



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**APERTURA DE EPÓXIDOS CON AMINAS: SÍNTESIS DE BETA-AMINOALCOHOLES USANDO MICROONDAS Y ARCILLAS ÁCIDAS COMO CATALIZADORES**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO**

**PRESENTA**

**FRANCISCO JAVIER FUENTES PANTOJA**



**MÉXICO, D.F.**

**2014**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

<b>PRESIDENTE:</b>	<b>Profesor: Martha Eugenia Albores Velasco</b>	_____
<b>VOCAL:</b>	<b>Profesor: Carlos Antonio Rius Alonso</b>	_____
<b>SECRETARIO:</b>	<b>Profesor: Juan Gómez Dueñas</b>	_____
<b>1er. SUPLENTE:</b>	<b>Profesor: Luis Demetrio Miranda Gutiérrez</b>	_____
<b>2° SUPLENTE:</b>	<b>Profesor: Martha Yolanda González Quezada</b>	_____

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO 204, DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA, DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.**

**ASESOR DEL TEMA: DR. CARLOS ANTONIO RIUS ALONSO**

\_\_\_\_\_

**SUPERVISOR TÉCNICO: M. EN C. MARTHA YOLANDA GONZÁLEZ QUEZADA**

\_\_\_\_\_

**SUSTENTANTE: FRANCISCO JAVIER FUENTES PANTOJA**

\_\_\_\_\_

Del presente trabajo se desprenden las siguientes ponencias y publicaciones:

#### Ponencias

- 48° Congreso Mexicano de Química/32° Congreso Nacional de Educación Química 2013  
*“Apertura de epóxidos mediante aminas alifáticas para la obtención de derivados antivirales”*
- Semana de Investigación en la Facultad de Química 2014  
*“Apertura de epóxidos con aminas: Síntesis de beta-aminoalcoholes usando microondas y arcillas ácidas como catalizadores”*

#### Publicación

- Carlos Rius-Alonso, Yolanda González-Quezada, Francisco Fuentes Pantoja, Jonathan Benítez Ramírez  
8th International Technology, Education and Development Conference. Valencia (España), 6451-6459 (2014).  
*“Visualizing the Mechanisms of Organic Reactions”*  
INTED2014 Proceedings ISBN: 978-84-616-8412-0

Tanto los carteles presentados, como la publicación, se encuentran en el anexo E.

A mi madre **Ma. Del Carmen Pantoja** y mi padre **Francisco Fuentes**,  
las personas más importantes de mi vida.  
Todo esto es gracias a ustedes.

## AGRADECIMIENTOS

A mi mamá Carmelita por ser una de las personas más maravillosas del mundo; por todos esos abrazos, besos, desveladas y sonrisas; por todas las conversaciones de media noche; por la forma en que siempre consigues calmarme, apoyarme y guiarme cuando lo necesito; pero sobre todo, ¡por el sazón! Eres puro amor.

A mi papá Francisco, la otra persona más maravillosas del mundo, por nunca darte por vencido y siempre ir hacia adelante, ese ímpetu es algo que has logrado heredar a tus hijos; porque todas nuestras diferencias y discusiones no son suficientes para no notar tu amor y apoyo, además tienes que admitir que si no fuera tan rezongón nuestras cenas serían bien aburridas.

A Chuchín, mi hermanito, porque has sabido aguantarme como nadie, aunque yo también lo hago contigo; porque tu filosofía casi nihilista de “ya se verá” me ha sacado de más de un apuro; por toda la psicodelia buena onda; porque la vida sin ti no sería tan divertida ¡Ya sabes que rifas!

A mis abuelitos Vicente y Lupita, ambos grandes ejemplos a seguir, por todo el apoyo, aunque no sabían bien que estudié; por todas las historias durante la comida y las sonrisas; por las bendiciones de 10 minutos que causan torticollis y que parecen funcionar ¡Nunca me han asaltado!

A mi tía Mago y mi tío Rodolfo, que también son mis padrinos, por todo el apoyo, cariño y la enorme cantidad de estrés que me ayudaron a eliminar. Ustedes son pilares importantísimos en mi vida.

A mi tía Bertha, una segunda madre, porque siempre ha estado conmigo y sé que desea lo mejor para mí; por esos primeros años en los que ayudo a mi madre con mi crianza y por muchas de las historias de mi infancia.

A mi tío Vicente y mi tía Gaby porque sus buenos deseos siempre han estado presentes; por todos los lindos ratos de ocio e historias que me hacen extrañar mi hogar.

A mis primos Laura, Ale, Fer, Dulce, Toño, Edgar y Rodolfo por todas las buenas vibras y diversión ¡Ustedes también rifan!

A Arely y Jorge, ambos grandes químicos y mejores personas, el tiempo con ustedes ha sido fascinante y lleno de alegría; por esta amistad que durará toda la vida.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química por ser mi segundo hogar desde los 15 años; por permitirme educarme y crecer dentro de sus muros; por todas las personas extraordinarias que he conocido y conoceré. Gracias por la educación de primer nivel.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la Universidad Nacional Autónoma de México (DGAPA-UNAM) por la beca PAPIME otorgada durante la realización esta tesis. Proyecto PE205313.

Al Dr. Carlos Rius y la M. en C. Martha Yolanda González por compartir su conocimiento; por la sabia guía y consejos en la realización de este trabajo; por contagiarme su amor a la ciencia; pero sobre todo por su amistad.

A mis compañeros del laboratorio 204, Atzín, Magali. Joaquín y Jonathan por hacer interesante y divertida mi estancia en el laboratorio, siempre hubo buenas historias. Gracias por su amistad.

A la Q. Alejandrina Acosta y a la Q. Irene Aruelo por la espectroscopia de RMN  $^1\text{H}$ ; pero sobre todo por todos los consejos, ayuda y amistad.

A la Q. Marisela Gutiérrez, a la Q. Georgina Duarte y a la Q. Cecilia Salcedo (todas ellas personal de la USAI) por los espectros de IR, Masas y Difracción de Rayos X, respectivamente.

A la Dra. Martha Albores y al M. en C. Juan Gómez por sus acertadas observaciones durante la revisión de esta tesis.

***¡GRACIAS!***

# ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN .....	1
2	ANTECEDENTES .....	3
2.1	Historia de la infección humana de influenza .....	3
2.1.1	Influenza previa al siglo XX .....	3
2.1.2	La Gripe Española (1918-1919) .....	4
2.1.3	Gripe Asiática (1957-1958) y Gripe de Hong Kong (1968-1969) .....	5
2.1.4	Influenza A H5N1 y A H1N1 (1990 – presente) .....	6
2.2	Influenza A .....	8
2.2.1	Generalidades sobre la influenza .....	8
2.2.2	Característica del virus de influenza .....	9
2.2.3	Ciclo de replicación viral .....	12
2.2.4	Mutaciones en virus de influenza (deriva antigénica y cambio antigénico) .....	13
2.2.5	Inhibidores de neuraminidasa .....	15
2.3	Apertura de epóxidos .....	16
2.3.1	Generalidades sobre epóxidos .....	16
2.3.2	Apertura de epóxidos .....	17
2.3.3	Síntesis de $\beta$ -aminoalcoholes mediante la apertura de epóxidos con aminas .....	20
3	OBJETIVOS .....	25
4	DESARROLLO EXPERIMENTAL Y RESULTADOS .....	26
4.1	Resumen general de síntesis realizadas .....	26
4.2	Equipos empleados .....	27
4.3	Reactivos, disolventes y catalizadores empleados .....	28
4.4	Activación de catalizadores .....	29
4.5	Síntesis de los compuestos A y B .....	29
4.6	Síntesis del compuesto C .....	32
4.7	Síntesis de los compuestos D y E .....	35
4.8	Determinación del porcentaje de conversión de oseltamivir .....	39
5	DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	40
5.1	Optimización de las síntesis .....	40
5.1.1	Síntesis de los compuestos A y B .....	40
5.1.2	Síntesis del compuesto C .....	42
5.1.3	Síntesis del compuesto D .....	43
5.1.4	Síntesis del compuesto E .....	44
5.2	Caracterización por $^1\text{H}$ RMN de los compuestos .....	44
5.2.1	Compuestos A, C, D y E .....	44
5.2.2	Compuesto B .....	50



6	CONCLUSIONES .....	58
7	REFERENCIAS .....	59
8	ANEXOS .....	64
A	Espectros de IR TF .....	64
B	Espectros de <sup>1</sup> H RMN .....	69
C	Espectros de masas .....	81
D	Espectros de difracción de rayos X .....	84
E	Publicación .....	87

# 1. INTRODUCCIÓN

La influenza es una enfermedad respiratoria sumamente contagiosa causada por virus de influenza, que se transmite de persona a persona mediante los aerosoles que contienen el virus, y que se generan por la tos o el estornudo del individuo infectado.

En la lucha contra esta enfermedad, los inhibidores de la neuraminidasa del virus de influenza son los medicamentos que mejores resultados han mostrado. Por desgracia, la enorme capacidad para mutar de los virus de influenza A, ocasiona que poco a poco nuestros medicamentos sean menos efectivos, y por lo tanto, es necesaria la generación de nuevos fármacos capaces de devolvernos la ventaja sobre esta enfermedad.

De entre todos los inhibidores de neuraminidasa disponibles comercialmente, el oseltamivir es el más ampliamente usado alrededor del mundo, y por ello, es también el compuesto base para el presente trabajo, en el que se sintetizaron cinco  $\beta$ -aminoalcoholes derivados de éste, con posible actividad como inhibidores de neuraminidasa y por lo tanto posible uso como medicamentos para la influenza.

Las síntesis se realizaron mediante la apertura de epóxidos con el grupo amina del oseltamivir, usando radiación de microondas y arcillas ácidas como catalizador. Este método de obtención de  $\beta$ -aminoalcoholes fue reportado por Mojtahedi y colaboradores<sup>43</sup>. Aunque ellos reportan un método libre de disolventes, durante el desarrollo de este trabajo se encontró que la presencia de disolventes favorece la reacción.

Al iniciar este trabajo se planeó sintetizar un  $\beta$ -aminoalcohol derivado del oseltamivir por cada epóxido empleado; sin embargo, se observó que la presencia de grupos OH en el epóxido eran capaces de transesterificar al oseltamivir y después, mediante la apertura del epóxido, generar lactonas. Esta reacción ocurre sólo si se emplea disolvente (tanto 1,4-dioxano, como metanol), por lo que se obtienen productos distintos.

A continuación se presenta todo el trabajo realizado para la optimización de los métodos de síntesis de los  $\beta$ -aminoalcoholes obtenidos, así como la caracterización de cada uno de ellos mediante el uso de distintas técnicas espectroscópicas y simulación molecular.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1. Historia de la infección humana de influenza**

#### **2.1.1. Influenza previa al siglo XX**

Probablemente la primera epidemia de influenza fue documentada por Hipócrates, padre de la medicina, en el 402 a.C. Ésta es descrita como una epidemia en el Norte de Grecia que duró unas semanas, mató a muchos y luego desapareció.<sup>1,2</sup>

Descripciones similares a la de Hipócrates surgieron durante la edad media, entre 1173 y 1174 se reportó una enfermedad cuyos síntomas eran similares a los de la influenza. Fue durante el siglo XIV que el Papa Benedicto XIV acuñó el término influenza, cuando atribuyó a la influencia de las estrellas una enfermedad que azotó Italia. Durante la colonización de las Américas, el historiador Francisco Guerra describió un cuadro clínico parecido al de la influenza, que en 1493 acabó con un tercio de los indios de algunas islas del caribe.<sup>2-4</sup>

Se cree que la primera pandemia de influenza ocurrió en 1580, ésta se originó en África y se esparció por Europa con una alta mortalidad, llegando a matar 8 000 personas en Roma, y diezmando ciudades españolas.<sup>4</sup>

Otras dos pandemias se registraron antes de 1800, la primera en 1729, se originó en Rusia, registró una alta tasa de mortalidad, se esparció por toda Europa dentro en los siguientes 6 meses, y alcanzó a todo el mundo durante los siguientes tres años. La otra pandemia se registró entre 1781 y 1782, ésta empezó en China y luego pasó a Rusia de donde se esparció por toda Europa durante los siguientes 8 meses, registró un alto índice de contagio, especialmente en San Petesburgo y Roma, donde cayeron enfermas 30 000 personas al día durante la etapa más virulenta de la enfermedad y dos tercios de la población enfermaron, afortunadamente no se registró un alto índice de mortalidad.<sup>4,5</sup>

La última gran pandemia previa al siglo XX se originó en China, de donde se esparció hacia Asia, (la India y Filipinas), Europa y América del Norte, con un

índice de contagio de entre el 20 y 25 % de la población de dichas regiones, aunque sin una alta tasa de mortalidad. También se documentaron brotes epidémicos de influenza en los años 1837, 1847 y 1889.<sup>4</sup>

### **2.1.2. La Gripe Española (1918-1919)**

Durante 1918 y la primera mitad de 1919, la humanidad fue azotada por la que pasaría a la historia como el arquetipo de pandemia que se debe evitar. La Gripe Española, causada por virus de influenza A H1N1 fue, sin duda alguna, uno de los más terribles eventos de la historia médica, cobrando la vida de 50 millones personas, la mayoría jóvenes adultos de entre 20 y 39 años (aunque hay estudios que indican que se pudieron llegar hasta 100 millones), y llegando a diezmar la población de lugares como Alaska y algunas islas del pacífico, entre otros.<sup>2,23</sup>

Esta pandemia será recordada también por el gran impacto histórico que tuvo, ya que fue un factor importantísimo en el rumbo de la Primera Guerra Mundial. Durante el verano de 1918, la influenza mermó a las fuerzas alemanas, y permitió a las fuerzas militares Norteamericanas alcanzar la magnitud necesaria para derrotar a los alemanes, cambiando así el rumbo de la historia. Los Norteamericanos también sufrieron los estragos de la influenza, se estima que cerca de 43 000 soldados Norteamericanos murieron a causa de la influenza, lo que representó el 80 % del total de las bajas Norteamericanas durante la guerra.<sup>2-4</sup>

La triste celebridad de España no se debe a que los primeros brotes surgieran en este país, sino a que al ser España un país neutral durante la guerra, la prensa española no estaba sujeta a restricción o censura, de modo que ésta fue la primera en reportar casos de la enfermedad. Aún no se sabe con exactitud en donde surgió el primer brote; sin embargo, se cree que pudo ser en China o en Estados Unidos en Fort Riley Kansas, ambos en Marzo de 1918.<sup>1,4</sup>

La Gripe Española se esparció por todo el mundo entre marzo y junio del 1918, en lo que fue llamada la primera ola, esta primera ola no fue excepcionalmente virulenta. Francia, Italia, Alemania y España fueron alcanzadas entre Abril y Mayo; la enfermedad llegó a Inglaterra y Rusia en Junio. La Pandemia se esparció por el

norte de África en mayo, y se extendió por el resto de África rápidamente. Algunos países lejanos como Nueva Zelanda y Filipinas fueron alcanzados en Junio.<sup>4</sup>

La segunda ola de infección empezó en agosto de 1918, el primer caso se registró en un barco que viajaba desde Inglaterra a Freetown en Sierra leona. Esta ola fue extraordinariamente virulenta y pasó a la historia como la ola asesina, pues mostró una mortalidad diez veces mayor a la mostrada por la ola anterior.<sup>4</sup>

### **2.1.3. Gripe Asiática (1957-1958) y Gripe de Hong Kong (1968-1969)**

Durante Febrero de 1957, virus de influenza A H2N2 ocasionaron la pandemia de Gripe Asiática. Ésta se originó al suroeste de China y no se tiene certeza si fue en las provincias de Gizou o Hunan, de ahí se extendió por el resto de Asia, Hong Kong y Singapur fueron alcanzados en Abril; Australia e Indonesia registraron brotes epidémicos en Mayo; Pakistán, Europa Occidental y América del Norte cayeron en Junio; el resto de América, Nueva Zelanda y las islas del Pacífico en Julio; finalmente Europa oriental y el Caribe sucumbieron ante la pandemia en Agosto. El virus le dio la vuelta al mundo en 6 meses y lugares como Europa, América del Norte, La extinta URSS y Japón sufrieron una segunda ola a principios de 1958.<sup>1,4</sup>

Las vidas humanas cobradas por esta pandemia se calculan en apenas cerca de 2 millones, tan poca letalidad, comparada con la Gripe Española, se debió a que se contaba con agentes antimicrobianos para tratar las enfermedades bacterianas que acompañaban a la influenza. Los sectores de la población más afectados fueron las mujeres embarazadas en su primer trimestre, enfermos del corazón o con enfermedades cardiopulmonares y niños de entre 5 y 19 años, estos últimos con un índice de contagio del 50 %.<sup>8,9,12</sup>

A mediados de Julio de 1968, Hong Kong fue el lugar de origen de la última pandemia de influenza del siglo XX. La Gripe de Hong Kong, causada por virus de influenza A H3N2, se extendió rápidamente por el sudoeste asiático, alcanzando a Taiwán, Filipinas, Vietnam y Singapur en Agosto; en Septiembre se registraron brotes epidémicos en India, Irán, Australia y Norteamérica, estos últimos debido al

regreso de las tropas de Vietnam. En Europa la difusión de la enfermedad fue más lenta, y fue hasta finales de 1969 que se registraron los más altos índices de mortalidad.<sup>1</sup>

Esta pandemia fue poco severa, contando con un aproximado de 1 millón de víctimas mortales y una tasa de mortalidad de 15.5 muertes por cada 100 mil habitantes, siendo los infantes de entre 10 y 14 años el sector de la población más afectado, con una tasa de contagio del 40 %.<sup>1,9</sup>

#### **2.1.4. Influenza A H5N1 y A H1N1 (1990 – presente)**

A mediados de Mayo de 1997 se aisló un nuevo virus de influenza proveniente de un niño de 3 años hospitalizado en Hong Kong, este fue el virus de influenza A H5N1, 4 meses después ya se contabilizaban 18 víctimas del nuevo virus, 6 de las cuales murieron, incluido el niño. Esta fue la primera infección del que hasta ahora es el virus de influenza más mortal que ha existido, y un posible candidato para una nueva pandemia, debido a que cumple con 2 de los 3 criterios necesarios para un virus pandémico: tiene la habilidad de replicarse en seres humanos y hay ausencia de inmunidad en la población humana, afortunadamente ha mostrado una muy baja capacidad para transmitirse de hombre a hombre.<sup>1,7</sup>

Para el 2012 la OMS informó que se habían contabilizado 610 casos alrededor del mundo, de los cuales murieron 360, lo cual arroja una tasa de mortalidad del 59 %.<sup>10</sup>

A principios de Abril del 2009, el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) fue alertado debido a que, a diferencia de lo que se esperaba, los casos de influenza estacional en la Ciudad de México no descendieron entre marzo y mayo, además se registraron brotes epidémicos en Veracruz, Tlaxcala y San Luis Potosí; estos eventos, aunados a casos de neumonías atípicamente fuertes en Oaxaca, pusieron en alerta a todo el país. El 23 de Abril autoridades mexicanas anunciaron que el virus causante de la infección era una nueva cepa de virus de influenza A H1N1 y apenas se confirmaron 18 casos, el 29 de Abril la OMS declaró el nivel 5 de su sistema de alerta de pandemia, con lo cual reconocía una pandemia

inminente, y el 11 de Junio se subió la alerta a nivel 6, el nivel más alto y con lo que se reconoció la existencia de la pandemia.<sup>14,16</sup>

Para el 21 de Mayo ya se contabilizaban 11 043 casos en 41 países, incluyendo 85 muertes, la mayoría debido a viajeros provenientes de México. Para el 27 de Septiembre del mismo año se reportaron más de 4 100 muertes, de las cuales 3 200 ocurrieron en América, siendo los más afectados: Estados Unidos, Argentina, Canadá, Brasil y México. Éste último con 163 muertes y una tasa de mortalidad del 0.4 %, la más alta registrada. Debido a la gran cantidad de infectados que había para Noviembre del 2009, los cuales sumaron 622 000, la OMS dejó de contabilizar los casos de infección y sólo contabilizó los decesos.<sup>15,16</sup>

A principios de Agosto del 2010 se declaró terminada la pandemia, quedando confirmadas 18 398 muertes directas; sin embargo, estudios recientes han demostrado, a través de modelos matemáticos, que las cifras oficiales son sumamente inferiores a las cifras reales. Se estima que tan solo en Estados Unidos hubo 61 millones de infectados con 12 470 muertes, y que las muertes alrededor del mundo fueron: 201 200 por complicaciones respiratorias y 83 300 por complicaciones cardiovasculares.<sup>48,49</sup>

La mayoría de las muertes se registró en personas de entre 40 y 50 años, los infantes fueron el sector de la población con mayor número de contagios; sin embargo, la enfermedad fue más severa en los adultos mayores a 60 años.<sup>15,16</sup>

Recientemente en México, en la temporada invernal 2013-2014, hasta finales de Febrero del 2014, se registraron 4 576 casos de influenza A H1N1 con 537 muertes, por lo que, al menos en cuanto a cifras oficiales se refiere, México se volvió a enfrentar a una epidemia de influenza A H1N1 que inclusive mostró tener un índice de mortalidad (11.7 %) aún mayor al del 2009.<sup>24,50</sup>



## **2.2. Influenza A**

### **2.2.1. Generalidades sobre la influenza**

La influenza es una enfermedad respiratoria de origen viral y en ocasiones altamente infecciosa, que se transmite principalmente durante los meses fríos del año. Se transmite fácilmente por secreciones respiratorias al toser o estornudar, por el saludo de mano o beso, o por tocar objetos contaminados con el virus. Los síntomas más frecuentes de esta enfermedad son: fiebre o sensación de escalofríos, tos, dolor de garganta, mucosidad nasal o nariz tapada, dolores musculares o corporales, dolor de cabeza, fatiga, y en ocasiones vómitos y diarrea, aunque esto último es más común en niños que en adultos.<sup>12,25</sup>

Aunque la mayoría de la gente infectada por influenza se recupera en periodos de entre 1 y 2 semanas, algunas personas desarrollan complicaciones como neumonía, bronquitis, infección sinusal y del oído, entre otras. También es posible agravar los problemas de enfermedades crónicas, las personas con asma pueden sufrir ataques de asma mientras tienen influenza y las personas con insuficiencia cardíaca crónica pueden presentar un agravamiento de su condición. Estas complicaciones pueden poner en riesgo la vida del paciente.<sup>14,25</sup>

Los virus de influenza provienen de la familia de los orthomyxovirus, se clasifican con base en sus características moleculares (proteína de matriz y nucleoproteína) en: virus tipo A, tipo B y tipo C. Los virus tipo A, además se pueden clasificar en subtipos con respecto a las proteínas de la membrana del virus (hemaglutinina y neuraminidasa).<sup>7,26</sup>

Los virus tipo C son capaces de contagiar humanos y porcinos, su infección no es grave y generalmente asintomática, rara vez se necesita hospitalización. Los virus Tipo B son capaces de infectar a humanos y focas, es uno de los responsables de los brotes de influenza estacionaria y produce infecciones de menor gravedad que la influenza A. Los virus tipo A, al igual que los tipo B, provocan brotes de influenza estacionaria, son capaces de generar infecciones graves y de infectar humanos, porcinos, equinos, un gran número de aves (silvestres y de corral) y

ballenas. Los virus de influenza A, también conocidos como virus de influenza pandémica, son los más peligrosos, pues al ser capaces de habitar en tantos entornos, disponen de mayor material genético y por consiguiente una mayor capacidad para mutar, es por ello que representan la mayor de las amenazas para la salud pública.<sup>7,10,26</sup>

Cabe destacar que las cepas de los virus de influenza son en su mayoría selectivas, por lo que un virus aviar no es capaz de infectar a un humano y viceversa. Esta selectividad se asocia a que un virus de influenza es capaz, mediante la hemaglutinina, de reconocer y diferenciar las células epiteliales del tracto respiratorio de distintas especies.<sup>9,14,15,28</sup>

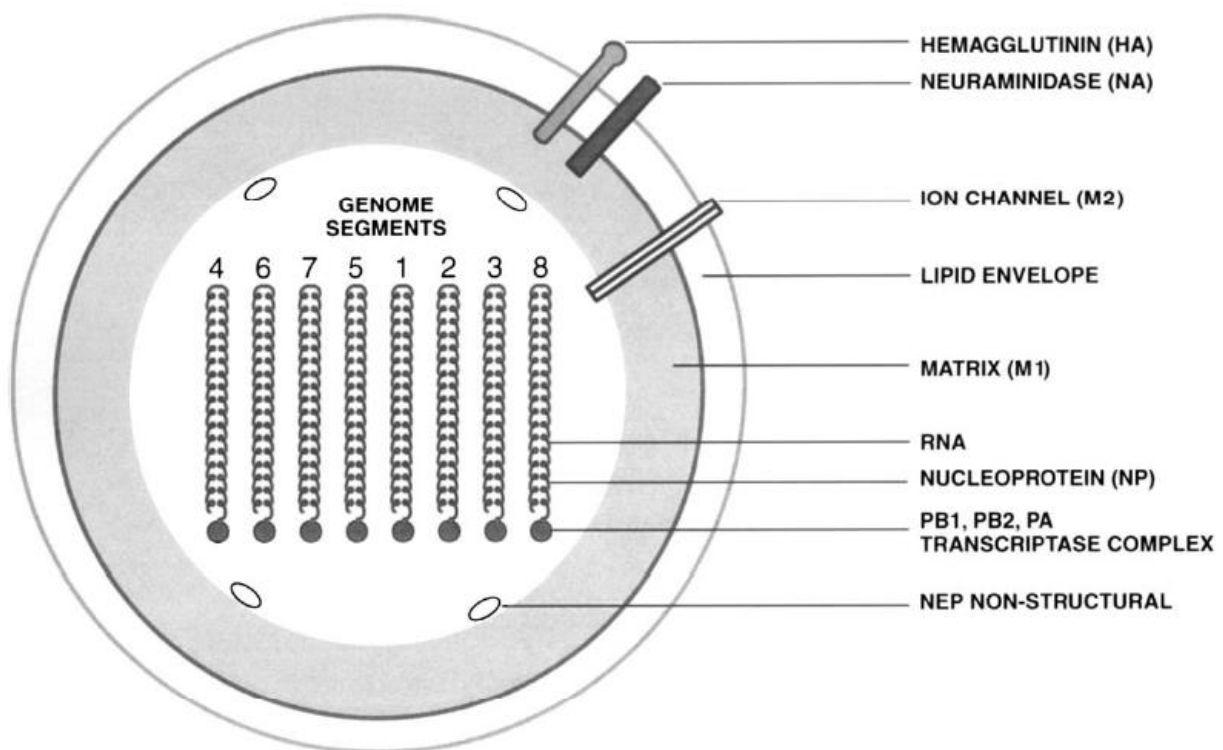
### **2.2.2. Características del virus de influenza A**

El virus de influenza A tiene un diametro de entre 80 y 120 nm, y forma estructuras esféricas o pleomórficas. Contiene un genoma con 8 segmentos diferentes de ARN que codifican para 10 proteínas distintas, dichas proteínas se pueden clasificar como de superficie o internas. Las proteínas de superficie, localizadas en el exterior de la bicapa lipídica del virus, son: hemaglutinina (HA), neuraminidasa (NA) y los canales de iones M2; las proteínas internas, localizadas en el interior del virus, son: nucleoproteína (NP), proteína de matriz (M1), los complejos básicos de polimerasa 1 (PB1) y 2 (PB2) y el complejo ácido de polimerasa (PA), existen además otras 2 proteínas no estructurales: NS1 y NS. La proteína NS1 no se encuentra nunca dentro del virus, pero se produce en grandes cantidades en la célula infectada, la proteína NS2 sí se encuentra dentro del virus, pero es producida en mayor cantidad en la célula infectada. La tabla 2.2.2.1 muestra todas las proteínas mencionadas anteriormente y sus funciones principales.<sup>7,17,18</sup>

**Tabla 2.2.2.1.** Proteínas del virus de influenza A con sus funciones principales y el segmento de ARN que codifica para su formación.<sup>7</sup>

Segmento de ARN	Proteína	Función
1	PB2	Polimerasa, soporta la formación del complejo de transcriptasa, factor de virulencia
2	PB1	Subunidad catalítica del ARN polimerasa, proteína participante en la apoptosis
3	PA	ARN polimerasa
4	Hemaglutinina (HA)	Ligando del receptor, proteína de fusión, antígenos principales
5	NP	Nucleoproteína (cápside), participa en la replicación
6	Neuraminidasa (NA)	Rompe el ácido siálico, facilita la liberación del virus y previene la agregación viral
7	M1 (matriz)	Interactúa con el genoma, apoya en el ensamble viral
	M2	Forma el canal iónico, controla el pH intracelular y el desnudamiento
8	NS1	Controla la postranscripción, antagonista del interferón
	NS2	Exporta el ARN viral del núcleo, ensamble vírico

La hemaglutinina es una glicoproteína trimérica integral de superficie que forma espículas y realiza 3 funciones principales: adherencia a las células epiteliales del tracto respiratorio, fusión de las membranas del virus y la célula atacada, y sirve para el reconocimiento antigénico que induce la respuesta inmune. La neuraminidasa es otra glicoproteína, ésta es tetramérica, tiene forma de hongo, se encuentra en la envoltura del virus y sus funciones principales son: catalizar la ruptura del ácido siálico para liberar al virus y permitir el transporte del virus a través de la capa de mucina del tracto respiratorio.<sup>7,10,17</sup>

