



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

Facultad de Química

TESIS

SÍNTESIS DE DERIVADOS PERETILADOS DE GLUCOSA,  
MANOSA, GALACTOSA Y EL ESTUDIO TEÓRICO DE SUS  
PROPIEDADES COMO POSIBLES AGENTES  
EMULSIFICANTES

Que para obtener el título de:

QUÍMICO

PRESENTA:

Luis Mauricio Murillo Herrera



Ciudad Universitaria, CD. MX.

2017



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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:**

**PRESIDENTE: DR. FERNANDO LEÓN CEDEÑO**

**VOCAL: M. EN I. JOSE LUIS LÓPEZ CERVANTES**

**SECRETARIO: DR. GABRIEL EDUARDO CUEVAS GONZÁLEZ BRAVO**

**1er. SUPLENTE: DR. JOSÉ ENRIQUE BARQUERA LOZADA**

**2° SUPLENTE: DRA. LAURA DOMÍNGUEZ DUEÑAS**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**ASESOR:**

**Dr. Gabriel Eduardo Cuevas González Bravo**

---

**SUSTENTANTE:**

**Luis Mauricio Murillo Herrera**

---



## AGRADECIENTOS

Este trabajo fue realizado en el laboratorio 1-1 del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México bajo la asesoría del Dr. Gabriel Eduardo Cuevas González Bravo con una beca otorgada por el CONACYT (No. 220392-24601-3653), con los recursos computacionales brindados por la Dirección General de Cómputo y de Tecnologías de Información y Comunicación (SC 16-1-IR-105) así como recursos económicos para el desarrollo del proyecto por parte de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (IN-209416) y por parte del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (proyecto 165614)

## **Tabla de contenidos:**

1. Introducción .....	8
1.1. Planteamiento del problema .....	9
2. Antecedentes .....	11
2.1. Generalidades sobre carbohidratos.....	11
2.2. Reacciones sobre carbohidratos en medio básico. ....	17
2.3. Peralquilación .....	19
2.4. Síntesis de etil 2,3,4-trietil-O-etil- $\alpha$ -D-glucosido.....	25
2.5. Reacciones secundarias sobre carbohidratos en medio básico .....	25
2.6. Propiedades interfaciales .....	29
2.7. Química computacional .....	36
3. Objetivos .....	42
3.1. Objetivo general .....	43
3.2. Objetivos particulares .....	43
3.3. Hipótesis.....	43
4. Metodología. ....	44

4.1. Ensayo de síntesis.....	43
4.2. Cálculos computacionales .....	44
5. Resultados y discusión .....	51
5.1. Síntesis.....	51
5.1.1. Métodos basados en DMSO e hidróxidos alcalinos.....	52
5.1.2. Métodos basados en DMF e hidruro de sodio.....	54
5.2. Elucidación estructural de los compuestos por medio de <sup>1</sup> H-RMN, .....	57
<sup>13</sup> C-RMN, FIT-IR y espectrometría de masa	
5.2.1. Etil 2,3,4,6-O-etil-D-glucopiranosido.....	60
5.2.2. Etil 2,3,4,6-O-etil-D-manopiranosido.....	62
5.2.3. Etil 2,3,4,6-O-etil-D-galactopiranosido.....	65
5.3. Simulación molecular.....	67
6. Conclusiones .....	75
7. Referencias bibliográficas .....	77



# **1. Introducción**

Los carbohidratos son las biomoléculas más abundantes que existen en la naturaleza y presentan una gran diversidad de roles en procesos biológicos, aportan rigidez estructural a las células cuando se encuentran en forma de polisacáridos como la celulosa, o al DNA como las desoxirribosas; son reservorios de energía para las células al oxidarlos en forma controlada y participan en la mayoría de las rutas metabólicas interviniendo en procesos de consumo y generación de energía química y además, desempeñan papeles de reconocimiento molecular gracias a las interacciones débiles que presentan estos con otras biomoléculas.

Las interacciones débiles como lo son los puentes de hidrógeno o aquellas que son consecuencia de las fuerzas de dispersión de London o las de van der Waals, son el núcleo de estudio de la química supramolecular. Dichas interacciones se deben a atracciones y repulsiones electrostáticas, explicadas por la existencia de dipolos o cuadrupolos en las moléculas (Bautista-Ibáñez, *et al.*, 2007). Así, estas interacciones no covalentes permiten asociaciones relativamente débiles pero cuantiosas entre moléculas, mismas que median el reconocimiento en mecanismos celulares o la formación de complejos sistemas como las micelas.

Las interacciones que se presentan entre los carbohidratos y otras biomoléculas han interesado a los químicos desde hace casi cien años debido a su potencial anfifílico, lo cual las hace capaces de participar en procesos industriales donde se requieren tensoactivos o agentes emulsificantes. Actualmente se ha explorado el uso de polisacáridos para generar sistemas de transporte de sustancias activas con

aplicaciones farmacológicas, de tal forma que se incremente la solubilidad de estas en medios lipofóbicos e hidrofóbicos (Nian, 2013). Destaca también el uso de polisacáridos permetilados lo cual aumenta su hidrofobicidad, para transportar fármacos. Esto resulta útil para ciertos métodos de administración como por ejemplo las vías transmucosales, donde la diseminación del medicamento es lenta porque las propiedades interfaciales de ambos medios no favorecen la penetración del compuesto. También resulta útil para medicamentos cuya vía de transporte es sanguínea (eminentemente polar) y que a su vez requieren ser hidrófobas para penetrar los tejidos celulares. (Roewer y Broscheit, 2009).

Las responsabilidades actuales de la química señalan la necesidad de modificar los procesos tradicionales por alternativas más amigables con el medio ambiente. Por ello y debido a la gran aplicación y uso extendido de los tensoactivos en muchas ramas industriales, se busca que estas moléculas sean fácilmente degradables, ya que estarán en continua exposición al ambiente. (Ullah, Shah y Kahn, 2015).

Con base en lo anterior se plantea el uso de monosacáridos peralquilados, particularmente hexosas, ya que, al derivatizarlas con diversas cadenas alquílicas, se obtienen compuestos de menor polaridad pero que siguen siendo solubles en agua, lo cual permite que establezcan fases hidrofóbicas en medios polares.

### 1.1. Planteamiento del problema

Los derivados peralquilados de diversos monosacáridos son capaces de estabilizar mezclas inmiscibles de líquidos (Ramírez-Gualito, *et al.*, 2008) tales como agua/hexano. Se sabe que las interacciones involucradas son del tipo puente de

hidrógeno, así como de naturaleza dispersiva. Sin embargo, no se han llevado a cabo estudios química computacional acerca de los mecanismos de solvatación. Tampoco se ha estudiado a fondo la síntesis de los derivados peretilados de glucosa, galactosa y manosa.

## **2. Antecedentes**

### **2.1. Generalidades sobre carbohidratos**

Los carbohidratos son compuestos que se encuentran en gran abundancia en la naturaleza. Dentro de los seres vivos desempeñan funciones estructurales, energéticas y de reconocimiento molecular. (Matwiejuk y Thiem, 2011)

Se pueden clasificar de acuerdo a las unidades de carbohidrato que se encuentran ensamblados, siendo los monosacáridos los compuestos más sencillos cuya principal característica es que no se pueden hidrolizar a moléculas más simples. Por otro lado, un disacárido es un carbohidrato capaz de sufrir hidrólisis para producir dos monosacáridos; un ejemplo de tal concepto es la sacarosa, formada por una unidad de glucosa y una de fructosa. Siguiendo esta línea, un polisacárido es un compuesto formado por varias unidades de monosacáridos, como el almidón.

Los monosacáridos a su vez se clasifican según su estructura química, teniendo en cuenta si el azúcar posee función aldehído o cetona (aldosas o cetosas), el número de átomos de carbono que lo conforman (triosa, tetrosa, pentosa, hexosa, etcétera) y la estereoquímica del átomo de carbono más alejado de la función carbonilo (D o L). La nomenclatura D/L está basada en la naturaleza asimétrica de la molécula de gliceraldehído (la aldosa más pequeña), la cual presenta un centro estereogénico. (Fig.1.1). Para designar si un carbohidrato pertenece a la serie D o L se construye su proyección de Fischer con el grupo carbonilo siempre en la parte superior; si el grupo hidroxilo del último centro estereogénico se encuentra a la izquierda, el

carbohidrato es L, si se encuentra a la derecha, el carbohidrato es D. (Fig. 1.2)  
(Bruice, 2014)

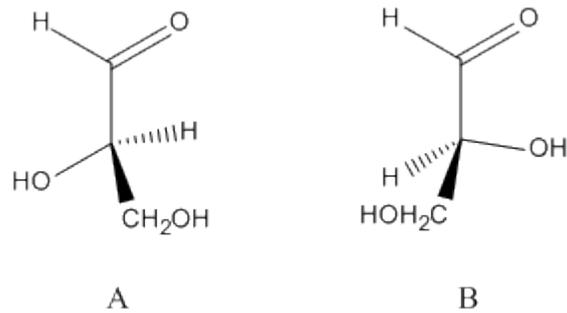


Figura. 1.1: A: (R)-Gliceraldehído. B: (S)-Gliceraldehído.

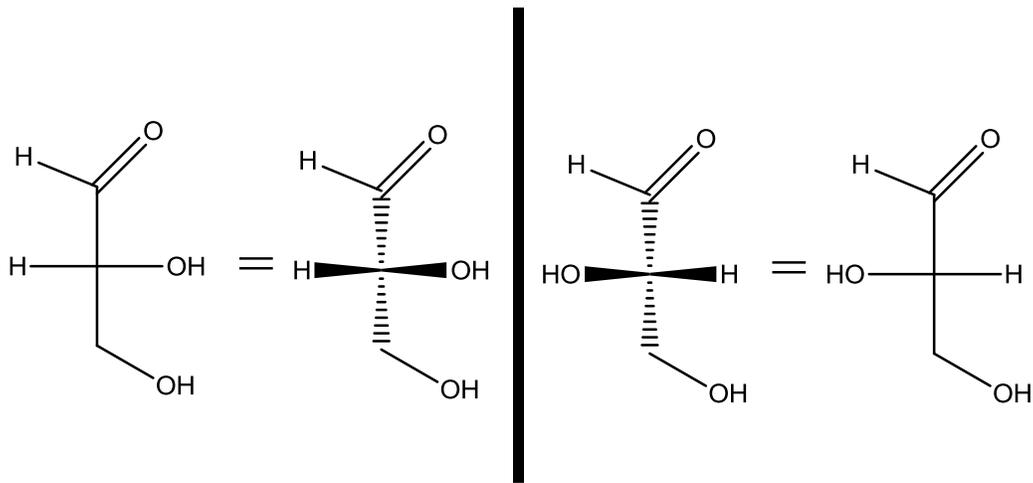


Figura. 1.2: Proyecciones de Fischer de los enantiómeros de la molécula de gliceraldehído. A: corresponde al D-gliceraldehído. B: L-Gliceraldehído

Otra importante clasificación de los azúcares proviene su naturaleza óptica, ya que dependiendo del tipo de epímero del que se trate, el monosacárido es capaz de desviar un haz de luz polarizada con diferente ángulo. Los descriptores usados para

designar la desviación del plano son (+) a la derecha y (-) a la izquierda. (Wade, 2008)

Tomando en cuenta lo anterior, la nomenclatura aceptada para los carbohidratos se compone del descriptor estereoquímico, el de rotación del plano de luz polarizada seguido por el nombre trivial, ya que dicho nombre contiene información de todos los centros estereogénicos que posee la estructura del carbohidrato. (Bruice, 2014)

Otra clasificación comúnmente usada en química de carbohidratos es la de azúcares reductores y no reductores. Todos los monosacáridos cuya función carbonílica corresponde a un aldehído reaccionan con especies oxidantes como el reactivo de Fehling o el de Tollens dando como resultado la reacción de oxidación del grupo carbonilo a ácido carboxílico. Al igual que los monosacáridos, la mayoría de los disacáridos son reductores, siendo una importante excepción la sacarosa. Esto depende de la posición del enlace glucosídico. (Morrison y Boyd, 1998).

En solución, los azúcares de 5 o 6 carbonos sufren reacciones intramoleculares de adición nucleofílica entre las funciones carbonílicas y los grupos hidroxilo que poseen, formando hemiacetales cíclicos que se encuentran en equilibrio con la forma abierta del monosacárido. Los anillos más estables son producto de reacciones entre la función carbonílica y el hidroxilo en C4 (ciclo de 5 componentes) y el hidroxilo en C5 (ciclo de 6 componentes). Los anillos de 6 elementos se conocen como piranosas, mientras que los de 5 como furanosas. La reacción se puede llevar a cabo en solución acuosa, ya que la molécula de agua es suficientemente básica para catalizar la adición mediante la escisión del protón del hidroxilo que realiza el

ataque. (Fig. 3. McMurry, 2008) El equilibrio implica que el anillo se forma y se destruye constantemente dando lugar a un fenómeno conocido como mutarrotación, llamado así debido a que deriva en la formación de los anómeros  $\alpha$  o  $\beta$  dependiendo de la orientación del ataque nucleofílico, donde cada uno posee diferente capacidad rotatoria en el polarímetro. Cuando el -OH en C1 del recién formado ciclo es cis al átomo de oxígeno del C5, decimos que se trata del anómero  $\alpha$ , si es trans, se le denomina anómero  $\beta$ . (Fig. 4). Es notable el hecho de que la glucosa, así como otras hexosas, es capaz de formar ciclos de 5 o de 6 miembros si el ataque se da por el hidroxilo del C5 o del C4.

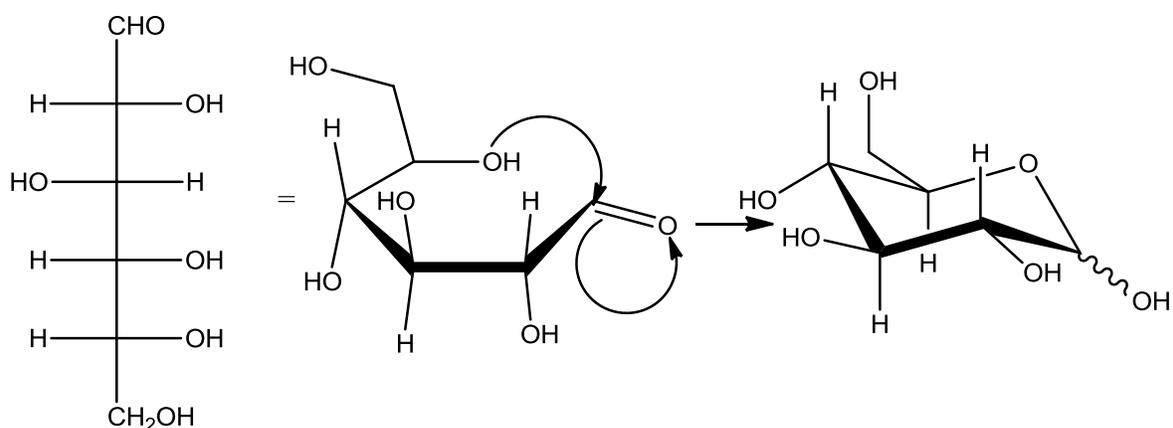


Figura 2: Ciclación de D-glucosa mediante la formación de un hemiacetal, se muestra la proyección de Haworth para evidenciar los átomos que participan en la reacción. El producto es una mezcla de los anómeros  $\alpha$  y  $\beta$ .

En los anómeros, solo varía la posición del sustituyente en C1, por lo que son las interacciones que involucran al hidroxilo en el carbono anomérico las que explican el equilibrio conformacional y la preferencia de reactividad. Este grupo se encuentra en posición *gauche* con respecto al hidroxilo del C2, de tal modo que las interacciones 1,3-diaxial tipo (OH:H) son las responsables de la conformación.

(Kirby, 1983). Sin embargo, las pruebas experimentales han demostrado que pese a que el anómero  $\beta$  se encuentra en mayor proporción que el  $\alpha$  (aproximadamente 2:1), al hacer reaccionar el hemiacetal del carbono anomérico para formar un acetal a través de un enlace glucosídico, el producto principalmente formado es el anómero alfa. (Juaristi y Cuevas, 1992). Los modelos más aceptados que explican este fenómeno son el impedimento estérico y los fenómenos de deslocalización electrónica (Fernández-Alonso, *et al.*, 2005).

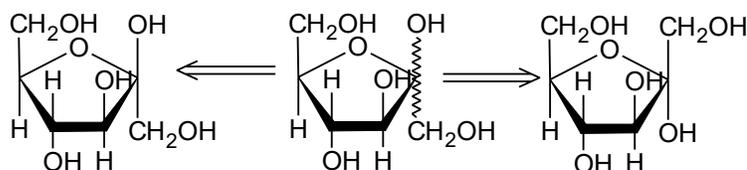


Figura 3: Mutarrotación de fructosa. Anómero  $\beta$  a la izquierda. Anómero  $\alpha$  a la derecha.

La hipótesis estérica sugiere que la diferencia en energía de los derivados monosustituidos de las piranosas es tal, que los sustituyentes prefieren la posición ecuatorial en C1 para evitar repulsiones de índole electrostático entre los pares de electrones libres del oxígeno endocíclico y el enlace C-X, donde X es el sustituyente enlazado a C2. (Fig. 5. Juaristi y Cuevas, 1992). Los cálculos de estructura electrónica en fase gaseosa demuestran que a mayor carácter dipolar en C-X, mayor es la energía electrostática de los conformeros (Cortés-Guzmán *et al.*, 2010) por lo tanto, de acuerdo al modelo estérico, a mayor carácter dipolar, mayor es la prevalencia del anómero  $\alpha$  en la ecuación química de la figura 5. Se debe destacar el hecho de que, en disolvente, la proporción entre los dos anómeros tiende ligeramente a la igualdad ya que la constante dieléctrica del disolvente, reduce los efectos dipolares.

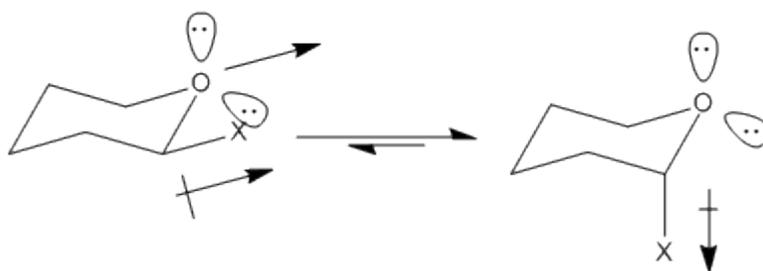


Figura 4. Equilibrio conformacional y modelo estérico. X

Los efectos estereoelectrónicos han sido ampliamente estudiados computacionalmente. Se ha planteado que la prevalencia del conformero axial sobre el ecuatorial no se debe principalmente a efectos estéricos, sino a un fenómeno de deslocalización electrónica conocido como hiperconjugación, en este caso del tipo  $n_{\text{O}} \rightarrow \sigma^*_{\text{CX}}$ . Es decir, que la estabilización del anómero axial sobre el ecuatorial se debe a la deslocalización del par electrónico antiperiplanar del oxígeno sobre el orbital de antienlace C-X. Este modelo se soporta por cálculos NBO (Natural Bond Orbital Theory) y por el efecto observado en la geometría experimental, que produce un acortamiento del enlace C<sub>1</sub>-O con respecto al promedio, y al alargamiento de los enlaces C-X. (Perrin y Erdély, 2005).

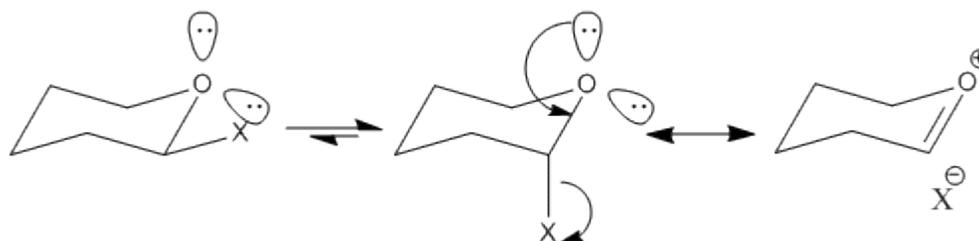


Figura 5. Hiperconjugación tipo  $n_{\text{O}} \rightarrow \sigma^*_{\text{CX}}$

Recientemente se han propuesto modelos basados en interacciones dipolares, analizadas por medio de las variaciones en las constantes de acoplamiento de los protones alfa al oxígeno (Fernández-Alonso *et al.*, 2005), respecto a corrientes

eléctricas inducidas a nivel molecular (Hernández-Lima *et al.*, 2015) o variaciones en las fuerzas Ehrenfest (Cortés-Guzman *et al.*, 2010).

## 2.2. Reacciones sobre carbohidratos en medio básico

Los experimentos realizados en este trabajo fueron llevados a cabo en disoluciones acuosas o mezclas miscibles e inmiscibles que involucran agua, por lo que resulta imperioso revisar la reactividad de los carbohidratos en presencia de medios básicos. Ya se habló del equilibrio que experimentan los carbohidratos de 5 y 6 carbonos en solución para formar hemiacetales cíclicos. Otras reacciones importantes catalizadas por bases son la epimerización y el rearrreglo vía enediol conocido como rearrreglo de Lobry de Bruyn-Alberda-van Ekenstein.

