esto, la Quimioterapia se enfrenta en este campo con el - problema de lograr una actividad mas selectiva.

En un estudio de Schmidt y col³, sobre agen-tes alquilantes, publicado en 1965, se afirmaba su falta de selec-tividad. Dichos autores consideraban entonces que a pesar de la elevada actividad citostática de algunos de estos compuestos, la posibilidad de encontrar un anticanceroso terapéuticamente útil era muy remota. Sin embargo, estudios posteriores^{2,4} han demostra-do la existencia de fármacos alquilantes selectivos y clínicamen-te útiles, tales como la ciclofosfamida o el meropham, que se em-plean en el tratamiento de Linfoma de Burkitt^{5,6} o la 5-aziridi-no-2,4-dinitrobenzamida, que es específica frente a tumor de Wal-ker⁷. Estos y otros resultados han hecho reconsiderar el punto de vista pesimista anterior y han estimulado de nuevo la investiga-ción en este campo.

En la presente memoria se describe la síntesis y la determinación de estructuras de una serie de nucleósidos alquilantes de 1,2,3-triazol y de 1,2,4-triazol, sustituidos con un resto halometilo, lo que supone un nuevo tipo de agente alquilante citostático de tipo bencílico, el halometilazol, o sustituidos con restos alquilantes clásicos tales como aziridina o mostaza nitrogenada. Asimismo, se da cuenta brevemente de las actividades citostáticas "in vitro" de los compuestos sintetizados - para finalizar con el establecimiento de las posibles relaciones entre la estructura química y la actividad biológica.

Este trabajo forma parte de un plan de investigación más amplio que se viene realizando en la sección de Quimioterapia del Instituto de Química Médica, sobre la síntesis, - evaluación de la actividad citostática y estudio del mecanismo de acción de distintos tipos de nucleósidos alquilantes.

2.- NUCLEOSIDOS ALQUILANTES, ANTECEDENTES Y DISEÑO

Una de las hipótesis que ha conducido a mejores resultados en el diseño racional de agentes alquilantes consiste en utilizar como vectores del grupo alquilante estructuras idénticas o análogas a las que la célula utiliza normalmente para su crecimiento y mantenimiento. Como estructuras transportadoras se han utilizado aminoácidos naturales^{8,9}, hidratos de carbono^{10,11}, esteroides y componentes de los ácidos nucleicos, tanto bases^{12,13}, como nucleósidos^{14,15,16,17,18} y nucleótidos¹⁶. Varios derivados alquilantes de los componentes de los ácidos nucleicos presentan actividad antineoplásica. Así, el 5(di-2-cloroetil)-aminouracilo (mostaza de uracilo) 1 y su derivado 6-metilico (Dopan) 2 son efectivos frente a tumores del sistema hematopoyético^{19,20}, la 5-bis(2-cloroetil)-aminometil uridina 3 presenta actividad frente a leucemia y el derivado nucleosídico 4, análogo de la ciclofosfamida, tiene actividad citostática en cultivos de células KB²¹. Además de estos derivados nucleosídicos portadores de restos mostaza nitrogenada también se han preparado otros con actividad citostática frente a distintos sistemas tumorales en los que el grupo reactivo alquilante pertenece al grupo de las etileniminas, de las nitrosoalquilureas o de los triazenoimidazoles. Por ejemplo, los 9-alkil y 9-ribofuranosil derivados de 6-(1-aziridinil)purinas 5 y 6 respectivamente presentan actividad frente a adenocarcinoma 755¹⁴. La actividad de las nitrosoureas²², entre ellas el derivado glicosídico antibiótico antitumoral estreptozotocina²³ 7 frente a neoplasmas animales experimentales ha conducido a la obtención de purinas citos-

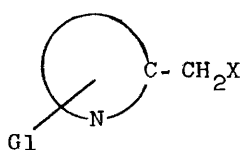
táticas sustituidas con restos de nitrosourea²⁴ y de varios derivados nucleosídicos 8²⁵, 9²⁶, 10²⁷ y 11²⁷ en los que dicha función alquilante está unida al resto de azúcar. La acción citotóxica - descubierta recientemente de algunos derivados triazénicos^{28,29}, tales como la 4-(3,3-dimetil-1-triazeno)imidazol-5-carboxamida 12 que es efectiva en el tratamiento de melanoma³⁰ ha llevado a la preparación de análogos nucleosídicos tales como 4-(3,3-dimetil-1-triazeno)-1-(β -D-ribofuranosil)imidazol-5-carboxamida 13 que a su vez presenta actividad antileucémica^{31,32}. Muy recientemente, se han preparado bromoacetamido derivados de nucleósidos 14 y 15 que presentan actividad citostática frente a cultivos de células H.Ep-2 e inhiben la formación de ácidos nucleicos en células de leucemia L 1210²⁷.

El grupo alquilante mas estudiado, ha sido el correspondiente a las mostazas nitrogenadas que fué el que primero se descubrió, mas tarde se fueron descubriendo y estudiando otros tipos de agentes alquilantes que incorporaban como resto activo alguno de los grupos alquilantes mencionados (aziridinas, alquilnitrosoureas, alcanosulfonatos y triazenos). Muchos de estos compuestos tambien presentaron citotoxicidad frente a una amplia gama de células en división rápida. Sin embargo, existen otros - grupos con conocida capacidad alquilante que se han utilizado - muy poco como centros activos de fármacos antineoplásicos. Entre estos grupos se encuentran los haluros de tipo alílico o bencílico.

Por todas las consideraciones anteriores decidimos estudiar la significación de los haluros de tipo bencílico.

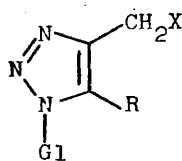
co como agentes alquilantes, ya que posiblemente la variación del tipo de agente alquilante pudiese variar las condiciones de selectividad del fármaco, haciéndole mas específico hacia las células tumorales.

Con el fin de aprovechar con fines terapéuticos estos grupos alquilantes no utilizados hasta el presente, en el Instituto de Química Médica se ha emprendido un programa de síntesis, evaluación de la actividad citostática y estudio del mecanismo de acción de N-glicosil-penta-heterociclos, en los que un grupo halometilo, como centro alquilante, está unido a un anillo heteroaromático 16. Estas estructuras alquilantes recuerdan



16, X= Halógeno

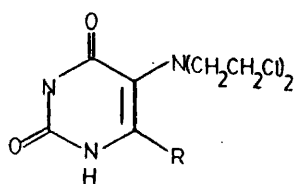
Gl= Glicosilo



17, X= Halógeno

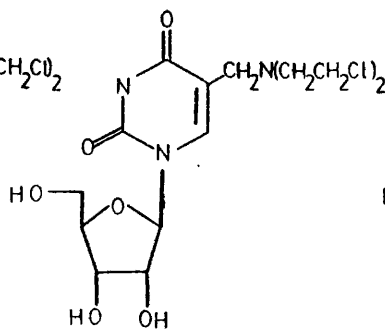
R= H, CH₂X

las de las mostazas nitrogenadas en que ambas presentan la misma secuencia de átomos N-C-C-X (X=halógeno). El primer resultado de este plan ha sido la obtención de una serie de N-glicosil-halometil-1,2,3-triazoles 17³³. Las actividades citostáticas "in vitro" de estos compuestos frente a cultivos de células HeLa son, en general, significativas y algunos de ellos, tales como 4-bromometil y 4-iodometil-1(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)1,2,3-triazol han presentado actividades significativas "in vivo" frente a Carcinoma Ascítico de Ehrlich (ECA) y a Leucemia Linfocíti-

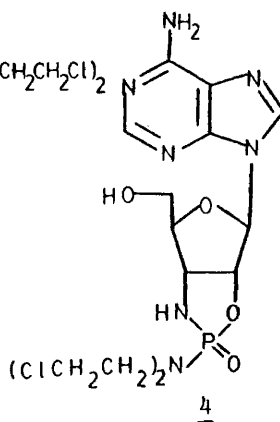


1, R= H

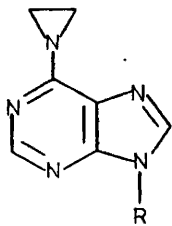
2, R= CH₃



3

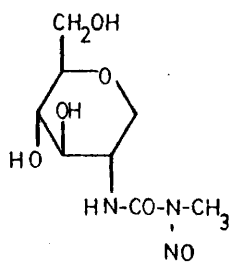


4

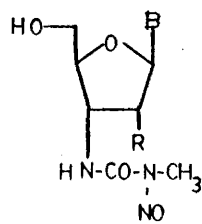


5, R= alquilo

6, R= Ribofuranosilo



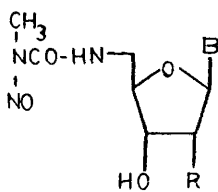
7



8, B= Timina, R= H

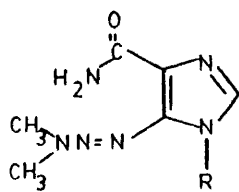
9, B= Adenina, Uracilo

Citosina, R= OH



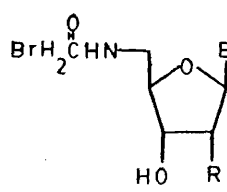
10, B= Adenina, R=OH

11, B= Timina, R=H



12, R=H

13, β -D-ribofuranosilo



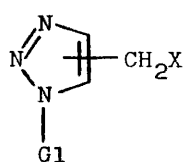
14, B= Adenina, R=OH

15, B= Timina, R=H

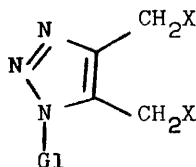
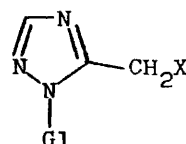
nosilo

ca P-388³⁴. Del estudio de las actividades antitumorales tanto "in vitro" como "in vivo" se han podido establecer relaciones estructura-actividad y se ha observado que la actividad citostática es mayor para los compuestos de mayor capacidad alquilante, - es decir bromometil y iodometil derivados. Por último, el estudio del mecanismo de acción biológico demostró que estos compuestos actúan efectivamente como agentes alquilantes³⁴.

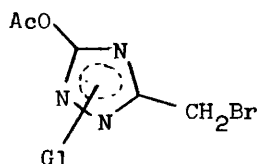
En esta memoria se describe la síntesis de 1-ribosil-halometil-1,2,3-triazoles 18 y 19 por reacción de cicloaddición dipolar-1,3 de diferentes azidas de ribosilo a halometil acetilenos. En un segundo apartado se describe la síntesis de los N-ribósidos y N-glucósidos de 1,2,4-triazol alquilantes de fórmula 20 mediante reacción de glicosidación de 1,2,4-triazol seguida de la introducción de la cadena lateral alquilante. En la tercera parte se da cuenta de la síntesis de 1-glucosil- y 4-glucosil derivados de 3-acetoxi-5-bromometil-1,2,4-triazol 21 mediante la reacción de glicosidación de 3-metil-1,2,4-triazolin-5-ona seguida de acetilación y bromación en el metilo triazólico de tipo bencílico. Por último, en la cuarta sección de esta memoria se describe la síntesis de nucleósidos de nitro-1,2,4-triazol y su transformación en los derivados correspondientes de amino-, acetilamino-, cloro-, aziridino e hidroxil-1,2,4-triazol. Los nucleósidos de 1,2,3-triazol de fórmulas 18 y 19 son análogos ribosilados de otros, obtenidos previamente en nuestro laboratorio en los que el resto glicosídico era glucosilo^{33a}, 2-amino glucosilo^{33a}, manosilo^{33b} y galactosilo^{33b}. Los ribosil-1,2,3-triazoles 18 y 19 se prepararon con el fin de establecer relaciones

18

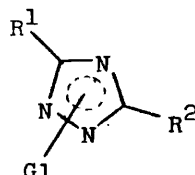
X= OH,Cl,Br,I

1920

X= OH,Cl,Br,I,N

21

G1= Ribosilo, Glucosilo

22R¹= H, NH₂, NHAc, NO₂R²= H, OH, NH₂, NHAc, NO₂, Cl, N

entre la estructura química y la actividad biológica y de conocer los factores esenciales y accesorios para la actividad citostática. Con esta idea se ha estudiado la influencia de los grupos protectores de los hidroxilos de la ribofuranosa sobre la actividad citostática, habiéndose empleado grupos éter, concretamente, 2',3'-O-isopropiliden-5-O-tritil y también grupos éster, concretamente, 2,3,5-tri-O-acetil. Los grupos acetato han demostrado ser los más satisfactorios.

Los nucleósidos de 1,2,4-triazol de fórmulas 20 y 21 son análogos de los de 1,2,3-triazol mencionados y

en ellos el resto de azúcar es ribofuranosilo o glucopiranosilo ambos peracetilados. Con la preparación de estos compuestos se pretende conocer el efecto que el anillo aromático de 1,2,4-triazol ejerce sobre las propiedades alquilantes del resto halometilazol de tipo bencílico. La presencia del grupo acetoxilo en los compuestos 21 también pretende conocer hasta qué punto el efecto donador de electrones de dicho grupo puede afectar la capacidad alquilante del compuesto.

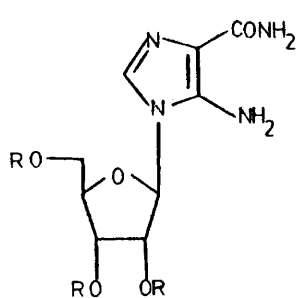
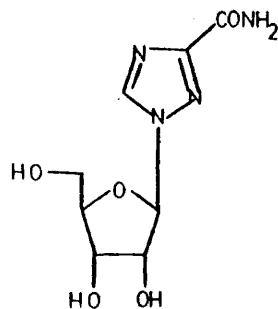
En los nucleósidos de estructura 22 también se incluyen algunos compuestos con capacidad alquilante. En este caso, el grupo alquilante está unido directamente al anillo triazólico y no a través de un puente metilénico $-\text{CH}_2-$.

En cuanto a los azúcares que se han utilizado como transportadores son la ribosa, azúcar que se encuentra en los ácidos nucleicos y la glucosa acetilada que en los estudios antes mencionados sobre derivados alquilantes de 1,2,3-triazol³³ ha presentado las mayores actividades antitumorales, tanto "in vitro" como "In vivo". Estos hechos están de acuerdo con estudios recientes acerca de la permeabilidad de la membrana de algunas células cancerosas según los cuales, la incorporación de glucosa, manosa y galactosa^{35,36} por algunos tipos de células tumorales es mayor que por células normales³⁷. Esto, puede permitir su incorporación preferente por dichas células tumorales y dar lugar a una toxicidad selectiva.

Con el fin de comparar sus actividades citostáticas con la de los halometil-glicosil-1,2,4-triazoles, se

na considerado de interés la preparación de nucleósidos alquilantes de 1,2,4-triazol de tipos 20 y 22 en cuya estructura se hallaban incorporados algunos de los grupos alquilantes "clásicos".

Es de resaltar la gran semejanza estructural de los nucleósidos alquilantes de 1,2,3-triazol 18 y 19 y 1,2,4-triazol 20, 21 y 22 con el 5-amino-1- β -D-ribofuranosil-imidazol-4-carboxamida 23, que es un intermedio clave en la biosíntesis de purinas³⁸, o con la ribavirina³⁹ (virazol) 24 que es un nucleósido de 1,2,4-triazol empleado en clínica como agente antivirásico^{40,41}. Esto hace que nuestros compuestos al poseer un grupo -vector tipo antimetabolito puedan desarrollar además una acción de este tipo, bloqueando por este camino una determinada vía metabólica

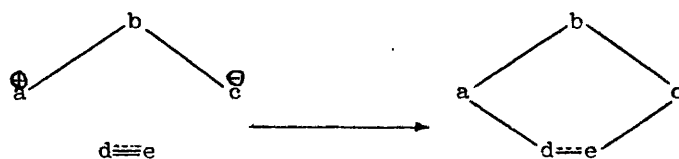
2324

PARTE TEORICA

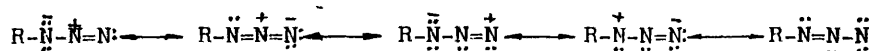
1- SINTESIS DE AZIDAS DE RIBOFURANOSILO

1.1- REACCIONES DE CICLOADICION DIPOLAR-1,3 DE AZIDAS DE GLICOSILO

Se entiende por reacción de cicloadición aquella en que se forma un ciclo a partir de dos o más productos de moléculas no saturadas sin que se originen por eliminación, fragmentos pequeños en el proceso. Las cicloadiciones dipolares-1,3, que son bimoleculares por naturaleza, suponen la adición de un dipolo-1,3 a un sistema de enlaces múltiples que conduce a heterociclos de cinco eslabones, tal como se representa a continuación:

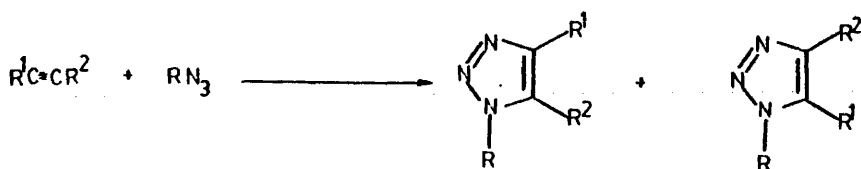


Un dipolo-1,3 es básicamente un sistema de tres átomos sobre el que se distribuyen cuatro electrones π como en el sistema anión alílico. En dicho sistema el átomo a posee un sextete electrónico y el átomo c un par de electrones sin compartir. Los tres átomos del dipolo-1,3 pueden ser un gran número de combinaciones de los átomos C, N y O y el dipolarófilo puede ser prácticamente cualquier enlace doble o triple. El término "dipolo-1,3" se debe a que en la teoría de enlace de valencia estos compuestos pueden describirse únicamente en función de formas resonantes dipolares como se indica a continuación para el grupo azida:



La aportación mas importante al conocimiento de las reacciones - de cicloadición dipolar-1,3 es la realizada por Huisgen y col.^{42, 43, 44, 45} que han contribuido a determinar el alcance, utilidad y mecanismos de estas reacciones. No obstante, una revisión muy - completa sobre este tipo de reacciones es la de Bastide y col.⁴⁶ La reacción de cicloadición dipolar-1,3 térmica de azidas a acetilenos, es la ruta mas versátil de síntesis de 1H-1,2,3-triazoles a causa de la gran variedad de sustituyentes que pueden tener los compuestos acetilénicos y las azidas. El mecanismo concertado de estas adiciones ha sido estudiado por Labbé⁴⁷, Sheradsky⁴⁸ y Huisgen⁴⁵.

La reacción de cicloadición de azidas a acetilenos asimétricos puede conducir a dos triazoles isómeros (Esquema I). El producto mayoritario suele ser el isómero menos impedido estéricamente: así por ejemplo, en la adición de azidas orgánicas a fenilacetileno, el 4-fenil-triazol predomina frecuentemente en la mezcla de productos^{49, 50, 51}



Esquema I

En general, la adición de acetilenos asimétricos tiende a dar, principalmente, isómeros en la posición-4 cuando el sustituyente

acetilénico es atractor de electrones, e isómeros en la posición 5 cuando dicho sustituyente acetilénico es donador de electrones⁵² 53,54. Por ejemplo, la cicloadición de azidas a inaminas o etoxia cetilenos da lugar al triazol que tiene el grupo amino o etoxilo en posición-5; sin embargo, la cicloadición a ácido propiódico y propiolato de metilo conduce preferentemente al isómero sustituido en posición-4⁵⁰.

En cuanto a influencias estéricas, los grupos voluminosos, tales como el trimetilsililo, tienden a ocupar la posición-4. La adición de azida de fenilo a fenilacetiltrimetilsililo conduce, casi exclusivamente, a 4-trimetilsilil triazol⁵⁵. Esto puede ser de utilidad debido a la fácil eliminación del grupo trimetilsililo.

Las azidas de glicosilo han sido empleadas - anteriormente como productos de partida para la síntesis de nucleósidos de 1,2,3-triazoles. Micheel y Baum⁵⁶ fueron los primeros en utilizar este método para sintetizar 4-fenil-1(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-1,2,3-triazol y el nucleósido desacetilado correspondiente, a partir de azida de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo y fenilacetileno.

El descubrimiento de que las bases de 8-azapurina, es decir las 1,2,3-triazolo [4,5-d]pirimidinas, especialmente 8-azaguanina, actúan sobre distintos sistemas biológicos^{57a} ha estimulado grandemente la síntesis de nucleósidos de 1,2,3-triazol como intermedios hacia la síntesis de dichos derivados^{57b}.

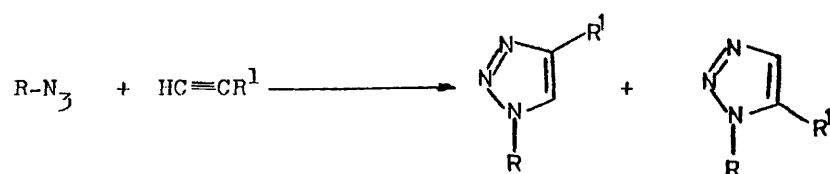
Harmon y col.^{58,59} han estudiado la cicloadición dipolar-1,3 entr

diferentes azidas de per-O-acetil- β -D-glucopiranosilo y N,N-dialquilamino-, etoxi- y etiltioacetilenos, y han puesto de manifiesto la importancia de la naturaleza del sustituyente del acetileno sobre el curso de la reacción. Por su parte, El Khadem y col. también han sintetizado diversos glicosil-1,2,3-triazoles por cicloadición de diversas azidas de glicosilo a fenilacetileno⁶⁰. Mas recientemente, Zbiral y col.⁶¹ han descrito la cicloadición dipolar-1,3 de la azida de tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosilo con oxoalquilideno fosforanos para dar los nucleósidos correspondientes de 1,2,3-triazol con desprendimiento de óxido de trifenilfosfina. En estas reacciones el producto mayoritario es el 1,2,3-triazol 5-sustituido.

En nuestro laboratorio, se han realizado una serie de trabajos sobre síntesis de N-glucosil derivados heterocíclicos entre los que se encuentran varios relacionados con la síntesis de N-glicósidos de 1,2,3-triazol por reacción de cicloadición dipolar-1,3 de azidas de glicosilo a compuestos insaturados. Así por ejemplo, las azidas de glicosilo se han hecho reaccionar con bencino para dar lugar a nucleósidos de benzotriazol⁶², con distintos acetilenos como fenilacetileno⁶³ (Esquema II), propiolato de metilo y ácido propiólico⁵⁰ (Esquema II) y con diferentes nitroolefinas α - β -insaturadas tales como β -nitroestireno, β -bromo- β -nitroestireno y β -nitroacrilato de n-butilo⁶⁴.

Por otra parte, y debido a la actividad anticancerosa de ciertos derivados quinónicos⁶⁵, las azidas de glicosilo se han empleado para la síntesis de glicosil derivados de quinonas heterocíclicas 25 y 26 mediante su reacción de cicloadición

dipolar-1,3 a 2-metil-1,4-benzoquinona o 1,4-naftoquinona⁶⁶.

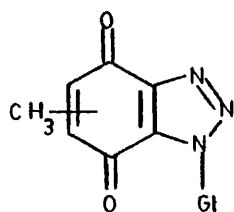


R= Glicosilo

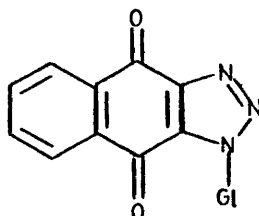
R¹= Ph, CO₂CH₃, CO₂H

Esquema II

El antecedente mas inmediato del trabajo que se describe en esta parte de la memoria son los estudios realizados previamente en nuestro laboratorio sobre la cicloadición dipolar-1,3 de distintas azidas de glicosilo a haluros de propargilo y 1,4-dihalobutinos para dar distintos N-glicosidos de halometil-1,2,3-triazol con actividad citostática "in vitro" e "in vivo" ^{67,68}.



25



26

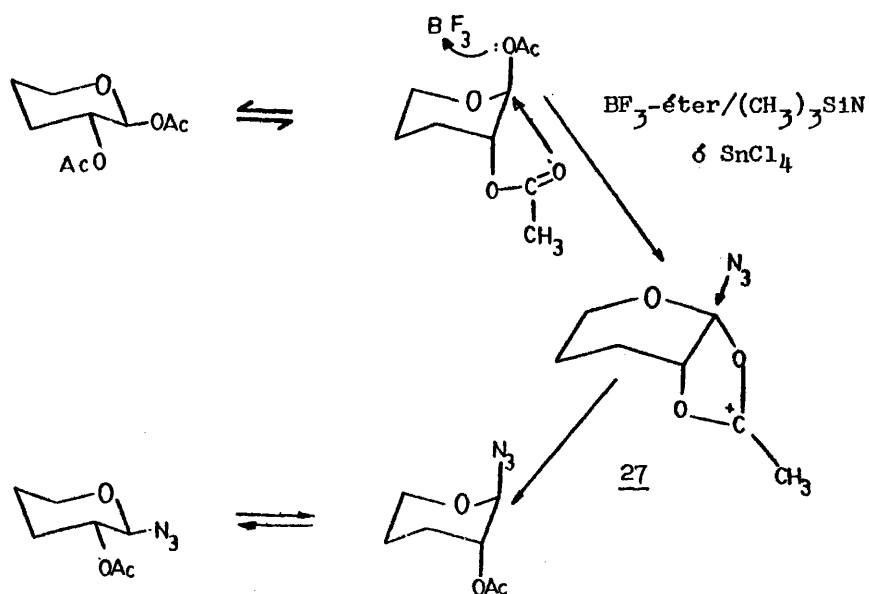
1.2- PREPARACION DE AZIDAS DE GLICOSILO

El procedimiento mas general y de mejores resultados para la obtención de azidas orgánicas, supone la reacción de un derivado halogenado adecuado con una azida metálica (azida de sodio o plata), en un proceso de sustitución nucleófila bimolecular que transcurre con inversión de la configuración del átomo de carbono en que se efectúa la sustitución.

Siguiendo este procedimiento Bertho⁶⁹ sintetizó por primera vez una serie de azidas de glicosilo haciendo reaccionar los correspondientes haluros de glicosilo con azidas metálicas⁷⁰. También se prepararon de forma similar varias azidas de aminoazúcares⁷¹, y varias azidas de furanosilo, tales como la azida de tri-O-benzoil- α -D-xilofuranosilo⁷² y la azida de 2,3,5-tri-O-benzoil- β -D-ribofuranosilo⁷³.

Un método de obtención mucho mas favorable es el de Birkofer⁷⁴, que emplea azida de trimetilsililo en lugar de una azida metálica. La azida de trimetilsililo reacciona, con facilidad, con cloruro o bromuro de glucopiranosilo acetilado para dar la azida de glicosilo correspondiente. Paulsen y col.⁷⁵ han modificado este procedimiento y en lugar del derivado halogenado, parten de un derivado acetilado. Según este método, la reacción de tetra-O-acetil-aldopentopiranosas y penta-O-acetil-aldohexopiranosas con azida de trimetilsililo en presencia de trifluoruro de boro o tetracloruro de estaño, da lugar a las correspondientes azidas de glicosilo. Mediante este método, solo se obtiene un anómero, aquél en el que el grupo azida está en posición

trans respecto del grupo acetoxilo en C-2. El hecho de que el compuesto trans-1-OAc/2-OAc siempre conduzca al producto trans-1-N₃/2-OAc, permite suponer que durante la reacción se forma un producto intermedio, el ión acetoxonio 27⁷⁶, que es abierto en forma trans por el grupo azida (Esquema III). En la reacción de



Esquema III

compuestos cis-1-OAc/2-OAc, como por ejemplo la tetra-O-acetil- α -D-xilopiranososa o tetra-O-acetil- β -D-arabinopiranososa es posible que en primer lugar se produzca una anomerización al compuesto trans, catalizada por el ácido de Lewis, después de la cual, la reacción prosigue de la forma ya señalada. En otro caso debería producirse una sustitución nucleófila directa en el C-1 con inversión de la configuración. Los rendimientos de azidas de glicó

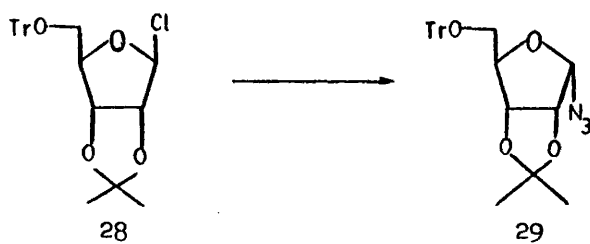
silos son mas reducidos en las reacciones con compuestos en los que la configuración de los sustituyentes en C-1 y C-2 es cis, que en aquellos en los que dicha configuración es trans.

La obtención de azidas de glicosilo a partir de haluros de glicosilo y azida sódica, según el procedimiento de Bertho⁶⁹, conduce también generalmente, a compuestos trans-1-N₃/2-OAc^{58,77,78}. A continuación se describe la preparación de dos nuevas azidas de ribofuranosilo, la azida de 2,3-O-isopropiliden-5-O-tríttil- α -D-ribofuranosilo y la azida de 2,3,5-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosilo. La elección de estas dos azidas obedece a la importante significación biológica de los derivados de ribosa. Con el fin de poder establecer posteriormente relaciones entre la estructura química y la actividad citostática de los nucleósidos alquilantes obtenidos a partir de estas azidas, y con los nucleósidos alquilantes obtenidos antes del comienzo de este trabajo, se ha pensado en la conveniencia de preparar dos azidas con diferentes grupos protectores, ester y éter, de los hidroxilos del azúcar y con diferente configuración anómérica α y β .

1.2.1- Síntesis de azida de 2,3-O-isopropiliden-5-O-tríttil- α -D-ribofuranosilo

Primeramente se sintetizó el cloruro de 2,3-O-isopropiliden-5-O-tríttil- β -D-ribofuranosilo 28 según el procedimiento de Klein y col.⁷⁹. Dicho cloruro sin purificación previa se hizo reaccionar con azida sódica para dar un sirupe que despues de purificado por cromatografía de capa fina preparativa dió lugar a la azida 29, con un 50% de rendimiento. La estructura de

esta azida se determinó a partir de sus datos analíticos y espectroscópicos. En primer lugar, el análisis elemental de la azida 29 fue concordante con la fórmula empírica que cabía esperar de



la estructura propuesta. En el espectro IR se observó la aparición de una banda intensa a 2135 cm^{-1} característica del grupo azida. Por otra parte en el espectro de RMN de la azida 29, se observó - su gran semejanza con respecto al del cloruro de ribofuranosilo - 28, lo que confirmó la presencia de todos los protones del azúcar y de los grupos protectores tanto del grupo 2,3-O-isopropiliden, que apareció como dos singletes a $\delta\ 1,33$ y $\delta\ 1,58$, como del 5-O-tritilo, que apareció como un multilete a $\delta\ 7,30$. En el espectro de RMN de la azida 29 hay que destacar la diferencia de desplazamientos químicos entre los dos protones H-5 que aparecieron a $\delta\ 3,10$ y $\delta\ 3,47$ formando la parte AB de un sistema de spines mas complejo. Esta diferencia se atribuyó a la asimetría del azúcar y a la restricción de la rotación en torno al enlace C-4-C-5 impuesta - por el volumen del grupo tritilo. Por su parte, el protón anómero resonó a $\delta\ 5,25$ y presentó una $J_{1,2} = 4\text{ Hz}$. Este valor intermedio de la constante de acoplamiento $J_{1,2}$ no permitió realizar una asignación definitiva⁸⁰ de la configuración anomérica, ya que según se ha demostrado por aplicación de una modificación de la ecuación de Karplus a los protones vecinales trans-1,2 y cis-1,2

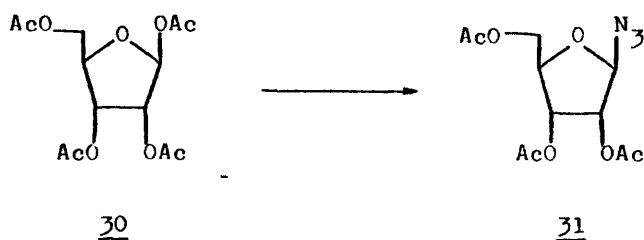
en furanosas, los valores de las constantes de acoplamiento entre dichos protones H-1 y H-2 deben estar comprendidos entre 3,5-8,0 Hz para los anómeros α -D y entre 0,0-8,0 para los anómeros β -D. De acuerdo con esto, solo se puede asignar una configuración con seguridad cuando la $J_{1,2}$ es menor de 3,5 Hz, lo que indica que se trata de un anómero β -D. No obstante, estudios posteriores han establecido que esta asignación solo puede hacerse con validez en el caso de que $J_{1,2} = 1 \text{ Hz}$ ⁸⁰. Por otra parte, el mecanismo de obtención de la azida sugiere la formación del anómero α , ya que al no existir grupos acilo como protectores se elimina la posibilidad de una reacción con participación del grupo acilo vecino que conduciría a la formación del derivado trans-1,2, es decir al anómero β -D. De esta forma, la reacción predominante debe ser la sustitución S_N2 sobre el carbono anómero con inversión de la configuración, como se mencionó anteriormente. Por tanto, puesto que partimos del haluro del azúcar de configuración anomérica β , la azida que se obtiene deberá tener la configuración anomérica α . A pesar del valor indicativo de este razonamiento mecanístico, que como se verá mas adelante correspondía a la realidad, y debido a la importancia de la configuración anomérica de la glicosilazida de partida, que determina la configuración anómera de los nucleósidos alquilantes que han de obtenerse a partir de ella, la configuración de la azida 29 se demostró por vía experimental mediante su conversión en distintos nucleósidos de ribofuranosil-1,2,3-triazol y determinando su configuración anomérica mediante el criterio de Imbach y col.^{81,82}. La preparación de dichos nucleósidos y la determinación de su configuración anomérica α y por tanto de la de la azida de partida 29, que es objeto de

discusión, se describe en el apartado 2.1.2.

1.2.2- Síntesis de la azida de 2,3,5-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosilo

De los dos métodos mencionados anteriormente para la obtención de glicosilazidas, el citado en segundo lugar, es decir la reacción de un azúcar peracetilado con trimetilsililazida en presencia de Cl_4Sn , es un método muy conveniente, por las siguientes razones: en primer lugar, el empleo de un azúcar peracetilado como producto de partida supone el ahorro de un paso con respecto a la utilización del haluro de glicosilo correspondiente, ya que, normalmente los haluros de glicosilo se preparan a partir de los acetatos. En segundo lugar, y por regla general, el método de la trimetilsililazida conduce a mejores rendimientos que el del haluro de glicosilo como ha comprobado Paulsen⁷⁵ al preparar diversas azidas por ambos procedimientos.

De acuerdo con esto, la 1,2,3,5-tetra-O-acetil- β -D-ribofuranosa 30⁸³ se trató con trimetilsililazida y Cl_4Sn para dar un jarabe que después de purificación cromatográfica proporcionó la azida 31 con un 93% de rendimiento. La estructura



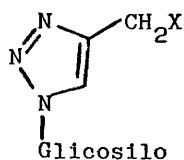
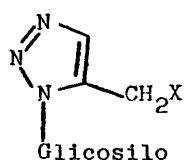
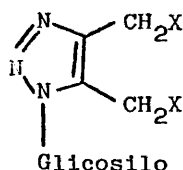
de la azida 31 se determinó a partir de sus datos analíticos y espectroscópicos. En primer lugar el análisis elemental de la azida 31 fue concordante con la fórmula empírica que cabía esperar de la estructura propuesta. En el espectro de IR se observó la aparición de la banda de azida a 2175 cm^{-1} . El espectro de RMN de 31 fue muy similar al del tetraacetato de partida en lo que se refiere a los protones del anillo de azúcar, lo que indicó que se mantenía la estructura de derivado de ribofuranosilo. Las principales diferencias entre ambos espectros de RMN fueron la presencia en el espectro de 31 de solo tres bandas de metilos de acetilo, lo que concuerda con el desplazamiento del 1-O-acetoxilo y el desplazamiento del doblete correspondiente al protón anomero, que apareció a $\delta\ 5,33$, a campo mas alto que el del acetato de partida. lo que indicó la sustitución de dicho acetoxilo por un grupo mas apantallante como el grupo azida. Aunque el valor de la constante de acoplamiento $J_{1,2'} = 2\text{ Hz}$ sugiere, por su pequeño valor, que el azúcar está en configuración anomérica β , no permite realizar una asignación definitiva⁸⁰. El mecanismo de formación de las azidas de glicosilo por el procedimiento $(\text{CH}_3)_3\text{SiN}_3/\text{Cl}_4\text{Sn}$, discutido anteriormente, y que implica la formación del ion acetoxonio 27, obliga a la azida a efectuar una aproximación en trans con respecto al grupo acetoxilo en C-2, lo que, de nuevo, sugiere la formación de la glicosilazida de configuración anomera β .

Como en el caso de la azida 29 la configuración β de la azida 31 se confirmó por métodos experimentales, trans formándola en 2',3'-O-isopropiliden-nucleósidos 41 y 43 y determinando la configuración anomera de dichos 2',3'-O-isopropiliden nu-

cleosidos mediante el mencionado criterio de Imbach y col.^{81,82}. La preparación de dichos 2',3'-O-isopropiliden nucleosidos y la determinación de su configuración anómera β y por tanto de la azida de partida 31 se describe en el apartado 2.1.1.

2- SINTESIS DE NUCLEOSIDOS DE 1,2,3-TRIAZOL

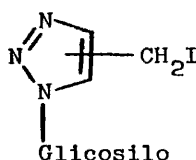
En este apartado se describe la obtención de nucleósidos de 1,2,3-triazol. El primer procedimiento empleado para su síntesis consiste en la reacción de cicloadición dipolar-1,3 de las dos azidas de ribofuranosilo 29 y 31, descritas en el apartado anterior, con distintos acetilenos. El empleo de acetilenos monosustituídos, tales como alcohol propargílico o cloruro o bromuro de propargilo, da 1-glicosil-1,2,3-triazoles sustituidos en 4- y en 5- 32 y 33, (X= OH, Cl, Br) respectivamente. El empleo de acetilenos disustituídos tales como 1,4-dicloro o 1,4-dihidroxitbutino da 4,5-bis(clorometil)- ó 4,5-bis(hidroximetil)-1,2,3-triazoles 34 (X= OH, Cl).

323334

El segundo procedimiento consiste en la reacción de cicloadición de la azidas 29 y 31 con cloruro y bromuro de propargilo para dar los triazoles 32 y 33 (X= Cl, Br), seguido de la reacción de transhalogenación de estos clorometil y bro

mometil derivados para formar los iodometil derivados de fórmula

35



35

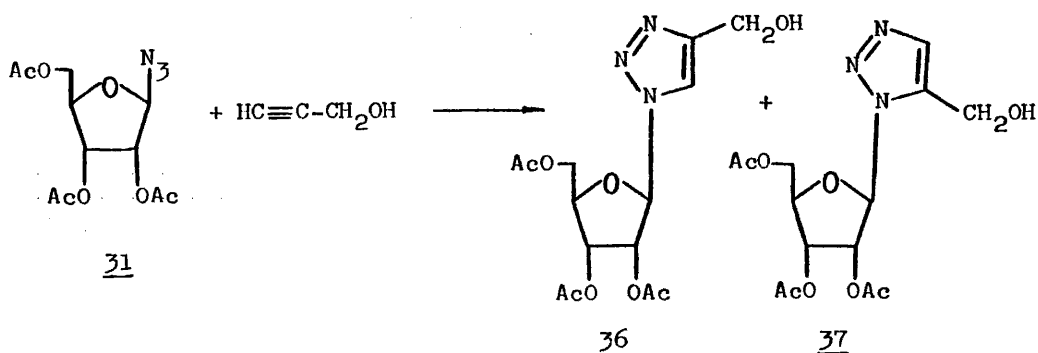
2.1- SINTESIS DE NUCLEOSIDOS DE 1,2,3-TRIAZOL POR REACCION DE
CICLOADICION DIPOLAR-1,3 DE RIBOFURANOSILAZIDAS A ACETI-
LENOS

2.1.1- Reacciones de cicloadición de ribofuranosilazida
a alcohol propargílico

En este apartado se describe la reacción de cicloadición dipolar-1,3 de la azida de 2,3,5-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosilo a alcohol propargílico, para dar los nucleósidos de tetraacetil- β -D-ribofuranosil-hidroximetil-1,2,3-triazol y su transformación posterior en los nucleósidos correspondientes de 2',3'-O-isopropiliden- β -D-ribofuranosil-hidroximetil-1,2,3-triazol. Aunque estos hidroximetil derivados no son nucleósidos alquilantes, se prepararon ¹⁹/ Para demostrar la configuración anomérica β de la azida 31 mediante la aplicación del criterio de Imbach y col.^{81,82} a los 2',3'-O-isopropiliden nucleósidos preparados a -

partir de ella. Para este propósito los hidroximetil derivados - son mas favorables que los halometilderivados debido a su mayor estabilidad que los hace mas adecuados para ser manipulados químicamente. 2º/ Con el fin de estudiar la relación estructura-actividad entre los halometilderivados (alquilantes) y los hidroximetilderivados (no alquilantes) y 3º/ Para su posterior transformación en otros tipos de nucleósidos alquilantes, mediante la -- sustitución de un grupo OH por el átomo de halógeno correspondiente⁶⁷.

La reacción de la azida 31 con alcohol propargílico, calentando los reaccionantes en el seno de un disolvente inerte tal como tolueno, dió, como era de esperar debido a la asimetría del dipolarófilo, una mezcla de los 4- y 5-hidroximetil-1,2,3-triazoles 36 y 37 en la que predominó ligeramente el isómero 4-hidroximetílico, menos impedido estéricamente.

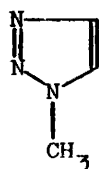
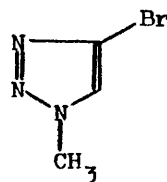


La movilidad cromatográfica de los dos productos fué muy similar y únicamente pudo obtenerse puro el isómero 5-hidroximetílico 37, que cristalizó espontáneamente de una -

mezcla de 36 y 37 enriquecida en este último.

Las estructuras de los productos se determinaron a partir de sus datos analíticos y espectroscópicos. Los análisis elementales indicaron la formación de los aductos correspondientes. En los espectros de IR se observó la desaparición de la banda de azida a 2175 cm^{-1} , lo que indicó que dichos aductos se habían formado sobre el grupo azida. La posición del grupo hidroximetilo se determinó estudiando el desplazamiento químico en distintos disolventes (deuteriocloroformo y hexadeuteriodimetil-sulfóxido) del protón aromático triazólico H-4 ó H-5.

