

La Serie Universitaria de la Fundación Juan March presenta resúmenes, realizados por el propio autor, de algunos estudios e investigaciones llevados a cabo por los becarios de la Fundación y aprobados por los Asesores Secretarios de los distintos Departamentos.

El texto íntegro de las Memorias correspondientes se encuentra en la Biblioteca de la Fundación (Castello, 77. Madrid-6).

La lista completa de los trabajos aprobados se presenta, en forma de fichas, en los Cuadernos Bibliográficos que publica la Fundación Juan March.

Estos trabajos abarcan las siguientes especialidades: Arquitectura y Urbanismo; Artes Plásticas; Biología; Ciencias Agrarias; Ciencias Sociales; Comunicación Social; Derecho; Economía; Filosofía; Física; Geología; Historia; Ingeniería; Literatura y Filología; Matemáticas; Medicina, Farmacia y Veterinaria; Música; Química; Teología. A ellas corresponden los colores de la cubierta.

Edición no venal de 300 ejemplares, que se reparte gratuitamente a investigadores, Bibliotecas y Centros especializados de toda España.

Este trabajo fue realizado con una Beca de España, 1975, individual. Departamento de Química. Centro de trabajo: Facultad de Ciencias. Sevilla.

Fundación Juan March



FJM-Uni 50-Pan  
Síntesis de antibióticos aminoglicosídicos  
Pando Ramos, Enrique.  
1031756



Biblioteca FJM

Fundación Juan March (Madrid)

SERIE UNIVERSITARIA



Fundación Juan March

# Síntesis de antibióticos aminoglicosídicos modificados

Enrique Pando Ramos

FJM

Uni-  
50

Pan

50

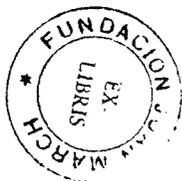
Síntesis de antibióticos aminoglicosídicos modificados/Enrique Pando Ramos



Fundación Juan March  
Serie Universitaria

50

# Síntesis de antibióticos aminoglicosídicos modificados



Enrique Pando Ramos



Fundación Juan March  
Castelló, 77. Teléf. 225 44 55  
Madrid - 6

Fundación Juan March (Madrid)

*La Fundación Juan March no se solidariza  
necesariamente con las opiniones de los  
autores cuyas obras publica.*

Depósito Legal: M - 11446-1978  
I.S.B.N. 84 - 7075 - 080 - 1  
Ibérica, Tarragona, 34.-Madrid-7

## I N D I C E

	Página
RESUMEN . . . . .	1
I.— INTRODUCCION . . . . .	3
II.— PREPARACION DE DERIVADOS DE LA NEAMINA . . . .	7
III.— PREPARACION DE DERIVADOS DE LA 2-DESOXIES- TREPTAMINA . . . . .	18
IV — PARTE EXPERIMENTAL . . . . .	22
BIBLIOGRAFIA . . . . .	36



## RESUMEN

Se han sintetizado nuevos derivados de la neamina (neomicina A) que pueden servir de precursores químicos de antibióticos aminoglicosídicos semisintéticos, que puedan ser activos frente a mutantes de bacterias resistentes a los antibióticos naturales.

Los nuevos productos preparados son la 5,6;3',4'-di-O-ciclohexiliden-tetra-N-metoxicarbonilneamina, la 5,6-O-ciclohexiliden-tetra-N-metoxicarbonilneamina, el dialdehído derivado del producto anterior por oxidación en el anillo de piranosa y el dialcohol producido por la reducción de este dialdehído.

La estructura de los productos descritos se ha asignado en base a su análisis elemental, espectro de IR y método de síntesis.

También se ha preparado un nuevo derivado de la 2-desoxiestreptamina, el racemato 4,5 y 5,6-O-ciclohexiliden-N,N'-dimetoxicarbonil-2-desoxiestreptamina, que puede glicosilarse en las posiciones 4 o 6 con aminoazúcares por reacciones de Koenig-Knorr usando haluros de

glicosilo, dando lugar a pseudodisacáridos relacionados con la neamina, con potencial actividad biológica.

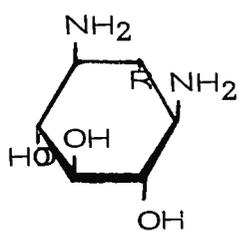
Se asigna la estructura de este racemato por su espectro IR, carencia de rotación óptica y por su derivado O-acetilado.

## I. INTRODUCCION

Los aminoglicósidos se pueden definir como hidratos de carbono que contienen en su molécula una o varias funciones amino y estan unidos glicosidicamente, a través del oxígeno situado en C-1, a una aglicona.

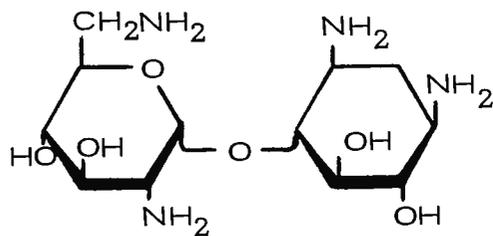
Gran cantidad de antibióticos - los denominados antibióticos aminoglicosídicos - poseen esta estructura. La molécula de estos compuestos está constituida por una aglicona, que es la estreptamina (I), la 2-desoxiestreptamina (II) o un derivado de ellas (anillo A), la cual está unida glicosidicamente a un aminoazúcar (anillo B) en C-4 - como ocurre en la neamina (III) - y casi siempre también a otro aminoazúcar (anillo C) en C-5 - caso de la ribostamicina (IIIa) - o en C-6 - caso de las kanamicinas A (IV), B (V) y C (VI).

Los compuestos de este tipo son pues pseudo-oligosacáridos, es decir, son estructuralmente semejantes a los oligosacáridos.

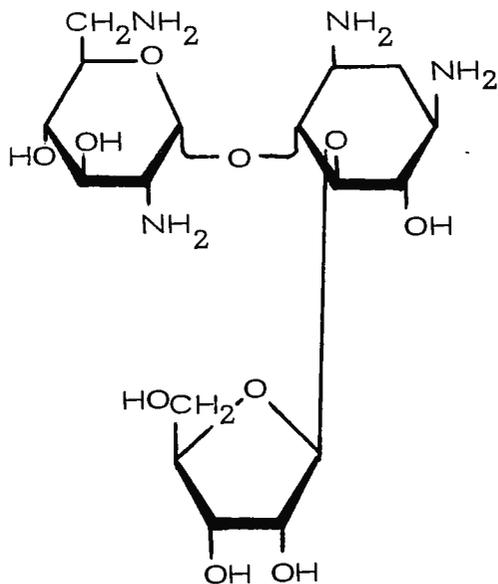


I,  $\text{R} = \text{OH}$

II,  $\text{R} = \text{H}$



III



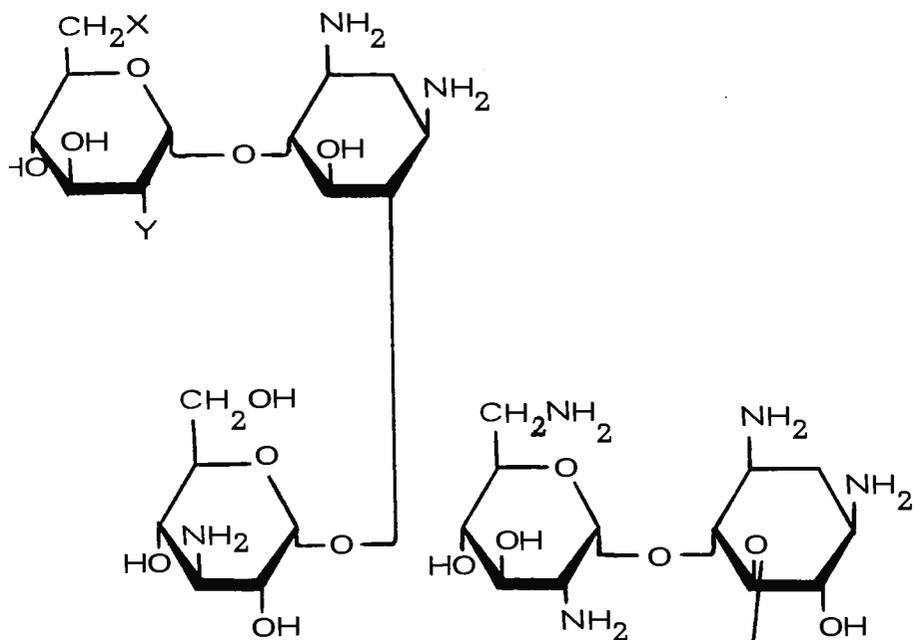
IIIa

La neamina (III), es decir, la 4-(2,6-diamino-2,6-desoxi- $\alpha$ -D-glucopiranosil)-2-desoxiestreptamina, llamada también neomicina A, es un pseudodisacárido componente de algunos antibióticos aminoglicosídicos, tales como la ya citada kanamicina B (V) y las neomicinas B (VII) y C (VIII).

