

Generación de diversidad molecular vía estrategias de diseño multicomponente

González Villanueva Gilberto¹, Nolasco Fidencio Juan Jesús², Penieres Carrillo José Guillermo¹, Delgado Reyes Francisco³, Ríos Guerra Hulme¹

¹UNAM. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1, Av. 1° de mayo, Col. Sta. María las Torres Cuautitlán Izcalli, Estado de México, CP 54740.

²IPN-Escuela Superior de Medicina. Sección de Estudios de Posgrado. Plan de San Luis y Díaz Mirón s/n, Col. Casco de Santo Tomas, Delegación Miguel Hidalgo, México, D.F., CP 11340.

³-Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Química Orgánica. Unidad Profesional Lázaro Cárdenas, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomas, Delegación Miguel Hidalgo México, D.F., CP 11340.

hulmerg@yahoo.com.mx

Fecha de aceptación: 2 de agosto de 2015

Fecha de publicación: 23 de septiembre de 2015

RESUMEN

En este trabajo se describen diversos experimentos basados en el diseño racional de *reacciones multicomponentes* con el objetivo de preparar *nuevas estructuras moleculares* vía modificación a la reacción de Biginelli. Al utilizar estrategias como: *sustitución de un solo reactante SSR** y *divergencia basada en condiciones CBD** (*por sus siglas en inglés*) se logró la obtención de diversos *ligandos* de interés biológico, por ejemplo; la sustitución de la urea en la reacción de Biginelli por dos equivalentes de cianamida, generó los esqueletos de 2-cianoimino-3,4-dihidro-1*H*-pirimidina, 3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-ona y 5,6-dihidro-1,3,5-oxadiazina. Mientras que la doble reacción SSR consecutiva lograda por la inclusión del ácido de Meldrum condujo a la formación de dihidropirimidin-2,4(1*H*,3*H*)-diona. Las diversas estrategias propuestas fueron realizadas por un grupo de estudiantes de segundo año del laboratorio de química heterocíclica de la Licenciatura en Farmacia en la FESC-UNAM y fueron diseñadas para enseñar nuevas metodologías sintéticas y desarrollar habilidades para el diseño de experimentos *multicomponentes*.

Palabras clave: diversidad molecular, diseño racional de reacciones multicomponentes, reacción de Biginelli, dihidropirimidina, dihidropirimidona.

ABSTRACT

This study describes some experiments based on the rational design of *multicomponent reactions* in order to prepare new *molecular structures* via Biginelli's reaction modification. Herein, we examined single reactant replacement (SSR) and conditions-based divergence (CBD) strategies along with the reactivity of cyanamide and Meldrum's acid as building block surrogate of urea and β -ketoester to generate molecular frameworks with different appendage. The initial replacing of urea in the Biginelli reaction with two equivalents of cyanamide resulted in the formation of 2-cyanoimino-3,4-dihydro-1*H*-pyrimidine, 3,4-dihydropyrimidin-2(1*H*)-one and 5,6-dihydro-1,3,5-oxadiazine frameworks. Whereas consecutive SSR achieved by changing the β -ketoester with Meldrum's acid afford dihydropyrimidine-2,4(1*H*,3*H*)-dione skeleton. The experiment, which is suitable for second-year undergraduate laboratory, is designed to teach not only novel synthetic methods but also to develop skills in designing experiments.

Key words: molecular diversity, rational design of multicomponent reactions, Biginelli reaction, dihydropyrimidine, dihydropyrimidone.

INTRODUCCIÓN

Los métodos sintéticos modernos como la *química combinatoria* (Tergos *et al.*, 2005) y las *reacciones multicomponentes* (Sendraos y Martin, 2009), figuran entre las estrategias más poderosas para generar grandes *bibliotecas moleculares*. Estos métodos modernos pueden generar en tiempos cortos, grupos de compuestos heterocíclicos estructuralmente complejos y molecularmente diversos (Biggs-Houck *et al.*, 2010; Dandapani y Marcaurelle, 2010). Por esta razón, los químicos medicinales y las compañías farmacéuticas aplican estas herramientas en áreas de investigación avanzada orientadas al desarrollo de nuevos *ligandos* moleculares para diversos *receptores farmacológicos* de interés terapéutico.

