

Síntesis no convencionales de heterociclos nitrogenados con potenciales propiedades bioactivas

Hortensia M Rodríguez¹, Margarita Suárez¹,  Osvaldo Reyes²,
Osnieski Martín¹, Estael Ochoa¹

¹Laboratorio de Síntesis Orgánica, Facultad de Química, Universidad de La Habana, UH Zapata s/n entre G y Carlos Aguirre, Vedado, Plaza de la Revolución, CP 10 400, Ciudad de La Habana, Cuba

²Laboratorio de Síntesis de Péptidos, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, CIGB Ave. 31 e/ 158 y 190, Cubanacán, Playa, AP 6 162, CP 10 600, Ciudad de La Habana, Cuba

REPORTE

Introducción

En los últimos años en la Química, en particular en la de los compuestos orgánicos, ha surgido un nuevo enfoque que tiene por objetivo prevenir o minimizar la contaminación desde el principio del trabajo, a escala industrial y en los laboratorios de investigación o de carácter docente, que se denomina *Química Verde*. Esto supone trabajar por evitar la formación de desechos contaminantes y propiciar la economía de tiempo y de recursos. Entre las estrategias de este nuevo enfoque para productos ya existentes, se encuentra diseñar pasos sintéticos alternativos que no requieran sustratos o disolventes tóxicos, ni generen subproductos tóxicos, así como diseñar nuevas metodologías sintéticas, en las cuales se utilicen fuentes de energía no convencionales como: radiación infrarroja, radiación de microondas, ultrasonido, entre otras, que se han aplicado con muy buenos resultados.

El surgimiento de la Química Combinatoria ha acelerado el proceso de descubrimiento de nuevos compuestos activos y el interés en el desarrollo de metodologías de síntesis en fase sólida (SFS) para moléculas orgánicas, con nuevos horizontes en la investigación de potenciales candidatas a fármacos.

En este artículo se describe la síntesis orgánica asistida por microondas (MO) en ausencia de disolventes y la síntesis orgánica en fase sólida de compuestos heterocíclicos nitrogenados con potenciales propiedades bioactivas.

Discusión de resultados

N-alquilación de adenina, guanina y 6-aminotiouracilo asistida por microondas

Con el objetivo de valorar una nueva vía para la N-alquilación de las bases purínicas: adenina (1) y guanina (2) y del derivado pirimidínico 6-amino-2-tiouracilo (3), se llevó a cabo la alquilación de estos compuestos, asistida por microondas (MO) y en ausencia de disolventes, en un medio neutro, con el empleo de un horno de microondas doméstico, por reacción directa de las aminas con los diferentes agentes alquilantes. Para el caso de la N-alquilación de 6-aminotiouracilo, se combinó este método con la catálisis por transferencia de fases (CTF) (Figuras 1, 2, 3 y 4) [1].

La diferente quimioselectividad observada tras la síntesis de los derivados N-alquilados del 6-amino-2-tiouracilo [3] por los dos métodos, es una consecuencia del medio básico empleado en el segundo procedimiento. Cuando la reacción se realiza en ausencia de una

base, la alquilación ocurre en el grupo amino primario del 6-aminotiouracilo neutro [3] de manera selectiva. En presencia de un medio básico (condiciones de CTF), la reacción ocurre entre especies aniónicas y la alquilación se aprecia en la posición uno del anión.

Para determinar la posible intervención de los efectos específicos del calentamiento por MO según la metodología establecida, se sintetizaron estos compuestos bajo las mismas condiciones (tiempo de reacción, recipientes y temperatura), en un baño de aceite termorregulable. En ningún caso se observó avance de

1. Rodríguez H, Pérez R, Suárez M, Lam A, Loupy A. Alkylation of some pyrimidine and purine derivatives using microwave-assisted methods heterocycles (2001); 55(2):291-301. (Índice de impacto: 1 070).

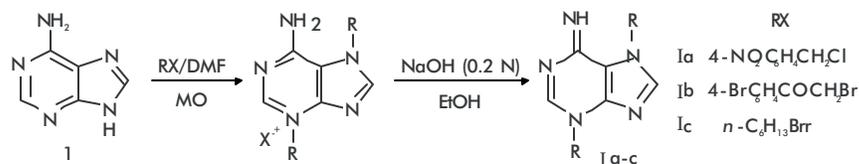


Figura 1. N-alquilación de la adenina (1) asistida por MO y en ausencia de disolventes.

