



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA

**SÍNTESIS Y ESTUDIO ESTRUCTURAL DE LIGANTES
Y ARSENATOS DERIVADOS DE CARBOHIDRATOS**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
LICENCIADO EN QUÍMICA**

PRESENTA

FEDERICO JAVIER GASPAR LÓPEZ

ASESORES:

DRA. ÁNGELA MARGARITA TLAHUEXTL ROMERO

DR. ANTONIO RAFAEL TAPIA BENAVIDES



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
 Licenciatura en Química

M. en A. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO,
DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DE LA U.A.E.H.,
Presente:

Por este medio le comunico que el Jurado asignado al pasante de Licenciatura en Química, **Federico Javier Gaspar López** quien presenta el trabajo de titulación "**Síntesis y estudio estructural de ligantes y arsenatos derivados de carbohidratos**" después de revisar el trabajo en reunión de Sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.


A continuación firman de conformidad los integrantes del Jurado:

- | | |
|-------------------|---|
| PRESIDENTE: | Dra. Yolanda Marmolejo Santillán |
| PRIMER VOCAL: | Dra. Ángela Margarita Tlahuextli Romero |
| SEGUNDO VOCAL: | Dr. Antonio Rafael Tapia Benavides |
| TERCER VOCAL: | Dr. Carlos Andrés Galán Vidal |
| SECRETARIO: | Dr. José Roberto Villagómez Ibarra |
| PRIMER SUPLENTE: | Dra. Noemí Andrade López |
| SEGUNDO SUPLENTE: | Dr. Simplicio González Montiel |



Sin otro particular, reitero a usted la seguridad de mi atenta consideración.

ATENTAMENTE
 "Amor, Orden y Progreso"
 Mineral de la Reforma, Hidalgo a 25 de marzo de 2015.


 Dra. Susana Rojas Lima
 Coordinadora Adjunta de la Lic. en Química.

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
 DE HIDALGO**



**CENTRO DE INVESTIGACIONES
 QUÍMICAS**



Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería,
 Carretera Pachuca - Tulancingo Km. 4.5, Ciudad del Conocimiento,
 Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma,
 Hidalgo, México, C.P. 42184
 Tel. +52 771 7172000 ext. 2218
 quimica.sebs@uah.edu.mx



Este trabajo de Tesis se realizó en el Área Académica de Química de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo bajo la dirección de la Dra. Ángela Margarita Tlahuextl Romero y el Dr. Antonio Rafael Tapia Benavides.

Esta tesis fue soportada económicamente por:

- La beca CONACyT [20978].
- El proyecto: "Síntesis y estudio de la actividad citotóxica de arsoranos" fondo SEP-CONACYT: CB-2011/169010

Parte del trabajo de investigación se presentó en un congreso:

- Espiroarsoranos derivados de amino-azúcares. **F. J. Gaspar-López**, M. Tlahuextl. H. Tlahuextl A.R. Tapia-Benavides. E. Madrigal. 31º Congreso Latinoamericano de Química CLAQ 2014 del 14-17 de Octubre del 2014 en Lima, Perú. Presentación Cartel.

DEDICATORIAS

A mis padres

Lorenza López Álvarez

Federico Gaspar Martínez

A mis hermanos

Juan Manuel, Marlen y Marisol Gaspar López

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Ángela Margarita Tlahuextl Romero y al Dr. Antonio Rafael Tapia Benavides por darme la oportunidad de pertenecer a su equipo de trabajo, por su apoyo y consejos durante mi estancia en el laboratorio 3. Asimismo por sus valiosas contribuciones en la realización de este trabajo.

A mis padres, Lorenza López Álvarez y Federico Gaspar Martínez por la confianza, apoyo y motivación durante todo mi desarrollo estudiantil, profesional y personal, por todo su esfuerzo. A mis hermanos, Juan Manuel, Marlen y Marisol Gaspar López por su cariño y apoyo. Ustedes han sido mi fuente de inspiración. Gracias por todo.

A los miembros del jurado por sus contribuciones y correcciones en este trabajo.

A mis compañeros de laboratorio 3. Conchita, Víctor y Patricio; y amigos de la Licenciatura en Química. Gracias

R E S U M E N

El trabajo de investigación que a continuación se describe consta de dos capítulos:

En el capítulo I se expone la síntesis de dos ligantes carbohidratados 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxi-hexil) bencimidazol y N-(2-aminofenil)-D-glicero-D-gulo-heptonamida. Cabe señalar que la obtención de estos ligantes se realizó por métodos distintos o modificados a lo reportado. La identificación y caracterización estructural se llevó a cabo por técnicas espectroscópicas de RMN e IR. Adicionalmente se anexa el estudio estructural de la N-etilglucamina por RMN de ^1H y ^{13}C .

En el capítulo II se informa de la síntesis y estudio estructural de los arsenatos derivados de los ligantes carbohidrato previamente obtenidos. La RMN de ^1H y ^{13}C de los arsenatos en diferentes disolventes sugirió equilibrios dinámicos entre isómeros estructurales. De esta manera se finaliza proponiendo especies pentacoordinadas y tetracoordinadas para los compuestos de arsénico.

LISTA DE ABREVIATURAS

IR	Infrarrojo
RMN ¹H	Resonancia Magnética Nuclear de ¹ H
RMN ¹³C	Resonancia Magnética Nuclear de ¹³ C
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
ppm	Partes por millón
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
D₂O	Óxido de deuterio
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d₆	Dimetilsulfóxido deuterado
MeOD	Metanol deuterado
Ar	Aromático
CMV	Citomegalovirus
VIH	Virus de inmunodeficiencia humana
FAB	Bombardeo de átomos rápidos
ESI	Ionización con electrospray
MALDI	Desorción/ionización por asistencia de matriz
ml	Mililitros
g	Gramos
M	Molaridad
δ	Desplazamiento químico
BPT	Bipirámide triangular
PC	Pirámide de base cuadrada
HPLC	High performance liquid chromatography
cm	Centímetros
°C	Grados centígrados
P. F.	Punto de fusión
t.a.	Temperatura ambiente

CONTENIDO

CAPÍTULO 1: SÍNTESIS DE LIGANTES DERIVADOS DE CARBOHIDRATOS	11
1. INTRODUCCIÓN	12
2. ANTECEDENTES	13
2.1 Síntesis de los ligantes 1-3	13
2.1.1 Síntesis de la N-etilglucamina	13
2.1.2 Síntesis de aldonamidas	14
2.1.3 Síntesis del 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxiilhexil) bencimidazol	17
2.2 Importancia biológica e industrial de los ligantes polihidroxiaminas	18
2.3 Aplicaciones	20
2.4 Estudio estructural de carbohidratos	22
3. OBJETIVO GENERAL	24
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
4.1 Síntesis de los ligantes N-etilglucamina 1, N-(2-aminofenil)-D-glicero-D-gulo-heptonamida 2 y 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxiilhexil) bencimidazol 3	25
4.1.1 N-etilglucamina 1	25
4.1.2 N-(2-aminofenil)-D-glicero-D-gulo-heptonamida 2	25
4.1.3 Efecto de la temperatura en la amida 2	31
4.1.4 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxiilhexil) bencimidazol 3	32
4.2 Mecanismo de reacción propuesto para la formación de la amida 2 y el bencimidazol 3	33
4.3 Estudios de RMN de ¹H y ¹³C de los ligantes 1, 2 y 3	35
4.4 Espectros de IR de los ligantes 1-3	40
4.4.1 IR de la amida 2 y del bencimidazol 3	41
5. CONCLUSIONES	44
6. PARTE EXPERIMENTAL	45

Síntesis del 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxi-hexil) bencimidazol 3	45
Síntesis de la N-(2-Aminofenil)-D-glicero-D-gulo-heptonamida 2	46
7. REFERENCIAS	47
CAPÍTULO 2: SÍNTESIS Y ESTUDIO ESTRUCTURAL DE ARSENATOS	49
1. INTRODUCCIÓN	50
2. ANTECEDENTES	51
2.1 El arsénico en la industria	52
2.2 El arsénico en la medicina	53
2.3 Similitud de los elementos del grupo 15	54
2.4 El arsénico y el ácido desoxirribonucleico	55
2.5 Estudio estructural y dinámico de los compuestos de arsénico	56
2.5.1 Número de coordinación y geometría	56
2.5.2 Ecuatofilia y apicofilia	57
2.5.3 Comportamiento dinámico	57
2.6 Síntesis de espiroarsoranos	59
2.7 Arsénico y los carbohidratos	60
2.8 Análisis estructural	61
3 OBJETIVOS	63
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	64
4.1 Síntesis de heterociclos derivados de arsénico	64
4.1.1 Arsenatos derivado del bencimidazol 3	66
4.1.2 Arsenato derivado de la amida 2	70
4.1.3 Arsenatos derivados de la N-etilglucamina 1	70
4.2 Espectroscopia de IR	74
4.2.1 IR del arsenato derivado del 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxi-hexil) bencimidazol 3	74
4.2.2 IR de arsenato derivados de la N-etilglucamina 1	76

4.3	Espectroscopia de RMN ¹³C y ¹H	76
4.3.1	RMN del arsenato 3a-3b derivado del D-glicero-D-gulo-hexahidroxi-hexil) bencimidazol 3	76
4.3.2	RMN de la reacción de la amida 2 con AsCl ₃	80
4.3.3	RMN de los heterociclos de arsénico 1a-1d derivados de N-etilglucamina 1	81
5	CONCLUSIONES	84
6	PARTE EXPERIMENTAL	85
	Secado de material y disolventes	85
	Heterociclos de N-etilglucamina 1	85
	Heterociclos derivados del 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxi-hexil) bencimidazol 3	87
7	REFERENCIAS	89

CAPÍTULO 1: SÍNTESIS DE LIGANTES DERIVADOS DE CARBOHIDRATOS

1. INTRODUCCIÓN

Las aminas y los carbohidratos son compuestos químicos de vital importancia en la naturaleza. Es tal su relevancia que la información publicada sobre estas sustancias es considerable y la cantidad de moléculas que contienen estos grupos funcionales es abundante.

Sin embargo, existen algunos derivados de carbohidratos relativamente nuevos como son las alquilglucaminas y las aldonaminas. La estructura molecular que presentan este tipo de compuestos es diversa e importante porque generalmente estas sustancias se utilizan como surfactantes o compuestos con actividad biológica relevante.

A pesar de la importancia industrial que tienen estos compuestos, los estudios espectroscópicos en donde se establezca de manera inequívoca el comportamiento estructural de los carbohidratos **1-3** (figura 1.1) son escasos. Por lo tanto, en el presente capítulo fue necesario realizar la asignación correcta por Resonancia Magnética Nuclear de ^{13}C de los tres compuestos de carbohidrato que se utilizaron para sintetizar los arsenatos **1a-1d** y **3a-3b** (ver capítulo 2). Además, se buscó un método alternativo para llevar a cabo la síntesis de los ligantes **1** y **2** debido a que los métodos reportados en la literatura son poco eficientes y producen rendimientos bajos de reacción.^{1, 2}

2. ANTECEDENTES

2.1 Síntesis de los ligantes 1-3

Existe una gran variedad de ligantes derivados de carbohidratos. Asimismo, se ha reportado una gran cantidad de métodos y técnicas para las síntesis de ligantes obtenidos a partir de glucosa. En este tenor, a continuación se citan algunos métodos de síntesis posibles para los ligantes que se presentan en este trabajo: *N*-etilglucamina **1**, *N*-(2-aminofenil)-D-glicero-D-gulo-heptonamida **2** y 2-(D-glicero-D-gulo-Hexahidroxilhexil) bencimidazol **3**. Estos ligantes poseen una estructura similar (Figura 1.1).

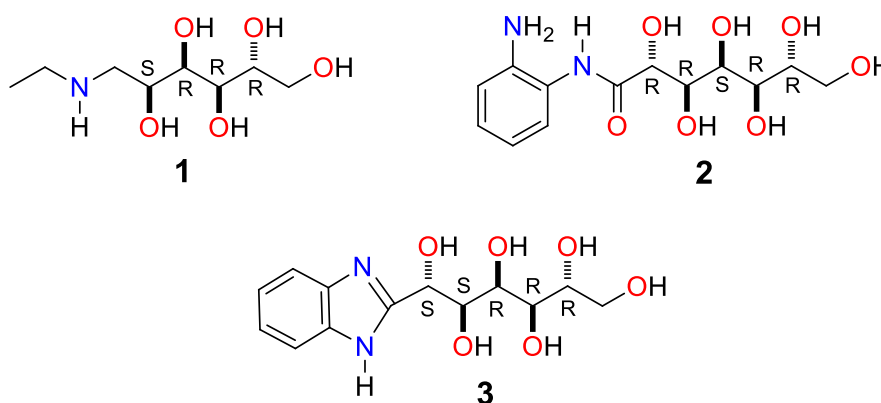
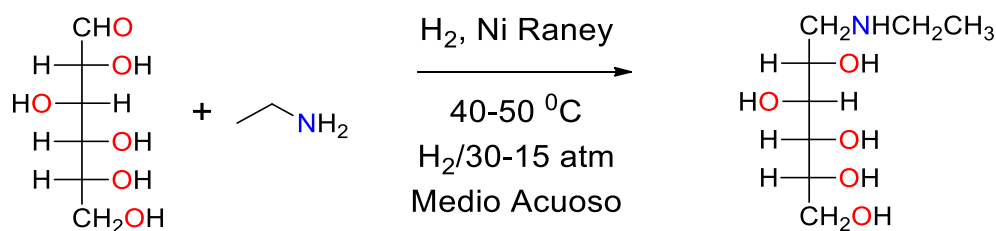


Figura 1.1 Estructuras de los ligantes 1,2,3.

2.1.1 Síntesis de la *N*-etilglucamina

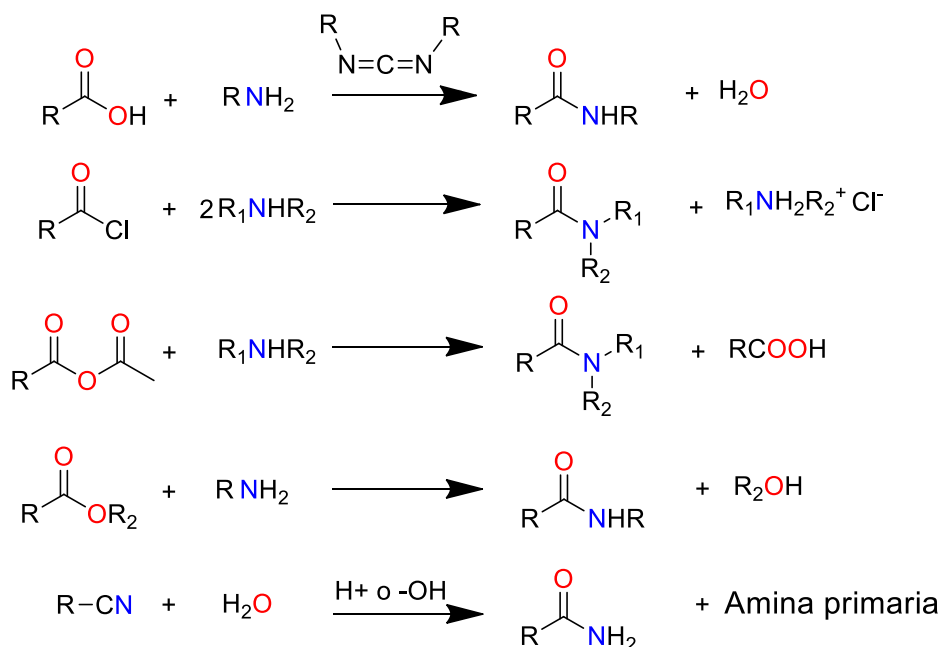
Generalmente, la *N*-etilglucamina se sintetiza a partir de la reacción entre una alquilamina y un azúcar reductor, seguida de una hidrogenación catalítica.³ En esta reacción el nitrógeno de la amina actúa como nucleófilo atacando al grupo aldehído del azúcar, obteniéndose una amida, la cual es reducida por hidrogenación catalítica de Níquel/Raney (Esquema 1.1).



Esquema 1.1 Síntesis de la *N*-etilglucamina

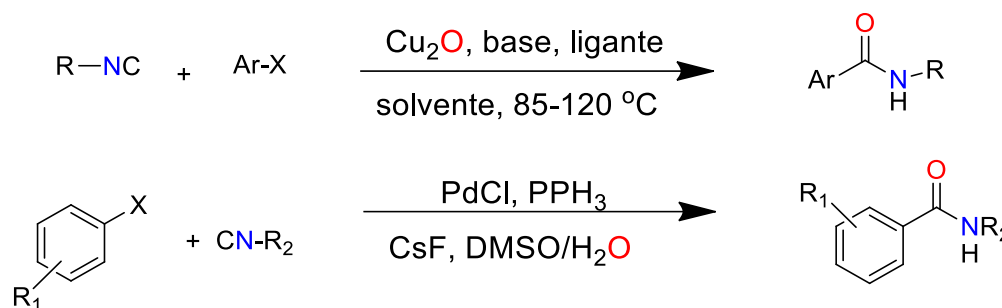
2.1.2 Síntesis de aldonamidas

Estos compuestos se obtienen de la reacción entre amidas y ácidos aldónicos (ácidos que se obtiene al hidrolizar las aldonolactonas).⁴ La mayor parte de los métodos para sintetizar amidas se basa en la reacción entre una amina y un derivado de ácido carboxílico activado. Estos métodos a menudo requieren el uso de carbodiimidas junto con ácidos carboxílicos o de la síntesis previa de cloruros de ácido o derivados anhídridos (Esquema1.2).⁵



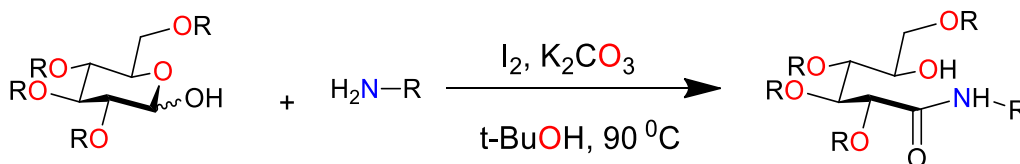
Esquema 1.2 Métodos convencionales para la síntesis de amidas

Por otro lado, existe una gran diversidad de métodos nuevos para la síntesis de amidas, en los cuales se utilizan metales como catalizadores. Entre los métodos más usados recientemente se incluyen las reacciones de acoplamiento cruzado entre halogenuros de arilo e isocianuros catalizadas con PdCl₂O/Cu₂O y que son utilizadas para la síntesis de benzamidas.^{6,7} Generalmente los rendimientos en estas reacciones son buenos (Esquema 1.3).



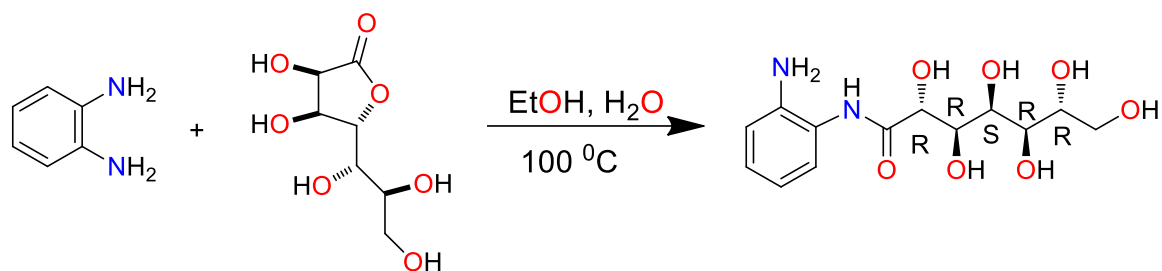
Esquema 1.3 Síntesis de amidas catalizadas por metales

Otro método que recientemente se ha propuesto es la amidación oxidativa de aldosas. Este proceso tiene la ventaja de reducir la cantidad de pasos a seguir, destacándolo como una ruta rápida y económica.⁸ La formación de la amida se lleva a cabo por la reacción de una aldosa y una amina. La presencia del yodo y K₂CO₃ promueve la oxidación del grupo hidroxilo y es seguida de un ataque nucleofílico por parte de la amina. Esto conlleva a la apertura de la aldosa. Los rendimientos reportados por este método son de 41-74 % y los resultados obtenidos por este método son semejantes a los anteriormente descritos. Sin embargo, la utilización de reactivos baratos y poco contaminantes han favorecido su uso (Esquema 1.4).



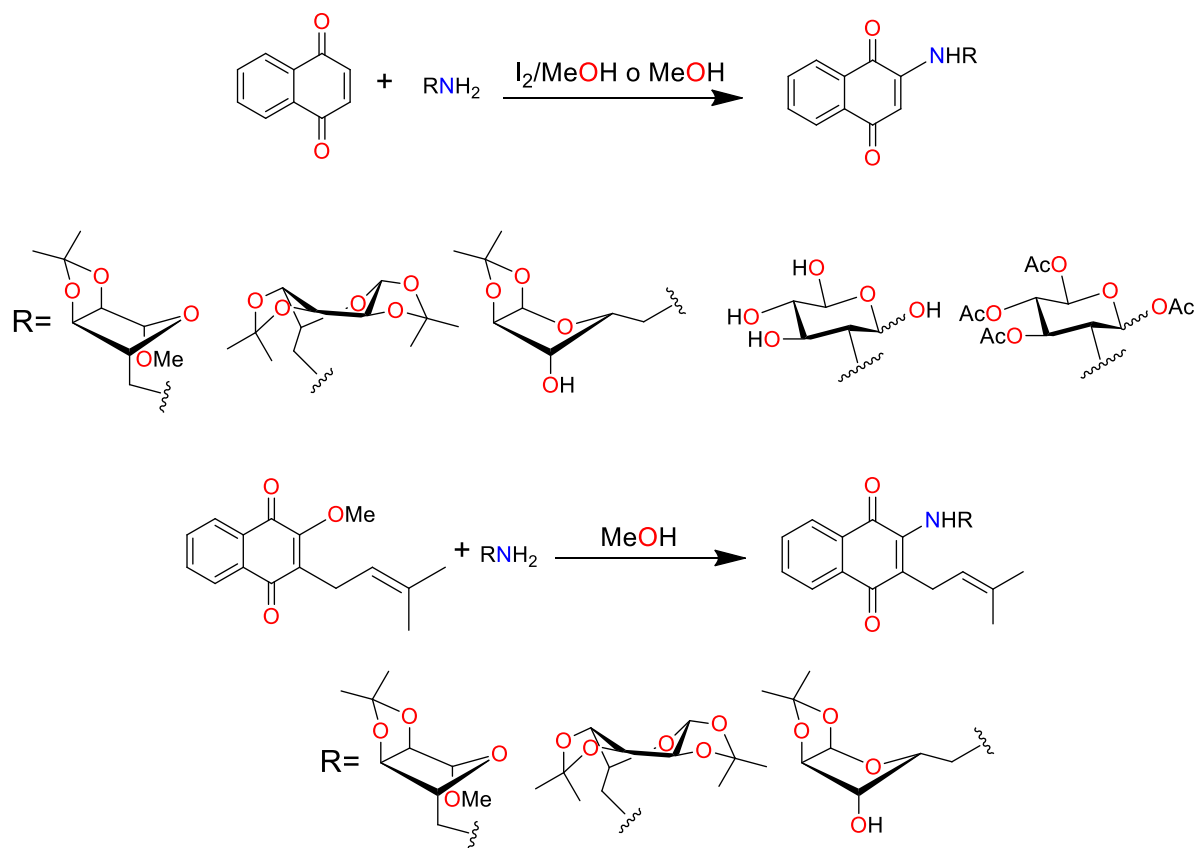
Esquema 1.4 Amidación oxidativa

En la literatura se reportó que la reacción nucleofílica entre la 2-fenilendiamina y la D-glicero-D-gulo-heptono-1,4-lactona ocurre a 100° C en un medio de reacción constituido en su mayor parte por etanol y unas cuantas gotas de agua produce la N-(2-aminofenil)-D-glicero-D-gulo-heptonamina (Esquema 1.5).¹



Esquema 1.5 Síntesis de la *N*-(2-aminofenil)-D-glicero-D-gulo-heptonamida

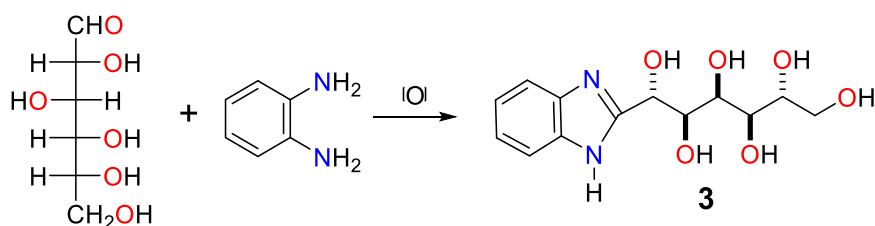
Otra forma de promover reacciones químicas es mediante el empleo de ondas sonoras. Así, la sonoquímica puede ser útil en la síntesis de derivados de amida.⁹ De acuerdo a lo reportado por Caroline y colaboradores, este método puede ser utilizado para la generación de un enlace C-N entre derivados de quinonas y una amina sustituida por un carbohidrato, obteniendo rendimientos entre 20-80 % (Esquema 1.6).



Esquema 1.6 Síntesis de derivados de aminas con grupos carbohidrato

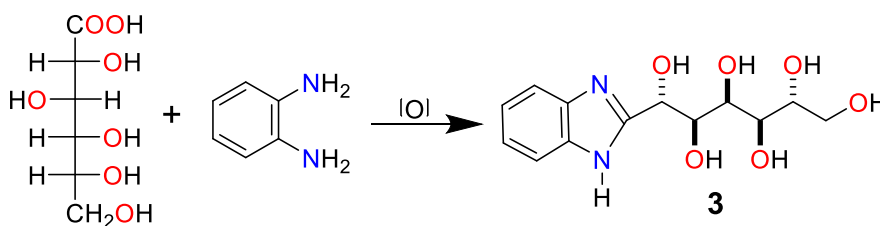
2.1.3 Síntesis del 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxilhexil) bencimidazol

El método de síntesis para el 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxilhexil) bencimidazol fue propuesto por primera vez por Griess y Harrow a partir de la reacción de la glucosa con la 2-fenilendiamina bajo condiciones oxidativas. Sin embargo, este método produce rendimientos bajos (Esquema 1.7).¹⁰



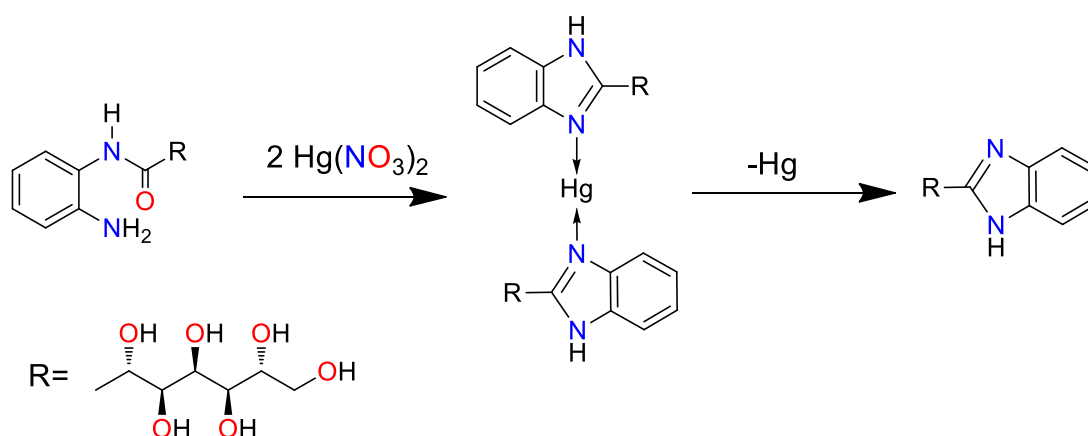
Esquema 1.7 Síntesis de Griess y Harrow

Posteriormente, se descubrió que se podía lograr un rendimiento mayor si se hacía reaccionar la 2-fenilendiamina con el ácido D-glucónico y manteniendo un agente oxidante en la reacción (Esquema 1.8).²



Esquema 1.8 Síntesis de Griess y Harro a partir de ácido D-glucónico

Recientemente, se reportó que al coordinar la amida N-(2-aminofenil)-D-glicero-D-gulo-heptonamida con mercurio se podía ciclar la amida, obteniendo el derivado de bencimidazol (Esquema 1.9).¹¹



Esquema 1.9 Obtención de la 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxi-hexil) bencimidazol por complejación con mercurio

2.2 Importancia biológica e industrial de los ligantes polihidroxi-aminas

Las aminas son grupos con gran importancia biológica, debido a las funciones que tienen en los seres vivos, tales como la bioregulación, neurotransmisión y en algunos casos permiten la defensa contra depredadores¹² (Figura 1.2). Por otro lado, los carbohidratos son los compuestos orgánicos más abundantes en la tierra y son fuente de energía para la mayoría de los seres vivos.¹² Por lo tanto, la síntesis de los compuestos que contienen ambos grupos funcionales (amina y carbohidrato), conocidos como alquilpolihidroxi-aminas, es importante para la determinación de sus propiedades con fines industriales.

