



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**SÍNTESIS DE ÁCIDOS DIAMINOHIDROXI Y
AMINODIHIDROXI CICLOHEXENCARBOXÍLICOS
SIMILARES A OSELTAMIVIR (TAMIFLÚ)**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUIMICO

PRESENTA:

LUIS DANIEL SIFUENTES VÁZQUEZ



MÉXICO, D.F.

AÑO 2012



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: Profesor: Elvira Santos Santos
VOCAL: Profesor: Gustavo Alberto García de la Mora
SECRETARIO: Profesor: Ana Adela Sánchez Mendoza
1er. SUPLENTE: Profesor: Araceli Patricia Peña Álvarez
2° SUPLENTE: Profesor: Juan Gómez Dueñas

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA
FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.**

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Gustavo Alberto García de la Mora

SUPERVISOR TÉCNICO:

Yvonne Grillasca Rangel

SUSTENTANTE:

Luis Daniel Sifuentes Vázquez

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, la cual me ha brindado la oportunidad de realizar mis metas ofreciéndome la mejor calidad educativa y a la cual considero mi segundo hogar.

Al Dr. Gustavo Alberto García de la Mora, quien me mostró el camino del conocimiento y me ha apoyado desde mi ingreso en este grupo de trabajo. Además de considerarlo mi mentor, lo considero mi amigo y modelo a seguir.

A la Q. Alejandrina Acosta Huerta y a la Q. Irene Audelo Méndez por la realización de los espectros de RNM- H^1 y RNM- C^{13} , a la Q. Maricela Gutiérrez Franco por la elaboración de los espectros de IR y a la Q. Georgina Duarte Lisci y a la QFB Margarita Guzmán Villanueva por la realización de los espectros de Masas.

A la Q. Yvonne Grillasca Rangel y por sus consejos y aportaciones, así como por la supervisión y el apoyo técnico brindado.

A la Q. Alejandrina Acosta Huerta por sus enseñanzas y por su gran paciencia para escucharme, comprenderme y entenderme, sobre todo cuando el tiempo de trabajo se extendía a tiempos inesperados.

A la Q. Irene Audelo Méndez, quien siempre estuvo dispuesta a brindarme su apoyo y su consejo, así como su agradable compañía.

Al Dr. Carlos Rius Alonso, quien estuvo dispuesto a compartir su conocimiento conmigo a cualquier hora, además de iluminarme cuando no vislumbraba el camino.

Al M. en C. Jorge Cárdenas Pérez y al Dr. Rubén Gaviño Ramírez por el apoyo en la elaboración e interpretación de los espectros de RNM de 400 MHz.

Al grupo de trabajo del laboratorio 205 y 206 por todo el apoyo y el conocimiento compartido. Gracias.

A mi mamá, por todas las noches que te desvelaste conmigo, por todo el cariño y amor que pusiste para que yo pudiera llegar hasta este punto y por no dejarme caer cuando parecía que ya no podía más. Te quiero.

A mi papá, por enseñarme que las cosas buenas cuestan y que no hay nada que uno no pueda hacer, además de alentarme a realizar todas mis actividades poniendo el 200% de mí. Te quiero.

Al oso, que nunca ha dudado en apoyarme en cada una de las actividades que realizo, además de ser quien me ha enseñado que no todo en la vida es escuela, siempre te apoyaré.

A la familia Vázquez, por mostrarme que la vida puede ser muy alegre, por acompañarme durante el camino en las buenas y en las que no lo son tanto. Gracias.

A la familia Sifuentes, por todo el cariño que siempre me han dado, por estar ahí sin importar la hora o el problema, por cuidar de mí y procurarme siempre lo mejor. Gracias

A Nany, por que con tu apoyo, comprensión y cariño me mostraste que hay una luz al final del túnel, por que con tus yafs y barufs me alegraste todos estos días. Gracias.

A Juan Manuel, por su colaboración directa a este trabajo, por esperar cuando ya no había luz ni tiempo. Gracias.

A mis queridos amigos y colegas químicos, Ray, Sam, Thalís, Naytzé, Neto, Armando "Martha", Abel, Colín, Nat, Danea, Oz, Oscar, David, Gerard, Lili, Otho, Montané, Ross, Paty "Patybuss", Lalo "Cea's Master", Adrian, Bruce, Salvador "Moreno", Ana Karen, Sandrita. Espero no olvidar a nadie, no es intencional.

A mis muy queridos amigos encontrados en la facultad, Juanma, Vero, Naye, Ana Karen, Susana, me siento feliz de haberlos encontrado.

A la Dra. María Antonia Dosal y al Dr. Octavio Reyes Salas, por su ayuda durante mi formación profesional.

A todas y cada una de las personas que me han acompañado durante mi vida y que me han permitido llegar hasta donde estoy.

“La violencia es el último recurso de los incompetentes”

HARI SELDON

“S.T.A.R.S.”

NEMESIS



ÍNDICE

Abreviaturas.....	7
Introducción.....	9
Antecedentes.....	15
Objetivos.....	20
Síntesis Propuesta.....	21
Resultados y Discusión.....	25
Conclusiones.....	51
Sección Experimental.....	54
Referencias.....	66

ABREVIATURAS

δ : Desplazamiento químico en partes por millón, usando TMS como referencia interna.

ppm: Partes por millón

J: Constante de acoplamiento

IR: Infrarrojo

EM: Espectrometría de Masas

RNM: Resonancia Nuclear Magnética

DEPT: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

c.c.f: Cromatografía en capa fina

CDCl_3 : Cloroformo deuterado

$^{\circ}\text{C}$: Grados Celsius

TMS: Tetrametilsilano

g: gramos

mL: mililitro

MHz: Megahertz

m/z: relación masa/carga

Ac. MCPB: Ácido *m*-cloroperbenzoico

Ac. MCB: Ácido *m*-clorobenzoico

MeOH: Metanol

COSY: Correlation Spectroscopy

Hex: Hexano

AcOEt: Acetato de Etilo

pH: Potencial hidrógeno

UV: Ultravioleta

P(Φ)₃: Trifenilfosfina

T: Temperatura

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

AcOH: Ácido Acético

AcO⁻: Acetato

∫: Integración

INTRODUCCIÓN

La influenza es una enfermedad contagiosa de las vías respiratorias causada por diferentes tipos de retrovirus de la familia de los *Orthomyxviridae*. Dentro de esta familia de virus, sólo 3 subtipos son capaces de provocar la enfermedad: los Influenza-virus A, B y C. En general, esta enfermedad produce un cuadro clínico que provoca síntomas desagradables pero tolerables, los cuales desaparecen por acción natural del sistema inmunológico. Sin embargo, en ocasiones, aparecen nuevas cepas mutantes que debido a su facilidad de contagio e inmunidad a las defensas naturales, provocan pandemias con consecuencias desastrosas. En el siglo XX se registraron 3 grandes pandemias, entre las cuales la peor de todas fue la que produjo una nueva variante de los virus H1N1 de 1918 a 1920, la gripe española, ya que se calcula que alrededor del mundo mató entre 100 y 200 millones de personas.

Actualmente, la influenza continúa siendo un problema de gran importancia en el ámbito de la salud mundial, se estima que entre 20 000 y 40 000 personas mueren anualmente debido a éste padecimiento. Adicionalmente a las muertes anuales registradas, la reciente pandemia de la influenza de tipo AH1N1 culminó con un número mayor de muertes, además de que existe la preocupación por el posible esparcimiento del virus de la gripe aviar cuya mortalidad es de más del 50%.^[1]

También hay un fuerte temor ante el desarrollo de una pandemia cuya mortalidad sea mayor que la registrada por la AH1N1. La mayoría de los virólogos coinciden en que una pandemia se presentará en las próximas décadas derivada de la influenza AH5N1 o de alguna de las mutaciones provenientes de la subfamilia de virus tipo A^[2].

El mecanismo principal de prevención de la influenza es a través de la vacunación. Sin embargo, el tiempo estimado en producir suficientes vacunas para una gran cantidad de población, es de seis a ocho meses y la vacuna solo puede ser almacenada por diez y ocho meses, además de que debe ser administrada por lo menos 4 semanas antes de entrar en contacto con el virus para tener una buena efectividad. Aunado a esto, los virus de la influenza mutan de temporada a temporada, lo que obliga a fabricar nuevas vacunas para estas cepas resistentes.

Por otra parte, la influenza tiene un fuerte impacto en la economía de diversas naciones, las cuales gastan una cantidad considerable de su presupuesto para tener almacenados antivirales en caso de una pandemia. Tan solo los Estados Unidos de Norteamérica, gastaron en 2004 alrededor de trece millones de dólares en vacunas en contra de la influenza de tipo AH5N1^[3].

No obstante, el mecanismo de replicación único que presenta el virus de la influenza, ha permitido que, en la actualidad se pueda identificar un número potencial de moléculas del virus que pueden ser atacadas por los medicamentos. Entre estos blancos, se encuentra la Neuroaminidasa (NA) (Figura 1), la cual es una de las glicoproteínas que más se encuentra expresada en la superficie de los virus de la influenza tanto de tipo A como de tipo B. Esta Neuroaminidasa remueve las terminaciones de ácido salicílico de las glicoproteínas y glicolípidos y se piensa, que su actividad es necesaria para la liberación de los nuevos virus formados en las células infectadas, así como para permitir el movimiento del virus a través del sistema respiratorio, lo cual aumenta su capacidad infecciosa. Por todas estas razones, se ha considerado

a la Neuroaminidasa como el blanco más propicio en el combate contra la influenza ^[4].



Figura 1: Estructura de rayos X de la enzima Neuroaminidasa.

Los actuales inhibidores de la Neuroaminidasa son una nueva clase de medicamentos contra la influenza, siendo el Zanamivir y el Oseltamivir (Figura 2). Los dos medicamentos han sido aprobados para consumo humano. Sin embargo, de éstos dos, el oseltamivir es el único que presenta una buena biodisponibilidad después de su administración por vía oral.

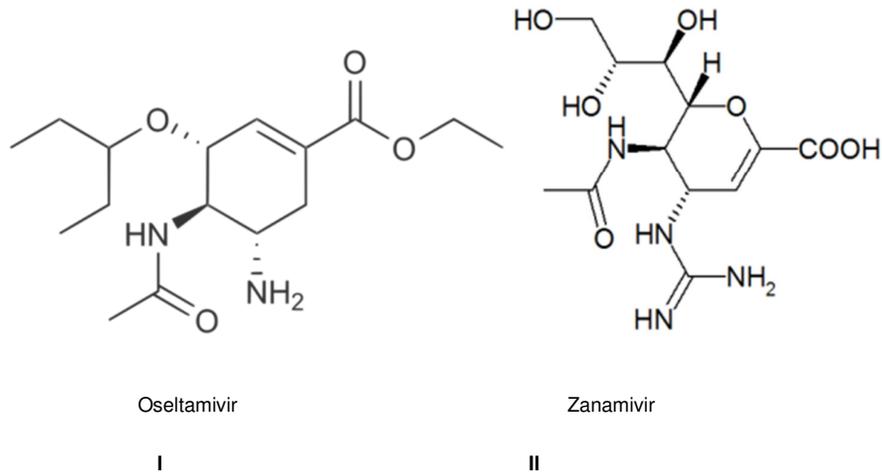


Figura 2: Inhibidores de la Neuroaminidasa.

Se piensa que ambos fármacos tienen interacciones con la proteína, similares a las que presenta el sustrato natural, el ácido neuroamínico (Figura 3), aunque ambos medicamentos dependen también de interacciones con residuos de aminoácidos diferentes de aquellos con los que interacciona el ácido neuroamínico y la enzima. Se ha anticipado que la resistencia a los inhibidores de la Neuroaminidasa, será dada por las modificaciones en los residuos de la estructura de la proteína, antes que por modificaciones en el sitio activo ^[5].