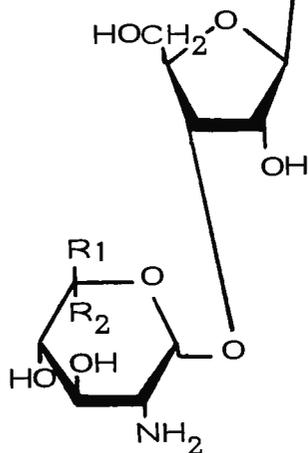
La misma neamina (III) posee también propiedades antibióticas<sup>1</sup>, aunque débiles, que se refuerzan cuando en la posición 5 o 6 del anillo de 2-desoxiestreptamina (anillo A) lleva unido otro azúcar (como  $\beta$ -D-ribofuranosa, 3-amino-3-desoxi- $\alpha$ -D-glucopiranososa, etc.), tal como sucede en los antibióticos antes mencionados.

A pesar de la gran importancia farmacológica de la neamina, su química no ha sido aún suficientemente investigada, si bien es de reseñar en este sentido los estudios realizados por Rinehart y colaboradores<sup>2</sup>, llevados a cabo con objeto de establecer las estructuras de las neomicinas.

La presente investigación ha tenido por objeto sintetizar derivados de la neamina que sirvieran como posibles precursores químicos de antibióticos aminoglicosídicos semisintéticos, que puedan ser activos frente a mutantes de bacterias patógenas que son resistentes a los antibióticos naturales.



	$\frac{X}{\text{NH}_2}$	$\frac{Y}{\text{OH}}$
IV		
V	$\text{NH}_2$	$\text{NH}_2$
VI	$\text{OH}$	$\text{NH}_2$



VII  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{CH}_2\text{NH}_2$

VIII  $R_1 = \text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $R_2 = \text{H}$

También se ha procedido a la preparación de derivados de la 2-desoxiestreptamina (II), que pueden posteriormente glicosilarse dando pseudodisacáridos relacionados con la neamina, también con potencial actividad biológica.

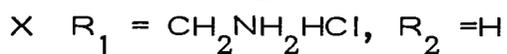
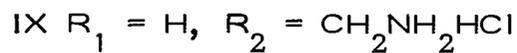
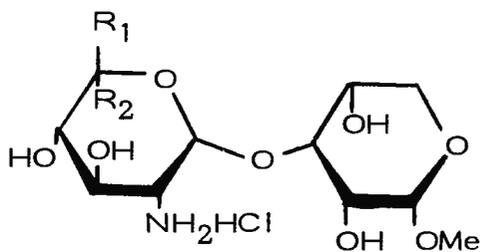
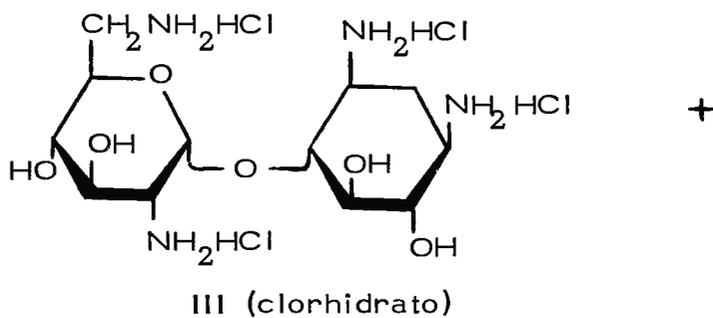
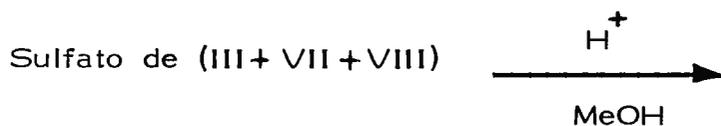
## II. PREPARACION DE DERIVADOS DE LA NEAMINA

### II.1. Preparación de la neamina a partir de la neomicina comercial

Los métodos encontrados en la literatura<sup>3,4,5,6</sup> para preparar neamina (III, obtenida como clorhidrato) proceden por metanolisis de muestras puras de neomicinas B (VII) o C (VIII), previamente separadas por métodos cromatográficos.

Se basan en que al ser tratados los citados antibióticos, en caliente, con cloruro de hidrógeno en metanol absoluto, se excinden por el enlace que une la  $\beta$ -D-ribofuranosa con el anillo de 2-desoxiestreptamina, separando luego la neamina clorhidrato del correspondiente cloruro de metilneobiosamfínido B (IX) o C (X), por sus diferentes solubilidades en eter-metanol.

La neomicina comercial es una mezcla de las neomicinas A (neamina, III), B (VII) y C (VIII), y tanto la neomicina B como la C, al metanolizarse en medio ácido dan neamina clorhidrato y cloruro de metilneobiosamfínido



do B (IX) o C (X); por ello al separar la neamina de la mezcla de cloruros de metilneobiosamínicos, se puede conseguir preparar neamina clorhidrato pura.

Basandonos en estos hechos, hemos preparado clorhidrato de neamina pura con excelentes rendimientos.

Alternativamente hemos introducido un nuevo método para preparar la neamina, que consiste en tratar el sulfato de neomicina comercial con metanol y cloruro de acetilo destilado, calentando la mezcla a reflujo durante dos horas y media, y separando el clorhidrato de neamina formado de los cloruros de metilneobiosamínicos como en el caso anterior.

Sin embargo, aunque se gana algo en rapidez, los rendimientos conseguidos con este segundo método, son sensiblemente inferiores a los logrados por el método anterior (aproximadamente la mitad).

## II.2. Preparación de la tetra-N-metoxicarbonilneamina

Para poder someter la neamina a posteriores reacciones, es preciso proteger previamente los cuatro grupos amino, para ello hemos tratado la neamina (III) con cloroformiato de metilo en acetona acuosa, según el método de Umezawa y colaboradores<sup>7,8</sup>.

En este método la base empleada para neutralizar los cuatro grupos clorhidrato es carbonato sódico. Nos-

tros hemos mejorado el método empleando resina Amberlita IRA-400 (OH), lo cual evita manipulaciones y aumenta apreciablemente el rendimiento.

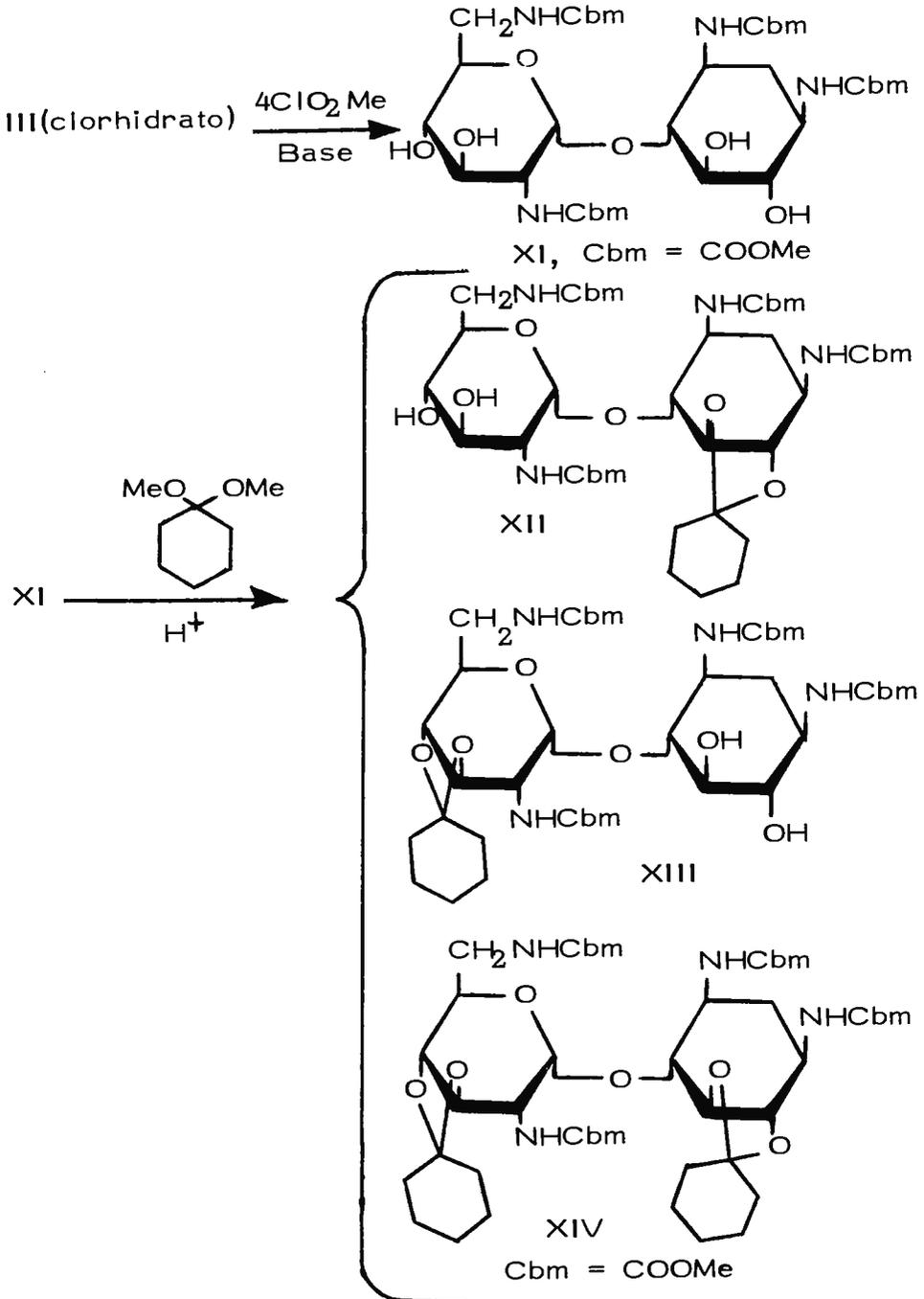
La estructura del producto XI, la hemos establecido por su análisis elemental, que corresponde a su fórmula molecular,  $C_{20}H_{34}N_4O_{14}$ , y por su espectro de absorción en el IR, que muestra una fuerte banda a  $3390\text{ cm}^{-1}$  que se puede atribuir a la solapación de las absorciones de los grupos OH y NH, otra fuerte banda a  $1709\text{ cm}^{-1}$  debida al carbonilo del grupo metoxicarbonilo, y tres bandas, de débil intensidad todas ellas, a  $966$ ,  $877$  y  $787\text{ cm}^{-1}$ , que se asignan al anillo de piranosa.

