

ANTECEDENTS

La modificació de l'anell de furanosa és una estratègia comunment utilitzada a l'hora de sintetitzar nous anàlegs de nucleòsids, ja que petites modificacions en el carbohidrat poden conduir a canvis dràstics en la seva estabilitat i/o en la seva activitat com a agent antivíric.¹ Alguns exemples representatius de les modificacions que es poden dur a terme han estat comentats en la introducció general. En aquest capítol ens centrarem en la preparació de nucleòsids amb mobilitat conformacional restringida.²

Tot i els diferents tipus de biciclonucleòsids presents en la literatura, els mètodes de síntesi seguits en la seva preparació s'engloben en dos de generals:

1. **Síntesi prèvia del carbohidrat bicíclic i posterior glicosilació.** A l'Esquema 2.1 es recullen diferents exemples d'esquelets bicíclics que, a través d'una reacció de glicosilació del grup marcat en negreta i en alguns casos posteriors modificacions, permeten l'obtenció dels biciclonucleòsids. (1) Obtenció de nucleòsids pirimidínics amb un pont propilènic entre el C3' i el C4', usant 2-propenilciclopentanona com a producte de partida;³ (2) Síntesi de biciclonucleòsids preparats a partir de *cis*-2,3-dihidroxiciclopentanona per a ser incorporats en cadenes d'oligonucleòtid;⁴ (3), (4) Preparació de nucleòsids relacionats amb els àcids griseòlics naturals⁵ i preparats a partir de l'1,4:3,6-dianhidro-D-glucitol;⁶ (5) Obtenció de nucleòsids bicarbocíclics amb activitat anti-VIH sintetitzats a partir de 2-oxociclopentà-1-carboxilat d'etil a través

¹ P. Van Roey, C. K. Chu, en *Nucleosides and Nucleotides as Antitumor and Antiviral Agents*, Eds. C. K. Chu, D. C. Baker, Plenum Press, New York, **1993**, pp. 285-286.

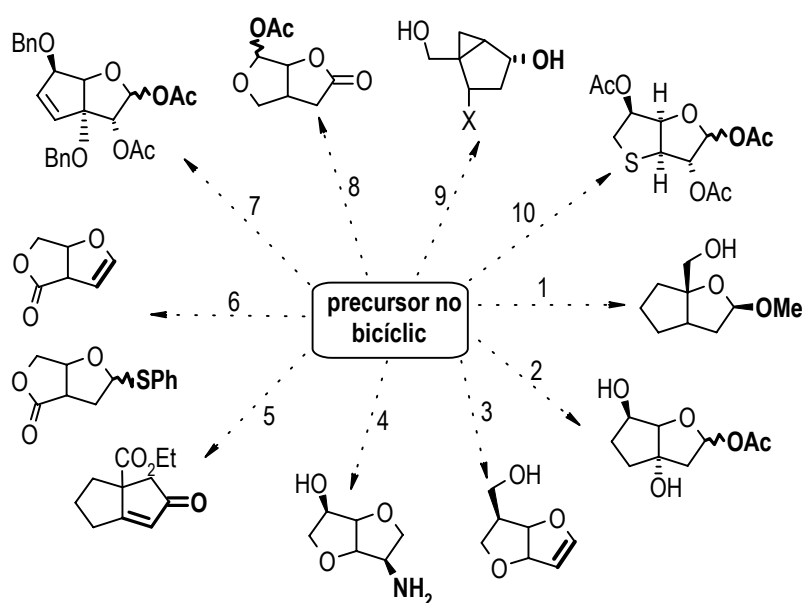
² M. Meldgaard, J. Wengel, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 3539.

³ a) M. Björnsne, T. Szabó, B. Samuelsson, B. Classon, *Bioorganic & Medicinal Chem.* **1995**, 3, 397. b) M. Björnsne, T. Szabó, B. Samuelsson, *Nucleosides & Nucleotides* **1995**, 14, 279.

⁴ a) M. Egli, P. Lubini, M. Bolli, M. Dobler, C. Leumann, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 5855. b) M. Tarköy, C. Leumann, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1993**, 32, 1432. c) M. Bolli, P. Lubini, C. Leumann, *Helv. Chim. Acta* **1995**, 78, 2077. d) J. C. Litten, C. Leumann, *Helv. Chim. Acta* **1996**, 79, 1129. e) R. Steffens, C. Leumann, *Helv. Chim. Acta* **1997**, 80, 2426. f) R. Meier, S. Grünschow, C. Leumann, *Helv. Chim. Acta* **1999**, 82, 1813. g) H. M. Pfundheller, P. Nielsen, J. Wengel, *Nucleosides & Nucleotides* **1997**, 16, 1439. Veure també la referència 24 de l'aparta d'Introducció.

⁵ *Els àcids griseòlics naturals aïllats de cultius d'Streptomyces griseoaurantiacus han mostrat activitat inhibidora contra la nucleòtid-fosfodiesterasa cíclica.* a) F. Nakagawa, T. Okazaki, A. Naito, Y. Iijima, M. Yamazaki, *J. Antibiotics* **1985**, 38, 823. b) D. Tulshian, R. J. Doll, M. F. Stansberry, A. T. McPhail, *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 6819.

d'una sèrie de transposicions en medi àcid;^{7,8} (6) Estructures bicícliques obtingudes per una reacció de contracció de cicle a partir del 4,6-O-benzilidèn-2-desoxi- α -D-arabino-piranosid de metil;⁹ (7) Carbohidrat bicíclic obtingut a partir de la diacetona-D-glucosa, mitjançant una reacció de metàtesi en l'etapa clau;¹⁰ (8) γ -butirolactona bicíclica obtinguda a partir de 6,7-epoxi-3-oxabicyclo[3.2.0]heptan-2-ona;¹¹ (9) Obtenció de didesoxinucleòsids carbocíclics relacionats amb la neplanocina-C;¹² (10) 3',6'-didesoxi-3',6'-epitioglucufuranosa emprada per tal d'obtenir tionucleòsids bicíclics.¹³



Esquema 2.1

2. Ciclació intramolecular de la unitat de carbohidrat d'un nucleòsid format

prèviament: a través d'una substitució nucleòfila intramolecular (Esquema 2.2, a,^{14,15}

b¹⁶) o mitjançant una reacció de ciclació radicalària (Esquema 2.2, c, d).¹⁷

⁶ a) L. Pickering, V. Nair, *Nucleosides & Nucleotides* **1996**, 15, 1751. b) L. Pickering, V. Nair, *Nucleosides & Nucleotides* **1997**, 16, 1435. c) Q. Chao, J. Zhang, L. Pickering, T. S. Jahnke, V. Nair, *Tetrahedron* **1998**, 54, 3113.

⁷ a) Q. Chao, V. Nair, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 7375. b) D. K. Klipa, H. Hart, *J. Org. Chem.* **1981**, 46, 2815.

⁸ Q. Chao, V. Nair, *Tetrahedron* **1997**, 53, 1957.

⁹ M. Kassou, S. Castillón, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 3696.

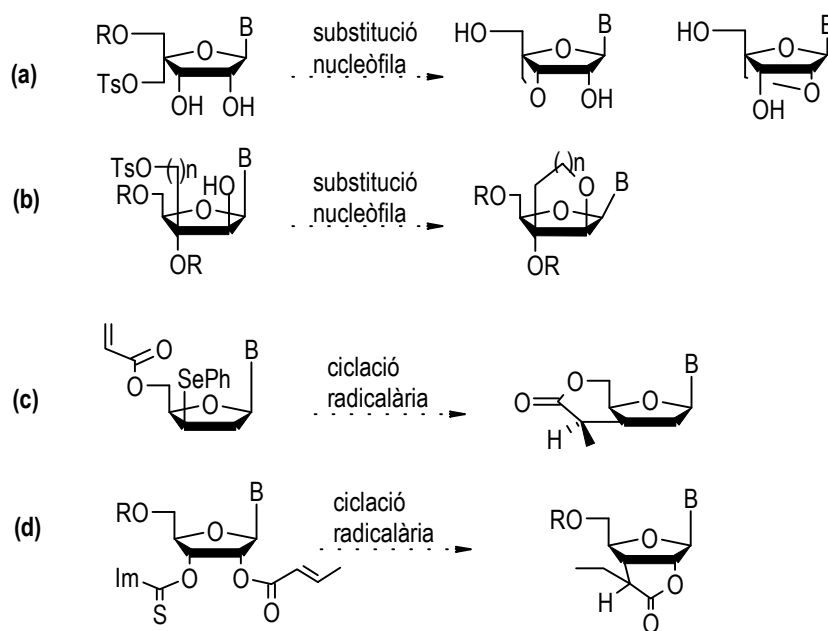
¹⁰ J. Ravn, P. Nielsen, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2001**, 985.

¹¹ C. Lescop, P. P. Nguyen-Kim, F. Huet, *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 3057.

¹² Veure les referències 29 i 30 de l'apartat d'Introducció.

¹³ R. L. Marshall, N. K. Dalley, P. B. Savage, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 3923.

¹⁴ a) S. Obika, K. Morio, D. Nanbu, T. Imanishi, *Chem. Commun.* **1997**, 1643. b) S. Obika, D. Nanbu, Y. Hari, K. Morio, Y. In, T. Ishida, T. Imanishi, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 8735.



Esquema 2.2

PROPOSTA de SÍNTESI

Després d'estudiar els antecedents esmentats es pensà en preparar una sèrie de 2',3'-didesoxinucleòsids amb mobilitat conformacional restringida anàlegs de coneguts agents antivírics (**1**, **2**, **3**, **4**, Figura 2.1): ddl (didanosina) (**1**), ddA (2',3'-didesoxiadenosina) (**2**), ddU (2',3'-didesoxiuridina) (**3**) i ddC (zalcitavina) (**4**).

¹⁵ S'han descrit també altres compostos similars: a) P. Nielsen, J. Wengel, *Chem. Commun.* **1998**, 57, 1433. b) S. K. Singh, R. Kumar, J. Engel, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 6078. c) S. K. Singh, R. Kumar, J. Engel, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 10035. d) R. Kumar, S. K. Singh, A. A. Koshkin, V. J. Rajwanshi, M. Meldgaard, J. Wengel, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 2219. e) V. K. Rajwanshi, R. Kumar, M. Kofod-Hansen, J. Wengel, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1999**, 1407. f) V. K. Rajwanshi, A. E. Håkansson, B. M. Dahl, J. Wengel, *Chem. Commun.* **1999**, 1395. g) V. K. Rajwanshi, A. E. Håkansson, R. Kumar, J. Wengel, *Chem. Commun.* **1999**, 2073. h) A. E. Håkansson, A. A. Koshkin, M. D. Sorensen, J. Wengel, *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 5167.

¹⁶ Si $n=1$: N. K. Christensen, M. Petersen, P. Nielsen, J. P. Jacobsen, C. E. Olsen, J. Wengel, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 5458. Si $n=2$: a) P. Nielsen, H. M. Pfundheller, J. Wengel, *Chem. Commun.* **1997**, 825. b) P. Nielsen, H. M. Pfundheller, C. E. Olsen, J. Wengel, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, 3423. c) A. A. Koshkin, J. Wengel, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 2778. d) M. Raunkjaer, C. E. Olsen, J. Wengel, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1999**, 2543. e) H. M. Pfundheller, A. A. Koshkin, C. E. Olsen, J. Wengel, *Nucleosides & Nucleotides* **1999**, 18, 2017. Si $n=3$: P. Nielsen, H. M. Pfundheller, C. E. Olsen, J. Wengel, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, 3423

¹⁷ a) Z. Xi, P. Agback, A. Sandström, J. Chattopadhyaya, *Tetrahedron* **1991**, 47, 9675. b) S. Velázquez, M. L. Jimeno, S. Huss, J. Balzarini, M. J. Camarasa, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 7661.

