

**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUIMICA**



**“SINTESIS, CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y EVALUACION DE LA ACTIVIDAD
ANTIMICROBIANA DE UNA SERIE DE DERIVADOS DE
6-AMINO-5-ARILDENOPYRIMIDIN-2,4-DIONAS
Y 6-AMINO-5-ARILDENO-2-TIOXO-PIRIMIDIN-4-ONAS”**

Trabajo Especial de Grado presentado ante la
Ilustre Universidad Central de Venezuela, por el
Br. Rubén Maikel Martíns Diniz, para optar al
título de Licenciado en Química.

Caracas, Octubre, 2014.

I. INTRODUCCIÓN

La química medicinal es una de las áreas con mayor auge e investigaciones a nivel mundial; se han realizado un sin número de investigaciones para obtener una infinidad de compuestos patentados, eficaces para el tratamiento de alguna enfermedad en particular, o para una serie de éstas.

El desarrollo de la síntesis orgánica ha alcanzado un crecimiento cada vez mayor, debido a las innovaciones constantes y el planteamiento de reacciones químicas para la transformación de grupos funcionales, con el fin de obtener los cambios deseados, logrando así nuevos principios activos, para el tratamiento de enfermedades, para las cuales no habría cura, o mejorando su efectividad y eficacia en la erradicación de una patología ya conocida.

Los extractos naturales contienen en su mayoría un número de compuestos que poseen diferentes estructuras y grupos funcionales que pueden alterarse químicamente. Estas transformaciones pueden dar lugar a cambios en las propiedades biológicas de sus componentes. Si los grupos funcionales más comunes en la naturaleza se transforman en grupos funcionales que raramente se encuentran en ella, se podría disponer de estructuras novedosas y quizás activas. Por ejemplo, un grupo funcional muy común es el grupo carbonilo. Según el “Diccionario de Productos Naturales”, alrededor del 80% de las estructuras de su base de datos contiene al menos un carbonilo. De ellas, la mayor parte son ésteres, o cetonas, seguidas de los ácidos carboxílicos, las amidas y los aldehídos.¹ Como un ejemplo específico, basándose en la reactividad química del carbonilo, se han diversificado los componentes de extractos

naturales por tratamiento de los mismo con hidracina a fin de convertirlos en hidrazonas acilhidracinas.²

Las infecciones pueden definirse como la multiplicación de microorganismo (bacterias, virus hongos, protozoarios o parásitos multicelulares) en los tejidos de un huésped que origina signos y síntomas de afección o enfermedad. Las enfermedades infecciosas han influido en forma determinante en la evolución de la historia del hombre y son, actualmente, la principal causa de mortalidad y morbilidad en el mundo, a pesar del descubrimiento, sobre todo, a partir de la Segunda Guerra Mundial, de cientos de agentes antimicrobianos, cada día más potentes, seguros y efectivos, no sólo contra las bacterias, sino también contra los virus, hongos y parásitos.³

Los antimicrobianos son medicamentos utilizados en el tratamiento de las infecciones, causadas por bacterias, hongos, parásitos o virus. Uno de los principales avances en la historia de la salud humana ha sido el descubrimiento de los antimicrobianos, que han aliviado el sufrimiento y salvado miles de millones de vidas a lo largo de los últimos 70 años. La resistencia a los antimicrobianos se ve facilitada por el uso inadecuado de los medicamentos, como, por ejemplo, cuando se toman dosis insuficientes o no se finalizan los tratamientos prescritos. Los medicamentos de mala calidad, las prescripciones erróneas y las deficiencias de la prevención y el control de las infecciones, son otros factores que también facilitan la aparición y la propagación de la farmacorresistencia. La falta de empeño de los gobiernos en la lucha contra estos problemas, las deficiencias de la vigilancia y la reducción de instrumentos diagnósticos, terapéuticos y preventivos también dificultan el control de la farmacorresistencia. Si no se hace frente a este fenómeno, se corre el riesgo de que muchas enfermedades infecciosas se vuelvan incontrolables y de que se pierdan los progresos realizados hacia la consecución, en 2015, de los Objetivos de Desarrollo del Milenio, relacionados con la salud. Además, el crecimiento del comercio y los viajes internacionales, permite

que los microorganismos resistentes se propaguen por todo el mundo en cuestión de horas.⁴