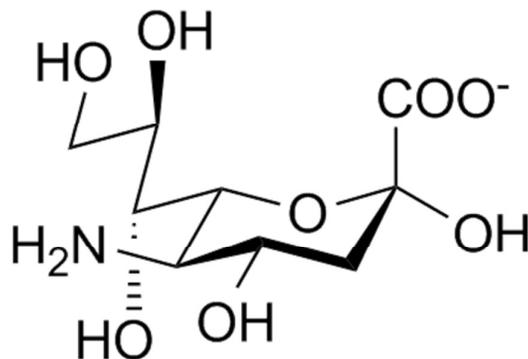


Figura 3: Ácido neuroamínico, sustrato natural de la Neuroaminidasa.

Se ha descubierto que la molécula de la Figura 4, es un estado de transición que se une al sitio activo de la influenza. Con base en esto, fueron sintetizados algunos compuestos similares, a los cuales se les evaluó su capacidad como inhibidores de la Neuroaminidasa. Además de estas estructuras cuya actividad fue medida *in vitro*, también se probaron por modelaje molecular, otras estructuras que también fueron comparadas con su actividad *in vitro* arrojando resultados favorables [4].

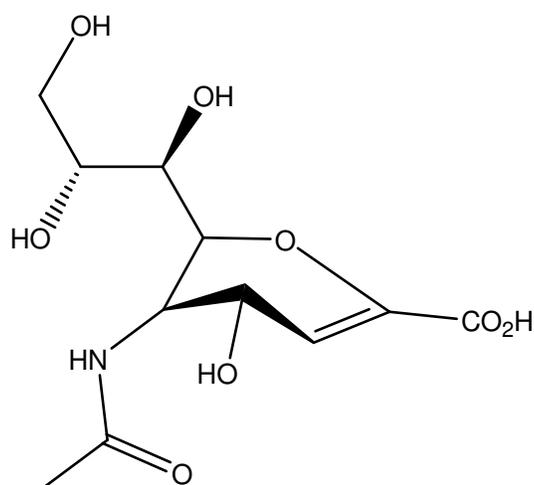


Figura 4: Estado de transición que interacciona con el sitio activo.

ANTECEDENTES

Como ya se ha descrito anteriormente, la importancia del Oseltamivir provocó el desarrollo de diversos métodos para su síntesis. Este medicamento fue descubierto y patentado en 1995 por la compañía “Gilead Sciences”. Sin embargo, en sus inicios, la producción de este ácido se realizó a partir del (-)-ácido Shiquímico (Figura 6), el cual por contener dentro de su estructura al sistema carbocíclico y 3 centros quirales, facilitó la obtención del Oseltamivir, mediante una ruta de 14 reacciones que tuvo un rendimiento global del 15%.

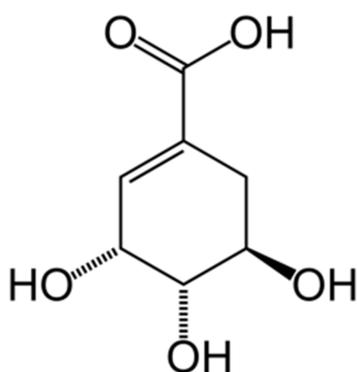
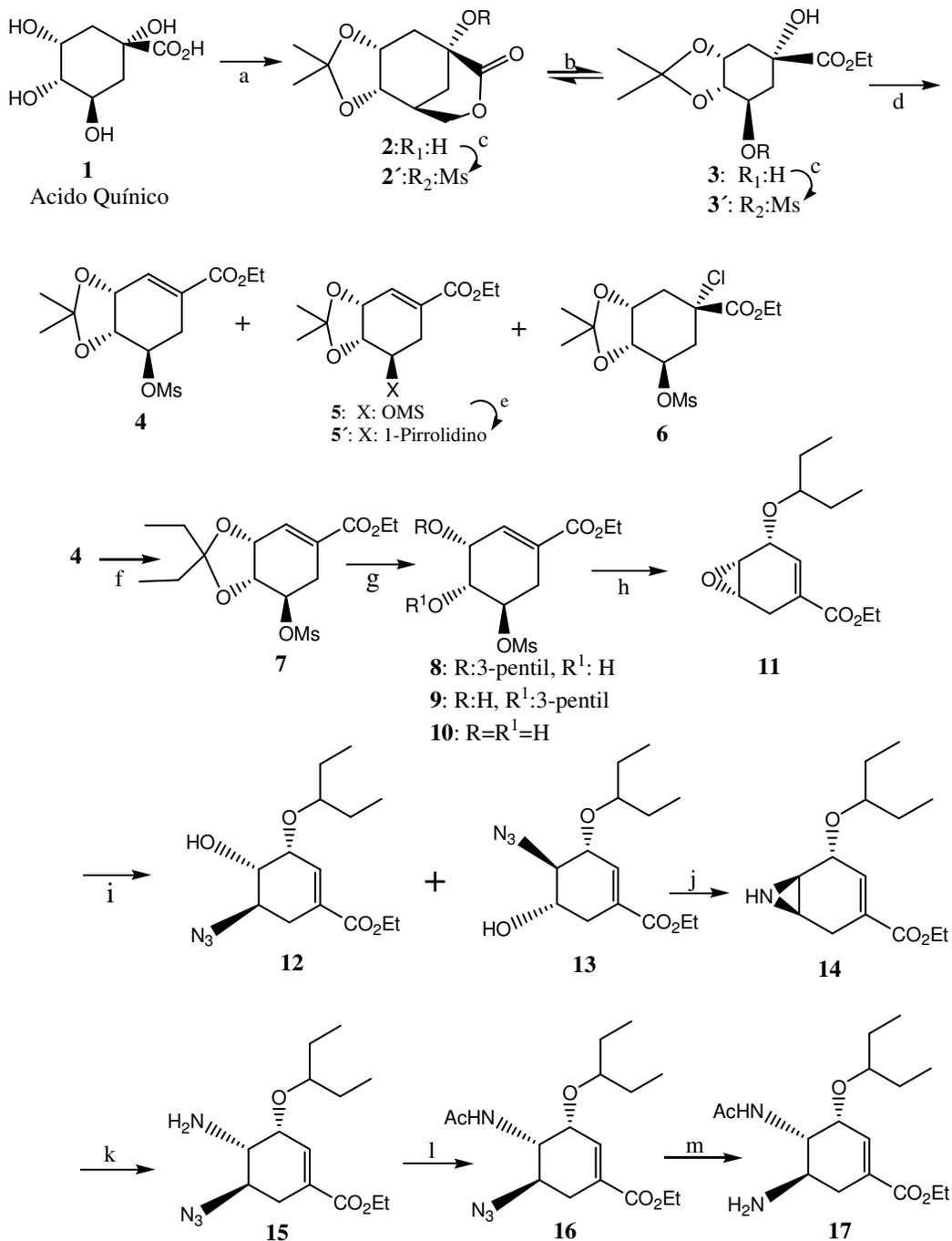


Figura 6: (-)-Ácido Shiquímico.

Debido al alto costo del (-)-ácido Shiquímico y la baja disponibilidad, ésta compañía se vio en la necesidad de optimizar su ruta de síntesis y buscar otra materia prima inicial, por lo que se escogió el (-)-ácido quínico, el cual se transformaba en el acetónido correspondiente usando un método previamente descrito ^[4,5]. El resultado de esta modificación produjo que la síntesis del Oseltamivir fuera redituable, ya que el (-)-ácido quínico es un reactivo barato y de fácil acceso, por lo que “Gilead Sciences” pudo así proponer la primera ruta de síntesis a gran escala **Esquema I** ^[6].



Condiciones y reactivos: (a) 2,2 dimetoxipropano, p-TsOH, acetona, reflujo 2h, (b) NaEtO, EtOH (abs), ta, 2h, (c) MsCl, TEA, CH₂Cl₂, 0-5 °C, 1.5h, rendimiento de **3'**: 65% (tres pasos), (d) SO₂Cl₂, py, CH₂Cl₂, proporción **4**:**5**:**6** [4:1:1], (e) mezcla de **5**:**5'**:**6**, pirrolidina, (Ph)₄PPd, EtOAc, 35°C, 3.5 h, rendimiento de **4** 30% a partir de **1**, (f) 3-pentanona, HClO₄, 40°C, 25mmHg, 95%, (g) TMSOTf, BH₃Me₂S, CH₂Cl₂, -10°C a -20°C, 45 minutos, proporción de **8**:**9**:**10** [10:1:1], 75%, (h) KHCO₃, EtOH/H₂O, 56-65°C, 1h, 98%, (i) NaN₃, NH₄Cl, EtOH/H₂O, 12-18 h, proporción **12**:**13** [10:1], 85% (j) Me₃P, MeCN, <38°C, 2h, 97%, (k) NaN₃, DMF, 70-80°C, 12-18h, (l) Ac₂O, NaHCO₃, hexanos/CH₂Cl₂, 1h, (2 pasos), 44%, (m) H₂ (1 atm), Ra-Ni, EtOH, 10-16 h.

Esquema I

A partir de este trabajo, a la fecha se ha realizado una fuerte investigación para obtener diversas maneras de sintetizar el Oseltamivir. Dentro de estos nuevos métodos para sintetizar Oseltamivir, encontramos:

- Las desarrolladas por las compañías Hoffmann-LaRoche Ltd^[6,7] y Roche Colorado Corporation^[4], basadas en el epóxido **11**. Mientras que la metodología propuesta por Hoffmann-LaRoche Ltd, propuso un mecanismo que evitaba el uso de las azidas y en el trabajo de la compañía Roche, sus variantes fueron la introducción de nuevas formas de abrir al epóxido **11**.
- La síntesis basada en la reacción asimétrica de tipo Diels-Alder para la obtención del Oseltamivir. Entre los grupos que desarrollaron estas síntesis se encuentra el grupo de Corey^[8], las realizadas por el grupo de Shibasaki^[9] y las más recientemente realizadas por el grupo de Akio^[10].
- Rutas basadas en reacciones de metátesis como las propuestas por el grupo de Yao^[11].
- Los desarrollos hechos con base en la apertura asimétrica de anillos de las meso-aziridinas realizadas por el grupo de Shibasaki^[9].
- Las nuevas rutas que aprovechan y optimizan el uso de ácido Shiquímico, que originalmente había sido propuesto^[12].
- Síntesis viables basadas en el costo de los reactivos como la que propone el uso de D-manitol o D-Ribosa, como sustratos de partida y empleando reactivos de bajo costo^[13,14].

Pese a todo el estudio que se ha hecho sobre el Oseltamivir, se ha visto que el uso clínico de estos inhibidores de la Neuroaminidasa en el tratamiento del virus de la influenza H1N1, ha provocado la formación de cepas resistentes a

estos fármacos y, aunque se sabe que los nuevos virus que desarrollan resistencia al Oseltamivir, emergen con menos frecuencia que aquellos que son tratados con otros inhibidores de la Neuroaminidasa, se ha visto recientemente que se ha elevado el número de casos resistentes a este medicamento, especialmente en niños. Debido a la formación de estas nuevas cepas mutantes, es necesario desarrollar derivados del Oseltamivir con el objetivo de probar su actividad biológica en cepas resistentes al medicamento^[15,16].

OBJETIVOS

- ✓ Llevar a cabo una nueva ruta de síntesis que permita obtener moléculas similares a Tamiflú[®], que parta de reactivos de bajo costo, mediante reacciones sencillas y que implique la menor cantidad de pasos posibles.
- ✓ Caracterizar y determinar la estructura tridimensional de las nuevas moléculas sintetizadas a partir de las técnicas espectroscópicas como son: RNM-H¹, RNM-C¹³, IR y EM.

