



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**SÍNTESIS DE BETA-AMINOALCOHOLES DERIVADOS  
DEL OSELTAMIVIR CON POSIBLE ACTIVIDAD ANTIVIRAL.**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICA**

**PRESENTA**

**BEATRIZ ABIGAIL GALICIA FLORES**



**CD. MX.**

**2018**



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:**

<b>PRESIDENTE:</b>	Profesor: Caballero Arroyo Yolanda	_____
<b>VOCAL:</b>	Profesor: Carlos Antonio Rius Alonso	_____
<b>SECRETARIO:</b>	Profesor: Juan Gómez Dueñas	_____
<b>1er. SUPLENTE:</b>	Profesor: Martha Verónica Escarcega Bobadilla	_____
<b>2° SUPLENTE:</b>	Profesor: Martha Yolanda González Quezada	_____

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

**ASESOR DEL TEMA: Dr. Carlos Antonio Rius Alonso**

\_\_\_\_\_

**SUPERVISOR TÉCNICO: M. en C. Martha Yolanda González Quezada.**

\_\_\_\_\_

**SUSTENTANTE: Galicia Flores Beatriz Abigail**

\_\_\_\_\_

Del presente trabajo se desprende la siguiente ponencia:

53° Congreso Mexicano de Química; 37° Congreso Nacional de Educación Química y Expoquímica 2018.

*“Síntesis de beta-aminoalcoholes derivados del Oseltamivir con posible actividad antiviral”*

Dicho cartel se encuentra en el APENDICE D.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	8
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	9
2.1. Los virus .....	9
2.1.1. Definición y características de virus.....	9
2.1.2. Estructura de los virus .....	10
2.1.3. Características generales de los ciclos reproductivos virales.....	11
2.2. Virus de influenza.....	12
2.2.1. Cuadro clínico de la enfermedad.....	12
2.2.2. Clasificación.....	13
2.2.3. Estructura de los virus A y B .....	14
2.2.4. Variación antigénica.....	16
2.2.5. Tropismo viral.....	18
2.2.6. La hemaglutinina (HA) y sus funciones biológicas .....	19
2.2.7. La neuraminidasa (NA) y la diseminación del virus de influenza.....	20
2.3. Antivirales inhibidores de neuraminidasa.....	20
2.4. Resistencia al Oseltamivir. ....	23
2.5. Las grandes epidemias y pandemias de influenza en el mundo, una lección del pasado. 24	
2.6. 2009, el año de la influenza en México. ....	25
2.7. Epóxidos.....	28
2.7.1. Generalidades de los Epóxidos.....	28
2.7.2. Apertura de epóxidos catalizada por bases. ....	29
2.7.3. Apertura de epóxidos catalizada por ácidos.....	31
2.7.4. Epóxidos y aminas, formación de $\beta$ -aminoalcoholes.....	34
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	39
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	39
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	40
5.1. Objetivo general.....	40
5.2. Objetivos particulares.....	40
<b>6. RESUMEN GENERAL Y MECANISMO DE REACCIÓN DE LAS SÍNTESIS REALIZADAS</b> 41	
<b>7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	43
7.1. Producto A.....	43

7.1.1.	<b>Análisis espectroscópico del Producto A.</b>	44
7.2.	<b>Producto B.</b>	45
7.2.1.	<b>Análisis espectroscópico del Producto B.</b>	46
7.3.	<b>Hidrólisis del producto B.</b>	47
7.3.1.	<b>Análisis espectroscópico del Producto HB.</b>	49
7.4.	<b>PRODUCTO C</b>	51
7.4.1.	<b>Análisis espectroscópico del Producto C.</b>	52
7.5.	<b>Hidrólisis del producto C.</b>	53
7.5.1.	<b>Análisis espectroscópico del Producto HC.</b>	54
6.	<b>CONCLUSIONES.</b>	56
7.	<b>APENDICE A. METODOLOGÍA.</b>	57
7.1.	<b>Equipo empleado.</b>	57
7.2.	<b>Catalizador, reactivos y disolventes</b>	57
7.3.	<b>Activación del catalizador.</b>	58
7.4.	<b>Metodología general de la síntesis de <math>\beta</math>-aminoalcoholes.</b>	58
7.5.	<b>Purificación de los productos.</b>	58
7.6.	<b>Hidrólisis de los productos B y C.</b>	59
8.	<b>APENDICE B. CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA</b>	59
8.1.	<b>Producto A.</b>	59
8.2.	<b>Producto B.</b>	60
8.3.	<b>Producto B hidrolizado (HB).</b>	60
8.4.	<b>Producto C.</b>	61
8.5.	<b>Producto C hidrolizado (HC).</b>	61
9.	<b>APENDICE C. ESPECTROS.</b>	62
10.	<b>APENDICE D. CARTEL PRESENTADO EN EL 53° CONGRESO MEXICANO DE QUIMICA. 37° CONGRESO NACIONAL DE EDUCACIÓN QUÍMICA 2018</b>	72
11.	<b>REFERENCIAS</b>	73

## ÍNDICE DE FIGURAS Y CUADROS

Figura 1	Comparación del tamaño de un virus, una bacteria y una célula animal.	8
Figura 2	Estructura viral.	9
Figura 3	Esquema general de la replicación vírica.	10
Figura 4	Modelo del virus de influenza tipo A.	13
Figura 5	Intercambio de genes entre dos subtipos de virus de influenza A.	16
Figura 6	El cerdo se puede infectar con subtipos de virus de la influenza A.	16
Figura 7	Enlaces ácido siálico – galactosa.	17
Figura 8	Estructura de los principales antivirales para influenza.	21
Figura 9	Mecanismo de acción de los inhibidores de la neuraminidasa.	21
Figura 10	Mecanismo de resistencia al Oseltamivir.	22
Figura 11	Secuencia de eventos y casos que antecedieron a la declaración de emergencia por la aparición del virus de influenza A/H1N1.	25
Figura 12	Distancias de enlace y ángulos en el óxido de etileno comparado con el éter dimetílico.	27
Figura 13	Biosíntesis de esteroides por epoxidación de escualeno a 2,3-epoxi-escualeno	28
Figura 14	Apertura de un epóxido catalizada por bases y nucleófilos.	29
Figura 15	Apertura de epóxido catalizada por un ácido en agua.	30
Figura 16	Apertura de epóxidos catalizada por un ácido en una disolución alcohólica.	31
Figura 17	Apertura de óxido de estireno y 1,2-epoxihexano usando como disolvente etanol.	31
Figura 18	Apertura epóxidos con tioles aromáticos para producir $\beta$ -hidroxisulfuros empleando montmorillonita K-10.	32
Figura 19	Síntesis de “etenolaminas” por la reacción del óxido de etileno (oxirano) y amoníaco.	33
Figura 20	Apertura nucleofílica del anillo de epóxido por medio de azidas.	34
Figura 21	Formación de diamino alcoholes a partir de epoclorhidrina y aminas secundarias.	35
Figura 22	Síntesis de $\beta$ -aminoalcoholes empleando alúmina como catalizador.	36
Figura 23	Apertura de epóxidos empleando aminas primarias usando microondas en presencia de K-10.	37
Figura 24	Esquema general de síntesis de $\beta$ -aminoalcoholes.	40
Figura 25	Mecanismo de reacción para la formación de $\beta$ -aminoalcoholes.	40
Figura 26	$\beta$ -aminoalcoholes obtenidos en el presente trabajo.	41
Figura 27	Moléculas obtenidas de la hidrólisis de los productos B y C.	41
Figura 28	Síntesis del producto A.	42
Figura 29	Producto A.	43
Figura 30	Síntesis del producto B.	44
Figura 31	Producto B.	45
Figura 32	Hidrólisis del producto B para obtener HB.	46
Figura 33	Hidrólisis del subproducto para obtener una sal de ftalato.	47
Figura 34	Producto HB y sal de ftalato.	48

Figura 35	Modelación molecular por medio de Spartan® de las diferentes interacciones entre el producto HB y la sal de ftalato.	49
Figura 36	Síntesis del producto C.	50
Figura 37	Producto C.	51
Figura 38	Hidrólisis del producto B para obtener HB.	52
Figura 39	Producto HC.	53
Figura 40	Puentes de hidrógeno intermoleculares del producto HC realizadas por medio de modelación molecular en Spartan®.	54
Figura 41	Espectro 1A. FT-IR [cm <sup>-1</sup> ] Producto A.	61
Figura 42	Espectro 2A. <sup>1</sup> H RMN (300 MHz) CDCl <sub>3</sub> Producto A.	62
Figura 43	Espectro 1B. FT-IR [cm <sup>-1</sup> ] Producto B.	63
Figura 44	Espectro 2B. <sup>1</sup> H RMN (300 MHz) CDCl <sub>3</sub> Producto B	64
Figura 45	Espectro 1HB. FT-IR [cm <sup>-1</sup> ] Producto HB.	65
Figura 46	Espectro 2 HB. <sup>1</sup> H RMN (300 MHz) CDCl <sub>3</sub> Producto HB.	66
Figura 47	Espectro 1C. FT-IR [cm <sup>-1</sup> ] Producto C.	67
Figura 48	Espectro 2 C. <sup>1</sup> H RMN (300 MHz) CDCl <sub>3</sub> Producto C.	68
Figura 49	Espectro 1HC. FT-IR [cm <sup>-1</sup> ] Producto HC.	69
Figura 50	Espectro 2 HC. <sup>1</sup> H RMN (300 MHz) CDCl <sub>3</sub> Producto HC.	70
Cuadro 1	Diferencias de los virus de influenza	13
Cuadro 2	Segmentos de RNA del virus de la influenza A	14

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Cantidades de Oseltamivir y del 1,2-Epoxibutano empleadas para la síntesis del producto A	42
Tabla 2	Resultados obtenidos en la síntesis del producto B	44
Tabla 3	Resultados obtenidos en la hidrólisis del producto B para obtener HB	46
Tabla 4	Resultados obtenidos en la síntesis del producto C	50
Tabla 5	Resultados obtenidos en la hidrólisis del producto C para obtener HC	52

# 1. INTRODUCCIÓN

La influenza es una enfermedad altamente contagiosa causada por un virus que lleva el mismo nombre; la enfermedad afecta el tracto respiratorio superior o inferior y se acompaña de signos y síntomas sistémicos como fiebre, dolor de cabeza, dolores musculares y debilidad. Esta enfermedad es común sobre todo en temporada invernal. Un virus es una entidad infecciosa microscópica, mucho más pequeña que las células a las que infecta. Para reproducirse los virus insertan su ADN o ARN en el interior de la célula y usan las estructuras de las células infectadas para fabricar copias del virus.

Los antivirales son compuestos capaces de inhibir una o varias etapas del ciclo de replicación viral dentro de la célula huésped. Existen pocas opciones de tratamiento, como es el caso de Zanamivir y el Oseltamivir, sin embargo, el Zanamivir es poco utilizado debido a los efectos adversos que produce y a que la escasa absorción del fármaco, da lugar a bajas concentraciones sistémicas por lo que no se produce una exposición significativa tras la inhalación oral, por lo que el Oseltamivir se utiliza como fármaco de elección. Sin embargo, casos esporádicos de resistencia al Oseltamivir por el virus A(H1N1) se han reportado en todo el mundo, es por ello, que la síntesis de nuevos derivados de Oseltamivir con posible actividad antiviral sea de suma importancia.

En el presente trabajo se sintetizaron 3 derivados del Oseltamivir mediante reacciones de sustitución nucleofílica entre diferentes epóxidos y el Oseltamivir para obtener  $\beta$ -aminoalcoholes empleando microondas, y montmorillonita K10 como catalizador. Los productos obtenidos se purificaron por c.c.f. y se caracterizaron por RMN de  $H^1$ . Estos productos se podrán probar como posibles agentes antivirales para cepas resistentes al Oseltamivir (Tamiflu®) y Zanamivir (Relenza®).

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Los virus

#### 2.1.1. Definición y características de virus

Los virus son una entidad infecciosa microscópica (no se les considera como organismos vivos), mucho más pequeños que las células a las que infecta, son capaces de pasar a través de filtros que retienen o atrapan a la mayoría de las bacterias. Los virus más pequeños tienen solo 20 nm de diámetro; aún los virus más grandes son escasamente visibles con un microscopio óptico. Por lo tanto, los virus son más pequeños que las bacterias. <sup>1,2,3</sup> (Figura 1.)

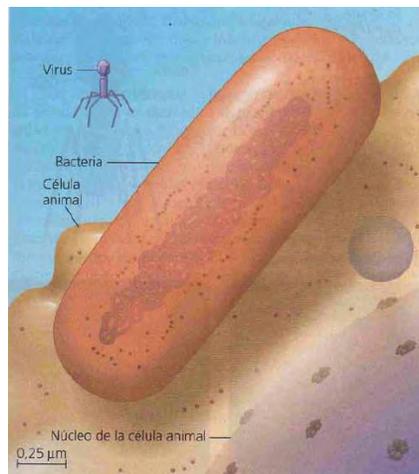


Figura 1. Comparación del tamaño de un virus, una bacteria y una célula animal. <sup>3</sup>

Una segunda característica que se usa para definir a los virus es su completa dependencia de la célula huésped para reproducirse. Los virus no tienen organelos funcionales ni ribosomas. Son muy pequeños para transportar suficiente material genético, y codificar todos los productos necesarios para reconstruir un virus. En consecuencia, un virus debe usar toda la maquinaria de síntesis proteica de la célula huésped para sintetizar sus proteínas. El genoma o material genético de un virus consiste en un tipo de ácido nucleico, ADN o ARN. El genoma de ADN o ARN puede ser de cadena doble o simple. Los virus que invaden células vegetales y animales contienen ARN, mientras los que infectan células bacterianas contienen ADN. En el caso del virus de la Influenza tipo A la composición del virus, en cuanto a ARN es de 0.1-0.7%. <sup>1,4,5</sup>

A diferencia de otros microorganismos unicelulares, algunos virus humanos o animales pueden reproducirse incluso si sólo el genoma viral es introducido en la célula. En otras palabras, el material genético es infeccioso. <sup>1</sup>

### 2.1.2. Estructura de los virus

Si bien son diversos en tamaño y forma, los virus tienen características estructurales comunes, la mayoría de las cuales aparecen en los cuatro ejemplos de la figura 2 descritos a continuación. <sup>3</sup>

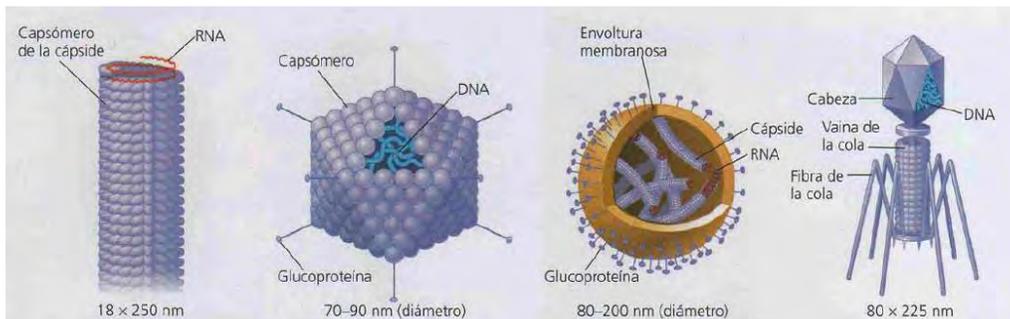
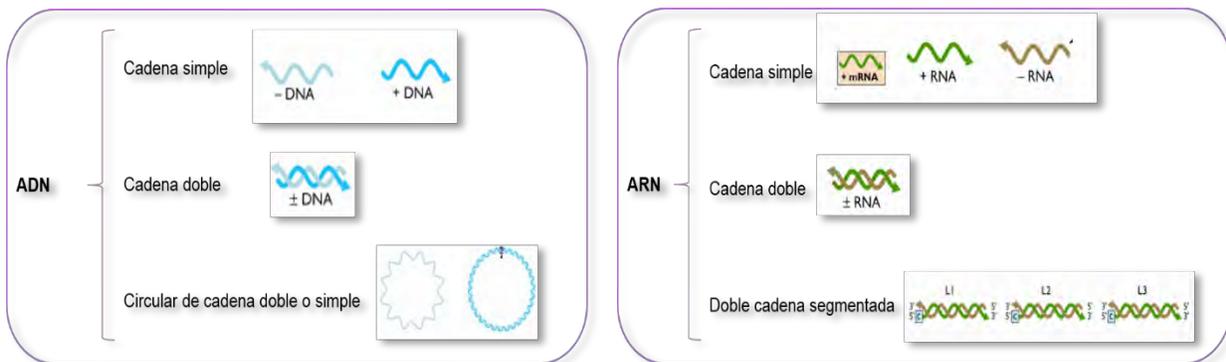


Figura 2 Estructura viral. <sup>3</sup>

**Ácidos nucleicos o genomas virales.** Puede ser ADN o ARN. <sup>7</sup>



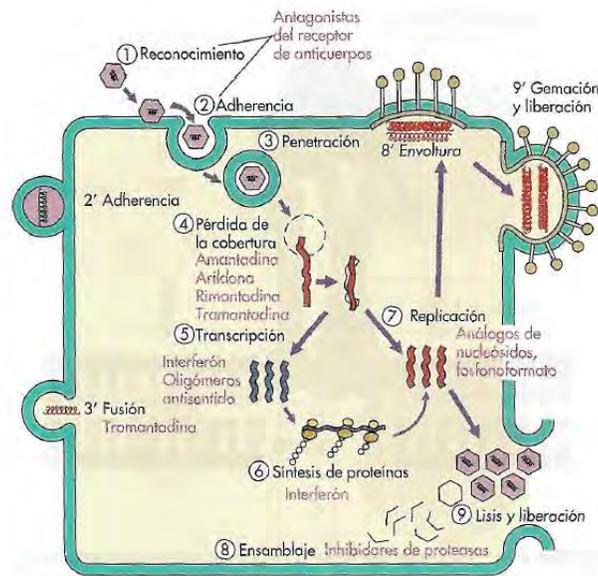
**Cápside.** Cubierta proteica que rodea al ácido nucleico, se encuentra formada por numerosas copias de una proteína (Capsómero). Su función es proteger el ácido nucleico de la desecación y de las enzimas tisulares; además presenta estructuras que permiten la unión del virus a los receptores de membrana de la célula que infectaran. (Virus Desnudos). Se pueden clasificar de acuerdo con la forma simétrica que poseen. <sup>3,7</sup>

**Envoltura.** Solo la presentan los “virus envueltos” está constituida por lipoproteínas de origen celular en la que se insertan glicoproteínas. Las proteínas de la superficie presentan afinidad

con receptores celulares, participando de la adsorción y penetración del virus a la célula huésped, estas estructuras accesorias ayudan a infectar a sus huéspedes.<sup>3,7</sup>

### 2.1.3. Características generales de los ciclos reproductivos virales.

Los virus se multiplican, o replican, utilizando su propio material genético ya sea ADN o ARN, según el virus que se trate. Este material sirve de platilla o plano para las proteínas virales y el material genético necesarios para crear nuevos virus. Las enzimas virales y el material genético también pueden participar en la replicación, pero el proceso en conjunto depende de la maquinaria bioquímica que la célula huésped utiliza para elaborar sus propias proteínas.<sup>6</sup>



**Figura 3** Esquema general de la replicación vírica. Los pasos del proceso de replicación vírica que son susceptibles a la acción de los fármacos antivirales se muestran en color magenta.<sup>2</sup>

- 1) Reconocimiento y adherencia.** Lo que en principio determina cuáles son las células que van a ser infectadas por un virus es la unión de las proteínas de fijación del virus (VAP) localizadas en la superficie de la cápside con los receptores de la célula. Los receptores para el virus, localizados sobre la célula pueden ser proteínas, hidratos de carbono, glucoproteínas o glucolípidos.
- 2) Penetración.** Los virus son fagocitados por la célula huésped (endocitosis). Algunos virus tienen proteínas superficiales que se unen a los receptores de la membrana plasmática de la célula huésped y estimulan la endocitosis. Otros virus están

recubiertos por una envoltura capaz de fusionarse con la membrana del huésped. A continuación, el material genético viral se libera dentro del citoplasma.

- 3) **Pérdida de la cobertura.** Una vez adentro de la célula huésped, la nucleocápside del virus debe llegar al lugar de replicación del interior de la célula y eliminar la cápside o la envoltura. Los virus con envoltura la pierden al fusionarse a las membranas celulares.
- 4) **Replicación.** El material genético viral se copia muchas veces.
- 5) **Transcripción.** El material genético viral se utiliza como plano para elaborar RNA mensajero (RNAm).<sup>6</sup>
- 6) **Síntesis de proteínas.** En el citoplasma del huésped, el RNAm viral se utiliza para sintetizar proteínas virales.
- 7) **Ensamblado viral.** El material genético y las enzimas virales quedan envueltas por su cubierta proteica.
- 8) **Liberación.** Los virus emergen de la célula por “gemación” desde la membrana celular o por ruptura de la célula.

En el caso de los virus con envoltura, presentan medios alternativos de ensamblaje de entrada, (3') y de salida de la célula (8' y 9') en la figura 3.<sup>2,6</sup>

## 2.2. Virus de influenza

### 2.2.1. Cuadro clínico de la enfermedad

La gripe o influenza es una enfermedad viral respiratoria aguda que se presenta habitualmente en los meses más fríos del año, cuyo período de incubación es de 1 a 7 días y el período infeccioso, de 7 a 10 días. Clínicamente, la enfermedad se caracteriza por la presencia de fiebre superior a 38° C, dolor de cabeza, tos, dolor muscular y/o articular, cansancio, escurrimiento nasal, dolor de garganta y, en ocasiones, diarrea. La tos generalmente es intensa y duradera, aunque el paciente suele recuperarse en el transcurso de 2 a 7 días. Algunos pacientes evolucionan hacia formas más graves de la enfermedad, con un intenso ataque al estado general y signos de insuficiencia respiratoria, hasta que se instala un cuadro de neumonía atípica que puede conducir a la muerte. El virus se transmite con facilidad de una persona a otra a través de pequeñas gotas y partículas expulsadas con la tos o los estornudos.<sup>24</sup>

### 2.2.2. Clasificación.

Los virus gripales pertenecen a la familia *Orthomyxoviridae* los cuales tienen envoltura y un genoma de ARN. Los virus de influenza más importantes se clasifican en tres, sin embargo, los virus de la gripe A y B provocan una enfermedad significativa en el ser humano.<sup>9,10,12,13</sup>

**TIPO A.** Infechan a una amplia familia de aves y mamíferos incluyendo humanos, y se dividen en subtipos con base en las glicoproteínas presentes en la superficie del virus, la hemaglutinina (HA) y la neuraminidasa (NA). Durante el siglo pasado, estos virus causaron tres pandemias, como se les conoce a las epidemias que se extienden a más de un continente.<sup>11,12</sup>

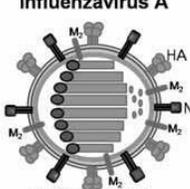
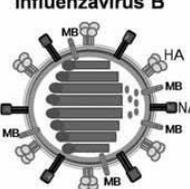
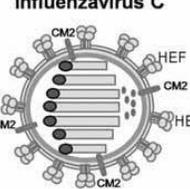
**TIPO B.** Infechan primordialmente humanos y dado que solo existe un subtipo de ellos, tienen un bajo potencial pandémico, aunque sí pueden provocar enfermedades respiratorias serias.<sup>12</sup>

**TIPO C.** Causan enfermedades respiratorias moderadas en humanos y en algunos animales. Han sido poco estudiados.<sup>12</sup>

Las glicoproteínas HA y NA son los principales determinantes de patogenicidad del virus. En la naturaleza existen 16 subtipos diferentes de H (H1 a H16) y 9 de N (N1 a N9).<sup>12</sup>

La clasificación de los virus de la influenza en los tipos A, B y C (cuadro1) se basa en las características antigénicas de dos de sus proteínas internas (M y NP); la posterior división en los subtipos se realiza según las características antigénicas de sus proteínas de superficie (HA y NA). En adición a las proteínas HA y NA, cada tipo de virus contiene otra proteína membranal: los virus de la influenza A contienen M2, los de la influenza B a la proteína MB y los virus de la influenza C contienen la proteína denominada CM2; aunque en la partícula viral se encuentra un bajo número de copias de estas últimas.<sup>14</sup>

La frecuencia de estos tres virus varía de manera temporal y geográfica y debido a su potencial epidémico y pandémico, la atención de las organizaciones internacionales y nacionales para protección de la salud, esta puesta en el virus de la influenza tipo A.<sup>10,11,12.</sup>

	Influenzavirus A	Influenzavirus B	Influenzavirus C
			
	~ 13,588 nucleótidos 8 segmentos	~ 14,648 nucleótidos 8 segmentos	~ 10,000 nucleótidos 7 segmentos
Género	A	B	C
Severidad de la enfermedad	+++	++	+
Frecuencia de aislamiento	+++	++	+
Reservorio humano	Sí	Sí	Sí
Reservorio animal	Sí	No	No
Tamaño (nm)	80-100	100-120	100-120
Glucoproteínas	HA y NA	HA y NA	HE
Aparición de subtipos	Sí	No	No
Segmentos de ARN	8	8	7
Número de genes	10	10	8

Cuadro 1 Diferencias de los virus de influenza.<sup>13,14</sup>

### 2.2.3. Estructura de los virus A y B

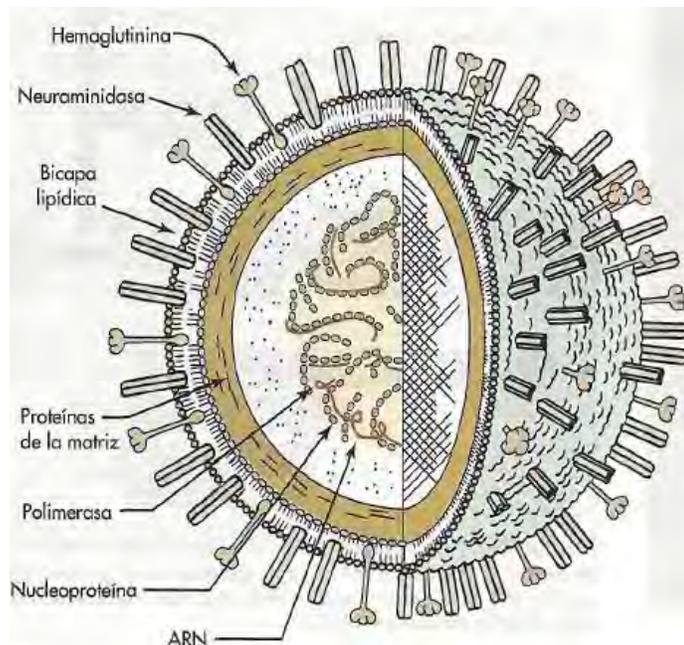


Figura 4. Modelo del virus de influenza tipo A.<sup>10</sup>

Los viriones de la gripe son pleomorfos, esféricos o tubulares con un diámetro variable de 80 a 120 nm. La bicapa lipídica contiene las tres proteínas integrales H (hemaglutinina), N (neuraminidasa) y M2. Estas proteínas se encuentran en la superficie del virus en una relación aproximada de 40:10:1. Esta capa lipídica rodea a una capa de proteína matriz M1, la cual contiene al genoma viral. El genoma del virus está a su vez, recubierto por la nucleoproteína NP y está asociado a un complejo proteico formado por las tres proteínas que componen el ARN polimerasa viral, constituido por dos subunidades básicas (PB1, PB2) y una subunidad acídica (PA) descritos con más detalle en cuadro 2.<sup>10,12</sup> El genoma de los virus de la gripe A y B está formado por 8 segmentos de RNA de cadena sencilla de polaridad negativa, con tamaños que van desde 2,350 nucleótidos (el más grande), hasta 890 nucleótidos (el más pequeño). En total el genoma tiene aproximadamente 13,600 nucleótidos y codifica por once proteínas virales.