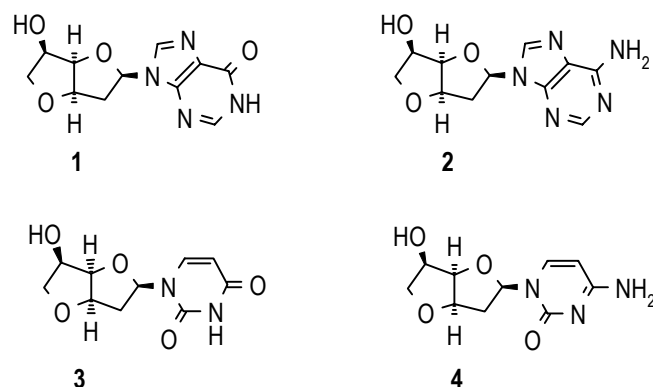
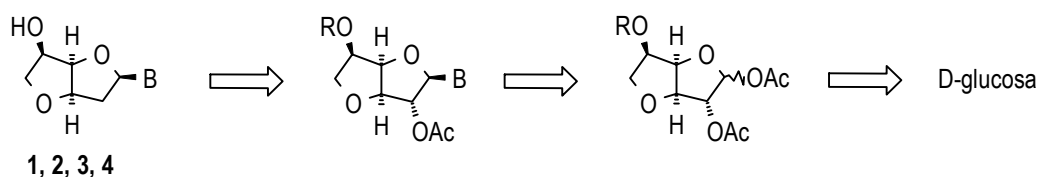


Figura 2.1

Com s'observa en l'esquema de retrosíntesi (Esquema 2.3), els productes finals (1, 2, 3, 4) s'obtidrien mitjançant una desoxigenació de la posició 2', seguida de la desprotecció de l'hidroxil en el C5'. La reacció de glicosilació es duria a terme a partir d'un carbohidrat 1,2-di-O-acetilat. Així podria aprofitar-se l'assistència anquimèrica de l'ester present en el C2, obtenint-se de forma exclusiva els β -nucleòsids.



Esquema 2.3

De cara a poder obtenir una possible relació entre l'estructura nucleosídica i l'activitat com a fàrmac, un segon objectiu que es va plantejar va ser el d'estudiar la conformació preferida adoptada pels compostos obtinguts així com la seva activitat biològica.

DISCUSSIÓ de RESULTATS

Aquest projecte neix fruit de la col.laboració amb el grup de treball del professor F. Santoyo de la Universitat de Granada, que ens va proporcionar els carbohidrats bicíclics precursors

dels nucleòsids que es pretenien sintetitzar:¹⁸ la 3,6-anhidro-1,2-O-isopropilidè- α -D-glucosa (**5**) i l'1,2-di-O-acetil-3,6-anhidro-5-O-pivaloïl- α,β -D-glucosa (**6**) (Figura 2.2).

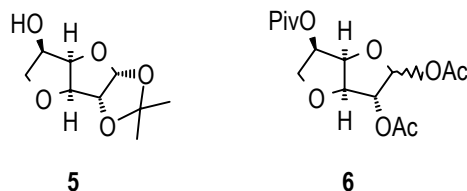
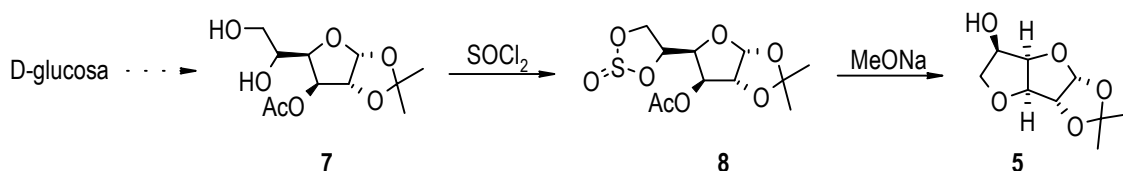


Figura 2.2

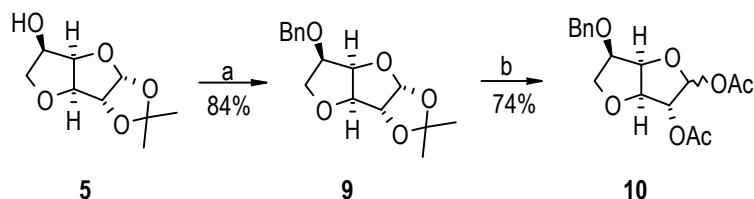
Aquests carbohidrats van ser sintetitzats pel grup del professor F. Santoyo a partir de D-glucosa, essent un tractament en medi bàsic d'un intermedi sulfít cíclic (**8**) (Esquema 2.4) el que conduí directament a l'obtenció del 3,6-anhidro-1,2-O-isopropilidè- α -D-glucosa (**5**).



Esquema 2.4

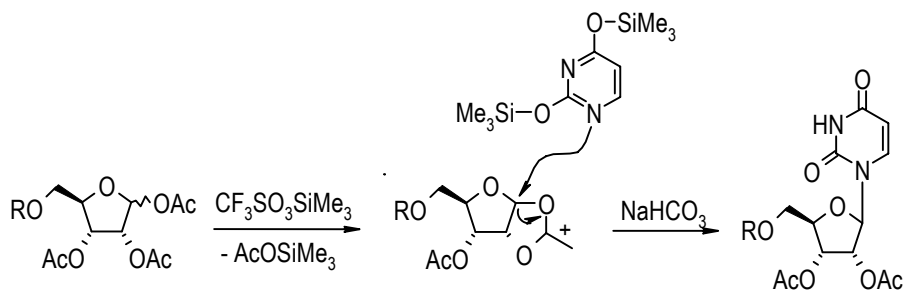
El producte **6** s'obtingria a partir de **5** per protecció de l'hidroxil-5 en forma de pivaloïl i posterior apertura del grup isopropilidè en medi àcid i acetilació in situ. El biciclocarbohidrat **6** va ser utilitzat directament per a les etapes de glicosilació. En canvi, el compost **5** es va benzilar segons el procediment habitual (BnBr, NaH) obtenint-se el producte protegit **9** (Esquema 2.5). El tractament de **9** amb anhídrid acètic, àcid acètic i unes gotes d'àcid sulfúric com a catalitzador, va permetre l'obtenció en un sol pas del producte **10** que es va usar posteriorment com a precursor nucleosídic.

¹⁸ a) F. Santoyo González, F. G. Calvo Flores, F. Hernández Mateo, J. Isac García, P. García Mendoza, *Eurocarb VIII* **1995**, A-81. b) F. G. Calvo Flores, P. García Mendoza, F. Hernández Mateo, J. Isac García, F. Santoyo González, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 3944. c) J. A. Calvo Asín, F. G. Calvo Flores, J. M. Expósito López, F. Hernández Mateo, J. J. García López, J. Isac García, F. Santoyo González, A. Vargas Berenguel, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, 1079. d) A. Vargas Berenguel, F. Santoyo González, J. A. Calvo Asín, F. G. Calvo Flores, J. M. Expósito López, F. Hernández Mateo, J. Isac García, J. J. Giménez Martínez, *Synthesis* **1998**, 1778. e) J. Isac García, F. G. Calvo Flores, F. Hernández Mateo, F. Santoyo González, *Chem. Eur. J.* **1999**, 5, 1512.



Esquema 2.5. a) NaH, BnBr, t.a., 5 h. b) AcOH, Ac₂O, H₂SO₄, t.a., 5 h.

Una tècnica de glicosilació que ha tingut un ampli ús en la condensació de furanoses i piranoses acilades, és la desenvolupada per U. Niedballa i H. Vorbrüggen,¹⁹ on un carbohidrat adequadament protegit i amb grups acil en les posicions C1 i C2, reacciona amb una base púrica o pirimidínica sililada, en presència d'un catalitzador àcid de Lewis (Esquema 2.6).



Esquema 2.6

La sililació de la base permet d'augmentar-ne la solubilitat en els dissolvents orgànics. Sol realitzar-se prèviament a l'etapa de glicosilació, utilitzant-se normalment hexametildisilazà (HMDS) i/o trimetilclorosilà (TCS) per a introduir els grups trimetilsilil. Les bases protegides d'aquesta forma solen ser inestables, per això s'ha desenvolupat un mètode 'one pot'²⁰ per al procés de sililació-condensació. La bis(trimetilsilil)acetamida (BSA) ha resultat ser un agent sililant més efectiu que el TCS o HMDS per a les condensacions 'one pot', conduint a reaccions molt netes i amb bons rendiments.

Els catalitzadors que habitualment s'usen per a la reacció de glicosilació són: el SnCl₄, el triflat de trimetilsilil ((CH₃)₃SiOSO₂CF₃), el nonaflat de trimetilsilil ((CH₃)₃SiOSO₂C₄F₉) o el perclorat de trimetilsilil ((CH₃)₃SiClO₄).

¹⁹ U. Niedballa, H. Vorbrüggen, *J. Org. Chem.* **1974**, 39, 3654.

²⁰ U. Niedballa, B. Bennua, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 1339.

L'elecció del dissolvent adequat²¹ és molt important per a dur a terme les reaccions de glicosilació i poder obtenir els nucleòsids termodinàmicament més estables (glicosilació pel N1 en les bases pirimidíniques i glicosilació pel N9 en les púriques). La presència de complexos- σ entre les pirimidines sililades i el catalitzador, condueix a un increment en la formació dels nucleòsids-N3 (Figura 2.3). Així, un dissolvent polar com l'acetonitril, que competeix pels àcids de Lewis fent disminuir els complexos- σ , seria el solvent preferit per a la síntesi dels nucleòsids pirimidínics. D'altra banda, com que la síntesi de nucleòsids púrics procedeix a través d'una sèrie de reorganitzacions (des del N3, passant pel N7, fins al nucleòsid-N9) que involucren complexos- σ , dissolvents menys polars com el toluè o el dicloroetà afavoreixen l'obtenció dels nucleòsids púrics-N9.

