

**Universidad Central de Venezuela**  
**Facultad de Ciencias**  
**Escuela de Química**



**SINTESIS DE 3-CIANOCUMARINAS SUSTITUIDAS. ESTUDIO DE MODELAJE  
MOLECULAR**

Trabajo Especial de Grado presentado  
ante la ilustre Universidad Central de  
Venezuela, por la Br. Patricia Guevara  
Level, para optar al título de Licenciada  
en Química

Caracas, Abril de 2009

Los abajo firmantes designados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del trabajo Especial de Grado titulado: “Síntesis de 3-cianocumarinas sustituidas. Estudio de modelaje molecular”. Presentado por la Br. Patricia Guevara Level, certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar por el título de Licenciada en Química.

---

Dr. Gustavo Cabrera  
(Director)

---

Dra Tania Córdova de S  
(Directora)

---

Dra. Ivette Piña  
(Jurado)

---

Dra. María Antonieta Ranaudo  
(Jurado)

## **Agradecimientos**

A veces es difícil expresar con palabras lo que uno piensa y siente y escribir un simple gracias puede parecer insuficiente. Sin embargo sería justo hacer el intento y expresar lo profundamente agradecida que estoy de todos los que han hecho posible que me encuentre en este punto.

Gracias a Dios por darme mas de lo que necesito. Sin ti nada soy.

A mis padres quienes me han brindado su amor y apoyo incondicional, todos mis logros se los debo a ustedes.

A mis hermanos por su paciencia y apoyo, han sido muy valiosos para mí. Y a mi querido Dewar gracias por tu cariño, la oportunidad que me brindas día a día de colaborar con tu formación es para mi muy importante, contribuyes en mi crecimiento como ser humano.

A todos aquellos que siempre hicieron de cada materia una experiencia interesante y que hoy continúan brindándome una sonrisa. A Kimberly (Beba), Kamel, Emmely, Karina, Rohany y muy especialmente a dos personas maravillosas que sin su amistad, me atrevería a decir sin duda que le faltaría algo a mi vida. Mi querido Daniel y mi Gaby linda, han sido mi mayor apoyo, gracias por soportarme y acompañarme, tantos momentos felices y tantos no tan gratos que vivimos juntos han marcado mi vida, los quiero muchísimo. A Pat por toda la alegría y felicidad que compartimos a diario.

A mi amado Jocer gracias por toda la paciencia, solidaridad, apoyo y amor que me has brindando, has sido un amigo y compañero muy especial. Gracias por tantos momentos juntos, por estar dispuesto a secar cada una de mis lágrimas en las situaciones más difíciles y ha dibujar una sonrisa en mis labios siempre.

A mi tutora, Prof. Tania gracias por el honor de trabajar a su lado, por su paciencia y apoyo, su alegría me impulso a no decaer. A mi tutor, Prof. Gustavo gracias inmensas por todo su apoyo y su paciencia, sus enseñanzas me ayudaron en todo momento, sin contar con sus oportunos consejos y recomendaciones. Ha contribuido tanto en mi formación académica como personal, gracias por su valiosa amistad.

A las profesoras Ivette y María Antonieta muchas gracias por ser parte de mi formación, su atención, cordialidad y enseñanzas han sido muy importantes para mí.

A quienes hoy no están conmigo pero que me apoyaron y brindaron su afecto, Juan, mi padrino Fernando y mi muy querido Federico ustedes son parte de la fuerza que me guía a continuar cada día.

A la Universidad Central de Venezuela, por ser la casa de estudios que me brindo la oportunidad de cursar mis estudios de pregrado de manera exitosa.

Todos han sido muy valiosos para mí y sin duda estarán por siempre en mi corazón.

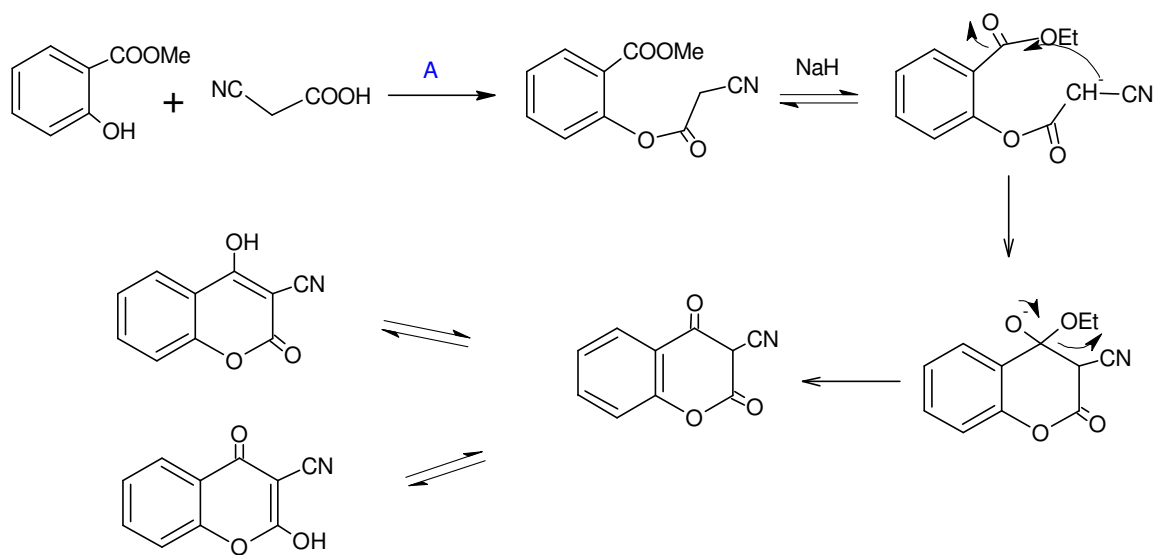
Gracias.

## Resumen

En el siguiente trabajo se realiza la síntesis de 3-ciano-4-hidroxycumarina, este compuesto puede presentar equilibrio tautomérico donde se generan tres especies, una en su forma ceto y dos en forma enólica. Dicho equilibrio se estudió por métodos computacionales de estructura electrónica con cálculos semiempíricos PM3 y la Teoría de Funcional de Densidad (DFT) como método, con funcionales B3LYP y mpw1pw91 con base de 6-31G (d), además del estudio de algunas propiedades como cargas eléctricas, densidad electrónica, potencial electrostático, momento dipolar, energía de solvatación, orbitales HOMO & LUMO, entre otras. Los cálculos computacionales también se realizaron para los tautómeros sustituidos en la posición 6 por un grupo amino y un grupo nitro.

Se siguieron dos rutas sintéticas:

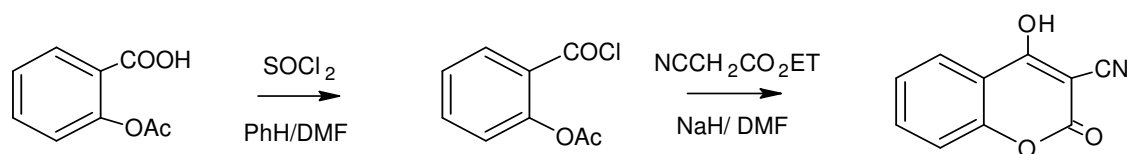
1)



Esquema 1

Donde A corresponde a las condiciones de esterificación.

2)



Esquema 2

Se encontró que la formación del diéster cianoacetato de (2-acetil)fenilo necesario para la primera ruta se intentó sintetizar por diferentes vías de esterificación, notando que el peso del grupo acetil como atractor de electrones es bastante importante, por lo que la obtención del compuesto de interés no fue satisfactoria.

La transesterificación del cianoacetato de etilo con el salicilato suministrando calor no produce la cumarina esperada, sin embargo se obtiene ácido salicílico.

En la segunda ruta de reacción que se encuentra reportada en la literatura se obtiene un sólido cuyo espectro de RMN  $^1\text{H}$  no satisfacen la estructura esperada.

Los cálculos computacionales muestran que el nivel de teoría utilizado no es suficiente para determinar cual especie se encuentra preferentemente al calcular la constante de equilibrio, mientras que si se toma el calor de formación para analizar la estabilidad los resultados se acercan más a lo observado experimentalmente.

## Índice General

|                                                       |           |
|-------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Capítulo I.....</b>                                | <b>18</b> |
| 1.1 Introducción.....                                 | 19        |
| 1.2 Cumarinas Naturales .....                         | 21        |
| 1.3 Clasificación .....                               | 27        |
| 1.4 Extracción de Cumarinas .....                     | 27        |
| 1.5 Estructura.....                                   | 29        |
| 1.6 Métodos de síntesis: Derivados de Cumarinas ..... | 30        |
| 1.7 Actividad Biológica .....                         | 33        |
| 1.8 Química Computacional .....                       | 36        |
| 1.8.1 Mecánica Molecular.....                         | 37        |
| 1.8.2 Mecánica Cuántica .....                         | 39        |
| 1.8.3 Aproximación Born- Oppenheimer.....             | 40        |
| 1.8.4 Métodos de Cálculos .....                       | 41        |
| 1.8.5 Métodos Ab – initio .....                       | 41        |
| 1.8.6 Método de Hartree-Fock.....                     | 41        |

|                     |                                                           |            |
|---------------------|-----------------------------------------------------------|------------|
| 1.8.7               | Métodos Post Hartree-Fock .....                           | 43         |
| 1.8.8               | Interacción de Configuraciones (CI) .....                 | 43         |
| 1.8.9               | Métodos Perturbativos.....                                | 43         |
| 1.8.10              | Cúmulos Acoplados (Coupled Clusters) .....                | 44         |
| 1.8.11              | Métodos Semiempíricos .....                               | 45         |
| 1.8.12              | DFT (Teoría del Funcional de la Densidad) .....           | 46         |
| 1.8.13              | Funciones Base .....                                      | 48         |
| 1.8.14              | QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) ..... | 49         |
| 1.9                 | RMN (Resonancia Magnética Nuclear) .....                  | 50         |
| <b>Capítulo II</b>  | <b>.....</b>                                              | <b>53</b>  |
| 1.10                | Antecedentes .....                                        | 54         |
| <b>Capítulo III</b> | <b>.....</b>                                              | <b>66</b>  |
| 1.11                | OBJETIVOS .....                                           | 67         |
| <b>Capítulo IV</b>  | <b>.....</b>                                              | <b>68</b>  |
| 1.12                | Parte Experimental.....                                   | 69         |
| 1.13                | Síntesis de la 3-ciano-4-oxocumarina. ....                | 71         |
| 1.13.1              | Cálculos Computacionales .....                            | 76         |
| <b>Capítulo V</b>   | <b>.....</b>                                              | <b>77</b>  |
| 1.14                | Resultados y Discusión .....                              | 78         |
| 1.14.1              | Síntesis .....                                            | 78         |
| 1.14.2              | Constantes de Equilibrio.....                             | 88         |
| 1.14.3              | Modelaje Molecular.....                                   | 94         |
| <b>Capítulo VI</b>  | <b>.....</b>                                              | <b>114</b> |
| 1.15                | Conclusiones.....                                         | 115        |
| 1.16                | Recomendaciones.....                                      | 117        |
| 1.17                | Bibliografía .....                                        | 118        |

## Índice de Tablas

|                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 1: Sustituyentes de las ciano cumarinas sintetizadas por Lele, S                | 47 |
| Tabla 2: Rendimiento de los derivados sintetizados por Wood                           | 47 |
| Tabla 3: Rendimiento y tiempo de reacción de los derivados sintetizados por Maheswara | 50 |
| Tabla 4: Resultados de la síntesis de cumarinas catalizadas con                       | 52 |

---

|                                                                                    |     |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabla 5: Hidroxicumarinas estudiadas por Traven                                    | 53  |
| Tabla 6: Propiedades de las hidroxicumarinas estudiadas por Traven                 | 53  |
| Tabla 7: Benzopiranilimidazoles sintetizados por Contini                           | 55  |
| Tabla 8: Entalpias de los Benzopiranilimidazoles                                   | 56  |
| Tabla 9: Desplazamientos químicos RMN $^{13}C$ del producto de transesterificación | 78  |
| Tabla 10: Nombre y numeración de las 3-cianocumarinas estudiadas                   | 81  |
| Tabla 11: Parámetros Termodinámicos B3LYP 6-31 G(d) vacío                          | 82  |
| Tabla 12: Parámetros Termodinámicos B3LYP 6-31 G(d) $CHCl_3$                       | 82  |
| Tabla 13 Parámetros Termodinámicos B3LYP 6-31 G(d) Metanol                         | 83  |
| Tabla 14: Parámetros Termodinámicos B3LYP 6-31 G(d) Benceno                        | 83  |
| Tabla 15: Parámetros Termodinámicos mpw1pw91 6-31 G(d)                             | 84  |
| Tabla 16: Parámetros Termodinámicos PM3 vacío                                      | 84  |
| Tabla 17: Calor de formación de las 3-cianocumarinas                               | 85  |
| Tabla 18: Estructuras optimizadas de las 3-cianocumarinas                          | 87  |
| Tabla 19: Cargas Mülliken                                                          | 89  |
| Tabla 20: Propiedades Qsar                                                         | 104 |



## Índice de figuras

|                           |    |
|---------------------------|----|
| Figura 1: Cumarina        | 13 |
| Figura 2: Umbelliferona   | 14 |
| Figura 3: Ciptroteno      | 14 |
| Figura 4: Esculetina      | 14 |
| Figura 5: Esculina        | 14 |
| Figura 6: Cichorina       | 14 |
| Figura 7: Escopoletina    | 15 |
| Figura 8: Ayapina         | 15 |
| Figura 9: Dafnetina       | 15 |
| Figura 10: Fraxetina      | 15 |
| Figura 11: Fraxina        | 15 |
| Figura 12: Fraxidina      | 15 |
| Figura13: Isofraxidina    | 15 |
| Figura 14: Fraxinol       | 16 |
| Figura 15: Osthol         | 16 |
| Figura 16: Osthénol       | 16 |
| Figura 17: Toddalolactona | 16 |
| Figura 18: Ammoresinol    | 16 |
| Figura 19: Psoraleno      | 17 |

---

|                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 20: Angelicina                                                       | 17 |
| Figura 21: Isobergapteno                                                    | 17 |
| Figura 22: Pimpinellina                                                     | 17 |
| Figura 23: Bergaptol                                                        | 17 |
| Figura 24: Bergapteno                                                       | 17 |
| Figura 25: Xantotoxol                                                       | 18 |
| Figura 26: Xantotoxina                                                      | 18 |
| Figura 27: Imperatonina                                                     | 18 |
| Figura 28: Isopimpinellina                                                  | 18 |
| Figura 29: Oxipedaucedanina                                                 | 18 |
| Figura 30: Acido Cumarínico                                                 | 21 |
| Figura 31: Acido Cumárico                                                   | 21 |
| Figura 32: Dihidrocumarina                                                  | 21 |
| Figura 33: Ácido Melilotico                                                 | 21 |
| Figura 34: Acido 3-carboxicumarina                                          | 26 |
| Figura 35: Benzimidazol cumarina                                            | 27 |
| Figura 36: Espectro Acetilacetona de RMN $^1\text{H}$                       | 44 |
| Figura 37: Derivados de 8-cianocumarinas sustituidas en posiciones 4,6 y 7. | 46 |
| Figura 38: Derivados de 3-cianocumarinas sustituidas en posiciones 4,6 y 7. | 46 |
| Figura 39: Derivados de 8-cianocumarinas sustituidas en posiciones 4,5 y 6. | 46 |
| Figura 40: Hidroquinona                                                     | 50 |
| Figura 41: 6-hidroxi-4-metilcumarina                                        | 50 |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| Figura 42: p-hidroxianisol                                  | 50 |
| Figura 43: 7-metilcumarina                                  | 50 |
| Figura 44: $\alpha$ -naftol                                 | 51 |
| Figura 45: Derivado de 3-metilcumarina                      | 51 |
| Figura 46: m-metoxiresorcinol                               | 51 |
| Figura 47: 7-hidroxi-4-metil-6-metoxicumarina               | 51 |
| Figura 48: 4-hidroxycumarina                                | 53 |
| Figura 49: 4,5-dihidroxycumarina                            | 53 |
| Figura 50: 4,7-dihidroxycumarina                            | 53 |
| Figura 51: 4-hidroxi-3-(4'-metoxifenilazo)cumarina          | 53 |
| Figura 52: 3-acetil-4-hidroxycumarina                       | 53 |
| Figura 53: 4-metoxicumarina                                 | 53 |
| Figura 54: 4-hidroxi-7-metilcumarina                        | 53 |
| Figura 55: Derivados de Benzopiranimidazoles                | 55 |
| Figura 56: Salicilato de metilo                             | 63 |
| Figura 57: Acido ciano acético                              | 63 |
| Figura 58: Ciano acetato de etilo                           | 63 |
| Figura 59: Tautómero forma ceto ciano cumarina              | 63 |
| Figura 60: Tautómero forma enol 1 ciano cumarina            | 63 |
| Figura 61: Tautómero forma enol 2 ciano cumarina            | 63 |
| Figura 62: Ácido acetil salicílico                          | 67 |
| Figura 63: Sal de trifenil fosfina- tetracloruro de carbono | 67 |

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| Figura 64: Par iónico trifenil fosfina-tetracloruro de carbono | 70 |
| Figura 65: Intermediario de la reacción de Trifenil Fosfina    | 70 |
| Figura 66: 3-ciano-4-oxocumarina                               | 70 |
| Figura 67: 6-amino-3-ciano-4-oxocumarina                       | 80 |
| Figura 68: 3-ciano-6-nitro-4-oxocumarina                       | 80 |
| Figura 69: 3-ciano-4-hidroxicumarina                           | 80 |
| Figura 70: 6-amino-3-ciano-4-hidroxicumarina                   | 80 |
| Figura 71: 3-ciano-4-hidroxi-6-nitrocumarina                   | 80 |
| Figura 72: 3-ciano-2-hidroxicromona                            | 80 |
| Figura 73: 6-amino-3-ciano-2-hidroxicromona                    | 80 |
| Figura 74: 3-ciano-2-hidroxi-6-nitrocromona                    | 80 |



# Capítulo I

## 1.1 Introducción

La síntesis orgánica en especial la síntesis de fármacos es un área en constante innovación y crecimiento. Debido a la proliferación de múltiples enfermedades, bien sea por la resistencia que han desarrollado los diferentes agentes que las causan o por la aparición de nuevas patologías. En algunos casos, se realizan modificaciones estructurales de un compuesto conocido a fin de mejorar su actividad o disminuir su toxicidad. Mientras que en otros casos, se sintetizan compuestos análogos a los que poseen una actividad determinada.

La síntesis de una gran cantidad de fármacos se basaba, en muchos casos, en un proceso de ensayo y error ya que se desconocía en detalle, el sitio activo con el que interaccionaba el compuesto. Sin embargo, con el desarrollo de la química computacional, el enfoque de la síntesis de fármacos se ha revolucionado por completo. Ya no se trata solamente de un proceso de ensayo y error, sino que, además es posible aproximarse a tener un conocimiento más preciso sobre que región o zona de la molécula podría ser la responsable de la actividad biológica ensayada. Este conocimiento se puede utilizar en la elaboración de nuevos fármacos con el fin de obtener mejores resultados.

Existen en la naturaleza numerosos compuestos orgánicos que presentan actividad biológica frente a diversas enfermedades, entre ellos se encuentran los metabolitos secundarios (compuestos orgánicos que cumplen funciones no esenciales en los organismos), uno de estos metabolitos son las cumarinas.

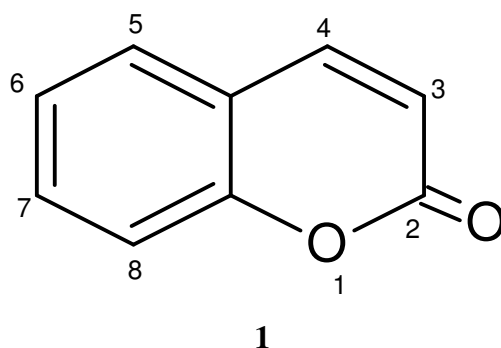
Las cumarinas son compuestos naturales derivados de benzopirano, se encuentran en diferentes partes de las plantas como tallo, hojas y semillas. Se pueden encontrar en

forma libre o unida a glucósido. Se producen principalmente a partir de la hidrólisis enzimática del glucósido de melilotósido<sup>[1]</sup>. El ácido cumarínico liberado se transforma inmediatamente en la lactona correspondiente y origina la cumarina. Forman una familia de compuestos activos con una amplia gama de propiedades farmacológicas. Presentan actividad anticoagulante (Warfarina), antipsoriasis (Psoraleno), antibacterial y antitumoral, antiespasmódica, diurética, antibiótica (Novobiocin), rodenticidal, antioxidante, ayudan en la modulación de actividades del sistema nervioso central, antiestrogénica y antiesclerótica<sup>[2]</sup>.

En especial las hidroxycumarinas naturales son de gran interés ya que muestran una prominente actividad biológica. Algunas 3-sustituidas-4-hidroxycumarinas mostraron ser más efectivas en su actividad anticoagulante<sup>[3]</sup>.

Dichos compuestos pueden presentar equilibrio tautomérico, este hecho es de gran interés ya que la estructura de una molécula (grupos funcionales presentes y ubicación) son determinantes en la reactividad química y biológica.

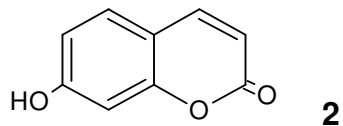
## 1.2 Cumarinas Naturales <sup>[4]</sup>



Las fuentes más conocidas de cumarinas son la semilla de Tonka, el trébol blanco y asperillas de *Aspérula Adorata*. Las cumarinas se encuentran extensamente distribuidas en el reino vegetal en unas 60 plantas que pertenecen a 24 órdenes naturales. A menudo se encuentran como glucósidos o derivados de ácido Melilótico. Originalmente la cumarina se aisló del Haba de Tonka. Su rol en las plantas parece ser de defensa, dándole propiedades antimicrobianas y de rechazo a la alimentación.

De las monohidroxycumarinas que tienen el grupo hidroxilo en el núcleo de benceno sólo la 7-hidroxycumarina llamada Umbeliferona<sup>[5]</sup> 2 es conocida, la 5,6 u 8 hidroxycumarina no han sido encontradas en plantas. La 7-hidroxycumarina es llamada Umbeliferona debido a que se obtiene del destilado seco de la resina de Umbelíferos.

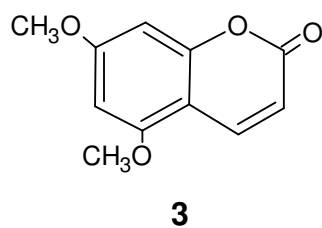
Las dihidroxycumarinas con ambos grupos hidroxilo en el anillo de benceno, así como sus glucósidos se encuentran frecuentemente en las plantas, las posiciones de los grupos hidroxilos son 5,7-, 6,7- y 7,8; el grupo que ocupa la posición 7 generalmente forma glucósido o éter. Dihidroxycumarinas 5,6-, 5,8- y 6,8 no han



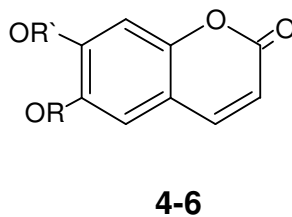
sido encontradas en la naturaleza. La 5,7-Dimetoxicumarina conocida como Citropteno **3**, está presente en el aceite de Citron y en otros similares<sup>[4]</sup>.

La Esculetina<sup>[6]</sup> **4** conocida como un producto de descomposición del glucósido de Esculina<sup>[7]</sup> **5**. Esta cumarina también ha sido encontrada en forma libre en la corteza de la planta de castaña. La Esculina aislada de dicha planta es 6-β-glucósido esculetina, mientras que la Cichorina **6**, un isómero de el glucósido de Esculetina está presente en las hojas de la planta Achicoria (*Cichorium intibis*).

La Escopoletina o 7-hidroxi-6-metoxicumarina **7** se encuentra libre o en la forma de glucósido (Escopolina)<sup>[8]</sup> en la belladona y otras plantas. Ayapina **8** encontrada en las hojas de *Eupatorium Ayapana*, es el metilenéter de Esculetina y el primer caso de metilendioxicumarina encontrado en la naturaleza<sup>[9]</sup>. Dafnetina, 7,8-dihidroxycumarina **9** fue encontrada en forma de glucósido (Dafnina) en las plantas del orden *Thymelaeaceae*<sup>[10]</sup>.



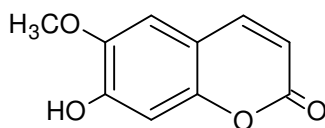
Citropteno



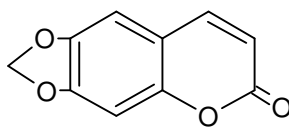
Esculetina R= R' = H

Esculina R=C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>O<sub>5</sub> R' = H

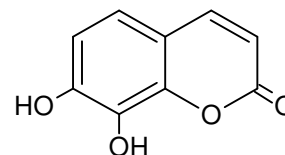
Cichorina R=H R' = C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>O<sub>5</sub>



**7**



**8**

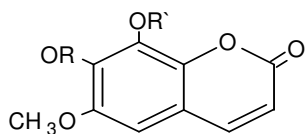


**9**

La trihidroxicumarina Fraxetina **10** conocida desde 1857, fue obtenida de su glucósido Fraxina **11** la cual se encuentra en varias especies de árboles llamados árboles ceniza de la familia *Oleáceas*. Luego se encontraron una serie de trihidroxicumarinas presentes en la corteza fresca de árboles ceniza en Alemania. Las cumarinas Fraxidina **12** e Isofraxidina **13** son derivados de Fraxetina<sup>[11]</sup>.

Fraxetina es un derivado de 1, 2, 3,4-tetrahidroxibenceno mientras que el Fraxinol **14** proviene de 1, 2, 3,5-tetrahidroxibenceno.

Osthol **15**, Osthenol **16**, toddalolactona **17** y Ammoresinol **18** pertenecen al grupo de hidroxí y metoxicumarinas con grupos alquilo. El Osthol fue encontrado en la planta Umbelífero y es el metiléter de Osthenol, el cual es el 7-hidroxí-8-( $\gamma,\gamma$ -dimetilalil)cumarina<sup>[12]</sup>. En esta planta existen otras cumarinas análogas al Osthenol.