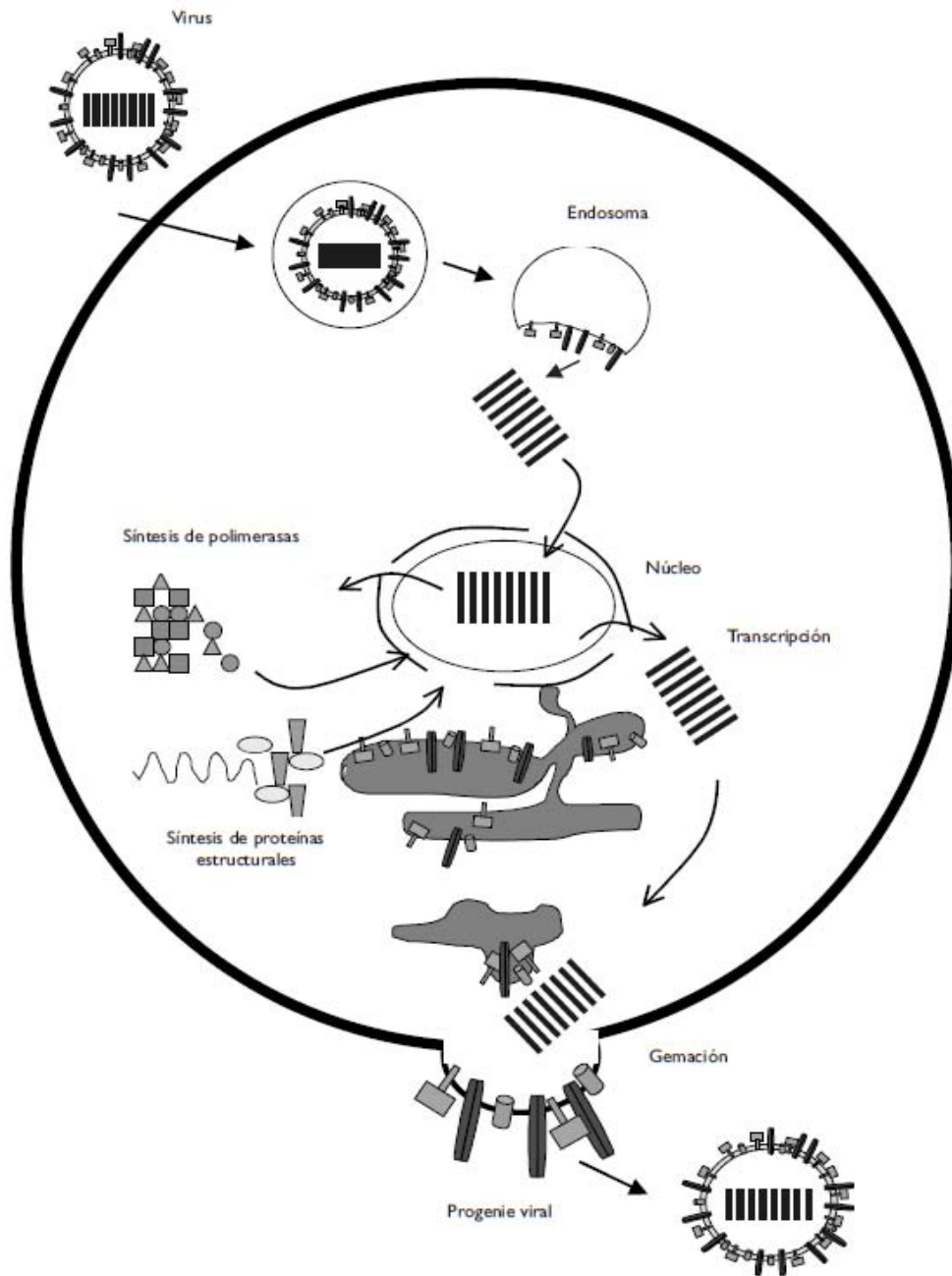


**Figura 2.2.2.1.** Imagen simplificada del virus de influenza.<sup>17</sup>

En los virus de influenza A existen 17 subtipos diferentes de hemaglutinina (H1-H17) y 9 subtipos diferentes de neuraminidasa (N1-N9), lo que puede generar un número extenso de posibles combinaciones para generar subtipos distintos de virus, como H1N1, H5N1 y H3N2. Prácticamente todos los subtipos de virus se encuentran en aves silvestres acuáticas.<sup>7,17</sup>

La proteína M2 es una proteína integral de la membrana del virus que forma un canal iónico encargado de controlar el pH intracelular, esto lo logra al permitir la entrada de iones al virus durante la activación de la hemaglutinina para acercar y fusionar las membranas del virus y la célula en el ciclo de replicación. En la figura 2.2.2.1 se muestra un esquema simplificado del virus de influenza.<sup>7,18</sup>

### 2.2.3. Ciclo de replicación viral



**Figura 2.2.3.1..** Esquema de replicación viral.<sup>7</sup>

El ciclo comienza cuando la hemaglutinina del virus se adhiere a los residuos de ácido siálico en la superficie de la célula, tras adherirse, ingresan mediante endocitosis mediada por los receptores de ácido siálico de las células, y se forma un endosoma. La célula trata de deshacerse del cuerpo extraño disminuyendo el

pH; sin embargo, la disminución del pH favorece que mediante los canales iónicos M2, la hemaglutinina acerque las membranas para su posterior fusión, lo que permite la salida al citosol de los segmentos genómicos, que transitan hasta llegar al núcleo, donde se lleva cabo la transcripción que genera ARN mensajero (ARNm) y ARN viral. Los ARNm se transportan al citoplasma para unirse a los ribosomas e iniciar la producción de las proteínas necesarias para la transcripción y síntesis de las proteínas de la superficie del virus, tras esto, dichas proteínas son transportadas nuevamente al núcleo. Finalmente se producen las proteínas de la superficie del virus, las cuales se procesan en el retículo endoplásmico y en el aparato de Golgi, y son expresadas en la membrana celular, tras lo cual inicia el proceso de gemación en el que se libera el nuevo virus mediante la neuraminidasa. En la figura 2.2.3.1 se presenta de manera esquemática el proceso de replicación viral.<sup>7,15,17,19</sup>

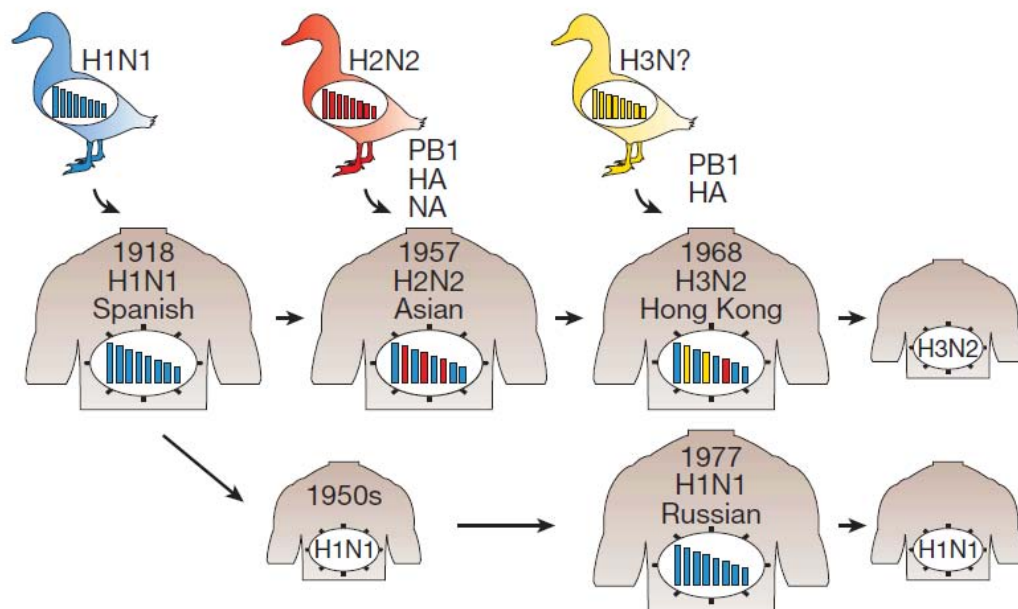
#### **2.2.4. Mutaciones en virus de influenza (deriva antigénica y cambio antigénico)**

La facilidad para mutar de los virus de influenza es una de las características que convierten a la influenza en una enfermedad inerradicable, ya que con frecuencia se encuentran nuevas cepas de virus que son capaces de evadir parcial o hasta totalmente la respuesta inmune del hospedero, inclusive las vacunas muestran que, aunque son capaces de disminuir el número de infectados, son ineficientes para el control adecuado de la enfermedad. Aunque toda la estructura del virus es propensa a sufrir cambios causados por las mutaciones, son las mutaciones sobre la hemaglutinina y la neuraminidasa, también llamadas proteínas antigénicas, las que representan el mayor riesgo para la salud pública, pues son estas proteínas las encargadas de desencadenar la respuesta inmune del hospedero.<sup>4</sup>

Hay dos factores importantes que influyen en la capacidad de mutar de los virus, estos son: la fragmentación en 8 segmentos del genoma viral, lo cual favorece el intercambio genético entre distintas cepas de virus que coinfectan a un individuo, y las fallas del ARN polimerasa durante la transcripción (cuya fidelidad de transcripción no es buena), que se traduce en cambios en los aminoácidos de las

proteínas que se sintetizan. Existen dos tipos de mutaciones que pueden sufrir los virus de influenza, estas son: la deriva antigénica y el cambio antigénico.<sup>7,10,28,11</sup>

La deriva antigénica es producida por mutaciones puntuales en los nucleótidos, particularmente en el segmento que codifica para la hemaglutinina, y producen cambios pequeños en proteínas que por sí solos no son significativos, pero cuya acumulación es capaz de evadir la respuesta inmune del hospedero. Este tipo de mutación es la más común y no genera nuevos subtipos de virus de influenza A, los brotes de influenza estacional suelen estar asociados a cepas que mediante este mecanismo son capaces de evadir parcialmente la respuesta inmune del hospedero. El mejor ejemplo de deriva antigénica es el proporcionado por virus de influenza A H1N1, que tras sucesivas mutaciones fueron capaces de pasar de las aves a humanos para ocasionar la Gripe Española, y que mediante más mutaciones han generado las cepas que aún recorren el mundo (figura 2.2.4.1).<sup>.7,9,11,15</sup>



**Figura 2.2.4.1.** Origen de los virus de influenza A H3N2 y H1N1.<sup>15</sup>

El cambio antigénico sólo se presenta en virus de influenza A y es la razón por la que la influenza A es conocida como influenza pandémica. Se produce por la

reasociación de los segmentos genómicos de dos o más subtipos de virus que coinfectan un mismo individuo durante el ensamble de una sola partícula viral, y es capaz de generar nuevos subtipos de virus de influenza A, que son capaces de evadir totalmente la respuesta inmune del hospedero. En este mecanismo es importante recalcar la capacidad de los virus de influenza A para infectar una gran cantidad de especies, pues tienen una enorme cantidad de material genético a su disposición. El ejemplo más conocido de cambio antigénico es el virus de influenza A H3N2 causante de la Gripe de Hong Kong, originado debido a que virus de influenza humana A H2N2 cambiaron su H2 por H3 proveniente de virus aviares (figura 2.2.4.1).<sup>9,7 10,11</sup>

### **2.2.5. Inhibidores de neuraminidasa**

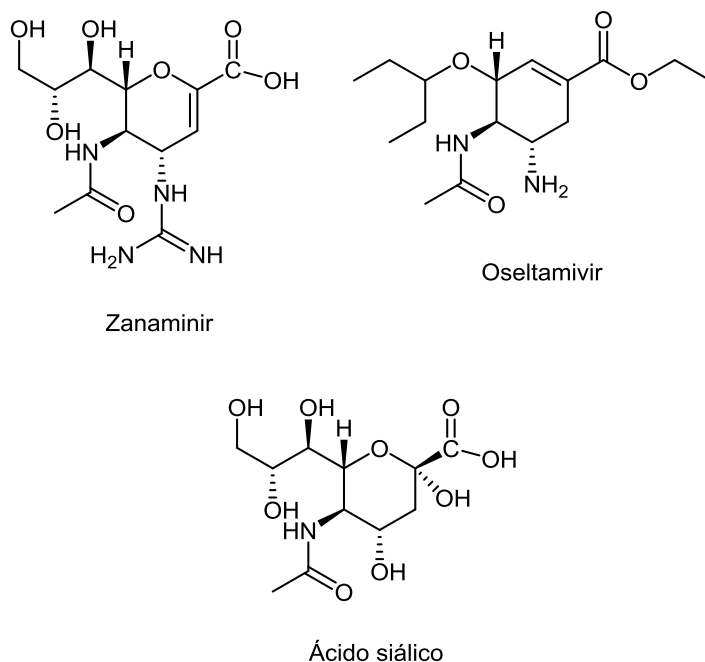
Existen dos tipos de medicamentos para combatir la influenza, estos son: Inhibidores de los canales iónicos M2 y los inhibidores de neuraminidasa. Los inhibidores de canales iónicos fueron los primeros medicamentos desarrollados, los más conocidos son la rimantidina y la amantadina, solo funcionan con virus de influenza A (pues solo este tipo de virus posee canales iónicos M2) y desgraciadamente se ha demostrado que los virus de influenza generan resistencia hacia estos rápidamente.<sup>20</sup>

Los inhibidores de neuraminidasa son los medicamentos más ampliamente usados pues son efectivos contra todo tipo de virus de influenza, los más usados son el zanamivir, cuyo nombre comercial es ralenza y el oseltamivir, que se comercializa como tamiflu. El oseltamivir es el más ampliamente usado pues, a diferencia del zanamivir, que se administra por inhalación, es administrado oralmente.<sup>20-22</sup>

La neuraminidasa, como se mencionó anteriormente, actúa cortando el residuo de ácido sialílico al que está unido la hemaglutinina, de modo que los nuevos virus producidos en la célula infectada son liberados para infectar más células. Los inhibidores de neuraminidasa imitan la estructura del ácido siálico (figura 2.2.5.1) y actúan sobre este mismo paso, compitiendo por el sitio activo de la neuraminidasa



y evitando así que esta rompa la unión que mantiene a los nuevos virus unidos a la célula infectada. Lamentablemente se ha encontrado que los virus de influenza han desarrollado resistencia ante estos medicamentos, sobretodo el oseltamivir pues es el más ampliamente usado.<sup>20-22</sup>

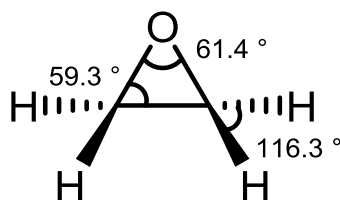


**Figura 2.2.5.1.** Estructuras del zanamivir, oseltamivir y ácido siálico.

## 2.3. Apertura de epóxidos

### 2.3.1. Generalidades sobre epóxidos

Los epóxidos, también llamados oxiranos, son éteres cíclicos de tres miembros, que a diferencia de los éteres acíclicos y éteres cíclicos más grandes (superiores a 4 miembros), son altamente reactivos. La reactividad inusual de los epóxidos se debe a la gran tensión angular del anillo, cuyos miembros tienen hibridación  $sp^3$ , con ángulos característicos de  $109.5^\circ$  que son drásticamente reducidos a valores cercanos a  $60^\circ$  para dar forma triangular al epóxido (figura 2.3.1.2). Existe también, aunque en menor medida, tensión torsional debido a que los átomos unidos a los carbonos de epóxido siempre están eclipsados.<sup>29,31,32,34</sup>



**Figura 2.3.1.2.** Ángulos entre los enlaces del óxido de etileno.<sup>31</sup>

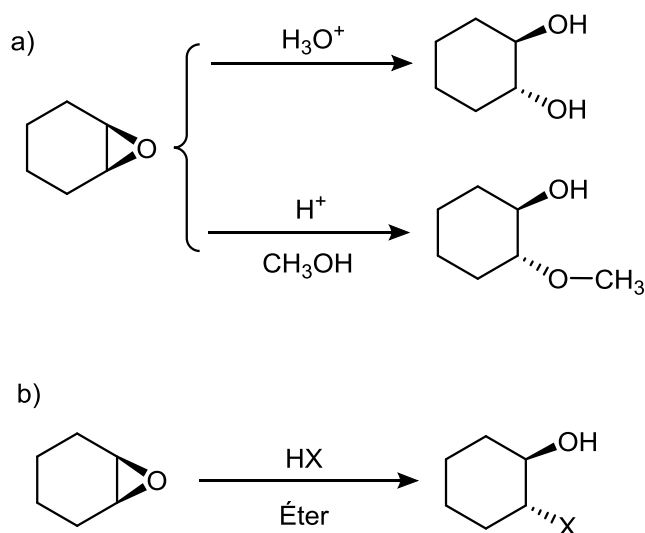
Esta reactividad es especialmente importante en sistemas biológicos, donde las proteínas y ácidos nucleicos tienen abundantes grupos amino que funcionan como nucleófilos. Los epóxidos de bajo peso molecular pueden ser inhalados debido a su bajo punto de ebullición, pudiendo así reaccionar con proteínas y ácidos nucleicos impidiendo el buen funcionamiento de las células; de hecho, el óxido de etileno se usa para desinfectar material quirúrgico aprovechando su gran toxicidad para las bacterias. Los epóxidos de mayor peso molecular son en ocasiones altamente carcinogénicos debido a sus reacciones con nucleófilos biológicos.<sup>32.34</sup>

### 2.3.2. Apertura de epóxidos

La mayoría de las reacciones que involucran epóxidos como reactivos implican la apertura del anillo oxiránico, debido a que ésta es la única forma de aliviar tanto la tensión angular como torsional de estos compuestos. Dichas aperturas suceden tanto con reactivos electrofílicos como nucleofílicos, de hecho, la reactividad de los epóxidos frente a nucleófilos constituye la principal diferencia entre la reactividad de estos y otros éteres.<sup>29-34</sup>

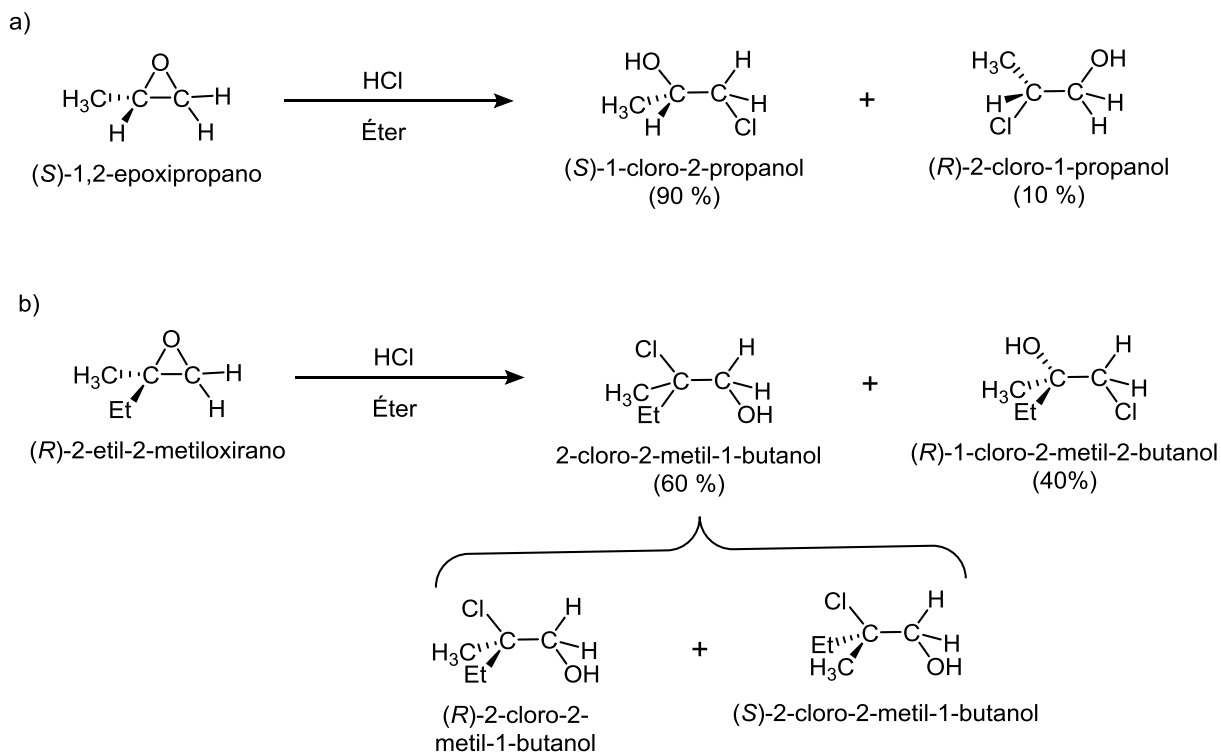
Los epóxidos, al igual que cualquier éter, se abren mediante el tratamiento con ácido (catálisis ácida), la diferencia es que, en el caso de los epóxidos, basta con condiciones de reacción suaves para lograrlo. El tratamiento de un epóxido con ácido acuoso y a temperatura ambiente es suficiente para convertirlos en 1,2-dioles, también llamados glicoles vecinales, si en lugar de agua se usa un alcohol como disolvente se obtiene un éter vecinal a un alcohol (figura 2.3.2.1a). Los epóxidos también se pueden abrir con ácidos distintos al  $\text{H}_3\text{O}^+$ , como  $\text{HX}$  anhidro para producir halohidrininas (figura 2.3.2.1b). El primer paso en este tipo de

reacciones es la protonación del oxígeno para generar un ion oxonio, que es un buen grupo saliente, seguido por el ataque nucleofílico sobre el carbono en el que se rompe el enlace C-O.<sup>29,32,33</sup>



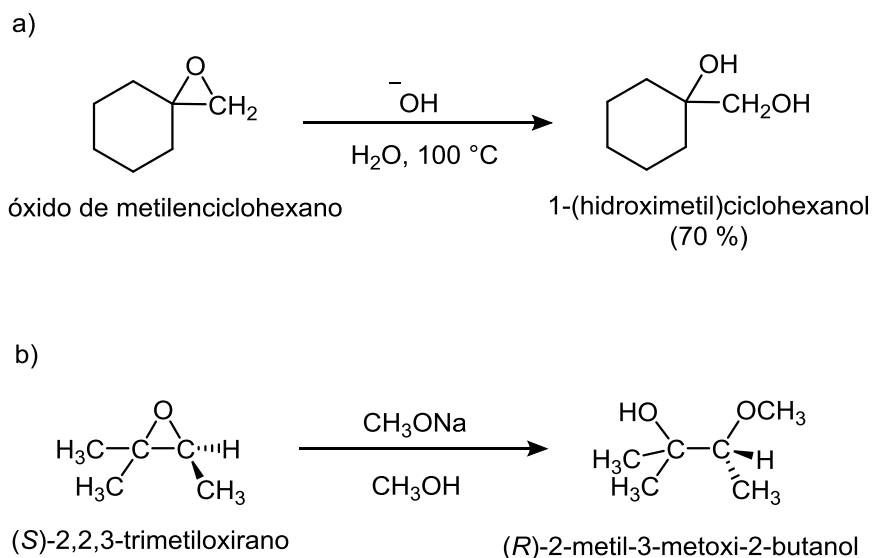
**Figura 2.3.2.1.** a) Reacciones del 1,2-epoxiciclohexano con ácido acuoso y ácido en metanol en las que se forman un glicol y un éter vecinal a un alcohol respectivamente, y b) reacción del 1,2-epoxiciclohexano con HX (X = F, Cl, Br o I) para generar halohidrinas.<sup>29,31</sup>

La regioquímica de la apertura de epóxidos catalizada por ácidos depende de la estructura del epóxido, y es bastante común encontrarse con mezclas de productos. Cuando los átomos de carbono en el epóxido son primarios o secundarios, el ataque nucleofílico sucede preferentemente sobre el carbono estéricamente menos impedido (menos sustituido) siguiendo un mecanismo S<sub>N</sub>2, que implica la conversión de la configuración si el ataque nucleofílico sucede sobre un carbono quiral (figura 2.3.2.2a). Sin embargo, si algún átomo del epóxido es terciario, se prefiere el ataque sobre este carbono siguiendo un mecanismo S<sub>N</sub>1 que incluye tanto la conservación como la conversión de la configuración (figura 2.3.2.2b).<sup>29,32</sup>



**Figura 2.3.2.2.** a) Reacción del (S)-1,2-epoxipropano con HCl en éter para producir (S)-1-cloro-2propanol y (R)-2-cloro-1-propanol (con inversión de configuración), y b) reacción del (R)-2-etil-2-metiloxirano para generar una mezcla racémica de 2-cloro-2-metil-1-butanol (con retención e inversión de configuración) y (S)-2-cloro-2-metil-1-butanol.<sup>30,32</sup>

Como se mencionó anteriormente, la principal diferencia entre las reactividades de los epóxidos y otros éteres, es la capacidad de los epóxidos para abrirse mediante catálisis básica y al reaccionar con un nucleófilo (reactivos organometálicos y alcóxidos, entre otros), ambas mediante mecanismos tipo S<sub>N</sub>2 (figura 2.3.2.3), por lo que el ataque siempre sucederá en el carbono menos impedido y con inversión de la configuración. El primer paso en estas reacciones es el ataque del nucleófilo sobre el carbono menos sustituido para generar un ion alcóxido, este ion se protona fácilmente en un paso posterior para generar un alcohol. Debido a que el oxígeno es un grupo saliente pobre y no se convierte en un buen grupo saliente como en la catálisis ácida, generalmente se necesitan condiciones más duras para la apertura de epóxidos vía catálisis básica, en comparación con las aperturas catalizadas por ácidos.<sup>29-34</sup>



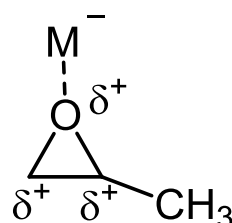
**Figura 2.3.2.3.** a) Reacción del óxido de metilciclohexano con una base para formar 1-(hidroximetil)ciclohexanol y b) Reacción del (*S*)-2,2,3-trimetiloxirano con metóxido de sodio en metanol para generar (*R*)-2-metil-3-metoxi-2-butanol (inversión de la configuración).<sup>29,32</sup>

### 2.3.3. Síntesis de $\beta$ -aminoalcoholes mediante la apertura de epóxidos con aminas

Los  $\beta$ -aminoalcoholes son intermediarios clave para la preparación de una gran cantidad de compuestos biológicamente activos y aminoácidos no naturales, y tienen además un amplio uso como auxiliares quirales. El método más usado para sintetizar  $\beta$ -aminoalcoholes es la apertura de epóxidos con aminas, y la forma clásica de hacerlo involucra el calentamiento del epóxido con exceso de la amina. Este método tiene varias desventajas: la alta temperatura puede afectar a otros grupos funcionales lábiles, siempre se necesita exceso de amina, falta de regioselectividad, y falla del método con aminas pobremente nucleofílicas y aminas o epóxidos estéricamente impedidos.<sup>36,37,39,40</sup>

Una estrategia viable para superar los problemas enlistados anteriormente es la activación electrofílica del epóxido mediante ácidos de Lewis (figura 2.3.3.1), para esto se han usado diversos catalizadores como: sales metálicas, percloratos o tetrafluoroborato, alcóxidos metálicos, triflato metálicos, sulfonil fosfonato,

alúmina, líquidos iónicos, montmorillonita con irradiación de microondas, zeolitas, sílice a altas presiones, sílica gel para cromatografía y ácidos de Lewis en CO<sub>2</sub> súper crítico. Por desgracia muchos de estos métodos siguen teniendo muchas desventajas como: largos tiempos de reacción, elevadas temperaturas que facilitan reacciones colaterales, necesidad de altas presiones, catalizadores sensibles a la humedad, uso de cantidades estequiométricas de los catalizadores, altos costos de los catalizadores, pobre regioselectividad y reordenamientos para generar alcoholes alílicos.<sup>36-39</sup>



**Figura 2.3.3.1.** Activación electrofílica del óxido de propeno mediante un ácido de Lewis (M). El ácido de Lewis se acompleja con el oxígeno del epóxido propiciando las densidades de carga positivas en los carbonos oxiránicos.