### II.3. Acetalación de la tetra-N-metoxicarbonilneamina con 1,1-dimetoxiciclohexano

Esta reacción, ya descrita por Umezawa y colaboradores<sup>8</sup>, permite proteger los grupos OH en posición 5 y 6 del anillo de 2-desoxiestreptamina del producto XI, dejando libres los grupos OH en posición 3' y 4' del anillo de piranosa de la misma molécula.

La descripción de la reacción dada por Umezawa es muy escueta, por lo que hemos procedido a una detallada reinvestigación de la misma.

Consiste en la transacetalación del grupo ciclohexilideno del 1,1-dimetoxiciclohexano (preparado según los



métodos encontrados en la literatura<sup>9,10,11</sup>), que pasa a sustituir los grupos OH de las posiciones 5,6 (XII), de las posiciones 3',4' (XIII), o de las posiciones 5,6 y 3',4' a la vez (XIV). La reacción tiene lugar en N,N-dimetilformamida (DMF) y en presencia de ácido p-toluen-sulfónico en cantidades catalíticas, a temperaturas moderadamente altas y bajo presión reducida.

La proporción en que se forma cada uno de los tres productos de acetalación: 5,6-O-ciclohexiliden-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XII), 3',4'-O-ciclohexiliden-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XIII) y 5,6;3',4'-di-O-ciclohexiliden-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XIV), depende de las condiciones de cada ensayo.

Llevando a cabo la reacción en condiciones adecuadas, como se describe en la Parte Experimental (Sección IV.3.1.), se consigue que el producto XIV sea mayoritario. Este producto, cuando se trata con metanol, sufre una nueva transacetalación del grupo ciclohexilideno en las posiciones 3',4'; más lábiles, y se transforma en el producto XII.

Procediendo de esta forma, hemos preparado los productos XII y XIV puros. El producto XIII, si bien se ha detectado cromatográficamente, no ha sido aislado.

La estructura del producto XII, aislado con buen rendimiento (79%), queda demostrada por su análisis elemen-

tal, que corresponde a su fórmula molecular, que es  $C_{26}H_{42}N_4O_{14}$ , y por su espectro de IR, el cual presenta bandas de OH a  $3420\text{ cm}^{-1}$ , de NH ligado intermolecularmente a  $3320\text{ cm}^{-1}$ , dos bandas a  $2940$  y  $2860\text{ cm}^{-1}$  que asignamos a las tensiones de los grupos metilos y de los metilenos del grupo ciclohexilideno; la tensión de los grupos carbonilos aparece como una banda fuerte a  $1780\text{ cm}^{-1}$  y por último dos bandas a  $908$  y  $785\text{ cm}^{-1}$  son propias del anillo de piranosa.

Analogamente, la estructura de XIV se asigna por su análisis elemental,  $C_{32}H_{50}N_4O_{14}$ , y por su espectro de IR, en el que sobresalen las siguientes bandas: una fuerte banda a  $3330\text{ cm}^{-1}$ , propia del NH ligado intermolecularmente; dos bandas, a  $2940$  y  $2860\text{ cm}^{-1}$ , que se deben a los grupos metilenos del ciclohexilideno y a los grupos metilos; dos fuertes bandas a  $1726$  y  $1706\text{ cm}^{-1}$ , propias de los grupos ésteres, y dos bandas a  $905$  y  $785\text{ cm}^{-1}$  del anillo de piranosa. Este espectro es en pastilla de KBr. Cuando el espectro de IR se hace en solución clorofórmica al  $0.25\%$ , no hay variación sustancial en sus bandas fundamentales:  $3440$  (NH),  $2978$  y  $2850$  (metilenos y metilos),  $1750$  (ésteres metílicos) y  $905\text{ cm}^{-1}$  (anillo de piranosa). Como era de esperar, en ninguno de ambos espectros aparece la banda propia del grupo OH.

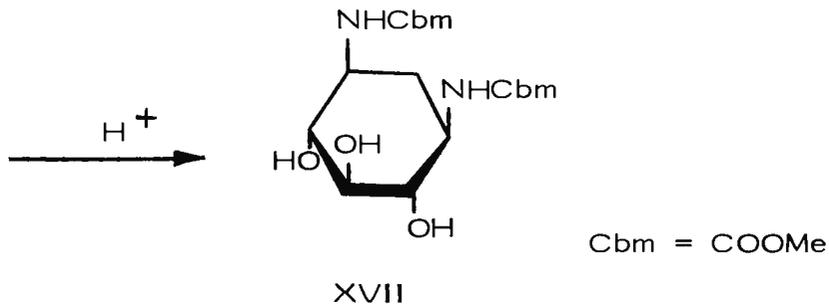
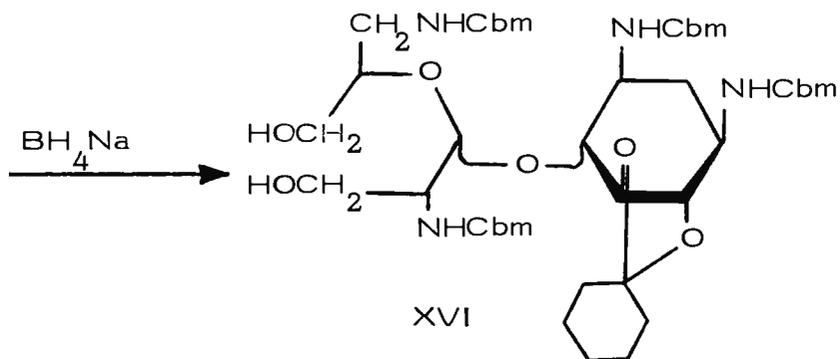
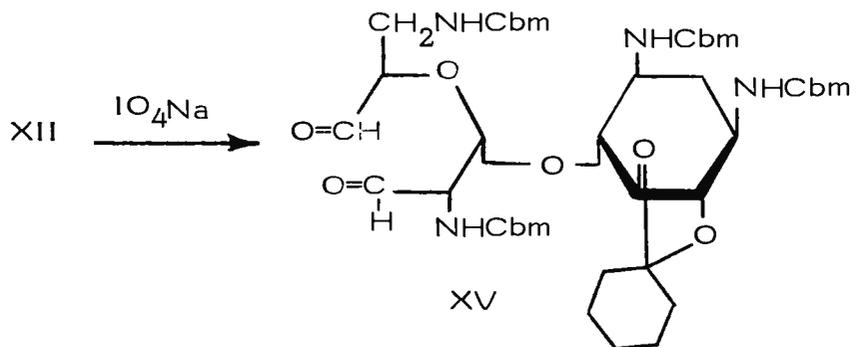
#### II.4. Oxidación con metaperiodato sódico de la 5,6-O-ciclohexiliden-tetra-N-metoxicarbonilneamina

La 5,6-O-ciclohexiliden-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XII) posee en el anillo de piranosa dos grupos hidroxilos libres en posiciones contiguas (3' y 4'). Estos hidroxilos pueden ser oxidados con metaperiodato sódico abriéndose el anillo de piranosa<sup>12</sup> y formándose el consiguiente dialdehído, que tendría la estructura XV.

En efecto, llevada a cabo la reacción con un exceso de metaperiodato sódico de dos moles por mol de XII, ésta marcha rápidamente y produce excelentes rendimientos (87.5 %).