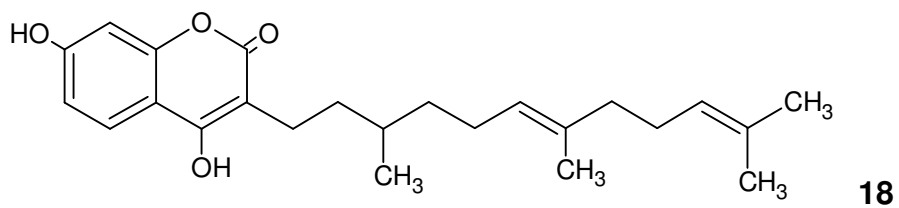
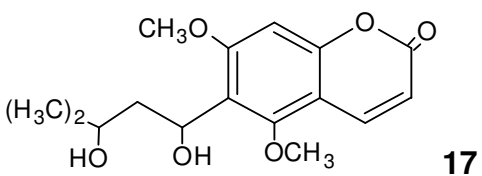
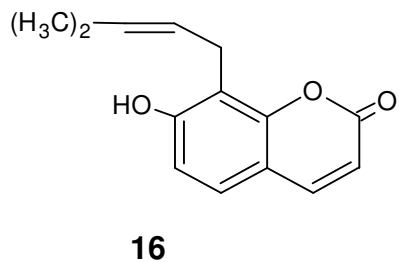
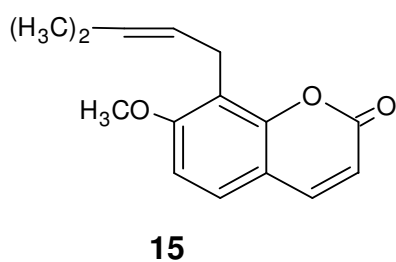
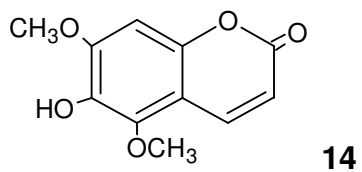
**10-13**

Fraxetina R= R' = H

Fraxina R= H R' = C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>O<sub>5</sub>

Fraxidina R=CH<sub>3</sub> R' = H

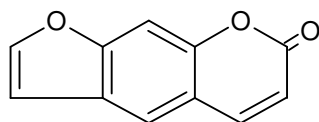
Isofraxidina R=H R' =CH<sub>3</sub>



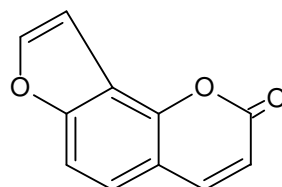
La Toddalolactona ópticamente activa fue aislada de la corteza de *Toddalia Aculeata* (*Rutaceae*).

Existen Furanocumarinas en la naturaleza, dependiendo de la fusión del anillo de furano hay varios isómeros posibles: Psoraleno **19** y Angelicina **20**.

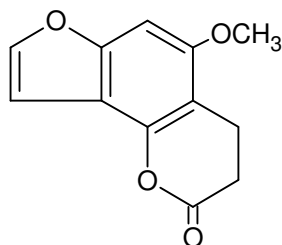
Estos dos compuestos son bases para otras furanocumarinas. El sistema de anillos de Angelicina está presente en Isobergapteno **21** y Pimpinellina **22**, mientras que el de Psoraleno se encuentra en Bergaptol **23**, Bergapteno **24**, Xantotoxol **25**, Xantotoxina **26**, Imperatorina **27**, Isopimpinellina **28** y Oxipeucedanina **29**. Angelicina fue la primera furanocumarina encontrada en *Angelica Archangelica* (*Umbeliferae*) y también en unas plantas leguminosas en India, *Psoralea Corylifolia*. Psoraleno fue encontrado en las mismas plantas leguminosas y también en las hojas de higo<sup>[13]</sup>.



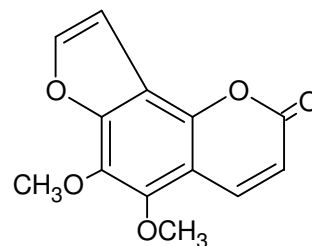
**19**



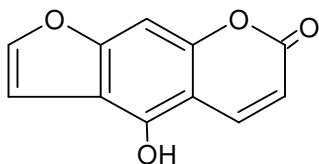
**20**



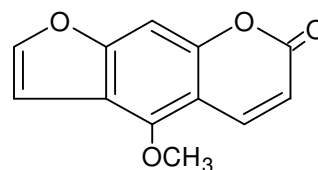
**21**



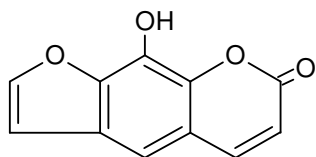
**22**



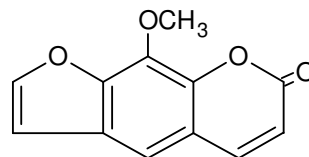
**23**



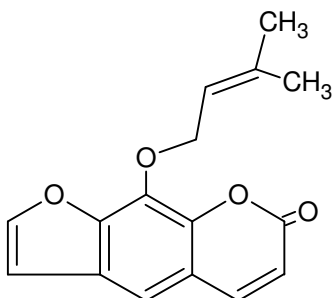
**24**



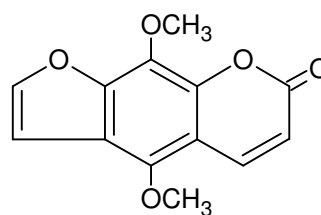
**25**



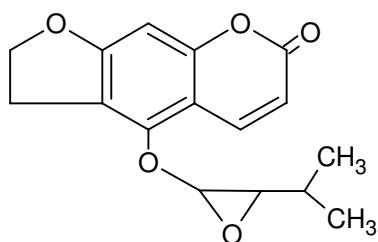
**26**



**27**



**28**



**29**

Bergapteno y Xantotoxina son aisladas de *Fagara* (*Rutaceae*) y de otras plantas. Bergaptol es el hidroxi derivado de Bergapteno y se encuentra en el aceite de bergamot<sup>[14]</sup>. Xantotoxol es el hidroxi derivado de Xantotonina y se encuentra en las semillas de *Angelica Archangelica*<sup>[15]</sup>. Isobergapteno es un componente de las raíces de *Burnet Saxifrage*, al igual que Pimpineline e Isopimpineline.

### 1.3 Clasificación <sup>[4]</sup>

Las cumarinas aisladas de plantas y algunas sintetizadas se pueden agrupar en:

- ❖ Cumarinas y sus derivados simples.
- ❖ Hidroxi y metoxi (alcoxi) cumarinas y sus glucósidos. El grupo hidroxi o alcoxi puede estar presente en el benceno o en el anillo de pirano.
- ❖ Hidroxi o metoxi cumarinas con un grupo alquilo en alguna parte del anillo.
- ❖ Furanocumarinas (anillo de furano unido a un anillo bencénico) con 1) sustituyentes en el anillo de furano, 2) sin sustituyentes en el anillo de furano.
- ❖ Cumarinas con 2,2-dimetil-1,2benzopirano.

Varias cumarinas naturales se encuentran tan diversamente sustituidas que pueden ser clasificadas en más de un grupo, en estos casos se asignan a un grupo que acentúe algún punto prominente de su estructura.

### 1.4 Extracción de Cumarinas

Las cumarinas son encontradas en diferentes partes de las plantas de manera libre o combinada con otras especies. Para ser aislada se pasa por un tratamiento con solvente y posteriormente se lleva a cabo extracción ácido-base.

Esta se puede aislar con una solución diluida de álcalis. Este tratamiento remueve ácidos y otras sustancias fenólicas presentes en el extracto. El tratamiento con álcalis

en solución alcohólica (potasa cáustica) transforma la cumarinas en la sal de potasio del correspondiente ácido cumarínico con la apertura del anillo de lactona. Otras reacciones también pueden ocurrir, por ejemplo si existe material graso ocurre la saponificación.

La mezcla es diluida con agua y extraída con éter eliminando otras sustancias, solución de álcalis es acidificada liberando los ácidos y las cumarinas. Por último se disuelven en un exceso de éter y se agrega gota a gota álcalis para separar los ácidos y las cumarinas permanecen en la fase orgánica.

Este proceso es repetido para ir eliminando los ácidos, además la separación es efectiva por destilación al vacío y/o sublimación. Las cumarinas son purificadas por recristalización, cromatografía u otro método conveniente.

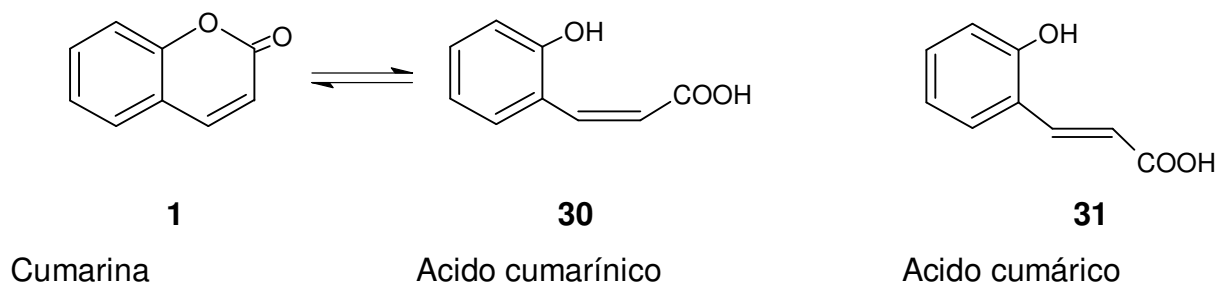
Si el material de la planta original contiene hidroxycumarinas entonces se deben extraer con una solución acuosa de álcalis. Esa fracción es acidificada, extraída con éter y separada de otras sustancias grasas por extracción con éter de petróleo. Es entonces destilada al vacío y luego purificada por cristalización.

Los glucósidos de cumarinas pueden detectarse de la siguiente forma: la fracción soluble después del tratamiento con el álcalis en solución alcohólica es liberada de impurezas por una extracción con éter, el glucósido se descompone luego por tratamiento con ácido sulfúrico diluido.

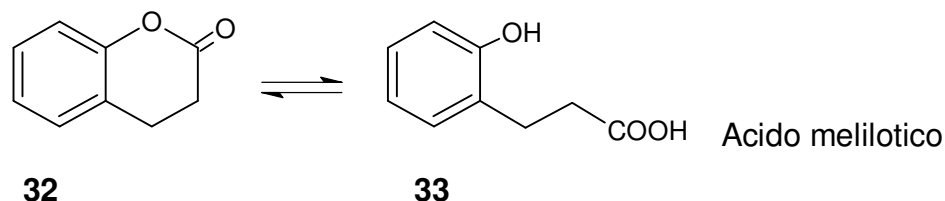
## 1.5 Estructura

Las cumarinas que no poseen grupos hidroxilo son difícilmente solubles en agua y por tanto no se disuelven en solución de álcalis inmediatamente, pero cuando permanecen por largo tiempo o cuando son calentadas se disuelven mostrando un color amarillo producto de la sal de álcalis del ácido cumarínico que forma. Si se hace pasar dióxido de carbono a esta solución o se acidifica el ácido es liberado y por su inestabilidad pasa a formar la cumarina nuevamente.

La transformación del ácido cumarínico **30** formado por la apertura del anillo pirano a el ácido cumárico **31** (isómero *trans* del ácido cumarínico) es característico de la estructura de la cumarina. El isómero *trans* puede ser cambiado a su forma *cis* por la acción de la luz o el tratamiento con ácidos. La realización experimental de esta transformación es en muchos casos llevada a cabo con dificultad.



Las cumarinas se pueden hidrogenar con paladio como catalizador, la dihidrocumarina resultante **32** es luego cambiada al hidroxi ácido **33** por la apertura del anillo de lactona, el ácido no tiene tendencia a formar el anillo a temperatura ambiente.



El ácido hidrocumarínico puede ser aislado en su forma libre y convertido luego en hidrocumarinas por destilación al vacío en altas temperaturas.

Por lo general, una cumarina con doble enlace en posición 3 ó 4 es siempre más difícil de hidrogenar que un doble enlace en una cadena alifática insaturada.

La hidrocumarina o el ácido hidrocumarínico al ser tratados con un agente oxidante como el ácido nítrico o el permanganato de potasio producen ácido succínico, que proviene del anillo de pirano hidrogenado. Dihidrocumarinas son deshidrogenadas con altos rendimientos con el método de Spâth y Galinovsky <sup>[4]</sup>.

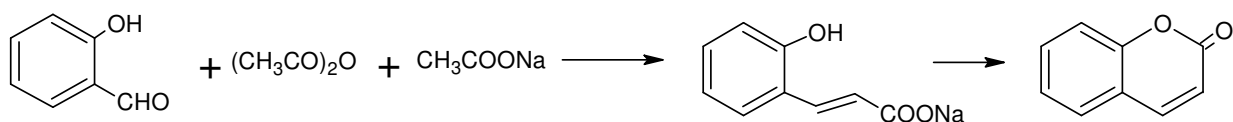
La acción de sulfato de dimetilo sobre una solución alcalina de una cumarina permite obtener ácido metoxicinámico.

## **1.6 Métodos de síntesis: Derivados de Cumarinas**

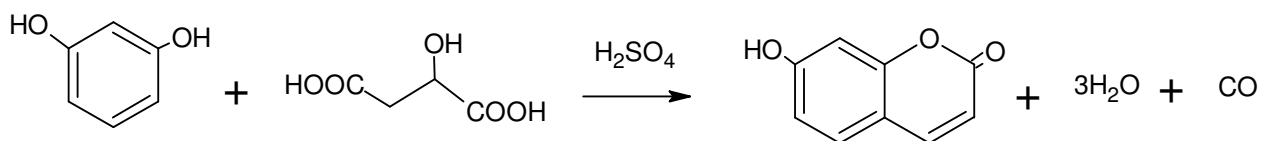
De los numerosos métodos sintéticos, sólo unos pocos han dado resultados importantes, y otros tienen aplicaciones menos generales. Todos estos métodos se centran en la posibilidad de construir un anillo de pirano sobre un derivado de benceno.

- ❖ Reacción de Perkin<sup>[4]</sup>: Perkin sintetizó la cumarina calentando el salicilaldehído con anhídrido acético y acetato de sodio anhidro. Esta reacción ocurre por la formación de un derivado del ácido o-hidroxicinámico el cual pasa espontáneamente a la lactona cuando se libera de su sal de sodio.

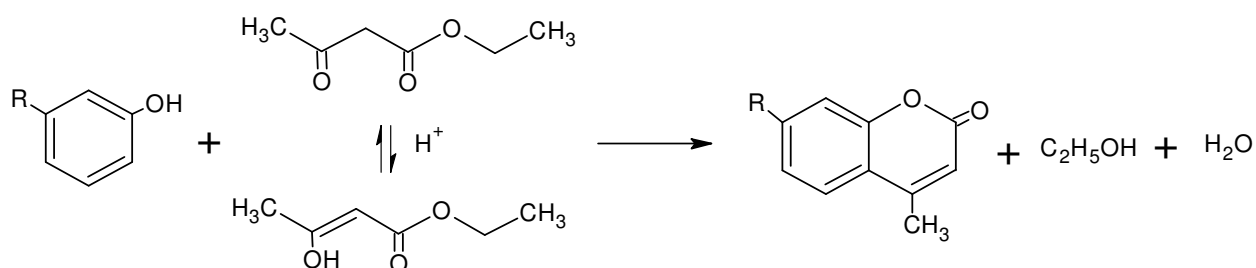
Este método tiene sus limitaciones: la prioridad inicial que es el o-hidroxialdehído, difícil de obtener de varios fenoles sustituidos, el método sólo da cumarinas no sustituidas en el anillo de pirano, los rendimientos no son muy altos, alrededor del 40%.



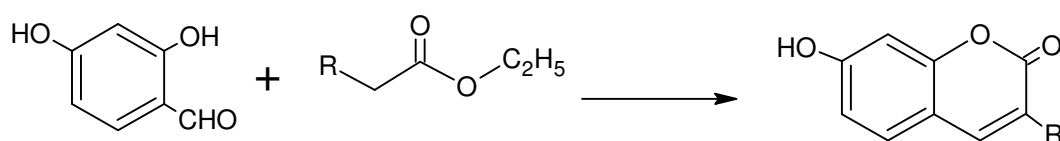
- ❖ Dyson <sup>[4]</sup>, obtuvo la 3,3'-dicumarina como el producto exclusivo de la reacción entre el salicilaldehído, anhídrido acético y succinato de sodio en vez del esperado 3-ácido aceticocumarina. La reacción de Perkin sobre o-vainillina para la síntesis de 8-metoxicumarina conduce a la producción de la forma trans del 2-hidroxi-3-metoxi ácido cinámico en grandes cantidades, este derivado de ácido cinámico no realiza el cierre del anillo.
- ❖ Pechman<sup>[16]</sup>: encontró que un derivado de cumarina se puede formar cuando una mezcla de un fenol y del ácido málico es calentada en presencia de ácido sulfúrico. Este método tiene limitada aplicabilidad, muchos fenoles sustituidos no reaccionan bajo estas condiciones, sólo se obtienen cumarinas sin sustituir en el anillo de pirano.



- ❖ Reacción Pechman- Duisberg<sup>[4]</sup>: encontraron que la condensación de un fenol con un  $\beta$ -ceto ester en presencia de ácido sulfúrico origina derivados de cumarinas. Esta reacción tiene varias aplicaciones, se pueden obtener cumarinas sustituidas en el anillo de pirano.

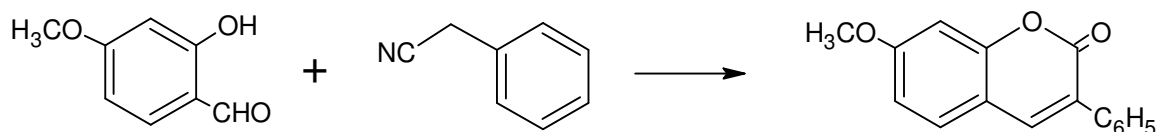


- ❖ Reacción de Knoevenagel<sup>[17]</sup>: desarrolló un método de síntesis de derivados de cumarinas de o-hidroxialdehídos por condensación con etil malonato, etil acetoacetato, etil cianoacetato, entre otros. En presencia de piperidina, piridina y otras bases orgánicas.

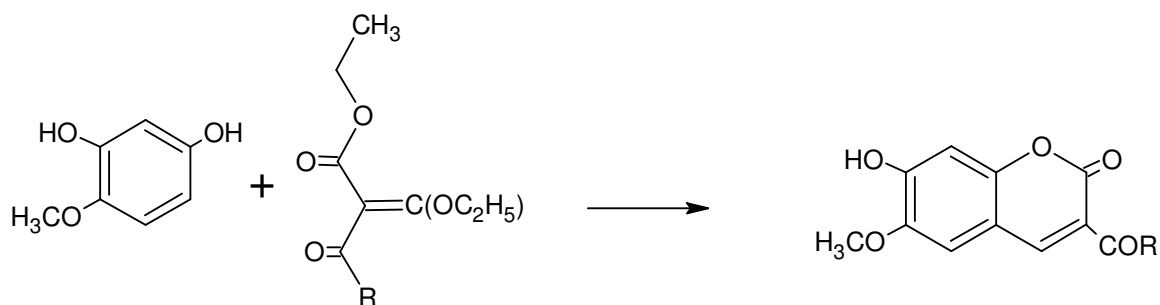


R= COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, COCH<sub>3</sub>

O-hidroxialdehido condensa con fenil acetoniitrilo en presencia de etóxido de sodio o potasa alcohólica para dar 3-fenilcumarinas .



- ❖ Weiss y Merksammer<sup>[18]</sup> : encontraron que resacetofenona condensa con etil etoximetilenacetoacetato por calentamiento con etóxido de sodio alcohólico, para dar 7-hidroxi-3,6-diacetilcumarina.



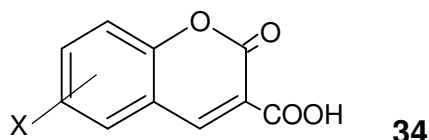
R= CH<sub>3</sub>, OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, OH

## 1.7 Actividad Biológica

Las cumarinas representan una clase de compuestos orgánicos que poseen diversas aplicaciones. Poseen distintas actividades biológicas y terapéuticas, tales como inhibición enzimática, hipotoxicidad, acción carcinogénica, anticoagulante y antibiótica. El mecanismo molecular de la actividad biológica de estos compuestos es complejo y no ha sido aún dilucidado.

Una gran cantidad de moléculas que contienen en su esqueleto la estructura de la cumarina han mostrado actividad farmacológica entre las que se puede nombrar para

tener una idea a los derivados del ácido 3-carboxycumarina **34**, los cuales se han reportado como sedantes en pequeñas dosis, entre estos derivados el dietil amida es efectivo para los nervios<sup>[19]</sup>. Varios arilhidroxicumarinas muestran actividad estrogénica.

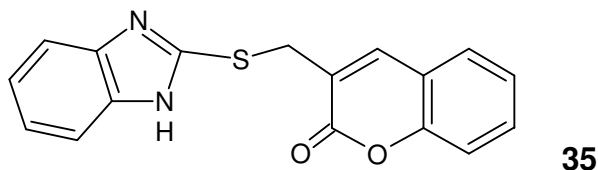


El 3-(p-clorofenil)-S-hidroxicumarina presenta actividad protectora contra el virus de la influenza.

Clorobiocin, Novobiocin y Cumermicin A<sub>1</sub> son aminocumarinas con una potente actividad inhibidora de la enzima ADN girasa, por lo que presentan una actividad antibiótica de gran importancia<sup>[20]</sup>.

Los compuestos naturales de plantas que actúan a nivel de la replicación intracelular del virus son diversos y sus blancos variados. Las cumarinas, por ejemplo, han demostrado tener una actividad anti-VIH muy específica inhibiendo efectivamente la acción de la retrotranscriptasa del VIH-1. Estas moléculas no son análogos nucleosídicos, por lo que entran en la categoría de inhibidores de la retrotranscriptasa no nucleosídicos. Todas ellas comparten una estructura común de benzo-2 pirona. Existen diversas cumarinas que exhiben propiedades anti-RT del VIH-1, las cuales han sido aisladas de árboles de selvas tropicales pertenecientes al género *Calophyllum*. De manera interesante, un DCK derivado, 3'R,4'R-Di-O-(-)-camfanoil-2-etil-2',2'-dimetildihidropirano[2,3-f]cromona (DCP8), es eficaz contra HIV-1/ RTMDR1<sup>[21]</sup>.

Benzimidazol cumarinas conjugadas **35** presentan actividad anti hepatitis C o HCV por sus siglas en ingles, estos compuestos son inhibidores de la replicación de HCV<sup>[22]</sup>.



Las cumarinas se encuentran entre los fármacos antitumorales que inducen la muerte celular. Varios autores han reportado la relación estructura-actividad citotóxica de las cumarinas compuestas así como una tendencia selectiva dependiente de los sustituyentes. Por ejemplo, se realizaron pruebas en vivo para leucemia en ratones P-388, encontrando actividad para las cumarinas Osthol y O-geranilumbeliferona<sup>[23]</sup>.

También alquilocumarinas preparadas de 6-aminocumarinas y ácido 6-carboxicumarinas mostraron actividad anticancerígena.

Entre las furanocumarinas la principal característica la constituye su acción fotosensibilizante sobre las células. Se entiende como foto sensibilización un proceso en el cual la acción combinada de la radiación y un agente sensibilizante produce efectos físicos, químicos y biológicos<sup>[24]</sup>.

Los Psoralenos se han usado, junto con la luz U.V., en el tratamiento de varias enfermedades de la piel como el vitíligo, la psoriasis y la micosis fungoides. Adicionalmente, se ha utilizado el bergapteno como protector solar en preparaciones cosméticas.

El uso más importante de las furanocumarinas ha sido en el desarrollo de la fotoquimioterapia de la psoriasis, enfermedad de la piel caracterizada por una proliferación de células epidérmicas. La sustancia más efectiva ha sido la xantotoxina,

cuya acción se fundamenta en la habilidad que presenta para inactivar al ADN y disminuir la velocidad del ciclo celular.

## **1.8 Química Computacional <sup>[25]</sup>**

La química computacional es una rama de la química teórica cuyos principales objetivos son crear aproximaciones matemáticas eficientes y programas computacionales que calculen las propiedades de las moléculas (tales como la energía total, el momento dipolar y cuadripolar, frecuencias vibracionales, reactividad) y de esta forma aplicar estos programas a problemas químicos concretos.

Las moléculas son consideradas como un conjunto de átomos, o en un sentido más general como una colección de partículas cargadas con núcleos positivos y electrones negativos. Las moléculas se diferencian porque ellos contienen núcleos diferentes y el número de electrones, o los centros nucleares pueden estar en diferente posición geométrica. Dado un número de núcleos y electrones la química teórica puede ayudar a calcular:

- ❖ Las disposiciones geométricas de los núcleos que corresponden a moléculas estables.
- ❖ Sus energías relativas.
- ❖ Sus propiedades (momento dipolar, polarizabilidad, constantes de acoplamiento, RMN).
- ❖ Energía para que la molécula estable se transforme en otra.
- ❖ La dependencia de tiempo de estructuras moleculares y propiedades.

### 1.8.1 Mecánica Molecular

La mecánica molecular también llamada el método de campos de fuerza ignora el movimiento de los electrones y calcula la energía de un sistema como una función de la posición de los núcleos. Tratan a las moléculas usando modelos como el oscilador armónico clásico.

La mecánica molecular es así mayormente usada para el cálculo de sistemas que contienen numerosos átomos. La mecánica molecular trabaja bajo varias asunciones:

- ❖ La aproximación de Born- Oppenheimer, sin la cual seria imposible escribir la energía como una función de las coordenadas nucleares.
- ❖ Se basa en las interacciones de un sistema donde la contribución viene dada por el stretching y torsión de un enlace, apertura y cierres de ángulos.
- ❖ Los campos de fuerza poseen parámetros que son sustituidos en las ecuaciones de dicho campo, por ejemplo fuerzas de enlace, longitud de un enlace. Estos parámetros se pueden obtener por datos experimentales o usando métodos ab-initio.
- ❖ La transferibilidad de los parámetros de un campo de fuerza dentro de una misma familia de compuestos.

