



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

“SÍNTESIS DE ALGUNOS
DERIVADOS
DE ESTAVUDINA”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERO QUÍMICO
PRESENTA:

Laura Betanzos Meléndez



MÉXICO, D.F.

2007



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: MANUEL FERNÁNDO RUBIO ARROYO.

VOCAL: BENJAMÍN RUIZ LOYOLA.

SECRETARIO: GEORGINA ENRIQUETA ESPINOSA PÉREZ.

1ER. SUP.: MARÍA CRISTINA TORRES LOMELÍ.

2DO. SUP.: FEDERICO GÓMEZ GARIBAY.

SITIO EN DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: **INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM**

ASESOR
M. en C. GEORGINA ENRIQUETA ESPINOSA PÉREZ

SUPERVISOR TÉCNICO
DR. FRANCISCO LARA OCHOA

SUSTENTANTE
LAURA BETANZOS MELÉNDEZ

Dedicada a mis padres Esperanza Meléndez M. y Samuel Betanzos R.

AGRADECIMIENTOS.

Agradezco a mis padres por todo el esfuerzo que hicieron por brindarme la oportunidad y los recursos para terminar una carrera, por su amor, por enseñarme a fijarme metas y luchar por cumplirlas; y sobre todo, por enseñarme a ser humilde.

Agradezco a mis hermanos Patricia, Margarita y Raymundo, que compartieron conmigo muchos de mis desvelos, que me ayudaron y apoyaron en todo lo que estuvo a su alcance.

Agradezco a mi novio Jovany, que compartió conmigo gran parte de la carrera y todo lo que implicaba, por haber sido paciente, cariñoso y mi amigo siempre.

Agradezco a todos mis amigos y compañeros que hice en mi vida como estudiante, ya que sin ellos, hubiera sido imposible llevar la carga de trabajo yo sola; agradezco su amistad, ya que son ellos a los que recurro hasta hoy y son ellos a los que llamo amigos.

Agradezco a todos mis profesores por sus enseñanzas y apoyo, en especial, al Prof. Enrique Robles por ayudarme a iniciar como estudiante en su escuela; a los Prof. Ricardo Guerra F. y Francisco González C. por su amistad y su ayuda al elegir mi carrera; y al Dr. Raymundo Cruz A. que fue todo un desafío como profesor y ser alguien a quien admiro.

Agradezco a mi asesora la M. en C. Georgina Espinoza P. y al Dr. Francisco Lara O. por su apoyo y amistad.

Agradezco a Elizabeth Huerta S., Ma. Ángeles Peña H., Ma. Nieves Zavala S. y Eréndira García R. por su asistencia técnica.

Y por último y más importante, agradezco a Dios por todo, sobre todo, por haber puesto en mi camino a todas estas personas.

CONTENIDO.

| | | |
|---------------------|---|----|
| CAPÍTULO 1. | Resumen..... | 1 |
| CAPÍTULO 2. | Antecedentes..... | 3 |
| CAPÍTULO 3. | Justificación..... | 23 |
| CAPÍTULO 4. | Objetivos..... | 24 |
| CAPÍTULO 5. | Análisis retrosintético..... | 25 |
| CAPÍTULO 6. | Metodología..... | 29 |
| CAPÍTULO 7. | Resultados y análisis de resultados | 31 |
| CAPÍTULO 8. | Conclusiones..... | 55 |
| CAPÍTULO 9. | Parte experimental..... | 56 |
| CAPÍTULO 10. | Bibliografía..... | 61 |
| CAPÍTULO 11. | Apéndice..... | 64 |

ABREVIATURAS

UNIDADES:

| | |
|-----------|-----------------------------------|
| atm. | Atmósfera. |
| mg. | Miligramos. |
| µg. | Micro gramo. |
| ppm. | Partes por millón. |
| δ. | Unidad delta equivalente a 1 ppm. |
| t. | Tiempo. |
| h. | Hora. |
| min. | Minuto. |
| C. | Concentración. |
| eq. | Equivalente. |
| mmol. | Milimol. |
| µM. | Micro molar. |
| ml. | Mililitro |
| l. | Longitud. |
| m. | Metro. |
| mm. | Milímetro. |
| nm. | Nanómetro. |
| <i>J.</i> | Constante de acoplamiento. |
| Kcal. | Kilocaloría. |
| E. | Energía. |
| λ. | Longitud de onda. |
| Å. | Amstrong. |
| °C. | Grados centígrados. |
| °K. | Grados Kelvin. |
| V. | Volts. |
| MHz. | Mega hertz. |
| K. | Constante de Boltzmann. |

EXPERIMENTOS:

| | |
|----------------------|--|
| RMN ¹ H. | Resonancia magnética nuclear protónica. |
| RMN ¹³ C. | Resonancia magnética nuclear de carbono 13. |
| COSY. | Espectroscopia de correlación. |
| NOESY | Nuclear Overhauser Effect SpectroscopY, espectroscopia de efecto nuclear |
| DEPT. | Distortionless enhancement by polarization transfer. |
| IR. | Espectroscopia de infrarrojo. |
| RO. | Rotación óptica. |
| U.V. | Ultra violeta. |
| [α] _D . | Rotación óptica específica. |

COMPUESTOS Y ELEMENTOS QUÍMICOS:

| | |
|---|----------------------------------|
| Cl. | Cloro. |
| Br. | Bromo. |
| Pd. | Paladio. |
| Ru. | Rutenio. |
| H ₂ . | Hidrógeno. |
| C. | Carbón. |
| <i>i.</i> | Carbón ipso. |
| <i>o.</i> | Carbón orto. |
| <i>m.</i> | Carbón meta. |
| <i>p.</i> | Carbón para. |
| CuCl ₂ | Cloruro de cobre |
| [(CH ₃) ₃ CO] ₂ | Diterbutil peróxido. |
| NSiMe ₃ =NSiMe ₃ | Acetamida de bis trimetilsilano. |
| Rh/C. | Rodio sobre carbón. |
| AZT. | Zidovudina |
| CO ₂ . | Dióxido de carbono. |
| SmI ₂ | Diodo de samario. |
| Pd(OAc) ₂ . | Acetato de paladio. |
| Cu(OAc) ₂ . | Acetato de cobre. |
| CDI. | Carbonil diimidazol. |
| KBr. | Bromuro de potasio. |
| HCl. | Ácido clorhídrico. |
| TMS. | Tetrametil silano. |
| DMF. | Dimetil formamida. |
| THF. | Tetra hidrofurano. |
| CH ₃ CN. | Acetonitrilo. |
| AcOEt. | Acetato de etilo. |
| CH ₂ Cl ₂ | Diclorometano. |
| CDCl ₃ | Triclorometano deuterado. |
| DMSO | Dimetil sulfóxido. |
| DMSO-d ₆ | Dimetil sulfóxido deuterado. |
| MeOH. | Metanol. |
| MeOD | Metanol deuterado. |

TÉRMINOS:

| | |
|--------|--|
| MMF. | Mecánica molecular. |
| NRTI. | Transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos. |
| Cat. | Catalizador. |
| Dist. | Distribución. |
| r.t. | Temperatura ambiente. |
| c.c.f. | Cromatografía de capa fina. |
| p.f. | Punto de fusión. |
| Fig. | Figura. |
| exp. | Exponencial. |

CAPÍTULO 1. RESUMEN



ESTAVUDINA.

La estavudina (Figura1) también es conocida como d4T o 2',3'-didehidro -3'-deoxitimidina y es fabricada por Bristol-Myers Squibb con el nombre de Zerit^(R) en USA o por Cipla con el nombre de Stavir^(R) en la India. La estavudina pertenece a una clase de medicamentos antivirales llamados inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos (NRTI). La estavudina es un análogo de la timidina que presenta actividad in vitro frente al VIH en células humanas.⁽¹⁾

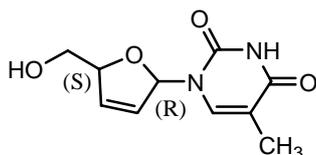


Figura 1. Estructura de estavudina

El alcance del presente trabajo, es la síntesis de compuestos derivados de la estavudina que presentan el grupo funcional carbamato: fenil ácido carbámico 5-(5-metil-2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-il)-2,5-dihidrofuran-2-ilmetil éster. **(2)**, [5-(5-metil-2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-il)-2,5-dihidro-furan-2-ilme-toxicarbonil amino]-ácido acético etil éster. **(3)** y {6-[5-(5-metil-2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-il)-2,5-dihidro-furan-2-il metoxicarbonil amino]-hexil}-ácido carbámico -(5metil-2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-il)-2,5-dihidrofuran-2-ilmetil éster. **(4)**. Los compuestos **(2)**, **(3)** y **(4)** presentan las estructuras mostradas en la Figura 2.

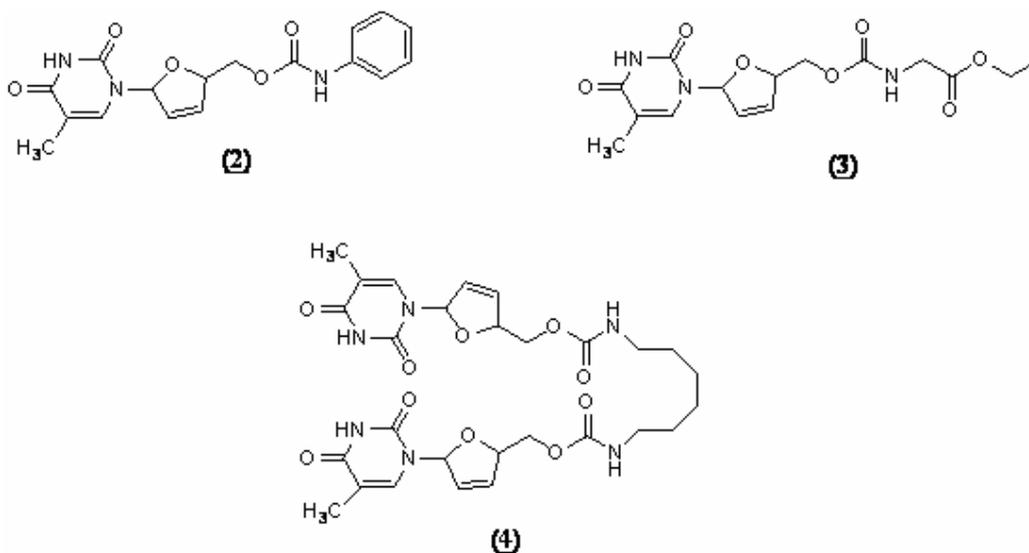


Fig. 2. Representación de cada una de las estructuras de los compuestos derivados de estavudina formados.

Los compuestos (2), (3) y (4) fueron identificados y caracterizados por medio de espectroscopia infrarroja, resonancia magnética nuclear protónica, resonancia magnética de carbono 13. También se hizo el experimento de la muestra en solución de resonancia magnética COSY para ver la conectividad que hay entre los átomos de la molécula.

Además, se realizó un estudio conformacional cuando los compuestos se encuentran en solución, por medio del experimento de resonancia magnética nuclear NOESY, los resultados se confrontaron con los resultados obtenidos del análisis conformacional teórico por medio de mecánica molecular (MMF) y se observó que existe una similitud entre ellos.

CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES



1. ESTAVUDINA.

La estavudina también es conocida como d4T o 2',3'-didehidro -3'-deoxitimidina, que al hidrolizarse se descompone en timidina. Es un fármaco antirretroviral activo contra el virus de la inmunodeficiencia adquirida. ⁽²⁾

1.1 Características de estavudina.

La absorción de estavudina administrada oralmente como Zerit cápsulas es rápida. Como monoterapia funciona mejor que al combinarse, por ejemplo, no se debe combinar con el fármaco Zidovudina (AZT), ya que puede competitivamente inhibir la fosforilación intracelular de la estavudina; se hidroliza y se absorbe más rápido en comparación al AZT; su biodisponibilidad absoluta promedio es de 86.4 %, mientras que la del AZT es de 60 a 70%. ^(3, 4 y 5)

Tabla 1. Comparación entre eventos adversos al suministrar estavudina o zidovudina

| Evento adverso | Porcentaje de pacientes | |
|--------------------|--|--|
| | Estavudina 40 mg dos veces al día | Zidovudina 200 mg tres veces al día |
| Dolor de cabeza | 54 | 49 |
| Fiebre/ escalofrío | 50 | 51 |
| Diarrea | 50 | 43 |
| Náusea y vómito | 38 | 44 |
| Dolor abdominal | 34 | 27 |
| Insomnio | 29 | 31 |
| Reacción alérgica | 9 | 8 |

2. PRODROGAS.

La mayoría de las drogas tienen características indeseables, como biodisponibilidad limitada, carencia de especificidad de sitio e inestabilidad química y enzimática que pueden convertirse en barreras farmacológicas, farmacocinéticas o farmacéuticas. Se han hecho varias investigaciones para reducir al mínimo las características indeseables y lograr que el fármaco tenga la actividad terapéutica deseable, lo que ha dado como resultado el diseño de las *prodrogas*.

La *prodroga* es un derivado químico farmacológico que por sí mismo es inerte, pero que se convierte a una droga activa por una biotransformación metabólica en el cuerpo (Figura 3). ^(6 y 7)

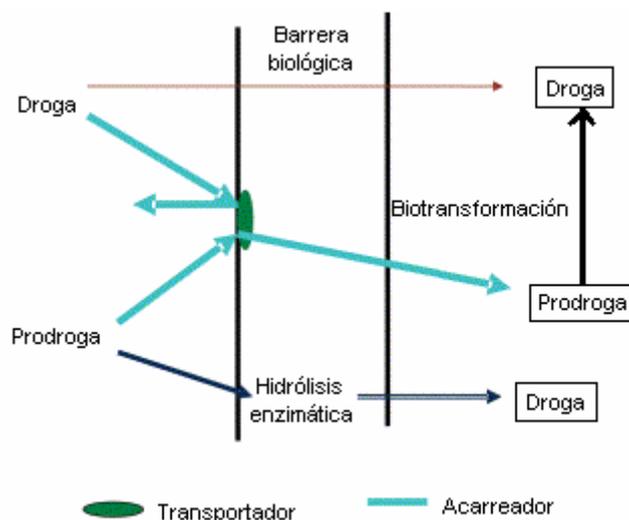


Figura 3. Representación esquemática del aprovechamiento de una prodroga.

Una prodroga puede ser activada por un proceso no enzimático como una hidrólisis, pero en este caso, el compuesto de manera inherente es inestable. La conversión de una prodroga a una droga puede ocurrir antes de la absorción, durante la absorción, después de la absorción o en un sitio específico del cuerpo.⁽⁸⁾

El concepto prodroga es análogo al uso de agentes protectores en síntesis orgánica, en donde se requiere proteger a un grupo funcional de manera específica, para que durante el curso de una serie de reacciones, el grupo no participe y/o no se transforme y posteriormente, desprotegerlo para que tenga la funcionalidad deseada y hasta entonces participe en la siguiente serie de reacciones, siendo este un ejemplo de una prodroga enlazada a un acarreador.⁽⁹⁾

2.1 Ventajas de las prodrogas.

Son diversas las razones del porqué utilizar prodrogas en el diseño de una droga.

- Solubilidad de la droga en el agua.
- Absorción y distribución.
- Sitio específico de acción.
- Estabilidad.
- Liberación prolongada.
- Disminución en la toxicidad.
- Aceptabilidad por el paciente.
- Evitar problemas de formulación.

Las prodrogas pueden dividirse en dos:

1. Prodrogas Bioprecursoras
2. Prodrogas Enlazadas a un Acarreador. En este tipo de prodrogas podemos encontrar a las prodrogas bipartitas (droga-acarreador) y prodrogas “mutual” (en donde dos moléculas droga-droga se encuentran unidas, las dos presentan un sinergismo y una es acarreadora de otra).⁽⁸⁾

2.2 Prodrogas de estavudina.

Muchos de los análogos de nucleósidos (moléculas formadas por una base nitrogenada unida a una molécula de azúcar de cinco átomos) que tienen fundamentos en contra de la actividad del VIH, tienen una pobre conversión a su metabolito activo (ej. trifosfatos).

2',3'-didehidro-2',3'-dideoxitymidina (estavudina) y su prodroga lipofílica 5'-monofosfato triéster, So324, fue probada en cuatro diferentes líneas de células animales. La prodroga So324 fue mucho mejor que estavudina en contra del virus de inmunodeficiencia del tipo 1 y 2, y virus de inmunodeficiencia en linfocito T humano de células CEM y MT-4. El So324 es menos citotóxica para células MT-4 que la estavudina. Se puede comparar la estavudina con su prodroga So324 en la tabla 2.⁽¹⁰⁾

Tabla 2. Efectos de antirretrovirus de d4T y So324⁽¹⁰⁾ en diferentes líneas de células.

| Línea de células | virus | compuesto | EC ₅₀ ^a μ M | CC ₅₀ ^b |
|------------------|-------|------------|---------------------------------------|-------------------------------|
| CEM | VIH-1 | estavudina | 0.80 | 213 |
| | | So324 | 0.18 | 129 |
| CEM | VIH-2 | estavudina | 0.78 | 213 |
| | | So324 | 0.20 | 129 |
| MT-4 | VIH-1 | estavudina | 0.65 | 4 |
| | | So324 | 0.07 | >100 |
| MT-4 | VIH-2 | estavudina | 0.77 | 4 |
| | | So324 | 0.07 | >100 |

^a50% de la concentración efectiva o concentración del compuesto requerida para lograr un 50% de inhibición de VIH-1 y VIH-2.

^b50% de concentración citotóxica o concentración del compuesto requerida para causar un 50% de inhibición de la proliferación de las células.

La actividad antiviral de la estavudina y sus prodrogas en contra de VIH-1 se determinó “*in vitro*” en linfocitos T4 (línea de células CEM). La actividad mejorada de la prodroga sobre la estavudina puede mejorar la liberación de estavudina (tabla 3).⁽¹¹⁾

Tabla 3. Comparación de propiedades biológicas de estavudina contra una de sus prodrogas.

| Compuesto | R | Actividad anti VIH-1 (μM) | | | Hidrólisis “ <i>in vitro</i> ” $t_{1/2}(\text{min})^e$ |
|------------------------|---|--|--------------------|---------------|---|
| | | EC_{50}^a | CC_{50}^b | SI^c | |
| derivado de estavudina |  | <0.0636 | >100 | >15.723 | 20 |
| estavudina | ----- | 0.09 | >100 | >1111 | ----- |

^a Concentración efectiva de compuesto logrando 50% de protección en líneas de células CEM en contra de efectos citopáticos de VIH-1.

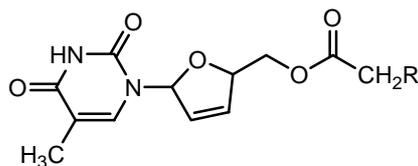
^b Concentración citotóxica de compuesto requerido para reducir la viabilidad de despreciar por un 50% las células CEM.

^c Índice de selectividad o radio de CC_{50} para EC_{50} .

^d A la dosis de 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

^e En plasma humano.

Un ejemplo mas de prodrogas que han sido reportadas, son los aminoácido éster prodrogas de estavudina, que presentan la estructura de la Figura 4.

**Figura 4.** Estructura de éster prodrogas de estavudina.

2.3 Problemas de absorción.

Para que en el organismo pueda existir una buena absorción de la droga, ésta debe vencer algunas barreras biológicas, físicas y bioquímicas. Los análogos o las prodrogas pueden mejorar la absorción de la pobre permeación de los agentes terapéuticos. La solubilidad acuosa de las moléculas también puede mejorar, dependiendo del ligando. Las prodrogas son miméticas de las drogas, son reconocidas por los membrana-transportadores como sustratos y son transportados a través de las células epiteliales, el transportador ligado a la droga, puede unirse a enzimas lo que permitirá la activación de la droga. ^(6 y 7)

Dentro de las prodrogas, se han diseñado prodrogas de nucleósidos que al metabolizarse se activan y aumentan la cantidad de fármaco que entre en la célula. Por está última razón, se han ligado a los nucleósidos compuestos químicamente lipofílicos como ésteres o carbonatos.

Se debe de tener cuidado al sintetizar compuestos que contengan el grupo funcional carbamato, ya que los carbamatos son fácilmente hidrolizables en soluciones alcalinas, fácilmente se oxidan o se conjugan. (Figura 5).⁽¹²⁾

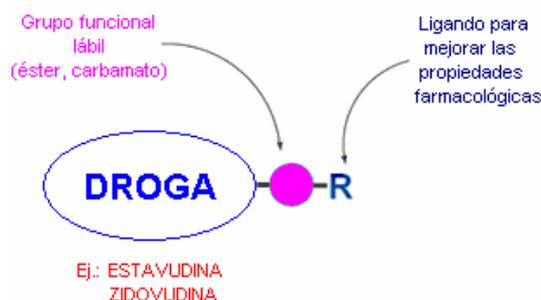
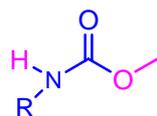


Figura 5. Partes que conforman la prodroga. ⁽¹³⁾

2.4 Carbamatos

Los carbamatos (Figura 6), son ésteres del *ácido carbámico* (H_2NCOOH), también son conocidos como *uretanos*. El ácido carbámico y sus derivados *N*-sustituídos son muy lábiles; se descomponen espontáneamente a dióxido de carbono y amoníaco o amina. ⁽¹⁴⁾



N-alquilcarbamato de metilo

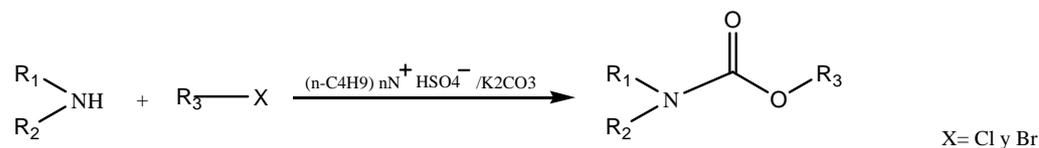
Figura 6. Molécula de carbamato.

2.4.1 Formación de carbamatos.

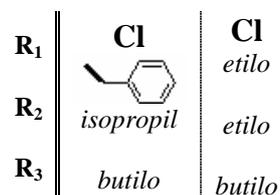
Hay distintas rutas para la síntesis de carbamatos, a continuación se presentan algunas de ellas con algunos ejemplos que han sido reportados en la literatura.

- **A partir de aminas.**

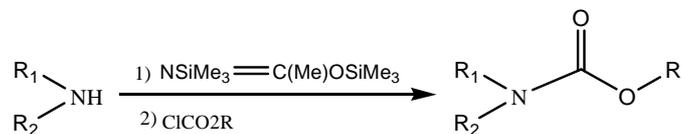
Las aminas secundarias puede reaccionar con un halogenuro de alquilo para formar una trialquilamina y un carbamato, siendo la reacción catalizada con sulfato del tetrabutilamonio ⁽¹⁵⁾



Ejemplos:



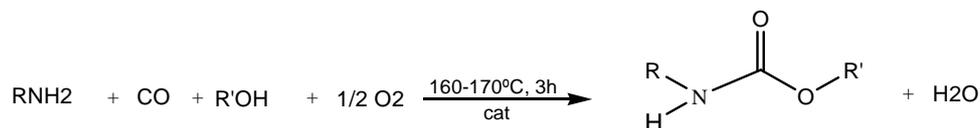
La formación de carbamatos N-N-disustituidos se puede dar al tratar las aminas primarias o secundarias con acetamida de bis(trimetilsilano) mas la adición de metil, vinil o 2,2,2-tricloroetil cloroformiato. ⁽¹⁶⁾



Ejemplos:



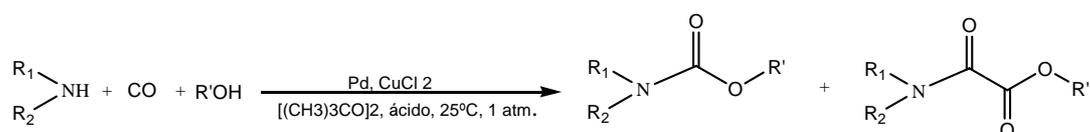
Otra forma de preparación, es cuando a una amina se le adiciona un alcohol, monóxido de carbono y oxígeno en presencia de un sistema catalítico conformado por platino a una temperatura de 160-170°C durante 3 horas. ⁽¹⁷⁾



Ejemplos:

| Catalizador | Rh/C, CsI | Rh/C, CsI |
|-------------|--------------|----------------|
| R | | <i>propilo</i> |
| R' | <i>etilo</i> | <i>metilo</i> |

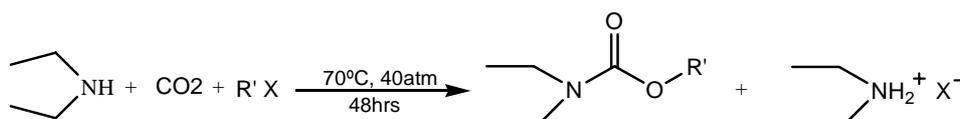
Las aminas primarias pueden reaccionar con monóxido de carbono y di-ter-butil peróxido en alcohol (metanol, etanol o terbutanol), siendo la reacción catalizada por paladio y cloruro de cobre en un medio ácido, temperatura ambiente y presión de 1 atm. ⁽¹⁸⁾



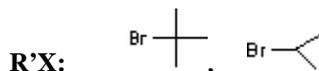
Ejemplos:

| ácido | HCl | HCl |
|----------------------|---------------|---------------|
| R₁ | | |
| R₂ | -H | -H |
| R' | <i>metilo</i> | <i>metilo</i> |

Otra reacción es la de dietilamina, dióxido de carbono y un halogenuro de alquilo a 70°C y 48 atm por 48 horas obteniendo N,N-dietilcarbamatos ésteres.⁽¹⁹⁾



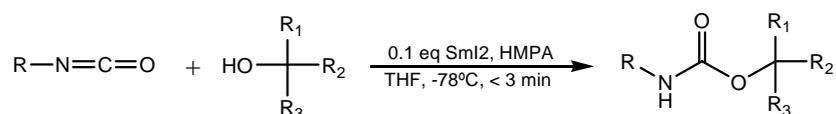
Ejemplos:



- **A partir de la adición de alcoholes a isocianatos.**

Además de obtener carbamatos a partir de aminas, también se puede hacer si se sustituyen las aminas por la adición de alcoholes a un isocianato, como se muestra en las siguientes reacciones.

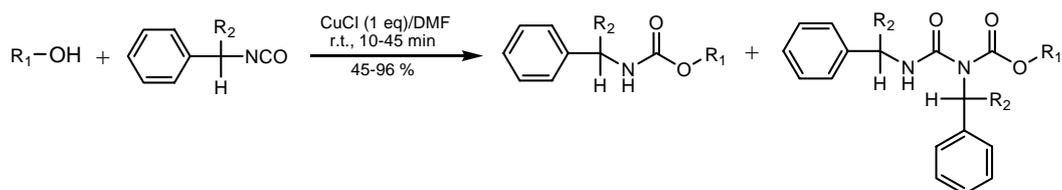
Un derivado de isocianato puede ser tratado con un alcohol terciario en presencia de un catalizador de dióxido de samario en HMPA y tetrahidrofurano a -78°C, está reacción da rápidamente la formación de carbamatos.⁽²⁰⁾



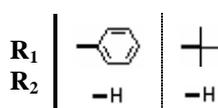
Ejemplos:

| | | |
|----------------------|---|---|
| R |  | <i>butilo</i> |
| R₁ | <i>metilo</i> | <i>metilo</i> |
| R₂ | <i>metilo</i> |  |
| R₃ | <i>metilo</i> |  |

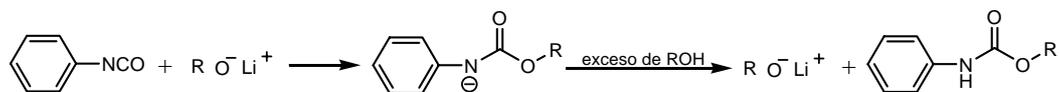
Otros derivados de isocianatos son los arilisocianatos que reaccionan con alcoholes (primarios, secundarios o terciario), la reacción es catalizada con cloruro de cobre en dimetil formamida a temperatura ambiente de 10-45 minutos para formar el carbamato correspondiente.⁽²¹⁾



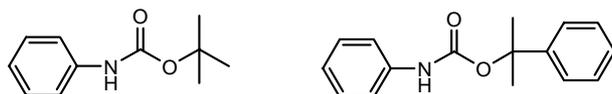
Ejemplos:



La reacción entre fenilisocianato y alcoholes terciarios, es catalizada con alcóxido de litio para sintetizar alquil N-fenilcarbamatos terciarios. ⁽²²⁾



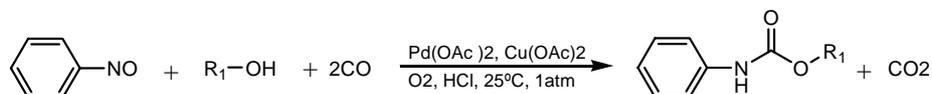
Ejemplos:



- **A partir de la carbonilación reductiva de compuestos aromáticos nitrogenados.**

Una tercera ruta de síntesis para la formación de carbamatos, es a partir de la carbonización reductiva de compuestos aromáticos nitrogenados. A continuación se presentan dos reacciones para ejemplificar esta ruta de síntesis.