METAS

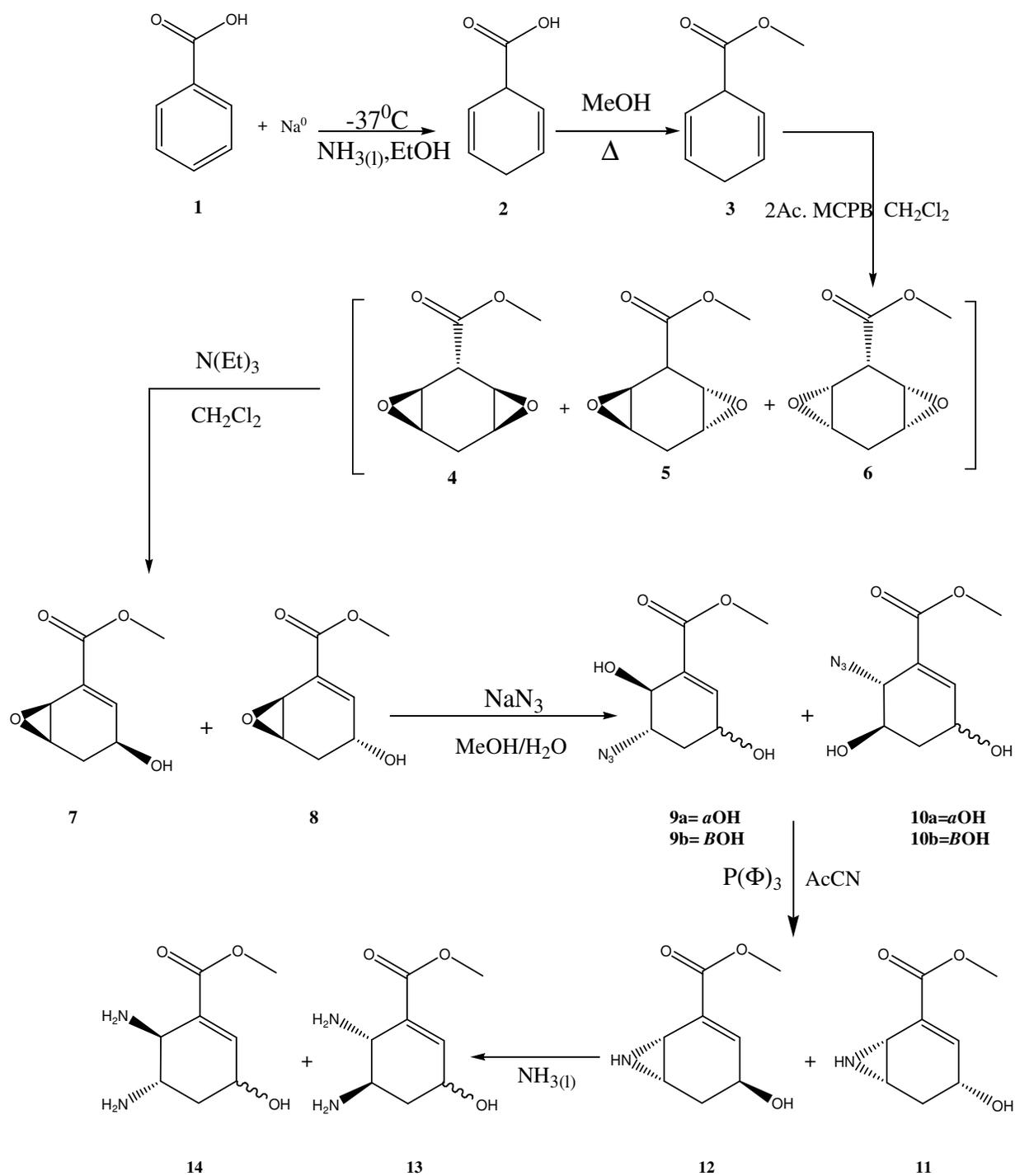
- ✓ Sintetizar moléculas similares a Tamiflú[®].
- ✓ Obtener la caracterización espectroscópica de estas moléculas.
- ✓ Generar una ruta sintética, a partir de la cual, sea posible obtener una familia de moléculas similares al Tamiflú[®].

SÍNTESIS PROPUESTA

Para obtener nuevos fármacos similares estructuralmente al Oseltamivir, se tienen que hacer modificaciones en las posiciones y grupos funcionales de los sustituyentes dentro del anillo del (3R,4R,5S)-4-Acetilamino-5-amino-3-(1-etilpropoxi)-1-ciclohexen-1-carboxilato de etilo (Tamiflú[®], **1**). Se propone la ruta de síntesis mostrada en el **ESQUEMA II**

En esta síntesis, se propone que a partir de **1**, se lleve a cabo una reducción de Birch, ya que se aprovecha al grupo electroattractor del anillo aromático para que las dobles ligaduras queden en la posición 2 y 5 del anillo aromático, generando la estructura **2**. Una vez que se ha llevado a cabo esta reducción, será necesario proteger el grupo ácido, esto se puede hacer mediante una esterificación de Fischer en medio ácido de **2** para generar el éster metílico **3**. Posteriormente, se propone que **3** reaccione con 2 equivalentes del Ac. MCPB para formar la mezcla de diepóxidos **4**, **5** y **6**. Una vez obtenidos estos diepóxidos, sin llevar a cabo ninguna separación, se les tratará con una base impedida con el objeto de aprovechar la propiedad ácida del protón α al carbonilo y así llevar a cabo la apertura de uno de los epóxidos para generar las estructuras **7** y **8**. Estas estructuras se separarán por medio de cromatografía en columna de tipo "flash". Una vez aislados y caracterizados cada uno de los epoxi-alcoholes, se trabajará con ellos, para que a través de una reacción nucleofílica por parte del grupo azida nos de como resultado la mezcla de los productos **9** y **10**. Como se observa, estos compuestos ya presentan una estereoquímica definida para los grupos azida y alcohol. Posteriormente se hará una reacción de Staudinger intramolecular, lo que nos generará las estructuras **11** y **12** y finalmente realizaremos la apertura por

medio de amoniaco líquido para formar los diaminoalcoholes **13** y **14** que tienen una estructura similar a la del Tamiflú®.



ESQUEMA II: Ruta de síntesis propuesta para poder generar las nuevas moléculas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Reacción de reducción de Birch

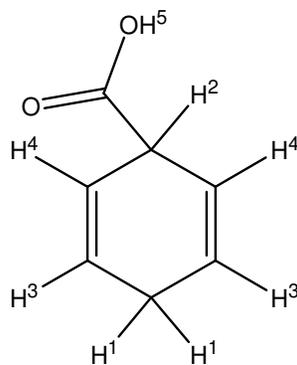
Para llevar a cabo la reducción de Birch del ácido benzoico, se empleó $\text{Na}^0/\text{NH}_3(l), \text{EtOH}$. Se encontró que para esta molécula, el amoníaco que se emplea no requiere previa destilación. Esta reacción se llevó a cabo a -70°C , al principio la disolución es incolora y conforme avanza la reacción, al agregar la primera cantidad de Na^0 , se puede observar la formación de un precipitado blanco, el cual se atribuyó a la formación de etóxido de sodio que es insoluble en la mezcla de $\text{EtOH}/\text{NH}_3(l)$. Posteriormente, se puede apreciar la aparición de una coloración azulada, que desaparece rápidamente y cuando la reacción se ha completado, persiste por un lapso de alrededor de 3 a 5 minutos. Por lo que se ha informado en la literatura, esta coloración corresponde a la especie $\text{NH}_3\cdot\text{e}^-$, es decir, se debe a un electrón solvatado, el cual es el causante de la reducción del anillo aromático y de la coloración azul intensa que se observó, por lo que su persistencia indica que la reacción de reducción se ha completado. Posteriormente se evapora el exceso de $\text{NH}_3(l)$ y el EtOH . Se adiciona agua a la mezcla de reacción y después se le agrega HCl al 10% hasta llegar a $\text{pH} < 3$. Se escogió este pH , por que el pK_a del ácido benzoico reportado es de 4.21, por lo que al estar al menos 1 unidad por debajo el pH del pK_a se garantiza que más del 90% del ácido se encuentra protonado, siendo la especie más indicada para realizar una extracción líquido-líquido. Una vez que se ha acidulado, es necesario extraer de manera rápida, ya que se ha observado que el O_2 del medio ambiente tiene la capacidad de oxidar al ácido 2-5-ciclohexadien-1-carboxílico y regresarlo al ácido benzoico.

Si la extracción y la evaporación del disolvente a presión reducida se hacen lo suficientemente rápido, es posible obtener hasta un 95% de rendimiento crudo.

Para poder seguir la formación de nuestro producto reducido, se prepara una c.c.f. la cual se eluye en un sistema 80:20 (Hex:AcOEt), observándose una mancha característica de ácido carboxílico que absorbe en UV de onda corta cuando el producto está oxidado y la misma mancha característica que no revela en UV de onda corta, pero si en yodo cuando el producto se encuentra reducido.

El Espectro de IR que se obtiene de este compuesto reducido, presenta una banda de alta intensidad en la región de 1699 cm^{-1} , la cual corresponde a la vibración del carbonilo atribuible a un ácido carboxílico, así como una señal muy ancha en la región comprendida entre los $3600\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ que corresponde de igual forma a un ácido carboxílico. Por otro lado, no se observan sobretonos en la región de $2200\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$, lo que nos confirma que la parte aromática fue reducida, así como la formación de una señal de intensidad media en 1639 cm^{-1} , correspondiente a la vibración de las dobles ligaduras entre carbono y carbono.

En la espectroscopia de RNM-H^1 , se presentan 4 señales: la primera correspondiente a un multiplete en 2.71 ppm, que equivale a los hidrógenos 1 y que integra para 2 (Figura 7), la segunda señal ubicada en 3.79 ppm en forma de multiplete, y que se atribuye al protón 2 y que integra para 1, la tercera señal ubicada en 5.88 ppm se asignó a los hidrógenos 3 y 4, que integra para 4. Finalmente se puede ver que existe una señal muy ancha centrada en 8.42 ppm correspondiente al protón del ácido 5.



2

Figura 7: Ácido 2-5-ciclohexadien-1-carboxílico con las asignaciones correspondientes.

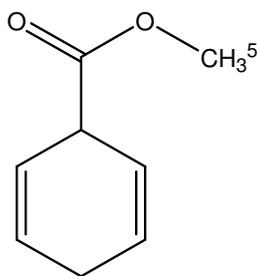
Reacción de esterificación de Fisher

Una vez que se ha obtenido el ácido 1,5 dihidrobenzoico **2**, éste se hace reaccionar con un exceso de MeOH, se adiciona 10 gotas de $\text{H}_2\text{SO}_{4(\text{conc})}$ y se pone a reflujo durante 48 horas. Durante el transcurso de toda la reacción, se debe mantener atmósfera de N_2 , ya que se ha observado que si no se mantienen estas condiciones se vuelve a aromatizar. Después de que ha transcurrido este tiempo, se concentra la muestra en el rotavapor y cuando queda alrededor de un cuarto de la muestra original, se adicionan 100 mL de buffer de AcOH/AcO^- de concentración 0.5M y $\text{pH}=5.5$. Posteriormente se procede a realizar 4 extracciones sucesivas con 30 mL AcOEt. La adición de este buffer es con la finalidad de que el ácido que no haya terminado de reaccionar se quede en la fase acuosa y el éster metílico se extraiga a la fase orgánica. Todo esto se debe realizar de la manera más rápida que sea posible ya que el 1,5 dihidrobenzoato de metilo es un producto que reacciona con el oxígeno del medio ambiente y se oxida a benzoato de metilo. Esta reacción se ha logrado obtener con rendimiento crudo del 90% y pureza de alrededor del 86%. Para determinar la pureza con la que se esta trabajando, se envía el

producto crudo a RNM-H¹ y se calcula con base en los protones de las dobles ligaduras y los aromáticos del benzoato de metilo, el cual se puede observar que es la única impureza presente.

Para seguir la reacción de esterificación del ácido, se hace c.c.f y se observa que nuestro nuevo producto eluído en un sistema 70:30 [Hex:AcOEt] tiene un r.f de 0.9 mientras que la materia prima tiene un r.f de 0.5. Al igual que en la reacción anterior, el producto deseado no presenta absorción en la región del UV cercano y sí revela con yodo, mientras que la impureza presenta casi el mismo r.f, absorción en la región del UV cercano y no revela con yodo.