Por ejemplo, los átomos en mecánica molecular se definen por el ambiente químico del mismo, tomando en cuenta la hibridación, carga formal y los átomos vecinos a este. Así que para un átomo existen diferentes tipos de átomo según su ambiente químico.

La energía del campo de fuerza se escribe como la suma de varios términos, donde cada descripción es la energía estérica expresa la energía requerida para deformar una molécula en una manera específica.

$$E_{FF} = E_{str} + E_{bend} + E_{tors} + E_{vdw} + E_{el} + E_{cross} \quad (1)$$

$E_{str}$  es la función de energía para estirar un enlace entre dos átomos,  $E_{bend}$  representa la energía requerida para doblar un ángulo,  $E_{tors}$  es la energía torsional para la rotación alrededor de un enlace,  $E_{vdw}$  y  $E_{el}$  describen las interacciones entre átomos no enlazados y finalmente  $E_{cross}$  describe el acoplamiento entre los tres primeros términos.

Existen diferentes campos de fuerza y uno se diferencia de otro en el número de términos que el campo de fuerzas incluye, las fórmulas para cada uno de esos términos, los valores de los correspondientes parámetros y el conjunto de moléculas empleado para la parametrización. Los más comunes son:

- ❖ MM2 (Mecánica Molecular 2): se usa para moléculas orgánicas.
- ❖ MM3 (Mecánica Molecular 3): se usa para moléculas orgánicas (todos los elementos).
- ❖ MM4 (Mecánica Molecular 4): se usa para hidrocarburos.
- ❖ Amber: se usa para proteínas, ácidos nucleicos y carbohidratos.
- ❖ CHARMM: se usa para proteínas.
- ❖ OPLS: se usa en el caso de proteínas, ácidos nucleicos y carbohidratos.
- ❖ MMFF: se usa para moléculas orgánicas y biopolímeros.

### 1.8.2 Mecánica Cuántica <sup>[26]</sup>

Los cálculos mecanocuánticos constituyen una herramienta adecuada para la comprensión de sistemas excesivamente complejos como para ser observados directamente. El potencial de los métodos mecanocuánticos en el campo de la química fue reconocido inmediatamente tras la formulación de la ecuación de Schrödinger, al aplicar esta ecuación a sistemas químicos de interés.

Para describir el estado de un sistema en mecánica cuántica, se postula la existencia de una función de las coordenadas de las partículas del sistema ( $q_i$ ) y del tiempo ( $t$ ),  $\Psi(q_i, t)$ , llamada *función de onda o función de estado*. La función de onda contiene toda la información que es posible conocer acerca del sistema. Dentro de una aproximación no relativista,  $\Psi$  se obtiene de la ecuación de Schrödinger dependiente del tiempo. Si la función de la energía potencial del sistema no depende del tiempo, el sistema puede estar en uno de sus estados estacionarios de energía constante. Dichos estados estacionarios se obtienen resolviendo la ecuación de Schrödinger no relativista e independiente del tiempo:

$$\mathbf{H}\Psi = \mathbf{E}\Psi \quad (2)$$

En esta ecuación diferencial de valores propios,  $H$  es el *operador* hamiltoniano asociado a la energía del sistema de electrones y núcleos,  $\Psi$  es la función de onda que describe el estado del sistema y  $E$  es la energía total del sistema en dicho estado. El hamiltoniano del sistema contiene términos de movimiento y atracción-repulsión entre las diferentes partículas que lo componen. De este modo, se incluyen términos asociados a la energía cinética de núcleos y electrones, repulsión entre núcleos, atracción entre núcleos-electrones y repulsión interelectrónica.

La ecuación de Schrödinger sólo puede resolverse exactamente para sistemas de dos partículas, por lo que es necesario el uso de aproximaciones para sistemas mayores. Las principales aproximaciones se realizan en el operador hamiltoniano.

### **1.8.3 Aproximación Born- Oppenheimer**

Se basa en el hecho de que los núcleos son mucho más pesados que los electrones  $m_n \gg m_e$ . Por tanto, los electrones se mueven más rápidos que los núcleos y se puede considerar que estos últimos se encuentran fijos en el espacio, mientras que los electrones llevan a cabo su movimiento.

De esta forma, el movimiento electrónico se circunscribe en el campo creado por una geometría nuclear determinada, con lo que es posible plantear el hamiltoniano como suma de un término electrónico y otro nuclear, permitiendo resolver la ecuación electrónica de Schrödinger en primer lugar y después la ecuación de Schrödinger para el movimiento nuclear.

A pesar de esta útil aproximación, la ecuación de Schrödinger electrónica continúa siendo irresoluble de forma exacta para sistemas multielectrónicos a causa del término de repulsión interelectrónica.

#### 1.8.4 Métodos de Cálculos

Existen diversos métodos de cálculo, caracterizados por el nivel de aproximación matemática para la resolución de la ecuación de Schrödinger. Seleccionar el nivel de teoría adecuado para estudiar un determinado problema y ser capaz de evaluar la calidad de los resultados obtenidos son dos de las tareas más complicadas en el trabajo de un químico computacional.

#### 1.8.5 Métodos Ab – initio

Los métodos *ab initio* realizan cálculos basados únicamente en las leyes de la mecánica cuántica y no emplean otros datos experimentales que no sean los valores de las constantes físicas fundamentales (velocidad de la luz, masa y carga de partículas fundamentales, constante de Planck). Estos métodos tratan de resolver la ecuación de Schrödinger a través de una serie de aproximaciones físico-matemáticas que tratan de estimar el término de repulsión interelectrónica, responsable de que la ecuación de Schrödinger no pueda resolverse analíticamente para sistemas de más de un electrón.

#### 1.8.6 Método de Hartree-Fock

El primer método *ab initio* se basa en la teoría de Hartree-Fock. Las ecuaciones de Hartree-Fock (HF) se obtienen al sustituir un determinante de Slater en la ecuación de Schrödinger, seguida por algunas transformaciones algebraicas. Estas ecuaciones pueden ser vistas como una alternativa a la de Schrödinger donde el Hamiltoniano exacto es sustituido por el operador de Fock:  $F\Psi = E\Psi$ . La diferencia entre el operador de Fock y el Hamiltoniano exacto es que, en lugar de considerar que los electrones

interaccionan uno a uno mediante un potencial coulombico como lo hace el Hamiltoniano, cada electrón mantiene una interacción promedio con los demás electrones del sistema. El conjunto de funciones monoelectrónicas que proporcionan la mejor función de onda se puede obtener haciendo uso del *principio variacional*, según el cual, cualquier función definida correctamente para un sistema, proporciona un valor esperado de la energía mayor o igual que el valor exacto de la energía del estado fundamental.

Debido a que las soluciones para estas ecuaciones dependen de las funciones que se desea obtener, la resolución de las mismas se lleva a cabo utilizando un método iterativo denominado *método del campo autoconsistente* (*Self-Consistent Field, SCF*), que da como resultado un conjunto de orbitales atómicos-moleculares y energías orbitales.

Dentro de la aproximación HF, cada electrón siente la influencia del resto de electrones como una distribución promedio. Ello conlleva que, si bien la función de onda del sistema sí que tiene en cuenta la correlación entre electrones de espín paralelo para satisfacer el requisito de antisimetría del *principio de exclusión de Pauli* y, por tanto, la función se anula cuando dos electrones con el mismo espín tienen las mismas coordenadas espaciales, no ocurre lo mismo con los electrones de espín opuesto, para los cuales, la probabilidad de ocupar un mismo punto en el espacio no es nula. Se dice por ello, que el método HF no correlaciona los movimientos de dichos electrones.

Se define la *energía de correlación* como la diferencia entre la energía exacta no relativista y la energía HF:

$$E_{\text{corr}} = E_{\text{exacta}} - E_{\text{HF}} \quad (3)$$

### 1.8.7 Métodos Post Hartree-Fock <sup>[27]</sup>

En función de la estrategia empleada para resolver las ecuaciones, los métodos se clasifican como variacionales o perturbacionales y dependiendo de la función de onda tomada como punto de partida, se distingue entre métodos mono y multiconfiguracionales.

### 1.8.8 Interacción de Configuraciones (CI)

Se basa en la combinación lineal de varios determinantes de Slater con sus respectivos coeficientes variables. Estos determinantes se pueden interpretar como las posibles configuraciones electrónicas y excitaciones que puede presentar un sistema. El OM usado para la construcción del determinante de Slater excitado es tomado de los cálculos HF.

La función de onda para la CI viene dada por:

$$\Psi_{CI} = a_0 \Phi_{SCF} + \sum_S a_S \Phi_S + \sum_D a_D \Phi_D + \sum_T a_T \Phi_T + \dots = \sum_{i=0} a_i \Phi_i \quad (4)$$

### 1.8.9 Métodos Perturbativos

Los métodos perturbativos separan el problema en una parte resoluble de forma exacta y una parte compleja para la que no existe una solución analítica general. Esta metodología se aplica dividiendo el hamiltoniano electrónico  $H$  en una suma de dos partes:

$$\mathbf{H} = \mathbf{H}^0 + \lambda \mathbf{H} \quad (5)$$

Donde  $\mathbf{H}^0$  representa el sistema sin perturbar y  $\lambda \mathbf{H}$  es una perturbación aplicada a  $\mathbf{H}^0$  como una corrección, con un valor pequeño. El objetivo es relacionar las funciones propias y los valores propios desconocidos del sistema perturbado con las funciones y valores propios del sistema sin perturbar. Así, la función de onda y la energía del sistema pueden expresarse como una serie de potencias del parámetro  $\lambda$  del modo:

$$\Psi = \Psi^{(0)} + \lambda \Psi^{(1)} + \lambda^2 \Psi^{(2)} + \lambda^3 \Psi^{(3)} + \dots \quad (6)$$

$$E = E^{(0)} + \lambda E^{(1)} + \lambda^2 E^{(2)} + \lambda^3 E^{(3)} + \dots \quad (7)$$

En 1934, Møller y Plesset propusieron un tratamiento de perturbaciones en el que la función de onda sin perturbar  $\Psi^0$  es la función de HF y la perturbación  $\lambda \mathbf{H}$  corresponde a la diferencia entre las repulsiones electrónicas verdaderas y el potencial interelectrónico de HF (que es un potencial promedio). Las funciones  $\Psi_{(n)}$  representan las correcciones de orden  $n$  a la función de onda. Los valores  $E_{(1)}$ ,  $E_{(2)}$ , ...,  $E_{(n)}$  corresponden a las energías de perturbación de orden  $n$  de la energía de HF ( $E_{(0)}$ ). El método se denota por MP $n$ , en función del orden  $n$  en el que se termine la serie. La energía MP1 es idéntica al valor de HF y MP2 es el método perturbativo más simple y práctico para introducir correlación electrónica, ya que incorpora únicamente correcciones de energía hasta segundo orden.

#### 1.8.10 Cúmulos Acoplados (Coupled Clusters)

Este método se basa en una interacción de configuración pero expresada por un operador del tipo exponencial. El método CC incluye todas las correcciones para un tipo de orden infinito dado. La función de onda de Schrödinger con el CC queda:

$$H e^T \Phi_0 = E e^T \Phi_0 \quad (8)$$

Donde  $e^T$  es el operador Cluster. Si todos los operadores  $T_N$  son incluidos en  $T$ , todos los posibles determinantes excitados son generados y la función de onda CC es equivalente a un CI completo.

### 1.8.11 Métodos Semiempíricos

Están basados en el método de Hartree-Fock. El costo computacional de realizar un cálculo de HF crece con el número de funciones de base. Los métodos semiempíricos, por el contrario, minimizan este costo al reducir el número de integrales, ya que se introducen algunas simplificaciones.

- ❖ Considerar solo los electrones de valencia y no los de las capas internas.
- ❖ Se utilizan solo conjunto de base mínima, así como el número mínimo de funciones necesarias para representar los electrones.
- ❖ Se realizan aproximaciones para simplificar el número de integrales de traslape y de repulsión interelectrónica.

Los primeros métodos semiempíricos desarrollados tratan los electrones  $\pi$  conjugados en la molécula. Entre ellos se encuentran:

- ❖ Método del electrón libre: desprecia las repulsiones  $e^- - e^-$ .
- ❖ Método de Hückel: desprecia las integrales de resonancia entre átomos no enlazados y las integrales de solapamiento para átomos distintos.

- ❖ Método de Parriser-Parr-Pople (PPP Method): tiene en cuenta la repulsión  $e^- e^-$  en el hamiltoniano electrónico e introduce la aproximación del solapamiento diferencial cero (ZDO, *Zero Differential Overlapping*).

Métodos semiempíricos generales (aplicables para todas las moléculas; tienen en cuenta todos los  $e^-$  de valencia). Entre ellos se encuentran:

- ❖ Método de Hückel extendido: evalúa todas las integrales de resonancia y calcula explícitamente todas las integrales de solapamiento.
- ❖ Métodos basados en la aproximación ZDO: entre ellos encontramos el CNDO (desprecia completamente el solapamiento diferencial), el INDO (desprecia parcialmente el solapamiento diferencial, un derivado es el método MINDO), el NDDO (desprecia el solapamiento diferencial diatómico, derivados suyos son el MNDO, AM1 y PM3).

### 1.8.12 DFT (Teoría del Funcional de la Densidad)

Constituye un procedimiento alternativo y conceptualmente distinto a los métodos basados en la función de onda polieletrónica. Fue desarrollada por Hohenberg y Kohnen con un teorema que establecía que para moléculas con estados básicos no degenerados, la energía del estado basal, la función de onda y las demás propiedades electrónicas son determinadas únicamente por la densidad electrónica de ese estado  $\rho(x,y,z)$ , por lo que se puede decir que la energía del estado basal  $E$  es funcional (función de una función) de la densidad electrónica  $E = E(\rho)$ .

La densidad electrónica solo depende de las tres coordenadas y es independiente del número de electrones. A medida que la complejidad de la función de onda aumenta

con el número de electrones, la densidad electrónica posee el mismo número de variables, independiente del tamaño del sistema. El problema principal es que aunque ha sido probado que cada densidad diferente produce una energía para el estado fundamental diferente y el funcional que relaciona estas dos cantidades no es conocido. Por lo tanto, la meta principal de estos métodos es diseñar un funcional que conecte la densidad electrónica con la energía.

Un funcional es similar a una solución para producir un número de una función, la cual depende de variables. Comparando esto con la aproximación mecánica de la onda, parece claro que el funcional de energía puede ser dividido en tres partes, energía cinética  $E_K(\rho)$ , interacción con el potencial externo  $V(\rho)$  y la energía de correlación – intercambio  $E_{XC}(\rho)$ .

$$E(\rho) = E_K(\rho) + V(\rho) + E_{XC}(\rho) \quad (9)$$

En general, la  $E_{XC}(\rho)$  se divide en una parte de intercambio  $E_X$  y una parte de correlación.

$$E_{XC}(\rho) = E_X(\rho) + E_C(\rho) \quad (10)$$

Ambas partes se pueden calcular con funcionales distintos que pueden o no incluir términos dependientes del gradiente de la densidad. Se han propuesto dos tipos de aproximaciones para calcular el funcional de correlación-intercambio: la aproximación de la densidad local (LDA) y la aproximación de la densidad no local (GGA). El acoplamiento de un funcional de intercambio con un funcional de correlación da nombre a cada método DFT.

En la aproximación de densidad local se asume que la densidad puede ser tratada como un gas uniforme de electrones, lo que implica que la densidad es una función que varía muy lentamente. Para algunos problemas como geometrías moleculares próximas a la disociación y para moléculas de capa abierta la aproximación usada es la de densidad local de espín (LSDA), este modelo considera explícitamente la existencia del espín, ofreciendo mejores resultados que LDA.

### 1.8.13 Funciones Base <sup>[28]</sup>

Ante la imposibilidad de utilizar un conjunto infinito de funciones de base, hecho que permitiría obtener la solución exacta dentro del procedimiento de cálculo escogido, en la práctica se utilizan conjuntos finitos de funciones de base normalizadas.

A la hora de elegir las funciones, debe tenerse en cuenta tanto el tipo de funciones escogidas como su número. Los principales tipos de funciones de base empleados son:

❖ Funciones de Slater (STO, *Slater-Type Orbitals*), definidos por:

$$\chi = N r^{n-1} e^{-\alpha r} Y \quad (11)$$

Donde N es la constante de normalización,  $r$  es el radio del orbital,  $\alpha$  es el exponente del orbital, Y corresponde al armónico esférico y  $n = 0, 1, 2, \dots$  es un número cuántico principal efectivo. Fueron las primeras que se utilizaron para desarrollar los orbitales atómicos debido a que los orbitales hidrogenoides 1s, 2p, 3d, son de este tipo. Estas funciones presentan como gran inconveniente el ser poco manejables, ya que no permiten una resolución analítica y rápida de las integrales.

❖ Funciones Gaussianas (*GTO, Gaussian-Type Orbitals*):

Las funciones gaussianas pueden representarse por:  $\chi = N r^{n-1} e^{-\alpha r^2} Y$  (12)

La diferencia básica entre la función de Slater y la función gaussiana está en el término exponencial, que en la función gaussiana se encuentra elevado al cuadrado. Esta diferencia supone como ventaja que la multiplicación de dos gaussianas es otra gaussiana centrada entre las dos anteriores y que sus integrales también resultan ser gaussianas. La desventaja es que representan los orbitales peor que las funciones de Slater. Ello conlleva que, para obtener una misma descripción, se requiera un número mayor de funciones en el caso de las funciones gaussianas.

Una solución de compromiso es el empleo de gaussianas contraídas, construídas como combinación lineal de las GTO originales (gaussianas primitivas) de forma que se aproxime, por ejemplo, a una STO.

#### 1.8.14 QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) <sup>[29]</sup>

En 1960, Corwin Hanch introdujo un método analítico basado en la relación lineal de energía libre (RLE) el cual permitía el diseño de fármacos a partir de un modelo teórico (farmacóforo) y a partir de este se podría predecir si una droga iba a ser activa o en base a determinados parámetros moleculares.

QSAR es una relación matemática entre la actividad biológica de un sistema molecular y sus características geométricas y químicas.

Las propiedades dependen de los sustituyentes en la molécula y el efecto puede ser aditivo, entonces se pueden adicionar sustituyentes de manera que se aumente la actividad, si se conoce dicha función. De modo que las características, tanto locales como globales, pueden ser útiles para describir la estructura química.

En este modelo se asume que las variaciones en las posiciones de los sustituyentes producen cambios en la actividad biológica de dichos compuestos, de manera que los cambios en las propiedades fisicoquímicas pueden afectar la actividad biológica de un conjunto de compuestos con características similares son mayormente de 3 tipos: electrónicos, estéricos e hidrofóbicos.

Las relaciones cuantitativas entre parámetros estructurales y la actividad biológica se pueden obtener a partir de un análisis de regresión lineal múltiple, la cual tiene la forma de la ecuación (13)

$$\text{Log}\left(\frac{1}{C}\right) = b_o + \sum_i b_i D_i \quad (13)$$

Donde C es la concentración de la droga,  $b_o$  es una constante,  $b_i$  es un coeficiente de regresión y  $D_i$  es un descriptor molecular.

## 1.9 RMN (Resonancia Magnética Nuclear) <sup>[30]</sup>

La resonancia magnética nuclear es un método espectral basado en las propiedades magnéticas de los núcleos y, en su aplicación más común, en las propiedades del núcleo de hidrógeno. Si sólo implicase los núcleos no tendría interés para los químicos.

Afortunadamente, los electrones van a producir modificaciones, débiles pero observables. Esos efectos electrónicos son los que darán lugar a los desplazamientos químicos y a las constantes de acoplamiento, permitiendo así el estudio detallado de la estructura electrónica de las moléculas, razón del éxito de la RMN en química orgánica.

Esta técnica permite, no solamente, la determinación de la estructura del compuesto, sino que además puede ser empleada para el estudio de tautómeros que se puedan formar. El ejemplo clásico lo constituye el estudio por RMN  $H^1$  de la acetilacetona **36**. Se puede observar que la señal a 3,64 ppm, asignable a los protones metilénicos es de menor intensidad que la asignada al protón vinílico (5,52 ppm). Lo mismo sucede con las señales correspondientes a los metilos. Una señal muy intensa correspondiente a la forma enólica y otra de menor intensidad que corresponde a la forma ceto. Dicho de otra manera, la comparación entre las integrales de ambos tautómeros sugiere claramente que la forma enólica predomina en este equilibrio. De hecho, se podría inferir que la velocidad de conversión de la forma ceto al enol y viceversa debe ser lo suficientemente lenta como para ser detectada en el experimento de RMN.

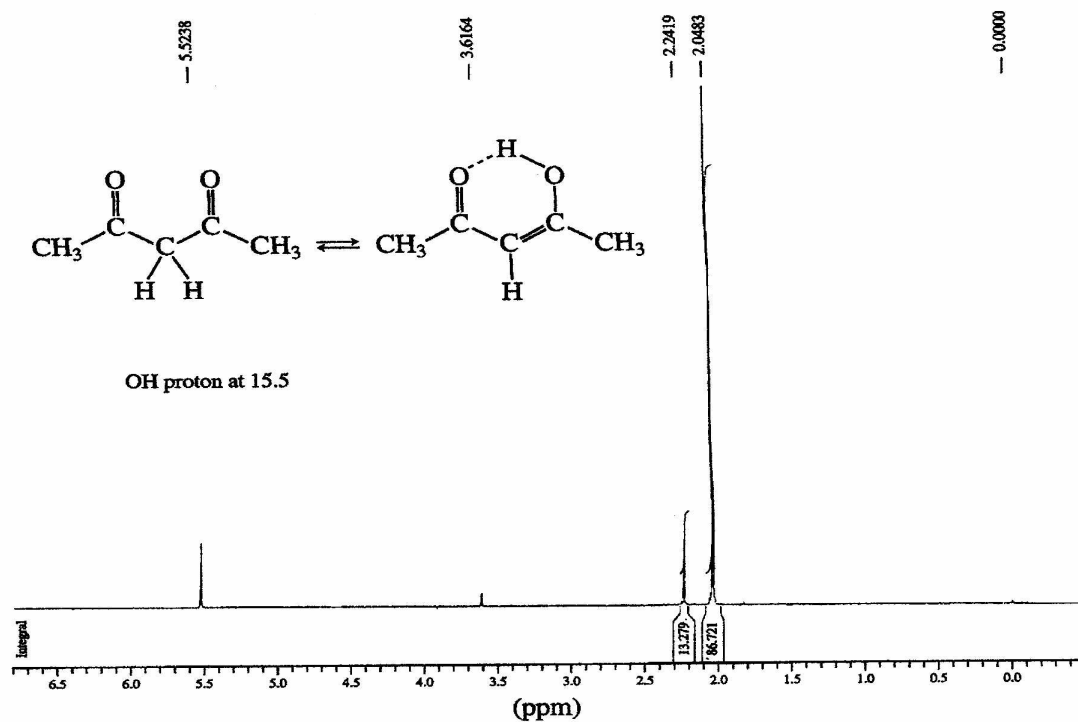


Figura 36: Espectro RMN  $^1\text{H}$  acetilacetona

# Capítulo II

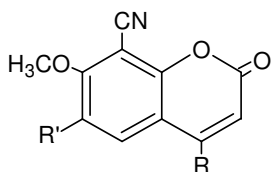
## 1.10 Antecedentes

**Lele, S** *et al* en 1962 sintetizaron cianocumarinas <sup>[31]</sup>.

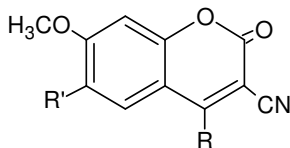
Calentando cianuro cuproso anhidro con los sustratos metil 7-metoxi-8-iodocumarin-6-carboxilato, metil 7-metoxi-8-yodo-4-metilcumarin-6-carboxilato y metil 5-metoxi-8-yodo-4-metilcumarin-6-carboxilato, se obtuvieron los derivados de cumarinas (**37A** y **B**) y (**39B**).

Con álcalis al 10% el grupo ciano se mantiene intacto en estas cumarinas mientras que el grupo ester se hidroliza al ácido carboxílico correspondiente, la cual después de una decarboxilación produce la cianocumarina (**37C** y **D**) y (**39D**) respectivamente. Estas cumarinas permanecen sin modificación al ser calentadas con una solución de 10% de hidróxido de potasio.

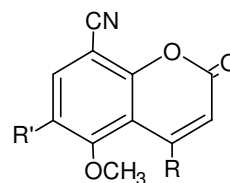
7-metoxi-3-iodocumarina, 7-metoxi-3-yodo-4-metilcumarina y 7-metoxi-3-yodo-4-metilcumarin-6-carboxilato, reaccionan de igual manera con una cianuro cuproso anhidro generando los correspondientes 3-ciano derivados (**38C**, **D** y **B**). La ciano cumarina (**38c**) fue también preparada por la reacción de Baker por la condensación de 2-hidroxi-4-metoxibenzaldehido con malonitrilo en presencia de piperidina. Calentando en una solución 10% de álcalis esta cumarinas genera el ácido 3-carboxicumarina.



**37**



**38**



**39**

Tabla # 1: Sustituyentes de las ciano cumarinas sintetizadas.

|           | A                  | B                  | C | D               |
|-----------|--------------------|--------------------|---|-----------------|
| <b>R</b>  | H                  | CH <sub>3</sub>    | H | CH <sub>3</sub> |
| <b>R'</b> | COOCH <sub>3</sub> | COOCH <sub>3</sub> | H | H               |

**Wood, L y Jhonson, D** en 1965 <sup>[32]</sup>: sintetizaron ácido 4-hidroxi-3-carboxicumarina haciendo reaccionar ácido salicílico con ácido malónico en ácido trifluoroacético controlando la temperatura.

Se obtienen los siguientes derivados de cumarinas.