En un estudio⁸⁴ sobre los desplazamientos -- químicos de los protones H-4 y H-5 de 1-metil-1,2,3-triazol 38 y del protón H-5 de 4-bromo-1-metil-1,2,3-triazol 39 se ha puesto de manifiesto que el protón contiguo al átomo de nitrógeno -- sustituido es el mas sensible a los efectos del cambio de disol-

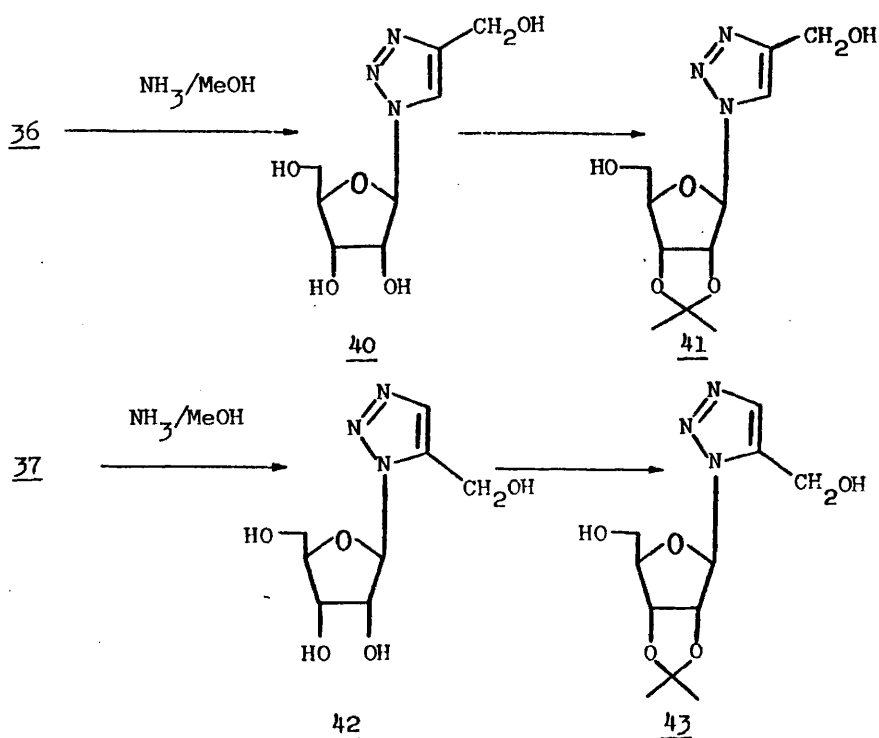
3839

vente y a la naturaleza del sustituyente. En el caso presente, en que se obtuvieron los dos isómeros posibles, la asignación no fué complicada, ya que pudieron compararse directamente los valores de los desplazamientos químicos absolutos, y la diferencia de desplazamientos químicos del protón triazólico considerado, en -

los dos disolventes mencionados, $\Delta\delta = \delta_{\text{DMSO}} - \delta_{\text{CDCl}_3}$. En efecto el valor de $\Delta\delta$ del isómero 4-hidroximetílico 36, $\Delta\delta = 0,45\text{ppm}$, fué mayor que el del isómero 5-hidroximetílico 37 en el que $\Delta\delta = 0,17\text{ppm}$. Esto era de esperar debido a que en el primero el protón triazólico está contiguo al nitrógeno sustituido. La asignación de la estructura de 36 se realizó sobre espectros de RMN de mezclas de 36 y 37 enriquecidas en el primero. En las tablas 1 y 2 se incluyen los valores de los desplazamientos químicos de los protones H-4 y/o H-5 de los nucleósidos de 1,2,3-triazol preparados en esta memoria, de los protones H-4 y/o H-5 del 1-metil-1,2,3-triazol y del 4-bromo-1-metil-1,2,3-triazol. También se incluyen los valores de $\Delta\delta = \delta_{\text{DMSO}} - \delta_{\text{CDCl}_3}$ de estos protones. Como se ve en dichas tablas, los desplazamientos químicos de los protones H-4 o H-5 de los nucleósidos triazólicos 5-sustituídos (p. ej. 37) o 4-sustituídos (p. ej. 36), respectivamente son semejantes a los desplazamientos químicos de los protones análogos de los compuestos triazólicos modelo 38 y 39. Por otra parte, los valores de $\Delta\delta$ del protón H-5 triazólico de los nucleósidos 4-sustituídos (p. ej. 36) son del mismo signo y análoga magnitud a los valores de $\Delta\delta$ del protón H-5 de los compuestos modelo. Lo mismo sucede con los protones H-4. Todo esto supone una confirmación adicional de las estructuras asignadas a 36 y 37.

Las constantes de acoplamiento $J_{1,2}$ observadas para 36 ($J_{1,2} = 3,5\text{ Hz}$) y para 37 ($J_{1,2} = 2,5\text{ Hz}$) presentaron, igual que la azida 31 de partida, valores intermedios que podían corresponder tanto a anómeros α como β . Por ello la determinación inequívoca de las configuraciones anómeras β de estos pro-

ductos se hizo como se indica a continuación. La reacción de una mezcla de los triacetatos 36 y 37 con una disolución metanólica de amoníaco condujo a una mezcla de los 4- y 5-hidroximetil-1,2,3-triazoles 40 y 42 que sin purificación previa se trató con ortoformiato de etilo y acetona, en presencia de ácido clorhídrico anhidro. De esta reacción se obtuvieron dos productos con distinta movilidad cromatográfica que pudieron separarse y purificarse y que se identificaron como 41 y 43. La asignación de las estructuras de los isómeros 4- y 5-hidroximetílicos se hizo como se ha indicado anteriormente, estudiando los desplazamientos químicos de los protones aromáticos triazólicos H-4 y H-5 en CDCl_3 y



en DMSO. Dichos valores fueron $\Delta\delta = \delta_{\text{DMSO}} - \delta_{\text{CDCl}_3} = 0,33$ para el H-5 del derivado 41, y $\Delta\delta = 0,72$ para el H-4 del derivado 43. La configuración anomérica se determinó aplicando el criterio de Imbach y col.^{81,82}, que permite la determinación por espectroscopía de RMN, de las configuraciones anómeras de 2',3'-O-isopropilideno-ribofuranosilnucleosidos. El criterio se basa en la diferencia de desplazamientos químicos ($\Delta\delta = \delta_{\text{CH}_3} - \delta_{\text{CH}_3}$) de los metilos del grupo protector 2',3'-O-isopropilideno. Una diferencia de desplazamientos químicos, $\Delta\delta$ entre dichos grupos metilo $\geq 0,18\text{ppm}$ es indicativa de una configuración anomérica β , mientras que un valor $\Delta\delta < 0,10\text{ppm}$ es indicativo de una configuración anomérica α . Este criterio es aplicable únicamente a nucleósidos, ya que se ha sugerido que la diferencia de $\Delta\delta$ entre anómeros α y β se debe al distinto efecto anisotrópico que ejerce el anillo heteroaromático de la base sobre los dos grupos metilo. Las diferencias de desplazamientos químicos de los dos grupos metilo fueron para el compuesto 41 $\Delta\delta_{\text{DMSO}} = 0,18$ y $\Delta\delta_{\text{CDCl}_3} = 0,21$ y para el compuesto 43 $\Delta\delta_{\text{DMSO}} = 0,16$ y $\Delta\delta_{\text{CDCl}_3} = 0,20$. Estos valores indicaron claramente la configuración β de los dos 2',3'-O-isopropiliden nucleosidos 41 y 43, de los dos hidroximetil-1,2,3-triazoles desprotegidos 40 y 42, de los dos hidroximetil-1,2,3-triazoles acetilados 36 y 37 y por tanto de la azida de partida y de los nucleósidos preparados a partir de ella.

La asignación de la configuración ha podido --
extrapolarse desde los nucleósidos de 1,2,3-triazol hasta la azida de partida, porque no es de esperar que se produzca una anomerización en la reacción de cicloadición dipolar-1,3. De hecho, en

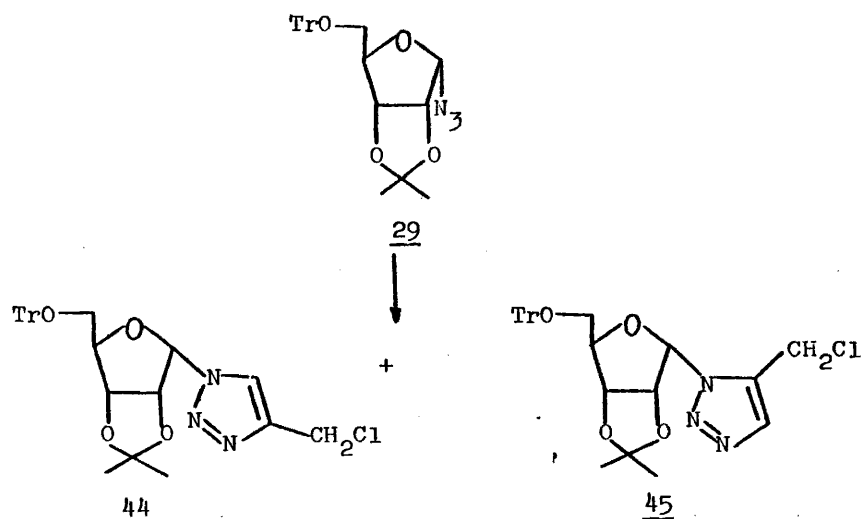
en ninguna de las reacciones de este tipo descritas hasta ahora⁵⁰
58,59,63,64,66 se ha observado ningún tipo de variación en la con-
figuración anómera del nucleósido de triazol con respecto a la a-
zida de partida.

2.1.2- Obtención de nucleosidos alquilantes monofuncio-
nales de 1,2,3-triazol por cicloadición de azidas
de ribofuranosilo a haluros de propargilo

En este apartado se describen las reacciones
de cicloadición dipolar-1,3 de las azidas 29 y 31 a cloruro y bro-
muro de propargilo. También se demuestra la configuración anoméri-
ca α de la azida 29 mediante la aplicación del criterio de Imbach
y col.^{81,82} a los desplazamientos químicos de los metilos isopro-
propilidénicos de los 2,3'-isopropiliden nucleósidos prepara-
dos a partir de dicha azida 29.

La reacción de cicloadición dipolar-1,3 de la
azida 29 a cloruro de propargilo en tolueno anhidro, condujo, tal
como era de esperar debido a la asimetría del dipolarófilo, a dos
productos isómeros, el 4-clorometil-1,2,3-triazol 44 y el 5-cloro
metil-1,2,3-triazol 45. En la mezcla de reacción predominó el isó-
mero 4-clorometílico, menos impedido estéricamente, que se obtuvo
con un 34% de rendimiento frente al 5-clorometílico que se obtuvo
con un 5% de rendimiento. Las estructuras de los productos se de-
terminaron a partir de sus datos analíticos y espectroscópicos. -
Los análisis elementales indicaron la formación de los aductos co-
rrespondientes. El análisis elemental del producto 44 indicó que
dicho producto cristalizaba con una molécula de acetato de etilo,

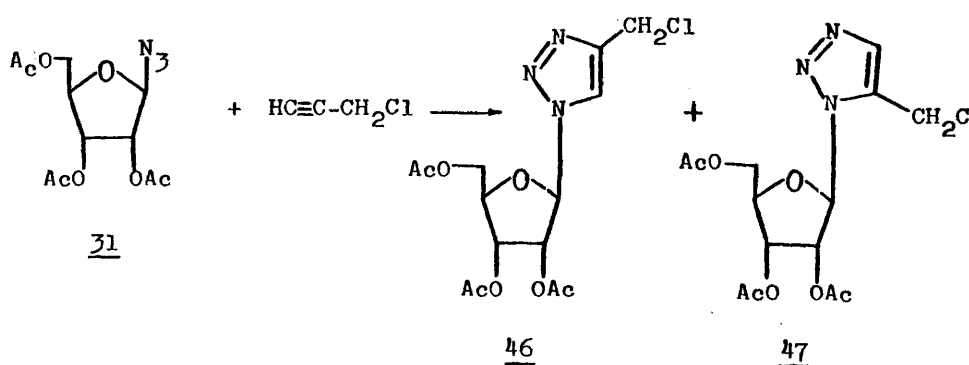
procedente del disolvente empleado en su recristalización. La pre



sencia de esta molécula de Acetato de etilo se confirmó mediante el espectro de RMN. En el espectro de IR se observó la desaparición de la banda de azida a 2135 cm^{-1} , lo que indicó que el aducto se había formado sobre dicho grupo azida. La posición del sustituyente (CH_2Cl) se determinó a partir de los valores de $\Delta\delta$ en dos disolventes del protón aromático triazólico H-4 ó H-5. De nuevo como cabía esperar el valor $\Delta\delta = \delta_{\text{DMSO}} - \delta_{\text{CDCl}_3} = 0,30\text{ppm}$ del isómero 4-clorometílico 44 fué mayor que el del isómero 5-clorometílico 45 para el que $\Delta\delta = 0,02\text{ppm}$, lo que nos permitió la asignación inequívoca de la posición del grupo clorometilo en ambos derivados. La configuración anomérica de los clorometil derivados y por tanto de la azida de partida se determinó midiendo la diferencia de los desplazamientos químicos de los metilos del grupo isopropilideno y aplicando el criterio mencionado anteriormente para la determinación de la configuración de la azida 31. Dichas dife-

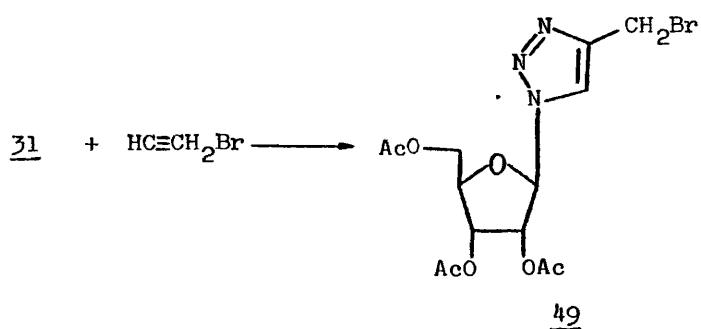
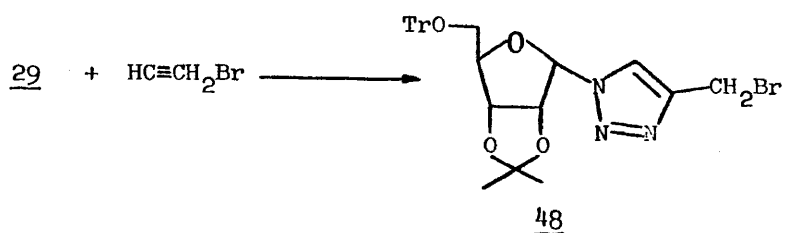
rencias de desplazamiento fueron, para el compuesto 44 $\Delta\delta_{\text{DMSO}} = 0,09\text{ppm}$, $\Delta\delta_{\text{CDCl}_3} = 0,11\text{ppm}$ y para el compuesto 45 $\Delta\delta_{\text{DMSO}} = 0,04\text{ppm}$, $\Delta\delta_{\text{CDCl}_3} = 0,06\text{ppm}$. Estos valores indicaron claramente la configuración anomérica α de los dos clorometil-1,2,3-triazoles 44 y 45 y por tanto de la azida de partida y de los nucleósidos preparados a partir de ella.

Análogamente, la cicloadición dipolar-1,3 de la azida 31 a cloruro de propargilo en el seno de tolueno anhidro condujo a una mezcla de isómeros 4-clorometílico 46 y 5-clorometílico 47. Dichos productos se obtuvieron como una mezcla



de jarabes cuya movilidad cromatográfica en distintos disolventes fue muy semejante. Las bandas correspondientes a los dos productos corrían parcialmente superpuestas por lo que solo el compuesto 46 que apareció en la banda más alejada del origen, pudo ser obtenido puro en forma de jarabe. El producto 47 se obtuvo mezclado con pequeñas cantidades de 46.

La reacción de cicloadición de las azidas 29 y 31 con bromuro de propargilo dio lugar a la formación, en cada caso, de un único isómero, el 4-bromometil derivado 48 y 49, respectivamente.



Debido a la naturaleza benéfica del grupo halometilo de los triazoles, estos compuestos son muy reactivos y pueden descomponerse fácilmente por reacción con nucleófilos como agua, incluso humedad ambiental, alcoholes etc. La facilidad de descomposición de estos productos aumenta con la reactividad del grupo halometílico, es decir $\text{CH}_2\text{Cl} < \text{CH}_2\text{Br} < \text{CH}_2\text{I}$. Esto

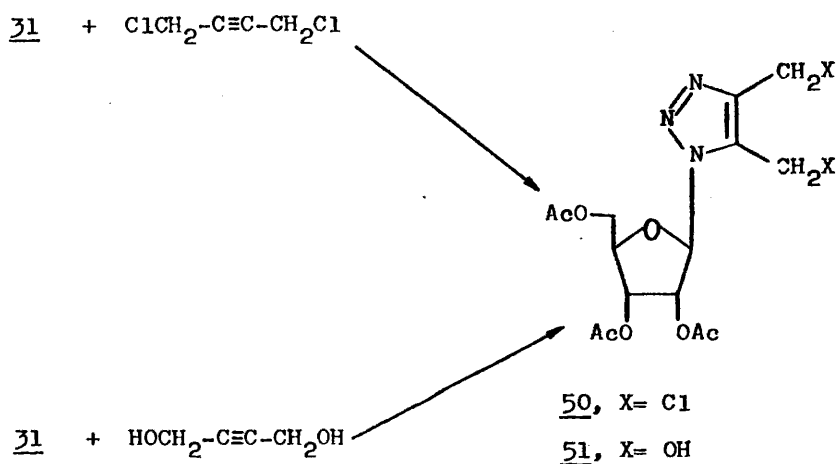
ha podido observarse en otros derivados nucleosídicos de halometil-1,2,3-triazoles sintetizados previamente⁶⁷, que con el paso del tiempo o por exposición al ambiente ennegrecen. Los espectros de RMN de estos productos "envejecidos" presentan bandas adicionales que indican la formación de nuevos compuestos a partir de los halometiltriazoles de partida.

Los clorometilderivados 44, 45, 46 y 47 fueron estables, pero la descomposición fue notable en el caso de los bromometilderivados 48 y 49, especialmente en el caso del producto 49 que fue cromatografiado varias veces en capa fina preparativa. Después de cada purificación cromatográfica, aún extremando las condiciones de sequedad de los disolventes, el jarabe siempre se ennegreció y descompuso. Como resultado, no pudo obtenerse un análisis elemental correcto, sino solo aproximado, para el bromometilderivado 49. Sin embargo, la identidad del producto se determinó en base a sus datos espectroscópicos. En el espectro de IR se observó la desaparición de la banda a 2175cm^{-1} correspondiente a la azida. En el espectro de RMN se observó la presencia de las señales de todos los protones, a los desplazamientos químicos adecuados y con las intensidades y acoplamientos que eran de esperar (Tabla-1). Por último, el espectro de masas dio dos picos a $420(M^++1)$ y a $422(M^++3)$, con la misma intensidad, característicos del pico molecular protonado para los dos isótopos del bromo. La fragmentación de dicho compuesto también fue coherente con la estructura propuesta, ya que se observaron picos a m/e 340(0,5%) atribuible a la pérdida de Br por parte del ión molecular. También se observó un pico a m/e 259(60%

característico del ión resto de azúcar, procedente de la escisión del enlace glicosídico. Otros picos significativos son los que aparecieron a m/e 163 y m/e 164 que se atribuyen al ión de la base resultante al romperse el enlace glicosídico, al que se han transferido dos átomos de H del azúcar. Esta fragmentación y transferencia de H es característica de nucleosidos⁸⁵. La presencia del átomo de bromo quedó evidenciada además de por el análisis elemental cualitativo (aunque incorrecto), por la presencia de grupos de dos picos, diferenciados por dos unidades de masa, de la misma intensidad a 346, 348 (2%) y 304, 306 (4%) que junto con los que acaban de mencionarse son atribuibles a fragmentos que contienen un átomo de Br. Por otra parte la estructura del bromometil derivado 48 y de los clorometil derivados 46 y 47, se determinó a partir de sus datos analíticos y espectroscópicos de IR y RMN (Tablas 1 y 2), de forma análoga a la indicada anteriormente para los hidroximetil derivados 36 y 37 y los clorometil derivados 44 y 45. Hay que resaltar que la diferencia de desplazamientos químicos de los metilos del grupo isopropilideno de 48 en DMSO fue $\Delta\delta = 0,09\text{ppm}$ y en CDCl_3 $\Delta\delta = 0,11\text{ppm}$ lo que confirmó la asignación de configuración anomérica α de la azida 29 hecha anteriormente en base a los datos obtenidos para los clorometil derivados 44 y 45. Los datos del análisis elemental del derivados 48 indicaron que dicho producto se aisló en forma de bromhidrato.

2.1.3- Obtención de nucleósidos de 1,2,3-triazol-4,5-disustituidos por cicloadición de ribofuranosil azidas a acetilenos

La reacción de cicloadición de la tri-O-ace-
 til- β -D-ribofuranosil azida 31 a 1,4-diclorobutino y a 1,4-dihi-
 droxibutino condujo al 4,5-bis(clorometil)-1,2,3-triazol 50, que
 se obtuvo como un sólido cristalino y al 4,5-bis(hidroximetil)-1
 2,3-triazol 51 respectivamente. Debido a la simetría del dipola-
 rófilo, en estas reacciones solo se obtiene un producto de ciclo-
 adición. Como en los casos anteriores las reacciones de cicloadi-
 ción dipolar-1,3 se llevaron a cabo calentando los reactivos en
 el seno de disolventes inertes como tolueno anhidro, y los proce-
 sos de separación y purificación se llevaron a cabo con rapidez
 y en ausencia de humedad.



Aunque el 4,5-bis(hidroximetil)-1,2,3-triazol 51 no es un nucleó-
 sido alquilante se preparó para establecer relaciones estructura-

actividad y para su posterior transformación en otros tipos de nucleósidos alquilantes difuncionales. Las estructuras de 50 y 51 se determinaron mediante técnicas analíticas y espectroscópicas de IR y RMN (Tabla-1). En el espectro de RMN además de las señales propias de todos los protones del azúcar aparecieron dos singletes correspondientes a los desplazamientos químicos de los grupos $-\text{CH}_2\text{X}$ en posición 4- y 5-, los valores de δ a los que aparecieron fueron 4,62 y 4,73 para el derivado 51 y 4,77 y 4,80 para el compuesto 50. A pesar de la gran similitud de los dos grupos CH_2X en posiciones 4 y 5, sus señales respectivas en los espectros de RMN pudieron ser identificadas. De los dos singletes el que aparecía a campo mas bajo fue asignado al grupo $-\text{CH}_2\text{X}$ en posición-5, contiguo al N-sustituido, debido al efecto de desapantallamiento que el azúcar ejerce.

Como se ve en las tablas 1 y 2 los desplazamientos químicos de los protones del grupo halometílico en los compuestos monosustituídos 46 y 47 y del grupo hidroximetílico en los compuestos monosustituídos 36 y 37 por un lado y 41 y 43 por otro siguen una pauta semejante. Es decir, registrados en un mismo disolvente, el grupo metileno en posición-5 aparece a campo mas bajo que el situado en posición-4.

2.2- SINTESIS DE NUCLEOSIDOS ALQUILANTES DE 1,2,3-TRIAZOL POR REACCION DE TRANSHALOGENACION

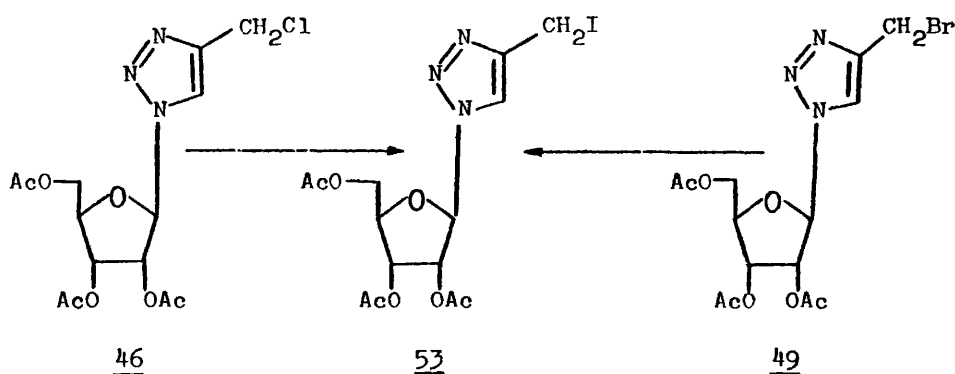
La obtención de los iodometil derivados por el procedimiento de cicloadición de las azidas 29 y 31 a ioduro de propargilo tiene el inconveniente de la obtención de este úl-

timo producto, que es muy inestable. Por ello resulta mas conveniente obtenerlos a partir de un nucleósido preformado. En un trabajo previo en nuestro laboratorio⁶⁷ los iodometil derivados se obtuvieron a partir de los hidroximetil derivados correspondientes, por tratamiento con trifenil-fosfito/I₂ en 1,2-dimetoxietano. Este reactivo presenta la ventaja de operar en condiciones muy suaves, es decir a temperatura ambiente y a pH neutro, que no afectan a la estabilidad del nucleósido de iodometil-1,2,3-triazol resultante. En el presente caso, este método no es muy conveniente, ya que la reacción de obtención de los triacetil-ribofuranosil-hidroximetil-1,2,3-triazoles tanto monohidroximetil(36 y 37) como 4,5-bis(hidroximetil)(51) derivados que son los productos de partida para la iodación, produce bajos rendimientos.

Por ello se empleó un procedimiento diferente que utiliza como productos de partida los clorometil derivados 44, 45, 46 y 47 y los bromometil derivados 48 y 49. Este método de transhalogenación consiste en hacer reaccionar el cloro- o bromometil-derivado de partida con ioduro sódico en acetona. El ioduro sódico es soluble en acetona mientras que el cloruro sódico y bromuro sódico no los son. La precipitación del cloruro o bromuro sódico, a medida que se produce el intercambio de halógeno, es lo que hace progresar la reacción.

Así el iodometil derivado 52 se obtuvo por reacción del 4-clorometil derivado 44 con ioduro sódico en acetona. El producto se identificó por sus datos analíticos y espectroscópicos. En el espectro de RMN de 52 no se observaron grandes

de los dos clorometil derivados 46 y 47 con ioduro sódico en acetona condujo a la formación de los 4-iodometil-1(2,3,5-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosil)-1,2,3-triazol 53 con un rendimiento aproximado del 60%.



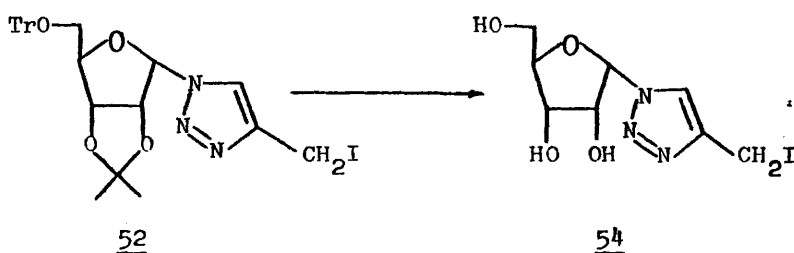
La no obtención del 5-iodometil derivado puede explicarse debido al impedimento estérico que puede suponer la entrada de un grupo voluminoso como es el I en el CH_2X contiguo al N-sustituido. La importancia de este efecto estérico se observó, igualmente, en la cicloadición dipolar-1,3 de las azidas 29 y 31 a bromuro de propargilo (apartado 2.1.2) que dió lugar únicamente a la obtención de los isómeros 4-bromometílicos 48 y 49, respectivamente.

El 4-iodometil derivado 53 se obtuvo también por reacción del correspondiente bromometil derivado 49 con INa en acetona. Como en el caso del bromometil derivado 49, el iodo-

metiltriazol 53 fue un jarabe muy inestable, ennegreciéndose rápidamente después de su purificación cromatográfica. Tampoco en este caso fue posible la obtención de un microanálisis correcto. Por ello la identificación de este compuesto se hizo, analogamente, mediante técnicas espectroscópicas de RMN y masas. Los espectros de RMN de 49 y 53 (Tabla-1) no presentaron grandes diferencias en las señales correspondientes a los protones del azúcar y al H-5 triazólico que apareció a $\delta_{\text{DMSO}} = 8,36$ y $\delta_{\text{CDCl}_3} = 7,78$ para el bromometil derivado 49 y a $\delta_{\text{DMSO}} = 8,29$ y $\delta_{\text{CDCl}_3} = 7,70$ para el iodometil derivado 53. Lo que si se observó, como era de esperar, fue el desplazamiento a campo mas alto, de la señal del $-\text{CH}_2\text{X}$, al pasar del bromometil derivado 49 donde dicha señal apareció a $\delta_{\text{DMSO}} = 4,73$ y $\delta_{\text{CDCl}_3} = 4,55$, al iodometil derivado 53 donde apareció a $\delta_{\text{DMSO}} = 4,56$ y $\delta_{\text{CDCl}_3} = 4,42$. En el espectro de masas del iodometilnucleósido 53 se observó un pico a m/e 468 (0,1%) correspondiente a la molécula protonada (también el bromometil derivado dió únicamente el pico correspondiente a $\text{M}^+ + 1$). La fragmentación también fue coherente con dicha estructura ya que se observaron picos a m/e 340 (0,4%) atribuible a $\text{M}^+ - 1$, m/e 259 (40%) atribuible al ión del azúcar procedente de la ruptura del enlace glicosídico y a m/e 209 (15%) debido al ión de la base al que se han transferido dos H.

Con el fin de ensayar la actividad biológica de los nucleósidos desprotegidos y compararla con la de los nucleósidos con grupos protectores en el azúcar, para establecer la importancia del grupo protector en la actividad biológica, decidimos preparar el 4-iodometil-1(α -D-ribofuranosil)-1,2,3-triazol

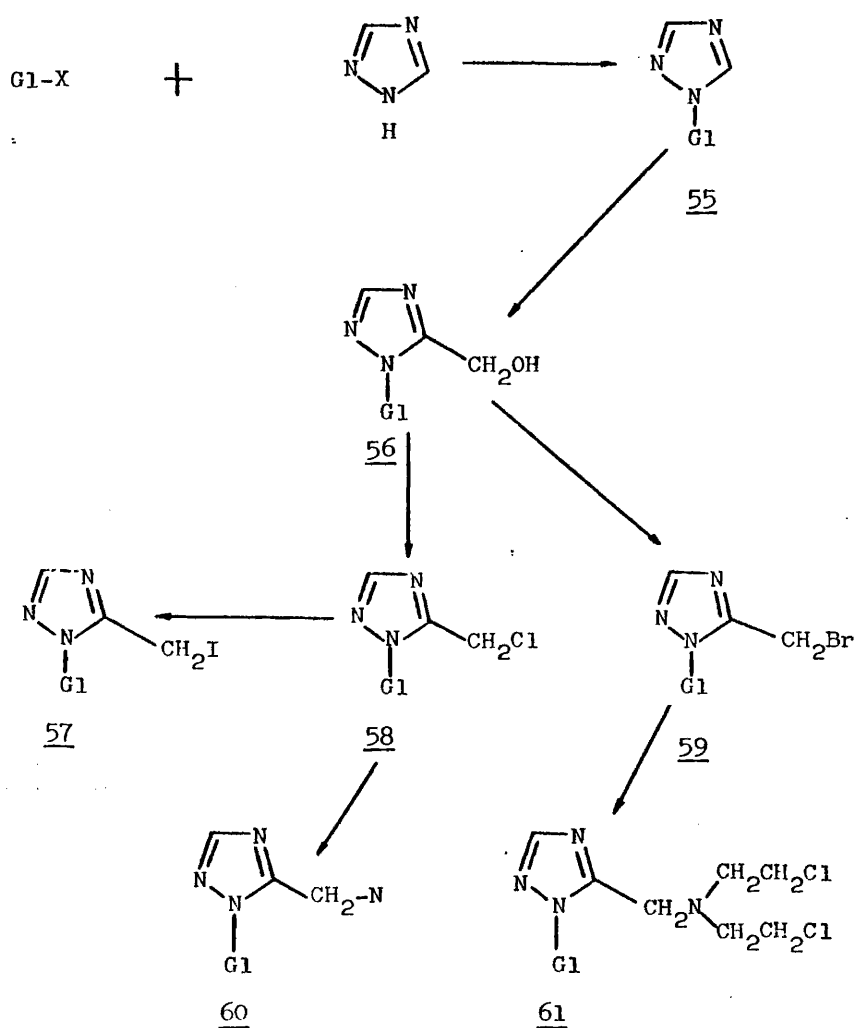
54, por tratamiento del derivado protegido 52 con una disolución de HCl en etanol anhidro. El producto 54 resultó ser muy inestable aunque su formación se detectó por RMN por la desaparición -



de las señales correspondientes a los grupos protectores de los OH del azúcar y la aparición de tres señales a $\delta_{\text{DMSO}} = 7,79, 7,21$ y $6,65$ que se asignaron como las señales correspondientes a los OH de azúcar, se observó además una señal a $\delta_{\text{DMSO}} = 8,36$ que se asignó como la señal correspondiente al protón triazólico H-5 y una señal a $\delta_{\text{DMSO}} = 6,32$ que se asignó como la señal correspondiente al protón anómero del azúcar.

3- SINTESIS DE NUCLEOSIDOS ALQUILANTES DE 1,2,4-TRIAZOL

En este apartado se describe la preparaci3n de 1-glicosil-1,2,4-triazoles alquilantes para su posterior ensa



Cl= 2,3,5-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosilo
 β -D-ribofuranosilo
 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo

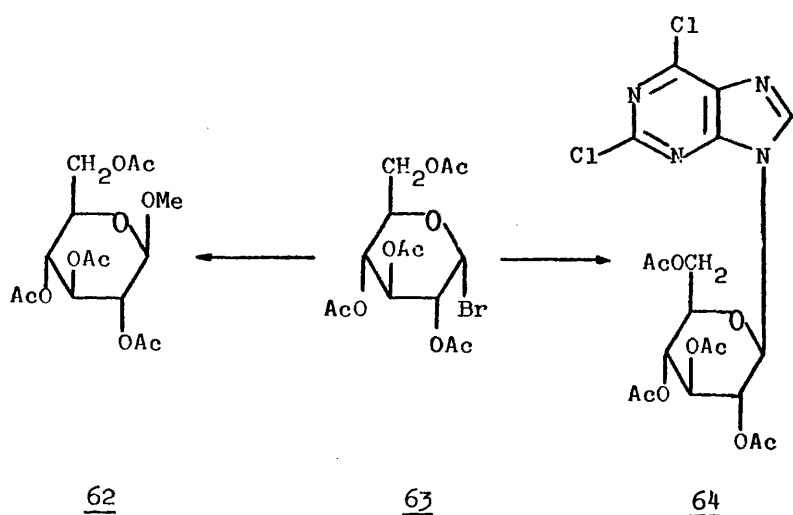
yo como agentes citostáticos. La preparación de los distintos nucleósidos de 1,2,4-triazol se hizo según el esquema-IV de reacción. El proceso consta de cuatro etapas: 1ª/ Glicosidación de 1,2,4-triazol con distintos derivados glicosídicos para dar los nucleósidos de 1,2,4-triazol 55, 2ª/ Hidroximetilación de los nucleósidos 55 para dar los nucleósidos de 5-hidroximetil-1,2,4-triazol 56, 3ª/ Preparación de los 1-glicosil-5-halometil-1,2,4-triazoles 57, 58 y 59 a partir del 5-hidroximetil derivado 56 y 4ª/ Obtención de otros nucleósidos portadores de grupos alquilantes "clásicos" 60 y 61 a partir de los 5-halometil derivados obtenidos en la etapa anterior.

3.1- PREPARACION DE NUCLEOSIDOS POR GLICOSIDACION DE BASES HETEROCICLICAS

La reacción de glicosidación es comúnmente conocida en la química de azúcares y nucleósidos y puede realizarse por cualquiera de las técnicas conocidas. En el campo de los nucleósidos, estas técnicas son fundamentalmente tres⁸⁶: el método de Koenigs-Knorr^{86a} o el del metal pesado, el método de fusión⁸⁷ y el método de Hilbert-Johnson⁸⁸.

El procedimiento del metal pesado usado para la síntesis de N-glicósidos se puede considerar como una modificación de la reacción de glicosidación de Koenigs-Knorr. Estos dos autores^{86a} demostraron que el tratamiento de α -acetobromoglucosa 63 con metanol en presencia de carbonato de plata, que actúa de aceptor de ácido, da lugar al metil-tetraacetil- β -D-glucósido 62. Posteriormente Fisher y Helferich^{86b} hicieron reaccionar la

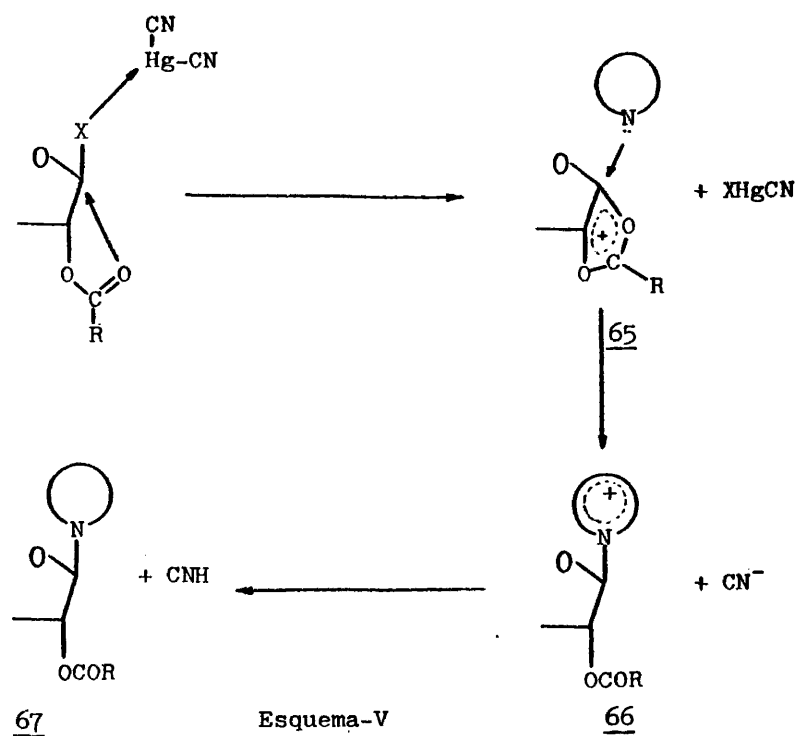
misma α -acetobromoglucosa con la sal de plata de 2,6-dicloro-purina en xileno caliente y obtuvieron el nucleósido protegido 64.



Una de las variantes mas utilizadas de la técnica de Koenigs-Knorr es la denominada del "Cianuro mercurico-nitrometano"⁸⁹, - que supone la reacción de un haluro de glicosilo con un heterociclo adecuado, en nitrometano a reflujo, en presencia de cianuro mercurico que actúa como aceptor del hidrácido producido en la reacción.

Según el mecanismo aceptado⁸⁶ (esquema V), - esta reacción la inicia el átomo de mercurio, que, con su electrofilia facilita la disociación del ión haluro del azúcar dando lugar a la formación de un ión aciloxonio (65). Este catión es

atacado por uno de los centros nucleófilos de la base heterocíclica, dando lugar a la formación de un catión del heterociclo, (66) que se estabiliza perdiendo un protón. Debido a la existen-



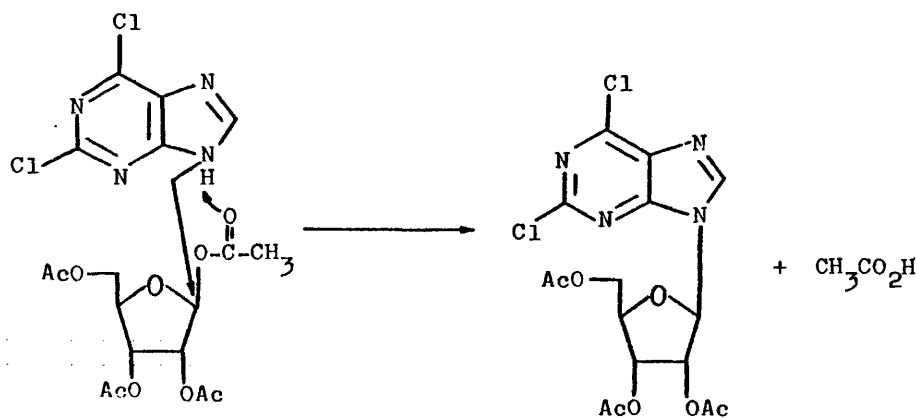
cia del ión aciloxonio 65, la base siempre ataca al azúcar por la cara opuesta a la que ocupa el grupo acilo en posición-2. Por tanto, los nucleósidos que se obtienen por este procedimiento - muestran casi exclusivamente una configuración 1,2'-trans.

Sato y col.⁹⁰ fueron los primeros en aplicar el denominado método de fusión⁸⁷ para la preparación de varios nucleósidos de purinas. Este procedimiento consiste en calentar vacío la base heterocíclica y el derivado glicosídico, en ausen-

cia de disolvente y en presencia, normalmente, de un ácido prótico o de Lewis que actúa como catalizador. Posteriores estudios - de Ishido y col.^{91,92} sobre la reacción de fusión con purinas han demostrado que la catálisis por ácido de Lewis no es necesaria.

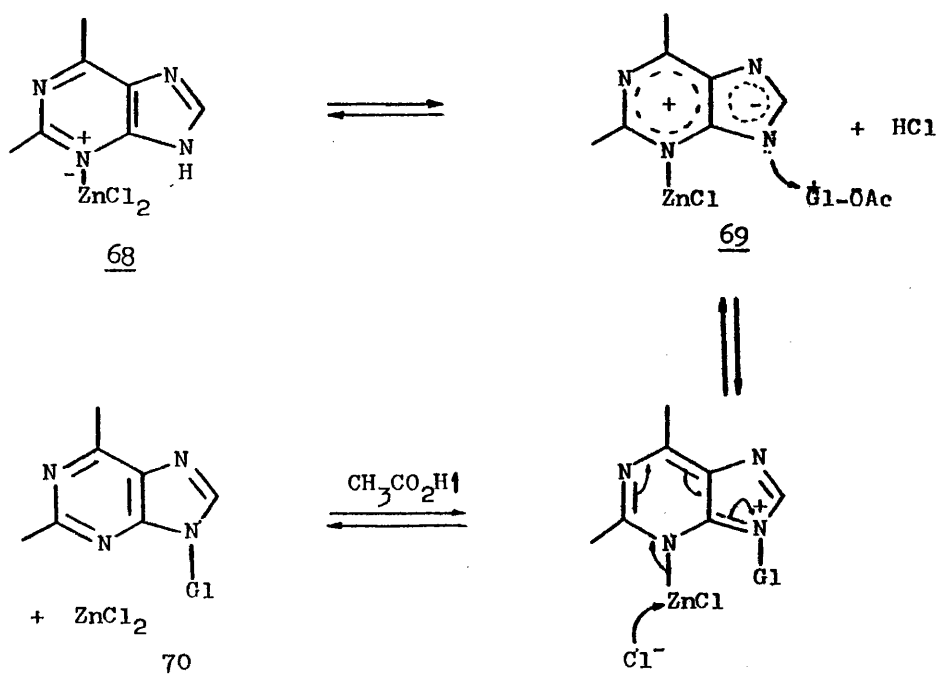
El hecho de que la reacción de fusión pueda realizarse tanto con catálisis ácida como en ausencia de catalizador exige un mecanismo que puede dar cuenta de esta variedad de hechos experimentales.

Según un estudio mecanístico realizado por Hosono⁹², sobre la reacción de fusión de 2,6-dicloropurina y tetraacetil- β -D-ribofuranosa, el mecanismo de las reacciones de fusión realizadas en ausencia de ácido sería el siguiente:



Esquema-VI

El mismo Hosono⁹² sugiere que el mecanismo de las reacciones catalizadas por ácido sería muy similar y en él, las purinas normales podrían activarse por interacción con los catalizadores ácidos - para reaccionar con azúcares peracetilados. Dicho mecanismo sería como sigue:



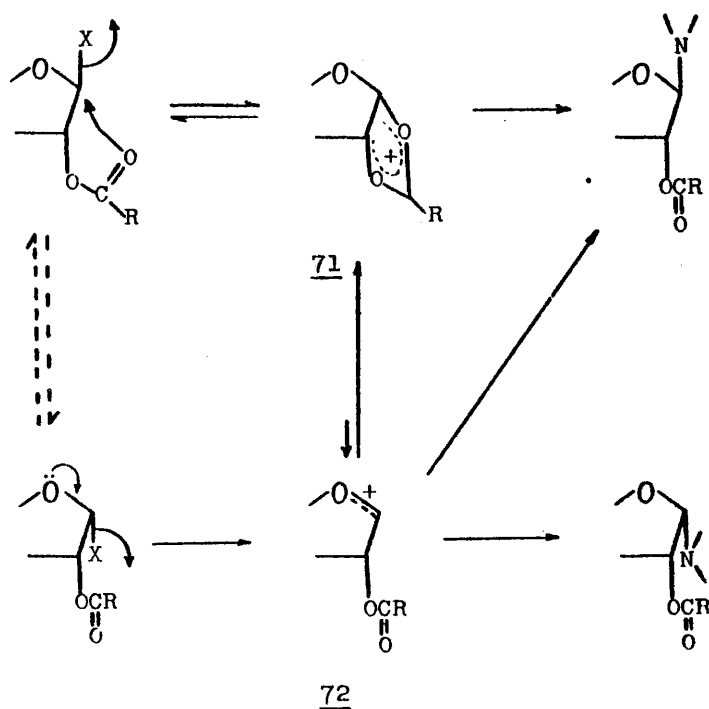
Esquema-VII

La catálisis mediante ácido p-toluensulfónico u otro ácido prótico puede explicarse análogamente. El ácido protonaría N-3 para dar un catión de purina análogo a 68, de este catión la base conjugada abstrae un protón en N-9 formando una purina activada como 69, La conversión al nucleósido 70 transcurriría de forma análoga con la liberación del catalizador ácido prótico.

El método de los derivados sililados está basado en el procedimiento de Hilbert y Johnson⁸⁸, quienes, en 1930 mostraron que la reacción de 2,4-dimetoxi-pirimidina con yoduro de metilo a temperatura ambiente, producía 4-metoxi-1-metil-2(1H) pirimidina, que por tratamiento con ácido daba lugar al 1-metil-uracilo.