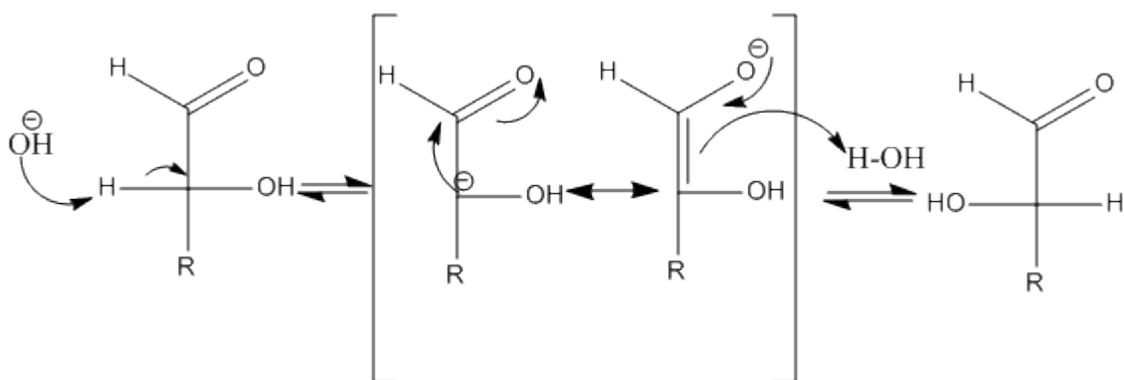


Figura 6: Epimerización en medio básico sobre un aldehído. El mismo proceso ocurre con cetonas.

La epimerización (Fig. 6) ocurre de manera reversible en medio básico cuando el azúcar se encuentra en forma abierta, mediante la pérdida del protón alfa respecto a la función carbonílica, lo que genera un carbanión que entra en resonancia con el grupo carbonilo generando un anión enolato que actúa como base, atacando un protón del agua. Dado que este estado de transición es plano, el ataque nucleofílico

se puede dar por ambas caras, recuperando el azúcar original o generando el epímero correspondiente. (Wade, 2008)

El rearrreglo vía enodiol o de Lobry de Bruyn-Alberda-van Ekenstein en medio básico (Fig. 7) es una reacción reversible que transforma una aldosa en una cetosa vía el intermediario enodiol, inicialmente ocurre la misma sustracción del protón alfa que en la epimerización, sin embargo, la sustracción del protón no ocurre por medio de la insaturación sino por el oxígeno, lo cual genera el intermediario enodiol. Cualquiera de los hidroxilos adyacentes a la insaturación puede sufrir una tautomerización regenerando la aldosa original o bien, formando una nueva cetosa. (Bruice, 2014)

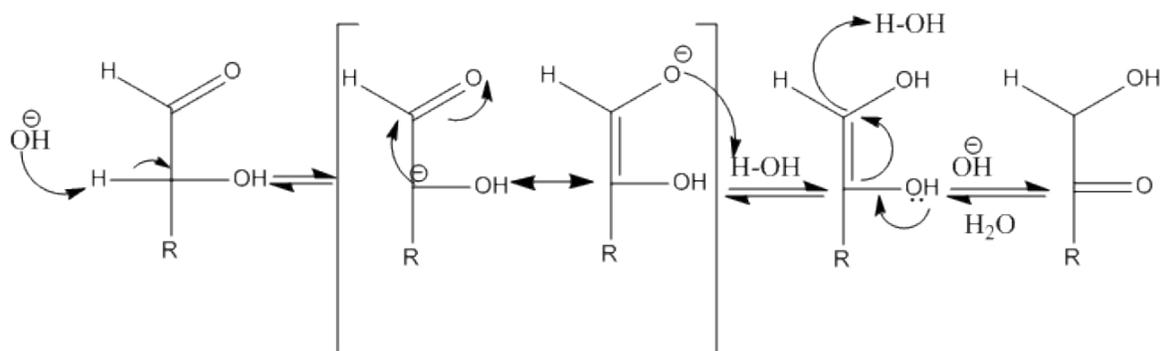


Figura 7: Las aldosas y las cetosas se interconvierten por un rearrreglo en medio básico vía un intermediario enodiol.

### 2.3. Peralquilación

El estudio de las interacciones que experimentan los carbohidratos en sistemas polares o apolares ha sido de gran interés para la química, pues permite entender cómo es que, en la naturaleza, estos compuestos participan en funciones de reconocimiento. Dichos procesos se deben a la presencia de fuerzas de Van der

Waals, particularmente a fuerzas de dispersión, las cuales dependen de la naturaleza química del azúcar, como su estereoquímica o su carácter anfífilo. (Vanderbuscche, *et al.*, 2008). La peralquilación de diversos monosacáridos es relevante para el estudio de interacciones dispersivas con fracciones aromáticas tipo CH/ $\pi$ . (Ramirez-Gualito, *et al.*, 2009).

Existen diversas rutas para sintetizar derivados peralquilados de monosacáridos. Una reacción muy utilizada es una modificación de la síntesis de Williamson, que es factible debido a la relativamente alta acidez de los grupos hidroxilo en los monosacáridos (Morrison y Boyd, 1998). La aplicación tradicional de la síntesis de Williamson usando bases fuertes puede degradar el carbohidrato, sin embargo, la reacción del monosacárido con yoduro de metilo y óxido de plata (Fig. 6) produce el derivado pentametilado del monosacárido (Irving y Purdie, 1903). No obstante, se requieren adiciones sucesivas de reactivo para alcanzar la metilación total, incluso se observan fracciones no permetiladas a las 40 horas de reacción si no se agregan cantidades adicionales de haluro de alquilo y base. (Walker, Gee, y McCreedy, 1962)

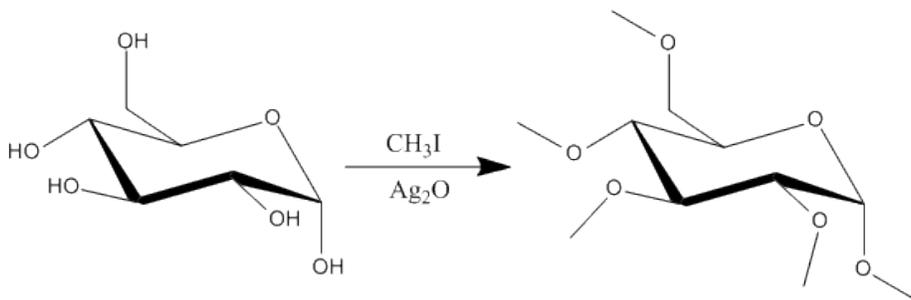


Figura 8: Permetilación de D-glucosa usando óxido de plata como base

Con base en este método se propusieron modificaciones que consideran la acidez de los grupos hidroxilo, así como la basicidad/nucleofilia de los reactivos. El método de Haworth fue el primero bajo esta tesitura; el procedimiento parte del  $\alpha$ -metilglucósido, que se trata con sulfato de dimetilo e hidróxido de sodio concentrado, dispensados por adición gota a gota a la mezcla de reacción (Haworth, 1915). Sin embargo, este método requiere de adiciones de reactivo posteriores para completar la peralquilación. (Degering, Binkley y Sprang, 1940).

Uno de los métodos más socorridos para alquilar monosacáridos es el método de Hakomori (Hakomori, 1964). Este método propone usar DMSO como disolvente, ya que se explotan las propiedades catalíticas del carbanión dimetil sulfinilo  $\text{CH}_3\text{-SO-CH}_2^-$ , la base conjugada del DMSO. Este carbanión es una base fuerte con carga deslocalizada por resonancia, de modo que su actividad nucleofílica es deficiente.

Por otro lado, los disolventes polares apróticos no son eficientes solvatando aniones duros (desde el punto de vista de la teoría de ácidos y bases de Ralph Pearson), sin embargo, los blandos sí; particularmente el yoduro interacciona con los grupos metilo en DMF y con el átomo de azufre en DMSO tal como lo muestran cálculos *ab initio* (Fawcett *et al.*, 2005). Por lo tanto, la solvatación ocurrirá preferentemente en el siguiente orden:  $\text{H}^-$ ,  $\text{OH}^- < \text{RO}^- < \text{I}^-$ . Esto resulta conveniente puesto que el carbanión dimetilsulfinilo es blando ya que la carga se dispersa por resonancia y porque el ion yoduro se solvata bien, lo cual favorece el curso de la reacción  $\text{S}_{\text{N}}2$  entre el alcóxido y el yoduro de alquilo hacia el éter correspondiente (Hunt, en línea: consultado 17-mayo-2016). De acuerdo con Hakomori, la síntesis de los derivados

permetilados se divide en dos pasos: la formación del anión y la síntesis del éter (Fig. 9) y (Fig. 10)

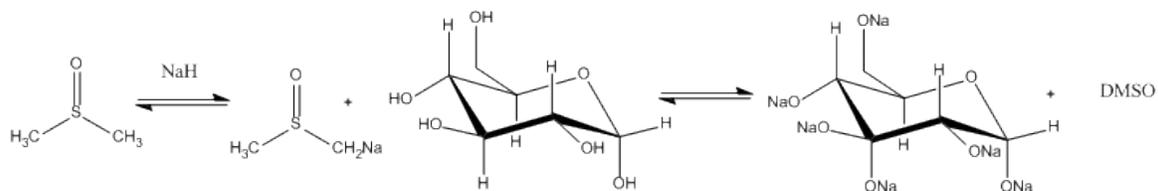


Figura 9: Formación del anión dimetilsulfinilo y de alcóxido a partir de un exceso de DMSO (disolvente)

El anión se forma mezclando hidruro de sodio adsorbido en aceite mineral, en una cantidad equivalente a la cantidad de hidroxilos intercambiables en el monosacárido (Corey y Chaikosky, 1964). El hidruro de sodio fue agregado en forma de polvo finamente dividido, y el DMSO utilizado en condiciones anhidras con atmósfera de nitrógeno. La reacción se llevó a cabo a una temperatura entre 70 y 75°C. Corey y Chaikosvky reportaron que la reacción es evidente puesto que se formó hidrógeno molecular, que es apreciado debido a que se desprende del sistema; ambos autores sugieren la necesidad de realizar la reacción en atmósfera de nitrógeno, ya que el anión dimetilsulfinilo reacciona con el agua, el oxígeno molecular y el dióxido de carbono.

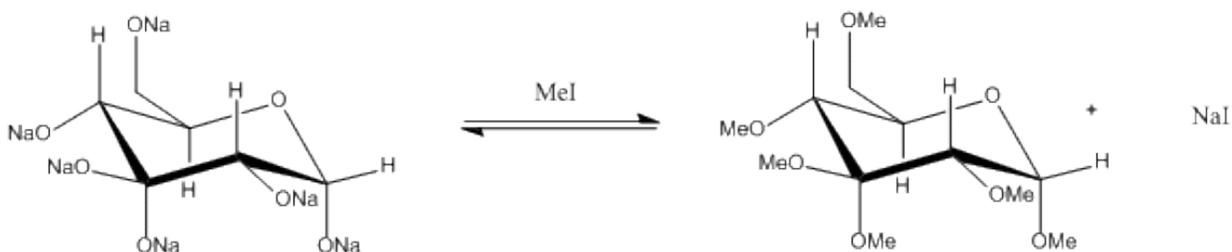


Figura 10: Formación del éter.

Posteriormente, en el segundo paso Hakomori agregó el azúcar para formar el alcóxido bajo agitación vigorosa por 10 minutos en atmósfera de nitrógeno. Finalmente, adicionó el haluro de alquilo a la mezcla de reacción gota a gota.

Al respecto, Lu y colaboradores reportan la síntesis de bencil 2,3,4,6-tetra-O-bencil-β-D-glucopiranosido con un rendimiento del 66% usando el método de Hakomori y 55% a partir de una alternativa basada en hidróxido de sodio y bromuro de bencilo como agente alquilante (Lu, Navidpour y Taylor, 2005, Fig. 11).

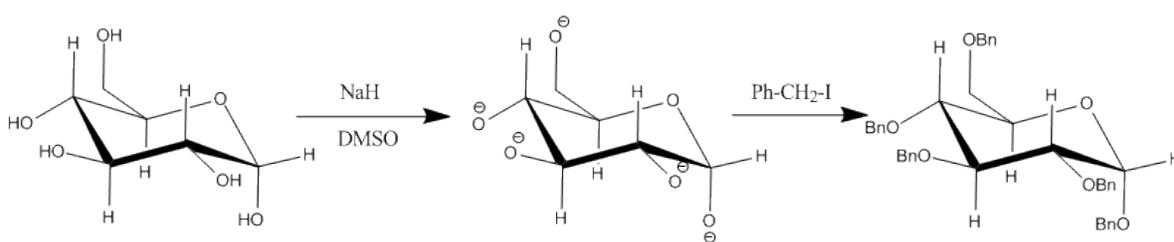


Figura 11: Perbencilación de D-Glucosa por el método de Hakomori.

Existen alternativas que buscan incrementar el rendimiento y que han sido aplicadas sobre el método de Hakomori. Una variante de la síntesis involucra generar un medio de reacción moderadamente acuoso mediante el uso de una solución de NaOH 50% en vez del NaH, para mejorar así la solubilidad de la base, debido a que el hidróxido de sodio es muy poco soluble en DMSO y con ello asegurar la formación de los alcóxidos (Wang, *et al.*, 1995). Esto se propuso con base en el hecho de que el anión alcóxido es aproximadamente un millón de veces más nucleofílico que el agua (Pearson, Sobel y Songstad, 1968). La relación molar es de 1.7 equivalentes de NaOH por cada equivalente de hidroxilo intercambiable, 6 equivalentes de haluro de alquilo y 3 mL de DMSO por cada mmol de azúcar. Aplicando esta metodología,

Wang y colaboradores reportaron mejores rendimientos partiendo del glucósido  $\alpha$ -metilado (Fig. 12).

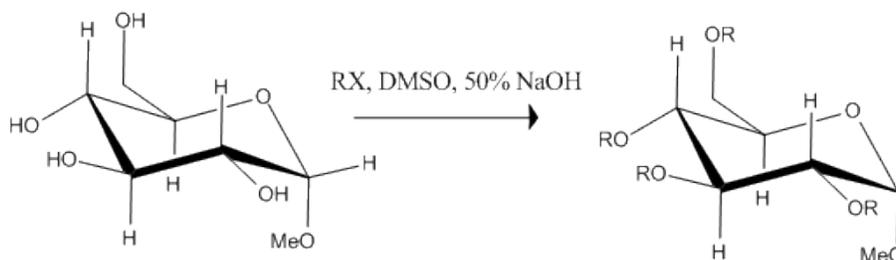


Figura 12: Adaptado de (Wang, *et al.*, 1995). Peralquilación de  $\alpha$ -metilglucopiranosido. RX corresponde a bromuro de vinilo, etilo, bencilo y yoduro de metilo. Los rendimientos obtenidos fueron en orden respectivo: 77%, 77%, 85% y 89%.

Otra alternativa al método original de Hakomori plantea el uso de 1,1,3,3-tetrametilurea (Me<sub>4</sub>U). Narui y colaboradores consideraron que los azúcares presentan dificultades para completar la metilación total, debido a que la estructura de los carbohidratos limita la desprotonación de los grupos hidroxilo al protegerlos con puentes de hidrógeno intra e intermoleculares, por lo tanto, sugirieron usar tetrametilurea para destruir los puentes de hidrógeno que se puedan formar ya que su uso como desnaturizante de proteínas se había convertido en un procedimiento estándar en ese entonces. Al ejecutar el método de Hakomori pero con disolvente formado por una mezcla 1:1 DMSO/Me<sub>4</sub>U Narui y colaboradores reportaron la permetilación total de un polisacárido de amilosa en 30 minutos (Narui, *et al.*, 1982).

El rol del anión dimetilsulfinilo en la síntesis de Hakomori fue puesto en duda por trabajos posteriores (Ciucanu y Kerek, 1984). Ciucanu y Kerek concluyen que el ion hidroxilo o el ion hidruro deben ser agentes básicos más preponderantes que el carbanión dimetilsulfinilo, ya que la permetilación pudo ser realizada en DMF, donde

no se forma ningún carbanión. Además, observaron que los rendimientos aumentan si se evita la formación del carbanión modificando la relación entre los mmol de base y los mililitros de DMSO. Finalmente, sugieren utilizar el sistema DMSO/NaOH con estequiometrías específicas para garantizar la permetilación de los monosacáridos.

Por otro lado, Neil Price reportó en 2008 que se obtienen mejores resultados para la permetilación de  $\beta$ -ciclodextrina con el método de Hakomori, es decir usando el sistema DMSO/NaH. No obstante, concluye que las mismas condiciones para realizar permetilaciones no son aplicables a todos los carbohidratos. (Price, 2008)

#### 2.4. Síntesis de etil 2,3,4-trietil-O-etil- $\alpha$ -D-glucósido

La síntesis de los derivados peretilados a partir de D-glucosa en vez de metil- $\alpha$ -D-glucosa fue realizada en 1936 usando sulfato de dimetilo como agente alquilante, tetracloruro de carbono como disolvente y NaOH, obteniendo 18% de rendimiento. (Binkley y Degering, 1936. Fig. 13)

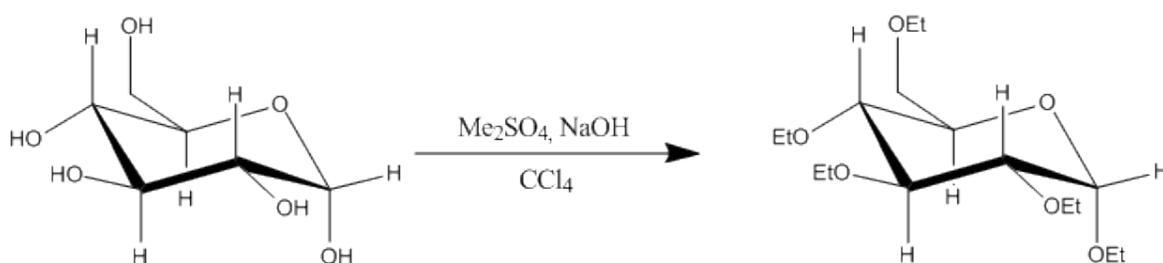


Figura 13: Síntesis del derivado peretilado de glucosa a partir de D-Glucosa, usando tetracloruro de carbono, sulfato de dimetilo e hidróxido de sodio. Rendimiento de 18%.

## 2.5. Reacciones secundarias sobre carbohidratos en medio básico

Los experimentos realizados en este trabajo fueron llevados a cabo en soluciones acuosas o mezclas miscibles e inmiscibles que involucran agua, por lo que resulta imperioso revisar la reactividad de los carbohidratos en ambientes acuosos alcalinos. Ya se habló del equilibrio que experimentan los carbohidratos de 5 y 6 carbonos en disolución para formar hemiacetales cíclicos. Otras reacciones importantes catalizadas por bases son la epimerización y el rearreglo vía enodiol.

La epimerización (Fig. 6) ocurre de manera reversible en medio básico cuando el azúcar se encuentra en forma abierta mediante la eliminación del protón alfa a la función carbonílica, lo que genera un carbanión que entra en resonancia con el grupo carbonilo, generando un anión enolato que actúa como base sustrayendo un protón del agua. Dado que este estado de transición es plano, el ataque nucleofílico se puede dar por ambas caras, recuperando el azúcar original o generando el epímero correspondiente. (Wade, 2008)

El rearreglo vía enodiol en medio básico (Fig. 7) es una reacción reversible que transforma una aldosa en una cetosa vía un intermediario enodiol, inicialmente ocurre la misma sustracción del protón alfa que en la epimerización, sin embargo, la sustracción del protón no ocurre por medio de la insaturación sino por oxígeno, lo cual genera el intermediario enodiol. Cualquiera de los hidroxilos adyacentes a la insaturación puede sufrir una tautomerización devolviendo la aldosa original o una nueva cetosa. (Paula, 2014)

Al respecto de estos equilibrios secundarios, Ciucanu y Kerek reportan que para la permetilación de D-glucosa, obtuvieron 72.2% del piranósido  $\beta$ ; 25.3% del piranósido  $\alpha$ ; 0.8% del furanósido  $\alpha$  y 1.7% del furanósido  $\beta$  (Fig. 15).