De entre los métodos presentados anteriormente, el uso de algunas sales metálicas como CoCl<sub>2</sub>, ZrOCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O y Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> con B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, y el uso de arcillas ácidas como la montmorillonita con irradiación de microondas, han demostrado buenos resultados en cuanto a regioselectividad y rendimiento sin requerir condiciones duras de reacción, gran exceso de amina o cantidades estequiométricas de los catalizadores.<sup>37,41-43</sup>

El uso de CoCl<sub>2</sub> en acetonitrilo, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> con B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> en condiciones libres de disolvente y ZrOCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O en atmósfera de N<sub>2</sub> (todos los métodos a temperatura ambiente) han mostrado ser excelentes métodos con muy buenos rendimientos y excelente regioselectividad (tabla 2.3.3.1) que depende, en su mayoría, de la estructura del epóxido. Si el epóxido es aromático los factores electrónicos predominan durante la sustitución, por lo que se prefiere el ataque sobre el carbono bencílico pues la densidad de carga positiva es más estable sobre este carbono. Si el epóxido es alifático los factores estéricos predominan, por lo que se

prefiere el ataque sobre el carbono menos impedido. Cuando la amina está fuertemente impedida se requiere más tiempo de reacción o mayor temperatura, a menudo ambas, y por lo general se obtienen rendimientos menores (tabla 2.3.3.1). El gran inconveniente con estos métodos es la imposibilidad de usar aminas alifáticas, esto debido a la gran acidez de Lewis de los catalizadores que se acomplejan con dichas aminas.<sup>37,41,42</sup>

**Tabla 2.3.3.1.** Resultados de rendimiento y regioisomería de la reacción entre diferentes epóxidos y anilinas usando distintos catalizadores. Estos resultados fueron obtenidos por: Sundararajan y colaboradores (uso de  $\text{CoCl}_2$ )<sup>41</sup>, Zhang y colaboradores (uso de  $\text{Al}_2\text{O}_3 / \text{B}_2\text{O}_3$ )<sup>42</sup>, y Reddy y colaboradores (uso de  $\text{ZrOCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )<sup>36</sup>

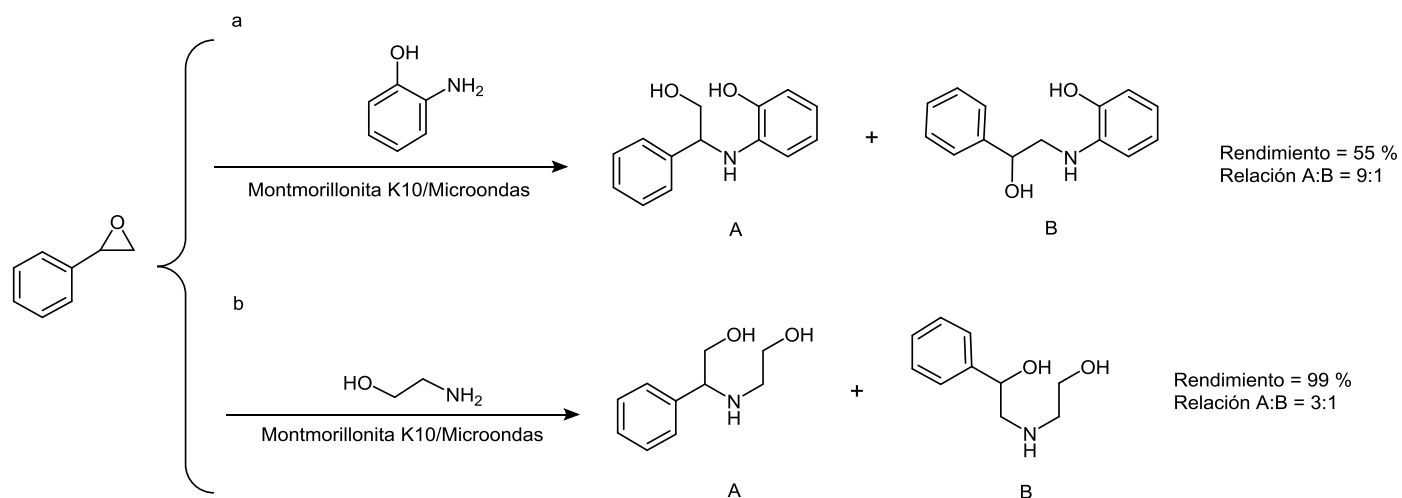
Catalizador	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Tiempo de reacción	Rendimiento total (%) <sup>a</sup>	Relación de regioisómeros (a:b)
$\text{CoCl}_2$	n-butilo	Hidrógeno	4 horas	96	5:95
$\text{CoCl}_2$	Fenilo	Hidrógeno	3 horas	98	95:5
$\text{CoCl}_2$	Fenilo	Isopropilo	24 horas	76	88:12
$\text{Al}_2\text{O}_3 / \text{B}_2\text{O}_3$	Fenilo	Hidrógeno	2 horas	90	99:1
$\text{Al}_2\text{O}_3 / \text{B}_2\text{O}_3$	Metilo	Hidrógeno	3 horas	75	Sólo b
$\text{ZrOCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Fenilo	Hidrógeno	45 minutos	97	99:1
$\text{ZrOCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	metilo	Hidrógeno	1 hora	80	Sólo b

<sup>a</sup> Rendimiento de la mezcla de productos

Por otro lado, el uso de montmorillonita, un ácido de Lewis no tan fuerte, ha mostrado ser un método efectivo en el que se pueden usar aminas alifáticas, aunque a cambio se pierde regioselectividad y se obtienen rendimientos menores. La variedad de montmorillonita más usada es la montmorillonita K10. La

regioisomería favorecida al usar esta metodología es la misma que la mostrada anteriormente, pero la relación de los regioisómeros es menor.<sup>43-45</sup>

En la reacción entre el óxido de estireno y 2-aminofenol usando montmorillonita K10 se favorece el regioisómero producido por el ataque en el carbono bencílico y se obtiene un bajo rendimiento (figura 2.3.3.2a), mientras que en la reacción entre el mismo epóxido con etanolamina se obtiene un mayor rendimiento y se sigue favoreciendo el ataque sobre el carbono bencílico, aunque con una muy pobre regioselectividad (figura 2.3.3.2b). El bajo rendimiento se debe a la poca nucleofilia de la anilina, mientras que la falta de regioselectividad es causada, probablemente, por una conformación estéricamente impedida de la etanolamina, promoviendo así el ataque sobre el carbono no bencílico y estéricamente menos impedido.<sup>37,44</sup>



**Figura 2.3.3.2.** Reacción entre el óxido de estireno y a) 2-amino fenol, o b) etanolamina. En ambas reacciones se favorece el ataque al carbono bencílico.<sup>44</sup>

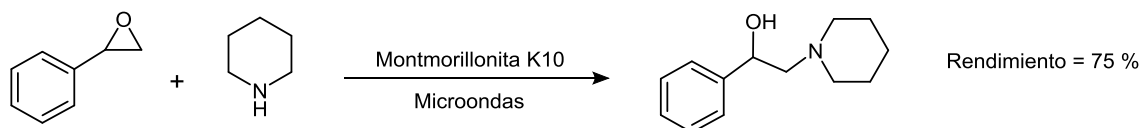
El uso de aminas estéricamente impedidas, aún reaccionando con epóxidos aromáticos, favorece enormemente el regioisómero en el que se ataca al carbono menos impedido (figura 2.3.3.3a). Con los epóxidos alifáticos se favorece casi exclusivamente el ataque al carbono menos impedido si uno de los carbonos está fuertemente impedido, aunque de no ser así, se suelen encontrar mezclas de



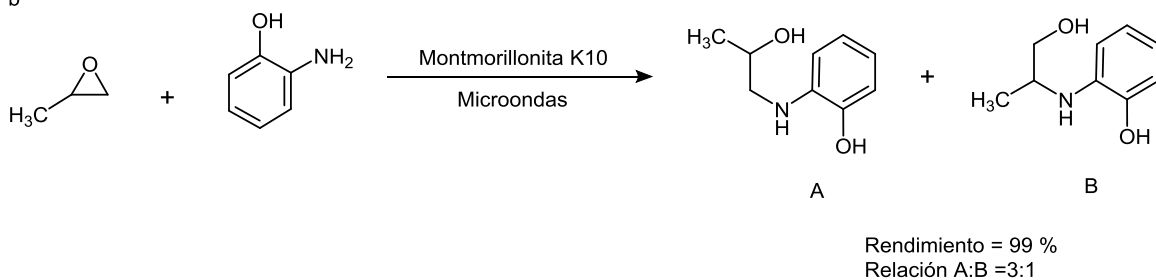
ambos regioisómeros sin un favorecimiento tajante hacia el regioisómero producido por el ataque al carbono menos impedido (figura 2.3.3b).<sup>37,43</sup>

Se ha reportado que el uso de montmorillonita K10 como catalizador ofrece bajos rendimientos y pobres regioselectividades; sin embargo, en muchas ocasiones esto se debe al uso de una excesiva cantidad del catalizador (hasta 200 % m/m) y a altas temperaturas de reacción, ambas condiciones suelen propiciar reacciones colaterales como reordenamientos y polimerizaciones. Si el epóxido es volátil, las altas temperaturas pueden propiciar la evaporación de este antes de que se consuma en la reacción.<sup>37,44</sup>

a



b



**Figura 2.3.3.3.** a) Reacción entre el óxido de estireno y la piperidina (amina estéricamente impedida) para producir el regioisómero donde se ataca al carbono menos impedido, y b) reacción entre el óxido de propeno y 2-aminofenol donde se produce una mezcla de regioisómeros.<sup>37,44</sup>

### 3. OBJETIVOS

- Sintetizar y caracterizar  $\beta$ -aminoalcoholes derivados del oseltamivir, que podrían presentar actividad como inhibidores de neuraminidasa de virus de influenza, mediante la apertura de distintos epóxidos, usando radiación de microondas y arcillas ácidas como catalizadores.
- Optimizar las síntesis probando la relación molar de reactivos, distintos catalizadores, distintos disolventes, distintas temperaturas y tiempos de reacción.

## 4. DESARROLLO EXPERIMENTAL Y RESULTADOS

### 4.1. Resumen general de síntesis realizadas

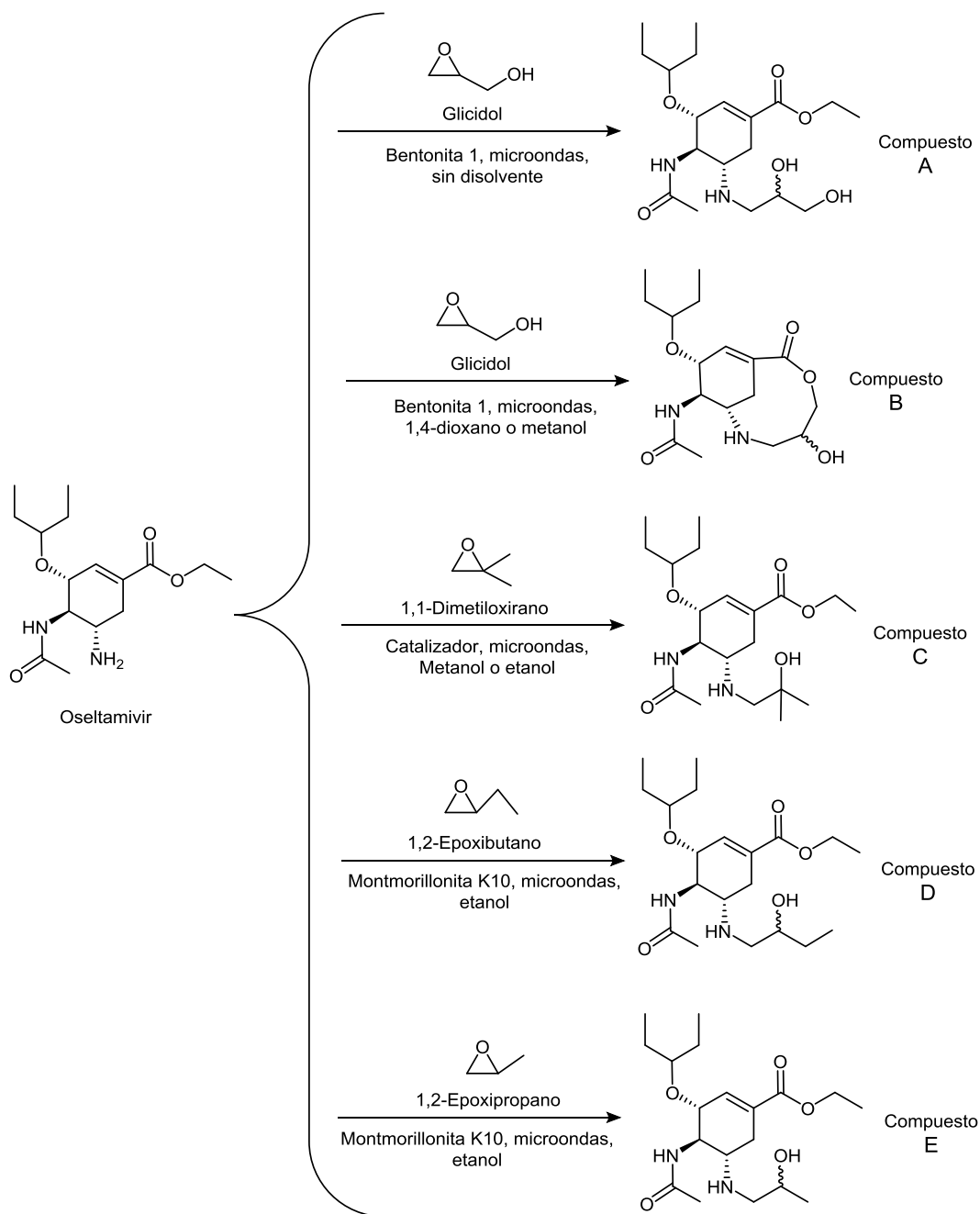


Figura 4.1.1. Esquema de reacción de todos los  $\beta$ -aminoalcoholes sintetizados.

En la figura 4.1.1 se muestran de manera esquemática todas las síntesis realizadas de  $\beta$ -aminoalcoholes derivados del oseltamivir, cuyos resultados se presentarán y discutirán más adelante.

## 4.2. Equipos empleados

1. Reactor de microondas marca CEM Discover, modelo Explorer Hybrid 12. El reactor es capaz de mantener la temperatura constante a cambio de una mínima variación en la potencia, por lo que debe entenderse, que en las condiciones reportadas en este trabajo siempre hay una ligera variación en la potencia del reactor.
2. Espectrómetro de resonancia magnética nuclear Varian Unity Innova de 300 MHz. Para la interpretación de los espectros: s = singulete, d = doblete, dd = doblete dobleteado, t = triplete, dt = triplete dobleteado, dtd = doble triplete dobleteado, c = cuatriplete, q = quintuplete y m = multiplete.
3. Espectrofotómetro de Infrarrojo PerkinElmer Spectrum 400 de transformada de Fourier con un accesorio de inserción de muestra Universal ATR.
4. Espectrómetro de masas Agilent de triple cuadrupolo 6410. Las muestras se introdujeron por inyección directa, y el modo de ionización fue electrospray.
5. Difractómetro de rayos X de polvos Bruker D8 ADVANE, se usó radiación  $K\alpha$  de cobre con filtro de níquel. **Este equipo se usó para la caracterización de las arcillas acidas usadas como catalizadores para este trabajo. La composición de estos catalizadores se encuentra en la sección 4.3 (tabla 4.3.3).**

### 4.3. Reactivos, disolventes y catalizadores empleados

**Tabla 4.3.1.** Reactivos usados.

Reactivo	Fórmula mínima	Peso molecular (g/mol)	Densidad (g/ml)	Punto de inflamación o ebullición (°C)	Apariencia
Oseltamivir	C <sub>12</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	312.40	-----	Pi: 240	Sólido blanco
Glicidol racémico	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	74.08	1.117	Pe:61-62	Líquido incoloro
1,1-Dimetiloxirano	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O	72.11	0.812	Pe: 50-51	Líquido incoloro
1,2-Epoxibutano racémico	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O	72.11	0.837	Pe: 63	Líquido incoloro
1,2-Epoxipropano racémico	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	58.08	0.830	Pe: 34	Líquido incoloro

**Tabla 4.3.2.** Disolventes usados.

Disolvente	Fórmula semidesarrollada	Punto de ebullición (°C)	Constante dieléctrica
Acetona	CO(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	56	20.7
1,4-Dioxano	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> O(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> O	101	2.3
Diclorometano	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	40	8.9
Hidróxido de amonio	NH <sub>4</sub> OH	-----	-----
Metanol	CH <sub>3</sub> OH	65	32.7
Etanol	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH	78	24.5

Los catalizadores empleados fueron las arcillas ácidas: bentonita 1, bentonita 2 y Montmorillonita K10; cada una de ellas con diferente composición. Estos catalizadores se caracterizaron por difracción de rayos X de polvos, la composición de cada uno de ellos se encuentra en la tabla 4.2.3 y los espectros obtenidos se encuentran en el anexo D.

**Tabla 4.3.3.** Composición de las arcillas ácidas usadas como catalizadores (bentonita 1, bentonita 2 y montmorillonita K10). La determinación de la composición se hizo mediante difracción de rayos X de polvos.

Composición		Catalizador (composición porcentual)		
Mineral	Composición del mineral	Bentonita 1	Bentonita 2	Montmorillonita K10
Albita cálcica	$(\text{Na,Ca})\text{Al}(\text{Si,Al})_3\text{O}_8$	19.74 %	-----	-----
Anortita	$\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8$	-----	17.75 %	-----
Bentonita	$(\text{Ca}_{0.06}\text{Na}_{0.21}\text{K}_{0.27})$ $(\text{Al}_{1.64}\text{Fe}_{0.06}\text{Mg}_{0.31})$ $(\text{Al}_{0.29}\text{Si}_{3.71}\text{O}_{10}(\text{OH})_2)$	3.13 %	15.71 %	-----
Calcita	$\text{CaCO}_3$	2.08 %	3.96 %	-----
Cuarzo	$\text{SiO}_2$	40.26 %	7.82 %	28.55 %
Kaolinita	$\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	-----	13.78 %	-----
Montmorillonita 1	$\text{AlSi}_2\text{O}_6(\text{OH})_2$	-----	40.98 %	-----
Montmorillonita 2	$(\text{Na,Ca})_{0.3}(\text{Al,Mg})_2$ $\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	34.79 %	-----	-----
Muscovita	$\text{KAl}_2(\text{Si,Al})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$	-----	-----	71.45 %

Las líneas punteadas indican que el mineral no se encuentra en el catalizador.

#### 4.4. Activación de los catalizadores

Todos los catalizadores usados fueron activados (deshidratados) en el reactor de microondas, calentándolos a 130 °C durante 20 minutos. Esto se hizo cada vez que se usaba algún catalizador.

#### 4.5. Síntesis de los compuestos A y B

Se realizaron 10 reacciones para la apertura del glicidol con el oseltamivir, las condiciones empleadas y resultados obtenidos se muestran en la tabla 4.5.1. En todas estas reacciones se colocaron los reactivos, **0.2 g de bentonita 1 (catalizador) por cada mmol de oseltamivir y 5 ml de disolvente (si es el caso)** en un tubo de ensayo (especial para su uso en microondas) con capacidad de 10 ml, se agregó un pequeño agitador magnético, se tapó el tubo con un tapón de silicón para asegurar un sellado completo, y se introdujo al reactor de

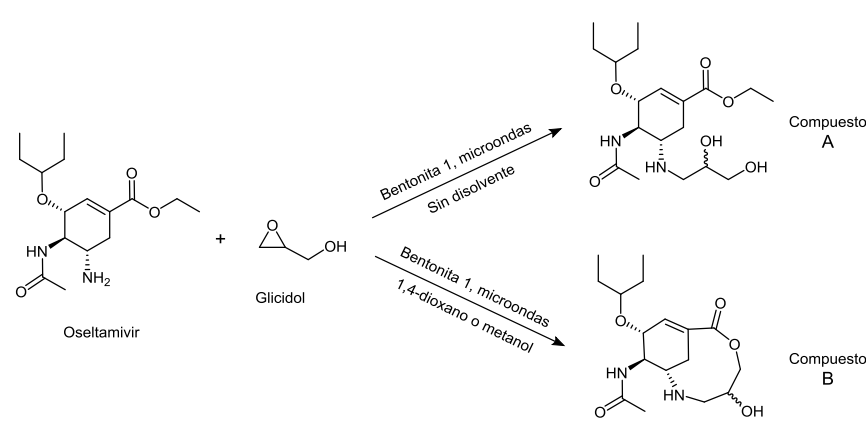
microondas por el tiempo necesario para efectuar la reacción. El seguimiento de las reacciones se hizo mediante cromatografía en capa fina (c.c.f).

Tras la reacción, se filtró por gravedad la mezcla de reacción y se lavó 3 veces con 15 ml de acetona para separar el catalizador del crudo de reacción. En el caso de las reacciones sin disolvente, se agregó acetona a la mezcla de reacción y se dejó reposar durante toda la noche para lograr extraer el crudo de la bentonita de forma más eficaz y filtrarlo después. Tras el filtrado, se evaporó el disolvente del crudo de reacción con un rotavapor.

Las purificaciones se llevaron a cabo en una placa preparativa de sílice Fluka de (20x20) cm de área, con indicador fluorescente de 254 nm, 200 µm de espesor de la capa de sílice, y con un tamaño de partícula de 25 µm. Se usó como eluyente una mezcla de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 100: MeOH 10: NH<sub>4</sub>OH 1. Tras el raspado de la sílice, el producto purificado se extrajo con acetona, mismo disolvente que fue usado para el lavado posterior de la sílice con 3 lavados de 15 ml, y finalmente se evaporó el disolvente con un rotavapor.

Los compuestos A y B fueron caracterizados por espectrometría de resonancia magnética nuclear (<sup>1</sup>H RMN), y espectrofotometría de infrarrojo de transformada de Fourier (IR TF).

**Tabla 4.5.1.** Esquema general de reacción, condiciones y resultados de las síntesis de los compuestos A y B. Para cada producto se obtuvo la mezcla de ambos diasterómeros.



Reacción	Oseltamivir (g)	Relación molar epóxido/oseltamivir	Tiempo (minutos)	Disolvente (5 ml)	Conversión de Oseltamivir (%) <sup>a</sup>	Rendimiento del producto puro (%)	Producto principal <sup>c</sup>
1	0.1280	1.1	5	No	-----	-----	A
2	0.2988	1.1	10	No	85.0	20.9	A
3	0.3002	2.0	10	No	-----	-----	Indistinguible
4	0.1903	1.5	10	No	86.4	23.1	A
5	0.01915	1.5	30	No	-----	-----	Indistinguible
6	0.1999	1.4	30	1,4-Dioxano	-----	-----	B
7	0.1715	1.6	10	1,4-Dioxano	-----	-----	B
8	0.0634	1.5	10	Metanol	72.5	-----	B (único observado)
9	0.0617	1.5	15	Metanol	85.3	-----	B (único observado)
10	0.0622	1.5	20	Metanol	100.0 <sup>b</sup>	100.0	B (único observado)

El compuesto A es un líquido espeso color ámbar. El compuesto B es un sólido color amarillo.

En todas las reacciones se usó glicidol y bentonita 1 como catalizador.

La temperatura y potencia del reactor de microondas para todas las reacciones fueron: 98 °C y 50 W respectivamente.

<sup>a</sup>Obtenido de los espectros de los crudos de reacción. **La obtención de este resultado se muestra en la sección 4.8.**

<sup>b</sup>El crudo se mostró sumamente limpio en el espectro de <sup>1</sup>H RMN, por lo que no hizo falta purificarlo.

<sup>c</sup>Observado mediante c.c.f. Indistinguible significa que todos los productos de la reacción se muestran en la misma proporción en c.c.f, de modo que no se pudo distinguir el producto principal.

Las líneas punteadas en las columnas “Conversión de oseltamivir” y “Rendimiento del producto puro”, indican que estos resultados no fueron determinados para estas reacciones.



**IR TF de compuesto A:** 3287.29,  $\text{cm}^{-1}$  (O-H); 1713.13  $\text{cm}^{-1}$  (C=O de éster  $\alpha,\beta$ -insaturado); 3096.08 y 861.14  $\text{cm}^{-1}$  (C=C de alqueno trisustituido); señal cerca de 3310  $\text{cm}^{-1}$  que es cubierta por la señal del OH (N-H), 1554.10  $\text{cm}^{-1}$  (N-H de amina secundaria), 1651.95  $\text{cm}^{-1}$  (C=O de amida); 1124.78  $\text{cm}^{-1}$  (R-O-R).

**$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de compuesto A:**  $\delta$  6.79 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 6.51 (dd,  $J = 35.2, 8.0$  Hz, 1H), 4.21 (c,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 3.80 – 3.53 (m, 3H), 3.36 (q,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 3.25 – 3.04 (m, 4H), 2.95 (dd,  $J = 11.7, 3.5$  Hz, 1H), 2.85 – 2.72 (m, 2H), 2.56 (dd,  $J = 11.7, 7.5$  Hz, 1H), 2.24 – 2.08 (m, 1H), 2.03 (d,  $J = 5.5$  Hz, 3H), 1.54 – 1.48 (m, 4H), 1.30 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 0.96 – 0.82 (m, 6H).

**IR TF de compuesto B:** 3278.47 y 1107.80  $\text{cm}^{-1}$  (O-H); 1656.87  $\text{cm}^{-1}$  (C=O), 1300.95  $\text{cm}^{-1}$  (C-O de éster); 3074.98  $\text{cm}^{-1}$  (C=C); señal cerca de 3310  $\text{cm}^{-1}$  que es cubierta por la señal del OH, 1547.22  $\text{cm}^{-1}$  (N-H de amina secundaria), 1635.17  $\text{cm}^{-1}$  (C=O de amida); 1197.18  $\text{cm}^{-1}$  (R-O-R).

**$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de compuesto B:**  $\delta$  6.04 (s, 1H), 5.96 (d,  $J = 6.5$  Hz, 1H), 5.21 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 4.27 (dd,  $J = 6.6, 2.4$  Hz, 1H), 3.93 – 3.85 (m, 2H), 3.81 – 3.70 (m, 2H), 3.70 – 3.41 (m, 3H), 3.40 – 3.36 (m, 1H), 2.74 (dd,  $J = 7.5, 4.5$  Hz, 1H), 2.13 (dt,  $J = 10.1, 4.8$  Hz, 1H), 2.03 (s, 3H), 1.73 (d,  $J = 10.9$  Hz, 1H), 1.63 – 1.48 (m, 4H), 0.86 (dt,  $J = 11.0, 7.4$  Hz, 6H).

#### 4.6. Síntesis del compuesto C

Se efectuaron 14 reacciones para la apertura del 1,1-dimetiloxirano con el oseltamivir, las condiciones empleadas y resultados obtenidos se muestran en la tabla 4.5.1. En todas estas reacciones se colocaron los reactivos, **0.2 g de catalizador por cada mmol de oseltamivir y 5 ml de disolvente** en un tubo de ensaye (especial para su uso en microondas) con capacidad de 10 ml, se agregó un pequeño agitador magnético, se tapó el tubo con un tapón de silicón para asegurar un sellado completo, y se introdujo al reactor de microondas por el

tiempo necesario para efectuar la reacción. El seguimiento de las reacciones se hizo mediante cromatografía en capa fina (c.c.f).

Tras la reacción, se filtró por gravedad la mezcla de reacción y se lavó 3 veces con 15 ml de metanol para separar el catalizador del crudo de reacción. Tras el filtrado, se evaporó el disolvente del crudo de reacción con un rotavapor.

Las purificaciones se llevaron a cabo en una placa preparativa de sílice Fluka de (20x20) cm de área, con indicador fluorescente de 254 nm, 200  $\mu\text{m}$  de espesor de la capa de sílice, y con un tamaño de partícula de 25  $\mu\text{m}$ . Se usó como eluyente una mezcla de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  100: MeOH 10:  $\text{NH}_4\text{OH}$  1. Tras el raspado de la sílice, el producto purificado se extrajo con metanol, mismo disolvente que fue usado para el lavado posterior de la sílice con 3 lavados de 15 ml. Tras la evaporación del disolvente se observó una gran cantidad de sílice en las paredes del matraz de bola, por lo que se lavó 3 veces con 10 ml de acetona, se decantó el disolvente con el producto purificado y finalmente se volvió a evaporar el disolvente.

El compuesto C fue caracterizado por espectrometría de resonancia magnética nuclear ( $^1\text{H}$  RMN), espectrofotometría de infrarrojo de transformada de Fourier (IR TF) y espectrometría de masas.

**Tabla 4.6.1.** Esquema general de reacción, condiciones y resultados de las síntesis del compuesto C.

Reacción	Oseltamivir (g)	Relación molar epóxido/oseltamivir	Catalizador	Tiempo (minutos)	Temperatura (°C)	Disolvente	Conversión de Oseltamivir (%) <sup>a</sup>
1	0.0476	1.5	Bentonita 2	10	98	Metanol	14.2
2	0.0459	1.5	Bentonita 2	15	98	Metanol	21.0
3	0.0492	1.4	Bentonita 2	25	98	Metanol	20.8
4	0.0717	1.5	Montmorillonita K10	10	98	Metanol	-----
5	0.0675	1.6	Bentonita 1	25	98	Metanol	37.7
6	0.0732	2.0	Montmorillonita K10	20	98	Metanol	45.2
7	0.0716	2.0	Montmorillonita K10	40	98	Metanol	55.6
8	0.0699	1.5	Montmorillonita K10	40	106	Metanol	47.2
9	0.0530	2.0	Montmorillonita K10	60	98	Metanol	50.4
10	0.0712	2.0	Montmorillonita K10	40	110	Etanol	54.0
11	0.0709	2.0	Montmorillonita K10	60	110	Etanol	51.0
12	0.0741	3.8	Montmorillonita K10	60	98	Etanol	74.2
13	0.0761	3.7	Montmorillonita K10	120	98	Etanol	84.5
14	0.0700	6.0	Montmorillonita K10	60	98	Etanol	85.2

Sólo se realizó una purificación, ésta fue de la reacción 14 y se obtuvo un rendimiento del producto purificado de **52.8 %**. El compuesto es un sólido cristalino blanco.

El epóxido usado en todas las reacciones fue el 1,1-dimetiloxirano.

La potencia del reactor de microondas en las reacciones en las cuales su uso metanol fue de 65 W, mientras que en las que se usó metanol fue de 80 W.

<sup>a</sup>Obtenido de los espectros de los crudos de reacción. **La obtención de este resultado se muestra en la sección 4.8.**

**IR TF:** 3283.99  $\text{cm}^{-1}$  (O-H); 3087.44 y 861.41  $\text{cm}^{-1}$  (C=C de alqueno trisustituido); 1714.57 (C=O de éster  $\alpha,\beta$ -insaturado); señal cerca de 3310  $\text{cm}^{-1}$  que es cubierta por la señal del OH, 1647.10  $\text{cm}^{-1}$  (C=O de amida), 1553.67  $\text{cm}^{-1}$  (N-H de amina secundaria), 1125.34  $\text{cm}^{-1}$  (R-O-R).

**$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  6.81 (s, 1H), 5.77 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 4.22 (c,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 4.13 (d,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 3.89 (dd,  $J = 16.6, 8.6$  Hz, 1H), 3.38 (q,  $J = 5.5$  Hz, 2H), 3.10 (dd,  $J = 14.3, 8.7$  Hz, 1H), 2.67 (d,  $J = 12$ , 1H), 2.51 (d,  $J = 11.8$  Hz, 2H), 2.29 (dd,  $J = 18.0, 8.5$  Hz, 2H), 2.02 (s, 3H), 1.52 (q,  $J = 4.2$  Hz, 4H), 1.31 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.16 (s, 6H), 0.90 (t,  $J = 7.4$  Hz, 6H).

**Espectroscopia de masas:** Muestra el ion molecular en 385 m/z, que coincide con la masa del compuesto C (384 g/mol) más una unidad de m/z;  $M + 1$ .

#### 4.7. Síntesis de los compuesto D y E

Siguiendo el mismo método mostrado para la síntesis del compuesto c, tanto en la preparación de la reacción, en el trabajo de reacción, y en la caracterización; se realizaron dos reacciones para cada compuesto. En la reacción para la obtención del compuesto D, se abre 1,2-epoxibutano con oseltamivir; mientras que en la reacción para la obtención del compuesto E de abre 1,2-epoxipropano con oseltamivir. Las condiciones empleadas y los resultados obtenidos se muestran en las tablas 4.7.1 y 4.7.2 para los compuestos D y E respectivamente, todas estas reacciones se llevaron a cabo usando montmorillonita K10 como catalizador.

**Tabla 4.7.1.** Esquema general de reacción, condiciones y resultados de las síntesis del compuesto D. Se obtuvo la mezcla de ambos diasterómeros.

<p style="text-align: center;">Oseltamivir + 1,2-Epoxibutano <math>\xrightarrow[\text{Etanol}]{\text{Montmorillonita K10, microondas}}</math> Compuesto D</p>			
Reacción	Oseltamivir (g)	Relación molar epóxido/ oseltamivir	Conversión de oseltamivir (%) <sup>a</sup>
1	0.0657	3.9	74.1
2	0.0899	6.1	89.2
<p>Sólo se realizó una purificación, ésta fue de la reacción 2 y se obtuvo un rendimiento del producto purificado de <b>47.6 %</b>. El compuesto es un sólido cristalino blanco.</p>			

En todas las reacciones se usó Montmorillonita K10 como catalizador.

El epóxido usado en todas las reacciones fue el 1,2-epoxibutano.

La potencia y temperatura del reactor de microondas para ambas reacciones fueron: 80 W y 98 °C respectivamente.

El tiempo de reacción y el disolvente empleado para ambas reacciones fueron: 60 minutos y etanol.

<sup>a</sup>Obtenido de los espectros de los crudos de reacción. **La obtención de este resultado se muestra en la sección 4.8.**

**Tabla 4.7.2.** Esquema general de reacción, condiciones y resultados de las síntesis del compuesto E. Se obtuvo la mezcla de ambos diasterómeros.

<p style="text-align: center;">Oseltamivir + 1,2-Epoxypropano <math>\xrightarrow[\text{Etanol}]{\text{Montmorillonita K10, microondas}}</math> Compuesto E</p>			
Reacción	Oseltamivir (g)	Relación molar epóxido/ oseltamivir	Conversión de oseltamivir (%) <sup>a</sup>
1	0.0580	3.8	77.0
2	0.0737	6.1	89.8
<p>Sólo se realizó una purificación, ésta fue de la reacción 2 y se obtuvo un rendimiento del producto purificado de <b>57.1 %</b>. El compuesto es un sólido cristalino blanco.</p>			

En todas las reacciones se usó Montmorillonita K10 como catalizador.

El epóxido usado en todas las reacciones fue el 1,2-epoxibutano.

La potencia y temperatura del reactor de microondas para ambas reacciones fueron: 80 W y 98 °C respectivamente.

El tiempo de reacción y el disolvente empleado para ambas reacciones fueron: 60 minutos y etanol.