El procedimiento de los derivados sililados, que supera la mayoría de los inconvenientes que presenta el empleo de alcoxipirimidinas^{93,94}, consiste en la reacción de un trimetil sililderivado de la base heterocíclica con el derivado glicosídico en el seno de un disolvente inerte adecuado. Según el mecanismo propuesto para esta reacción⁹⁰ (esquema VIII) si se parte de una halogenosa con los sustituyentes de los carbonos 1 y 2 situados en posición trans, la reacción transcurre a través del ión aciloxonio-1,2 71 de un modo análogo al mecanismo ya asignado para el método del cianuro mercuríco-nitrometano. El nucleósido formado - por este mecanismo, si partimos de trans-1,2 derivados de ribosa o glucosa, tendría configuración β . Pero si se parte de una halogenosa en la que los sustituyentes de las posiciones 1 y 2 están en posición cis, su disociación puede ocurrir directamente - con participación de los electrones desapareados del oxígeno del anillo para formar un ión carboxonio 72 (esquema VIII), que podría ser atacado por un centro nucleófilo de la base por cualquier lado del plano del azúcar, al mismo tiempo que también podría -- transformarse en el ión aciloxonio cíclico 71. En este caso, se obtendría una mezcla de anómeros, siendo la contribución relativa del ión carboxonio 72 a la reacción total quien, en efecto, deter

minaría la proporción de 1,2-cis-nucleósido en la mezcla de pro-



Esquema-VIII

ductos finales. Por tanto, aunque en muchos casos solo se han obtenido nucleósidos 1,2-trans⁹⁵ no puede aplicarse "a priori" la "regla trans"⁹⁶ para la asignación de la estructura de los productos de reacción. También hay que destacar que en algunas reacciones de este tipo se pueden obtener O-glicósidos⁹⁷. Vorbrüggen y col.^{98,99} han llevado a cabo una modificación del procedimiento de

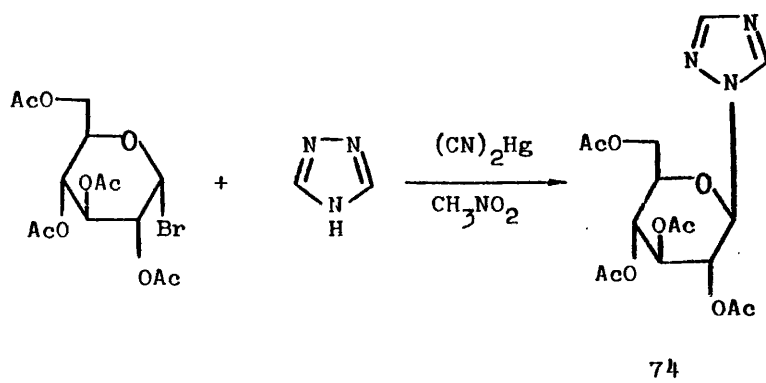
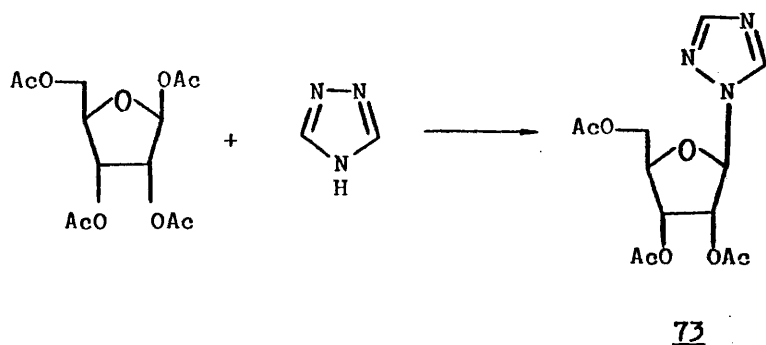
Hilbert-Johnson, consistente en utilizar, en lugar de haloazúcares azúcares acilados o alquilados en la posición-1, en presencia de catalizadores de Friedel-Crafts. Estos autores⁹⁸ postulan el ataque electrófilo del catión del azúcar a las bases silyladas como en una reacción de Friedel-Crafts. Este procedimiento se ha aplicado con éxito a la síntesis de pirimidinas^{98,100}, purinas¹⁰¹ y sus análogos heterocíclicos.

Recientemente Vorbrüggen¹⁰², ha descrito una nueva síntesis de nucleósidos en un solo paso, que no exige la silylación previa de las bases heterocíclicas.

3.2- SINTESIS DE NUCLEOSIDOS DE 1,2,4-TRIAZOL POR GLICOSI-DACION

La síntesis de 1(2,3,5-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-1,2,4-triazol 73 se realizó por el procedimiento de fusión calentando 1,2,4-triazol y 1,2,3,5-tetra-O-acetil-β-D-ribofuranosa⁸³ en presencia de ácido p-toluensulfónico como catalizador. La fusión se realizó a una presión de 15 mm Hg, a una temperatura de 160°C durante 45 minutos. En la reacción de glicosidación se obtuvo un único producto, con un rendimiento del 81%, que se identificó como 73 en base a sus datos analíticos y espectroscópicos. La síntesis del 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-1,2,4-triazol 74 se llevó a cabo con un 81% de rendimiento, calentando a reflujo de nitrometano una mezcla de 1,2,4-triazol y α-acetobromoglucosa en presencia de (CN)₂Hg⁸⁹. La síntesis de 74 se intentó también por los métodos de silylación¹⁰² y de fusión⁸⁷ pero en ambos casos se obtuvieron mezclas de pro-

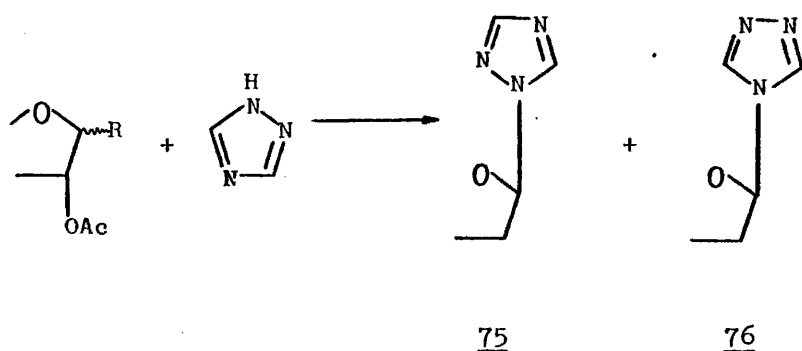
ductos, los que disminuyó claramente los rendimientos del produco



to deseado 74 y dificultó su aislamiento y purificación.

Las estructuras de 73 y 74 se determinaron en base a sus datos analíticos y espectroscópicos. En primer lugar los análisis elementales de 73 y 74 dieron fórmulas empíricas que correspondían a las estructuras propuestas. La posición de glicosidación de los derivados 73 y 74 se estableció como se

indica a continuación. Debido a la equivalencia de los dos átomos de nitrógeno N-1 y N-2, en la glicosidación del resto glicosídico

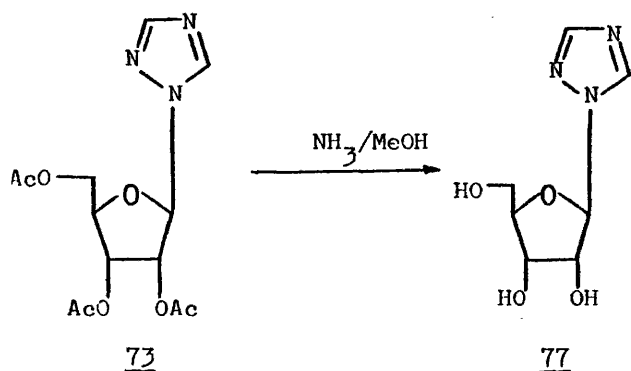


con el 1,2,4-triazol solo se pueden formar dos nucleósidos isómeros, el derivado 75 y el derivado 76. Estos dos nucleósidos deben ser diferenciables en RMN. El derivado 75 debe presentar en su espectro RMN en la zona correspondiente a los protones aromáticos dos señales de δ perfectamente diferenciados que correspondan a los H-3 y H-5 del anillo de triazol. Mientras que el derivado 76 debe presentar en la misma zona una única señal correspondiente a los H-3 y H-5, ya que debido a la simetría del 1,2,4-triazol sustituido en 4- y a la libertad de rotación en torno al enlace glicosídico ambos protones triazólicos deben ser equivalentes. En nuestros derivados 73 y 74 aparecieron en ambos casos dos señales perfectamente diferenciadas a $\delta = 8,27$ y $\delta = 8,88$ en DMSO para 73 y a $\delta = 8,12$ y $\delta = 8,90$ en DMSO para 74 (Tabla 3) correspondientes a los H-3 y H-5, con lo cual pudimos concluir -

que la glicosidación había tenido lugar en N-1 y no en N-4. De los dos singletes el que aparecía a campo mas bajo se asignó a H-5¹⁰³ contiguo al N-sustituido, debido entre otros, al efecto de desapantallamiento que el azúcar ejerce sobre el protón contiguo al N-sustituido. Esta asignación se confirmó estudiando las diferencias de desplazamiento químico de los H-3 y H-5 en dos disolventes distintos DMSO y CDCl₃, ya que el desplazamiento químico del protón adyacente al nitrógeno sustituido (H-5) en 1,2,4-triazoles es mas sensible a los cambios de disolvente que el H-3¹⁰⁴. Así los valores de $\Delta\delta = \delta_{\text{DMSO}} - \delta_{\text{CDCl}_3}$ para los H-5 (protones a campo mas bajo) fueron 0,5 ppm para ambos compuestos 73 y 74 y los valores de $\Delta\delta$ para los H-3 (protones a campo mas alto) fueron 0,15 ppm para el compuesto 73 y 0,08 ppm para 74. En cuanto a la configuración anomérica de los dos nucleósidos preparados en el caso del compuesto 74, se asignó como β ya que el valor de la constante de acoplamiento $J_{1,2} = 9$ Hz es característico de un acoplamiento 1,2-trans-diaxial que para un derivado de D-glucopiranososa solo es compatible con una configuración anomérica β . Además, el mecanismo aceptado para el método de glicosidación de cianuro mercurico-nitrometano⁸⁶ empleado, también sugiere que el producto obtenido debe tener configuración 1,2-trans, es decir configuración anomérica β .

Sin embargo en el caso del compuesto 73 el valor de $J_{1,2} = 3$ Hz, como se mencionó anteriormente para las glicosilazidas y nucleósidos de 1,2,3-triazol, podía corresponder a ambos anómeros α y β ⁸⁰. Por otra parte en el procedimiento de fusión, empleado en la síntesis de este producto, el ataque de -

la base al carbono anomérico del carbohidrato no es estereoespecífico y de ahí que suele conducir a mezclas de anómeros. Por ello, la configuración anomérica de 73 se demostró por vía química, tratando dicho compuesto con una disolución de amoníaco en metanol - que condujo al producto desacetilado 77. La comparación de los puntos de fusión y espectros de RMN de 77 y de 1(β -D-ribofurano-sil)-1,2,4-triazol, descrito en la bibliografía¹⁰³ indicó que am-

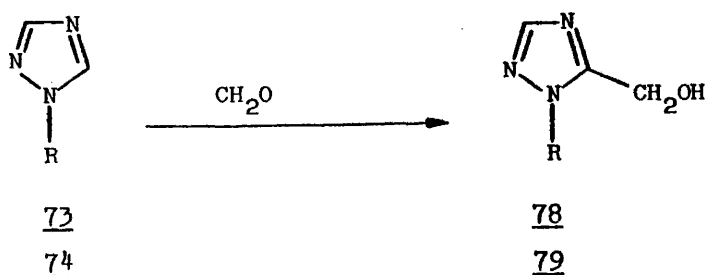


bos compuestos eran idénticos. Esto permitió establecer la configuración anomérica β tanto del derivado 76 como del derivado 73 del que procede.

3.3- HIDROXIMETILACION DE 1-GLICOSIL-1,2,4-TRIAZOLES

Un segundo paso hacia la síntesis de los nucleósidos alquilantes de 1,2,4-triazol consiste en la introducción „ de un resto hidroximetilo, que posteriormente será transformado - por medio de diversos reactivos, en los correspondientes halometil-1,2,4-triazoles.

La reacción de hidroximetilación se llevó a cabo calentando una disolución de los 1-glicosil-1,2,4-triazoles 73 y 74, obtenidos en la etapa anterior, con formaldehído¹⁰⁵. Como fuente de formaldehído puede emplearse una disolución acuosa al 30-40% de formaldehído. También puede emplearse un codisolvente orgánico tal como dioxano, 1,2-dimetoxietano o un éter de punto de ebullición próximo al del agua. Debido a la volatilidad del formaldehído es necesario realizar la reacción a una temperatura comprendida en el intervalo de 80°C-130°C durante 7-24 horas



73 y 78; R= 2,3,5-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosilo

74 y 79; R= 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo

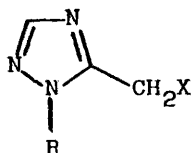
Por reacción del derivado 73 con formaldehído acuoso, en dioxano a 105°C durante 16 horas, se obtuvo el 5-hidroximetil derivado 7 con un 22% de rendimiento. En esta reacción se forman gran cantidad de productos poliméricos y de descomposición, debidos posiblemente a las enérgicas condiciones de reacción. También aparecen, además, varios ribosil-1,2,4-triazoles parcialmente desacetilado

que no se caracterizaron totalmente, pero cuya presencia se estableció por RMN. Análogamente por reacción del derivado 74 con formaldehído acuoso a 115°C durante 16 horas se obtuvo el 5-hidroximetil derivado 79 con un 61% de rendimiento, en forma de jarabe, cromatográficamente homogéneo, que cristalizó espontáneamente al cabo de un año. En ninguna de las dos reacciones se detectó la formación del 3-hidroximetil derivado. Las estructuras de ambos compuestos 78 y 79 se establecieron a partir de sus datos analíticos y espectroscópicos. Los valores encontrados para C, H y N en los análisis elementales de 78 y 79 fueron concordantes con los que cabía esperar para las estructuras propuestas. La posición del grupo hidroximetilo se determinó comparando los espectros de RMN de los glicosil-hidroximetil-1,2,4-triazoles 78 y 79 con los espectros de RMN de los glicosil-1,2,4-triazoles de partida 73 y 74. En los espectros de RMN de ambos hidroximetil derivados se observó en la zona correspondiente a los protones aromáticos, la desaparición del singlete que aparecía a campo mas bajo (H-5), manteniéndose, sin embargo, el que aparecía a campo mas alto (H-3). Este protón aromático triazólico apareció a $\delta_{\text{DMSO}} = 8,13$, $\delta_{\text{CDCl}_3} = 7,97$ para el derivado de ribosa 78 y a $\delta_{\text{DMSO}} = 8,07$, $\delta_{\text{CDCl}_3} = 7,83$ para el derivado de glucosa 79, lo que indicó que era en la posición-5 donde había entrado el grupo hidroximetilo. Las señales correspondientes a dicho $-\text{CH}_2\text{OH}$ en ambos compuestos aparecieron a δ 4,72 y 4,89 en DMSO y CDCl_3 respectivamente para 78 y a δ 4,79 y 4,90 en DMSO y CDCl_3 respectivamente para 79. Esta asignación de la posición del grupo $-\text{CH}_2\text{OH}$ quedó confirmada estudiando el valor de las diferencias de desplazamientos químicos en dos disolventes, DMSO y CDCl_3 $\Delta\delta = \delta_{\text{DMSO}} - \delta_{\text{CDCl}_3}$, del --

protón triazólico aromático restante (H-3). dichos valores de fueron $\Delta\delta = 0,16$ ppm para 78 y $\Delta\delta = 0,24$ ppm para 79. Este pequeño valor de $\Delta\delta$ en ambos casos, casi idéntico al observado para el H-3 en los 1-glicosil-1,2,4-triazoles 73 y 74, está de acuerdo con la asignación del protón triazólico restante a H-3, no contiguo al nitrógeno sustituido y que por tanto debe afectarse poco por el cambio de disolvente¹⁰⁴. Estos valores indican, además, que no se ha producido variación en la posición de glicosilación N-1, con respecto al derivado de partida, en la reacción de obtención de los hidroximetil derivados 78 y 79. Por otra parte el valor de la constante de acoplamiento $J_{1,2} = 8$ Hz para 79 y $J_{1,2} = 3$ Hz para 78 indica que tampoco se ha producido variación en la configuración anómera β .

3.4- PREPARACION DE 1-GLICOSIL-5-HALOMETIL-1,2,4-TRIAZOLES

La reacción de los hidroximetil-1,2,4-triazol derivados 78 y 79 obtenidos en la etapa anterior, con un reactivo halogenante adecuado, debe conducir a los 1-glicosil-5-halometil-1,2,4-triazol derivados 80.



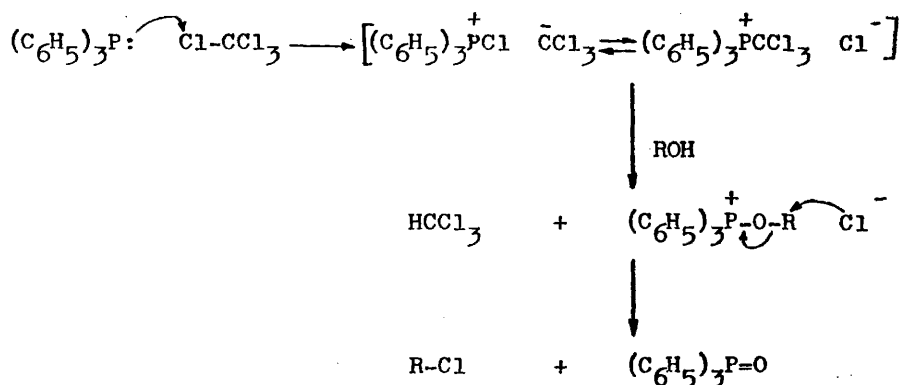
R= Glicosilo

X= Cl, Br, I

Debido a la buena reactividad del grupo hidroximetílico de 78 y 79, su sustitución por un átomo de halógeno puede llevarse a cabo mediante diversos procedimientos. Sin embargo existen una serie de limitaciones importantes. La primera de ellas es la naturaleza benéfica del grupo halometilo resultante, lo que le hace muy sensible a la presencia de nucleófilos. Esta limitación exige la ausencia de bases o de nucleófilos fuertes en el medio de reacción y en los procesos de aislamiento y purificación. La segunda limitación es la presencia del resto glicosídico R que puede descomponerse a temperaturas elevadas, o perder los grupos protectores en medios ácidos o básicos fuertes. Esto exige que la halogenación se haga en condiciones suaves y a pH próximo a la neutralidad. Algunos de los métodos que operan en estas condiciones suaves son los que emplean trifenilfosfina o trifenilfosfito en combinación con una fuente de halógeno^{106,107,108,109}. Estos reactivos se utilizan formando parejas "compuesto de fósforo-fuente de halógeno" de probada eficacia¹¹⁰. Por ejemplo, las cloraciones pueden realizarse satisfactoriamente con trifenilfosfina-tetracloruro de carbono o trifenilfosfina-N-clorosuccinimida. Las bromaciones con trifenilfosfina-tetrabromuro de carbono, trifenilfosfito-bromo, trifenilfosfina-N-bromosuccinimida. Las iodaciones con trifenilfosfito-iodo, trifenilfosfito-ioduro de metilo, etc. Los disolventes son siempre disolventes polares apróticos, tales como dimetilformamida, acetonitrilo, diclorometano, dicloroetano, 1,2-dimetoxietano, etc.

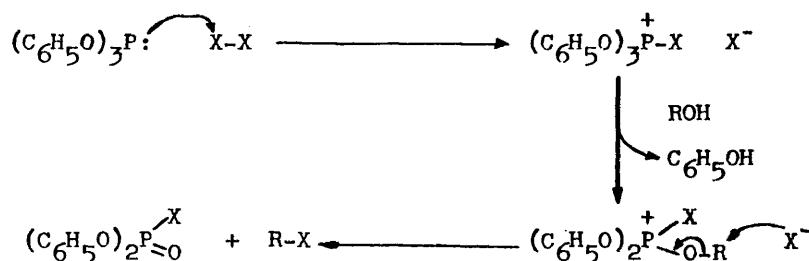
Las cloraciones descritas en este apartado se han realizado con trifenilfosfina y tetracloruro de carbono en -

acetonitrilo. El mecanismo generalmente aceptado^{110,111} para esta transformación es el siguiente:



Esquema IX

Las bromaciones y iodaciones se han realizado con fosfito de tri-fenilo y bromo o iodo, respectivamente, en disolución de 1,2-dime-toxietano. El mecanismo generalmente aceptado para esta transfor-mación es el siguiente^{107,110a,110b} :



Esquema X

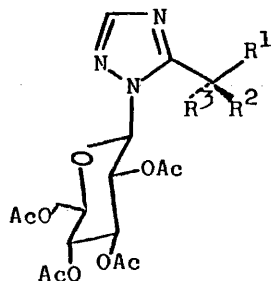
De acuerdo con lo expuesto anteriormente el 5-hidroximetil-1(2,3 4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-1,2,4-triazol 79 reaccion

derivado 84, sino que en la reacción se recuperó el producto de partida 79 inalterado. Por ello, para la obtención del 5-iodometil derivado 84 se recurrió al procedimiento de transhalogenación que ya había dado buenos resultados en la preparación de los nucleósidos de iodometil-1,2,3-triazol 52 y 53 descritos anteriormente. Así, por reacción del 5-clorometil-1,2,4-triazol 81 con ioduro sódico en acetona a reflujo durante cinco minutos, se obtuvo el 5-iodometil derivado 84 con un 83% de rendimiento.

Las estructuras de los halometil-1,2,4-triazoles 81, 82, 83 y 84, se determinaron a partir de sus datos analíticos y espectroscópicos. Los análisis elementales indicaron la sustitución del grupo hidroxilo por un átomo de halógeno.

En la tabla 3 se incluyen los valores de desplazamientos químicos de los protones de los 1-glicosil-5-halometil-1,2,4-triazoles descritos. El examen de los parámetros magnéticos indica la gran semejanza existente entre los desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento de los protones del azúcar de los derivados halogenados entre sí y de éstos con los de los hidroximetil derivados de los que proceden. Esta buena concordancia general indica el mantenimiento de la estructura del resto de azúcar y particularmente de las configuraciones anómeras β , que están además confirmadas por los valores de las constantes de acoplamiento $J_{1,2} = 8-9$ Hz para 81, 83 y 84 y $J_{1,2} = 3$ Hz para 82. También se observa una gran semejanza en los desplazamientos químicos del protón triazólico H-3, lo que indica la no variación de la posición de glicosidación. La única diferencia --

apreciable está en los desplazamientos químicos de los grupos 5-CH₂X, lo que indica que las diferencias de unos compuestos a otros están en esta parte de la molécula. Como era de esperar, dichos desplazamientos químicos van apareciendo a campo mas alto a medida que el sustituyente X va teniendo menor electronegatividad. Así, dichos protones aparecen a $\delta_{\text{CDCl}_3} = 4,90$ para el hidroximetil derivado 79, a $\delta_{\text{CDCl}_3} = 4,77$ para el clorometil derivado 81, a $\delta_{\text{CDCl}_3} = 4,60$ para el bromometil derivado 82 y a $\delta_{\text{CDCl}_3} = 4,56$ y $4,43$ para el yodometil derivado 84. Cabe señalar que en el espectro de RMN de 84 (Tabla 3) el grupo C-5-CH₂I aparece como un sistema AB, hecho que no se aprecia en los C-5-CH₂Cl (81) y C-5-CH₂Br (83) análogos, en los que aparece como un singlete. Este comportamiento indica la no equivalencia magnética de los dos protones del grupo yodometilo en 5 que se debe, posiblemente a varios factores entre los que cabe citar una cierta restricción de la libertad de giro en torno al enlace C-5-CH₂X. Esta restricción puede atribuirse al volumen del átomo de I, y a la presencia



R¹, R², R³ = H, H, X

X = Cl, Br, I

del resto también voluminoso de azúcar asimétrico en el N-1 contiguo. El hecho de que en los cloro- y bromometil-derivados no aparezca este sistema AB, parece apoyar la importancia de este efecto estérico.

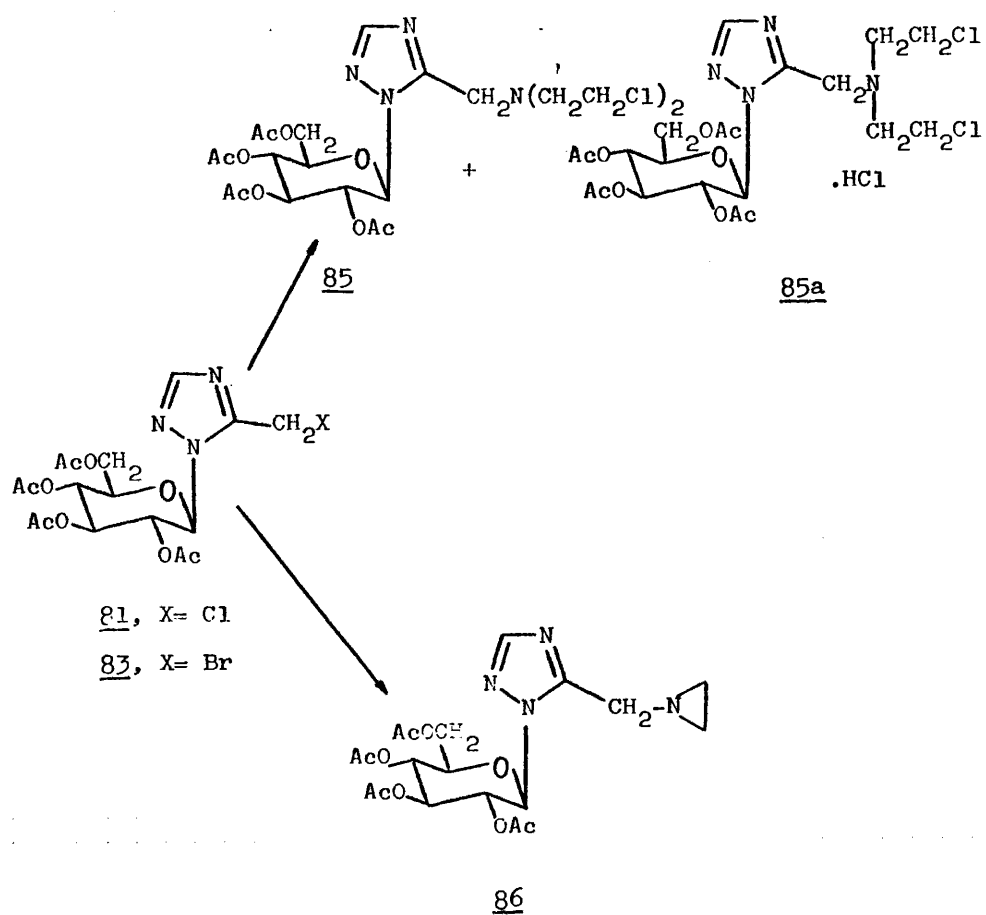
3.5- PREPARACION DE NUCLEOSIDOS DE TRIAZOL CON GRUPOS ALQUILANTES CLASICOS

Como ya se ha mencionado anteriormente en la introducción de la presente memoria, los grupos mostaza nitrogenada y aziridina han sido muy utilizados como restos alquilantes anticancerosos^{14,21}.

Con el fin de comparar sus actividades citotáticas con las de los halometil-glicosil-1,2,4-triazoles, mencionados anteriormente, se prepararon nucleósidos alquilantes de 1,2,4-triazol en cuya estructura se hallaban incorporados algunos de los grupos alquilantes "clásicos" tales como mostaza nitrogenada y aziridina.

Así el 5[bis(2-cloroetil)aminometil]-1,2,4-triazol 85 se preparó con rendimiento cuantitativo por tratamiento del 5-bromometil-1,2,4-triazol derivado 83 con bis(2-cloroetil)amina, recientemente liberada de su hidrocloreuro con una disolución acuosa de potasa. Aproximadamente el 40% del producto 85 se obtuvo en forma de hidrocloreuro(85a), pero también se obtuvo un 54% en forma libre(85). La separación de ambos se consiguió fácilmente tratando el sirupe, obtenido al purificar la mezcla de reacción, con acetato de etilo. El producto 85 en forma de hidrocloreuro

ro (85a) es insoluble en dicho disolvente, mientras que el producto en forma libre si es soluble.

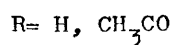
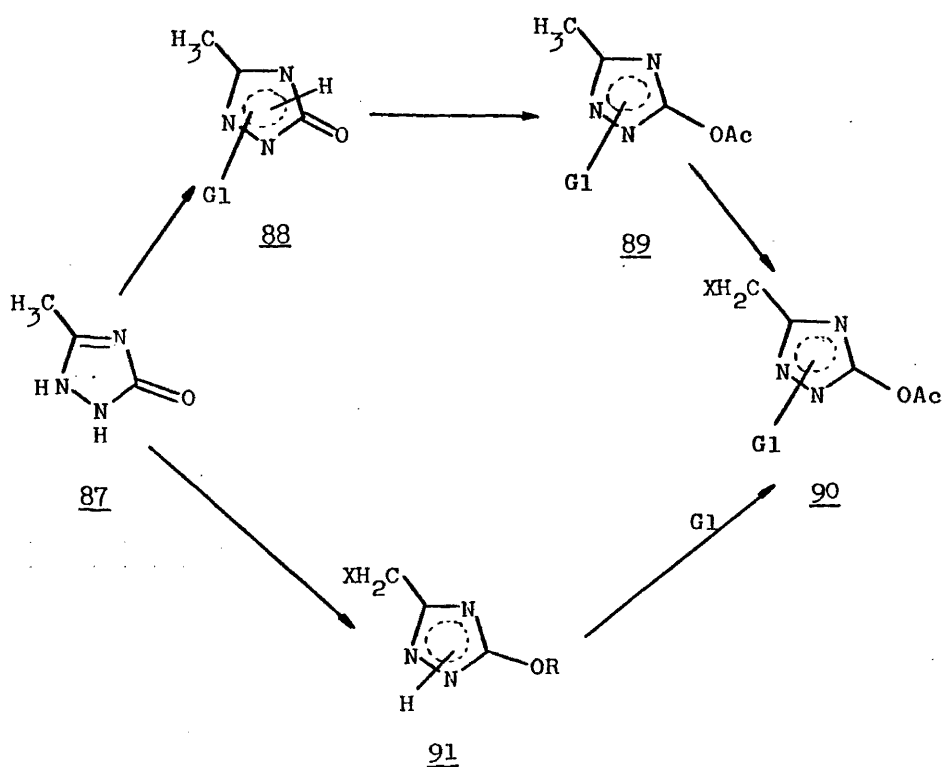


Análogamente el 5-aziridinometil-derivado 86 se preparó con un 50% de rendimiento, por reacción del 5-clorometil-1,2,4-triazol 81 con aziridina en acetona seca a temperatura ambiente durante

72 horas. Las estructuras de 85 y 86 se determinaron a partir de sus datos analíticos y espectroscópicos de IR y RMN (Tabla 3). Los análisis elementales indicaron la sustitución del átomo de Br por el grupo mostaza nitrogenada en 85 y del átomo de Cl por el grupo aziridino en 86. Los espectros de RMN de 85 y 86 (Tabla 3) fueron muy parecidos a los de los 5-halometil-1,2,4-triazoles de partida, en lo que se refiere a los protones del azúcar y al protón triazólico H-3, lo que confirmó su configuración anomérica β y su posición de glicosidación N-1. Las principales diferencias fueron, para el compuesto 85 la aparición de dos tripletes a δ 2,98 y δ 3,60 asignables al grupo bis(2-cloroetil)amino de la mostaza, y para el compuesto 86 la aparición de dos multipletes a δ 1,36 y δ 1,85 que integran para dos protones cada uno y que se asignaron a los protones de la aziridina. La segunda diferencia importante es la de los desplazamientos químicos de los grupos $5\text{-CH}_2\text{X}$ de los dos nuevos derivados, que aparecen a $\delta_{\text{CDCl}_3} = 4,18$ para el derivado de mostaza 85 y a $\delta_{\text{CDCl}_3} = 3,63$ para el aziridino derivado 86. La aparición de las únicas diferencias importantes en esta parte de la molécula confirma que la reacción se ha producido sobre ella.

4- SINTESIS DE N-GLUCOSIDOS ALQUILANTES DERIVADOS DE ACETOXI-BROMOMETIL-1,2,4-TRIAZOL

Se ha estudiado la síntesis de N-glucósidos de 5-acetoxi-3-bromometil-1,2,4-triazol 90. La ruta de síntesis ha consistido en la glicosidación de la 5-metil-1,2,4-triazolin-3-ona¹¹² 87 para dar los N-glucósidos de triazolinona de fórmula 88, que por acetilación han conducido a los derivados de 5-acetoxi-3-metil-1,2,4-triazol de fórmula 89. La bromación del gru



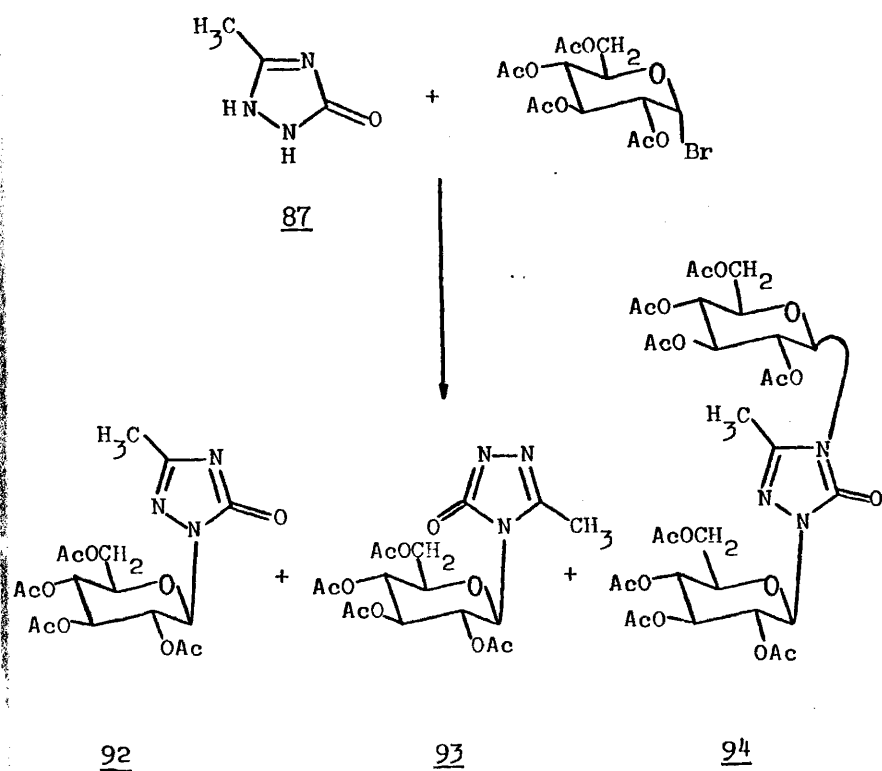
po 3-metilo de tipo bencílico conduce a los nucleósidos alquilantes deseados de fórmula 90.

La otra ruta alternativa de síntesis consistente en la introducción del grupo bromometilo alquilante, para dar un 1,2,4-triazol de fórmula 91 y posterior glicosidación para dar un N-glicósido de fórmula 90 parecía menos adecuada, ya que, debido a su carácter bencílico, el grupo 3-bromometilo de 91 es sensible a los nucleófilos que producen su rápida descomposición. Por esta razón, se siguió la primera ruta, en la que el grupo bromometilo se introduce en la última etapa.

4.1- GLICOSIDACION DE 5-METIL-1,2,4-TRIAZOLIN-3-ONA CON BROMURO DE 2,3,4,6-TETRA-O-ACETIL- α -D-GLUCOPIRANOSA

En el presente apartado se describe la síntesis de varios nucleósidos derivados de 5-metil-1,2,4-triazolin-3-ona, por reacción de glicosidación de este heterociclo con α -acetobromoglucosa. El procedimiento de fusión⁸⁷ no parecía adecuado debido a que la triazolinona sublima al alcanzar su punto de fusión. Por otra parte, el procedimiento de los derivados siliados⁹⁸ tampoco parecía adecuado ya que, como se ha mencionado anteriormente en el apartado 3, la reacción podía dar lugar a la formación de mezclas de anómeros α y β e incluso a la formación de O-glicósidos⁹⁷. Por último, el procedimiento denominado del "cianuro mercuríco-nitrometano"⁸⁹ parecía el más adecuado ya que da lugar únicamente a nucleósidos de configuración 1,2-trans⁸⁶, que en nuestro caso significa de configuración anómera β . Por otra parte este procedimiento ya había sido empleado con éxito en

la síntesis de los 1-glucosil-halometil-1,2,4-triazoles descritos en el apartado 3.2

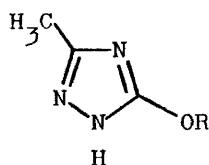


La reacción de 5-metil-1,2,4-triazolin-3-ona 87 con α -acetobromo glucosa, en presencia de $(CN)_2Hg$ y en nitrometano a reflujo, dió como resultado la obtención de tres derivados glicosídicos 92, 93 y 94 con rendimientos de 15, 32 y 16% respectivamente. La asignación de sus estructuras se realizó en base a sus datos analíticos y espectroscópicos. Los análisis elementales de 92 y 93 indicaron que se trataba de los nucleósidos resultantes de la unión de un

resto glucosídico a la base 87. El análisis elemental de 94 indicó que dicho producto era el resultado de la unión de dos restos de azúcar a la base de partida 87. Los espectros de RMN de los derivados 92 y 93 resultaron ser muy semejantes entre si y de ellos solo pudo deducirse la configuración anomérica β de ambos compuestos, que vino determinada por la constante de acoplamiento $J_{1,2} = 9$ Hz, que era solo compatible con una disposición trans-diaxial de los protones H-1' y H-2'. De acuerdo con lo mencionado sobre el mecanismo⁸⁶ de la reacción de glicosidación, la configuración anomérica β era, precisamente la esperada. Sin embargo, la otra incógnita estructural, que era la posición de glicosidación, no pudo determinarse de forma definitiva a partir de los espectros de RMN. Por ello, la asignación del punto de unión del resto de azúcar a uno de los cuatro centros nucleófilos posibles de la triazolinona, N-1, N-2, N-4 y O-5 que daría lugar a la formación de los cuatro N- y O-glicósidos isómeros posibles 92, 93, 95 y 96, respectivamente, se hizo como se indica a continuación.

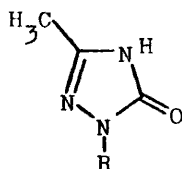
Los espectros de RMN de los cuatro N-glucósidos isómeros deberían ser, lógicamente, semejantes, estando centradas las principales diferencias en el desplazamiento químico del grupo 3-metilo de la triazolinona, y del protón anomero del azúcar. El grupo 3-metilo debe aparecer a campo algo mas bajo cuando se encuentra contiguo al resto de azúcar, como sucede en 96 y en 93, debido al efecto desapantallante de dicho resto de azúcar¹¹³. Por otra parte, el protón anomero también debe aparecer a campo mas bajo en los casos en los que el azúcar está contiguo al grupo C=O de la triazolinona, como sucede en 92 y 93, debido al efec

to anisotrópico de dicho grupo $C=O$ ¹¹⁴, como se representa en 92a



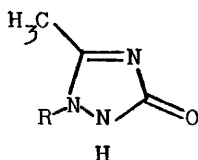
95, R= Glucosilo

97, R= CH₃



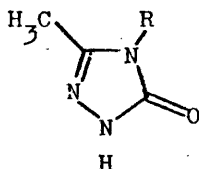
92, R= Glucosilo

98, R= CH₃



96, R= Glucosilo

99, R= CH₃



93, R= Glucosilo

100, R= CH₃

De haberse obtenido los cuatro productos, podrían haberse determinado las estructuras, mediante el espectro de RMN, por aplicación de los dos criterios anteriores. En el caso presente en el que solo se obtuvieron dos compuestos, la determinación de sus estructuras se hizo por comparación de los espectros de IR, UV y RMN de 92 y 93 con los de las cuatro 3-metil-1,2,4-triazolin-5-onas metiladas isómeras 97, 98, 99 y 100 conocidas¹¹⁵.

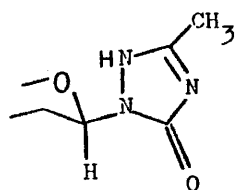
En la tabla-4 se resumen los datos espectroscópicos de RMN, IR y UV de dichas dimetiltriazolinonas 97, 98, 99 y 100 en comparación con los de los dos N-glucósidos 92 y 93. También se indican los productos y rendimientos obtenidos en las

TABLA-4

Datos espectroscópicos de RMN, IR y UV de las 3-metil-1,2,4-triazolin-5-onas metiladas (97, 98, 99 y 100) y de las N-glucosil-triazolinonas (92 y 93)

Compuesto	RMN		IR $\nu_{C=O}$ cm^{-1}	UV λ_{nm}^{MeOH} (ϵ)	Productos de la metilación de 87	
	Desplazamientos Químicos (δ)	H-1'			Con ICH_3 Rend. %	Con CH_2N_2 Rend. %
87	DMSO 2,06	--	1740	227 (2900)	--	--
92	DMSO 2,06	5,63	1655 1700	217 (1500)	--	--
93	DMSO 2,28	5,56	1720	219 (2110)	--	--
97	DMSO 2,21	3,82	--	212	--	40
98	DMSO 2,08	3,26	1660 1710	222 (3230)	35	--
99	DMSO 2,26	3,55	1640	237 (3600)	--	--
100	DMSO 2,16	3,13	1700	219 (3150)	65	60

reacciones de metilación de la 3-metil-1,2,4-triazolin-5-ona 87



92a

en distintas condiciones. Es de destacar que en la reacción de metilación con Ioduro de metilo, se obtuvieron los 1-metil y 4-metil derivados 98 y 100 respectivamente. El método de glicosidación empleado, que es químicamente análogo por emplear un bromuro de glicosilo, también condujo como se verá a continuación, a los 1-glucosil y 4-glucosil derivados 92 y 93 respectivamente.

De acuerdo con los datos de la tabla-4, al N-glucósido 92 se le asigna la estructura de 3-metil-1(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-1,2,4-triazolin-5-ona, por su semejanza con los parámetros espectroscópicos de la 1,3-dimetil-1,2,4-triazolin-5-ona 98. En efecto, el grupo 3-CH₃ de 98 apareció a $\delta_{\text{DMSO}} = 2,08$ ppm y el de 87 apareció a $\delta_{\text{DMSO}} = 2,06$ ppm, por su parte, el grupo 3-CH₃ de 92 apareció a $\delta = 2,06$ ppm. Los desplazamientos químicos de los grupos 3-CH₃ de 87, 92 y 98 debían ser análogos ya que el resto de azúcar de 92 se encuentra lejos de dicho grupo metilo y no debe desapantallarle. Por ello, el único efecto apreciable debía ser el inductivo ejercido por el

1-glucosilo que debía ser análogo al ejercido por el grupo 1-CH₃ de 98. Los datos de UV y de IR, también apoyan esta asignación. La estructura de 92 se confirmó por vía química como se verá mas adelante en el apartado 4.1.1.

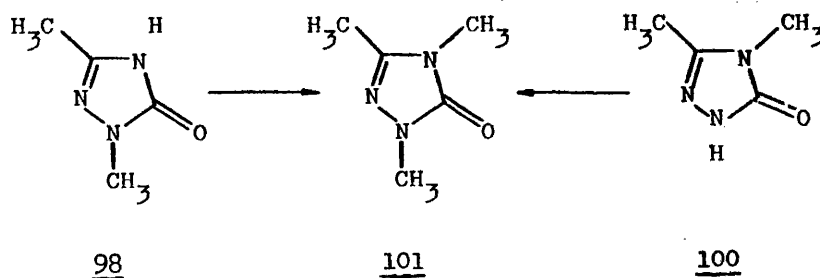
La estructura del producto 93 se asignó en base al desplazamiento químico del protón H-1' que fue $\delta_{\text{DMSO}} = 5,56$, muy parecido al H-1' de 92 $\delta_{\text{DMSO}} = 5,63$ lo que indicaba que como en 92 también el resto de azúcar estaba contiguo al grupo C=O de la triazolinona, es decir, 93 debía ser un 4-glucosil-derivado. Además, la relación existente entre los desplazamientos químicos del protón anómero H-1' de 92 y 93 ($\delta_{\text{H-1}(92)} - \delta_{\text{H-1}(93)} = 0,07$ ppm) es prácticamente igual a la existente entre los grupos N-CH₃ de 98 y 100, ($\delta_{1\text{-CH}_3(98)} - \delta_{4\text{-CH}_3(100)} = 0,13$ ppm), que ocupan las mismas posiciones que los restos glucosilo de 92 y 93, respectivamente. La asignación también se apoyó en el desplazamiento químico del 3-CH₃ de 93 que apareció a $\delta_{\text{DMSO}} = 2,28$, a campo próximo pero mas bajo que el 3-CH₃ de 100, que apareció a $\delta_{\text{DMSO}} = 2,16$. Este corrimiento a campo mas bajo se debe al mencionado efecto desapantallante del azúcar¹¹³. De nuevo, los datos de los espectros de IR y UV confirmaron la asignación. Por otra parte, el hecho de que la 4-metil-triazolinona 100 fuese el producto mayoritario de la metilación de 87 según cualquiera de los dos procedimientos empleados, hacía suponer, con buen fundamento, que al menos uno de los dos productos obtenidos tuviera estructura de 4-glucosil derivado.