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

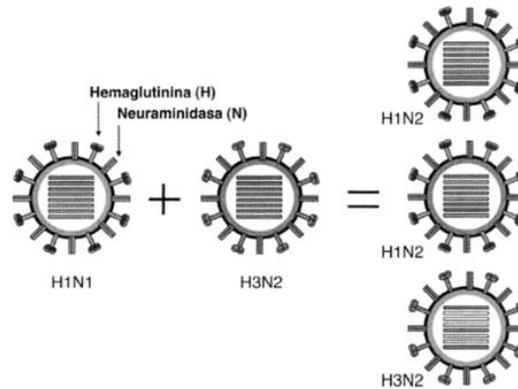
**Cuadro 2.** Segmentos de RNA del virus de la influenza A \*Enumerado por orden decreciente de tamaño<sup>10,16</sup>

Varias de las proteínas virales juegan un papel importante en algunos de los aspectos de restricción de huésped y patogenicidad de los virus de influenza, incluyendo la habilidad de modular el sistema inmune del huésped y la capacidad de replicarse eficientemente a bajas temperaturas, entre otras. Las proteínas mejor caracterizadas en cuanto a su potencial patogénico son la H, PB1 y PB2. Por otro lado, las proteínas N y M2 han sido muy estudiadas, dada su capacidad de conferir resistencia a las drogas antivirales en uso.<sup>17</sup>

#### **2.2.4. Variación antigénica.**

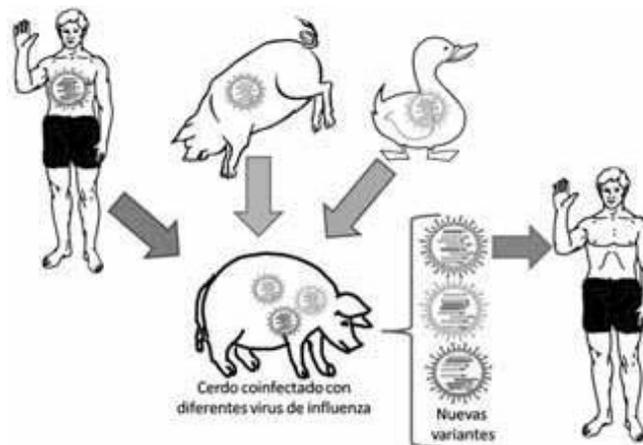
Los virus de influenza sufren constantes variaciones en el tipo de proteínas HA y NA que presentan, lo cual les resulta útil para escapar a la respuesta inmunitaria de sus huéspedes. (Este fenómeno se conoce como variación antigénica; un antígeno es un compuesto capaz de causar una respuesta inmunitaria.) A diferencia de otros virus respiratorios, los virus de influenza tienen dos mecanismos diferentes de variación antigénica, lo que les permite infectar a sus huéspedes en más de una ocasión y causarles la enfermedad. Este tipo de variaciones se conocen como *deriva* y *cambio antigénicos*. La deriva antigénica resulta de los cambios en las proteínas causados por mutaciones puntuales (cambios en los aminoácidos, o “letras”, individuales) en los genes. Los genes de la hemaglutinina, la neuraminidasa y la M2, evolucionan más rápidamente que los demás. Se ha calculado que la tasa de evolución, esto es, la fijación de mutaciones de las proteínas H y N es alrededor del 1% anual. Este tipo de mutaciones se generan constantemente hasta llegar a un punto en el que el sistema inmune de las personas infectadas ya no reconocen las nuevas variantes del virus o lo hacen muy ineficazmente, lo que hace necesario que se revise la composición de la vacuna estacional cada año.<sup>11,12,17</sup>

El cambio antigénico se ve favorecido por la naturaleza segmentada del genoma del virus. Esta característica facilita que cuando dos subtipos diferentes de virus infectan a un mismo animal, los genes de estos agentes patógenos puedan mezclarse y se produzcan nuevos virus que portan diversas combinaciones de genes de los virus parentales. Figura 5.



**Figura 5.** Intercambio de genes entre dos subtipos de virus de influenza A.<sup>12</sup>

Se piensa que este tipo de intercambio de genes entre virus de diferentes especies animales ocurren principalmente en cerdos ya que, a diferencia de las aves y de los humanos, que generalmente sólo son infectados por virus de influenza A de origen aviar o humano respectivamente, los cerdos se infectan con virus aviar, humano, y por supuesto porcino. Así cuando un cerdo se infecta al mismo tiempo con dos virus de diferentes especies, se convierte en un recipiente de mezclado de genes, en el cual pueden generarse nuevos virus con patogenicidad difícil de predecir.



**Figura 6.** El cerdo se puede infectar con subtipos de virus de la influenza A de su misma especie, pero también con aquellos provenientes de humanos o aves.<sup>14</sup>

Si estos virus, tuvieran proteínas HA y/o NA diferentes a las que circulan en la población y fueran capaces de infectar a humanos y de transmitirse eficientemente de persona a persona, tendrían un alto potencial de causar una pandemia, ya que la población mundial no tendría inmunidad contra ellos, ya que las proteínas H y N del virus de ave o cerdo son diferentes a las que tienen los virus de humano.

Figura 6.<sup>11,12</sup>

### 2.2.5. Tropismo viral.

El tropismo viral se refiere al patrón de infección de ciertos órganos/tejidos y dentro de ellos de determinados tipos celulares, lo anterior se debe principalmente a receptores (proteínas de superficie) en esos tipos celulares. Las proteínas de la superficie viral reconocen a su receptor específico en cada una de sus células hospederas, esta interacción posibilita el contacto inicial y es indispensable para llevar a cabo la interiorización del virus.<sup>14</sup>

El virus normalmente ingresa al organismo por nariz o boca e infecta a las células que recubren al tracto respiratorio. Para iniciar la infección el virus se une al ácido siálico (AS) (N-acetilneuramínico) presente en la superficie de las células. El AS es un monosacárido de nueve carbonos que se encuentra frecuentemente en el extremo de la cadena de oligosacáridos de muchos glicoconjugados; define el tropismo de los virus de influenza debido a la especificidad que tienen diferentes cepas del virus por distintos tipos de enlaces de AS con el azúcar que los precede en la cadena de carbohidratos, el cual normalmente es una galactosa. Así, el carbono 2 del AS puede unirse al carbono 3 o al carbono 6 de la galactosa formando enlaces  $\alpha$ -2,3 y  $\alpha$ -2,6 respectivamente. Figura 7. El AS es reconocido por la hemaglutinina de los virus de influenza.

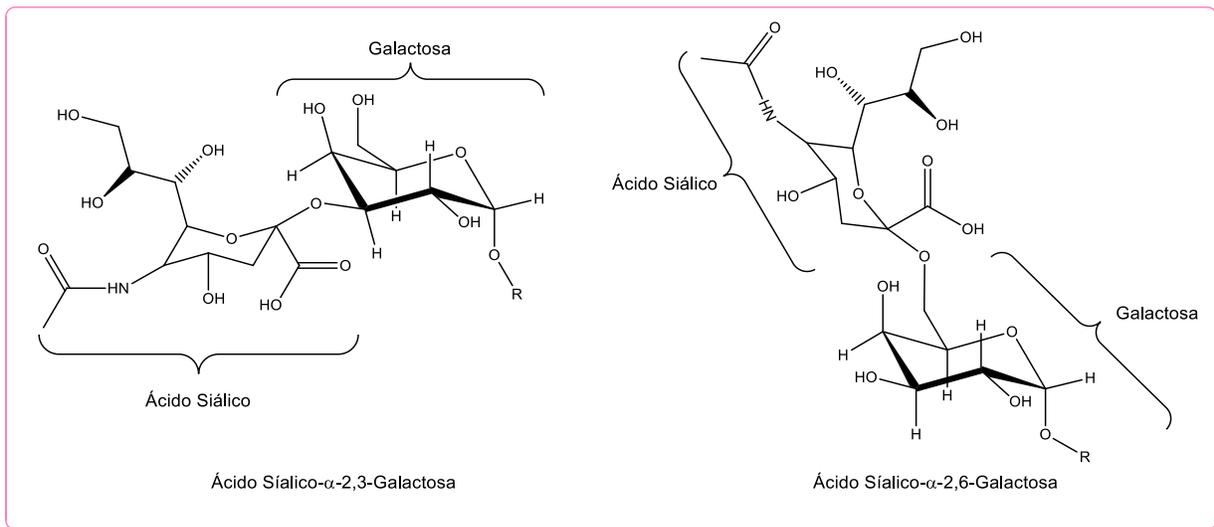


Figura 7. Enlaces ácido siálico – galactosa. Modificado.<sup>12</sup>

Los virus humanos aislados se unen principalmente a ácidos siálicos en unión  $\alpha$ -2,6 ya que las células epiteliales que cubren la tráquea humana tienen principalmente ácidos siálicos de

ese tipo; mientras que los virus aviarios se unen preferentemente a ácidos siálicos con unión  $\alpha$ -2,6 presentes en las células epiteliales del intestino de aves acuáticas. La afinidad por este tipo de ácidos siálicos explica en parte la restricción de huésped de los virus de influenza. Resulta interesante notar que las células epiteliales de la tráquea de los cerdos existen ambos tipos de enlaces de AS, lo que favorece a que sea infectado además de virus porcinos, por virus de origen aviar y humano, lo que tiene como consecuencia, como se mencionó en la sección anterior que en este animal se puedan generar rearrreglos genéticos.<sup>11, 12</sup>

### **2.2.6. La hemaglutinina (HA) y sus funciones biológicas**

Es una de las glicoproteínas mayoritarias del virus; en cada partícula viral se encuentran aproximadamente 500 moléculas (170 trímeros) que constituye el 25% de las proteínas víricas y representa el principal antígeno de neutralización del virus. Cada virión presenta alrededor de un millar de proyecciones, dispuestas a modo de espículas superficiales, formadas cada una por un trímero de subunidades idénticas, formada por una región fibrilar, tallo que une a dos regiones globulares, una grande y otra pequeña. La región que forma el glóbulo pequeño participa en el anclaje de la proteína a la bicapa lipídica del virus, y la región amino terminal constituye el glóbulo grande, zona en la que están localizados los sitios de neutralización del virus, que en conjunto poseen un peso de 250 kD. Entre sus principales funciones biológicas es responsable de:<sup>9,12,13</sup>

- 1) La fijación del virus a los receptores mucoproteicos de las células del epitelio. Como se mencionó anteriormente la hemaglutinina media la unión del virus con su célula huésped, ya que es la proteína responsable del reconocimiento del ácido siálico en los enlaces  $\alpha$ -2,3 y  $\alpha$ -2,6. Se conocen los aminoácidos de esta proteína responsables del reconocimiento de los diferentes enlaces de ácido siálico, por ejemplo residuos de glutamina y de glicina en las posiciones 226 y 228 respectivamente de las hemaglutininas H2 y H3 permiten la unión a receptores de tipo aviar, mientras que si se encuentran residuos de leucina y serina en las mismas posiciones el virus se une a receptores humanos. Para las hemaglutininas H1, residuos de ácido glutámico y glicina en las posiciones 190 y 225 confieren especificidad de receptores aviarios, mientras que la presencia de ácido aspártico en estas posiciones, da especificidad de unión a receptores humanos.<sup>9,12.</sup>

2) Entrada del virus a la célula huésped. La hemaglutinina se sintetiza como una proteína precursora llamada H0, que es proteolíticamente cortada en H1 y H2 en un sitio específico de la proteína. Este corte, resulta en la activación de la infectividad del virus y se ha observado que, a diferencia de las cepas de baja patogenicidad, las cepas de alta patogenicidad tienen no sólo uno, sino varios aminoácidos básicos en el sitio de corte, lo que las hace particularmente susceptibles a ser activadas proteolíticamente, y por lo tanto, más infecciosas. El corte proteolítico es esencial para la infectividad, ya que expone un péptido hidrofóbico en el amino terminal de H2, que es responsable de mediar la fusión de las membranas viral y celular.<sup>12,17.</sup>

### **2.2.7. La neuraminidasa (NA) y la diseminación del virus de influenza.**

La neuraminidasa representa alrededor del 5% de las proteínas totales del virón, el cual representa el orden de 200 moléculas de la misma. Éstas están constituidas por una región tubular a la que se le llama tallo, y una globular (cabeza) ésta última constituida por cuatro subunidades que forman un tetrámero de 240 kD. La función de esta proteína es remover enzimáticamente los residuos de ácido siálico de la membrana en la célula infectada, permite la gemación de los viriones recién sintetizados y evita que estos se autoagreguen y así salgan libremente a infectar a otra célula. Por ello colabora con la HA en los procesos de fusión y penetración celular, así como en la liberación de nuevos virus, difusión de los mismos y la apoptosis celular.<sup>9,13</sup>

La NA es el blanco de los antivirales Oseltamivir (Tamiflu®) y Zanamivir (Relenza®). Estas moléculas son inhibidores enzimáticos específicos de la actividad de sialidasa o neuraminidasa de la proteína, en ausencia de esta enzima, la hemaglutinina del virus se une al ácido siálico de otras partículas víricas para formar grumos, impidiendo así la liberación del virus.<sup>2,12,17</sup>

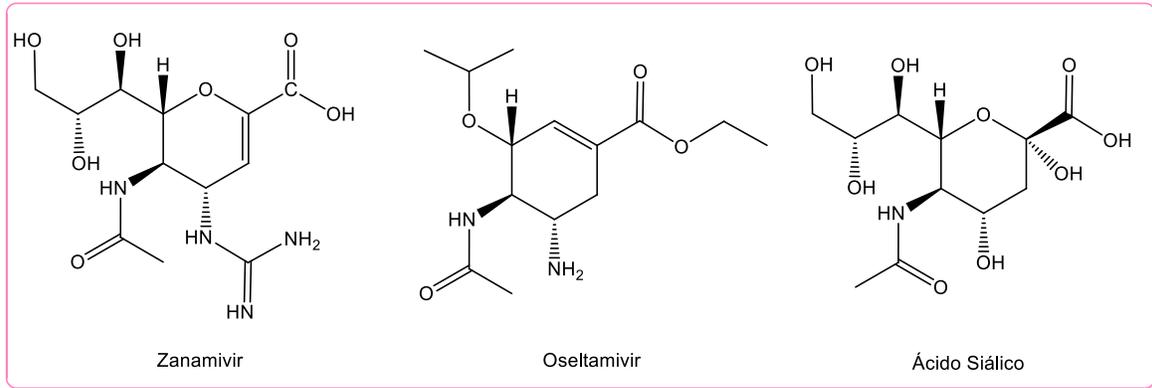
### **2.3. Antivirales inhibidores de neuraminidasa.**

Los antivirales son aquellos compuestos capaces de inhibir una o varias etapas del ciclo de multiplicación viral dentro de la célula huésped. En la práctica, se procura que una droga inhiba la replicación viral a concentraciones no tóxicas para el huésped y de esta forma minimizar la aparición de efectos adversos. La forma más efectiva de combatir las enfermedades virales es a través de vacunas. Pero la prevención no siempre es posible ya

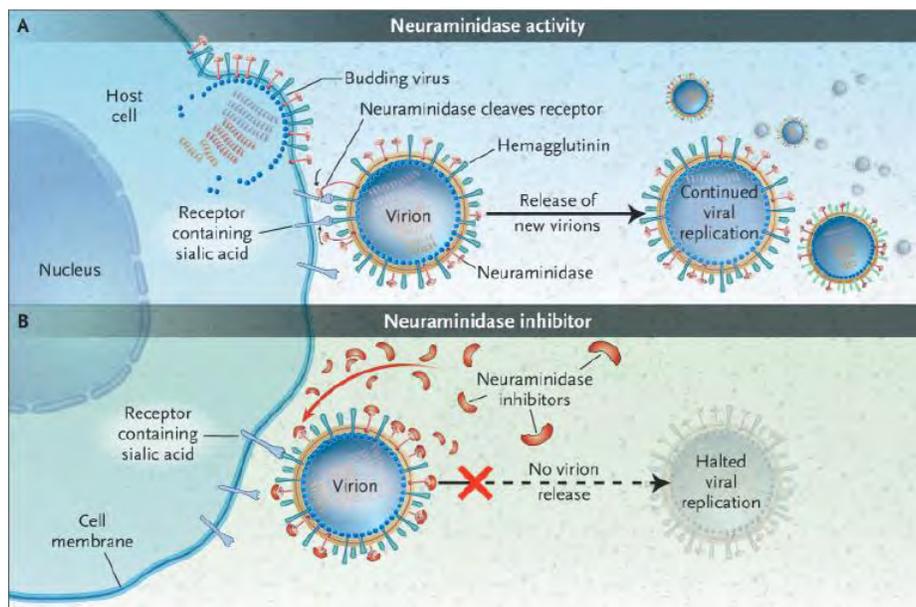
que hay enfermedades para las cuales no se han podido desarrollar las mismas. Es por eso que surge la necesidad de nuevos medicamentos antivirales.<sup>18,19,20.</sup>

En el caso de los virus de influenza existen dos tipos de antivirales que son capaces de inhibir al virus de diferentes maneras; inicialmente existían dos fármacos mejor conocidos como adamantanos: amantadina y rimantadina con actividad antigripal dirigida frente a los canales iónicos de la proteína M2. Ambos fármacos son eficaces como tratamiento si se inician en las 24 horas posteriores a la aparición de la enfermedad, reduciendo la fiebre y los síntomas de uno a dos días. La quimioprofilaxis (uso de fármacos de forma preventiva) y el tratamiento con amantidina, es eficaz sólo frente a la infección del virus tipo A en todos los subtipos, sin embargo, también puede tratarse con rimantadina que tiene mejor tolerabilidad y mejores propiedades farmacocinéticas. Aun así, presentan mayores efectos secundarios que los inhibidores de la neuraminidasa. Tanto el uso preventivo de estos antivirales como su empleo en el tratamiento han estado bien definidos, su protagonismo actual es muy limitado debido a que la resistencia causada por cambio en el aminoácido 31 del gen M2 de los virus de gripe tipo A, aumentó rápidamente en todo el mundo a partir del 2003. Por lo tanto, la amantadina y la rimantadina no se recomiendan para el tratamiento antiviral o la quimioprofilaxis de las cepas del virus de la gripe A actualmente circulantes.<sup>9,21,22</sup>

En la actualidad se encuentran dos fármacos con actividad antiviral frente a los virus gripales A y B que, como se mencionó en la sección anterior actúan como inhibidores enzimáticos de la neuraminidasa, Zanamivir (Relenza®) y Oseltamivir (Tamiflu®). Figura 8. Zanamivir ha sido diseñado específicamente mediante un programa racional de tecnología informática como un inhibidor de la neuraminidasa. El mecanismo de acción fundamental de ambos deriva de que al ser un análogo del ácido síalico posee una acción específica. Actúa inhibiendo la liberación del virus a partir de la célula infectada, y por lo tanto evita la propagación de la infección en el tracto respiratorio. Figura 9.<sup>9,23</sup>



**Figura 8.** Estructura de los principales antivirales para influenza.



**Figura 9.** Mecanismo de acción de los inhibidores de la neuraminidasa. El panel A muestra la acción de la neuraminidasa en la replicación continua de viriones en la infección por influenza. La replicación está bloqueada por inhibidores de neuraminidasa (Panel B), que impiden que los viriones sean liberados de la superficie de las células infectadas.<sup>23</sup>

Dado que la replicación del virus de la gripe en el tracto respiratorio alcanza su máximo entre 24 y 72 horas después de la aparición de la enfermedad, los fármacos tales como los inhibidores de la neuraminidasa que actúan en la etapa de replicación viral deben administrarse tan pronto como sea posible. Numerosos estudios de tratamiento en adultos sanos han demostrado que los inhibidores de la neuraminidasa, cuando se toman entre 36 y 48 horas después del inicio de los síntomas, disminuyen la enfermedad sintomática en uno o dos días.<sup>22,23</sup>

En contraste con los adamantanos, los inhibidores de la neuraminidasa están asociados con muy poca toxicidad y son menos propensos a promover el desarrollo de la gripe resistente a fármacos. Como clase, los inhibidores de la neuraminidasa son eficaces contra todos los subtipos de neuraminidasa y, por lo tanto, contra todas las cepas de influenza, y una ventaja importante sobre los adamantanos, es que son eficaces sólo contra cepas sensibles de influenza A. Estos fármacos, si se usan adecuadamente, tienen un gran potencial para disminuir los efectos de la infección por influenza.<sup>23</sup>

#### 2.4. Resistencia al Oseltamivir.

Los virus de influenza cambian de manera constante, tanto que pueden mutar de una temporada a otra. A medida que el virus se reproduce puede cambiar la composición genética de manera que se haga resistente a uno o más de los medicamentos que se utilizan para tratar o prevenir al virus.<sup>25</sup>

Recientemente, se han descrito cepas de influenza estacional H1N1, cuya actividad de neuraminidasa es resistente a oseltamivir. La mutación más frecuente que confiere la resistencia de la NA a esta droga es la sustitución de una histidina por una tirosina, en la posición 275. La resistencia a oseltamivir se evalúa por medio de la detección de la mutación H275Y por técnicas de biología molecular. Estas infecciones por el virus H275Y resistente a oseltamivir son susceptibles al zanamivir. Figura 10. Hasta marzo de 2010 se habían reportado 264 casos aislados; de más de 10,000 probados, de cepas del virus pandémico A/H1N1/2009 que eran resistentes a oseltamivir. Estos virus fueron aislados en diferentes partes del mundo, incluyendo México, y todos llevan la mutación de histidina por tirosina en la posición 275, la cual confiere resistencia al antiviral.<sup>17,21,26.</sup>

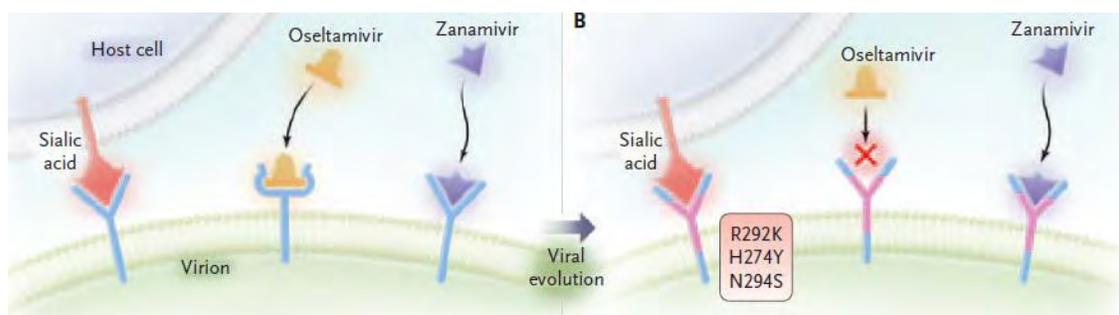


Figura 10. Mecanismo de resistencia al Oseltamivir.<sup>28</sup>

En la actualidad, prácticamente todos los virus de la gripe A circulantes en el ser humano son resistentes a los inhibidores M2 (amantadina y rimantadina). En cambio, la frecuencia de la resistencia al oseltamivir, un inhibidor de la neuraminidasa sigue siendo baja (1-2%). La sensibilidad a los antivirales es vigilada constantemente por el Sistema Mundial OMS de Vigilancia y Respuesta a la Gripe.<sup>27</sup> Sin embargo, es de suma importancia estar preparados con nuevos antivirales para futuras mutaciones que llegara a presentar el virus, con el fin de evitar una pandemia como la ocurrida en el año 2009.

## **2.5. Las grandes epidemias y pandemias de influenza en el mundo, una lección del pasado.**

A lo largo de los años, la humanidad ha convivido con epidemias y pandemias de todo tipo, incluso unas más letales que las otras. En el caso de la influenza, la aparición de pandemias a lo largo de la historia se han propiciado por su forma de transmitirse y su rápida diseminación, distribuyéndose en un periodo muy corto aunado a la naturaleza propia del virus.<sup>12</sup>

Una de estas epidemias (tal vez la primera) fue reportada por Hipócrates, el padre de la Medicina, en el año 492 a.C. Más tarde durante la edad media se describieron numerosos episodios relacionables con este mal. El término influenza fue introducido en Italia al inicio del siglo XV para describir una epidemia que fue atribuida a la influencia de las estrellas. El término fue adoptado por los ingleses en el siglo XVIII; durante el mismo período los franceses denominaron la enfermedad como *la grippe*.<sup>16,29</sup>

Sin embargo, durante la primera mitad del siglo XX entre los años 1918-1919, se presentó la pandemia de influenza más devastadora llamada “influenza española”, si bien el paciente cero fue registrado en marzo de 1918, la enfermedad fue denominada como “Gripe Española” ya que España, al no haber estado involucrada en la guerra, fue el país que más casos reportó, el virus que produjo la pandemia fue del subtipo H1N1 de origen aviar. Cuando la enfermedad comenzó, se pensó que se trataba de una nueva y terrible arma química debido a que la Primera Guerra Mundial estaba en curso. Estimaciones van de un mínimo de 20 a 50 millones de muertes en todo el mundo y se infectaron con la cepa circulante unos 500 millones más. Se calcula que un quinto de la población mundial fue infectada y que 2 a 3% de los infectados murieron. La mayoría de las ciudades principales y otros lugares públicos fueron cerrados, y

los hospitales estaban excedidos y faltos de servicios médicos. Adultos sanos previamente, enfermaron y murieron en un lapso de 24 horas.<sup>14,16,26,30</sup>

## **2.6. 2009, el año de la influenza en México.**

La historia de la primera pandemia del siglo XXI inició, oficialmente, el 21 de abril de 2009 cuando el Centro de Control De Enfermedades de los Estados Unidos informó que tenía registrados dos casos de niños con infección respiratoria aguda en dos localidades de California, ocasionados por un nuevo tipo de influenza A el cual posteriormente fue identificado como un virus de origen porcino con dos genes de linaje euroasiático del tipo H1N1.