<sup>a</sup>Obtenido de los espectros de los crudos de reacción. **La obtención de este resultado se muestra en la sección 4.8.**

**IR TF de compuesto D:** 3274.61  $\text{cm}^{-1}$  (O-H); 3096.64 y 860.92  $\text{cm}^{-1}$  (C=C de alqueno trisustituido); 1715.56  $\text{cm}^{-1}$  (C=O de éster  $\alpha,\beta$ -insaturado); 3310  $\text{cm}^{-1}$  que es cubierta por la señal del OH, 1650.62  $\text{cm}^{-1}$  (C=O de amida), 1559.02  $\text{cm}^{-1}$  (N-H de amina secundaria); 1125.97  $\text{cm}^{-1}$  (R-O-R).

**$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de compuesto D:**  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{cdcl}_3$ )  $\delta$  6.80 (s, 1H), 5.87 (t,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 4.22 (c,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 3.84 – 3.61 (m, 1H), 3.50 – 3.47 (m, 1H), 3.37 (t,  $J = 5.6, 2.2$  Hz, 1H), 3.27 – 3.02 (m, 1H), 2.94 – 2.67 (m, 2H), 2.57 – 2.07 (m, 4H), 2.02 (d,  $J = 4.0$  Hz, 3H), 1.59 – 1.38 (m, 6H), 1.30 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.01 – 0.82 (m, 9H).

**Espectroscopia de masas de compuesto D:** Muestra el ion molecular en 385 m/z, que coincide con la masa del compuesto D (384 g/mol) más una unidad de m/z;  $M + 1$

**IR TF de compuesto E:** 3275.99  $\text{cm}^{-1}$  (O-H); 1714.70  $\text{cm}^{-1}$  (C=O de éster  $\alpha,\beta$ -insaturado); 3097.08 y 853.48  $\text{cm}^{-1}$  (C=C de alqueno trisustituido); señal cerca de 3310  $\text{cm}^{-1}$  que es cubierta por la señal del OH, 1647.65  $\text{cm}^{-1}$  (C=O de amida), 1559.54  $\text{cm}^{-1}$  (N-H de amina secundaria); 1126.95  $\text{cm}^{-1}$  (R-O-R).

**$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de compuesto E:**  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{cdcl}_3$ )  $\delta$  6.80 (d,  $J = 1.5$  Hz, 1H), 5.95 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 4.22 (c,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 3.83 – 3.62 (m, 1H), 3.37 (td,  $J = 5.7, 2.6$  Hz, 1H), 3.17 (dtd,  $J = 14.7, 8.8, 5.3$  Hz, 1H), 2.92 – 2.60 (m, 4H), 2.47 (dd,  $J = 12.3, 9.5$  Hz, 1H), 2.35 – 2.08 (m, 2H), 2.02 (d,  $J = 4.2$  Hz, 3H), 1.59 – 1.42 (m, 4H), 1.30 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.13 (dd,  $J = 10.2, 5.1$  Hz, 3H), 0.89 (td,  $J = 12.0, 6.0$  Hz, 6H).

**Espectroscopia de masas de compuesto E:** Muestra el ion molecular en 763, que concuerda con el doble de la masa del compuesto E (370) más 23 unidades de m/z;  $2M + 23$  que se explica por la detección de un dímero más sodio.

#### 4.8. Determinación del porcentaje de conversión de oseltamivir

Para poder obtener este resultado es necesario que el crudo de reacción no muestre la formación de muchos productos, por lo que el caso ideal es que sólo se observe la materia prima (oseltamivir) y un producto; sin embargo, si hay subproductos en mucha menor cantidad que el producto principal y la materia prima, aún se puede hacer esta determinación.

Se debe contar con los espectros de  $^1\text{H}$  RMN de la materia prima (el espectro del oseltamivir se encuentra en el anexo B) y el producto puros, esto con la finalidad de poder ubicar las señales de cada uno de ellos en el espectro del crudo de reacción.

En todos los casos se usaron la señal del acetilo de la amida del oseltamivir y el acetilo de la amida del producto de la reacción, nótese que ambas señales corresponden a la misma cantidad de hidrógenos, esto es muy importante porque de no ser así, se tendría que normalizar la integración de las señales.

La suma de la integración de ambas señales corresponde al 100 % del crudo de reacción, por lo que la integración individual de las señales, **por simple regla de tres**, corresponde al porcentaje que representa cada una de las sustancias (materia prima y producto) en el crudo de reacción. El “porcentaje de conversión de oseltamivir” es el 100 % menos el porcentaje de oseltamivir presente en el crudo de reacción.



## 5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 5.1. Optimización de las síntesis

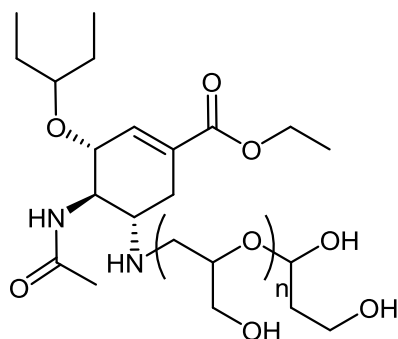
#### 5.1.1. Síntesis de los compuestos A y B

**Para esta sección se deberá consultar la tabla 4.5.1 (página 31).** En las primeras reacciones realizadas sin disolvente se mostró la formación del compuesto A y hasta 3 subproductos, generalmente minoritarios (observados mediante c.c.f) hasta que se usó una relación molar glicidol/oseltamivir de 2.0 o 30 minutos de reacción (reacciones 3 y 5 respectivamente); en estas reacciones no se observó la formación de la lactona (compuesto B). Las reacciones en las que se usó 1,4-dioxano mostraron tanto la formación del compuesto A como el B (verificado por c.c.f), el producto B siempre fue mayoritario y se observaron hasta 5 subproductos. En las reacciones en las que se empleó metanol se observó un sólo producto, siendo éste el compuesto B.

La comparación entre la reacción 2 y 4 muestran que el incremento en la relación molar, de 1.1 a 1.5 no repercute notablemente en la conversión del oseltamivir, pues sólo pasa de un 85.03 a 86.38 %; sin embargo, el aumento a 2.0 en la relación molar (reacción 3), aunque aumenta la conversión (observado por c.c.f), también aumenta la formación de subproductos hasta el punto de no poder distinguirse el producto principal por c.c.f. La misma observación hecha para la reacción 3 es válida para la reacción 5, sólo que esta vez producida por un tiempo de reacción de 30 minutos. Se determinó que la relación molar de 1.5 era la adecuada, pues se obtiene una buena conversión sin generarse muchos subproductos.

Es de destacarse que aunque hay buenas conversiones de oseltamivir en las reacciones 1 a 5 (todas ellas sin disolvente), se obtuvo un pobre rendimiento del producto puro, es muy probable que esto se deba a la polimerización del compuesto A con más moléculas de glicidol (figura 5.1.1.1). Esta conjetura se apoya en que la masa del crudo de reacción es mayor que lo esperado, lo cual es

fácilmente explicable si los subproductos obtenidos tienen mayor masa que el producto A; en que por c.c.f se observa que los subproductos son más polares que el compuesto A, lo cual puede atribuirse a una mayor cantidad de grupos OH presentes en las moléculas; y finalmente, en que en los espectros de  $^1\text{H}$  RMN de los subproductos se observa el doble de la integración para los átomos de hidrógeno proveniente del glicidol de los que deberían estar presentes en el compuesto A.



**Figura 5.1.1.1.** Posibles subproductos de reacción en la obtención del compuesto A.

En las reacciones con 1,4-dioxano se formó la mayor cantidad de subproductos, obteniéndose todos los productos de las reacciones que se realizaron sin disolvente; sin embargo, es importante recalcar que el uso del disolvente promovió la ciclización para la formación de la lactona (compuesto B) como producto principal. El aumento en el tiempo de reacción, de 10 a 30 minutos (reacciones 6 y 7), no presentó una mejora notable en la conversión de oseltamivir.

El uso de metanol (reacciones 8 a 10) arrojó resultados completamente distintos a los obtenidos en las reacciones previas. Se observó que el compuesto B fue el único producto, por lo que el metanol favorece enormemente la ciclización. El aumento en el tiempo de reacción, a diferencia de las reacciones sin metanol, generó una mejora notable en el consumo del oseltamivir, bastando 20 minutos para una conversión del 100 %. Se considera que las condiciones óptimas para la síntesis de compuesto B son las indicadas para la reacción 10. No se logró optimizar la obtención del compuesto A.

### 5.1.2. Síntesis del compuesto C

**Para esta sección se deberá consultar la tabla 4.6.1 (página 34).** En todas las reacciones se observó un solo producto principal y un subproducto en bastante menor cantidad (observado mediante c.c.f).

En estas reacciones se probaron distintos catalizadores, siendo estos: bentonita 1, bentonita 2 y montmorillonita K10, cada uno de ellos con una composición diferente mostrada en la tabla 4.3.3. La comparación de los resultados de la reacción 3 (en la que se usó bentonita 2) y 5 (en la que se usó bentonita 1) muestran que la bentonita 1 es mejor catalizador que la bentonita 2, pues se obtienen resultados de 20.80 y 37.69 % de conversión de oseltamivir respectivamente; aunque no se tiene exactamente la misma relación molar en ambas reacciones, la variación es muy pequeña para atribuirle la gran diferencia de conversión de oseltamivir. La comparación de las reacciones 4 y 5 por c.c.f, en las que se usa montmorillonita K10 y bentonita 1 respectivamente, mostraron que la montmorillonita K10 conseguía un mayor consumo del oseltamivir que la bentonita 1 y, por lo tanto, que la bentonita 2 también. Se determinó que el mejor catalizador es la montmorillonita K10.

Se usó metanol y etanol como disolventes, y se determinó que el etanol es el mejor disolvente para la reacción debido a que algunos espectros de crudo mostraron señales de transesterificación del éster etílico al éster metílico cuando se usó metanol, además no se pudo llegar a 110 °C sin alcanzar una presión peligrosa para el reactor de microondas.

Los resultados de las reacciones 7 y 10, llevadas a cabo a 98 y 110 °C respectivamente, muestran que el aumento de la temperatura no conlleva una mejora notable en la conversión de oseltamivir, pues se obtienen resultados de conversión de oseltamivir similares, siendo estos 55.56 y 54.02 % respectivamente.

La comparación entre los resultados de las reacciones 10 (40 minutos de reacción) y 11 (60 minutos de reacción) muestran que un aumento de 20 minutos

no tiene un gran efecto en la conversión de oseltamivir, obteniéndose 54.02 y 50.98 % respectivamente para cada reacción; sin embargo, la misma comparación en las reacciones 12 (60 minutos de reacción) y 13 (120 minutos de reacción) muestran que el aumento de una hora sí genera una mejora, al pasar de 74.19 a 84.51 % de conversión de oseltamivir.

Se puede observar, mediante la comparación de los resultados de las reacciones 9, 12 y 14 (con relaciones molares de 2.0, 3.8 y 6.0 respectivamente), que el aumento en la relación molar 1,1-dimetiloxirano/oseltamivir influye bastante en la mejora de la reacción, obteniéndose resultados de conversión de oseltamivir de 50.36, 74.19 y 85.24 % respectivamente.

Las condiciones de las reacciones 13 y 14 son las que mejores resultados obtuvieron, por lo que ambas son condiciones óptimas para la síntesis del compuesto.

### **5.1.3. Síntesis del compuesto D**

**Para esta sección se deberá consultar la tabla 4.7.1 (página 36).** En estas reacciones se obtuvo como producto único el compuesto D y un subproducto que era apenas visible (c.c.f) en la reacción 2.

Para estas síntesis se trabajó con las condiciones optimizadas previamente (uso de montmorillonita K10 y 60 minutos de reacción), probándose sólo la relación molar 1,2-epoxibutano/oseltamivir. La reacción 1 (relación molar de 3.9) y la reacción 2 (relación molar de 6.1) muestran claramente que la mejor relación molar es 6.1, pues los resultados de conversión de oseltamivir fueron 74.09 y 89.18 % respectivamente.

Se pensó que el 1,2-epoxibutano, al ser un epóxido menos impedido estericamente (comparado con el 1,1-dimetiloxirano), favorecería más la reacción; sin embargo, en las mismas condiciones de reacción, hay una conversión similar de oseltamivir (reacción 14 de tabla 4.6.1 y reacción 2 de tabla 4.7.1). Las mejores condiciones de reacción son las descritas para la reacción 2.

#### **5.1.4. Síntesis del compuesto E**

**Para esta sección se deberá consultar la tabla 4.7.2 (página 37).** En estas reacciones se obtuvo como producto único el compuesto E y dos subproductos que eran apenas visibles (c.c.f) en la reacción 2.

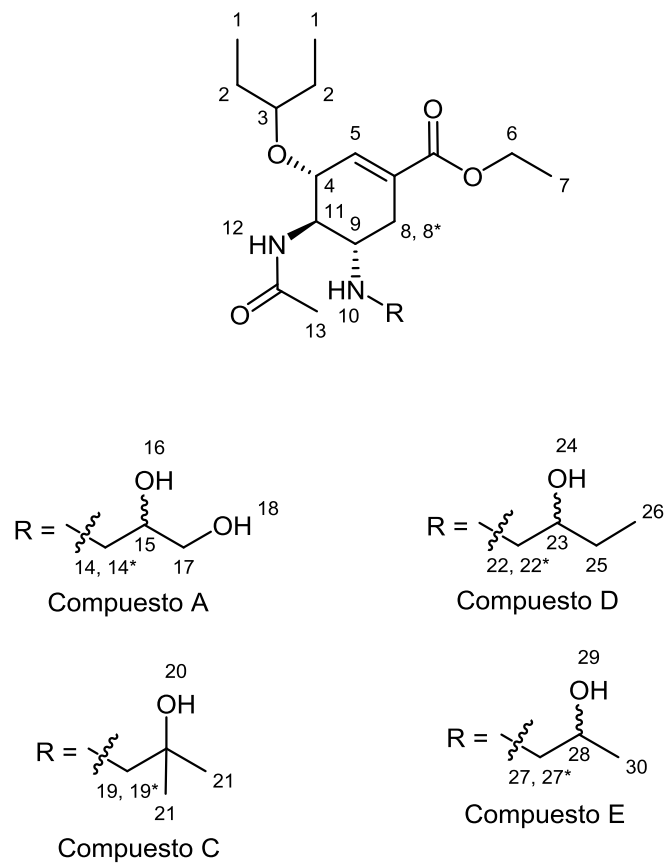
Al igual que para la síntesis del compuesto D, sólo se probó la relación molar entre los reactivos. El epóxido usado para estas síntesis es el menos impedido de todos los usados, aun así no mostró una mejora en los rendimientos de reacción, obteniéndose resultados muy parecidos a los de las síntesis del compuesto d (comparación de tablas 4.7.1 y 4.7.2) y llegando así a la misma conclusión: la relación molar más grande es mejor. Las condiciones óptimas para esta síntesis son las mostradas para la reacción 2.

## **5.2. Caracterización por $^1\text{H}$ RMN de los compuestos**

### **5.2.1. Compuestos A, C, D y E**

En las caracterizaciones mostradas a continuación, se describen aquellas señales debidas a la parte de la estructura que comparten todos los compuestos, y por ello tienen carácter de generales. Además se muestran también las señales particulares, que son aquellas que pertenecen a las partes diferentes en las estructuras de los compuestos

La figura 1 ilustra cada uno de los compuestos. Todos los datos espectroscópicos descritos a continuación se encuentran en el desarrollo experimental de la síntesis de cada compuesto, así mismo, los espectros de  $^1\text{H}$  RMN se encuentran en el anexo B.



**Figura 5.2.1.1.** Esquema general de las estructuras de los compuestos A, C, D y E. La numeración denota cada señal de hidrógenos distintos y concuerdan con la numeración usada en las tablas 5.2.1.1 – 5.2.1.4, los números con asterisco denotan hidrógenos diastereotópicos.

**Tabla 5.2.1.1.** Interpretación del espectro de  $^1\text{H}$  RMN del compuesto A, la numeración en la columna “tipo de hidrógeno de la señal” coincide con la numeración de la figura 5.2.1.1.

Tipo de señal	Tipo de hidrógeno de la señal	Multiplicidad	Desplazamiento químico (ppm)	Constante de acoplamiento (Hz)
Generales	1	m	0.96 – 0.82	-----
	2	m	1.54 – 1.48	-----
	3	q	3.36	5.7
	4, 9 y 11	m, todas las señales aparecen en la misma zona	3.80 – 3.53	-----
	5	d	6.79	2.4
	6, 10	c, la señal de 10 queda oculta por la señal de 6	4.21	7.1
	7	t	1.30	7.1
	8	m	2.24	-----
	8*	dd	2.56	11.7, 7.5
	12	dd	6.51	35.2, 8.0
	13	d	2.03	5.5
Particulares	14	dd	2.95	11.7, 3.5
	14*, 16	m, señales en la misma zona	2.85 – 2.72	-----
	15, 17 y 18	m, todas las señales aparecen en la misma zona	3.25 – 3.04	-----

Las líneas punteadas significan que no hay una constante de acoplamiento asociada a dicha señal.

**Tabla 5.2.1.2.** Interpretación del espectro de  $^1\text{H}$  RMN del compuesto C, la numeración en la columna “tipo de hidrógeno de la señal” coincide con la numeración de la figura 5.2.1.1.

Tipo de señal	Tipo de hidrógeno de la señal	Multiplicidad	Desplazamiento químico (ppm)	Constante de acoplamiento (Hz)
Generales	1	t	0.90	7.4
	2	q	1.52	4.2
	3 y 9	q, la señal de 3 oculta a la señal de 9	3.38	5.5
	4	dd	3.89	16.6, 8.6
	5	s	6.81	-----
	6	c	4.22	7.1
	7	t	1.31	7.1
	8	dd	2.29	18.0, 8.5
	8*	Señal oculta por la señal de 19	2.51	-----
	10	d	4.13	5.7
	11	dd	3.10	14.3, 8.7
	12	d	5.77	8.3
	13	s	2.02	-----
Particulares	19	d	2.51	11.8
	19*	d	2.67	12
	20	Señal oculta por la señal de 8	2.29	-----
	21	s	1.16	-----

Las líneas punteadas significan que no hay una constante de acoplamiento asociada a dicha señal.



**Tabla 5.2.1.3.** Interpretación del espectro de  $^1\text{H}$  RMN del compuesto D, la numeración en la columna “tipo de hidrógeno de la señal” coincide con la numeración de la figura 5.2.1.1.

Tipo de señal	Tipo de hidrógeno de la señal	Multiplicidad	Desplazamiento químico (ppm)	Constante de acoplamiento (Hz)
Generales	1	m, señal encimada con la señal de 26	1.01 – 0.82	-----
	2	m, señal encimada con la señal de 25	1.59 – 1.38	-----
	3	t	3.37	2.2
	4	m	3.84-3.61	-----
	5	s	6.80	-----
	6 y 10	C, la señal de 10 queda oculta por la señal de 6	4.22	7.1
	7	t	1.30	7.1
	8 y 8*	m, señales en la misma zona que las señales de 22 y 22'	2.57 – 2.07	-----
	9	m	3.50 – 3.47	-----
	11	m	3.27-3.02	-----
	12	t	5.87	8.4
13	d	2.02	4.0	
Particulares	22 y 22*	m, señales en la misma zona que las señales de 8 y 8'	2.57 – 2.07	-----
	23 y 24	m, señales en la misma zona	2.94 – 2.67	-----
	25	m, señal encimada con la señal de 2	1.59 – 1.38	-----
	26	m, señal encimada con la señal de 1	1.01 – 0.82	-----

Las líneas punteadas significan que no hay una constante de acoplamiento asociada a dicha señal.

**Tabla 5.2.1.4.** Interpretación del espectro de  $^1\text{H}$  RMN del compuesto E, la numeración en la columna “tipo de hidrógeno de la señal” coincide con la numeración de la figura 5.2.1.1.

Tipo de señal	Tipo de hidrógeno de la señal	Multiplicidad	Desplazamiento químico (ppm)	Constante de acoplamiento (Hz)
Generales	1	td	0.89	12.0, 6.0
	2	m	1.59 – 1.42	
	3	td	3.37	5.7, 2.6
	4	m	3.83 – 3.62	
	5	d	6.80	1.5
	6 y 10	c, la señal de 10 queda oculta por la señal de 6	4.22	7.1
	7	t	1.30	4.1
	8	m, señal en la misma zona que la señal de 29	2.35 – 2.08	-----
	8*	dd	2.47	9.5
	9	m, señales en la misma zona que las señales 27 y 28	2.92 – 2.60	-----
	11	dtd	3.17	14.7, 8.8, 5.3
	12	d	5.95	7.7
	13	d	2.02	4.2
Particulares	27, 27* y 28	m, señales en la misma zona que la señal 9	2.92 – 2.60	-----
	29	m, señal en la misma zona que la señal de 8	2.35 – 2.08	-----
	30	dd	1.13	10.2, 5.1

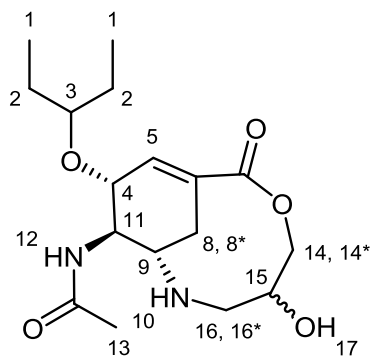
Las líneas punteadas significan que no hay una constante de acoplamiento asociada a dicha señal.

Es importante recalcar que tal como se esperaba, todos los espectros son muy similares entre ellos y al oseltamivir debido a que comparten la misma estructura general, por lo que las señales de esta parte de la estructura (señales generales) son muy parecidas en todos los espectros. Los desplazamientos químicos de las señales generales no varían más de  $\pm 0.5$  ppm en todos los espectros, mientras que las multiplicidades si lo hacen a causa de las mezclas de diasterómeros. El compuesto C, al ser estereoquímicamente puro, es la mejor guía para conocer las multiplicidades reales en los espectros de los compuestos.

Las mezclas de diasterómeros generan multiplicidades diferentes a las que se esperaría en un compuesto estereoquímicamente puro, debido a que en realidad el espectro obtenido es de dos compuestos diferentes; sin embargo, al ser compuestos tan similares, los desplazamientos químicos de las señales son muy parecidos y por ello estas señales se enciman, dando la apariencia de que las señales se duplican o generando multipletes.

### **5.2.2. Compuesto B**

El compuesto B, a causa de la formación de la lactona que genera un biciclo puenteado, y pese a conservar una buena parte de la estructura de los compuestos A, C, D y E, es estructuralmente muy diferente a los compuestos analizados previamente, razón por la cual, como se mostrará a continuación y como se puede apreciar en el anexo B, el espectro de este compuesto difiere notablemente a los espectros analizados anteriormente.

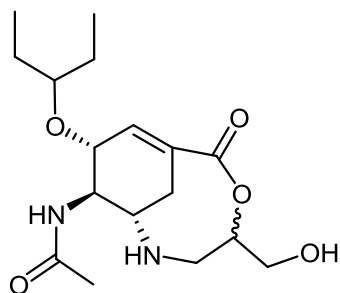


**Figura 5.2.2.1.** Estructura del compuesto B. La numeración denota cada señal de hidrógenos distintos y concuerdan con la numeración usada en la tabla 5.2.2.1. La parte de la estructura que se comparte con los compuestos A, C, D y E, comparte la misma numeración dada en la figura 5.2.1.1. Los números con asterisco denotan hidrógenos diasterotópicos.

**Tabla 5.2.2.1.** Interpretación del espectro de  $^1\text{H}$  RMN del compuesto B, la numeración en la columna “tipo de hidrógeno de la señal” coincide con la numeración de la figura 5.2.2.1.

Tipo de señal	Tipo de hidrógeno de la señal	Multiplicidad	Desplazamiento químico (ppm)	Constante de acoplamiento (Hz)
Generales	1	dt	0.86	11.7, 7.4
	2	m	1.63 – 1.48	-----
	3	m, señal que oculta a la señal de 16	3.81 – 3.70	-----
	4	dd	4.27	6.8, 2.4
	5	d	5.21	7.6
	8	dt	2.13	10.1, 4.8
	8*	dd	2.74	7.5, 4.5
	9	d	1.73	10.9
	10	s	6.04	-----
	11	m, señal encimada con la señal de 14	3.93 – 3.85	-----
	12	d	5.96	6.5
	13	s	2.03	-----
Particulares	14	m, señal encimada con la señal de 11	3.93 – 3.85	-----
	14*	m	3.40 – 3.36	-----
	15, 16 y 17	m	3.70 – 3.41	-----
	16*	m, señal que queda oculta por la señal de 3	2.18 – 2.07	-----

Una de las principales dificultades durante el desarrollo experimental de este trabajo fue la correcta elucidación de la estructura del compuesto B, pues se determinaron dos posibles estructuras que podrían pertenecer a este compuesto. La primera estructura en que se pensó se muestra en la figura 5.2.2.2, la segunda y correcta estructura, es la mostrada en la figura 5.2.2.1.

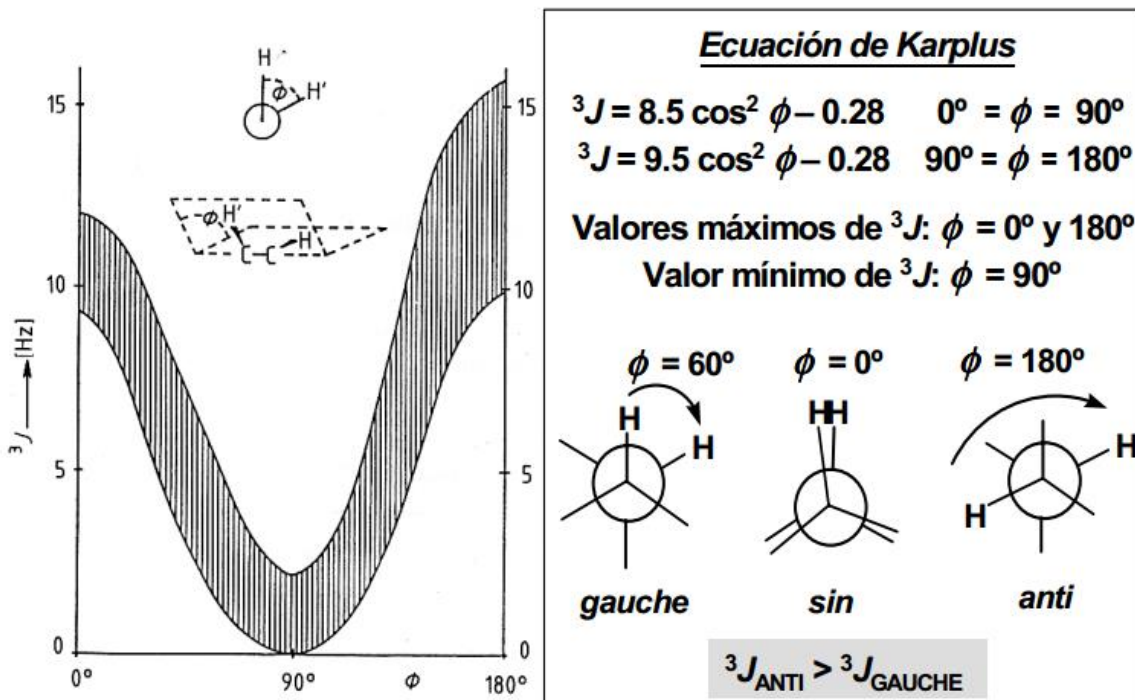


**Figura 5.2.2.2.** Estructura descartada del compuesto B.

La elucidación de la estructura se hizo mediante  $^1\text{H}$  RMN de doble irradiación, y el análisis de Modelación Molecular usando cálculos de Densidades de la Funcionalidad B3LYP con bases 63111++G\*\* (13), y PM6 usando SM8 (caja de disolventes  $\text{H}_2\text{O}$ ).

El uso de RMN  $^1\text{H}$  de doble irradiación nos permitió ver las señales de hidrógenos acoplados entre sí. Se pueden observar los acoplamientos del hidrógeno 8\* (señal en 2.74 ppm) con el hidrógeno 8, con el hidrógeno 11 y con el hidrógeno 9 (señales en 2.13 ppm, 3.93 – 3.85 ppm y 1.78 ppm respectivamente); los acoplamientos del hidrógeno 8 con el hidrógeno 8\*, con el hidrógeno 11 y con el hidrógeno 5 (señal en 5.21 ppm); y los acoplamientos del hidrógeno 4 (señal en 4.27 ppm) con el hidrógeno 11 y con el hidrógeno 10 (6.04 ppm). Los espectros de doble irradiación se encuentran en el anexo B.

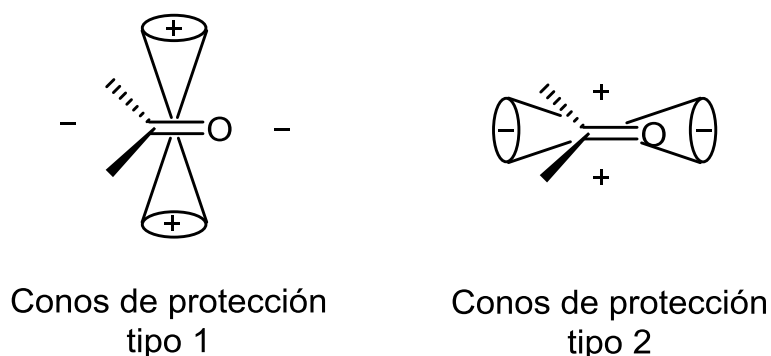
El uso de la Modelación Molecular y la ecuación de Karplus (ecuación que relaciona las constantes de acoplamiento de hidrógenos acoplados entre sí, con el ángulo diedro entre estos)<sup>51,52</sup>, nos permitió observar una buena correlación entre las constantes de acoplamiento experimentales y los ángulos diedros obtenidos mediante el cálculo de la geometría de equilibrio del compuesto B.



**Figura 5.2.2.3.** Ecuación de Karplus que relaciona la constantes de acoplamiento de hidrógenos acoplados entre sí, con el ángulo diedro entre estos mismos hidrógenos.<sup>53</sup>

Al comparar este espectro con los de los compuestos analizados anteriormente, usando como referencia el espectro del compuesto C (tabla 5.2.1.2) porque es estereoquímicamente puro, se pueden apreciar, de manera muy notoria, las diferentes multiplicidades de las señales generales del compuesto B con respecto al compuesto C, aunque se sabe que esto puede ser producido por la mezcla de diastéromeros.

Se observa también que los desplazamientos químicos de la mayoría de las señales generales no varían notoriamente, aunque sí hay cambios considerables en tres de estas señales: la señal del hidrógeno 5 pasa de 6.81 a 5.21 ppm, la señal del hidrógeno 9 pasa de 3.38 a 1.73 ppm, y la señal del hidrógeno de 10 pasa de 4.13 a 6.04 ppm. Todos estos cambios se explican fácilmente con la ayuda de la estructura de la geometría de equilibrio del compuesto B y el efecto anisotrópico de los carbonilos, que es capaz de generar conos de protección electrónica perpendiculares o paralelos al plano del carbonilo<sup>54</sup> (figura 5.2.2.4).