Las estructuras de 2-glucosil y de 5-O-glucosil

sil derivados 95 y 96 se descartan por la similitud de desplazamientos químicos observados para los protones anómeros de los dos n-glucósidos aislados 92 y 93. Cualquier otra combinación de N-glucósidos, incluidos 95 y 96, daría productos en los que los desplazamientos químicos de los protones anómeros serían, por analogía con los desplazamientos químicos de los grupos N-metilo y O-metilo de 97, 98, 99 y 100 mas diferentes. Además, la estructura de 2-glucosil-triazolinona 96 puede descartarse por el valor del desplazamiento químico del 3-CH₃ de 99, que aparece a ($\delta_{\text{DMSO}} = 2,26$) campo muy bajo. Si cualquiera de los dos nucleósidos obtenidos 92 y 93 tuviese estructura 96, dicho grupo 3-CH₃ de uno de ellos debería aparecer a campo mas bajo todavía que el de 99, debido al efecto desapantallante del azúcar que se encuentra en la posición contigua. El grupo 3-CH₃ de 92 aparece a ($\delta_{\text{DMSO}} = 2,06$) campo mas alto, lo que excluye que este producto tenga estructura 96. ello se debe a que esta igualdad de desplazamientos químicos no refleja la diferencia de efectos desapantallantes que debían ejercer los grupos 2-glucosilo de 96 y 2-metilo de 99 sobre el grupo 3-CH₃ vecino. Análogamente, la estructura de 5-O-glucosil-triazolinona 95 también puede descartarse por la falta general de concordancia entre los datos espectroscópicos observados para glucósidos 92 y 93 y el derivado O-metilado 97.

La estructura del diglucosil derivado 94 no pudo determinarse de forma inequívoca por métodos espectroscópicos. Sin embargo el hecho de que su espectro de RMN fuese casi idéntico a la suma de los espectros de RMN de 92 y 93 hacía pensar que podía tratarse de una 1,4-diglucosil-triazolinona. Desde el

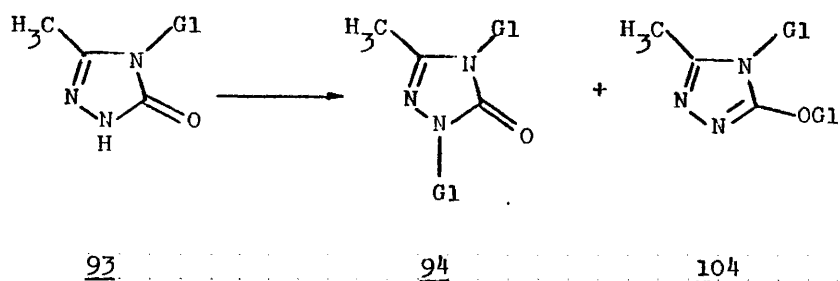
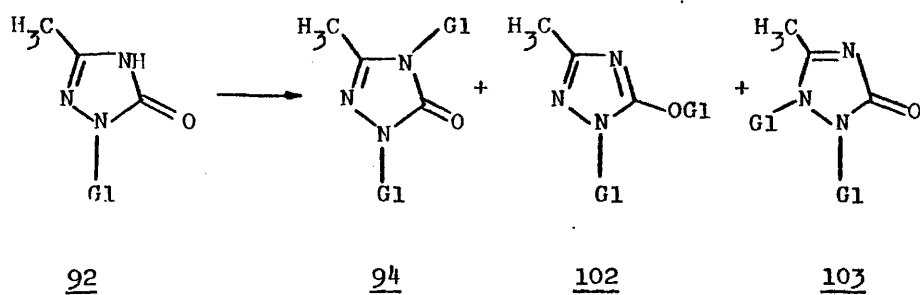
punto de vista químico esa hipótesis es aceptable ya que al ser 94 un diglucósido es lógico que se forme por glucosidación de uno o de los dos monoglucósidos 92 y/o 93 obtenidos inicialmente. De hecho la metilación con ioduro de metilo de las triazolinonas 98 y 100 conduce como único producto al 1,4-dimetil derivado 101¹¹⁵.



4.1.1.- Glucosidación de 1-glucosil-3-metil y 4-glucosil-3-metil-1,2,4-triazolin-5-onas

Con el fin de confirmar por métodos químicos las estructuras asignadas a los glucosil derivados 92 y 93 y demostrar la estructura del diglucosil derivado 94, se hicieron reaccionar dichas monoglucosil triazolinonas con α -acetobromoglucosa, empleando el procedimiento del "cianuro mercurico-nitro metano"⁸⁹. Los productos que podían formarse en esta nueva glucosidación serían los siguientes, 94, 102, 103 y 104. La aparición del mismo derivado diglucosídico 94 tanto por glucosidación del derivado 92 como por glucosidación del derivado 93 confirmaría

la asignación de 1-glucosil y 4-glucosil derivados hecha para 92 y 93 respectivamente, y demostraría la estructura de 94 como 1,4-diglucosil-triazolinona.



La reacción del derivado 93 con α -acetobromoglucosa dio un único producto, con un 50% de rendimiento, cuyo análisis elemental indicó que poseía en su estructura dos restos de azúcar unidos a la base 87. Este producto resultó ser idéntico tanto en sus propiedades físicas como químicas al derivado 94 obtenido junto con

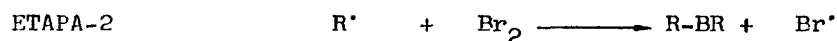
los derivados 92 y 93 en la reacción de glicosidación de la base 87 con α -acetobromoglucosa. Análogamente, por reacción del derivado 92 con α -acetobromoglucosa se obtuvo un derivado diglucosídico, con un rendimiento del 7%, idéntico en sus características físicas y químicas a 94 y al diglucósido obtenido a partir del derivado 93.

Como se ha mencionado anteriormente, el derivado 94 presenta un espectro de RMN casi idéntico al que se obtiene superponiendo los espectros de RMN de los derivados 92 y 93, la señal correspondiente al 3-CH₃ triazólico aparece a $\delta=2,30$ en DMSO. Como era de esperar este metilo aparece a campo mas bajo que en el caso del derivado 92 debido al efecto de desapantallamiento que ejerce el azúcar, que entra en N-4 contiguo a dicho 3-CH₃. Por otra parte, el valor de dicho desplazamiento es análogo al del derivado 93 ($\delta=2,28$ en DMSO), lo que confirma que el desapantallamiento es producido por el resto de azúcar sobre el nitrógeno contiguo al 3-CH₃. Por último, la configuración anomérica de los dos enlaces glucosídicos del derivado 94 se asignó como β en base a que el espectro de RMN del derivado 94 es casi idéntico al obtenido por superposición de los espectros de los derivados 92 y 93 cuyas configuraciones anoméricas son β , y en base el procedimiento de glicosidación, que en las dos etapas de N-1-glucosidación y N-4-glucosidación fué el de (CN)₂Hg/CH₃NO₂, que como ya se ha indicado, determina la formación de N-glucósidos de configuración β -1,2-trans⁸⁶.

4.2- REACCION DE N-GLUCOSIL-3-METIL-1,2,4-TRIAZOLIN-5-ONAS
CON N-BROMOSUCCINIMIDA

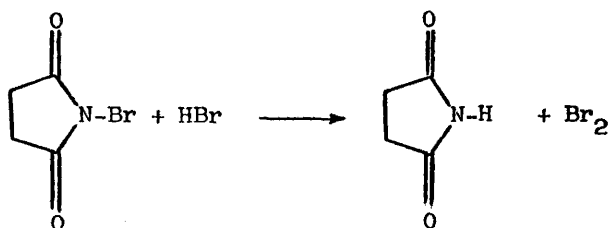
Con el fin de obtener los nucleósidos alquilantes de fórmula general 90 se hicieron reaccionar los derivados 92 y 93 obtenidos en la etapa anterior, con N-bromosuccinimida. Se eligió este agente de bromación por ser un reactivo altamente específico en las bromaciones en posición alílica¹¹⁶ y en posición bencílica. En estas reacciones se emplean disolventes en los cuales la NBS y también la succinimida formada sean difícilmente solubles, el mas comunmente empleado es el CCl₄, pudiéndose emplear otros disolventes inertes tales como, ciclohexano, benceno etc.

Dauben y McCoy¹¹⁷ demostraron que el mecanismo de la bromación alílica es del tipo de radicales libres. También observaron que dicha reacción es muy sensible a la presencia de iniciadores e inhibidores de radicales libres y que la bromación no tiene lugar a menos que existan trazas del iniciador en el medio de reacción. Los iniciadores mas empleados son la luz y los peróxidos. La especie que abstrae el hidrógeno del sustrato es el átomo de bromo. La reacción es iniciada por pequeñas cantidades del radical Br[•]. Una vez dicho radical se ha formado, las principales etapas de propagación son las siguientes:



Esquema-IX

El Br_2 se produce como consecuencia de una rápida reacción de tipo iónico entre la NBS y el HBr liberado en la etapa-1:

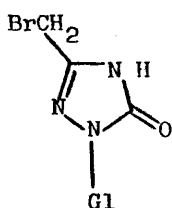
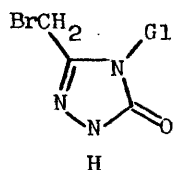


La misión de la NBS en la reacción de bromación es suministrar una baja concentración constante de Br_2 y eliminar el HBr liberado en la etapa-1¹¹⁸. La reactividad, aplicaciones sintéticas y mecanismo de las reacciones de NBS se han descrito en distintas revisiones^{119,120}.

4.2.1- Preparación de 5-acetoxi-3-bromometil-glucosil-1,2,4-triazoles

Los intentos de obtener los derivados 105 y 106 por bromación del grupo $\beta\text{-CH}_3$ de 92 y 93, respectivamente, con NBS fueron infructuosos ya que de estas reacciones se recuperaron los productos de partida inalterados. La falta de reactividad podría deberse a la falta de carácter bencílico del $\beta\text{-CH}_3$ de la triazolinona, por ello se pensó en aromatizar el anillo de triazolinona convirtiéndolo en el O-alkil ó O-acil derivado. Debido a que la alquilación tiende a dar derivados sustituidos.

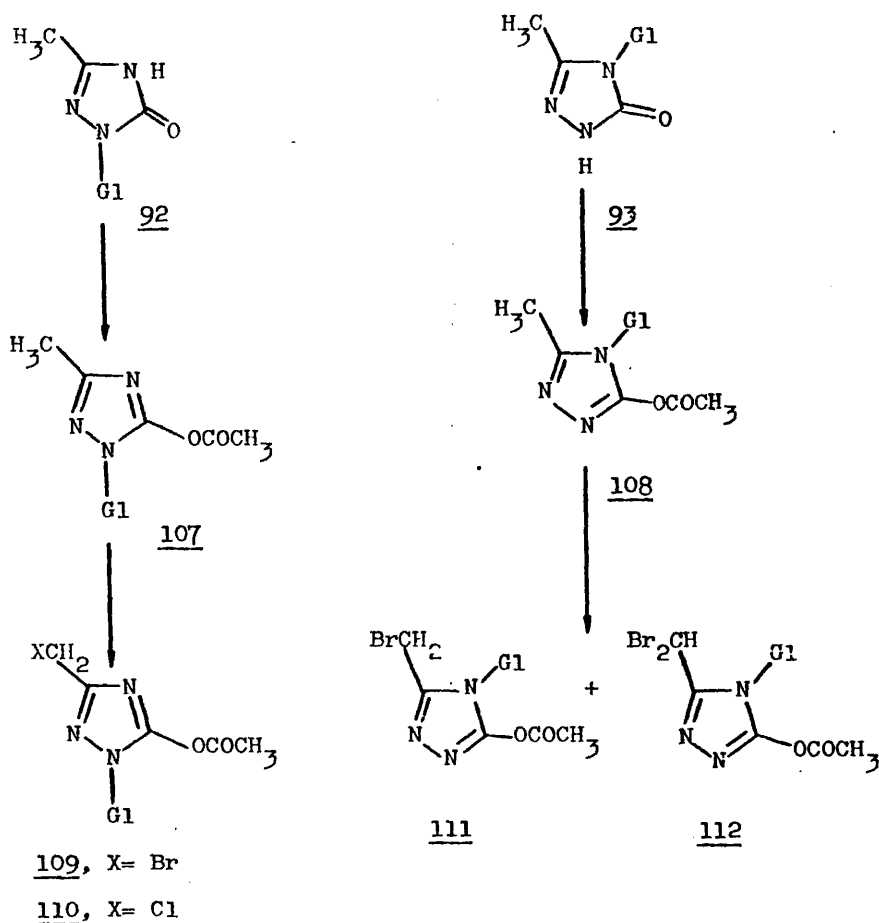
sobre N¹²¹ y la acilación derivados sustituidos sobre O, se procedió a la acetilación de los derivados 92 y 93. Por reacción -

105106

G1= 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo

del glucosil derivado 92 con anhídrido acético y piridina a temperatura ambiente durante una noche, se obtuvo el acetil derivado 107 con un rendimiento del 81%. Análogamente, la reacción del derivado 93 con anhídrido acético y piridina dio el acetil derivado 108 con un rendimiento del 62%. Los espectros de RMN de los acetil derivados 107 y 108 no presentaron grandes diferencias con los espectros RMN de los derivados 92 y 93 de partida, salvo por a/ la aparición de un singlete que integró para tres protones a $\delta_{\text{DMSO}} = 2,56$ para 107 y a $\delta_{\text{DMSO}} = 2,43$ para 108, que se asignó como la señal correspondiente al 5-OAc, b/ el desplazamiento a campo mas bajo de los grupos $\beta\text{-CH}_3$ de 107 ($\delta_{\text{DMSO}} = 2,34$) y 108 ($\delta_{\text{DMSO}} = 2,40$) con respecto a los de 92 ($\delta_{\text{DMSO}} = 2,06$) y 93 -- ($\delta_{\text{DMSO}} = 2,28$), que puede atribuirse a la ganancia de aromaticidad, y c/ el desplazamiento a campo mas bajo de los protones anó-

meros de 107 ($\delta_{\text{DMSO}} = 5,86$) y de 108 ($\delta_{\text{DMSO}} = 5,72$) con respec-

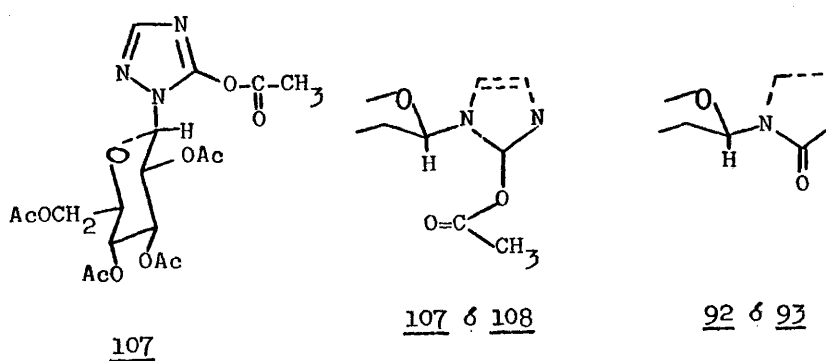


G1= 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo

to a los de 92 ($\delta_{\text{DMSO}} = 5,63$) y 93 ($\delta_{\text{DMSO}} = 5,56$), que también puede atribuirse a al ganancia de aromaticidad del heterociclo.

No obstante, otro factor a considerar es el diferente efecto de

desapantallamiento que ejercen sobre el protón anómero el grupo C=O de las triazolinonas 92 y 93 y el grupo C=O de los acetoxi-derivados 107 y 108.



El valor de la constante de acoplamiento $J_{1,2} = 9$ Hz para los dos acetil derivados 107 y 108 indicó que la configuración del carbono anómero seguía siendo β .

La reacción del acetil derivado 107 con NBS en presencia de luz condujo al bromometil derivado 109 que resultó ser un producto inestable y que después de varias purificaciones cromatográficas en capa fina preparativa, aún extremando las condiciones de sequedad de los disolventes, no pudo ser obtenido analíticamente puro. Por ello, su identificación se basó en sus datos espectroscópicos. En el espectro de RMN de 109, se observó

la desaparición de la señal del metilo triazólico 3-CH₃ que aparecía a $\delta_{\text{DMSO}} = 2,34$ en 107 y la aparición de una señal que integraba para dos protones a $\delta_{\text{DMSO}} = 4,47$ que se asignó al grupo CH₂Br. Por último en el espectro de masas no se observó la aparición del pico molecular pero la formación del derivado 109 quedó probada, a/ por la aparición de picos a m/e 506(0,3%) y -- 508(0,3%) atribuible a la pérdida de acetilo(COCH₃) por parte -- del ión M⁺, b/ por la aparición de dos picos a m/e 218 y m/e 220 que se atribuyen al ión de la base formado por rotura del enlace glicosídico, y de dos picos a m/e 219 y 221 atribuibles al ión -- de la base resultante al romperse el enlace glicosídico, al que se ha transferido un átomo de H del azúcar, y c/ por la aparición de un pico a m/e 331(93%) característico del ión resto de -- azúcar procedente de la escisión del enlace glicosídico. Otros -- picos significativos son los que aparecen a m/e 139 atribuible a la pérdida de Bromo a partir del ión de la base resultante al -- romperse el enlace glicosídico, la pareja de picos que aparecen a m/e 448(0,3%) y 450 (0,3%) atribuibles a la pérdida sucesiva -- de cetena y CH₃COO, y la pareja de picos que aparecen a m/e 434 (0,3%) y 436 (0,3%) atribuibles a la pérdida de cetena y CH₂OCOCH. Estas dos últimas fragmentaciones son características de derivados acetilados de hexopiranosas.

En la reacción del derivado 107 con NCS no se obtuvo el clorometil derivado 110 sino que se recuperó el producto de partida inalterado.

En la reacción del acetilderivado 108 con NBS

en presencia de luz, además del bromometil derivado 111 también se aisló el dibromometil derivado 112, que al igual que el bromometil derivado 109 resultaron ser inestables y no fue posible obtener un análisis elemental correcto, por lo que su identificación también se basó en sus datos espectroscópicos.

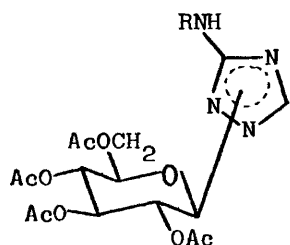
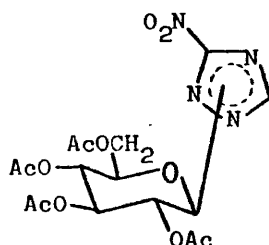
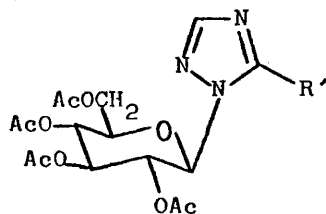
En los espectros de RMN de 111 y 112 se observó la desaparición de la señal del metilo triazólico que aparecía a $\delta_{\text{CDCl}_3} = 2,46$ para 108 y la aparición de una señal --- que integraba para dos protones a $\delta_{\text{CDCl}_3} = 4,43$ para 111 que se asignó al grupo $-\text{CH}_2\text{Br}$ y la aparición de una señal que integraba para un protón a $\delta_{\text{CDCl}_3} = 6,53$ para 112 que se asignó al grupo $-\text{CHBr}_2$. En la Tabla-5 se resumen los valores de los desplazamientos químicos de los protones de todos los compuestos descritos en este capítulo.

En el espectro de masas del derivado 111 no se observó la aparición del pico molecular, pero su formación quedó probada por la aparición de picos a m/e 507(2,7%) y 509(2,7%) atribuibles a la pérdida de ceteno (CH_2CO) por parte del ión M^+ , otros picos significativos fueron los que aparecieron a m/e 218 y 220, de igual intensidad, atribuibles al ión de la base formado por rotura del enlace glicosídico, a m/e 331 atribuible al ión resto de azúcar procedente de la escisión del enlace glicosídico, y a m/e 139 atribuible a la pérdida de Br a partir del ión de la base resultante al romperse el enlace glicosídico. Por último la formación del dibromometil derivado 112 quedó demostrada por la aparición de tres picos separados dos unidades de masa a m/e 627 (2,5%), 629(5%) y 631(2,5%) que corresponden al ión molecular. La

formación del dibromometil derivado 112 también se confirma por la aparición de picos a m/e 585(5%), 587(10%) y 589(5%) atribuibles a la pérdida de cetena por parte del ión molecular, otros picos significativos fueron los que aparecieron a m/e 296(0,5%) 298(1%) y 300(0,5%) atribuibles al ión de la base procedente de la rotura del enlace glicosídico, a m/e 331 atribuible al ión - resto de azúcar procedente de la escisión del enlace glicosídico, a m/e 216(1%) y 218(1%) atribuibles a la pérdida de BrH a partir del ión de la base resultante al romperse el enlace glicosídico y de un pico a m/e 137(2%) procedente de la pérdida sucesiva de BrH y Br a partir del ión de la base resultante de la rotura del enlace glicosídico.

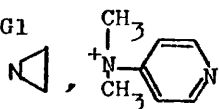
5- SINTESIS DE NUCLEOSIDOS DERIVADOS DE 1,2,4-TRIAZOLES SUSTITUIDOS

En el presente apartado se describe la preparación y determinación de estructuras de una serie de nucleósidos de amino-1,2,4-triazol de fórmula general 113, de nitro-1,2,4-triazol de fórmula general 114 y de otros derivados de N-glucosil-1,2,4-triazol, algunos de los cuales son portadores de grupos alquilantes clásicos, que responden a la fórmula general 115

113114115

R = H, COCH₃, G1

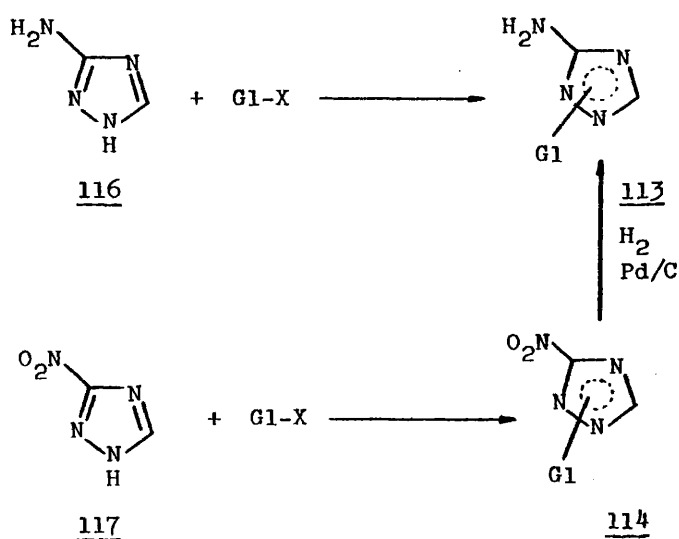
R = C=O, Cl,



G1 = 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo

5.1- PREPARACION DE NUCLEOSIDOS DE AMINO-1,2,4-TRIAZOL Y NITRO-1,2,4-TRIAZOL

La preparación de los nucleósidos de amino-1,2,4-triazol y nitro-1,2,4-triazol se llevó a cabo según se indica en el siguiente esquema de reacción.



G1 = 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo

Esquema-X

En primer lugar se intentó la síntesis de los nucleósidos de aminotriazol mediante la reacción de glicosidación de 3-amino-1,2,4-triazol¹²² con α -acetobromoglucosa según el procedimiento de "cinuro mercurico-nitrometano"⁸⁹. Los nucleósidos de nitro-1,2,4-triazol se obtuvieron por reacción de 3-nitro-1,2,4-triazol¹²³ con α -acetobromoglucosa empleando el mismo método de glicosidación. Por último, estos nucleósidos de nitrotriazol se transformaron e

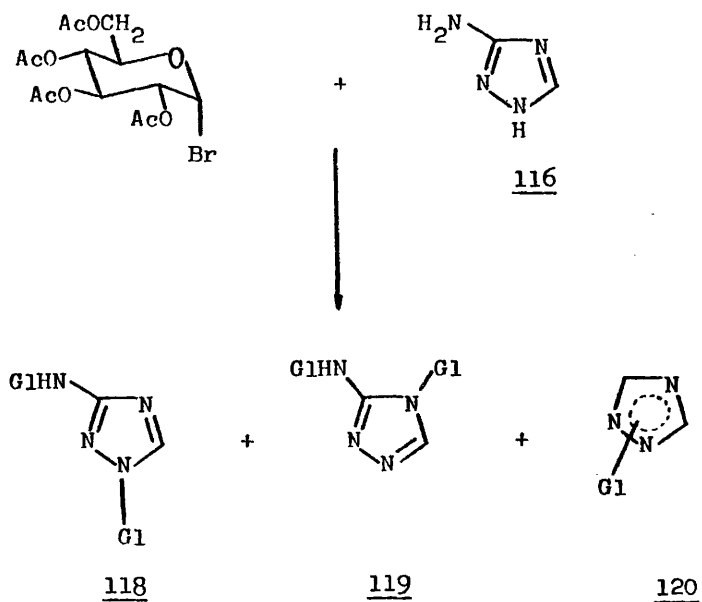
los nucleósidos correspondientes de aminotriazol mediante reducción catalítica.

5.1.1- Glicosidación de 3-amino-1,2,4-triazol

La reacción de 3-amino-1,2,4-triazol con α -acetobromoglucosa en disolución de nitrómetano y en presencia de $(CN)_2H_2$ condujo a dos productos 118 y 119 cuyos análisis elementales indicaron que se trataba de los aductos correspondientes a la unión de dos restos de azúcar a la base 116. Las estructuras de 118 y 119 como diglucosil derivados se confirmaron por los espectros de masas que presentaron iones a $m/e = 745(M^+ + 1)$ en ambos derivados, correspondientes a las fórmulas empíricas indicadas y también por los espectros de RMN que presentaron cada uno las bandas correspondientes a dos restos de azúcar y un solo resto de triazol. Además, de los dos derivados diglucosídicos 118 y 119 se obtuvieron trazas de un producto 120 cuyo espectro RMN indicó que podía ser un nucleósido de la base 116.

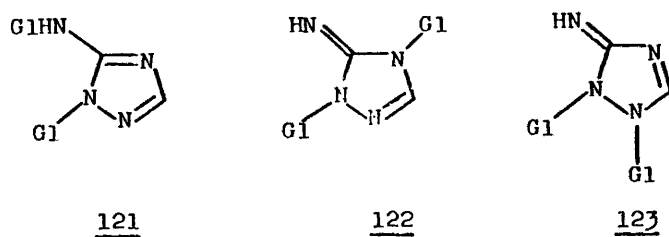
La asignación de las estructuras de los derivados 118 y 119 se realizó a partir de sus datos analíticos y espectroscópicos. La posición de glicosidación se estableció como se indica a continuación:

En la reacción de la base 116 con α -acetobromoglucosa podrían formarse cinco diglucósidos isómeros, los dos de estructuras 118 y 119 que acaban de mencionarse y los de estructuras 121, 122 y 123. Los espectros de RMN de los 5 diglucósidos isómeros deberían ser semejantes, presentando diferencias



G1 = 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosilo

unicamente en el valor del desplazamiento químico del protón -- triazólico, en el valor de $\Delta\delta = \delta_{\text{DMSO}} - \delta_{\text{CDCl}_3}$ de dicho protón -- triazólico y en el valor de los desplazamientos químicos de los



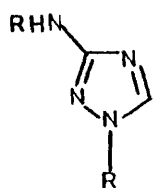
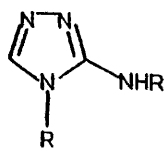
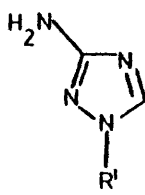
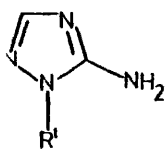
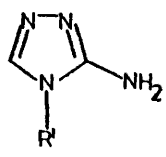
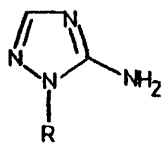
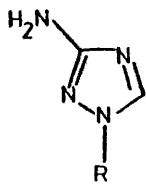
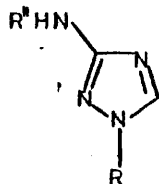
protones anómeros de los dos restos de azúcar unidos a un N del heterociclo o al N exocíclico. El protón triazólico debe aparecer a campo mas bajo en aquellos derivados en los que se encuentra contiguo a un átomo de nitrógeno sustituido (p. ej. 118, 119, 122 y 123), que en aquellos en los que no lo está (p. ej. 121). El responsable de este desplazamiento a campo mas bajo es, entre otros, el efecto desapantallante del azúcar. Por otra parte, al estudiar las diferencias de desplazamiento químico $\Delta\delta$ de los protones triazólicos aromáticos en dos disolventes distintos DMSO y $CDCl_3$, se observa que el protón contiguo al nitrógeno sustituido (H-5) en 1,2,4-triazoles es mas sensible a los cambios de disolvente que el (H-3) no contiguo al N-sustituido¹⁰⁴. Por tanto el protón triazólico (H-5) en los derivados 118, 119, 122 y 123 -- debería ser sensible al cambio de disolvente presentando un valor de $\Delta\delta$ elevado. De haberse obtenido los cinco diglucósidos, sus estructuras podían haber sido eventualmente determinadas, mediante sus espectros de RMN, por aplicación de los criterios anteriormente mencionados. En el caso presente en que solo se obtuvieron dos diglucósidos, sus estructuras se establecieron por -- comparación de los espectros de UV y RMN de 118 y 119 con los de los ribonucleósidos de 3-amino-1,2,4-triazol 124, 125 y 126 sintetizados por Robins y col.¹²⁴, con los de 1-glucosil-amino-1,2,4-triazoles 130 y 131 y con los de 1-glucosil-3-acetilamino-1,2,4-triazol 135. La síntesis y asignación inequívoca de estructuras de los compuestos 130, 131 y 135 se describe en los apartados 5.1.3 y 5.2.2 de esta memoria. En la Tabla-6 se resumen los datos espectroscópicos de RMN y UV de dichos derivados 118, 119, 124, 125, 126, 130, 131 y 135. De acuerdo con los datos de la tabla-6

TABLA-6

Datos espectroscópicos de RMN y UV de los amino-glucosil-1,2,4-triazol derivados (118, 119, 120, 121 y 125) y de los N-ribosil-amino-1,2,4-triazol derivados (124, 125 y 126)

Compuesto	Desplazamientos Químicos (δ)	RMN			UV		
		H-1'	H-3	H-5	$\Delta\delta$	$\lambda_{\text{nm}}^{\text{EtOH}}$	(ϵ)
<u>118</u>	DMSO	5,85	-	8,36	0,40	235 (1912)	270 (322)
<u>118</u>	CDCl ₃	-	-	7,96	-		
<u>119</u>	DMSO	5,73	-	8,00	0,64	236 (2617)	268 (429)
<u>119</u>	CDCl ₃	-	-	7,36	-		
<u>124</u>	DMSO	5,62	-	8,29	-	228 (3800)	
<u>125</u>	DMSO	5,67	7,47	-	-	213 (6670)	
<u>126</u>	DMSO	5,51	-	8,18	-	212 (4660)	
<u>130</u>	DMSO	5,82	7,38	-	-0,08	218 (6000)	
<u>130</u>	CDCl ₃	-	7,46	-	-		
<u>131</u>	DMSO	5,83	-	8,26	0,38	231 (3700)	
<u>131</u>	CDCl ₃	5,51	-	7,88	-		
<u>135</u>	DMSO	6,02	-	8,67	0,52	224 (10000)	
<u>135</u>	CDCl ₃	-	-	8,15	-		

TABLA-6
(Continuación)
ESTRUCTURA

118119124125126130131135

R = 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo

R' = β-D-ribofuranosilo

R'' = -OCH₃

al diglucósido 118 se le asigna la estructura de β -glucosilamino 1-(glucosil)-1,2,4-triazol, por la semejanza de sus parámetros espectroscópicos con los de 124, 135 y especialmente 131. El valor de $\Delta\delta=0,40\text{ppm}$ para el derivado 118 parece indicar que el protón triazólico en dicho derivado es sensible al cambio de disolvente y por tanto ha de estar contiguo a un N-sustituido¹⁰⁴, lo que permite descartar una estructura como la 121 en la que el protón triazólico no está contiguo al N-sustituido. Una estructura como 123 también puede ser descartada por el importante impedimento estérico que supone la presencia de dos restos de azúcar en los dos nitrógenos contiguos N-1 y N-2. Por otra parte la aparición en el espectro de RMN de 118 de la señal correspondiente al NH exocíclico como un doblete a $\delta = 7,15$ con una constante de acoplamiento $J_{\text{NH-H-1}} = 9 \text{ Hz}$, indicó que dicho NH estaba unido a un resto glucosídico, debiéndose la aparición del doblete al acoplamiento con el protón anómero de dicho glucosilo. Este hecho permite descartar una estructura como 112 en la que los dos restos de azúcar están unidos a átomos de nitrógeno heterocíclicos. Además, y tal como se ve en la tabla-6, existe una gran semejanza en los valores de los desplazamientos químicos del protón triazólico (H-5), en el valor de $\Delta\delta = \delta_{\text{DMSO}} - \delta_{\text{CDCl}_3}$ de dicho protón (H-5) y en el desplazamiento químico del protón anómero del resto 1-glucosídico de los derivados 1-glucosil- β -glucosilamino-1,2,4-triazol 118 y de los derivados análogos 1-glucosil- β -amino-1,2,4-triazol 131 y 1-glucosil- β -acetilamino-1,2,4-triazol 135. La semejanza de los parámetros indicados, confirmó la similitud de las estructuras de los tres 1-glucosil- β -amino-1,2,4-triazoles 118, 131 y 135, lo que permitió descartar una estructura como 119 en

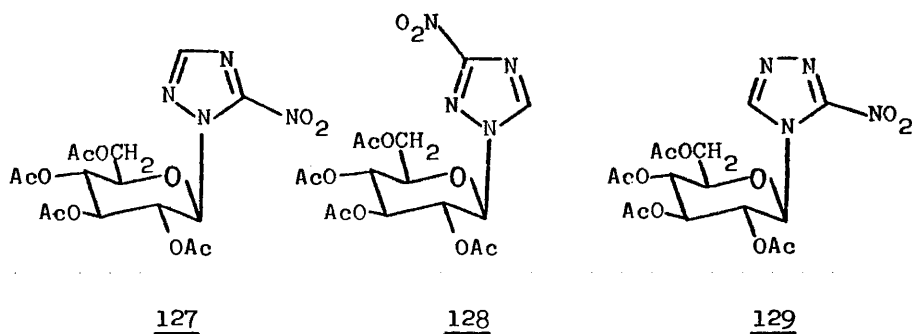
la que el glucosilo está unido en N-4 y no N-1. Por último la comparación del espectro de RMN del diglucosil derivado 118 con los de los ribonucleósidos de 3-amino-1,2,4-triazol 124, 125 y 126 sintetizados por Robins y col.¹²⁴, mostró la buena correlación existente entre los desplazamientos químicos de los protones triazólicos aromáticos y entre los protones anómeros de los restos glucosilo unidos al N-1 del anillo de triazol para los derivados 118 y 124, lo que, de nuevo, confirmó la asignación de la estructura de 118 como 1-glucosil-aminoderivado. Al otro derivado diglucosídico obtenido se le asignó la estructura de 4-glucosil-3-glucosilamino-1,2,4-triazol 119. Dicha asignación fue tentativa y no pudo ser totalmente demostrada como lo fue la estructura del derivado 118. El valor de $\Delta\delta = 0,64$ ppm para el protón triazólico de dicho diglucosil derivado 119 exige que dicho protón esté contiguo a un N-sustituido¹⁰⁴, lo que permite descartar una estructura como la 121 en la que dicho protón triazólico no está contiguo al N-sustituido. Por otra parte, la gran diferencia existente en el valor del desplazamiento químico del protón triazólico y el valor de $\Delta\delta = \delta_{\text{DMSO}} - \delta_{\text{CDCl}_3}$, entre 119 y el 5-amino-1-glucosil-1,2,4-triazol derivado 130, análogo de 121, permite descartar definitivamente una estructura como 121. Una estructura como 123 también puede descartarse debido al gran impedimento estérico que supone la presencia de dos restos glucosilo en los dos nitrógenos contiguos N-1 y N-2. Por tanto, al segundo diglucosil derivado podría corresponderle tanto la estructura 119 como la 122. El hecho de que en el espectro de RMN de dicho diglucosil derivado no aparezca la señal correspondiente al NH exocíclico como un doblete

como sucedía en el caso de 118, parece apoyar una estructura como 122 en la que los dos glucosilos están unidos a átomos de nitrógenos heterocíclicos. Por una parte, existe una gran semejanza en los espectros de UV de los dos diglucósidos obtenidos en la reacción de la base 116 con α -acetobromoglucosa. Dicha semejanza indica la gran similitud de cromóforos en ambos diglucosilderivados y por tanto apoya una estructura como 119 para el segundo diglucosil derivado, ya que si dicho diglucosil derivado fuese 122 es de esperar que su espectro ultravioleta fuese muy distinto al de 118. Además, y tal como puede verse en la Tabla-6, existe una buena correlación entre los desplazamientos químicos de los protones triazólicos y de los protones anómeros de los restos glicosídicos unidos al N-heterocíclico para los derivados 119 y 126, lo que sugiere que 119 es un 4-glucosil-3-glucosilamino derivado. Dichos desplazamientos químicos de H-5 y de H-1' aparecen a campo más bajo en los derivados glicosidados en N-1, 118 y 124, que en los glicosidados en N-4, 119 y 126. Semejanzas y correlaciones del mismo tipo se observan en los espectros de RMN de N-metil-3-amino-1,2,4-triazoles¹²⁵, que también apoyan la asignación tentativa de la estructura 119 como un 3-glucosilamino-4(glucopinosil)-1,2,4-triazol. Por último la configuración anómérica de los enlaces glicosídicos de los derivados 118 y 119 se estableció -- como β en base al mecanismo⁸⁶ del método de $(\text{CN})_2\text{Hg}/\text{CH}_3\text{NO}_2$ empleado en la glicosidación, que como ya se ha mencionado anteriormente conduce a nucleósidos de configuración 1'2'-trans en el azúcar es decir configuración anómera β . En general, los rendimientos de la reacción de glicosidación del 3-amino-1,2,4-triazol 116 con α -acetobromoglucosa fueron muy bajos. Esto unido a que los posi

bles monoglucósidos de amino-1,2,4-triazol se obtuvieron en muy pequeñas cantidades llevó al abandono de esta ruta sintética. Por ello, los nucleósidos de aminotriazol deseados se obtuvieron por reducción de los nucleósidos de nitro-1,2,4-triazol correspondientes obtenidos por glucosidación de 3-nitro-1,2,4-triazol.

5.1.2- Preparación de nucleósidos de nitro-1,2,4-triazol por glicosidación

Por reacción de glicosidación de 3-nitro-1,2,4-triazol con α -acetobromoglucosa empleando el procedimiento del "cianuro mercuríco-nitrometano" se obtuvieron dos derivados glucosídicos isómeros 127 y 128 con un 20% y un 50% de rendimiento respectivamente. Los análisis elementales de estos productos in-



dicaron que en ambos casos el 3-nitro-1,2,4-triazol se había unido al resto de azúcar, con pérdida de una molécula de BrH . Además, los dos productos obtenidos mostraron en sus espectros de IR bandas fuertes a 1530 cm^{-1} y 1340 cm^{-1} características del grupo nitro

lo que indicaba el mantenimiento de dicho grupo funcional en los productos. Los espectros de UV de los dos N-glucósidos obtenidos no aportaron datos para la determinación de sus estructuras. Por ello, la determinación de las configuraciones anómeras y de las posiciones de glicosidación se llevó a cabo mediante la espectroscopía de RMN, y en vista de que este método espectroscópico tampoco permitió la asignación total e inequívoca, se llevó a cabo mediante métodos químicos. La configuración anómera del enlace glucosídico en ambos nucleósidos 127 y 128 se asignó a partir de sus espectros de RMN midiendo el valor de la constante de acoplamiento $J_{1'2'}$ que fue $J_{1'2'} = 8,5$ Hz para ambos derivados. Este valor es característico de un acoplamiento trans-diaxial que, como ya se ha mencionado anteriormente, solo es compatible con una configuración anómera β para derivados de D-glucopiranososa. De acuerdo con el mecanismo aceptado para el método de glicosidación empleado de $(\text{CN})_2\text{Hg}/\text{NO}_2\text{CH}_3$ ⁸⁶, también era de esperar la obtención de N-glucósidos de configuración anómera β .

La determinación de las posiciones de glicosidación se realizó como se indica a continuación. En la reacción del 3-nitro-1,2,4-triazol 117 con α -acetobromoglucosa, pueden formarse tres nucleósidos isómeros 127, 128 y 129 cuyas estructuras podrían diferenciarse a partir de sus espectros de RMN por comparación de las señales del protón anómero del azúcar y del protón triazólico aromático. El protón anómero (H-1') debería aparecer a campo mas bajo en los productos 127 y 129 que en el producto -- 128, debido al efecto desapantallante del grupo nitro. Este efecto debe actuar sobre el protón anómero de los dos primeros deriva

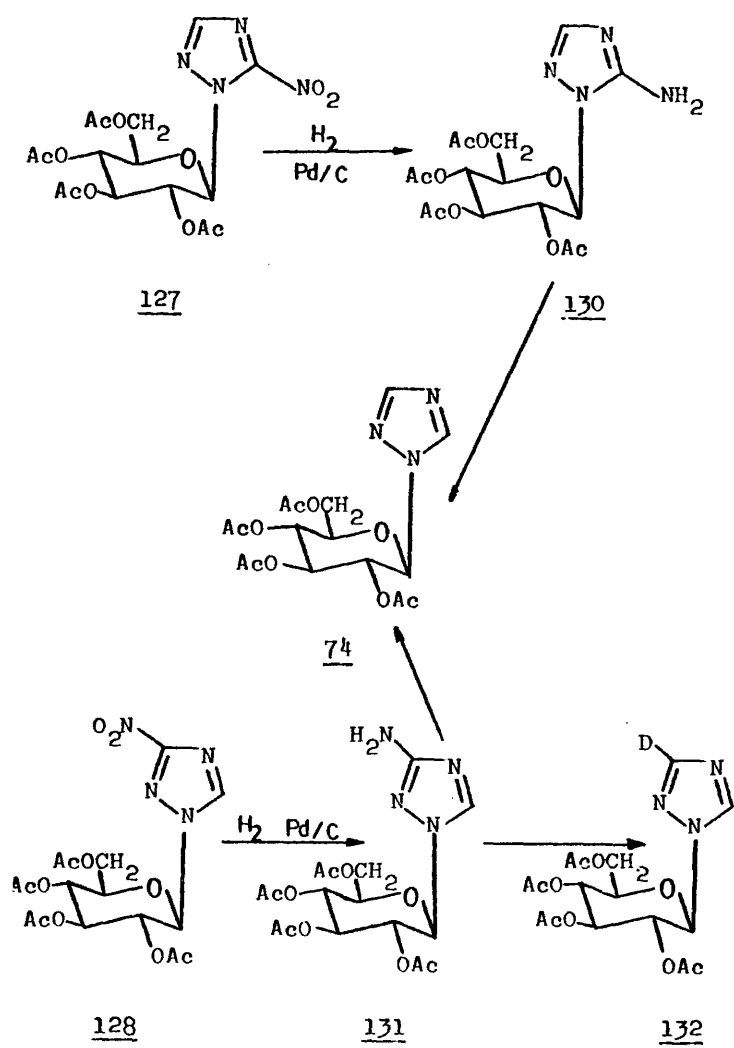
dos porque en ellos el grupo nitro está contiguo al azúcar y no debe actuar en 128 por estar mas alejado. Por otra parte, el protón triazólico aromático debería aparecer a campo mas bajo en los derivados 128 y 129 que en el derivado 127, debido al efecto de desapantallamiento que ejerce el azúcar sobre el protón triazólico contiguo¹⁰⁴. Está, por último el criterio de la diferencia de desplazamientos químicos ($\Delta\delta = \delta_{\text{DMSO}} - \delta_{\text{CDCl}_3}$) que presenta el protón triazólico aromático en dos disolventes diferentes, DMSO y CDCl_3 . En el caso presente, en que solo se obtuvieron dos isómeros la comparación de los valores de desplazamiento químico del protón anómero, del protón triazólico aromático y de $\Delta\delta$ del protón triazólico aromático (Tabla-7) no permitió la asignación inequívoca de estructuras.