En México la primera alerta emitida por las autoridades correspondió a la presencia inusitada de neumonías graves en adultos y en jóvenes que se reportaban en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias en la Ciudad de México por lo que la Secretaría de Salud declaró alerta sanitaria e inició acciones para dar respuestas efectivas ante esta situación. El 23 de abril el secretario de salud, José Ángel Córdoba, explicó que un nuevo virus era el causante de esta epidemia ya que se confirmó la existencia del virus gracias al reporte de los laboratorios de Winnipeg donde dicho informe culminaba con una intensa pesquisa epidemiológica que había iniciado semanas antes. Durante los días siguientes, se informó acerca de la presencia de casos en otras entidades del país, como Oaxaca, San Luis Potosí y el Estado de México. Entonces se creyó que el primer caso de la nueva enfermedad había sido el de una mujer que se internó y murió en un hospital de la ciudad de Oaxaca el 13 de abril. Sin embargo, dos días después, se publicó la noticia de que un niño residente de la comunidad La Gloria, en el municipio de Perote, Veracruz, era el primer caso de la nueva influenza, pues había enfermado durante la primera semana de abril y su prueba de laboratorio había resultado positiva. Este hecho, aunado a que las autoridades y especialistas se refirieron a esta enfermedad como influenza porcina, generalizó en la opinión pública la versión que el virus se había originado en nuestro país y que provenía de los cerdos.<sup>12,24,31,32.</sup>

Sin embargo, semanas después, se publicó en la revista *New England Journal of Medicine* un artículo referente a la experiencia clínica con pacientes internados en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) de la Ciudad de México, en el cual se reconoce que

durante la primera quincena de marzo se habían internado pacientes con enfermedad respiratoria grave, en quienes después se confirmó la presencia del nuevo virus pandémico.<sup>33</sup>

Es importante tomar en cuenta que el 22 de abril el Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y de Control de Enfermedades informó que entre enero y abril, se confirmaron 313 casos de influenza en el país de los cuales 218 correspondieron al D.F. así mismo, durante una entrevista publicada a finales de julio de 2009, la directora del InDRE (Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos) hizo mención de un caso comprobado de influenza A/H1N1 en una niña de 6 meses de edad, residente del estado de San Luis Potosí, que presentó síntomas de la enfermedad el 24 de febrero, o sea, dos semanas antes de que iniciara el brote en La Gloria; y que en Estados Unidos se reconoció que el nuevo virus estaba presente en una muestra tomada de un paciente que tuvo síntomas durante los últimos días de marzo de 2009. Figura 11.

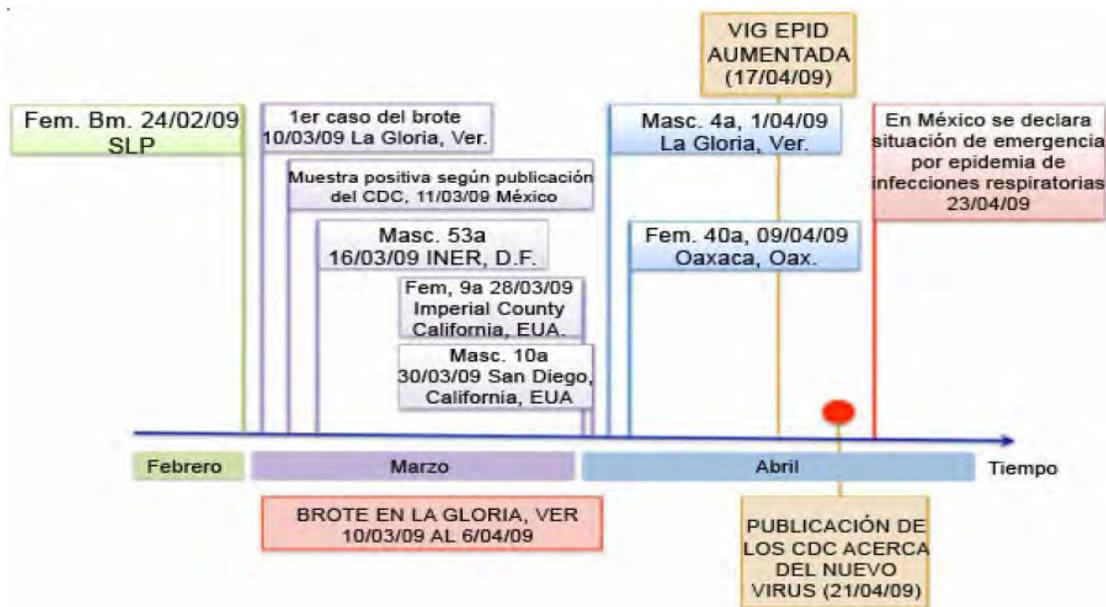


Figura 11. Secuencia de eventos y casos que antecedieron a la declaración de emergencia por la aparición del virus de influenza A/H1N1

24

Esta información permite suponer que el nuevo virus estuvo circulando en México y al menos en el sur de Estados Unidos desde febrero, sin ser reconocido. Además, los análisis filogenéticos han permitido reconocer que un virus precursor había circulado años antes entre poblaciones porcinas de varios continentes y que el cambio genético, que finalmente configuró

al nuevo virus A/H1N1 2009, se dio en Asia, comenzando a circular meses antes de que fuera identificado.<sup>24</sup>

Durante la contingencia las autoridades variaron sus criterios para reportar el número de enfermos y víctimas mortales. Hasta la fecha, según las diferentes cifras dadas a conocer por la Secretaría de Salud y su titular, existen múltiples dudas respecto del impacto total de esta enfermedad.<sup>31</sup>

Una semana después de haberse declarado su presencia en México, el nuevo virus ya había provocado casos en otros diez países de Europa, el Pacífico Occidental y el Medio Oriente. En paralelo, la OMS se enfocó en el análisis de la epidemia y el 25 de abril declaró la fase 3 de la pandemia; dos días después, el 27 de abril, la fase 4 y el 29 de abril la fase 5. Esta última declaración implicó el reconocimiento de que la pandemia ya no podía detenerse y que se había establecido la transmisión de persona a persona en al menos tres continentes.<sup>24</sup>

## 2.7. Epóxidos.

### 2.7.1. Generalidades de los Epóxidos

Los epóxidos (óxidos de alqueno), o también llamados oxiranos, son intermedios versátiles en la síntesis orgánica. No sólo estos compuestos se preparan fácilmente a partir de una variedad de materias primas, sino que son susceptibles a un gran número de reactivos como electrófilos, nucleófilos, ácidos, bases, agentes reductores, algunos agentes oxidantes, y además tienden a participar en reacciones que abren el anillo de tres miembros, rompiendo uno de los enlaces carbono-oxígeno.<sup>33,34,35.</sup>

Los epóxidos, tienen una tensión angular importante, (energía de tensión de 27 kcal/mol); lo que les proporciona una reactividad química única; a esta gran tensión en el anillo contribuyen tres factores. Primero, la tensión angular requerida para comprimir los ángulos de enlace del ángulo tetraédrico que son de  $109.5^\circ$  hasta los ángulos en promedio de  $60^\circ$  en el epóxido. Segundo, el solapamiento de orbitales  $sp^3$  en el enlace C-C que se ve debilitado cuando los ángulos de enlace difieren tanto del tetraédrico, y la incorporación de un átomo de oxígeno en un anillo de tres miembros que requiere que su ángulo de enlace se distorsione en comparación con el ángulo C-O-C en un éter. Figura 12. Esta tensión en el anillo se ve reflejada en la frecuencia de la energía vibracional C-O-C en el infrarrojo, donde el intervalo normal es de  $1310\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$  mientras que para los epóxidos va  $\sim 1270, \sim 840$ .<sup>34,35,37,38.</sup>

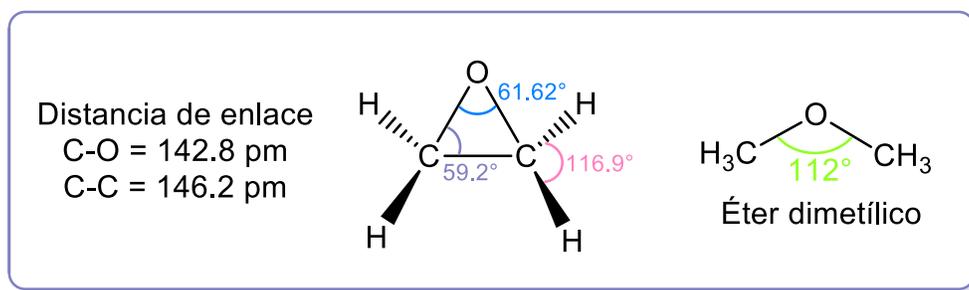
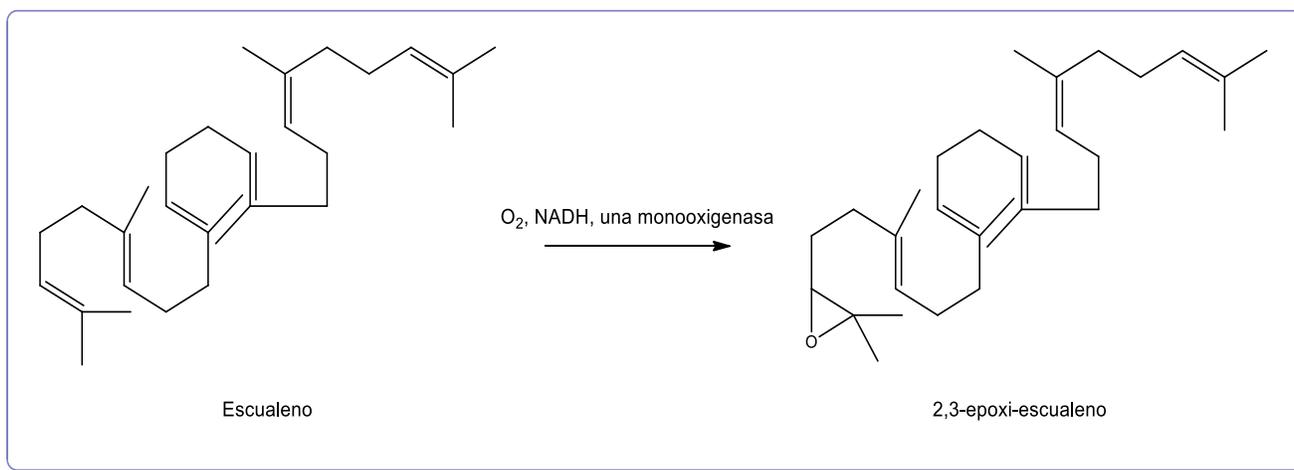


Figura 12. Distancias de enlace y ángulos en el óxido de etileno comparado con el éter dimetílico<sup>35,36.</sup>

Muchas de las sustancias naturales son epóxidos. En la mayoría de los casos, los epóxidos se biosintetizan por la transferencia de uno de los átomos de oxígeno en una molécula de  $O_2$  a un alqueno, catalizada por enzimas. Figura 13. La reactividad de los epóxidos a la apertura nucleofílica del anillo es responsable de los papeles biológicos que desempeñan.

Por ejemplo, el 2,3-epóxido de escualeno es el precursor biológico del colesterol y de las hormonas esteroidales, incluyendo testosterona, progesterona, estrona y cortisona.<sup>35</sup>

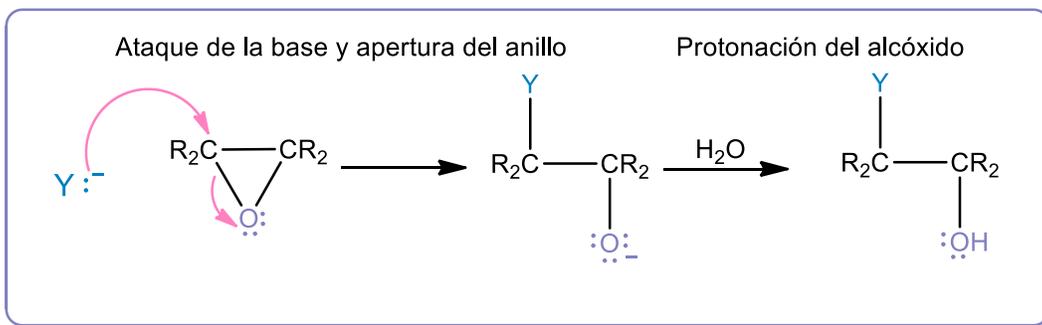


**Figura 13.** Biosíntesis de esteroides por epoxidación de escualeno a 2,3-epoxi-escualeno. La apertura de este epóxido promueve la ciclación del esqueleto de carbono bajo el control de una enzima.<sup>37</sup>

### 2.7.2. Apertura de epóxidos catalizada por bases.

La gran mayoría de los éteres no participan en reacciones de sustitución o eliminación nucleofílica porque el ion alcóxido es un mal grupo saliente. Sin embargo, los epóxidos sí pueden romperse por bases y nucleófilos. Aunque un oxígeno del éter es por lo general un grupo saliente pobre en la reacción  $S_N2$ , la tensión en el anillo de tres miembros ocasiona que los epóxidos reaccionen con el ion hidroxilo a temperaturas elevadas. Como se dijo anteriormente, los epóxidos tienen una tensión de anillo de unas 27 kcal/mol, que se liberan al abrir el mismo, esta tensión liberada es más que suficiente para compensar la formación del alcóxido, que es un mal grupo saliente. La desaparición de la tensión en el anillo del epóxido, hace que la  $S_N$  en un epóxido esté termodinámicamente favorecida.<sup>37,39</sup>

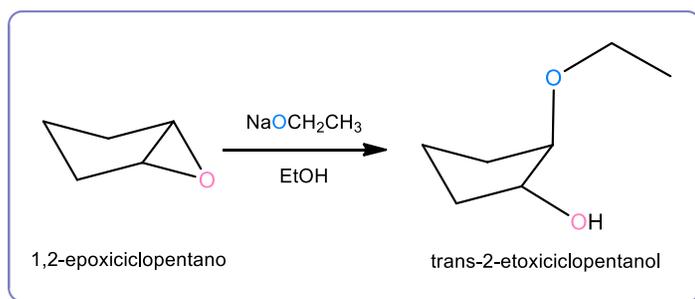
La apertura de epóxidos catalizada por bases es una reacción  $S_N2$ , típica en la que el ataque del nucleófilo ocurre en el carbono menos impedido cuando existen dos carbonos, que de otra forma son equivalentes. Figura 14.



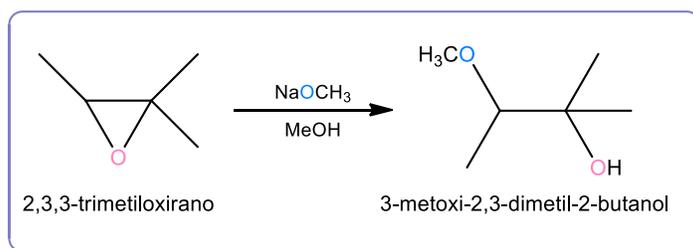
**Figura 14.** Apertura de un epóxido catalizada por bases y nucleófilos.<sup>35</sup>

Las reacciones de los epóxidos con nucleófilos aniónicos o bases tienen algunas características de las reacciones  $S_N2$ . Por ejemplo.<sup>35</sup>

a) La inversión de la configuración tiene lugar en el carbono atacado por el nucleófilo.



b) El nucleófilo se enlaza al carbono menos sustituido y menos impedido estéricamente en el anillo.



### 2.7.3. Apertura de epóxidos catalizada por ácidos.

Los epóxidos se abren por el tratamiento con ácido de la misma forma en que lo hacen otros éteres, pero en condiciones más suaves debido a la tensión en el anillo; el ácido acuoso diluido a temperatura ambiente es suficiente para ocasionar la hidrólisis de los epóxidos para formar 1,2-dioles o *glicoles vecinales*.<sup>39</sup>

La regioquímica de la apertura del anillo, depende de la estructura del epóxido y con frecuencia se forma una mezcla de productos. Los epóxidos sustituidos simétricamente, dan lugar al mismo producto en las aperturas de anillo catalizadas por bases; sin embargo, los epóxidos no simétricos dan lugar a productos diferentes.<sup>37,39</sup>

Como se verá más adelante, a comparación de una reacción catalizada por bases o nucleófilos aniónicos, donde los epóxidos asimétricamente sustituidos tienden a reaccionar en el carbono menos impedido en el anillo; en una reacción catalizada con ácido ocurre lo contrario, la reacción se lleva a cabo en el carbono más sustituido, además que, los productos dependen principalmente del disolvente que se utilice.<sup>35,37</sup>

**En agua.** Los epóxidos reaccionan con agua en medio ácido para formar glicoles con estereoquímica *anti*. El mecanismo de esta hidrólisis implica la protonación del oxígeno (formando un buen grupo saliente), seguida de un ataque S<sub>N</sub>2 por el agua. La estereoquímica *anti* se debe al ataque del agua por el lado posterior del epóxido protonado. Figura 15.

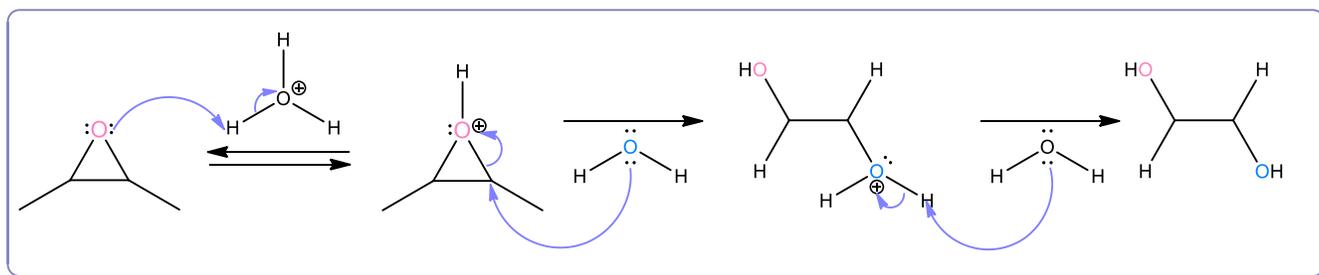


Figura 15. Apertura de epóxido catalizada por un ácido en agua. (Modificado)<sup>37</sup>.

**En alcohol.** Cuando la apertura del epóxido es catalizada con ácido usando alcohol como disolvente, la molécula de alcohol actúa como nucleófilo. Esta reacción da lugar a un β-alcoxi-alcohol con estereoquímica *anti*. Este método es excelente para obtener compuestos con grupos éter y alcohol adyacentes. Figura 16.

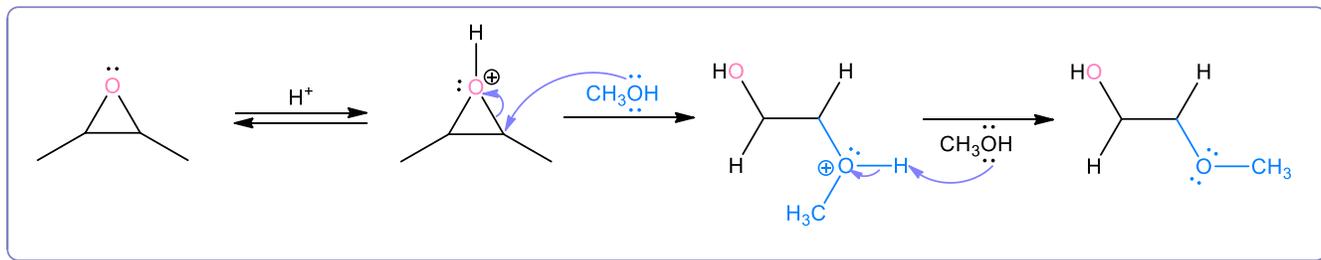


Figura 16 Apertura de epóxidos catalizada por un ácido en una disolución alcohólica.

Pongamos por caso la apertura de los epóxidos como óxido de estireno y 1,2-epoxihexano usando como disolvente etanol, sin embargo, esta reacción se llevó a cabo en presencia de microondas y usando carbón activado acidificado (tratado con una mezcla sulfonítrica o únicamente con ácido nítrico), como catalizador. En la reacción de 1,2-epoxihexano, se alcanzaron altos rendimientos en algunas de las condiciones de reacción, aunque la regioselectividad no era alta. En cambio, para la reacción de óxido de estireno, la conversión fue mayor y la regioselectividad fue alta en la mayoría de los casos. En conclusión, la regioselectividad de cada producto depende de diferentes factores como el epóxido que se use, el disolvente, y obviamente el tipo de catalizador que se utilice.<sup>41</sup> Figura 17.

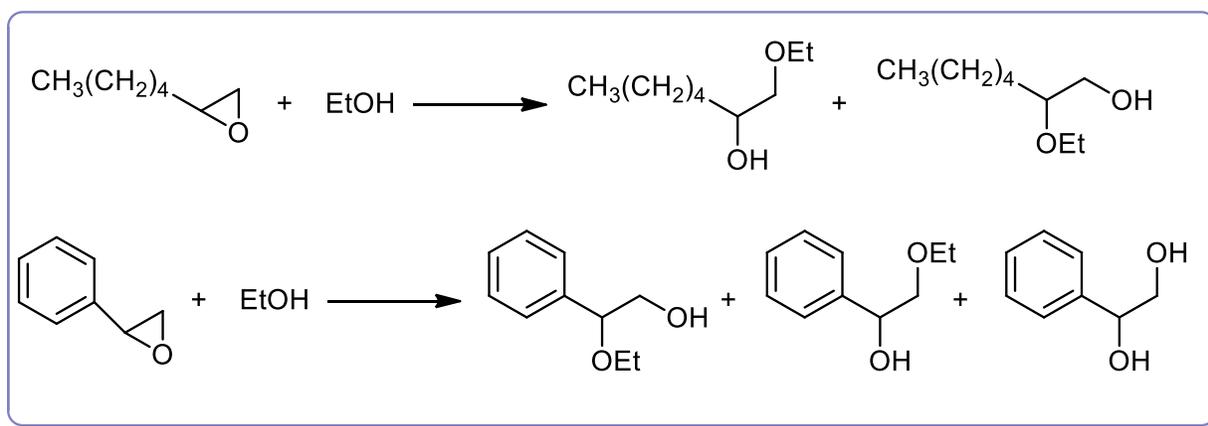
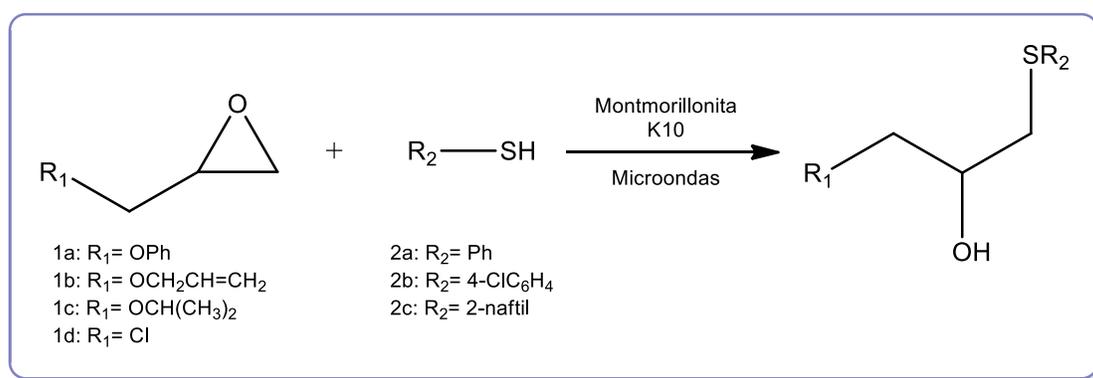


Figura 17. Apertura de óxido de estireno y 1,2-epoxihexano usando como disolvente etanol, en presencia de microondas y carbón activado acidificado.<sup>41</sup>

## Utilizando catalizadores sólidos.

Los aluminosilicatos naturales, como zeolitas y arcillas, son ácidos sólidos que son candidatos particularmente prometedores para sustituir ácidos líquidos en transformaciones químicas. Entre estos catalizadores, las arcillas naturales y modificadas han atraído una atención significativa debido a sus propiedades extremadamente versátiles. Las dos arcillas modificadas más comunes aplicadas en síntesis orgánica son las montmorillonitas K-10 y KSF. Ambas son arcillas sintéticas producidas a partir de montmorillonitas naturales y están disponibles con muchos proveedores en grandes cantidades.<sup>47</sup>

A comparación con los métodos anteriores en muchos casos, la apertura del anillo de epóxido se lleva a cabo en un disolvente que normalmente requiere un tratamiento prolongado a temperaturas de reflujo o condiciones no favorables para el medio ambiente. Un método seguro, con los altos rendimientos de los productos, una buena regioselectividad de la apertura del anillo y rápida finalización de las reacciones se lleva a cabo utilizando como catalizador la montmorillonita K-10 asistida por microondas en reacciones libres de disolventes, por ejemplo, la apertura epóxidos con tioles aromáticos para producir  $\beta$ -hidroxisulfuros. (Figura 18) en donde el ataque nucleofílico de los tioles ocurre regioselectivamente en el lado menos impedido de los epóxidos.



