



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTILÁN**

---

---

**“Determinación de diversos parámetros fisicoquímicos de  
interés farmacológico ( $KD$ ,  $\log P$ ,  $\log G$  y  $p$ ), para una serie de  
4-aril-5-carboalcoxi-6-metil-3,4-dihidro-1H-pirimidin-2-onas;  
preparadas en un contexto ecológico “**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO  
P R E S E N T A:  
JOSÉ BUSTOS ARRIAGA**

**ASESORES:  
M. EN C. BENJAMÍN VELASCO BEJARANO  
Dr. RENE MIRANDA RUVALCABA**



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.

El presente trabajo de tesis se desarrolló en el laboratorio de investigación L-122, de la sección de química Orgánica, de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM; y en el Laboratorio de Bioquímica Médica II de la Escuela Superior de Medicina, IPN: al respecto SE AGRADECE EL APOYO ECONOMICO A LA DGAPA-UNAM MEDIANTE EL PROYECTO PAPIIT IN-208202.

## **DEDICATORIAS**

A Dios porque Toda la felicidad y los beneficios que he recibido en mi vida te los debo sin duda a ti.

A mi mamá y papá porque todo lo que soy se lo debo a ellos, a todo el amor, esfuerzo y sacrificio que han hecho con el único fin de mi bienestar, no tengo palabras para agradecerles todo lo que hacen por mi lo único que les puedo hacer es dedicarles todos mis logros como este. Muchas Gracias.

A mis hermanos por su amistad y apoyo. No importa lo que pase, siempre estarán en un lugar muy especial en mi corazón.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. René Miranda Ruvalcava, por aceptarme en su equipo de trabajo, dedicarme todo el tiempo necesario para cumplir mis metas académicas, y por compartir conmigo su conocimiento y experiencia. Muchas gracias.

A benjamín, por siempre estar presente brindándome tu tiempo y apoyo, no como un asesor si no como amigo. Por enseñarme que nunca es demasiado el esfuerzo si se tiene clara la meta.

A Vilchis por brindarme tu amistad en las buenas y las malas compartiendo mis alegrías y derrotas como un buen amigo. Gracias hermano.

A Carina que siempre supiste como hacerme sentir capaz de realizar todo lo que me proponía con tu amor, apoyo y tolerancia durante tanto tiempo. Gracias chiquita te amo.

# ÍNDICE

1. GLOSARIO DE TÉRMINOS	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. GENERALIDADES	5
3.1. Química Verde	5
3.1.1. Principios básicos de la Química Verde	6
3.2. Ésteres de Biginelli	7
3.2.1. Variación de los reactivos y condiciones de reacción	8
3.2.2. Configuración	9
3.2.3. Actividad biológica	10
3.3. Parámetros fisicoquímicos	12
3.3.1. $K_D$ y Log P.	16
3.3.2. Energía libre de Gibbs $\Delta G$ .	18
3.3.3. Constante Hidrofóbica (?).	20
3.3.4. Aplicación de las mediciones de partición.	20
3.3.4.1. <i>Distribución contracorriente.</i>	20
3.3.4.2. <i>Cálculos de equilibrio.</i>	21
3.3.4.3. <i>Relación del balance lipofílico-hidrofílico y sistemas de emulsión</i>	21
3.3.4.4. <i>Medición de la partición y disolución para fármacos.</i>	21
3.3.4.5. <i>Determinación de la capacidad de unión hidrofóbica relacionada con parámetros estructurales.</i>	22

4. HIPÓTESIS	23
5. OBJETIVOS	24
5.1. Objetivo general	24
5.2. Objetivos particulares	24
6. PARTE EXPERIMENTAL	25
6.1. Materiales	25
6.2. Metodología	25
6.2.1. Método general para obtener las 4-Artil-5-carboalcoxi-6-metil-3,4-dihidro- 1H-pirimidin-2-onas.	25
6.2.2. Procedimientos para determinar los parámetros $\text{Log } P, \pi$ y $\Delta G$	27
6.2.2.1. Saturación de los disolventes utilizados.	27
6.2.2.2. Longitudes de onda máximas.	27
6.2.2.3. Tiempo de agitación óptimo.	27
6.2.2.4. Cálculo de los coeficientes de partición KD.	28
6.2.2.4. Determinación de los parámetros $\text{Log } P, \pi$ y $\Delta G$ .	29
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	31
7.1. Síntesis e identificación de productos.	31
7.2. Determinación y análisis de los parámetros fisicoquímicos.	35
8. CONCLUSIONES.	41
9. REFERENCIAS.	42

## 1. GLOSARIO DE TÉRMINOS

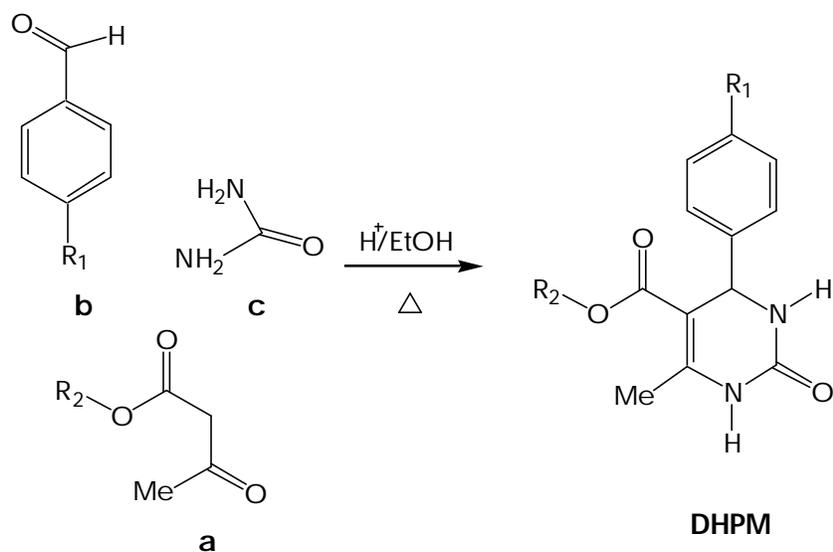
THF	Tetrahidrofurano
H <sup>+</sup>	Condiciones ácidas de reacción
Δ	Condiciones térmicas de reacción
ΔG	Energía libre de Gibbs
KD	Coefficiente de partición
π	Constante de hidrofobicidad
Log P	Logaritmo base 10 del coeficiente de partición
OPTT	Oficina de Prevención de la Contaminación y Sustancias Tóxicas
EPA	Agencia de Protección al Medio Ambiente - USA
-H <sub>2</sub> O	Perdida de una molécula de agua
CAN	Nitrato cérico amoniacal
PPE	Ester polifosfato
DHPMs	Dihidropirimidinas
DHPs	Dihidropiridinas
NPY	Neuropéptido Y
BCCs	Bloqueadores de los canales de calcio
C	Concentración
HLB	Balance lipofílico-hidrofílico
RMN <sup>1</sup> H	Resonancia magnética nuclear protónica
RMN <sup>13</sup> C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
SD	Sin disolvente
W	Watts
nm	Nanómetros
AAEt	Acetoacetato de etilo
AAMe	Acetoacetato de metilo
BZH	Benzaldehído
Me	Metilo
Et	Etilo
OEt	Etoxilo
OMe	Metoxilo
MHz	Mega Hertz
DMSO	Dimetilsulfóxido
+I	electrodonador por efecto inductivo
↑ ↓	Reflujo

## INTRODUCCIÓN

---

## 2. INTRODUCCIÓN

La reacción de Biginelli consiste en la condensación en un sólo paso entre un  $\beta$ -dicarbonilo (**a**), con un aldehído (**b**) y urea o tiourea (**c**) formándose una dihidropirimidinona (**DHPM**); ésta es realizada comúnmente en EtOH o THF mediante una catálisis ácida y en condiciones de reflujo (**Esquema 1**), al respecto, se han utilizado combinaciones de ácidos de Lewis con sales de metales de transición.<sup>1</sup> Como complemento informativo de los ésteres de Biginelli es importante mencionar que estas moléculas presentan un amplio espectro de actividad biológica, algunas de las más importantes son; antiviral, antibacterial, cardiovascular, antitumoral, anticancerígena, antiinflamatoria, analgésica, antiagregante plaquetario, antihipertensiva<sup>1</sup>. También se han utilizado en el tratamiento de la hiperplasia benigna prostática<sup>1,2</sup>, además de ser antagonistas del neuropéptido Y(NPY). Recientemente se ha descubierto que los alcaloides de *batzelladina* que contienen en su estructura el 5-carboxialquildihidropirimidona son inhibidores potentes de HIV-gp-120-CD4.<sup>3</sup>



**Esquema 1.** Reacción general de Biginelli, donde; **a**:  $\beta$ -dicarbonilo, **b**: aldehído y **c**: urea o tiourea. (ver texto)

Por otro lado, el coeficiente de partición (**KD**) es una medida de la afinidad relativa de una sustancia por los lípidos versus agua: cuanto mayor es el coeficiente de partición de una sustancia, más liposoluble es,<sup>4</sup> es decir, a mayor liposolubilidad la penetración es más rápida.<sup>5</sup> Esta propiedad es de sumo interés para el diseño de fármacos ya que predice la posibilidad de que el compuesto pase por difusión pasiva a través de la membrana celular. En otras palabras, con este parámetro se estima si un producto podrá ser absorbido por las células y en qué proporción, en consecuencia se puede determinar la probable actividad biológica de éste. Uno de los objetivos de este tipo de estudio es establecer una relación matemática entre la propiedad biológica de interés y determinar otros parámetros de interés para correlacionar adecuadamente la estructura-actividad de una molécula, como son: (**Log P**), Constante Hidrofóbica (?) y la Energía Libre de Gibbs (? **G**).<sup>6</sup>

En relación a lo antes mencionado, es conveniente mencionar, que no existe información en la literatura con respecto a los valores experimentales de **Log P**, **KD**, ?, ?**G**, para los compuestos genéricamente llamados: 4-aril-5-carboalcoxi-6-metil-3,4-dihidro-1*H*-pirimidin-2-onas (**DHPM**s); en consecuencia, en este trabajo de tesis, se sintetizó (**Tabla 1**) una serie de diez moléculas de esta clase (**DHPMs 1-10**) a las cuales se les determinaron los valores experimentales de los parámetros: **KD**, **Log P**, ? y ?**G**.