**Figura 5.2.2.4.** Efecto anisotrópico de carbonilos que genera dos tipos de conos de protección electrónica, protección electrónica perpendicular al plano del carbonilo (tipo 1) y protección electrónica paralela al plano del carbonilo (tipo 2).

El desplazamiento de la señal del hidrógeno 5 hacia campo más alto se debe a que se ubica coplanar al carbonilo del éster, colocándose en el cono de protección (tipo 2) del éster. El mismo efecto mencionado anteriormente ocasiona que la señal del hidrógeno 9 se desplace hacia campo más alto, pero esta vez ocasionado por el carbonilo de la amida que está coplanar a este hidrógeno. El desplazamiento de la señal del hidrógeno 10 hacia campo más bajo es causado por la desprotección del carbonilo de la amida, que no se encuentra coplanar al hidrógeno 10. En la tabla 5.2.2.2 se encuentran resumidos los efectos de protección y desprotección que se mencionaron anteriormente, además se describen los ángulos diedros y distancias entre los carbonilos que causan estos efectos, y los hidrógenos que los sufren. La figura 5.2.2.5 muestra la geometría de equilibrio del compuesto B.

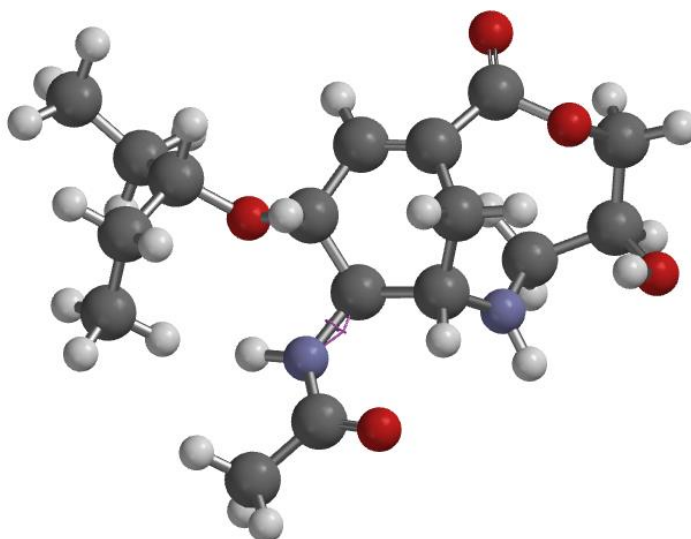


**Tabla 5.2.2.2.** Efectos de protección y desprotección que ocasionan los desplazamientos de las señales de los hidrógenos 5, 9 y 10.

Tipo de señal	Desplazamiento químico (ppm)		Orientación del desplazamiento	Efecto que provoca el desplazamiento	Ángulo diedro <sup>a</sup>	Distancia (Å) <sup>b</sup>
	Compuesto C (referencia)	Compuesto B				
5	6.81	5.21	Hacia campo más alto	Protección del carbonilo del éster	1.60°	2.84
9	3.38	1.73	Hacia campo más alto	Protección del carbonilo de la amida	7.36°	1.91
10	4.13	6.04	Hacia campo más bajo	Desprotección del carbonilo de la amida	52.25°	3.48

<sup>a</sup>Ángulo diedro entre el carbonilo y el hidrógeno que sufre el efecto de protección o desprotección.

<sup>b</sup>Distancia entre el el carbonilo y el hidrógeno que sufre el efecto de protección o desprotección.



**Figura 5.2.2.5.** Geometría de equilibrio del compuesto B.

Como se mencionó anteriormente en los resultados de optimización de las síntesis, la reacción entre el glicidol y el oseltamivir, en ausencia de disolvente, genera el compuesto A, mientras que con disolvente produce el compuesto B. El hecho de que no se produzcan más compuestos cíclicos en todas las demás reacciones entre el oseltamivir y otros epóxidos, aún en presencia de disolvente, indica que el mecanismo de reacción por el cual se forma el producto B debe ser diferente al que se sigue para la formación de los compuestos A, C, D, y E, diferencia debida a que el glicidol es el único epóxido usado que tiene un alcohol en su estructura.

Los compuestos A, C, D, y E, se forman mediante un mecanismo simple, en el que la amina primaria del oseltamivir ataca al carbono menos impedido del epóxido para provocar la posterior apertura de éste.

El mecanismo de formación del compuesto B indica que en presencia de disolvente, seguramente debido al medio más polar que esto implica, el oseltamivir se transesterifica con el glicidol en un primer paso, pasando así del éster etílico a un éster con glicidol. El segundo y último paso es el ataque nucleofílico intramolecular de la amina primaria del oseltamivir al carbono menos impedido del anillo oxiránico del glicidol, generando así su apertura. Este mecanismo descarta la generación del compuesto con la estructura mostrada en la figura 5.2.2.2.

## 6. CONCLUSIONES

- Se sintetizaron cinco  $\beta$ -aminoalcoholes derivados del oseltamivir, que podrían presentar actividad como inhibidores de neuraminidasa de virus de influenza.
- Los compuestos sintetizados fueron caracterizados mediante Espectrometría IR TF,  $^1\text{H}$  RMN y masas, siendo la excepción los compuestos A y B, que sólo fueron caracterizados mediante las primeras dos técnicas.
- La caracterización del compuesto B se apoyó fuertemente en cálculos y análisis de Modelación Molecular.
- Se optimizaron las síntesis de todos los compuestos con excepción del compuesto A, para el cual no se encontraron las mejores condiciones de síntesis.

## 7. REFERENCIAS

1. Pérez-Breña, P. La prevención y lucha contra una posible pandemia de gripe aviar. *Instituto de Salud Carlos III*, 241-274 (2009).
2. Ayora-Talavera, G. Influenza: Historia de una enfermedad. *Rev. Biomed.* **10**, 57-61 (1999).
3. Acuña, G. Influenza: Historia y amenazas. *Rev. Chil. Infect.* **21**, 162-162 (2004).
4. Potter, C. W. A history of influenza. *Journal of Applied Microbiology* **91**, 572-579 (2001).
5. Solórzano-Santos, F., Miranda-Navales, M. G. Influenza. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.* **66**, 461-473 (2009).
6. Glezen, W. P. Emerging Infections: Pandemic Influenza. *Epidemiol. Rev.* **18**, 64-76 (1996).
7. García-García, J., Ramos, C. La influenza, un problema vigente de salud pública. *Salud pública de México* **48**, 244-267 (2006).
8. Kilbourne, E. D. Influenza pandemics of the 20th century. *Emerging Infectious Diseases* **12**, 9-14 (2006).
9. Cox, N. J. & Subbarao K. Global epidemiology of influenza: past and present. *Annu. Rev. Med.* **51**, 407-421 (2000).
10. Labella, A. M., Merel, S. E. Influenza. *Med. Clin. N. Am.* **97**, 621-645 (2013).
11. Lewis, D. B. Avian flu to human influenza. *Annu. Rev. Med.* **57**, 139-154 (2006).
12. Navarro-Reynoso, F. P., Abdo-Francis, M., Ibarra-Pérez, C. Sobre la epidemia de influenza tipo A (H1N1) en el Hospital General de México. *Rev. Med. Hosp. Gen. Mex.* **72**, 63-67 (2009).
13. Laguna-Torres, V. A., Gomez-Benavides, J. Infection and death from influenza A H1N1 virus in Mexico. *Lancet* **374**, 2032-2033 (2009).
14. Girard, M. P., Tam, J. S., Assossou, O. M., Kieny, M. P. The 2009 A (H1N1) influenza virus pandemic: A review. *Vaccine* **28**, 4895-4902 (2010).
15. Neumann, G., Noda, T., Kawaoka, Y. Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. *Nature* **459**, 931-939 (2009).

16. Echevarría-Zuno, S., Mejía-Aranguré, J. M., Mar-Obeso, A. J., Grajales-Muñiz, C., Robles-Pérez, E., González-León, M., Ortega-Álvarez, M. C., González Bonilla, C., Rascón-Pacheco, R. A., Borja-Aburto, V.H. Infection and death from influenza A H1N1 virus in Mexico: a retrospective analysis. *Lancet* **374**, 2072-2079 (2009).
17. Hilleman, M. R. Realities and enigmas of human viral influenza: pathogenesis, epidemiology and control. *Vaccine* **20**, 3068-3087 (2002).
18. Suarez, D. L., Schultz-Cherry, S. Immunology of avian influenza virus: a review. *Developmental and Comparative Immunology* **24**, 269-238 (2000).
19. Manjarrez-Zavala, M. E., Arenas-López, G. Virus influenza: enigma del pasado y del presente. *Rev. Inst. Nat. Enf. Resp. Mex.* **12**, 290-299 (1999).
20. Von Itzstein, M. The war against influenza: discovery and development of sialidase inhibitors. *Nature* **6**, 967-974 (2007).
21. Gubareva, L. V., Kaiser, L., Hayden, F.G. Influenza virus neuraminidase inhibitors. *Lancet* **355**, 827-835 (2000).
22. Air, G. M. Influenza neuraminidase. *Influenza and Other Respiratory Viruses* **6**, 245-256 (2012).
23. Johnson, N. P., Mueller J. Updating the accounts: global mortality of the 1918-1920 "Spanish" influenza pandemic. *Bull. Hist. Med.* **76**, 105-115 (2002).
24. <http://www.eluniversal.com.mx/nacion-mexico/2014/suman-227-muertos-por-la-influenza-ah1n1-ssa-983270.html> Consultado el 31/01/20134.
25. <http://espanol.cdc.gov/enes/flu/about/disease/symptoms.htm> Consultado el 05/02/2014.
26. <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/virologia/influenza.html> Consultado el 05/02/2014.
27. Swayne, D. E. Avian influenza. 1er edición. Blackwell Publishing. EUA. 3-24 (2008).
28. Perret P. C., Babanch P. J. Influenza Aviar y Riesgo de Pandemia. *Rev. Chil. Pediatr.* **79**, 358-363 (2008).
29. Wade, L. G. Química Orgánica. 5ta edición. Pearson. España. 619-631 (2004).

30. McMurry, J. *Química Orgánica*. 7ma edición. Cengage learning. México. 660-665 (2008).
31. Parker, R. E., Isaacs, N. S. Mechanisms of epoxide reactions. *Chem. Rev.* **59**, 737-799 (1959).
32. Ege, S. N. *Química Orgánica estructura y reactividad*. Tomo 1.1er edición. Reverte. España. 480-486 (2000).
33. Morrison, R. T., Boyd, R. N. *Química Orgánica*. 2da edición. Fondo Educativo Interamericano. México. 544-552 (1986).
34. Carey, F. A. *Química Orgánica*. 3er edición. McGraw-Hill. España. 578-587 (1999).
- 35.** Byers, J. A., Jamison, T. F. Entropic factors provide unusual reactivity and selectivity in epoxide-opening reactions promoted by water. *PNAS* **110**, 16724-16729 (2013).
36. Reddy, B. M., Patil, M. K., Reddy, B. T., Park, S. Efficient synthesis of  $\beta$ -amino alcohols by regioselective ring-opening of epoxides with anilines catalyzed by sulfated zirconia under solvent-free conditions. *Catalysis Communications* **9**, 950-954 (2008).
37. Chakraborti, A. K., Kondaskar, A., Rudrawar, S. Scope and limitations of montmorillonite K 10 catalysed opening of epoxide rings by amines. *Tetrahedron* **60**, 9085-9091 (2004).
38. Negrón-Silva, G., Hernández-Reyes, C. X., Angeles-Beltrán, D., Lomas-Romero, L., González-Zamora, E., Méndez-Vivar, J. Comparative Study of the Regioselective Synthesis of  $\beta$ -Aminoalcohols under Solventless Conditions Catalyzed by Sulfated Zirconia and SZ/MCM-41. *Molecules* **12**, 2515-2532 (2007).
39. Chouhan, M., Senwar, K. M., Sharma, R., Grover, V., Nair, V. A. Regiospecific epoxide opening: a facile approach for the synthesis of 3-hydroxy-3-aminomethylindolin-2-one derivatives. *Green Chem.* **13**, 2553-2560 (2011).
40. Robin, A., Brown, F., Bahamontes-Rosa, N., Wu, B., Beitz, E., Kun, J. F., Flitsch, S. L. Microwave-Assisted Ring Opening of Epoxides: A General Route

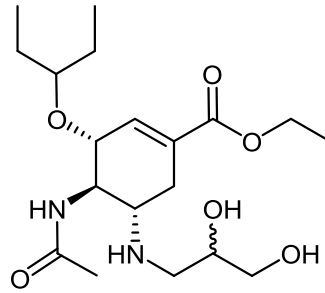
- to the Synthesis of 1-Aminopropan-2-ols with Anti Malaria Parasite Activities. *J. Med. Chem.* **50**, 4243-4249 (2007).
41. Sundararajan, G., Vijayakrishna, K., Varghese, B. Synthesis of  $\beta$ -amino alcohols by regioselective ring opening of arylepoxides with anilines catalyzed by cobaltous chloride. *Tetrahedron Letters* **45**, 8253–8256 (2004).
42. Zhang, C., Chen, J., Yu, X., Chen, X., Wu, H., Yu, J.  $B_2O_3/Al_2O_3$  as an Efficient and recyclable catalyst for the synthesis of  $\beta$ -Amino alcohols under solvent-free conditions. *Synthetic Communications* **38**, 1875-1887 (2008).
43. Mojtahedi, M. M., Saidi, M. R., Bolourtchian M. Microwave-assisted aminolysis of epoxides under solvent-free conditions catalyzed by montmorillonite clay. *J. Chem. Research S*, 128-129 (1999).
44. Huerta, G., Contreras-Ordoñez, G., Alvarez-Toledano, C., Santes, V., Gómez, E., Toscano, R. A. Facile synthesis of aminoalcohols by ring opening of epoxides under solvent free conditions. *Synthetic Communications* **34**, 2393-2406 (2004).
45. Mojtahedi, M. M., Ghasemi, M. H., Abaee, M. S., Bolourtchian, M. Microwave-assisted ring opening of epoxides with thiols on montmorillonite K-10 solid support. *ARKIVOC* **15**, 68-73 (2005).
46. D'Souza, B. R., Development of a microwave-assisted epoxide aminolysis and investigation of the aza-cope rearrangement--mannich cyclization for alkaloid synthesis. Tesis para obtener el título de maestro en ciencias. Eastern Michigan University (2007).
47. Philippe, C., Milcent, T., Crousse, B., Bonnet-Delpon, D. Non Lewis acid catalyzed epoxide ring opening with amino acid esters. *Org. Biomol. Chem.* **7**, 2026-2028 (2009).
48. Dawood, F. S., Luliano, A. D., Reed, C., Meltzer, M. I., Shay, D. K., Bandaranayake, D., Breiman, W. A., Bucgy, P., Feikin, D. R., Fawler, K. B., Gordon, A., Krishnan, A., Lal, R., Montgomery, J. M., Pebody, R., Huang, Q. S. Estimated global mortality associated with the first 12 months of 2009 pandemic influenza A H1N1 virus circulation: a modelling study. *Lancet Infect Dis.* **12**, 687-95 (2012).

49. Reed, C., Angulo, F. J., Swerdlow, D. L., Lipsitch, M., Meltzer M. I., Jerningan D., Finelli, L. Estimates of the prevalence of pandemic (H1N1) 2009, Unites States, april-July 2009. *Emerging Infectious Diseases* **15**, 2004-2007 (2009).
50. <http://www.jornada.unam.mx/2014/02/25/opinion/a04a1cie> Consultado el 25/02/2014.
51. Gutowsky, H. S., Karplus, M., Grant, D. M. Angular Dependence of Electron-Coupled Proton Interactions in CH<sub>2</sub> Groups. *J. Chem. Phys.* **31**, 1278-1289 (1959).
52. Karplus, M., Vicinal Proton Coupling in Nuclear Magnetic Resonance. *J. Am. Chem. Soc.* **85**, 2870-2871 (1963).
53. [https://www.uam.es/personal\\_pdi/ciencias/aurbano/determinacion\\_estructural/rmn/rmn\\_tema3.pdf](https://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/aurbano/determinacion_estructural/rmn/rmn_tema3.pdf) Consultado el 07/09/2014.
54. Karabatsos, G. J., Sonnichsen, C. G., Hsi, N., Fenoglio, D. J. Structure by Magnetic Resonance. XIV. On the anisotropic Effects of the Carbonyl Group. *J. Am. Chem. Soc.* **89**, 5067-5068 (1967).