El espectro de IR no se obtuvo debido a que el producto se descompone de manera muy rápida, sin embargo, si se logró obtener el espectro de RNM-H¹. Se puede observar con respecto al de la materia prima un singulete en la posición 3.72 ppm que integra para 3 hidrógenos, lo cual nos indica que se ha formado el éster metílico correspondiendo esta señal a los protones marcados como 5 cuya integración corresponde a 3 (Figura 8). Asimismo no se observa la señal ancha de 8.42, con lo que se confirma que el ácido ha reaccionado.



3

Figura 8: Se muestra el 2,5 dihidrobenzoato de metilo con la asignación del nuevo grupo funcional generado.

Para finalizar, es necesario decir que el producto de esta reacción, no se purifica, debido a que se descompone, por lo que una vez que se tiene el producto crudo, se hace reaccionar inmediatamente con el Ac. MCPB para obtener una molécula más estable.

Reacción de formación de los epóxidos-alcoholes

Para esta reacción se calculó la pureza del 1,5-dihidrobenzoato de metilo con base en lo mostrado por los espectros de RNM-H¹ y a partir de esta estimación se hicieron reaccionar por cada mol de **3**, 2.1 equivalentes del Ac. MCPB en CH₂Cl₂. Primero se añadió 1 equivalente de Ac. MCPB y después de esperar 2 horas, se adicionaron los otros 1.1 equivalentes del perácido. Esto se hizo con el objetivo de que se complete toda la reacción, ya que si no se realiza de esta manera, se ha observado que no se completa la diepoxidación llevándose a cabo solamente la reacción de monoepoxidación. El seguimiento de esta reacción se hizo por c.c.f, y se determinó que ésta ha finalizado cuando no aparece la mancha de la materia prima y cuando al revelar con solución de Ce(SO₄)₂ se observarán 2 productos con que presentaban rf en 0.4 y 0.3. Sin embargo, cuando se reveló la cromatoplaaca con luz UV, se observó la presencia de un ácido lo que podemos atribuir a la formación de ácido 3-clorobenzoico. Esto se confirma al observar la formación de un precipitado blanco en la disolución, ya que este producto es insoluble en CH₂Cl₂. La formación de este subproducto no permite la purificación de los diepóxidos ya que su r.f coincide con el que tienen los productos, y no es posible usar sus propiedades ácido-base, ya que una extracción con medio básico provoca la descomposición de nuestros productos debido a una adición nucleofílica por parte de los ⁻OH presentes en el agua. Se intentó purificar empleando una filtración al vacío, sin embargo se observó que

la solubilidad intrínseca de esta impureza no permite que se obtenga un producto con una pureza aceptable, ya que después de filtrar aún se observó en la c.c.f la presencia del contaminante.

Una vez que se han obtenido los productos **4,5 y 6** de la diepoxidación, se eliminó el exceso de Ac. MCPB y posteriormente se adicionó trietilamina, con el objetivo de llevar una reacción ácido-base entre la trietilamina y la mezcla de las moléculas **4, 5 y 6**, ya que para todas estas moléculas el hidrógeno α al carbonilo tiene propiedades ácidas y al ponerse en contacto con una base formarán el alcohol vinílico. Por otra parte, el uso de trietilamina, que por ser una base impedida, garantiza que se abstraerá el protón ácido y que el epóxido resultante no sufrirá ningún ataque nucleofílico. Una vez que se adiciona la trietilamina, se observa un cambio en la coloración, formándose una disolución de color amarillo. Al realizar una c.c.f en un sistema 60:30:10 (Hex:Acetona:CH₂Cl₂) se observa la formación de cuatro productos que revelan UV. El primero con un r.f de 1 y que corresponde a parte de la materia prima que se re-oxidó hasta benzoato de metilo; los productos que presentan un rf de 0.5 y 0.4 corresponden a las moléculas **7 y 8**. Finalmente, en el punto de aplicación se observa una mancha más, la cual corresponde al 3-clorobenzoato de trietilamonio que permaneció como impureza proveniente de la reacción anterior.

Una vez que se logran separar las moléculas **7 y 8** a través del uso de cromatografía en columna de tipo *Flash*, se mandaron caracterizar a través del uso de técnicas espectroscópicas para determinar su conformación y estereoquímica.

Para la molécula con un r.f de 0.5, la cual denominaremos epóxido β (**7**), se obtuvo un espectro de IR, que muestra las siguientes bandas: una muy ancha en la región entre los 3600-3150 cm^{-1} , a la que se le atribuye al grupo $-\text{OH}$, también se observa una banda fina de gran intensidad en 1712 cm^{-1} , la cual nos confirma la existencia de un carbonilo de tipo éster, además se observa una banda en 1643 cm^{-1} que indica la existencia de una doble ligadura carbono. Finalmente encontramos una banda de igual intensidad a la del carbonilo en 1254 cm^{-1} , lo que nos indica que existen vibraciones O-C.

El espectro de RNM- ^1H de este compuesto muestra 8 señales: La primera se ubica en 7.28 ppm, que integra para un único hidrógeno y que tiene la forma de un doble de dobles ($J=3,6,2.1$) correspondiente al H^1 , la segunda señal se presenta como un multiplete en 4.25 ppm e integra para 1 hidrógeno asignado como H^2 , la tercer señal aparece como un doble de doble de dobles ($J=4.1, 2.3, 0.9$), en 4.14 ppm, integrando para 1 y marcado como H^3 , la cuarta señal se presenta como un singulete en 3.85 ppm y corresponde a los hidrógenos marcados como H^4 , la quinta señal aparece en un desplazamiento de 3.82 ppm, asignada a H^5 y que presenta una forma de multiplete, por estar muy cerca de la cuarta señal hace que ambas tengan una integración de 4 hidrógenos, la sexta señal se ubica en 2.59 ppm, integrando para 1 y presentándose como un doble de triples ($J=15.9, 1.8, 1.5$), ha sido asignada H^6 , la séptima señal aparece como un doblete ($J=11.7$) en 2.34 ppm, integrando para 1 e impuesta por el H^7 , finalmente la octava señal se encuentra como doble de doble de dobles ($J=15.9, 4.5, 0.9$) en 1.79 ppm integrando para 1 y atribuida a H^8 .

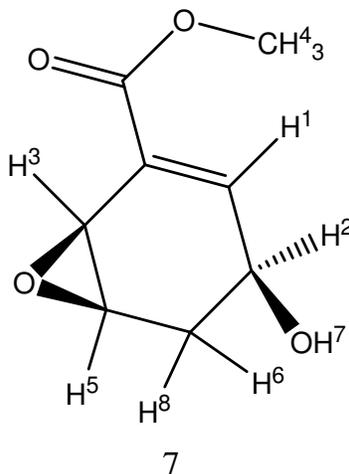


Figura 9: Se muestran los protones asignados al espectro de RNM- H^1 para la molécula epóxido β .

Con base en estas señales, nos es posible afirmar que se trata del epóxido β con una conformación en la que el alcohol se encuentra en posición axial, ya que:

- La multiplicidad observada para H^1 , solo puede ser explicada si este hidrógeno se acopla con H^3 , lo cual únicamente ocurre mientras ambos coexistan en el mismo plano.
- Para que H^6 tenga esa multiplicidad, es necesario que la molécula **7** adopte una conformación en la que el alcohol se encuentra en posición axial. Esto es debido a que al hacerlo, el ángulo que forma con H^2 y H^5 es aproximadamente de 60° , por lo que presentará 2 constantes de acoplamiento muy parecidas, que darán origen a un doble de doble de dobles, en el que dos de las J serán prácticamente iguales, mostrándose como un triplete, mientras que el acoplamiento con el protón geminal

provocará que se observe una constante mayor por lo que la señal se observa como un doble de triples.

- Al formar esta conformación con la configuración mostrada, podemos observar que el grupo –OH tiene la posibilidad de formar un puente de hidrógeno interno, lo que explica que esta molécula sea menos polar que su diastereoisómero α , ya que el alcohol no está en posibilidad para formar puentes de hidrógeno con otras moléculas.

Para comprobar la estructura que propuesta, se obtuvo el espectro de RNM- C^{13} , que presentó 8 señales, dentro de las cuales observamos una señal en 165.9 ppm, correspondiente a un carbono cuaternario, esto se confirma dado que el experimento DEPT muestra la ausencia de dicha señal; y nos corrobora la existencia de un carbono de carbonilo de éster. También aparecen 3 carbonos bases de oxígeno ubicados en 62.07, 55.51 y 52.27 ppm. El primero de ellos corresponde al carbono base del alcohol alílico y los 2 siguientes, a los carbonos base del epóxido.

Finalmente, se obtuvo el espectro de masas de **7**, que muestra al ión molecular en 170 de m/z, y la primera fragmentación produce una m/z de 15 unidades menor, lo que corresponde a la pérdida de un $-CH_3$. El pico base se encuentra en 95 de m/z, corresponde a la molécula que se muestra en la figura 10, la cual se puede explicar a través de la pérdida del grupo éster y del alcohol mediante un rearrreglo McClafferty.

La molécula **8** presenta un rf de 0.4 que corresponde al epóxido α , presenta un espectro de IR casi idéntico al que se describió para el epóxido β , por lo que la descripción corresponde a la que se realizó para este último compuesto.

Sin embargo, el espectro de RNM- H^1 , presenta diferencias significativas. En este espectro, se observan 8 señales distintas: la primera de ellas aparece como un singlete en 7.03 ppm, la cual integra para 1 y que corresponde a H^1 , la segunda señal es muy ancha y se presenta como un multiplete en 4.44 ppm, que integra para 1 y asignada a H^2 , la tercer señal corresponde a un doble de dobles ($J=4.2,2.1$) que se encuentra en 3.95 ppm y que integra para 1 marcado como H^3 , la cuarta señal se presenta como un singlete en 3.82 ppm, integrando para los 3 hidrógenos marcados como H^4 correspondiente al metilo del ester, la quinta señal se ubica en forma de un triplete ($J=3.3$) en 3.57 ppm, presenta una integración de 1 y se le asignó al protón H^5 , la sexta señal corresponde a un doble de doble de dobles ($J=14.1, 8.1,2.7$), ubicada en 2.70 ppm que integra para 1 y que fue asignada al hidrógeno H^6 , la séptima señal es ancha igual que la anterior, ubicada en 1.90 ppm y que integra para 1 correspondiente a H^7 , finalmente la última señal, se ubica en 1.59 ppm en forma de un doble de dobles de dobles ($J=14.1,10.5,0.9$) que integra para 1 y se atribuye al protón H^8 .

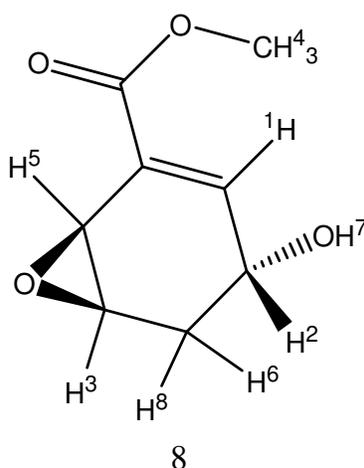


Figura 10: Se presenta la molécula denominada como epóxido α con las asignaciones correspondiente a la RNM- H^1 .

Podemos afirmar que a temperatura ambiente, se tiene una interconversión de conformación en la que el alcohol axial pasa a ecuatorial.

Para confirmar esta estructura, se obtuvo el espectro de RNM-C¹³, el cual es muy similar al que se tiene para el epóxido β, con excepción de los carbonos que son base del alcohol y de los epóxidos, ya que estos se presentan en 63.23, 52.07 y 51.00 ppm respectivamente.

Finalmente, al igual que para el epóxido β se obtuvo el espectro de masas, el cual presentó el mismo ion molecular en 170 de m/z pero el pico base se encontró en 139 de m/z correspondiendo a la pérdida del grupo -OCH₃ de nuestra molécula.