**Tabla 1.** Serie de ésteres de Biginelli estudiados en el presente trabajo de tesis.

MOLECULA *	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	NOMBRE
<b>DHPM 1</b>	H	Me	4-Fenil-5-carbometoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona
<b>DHPM 2</b>	Me	Me	4-(4'-Metilfenil)-5-carbometoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona
<b>DHPM 3</b>	MeO	Me	4-(4'-Metoxifenil)-5-carbometoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona
<b>DHPM 4</b>	Cl	Me	4-(4'-Clorofenil)-5-carbometoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona
<b>DHPM 5</b>	F	Me	4-(4'-Fluorometil)-5-carbometoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona
<b>DHPM 6</b>	H	Et	4-Fenil-5-carboetoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona
<b>DHPM 7</b>	Me	Et	4-(4'-Metilfenil)-5-carboetoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona
<b>DHPM 8</b>	MeO	Et	4-(4'-Metoxifenil)-5-carboetoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona
<b>DHPM 9</b>	Cl	Et	4-(4'-Clorofenil)-5-carboetoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona
<b>DHPM 10</b>	F	Et	4-(4'-Fluorofenil)-5-carboetoxi-6-metil-3,4-dihidro-1 <i>H</i> -pirimidin-2-ona

\*las moléculas obtenidas se numeraron del 1 al 10 tomando como parámetro la electronegatividad del sustituyente en la posición 4 de la dihidropirimidina.

## GENERALIDADES

---

---

### 3. GENERALIDADES

#### 3.1. Química Verde

Poco después de haberse aprobado la Ley de Prevención de la Contaminación en 1990, la Oficina de Prevención de la Contaminación y Sustancia Tóxicas de la EPA (*OPPT*), inició a explorar la idea de desarrollar productos y procesos químicos nuevos o mejorar a los existentes para reducir el peligro a la salud humana y al medio ambiente. Así, en 1991, la OPTT puso en marcha el programa modelo de subvenciones a la investigación "Rutas Sintéticas, Alternativas para la Prevención de la Contaminación". Este programa proporcionó, por primera vez, ayuda para proyectos de investigación que incluyesen la prevención de la contaminación en la síntesis de sustancias químicas. Así nació el concepto de Química Verde. Ésta, en 1991, se integra formalmente a la EPA; su origen como vocablo proviene del idioma Inglés (*Green Chemistry*) siendo su objetivo principal, la prevención de la contaminación. <sup>7</sup>

La Química Verde, es el diseño de productos o procesos que reducen o eliminan el uso o la producción de sustancias peligrosas para el humano y el medio ambiente. Al ofrecer alternativas de mayor compatibilidad ambiental, comparadas con los productos o procesos disponibles actualmente cuya peligrosidad es mayor y que son usados tanto por el consumidor como en aplicaciones industriales, ésta promueve la prevención de la contaminación en el ámbito molecular. <sup>7</sup>

### 3.1.1. Principios básicos de la Química Verde

Son los desarrollados por Anastas y Warner<sup>7</sup>, y su fundamento es contribuir a valorar que tan verde puede ser un producto químico, una reacción o un proceso; éstos se indican a continuación:

- ✍ Evitar de preferencia la producción de residuos, que tratar de limpiarlo una vez formado.
- ✍ Los métodos de síntesis deben diseñarse de manera que se incorporen al máximo, al producto final, todos los materiales usados durante el proceso.
- ✍ Los métodos de síntesis deberán realizarse para utilizar y generar sustancias que presentan poca o ninguna toxicidad, tanto para el hombre como para el medio ambiente.
- ✍ Los productos químicos se diseñarán de manera que mantengan su eficacia y baja toxicidad
- ✍ Evitar el empleo de sustancias auxiliares como disolventes, reactivos de separación, etc. y en caso de ser empleadas que sea lo más inocuo posible.
- ✍ Los requerimientos energéticos se catalogan por su impacto al medio ambiente y económico reduciéndose todo lo posible. Se sugiere llevar a cabo los métodos de síntesis a temperatura y presión ambiente.
- ✍ La materia prima debe ser preferiblemente renovable en lugar de agotable, siempre que sea técnica y económicamente viable.
- ✍ Evitar la formación de derivados como grupos de bloqueo, de protección-desprotección, modificación temporal de procesos fisicoquímicos.
- ✍ Considerar el empleo de catalizadores, lo más selectivos posible y de preferencia de origen natural.

- ✍ Los productos químicos se diseñarán de tal manera que al finalizar su función no persistan en el medio ambiente y ser preferentemente productos de degradación.
- ✍ Las metodologías analíticas serán desarrolladas posteriormente para permitir una monitorización y control en tiempo real del proceso, previo a la formación de sustancias peligrosas.<sup>7</sup>

La preocupación por las cuestiones medioambientales ha hecho que en los últimos años surja todo un enfoque en el campo de la química, particularmente, en química orgánica, donde su objetivo consiste en prevenir o minimizar la contaminación desde su origen, tanto a escala industrial como en los laboratorios de investigación o de carácter docente, dentro del contexto de la Química Verde. Esto supone un paso mucho más allá de lo que sería únicamente el hecho de un correcto tratamiento de los residuos potencialmente contaminantes que puedan generarse, es decir, evitar en la medida de lo posible, la formación de desechos contaminantes y propiciar la economía de tiempo y recursos.<sup>7</sup>

### 3.2. Ésteres de Biginelli

La reacción de Biginelli se realizó por primera vez en 1893 por el químico italiano Pietro Biginelli, y desde entonces se han realizado un gran número de aportaciones, dichas contribuciones fueron recopiladas por C. Oliver Kappe en dos trabajos de revisión. Ésta, consiste en la condensación de un sólo paso de compuestos  $\beta$ -dicarbonilos con aldehídos y ureas o tioureas para la formación de una dihidropirimidina (**DHPM**). La reacción de Biginelli tiene un importante campo de aplicación debido a su potencial sintético, mediante el cual es factible realizar una gran serie de modificaciones para obtener muy diversos compuestos similares. La reacción es realizada comúnmente en

EtOH o THF mediante una catálisis ácida, aunque también se han utilizado combinaciones de ácidos de Lewis con sales de metales de transición.<sup>1,8</sup>

### 3.2.1. Variación de los reactivos y condiciones de reacción

Los reactivos utilizados en la reacción de Biginelli han sido modificados a lo largo de los años, con el fin de obtener variaciones de la dihidropirimidina original para aumentar el espectro de acción farmacológica, o bien, para incrementar el conocimiento del potencial sintético de la misma. Por ejemplo; el aldehído utilizado ha sido variado y ahora no sólo se consideran aldehídos aromáticos, también alifáticos y heterocíclicos. El componente  $\beta$ -cetoéster de la reacción también ha sido sustituido, además de los alquil acetoacetatos se han utilizado compuestos como el benzil acetoacetato. (-)-metil acetoacetato,  $\beta$ -cloroetil acetoacetato, 2-furanilmetil acetoacetato y etilo-acetoacetato. Algunas acetoacetamidas primarias, secundarias y terciarias, también han sido utilizadas como sustituto del  $\beta$ -cetoéster de la reacción, para producir pirimidin-5-carboxamidas, así mismo diversas ureas y tioureas sustituidas han sido empleadas como componente de la reacción.<sup>1</sup>

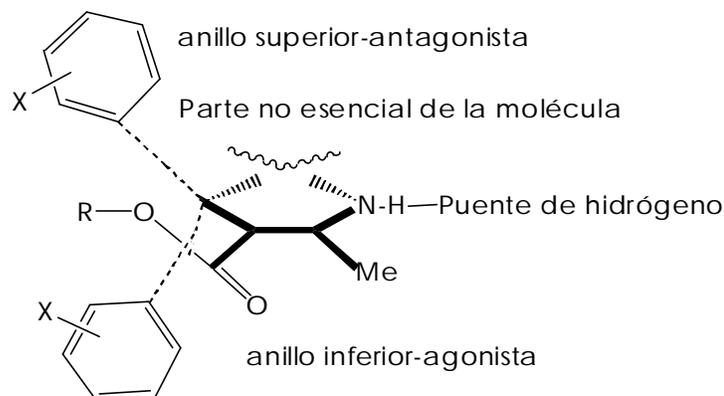
Aunque la condensación de los tres compuestos básicos de la reacción de Biginelli clásica, se presenta cuando la reacción se realiza en condiciones alcohólicas, con unas gotas de HCl ó H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado como catalizador, también se han publicado resultados satisfactorios utilizando, como catalizador, otros sistemas: ácido acético, ácido acético/HCl, dioxano/HCl, ácido tartárico/metanol, piridina<sup>1</sup>, NH<sub>4</sub>Cl, CeCl y InCl<sub>3</sub> (20%)<sup>9</sup>. O bien, usando ácidos de Lewis como promotores ácidos como el cloruro de zirconio (IV), bromuro de indio(III), tetraborato de 1-*n*-butil-3-metilimidazolio (BMFmBF<sub>4</sub>), o hexafluorofosforato (BMImPF<sub>6</sub>), nitrato cérico amoniacal (CAN), cloruro de indio (III),

cloruro de lantano, AcOH, montmorillonita KSF, éster polifosfato (PPE),  $\text{BF}_3\text{-OEt}_2/\text{CuCl}/\text{AcOH}$ .<sup>10</sup>

Así mismo, en el contexto de la Química Verde, se han realizado modificaciones a la reacción de Biginelli en condiciones amigables al medio ambiente, por ejemplo el uso de  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  o  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}-\text{LiCl}$ , como catalizadores.<sup>11,12</sup> Así como el uso de luz infrarroja, ultravioleta y ultrasonido como fuentes de energía.<sup>13</sup> Además de la eliminación del uso de disolventes para la reacción.<sup>10,13</sup>

### 3.2.2. Configuración

En contraste con los derivados de la reacción de Hantzsch, los compuestos de Biginelli son asimétricos, por lo que usualmente se obtienen en mezclas racémicas. En 1995 se determinó por medio de estudios farmacológicos diseñados únicamente para un solo enantiómero de **DHPMs**, que la modulación de la actividad bloqueadora del canal de calcio (actividad antagonista *versus* actividad agonista) es dependiente de la configuración absoluta en C4, por lo que la orientación del grupo arilo en C-4 (configuración *R*- o *S*) actúa como un “switch molecular” entre la actividad antagonista y la agonista.<sup>8</sup> (**Esquema 2**)