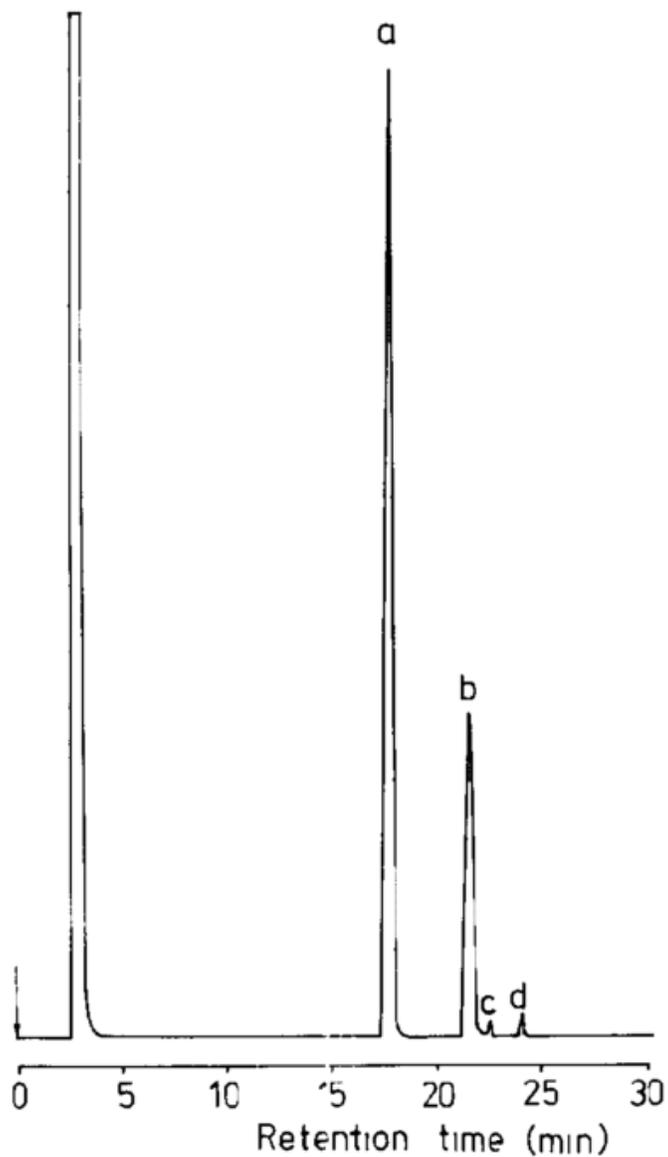


Figura 15: Cromatograma adaptado de Ciucanu y Kerek, 1984. Cromatografía de gases de la permetilación de D(+)-glucosa con DMSO y NaOH. “a” es el  $\beta$ -piranósido, “b” es el  $\alpha$ -piranósido, “c” es el  $\beta$ -furanósido y “d” corresponde al  $\alpha$ -furanósido.

Otro ejemplo de los equilibrios secundarios que participan en la peralquilación de monosacáridos es la permetilación de D-(+)-galactosa (Asres y Perreault, 1999). Se muestran los cromatogramas correspondientes a los 4 productos de reacción (Fig. 16). Los patrones son similares a los reportados por Ciucano y Kerek para la permetilación de D-(+)-glucosa.

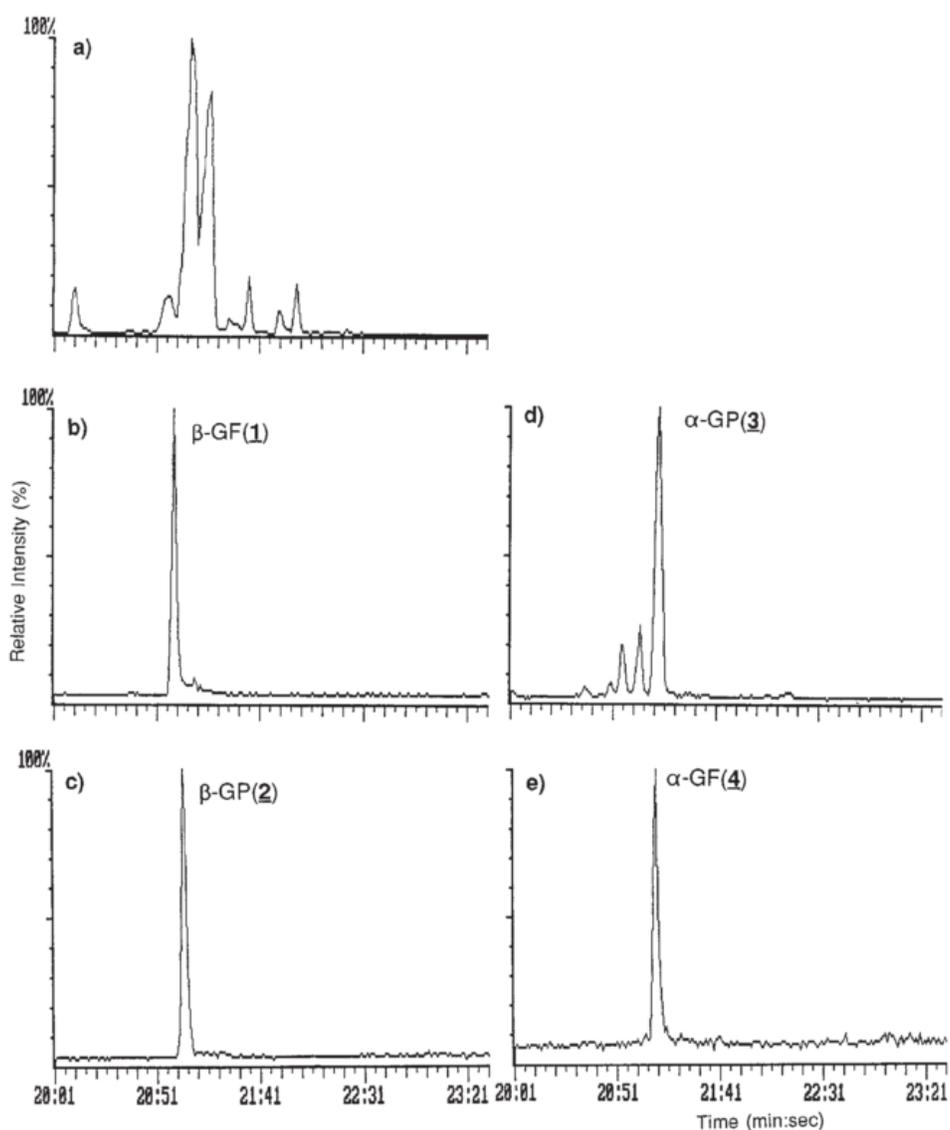


Figura 16: Cromatogramas adaptados de Ares y Perreault, 1999. Cromatografía de gases de la D-(+)-galactosa en DMSO con NaOH. a) mezcla de reacción. b)  $\beta$ -piranósido. c)  $\alpha$ -piranósido. d)  $\beta$ -furanósido. e) corresponde al  $\alpha$ -furanósido.

## 2.6. Propiedades Interfaciales

El estudio de las propiedades anfífilas de los carbohidratos peralquilados se ha revestido de particular interés por su naturaleza dipolar. Estos compuestos tienen aplicaciones emulsificantes en cosmética, farmacología, alimentos y como detergentes (Gibbs, *et al.*, 1999).

Un ejemplo de aplicación de carbohidratos peralquilados es el uso de polímeros de ciclodextrina permetilada como emulsificantes para preparaciones farmacológicas, donde un problema común estriba en el diseño de métodos de administración de sustancias activas en concentraciones adecuadas, hacia la zona de acción de manera eficiente; así, una sustancia diseñada para la administración intravenosa debe ser soluble en agua, lo cual le permita alcanzar cierta concentración en la sangre y, al mismo tiempo, poseer suficiente hidrofobicidad para penetrar las membranas celulares en las zonas de acción. (Roewer y Broscheit, 2015). Por otro lado, se ha encontrado utilidad para los carbohidratos peralquilados en el campo de los detergentes, donde se aprovecha las propiedades anfífilas de los compuestos peralquilados junto con las de otros tensoactivos iónicos para generar mezclas de potenciales detergentes. (Scheppers, Jurgens, Van De Pas, 1991).

Una emulsión es una dispersión líquido-líquido cuyo intervalo de gota varían entre 1 y 100 micrómetros, en ese rango de tamaño, las gotas son susceptibles a la influencia gravitatoria, por lo que las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables pero su disrupción es lenta (Fig. 17). Las emulsiones se pueden clasificar en agua en aceite (W/O) o aceite en agua (O/W), la nomenclatura indica primero

cuál es la fase dispersa y después cuál es la fase dispersante. Las gotas de la fase dispersa se estabilizan en la fase dispersante gracias a la acción de una molécula con actividad superficial (Morales, 2009).

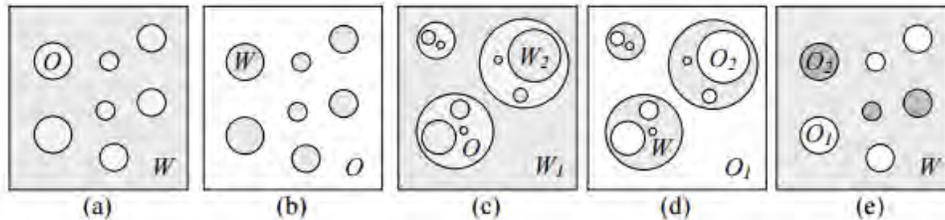


Figura 17: Adaptado de Morales, 2009. Tipos de emulsiones. a) O/W. b) W/O. c) W1/O/W2. d) O/W/O. e) emulsión: dos fases oleosas distintas en una acuosa.

Un tensoactivo es un compuesto que reduce la tensión superficial o interfacial de un medio en el que este sea disuelto. De acuerdo con su naturaleza molecular, se pueden clasificar en iónicos o no iónicos. Los tensoactivos iónicos se disuelven en agua, un ejemplo clásico de estos compuestos son las sales de ácidos carboxílicos de cadena larga. Por otro lado, los no iónicos no se disocian y sus grupos polares suelen ser funciones éter, ester, amidas, aminas, etcétera. (Adamson, 1997).

La naturaleza anfifílica de los tensoactivos provoca que tiendan a migrar a la interfase con cierta orientación espacial desde el bulbo de la fase en la que se encuentran disueltos, dicho fenómeno se conoce como adsorción. Este proceso es espontáneo y su fuerza motriz es una disminución en la energía del sistema como consecuencia del acomodo superficial del tensoactivo, donde la fracción no soluble en la fase abandona esta para posicionarse en la fase contigua. (Morales, 2009).

La concentración límite a la que se impide la adsorción superficial por saturación y comienza la formación de micelas se le conoce como concentración micelar crítica. (Akram, *et al.*,2014). Cuando la superficie se ha saturado de tensoactivo, las moléculas anfifílicas ya no pueden seguir adsorbiéndose en la interfase por lo que adoptan otros patrones que disminuyan la energía del sistema, como la formación de micelas. Las micelas son arreglos supramoleculares donde las fracciones del tensoactivo son embebidas por las fracciones afines al disolvente (Fig. 18). La concentración micelar crítica puede ser obtenida mediante un experimento, donde se mida la variación de una propiedad del sistema que dependa de la concentración del tensoactivo en el seno de la disolución y en la interfase; algunas propiedades que se pueden medir son la tensión superficial o su equivalente presión superficial, o pruebas de turbidez de la disolución medidas por dispersión de luz. etcétera. (Novelo-Torres y García-Fadrique, 2005).

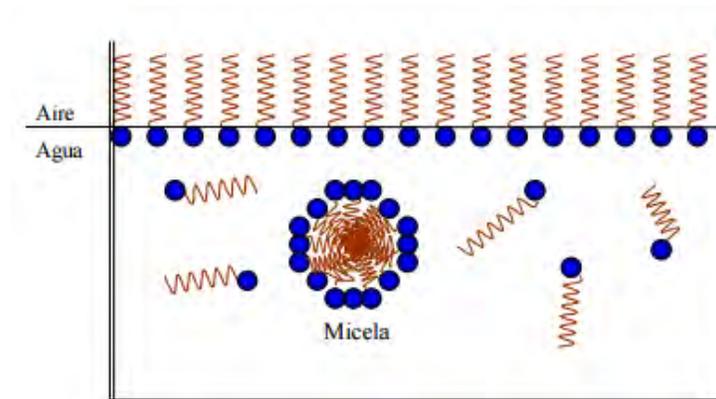


Figura 18. Adaptado de Novelo-Torres y García-Fadrique, 2005. Saturación superficial y formación de micelas en medio acuoso. En azul se destaca la fracción hidrofílica y en rojo la parte hidrofóbica.

La descripción termodinámica de los procesos de adsorción y formación de micelas por parte de los tensoactivos se realiza por medio de la isoterma de adsorción de Gibbs. Dicho modelo relaciona la concentración superficial  $\Gamma$  ( $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$ ) del tensoactivo con el cambio de presión superficial de la disolución con respecto a la concentración del tensoactivo en el seno de la disolución (Ec. 1. Grein, *et al.*, 2013). La isoterma de adsorción de Gibbs se deduce a partir del potencial químico ideal de la mezcla y para su cálculo se requiere considerar la concentración del tensoactivo como fracción mol a temperatura constante.

$$\Gamma = \frac{1}{RT} \frac{d\pi}{d \ln x} \quad (1)$$

$$\Gamma_{max} = \frac{1}{RT} \left( \frac{d\pi}{d \ln x} \right)_{x \rightarrow x_{cmc}} \quad (2)$$

Donde R es la constante de los gases,  $\pi$  es la presión superficial y x es la fracción mol.

De acuerdo con la isoterma de adsorción de Gibbs, si se conoce la pendiente de una curva de presión superficial vs  $\ln C$ , se puede determinar la concentración superficial y la concentración micelar crítica o  $\Gamma_{max}$  (Ec. 2. y Fig. 19. Grein, *et al.*, 2013, Novelo-Torres y García-Fadrique, 2005)

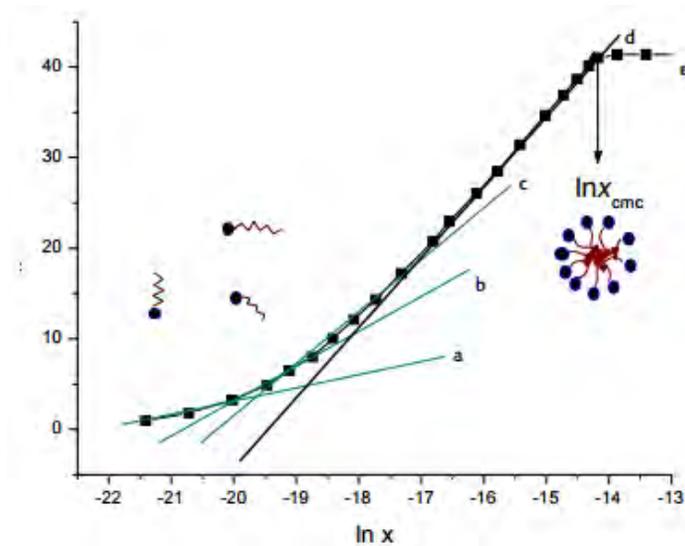


Figura 19 A.

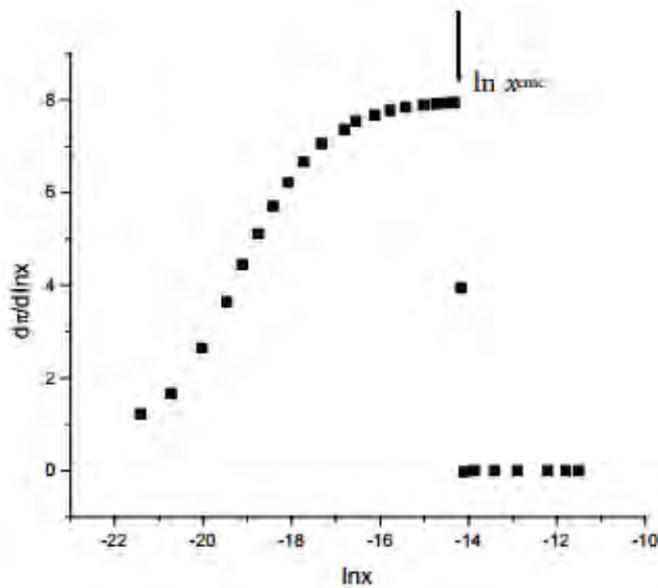


Figura 19 B

Figura 19: Adaptado de Novelo-Torres y García-Fadrique, 2005. 19 A: aumento continuo en la pendiente de un gráfico de presión superficial vs. logaritmo natural de la fracción mol de tensioactivo hasta alcanzar un máximo, se observa el punto correspondiente a la concentración micelar crítica. 19 B: Se grafica el cambio de pendiente observado en el gráfico i19 A vs. la fracción mol del tensioactivo para determinar el punto de forma precisa el punto donde se localiza la concentración micelar crítica.

Las propiedades interfaciales de los carbohidratos peralquilados se pueden medir a través de metodologías que permitan seguir el cambio en la tensión superficial de una fase con respecto a la cantidad de tensoactivo que se agrega. Es conveniente estudiar las propiedades interfaciales con distintos enfoques dependiendo de la naturaleza del carbohidrato. De este modo, un enfoque basado en la adsorción y migración del compuesto hacia la superficie es conveniente para carbohidratos con ramificaciones pequeñas y que exhiben una buena solubilidad en agua. Este enfoque es conocido como Aproximación de Gibbs. (Razafindralambo, Blecker y Paquot, 2012). Bajo esta aproximación la tensión superficial se puede medir con los siguientes métodos: anillo de Du Noüy, la placa de Wilhelmy, volumen de gota, ascenso capilar o pesada de gota. (Dominguez, *et al.*, 1997). De esta forma, algunos parámetros fisicoquímicos importantes que caracterizan a un tensoactivo son la concentración micelar crítica (CMC) y el área superficial molecular (Ec. 3. Grein, *et al.*, 2013).

$$A = \frac{1}{N_A \Gamma} \quad (3)$$

donde  $N_A$  el número de Avogadro.

Los glucolípidos son carbohidratos que muestran actividad superficial y que por lo tanto son tensoactivos; consisten en unidades de monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos o polisacáridos enlazados covalentemente a uno o varios residuos hidrofóbicos. Los enlaces se forman en los grupos alcohol del carbohidrato y pueden constituir funciones éster, éter amidas, etcétera. (Razafindralambo, Blecker y Paquot, 2012). De acuerdo con la estructura de las fracciones hidrofóbicas

enlazadas al esqueleto del carbohidrato, los glucolípidos se pueden clasificar de acuerdo con tabla 1.

Tabla 1: Adaptado de Razafindralambo, Blecker y Paquot, 2012. Clases principales de glucolípidos basadas en su estructura anfifílica.

Glucolípido	Fracción hidrofóbica	Enlace
Cadenas alifáticas	Una o varias colas	Éster, éter, tioéster, amida o amina.
Glucocerolípidos	Acilgliceroles	Éster, éter, tioéster, amida o amina.
Glucoesfingolípidos	Bases esfingoides	Éster, éter, tioéster, amida o amina.

Una propiedad que permite evaluar el potencial emulsificante de un tensoactivo no iónico es el balance hidrofílico-lipofílico (HLB por sus siglas en inglés). Este método permite clasificar los compuestos en función de su capacidad para disolverse en medios polares y apolares, basado en la cantidad de grupos hidrosolubles e hiposolubles que poseen los compuestos en sus estructuras moleculares (Middleton, 1967). De acuerdo con esta acepción entre mayor sea el valor de HLB, más hidrosoluble es la molécula. Dependiendo del valor de HLB, el tensoactivo puede aplicarse con éxito a diversos sistemas. En la tabla 2 (Sabliov, Chen y Yada, 2015), se muestran las distintas aplicaciones de los tensoactivos con respecto al valor de HLB. El HLB puede determinarse teóricamente mediante la suma del aporte de cada átomo en la molécula de acuerdo con una parametrización (Griffin, 1954) o experimentalmente por diversos métodos (Middleton, 1967)

Tabla 2: Adaptado de Sabliov, Chen y Yada, 2015. Valores de HLB y sus aplicaciones.

Rango de HLB	Aplicación
3-6	Emulsiones de agua en aceite
7-9	Agentes desecantes
10-18	Emulsiones de aceite en agua
13-15	Detergentes
15-18	Agentes solubilizantes

La estabilidad de una emulsión depende de la resistencia que presenta el medio ante la coalescencia de las gotas de la fase dispersa. La tasa de coalescencia de las gotas con respecto al tiempo, es una medida cuantitativa de la estabilidad de una emulsión. (Morales, 2009). Al respecto Grein y colaboradores midieron las propiedades emulsificantes de un polisacárido con un experimento en el que se prepararon disoluciones acuosas del polisacárido con aceite de ricino 10% v/v; la estabilidad de la emulsión con respecto al tiempo, fue seguida haciendo pruebas de turbidimetría a las muestras (decremento el porcentaje de transmitancia de las muestras %T). (Grein, *et al.*, 2013)

## 2.7. Química computacional.

La química computacional es la disciplina que comprende todos aquellos aspectos de la investigación química que se auxilian de las computadoras, desde el control asistido por software de equipos de espectroscopia, bases de datos, hasta el uso de programas de cálculo de propiedades y estructura electrónicas. En un sentido

más restrictivo, se utiliza el concepto de química computacional para referirse a la simulación numérica basada en las leyes de la física, de arreglos geométricos de átomos y moléculas, cálculo de energías relativas de sistemas de una o varias partículas, propiedades fisicoquímicas, cinética química, estados de transición y la dependencia de dichas propiedades con respecto al tiempo. (Cuevas y Cortés, 2003).

Las estrategias de simulación usadas por la química computacional se pueden dividir en dos grandes ramas: aquellos métodos basados en mecánica cuántica y los métodos de mecánica molecular basados en mecánica clásica. Los métodos basados en mecánica clásica no poseen relación con el hamiltoniano electrónico ni con la densidad electrónica o la función de onda (como los métodos basados en mecánica cuántica). Usan como modelo átomos considerados como partículas puntuales, que se unen para formar moléculas mediante enlaces comparados con resortes, descritos de manera clásica. (Allinger, 1996).

Los métodos de mecánica molecular requieren de diversos parámetros tales como distancias de enlace, constantes de restitución para los enlaces y cargas. Estos parámetros junto con ecuaciones que describen los diversos potenciales que contribuyen a la energía total permiten construir una función de energía potencial total que depende de las posiciones de los átomos puntuales  $V=V(x,y,z)$  también conocido como campo de fuerzas. A su vez, la minimización de la función  $V=V(x,y,z)$  por diversos métodos arroja como resultado energías relativas y conformaciones al equilibrio (Cuevas y Cortés, 2003).