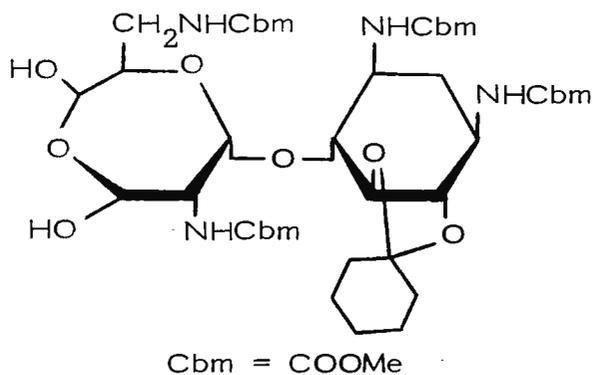
El dialdehído XV formado se extrae del medio de reacción (tetrahidrofurano-agua 1:1) con cloroformo. Le asignamos su estructura basándonos en su espectro de IR y en el producto de su reducción con hidruro de boro y sódio (ver Apartado II.5.).

Así, el espectro de IR de XV en KBr, muestra a  $3340\text{ cm}^{-1}$  la banda de NH; a  $2950$  y  $2860\text{ cm}^{-1}$  las bandas de las tensiones, asimétrica y simétrica, de los metilenos del grupo ciclohexilideno y de los metilos; a  $1690\text{ cm}^{-1}$  la fuerte banda de ester y a  $892, 785$  y  $765\text{ cm}^{-1}$  las características del anillo de piranosa. Su espectro de IR en cloroformo (1%), es también similar:  $3440$  (NH),  $2950$  y  $2860$  (metilenos y metilos),  $1725$  (C



del ester metílico), 910 y 825  $\text{cm}^{-1}$  (anillo de piranosa).

Es de notar que en ninguno de los dos espectros aparecen las bandas correspondientes al carbonilo de aldehído (aproximadamente a 1710  $\text{cm}^{-1}$ ). Este fenómeno era de esperar, pues los dialdehídos del tipo XV existen generalmente incluyendo una molécula de agua, con estructura de hemialdal.



Hemialdal de XV

## II. 5. Reducción del dialdehído obtenido en el Apartado

### II. 4.

Hemos reducido el dialdehído XV con hidruro de boro y sódio, produciendo el correspondiente dialcohol, el cual, purificado cromatográficamente (ver Parte Experimental, Sección IV. 3. 4.), hemos aislado con buenos rendimientos (63. 5%).

Al dialcohol así obtenido le asignamos la estructura XVI basandonos en su análisis elemental, que se ajusta a su fórmula molecular,  $C_{26}H_{44}N_4O_{14}$ , y en su espectro de IR en KBr y en solución clorofórmica al 0. 5%.

Así, su espectro de IR en KBr muestra una banda ancha y fuerte a  $3340\text{ cm}^{-1}$  debida a la solapación de los grupos OH y NH; dos bandas a  $2924$  y  $2860\text{ cm}^{-1}$ , propias de los metilos y de los metilenos del grupo ciclohexilideno; una Banda fuerte a  $1705\text{ cm}^{-1}$  debida a los grupos metoxicarbonilos y dos a  $900$  y  $775\text{ cm}^{-1}$  características del anillo de piranosa. Asimismo, el espectro de IR en  $CHCl_3$  confirma la estructura propuesta, pues presenta, entre otras, las bandas de los grupos OH y NH a  $3440$  y  $3315\text{ cm}^{-1}$  respectivamente; las de tensión de los grupos metilenos del ciclohexilideno solapadas con las de los metilos a  $2940$  y  $2860\text{ cm}^{-1}$ ; la de ester a  $1710\text{ cm}^{-1}$  y las características del anillo de piranosa a  $905$  y  $860\text{ cm}^{-1}$ .

## II.6. Degradación del dialcohol obtenido en el Apartado II.5. a N,N'-dimetoxicarbonil-2-desoxiestreptamina

Con el fin de confirmar la estructura del dialcohol XVI, y con ella la de los productos anteriores (XII y XV) de la secuencia de reacciones, hemos procedido a su hidrólisis ácida.

En esta hidrólisis era previsible la ruptura de las uniones acetálicas existentes en la molécula de XVI, produciendo la N,N'-dimetoxicarbonil-2-desoxiestreptamina (XVII), lo cual demostraría la existencia de este anillo en el dialcohol XVI.

En efecto, hidrolizando con ácido trifluoroacético del 90%, las uniones acetálicas se rompen en unos minutos a temperatura ambiente. La formación de la N,N'-dimetoxicarbonil-2-desoxiestreptamina (XVII) se comprueba cromatográficamente, comparandola con una muestra auténtica de la misma sustancia preparada según se discutirá en el Apartado III.1. (ver también Parte Experimental, Secciones IV.3.5. y IV.3.6.).

## III. PREPARACION DE DERIVADOS DE LA 2-DESOXI-ESTREPTAMINA

### III.1. Preparación de la N,N'-dimetoxicarbonil-2-desoxiestreptamina

Para poder preparar derivados acetalados de la

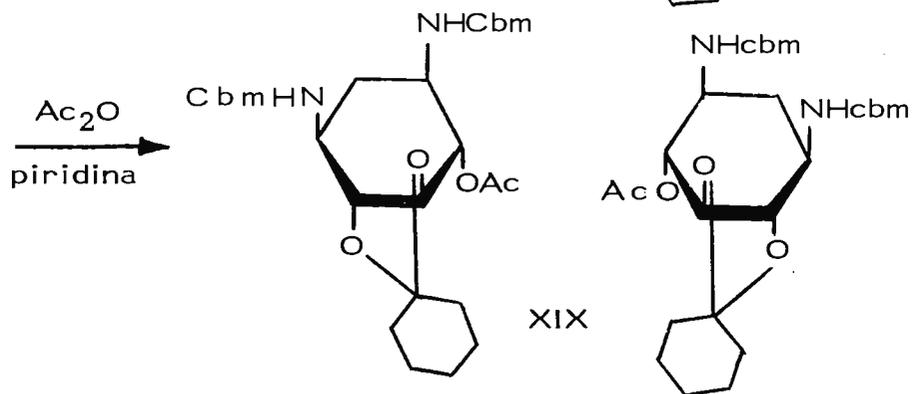
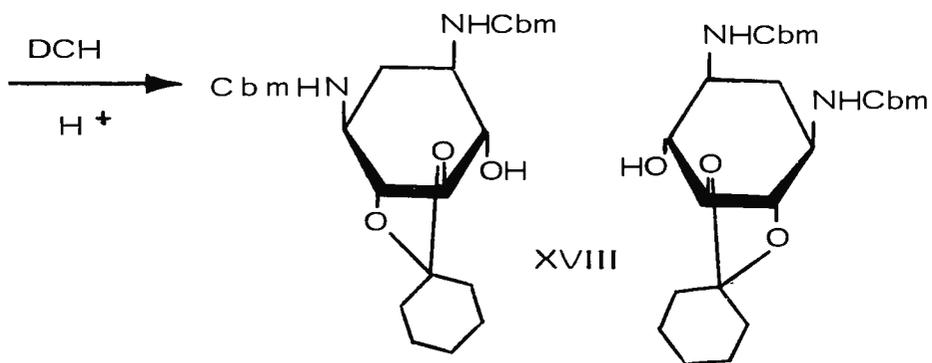
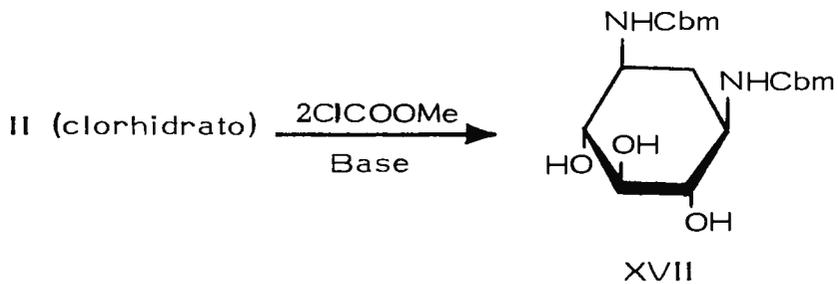
2-desoxiestreptamina (II) es preciso proteger antes sus dos grupos OH, para ello hemos tratado la 2-desoxiestreptamina clorhidrato, preparada por hidrólisis ácida de la kanamicina comercial (mezcla de kanamicinas A, B y C; IV, V y VI)<sup>2</sup>, con cloroformiato de metilo en medio acuoso, usando carbonato sódico para neutralizar los dos grupos clorhidrato.

La estructura de XVII queda demostrada por su análisis elemental, que corresponde a su fórmula molecular,  $C_{10}H_{18}N_2O_7$ , y por su espectro de IR en KBr, que muestra las bandas de OH y NH a 3450 y 3350  $cm^{-1}$  respectivamente y la banda de ester a 1695  $cm^{-1}$ .