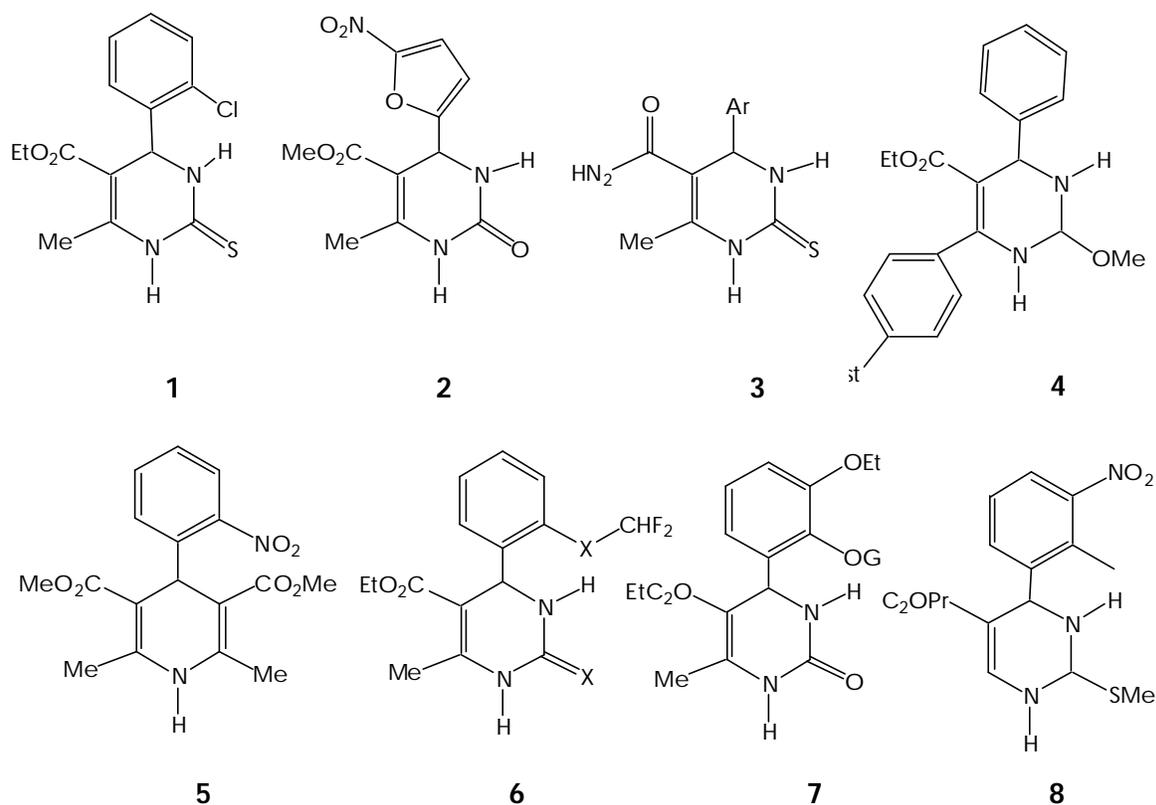


**Esquema 2.** La actividad bloqueadora de los canales de calcio radica en la configuración absoluta del carbono en la posición 4 de la dihidropirimidina.<sup>8</sup>

### 3.2.3. Actividad biológica

Los compuestos de Biginelli muestran una amplia variedad de actividades biológicas. En 1930, algunos derivados simples fueron patentados como agentes protectores de la lana contra las mariposas **1**. Posteriormente el interés se basó en la actividad antiviral, que eventualmente llevó al desarrollo de la *nitracina 2*, el cual es un agente antiviral excelente contra los virus del grupo *trachoma*. También se ha reportado que algunas DHPMs presentan efecto antitumoral, por ejemplo se ha encontrado actividad contra el carcinosarcoma de Walter en ratas y ratones. Las piridin-5-carboxiamidas del tipo **3**, son anticarcinogénicos, antiinflamatorios, analgésicos e inhibidores de la agregación plaquetaria. La 1,4-dihidropiridina **4**, es útil como antagonista del factor activador plaquetario (**Esquema 3**). Otros compuestos de Biginelli inhiben la utilización de adenosina por parte de los trombocitos.<sup>1</sup> Debido a la selectividad por los receptores  $\alpha_{1A}$  antagonistas, algunos compuestos derivados de las dihidropirimidonas, se han utilizado en el tratamiento de la hiperplasia benigna prostática<sup>2</sup>, así como antagonistas del neuropéptido Y(NPY). Recientemente se ha descubierto que los alcaloides de *batzelladina* que contienen un esqueleto de 5-carboxialquildihidropirimidona son inhibidores potentes de HIV-gp-120-CD4.<sup>3</sup> Las DHPMs son aza-análogos de las DHPs del

tipo de la nifedipina **5**, por lo que algunos derivados de Biginelli presentan actividad antihipertensiva. El mecanismo de acción de las DHPM's se ha propuesto que es el bloqueo de los canales de calcio (BCCs), lo cual fue descrito por Fleckenstein en 1963, determinándose que estos compuestos ejercen su acción a través de suprimir la entrada de calcio a la célula. Algunos estudios posteriores reafirmaron esta propuesta y precisaron que los BCCs actuaban directamente sobre los canales de calcio operados por voltaje.<sup>14</sup> Algunas modificaciones simples del anillo aromático **6** y **7** han sido reportadas dándole a las moléculas moderada actividad cardiovascular; y ciertas S-alquil-1,4-dihidropirimidinas como el compuesto **8** son bloqueadores del canal de calcio, pero no muestra ninguna actividad significativa como antihipertensivo.<sup>1</sup>(Esquema 3)



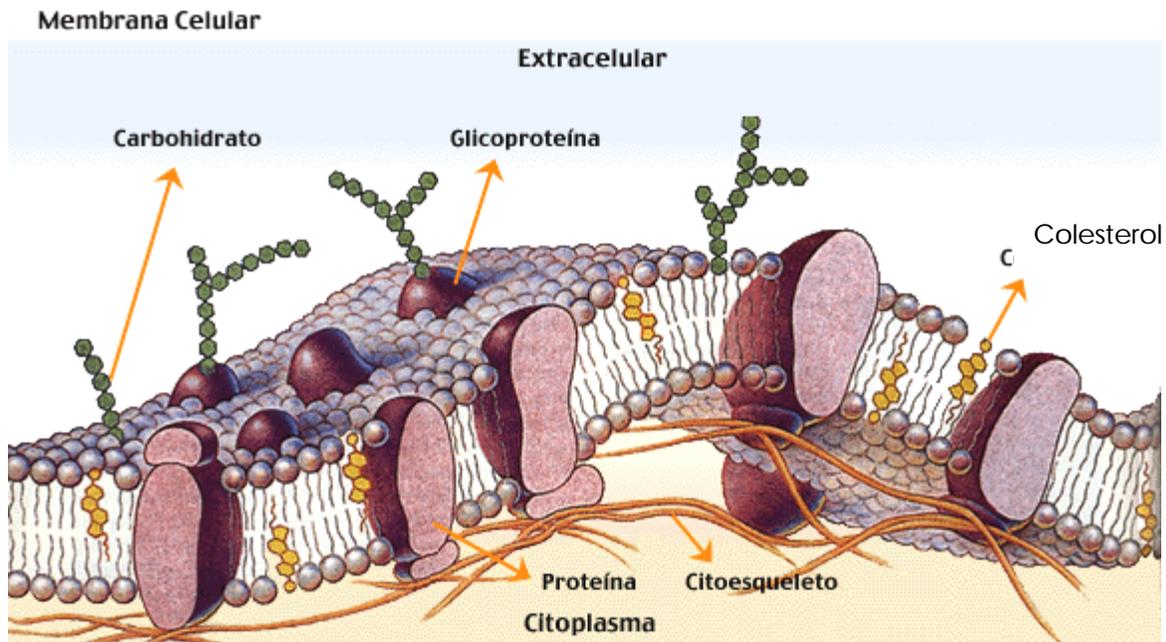
**Esquema 3.** Dihidropirimidinas con actividad biológica: agente antivirales (**2**), anticancerígenos, antiinflamatorios, analgésicos y antiagregantes plaquetarios (**3 y 4**).<sup>1</sup> X=S,O; G=2,3,4,6-tetra-o-cetil-β-D-glucopiranosil.

Así mismo, es necesario comentar que en la literatura se ha publicado que los derivados de Biginelli con mayor actividad son aquellos que presentan un grupo éster en la posición N-3, lo anterior debido a su estrecha relación estructural con la nifedipina.<sup>1</sup>

El metabolismo por el cual cursan las DHPs en el organismo, se propone sea un proceso oxidativo el cual genera un sistema aromático conocido como piridina, con la consecuencia perdida de la actividad antihipertensiva originalmente mostrada.<sup>8</sup> en el caso de las **DHPMs**, moléculas estudiadas en este trabajo de tesis, la pérdida del protón unido al nitrógeno de la posición 1 en el anillo de **DHPM** es un proceso poco favorecido, por lo que, esta característica puede a su vez, prolongar la actividad antihipertensiva y mostrarlas como mejor opción frente a las DHPs.<sup>8</sup>

### 3.3. Parámetros fisicoquímicos

Las membranas celulares están constituidas por carbohidratos, lípidos y proteínas. Los lípidos que se encuentran principalmente son: colesterol y fosfolípidos. Estos últimos, actúan en los sistemas biológicos como un sistema anfipático, es decir, que poseen tanto grupos polares como no polares. La naturaleza hidrofóbica de las moléculas lipídicas permite a las membranas actuar como barreras para las moléculas polares. La parte polar de los fosfolípidos se encuentra en la superficie de las membranas, donde interactúan con el agua del medio extracelular. Las proteínas se encuentran en las membranas celulares unidas con las moléculas lipídicas de diferentes maneras; algunas están asociadas en la superficie de la membrana por interacciones electrostáticas, otras están incrustadas en el núcleo hidrofóbico y por último, algunas están *ancladas* por medio de enlaces covalentes con los lípidos que las unen fuertemente con el núcleo hidrofóbico.<sup>15</sup> (**Esquema 4**)



**Esquema 4.** El modelo del mosaico fluido fue propuesto por S.J. Singer y G. L. Nicolson. En este modelo, se asume que los lípidos y las proteínas son móviles; se pueden mover literalmente rápido en el plano de la membrana. El movimiento transversal también puede ocurrir pero a una velocidad mucho menor.<sup>15</sup>

La membrana citoplasmática actúa como una barrera semipermeable entre la célula y su medio ambiente extracelular, esta permeabilidad debe ser altamente selectiva para asegurar que las moléculas esenciales como la glucosa, los aminoácidos y los lípidos puedan entrar a la célula, así como, junto con otros intermediarios metabólicos, permanecer en ella, y a su vez que los componentes de desecho salgan. Además de estas propiedades, las membranas también tienen otras funciones las cuales se pueden enlistar de la manera siguiente:

1. Eliminación de ciertos iones y moléculas tóxicos para la célula,
2. Acumulación de nutrientes celulares,
3. Transducción de energía (procariontes),
4. Movimiento celular,

5. Reproducción,
6. Procesos de transducción de señales e
7. Interacciones con otras células cercanas.<sup>15</sup>

Al respecto, existen dos mecanismos generales por los cuales las moléculas entran y salen de las células; en el primero, los iones y moléculas pequeñas, incluyendo azúcares y aminoácidos, son transportados a través de la bicapa lipídica, algunas de las proteínas integrales de la membrana facilitan el transporte de un limitado número de moléculas y son denominadas *permeasas*. Debido a que distintos tipos de células requieren diferentes mezclas de compuestos de bajo peso molecular, la membrana citoplasmática de cada célula contiene su propio juego de proteínas permeasas. Algo similar pasa con las membranas que rodean los organelos subcelulares, éstos también cuentan con su propio juego específico de permeasa, lo cual permite que un tipo determinado de moléculas crucen. En el segundo, las proteínas y las moléculas grandes entran a la célula por *endocitosis* y *fagocitosis*. Donde, pequeñas regiones de la membrana citoplasmática rodean a la macromolécula o partícula requerida por la célula, posteriormente, la membrana y su contenido son internalizados por la célula, formando una vesícula intracelular. Un gran número de nutrientes, virus y partículas entran a la célula por este mecanismo.<sup>16</sup>