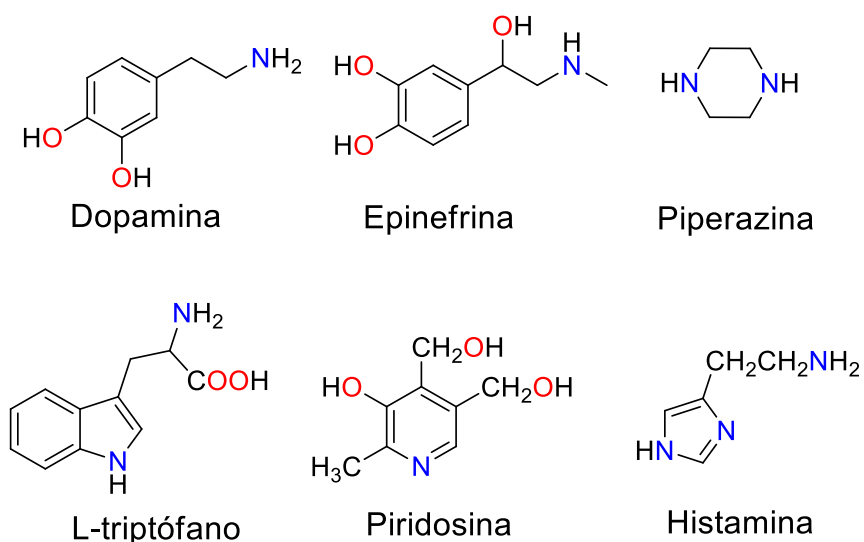


Figura 1.2 Aminas con actividad biológica importante

Por otro lado, desde el punto de vista industrial las aldonamidas son compuestos importantes y con grandes aplicaciones. En especial las alquilglucaminas son muy utilizadas en la industria de surfactantes y detergentes.

De la misma manera, la síntesis de nuevos bencimidazoles ha tenido grandes repercusiones en la industria farmacéutica. En 1961 se descubrió el tiabendazol y su actividad biológica contra parásitos. Sin embargo, por su toxicidad fue sustituido por otros derivados de bencimidazol igual de eficaces pero menos tóxicos, como el mebendazol y albendazol por mencionar algunos¹³ (Figura 1.3). Además, los bencimidazoles comparten similitudes con los heterociclos conocidos como purinas, que junto con las pirimidinas, determinan la estructura y funcionalidad del ácido desoxirribonucleico y el ácido ribonucleico.

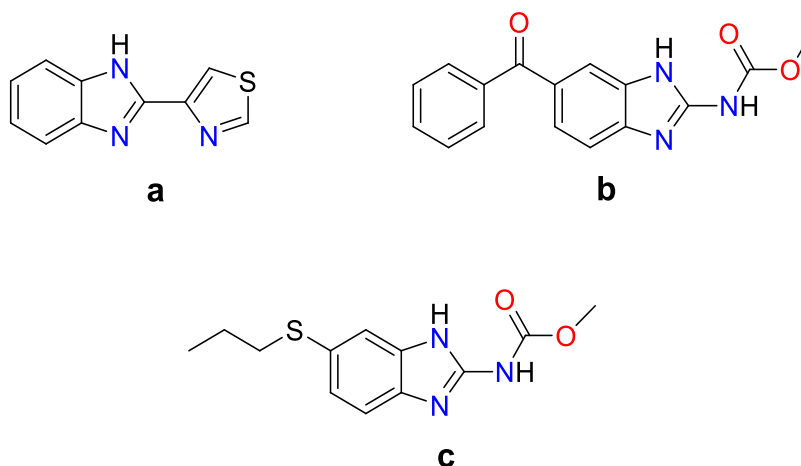


Figura 1.3 Derivados de bencimidazol; a) tiabendazol, b) mebendazol y c) albendazol

2.3 Aplicaciones

Las alquilglucaminas pueden ser utilizadas como materia prima para la síntesis de compuestos con mayor interés industrial. Por ejemplo, una alquilglucamina se puede hacer reaccionar con ésteres grasos¹⁴ o cloruro de alquilarilsulfonilo¹⁵ para la obtención de agentes surfactantes que posteriormente podrán formar parte de un detergente (Figura 1.4).

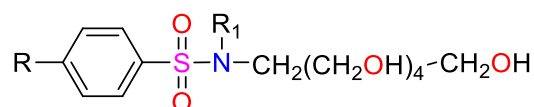
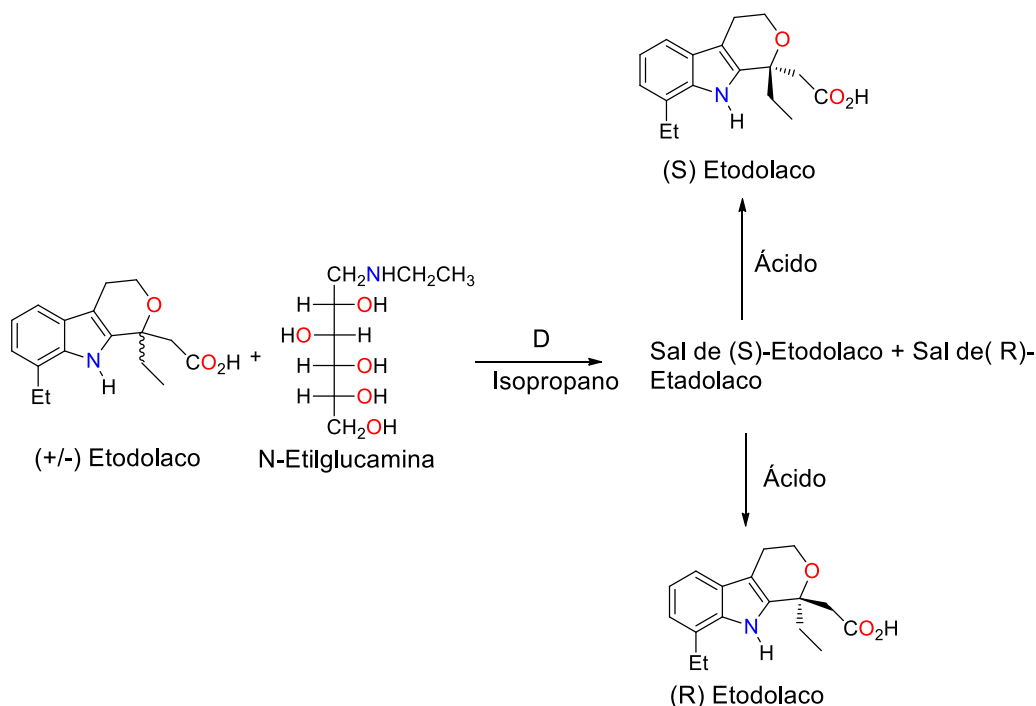


Figura 1.4 Agentes surfactante donde R es una cadena de 6 a 20 carbonos y R₁ una cadena más pequeña con metilo, etilo y propilo

Las alquilglucaminas como la N-etilglucamina también pueden ser utilizadas en la resolución de medicamentos importantes como es el caso del etodolaco (Esquema 1.10).¹⁵ Además, la presencia de átomos con pares de electrones libres como son nitrógeno y oxígeno sugieren que estos compuestos pueden ser utilizados en reacciones de coordinación. Este campo ha sido poco estudiado y es un campo fértil en la investigación.



Esquema 1.10 Resolución óptica del etodolaco

Respecto a las aldonamidas, estos compuestos han tenido utilidad como sustitutos de azúcar¹⁶, aditivos¹⁷ y materias primas en preparación de polímeros.¹⁸ Sin embargo, el uso más importante e innovador que se le ha encontrado es su utilización como surfactantes y agentes espumantes.¹⁹ Actualmente, se ha renovado el interés por este tipo de surfactantes, tratando de sintetizar nuevos compuestos que sean biodegradables en el medio ambiente. Una de las propuestas más recientes son los surfactantes con estructura gemini (estructuras simétricas con una parte hidrófoba y una hidrofílica unidos por un grupo flexible o rígido, Figura 1.5).²⁰

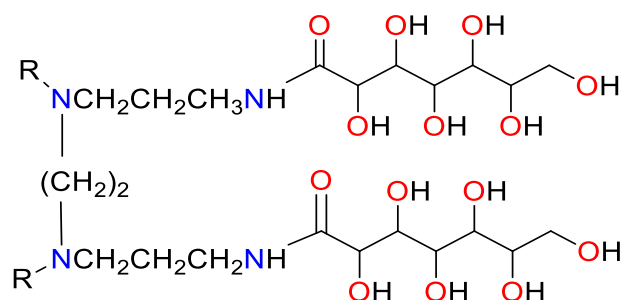


Figura 1.5 Surfactante con estructura gemini, donde R es una cadena carbohidratada de 8-12 carbonos

Por otro lado, existen compuestos carbohidratados que contiene dentro de su estructura al bencimidazol. Un compuesto que ha resaltado en los últimos años por su prometedora actividad biológica es Maribavir, que ha mostrado tener un efecto en contra del virus citomegalovirus (CMV).²¹ Este compuesto se destaca por tener un efecto más potente contra el CMV que otros medicamentos antivirales como el Ganciclovir, Cidofovir, Lobucavir y Foscarnet.²² Sin embargo, las posibles aplicaciones de este medicamento no siguen claras y las investigaciones siguen para determinar su uso contra el CMV inducido por virus de inmunodeficiencia humana (VIH) o el postrasplante de órganos (Figura 1.6).

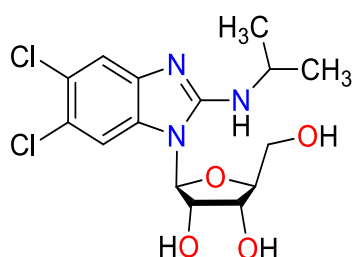


Figura 1.6 Estructura del Maribavir

2.4 Estudio estructural de carbohidratos

Aunque la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) es afectada por las propiedades físicas (viscosidad) de los polisacáridos, ésta ha sido una herramienta muy útil para la determinación estructural de los monosacáridos. Los desplazamientos químicos que se observan para los grupos metínicos (C-H) unidos a oxígenos se han reportado entre 3-4 ppm para RMN de ^1H y 60-80 ppm para RMN de ^{13}C .²³ Por otro lado, para los carbohidratos con sustituyentes voluminosos como son las aldonaminas, los estudios en RMN de ^1H y ^{13}C muestra poco efecto en los desplazamientos químicos causado por estos sustituyentes (Figura 1.7).⁷

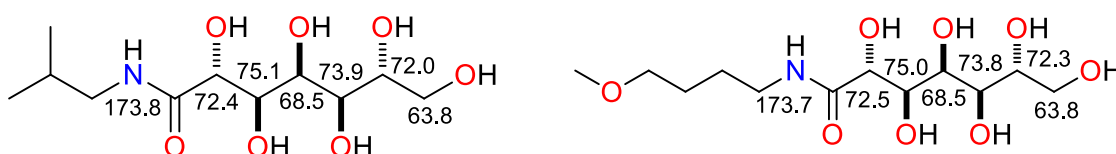


Figura 1.7 Aldonaminas con distintos sustituyentes y similares desplazamientos químico en RMN de ^{13}C

Una herramienta utilizada ampliamente para el análisis estructural de moléculas con pesos moleculares altos (como los carbohidratos y proteínas) es la espectrometría de masas. En la actualidad existen tablas con espectros estándar. Generalmente la disociación-colisión inducida de las moléculas se lleva a cabo por la presencia de un gas inerte como argón o helio. Sin embargo, en la literatura se reporta sólo tres métodos convenientes para la ionización de las moléculas carbohidratadas; bombardeo de átomos rápidos (FAB), ionización con electrospray (ESI) y desorción/ionización por asistencia de matriz (MALDI).²⁴

La difracción de rayos X es otra de las técnicas recurrentes en el estudio estructural de los carbohidratos y sus derivados. En la literatura se encuentran reportados una gran cantidad de estudios de azúcares libres y derivados de azúcares con grupos éster y anhídrido, al igual que derivados de azúcares con fósforo, halógenos y nitrógeno.²⁵ Sin embargo, la información que se encuentra respecto a las aldonaminas y a las alquilglucaminas es limitada. Algunos estudios por difracción de rayos X reportan que la cristalización de las aldonaminas se ve afectada por el volumen de los grupos sustituyentes causando que los arreglos supramoleculares sean distintos.¹²

Las espectroscopias de IR y Raman son técnicas complementarias. Sin embargo, Raman es frecuentemente usado para el estudio de los efectos del pH en los oligosacáridos y monosacáridos.²⁶ Sin embargo, tanto las espectroscopias de IR y Raman han sido utilizadas para el estudio de las interacciones de hidrógeno que presentan este tipo de estructuras.²⁷

Considerando lo anterior, los carbohidratos son compuestos importantes que ameritan ser usados en la síntesis de nuevos heterociclos que incluyan otros elementos de la tabla periódica.

3. OBJETIVO GENERAL

Sintetizar los carbohidratos N-(2-aminofenil)-D-glicero-D-gulo-heptanamida **2** y de 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroclhaxil) bencimidazol **3** con la finalidad de establecer sus estructuras moleculares mediante el uso de la RMN de ^1H y ^{13}C .

Los ligantes **2-3** serán utilizados para la síntesis de los heterociclos de arsénico que se reportan en el capítulo 2.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Síntesis de los ligantes N-etilglucamina 1, N-(2-aminofenil)-D-glicero-D-gulo-heptonamida 2 y 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxi-hexil) bencimidazol 3

4.1.1 N-etilglucamina 1

La N-etilglucamina 1 fue adquirida comercialmente. Sin embargo, los datos de IR y RMN fueron obtenidos y comparados con los ligantes sintetizados 2 y 3.

4.1.2 N-(2-aminofenil)-D-glicero-D-gulo-heptonamida 2

Para la síntesis de 2 se utilizaron como reactivos a la 1,2-fenilendiamina y la D-glicero-D-gulo-heptono-1,4-lactona 4. Sin embargo, fue necesario buscar el método de síntesis que nos permitiera obtener un mejor rendimiento. En la tabla 1.1 se muestran los métodos de síntesis estudiados para obtener al ligante 2.

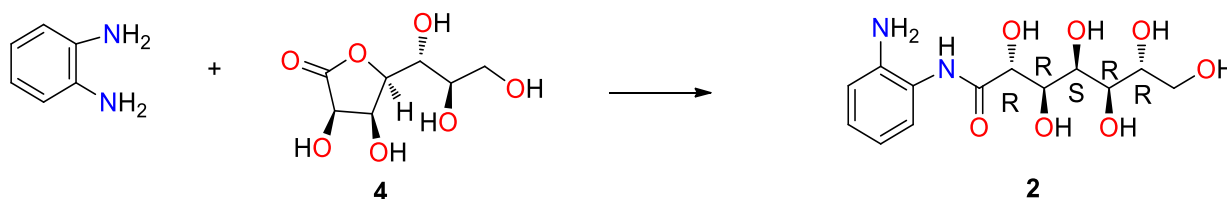


Figura 1.8 Síntesis de la amida 2

Tabla 1.1 Métodos empleados para la síntesis de la amida **2**

Método	Condiciones	Producto
1	Disolvente: agua/etanol 3:1 Reflujo 24 horas	Mezcla de compuestos
2	Disolvente: metanol/gotas de agua Reflujo 24 horas	Mezcla de compuestos
3	a) Mecanosíntesis Disolvente: etanol 1 hora 15 minutos b) Mecanosíntesis Sin disolvente 75 minutos	Materias primas
4	Sonoquímica Disolvente: agua 90 Minutos Potencia: 90%	N-(2-Aminofenil)-D-glicero-D-gulo-heptonamida

El primer método utilizado fue similar al reportado por Metta *et. Al.* ⁷ La 1,2-fenilendiamina y la D-glicero-D-gulo-hetano-1,4-lactona **4** reaccionaron a reflujo durante 24 horas en una mezcla de etanol y agua (3:1). Los espectros de RMN ¹H mostraron que el ligante **2** (Figura 1.9) no se obtuvo de manera pura. Junto a la amida se formó el derivado de bencimidazol **3**. Se intentó la separación de dichos compuestos por precipitación de la amida utilizando acetona, pero no se tuvo éxito.

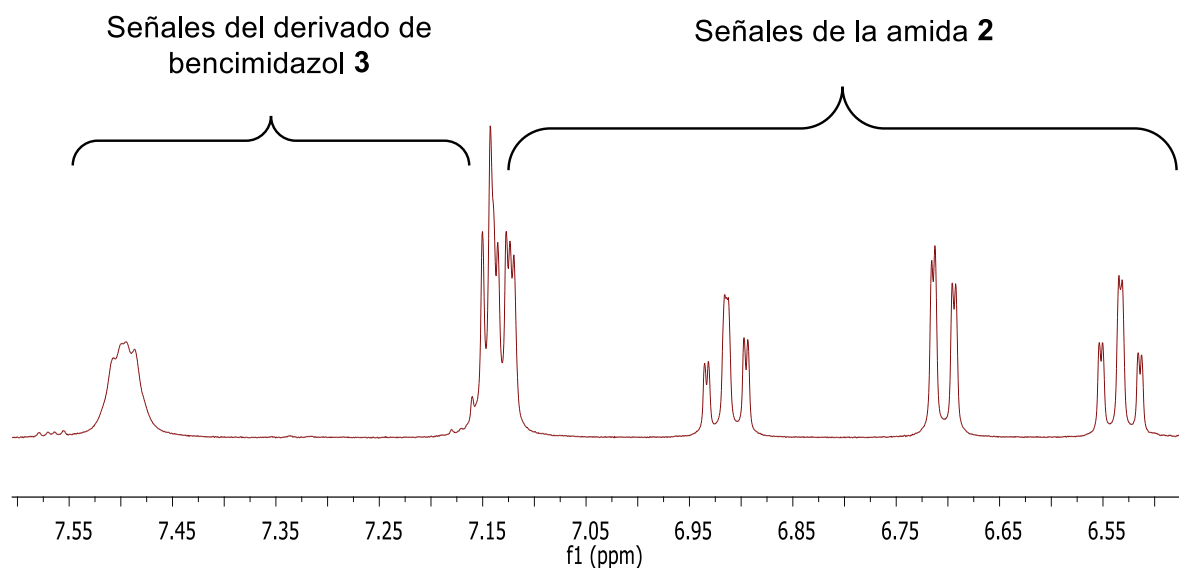


Figura 1.9 Espectro de RMN ^1H en DMSO- d_6 que muestra la presencia de los compuestos **2** y **3** obtenidos por el método 1

Debido a este resultado se optó por cambiar el medio de reacción. Se utilizó metanol-agua como medio de reacción, con la finalidad de disminuir la temperatura de reflujo de la reacción, y evitar que el grupo amida se transformara al derivado de bencimidazol **3**. Sin embargo, los espectros de RMN mostraron sólo las señales de las materias primas.

De acuerdo a la experiencia obtenida, el control de la temperatura en esta reacción debe de ser precisa. Así se decidió utilizar mecano-síntesis como un método que no emplea al calor como fuente de energía. Generalmente, la mecano-síntesis se utiliza para la producción de arcillas y en el cual se aprovecha la energía cinética producida por el movimiento de esferas de metal contenidas en un cilindro. De esta manera, los dos reactivos sólidos, la 1,2-fenilendiamina y la D-glicero-D-gulo-heptano-1,4-lactona **4**, fueron sometidos a este método para obtener el ligante **2**. Se realizaron dos pruebas: una sin disolvente y otra con etanol como disolvente. Sin embargo, la RMN de ^1H de los sólidos resultantes mostró sólo señales para las materias primas (Figura 1.10).

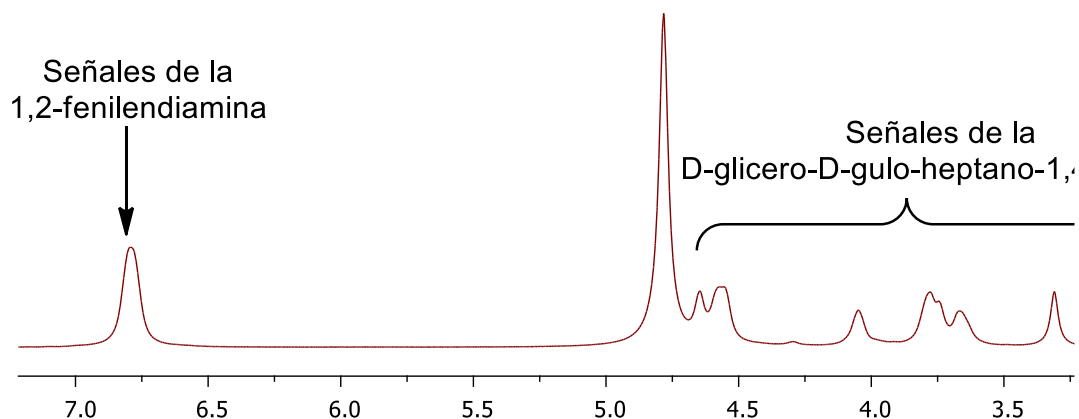


Figura 1.10 Espectro de RMN ^1H en D_2O que muestra la mezcla de materias primas obtenida por mecanosíntesis

Por otra parte, la sonoquímica es un método innovador que ha aumentado rendimientos de reacciones o ha permitido llevar a cabo reacciones que por vías convencionales no habían sido posibles. La energía que se utiliza es la producida por la implosión de burbujas creadas por el sonido. De acuerdo a este argumento, se decidió utilizar agua como disolvente y cantidades equimolares de los reactivos. El tiempo inicial de la reacción propuesto fue de 90 minutos. Posteriormente, la remoción del agua se realizó con aire, seguido de la precipitación de la amida con acetona. Un espectro de RMN ^1H del producto mostró señales características del compuesto deseado entre 6.5-7 ppm (Figura 1.11d).

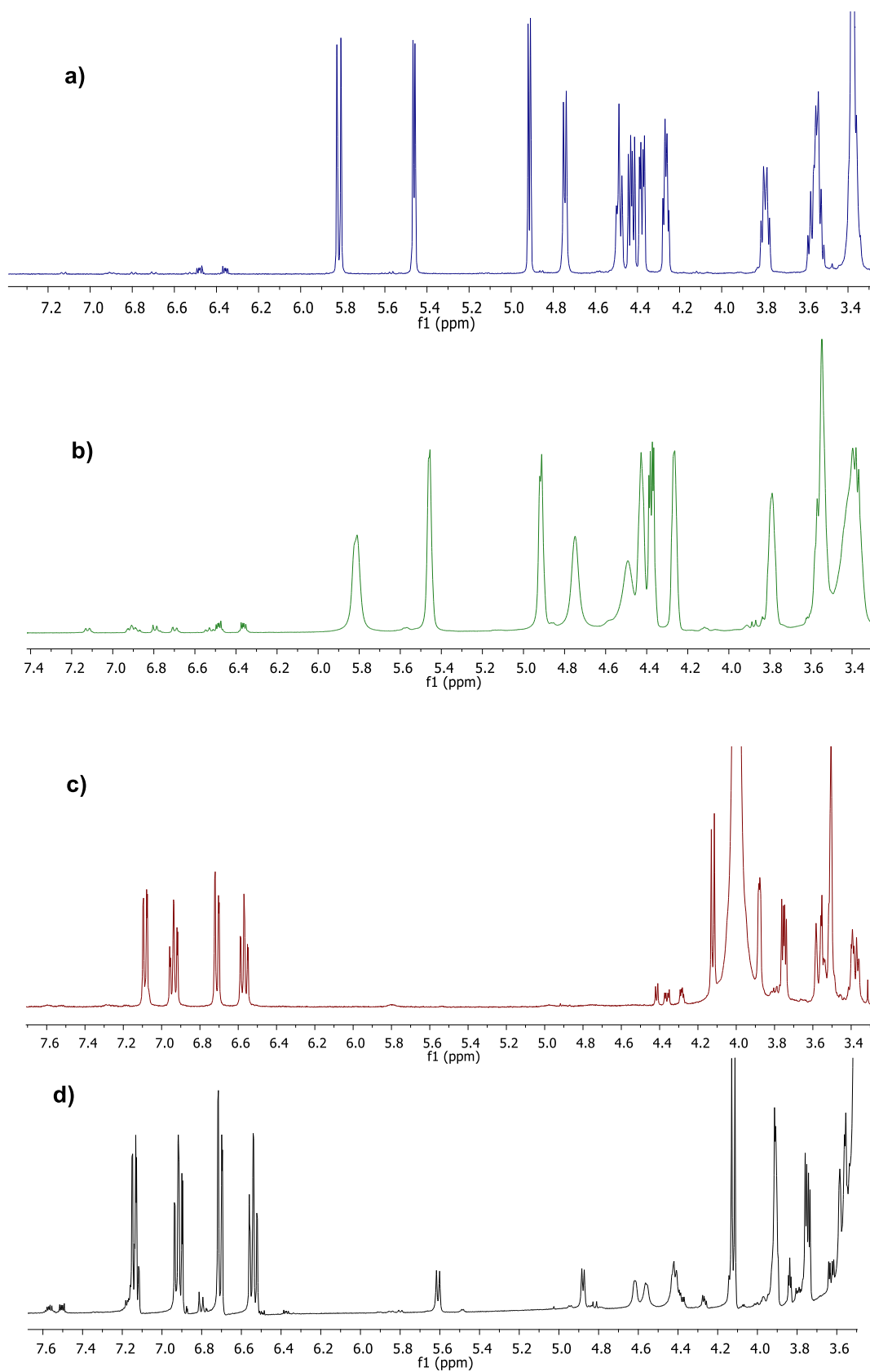


Figura 1.11 Espectro de RMN ¹H en DMSO que muestra el cambio de la amida **2** conforme ocurre la reacción a) 10, b) 30, c) 60 y d) 90 minutos

Con la finalidad de optimizar el método de síntesis, reducir costos energéticos y agilizar el proceso de obtención, se realizó el seguimiento de una reacción tomando alícuotas a diferentes tiempos (10, 30, y 60 minutos). La RMN de ^1H (Figura 1.11) mostró que el tiempo mínimo para que ocurra la reacción es de una hora. De esta manera se hizo una reacción en la cual se aumentó la cantidad de muestra y un tiempo de 60 minutos. Nuevamente la amida **2** se formó casi cuantitativamente. Sin embargo, cuando se aumenta la concentración de la reacción esta no se lleva a cabo, lo que nos lleva a establecer que la reacción es dependiente de la concentración de los reactivos y del tiempo. Por lo tanto, es importante mencionar que la sonoquímica funciona con muestras diluidas.

La Tabla 1.2 muestra las concentraciones de δ -lactona **4** utilizadas en las reacciones con sonoquímica.