### III.2. Acetalación de la N,N'-dimetoxicarbonil-2-desoxiestreptamina con 1,1-dimetoxiciclohexano

La ciclohexilidenación de la N,N'-dimetoxicarbonil-2-desoxiestreptamina (XVII), permite proteger dos grupos OH contiguos de la misma, en las posiciones 4,5 o 5,6, en proporción 1:1, dando lugar al racemato correspondiente, el cual es susceptible de glicosilarse por el grupo OH libre, dando así pseudodisacáridos del tipo de la neamina, que hipotéticamente pueden ser separados por vía cromatográfica.

Llevando a cabo la reacción en DMF, con ácido p-toluensulfónico como catalizador y calentando a 110°



Cbm = COOMe

DCH =  $\text{C}_6\text{H}_{11}(\text{OMe})_2$

durante cinco horas, el producto se aísla con buen rendimiento (70%).

Al producto así obtenido le asignamos la estructura de racemato 4,5 y 5,6-O-ciclohexiliden-N,N'-dimetoxicarbonil-2-desoxiestreptamina (XVIII), en base a su nulo poder rotatorio,  $(\alpha)_{\lambda}^{20} 0^{\circ}$ , y a su espectro de IR en KBr, que muestra las bandas de OH y NH a 3440 y 3305  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente; las de metilenos del grupo ciclohexilideno y de los metilos a 2940 y 2860  $\text{cm}^{-1}$  y la de ester a 1690  $\text{cm}^{-1}$ .

### III.3. Acetilación del racemato 4,5 y 5,6-O-ciclohexiliden-N,N'-dimetoxicarbonil-2-desoxiestreptamina

Con el fin de confirmar plenamente la estructura del racemato XVIII, hemos procedido a su acetilación en el grupo OH libre, tratandolo con anhídrido acético en piridina a 0°.

La estructura de XIX la asignamos, nuevamente, basandonos en su nulo poder rotatorio,  $(\alpha)_{\lambda}^{20} 0^{\circ}$ , su análisis elemental, que se ajusta a su fórmula molecular,  $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_8$ , y en su espectro de IR en KBr, cuyas bandas principales son: una fuerte banda a 3285  $\text{cm}^{-1}$ , propia de NH; dos bandas a 2950 y 2870  $\text{cm}^{-1}$ , de las tensiones de los metilos y de los metilenos del grupo ciclohexilideno; dos fuertes bandas a 1745 y 1695  $\text{cm}^{-1}$ ,

de los carbonilos del acetato y de los grupos metoxycarbonilos respectivamente, y una fuerte banda a  $1245\text{ cm}^{-1}$ , que es la característica "banda de acetato".

#### IV. PARTE EXPERIMENTAL

##### IV.1. Métodos generales

Las evaporaciones de disolventes se realizaron al vacío (15–20 mm Hg), y a temperaturas inferiores a  $50^\circ$ .

Los puntos de fusión (p.f.) se determinaron en un aparato del Dr. Tottoli (Buchi), están sin corregir y se refieren a muestras secadas sobre cloruro cálcico a vacío.

Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro automático 143 C Bendix-NPL, empleando luz verde de mercurio ( $\lambda$  5461 Å).

Los espectros de IR se registraron en espectrofotómetros Perkin-Elmer 621 o Beckman IR-5A. Se hicieron en pastillas de KBr (Merck, p.a.) o en disolución en  $\text{CHCl}_3$ . Se dan los valores de los números de ondas ( $\nu$ ) en  $\text{cm}^{-1}$ , indicándose la intensidad de las bandas de absorción con las abreviaturas siguientes: d (débil), m (media), f (fuerte), h (hombro) y a (ancha).

Las cromatografías en capa fina (c.c.f.) se hicieron siguiendo la técnica de Stahl y colaboradores<sup>13</sup> y

sobre portas de microscopio<sup>14</sup>. Se usaron capas de gel de sílice HF<sub>254</sub> (Merck), y las placas se revelaron con vapores de iodo o bien pulverizándolas con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 50% y calentandolas a 150–200°.

Las cromatografías en columna se hicieron con relleno de gel de sílice Merck 60, estando comprendida la relación de peso de sustancia a peso de gel de sílice entre 1:50 y 1:100.

#### IV.2. Materias primas

Se usaron muestras comerciales de sulfato de neomicina y sulfato de kanamicina.

##### IV.2.1. Neamina clorhidrato (III)

Método A<sup>3,4,5,6</sup>: Una suspensión de sulfato de neomicina comercial (mezcla de neomicinas A, B y C), (13g, 14.3mmoles) en metanol absoluto (1560ml) 0.38N en cloruro de hidrógeno, se calentó a reflujo hasta disolución del sólido (una hora) y luego hora y media más. La disolución formada, de color amarillento, se dejó enfriar a temperatura ambiente, se diluyó con eter anhidro (520 ml) y se dejó en el frigorífico durante 12 horas. El precipitado blanco de neamina clorhidrato (III) formado se filtró, se lavó con eter anhidro (50ml) y se secó sobre CaCl<sub>2</sub> a vacío. Rendimiento 6.57g (98%).  $(\alpha)_{\lambda}^{27} \neq 95^{\circ}$

(c 1.5, agua).

El filtrado se concentró hasta un volumen de 130ml, se diluyó con eter anhidro (1300ml) y se dejó estar en el frigorífico otras 12 horas, formandose un precipitado blanco de la mezcla de cloruros de metilneobiosamínicos B (IX) y C (X), que se filtró lavando con eter anhidro (130ml) y se dejó sobre  $\text{CaCl}_2$  a vacfo. Una vez seco, pesó 5.20g (90%).

La mezcla de cloruros de metilneobiosamínicos B y C, conservada en desecador sobre  $\text{CaCl}_2$ , toma aspecto siruposo. Para evitarlo se disuelve en metanol absoluto y se precipita de nuevo con eter anhidro. Filtrado y seco se conserva así como un sólido amorfo.

La neamina clorhidrato preparada debe conservarse en total ausencia de humedad.

Método B: Al sulfato de neomicina comercial (1.0g, 1.1mmoles) se añadió una mezcla de metanol absoluto (121ml) y cloruro de acetilo recién destilado (3ml). La suspensión formada se calentó a reflujo hasta disolución total del sólido (una hora) y luego hora y media más. Se dejó enfriar la disolución y, una vez fría, se diluyó con eter anhidro (40ml), precipitando así la neamina clorhidrato (III), que se filtró y secó (560mg). Este producto bruto, bastante impuro, se trató de nuevo con cloruro de acetilo en metanol, dando así neamina clorhidrato pu-

ra (260mg, 49%).

Para la recuperación de los cloruros de metilneobiosamfnidos B (IX) y C (X), se procedió de igual forma que en el método A.

#### IV.2.2. Tetra-N-metoxicarbonilneamina (XI)

Método A<sup>7,8</sup>: A una disolución de neamina clorhidrato (28.08g, 60mmoles) en acetona-agua 1:1 (600ml) se añadió carbonato sódico anhidro (25.44g, 240mmoles) y la suspensión formada se agitó hasta disolución total del sólido (una hora). Transcurrido este tiempo se le añadió cloroformiato de metilo (18ml, 240mmoles), poco a poco y sin dejar de agitar. La mezcla de reacción se dejó agitando 24 horas a temperatura ambiente, formando se un sólido. El sólido se filtró y se extrajo con dioxano hirviendo (6x100ml). El filtrado se evaporó a sequedad y el residuo resultante también se extrajo con dioxano hirviendo (6x100ml). Todos los extractos en dioxano, reunidos, se evaporaron a sequedad y el sólido residual resultante se recrystalizó de metanol, dando el producto XI (9.0g, 28.5%) cromatográficamente puro, p.f. 280-285° (descomposición, reblandecimiento a partir de 270°). Rf 0.32 (c.c.f., acetato de etilo-etanol 5:1).  $(\alpha)_{\lambda}^{22} + 80^{\circ}$  (c 0.5, agua). IR:  $\nu_{\max}$  (KBr): 3390f, 2950d, 1709f, 1515f, 1475m, 1390m, 1307fa, 1058fa,

966m, 877m y 787m  $\text{cm}^{-1}$ . Análisis. Calculado para  $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_{14}$ : C 43.31; H 6.18; N 10.10. Encontrado: C 43.05; H 6.15; N 10.02.

Método B: A una disolución de neamina clorhidrato (4.68g, 10mmoles) en agua (94ml) se añadió resina Amberlita IRA-400 (OH) (120meq, 1500ml). La suspensión formada se agitó durante una hora a temperatura ambiente. Pasado este tiempo se añadió cloroformiato de metilo (3.78ml, 40mmoles), poco a poco y sin dejar de agitar, y simultaneamente, también poco a poco, acetona (94ml). La mezcla se dejó agitando otras tres horas y luego se filtró la resina, lavandola varias veces con etanol caliente. El filtrado y los lavados reunidos se evaporaron a sequedad y el residuo sólido resultante se recristalizó de metanol, obteniendose el producto XI cromatograficamente puro (4.60g, 83%).