Es importante decir, que las moléculas anteriormente descritas, son muy sensibles al medio ambiente, pues se ha observado que se descomponen, esto debido a que, como se ha indicado en la literatura^[17], estos epóxidos tienen la tendencia de formar polímeros, además de que la humedad del medio ambiente tiene la capacidad de abrir al epóxido de las moléculas formando así el triol. Por todas estas razones es necesario purificar lo más rápido posible a los isómeros α y β para continuar las siguientes reacciones y así evitar su descomposición, así como también mantener a los compuestos bajo atmósfera de N₂ y a temperatura menor de -10⁰C.

Reacción de formación de azidodiolos

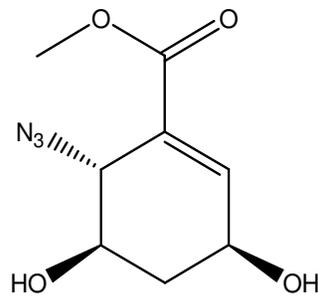
A partir de los epóxidos α y β , se llevó a cabo una reacción nucleofílica sobre el epóxido, con el objetivo de obtener la apertura de éste último y generar los azidodiolos correspondientes. Para ambos epóxidos se colocó 1 equivalente de cada uno de ellos en disolución de MeOH/H₂O y se le adicionaron 2.88 equivalentes de Azida de Sodio y Cloruro de Amonio. Pese a que las estructuras de los epóxidos son muy parecidas, se han obtenido resultados muy diferentes para ambos, por lo que se describirán los resultados y las condiciones particulares de cada una de las reacciones con los diferentes epóxidos

Reacción para el epóxido β (7)

Para este epóxido la mezcla de reacción se dejó durante 45 minutos a una temperatura entre los 50⁰C y los 70⁰C, al cabo de los cuales se realizó una c.c.f en la cual se observa la formación de un nuevo producto y el consumo de la materia prima. Después de purificar mediante una columna cromatográfica, se obtuvo un espectro de IR que muestra una señal muy intensa en 2103 cm⁻¹, lo cual nos confirma que el grupo azida se ha insertado en la estructura. El resto de las señales se mantiene de manera muy similar a las que se describen para el epóxido β .

Para confirmar esta caracterización, se obtuvo el espectro de RNM-¹H el cual arrojó 9 señales: la primera ubicada en 7.21 ppm, integrando para un protón en forma de un doblete ($J=4.2$), la segunda en forma de un doblete ubicado 4.37 ppm ($J=3.3$), la tercera esta ubicada en 4.36 ppm en forma de una señal muy ancha, estas últimas señales integran juntas para 2 hidrógenos, la cuarta señal

ubicada en 4.18 ppm integra para un protón pero se ve como una señal ancha, la quinta señal se presenta como un singulete ubicado en 3.85 ppm y que integra para 3 hidrógenos correspondiente al metilo, la sexta señal es ancha, integra para 1 hidrógeno y se ubica en 3.60 ppm, la séptima señal esta en 3.43 ppm igualmente es ancha e integra para 1, la octava señal esta en 2.19 ppm, se presenta en forma de un doble de triples ($J=14.7,3.9$) y junto con la novena señal, la cual está ubicada en 2.02 ppm y que es un doble de dobles de dobles ($J=14.1, 10.5,0.9$), integran ambas para 2 hidrógenos. Una vez obtenido este espectro, se realizó un intercambio con D_2O , observándose la ausencia de la sexta y séptima señales y transformando la cuarta y quinta señal en cuartetos. Con esta información, podemos afirmar que para el epóxido β , el ataque de la azida se da sobre el carbono 6 del anillo, generando la estructura **10b** mostrada en la figura 11. Esto último se confirma debido a que la señal que se ubica en 4.37 ppm se presenta en forma de doblete, y ya que esta señal no sufre ningún cambio cuando se realiza el intercambio con agua deuterada, podemos afirmar que se trata del hidrógeno unido al carbono que es base de la azida, además de que el hecho de que se un doblete nos indica que se encuentra acoplado a 3 enlaces de distancia con un único hidrógeno, por lo que la única opción posible para explicar estas señales es la que se muestra en ésta figura. La estereoquímica se asignó debido a que la molécula proviene del epóxido β puro, y se considera el mecanismo de reacción que propone un ataque anti al grupo oxirano.



10b

Figura 11: Producto único que se obtiene a partir del epóxido β .

Reacción del epóxido α (8)

La mezcla de reacción se mantuvo en agitación durante 1 hora y al igual que para el epóxido β se conservó la misma temperatura, sin embargo al cabo de este tiempo se realizó una c.c.f, y se observó que la reacción no había avanzado, por lo que se continuó con la agitación y se mantuvo la temperatura entre 70-78⁰C por 12 h. Al cabo de este tiempo, se observó por c.c.f el consumo de la materia prima, sin embargo se observó la formación de tres nuevos productos, los cuales no se pudieron separar usando cromatografía por columna, por lo que se les mando a hacer un espectro de RNM-¹H, con el objetivo de tener una idea de que era lo que había ocurrido. Este espectro reveló que se habían formado diferentes productos de reacción. Al comparar las señales con las que arroja **10b**, podemos observar que se tiene una mezcla de nuevos productos de los que se caracterizaron los 2 principales y que se propone que sean **9a** y **10a**, mostrados en la figura 12.

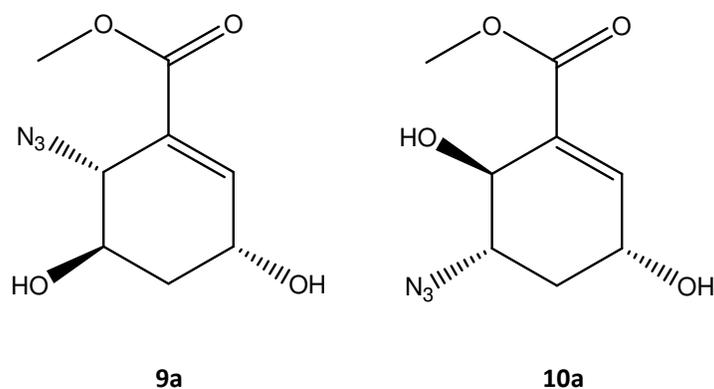


Figura 12: Moléculas que se obtienen usando como materia prima al epóxido α (**8**).

La diferencia entre los resultados obtenidos para la reacción de formación de azidas a partir de los diferentes epóxidos, la explicamos por el hecho de que el epóxido β presenta un puente de hidrógeno interno, y cuando se lleva a cabo el ataque nucleofílico sobre el oxirano, éste dirige el ataque hacia el carbono 6 del anillo, ya que de este modo puede seguir formando el puente de hidrógeno con el nuevo alcohol que se forma, esto facilita la reacción y es por eso que el tiempo de reacción y las condiciones son más suaves para este epóxido. Sin embargo en el caso del oxirano que está en posición α con el alcohol, no existe un puente de hidrógeno interno, por lo que esta molécula no tiene un grupo interno que acelera la reacción, ni que la haga estereoespecífica, así se observa la formación de los diastereoisómeros, además de que las condiciones de reacción necesarias son más drásticas que para el otro caso

Al no poderse purificar estos nuevos compuestos, se decidió llevar a cabo la siguiente reacción sobre ellos como mezcla de productos crudos.

Es importante destacar que los azidodiolos obtenidos, son mucho más estables que los reactivos de los que provienen, debido a que al ya no tener un grupo electrofílico, pierden reactividad lo que facilita su almacenamiento y trabajo en el laboratorio.

Reacción de Staudinger intramolecular

A ambos productos de las reacciones de formación de azidodiolos, se les sometió a una reacción de Staudinger intramolecular, para ello se disolvieron 1.08 mmol de la materia prima en 25 mL acetonitrilo de pureza HPLC y se les adicionaron 1.14 equivalentes de $P(\Phi)_3$, bajo atmósfera de N_2 .

Se siguió el desarrollo de esta reacción por c.c.f y se observó que al cabo de cuatro horas, se había agotado la materia prima y se tenía una placa con 3 nuevos productos que presentaban los siguientes r_f Primer producto correspondiente al exceso de $P(\Phi)_3$ en un r_f de 1, el segundo producto con r_f de 0.5 que al aislarse mostró que era óxido de trifenilfosfina y un tercer producto que no eluyó en ninguno de los sistemas empleados. Además en la mezcla de reacción se observó la formación de un líquido inmiscible en acetonitrilo y más denso que éste, por lo que se piensa que este líquido contiene al producto. Sin embargo, debido a la gran polaridad que presenta el nuevo compuesto no fue posible separarlo por cromatografía en columna, ya que ningún sistema de eluyentes probado fue capaz de hacer que la muestra eluya. Por otro lado, se intentó purificar recristalizando al posible aminodiol de etanol agregando HCl, a través de la formación del clorhidrato de la amina. Sin embargo, al realizarse experimentalmente, no se observó la cristalización del clorhidrato y el producto resultante no fue soluble en ningún disolvente

diferente al agua. Este resultado se obtuvo para la reacción de Staudinger con ambas azidas, por lo que no fue posible obtener el producto deseado ya que la polaridad de la nueva molécula formada, que viene dada por el grupo alcohol y el grupo aziridina que tiene, no permite su purificación y posterior trabajo. Además de que se piensa que la reacción intramolecular que se pretende realizar, puede ser impedida por la presencia de agua, que podría conducir a la formación de los aminodiolos (figura 13) los cuales serían aún más difíciles de aislar y trabajar por ser más polares.

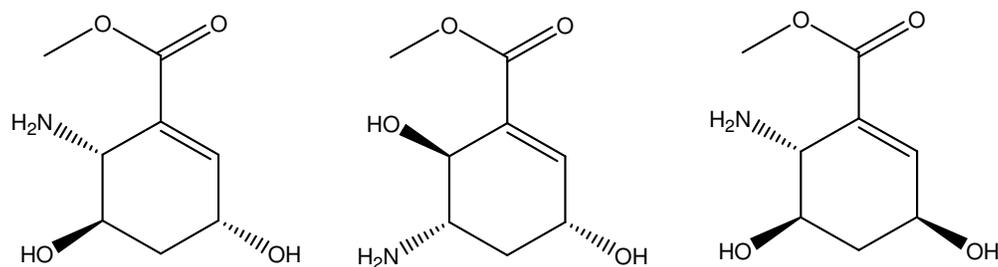
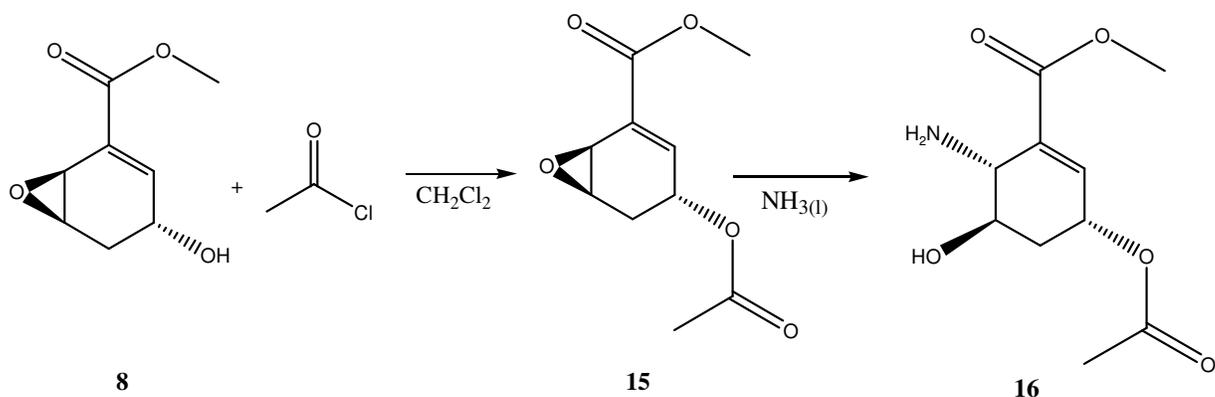


Figura 13: Mezcla de posibles aminodiolos formados de una reacción de Staudinger con agua del medio.

Debido a los resultados obtenidos experimentalmente, se decidió modificar la ruta sintética propuesta originalmente para trabajar con una nueva ruta propuesta en el **ESQUEMA III**.