Los potenciales analizados dentro del campo de fuerzas generalizado de Amber (GAFF) (Case, *et al.*, 2014), el cual es utilizado en este trabajo para el tratamiento de moléculas orgánicas son:

- De alargamiento de enlace. Calculada como una suma para cada par de átomos enlazados en la molécula.

$$V^{alarg} = \sum_{ij} V_{ij}^{alarg} = \sum_{ij} \frac{1}{2} k_{ij} (l_{ij} - l_{ij}^0)^2$$

Donde  $k_{ij}$  y  $l_{ij}^0$  son parámetros designados para cada tipo de átomo.

- De deformación del ángulo de enlace. Calculada como una suma de los potenciales de deformación de todos los ángulos formados entre tres átomos enlazados (vibración de apertura o cierre del ángulo)

$$V^{def} = \sum_{ijk} V_{ijk}^{def} = \sum_{ijk} \frac{1}{2} k_{ijk} (\theta_{ijk} - \theta_{ijk}^0)^2$$

Donde  $\theta_{ijk}^0$  es un parámetro de referencia, el valor del ángulo para los átomos I-J-K cuando estos se encuentran en un estado de mínima energía

- De torsión. (diedros) Calcula la rotación de un ángulo diedro, es decir entre 4 átomos enlazados I-J-K-L, alrededor del enlace J-K

$$V^{tor} = \sum_{diedros} \frac{1}{2} V_n (1 + \cos(n\Phi - \Phi^0)) + \sum_{i < j} \left[ \frac{A_{ij}}{R_{ij}^2} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} + \frac{q_i q_j}{ER_{ij}} \right]$$

Donde  $n$  es un término de periodicidad que indica la capacidad de giro del sistema IJKL con  $1=360^\circ$ ,  $2=180^\circ$ ,  $3=120^\circ$ , etcétera.  $\Phi$  representa el ángulo diedro y  $V_n$  el valor de la barrera rotacional.

- De acoplamiento de los potenciales anteriores (término Cruzado).  
Los términos cruzados más comunes son de alargamiento-alargamiento y alargamiento-deformación. A la expresión del potencial deseado, se le agrega otra que dé cuenta por las desviaciones al potencial causadas por el término cruzado:

$$V^{cruz} = \frac{1}{2} k_{12} (\Delta l_1 - \Delta l_2) \Delta \theta$$

Donde  $\Delta l_1, \Delta l_2, \Delta \theta$  son las desviaciones de los enlaces y las desviaciones a los ángulos de enlace debidos a los acoplamientos.

- De interacción coulombica. Interacciones por pares de átomos, excepto aquellos con relación de distancia 1-2 o 1-3

$$V^{elec} = \sum_{ij} \frac{Q_i Q_j}{E_r r_{ij}}$$

Donde  $Q_i$  es la carga del átomo,  $E_r$  es la constante dieléctrica del medio y  $r_{ij}$  es la distancia entre los átomos. Amber calcula la carga de los átomos usando el método químico cuántico HF/6-31G\* RESP a partir del análisis poblacional de Mulliken. Para sistemas con muchos átomos, el campo de fuerzas generalizado de Amber o GAFF por sus siglas en inglés. (Case, *et al.*, 2014)

- De Van der Waals. Se calcula para átomos con relaciones de distancia iguales o superiores a 1-4, ya que, para átomos más cercanos, las interacciones de Van der Waals se incluyen en los parámetros de los términos de alargamiento y deformación.

$$V^{vdw} = \sum_{ij} E_{IJ} \left( \frac{R_{IJ}^*}{R_{ij}} - 2 \left( \frac{R_{IJ}^*}{R_{ij}} \right)^6 \right)$$

Donde  $R_{ij}$  corresponde a la distancia entre los átomos,  $E_{IJ}$  es un parámetro energético y  $R_{IJ}$  un parámetro de distancia para una conformación de mínima energía.

El campo de fuerzas generalizado de Amber (GAFF) describe de buena manera la mayoría de los compuestos orgánicos. En la tabla 3 se enlistan los tipos de átomos cubiertos por éste campo de fuerzas.

Adicionalmente en este trabajo se utilizó el campo de fuerzas especializado en aminoácidos ff14SB. Este campo de fuerzas resulta útil ya que posee un modelo sencillo para agua conocido como TIP3P. Este modelo simula una molécula de agua rígida, es decir, sin potenciales de alargamiento, deformación o torsión. Únicamente considera potenciales coulómicos y de fuerzas de repulsión basadas en interacciones tipo Lennard-Jones. Resulta útil para simular sistemas acuosos con disolvente explícito, donde la cantidad de moléculas de agua es muy grande y modelarlas con lujo de detalle requiere de un gran costo computacional.

Tabla 3: Adaptado de Case, *et al.*, 2014. Átomos parametrizados en GAFF

Tipos de Átomo	Descripción	Tipo de Átomos	Descripción
c	C sp <sup>2</sup> en C=O, C=S	o	O sp <sup>2</sup> en C=O, COO <sup>-</sup>
c1	C sp <sup>1</sup>	oh	O sp <sup>3</sup> en hidroxilos
c2	C sp <sup>2</sup> alifático	os	O sp <sup>3</sup> en ésteres y éteres
c3	C sp <sup>3</sup>	s2	S sp <sup>2</sup> en C=S ph=S
ca	C sp <sup>2</sup> aromático	sh	S sp <sup>3</sup> de tiol
n	N sp <sup>2</sup> en amidas	ss	S sp <sup>3</sup> en -SR y S-S
n1	N sp <sup>1</sup>	s4	S hipervalente, 3 sustituyentes
n2	N sp <sup>2</sup> en iminas	s6	S hipervalente, 4 sustituyentes
n3	N sp <sup>3</sup> con 3 sustituyentes	hc	H unido a C alifático
n4	N sp <sup>3</sup> con 4 sustituyentes	ha	H unido a C aromático
na	N sp <sup>2</sup> con 3 sustituyentes, uno aromático al menos	hn	H unido a N
no	N de grupo nitro	ho	H unido a O
f	Cualquier F	hs	H unido a S
cl	Cualquier Cl	hp	H unido a P
br	Cualquier Br	p2	P sp <sup>2</sup> C=P, etcétera.
i	Cualquier I	p3	P sp <sup>3</sup> , 3 sustituyentes
h1	H unido a C alifático 1 grupo EW	p4	P hipervalente, 3 sustituyentes
h2	H unido a C alifático 2 grupo EW	p5	P hipervalente, 4 susitutentes
h3	H unido a C alifático 3 grupo EW	pb	P aromático
h4	H unido a C alifático 4 grupo EW	cc(cd)	C sp <sup>2</sup> interno en anillos conjugados
h5	H unido a C alifático 5 grupo EW	ce(cf)	C sp <sup>2</sup> interno en cadenas conjugadas
n'	N aromático	cp(cq)	C de puente aromático
nb	N sp <sup>2</sup> interno en anillos conjugados	cu	C sp <sup>2</sup> en anillos de 3 miembros
nc(nd)	N sp <sup>2</sup> interno cadenas conjugadas	cv	C sp <sup>2</sup> en anillos de 4 miembros
sx	S conjugados con 3 sustituyentes	cx	C sp <sup>3</sup> en anillos de 3 miembros
sy	S conjugados con 4 sustituyentes	cy	C sp <sup>3</sup> en anillos de 4 miembros

### **3. Objetivos.**

#### **3.1. Objetivo general**

- Sintetizar los derivados permetilados y peretilados de glucosa, galactosa y manosa y determinar su asequibilidad como emulsificantes empleando métodos de química computacional.

#### **3.2. Objetivos particulares**

- Evaluar algunas metodologías de peralquilación para preparar derivados peretilados de galactosa, manosa y glucosa.
- Desarrollar una metodología para caracterizar propiedades emulsificantes desde el punto de vista teórico, usando dinámica molecular.
- Calcular energías de interacción.
- Comparar el potencial emulsificante entre glucosa, galactosa y manosa.

#### **3.3. Hipótesis**

- Las interacciones no covalentes entre los carbohidratos peralquilados con los disolventes acuosos y las fracciones orgánicas son tales, que favorecen la solvatación de ambas fases.

## 4. Metodología

### 4.1. Ensayo de síntesis

- Permetilación por el Método de Wang y colaboradores (1995)

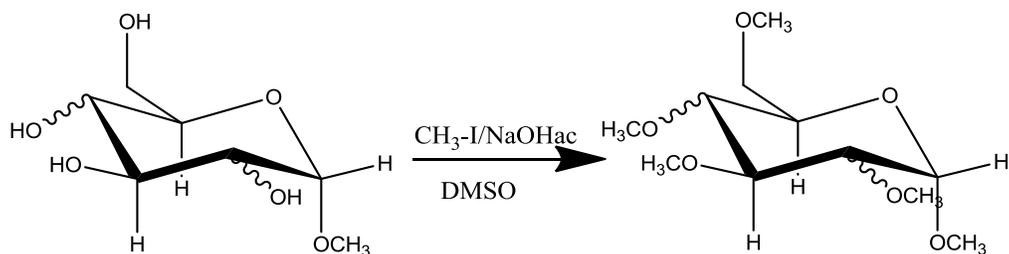


Figura 20. Esquema de permetilación empleando el método de Wang

Procedimiento: en 15 mL de DMSO se disolvió el metil- $\alpha$ -D-piranosido. (1g, 5.15 mmol, 1.0 equivalente de hidroxilos intercambiables) bajo de agitación intensa. Posteriormente se agregó NaOH en solución acuosa 50% w/w (3.3 mL, 82.5 mmol, 4 equivalente de hidroxilos intercambiables) y se adaptó un baño de hielo al sistema. Una vez congelada la mezcla de reacción, se agregó  $\text{CH}_3\text{I}$  (4.0 mL, 64.25 mmol, 3 equivalente por hidroxilo intercambiable). La reacción permaneció en baño de hielo y subsecuentemente se mantuvo en baño de agua al derretirse el hielo por 24 horas. Una vez terminado el tiempo de reacción, se agregaron 30 mL de agua destilada a la mezcla de reacción para destruir el yoduro de metilo residual y se neutralizó la mezcla de reacción con  $\text{NaHCO}_3$  en polvo. Después de esto, se realizaron 8 extracciones con 35 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . La fase orgánica fue secada con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y filtrada. El producto se purificó por cromatografía en columna, la fase estacionaria

utilizada fue sílice 230-400 mesh y la fase móvil se compuso de una mezcla de eluyentes: Hexano/Acetato de etilo en proporción 7:3.

- Peretilación por el Método de Wang y colaboradores (1995)

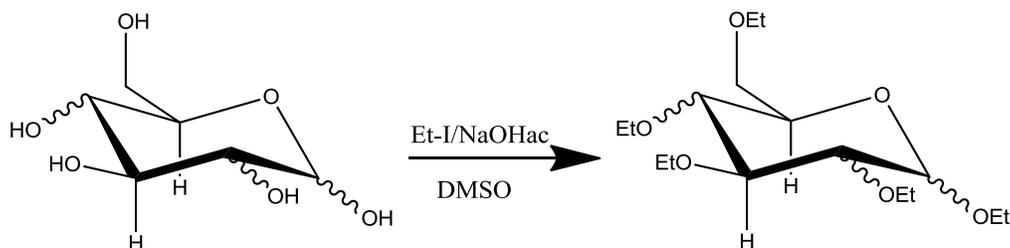


Figura 21. Esquema de peretilación empleando el método de Wang

Procedimiento: en 15 mL de DMSO se disolvió la D-(+)-piranosa. (0.9 g, 5 mmol, 1.0 equivalente de hidroxilos intercambiables) bajo agitación intensa. Posteriormente se agregó NaOH en solución acuosa 50% w/w (4 mL, 100 mmol, 4 equivalente por hidroxilo intercambiable) y se adaptó un baño de hielo al sistema. Una vez congelada la mezcla de reacción, se agregó  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{I}$  (4.7 mL, 75.56 mmol, 3 equivalente por hidroxilo intercambiable). La reacción permaneció en baño de hielo y subsecuentemente se mantuvo en baño de agua al derretirse el hielo por 24 horas. Una vez terminado el tiempo de reacción, se agregaron 30 mL de agua destilada a la mezcla de reacción para destruir el yoduro de etilo residual y se neutralizó la mezcla de reacción con  $\text{NaHCO}_3$  en polvo. Después de esto, se realizaron 8 extracciones con 35 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . La fase orgánica fue secada con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y filtrada. El producto se purificó por cromatografía en columna, la fase estacionaria utilizada fue sílice 230-400 mesh y la fase móvil se compuso de Hexano/Acetato con gradiente de elución a partir de 99:1. El

producto se caracterizó por RMN- $^1\text{H}$ , RMN- $^{13}\text{C}$ , IR y espectrometría de masas FAB $^+$ .

#### Peretilación por el Método de Ciucanu y Kerek (1994)

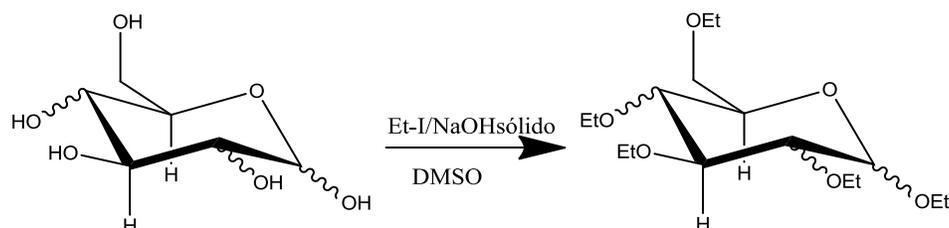


Figura 22. Esquema de peretilación empleando el método de Ciucanu y Kerek

Procedimiento: en 18 mL de DMSO se disolvió la D-(+)-piranosa. (0.9 g, 5.0 mmol, 1.0 equivalente de hidroxilos intercambiables) bajo agitación intensa. Posteriormente se agregó NaOH en polvo (3.7 g, 92.5 mmol, 3.7 equivalente por hidroxilo intercambiable) y se adaptó un baño de hielo al sistema. Una vez congelada la mezcla de reacción, se agregó  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{I}$  (4.7 mL, 75.56 mmol, 3 equivalente por hidroxilo intercambiable). La reacción permaneció en baño de hielo y subsecuentemente se mantuvo en baño de agua al derretirse el hielo por 24 horas. Una vez terminado el tiempo de reacción, se agregaron 30 mL de agua destilada a la mezcla de reacción para destruir el yoduro de etilo residual y se neutralizó la mezcla de reacción con  $\text{NaHCO}_3$  en polvo. Después de esto, se realizaron 8 extracciones con 35 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . La fase orgánica fue secada con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y filtrada. El producto se purificó por cromatografía en columna, la fase estacionaria utilizada fue sílice 230-400 mesh y la fase móvil se compuso

de Hexano/Acetato con gradiente de elución a partir de 99:1. El producto se caracterizó por RMN-<sup>1</sup>H, RMN-<sup>13</sup>C, IR y espectrometría de masas FAB<sup>+</sup>.

- Peretilación por el Método de Lu y colaboradores (1994)

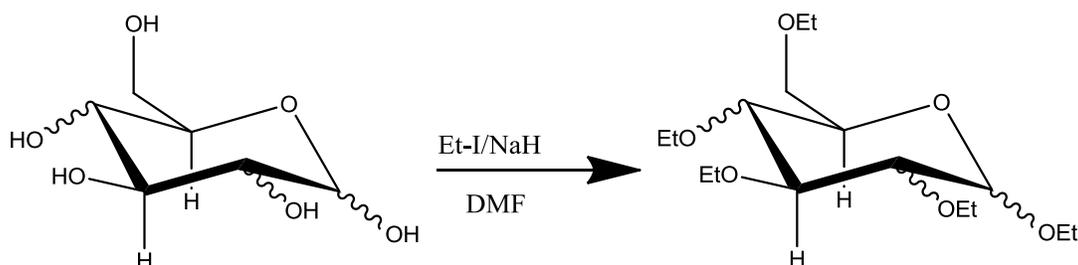


Figura 23. Esquema de peretilación empleando el método de Lu

Procedimiento: en 25 mL de DMF se disolvió el D-piranósido. (0.9 g, 5.0 mmol, 1.0 equivalente). Posteriormente se agregó NaH en dispersión de aceite mineral 60% (0.58 g, 15.0 mmol, 0.6 equivalente por hidroxilo intercambiable) y se adaptó un baño de hielo al sistema, la mezcla se dejó en agitación por 30 minutos. Una vez congelada la mezcla de reacción, se agregó CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>I (1.4 mL, 17.5 mmol, 0.7 equivalente por hidroxilo intercambiable). A las 2.5 horas de reacción se repitieron las mismas adiciones de hidruro de sodio y yoduro de etilo. Finalmente 2.5 horas después se adicionaron NaH (0.39 g, 10 mmol, 0.4 equivalente por hidroxilo intercambiable) y CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>I (0.8 mL, 9.5 mmol, 0.4 equivalente por hidroxilo intercambiable). La reacción permaneció en baño de hielo y subsecuentemente se mantuvo en baño de agua al derretirse el hielo por 24 horas. Después de esto, agregaron 10 mL de metanol para reaccionar con el hidruro en exceso, posteriormente la mezcla de reacción fue llevada a sequedad y el crudo redisoluto en diclorometano. El producto se purificó por cromatografía en columna, la fase estacionaria utilizada fue sílice 230-400 mesh y la fase móvil se compuso de e

Hexano/Acetato con gradiente de elución a partir de 99:1. El producto se caracterizó por RMN- $^1\text{H}$ , RMN- $^{13}\text{C}$ , IR y espectrometría de masas FAB $^+$ .

- Peretilación por el Método propuesto No. 1

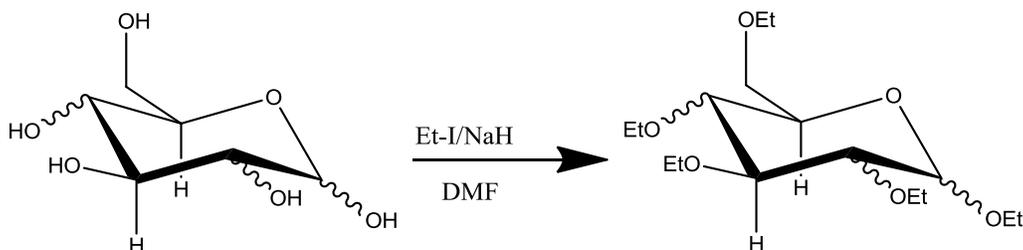


Figura 24. Esquema de peretilación empleando el método propuesto con hidruro de sodio para D-glucosa, D-manosa y D-galactosa. Los enlaces sinusoidales representan una posición inespecífica.

Procedimiento: en 30 mL de DMF se disolvió el D-piranosido. (0.9 g, 5.0 mmol, 1.0 equivalente) bajo agitación intensa. Posteriormente se agregó NaH previamente lavado con hexano para retirar el aceite mineral donde se almacena. (1.0 g, 41.7 mmol, 1.5 equivalente). Una hora después, se adaptó un baño de hielo y se agregó  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{I}$  (Yoduro de Etilo) (5 mL, 70 mmol, 2.5 equivalente). La reacción permaneció en baño de hielo y subsecuentemente en baño de agua al derretirse el hielo por 6 horas, tiempo en el que se repitió el procedimiento anterior de adición de reactivos. A las 24 horas, se comprueba por cromatografía en capa fina si persisten compuestos parcialmente etilados. De ser así, se repite el procedimiento por otras 24 horas. Posteriormente si ya no se observan cambios en las cromatoplasmas, se agregan con cuidado 5 mL de metanol para reaccionar con el hidruro en exceso. Finalmente, la mezcla de reacción fue llevada a sequedad y el crudo redisolto en diclorometano. El producto se purificó por cromatografía en columna, la fase

estacionaria utilizada fue sílice 230-400 mesh y la fase móvil se compuso de Hexano/Acetato con gradiente de elución a partir de 99:1. El producto se caracterizó por RMN- $^1\text{H}$ , RMN- $^{13}\text{C}$ , IR y espectrometría de masas FAB $^+$ .