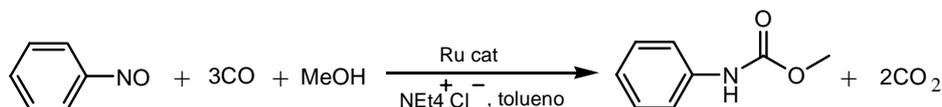
La reacción de nitrobenenos, alcohol (primario, secundario, terciario o aromático) y monóxido de carbono, es catalizada con acetato de paladio y acetato cúprico, la reacción es burbujeada con oxígeno en un medio ácido, temperatura ambiente y 1 atm. ⁽²³⁾



Ejemplos:

R_1 : etilo, propilo

La siguiente reacción también es muy similar a la anterior, al nitrobeneno se le adiciona nuevamente un alcohol (metanol) y monóxido de carbono, sólo que esta vez es catalizada con un derivado de rutenio en tolueno con una temperatura de 160-170°C y 60atm. ⁽²⁴⁾



2.5 Algunos métodos experimentales para identificación y caracterización de compuestos orgánicos.

Una vez que han sido sintetizadas las prodrogas de estavudina es necesario poder identificarlas y caracterizarlas muy bien, para ello se emplean métodos experimentales, algunos de ellos son:

2.5.1 Rotación óptica.

Hay compuestos que tienen idénticas propiedades físicas y parecen tener las mismas estructuras, pero la disposición de los átomos en el espacio es diferente. Cuando un haz de luz polarizada sobre un plano atraviesa a la molécula, esta puede ser capaz de hacer girar el haz de luz, a este efecto se le conoce como *actividad óptica*, que se mide con un instrumento llamado polarímetro. Para que una sustancia sea ópticamente activa, debe de contener una sustancia quiral y uno de los enantiómeros debe de estar en exceso sobre el otro. La cantidad de rotación es proporcional a la concentración de la muestra, como de la longitud de la trayectoria del rayo en la muestra.

La rotación óptica se puede expresar por medio de la *rotación específica*, $[\alpha]_D$, que se define como la rotación observada cuando la trayectoria l de la muestra mide 1 dm, la concentración de la muestra C es 1mg/ml y es usada luz de 589 nm de longitud de onda (la llamada línea D del sodio).

$$[\alpha]_D = \frac{\text{rotación observada } (^\circ)}{\text{longitud de trayectoria, } l \text{ (dm)} \times \text{concentración, } C \text{ (g/ml)}}$$

La rotación óptica, es una propiedad física, la cual nos brinda información acerca del enantiómero que se encuentra en mayor proporción.^(14 y 25)

2.5.2 Espectroscopia Infrarroja.

La espectroscopia infrarroja (IR), es la interacción de la radiación electromagnética de la región infrarroja con la materia. El espectro electromagnético cubre el intervalo desde justo arriba del visible (7.8×10^{-7} m) hasta unos 10^{-4} m.

Todas las moléculas tienen cierta cantidad de energía distribuida en su estructura, la energía total incluye la energía de translación, la energía rotacional, la energía vibracional y la energía de unión.

La frecuencia de vibración de las diferentes uniones químicas depende de los átomos involucrados en la vibración y de la constante de fuerza de cada unión. Cuando la molécula es irradiada con radiación electromagnética, absorbe radiación cuando su frecuencia coincide con la del movimiento vibratorio. El medir y graficar la radiación absorbida, dará como resultado un espectro de infrarrojo.

Los espectros de infrarrojo nos ayudan para caracterizar algún compuesto, ya que en el espectro se identifican los grupos funcionales que conforman al compuesto. La mayor parte de los grupos funcionales tienen bandas características que permanecen iguales de un compuesto a otro.^(25, 26 y 27)

2.5.3 Espectroscopía de resonancia magnética nuclear.

Desplazamiento Químico.

La posición de las señales sobre el espectro de RMN, ayuda a identificar el tipo de protón, si es alifático, aromático, vinílico, etc. Los desplazamientos de posición a lo largo del espectro de RMN, causados a la protección y desprotección electrónica, es a lo que se llama **desplazamiento químico**, que se debe a los pequeños campos magnéticos locales que rodean a los diversos núcleos. La escala que se usa es la escala delta (δ), que equivale a una parte por millón (ppm). El espectro de RMN se calibra y se usa un punto de referencia para poder definir la posición de una absorción. Se adiciona una pequeña cantidad de tetrametilsilano (TMS) a la muestra para producir una absorción de referencia. Por convención, el desplazamiento químico del TMS se establece como punto cero y las demás absorciones aparecen por lo general a su izquierda.^(25 y 28)

2.5.3.1 RMN¹H

Algunos átomos, tienen núcleos con espín, que al girar, producen un momento magnético a lo largo del eje de giro y que van a interactuar con un campo magnético externo. Al colocar un protón en el campo magnético externo, este puede alinearse en contra o a favor del campo externo.

La energía necesaria para invertir el protón, va a depender de la intensidad de radiación electromagnética, cuando se voltean los protones, se dice que los núcleos magnéticos están en resonancia con la radiación aplicada; de ahí surge el nombre de resonancia magnética nuclear. La frecuencia que absorbe el protón depende del campo magnético que el protón percibe y que es la intensidad de campo efectiva. La intensidad efectiva va a depender de la densidad electrónica alrededor del protón y de la presencia de protones vecinos.

Cada hidrógeno químicamente distinto en una molécula tiene su propia absorción, con la RMN ¹H (resonancia magnética nuclear protónica), se determina los tipos de hidrógenos no equivalentes presentes en una molécula.

El número de señales del espectro de RMN indica el número de conjuntos de protones equivalentes que contiene la molécula, es decir, cuantos tipos de protones tiene. Para contabilizar los protones, es necesario poner atención a las señales sobre el espectro, ya que el área bajo cada señal, es proporcional a la cantidad de protones que la genera.

Cada tipo de protón en la molécula provoca su propio pico sobre el espectro, pero algunas veces, la frecuencia de absorción se descompone en varios picos múltiples, a éste fenómeno se le conoce como **desdoblamiento spin-spin** y es debido a la interacción o **acoplamiento** de los espines cercanos. El desdoblamiento refleja el ambiente de los portones que absorben, no con respecto a electrones, sino con respecto a otros electrones cercanos. Los protones químicamente equivalentes no van a presentar desdoblamiento spin-spin.

Los protones que tienen n protones equivalentes vecinos muestran $n + 1$ picos en su espectro de RMN. La distancia que hay entre los picos de un multiplete se denomina *constante de acoplamiento J* . El valor de J es expresado en hertz (Hz.). Dos grupos adyacentes de protones acoplados, van a tener la misma constante de acoplamiento J .^(25, 28 y 29)

El acoplamiento de tres protones no equivalentes forman sistemas ABX dependientes del desplazamiento químico del tercer protón, el espectro presenta doce señales (Figura 7)⁽²⁹⁾.

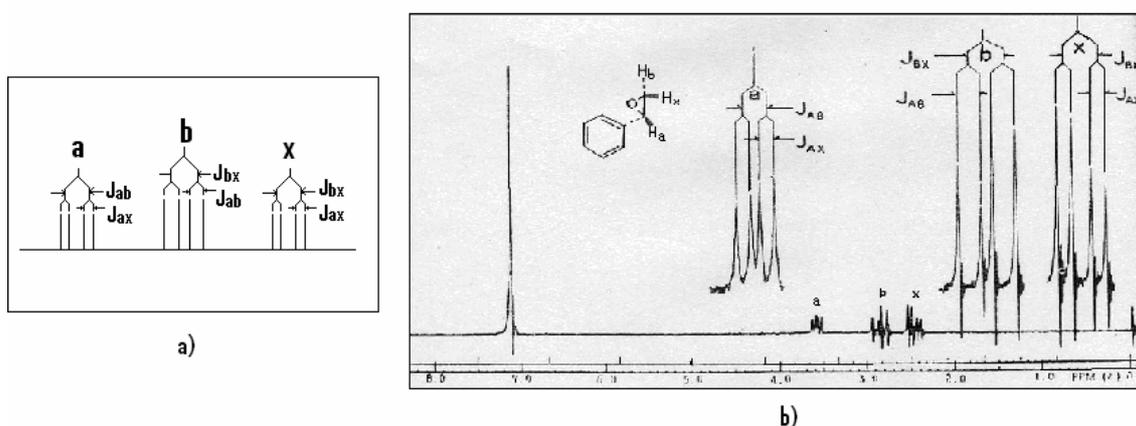


Figura 7. a) Las doce señales que forman el sistema ABX. **b)** Representación de las doce señales del sistema ABX sobre el espectro de RMN ^1H .

2.5.3.2 RMN ^{13}C .

La RMN ^{13}C (resonancia magnética de carbono 13), es una herramienta analítica empleada para poder conocer la cantidad de distintos átomos de carbono presentes en una molécula de estructura desconocida. El desplazamiento químico puede algunas veces estar influenciado por la electronegatividad de los átomos cercanos.^(25 y 28)

2.5.3.3 DEPT - RMN.

La DEPT-RMN (distortionless enhancement by polarization transfer: ampliación sin distorsión por transferencia de polarización), permite diferenciar cada señal de los diferentes átomos de carbono; CH_3 , CH_2 , CH y carbonos cuaternarios.

El experimento DEPT se realiza en cuatro etapas. La primera es la obtención de un espectro ordinario (desacoplado de banda amplia) para ubicar los desplazamiento químicos de todos los carbonos. La segunda etapa es correr un espectro DEPT-90, en donde sólo se localizan las señales de CH . En la tercera etapa se corre un espectro DEPT-135 en donde CH_3 y CH aparecen en forma de señales positivas y CH_2 como señales negativas (picos debajo de la línea base). La cuarta etapa es la identificación de carbonos cuaternarios, que se hace restando todos los picos del espectro DEPT-135 de los que hay en el espectro desacoplado de banda amplia.⁽²⁵⁾

2.5.3.4 COSY-RMN

COSY (espectroscopia de correlación), es un método de RMN bidimensional que envuelve dos señales de pulsos de radiofrecuencia separadas por un intervalo de tiempo t_1 , la señal de RMN se adquiere después de un segundo pulso durante un tiempo t_2 expresada con la función $S(t_1, t_2)$ a la que se le hace una doble transformada de Fourier, que al ser graficado, da como resultado un espectro de COSY. Una vez que se tiene el espectro, se marca sobre él una línea diagonal (la cual es el espectro monodimensional) y siguiendo la línea, se buscan los puntos en donde cruzan las señales tanto de la parte superior como de la lateral, después sobre el punto, se marca una línea horizontal para identificar las señales con las que existe un acoplamiento, dichas señales son los desplazamientos químicos de dos protones con acoplamiento de spines que están separados por 2 ó 3 enlaces químicos (Figura 8).^(30, 31 y 32)

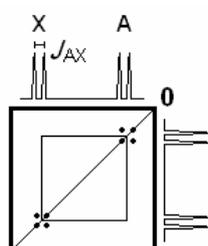


Figura 8. Esquema del espectro de COSY.

Los acoplamientos a través de cinco o más enlaces pueden raramente ser observados, como excepciones, se encuentran los compuestos insaturados en donde el acoplamiento es en enlaces en zig-zag como naftalenos, benzaldehidos, alenos y alquinos. Algunos valores se encuentran para pares de electrones homoalílicos en heterociclos de cinco miembros acoplándose a 5J a través de cuatro enlaces simples y un doble enlace como en el dihidrofurano (Figura 9).⁽³³⁾

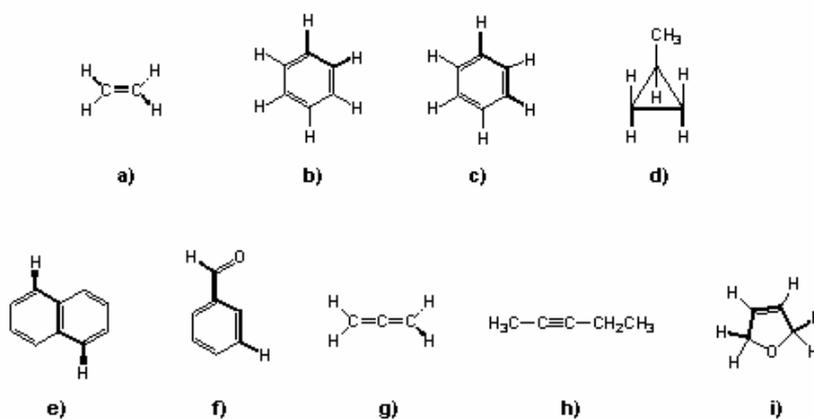


Figura 9. Compuestos insaturados con acoplamientos 3J en **a)** etano y **b)** benceno. Acoplamientos 4J en **c)** benceno y **d)** metil ciclopropano. Acoplamientos 5J en **e)** naftaleno, **f)** benzaldehido, **g)** alenos, **h)** alquinos e **i)** dihidrofurano

2.6 Conformación.

Una vez que ya se han identificado y caracterizado los compuestos sintetizados, es necesario identificar los *confórmeros* o *conformaciones*, es decir, los diferentes arreglos de un molécula en el espacio formados por la rotación en torno a sus enlaces sencillos. Debido a la conformación tetraédrica de los átomos de carbono sp^3 (Figura 10), los átomos no pueden situarse en un mismo plano.

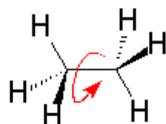


Figura 10. Carbono sp^3 .

Los átomos que están enlazados al átomo de carbono pueden estar *eclipsados* (0°) o *alternados* (60°) entre ellos o incluso en cualquiera de las infinitas posiciones *sesgadas* intermedias. Es difícil representar situaciones intermedias, por lo que se usa la proyección de *Newman*, en la que el carbón más cercano es representado por un punto. El carbón más alejado es representado por un círculo y los enlaces salen desde la superficie del círculo.

Estereoisómeros son todas las posiciones que se diferencian unas de las otras en la distinta orientación de los átomos en el espacio. Para la transformación de una conformación eclipsada a la alternada hay solo que girar 60° un átomo con respecto del otro.

- **Análisis conformacional.**

El estudio que se le realiza a una molécula considerando las distintas posiciones en el espacio con la respectiva energía que tienen los átomos que la componen, recibe el nombre de *análisis conformacional*, el cual es importante para entender su reactividad. El análisis conformacional también es usado para determinar cual *confórmero* es el más estable. Un compuesto a temperatura ambiente es una mezcla de todas las conformaciones posibles, aunque no todas existen en la misma proporción debido a que unas son más energéticas que otras.

La diferencia de energía entre unas conformaciones y otras, se debe a que cuando los átomos o grupos atómicos están eclipsados, la suma de los radios de Van der Waals respectivos, es mayor que la distancia que los separa y, en estas condiciones, las fuerzas son repulsivas y por otra, a que existe repulsión entre las nubes electrónicas de los enlaces cuando se aproximan y que es máxima al llegar al eclipsamiento de ambos. La repulsión debida a las fuerzas de Van der Waals, recibe el nombre *tensión estérica* y la que se debe a las nubes electrónicas, se llama *tensión torsional*. Cuando los átomos están más alejados experimentan menores repulsiones y serán menos energéticas y más estables, lo que contribuirá a que se encuentren en mayor proporción. ^(14, 34 y 35)

Un análisis conformacional se puede hacer fácilmente si se construye un diagrama de energía o perfil energético donde las ordenas indican la energía potencial de cada conformación y las abscisas, grado de rotación o conformero (Figura 11).

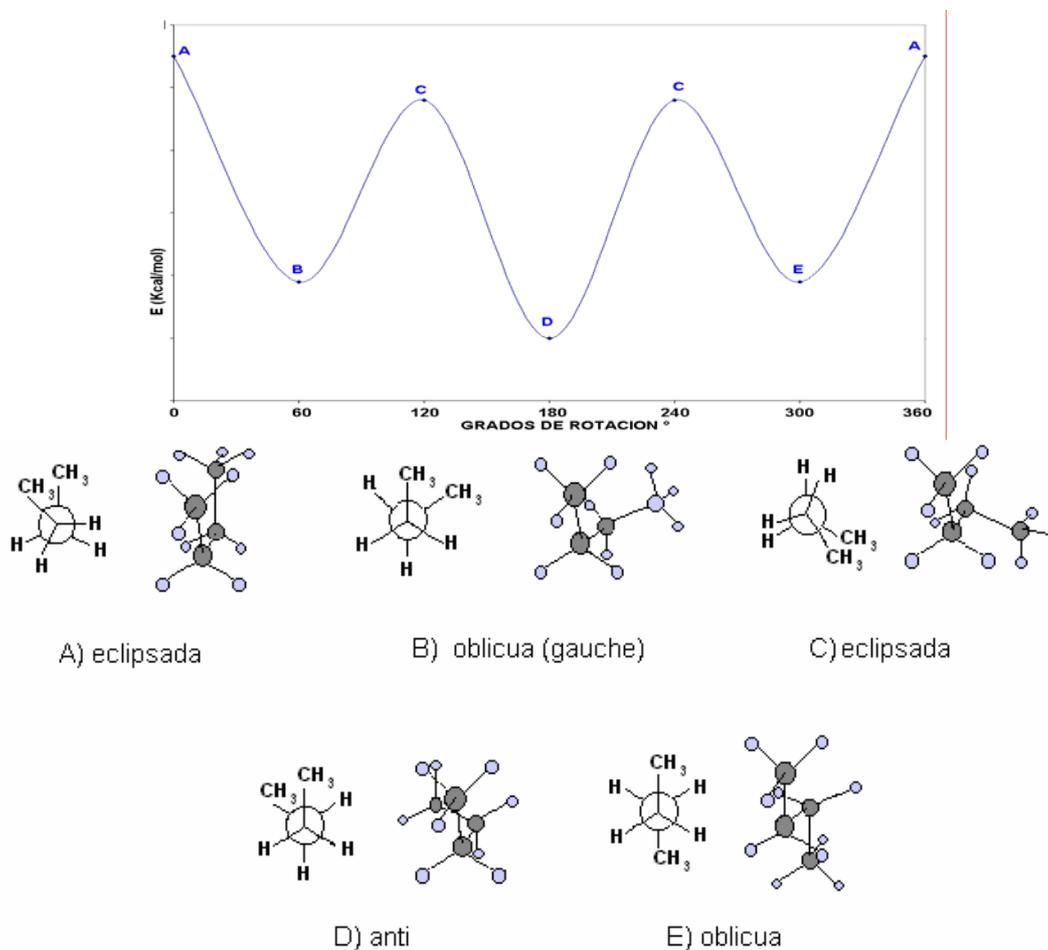


Figura 11. Conformaciones el butano señaladas sobre la gráfica de energía contra grados de rotación

Además de graficar energía potencial de cada conformación contra grado de rotación o conformero, se puede graficar distribución de Boltzmann contra grado de rotación o conformero.

- **Distribución de Boltzmann.**

Cuando una muestra se encuentra a una temperatura mayor a cero, existe una agitación térmica, lo que provoca que las moléculas se pongan en movimiento distribuyéndose en los diferentes niveles de energía los cuales pueden ser cuantizados.

El número total de partículas es:

$$N=n_0+n_1+n_2+\dots$$

En cada nivel de energía, va a haber un número promedio de moléculas y es a lo que se llama población. Las entidades deben de ser capaces de intercambiar energía entre ellas para estar en equilibrio. En el intercambio de energía habrá fluctuaciones debido a las interacciones y a las colisiones entre las moléculas, los números n_0, n_1, n_2, \dots están cambiando continuamente en algunas ocasiones, algunas tendrán más que la energía promedio $\bar{\varepsilon}$ y otras tendrán menos. Se puede suponer, que para cada estado macroscópico del sistema, hay una distribución de partículas entre los diversos niveles que es más probable que cualquier otra. Una vez alcanzada esta distribución se dice que el sistema está en equilibrio.

Para conocer la distribución más probable, es preciso calcular el máximo de P , de modo que el número de partículas y la energía total (sistema aislado) permanezcan constantes.

$$P = \frac{N!}{n_0! \cdot n_1! \cdot n_2! \cdot n_3! \cdot \dots}$$

Donde N es el número total de partículas

Se puede demostrar que el máximo de P se obtiene cuando la distribución de partículas es una función decreciente

$$n(\varepsilon) = A \exp(-\varepsilon / kT)$$

donde k es la constante de Boltzmann $k=1.38 \times 10^{-23}$ joule/ °K. La constante A se determina de modo que el número total de partículas que ocupan los niveles accesibles sea N .

$$n(\varepsilon) = \frac{N \exp\left(\frac{-\varepsilon}{kT}\right)}{Z} \quad Z = \sum \exp\left(\frac{-\varepsilon}{kT}\right)$$

Esta es la función de distribución de Boltzmann, la cual permite calcular la población de los estados de diferentes energías.

Los conformeros que existen en una molécula se pueden obtener por medio de dos métodos: experimentales y teóricos.^(36 y 37)

2.6.1 Métodos experimentales.

Hay dos métodos experimentales para encontrar el conformero más abundante en una molécula, el primero es por difracción de rayos X, el cuál se aplica cuando el compuesto se encuentra en estado sólido (cristales) y el segundo es por NOESY-RMN que se realiza sobre una muestra en solución del compuesto que se desee analizar.

2.6.1.1 Difracción de rayos X.

Los rayos X son radiaciones electromagnéticas, de la misma naturaleza de la luz ordinaria, pero de longitudes de onda mucho más pequeñas que ésta. La técnica donde se hace pasar un haz de rayos X a través de un cristal de la sustancia que se está analizando, se le conoce como *difracción de rayos X* o *crystalografía de rayos X*.

La difracción de rayos X brinda información de la estructura tridimensional de muestras cristalinas como la descripción geométrica en términos de distancias y ángulos de enlace, ángulos de torsión, etc.

- **Estado cristalino.**

Los cristales, son materia ordenada. Hay siete sistemas cristalinos, uno de ellos es el *triclínico* o *anórtico*, en el que no existe relación entre los tres ejes ni entre los tres ángulos (tabla 5).

Tabla 5. Características del sistema cristalino triclínico.

| Sistema cristalino | Sistema de ejes | Simetría | Celda unitaria |
|--------------------|--|----------|----------------|
| Triclínico | $a \neq b \neq c, \quad \alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90^\circ$ | 1 | P |

El grupo más simple de simetría es el grupo 1 o no simétrico totalmente, cuando se le adiciona un centro de simetría, se forma el grupo $\bar{1}$.

El volumen de una celda unitaria corresponde al volumen ocupado por los átomos representados por los puntos de rejilla. Los vértices de la celda unitaria se les asignan las letras *a*, *b* y *c* y son llamados vectores de translación. Los ángulos entre *c/b*, *c/a* y *a/b* son referidos como α , β y γ . Cuando la celda unitaria es definida por un punto equivalente para cada ángulo, es llamada *primitiva* y se representa con la letra P (Figura 12).^(38 y 39)



Figura 12. Representación de la celda unitaria primitiva.

La siguiente estructura (Figura 13), es un ejemplo de la estructura de estavudina obtenida de un monocristal a través de difracción de rayos X.⁽⁴⁰⁾

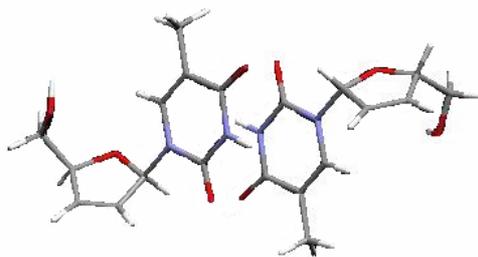


Figura 13. Estructura de stavudina en rayos X

Datos de la celda unitaria: $\lambda_{\text{Mo}} = 0.71075$

$$\begin{array}{ll} a = 5.493 \text{ \AA} & \alpha = 105.04^\circ \\ b = 9.881 \text{ \AA} & \beta = 102.34^\circ \\ c = 10.077 \text{ \AA} & \gamma = 89.61^\circ \end{array}$$

Grupo espacial $P\bar{1}$; Triclínico.

Un ejemplo más es el que se muestra en 1-(5-benziloximetil-5-etoxi-2,5-dihydrofuran-2-il)-5-metil-1H-pirimidin-2,4-dieno que es un compuesto derivado de stavudina, en donde su estructura fue obtenida por rayos X (Figura 14).

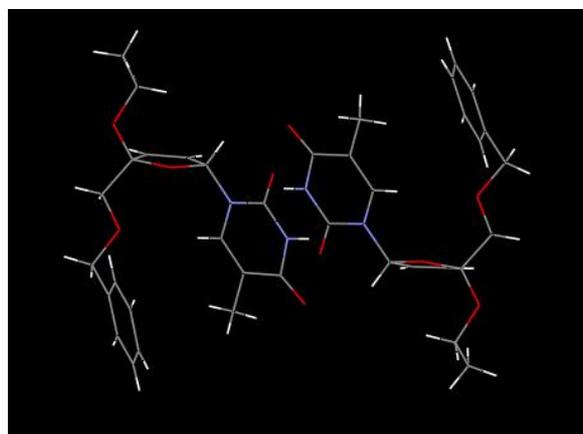


Figura 14. Estructura de un derivado de stavudina obtenido por rayos X.

Datos de la celda unitaria: $\lambda_{\text{Mo}} = 0.71075$

$$\begin{array}{ll} a = 5.9018 \text{ \AA} & \alpha = 87.863^\circ \\ b = 9.814 \text{ \AA} & \beta = 80.098^\circ \\ c = 15.715 \text{ \AA} & \gamma = 85.539^\circ \end{array}$$

Grupo espacial $P\bar{1}$; Triclínico

2.6.1.2 NOESY-RMN

Cuando un protón interactúa por acoplamiento bipolar con un protón vecino, se altera la proporción de núcleos y cambia la intensidad de absorción, sin alterarse el desplazamiento químico. El experimento NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy, espectroscopia de efecto nuclear) se utiliza para detectar pares de protones que están del mismo lado y a distancias menores de 5 Å sin importar el número de enlaces químicos que separen a los dos protones.

A la función $S(t_1, t_2)$ se le aplica una doble transformada de Fourier que al ser graficada da como resultado un espectro de NOESY. Sobre el espectro se sigue la misma técnica que en el espectro COSY; el punto donde cruzan las señales generalmente contiene información de correlación con respecto a dos núcleos que se encuentran en resonancia. La correlación indica interacción bipolar o un cambio químico entre dos sitios.⁽³⁰⁾

2.6.2 Métodos teóricos.

2.6.2.1 Mecánica molecular.

La *mecánica molecular* (MM) es un método de cálculo en el que a partir de una geometría aproximada de la molécula se puede calcular la energía total de tensión por medio de ecuaciones matemáticas. La energía generada depende de las longitudes y ángulos de enlace, de la torsión angular y de interacciones no como fuerzas de Van der Waals, interacciones electrostáticas y enlaces de hidrógeno.⁽²⁵⁾

La MM permite conocer con un corto margen de error, las geometrías y las energías mínimas, para después poder hacer un análisis conformacional que nos lleve a las conformaciones más estables de la molécula (mínimo energético).⁽⁴¹⁾

- **Spartan'04 para Windows**

Spartan'04 para Windows es un software en el que por medio de MM se puede hacer un análisis conformacional partiendo de datos experimentales, es decir, las coordenadas obtenidas para una molécula por medio de difracción de rayos X. El software comprende una serie de módulos independientes conectados bajo una interfase gráfico-usuario altamente funcional, simple y ordenada (Figura 15). Disminuye el error humano en la entrada de los datos y da una guía de interpretación de los resultados

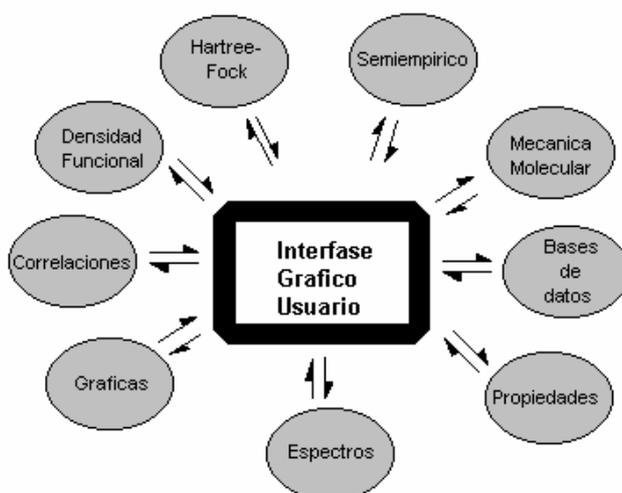


Figura 15. Representación del ambiente Spartan'04.

Incluye la interfase para la construcción de moléculas, el procedimiento para el cálculo aproximado de los estados de transición desde la base de datos, una colección de mas de 50,000 estructuras calculadas de moléculas orgánicas e inorgánicas y mas de 270,000 estructuras experimentales de rayos-X.

La interfase de Spartan nos provee de modernos métodos computacionales incluyendo modelos de mecánica molecular semi-empíricos, además de que permite mezclar modelos de mecánica cuántica y química cuántica.

Para poder hacer cálculos de mecánica molecular, Spartan'04 utiliza MMFF94, que nos permiten determinar geometrías equilibradas y el análisis conformacional incluyendo la identificación de los conformeros de menor energía.⁽⁴²⁾

2.6.2.2 Ecuación de Karplus.

La relación que existe entre el ángulo dihedral y la constante de acoplamiento a cuatro átomos (3J) se puede conocer teóricamente mediante las siguientes ecuaciones de Karplus.

$$^3J_{ab} = J^0 \cos^2 f - 0.28 \quad (0^\circ < f < 90^\circ)$$

$$^3J_{ab} = J^{180} \cos^2 f - 0.28 \quad (90^\circ < f < 180^\circ)$$

Donde:

$J^0 = 8.5$ y $J^{180} = 9.5$ son constantes que dependen de los átomos enlazados al carbón.
 f = ángulo dihedral.

El ángulo dihedral va a ser el ángulo que forman los átomos de hidrógeno unidos a carbonos (a tres enlaces) y se representa en la Figura 16.

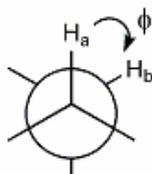


Figura 16. Representación del ángulo dihedral.

Si conocemos las constantes de acoplamiento de los átomos de hidrógeno y se sustituyen en las ecuaciones de Karplus, puedo obtener dos ángulos, uno que vaya de 0° a 90° y su complemento de 90° a 180° . La relación que existe entre los ángulos y las constantes de acoplamiento se puede observar en la gráfica siguiente (Figura 17)⁽⁴⁵⁾.