ESQUEMA III: Modificación realizada a la síntesis original para poder estudiar la formación de derivados de los amidodiolos.

La nueva ruta sintética consistirá en realizar una protección al grupo hidroxilo del epóxido **8**, con el objetivo de disminuir la polaridad de nuestra molécula. Posteriormente se llevará a cabo un ataque nucleofílico sobre el grupo oxirano esperando obtener la molécula **16**, la cual es un derivado del aminodiol que nos interesa obtener.

Reacción de protección del grupo hidroxilo

Se llevó a cabo la reacción entre el alcohol α del epóxido **8** y cloruro de acetilo, para lo cual se colocaron 5.21 mmol del epóxido, 5.74 equivalentes del cloruro de etanoilo y 5.7 equivalentes de piridina, estos se hacen reaccionar a temperatura ambiente durante 1 hora al cabo de la cual, la c.c.f indicó que la materia prima se había consumido y que se formó una nueva molécula con una polaridad menor. Debido a la poca estabilidad que se observó para el epóxido α , se decidió no purificar la reacción y mandar una muestra a RNM- ^1H , El resto de la muestra se almacenó bajo atmósfera de N_2 para trabajar directamente el producto de esta reacción. El espectro obtenido de RNM, muestra la presencia de una nueva señal en forma de singulete ubicada en 2.13 ppm, el cual

corresponde al metilo del nuevo grupo acetilo. Además se observa el desplazamiento de la señal de 4.44 ppm del alcohol alílico a 5.38 debido a la formación del éster, lo que nos confirma la protección del grupo alcohol presente en la molécula.

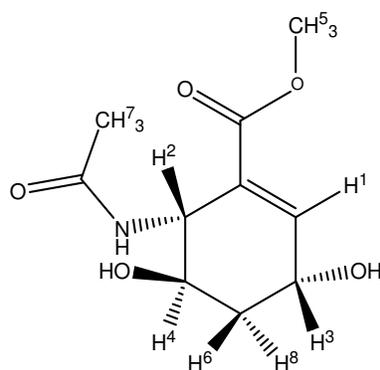
Reacción de apertura del epóxido α protegido (15)

El compuesto **15** se hizo reaccionar con amoniaco líquido en MeOH. Para que se lleve a cabo la reacción, debe estar en muy diluida, ya que de no ser así, se presenta un producto de polimerización, por lo que después de realizar varias pruebas se encontró que las mejores condiciones son: 381 mg del epóxido α acetilado (**15**) en 26 mL de MeOH, a los cuales se les adicionaron aproximadamente 1,1 mL de $\text{NH}_3(l)$, manteniendo la temperatura en -70°C , para lo cual la reacción se realizó en un baño de hielo seco/acetona.

Al cabo de dos horas y media se realizó una c.c.f y se observó la desaparición de la materia prima y al usarse un sistema de elución que contenía amoniaco, se observó la formación de 4 productos de reacción, siendo uno de ellos el principal. Debido a que solo se observa la elución de los productos en sistemas de pH básico, se prosiguió a usar placas preparativas para su purificación. De esta forma se obtuvo un producto principal el cual se caracterizó por diferentes técnicas espectroscópicas.

El espectro de IR mostró una banda muy ancha y muy intensa en 3289 cm^{-1} , asociada a los grupos hidroxilo, dos bandas intensas en 1716 cm^{-1} asociada al carbonilo del éster metílico y una banda intensa en 1651.41 , la cual corresponde a un carbonilo asociado al carbonilo de una amida.

El espectro de RNM-¹H se realizó en CD₃OD, este espectro mostró 8 señales: la primera en 6.96 ppm, que integra para 1 protón y que se presenta como un doble de dobles ($J=3.6$) no muy bien definido, ya que una de las J no se alcanza a resolver marcado como H¹, la segunda señal se presenta como un doblete ($J=3.9$) en 4.98 ppm que integra para 1 protón representado como H², la tercera señal se encuentra en forma de un cuarteto ($J=4.2$), ubicado en 4.45 ppm e integrando para 1 hidrógeno marcado como H³, la cuarta señal aparece en forma de un doble de triples ($J=6.6,3.9$) en 4.09 ppm, que integra para 1 hidrógeno representado como H⁴, la quinta señal aparece como un singulete que integra para 3 protones en 3.74 ppm y señalados como H⁵, la sexta y séptima señal aparecen muy juntas en 2.01 ppm y 1.97 ppm respectivamente e integran para 4 hidrógenos, para la sexta señal se observa una multiplicidad de doble de doble de dobles ($J= 13.6, 10.4, 6.2$) y se le marca como H⁶ mientras que para la séptima señal se observa un singulete asociado a los protones del metilo de la amida H⁷, finalmente la octava señal muestra un doblete de triples ($J=13.6,3.2$) que integra para 1 protón ubicada en 1.77 ppm y representado como H⁸.

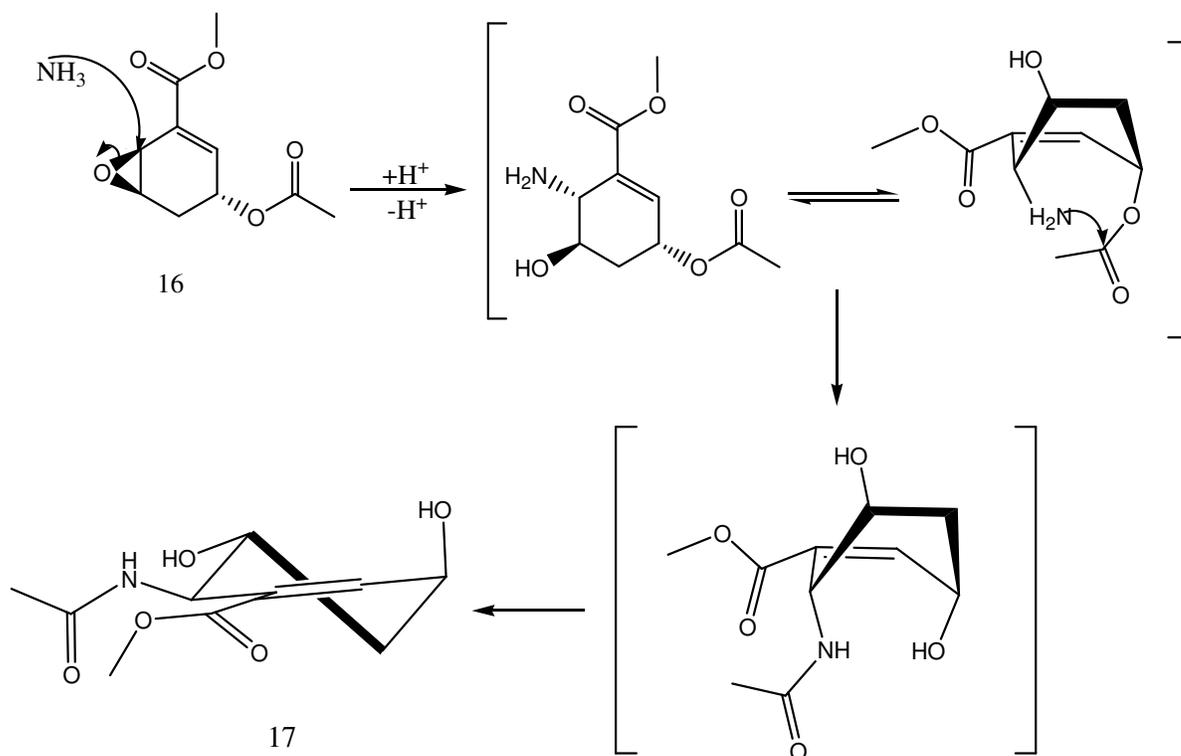


17

Figura 14: Molécula 17 representada en 2 dimensiones.

Puesto que la señal del acetato alílico se espera a campo más bajo que 4.98 ppm se propone la existencia de una amida dentro de la estructura, y con base en el resto de las señales podemos proponer la estructura **17**. Para poder explicar la formación de la amida, se propone que el ataque nucleofílico sobre el epóxido **15** en el carbono 6 del anillo, sea de tipo anti y una vez que se realiza este ataque sobre el oxirano la molécula adquiere una conformación de semibote, esto permite que el grupo carbonilo del éster quede cercano al grupo amina, con esta conformación se permite la migración del grupo éster, ya que por la distancia a la que se encuentra la amina formada, es posible un ataque nucleofílico sobre el carbonilo del éster, lo que dará origen a la formación de la amida. Sin embargo una vez que ha ocurrido este ataque, la molécula sufre un cambio conformacional para llegar a la conformación de semicorbata mostrado en la figura 14 que nos da concordancia con las señales observadas en resonancia. Este mecanismo de reacción se ilustra en el **Esquema IV**.

El espectro de RNM-¹H además de que permite elucidar este mecanismo, también brinda información suficiente para definir la conformación en la que se encuentra el compuesto la cual se muestra en la figura 14, 15 y en el **Esquema IV**.



ESQUEMA IV: Mecanismo de reacción propuesto de acuerdo a la evidencia experimental encontrada.

Esta propuesta se sustenta en la siguiente interpretación:

1. La señal en forma de cuarteto que se observa asociado al protón 3 que está unido al carbono base del alcohol alílico, indica que existe un acoplamiento con 3 protones y que este acoplamiento es igual para todos ellos. Para que esto ocurra, es necesario que el ángulo diedro que formen los protones entre ellos sea igual y el confórmero que se propone cumple esta condición.
2. El doble de triples que se observa en 4.09 ppm, se asocia al acoplamiento del protón que está enlazado al carbono del alcohol alifático, el cual tiene 3 hidrógenos a 3 enlaces de distancia con los que se acopla. Debido a la multiplicidad, 2 constantes de acoplamiento

deben ser iguales, y una diferente y mayor que las anteriores. Para la conformación propuesta, esto se cumple pues el protón de este carbono tiene 2 hidrógenos axiales y 1 ecuatorial, lo que nos daría el triplete duplicado que se observa.

3. La señal que se encuentra en 2.01 ppm en forma de doble de dobles de dobles, correspondería al acoplamiento de uno de los 2 protones del metileno, el cual se acopla con 3 protones con constantes diferentes. Para la estructura en la conformación mostrada, uno de estos protones tiene una constante de acoplamiento geminal, una constante de tipo ecuatorial con el protón del alcohol alílico y una constante de tipo axial con el protón del alcohol alifático, lo que nos da la multiplicidad observada.
4. La señal que se encuentra en 1.77 ppm correspondiente a un doble de triples, nos indicaría que este protón se acopla con otros 3 protones a 3 enlaces de distancia con una constante grande ($J=13.6$) y con dos más pequeñas ($J=3.2$) e iguales entre sí. Dentro de la conformación que se propone, uno de los protones de metileno se acopla con el protón geminal, lo que resulta en una J de 13.6 Hz y a los protones enlazados a los carbonos que contienen al grupo alcohol, los ve con un ángulo muy cercano, lo que propiciaría que las constantes de acoplamiento que se esperan entre estos protones sea igual, explicando la multiplicidad observada.
5. La señal asignada al carbono base de la amida, aparece en 4.98 ppm, lo cual nos indica que se ha llevado a cabo la migración del grupo acetilo,

ya que si éste estuviera unido a un oxígeno, esperaríamos la señal correspondiente, arriba de 5 ppm.

Con el objetivo de poder corroborar la estructura que se propone se realizó el experimento COSY. Este experimento nos mostró que existe un acoplamiento que no se puede detectar en el espectro de RNM-¹H entre el protón unido al carbono alílico y el protón base de la amida, por lo que esto sugiere que al ser un acoplamiento a 4 enlaces de distancia y vía carbonos sp², el ángulo diedro que se forma entre estos protones y sus respectivos carbonos debe de ser aproximadamente de 90⁰. Además de esto, se observan los acoplamientos a 3 enlaces de distancia entre los protones del metileno descritos anteriormente, tanto con ellos mismos como con los protones unidos a carbonos base de alcohol, con lo que se confirmó que habíamos propuesto a partir del primer espectro de RNM-¹H.