Como se observa en la tabla-7 el valor de $\Delta\delta = 0,79$ para el derivado mayoritario 128 es indicativo de que en dicho derivado el protón triazólico debe estar contiguo al nitrógeno sustituido, pudiendo corresponder a dicho producto una estructura como la de los derivados 128 ó 129. Por otra parte, el hecho de que el protón anómero aparezca a campo mas alto que en el caso del derivado minoritario 127 parece sugerir que el azúcar en el derivado mayoritario está alejado del grupo nitro y en el derivado minoritario el azúcar se encuentra próximo a dicho grupo nitro. La única estructura en la que se dan las dos circunstancias mencionadas para el producto mayoritario (protón triazólico contiguo al N-sustituido y protón anómero alejado del grupo nitro) es la del derivado 128.

En la estructura del derivado minoritario el azúcar ha de estar contiguo al grupo $-\text{NO}_2$, por tanto su estructura podría corresponder tanto a 127 como a 129. Aunque el valor de $\Delta\delta=0,42$ observado para el protón triazólico de dicho componente minoritario es menor que el valor de $\Delta\delta = 0,79$ observado para el componente mayoritario, lo que puede indicar que el protón triazólico no está contiguo al átomo de N-sustituido¹⁰⁴, como en el caso de 127, el valor tan elevado de $\Delta\delta$ tampoco descarta que dicho protón triazólico esté contiguo al átomo de N-sustituido, como en 129. Una asignación definitiva e inequívoca de las estructuras de los dos nucleósidos obtenidos se realizó por medios químicos, como se indica a continuación.

5.1.3- Obtención de nucleósidos de amino-1,2,4-triazol por reducción de nucleósidos de nitro-1,2,4-triazol

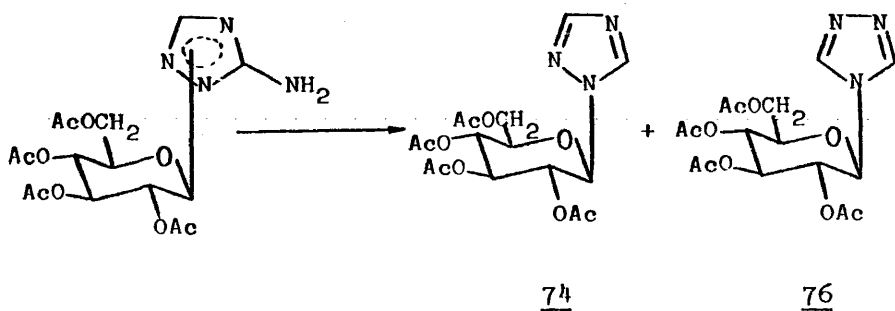
La reducción por hidrogenación catalítica de los nitro-1,2,4-triazol derivados 127 y 128 empleando paladio sobre carbón como catalizador, condujo a los correspondientes amino-1,2,4-triazol derivados 130 y 131. En sus espectros de IR se observó la desaparición de las bandas a 1530 cm^{-1} y 1340 cm^{-1} características del grupo nitro y la aparición de bandas en la zona de $3300\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ indicativas del grupo NH_2 . Los espectros de RMN de 130 y 131 fueron muy semejantes a los nitroderivados 127 y 128 de los que procedían, en lo que respecta a los protones del azúcar, con excepción del protón anómérico que apareció a $\delta = 5,82$ y $\delta = 5,53$ en DMSO y CDCl_3 respectivamente para el derivado 130 y a $\delta = 5,83$ y $\delta = 5,51$ en DMSO y CDCl_3 respectivamente para el derivado 131.



En todos los casos la señal correspondiente al protón anomero apareció como un doblete de $J_{1,2'} = 9$ Hz, que como ya se ha mencionado, indicó que tanto 130 como 131 tenían configuración anomérica β . En ambos amino derivados el protón anomero apareció a campo más alto que en los correspondientes nitroderivados 127 y 128 (tabla-7). Sin embargo en el caso del 5-amino derivado 130 dicho desplazamiento a campo alto, con respecto al 5-nitro derivado 127, es de 0,84 ppm en DMSO, claramente mayor que en el caso del amino derivado 131 con respecto al 3-nitro-compuesto 128, en el que el desplazamiento a campo alto es de 0,41 ppm en DMSO y de solo 0,15 ppm en CDCl_3 . La gran diferencia de desplazamientos químicos a campo alto al reducir el grupo nitro, confirma que en el derivado 127 el grupo nitro está contiguo al resto de azúcar, es decir en posición-5, mientras que en el derivado 128 el grupo nitro debe estar alejado del azúcar, es decir debe tener estructura de 1-glucosil-3-nitro derivado 128 y no de 4-glucosil-3-nitro derivado 129. Esta asignación se confirmó mediante los valores de $\Delta\delta = \delta_{\text{DMSO}} - \delta_{\text{CDCl}_3}$ de los protones aromáticos triazólicos, que fueron $\Delta\delta = 0,3$ para el derivado 131 y $\Delta\delta = -0,08$ para el derivado 130 (tabla-7). Conviene tener en cuenta en este momento que 131, que presenta el mayor valor de $\Delta\delta$, procede de 128 que también presentaba el mayor valor de $\Delta\delta$, y que los valores menores de $\Delta\delta$ son los del nitro derivado 127 y de su producto de reducción 130. Estos valores de 130 y 131 permiten asignar con bastante seguridad las posiciones de glucosidación. Así, el mayor valor de $\Delta\delta$ de 131 indica que el protón triazólico está contiguo al átomo de nitrógeno sustituido, es decir, se trata de un 5-amino-1-glucosil derivado. Sin embargo, debido a la importancia de la asignación de la posición de

glucosidación de los amino-1,2,4-triazol derivados 130 y 131 que permitiría además la elucidación total de las estructuras de los nitro-1,2,4-triazol derivados 127 y 128 de los que proceden, y -elaborar un criterio espectroscópico rápido y cómodo, se llevó a cabo la asignación de las estructuras de los derivados 130 y 131 por métodos químicos, de la forma que se indica a continuación.

Por reacción de desaminación reductiva de los amino derivados 130 y 131 se elimina el grupo NH_2 pudiéndose obtener de este modo dos nucleósidos de 1,2,4-triazol 74 y 76. Como ya se mencionó anteriormente en el capítulo 3, los dos nucleósidos 74 y 76 serían perfectamente diferenciables por espectroscopía de RMN ya que debido a su simetría, los dos protones aromáticos triazólicos del nucleósido 76 darían una sola banda en el espectro de RMN, mientras que dichos dos protones aparecerían claramente separados en dos bandas en al caso del nucleósido 74.

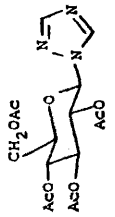


START OF SWEEP

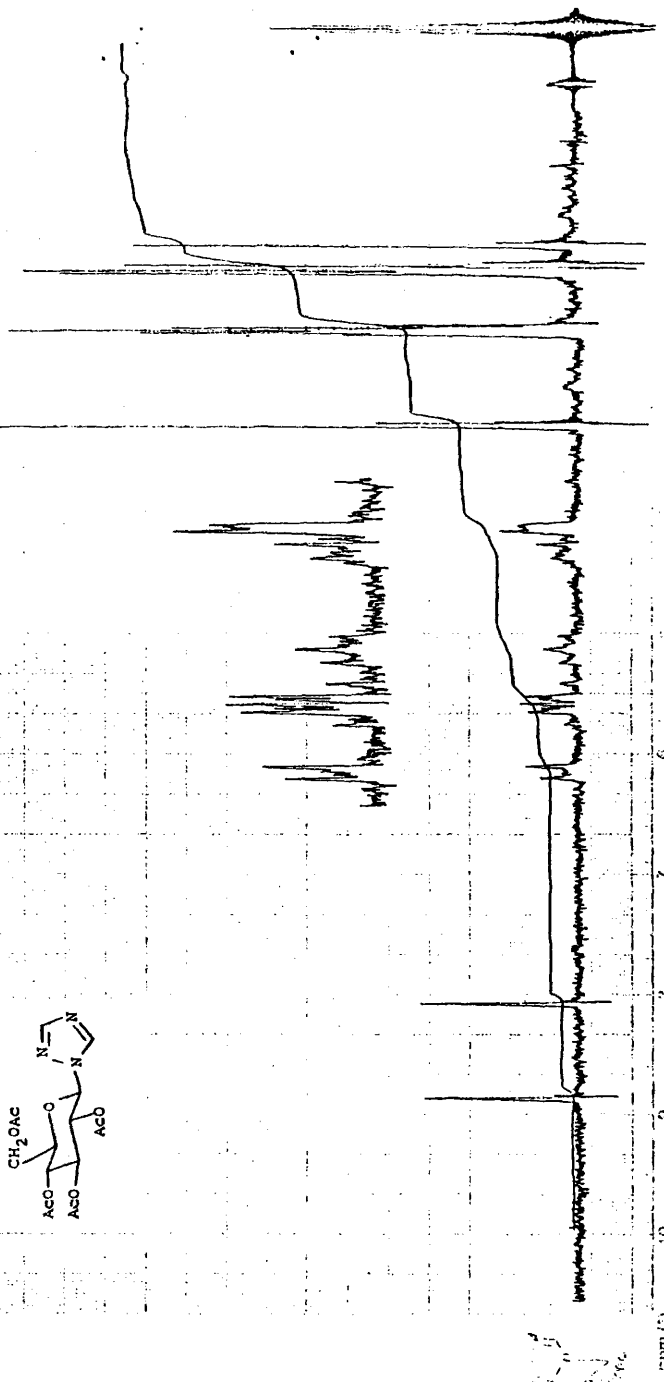
START OF SWEEP

10ppm
5ppm
2ppm

δ CH ₂	750	500	450
δ H	375	350	225
δ N	150	125	100

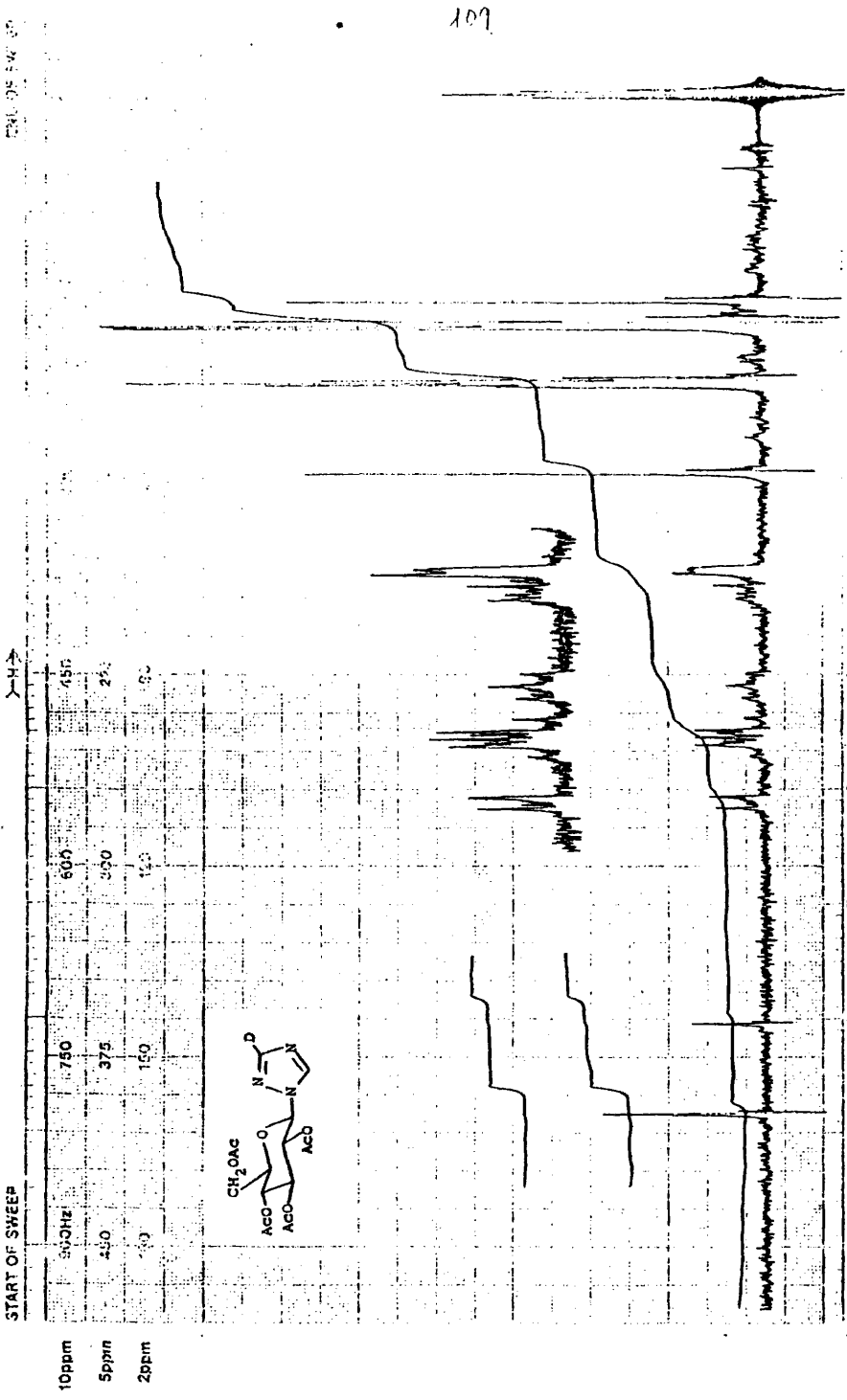


108



LOCK POS. _____ ppm SPECTRUM AMPL. _____ SWEEP TIME _____ 5 _____
 LOCK POWER _____ mG
 DECOUPLE POS. _____ ppm
 DECOUPLING POWER _____ mG
 FILTER: CW
 REF. POWER: 100 mW
 SWEEP WIDTH: 10 ppm
 REF. SWEEP: 100 mG

VAH:RN INTRUM:RUC DIVISION



LOCK POS. _____ ppm SPECTRUM AMPL. 1.9 SWEEP TIME _____

LOCK POWER _____ mg FILTER 0.05 sec SWEEP WIDTH _____ ppm

DECOUPLE POS. _____ ppm DECOUPLING POWER _____ mg RF POWER 0.02 mg END OF SWEEP _____

SAMPLE NAME _____

Por tanto, la formación del nucleósido 74 sería indicativa de que el amino-1,2,4-triazol del que procede, está glicosidado en N-1 ó N-2, mientras que la obtención del nucleósido 76 indicaría que el amino-1,2,4-triazol de partida está glicosidado en N-4.

En la reacción de desaminación de los derivados 130 y 131 con nitrito sódico en presencia de ácido hipofosforoso, se obtuvo un mismo producto en ambos casos, el nucleósido 74, que en su espectro de RMN, presentó en la zona correspondiente a los protones aromáticos dos singletes a $\delta = 8,86$ y $\delta = 8,07$ en DMSO y que resultó ser idéntico al nucleósido de 1,2,4-triazol con α -acetobromoglucosa, cuya síntesis se describió en el apartado 3.2. La formación de dicho nucleósido 74 a partir tanto del amino derivado 130 como del amino derivado 131 indicó que la posición de glucosidación en ambos amino derivados y por tanto en los nitro derivados 127 y 128 de los que procedían por reducción, era en uno de los dos nitrógenos triazólicos contiguos, N-1 y N-2. Esto permitió descartar definitivamente una estructura como 129.

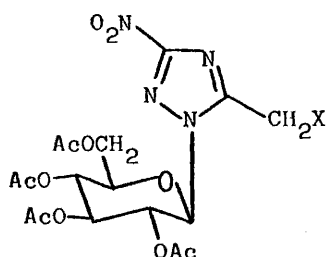
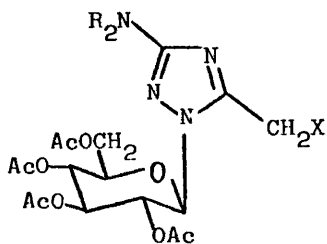
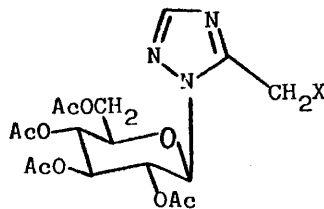
La asignación de la posición del grupo NH_2 en los derivados 130 y 131 se realizó por desaminación reductiva en presencia de ácido hipofosforoso deuterado. La reacción del derivado 131 con nitrito sódico en D_2O en presencia de ácido hipofosforoso deuterado dió como resultado la obtención de un producto 132 cuyo espectro de RMN fué idéntico al espectro del 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-1,2,4-triazol 74 excepto que la intensidad de la señal que aparecía a $\delta = 8,07$ se redujo aproximadamente un 54 %. Como ya se mencionó en el apartado 3.2 la señal que aparece a campo mas alto $\delta_{\text{DMSO}} = 8,07$ se asigna al protón

triazólico H-3, que no está sometido al desapantallamiento del azúcar, y la que aparece a campo mas bajo, $\delta_{\text{DMSO}} = 8,86$, se asigna al H-5 que está desapantallado por el azúcar¹¹³. Como consecuencia de la desaminación, el átomo de deuterio entra en la posición 3, lo que significa que el grupo amino en el derivado 131 está situado en dicha posición-3 y por consiguiente el grupo nitro en el nitro derivado 128 del que procede, está también situado en posición-3. La posición del grupo NH₂ en el derivado 130 y del NO₂ en el derivado 127 se asignan, lógicamente, como posición-5. Esta asignación inequívoca coincide con las asignaciones previas realizadas por métodos espectroscópicos sobre las parejas de nitro derivados 127 y 128 y amino derivados 130 y 131.

5.2- TENTATIVAS DE OBTENCION DE NUCLEOSIDOS ALQUILANTES A PARTIR DE 1-GLUCOSIDOS DE 3-NITRO-1,2,4-TRIAZOL Y 3-AMINO-1,2,4-TRIAZOL

Se han realizado varios intentos para la preparación de nucleósidos alquilantes de 3-nitro-1,2,4-triazol y 3-amino-1,2,4-triazol que responderían a las fórmulas generales 133 y 134. Los nucleósidos de fórmulas 133 y 134 serían los análogos sustituidos de los halometil-1,2,4-triazoles de fórmula general 80 cuya síntesis se describió en el apartado 3.4. La obtención de los nucleósidos alquilantes de nitro- y amino-1,2,4-triazol 133 y 134 habría permitido estudiar el efecto que los grupos atractores y donadores de electrones sobre el anillo de triazol ejercen sobre la capacidad alquilante, sobre la actividad citostática y quizás sobre la selectividad de estos compuestos.



13313480

X= Cl, Br, I

R= H, COCH₃

5.2.1- Tentativas de preparación de nucleósidos alquilantes derivados de 3-nitro-1,2,4-triazol

Con el fin de introducir el grupo halometilo directamente sobre el anillo de nitro-1,2,4-triazol se intentó la reacción de clorometilación de 1-glucosil-3-nitro-1,2,4-triazol - 128 con clorometil-metil-eter. Este intento, que habría conducido al compuesto 133 (X = Cl), fue infructuoso y siempre se recuperó el producto de partida inalterado. Análogamente los intentos de hidroximetilación por reacción del derivado 128 con formaldehído acuoso a 130 °C durante 18 horas, que habrían conducido a 133 (X = OH), también fueron infructuosos ya que se recuperó nuevamente

el producto de partida inalterado. El empleo de temperaturas de reacción mas elevadas durante tiempos mas largos, dió lugar a la formación de muchos productos de descomposición, de desacetilación, productos poliméricos de formaldehído, etc.

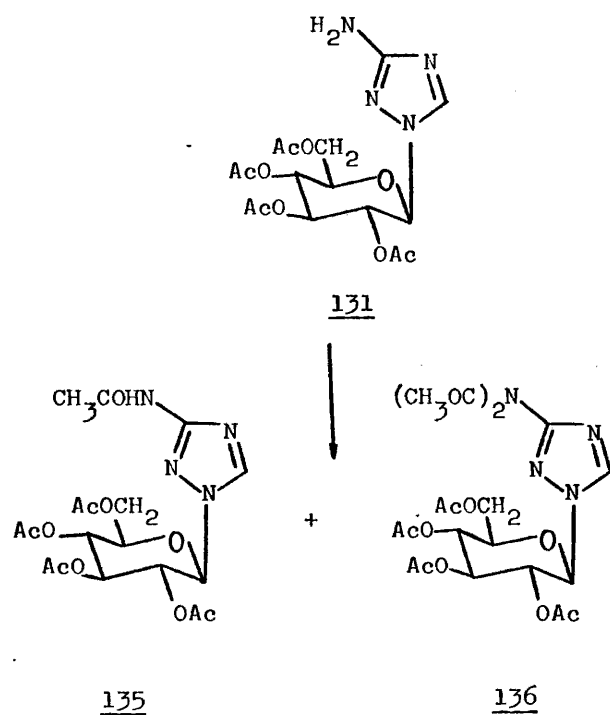
El hecho de que tanto con el clorometil-metil eter, como con el formaldehído no se produjese reacción alguna y se recuperara el producto de partida inalterado, podría ser debido a que ambas reacciones son reacciones de sustitución electrófila sobre el anillo aromático y en este caso la sustitución electrófila está poco favorecida debido al efecto desactivante¹²⁶ del anillo de 1,2,4-triazol.

5.2.2- Tentativas de preparación de nucleósidos alquilantes derivados de 3-amino-1,2,4-triazol

Los procedimientos empleados para la introducción del resto alquilante en el anillo de 3-amino-1,2,4-triazol fueron los mismos que en el caso del anillo de 3-nitro-1,2,4-triazol, es decir, clorometilación con clorometilmetileter e hidroximetilación con formaldehído acuoso. En las reacciones de clorometilación e hidroximetilación no se utilizó como producto de partida el 3-amino derivado 131, ya que el grupo NH₂ libre podría reaccionar intermolecularmente con el grupo halometilo (CH₂X) del producto final. Por ello se decidió acetilar dicho grupo amino con el fin de disminuir su nucleofilia.

En la reacción del 3-amino-1,2,4-triazol derivado 131 con anhídrido acético en piridina a temperatura ambiente

se obtuvieron dos productos cuyos análisis elementales indicaron que se trataba de un monoacetil derivado 135 y de un diacetil derivado 136. Las estructuras de los compuestos 135 y 136 se deter



minaron por métodos espectroscópicos. En primer lugar, el valor de la constante de acoplamiento $J_{1,2} = 9$ Hz, tanto para 135 como para 136, indicó que la configuración anómera del enlace glucosídico en ambos derivados era β , igual que la del amino derivado 131 de partida. El espectro de IR de 135 indicó su carácter de monoacetilamino derivado ya que mostró a 1695 cm^{-1} una banda fuerte, asignable al grupo C=O amídico y a 3330 cm^{-1} una banda ancha, asignable a la vibración de tensión N-H. Es a asignación se confirmó median

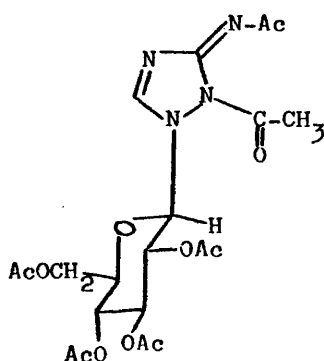
te el espectro de masas por la aparición del pico molecular a m/e 456 que correspondía a la masa esperada, y mediante el espectro de RMN por la aparición de una quinta banda en la zona donde aparecían los cuatro acetilos protectores de los hidroxilos del resto de azúcar. Esta quinta banda se asignó al grupo acetilamino. La naturaleza de 136 como diacetil amino derivado se confirmó mediante el espectro de IR por la aparición de la banda a 3330cm^{-1} correspondiente a la vibración de tensión del NH amídico. También se confirmó por la aparición en el espectro de RMN de una sexta banda en la zona de los acetilos, que se atribuyó al segundo grupo N-acetilo. Desde el punto de vista químico, y de acuerdo con los datos de la bibliografía, la acilación de amino-1,2,4-triazoles N-sustituídos se produce sobre el NH_2 exocíclico y no sobre un átomo de N del heterociclo. Concretamente, la acetilación del 1-acetil-3-amino-1,2,4-triazol conduce al 1-acetil-3-acetilamino-1,2,4-triazol^{127,128}. En nuestro caso, la unión del grupo acetilo de 135 y de los dos grupos acetilo de 136 al átomo de nitrógeno exocíclico, se confirmó mediante espectroscopía de UV (Tabla-11), ya que la semejanza de los espectros de UV de los compuestos 131, 135, y 136 indicó la analogía de sus cromóforos. Una vez definida la estructura de 131 como la de un 1-glucosil-3-amino-1,2,4-triazol, dicha semejanza de cromóforos exigía que 135, fuese un 1-glucosil-3-acetilamino-1,2,4-triazol y 136 fuese un 1-glucosil-3-diacetilamino-1,2,4-triazol. Esta asignación se confirmó también mediante la espectroscopía de RMN por comparación de los desplazamientos químicos de los protones anómeros y de los protones triazólicos H-5 de los compuestos 131, 135 y 136.

Como puede verse en la Tabla-7 el desplazamiento quí-

mico, en el mismo disolvente, del protón triazólico H-5 sufre una variación en el mismo sentido y aproximadamente de la misma magnitud al pasar del NH_2 en el derivado 131 al NHAc en el derivado -- 135 y al NAc_2 en el derivado 136. Así el H-5 en el derivado 135 -- sufre un desplazamiento a campo bajo de 0,41 ppm respecto al derivado 131 y en el diacetil derivado 136 dicho protón se ve desplazado a campo mas bajo 0,28ppm respecto al derivado 135. Este hecho indica que la diferencia estructural entre el diacetil derivado 136 (NAc_2) y el monoacetil derivado 135 (NHAc) es del mismo tipo que entre el monoacetil derivado 135 (NHAc) y el amino derivado 131 (NH_2). Por otra parte, el desplazamiento químico del protón anómero (H-1') del azúcar es practicamente igual en el diacetil derivado 136, en el monoacetil derivado 135 y en el amino derivado 131, lo que confirma las estructuras asignadas a 135 y 136 y parece excluir la posibilidad de una estructura de tipo 137 para el diacetilamino derivado 136 que resultaría de la entrada del -- segundo grupo acetilo sobre el átomo de nitrógeno N-2 del anillo. En una estructura como 137 el protón anómero (H-1') se vería desapantallado por el C=O del nitrógeno contiguo¹¹⁴. El hecho de que H-5 se desplace hacia campos mas bajos al pasar de 131 → 135 → 136, también parece excluir la posibilidad de la estructura de tipo 137 en la que se rompería la aromaticidad del anillo de 1,2,4-triazol, lo que implicaría el desplazamiento del protón H-5-triazólico a campos mas altos con respecto a 135 y no a campos mas bajos como de hecho sucede.

El diacetil derivado 136 , a pesar de ser un producto cristalino perdía facilmente un grupo acetilo dando lu-

gar al monoacetil derivado 135. De hecho en la reacción de acetilación el producto que se forma mayoritariamente es el diacetil derivado 136, que se transforma en el monoacetil derivado 135 a -

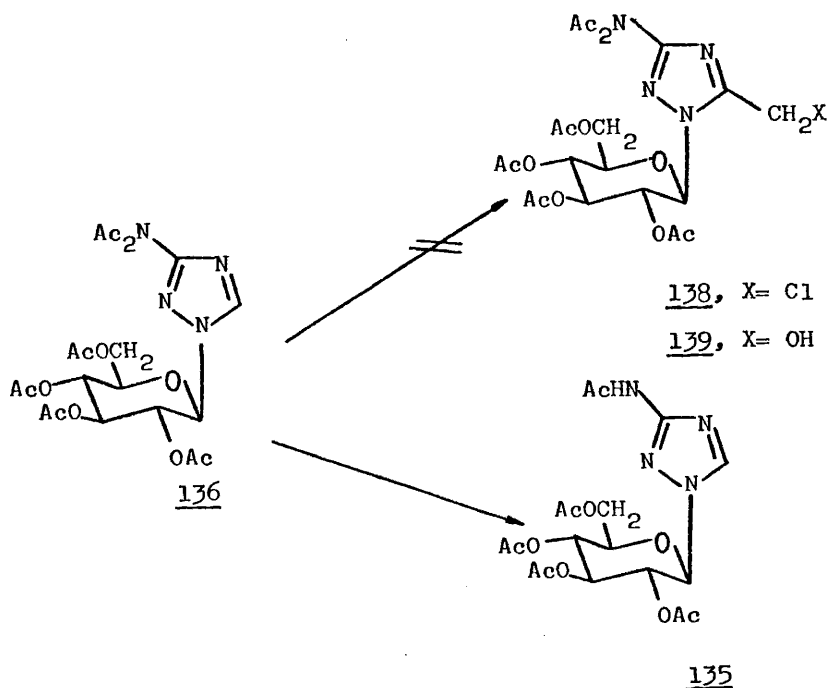
137

medida que transcurre el tiempo de reacción.

La reacción del diacetil derivado con clorometilmetiléter en presencia de tetracloruro de estaño como catalizador, no condujo al clorometil derivado 138 que cabía esperar, - sino que en la reacción se produjo la desacetilación de 136 que - condujo al monoacetil derivado 135. El hecho de que en la reacción se forme el monoacetil derivado 135, parece indicar la gran labilidad de uno de los acetilos del diacetil derivado 136. Para confirmar este hecho se trató el diacetil derivado 136 con Cl_4Sn en 1,2-dimetoxietano a temperatura ambiente, obteniéndose de este modo - el monoacetil derivado 135.

El segundo procedimiento que se intentó para

la preparación de los nucleósidos alquilantes de 3-amino-1,2,4-triazol, fue la hidroximetilación con formaldehído. La reacción del diacetil derivado 136 con formaldehído acuoso a 130°C durante 18 horas no condujo al hidroximetil derivado 139 deseado, sino

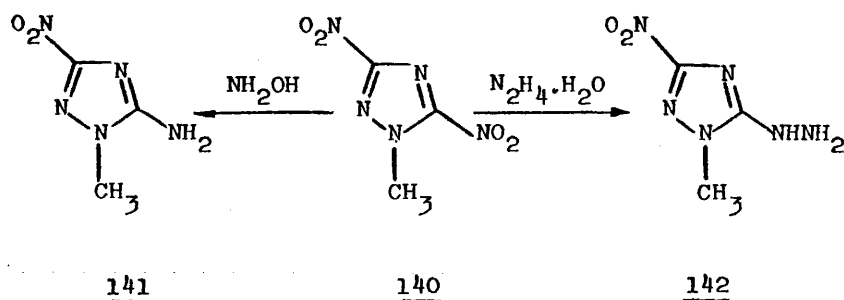


que se obtuvieron muchos productos de descomposición, de desacetilación, productos poliméricos de formaldehído etc. Cuando la reacción se intentó en condiciones menos energéticas de temperatura y tiempo de reacción, se obtuvo únicamente el monoacetil derivado 135. En la reacción del monoacetil derivado 135 con formaldehído

acuoso a 100°C durante 16 horas, se recuperó el producto de partida inalterado, cuando la reacción se realizó en condiciones más energéticas de temperatura y tiempo de reacción se obtuvieron únicamente productos de descomposición.

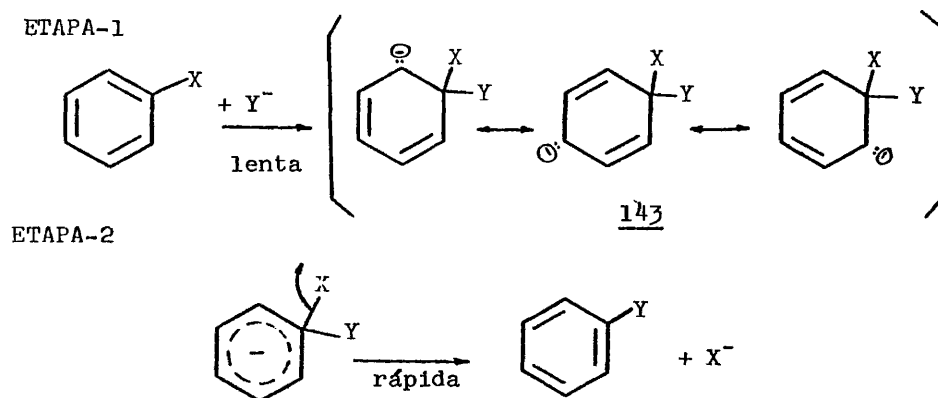
5.3- REACCIONES DE SUSTITUCION NUCLEOFILA EN 1-GLUCOSIL-5-NITRO-1,2,4-TRIAZOLES

Algunos derivados de nitro-1,2,4-triazol poseen un grupo nitro activado que puede ser desplazado por la acción de diversos nucleófilos, así el 1-metil-3,5-dinitro-1,2,4-triazol 140 posee un grupo 5-nitro activado, que es desplazado por la acción del hidróxido amónico¹²⁹ para dar el derivado 141.



Por otra parte el tratamiento de 140 con hidrato de hidrazina del 95%, da lugar al desplazamiento del grupo 5-nitro para dar el 5-hidrazino-triazol 142.

Estas reacciones transcurren según el mecanismo denominado S_NAr o de "adición-eliminación", que es el más importante mecanismo de sustitución nucleófila aromática y transcurre en dos etapas:



Esquema-XI

Este mecanismo es denominado a veces, S_N2 porque es bimolecular pero el ataque del nucleófilo (Y) y la salida del grupo saliente (X) no son simultáneos, formándose el intermedio 143. Este tipo de intermedios son sales estables que se conocen como "sales de Meisenheimer" y que han podido aislarse en muchos casos¹³¹.

En el mecanismo S_NAr el enlace Ar-X no se rompe hasta después de la etapa-1 (determinante de la velocidad de reacción), por tanto un cambio en el grupo saliente no ejercerá un gran efecto en la velocidad de reacción. Los grupos salientes en las sustituciones nucleófilas alifáticas (haluro, sulfato, sulfonato, etc.) son también grupos salientes en las sustituciones nucleófilas aromáticas, pero grupos tales como NO_2 , OR, OAr, SO_2R y SR que no son buenos grupos salientes en sistemas alifáticos¹³²

son grupos salientes cuando están unidos a anillos aromáticos. Sorprendentemente, el grupo NO_2 es un buen grupo saliente¹³³.

Por reacción del 5-nitro-1,2,4-triazol derivado 127 con H_2O a temperatura ambiente durante 15 días se obtuvo el producto 144 con rendimiento cuantitativo. La estructura del derivado 144 se determinó en base a sus datos analíticos y espectroscópicos. El análisis elemental indicó la sustitución del grupo NO_2 por el grupo $\text{C}=\text{O}$. En el espectro de IR se observó la desaparición de las bandas del grupo NO_2 a 1530 cm^{-1} y 1340 cm^{-1} y la aparición de una banda a 1710 cm^{-1} asignable al $\text{C}=\text{O}$ triazólico. El espectro de RMN de 144 no presentó grandes diferencias con el espectro de RMN del derivado 127, salvo en el protón anomero H-1' que apareció a $\delta_{\text{DMSO}} = 6,64$ para 127 y a $\delta_{\text{DMSO}} = 5,66$ para 144, y en el protón aromático triazólico que apareció a $\delta_{\text{DMSO}} = 8,45$ para 127 y a $\delta_{\text{DMSO}} = 7,86$ para 144. El desplazamiento a campo más alto de los protones mencionados de 144 se atribuye a la desaparición del efecto anisotrópico y del efecto de atracción de e^- del grupo nitro. El valor de $\Delta\delta = 0,39$ ($\Delta\delta = \delta_{\text{DMSO}} - \delta_{\text{CDCl}_3}$) para dicho protón triazólico en el derivado 144 indicó que dicho protón no se hallaba en posición contigua al N-sustituido y por tanto no era sensible al cambio de disolvente¹⁰⁴, y por tanto en la reacción de $\text{S}_\text{N}\text{Ar}$ del grupo NO_2 por el grupo $=\text{O}$ no se había producido variación en la posición de glicosidación. Por otra parte, existía una gran semejanza entre los espectros de RMN de la 1-glucosil-1,2,4-triazolin-5-ona 144 y de la 1-glucosil-3-metil-1,2,4-triazolin-5-ona 92 descrita en el apartado 4.1. Así el protón triazólico aromático apareció a $\delta_{\text{DMSO}} 5,63$ para 92 y $\delta_{\text{DMSO}} 5,66$

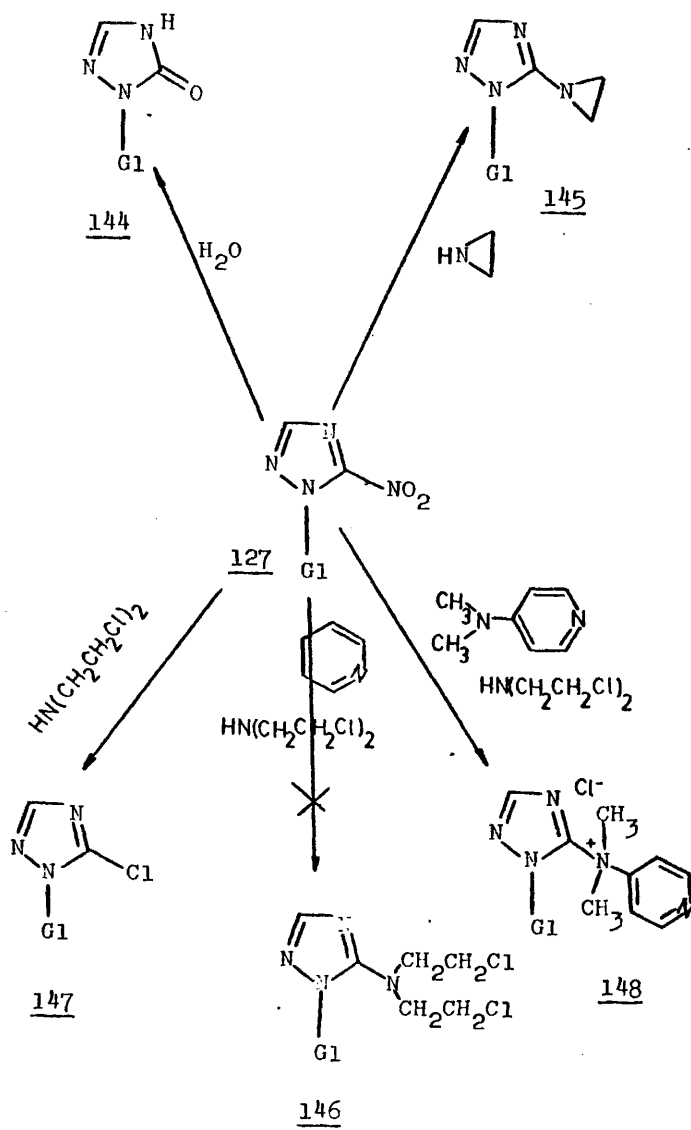
para 144. Lo que confirmaba la estructura asignada al derivado 92.

Con el fin de aprovechar la característica de 127 de participar en reacciones de sustitución nucleófila para la preparación de N-glucósidos alquilantes, se pensó en hacerle reaccionar con aziridina y con mostaza nitrogenada, lo que debería conducir a los nucleósidos correspondientes portadores de grupos alquilantes clásicos.

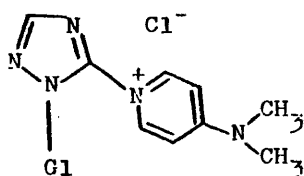
Así, el 5-aziridinil-1,2,4-triazol derivado 145 se obtuvo por reacción del 5-nitro-1,2,4-triazol derivado 127 con aziridina. El análisis elemental de 145 indicó la sustitución del grupo NO_2 por el grupo aziridinilo. En el espectro de IR se observó la desaparición de las bandas correspondientes al grupo NO_2 a 1530cm^{-1} y a 1340cm^{-1} . Los espectros de RMN de 127 y 145 fueron muy semejantes, salvo en las señales del H-1' que apareció a $\delta_{\text{DMSO}} = 6,66$ para 127 y $\delta_{\text{DMSO}} = 6,15$ para 145 y del H-3 triazólico que apareció a $\delta_{\text{DMSO}} = 8,45$ para 127 y $\delta_{\text{DMSO}} = 7,55$ para 145. De nuevo, el desplazamiento de las señales de H-1' y H-3 a campo más alto se debe a la desaparición del grupo nitro. El valor de $\Delta\delta = 0,07\text{ppm}$ ($\Delta\delta = \delta_{\text{DMSO}} - \delta_{\text{CDCl}_3}$) para dicho protón triazólico en el derivado 145 indicó que dicho protón no era sensible al cambio de disolvente y por tanto no estaba en posición contigua al N-sustituido, este hecho confirmaba que en la reacción de $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ del NO_2 por el grupo aziridino no se había producido variación en la posición de glicosidación. En el espectro de RMN de 145 se observó además la aparición de un singlete a $\delta = 2,39$ que integraba para 4 protones y que se asignó como la señal correspondiente a los protones del grupo 5-aziridinilo.

Con el fin de preparar el derivado de mostaza nitrogenada 146 se hizo reaccionar el derivado 127 con bis(2-cloroetil)amina recientemente liberada de su hidrocioruro, aislándose en esta reacción no el 5-bis(2-cloroetil)amino-1,2,4-triazol derivado 146 esperado sino el 5-cloro-1,2,4-triazol derivado 147, resultante de la S_NAr del grupo NO_2 en el derivado 127 por el grupo Cl^- generado a partir de la bis(2-cloroetil)amina. El ión cloruro procede posiblemente del cloruro de 2-cloroetil-etilenimonio $ClCH_2CH_2N^+ \triangleleft Cl^-$ que se forma fácilmente a partir de la bis(2-cloroetil)amina y/o de ácido clorhídrico formado a partir del mismo compuesto durante el curso de la reacción. La estructura del derivado 147 se estableció en base a sus datos analíticos y espectroscópicos. El análisis elemental indicó la sustitución del grupo NO_2 por el átomo de Cl , que quedó confirmado en el espectro de masas por la aparición de picos a m/e 374(1%) y a m/e 376(0,3%) con la relación de intensidades característica de los compuestos monoclorados, procedentes de la pérdida de $C_2H_3O_2$ a partir del ión molecular. El espectro de RMN fue muy semejante al espectro de RMN del producto de partida 127 salvo la señal correspondiente al H-1' que apareció a $\delta_{DMSO} = 6,30$ y la señal del protón triazólico aromático que apareció a $\delta_{DMSO} = 8,20$, ambos a campo mas alto que los protones correspondientes del nitrotriazol de partida. El valor de $\Delta\delta = 0,28$ para dicho protón triazólico indicó que no se había producido variación en la posición de glicosidación.

Cuando la reacción entre el derivado 127 y la bis(2-cloroetil)amina se realizó en presencia de piridina como aceptor del HCl liberado, se obtuvo el derivado de amonio cuater-

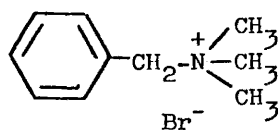
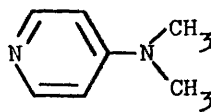


nario 148 resultante del ataque nucleófilo de la 4-dimetilamino-piridina sobre el 5-nitro-1,2,4-triazol derivado 127. El espectro de RMN de 148 presentó la señal correspondiente al H-1' a $\delta_{\text{DMSO}+\text{D}_2\text{O}} = 6,15$ y la señal correspondiente al H-3 triazólico a $\delta_{\text{DMSO}+\text{D}_2\text{O}} = 8,33$. También se observó la aparición de un singlete a $\delta = 3,40$ que integró para 6 protones y que se asignó como la señal correspondiente a los dos CH_3 unidos al átomo de N cuaternario, y de un doblete a $\delta = 7,26$ que integraba para dos protones y un multiplete a $\delta = 8,33$ que integraba para dos protones, que se asignaron como las señales correspondientes a los protones de la piridina. La formación de la sal de amonio cuaternario 148 y no del derivado 149 se confirmó por espectroscopía de RMN comparando el

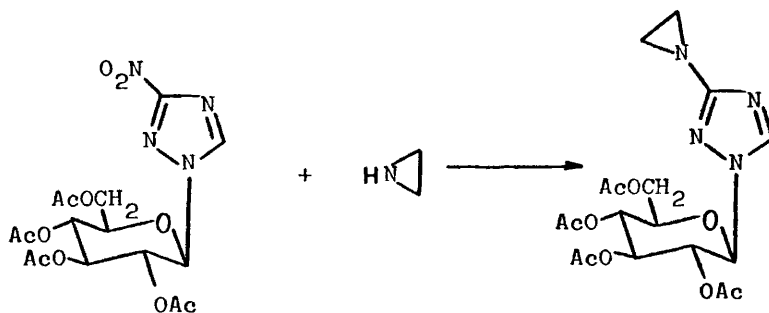
149

valor del desplazamiento químico de las señales correspondientes a los N-CH_3 del derivado 148 con las de los compuestos 150 y 151. El valor de dichos desplazamientos químicos fue $\delta = 3,40$ para 148 $\delta = 3,17$ para 150 y $\delta = 2,99$ para 151, mas semejante a los metilos

unidos al átomo de N-cuaternario del bromuro de bencil-trimetil amonio 150 que a los metilos de la 4-dimetilaminopiridina 151.