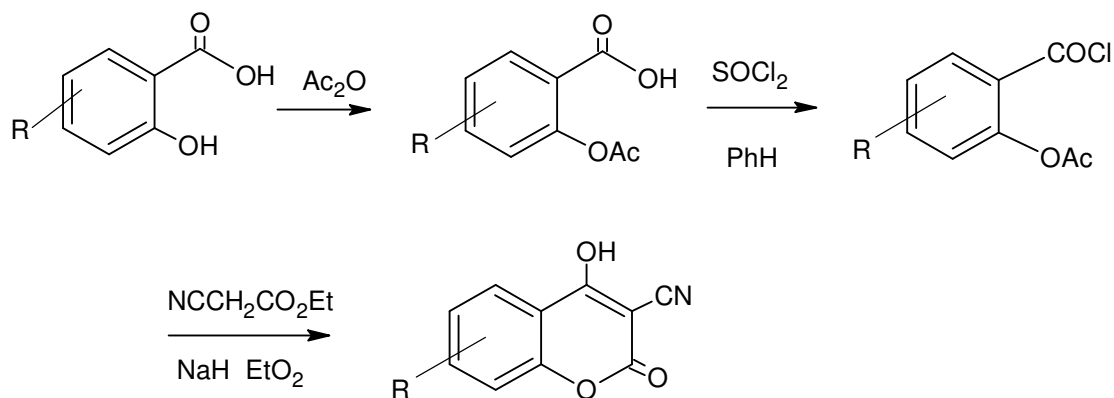
Tabla # 2: Rendimiento de los derivados de cumarinas sintetizados.

| Producto | Acido utilizado       | % Rendimiento |
|----------|-----------------------|---------------|
| 1        | Salicílico            | 61            |
| 2        | 5-clorosalicílico     | 70            |
| 3        | 5-bromosalicílico     | 80            |
| 4        | 5-nitrosalicílico     | 39            |
| 5        | 3-nitrosalicílico     | 40            |
| 6        | 2,4-dihidroxibenzoico | 36            |

1) ácido 4-hidroxycumarin-3-carboxílico 2) ácido 6-cloro-4-hidroxycumarin-3-carboxílico 3) ácido 6-bromo-4-hidroxycumarin-3-carboxílico 4) ácido 4-hidroxi-6-nitrocumarin-3-carboxílico 5) ácido 4-hidroxi-8-nitrocumarin-3-carboxílico 6) ácido-4,7-dihidroxycumarin-3-carboxílico

**Buckle, D et al** en 1977 sintetizaron <sup>[33]</sup> compuestos con la característica de 2-ciano-1,3-dicarbonil para probar su actividad antialérgica.

Siguieron la ruta sintetica propuesta por Checchi.

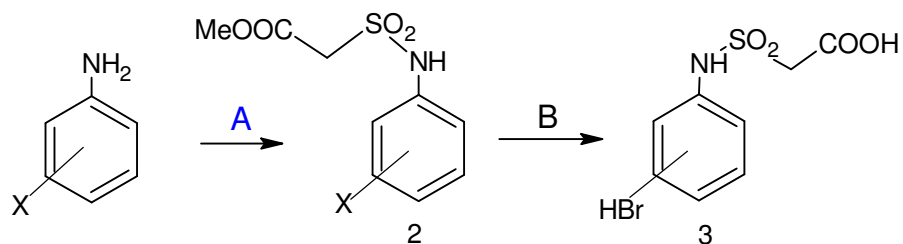


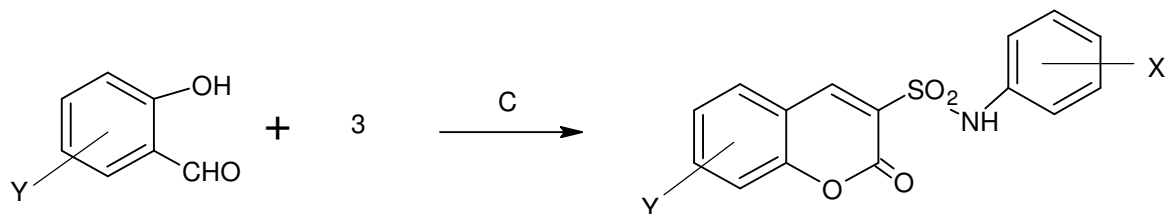
R: CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub> y OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>

El grupo hidróxilo en la posición 4 fue reemplazado luego por: hidrogeno, metil, cloro, amino, etil-amino y metoxi.

Los compuestos se caracterizaron con análisis elemental y punto de fusión.

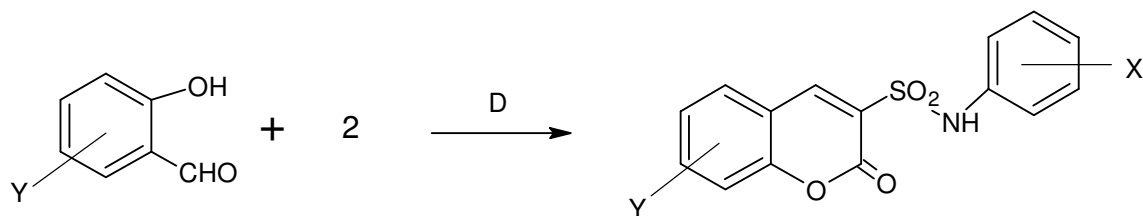
**Srinivasa Reddy et al** en 2004 <sup>[34]</sup>: sintetizaron nuevas cumarinas sustituidas en la posición 3 con 3-(N-aryl)sulfonamidas mediante la reacción de Knoevenagel y probaron su actividad anticancerosa.





Condiciones: A)  $\text{ClSO}_2\text{CH}_2\text{COOCH}_3$ , trietilamina/ THF,  $\text{N}_2$ , rt, 3h. B) 10% de NaOH/  $\text{H}_2\text{O}$ . C)  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{NH}_2$ .

Otra vía para llegar al mismo producto.



D) piperidina, etanol, reflujo por 5 min.

Todos los productos fueron caracterizados por RMN  $\text{H}^1$  y RMN  $\text{C}^{13}$ , se probaron las actividades antiproliferativa para células cancerígenas  $\text{GI}_{50}$  mostrando valores menores a  $100\text{ }\mu\text{M}$ .

**Maheswara, M** *et al* en 2006 <sup>[35]</sup> sintetizaron una serie de derivados de cumarinas usando la reacción de Pechman con un sistema de catálisis heterogénea de ácido perclórico y sílica gel ( $\text{HClO}_4\cdot\text{SiO}_2$ ). El catalizador se separa de la mezcla de reacción fácilmente por filtración.

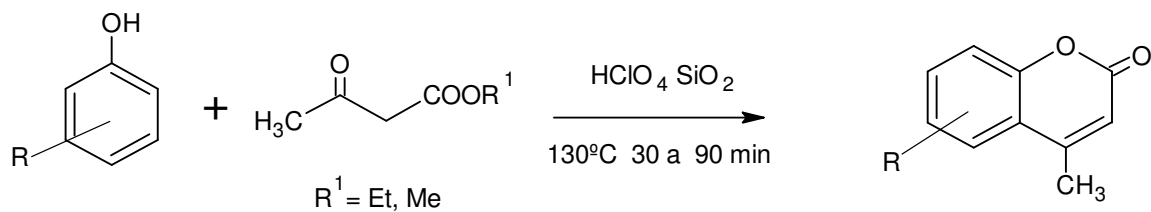
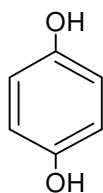


Tabla # 3: Rendimiento y tiempo de reacción de los derivados.

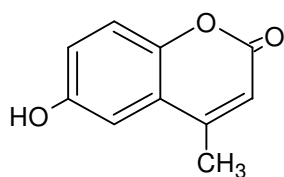
| Reactivo de partida | Tiempo de reacción (min) | Producto | Rendimiento                       |
|---------------------|--------------------------|----------|-----------------------------------|
| 40                  | 30                       | 41       | 91 <sup>1</sup> , 90 <sup>2</sup> |
| 42                  | 45                       | 43       | 82 <sup>1</sup> , 78 <sup>2</sup> |
| 44                  | 65                       | 45       | 89 <sup>1</sup> , 84 <sup>2</sup> |
| 46                  | 90                       | 47       | 67 <sup>1</sup> , 65 <sup>2</sup> |

1 usando etil acetoacetato

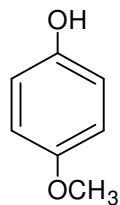
2 usando metil acetoacetato



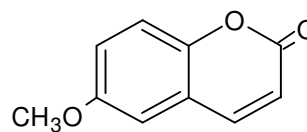
**40**



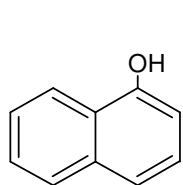
**41**



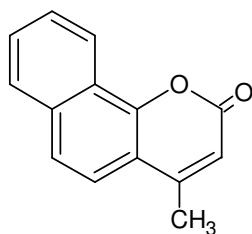
**42**



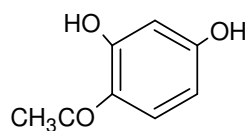
**43**



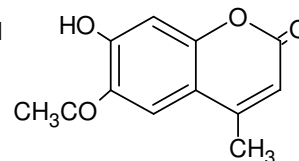
**44**



**45**



**46**



**47**

Partiendo de fenoles con sustituyentes donadores de densidad electrónica en posición para se obtienen buenos rendimientos en menor tiempo de reacción, mientras que los fenoles con sustituyentes atractores en esta posición hacen que el tiempo de reacción se incremente considerablemente con rendimientos mas bajos.

**Heravi, M et al** en 2008 <sup>[36]</sup>: sintetizaron derivados de ácido 3-carboxicumarina y 3-acetilcumarinas por ciclación de derivados de 2-hidroxibenzaldehído con 1-etilacetoacetato o ácido malónico, en presencia de cantidades catalíticas de diferentes tipos de HPAs (heteropoliácidos),  $H_{14}[NaP_5W_{30}O_{110}]$ ,  $H_4[PMo_{11}VO_{40}]$ ,  $H_5[PMo_{10}V_2O_{40}]$  y  $H_6[P_3W_{18}O_{62}]$ .

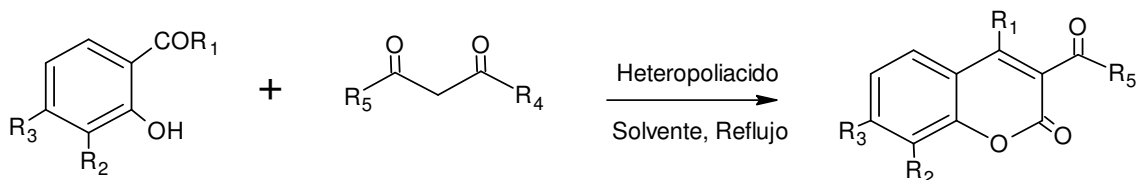


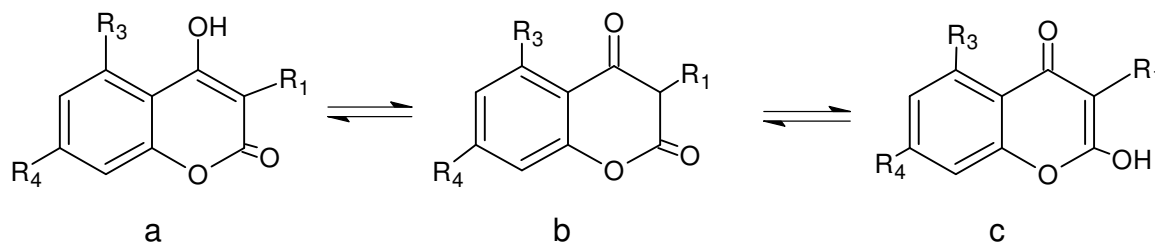
Tabla # 4: Datos de la síntesis usando  $H_{14}[NaP_5W_{30}O_{110}]$  bajo condiciones de reflujo.

| $R_1$  | $R_2$   | $R_3$  | $R_4$      | $R_5$  | %<br>rendimiento | Pto<br>fusión<br>exp | Pto<br>reportado<br>°C |
|--------|---------|--------|------------|--------|------------------|----------------------|------------------------|
| H      | H       | H      | $CH_2CH_3$ | $CH_3$ | 98.2             | 121                  | 121-2                  |
| H      | H       | H      | H          | OH     | 97               | 191                  | 189-192                |
| H      | $OCH_3$ | H      | $CH_2CH_3$ | $CH_3$ | 97               | 174                  | 174                    |
| H      | H       | $NO_2$ | H          | OH     | 95.7             | 235                  | 234-235                |
| $CH_3$ | H       | H      | H          | OH     | 59               | 161                  | 161-2                  |
| $CH_3$ | H       | H      | $CH_2CH_3$ | $CH_3$ | 65               | 98                   | 98-9                   |

**Traven, V et al** en 1997 <sup>[37]</sup>: realizaron estudios de equilibrio tautomérico e intercambio de H-D en 4-hidroxycumarinas.

Evaluaron la estabilidad de los compuestos por su calor de formación con métodos MNDO, calcularon propiedades como momento dipolar, potencial de ionización y afinidad electrónica.

La energía de resonancia no diferencia entre los tautómeros a y c pero muestran que predominan frente a b.



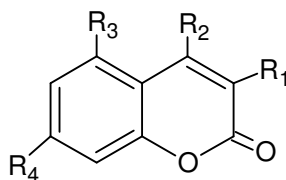


Tabla # 5: Hidroxicumarinas estudiadas.

|           | <b>R<sub>1</sub></b>                                 | <b>R<sub>2</sub></b> | <b>R<sub>3</sub></b> | <b>R<sub>4</sub></b> |
|-----------|------------------------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| <b>48</b> | H                                                    | OH                   | H                    | H                    |
| <b>49</b> | H                                                    | OH                   | OH                   | H                    |
| <b>50</b> | H                                                    | OH                   | H                    | OH                   |
| <b>51</b> | p-CH <sub>3</sub> O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -N | OH                   | H                    | H                    |
| <b>52</b> | C(O)CH <sub>3</sub>                                  | OH                   | H                    | H                    |
| <b>53</b> | H                                                    | OCH <sub>3</sub>     | H                    | H                    |

Los compuestos estudiados fueron 4-hidroxicumarina **48**, 4,5-dihidroxicumarina **49**, 4,7-dihidroxicumarina **50**, 4-hidroxi-3-(4'-metoxifenilazo)cumarina **51**, 3-acetil-4-hidroxicumarina **52**, 4-metoxicumarina **53** y 4-hidroxi-7-metilcumarina **54**.

Tabla # 6: Valores de las propiedades calculadas para las hidroxicumarinas.

| <b>Tautómero</b> | <b>-ΔH<sub>f</sub><sup>o</sup><br/>(Kcal/mol)</b> | <b>μ (D)</b> | <b>PI (eV)</b> | <b>AE (eV)</b> |
|------------------|---------------------------------------------------|--------------|----------------|----------------|
| <b>48a</b>       | 88.27                                             | 4.31         | 9.29           | 0.99           |
| <b>48b</b>       | 87.41                                             | 2.94         | 9.63           | 0.98           |
| <b>48c</b>       | 85.05                                             | 4.30         | 9.26           | 0.61           |
| <b>49a</b>       | 133.64                                            | 3.96         | 9.13           | 1.02           |
| <b>49b</b>       | 133.70                                            | 2.15         | 9.32           | 1.06           |
| <b>49c</b>       | 132.03                                            | 3.84         | 9.07           | 0.67           |
| <b>50a</b>       | 137.24                                            | 5.59         | 9.11           | 0.93           |
| <b>50b</b>       | 136.20                                            | 2.39         | 9.53           | 0.96           |

| Tautómero  | $-\Delta H_f^\circ$<br>(Kcal/mol) | $\mu$ (D) | PI (eV) | AE (eV) |
|------------|-----------------------------------|-----------|---------|---------|
| <b>50c</b> | 131.94                            | 1.32      | 9.31    | 0.57    |
| <b>51a</b> | 27.93                             | 4.40      | 8.92    | 1.44    |
| <b>51b</b> | 20.59                             | 3.55      | 9.56    | 0.94    |
| <b>51c</b> | 23.70                             | 2.32      | 8.84    | 1.04    |
| <b>52a</b> | 124.50                            | 5.48      | 9.53    | 1.27    |
| <b>52b</b> | 118.50                            | 3.54      | 9.70    | 1.07    |
| <b>52c</b> | 121.00                            | 3.70      | 9.49    | 0.75    |
| <b>53</b>  | 80.26                             | 4.64      | 9.24    | 0.88    |

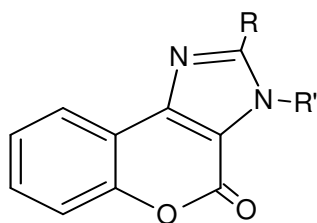
Los valores en las propiedades para los tautómeros de una estructura no varían mucho por lo que es difícil determinar con ellos cual es más favorable, la única propiedad que difiere de un tautómero a otro es el momento dipolar.

Encontraron que la forma **49 b** es más estable que sus formas enólica producto del puente de hidrogeno intramolecular entre el hidrogeno del grupo hidroxilo del carbono 5 y el oxigeno del carbono 4.

Concluyeron que el equilibrio ceto-enolico en las 4-hidroxicumarinas depende de la estructura de la molécula, grupos funcionales presentes y ubicación. Los sustituyentes en la posición 3 y 5 afectan el equilibrio. En la molécula **51** el grupo fenilazo permite el intercambio de hidrógeno por deuterio mientras que en la molécula **52** no se observa dicho intercambio.

**Contini, A** *et al* en 2005 <sup>[38]</sup>: realizaron estudios de equilibrio tautomérico en benzopiranilimidazoles.

Este sustrato podría tener 4 tautómeros posibles, la evidencia experimental indica que existe un tautómero preferentemente en solución. Se investigaron por DFT una serie de 2-sustituidos [1] benzopirano [3,4-d] imidazol-4(3H)-ona tanto en fase gas como en solución. La influencia del solvente fue introducida por el modelo CPCM.



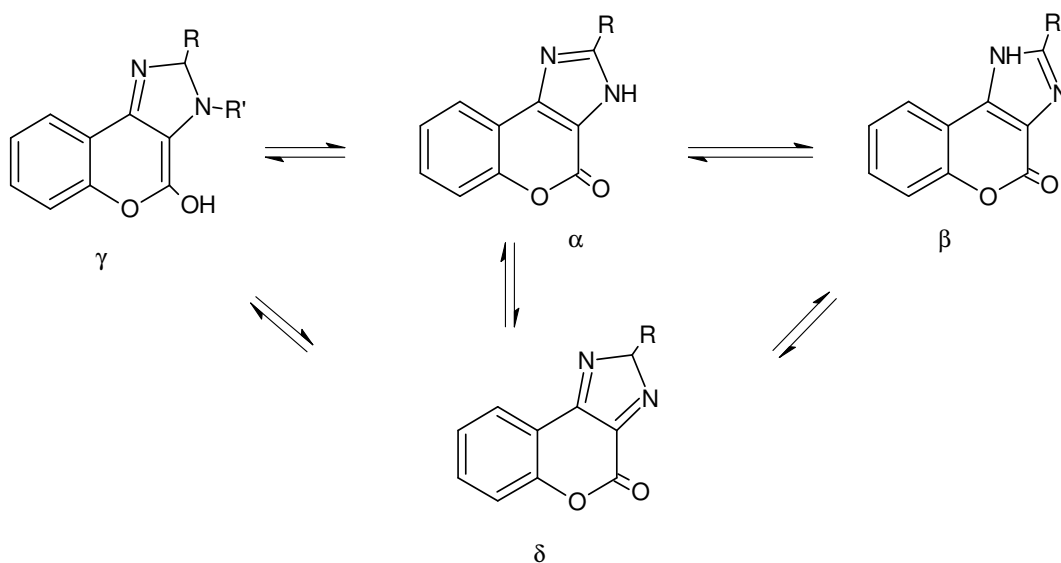
**55**

Tabla # 7: Diferentes benzopiranilimidazoles estudiados.

|            | <b>R</b>                                        | <b>R'</b> |
|------------|-------------------------------------------------|-----------|
| <b>55a</b> | CH <sub>2</sub> Ph                              | H         |
| <b>55b</b> | CH <sub>2</sub> p-BrPh                          | H         |
| <b>55c</b> | CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph              | H         |
| <b>55d</b> | CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> | H         |
| <b>55e</b> | CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>               | H         |

Tabla 8: Entalpias relativas (Kcal/mol)

|           | Solvente | $\alpha$ | $\beta$ | $\gamma$ | $\delta$ |
|-----------|----------|----------|---------|----------|----------|
| <b>1a</b> | Fase gas | 0.0      | 4.4     | 23.1     | 30.9     |
|           | DMSO     | 0.0      | 0.7     | 22.6     | 30.8     |
|           | Acetona  | 0.0      | 0.9     | 22.5     | 30.9     |
| <b>1b</b> | Fase gas | 0.0      | 4.3     | 22.0     | 30.2     |
|           | DMSO     | 0.0      | 0.7     | 22.7     | 31.4     |
|           | Acetona  | 0.0      | 0.8     | 22.6     | 31.5     |
| <b>1c</b> | Fase gas | 0.0      | 4.0     | 22.2     | 32.2     |
|           | DMSO     | 0.0      | 1.3     | 21.4     | 31.2     |
|           | Acetona  | 0.0      | 1.4     | 21.2     | 32.3     |
| <b>1d</b> | Fase gas | 0.0      | 4.7     | 21.7     | 30.7     |
|           | DMSO     | 0.0      | 0.2     | 23.9     | 34.2     |
|           | acetona  | 0.0      | 0.3     | 23.8     | 34.0     |



En solución se puede pensar que existe los tautómeros  $\alpha$  y  $\beta$ . El tautómero  $\gamma$  fue descartado debido a que por IR de todos los benzopiranoimidazoles tomados en

cloroformo exhibieron la señal típica del carbonilo de una lactona a  $1704\text{-}1712\text{ cm}^{-1}$ , mientras que la banda del OH no fue detectada. Encontraron que el tautómero mayoritario es el  $\alpha$ .

# Capítulo III

## 1.11 OBJETIVOS

### Objetivo General

- ❖ Sintetizar derivados de 3-ciano-2-hidroxi-4-oxocumarinas y/o sus tautómeros y determinar sus propiedades mediante Modelaje Molecular.

### Objetivos Específicos

- ❖ Sintetizar derivados de 3-ciano-4-oxocumarinas.
- ❖ Purificar los compuestos sintetizados mediante cromatografía de columna o técnicas apropiadas de purificación y cristalización.
- ❖ Identificar los compuestos e intermediarios sintetizados mediante el uso de técnicas espectroscópicas: RMN  $H^1$ , RMN  $C^{13}$ , IR.
- ❖ Realizar un estudio de Modelaje Molecular de las 3-cianocumarinas sustituidas, a fin de establecer, en caso de que exista el equilibrio tautomérico, hacia donde se desplaza.
- ❖ Calcular las propiedades termodinámicas de las 3-cianocumarinas sustituidas para crear una base de datos.

# Capítulo IV

## 1.12 Parte Experimental

### Reactivos

- Acido Ciano acético
- Salicilato de metilo
- Acido acetil salicílico
- Ácido p-toluensulfónico
- Diciclohexil carbodimida
- Trifenilfosfina
- $\text{H}_2\text{SO}_4$
- $\text{HNO}_3$
- $\text{HCl}$
- $\text{NaHCO}_3$

### Solventes

- Benceno
- Tolueno
- Cloroformo
- Etanol absoluto
- Dimetil sulfoxido
- N,N-dimetilforfamida
- Hexano \*
- Diclorometano \*
- Metanol \*
- Etanol \*

(\*): Destilado

## **Determinación de datos Físicos**

### **Punto de Fusión (Pf)**

Se determinaron en un fusiómetro Electrothermal 9100, 15 v, 45 w, 50/60 Hz. No están corregidos.

### **Espectros Infrarrojo (IR)**

Fueron registrados en un equipo IR-Thermo Nicolet Nexos 470 FT EFP, utilizando una pastilla de KBr.

### **Espectros de Resonancia Magnética de Protones y Carbono (RMN<sup>1</sup>H y RMN<sup>13</sup>C)**

Se tomaron en un instrumento JEOL (270 MHz). Se utilizó como referencia interna TMS y los desplazamientos químicos vienen dados en ppm hacia campos bajos de la señal del TMS. Solvente empleado CDCl<sub>3</sub>

### **Cromatografía Capa Fina (ccf)**

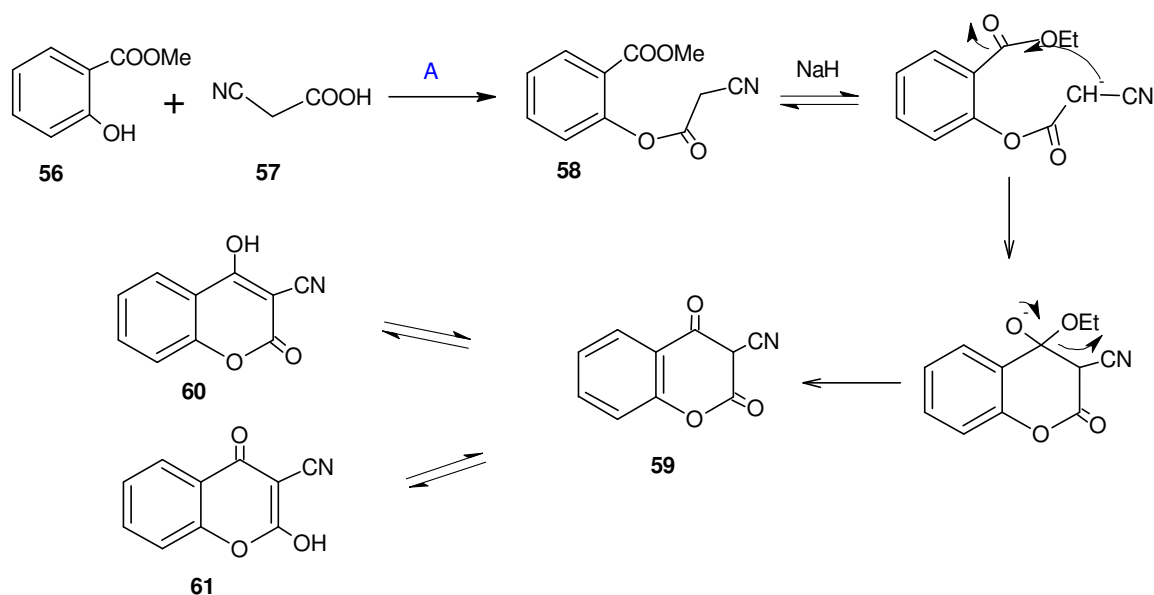
Se utilizó como adsorbente sílica gel Merck DC-60F<sub>54</sub>, capas de 0,2 mm de espesor en placas de aluminio.