Tabla 1.2 Concentraciones empleadas de la δ -lactona **4**

Reacción	Masa g	Volumen mL	Relación g/mL	Potencia/Tiempo %/min
1	0.096	3.0	0.032	70-90/75
2	1.900	50.0	0.038	90/60
3	2.000	50.0	0.040	90/60
4	0.800	15.0	0.053	90/60

No obstante haber logrado sintetizar la amida, quedaba por responder la siguiente pregunta: ¿Por qué se produce el bencimidazol cuando la reacción se lleva a cabo mediante un proceso térmico?

4.1.3 Efecto de la temperatura en la amida 2

De acuerdo a lo observado en el método 1 (reacción a reflujo), se deduce que el calor promueve la ciclación de la amida. Para corroborar este resultado, se calentó la muestra (de la amida disuelta en DMSO- d_6) en un baño de aceite y se le dio seguimiento a temperaturas diferentes. Antes de 140° C el espectro de RMN de 1H no presenta cambios significativos y después de ésta temperatura el espectro presenta señales en la zona de hidrógenos aromáticos (7.4-7.5 ppm) correspondiente al 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxi-hexil) bencimidazol **3** (figura 1.12). Adicionalmente se hizo una reacción que se mantuvo a reflujo en etanol por dos días, el espectro de protón mostró señales para los reactivo y una pequeña proporción de una mezcla de trazas de bencimidazol **3** y una cantidad pequeña de otro producto que no correspondía a la amida. Con base en los resultados se deduce que la ciclación de una amida en disolvente polares apróticos ocurre a temperaturas mayores a 100° C, pero si se combina el agua con etanol la formación del bencimidazol se favorece (80° C) y por lo tanto, la mezcla azeotrópica de los disolvente polares próticos evitan que la formación de la amida **2**.

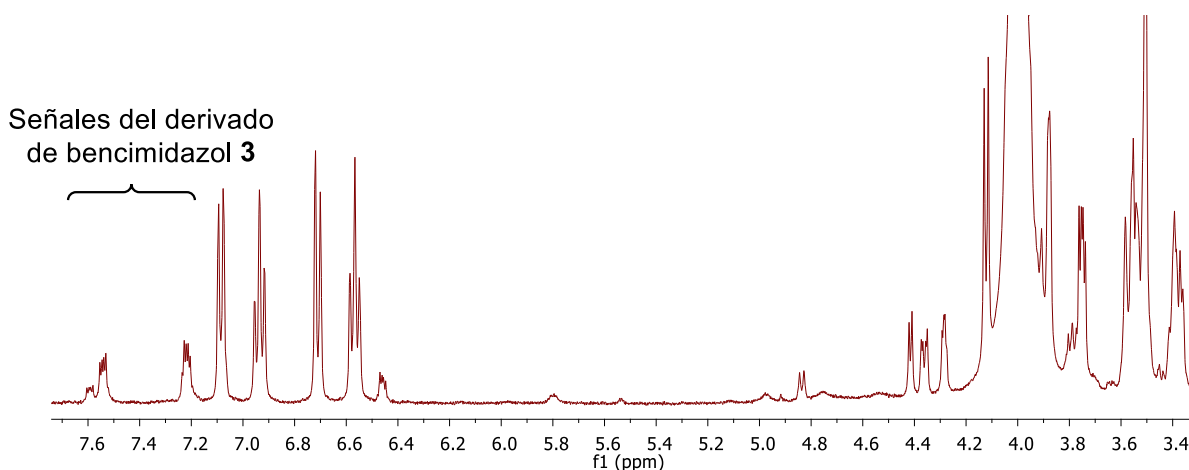


Figura 1.12 Espectro de RMN 1H en DMSO tomado a 140 °C

4.1.4 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxi-hexil) bencimidazol **3**

Para la síntesis del 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxi-hexil) bencimidazol **3** se siguió un método similar al utilizado por Griess y Harrow utilizando 1,2-fenilendiamina y la D-glicero-D-gulo-heptano-1,4-lactona en etanol. El método difiere en el uso de carbohidratos en su forma ácida o abierta utilizados originalmente por Griess y Harrow, ya que en nuestro caso se empleó el uso de lactonas. Cabe mencionar que la reacción de formación del compuesto comienza al segundo día con la formación de un precipitado blanco.

El espectro de RMN de ^1H (Figura 1.13) mostró dos dobles de dobles en la zona de hidrógenos aromáticos alrededor de 7.4-7.6 ppm característicos del bencimidazol y en la RMN de ^{13}C se observa una señal a 156.4 ppm que corresponden a un carbono con hibridación sp^2 unido a nitrógeno. Estas señales nos aseguran que el compuesto 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxi-hexil) bencimidazol **3** fue obtenido.

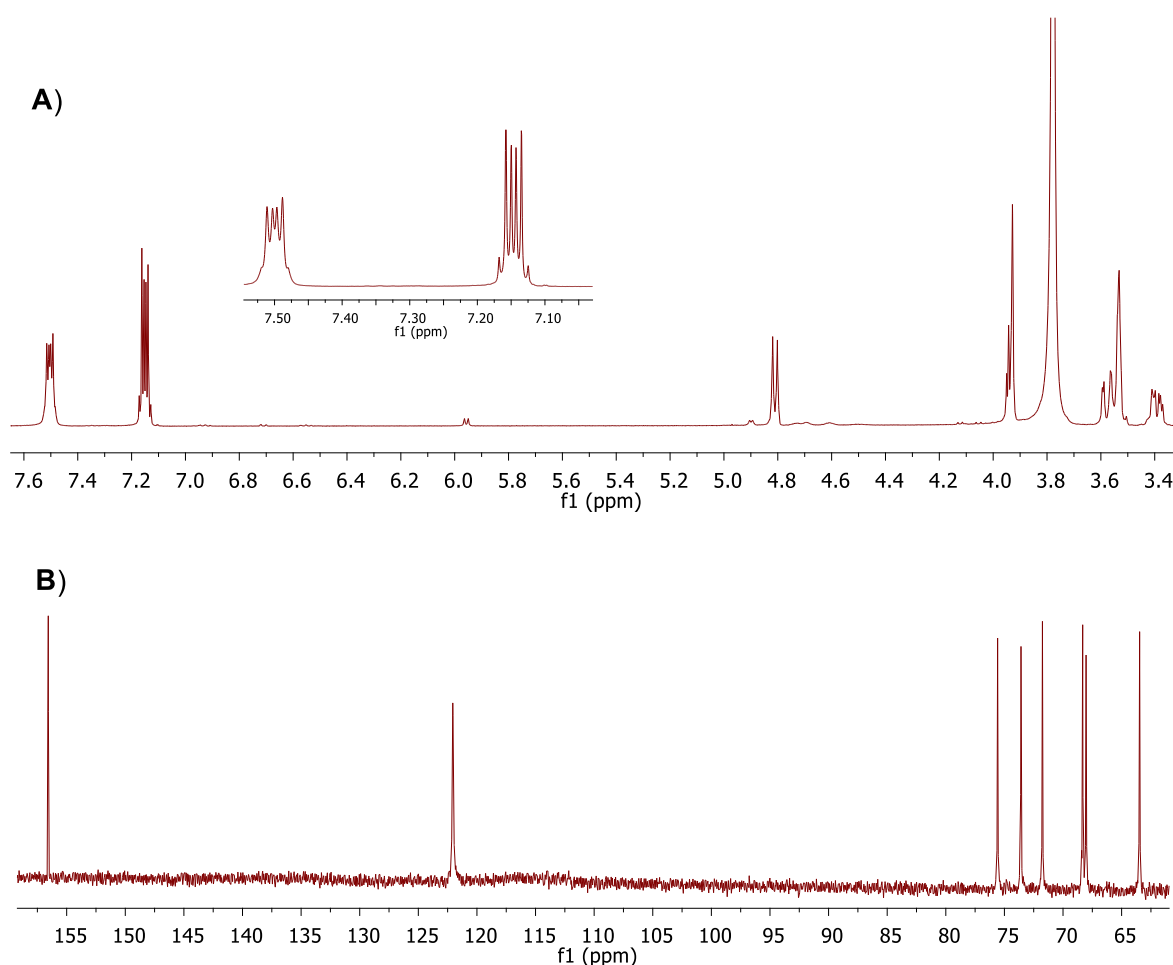
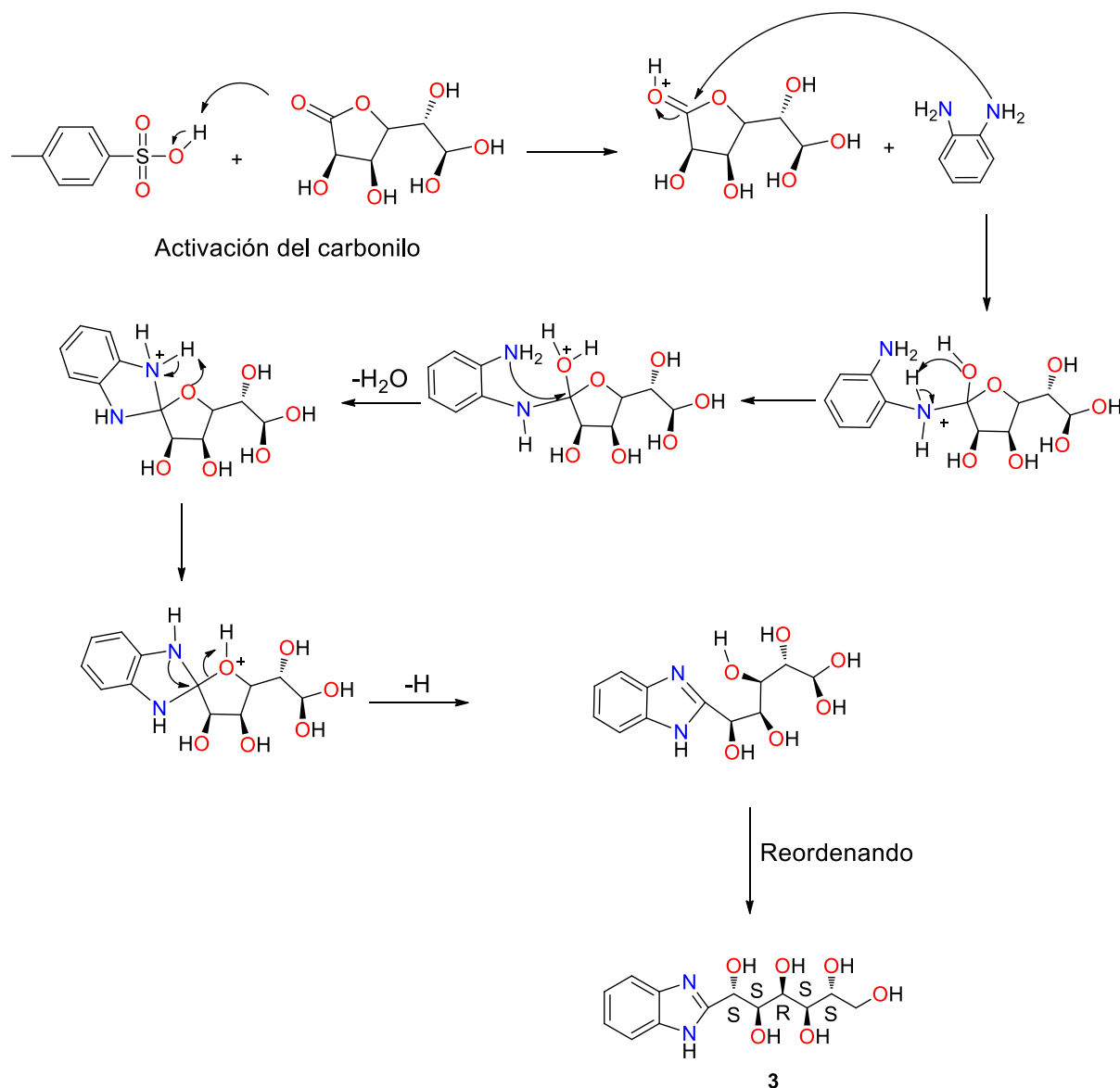


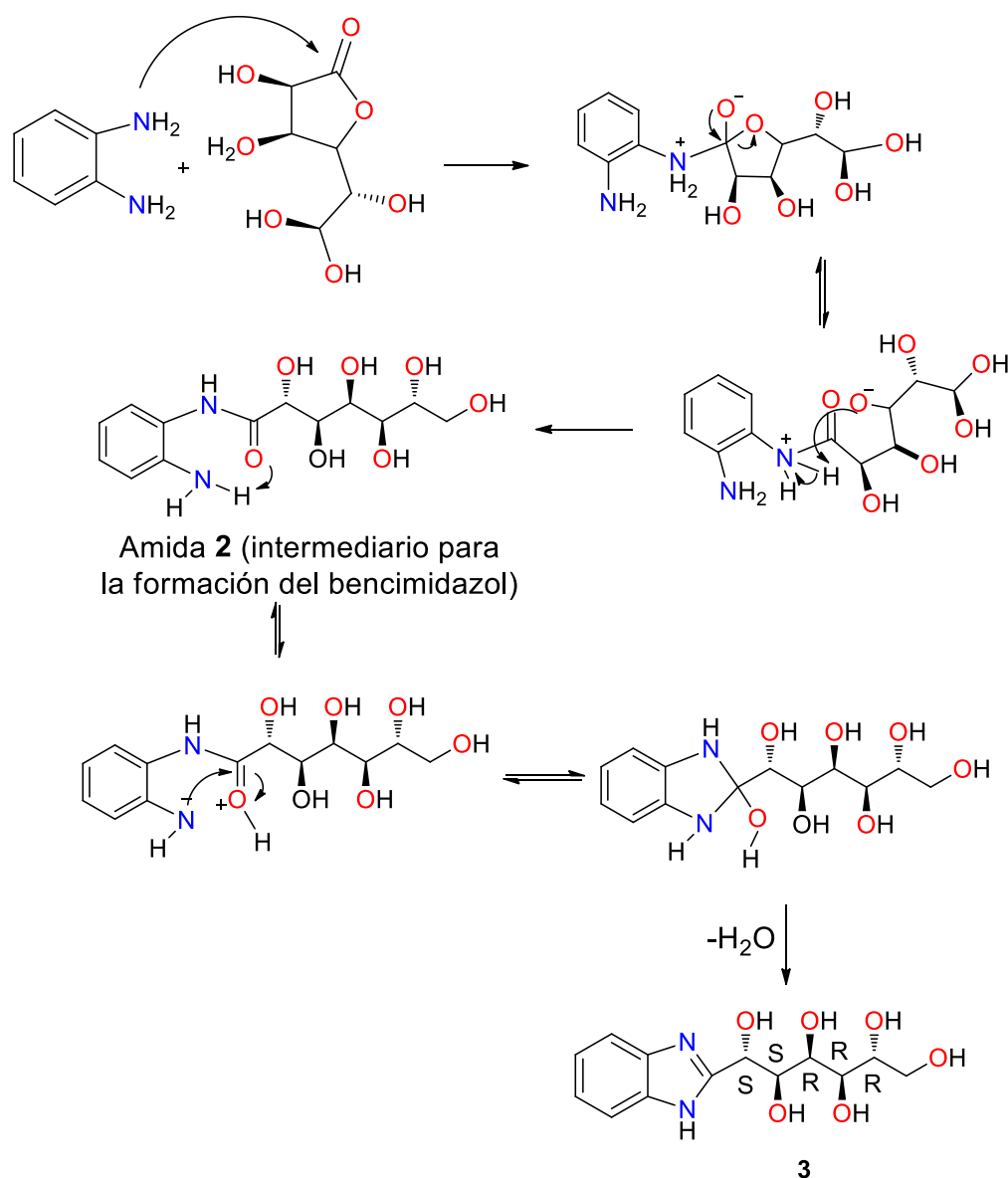
Figura 1.13 Espectros de RMN ^1H en DMSO (A) y ^{13}C (B) del bencimidazol **3**

4.2 Mecanismo de reacción propuesto para la formación de la amida **2** y el bencimidazol **3**

Basados en el uso del ácido p-toluensulfónico como catalizador y su mecanismo propuesto en la literatura²⁸ (esquema 1.11) y en los resultados experimentales de la síntesis de la amida **2** y bencimidazol **3**, se propone que la amida puede ser un intermediario que posteriormente se cicla al compuesto bencimidazol (Esquema 1.12).



Esquema 1.11 Mecanismo de reacción propuesto para la síntesis del derivado de bencimidazol **3**



Esquema 1.12 Mecanismo de reacción propuesto para la formación de la amida **2** y del derivado de bencimidazol **3**

4.3 Estudios de RMN de ^1H y ^{13}C de los ligantes 1, 2 y 3

Las señales en RMN de ^{13}C de la N-etilglucamina **1** en DMSO- d_6 fueron asignadas considerando la RMN de los compuestos **2** y **3** (Tabla 1.3). Nótese que los desplazamientos químicos de los grupos metínicos se encuentran muy cercanos entre sí (70.5 a 71.3 ppm en DMSO- d_6 ; 70.9 a 71.4 ppm en D_2O y 72 a 73 ppm en MeOD). Esto indica que este carbohidrato no posee restricción conformacional alguna. Como se puede observar en la Tabla 1.3 las señales de RMN de ^{13}C de la N-etilglucamina en MeOD están desplazadas a frecuencias más altas que las obtenidas en D_2O y DMSO- d_6 , debido a la polaridad del disolvente. Cabe mencionar que las señales en RMN de ^1H fueron asignadas de los experimentos HSQC.

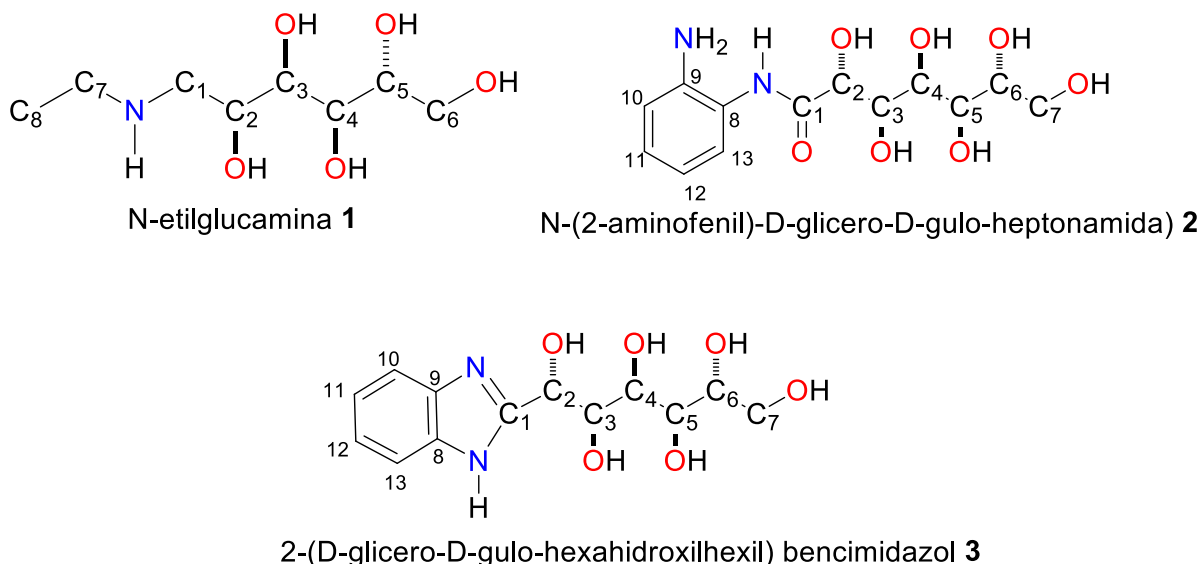


Tabla 1.3 Desplazamientos químicos (δ) en ppm observados en RMN ^1H y ^{13}C para los ligante 1- 3

Compuesto	Disolvente	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
Ligante 1	DMSO- d_6	50.4	71.2	70.8	70.5	71.3	63.9	-
Ligante 1	MeOD	52.1	73.0	72.0	72.5	72.6	65.0	-
Ligante 1	D_2O	50.3	71.4	71.3	70.9	71.2	63.1	-
Ligante 2	DMSO- d_6	172.2	72.4	74.8	68.2	73.4	71.7	63.4
Ligante 2	D_2O	174.2	72.6	74.1	69.2	72.2	71.4	62.9
Ligante 3	DMSO- d_6	156.8	68.8	68.5	75.8	73.8	72.1	63.8

L_1 DMSO d_6 δ 43.5 (C7), 15 (C8), MeoD 44.8 (C7), 14.9 (C8), D_2O 43.1 (C7), 13.8 (C8). L_2 DMSO d_6 δ 142.8 (C8), 122.9 (C9), 115.7 (C10), 126.5 (C11), 116.2 (C12), 126.2 (C13), D_2O δ 141.2 (C8), 129.1 (C9), 118.4 (C10), 127.9 (C11), 122.8 (C12), 120.6 (C13).

Continuación de la tabla 1.3:

Compuesto	Disolvente	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	H-7
Ligante 1	DMSO-d ₆	2.6, 2.6	3.7	3.6	3.4	3.5	3.4, 3.7	-
Ligante 1	D ₂ O	2.6, 2.7	3.9	3.8	3.6	3.7	3.6, 3.8	-
Ligante 2	DMSO-d ₆	-	4.1	3.7	3.9	-	3.4	3.4, 3.6
Ligante 3	DMSO-d ₆	-	4.8	4.0	4.0	-	3.5	3.6, 3.7

L₁ DMSO-d₆ δ 2.5 (2H-C7), 1 (3H-C8), D₂O 2.6 (2H-C7), 1 (3H-C8). L₂ DMSO-d₆ δ 6.7 (H-C10), 6.9 (H-C11), 6.5 (H-C12), 7.1 (H-C12). L₃ DMSO-d₆ δ 7.5 (H-C10, H-C13), 7.1 (H-C11, H-C12).

Por otra parte, respecto a los seis átomos de carbono del fenilo de la amida que son observados en el espectro de RMN de ¹³C, llama la atención el desplazamiento químico a frecuencias bajas de los núcleos de carbono *ipso* y *orto* comparado con los desplazamientos de los carbonos en bencenos disustituidos. Esto se podría explicar por las estructuras resonantes tanto del NH amida y el NH₂ (Figura 1.14).

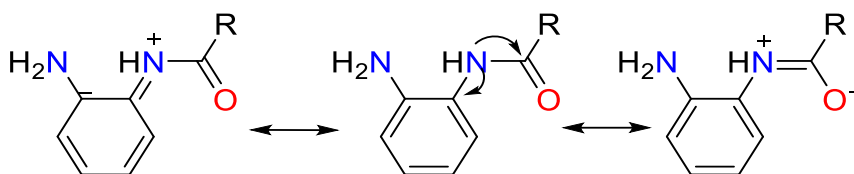


Figura 1.14 Estructuras de resonancia para la N-(2-aminofenil)-D-glicero-D-guloheptonamida 2

Aunque el bencimidazol **3** es una molécula asimétrica, en la RMN de ¹³C y ¹H sólo se observaron la mitad de número de señales para el anillo aromático. Esto se puede atribuir a la tautomerización de imidazol, es decir el hidrógeno del imidazol está cambiando de un nitrógeno a otro con el respectivo desplazamiento del par de electrones en un tiempo de escala mayor a la frecuencia de observación del núcleo (Figura 1.15).

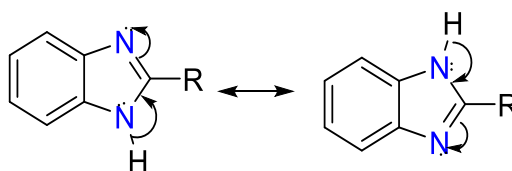
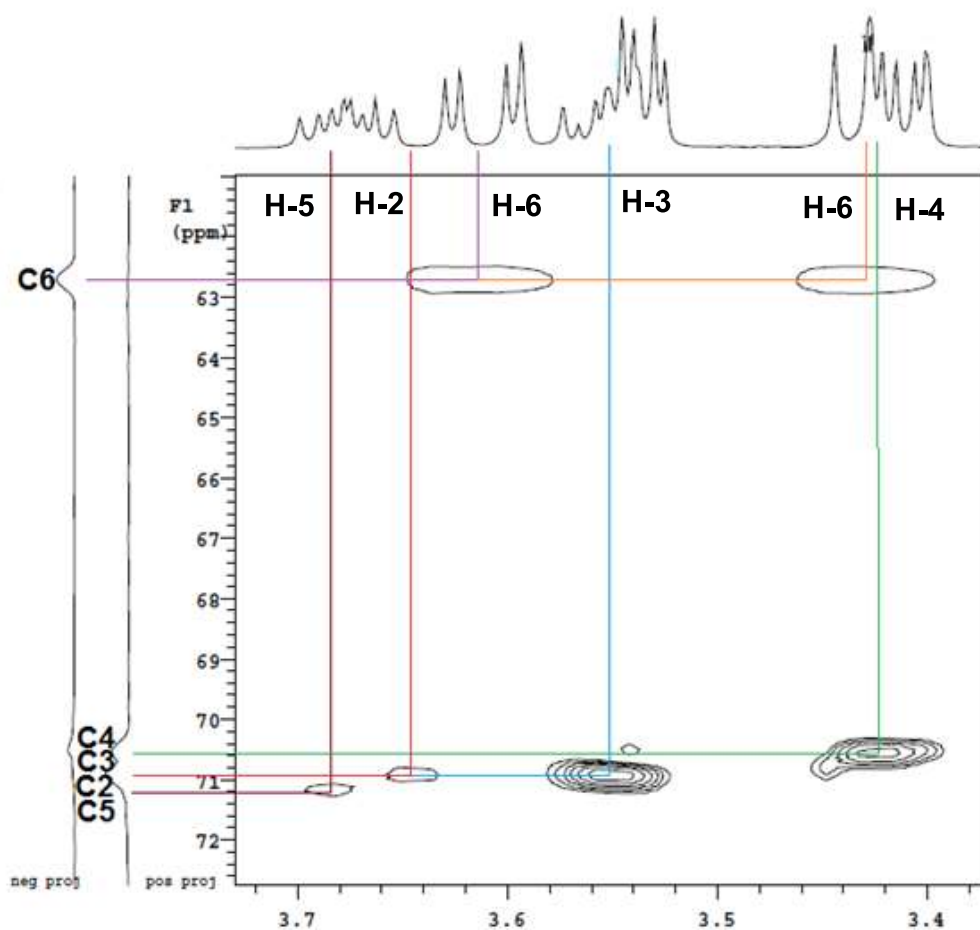


Figura 1.15 Tautomerización del grupo imidazólico

El espectro HSQC de **1** en D₂O mostró que los hidrógenos metilénicos son diastereotópicos. Así mismo, los experimentos de correlación ¹H-¹³C de los compuestos **2** y **3** mostraron inequívocamente la resonancia del carbono metínico adyacente al grupo bencimidazólico en el compuesto **3** (Figura 1.16-1.18).