Debido a la importancia de la dihidropirimidina (DHPM) como *esqueleto heterocíclico privilegiado* (Costantino y Barlocco, 2006; Singh *et al.*, 2011; Welsch *et al.*, 2010), es que la reacción de tres componentes de Biginelli (B-3CR) ha merecido especial atención en la investigación de nuevos compuestos biológicamente activos (Fatima *et al.*, 2012). Esta reacción de ciclo-condensación de tres componentes se basa en una mezcla de un β -cetoéster, un arenocarbaldehído y una urea en un medio ácido (Figura 1a) y se ha constituido como uno de los métodos de elección para la construcción de esqueletos de DHPM **1**. Sin embargo, su falta de versatilidad para introducir diversos grupos en la posición C2 del esqueleto de la DHPM (Dallinger y Kappe, 2005), da como resultado del uso de urea de forma casi exclusiva como bloque constructor en esta posición, y por lo tanto constituye uno de sus principales inconvenientes en términos de generación de diversidad molecular.

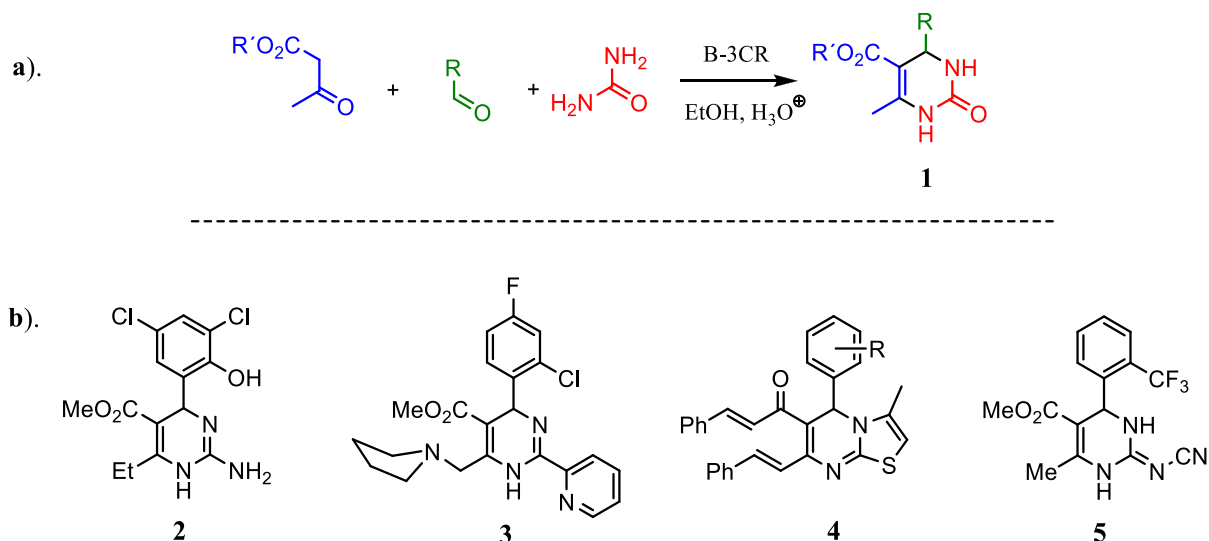


Figura 1. (a) Bloques constructores clásicos usados en la B-3CR. **(b)** DHPMs de interés biológico preparadas mediante estrategias sintéticas alternas a la reacción de Biginelli

En respuesta, se han desarrollado estrategias sintéticas alternas con capacidad de introducir diversidad de ligandos en esta posición, y así proveer nuevas moléculas con potencial actividad terapéutica. Las investigaciones recientes muestran que los compuestos que contienen el fragmento de DHPM, presentan importante actividad biológica como inhibidores selectivos de vías metabólicas bacterianas, por lo cual, se presentan como una alternativa interesante en el combate a la *resistencia bacteriana* observada en la mayoría de los antibióticos actuales. Por ejemplo, la molécula **2**, de la figura 1b, inhibe la enzima DHFR (Thomas *et al.* 2008). Los compuestos **3** y **4** de la misma figura, se postulan como agentes inhibidores del virión responsable de la hepatitis B (Bourne *et al.*, 2008) y del HIV-RT (Fatima *et al.*, 2012), respectivamente; mientras que la DHPM **5** (Figura 1b) bloquea los canales de potasio tipo K_v .

Las características superiores de los procesos multicomponentes garantizan la construcción de esqueletos moleculares estructuralmente diversos. Fundamentado en este concepto, hemos explorado la reacción de Biginelli empleando estrategias de diseño racional basados en reacciones multicomponentes tipo SSR y CBD (Orru *et al.* 2011); con el fin de establecer una reacción de cuatro componentes partir de una mezcla de arenocarbaldehído, β -cetoéster y 2 equivalentes de cianamida para construir estructuras moleculares de 2-cianoimino-3,4-dihidro-1*H*-pirimidina **6**, 3,4-dihidropirimidin-2(1*H*)-ona **7**, 5,6-dihidro-1,3,5-oxadiazina **8** y dihidropirimidina-2,4(1*H*,3*H*)-diona **9** (Esquema 1) en ausencia de disolvente y exceso de ácido de Brønsted-Lowry o empleando un buffer de acetato.