El transporte a través de la membrana puede ser también *pasivo* o *activo*. El transporte pasivo es un tipo de difusión en la cual un ión o una molécula cruza la membrana por gradiente electroquímico o de concentración. En este tipo de transporte no se realiza gasto de la energía metabólica. En la *difusión simple* se realiza transporte pasivo sin ayuda: una molécula atraviesa la membrana sin la ayuda de permeasas. Por este mecanismo pasan compuestos como el oxígeno, dióxido de carbono, etanol, etc. La *difusión facilitada*

es un tipo de transporte pasivo, donde iones o moléculas cruzan la membrana citoplasmática rápidamente debido a la existencia de permeasas específicas en la membrana que facilitan su cruce. En el *transporte activo* se utiliza energía metabólica para mover iones o moléculas en contra de un gradiente electroquímico. Por ejemplo, la baja concentración de sodio en la célula mantenida por la ATPasa de sodio y potasio ( $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPasa}$ ). Este tipo de gradientes de iones son utilizados por la célula para mantener muchos procesos biológicos. En la difusión simple, una molécula en solución acuosa se disuelve en la bicapa lipídica, la cruza, y posteriormente se disuelve en la solución acuosa del lado opuesto. En este proceso existe cierta especificidad, el flujo relativo de difusión de la molécula a través de la bicapa lipídica, es proporcional al gradiente de concentración a través de la membrana. El paso limitante del flujo en la difusión simple a través de la membrana es el movimiento de la molécula de la solución acuosa al interior hidrofílico de la bicapa. El flujo de difusión de la molécula será proporcional a su *hidrofobicidad*. Una medida de hidrofobicidad es el *coeficiente de partición*, el equilibrio constante de partición de una molécula entre aceite y agua. El coeficiente de partición es una medida de la afinidad relativa de la molécula por los lípidos contra el agua.<sup>16</sup>

Estos coeficientes tienen más de un siglo de historia, como una medida de cómo las moléculas se dispersan en sistemas vivos así como su capacidad de atravesar membranas biológicas. El transporte a través de las membranas es de particular importancia para estudios farmacológicos, ya que proporciona información acerca de la absorción, distribución y eliminación en organismos vivos. La mayoría de las mediciones en los inicios, principalmente se realizaban por una razón secundaria, como la correlación del carácter lipofílico con las propiedades biológicas en un conjunto de compuestos. Al respecto, el primer estudio sistemático entre dos líquidos inmiscibles que llevó a la teoría

con capacidades predictivas fue realizado por Berthelot y Jungfleish (1872); estos investigadores midieron las concentraciones al equilibrio de  $I_2$  y  $Br_2$  cuando se distribuían entre  $CS_2$  y agua.<sup>6</sup> Posteriormente en 1891, Nerst propuso que el coeficiente de partición se mantenía constante solo si se consideraba una sola especie molecular entre las dos fases.<sup>17</sup>

### 3.3.1. KD y Log P.

El coeficiente de partición (**KD**) se define como la relación de concentraciones en el equilibrio de una sustancia repartido en un sistema de fases que consiste en disolventes inmiscibles. Algunos de los disolventes más utilizados son: *n*-octanol, eter etílico, cloroformo, aceite de olivo, aceite de semilla de algodón, benceno, xileno, tolueno, *n*-hexanol, heptano e isooctano.<sup>6</sup>

$$KD = \frac{C_{n\text{-octanol}}}{C_{\text{agua}}}$$

Usualmente el coeficiente de partición se expresa como su logaritmo de base diez y en consecuencia se denota como **Log P**.<sup>18</sup>

La ley más aplicativa sobre el fenómeno de distribución es la de Henry, diseñada originalmente para un equilibrio de gases en disolución.

$$m/p = K$$

Donde  $m$  es la masa de gas disuelta por unidad de volumen y  $p$  es la presión a temperatura constante. A partir de que la concentración de moléculas en la fase gaseosa es proporcional a la presión,  $p$  puede ser reemplazada por  $C_1$  y la unidad de masa/volumen del gas en disolución se puede designar con  $C_2$  en la ecuación siguiente:

$$C_2/C_1=K$$

En los términos mas generales, la concentración de cualquier especie molecular-única en dos fases que están en equilibrio tendrán una relación constante una con la otra, mientras que la actividad de los coeficientes se mantenga constante, es decir, no existen interacciones soluto-soluto significativas mientras no existan interacciones específicas soluto-disolvente.<sup>6</sup>

#### *Comportamiento no ideal de los solutos.*

En varias circunstancias pueden existir diferentes formas en las dos fases, en estos casos no se cumple la ley de Henry, ya que existe una gran variación de  $m/p$  (o  $C_2/C_1$ ) con la concentración. Calingaert y Huggins consideraron el equilibrio de ionización y encontraron que  $C_2/C_1(1-a) \sim K$ ; el grado de ionización esta representado por  $a$ , y se ha encontrado que  $K$  permanece constante en un 3% dentro de un intervalo de 300 concentraciones.<sup>19</sup>

En los casos donde las moléculas a evaluar presentan ionización, el coeficiente de partición, se conoce como *coeficiente de distribución* y se define como; una relación de concentración al equilibrio de un compuesto en la fase orgánica en relación a la concentración total tanto de las especies ionizadas como las no ionizadas en la fase acuosa a determinado valor de pH.<sup>20</sup>

El empleo de disolventes como el *n*-octanol, es principalmente por que mediante diversos estudios, se ha demostrado que, los coeficientes de partición obtenidos a partir del sistema octanol/agua, para varios solutos, son cerca de cinco veces los valores correspondientes al sistema membrana/agua para el eritrocito humano. Complementariamente se ha encontrado que estos resultados en preparaciones de liposoma, son muy cercanos. Las bases para diferenciar los poderes discriminatorios de varios disolventes orgánicos reside en su polaridad. Un disolvente muy poco polar como el hexadecano es un efectivo discriminador entre solutos; a su vez el aceite de olivo y el éter etílico pertenecen a un grupo intermedio con capacidades similares. La discriminación entre varios solutos casi siempre está relacionada con la diferencia en el número de grupos hidrofílicos presentes en los solutos (grupos: hidroxilos, amino y amido entre otros); éstos forman enlaces tipo puente de hidrógeno con las moléculas de agua. Para transferir uno de estos grupos a la fase orgánica se necesita energía para romper dichos enlaces, por lo tanto los coeficientes de partición serán bajos si la energía requerida es considerable. Si el disolvente es ligeramente polar, la energía para transferir un grupo hidrofílico será menor ya que el soluto podrá formar enlaces alternativos con el disolvente.<sup>21</sup>

### 3.3.2. Energía libre de Gibbs ?G.

La energía libre de Gibbs es una función termodinámica de estado, cuya disminución en un sistema mide el trabajo útil desarrollado por él; esta se expresa de la manera siguiente:

$$G = H - TS$$

Donde **G** es la energía libre, H la entalpía, T la temperatura y S la entropía del sistema. Si se produce una reacción a presión y temperatura constantes, estas funciones

termodinámicas de estado presentarán variaciones relacionadas con la siguiente expresión:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Para que una reacción se produzca es necesario que disminuya la energía libre, es decir que  $\Delta G$  sea negativo.  $\Delta S$  nunca será negativo ya que la entropía aumenta en todas las reacciones irreversibles, permaneciendo invariable en las reversibles.<sup>22</sup>

La  $\Delta G$  juega un rol muy importante en la posición del equilibrio (coeficiente de partición) en los compuestos no polares en sistemas no polares agua-solventes. La difusión a través de la membrana citoplasmática bajo un gradiente de concentración presenta un valor ampliamente negativo de energía libre.<sup>16</sup>

La ecuación presentada anteriormente puede ser escrita en términos del coeficiente de partición y relaciona a éste con las propiedades termodinámicas:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S = -RT \ln K_D$$

Donde  $\Delta G$  es el cambio de energía libre transfiriendo un mol de soluto de agua a la membrana,  $\Delta H$  y  $\Delta S$  respectivamente son los cambios correspondientes en la entalpía molar parcial y la entropía, R es la constante de los gases, y T es la temperatura absoluta (25°C).

Los valores de incremento de las energías libres  $d\Delta G(X)$  asociados con varios sustituyentes (X); por ejemplo, CH<sub>3</sub>, OH, C=O para transferirse del agua a la membrana (o un disolvente orgánico) son generalmente calculados como una diferencia entre energías libres para la transferencia de solutos R-X y R-H.

$$d\Delta G(X) = \Delta G(R-X) - \Delta G(R-H)$$

El incremento de energías libres para los diferentes sustituyentes y las estructuras aromáticas son valores constantes y su significado es el desplazamiento del compuesto del agua al disolvente no polar.<sup>19</sup> Para solutos de estructura similar la energía de activación necesaria para la transferencia de fase es por lo regular similar, por lo tanto las constantes de transferencia son proporcionales a las constantes de equilibrio  $P$ .<sup>6</sup>

### 3.3.3. Constante Hidrofóbica ( $\sigma$ ).

La constante hidrofóbica  $\sigma$  se define de la siguiente manera:

$$\sigma = \text{Log } P_{ow}(\text{PhX}) - \text{Log } P_{ow}(\text{PhH})$$

Donde  $P_{ow}(\text{PhX})$  es el coeficiente de partición de un derivado aromático y  $P_{ow}(\text{PhH})$  es el coeficiente de partición del compuesto padre. En relación con esta definición se puede decir que el método es aplicable predominantemente a la sustitución aromática.<sup>8</sup>

se ha encontrado que los valores de  $\sigma$  son relativamente constantes de un sistema a otro mientras no existan interacciones especiales estéricas o electrónicas en los sustituyentes.<sup>6</sup>

### 3.3.4. Aplicación de las mediciones de partición.

Las aplicaciones de las determinaciones de partición son amplias y refieren un diverso campo de aplicación. Algunas de las más importantes se mencionan a continuación.