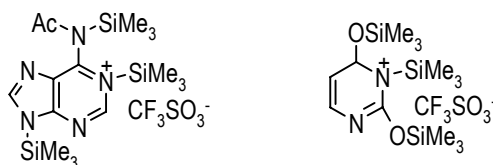


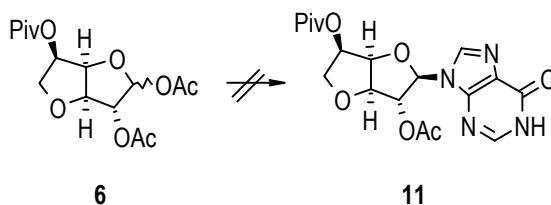
Figura 2.3

Ens vàrem plantejar l'obtenció del biciclonucleòsid anàleg del ddl (**1**) a partir d'una glicosilació directa del carbohidrat **6** amb hipoxantina (Esquema 2.7). De totes formes, en assajar aquesta reacció emprant BSA, TMSOTf i dicloroetà a reflux es va obtenir una mescla complexa de productes. De fet aquest resultat no ens va sorprendre, ja que la glicosilació directa amb guanina i 6-oxopurines sol conduir a mescles d'isòmers resultat de la glicosilació pel N7 i N9 principalment.²² El mecanisme que actualment es considera que segueix la glicosilació amb aquest tipus de bases començaria amb la formació del producte de control cinètic (glicosilació pel N7). En el pas següent es donaria una transglicosilació: el producte de control cinètic es transformaria en el termodinàmicament més estable (glicosilació pel N9) a través d'un intermig '7,9-diglicofuranosilpurínic'. El procés de transformació d'N7 a N9 es tractaria d'un equilibri dinàmic, és a dir, d'un procés reversible que conduiria a l'obtenció de

²¹ H. Vorbrüggen, *Acta Biochimica Polonica* **1996**, 43, 25.

²² a) J. Boryski, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1996**, 649. b) J. Boryski, *Nucleosides & Nucleotides* **1996**, 15, 771.

mesclades d'isòmers. El control en l'obtenció d'un isòmer o l'altre ha pogut donar-se en certs casos controlant la temperatura i el catalitzador emprats.²³



Esquema 2.7. Hipoxantina, dicloroetà, BSA, TMSOTf, reflux, 50 min.

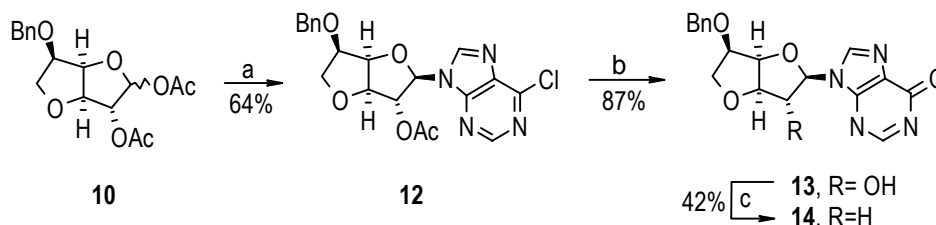
De fet, els mètodes més habituals per a l'obtenció d'anàlegs de la inosina passen per una glicosilació prèvia amb 6-cloropurina, ja que un tractament posterior en medi bàsic condueix eficaçment a l'obtenció de la hipoxantina. Es va triar el carbohidrat **10** per a assajar aquesta reacció, ja que incorpora un grup benzil per a protegir l'hidroxil-5 que resistiria les condicions bàsiques necessàries per a la desprotecció del grup acetil en posició 2 i per a la substitució del Cl present en la base nitrogenada. Així, el carbohidrat **10** es va fer reaccionar amb 6-cloropurina en presència de BSA i triflat de trimetilsilil com a catalitzador, obtenint-se el nucleòsid **12** amb un 64% de rendiment (Esquema 2.8). L'aparició dels senyals de la base nitrogenada en els espectres de RMN (H-2 i H-8 en forma de singulets a 8.75 i 8.59 ppm respectivament) van confirmar l'obtenció del producte d'interès.

La transformació de la 6-cloropurina en hipoxantina es va donar amb èxit per tractament del producte **12** amb mercaptoetanol en medi bàsic, obtenint-se el producte desprotegit **13** amb un rendiment del 87% (Esquema 2.8). Com es pot observar, el grup acetil de la posició 2' també va hidrolitzar-se en les condicions bàsiques de la reacció. Els espectres de RMN van confirmar l'obtenció del producte **13**, essent els senyals més característics la desaparició del grup acetil i la modificació dels senyals de la base nitrogenada (els senyals dels H-2 i H-8 apareixen més apantallats que en el producte de partida). La desoxigenació de l'hidroxil-2' segons el procediment de Barton-McCombie (tractament amb clorur de fenoxitiocarbonil i posterior addició d'hidrur de tributilestany i AIBN)²⁴ va permetre l'obtenció del producte

²³ M. J. Robins, R. Zou, Z. Guo, S. F. Wnuk, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 9207.

²⁴ a) M. J. Robins, J. S. Wilson, F. Hansske, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 4059. b) C. Genu-Dellac, G. Gosselin, J.-L. Imbach, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 79. c) M. J. Robins, D. Madej, F. Hansske, J. S. Wilson, G. Gosselin, M.-C. Bergogne, J.-L. Imbach, J. Balzarini, E. De Clerq, *Can. J. Chem.* **1988**, *66*, 1258.

desoxigenat **14** amb un rendiment moderat (Esquema 2.8). L'obtenció d'aquest producte es va confirmar clarament per RMN ja que s'observà l'aparició de dos protons (H-2' i H-2'') a camps alts i en forma de multiplet, així com el desdoblament del senyal corresponent al protó anomèric.



Esquema 2.8. a) 6-Cloropurina, dicloroetà, BSA, TMSOTf, reflux, 40 min. b) HSCH₂CH₂OH, MeOH, NaOMe, reflux, 4 h. c) (1) CH₃CN, DMAP, PhOCSCl, t.a., 3 h; (2) Toluè, AIBN, *n*-Bu₃SnH, reflux, 3.5 h.

L'obtenció del biciclonucleòsid **1** passava per la desprotecció de l'èter benzílic present en el C5' del producte **14**. Inicialment es pensà en una desprotecció sota condicions d'hidrogenolisi (Pd-C, Pd(OH)₂-C, Ni-Raney)²⁵ però en tots els casos assajats es va recuperar el producte de partida sense reaccionar, fins i tot treballant a pressions de 70 bar. El tractament de **14** amb oxidants com el DDQ²⁶ o amb àcids de Lewis²⁷ com el BCl₃ van conduir a l'obtenció del producte de desglicosilació. Un recull dels diferents resultats obtinguts es mostra en la Taula 2.1. Després d'aquests resultats negatius es va abandonar aquesta estratègia i ens vam centrar en l'obtenció de la resta de nucleòsids objectiu.

²⁵ a) S. Hanessian, T. J. Liak, B. Vanasse, *Synthesis* **1981**, 396. b) P. J. Kocienski a *Protecting Groups*, Thieme, **1994**, 46. c) T. W. Greene a *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, **1981**, 29:31. d) K. Horita, T. Yoshioka, T. Tanaka, Y. Oikawa, O. Yonemitsu, *Tetrahedron* **1986**, 42, 3021.

²⁶ a) N. Ikemoto, S.L. Schreiber, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 2524. b) Y. Oikawa, K. Horita, O. Yonemitsu, *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 1541. c) Y. Oikawa, T. Tanaka, O. Yonemitsu, *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 3647.

²⁷ a) M. H. Park, R. Takeda, K. Nakanishi, *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 3823. b) H. Hori, Y. Nishida, H. Ohri, H. Meguro, *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 1346. c) M. S. Congreve, E. C. Davison, M. A. M. Fuhry, A. B. Holmes, A. N. Payne, R. A. Robinson, S. E. Ward, *Synlett* **1993**, 663.

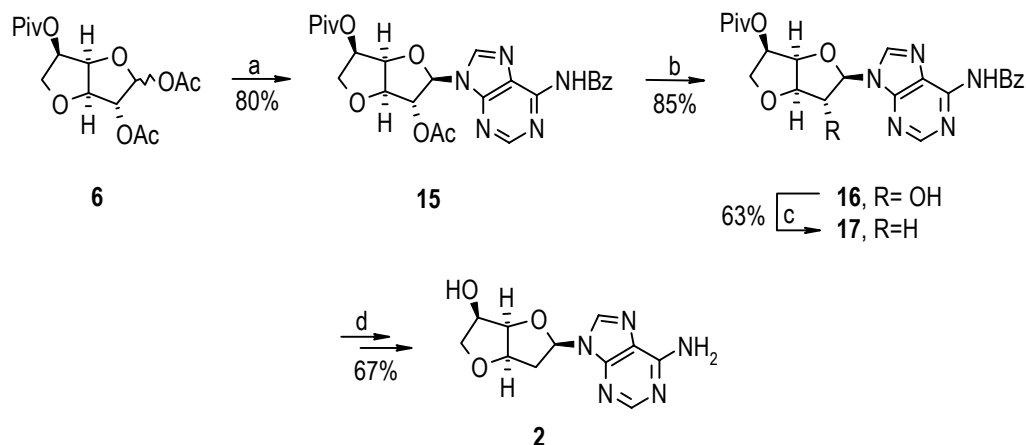
Taula 2.1. Assajos per a la desprotecció de l'hidroxil-5' en **14**.

Assaig	Condicions de reacció	Temps	Resultat
1	ciclohexè, EtOH, Pd(OH) ₂ , reflux	24 h.	Recuperació de 14
2	H ₂ , Pd-C, Patm., MeOH, t.a.	16 h.	“
3	H ₂ , Pd-C, 10 atm., MeOH, t.a.	4 h.	“
4	H ₂ , Pd-C, 30 atm., MeOH, t.a.	1 h.	“
5	H ₂ , Pd-C, 35 atm., MeOH, t.a.	3 dies.	“
6	H ₂ , Ni-Raney, 70 atm., MeOH, 50 °C	3 dies.	“
7	BCl ₃ , CH ₂ Cl ₂ anh., -78 °C	5 h.	Desglicosilació de 14
8	DDQ, H ₂ O, CH ₂ Cl ₂	30 h.	“

Per a l'obtenció del biclonucleòsid anàleg del ddA (**2**) es va plantejar una seqüència de síntesi similar a l'anterior, però es partí de l'O-pivaloïl derivat **6** enlloc del benzilèter **10**. Així, el carbohidrat **6** es va glicosilar amb N⁶-benzoïladenina emprant el mateix procediment que el descrit per a l'obtenció del producte **12**. En aquest cas el nucleòsid desitjat **15** es va obtenir amb un rendiment del 80% (Esquema 2.9). Novament es va confirmar l'obtenció d'aquest producte en base als espectres de RMN, essent de destacar l'aparició dels senyals corresponents a la base nitrogenada: H-6, H-2 i H-8 a 9.28, 8.78 i 8.43 ppm respectivament. La glicosilació d'adenina i els seus derivats es considera que esdevé també en dues etapes. En aquest cas es donaria primer la glicosilació pel N3 obtenint-se el producte de control cinètic. Aquest primer producte evolucionaria fins l'isòmer termodinàmicament més estable a través d'un procés de transglicosilació. Contràriament al cas esmentat anteriorment per a la guanina i 6-oxopurines, el procés de transformació N3-N9 és irreversible, obtenint-se solament el producte de control termodinàmic.