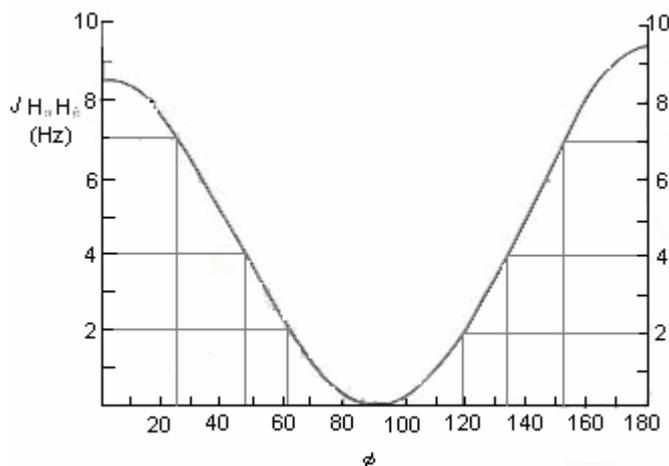


Figura 17. Gráfica entre la relación de ángulo dihedral y constante de acoplamiento según Karplus.

CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN



Al consumir una droga como la estavudina y hacer que tenga el efecto deseado sobre el organismo, ésta debe primero vencer algunas barreras biológicas, bioquímicas y físicas. Para poder permitir o mejorar la acción de la estavudina dentro del organismo, se ha creado el uso de prodrogas de estavudina.

Para iniciar la creación de una prodroga, es necesario proponer una ruta de síntesis, identificar y caracterizar los compuestos obtenidos, además de identificar el conformero que se tiene en mayor proporción en la molécula. Estos son algunos de muchos estudios que se le deben de hacer a la molécula antes de aceptarla como una prodroga.

En el presente trabajo, se pretende iniciar la creación de una prodroga de estavudina que contenga el grupo funcional carbamato, se decidió emplear el grupo funcional carbamato, debido a que es muy lábil y que al ser reconocido por las enzimas del organismo, se rompe fácilmente su enlace, haciendo que, una vez dentro del sitio de acción se active la droga. Se identifica a los compuestos y se les hace un estudio conformacional de la molécula, lo que nos permite conocer en detalle el modo de interacción de la molécula.

CAPÍTULO 4. OBJETIVOS



1. Sintetizar algunos compuestos derivados de estavudina que presenten el grupo funcional carbamato.
2. Identificar y caracterizar cada uno de los compuestos por medio de espectroscopia de infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear protónica (RMN ^1H) y resonancia magnética nuclear de carbono 13 (RMN ^{13}C).
3. Por medio de un análisis experimental de los compuestos derivados de estavudina en solución, encontrar que conformeros se encuentran en mayor proporción.
4. Encontrar los posibles conformeros más estables de los derivados haciendo un estudio conformacional a través de mecánica molecular (MMF) y compararlos con los que fueron obtenidos experimentalmente.

CAPÍTULO 5. ANÁLISIS RETROSINTÉTICO



Esquema retrosintético

Si hacemos una disconexión de los compuestos derivados de estavudina que contienen al grupo funcional carbamato, vemos que se plantean solo tres de muchas rutas posibles para poder sintetizarlos. En la Figura 18 se muestra el esquema general de la retrosíntesis.

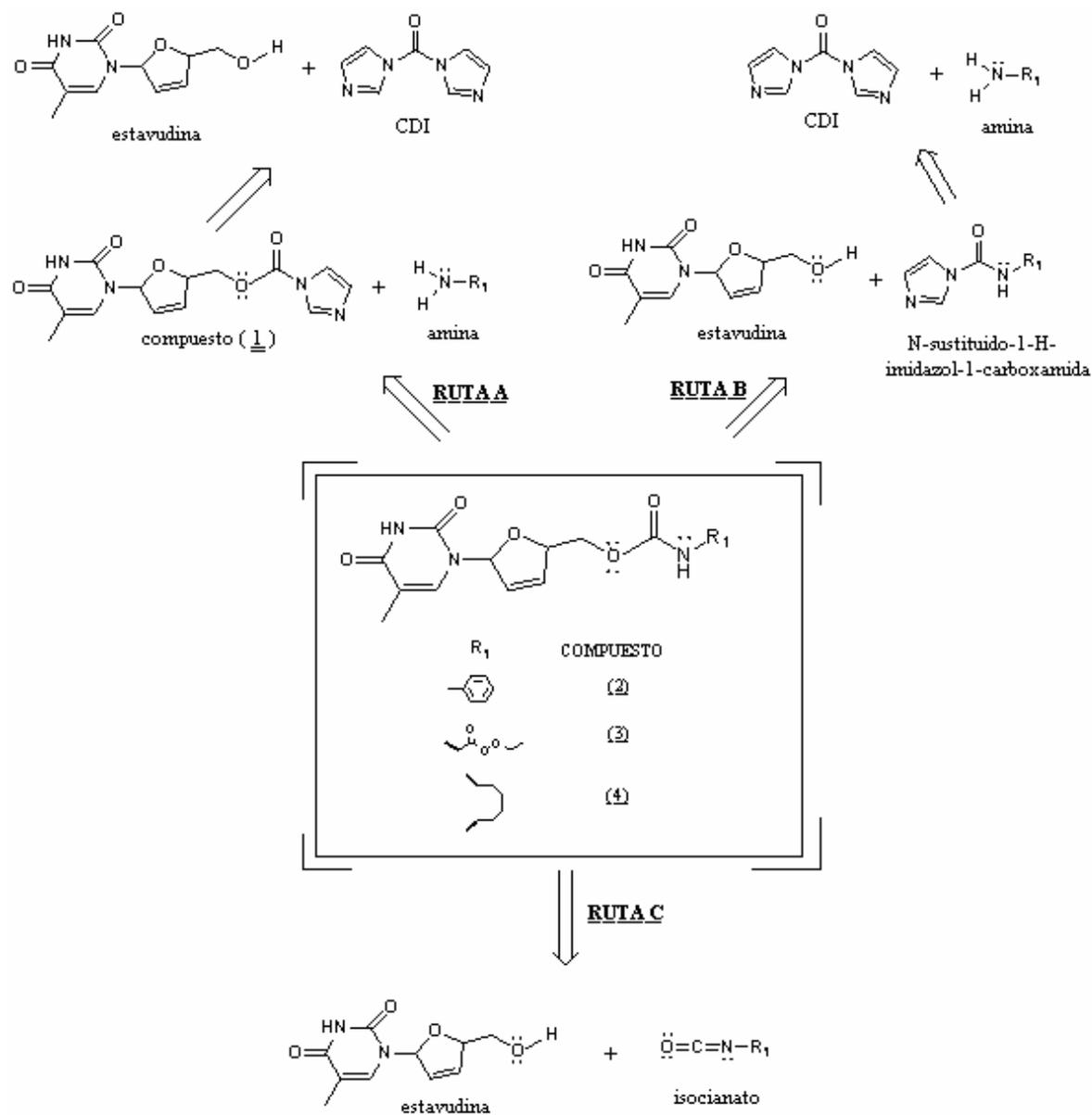


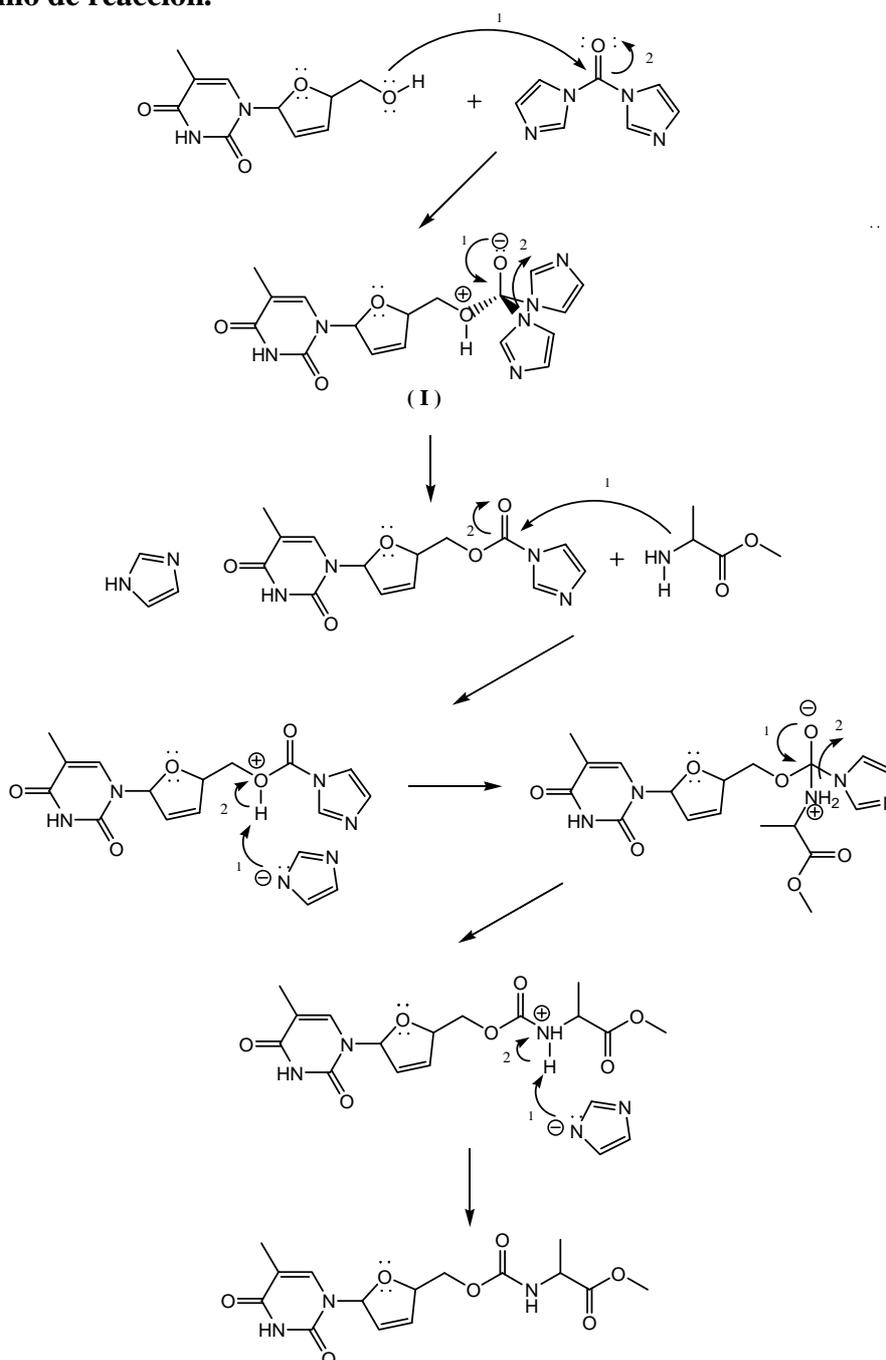
Figura 18. Esquema retrosintético.

Ruta A.

Síntesis.

El centro nucleófilo de estavudina (hidroxilo), ataca al centro electrofílico (carbonilo) de la urea (CDI) liberando imidazol. Posteriormente frente a un éster de aminoácido, la amina (nucleófilo) ataca al carbonilo formado entre el imidazol y la estavudina resultando un intermediario tetraédrico (**I**) para generar el carbamato derivado de estavudina correspondiente.

Mecanismo de reacción.

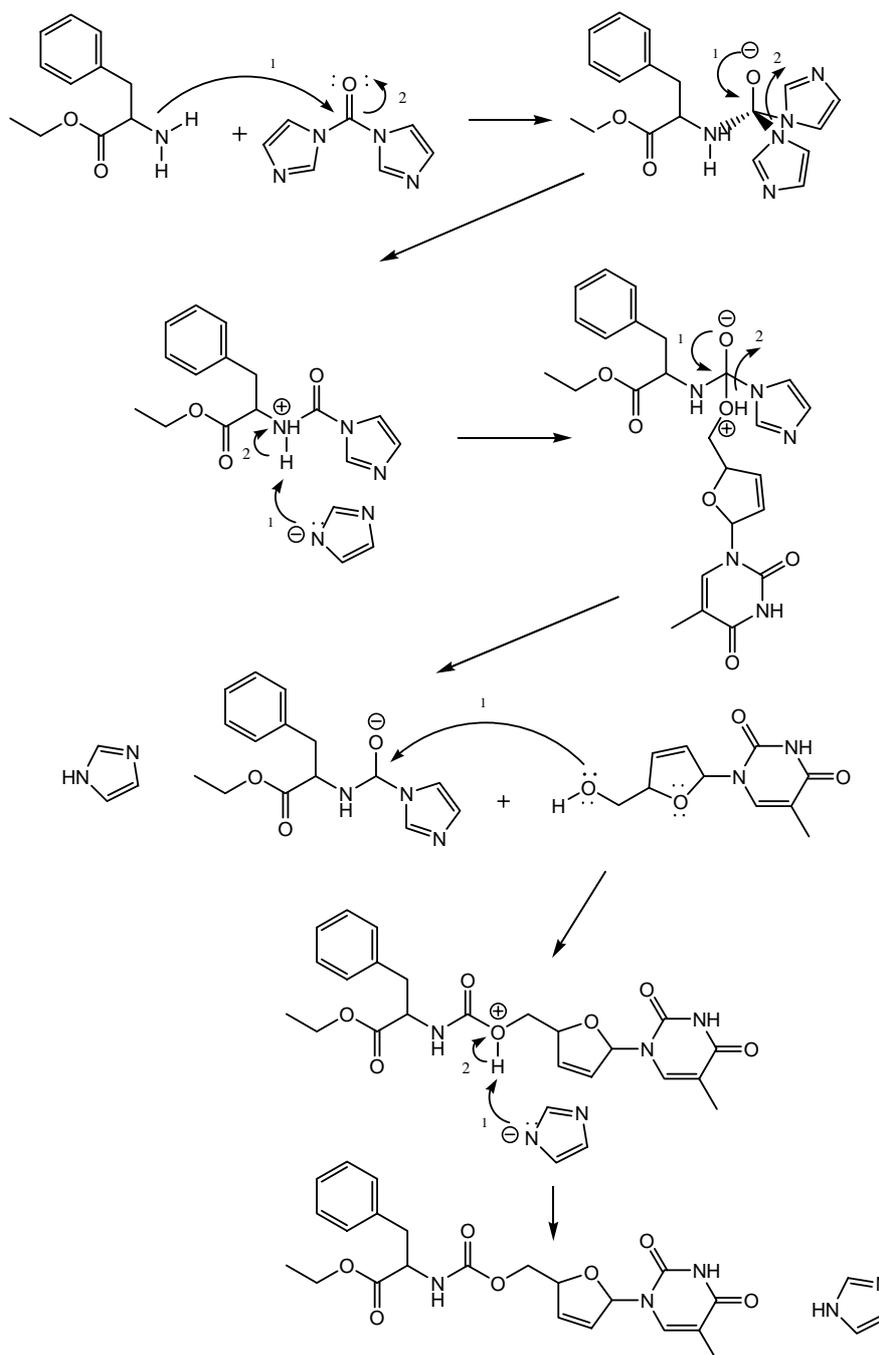


Ruta B.

Síntesis.

La amina del éster de aminoácido ataca al carbonilo de la urea (CDI). Se adiciona un equivalente de estavudina, en donde el hidroxilo, va a atacar al carbonilo formando el intermediario tetraédrico (I) para después generar el carbamato derivado de estavudina.

Mecanismo de reacción.

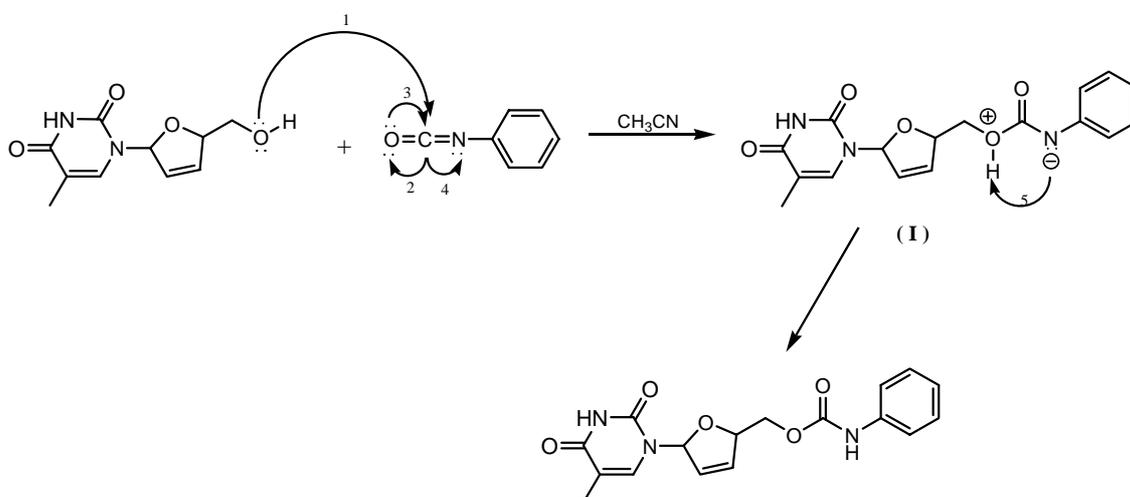


Ruta C.

Síntesis.

Se adiciona un equivalente de estavudina donde el hidroxilo va a atacar el carbonilo de un derivado de isocianato (ej. fenil isocianato), formando el intermediario (I) que posteriormente va a formar el carbamato derivado de estavudina correspondiente.

Mecanismo de reacción.



CAPÍTULO 6. METODOLOGÍA



Inicialmente se caracterizó e identifico a la estavudina. Se tomó punto de fusión, solubilidad, rf, espectroscopia de infrarrojo (IR), rotación óptica (RO) y espectroscopia ultravioleta (UV), resonancia magnética nuclear (RMN ^1H) y de carbono 13 (RMN ^{13}C).

Ya caracterizada e identificada la estavudina, se comenzó a sintetizar los compuestos derivados de ésta.

Se tomó una reacción modelo (entre 1-propanol, CDI y fenilalanina) para sintetizar estavudina y CDI con un aminoácido (fenilalanina) y un amino alcohol (2-aminoetanol); ambas reacciones fueron seguidas con cromatografía de capa fina (c. c. f.) y antes de adicionar la estavudina a la reacción, se tomó una alícuota, la cual se analizó con IR y RMN ^1H y RMN ^{13}C , después la reacción se siguió por c.c.f. durante 20 días, como no se observó cambios, la reacción se concentró a vacío hasta obtener un sólido al que se le practicaron los experimentos de IR, RMN ^1H y ^{13}C .

Siguiendo la ruta C, se hizo reaccionar la estavudina con un isocianato (fenil isocianato, etil acetato isocianato y 1,6-diisocianato hexano). Es importante que durante la reacción no haya humedad, ya que los productos se descomponen fácilmente, por ello se utilizó atmósfera inerte. Se siguió la reacción por c.c.f., tomando una alícuota de la reacción y comparando con la materia prima estavudina cada 30 minutos, hasta observar la desaparición de la materia prima y la formación de un sólido blanco. El producto de reacción se purificó por c. c. f. y se le tomó p.f.. Cuando el producto y sus subproductos fueron separados, a cada uno de ellos se les tomó p.f., solubilidad, r.f. y se les realizó IR, RMN ^1H y ^{13}C .

Al ser identificados nuestros compuestos **(1)**, **(2)**, **(3)** y **(4)**, cuando se encuentran en solución, se les realizaron los experimentos de RMN DEPT, COSY y NOESY para conocer la interacción de los átomos de la molécula e identificar al conformero que se encuentra en mayor proporción cuando el derivado de estavudina se encuentra en solución.

Se realizó un estudio de mecánica molecular usando el software Spartan'04 para Windows sobre datos de rayos X de la molécula de estavudina⁽⁴⁰⁾, tomando estos datos como base, se hizo el modelo de las moléculas tanto de la *estavudina* como el de los compuestos **(2)**, **(3)** y **(4)**, obteniendo así las posibles conformaciones más estables con su energía y distribución de Boltzmann correspondientes. Se trazó la gráfica de energía contra conformero (para identificar a los conformeros más estables y el más inestable) y distribución de Boltzmann contra conformero para identificar los conformeros más estables y abundantes, y el que es el más inestable y el menos abundante en cada compuesto.

Ya identificados los conformeros más y menos estables y los más y menos abundantes de estavudina y de los compuestos **(2)**, **(3)** y **(4)**, se alinearon (por la parte de molécula de la estavudina) a los conformeros, determinando a cada molécula su energía y su porcentaje de distribución

Se determinó las constantes de acoplamiento a tres enlaces haciendo uso de las ecuaciones de Karplus, se calcularon los ángulos dihedros partiendo de las constantes de acoplamiento del sistema ABX que forman la *estavudina* y los compuestos **(2)**, **(3)** y **(4)** obtenidos de los espectros de resonancia magnética.

Una vez calculados los ángulos, éstos se compararon con los ángulos de los confórmeros alineados (del estudio conformacional) para obtener al confórmero de cada compuesto correspondiente a esos ángulos.

Los confórmeros más abundantes obtenidos experimentalmente y teóricamente, fueron confrontados alineando los confórmeros y observando la diferencia de energías existente entre ellos.

CAPÍTULO 7. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS



Antes de iniciar la síntesis de los compuestos derivados de la estavudina, fue necesario identificarla y caracterizarla; se determinó solubilidad, punto de fusión y r.f.; éste último fue utilizado como referencia para poder seguir la síntesis los nuevos compuestos por medio de cromatografía de capa fina. Además, a la estavudina se le hicieron algunos experimento adicionales: rotación óptica (RO) y espectroscopia ultravioleta (UV) que se reportan en la tabla 4.

Tabla 4. Tabla de resultados adicionales para la estavudina.

| | ESTAVUDINA |
|------------------------|--|
| Estado físico | Sólido blanco. |
| Punto de fusión | 155-156°C |
| Solubilidad | CH ₃ CN y MeOH |
| r.f. | 0.2 |
| RO | $[\alpha]^{25} = -34.6$ (H ₂ O) |
| UV | $\lambda = 266$ y 234.5 |

Para sintetizar los compuestos derivados de estavudina, se siguió la ruta A, en la que se hace reaccionar a la estavudina con carbonil diimidazol y un éster de aminoácido en acetonitrilo, manteniendo la reacción a reflujo y atmósfera inerte por 24 hr. El intermediario (2,5-dihidro-5-(3,4-dihidro-5-metil-2,4-dioxopirimidín-1(2H)-il) furan-2-il) metil 1H-imidazol-1-carboxilato (**1**) con r.f.=0.24 y p.f.=70-72°C (Figura 19) se pudo identificar por medio de IR, RMN ¹H y RMN ¹³C (tabla 5).

Después, a la reacción se le adicionó fenilalanina y se siguió el curso de la reacción por c. c. f. no observándose cambio alguno en la reacción por 20 días. El compuesto final no se logró obtener debido al impedimento estérico de la molécula del aminoácido.

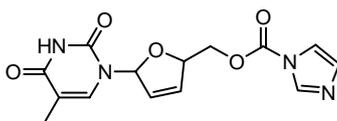


Figura 19. Estructura del compuesto (**1**).

Las señales de IR de la estavudina se tomaron como referencia para asignar las señales del compuesto (**1**). Se observa la señal del NH de timina en longitudes de onda de 3123.20 cm⁻¹ y 3101.43 cm⁻¹, la señal de los carbonilos de la estavudina en 1675.33 cm⁻¹, la banda que demuestra la formación del carbamato que es la del carbonilo del carbamato en 1542.43 cm⁻¹; se comprueba la desaparición del alcohol ya que la señal que corresponde a este grupo funcional no aparece en el espectro de IR.

Tabla 5. Tabla comparativa de señales de infrarrojo obtenidas por la técnica de pastilla KBr (apéndice espectros 1 y 8)

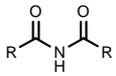
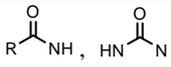
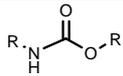
| Grupo Funcional | Estavudina | Compuesto (1) |
|--|--------------------------|--|
|  NH de timina | 3168.59 cm ⁻¹ | 3123.20 cm ⁻¹ 3101.43 cm ⁻¹ |
|  carbonilos de la estavudina | 1690.30 cm ⁻¹ | 1675.33 cm ⁻¹ |
|  carbonilo del carbamato | ----- | 1542.43 cm ⁻¹ |
| R-OH alcohol | 3425.56 cm ⁻¹ | ----- |

Tabla 6. Tabla comparativa entre las señales de RMN ¹³C y RMN ¹H (apéndice espectros 2, 3, 9 y 10).

| SEÑAL | RMN ¹³ C | | SEÑAL | RMN ¹ H | |
|-----------------|---------------------|---------------|------------------|--------------------|---------------|
| | Estavudina | Compuesto (1) | | Estavudina | Compuesto (1) |
| | δ (ppm) | | | δ (ppm) | |
| CH ₃ | 12.15 | 11.97 | H-met | 1.71, 3H | 1.83, 3H |
| C ₁ | 150.80 | 150.88 | H- ₁ | ----- | ----- |
| C ₂ | 163.87 | 164.16 | H- ₂ | ----- | ----- |
| C ₃ | 108.98 | 109.80 | H- ₃ | ----- | ----- |
| C ₄ | 136.77 | 136.36 | H- ₄ | 7.63, 1H | 7.49, 1H |
| C _{1'} | 88.88 | 89.00 | H- _{1'} | 6.81, 1H | 7.00, 1H |
| C _{2'} | 134.94 | 134.29 | H- _{2'} | 6.38, 1H | 6.35, 1H |
| C _{3'} | 125.97 | 125.73 | H- _{3'} | 5.90, 1H | 5.87, 1H |
| C _{4'} | 87.29 | 87.05 | H- _{4'} | 4.76, 1H | 4.89, 1H |
| C _{5'} | 62.26 | 62.35 | H- _{5'} | 3.60, 2H | 4.26, 2H |
| C _{6'} | ----- | 155.88 | H- _{6'} | ----- | ----- |
| C _{7'} | ----- | 136.36 | H- _{7'} | ----- | 7.67, 1H |
| C _{8'} | ----- | 134.77 | H- _{8'} | ----- | 7.67, 1H |
| C _{9'} | ----- | 121.32 | H- _{9'} | ----- | 7.67, 1H |

La ruta B, en donde a un éster de aminoácido se le adiciona carbonil diimidazol y estavudina en acetonitrilo, manteniendo atmósfera inerte y reflujo no se probó, ya que si en la ruta A no se logró obtener el producto después de la adición de fenilalanina,

en la ruta B, sería más difícil adicionar estavudina al intermediario formado entre el aminoácido y el carbonil diimidazol, debido a que la estavudina es menos nucleofílica y con mayor volumen en comparación a el éster de aminoácido.

En la ruta C, se adicionó a un equivalente de estavudina un equivalente de fenil isocianato en acetonitrilo, manteniendo la reacción con agitación constante, a temperatura ambiente y atmósfera inerte durante 2 hr. Se siguió este mismo procedimiento cuando se utilizó etiléster isocianato.

Para el 1,6- diisocianato hexano se requirió temperatura de 50 °C durante una semana. El crudo de la reacción se purificó por cromatografía en capa.

De la primera reacción con fenil-isocianato se obtuvo el *fenil ácido carbámico 5-(5-metil-2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-il)-2,5-dihidrofuran-2-ilmetil éster (2)*, que es un sólido blanco con un rendimiento del 22.53 %, soluble en DMSO/CH₂Cl₂, r.f. = 0.55 y descompone a 150 °C.

De la segunda reacción, se obtuvo *[5-(5-metil-2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-il)-2,5-dihidro-furan-2-ilme-toxicarbonil amino]-ácido acético etil éster (3)*, un sólido blanco, con un rendimiento del 23.25 %, soluble en MeOH, r.f. = 0.5 y p.f.= 158-160 °C.

Y de la reacción con el 1,6-diisocianato hexano se obtuvo el compuesto *{6-[5-(5-metil-2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-il)-2,5-dihidro-furan-2-il metoxicarbonil amino]-hexil}-ácido carbámico – (5metil-2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-il)-2,5-dihidrofuran-2-ilmetil éster (4)*, con un rendimiento del 26%, sólido blanco soluble en DMSO, r.f.= 0.065 y p.f.=190-194°C.

Las estructuras para cada uno de los compuestos se presentan en la Figura 20.

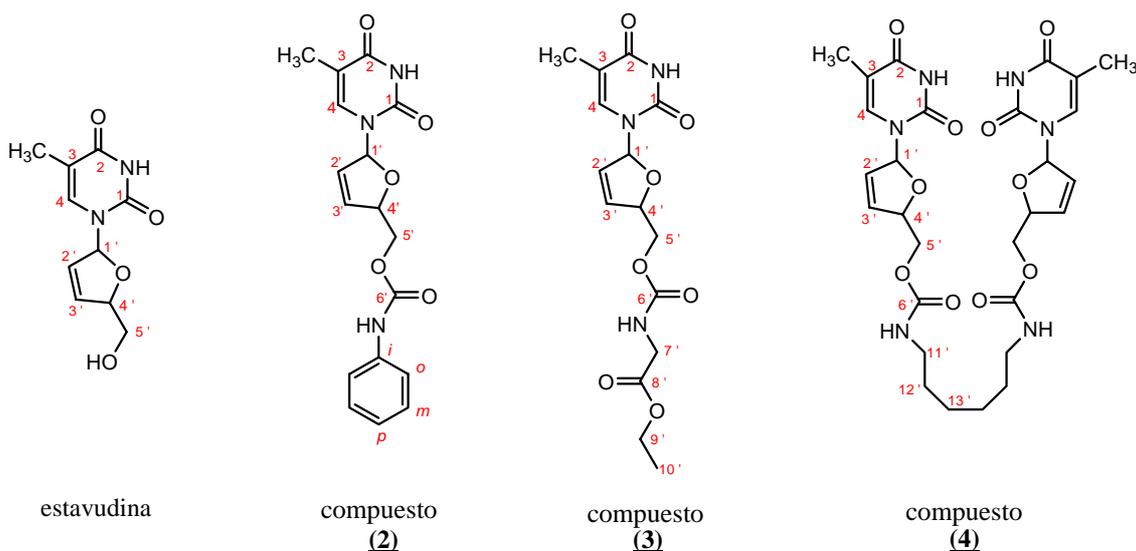


Figura 20. Asignación numérica para cada uno de los carbonos sobre las moléculas tanto de la materia prima estavudina, como de los tres compuestos derivados de estavudina.