#### 3.3.4.1. *Distribución contracorriente*

La relación entre el coeficiente de partición de un soluto en particular y el número de transferencias necesarias para caracterizar propiamente la curva de distribución o para separarlo de impurezas íntimamente aliadas. Este conocimiento también puede ser utilizado como una útil herramienta predictiva de la estabilidad de conformaciones metaestables que pueden causar cambios en el radio de partición durante el fraccionamiento. <sup>6</sup>

#### **3.3.4.2. Cálculos de equilibrio.**

El uso de mediciones de partición para determinar constantes de equilibrio para reacciones es otra aplicación útil. <sup>6</sup>

#### **3.3.4.3. Relación del balance lipofílico-hidrofílico y sistemas de emulsión.**

El balance lipofílico-hidrofílico se ha establecido únicamente sobre bases empíricas, ha sido una herramienta importante en la tecnología de emulsiones, ya que este tipo de sistemas se pueden relacionar directamente con el coeficiente de partición que se basa en principios termodinámicos. Como consecuencia de diferentes estudios de cinética de la coalescencia en sistemas de emulsión, se ha propuesto una ecuación que relaciona estas dos variables de una manera simple:

$$(HLB-7) = 0.36 \ln 1/P$$

A partir de esta relación es posible dar un significado extratermodinámico a cada elemento estructural en una molécula determinada y así predecir si presenta actividad como agente humectante o detergente. <sup>6</sup>

#### **3.3.4.4. Medición de la partición y disolución para fármacos.**

Es ampliamente aceptado que el tiempo de disolución de cualquier fármaco en forma sólida presenta una marcada influencia sobre la cantidad efectiva absorbida. Desde que se descubrió que la absorción de los fármacos está también regida por los coeficientes de partición efectivos, es preferible realizar estas mediciones simultáneamente. La partición entre fases acuosa y orgánica ha sido utilizada como un modelo predictivo de como los solutos atraviesan las membranas en tejido vivo. Aunque, la importancia básica de los estudios de partición no pueden ser seriamente cuestionados en este campo, los resultados siguen siendo tema con cierta ambigüedad.<sup>6</sup>

#### ***3.3.4.5. Determinación de la capacidad de unión hidrofóbica relacionada con parámetros estructurales.***

La utilidad de los parámetros obtenidos en los sistemas octanol/agua sirven para predecir los solutos que se pueden unir a la albúmina del suero y a enzimas purificadas. Investigaciones anteriores revelan que una unión no específica de los solutos es capaz no sólo de afectar la acción de la enzima por efectos alostéricos, también puede producir importantes modificaciones biológicas a la función de la membrana por un mecanismo similar.<sup>6</sup>

## OBJETIVOS E HIPÓTESIS

---

---

#### 4. HIPÓTESIS

Si se modifica la naturaleza química y electrónica de la molécula del benzaldehído utilizado en la síntesis de las 4-aril-5-carboalcoxi-6-metil-3,4-dihidro-1*H*-pirimidin-2-onas, entonces, se modificará el carácter lipofílico de las mismas, así como los correspondientes parámetros fisicoquímicos relacionados **KD**, **Log P**, **ΔG** y **ΔG**.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. Objetivo general

Obtener mediante condiciones de reacción no convencionales empleando reacción de Biginelli, una serie de 4-aril-5-carboalcoxi-6-metil-3,4-dihidro-1*H*-pirimidin-2-onas y determinar los parámetros fisicoquímicos asociados a las mismas (**KD**, **Log P**, **ΔG** y **ΔH**), los cuales no están publicados en la literatura.

### 5.2. Objetivos particulares

- ? Llevar a cabo la preparación de una serie de diez 4-Aril-5-carboalcoxi-6-metil-3,4-dihidro-1*H*-pirimidin-2-onas, por medio de una modificación a la reacción o condensación de Biginelli, utilizando diferentes aldehídos aromáticos, así como condiciones de reacción acordes a la filosofía de la química verde.
- ? Caracterizar las moléculas obtenidas mediante Resonancia Magnética Nuclear de <sup>1</sup>H.
- ? Determinar el valor experimental del **KD** por medio de espectrofotometría de absorción en el ultravioleta y a partir de este, calcular el **Log P**, **ΔG** y **ΔH** asociados a cada **DHPM**.

## PARTE EXPERIMENTAL

---

---

## 6. PARTE EXPERIMENTAL

### 6.1. Materiales

Los aldehídos utilizados son comercialmente proporcionados por Aldrich Chemical Co. Para las mediciones fisicoquímicas mediante los sistemas octanol:agua se empleó *n*-octanol marca *Sigma* grado espectrofotométrico, y agua destilada.

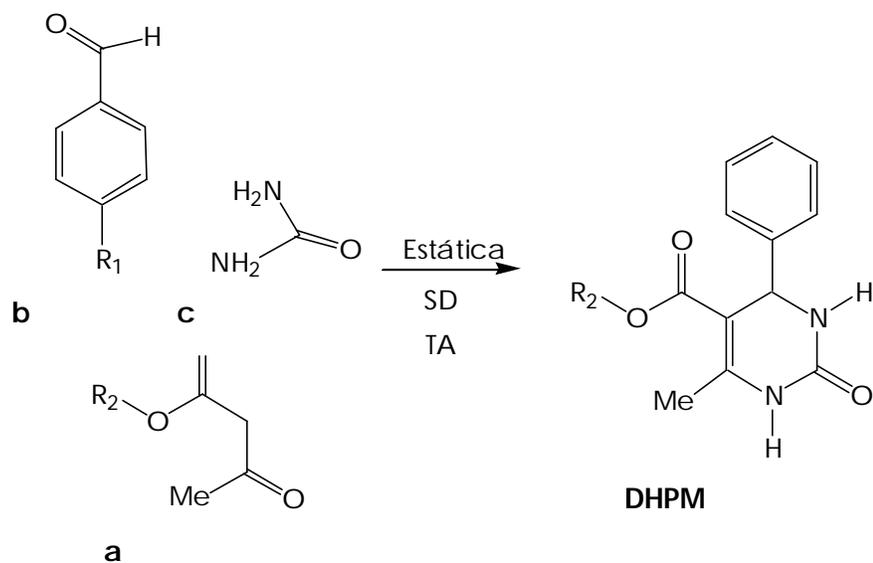
Los puntos de fusión de las moléculas objetivo se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no fueron corregidos. Los productos fueron caracterizados por resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup>H (300 MHz), esta información fue obtenida en un aparato Varian Gemini 300 utilizando como disolvente DMSO-d<sub>6</sub> y TMS como referencia interna.

Para la agitación de los sistemas octanol/Buffer se empleó un agitador marca LAB-LINE modelo 3-D ROTATOR. La lectura de las absorbancias se realizó en un espectrofotómetro de absorción UV-visible marca Perkin Elmer Instruments, modelo Lambda 25

### 6.2. Metodología

#### 6.2.1. Método general para obtener las 4-Aril-5-carboalcoxi-6-metil-3,4-dihidro-1H-pirimidin-2-onas.

Compuesto **DHPM 1**: En un matraz de bola de 50 mL se colocó 1g (9.423mmol) de benzaldehído, 566 mg de urea (9.423mmol) y 1094 mg de acetoacetato de metilo (9.423 mmol). La mezcla se dejó en condiciones estáticas por 15 días sin disolvente y a temperatura ambiente sin protección a la luz. Posteriormente, se realizaron lavados del sólido formado, con hexano, etanol frío y etanol a temperatura ambiente, respectivamente, (**Esquema 5**). Las demás moléculas se sintetizaron empleando el correspondiente aldehído (**Tabla 2**).



**Esquema 5.** Reacción general y condiciones de reacción, utilizadas para la síntesis de las **DHPM 1-10**.

**Tabla 2.** Reactivos utilizados para cada una de las reacciones.

Compuesto	Aldehído		Urea		β-dicarbonilo	
	mg	mmol	mmol	mg	mmol	mg
<b>DHPM 1</b>	1000	9.423	9.423	566	9.423	1094
<b>DHPM 2</b>	1000	8.323	8.323	500	8.323	967
<b>DHPM 3</b>	1000	7.345	7.345	441	7.345	853
<b>DHPM 4</b>	1000	7.113	7.113	427	7.113	826
<b>DHPM 5</b>	1000	8.057	8.057	484	8.057	935.6
<b>DHPM 6</b>	1000	9.423	9.423	566	9.423	1226
<b>DHPM 7</b>	1000	8.329	8.329	500.2	8.329	1084
<b>DHPM 8</b>	1000	7.345	7.345	441.1	7.345	956
<b>DHPM 9</b>	1000	7.114	7.114	427.3	7.114	925.8
<b>DHPM 10</b>	1000	8.057	8.057	483.9	8.057	1048.5

## 6.2.2. Procedimientos para determinar *los parámetros Log P<sub>o/w</sub> y $\alpha$ G*.

Para obtener el coeficiente de partición se siguió la metodología publicada por la European Community's legislation. Method 92/69/EEC(O.J. L383 A). En el Oficial Journal of the European Communities.<sup>18</sup>

### 6.2.2.1. Saturación de los disolventes utilizados.

Antes de realizar la determinación, se preparó una disolución Buffer de fosfatos con un pH=7.4 con una concentración 0.1M. Posteriormente 500 mL de esta disolución se pusieron en contacto con 500 mL de *n*-octanol grado espectrofotométrico HPLC, y se dejó en agitación suave por 24 horas en un agitador magnético CERAMAG MG WORKS USA. Las fases se separaron y emplearon para la extracción.

### 6.2.2.2. Longitudes de onda máximas.

Se preparó una disolución del compuesto **DHPM 1** en *n*-octanol, con una concentración de 0.57mg/mL ( $2.33 \times 10^{-3}M$ ), por otro lado, se tomaron 200  $\mu$ L de esta solución y se aforaron a 5mL con EtOH, para alcanzar la concentración de 0.0202mg/mL ( $8.24 \times 10^{-5}M$ ). Con esta disolución se realizó un barrido desde 190 hasta 1100 nm, para determinar los máximos de absorbancia asociados a una longitud de onda, los cuales deben estar entre 0.2-0.8. El equipo empleado para este análisis fue un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo Lamda 25; una metodología semejante se siguió para cada una de las diez moléculas estudiadas.

### 6.2.2.3. Tiempo de agitación óptimo.

Para la determinación de la concentración presente en la fase orgánica del compuesto **DHPM 1**, se prepararon tres tubos de ensaye donde se colocó 1mL de la disolución del compuesto en

*n*-octanol 0.057mg/mL ( $2.33 \times 10^{-3} \text{M}$ ) y 1 mL de Buffer de fosfatos con un pH=7.4. Esta serie de tubos se agito por inversión mecánica en un agitador giratorio marca LAB-LINE modelo 3-D ROTATOR durante 5 minutos. Una metodología semejante se realizo para los tiempos de 10, 15, 20 y 25 minutos.

#### 6.2.2.4. Cálculo de los coeficientes de partición KD.

Para determinar el coeficiente de partición del compuesto **DHPM 1**, se prepararon tres sistemas diferentes de extracción empleando las siguientes proporciones: 1:1, 2:1 y 1:2 de la disolución del compuesto en *n*-octanol (0.57mg/mL) y Buffer de fosfatos con un pH=7.4 respectivamente. Adicionalmente, se preparó un tubo control. Se agitaron los tubos en agitador giratorio marca LAB-LINE modelo 3-D ROTATOR. A los tiempos anteriormente mencionados, y se dejaron reposar 24 horas. Para determinar la concentración en la fase orgánica, se tomaron 200 $\mu$ L del octanol empleado en la extracción, y se le determinó la absorbancia empleando un espectrofotómetro de absorción UV-visible marca Perkin Elmer Instruments, modelo Lambda 25.