Es va desprotegir selectivament el grup acetil present en la posició-2' per tractament amb MeOH-NH₃ (10-20%) (Esquema 2.9), obtenint-se el producte **16** amb un rendiment del 85%. La desoxigenació de l'hidroxil-2' va permetre l'obtenció del didesoxinucleòsid **17** (63% de rendiment); el qual es va transformar en el nucleòsid objectiu **2** en sotmetre'l a un medi bàsic (NH₄OH) que va permetre la hidròlisi dels grups benzoïl i pivaloïl de forma simultània. En tots

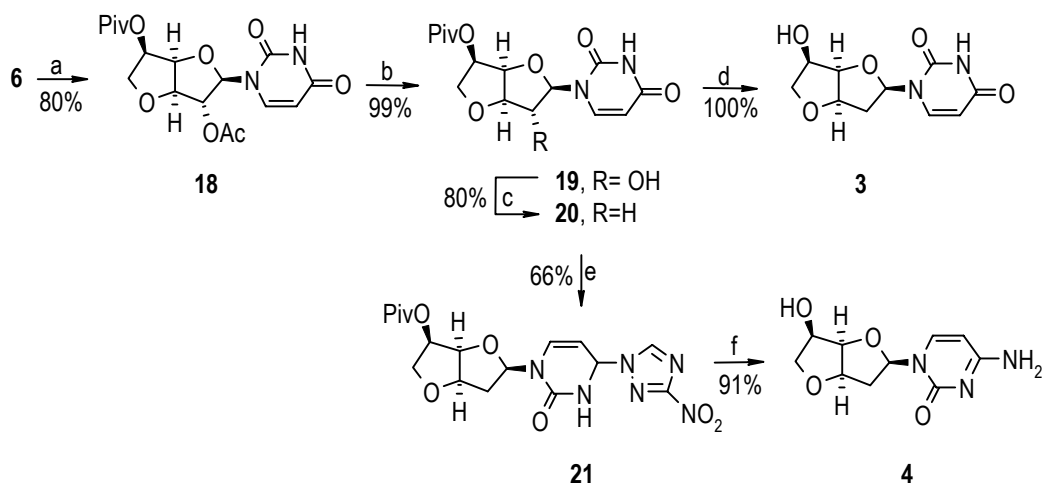
els casos es va confirmar l'obtenció dels productes d'interès en base a les anàlisis dels espectres de RMN.



Esquema 2.9. a) BSA, TMSOTf, dicloroetà, N⁶-benzoïladenina, reflux, 45 min. b) MeOH/NH₃ (10-20%), t. a., 50 min. c) (1) CH₃CN, DMAP, PhOCSCI, t.a., 40 min; (2) Toluè, AIBN, *n*Bu₃SnH, reflux, 50 min. d) NH₃ aq. 55-60 °C, 8 h.

Un cop finalitzada la síntesi dels bicliconucleòsids púrics es va repetir una seqüència similar per tal d'obtenir els nucleòsids pirimidínics **3** i **4**. Així, el biclicocarbohidrat **6** es va glicosilar amb uracil seguint el mateix procediment 'one pot' ja esmentat anteriorment, obtenint-se el nucleòsid **18** amb un rendiment del 80% (Esquema 2.10). La realització dels espectres de RMN van confirmar l'obtenció del producte **18**, essent els senyals de la base nitrogenada (H-3, H-6 i H-5 que apareixen a 9.38, 7.56 i 5.80 ppm respectivament) i el senyal del protó anomèric (que apareix a 6.17 ppm en forma de doblet) els que van aportar més informació. Com s'ha esmentat anteriorment en el cas de les bases pirimidíniques sol usar-se CH₃CN com a dissolvent; però quan es realitzà la reacció amb CH₃CN enlloc de Cl₂C₂H₄ el rendiment no va canviar. La desprotecció selectiva de l'acetil de la posició 2' amb un medi bàsic suau seguida de la desoxigenació de Barton va conduir eficaçment al didesoxinucleòsid **20**, precursor de les molècules objectiu **3** i **4**. Així, quan **20** es va tractar amb reïna bàsica es va obtenir el producte **3** de forma quantitativa.

L'obtenció del biciclonucleòsid **4** es va aconseguir seguint un mètode usual de transformació d'uracil en citosina;²⁸ així, en un primer pas el substituent en la posició 4 de la base nitrogenada es va substituir per un grup 3-nitro-1,2,4-triazole, el que va permetre d'obtenir l'intermedi **21** amb un rendiment del 66% (Esquema 2.10). Un posterior tractament amb amoníac va conduir a l'obtenció de nucleòsid objectiu **4**.



Esquema 2.10. a) BSA, TMSOTf, dicloroetà, uracil, reflux, 40 min. b) MeOH/NH₃ (10-20%), t. a., 3 h. c) (1) CH₃CN, DMAP, PhOCSCI, t. a., 4 h; (2) Toluè, AIBN, *n*Bu₃SnH, reflux, 1.5 h. d) Reïna bàsica Amberlita IRA-402, MeOH, t. a., 16 h. e) Piridina, MSNT, fosfat de difenil, t. a., 8 h.²⁹ f) MeOH/NH₄OH conc. t. a., 3 dies.

Així, després d'haver assolit amb èxit gran part dels objectius sintètics plantejats en aquest treball es va passar a l'anàlisi conformacional dels productes finals **2**, **3** i **4**.

ESTUDI CONFORMACIONAL dels BICICLONUCLEÒSIDS

²⁸ a) J. Brokes, J. Beranek, *Coll. Czech. Chem. Commun.* **1974**, 39, 3100. b) M. Kaneko, B. Shimizu, *Chem. Pharm. Bull.* **1972**, 20, 1050.

²⁹ a) S.S. Jones, B. Rayner, C. B. Reese, A. Ubasawa, M. Ubasawa, *Tetrahedron* **1980**, 36, 3075. b) C. B. Reese, A. Ubasawa, *Tetrahedron Lett.* **1980**, 21, 2265. c) K. J. Divakar, C. B. Reese, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1982**, 1171.

Les propietats conformacionals dels nucleòsids han estat àmpliament estudiades per Saenger,³⁰ Altona i Sundaralingam,³¹ Levit i Warshel³² així com per altres autors.³³ Les dades de què es disposa en l'actualitat provenen de més de 200 estudis cristal·logràfics de raigs-X, estudis de RMN, i d'estudis d'anàlisi conformacional mitjançant mètodes computacionals de diferents nivells de complexitat.

Tres són les característiques primàries que defineixen la conformació dels nucleòsids: l'angle de torsió glicosídica (χ) (angle de torsió C2-N1-C1'-O4' per a les pirimidines i C4-N9-C1'-O4' per a les purines) que descriu l'orientació de la base en relació amb l'anell de furanosa (Figura 2.4); l'angle de torsió C4'-C5' (γ), que descriu l'orientació del grup hidroxil-5' en relació al carbohidrat (angle C3'-C4'-C5'-O5'); i el plegament de l'anell furanòsic, que es descriu totalment mitjançant l'angle de pseudorotació (P) i l'angle màxim de torsió ($\nu_{\text{màx}}$). El plegament o pseudorotació és una distorsió de la planaritat de l'anell de cinc membres, que consisteix en un desplaçament d'un (sobre) o dos (twist) àtoms fora del pla del carbohidrat.

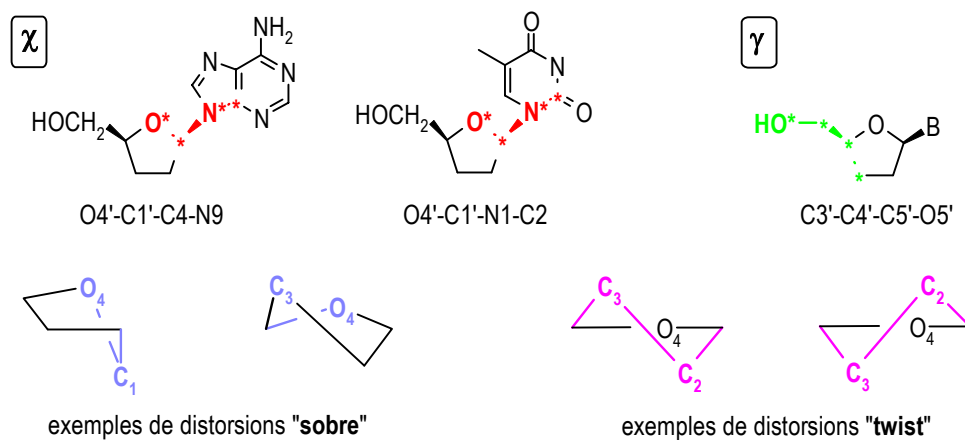


Figura 2.4

El concepte de pseudorotació relaciona matemàticament l'angle de fase pseudorotacional P i els cinc angles de torsió ($\nu_0, \nu_1, \nu_2, \nu_3, \nu_4$) de l'anell de furanosa, i va ser desenvolupat per Altona i Sundaralingam. L'angle de pseudorotació és una funció cíclica, basada en tots els

³⁰ W. Saenger, en *Principles of Nucleic Acid Structure*, Springer-Verlag, **1984**, pp.9-104.

³¹ C. Altona, M. Sundaralingam, *J. Am. Chem.Soc.* **1973**, 95, 2333.

³² M. Levitt, A. Warshel, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 2607.

³³ P. V. Roey, C. K. Chu, en *Nucleosides and Nucleotides as Antitumor and Antiviral Agents*, Plenum Press, **1993**, pp. 285-302.

angles de torsió endocíclics, que descriu quin àtom o àtoms es desplacen fora del pla de l'anell i en quina direcció. L'angle màxim de torsió indica el grau o la magnitud del desplaçament. La descripció de la conformació de les furanoses sol valer-se dels termes *endo* i *exo*, referits al desplaçament d'un àtom per sobre o per sota del pla de l'anell respectivament. Les diferents conformacions que poden adoptar les furanoses asimètricament substituïdes es representen en el cicle pseudorotacional (Figura 2.5). Aquelles conformacions que es troben en la zona superior del cicle s'anomenen nord (N), mentre que les que es troben en la zona inferior s'anomenen sud (S).

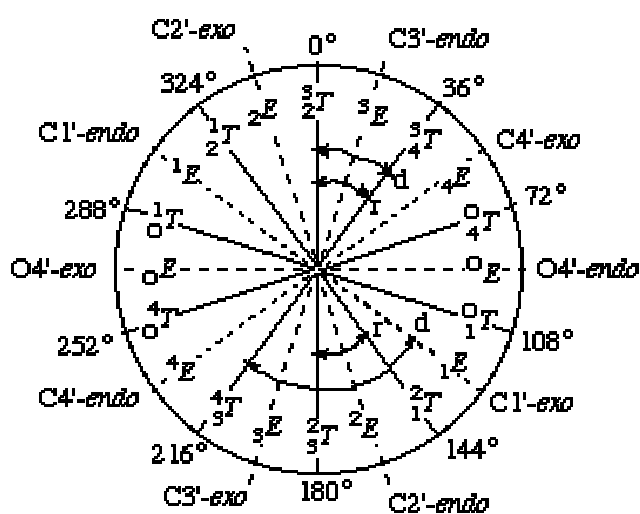


Figura 2.5. Cicle pseudorotacional.

Els nucleòsids són molècules amb una gran flexibilitat inherent, i poden adoptar moltes conformacions properes en energia a través de baixes barreres de rotació. L'anàlisi de les conformacions preferides ha estat revisada detalladament per Saenger,³⁰ podent-se sumaritzar com segueix:

1. **Enllaç glicosídic.** La regió *anti* (on la part més voluminosa dels heterocicles, l'anell de sis baules en les purines i l'oxigen en posició 2 en les pirimidines, s'allunya del sucre) és la preferida respecte la *sin* (on la regió voluminosa dels heterocicles queda per sobre de l'anell de furanosa). Els nucleòsids pirimidínics s'observen predominantment en conformació *anti* amb $-180^\circ < \chi < -115^\circ$. En el cas dels nucleòsids púrics, la proporció de la regió *sin* augmenta respecte als pirimidínics. Una conformació *high-anti* ($-60^\circ < \chi < -100^\circ$)

s'observa sovint en purines, accessible degut al reduït volum de l'anell de cinc baules de la base.