**Figura 18.** Apertura epóxidos con tioles aromáticos para producir  $\beta$ -hidroxisulfuros empleando montmorillonita K-10.<sup>46</sup>

Esta reacción se llevó a cabo en menos de dos minutos en el microondas obteniéndose rendimientos desde el 77% hasta el 92% dependiendo de epóxido y el tiol que fueron empleados. La seguridad ambiental del proceso, los altos rendimientos de los productos, la buena regioselectividad de la apertura del anillo y la rápida finalización de las reacciones se

encuentran entre las ventajas de este método, que lo convierte en una adición atractiva y novedosa.<sup>46</sup>

#### 2.7.4. Epóxidos y aminas, formación de β-aminoalcoholes

Los β-aminoalcoholes son compuestos orgánicos importantes en procesos biológicos, farmacéuticos, intermediarios clave de muchos compuestos orgánicos, incluidos los productos naturales y sintéticos biológicamente activos, así como auxiliares quirales para la síntesis asimétrica.<sup>44</sup>

Una forma común de obtenerlos es empleando aminas en la apertura de epóxidos, por ejemplo, la etanolamina que es de importancia industrial se obtiene cuando el óxido de etileno reacciona con amoníaco en disolución acuosa a una temperatura entre 49 °C – 77 °C con un rendimiento del 52.1%. Pero se debe tomar en cuenta que el átomo de nitrógeno de la etanolamina todavía es un nucleófilo, por lo que la etanolamina puede reaccionar a su vez con otras moléculas de epóxido para dar lugar a la dietanolamina en 40.2% y trietanolamina en 7.7%, por lo que se consigue un buen rendimiento en etanolamina cuando se utiliza un exceso de amoníaco. Figura 19.<sup>37,40,45</sup>

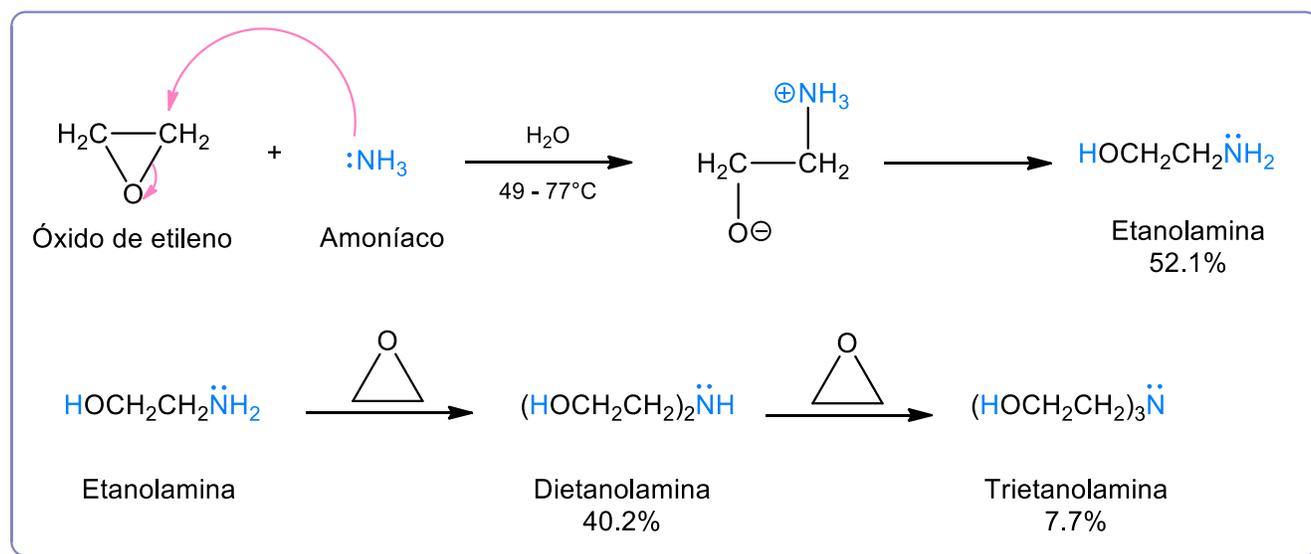


Figura 19. Síntesis de “etenolaminas” por la reacción del óxido de etileno (oxirano) y amoníaco.<sup>37,45</sup>

Así pues, otra forma de obtener este tipo de productos es por medio de azidas. Como primer paso, el nucleófilo ataca al carbono menos sustituido desde el lado opuesto al enlace C-O. La formación del enlace con el nucleófilo es acompañada por la ruptura del enlace C-O liberando así una porción sustancial de la tensión del anillo de tres miembros. Como paso posterior el alcóxido rápidamente sustrae un protón del disolvente para dar el  $\beta$ -azidoalcohol como el producto que se aísla.<sup>35</sup> Figura 20.

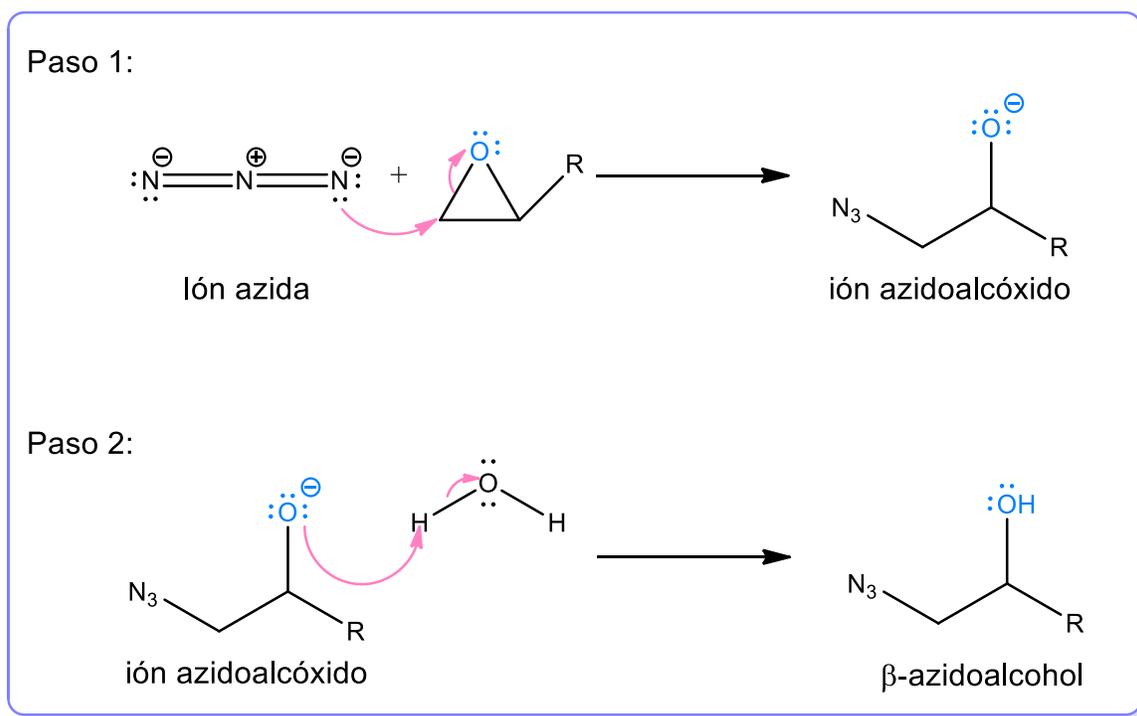


Figura 20. Apertura nucleofílica del anillo de epóxido por medio de azidas.

También, la reacción de la epiclorhidrina, (que es un intermediario sintético obtenido a partir del glicerol) con aminas secundarias son interesantes. Primeramente, el anillo se abre al reaccionar el nucleófilo con el carbono menos sustituido del epóxido. Si se encuentra presente mayor cantidad de amina, ésta actúa como una base y cierra de nuevo un anillo de epóxido y si existe exceso disponible se forma el diamino alcohol.<sup>42</sup> Figura 21.

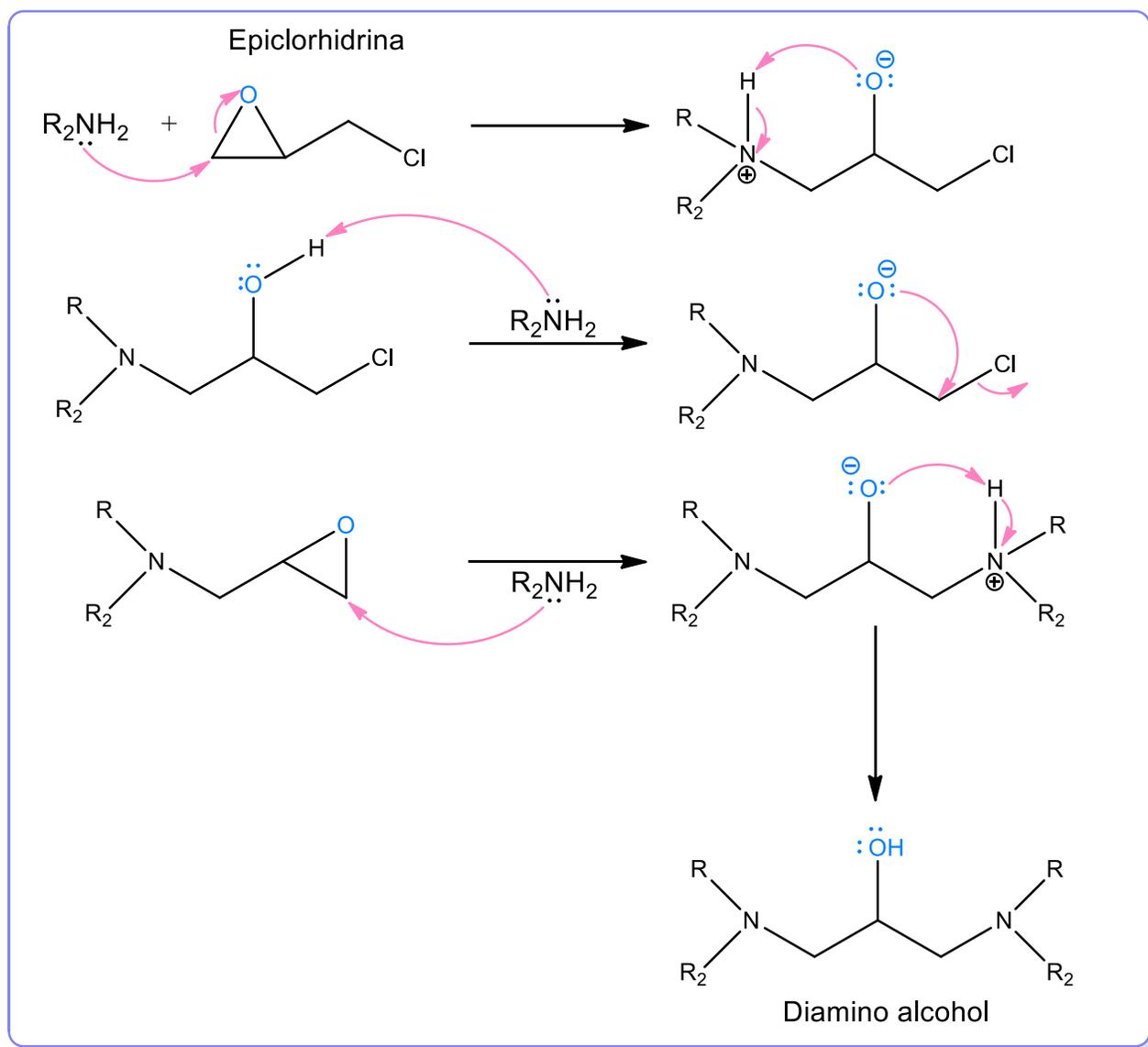


Figura 21. Formación de diamino alcoholes a partir de epiclorhidrina y aminas secundarias.

Finalmente, como se mencionó en la sección anterior, existen métodos para la apertura de epóxidos empleando catalizadores ácidos como los aluminosilicatos, las arcillas naturales o modificadas, si estas reacciones se llevan a cabo utilizando aminas se pueden obtener como productos  $\beta$ -aminoalcoholes.

Se ha utilizado el óxido de aluminio en la apertura del anillo de epóxidos con anilinas, para ello se mantiene en agitación una mezcla heterogénea de alúmina no activada comercialmente, el epóxido y la correspondiente anilina en tetrahidrofurano (THF) a temperatura de reflujo durante 6 h. Figura 22.

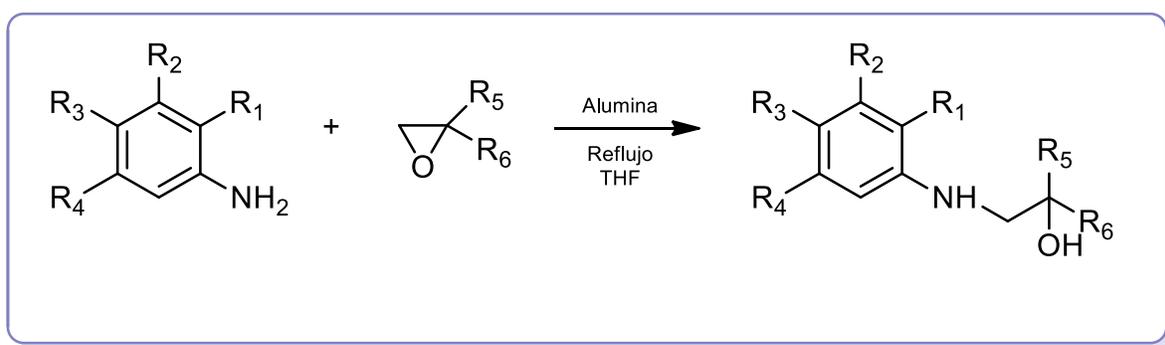
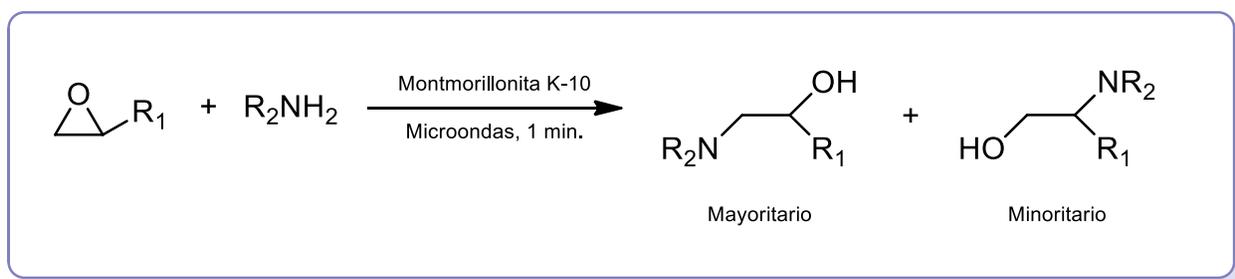


Figura 22. Síntesis de  $\beta$ -aminoalcoholes empleando alúmina como catalizador.<sup>48</sup>

La apertura de oxiranos con anilinas sobre alúmina es rápida y limpia, proporcionando los  $\beta$ -aminoalcoholes correspondientes con buenos rendimientos. Además, este procedimiento permite la recuperación de la alúmina, que se separa fácilmente del crudo de reacción por filtración, se lava varias veces con metanol y se seca a 100°C durante 6 h. La alúmina se puede usar al menos tres veces en estas condiciones.<sup>48</sup>

Asimismo, se hizo uso de microondas utilizando 0.2 g de arcilla montmorillonita K-10 (previamente activada en el microondas durante 5 minutos justo antes de su uso, esto es para eliminar el agua de hidratación que afecta la actividad del catalizador) 1,0 equivalente de una amina primaria o secundaria y un equivalente de epóxido, sin ningún disolvente, llevándose a cabo una reacción en fase sólida obteniéndose como producto un  $\beta$ -aminoalcohol. Figura 23.



**Figura 23.** Apertura de epóxidos empleando aminas primarias usando microondas en presencia de K-10.<sup>49</sup>

Por último, la mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente y los productos se aislaron para su identificación. La regioselectividad de la apertura del anillo del epóxido es baja en algunos casos mientras que para otros epóxidos es alta y los rendimientos del producto mayoritarios alcanzaron hasta el 91% todo esto depende del epóxido que se emplee para llevar a cabo la reacción.<sup>49</sup>

### 3. JUSTIFICACIÓN

Desde hace varios años la influenza ha tenido un impacto significativo en la salud humana; en el año 2009 en México un brote de esta enfermedad se propago a todo el mundo rápidamente, durante este periodo se dieron casos de virus resistentes al Oseltamivir. Desgraciadamente las vacunas, aunque, son capaces de disminuir el número de infectados, son ineficientes para el control adecuado de la enfermedad, la facilidad para mutar del virus de la influenza la convierte en una enfermedad inerradicable y el desabasto de antivirales y alternativas de los mismos hace que el descubrimiento de nuevas sustancias antivirales sea esencial en la actualidad debido a la rapidez con la que están apareciendo variantes resistentes. Desde el año 2012 se han realizado estudios por medio de modelación molecular para después pasar a la síntesis de los compuestos y posteriormente a la evaluación de los mismos. Los resultados de estos estudios son favorecedores ya que se descubrieron sustancias que son más activas en las cepas resistentes, lo que hace que si el virus muta se contará con un medicamento que pueda controlarlo.<sup>43</sup>

### 4. HIPÓTESIS

La molécula del Oseltamivir posee una amina primaria, la cual al reaccionar con un epóxido en presencia de un catalizador abrirá el epóxido, formando como productos:  $\beta$ -aminoalcoholes. Estos productos se podrán probar como posibles agentes antivirales para cepas resistentes al Oseltamivir (Tamiflu®) y Zanamivir (Relenza.®)

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. Objetivo general

Sintetizar derivados del Oseltamivir que puedan ser utilizados como posibles agentes antivirales.

### 5.2. Objetivos particulares.

- Obtener compuestos que puedan interaccionar en el sitio activo de la neuraminidasa mutada para reestablecer, la actividad inhibitoria del antiviral.
- Encontrar las mejores condiciones de síntesis para formar derivados de Oseltamivir empleando diferentes epóxidos.
- Purificar los productos que se obtengan, así como caracterizar los compuestos sintetizados mediante espectroscopia de RMN H<sup>1</sup> e FT-IR

## 6. RESUMEN GENERAL Y MECANISMO DE REACCIÓN DE LAS SÍNTESIS REALIZADAS

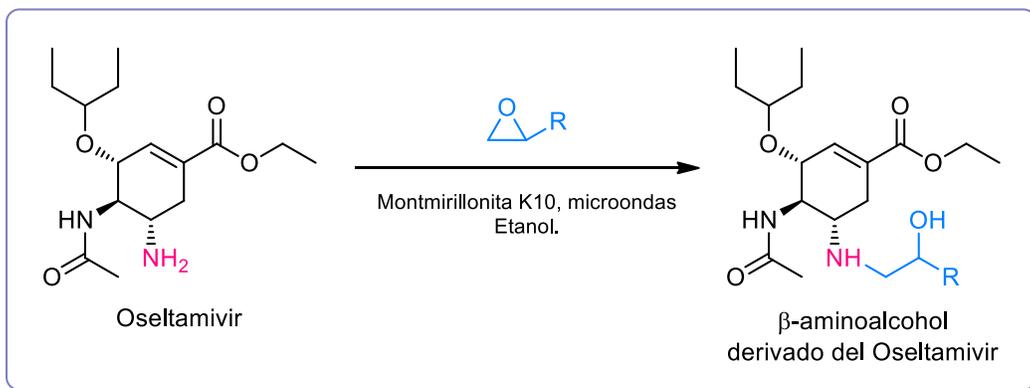


Figura 24. Esquema general de síntesis de  $\beta$ -aminoalcoholes

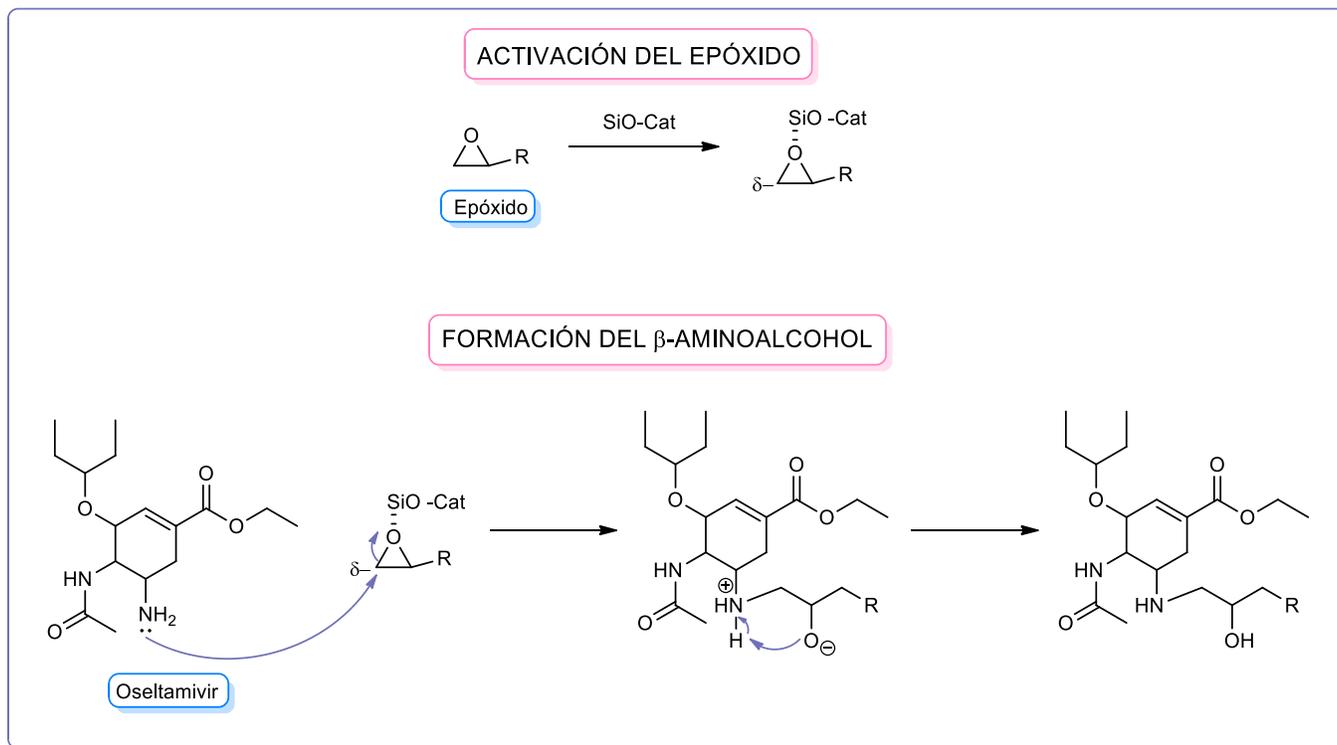


Figura 25. Mecanismo de reacción para la formación de  $\beta$ -aminoalcoholes

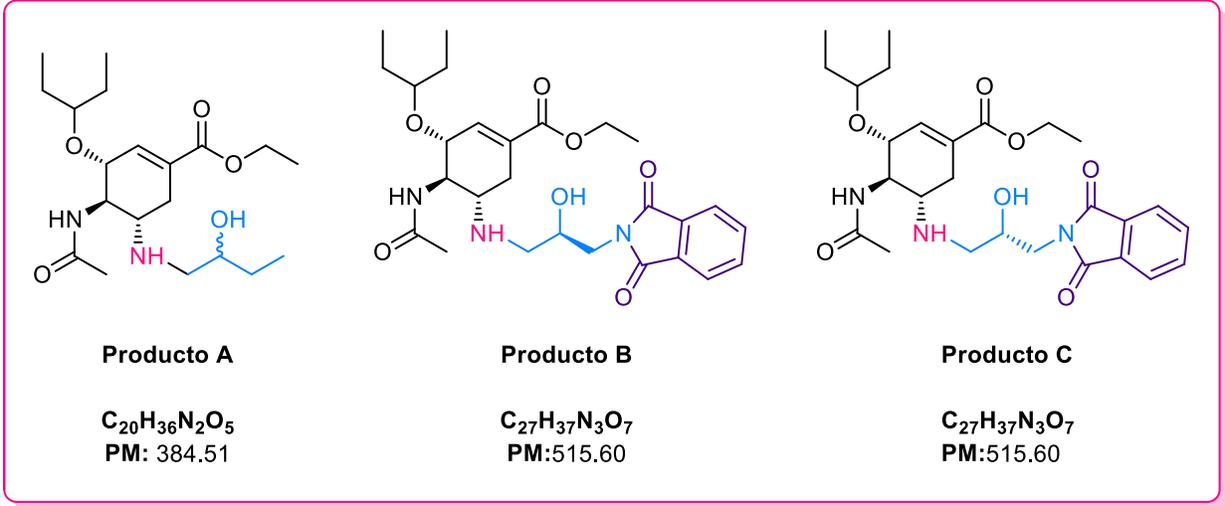


Figura 26.  $\beta$ -aminoalcoholes obtenidos en el presente trabajo

Posteriormente los productos B y C se hidrolizaron con el fin de liberar la amina primaria formando así los  $\beta$ -aminoalcoholes HB y HC.

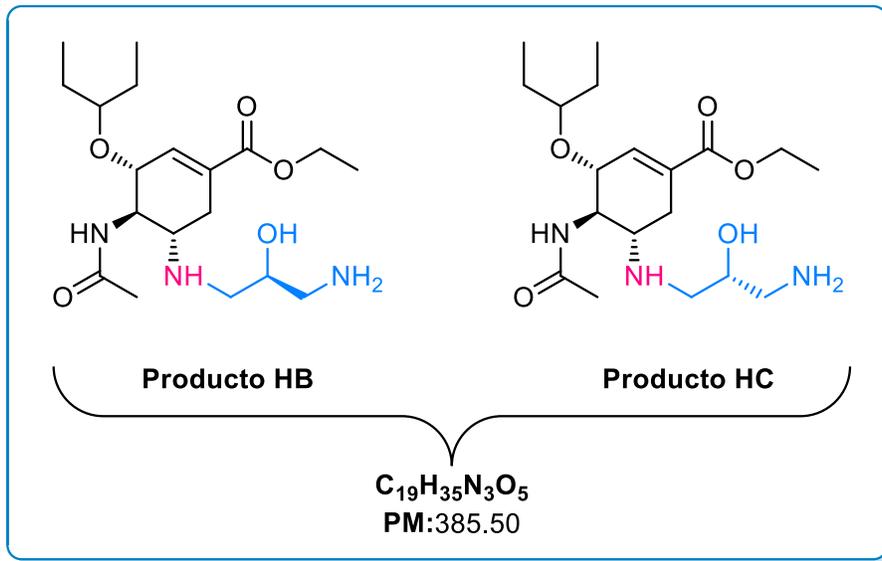


Figura 27. Moléculas obtenidas de la hidrolisis de los productos B y C

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta sección se describen los resultados obtenidos en la síntesis de los  $\beta$ -aminoalcoholes. Cada una de las reacciones se llevaron a cabo como se describe en la sección de metodología. Al final se encuentra la caracterización mediante espectroscopia de infrarrojo (IR) y resonancia magnética nuclear (RMN) de  $H^1$  de cada uno de los productos.

### 7.1. Producto A

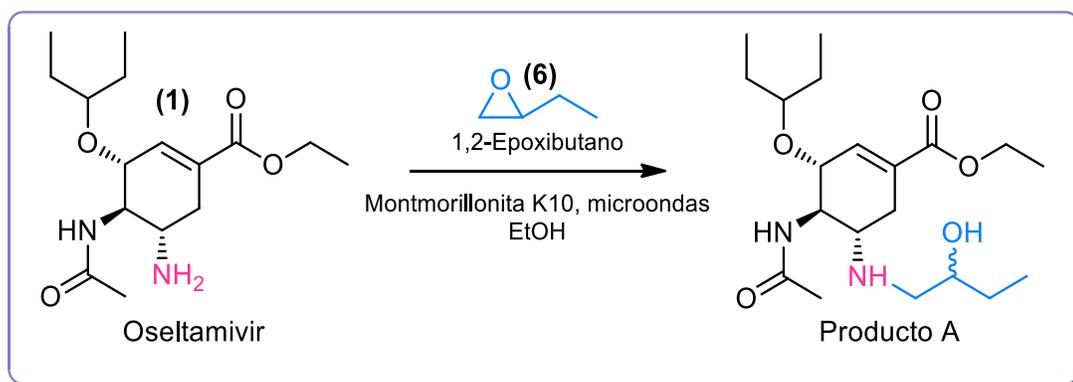


Figura 28. Síntesis del producto A

Esta reacción se llevó a cabo por duplicado para obtener una cantidad suficiente de producto para su análisis y purificación. Las cantidades de Oseltamivir y de 1,2-Epoxybutano con estequiometria 1:6 respectivamente, se muestran en la siguiente tabla:

Reacción	Oseltamivir (mg)	Epóxido (mL)
1	102.3	0.16
2	303.5	0.48

Tabla 1. Cantidades de Oseltamivir y del 1,2-Epoxybutano empleadas para la síntesis del producto A

Se juntaron ambos crudos obteniéndose un 52.3% de rendimiento del crudo de reacción (106.9 mg) que posteriormente se purificó por c.c.f. El producto se extrajo de la sílica con acetona, misma que se evaporó en el rotavapor para obtener 21.1 mg de líquido muy viscoso color café oscuro.