Estas reacciones de cuatro componentes, fueron diseñadas para estudiantes que cursan el laboratorio de química orgánica heterocíclica en la licenciatura en farmacia en la FES-UNAM, contribuyen a la expansión y aplicación de la reacción de Biginelli en la obtención de nuevos esqueletos moleculares de DHPM. De igual modo, representan experimentos pedagógicos interesantes para introducir los conceptos de diversidad estructural basada en la generación de ligandos farmacológicos y estructuras moleculares privilegiadas, vinculadas al descubrimiento de nuevos fármacos.

METODOLOGÍA

Esta actividad se trabajó en una sesión especial del laboratorio de Química Heterocíclica, que tradicionalmente se enseña bajo el esquema de síntesis orientada a objetivos. Los estudiantes conformaron cinco equipos integrados por 3 miembros. Las reacciones multicomponentes exploradas se promovieron inicialmente usando 5 mmol de reactivo (arenocarbaldehído, β -cetoéster y 2 equivalente de cianamida). Es conveniente comentar que para el semestre 2016-I se buscará trabajar con la relación 1-2 mmol de sustrato. Los compuestos **6** y **8** se prepararon mediante la adecuación correspondiente de la reacción reportada por Ríos *et al.* (2008). A su vez, los compuestos **7** y **9**, se obtuvieron siguiendo el mismo método anterior, teniendo como variante la incorporación del ácido fórmico (Brønsted-Lowry) como activante y medio de reacción.

Para la identificación y determinación estructural de los compuestos obtenidos, se obtuvieron los espectros de IR y RMN de ^1H y ^{13}C de los productos antes de concluir el periodo semestral. Estos fueron presentados, discutidos y analizados junto con el profesor para identificar el tipo de compuesto sintetizado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Dentro del contexto de las estrategias multicomponentes tipo SSR y CBD se abordó la preparación de cuatro productos "tipo Biginelli" **6-9**, tomando en cuenta las posibles rutas que se muestran en el Esquema 1. Con el propósito de delimitar el espacio químico molecular de interés, los estudiantes tuvieron información del número y naturaleza química de los probables reactantes y ácidos de Brønsted-Lowry (HCl y HCO_2H) involucrados en todos los casos. Sin embargo, no tuvieron conocimiento de la secuencia de sustitución de los reactivos, así como las condiciones particulares de reacción que conducen a la formación de cada uno de los esqueletos moleculares deseados. Al margen de estos planteamientos, a cada equipo se le permitió escoger uno de los cuatro compuestos para que procedieran a su síntesis. Una vez seleccionado el compuesto objetivo para cada uno de los equipos, los integrantes analizaron, discutieron, planearon y propusieron (con la orientación del profesor) posibles estrategias de síntesis, incluyendo la propuesta mecanística, teóricamente plausible bajo las condiciones de reacción postuladas. Finalmente, las propuestas viables fueron aceptadas, presentadas y discutidas en grupo.

En un principio, todas las propuestas sintéticas planteadas en la figura 2 parecían demasiadas demandantes y desconcertantes para la generalidad de los equipos. La razón era simple: los conocimientos básicos de reactividad química basadas en estructura, la comprensión de concepto de inter-conversión de grupos funcionales, así como la apropiada identificación de las especies, átomos o centros nucleofílicos o electrofílicos, además de su comportamiento químico frente a especies ácidas no eran completamente entendibles. También, fue evidente la falta de mayores conocimientos teóricos que facilitaran al alumno el entendimiento y la apropiada predicción de las reacciones de ciclación. Por lo tanto, con el fin de subsanar estos inconvenientes fue necesario que los alumnos retroalimentaran sus conocimientos sobre los conceptos básicos de reactividad, las reglas de ciclación de Baldwin, además de los métodos y mecanismos de reacción.