2. **Anell de furanosa.** S'observen generalment dues àrees preferides de l'espai pseudorotacional: aquella amb $0 < P < 36^\circ$, on el desplaçament principal és el C3'-endo (N), i aquella amb $144 < P < 180^\circ$, on el desplaçament principal és el C2'-endo (S). En els nucleòsids 2'-desoxi, la conformació C2'-endo és molt més abundant que la C3'-endo.
3. **Orientació del grup hidroxil-5.** S'han observat tres orientacions preferides: +sc (sinclinal), ap (antiperiplanar) i -sc, corresponents als angles γ de 60, 180 i -60° respectivament.

Per a les riboses i 2'-desoxiriboses no substituïdes les conformacions C3'-endo i C2'-endo són gairebé equivalents en energia. Quan una base s'uneix a la posició anomèrica del sucre, la distribució d'energia a través del cicle de pseudorotació esdevé asimètrica, amb les conformacions C3'-endo i C2'-endo en equilibri a través d'una petita barrera energètica. La introducció de diferents substituents en el carbohidrat, així com l'estereoquímica dels mateixos, afecta a la proporció de les diferents conformacions possibles. Normalment però, es sol assumir un equilibri N/S entre dos confòrmers majoritaris.

La conformació adoptada pels nucleòsids sintetitzats es va determinar amb el programa PSEURROT, dissenyat per a l'obtenció de la millor concordància entre les constants d'acoblament veïnals i els paràmetres pseudorotacionals, P i ν_{\max} , per als confòrmers N/S que es trobin en equilibri en solució. A més, calcula també les fraccions molars X_N i X_S de cada confòrmer. Després d'un determinat nombre d'iteracions, el programa convergeix en una sèrie de valors ideals per a P_N , P_S , ν_N , ν_S i X_N , basant-se en les constants d'acoblament experimentals.

Com ja s'ha esmentat anteriorment, la presència d'un segon anell fussionat amb el furanòsic provoca una disminució de la llibertat conformacional dels nucleòsids. Normalment, els bicliconucleòsids es troben en una única conformació d'energia mínima, tot i que també es poden donar altres confòrmers en molt menor proporció.

Per tal d'elucidar si els nucleòsids que s'havien preparat tenien una conformació rígida o bé se'n trobaven varies en equilibri es decidí de realitzar un espectre de RMN de ^1H a diferents temperatures del producte 1-(3',6'-anhidro- β -D-glucofuranosil)-citosina (**4**). L'experiment es començà a 40°C , i es va anar disminuint la temperatura fins a -80°C . L'aspecte de l'espectre no va variar, observant-se un enxamplament de les bandes en anar refredant el sistema, degut a l'augment de la viscositat del dissolvent. Aquest resultat ens confirmà que els biciclonucleòsids tenien una conformació fixada.

Es van realitzar experiments tipus NOE per tal d'obtenir informació sobre l'anell de furanosa (Figura 2.6). Degut a les similituds en les constants d'acoblament dels productes **2**, **3** i **4** (Taula 2.2), aquests experiments van realitzar-se solament amb el producte **4**. Després d'irradiar-se l' H_6 es va observar que la base nitrogenada es trobava en un equilibri *sin/anti*. Els efectes NOE obtinguts després de les irradiacions d' H_1' , H_3' i H_5' foren consistents amb una conformació C_4' -*exo*, possiblement degut a un efecte *gauche*³⁴ entre els dos oxígens endocíclics.

Taula 2.2. Constants d'acoblament en Hz corresponents als productes **2**, **3** i **4**.

Producte	$J_{1',2''}$	$J_{1',2'}$	$J_{2',2''}$	$J_{2',3'}$	$J_{2',3''}$	$J_{3',4'}$	$J_{4',5'}$	$J_{5',6'}$	$J_{5',6''}$	$J_{6',6''}$
2	7.8	3.3	15.1	5.5	1.5	---	5.0	6.4	6.1	9.1
3	7.9	3.7	15.0	6.0	---	3.9	4.8	6.3	5.7	9.0
4	7.6	3.7	15.0	5.6	1.5	3.9	---	6.6	6.0	9.0

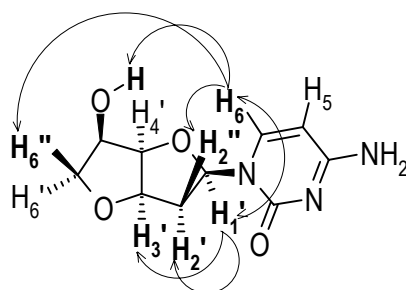


Figura 2.6. Experiments NOE realitzats amb el biciclonucleòsid **4**.

³⁴ S. Wolfe, *Acc. Chem. Res.* **1972**, 5, 102.

El programa PSEUROT es va utilitzar per a corroborar la informació obtinguda amb els experiments NOE sobre la conformació de l'anell de furanosa. Es van trobar dos confòrmers en equilibri: els valors de $P_1 = -70.5$, $\nu_1 = 34.9$ i $X_1 = 0.53$ van ser els trobats per al primer d'ells, estant en consonància amb una conformació 1T_4 . Per al segon es van trobar els valors de $P_2 = 62.6$ i $\nu_2 = 85.9$, consistents amb una conformació 4T_0 (Figura 2.7). Així, s'ha pogut constatar com l'estructura bicíclica introdueix una restricció conformacional en la unitat de furanosa, presentant-se únicament un equilibri entre dues conformacions $C4'$ -*exo*.

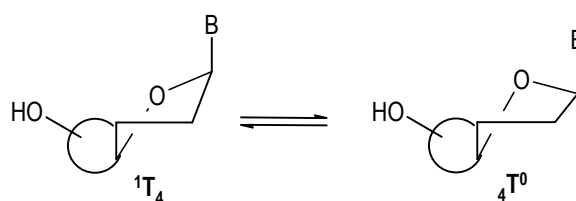


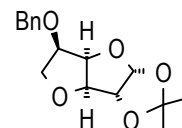
Figura 2.7

ASSAJOS BIOLÒGICS

Els nucleòsids **2** i **4** es van assajar *in vitro* per tal d'avaluar els seus efectes inhibidors en la replicació del VIH-1 en sistemes cel.lulars de CEM-SS i MT-4. Cap d'aquests compostos van mostrar marcats efectes antivírics o alteracions detectables en la morfologia de les cèl.lules hoste en la major concentració avaluada ($100 \mu\text{M}$). Quan van ser avaluats com inhibidors del VHB en cèl.lules HepG2 tampoc van mostrar efectes antivírics (concentració màxima $100 \mu\text{M}$) ni efectes de citotoxicitat (concentració màxima de $200 \mu\text{M}$). Cal destacar que aquests assajos biològics van ser realitzats per la Doctora A. M. Aubertin (*Institut de Virologie de la Faculté de Medecine de Strasbourg*) i pel Doctor J. P. Sommadossi (*University of Alabama at Birmingham; Department of Pharmacology and Toxicology*).

EXPERIMENTAL

3,6-Anhidro-5-O-benzil-1,2-O-isopropiliden- α -D-glucofuranosa (9).



Una suspensió formada per 4.0 g d'NaH (60%, dispersada en oli mineral) en 39 mL de THF es va addicionar sobre una solució de producte **5** (2.37 g, 11.7 mmols) en 47 mL de THF anhidre. Després de 30 minuts en agitació a 0 °C es van addicionar gota a gota 4 mL (33.6 mmols) de BnBr. La reacció es va controlar per CCF ($R_f(\text{EtOAc}/\text{Hexà } 1:3) = 0.40$) i s'aturà per addició de metanol passades 5 hores. Després de l'evaporació del dissolvent el cru de reacció es va purificar per CC (EtOAc/Hexà 1:3) obtenint-se el benzilèter **9** (2.9 g, 84%) en forma de sòlid blanc.

Punt de fusió: 86.6-90.8 °C

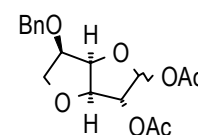
$[\alpha]_D^{20} = +84$ (c 5, CHCl_3)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ en ppm: 7.45 (m, 5H, H-Ar), 6.01 (d, 1H, $J_{1,2}=3.5\text{Hz}$, H-1), 4.94 (t, 1H, $J_{4,3}=J_{4,5}=3.7\text{Hz}$, H-4), 4.75, 4.56 (q, 2H, sistema AB, $J=11.8\text{ Hz}$, PhCH_2), 4.58, 4.47 (2d, 2H, H-2, H-3), 4.08-4.02 (ddd, 1H, $J_{5,6}=7.0\text{Hz}$, $J_{5,6'}=8.5\text{Hz}$, H-5), 3.92-3.88 (dd, 1H, $J_{6,6'}=8.2\text{Hz}$, H-6), 3.71-3.66 (m, 1H, H-6'), 1.50, 1.33 (2s, 6H, Me_2C).

RMN ^{13}C (74.5 MHz, CDCl_3), δ en ppm: 137.3, 128.4, 127.9 (CH-Ar), 112.3 (Me_2C) 107.1 (C-1), 85.5, 85.0, 80.6, 78.5, 72.4, 69.4 (C-2,3,4,5,6 i CH_2Ph), 27.3, 26.6 (Me_2C).

An. el. ($\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_5$): C, 65.74; H, 6.85. Trobat: C, 65.77; H, 6.83.

1,2-di-O-Acetil-3,6-anhidro-5-O-benzil- α,β -D-glucofuranosa (10).



Es van addicionar 3 mL d'Ac₂O i 0.3 mL d'H₂SO₄ sobre una solució formada per 2.85 g (9.79 mmols) de producte **9** en 30 mL d'àcid acètic. La mescla de reacció es va agitar a temperatura ambient durant 5 hores, moment en què per CCF s'observà la total desaparició del producte de partida. El cru es va recuperar abocant-se la mescla de reacció sobre una barreja de gel i NaHCO₃ 5%. Després de repetides extraccions amb CHCl₃ la mescla d'anòmers resultant es va purificar per CC (EtOAc/Hexà 3:1) obtenint-se 2.42 g (74%) de producte **10** en forma de xarop.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ en ppm: 7.27-7.38 (m, 5H, H-Ar), 6.57 (d, 1H, J_{1,2}=4.5Hz, H-1α), 6.23 (s, 1H, H-1β), 5.16 (s, 1H, H-2β), 5.14 (dd, 1H, J_{2,3}=3.4Hz, H-2α), 4.91 (t, 1H, J_{4,3}=J_{4,5}=3.4Hz, H-4α), 4.78-4.71 (m, 2H, H-3α, PhCH₂), 4.57-4.55 (t, 1H, H-3β), 4.48 (d, 1H, J_{AB}=11.5 Hz, PhCH₂), 4.12-4.05 (ddd, 1H, J_{5,6}=7.3Hz, J_{5,6'}=9.0Hz, H-5), 4.01-3.89 (m, 2H, H-6, H-6'), 2.10-2.00 (OAc).