### **Cromatografía de Columna (cc)**

Se utilizó como soporte sílica-gel de Aldrich, 60 Å, con un área de superficie de 500 m<sup>2</sup>/g y un volumen de 0,75 cm<sup>3</sup>/g / 70-230 mesh.

### 1.13 Síntesis de la 3-ciano-4-oxocumarina.

Ruta sintética (1)



Esquema 1

#### Preparación del diéster (58) usando $\text{PPh}_3/\text{CCl}_4$ - Primer procedimiento.

A ( $0.680 \pm 0.001$  g ; 7.994 mmol) de ácido cianoacético en 0.9 mL de piridina se le adicionó 0.8 mL de  $\text{CCl}_4$ , ( $2.069 \pm 0.001$  g ; 7.900 mmol) de  $\text{PPh}_3$  y ( $0.790 \pm 0.001$  g ; 5.192 mmol) de salicilato de metilo. La mezcla de reacción se enfrió por 2 h a 5 °C con agitación y luego se dejó a temperatura ambiente por un día. La mezcla se tornó de transparente a una solución muy oscura. Se observó la formación de cristales de óxido de trifenil fosfina, estos cristales se separan por filtración lavándose con  $\text{CCl}_4$ . Se disolvió la mezcla en acetato de etilo y se extrajo la piridina sin reaccionar con HCl al 10 %. La capa orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro y se dejó evaporar el

solvente. El análisis de la mezcla de reacción por TLC indica que no se formó el producto.

#### **Preparación del diéster (58) usando $\text{PPh}_3/\text{CCl}_4$ – Segundo procedimiento.**

Se adicionaron ( $1.223 \pm 0.001$  g;  $14.378$  mmol) de ácido cianoacético a ( $0.428 \pm 0.001$  g;  $17.833$  mmol) de NaH en  $\text{CCl}_4$ . Luego se agregó el carboxilato formado a un balón con ( $3.143 \pm 0.001$  g;  $11.984$  mmol) de trifenil fosfina y se dejó con agitación por 15 min en un baño de hielo. En una fiola aparte se formó el fenóxido al colocar ( $2.251 \pm 0.001$  g;  $14.795$  mmol) de salicilato con ( $0.408 \pm 0.001$  g;  $17.000$  mmol) de NaH. Posterior a los 15 min se adicionó lentamente el fenóxido usando un embudo de adición y se dejó con agitación en baño de hielo por 2 h, luego se continuó la reacción a temperatura ambiente por 10 h. La mezcla de reacción se disolvió en acetato de etilo se lavó con agua y se secó la capa orgánica con sulfato de magnesio anhidro. Se evaporó el solvente y se purificó la mezcla obtenida por cromatografía de columna usando sílica gel como fase estacionaria y como solvente hexano, hexano/ $\text{CHCl}_3$  y  $\text{CHCl}_3$  obteniendo sólo productos colaterales y no el esperado.

#### **Preparación del diéster (58) usando DCC. Primer procedimiento.**

A una solución de ( $0.568 \pm 0.001$  g;  $6.678$  mmol) de ácido cianoacético en 10 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  se le adicionó ( $0.468 \pm 0.001$  g;  $3.076$  mmol) de salicilato de metilo y ( $1.264 \pm 0.001$  g;  $6.135$  mmol) de DCC. La mezcla de reacción se colocó en agitación por 12 h a temperatura ambiente. Se filtró el derivado de urea y DCC sin reaccionar. Luego se realizaron extracciones con  $\text{NaHCO}_3$  al 5 % para eliminar restos del ácido, se secó la capa orgánica con sulfato de magnesio anhidro y se evaporó solvente. El análisis por TLC indicó que no se formó el producto esperado.

### **Preparación del diéster (58) usando DCC. Segundo procedimiento.**

A una solución de ( $2.030 \pm 0.001$  g; 23.882 mmol) de ácido cianoacético en 25 mL de  $\text{CHCl}_2$  y 10 mL de DMSO se agregó ( $4.553 \pm 0.001$  g; 22.102 mmol) de DCC con agitación por 30 min. Aparte se preparó el fenóxido del salicilato colocando en una fiola ( $0.563 \pm 0.001$  g; 23.458 mmol) de NaH en DMSO y ( $3.427 \pm 0.001$  g; 22.523 mmol) de salicilato de metilo. Posterior a los 30 min se adicionó lentamente el fenóxido con un embudo de adición. La mezcla se dejó en agitación por 10 h. Se realizaron extracciones con  $\text{NaHCO}_3$  al 5% para eliminar el ácido sin reaccionar, la capa orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro y la mezcla se purificó por cromatografía de columna, usando sílica gel como fase estacionaria y como solvente hexano, hexano/ $\text{CHCl}_3$  y  $\text{CHCl}_3$ . El producto esperado no se encontró.

### **Preparación del diéster (58) usando $\text{SOCl}_2$ .**

En un balón se colocaron ( $2.513 \pm 0.001$ g; 29.544 mmol) de ácido cianoacético y 13 mL de cloruro de tionilo a temperatura de reflujo por 30 min. Posteriormente se adicionó la mezcla resultante sobre ( $4.409 \pm 0.001$ g; 28.978 mmol) de salicilato de metilo frío. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía de columna usando sílica gel como fase estacionaria y como solvente hexano, hexano/ $\text{CHCl}_3$  y  $\text{CHCl}_3$ . Se encontró gran cantidad del material de partida sin reaccionar y productos colaterales, el compuesto esperado no se formó.

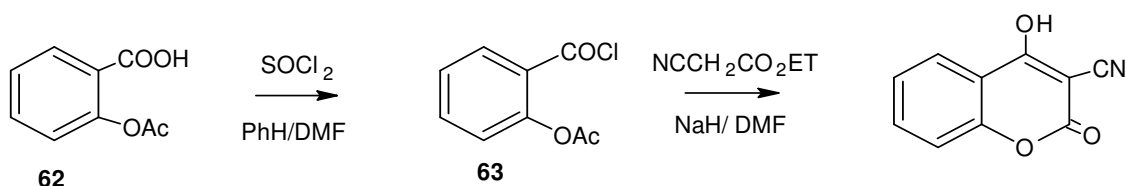
## **Preparación del diéster (58) por transesterificación.**

Síntesis del ciano acetato de etilo.

En un balón se adicionan ( $5.642 \pm 0.001\text{g}$ ;  $66.329\text{ mmol}$ ) de ácido cianoacético, 20 mL de etanol absoluto, 50 mL de tolueno y ácido p-toluensulfónico en cantidades catalíticas. Se ajustó al balón una trampa de agua a fin de extraerla de la mezcla de reacción a medida que se va formando. Se mantuvo el reflujo por 5 horas adicionales. Luego la mezcla se extrajo con acetato de etilo y se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  al 5 %. La capa orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida. Se obtuvo ( $5.882 \pm 0.001\text{g}$ ;  $51.551\text{ mmol}$ ) de ciano acetato de etilo con un punto de ebullición de  $203\text{ }^\circ\text{C}$ . Rendimiento 78%

En un balón se colocó ( $0.335 \pm 0.001\text{g}$ ;  $2.965\text{ mmol}$ ) de cianoacetato de etilo en 10 mL de DMSO y se le adicionó lentamente una solución de fenóxido preparado con ( $0.545 \pm 0.001\text{g}$ ;  $3.582\text{ mmol}$ ) de salicilato de metilo y ( $0.104 \pm 0.001\text{g}$ ;  $4.333\text{ mmol}$ ) de NaH. La mezcla de reacción fue calentada a reflujo por 1 h y luego con agitación por 5 h a temperatura ambiente. La mezcla se extrajo con acetato de etilo y se lavó con agua para remover el DMSO. Se purificó por cromatografía de columna con sílica gel como fase estacionaria y como solvente hexano, hexano/ $\text{CHCl}_3$  (6:4) y  $\text{CHCl}_3$ . Se obtuvo ( $0.031 \pm 0.001\text{g}$ ;  $0.166\text{ mmol}$ ) de un sólido blanco con punto de fusión de  $(155-157)\text{ }^\circ\text{C}$ . Rendimiento 9 %

Segunda ruta sintética <sup>[33]</sup>.



Esquema 2

Síntesis del Cloruro de Acilo (**62**).

Se adicionó en un balón ( $0,459 \pm 0.001\text{g}$ ;  $2.550 \text{ mmol}$ ) de ácido acetil salicílico en 10 mL de benceno y 10 mL de cloruro de tionilo. La mezcla se colocó en reflujo por 6 h, luego se dejó enfriar y evaporar a sequedad.

Síntesis de la 3-ciano-4-hidroxycumarina.

Al cloruro de acilo formado se adicionó ( $0.680 \pm 0.001\text{g}$ ;  $6.018 \text{ mmol}$ ) de ciano acetato de etilo disueltos en 15 mL de N,N-dimetilformamida, con ( $0.152 \pm 0.001\text{g}$ ;  $6.333 \text{ mmol}$ ) de NaH. La mezcla de reacción se colocó en reflujo por 18 h, posteriormente se enfrió y se añadió sobre 50 mL de una solución de NaOH 2M. Se extrajo con acetato de etilo y la capa acuosa fue acidificada, el sólido formado se filtro y se recristalizó con una mezcla etanol- agua. Se obtuvo ( $0.763 \pm 0.001\text{g}$ ;  $4.080 \text{ mmol}$ ) del producto, con un punto de fusión de  $(237\text{-}239)^\circ\text{C}$ , el análisis elemental del producto muestra la presencia de nitrógeno. Rendimiento 67 %

### **1.13.1 Cálculos Computacionales**

#### **Análisis Vibracional**

Se construyó el modelo molecular de las 3-ciano-4-oxocumarinas sustituidas en la posición 6 y se optimizó utilizando como método la Teoría Funcional de Densidad, con el funcional B3LYP y base 6-31G (d) y PM3 en el programa Gaussian 2003. Posteriormente se tomaron las estructuras optimizadas y se realizó el análisis vibracional usando el mismo método, para la obtención de los parámetros termodinámicos S, H, G.

#### **Propiedades Termodinámicas y QSAR**

Se optimizaron las estructuras utilizando el método semiempírico PM3, con la opción RHF para el cálculo de las propiedades QSAR, empleando el programa Hyperchem 7.5 Professional y el algoritmo de conjugado ( Polak-Ribiere) con RMS de 0,01 y CAChe (Computer Aided Chemistry) para Windows.

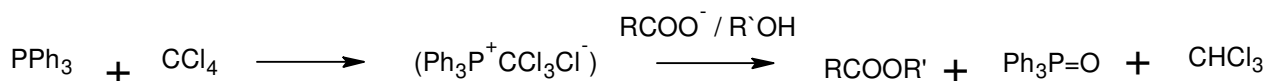
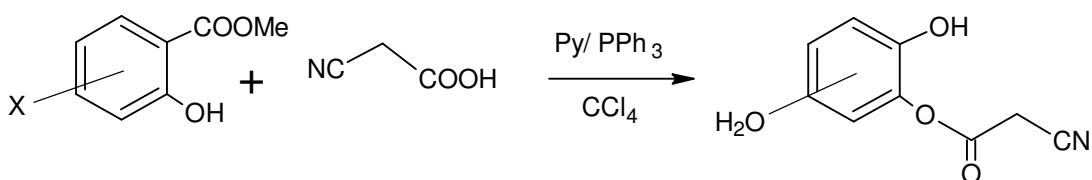
# Capítulo V

## 1.14 Resultados y Discusión

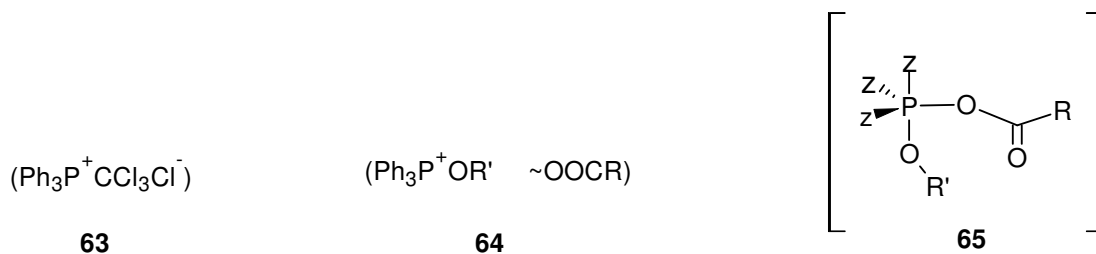
### 1.14.1 Síntesis

#### Síntesis del diéster (58).

Para sintetizar el diéster de interés se utilizaron varios métodos, en el primero de ellos se utilizó como agente acoplante un sistema  $\text{PPh}_3/\text{CCl}_4$ .



El mecanismo para esta esterificación se propone como la formación de la especie 63 en el primer paso, luego la conversión a la especie 64, el cual puede ser un par iónico íntimo o la especie 65 pentacoordinada<sup>[39]</sup>.



Esquema 3

Donde z representa un grupo fenilo.

El mecanismo propuesto evidencia que para la formación del éster es necesario que el alcohol en nuestro caso el salicilato ataque al carbono carbonílico del ácido y la función que cumple la trifenilfosfina es colocar a las dos moléculas que necesitan reaccionar lo suficientemente cercanas como para que ocurra la reacción.

Observando los sustratos utilizados se puede notar que el ácido cianoacético posee un doble enlace carbono-oxígeno deficiente en densidad electrónica por lo que se encuentra susceptible a ser atacado. Adicionalmente, la interacción con la trifenilfosfina lo hace aun más favorable a sufrir un ataque nucleofílico. El salicilato por su parte muestra ser un nucleófilo débil debido a que los pares de electrones del oxígeno se encuentran aportando densidad electrónica al anillo aromático, por otra parte la presencia del grupo acetil en la posición orto desactiva su fuerza nucleofílica producto del efecto atractor de densidad electrónica en el anillo, de la interacción puente de hidrógeno que puede establecer con el hidróxilo vecino y además por el efecto estérico que produce sobre el sustrato para atacar a una molécula.

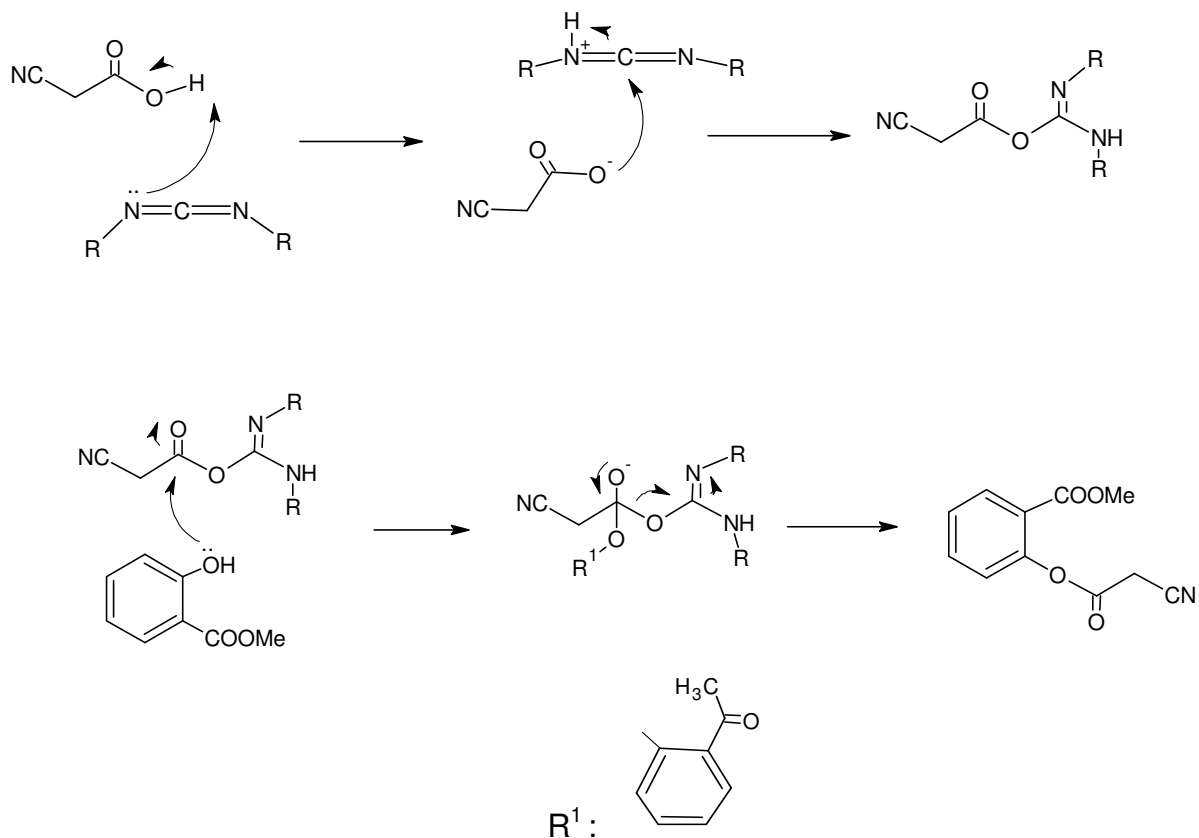
Para mejorar el poder nucleofílico del salicilato se realizó la reacción con el fenóxido preparado con una base fuerte (NaH), sin embargo este intento tampoco proporcionó el diéster (**58**). Aunque se elimina del sustrato la interacción puente de hidrógeno, el efecto del sustituyente acetil como atractor de densidad electrónica es de suma importancia, a un punto tal que convierte al salicilato en un mal nucleófilo.

Además, no sólo el oxígeno del grupo hidroxilo en el salicilato puede interaccionar con el fósforo de la trifenilfosfina sino que también se encuentran en la molécula los oxígenos del carbonilo y del éster del grupo acetil, por lo que se presume que el complejo formado por la trifenilfosfina y el salicilato es mucho más estable que una simple interacción P- O, aumentando el efecto estérico debido a que todos los oxígenos del nucleófilo están interactuando con el agente acoplante.

### Síntesis del diéster (58) usando DCC.

Utilizando como agente acoplante la dicitclohexil carbodimida se confirma la idea de que el salicilato, incluso el fenóxido generado al colocarlo con una base fuerte presentan un comportamiento poco nucleofílico ya que el DCC interacciona con el ácido para hacerlo más susceptible a ser atacado por un nucleófilo.

El mecanismo propuesto para esta reacción es <sup>[40]</sup>:



Ocurre en primer lugar una reacción ácido-base entre el ácido cianoacético y el DCC, seguido del ataque nucleofílico del cianoacetato generado sobre el carbono central del

DCC, luego de la formación de este compuesto entonces el ataque del salicilato genera el éster por la salida del N,N'-d ciclohexil urea.

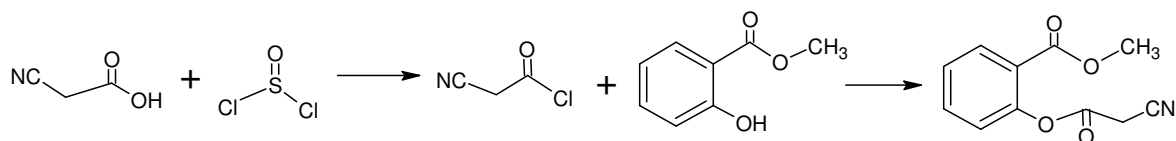
Al colocar el ácido cianoacético y el DCC se observó un cambio de coloración de incoloro a rojo lo que evidencia la formación del complejo, sin embargo el diéster (58) no se formó, lo que demuestra que el salicilato no realiza el ataque nucleofílico sobre el carbonilo.

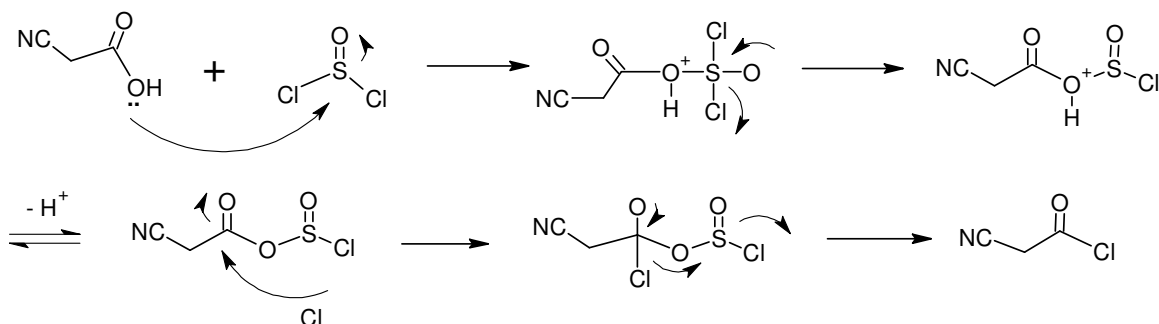
La reacción se encontró reportada para la formación de amidas por lo que los resultados satisfactorios en otros compuestos reportados se debe a comportamiento nucleofílico mayor del nitrógeno frente al oxígeno.

### Síntesis del diéster (58) usando $\text{SOCl}_2$ .

El cloruro de tionilo es utilizado para la síntesis de derivados de ácidos al formar cloruros de acilos muy susceptibles frente a cualquier agente nucleofílico como aminas y alcoholes.

El mecanismo de la reacción es el siguiente:





El cloruro de acilo formado es muy reactivo por lo que debe ser utilizado inmediatamente, *in situ*.

Por este método el diéster (**58**) no se forma, confirmando así que el salicilato no puede actuar, a temperatura ambiente, como un nucleófilo. El cloruro se descompone con la humedad del medio ambiente para generar de nuevo el ácido cianoacético.

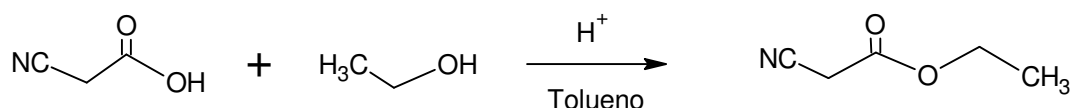
### Síntesis del diéster (**58**) por transesterificación.

Los problemas encontrados con los diferentes agentes acoplantes indicaban la poca nucleofilicidad del salicilato por lo que se pensó que para promover la reacción sería necesario proporcionar energía al medio.

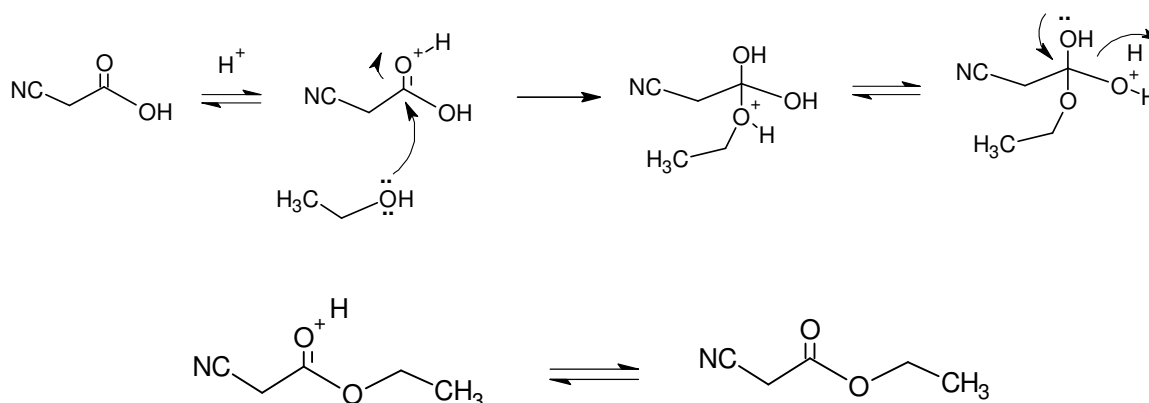
En el caso de la trifenilfosfina y el DCC suministrar calor sólo generó mezclas de reacción más complejas ya que la formación de productos colaterales aumentó con el aumento de la temperatura.

A fin de evitar productos colaterales se realizó una transesterificación en la cual se utilizó como reactante al cianoacetato de etilo en vez del ácido cianoacético.

La obtención del cianoacetato de etilo se llevó a cabo mediante una esterificación catalizada por ácido, en nuestro caso utilizamos ácido p-toluensulfónico. Para llevar a cabo esta síntesis es necesario colocar una trampa de agua a fin de extraerla a medida que transcurre la reacción.



El mecanismo de la reacción es el siguiente:



La obtención de un buen rendimiento en esta reacción se debe al uso de etanol absoluto como reactivo de partida. La presencia de agua en el medio de reacción impide la formación del éster ya que con la catálisis ácida el carbono carbonílico se hace más electrofílico y el agua puede atacar para remover de la molécula el etanol que es mejor grupo saliente que el agua, por lo que se formaría nuevamente el ácido cianoacético.

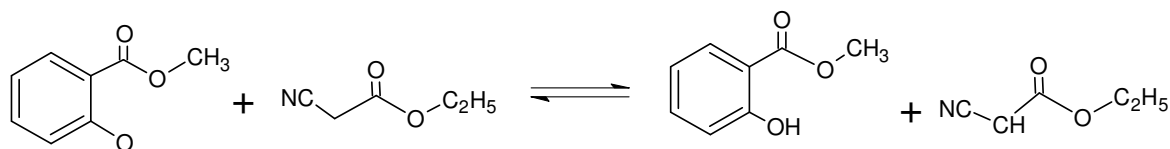
La obtención del producto se observa claramente en el espectro de IR (Espectro n° 1).