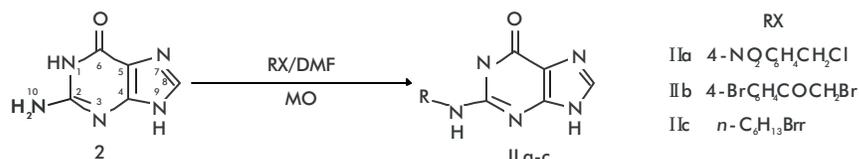


Figura 2. N-alquilación de la guanina (2) asistida por MO y en ausencia de disolventes.

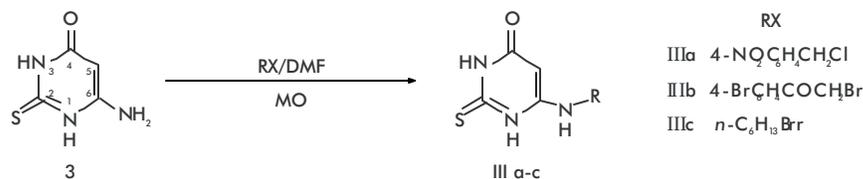


Figura 3. N-alquilación del 6-amino-2-tiouracilo (3) asistida por MO y en ausencia de disolventes.

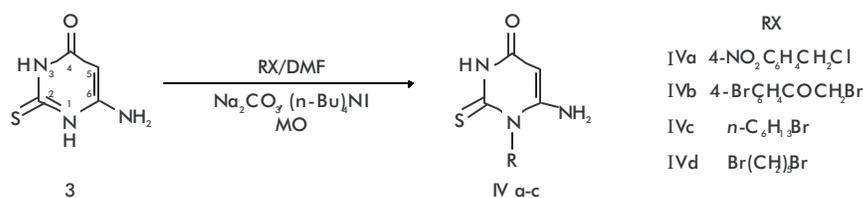


Figura 4. N-alquilación del 6-amino-2-tiouracilo (3) asistida por MO y bajo condiciones de catálisis por transferencia de fase.

la reacción. Ello evidencia que el efecto específico de las MO es fundamental para explicar los resultados. De manera general, se asume que este efecto es mayor cuando se potencia la polaridad del sistema. Las reacciones en estudio ocurren entre reactivos neutros (Figuras 1, 2 y 3) (aminas y agente alquilante). En ellas se desarrolla un dipolo en el estado de transición, que es, consecuentemente, más polar que el estado base, y se estabiliza bajo la influencia de las MO, debido a las interacciones dipolo-dipolo (Figura 5).

En la reacción asistida por MO bajo condiciones de CTF, la polaridad del sistema aumenta cuando se involucran las especies cargadas, sobre todo de aniones con cargas deslocalizadas.

En todas las reacciones fue necesario emplear pequeñas cantidades de DMF, molécula polar (altamente sensible a la irradiación de MO), que se adiciona como medio transferente de energía para lograr altas temperaturas.

La nueva metodología desarrollada responde al concepto actual de una química limpia (*Química Verde*), con un mínimo impacto ambiental, y permite obtener derivados 3,7-N-alkilados de la adenina (Ia-c), N²-monoalkilados de la guanina (IIa-c) y N⁶ o N-1 monoalkilados del 6-aminotiouracilo (IIIa-c y IVa-c), con buenos rendimientos (Ia-c entre 72 y 82%, IIa-c entre 52 y 70%, IIIa-c entre 80 y 84% y IVa-c entre 87 y 95%) y tiempos inferiores a los 11 minutos.

Síntesis de las 3,4-dihidro-2(1H)-piridonas Va-i asistida por microondas y en ausencia de disolventes.

Las reacciones multicomponentes (RMC) se definen como una colección de subreacciones, que ocurren de manera simultánea o secuencial, involucran dos o más moléculas reactivas y permiten la síntesis de un producto por la mezcla directa de más de dos reaccionantes en un solo paso.