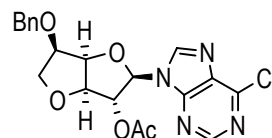
RMN ¹³C (74.5 MHz, CDCl₃), δ en ppm: 169.2 (CO), 137.3 (C-Ar), 128.3, 127.9 (CH-Ar), 100.5, 96.0 (C-1α, 1β), 85.0, 84.3, 83.0, 81.1, 78.7, 77.7, 77.6, 77.1, 72.5, 72.1, 69.9, 68.6 (C-2α, 3α, 4α, 5α, 6α, C-2β, 3β, 4β, 5β, 6β i CH₂Ph), 20.9, 20.3 (MeCO).

An. el. (C₁₇H₂₀O₇): C, 60.70; H, 5.94. Trobat: C, 60.77; H, 5.93

Reacció de glicosilació. Procediment general.

El dissolvent anhidre (Cl₂C₂H₄) (100 mL de dissolvent/10 mmol de base) es va addicionar sota argó sobre una mescla del dador de glicosil **6** o **10** i la base nitrogenada (1.15 eq/mol) que s'havia activat prèviament (per manteniment a buit durant 24 hores a 80 °C). L'N,O-bis(trimetilsilil)acetamida (1.30 eq/mol de sucre) es va afegir sobre la suspensió i aquesta es portà a 70-80 °C. El catalitzador (SnCl₄ o TMSOTf), (1.30 eq/mol de sucre) es va afegir lentament i la reacció es va mantenir en agitació a reflux durant 20-45 minuts aproximadament i es controlà per CCF. El cru de reacció es va recuperar per addició d'una solució saturada de NaHCO₃ i de CH₂Cl₂, i la fase orgànica es rentà novament amb NaHCO₃.

6-Cloro-9-(2'-O-acetil-3',6'-anhidro-5'-O-benzil-β-D-glucofuranosil)-purina (12).



Quan el procediment general es va aplicar al carbohidrat **10** (260 mg, 0.77 mmol), usant 6-cloropurina (137 mg), $\text{Cl}_2\text{C}_2\text{H}_4$ (8.9 mL), BSA (0.25 mL) i TMSOTf (0.18 mL), la reacció finalitzà en 40 minuts. En purificar per CC i CR (EtOAc/Hexà 1:1, 3:2 i 2:1) s'obtingué el nucleòsid **12** (219mg, 64%) en forma de xarop blanc.

CCF: Rf(EtOAc/Hexà 3:2)= 0.25.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = +56 (c 9, CHCl_3).

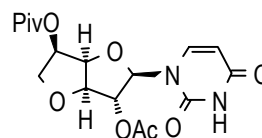
UV(MeOH): λ_{max} =264 nm.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ en ppm: 8.75 (s, 1H, H-2), 8.59 (s, 1H, H-8), 7.28 - 7.10 (m, 5H, H-Ar), 6.43 (d, 1H, $J_{1,2}$ =1.7 Hz, H-1'), 5.72 (da, 1H, H-2'), 5.02 (t, 1H, $J_{4',3'}=J_{4',5'}=4.4$ Hz, H-4'), 4.60 (dd, 1H, $J_{3,2}$ =0.9 Hz, H-3'), 4.56 i 4.46 (2d, 2H, sistema AB, $J=11.5$ Hz, PhCH_2), 4.28-4.22 (m, 1H, H-5'), 3.99 - 3.90 (m, 2H, H-6', H-6''), 2.15 (s, 3H, MeCO).

RMN ^{13}C (74.5 MHz, CDCl_3), δ en ppm: 169.0 (CO), 152.0 (C-2), 144.2 (C-8), 137.8, 128.3, 128.0, 127.6 (CH-Ar), 89.7 (C-1'), 85.6, 84.2, 80.1, 78.1 (C-2', C-3', C-4', C-5'), 72.5, 71.9 (C-6', PhCH_2), 20.6 (MeCO).

An. el. ($\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{ClO}_5$): C, 55.76; H, 4.43; N, 13.04. Trobat: C, 55.73; H, 4.44; N, 13.00.

1-(2'-O-Acetil-3',6'-anhidro-5'-O-pivaloil- β -D-glucofuranosil)-uracil (**18**).



Quan el mètode general es va aplicar a partir del carbohidrat **6** (170 mg, 0.51 mmol), emprant uracil (66 mg, 0.58 mmol), $\text{Cl}_2\text{C}_2\text{H}_4$ (6 mL), BSA (0.17 mL, 0.70 mmols) i TMSOTf (0.13 mL, 0.70 mmols), la reacció finalitzà en 40 minuts. La purificació per CC i CR ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) va permetre d'obtenir el nucleòsid **18** (158 mg, 80%) en forma de cristalls blancs.

CCF: Rf(CH₂Cl₂/MeOH 50:1)= 0.37.

Punt de fusió: 204-208 °C.

[α]_D²⁰= +160 (c 0.85, MeOH), **[α]_D**= +251 (c 8, CHCl₃).

UV(MeOH): λ_{max}=260 nm.

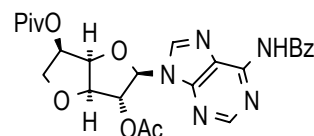
IR: 3490, 2976, 2870, 1701, 1698, 1680, 1465, 1409, 1360, 1280, 1065 cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ en ppm: 9.38 (s, 1H, H-3), 7.56 (d, 1H, J_{6,5}=8.1 Hz, H-6), 6.17 (d, 1H, J_{1',2'}=3.0 Hz, H-1'), 5.80 (d, 1H, H-5), 5.23 (d, 1H, H-2'), 5.21-5.16 (m, 1H, H-5'), 4.92 (dd, 1H, J_{4',3'}=3.7 Hz, J_{4',5'}=5.0 Hz, H-4'), 4.47 (d, 1H, H-3'), 4.15 (dd, 1H, J_{6',5'}=7.1 Hz, J_{6',6''}=10.0 Hz, H-6'), 4.00 (dd, 1H, J_{6'',5'}=5.4 Hz, H-6''), 2.14 (s, 3H, MeCO), 1.20 (s, 9H, Me₃C).

RMN ¹³C (74.5 MHz, CDCl₃), δ en ppm: 179.4, 164.7, 161.4, 150.0 (CO), 139.8 (C-6), 103.2 (C-1'), 90.9 (C-5), 85.9, 81.4, 79.6, 73.5 (C-2', C-3', C-4', C-5'), 70.9 (C-6'), 39.5 (Me₃C), 27.0 (Me₃C), 20.6 (MeCO).

An. el. (C₁₇H₂₂N₂O₈): C, 53.41; H, 5.80; N, 7.33; Trobat: C, 53.56; H, 5.82; N, 7.31.

N⁶-Benzoïl-9-(2'-O-acetil-3',6'-anhidro-5'-O-pivaloïl-β-D-glucofuranosil)-adenina (15).



Quan el procediment general es va aplicar al producte **6** (524 mg, 1.59 mmol), N⁶-benzoïladenina (437 mg, 1.8 mmol), Cl₂C₂H₄ (18 mL), BSA (0.5 mL, 2.05 mmols) i TMSOTf (0.4 mL, 2.20 mmols), la reacció finalitzà en 45 minuts. La purificació per CC (CH₂Cl₂/MeOH 250:1, 100:1 and 50:1) va permetre l'obtenció de **15** (710 mg, 80%) en forma de xarop blanc.

CCF: Rf(CH₂Cl₂/MeOH 50:1)= 0.29.

[α]_D²⁰= +84.2 (c 16.8, CHCl₃).

UV(CHCl₃): λ_{max}=282 nm.

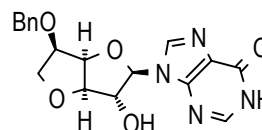
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ en ppm: 9.28 (s, 1H, H-6), 8.78 (s, 1H, H-2), 8.43 (s, 1H, H-8), 8.04 (d, 1H, J_{orto}=7.2 Hz, H-Ar), 7.64-7.49 (m, 3H, H-Ar), 6.44 (d, 1H, J_{1',2'}=1.5 Hz, H-1'), 5.71 (sa, 1H, H-2'), 5.21 (ddd, 1H, J_{5',4'}=3.7 Hz, J_{5',6'}=6.9 Hz,

$J_{5',6'}=5.4$ Hz, H-5'), 5.12 (dd, 1H, $J_{4',3'}=5.1$ Hz, H-4'), 4.62 (d, 1H, H-3'), 4.17 (dd, 1H, $J_{6',6''}=10.2$ Hz, H-6'), 4.03 (dd, 1H, H-6''), 2.06 (s, 3H, MeCO), 1.01 (s, 9H, Me₃C).

RMN ¹³C (75.4 MHz, CDCl₃), δ en ppm: 178.0, 169.3, 164.8 (CO), 152.9 (C-2), 141.5 (C-8), 133.4-127.9 (CH-Ar), 89.3 (C-1'), 85.7, 83.0, 80.9, 73.3, 70.6 (C-2',3',4',5',6'), 38.4 (Me₃C), 26.6 (Me₃C), 20.5 (MeCO).

An. el. (C₂₅H₂₇N₅O₇): C, 58.94; H, 5.30; N, 13.75. Trobat: C, 58.78; H, 5.29; N, 13.77.

9-(5'-O-Benzil-3',6'-anhidro- β -D-glucofuranosil)-inosina (**13**).



Sobre una solució formada pel nucleòsid **12** (195 mg, 0.43 mmols) en 23 mL de MeOH es van afegir 0.11 mL (1.90 mmols) de mercaptoetanol i 1.65 mL de NaOMe (1N en MeOH) acabat de preparar. Es deixà la barreja en agitació durant 4 hores a 65 °C, moment en què per CCF es detectà la total desaparició del producte de partida. La mescla de reacció es neutralitzà amb HOAc i es concentrà a sequedat. El cru de reacció així obtingut es purificà per CC (CH₂Cl₂/MeOH 20:1) obtenint-se el producte **13** (141 mg, 87%) en forma de sòlid blanc.

CCF: Rf(CH₂Cl₂/MeOH 20:1)= 0.20.

Punt de fusió: 119.2-120.4 °C (recristal·litzat amb CH₂Cl₂/MeOH).

[α]_D²⁰ = +160 (c 5.6, MeOH).

UV (MeOH): λ_{\max} = 246 nm.

IR: 3258, 3130, 2950, 1687, 1586, 1546, 1204, 1074 cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD), δ en ppm: 8.36 (s, 1H, H-2), 8.03 (s, 1H, H-8), 7.25-7.23 (m, 5H, H-Ar), 6.20 (d, 1H, $J_{1',2'}=1.2$ Hz, H-1'), 5.05 (t, 1H, $J_{3',4'}=J_{4',5'}=4.5$ Hz, H-4'), 4.80 (d, 1H, H-2'), 4.64 (d, 1H, $J_{AB}=11.4$ Hz, H-7'), 4.49 (d, 1H, H-7''), 4.49 (dd, 1H, $J_{2',3'}=1.2$ Hz, H-3'), 4.34-4.28 (m, 1H, H-5'), 3.93 (dd, 1H, $J_{5',6'}=6.6$ Hz, $J_{6',6''}=9.6$ Hz, H-6'), 3.78 (dd, 1H, $J_{5',6''}=4.8$ Hz, H-6'').