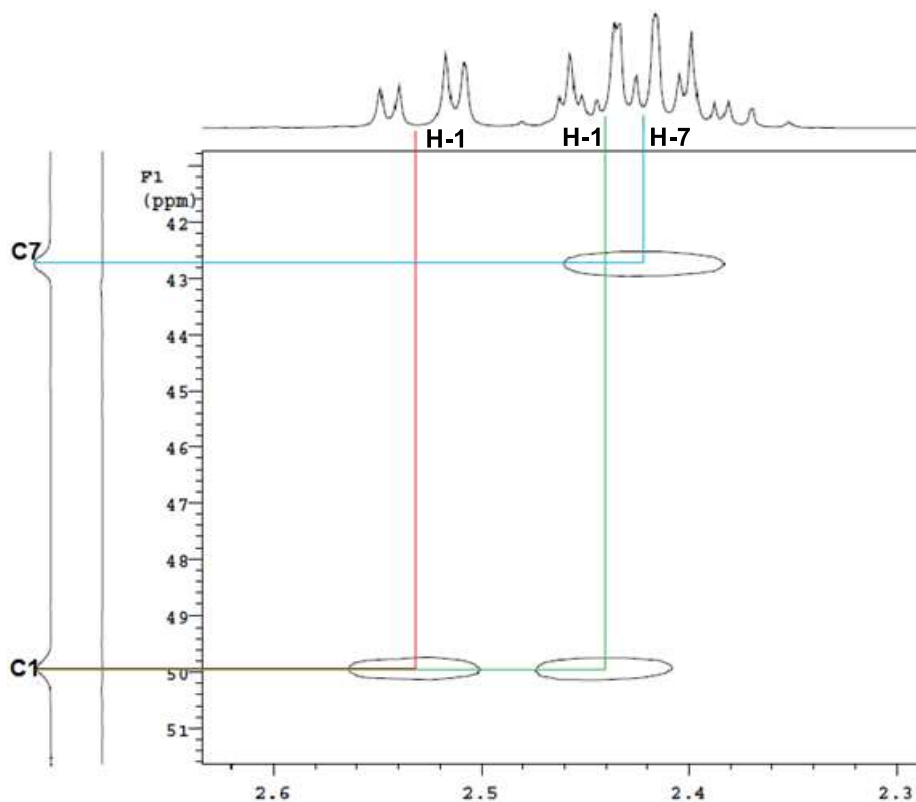
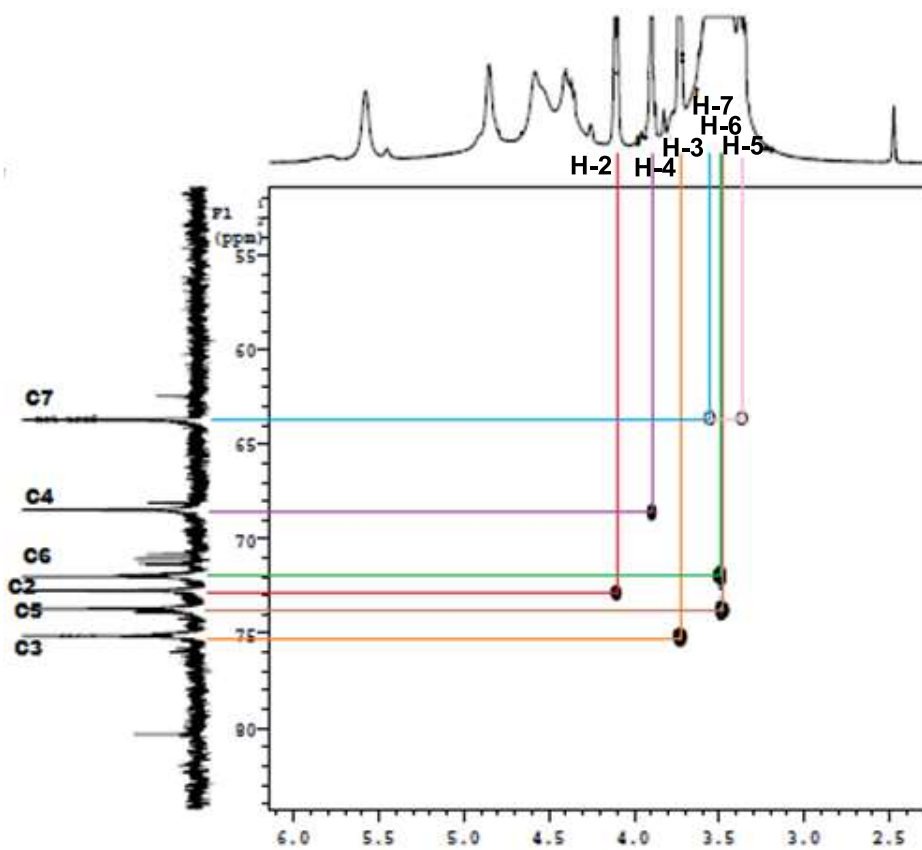


Figura 1.16 Espectro de correlación C-H (HSQC) de la N-etilglucamina 1



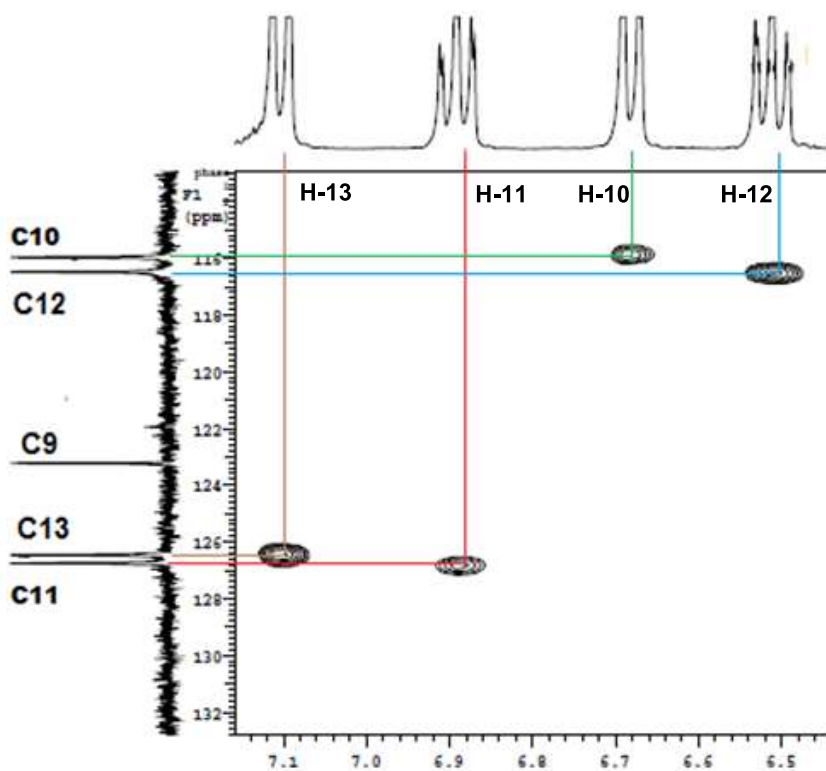


Figura 1.17 Espectro de correlación C-H (HSQC) de la amida 2

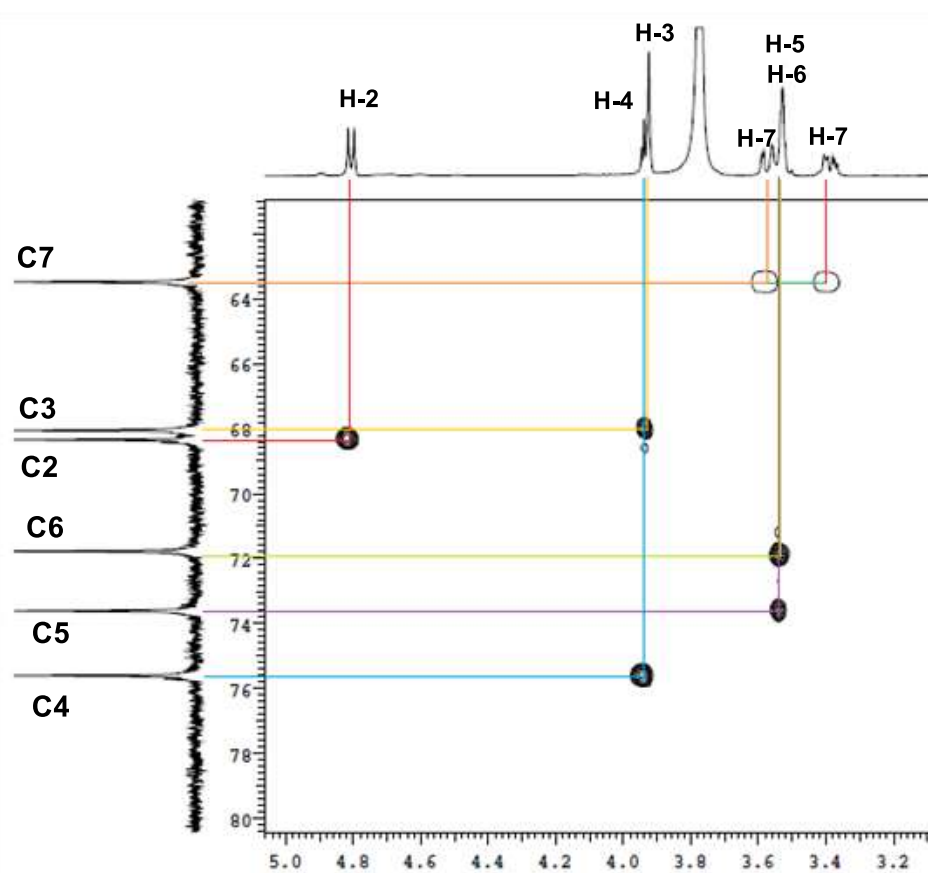


Figura 1.18 Espectro de correlación C-H (HSQC) del benzimidazol 3

Por otra parte, la solubilidad de los compuestos es una propiedad física importante ya que de ella depende que se puedan realizar estudios biológicos. Como se puede observar, los ligandos **1** y **2** son solubles en H₂O, MeOH y DMSO, mientras que el bencimidazol **3** es ligeramente soluble en DMSO y casi insoluble en MeOH (capítulo 2).

4.4 Espectros de IR de los ligandos 1-3

La espectroscopía en el infrarrojo es una herramienta importante en la elucidación estructural. Con esta técnica pueden ser obtenidos los espectros sin importar el estado de agregación de la muestra. Así, la espectroscopía vibracional nos permitió asignar algunas señales características de **1-3**.

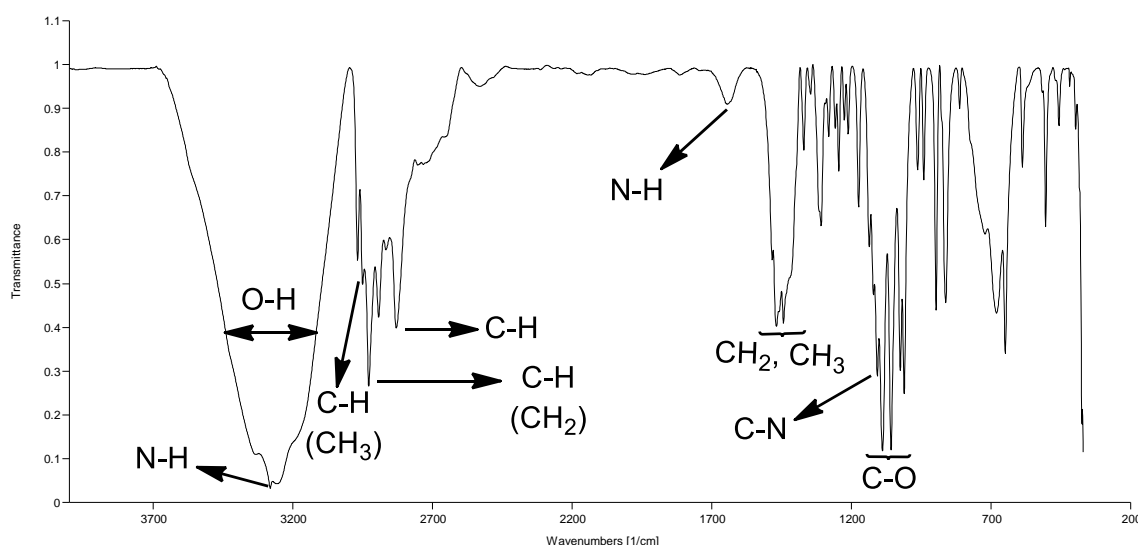


Figura 1.19 Espectro de IR de la N-etilglucamina **1**

El espectro de IR **1** (figura 1.19) muestra una señal ancha alrededor de 3350-3170 cm⁻¹ producida por las vibraciones de los grupos OH. Además, de la señal correspondiente a la vibración del enlace N-H. En 2830 cm⁻¹ se observa la vibración de tensión de los enlaces H-C. Mientras que las señales C-H del grupo etilo aparecen alrededor de los 2980-2880 cm⁻¹. Así el doblete en 1095 y 1050 cm⁻¹ correspondiente al enlace C-O. Los modos vibracionales del CH₂ y CH₃ se distinguen como dos señales muy cercanas entre 1475 y 1432 cm⁻¹.

4.4.1 IR de la amida **2** y del bencimidazol **3**

Actualmente, en la literatura no se encuentra reportado el espectro de IR del 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxi-hexil) bencimidazol **3** y sólo mencionan sus señales más representativas. La figura 1.20 muestra el espectro de infrarrojo del ligante **3**. Como es de esperarse, la gran cantidad de grupos hidroxilo genera una señal ancha alrededor de los 3300 cm^{-1} causada por la vibración de tensión del enlace O-H. Las señales anchas entre $3460\text{-}3260\text{ cm}^{-1}$ se deben a las vibraciones de tensión del enlace N-H.

Respecto al anillo aromático, se pueden observar los picos característicos alrededor de los 3100 cm^{-1} correspondientes a la vibración del enlace $\text{C}_{\text{ar}}\text{-H}$. Las señales de la vibración $\text{C}_{\text{ar}}\text{-C}_{\text{ar}}$ del anillo se aparecen en 1621 , 1591 , 1531 y 1488 cm^{-1} . Mientras que los modos vibracionales $\text{C}_{\text{ar}}\text{-H}$ fuera del plano se observan cercanos a 711 y 912 cm^{-1} .

Las señales para el enlace C-N demuestran la formación del bencimidazol **3** y aparece en 1330 cm^{-1} . La presencia del enlace C=N se demuestra con la vibración en 1624 cm^{-1} .

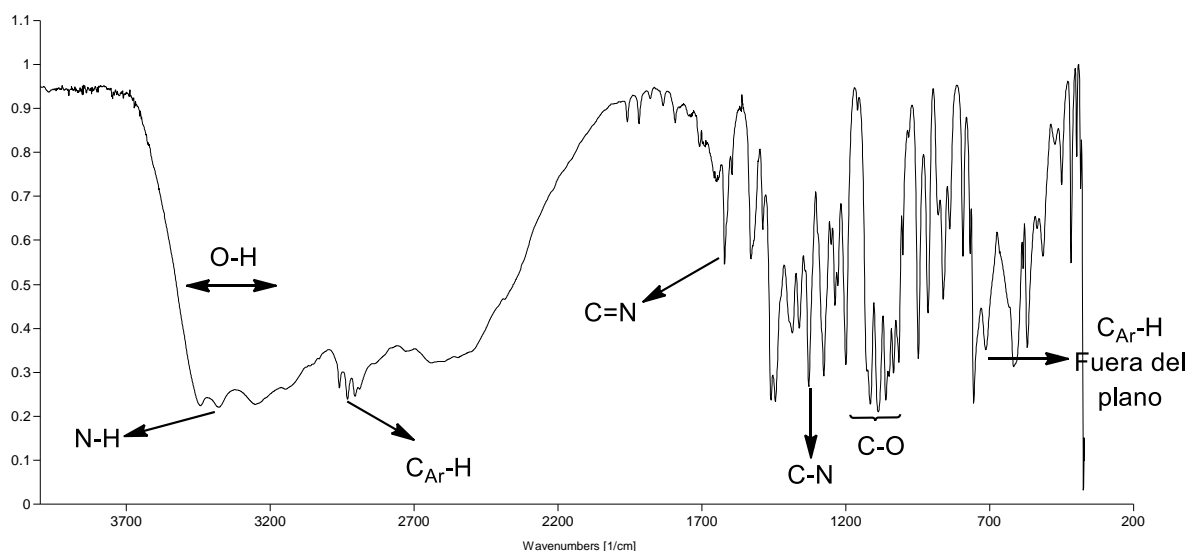


Figura 1.20 Espectro de IR del 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxi-hexil) bencimidazol **3**

A continuación se muestra el espectro de IR de la amida **2**. Cabe hacer notar que los espectros de **2** y **3** tienen señales en común. Por otro lado, se observan señales características de la amida como son las vibraciones N-H entre 1500-1550 cm^{-1} de los grupos amina. Ente 1020 y 1090 cm^{-1} se observa un cuadruplete causado por las vibraciones de estiramiento de los enlaces C-O de los alcoholes y C-N de los grupos amida y amina. Sin embargo, la señal en 1670 cm^{-1} define la presencia del compuesto amídico y corresponde a la vibración del grupo carbonilo.

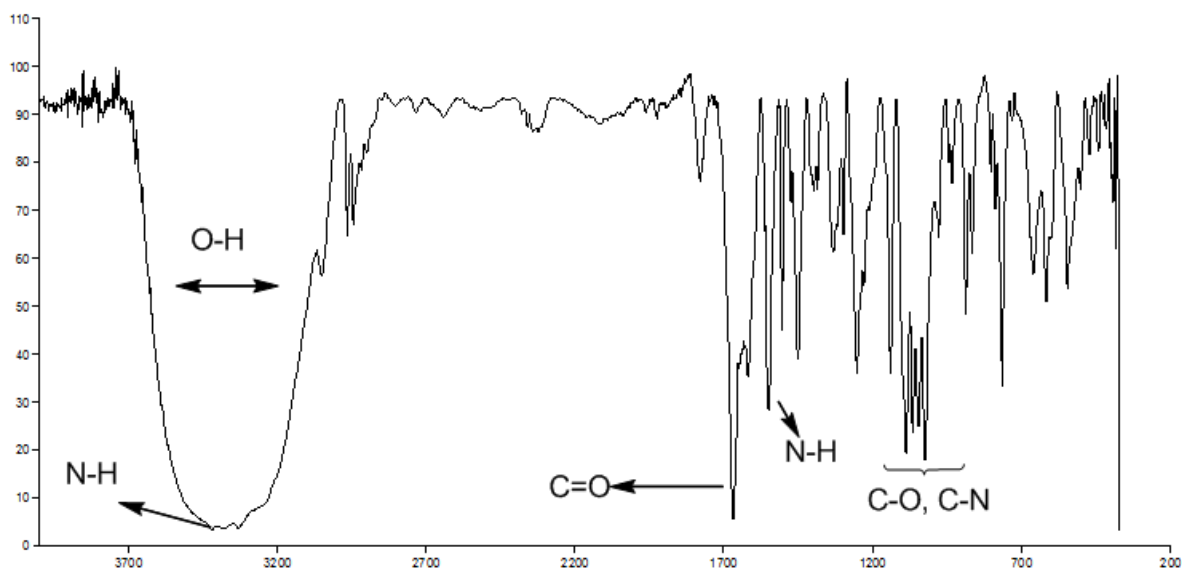


Figura 1.21 Espectro de IR de la amida **2**

En la figura 1.22 se han colocado los espectros del bencimidazol y amida. Nótese que se resaltan las señales para CO y CN más importantes de cada compuesto y que permiten la diferenciación de estos dos compuestos.

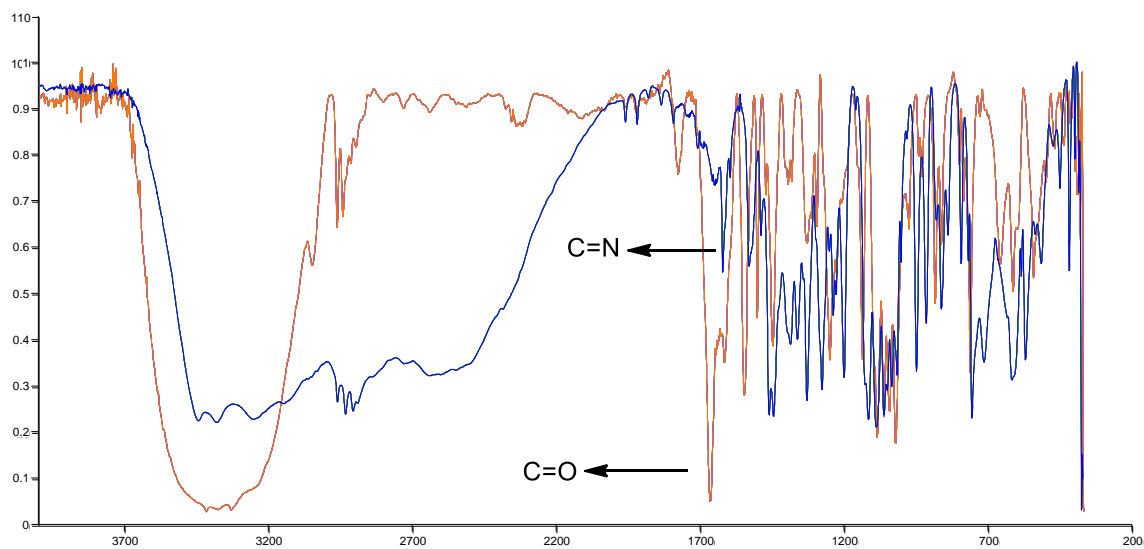


Figura 1.22 Comparación del IR del bencimidazol **3** y amida **2**

5. CONCLUSIONES

La síntesis de *N*-(2-aminofenil)-D-glicero-D-gulo-heptonamida **2** y 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxi-hexil) bencimidazol **3** fueron realizadas exitosamente. La síntesis del compuesto amídico presentó problemas al obtenerse mezcla de productos y se atribuyó este fenómeno al uso de temperatura altas y disolventes polares práticos (como el etanol), por lo que se desarrolló un nuevo método para síntesis de **2**. Cabe destacar que este método no ha sido reportado en la literatura.

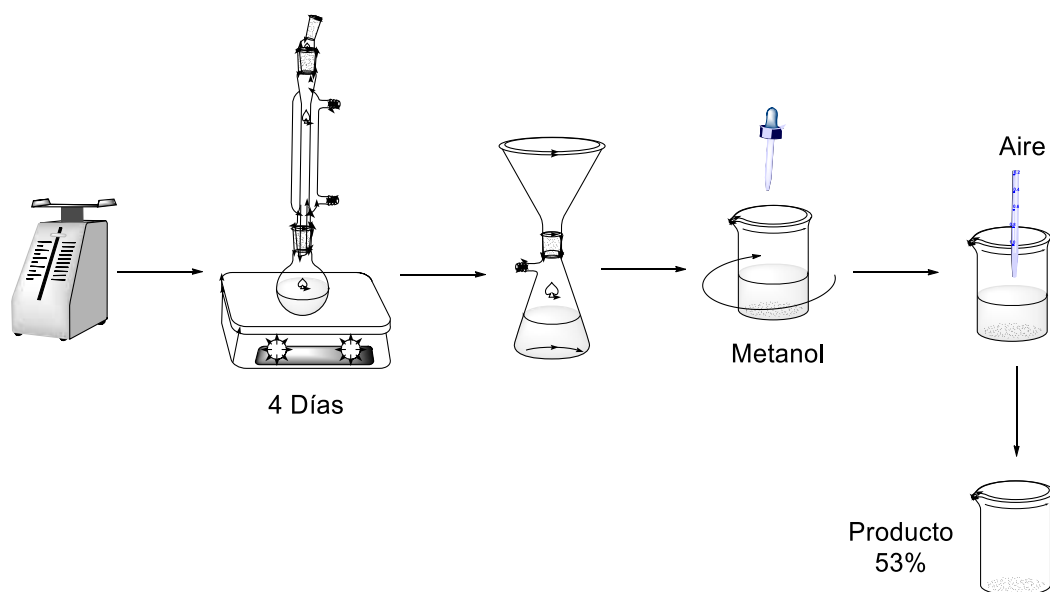
El análisis estructural de **2** y **3** por IR y RMN de ^1H y ^{13}C fue de suma importancia porque los datos obtenidos serán de gran utilidad para la siguiente fase del trabajo. Estas técnicas mostraron cierta similitud en la cadena carbohidrata de los tres ligantes. Además, para la asignación inequívoca de los desplazamientos químicos en RMN se apoyó con espectros de correlación heteronuclear C-H (HSQC).

Finalmente, podemos concluir que esta parte del trabajo generó conocimiento nuevo respecto a los datos estructurales generados por la espectroscopia de RMN e IR, ya que la información reportada sobre los tres compuestos es escasa. Con el presente trabajo se aporta un nuevo método de síntesis para el compuesto **2** que destaca por el empleo de sonoquímica, la sencillez, el corto tiempo de reacción y los buenos rendimientos obtenidos ($\pm 88\%$).

6. PARTE EXPERIMENTAL

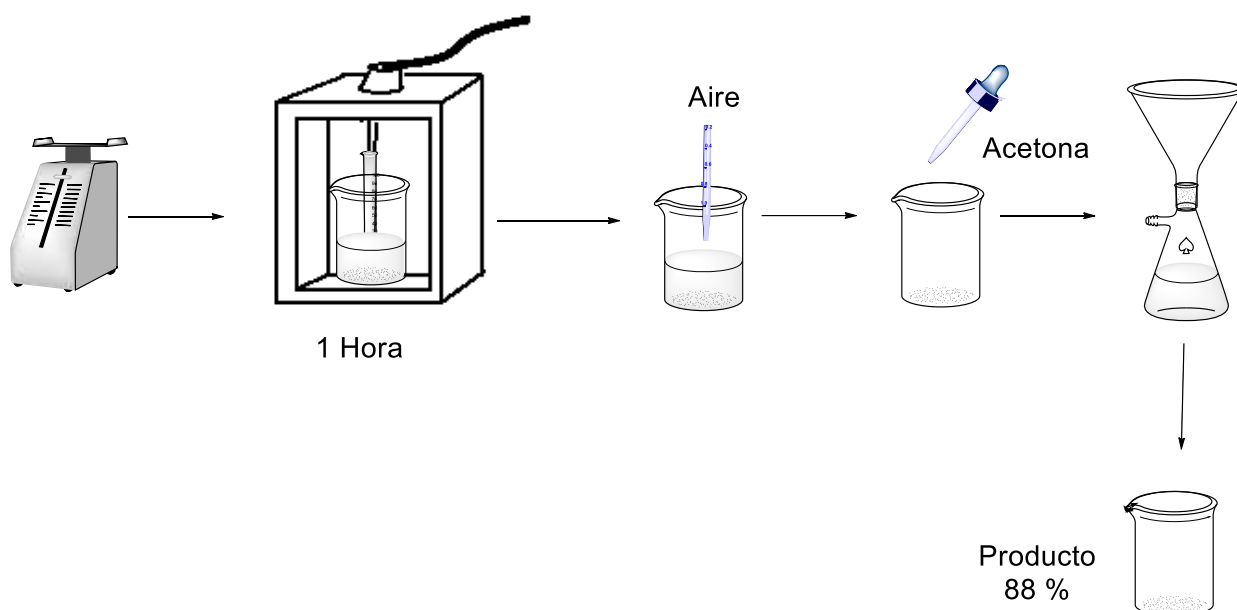
Síntesis del 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxi) bencimidazol 3

Se pesaron 100 mg de D-glicero-D-gulo-heptano-1,4-lactona, 520 mg de 1,2-fenilendiamina y 250 mg de ácido *p*-fenilsulfónico y se agregaron 50 mL de etanol. La mezcla de reacción se agitó y calentó de manera uniforme durante cuatro días. Terminado el tiempo de reacción se obtuvo un precipitado de color blanco acompañado de una solución café. La mezcla obtenida fue filtrada con vacío y el sólido se lavó con metanol. Finalmente, los residuos de metanol se eliminaron con flujo de aire. Así se obtuvo un compuesto con un rendimiento del 53%. En la siguiente figura se resume el procedimiento seguido.



Síntesis de la N-(2-Aminofenil)-D-glicero-D-gulo-heptonamida 2

Se pesaron 200 mg de D-glicero-D-gulo-Heptano-1,4-lactona y 100 mg de 1,2-fenilendiamina y se disolvieron en 50 ml de agua. Posteriormente, la mezcla se sometió a radiación ultrasónica (amplitud de 90%) durante una hora. Al final de la reacción se formó un precipitado café oscuro acompañado de una solución roja. El solvente se evaporó con corriente de aire y el sólido obtenido se lavó dos veces con acetona (10 ml). Finalmente, la reacción tiene un rendimiento aproximado del 88% y el producto obtenido fue un sólido de color naranja.