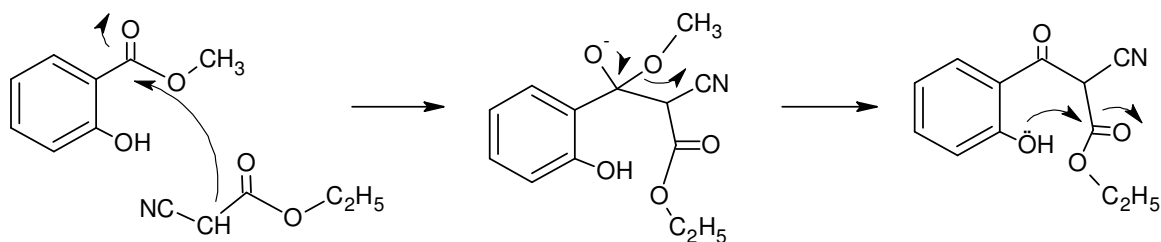
El espectro del cianoacetato muestra a  $2982\text{ cm}^{-1}$  y  $2936\text{ cm}^{-1}$  señales agudas de poca intensidad correspondientes a vibraciones de tensión C-H de carbonos  $\text{sp}^3$ . En  $2263\text{ cm}^{-1}$  una señal aguda de pequeña intensidad correspondiente a la vibración  $\text{C}\equiv\text{N}$ ; en  $1748\text{ cm}^{-1}$  una señal aguda intensa correspondiente a las vibraciones de tensión del grupo carbonilo; entre  $1440\text{ cm}^{-1}$  y  $1338\text{ cm}^{-1}$  señales agudas con intensidades que varían de mediana a poca, correspondientes a vibraciones de enlaces tipo  $\text{CH}_2$  y  $\text{CH}_3$  simétricas y asimétricas. Una señal en  $1210\text{ cm}^{-1}$  aguda e intensa correspondiente a vibraciones de tensión del enlace sencillo C-O.

### Síntesis de la 3-ciano-4-hidroxycumarina.

El suministro de calor a través de un reflujo en la reacción de transesterificación permite la formación de cualquier producto. Al colocar el fenóxido en presencia del ciano acetato de etilo puede ocurrir una reacción ácido-base para formar un anión que esta estabilizado por resonancia.

Esta reacción convertiría al fenóxido en el salicilato de metilo que es un mal nucleófilo, sin embargo se podría dar el ataque del carbanión sobre el carbono carbonílico del salicilato y formar así la 3-cianocumarina según el esquema 3.



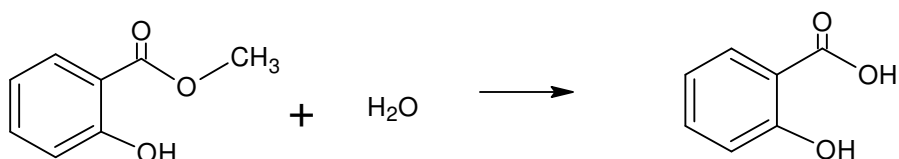


Esquema 3

La energía suministrada al sistema debería promover tanto la esterificación como la ciclación de la molécula.

Sin embargo el sólido obtenido no corresponde a la 3-cianocumarina esperada, el producto formado es el ácido salicílico producto de la transformación de la hidrólisis del salicilato de metilo.

El ácido generado proviene del ataque del agua sobre el carbono carbonílico del salicilato.



Esquema 4

El producto se identificó por IR (Espectro n° 2) mostrando una banda ancha de mediana intensidad donde sobresalen señales en  $3237\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a la vibración del enlace O-H;  $2975\text{ cm}^{-1}$  y  $2920\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a las vibraciones de tensión de los enlaces C-H de carbonos  $\text{sp}^2$  y  $\text{sp}^3$ . Una señal aguda e intensa en  $1658$

$\text{cm}^{-1}$  correspondiente a las vibraciones de tensión del enlace carbonílico; una banda aguda de mediana intensidad en  $1248 \text{ cm}^{-1}$  correspondiente a las vibraciones del enlace sencillo C-O del ácido.

En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Espectro n° 3) se encuentra una señal (doblete, de doblete, de doblete) que se observa como un triplete de doblete centrado en 6.93 ppm ( $J= 0.81 \text{ Hz}$ ,  $J= 7.83$ ) con una integral relativa de 1H asignable al protón unido al carbono 5. Un doblete de doblete centrado en 7.01 ppm ( $J=0.54 \text{ Hz}$ ,  $J= 8.37 \text{ Hz}$ ) con una integral relativa de 1H asignable al protón unido al carbono 3. Un ddd que se observa como un triplete de doblete centrado en 7.52 ppm ( $J= 1.89 \text{ Hz}$ ,  $J= 8.64 \text{ Hz}$ ) con una integral relativa de 1H asignable al protón unido al carbono 4. Un doblete de doblete centrado en 7.91 ppm ( $J= 1.62 \text{ Hz}$ ,  $J= 8.1 \text{ Hz}$ ) con una integral relativa de 1H asignable al protón unido al carbono 6. Un singlete a campo bajo en 10.38 ppm asignable a los protones del grupo OH.

El espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  muestra:

Tabla 9: Desplazamientos químicos en RMN  $^{13}\text{C}$  (Espectro n° 4) del producto de transesterificación. Tomado  $\text{CDCl}_3$ .

| $\delta$ (ppm) | Asignación              |
|----------------|-------------------------|
| <b>111.36</b>  | $\text{C}_1$            |
| <b>117.92</b>  | $\text{C}_3$            |
| <b>119.69</b>  | $\text{C}_5$            |
| <b>131.02</b>  | $\text{C}_6$            |
| <b>137.08</b>  | $\text{C}_4$            |
| <b>162.27</b>  | $\text{C}_2$            |
| <b>174.88</b>  | C (carbono carbonílico) |

## Síntesis Checchi

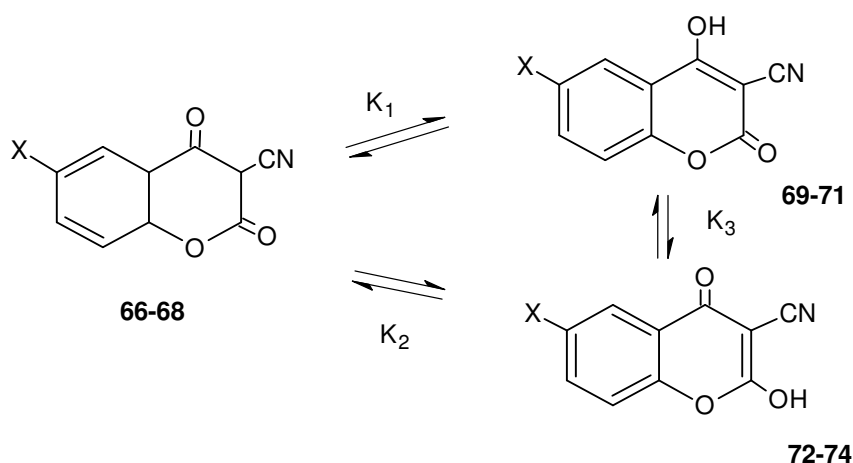
La segunda ruta sintética seguida se encuentra reportada en la literatura, sin embargo es importante resaltar que no se reportan datos espectroscópicos.

Aunque el producto de la reacción se recrystalizó con la mezcla etanol-agua y se obtuvo un punto de fusión de 237-239 °C y el reportado es de 242 °C, el compuesto no es la 3-ciano-4-hidroxycumarina.

Esta conclusión se debe a los espectros de IR (espectro n° 5) y RMN  $^1\text{H}$ . En el IR tomado en pastilla de KBr se observa una señal aguda e intensa en  $3326\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a las vibraciones de tensión del enlace O-H, dos señales agudas en  $2929\text{ cm}^{-1}$  y  $2850\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a las vibraciones de tensión del enlace C-H en carbonos  $\text{sp}^3$ . No se observan señales en el sobretono correspondiente a la zona aromática. Una señal aguda e intensa en  $1625\text{ cm}^{-1}$  que podría asignarse a las vibraciones de un carbonilo. Sin embargo no hay señales de intensidad adecuada en  $1200\text{ cm}^{-1}$  que indiquen la presencia de la lactona.

En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  no se observan señales en la zona aromática por lo que el producto fue descartado inmediatamente.

### 1.14.2 Constantes de Equilibrio <sup>[41]</sup>



Para determinar cuál de los tautómeros es el mayoritario es necesario encontrar la constante de equilibrio para un par tautomérico a una presión y temperatura determinada.

Los cálculos de las constantes  $K_1$ ,  $K_2$  y  $K_3$  se realizaron de acuerdo a la definición de cada equilibrio en particular, utilizando la ecuación:

$$K = e^{-\Delta G/RT}$$

Donde  $\Delta G$  representa la diferencia de energía libre entre producto y reactante para cada equilibrio, según el esquema.

Los valores de  $\Delta G$  se obtuvieron de realizar el análisis vibracional de cada una de las especies utilizando como método DFT como funcional B3LYP y base 6-31G (d), además se realizaron cálculos usando método semiempírico PM3.

Los compuestos siguen el patrón de sustitución presentado (Tabla 10), el cual está presente en su forma ceto y los dos posibles enoles correspondientes, según el esquema 4 y cada uno será numerado de manera de facilitar el análisis como se representa en la Tabla 10.

Tabla # 10: Nombre y numeración de las cumarinas estudiadas.

|           | <b>X</b>        | <b>Compuestos</b>                 |
|-----------|-----------------|-----------------------------------|
| <b>66</b> | H               | 3-ciano-4-oxocumarina             |
| <b>67</b> | NH <sub>2</sub> | 6-amino-3-ciano-4-oxocumarina     |
| <b>68</b> | NO <sub>2</sub> | 3-ciano-6-nitro-4-oxocumarina     |
| <b>69</b> | H               | 3-ciano-4-hidroxycumarina         |
| <b>70</b> | NH <sub>2</sub> | 6-amino-3-ciano-4-hidroxycumarina |
| <b>71</b> | NO <sub>2</sub> | 3-ciano-4-hidroxi-6-nitrocumarina |
| <b>72</b> | H               | 3-ciano-2-hidroxicromona          |
| <b>73</b> | NH <sub>2</sub> | 6-amino-3-ciano-2-hidroxicromona  |
| <b>74</b> | NO <sub>2</sub> | 3-ciano-2-hidroxi-6-nitrocromona  |

Los valores encontrados para cada una de las propiedades son muy similares en una misma serie de tautómeros, por tanto el valor de  $\Delta G$  es muy pequeño, tiende a cero y la  $e^0$  es igual a 1 por lo que con este nivel de cálculo no se puede establecer cuál es la especie predominante.

Incorporando en el análisis la interacción de cada tautómero con un solvente polar (metanol), de mediana polaridad (cloroformo) y poco polar (benceno), utilizando para ello el método de solvatación continua CPCM, se determinaron los parámetros G, H y S. A fin de establecer diferencias entre las especies.

Tabla # 11: Parámetros termodinámicas con B3LYP 6-31G (d) en el vacío.

| <b>B3LYP 6-31 G(d)</b> |                                     |                                     |                                     |
|------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>Compuesto</b>       | <b>G (x 10<sup>-15</sup> J/mol)</b> | <b>H (x 10<sup>-15</sup> J/mol)</b> | <b>S (x 10<sup>-22</sup> J/mol)</b> |
| <b>66</b>              | -2.89649                            | -2.89630                            | 6.37584                             |
| <b>67</b>              | -3.13706                            | -3.13682                            | 8.05369                             |
| <b>68</b>              | -3.78679                            | -3.78655                            | 8.05369                             |
| <b>69</b>              | -2.89655                            | -2.89636                            | 6.37584                             |
| <b>70</b>              | -3.13681                            | -3.13659                            | 7.38255                             |
| <b>71</b>              | -3.78688                            | -3.78664                            | 8.05369                             |
| <b>72</b>              | -2.89651                            | -2.89631                            | 6.71141                             |
| <b>73</b>              | -3.13693                            | -3.13675                            | 6.04027                             |
| <b>74</b>              | -3.78682                            | -3.78657                            | 8.38926                             |

Tabla # 12: Parámetros termodinámicos con B3LYP 6-31 G(d) en CHCl<sub>3</sub>.

| <b>B3LYP 6-31 G(d), CPCM CHCl<sub>3</sub></b> |                                     |                                     |                                     |
|-----------------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>Compuesto</b>                              | <b>G (x 10<sup>-15</sup> J/mol)</b> | <b>H (x 10<sup>-15</sup> J/mol)</b> | <b>S (x 10<sup>-22</sup> J/mol)</b> |
| <b>65</b>                                     | -2.89574                            | -2.89553                            | 7.04698                             |
| <b>68</b>                                     | -2.89582                            | -2.89561                            | 7.04698                             |
| <b>71</b>                                     | -2.89577                            | -2.89556                            | 7.04698                             |

Tabla # 13: Parámetros termodinámicos con B3LYP 6-31 G(d) en metanol.

| <b>B3LYP 6-31G (d), CPCM metanol</b> |                                     |                                     |                                     |
|--------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>Compuesto</b>                     | <b>G (x 10<sup>-15</sup> J/mol)</b> | <b>H (x 10<sup>-15</sup> J/mol)</b> | <b>S (x 10<sup>-22</sup> J/mol)</b> |
| <b>65</b>                            | -2.89577                            | -2.89555                            | 7.38255                             |
| <b>66</b>                            | -3.13697                            | -3.13674                            | 7.71812                             |
| <b>67</b>                            | -3.78695                            | -3.78671                            | 8.05369                             |
| <b>68</b>                            | -2.89585                            | -2.89564                            | 7.04697                             |
| <b>69</b>                            | -3.13706                            | -3.13683                            | 7.71812                             |
| <b>70</b>                            | -3.78704                            | -3.78680                            | 8.05369                             |
| <b>71</b>                            | -2.89580                            | -2.89559                            | 7.04697                             |
| <b>72</b>                            | -3.13701                            | -3.13682                            | 6.37584                             |
| <b>73</b>                            | -3.78699                            | -3.78675                            | 8.05369                             |

Tabla # 14: Parámetros termodinámicos con B3LYP 6-31 G(d) en benceno

| <b>B3LYP 6-31 G(d), CPCM Benceno</b> |                                     |                                     |                                     |
|--------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>Compuesto</b>                     | <b>G (x 10<sup>-15</sup> J/mol)</b> | <b>H (x 10<sup>-15</sup> J/mol)</b> | <b>S (x 10<sup>-22</sup> J/mol)</b> |
| <b>65</b>                            | -2.89570                            | -2.89551                            | 6.37584                             |
| <b>66</b>                            | -3.13689                            | -3.13666                            | 7.71812                             |
| <b>67</b>                            | -3.78687                            | -3.78663                            | 8.05369                             |
| <b>68</b>                            | -2.89575                            | -2.89554                            | 7.04698                             |
| <b>69</b>                            | -3.13695                            | -3.13672                            | 7.71812                             |

| <b>Compuesto</b> | <b>G (x 10<sup>-15</sup> J/mol)</b> | <b>H (x 10<sup>-15</sup> J/mol)</b> | <b>S (x 10<sup>-22</sup> J/mol)</b> |
|------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>70</b>        | -3.78696                            | -3.78672                            | 8.05369                             |
| <b>71</b>        | -2.89573                            | -2.89552                            | 7.04698                             |
| <b>72</b>        | -3.13702                            | -3.13683                            | 6.37583                             |
| <b>73</b>        | -3.78690                            | -3.78666                            | 8.05369                             |

Los resultados incorporando el solvente no varían de los anteriores por lo que se confirma que el nivel de teoría empleado no explica lo observado experimentalmente.

Utilizando el funcional mpw1pw91

Tabla # 15: Parámetros termodinámicos con mpw1pw91 6-31 G(d) en vacío

| <b>Mpw1pw91 6-31 G(d)</b> |                                     |                                     |                                     |
|---------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>Compuesto</b>          | <b>G (x 10<sup>-15</sup> J/mol)</b> | <b>H (x 10<sup>-15</sup> J/mol)</b> | <b>S (x 10<sup>-22</sup> J/mol)</b> |
| <b>65</b>                 | -2.89588                            | -2.89567                            | 7.04698                             |
| <b>68</b>                 | -2.89589                            | -2.89559                            | 10.0671                             |
| <b>71</b>                 | -2.89581                            | -2.89567                            | 4.69799                             |

Tabla # 16: Parámetros termodinámicos con PM3.

| <b>PM3 vacío</b> |                                     |                                     |                                     |
|------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>Compuesto</b> | <b>G (x 10<sup>-19</sup> J/mol)</b> | <b>H (x 10<sup>-19</sup> J/mol)</b> | <b>S (x 10<sup>-22</sup> J/mol)</b> |
| <b>65</b>        | 0.98494                             | 3.12490                             | 7.18107                             |
| <b>66</b>        | 1.54630                             | 3.81988                             | 7.62946                             |
| <b>67</b>        | 1.56923                             | 3.88153                             | 7.76275                             |

| <b>Compuesto</b> | <b>G (x 10<sup>-19</sup> J/mol)</b> | <b>H (x 10<sup>-19</sup> J/mol)</b> | <b>S (x 10<sup>-22</sup> J/mol)</b> |
|------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>68</b>        | 1.56823                             | 3.62201                             | 7.75039                             |
| <b>69</b>        | 1.57403                             | 3.82620                             | 7.55762                             |
| <b>70</b>        | 1.50200                             | 3.80894                             | 7.74141                             |
| <b>71</b>        | 1.76603                             | 3.81901                             | 6.88919                             |
| <b>72</b>        | 1.93065                             | 4.19582                             | 7.60124                             |
| <b>73</b>        | 1.79801                             | 4.08373                             | 7.67020                             |

Experimentalmente se observa sólo el tautómero 3-ciano-4-hidroxycumarina 68, los análisis vibracionales con la Teoría de Densidad de Funcional y semiempíricos PM3 no reproducen el resultado esperado.

Tabla # 17: Calores de Formación de los tautómeros. Método PM5

| <b>Compuestos</b> | <b>-ΔH<sub>f</sub> (Kcal/mol)</b> |
|-------------------|-----------------------------------|
| <b>65</b>         | 53.2520                           |
| <b>66</b>         | 55.2627                           |
| <b>67</b>         | 52.8445                           |
| <b>68</b>         | 55.5244                           |
| <b>69</b>         | 57.3685                           |
| <b>70</b>         | 55.7465                           |
| <b>71</b>         | 48.4888                           |
| <b>72</b>         | 50.7089                           |
| <b>73</b>         | 48.2168                           |

Tomando estos valores para realizar el análisis se puede notar que las especies 68, 69 y 70, 3-ciano-4-hidroxycumarina, 6-amino-3-ciano-4-hidroxycumarina y 3-ciano-4-hidroxi-6-nitro-cumarina poseen los valores más negativos y por tanto muestran ser los más estables frente a las otras especies tautoméricas. Confirmando lo que se espera experimentalmente para las cumarinas sustituidas en la posición 6 por el grupo amino y el grupo nitro y lo encontrado para la cumarina sin sustituir en el anillo de pirano.

### 1.14.3 Modelaje Molecular

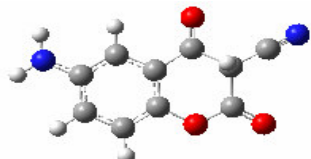
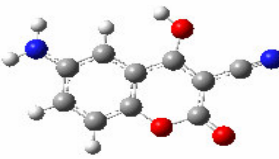
Las estructuras se optimizaron en el programa Gaussian 2003 usando el funcional de densidad B3LYP y base 6-31G (d). No se realizó el análisis conformacional de los compuestos en estudio, empleando cálculos de dinámica molecular, debido a que los compuestos de interés son planos y de estructura rígida dada la hibridación de los átomos presentes, lo que impide la libre rotación de enlaces para adoptar otras conformaciones.

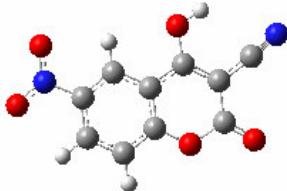
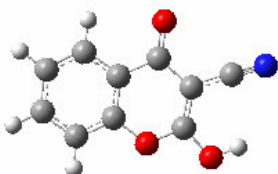
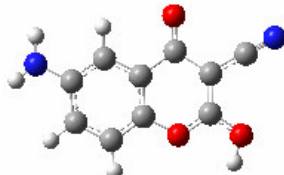
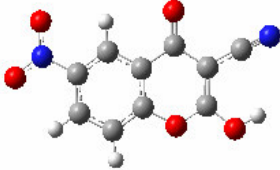
Los compuestos 66, 67 y 68 presentan sólo resonancia en el anillo bencénico debido a que la forma ceto de las 3-ciano cumarinas estudiadas no presentan aromaticidad en el anillo de pirano producto de la hibridación  $sp^3$  del carbono 3 .

Los tautómeros correspondientes a las formas enólicas son aromáticos y se observa una deslocalización de los electrones  $\pi$  tanto en el anillo de benceno como en el anillo de pirano.

Las moléculas sustituidas con el grupo amino presentan una mayor deslocalización ya que son más ricas en densidad electrónica observándose lo contrario para las sustituidas con el grupo nitro.

Tabla # 18: Estructuras optimizadas de las 3-cianocumarinas.

| Compuesto | Estructura                                                                           |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 66        |    |
| 67        |    |
| 68        |   |
| 69        |  |
| 70        |  |

| Compuesto | Estructura                                                                           |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 71        |    |
| 72        |    |
| 73        |   |
| 74        |  |

## Densidad Electrónica

Aunque una molécula sea neutra existen entre sus átomos efectos debido a la electronegatividad de los diferentes elementos y propiedades de los grupos funcionales que la conforman que producen zonas más ricas en densidad electrónica que otras.

Esta diferencia en la distribución de la densidad electrónica permite explicar las interacciones que pueden realizar con otras moléculas. Las variaciones de la densidad electrónica pueden ser representadas en mapas de densidad, potencial electrostático sobre la densidad total y de forma más cuantitativa mediante cargas atómicas obtenidas de análisis de Mülliken (Tabla 16). Se reportan las cargas para algunos átomos representativos que se presumen importantes para la actividad química y biológica.

## Cargas Mülliken

Tabla # 19: **Cargas Mülliken de algunos átomos de 3-ciano cumarinas formas ceto (66, 67 y 68) y formas enólicas (69, 70, 71 y 72, 73, 74)**

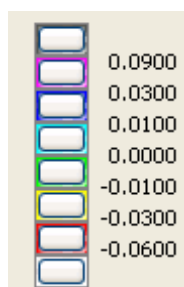
|           | O      | C <sub>2</sub> -O | C <sub>3</sub> | C <sub>4</sub> -O | C≡N             | N*    | Y      |
|-----------|--------|-------------------|----------------|-------------------|-----------------|-------|--------|
| <b>66</b> | -0.159 | 0.355 , -0.287    | 0.004          | 0.339 , -0.271    | -0.167 , -0.004 |       |        |
| <b>67</b> | -0.154 | 0.354 , -0.292    | 0.003          | 0.337 , -0.271    | -0.165 , -0.007 | 0.083 | 0.034  |
| <b>68</b> | -0.162 | 0.353 , -0.267    | 0.011          | 0.336 , -0.254    | -0.179 , 0.012  | 1.313 | -0.594 |
| <b>69</b> | -0.160 | 0.427 , -0.315    | -0.225         | 0.271 , -0.202    | -0.084 , -0.047 |       |        |
| <b>70</b> | -0.157 | 0.426 , -0.319    | -0.221         | 0.226 , -0.202    | -0.083 , -0.048 | 0.080 | 0.034  |
| <b>71</b> | -0.162 | 0.427 , -0.294    | -0.213         | 0.270 , -0.197    | -0.095 , -0.029 | 1.314 | -0.593 |
| <b>72</b> | -0.161 | 0.298 , -0.197    | -0.207         | 0.401 , -0.306    | -0.057 , -0.061 |       |        |
| <b>73</b> | -0.157 | 0.300 , -0.198    | -0.212         | 0.400 , -0.308    | -0.055 , -0.065 | 0.083 | 0.034  |
| <b>74</b> | -0.159 | 0.292 , -0.189    | -0.191         | 0.398 , -0.288    | -0.068 , -0.043 | 1.310 | -0.596 |

\*Nitrógeno proveniente de un grupo amino o nitro según como sea la molécula.

Y: Puede ser hidrogeno u oxígeno

Las cargas Mulliken de los átomos claves de las 3-ciano cumarinas (Tabla 19) muestran que los átomos de oxígeno poseen la mayor densidad de carga negativa lo que corresponden con su mayor electronegatividad frente al átomo de nitrógeno. En particular los oxígenos carbonílicos poseen mayor densidad electrónica que el oxígeno del anillo pirano

Los mapas de densidad electrónica representan gráficamente estos efectos, empleando un código de colores donde las zonas más ricas en densidad electrónica se representan en morado y las de menor densidad en color blanco según se presenta a continuación:



El oxígeno 1 de la molécula posee menor densidad respecto a los otros dos oxígenos presentes, hecho que se debe a ubicación de este átomo, al estar enlazado directamente al anillo bencénico actúa como dador de densidad electrónica al sistema  $\pi$ . Como puede observarse en la tabla 19 y en el esquema 6 de los mapas de densidad electrónica.

Cuando la molécula contiene dos carbonilos, es decir, se encuentra en su forma ceto el carbono 3 esta neutro (tabla 19) y ambos carbonilos poseen una densidad de carga positiva en el átomo de carbono y negativa en el átomo de oxígeno de igual magnitud

sin importar el sustituyente que posea el anillo bencénico producto del dipolo generado en un doble enlace típico carbono oxígeno.

Sin embargo el grupo ciano presenta menor densidad electrónica cuando en el anillo bencénico se encuentra el grupo nitro debido al efecto atractor de electrones de este grupo sobre el sistema  $\pi$  del anillo. En el esquema 6 se observa como el ciano posee un color azul oscuro o morado y al introducir en la molécula un grupo nitro el mapa de densidad muestra un color verde o azul claro que indican menor densidad electrónica.