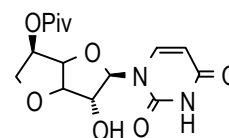
RMN ¹³C (74.5 MHz, CD₃OD/CDCl₃ 1:1), δ en ppm: 146.2 (C-2), 140.1 (C-8), 129.0-128.6 (CH-Ar), 93.5 (C-1'), 89.1, 85.2, 82.3, 79.6 (C-2', C-3', C-4', C-5'), 73.2, 72.1 (C-6', C-7').

An. el. (C₁₈H₁₈N₄O₅): C, 58.38%, H, 4.86%, N, 15.12%. Trobat: C, 58.21%, H, 4.87%, N, 15.10%.

Desprotecció selectiva dels grups O-acetil dels compostos 15 i 18. Procediment general.

El compost acetilat es va dissoldre en MeOH/NH₃ (10-20% en NH₃) (13 mL/1 mmol producte de partida) i es va deixar en agitació a temperatura ambient durant 50 minuts- 3 hores. La reacció es va controlar per CCF. Un cop finalitzada la reacció el dissolvent es va evaporar sota pressió reduïda i el residu es va purificar per CC i/o CR.

1-(3',6'-Anhidro-5'-O-pivaloïl-β-D-glucofuranosil)-uracil (19).



El mètode general es va aplicar al producte 18 (745 mg, 1.95 mmol) emprant 25 mL de MeOH/NH₃ (20% en NH₃). Després de la purificació per CR (CH₂Cl₂/MeOH 20:1) s'obtingué el producte 19 (659 mg, 99%) en forma de cristalls blancs.

CCF: Rf(CH₂Cl₂/MeOH 20:1)= 0.27

Punt de fusió: 210-212 °C.

[α]_D²⁰: +177 (c 4, CHCl₃).

UV(MeOH): λ_{max}=270 nm.

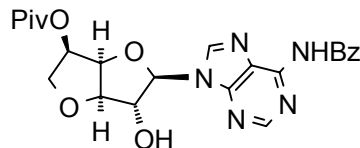
IR: 3466, 3130, 2980, 2885, 1700, 1693, 1622, 1468, 1413, 1393, 1260, 1090 cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ en ppm: 10.28 (s, 1H, H-3), 7.77 (d, 1H, J_{6,5}=8.1 Hz, H-6), 5.86 (s, 1H, H-1'), 5.71 (d, 1H, H-5), 5.32-5.25 (m, 1H, H-5'), 5.13 (dd, 1H, J_{4,3}=3.0, J_{4,5}=5.1 Hz, H-4'), 4.51 (s, 1H, H-2'), 4.41 (d, 1H, H-3'), 4.10 (dd, 1H, J_{6,5}=7.5 Hz, J_{6,6''}=10.5 Hz, H-6'), 3.90 (dd, 1H, J_{6,5}=3.9 Hz, H-6''), 1.23 (s, 9H, Me₃C).

RMN ¹³C (74.5 MHz, CDCl₃), δ en ppm: 179.5, 162.0, 150.5 (CO), 139.7 (C-6), 101.7 (C-1'), 95.8 (C-5), 87.6, 84.1, 79.3, 74.5 (C-2', C-3', C-4', C-5'), 71.7 (C-6'), 38.5 (Me₃C), 27.0 (Me₃C).

An. el. (C₁₅H₂₀N₂O₇): C, 52.94; H, 5.88; N, 8.23. Trobat: C, 53.04; H, 5.90; N, 8.20.

N⁶-Benzoïl-9-(3',6'-anhidro-5'-O-pivaloïl-β-D-glucofuranosil)-adenina (16).



El procediment general es va aplicar a partir del producte **15** (575 mg, 1.13 mmol), usant 20 mL de MeOH/NH₃ (10% en NH₃). La reacció es va completar en 50 minuts, i el cru de reacció es va purificar per CR (mescles de CH₂Cl₂/MeOH) obtenint-se el producte **16** (448 mg, 85%) en forma de xarop blanc.

CCF: Rf(CH₂Cl₂/MeOH 20:1)= 0.56.

[α]_D²⁰: +116 (c 10.4, CHCl₃).

UV(MeOH): λ_{max}=280 nm.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ en ppm: 9.37 (s, 1H, H-6), 8.60 (s, 1H, H-2), 8.38 (s, 1H, H-8), 7.94 (d, 2H, J_{orto}=7.2 Hz, H-Ar), 7.58-7.43 (m, 3H, H-Ar), 6.26 (d, 1H, J_{1',2'}=2.1 Hz, H-1'), 6.20 (s, 1H, OH), 5.19-5.07 (m, 2H, H-4', H-5'), 4.93 (sa, 1H, H-2'), 4.59 (d, 1H, J_{3',4'}=3.6 Hz, H-3'), 4.09 (dd, 1H, J_{6',5'}=6.6, J_{6',6''}=10.2 Hz, H-6'), 3.90 (dd, 1H, J_{6',5'}=5.4 Hz, H-6''), 1.08 (s, 9H, (CH₃)₃).

RMN ¹³C (74.5 MHz, CDCl₃), δ en ppm: 178.1, 165.0 (CO) 152.5 (C-2), 141.7 (C-8), 133.3-127.9 (CH-Ar), 92.7 (C-1'), 87.9, 82.3, 79.6, 73.4, 70.1 (C-2', C-3', C-4', C-5', C-6'), 38.5 (Me₃C), 26.8 (Me₃C).

An. el. (C₂₃H₂₅N₅O₆): C; 59.10; H, 5.35; N, 14.99. Trobat: C, 59.25; H, 5.36; N, 14.95.

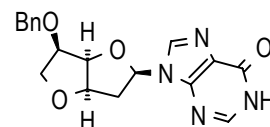
Síntesi dels derivats 2'-desoxi 14, 17 i 20 per desoxigenació reductiva. Procediment general.

A. **Formació dels derivats 2'-O-(fenoxitiocarbonil).** Sobre una solució formada per **13**, **16** o **19** en CH₃CN anhidre o Cl₂C₂H₄ (10 mL de dissolvent/ 1 mmol de nucleòsid) es van addicionar sota argó 0.5 eq/mol de DMAP i 2 eq/mol de PhOCSCl. La mescla de reacció es deixà en agitació de 40 minuts a 4 hores. El brut de reacció s'evaporà a sequedat i el residu així obtingut es diluí amb EtOAc/H₂O i es rentà amb HOAc 1N i amb NaCl. La fase

orgànica es va secar amb Na_2SO_4 i es concentrà a sequedat. El xarop resultant es va purificar per CC o bé es va usar directament en l'etapa de desoxigenació.

- B. **Reacció de desoxigenació.** Sobre una dissolució del tiocarbonat en toluè anhidre (prèviament desoxigenat amb argó) es van addicionar 35 mg/mmol d'AIBN i 2.3 eq/mmol de $n\text{-Bu}_3\text{SnH}$. La reacció es portà a terme a reflux de toluè i es va controlar per CCF. El dissolvent es va evaporar i el residu així obtingut es va purificar per CC o CR.

9-(3',6'-Anhidro-5'-O-benzil-2'-desoxi- β -D-glucofuranosil)-inosina (14).



El procediment general per a l'obtenció de derivats-2'-O-(fenoxitiocarbonílics) s'aplicà al producte **13** (100 mg, 0.27 mmol), emprant CH_3CN (2.8 mL), PhOCSCl (0.07 mL, 0.51 mmols), DMAP (17 mg, 0.13 mmols). Després de la CC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 50:1, 20:1) el derivat 2'-O-fenoxitiocarbonil es va obtenir en forma de xarop (88 mg, 64%). **CCF:** $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 20:1)= 0.44. Quan es va aplicar el procediment de desoxigenació sobre aquest derivat (88mg, 0.17mmol), usant toluè (1.4mL), AIBN (6mg, 0.036 mmols), $n\text{-Bu}_3\text{SnH}$ (0.1mL, 0.38mmol) la reacció va acabar en 3.5 hores. Les CC i CR ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 50:1, 25:1, 10:1) van permetre d'obtenir el nucleòsid **14** (26 mg, 42%) en forma de xarop.

CCF: $R_f(\text{EtOAc}/\text{EtOH}$ 40:1)= 0.08.

$[\alpha]_D^{20} = +58.4$ (c 26, MeOH).

UV(MeOH): $\lambda_{\text{max}}=250$ nm.

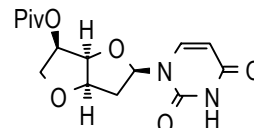
IR: 3388, 2929, 2867, 1691, 1586, 1210, 1087 cm^{-1} .

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ en ppm: 8.39 (s, 1H, H-2), 8.21 (s, 1H, H-8), 7.28-7.18 (m, 5H, H-Ar), 6.50 (m, 1H, H-1'), 4.79 (t, 1H, $J_{5',4'}=J_{5',6'}=4.5$ Hz, H-5'), 4.74-4.69 (m, 2H, H-6', H-6''), 4.59, 4.43 ("q", 2H, sistema AB, $J_{AB}=11.7$ Hz, PhCH_2), 4.22-4.19 (m, 1H, H-4'), 3.89 (d, 1H, $J_{3',4'}=6.0$ Hz, H-3'), 2.80-2.75 (m, 2H, H-2', H-2'').

RMN ^{13}C (74.5 MHz, CDCl_3), δ en ppm: 145.0 (C-2), 139.4 (C-8), 128.2-127.4 (CH-Ar), 85.7 (C-1'), 84.7, 82.6, 78.6 (C-3', C-4', C-5'), 72.2, 71.9 (C-6', PhCH_2), 36.7 (C-2').

An. el. (C₁₈H₁₈N₄O₄): C, 61.02; H, 5.07; N, 15.82. Trobat: C, 61.10, H, 5.08; N, 15.86.

1-(3',6'-Anhidro-2'-desoxi-5'-O-pivaloïl-β-D-glucofuranosil)-uracil (20).



El procediment general per a la formació de derivats-2'-O-fenoxitiocarbonílics es va aplicar al producte **19** (600 mg, 1.76 mmol) emprant CH₃CN (18 mL), PhOCSCI (0.5 mL, 3.60 mmols) i DMAP (108 mg, 0.88 mmols). El xarop resultant (usat sense purificar) es desoxigenà segons el mètode general, utilitzant toluè (14 mL), AIBN (61 mg, 0.36 mmols) i *n*-Bu₃SnH (1 mL, 3.70 mmols). La purificació per CC (mesclades de CH₂Cl₂/MeOH) va permetre d'obtenir el nucleòsid **20** (460 mg, 80%) en forma de sòlid blanc.

CCF: Rf(CH₂Cl₂/MeOH 25:1)= 0.25.

Punt de fusió: 199-200 °C (recristal.litzat amb CHCl₃/pentà).

[α]_D²⁰ = +159 (c 4, CHCl₃).

UV(MeOH): λ_{max}=262 nm.