7. REFERENCIAS

- 1 Metta,Alejandro J. M.;Martínez, Reyna R.; Tlahuext, H.. *Carbohydrate Research*. **2007**. 342. 243–..
- 2 Aehlert, William U.; Pigman, Ward; *Chemistry of The Carbohydrates*. **1948**. p.c. 280.
- 3 Petkov, Vladimir I.; Stanev, Stancho R.; Milenkov, Strashimir V.; Boicheva, Snezhana A.; Nikolova, Evelina B.; Antov, Valeri D.; Karkova, Agnesa M.; Dekov, Nikola G.; Radeva, Diana S.; Veleva, YuliyaTs. Bulg. 63080 B1 (Cl. BG 29336) **2001**. Appl. 103281.
- 4 Carey, Francis A. *Química Orgánica*. McGraw Hill Interamericana. **2003**. p.c. 869-874.
- 5 Solomons, T.W.G. *Química Orgánica*. Limusa. **2000**. p.c. 1210.
- 6 Jiang, Huanfeng; Liu, Bifu; Li, Yibiao; Wang, Azhong; Huang, Huawen. *Organic Letters*. **2011**. Vol. 13 (5). 1028-1031.
- 7 Issa, Yavari; Majid,Ghazanfarpour-Darjani; Mohammad, J. Bayat. *Tetrahedron Letters*. **2014**. Vol. 55. 4981-4982.
- 8 Colombeau, Ludovic.;Traoré, Ténin.; Compain, Philippe. *JOC note*. **2008**. 73, 8647–8650.
- 9 Liu, B.; Ji, S.J.; *Synth. Commun*. **2008**. 38, 1201.
- 10 Griess and Harrow, Ber. PO, **1887**. 281, 2205, 3111.
- 11 I., Margarita; Uruchurtu, Bernal;Magaña, Alejandro J. M.;Álvarez,JorgeA. G.; Martínez, Reyna R.; Tlahuext, Hugo; *Carbohydrate Research*. **2008**. 343, 2804-2812.
- 13 Wade, L.G. Jr. *Química Orgánica*. Pearson Educación. **2008**. p.c. 836, 1057-1061.
- 14 Patiño, Nicandro M.; *Farmacología médica*. Editorial medica panamericana. **2008**. p.c. 889-890.
- 15 Connor, Daniel S.;Scheibel, Jeffrey J.; Kao, Ju-Nan. U.S. WO 92/06072 **1992**. Appl. PCT/US91/06987.
- 16 Lin, Jhon.;Weerasooriya, Upali.; Filler, Paul A. U.S. 5 731 461 (Cl. C07C 307/02; C07C 311/16). **1998**. Appl. 582 467.
- 17 Dubois, G. E.; Yalpani, M.; Owens, W. H.; Stevens, S.Y.; Roy, G. WO Patent 9,206,601.**1992**. CAN 118:39336.

- 18 Rieckert, H.; Michel, K.-H.; Zwinselman, J. U.S. Patent 5,952,274, **1997**. CAN 128:194574.
- 19 Kyely, D. E.; Chen, L.; Lin, T.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 571–578.
- 20 Vermeer, Robert; AU, Van; Harirchain, Bijan. U.S. WO 94/12511 (Cl.C07H 15/04). **1994**. Appl. PCT/EP93/03171.
- 21 Wilka, Kazimiera A.; Beata, Ludwik S.; Domagalskaa, W.; Komoreka, Urszula; Maliszewskab, Irena; Gancarzb, Roman. **2002**. 5 (3), 235-244.
- 22 Adis R&D Profile. *Maribavir*. *Drugs R D.* **2007**. 8 (3), 188-192.
- 23 Koszalka, G. W.; Chamberlain, S. D.; Harvey R. J. *Antiviral Research.* **1996**. 30-43.
- 24 Robyt, F. John. *Springer.* **1997**. p.c. 354-357.
- 25 Sinnott, Michael L.; *Carbohydrate Chemistry and Biochemistry: Structure and Mechanism*. RCS Publishing. **2007**. p.c. 146-148.
- 26 Williams, N. R. *Society of Chemistry.* **1984**. Vol. 16.
- 27 T.W. Barrett, *Spectrochim. Acta, Chem. Abstr.* **1981**, 95 133 277.
- 28 J. Jary and M. Marek, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1981**. 46, 3289.
- 29 Mousavi, Mir Rasul; Maghsoodlou, Malek Taher. *Springer.* **2014**.

CAPÍTULO 2: SÍNTESIS Y ESTUDIO ESTRUCTURAL DE ARSENATOS

1. INTRODUCCIÓN

El arsénico es un elemento que ha llamado la atención de muchos especialistas en la química debido a sus efectos tóxicos. Dicho elemento se encuentra de distintas formas en el medio ambiente, entre las cuales destaca un 60% en arseniatos, 20% en sales de sulfuro y 20% son arsenito, óxidos, arseniuro, silicatos, y arsénico elemental.¹ Se sabe que el As(V) es menos tóxico que el As(III). Antiguamente se creía que el proceso químico que puede efectuar nuestro organismo en el hígado (reducción As(V)→As(III) y posterior metilación por metiltransferasa) era una forma natural de eliminación del organismo (figura 2.1).² Sin embargo, ahora se sabe que esta es la forma en que se activa la toxicidad del arsénico.⁴

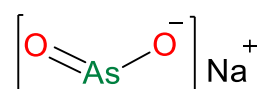


Figura 2.1 Estructura del arsenito de sodio

Por otro lado, se han encontrado compuestos de arsénico con actividad antitumoral y anticancerígena. Por tales razones, es importante contribuir al conocimiento de las estructuras, reactividad y actividades citotóxicas de compuestos derivados de arsénico. En la búsqueda de nuevos compuestos, en este capítulo se presenta la síntesis de heterociclos de arsénico a partir de los ligantes carbohidrato presentados en el capítulo 1. Además, se muestra el estudio estructural mediante el uso de IR y RMN. Así mismo, en el presente trabajo nos enfocamos en el estudio de los procesos dinámicos que tienen los compuestos de arsénico sintetizados mediante el uso de la RMN de ¹³C.

2. ANTECEDENTES

La química de complejos con estructuras moleculares que tiene actividad biológica importante (como el cisplatino), ha servido como base para la síntesis de compuestos inorgánicos relevantes. En este contexto, los hidratos de carbono han sido poco utilizados en la formación de complejos de coordinación. Así, se ha reportado la síntesis de compuestos de paladio derivados de carbohidratos (figura 2.2).⁴ Estos compuestos, en comparación con el cisplatino, presentan actividad biológica prometedora y su estudio sigue en desarrollo.

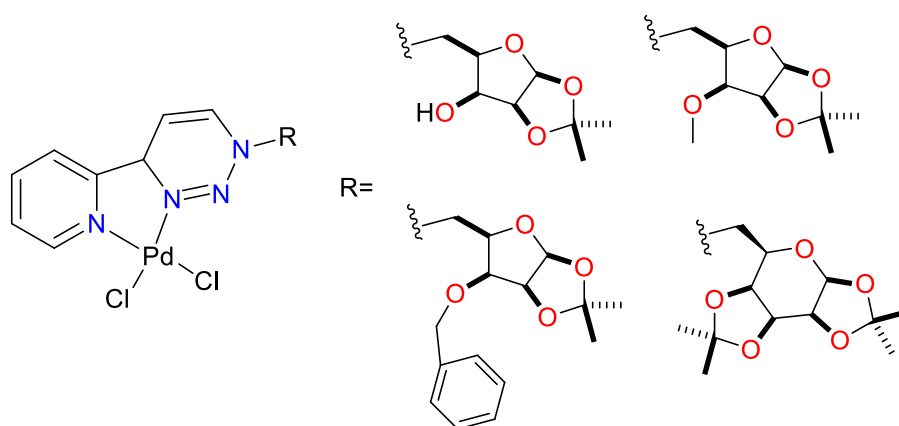


Figura 2.2 Compuesto de coordinación de paladio que contienen carbohidratos

De la misma manera, los estudios realizados a complejos de rutenio y carbohidratos han mostrado actividad importante con las células HeLe (figura 2.3),⁵ que se les relacionan con el cáncer cérvico-uterino.

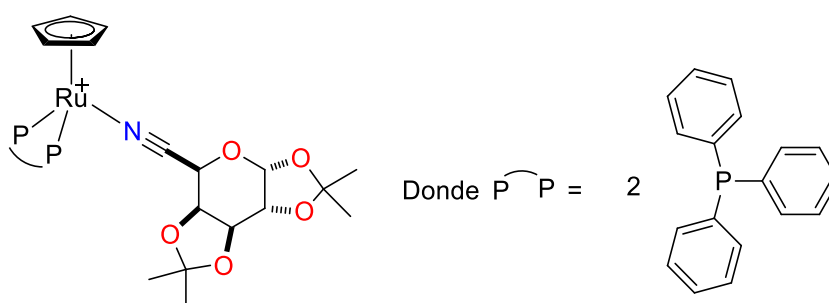


Figura 2.3 Compuesto de rutenio con actividad biológica importante

Por otro lado, se ha informado que los complejos de Ni(II) y Cu(II) derivados de tiosemicarbazonas y bencimidazol (figura 2.4) tienen un efecto positivo contra las células MCF-7 y MDA-MB-23 (células encontradas en algunos tipos de cáncer de mama).⁶

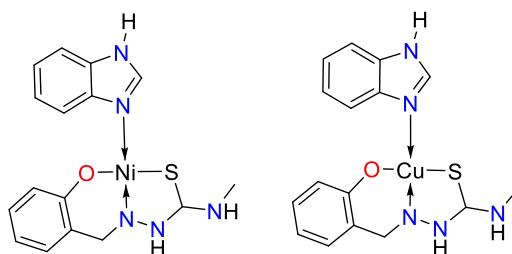


Figura 2.4 Compuestos de Ni(II) y Cu(II) con efectos contra células MCF-7 y MDA-MB-23

2.1 El arsénico en la industria

A pesar de su toxicidad, el arsénico ha tenido una presencia frecuente en el uso industrial. Un uso común es para la elaboración de aleaciones con plomo y cobre para la producción de baterías. Algunos derivados de arsénico son de gran importancia en la industria de semiconductores y electrónica.⁷ La rápida movilidad de electrones en el arseniuro de galio (GaAs), así como su emisión de luz y sus propiedades magnéticas y fotovoltaicas, han permitido su utilización en semiconductores de alta potencia. Por otro lado, la arsina (AsH_3) es utilizada como agente de dopaje para la creación de cristales útiles en la producción de chips de computadora.

La toxicidad del arsénico ha permitido su uso como insecticidas, plaguicidas, conservadores de madera, pinturas, jabones para animales, pesticidas, herbicidas y esterilizantes de suelo.⁸ El arseniato de cobre cromatado es usado desde 1930 para la conservación de madera contra hongos e insectos, por lo que existe una gran cantidad de pesticidas con arsénico. Un compuesto de arsénico que se ha aprobado su utilización como herbicida en la producción del algodón es el metanoarsonato monosódico.⁸

2.2 El arsénico en la medicina

El uso del arsénico para el tratamiento de algunas enfermedades no es algo nuevo. A inicios del siglo XX el arsénico fue utilizado para el tratamiento de algunas enfermedades como la sífilis.² En la actualidad, se siguen usando compuestos o sustancias que contengan arsénico para el tratamiento de enfermedades. Por ejemplo, recientemente se han realizado estudios para determinar la cantidad de arsénico benéfico en el alga *Sargassum Pallidum* (utilizada en la medicina tradicional china).⁹ Sin embargo, el compuesto de arsénico con más uso en la medicina es el As_2O_3 , debido a sus propiedades antitumorales y sus efectos contra la leucemia.² La manera en la que actúa no es conocida a la perfección. Sin embargo, se cree que debido a la afinidad del arsénico al azufre tiene efectos en proteínas que contienen residuos de cistina¹⁰ o afecta a enzimas relacionadas con la aparición de tumores y cáncer como la proteína tirosina fosfatasa¹¹.

Actualmente existen heterociclos de arsénico que son utilizados contra algunas enfermedades. Por ejemplo, el melarsoprol (figura 2.5) es empleado contra la enfermedad del sueño, pero debido a los efectos secundarios que presenta su uso, aún continúan los estudios de este fármaco para optimizar su empleo.¹²

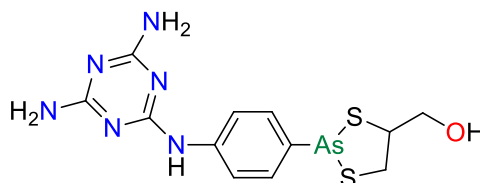


Figura 2.5 Estructura del melarsoprol

Uno de los estudios que se realizaron para obtener mejores fármacos contra el mal del sueño trata de la utilización de heterociclos de arsénico (figura 2.6).¹³

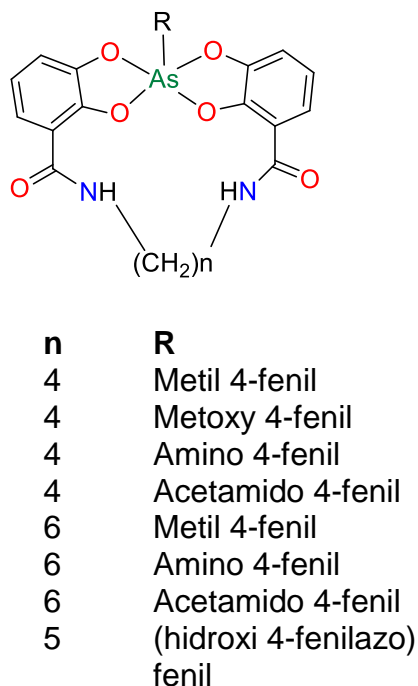


Figura 2.6 Heterociclos de arsénico con actividad biológica importante

2.3 Similitud de los elementos del grupo 15

En la literatura se han reportado trabajos teóricos de compuestos pentacoordinados del grupo 15. Los estudios mostraron que no existe tendencia alguna respecto a la estabilidad termodinámica en dichos compuestos. Pero, ellos si presentan algunas semejanzas en su estructura molecular y fenómenos de isomerización. En especial los derivados de fósforo y arsénico son aquellos compuestos que tienen las semejanzas más grandes (figura 2.7).¹⁴

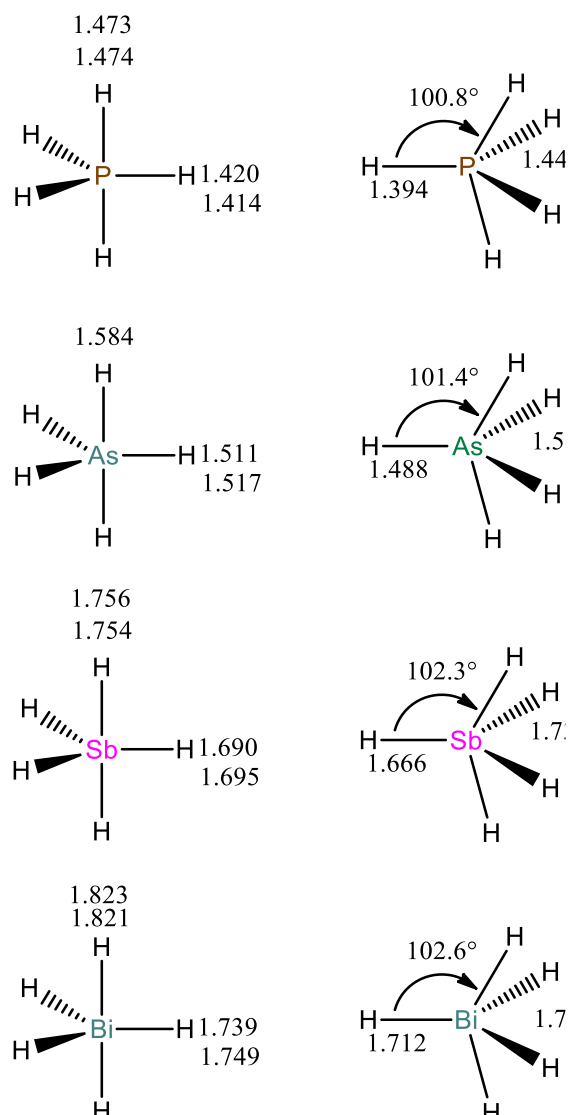


Figura 2.7 Ángulos y distancia de enlace encontrados para especies pentacoordinadas del grupo 15

2.4 El arsénico y el ácido desoxirribonucleico

El descubrimiento de una bacteria que sustituye al fosfato por arsénico en su ADN ha abierto nuevamente el interés por las similitudes químicas entre el fósforo y arsénico.¹⁵ Un estudio que cuestiona este descubrimiento y evalúa la posibilidad de la sustitución del fosfato por el arseniato¹⁶, concluyó que es posible la conjugación de las bases nitrogenadas y la apilación de Watson-Crick. Las distancias de enlace ADN-P y ADN-As son similares y por esta razón las pequeñas diferencias estructurales no descartan la presencia de arsénico sustituyendo al fósforo en el material genético.

2.5 Estudio estructural y dinámico de los compuestos de arsénico

2.5.1 Número de coordinación y geometría

El arsénico puede encontrarse en dos estados de oxidación [As(III) y As(V)]. El As(III) puede ser obtenido por la combustión de arsénico elemental. El As(V) es derivado del tratamiento de As(III) con ácido nítrico o peróxidos.¹⁷ Los números de coordinación del As(III) son de 3 y 4, mientras que para el As(V) son de 5 y 6. Las distintas geometrías y estructuras que presentan el As(III) y As(V) al coordinarse se muestran a continuación (figura 2.8).

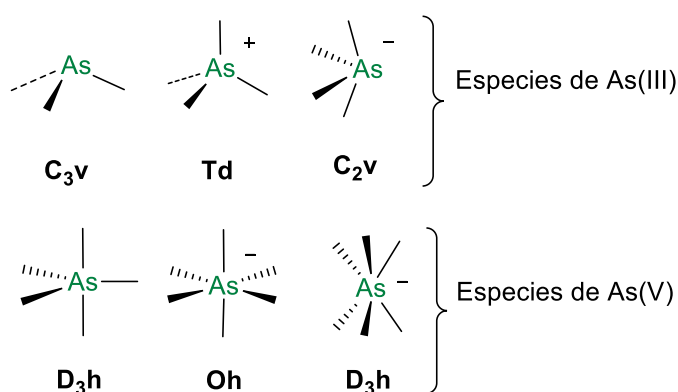


Figura 2.8 Geometría y estructuras de As(III) y As(V)

La geometría que asuman los compuestos pentacoordinados de arsénico dependerá de la electronegatividad y de los efectos estéricos de los sustituyentes. Así el arsénico puede adoptar las geometrías de pirámide de base cuadrada (PC) o bipirámide triangular (BPT). Además, se ha reportado que el volumen del ligante en los heterociclos de arsénico distorsiona las geometrías.^{18,19}

2.5.2 Ecuatofilia y apicofilia

Ecuatofilia o *ecuatorifilia*, son los términos que le han otorgado algunos autores para referirse a la preferencia que tienen los sustituyentes menos electronegativos por las posiciones ecuatoriales en los compuestos pentacoordinados.²⁰ *Apicofilia* se refiere a la preferencia de los ligantes más electronegativos por colocarse en las posiciones apicales o axiales. Esta disposición geométrica de los sustituyentes obedece la regla de Bent y restringe la variedad de isómeros que se pueden formar en los compuestos pentacoordinados. Sin embargo, existen estudios que muestran que es factible obtener compuestos *anti-apicofílicos* variando las propiedades de los ligantes²¹ (figura 2.9).

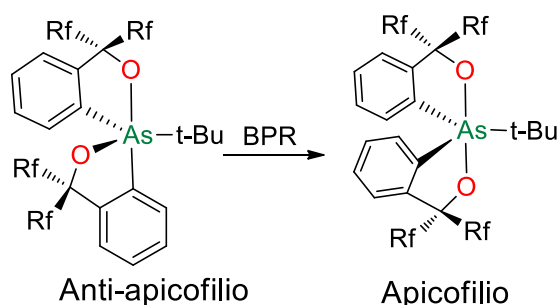


Figura 2.9 Compuesto anti-apicofílico donde Rf es CF₃, C₂F₅ y n-C₃F₇

2.5.3 Comportamiento dinámico

Aunque el arsénico pentacoordinado tiene preferencia por la geometría BPT,²² estos compuestos presentan fenómenos de isomerización en disolución debido a la epimerización del arsénico.

Existen dos mecanismos principales para este tipo de fenómeno dinámico. El más conocido es el mecanismo de pseudorotación de Berry, que básicamente plantea el cierre de los ángulos de enlace de dos ligandos en posiciones axiales y el aumento del ángulo de enlace de dos ligandos en posiciones ecuatoriales, pasando por un intermediario cuya estructura es de PC (figura 2.10).²³

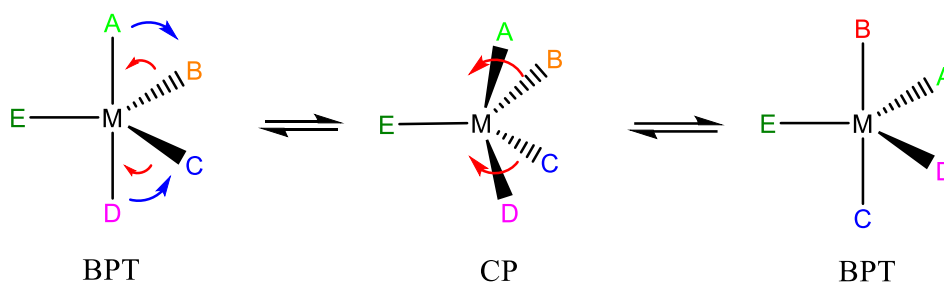


Figura 2.10 Pseudorotación de Berry

El segundo mecanismo (torniquete) es un poco más complejo. En este mecanismo se dividen los sustituyentes en un trío y una pareja que se someten a una rotación de 60° .²⁴ Cabe resaltar que algunos autores consideran como equivalentes a estos dos mecanismos (figura 2.11).

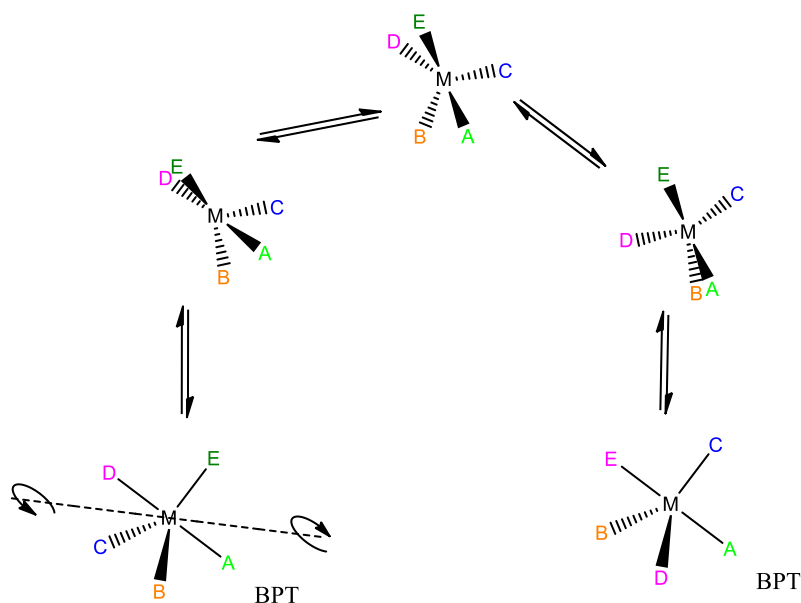


Figura 2.11 Equilibrio de rotación de torniquete

Un estudio adicional de la química de compuestos pentacoordinados de fósforo y arsénico (AsH_5 y PH_5) demuestra que la isomerización de estos compuestos se produce preferentemente a través de la ruptura de un enlace del intermediario pentacoordinado. También se describe que las estructuras de fósforo y de arsénico tienen barreras de pseudorotación de Berry similares. Los compuestos pentacoordinados de fósforo son termodinámicamente más estables que los

arsoranos (compuestos pentavalentes de arsénico). Sin embargo, los equilibrios dinámicos en los arsoranos son más lentos que en los fosforanos.²⁵

En la literatura se ha informado que en solución acuosa puede existir la presencia de equilibrios dinámicos entre espiroarsoranos que tienen características de enantiómeros y diastereoisómeros.²⁶ Este fenómeno depende de la presencia de centros estereogénicos en los ligantes unidos al átomo de arsénico y de la naturaleza de los sustituyentes colocados en posiciones *endo/ exo* o *sin/anti* (figura 2.12).

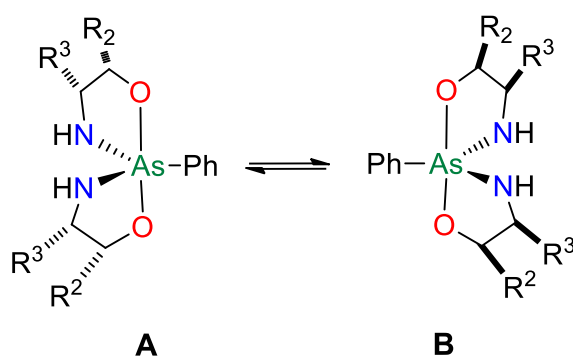


Figura 2.12 Isómeros *exo* y *endo* generados por un equilibrio dinámico

2.6 Síntesis de espiroarsoranos

Aunque la obtención de espiroarsoranos se ha efectuado por más de un siglo, dos rutas de síntesis han sido preferentemente utilizadas. La primera fue propuesta por Dale y Froyen, quienes utilizaron especies de arsénico enlazado a grupos que pueden ser fácilmente sustituidos (bromo, cloro o el grupo metoxi) al reaccionar con un ligantes polihidroxílicos (dioles o aminoalcoholes).²⁷ Sin embargo, estos grupos pueden interactuar con el agua presente en el medio ambiente. Por esta razón, la preparación de arsoranos se realiza regularmente en condiciones anhidras (figura 2.13).

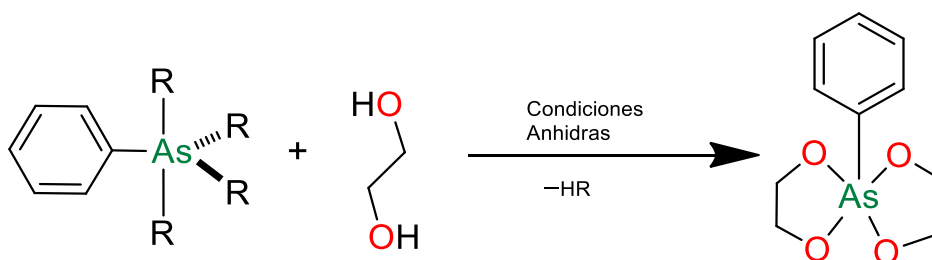


Figura 2.13 Síntesis de Dale y Froyen donde R es Br, Cl o MeO

Salmi, Merivuori y Laaksonen idearon una variante para evitar el uso de condiciones anhidras. Estos autores utilizaron especies estables de arsénico como el ácido fenilarsónico.³³ Esta reacción también se lleva a cabo con dioles, pero al medio de reacción se le añaden ácidos α -hidroxicarboxílicos que fomentan la eliminación del agua producida durante la reacción.