Desde hace algunos años, ha sido de gran interés para el Laboratorio de Síntesis Orgánica, de la Facultad de Química de la Ciudad de La Habana, el desarrollo y la diversificación de las 3,4-dihidro-2(1H)-piridonas (3,4-DHPs), ya que poseen características estructurales similares a las 1,4-DHP y, por ende, potenciales propiedades bioactivas. Este grupo de trabajo estableció la estrategia para la síntesis en disolución de estos compuestos, pero los tiempos de reacción oscilan entre 10 a 14 horas, y los rendimientos, entre 55 y 75%.

Debido a que estos compuestos constituyen importantes intermediarios para la síntesis de numerosos heterociclos que no pueden obtenerse fácilmente por la síntesis directa, se desarrolló una nueva metodología de síntesis asistida por MO, en ausencia de disolventes para la obtención de las 3,4-DHPs (Va-i), mediante una RMC de tipo R3C, con el empleo del reactor monomodo Synthewa-ve™ 402, equipo especialmente diseñado para la síntesis orgánica (Figura 6) [2].

Es importante destacar que no hubo que purificar los productos. Se obtuvieron rendimientos entre 81 y 91%, y los tiempos de reacción fueron entre 10 y 15 minutos.



Figura 5. Formación de un estado de transición dipolar en reacciones de N-alkilación.

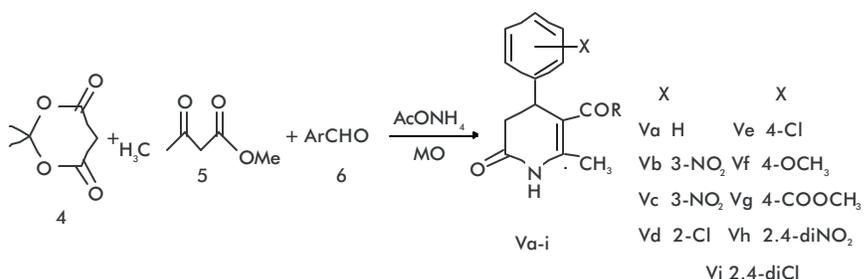


Figura 6. Síntesis asistida por MO en ausencia de disolventes de 3,4-dihidro-2(1H)-piridonas Va-i.

Para determinar la posible intervención de los efectos específicos del calentamiento por MO, se sintetizaron los compuestos bajo las mismas condiciones (tiempo de reacción, recipientes y temperatura) en un baño de aceite termostático, y se hizo un estudio comparativo de los resultados. Los rendimientos de estos compuestos, reportados en la síntesis en disolución, no superan el 65% después de purificados por recristalización, por lo que resultaron más bajos que los obtenidos mediante la síntesis asistida por MO en ausencia de disolventes. Con el calentamiento convencional (Δ) y en ausencia de disolventes, los rendimientos fueron bajos (entre 10 y 38%), aun después de transcurridas 2 horas de reacción para los compuestos Va-c, y seis horas para los restantes, lo cual indica un fuerte efecto específico de las MO, que está muy relacionado con el mecanismo de la reacción y con la evolución de la polaridad durante el curso de esta. Estos resultados demuestran las ventajas del modo de activación mediante MO en comparación con los métodos clásicos.

Como complemento de este estudio, mediante cálculos mecánico-cuánticos, se realizó un estudio sobre el mecanismo de obtención de las 3,4-DHPs (V), tras el que se obtuvo un perfil energético que justificó la formación del producto final de la reacción. Este trabajo permitió analizar el efecto específico de MO de acuerdo con el mecanismo postulado, y concluir que los excelentes resultados (rendimientos elevados y tiempos de reacción cortos) son consecuencia de que el efecto específico de las MO esté muy favorecido, lo cual se corresponde con el análisis del mecanismo postulado para la reacción y la evolución de la polaridad en el transcurso de esta.

En resumen, se diseñó un método de síntesis asistida por MO y en ausencia de disolventes, que permitió la obtención de nueve 3,4-dihidro-2(1H)-piridonas (Va-i), mediante una reacción de tipo R3C, con buenos rendimientos (superiores al 80%) y tiempos de reacción cortos (entre 10 y 15 minutos). Este nuevo procedimiento se enmarca dentro de los enfoques de la *Química Verde*, pues se elimina el disolvente y se emplea un método que requiere tiempos de reacción cortos, por lo que se ahorra tiempo y energía, a diferencia de los métodos de síntesis tradicionales.