Con los valores de absorbancia obtenidos se determinaron las concentraciones presentes en ambas fases, y se calculó el valor del **KD** para las tres series preparadas, a partir de la siguiente ecuación:

$$KD = \frac{C_{n\text{-octanol}}}{C_{\text{agua}}}$$

En donde  $C_{n\text{-octanol}}$  es concentración del compuesto en la fase orgánica (*n*-octanol) y  $C_{\text{agua}}$  es la concentración en la fase acuosa (buffer de fosfatos 0.1 M pH = 7.4)

#### 6.2.2.4. Determinación de los parámetros $\log P$ , $\Delta$ y $\Delta G$ .

##### $\Delta$ $\log P$

A partir del valor experimental de  $KD$ , se determinó el  $\log P$  de cada una de las moléculas objetivo empleando la siguiente ecuación:

$$\log P = \log KD$$

Este cálculo se realizó para cada uno de los valores de  $KD$  de las tres diferentes proporciones. La desviación estándar de los datos no debe superar el 0.35.<sup>18</sup>

##### $\Delta$ Constante Hidrofóbica ( $\Delta$ )

El valor experimental de la constante hidrofóbica depende del valor de  $\log P$  del compuesto padre, (compuestos  $d1$  y  $d6$ ) a partir de la siguiente ecuación:

$$\Delta X = \log P (PX) - \log P (PH)$$

Donde  $P (PX)$  es el coeficiente de partición de un derivado aromático y  $P (PH)$  indica que proviene del compuesto padre.

##### $\Delta$ Energía Libre de Gibbs ( $\Delta G$ ).

La energía libre de Gibbs se obtiene a partir de la siguiente ecuación:

$$- \Delta G = RT \ln KD$$

Donde  $R$  es la constante de los gases,  $1.99 \text{ cal / (K mol)}$  o bien  $8.31 \text{ J / (}^\circ\text{Kmol)}$  y  $T$  es la temperatura en grados Kelvin.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

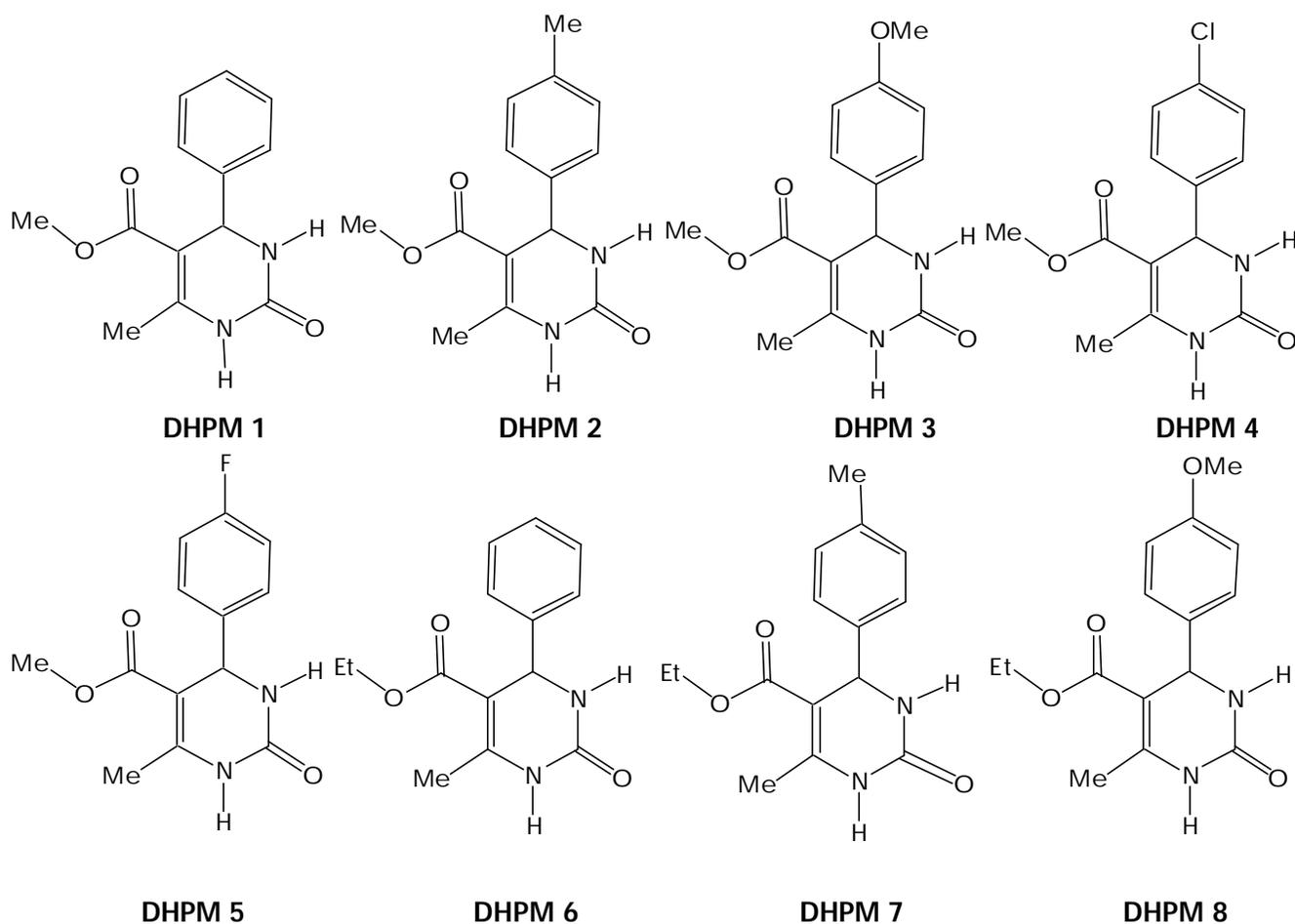
---

---

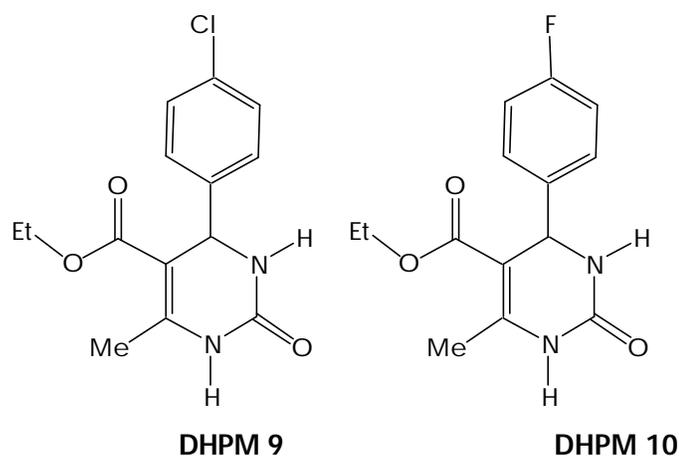
## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1. Síntesis e identificación de productos.

La serie de moléculas sintetizadas en este trabajo de tesis, se presentan a continuación en el **Esquema 7**, en donde se aprecia gráficamente la modificación llevada a cabo en cada caso, tanto en el sustituyente del sistema aromático de la posición 4, como en el éster correspondiente.



**Esquema 7.** Serie de ésteres de Biginelli, sintetizados en el contexto de la química verde.



**Esquema 7 (cont).** Serie de ésteres de Biginelli, sintetizados en el contexto de la química verde.

Las moléculas anteriormente descritas, fueron obtenidas mediante una variación a la reacción de Biginelli la cual se muestra en la metodología<sup>20</sup>. Al respecto, la reacción se llevó acabo en condiciones estáticas, las cuales son poco convencionales para el trabajo de síntesis orgánica, a temperatura ambiente, sin protección de la luz solar, por espacio de 15 días y en ausencia de disolvente. Condiciones diferentes a las publicadas en la literatura correspondiente para la síntesis de esta clase de moléculas.

Es de importancia resaltar el hecho de que, en ésta nueva metodología no se hace uso de la catálisis ácida necesaria en el método clásico, por lo cual se contribuye al no empleo de productos agresivos al medio ambiente. En el método de síntesis publicado en la literatura, para este tipo de dihidropirimidinonas, la reacción se lleva acabo en condiciones de reflujo de la mezcla hidroalcohólica y en agitación continua durante un intervalo de 2 a 3 horas; al respecto al emplearse esta nueva metodología, se mejoraron los rendimientos obteniéndose en general por arriba del 90% en relación a los informados, **Tabla 3**.

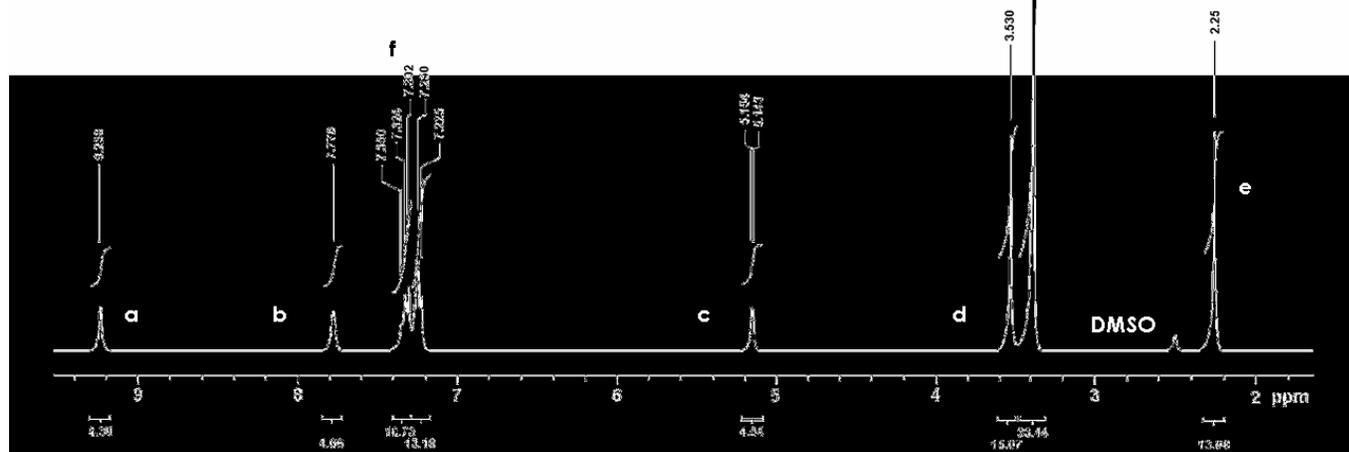
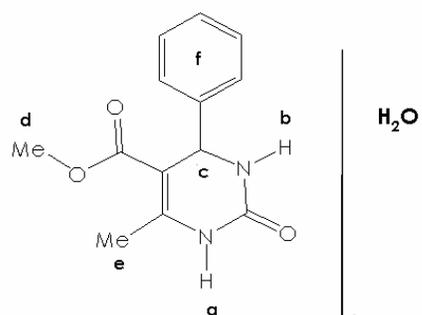
Las moléculas generados, fueron identificadas por la correlación entre los datos de punto de fusión y RMN <sup>1</sup>H, obtenidos experimentalmente con los previamente publicados, información descrita también en la **Tabla 3**.