- Peretilación por el Método propuesto No. 2

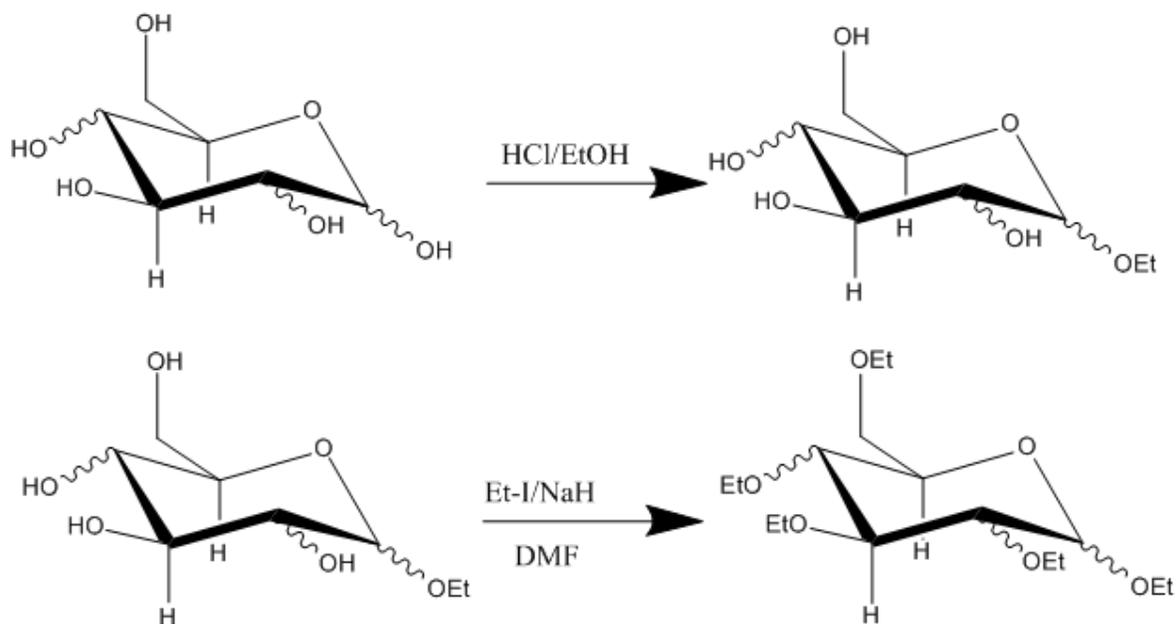


Figura 25. Esquema de peretilación empleando el método propuesto para D-glucosa, D-manosa y D-galactosa vía una condensación de alcoholes y con NaH posteriormente.

Procedimiento: en 30 mL de etanol anhidro se disolvió el D-piranósido (0.9 g, 5.0 mmol, 1.0 equivalente). A la mezcla de etanol y azúcar se burbujeó cloruro de hidrógeno formado a partir de una mezcla de 5 g de NaCl y 8 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . La mezcla se dejó a reflujo y se comprobó el avance de reacción por cromatografía en capa fina con eluyente MeOH/AcOEt 1:4 cada hora. A las 8 horas, se enfrió el sistema y se neutralizó con  $\text{NaHSO}_4$  en polvo, posteriormente se filtró la mezcla y a las aguas madre se les agregó carbón activado. Después, la mezcla se filtró por

zeolita y se concentró el producto alfa etilado. Finalmente, este compuesto fue sometido al mismo tratamiento que en el método propuesto No. 1

#### 4.2. Cálculos computacionales

Las estructuras de los compuestos peretilados fueron optimizados en Gaussian 09 haciendo uso de la teoría de funcionales de la densidad. El nivel de teoría utilizado fue DFT(m062x)/6-311++g(d,p).

Los cálculos de simulación molecular se realizaron para un sistema de 2000 moléculas de agua, 1500 moléculas de hexano y X moléculas de monosacárido peretilado en el programa Amber 14 de acuerdo con las siguientes especificaciones:

- Minimización
  - 1000 ciclos, 500 con el método de minimización Steepest Descent y 500 con el método de gradientes generalizado.
  - Se usaron condiciones de frontera periódica a volumen constante
  - El corte de interacción utilizado fue de 10 angstroms y el algoritmo electrostático seleccionado fue PME
- Calentamiento
  - Se usaron velocidades iniciales aleatorias descritas por la distribución de Boltzmann a partir de la geometría optimizada en la minimización
  - Se estableció una duración de calentamiento de 10 ns con un paso de 2 fs, desde 0 a 300 K
  - Se utilizaron condiciones periódicas a volumen constante

- Simulación
  - 50 ns
  - Condiciones periódicas
  - Se estableció una presión constante de 0.77 atm y temperatura constante de 300 K

## 5. Resultados y discusión

### 5.1. Síntesis

Se llevó a cabo la síntesis de los derivados peretilados de glucosa, galactosa y manosa, de acuerdo con las metodologías descritas anteriormente. Se observó que variaciones como el disolvente o el agente básico poseen injerencia directa sobre el rendimiento de reacción. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 4.

Tabla 4: Síntesis de derivados peretilados de hexosas.

Método	Rendimiento (%)
<b>Wang y Colaboradores Permetilación</b> NaOH en solución, DMSO	80-85%
<b>Wang y Colaboradores Peretilación</b> NaOH, KOH en solución, DMSO	8-10% Et <sub>5</sub> Man y Et <sub>5</sub> Glu Relación alfa/beta: 1:2 Et <sub>5</sub> Gal 3:2
<b>Lu y Colaboradores Peretilación</b> NaH, DMF	37-40% Et <sub>5</sub> Man y Et <sub>5</sub> Glu Relación alfa/beta: 1:2 Et <sub>5</sub> Gal 3:2
<b>Ciucano y Kerek Peretilación</b> NaOH y KOH sólido, DMSO	Menor al 5%
<b>Propuesta Peretilación en medio básico</b>	53-60% Et <sub>5</sub> Man y Et <sub>5</sub> Glu Relación alfa/beta: 1:2 Et <sub>5</sub> Gal 3:2
<b>Método Propuesto por formación de acetales y peretilación posterior</b>	Primer paso: 92-95% Et <sub>5</sub> Man y Et <sub>5</sub> Glu Relación alfa/beta: 1:2 Et <sub>5</sub> Gal 3:2  Segundo paso: 70-75%

La nomenclatura Et<sub>5</sub>Man, Et<sub>5</sub>Gal o Et<sub>5</sub>Glu es una abreviatura para referirse a los compuestos peretilados de glucosa, galactosa y manosa.

La relación alfa/beta en los derivados de galactosa posiblemente sea diferente a los compuestos de glucosa y manosa, debido a que los de galactosa no pudieron ser separados de forma efectiva, razón por la cual la relación se determinó por resonancia de hidrógeno, a partir de una fase con mezcla de anómeros que no responde a la relación real entre los compuestos alfa y beta, sino a la composición de la mezcla obtenida de la columna.

Es importante destacar que, sin importar el disolvente o la base empleada, la síntesis de derivados permetilados se lleva a cabo con mejores rendimientos que la síntesis de derivados peretilados. Esto se explica porque los grupos metilo que se enlazan al azúcar son más pequeños y por ello el impedimento estérico es menor.

#### 5.1.1 Métodos basados en DMSO e hidróxidos alcalinos

Los resultados que se muestran en la tabla 4 indican que los métodos basados en hidróxidos de metales alcalinos como el de Wang y el de Ciucano dan malos resultados para la síntesis de derivados peretilados, ya que se observa un menor rendimiento, a causa de un mayor porcentaje de productos furanósidos y de etilaciones parciales con respecto a los ensayos de síntesis con NaH. Esto se puede explicar porque el método de Wang y colaboradores se lleva a cabo con una solución acuosa de hidróxido de sodio, lo cual no representa un problema cuando la materia prima es el azúcar metilada en la posición anomérica, puesto que el anillo se protege porque el carbono anomérico se encuentra en forma de acetal. No obstante, cuando la materia prima es el azúcar libre de ramificaciones, es decir, D-Glucosa, D-Manosa o D-Galactosa, el anillo puede abrirse por hidrólisis para sufrir

una isomerización o formar los furanósidos correspondientes, vía un rearrreglo enodiol (Fig. 7), debido al medio acuoso básico.

Por otro lado, el método de Ciucano y Kerek, que propone usar hidróxidos sólidos, no resultó tan adecuado para peretilar, pues la solubilidad del hidróxido de sodio y del de potasio en DMSO es limitada, y la cantidad de reactivo solubilizado y disponible no es suficiente para desplazar los equilibrios químicos de etilación hasta la formación del compuesto peretilado, pese a que estos métodos reporten buenos rendimientos en la permetilación.

Es importante mencionar que los hidróxidos, además de su naturaleza alcalina, también poseen carácter nucleofílico, por lo que la reacción de desprotonación de los grupos alcohol en los azúcares compite con la sustitución nucleofílica sobre el yoduro de etilo por parte del ion hidroxilo, lo que da como resultado etanol y yoduro de sodio, que provoca una disminución en el rendimiento de la peretilación. Esta reacción ocurre vía un mecanismo de sustitución nucleofílica bimolecular (Fig. 26) y tiene carácter exotérmico.

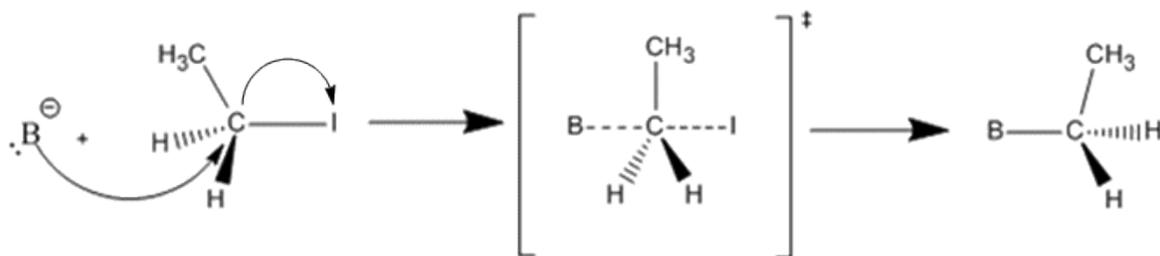


Figura 26: Mecanismo de reacción  $S_N2$  por el que transcurre la reacción entre yoduro de sodio y el hidróxido alcalino utilizado.

Otro inconveniente que presentan los métodos basados en DMSO, es la interacción del disolvente con el agente básico, ya que el DMSO es capaz de sufrir una reacción ácido-base para formar el anión dimetilsulfinilo  $\text{CH}_3\text{SOCH}_2^-$  (Fig. 9), cuando la concentración de hidróxido o del hidruro sobrepasa aproximadamente una relación de 6 mmol/mL de DMSO y la temperatura de la mezcla de reacción se eleva a más de 40 °C.

Hakomori y colaboradores reportaron que el anión dimetilsulfinilo era la base encargada de desprotonar los hidroxilos glucosídicos. No obstante, si la reacción se realiza en otro disolvente o bajo condiciones de concentración de base y temperatura, tales que inhiban la formación de dicho anión, se obtienen mejores rendimientos de peralquilación. Esto se debe a que el ion hidruro o el ion hidroxilo son bases más fuertes que el ion dimetilsulfinilo, además de que dicha base conjugada del DMSO es sensible a la temperatura y al  $\text{CO}_2$ , por lo que si el agente básico que se agregue se consume para generar el anión dimetilsulfinilo, y este a su vez se descompone o reacciona con el yoduro de etilo, la cantidad real disponible para desprotonar el azúcar y llevar a cabo la peralquilación es ínfima y con ello los rendimientos bajos.

### 5.1.2 Métodos basados en DMF e hidruro de sodio

Por otro lado, los métodos basados en hidruro de sodio y DMF mostraron mejoras en el rendimiento, lo cual se puede explicar por varias razones: el carácter no nucleofílico del anión hidruro, lo que favorece que actúe solo como agente básico para desprotonar el azúcar sin atacar al yoduro de etilo. También el hecho de que

el disolvente no presenta equilibrio ácido/base con el hidruro de sodio. a diferencia del DMSO. Esta reacción es evidente porque los métodos basados en DMSO y NaOH a menudo presentaron mezclas de reacción con colores vivos en tonos rojizos debidos a la resonancia electrónica en el anión dimetilsulfinilo. Así, la disponibilidad del ion hidruro para desprotonar el azúcar no se compromete por la existencia de equilibrios ácido/base con el disolvente. Por lo tanto, al evitar la formación del anión dimetilsulfinilo, se mejora el rendimiento de reacción.

No obstante, se encontró una desventaja al usar DMF como disolvente, ya que una fracción sufre hidrólisis. Esto se dedujo porque la mezcla de reacción desprende un aroma característico a pescado, que indica la hidrólisis del disolvente para dar dimetilamina y ácido fórmico (Buncel y Symons, 1970). Este equilibrio químico es un inconveniente porque consume equivalentes de NaH. Sin embargo, el problema se supera fácilmente al agregar un exceso de hidruro de sodio y al asegurarse de que la reacción de lleve a cabo en condiciones anhidras.

Las diferencias entre el método de Lu y el método propuesto No.1 radicarón en las cantidades de yoduro de etilo y de hidruro de sodio empleado, así como en la disponibilidad del hidruro de sodio; ya que mientras que en el método de Lu se agrega adsorbido en aceite mineral, en el método propuesto No.1 se agregó sin aceite. Se observó que la presencia de aceite mineral juega un rol importante en el rendimiento de reacción final, puesto que el aceite favorece la formación de emulsiones en la mezcla de reacción, que no se pueden romper saturando la mezcla con iones, solamente acidulando, lo cual a su vez provoca la hidrólisis del producto peretilado.

A su vez, las relaciones estequiométricas usadas para el reactivo agregado en el método No. 1 aumentaron el rendimiento con respecto al obtenido al practicar el método de Lu, debido a que la síntesis de éteres glucosídicos es una reacción reversible, al agregar un mayor exceso de equivalentes de hidruro de sodio y de yoduro de etilo con respecto al método de Lu y colaboradores, se obtuvo un mayor rendimiento de reacción.

Por otro lado, el método No. 2 consistió en una reacción en dos pasos, primero se etiló el carbono en la posición anomérica mediante una condensación con etanol catalizada por cloruro de hidrógeno y posteriormente todos los demás usando la misma metodología con hidruro de sodio y DMF. Se observó que los mayores rendimientos de reacción para el primer paso, se logran al alcanzar la saturación de cloruro de hidrógeno en etanol por 8 horas, tiempos de reacción más largo no favorecen un aumento de rendimiento.

La reacción es selectiva y solo reacciona el carbono anomérico para formar un grupo acetal con etanol; el hecho de etilar el oxígeno del carbono anomérico primero, permite trabajar con el azúcar sin riesgo de que el anillo sufra hidrólisis y subsecuentes isomerizaciones y rearrreglos, lo cual eleva el rendimiento con respecto a las metodologías donde se realiza la peralquilación sobre el azúcar libre.

En ambas metodologías, el producto se purificó por cromatografía en columna y posteriormente se obtuvo la relación entre los anómeros alfa y beta por gravimetría. Sin importar si el experimento se realizó con DMSO y NaOH o DMF y NaH, la relación entre los isómeros ecuatorial y axial encontrada fue 2:1. Esta relación está

en concordancia con la que existe entre los anómeros axial y ecuatorial de la D-Glucosa en disolución acuosa, por lo que el efecto anomérico no tiene una injerencia tan dramática en la proporción de los anómeros acetales con respecto a la proporción observada en los azúcares libres. La excepción es el compuesto peretilado de galactosa, cuya proporción de anómeros no pudo ser determinada por gravimetría ya que no fue posible aislar el anómero axial en cantidades suficientes. Lo único que se logró fue obtener una fracción con mezcla de anómeros de la cromatografía en columna a partir de la cual se realizó resonancia magnética nuclear de protón para determinar la relación alfa/beta. Incluso los anómeros monoetilados presentaron esta dificultad.

## 5.2. Elucidación estructural de los compuestos por medio de $^1\text{H}$ -RMN, $^{13}\text{C}$ -RMN, FIT-IR y espectrometría de masas.

Los compuestos peretilados fueron estudiados mediante las técnicas de FT-IR,  $^1\text{H}$ -RMN,  $^{13}\text{C}$ -RMN y FAB+-masas. Se obtuvieron los espectros correspondientes de los anómeros puros de los derivados peretilados de glucosa y manosa; en el caso de los derivados peretilados de galactosa, no se pudo separar los anómeros alfa y beta por lo que se obtuvieron los espectros de la mezcla de dichos anómeros. Solo se muestra uno de FT-IR y uno FAB+-masas debido a que las señales obtenidas son similares para todos los compuestos (Fig. 27 y 28 respectivamente.)

En el espectro de IR destacan las señales de carbono alifático que aparecen entre  $3000$  y  $2900\text{ cm}^{-1}$ ,  $1480$  y  $1465\text{ cm}^{-1}$  así como  $1380$ - $1365\text{ cm}^{-1}$ . Este conjunto de señales sugiere que la peretilación se llevó cabo porque corresponde a las

vibraciones de estiramiento y tijereteo de los metilos de los grupos etilo que se enlazaron a los azúcares. Además, es importante destacar la ausencia de señales en la zona de 3650 a 3500  $\text{cm}^{-1}$  ya que esta es la zona donde aparecen las vibraciones libres de los protones de los grupos hidroxilo. De la ausencia de estas señales, se puede deducir por lo tanto que los grupos hidroxilo perdieron el protón.

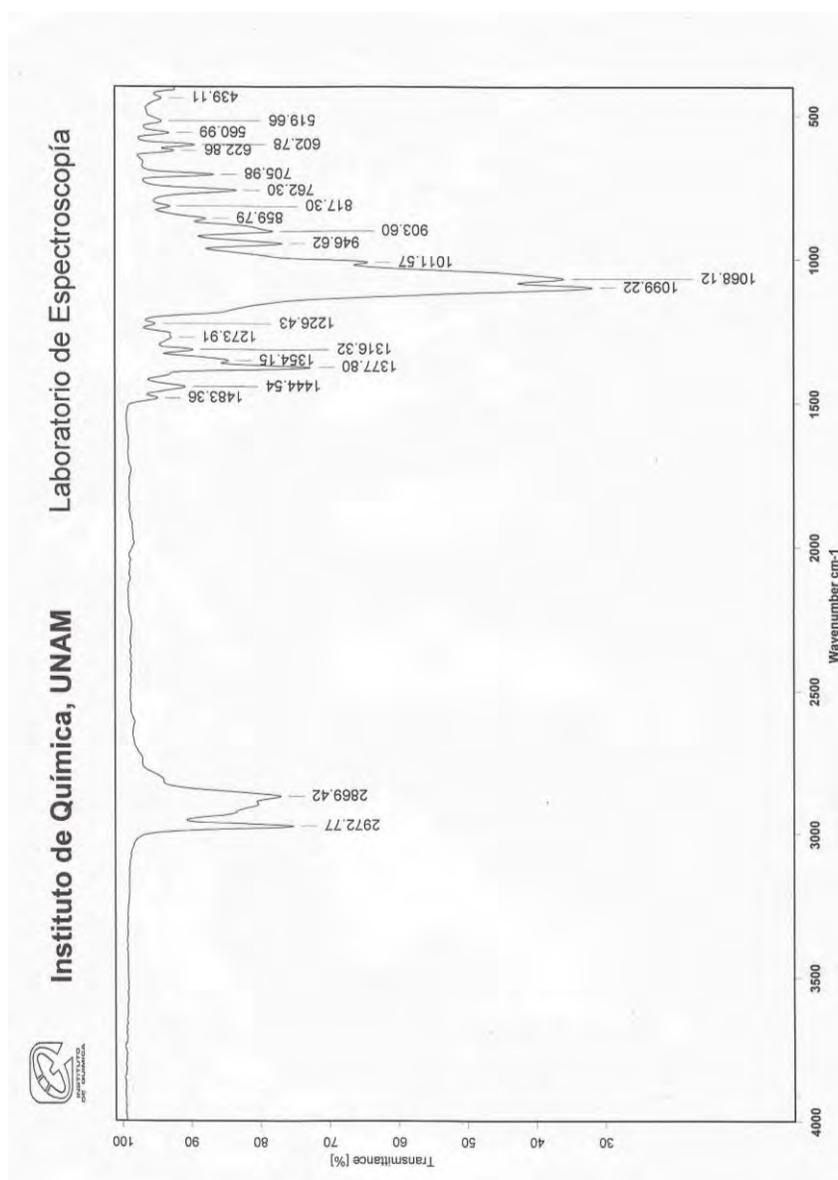


Figura 27: Espectro de IR del compuesto Et<sub>5</sub>Man. Señales similares se encuentran en los derivados de glucosa y galactosa.