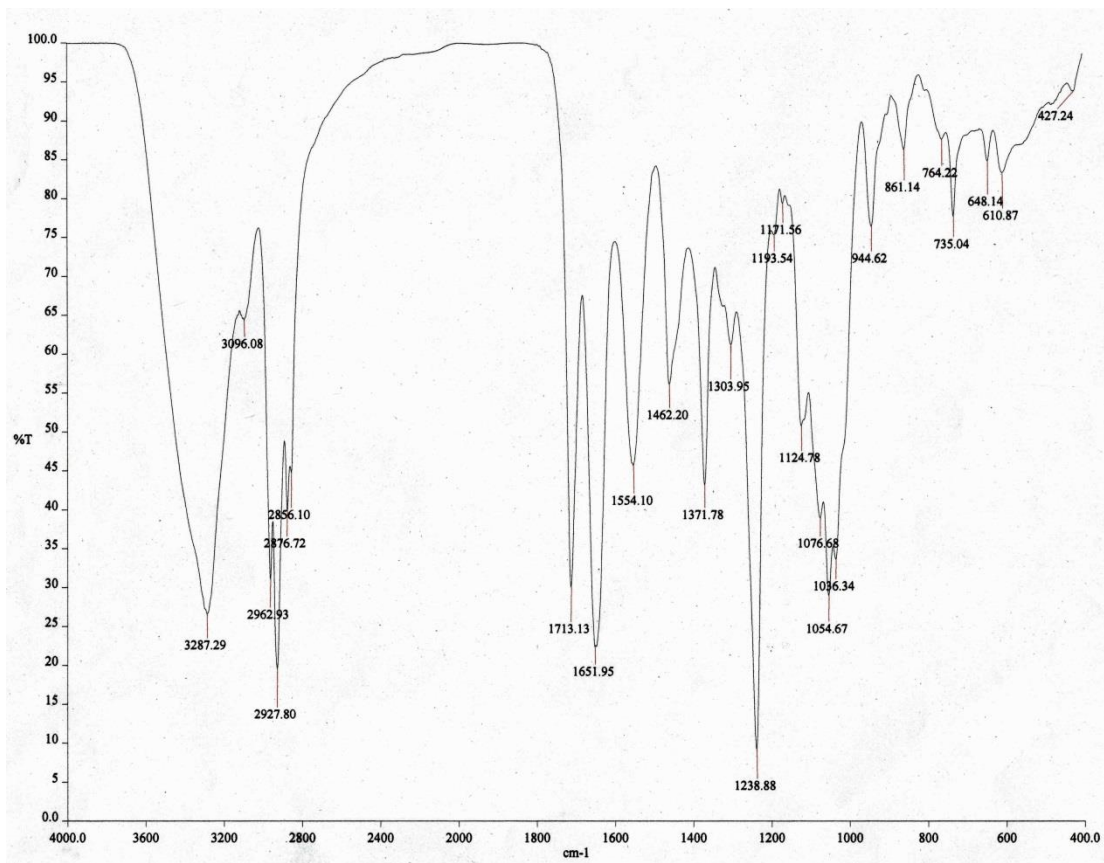


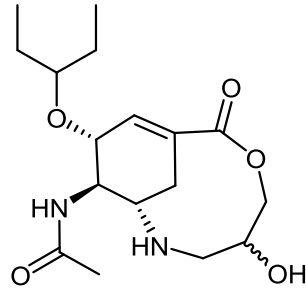
## 8. ANEXOS

### A. Espectros de IR TF

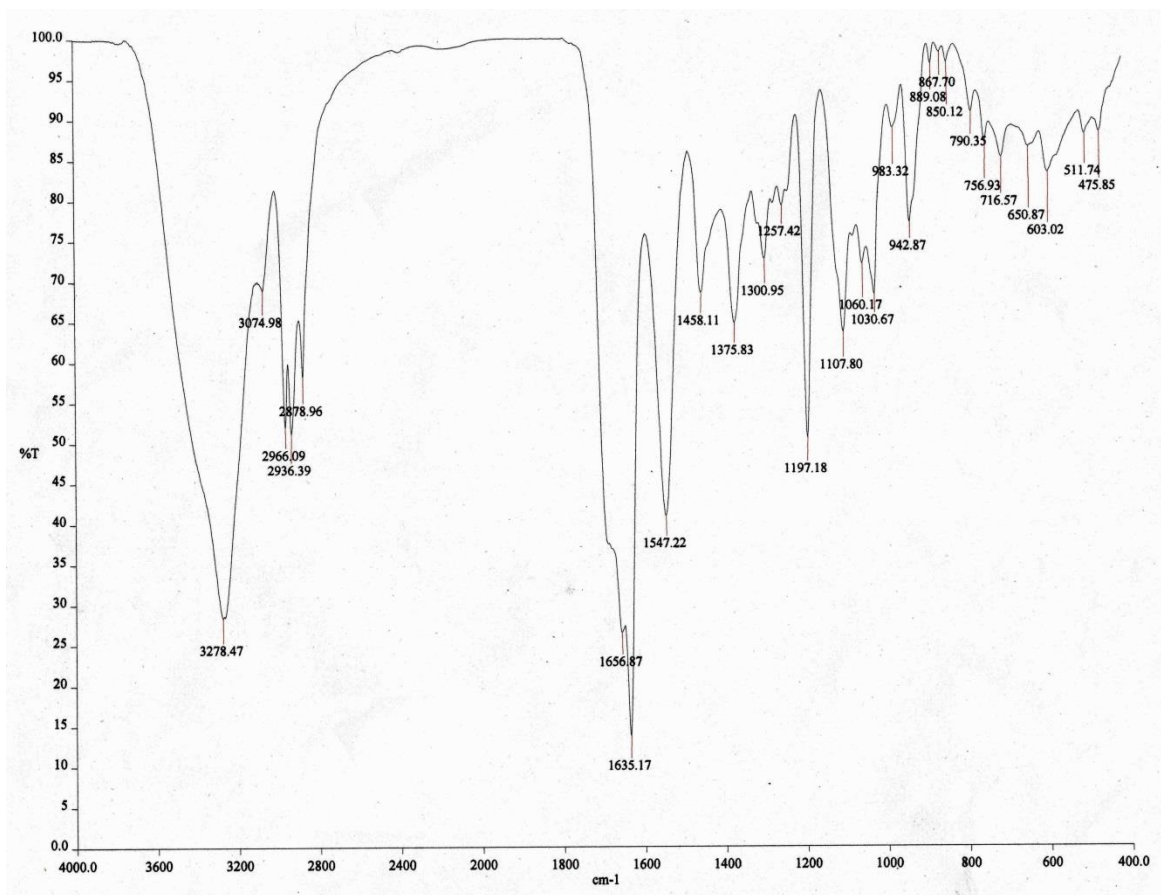


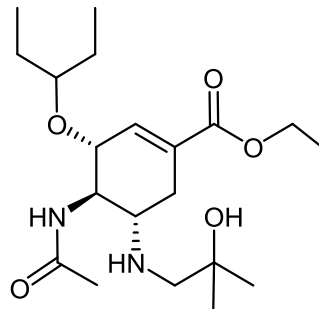
Compuesto  
A



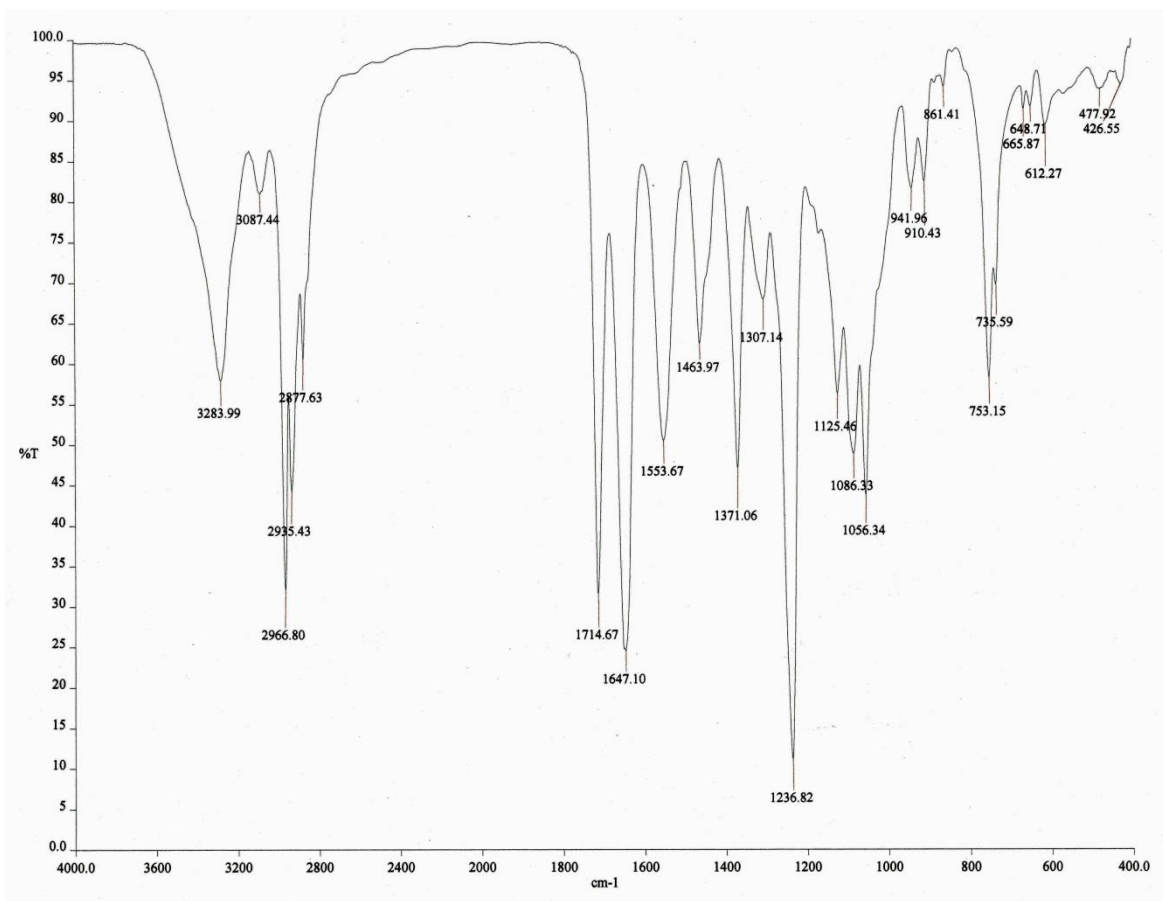


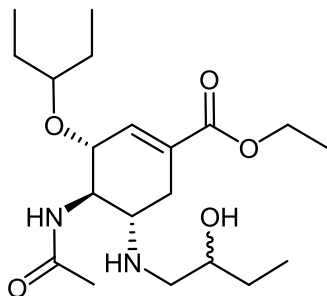
Compuesto B



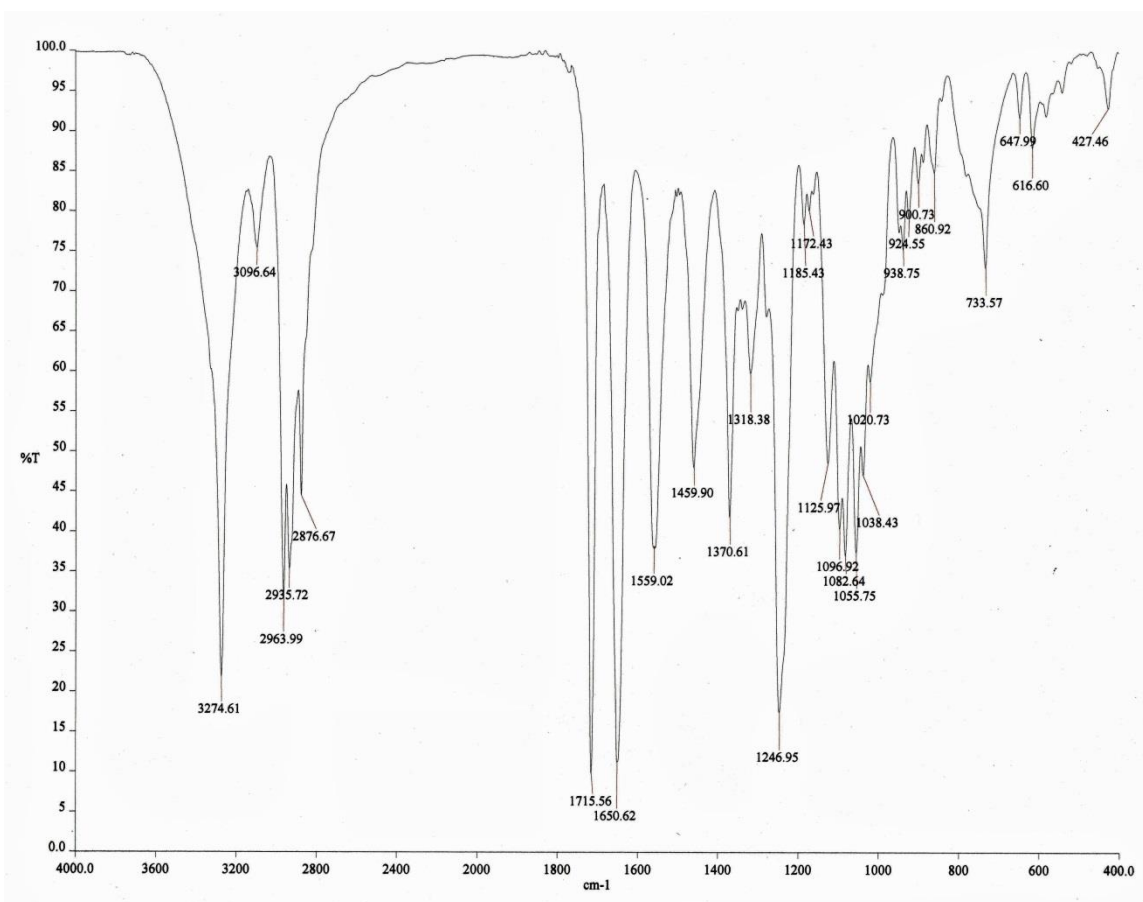


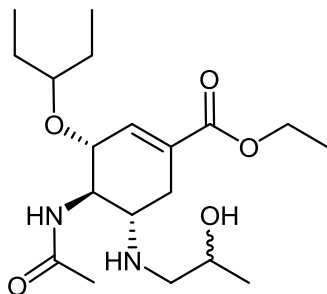
Compuesto  
C



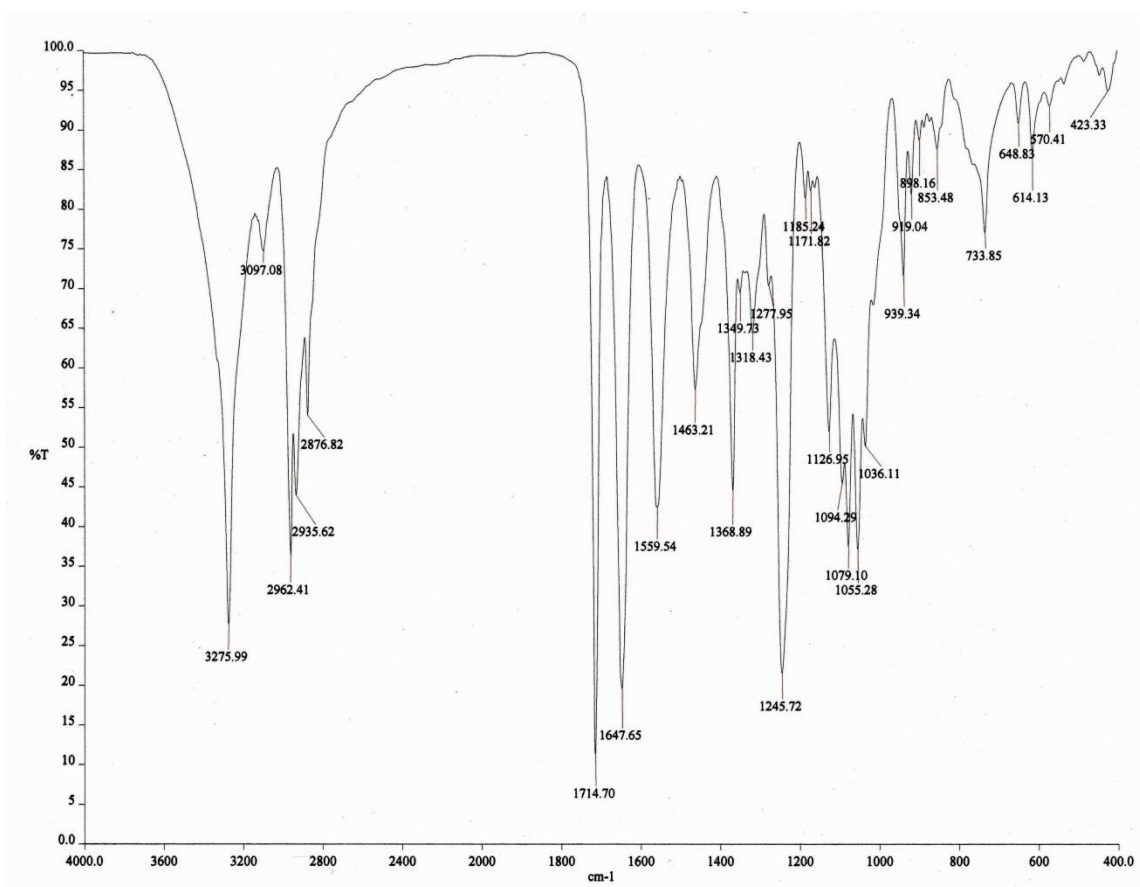


Compuesto  
D

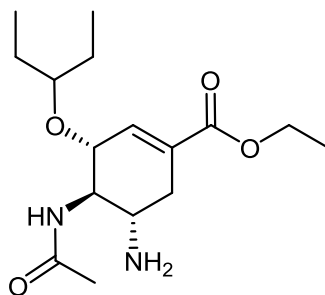




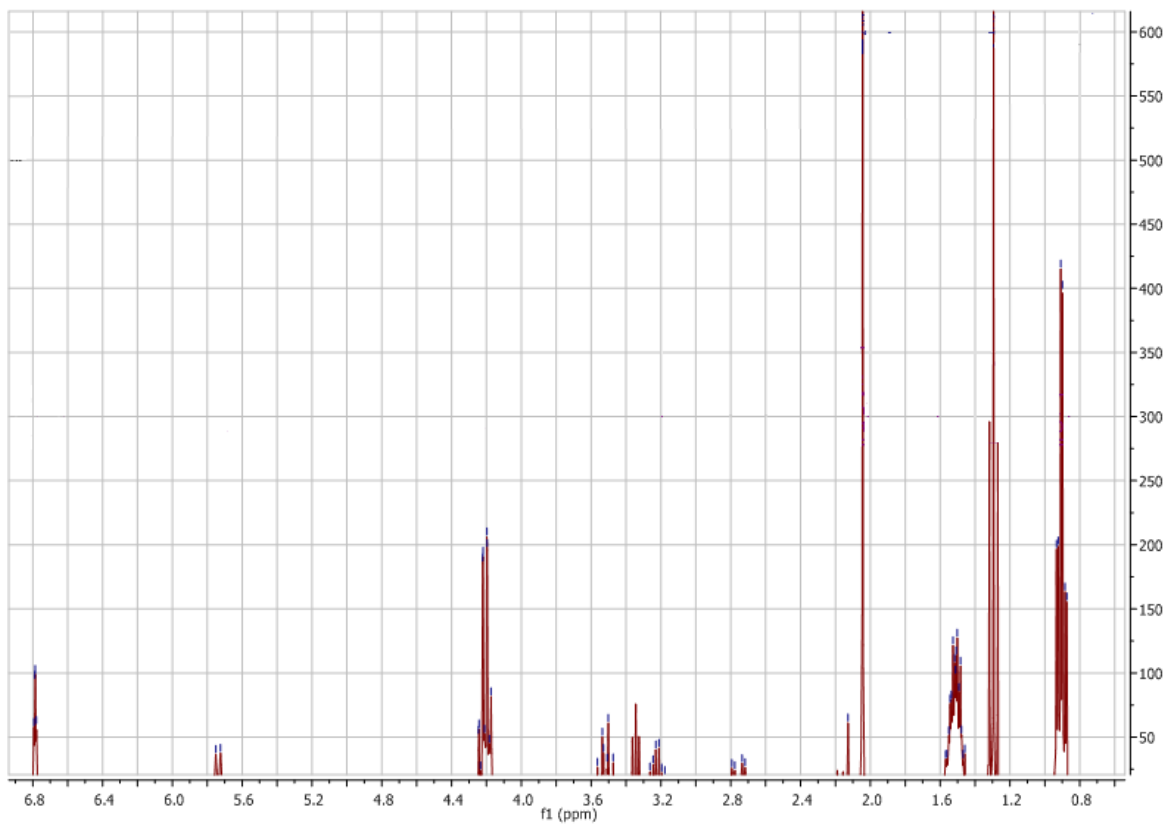
Compuesto  
E

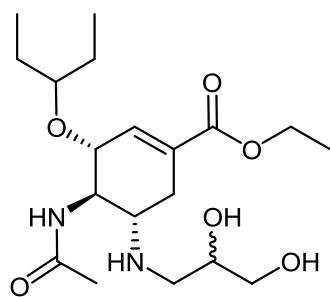


## B. Espectros de $^1\text{H}$ RMN

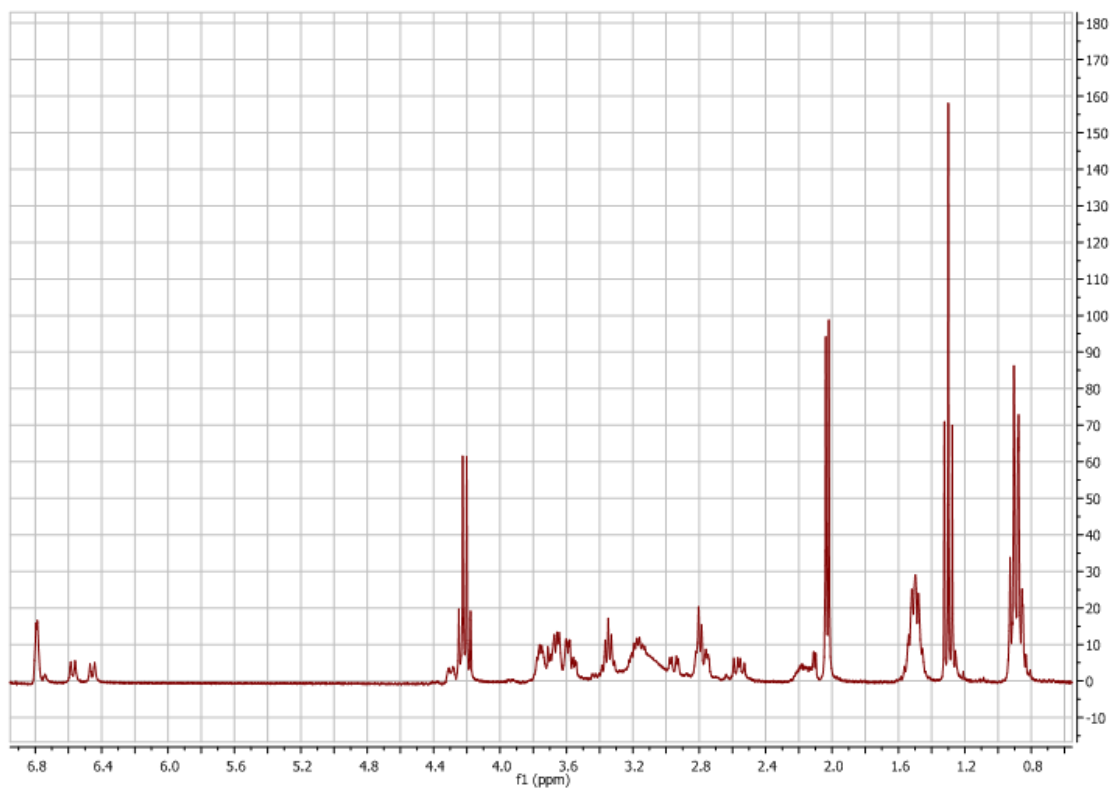


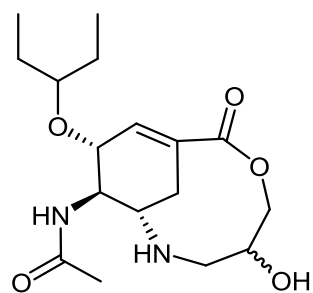
Oseltamivir



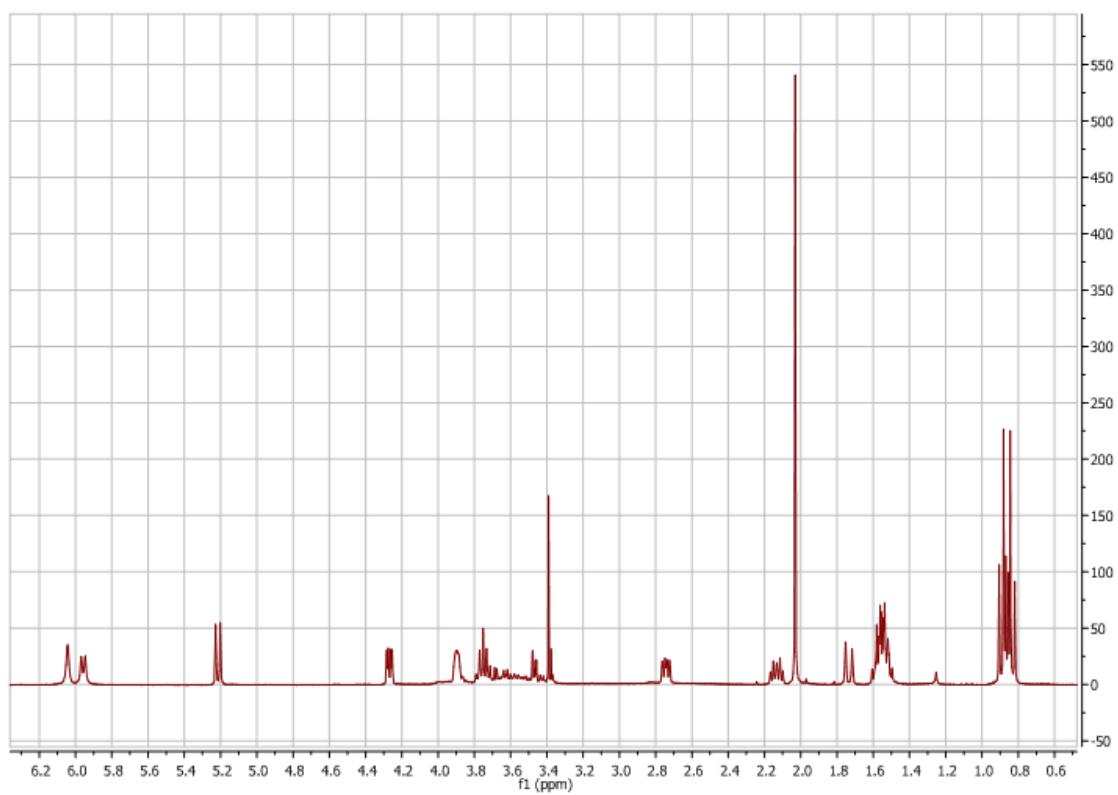


Compuesto  
A

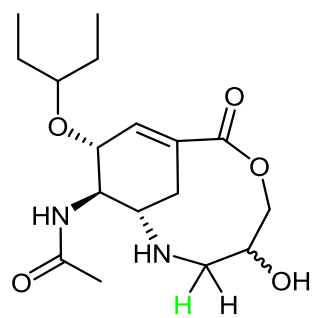




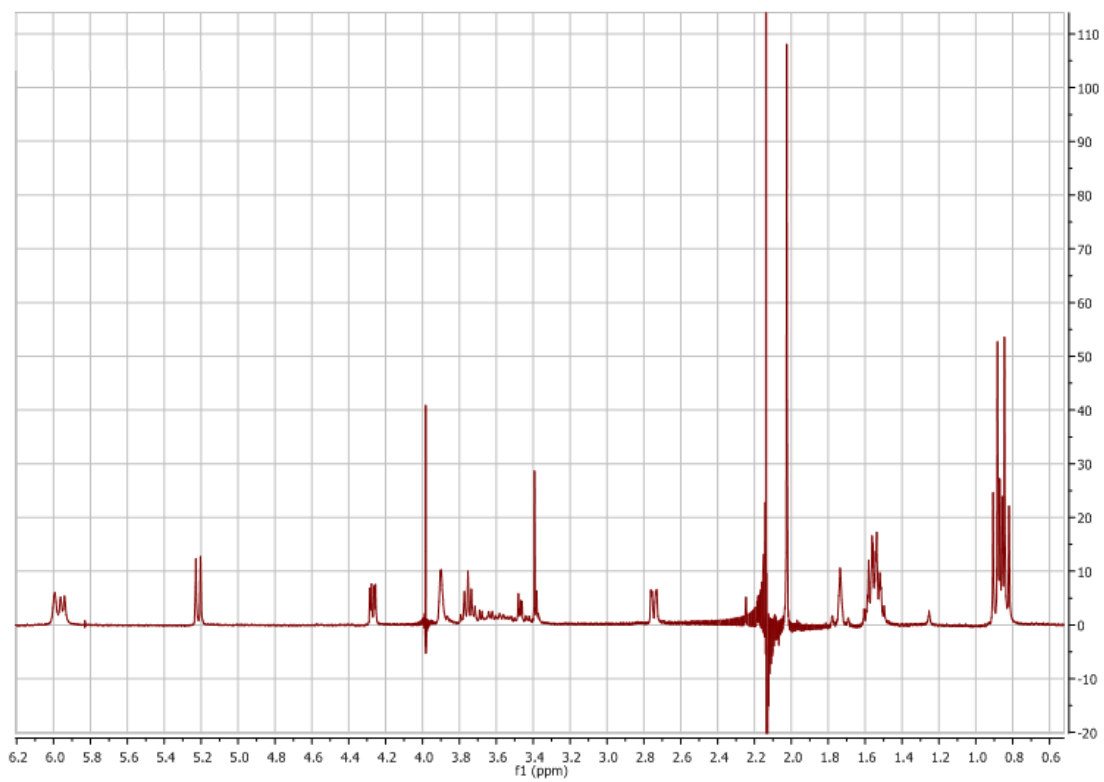
Compuesto B



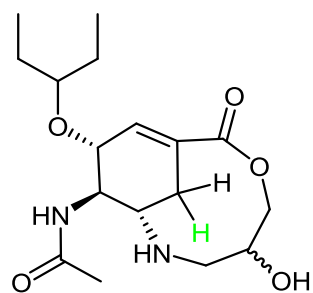




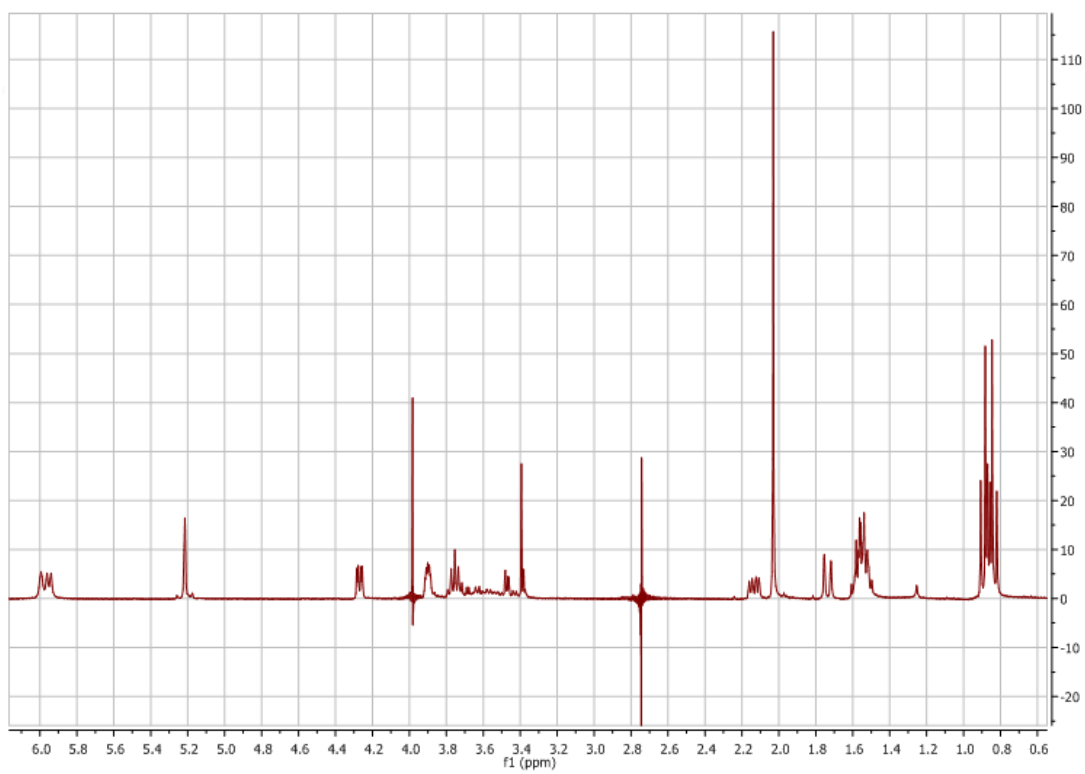
Compuesto  
B



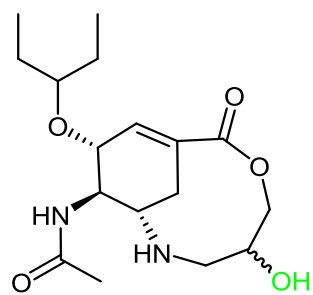
Irradiación en 2.14.