### 7.1.1. Análisis espectroscópico del Producto A.

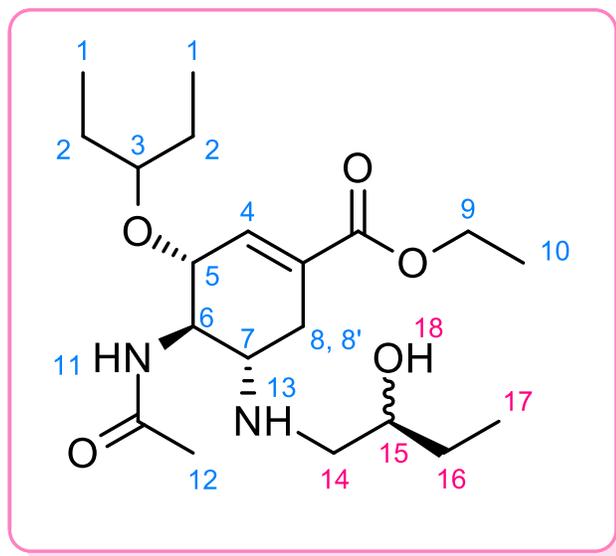


Figura 29. Producto A

**Espectro 1A. FT-IR [ $\text{cm}^{-1}$ ]:** En este espectro destaca la desaparición de la banda en 3386 correspondiente al  $\text{NH}_2$  del Oseltamivir y apareciendo una banda fina característica de  $-\text{NH}-$  en 3275, lo cual indica que hubo transformación de una amina primaria a una amina secundaria. Debido al traslape en la región entre 3200-3600 no se observa una banda que identifique al  $-\text{OH}$  del producto, sin embargo, en 1055 se encontró una banda asociada al estiramiento C-O de un alcohol secundario, confirmando así la presencia del producto A.

**Espectro 2A. RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz)  $\text{CDCl}_3$  [ppm].** La principal característica de este espectro es que las señales se encontraron duplicadas, esto es debido a que, para la síntesis para este producto se utilizó 1,2-Epoxibutano racémico, obteniéndose así la mezcla racémica del producto A. Las señales particulares del mismo producto se encuentran principalmente para los H de **14**, uno en 2.48 (dd,  $J = 12.2, 9.4$ ) y otro entre 2.36 – 2.10 (m), traslapado con los de **8** y **8'**; para las señales **18** y **15** entre 2.92 – 2.67 (m) traslapados en la misma zona; para **16** entre 1.60 – 1.37 (m), traslapados en la misma región que la señal **2** y finalmente, para **17** entre 1.00 – 0.85 (m) traslapados con la señal **1**.

## 7.2. Producto B

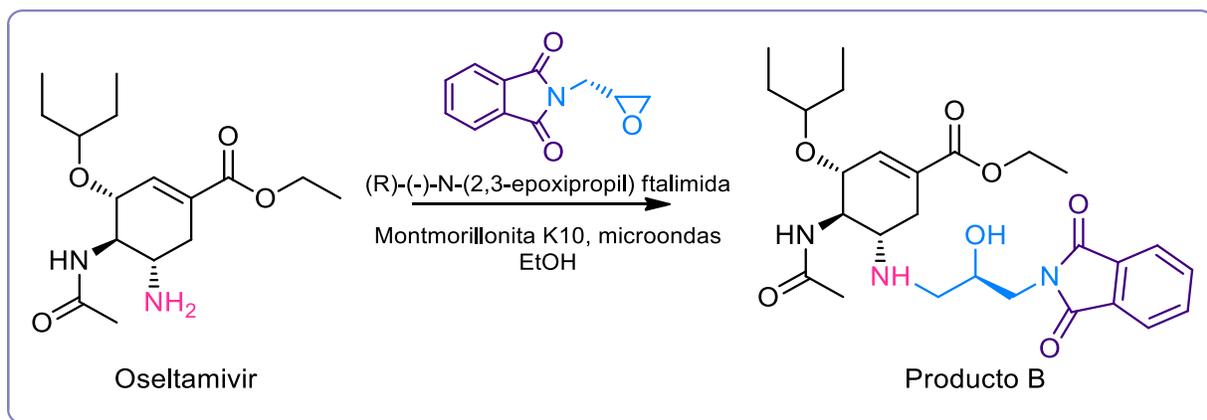


Figura 30. Síntesis del producto B

Con el propósito de encontrar las mejores condiciones de síntesis para el producto B se emplearon diferentes relaciones estequiométricas entre el Oseltamivir y el epóxido, ver la Tabla 2. Cada una de las reacciones fueron monitoreadas por medio de c.c.f. Posteriormente se llevó a cabo la purificación en placa de una porción de los crudos de las reacciones 2 y 3. Se observó que en las placas de ambas purificaciones tenían una fracción en común con el mismo Rf, se rasparon y se extrajeron con acetona.

Al final se determinó que la estequiometría más favorable fue empleando exceso del epóxido en un 15% con respecto al Oseltamivir, mejorando así, tanto el rendimiento del crudo de reacción como el rendimiento total del producto.

Reacción	Estequiometria (O:E)	Oseltamivir (O) (mg)	Epóxido (E) (mg)	Crudo Producto B (mg)	%R. crudo	Peso del crudo (mg)	Purificado (mg)	%R. de Purificación	%R. total
1	1:2	100.8	130.6	230.7	138.7	---	---	---	---
2	1:1	100	65.1	154.4	93.6	42	21.4	50.95	13
3	1:1.15	144.8	111.7	236	98.8	100.2	37	36.93	15.5
4	1:1.15	200	149	333.9	101.2	---	---	---	---

Tabla 2. Resultados obtenidos en la síntesis del producto B

Al final, para confirmar la formación del  $\beta$ -aminoalcohol se analizaron los productos obtenidos de la purificación por medio de espectroscopia RMN de  $H^1$ , así como de FT-IR

### 7.2.1. Análisis espectroscópico del Producto B.

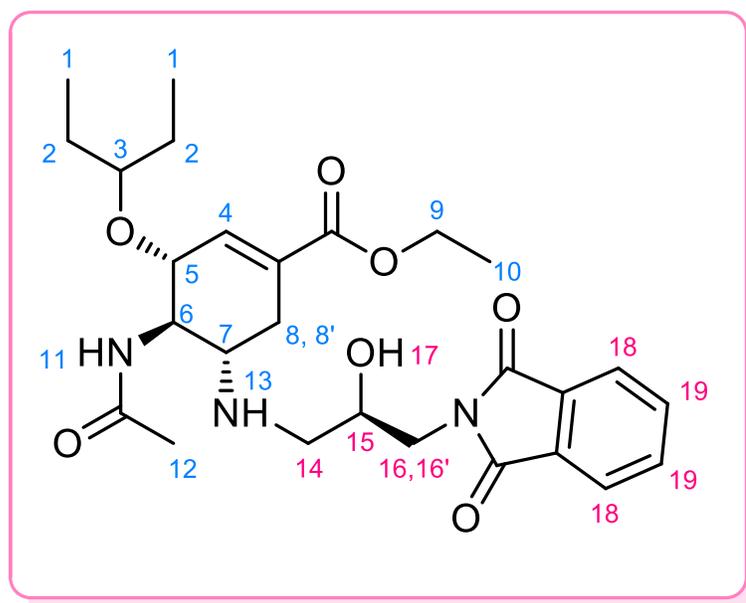


Figura 31. Producto B

**Espectro 1B. FT-IR [ $\text{cm}^{-1}$ ]:** Resalta la señal de 3282 que está asociada a la amina secundaria. Se pudo confirmar la síntesis del producto B, por las señales características de la ftalimida en 2963, 2932 y 1650; pero de manera importante, la formación del  $\beta$ -aminoalcohol por la señal en 1056 que confirma el estiramiento C-O de un alcohol secundario.

**Espectro 2B. RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz)  $\text{CDCl}_3$  [ppm]:** Este espectro corresponde al producto purificado de las reacciones 2 y 3. Se confirmó la síntesis del producto B por las señales particulares en 7.82 – 7.69 (m, 4H) correspondientes a los hidrógenos **18** y **19** del anillo aromático de la ftalimida; 3.97 (q,  $J = 3.6$  Hz, 1H) para el hidrógeno **15**; 3.76 (dd,  $J = 6.0, 1.7$  Hz, 2H) para los dos hidrógenos de **14**; 2.87 – 2.73 (m, 2H) para los hidrógenos **16** y **8** traslapados en la misma zona; y finalmente en 2.53 (dd,  $J = 12.0, 7.8$  Hz, 1H) para el hidrógeno **16'**.

### 7.3. Hidrólisis del producto B

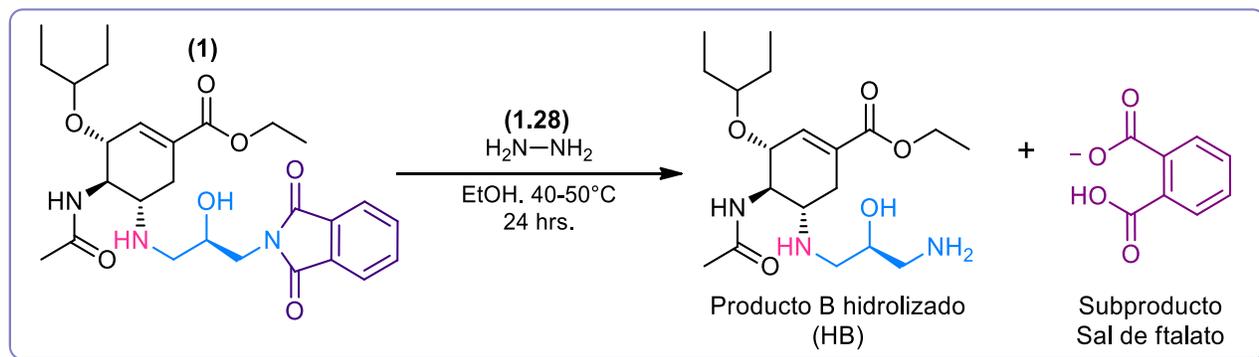


Figura 32. Hidrólisis del producto B para obtener HB

Una vez que se realizó la síntesis del producto B se llevó a cabo la hidrólisis de la ftalimida empleando un exceso del 28% de hidrato de hidrazina, a una temperatura entre 40-50°C durante 24 hrs. Esta reacción se llevó a cabo para los productos purificados de las reacciones 2 y 3, así como en el crudo de la reacción 4 sin purificación previa. El producto crudo se purificó, obteniéndose un sólido color amarillo intenso en cual fue difícil de separar de un sólido blanco insoluble en etanol, dando los siguientes resultados:

Reacción	Reacciones	Peso muestra (mg)	Producto hidrolizado (mg)	%R. Purificación	%R. total
H1	2 y 3	206.5	74	35.83	48
H2	4	333.9	82.3	24.64	33

Tabla 3 Resultados obtenidos en la hidrólisis del producto B para obtener HB

Por último, como se analizará más adelante se llevó a cabo un análisis de los productos obtenidos mediante espectroscopia RMN de  $H^1$ , con ayuda de modelación molecular, así como de FT-IR llegando a la conclusión de que el producto HB estaba acompañado de una sal del subproducto, lo que explica que fuera difícil su purificación. La formación de esta sal pudo haber sido por diferentes razones en las condiciones de reacción, ya que se debe tomar en cuenta que la hidracina estaba hidratada por lo que el subproducto que se esperaba pudo haberse hidrolizado. Figura 33.

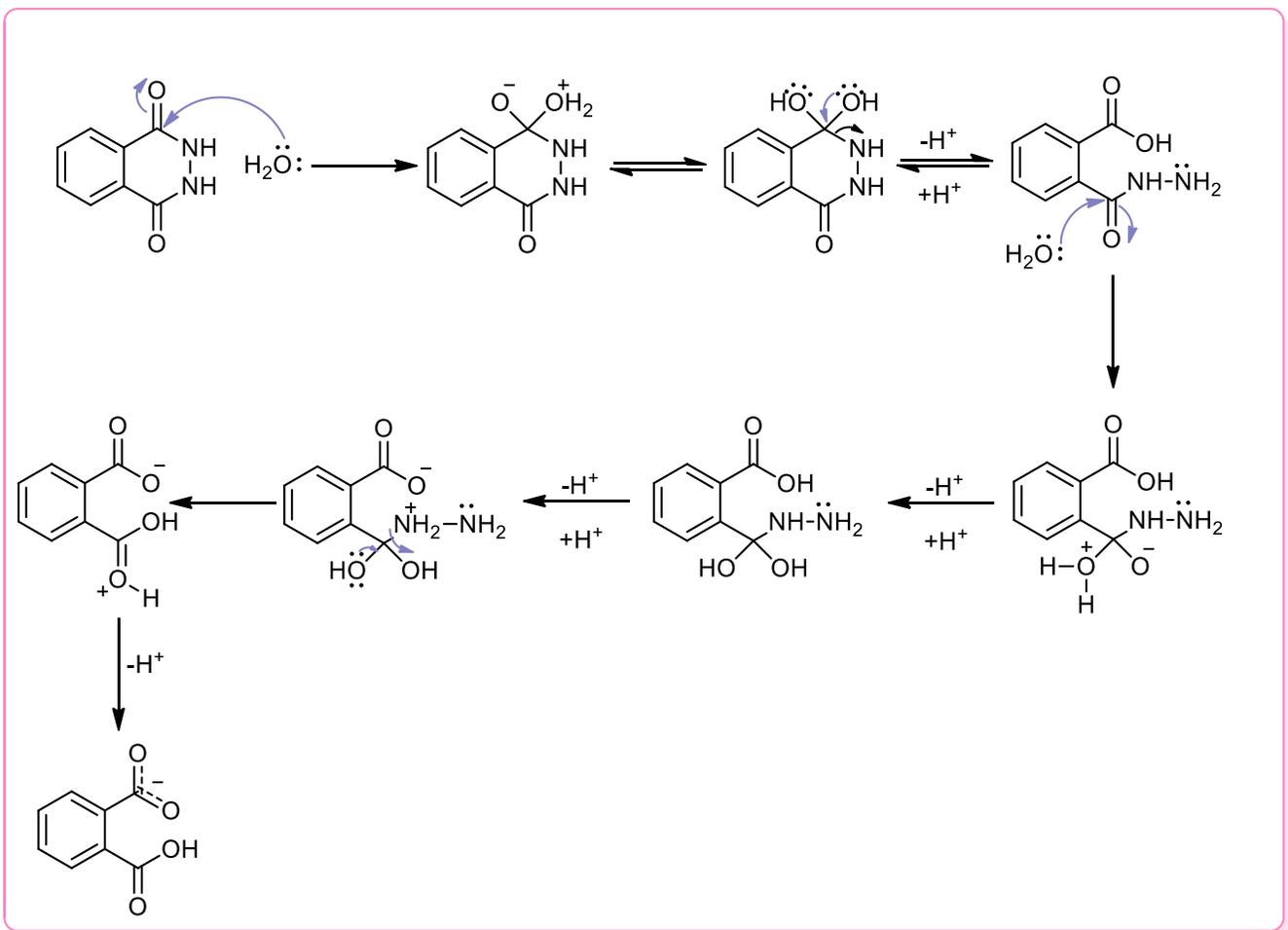


Figura 33. Hidrólisis del subproducto para obtener una sal de ftalato

### 7.3.1. Análisis espectroscópico del Producto HB.

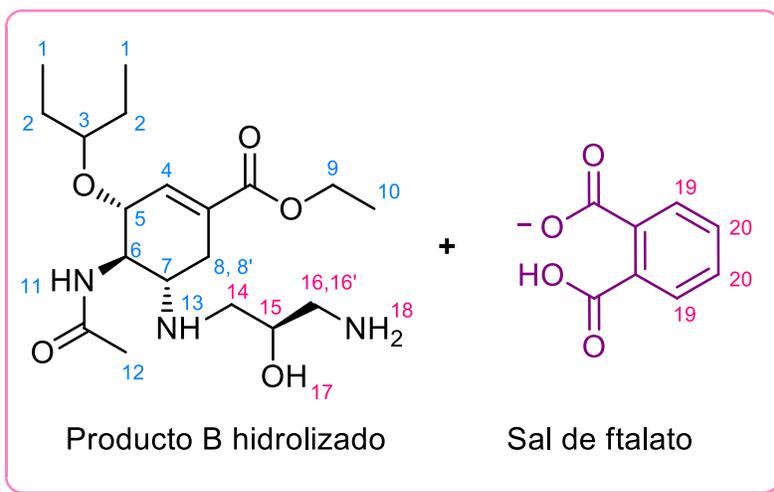


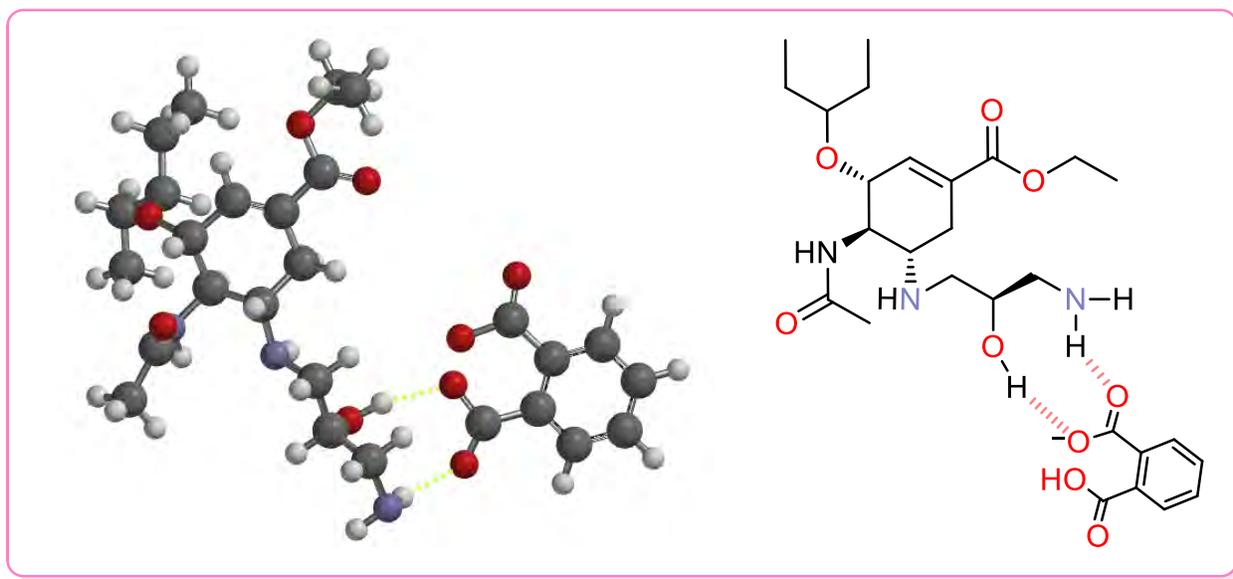
Figura 34. Producto HB y sal de ftalato

**Espectro 3B. FT-IR [ $\text{cm}^{-1}$ ]:** En 3267 y 3167 se observan bandas que caracterizan a una amina primaria, así como el estiramiento C-O de un alcohol 2° en 1057, corroborando que se llevó a cabo la hidrólisis del producto. Además, entre 1600-1800 (región de los carbonilos) se observan las bandas en 1640 de amida y 1716 de éster correspondientes a la molécula del Oseltamivir que no se aprecian en el espectro 2B debido a la presencia de los carbonilos de la ftalimida.

**Espectro 4B.  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz)  $\text{CDCl}_3$   $\delta$  [ppm]:** Se pudo observar de forma clara la presencia del producto HB por las señales principalmente en 3.95 – 3.92 (m, 1H) para el hidrógeno **15**, 3.76 (d,  $J = 4.2$  Hz, 2H) para ambos hidrógenos **14**, 2.90 – 2.71 (m, 2H) para el hidrógeno **16** traslapado con **8** y finalmente, en 2.54 (dd,  $J = 12.1, 7.3$  Hz, 1H) para el hidrógeno **16'**.

Sin embargo, siguen apareciendo señales entre 7.82 - 7.71 que son características de un anillo aromático, pues bien, dado que, si el subproducto esperado se fuese formado, y estuviera acompañado del producto HB, el número de hidrógenos no coincide con el espectro. Para poder llevar a cabo una mejor interpretación se llevó a cabo un análisis mediante modelación molecular por medio de Spartan® tomando en cuenta las diferentes conformaciones de la molécula, las condiciones de reacción y haciendo un análisis de la metodología, así como las diferentes interacciones entre el producto HB y posibles subproductos que se pudieron haber formado.

Finalmente se llegó a la conclusión que, dadas las condiciones de reacción, se formó una sal de ftalato que se encuentra acompañando al producto HB como se muestra a continuación (Figura 35) Cabe señalar que existen diferentes interacciones entre el ion ftalato y la molécula del producto HB, por lo que en la imagen solo se representa una de las conformaciones posibles.



**Figura 35.** Modelación molecular por medio de Spartan® de las diferentes interacciones entre el producto HB y la sal de ftalato

## 7.4. PRODUCTO C

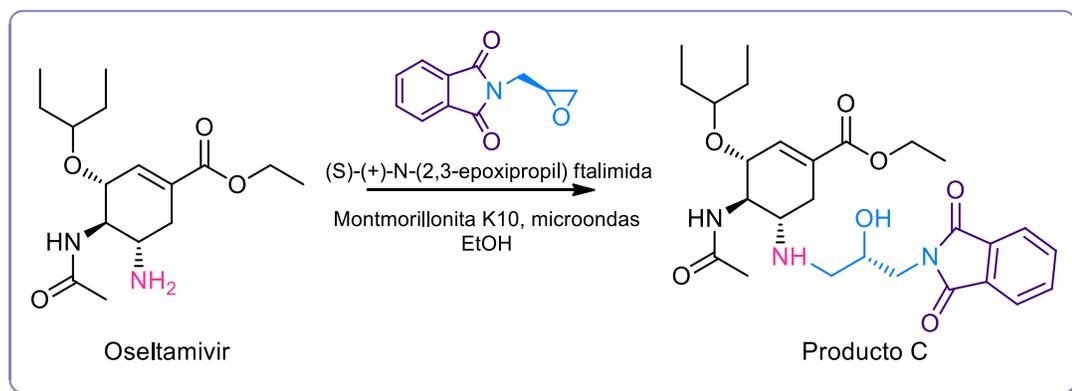


Figura 36. Síntesis del producto C

La reacción de sustitución nucleofílica que conduce al producto C se realizó utilizando dos diferentes estequiometrias (O:E), con el propósito de determinar las mejores condiciones de reacción. A comparación con los crudos de reacción del producto B, para esta reacción en placa, se observó en menor cantidad la presencia del oseltamivir sin transformación. Cada una de las reacciones fueron monitoreadas por medio de c.c.f. obteniéndose los siguientes resultados:

Reacción	Estequiometria (O:E)	Oseltamivir (mg)	Epóxido (mg)	Crudo Producto C (mg)	%R. crudo
5	1:1	103	65	166.8	101.06
6	1:1.15	102	75	168.2	100.1
7	1:1.15	102	75.3	171.8	102.26
8	1:1.15	99.8	75.3	167	101.2
9	1:1.15	200.3	150.3	343.3	104.03

Tabla 4. Resultados obtenidos en la síntesis del producto C

Como se aprecia en la tabla 4 se confirmó que utilizando un exceso del 15% del epóxido mejoraron los rendimientos de reacción, incluso en comparación con los rendimientos obtenidos en la síntesis del producto B, que va de un 101.2% a un 104.03%.

Posteriormente se confirmó la presencia del producto por medio de espectroscopia RMN de  $H^1$ , así como de FT-IR.

### 7.4.1. Análisis espectroscópico del Producto C.

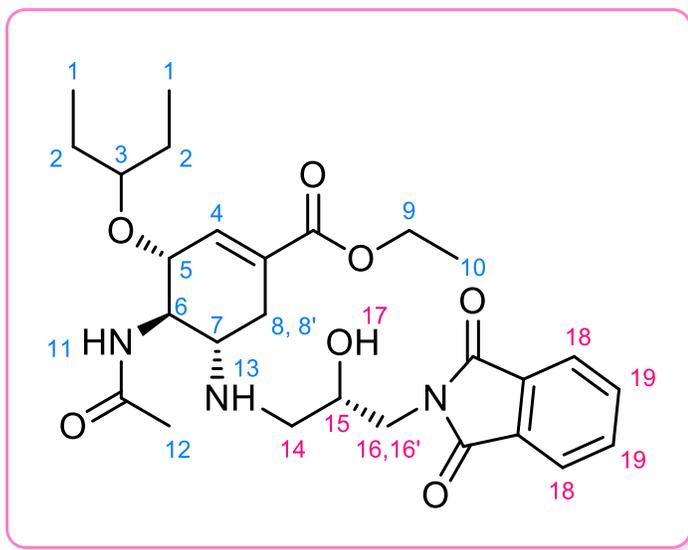
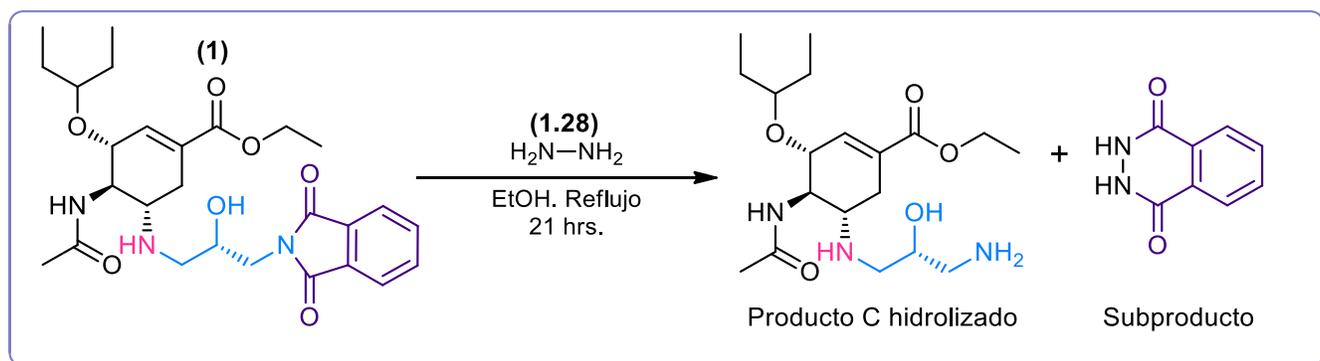


Figura 37. Producto C

**Espectro 1C. FT-IR [ $\text{cm}^{-1}$ ]:** En este espectro se observó la desaparición de la banda en 3387 que corresponde al estiramiento asimétrico de la amina primaria del Oseltamivir, sin embargo, resalta la señal de 3278 asociada al estiramiento N-H de la amina secundaria confirmando que se llevó a cabo la reacción de sustitución nucleofílica. Las señales características de la ftalimida se observan en 2967 y 2936, correspondientes a los estiramientos de C aromáticos con sus respectivos H; 1650 para estiramiento de  $\text{arC}=\text{Car}$ ; dos tipos diferentes de estiramientos para los carbonilos, uno simétrico en 1773 y otro asimétrico en 1711; pero de manera importante, la formación del  $\beta$ -aminoalcohol se determinó por señal en 1058 que corresponde el estiramiento C-O de un alcohol secundario.