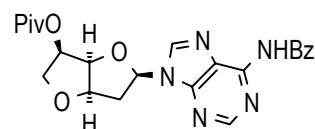
IR: 3151, 3110, 3021, 2975, 1730, 1727, 1706, 1682, 1470, 1268, 1096 cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ en ppm: 9.95 (s, 1H, H-3), 7.83 (d, 1H, J_{6,5}=8.4 Hz, H-6), 6.32 (dd, 1H, J_{1',2''}=8.1 Hz, J_{1',2'}=3.0 Hz, H-1'), 5.78 (d, 1H, H-5), 5.20-5.18 (m, 1H, H-5'), 4.79 (dd, J_{4',3'}=3.6 Hz, J_{4',2''}=5.7 Hz, 1H, H-4'), 4.59-4.57 (m, 1H, H-3'), 4.11-4.01 (m, 2H, H-6', H-6''), 2.72 (ddd, 1H, J_{2'',2'}=15.6 Hz, J_{2'',3'}=5.3 Hz, H-2''), 2.31 (dd, 1H, H-2'), 1.19 (s, 9H, C Me₃).

RMN ¹³C (74.5 MHz, CDCl₃), δ en ppm: 179.0, 163.9, 150.7 (CO), 140.6 (C-6), 102.1 (C-1'), 87.2 (C-5), 83.7, 83.0, 74.1, 71.8 (C-3', C-4', C-5', C-6'), 38.1 (C-2'), 38.5 (C Me₃), 26.9 (C Me₃).

An. el. (C₁₅H₂₀N₂O₆): C, 55.56; H, 5.17; N, 8.64. Trobat: C, 55.54; H, 5.18; N, 8.64.

N⁶-Benzoïl-9-(3',6'-anhidro-2'-desoxi-5'-O-pivaloïl-β-D-glucofuranosil)-adenina (17).



El procediment general per a la formació de derivats 2'-O-fenoxitiocarbonílics es va aplicar al producte **16** (70 mg, 0.15 mmol), utilitzant $\text{Cl}_2\text{C}_2\text{H}_4$ (1.6 mL), DMAP (7 mg, 0.067 mmols), PhOCSCI (0.04 mL, 0.29 mmols). El xarop resultant es va usar en l'etapa següent sense purificar. A partir d'aquest derivat s'aplicà el procediment general de desoxigenació amb toluè (1.2 mL), AIBN (5 mg, 0.03) i *n*- Bu_3SnH (0.09 mL, 0.33 mmols). La purificació per CC i CR (mescles de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) va permetre d'obtenir el nucleòsid **17** (42 mg, 63%) en forma de xarop.

CCF: $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH } 25:1) = 0.16$.

$[\alpha]_D^{20} = +136.4$ (c 7.1, MeOH).

UV(MeOH): $\lambda_{\text{max}} = 280$ nm.

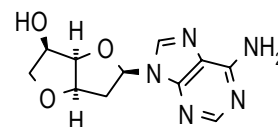
IR: 3391, 3104, 2970, 1740, 1710, 1642, 1461, 1250, 1089 cm^{-1} .

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ en ppm: 9.27 (s, 1H, H-6), 8.80 (s, 1H, H-2), 8.62 (s, 1H, H-8), 8.04 (d, 2H, $J_{\text{orto}} = 6.9$ Hz, H-Ar), 7.64-7.51 (m, 3H, H-Ar), 6.67 (dd, 1H, $J_{1',2''} = 7.5$, $J_{1',2'} = 2.4$ Hz, H-1'), 5.23-5.16 (m, 1H, H-5'), 4.97 (dd, 1H, $J_{4',5} = 5.4$, $J_{4',3} = 3.9$ Hz, H-4'), 4.76-4.74 (m, 1H, H-3'), 4.12-4.01 (m, 2H, H-6', H-6''), 2.92-2.78 (m, 2H, H-2', H-2''), 0.98 (s, 9H, Me_3C).

RMN ^{13}C (74.5 MHz, CDCl_3), δ en ppm: 179.1 (CO), 152.7 (C-2), 142.2 (C-8), 132.7-127.8 (CH-Ar), 85.3 (C-1'), 84.6, 83.2, 74.1, 71.7 (C-3', C-4', C-5', C-6'), 38.50 (C-2'), 38.5 (C-2', CMe_3), 26.5 (CMe_3).

An. el. ($\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_5$): C, 61.20; H, 5.54; N, 15.52. Trobat: C, 61.33; H, 5.56; N, 15.55.

9-(3',6'-Anhidro-2'-desoxi- β -D-glucofuranosil)-adenina (**2**).



Una solució 0.2 M del nucleòsid **17** (125 mg, 0.27 mmol) en NH₃ concentrat es va escalfar a 55-60 °C, mantenint-se en agitació durant 8 h. Passat aquest temps es deixà assolir temperatura ambient i es concentrà el brut de reacció a sequedat. El cru resultant es purificà per CR (CH₂Cl₂/MeOH 10:1) i tot seguit es recristal·litzà (MeOH, Et₂O, éter de petroli), obtenint-se el nucleòsid desprotegit **2** (50 mg, 67%) en forma de cristalls blancs.

CCF: Rf(CH₂Cl₂/MeOH 5:1)= 0.6

Punt de fusió: 176.6-178.2 °C.

[α]_D²⁰= +19.4 (c 3.1, MeOH).

UV(MeOH): λ_{max}=262 nm.

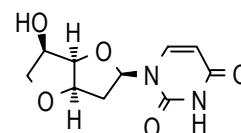
IR: 3405, 3394, 3001, 2870, 1668, 1580, 1420 cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD), δ en ppm: 8.48 (s, 1H, H-2), 8.20 (s, 1H, H-8), 6.51 (dd, 1H, J_{1',2''}=7.8 Hz, J_{1',2'}=3.3 Hz, H-1'), 4.80-4.76 (m, 1H, H-3'), 4.66-4.63 (m, 1H, H-4'), 4.41 (ddd, 1H, J_{5',4'}=5.0, J_{5',6'}=6.4 Hz, J_{5',6''}=6.1 Hz, H-5'), 3.93 (dd, 1H, J_{6',6''}=9.1 Hz, H-6'), 3.68 (dd, 1H, H-6''), 2.85 (ddd, 1H, J_{2'',3'}=5.5 Hz, J_{2'',2'}=15.1 Hz, H-2''), 2.72 (ddd, 1H, J_{2',3'}=1.5 Hz, H-2').

RMN ¹³C (74.5 MHz, CD₃OD), δ en ppm: 157.5 (C-2), 141.7 (C-8), 87.1 (C-1'), 84.1, 73.9, 49.4 (C-3', C-4', C-5'), 73.9 (C-6'), 39.7 (C-2').

An. el. (C₁₁H₁₃N₅O₃): C, 50.19; H, 4.94; N, 26.62. Trobat: C, 50.11; H, 4.95; N, 26.60.

1-(3',6'-Anhidro-2'-desoxi-β-D-glucofuranosil)-uracil (**3**).



100 mg (0.31 mmol) de producte **20** es van dissoldre en 10 mL de MeOH i es van tractar amb 50 mg de la reïna bàsica Amberlite IRA-402, deixant la barreja en agitació a temperatura ambient durant 16 h. Després de neutralitzar amb AcOH, el residu es va concentrar a sequedat i es purificà per CC i FC (CH₂Cl₂/MeOH 20:1) obtenint-se el nucleòsid desprotegit **3** amb un rendiment quantitatiu.

CCF: Rf(CH₂Cl₂/MeOH 10:1)= 0.2.

[α]_D²⁰= +56.6 (c 5.6, MeOH).

UV(MeOH): λ_{\max} =270 nm.

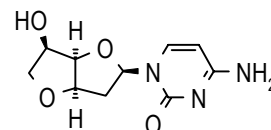
IR: 3438, 3401, 3140, 3124, 2942, 1732, 1662, 1475, 1390, 1275 cm^{-1} .

RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD), δ en ppm: 8.11 (d, 1H, $J_{6,5}$ =8.1 Hz, H-6), 6.30 (dd, 1H, $J_{1,2''}$ =7.9 Hz, $J_{1,2}$ =3.7 Hz, H-1'), 5.71 (d, 1H, H-5), 4.64-4.61 (m, 1H, $J_{3,4}$ =3.9 Hz, H-3'), 4.52-4.43 (m, 2H, H-4',5'), 3.95 (dd, 1H, $J_{6',5'}$ =6.3 Hz, $J_{6',6''}$ =9.0 Hz, H-6'), 3.75 (dd, 1H, $J_{6'',5'}$ =5.7 Hz, H-6''), 2.69 (ddd, 1H, $J_{2'',3}$ =6.0 Hz, $J_{2'',2}$ =15.0 Hz, H-2''), 2.25 (dd, 1H, H-2').

RMN ^{13}C (74.5 MHz, CD_3OD), δ en ppm: 143.6 (C-6), 102.5 (C-5), 88.7 (C-1'), 86.2, 83.9, 74.0, 73.5 (C-3', C-4', C-5', C-6'), 39.1 (C-2').

An. el. ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_5$): C, 50.00%; H, 5.00%; N, 11.69%. Trobat: C, 50.09%; H, 4.99%; N, 11.69%.

1-(3',6'-Anhidro-2'-desoxi- β -D-glucofuranosil)-citosina (4).



Sobre una solució de producte **20** (102 mg, 0.31 mmol) en 1.5 mL de piridina anhidre es va afegir MSNT (433 mg, 1.46 mmols) i fosfat de difenil (35.5 mg, 0.14 mmol). La mescla de reacció es deixà en agitació a temperatura ambient durant 8 hores, es concentrà a sequedat i el residu es va purificar per CC i CR emprant mesclures de CH_2Cl_2 i MeOH. Es van obtenir 16 mg de producte de partida sense reaccionar i 74 mg (66%) de producte **21** en forma sòlida. El producte **21** es va tractar durant 3 dies amb MeOH/ NH_4OH conc. Després de concentrar el brut de reacció a sequedat i purificar-lo per CC ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 20:1, 10:1) es va obtenir el producte desprotegit **4** (38 mg, 91%) en forma de cristalls blancs.

CCF: $R_f(\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:1)= 0.14

Punt de fusió: 216-218 °C (recristal.litzat amb MeOH/ Et_2O).

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = +116.4 (c 1.2, MeOH).

UV(MeOH): λ_{\max} =272 nm.

IR: 3380, 3117, 3072, 1656, 1606, 1478, 1366, 1136 cm^{-1} .

RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD), δ en ppm: 8.16 (d, 1H, $J_{6,5}=7.5$ Hz, H-6), 6.24 (dd, 1H, $J_{1',2''}=7.6$ Hz, $J_{1',2'}=3.7$ Hz, H-1'), 5.90 (d, 1H, H-5), 4.58 (ddd, 1H, $J_{3',2''}=5.6$ Hz, $J_{3',2'}=1.5$ Hz, $J_{3',4'}=3.9$ Hz, H-3'), 4.54-4.44 (m, 2H, H-4', H-5'), 3.94 (dd, 1H, $J_{6',5'}=6.6$ Hz, $J_{6',6''}=9.0$ Hz, H-6'), 3.72 (dd, 1H, $J_{6'',5'}=6.0$ Hz, H-6''), 2.70 (ddd, 1H, $J_{2'',2'}=15.0$ Hz, H-2''), 2.18 (ddd, 1H, H-2').

RMN ^{13}C (74.5 MHz, CD_3OD), δ en ppm: 143.4 (C-6), 95.9 (C-5), 89.8 (C-1'), 86.2, 84.2, 73.7 (C-3', C-4', C-5'), 74.2 (C-6'), 40.2 (C-2').

An. el. ($\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4$): C, 50.21; H, 5.44; N, 17.57. Trobat: C, 50.18; H, 5.54; N, 17.53.