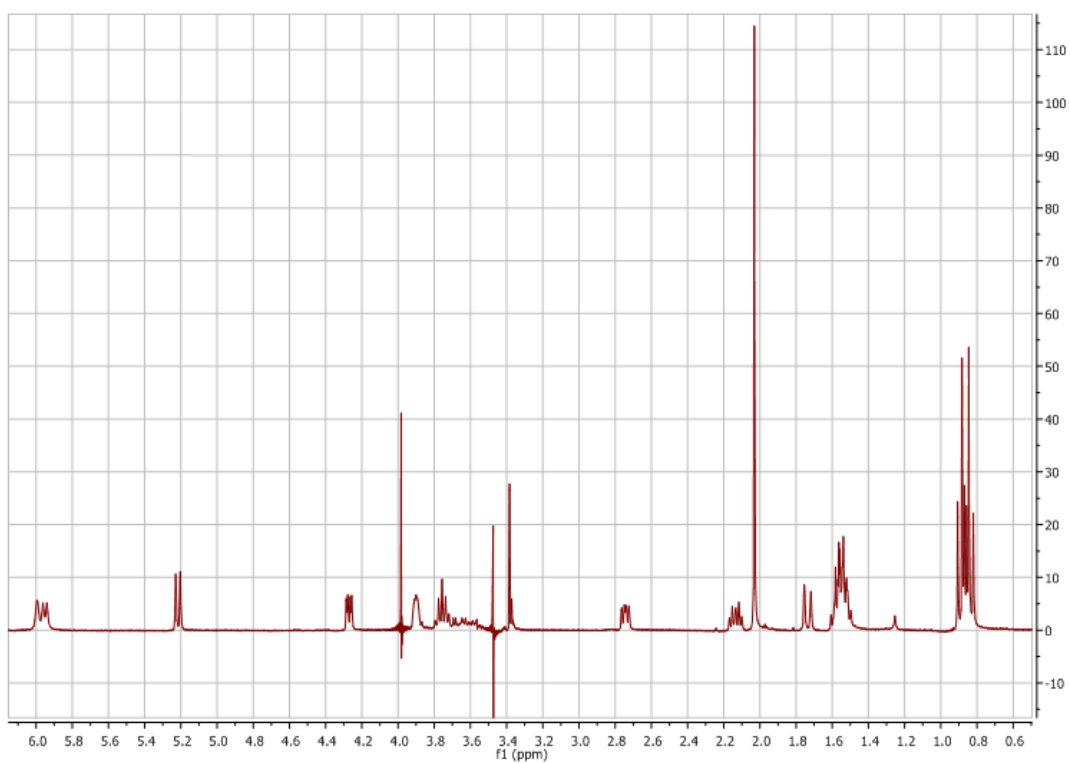
Compuesto  
B



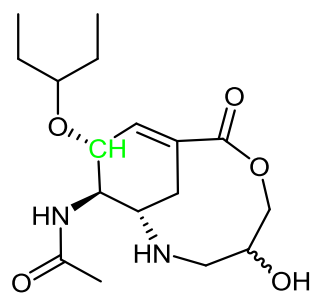
Irradiación en 2.74



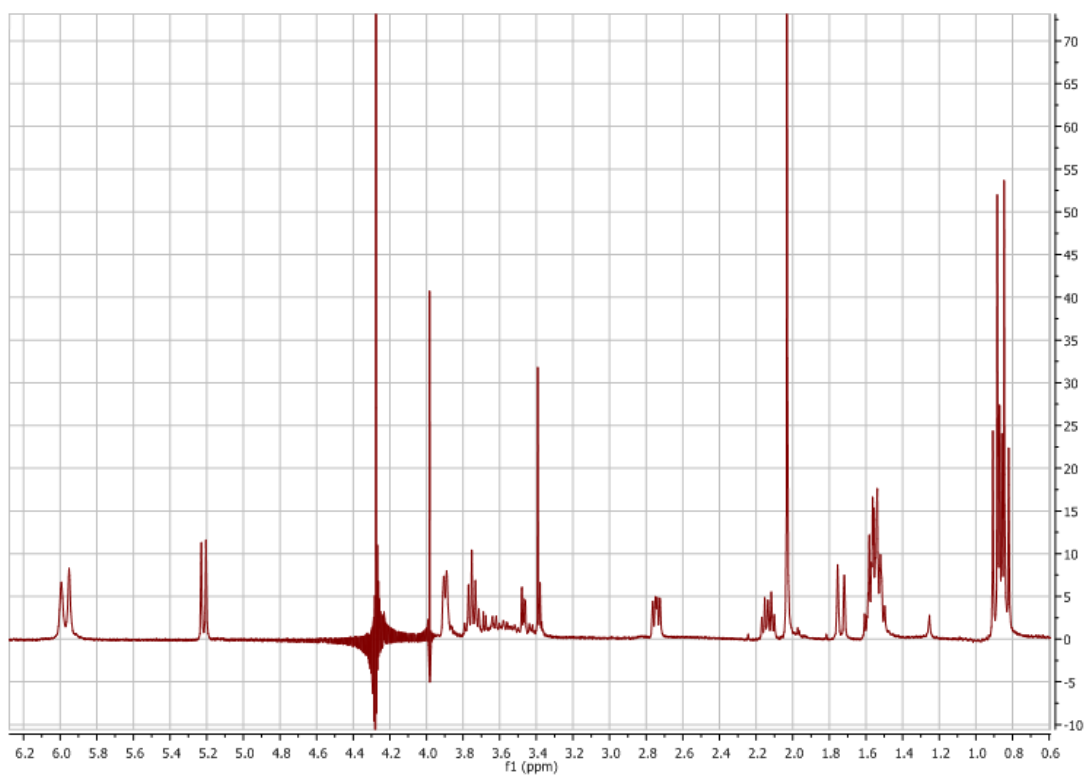
Compuesto  
B



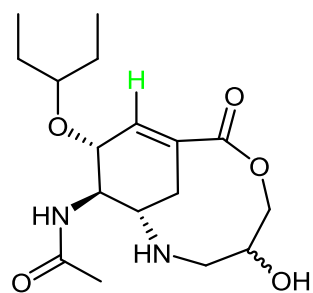
Irradiación en 3.47



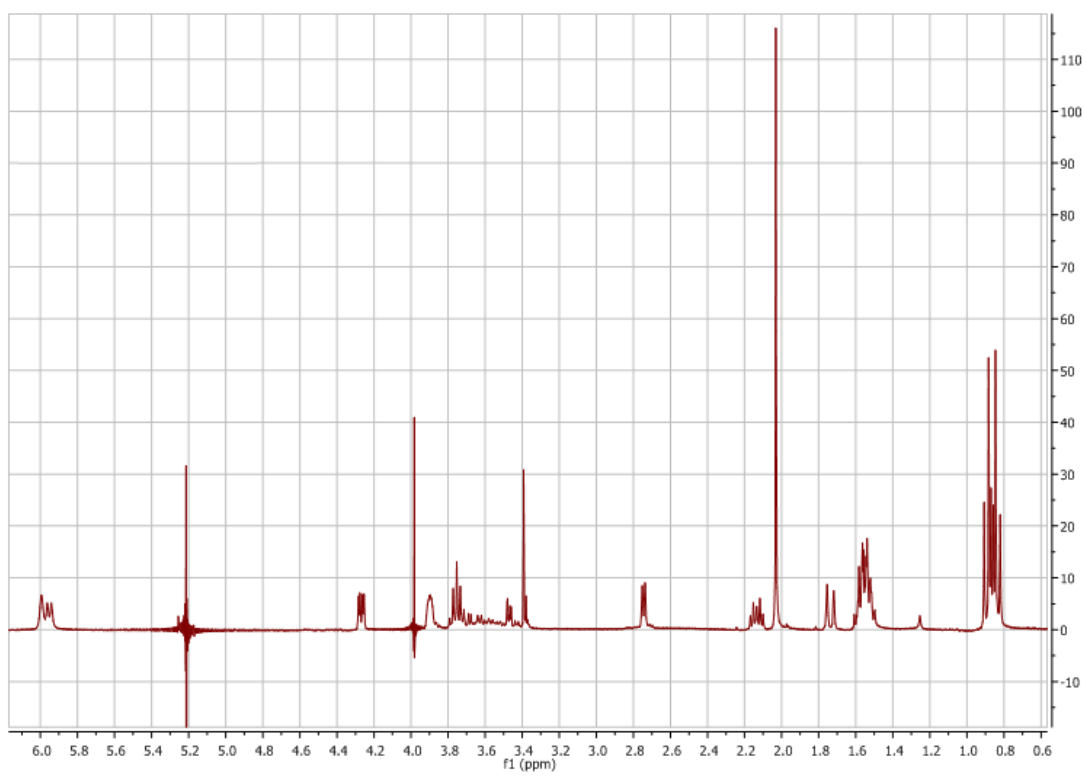
Compuesto  
B



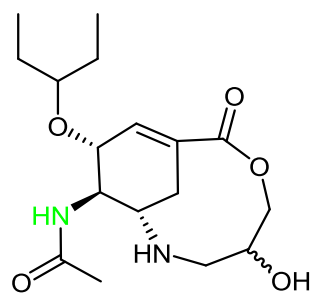
Irradiación en 4.27



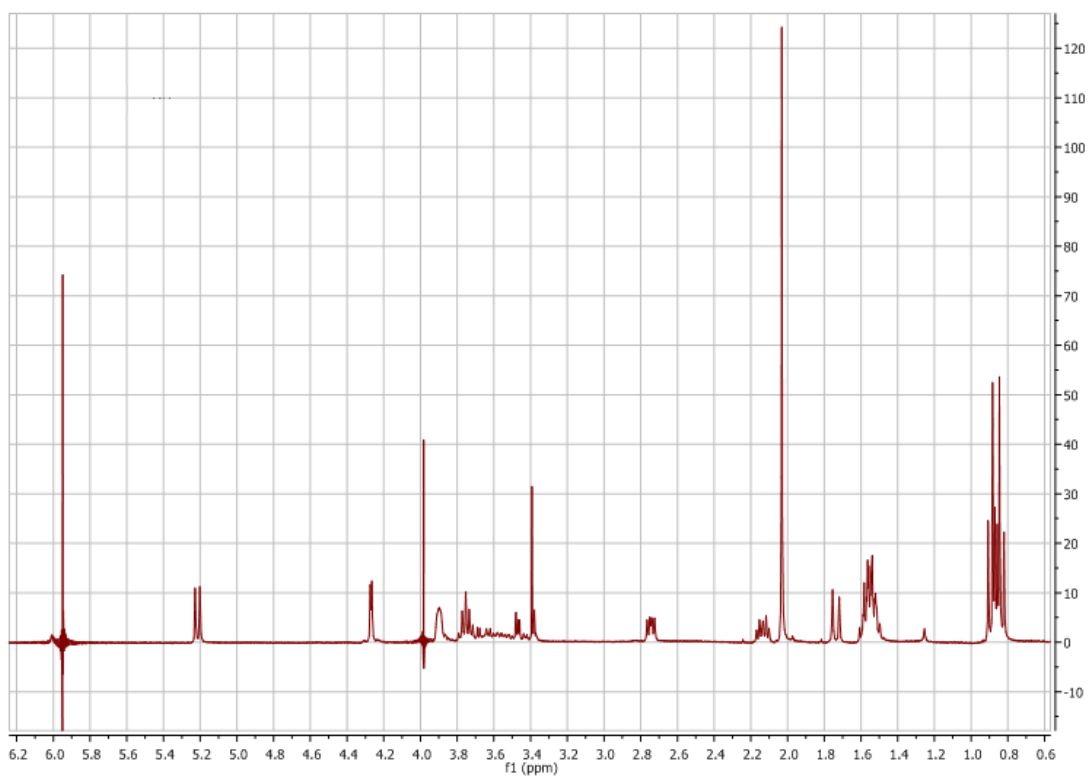
Compuesto  
B



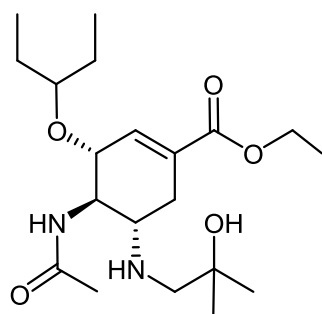
Irradiación en 5.21



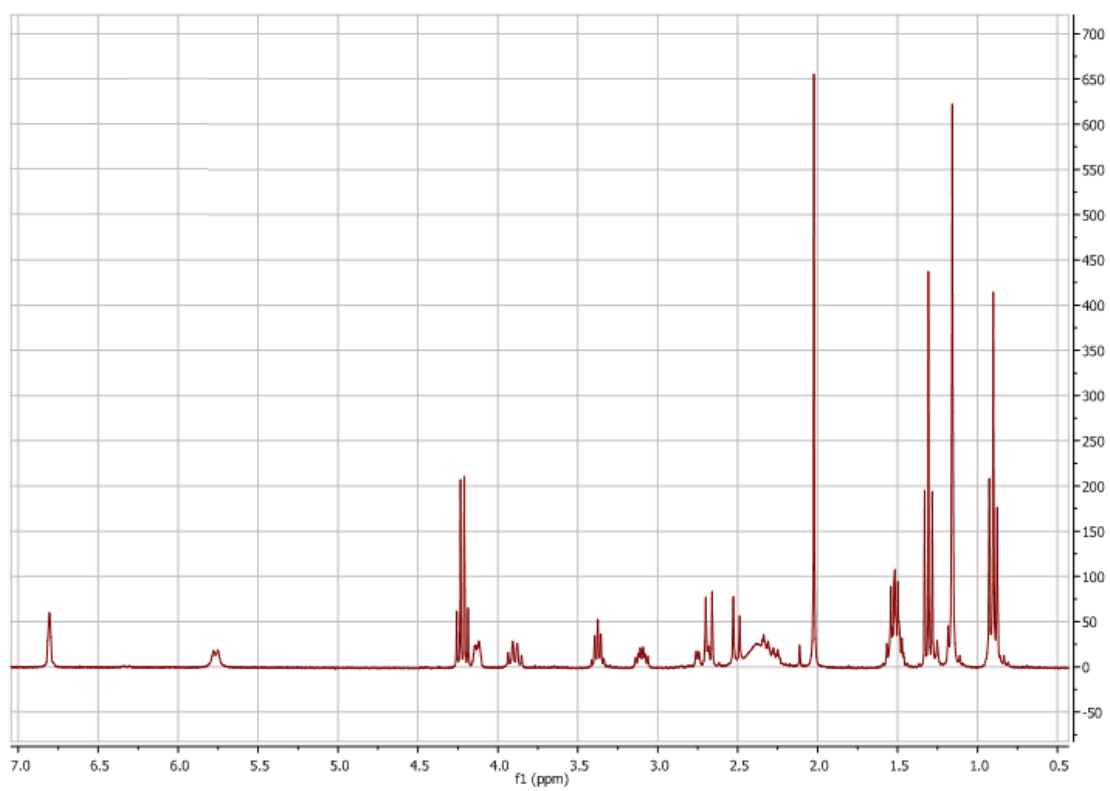
Compuesto  
B

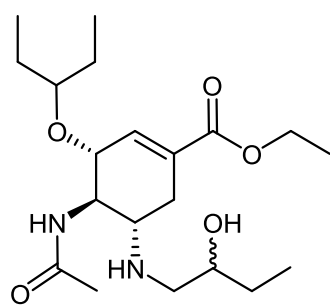


Irradiación en 5.95

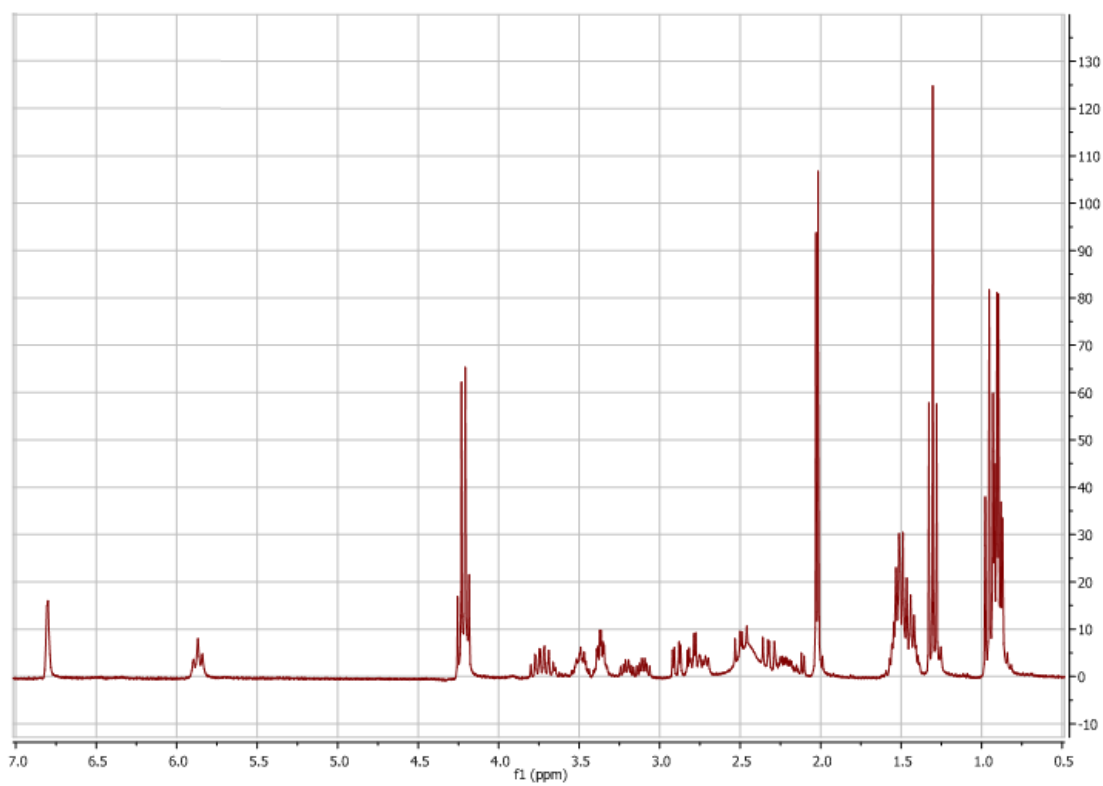


Compuesto  
C

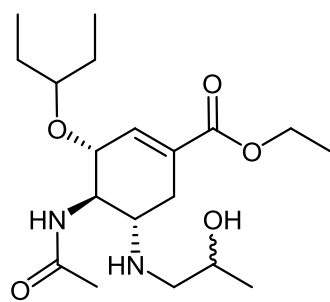




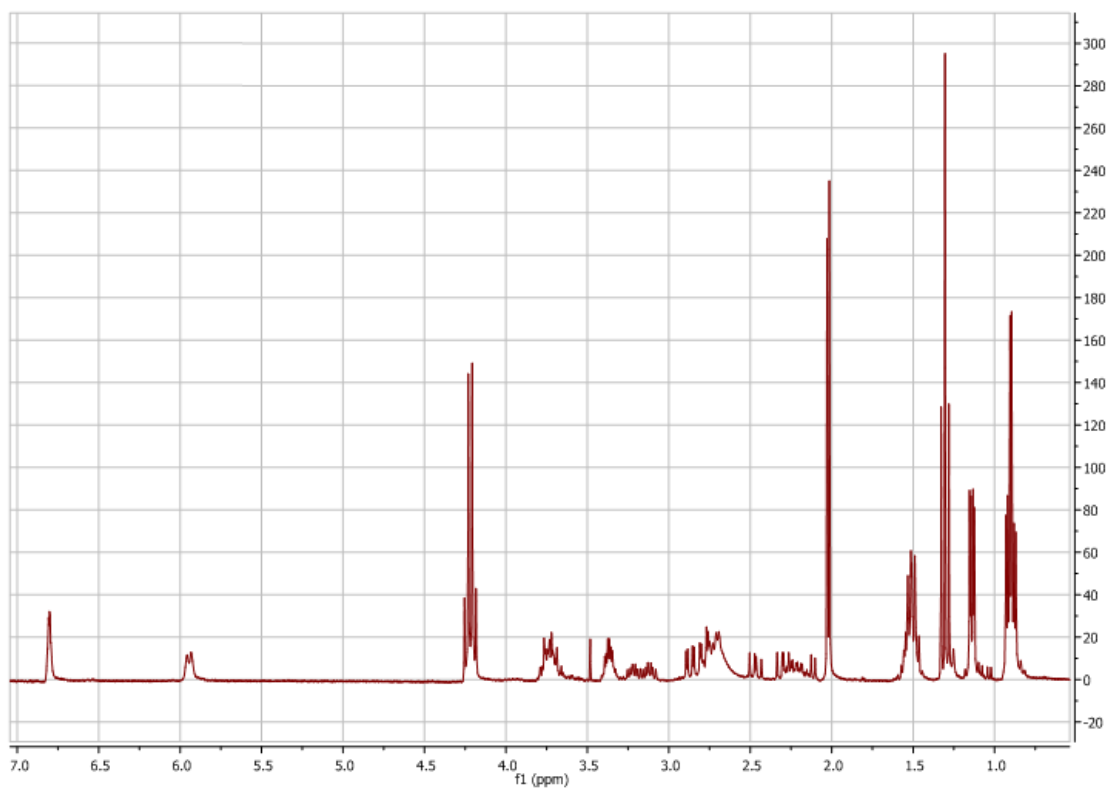
Compuesto  
D



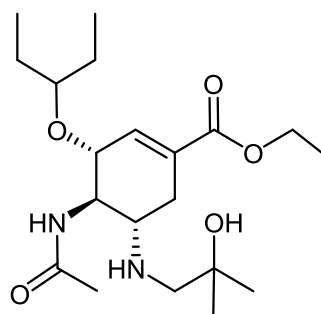




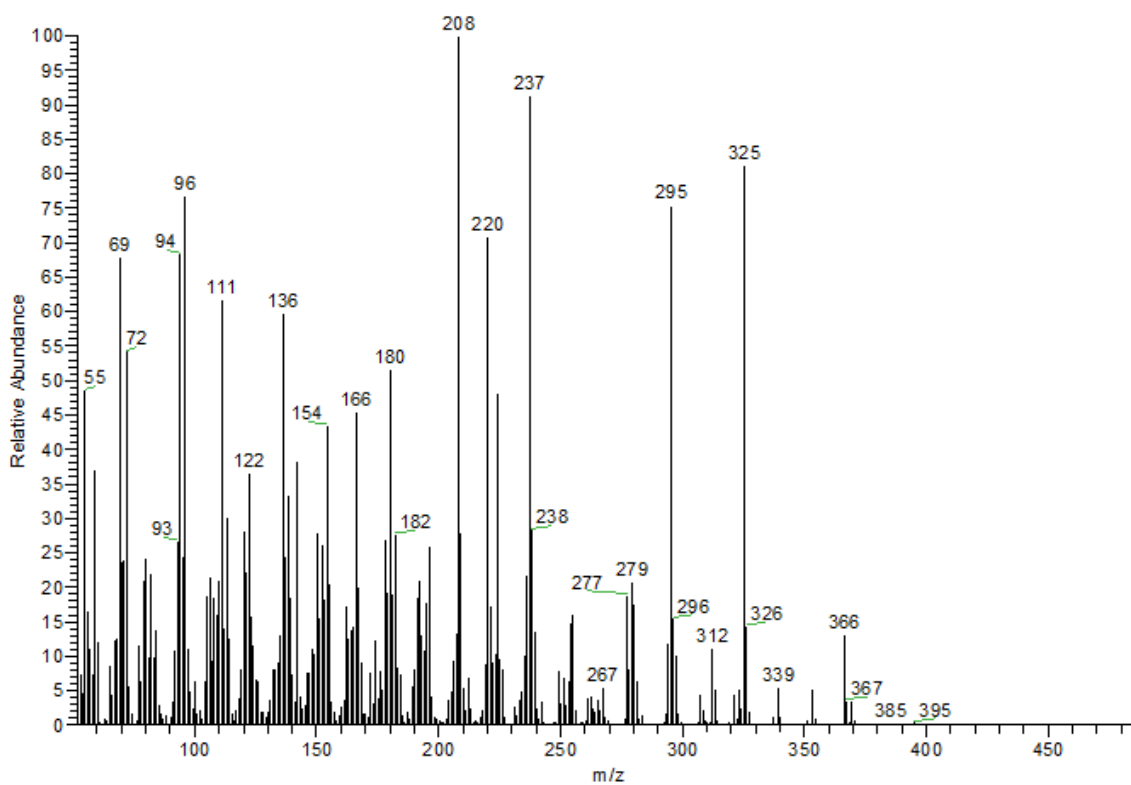
Compuesto  
E

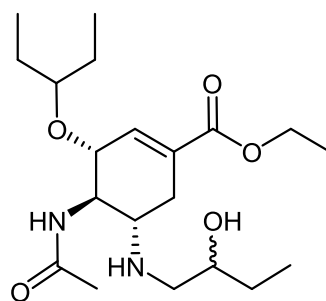


### C. Espectros de masas

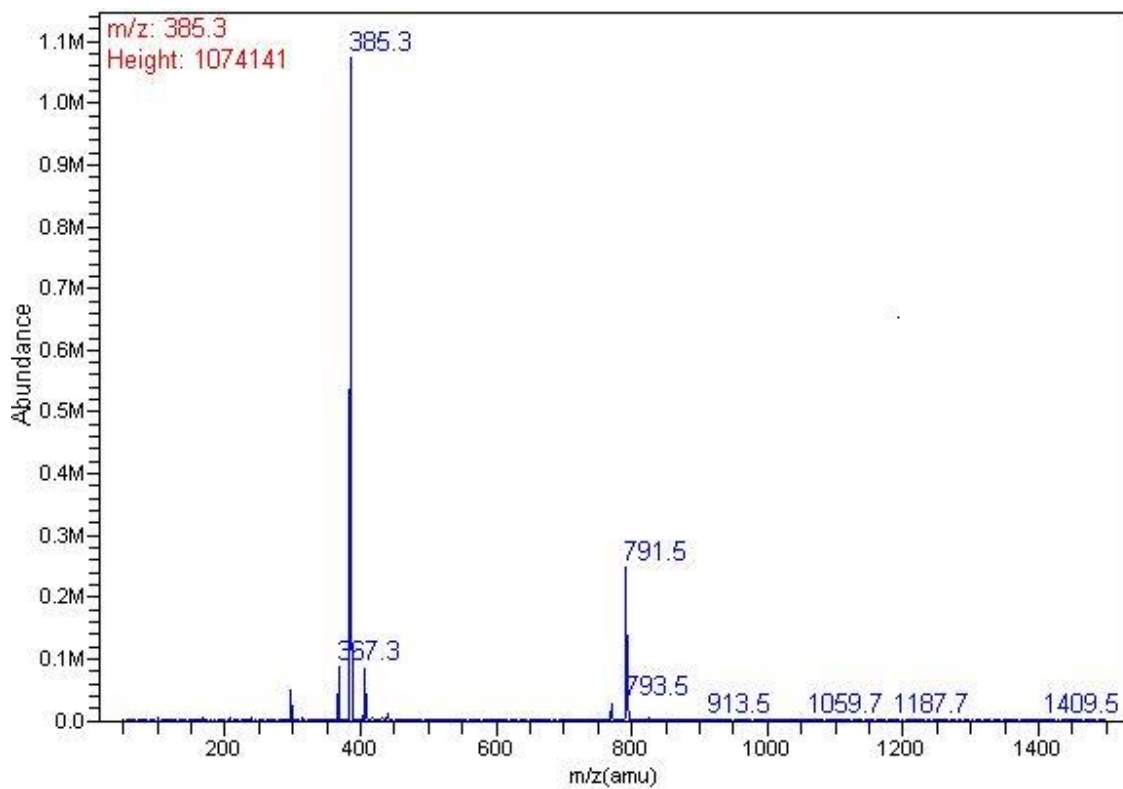


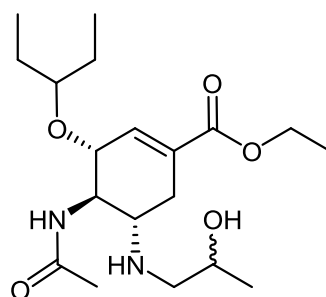
Compuesto  
C



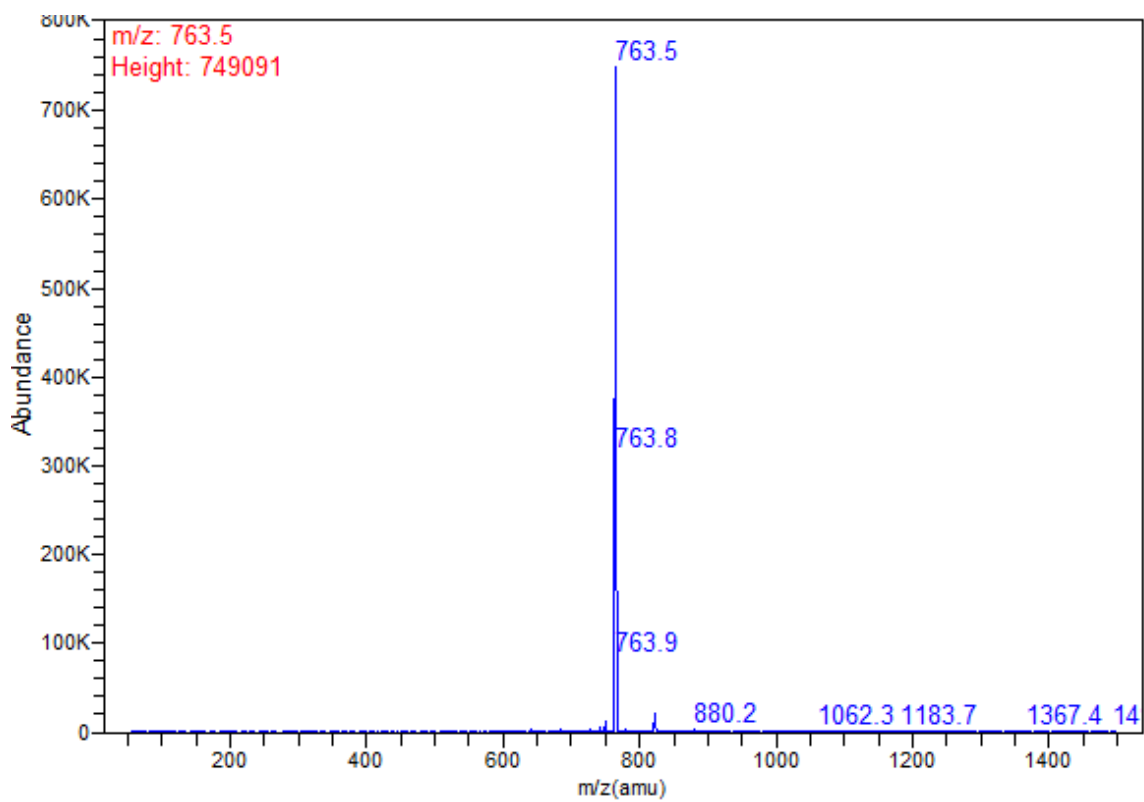


Compuesto  
D



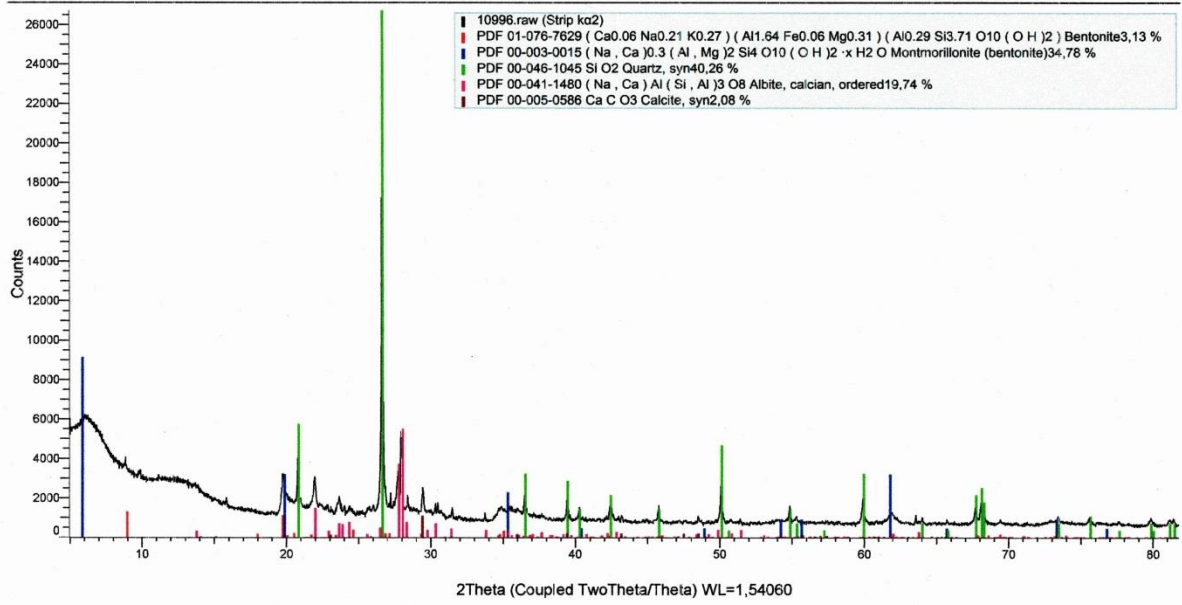


Compuesto  
E

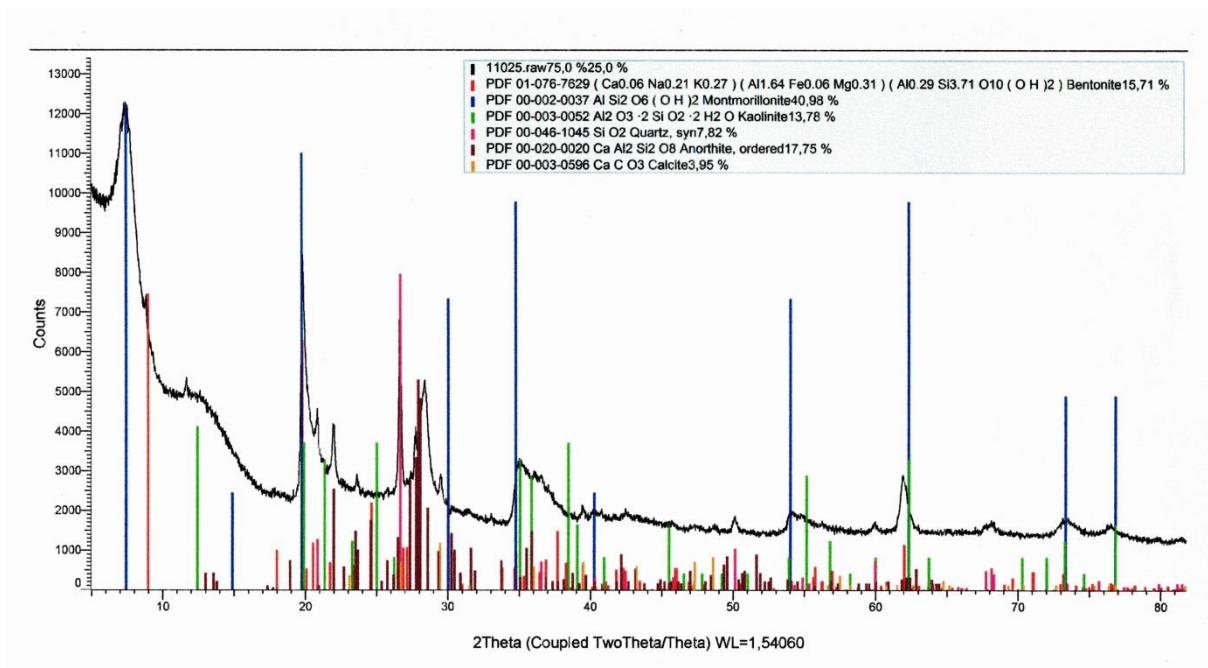


#### D. Espectros de difracción de rayos X

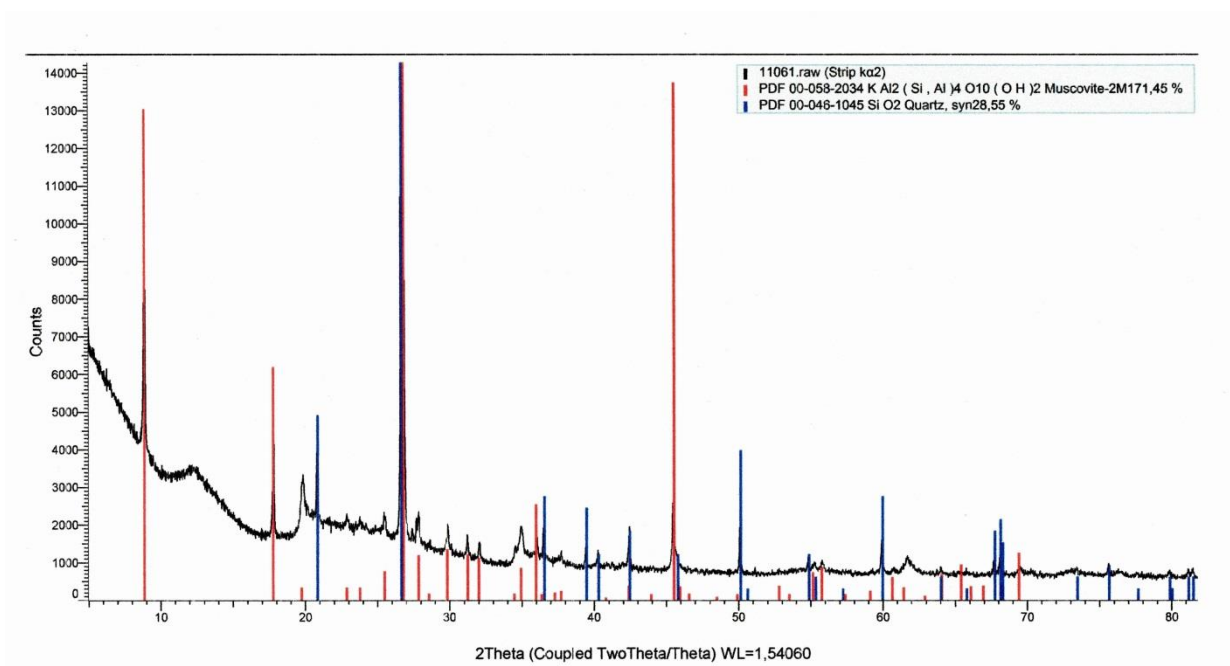
# Bentonita 1



## Bentonita 2



# Montmorillonita K10



## E. Publicación

### Publicación

- Carlos Rius-Alonso, Yolanda González-Quezada, Francisco Fuentes Pantoja, Jonathan Benítez Ramírez  
8th International Technology, Education and Development Conference.  
Valencia (España), 6451-6459 (2014).  
*“Visualizing the Mechanisms of Organic Reactions”*  
INTED2014 Proceedings ISBN: 978-84-616-8412-0



# VISUALIZING THE MECHANISMS OF ORGANIC REACTIONS

Carlos Rius-Alonso, Yolanda González-Quezada, Francisco Fuentes Pantoja,  
Jonathan Benítez Ramírez

*Universidad Nacional Autónoma de México (MEXICO)*

## Abstract

Using several Molecular Modeling programs, we have animated various reaction mechanisms of the most important reaction used in Organic Chemistry. These provide a learning tool for students to foster their knowledge of the many events taking place in a reaction. The use of 3D helps understanding the details of the reactions. These tools are aimed to first-year students of University courses at the Faculty of Chemistry, UNAM. With the visualization, students improve their learning skill dramatically.

Keywords: Chemical reactions, Animation, Organic Chemistry, Reaction Mechanism, Molecular modeling, 3D visualization.

## 1 INTRODUCTION

Chemistry is an experimental discipline, relies heavily in observation of exploratory results and the handling of data. The chemical reactions involve the collision between a large numbers of molecules, moving around rapidly in a random way. Molecules will be colliding with each other in different angles and speed. Most of the time they will bump each other in a non-productive event, only the collisions with the right orientation and enough energy will yield a product. Electrons on the surface of the molecules take part in the reactions leading to a change of connectivity within the atoms within the molecules. Understanding which bonds are broken and formed and the order of events, lead toward an understanding of chemical reactivity. Reaction mechanism is a way to show how chemical reactions occur at the molecular level, how many steps are involved and which steps are faster or slower. Using the Molecular Modeling programs; Spartan and Odyssey1, we have animated the most important reactions used in Organic Chemistry. These provide a learning tool for students to foster their knowledge of the several events taking place in a reaction. The use of 3D helps understanding the details of the reactions. These tools are aimed to first-year students of University courses at the Faculty of Chemistry, UNAM. With the visualization, students improve their learning skill dramatically.

### 1.1 Reaction mechanisms fundamentals

A reaction mechanism is the detailed, step by step description of a chemical reaction. By knowing how a reaction takes place; changes in the experimental condition can be made to improve the yield of the products, or even alter the course of the reaction completely and obtain an entirely different product. A mechanism must account for all the known facts of a reaction, and predictions about the outcome based on the mechanism can be done.

Mechanisms can form the basis for chemical reasoning, allowing the recognition of patterns of reactivity when a new reagent, reaction or processes are presented without the need of blind memorization.

In practice, a reaction mechanism is described by a series of ordered steps within a time framework. When all these steps are taken into account, the net result is a reaction pathway. The most important part through the mechanism is the outcome of particular bonds, in the reactant molecules are broken and in the product, molecules are formed. The synchronization of these events is important in the reaction.

#### 1.1.1 Polar reactions

In the polar reaction mechanism one electron pair moves together, when bonds are formed or broken. Bond breaks and forms in a heterolytic process. Bond polarity is essential to this type of reactions. The fundamental characteristic of all polar reactions is that electron-rich sites in one molecule react with an electron-poor site in another molecule, mainly for the attractions of negatively charged regions on one reactant and the positively charge region of a second reactant.

The negative charged (electron rich) reactant is called nucleophile and the positively charged (electron-poor) electrophile. Nucleophile molecules have lone pairs of electrons and can be neutral (ammonia, water) or negatively charged, (chloride ion, hydroxide) they can be considered as Lewis bases. On the other hand, the electrophile is an electron loving and attract a negative charge.