**Tabla 3.** Puntos de fusión y rendimientos obtenidos para cada una de las **DHPMs** sintetizadas.

Molécula	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	pf Teórico <sup>21,22,23.</sup> °C	pf experimental °C	Rendimientos <sup>22, 23, 24.</sup> %	
					publicado	obtenido
<b>DHPM 1</b>	H	Me	209-212	208-213	70	96
<b>DHPM 2</b>	Me	Me	213-216	215-218	89	94
<b>DHPM 3</b>	MeO	Me	192-194	198-201	87	98
<b>DHPM 4</b>	Cl	Me	204-207	208-210	75	90
<b>DHPM 5</b>	F	Me	192-194	193-196	70	91
<b>DHPM 6</b>	H	Et	202-204	206-207	75	98
<b>DHPM 7</b>	Me	Et	214-215	213-216	70	95
<b>DHPM 8</b>	MeO	Et	201-203	202-204	75	95
<b>DHPM 9</b>	Cl	Et	213-215	210-212	70	89
<b>DHPM 10</b>	F	Et	185-186	183-185	72	89

A manera de ejemplo, en el espectro de RMN <sup>1</sup>H de la molécula **DHPM 1**, **Esquema 8**, se muestran las asignaciones correspondientes a todos los protones presentes en la misma.

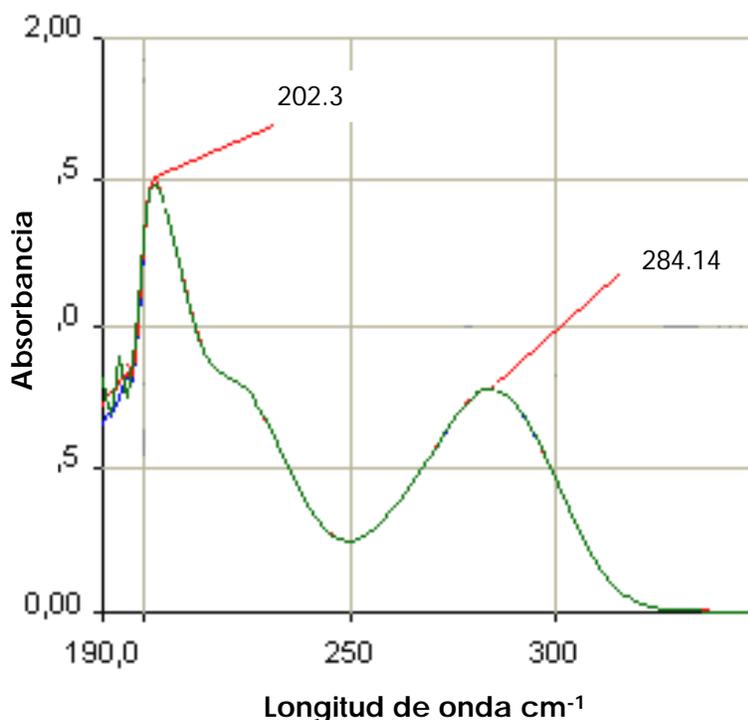
B-AAMe-U



Esquema 8. Espectro de RMN <sup>1</sup>H de la molécula DHPM 1 determinado a 300 MHz en DMSO-d<sub>6</sub>/TMS. Donde se observan las señales características de la dihidropirimidina DHPM 1.

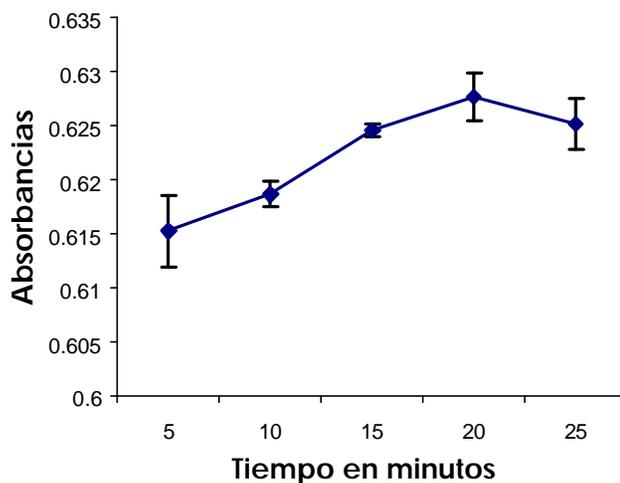
## 7.2. Determinación y análisis de los parámetros fisicoquímicos.

**KD.** A continuación y a manera de ejemplo, se muestra el correspondiente espectro UV-visible del compuesto **DHPM 1** (**Esquema 9**), obtenido desde 190 hasta 1100  $\text{cm}^{-1}$ , en donde se observa la presencia de dos máximos de absorbancia a 202.36 y 284.14  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente, esto, debido a la presencia del sistema aromático contenido en la DHPM. De estos, se seleccionó el último para las determinaciones espectrofotométricas, por encontrarse entre 0.2 y 0.8 unidades de absorbancia. Al respecto, en la **Tabla 4**, se encuentran enlistados los valores de longitudes de onda para los máximos determinados en cada una de las **DHPMs** estudiadas.



**Esquema 9.** Espectro UV-visible de del compuesto **DHPM 1**, donde se observan 2 máximos de absorción, de los cuales se utilizó el de 284.14 para las determinaciones espectrofotométricas.

Por otro lado, para la determinación del tiempo óptimo de agitación se graficaron los datos de absorbancia obtenidos de la cinética de agitación, llevada a cabo para tal efecto (**Esquema 10**), en cada caso, cada punto es el promedio de tres experimentos independientes (? DS). En el caso del compuesto **DHPM 1**, tomado como ejemplo, se observa que al tiempo de 20 minutos se ha extraído la mayor cantidad del compuesto de interés, y posteriormente empieza a disminuir, por lo que, se seleccionó a éste como el más adecuado para ser empleado en la determinación del **KD** de la molécula en estudio.



**Esquema 10.** Cinética de agitación para el compuesto **DHPM 1**, donde se observa que a los 20 minutos de agitación se tiene la mayor concentración del compuesto.

Un tratamiento semejante se realizó para el resto de las moléculas estudiadas. Los resultados obtenidos se encuentran descritos en la **Tabla 4**.

**Tabla 4.** Valores de longitud de onda máxima y tiempos óptimos de agitación determinados experimentalmente

Compuesto	$\lambda_{max}^1$ (nm)	$\lambda_{max}^2$ (nm)	$\lambda_{max}^1$ (nm)	Tiempo de agitación óptimo (min)
<b>DHPM 1</b>	202.36	284.14	-	20
<b>DHPM 2</b>	201.14	284.03	-	5
<b>DHPM 3</b>	201.88	282.76	-	20
<b>DHPM 4</b>	201.86	284.40	-	10
<b>DHPM 5</b>	202.41	283.36	-	5
<b>DHPM 6</b>	202.18	284.50	-	20
<b>DHPM 7</b>	202.47	284.16	-	15
<b>DHPM 8</b>	201.95	282.91	-	10
<b>DHPM 9</b>	202.44	221.81	283.7	20
<b>DHPM 10</b>	203.05	283.34	-	25

Una vez obtenidos, tanto la longitud de onda máxima, así como el tiempo óptimo de agitación, se prepararon disoluciones del compuesto **DHPM 1** a una concentración aproximada de 0.57mg/mL en *n*-octanol, previamente saturado. Posteriormente, los sistemas de extracción 2:1, 1:1 y 1:2 (*n*-octanol:Buffer de fosfatos), así como el blanco correspondiente en cada caso. Se agitaron el tiempo óptimo seleccionado y finalmente se determinó la concentración presente tanto en la fase orgánica como en la acuosa. Los datos generados, así como las concentraciones empleadas, **KD** y **LogP** calculados, para la molécula **DHPM 1** y el resto del grupo, se encuentran descritos en la **Tabla 5**.

**Tabla 5.** Concentraciones y absorbancias a las diferentes proporciones utilizadas

Compuesto	concentración inicial		Absorbancia inicial (nm) ( <i>n-octanol</i> )	<i>n</i> -octanol : Buffer de fosfatos					
	mg/mL	M		1:1		1:2		2:1	
				KD	LogP	KD	LogP	KD	LogP
<b>DHPM 1</b>	0.020	8.24x10 <sup>-5</sup>	0.658	25.818	1.407	60.265	1.777	13.471	1.127
<b>DHPM 2</b>	0.020	7.95x10 <sup>-5</sup>	0.707	20.788	1.316	30.149	1.478	8.124	0.908
<b>DHPM 3</b>	0.020	7.49x10 <sup>-5</sup>	0.830	23.669	1.370	44.217	1.645	12.143	1.082
<b>DHPM 4</b>	0.020	7.22x10 <sup>-5</sup>	0.624	18.784	1.270	18.548	1.266	10.311	1.012
<b>DHPM 5</b>	0.020	7.70x10 <sup>-5</sup>	0.713	9.273	0.967	18.685	1.279	5.593	0.747
<b>DHPM 6</b>	0.020	7.77x10 <sup>-5</sup>	0.628	40.673	1.540	79.703	1.876	26.646	1.398
<b>DHPM 7</b>	0.022	8.17x10 <sup>-5</sup>	0.713	83.602	1.844	41.602	1.613	67.974	1.738
<b>DHPM 8</b>	0.019	6.86x10 <sup>-5</sup>	0.746	15.857	1.199	31.511	1.497	9.982	0.997
<b>DHPM 9</b>	0.021	7.13x10 <sup>-5</sup>	0.678	41.355	1.585	60.894	1.779	36.303	1.555
<b>DHPM 10</b>	0.021	7.55x10 <sup>-5</sup>	0.730	24.727	1.386	16.701	1.219	10.755	1.029

Como se puede observar en la **Tabla 5**, los valores de **KD** y **Log P** en cada sistema de extracción varían entre sí. La normatividad aplicable en éste tipo de determinaciones<sup>18</sup> sugiere que, se debe tener una desviación estándar al promediar el valor de **Log P** de los tres sistemas de extracción, no mayor a 0.3 unidades de **Log P**. Al respecto, en la **Tabla 6**, se muestra el valor de la desviación estándar obtenida en cada caso, las cuales son adecuadas y por consiguiente válidas.