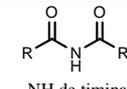
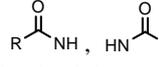
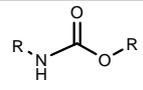
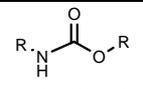
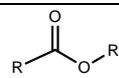
Las señales de estavudina, obtenidas de espectroscopía de infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear protónica (RMN ^1H) y resonancia magnética nuclear de carbono 13 (RMN ^{13}C) se comparan con la de los compuestos **(2)**, **(3)** y **(4)** en las tablas 7, 8 y 9 respectivamente.

Los espectros de infrarrojo se realizaron con la técnica de pastilla KBr. En la tabla 7 se encuentran las señales representativas para cada grupo funcional y que indican la formación del grupo funcional carbamato. Se observa la señal de *NH de timina* (C_1 y C_2) en 3168.59cm^{-1} para estavudina, dentro de una banda ancha en 3366.22cm^{-1} para el compuesto **(2)**, 3101.18cm^{-1} para el compuesto **(3)** y para el compuesto **(4)** en 3182.35cm^{-1} . Se observan las señales de los carbonilos de la estavudina, que se presenta para ésta en 1690.30cm^{-1} y para los compuestos **(2)**, **(3)** y **(4)** en 1712.67cm^{-1} , 1757.41cm^{-1} y 1695cm^{-1} respectivamente.

Las señales que identifican al *NH del carbamato* en 3366.22cm^{-1} , 3329.80cm^{-1} y 3366.80cm^{-1} para los compuestos **(2)**, **(3)** y **(4)** respectivamente. Cada uno de los compuestos sintetizados presentan el desplazamiento correspondiente al *carbonilo del carbamato* (C_6). En el compuesto **(2)**, el desplazamiento es a 1712.67cm^{-1} y 1529.62cm^{-1} , en 1757.41cm^{-1} y 1540.03cm^{-1} para el compuesto **(3)** y en 1695cm^{-1} y 1535.54cm^{-1} para el compuesto **(4)**

Además de las señales antes mencionadas, para la estavudina, como para cada uno de sus derivados, presentan señales características de acuerdo a sus sustituyentes. La señal característica en la estavudina es la de alcohol en 3425.56cm^{-1} . En el compuesto **(2)**, se muestran cuatro bandas en 1600.19cm^{-1} , 1529.62cm^{-1} , 1466.00cm^{-1} y 1443.50cm^{-1} para el *anillo aromático* ⁽³⁴⁾ y dos bandas mas en 761.36cm^{-1} y 741.40cm^{-1} . El compuesto **(3)**, presenta bandas en 1757.41cm^{-1} , 1301.10cm^{-1} y 1247.38cm^{-1} correspondientes al *carbonilo del éster* (C_8) y en el compuesto **(4)**, se observan señales en 2931.96cm^{-1} y 2823.83cm^{-1} para la *cadena alquílica*.

Tabla 7. Tabla comparativa de señales de infrarrojo obtenidas por la técnica de pastilla KBr (apéndice espectros 1, 12, 19 y 26)

| GRUPO FUNCIONAL | MATERIA PRIMA | PRODUCTOS | | |
|--|--------------------------|--|--|--|
| | Estavudina | (2) | (3) | (4) |
|  NH de timina | 3168.59 cm ⁻¹ | Banda ancha de 3366.22 cm ⁻¹ | 3101.18 cm ⁻¹ | 3182.35 cm ⁻¹ |
|  carbonilos de la estavudina | 1690.30 cm ⁻¹ | 1712.67 cm ⁻¹ | 1757.41 cm ⁻¹ | 1695 cm ⁻¹ |
|  NH del carbamato | ----- | 3366.22 cm ⁻¹ | 3329.80 cm ⁻¹ | 3366.80 cm ⁻¹ |
|  carbonilo del carbamato | ----- | 1712.67 cm ⁻¹ 1529.62 cm ⁻¹ | 1757.41 cm ⁻¹ 1540.03 cm ⁻¹ | 1695 cm ⁻¹ 1535.54 cm ⁻¹ |
|  alcohol | 3425.56 cm ⁻¹ | ----- | ----- | ----- |
|  anillo aromático | ----- | 1600.19 cm ⁻¹ 1529.62 cm ⁻¹ 1466.00 cm ⁻¹ 1443.50 cm ⁻¹ 761.36 cm ⁻¹ 741.40 cm ⁻¹ | ----- | ----- |
|  carbonilo del ester | ----- | ----- | 1757.41 cm ⁻¹ 1301.10 cm ⁻¹ 1247.38 cm ⁻¹ | ----- |
|  cadena alquílica | ----- | ----- | ----- | 2931.96 cm ⁻¹ 2823.83 cm ⁻¹ |

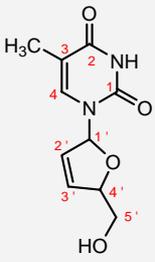
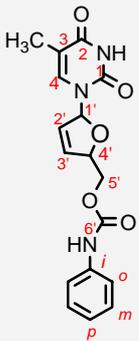
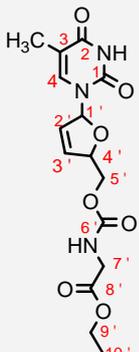
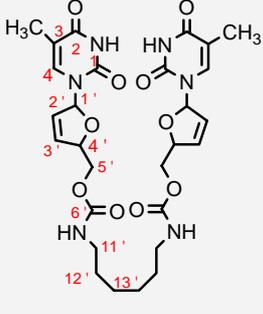
Los resultados obtenidos del experimento de RMN ¹³C, están reportados en la tabla 8. Las señales del CH₃ y de C₁ hasta C₅, son las que tienen en común cada uno de los compuestos con la materia prima estavudina, por lo que las señales presentan un desplazamiento semejante.

Cada uno de los compuestos sintetizados presentan la señal del *carbonilo del carbamato* C₆, y es la que indica la formación de carbamatos, esta señal es la correspondiente al *carbonilo del carbamato* y tiene un desplazamiento de 152.99 ppm para el compuesto (2), 156.32 ppm para el compuesto (3) y 155.98 ppm para el compuesto (4). Cada compuesto presenta señales características y únicas.

Las señales características para el anillo aromático del compuesto (2), son las correspondientes al carbono ipso (C_{ipso}) a 138.17 ppm, carbono orto (C_{orto}) a 118.18 ppm, carbono meta (C_{meta}) a 128.29 ppm y la del carbono para (C_{para}) a 122.43 ppm. El acetato de etilo del compuesto (3) se identifica con las señales del CH₂ (C₇) a 42.21 ppm, el carbonilo (C₈) a 170.03 ppm, el CH₂ (C₉) a 60.46 ppm y el CH₃ (C₁₀) a 14.06 ppm. El compuesto (4) también presenta sus señales características de la cadena alquílica

que se presentan sobre los carbonos $C_{11'}$, $C_{12'}$ y $C_{13'}$ correspondientes a 40.30 ppm, 29.33 ppm y 25.97 ppm respectivamente, aunque las señales pertenecen a carbonos CH_2 , los desplazamientos son diferentes dada su posición con respecto al heteroátomo NH, debido a que la electronegatividad disminuye.

Tabla 8. Tabla comparativa para las señales de RMN C^{13} (apéndice espectros 3, 14, 21 y 28).

| SEÑAL |  |  |  |  |
|----------------|---|---|--|---|
| | Estavudina | (<u>2</u>) | (<u>3</u>) | (<u>4</u>) |
| δ (ppm) | | | | |
| CH_3 | 12.15 | 11.93 | 11.98 | 12.05 |
| C_1 | 150.80 | 150.76 | 150.82 | 150.86 |
| C_2 | 163.87 | 163.88 | 163.88 | 163.92 |
| C_3 | 108.98 | 110.60 | 110.00 | 109.91 |
| C_4 | 136.77 | 134.85 | 135.856 | 135.94 |
| $C_{1'}$ | 88.88 | 89.09 | 89.14 | 89.15 |
| $C_{2'}$ | 134.94 | 133.26 | 133.77 | 133.98 |
| $C_{3'}$ | 125.97 | 126.31 | 126.45 | 126.36 |
| $C_{4'}$ | 87.29 | 83.95 | 84.10 | 84.28 |
| $C_{5'}$ | 62.26 | 64.71 | 65.11 | 64.65 |
| $C_{6'}$ | --- | 153.00 | 156.33 | 155.98 |
| <i>i</i> | --- | 138.17 | --- | --- |
| <i>o</i> | --- | 118.19 | --- | --- |
| <i>m</i> | --- | 128.29 | --- | --- |
| <i>p</i> | --- | 122.44 | --- | --- |
| $C_{7'}$ | --- | --- | 42.21 | --- |
| $C_{8'}$ | --- | --- | 170.03 | --- |
| $C_{9'}$ | --- | --- | 60.46 | --- |
| $C_{10'}$ | --- | --- | 14.06 | --- |
| $C_{11'}$ | --- | --- | --- | 40.30 |
| $C_{12'}$ | --- | --- | --- | 29.33 |
| $C_{13'}$ | --- | --- | --- | 25.98 |

Con la RMN 1H , identificamos a cada uno de los protones de nuestra molécula, en donde los protones de CH_3 y los protones correspondientes a C_1 hasta C_5 , presentan desplazamiento similares tanto en la materia prima como en cada uno de los compuestos.

Cada espectro de los compuestos muestra señales diferentes, correspondientes al sustituyente particular de cada compuesto. Las señales características para el fenilo del compuesto (**2**) son la de los protones correspondientes al carbono *orto*, *meta* y *para* en 7.46 ppm, 7.25 ppm y 7.02 ppm respectivamente, los desplazamientos son semejantes debido a que a los carbonos a los que están unidos los protones, pertenecen a un mismo tipo (aromáticos). En el etil éster del compuesto (**3**), las señales son las de los protones unidos al metileno ($C_{7'}$) en 1.16 ppm, los protones unidos al siguiente metileno ($C_{9'}$) en 3.70 ppm y los protones unidos a CH_3 ($C_{10'}$) en 4.07 ppm. Las señales que caracterizan al compuesto (**4**), son las de los protones de la cadena alquílica que corresponden a los protones unidos al carbono $C_{11'}$, el cual presenta una señal múltiple que se centra en 2.9 ppm, los protones unidos a $C_{12'}$ en 1.33 ppm y los protones unidos al carbono $C_{13'}$ en 1.19 ppm. Ver tabla 9.

Tabla 9. Tabla comparativa de señales de H^1 (apéndice espectros 2, 13, 20 y 27)

| SEÑAL | | | | |
|----------------|------------|--------------|--------------|--------------|
| | Estavudina | (2) | (3) | (4) |
| δ (ppm) | | | | |
| H-met | 1.71, 3H | 1.80, 3H | 1.75, 3H | 1.75, 3H |
| H-4 | 7.63, 1H | 7.17, 1H | 7.23, 1H | 7.2, 1H |
| H-1' | 6.81, 1H | 7, 1H | 6.80, 1H | 6.79, 1H |
| H-2' | 6.38, 1H | 6.44, 1H | 6.39, 1H | 6.40, 1H |
| H-3' | 5.90, 1H | 5.9, 1H | 5.98, 1H | 5.96, 1H |
| H-4' | 4.76, 1H | 5, 1H | 4.91, 1H | 4.89, 1H |
| H-5A' | 3.58, 1H | 4.45, 1H | 4.27, 1H | 4.20, 1H |
| H-5B' | 3.36, 1H | 4.25, 1H | 4.23, 1H | 3.90, 1H |
| H-o | --- | 7.46, 1H | --- | --- |
| H-m | --- | 7.26, 1H | --- | --- |
| H-p | --- | 7.03, 1H | --- | --- |
| H-7' | --- | --- | 1.16, 2H | --- |
| H-9' | --- | --- | 3.71, 2H | --- |
| H-10' | --- | --- | 4.07, 3H | --- |
| H-11' | --- | --- | --- | 2.9, 2H |
| H-12' | --- | --- | --- | 1.33, 2H |
| H-13' | --- | --- | --- | 1.20, 2H |
| H-OH | 5.0016 | --- | --- | --- |
| H-NH | 11.27 | 10.89 | 7.64 | 7.82 |

De acuerdo a RMN ^1H , se encontró que los protones unidos al átomo de carbón 5 (C_5), son protones no equivalentes, presentando un sistema ABX en relación al protón unido a C_4 (Figura 21).

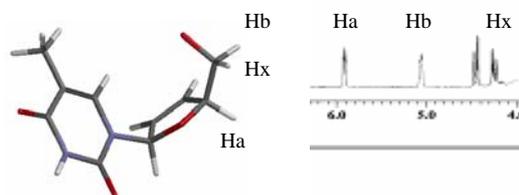


Figura 21. Representación de la asignación del sistema ABX sobre la molécula y sobre las señales del espectro de RMN ^1H .

Tanto para la Estavudina como para los compuestos **(2)**, **(3)** y **(4)**, se realizaron los experimentos de RMN ^1H , donde se obtuvieron las señales correspondientes a cada protón, se determinó las 3J del sistema ABX para los protones $\text{H-C}_4\text{-C}_5\text{-H}_\text{A}$ y $\text{H-C}_4\text{-C}_5\text{-H}_\text{B}$ correspondientes al sistema ABX se reportan en la tabla 10.

Tabla 10. Tabla con las constantes de acoplamiento y desplazamientos del sistema ABX. (apéndice espectros 2, 13, 20 y 27)

| Compuesto | Átomos | δ (ppm) | 3J (Hz) |
|------------|---|----------------|------------|
| Estavudina | $\text{H-C}_4\text{-C}_5\text{-H}_\text{A}$ | 3.58 | 3.8 |
| | $\text{H-C}_4\text{-C}_5\text{-H}_\text{B}$ | 3.36 | 3.51 |
| (2) | $\text{H-C}_4\text{-C}_5\text{-H}_\text{A}$ | 4.45 | 3.2-2.94 |
| | $\text{H-C}_4\text{-C}_5\text{-H}_\text{B}$ | 4.25 | 4.98-4.9 |
| (3) | $\text{H-C}_4\text{-C}_5\text{-H}_\text{A}$ | 2.27 | 2.94 |
| | $\text{H-C}_4\text{-C}_5\text{-H}_\text{B}$ | 2.23 | 2.64 |
| (4) | $\text{H-C}_4\text{-C}_5\text{-H}_\text{A}$ | 4.2 | 2.64 |
| | $\text{H-C}_4\text{-C}_5\text{-H}_\text{B}$ | 3.9 | 5.01-4.68 |

Como se ha visto, con el experimento COSY podemos ver la conectividad o acoplamiento que existe entre los protones hasta tres enlaces (3J). En las Figuras 22, 23, 24 y 25, se interpretan los resultados obtenidos de los espectros de RMN bidimensional COSY.

La molécula de estavudina muestra un acoplamiento 3J entre los protones del CH_3 con el protón de C_1 , el dihidrofurano presenta un acoplamiento 3J entre el protón de C_1 con el de C_2 ; el protón de C_2 con el protón de C_3 , el protón de C_3 con el de C_4 y el protón de C_4 con los protones de C_5 , además de las conectividades antes mencionadas, hay una más, que tiene un acoplamiento 5J entre el protón de C_1 con el de C_4 (Figura 22), esta es una excepción entre los espectros de COSY, algunos valores se encuentran para pares de electrones homoalílicos en heterociclos de cinco miembros acoplándose a 5J a través de cuatro enlaces simples y un doble enlace como en el dihidrofurano.⁽³⁴⁾

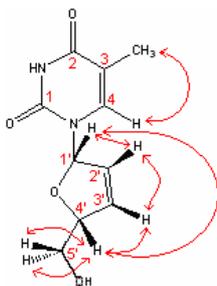


Figura 22. Interpretación del espectro de COSY para la materia prima estavudina (apéndice espectro no.6).

Al interpretar el espectro de COSY del compuesto (**2**), se observa que tiene la misma conectividad en la parte de la molécula que es semejante a la estavudina, sin embargo, presenta nuevos acoplamiento 3J en la parte del sustituyente que es el anillo aromático, estos acoplamiento son entre el protón de C_{orto} con el protón C_{meta} , y el protón de C_{meta} con el protón de C_{para} . (Figura 23).

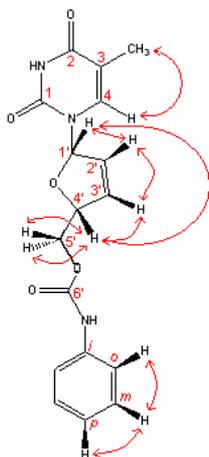


Figura 23. Interpretación del espectro de COSY para el compuesto (**2**) (apéndice espectro no.17).

La interpretación el espectro de COSY del compuesto (**3**) (Figura 24), muestra los acoplamiento 3J en el sustituyente derivado de glicina, los cuales son entre el protón de NH con un protón de $C_{7'}$ y entre un protón de $C_{9'}$ con un protón de $C_{10'}$, además de observar los acoplamiento de la estavudina. Aunque en el espectro COSY existen unas señales que aparentemente indicarían que hay correlación entre los protones de $C_{9'}$ con los protones de $C_{4'}$ y $C_{5'}$, estas quedan descartadas, debido a que las constantes de acoplamiento entre esos carbonos son diferentes, ya que cuando existe alguna correlación, las constantes de acoplamiento deben de ser iguales o muy similares.

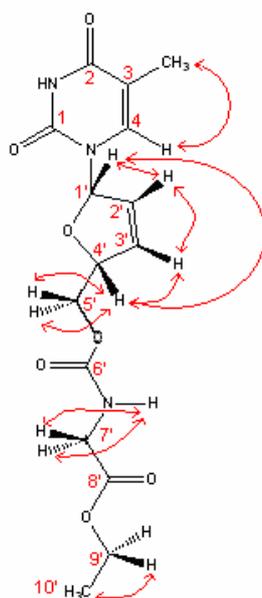


Figura 24. Interpretación del espectro de COSY para el compuesto (**3**) (apéndice espectro no.24).

La interpretación del espectro de COSY para el compuesto (**4**) al igual que en los anteriores, muestra los mismas conectividades en la parte de la molécula similar a la estavudina, las nuevas conectividades se localizan sobre la parte del sustituyente (cadena alquílica) las cuales son entre un protón de $C_{11'}$ con un protón de $C_{12'}$ y entre un protón de $C_{12'}$ con un protón de $C_{13'}$. Aunque en la Figura 25 sólo se representa la mitad de la molécula, las conectividades de la otra mitad son las mismas, pues son simétricas entre ellas.

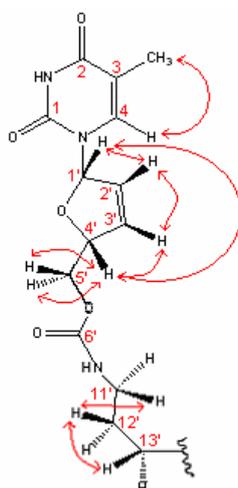


Figura 25. Interpretación del espectro de COSY para el compuesto (**3**) (apéndice espectro no.31).

En los resultados de los experimentos NOESY, se puede decir cual es la conformación en mayor proporción que se tiene de los productos derivados de estavudina ((**2**), (**3**) y (**4**)) en solución, ya que en este experimento sólo se correlacionan los átomos de hidrógeno que se encuentran a una distancia máxima de 5Å y que se encuentran del mismo lado.

En la Figura 26 se observa la interpretación del espectro NOESY de estavudina. Hay una interacción entre el protón de C_4 con un protón de CH_3 y con el protón de C_3' . El protón de C_3' interacciona con el protón de C_4 , con el protón de C_1' y con el protón de C_2' . El protón de C_2' interacciona con el protón de C_3' y con el protón de C_4' . El protón de C_4' interacciona con los protones de C_5' . De acuerdo a las interacciones que existen, de donde se puede decir que los protones de la molécula tienden a estar en un mismo lado.

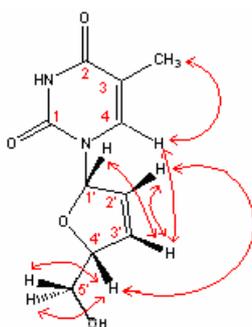


Figura 26. Interpretación de los resultados de NOESY para estavudina (apéndice espectro no.7).

En la Figura 27 se interpretan los resultados obtenidos del espectro de NOESY para el compuesto (**2**), tomando como referencia la interpretación de la molécula de estavudina en la Figura 26, la interacción entre los protones del compuesto (**2**) es muy similar, pero ahora se observan otras interacciones entre el protón de C_4 con el protón de C_1' . En la parte del anillo aromático, existen interacciones entre el protón del nitrógeno con el protón del carbono orto C_o , el protón del *carbono orto* C_o con el protón del carbono meta C_m y el protón del *carbono meta* C_m con el protón del carbono para C_p . Además, hay una interacción mas entre el protón del *carbono para* C_p con el protón de C_3' , debido a esta última interacción, se puede decir que la molécula tiende a doblarse para que puedan estar interaccionando este par de electrones a una distancia no mayor de hay una nueva interacción 5Å .

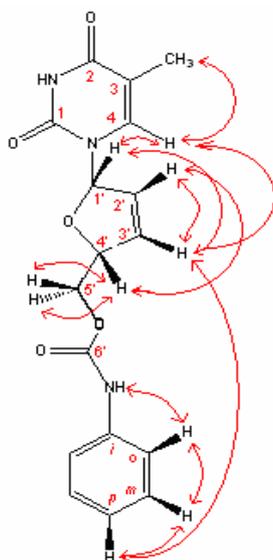


Figura 27. Interpretación de los resultados de NOESY para el compuesto (**2**) (apéndice espectro no.18).

Una vez más se toma como referencia la Figura 26 al interpretar el espectro NOESY del compuesto **(3)** para conocer el conformero más abundante cuando el compuesto se encuentra en solución. En el compuesto **(3)** hay una interacción adicional entre el protón de C_4 con el protón de $C_{1'}$. Para la parte del sustituyente (etil éster), hay interacciones entre el protón del nitrógeno con el protón de $C_{7'}$ y el protón de $C_{9'}$ con un protón de $C_{10'}$. También se observa una interacción entre un protón de $C_{10'}$ con un protón de CH_3 . Podemos concluir que el conformero que se tiene, es aquel en el que su estructura este doblada y un poco torcida para que la última interacción mencionada pueda existir (Figura 28).

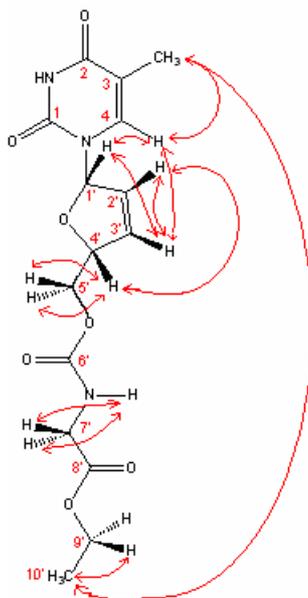


Figura 28. Interpretación de los resultados de NOESY para el compuesto **(3)** (apéndice espectro 25).

Cuando se interpretó el espectro de NOESY del compuesto **(4)**, nuevamente se tomó como referencia la interpretación de la materia prima estavudina (Figura 26); se observaron las mismas interacciones a excepción de la interacción que había entre el protón de $C_{3'}$ con el protón de C_4 y la interacción entre el protón de $C_{4'}$ con los protones de C_5 . La parte del sustituyente (cadena alquílica) no mostró interacción alguna (Figura 29), con lo que podemos decir que el conformero que esta en mayor proporción y que es mas estable cuando el compuesto se encuentra en solución, es aquel en donde los protones de la cadena alquílica se encuentren lo mas alejado posible y hacia diferentes lados.

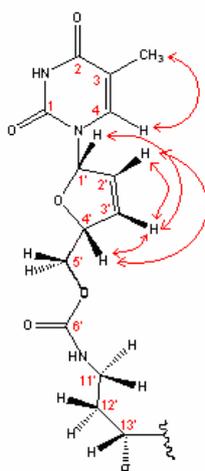


Figura 29. Interpretación de los resultados de NOESY para el compuesto (**4**) (apéndice espectro 32).

Hasta el momento, se han analizado los resultados obtenidos de manera experimental, donde se ha comprobado la formación del grupo funcional carbamato de los compuestos (**2**), (**3**) y (**4**), además de que con el experimento de NOESY, se pudo deducir el tipo de conformero más abundante para cada compuesto cuando estos se encuentran en solución.

Los cálculos de Mecánica Molecular para elucidar el posible conformero más estable de la estavudina y de cada uno de los compuestos sintetizados y comparar estos resultados con los obtenidos en solución.

Los cálculos fueron realizados utilizando el método de Monte Carlo incluido en el programa Espartan '04 para Windows, utilizando como base las coordenadas experimentales obtenidas para la estavudina a partir de difracción de rayos-X⁽⁴¹⁾ de monocristal.

Para los carbamatos derivados de estavudina, primero se optimizó la geometría de cada uno de ellos con el método *ab initio* DF-B3LYP con la función base 6-31G*, posteriormente se realizó la búsqueda conformacional por el Método Monte Carlo.

Para la materia prima estavudina se obtuvieron 28 conformeros con sus respectivas energías y distribuciones de Boltzmann, éstos fueron graficados (Figuras 30 y 31) y de ahí se seleccionaron los conformeros más estables y abundantes que se muestran en la tabla 11.

Tabla 11. Conformeros con su correspondiente energía y distribución de Boltzmann para la estavudina.

| Conformero | E (kcal/mol) | Dist. Boltzmann (%) |
|------------|--------------|---------------------|
| a | -136.513410 | 28.98 |
| b | -136.513289 | 28.98 |
| c | -132.245428 | 2.16 |
| d | -135.498141 | 5.22 |
| e | -135.496338 | 5.22 |
| f | -135.481328 | 5.08 |

Las gráficas de energía contra conformero (Figura 30) y distribución de Boltzmann contra conformero (Figura 31) se representan a continuación, en donde se identifican los conformeros de la tabla 11.

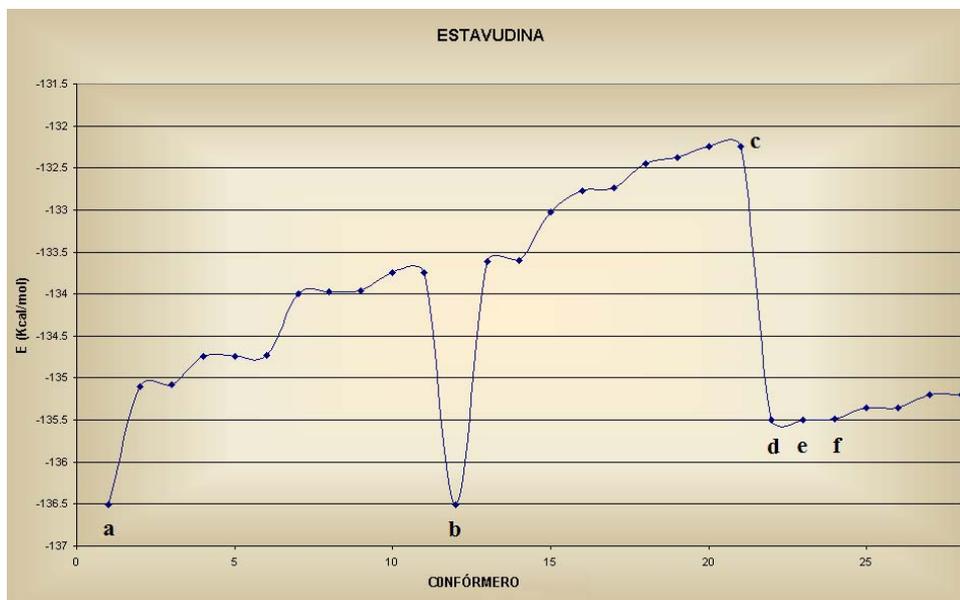


Figura 30. Gráfica de energía contra conformeros de la estavudina, en donde los conformeros **a**, **b**, **d**, **e** y **f**, son los conformeros más estables. El punto **c** es el conformero más inestable.

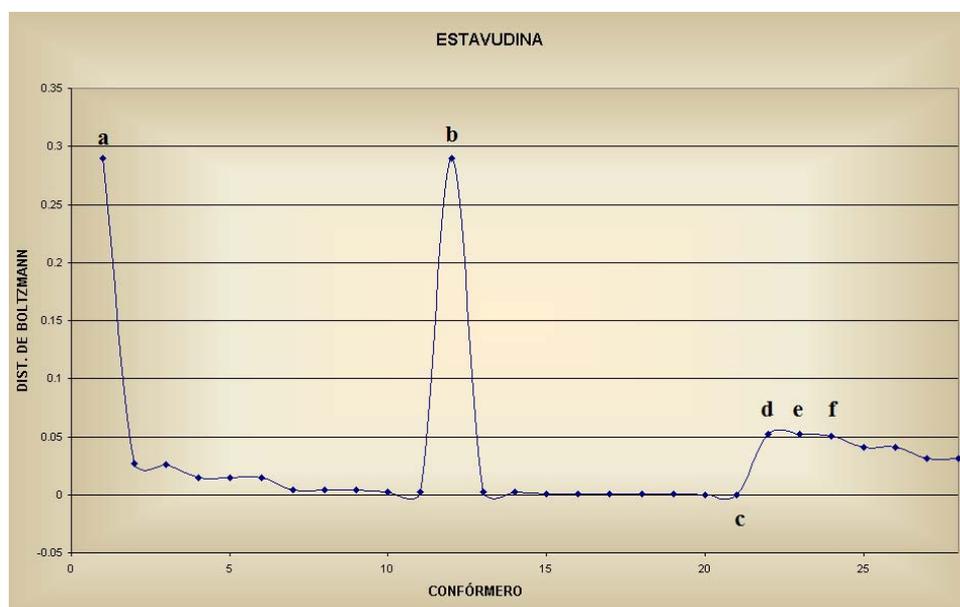


Figura 31. Gráfica de distribución de Boltzmann de la estavudina contra conformero, donde los conformeros **a**, **b**, **d**, **e** y **f** son los conformeros más abundantes y estables. El punto **c** es el conformero más inestable.

En la Figura 32 se representan los conformeros que se reportan en la tabla 11 y si los comparamos con los resultados que obtuvimos de la interpretación de la Figura 26, se puede ver la relación que hay entre los resultados.