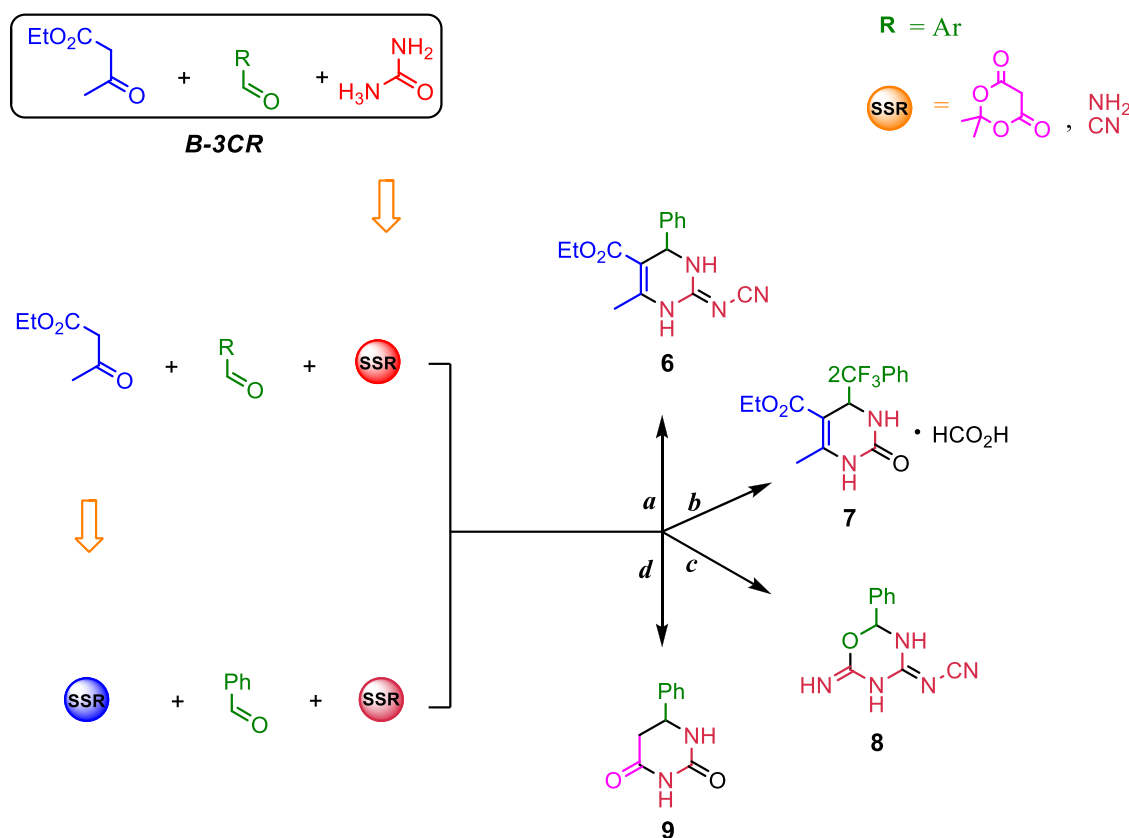
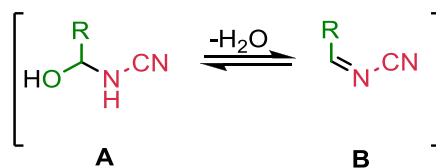


Figura 2. Preparación de las moléculas **6-9** empleando estrategias multicomponentes y de sustitución sucesiva de uno y dos reactantes.

Fue sorprendente que después de las aclaraciones y precisiones correspondientes, cuatro de los cinco equipos postularon la formación *in situ* de los intermediarios **A** y **B**, como resultado de una reacción de adición nucleofílica de la cianamida (empleada como sustituto de la urea) al carbonilo del arenocarbaldehído en un medio ácido. La postulación de estas especies en equilibrio, de acuerdo a los argumentos presentados, obedece al mecanismo de reacción aceptado para la B-3CR. Este planteamiento, en principio fue clave para establecer las condiciones de reacción, naturaleza de sustratos de reemplazo y estequiometrias de los reactivos que finalmente permitieran sintetizar los productos objetivos **6-9**.



Como resultado de estos razonamientos químicos, dos de los equipos mostraron una capacidad pocas veces vista, al establecer que para la síntesis de los compuestos **6** y **8** era mejor evitar condiciones fuertemente ácidas, que favorecieran las reacciones de hidratación de la cianamida. Mientras que para la obtención de los esqueletos **7** y **9**, concluyeron que el medio fuertemente ácido era una condición necesaria. Como resultado de estos planteamientos y condicionantes químicos previstos los alumnos previeron dos condiciones de reacción importantes: *i*) un medio regulado (Buffer de acetato, condiciones **a** y **c**); *ii*) un medio ácido (ácido orgánico de Brønsted-Lowry, condiciones **b** y **d**). Siguiendo esta dinámica, los compuestos **6-9** fueron sintetizados con rendimientos moderados (30-50%) en una sola sesión de laboratorio, como resultado de que durante los procesos de aislamiento y purificación de los correspondientes productos no se requirieron métodos elaborados y complejos. Sin embargo, para el análisis y asignación de los espectros de IR y RMN fue necesario programar una siguiente sesión.