#### IV. 2. 3. 1,1-Dimetoxiciclohexano

Método A<sup>9</sup>: Se preparó una disolución de ciclohexanona al 10% en metanol absoluto (150ml en 1500ml) y se dejó estar una semana a temperatura ambiente. Se evaporó el metanol y el residuo líquido se destiló fraccionadamente, a presión reducida, rectificando con columna Vigreux, repitiendose la operación varias veces. Se recogió la fracción que pasó a 54.5-55.5°/14mm Hg. (Lit<sup>9</sup>

73.0°/50mm Hg). Se comprobó la ausencia de ciclohexanona por espectroscopía de IR.

Método B<sup>10</sup>. Se mezclaron ciclohexanona (196g, 207 ml, 2.0mmoles), 2,2-dimetoxipropano (208g, 246ml, 2.0 mmoles), metanol absoluto (128g, 160ml, 4.0mmoles) y ácido p-toluensulfónico (100mg). Se dejó estar 48 horas la mezcla de reacción y después se rectificó varias veces, con columna Vigreux, a presión reducida, recogiendo la fracción que destiló a 54-56°/13mm Hg. (Lit.<sup>10</sup> 80°/44mm Hg a 82°/47mm Hg). Se comprobó la ausencia de ciclohexanona por espectroscopía de IR.

Método C<sup>11</sup>. Se mezclaron ciclohexanona (23.65g, 25ml, 24mmoles), ortoformiato de metilo (127.2g, 131ml, 100mmoles) y resina Amberlyst 15 (5.9g). La mezcla de reacción se agitó magnéticamente en atmósfera de nitrógeno a 0-5°. Después de tres horas de agitación, una parte alícuota de la mezcla de reacción mostró por espectroscopía de IR la ausencia de ciclohexanona. Se filtró la resina y se evaporó de la solución el exceso de ortoformiato de metilo. El líquido residual se destiló, recogiendo la fracción que pasó a 59-60°/18mm Hg (aproximadamente 20ml).

Los espectros de IR de las muestras de 1,1-dimetoxiciclohexano preparadas por los tres métodos descritos resultaron totalmente superponibles.

#### IV.2.4. 2-Desoxiestreptamina clorhidrato (II)

Una disolución al 10% de sulfato de kanamicina comercial (mezcla de kanamicinas A, B y C) en agua (40g en 360ml) se pasó por una columna de resina Amberlita IRA-400 (OH) (275ml, 320meq), que luego se lavó con agua (1500ml). Todos los lavados reunidos se evaporaron a sequedad, y el residuo resultante se disolvió en agua (50ml) y se calentó a reflujo con ClH 6N (200ml) durante tres horas. La solución se evaporó a sequedad, dando un residuo siruposo muy oscuro, que se disolvió en agua (30ml) y la disolución formada se diluyó con metanol (250 ml). La disolución se dejó estar dos días en el frigorífico, cristalizando así el producto del título (13.39g).

#### IV.3. Nuevas investigaciones

##### IV.3.1. 5,6-O-Ciclohexiliden-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XII) y 5,6;3,4-di-O-ciclohexiliden-tetra-N-metoxicarbonilneamina (XIV)

Se fundió una muestra de 1 a 2g de ácido p-toluen sulfónico, calentándolo al baño de agua en un rotavapor al vacío de la trompa, y una vez fundido se mantuvo así durante una hora; pasado este tiempo, la masa fundida se pasó a un mortero y una vez solidificada se pulverizó. Se tomó este ácido p-toluensulfónico recién seco

(255mg) y se añadió a una disolución de tetra-N-metoxi-carbonilneamina (5.43g, 9.8mmoles) en DMF (60ml) a 50°. A la solución formada se añadió 1,1-dimetoxiciclohexano (5.8ml, 54mmoles), y el sistema se conectó a la trompa de vacío (25mm Hg), dejando pasar un ligero borboteo de aire secado con ácido sulfúrico, y se elevó la temperatura a 53°. El sistema se mantuvo en estas condiciones durante dos horas y media. Pasado este tiempo, la c.c.f. (cloroformo-etanol 8:1) mostró la desaparición del producto de partida (Rf 0.0) y la formación de los tres productos de acetalación posibles: 5,6;3',4'-di-O-ciclohexiliden-tetra-N-metoxycarbonilneamina (XIV), Rf 0.90; 3',4'-O-ciclohexiliden-tetra-N-metoxycarbonilneamina (XIII), Rf 0.50 y 5,6-O-ciclohexiliden-tetra-N-metoxycarbonilneamina (XII), Rf 0.43; siendo el producto XIV el más abundante.

La mezcla se dejó estar una noche a 25° y al día siguiente se le añadió metanol (3ml) y se dejó estar a 45° durante tres horas, con lo que el producto de Rf 0.50 (XIII) desapareció y disminuyó la proporción de XIV (Rf 0.90), mientras que el producto XII (Rf 0.43) pasó a ser mayoritario.

La mezcla de reacción se neutralizó con solución saturada de bicarbonato sódico y se evaporó a sequedad. El residuo resultante se extrajo con cloroformo a reflujo (4x60ml) y los extractos clorofórmicos reunidos se eva

poraron a sequedad, coevaporando el residuo siruposo con etanol hasta que quedó un sólido blanco amorfo (5.26 g). Este material se cromatografió en una columna de gel de sílice (200g) usando como eluyente cloroformo-etanol 12:1 con un 1% de trietilamina. Se separaron así los productos de Rf 0.90 (XIV) y 0.43 (XII). El producto XII separado (4.9g, 79%) tuvo p.f. 133–137° (reblandecimiento desde 100°).  $(\alpha)_{\lambda}^{25} + 36.5$  (c 0.5, CHCl<sub>3</sub>). Lit.<sup>8</sup>  $(\alpha)_{\text{D}}^{25} + 37^{\circ}$  (c 1, metanol). IR:  $\nu_{\text{max}}$  (KBr): 3420fa, 3320f, 2940f, 2860f, 1710f, 1685f, 1465f, 1380fa, 1280fa, 1040f, 908f y 785f cm<sup>-1</sup>. Análisis. Calculado para C<sub>26</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>14</sub>: C 49.20; H 6.67; N 8.83. Encontrado: C 49.27; H 6.83; N 8.54.

El producto XIV separado, fué un sólido amorfo que se trató con eter y se recristalizó de etanol, presentó un p.f. 219–221° (reblandecimiento desde 160°).  $(\alpha)_{\lambda}^{17} + 44^{\circ}$  (c 0.25, CHCl<sub>3</sub>). IR:  $\nu_{\text{max}}$  (KBr): 3430m, 3330f, 2940f, 2860d, 1726f, 1706f, 1675f, 1550f, 1520f, 1450m, 1430m, 1364m, 1285f, 1040f, 905f y 785f cm<sup>-1</sup>. IR:  $\nu_{\text{max}}$  (CHCl<sub>3</sub>, 0.25%): 3440m, 2938f, 2850m, 1725f, 1600m, 1510m, 1445m, 1365m y 905m cm<sup>-1</sup>. Análisis. Calculado para C<sub>32</sub>H<sub>50</sub>N<sub>4</sub>O<sub>14</sub>: C 53.76; H 7.05; N 7.83. Encontrado (1<sup>a</sup> det.): C 53.65; H 7.06; N 7.10. (2<sup>a</sup> det.): C 54.04; H 7.07; N 7.13.

#### IV.3.2. Dialdehido XV

Se suspendió la 5,6-O-ciclohexiliden-tetra-N-metoxycarbonilneamina (XII) (3.08g, 4.8mmoles) en tetrahydrofurano (22.5ml), y a la suspensión formada se añadió, enfriando exteriormente, metaperiodato sódico (3.13g, 14 mmoles) disuelto en agua (22.5ml). La mezcla de reacción así formada se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente. Pasado este tiempo, la c.c.f. (cloroformo-etanol 95:5) de la mezcla mostró la formación del producto XV (Rf 0.40) y la desaparición del producto de partida (Rf 0.24). Se evaporó el tetrahydrofurano, con lo que se formó un precipitado que se redisolvió al diluir con agua (22.5ml). La solución se extrajo con cloroformo (20x10ml), y los extractos cloroformicos se evaporaron a sequedad, coevaporandolos con etanol, dando el producto XV como un residuo sólido (2.688g, 87.5%) de p.f. 180-182° (reblandecimiento desde 160°).  $(\alpha)_{\lambda}^{20} + 17^{\circ}$  (c 1, CHCl<sub>3</sub>).  $(\alpha)_{\lambda}^{25} + 12^{\circ}$  (c 4, CHCl<sub>3</sub>). IR:  $\nu_{\max}$  (KBr): 3340f, 2950f, 2860m, 1690f, 1520f, 1438f, 1300m, 1245fa, 1180f, 1045fa, 892m, 830m, 785m y 765m cm<sup>-1</sup>. IR:  $\nu_{\max}$  (CHCl<sub>3</sub>, 1%): 3440f, 2960f, 2860m, 1725f, 1600d, 1510f, 1450f, 1320m, 1260fa, 1130f, 1060fa, 910m y 825d cm<sup>-1</sup>.