El espectro de masas (Fig. 28-A) muestra un ion molecular de 275 uma. Este resultado parece en principio desconcertante ya que la masa molecular esperada para cualquier derivado peretilado de glucosa, manosa o galactosa es de 320 uma. Si se considera que el compuesto sufrió una fragmentación debido a la técnica de ionización, entonces la masa 275 uma. adquiere sentido. Esta fragmentación es característica para las hexosas y consiste en la pérdida del fragmento unido al carbono alfa al heteroátomo, en este caso particular se trata de un fragmento tipo  $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-}$  lo que da como resultado un catión radical de ese peso molecular (Fig. 28-B)

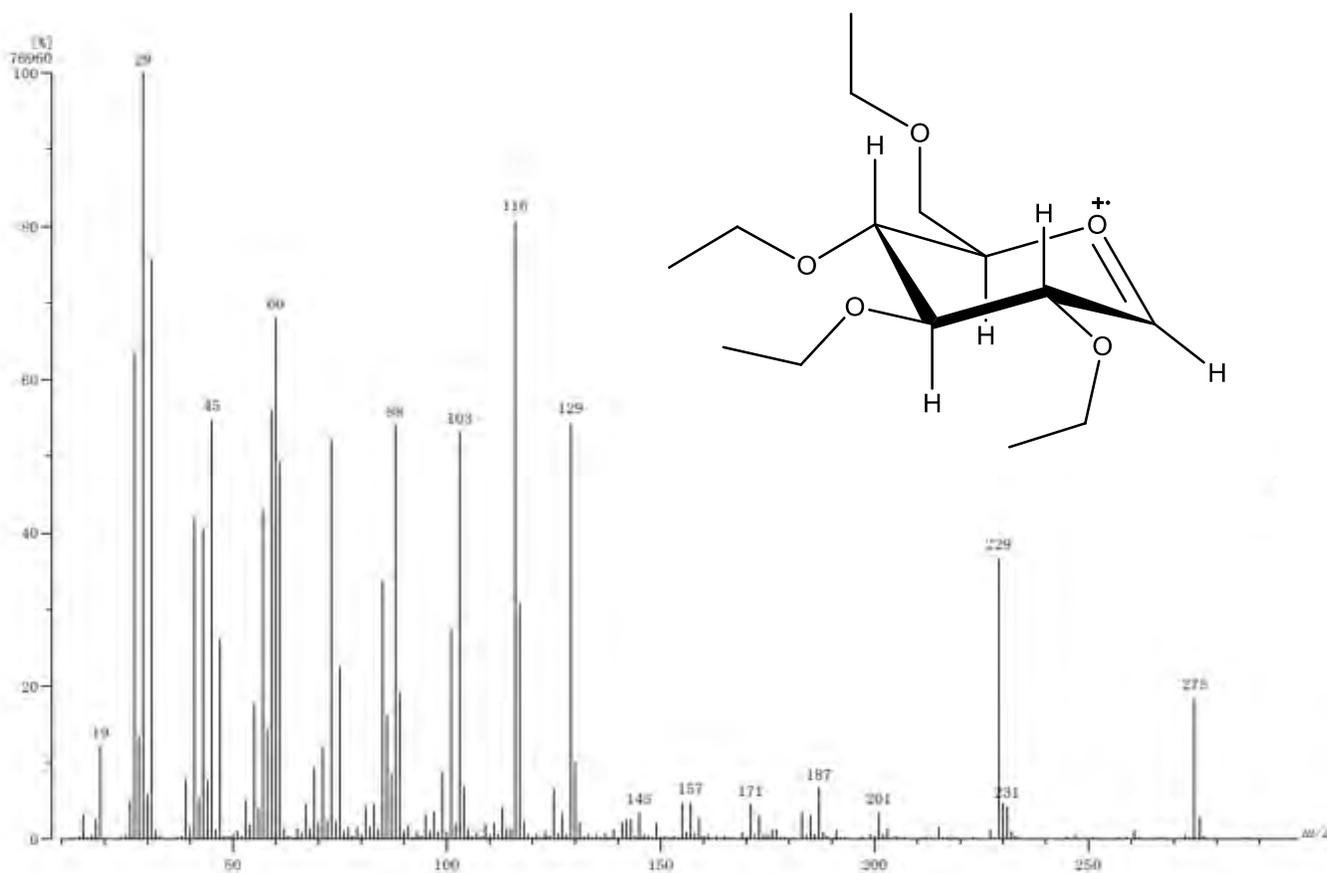


Fig. 28-A: Espectro de masas obtenido por la técnica FAB<sup>+</sup>, destaca el ion molecular de 275 uma.

Fig-28-B: Estructura de la molécula correspondiente al ion molecular, de la cual se ha eliminado un fragmento O-etilo de 45 uma.

Los experimentos de resonancia magnética de protón y carbono por otro lado, resultan un tanto más difíciles de interpretar por la variedad de señales y el campo en el que salen. Sin embargo, arrojan información concluyente sobre la estructura de los productos obtenidos a partir de la peretilación.

### 5.2.1 Etil 2,3,4,6-Tetra-O-etil-D-glucopiranosido

En la figura 29 se muestran los espectros de protón para los anómeros alfa y beta del derivado peretilado de glucosa, así como el espectro de carbono del mismo.

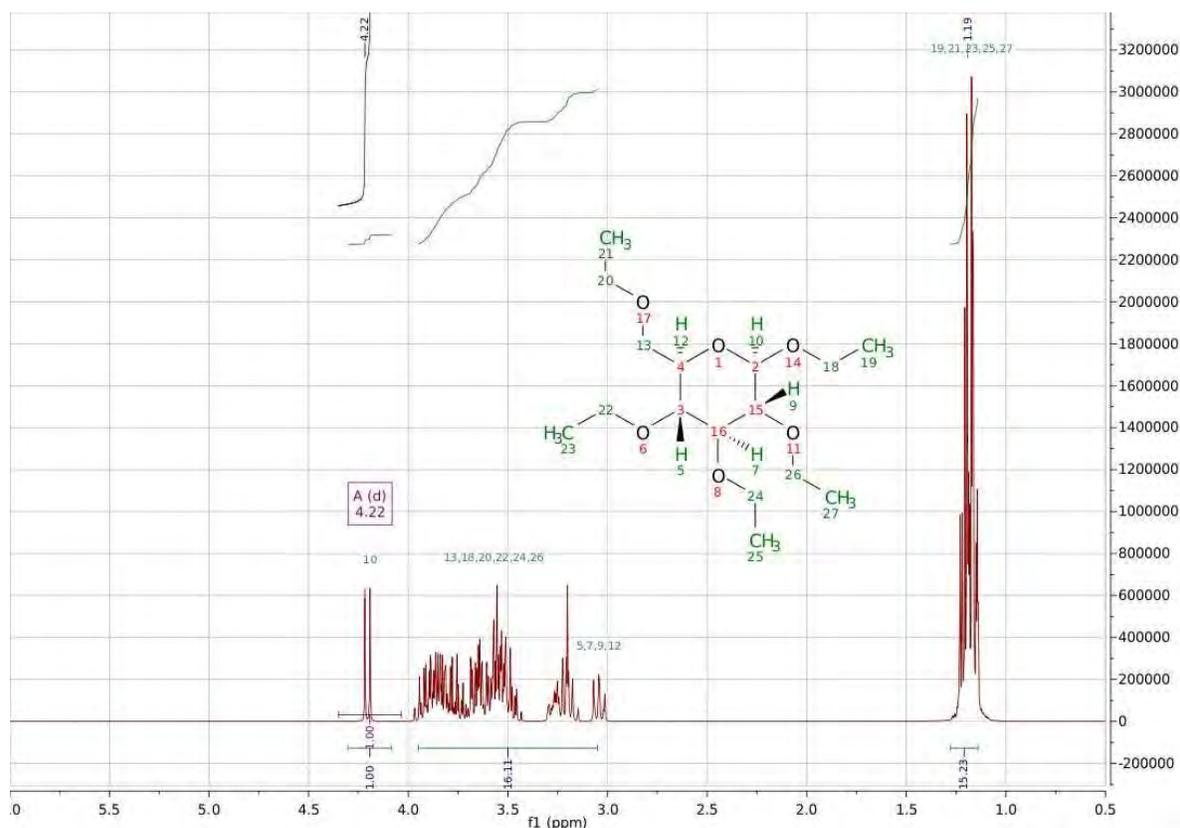


Fig 29-A: Espectro de hidrógeno para el anómero alfa (axial) de Et<sub>5</sub>Glu. Se presentan, además, las integraciones de cada conjunto de señales y el análisis de multipletes para la señal del protón unido al carbono anomérico (no. 10)

Con ayuda de la técnica de resonancia magnética nuclear de hidrógeno, así como IR y masas, es factible confirmar la estructura molecular del compuesto sintetizado. El multiplete que aparece en próximo a 1 ppm corresponde a la señal de los metilos que de los grupos etilo. Por ello integra para 15 protones.

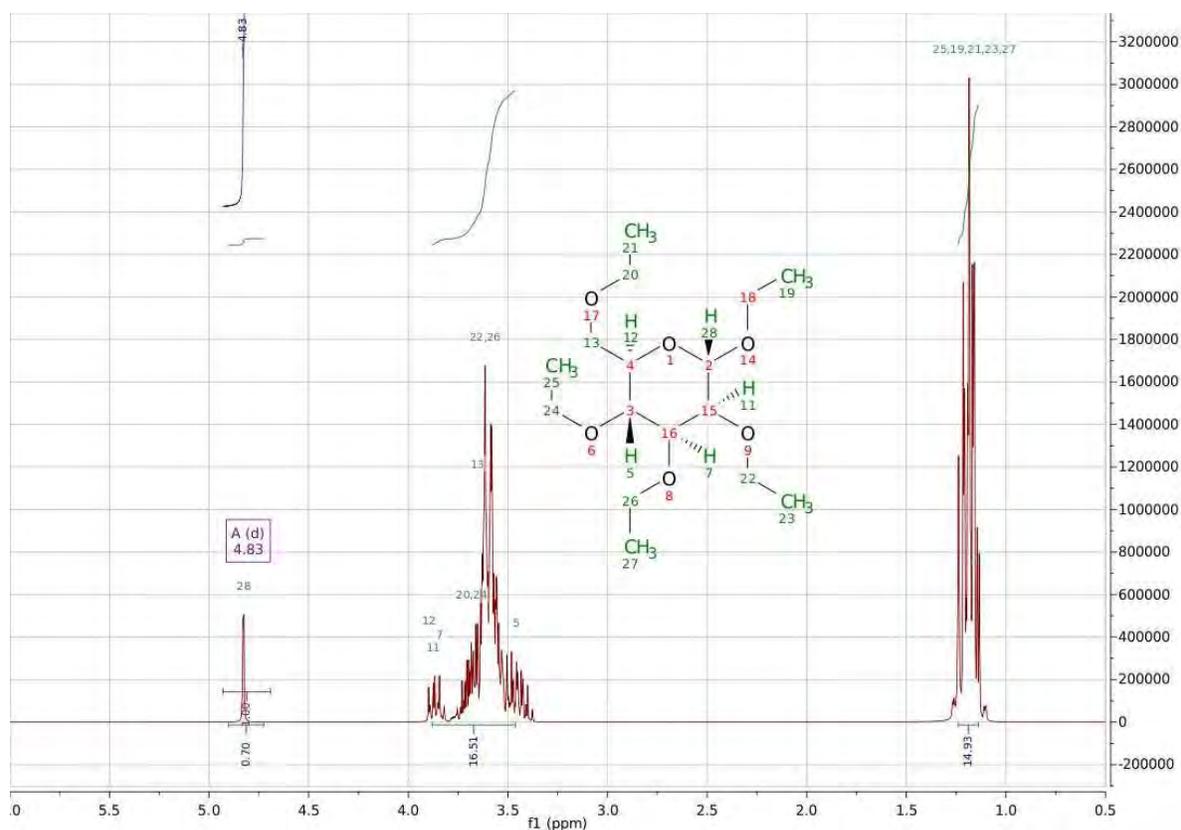


Fig 29-B: Espectro de hidrógeno para el anómero beta (ecuatorial) de Et<sub>5</sub>Glu. Se presentan, además, las integraciones de cada conjunto de señales y el análisis de multipletes para la señal del protón unido al carbono anomérico (no. 10)

Por otro lado, las señales traslapadas entre 3 y 4 ppm corresponden a los protones de los metilenos de los grupos etilo del compuesto, así como a los protones del anillo. Estos hidrógenos aparecen a campo más bajo que los metilos porque los oxígenos presentes en el compuesto les restan densidad electrónica. Por último, los

dobletes que aparecen a 4.22 ppm en el compuesto axial y a 4.88 ppm en el ecuatorial corresponden a los hidrógenos unidos al carbono anomérico.

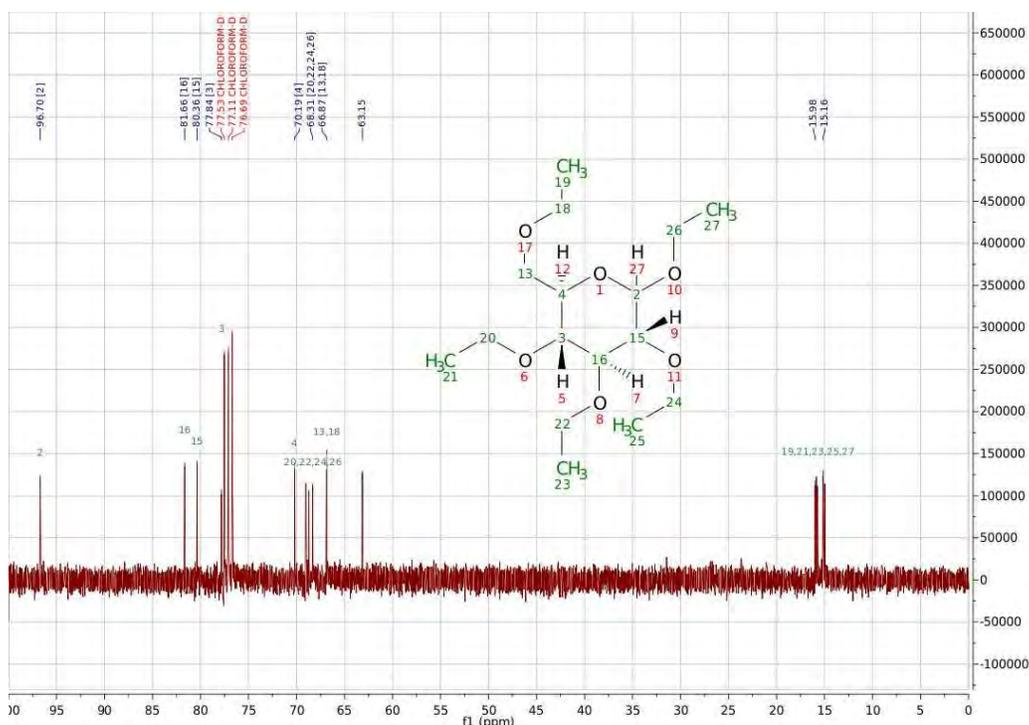


Fig 29-C: Espectro de carbono para Et<sub>5</sub>Glu. Destacan las 5 señales de metilos a 15 ppm y la señal del carbono anomérico a 96 ppm.

Las posiciones de las señales de los hidrógenos unidos a los carbonos anoméricos se pueden explicar desde el punto de vista de los fenómenos stereoelectrónicos. El anómero axial posee la disposición espacial adecuada para que ocurra una deslocalización  $n_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$  lo cual implica un desplazamiento de la señal de hidrógeno a campo bajo con respecto a la ecuatorial. (Fig. 30)

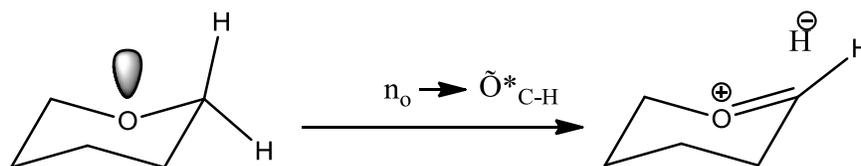


Figura 30: Deslocalización electrónica sobre hidrógeno axial.

## 5.2.2 Etil 2,3,4,6-Tetra-O-etil-D-manopiranosido

Haciendo un análisis similar al del glucopiranosido del punto 5.2.1, se muestran los espectros de hidrógeno y carbono-13 correspondientes al manopiranosido. (Fig. 31)

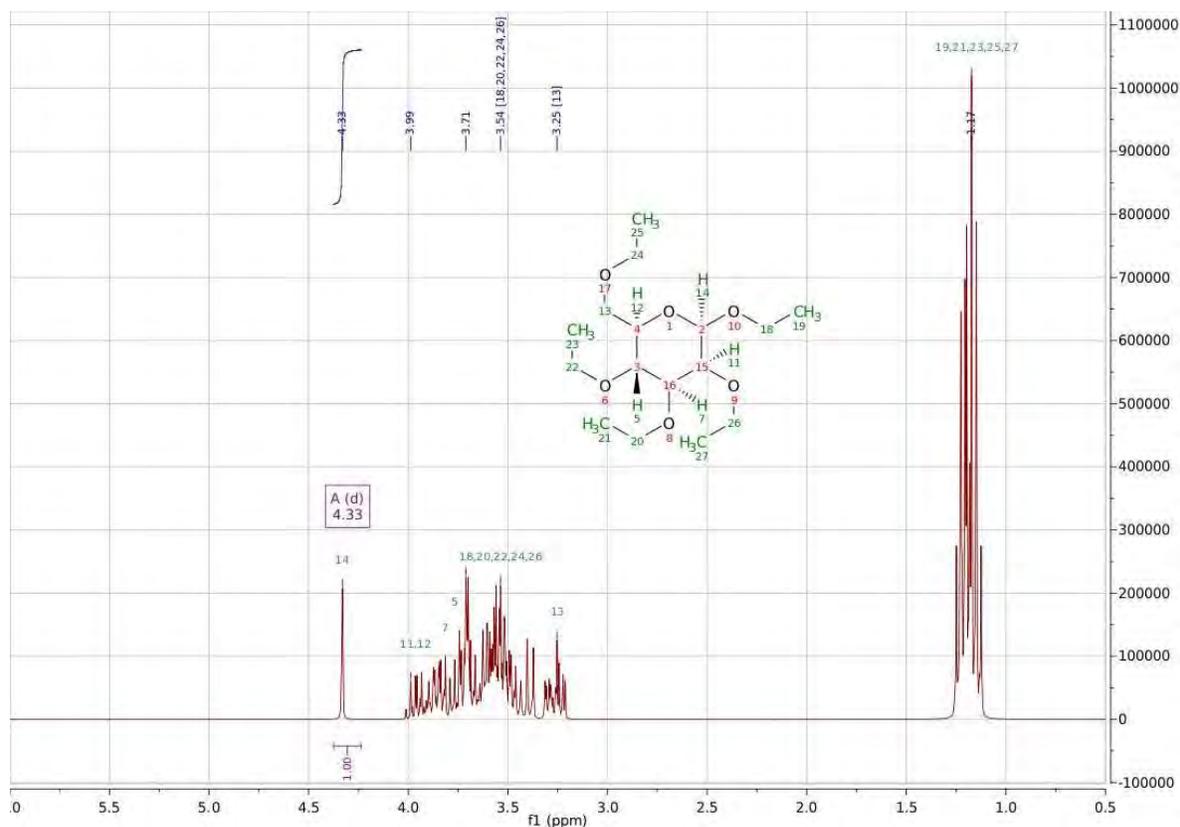


Fig 31-A: Espectro de hidrógeno para el anómero alfa (axial) de Et<sub>5</sub>Man. Se presentan, además, las integraciones de cada conjunto de señales y el análisis de multipletes para la señal del protón unido al carbono anomérico (no. 14)

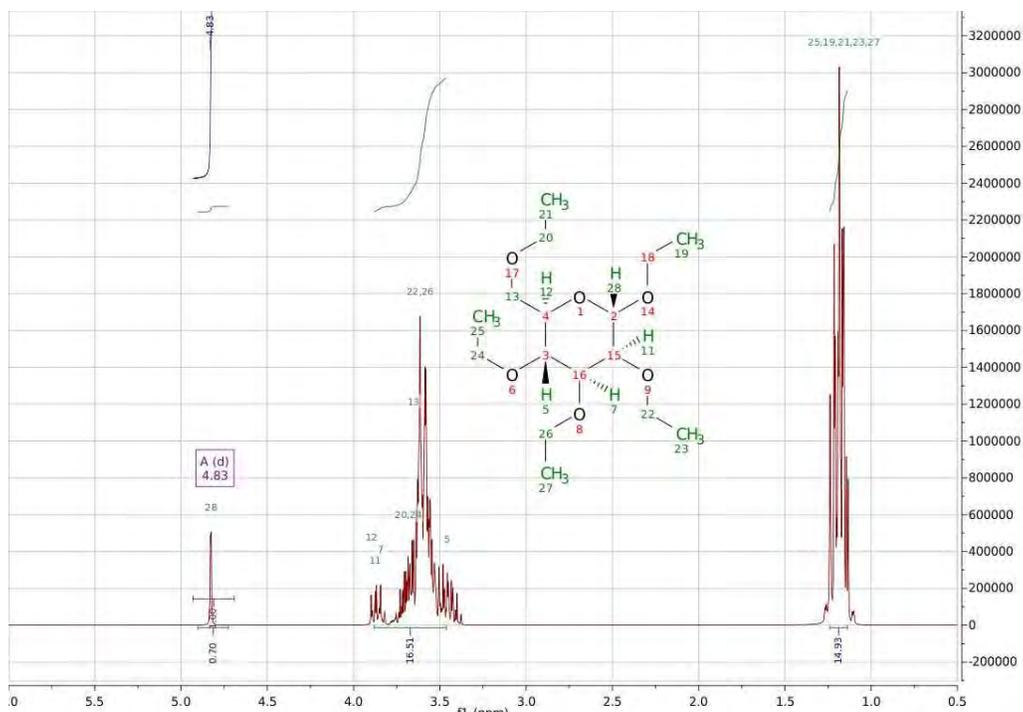


Fig 31-B: Espectro de hidrógeno para el anómero beta (ecuatorial) de Et<sub>5</sub>Man. Se presentan, además, las integraciones de cada conjunto de señales y el análisis de multipletes para la señal del protón unido al carbono anomérico (no. 10)

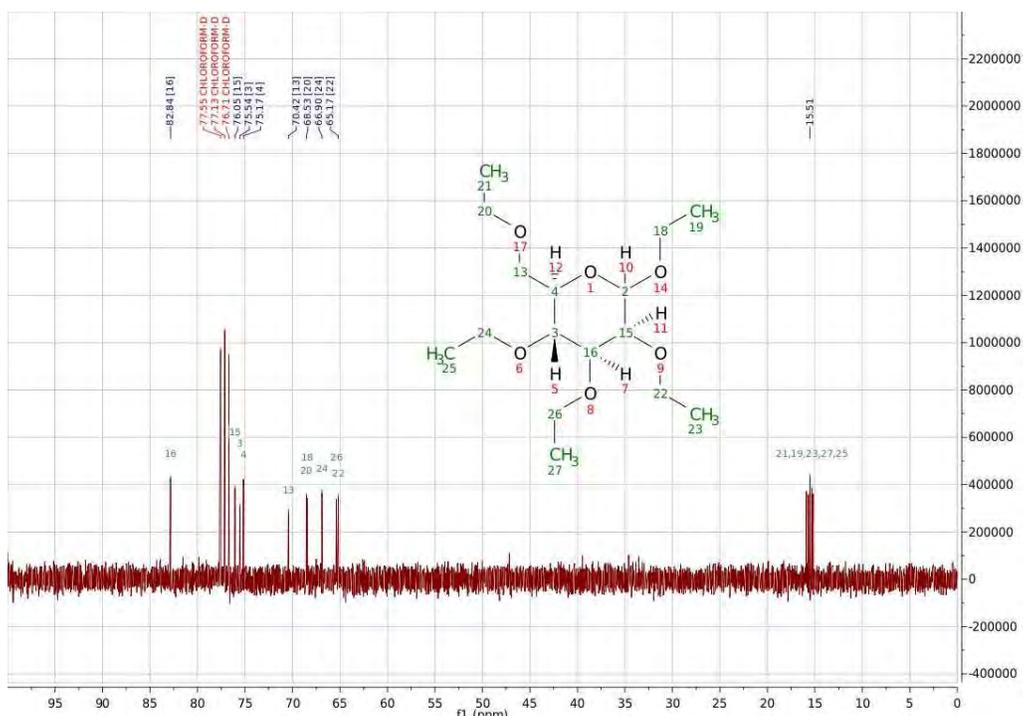


Fig 31-C: Espectro de carbono para Et<sub>5</sub>Man. Destacan las 5 señales de metilos a 15 ppm y la señal del carbono anomérico a 100.95 ppm.