2.7 Arsénico y los carbohidratos

La síntesis de compuestos de arsénico con carbohidratos es una línea de investigación poco habitual. Las condiciones anhidras necesarias para la síntesis de espiroarsoranos y la afinidad de los carbohidratos por el agua son factores que limitan la obtención de buenos rendimientos de reacción. Sin embargo, en la literatura se han reportado algunos compuestos sintetizados con estos compuestos (figura 2.14).²⁹

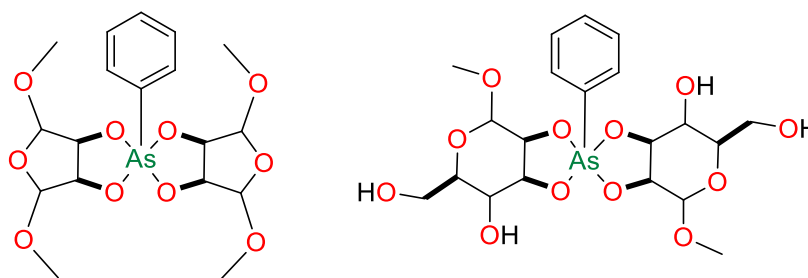


Figura 2.14 Compuestos pentacoordinados de arsénico sintetizados con carbohidratos

Por otro lado, en la naturaleza existen sacáridos con átomos de arsénico en sus estructuras moleculares. Estos compuestos son conocidos como arsenoazúcares (figura 2.15). Los arsenoazúcares pueden encontrarse en algas como la Hijiki.²⁸ Estos vegetales son consumidos por algunos peces y microorganismos. Así, dichos peces son fuente directa de arsenoazúcares para los seres humanos. Sin embargo, su toxicidad o efectos en la salud del ser humano siguen siendo tema de estudio.³¹

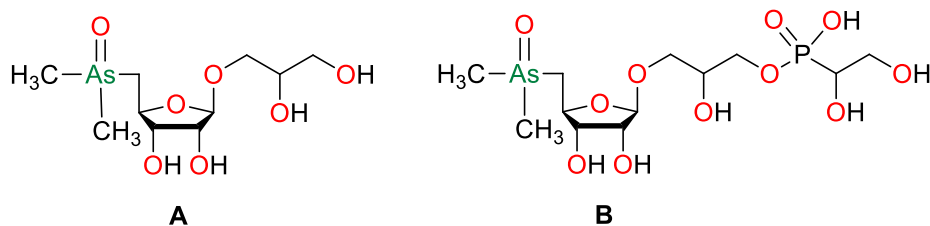


Figura 2.15 Estructura de los arsenoazúcares más comunes; Oxo-arsenoazúcar glicerol **A** y oxo-arsenoazúcar fosfato **B**

2.8 Análisis estructural

En los últimos años se han utilizado de manera regular técnicas espectroscópicas como RMN e IR para el estudio de los fenómenos estructurales y dinámicos en este tipo de compuestos. Además, el uso de HPLC y difracción de rayos-X de monocristal son herramientas nuevas que sirven para la comprensión de dichos fenómenos

La RMN es capaz de revelar las distintas interacciones intra- o intermoleculares comparando los cambios en los desplazamientos químicos de la materia prima con respecto al compuesto de coordinación generado.²⁶ La presencia de mezclas racémicas en complejos de coordinación y su elucidación también se ha estudiado con RMN.³¹ En algunos casos, la RMN de ^{13}C ha sido capaz de detectar la presencia de estos isómeros al mostrar multiplicidad de señales con distintas intensidades pero con desplazamientos químicos muy similares (figura 2.16).³²

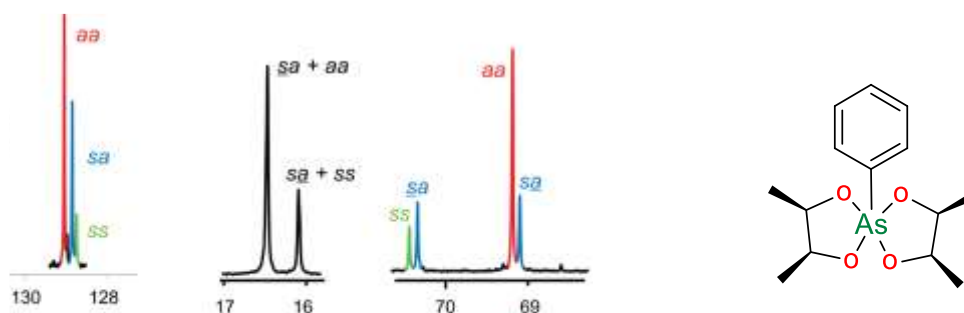


Figura 2.16 Señales de RMN de ^{13}C encontrados por Richard Betz y Peter Klüfers para isómeros de espiroarsoranos de tipo *anti/anti* (aa), *sin/anti* (sa) y *sin/sin* (ss).

Por otra parte, la espectroscopia de IR se ha utilizado para la corroboración de la presencia de enlaces entre el ligante y el centro metálico. Para el caso de los arsoranos, se ha reportado que las vibraciones de tensión de los enlaces As-O se presentan alrededor de $600\text{-}650\text{ cm}^{-1}$.²⁶

La rapidez del equilibrio que experimenta este tipo de compuesto hace complicada la separación y determinación de los isómeros. La utilización de HPLC con columnas quirales ha sido una técnica factible para la corroboración y estudio de las especies isoméricas presentes en los espiroarsoranos.³¹

Por otro lado, la difracción de rayos-X es una técnica que genera información importante respecto a la estructura de estos compuestos. Mediante los estudios cristalográficos ha sido posible determinar ángulos y distancias de enlace. Además, mediante la difracción de rayos-X ha sido factible determinar el arreglo estructural en estas moléculas.²⁶

3 OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Sintetizar y caracterizar a los arsenatos **1a-1d** y **3a-3b** derivados de los carbohidratos respectivos, con la finalidad de que puedan ser evaluados citotóxicamente.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Sintetizar a los heterociclos de arsénico a partir de la las reacciones de los carbohidratos y AsCl_3 .
2. Establecer las estructuras moleculares de los arsenatos, por medio de la RMN y espectroscopía en el infrarrojo.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Síntesis de heterociclos derivados de arsénico

Para la síntesis de los compuestos de arsénico se utilizaron los ligantes carbohidratos **1-3** descritos en el capítulo 1. Como fuente de arsénico y debido a su alta reactividad se utilizó AsCl_3 (Figura 2.17). Sin embargo, para evitar la reacción del AsCl_3 con el agua presente en el medio ambiente fue necesario implementar condiciones anhidras en todas las reacciones.

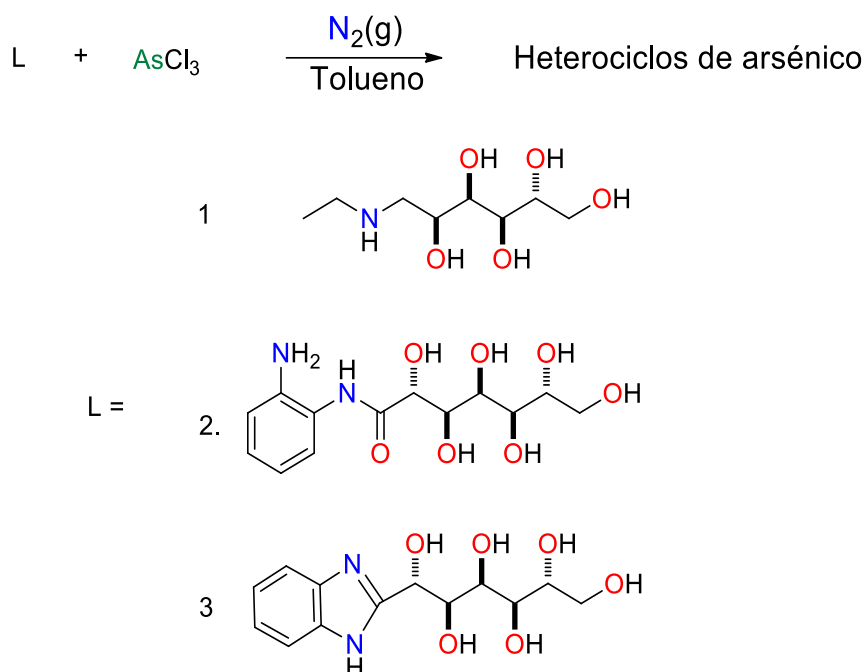


Figura 2.17 Síntesis de heterociclos de arsénico derivados de **1-3**

La determinación de los factores (flujo de nitrógeno, temperatura y tiempo) que influyen en la reacción entre el AsCl_3 y los compuestos **1-3** se describen en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1 Condiciones de síntesis de los arsenatos derivados de 1-3

Ligante	Reacción	Condiciones	Producto	Obtención de arsenatos
1	A	24 h, reflujo en tolueno, flujo de N ₂	Sólido naranja	Si
	B	24 h, reflujo en tolueno, sin flujo de N ₂	Sólido naranja	Si
	C	1 h, reflujo de tolueno, flujo de N ₂	Sólido blanco	Si
2	A	24 h, reflujo en tolueno, flujo de N ₂	Sólido blanco	Si
	B	24 h, tolueno a temperatura ambiente	Sólido blanco	Si
	C	1 h, reflujo de tolueno, flujo de N ₂	Sólido blanco	No
	D	1 h, tolueno a temperatura ambiente	Sólido blanco	No
3	A	24 h, reflujo en tolueno, flujo de N ₂	Sólido blanco	Si
	B	24 h, tolueno a temperatura ambiente	Sólido blanco	No
	C	1 h, reflujo de tolueno, flujo de N ₂	Sólido blanco	No
	D	1 h, tolueno a temperatura ambiente	Sólido blanco	No

El arsenato del bencimidazol **3** presenta grupos de señales más definidas en los espectros de RMN de ¹³C, por lo tanto se iniciará con la descripción de los resultados de este compuesto.

4.1.1 Arsenatos derivado del bencimidazol **3**

Para obtener los heterociclos derivados de **3** fue necesario efectuar las reacciones en reflujo de tolueno. De lo contrario el producto no se forma. Una evidencia de la presencia del compuesto de arsénico es su solubilidad. Los compuestos de arsénico derivados de **3** se disuelven en agua, metanol y DMSO; mientras que el bencimidazol **3** es ligeramente soluble solamente en DMSO (menos de 20 mg/mL). Para elucidar la estructura de los compuestos formados fue necesario realizar estudios de RMN de ^1H y ^{13}C en distintos disolventes (DMSO- d_6 , D_2O y MeOD).

En el espectro de RMN de ^{13}C (en DMSO- d_6) del producto de reacción se observa un grupo de 6 señales finas (**3a**) y otro con 6 señales anchas (**3b**). Esto indica la presencia de por lo menos dos compuestos de arsénico. Cabe hacer notar que las señales en la zona de los carbonos alifáticos son más anchas que las señales de los carbonos aromáticos (figura 2.18).

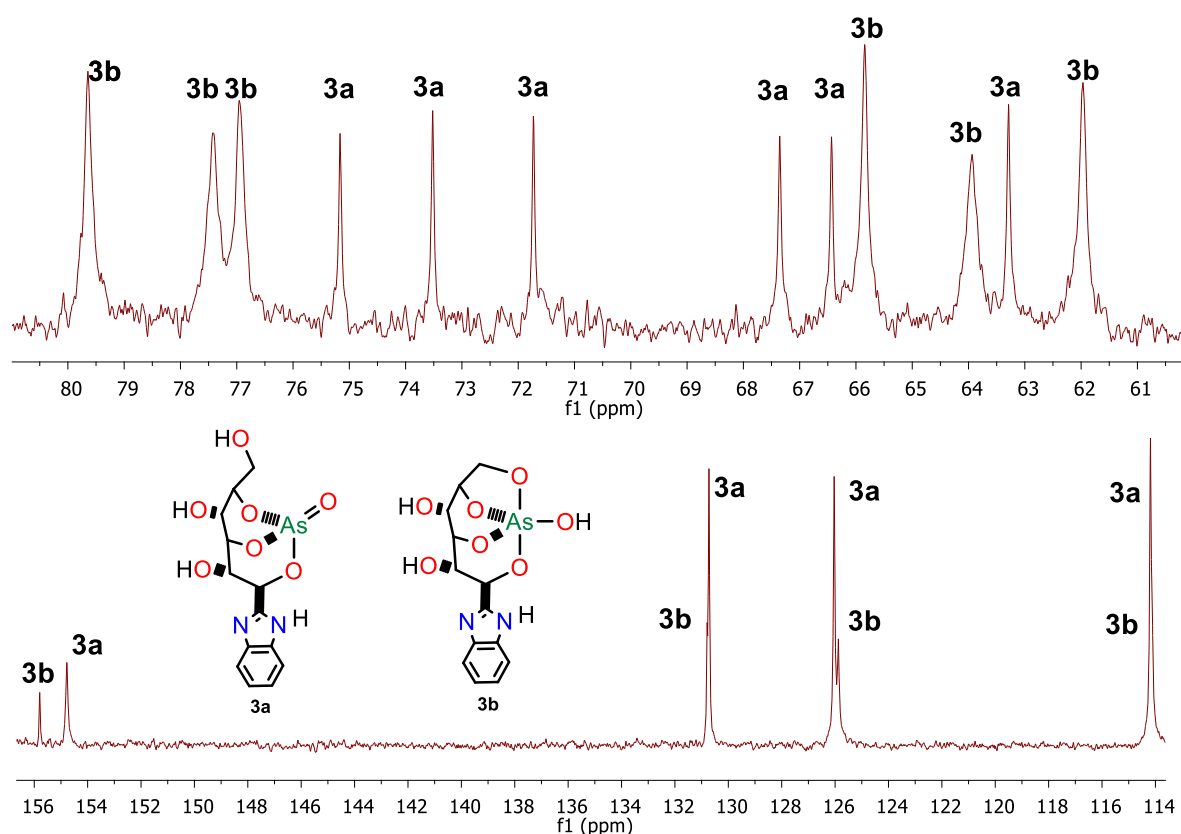


Figura 2.18 Espectro de RMN ^{13}C en DMSO- d_6 de los compuestos de arsénico derivados del bencimidazol **3** 1) zona alifática y 2) zona aromática

Cuando el espectro de RMN de ^{13}C de los arsenatos **3a** y **3b** se obtuvo en MeOD (un disolvente polar prótico), se presenta el mismo fenómeno observado en solución de DMSO- d_6 . Pero en este caso la intensidad de las señales anchas es mucho menor (figura 2.19).

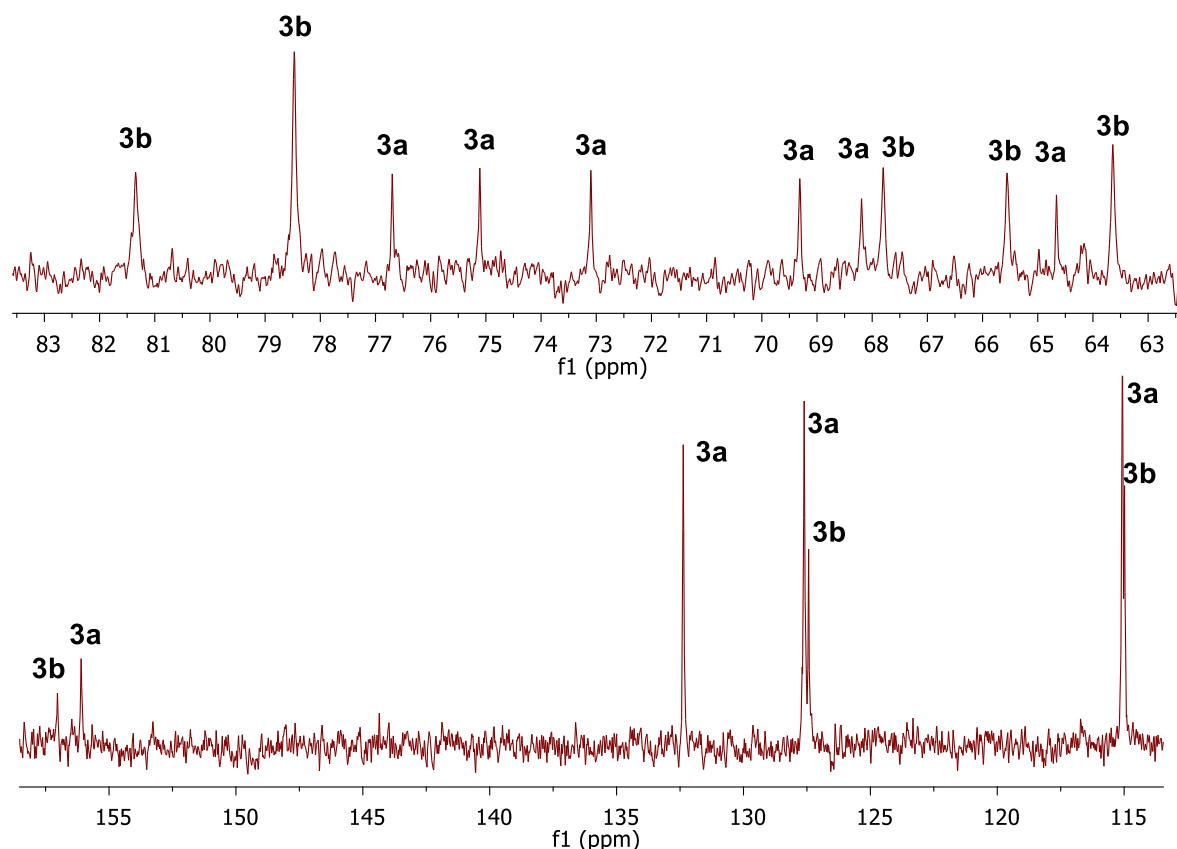


Figura 2.19 Espectro de RMN ^{13}C en MeOD de los arsenatos derivados del bencimidazol **3**; 1) zona alifática y 2) zona aromática

Sin embargo, cuando los espectros de RMN de ^{13}C se obtuvieron en D_2O , se observaron dos fenómenos interesantes (figura 2.20): 1) Si la RMN es obtenida a partir de la muestra guardada en condiciones anhidras, en el espectro se presentan dos grupos de señales en donde el compuesto **3a** predomina sobre el compuesto **3b**. 2) Si la RMN se obtiene de una muestra sometida a condiciones ambientales, en el espectro se observa un sólo grupo de señales similares al del compuesto **3a**.

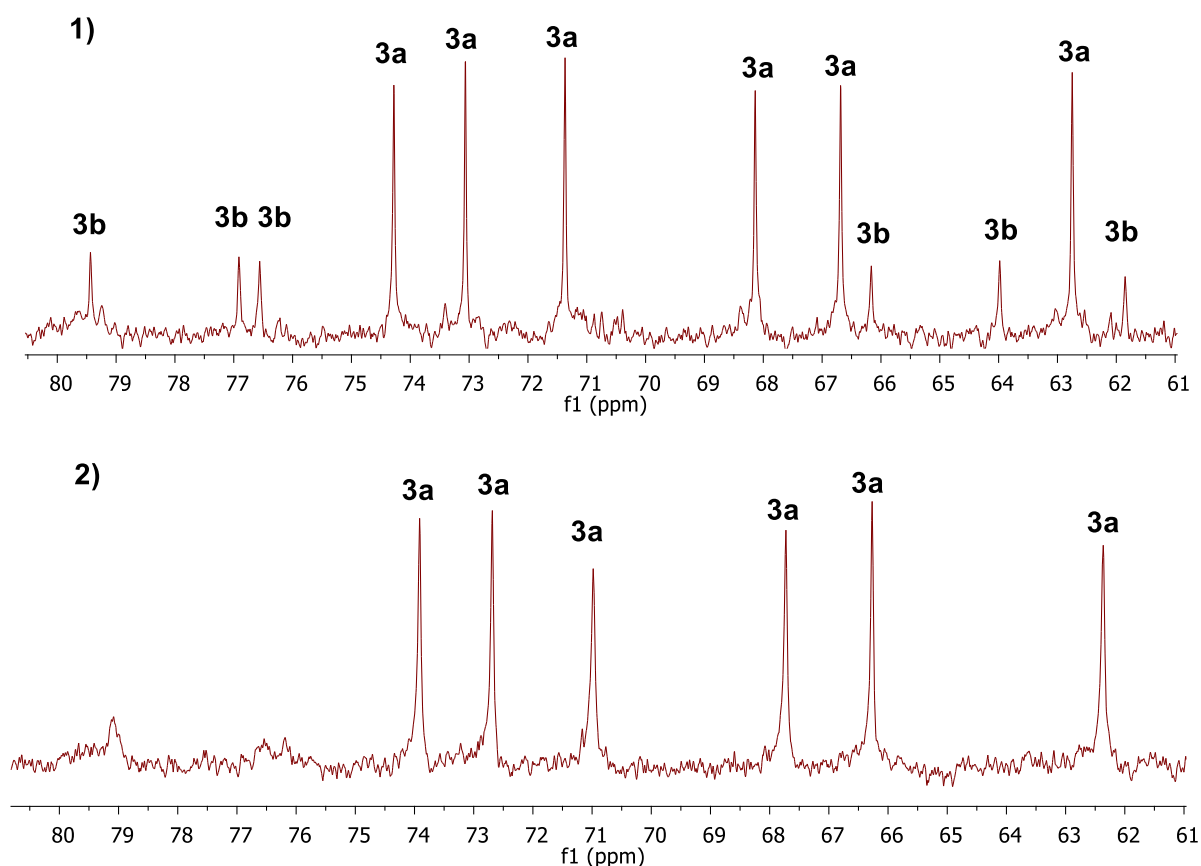


Figura 2.20 Espectro de RMN ^{13}C en D_2O de los arsenatos derivados del bencimidazol **3**; 1) anhidro y 2) hidratado

Los resultados observados por RMN en los diferentes disolventes sugieren la existencia de un equilibrio dinámico entre dos o más compuestos de arsénico. Los espectros de RMN de ^{13}C dan evidencia de que este fenómeno dinámico es más lento en DMSO-d_6 que en MeOD . Por su parte, este proceso dinámico es más rápido que la resonancia de los núcleos de carbono cuando el medio es D_2O .

Con la finalidad de corroborar la presencia del fenómeno dinámico se realizaron los siguientes experimentos: Primero se obtuvo el espectro de RMN de ^{13}C de los arsenatos derivados de **3** en D_2O y se observó solo un grupo de señales. Después, se evaporó el agua y el sólido resultante se disolvió en MeOD . Esta vez, la RMN de ^{13}C mostró dos grupos de señales correspondientes a **3a** y **3b**. Este resultado corrobora la presencia de un equilibrio dinámico entre dos o más compuestos de arsénico.

Pero, ¿Cuáles son las estructuras moleculares de las especies involucradas en este proceso dinámico? No es fácil contestar esta pregunta porque el bencimidazol **3** no es soluble en D₂O o MeOD, y por lo tanto no contamos con sus datos de RMN. Así, nuestras propuestas sólo se basan en los datos obtenidos en solución de DMSO-d₆. En la figura 2.21 se muestran las estructuras moleculares de arsenatos derivados de **3** que posiblemente tomen parte en el equilibrio dinámico. En la sección de RMN se discutirá la asignación.

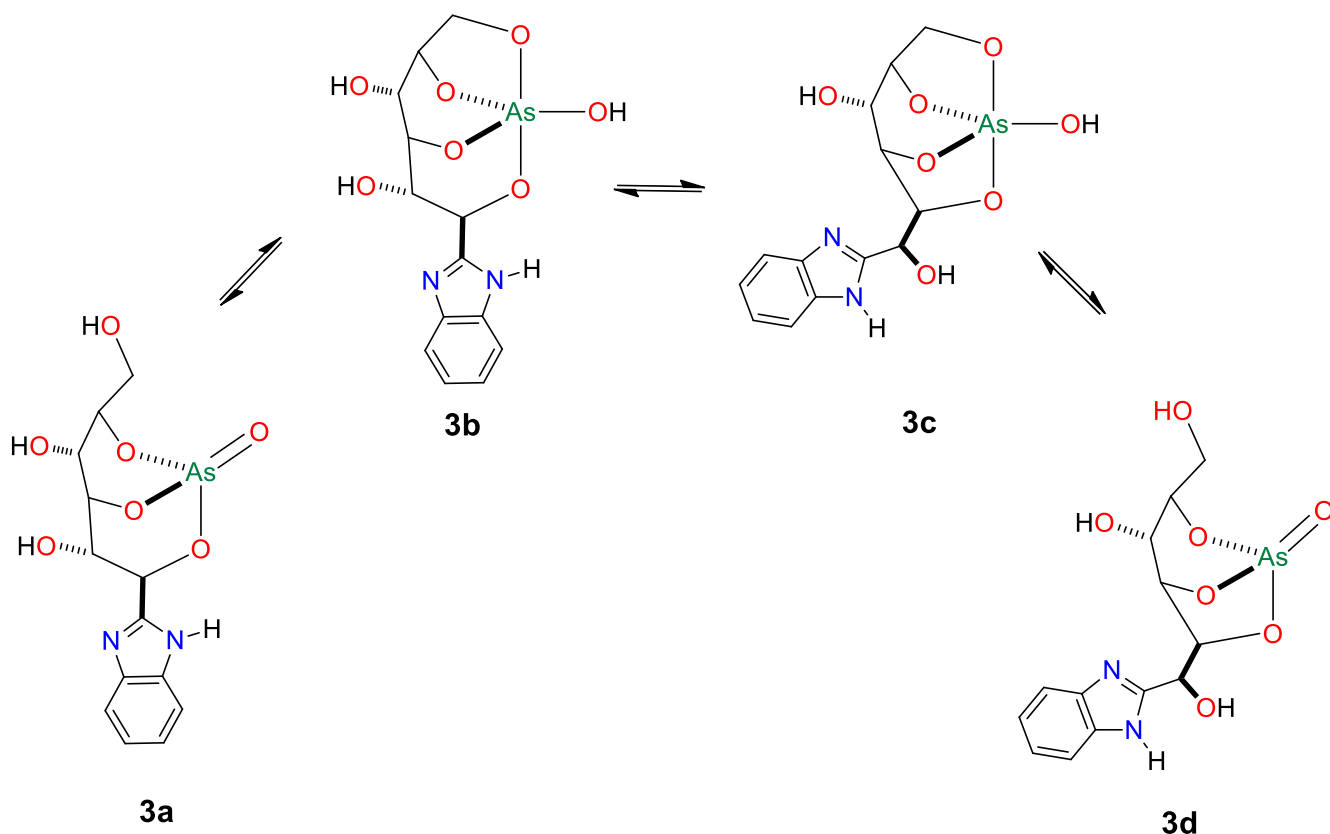


Figura 2.21 Heterociclos de arsénico derivados de **3** que posiblemente se encuentran en equilibrio dinámico en disolución.

4.1.2 Arsenato derivado de la amida **2**

La síntesis de arsenato a partir de la amida **2** se efectuó con el mismo planteamiento experimental utilizando con el bencimidazol **3**. Sin embargo, a partir de los datos de RMN de ^{13}C se pudo deducir que no se formaron los compuestos de arsénico derivados de la amida **2**. En vez de esto, cuando la reacción de **2** con AsCl_3 se efectuó a reflujo de tolueno, se obtuvieron los heterociclos **3a** y **3b**. Por lo tanto, los datos experimentales muestran que la amida **2** primero se transforma en **3** (por un efecto de la temperatura), y posteriormente el compuesto **3** reacciona con AsCl_3 y produce uno de los heterociclos **3a** y **3b** (figuras 2.22).

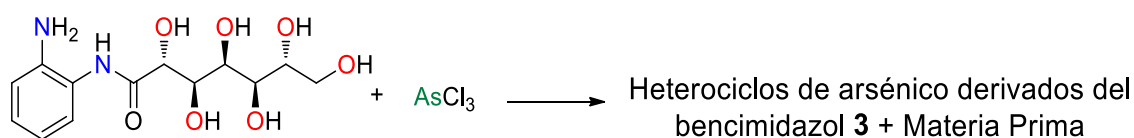


Figura 2.22 Reacción de la amida **2** con AsCl_3 en reflujo de tolueno

4.1.3 Arsenatos derivados de la *N*-etilglucamina **1**

Como se puede observar en la tabla 2.1, la reacción de la *N*-etilglucamina con AsCl_3 da lugar a compuestos distintos cuando se efectúa en condiciones diferentes. Las reacciones que se llevaron a cabo en reflujo de tolueno (A y B) dieron lugar a un sólido naranja. Por otro lado, cuando la reacción se efectuó a temperatura ambiente (C) se formó un sólido incoloro.

La RMN de ^{13}C del sólido naranja en DMSO-d_6 (procesos A y B) muestra señales anchas que puede atribuirse a una mezcla de dos o más compuestos (entre 60 y 80 ppm). Siguiendo este criterio al grupo de señales con menor desplazamiento químico se les denominó **1a** y al grupo de señales con desplazamiento químico mayor se les llamo **1b** (figura 2.23). Sin embargo, el mismo sólido naranja produce solamente un juego de señales en RMN de ^{13}C cuando se obtienen los espectros en MeOD o D_2O (figura 2.24). Estos resultados muestran que en solventes próticos está presente un equilibrio dinámico entre dos posibles compuestos de arsénico (**1a** y **1b**). En tanto, dicho equilibrio es lento en DMSO.