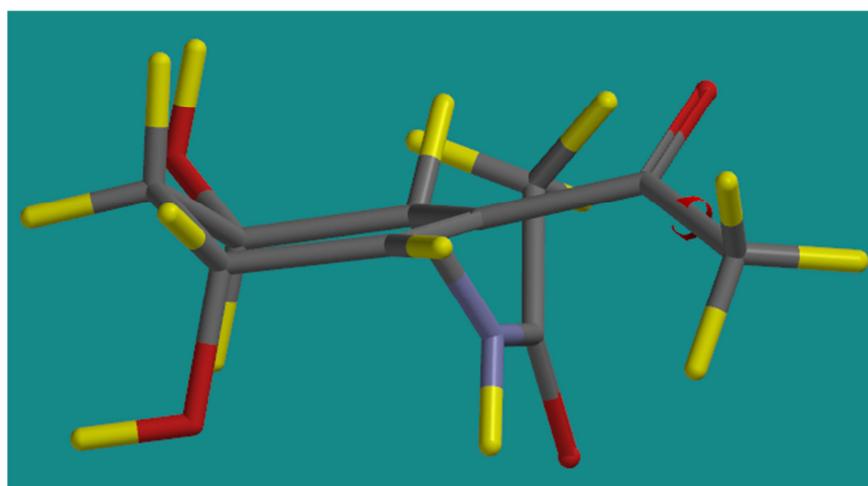
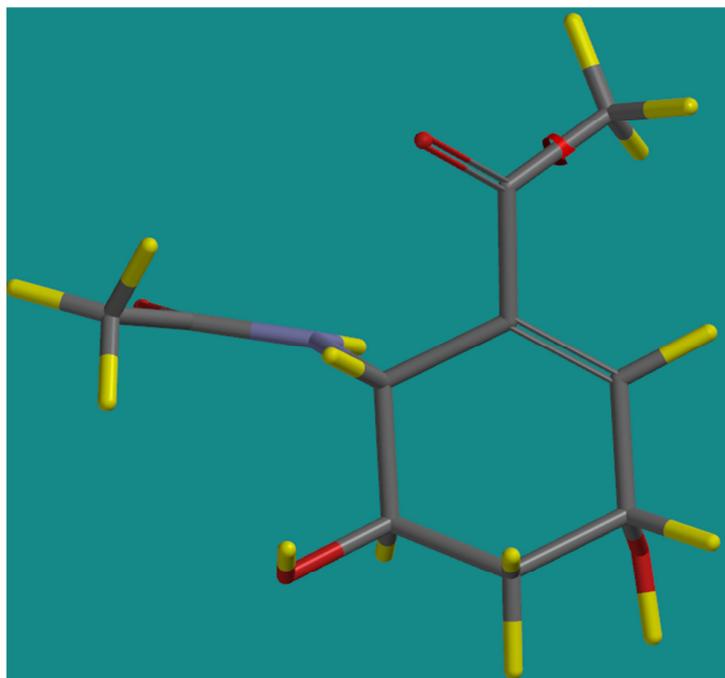


Figura 15: Se muestran imágenes tridimensionales de la molécula obtenida, la imagen de la parte superior muestra una vista superior y la de la parte inferior muestra una vista lateral de la molécula.

CONCLUSIONES

- Se obtuvo la molécula **17** similar a Tamiflú® **I**, (se muestran en la figura 16), el compuesto sintetizado presenta nuevos grupos funcionales en su estructura. Dentro de las diferencias más importantes se encuentra el cambio del grupo amida a la posición 6 del anillo, así como el cambio del grupo amina por un grupo alcohol en la posición 5.

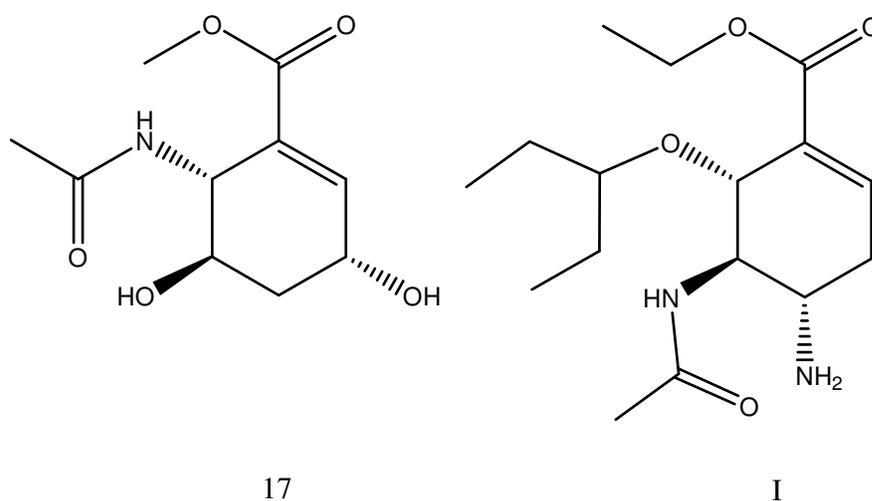


Figura 16: Se muestra la nueva molécula sintetizada y la molécula de Oseltamivir.

- Después de realizar una búsqueda bibliográfica, no se ha encontrado reportada la molécula **17** que se sintetizó, por lo que se trata de un compuesto novedoso.
- La ruta de síntesis propuesta, no ha sido encontrada en la literatura, por lo que se ha creado una nueva metodología para la obtención de moléculas similares a Tamiflú.

- El uso de grupos protectores nos facilitó que las nuevas moléculas sintetizadas puedan ser aisladas y caracterizadas por técnicas espectroscópicas adecuadas.
- Se observó la migración del grupo protector en la formación de la nueva molécula **17**, fenómeno que puede ser empleado para la obtención de moléculas similares a Tamiflú®.
- El uso de técnicas de RNM, IR y EM nos permitió identificar y caracterizar a las nuevas moléculas. La RNM-H¹ además, nos permitió obtener la conformación de las moléculas.
- La estrategia en que se propuso el uso de la reacción de Staudinger, deberá realizarse empleando una previa protección de los compuestos **7** y **8** para poder obtener las aziridinas.

SECCIÓN EXPERIMENTAL

NOTAS

- Los reactivos utilizados para la síntesis de los compuestos, son de grado reactivo analítico (R. A.), con la excepción del Ac. MCPB, el cual se uso con pureza comercial de 80-85%.
- Se utilizó sílica gel 60 como fase estacionaria en la cromatografía en columna. La técnica empleada fue de tipo “*flash*^[18]”.
- El avance de las reacciones fue observado mediante el uso de cromatoplasmas TLC Plates SILICA GEL 60 F-254 y se revelaron usando una lámpara de UV de onda corta y una cámara de Yodo sólido.
- Los espectros de Infrarrojo (IR) se adquirieron usando un espectrofotómetro PerkinElmer Spectrum 400 FT-IR/FT-FIR Spectrometer usando el accesorio Universal ATR Sampling Accesory.
- En la descripción de los espectros de IR, I significa muy intensa, i intensa, m media, d débil, A muy ancha, a ancha, f fina, F muy fina y las bandas están en una escala de cm^{-1} .
- Los espectros de Resonancia Nuclear Magnética (RNM), se obtuvieron en un equipo Varian Unity Inova de 300 MHz. La referencia interna utilizada fue TMS.

- Para la RNM-¹H se describe: el desplazamiento químico en partes por millón (ppm), el número de protones que corresponde (I), la multiplicidad asociada [s]:singulete, [d]:doblete, [t]:triplete, [c]:cuarteto, [m]:multiplete (y sus combinaciones) y la constante de acoplamiento (J) en Hertz (Hz).
- La espectrometría de masas (EM) se realizó con un equipo acoplado de cromatografía de gases-espectrometría de masas. El cromatógrafo de gases (Thermo-Electron, modelo DFS, analizador másico [magnético y eléctrico, geometría inversa]). Se describen únicamente los iones moleculares.

Formación del Ácido 2,5 dihidrobenzoico (2):

Se pesan 0.04 mol de ácido benzoico, los cuales se colocan en un matraz redondo de 3 bocas en un baño de hielo seco/acetona, se disuelven en 60 mL de EtOH y se le agrega $\text{NH}_{3(l)}$ hasta completar un volumen aproximado de 250 mL. Posteriormente se adiciona Na^0 limpio hasta observar la formación de una disolución de color azul que permanece por más de 1 minuto. Se retira el disolvente y se agrega agua suficiente para disolver la sal resultante. A la disolución acuosa se le agregan gotas de HCl al 10% hasta observar un $\text{pH} < 3$. Posteriormente se realizan 3 extracciones con AcOEt, se seca la fase orgánica y se retira el disolvente en el rotavapor.

IR: (FTIR por reflectancia ATR) $1/\lambda$ (cm^{-1}): 3039.14 (*a,m*), 2882.18 (*f,m*), 2819.58 (*F,m*), 1699.28 (*f,l*), 1410.50 (*f,m*), 1275.02 (*f,m*), 1216.61 (*f,m*).

RNM-¹H: (300 MHz, CDCl_3 , 20°C), δ (ppm), (*J*, multiplicidad, *J*): 8.42, (1H, s), 5.88 (4H, m), 3.79 (1H, m), 2.71 (2H, m)

Formación del 2,5 dihidrobenzoato de metilo (3):

Al producto de la reacción anterior y se le adicionan 150 mL de MeOH, 10 gotas de $\text{H}_2\text{SO}_{4(\text{conc})}$ y se deja a reflujo por 48 h. Al término de este tiempo, se concentra la mezcla de disolución hasta una cuarta parte de su volumen original, se añaden 100 mL de una disolución amortiguadora de $[\text{AcOH}]/[\text{AcO}^-]$ de $\text{pH}=5.5$ y concentración analítica 0.5 M. Se realizan 4 extracciones con AcOEt, se seca la fase orgánica y se retira el disolvente a presión reducida.

RNM- ^1H : (300 MHz, CDCl_3 , 20°C), δ (ppm), (J, multiplicidad, J): 5.86 (4H, m), 3.74 (1H, m), 3.72 (3H, s), 2.70 (2H, m).

Técnica general de formación de los epoxialcoholes.

Por cada equivalente de 2,5 dihidrobenzoato de metilo, se adicionan 2.1 equivalentes de Ac. MCPB disuelto en 100 mL de CH_2Cl_2 , adicionando primero 1 equivalente y posteriormente el resto. Se dejan reaccionar por un lapso de 8 h tiempo después del cual se adicionan 25 mL de una disolución de NaHSO_3 al 5% y se deja en agitación vigorosa por 10 minutos, posteriormente se filtra y se separa la fase orgánica. A esta fase orgánica se le adicionan en agitación 5 mL de trietilamina. Posteriormente se realiza una filtración en una columna de sílica y la disolución de esta filtración se evapora y se pesa el producto crudo de reacción. La mezcla se purifica por cromatografía en columna "Flash" empleando un sistema de elución 60:30:10 (Hexano:Acetona: CH_2Cl_2).

(5 β)-epoxi-(3 β)-ol-ciclohex-1-enoato de metilo (7): La fracción correspondiente al r.f de 0.5 eluido con la mezcla usada en la técnica general se colecta y se evapora el disolvente a presión reducida.

IR: (FTIR por reflectancia ATR) $1/\lambda$ (cm^{-1}): 3424.95 (*m,a*), 3000.82 (*d,f*), 2952.82 (*m, F*), 1713.29 (*l,f*), 1643.82 (*m,f*), 1437.57 (*m,F*), 1242.79 (*i,f*), 1084.88 (*m,f*), 1036.32 (*i,f*), 823.06 (*m,F*).

RNM-¹H: (300 MHz, CDCl_3 , 20 $^\circ\text{C}$), δ (ppm), (*J*,multiplicidad, J): 7.28 (1H, dd, 3.6, 2.1), 4.25 (1H, m), 4.14 (1H,ddd, 4.1, 2.3, 0.9), 3.85 (3H, s), 3.82 (1H, m), 2.59 (1H, ddd, 1.8, 1.5, 15.9), 2.34 (1H, d, 11.7), 1.79 (1H, dd, 15.9, 4.2).