Síntesis en fase sólida de 3,4-dihidro-2(1H)-piridonas

Por la importancia que en la actualidad posee la búsqueda de metodologías de síntesis en fase sólida (SFS) de moléculas orgánicas con potencial actividad biológica, para el posterior diseño de una biblioteca

2. Rodríguez H, Suárez M, Pérez R, Petit A, Loupy A. Solvent-free synthesis of 4-aryl substituted 5-alkoxycarbonyl-6-methyl-3,4-dihydropyridones under microwave irradiation. *Tetrahedron Letters* (2003); 44:3709-12. (Índice de impacto: 2 477).

3. Rodríguez H, Reyes O, Suárez M, Garay HE, Pérez R, Cruz LJ, Verdecia Y, Martín N, Seoane C. Solid-phase synthesis of 4-aryl substituted 5-carboxy-6-methyl-3,4-dihydropyridones. *Tetrahedron Letters* (2002); 43:439-41. (Índice de impacto: 2 477).

4. Rodríguez H, Martín O, Ochoa E, Suárez M, Reyes O, Garay HE, Albericio F, Martín N. Solid-Phase Synthesis and Structural Study of Substituted 1,4,5,6-Tetrahydro-6-oxopyridine-3-carboxylic Acids (p NA). *QSAR and Combinatorial Sciences*, [On line: 4 de julio de 2006]. (Índice de impacto: 1 826.)

combinatoria de estos compuestos, fue también objetivo de esta investigación el diseño de una metodología de SFS para la obtención de nuevas 4-aril sustituidas-5-carboxi-6-metil-3,4-DHPs (XIa-i). Como soporte sólido se utilizó la resina Wang, por ser una de las más utilizadas en la síntesis en fase sólida de moléculas orgánicas (Figura 7).

La SFS de las 3,4 DHPs (XIa-h) se realizó en cuatro etapas. Comenzó con la preparación del β -cetoéster inmovilizado VI (Figura 7). Esta acetoacetilación ocurre por tratamiento de la resina Wang con dos equivalentes de la 2,2,6-trimetil-1,3-dioxin-4-ona en presencia de tolueno como disolvente y en condiciones de reflujo. La conversión cualitativa de este paso de la síntesis, se determinó mediante la espectroscopia infrarroja. Con el objetivo de determinar el rendimiento de este primer paso de la síntesis, se realizó la liberación/heterociclización del β -cetoéster inmovilizado VI, por medio de un tratamiento con hidrazina en etanol durante 30 minutos, para obtener el 3-metil-3-pirazolin-5-ona (VII) con el 89% de rendimiento y una pureza determinada por cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC, siglas en inglés) del 91%.

El segundo paso de la síntesis consistió en la obtención de la enamina inmovilizada VIII, por reacción de β -cetoéster inmovilizado VI con acetato de amonio, y el empleo de ácido acético como disolvente a reflujo durante 6 horas. Para confirmar la presencia de la enamina VIII, así como para la cuantificación de este paso de síntesis, se liberó enamina VIII por tratamiento de la resina con una disolución de TFA:DCM (50%), y se obtuvo el ácido 3-amino-2-eno-butanoico (XII) con un rendimiento de 82% y una pureza de 86% determinada por RP-HPLC.

El tercer paso consistió en la formación de las 3,4-DHPs inmovilizadas (XIa-i) por reacción de enamina VIII con el intermediario ilidénico (IX), producto de la condensación de Knoevenagel entre el ácido de Meldrum y el aldehído aromático correspondiente. A continuación, y como último paso de esta síntesis, se realizó la liberación de X de la resina por tratamiento con TFA:DCM (50%), para obtener las 5-carboxi-6-metil-3,4-DHPs 4-aril sustituidas (XI a-i).

Los rendimientos de las 3,4-dihidropiridonas sintetizadas, así como su pureza, determinada por RP-HPLC, se exponen en la tabla 1.