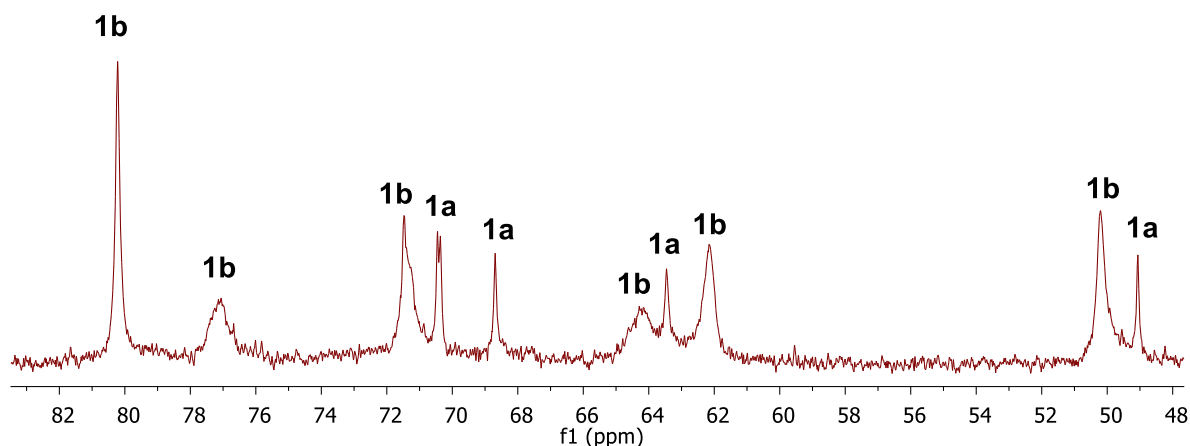


Figura 2.23 Espectro de RMN ^{13}C en DMSO- d_6 para los arsenatos derivados de la *N*-etilglucamina

Por otra parte, los productos obtenidos de la reacción a temperatura ambiente (proceso C) dan lugar a espectros de RMN de ^{13}C similares a los conseguidos por los procesos A y B. Las señales tienen desplazamientos químicos similares, pero no la misma forma de las señales. Las señales del espectro de resonancia son anchas en el sólido naranja (reflujo de tolueno). Pero las señales son más delgadas en el producto obtenido de la reacción a temperatura ambiente (Figura 2.24). Estos resultados muestran que la reacción entre la *N*-etilglucamina y el AsCl_3 también ocurre a temperatura ambiente.

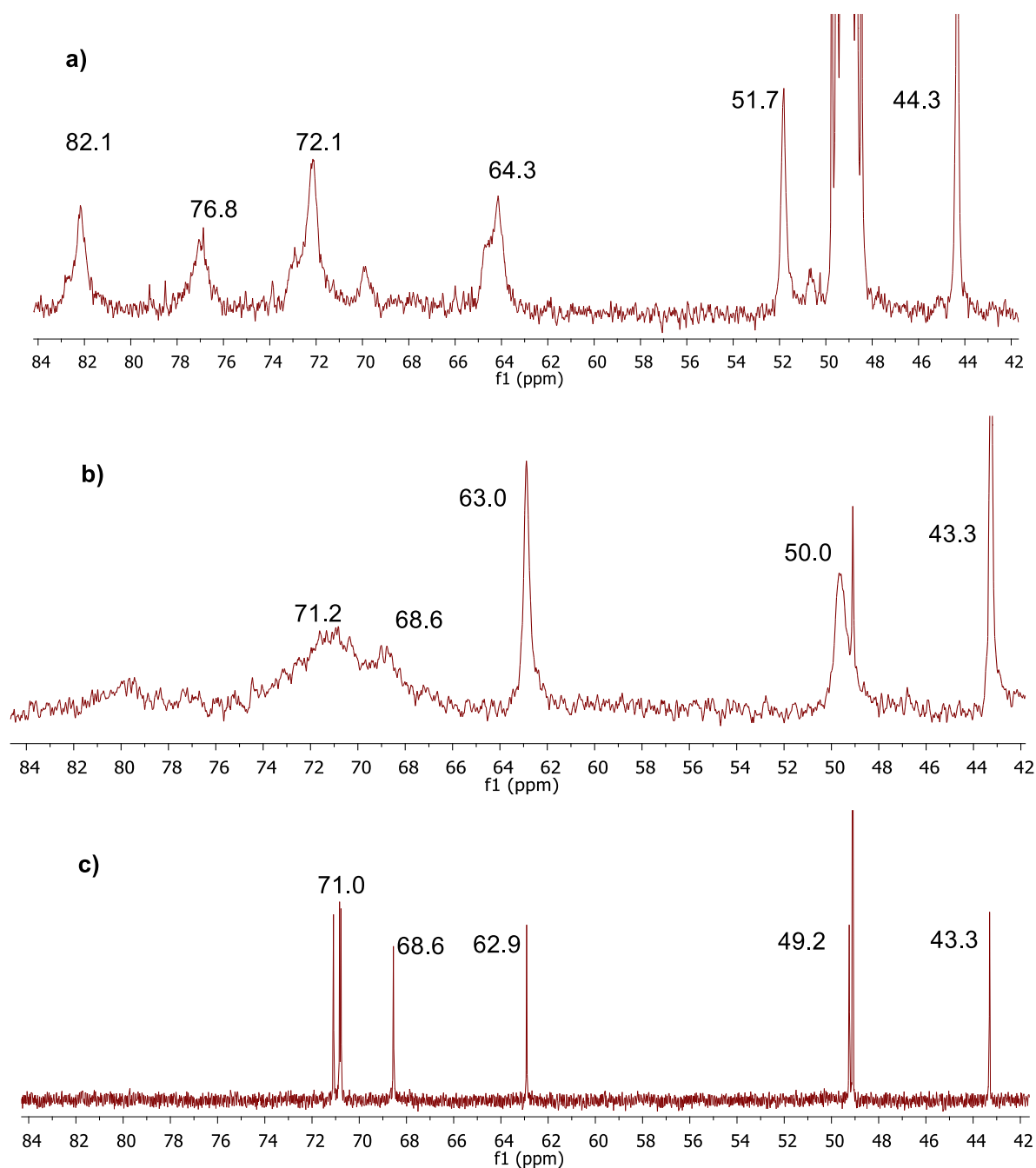


Figura 2.24 Espectros de RMN ^{13}C en a) MeOD y b) D_2O para los arsenatos de la N-etilglucamina obtenidos a reflujo/24 horas y c) espectro de RMN ^{13}C en D_2O para el arsenato obtenido a t.a.

Con la finalidad de completar el estudio estructural del arsenato obtenido a temperatura ambiente se obtuvo su espectro de RMN de ^{13}C en DMSO-d_6 . El disolvente permitió observar la mezcla de dos compuestos y que se encuentran en diferente proporción. Para su distinción, en el espectro se ha etiquetado como **1c** al compuesto que tiene señales con desplazamientos químicos menores y **1d** al

compuesto que tiene las señales desplazamientos con mayores (figura 2.25). Cabe destacar que los desplazamientos químicos de estos compuestos son similares a los encontrados para los productos de la reacción hecha a reflujo. Sin embargo, las proporciones de los compuestos son inversas (predomina **1c**) y la forma de las señales son simples. Esta misma muestra fue puesta a reflujo de tolueno por tres horas. Después de evaporar el disolvente el espectro de RMN del sólido no mostró cambio alguno y se mantuvieron los dos grupos de señales.

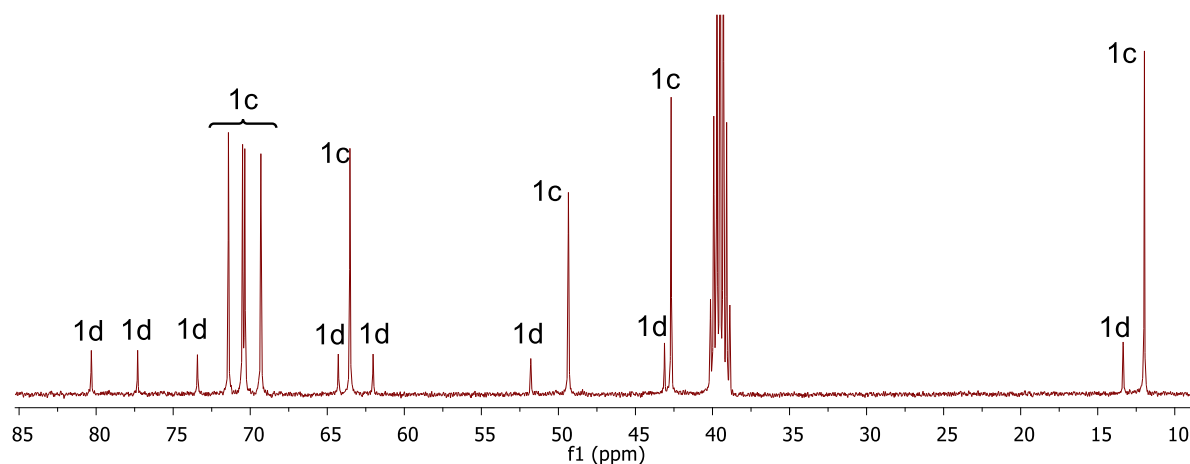


Figura 2.25 Espectros de RMN ^{13}C en DMSO- d_6 para el arsenato obtenido a t.a. de la N-etilglucamina.

Para corroborar la presencia de un equilibrio dinámico entre **1c** y **1d** se determinó el espectro de ^{13}C en MeOD de la muestra. Este espectro mostró dos grupos de señales simples (Figura 2.26). De misma manera se agruparon y etiquetaron los dos grupos conforme al criterio de la figura 2.25. Sin embargo, las señales de **1d** no son muy notorias y se encuentran en menor intensidad respecto a lo que se observa en DMSO- d_6 .

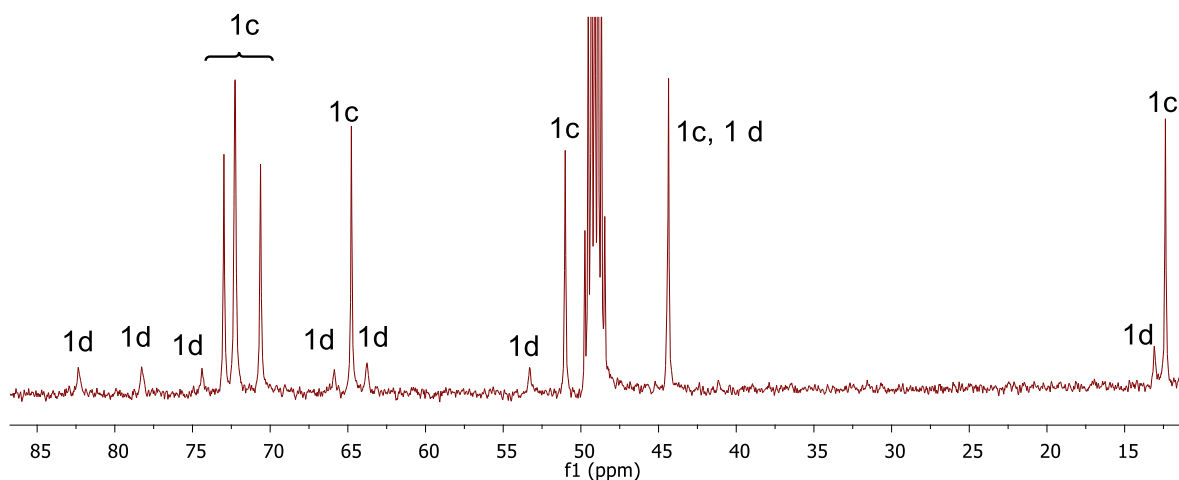


Figura 2.26 Espectro de RMN ^{13}C en MeOD de los arsenatos derivados de N-etilglucamina obtenidos a temperatura ambiente.

Con esta información se confirma que existe un equilibrio dinámico entre los compuestos **1c** y **1d** (cuando la reacción es hecha a temperatura ambiente y 1 hora de agitación). Sin embargo, si la reacción se mantiene agitando por 24 horas el equilibrio posiblemente suceda entre más de dos especies. Las señales se vuelven anchas y esto es un reflejo de que los tiempos de relajamiento de los núcleos de carbono se ven afectados.

4.2 Espectroscopia de IR

Se obtuvieron los espectros de infrarrojo de los compuestos de arsénico y se compararon con los de las materias primas.

4.2.1 IR del arsenato derivado del 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxilhexil) bencimidazol 3

La señal del modo de vibración de tensión del enlace O-H del arsenato es ancha similar a la de la materia prima (figura 2.27). El modo de tensión del C=N en 1623 cm^{-1} sugiere que el átomo de nitrógeno imidazólico no está interaccionando con el átomo de arsénico. Así mismo, la señal en 979 cm^{-1} (zona característica para frecuencias de átomos de oxígeno enlazados a heteroátomos) indica la presencia del enlace As-O-

C. Por otra parte, la señal de 886 cm^{-1} se encuentra desplazada a frecuencias altas comparada con el bencimidazol libre. Esta señal corresponde a la vibración C-H de balanceo de grupos metínicos y confirma que los oxígenos del ligante se han enlazado al átomo de arsénico. Finalmente, la banda en 648 cm^{-1} corresponde al modo de tensión As-O.

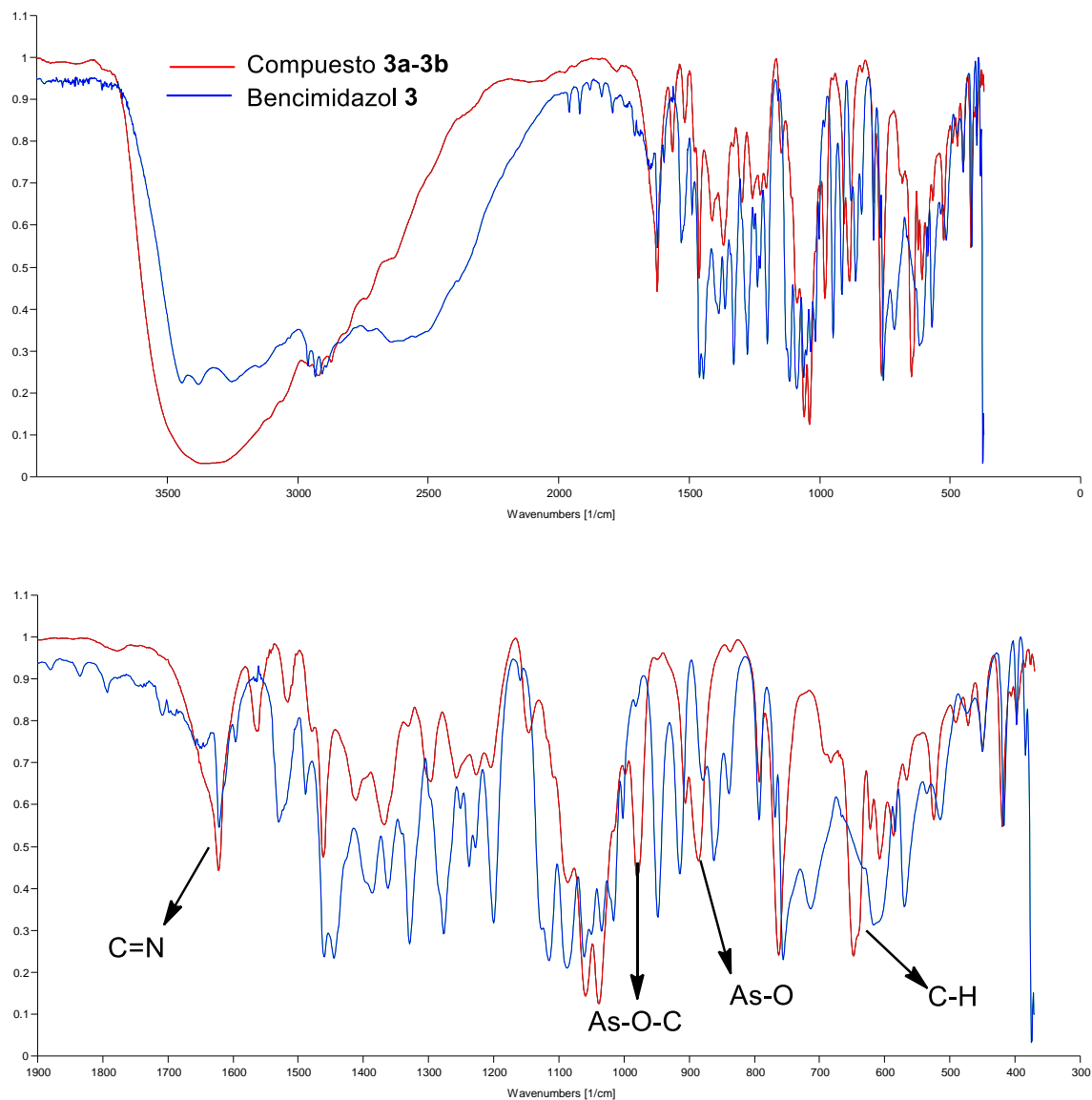


Figura 2.27 Espectro de IR (cm^{-1}) del arsenato derivado del bencimidazol

4.2.2 IR de arsenato derivados de la N-etilglucamina 1

El espectro de infrarrojo de la muestra del sólido blanco resultante la reacción a temperatura ambiente mostró las señales en los mismos intervalos de la materia prima pero son señales muy anchas.

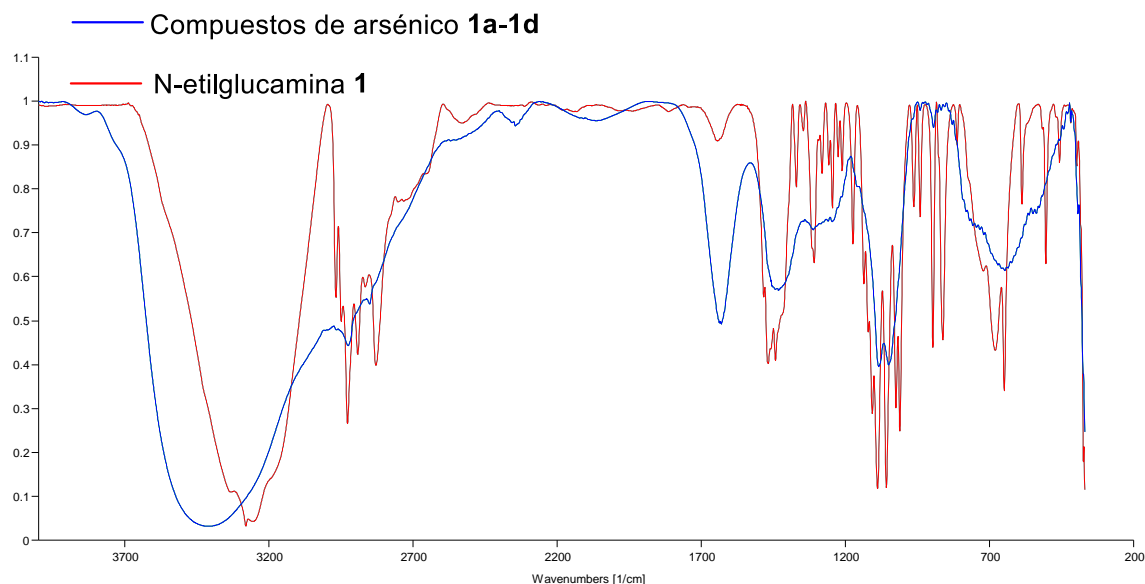


Figura 2.28 Espectro de IR para el arsenato de la N-etilglucamina

4.3 Espectroscopia de RMN ^{13}C y ^1H

4.3.1 RMN del arsenato 3a-3b derivado del D-glicero-D-gulo-hexahidroxihexil) bencimidazol 3

Utilizando los modelos moleculares y considerando las restricciones estructurales causadas por la tensión angular de anillo, además de destacar una posible coordinación en nitrógeno debido al impedimento estérico por parte del grupo bencimidazol, se encontraron cuatro propuestas factibles (Figura 2.29); dos modelos pentacoordinados (B y D) y dos tetracoordinados (A y C). Sin embargo, la estructura pentacoordinada con dos anillos de cinco y uno de seis miembros (D) tendría mayor tensión anular que la estructura pentacoordinada con dos anillos de seis y uno de cinco miembros. Por lo tanto, las estructuras más probables son A y B. Asimismo se descartó la isomerización por pseudorrotación de Berry o tornillo, ya que la presencia de átomos de carbono quirales restringe dichos procesos. De tal manera, la presencia de un equilibrio tautomérico entre A y B es el más factible. Finalmente, la presencia

de desplazamientos químicos hacia frecuencias mayores indican que las señales marcadas como **3a** corresponden al compuesto A. Así, la especie pentacoordinada B corresponde a las señales marcadas como **3b**.

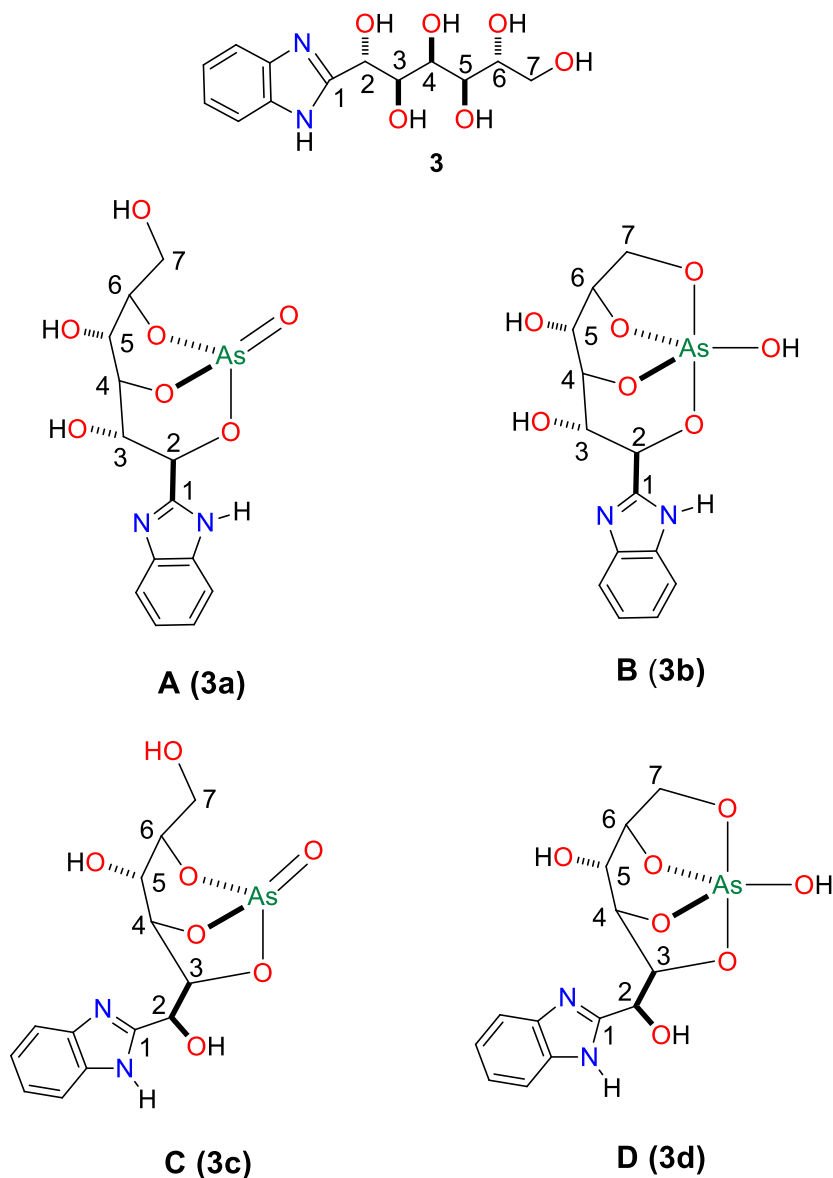


Figura 2.29 Posibles heterociclos de arsénico derivados bencimidazol **3**

En la tabla 2.2 se resumen los desplazamientos de RMN de ^{13}C de los dos heterociclos de arsénico derivados del bencimidazol **3**. Dichos espectros fueron obtenidos en DMSO- d_6 , MeOD y D_2O . La asignación se realizó por comparación con los datos de la materia prima y los espectros HSQC. En los espectros se puede observar que los núcleos de ^{13}C del isómero **3a** presentan desplazamientos químicos muy similares a los de la materia prima. Mientras tanto, en el isómero **3b** se muestran cambios

notables. Adicionalmente, los datos de RMN en D₂O y MeOD sugieren que los dos grupos de señales observados en DMSO-d₆ corresponden a por lo menos dos compuestos de arsénico.

Tabla 2.2 Desplazamientos químicos (en ppm) de los compuesto de arsénico derivados del bencimidazol **3**.

Compuesto	Medio	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
3	DMSO-d ₆	156.8	68.8	68.5	75.8	73.8	72.1	63.8
3a	DMSO-d ₆	155.6	66.4	75.2	67.3	73.5	71.7	63.3
3a	MeOD	156.8	68.2	76.6	69.3	75.0	73.1	64.6
3a	D ₂ O	153.6	66.7	74.3	68.1	73.1	71.4	62.8
3b	DMSO-d ₆	154.8	65.8	77.0	63.9	79.6	77.4	62.0
3b	MeOD	156.0	67.8	78.4	65.6	81.3	78.4	63.6
3b	D ₂ O	152.9	66.2	76.5	64.0	79.4	76.9	61.8

Compuesto 3a DMSO d₆ δ 130.8 (C8, C9), 114.1 (C10, C13), 125.9 (C11, C12), MeOD δ 132.3 (C8, C9), 115.0 (C10, C13), 127.4 (C11, C12), D₂O δ 130.8 (C8, C9), 114.0 (C10, C13), 126.4 (C11, C12). Compuesto 3b DMSO d₆ δ 130.7 (C8, C9), 114.2 (C10, C13), 126.0 (C11, C12), MeOD δ 132.3 (C8, C9), 115.1 (C10, C13), 127.6 (C11, C12), D₂O δ 130.7 (C8, C9), 114.0 (C10, C13), 126.4 (C11, C12).

Es importante hacer notar que la resonancia de los carbonos C11 y C12 aparece en el espectro obtenido en DMSO-d₆ en 121.8 ppm. En tanto, la resonancia de dichos núcleos aparece en 125.9 y 126.0 ppm en los compuestos **3a** y **3b**. Por lo tanto, se corrobora que el átomo de oxígeno del C-2 se mantiene enlazado al arsénico en los dos isómeros.

La similitud de los desplazamientos químicos de los núcleos de carbono en DMSO-d₆ asignado al heterociclo **3a** respecto a los de la materia prima ($\Delta\delta = 0.1$ a 1.7 ppm) se puede atribuir a la estabilidad de los anillos de seis miembros y la geometría tetraédrica del arsénico. Mientras que el compuesto con el arsénico en geometría BPT (heterociclo **3b**) debe generar contribuciones de los carbonos adyacentes generando un mayor efecto en los desplazamientos químicos ($\Delta\delta = 1.2$ a 5.4 ppm).

Respecto a la RMN de ^1H se presenta un espectro más complejo que el que presenta la materia prima. Sin embargo, la integral de las señales dobles para cada isómero y el HSQC fue suficiente para establecer que **3a** es el isómero mayoritario.