**Espectro 2C.  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz)  $\text{CDCl}_3$   $\delta$  [ppm]:** Este espectro es del producto C crudo. Se confirmó la presencia del producto C debido a las señales entre 7.92 – 7.67 (m, 4H) que corresponden a los hidrógenos **18** y **19** del anillo aromático de la ftalimida; 4.07 (s, 1H) para el hidrógeno **15**; 3.85 (d,  $J = 36.7$  Hz, 2H) para los dos hidrógenos de **14**; 2.81 – 2.67 (m, 3H) para los hidrógenos **16**, **16'** y **8** traslapados en la misma zona

## 7.5. Hidrólisis del producto C



**Figura 38.** Hidrólisis del producto B para obtener HB

De igual manera que la hidrólisis del producto B, se empleó 28% de hidrato de hidracina en exceso, sin embargo, a comparación con producto B, esta reacción se llevó a cabo a reflujo durante 21 hrs. Este procedimiento se realizó en las reacciones 6,7,8 y 9 (Tabla 4) sin purificación previa del producto C obteniendo como resultados los siguientes rendimientos de hidrolisis.

Reacción	Producto C hidrolizado (mg)	% R de hidrolisis
H3	152.0	120.6
H4	88.9	69.5
H5	105.5	84.4
H6	320.8	132.0

**Tabla 5.** Resultados obtenidos en la hidrólisis del producto C para obtener HC

Una porción de H6 se purificó por cromatografía en capa fina para obtener un espectro más limpio que permitiera realizar su caracterización por espectroscopia RMN de  $\text{H}^1$ , así como FT-IR.

### 7.5.1. Análisis espectroscópico del Producto HC.

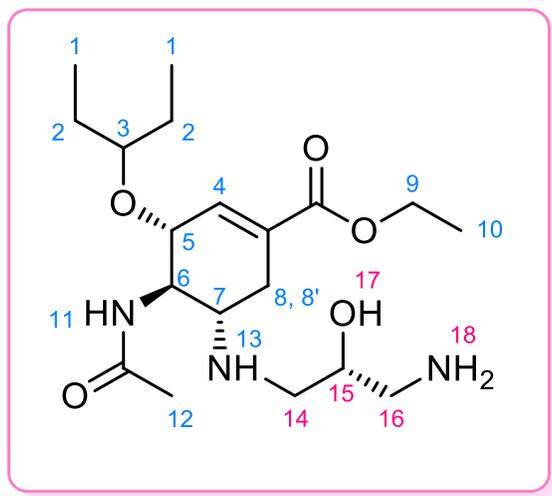


Figura 39. Producto HC

**Espectro 1HC. FT-IR [cm<sup>-1</sup>]:** La principal característica que se pudo observar en este espectro, fue la desaparición de las bandas asociadas al estiramiento simétrico y asimétrico de los carbonilos de la ftalimida en el producto C que se encontraban en 1773 y 1711 respectivamente. Se observa la presencia de las señales en 1714, 1679 para los grupos carbonilo del éster y de la amida del oseltamivir respectivamente. Se puede confirmar la presencia del β-aminoalcohol por la señal en 1059 correspondiente al estiramiento C-O de un alcohol secundario.

**Espectro 2HC. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz) CDCl<sub>3</sub> δ [ppm]:** Con este espectro se pudo confirmar la hidrólisis del producto C ya que se observó la desaparición de las señales del anillo aromático correspondientes a la ftalimida, además que se apreció de manera más clara las señales principales del producto HC en 4.20 para el hidrógeno **15**; 3.86 para el hidrógeno **17** del β-aminoalcohol; y finalmente en 2.31 se encontró la señal de los hidrógenos **14,16** y **18** en la misma región que **8'**.

Asimismo, como en el producto HB, se llevó a cabo un análisis conformacional de la molécula HC a través de Spartan® en donde se pudo observar la aparición de diferentes puentes de hidrógeno intermoleculares, y por consiguiente diferentes interacciones entre los hidrógenos del producto que se ven reflejados en el cambio del desplazamiento de las señales y la aparición de otras nuevas. (Figura 40.)

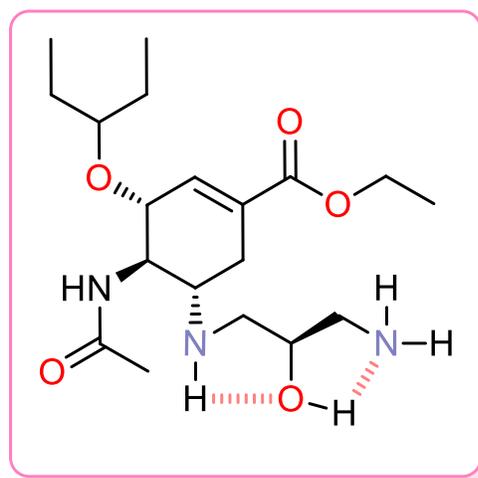
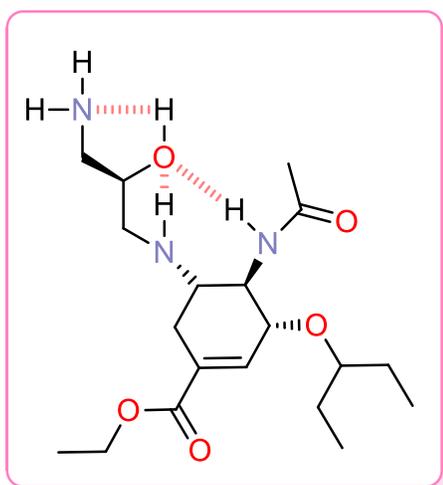
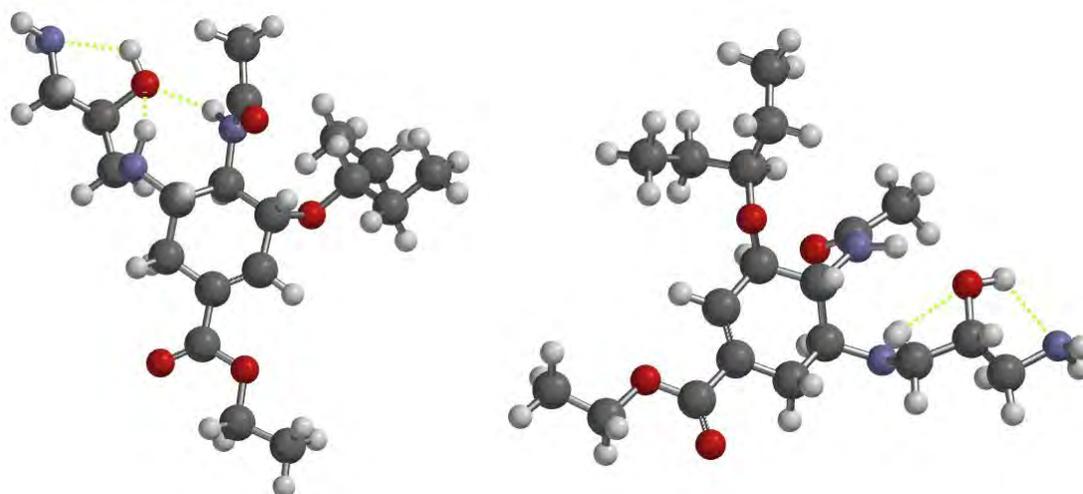


Figura 40. Puentes de hidrógeno intermoleculares del producto HC realizadas por medio de modelación molecular en Spartan®

## 6. CONCLUSIONES.

Se lograron sintetizar tres  $\beta$ -aminoalcoholes derivados del Oseltamivir que podrían emplearse como inhibidores de neuroaminidasa del virus de influenza.

Las mejores condiciones de síntesis para los productos A y B se llevaron a cabo usando como disolvente etanol, en un reactor de microondas a 80 W de potencia y 98°C, mientras que para el producto C fueron: 22 W de potencia, 98°C por 1 hora cada uno. En todas las reacciones se usó 0.2 g de catalizador por cada mmol del Oseltamivir. Se optimizó la estequiometría para las síntesis de los compuestos B y C obteniendo un mejor rendimiento de reacción usando un exceso de epóxido del 15% con respecto al oseltamivir; así mismo las mejores condiciones de hidrólisis que se encontraron se llevaron a cabo empleando un exceso del 28% de hidrato de hidracina en etanol a reflujo durante 21 hrs.

Para los productos HB y HC se llevó a cabo un análisis por medio de modelación molecular utilizando Spartan® y se llegó a la conclusión que en la hidrólisis del producto B, se obtuvo como subproducto una sal de ftalato además del producto HB; mientras que para la molécula de HC se observó que se forman puentes de hidrógeno intermoleculares que se ven reflejados en el desplazamiento y aparición de nuevas señales en el espectro de RMN  $^1\text{H}$ .

Finalmente, todos los productos se caracterizaron vía espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR) por el método de reflectancia ATR y mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN  $^1\text{H}$ ).

## 7. APENDICE A. METODOLOGÍA.

### 7.1. Equipo empleado

Reactor de microondas marca CEM Discover, modelo Explorer Hybrid 12. El reactor es capaz de mantener la temperatura constante a cambio de una pequeña variación de la potencia, por lo que, en las condiciones reportadas del presente trabajo, siempre hay una ligera variación en la potencia del reactor.

### 7.2. Catalizador, reactivos y disolventes

#### Montmorillonita K10 (Catalizador)

Mineral	Composición del mineral	Composición porcentual
Cuarzo	SiO <sub>2</sub>	28.55 %
Muscovita	KAl <sub>2</sub> (Si,Al) <sub>4</sub> O <sub>10</sub> (OH) <sub>2</sub>	71.45 %

#### Reactivos empleados.

Reactivo	Fórmula mínima	Peso Molecular (g/mol)	Densidad (g/ml)	Punto de Inflamación o ebullición (C°)	Apariencia	Observaciones
Oseltamivir	C <sub>12</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	312.4	-----	Pi: 240	Sólido Blanco	Materia prima
1,2 Epoxibutano	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub>	72.11	0.837	Pe: 63	Líquido Incoloro	Materia Prima
(R)-(-)-N-(2,3 Epoxipropil)-Ftlaimida	C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	203.19	-----	Pi: 92-98	Sólido Blanco	Materia Prima
(S)-(+)-N-(2,3 Epoxipropil)-Ftlaimida	C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	203.19	-----	Pi: 92-98	Sólido Blanco	Materia Prima
Hidrato de hidracina	H <sub>4</sub> N <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O	50.06	1.032	Pe: 117.2	Líquido Incoloro	Reactivo para Hidrólisis.

## Disolventes empleados

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

### 7.3. Activación del catalizador.

Llamamos activación a la deshidratación del catalizador montmorillonita K10, y se realizó cada vez que se llevó a cabo la reacción de sustitución nucleofílica entre el Oseltamivir y el epóxido. Este procedimiento se llevó a cabo en el reactor de microondas a una temperatura de 130° C por 20 minutos. Así mismo, el catalizador se mantuvo en un desecador de vidrio, con perlas desecantes cuando no era empleado.

### 7.4. Metodología general de la síntesis de β-aminoalcoholes.

Para la síntesis de los productos, se pesaron y colocaron en un tubo para reactor de microondas, el epóxido (en diferentes proporciones), oseltamivir y montmorillonita (K10) en proporciones de 0.2 g de catalizador por cada mmol del Oseltamivir.<sup>49</sup> La reacción se llevó a cabo usando como disolvente 5 mL. de etanol en las siguientes condiciones: 80 W de potencia, 98°C por 1 hora para los productos A y B.<sup>50</sup> Mientras que para el producto C las condiciones del reactor fueron de: 22 W de potencia, 98°C por 1 hora.

### 7.5. Purificación de los productos.

Las purificaciones se efectuaron en una placa analítica de sílice Fluka con dimensiones de 20x20 cm de área, con indicador fluorescente de 254 nm, 0.2 mm de espesor de la capa de sílice, y con un tamaño de partícula de 25 μm. Se utilizó como eluyente una mezcla de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH: NH<sub>4</sub>OH (100:10:1); eluyendo las veces que fuera necesario para separar los productos, al finalizar se rasparon las distintas fracciones la sílice para identificar la fracción

que correspondía al producto deseado, se extrajeron con disolvente, haciendo lavados de la sílice 3 veces y finalmente evaporando el disolvente en el rotavapor.

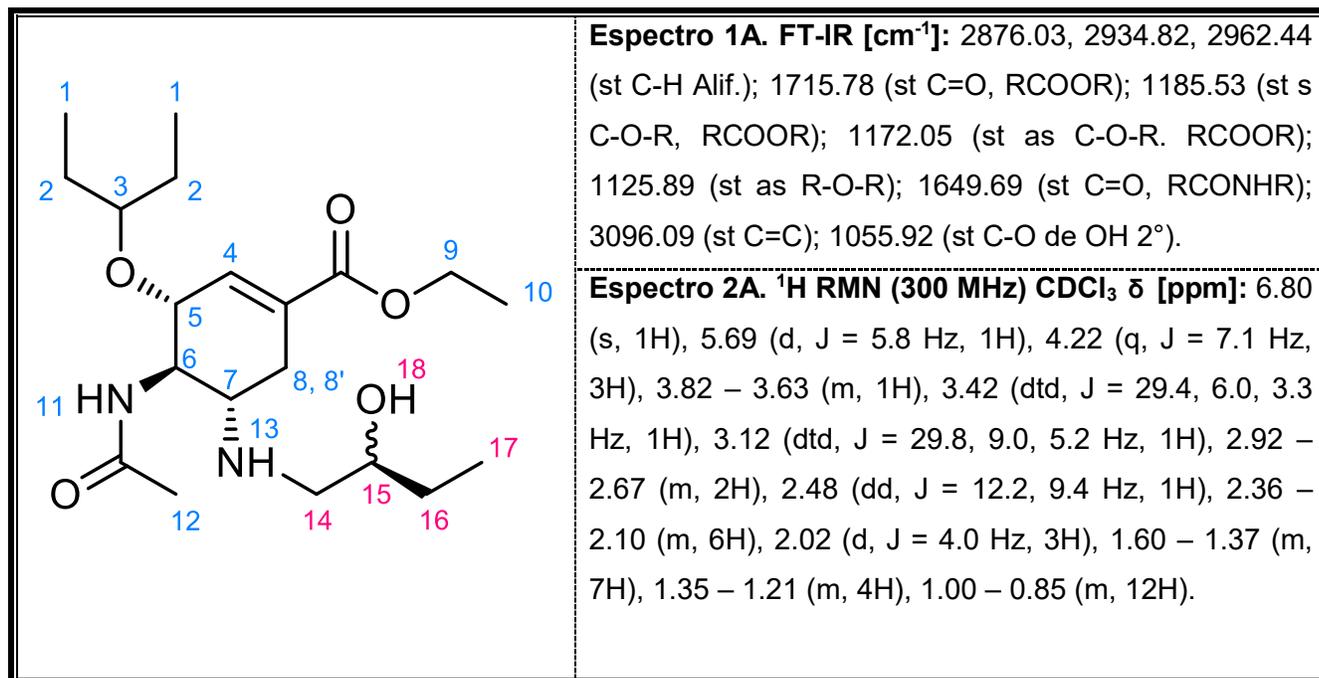
## 7.6. Hidrólisis de los productos B y C.

La hidrólisis se llevó a cabo empleando un exceso del 28% de hidrato de hidracina. Para ello, las muestras se disolvieron en etanol en un matraz bola y se colocaron en un baño de arena durante 24 y 21 hrs. Finalmente de ambas hidrólisis se obtuvieron dos productos: un líquido amarillo y un sólido blanco. Ambos productos, fueron separados por recristalización y decantación.

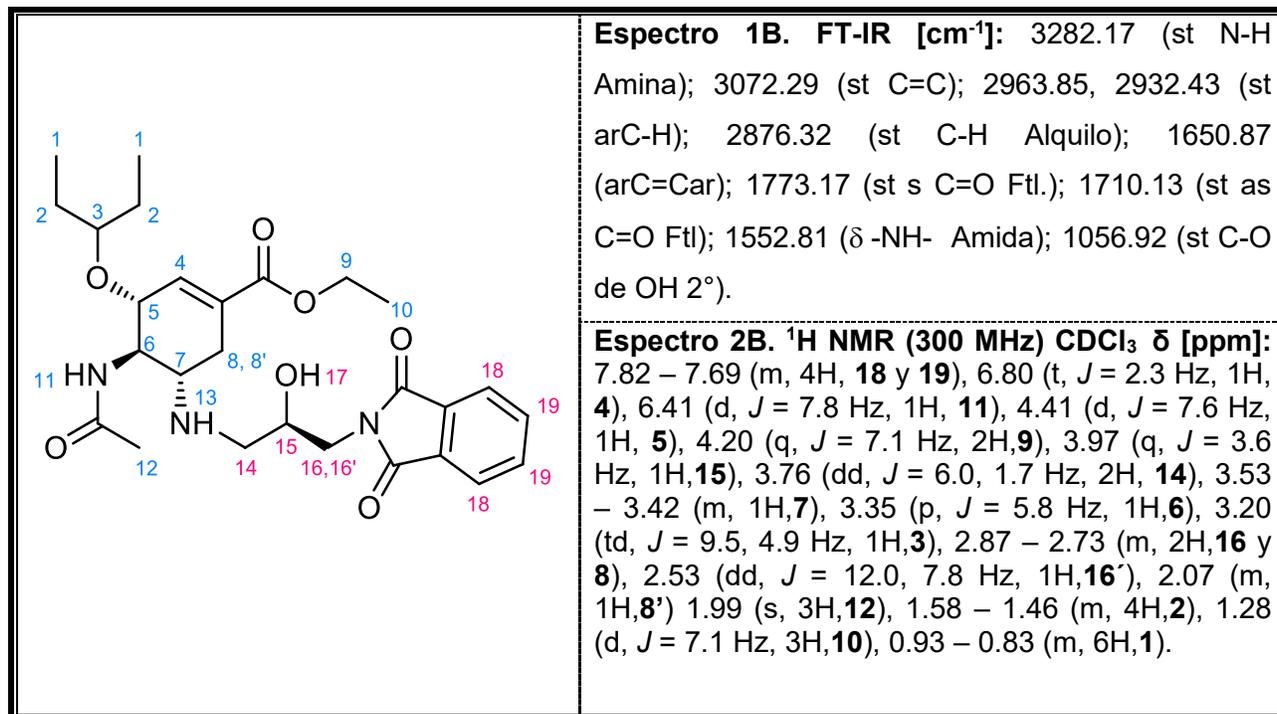
## 8. APENDICE B. CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA

La caracterización espectroscópica se realizó vía espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR) por el método de reflectancia ATR y mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  (300 MHz).

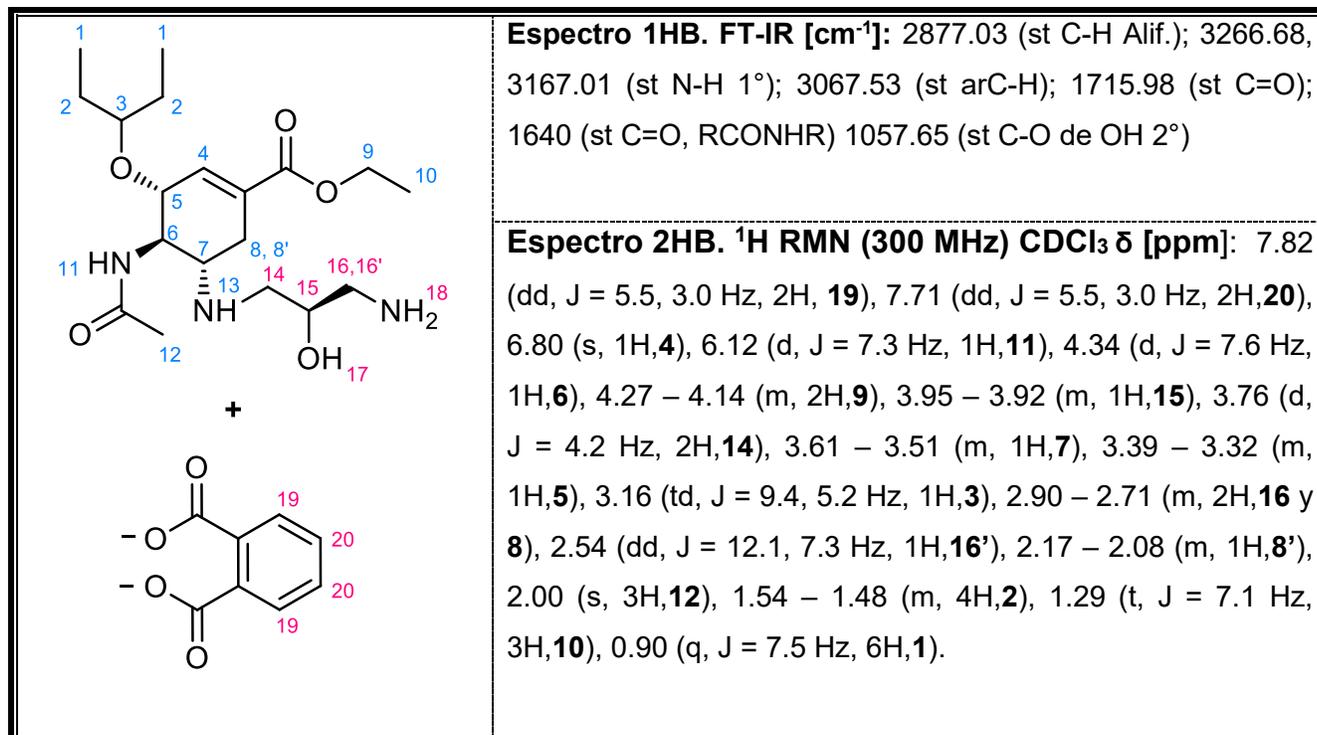
### 8.1. Producto A.



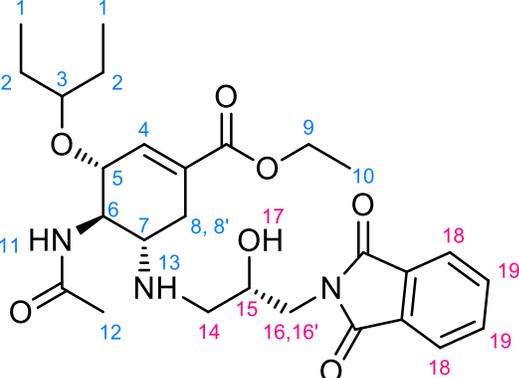
## 8.2. Producto B.



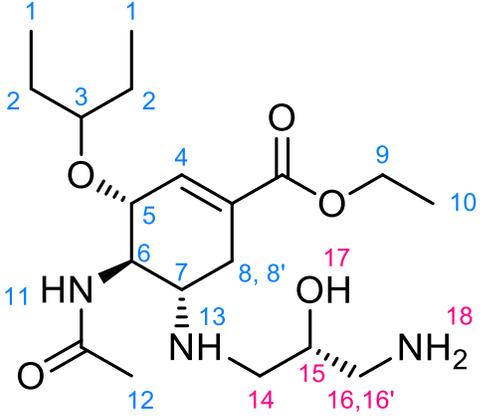
## 8.3. Producto B hidrolizado (HB).



#### 8.4. Producto C.

	<p><b>Espectro 1C. FT-IR [cm<sup>-1</sup>]:</b> 3278.23 (st N-H Amina 2°); 3067.75 (st C=C); 2967.12, 2936.19 (st arC-H); 2876.41 (st C-H Alquilo); 1650.38 (arC=Car); 1773.17 (st s C=O Ftl.); 1711.34 (st as C=O Ftl.); 1551.00 (δ -NH- Amida); 1058.51 (st C-O de OH 2°).</p> <p><b>Espectro 2C. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz) CDCl<sub>3</sub> δ [ppm]:</b> 7.92 – 7.67 (m, 4H, <b>18</b> y <b>19</b>), 6.77 (s, 1H, <b>4</b>), 6.12 (d, J = 8.0 Hz, 1H, <b>11</b>), 4.38 (d, J = 7.2 Hz, 1H, <b>5</b>), 4.21 (d, J = 7.1 Hz, 2H, <b>9</b>), 4.07 (s, 1H, <b>15</b>), 3.85 (d, J = 36.7 Hz, 2H, <b>14</b>), 3.53 (d, J = 7.0 Hz, 1H, <b>7</b>), 3.34 (t, J = 5.6 Hz, 1H, <b>6</b>), 3.24 – 3.06 (m, 1H, <b>3</b>), 2.81 – 2.67 (m, 3H, <b>16, 16'</b> y <b>8</b>), 2.03 (d, J = 5.7 Hz, 4H, <b>8'</b> y <b>12</b>), 1.55 – 1.44 (m, 4H, <b>2</b>), 1.29 (td, J = 7.2, 3.0 Hz, 3H, <b>10</b>), 0.95 – 0.85 (m, 6H, <b>1</b>).</p>
-----------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### 8.5. Producto C hidrolizado (HC).