RNM-¹³C: (300 MHz, CDCl_3 , 20 $^\circ\text{C}$), δ (ppm): 165.94 (C_{cuat}), 142.00 (CH), 130.71 (C_{cuat}), 62.07 (CH), 55.52 (CH), 52.27 (CH_3), 47.62 (CH), 29.02 (CH_2).

EM: m/Z: 170 [M^+].

(5 β)-epoxi-(3 α)-ol-ciclohex-1-enoato de metilo (8): La fracción correspondiente al r.f de 0.4 eluido con la mezcla usada en la técnica general se colecta y se evapora el disolvente a presión reducida.

IR: (FTIR por reflectancia ATR) $1/\lambda$ (cm^{-1}): 3423.94 (*m,a*), 3000.82 (*d,f*), 2953.59 (*d, F*), 1712.81 (*l,f*), 1643.68 (*d,F*), 1438.76 (*m,F*), 1377.42 (*d,F*), 1243.92 (*l,m*), 1097.44 (*m,f*), 1032.25 (*m,f*), 1016.13 (*m,f*), 837.02.06 (*m,F*).

RNM-¹H: (300 MHz, CDCl_3 , 20 $^\circ\text{C}$), δ (ppm), (*J*,multiplicidad, J): 7.03 (1H, s), 4.44 (1H, m), 3.95 (1H,dd, 4.2, ,2.1), 3.82 (3H, s), 3.57 (1H, t, 3.3), 2.7 (1H, ddd, 14.1, 8.1, 2.7), 1.9 (1H, s), 1.59 (1H, ddd,14.1, 10.5, 0.9) .

RNM-¹³C: (300 MHz, CDCl_3 , 20 $^\circ\text{C}$), δ (ppm): 165. 73 (C_{cuat}), 146.94 (CH), 128.71 (C_{cuat}), 63.23 (CH), 52.06 (CH_3), 50.99 (CH), 45.96 (CH), 29.23 (CH_2).

EM: m/Z: 170 [M^+]

Técnica general de formación de azidodiolos

Se coloca en un matraz bola de 25 mL, un milimol del epoxialcohol, 2.88 miliequivalentes de NaN_3 , disueltos en $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, posteriormente se agregan 2.88 miliequivalentes de NH_4Cl . Una vez que estas sales se han disuelto, es necesario calentar cuidando que la temperatura no sobrepase los 78°C , para evitar una explosión causada por la descomposición de la azida de sodio. Se deja reaccionar la mezcla hasta obtener la formación de los productos y posteriormente se retira el disolvente, se agregan 10 mL de $\text{EtOH}_{(\text{anhidro})}$ y se lleva a cabo una filtración con vacío. Posteriormente se adiciona AcOEt , y se vuelve a filtrar la disolución, se seca este filtrado y se retira el disolvente.

(6 α)-azido-(3 β ,5 β)-diol-ciclohex-1-enoato de metilo (10b): Para la preparación a partir del epóxido β , se sigue la técnica general de preparación de azidodiolos, con la particularidad de que la temperatura es $<70^{\circ}\text{C}$ y el tiempo de reacción es de 45 min.

IR: (FTIR por reflectancia ATR) $1/\lambda$ (cm^{-1}): 3387.45 (*m,a*), 2954.77 (*d,F*), 2103.02 (*l,F*), 1705.67 (*i,f*), 1650.47 (*d,f*), 1437.20 (*m,f*), 1249 (*i,a*) , 1046.31 (*m,f*), 1018.32 (*m,f*).

RNM- ^1H : (300 MHz, CDCl_3 , 20°C), δ (ppm), (*J*,multiplicidad, *J*): 7.21 (1H, d, 4.2), 4.37 (1H, d, 3.3), 4.36 (1H,s), 4.18 (1H, s), 3.85 (3H, s), 3.6 (1H, s), 3.43 (1H, s), 2.14 (1H, td, 14.7, 3.9), 2.02 (1H, ddd,14.1, 10.5, 0.9) .

RNM- ^{13}C : (300 MHz, CDCl_3 , 20°C), δ (ppm): 166.68 (C_{cuat}), 142.20 (CH), 126.99 (C_{cuat}), 68.14 (CH), 62.92 (CH), 59.01 (CH), 52.38 (CH_3), 31.94 (CH_2).

Mezcla de (6 α)-azido-(3 α ,5 β)-diol-ciclohex-1-enoato de metilo y (5 α)-azido-(3 α ,6 β)-diol-ciclohex-1-enoato de metilo (9a,9b): Para la preparación a partir del epóxido α **8**, se sigue la técnica general de preparación de azidodiolos, con la particularidad de que la temperatura se mantiene entre los 70°C - 78°C controlado a través de un baño de agua y el tiempo de reacción es de 12 horas. Debido a la síntesis propuesta en el **Esquema II** no se consideró necesario la purificación de esta mezcla.

Técnica de formación de (5 β)-epoxi-(3 β)-(etanoato)-ciclohex-1-enoato de metilo (15):

Se hace reaccionar 1 equivalente del epóxido α **8** con 1.1 equivalente de cloruro de acetilo en presencia de 1.1 equivalentes de piridina, disueltos en 25 mL de CH₂Cl₂. Se deja la mezcla de reacción por 1 hora y se sigue la reacción por c.c.f. Cuando esta última indica que la reacción concluyo, se evaporan los disolventes y se extrae con AcOEt. Se seca y se retira el disolvente.

Técnica de formación de (6 α)-N-(etanamida)-(3 β ,5 β)-diol-ciclohex-1-enoato de metilo 16:

Para llevar a cabo esta reacción, se disuelven 1.7 meq en 26 mL de MeOH y se adicionan despacio 32 gotas de NH_{3(l)}, siempre manteniendo la reacción en una mezcla de hielo seco/acetona. Se deja agitar esta mezcla por 2 horas y cuarto, para posteriormente retirar el baño de hielo seco/acetona y así permitir que el exceso de amoniaco se evapore de la disolución. Posteriormente se procede a la purificación de este compuesto a través del uso de placas cromatográficas preparativas, las cuales se eluyen en un sistema Hex:AcOEt (60:40) adicionado con NH₄OH y MeOH.

IR: (FTIR por reflectancia ATR) $1/\lambda$ (cm⁻¹): 3289.00 (*l,A*), 2940.76 (*m,f*), 1716.28 (*i,F*), 1651.41 (*i,f*), 1555.93 (*i,f*), 1434.47 (*i,f*), 1374.18 (*m,f*) , 1292.67 (*m,f*), 1249.43 (*m,f*), 1034.26 (*d,F*).

RNM-¹H: (300 MHz, CD₃OD, 20⁰C), δ (ppm), (J, multiplicidad, J): 6.96 (1H, d, 3.6), 4.98 (1H, d, 3.9), 4.45 (1H, c, 4.2), 4.09 (1H, dt, 6.6, 3.9), 3.74 (3H, s), 2.01 (1H, ddd, 13.6, 10.4, 6.2), 1.97 (3H, s), 1.77 (1H, dd, 13.6, 3.2).

RNM-¹³C: (300 MHz, CD₃OD, 20⁰C), δ (ppm): 173.70 (C_{cuat}), 167.79 (C_{cuat}), 143.31 (CH), 131.246 (C_{cuat}), 66.54 (CH), 64.87 (CH), 52.52 (CH₃), 48.46 (CH), 35.83 (CH₂), 22.73 (CH₃).

EM: m/Z: 230 [M⁺]

REFERENCIAS

- [1] Ishikawa H, et.&al, "High-Yielding Synthesis of the Anti-Influenza Neuraminidase Inhibitor (-)-Oseltamivir by "One-Pot" sequences", *Chem. Eur. J.*, 2010, 16, 12616-12626.
- [2] Kaiser J "Facing down pandemic flu, the world's defenses are weak", *Science*, 2004, Vol. 306, pp. 394-397.
- [3] Enserink M, "Looking the pandemic in the eye", *Science*, 2004, Vol. 306, pp. 392-394.
- [4] Kim C. et&al, "Influenza Neuroaminidase Inhibitors Possessing a Novel Hydrophobic Interaction in the Enzyme Active Site: Design, Synthesis and Structural Analysis of Carbocyclic Sialic Acid Analogues with Potent Anti-Influenza Activity", *Journal Of American Chemical Society*, 1997, Vol. 119, No 4.
- [5] Gubareva L. et&al "Comparison of Activities of Zanamivir, Oseltamivir and RWJ-270201 against Clinical Isolated of Influenza virus and Neuroaminidase Inhibitor-Resistant Variants", *Antimicrob. Agents Chemother*, 2001, Vol. 45, No 12.
- [6] Magano J. "Synthetic Approaches to the Neuroaminidase Inhibitor Zanamivir (Relenza) and Oseltamivir Phosphate (Tamiflu) for the treatment of Influenza", *Chem. Rev.* 2009, Vol. 109, pp 4398-4438.
- [7] Karpf, M., et&al. "New, Azide-Free Transformation Epoxides into 1,2-Diamino Compound: Synthesis of the Anti-Influenza Neuroaminidase Inhibitor Oseltamivir Phosphate (Tamiflu)" *J. Org. Chem.*, 2001, Vol. 66, No 6, pp. 2044-2051.

- [8] Yeung Y, Corey J., et al. "A Short-enantioselective Pathway for the Synthesis of the Anti-Influenza Neuroaminidase Inhibitor Oseltamivir from 1,3 Butadiene and Acrylic Acid", *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 128, No 19, pp. 6310-6311.
- [9] Shibasaki, et al., "De Novo Synthesis of Tamiflu via Catalytic Asymmetric Ring-Opening of meso-Aziridinas with TMSN₃", *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 128, No 19, pp. 6312-6313.
- [10] Akio K, "Use of the Diels-Alder adduct of pyrrole in organic synthesis. Formal Racemic Synthesis of Tamiflu", *J. Org. Chem.*, 2010, Vol. 25, No 9, pp 3133-3136.
- [11] Cong, X. & Yao. Q-J, "Ring-Closing Metathesis-Based Synthesis of (3R,4R,5S)-4-Acetylamino-5-amino-3-hydroxy-cyclohex-1-ene carboxylic Acid Ethyl Ester. A Functionalized Cycloalkene Skeleton of g54104", *J. Org. Chem.*, 2006, Vol. 71, No 14, pp. 5365-5368.
- [12] Xi, X-X, et al., "A Short and Practical Synthesis of Oseltamivir Phosphate (Tamiflu) from (-)-Shikimic Acid", *J. Org. Chem.*, 2009, Vol. 74, pp. 3970-3973.
- [13] Ko. J, et al., "A Synthesis of Oseltamivir (Tamiflu) starting from D-Mannitol", *J. Org. Chem.*, 2010, Vol. 75, pp. 7006-7009.
- [14] Osato H, et al., "Efficient Formal Synthesis of Oseltamivir Phosphate (Tamiflu) with Inexpensive D-Ribose as the starting material", *Organic Letters*, 2010, Vol. 12, No 1, pp. 60-63.
- [15] Maki K, et al., "Resistant influenza A viruses in children treated with oseltamivir: descriptive study", *Lancet*, 2004; 364: pp. 759-65.

[16] Yacine A, et&al, "Activity of the neuraminidase inhibitor A-315675 against oseltamivir-resistant influenza neuraminidases of N1 and N2 subtypes", *Antiviral Research*; Volume 77, Issue 2, February 2008, pp. 163-166.

[17] Wu G, et&al, "Enhanced Asymmetric Induction for the Copolymerization of CO₂ and Cyclohexene Oxide with Unsymmetric Enantiopure Salen Co(III) Complexes: Synthesis of Crystalline CO₂-Based Polycarbonate", *JACS*, 2012, 134, pp. 5682-5688.

[18] Still W., et&al, "Rapid Chromatographic Technique for preparative separations with modern Resolution", *J. of Org. Chem*, 1978, Vol. 43, pp. 2923-2935.