Los conformeros señalados sobre las gráficas de las Figuras 30 y 31 fueron alineados formando la molécula **I** y **II**). El conformero que se describe en la Figura 26, se encuentra con mayor abundancia en solución, lo podemos encontrar dentro de la molécula **I**, que en este caso es la más estable y se encuentra en mayor proporción.

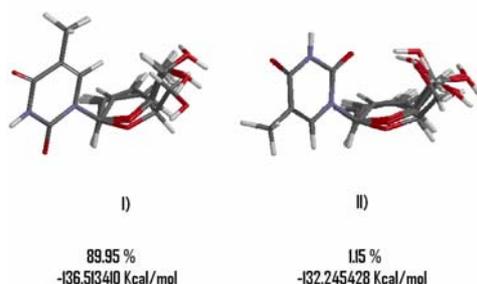


Figura 32. Conformeros alineados de las gráficas de energía contra conformeros y distribución de Boltzmann contra conformeros de la estavudina, Donde se encuentran los conformeros marcados sobre las gráficas. En el grupo **I**, se encuentran alineados los conformeros **a**, **b**, **d**, **e** y **f**, que son los más estables y abundantes; en el grupo **II**, se alinea el conformero **c** (el más inestable) junto con algunos que también son poco estables.

Para el estudio conformacional realizado sobre el compuesto (**2**), se obtuvieron 82 conformeros, de los cuales sólo se toman en cuenta aquellos que tienen la mayor y la menor energía junto con los que presentan las mayores y la menor distribución de Boltzmann, estos conformeros se reportan en la tabla 12 y se señalan sobre las gráficas de las Figura 33 y 34.

Tabla 12. Conformeros con su correspondiente energía y distribución de Boltzmann del compuesto (**2**).

| Conformero | E (kcal/mol) | Dist. Boltzmann (%) |
|------------|--------------|-----------------------|
| a | -140.355057 | 11.57 |
| b | -140.318113 | 10.87 |
| c | -140.287143 | 10.32 |
| d | -139.652669 | 3.54 |
| e | -139.635444 | 3.43 |
| f | -139.631822 | 3.41 |
| g | -139.586525 | 3.16 |
| h | -139.554369 | 2.99 |
| i | -132.738332 | 3.02×10^{-7} |
| j | -139.553380 | 2.99 |

Los 82 conformeros de la molécula del compuesto (**2**) se encuentran graficados en la Figura 33. Por medio de esta gráfica podemos identificar los conformeros con menor energía (más estables) y cual o cuales son los de mayor energía (menos estables).

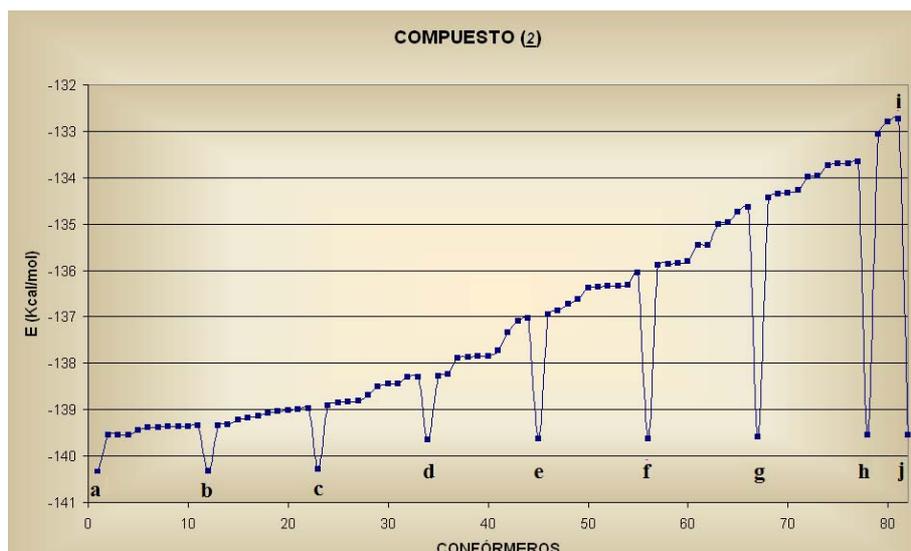


Figura 33. Gráfica de energía contra conformeros del compuesto (2) en donde los conformeros a, b, c, d, e, f, g, h y j son los conformeros mas estables, siendo a el mas estable. El punto i es el conformero más inestable.

Nuevamente se grafican los 82 conformeros del compuesto (2), sólo que esta vez, la gráfica es de la distribución de Boltzmann contra conformero (Figura 34); si comparamos esta gráfica con la de la Figura 31, se observa que los conformeros mas estables son los mas abundantes y los mas inestables son los que se encuentran en menor proporción.

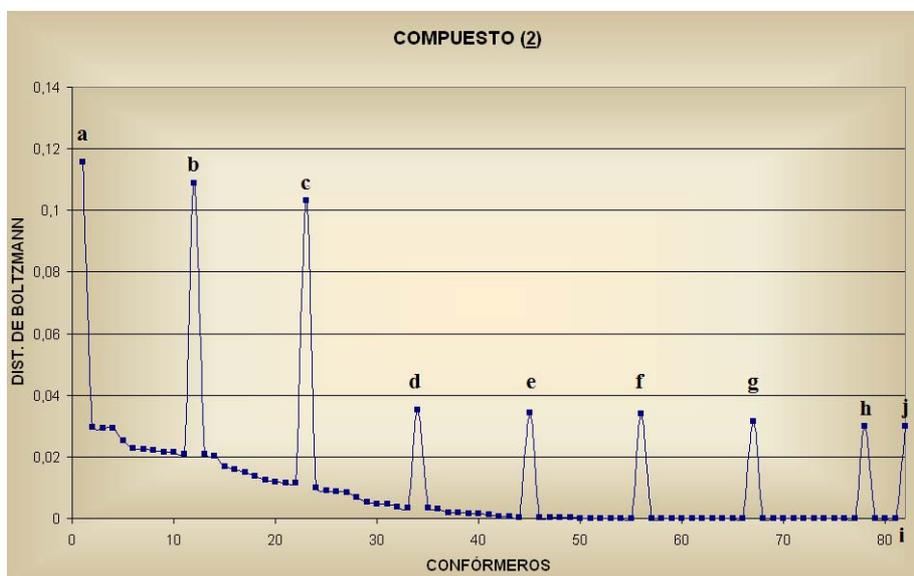


Figura 34. Gráfica de distribución de Boltzmann del compuesto (2) contra conformeros, donde los conformeros a, b, c, d, e, f, g, h y j son los conformeros mas abundantes y estables, de donde a es el mas abundante y estable. El punto i es el conformero más inestable.

En la Figura 35 se representan las estructuras de los conformémeros reportados en la tabla 12, el conformémero que corresponde a la interpretación de la Figura 27 que se propone, se encuentra en mayor abundancia en solución en la molécula **I**, que nuevamente corresponde al grupo más estable y abundante.

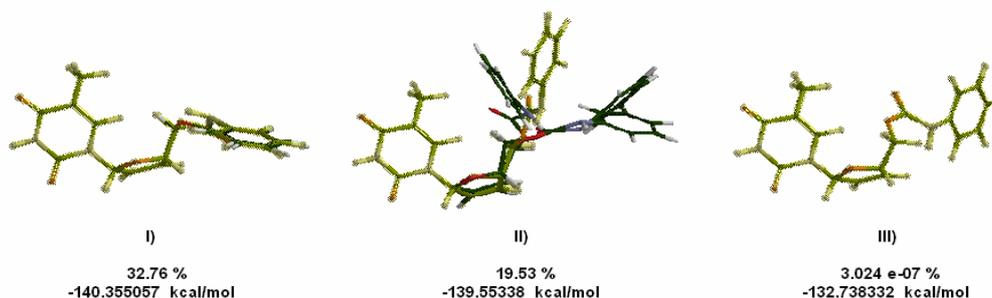


Figura 35. Conformémeros alineados de las gráficas de energía contra conformémeros y distribución de Boltzmann contra conformémeros del compuesto (**2**). Donde se encuentran los conformémeros marcados sobre las gráficas. La molécula alineada **I** contiene a los conformémeros **a**, **b** y **c** con su porcentaje de distribución y la energía del conformémero más estable de todos los conformémeros. La molécula alineada **II** contiene a los conformémeros **d**, **e**, **f**, **g**, **h** y **j** con el porcentaje de distribución de la estructura y la energía del conformémero más estable del grupo. La molécula **III** es el conformémero menos estable con su respectivo porcentaje de distribución y energía.

Del compuesto (**3**), se obtuvieron 100 conformémeros diferentes, de los cuales sólo se tomaron en cuenta aquellos que presentaron la menor y mayor energía. Con el mismo criterio se eligió las distribuciones de Boltzmann, estos conformémeros se señalan sobre las gráficas de las Figuras 36 y 37 como una zona llamada **I-IX** (que son los conformémeros del 1-27) y el punto **b** (tabla 13).

Tabla 13. Conformémeros con su correspondiente energía y distribución de Boltzmann del compuesto (**3**).

| Conforméromo | E (kcal/mol) | Dist. Boltzmann (%) | Conforméromo | E (kcal/mol) | Dist. Boltzmann (%) |
|--------------|--------------|---------------------|--------------|--------------|----------------------|
| 1 | -257.323898 | 10.7 | 15 | -256.413710 | 2.3 |
| 2 | -257.205879 | 8.77 | 16 | -256.407580 | 2.3 |
| 3 | -257.202798 | 8.72 | 17 | -256.257211 | 1.8 |
| 4 | -257.158540 | 8.09 | 18 | -256.145011 | 1.5 |
| 5 | -257.028103 | 6.5 | 19 | -256.138996 | 1.4 |
| 6 | -257.009605 | 6.3 | 20 | -255.965321 | 1.1 |
| 7 | -257.002867 | 6.22 | 21 | -255.941138 | 1.04 |
| 8 | -257.000814 | 6.2 | 22 | -255.876273 | 0.93 |
| 9 | -256.798974 | 4.41 | 23 | -255.863424 | 0.91 |
| 10 | -256.753648 | 4.1 | 24 | -255.441806 | 0.45 |
| 11 | -256.749931 | 4.1 | 25 | -255.411984 | 0.42 |
| 12 | -256.553570 | 2.9 | 26 | -255.346884 | 0.38 |
| 13 | -256.539955 | 2.8 | 27 | -255.344177 | 0.38 |
| 14 | -256.529218 | 2.8 | b | -247.342219 | 5.2x10 ⁻⁹ |

La energía de los 100 conformeros del compuesto (3), fue tomada para graficar energía contra conformero, por medio de esta gráfica (Figura 36), es más fácil identificar los conformeros más estables y el más inestable. De acuerdo a la gráfica, la zona I-IX) es de los conformeros más estables y el conformero b es el más inestable.

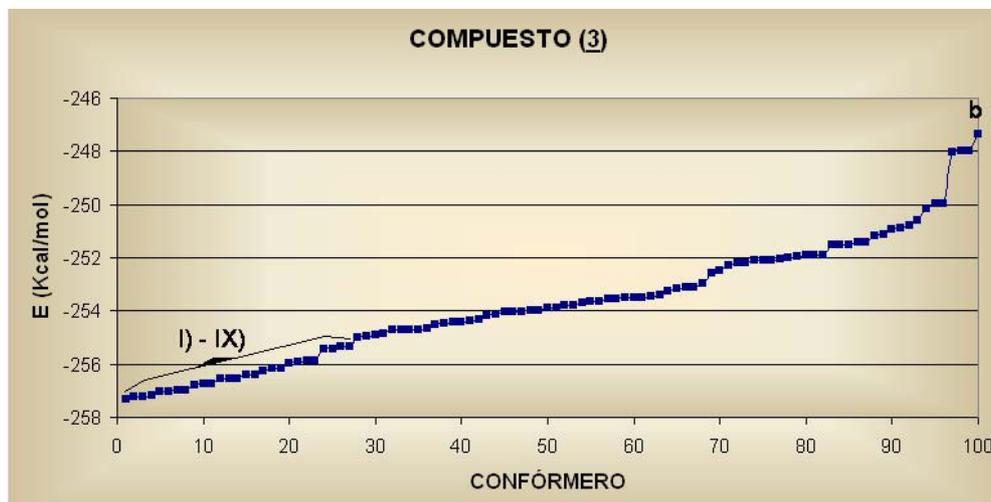


Figura 36. Gráfica de energía contra conformero del compuesto (3) en donde la parte I) - IX) marcada sobre la gráfica representa los grupos de conformeros más estables y el punto b es el conformero más inestable.

Con los valores de las distribuciones de Boltzmann y los conformeros del compuesto (3), se hizo la gráfica de la Figura 37 para identificar con facilidad a los conformeros más y menos abundantes. Si comparamos la Figura 36 con la Figura 37, vemos que los conformeros más estables también son los más abundantes y viceversa.

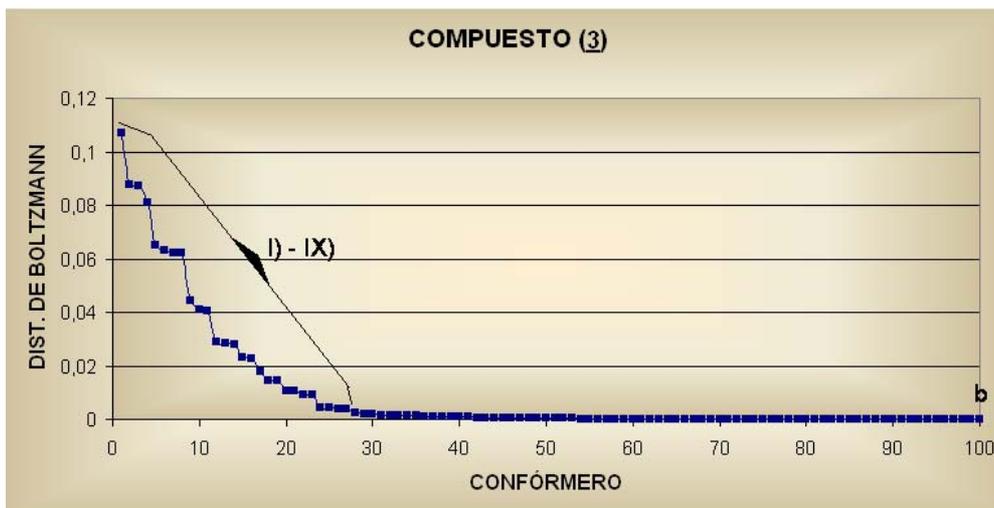


Figura 37. En esta gráfica de distribución de Boltzmann contra conformero del compuesto (3) se señala el punto b, que es el conformero menos estable. Los conformeros del 1-27 son los más abundantes, ellos suman el 97% de la distribución y son los señalados en la zona I) - IX) de la gráfica.

En la figura 38 se pueden ver tanto las estructuras de los conformeros más estables y abundantes como las menos estables y menos abundantes para el compuesto (**3**). Las estructuras se obtuvieron alineando a las moléculas semejantes. Cada grupo de conformeros se representa con el porcentaje total de la distribución de Boltzmann de todos los conformeros del grupo y la energía que se registra, es la mínima entre las energías del grupo.

Al confrontar los resultados obtenidos teóricamente con la interpretación del espectro de NOESY del compuesto (**3**) se propone que este último se encuentra dentro del grupo de moléculas **I** de la Figura 38, que al igual que en la *estavudina* y en el compuesto (**2**), es la más estable y abundante.

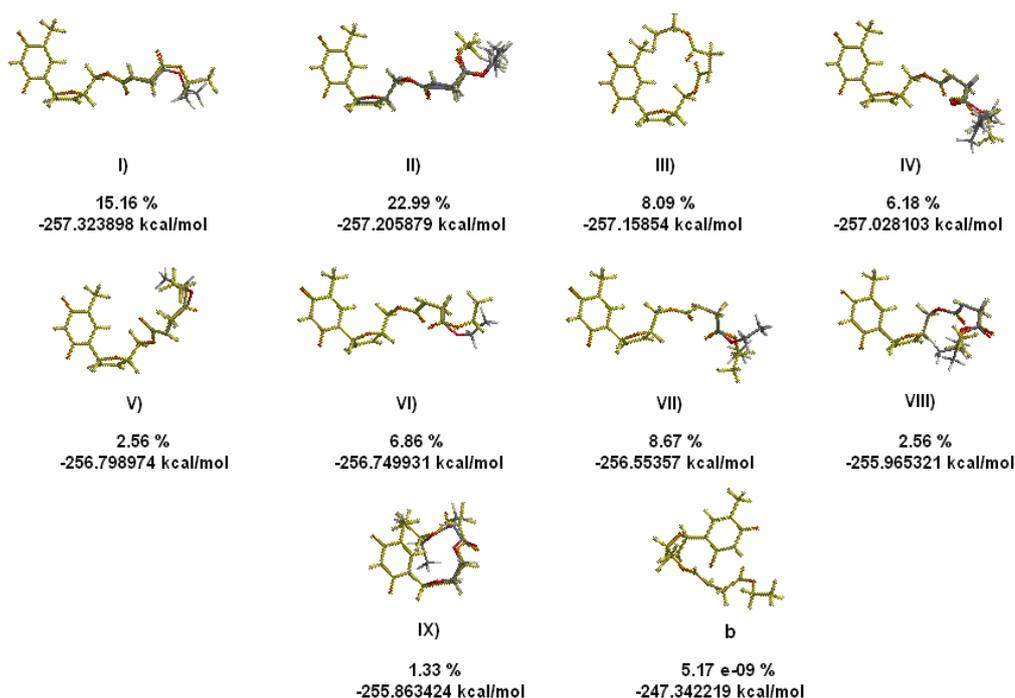


Figura 38. Se alinearon las moléculas y se formaron grupos asignando a cada uno de ellos su energía y el porcentaje de su distribución de Boltzmann. **I)** son los conformeros 1, 10 y 26, en donde el conformero más estable es el 1. **II)** 2, 3, 15, 16 y 22, **III)** 4, **IV)** 5, 6, 7, 8 y 27, **V)** 9 y 17, **VI)** 11 y 14, **VII)** 12, 13, 18 y 19, **VIII)** 20, 21 y 24, **IX)** 23 y 25 y **b** es el conformero más inestable

En la tabla 14, se reportan los conformeros más representativos para el compuesto (**4**), es decir, los de menor energía y el de mayor energía, también los de mayor y el de menor distribución respectivamente. Estos conformeros se señalan sobre las gráficas de las Figuras 39 y 40.

Tabla 14. Confórmeros con su correspondiente energía y distribución de Boltzmann del compuesto (4).

| Confórmero | E (kcal/mol) | Dist. Boltzmann (%) |
|------------|--------------|-----------------------|
| a | -360.728120 | 85.2 |
| b | -350.872234 | 5.09x10 ⁻⁸ |
| c | -359.204326 | 6.51 |
| d | -358.976338 | 4.43 |
| e | -358.053432 | 0.93 |
| f | -357.799459 | 0.61 |
| g | -357.607901 | 0.44 |
| h | -357.527243 | 0.38 |
| i | -357.287695 | 0.26 |
| j | -357.232220 | 0.23 |

Para el compuesto (4), se obtuvieron nuevamente 100 confórmeros diferentes con sus respectivas energías. Se traza una gráfica de energía contra confórmero (Figura 39) para poder identificar los confórmeros mas estables y el mas inestable; sobre la gráfica se pueden distinguir muy bien, ya que se presentan máximos y mínimos sobre ella.

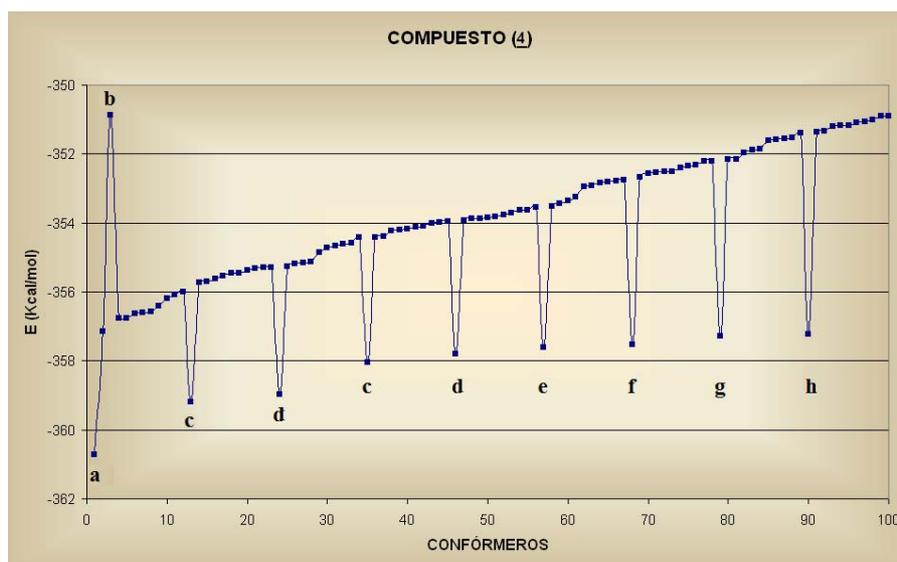


Figura 39. Gráfica de energía contra confórmeros del compuesto (4) en donde se marcan los confórmeros mas estables que corresponden a los puntos **a, c, d, e, f, g, h e i** siendo el punto **a** el confórmero mas estable y el punto **b** el menos estable.

La gráfica de de distribución de Boltzmann contra confórmero de la Figura 40, se puede comparar con la Figura 39 para verificar la tendencia de los compuestos anteriores, que los confórmeros más estables también son los más abundantes y que el más inestable es el que tiene una menor distribución.

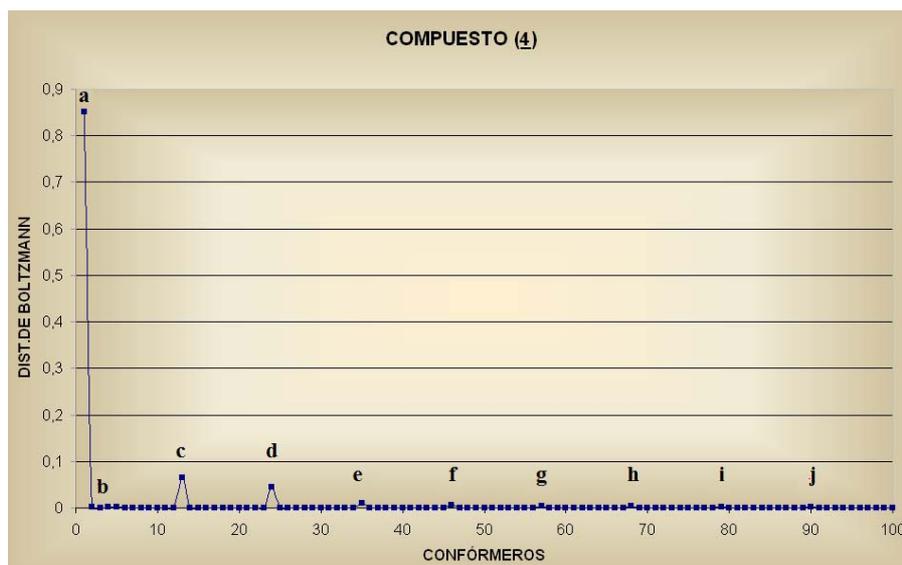


Figura 40. Gráfica de distribución de Boltzmann contra conformémeros del compuesto (4), en donde se marcan los conformémeros mas abundantes que corresponden a los puntos **a**, **c**, **d**, **e**, **f**, **g**, **h**, **i** y **j** siendo el punto **a** el conformero mas abundante y estable. El punto **b** es el menos abundante y el más inestable.

Las estructuras de los conformémeros del compuesto (4), no fueron alineadas, debido a que no había similitud entre las estructuras. Las estructuras corresponden a los conformémeros que están señalados sobre la gráfica con las letras de la **a – j**.

Cuando se comparan los resultados experimentales obtenidos de los espectros de NOESY del compuesto (4) contra los resultados del estudio conformacional, observamos que hay relación entre ellos. En la Figura 41 el conformero **f** es el correspondiente a la interpretación del espectro NOESY (Figura 29).

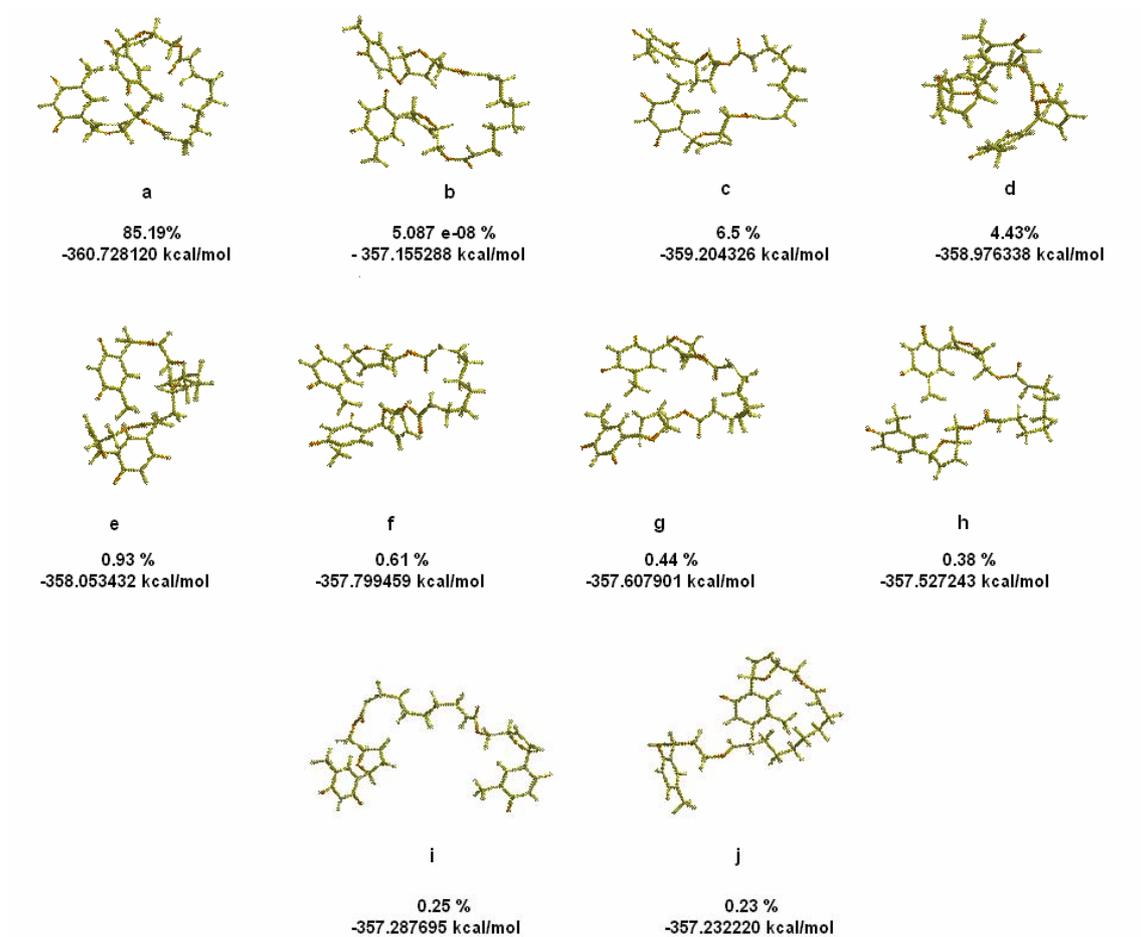


Figura 41. Conformeros marcados en las gráficas de distribución de Boltzmann contra conformeros, y energía contra conformeros para el compuesto (4). Cada conformero con su porcentaje de distribución y energía respectivas, de donde se pueden comparar las estructuras del conformero a) mas abundante y estable con el conformero b) el menos abundante y el mas inestable.

Con los datos de los desplazamientos de los átomos de hidrógeno (tabla 10) de los compuestos en solución y haciendo uso de las ecuaciones de Karplus, se calculó el ángulo dihedro entre los átomos H-C₄-C₅-H_A y H-C₄-C₅-H_B del sistema ABX; estos ángulos se reportan en la tabla 15.

Tabla 15. Ángulos dihedros del sistema ABX.

| Compuesto | Desplazamiento ppm | J^3 (Hz) | Angulo Dihedro ^a | Angulo Dihedro ^b |
|------------|---------------------|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Estavudina | $H_{5'B} = 3.36$ dd | $J_{AX} 3.51$ | 126.28 | 126.28 |
| | $H_{5'X} = 3.58$ dd | $J_{BX} 3.80$ | 130.94 | 114.68 |
| | $H_{4'} = 4.76$ | --- | --- | --- |
| (2) | $H_{5'B} = 4.45$ dd | $J_{AX} 3.20$ | 52.01 | 53.28 |
| | $H_{5'X} = 4.25$ dd | $J_{BX} 4.98$ | 137.59 | 113.32 |
| | $H_{4'} = 5.1$ | --- | --- | --- |
| (3) | $H_{5'B} = 4.23$ dd | $J_{AX} 2.64$ | 54.11 | 56.58 |
| | $H_{5'X} = 4.27$ dd | $J_{BX} 2.64$ | 54.11 | 56.58 |
| | $H_{4'} = 4.91$ | --- | --- | --- |
| (4) | $H_{5'B} = 3.9$ dd | $J_{AX} 5.01/4.68$ | 138.20/136.2 | 135.11 |
| | $H_{5'X} = 4.2$ dd | $J_{BX} 2.64$ | 123.66 | 109.07 |
| | $H_{4'} = 4.89$ | --- | --- | --- |

Del grupo de estructuras de conformeros (conformeros en solución) que se obtuvieron tanto para la estavudina como para los compuestos **(2)**, **(3)** y **(4)** a partir del estudio conformacional (Figuras 32, 35, 38 y 41), se seleccionó la estructura mas parecida a los ángulos dihedros calculados a través de las ecuaciones de Karplus (tabla 15); después se alineó el conformero en solución con el conformero en gas (Figura 42).