#### IV.3.3. Dialcohol XVI

A una suspensión del dialdehido XV (2.68g, 4.25

mmoles) en agua (42.5ml) se añadió hidruro de boro y sodio (321mg, 8.5mmoles). La mezcla de reacción formada se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente disolviéndose el sólido poco a poco. La c.c.f. (cloroformo-etanol 93:7) de la disolución formada, mostró la desaparición del producto de partida ( $R_f$  0.39) y la formación de dos productos ( $R_f$  0.21, mayoritario, y 0.28). La solución (pH 10) se neutralizó cuidadosamente con ClH 1.2N y se evaporó a sequedad; el residuo resultante se extrajo con cloroformo (4x50ml), y los extractos clorofórmicos se evaporaron a sequedad, coevaporandolos con etanol, dando un residuo sólido que se cromatografió en columna de gel de sílice (90g) eluyendo con cloroformo-etanol 93:7, separándose así el dialcohol XVI ( $R_f$  0.21) puro (1.75g, 63.5%) con un p.f. 138-140°.  $(\alpha)_{\lambda}^{25} + 1.7^\circ$  (c 0.5,  $\text{CHCl}_3$ ). IR:  $\nu_{\text{max}}$  (KBr): 3340fa, 2925f, 2860m, 1705fa, 1540fa, 1450m, 1275fa, 1040fa, 900f y 775f  $\text{cm}^{-1}$ . IR:  $\nu_{\text{max}}$  ( $\text{CHCl}_3$ , 0.5%): 3440f, 3315f, 2940f, 2860m, 1710f, 1620f, 1510fa, 1450m, 1365m, 905m y 860m  $\text{cm}^{-1}$ . Análisis. Calculado para  $\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_{14}$ : C 47.70; H 7.08; N 8.55. Encontrado: C 47.65; H 6.92; N 8.40.

#### IV.3.4. Hidrólisis del dialcohol XVI

El dialcohol XVI (50mg) se disolvió en ácido trifluor

acético-agua 9:1 (2ml) y la solución formada se dejó estar. Transcurridos unos minutos se detectó cromatográficamente (c.c.f., cloroformo-etanol 95:5) la presencia de un producto de igual movilidad cromatográfica ( $R_f$  0.0) que la N,N'-dimetoxicarbonil-2-desoxiestreptamina (XVII). Este producto se identificó como tal comparandolo con una muestra de XVII obtenida según se describe en el Apartado siguiente.

#### IV.3.5. N,N'-Dimetoxicarbonil-2-desoxiestreptamina (XVII)

A una solución de 2-desoxiestreptamina clorhidrato (II) (6g, 25.5mmoles) y carbonato sódico anhidro (27g, 25.5mmoles) en agua (150ml) se añadió cloroformiato de metilo (8.5ml, 10.39g, 110mmoles), poco a poco y agitando vigorosamente. La mezcla se agitó durante cuatro horas y luego se dejó estar una noche a temperatura ambiente. Se evaporó a sequedad y el residuo sólido resultante se extrajo con dioxano a reflujo (5x100ml). Los extractos en dioxano se evaporaron a sequedad dando el producto del título (5.6g, 80%), p.f. 215-218° (descomposición). El producto bruto se recrystalizó para análisis de metanol; la muestra analítica dió p.f. 218-220° (descomposición). IR:  $\nu_{\max}$  (KBr): 3450fa, 3350f, 1695f, 1540f, 1460m, 1305f, 1250f, 1048f, 1000f, 858m y 780m  $\text{cm}^{-1}$ . Análisis. Calculado para  $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_7$  : C 43.16;

H 6.52; N 10.06. Encontrado: C 43.33; H 6.29; N 9.89.

IV.3.6. Racemato 4,5 y 5,6-O-ciclohexiliden-N,N'-dimetoxicarbonil-2-desoxiestreptamina (XVIII)

Una disolución de N,N'-dimetoxicarbonil-2-desoxiestreptamina(XVII) (2.78g, 10mmoles), 1,1-dimetoxiciclohexano (10ml) y ácido p-toluensulfónico fundido y seco como se indica en la Sección IV.3.1. (330mg) en DMF (60ml), se calentó a 110-120° en un baño de glicerina durante 5 horas. La mezcla de reacción se dejó luego enfriar, y una <sup>ve</sup>l lfría se neutralizó cuidadosamente con resina Amberlita IRA-400 (OH) lavada con etanol. La solución neutra se evaporó a sequedad, coevaporando con tolueno, tolueno-acetato de etilo y acetato de etilo, dando así un residuo sólido que se recristalizó de acetato de etilo, dando el producto XVIII cromatográficamente puro (2.59g, 70%), p.f. 147-150°. Rf 0.44 (c.c.f., cloroformo-etanol 93:7). Rf 0.69 (c.c.f., benceno-etanol 4:1).  $(\alpha)_{\lambda}^{20} 0^{\circ}$  (c 1, piridina). IR:  $\nu_{\max}$  (KBr): 3440f, 3305f, 2940f, 2860m, 1690f, 1540f, 1450m, 1360m, 1255f, 1140f, 1060f, 1040f, 900f, 840m y 780m  $\text{cm}^{-1}$ .

IV.3.7. Racemato 4-O-acetil-5,6-O-ciclohexiliden y 6-O-acetil-4,5-O-ciclohexiliden-N,N'-dimetoxicarbonil-2-desoxiestreptamina (XIX)

El racemato 4,5 y 5,6-O-ciclohexiliden-N,N'-dime-  
toxicarbonil-2-desoxiestreptamina (XVIII) en bruto (358  
mg, 1mmol) se disolvió en la menor cantidad posible de  
piridina anhidra (0.5ml) y la solución así formada se a-  
ñadió sobre anhídrido acético (1ml), enfriando exterior-  
mente con una mezcla hielo-sal. La mezcla de reacción  
se dejó estar en el frigorífico durante 48 horas y des-  
pues se vertió sobre hielo-agua, formandose un precipi-  
tado siruposo que no se consiguió cristalizar, a pesar  
de rascar la vasija y cambiar repetidas veces el agua.  
Este material siruposo se extrajo con cloroformo (5x20  
ml) y la solución clorofórmica se lavó con agua y se se-  
có sobre sulfato sódico anhidro. Se evaporó a sequedad,  
dando un residuo siruposo que se cromatografió en una  
columna de gel de sílice (10g) usando como eluyente eter-  
eter de petroleo 4:1, separandose así el producto XIX  
(246mg, 61.5%) cromatograficamente puro, Rf 0.17 (c.c.  
f., eter-eter de petroleo 4:1). Se recrystalizó para aná-  
lisis de etanol absoluto (87.2mg), p.f. 183-185°.  $(\alpha)_{\lambda}^{20}$   
0° (c 1, CHCl<sub>3</sub>). IR:  $\nu_{\max}$  (KBr): 3285f, 2950f, 2870m,  
1745f, 1695f, 1550f, 1455f, 1375f, 1330f, 1290f, 1245f,  
1135f, 1065f, 1090f, 910f, 850m, 785m y 770m cm<sup>-1</sup>.  
Análisis. Calculado para C<sub>18</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>: C 53.99; H 7.04;  
N 6.99. Encontrado: C 54.37; H 7.49; N 6.43.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) O. K. Sebek, J. Bacteriol., 75, (1958) 199.
- 2) K. L. Rinehart, Jr., "The Neomycins and Related Antibiotics", E. R. Squibb Lectures on Chemistry of Microbial Products, John Wiley and Sons, Inc., (1964).
- 3) J. D. Dutcher, N. Hosansky, M. N. Donin and O. Wintersteiner, J. Am. Chem. Soc., 73, (1951) 1384.
- 4) J. D. Dutcher and M. N. Donin, J. Am. Chem. Soc., 74, (1952) 3420.
- 5) J. H. Ford, M. E. Bergy, A. A. Brooks, E. R. Garrett, J. Alberti, J. R. Dyer and H. E. Carter, J. Am. Chem. Soc., 77, (1955) 5311.
- 6) K. L. Rinehart, Jr., A. D. Argoudelis, W. A. Goss, A. Sohler and C. P. Schaffner, J. Am. Chem. Soc., 82, (1960) 3938.
- 7) S. Umezawa, Y. Okazaki and T. Tsuchiya, Bull. Chem Soc. Japan, 45, (1972) 3619.
- 8) T. Jikihara, T. Tsuchiya, S. Umezawa and H. Umezawa, Bull. Chem. Soc. Japan, 46, (1973) 3507.
- 9) R. E. McCoy, A. W. Baker and R. S. Gohlker, J. Org. Chem., 22, (1957) 1175.
- 10) N. B. Lorette and W. L. Howard, J. Org. Chem., 25, (1960) 521.
- 11) S. A. Patuandhan and Sukh Dev, Synthesis, May

1974, 348.