150151

Con el fin de comprobar si el grupo NO₂ unido en posición-3 del anillo de 1,2,4-triazol era también capaz de dar reacciones de S_NAr con nucleófilos, se hizo reaccionar el 3-nitro-1,2,4-triazol derivado 128 con aziridina a temperatura ambiente - durante 5 días, recuperándose el producto de partida inalterado.

128152

En la Tabla-8 se incluyen los valores de los desplazamientos químicos de los protones correspondientes a todos los productos descritos en el presente apartado.

128

T A B L A S

TABLA-1

Parámetros magnéticos de 2,3,5-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosil azida (31), 1-ribofuranosil-1,2,3-triazoles (36, 37, 41, 43, 46, 47, 49, 50, 51 y 53) y 1-metil-1,2,3-triazoles (38 y 39)

Registrados a 100 MHz

Desplazamientos Químicos (δ)

Compuesto	Disolvente	H-1'	H-4	H-5	$\Delta\delta$	CH ₂ X(4)	CH ₂ X(5)	CH ₃
<u>31</u>	CDCl ₃	5,33						2,05 2,09 (6H)
<u>36</u>	DMSO	6,30	8,14	0,45	4,51			1,97 2,08 (6H)
<u>36</u>	CDCl ₃	6,10	7,71		4,73			2,03 2,09 (6H)
<u>37</u>	DMSO	6,26	7,65	0,17		4,59		1,89 2,07 2,09
<u>37</u>	CDCl ₃	6,21	7,48			4,74		1,96 2,09 2,11
<u>38</u>	DMSO		7,72	8,08				
<u>38</u>	CDCl ₃		7,74	7,59				
<u>39</u>	DMSO			8,31				
<u>39</u>	CDCl ₃			7,60				
* <u>41</u>	DMSO	6,35	8,30	0,33	**			1,39 1,57
* <u>41</u>	CDCl ₃	6,20	7,97					1,41 1,62
* <u>43</u>	DMSO	6,40	7,80	0,12		4,75		1,39 1,55
* <u>43</u>	CDCl ₃	6,35	7,68					1,42 1,62

TABLA-1
(Continuación)

Compuesto	Disolvente	H-1'	H-4	H-5	$\Delta\delta$	CH ₂ X(4)	CH ₂ X(5)	CH ₃
<u>46</u>	DMSO	6,35		8,37	0,60	4,83		1,95 2,08 (6H)
<u>46</u>	CDCl ₃	6,11		7,77		4,68		2,05 2,11 (6H)
<u>47</u>	DMSO	6,36	7,86		0,21		4,99	1,89 2,08 2,10
<u>47</u>	CDCl ₃	6,11	7,65				4,68	1,96 2,11 2,13
<u>49</u>	DMSO	6,33		8,36	0,48	4,73		1,95 2,08 (6H)
<u>49</u>	CDCl ₃	6,11		7,78		4,55		2,06 2,11 (6H)
<u>50</u>	CDCl ₃	6,14				4,77	4,80	2,00 2,14 2,16
<u>51</u>	CDCl ₃	6,21				4,62	4,73	1,97 2,10 (6H)
<u>52</u>	DMSO	6,30		8,29	0,59	4,56		1,97 2,07 (6H)
<u>52</u>	CDCl ₃	6,07		7,70		4,42		2,07 2,11 (6H)

*Registrados a 60 MHz

** [4,5-4,8] (m,5,H-4,H-5; H-5; CH₂OH)

TABLA-1. (Cont.). Constantes de acoplamiento (Hz)

Compuesto	$J_{1'2'}$	$J_{2'3'}$	$J_{3'4'}$
<u>31</u>	2	5	
<u>36</u>	3,5	5,5	
<u>37</u>	2,5	5	6
<u>41</u>	2,5	6	6
<u>43</u>	3	6	
<u>46</u>	3,5	5,5	5,5
<u>47</u>	3,5	5	5,5
<u>49</u>	3,5	5,5	5,5
<u>50</u>		4,5	6
<u>51</u>	3	5,5	5
<u>53</u>	4	5	5,5

TABLA-2

Parámetros magnéticos de 2,3-O-isopropilideno-5-O-tritil- α -D-ribofuranosil azida (29)
y 2,3-O-isopropilideno-5-O-tritil- α -D-ribofuranosil-1,2,3-triazoles (44, 45, 48 y 52)

Registrados a 90 MHz

Desplazamientos Químicos (δ)

Comp.	Disolv.	H-1'	H-5' _a	H-5' _b	H-4'	H-5'	$\Delta\delta$	CH ₂ X(4)	CH ₂ X(5)	CH ₃
<u>29</u>	CDCl ₃	5,25	3,47	3,10						1,33 1,58
* <u>44</u>	DMSO	6,60		3,28		8,20	0,30	4,87		1,28 1,37
* <u>44</u>	CDCl ₃	6,79	3,59	3,22		7,90		4,73		1,20 1,31
<u>45</u>	DMSO	6,65		3,27	7,80		0,02		4,98	1,20 1,24
<u>45</u>	CDCl ₃	6,89	3,63	3,23	7,78				4,82	1,28 1,36
<u>48</u>	DMSO	6,59		3,27		8,19	0,33	4,75		1,27 1,36
<u>48</u>	CDCl ₃	6,75	3,56	3,20		7,86		4,57		1,28 1,39
<u>52</u>	DMSO	6,56		3,29		8,14	0,27	4,61		1,28 1,38
<u>52</u>	CDCl ₃	6,79	3,60	3,23		7,87		4,54		1,33 1,46

*También aparecen las señales de una molécula de acetato de etilo de cristalización a

δ 1,16(t,3,CH₃CH₂O-), 1,98(s,3 CH₃CO), 4,10(q,2,CH₃CH₂O-) en DMSO y a δ 1,25(t,3,CH₃CH₂O)
2,02(s,3,CH₃CO), 4,12(q,2,CH₃CH₂O-) en CDCl₃

TABLA-2. (Cont.). Constantes de acoplamiento(Hz)

Compuesto	$J_{1'2'}$	$J_{2'3'}$	$J_{3'4'}$	$J_{4'5'_a}$	$J_{4'5'_b}$	$J_{5'_a5'_b}$
<u>29</u>	4	6	< 0,5	3	3,5	10,5
<u>44</u>	4,5	6	< 0,5	3	3,5	10,5
<u>45</u>	5	6	< 0,5	3	3	10
<u>48</u>	4,5			3	3	10
<u>52</u>	4			3	3	10,5

TABLA-3

Parámetros magnéticos de 1-glucosil-1,2,4-triazoles (74,79,81,83-86) y 1-ribosil-1,2,4-triazoles (73,77,78 y 82)

Registrados a 90 MHz

Desplazamientos Químicos (δ)

Compuesto	Disolvente	H-1'	H-3	H-5	CH ₂ X(5)	OAc	J _{1,2} (Hz)
* <u>73</u>	DMSO	6,39	8,27	8,88		1,03 1,13 (6H)	4
* <u>73</u>	CDCl ₃	6,09	8,12	8,38		2,10 2,15 (6H)	
<u>74</u>	DMSO	6,16	8,12	8,90		1,80 1,97 2,01 2,04	9
<u>74</u>	CDCl ₃	5,72	8,10	8,46		1,91 2,07 2,11 (6H)	
* a <u>77</u>	DMSO	5,91	8,19	8,93			4
* <u>78</u>	DMSO	6,43	8,13		4,72	1,99 2,09 2,11	4
* <u>78</u>	CDCl ₃	6,35	7,97		4,89	2,07 2,15 (6H)	
<u>79</u>	DMSO	6,33	8,07		4,79	1,81 1,98 2,02 2,05	8
<u>79</u>	CDCl ₃	5,96	7,83		4,90	1,87 2,03 2,08 (6H)	
<u>81</u>	CDCl ₃	5,80	7,90		4,77	1,88 2,03 2,08 (6H)	8
<u>82</u>	CDCl ₃	6,14	7,93		4,60	2,03 2,13 2,15	3
<u>83</u>	CDCl ₃	5,78	7,90		4,60	1,90 2,04 2,09 (6H)	8

TABLA-3
(Continuación)

Compuesto	Disolvente	H-1'	H-3	H-5	CH ₂ X(5)	OAc	J _{1,2} (Hz)
<u>84</u>	CDCl ₃	5,79	7,87		b	1,90 2,04 2,10 (6H)	9
<u>85</u>	CDCl ₃	6,37	7,87		4,18	1,85 2,02 2,07 (6H)	9
<u>86</u>	CDCl ₃	6,30	7,85		3,63	1,85 2,03 2,05 2,09	9

*Registrados a 60 MHz

a 5,54(d,1,OH), 5,23(d,1,OH), 4,93(t,1,OH)

b Sistema AB, H_A = 4,56; H_B = 4,43; J_{AB} = 11,5

c δ 2,98(t,4,CH₂N), 3,60(t,4,CH₂Cl)

d δ 1,36, 1,85(2m,4, aziridina)

TABLA-5

Parámetros magnéticos de glucosil-1,2,4-triazolinonas (92 y 93), acetoxi-glucosil-1,2,4-triazoles (107, 108, 109, 111 y 112) y N-metil-triazolinonas (98 y 100)

Registrados a 90 MHz

Desplazamientos Químicos (δ)

Compuesto	Disolvente	H-1'	R*	OCOCH ₃	OAc	J _{1,2} (Hz)
<u>92</u>	DMSO	5,63	2,06		1,86 1,93 2,02 (6H)	9
<u>92</u>	CDCl ₃	5,65	2,24		1,93 2,01 2,06 2,09	
<u>93</u>	DMSO	5,56	2,28		1,93 2,00 2,05 (6H)	9
<u>93</u>	CDCl ₃	5,45	2,41		1,96 2,03 2,10 (6H)	
<u>98</u>	DMSO		2,08			
<u>100</u>	DMSO		2,16			
<u>107</u>	DMSO	5,80	2,34	2,56	1,88 1,93 2,02 (6H)	9
<u>108</u>	DMSO	5,72	2,40	2,43	1,93 2,00 2,05 (6H)	9
<u>108</u>	CDCl ₃	5,46	2,46	2,55	1,98 2,03 2,06 2,08	
<u>109</u>	DMSO	5,86	4,47	2,57	1,92 1,93 2,02 2,06	9
<u>109</u>	CDCl ₃	5,73	4,53	2,68	1,94 2,02 2,06 2,09	
<u>111</u>	CDCl ₃	5,30	4,43	2,56	1,96 2,00 2,03 (6H)	9
<u>112</u>	CDCl ₃	5,40	6,53	2,58	1,98 2,03 2,05 (6H)	9

*92, 93, 98, 100, 107, 108 R= CH₃; 109, 111 R= CH₂Br; 112 R= CHBr₂

TABLA-7

Parámetros magnéticos de l-glucosil-1,2,4-triazoles sustituidos (127,128,130,131,135 y 136)

Registrados a 90MHz

Desplazamientos Químicos (δ)

Compuesto	Disolvente	H-1'	H-3	H-5	$\Delta\delta$	OAc	$J_{1,2}$ (Hz)
<u>127</u>	DMSO	6,66	8,45	0,42	1,85	1,95 2,00 2,03	8,5
<u>127</u>	CDCl ₃	6,29	8,03	1,92	2,04	2,08 (6H)	
* <u>128</u>	DMSO	6,24	9,22	0,79	1,85	1,96 2,00 2,02	8,5
* <u>128</u>	CDCl ₃	5,69	8,43	1,94	2,02	2,05 2,08	
<u>130</u>	DMSO	5,82	7,38	-0,08	1,82	1,96 2,03 (6H)	9
<u>130</u>	CDCl ₃	5,53	7,46	1,86	2,00	2,03 2,13	
<u>131</u>	DMSO	5,83	8,26	0,38	1,85	1,96 2,02 (6H)	9
<u>131</u>	CDCl ₃	5,52	7,88	1,89	2,00	2,03 2,06	
a <u>135</u>	DMSO	6,03	8,57	0,52	1,85	1,96 2,02 2,05 (6H)	9
b <u>135</u>	CDCl ₃	5,62	8,15	1,90	2,00	2,02 2,05 (6H)	
<u>136</u>	DMSO	6,12	8,95	0,73	1,82	1,96 2,02 (6H) 2,23(6H)	9
<u>136</u>	CDCl ₃	5,65	8,22	1,90	2,02	2,05 2,07 2,28 2,37	

* Registrados a 100MHz

a δ 10,49 (s,1,NH)

b δ 8,98 (s,1,NH)

TABLA-8

Parámetros magnéticos de 1-glucosil-1,2,4-triazoles-5-sustituídos (144, 145, 147 y 148) de N,N-dimetilamino-piridina (151) y de bromuro de bencil-trimetilamonio (150)

Registrados a 90 MHz

Desplazamientos Químicos (δ)

Compuesto	Disolvente	H-1'	H-3	$\Delta\delta$	OAc	N-CH ₃	J _{1,2} (Hz)
144	DMSO	5,66	7,86	0,39	1,87 1,94 2,03 (6H)		9
144	CDCl ₃	5,68	7,47		1,92 2,02 2,05 2,07		
a 145	DMSO	6,15	7,65	0,07	1,82 1,93 2,00 2,03		9
b 145	CDCl ₃	5,83	7,58		1,88 2,03 2,08 (6H)		
147	DMSO	6,30	8,20	0,28	1,84 1,96 2,02 2,04		9
147	CDCl ₃	5,76	7,92		1,93 2,03 2,08 (6H)		
c 148	DMSO-D ₂ O	6,15	8,33	0,41	1,89 1,95 2,01 2,05	3,40	9
148	CDCl ₃		7,92		1,88 2,02 1,98 (6H)		
150	DMSO					3,17	
151	DMSO					2,99	

a δ 2,39(s,4,aziridina)

b δ 2,46(s,4,aziridina)

c δ 7,26, 8,33(d,m,4,H-piridina)

TABLA-9

Datos de absorción ultravioleta de 1-ribofuranosil-1,2,3-triazoles.

Compuesto	$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm)	ϵ
<u>36</u>	222	2850
<u>37</u>	221	4250
<u>46</u>	224	2470
<u>47</u>	221	3880
<u>50</u>	229	4500
<u>51</u>	228	2900

TABLA-10

Datos de absorción ultravioleta de glucosil-1,2,4-triazolinonas

Compuesto	$\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm)	ϵ
<u>92</u>	217	1460
<u>93</u>	219	2112

TABLA-11

Datos de absorción ultravioleta de glucosil-1,2,4-triazoles sustituidos

Compuesto	$\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$	ϵ
<u>127</u>	230 253	4300 4000
<u>128</u>	239	4800
<u>130</u>	218	6000
<u>131</u>	231	3700
<u>135</u>	224	10094
<u>136</u>	218	6056

111

PARTE EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión se midieron en un aparato Köfler y no están corregidos.

Los análisis elementales fueron realizados -- por J. Prieto bajo la dirección del Dr. Calderón, en el laboratorio de microanálisis del C.N.Q.O.

Los espectros de RMN fueron registrados en un espectrómetro Varian XL-100 utilizando TMS como referencia interna.

Los espectros de UV se realizaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 350 ó 402.

Los espectros de IR se registraron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer, Modelo, 257

Los espectros de masas se registraron en un - espectrómetro Hitachi-Perkin-Elmer, modelo RMV-CMG, con marcador interno de masas.

Las cromatografías preparativas se realizaron en placas de 2mm, con gel de sílice HF₂₅₄ Merck.

Las cromatografías en capa fina se realizaron en cromatofolios de 0,2mm de gel de sílice tipo 60, Merck F₂₅₄. Los compuestos se detectaron con una lámpara de luz ultravioleta de 254nm, o mediante pulverización con una disolución de ácido sulfúrico al 30% en etanol y calentando aproximadamente a 110°C - durante 20 minutos.

Las separaciones cromatográficas en columna se realizaron con gel de sílice Merck tipo 60(70-230Mesh).

Las cromatografías líquido-líquido se realizaron en un cromatógrafo Waters modelo Prep LC/System 500A

1.- PREPARACION Y ORIGEN DE LOS PRODUCTOS DE PARTIDA

- 1.1.- Alcohol propargílico. Procedencia comercial, Fluka A.G.
- 1.2.- Cloruro de propargilo. Procedencia comercial, Fluka A.G.
- 1.3.- Bromuro de propargilo. Procedencia comercial, Fluka A.G.
- 1.4.- 1,4-dicloro-2-butino. Procedencia comercial, Fluka A.G.
- 1.5.- 1,4-dihidroxi-2-butino. Procedencia comercial, Fluka A.G.
- 1.6.- Azida de trimetilsililo. Procedencia comercial, Fluka A.G.
- 1.7.- D-(-)-ribosa. Procedencia comercial, Fluka A.G.
- 1.8.- D-glucosa. Procedencia comercial, Fluka A.G.
- 1.9.- 1,2,4-triazol. Procedencia comercial, Fluka A.G.
- 1.10- Aziridina. -Procedencia comercial, Fluka A.G.
- 1.11- Cloruro de tririlo. Procedencia comercial, Fluka A.G.
- 1.12- N-bromosuccinimida. Procedencia comercial, Fluka A.G.
- 1.13- 1,2,3,5-tetra-O-acetil- β -D-ribofuranosa

Se disuelven 30,02g(0,21 moles) de D-(-)-ribosa en 500ml de metanol seco, se agregan 2,5 ml de ácido sulfúrico y se mantiene la reacción de 0-3°C durante 14 horas. A continuación, la mezcla de reacción se neutraliza con piridina anhidra(100 ml) y se evapora en el rotavapor, dando 1-O-metil-ribofuranosa como un -sirupe duro.

El residuo se disuelve en piridina anhidra (250 ml) y se trata a continuación con 100 ml de anhídrido acético que se adiciona lentamente, enfriando exteriormente con hielo. Después, se deja a temperatura ambiente durante dos días, pasados los cuales, se concentra la disolución a vacío dando un sirupe claro, libre de piridina, formado por 1-O-metil-2,3,5-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosa. Se disuelve el sirupe en 300 ml de ácido acético y 70 ml de anhídrido acético y se trata con 15 ml de ácido sulfúrico, que se adiciona lentamente, enfriando exteriormente con hielo, se deja la reacción a temperatura ambiente durante 12 horas. Pasado este tiempo se agita la disolución roja con 400g de hielo y se extrae la mezcla con cloroformo, los extractos se lavan primero con agua (2 veces con 50 ml) y después con una disolución acuosa de bicarbonato sódico (hasta total neutralización del ácido), los extractos se secan sobre sulfato sódico y a continuación se concentra a presión reducida, hasta obtener un sirupe espeso. Este producto se trata con 40 ml de etanol enfriando con hielo, apareciendo inmediatamente, unos cristales blancos que se filtran y secan y que pesan 28,9g (45%). El filtrado se evapora y se vuelve a tratar como antes, usando cantidades proporcionales, para dar mas tatra-O-acetil- β -D-ribofuranosa (4,21g, 7%). Rendimiento total 28,9+4,21g (52%). P.f. = 80-82°C, (p.f. bibl. = 79-82°C)⁸³

1.14- 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- β -D-Glucopiranos

Una suspensión de 50g de acetato sódico anhidro en 700 ml de anhídrido acético, en un matraz de 1L de fondo redondo, se calienta hasta el punto de ebullición. Se adicionan

3g (de los 100g) de α -D-glucosa anhidra, y el matraz, sin agitación se calienta hasta el punto de fusión del azúcar del fondo. La iniciación de la reacción es indicada por la ebullición continuada, después de quitar la calefacción. El resto del azúcar se adiciona en pequeñas porciones, manteniendo la temperatura de ebullición de la mezcla. Si la reacción se para se calienta de nuevo antes de adicionar mas azúcar. El matraz se agita de vez en cuando para evitar la acumulación de azúcar sólido en el fondo del matraz. Después de la adición de todo el azúcar y antes de que la reacción termine, la disolución se calienta hasta ebullición. Se enfría y se vierte, agitando, sobre 2L de hielo machacado y se deja reposar durante 3 horas, el sólido se filtra con succión y se lava con agua fría. Se recristaliza de 1L de etanol caliente, seguido de filtración con carbono decolorante (C-activo). El sólido se filtra tan pronto como la temperatura del recristalizado alcanza la temperatura ambiente. El α -D-anómero solo cristaliza si se deja un tiempo prolongado a temperatura ambiente. Rendimiento 118,94g (55%) p.f. = 132-133°C, (p.f. bibl. = 132°C)¹³⁴

1.15- Bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo

En un matraz de un litro de 3 bocas (equipado con un agitador eficaz y termómetro), se enfrían 200 ml de anhídrido acético (en una mezcla de agua y hielo) y se adicionan gota a gota 1,2 ml de ácido perclórico (60-70%). La disolución se deja hasta temperatura ambiente y se añaden 50g de D-glucosa anhidra agitando la mezcla a una velocidad media, durante 0,5 horas, manteniendo la temperatura de la reacción entre 30-40°C. Después de enfriar la mezcla de reacción hasta 20°C se añaden 15g de fós

foro rojo y seguidamente se añaden 90g(26 ml) de bromo a una velocidad tal que se mantenga la reacción a una temperatura de 20°C. Se adicionan 18 ml de agua gota a gota con agitación continua durante media hora para evitar que la temperatura suba por encima de 20°C.

La mezcla de reacción se deja 2 horas a temperatura ambiente. Se añaden 150 ml de cloroformo y la mezcla se filtra sobre lana de vidrio. El matraz de reacción y el filtro se lavan con 25 ml de cloroformo. El filtrado se vierte en 400 ml de agua (próxima a 0°C) en un embudo de separación de 1L. Después de lavar, la fase clorofórmica se echa en un embudo de separación - que contiene 150 ml de agua a 0°C. La operación se repite con 25 ml de cloroformo adicionados a la fase acuosa inicial, mezclando después los extractos clorofórmicos. Después de agitar vigorosamente, la fase de cloroformo se echa en 250 ml de una disolución saturada de bicarbonato sódico en un vaso de 1L, con ayuda de un poco de cloroformo y se agita vigorosamente. La fase de cloroformo se agita 90 minutos con 5g de ácido silícico seco. Se filtra y la disolución, debilmente amarilla, se evapora a presión reducida a temperatura por debajo de 60°C hasta dar una masa cristalina dura. El sólido se transfiere a un mortero con la ayuda de 250 ml de una mezcla (2:1) de éter de petróleo-éter y se tritura en el disolvente. La mezcla se filtra y el residuo se lava con 25 ml de éter seco frío. El bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo bruto se seca a presión reducida sobre NaOH. Rendimiento 102,94g (90%) p.f. = 84-85°C, (p.f. bibl. =79-84°C)¹³⁵

1.16- 2,3-0-isopropiliden-5-0-tritil-D-ribofuranosa¹³⁶

a/ 2,3-0-isopropiliden-D-ribofuranosa

Se disuelven 9g(0,06 moles) de D-(-)-ribosa en 150 ml de acetona, en un matraz provisto de agitación magnética. Se añaden a continuación 3 g de SO_4Cu anhidro y 3,04g de ácido p-toluensulfónico y se mantiene la reacción a temperatura ambiente durante 3,5 horas. Se filtra y se lava el sólido con pequeñas porciones de acetona, el filtrado se neutraliza con 1,28g de una disolución al 50% de NaOH en agua y después con una pequeña cantidad de bicarbonato sódico. Se filtra y el residuo(sales inorgánicas se lava con acetona, el filtrado se evapora a sequedad, a temperatura por debajo de 40°C, para dar 11g del producto deseado en forma de un sirupe amarillo.

b/ 2,3-0-isopropiliden-5-0-tritil-D-ribofuranosa

Se disuelven 9,5g(0,05 moles) del sirupe obtenido en la etapa anterior en 20 ml de piridina seca. Se añaden a continuación 17g(0,06 moles) de cloruro de tritilo y se deja la reacción a temperatura ambiente durante 24 horas. La mezcla de reacción se vierte sobre 250 ml de agua destilada, se agita rápidamente. se decanta la fase acuosa sobrenadante y el jarabe que precipita se lava de nuevo con agua, se decanta la fase acuosa y el jarabe se disuelve en 150 ml de diclorometano y se agita con una disolución de 20g de cloruro de cadmio en 250 ml de agua. Después de filtrar el material insoluble, se separa la fase orgánica y se seca sobre sulfato sódico anhidro. Se evapora a sequedad a

presión reducida para dar 29,65g de un sirupe duro que se purifica por cromatografía de capa fina preparativa. Rendimiento 18,5g (86%)

1.17- N-N-bis(2-cloroetil)amina¹³⁷

a/ Hidrocloruro de N,N-bis(2-cloroetil)amina

Se disuelven 130 ml de cloruro de tionilo en 130 ml de cloroformo y se añade lentamente una disolución de 50g de dietanolamina en 150 ml de cloroformo. Una vez terminada la adicción se calienta a ebullición hasta obtener una disolución clara, que se deja enfriar en baño de hielo-sal, cristalizando un sólido blanco que se filtra y lava tres veces con cloroformo y por último una con éter etílico. Rendimiento 75g(75%)

b/ N,N-bis(2-cloroetil)amina

Se añaden 40g de hidrocloruro de N,N-bis(2-cloroetil)amina pulverizados y 64 ml de una disolución de hidróxido potásico al 20% a 20g de hielo. La amina libre se extrae rápidamente con éter, los extractos etéreos se secan con carbonato potásico o sódico y se evaporan a presión reducida a temperatura ambiente. Rendimiento 25,6g(80%). Es un compuesto inestable que hay que prepararlo en el momento de ser utilizado.

1.18- 5-metil-1,2,4-triazolin-3-ona

a/ Acetilhidrazida

Se gotean lentamente 122 ml(1,25 moles) de acetato de etilo sobre 72 ml(1,5 moles) de hidrato de hidrazina y

la mezcla se calienta a reflujo durante dos días. Se enfría bruscamente y se concentra, a presión reducida, quedando un líquido muy denso que se extrae con la mezcla éter-n-propanol (1:1). Los extractos se evaporan y se obtiene un jarabe que cristaliza. Se lavan los cristales y se filtran, obteniéndose de este modo la acetilhidrazida en forma de sólido blanco. Rendimiento 76,23g (83%)

b/ 5-metil-1,2,4-triazolin-3-ona

Una disolución de 20g de acetilhidrazida en 100 ml de agua se trata bajo refrigeración con 23,5 ml de HCl (35%). Después se añade una disolución de 21,96g de cianato potásico en 40 ml de agua. Transcurridos aproximadamente 10 minutos, se añade una disolución de 16g de KOH en 10 ml de agua y el conjunto se refluxa 1 hora. Se deja enfriar, se filtra y neutraliza con HCl (20%); se concentra a sequedad. El residuo se extrae con etanol absoluto a ebullición y la disolución se concentra en el rotavapor para dar 28,48g de un sólido blanco que se purifica por sublimación a temperatura de 180-190°C y se recrystaliza de etanol. Rendimiento 16,62g (62,7%) p.f. = 140°C subl. (p.f. bibl. = 140°C subl.)¹³

1.9- Acido 3-amino-1,2,4-triazol-5-carboxílico

Se añaden poco a poco 40g (0,294 moles) de carbonato de aminoguanidina sobre una disolución de ácido oxálico -- 36,69g (0,441 moles) en 300 ml de agua y se calienta la mezcla a 100°C durante 6 horas. Se añade a continuación una disolución de

NaOH(2,5 M) hasta que la disolución está alcalina y se refluye el conjunto 1 hora. Se filtra y se acidula con ácido clorhídrico la disolución filtrada y precipita el producto deseado. Rendimiento 35,2g(93,6%) p.f.= 190°C (p.f. bibl. = 186°C)¹³⁸

1.20- 3-amino-1,2,4-triazol

a/ Por descarboxilación del ácido 3-amino-1,2,4-triazol-5-carboxílico

20g de ácido 3-amino-1,2,4-triazol-5-carboxílico se calientan, a presión reducida, a una temperatura de 300°C hasta que cesa el desprendimiento de CO₂ (aproximadamente 15 minutos). Una vez frío, se obtiene un sólido amarillo que se disuelve en 100 ml de etanol absoluto a ebullición, se trata con carbón activo, se filtra y se añade al filtrado 100 ml de éter etílico y se deja cristalizar a 0°C durante 48 horas. Rendimiento 10,75g (82%) p.f. = 155-157°C (p.f. bibl. = 153°C)¹²²

b/ A 10g de sulfato de aminoguanidina se añaden 5g de ácido fórmico del 85% y 2-3 gotas de ácido nítrico concentrado. La mezcla se calienta durante 24 horas en baño de vapor. El sirupe resultante se disuelve en 16 ml de agua y con la temperatura a 50°C se trata cuidadosamente con 4,16g de carbonato sódico anhidro. La disolución se pasa a un vaso y se evapora a sequedad en el baño de vapor. El residuo se extrae dos veces con porciones de 40 ml de etanol absoluto a ebullición y se filtra la disolución alcoholica. Se evapora el alcohol y el residuo se tritura con una mezcla de etanol seco-éter seco (1:1) y se filtra. El rendimiento de 3-amino-1,2,4-triazol bruto es 5,54g(99%). El crudo se purifi-

ca disolviéndolo en etanol absoluto a ebullición, tratándolo con 1g de carbón activo y filtrándolo. Al filtrado se añade éter seco y se deja cristalizar en la nevera durante 48 horas. Se filtra el sólido. Rendimiento 3,1g(55,7%) p.f. =155°C (p.f. bibl. =153°C)¹²²

1.21- 3-nitro-1,2,4-triazol

Se disuelven 5g de 3-amino-1,2,4-triazol en 30,12 ml de ácido nítrico acuoso (1:3,v/v) y se diazotan con una disolución de 4,156g de NO_2Na en 7,52 ml de agua, manteniendo la temperatura de la reacción por debajo de los 7°C. La disolución anterior se echa gota a gota sobre una disolución de 8,31g de NO_2Na en 18 ml de agua, manteniendo la temperatura alrededor de los 5°C. Se deja la reacción en un baño de hielo durante 30 minutos. Se añaden, a continuación 7,52 ml de ácido acético glacial y la reacción se calienta hasta los 50°C, se filtra y se deja el filtrado en el congelador durante 24 horas, precipitando de este modo un sólido amarillo pálido. Se recristaliza de agua a ebullición. Rendimiento 4,86g(71,7%) p.f.=206-210°C (p.f. bibl. = 215-216°C)¹²³

2.- SINTESIS DE AZIDAS DE RIBOFURANOSILO

2.1- Azida de 2,3,5-tri-O-acetil- β -D-Ribofuranosilo(31)

Una disolución de 1,2,3,5-tetra-O-acetil- β -D-ribofuranosa (3,18g, 0,01 moles) en diclorometano seco (90ml), se trata con azida de trimetilsililo (1,5 ml) y tetracloruro de estaño (1 ml), y la reacción se mantiene a temperatura ambiente durante 3h 30 minutos. Pasado este tiempo se lava con agua (2x50 ml), se recoge la fase orgánica y se lava una vez con 40 ml de disolución saturada de bicarbonato sódico (hasta neutralización) y después con agua (40 ml). Se seca la fase orgánica sobre cloruro cálcico se filtra y el filtrado se evapora a sequedad a presión reducida, para dar un sirupe que se purifica en cromatografía de capa fina preparativa, utilizando como eluyente la mezcla acetato de etilo-éter de petróleo (1:3). Al extraer con acetato de etilo la banda más intensa visible al UV, se obtienen 2,8g (93%) de un sirupe amarillo pálido que se identifica como 31. [α]_D -116,7 (C_D²⁰ 1 CHCl₃)

Análisis(%)

Calculado para C₁₁H₁₅N₃O₇.....: C, 43,85; H, 5,01; N, 13,94

Hallado.....: C, 43,73; H, 5,08; N, 13,74

2.2- Azida de 2,3-O-isopropiliden-5-O-tritil- α -D-ribofuranosilo (29)

a/ Cloruro de 2,3-O-isopropiliden-5-O-tritil- β -D-ribofuranosilo¹³⁶

Una mezcla de 2,3-O-isopropiliden-5-O-tritil

-D-ribofuranosa (4,32g, 0,01 moles), trifenilfosfina (3,26g, 0,012 moles), tetracloruro de carbono (5 ml) y acetonitrilo (25 ml) se agita a temperatura ambiente durante 24 horas. Se evapora a sequedad y el residuo se extrae con la mezcla éter-éter de petróleo (1:1) (5x30 ml). Los extractos se mezclan y se filtran rápidamente a través de gel de sílice de columna (20g) para eliminar trazas de óxido de trifenilfosfina. La gel de sílice se lava con la mezcla éter-éter de petróleo (1:2). Los extractos anteriores y los de lavado se unen y se concentran a sequedad a presión reducida, quedando un sirupe que se identifica como cloruro de 2,3-O-isopropiliden-5-O-tritil- β -D-ribofuranosilo. Dicho jarabe no se aísla y sin purificación previa se emplea en la siguiente etapa de reacción.

b/ Azida de 2,3-O-isopropiliden-5-O-tritil- α -D-ribofuranosilo

A una disolución del sirupe anterior en acetonitrilo (40 ml) se añade azida sódica (1,3g, 0,02 moles) y la mezcla se calienta a reflujo, protegida de la humedad con tubo de cloruro cálcico, durante tres días. Se filtra y se concentra a vacío, quedando un sirupe que se purifica mediante cromatografía de capa fina preparativa, utilizando como eluyente la mezcla acetato de etilo-hexano (1:2). Se obtienen (2,28g, 50%) de un sólido amorfo que se identifica como $29. [\alpha]_D + 8^\circ$ (C 1, CHCl₃), $J_{\max} 2135\text{cm}^{-1} (\text{N}_3)$

Análisis (%)

Calculado para C₂₇H₂₇N₃O₄.....: C, 70,87; H, 5,94; N, 9,18

Hallado.....: C, 71,11; H, 5,75; N, 9,09

3.- SINTESIS DE NUCLEOSIDOS DE 1,2,3-TRIAZOL

Procedimiento general de obtención de nucleósidos por cicloa dición dipolar-1,3 de acetilenos a azidas de glicosilo

En un matraz de 100 ml provisto de agitación magnética, se suspenden o disuelven de 0,028 moles a 0,01 moles de azida de glicosilo en 10-30 ml de tolueno anhidro. A continuación se agregan 0,0028-0,097 moles del compuesto acetilénico correspondiente, y la mezcla de reacción se mantiene a reflujo, normalmente de 3 a 17 horas, en ausencia de humedad. Seguidamente se concentra a vacío en el rotavapor y el residuo se recrystaliza o se cromatografía en placas preparativas utilizando el eluyente a adecuado.

3.1- 4- y 5-hidroximetil-1(2,3,5-tri-O-acetil- β -D-ribofurano sil)-1,2,3-triazol. (36 y 37)

Se disuelve azida 31 (3,01g, 0,01 moles) en tolueno anhidro (20 ml), se añade seguidamente alcohol propargílico (2,4 ml, 0,04 moles) y la mezcla de reacción se calienta a reflujo protegida de la humedad, durante 17 horas. Se concentra a sequedad a presión reducida, para dar un sirupe amarillo que se cromatografía en capa fina preparativa, con la mezcla acetato de etilo-hexano (2:1). Al carbonizar una de las placas, de la forma mencionada anteriormente, se visualizan dos bandas parcialmente superpuestas. De la banda mas alejada del origen se obtienen, al extraer con acetato de etilo, 1,2g (34%) de un sirupe amarillo pálido que cristaliza al cabo de 15 días a 0°C y que se recrystaliza de acetato de

etilo-éter de petróleo, para dar 0,9g(25%) de un sólido blanco que se identifica como 37, p.f. = 65-66°C

Análisis (%)

Calculado para $C_{14}H_{19}N_3O_8$: C,47,05; H,5,35; N,11,76

Hallado.....: C,47,04; H,5,31; N,11,71

De la banda mas cercana al origen se obtiene un sirupe que se purifica de nuevo por cromatografía de capa fina preparativa con acetato de etilo. De la banda mayoritaria se aislan 1,98g(55%) de un sirupe cromatográficamente homogéneo, que se identifica por su espectro de RMN como una mezcla de los dos isómeros 36 y 37

Análisis(%)

Calculado para $C_{14}H_{19}N_3O_8$: C,47,05; H,5,35; N,11,76

Hallado.....: C,47,20; H,5,38; N,11,54

3.2- 4- y 5-hidroximetil-1(2,3-O-isopropiliden-β-D-ribofuranosil)-1,2,3-triazol. (41 y 43)

Se trata una mezcla de 36 y 37 (0,5g, 0,0014 moles) con una disolución metanólica de amoniaco (20 ml) y la reacción se mantiene a temperatura ambiente durante 20 horas. Se evapora el disolvente a presión reducida, para dar 0,49g de un sirupe amarillo mezcla de 4- y 5-hidroximetil-1(β-D-ribofuranosil)-1,2,3-triazol (40 y 42), que sin purificación posterior, se disuelve en 7 ml de acetona anhidra y seguidamente se trata con ortofor miato de etilo(0,33 ml, 0,002 moles) y con una disolución 1M de ácido clorhídrico en éter seco(0,18 ml). La mezcla de reacción se

agita a temperatura ambiente, protegida de la humedad durante 21 horas. A continuación se neutraliza con hidróxido amónico concentrado y se evapora el disolvente. El residuo se disuelve en la mínima cantidad de agua y se extrae varias veces con acetato de etilo, la fase orgánica se seca sobre sulfato sódico. se filtra y evapora el disolvente a presión reducida, obteniéndose 0,33g de un sirupe que se distribuye en placas de cromatografía de capa fina preparativa que se desarrollan con acetato de etilo. A la luz UV se visualizan dos bandas. De la mas alejada del origen se obtienen 0,14g de un sirupe amarillo que se purifica mediante otra cromatografía en las mismas condiciones, para dar 0,115g(31%) de un sirupe incoloro que se identifica como 43

Análisis (%)

Calculado para $C_{11}H_{17}N_3O_5$: C,48,70; H,6,31; N,15,49

Hallado.....: C,48,37; H,6,32; N,15,21

La banda mas cercana al origen se extrae y el jarabe obtenido se vuelve a cromatografiar para dar 0,094g(25%) de un sirupe incoloro que se identifica como 41

Análisis (%)

Calculado para $C_{11}H_{17}N_3O_5$: C,48,70; H,6,31; N,15,49

Hallado.....: C,48,35; H,6,01; N,15,70

3.3- 1(2,3,5-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosil)4- y 5-clorometil-1,2,3-triazol. (46 y 47)

Una mezcla de la azida 31(3,01g, 0,01 moles) cloruro de propargilo(4,9 ml, 0,06 moles) y tolueno anhidro(20ml)

se calienta a reflujo durante 13 horas. Seguidamente la disolución se concentra hasta obtener un sirupe de color caramelo, que se purifica por cromatografía de capa fina preparativa con la mezcla acetato de etilo-éter de petróleo (1:1). Al carbonizar una de las placas de la forma mencionada anteriormente aparecen dos bandas. De la mas alejada del origen se obtienen 1,5g de un sirupe amarillo pálido que se cromatografía de nuevo en las mismas condiciones para dar 0,97g (24%) de un sirupe incoloro que se identifica como 46

Análisis (%)

Calculado para $C_{14}H_{18}ClN_3O_7$: C, 44,75; H, 4,82; Cl, 9,42; N, 11,18
Hallado.....: C, 44,65; H, 4,94; Cl, 9,62; N, 10,85

Se repite la operación con la banda mas cercana al origen, obteniéndose 1,64g (43,2%) de un sirupe incoloro que se identifica por su espectro de RMN como la mezcla de los dos isómeros clorometílicos 46 y 47

Análisis (%)

Calculado para $C_{14}H_{18}ClN_3O_7$: C, 44,75; H, 4,79; Cl, 9,42; N, 11,18
Hallado: C, 44,51; H, 4,93; Cl, 9,62; N, 11,04

3.4- 1(2,3,5-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)4-bromometil-1,2,3-triazol. (49)

Una mezcla de la azida 31 (3,01g, 0,01 mol), bromuro de propargilo (3,0 ml, 0,04 moles) y tolueno anhidro (20ml) se calienta a 100-110°C durante 6 horas. Se evapora a sequedad y el residuo se distribuye en 12 placas de cromatografía de capa

fina preparativa que se desarrollan con la mezcla acetato de etilo-éter de petróleo(1:1). Al extraer el producto con acetato de etilo se obtienen 1,8g(43%) de un sirupe que se identifica como 49, y que se ennegrece con el tiempo. Rf= 0,47(acetato de etilo-éter de petróleo(1:1)).

Masas. m/e 422(M⁺+1, 0,5%), 420(M⁺+1, 0,5%), 348(2), 346(2), 340(0,5) 312(3), 306(4), 304(4), 280(10), 260(10), 259(60), 198(10), 164(8), 162(8) 157(30), 156(35), 139(100), 115(30), 114(40), 97(100).

3.5- 1(2,3,5-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)4,5-bis(clorometil)-1,2,3-triazol. (50)

Una mezcla de la azida 31(3,01g, 0,01 mol), 1,4-diclorobutino(1,95 ml, 0,02 moles) y tolueno anhidro (20 ml) se calienta a 100-110°C durante 16 horas. se concentra a sequedad a presión reducida, y el residuo se distribuye en 12 placas de - cromatografía de capa fina preparativa que se desarrollan con la mezcla acetato de etilo-éter de petróleo(2:1). De la banda mas - próxima al origen y mayoritaria se aislan 1,67g(39%) de un sólido blanco que se recristaliza de acetato de etilo-éter de petróleo y que se identifica como 50. p.f.= 79-80°C

Análisis (%)

Calculado para C₁₅H₁₉N₃O₇.....:C,42,48; H,4,51; Cl,16,67; N,9,91
Hallado.....:C,41,98; H,4,23; Cl,16,36; N,9,92

3.5- 1(2,3,5-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-4,5-bis(hidroximetil)-1,2,3-triazol. (51)

Una mezcla de la azida 31 (3,01g, 0,01 mol), 1,4-dihidroxi-butino-2 (1,1g, 0,012 moles) y tolueno anhidro (7ml), se calienta a 100-110° C durante 12 horas. Se evapora a sequedad y el residuo se purifica por cromatografía de capa fina preparativa con acetato de etilo. Al carbonizar una de las placas, se observan dos bandas. De la mas alejada del origen se obtienen 0,6g de 1,4-dihidroxi-butino-2 sin reaccionar. De la banda mas cercana al origen se obtiene un sirupe amarillo pálido que se cromatografía de nuevo en las mismas condiciones para dar 0,9g (23%) de un jarabe amarillo pálido que se identifica como 51

Análisis (%)

Calculado para $C_{15}H_{21}N_3O_9$: C, 46,50; H, 5,46; N, 10,84

Hallado.....: C, 46,23; H, 5,64; N, 10,88

3.6- 1(2,3,5-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-4-iodometil-1, 2,3-triazol. (53)

a/ Se disuelve una mezcla (2:1) de 46 y 47 (0,37g, 0,01mol) en acetona anhidra (6 ml) y seguidamente, se calienta a reflujo unos minutos, separando por filtración el precipitado blanco (NaCl). El filtrado se evapora a sequedad obteniéndose un sirupe que se disuelve en acetato de etilo y se trata con una disolución acuosa de tiosulfato sódico, hasta que se decolora la fase orgánica, se lava después con agua dos veces y se seca sobre sulfato sódico. Se filtra y evapora el disolvente, y el jarabe amarillo resultante se purifica por cromatografía de capa fina preparativa con la mezcla acetato de etilo-hexano (2:1). De la banda mayoritaria se aíslan 0,28g (60%) de un sirupe amarillo que se identifica como 53 (El pro

ducto es inestable y se descompone rapidamente). Rf= 0,30(acetato de etilo-hexano(2:1)).