En las figuras de densidad electrónica se observa claramente este efecto ya que el anillo bencénico presenta una disminución drástica de la densidad electrónica al tener como sustituyente el nitro. El anillo bencénico sin sustituyentes posee un tono azul por la nube  $\pi$ , con un grupo nitro el anillo de benceno muestra tonos amarillos y rojos con baja densidad electrónica.

Cuando la molécula se encuentra en las formas enólicas el carbono 3 pasa a formar parte de un doble enlace, permite ahora ser un agente nucleofílico.

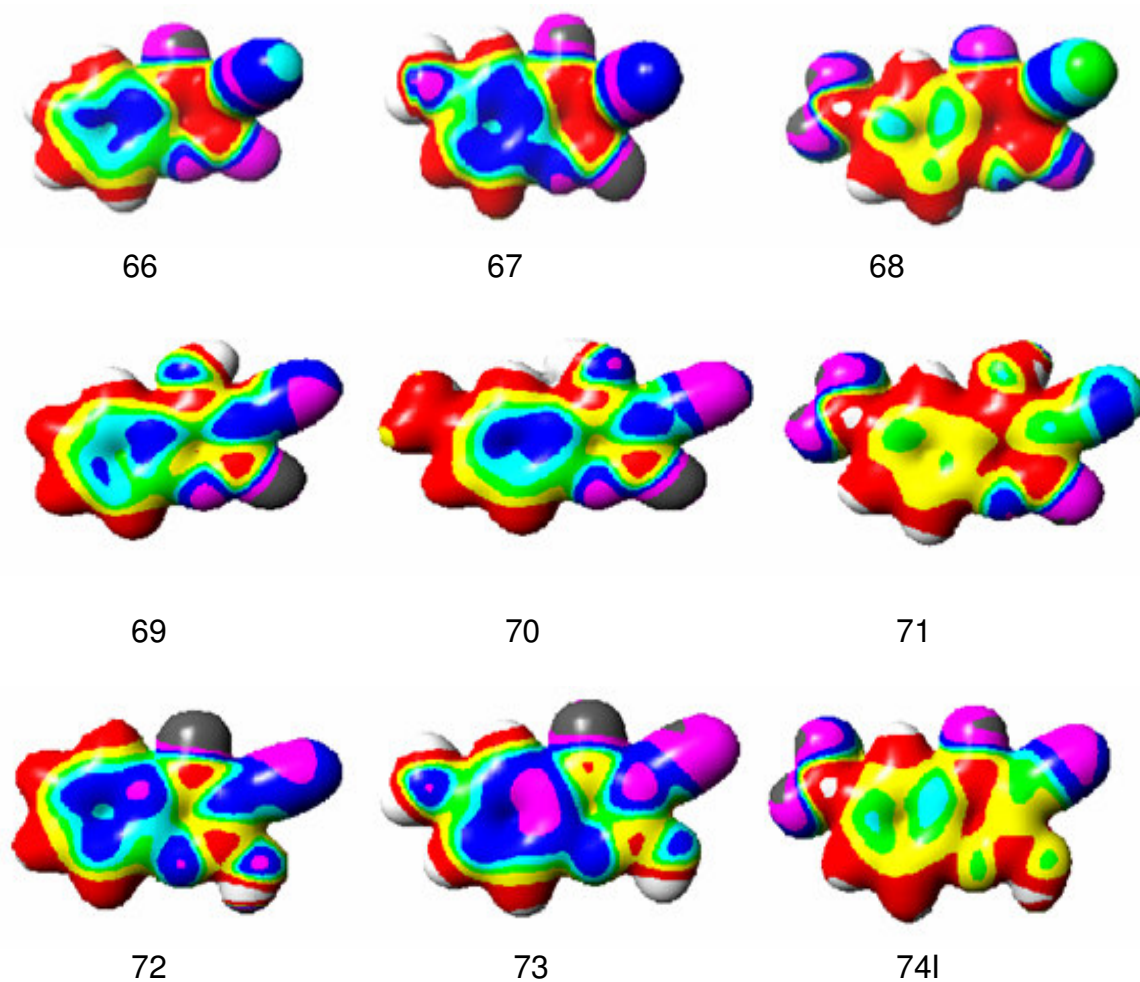
El tautómero 3-ciano-4-hidroxycumarina (figura 69) presenta en el carbono 2, es decir, el carbono carbonílico, la menor densidad de carga frente a los demás tautómeros, evidenciando la tendencia que poseen las lactonas a ser atacadas por agente nucleofílicos y forzar así la apertura del anillo.

El oxígeno del grupo hidroxilo del carbono 4 en las moléculas 69, 70 y 71 presenta una menor densidad de carga que el oxígeno del carbonilo del átomo 2 debido al efecto dador de densidad electrónica de este grupo al estar unido a un anillo aromático y poseer un grupo atractor como el ciano en el átomo vecino. Notándose una tonalidad azul en este oxígeno mientras que en el oxígeno del carbonilo se encuentra morado mostrando mayor densidad en el grupo carbonilo. La pérdida de la densidad electrónica

en el átomo de oxígeno se observa con la variación del color sobre este átomo de azul a verde.

En las moléculas 72, 73 y 74 ahora el grupo hidroxilo se encuentra en el carbono 2 haciendo que el carbono más deficiente en densidad electrónica sea el carbono 4 (tabla 19).

Esquema 6: Mapas de Densidad Electrónica

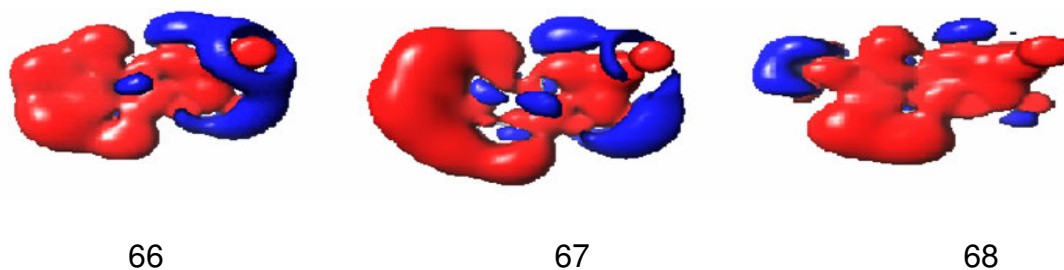


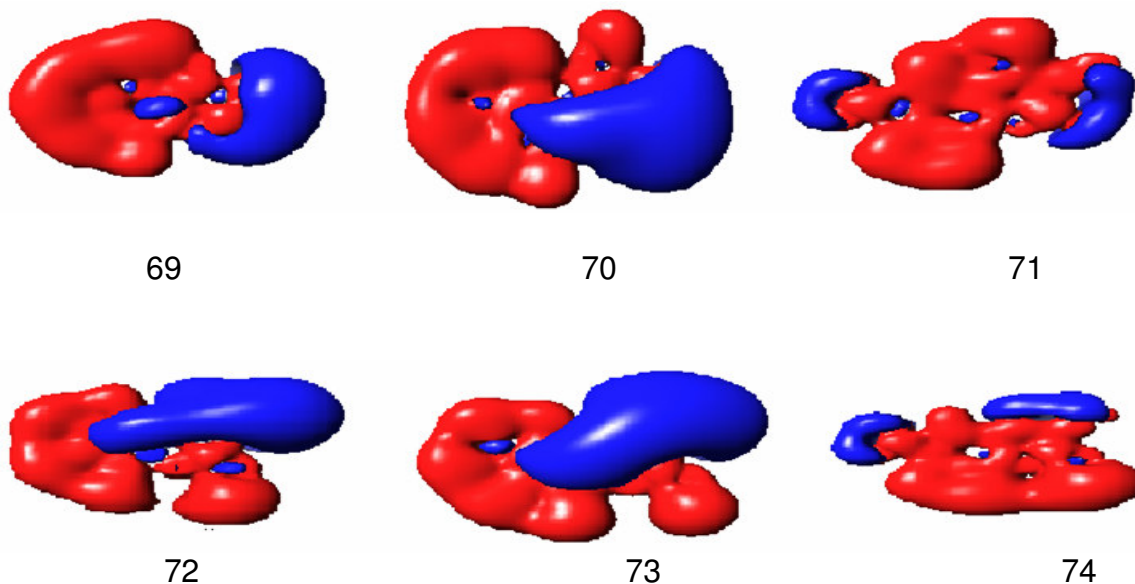
## Potencial Electrostático

El potencial electrostático representa como una carga puntual positiva interactúa con la molécula y es de mucha utilidad a fin de conocer las zonas positivas y las zonas negativas de una molécula, ayudando así a predecir los sitios activos frente a un electrófilo, nucleófilo o de un receptor. Los mapas de potencial electrostático tienen un código de colores donde el color azul representa una zona negativa y el rojo representa una zona positiva.

Las figuras de potencial electrostático de las cumarinas estudiadas se muestran en el esquema 7. En la forma tautomérica ceto (66, 67, 68) en color azul se encuentra en el anillo de pirano sobre los oxígenos y el grupo ciano a excepción de la molécula C donde el sustituyente nitro unido al anillo bencénico disminuye notablemente la densidad electrónica sobre el anillo de pirano. La sustitución por el grupo 6-nitro (C) perturba notablemente el potencial electrostático en la forma ceto con relación a los sustratos 6-H y 6-NH<sub>2</sub> (66 y 67).

Esquema 6: Mapas de Potencial Electrostático





En los tautómeros en forma enólica la zona negativa se ubica sobre el grupo ciano y el grupo hidroxilo, sin embargo la introducción del sustituyente en posición 6 introduce perturbaciones importantes, observándose que ésta es mayor cuando el sustituyente es 6-nitro. En la forma enólica se observa una mayor superficie negativa producto de la deslocalización que se logra en el anillo de pirano

Las interacciones electrostáticas contribuyen a la compresión de las posibles interacciones sustrato-receptor. Un receptor puede interactuar con las moléculas 66, 67, 69, 70, 73 y 74 ubicando la zona positiva del receptor sobre los átomos de oxígeno de la forma ceto, el grupo hidroxilo en la forma enólica y el grupo ciano mientras que la zona negativa interactuará con el anillo bencénico. En las moléculas 68, 71 y 73 las zonas negativas de la cumarina disminuyen y se ubican sobre los átomos de oxígeno y el grupo nitró por tanto en esa región es donde podrá ubicarse la zona positiva del receptor y la zona negativa centrada entre los anillos de benceno y pirano. El conocimiento del receptor en particular y estudio de las interacción específicas droga-

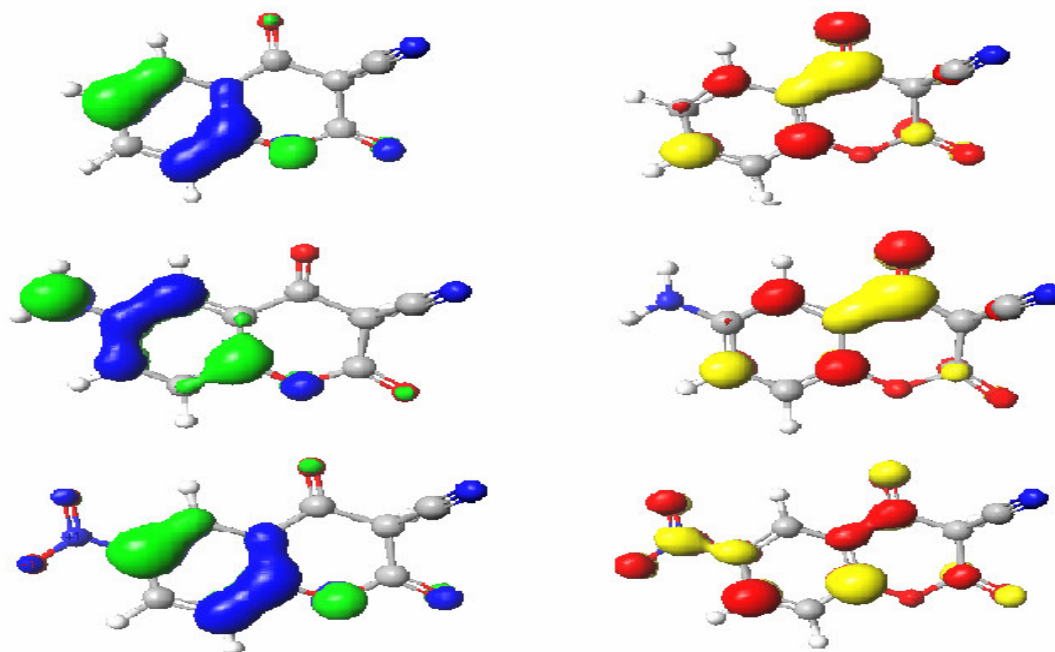
receptor permiten un análisis más adecuado del problema y pueden contribuir al diseño racional de drogas.

### **Orbitales HOMO & LUMO**

Los orbitales HOMO y LUMO de una molécula permiten establecer relaciones entre la misma y cualquier otra especie. Las interacciones de los orbitales frontera HOMO y LUMO son de gran importancia en las reacciones químicas pueden ser de gran importancia en el estudio droga receptor. En este último caso muchas interacciones son de tipo donador-aceptor de densidad electrónica donde la molécula donadora participa a través del HOMO y la aceptora mediante el LUMO. Adicionalmente para que exista interacción enlazante entre dos estructuras es necesario que los orbitales interactuantes posean la simetría y la energía adecuada.

En los esquemas 8, 9 y 10 se observan los orbitales HOMO y LUMO de los tautómeros estudiados. Para la forma ceto, esquema 8, el orbital HOMO se encuentra centrado en el anillo bencénico sin importar la naturaleza del sustituyente, notando que el grupo amino contribuye al orbital pero no modifica su ubicación. Para el orbital LUMO se observa la ubicación sobre el anillo de pirano y en este caso participa es el grupo nitro participa en El orbital por su carácter atractor de electrones.

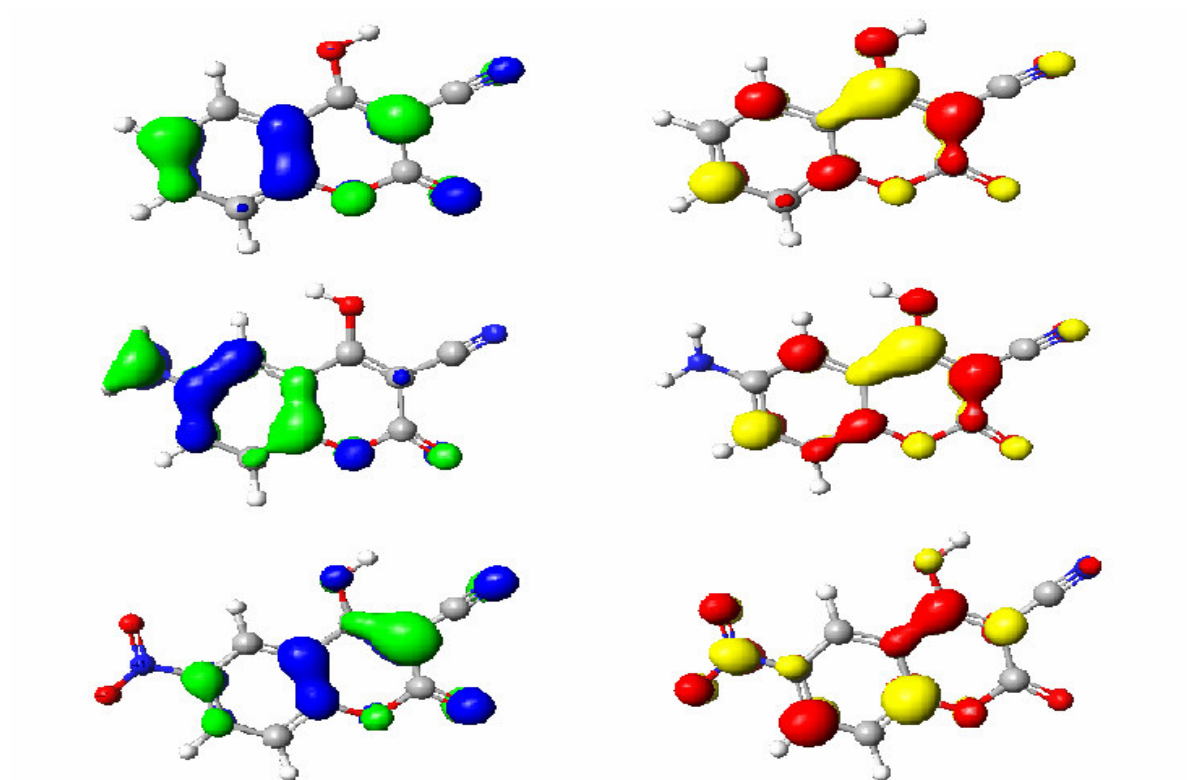
**Esquema 8: Orbitales Frontera de las formas ceto 66, 67y 68 de la moléculas en estudio. HOMO: Azul y Verde Orbitales LUMO: Amarillo y Rojo.**



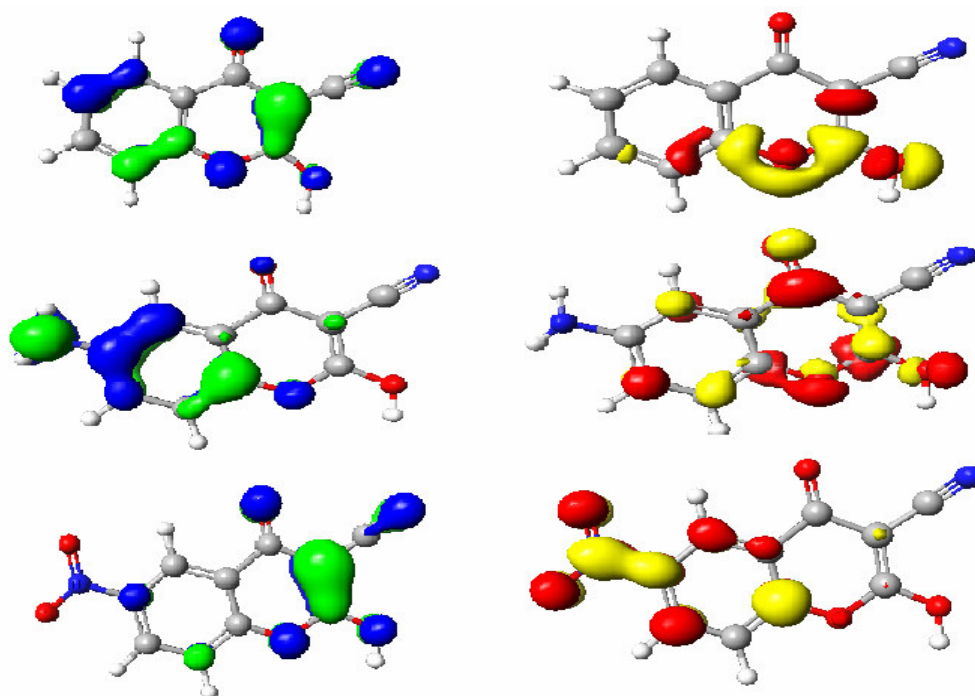
Para el tautómero o forma enólica con el grupo hidroxí en el carbono 4 correspondientes a las estructuras (69,70 y 71) esquema 9 se observa que el HOMO se encuentra en el anillo bencénico pero existe una contribución del doble enlace ubicado entre los carbono 3 y 4. El grupo amino disminuye la contribución del doble enlace ya que su par de electrones libre está más disponible, mientras que el grupo nitro aumenta la participación en el orbital HOMO del doble enlace ya que al atraer los electrones del anillo bencénico modifica un poco la distribución del orbital.

El orbital LUMO de estas especies se encuentra centrado en el anillo de pirano notándose además que el grupo nitro participa en la distribución del orbital.

**Esquema 9: Orbitales Frontera de las formas enólicas 69, 70 y 71 de las moléculas en estudio. HOMO: Azul y Verde Orbitales LUMO: Amarillo y Rojo.**



**Esquema 10: Orbitales Frontera de las formas enólicas 72, 73 y 74 de la moléculas en estudio. HOMO: Azul y Verde Orbitales LUMO: Amarillo y Rojo.**



Para el tautómero con el grupo hidroxí en el carbono 2 esquema 10, la disposición de los orbitales se encuentra afectada por los sustituyentes.

La molécula 72 posee un HOMO ubicado entre los anillo de benceno y pirano con contribución de los átomos electronegativos del sistema mientras que el LUMO se ubica en el anillo de pirano sobre los átomo 1,2 y 3.

En la molécula 73 sustituida con el grupo 6-amino el orbital HOMO se ubica sólo sobre el anillo de benceno y el sustituyente debido a la mayor riqueza electrónica de esta zona, mientras que el orbital LUMO se encuentra en el anillo de pirano.

En la molécula 74 el grupo nitro atrae tanta densidad electrónica que modifica la ubicación del HOMO haciendo que este se encuentre sobre el anillo de pirano y ahora sea el anillo bencénico que se encuentre deficiente de electrones formando el LUMO.

## Parámetros Moleculares

Las propiedades moleculares son importantes para determinar la reactividad de una molécula frente a un receptor, es decir, para determinar su posible actividad biológica, así como también para entender su comportamiento químico. Los parámetros moleculares calculados para la serie de 3-ciano camarinas se reportan en la Tabla 18.

El área y el volumen de un compuesto son determinantes para poder interactuar con otro, por ejemplo si espera una actividad celular los efectos estéricos pueden impedir que la actividad sea satisfactoria aunque posea todos los requerimientos electrónicos para la misma, dependiendo de la cavidad del receptor

Por ser esta la primera serie de 3-ciano camarinas que se estudian sus datos se comparan con otros heterociclos ya estudiados como son las quinolinas <sup>[29]</sup>. Las quinolinas tomadas como referencia son 3-carboetoxi-4-aminoquinolinas sustituidas en la posición 7 con: Nitro, amino, carboxi, cloro, bromo, cuya actividad biológica hacia *Leishmania mexicana* fue estudiada.

Si esta serie de cumarinas se estudia a fin de determinar su posible actividad hacia *L.mexicana*, entonces deben encontrarse propiedades y parámetros moleculares similares. Los volúmenes de las quinolinas son mayores que los de las camarinas estudiadas por lo que se puede inferir que en este sentido no existe mayor complicación estérica. Sin embargo el patrón de sustitución y la topología del farmacóforo son importantes, y de existir actividad similar a la de las serie de 3-carboetoxi-4-

aminoquinolinas sustituidas en la posición 7, en la serie de 3-ciano camarinas debe estudiarse y proponer una hipótesis de farmacóforo.

La molécula con energía de solvatación más negativa (mayor desprendimiento de calor) es la 6-amino-3-ciano-2-hidroxicromona (70) la cual por poseer en su estructura sustituyentes como el amino y el hidroxilo que pueden formar puentes de hidrógeno hacen que sea más fácilmente solvatada. Sin embargo en el otro tautómero con el grupo hidroxilo en la posición 4 posee una menor energía de solvatación, debido a la mayor estabilización que se produce al solvatar una cetona y no un éster que es lo que ocurre en las moléculas 73 y 70.

En general las camarinas de interés presentan energías de solvatación negativas indicando que el proceso de disolución en agua es exotérmico, siendo la más difícil de solvatar la forma ceto sin sustituyentes debido a que no posee hidrógenos capaces interactuar vía puente de hidrógeno.

Una de las propiedades calculadas que se presume de gran importancia es LogP. Esta propiedad se ha encontrado en correlaciones estructura actividad de 3-carboetoxi-4-amino quinolinas sustituidas en C7 y C8, cuando se evaluó su citotoxicidad y actividad hacia *Leishmania mexicana*. El log P expresa un coeficiente de partición octanol/agua mostrando así la afinidad de las moléculas por uno u otro solvente. La molécula 71 presenta el mayor valor por lo tanto es la molécula más hidrofóbica ya que el grupo nitro aunque es polar en sistemas aromáticos no es tan favorablemente solvatado por el agua por sólo aportar con densidad de carga negativa para la interacción puente de hidrógeno. La molécula más hidrofílica es la 69 que no posee sustituyentes pero con el grupo hidroxilo en la posición 4, es favorable su interacción para formar puentes de hidrógeno con el agua. La molécula 69, 3-ciano-4-oxocumarina presenta un coeficiente de 1 lo que indica que es tan soluble en octanol como en agua, producto de que posee

varios grupos funcionales que le dan afinidad por el agua pero por poseer 10 átomos de carbonos las interacciones tipo Van Der Waals aumentan y puede interactuar favorablemente con un solvente de baja polaridad como el octanol.

El momento dipolar permite conocer si existen en la molécula diferencias en la distribución de las cargas, las 3-cianocumarinas poseen grupos funcionales que contribuyen notablemente al momento dipolar sin embargo los tautómeros en la forma ceto presentan los valores más pequeños que las formas enólicas producto de que aunque los grupos cetonas presentan un dipolo en el doble, los grupos hidroxí pueden formar puentes de hidrógenos que aumentan considerablemente el momento dipolar.

Las moléculas con mayor valor en momento dipolar y por tanto más polares son 70 y 73 por ser las formas enólicas de las 3-ciano cumarinas que al estar sustituidas con un grupo amino también puede formar puentes de hidrógeno. Esta propiedad puede estar relacionada con una posible actividad biológica.

La refractividad es otra propiedad importante para relacionar un compuesto con su actividad biológica, en las cumarinas estudiadas el mayor valor se da para el compuesto 71 sustituido con nitro, encontrándose que las cumarinas sin sustituir presentan los valores más pequeños y al incorporar sustituyentes su refractividad aumenta siendo mayor para grupos atractores de electrones.

Las moléculas bajo la influencia de un campo eléctrico externo se polarizan como consecuencia de rearrreglos en la distribución de carga electrónica y el movimiento nuclear alrededor de la posición de equilibrio.

La polarizabilidad molecular, es una propiedad intrínseca que permite desde el punto de vista fisicoquímico caracterizar las fuerzas intermoleculares que son determinantes

en las interacciones soluto-solvente que participan de manera decisiva en fenómenos biológicos y cuya utilidad es significativa para el diseño de nuevos compuestos de importancia en farmacología, en sistemas moleculares con propiedades magnéticas y ópticas. Recientemente la polarizabilidad se ha utilizado como criterio de síntesis de nuevos dispositivos electrónicos, de moléculas con actividad farmacológica y polímeros conductores <sup>[42]</sup>.