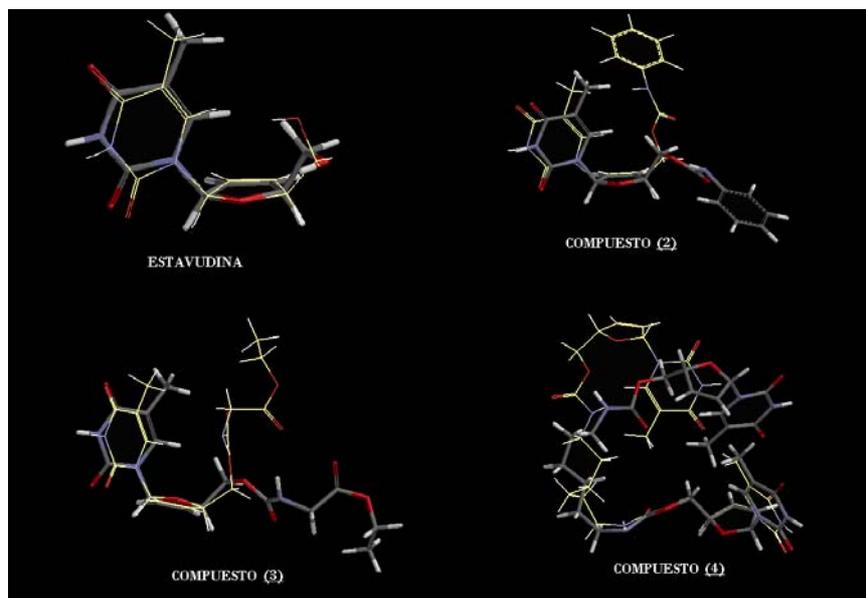


Figura 42. En esta figura se sobreponen el conformero obtenido a través de los NOESY y el conformero obtenido a través de las constantes de Karplus (molécula amarilla).

Después de alinear el conformero en solución con el conformero en gas para cada compuesto, se obtuvieron los resultados reportados en la tabla 16. Del estudio conformacional el conformero que se alinee en la Figura 42 fue un conformero que formaba la molécula **I** para la estavudina, la molécula **I** para el compuesto **(2)**, la molécula **I** para el compuesto **(3)** y la molécula **f** para el compuesto **(4)** (Figuras 32, 35, 38 y 41).

Tabla 16. Comparación entre los conformeros en solución y gas, que fueron alineados en la Figura 42.

| Compuesto | Diferencia entre los conformeros | Diferencia de energía |
|------------|--|-----------------------|
| Estavudina | Una pequeña diferencia en el ángulo que se forma entre el <i>Nitrógeno</i> y el carbono C_1 , provoca que no se empalmen totalmente las estructuras. | -1.7724 Kcal |
| (2) | El ángulo entre C_5 y el carbamato son opuestos, provocando que no se alineen los dos conformeros. | -1.9209 Kcal |
| (3) | Un giro en el átomo de oxígeno (sp^3) | -4.8363 Kcal |
| (4) | El ángulo entre C_4 y C_5 van hacia distinto lado lo que provoca que cada conformero se enrosque a lado contrario. | -6.8578 Kcal |

CAPÍTULO 8. CONCLUSIONES



Se logró la síntesis de tres compuestos derivados de estavudina: *fenil ácido carbámico 5-(5-metil-2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-il)-2,5-dihidrofuran-2-ilmetil éster* ó compuesto **(2)**, *[5-(5-metil-2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-il)-2,5-dihidro-furan-2 -ilme-toxicarbonil amino]-ácido acético etil éster* ó compuesto **(3)**, *{6-[5-(5-metil-2, 4-dioxo-3, 4-dihidro- 2H -pirimidin-1-il)-2, 5-dihidro-furan-2-il-metoxi-carbonil amino]-hexil}-ácido carbámico – (5metil-2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-il)-2,5-dihidrofuran-2-ilmetil éster* o compuesto **(4)** los cuales presentan al grupo funcional carbamato.

Se identificó y caracterizó a la Estavudina y a los compuestos **(1)**, **(2)**, **(3)** y **(4)**, los cuales también fueron identificados y caracterizados por medio de espectroscopia de infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear protónica (RMN ^1H) y resonancia magnética nuclear de carbono 13 (RMN ^{13}C), los resultados se reportan en las tablas 7, 8 y 9. A la estavudina adicionalmente se le realizaron los experimentos de rotación óptica (RO) y espectroscopia ultravioleta (UV).

Se observó por RMN ^1H que la *estavudina* como los compuestos **(2)**, **(3)** y **(4)** forman un sistema ABX entre los protones de los carbonos C_4 y C_5 . Se determinaron sus constantes de acoplamiento, lo que permitió calcular sus ángulos dihedros.

A partir del experimento NOESY, fue posible determinar la conformación más abundante y estable para la *estavudina* y sus derivados **(2)**, **(3)** y **(4)** estando en solución.

Se observó al comparar los resultados obtenidos experimentalmente y teóricamente de cada uno de los conformeros, se observó una similitud entre ellos. Proponiéndose para estavudina la estructura conformacional del grupo de moléculas **I** de la Figura 32. Para el compuesto **(2)** el conformero corresponde al del grupo de moléculas **I** de la Figura 35. Para el compuesto **(3)**, el grupo **I** de la Figura 38 y finalmente para el compuesto **(4)**, el conformero **f** de la Figura 41.

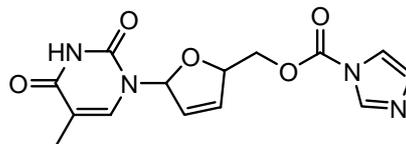
CAPÍTULO 9.

PARTE EXPERIMENTAL



Datos Generales.

- Los puntos de fusión fueron tomados con un fusiómetro Fisher –Johns.
- En la cromatografía de capa fina se ocuparon cromatoplasmas de aluminio ALUGRAM SIL G/UV₂₅₄ de 20cm x 20cm, de sílica marca MACHEREY-NAGEL con 0.2 mm de sílica.
- Para la purificación de productos se emplearon cromatoplasmas de vidrio DC-FERTIGPLATTEN SIL G-200 UV₂₅₄ de 20 cm x 20 cm. marca MACHEREY-NAGEL con 2.0 mm de sílica.
- Para la espectroscopia de Infrarrojo (IR) se ocupó un FT-IR BRUKER modelo TENSOR 27 utilizando la técnica de pastilla KBr.
- En la determinación de rotación óptica (RO) se ocupó un polarímetro PERKIN ELMER modelo 343, como solvente se utilizó H₂O como disolvente y una concentración de 5.0 mg/ml
- Para determinar UV se ocupó un UV-BIS SHIMADZU modelo UV160V.
- Para la determinación de resonancia magnética nuclear (RMN) ¹H, ¹³C, DEPT, HETCOR, COSY y NOESY se utilizó un espectrómetro de resonancia magnética Eclipse 300 Jeol de 300 MHz, se utilizó como referencia interna el tetrametil silano (TMS). En la materia prima estavudina y en los compuestos (**3**) y (**4**) se utilizó DMSO deuterado, en el compuesto (**2**) se utilizó una mezcla de CDCl₃ y DMSO deuterado.

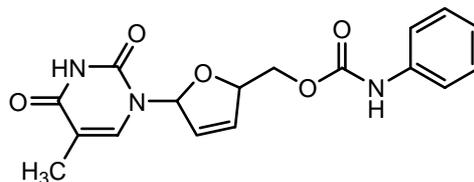
Ruta A.**(2,5-dihidro-5-(3,4-dihidro-5-metil-2,4-dioxopirimidín-1(2H)-il)furan-2-il)metil 1H-imidazol-1-carboxilato ó compuesto (1)**

Se adicionan 110 mg (0.67mmol) de CDI a 150mg (0.67mmol) de estavudina en 15 ml de CH₃CN, la reacción se deja a reflujo por 24 hrs, transcurrido este tiempo, se deja a temperatura ambiente por 20 min. y después se concentra a presión reducida. El producto es un sólido blanco, r.f =0.24, p.f.=70-72°C y soluble en DMSO+CH₂Cl₂.

IR (película KBr):ν= 3123.20 cm⁻¹, 3101.43 cm⁻¹ y 1542.43 cm⁻¹

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆ + CDCl₃): 1.83.3 (1H,CH₃), 7.63 (1H, H-4), 7.00 (1H, H-1'), 6.35 (1H, H-2'), 5.87 (1H, H-3'), 4.89 (1H, H-4'), 4.26 (2H, H-5'), 7.67 (1H, H-7')

RMN ¹³C (300 MHz, DMSO-d₆ + CDCl₃): 11.97 (CH₃), 150.88 (C-1), 164.16 (C-2), 109.80 (C-3), 136.36 (C-4), 89.00 (C-1'), 134.29 (C-2'), 125.73 (C-3'), 87.05 (C-4'), 62.35 (C-5'), 155.88 (C-6'), 136.36 (C-7'), 134.77 (C-8') y 121.32 (C-9')

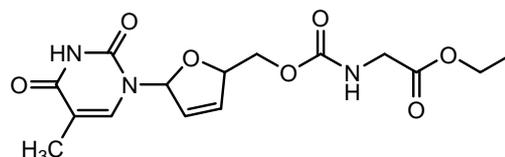
Ruta C.**Fenil ácido carbámico 5-(5-metil-2,4-dioxo-3,4dihidro -2H- pirimidin -1-il)-2,5-dihidro-furan-2-ilmetil éster. (2)**

A 0.07 ml (0.446 mmol) de etilisocianato acetato (aldrich, 95% de pureza) se le adicionaron 100 mg (0.446 mmol) de estavudina y 20 ml de acetonitrilo (aldrich grado biotécnico, 99.93% de pureza). La reacción se dejó a temperatura ambiente (25 °C), con agitación y atmósfera inerte por dos horas. Transcurrido este tiempo, se tomó una muestra de la reacción para cromatografía en capa fina, $r_f = 0.55$. La reacción se concentra a presión reducida obteniendo como producto un sólido blanco. El producto se disuelve en CH_3CN y se purifica por medio de cromatoplasas de vidrio usando como disolvente acetato de etilo. Se extraen los diferentes productos de las cromatoplasas. En filtración por vacío se lava con acetato de etilo y metanol a la sílice con el compuesto del derivado de estavudina, después, se concentra la fase líquida hasta obtener un sólido. 35.6mg, rendimiento del 22.53 %, p.f.= 150 °C descompone y soluble en $\text{DMSO}+\text{CH}_2\text{Cl}_2$.

IR (película KBr): $\nu = 3366.22 \text{ cm}^{-1}$, 1712.67 cm^{-1} y 1529.62 cm^{-1}

RMN ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-d}_6 + \text{CDCl}_3$): 1.80 (3H, CH_3), 7.17 (1H, H-4), ≈ 7 (1H, H-1'), 6.43 (1H, H-2'), ≈ 5.9 (1H, H-3'), ≈ 5 (1H, H-4'), 4.35 (2H, H-5'), 7.46 (1H, H-*o*), 7.26 (1H, H-*m*) y 7.03 (1H, H-*p*).

RMN ^{13}C (300 MHz, $\text{DMSO-d}_6 + \text{CDCl}_3$): 11.93 (CH_3), 150.76 (C-1), 163.88 (C-2), 110.60 (C-3), 134.85 (C-4), 89.09 (C-1'), 133.26 (C-2'), 126.31 (C-3'), 83.95 (C-4'), 64.71 (C-5'), 153.00 (C-6'), 138.17 (C-*i*), 118.19 (C-*o*), 128.29 (C-*m*) y 122.44 (C-*p*).



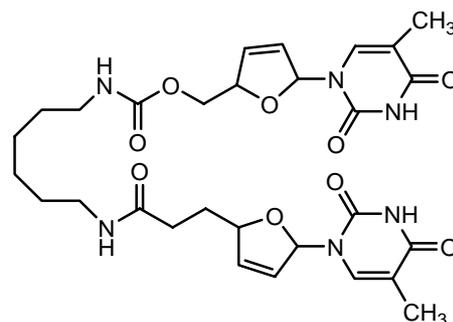
[5-(5-metil-2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-il)-2-5-dihidro-furan-2-il]metoxicarbonil amino]-ácido acético etil éster. (3)

A 0.073 ml (0.446 mmol) de fenilisocianato (alrich, 98% de pureza) se le adicionaron 100 mg. (0.446 mmol) de estavudina y 20 ml. de acetonitrilo (grado biotécnico con 98.9% de pureza). La reacción se dejó a temperatura ambiente (25°C) con agitación y atmósfera inerte por dos horas. Transcurrido este tiempo, se tomó una muestra de la reacción para cromatografía en capa fina ($r_f = 0.5$). La reacción se concentra a presión reducida obteniendo como producto un sólido blanco. El producto se disuelve en MeOH y se purifica por medio cromatoplasas de aluminio utilizando como disolvente acetato de etilo. Se extraen los diferentes productos de las cromatoplasas. En filtración por vacío se lava con acetato de etilo y metanol a la sílice con el compuesto derivado de estavudina, después, se concentra la fase líquida hasta obtener un sólido. 35.6mg, rendimiento del 23.25 %, y p.f.= 158-160 °C

IR (película KBr): $\nu = 3101.18 \text{ cm}^{-1}$, 3329.80 cm^{-1} , 1757.41 cm^{-1} , 1540.03 cm^{-1} , 1757.41 cm^{-1} , 1301.10 cm^{-1} y 1247.38 cm^{-1}

RMN ^1H (300 MHz, MeOD): 1.75 (3H, CH₃), 7.23 (1H, H-4), 6.80 (1H, H-1'), 6.39 (1H, H-2'), 5.98 (1H, H-3'), 4.91 (1H, H-4'), 4.25 (1H, H-5'), 1.16 (2H, H-7'), 3.70 (2H, H-9') y 4.07 (3H, H-10').

RMN ^{13}C (300 MHz, MeOD): 11.98 (CH₃), 150.82 (C-1), 163.88 (C-2), 110.00 (C-3), 135.86 (C-4), 89.14 (C-1'), 133.80 (C-2'), 126.45 (C-3'), 84.10 (C-4'), 65.11 (C-5'), 156.33 (C-6'), 42.21 (C-7'), 170.03 (C-8'), 60.46 (C-9') y 14.06 (C-10').



{6-[5-(5-metil-2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-il)-2,5-dihidro-furan-2-il metoxicarbonil amino]-hexil}-ácido carbámico – (5metil-2,4-dioxo-3,4-dihidro-2H-pirimidin-1-il)-2,5-dihidrofuran-2-ilmetil éster. (4)

A 0.055ml (0.223mmol) de 1,6-diisocianato hexano (aldrich, 98% de pureza) se le adicionaron 100 mg (0.446 mmol) de estavudina y 20 ml de acetonitrilo (grado biotécnico con 98.9% de pureza). La reacción se dejó con agitación, atmósfera inerte y una temperatura de 50 °C por una semana. La reacción se concentra a presión reducida obteniendo como producto un sólido blanco. El producto se disuelve en MeOH, se toma una muestra para cromatografía en capa fina (rf. = 0.065) y se purifica el producto por medio cromatoplasmas de aluminio utilizando como disolvente acetato de etilo. Se extraen los diferentes productos de las cromatoplasmas. En filtración por vacío se lava con acetato de etilo y metanol a la sílice con el compuesto derivado de estavudina, después, se concentra la fase líquida hasta obtener un sólido blanco. 35.75mg. rendimiento del 26% y p.f. = 190-194°C.

IR (película KBr): $\nu = 3182.35, 3366.80, 1695, 1535.54 \text{ cm}^{-1}$

RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): 1.75 (3H, CH₃), ≈ 7.2 (1H, H-4), 6.79 (1H, H-1'), 6.40 (1H, H-2'), 5.98 (1H, H-3'), 4.89 (1H, H-4'), 4.24 (2H, H-5'), ≈ 2.9 (2H, H-11'), 1.33 (2H, H-12') y 1.20 (2H, H-13').

RMN ^{13}C (300 MHz, DMSO- d_6): 12.05 (CH₃), 150.86 (C-1), 163.92 (C-2), 109.91 (C-3), 135.94 (C-4), 89.15 (C-1'), 133.98 (C-2'), 126.36 (C-3'), 84.28 (C-4'), 64.65 (C-5'), 155.98 (C-6'), 40.30 (C-11'), 29.33 (C-12') y 25.98 (C-13').

CAPÍTULO 10. BIBLIOGRAFÍA



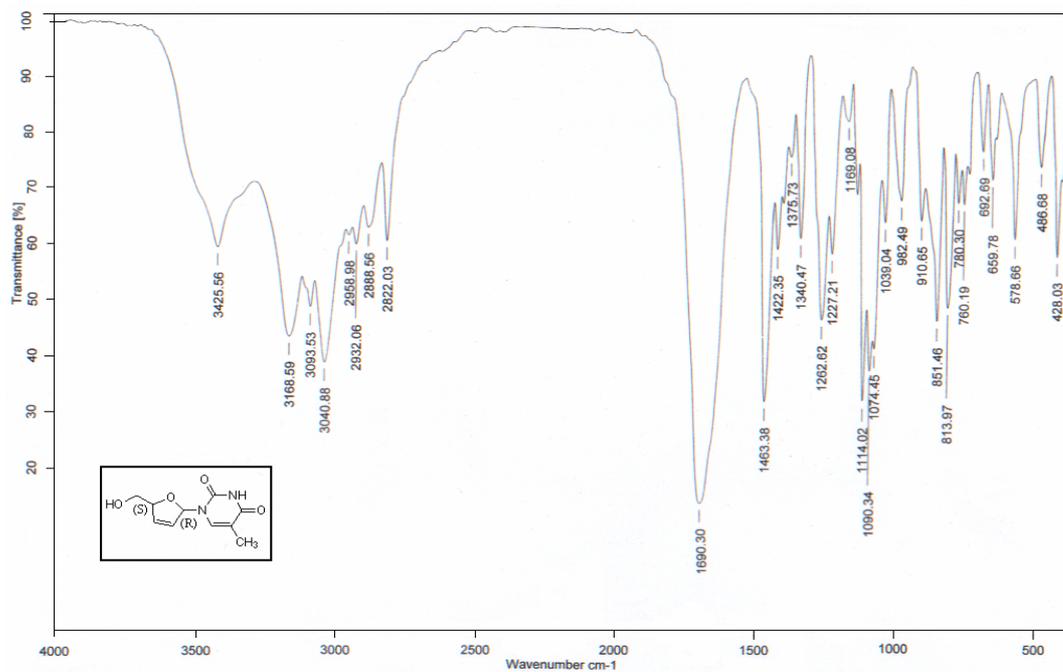
1. Vishal S. Narang, Amar Lulla, Geena Malhotra y Shrinivas Purandare. *Pharma. Res.* **2004** (50), 511-516.
2. *Vademecum Farmacéutico IPE*. Ed. Rezza editores. 9ª ed. Colombia **2000**.
3. Thompson. *PLM Diccionario de Especialidades Farmacéuticas*. México 50ª ed. 3287-3291. **2004**.
4. R. B. Gandhi, J. B. Bogardus, D. E. Bugay, R. K. Perrone y M. A. Kaplan. *International J. Pharma.* **2000** (25), 221-237.
5. A. Dunge, Asit K. Chakraborti y Saranjit Singh. *J. Pharma. Bio. Anal.* **2004** (35), 965-970.
6. Giovanni M. Pauletti, Sanjeev Gangwar, Teruna J. Siahaan, Jeffrey Aube y Ronald T. Borchart. *Adv. Drug. Del. Rev.* **1997** (27), 235-256.
7. Soumyajit Majumdar, Sridhar Duvvuri y Ashim K. Mitra. *Adv. Drug. Del. Rev.* **2004** (56), 1437-1452.
8. B. Silverman Richard. *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*. Ed. Academic Press. Inc. USA **1992**. 352-401.
9. Greene, T. W. *Protective Groups in Organic Synthesis*. Ed. Wiley. New York **1981**.
10. J. Balzarini, H. Egberink, K. Hartmann, D. Cahard, T. Vahlenkamp, H. Thormar, E. De Clercq y C. Mcguigan. *Molecular Pharmacology.* **1996**, (50), 1207-1213.
11. Dharmarajan Sriram, Perumal Yogeewari, Narasimharaghavan Srichakravarthy y Tanushree Ratan Bal. *Bioor. Med. Chem Let* **2004** (14), 1085-1087.
12. Carole Anastasi, Patrick Vlieghe, Olivier Hantz, Olivier Schorr, Christophe Pannecouque, Myriam Witvrouw, Erik De Clercq, Pascal Clayette, Nathalie Dereuddre-Bosquet, Dominique Dormont *et al.* *Bioor. Med. Chem. Lett.* **2003** (13), 2459-2463.
13. C. Anastasi, P. Vlieghe, O. Hantz, O. Schorr, C. Pannecouque, M. Witviouw, E. De Clercq, P. Clayette, N. Dereuddre-Bosquet, D. Dormont, F. Gondois-Rey, I. Hirsh y J. L. Kraus. *Org. Biomol. Chem.* **2004** (2), 345-357.
14. Francis. A. Carey. *Química Orgánica*. 3ª ed. Ed. Mc. Graw. Hill. España **1999**.
15. Vicente Gómez Parra, Félix Sánchez y Tomás Torres. *Synthesis.* **1984**, 282-285.
16. Stanley Raucher y David S. Jones. *Synth. Comm.* **1985**, 15 (11), 1025-103.

17. Yuan L. Chow, Bronislaw Marciniak y Pratiba Mishra *J. Org. Chem.* **1984**, 89, 1458-1460.
18. Howard Alper, Giuseppe Vasapollo, Frederick W. Hartstock, M. Mlekuz, Cavid J. H. Smith y George E. Morris. *Organometallics* **1987**, (6), 2391-2393.
19. Yasuhilo Yoshida, Shigeru Ishii y Tadatakata Yamashita. *Chem. Lett.* **1984**, 1571-1572.
20. Yong Hae Kim y Heui Sul Park. *Synlett.* **1998**, 261-262.
21. M. E. Duggan y J. S. Imagine. *Synthesis* **1989**, 131- 132.
22. William J. Bailey y James R. Griffith. *J. Org. Chem.* **1978**, 43 (13), 2690-2692.
23. Howard Alper y Giuseppe Vasapollo. *Tetrahedron Lett.* **1987**, (28) 6411-6412.
24. Sergio Cenini, Corrado Crotti, Maddalena Pizzotti y Francesca Porta. *J. Org. Chem.* **1988**, (53), 1243-1250.
25. John McMurry. *Química Orgánica*. Ed. Thomson editores. 5ª ed. México **2000**.
26. E. Cervera Flore y A. Romo Guadarrama. *Colección de Espectros de Infrarrojo para Ejercicios de Interpretación*. Ed. UNAM. México **2003**.
27. Helmut Günzler, Hans-Ulrich Gremlich. *IR Spectroscopy. An Introduction*. Ed. Wiley-VCH. Alemania **2002**.
28. R. Thornton Morrison, R. Neilson Boyd. *Química Orgánica*. Ed. Wesley Iberoamericana. 2ª ed. México. **1987**.
29. Pedro Joseph-Nathan y Eduardo Diaz T. *Introducción a la Resonancia Magnética Nuclear*. Ed. Limusa. México **1980**.
30. Daniel Conet, John Wiley y Sons. *Nuclear Magnetic Resonance. Concepts and Methods*. Inglaterra **1996**.
31. Jacekw Hemnel y Jeceklinowski. *Fundamentals of Nuclear Magnetic Resonance*. Ed. Longman Scientific and technical. 1ª ed. USA. **1993**.
32. Fesik, S.W., Zuiderberg, E.R.P., *J. Magn. Reson.*, **1988**, 78, 588-93.
33. Horst Friebolin. *Basic One and Two Dimensional NMR Spectroscopy*. 3ª ed. Ed. Wiley. New York. **1996**
34. Andrew Streitwieser Jr., Clayton H. Heathcock. *Introduction to Organic Chemistry*. 2ª ed. Ed. Collier Macmillan Publishers. USA
35. L. G. Wade Jr. *Organic Chemistry*. 2ª ed. Ed. Prentice Hall. USA **1991**. 91-97.

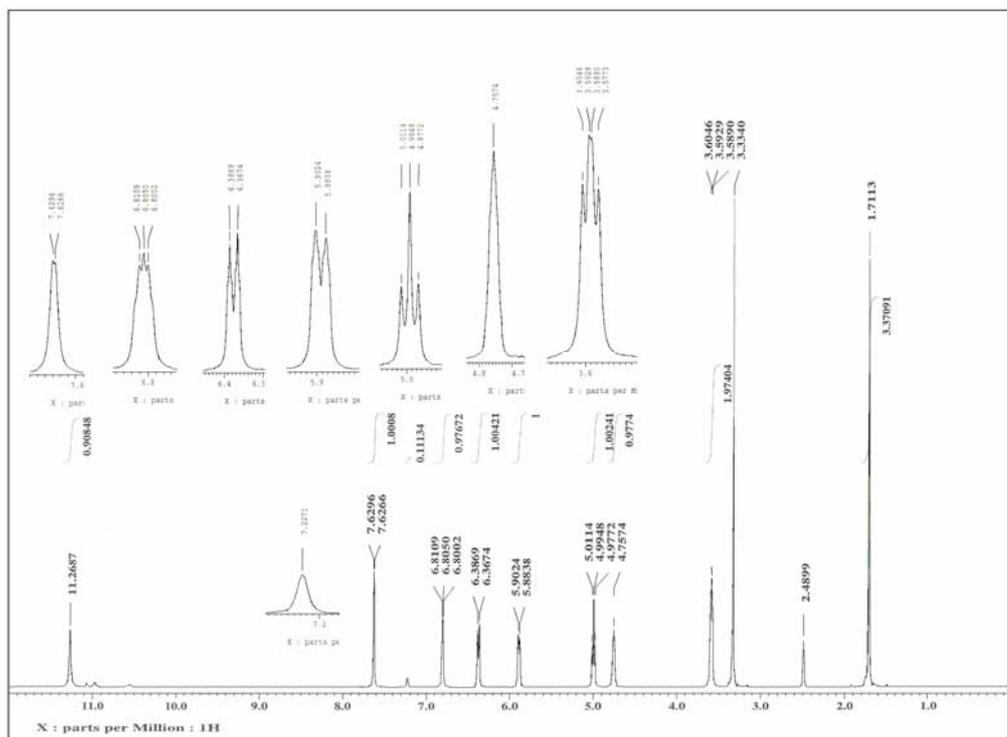
36. Robert Eisberg y Robert Resnick. *Mecánica cuántica. Átomos, moléculas, sólidos, núcleos y partículas*. Ed. Limusa. México **1979**
37. P. W. Atkins. *Química Física*. Ed. Ediciones Omega. 6ªed. Barcelona **1999**.
38. Vainshtein. *Diffraction of X-rays by Chain Molecules*. Ed. Elsevier Publishing Company. Nueva York **1966**.
39. Ron Jenkins y Robert L. Snyder. *Introduction to X-ray. Powder Diffractometry*. Ed. John Wiley y Sons Incorporation. USA **1996**
40. Gurskaya. *Medicinal Chemistry Reserch*. 1991 (25), 483
41. Fragoso Serrano Mabel Clara. *Tesis Doctorado en Ciencias Químicas*. UNAM México **2000**.
42. *Spartan'04 Windows Tutorial and User's Guide*. Wavefunction, Inc. USA **2001-2003**.
43. Spotswood L. Spryance, Andrew T. Pavia, J. W. Mellors, R. Murphy, Joshep Jr. Gathe, E. Stool, J. J. Jemsek, P Dellamonica, A. Cross y L. Dunkle. *Annals of Internal Medicine*. **1997** (126), 355-363.
44. Joseph libro de resonancia.
45. <http://www.jonathanpmiller.com/Karplus.html>

CAPÍTULO 11. APÉNDICE

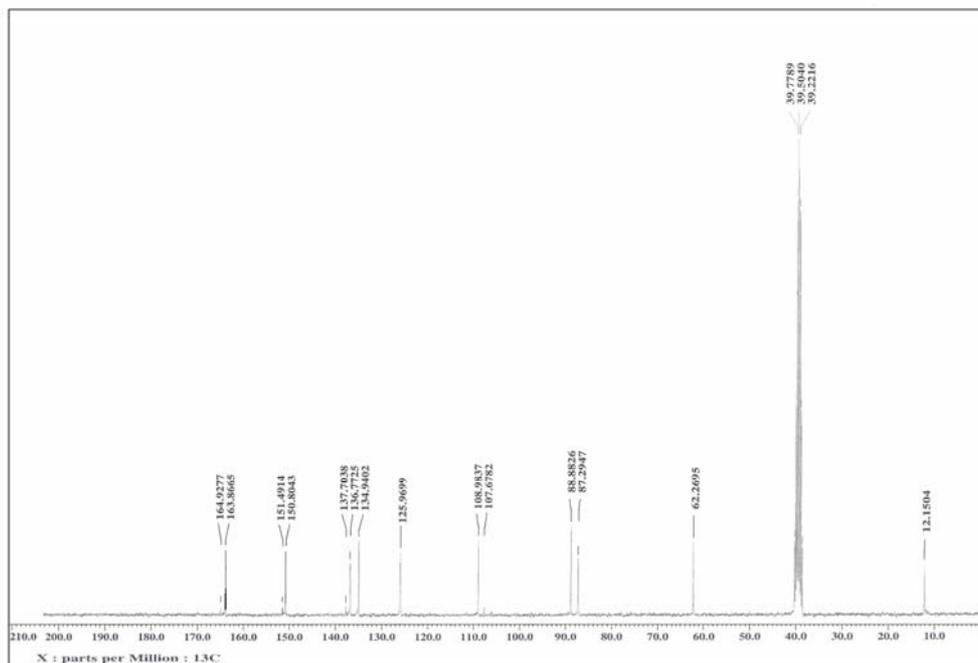




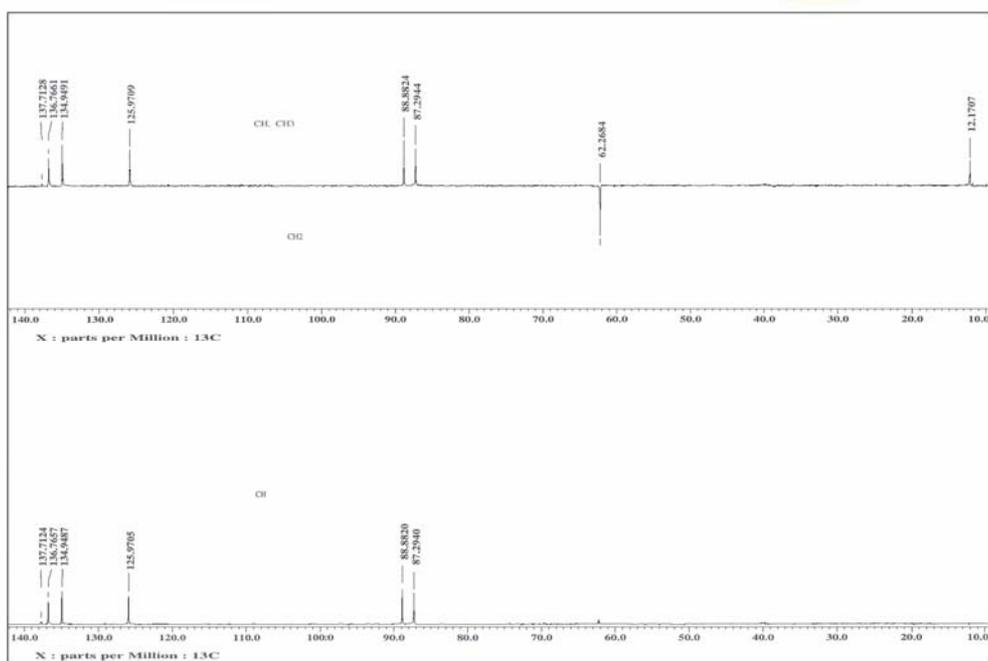
ESPECTRO No. 1: IR de la materia prima stavudina por la técnica de pastilla KBr.