Masas. m/e 468(M⁺+1, 0,1%),394(0,3),352(0,7),340(0,4),327(0,4),312(0,2),292(0,5),260(5),259(40),254(5),223(5),221(12),210(1),209(1,5),203(15),198(8),189(13),187(18),170(15),161(5),157(50),156(65),143(100),139(85),115(100),114(50).

b/ Se disuelve 49(0,1g,0,00024moles) en acetona anhidra (6ml), se añade ioduro sódico(0,054g, 0,00036 moles) y la mezcla se calienta a reflujo unos minutos, separando por filtración el precipitado blanco(NaCl). El filtrado se evapora a presión reducida y el residuo obtenido se disuelve en acetato de etilo y se trata con disolución de tiosulfato sódico, hasta que se decolora la fase orgánica, que se lava con agua dos veces y finalmente se seca sobre sulfato sódico. Se evapora el disolvente, obteniéndose, -- 0,089g(81%) de un sirupe idéntico en todos los aspectos a 53, obtenido en el apartado anterior.

3.7- 4- y 5-clorometil-1(2,3-O-isopropiliden-5-O-tritil- α -D-ribofuranosil)-1,2,3-triazol. (44 y 45)

Una mezcla de la azida 29(4,57g, 0,01 mol), cloruro de propargilo(4,91g, 0,066 moles) y tolueno(7 ml) se calienta a reflujo durante dos días, protegida de la humedad con tubo de cloruro cálcico. Se evapora a sequedad a vacío y el residuo se purifica por cromatografía de capa fina preparativa con la mezcla, acetato de etilo-hexano(1:1). A la luz UV se visualizaron tres bandas, que se extraen separadamente con acetato de etilo. De la banda mas alejada del origen se aislaron 0,59g de un sirupe que se iden

tificó como alcohol trifenilmetílico. De la segunda banda se obtienen 3,5g de un sólido que precipita de acetato de etilo-hexano para dar 2,115g (34%) de un sólido amorfo que retiene una molécula de acetato de etilo, a pesar de secarlo a vacío (0,1 mm Hg), y que se identifica como $44.[\alpha]_D -20^\circ (C1, CHCl_3)$

Análisis (%)

Calculado para $C_{30}H_{30}ClN_3O_4 \cdot C_4H_8O_2$: C, 65,85; H, 6,17; Cl, 5,73;
N, 6,77

Hallado.....: C, 66,20; H, 6,20; Cl, 6,13;
N, 7,03

El producto aislado de la banda mas cercana al origen se recristaliza de acetato de etilo-hexano, para dar 0,253g (5%) de un sólido que funde a 77-80°C, cristaliza de nuevo a 100-110°C, y funde nuevamente a 139-141°C y que se identifica como $45.[\alpha]_D -18^\circ (C1, CHCl_3)$

Análisis (%)

Calculado para $C_{30}H_{30}ClN_3O_4$: C, 67,73; H, 5,67; Cl, 6,66; N, 7,90
Hallado.....: C, 67,48; H, 5,27; Cl, 6,94; N, 7,70

3.8- 4-bromometil-1(2,3-O-isopropiliden-5-O-tritil- α -D-ribofuranosil)-1,2,3-triazol. (48)

Una mezcla de la azida 29 (2,36g, 0,0052 moles) bromuro de propargilo (1,95 ml, 0,026 moles) y tolueno anhidro (15ml) se calienta a reflujo durante 15 horas, protegido de la humedad con tubo de cloruro cálcico. Se evapora el disolvente a presión reducida y el residuo, se purifica en 14 placas de cromatografía de capa fina preparativa, que se desarrollan con la mezcla acetato de etilo-hexano (1:4). A la luz UV se visualizan cuatro bandas

de las cuales se carbonizan, la mas cercana y la mas alejada del origen. Estas dos bandas son las que se aislan. De la banda mas rápida se aislan 0,25g de la azida de partida 29. De la banda mas lenta se obtiene una espuma blanca, que se cromatografía de nuevo en las mismas condiciones, para dar 1,01g(35%) de una espuma blanca que se identifica como 48 y que se aísla en forma de bromhidrato.

Análisis (%)

Calculado para $C_{30}H_{30}BrN_3O_4 \cdot HBr \dots$: C, 54,79; H, 4,72; Br, 24,35;

N, 6,39

Hallado.....: C, 55,12; H, 4,79; Br, 25,15;

N, 6,73

3.9- 4-iodometil-1(2,3-0-isopropiliden-5-0-tritil- α -D-ribofuranosil)-1,2,3-triazol. (52)

Una mezcla de 44 (2,12g, 0,004 moles), acetona anhidra (15 ml), ioduro sódico (0,899g, 0,006 moles), se calienta a reflujo 5 minutos. Aparece un precipitado blanco (NaCl) que se separa por filtración y el filtrado, se evapora a sequedad a presión reducida. El residuo se disuelve en acetato de etilo y se trata con una disolución acuosa de tiosulfato sódico, hasta que se decolora la fase orgánica. Se lava la fase orgánica con agua (dos veces) y se seca sobre sulfato sódico. Se evapora el disolvente orgánico a presión reducida, para dar 1,98g de un sirupe, que se purifica en 7 placas de cromatografía de capa fina preparativa, con la mezcla acetato de etilo-hexano (1:4). A la luz UV se visualizan dos bandas, de las cuales solo se carboniza, la mas alejada

del origen. De dicha banda se aislan 1,37g (55%) de una espuma -
que se identifica como 52

Análisis (%)

Calculado para $C_{30}H_{30}IN_3O_4$:C,57,79; H,4,85; I,20,34; N,6,74

Hallado.....:C,58,10; H,4,71; I,20,65; N,6,40

4.- SINTESIS DE NUCLEOSIDOS ALQUILANTES DE 1,2,4-TRIAZOL4.1- 1(2,3,5-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-1,2,4-triazol
(73)

Una mezcla de 1,2,3,5-tetra-O-acetil-β-D-ribofuranosa (10,12g, 0,03 moles), 1,2,4-triazol(5,6g, 0,08moles) y ácido p-toluensulfónico (una punta de espátula), se calienta a vacío (15 mm Hg) a 160°C durante 45 minutos. Una vez fría la masa de reacción, se disuelve en etanol absoluto a ebullición, se trata con carbón activo, se filtra y se deja cristalizar, obteniendo se 8,4g(81%) de un sólido que se identifica como 73. p.f.= 110-111°C

Análisis (%)

Calculado para $C_{13}H_{17}N_3O_7$: C,47,70; H,5,23; N,12,83

Hallado.....: C,47,45; H,5,42; N,13,20

4.2- 1(β-D-ribofuranosil)-1,2,4-triazol. (77)

Se trata 73(1g, 0,003moles) con una disolución saturada a 0°C de amoniaco en metanol(60 ml) y se deja a temperatura ambiente durante 48 horas. Pasado este tiempo se evapora el disolvente, a presión reducida, quedando un sirupe amarillo que cristaliza de acetato de etilo(10 ml). Se obtienen de esta manera 0,54g(88%) de un sólido blanco que se identifica como 77. p.f.= 144-145°C, (p.f. bibl. = 143-145°C)¹⁰³

RMN. (DMSO) 8,93(s,1,H-5), 8,19(s,1,H-3), 5,91(d,1,H-1; $J_{1,2}$ = 4 Hz), [4,50-3,95] (m,3,H-2; H-3; H-4'), [3,84-3,53] (m,2,H-5'), 5,54, 5,22,4,92(d,d,t,3, OH)

4.3- 1(2,3,5-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosil)-5-hidroximetil-1,2,4-triazol. (78)

Una mezcla de 73 (5g, 0,015 moles), dioxano (10 ml) y formaldehído acuoso del 35-40% (15 ml) se calienta en tubo cerrado a 105°C durante 16 horas. Seguidamente se evapora el disolvente, quedando un sirupe oscuro, que se purifica por cromatografía de columna de gel de sílice 60 (Merck), utilizando como eluyente acetato de etilo. Así se obtienen 1,17g (22%) de un sirupe incoloro, cromatográficamente homogéneo, que se identifica como 78.

Análisis (%)

Calculado para $C_{14}H_{19}N_3O_8$: C, 47,05; H, 5,35; N, 11,76

Hallado.....: C, 46,79; H, 5,78; N, 11,35

4.4- 1(2,3,5-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosil)-5-bromometil-1,2,4-triazol. (82)

Una mezcla de 78 (2,17g, 0,0066 moles), 1,2-dimetoxietano anhidro (50 ml) y fosfito de trifenilo (3 ml, 0,0099 moles) se agita a 0°C, protegida de la humedad, durante media hora. Seguidamente, se añade bromo (0,49 ml, 0,0099 moles) y la mezcla de reacción se deja a temperatura ambiente durante 1 hora. Se evapora el disolvente a presión reducida, para dar un jarabe oscuro que se purifica en 10 placas de cromatografía de capa fina preparativa con la mezcla acetato de etilo-hexano (3:1). A la luz UV se visualizan varias bandas de las que solo se carboniza, la de recorrido intermedio. De esta banda se obtienen 0,60g (24%) de un sirupe incoloro que se identifica como 82, que resulta ser inestable.

RMN. (CDCl₃) 7,93(s,1,H-3), 6,10(d,1,H-1; J_{1,2} = 3 Hz), [5,93-5,6] (m,2,H-2; H-3'), [4,53-4,13](m,2,H-4; H-5'), 4,58(s,1,CH₂Br), 2,15, 2,13,2,03(3s,9,0Ac)

4.5- 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-1,2,4-triazol. (74)

a/ Método (CN)₂Hg/CH₃NO₂

A una mezcla de bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-α-D-glucopiranosilo(25g, 0,061 moles), cianuro mercuríco (16,2g, 0,063 moles) y tamiz molecular de 4 Å(1g), se le añade un disolución de 1,2,4-triazol(9g, 0,132 moles) en nitrometano anhidro(652 ml). La mezcla resultante se calienta a reflujo, en ausencia de humedad, durante 2 horas 30 minutos. Seguidamente se filtra en caliente y se lava con nitrometano caliente. El filtrado se evapora a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se trata con cloroformo, separando por filtración el precipitado de sales inorgánicas. El extracto cloroformico se lava con una disolución acuosa de IK el 30%, después con agua dos veces(2x50 ml) y finalmente se seca sobre sulfato sódico. Las aguas de lavado se extraen una vez con 50 ml de cloroformo que se une a la fase orgánica anterior. Al evaporar el disolvente se obtienen 23g de un sólido blanco que se recristaliza de acetato de etilo-hexano, rindiendo 19,7g(81%) de un sólido que cristaliza en agujas finas y que se identifica como 74. p.f.= 145-146°C

Análisis (%)

Calculado para C₁₆H₂₁N₃O₉.....: C,48,11; H,5,30; N,10,52
Hallado.....: C,48,30; H,5,47; N,10,71

b/ Método de fusión

Una mezcla de 1,2,4-triazol(1,38g, 0,02 moles) y 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- β -D-glucopiranosa(3,9g, 0,01 moles) se calienta a vacío (15 mm Hg) a 160°C hasta que funden sus componentes. Se añade a continuación ácido p-toluensulfónico(0,2g) y se calienta a vacío (15 mm Hg) durante 40 minutos a 160°C. Una vez fría, la masa de reacción se disuelve en metanol y se pasa a través de una columna de gel de sílice, utilizando como eluyente la mezcla acetato de etilo-metanol(3:1). De la fracción mas rápida se obtienen, después de evaporar el disolvente, 0,5g de 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- β -D-glucopiranosa. De una fracción mas lenta se aislan 1,2g de un sólido que se recristaliza de acetato de etilo-hexano para dar 0,90g(23%) de un sólido idéntico a 74 obtenido por el método-a. p.f.= 144-146°C

c/Método de sililación

En un matraz de 100 ml provisto de agitación magnética y protegido de la humedad con tubo de cloruro cálcico, se agita a temperatura ambiente durante 7 días, una mezcla de 1,2,4-triazol(1,5g, 0,021 moles), 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- β -D-glucopiranosa(8,4g, 0,021 moles), acetonitrilo seco (110 ml), Cl_4Sn (3,018 ml, 0,026 moles), trimetilclorosilano(2,16 ml, 0,017 moles) y hexametildisilazano(3,57 ml, 0,017 moles). Se añade diclorometano seco (50 ml) y se lava con una disolución saturada de CO_2HNa y NaCl hasta que la fase acuosa tiene pH alcalino. Se seca la fase orgánica sobre sulfato sódico. Se evapora el disolvente a presión reducida, obteniéndose un sirupe amarillo, muy impuro, el cual se

disuelve en metanol y se purifica por cromatografía de columna de gel de sílice, utilizando como eluyente la mezcla acetato de etilo-hexano(5:1). De la fracción mas lenta se aislan 1,9g(22%) de un sólido idéntico a 74, obtenido por los procedimientos a y b. p.f.= 143-145°C

4.6- 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-5-hidroxi metil-1,2,4-triazol. (79)

Una disolución de 74(19,64g, 0,049 moles) en dioxano (50ml) y formaldehído acuoso del 35-40%(133 ml) se calienta en tubo cerrado a 115°C durante 16 horas. Una vez fría, la mezcla de reacción se evapora a sequedad y el residuo se suspende en acetato de etilo(25ml). Esta suspensión se filtra a través de gel de sílice de columna (20g), se lava la gel con acetato de etilo (50 ml) y el filtrado se evapora a sequedad, para dar un sirupe oscuro que se purifica por cromatografía de columna de gel de sílice 60 Merck, utilizando como eluyente acetato de etilo. De la fracción mas rápida se aislan 5,7g de un sirupe incoloro que se identifica como 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranososa. De la inmediatamente posterior se extraen, 4,23g del nucleósido de partida 74 sin reaccionar. De la siguiente se recogen 12,88g(61%) de un sirupe incoloro cromatográficamente homogéneo, que se identifica como 79. Dicho sirupe, que cristalizó espontáneamente al cabo de un año, se recrystaliza de acetato de etilo-éter de petróleo, para dar un sólido blanco en forma de agujas. p.f.= 136°C

Análisis (%)

Calculado para $C_{17}H_{23}N_3O_{10}$: C,47,55; H,5,39; N,9,78

Hallado.....: C,47,22; H,5,73; N,9,42

4.7- 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-5-clorometil-1,2,4-triazol. (81)

Se disuelve 79(0,85g, 0,0021 moles) en aceto nitrilo anhidro(27 ml) y se añaden, a continuación, tetracloruro de carbono (20 ml) y trifenilfosfina(1,068g, 0,0039 moles). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante media hora. Se evapora el disolvente a sequedad obteniéndose, de este modo, un si rupe rojizo que se trata con éter anhidro(50 ml) precipitando un sólido blanco(óxido de trifenilfosfina) que se elimina por filtra ción. El filtrado se evapora y el residuo se disuelve en acetato de etilo y se distribuye en 4 placas de cromatografía de capa fina preparativa, que se desarrollan dos veces consecutivas con cloro formo. A la luz UV se visualizan dos bandas, de las cuales solo se carboniza, la de menor recorrido. Se extrae esta banda con ace tato de etilo para dar 0,69g(78,5%) de un sólido que se recrista liza de acetato de etilo-hexano y que se identifica como 81.

p.f.=156-157°C

Análisis (%)

Calculado para $C_{17}H_{22}ClN_3O_9$:C,45,60; H,4,95; Cl,7,89; N,9,38

Hallado.....:C,45,99; H,4,95; Cl,7,86; N,9,67

4.8- 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-5-bromometil-1,2,4-triazol. (83)

A una disolución de 79(2g, 0,0046 moles) en 1,2-dimetoxietano(30 ml) se añade trifenilfosfito (2,15g, 0,0069 moles)

La mezcla se mantiene, con agitación y protegida de la humedad, a 0°C durante media hora. Se añade después bromo (0,96g, 0,006 moles) y se agita a temperatura ambiente durante 1 hora. La disolución se concentra a vacío y el residuo se disuelve en la mínima cantidad de cloroformo y se distribuye en placas de cromatografía de capa fina preparativa, que se desarrollan con la mezcla acetato de etilo-cloroformo (1:1). A la luz UV se observan tres bandas, de las cuales solo se carbonizan las dos más próximas al origen, que se extraen con acetato de etilo. De la banda más próxima al origen se aíslan 0,2g del nucleósido de partida sin reaccionar. De la banda de mayor movilidad se aíslan 1,2g (52%) de un sólido que se recrystaliza de acetato de etilo-hexano y que se identifica como 83. p.f.= 137-138°C

Análisis (%)

Calculado para $C_{17}H_{22}BrN_3O_9$: C, 41,46; H, 4,50; Br, 16,24; N, 8,53
Hallado.....: C, 41,42; H, 4,49; Br, 16,08; N, 8,91

4.9- 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-5-iodometil-1,2,4-triazol. (84)

Se disuelve 81 (150,8mg, 0,337 mmoles) en acetona seca (4 ml) y se añade a continuación yoduro sódico (75,7mg, 0,505 mmoles). La mezcla se calienta a reflujo durante 5 minutos, apareciendo un precipitado blanco (NaCl) que se separa por filtración. El filtrado se evapora a sequedad, y el residuo se disuelve en acetato de etilo y se trata con una disolución saturada de tiosulfato sódico, hasta que se decolora la fase orgánica. Seguidamente se lava dicha fase orgánica dos veces con agua y se seca sobre

sulfato sódico. Se evapora el disolvente, para dar 151,8mg(83%) de un sólido amarillo pálido que se recristaliza de acetato de etilo-hexano y que se identifica como 84. p.f.=136-137°C

Análisis (%)

Calculado para $C_{17}H_{22}IN_3O_9$:C,37,86; H,4,11; I,23,52; N,7,79

Hallado.....:C,38,27; H,3,99; I,23,27; N,7,82

4.10- 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-5-[bis(2-cloroetil)aminometil]-1,2,4-triazol. (35)

Una disolución de 83(0,56g, 0,0011 moles), en acetona seca(10 ml) se trata con bis(2-cloroetil)amina(0,5g, 0,0036 molcs),recientemente liberada de su hidroclicuro, y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 48 horas. Pasado este tiempo se evapora el disolvente y el residuo siruposo se distribuye en 4 placas de cromatografía de capa fina preparativa, que se desarrollan con cloroformo. A la luz UV se visualizan dos bandas de las cuales solo se carboniza la mas próxima al origen, de la que se aislan 0,67g(97%) de un sirupe incoloro. Este jarabe,se trata con acetato de etilo, precipitando 0,28g(40%) de un sólido que se identifica como 85, en forma de hidroclicuro, p.f. = 203-204°C

Análisis (%)

Calculado para $C_{21}H_{30}Cl_2N_4O_9.HCl$...:C,42,77; H,5,30; Cl,17,99;

N,9,50

Hallado.....:C,43,02; H,5,26; Cl,17,63;

N,9,53

El filtrado se evapora a sequedad obteniéndose un sirupe que se

purifica otra vez por cromatografía de capa fina preparativa, con la mezcla acetato de etilo-hexano(3:1), para dar 0,34g(54%) de un sirupe amarillo que se identifica como 85

Análisis (%)

Calculado para $C_{21}H_{30}Cl_2N_4O_9$:C,45,59; H,5,46; Cl,12,78; N,10,12

Hallado:C,45,60; H,5,61; Cl,12,93; N,9,79

4.11- 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-5-[(aziridin-1-il)metil]-1,2,4-triazol. (86)

A una disolución de 81(0,6g, 0,0013 moles) en acetona seca(10 ml), se le añade aziridina(0,1 ml, 0,0019 moles), y la mezcla se mantiene a temperatura ambiente, con agitación magnética, durante 72 horas, Se evapora el disolvente quedando un sirupe oscuro que se purifica por cromatografía de capa fina preparativa con la mezcla acetato de etilo-hexano(3:1). Al carbonizar una de las placas, aparece una única banda, no visible al UV, que se extrae con acetona seca para dar 0,33g(50%) de un sirupe amarillo claro que cristaliza espontáneamente después de una noche a temperatura ambiente y que se identifica como 86. p.f.=144-146°C

Análisis (%)

Calculado para $C_{19}H_{26}N_4O_9$: C,50,21; H,5,76; N,12,33

Hallado.....: C,49,88; H,6,00; N,12,05

5.- SINTESIS DE N-GLUCOSIDOS ALQUILANTES DERIVADOS DE BROMOMETIL
-ACETOXI-1,2,4-TRIAZOL

5.1- Reacción de 5-metil-1,2,4-triazolin-3-ona y bromuro de
2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo.

A una mezcla de bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo(8,2g, 0,02 moles), cianuro mercurico (5,4g, 0,044 moles) y tamiz molecular de 4Å(3g) se añade una disolución de 5-metil-1,2,4-triazolin-3-ona(2g, 0,02 moles) en nitrometano anhidro(200 ml) y el conjunto se refluje durante 4 horas. Pasado este tiempo, la mezcla se filtra en caliente y se lava con nitrometano caliente(50 ml). El filtrado se evapora a sequedad, a presión reducida, obteniéndose un residuo que se trata con cloroformo, eliminando por filtración el residuo de sales inorgánicas insolubles. El extracto clorofórmico se lava con una disolución acuosa al 30% de IK, seguidamente con agua dos veces (2x60 ml) y finalmente se seca sobre sulfato sódico. Se evapora a sequedad en el rotavapor obteniéndose un jarabe duro blanco(7,74g) que se purifica por cromatografía de columna de gel de sílice 60 Merck, utilizando como eluyente la mezcla acetato de etilo-hexano(5:1). De la fracción mas rápida se extraen, despues de evaporar el disolvente, 1,1g(12,7%) de un sirupe incoloro que se identifica como 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranososa. De la inmediatamente posterior se aislan 1,40g(16%) de un sirupe, que cristaliza espontáneamente al cabo de 6 meses, que se recristaliza de acetato de etilo-hexano y que se identifica como 1,4-di(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-3-metil-1,2,4-triazolin-5-ona (94). p.f.=146-

-148°C. UV. $\lambda_{\text{max}}^{\text{ETOH}} = 216 (\epsilon, 1850)$. RMN. (DMSO) [5,80-5,30](m,6,H-1;2;3;1'';2'';3''), [5,30-4,86](m,2,H-4;4'') [4,40-3,96](m,6,H-5;5'';6;6''), 2,30(s,3,CH₃), 1,86,1,89,1,94,1,98,2,03(5s,24,80Ac)

Análisis (%)

Calculado para C₃₁H₄₁N₃O₁₉.....: C,49,01; H,5,40; N,5,27

Hallado.....: C,49,19; H,5,65; N,5,73

De la siguiente fracción se recogen 2,8g(32%) de un sirupe incoloro, cromatográficamente homogéneo, que cristaliza de 1,2-dimetoxi etano-éter y que se identifica como 4(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-3-metil-1,2,4-triazolin-5-ona(93). p.f.= 114-116°C

Análisis (%)

Calculado para C₁₇H₂₃N₃O₁₀.....: C,47,55; H,5,39; N,9,78

Hallado.....: C,47,69; H,5,99; N,9,14

De la siguiente fracción se aislan 1,3g(15%) de un sólido blanco que se recrystaliza de acetato de etilo-hexano y que se identifica como 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-3-metil-1,2,4-triazolin-5-ona(92). p.f.= 245°C

Análisis (%)

Calculado para C₁₇H₂₃N₃O₁₀.....: C,47,55; H,5,39; N,9,78

Hallado.....: C,47,64; H,5,40; N,9,94

5.2- 1,4-di(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-3-metil-1,2,4-triazolin-5-ona. (94)

a/ A partir de 4(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-3-metil-1,2,4-triazolin-5-ona. (93)

Una mezcla de 93(0,7g, 0,0016 moles), bromu-

ro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo(0,65g, 0,0016 moles), cianuro mercurico(0,86g, 0,0032 moles), nitrometano anhidro(25 ml) y tamiz molecular de 4Å(0,5g) se calienta a reflujo, durante 1,5 horas. Se filtra en caliente y se lava con nitrometano caliente. Al evaporar el filtrado a presión reducida se obtiene un residuo que se trata con cloroformo y del que se separa por filtración el residuo de sales inorgánicas. El extracto clorofórmico se lava con una disolución acuosa al 30% de IK. Seguidamente se lava con agua y se seca sobre sulfato sódico. Se evapora a sequedad obteniéndose un jarabe duro blanco(1,07g) que se purifica en cromatografía de capa fina preparativa con la mezcla acetato de etilo-hexano(2:1). A la luz UV se visualizan varias bandas, de las que solo se extrae la mas cercana al origen, que rinde 0,5g (40,6%) de un sirope idéntico al producto 94

b/ A partir de 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil-3-metil-1,2,4-triazolin-5-ona. (92)

Una mezcla de 92(0,7g, 0,0016 moles), bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo(2,65g, 0,006 moles) cianuro mercurico(0,86g, 0,0032 moles) tamiz molecular de 4Å(0,5g) y nitrometano anhidro(25 ml) se calienta a reflujo durante 12 horas. Se filtra en caliente y se lava con nitrometano caliente. Se evapora el filtrado a presión reducida y el residuo obtenido se trata con cloroformo, separando por filtración el residuo de sales inorgánicas. El extracto clorofórmico se lava con una disolución acuosa de IK al 30%, luego con agua, y a continuación se seca sobre sulfato sódico. Se filtra y el filtrado se evapora a se

quedad obteniéndose de este modo 2,20g de un sirupe que resulta ser una mezcla muy compleja de productos. Dicho jarabe se purifica en cromatografía de columna de gel de sílice 60 Merck(100g) que se eluye con la mezcla acetato de etilo-hexano(3:1). Cuando las fracciones mas rápidas han salido de la columna se eluye con la mezcla acetato de etilo-hexano(6:1). Los productos salen de la columna muy mezclados por lo que se purifican por cromatografía de capa fina preparativa. Obteniéndose después de varias cromatografías sucesivas 0,0866g(7%) de un sólido idéntico al producto 94.

5.3- 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-5-acetoxi-3-metil-1,2,4-triazol. (107)

Se disuelve 92(0,25g, 0,00058 moles) en piridina seca(6 ml), se añade a continuación anhídrido acético(5 ml) y la mezcla de reacción se mantiene a temperatura ambiente, durante una noche. Se evapora el disolvente a presión reducida, quedando un jarabe rojizo, que se disuelve en acetato de etilo y se distribuye en 3 placas de cromatografía de capa fina preparativa que se desarrollan con la mezcla acetato de etilo-hexano(2:1). A la luz UV se visualizan dos bandas, de las cuales se aísla solo la mas alejada del origen y mayoritaria. De se obtienen 0,22g(81%) de un sólido blanco que cristaliza de acetato de etilo-hexano y que se identifica como 107 . p.f.= 148-149°C

Análisis (%)

Calculado para $C_{19}H_{25}N_3O_{11}$: C,48,40; H,5,34; N,8,91
Hallado.....: C,48,32; H,5,46; N,8,92

5.4- 4(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-5-acetoxi-3-metil-1,2,4-triazol. (108)

Se disuelve 93(2g, 0,0046 moles) en piridina seca(30 ml) y la mezcla se mantiene con agitación a temperatura ambiente durante 6 horas. Pasado este tiempo, se evapora a sequedad a sequedad a presión reducida y el jarabe incoloro resultante se disuelve en la mínima cantidad de acetato de etilo y se distribuye en 10 placas de cromatografía de capa fina preparativa, que se desarrollan dos veces consecutivas con la mezcla acetato de etilo-hexano(2:1). A la luz UV se visualizan tres bandas de las que solo se extrae la intermedia y mayoritaria, que rinde 1,36g (62%) de un jarabe duro blanco que se identifica como 108

Análisis (%)

Calculado para $C_{19}H_{25}N_3O_{11}$: C, 48,40; H, 5,34; N, 8,91

Hallado.....: C, 48,32; H, 5,46; N, 8,92

5.5- 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-5-acetoxi-3-bromometil-1,2,4,-triazol. (109)

Se disuelve 107(0,21g, 0,0004 moles) en tetracloruro de carbono(8ml) se añade seguidamente N-bromosuccinimida (0,41g, 0,0023 moles) y la mezcla se somete a la acción de una lámpara de 200wattios durante 45 minutos. Se filtra la mezcla en caliente y el filtrado se evapora a sequedad quedando un sirupe que se disuelve en acetona y se distribuye en dos placas de cromatografía de capa fina preparativa, que se desarrollan con la mezcla acetato de etilo-hexano(1:1). A la luz UV se visualizan varias bandas de las que solo se carboniza, la segunda mas cercana al origen

de la que se aislan 0,13g (54%) de un sirupe incoloro que se identifica como 109. Después de varias cromatografías sucesivas no se consiguió obtener una muestra analíticamente pura, ya que el producto se descomponía. Por ello, su identificación se basó en sus datos espectroscópicos. Rf= 0,45 (acetato de etilo-hexano(1:1))

RMN. (DMSO) δ 5,86(d, 1, H-1; $J_{1,2} = 9$ Hz), [5,73-5,20] (m, 3, H-2; 3; 4')
 4,47(s, 2, CH₂Br), 2,57(s, 3, OAc-5), 1,92, 1,93, 2,02, 2,06 (4s, OAc).
 (CDCl₃) [5,73-5,03] (m, 4, H-1; 2; 3; 4'), [4,23-3,80] (m, 3, H-5; 6; 6')
 4,53(s, 2, CH₂Br), 2,68(s, 3, OAc-5), 1,94, 2,02, 2,06, 2,09 (4s, Ac)
Masas. m/e 508(0,3%), 506(0,3), 450(0,3), 448(0,3), 436(0,3), 434(0,3)
 394(0,5), 392(0,5), 331(93), 316(2), 314(2), 270(10), 220(3), 218(3), 221
 (4), 219(4), 169(100), 139(12), 109(97), 102(15), 101(3).

5.6- 4(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-5-acetoxi-3-bromometil-1,2,4-triazol y 4(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-5-acetoxi-3-dibromometil-1,2,4-triazol. (111 y 112)

A una disolución de 108 (0,5g, 0,001 moles) en tetracloruro de carbono (17 ml) se añade NBS (1g, 0,0056 moles). La mezcla de reacción se somete a la acción de una lámpara de 200 w durante 80 minutos. Se filtra la mezcla en caliente y el filtrado se evapora a sequedad quedando un sirupe que se disuelve en acetona y se distribuye en tres placas de cromatografía de capa fina preparativa que se desarrollan con la mezcla acetato de etilo-hexano(2:1). A la luz UV se visualizan varias bandas, de las que sólo se aislan las dos mayoritarias (la segunda y la tercera más próximas al origen). De la banda más alejada del origen se extraen

0,21g(32%) de un sirupe que se identifica como 112, que resultó ser inestable y no pudo obtenerse analíticamente puro, por ello, su identificación se basó en sus datos espectroscópicos. Rf=0,46 (acetato de etilo-hexano(2:1)).

RMN. (CDC1₃) δ 6,53(s,1,CHBr₂), 5,40(d,1,H-1', J_{1'2'} = 9Hz), 2,58(s, 3,0Ac), 1,98, 2,03, 2,05 (3s,12,4 OAc)

Masas. m/e 631(M⁺+4, 2,5%), 629(M⁺+2, 5%), 627(M⁺, 2,5%), 585(5), 587(10), 589(5), 567(2), 569(2), 526(0,5), 528(1), 530(0,5), 506 (1), 508(1), 446(1), 448(1), 409(5), 411(5), 365(1,5), 367(1,5), 362(10), 331(15), 302(5), 296(0,5), 298(1), 300(0,5), 253(35), 255 (35), 216(1), 218(1), 190(15), 192(15), 169(45), 155(40), 157(40) 143(30), 137(2), 127(35), 115(100), 109(50), 103(48), 95(20)

De la banda de menor recorrido se obtuvieron 0,12g(21%) de un si rupe que se identificó como 111, que también resultó ser inestable y que se identificó por sus datos espectroscópicos. Rf= 0,37(ace- tato de etilo-hexano(2:1)).

RMN. (CDC1₃) δ 5,306(d,1,H-1', J_{1'2'} = 9Hz), 4,43(s,2,CH₂Br), 2,56(s,3 OAc), 1,96, 2,00, 2,03(3s,12, 4 OAc).

Masas. m/e 507(2,7), 509(2,7), 463(1), 465(1), 409(3), 411(3), 365 (3), 367(3), 331(28), 326(5), 328(5), 302(6), 304(6), 276(11), 235 (39), 218(5,5), 220(5,5), 169(89), 155(67), 139(20), 109(100), 105 (14), 95(80)

6.- SINTESIS DE NUCLEOSIDOS DERIVADOS DE 1,2,4-TRIAZOLES SUSTITUIDOS

- 6.1- 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-3-nitro-1,2,4-triazol y 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-5-nitro-1,2,4-triazol. (128 y 127)

Una mezcla de 3-nitro-1,2,4-triazol(3,169g, 0,0278 moles), $(\text{CN})_2\text{Hg}$ (7,022g, 0,0278 moles), tamiz molecular -- (1g) y nitrometano anhidro(300 ml) se calienta a 110°C durante 30 minutos, seguidamente se añade bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo(11,4g, 0,0278 moles) y el conjunto se re fluye durante 4 horas. Pasado este tiempo se filtra en caliente y se lava con nitrometano caliente. Se evapora a sequedad a presión reducida y el residuo obtenido se trata con cloroformo, separando por filtración el precipitado de sales inorgánicas. El extracto clorofórmico se lava con una disolución acuosa de IK al 30%, seguidamente con agua dos veces (2x50 ml) y finalmente se seca sobre sulfato sódico. Las aguas de lavado se extraen una vez con 50 ml de cloroformo que se une a la fase orgánica anterior. El precipitado de sales inorgánicas, obtenido al tratar la mezcla de reacción con cloroformo, se extrae con 50 ml de una mezcla de acetato de etilo -cloroformo(2:1), se lava la fase orgánica con una disolución acuosa de IK al 30%, seguidamente con agua y finalmente se seca sobre sulfato sódico. Se filtra, se unen los extractos clorofórmicos y los obtenidos al tratar las sales y se concentra a sequedad a presión reducida, para dar 9,8g de un sirupe amarillo pálido que se purifica por cromatografía líquido-líquido, empleando como eluyente

la mezcla acetato de etilo-hexano(2:3) para dar en una de las fracciones cromatográficamente mas rápidas 2,46g(20%) de un sólido que se recrystaliza de acetato de etilo-hexano y que se identifica como 127. p.f.= 128-129°C. IR. 1530 cm^{-1} , 1340 cm^{-1} (NO₂)

Análisis (%)

Calculado para C₁₆H₂₀N₄O₁₁.....: C,43,24; H,4,53; N,12,60

Hallado.....: C,43,49; H,4,56; N,12,33

De una fracción cromatográficamente mas lenta se obtienen 6,91g (56%) de un sólido que se recrystaliza de acetato de etilo-hexano y que se identifica como 128. p.f.= 178°C sublima y funde de nuevo a 188-190°C. IR. 1518 cm^{-1} , 1310 cm^{-1} (NO₂)

Análisis (%)

Calculado para C₁₆H₂₀N₄O₁₁.....: C,43,24; H,4,53; N,12,60

Hallado.....: C,43,23; H,4,52; N,12,28

6.2- 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-5-amino-1,2,4-triazol. (130)

Se disuelve 127(1g, 0,002 moles) en 25 ml de acetato de etilo, se añade Pd/C(0,5 g) y la mezcla de reacción se hidrogena a 45 psi y 40°C durante 19 horas. Se filtra el catalizador y se evapora el disolvente a sequedad a presión reducida quedando un sirupe que se disuelve en acetona-metanol(10:1) y se distribuye en 5 placas de cromatografía de capa fina preparativa que se desarrollan con acetato de etilo, dos veces consecutivas. A la luz UV se visualizan dos bandas, aislándose la mas cercana al origen y mayoritaria, que rinde 0,70g(75%) de un sólido blanco que

serrecristaliza de acetato de etilo-hexano y que se identifica como 130. f.f.=192°C

Análisis (%)

Calculado para $C_{16}H_{22}N_4O_9$: C,46,37; H,5,35; N,13,52

Hallado.....: C,46,51; H,5,26; N,13,48

6.3- 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-3-amino-1,2,4-triazol. (131)

Se disuelve 128(3,1g, 0,007 mols) en acetato de etilo(90 ml), se añade Pd/C (1,5g) y se hidrogena la mezcla a 45 psi y 40°C durante 21 horas. Se filtra el catalizador y se evapora el disolvente, obteniéndose 3,77g de un jarabe duro amarillo que cristaliza de acetato de etilo-hexano para dar 1,72g de un sólido blanco que se identifica como 131. Se concentran las agua madres y el residuo se distribuye en 6 placas de cromatografía de capa fina preparativa que se desarrollan con acetato de etilo. A la luz UV se visualizan tres bandas de las cuales se carboniza la mas cercana al origen. De esta banda se aislan 0,31g de un sólido idéntico a 131 aislado anteriormente. Rendimiento total 2,03g(70%).p.f.= 186-187°C

Análisis (%)

Calculado para $C_{16}H_{22}N_4O_9$: C,46,37; H,5,35; N,13,52

Hallado.....: C,46,10; H,5,58; N,13,60

6.4- Reacción de desaminación de 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-3-amino-1,2,4-triazol.

a/ Se disuelve 131 (0,35g, 0,84 mmoles) en 5 ml de una mezcla de agua-acetona(4:1) y se añade, a continuación ácido hipofosforoso del 50% (0,3 ml). Seguidamente se añade, gota a gota con agitación magnética, una disolución de NO_2Na (0,18g, 2,6 mmoles) en H_2O (4ml). La mezcla de reacción se mantiene a temperatura ambiente durante 4 horas. Se evapora el disolvente quedando un residuo sólido que se distribuye en dos placas de cromatografía de capa fina preparativa, las cuales se desarrollan con acetato de etilo. A la luz UV se visualizan varias bandas de las que sólo se carboniza la tercera mas alejada del origen, que se aísla, y de la que se extraen 0,11g(33%) de un sólido que se recristaliza de acetato de etilo-hexano, y que resulta ser idéntico al producto 74 ya descrito. p.f.= 145°C

b/ Se disuelve 131 (0,35g, 0,84 mmoles) en 5ml de una mezcla de D_2O -acetona(4:1), se añade una disolución acuosa al 50% de ácido hipofosforoso deuterado(0,3 ml). Se adiciona, gota a gota con agitación magnética, una disolución de NO_2Na (0,091g, 1,3 mmoles) en D_2O (3 ml) y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 2 horas. Se evapora el disolvente a sequedad, a presión reducida y el residuo obtenido se purifica en dos placas de cromatografía de capa fina preparativa que se desarrollan dos veces consecutivas con acetato de etilo. A la luz UV se visualizan varias bandas, de las cuales solo se carboniza la tercera mas alejada del origen, que se aísla, y de la que se extraen con acetona, 0,144g (43%) de un sólido cromatográficamente homogéneo cuyo espectro de RMN es idéntico al de 74 obtenido anteriormente excepto la señal que aparece a 8,07 (H-5) que integra para 0,5 protones. Este --

sólido se identifica como 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-3-deutero-1,2,3-triazol (132). p.f. = 128-129°C

Preparación del ácido hipofosforoso deuterado

A 1 ml de ácido hipofosforoso acuoso al 50% se le evapora el agua, a presión reducida, se añade D_2O (0,5 ml) y se evapora de nuevo. De añade nuevamente D_2O (0,5 ml) hasta que el PO_2D_3 sea aproximadamente al 50% en D_2O .

6.5- Reacción de desaminación de 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-5-amino-1,2,4-triazol.

A una disolución de 130 (0,19g, 0,47 mmoles) en 2,5 ml de una mezcla de agua-acetona (3:2), se añaden 0,2 ml de ácido hipofosforoso. Seguidamente se adiciona gota a gota, una disolución de NO_2Na (0,069g) en H_2O (1,5 ml) y la reacción, se mantiene con agitación magnética, a temperatura ambiente durante 2 horas. Se evapora el disolvente y el residuo que se obtiene se purifica distribuyéndolo en dos placas de cromatografía de capa fina preparativa que se desarrollan con acetato de etilo. A la luz UV se visualizan 3 bandas. De la banda central se aíslan 0,12g (64%) de un sólido idéntico a 74 obtenido anteriormente. p.f. = 144°C.

6.6- 3-acetilamino-1(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-1,2,4-triazol y 3-diacetilamino-1(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-1,2,4-triazol. (135 y 136)

Se disuelve 131 (0,5g, 0,001 moles) en piridina seca (4 ml) y se añade a continuación anhídrido acético (2 ml)

manteniéndose la reacción a temperatura ambiente durante 24 horas. Se concentra a presión reducida, y el residuo se disuelve en acetona y se distribuye en tres placas de cromatografía de capa fina preparativa que se desarrollan con acetato de etilo. A la luz UV se visualizan tres bandas de las que se carbonizan la más cercana y la más alejada del origen, que se extraen. De la banda más próxima al origen se aíslan 0,2554g (46%) de un sólido que se recristaliza de acetato de etilo y que se identifica como 135.

p.f.=193°C. IR. 3330 cm^{-1} una banda (-NH amida 2^{ia}), 1695 cm^{-1} (C=O amida I), 1535 cm^{-1} (N-C=O, amida II)

Masas. m/e 456(M⁺, 2%), 414(4), 331(30), 271(8), 211(13), 179(17), 169(100), 125(25)

Análisis (%)

Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_{10}$: C, 47,36; H, 5,30; N, 12,27

Hallado.....: C, 47,29; H, 5,42; N, 12,21

De la banda más alejada del origen se aíslan 0,2043g (34%) de un sólido que se recristaliza de acetato de etilo-hexano y que se identifica como 136. p.f. 163-164°C. Masas. m/e 472(1,8%), 456(15), 414(7), 397(11), 331(46), 271(10), 229(36), 211(51), 187(29), 169(100), 168(25), 167(15)

Análisis (%)

Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_{11}$: C, 48,19; H, 5,22; N, 11,24

Hallado.....: C, 47,81; H, 5,13; N, 10,88

6.7- Reacción de 3-diacetilamino-1(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-1,2,4-triazol con Cl_4Sn

Se disuelve 136 (0,1017g, 0,2 moles) en 1,2,-dimetoxietano seco (2 ml), se añaden seguidamente 0,02 ml de Cl_4Sn , manteniendo la reacción en baño de hielo durante una hora, se retira el baño de hielo y se mantiene a temperatura ambiente durante 1 hora mas. La reacción se vierte sobre agua destilada (5 ml) y se neutraliza con una disolución saturada de bicarbonato sódico. Se extrae con cloroformo y se seca sobre sulfato sódico, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida, para dar 0,057g (62%) de un sólido que se recristaliza de acetato de etilo y que resulta ser idéntico en sus propiedades tanto físicas como químicas al producto 135 p.f.= 192-193°C

6.8- Reacción de 3-amino-1,2,4-triazol y bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo

Una mezcla de 3-amino-1,2,4,-triazol (1,5g, 0,0178 moles) bromuro de 2,3,4,6-tetra-O- α -D-glucopiranosilo (7,2g 0,0178 moles) cianuro mercurico (4,2g , 0,0357 moles) nitrometanoanhidro (150 ml) y tamiz molecular de 4 Å (1g) se calienta a reflujo durante dos horas. Se filtra en caliente y se lava con nitrometano caliente y el filtrado se evapora a sequedad a presión reducida. El jarabe obtenido se trata con cloroformo, separando por filtración el precipitado de sales inorgánicas. El extracto cloroformico se lava con una disolución acuosa de IK al 30%, después con agua dos veces (2x50ml) y finalmente se seca sobre sulfato sódico. Se evapora el disolvente obteniéndose un jarabe amarillo, que según se ve por cromatografía de capa fina es una mezcla muy compleja. De dicha mezcla se aislan después de varias cromatografías de ca-

pa fina preparativa empleando como eluyente acetato de etilo. De la banda mas rápida se aislan 0,78g(10%) de un sólido que se re cristaliza de metanol y al que se asigna tentativamente la estruc tura de 4(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-3-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)amino-1,2,4-triazol (119)

p.f.=252-253°C desc. UV. $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}} = 235(\epsilon, 2617) 268(\epsilon, 429)$.