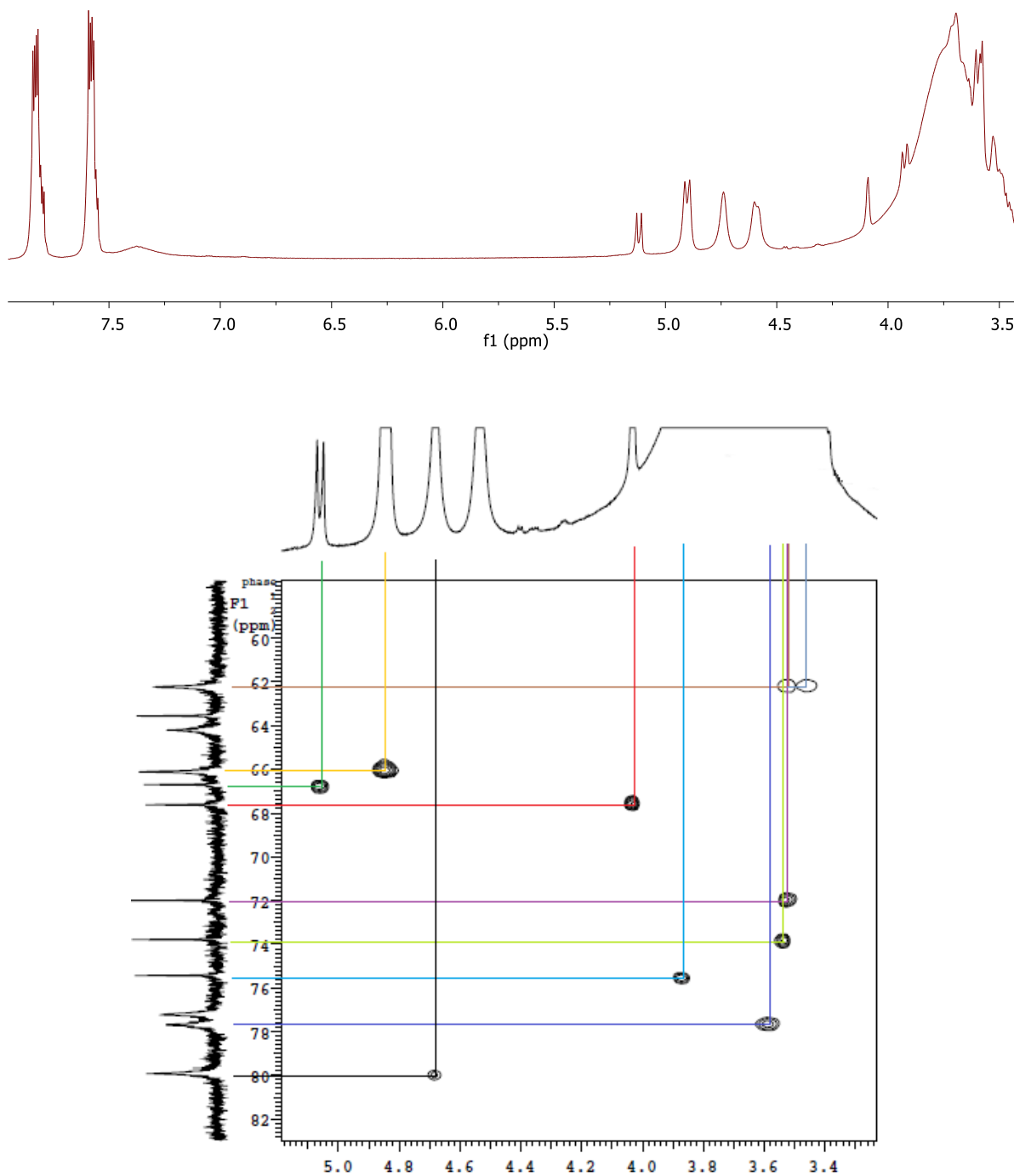


Figura 2.30 Espectros de RMN ^1H en DMSO-d_6 de los compuesto **3a-3b** y espectro HSQC.

4.3.2 RMN de la reacción de la amida **2** con AsCl_3

La RMN muestra que la reacción entre la amida **2** con el AsCl_3 dio como resultado a los heterociclos **3a** y **3b** (tabla 2.3).

Tabla 2.3 Comparación entre desplazamientos químicos (en ppm) de los heterociclos derivados de la amida **2**.

Compuesto	Medio	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
2 + AsCl₃	DMSO-d ₆	153.6	68.1	74.3	66.7	73.5	73.1	62.7
3a		155.6	66.4	75.2	67.3	73.5	71.7	63.3
3b		154.8	65.8	77.0	63.9	79.6	77.4	62.0

$\text{AsCl}_3 + 2 \text{ DMSO-d}_6$ δ 130.8 (C8, C9), 114.0 (C10, C13), 126.3 (C11, C12).

Cabe mencionar que de acuerdo a los desplazamientos encontrados en el producto de la reacción a temperatura ambiente de la amida y AsCl_3 (Tabla 2.4), la reacción no es factible ya que se observan desplazamientos químicos muy similares a la materia prima. Esta observación es importante para la determinación de las condiciones adecuadas para la obtención de heterociclos derivados de esta amida en trabajos futuros.

Tabla 2.4 Comparación entre los desplazamientos químicos (en ppm) de la amida **2** y la reacción de **2** con AsCl_3 a temperatura ambiente.

Compuesto	Medio	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
2 + AsCl₃	DMSO-d ₆	174.3	71.1	74.1	69	72.6	73.1	63
2		174.2	72.2	74.1	69.2	72.6	71.4	62.9

4.3.3 RMN de los heterociclos de arsénico 1a-1d derivados de N-etilglucamina 1

La asignación de los espectros de RMN de ^{13}C de los heterociclos de arsénico **1a-1d** realizó considerando los desplazamientos químicos de los compuestos **3a** y **5a**. Debe notarse que los desplazamientos químicos de los productos **1a-1d** no son iguales a los de *N*-etilglucamina **1**. Comparando la resonancia de los núcleos de carbono en DMSO- d_6 de las muestras obtenidas a 24 horas y 1 hora de agitación, se encuentra que los desplazamientos químicos de los productos obtenidos son muy similares (tabla 2.5). Sin embargo, en el proceso con una hora de reacción se observaron dos señales para el grupo metilo. En la reacción con 24 horas de duración se observó una señales para el grupo metilo. Esto indica que el nitrógeno enlazado al arsénico es quiral y se obtiene dos diastereoisómeros. Por lo tanto, en el primer caso el grupo etilo se encuentra en posición *endo* (12 y 13.3 ppm) y en el segundo podría encontrarse en posición *exo* (11.0 ppm).

Tabla 2.5 Desplazamientos químicos (en ppm) de los arsenatos **1 a-1d**.

Compuesto	Medio	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8
1 a	DMSO- d_6	49.1	68.7	70.5	71.5	70.4	63.5	42.5	11.0
1 a	D_2O	50.0	71.2	68.6	70.8	ND	63.0	43.3	10.6
1b	DMSO- d_6	50.2	72.9	64.2	80.2	77.1	62.2	42.7	11.0
1b	MeOD	51.7	ND	72.1	82.1	76.8	64.3	44.3	11.5
1c	DMSO- d_6	49.3	69.3	70.5	71.4	70.4	63.5	42.8	12.0
1c	MeOD	51.0	70.6	72.2	73.0	72.3	64.8	44.3	12.4
1c	D_2O	49.2	71.0	68.6	70.8	70.8	62.9	43.3	10.6
1d	DMSO- d_6	51.8	73.4	64.2	80.3	77.3	62.0	43.1	13.3
1d	MeOD	51.7	ND	72.1	82.1	76.8	64.3	44.3	11.5

Notese, que debido a la tensión anular de los heterociclos y los cambios de los desplazamientos químicos del grupo etilo se descartaron las estructuras con dos anillos de cinco y uno de seis miembros, es decir con el arsénico enlazado sólo a los átomos de óxigenos (**1e** en figura 2.33).

Los datos de RMN en MeOD de ambas muestras de heterociclos de arsénico derivados de la *N*-etilglucamina indicaron la presencia de un equilibrio entre dos especies químicas, pero con una especie química predominante. La RMN de ^{13}C de los productos de la reacción hecha a 24 horas de agitación mostró que en MeOD los $\Delta\delta$ (3.4 y 9.2 ppm) para C1, C4 y C6 son similares a los observados en DMSO- d_6 con el isómero pentacoordinado **1b**. Por otro lado, los desplazamientos químicos de la reacción de 1 hora muestran un cambio mayor respecto a la materia prima para el isómero **1c** y menor para **1b**. La RMN en D_2O de ambas muestras mostró un sólo grupo de señales con desplazamientos químicos muy próximos pero con mayor diferencia en los carbonos C4, C5 y C6.

Lo anterior señala el distinto comportamiento de los isómeros de acuerdo al disolvente con el que interacciona afectando su formación y equilibrio, observando un equilibrio más rápido en D_2O que en DMSO- d_6 y MeOD. Finalmente, de acuerdo a lo observado en RMN ^{13}C y al análisis estructural realizado se proponen las estructuras mostradas en la figura 2.31. Notese que a causa de las dos posibles disposiciones espaciales del grupo etilo la cantidad de isómeros se duplica.

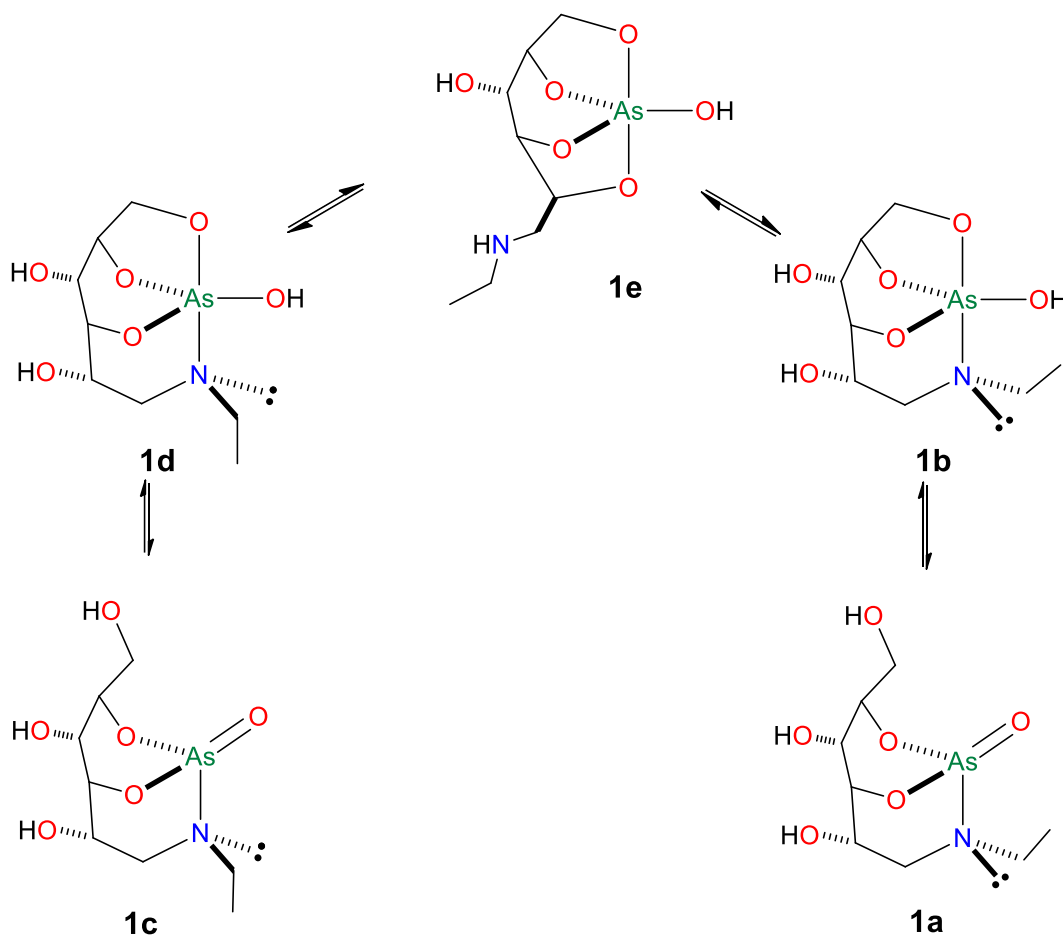


Figura 2.33 Estructuras y equilibrio presente los heterociclos derivados de la *N*-etilglucamina 1.

5 CONCLUSIONES

La RMN ^{13}C muestran que la *N*-(2-aminofenil)-D-glicero-D-gulo-heptonamida **2** en presencia del AsCl_3 tiende a ciclarse formando el bencimidazol **3** y el respectivo arsenato, asistido a altas temperaturas

La RMN ^{13}C de los heterociclos derivados de D-glicero-D-gulo-Hexahidroxi-hexil) bencimidazol **3** mostró la posibilidad de que existan dos heterociclos predominantes en solución de metanol y DMSO. De acuerdo a los desplazamientos químicos en la RMN de ^1H y ^{13}C en dichos heterociclos los átomos de arsénico tienen geometrías pentacoordinada y tetracoordinada.

Por otro lado, la naturaleza del disolvente afecta considerablemente al equilibrio tautomérico. En DMSO-d_6 el equilibrio es lento, pero en MeOD el equilibrio dinámico disminuye considerablemente su velocidad. En D_2O , el equilibrio es más rápido que la RMN y se observa un juego de señales.

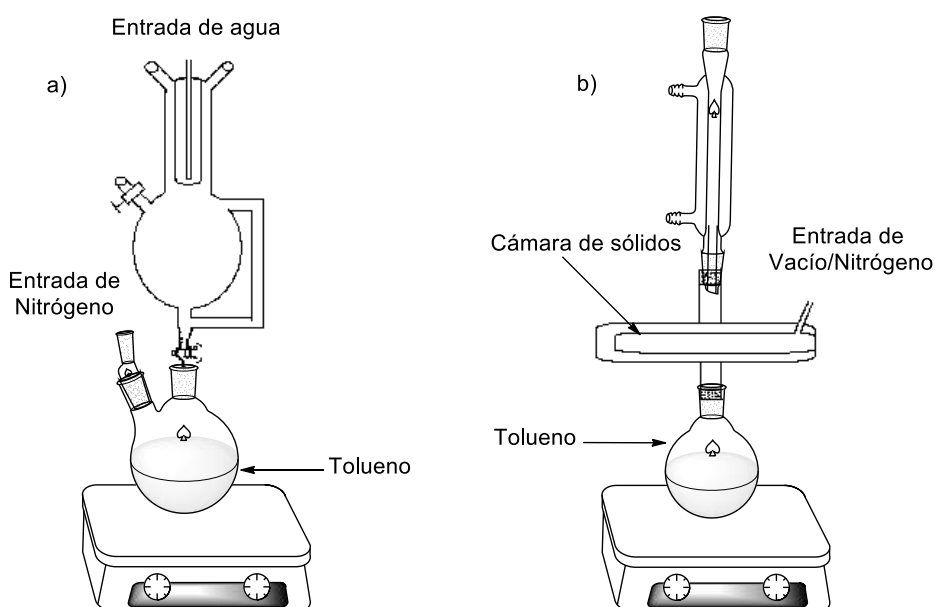
Los heterociclos derivados de la *N*-etilglucamina **1** presentan equilibrios muy similares a los observados con los derivados del bencimidazol **3**. Así, el equilibrio tautomérico entre los arsenatos derivados de **1** también es afectado por la naturaleza del disolvente. Es importante resaltar que para formar los heterociclos derivados de **3** es necesario efectuar la reacción a la temperatura del reflujo del tolueno o xileno. Sin embargo, en el caso del compuesto **1** es factible obtener los heterociclos a temperatura ambiente. Así mismo, los equilibrios entre las especies obtenidas a reflujo y a temperatura ambiente no son equivalentes. En el primer caso la RMN de ^{13}C mostró señales muy anchas, mientras que en el segundo las señales son delgadas. Por lo tanto, se han propuesto dos heterociclos mayoritarios, uno pentacoordinado y otro tetracoordinado. Sin embargo, a causa de un nitrógeno piramidal, el grupo etilo puede ocupar las posiciones *endo* u *exo* duplicando la cantidad de isómeros posibles.

Con este trabajo se obtuvieron dos heterociclos con solubilidad en agua, y fenómenos dinámicos que en conjunto abren la puerta a nuevos estudios. Además, se contribuye con información relevante e inédita en la espectroscopia de RMN de este tipo de compuestos.

6 PARTE EXPERIMENTAL

Secado de material y disolventes

Los disolventes y la *N*-etilglucamina **1** fueron adquiridos comercialmente. Para eliminar la humedad presente en la *N*-etilglucamina **1** y del 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxilhexil) bencimidazol **3** se sometieron a calentamiento utilizando vapor de tolueno en un sistema de vacío. El disolvente (tolueno) se secó destilándolo en un sistema cerrado acompañado de pastillas de sodio. El material de vidrio se secó en una estufa a una temperatura de 110° C durante 24 horas.



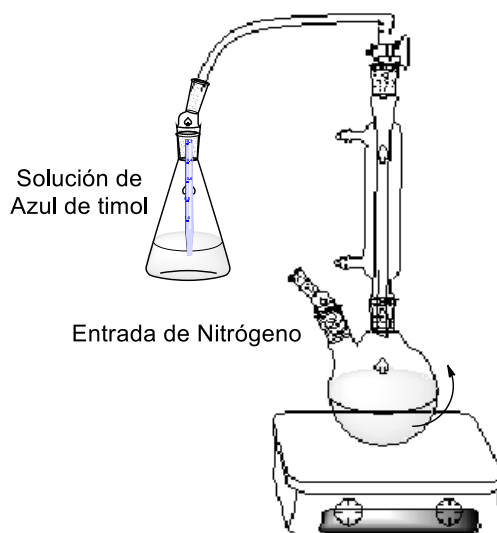
Sistemas cerrados utilizados para el secado de a) disolventes y b) sólidos

Heterociclos de *N*-etilglucamina **1**

Para evitar el ingreso de humedad en el material, se montó caliente el matraz balón, se tapó con tapones de latex y se enfrió utilizando nitrógeno. Se pesaron 500 mg de *N*-etilglucamina seca en una báscula analítica. Inmediatamente fueron agregados al matraz balón con atmósfera de nitrógeno. Para añadir el tolueno seco, se extrajo con una cánula conectada al recipiente y al matraz balón a la misma vez, y se inyectó nitrógeno en el disolvente. De esta manera, la presión del nitrógeno hizo que el

disolvente pasara de su recipiente al matraz. Se conectó un refrigerante al matraz balón y se añadieron 200 μl de AsCl_3 .

Una vez que los reactivos y el disolvente se encontraban en el sistema, se cerró completamente el sistema sellando las juntas. Se calentó hasta reflujo utilizando una manta de calentamiento. Se mantuvo una agitación constante alrededor de 300 RPM y se mantuvo un flujo de nitrógeno constante para el arrastre del HCl desprendido durante la reacción. Para llevar un seguimiento del HCl que se desprendía, el gas desprendido se burbujeó en una solución de 20 mL de agua con dos gotas de azul de timol. A las pocas horas de la reacción se observó cómo cambiaba la solución de color azul a amarillo. Al término de la reacción el color final de la solución indicadora fue rosa. El producto de esta reacción fue un sólido naranja. Este sólido mostró muy poca solubilidad a disolventes polares como metanol o agua. Se utilizó DMSO para redissolver parte del producto restante en las paredes y se colocó en el vial. Se evaporó el disolvente y se pesó el producto obtenido.

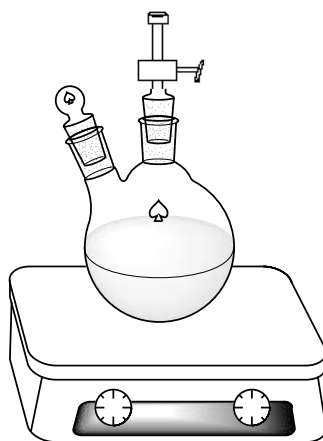


Sistema con flujo de nitrógeno

Para cuantificar el ácido clorhídrico desprendido se añadieron volúmenes de 10 μL de una solución de NaOH 1.0 M hasta que la solución de timol paso de color rosa a transparente. El volumen total empleado de NaOH 1.0 M fue de 90 μL . La concentración de ácido clorhídrico encontrada fue de de 4.5×10^{-3} M, lo que nos lleva

a una producción de 9×10^{-5} moles de ácido clorhídrico que es alrededor de un 32 % del cloro inicial en la reacción.

Se planteó una segunda reacción disminuyendo el tiempo de reacción, reduciéndolo hasta una hora y realizándola a temperatura ambiente. El procedimiento seguido para esta reacción fue muy similar al descrito anteriormente, sólo con la variante de no mantener el flujo de nitrógeno de manera constante y sellando completamente el sistema. El producto obtenido al final de la reacción fue un precipitado de color blanco muy similar a la *N*-etilglucamina. La mayor parte del disolvente de la reacción fue eliminado utilizando con una pipeta Pasteur. El sólido con el disolvente restante se secó con aire. Una vez que el sólido estuvo seco, se desprendió del matraz utilizando una espátula de acero inoxidable y se colocó en un vial. El compuesto sintetizado presenta un P. F. de 120.4°C .



Sistema cerrado sin flujo de nitrógeno

Heterociclos derivados del 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxi-hexil) bencimidazol 3

El matraz balón de 25 mL recién secado en la estufa fue enfriado con nitrógeno y se le colocaron tapones de látex para evitar el ingreso de humedad. La reacción se realizó con una relación estequiometría de 1:1. Se pesaron 0.46 g de 2-(D-glicero-D-gulo-hexahidroxi-hexil) bencimidazol y se colocaron en el matraz balón. Durante el montaje del sistema se mantuvo el flujo de nitrógeno. La adición del disolvente y del AsCl_3 se realizó utilizando la misma técnica descrita como se describe anteriormente.

De la misma forma se calentó a 60 volts durante 24 horas manteniendo un flujo de nitrógeno y una agitación constante y se colocó la solución indicadora de azul de timol para llevar el seguimiento del desprendimiento de HCl durante la reacción. Al término de la reacción se observó un precipitado blanco similar a la materia prima y con un P. F. de 201.1°C. La mezcla se filtró a vacío.

La cuantificación de ácido clorhídrico se realizó con la técnica anteriormente descrita. Se utilizó un volumen de 295 μL de una solución de NaOH 1.0 M para neutralizar el ácido desprendido. La concentración de ácido clorhídrico que se obtuvo fue de 0.015 M. Se produjeron 2.95×10^{-4} moles de HCl, un 32% del cloro total de la reacción.

7 REFERENCIAS

- 1 Trinquier, Georges; Daudey, Jean P.; Caruana, Geneviève; Madaulele, Yves.. *Journal American Chemical Society*. **1984**. 106 (17), 4194-4799.
- 2 Plataniias, Leonidas C. *The Journal of Biological Chemistry*. **2009**. 284 (28), 18583–18587.
- 3 D., Thomas J.; Styblo, M.; Lin, S. *Appl. Pharmacol.* **2001**. 176, 127–144.
- 4 Deepthi, S. Bhavya; Trivedi, Rajiv; Sujitha, P.; Kumar, C. Ganesh; Sridharc B.; Bhargava, Suresh K. *J. Chemical. Science*. **2012**. 124 (6), 1405–1413.
- 5 Florindo, Pedro; Marques, Inés J.; Núñez, Carla D.; Fernandes, Ana C. *Journal of Organometallic Chemistry*. **2014**. 760, 240-247.
- 6 Mazlan, Nurul Ain; Ravoof, Thahira B. S. A.; Tiekink, Edward R. T.; Tahir, Mohamed I. M.; Veerakumarasivam, Abhi; Crouse, Karen A. *Springer*. **2014**. 1405-1413.
- 7 IARC monographs. *Arsenic and arsenic compounds*. 41-93.
- 8 EPA. *Sección IV, Otros pesticidas*. **2011**.
- 9 Yan, Cao; Jinao, Duan; Jianming, Guoa; Weixia, Lia; Weiwei, Taa; *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **2014**. 96, 213–219.
- 10 Rey, Nicolás A.; Howarth, Oliver W.; Maia, Elene C. P. *Journal of Inorganic Biochemistry*. **2004**. 98, 1151–1159.
- 11 Rehman, Kanwal; Chen, Zhe; Wen, Wang W.; Wang, Yan W.; Sakamoto, Akira; Zhang, Yan F.; Naranmandura, Hua; Suzuki, Noriyuki. *Toxicology and Applied Pharmacology*. **2012**. 263, 273–280.
- 12 Burri, C.; Nkunku, S.; Merolle, A.; Smith, T.; Blum, J.; Brun, R.; *The Lancet*. **2000**. 355, 1419-1425.
- 13 Loiseau, P.M.; Trabelsi, M.; Gayral, P.; Wolf, J.G. *Acta Tropica*. **1995**. 59, 237-241.
- 14 Mod, Jerzy; Morokuma, Keiji. *Journal American Chemical Society*. **1995**. 117 (47), 11790-11797.
- 15 Wolfe, F. S.; Blum J. S.; Kulp, T. R.; Gordon, G. W.; Hoeft, S. E.; Ridge, J. Pett; Stolz, J. F.; Webb, S. M.; Weber, P. K.; P. C. W. Davies, Anbar, A. D.; Oremland, R. S. *Science*. **2011**. 332 (6034), 1163-1166.
- 16 Gu, Jiande; Wang, Jing; Xie, Yaoming; Leszczynski, Jerzy; Schaefer, Henry F. *Journal of Computational Chemistry*. **2012**. 33, 817-821.
- 17 Sharpe, A.G.; *Química Inorgánica*. Reverté. **1993**.

- 18 Poutasse, Charles A.; Day, Roberta O.; Holmes, Joan M.; Holmes, Robert R. *Organometallics*. **1985**, 4, 708-713.
- 19 Holmes, Robert R.; Day, Roberta O.; Sau, Arjun C. *Organometallics*. **1985**, 4, 714-720.
- 20 Wasada, H.; Hirao, K. J. *Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 16.
- 21 Jiang, Xin D.; Matsukawa, Shiro; Kojima, Satoshi; Yamamoto, Yohsuke. *Inorg. Chem.* **2012**, 51, 10996–11006.
- 22 Couzijn, Erik P. A.; Slootweg, J. Chris; Ehlers, Andreas W. *J.A.C.S. Articles*. **2010**, 132, 18127–18140.
- 23 Berry, R. S. *J. Chem. Phys.* **1960**, 32, 933–938.
- 24 Ugi, I.; Marquarding, D.; Klusacek, H.; Gokel, G.; Gillespie, P. *Angew. Chem., Int.* **1970**, 9, 703–730.
- 25 Trinquier, Georges; Daudey, Jean P.; Caruana, Geneviève; Madaulele, Yves. *American Chemical Society*. **1984**, 106 (17), 4194-4799.
- 26 García, Francisco P.; Benavides, Antonio R. T.; Tlahuext, Hugo; - Álvarez, Alejandro; Romero, Margarita T. *Struct Chem*. **2006**, 17, 359–366.
- 27 Dale, A. J.; Frøyen, P. *Acta Chem. Scand. B* **1975**, 29, 741–748.
- 28 Wolfe, F. S.; Blum, J. S.; Kulp, T. R.; Gordon, G. W.; Hoeft, S. E.; Ridge, J. Pett; Stolz, J. F.; Webb, S. M.; Weber, P. K.; P. C. W. Davies, Anbar, A. D.; Oremland, R. S. *Science*. **2011**, 332 (6034), 1163-1166.
- 29 Betz, Richard; Klüfers, Peter. *Inorg. Chem.* **2009**, 48, 925-935.
- 30 Gu, Jiande; Wang, Jing; Xie, Yaoming; Leszczynski, Jerzy; Schaefer, Henry F. *Journal of Computational Chemistry*. **2012**, 33, 817-821.
- 31 Benavides, Antonio R. Tapia; Huizar, Luis H. Mendoza, García, Francisco Pérez; Tlahuext, Hugo; Álvarez, Alejandro; Tlahuextl, Margarita. *Inorg. Chem.* **2010**, 49, 1496–1502.
- 32 Betz, Richard; Klüfers, Peter. *Inorg. Chem.* **2009**, 48, 925-935.
- 33 Salmi, E. J.; Merivuori, K.; Laaksonen, E. *Chem. Abs.* **1946**, 19, 102–108.