	<p><b>Espectro 1HC. FT-IR [cm<sup>-1</sup>]:</b> 3280.52 (st N-H Amina 2°); 3072.99 (st C=C); 2962.79, 2924.86, 2876.30, 2852.26 (st C-H Alquilo); 1713.89 (st C=O RCOOR); 1649.11 (st C=O RNHCOR); 1548.38 (δ -NH- Amida); 1059.60 (st C-O de OH 2°).</p> <p><b>Espectro 2HC. <sup>1</sup>H NMR (300 MHz) CDCl<sub>3</sub> δ [ppm]:</b> 6.85 (d, J = 2.7 Hz, 1H, <b>4</b>), 6.44 (s, 1H, <b>11</b>), 4.24 – 4.06 (m, 5H, <b>5, 6, 9</b> y <b>15</b>), 3.86 (s, 1H, <b>17</b>), 3.42 (p, J = 5.7 Hz, 2H, <b>3, 7</b>), 2.98 (t, J = 7.5 Hz, 1H, <b>13</b>), 2.80 (dd, J = 18.3, 5.4 Hz, 1H, <b>8</b>), 1.99 (m, 10H, <b>8', 14, 16, 18</b>), 1.54 (dt, J = 17.9, 6.6 Hz, 4H, <b>2</b>), 1.32 – 1.24 (m, 3H, <b>10</b>), 0.93 (t, J = 7.4 Hz, 6H, <b>1</b>).</p>
-------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

## 9. APENDICE C. ESPECTROS.

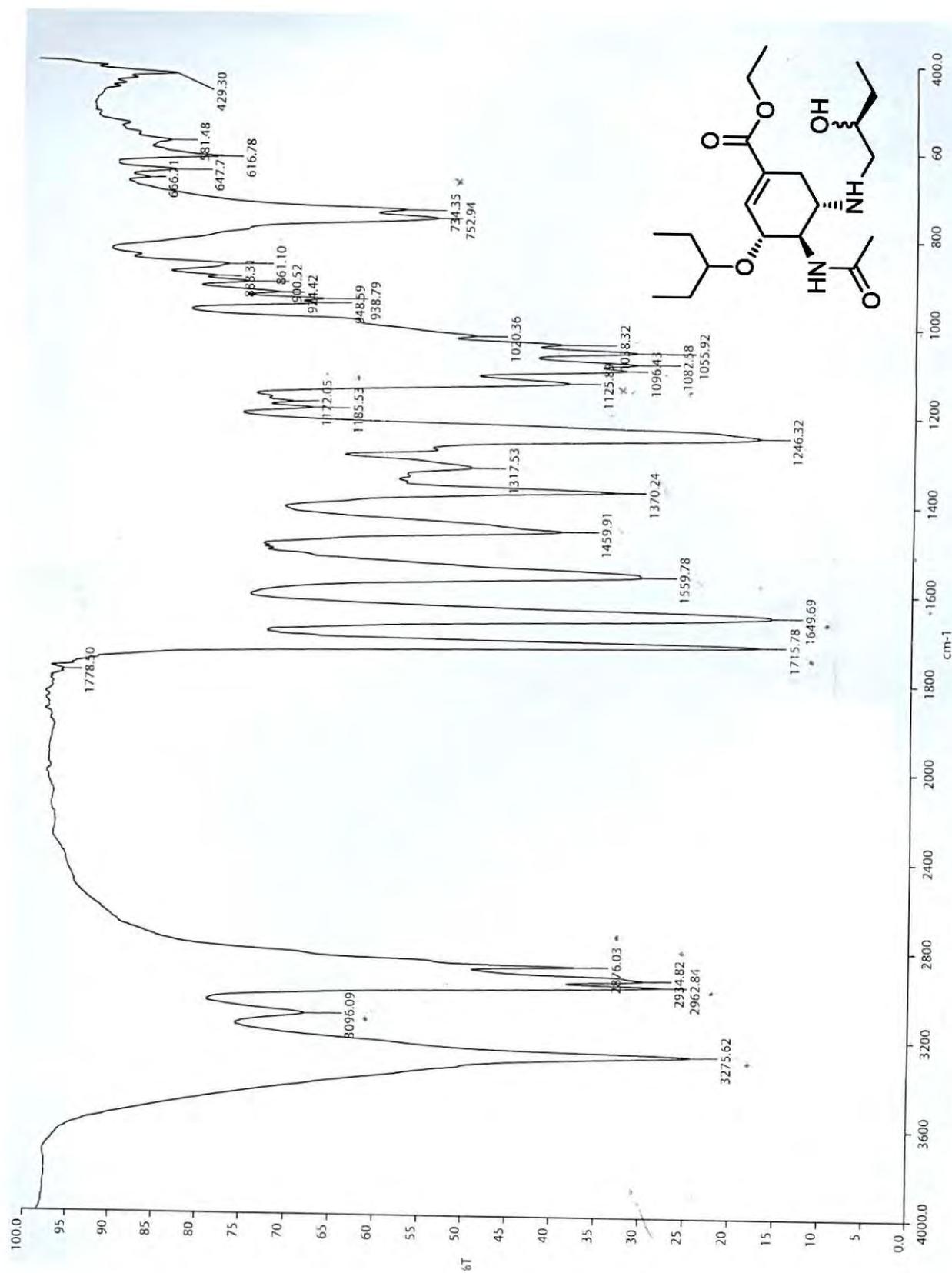


Figura 41. Espectro 1A. FT-IR [cm<sup>-1</sup>] Producto A

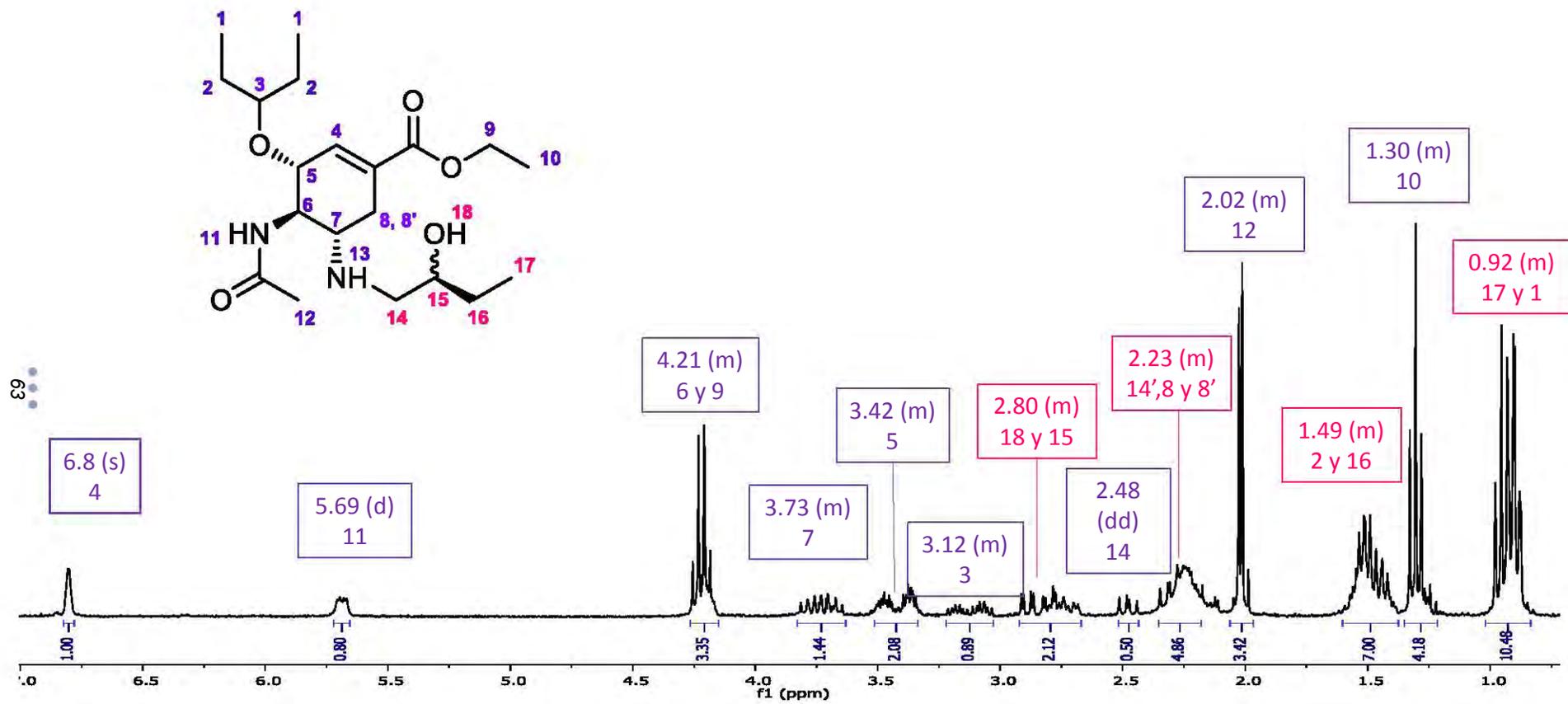


Figura 42. Espectro 2A. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz) CDCl<sub>3</sub> Producto A

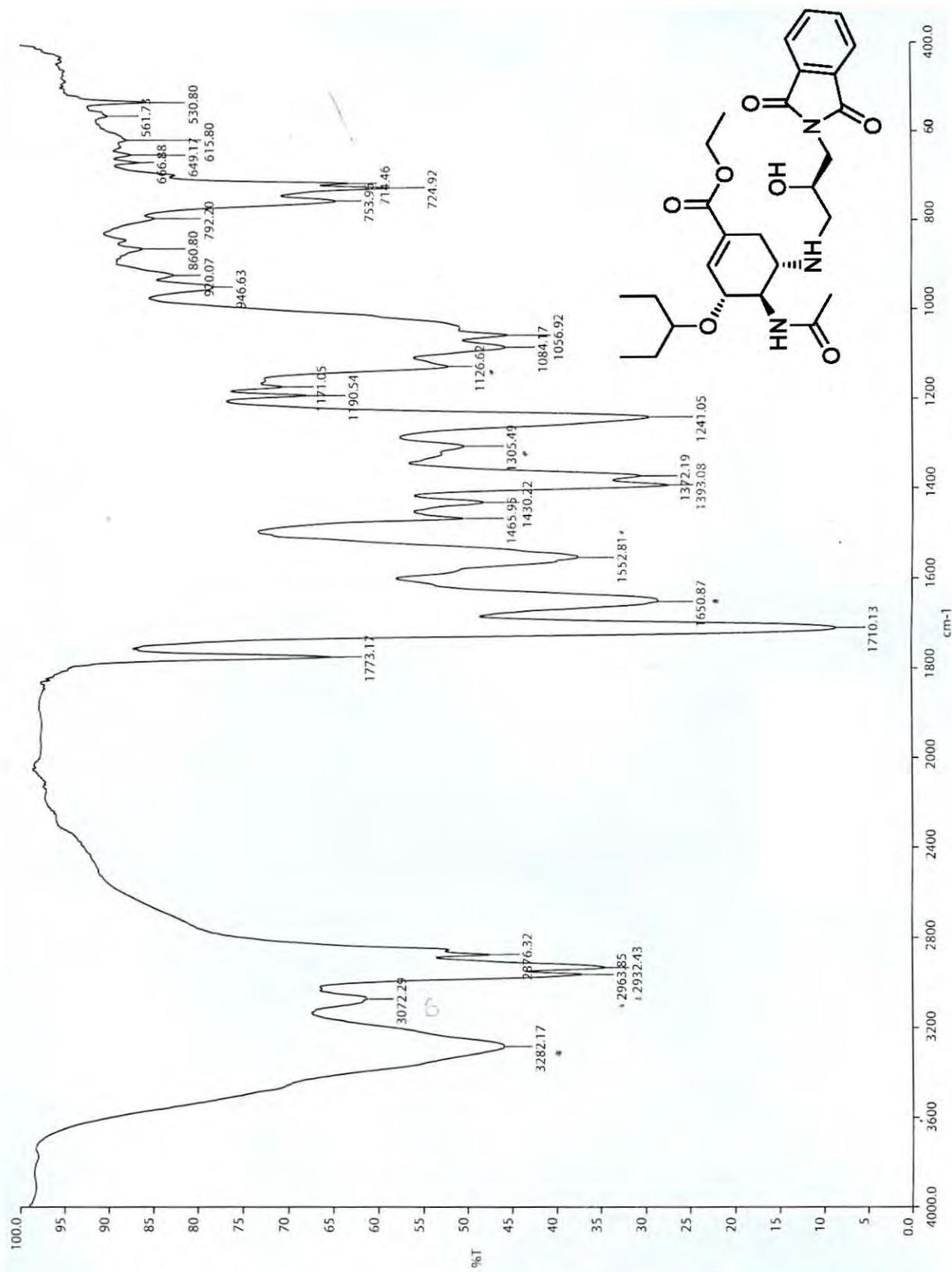


Figura 43. Espectro 1B. FT-IR [cm<sup>-1</sup>] Producto B

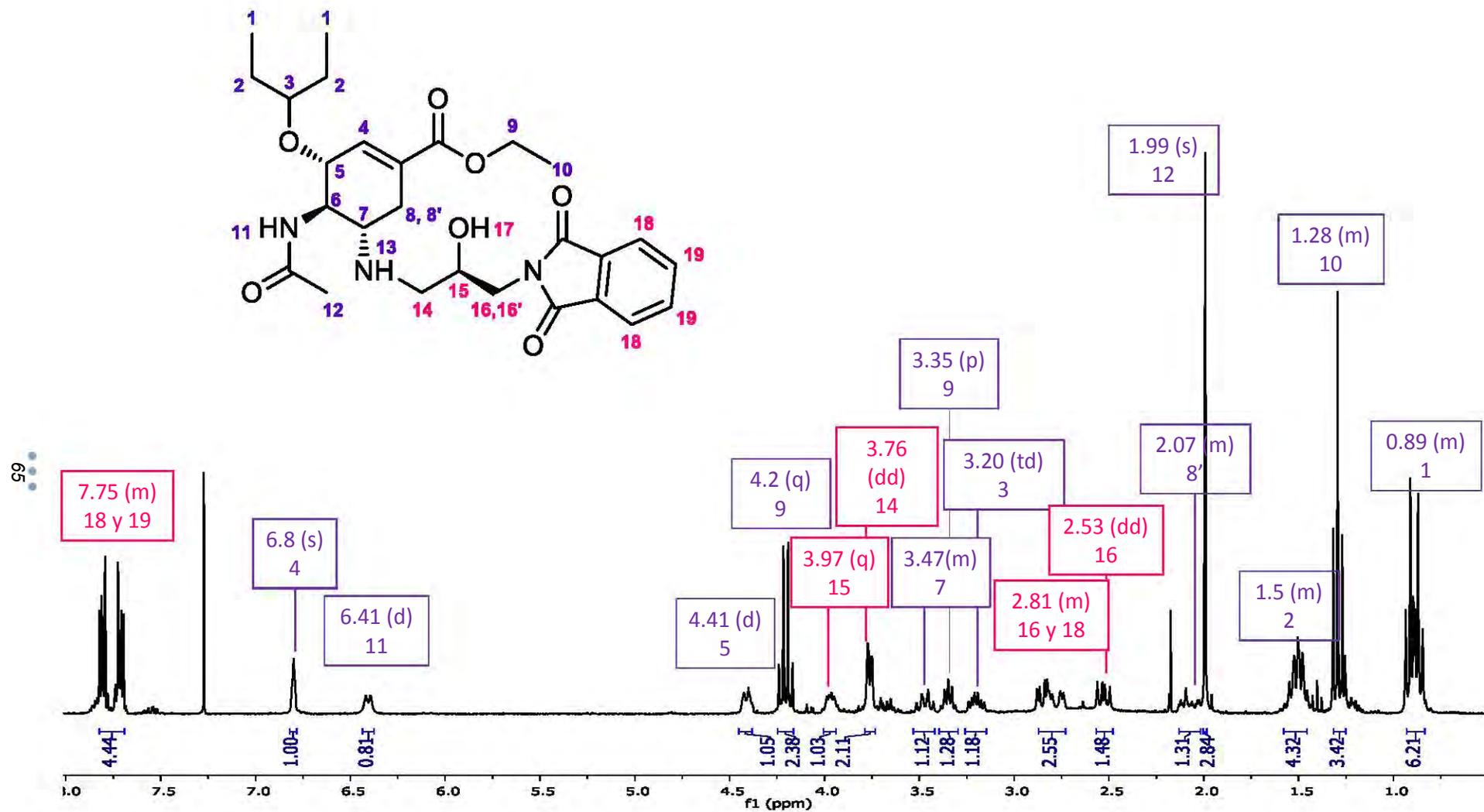


Figura 44. Espectro 2B. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz) CDCl<sub>3</sub>. Producto B.

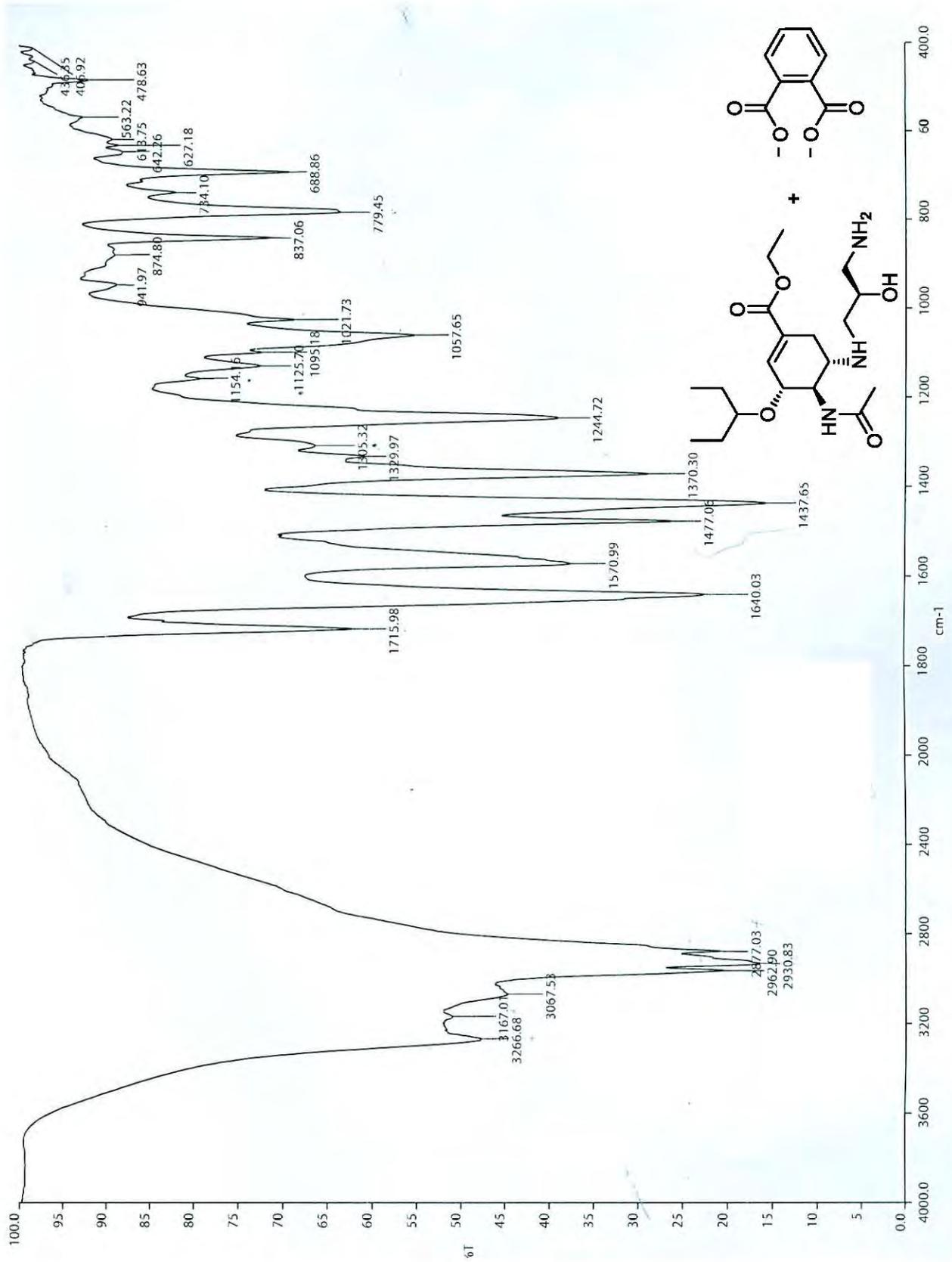


Figura 45. Espectro 1HB. FT-IR [cm<sup>-1</sup>] Producto HB

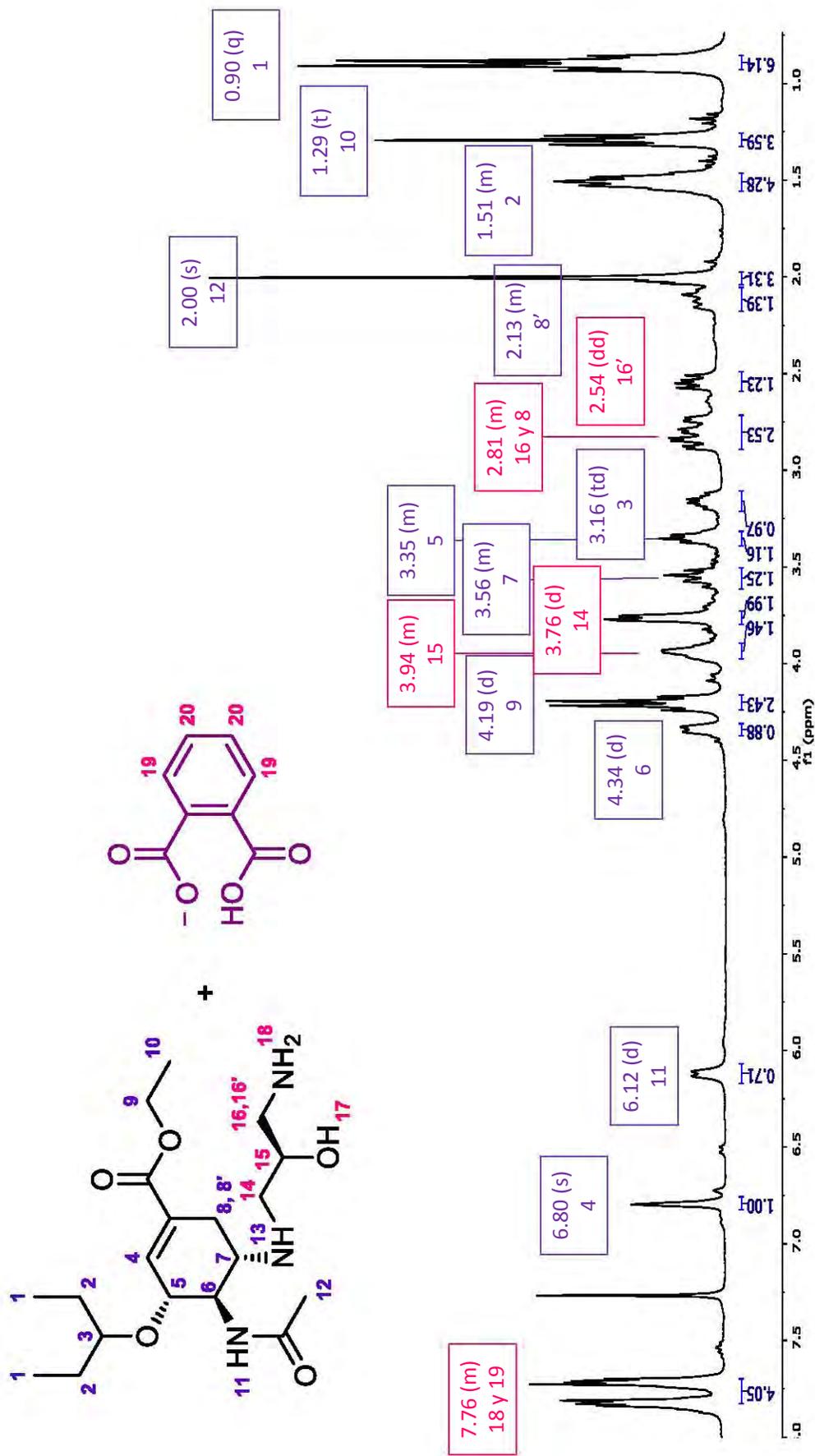


Figura 46. Espectro 2HB. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz) CDCl<sub>3</sub>. Producto HB.

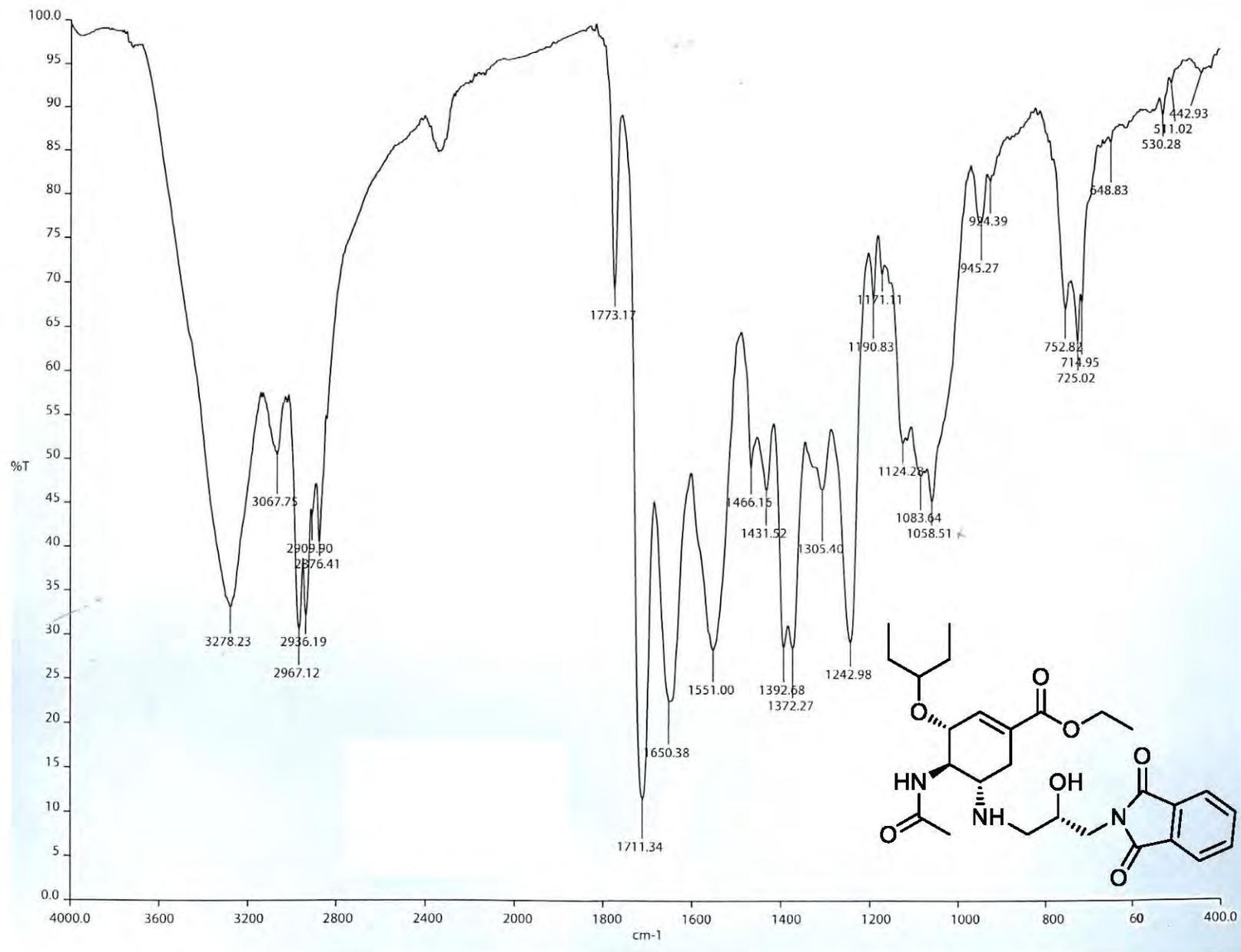


Figura 47. Espectro 1C. FT-IR [cm<sup>-1</sup>] Producto C

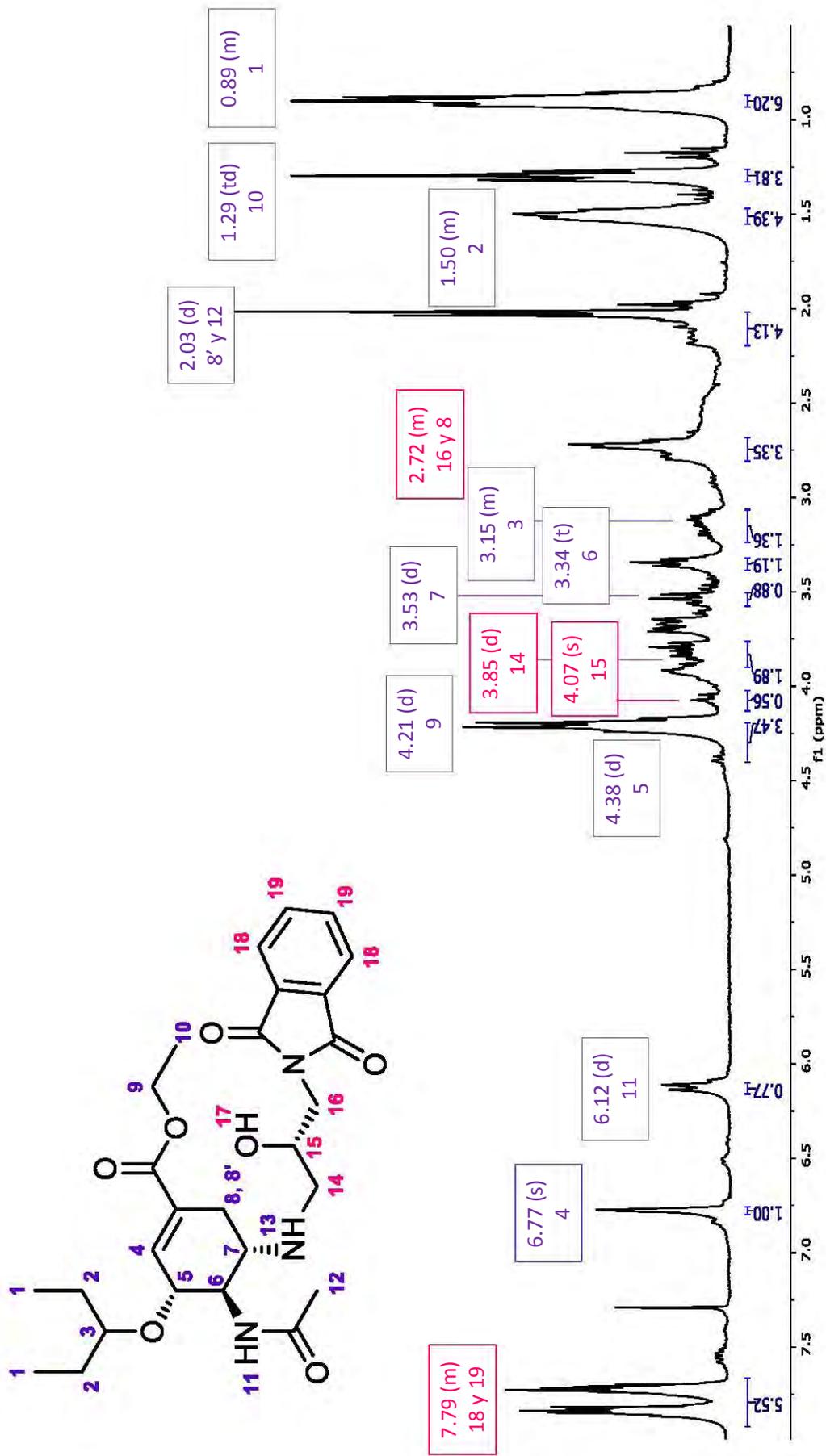


Figura 48. Espectro 2C. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz) CDCl<sub>3</sub>. Producto C.