Finalmente, es importante comentar que como resultado de este esquema de trabajo orientado a la integración de conocimientos y habilidades adquiridas en el laboratorio, algunos estudiantes presentaron algunas propuestas modificadas de reacciones multicomponentes viables y simples para la construcción de estructuras complejas de interés biológico, que solo podrían ser accesibles con dificultad mediante otras estrategias sintéticas.

CONCLUSIONES

La preparación de distintas estructuras para producir diversos *ligandos de interés farmacológico* vía métodos de diseño racional de reacciones multicomponentes, resultó ser intelectualmente aún más demandante en comparación con los experimentos exploratorios experimentales tradicionales, debido a la necesidad del alumno de comprender y manejar variables de reacción múltiple, además de analizar una variedad de tendencias de reacción predecibles para la toma correcta de decisiones. Este esquema de trabajo permitió a los alumnos establecer el conjunto de variables de reacción apropiadas para explorar un espacio químico molecular reducido y sintetizar nuevas estructuras con distintos patrones de sustitución. Un aspecto pedagógico adicional fue la oportunidad y el reto de desarrollar habilidades interpretativas de espectros de IR y RMN para proponer la estructura de los compuesto sintetizados.

REFERENCIAS

- Biggs-Houck J., Younai A., Shaw J. T. (2010). Recent advances in multicomponent reactions for diversity-oriented synthesis. *Curr Opin Chem Biol.*, 14: 371-382.
- Bourne C., Lee S., Venkataiah B., Lee A., Korba B. Finn M. G., Zlotnick A. (2008). Small-Molecule Effectors of Hepatitis B Virus Capsid Assembly Give Insight into Virus Life Cycle. *Journal of Virol*, 82: 10262–10270.
- Costantino L., Barlocco D. (2006). Privileged structures as leads in medicinal chemistry. *Curr Med Chem.*, 13: 65-85.
- Dallinger D., Kappe O. (2005). Creating chemical diversity space by scaffold decoration of dihydropyrimidines. *Pure Appl. Chem.*, 77: 155–161.

Dandapani S., Marcaurelle L. A. Current strategies for diversity-oriented synthesis. *Curr. Opin Chem Biol.*, 14: 362-370.

Fatima S., Sharma A., Saxena R., Tripathi R., Shukla S. K., Pandey S. K., Tripathi R., Tripathi R. P. (2012). One pot efficient diversity oriented synthesis of polyfunctional styryl thiazolopyrimidines and their bio-evaluation as antimalarial and anti-HIV. *Eur J Med Chem*, 55: 195-204

Fergus S., Bender A., Spring D. R. (2005). Assessment of structural diversity in combinatorial synthesis. *Curr Opin Chem Biol.*, 9: 304-309.

Orru R. V. A., Scheffelaar R., Ruijter E. (2011). Multicomponent reaction design in the quest for molecular complexity and diversity. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 50: 6234-6246.

Ríos G. H., Zamora O. D. P., Mota E. J., Pastén M. A., Valencia-Hernández I., Correa-Basurto J., Delgado F. (2008). Cyanamide: A convenient building block to synthesize 4-aryl-2-cyanoimino-3,4-dihydro-1H-pyrimidine via a multicomponent reaction. *Tetrahedron*, 64: 3372-3380.

Singh S., Schober A., Gebinoga M., Groß G. A. (2011). Convenient method for synthesis of thiazolo[3,2-a]pyrimidine derivatives in a one-pot procedure. *Tetrahedron Lett.* 52: 3814-3817.

Sunderhaus J. D., Martin S. F. (2009). Applications of multicomponent reactions to the synthesis of diverse heterocyclic scaffolds. *Chem Eur J.*, 15: 1300-1308.

Thomas G. L., Spandl R.J., Glansdorp F.G., Welch M., Bender A., Cockfield, Lindsay J. A , Bryant C , Brown D F J , Loiseleur O. (2008). Anti-MRSA agent discovery using diversity-oriented synthesis. *Angew Chem Int Ed.*, 47: 2808-2812.

Welsch M. E., Snyder S. A., Stockwell B. R. (2010). Privileged scaffolds for library design and drug discovery. *Curr Opin Chem Biol.*, 14: 347-361.