RMN. (DMSO) δ 8,00(s, 1H-5), [5,73-5,23](m, 6, H-5; 6; 5'; 6'') [5,23-4,80] (m, 2, H-4; 4''), [4,20-3,93](m, 6, H-5; 6; 5'; 6''), 1,83, 1,86, 1,95, 2,00 (5s, 24, 80Ac)

(CDCl₃) 7,36(s, 1, H-5), [5,55-0,2](m, 8, H-1; 2; 3; 4; 1'; 2'; 3'; 4''), [4,28-3,72](m, 6, H-5; 6; 5'; 6''), 1,92, 2,02, 2,05, 2,08(4s, 24, 80Ac)

Masas. m/e 745(M⁺+1, 15%), 702(4), 686(23), 626(10), 552(5), 625(8), 457(33), 444(15), 414(27), 415(24), 331(95), 272(25), 211(15), 169(100)

Análisis (%)

Calculado para C₃₀H₄₀N₄O₁₈.....: C, 48,38; H, 5,38; N, 7,53

Hallado: C, 48,08; H, 5,64; N, 7,91

De la banda inmediatamente posterior se aislan 1,6g(21%) de un sólido que se recrystaliza de metanol y que se identifica como 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-3-(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)amino-1,2,4-triazol (118). p.f.=242-243°C desc

UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}} = 235(\epsilon, 1912), 270(\epsilon, 322)$

RMN. (DMSO) δ 8,36 (s, 1, H-5), 7,15(d, 1, NH, J_{NH-1} = 9Hz), 5,85(d, 1, H-1; J_{1,2} = 9Hz), [5,56-4,47](m, 7, H-1'; 2; 3; 4; 2'; 3'; 4''), [4,20-3,80] (m, 6 H-5; 6; 5'; 6''), 1,83, 1,90, 1,93, 1,96, 2,00, 2,02(6s, 24, 80Ac)

(CDCl₃) 7,96(s, 1, H-5), [5,59-4,92] (m, 6, H-5; 6; 5'; 6''), 1,92, 2,05

2,07, 2,08 (4s,24,80Ac)

Masas. m/e 745(M⁺+1, 3%), 702(2), 686(5,5), 626(10), 552(7,5),
509(17), 415(3), 331(45), 355(1), 295(5),168(100), 84(5,5),81(23)

Análisis(%)

Calculado para C₃₀H₄₀N₄O₁₈.....: C,48,38; H,5,38; N,7,53

Hallado.....: C,48,63; H,5,74; N,7,82

6.9- 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-1,2,4-triazol-5-ona. (144)

Se disuelve 127(1g, 0,0022 moles) en acetoni-trilo(5 ml), se añaden 5 ml de agua destilada y la reacción se mantiene a temperatura ambiente durante 15 días. Se evaporan los disolventes, obteniéndose un sólido blanco que se recristaliza de etanol-éter etílico y que se identifica como 144 . Rendimiento cuantitativo. p.f.= 250°C.

Masas. m/e 342(0,3%),331(35), 300(0,5),271(0,5),253(0,5),193(1),
169(90),127(48),109(100),86(68),84(8)

Análisis (%)

Calculado para C₁₆H₂₀N₃O₁₀.....: C,46,37; H,4,86; N,10,14

Hallado.....: C,46,47; H,5,04; N,10,12

6.10- Cloruro de [1(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-1,2,4-triazol-5-il]-dimetil-(piridin-4-il)amonio. (148)

Una disolución de 127(0,5g, 0,0011moles) en dimetilformamida(10 ml) se trata con bis(2-cloroetil)amina(0,5g, 0,0036 moles), recientemente liberada de su hidrocloreuro y se añaden 0,3g(0,0024 moles) de 4-dimetilaminopiridina. La reacción se

mantiene con agitación a temperatura ambiente durante 7 horas, se filtra el precipitado insoluble y se evapora el filtrado a sequedad, obteniéndose de este modo un sirupe oscuro que se disuelve en metanol y se distribuye en 5 placas de cromatografía de capa fina preparativa, que se desarrollan tres veces consecutivas con la mezcla acetato de etilo-metanol(2:1). A la luz UV se observan varias bandas, de las que solo se carboniza la segunda mas cercana al origen. Después de extraer dicha banda con acetato de etilo-metanol(5:1) y evaporar el disolvente se obtienen 0,3g(48,4%) de un sólido que se cristaliza de etanol-éter etílico y que se identifica como 148. p.f.= 190-191°C

Análisis (%)

Calculado para $C_{23}H_{30}ClN_5O_9$:C,49,68; H,5,40; Cl,6,39; N,12,60
Hallado.....:C,49,30; H,5,62; Cl,6,51; N,12,34

6.11- 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-5-cloro-1,2,4-triazol. (147)

Una disolución de 127(0,5g, 0,0011 moles) en acetonitrilo(10 ml) se trata con bis(2-cloroetil)amina(2g, 0,014 moles), recientemente liberada de su hidrocloreuro. La mezcla se calienta a reflujo durante una noche. Se evapora el disolvente y el residuo obtenido se purifica en cromatografía de capa fina preparativa con la mezcla acetato de etilo-hexano(2:1). A la luz UV se visualizan varias bandas, al carbonizar una de las placas, se carboniza una banda no visible al UV y que está situada entre la segunda y la tercera banda mas proximas al origen. De dicha banda se obtienen 0,25g(52%) de un sólido que se recristaliza de ace

tato de etilo-hexano y que se identifica como 147. p.f. = 161-163°C

Masas. m/e 434(M⁺+1,0,7%), 436(0,2), 374(1), 376(0,3), 372(0,5), 360
(3), 362(1), 331(47), 318(7), 320(2,3), 313(1), 253(25), 255(8,3), 240
(27), 242(9), 210(34), 212(11,3), 169(100), 103(37), 102(30)

Análisis (%)

Calculado para C₁₆H₂₀N₃O₉.....: C, 44,29; H, 4,61; Cl, 8,18; N, 9,68
Hallado.....: C, 43,91; H, 4,55; Cl, 8,40; N, 9,68

6.12- 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosil)-5-aziridin-
o-1-il-1,2,4-triazol. (145)

A una disolución de 127(0,5g, 0,0011 moles) en acetona seca(10 ml), se añade aziridina(0,1 ml, 0,0019 moles) y la reacción se mantiene a temperatura ambiente, con agitación magnética y protegida de la humedad, durante una noche. Se evapora el disolvente a presión reducida, obteniéndose de este modo un jarabe rojizo, que se purifica en cromatografía de capa fina preparativa con la mezcla acetato de etilo-hexano(3:1). A la luz UV se visualizan varias bandas, de las cuales solo se carboniza, la segunda mas próxima al origen. De dicha banda se aislan 0,31g(63%) de un sólido que se recrystaliza de etanol a ebullición y que se identifica como 145. p.f. = 194-195°C

Análisis (%)

Calculado para C₁₈H₂₄N₄O₉.....: C, 49,09; H, 5,45; N, 12,72
Hallado.....: C, 49,04; H, 5,31; N, 12,60

nd

 A P E N D I C E
ACTIVIDAD CITOSTATICA

Los ensayos de actividad citostática fueron realizados en el Instituto de Química Médica del C.S.I.C.

Los ensayos "in vitro" fueron realizados con la asistencia de la Srta. Emilia Bayo. Estos estudios se realizaron bajo la dirección del Dr. Gregorio Alonso Cortiguera, a quienes deseo expresar mi agradecimiento.

Al margen del trabajo de síntesis orgánica - que forma el cuerpo de esta memoria, se ha estudiado la actividad citostática de todos los compuestos que se describen aquí por primera vez.

Aunque estos ensayos biológicos no forman parte de la memoria, sus resultados se resumen brevemente a continuación por considerar que son el complemento esencial a la labor de diseño y síntesis llevada a cabo.

La sistemática de este estudio consistió en - un ensayo "in vitro" frente a cultivos celulares, con el fin de - seleccionar aquellos compuestos que habiendo resultado activos en dicho sistema, habían de ser ensayados, a continuación "in vivo" en ratones, para finalmente, a la vista de los datos de actividad obtenidos poder establecer relaciones estructura-actividad.

1.- ENSAYOS "IN VITRO"

De entre los distintos procedimientos "in vitro" que existen en la actualidad para la detección de agentes antineoplásicos, las técnicas de cultivos celulares son las mas generalmente utilizadas¹³⁹. Las líneas celulares mas utilizadas para los ensayos "in vitro" son las HeLa, que procedentes de un carcinoma de útero humano fueron aisladas por Gey y col. en 1952¹⁴⁰ y las KB que provienen de un carcinoma humano de nasofaringe¹⁴¹. Para nuestros ensayos elegimos las células HeLa cuya sublínea, procedente del Instituto de Sanidad de Roma, mantenemos en nuestros laboratorios desde 1969.

Aquí se describe, muy brevemente, la metódica seguida en los ensayos realizados para luego presentar los resultados obtenidos.

1.1- Método de ensayo

El procedimiento seguido fue el establecido en los protocolos de "screening" del "Cancer Chemotherapy National Service Center" de USA¹⁴², que se basa en el estudio comparativo de la proliferación celular en condiciones normales de cultivo, con la posible inhibición de crecimiento originada por la sustancia ensayada a concentraciones seriadas de la misma, en idénticas condiciones de cultivo. El medio de cultivo empleado fue "TC-minimal Medium Eagle"¹⁴³, complementado por diversos nutrientes y protegido por antibióticos para evitar la proliferación de otros cultivos. El citado cultivo consiste en un medio sintético que contiene los compuestos usuales para el cultivo de células en monocapa.

Las células HeLa, en concentración de 10^5 células/ml, se incubaron en tubos Leighton a 37°C durante tres a cuatro horas. Al cabo de este tiempo, se añadió a las células adheridas al vidrio, el producto objeto del ensayo, suspendido en Tween 80, de forma que el volumen de esta suspensión fuera el 10% de la mezcla final de incubación. Esta mezcla final se incubó a 37°C durante tres días, procediéndose a continuación al estudio del crecimiento celular, mediante la medida de las proteínas celulares, siguiendo el método calorimétrico descrito por Oyama y Eagle¹⁴⁴. Como control positivo se utilizó en todos los casos la 6-mercaptopurina ($\text{DI}_{50} \simeq 0,1 \mu\text{g/ml}$).

Todos los productos se ensayaron inicialmente a tres niveles de dosis: 100, 10 y 1 $\mu\text{g/ml}$. En aquellos compuestos en que se observaron actividades a concentraciones inferiores a 100 $\mu\text{g/ml}$ se procedió a un segundo ensayo para definir con precisión la DI_{50} (dosis de inhibición 50), este parámetro indica la concentración de compuesto expresada en $\mu\text{g/ml}$, que inhibe en un 50% el crecimiento de las células del cultivo. En esta repetición las dosis se seleccionan de modo que la DI_{50} aproximada obtenida en el ensayo anterior quedase incluida en el centro de una serie de diluciones, - que se duplican por encima de ese valor y se dividen a la mitad por debajo del mismo. Una vez obtenidos los valores de los porcentajes de inhibición con arreglo a estas últimas diluciones se determinó por interpolación, la DI_{50} definitiva.

1.2- Resultados

Los resultados de los estudios de la actividad citostática "in vitro" se resumen en las tablas 12,13,14,15 y 16, en las que se expresa la actividad de cada uno de los compuestos en función de la DI_{50} . De acuerdo con los protocolos establecidos por el "Cancer Chemotherapy National Service Center" de USA¹⁴² se considera significativa la actividad de todas aquellas sustancias cuya $\text{DI}_{50} \leq 6 \mu\text{g/ml}$.

De los resultados expuestos en las tablas 12, 13 y 14 se deduce que para los nucleósidos monosustituídos, la actividad citostática aumenta al aumentar la capacidad alquilante - del sustituyente triazólico, es decir $\text{CH}_2\text{I} > \text{CH}_2\text{Br} > \text{CH}_2\text{Cl} > \text{CH}_2\text{OH}$. De los compuestos difuncionales, únicamente el bis(clorometil)deri

vado 50 resultó activo, mientras que el bis(hidroximetil)derivado 51 que no es alquilante, no tenía actividad citostática. Por otra parte los derivados difuncionales resultaron ser mas activos que los monofuncionales, aunque como contrapartida también presentaron mayor toxicidad.

Los derivados de 1,2,4-triazol (tablas 14 y 16) portadores de grupos alquilantes clásicos no resultaron activos.

El 1-glucosil-5-nitro-1,2,4-triazol derivado 127 presentó una $DI_{50} = 4 \mu\text{g/ml}$ resultando activo a pesar de no ser un nucleósido alquilante.

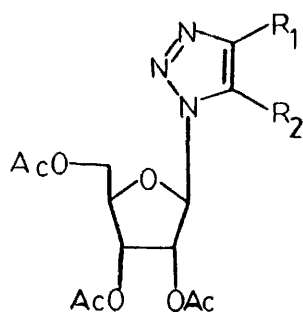
El hecho de que los 5-acetoxi-bromometil derivados 109 y 111 y el 5-acetoxi-dibromometil derivado 112, presentaran bajas actividades citostáticas a pesar de formar parte de su estructura el resto bromometilo, podría deberse a la falta de estabilidad de dichos derivados.

En cuanto a los azúcares transportadores empleados, los nucleósidos de glucopiranososa resultaron ser mas activos que los de ribofuranosa, que por otra parte resultaron ser mas -- inestables.

En cuanto a los grupos protectores de los OH del azúcar fueron los grupos acetilo los que dieron compuestos -- alquilantes de mayor actividad citostática.

TABLA-12

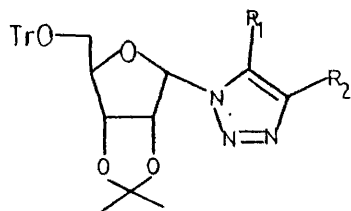
Actividad citostática "in vitro" frente a células HeLa de
1(2,3,5-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosil)-1,2,3-triazoles



Compuesto	R ₁	R ₂	DI ₅₀ (μ g/ml)
<u>36</u>	CH ₂ OH	H	>100
<u>46</u>	CH ₂ Cl	H	50
<u>47</u>	H	CH ₂ Cl	50
<u>49</u>	CH ₂ Br	H	5
<u>50</u>	CH ₂ Cl	CH ₂ Cl	2,5
<u>51</u>	CH ₂ OH	CH ₂ OH	> 100
<u>53</u>	CH ₂ I	H	3,5

TABLA-13

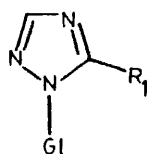
Actividad citostática "in vitro" frente a células HeLa de 2,3-O-isopropiliden-5-O-tritil- α -D-ribofuranosil-1,2,3-triazoles




Compuesto	R ₁	R ₂	DI ₅₀ (μg/ml)
<u>44</u>	H	CH ₂ Cl	> 100
<u>45</u>	CH ₂ Cl	H	> 100
<u>48</u>	H	CH ₂ Br	10
<u>52</u>	H	CH ₂ I	10

TABLA-14

Actividad citostática "in vitro" frente a células HeLa de
1-glicosil-1,2,4-triazoles



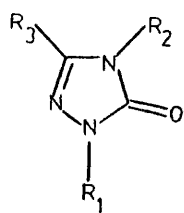
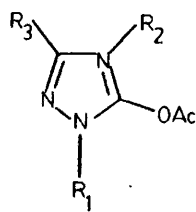
Compuesto	G1	R ₁	DI ₅₀ (μg/ml)
<u>74</u>	*	H	> 100
<u>79</u>	*	CH ₂ CH	> 100
<u>81</u>	*	CH ₂ Cl	25
<u>82</u>	◊	CH ₂ Br	100-10
<u>83</u>	*	CH ₂ Br	2,5
<u>84</u>	*	CH ₂ I	2,5
<u>85</u>	*	CH ₂ N(CH ₂ CH ₂ Cl) ₂	25
<u>86</u>	*	CH ₂ N 	25

* G1= 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo

◊ G1= 2,3,5-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosilo

TABLA-15

Actividad citostática "in vitro" frente a células HeLa de N-glucosil-1,2,4-triazolin-5-onas y 5-acetoxi-N-glucosil-1,2,4-triazoles

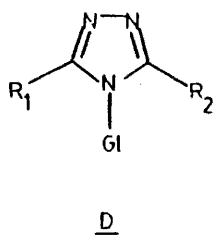
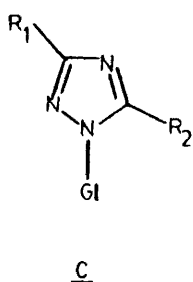
AB


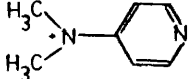
Compuesto	Tipo	R ₁	R ₂	R ₃	DI ₅₀ (μg/ml)
<u>92</u>	A	G1	H	CH ₃	>100
<u>93</u>	A	H	G1	CH ₃	>100
<u>94</u>	A	G1	G1	CH ₃	>100
<u>109</u>	B	G1	-	CH ₂ Br	75
<u>111</u>	B	-	G1	CH ₂ Br	40
<u>112</u>	B	-	G1	CHBr ₂	50

G1= 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo

TABLA-16

Actividad citostática "in vitro" frente a células HeLa de
N-glucosil-1,2,4-triazoles sustituidos



Compuesto	Tipo	R ₁	R ₂	DI ₅₀ (μg/ml)
<u>118</u>	C	NHG1	H	> 100
<u>119</u>	D	H	NHG1	> 100
<u>127</u>	C	H	NO ₂	4
<u>128</u>	C	NO ₂	H	> 100
<u>130</u>	C	H	NH ₂	> 100
<u>131</u>	C	NH ₂	H	> 100
<u>144</u>	C	H	=O	> 100
<u>145</u>	C	H		> 100
<u>147</u>	C	H	Cl	> 100
<u>148</u>	C	H		> 100

G1= 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranosilo

202

CONCLUSIONES

Con el fin de encontrar nuevos compuestos con actividad citostática, se ha llevado a cabo la obtención de una serie de nucleósidos derivados de 1,2,3-triazol y de 1,2,4-triazol en los que un grupo halometilo, como resto alquilante, está directamente unido al anillo heteroaromático. Asimismo se describe la síntesis de una serie de nucleósidos alquilantes portadores de grupos alquilantes "clásicos". También se ha evaluado la actividad citostática de todos los productos sintetizados, frente a cultivos de células HeLa como primera fase de selección.

Los aspectos mas significativos de este trabajo se resumen en las siguientes conclusiones:

- 1.- Se han sintetizado azida de 2,3-O-isopropiliden-5-O-tritil- α -D-ribofuranosilo y azida de 2,3,5-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosilo y se han demostrado sus configuraciones anoméricas.
- 2.- La reacción de cicloadición dipolar-1,3 de las dos azidas de ribofuranosilo anteriores con los acetilenos asimétricos, cloruro de propargilo o alcohol propargílico, condujo a una mezcla de los dos isómeros posibles 4- y 5-sustituidos de ribofuranosil-1,2,3-triazol, en la que predominó el isómero 4-sustituido, estéricamente menos impedido. Sin embargo, la reacción de dichas azidas con bromuro de propargilo dió únicamente un isómero, el 4-bromometil-ribofuranosil-1,2,3-triazol.

La reacción de cicloadición dipolar-1,3 de la azida de 2,3,5-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosilo con los acetilenos simétricos 1,4-diclorobutino y 1,4-dihidroxi-butino condujo como único producto a 4,5-bis(clorometil)- y 4,5-bis(hi-

droximetil)-1(2,3,5-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosil)-1,2,3-triazol, respectivamente.

3.- La reacción de transhalogenación de 4-bromometil- y 4-clorometil-1-ribofuranosil-1,2,3-triazoles con ioduro sódico dio los 4-iodometil derivados correspondientes.

4.- Se ha preparado una serie de 1-glicosil-1,2,4-triazoles alquilantes mediante la siguiente secuencia de reacciones:

1º/ Reacción de glicosidación de 1,2,4-triazol con 1,2,3,5-tetra-O-acetil- β -D-ribofuranosa, siguiendo el procedimiento de fusión, y con bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo, según el procedimiento de $(\text{CN})_2\text{Hg}/\text{CH}_3\text{NO}_2$, para dar 1(2,3,5-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosil)-1,2,4-triazol y 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-1,2,4-triazol, respectivamente.

2º/ Hidroximetilación de los 1-glicosil-1,2,4-triazoles anteriores con formaldehído acuoso para dar los 1-glicosil-5-hidroximetil-1,2,4-triazoles correspondientes.

3º/ Obtención de los 5-bromometil-1-ribofuranosil- y 1-glucopiranosil-1,2,4-triazoles por reacción de los 1-glicosil-5-hidroximetil-1,2,4-triazoles correspondientes con trifenilfosfito-bromo. Obtención de 5-clorometil-1(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-1,2,4-triazol por reacción del 5-hidroximetil derivado análogo con trifenilfosfina-tetracloruro de carbono. Obtención de 5-iodometil-1(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-1,2,4-triazol por reacción de transhalogenación del 5-clorometil derivado análogo con ioduro sódico.

4º/ Preparación de los N-glucósidos de 1,2,4-triazol portadores de restos alquilantes clásicos 5-bis(2-cloroetil)amino- metil- y 5-aziridinometil-1(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-1,2,4-triazol por reacción de los 5-bromometil- y 5-clorometil- derivados correspondientes con bis(2-cloroetil) amina y con aziridina respectivamente.

5.- Se han preparado una serie de N-glucosil derivados de acetoxi-bromometil-1,2,4-triazol mediante la siguiente secuencia de -- reacciones:

1º/ Reacción de glicosidación de 5-metil-1,2,4-triazolin-3-ona con bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo para dar tres productos: 1-glucosil-3-metil-1,2,4-triazolin-5-ona, 4-glucosil-3-metil-1,2,4-triazolin-5-ona y 1,4-digluco-sil-3-metil-1,2,4-triazolin-5-ona. Este último diglucósido se obtiene por reacción de cualquiera de los dos monoglucósidos con una molécula adicional de azúcar.

2º/ Acetilación de los dos monoglucósidos anteriores con -- anhídrido acético para dar 1(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)5-acetoxi-3-metil-1,2,4-triazol y 4(2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glucopiranosil)-5-acetoxi-3-metil-1,2,4-triazol.

3º/ Reacción de los dos acetoxi-derivados anteriores con N-bromosuccinimida para dar 1-glucosil-5-acetoxi-3-bromometil-1,2,4-triazol y 4-glucosil-5-acetoxi-3-bromometil-1,2,4-triazol respectivamente.

6.- Se han preparado N-glucosil derivados de nitro- y amino-1,2,4-triazol. La reacción de glicosidación de nitro-1,2,4-triazol

con bromuro de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosilo ha conducido a 1-glucosil-3-nitro-1,2,4-triazol y 1-glucosil-5-nitro-1,2,4-triazol. La reducción catalítica de los dos nitro triazoles ha llevado a los 1-glucosil-3-amino-1,2,4-triazol y 1-glucosil-5-amino-1,2,4-triazol. Las estructuras de los nucleósidos de nitro- y amino-1,2,4-triazol se han demostrado por desaminación reductora con nitrito sódico y ácido hipofosforoso deuterado en agua deuterada.

- 7.- El grupo nitro de 1-glucosil-5-nitro-1,2,4-triazol es un buen grupo saliente en reacciones de S_NAr , por lo que dicho nucleófilo reacciona con diferentes nucleófilos tales como agua, a ziridina o ión cloruro para dar los 5-hidroxi-, 5(aziridin-1-il)-5-cloro- derivados de 1-glucosil-1,2,4-triazol. También con la amina terciaria 4(dimetilamino)-piridina para dar la correspondiente sal de (1-glucosil-1,2,4-triazol-5-il)-dimetil-(piridin-4-il) amonio.
- 8.- Las estructuras de los productos obtenidos se han determinado por métodos analíticos y espectroscópicos de UV, IR, Masas y especialmente de RMN. Así las configuraciones anómeras tanto de las azidas de partida como las de los nucleósidos, y -- las posiciones de glicosidación de los triazoles, se han determinado mediante distintos criterios basados en la espectroscopía de RMN.
- 9.- Como complemento al trabajo de síntesis se ha determinado la actividad citostática "in vitro" frente a cultivos de células HeLa de todos los compuestos descritos en la presente memoria

Se ha comprobado que la actividad citostática aumenta al aumentar la capacidad alquilante del resto halometilo. Así las actividades observadas para los iodometil y bromometil-triazoles son mayores que las de los clorometil derivados correspondientes. Los hidroximetil derivados que no son alquilantes carecen de actividad. Los derivados de 1,2,4-triazol portadores de restos alquilantes clásicos, mostaza nitrogenada y aziridina carecen de actividad.

La estabilidad es un requisito importante para la obtención de actividades citostáticas. Los nucleósidos alquilantes derivados de ribosa, menos estables que los correspondientes de glucosa, presentaron en general menores actividades citostáticas. Estas actividades también fueron bajas en los glucosil derivados de bromometil-acetoxi-1,2,4-triazol que también fueron productos inestables.

Los grupos acetilo son adecuados como protectores de los grupos hidroxilo del azúcar.

203

BIBLIOGRAFIA

- 1.- W.C.J. Ross en "Biological alkylating agents" (Butterworths, ed.), London (1946)
- 2.- Handbook of experimental pharmacology. Vol. XXXVIII. "Antineoplastic and Immunosuppressive Agents". Tomo I (1974) cap. 3. Tomo II (1975) cap. 30-35 (Springer-Verlag, ed.), Berlín
- 3.- L.M. Schmidt, R. Fradfin, R. Sullivan y A. Flowers, *Cáncer Chemother. Rep. Suppl.*, 2,1(1965)
- 4.- W.C.J. Ross, ref.2. Tomo I. pag.33-46
- 5.- P.P. Carbone, C.W. Berard, J.M. Benett, J.L. Ziegler, M.L. Cohen y P. Gerber, *Annals. Intern. Med.*, 70,817(1969)
- 6.- W.J. Yount, T.D. Hall, A. Schilling y R.K. Shaddock, *Cancer Chemother. Rep.*, 51,517(1967)
- 7.- L.M. Cobb, T.A. Connors, L.A. Elson, A.H. Khan, B.C.V. Mitley, W.C.J. Ross y M.E. Whisson, *Biochem. Pharmacol.*, 18,1519 (1969)
- 8.- R.A. Kyle, P.P. Carbone, J.J. Lynch, A.H. Owens, G. Costa, R.T. Silver, J. Cuttner, J.B. Harley, L.A. Leone, B.I. Schnider y J.F. Holland, *Cancer Res.*, 27,510(1967)
- 9.- T.A. Connors, W.C.J. Ross, *Chem. Ind.* 492(1960)
- 10.- A.R. Cassazza, E.L. Khan, P.P. Carbone, *cancer Chemother. Rep.* 51,91(1967)
- 11.- L.A. Elson, M. Yarman y C.J. Ross, *Europ. J. Cancer*, 4,617(1968)
- 12.- D.J. Brown, en "The pyrimidines". *The Chemistry of heterocyclic compound.* (J. Wiley, ed.). Interscience, New York (1962). Supplement I. *The Chemistry of Heterocyclic Compounds.* (A. Weisberger y Taylor, eds.). Interscience(1970)
- 13.- J.A. Montgomery, ver ref.2, Tomo I, pag.97
- 14.- J.A. Montgomery, K. Hewson y C. Temple, *J. Med. Phar. Chem.*, 5

- 15(1962)
- 15.- J. Farkas y F. Sorm, Collect. Czech. Chem. Commun., 34,1696
(1969)
- 16.- A.M. Belikova, V.F. Zarytova y N.I. Grineva, Tetrahedron
Letters, 3557(1967)
- 17.- D. Baerwolf y P.Langen, Nucleic Acid Res. Spec. Publ. S,29
(1975)
- 18.- J.Zemlika, J. Smrt y F. Sorm, Collect. Czech.Chem. Commun.
29,635(1964)
- 19.- H.M. Williams, Cancer Chemother. Rep., 32,73(1963)
- 20.- F.R. White, Cancer Chemother. Rep., 14,73(1961)
- 21.- A. Okruszek y J.G. Verkade, J. Med. Chem., 22,882(1979)
- 22.- H.E. Skipper, F.M. Schabel, M.W. Trader y J.R. Thomson, Can-
cer Res., 21,1154(1961)
- 23.- R.R. Herr, H.K. Jahnke y A.D. Argodelis, J. Am. Chem. Soc.
89,4808(1967)
- 24.- T.P. Johnston, G.S. McCaleb y J.A. Montgomery, J.Med. Chem.,
6,669(1963)
- 25.- T.S. Lin, P.H. Fischer, G.T. Shian y W.H. Prusoff, J. Med.
Chem., 21.130(1978)
- 26.- J.A. Montgomery y H.J. Thomas, J. Med. Chem., 22,1109(1979)
- 27.- R.D. Elliot, R.W. Brockman y J.A. Montgomery, J. Med. Chem.,
24,350(1981)
- 28.- R.C.S. Audette, T.A. Connors, H.G. Mandel, K. Merai y W.C.J.
Ross, Biochem. Pharmacol. 22,1855(1973)
- 29.- T.A. Connors, P.M. Goddard, K. Merai, W.C.J. Ross y D.E.V.
Willman, Biochem. Pharmacol., 25,241(1976)

- 30.- P. Kleihues, G.F. Kolar y G.P. Margison, *Cancer Res.*, 36, 2189(1976)
- 31.- R.P. Panzica y L.B. Townsend, *J. Org. Chem.*, 36,1594(1971)
- 32.- R.A. Earl y L.B. Townsend, *J. Med. Chem.*, 22,1422(1979)
- 33.- a/ F.G. de las Heras, R. Alonso y G. Alonso, *J. Med. Chem.* 22,496(1979)
b/ F.G. de las Heras, R.M. Sánchez-Pérez y M.L. Aguado, *Eur. J. Med. Chem.* 16, 339(1981)
- 34.- A. Contreras, R.M. Sánchez-Pérez y G. Alonso, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1,243(1978)
- 35.- M.H. Hatanaka, *Biochim. Biophys. Acta.* 355,77(1974)
- 36.- K.J. Isselbacher, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 69,585(1972)
- 37.- D.F.H. Wallach en " *Membrane Molecular Biology of Neoplastic Cells*" Elsevier Scientific Publishing Co. Amsterdam, 1975, p. 298-299
- 38.- L.B. Townsend, *Chem. Rev.* 67,533(1967)
- 39.- J.T. Witkowsky, R.K. Robins, R.W. Sidwell y L.N. Simon, *J. Med. Chem.*, 15,1150(1972)
- 40.- G.D. Diana y F. Pancic, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, 15,410 (1976)
- 41.- H. Prusoff y D.C. Ward, *Biochem. Pharm.*, 25, 1233(1976)
- 42.- R. Huisgen, *Angew. Chem. Intern. Edit. Eng.*, 7,321-406(1968)
- 43.- R. Huisgen, *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, 2, 565-633(1963)
- 44.- R. Huisgen, *J. Org. Chem.*, 33,2291(1968)
- 45.- R. Huisgen, *J. Org. Chem.*, 41,403(1976)
- 46.- J. Bastide, J. Hamelin, F. Texier y Y. VoQuang, *Bull. Soc. Chim. France*, 2555,2871(1973)

- 47.- G. L'abbé, Chem. Rev., 69,345(1969); G. L'abbé, Ind. Chim. Belg., 34,519(1969)
- 48.- T. Shedarsky, en " The Chemistry of the azido group" (S.Pa tai,ed.),pag.331.Wiley(Interscience) New York(1971)
- 49.- G. L'abbé y A. Hassner, Bull. Soc. Chim. Belg., 80,209(1971)
- 50.- G. Alonso, M.T. García-López, G. García-Muñoz, R. Madroñero y M. Rico, J. Heteroc. Chem.,7,1269(1970)
- 51.- L. Horner y W. Kirmse, Ann., 614,1(1958)
- 52.- J.C. Sheehan y C.A. Robinson, J.Am. Chem. Soc., 73,1207(1951)
- 53.- G. L'abbé, J.E. Galle y A. Hassner, Tetrahedron Lett., 303 (1970)
- 54.- S. Corsano y R. Inverardi, Ric. Sci., 29,74(1959);Chem. Abstr. 53,17108(1959)
- 55.- L. Birkofer, A. Ritter y H. Uhlenbrauck, Chem. Ber. 96,3280 (1963)
- 56.- F. Micheel y G. Baum, Chem. Ber., 90,1595(1957)
- 57.- a/ Handbook of experimental pharmacology. Vol. XXXVIII, "Anti neoplastic and Immunossupresive Agents". Tomo II,pags.458-464 (SpringerVerlag,ed.),Berlín
b/ Cita 57a. TomoI,pag.81
- 58.- R.E. Harmon, R.A. Earl y S.K. Gupta, J. Org. Chem., 36,2553 (1971)
- 59.- R.E. Harmon, R.A. Earl y S.K. Gupta, Chem. Commun., 296(1971)
- 60.- H. El Khadem, D. Horton y M.H. Meshreki, Carbohyd. Res., 16 409(1971)
- 61.- W. Schörkhuber y E. Zbiral, Chem. Ber., 114,3165(1981)
- 62.- G. García Muñoz, J. Iglesias, M. Lora-Tamayo y R. Madroñero, J. Heteroc. Chem., 5,699(1969)

- 63.- M.T. García-López, G. García-Muñoz, J. Iglesias y R. Madroñero, J. Heteroc. Chem., 6,639(1969)
- 64.- M.T. García-López, G. García-Muñoz, R. Madroñero, An. Quim. 68,629(1972)
- 65.- J.S. Driscoll, G.F. Hazard Jr., H.B. Wood Jr., y A. Goldin, Cancer Chemother. Rep., Part.2,4(2),1(1974)
- 66.- G. Alonso, M. Fuertes, M.T. García-López, F.G. de las Heras J.M. Infante y M. Stud, Eur. J. Med. Chem., 13,155(1978)
- 67.- F.G. de las Heras, R. Alonso y G. Alonso, J. Med. Chem.,22 496(1979)
- 68.- A. Contreras, R.M. Sánchez-Pérez y G. Alonso, Cancer Chemother. Pharmacol.,1,243(1978)
- 69.- A. Bertho y H. Nüssel, Ber. 63,836(1930); A. Bertho y D. Aures, Ann. 592,54(1955)
- 70.- F. Micheel y A. Klemer, Advan. Carbohyd. Chem.,16,95(1961)
- 71.- F. Micheel y H. Wulff, Ber., 89,1521(1956)
- 72.- M. Nys y J.P. Verheiden, Bull. Soc. Chim. Belg., 69,57(1960)
- 73.- J. Baddiley, J.G. Buchanan, R. Hodges y J.F. Prescott, J. Chem. Soc. 4769(1957)
- 74.- L. Birkofer y A. Ritter, Angew. Chem. Int. Ed. Eng., 4,417 (1965)
- 75.- H. Paulsen, Z. Györgydeak y M. Friedmann, Chem. Ber., 107, 1568(1974)
- 76.- H. Paulsen, Advan. Carbohydr. Chem., 26,127(1971)
- 77.- W. Pfeleiderer y E. Bühler, Chem. Ber., 99,3022(1966)
- 78.- D. Dunstan y L. Hough, Carbohyd. Res., 23,17(1972)
- 79.- R.S. Klein, H. Ohri y J.J. Fox, J. Carbohidrates. Nucleosides.Nucleotides.1(3), 265-269(1974)

- 80.- L.B. Townsend en "Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry". (W.W. Zorbach y R.S. Tipson, Eds) Wiley-Interscience New York. Vol 2 pag.323-331(1973)
- 81.- J.L. Imbach, J.L. Barscut, B.L. Kam y B. Rayner, C. Tamby y C. Tapiero, J. Heterocycl. Chem., 10,1069(1973)
- 82.- J.L. Imbach, J.L. Barscut, B.L. Kam y C. Tapiero, Tetrahedron Lett., 129(1974)
- 83.- R.D. Guthrie y S.C. Smith, Cem. Ind. (London) 547(1968)
- 84.- J. Elguero, E. Gonzalez y R. Jackier, Bull. Soc. Chim. France 2998(1967)
- 85.- D.J. DeLongh en "Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry" (W.W. Zorbach y R.S. Tipson Eds) Vol.2, Wiley-Interscience. New York(1973)
- 86.- K.A. Watanabe, D.H. Hollemberg y J.J. Fox, J. Carbohydrates Nucleosides, Nucleotides. 1,1-37(1974). a) W. Koenigs y E. Knorr Ber., 34,957(1901). b) E. Fisher y B. Helferich, Ber. 47,210 (1914)
- 87.- B. Helferich y R. Gootz, Ber., 62,2788(1929); B. Helferich y L. Forststoff, Ber., 94,158(1961)
- 88.- G.E. Hilbert y T.B. Johnson, J. Am. Chem. Soc., 52,2001(1930)
- 89.- N. Yamaoka, K. Aso y K. Matsuda, J. Org. Chem., 30,149(1965)
- 90.- T. Sato, T. Shimadate y Y. Ishido, J. Chem. Soc., Japan, 81 1440(1960)
- 91.- Y. Ishido, T. Matsuba, A. Hosono, K. Fujii, T. Sato, S. Isome A. Maruyama y Y. Kikuchi, Bull. Chem. Soc. Japan, 40,1007 (1967)
- 92.- A. Hosono, K. Fujii, T. Tada, H. Tanaka, Y. Ohgo, Y. Ishido y T. Sato, Bull. Chem. Soc., Japan, 46,2818(1973)

- 93.- T. Nishimura, B. Shimizu y I. Iwai., Chem. Pharm. Bull., 11
1470(1963); T. Nishimura y I. Iwai., Ibid., 12,1471(1964)
- 94.- L. Birkofer, A. Ritter y H.P. Kuhlthau, Angew. Chem., 75,
209(1963); Chem. Ber., 97,934(1964)
- 95.- J.J. Fox y I. Goodman, J. Am. Chem. Soc., 73,3256(1951)
- 96.- R.S. Tipson, J. Biol. Chem., 130,55(1939); B.R. Baker, J.P.
Joseph, R.E. Schaub y J.H. Williams., J. Org. Chem., 19,1786
(1954)
- 97.- G.E. Hilbert y C.E. Rist, J. Biol. Chem., 117,371(1937); D.W.
Visser, I. Goodman y K. Dittmer, J. Am. Chem. Soc., 70,1926
(1948)
- 98.- V.Niedballa y H. Vorbrüggen, Angew. Chem. (Int. Ed.), 9,461
(1970)
- 99.- L.J. Haynes y F.H. Newth, Advan. Carboh. Chem., 10,207(1970)
- 100.- V. Niedballa y H. Vorbrüggen, J. Org. Chem., 39,3654,3660,
3664,3668,3672(1974)
- 101.- H. Vorbrüggen y K. Krolkiewicz, Angew. Chem. Int. Ed. Engl.
14,421(1975); F.W. Lichtenthaler, P. Voss y A. Heerd, Tetra
hedron Lett., 2141(1974)
- 102.- H. Vorbrüggen y B. Bennua, Tetrahedron Lett., 15,1339(1978)
- 103.- J.T. Witkowski y R.K. Robins, J. Org. Chem., 35(8),2635(1970)
- 104.- R. Jacquier, M.L. Roumestant y P. Viallefont, Bull. Soc.
Chim. France, 2630(1967); Ibid 2634(1967)
- 105.- R.G. Jones y C. Ainsworth, J. Am. Chem. Soc., 77,1538(1954)
- 106.- F.G. de las Heras, S.Y.K. Tam, R.S. Klein y J.J. Fox, J. Org.
Chem., 41,84(1976)
- 107.- J.P.H. Verheyden y J.G. Moffatt, J. Org. Chem., 35,2319(1970)
y referencias allí citadas.

- 108.- J.B. Lee y T.J. Nolan, *Can. J. Med.*, 44,1331(1966)
- 109.- H.N. Rydon y E.L. Tonge, *J.Chem.Soc.*, 3043(1965)
- 110.- a) L.F. Fieser y M. Fieser en "Reagents for Organic Chemistry". Tomo-I(John Wiley & Sons, Eds.) Inc. New York(1967). Ver también Tomos II y VII. b) S.R. Landauer y H.N. Rydon, *J.Chem. Soc.*, 2225(1953). c) D.G. Coe, S.R. Landauer y H.N. Rydon, *J. Chem. Soc. C*,2281(1954)
- 111.- J.P.H. Verheyden y J.G. Moffatt, *J. Org. Chem.*, 37,2289(1972)
- 112.- H. Gehlen, *Ann. Chem.*, 563,185(1949)
- 113.- Ver cita 80 pag. 297
- 114.- G.R. Revankar y L.B. Townsend, *J. Heterocycl. Chem.*, 7,2684, (1954)
- 115.- A. Bernardini, P. Viallefont, J. Daunis y M.L. Roumestant, *Bull. Soc. Chim. France*, nº 5-6,1191(1975)
- 116.- L. Horner y E.H. Winkelman, *Newer Methods Prep. Org. Chem.*, 3,151-198(1964), *Angew. Chem.*, 71,349-365(1959); C. Djerassi *Chem. Rev.*, 43,271-317(1948)
- 117.- H.J. Dauben y L.L. McCoy, *J. Am. Chem. Soc.*, 81,4863(1959)
- 118.- A. Grosselain y Goldfinger, *Nature* 171,704(1953), *Bull. Soc. Chim. Belg.*, 65,533(1956)
- 119.- J.S. Pizey en "Synthetic Reagents" Vol II(John Wiley y Sons, INC, Eds.) New York 1974.p.3-63
- 120.- J. March en "Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure"(R.E. Summersgill y A.T. Vinnicombe, Eds) McGraw-Hill Kogakusha.(1977).pags.636-638
- 121.- C. Temple en "Triazoles-1,2,4".The Chemistry of Heterocyclic Compounds. Vol 37(A. Weissberger y E.C. Taylor Eds). Wiley Interscience. New York(1981).p.307-314

- 122.- C.F.H. Allen y A. Bell, *Organic Synthesis*, 26,11(1947)
- 123.- E.J. Browne, *Aust.J. Chem.*, 22,2251(1969)
- 124.- M. Fuertes, R.K. Robins y J.T. Witkowsky, *J. of Carbohidra*
tes. Nucleosides. Nucleotides, 3(3)169(1976)
- 125.- J.L. Barascut, R.M. Claramunt y J. Elguero, *Bull. Soc. Chim.*
France, 5,1849(1973)
- 126.- B.N. Campbell y E.C. Spaeth, *J. Am. Chem. Soc.*, 81,5933(1959)
- 127.- B.G. Van Den Bos, *Rec. Trav. Chim.*, 79,836(1960)
- 128.- H.A. Staab y G. Seel, *Chem. Ber.*, 92,1302(1959);
- 129.- N.E. Chapman y D.Q. Russell-Hill, *J.Chem.Soc.*,1563(1956);
P.E. Parker y T.O. Read, *J.Chem. Soc.*, 9,3149(1962)
- 130.- J.F. Bunnett y J.J. Randall, *J. Am. Chem, Soc.*, 80,6020
(1958)
- 131.- M.J. Strauss, *Chem. Rev.*, 70,667-712(1970); T.N. Hall y C.F.
Poranski en "The Chemistry of the Nitro and Nitroso Groups"
part-2, (H. Feuer, Ed). Interscience publishers. New York.
(1970).pag. 329-384
- 132.- A.A. Fainzil'berg, G.K. Khisamutdinov y V.I. Slovetskii,
Bull. Acad. Sci. USSR, Div. Chem. Sci., 427(1969).CA, 70,
114503s
- 133.- F. Pietra y D. Vitali, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.II*,385
(1972)
- 134.- M.L. Wolfrom y A. Thompson, *Methods in Carbohydrate Chemis*
try, Vol.II pag. 211(1963)
- 135.- R.V. Lemieux, *Methods in Carbohydrate Chemistry*, Vol.II,
pag. 221(1963)
- 136.- R.S. Klein, H. Ohruí y J.J. Fox , *J. Carbohydrates. Nucleo*
sides. Nucleotides, 1(3),265-269(1974)

- 137.- F.G. Mann, J. Chem. Soc., 464(1934)
- 138.- G. Cipens (Inst. Org. Sin. Riga) Metody Poluch. Khim. Reaktivow Prep., nº 14, 9-11(1966)(Russ). CA, 67, 64306v
- 139.- H. Eagle y C.G. Foley, An. J. of Med., 21, 739(1956)
- 140.- G.O. Gey, W.A. Coffman y M.T. Kubicek, Cancer Res., 12, 264 (1952)
- 141.- H. Eagle, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 89, 362(1955)
- 142.- R.I. Geran, N.M. Greenberg, M.M. McDonald, A.M. Schumacher y B.J. Abbott, Cancer Chemother. Rep. Part. 3(2), 17(1972)
- 143.- H. Eagle, Science 130, 432(1959)
- 144.- V.I. Oyama y H. Eagle, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 91, 305 (1956)