En las 3-ciano camarinas aunque todas se encuentran con valores muy similares en esta propiedad las más polarizables son los tautómeros enólicos sustituidos con el grupo nitro debido a la polarización de las cargas producidas en dichas moléculas por las presencias de átomos electronegativos de los grupos funcionales nitro, hidroxilo y ciano presentes.

Comparando los valores de energías HOMO y LUMO de las camarinas con el de las quinolinas se observa que poseen una energía HOMO en un rango mayor para las camarinas de -8.8 a -11.0 eV que en las quinolinas -8.7 a -9.4 eV, sin embargo los valores son muy similares y se puede pensar en que la actividad de las camarinas sería favorable si se toma en cuenta sólo este parámetro. En cuanto a la energía del LUMO las camarinas se encuentran entre -1.2 a -2.2 y las quinolinas de -0.9 a -1.8, los valores son similares por tanto las 3-ciano camarinas poseen orbitales frontera con energías adecuadas, además los valores de  $\Delta E_{\text{HOMO-LUMO}}$  se encuentran entre -7 y -8 lo que permite pensar que si un receptor que va a interactuar con su orbital HOMO buscará el orbital LUMO de la cumarina y no encontrará problemas de interacciones de repulsión del orbital HOMO de la cumarina ya que se encuentran con una separación adecuada.

El cálculo de estas propiedades permitirá construir una relación QSAR una vez determinada la actividad y citotoxicidad de las 3-ciano camarinas. También es importante determinar para ello la contribución en el equilibrio de las formas enólica y la ceto, dado que la composición del equilibrio permitirá estimar el valor promedio

estadístico de estas propiedades, que eventualmente pueden estar incluidas en una expresión QSAR.

Además es importante establecer que la 3-cianocumarina es una molécula base para la obtención de hidroxycumarinas sustituidas en la posición 3 con grupos derivados de la posible hidrólisis del ciano.

Esas moléculas podrían ser utilizadas para una base formar una base de datos de hidroxycumarinas y determinación de la relación estructura-actividad (Qsar), además del estudio de los posibles equilibrios tautoméricos presentes en estas especies.

Tabla # 20: parámetros moleculares y propiedades QSAR de las 3-cianocumarinas.

|    | Área<br>(Å <sup>2</sup> ) | Vol.<br>(Å <sup>3</sup> ) | E Solv<br>(Kcal/<br>mol) | Log P | Refrac<br>(Å <sup>3</sup> ) | Polariz<br>(Å <sup>3</sup> ) | μ<br>(D) | E <sub>HOMO</sub><br>(ev) | E <sub>LUMO</sub><br>(ev) | ΔE<br>HOMO-LUMO<br>(ev) |
|----|---------------------------|---------------------------|--------------------------|-------|-----------------------------|------------------------------|----------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|
| 65 | 346.33                    | 527.61                    | -8.75                    | 1.01  | 46.56                       | 17.83                        | 3.77     | -10.24                    | -1.73                     | -8.51                   |
| 66 | 365.30                    | 564.85                    | -14.11                   | 1.27  | 54.07                       | 19.18                        | 4.13     | -8.82                     | -1.60                     | -7.22                   |
| 67 | 379.50                    | 590.99                    | -13.65                   | 2.30  | 56.21                       | 19.67                        | 3.18     | -11.04                    | -2.47                     | -8.57                   |
| 68 | 344.15                    | 525.75                    | -12.89                   | 0.64  | 48.21                       | 18.18                        | 6.27     | -9.96                     | -1.73                     | -8.23                   |
| 69 | 362.12                    | 562.74                    | -18.18                   | 2.58  | 55.81                       | 19.54                        | 9.09     | -9.30                     | -1.73                     | -7.57                   |
| 70 | 378.48                    | 588.70                    | -17.57                   | 3.61  | 57.97                       | 20.03                        | 7.01     | -10.62                    | -2.29                     | -8.33                   |
| 71 | 348.65                    | 529.88                    | -14.34                   | 1.37  | 47.42                       | 18.18                        | 7.63     | -9.92                     | -1.38                     | -8.54                   |
| 72 | 363.51                    | 566.63                    | -19.13                   | 0.92  | 54.93                       | 19.54                        | 8.07     | -9.14                     | -1.33                     | -7.81                   |

|    | Área<br>(Å <sup>2</sup> ) | Vol.<br>(Å <sup>3</sup> ) | E Solv<br>(Kcal/<br>mol) | Log P | Refrac<br>(Å <sup>3</sup> ) | Polariz<br>(Å <sup>3</sup> ) | μ<br>(D) | E <sub>HOMO</sub><br>(ev) | E <sub>LUMO</sub><br>(ev) | ΔE<br>HOMO-<br>LUMO<br>(ev) |
|----|---------------------------|---------------------------|--------------------------|-------|-----------------------------|------------------------------|----------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| 73 | 381.90                    | 592.77                    | -18.67                   | 1.94  | 57.09                       | 20.03                        | 7.54     | -10.51                    | -2.26                     | -8.25                       |

# Capítulo VI

## 1.15 Conclusiones

- ❖ En la reacción de transesterificación se obtuvo como producto el ácido salicílico con un rendimiento de 9 % y no la cumarina esperada.
- ❖ El grupo acetil en el salicilato de metilo convierte a este fenol en un mal nucleófilo.
- ❖ El ataque nucleofílico del salicilato sobre el ácido ciano acético no se logra a temperatura ambiente ni con el uso de agentes acoplantes como la trifenilfosfina y el DCC.
- ❖ El nivel de Teoría de Densidad de Funcional y semiempírico no es capaz de predecir cual tautómero es el más estable.
- ❖ Analizando el  $\Delta H$  de formación de las 3-cianocumarinas estudiadas se puede determinar que el tautómero 3-ciano-4-hidroxycumarina de las especies 69, 70 y 71 son las más estables en comparación con las otras especies tautoméricas.
- ❖ La mayor densidad de carga se encuentra sobre los átomos de oxígenos unidos al carbono 2 y 4 pertenecientes a un carbonilo y un grupo hidroxilo respectivamente.
- ❖ Los orbitales HOMO se encuentran centrados en el anillo bencénico en la cumarina sin sustituir y la sustituida en 6 por el grupo amino, mientras que el orbital se ubica entre los dos anillos en la sustituida en 6 por el grupo nitro.

- ❖ Los orbitales LUMO se encuentran centrados en el anillo de pirano en las moléculas 69 y 70, mientras que en la 71 el grupo nitro participa en el orbital.

## 1.16 Recomendaciones

- ❖ Es necesario variar el sustrato de partida empleado, a fin de encontrar la ruta sintética a seguir para la obtención de la 3-ciano-4-hidroxicumarina.
- ❖ Sintetizar las 3-ciano-4-hidroxicumarinas con diferentes sustituyentes en el anillo de benceno para determinar cómo estos sustituyentes afectan el equilibrio tautomérico.
- ❖ Realizar análisis vibracionales de las moléculas estudiadas utilizando otro conjunto base.
- ❖ Verificar la síntesis reportada por Checchi para la obtención de la 3-ciano-4-hidroxicumarina
- ❖ Determinar la citotoxicidad de la 3-ciano-4-hidroxicumarina.

### 1.17 Bibliografía

- [1] Castillo, E. 2007. **Manual de Fitoterapia**. Editorial Elsevier. España pp 34 y 104.
- [2] **New Natural Products and Plant Drugs with pharmacological, biological or Therapeutical activity**. 1977. Editado Wagner, H y Wood, P. New York pp 2009-211.
- [3] Silverman, R. 1981. Model Studies for a Molecular Mechanism of Action Oral Anticoagulants. **J Am Chem Soc**. 103, 3910-3915.
- [4] Suresh, M. 1945. The Chemistry of Coumarins. **Chem Rev**.36, 1-62.
- [5] Sullivan, G. 1982. Occurrence of Umbelliferones in the Seeds of *Dipteryx odorata*. **J Agric Food Chem**. 30, 609-610.
- [6] Wang, C et al. 2002. Hibiscus Protocatechic Acid or Esculetin can inhibit oxidate LDL Induced by either copper Ion or Nitric oxide Donor. **J Agric Food Chem**. 50, 2130-2136.
- [7] Imasaka,T. 1977. Detection limit of fluorescein as determined by fluorometry with an esculin laser. *Anal Chem*. 49, 667-668.
- [8] Rollinger, J et al. 2004. Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of Scopolin and Scopoletin Discovered by Virtual Screening of natural products. **J Med Chem**. 47(25), 6248-6254.
- [9] De Kimpe, N et al. 2005. Synthesis and structural revision of naturally occurring ayapin derivates. **Tetrahedron**. 61, 2505-2511.

- [10] Ulubelen, A et al. 1986. Coumarins and Flavonoids from *Daphne gnidioides*. **J Nat Prod.** 49(4), 692-694.
- [11] Yasuda, T et al. 2006. Metabolic fate of Fraxin administered orally to rats. **J Nat Prod.** 69, 755-757.
- [12] Camarda, L y Mazzola, P. 1986. Coumarins from the fruits of *Cachys ferulácea*. **J Nat Prod.** 50, 310.
- [13] Scheel, L et al. 1963. The Isolation and characterization of two phototoxic Furanocoumarins (Psoralens) from Diseased Celery. **Biochemistry.** 2(5), 1127-1131.
- [14] Schönberg, A y Nasry, B. 1955. Furo-Chromones and –Coumarins. XIII. The Dicoumarol Analogs of Bergapten, Isopimpinellin and Pimpinellin. **J Am Chem Soc.** 77(20), 5438-5439.
- [15] Carretero, M. 2000. Plantas Medicinales. **Panorama Actual Med.** 24, 432-435.
- [16] March, J. Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure. 6<sup>ta</sup> edición. Mc Graw Hill. USA. 2007.
- [17] Woods, L y Sapp, J. 1965. Coumarina 3-carboxylic acids. **J Org Chem.** 30(1), 312-313.
- [18] Weiss, U et al. 1988. General approach to the synthesis of polyquinones via the Weiss reaction. **J Org Chem.** 53, 2327-2340.
- [19] Elderfield, R y Roy, J. 1967. Synthesis of potencial Anticancer agents. **J Med Chem.** 10, 918-921.

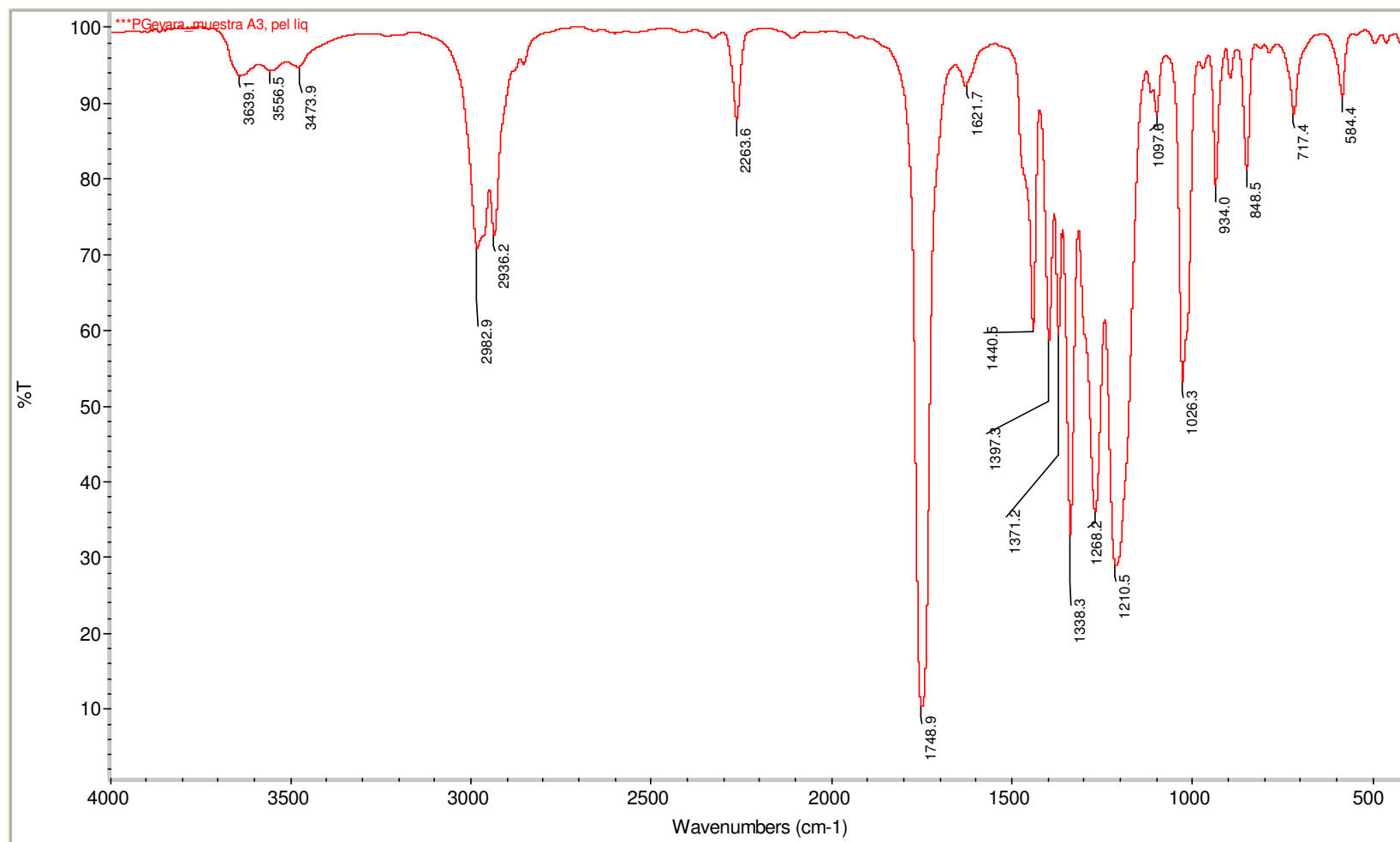
- [20] Tsodikova, S et al. 2006. Installation of the Pyrrolyl-2-carboxyl Pharmacophore by CouN1 and CouN7 in the Late Biosynthetic Steps of the Aminocoumarin Antibiotics Clorobiocin and Coumermycin A<sub>1</sub>. **Biochemistry**. 45(28), 8568-8578.
- [21] Huang, L et al. 2005. Mechanis of action and resistant profile of anti-HIV-1 coumarins derivates. **Virology**. 332, 623-628.
- [22] Hwu, J et al. 2008. Synthesis of New benzimidazole-coumarin conjugates as antihepatitis C agents. **Antiviral Research**. 77, 157-162.
- [23] Meyer, B et al. 1985. Plant Antitumor Agents. **J Nat Prod**. 48, 952-956.
- [24] Laboratorio de Investigacion de productos Naturales. Universidad Nacional-Seccional Medellin. 2002. Actividad Biologica de las Furanocumarinas. 15 de abril 2008. [http://www.unalmed.edu.co/proquive/otros/actividad\\_biologica.htm](http://www.unalmed.edu.co/proquive/otros/actividad_biologica.htm).
- [25] Jensen, F. 1999. **Introduction to Computational Chemistry**. Editorial Wiley & Sons. Inglaterra. Cap 2-7.
- [26] Leach, A. 1996. **Molecular Modeling. Principles and Applications**. 2<sup>o</sup> edición. Adison-Wesley, Longman. Inglaterra. Cap 2 y 3.
- [27] Cuevas, G y Cortés, F. 2003. Introduccion a la Quimica Computacionla. Fondo de Cultura Economica. Mexico. Cap 3-7.
- [28] Saez, J. 2007. *Estudio Teórico de Mecanismos de Reacciones Orgánicas*. Tesis Doctoral. Universidad de Valencia. Instituto de Ciencia Molecular. Valencia, España. 283 p.

- [29] Escalante, L. 2006. *Síntesis de 4-Amino-3-Carboetoxiquinolinas Sustituidas en la Posición 7 y Estudio de sus Propiedades Fisicoquímicas Mediante Modelaje Molecular*. Trabajo Especial de Grado. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 163 p.
- [30] Pavia, L. 2001. Introduction to spectroscopy. Tercera edición. Thomson learning pp 136.
- [31] Lele, S. Pate, M y Suresh, S. 1962. Cyanocoumarins. **J Org Chem**. 27: 637-639.
- [32] Wood, L y Johnson, D. 1965. Coumarins from 2- hydroxyaryl acids and Malonic acid. **J Org Chem**. 30: 4343-4344.
- [33] Buckle, D et al. 1977. 2-cyano-1,3-dicarbonyl Compounds with Antiallergic Activity. **J Med Chem**. 20 (2): 265-269.
- [34] Reddy, S et al. 2004. Synthesis of New coumarins 3-(n-aryl)sulfonamides and their anticancer activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. 14: 4093-4097.
- [35] Maheswara, M et al. 2006. A solvent free synthesis of coumarins via Pechman condensation using heterogeneous catalyst. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**. 255: 49-52.
- [36] Heravi, M et al. 2008. The Synthesis of coumarin-3-carboxylic acids and 3-acetyl coumarin derivatives using heteropolyacids as heterogeneous and recyclable catalysts. **Catalysis Communications**. 9: 470-474.
- [37] Traven, V et al. 1997. Keto-enol tautomerism, NMR spectra, and H-D exchange of 4-hydroxycoumarins. **Can J Chem**. 75: 377-383.

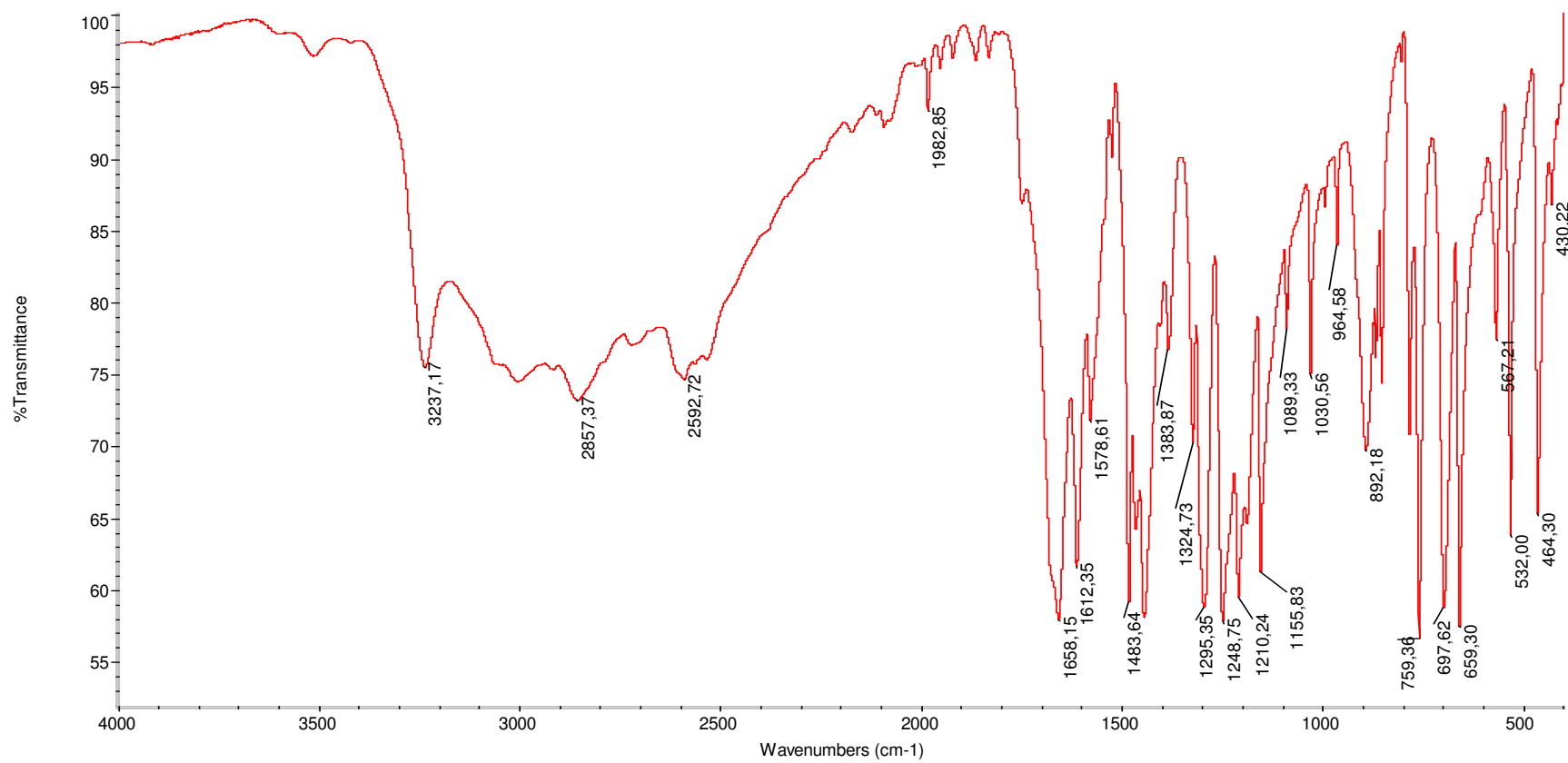
- [38] Contini, A et al. 2006. Tautomeric Equilibria of [1]Benzopyrano[3,4-d]imidazol-4(3H)-ones, a Theoretical and NMR study. **J Org Chem.** 71: 159-166.
- [39] Ramaiah, M. 1985. A new Convenient Method for Esterification using  $\text{Ph}_3\text{P}/\text{CCl}_4$  System. **J Org Chem.** 50: 4991-4993.
- [40] Clayden, J. Greeves, N. Warren, S y Wothers, P.2000. **Organic Chemistry.** Oxford University Press. USA. 1470 pp.
- [41] Foresman, J y Frisch, A. 1996. **Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods.** 2° edición. Gaussian Inc. USA.
- [42] Boletín de la Sociedad Chilena de Química. Estudio Teórico de la Polarizabilidad Molecular de Triafulveno y compuestos análogos. 2000. 20 marzo de 2009. <http://www.scielo.cl/scielo.php>.

# Espectros

Espectro 1: Ciano acetato de etilo

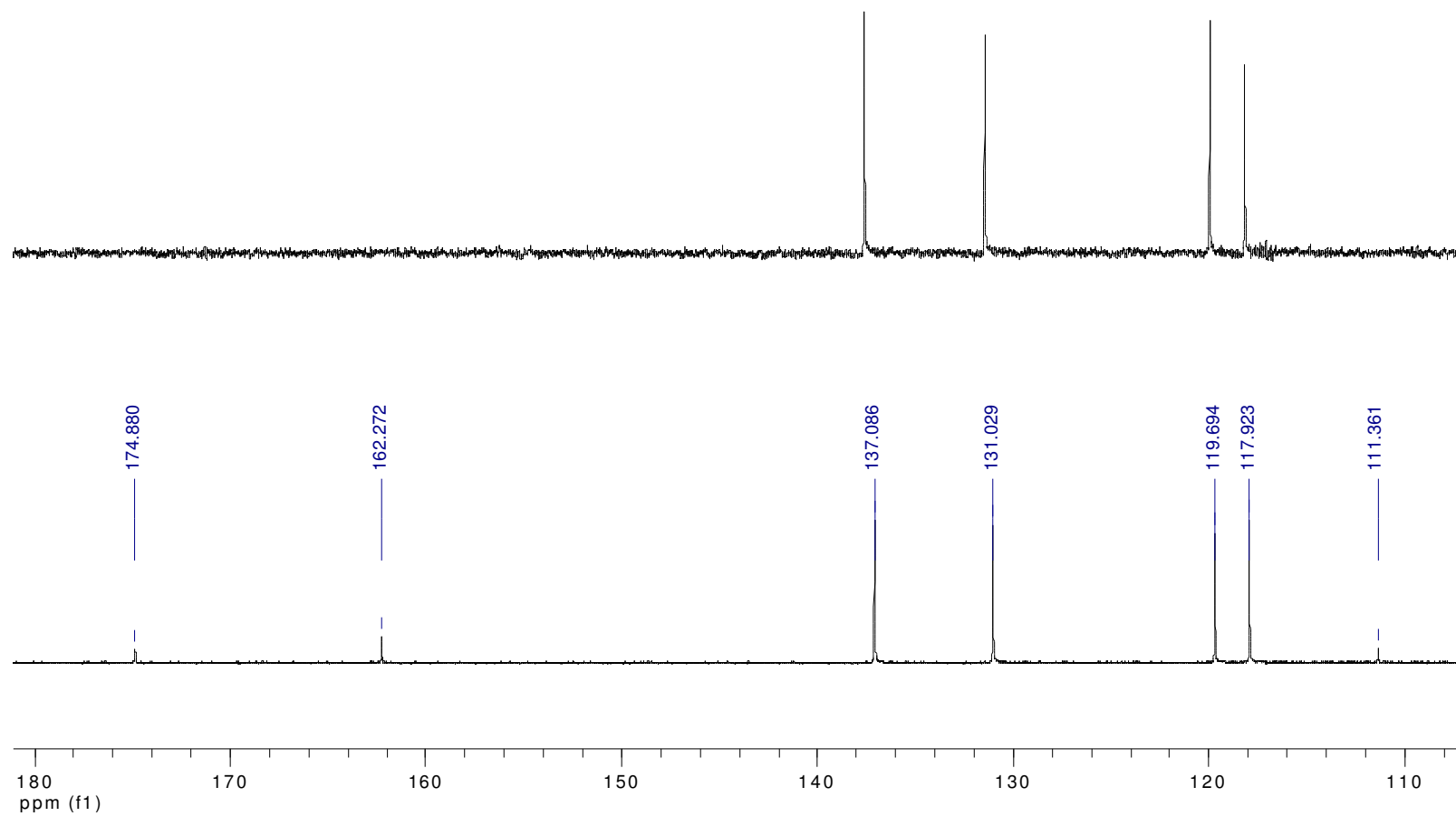


Espectro 2: producto de transesterificación (ácido salicílico)





Espectro 4: RMN  $^{13}\text{C}$  y Dept ácido salicílico



Espectro 5: Producto de la reacción reportada por Checchi.