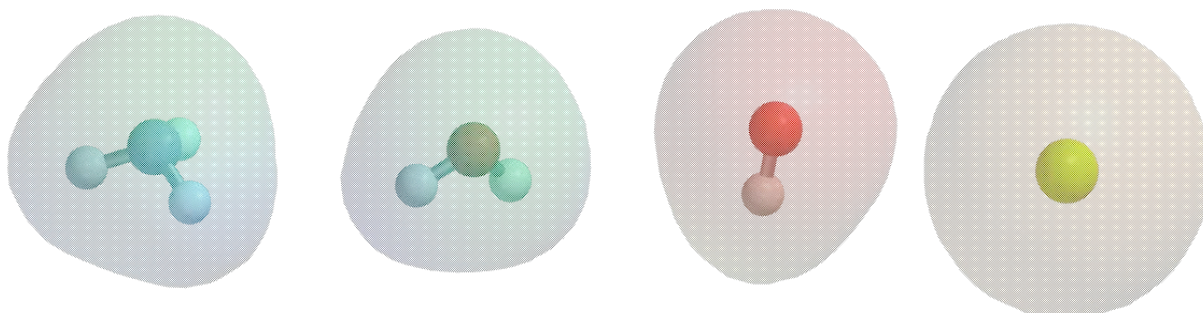


Fig. 1 Nucleophiles and their electrostatic potential map. ( $\text{NH}_3, \text{H}_2\text{O}, \text{HO}^-, \text{Cl}^-$ ).

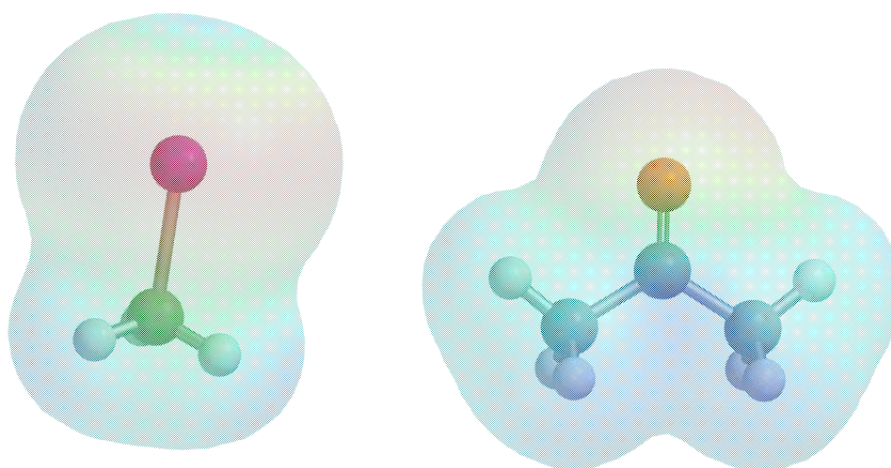


Fig 2. Electrophiles and their electrostatic potential map ( $\text{CH}_3\text{I}, (\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{O}$ ).

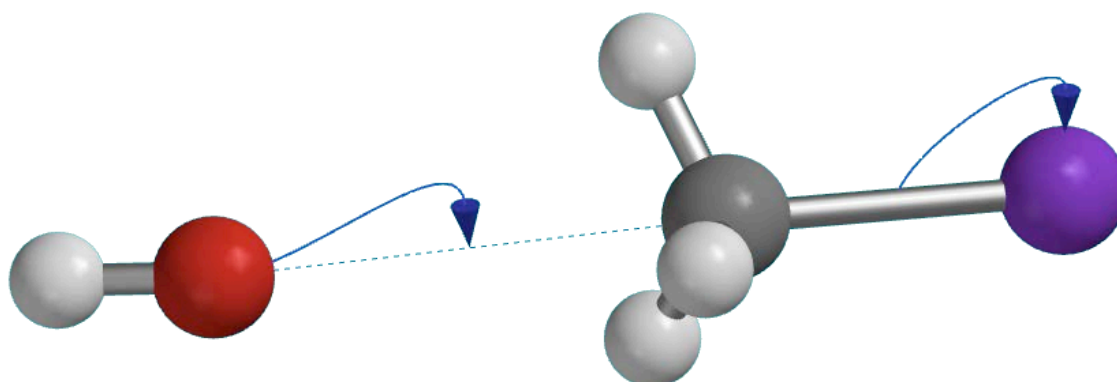


Fig 3. Electron flow between the nucleophile to the electrophile.

The nucleophile has an electron-rich site, either because they have a functional group containing an atom that has a lone pair of electron, or because they are negatively charged.

The electrophile have an electron-poor site, either because they have a functional group containing an atom that is positively polarizer, or because they are positively charged.

### 1.1.2 Radical reactions

When the electrons involved are unpaired the reaction goes by radical. Bond breaking and forming are called homolytic, single electrons move, they are also named free radical reactions.

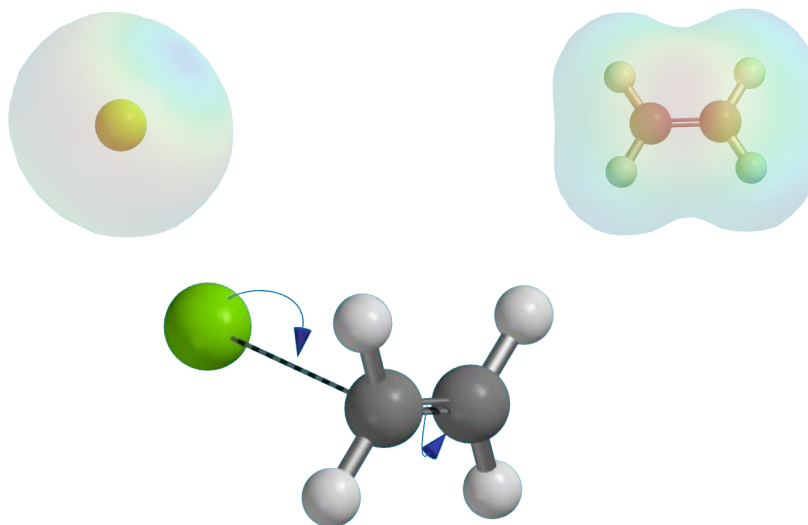


Fig 4. Addition of Cl radical to ethylene.

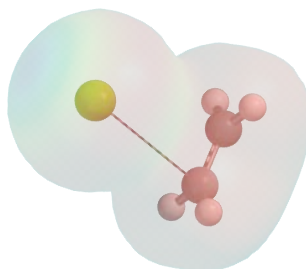
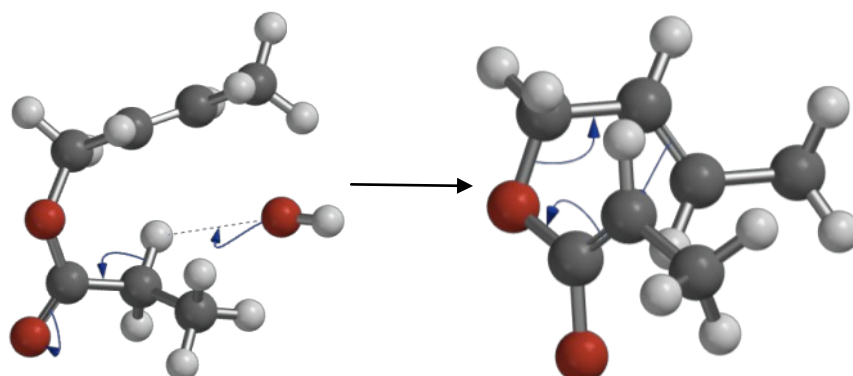


Fig 5. Transition state of Chlorine radical addition to ethylene.

In this, categories are included the three electron pair moving to produce a concerted rearrangement reaction.

The Ireland-Claisen rearrangement is a classic example it was discovered by Robert Ireland in 1972, the [3,3]-sigmatropic rearrangement of O-trialkylsilyl ketene acetals to gamma,delta-unsaturated carboxylic acids. Using lithium diisopropylamide and trimethylsilyl.



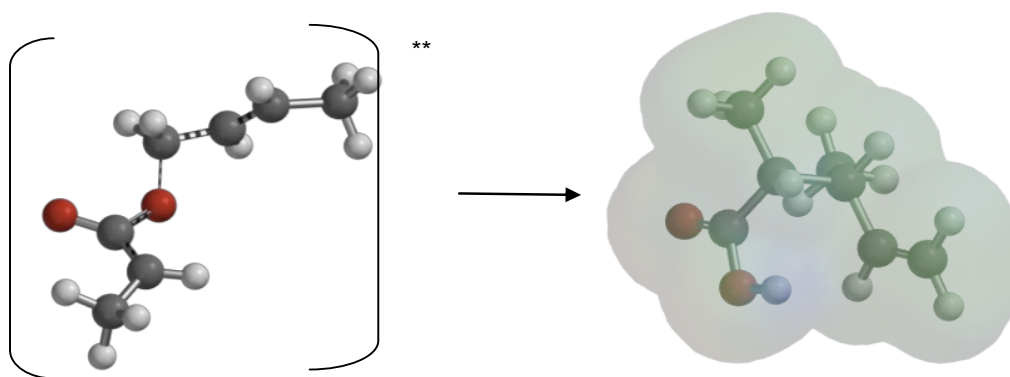


Fig 6. Ireland-Claisen rearrangement of three electron pair moving.

### 1.1.3 Henry reaction.

The forming of carbon-carbon bond is very important in Organic Chemistry in order to build a complex carbon framework. The nitro-aldol reaction, was discovered in 1895 by L. Henry<sup>2</sup> Is a coupling reaction between a carbonyl compound and an alkylnitro compound with alpha hydrogens, the overall transformation forms a new carbon-carbon bond with new functional groups, a hydroxyl and a nitro. This beta-nitroalkanol functionality can be transformed into new groups, by oxidation, reduction and dehydration.

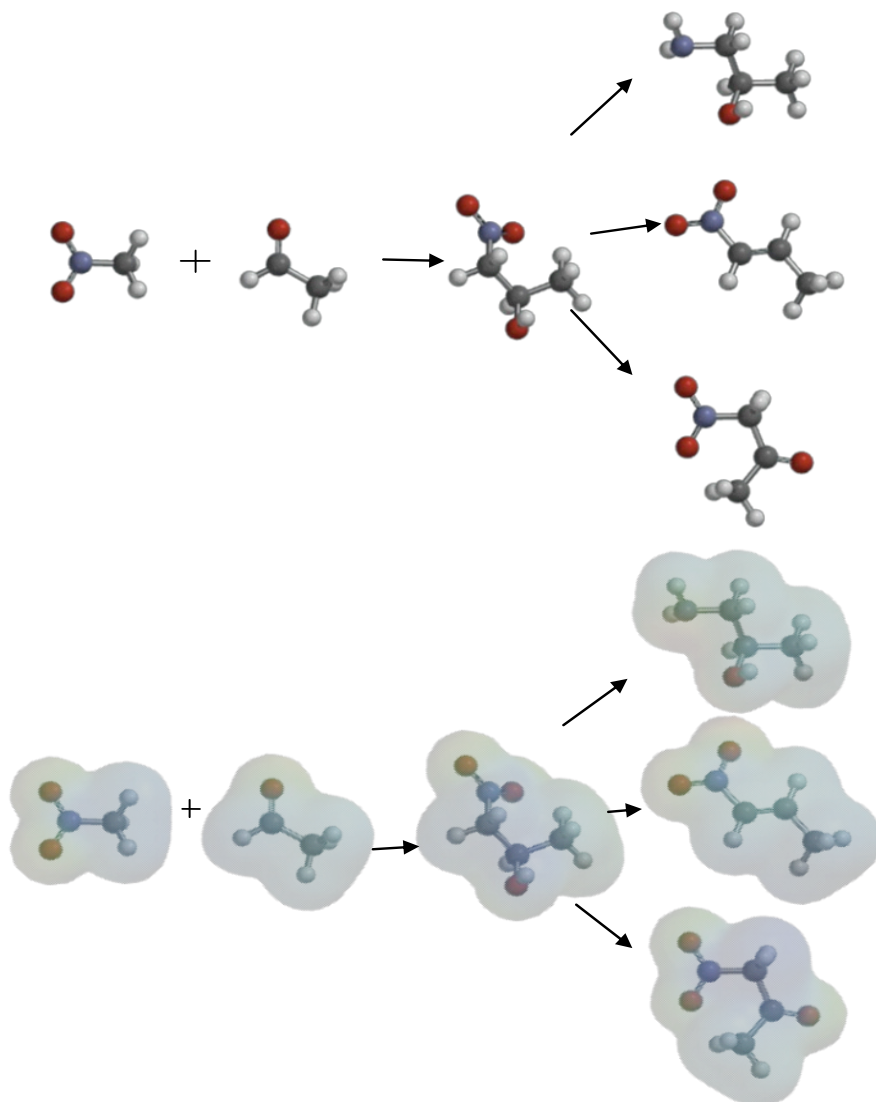


Fig 7 Henry reaction with further transformation.

The first nitroaldol reactions were catalysed by bases, actually many different set of conditions are used; organic bases, inorganic bases, quaternary ammonium salts, protic and aprotic solvents, and even without solvents. This variety of conditions allows the presence of different type of functionality, and wide variation in solubility of reactants and products.

The first asymmetric synthesis of the Henry reaction was reported by Sasai<sup>3</sup>. Since then, interest in this area has been expanded upon considerably and various

When a nitroalkane is reacted with n-butyllithium in presence of isopropoxytitanium trichloride ((THF/-78°C) to afford the corresponding beta-nitroalkanol the in situ-formed dichloroisopropoxytitanium nitronate promotes high *erythro* selectivity<sup>4</sup>.

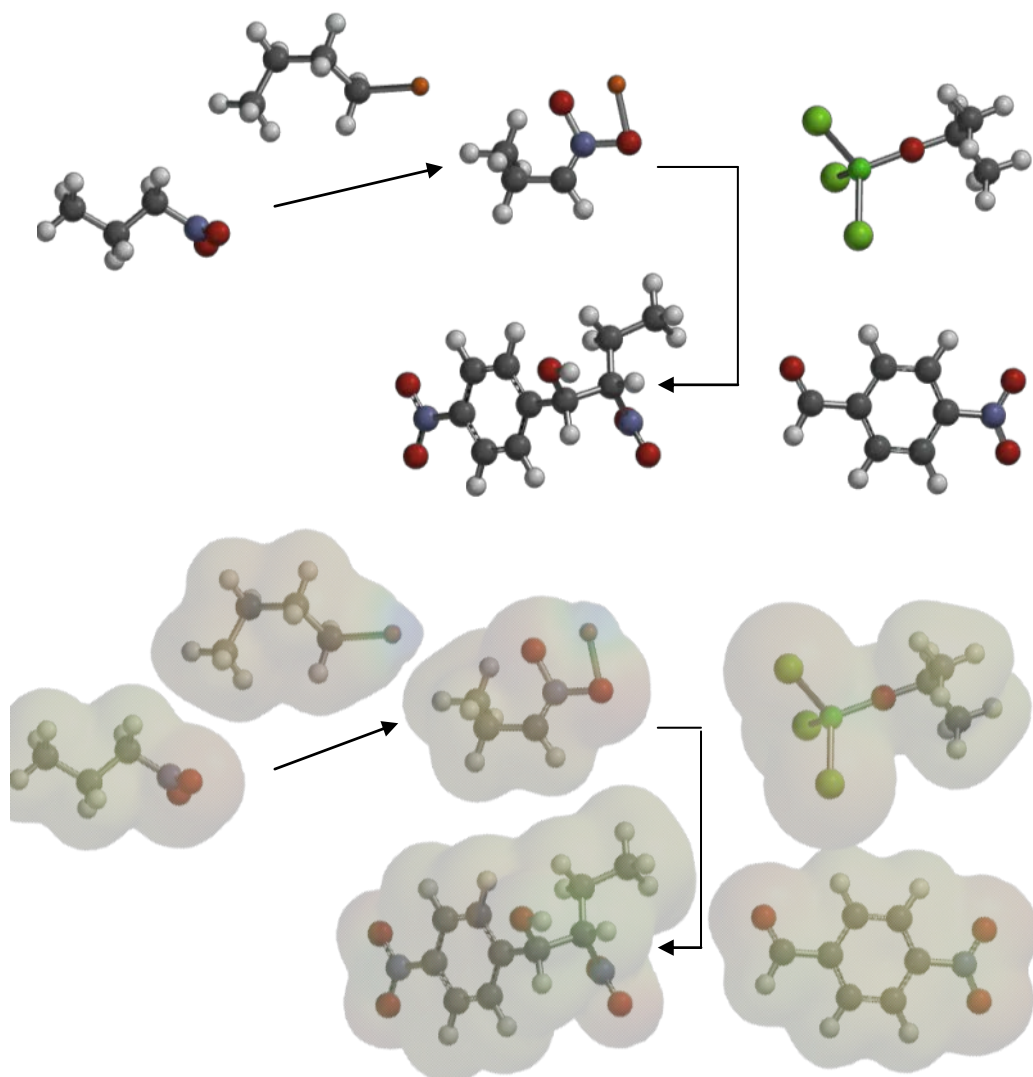
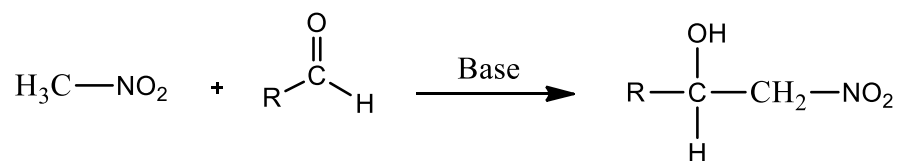


Fig 8 nitroaldohol asymmetric reaction.

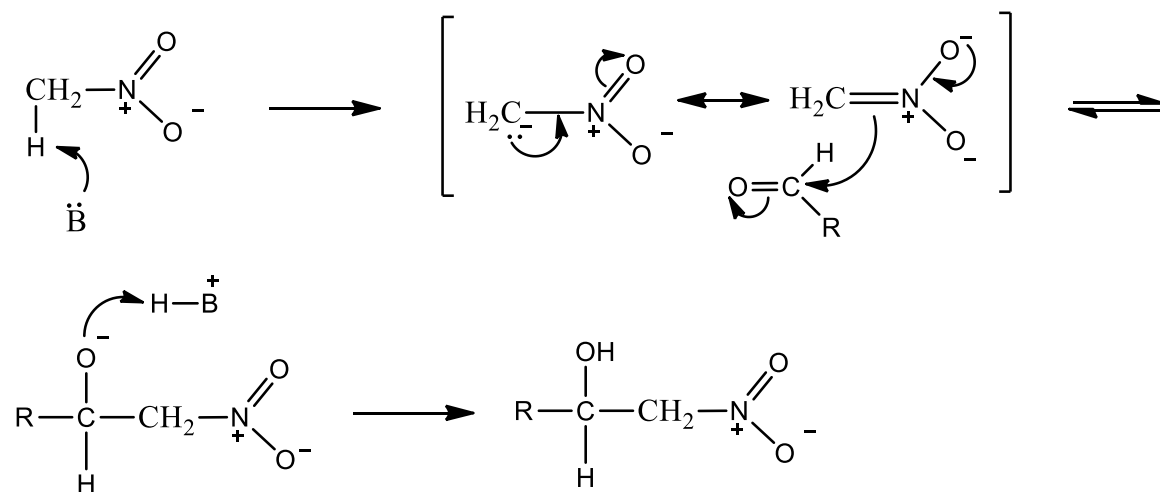
The chiral nitroaldol products find increasing applications in pharmaceutical industries. The utility is based on the versatility of the nitroalcohols which can be converted into 1,2-aminoalcohols, amino sugars, nitro ketones, nitroalkenes, alfa-beta-unsaturated nitrocompounds, ketones, carboxylic acids, polyamino alcohols and polyhydroxylated amides<sup>5,6</sup>. Both aromatic and aliphatic nitro aldols play an essential role in synthetic organic chemistry.

### 1.1.4 Mechanism of reaction

General reaction



Reaction Mechanism



The steps of the mechanism involve in the first step the elimination of a proton to produce an anion.

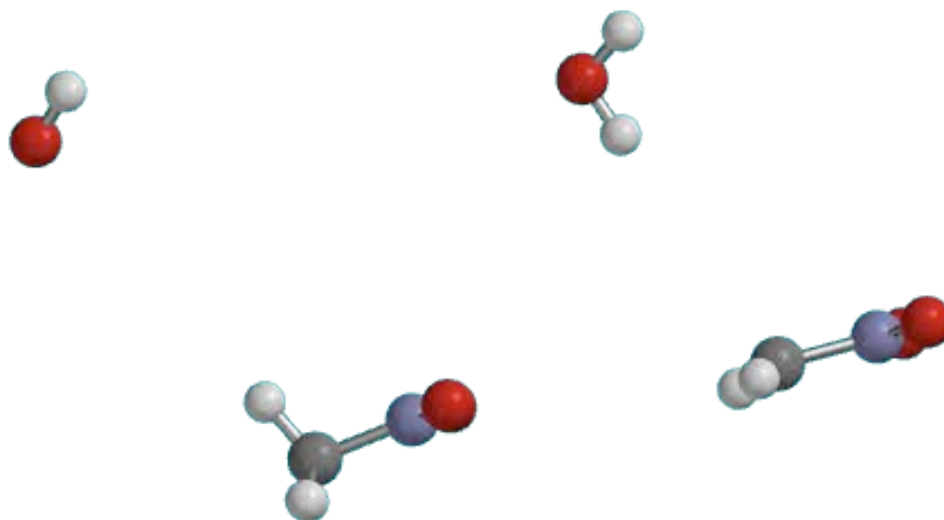


Fig 9. Formation of nitroalkane anion.

This formation in steps the base is approached in the right angle and right energy to abstract a proton.

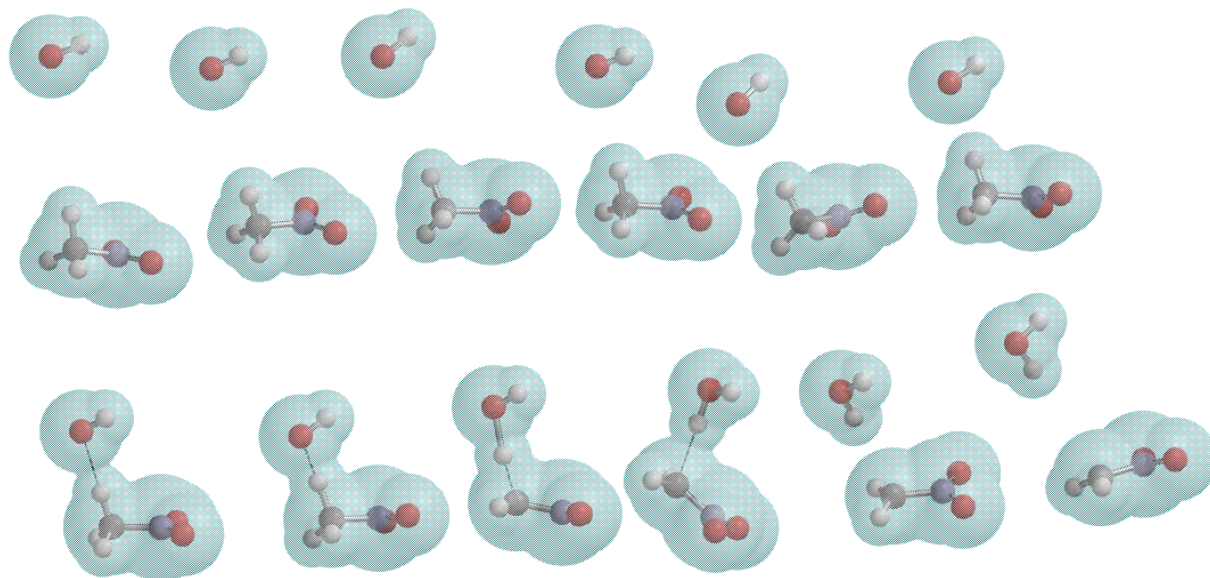


Fig 10. Sequence showing the approaching of the base the transition state and the leaving of the protonated base.

The next step is the attack of the anion to the aldehyde:

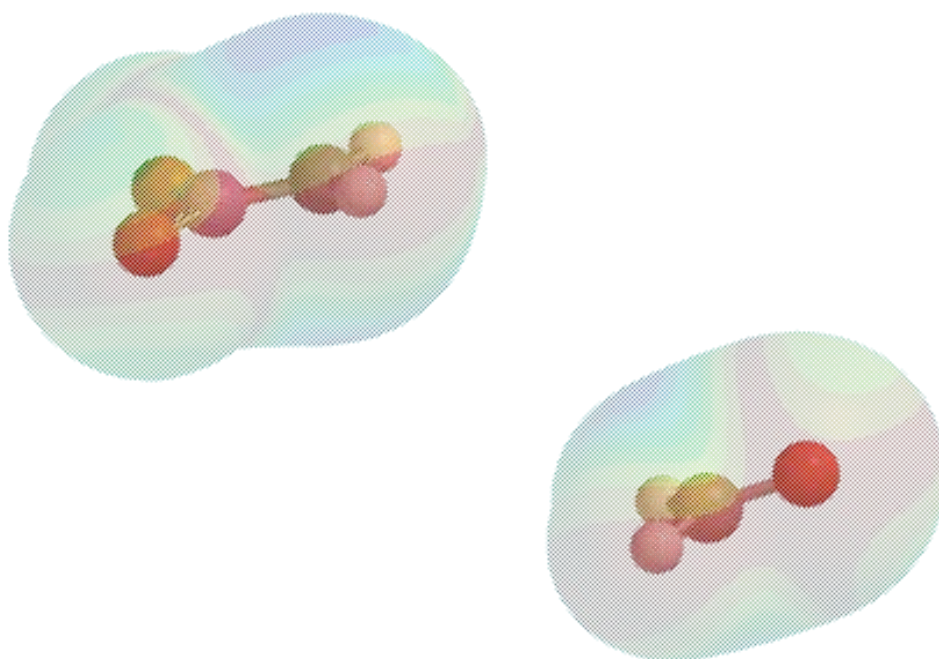


Fig 11 Attack of the anion to the aldehyde.

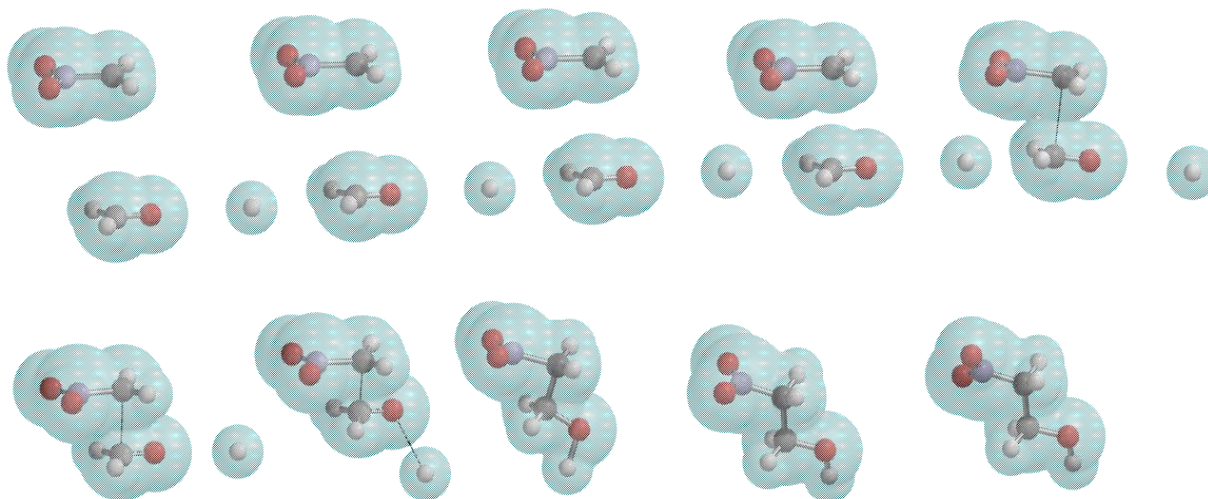


Fig 12 Second attack of the anion to the aldehyde, showing the electron density map.

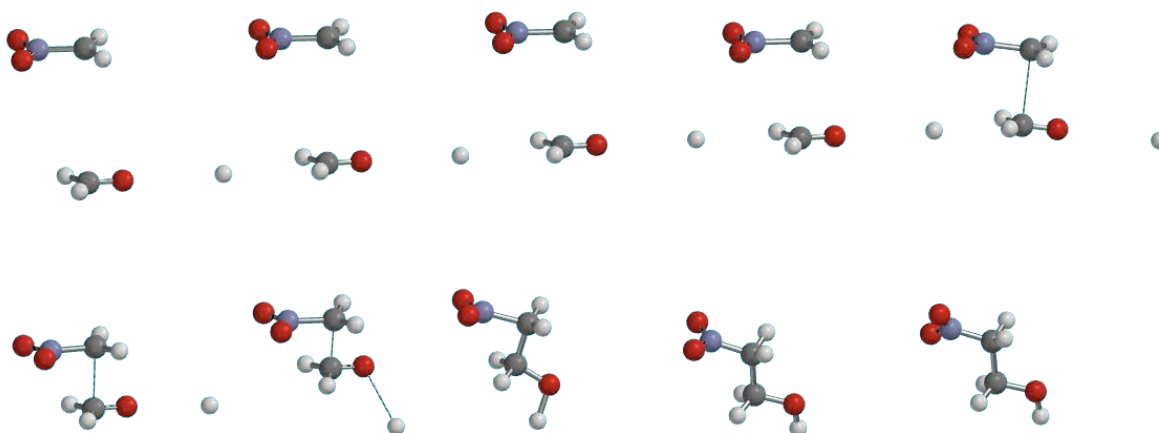


Fig 13. Anion Attack to the aldehyde. Bond forming.

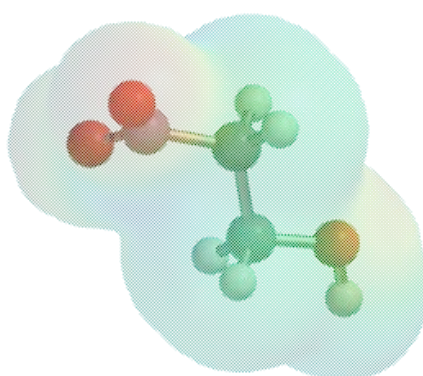


Fig 14. Final product nitro alcohol.

## 2 CONCLUSIONS

This work shows that with the aid of molecular modelling programs like Spartan and Odyssey, it is easy to illustrate some properties to the molecules involved in a reaction. It is possible to illustrate complex reactions in a simple way and discuss with students the different factors involved in a reaction.



## AKNOWLEDGMENTS

This work was partially supported by a grant from Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) Universidad Nacional Autónoma de México PE205313.

## REFERENCES

- [1] <http://www.wavefun.com/>
- [2] Henry, L. C. R. Acad. Sci. Ser. C. 1895, 1265; Henry, L. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1895**, 13, 999
- [3] Sasai,H; Suzuki,T; Arai,S; Shibasaki,M. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**,114, 4418-4420.
- [4] Barret,A.G.M.; Robyr,C.; Spilling,C.D. *J. Org. Chem.* **1989**,54,1234-1236.
- [5] Matt C. Wagner A, Mioskowski C. *J. Org Chem.* **62**, 1997 234.
- [6] Pouper .A. Fazal G. Goulet S Mar L.T. *J. Org Chem.* **64**, 1999,1356.