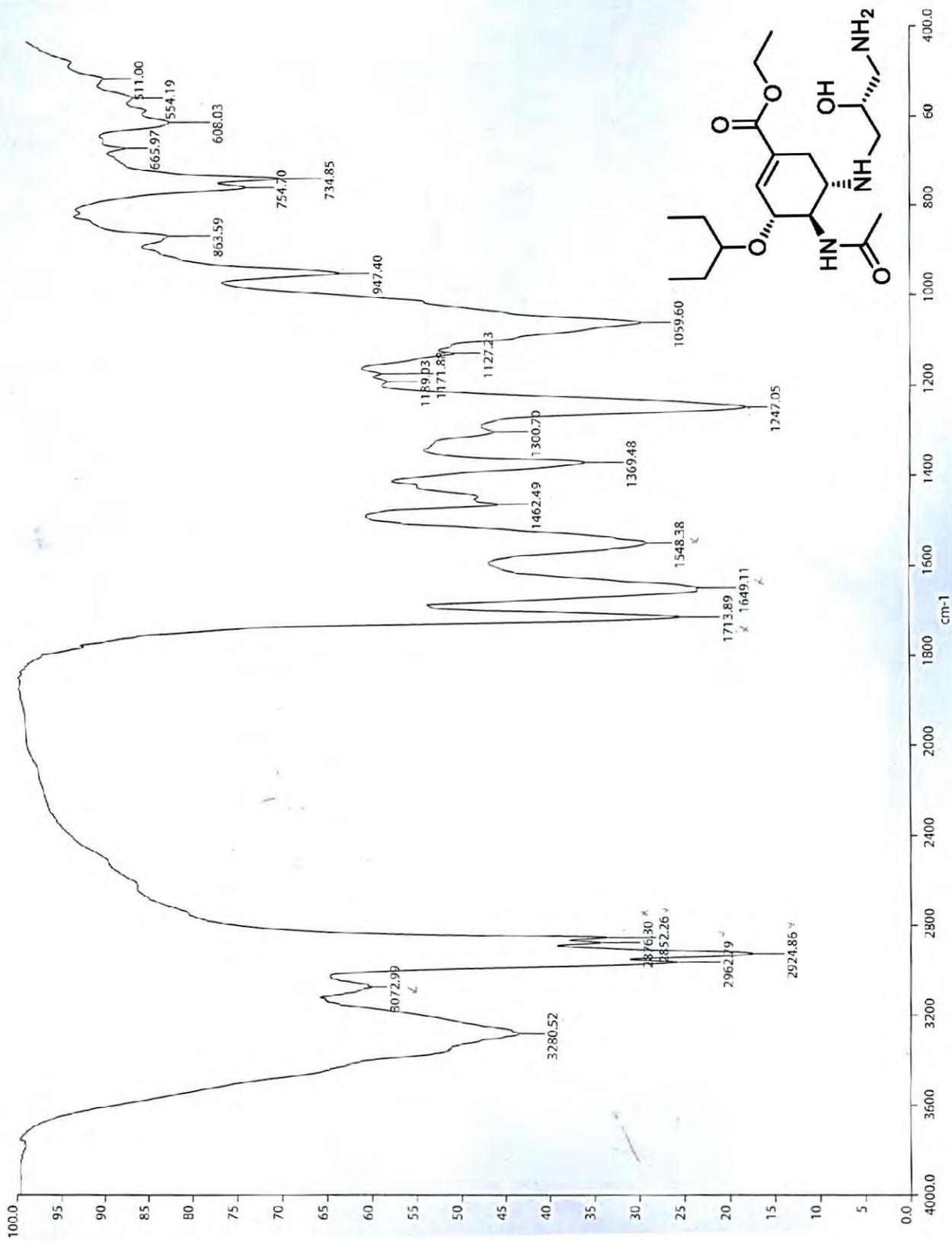


Figura 49. Espectro 1HC. FT-IR [cm<sup>-1</sup>] Producto HC

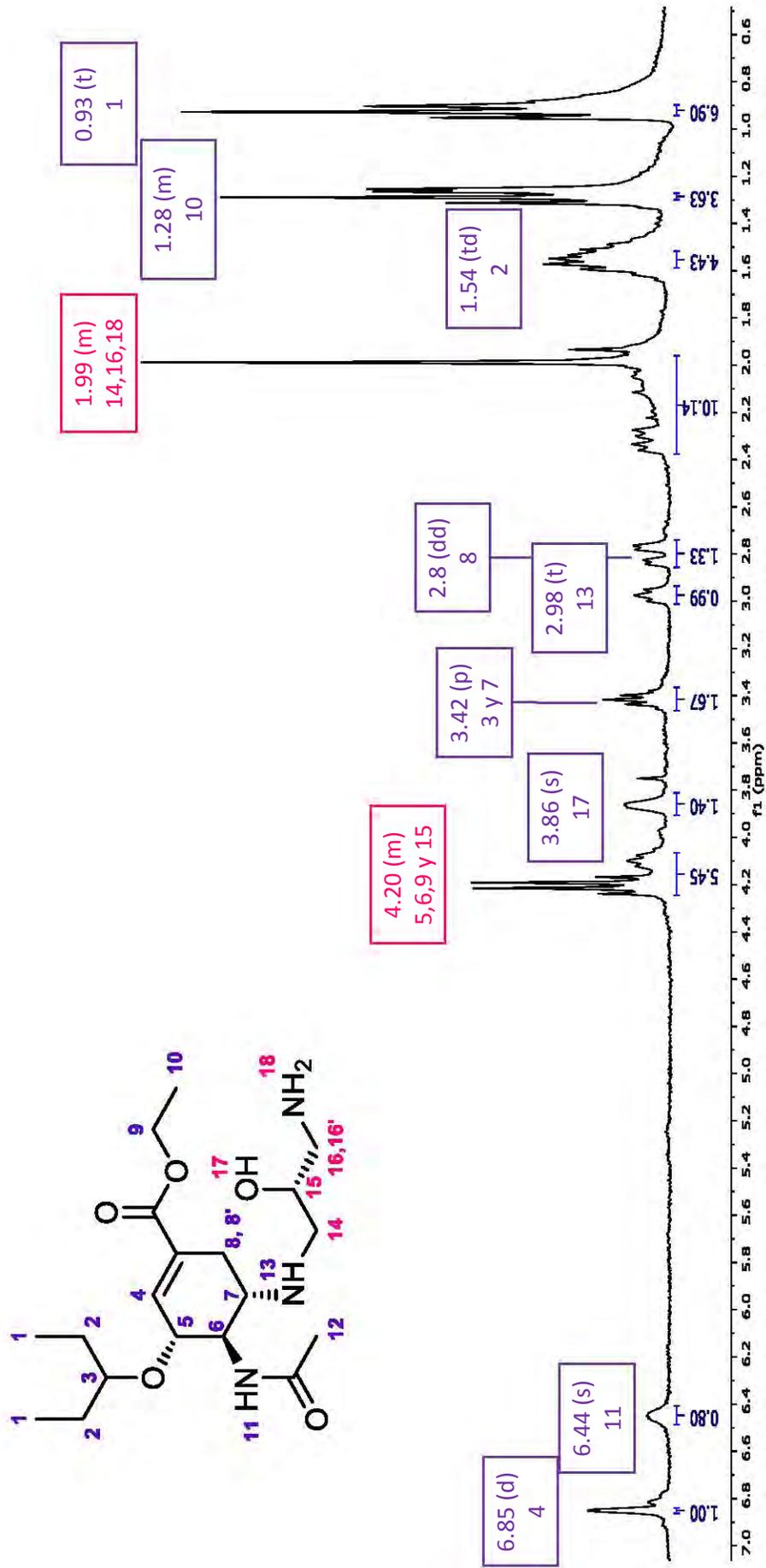


Figura 50. Espectro 2HC. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz) CDCl<sub>3</sub>. Producto HC.

# 10.APENDICE D. CARTEL PRESENTADO EN EL 53° CONGRESO MEXICANO DE QUIMICA. 37° CONGRESO NACIONAL DE EDUCACIÓN QUÍMICA 2018

QORG-E3-C



## Síntesis de beta-aminoalcoholes derivados del Oseltamivir con posible actividad antiviral.

Beatriz Abigail Galicia Flores, Dr. Carlos Antonio Rius Alonso, M. en C. Martha Yolanda González Quezada

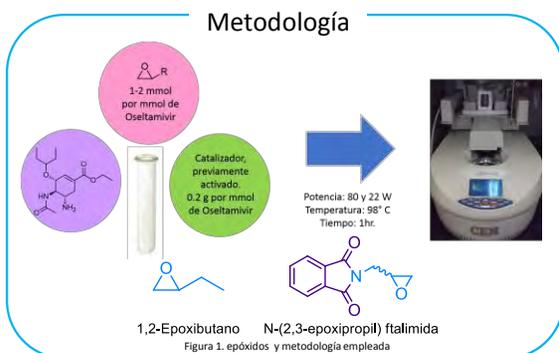
Departamento de Química Orgánica. Facultad de Química UNAM. Circuito Exterior S/N, Coyoacán, Cd. Universitaria, 04510 Ciudad de México, CDMX. riusal@hotmail.com, beabigal@gmail.com



### Introducción

En los últimos años, la síntesis de antivirales contra el virus de la influenza se ha convertido en una importante labor debido a que sus mutaciones provocan resistencia a los antivirales. Para este tipo de virus, existen pocas opciones de tratamiento, como es el caso de Zanamivir y el Oseltamivir<sup>1,2,3</sup>, sin embargo, casos esporádicos de resistencia al Oseltamivir por el virus A(H1N1) se han reportado en todo el mundo<sup>4</sup>, es por ello, que la síntesis de nuevos derivados de Oseltamivir sea de suma importancia. La molécula del Oseltamivir posee una amina primaria, la cual al reaccionar con un epóxido en presencia de un catalizador abrirá el epóxido, formando como productos: β-aminoalcoholes.<sup>5</sup> Estos productos se podrán probar como posibles agentes antivirales para cepas resistentes al Tamiflu® y Relenza®.

### Metodología



### Hidrólisis del producto B

Mediante modelación molecular por medio de Spartan® se llegó a la conclusión que, dadas las condiciones de reacción, se formó una sal de ftalato que se encuentra acompañando al producto HB como se muestra a continuación (Figura 4) Cabe señalar que existen diferentes interacciones entre el ion ftalato y la molécula del producto HB, por lo que en la imagen solo se representa una de las conformaciones posibles.

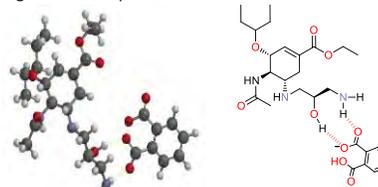


Figura 4. Modelación molecular por medio de Spartan® de las diferentes interacciones entre el producto HB y la sal de ftalato

### Resultados

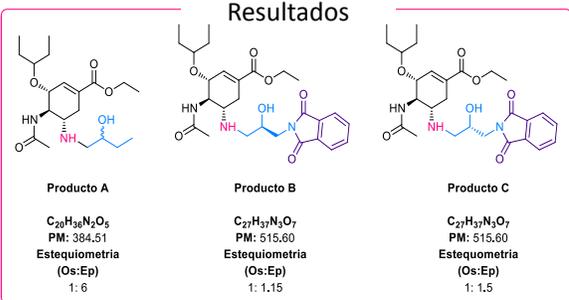


Figura 2. β-aminoalcoholes obtenidos en el presente trabajo

### Hidrólisis del producto C

Se observó la desaparición de las señales del anillo aromático correspondientes a la ftalimida, además que se apreció de manera más clara las señales principales del producto HC Asimismo, como en el producto HB, se llevó a cabo un análisis conformacional de la molécula HC a través de Spartan® en donde se pudo observar la aparición de diferentes puentes de hidrógeno intermoleculares, y por consiguiente diferentes interacciones entre los hidrógenos del producto que se ven reflejados en el cambio del desplazamiento de las señales y la aparición de otras nuevas. (Figura 5)

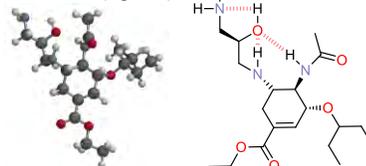
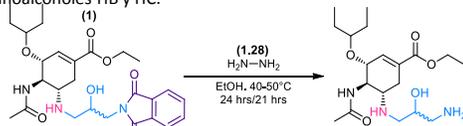


Figura 5. Puentes de hidrógeno intermoleculares del producto HC realizadas por medio de modelación molecular en Spartan®

### Hidrólisis de los productos B y C

Una vez que se realizó la síntesis de los productos B y C se llevó a cabo la hidrólisis de la ftalimida empleando un exceso del 28% de hidrato de hidrazina con el fin de liberar la amina primaria formando así los β-aminoalcoholes HB y HC.



### BIBLIOGRAFÍA

- Anthony E. Fiore, Alicia Fry, ETAl. Antiviral Agents for the Treatment and Chemoprophylaxis of Influenza Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). Morbidity and Mortality Weekly Report. U.S. Department of Health and Human Services, January 21, 2011.
- R. Mannhoti, H. Kubinyi, G. Folkers Antiviral Drug Strategies. Vol. 50 Ed. Wiley-VCH. 2011 Alemania.
- Delthia Ricks, MA, MS., (2009). "100 Questions & Answers about Influenza" Jones and Bartlett publishers.
- González López Gerardo, M., Sánchez González Dolores, J., Sosa Luna Carlos A. "Pandemia. Influenza humana A/H1N1. Lo que hay que saber sobre ella. Editorial Alfil S.A de C.V. México D.F 2009.
- Mohammad M. Mojtahedi., Mohammad R. Said, and Mohammad Bolourtchiab, [1999]. Microwave-assisted Aminolysis of Epoxides Under Solvent-free Conditions Catalyzed by Montmorillonite Clay" J. Chem. Research (S), 128-129.

### Conclusiones

- Se lograron sintetizar tres beta-aminoalcoholes derivados del Oseltamivir que podrían emplearse como inhibidores de neuroaminidasa del virus de influenza.
- Para los productos HB y HC se llevó a cabo un análisis por medio de modelación molecular utilizando Spartan® y se llegó a la conclusión que en la hidrólisis del producto B, se obtuvo como subproducto una sal de ftalato además del producto HB; mientras que para la molécula de HC se observó que se forman puentes de hidrógeno intermoleculares que se ven reflejados en el desplazamiento y aparición de nuevas señales en el espectro de RMN <sup>1</sup>H

## 11.REFERENCIAS

1. Características de los virus. (2009). En T. Shors, *Virus. Estudio molecular con orientación clínica* (págs. 10-12). Buenos Aires. Argentina.: Panamericana.
2. Clasificación, estructura y replicación de los virus. En P. R. Murray, *Microbiología médica* (págs. 47-65). Madrid, España : Elsevier España S.A .
3. Genética de los virus y bacterias . (2005 ). En N. A. Campbell, *Biología* (págs. 334-356). Madrid España : Panamericana .
4. Virus. (1967). En M. A. Harrow Benjamin., *Bioquímica básica* (págs. 133-135). México: Ed. Interamericana , S.A.
5. Viruses. (1960). En J. D. Chargaff Erwin., *The Nucleic Acids. Vol III* (págs. 93-35). London: Academic Press Inc.
6. ¿Cómo se replican los virus? (2008). En T. A. Audesirk, *Biología: La vida en la Tierra*. (págs. 382-383). México.: Pearson Educación de México. S.A de C.V.
7. Ruchansky, D. (03 de Julio de 2017). *Universidad de la Republica de Uruguay*. Obtenido de Instituto de Higiene. Universidad de la Republica: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/bacto/introvir2011.pdf>
8. Influenza. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_topics&view=article&id=28&Itemid=40753&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=28&Itemid=40753&lang=es) (Consultado 04 de Julio de 2017)
9. Bouza, J. E., Martín , J. B., & Leonardo, R. O. (2010). *Gripe y Tamiflu®. 100 Preguntas más frecuentes*. Barcelona: Editores Médicos S.A. EDIMSA.
10. Ortomixovirus. En M. m. P. R. Murray, *Microbiología médica* (págs. 509-517). Madrid, España: Elsevier España S.A.
11. Arias, C. F., & S. L. (2009). *Anatomía del virus de la influenza A/H1N1-2009*. Comunicaciones libres, 14-24.
12. Villalobos, J. C., Gómez, J. V., & Rosales, S. P. (2010). *La epidemia de influenza A/H1N1 en México*. México: Editorial Médica Panamericana S.A de C.V.

13. Zavala, M. M., & López, G. A. (1999). *Virus influenza: Enigma del pasado y del presente*. Instituto Nacional Enfermedades Respiratorias, 290-299.
14. M. S., López, O. O., Ávila, G. L., González, J. R., & Mussot, M. C. (2010). *El origen de la variabilidad genética de los virus de la influenza*. *Gac Méd Méx* , 199-206.
15. Murphy BR, Webster RG. Orthomyxoviruses. En: *Knipe DM, Howley PM, ed. Fields virology vol. 1*. 3a. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996:1397-1445.
16. García, J. G., & Ramos, C. (2006). *La influenza, un problema vigente de la salud pública*. *Salud pública de México*, 244-267.
17. S. L., & C. A. (2010). *Influenza A: Biología, vacunas, y origen del virus pandémico A/H1N1*. *Revista Digital Universitaria*, Volumen 11 Número 04.
18. Antivirales Obtenido de EsteripHarma  
[http://sel.quimica.uady.mx/courses/FARMAII/document/documentos\\_de\\_apoyo\\_primer\\_parcial/antivirales\\_general.pdf?cidReq=FARMAII](http://sel.quimica.uady.mx/courses/FARMAII/document/documentos_de_apoyo_primer_parcial/antivirales_general.pdf?cidReq=FARMAII) (Consultado 11 de julio de 2017).
19. Del Castillo MF, et al. *Antivíricos y otros antimicrobianos. Enfermedades Infecciosas*. Madrid. 13-192.
20. Rosemberg YL. *Descripción de la actividad antiviral de Microcina J25 y Fragarina contra virus de importancia sanitaria*. Universidad de Belgrano. Tesina. Buenos Aires. Consultada el 11 julio 2017.
21. Anthony E. Fiore, A. F. (2011). *Antiviral Agents for the Treatment and Chemoprophylaxis of Influenza*. E.U.A: Centers for Disease Control and Prevention.
22. Bernd Sebastian Kamps, C. H. (2006). *Influenza Report. Paris, Cagliari, Wuppertal, Sevilla: Flying Publisher*.
23. Moscona, A. (2005). *Neuraminidase Inhibitors for Influenza*. *The new england journal of medicine*, 1363-1373.
24. Cervantes, M. L., Moreno, J. G., Domínguez, R. P., Santiago, R. E., & Lozano, M. V. (2010). *La influenza A/H1N1 2009. Una crónica de la primera pandemia del siglo XXI*. *Revista Digital Universitaria*, Volumen 11 Número 04.
25. Obtenido de Centers for Disease Control and Prevention. CDC:  
<https://espanol.cdc.gov/enes/flu/about/qa/antiviralresistance.htm> (Consultado el 14 de Julio de 2017).

26. Obtenido de Organización Mundial de la Salud:  
<http://www.who.int/csr/disease/swineflu/oseltamivirresistant20100305.pdf> (Consultado el 14 de Julio 2017.)
27. Obtenido de Organización mundial de la Salud  
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/> (Consultado 14 de Julio de 2017).
28. Moscona, A. (2005). *Oseltamivir Resistance — Disabling Our Influenza Defenses*. The New England Journal of Medicine, 2633-2636.
29. Talavera, G. A. (1999). *Influenza: Historia de una enfermedad*. Biomed, 57-61.
30. Godínez, G. M. (2011). *Recordando a la gripe española*. Medicina Interna de México, 463-466.
31. (2009). *Influenza A(H1N1): Acciones de Promoción de la Salud, compartiendo nuestra experiencia*. Impreso y hecho en México: Secretaría de Salud.
32. Perez-Padilla, R., De la Rosa-Zamboni, D., Ponce de Leon, S., Hernandez, M., Quiñones-Falconi, F., Bautista, E., Ramirez-Venegas, A., Rojas-Serrano, J., Christopher E. Ormsby., Corrales, A., Anjarath Higuera., Mondragon, E., and Cordova-Villalobos, J.A. (2009). *Pneumonia and Respiratory Failure from Swine-Origin Influenza A (H1N1) in Mexico*. The new England journal of medicine, 680-689.
33. Smith, J. G. (Agosto 1984). *Synthetically Useful Reactions of Epoxides*. Synthesis, 629-656.
34. *Preparación y reacciones, por sustitución, de epóxidos*. (1980). En D. C. Neckers, Química Orgánica. Volumen 1. (pág. 528). México D.F: CECOSA.
35. Carey, F. A. (2014). *Química Orgánica*. 9° Edición. México: Mc Graw Hill .
36. Ethylene Oxide. (2012). En *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* (págs. 547-572). Wiley-VCH.
37. Wade, L.G Jr. (2004). *Química Orgánica*. 5° Edición, Madrid: Pearson. Prentice Hall.
38. Dr. E. Pretsch, D. T. (1980). *Tablas para la elucidación estructural de los compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos*. México: Alhambra Mexicana S.A.
39. Jonh., McMurry. (2017). *Química Orgánica*. México: CENGAGE.
40. Pine Stanley H., Hendrickson James B., Cram Donald J., Hammond George S. *Química Orgánica* 4° Ed. McGrall Hill. España. 1980

41. Durán Valle Carlos J., García Vidal, Jesús A. "Acidic Activated Carbons: An Efficient Catalyst for the Epoxide Ring-Opening Reaction with Ethanol" *Catalysis Letters*, 2009, vol. 130.
42. Acheson, R. M. (1981). *Química Heterocíclica*. México: Publicaciones Cultural, S.A.
43. Alonso, C. (2012). *Modelación y síntesis de nuevos derivados del oseltamivir con capacidad en cepas resistentes de virus AH1N1*. *Gaceta SIIDETEX*, 6-7.
44. Benjaram M. Reddy, M. K.-E. (2008). *Efficient synthesis of b-amino alcohols by regioselective ring-opening of epoxides with anilines catalyzed by sulfated zirconia under solvent-free conditions*. *Catalysis Communications*, 950–954.
45. Garg, D., Shah, S. N., Okasinski, M. J., & Drayton-Elder, A. S. (2002). E.U.A Patente nº 20040068143.
46. Mohammad. M. Mojtahedi, M. H. (2005). *Microwave-assisted ring opening of epoxides with thiols on montmorillonite K-10 solid support*. *General Papers ARKIVOC*, 68-73.
47. Kishore, N. K. (2012). Montmorillonite: An efficient, heterogeneous and green catalyst for organic synthesis. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 991-1015.
48. Pujol, Y. H. (2002). Mild cleavage of aliphatic epoxides with substituted anilines on alumina. *Tetrahedron Letters* , 819–822.
49. Mohammad M. Mojtahedi, M. R. (1999). Microwave-assisted Aminolysis of Epoxides Under Solvent-free Conditions Catalyzed by Montmorillonite Clay. *J. CHEM. RESEARCH*, 128-129.
50. Fuentes Pantoja, Francisco J. (2014) "Apertura de epóxidos con aminas: Síntesis de beta-aminoalcoholes usando microondas y arcillas ácidas como catalizadores" (Tesis de Licenciatura) UNAM, Facultad de Química.