**Tabla 6.** Parámetros Fisicoquímicos experimentales

Compuesto	Log P <sub>exp</sub> ? DS	KD	?	?G(KJ / °Kmol)	?G(Kcal/ °Kmol)
<b>DHPM 1</b>	1.44 ± 0.30	33.18	0.00	-8.68	-2.08
<b>DHPM 2</b>	1.23 ± 0.29	19.68	0.20	-7.38	-1.77
<b>DHPM 3</b>	1.37 ±0.28	26.68	0.07	-8.14	-1.95
<b>DHPM 4</b>	1.18 ± 0.15	15.88	0.25	-6.85	-1.64
<b>DHPM 5</b>	0.99±0.27	11.18	0.44	-5.98	-1.43
<b>DHPM 6</b>	1.60± 0.25	49.00	0.00	-9.64	-2.3
<b>DHPM 7</b>	1.73± 0.12	64.39	-0.13	-10.32	-2.47
<b>DHPM 8</b>	1.23 ± 0.21	19.11	0.37	-7.31	-1.75
<b>DHPM 9</b>	1.63 ± 0.27	46.18	-0.04	-9.50	-2.27
<b>DHPM 10</b>	1.21 ± 0.15	17.39	0.39	-7.08	-1.69

Así mismo, se procedió a la determinación experimental a partir del **KD** y **Log P** obtenido, de los parámetros **?** y **?G** para cada una de las moléculas empleadas. Es sabido que un valor negativo de **?G** está relacionado con un proceso espontáneo o exergónico. En éste caso, se puede decir que la distribución de las moléculas estudiadas se da de manera espontánea hacia la fase orgánica (lipídica) mayormente que en la acuosa. Los valores de **Log P** y **?G** obtenidos experimentalmente pueden predecir que las

**DHPMs 1-10** pueden atravesar la membrana celular por ser, por un lado mayores a 1 en el caso del **Log P** y negativos para el caso del **ΔG**.

Al comparar los compuestos generados por la metodología aquí propuesta, podemos observar que primero: las moléculas **DHPM 1-5** (grupo A), presentan un éster metílico y las **DHPM 6-10** (grupo B) éster etílico, ambos grupos están integrados por el mismo tipo de sustituyentes en el anillo aromático. Al respecto se observa claramente, que el aumento de la lipofilicidad en éstas moléculas particularmente, es debida exclusivamente a la modificación del éster de la posición 5, por lo que se puede proponer que el aumento en la cadena hidrocarbonada en ésta posición, contribuye en la lipofilicidad de las **DHPMs**.

Segundo: en el grupo A (**DHPM 1-5**) además se observa que, al modificar el sustituyente en el anillo aromático por cualquiera de las cuatro funcionalidades empleadas, el **Log P** se ve disminuido al compararlo con la molécula no funcionalizada considerada como padre.

Por otro lado, en el grupo B se encontró que la presencia de grupos electrodonadores por efecto inductivo +I (Me, Cl) aumenta la lipofilicidad de la molécula y grupos -I la disminuyen.

De manera complementaria a los valores experimentales de **Log P**, se determinó el valor teórico para las moléculas **DHPM 1-10**, con ayuda de tres programas computacionales disponibles en la red ([www.logp.com](http://www.logp.com)), Syracuse Research y Daylight CLogP. Dichos resultados teóricos, se encuentran enlistados en la **Tabla 7**.

**Tabla 7.** Datos experimentales y teóricos del **Log P**.

Compuesto	Log P <sub>exp</sub>	Log P <sub>teórico</sub>		
		<u>Syracuse Research</u>	<u>Daylight CLogP</u>	(www.logp.com)
<b>DHPM 1</b>	1.44 ± 0.33	1.32	4.5	1.35
<b>DHPM 2</b>	1.23 ± 0.29	1.87	4.5	1.76
<b>DHPM 3</b>	1.37 ± 0.28	1.40	4.5	1.49
<b>DHPM 4</b>	1.18 ± 0.15	1.96	4.5	2.05
<b>DHPM 5</b>	0.99 ± 0.27	1.52	4.5	1.40
<b>DHPM 6</b>	1.60 ± 0.25	1.81	5.6	1.81
<b>DHPM 7</b>	1.73 ± 0.12	2.36	5.6	2.02
<b>DHPM 8</b>	1.23 ± 0.21	1.89	5.6	1.92
<b>DHPM 9</b>	1.63 ± 0.27	2.45	5.6	2.59
<b>DHPM 10</b>	1.21 ± 0.15	2.01	5.6	1.98

Al respecto del análisis de los datos teóricos obtenidos por medio de los programas computacionales antes mencionados, se observa que también el aumento en la cadena del éster de la posición 5 produce un aumento en la lipofilidad de la molécula. Así mismo se desprende que la presencia del átomo de cloro en la posición *para* del anillo aromático de la posición 4 del anillo de dihidropirimidina, incrementa la lipofilidad por consiguiente el **Log P**.

Con los datos de **Log P** experimentales y teóricos, se trató de determinar si existe alguna correlación entre ambos, a fin de saber cual de los datos teóricos obtenidos se acerca más a la realidad o explica mejor los resultados experimentales obtenidos. Al realizar un análisis

de varianza bifactorial, se encontró que no existe relación entre ellos ( $P < 0.05$ ), por lo que ninguno de los modelos empleados se asemeja a la realidad, para este caso en particular.

## CONCLUSIONES

---

---

## 8. CONCLUSIONES.

- ✍ Se sintetizaron y caracterizaron espectroscópicamente, diez **DHPMs** mediante una metodología acorde con la química verde, encontrándose que se mejoraron los rendimientos de reacción por arriba del 90% con respecto a los publicados en la literatura.
- ✍ Se determinaron los valores experimentales del **KD**, **Log P**,  $\Delta G$  y  $\Delta G$  de las **DHPMs** anteriormente sintetizadas y se observó que son adecuados y que predicen que las **DHPMs** estudiadas pueden atravesar la membrana celular de forma espontánea, ( $\Delta G$  negativo y **Log P** >1)
- ✍ La presencia del éster etílico presente en la posición cinco en las **DHPMs**, favorece el carácter lipofílico de las mismas.
- ✍ Se determinó que la presencia de grupos electrodonadores y electroattractores presentes en el anillo aromático en la posición 4 de las **DHPMs 1-10**, no modificó significativamente el valor de **LogP**.

## REFERENCIAS

---

---

## 9. REFERENCIAS.

1. Kappe, C. O.; *Tetrahedron Report*, **49**, 6937, 1993.
2. Barrow, J. C.; Nantermet, P. G.; Selnick, H. G.; Glass, K. L.; Rittle, K. E.; Gilbert, K. F.; Steele, T. G.; Homnick, C. F.; Freidinger, R. M.; Ransom, R. W.; Kling, P.; Reiss, D.; Broten, T. P.; Schorn, T. W.; Chang, R. S. L.; O'Malley, T. V. O.; Ellis, J. D.; Barrish, A.; Kassahun, K.; Leppert, P.; Nagarathnam, D.; Forray, C.; *J. Med. Chem*, **43**, 2703-2718, 2000.
3. Khodaei, M. M.; Khosropour, A. R.; Beygzadeh, M.; *Synth Commun*, **34**, 1551-1559, 2004.
4. Lodish, H.; Berck, A.; Zipursky, S. L.; Matsudaira, P.; Baltimore, D.; Darnell, J.; *Biología Molecular y Celular*, 4ª edición, Editorial Médica Panamericana, España, 579-580, 2003.
5. Karp, Gerald.; *Biología Celular y molecular*, Mc. Graw Hill Interamericana, México, 142-143, 1998.
6. Leo, A.; Hansch, C.; Elkins, D.; *Chem. Rev.*, **71**, 6, 525 - 552, 1971.
7. Anastas, P.; Warner, T.; *Green Chemistry: Theory and Practice*; Oxford University Press. 1998.
8. Kappe, C. O.; *Molecules*, **3**, 1-9, 1998.
9. Muñoz-Muñiz, O.; Juaristi, E. ; *Org. Chem. Méx.*, *ARKIVOC*, **xi**, 16-26, 2003.
10. Shaabani, A.; Bazgir, A.; Teimouri, F.; *Tetrahedron Letters*, **44**, 857-859, 2003.
11. Shailaja, M.; Manjula, A. B.; Rao, V.; Neelakantan, P.; *Synth Commun*, **34**, 1559-1564, 2004.
12. Learmonth, D. A.; *Synth. Commun.*, **34**, 1565-1574, 2004.
13. Miranda, R.; Delgado, F.; Arroyo, G.; Hosannilla, R.; Gómez, L.; Salmón, M.; *Rev. Soc. Quim. Mex*, **45**, 206-207, 2001.
14. FleckesEtein, A.; *Circ. Res.*, **52**, (suplemento 1), 3-16, 1983.

15. Garrett, R. H.; Grisham, Ch. M.; *Biochemistry*, 3<sup>er</sup> edición, Thomson books/cole, EUA, 267-308, 2005
16. Lodish, H.; Darniell, J.; Baltimore, D.; *Transport Across cell Membranes*, Scientific American Books. New York, 616-623, 1986.
17. Nerst, W.; *Phys. Chem*, **8**, 110 - 122, 1891.
18. European Community's legislation. Method 92/69/EEC(O.J. L383 A).Official Journal of the European Communities, 1992.
19. Calingaert, G.; Huggins, F. Jr.; *J. Amer. Chem. Soc*, **45**, 915-934 , 1923.
20. Scherrer, R.A.; Howard, S.M.; *J. Med. Chem.*, **28**,1, 53-58, 1977.
21. Bonting, S.L.; *Membrane transport*.Vol.2. Elsevier. 1981.
22. Vargas, J.; Macarulla, J. M.; *Fisicoquímica Fisiológica*. 6<sup>a</sup> Edición. Interamericana Mc Graw Hill. Madrid. 75-77, 1986.
23. Kumar, M.; Curtis, W, R.; *Introduction to Biological Membranes*. John Wiley and sons. 117-141, 1980.
24. Osnaya, R. C.; Hernández, E.; Vilchis, A.; Arroyo, G. A.; Delgado, F.; Miranda, R.; *Rev. Soc. Quim. Mex.*, Num. Esp. 4, **49**, 99, 2005.
25. C.; Salehi, P.; Dabiri, M.; Ali Zofigol, M.; Bogaghi A.; *Tetrahedron Letters*, **44**, 2889-2891, 2003.
26. Majid, M.; Heravi, A. N.; Ahmadi, M. T.; Bagher, M.; *J. Mol. Cat. A: Chemical*, **236**, 216-219, 2005.
27. Majid, M.; Heravi, F. D.; Fatemeh, F. B.; *J. Mol. Cat. A: Chemical*, **242**, 173-175, 2005.
28. Gowravaram, S.; Bhaskar, R. K.; Yadav, J.S.; Shailaja, D.; Samba, K.; *Tetrahedron Letters*, in press, 2005.
29. Shutalev, A. D.; Ekaterina, A.; Kishko, N. V.; Aleksei, Y.; *Molecules*, **3**, 100-106, 1998.

30. Lyubartsev, A. P.; Jacobsson, S. P.; Sundholm, G.; Laaksonen, A.; *J. Phys. Chem*, **105**, 7775-7782, 2001.