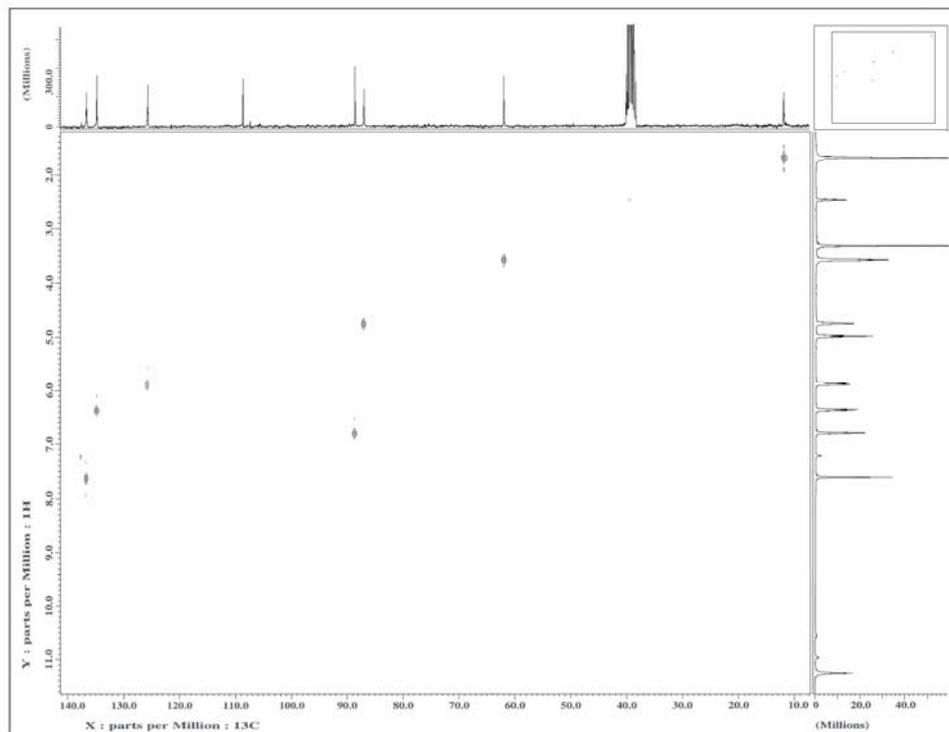
ESPECTRO No. 2: RMN H¹ (300MHz, DMSO d₆) de la materia prima stavudina .



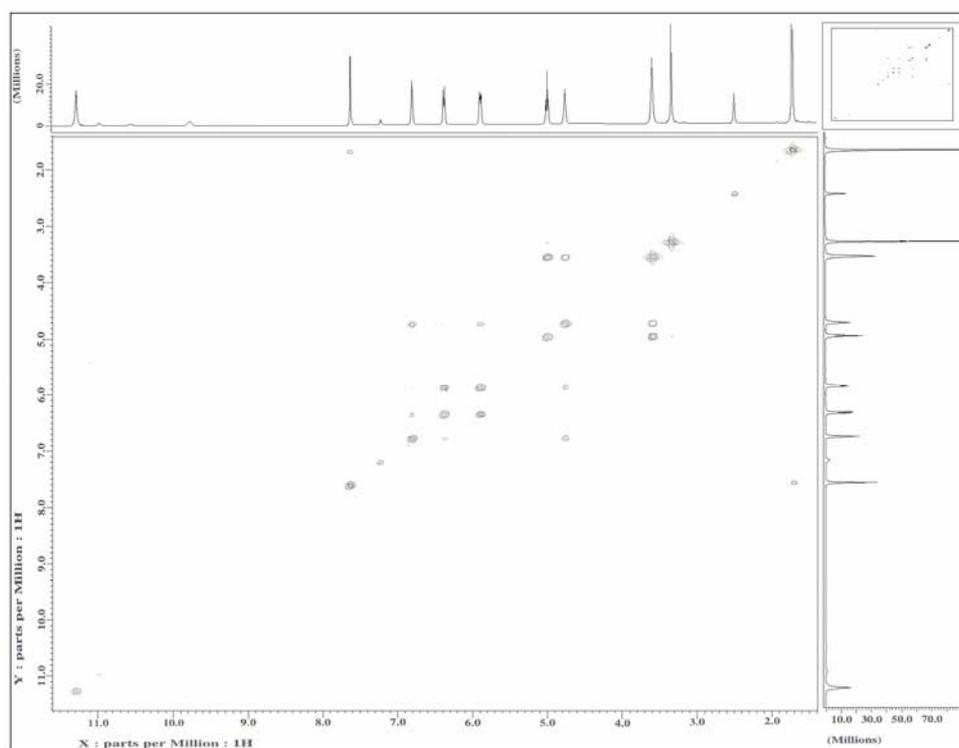
ESPECTRO No. 3: RMN C^{13} (300MHz, $\text{DMSO } d_6$) de la materia prima stavudina.



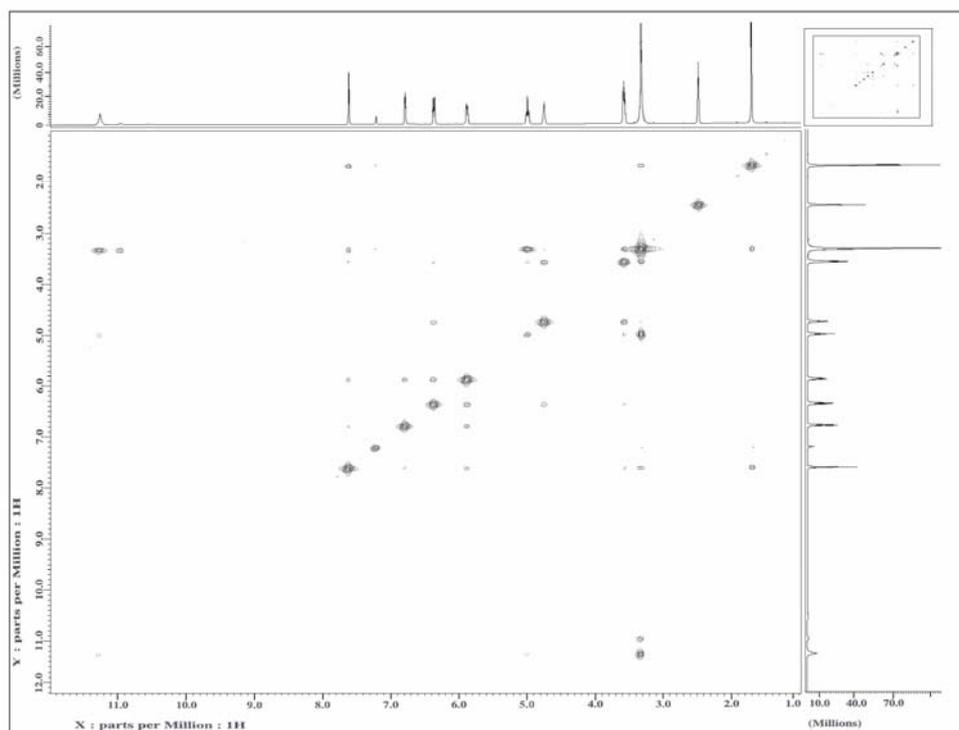
ESPECTRO No. 4: DEPT (300MHz, $\text{DMSO } d_6$) de la materia prima stavudina.



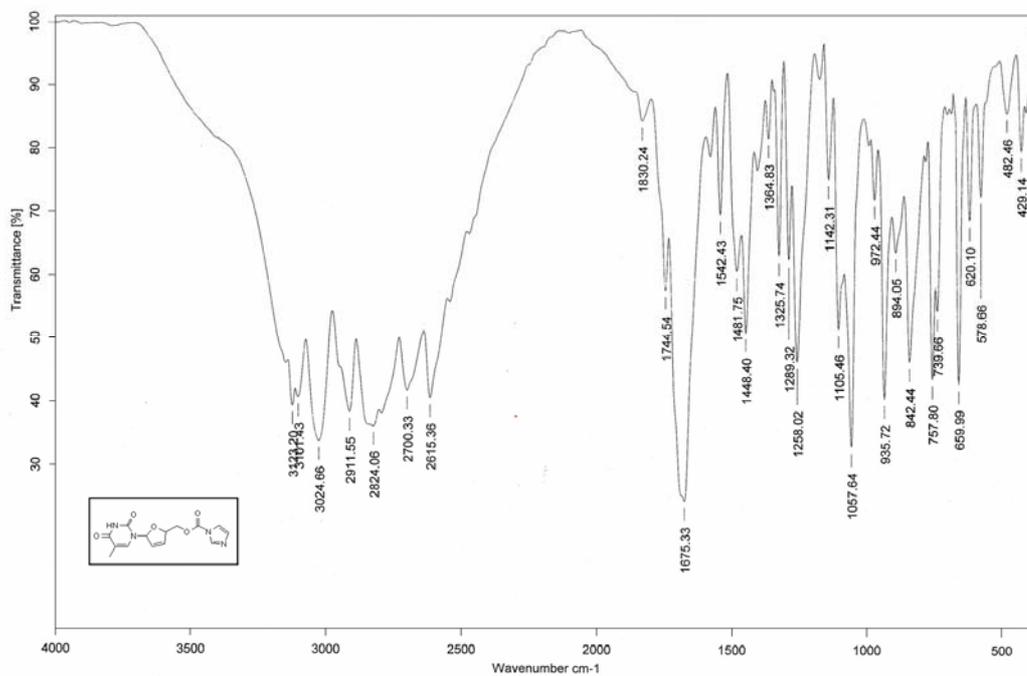
ESPECTRO No. 5: HETCOR (300MHz, DMSO d_6) de la materia prima stavudina.



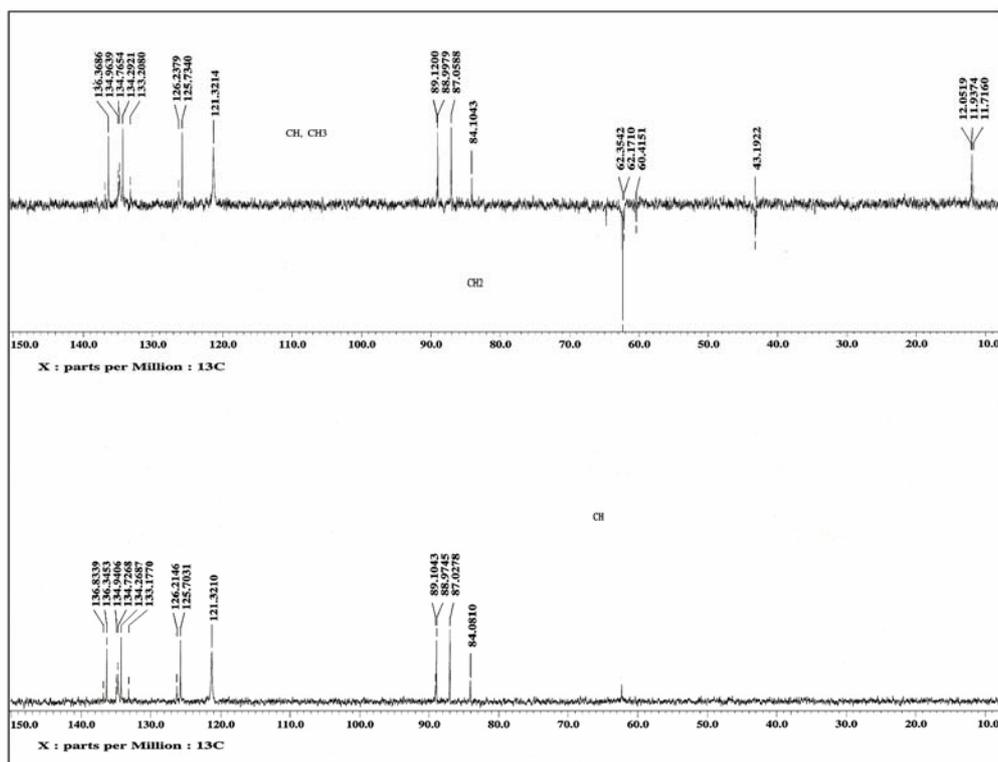
ESPECTRO No. 6: COSY (300MHz, DMSO d_6) de la materia prima stavudina.



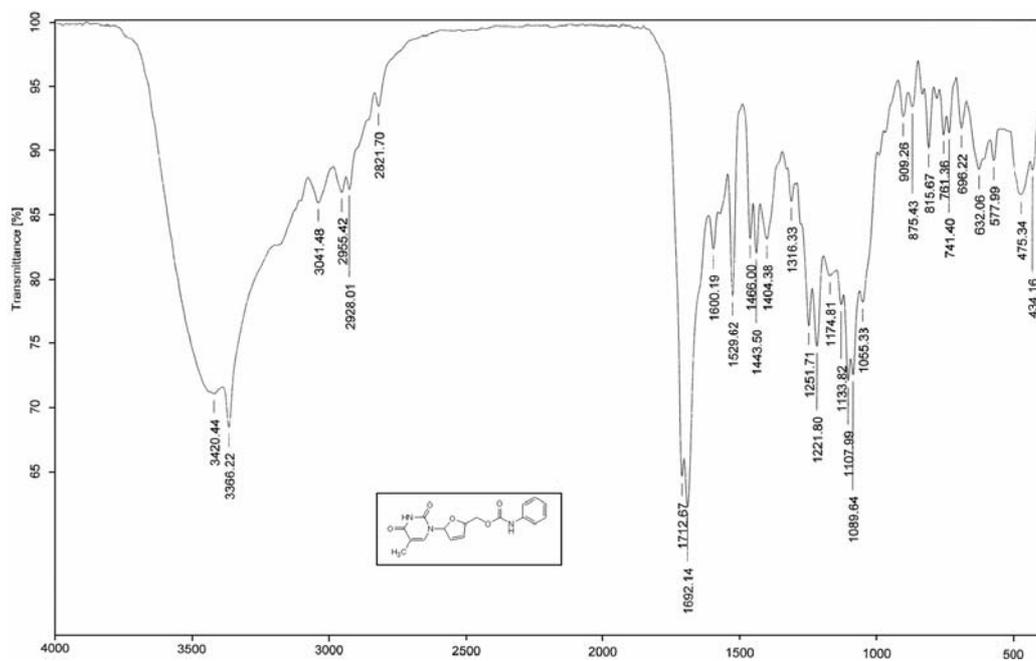
ESPECTRO No. 7: NOESY (300MHz, DMSO d_6) de la materia prima estavudina.



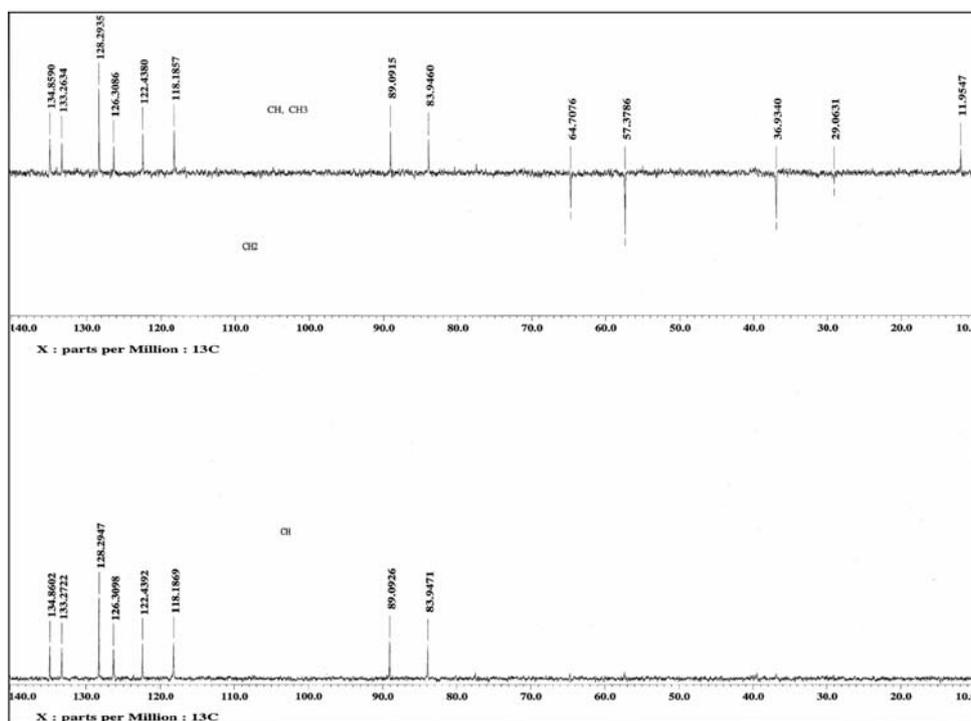
ESPECTRO 8: IR del compuesto (1), por la técnica de pastilla KBr.



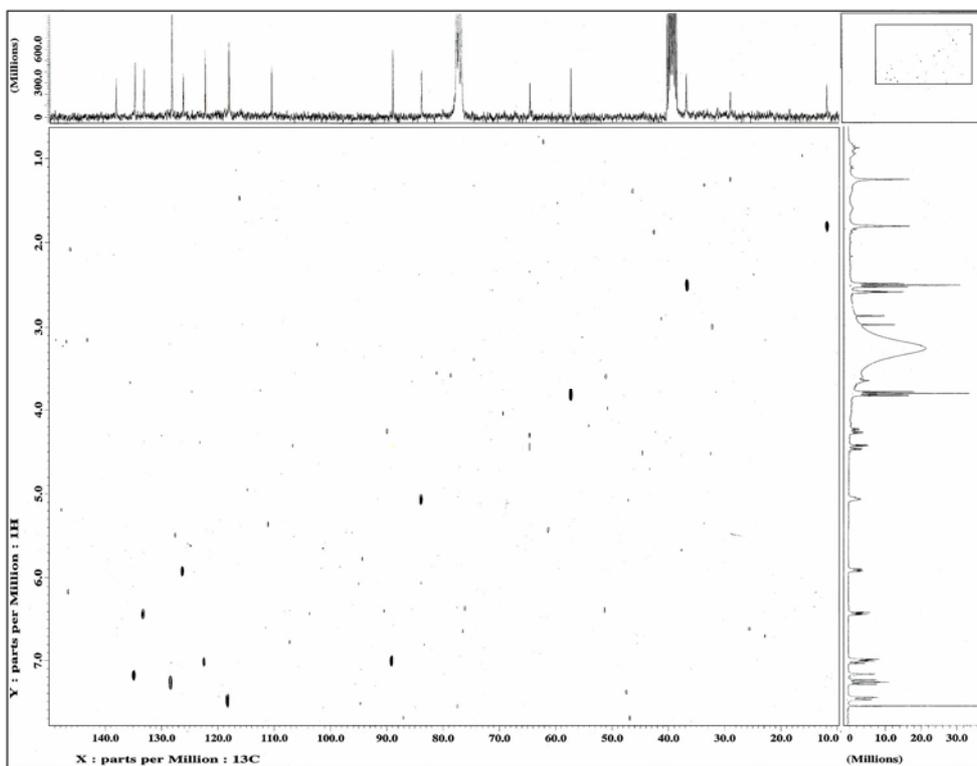
ESPECTRO No. 11: DEPT (300 MHz, DMSO-d₆+ CDCl₃) del compuesto (1).



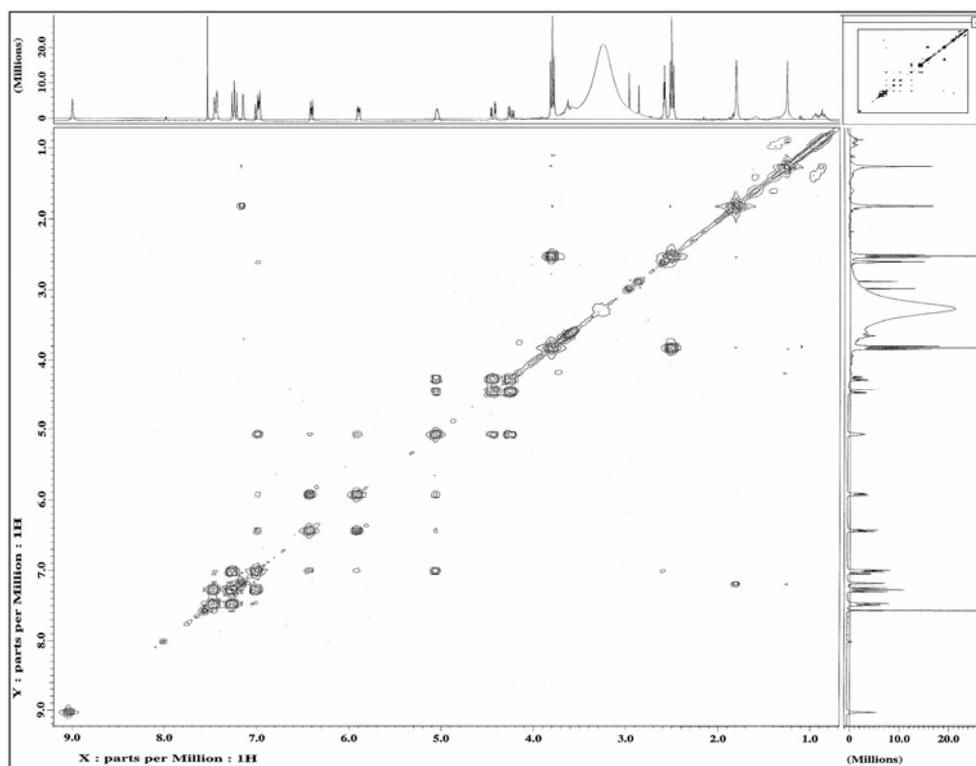
ESPECTRO No. 12: IR del compuesto (2) por medio de la técnica de pastilla KBr.



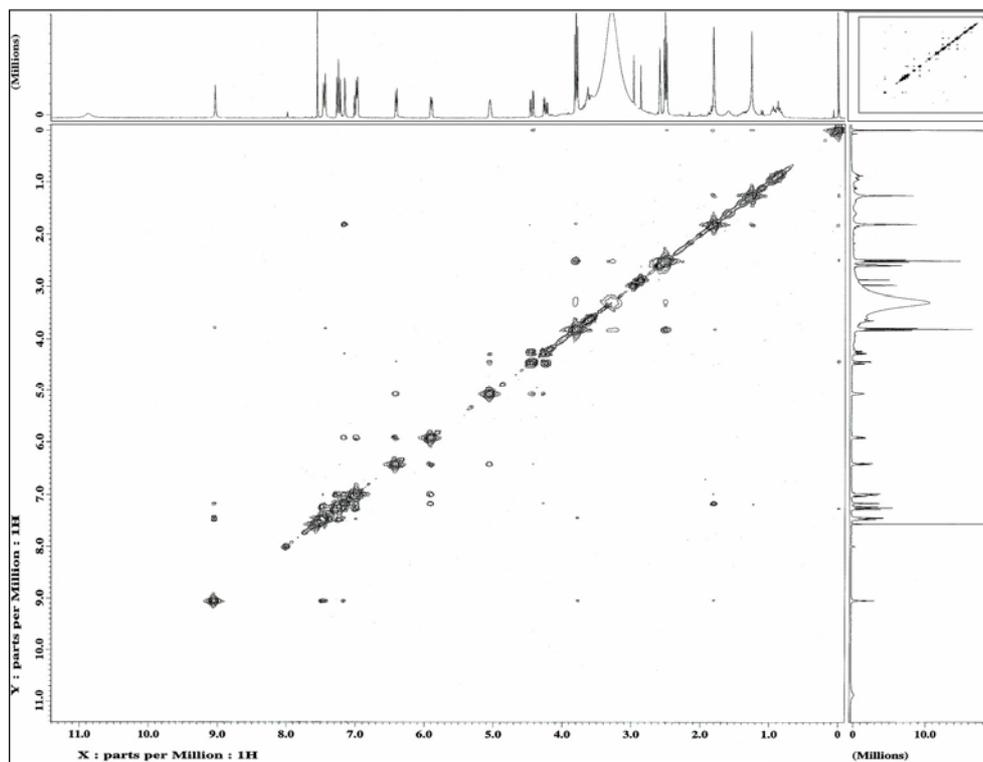
ESPECTRO No. 15: DEPT (300 MHz, DMSO-d₆ + CDCl₃) del compuesto (2).



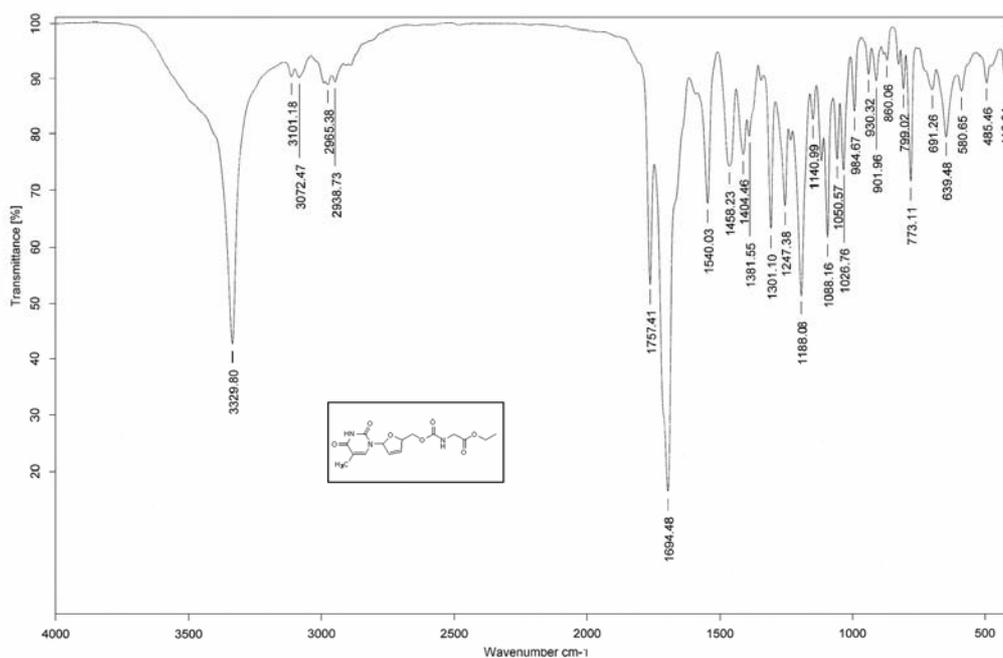
ESPECTRO No. 16: HETCOR (300 MHz, DMSO-d₆ + CDCl₃) del compuesto (2).



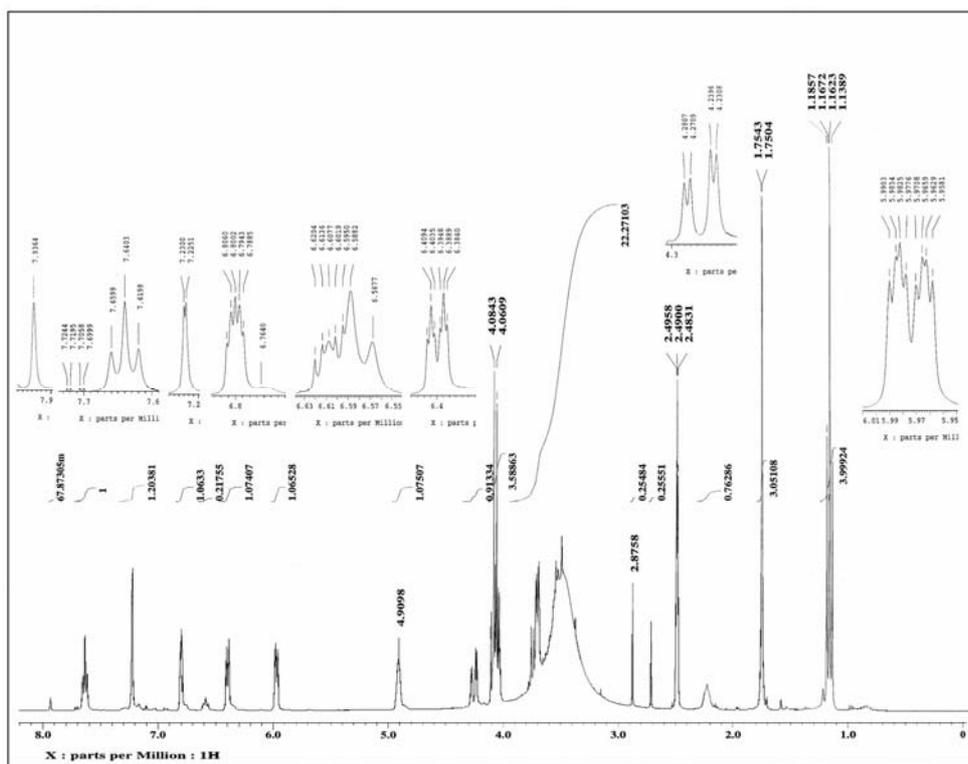
ESPECTRO No. 17: COSY (300 MHz, DMSO-d₆ + CDCl₃) del compuesto (2).