### 5.2.3 Etill 2,3,4,6-Tetra-O-etil-D-galactopiranósido

Finalmente, se hizo un análisis similar de los espectros de RMN para los compuestos peretilados de galactosa, con el detalle de que se presenta un espectro con ambos anómeros, por lo tanto, las integraciones de las señales de hidrógeno resultan el doble. (Fig. 32)

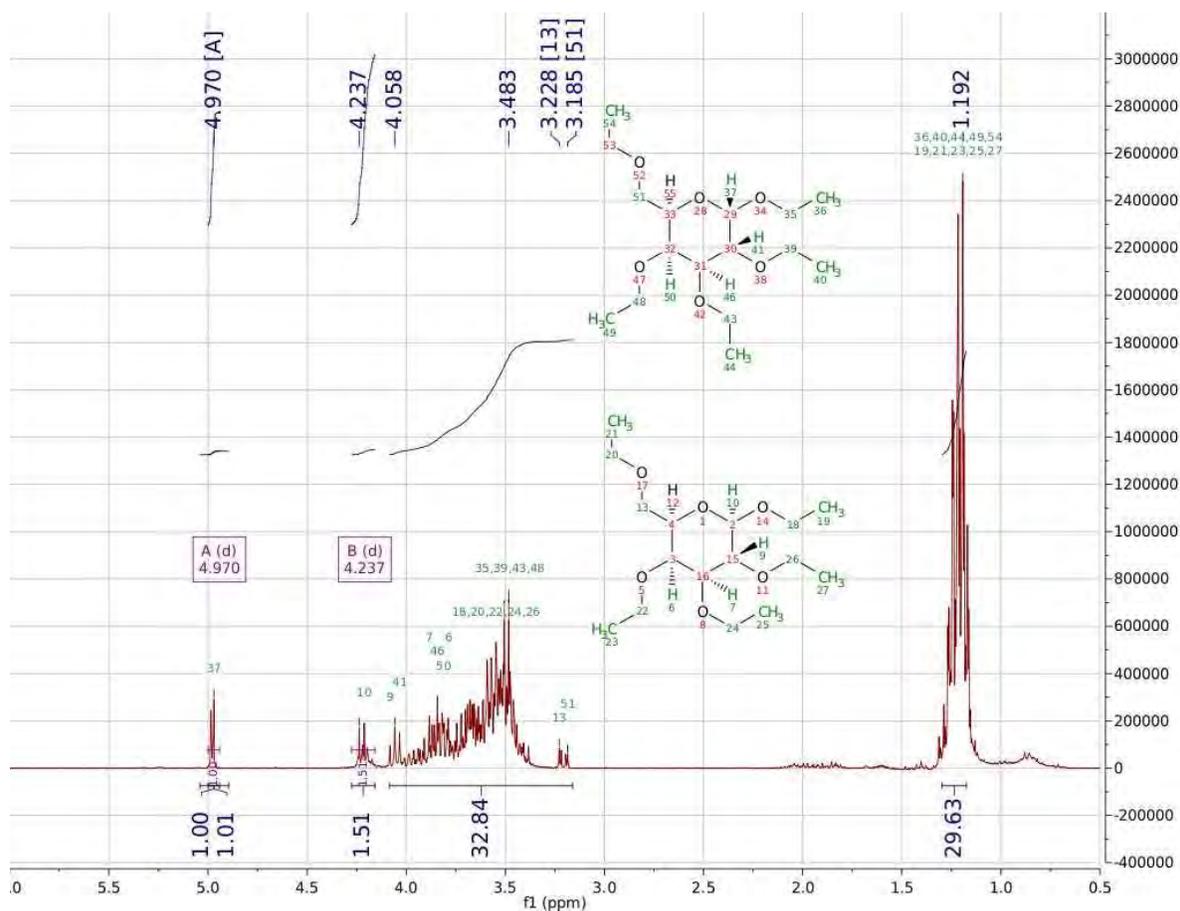


Figura 32-A: Espectro de hidrógeno para los anómeros alfa y beta de Et<sub>5</sub>Gal.

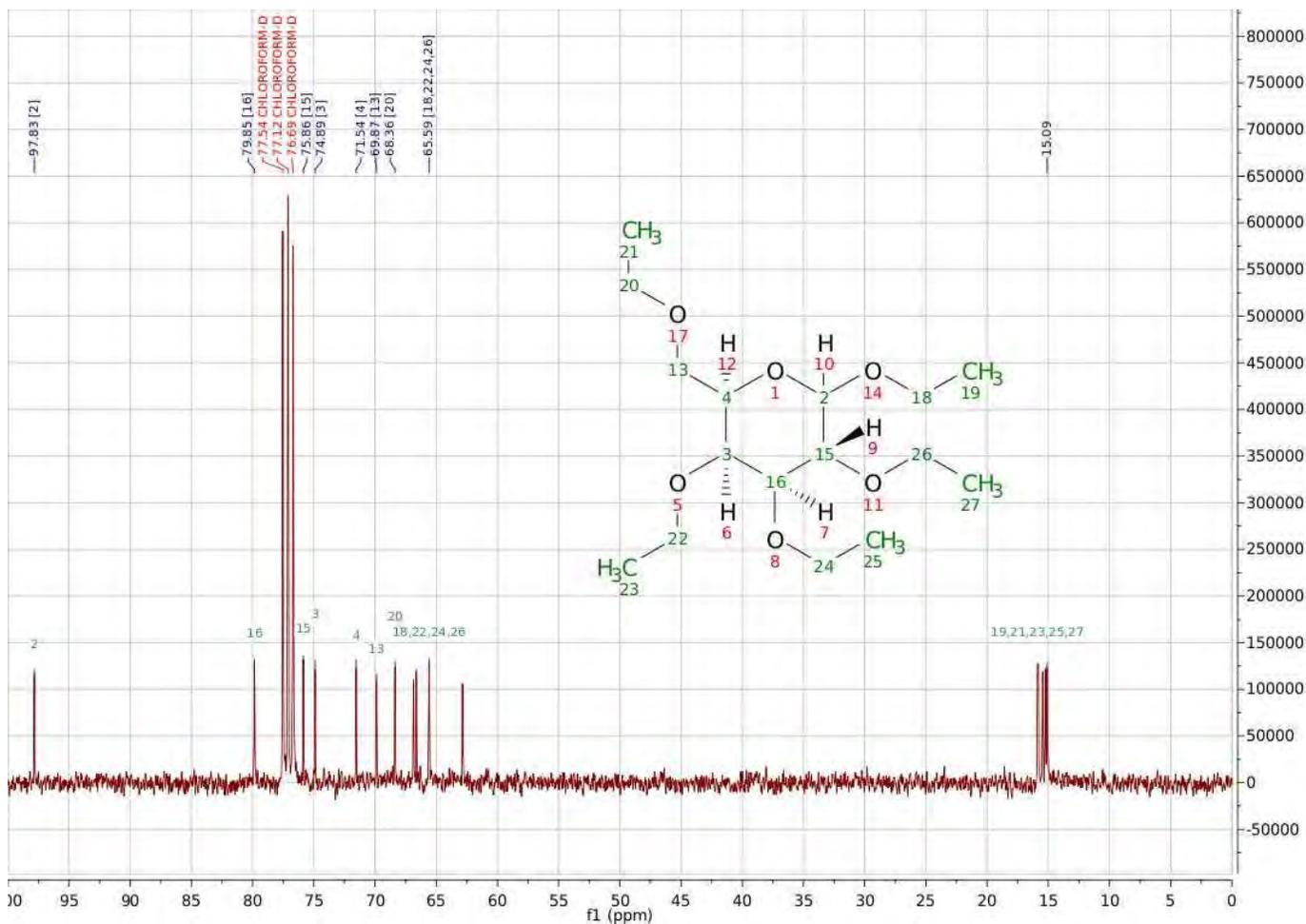


Figura 32-B: Espectro de carbono-13 para el compuesto Et<sub>5</sub>Gal

### 5.3. Simulación Molecular

Las geometrías de los azúcares utilizadas en la simulación fueron previamente optimizadas en Gaussian 09 usando el nivel de teoría DFT(M062X)/6-311G+(2d,2p). Minnesota 06 en su variante 2X es un funcional muy versátil y útil cuando las interacciones no covalentes son de especial interés (Zhao y Truhlar, 2006).

Se realizaron cálculos de simulación molecular en disolvente explícito con el fin de evaluar la capacidad emulsificante por parte de los derivados peralquilados de azúcares en mezclas hexano/agua. Se escogió un tipo de cálculo basado en condiciones periódicas y el algoritmo PME (Particle-Mesh Ewald) a 10 angstroms. De esta forma, se calculan de manera exacta las interacciones electrostáticas que ocurren a radios intermoleculares menores a 10 angstroms y para las interacciones a mayores distancias se utiliza la aproximación PME con el objetivo de no volver sumamente exhaustivo el cálculo. La aproximación PME convierte la distribución de carga de todas las moléculas en una malla; así, las interacciones electrostáticas se efectúan entre cada molécula y el valor asignado a la región de la malla donde se encuentren (Essmann, *et al.*, 1995).

Se realizaron simulaciones moleculares bajo los mismos regímenes de minimización, equilibrio y producción para los compuestos Etil 2,3,4,6-Tetra-O-etil- $\beta$ -D-manopiranosido, Etil 2,3,4,6-Tetra-O-etil- $\beta$ -D-galactopiranosido, Etil 2,3,4,6-Tetra-O-etil- $\beta$ -D-glucopiranosido, Etil 2,3,4,6-Tetra-O-etil- $\alpha$ -D-glucopiranosido, así como el Decil- $\beta$ -glucopiranosido y una mezcla de hexano/agua con las mismas proporciones que las usadas en los compuestos peretilados. Las cantidades de moléculas utilizadas se muestran en la tabla 5. Los datos obtenidos de energía con respecto al tiempo se muestran en la figura 33.

Las simulaciones se dividieron en tres etapas: primero, un periodo de minimización, seguido de un periodo de 10 ns de equilibración a 300 K y 0.77 atm. Este ajuste es necesario ya que, al optimizar el sistema, la temperatura desciende hasta los 4 K aproximadamente, por lo que si se inicia la simulación a 300 K directamente el

sistema “explota” y el cálculo es abortado. Finalmente, al alcanzar la temperatura y la presión deseada, se realizaron 50 ns de simulación molecular a temperatura, presión y número de mol constante, es decir bajo el marco de trabajo del ensamble isotérmico-isobárico. La energía se reporta en kcal, lo cual corresponde a una propiedad extensiva de la materia. Por ello el sistema control posee menos energía que los sistemas con piranosidos, ya que, al tener menor cantidad de materia, su energía también es menor.

La energía total puede ser descompuesta en un componente cinético y un componente potencial. El componente cinético se obtiene a partir de la mecánica clásica y el componente potencial es el resultado de las interacciones electrostáticas, las de van der Waals y las de dispersión. En la figura 34 se muestran los componentes cinéticos y potenciales de la dinámica molecular del compuesto peretilado ecuatorial de glucosa y los del sistema control. La energía cinética de los sistemas parte de cero y aumenta drásticamente en los primeros segundos del proceso de equilibrio; posteriormente, se mantiene constante el resto del tiempo. En ambos casos, la energía cinética posee una mayor magnitud que la energía potencial; no obstante, es la energía potencial la que gobierna la trayectoria de la energía total con respecto al tiempo, ya que el potencial depende de la posición de todas las moléculas, misma que varía durante la dinámica.

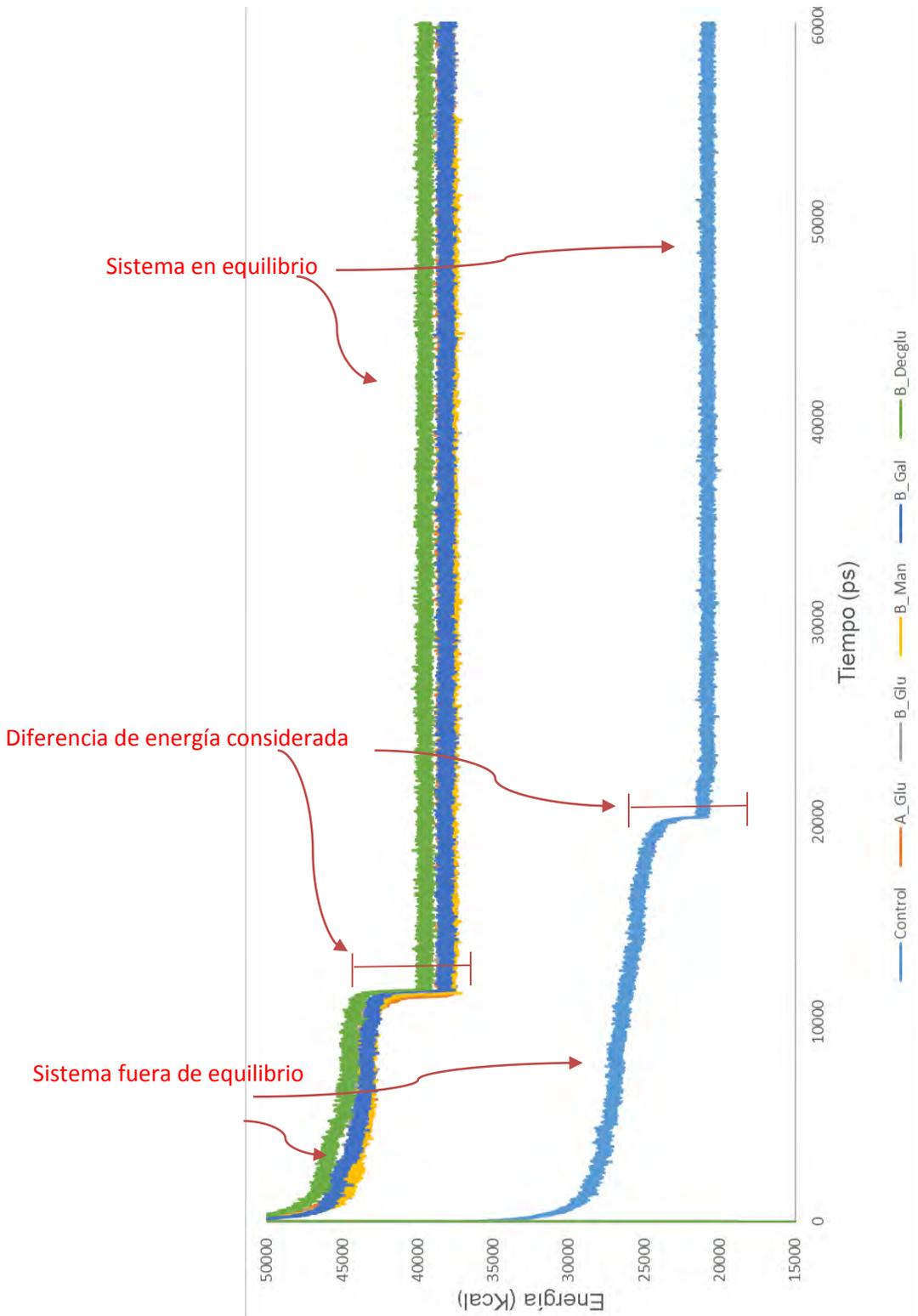


Figura 33: Gráfico de energía total vs tiempo para todos los sistemas estudiados. La notación A y B se refiere a los anómeros alfa y beta de cada derivado de azúcar.

Tabla 5: Cantidad de moléculas utilizadas por sistema:

Especie química	Cantidad de Moléculas
Agua	1500
Hexano	2000
Isómero de piranósido peretilado correspondiente	200

Los resultados de la simulación muestran que la energía total de los procesos en donde participan los derivados peretilados de glucosa, manosa galactosa, así como el tensoactivo de referencia, sigue una tendencia similar en todos los casos. Esto sugiere que la orientación espacial (ecuatorial o axial) de los grupos hidroxilo de los anillos de monosacárido, no juega un papel preponderante en los procesos de formación de interacciones no covalentes. Es decir, que no importa el monosacárido peretilado que se utilice, todos estabilizan las mezclas hexano/agua de forma similar.

Por otro lado, en la figura 33 se observa que los tres sistemas peretilados estabilizan los sistemas hexano/agua más que el tensoactivo de referencia, por una cantidad aproximada de 1600 kcal/mol. Dado que el tensoactivo propuesto Decil- $\beta$ -glucopiranósido posee 4 hidroxilos libres mientras que en los compuestos peretilados todos están en forma de éter, este resultado implica que las interacciones encargadas de estabilizar las mezclas inmiscibles de líquidos hidrofílicos e hidrofóbicos no son los puentes de hidrógeno entre el emulsificante y el disolvente donador, sino las interacciones no covalentes tipo van der Waals o dispersivas, entre los emulsificantes y las fases hidrofílicas e hidrofóbicas.

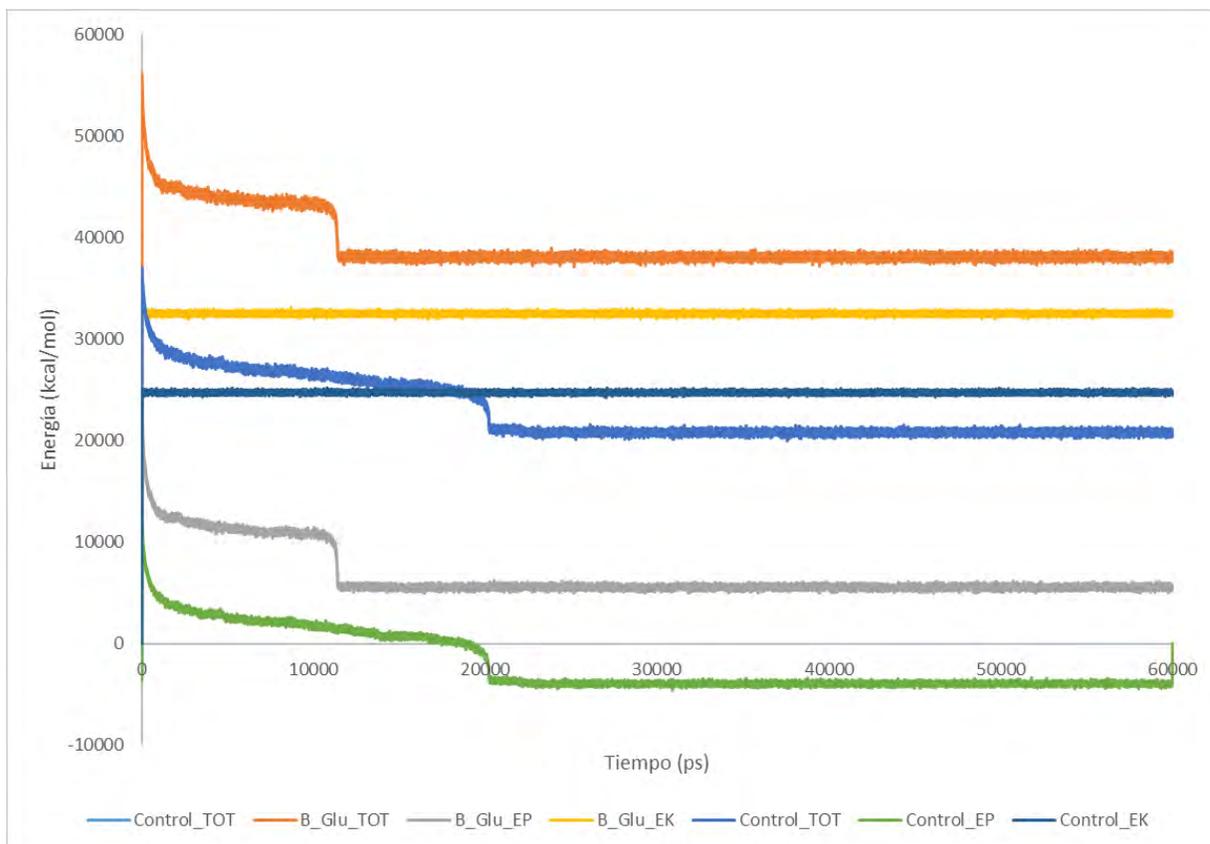


Figura 34: Representación gráfica de la energía total en sus componentes cinética y potencial. Como ejemplos, se ilustra el caso del anómero ecuatorial del derivado peretilado de glucosa y el sistema control.