- 12) I. J. Goldstein, G. W. Hay, B. A. Lewis and F. Smith, "Methods in Carbohydrate Chemistry", Academic Press, vol. V (1965) 361.
- 13) J. M. Bobbit, "Thin-Layer Chromatography", Reinhold Publishing Co., New-York and London, (1963).
- 14) D. J. Pasto y C. R. Johnson, "Determinación de Estructuras Orgánicas", Edit. Reverté, S. A. (1974).





FUNDACION JUAN MARCH  
SERIE UNIVERSITARIA

**Títulos Publicados:**

- 1.— *Semántica del lenguaje religioso / A. Fierro*  
(Teología. España, 1973)
- 2.— *Calculador en una operación de rectificación discontinua/A. Mulet*  
(Química. Extranjero, 1974)
- 3.— *Skarns en el batolito de Santa Olalla/F. Velasco*  
(Geología. España, 1974)
- 4.— *Combustión de compuestos oxigenados/J.M. Santiuste*  
(Química. España, 1974)
- 5.— *Películas ferromagnéticas a baja temperatura/José Luis Vicent López*  
(Física. España, 1974)
- 6.— *Flujo inestable de los polímeros fundidos/José Alemán Vega*  
(Ingeniería. Extranjero, 1975)
- 7.— *Mantenimiento del hígado dador in vitro en cirugía experimental*  
José Antonio Salva Lacombe (Medicina, Farmacia y Veterinaria. España, 1973)
- 8.— *Estructuras algebraicas de los sistemas lógicos deductivos/José Plá Carrera*  
(Matemáticas. España, 1974)
- 9.— *El fenómeno de inercia en la renovación de la estructura urbana.*  
Francisco Fernández-Longoria Pinazo (Urbanización del Plan Europa 2.000  
a través de la Fundación Europea de la Cultura)
- 10.— *El teatro español en Francia (1935–1973) / F. Torres Monreal*  
(Literatura y Filología. Extranjero, 1971)
- 11.— *Simulación electrónica del aparato vestibular/J.M. Drake Moyano*  
(Métodos Físicos aplicados a la Biología. España, 1974)
- 12.— *Estructura de los libros españoles de caballerías en el siglo XVI.*  
Federico Francisco Curto Herrero (Literatura y Filología. España, 1972)
- 13.— *Estudio geomorfológico del Macizo Central de Gredos*  
M. Paloma Fernández García (Geología. España, 1975)
- 14.— *La obra gramatical de Abraham Ibn c Ezra/Carlos del Valle Rodríguez*  
(Literatura y Filología. Extranjero, 1970)

15. — *Evaluación de Proyectos de Inversión en una Empresa de producción y distribución de Energía Eléctrica.*  
Felipe Ruíz López (Ingeniería. Extranjero, 1974)
16. — *El significado teórico de los términos descriptivos*/Carlos Solís Santos  
(Filosofía. España, 1973)
17. — *Encaje de los modelos econométricos en el enfoque objetivos-instrumentos relativos de política económica.*/ Gumersindo Ruíz Bravo  
(Sociología. España, 1971)
18. — *La imaginación natural (estudio sobre la literatura fantástica norteamericana).* / Pedro García Montalvo  
(Literatura y Filología. Extranjero, 1974)
19. — *Estudio sobre la hormona Natriurética.* / Andrés Purroy Unanua  
(Medicina, Farmacia y Veterinaria. Extranjero, 1973)
20. — *Análisis farmacológico de las acciones miocárdicas de bloqueantes Beta-Adrenérgicos.*/ José Salvador Serrano Molina  
(Medicina, Farmacia y Veterinaria. España, 1970)
21. — *El hombre y el diseño industrial.*/Miguel Durán-Lóriga  
(Artes Plásticas. España, 1974)
22. — *Algunos tópicos sobre teoría de la información.*/ Antonio Pascual Acosta  
(Matemáticas. España, 1975)
23. — *Un modelo simple estático. Aplicación a Santiago de Chile*  
Manuel Bastarache Alfaro (Arquitectura y Urbanismo. Extranjero, 1973)
24. — *Moderna teoría de control: método adaptativo-predictivo*  
*Teoría y realizaciones.* /Juan Manuel Martín Sánchez  
(Ingeniería. España, 1973)
25. — *Neurobiología (I Semana de Biología. Conferencias-coloquio sobre Investigaciones biológicas 1977)*
26. — *Genética (I Semana de Biología. Conferencias-coloquio sobre Investigaciones biológicas 1977)*
27. — *Genética (I Semana de Biología. Conferencias-coloquio sobre Investigaciones biológicas 1977)*
28. — *Investigación y desarrollo de un analizador diferencial digital (A.D.D.) para control en tiempo real.* /Vicente Zugasti Arbizu  
(Física. España, 1975)
29. — *Transferencia de carga en aleaciones binarias.*/ Julio A. Alonso  
(Física. Extranjero, 1975)
30. — *Estabilidad de osciladores no sinusoidales en el rango de microondas.* / José Luis Sebastian Franco.  
(Física. Extranjero, 1974)

31. – *Estudio de los transistores FET de microondas en puerta común.* Juan Zapata Ferrer. (Ingeniería. Extranjero, 1975).
32. – *Estudio sobre la moral de Epicuro y el Aristóteles esotérico.* / Eduardo Acosta Mendez (Filosofía. España, 1973)
33. – *Las Bauxitas Españolas como mena de aluminio.* / Salvador Ordoñez Delgado (Geología. España, 1975).
34. *Los grupos profesionales en la prestación de trabajo: obrero y empleados.* / Federico Durán López (Derecho. España, 1975)
35. – *Obtención de Series aneuploides (monosómicas y ditelosómicas) en variedades españolas de trigo común.* / Nicolás Jouve de la Barreda. (Ciencias Agrarias. España, 1975).
36. – *Efectos dinámicos aleatorios en túneles y obras subterráneas.* / Enrique Alarcón Alvarez. (Ingeniería. España, 1975).
37. – *Lenguaje en periodismo escrito.* / Fernando Lázaro Carreter, Luis Michelena Elissalt, Robert Escarpit, Eugenio de Bustos, Víctor de la Serna, Emilio Alarcos Llorach y Juan Luis Cebrián. (Seminario organizado por la Fundación Juan March los días 30 y 31 de mayo de 1977).
38. – *Factores que influyen en el espigado de la remolacha azucarera, Beta vulgaris L.* / José Manuel Lasa Dolhagaray y Antonio Silván López. (Ciencias Agrarias. España, 1974).
39. – *Compacidad numerable y pseudocompacidad del producto de dos espacios topológicos. Productos finitos de espacios con topologías proyectivas de funciones reales.* / José Luis Blasco Olcina (Matemáticas. España, 1975).
40. – *Estructuras de la épica latina.* / M<sup>a</sup>. del Dulce Nombre Estefanía Alvarez. (Literatura y Filología, España, 1971).
41. – *Comunicación por fibras ópticas.* / Francisco Sandoval Hernandez (Ingeniería. España, 1975).
42. – *Representación tridimensional de texturas en chapas metálicas del sistema cúbico.* / José Antonio Pero-Sanz Elorz (Ingeniería. España, 1974).
43. – *Virus de insectos: Multiplicación, aislamiento y bioensayo de baculovirus.* / Cándido Santiago-Alvarez. (Ciencias Agrarias. Extranjero, 1976).
44. – *Estudio de mutantes de saccharamyces cerevisiae alterados en la biosíntesis de proteínas.* / Lucas Sanchez Rodriguez. (Biología. España, 1976).

45. – *Sistema automático para la exploración del campo visual.*  
*José Ignacio Acha Catalina (Medicina, Farmacia y Veterinaria.*  
*España, 1975).*
46. – *Propiedades físicas de las variedades de tomate para recolección*  
*mecánica/ Margarita Ruiz Altisent (Ciencias Agrarias.España 1975)*
47. – *El uso del ácido salicílico para la medida del p<sup>H</sup> intracelular en*  
*las celulas de Ehrlich y en escherichia coli/ Francisco Javier*  
*García-Sancho Martín. (Medicina, Farmacia y Veterinaria.*  
*Extranjero, 1974).*
48. – *Relación entre iones calcio, fármacos ionóforos y liberación*  
*de noradrenalina en la neurona adrenérgica periférica./*  
*Antonio García García. (Medicina, Farmacia y Veterinaria.*  
*España, 1975).*
49. – *Introducción a los espacios métricos generalizados.*  
*Enrique Trillas y Claudi Alsina. (Matemáticas. España,1974).*