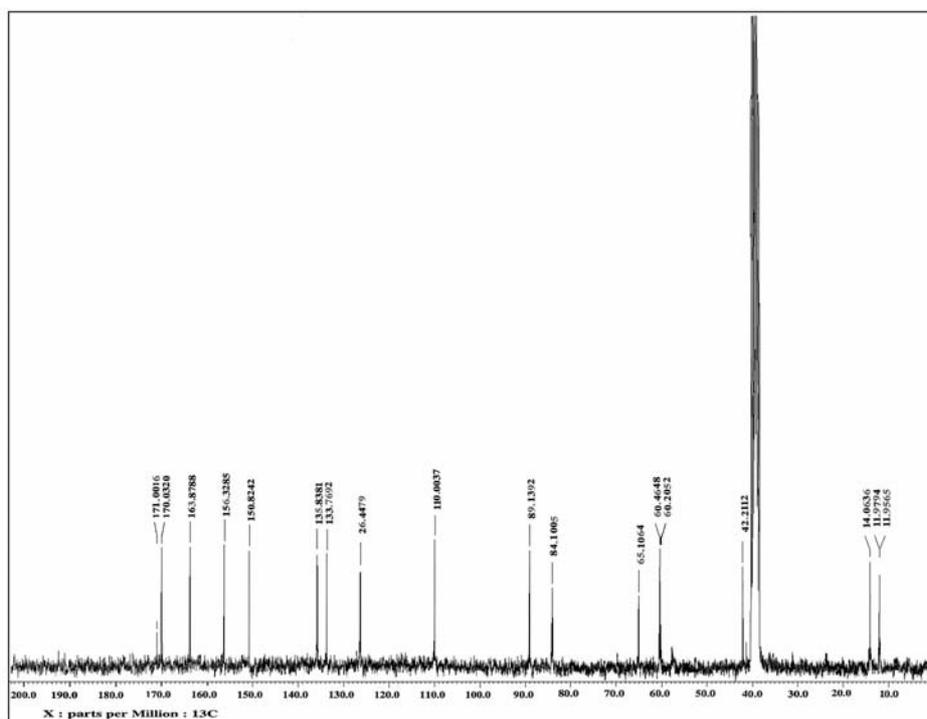
ESPECTRO No. 18: NOESY (300 MHz, DMSO-d₆ + CDCl₃) del compuesto (2).



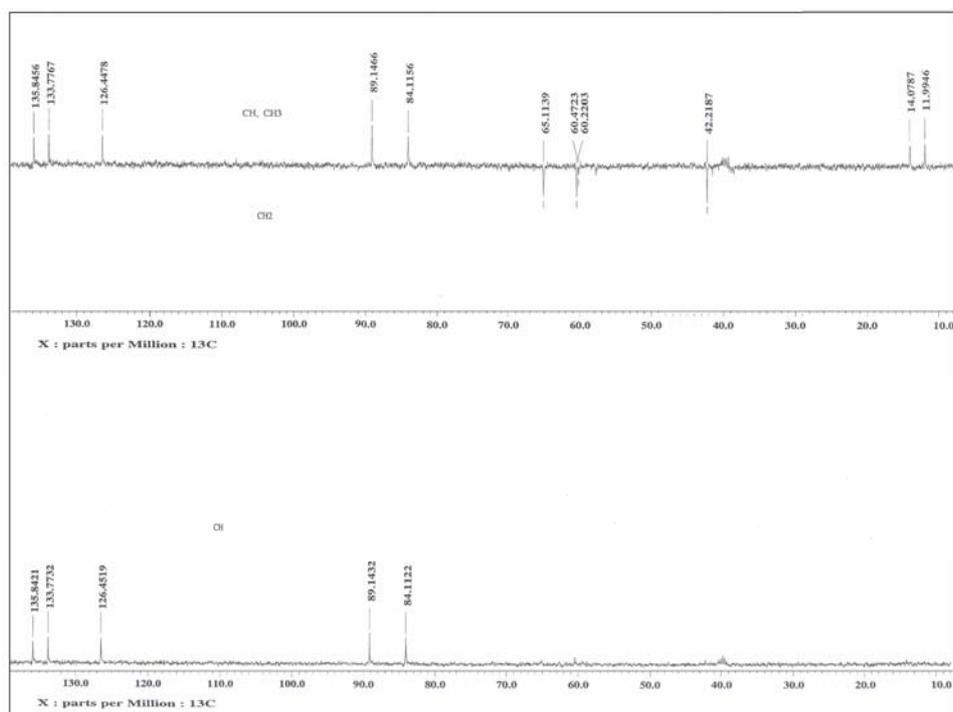
ESPECTRO No. 19: IR del compuesto (3) por medio de la técnica de pastilla KBr.



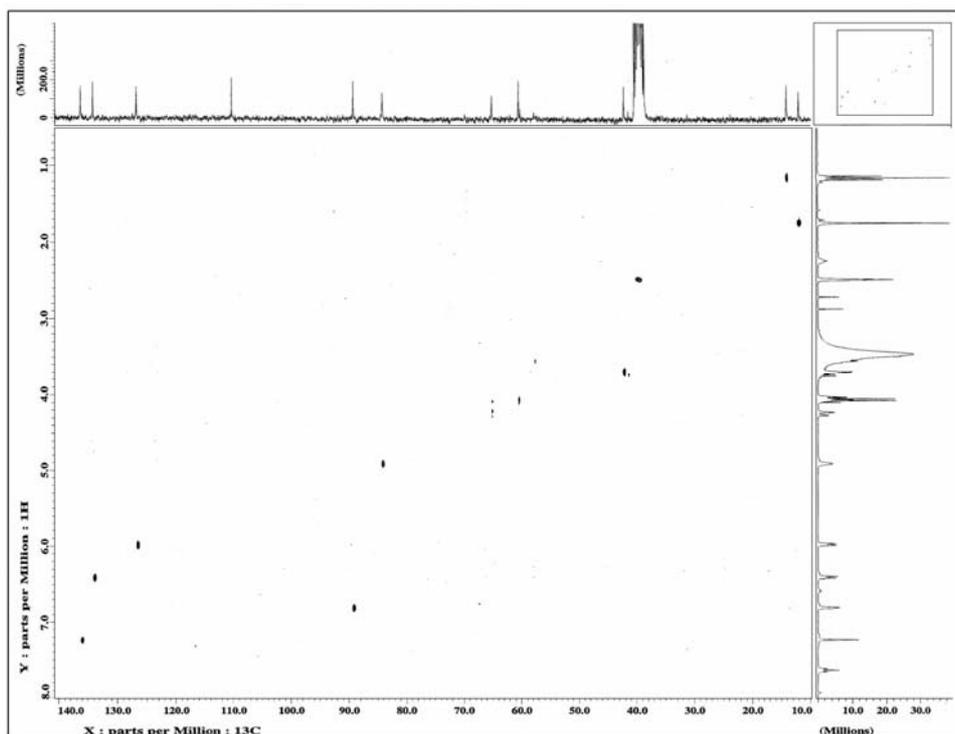
ESPECTRO No. 20: RMN H^1 (300 MHz, MeOD) del compuesto (3).



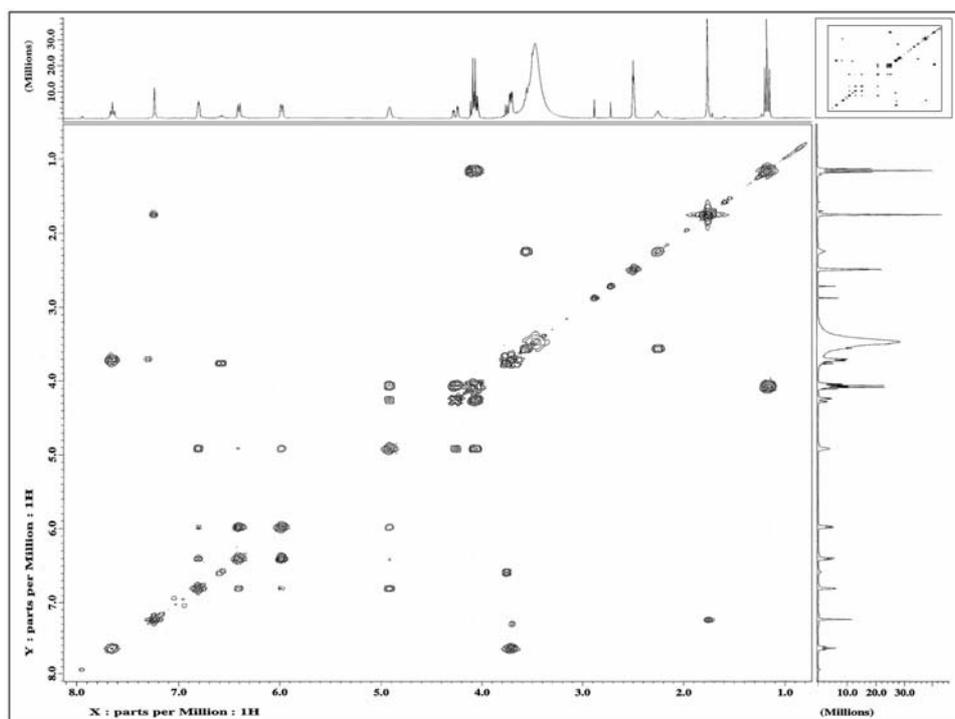
ESPECTRO No. 21: RMN C^{13} (300 MHz, MeOD) del compuesto (3).



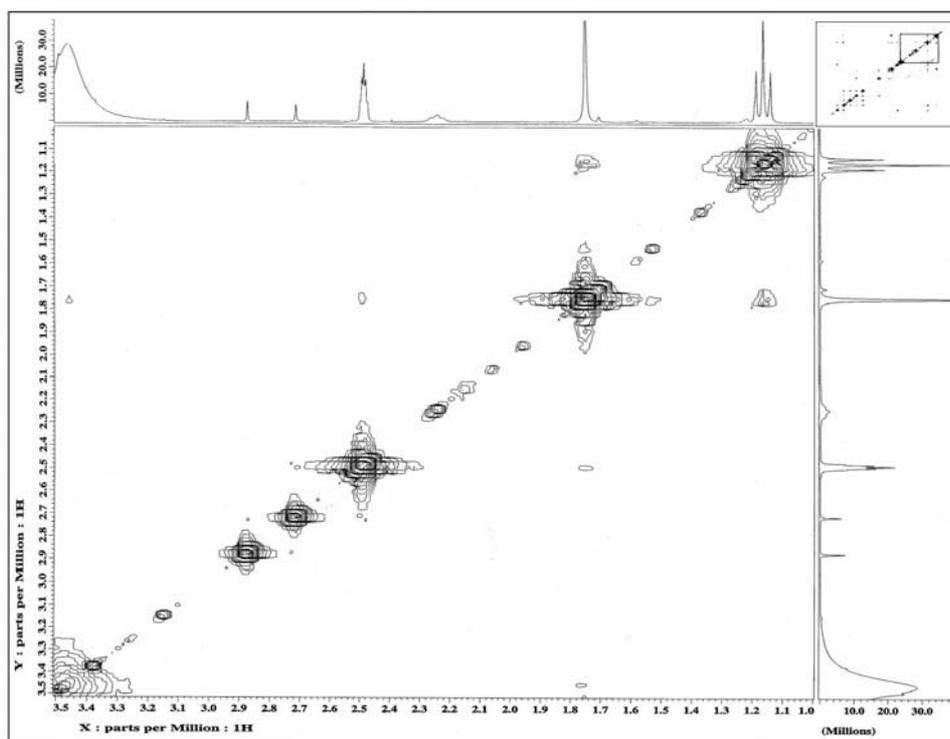
ESPECTRO No. 22: DEPT (300 MHz, MeOD) del compuesto (3).



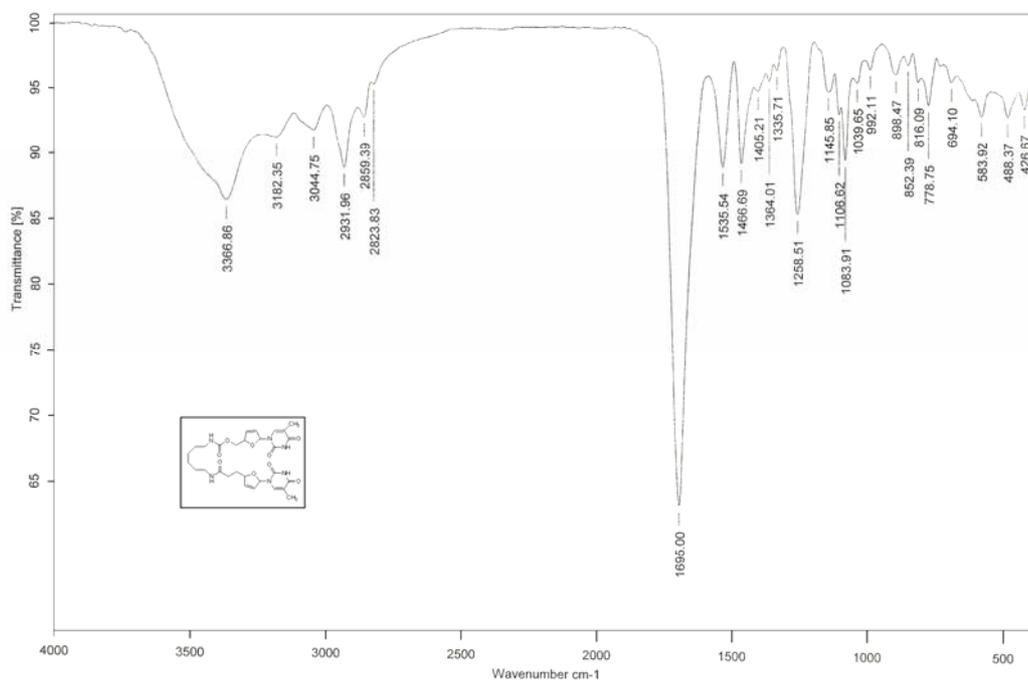
ESPECTRO No. 23: HETCOR (300 MHz, MeOD) del compuesto (3).



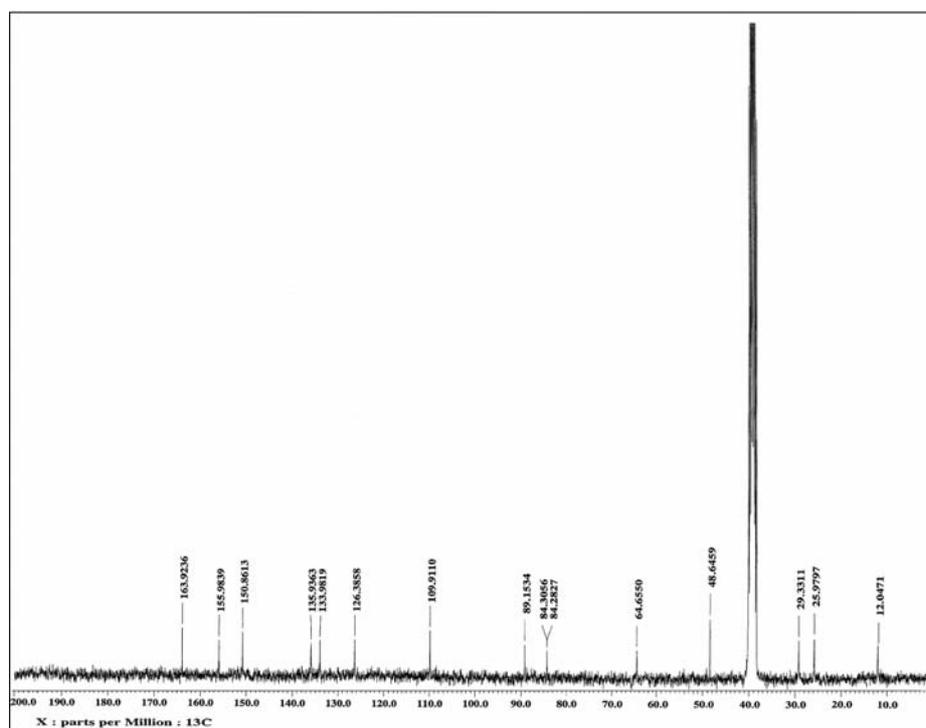
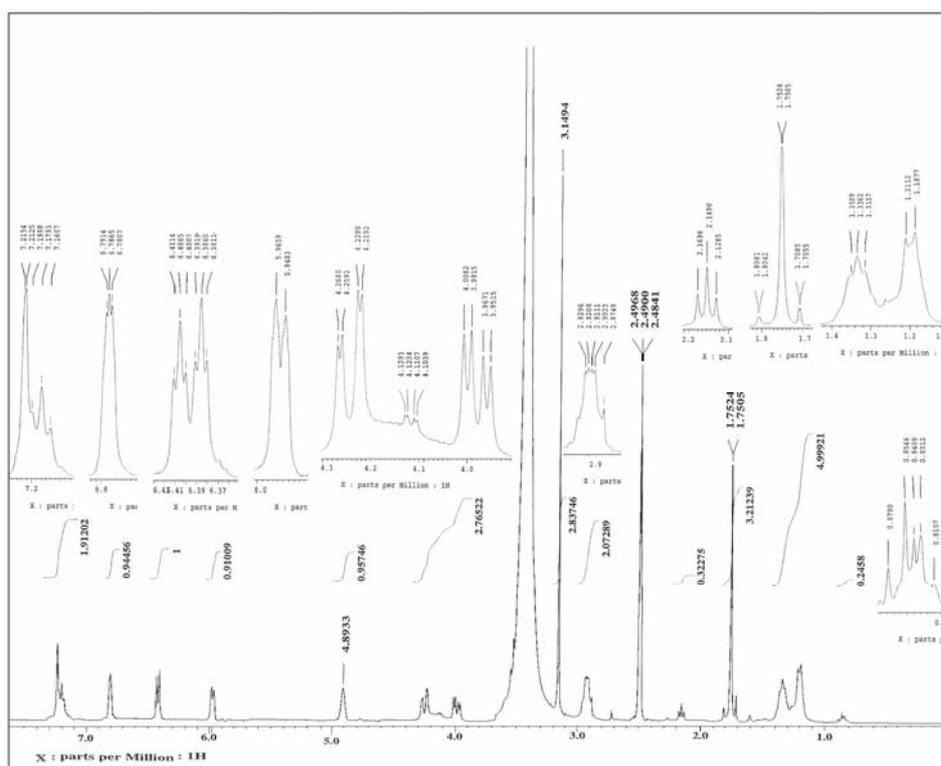
ESPECTRO No. 24: COSY (300 MHz, MeOD) del compuesto (3).

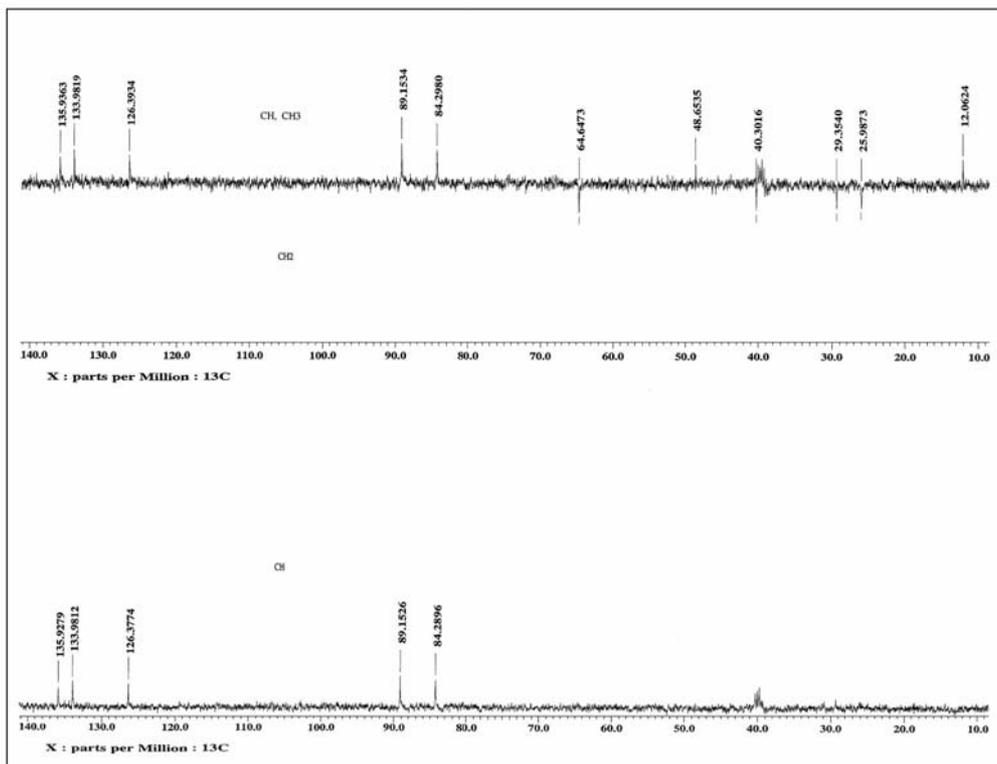


ESPECTRO No. 25: NOESY (300 MHz, MeOD) del compuesto (3).

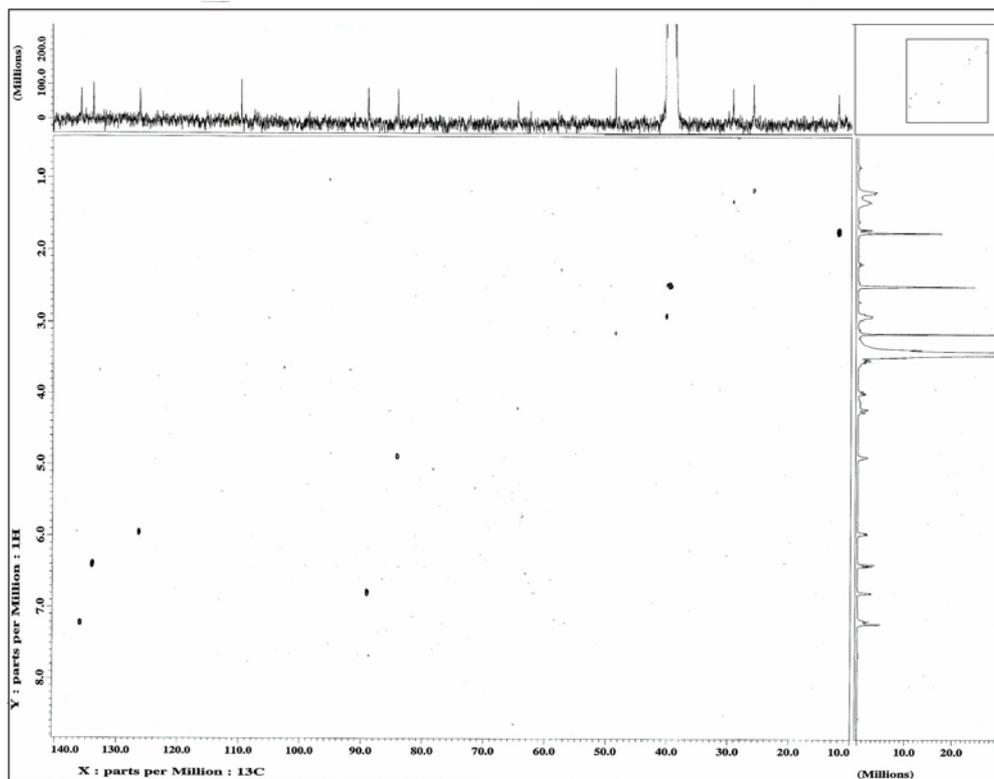


ESPECTRO No. 26: IR del compuesto (4) por medio de la técnica de pastilla KBr.

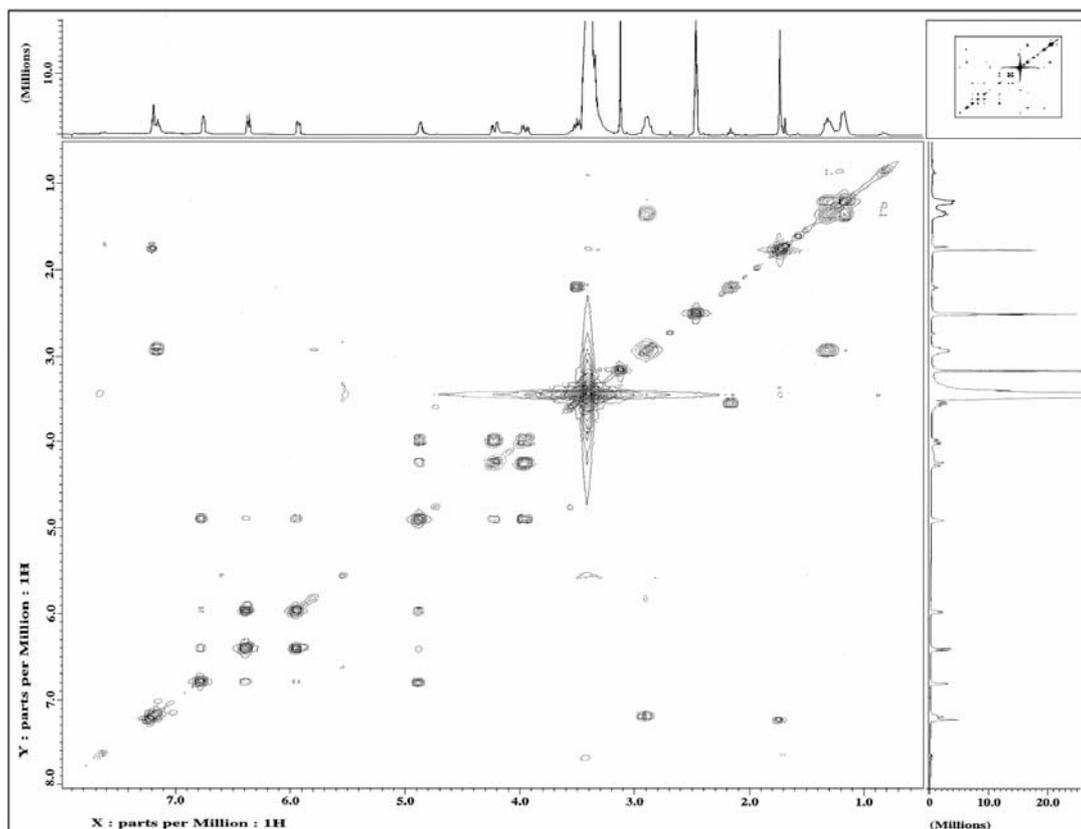




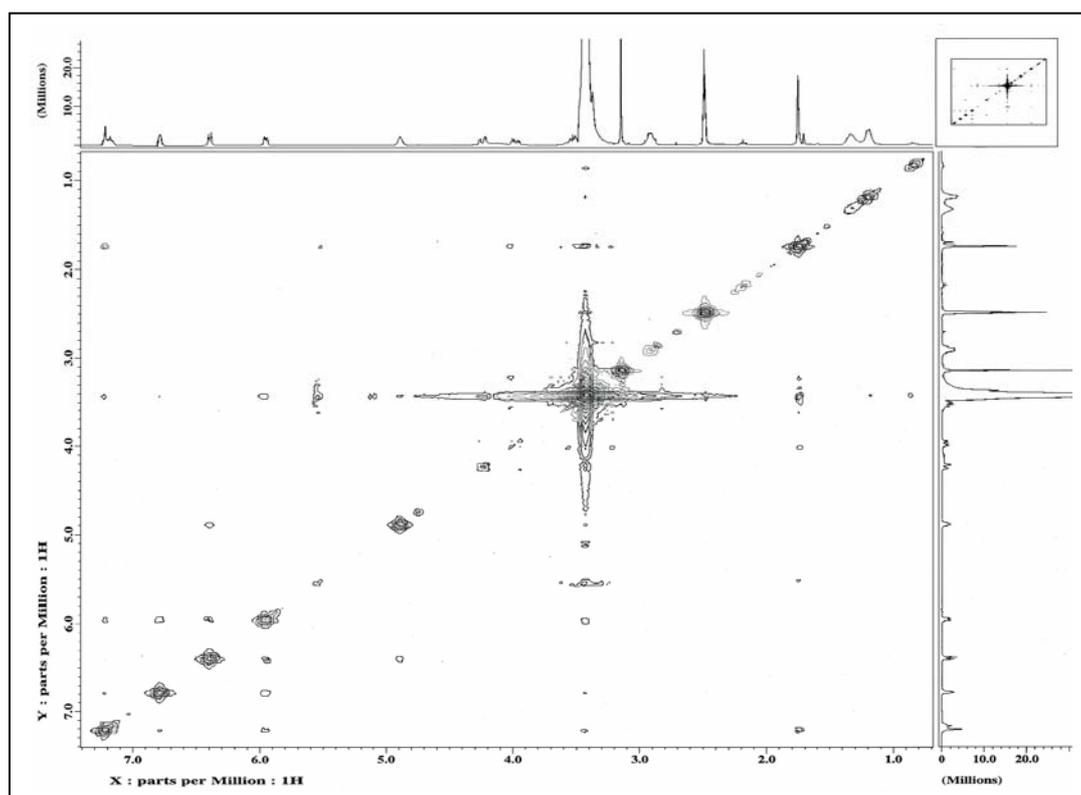
ESPECTRO No. 29: DEPT (300 MHz, DMSO+d₆) del compuesto (4).



ESPECTRO No. 30: HETCOR (300 MHz, DMSO+d₆) del compuesto (4).



ESPECTRO No. 31: COSY (300 MHz, DMSO+d₆) del compuesto (4).



ESPECTRO No. 32: NOESY (300 MHz, DMSO+d₆) del compuesto (4).