Si bien es cierto que las energías de los procesos de estabilización de mezclas inmiscibles no pueden ser comparadas con la mezcla control, sí se puede estudiar el proceso de estabilización de cada sistema. Las diferencias de energía entre los sistemas antes de estabilizarse y después de alcanzar el equilibrio, mismas que se observan en la figura 33, arrojan un resultado cuantitativo que puede servir para comparar la actividad emulsificante de cada compuesto; de esta manera mientras mayor sea la diferencia energética entre el sistema en equilibrio y el sistema fuera de equilibrio, mayor será la estabilización de este. En la tabla 6 se muestra un resumen de las brechas energéticas de cada sistema.

Tabla 6: Comparación de las brechas energéticas tomadas a partir de los datos de energía total de las dinámicas antes y después de alcanzar el equilibrio.

Sistema	Diferencia de Energía entre los sistemas fuera de equilibrio y estabilizados. Ver figura 33. (kcal/mol)
Control	3407.7
$\alpha$ -Et <sub>5</sub> Glu	5311.9
$\beta$ Et <sub>5</sub> Glu	5445.1
$\beta$ -Et <sub>5</sub> Gal	5177.5
$\beta$ -Et <sub>5</sub> Man	5272.8
$\beta$ -Decglu	5297.9

Los datos de la tabla 6 indican que el mejor emulsificante, desde el punto de vista de la dinámica molecular, es el anómero beta del derivado peretilado de glucosa. Se observa que existe una diferencia de 133.2 kcal/mol entre el anómero alfa y el beta, lo que sugiere que si bien el sistema posee una cantidad de energía similar, el tipo de posición axial o ecuatorial de los sustituyentes anoméricos tiene una pequeña injerencia en la estabilización de los sistemas. Destaca la diferencia entre las brechas de los compuestos peretilados con el sistema control, de aproximadamente 2000 kcal/mol. Además, el tiempo de estabilización también es superior para el sistema control, mientras que en los sistemas con derivados peretilados, la energía sigue un decaimiento vertiginoso y corto.

El mecanismo de estabilización de acuerdo con la dinámica molecular, ocurre a través de la disminución en los puentes de hidrógeno formados entre moléculas de agua por parte de los compuestos peretilados, acompañado de un aumento de

nuevos puentes de hidrógeno del tipo emulsificante-agua. La figura 35 muestra el conteo de los puentes de hidrógeno agua-agua para el sistema correspondiente al anómero beta del derivado peretilado de glucosa y también se muestra como aumentan los puentes de hidrógeno emulsificante-agua, en el sistema del anómero ecuatorial de glucosa. Se utilizó un ángulo de  $180^\circ$  como criterio geométrico para buscar puentes de hidrógeno.

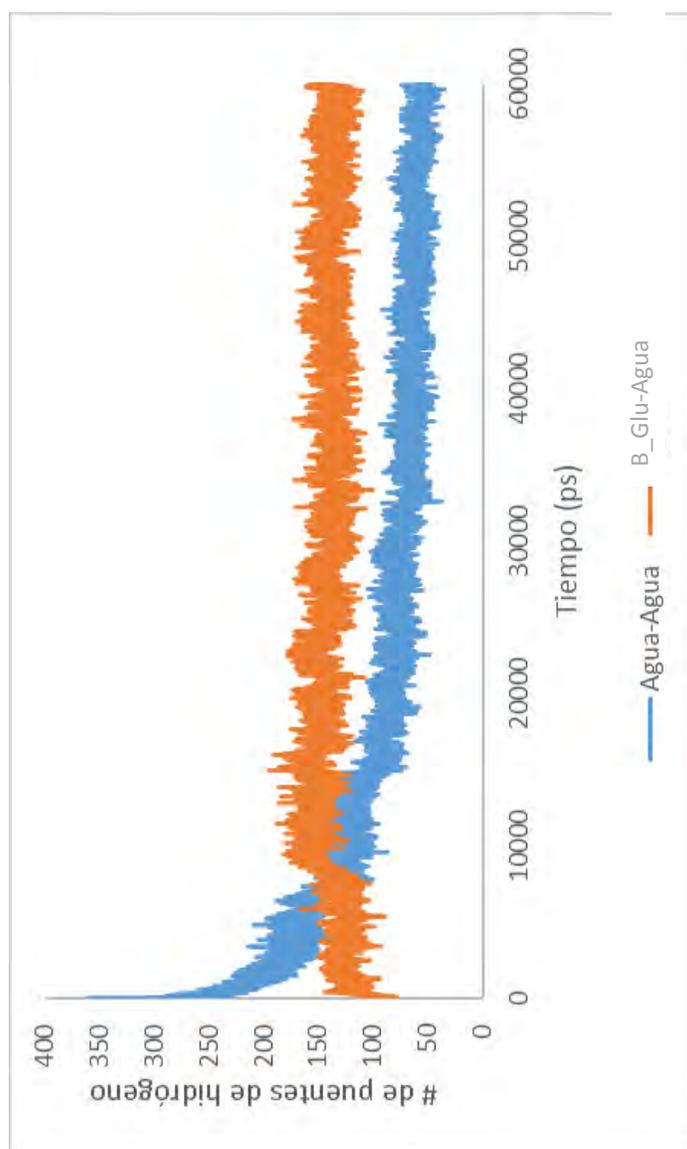


Figura 35: Cambios en la cantidad de puentes de hidrógeno tipo agua-agua y tipo  $\beta$ -Et<sub>5</sub>Glu-Agua

A continuación, se muestran 3 “estados” representativos del proceso de estabilización de mezclas inmiscibles por parte del compuesto Etil-2,3,4,6-Tetra-O-etil- $\beta$ -D-glucopiranosido. (Fig. 36). En rojo se representan las moléculas de agua, en azul las de hexano y en blanco las del piranosido.

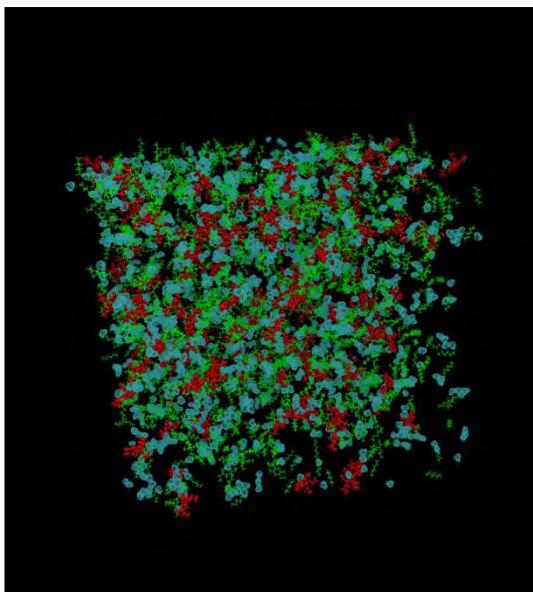


Figura 36 A

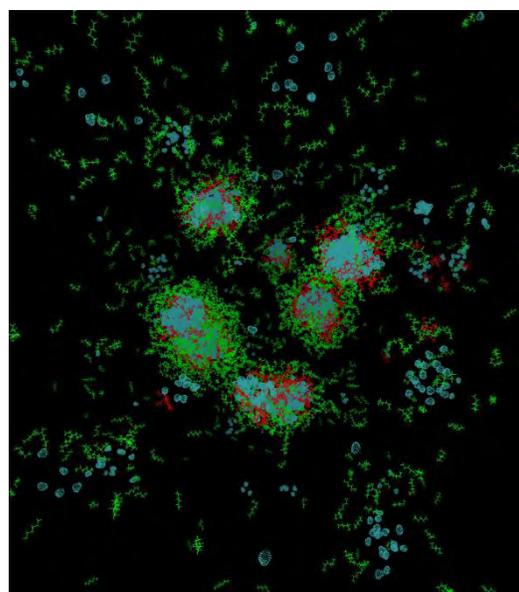


Figura 36 B

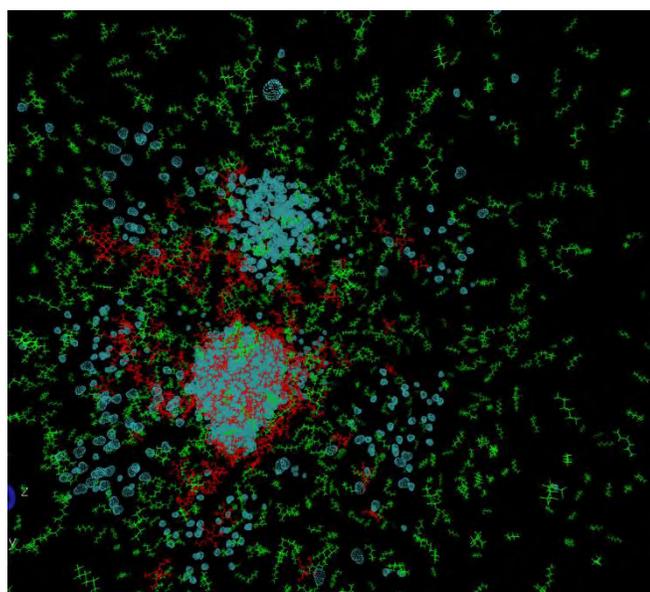


Figura 36 C

Figura 36: Estados representativos de la dinámica molecular de Et<sub>5</sub>Glu. En azul se muestran las moléculas de agua, en rojo las del piranosido y en verde las de hexano

En la figura 36 A, se ilustra el inicio de la simulación molecular, todas las moléculas están muy compactas y dispuestas de forma aleatoria. Posteriormente en la figura 36 B se observa la formación de micelas tipo hexano/compuesto/agua antes de la estabilización del sistema. Finalmente, en la figura 36 C se ilustra el final de la simulación, después de que un proceso de coalescencia ha fusionado todas las micelas en una.

## **6. Conclusiones**

Se realizó la síntesis de los derivados peretilados de glucosa, galactosa y manosa por diferentes métodos. Las metodologías que resultaron más exitosas para la síntesis, fueron las basadas en hidruro de sodio como agente básico y dimetilformamida como disolvente. Además, se identificaron diversos equilibrios químicos secundarios que disminuyen el rendimiento de reacción.

El método de síntesis en dos pasos, a través de una condensación de alcoholes que emplea el azúcar, etanol y cloruro de hidrógeno, seguida de la peretilación en presencia de yoduro de etilo e hidruro de sodio, fue el método con el que se obtuvo el rendimiento más alto, de 65%. Este método tiene la ventaja de proteger el anillo contra hidrólisis, lo cual asegura que no se obtengan furanósidos y otros isómeros piranósidos como impurezas.

Las pruebas de análisis instrumental demostraron que la estructura de los compuestos corresponde con la esperada. Particularmente destacan la ausencia de señales correspondientes a grupos OH en IR, las señales y los valores de las

integrales de metilos en resonancia magnética de protón, así como las señales de carbono-13, que en conjunto demuestran que todos los grupos hidroxilo en los compuestos obtenidos fueron alquilados, alcanzando así la peralquilación de los azúcares trabajados.

Los cálculos de dinámica molecular mostraron que los sistemas comprendidos por hexano, agua y los derivados peretilados de glucosa, galactosa y manosa, son más estables por aproximadamente 1600 kcal/mol con respecto al sistema que involucra al tensoactivo de referencia, el Decil- $\beta$ -glucopiranósido. Por otro lado, se compararon las diferencias de energía para los sistemas fuera de equilibrio y en equilibrio, con el fin de determinar cuáles sistemas estabilizaban mejor las mezclas de líquidos inmiscibles. Los resultados demostraron que todos los compuestos peretilados, así como el tensoactivo de referencia, estabilizan de forma similar la mezcla inmiscible de hexano y agua. Existe una diferencia aproximada de 2000 kcal/mol entre los sistemas con derivados de azúcar y el sistema control, lo cual sugiere que estos compuestos en efecto, tienen actividad emulsificante. No obstante, es necesario realizar las mediciones experimentales de tensión y actividad superficial, para corroborar los resultados de las dinámicas moleculares.

Tras estudiar como varían el número de puentes de hidrógeno disolvente-disolvente y disolvente-compuesto, se observó que los derivados peretilados de glucosa, galactosa y manosa interactúan con el disolvente rompiendo las interacciones presentes en el agua y aumentando los puentes de hidrógeno entre estos y el agua. Sin embargo, la comparación entre la energía total de los sistemas peretilados y la del sistema del Decil- $\beta$ -glucopiranósido, demostró que los puentes de hidrógeno

agua-compuesto, no son las interacciones que principalmente explicarían la estabilización de mezclas inmiscibles, sino las interacciones dipolares (no puente de hidrógeno) y las dispersivas.

## **7. Bibliografía**

1. Adamson, A. W.; Gast, A. P. *Physical Chemistry of Surfaces*. (6° Edición). John Wiley & Sons. New York, **1997**; pp 757.
2. Akram, M.; Yousuf, S.; Sarwar, T.; Din, K. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. **2014**, 441, 281.
3. Allinger, N. L. *Comput. Chem.* **1996**, 17, 642.
4. Asres, D.; Perreult, H. *Can. J. Chem.* **1999**, 77, 319.
5. Bautista-Ibáñez, L; Ramírez-Gualito, K; Quiroz-García, B.; Rojas-Aguilar, A.; and Cuevas, G. *J. Org. Chem.* **2008**. 73, 849.
6. Binkley, W.W.; Degering, F. E. *Proceedings of Indiana Academy of Science*. **1936**, 124.
7. Bruice, P. *Organic Chemistry* (7° Edición). Nueva York. Pearson, **2014**; pp 1017-1043
8. Buncl, E.; Symons, E. A. *J. Chem. Soc. D.* **1970**, 164
9. Chester, A. Nomenclature of Glycolipides. *Pure and Applied Chemistry*, **1997**; 2475-2487.
10. Ciucanu, F.; Kerek, I. *Carbohydrate Research*. **1984**, 131, 209.
11. Corey, E.J.; Chaykovsky, M. J. *Am. Chem. Soc.*, **1962**, 84, 866
12. Cortés-Guzmán, F.; Hernández-Trujillo, J.; Cuevas, G. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2010**, 12, 13261.
13. D.A. Case, V. Babin, J.T. Berryman, R.M. Betz, Q. Cai, D.S. Cerutti, T.E. Cheatham, III, T.A. Darden, R.E. Duke, H. Gohlke, A.W. Goetz, S. Gusarov, N. Homeyer, P. Janowski, J. Kaus, I. Kolossváry, A. Kovalenko, T.S. Lee, S. LeGrand, T. Luchko, R. Luo, B. Madej, K.M. Merz, F. Paesani, D.R. Roe, A. Roitberg, C. Sagui, R. Salomon-Ferrer, G. Seabra, C.L.

- Simmerling, W. Smith, J. Swails, R.C. Walker, J. Wang, R.M. Wolf, X. Wu and P.A. Kollman  
(2014), AMBER 14, University of California, San Francisco.
14. Degering, E.F.; Blinkley, W.W.; Sprang, C.A. *Proceedings of the Indiana Academy of Science*. **1940**, 50, 102.
  15. Domínguez, A.; Fernández, N.; González, E.; Iglesias, L. *J. Chem. Educ.* **1997**, 74, 1227.
  16. Fawcett, W.R.; Brooksby, P.; Verbovy, D.; Bakó, I.; Pálinkás, G. *Journal of Molecular Liquids*. **2005**, 118, 171.
  17. Fernández-Alonso, M. C.; Cañada, F. J.; Jiménez-Barbero, J.; Cuevas, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 7379.
  18. Gibbs, B. F.; Kermasha, S.; Alli, I. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, **1999**, 50, 213.
  19. Grein, A.; da Silva, B.C.; Wendel, C.F; Tischer, C.A.; Sierakowsky, M.R.; Dewes-Moura, A.B.; Iacomini, M.; Gorin P.A.J.; Simas-Tosin, F.F.; Riegel-Vidotti, I.C. *Carbohydrate Polymers.*, **2013**, 92, 312
  20. Griffin W.C. *J. Soc, Cosmetic Chemists.*, **1954**, 5, 249.
  21. Hakomori, S. *The Journal of Biochemistry.*, **1964**, 55, 205
  22. Haworth, W. N. *J. Chem. Soc., Trans.*, **1915**, 107, 8
  23. Hernández-Lima, J. G.; Barquera-Lozada, J.E.; Cuevas, G.; Cortés-Guzmán, F. *Journal of Computational Chemistry*, **2015**, 36, 1573.
  24. Juaristi, E.; Cuevas, G. *Tetrahedron*, **1992**, 24, 5019
  25. Kirby A.J., *The Anomeric Effect and Related Stereoelectronic Effects at Oxygen*, Springer, New York, **1983**; pp 4-18.

26. Lu, W.; Navidpour L.; Taylor, S. D. *Carbohydrate Research*, **2005**, 340, 1213.
27. Matwiejuk, M.; Thiem, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 29, 5680.
28. McMurry, J. *Química Orgánica*, (5ª. Edición) México, Ed. International Thomson Editores, **2011** pp 1001-1031
29. Middleton, J. J. *J. Soc. Cosmetic Chemists.* **1968**, 19, 129.
30. Morales, C. (**2009**). W/O Emulsions: Formulation, Characterization and Destabilization. Tesis de doctorado. Fakultät für Umweltwissenschaften und Verfahrenstechnik der Brandenburgischen Technischen Universität Cottbus.
31. Morrison, R.T. Boyd, R.N. *Química orgánica* (5° Edición). Addison Wesley Longman de México, **1998**; pp: 1257-1258
32. Narui, T.; Takahashi, K.; Kobayashi, M.; Shibata, S. *Carbohydrate Research.* **1982**, 103, 293.
33. Nian, W. Polymer-carbohydrate conjugates for drug delivery technology. WO 2015085173 A1, 05 Dec. 2014. Appl.US2014/068798, **11 Jun. 2015**.
34. Novelo-Torres, A. M.; Gracia-Fadrique, J. *Educ. Quím.* **2005**, 16, 63.
35. Pearson, R.; Sobel, H.; Songstad, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**. 90, 319.
36. Perrin, C. L.; Erdélyi, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 6168.
37. Price, N. P. *J. Appl. Biochem. Biotechnol.* **2008**, 148, 271.
38. Purdie, T.; Irvine J.C. *J.Chem. Soc.* **1903**, 83, 1021.
39. Razafindralambo, H.; Blecker, C.; Paquot, M. *Advances in Chemical Engineering.* **2012**, 215.
40. Ramírez-Gualito, K., Alonso-Ríos, R., Quiroz-García, B., Rojas-Aguilar, A., Díaz, D., Jim. nez-Barbero, J., Cuevas, G *J. Org. Chem.* **2009**, 73, 849.

41. Roewer, N. and Broscheit, Jens. Pharmaceutical preparation comprising permethylated cyclodextrin. U.S., 8,980,882 B2, 17 Mar. 2015. Appl. US 12/936,222, **01 Apr. 2009**.
42. Sabliov, C. M.; Chen, H.; Yada, R. Y. *Nanotechnology and Functional Foods: Effective Delivery of Bioactive Agents*. John Wiley & Sons New Jersey, **2015**; pp 408
43. Scheppes, F. J., Jurgens, A., Van De Pas. J. C. Liquid Detergent Composition. N.L. WO19911000331 A1, 10 Jan 1991. Appl. PCT/EP1990/000971, **15 Nov 1990**.
44. Solvent Effects., [en línea]. Ian Hunt, Departamento de Química Universidad de Calgary. Dirección URL: <http://www.chem.ucalgary.ca/courses/350/Carey5th/Ch08/ch8-8.html>. [Consulta: **17 mayo 2016**, 01:00 hrs.]
45. Ulrich Essmann, U.; Perera, L.; Berkowitz, M.L.; Darden, T.; Lee, H. *J. Chem. Phys.* **1995**, 103, 8577.
46. Vandebussche, S., Díaz, D., Fernández-Alonso, M.; Pan, W.; Vincent, Stéphane, P.; Cuevas, G.; Cañada, F.; Jiménez-Barbero, J.; Bartik, K. *Chem. Eur. J.* **2008**, 14, 7570.
47. Wade. L.G. *Química Orgánica*. Pearson, **2008**; pp 1057-1070
48. Walker, H.G.; Gee, M.; McCready R. M. *J. Org. Chem.* **1962**, 27, 2100.
49. Wang, H.; Sun, L.; Glazebnik, S.; Zhao, K. *Tetrahedron Letters.* **1995**, 36, 2953.
50. Zhao, Y.; Truhlar, D.G. *Theor Chem Account.* **2008**, 120, 215.