La estructura de todos estos compuestos (VI, VII, VIII, IX y XIa-i) se corroboraron por RMN- ^1H , ^{13}C , así como por espectrometría de masas, ESI-MS y HPLC-MS.

En resumen, se estableció una nueva metodología de SFS, mediante la cual se sintetizó una pequeña quimioteca de nuevas 3,4-DHPs (XIa-i) con buenos rendimientos y pureza. Lo novedoso en estos compuestos es el grupo carboxilo de ácido presente en la posición 5 del anillo piridónico.

Conclusiones

En este estudio se logró la aplicación de técnicas de síntesis orgánica asistidas por MO a derivados N-alquilados de bases purínicas (adenina y guanina) y

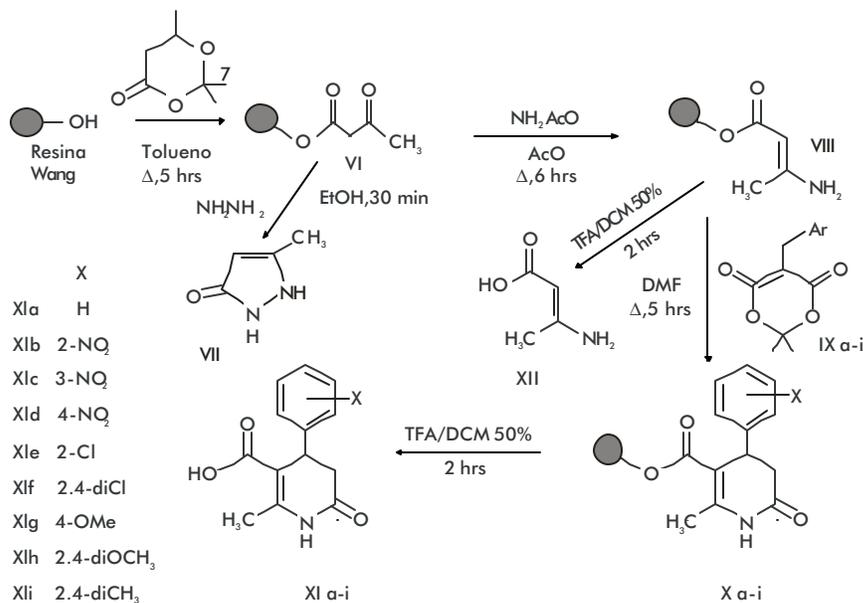


Figura 7. Esquema general de la síntesis de 3,4-dihidro-2(1H)-piridonas (XI a-i).

un derivado pirimidínico (6-aminotiouracilo), con la síntesis de tres N-3,7-dialquiladeninas Ia-c, tres N²-monoalquilguaninas IIa-c y tres N⁶-monoalquiltiouracilos IIIa-c. Para obtener los productos N1-alkilados del derivado pirimidínico (6-aminotiouracilo), se combinaron la irradiación de MO, como fuente de activación con la catálisis por transferencia de fases, y se sintetizaron cuatro nuevos compuestos (IVa-d). Además, se desarrollaron dos nuevas metodologías de síntesis de las 3,4-dihidro-2(1H)-piridonas. La primera, mediante una reacción de tipo R3C, en ausencia de disolventes y bajo irradiación de MO como modo de activación, por medio de la cual se sintetizaron nueve compuestos de tipo V; y la otra, mediante un procedimiento de síntesis en fase sólida, que constó de cuatro etapas, y cuya importancia radicó en que permitió el diseño y la obtención de una biblioteca combinatoria de estos compuestos. La obtención y la pesquisa de una biblioteca combinatoria de este tipo de compuestos, permitirá la búsqueda de fármacos cada vez más eficaces para el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares.

Tabla 1. Resultados de la SFS de 3,4-dihidro-2(1H)piridonas

Compuesto	X	Rendimiento (%)	Pureza (%)
XIa	H	82	95
XIb	2-NO ₂	73	88
XIc	3-NO ₂	65	85
XId	4-NO ₂	85	78
XIe	2-Cl	71	95
XI f	2,4diCl	85	82
XI g	4-CH ₃ O	81	92
XI h	2,4-diCH ₃ O	75	89
XI i	2,4-diCH ₃	77	91