Las bacterias son microorganismos unicelulares que pueden diferenciarse por su capacidad para retener un colorante básico (violeta cristal) después de su fijación con yodo y decoloración con alcohol (reacción de Gram), y se dividen en Gram positivas y Gram negativas. Las Gram positivas conservan el colorante, mientras que las Gram negativas se decoloran con el alcohol y después se colorean de rojo con safranina.⁵

Un nuevo informe de la Organización mundial de la Salud (OMS), basados en datos de 114 países, ofrece el panorama más general que se ha obtenido hasta la fecha acerca de la resistencia a los antimicrobianos. Este informe es el primero de carácter mundial. El informe revela que esta grave amenaza ha dejado de ser una previsión para el futuro y es ya en todas las regiones del mundo una realidad que puede afectar a cualquier persona de cualquier edad en cualquier país. La resistencia que se produce cuando las bacterias sufren cambios que hacen que los antibióticos dejen de funcionar en las personas que los necesitan como tratamiento para las infecciones, es ya una gran amenaza para la salud pública. Se señala además que, la resistencia está afectando a muchos agentes infecciosos distintos. Los datos son muy preocupantes y demuestran la existencia de resistencia a los antibióticos, especialmente a los utilizados como último recurso, en todas las regiones del mundo. El fenómeno es muy preocupante, porque las infecciones por microorganismos resistentes pueden causar la muerte del paciente, transmitirse a otras personas y generar grandes costos tanto para los pacientes como para la sociedad.⁶

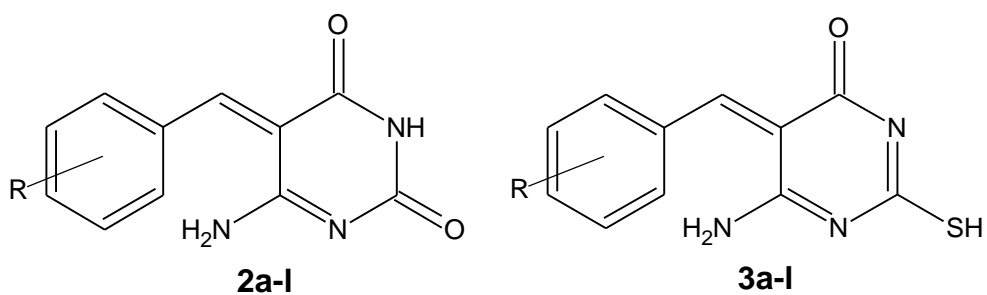
Entre los principales hallazgos del informe se destacan:

- Resistencia a los antibióticos carbapenémicos utilizados para el tratamiento de las infecciones potencialmente mortales por *Klebsiella pneumoniae* (una bacteria intestinal común) se ha extendido a todas las regiones del mundo. *K. pneumoniae* es una causa importante de infecciones nosocomiales, como las neumonías, las septicemias o las infecciones de los recién nacidos y los pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos.
- La resistencia a las fluoroquinolonas, una de las clases de fármacos antibacterianos más utilizadas en el tratamiento de las infecciones urinarias por *E. coli*, está muy extendida. En los años ochenta, cuando aparecieron estos fármacos, la resistencia a ellos era prácticamente inexistente. Hoy día hay muchos países en los que este tratamiento es ineficaz en más de la mitad de los pacientes.
- En Austria, Australia, Canadá, Eslovenia, Francia, Japón, Noruega, el Reino Unido, Sudáfrica y Suecia se ha confirmado el fracaso del tratamiento de la gonorrea con cefalosporinas de tercera generación, el último recurso terapéutico en estos casos. Diariamente contraen esta enfermedad más de 1 millón de personas.
- La resistencia a los antibióticos prolonga la duración de las enfermedades y aumenta el riesgo de muerte. Por ejemplo, se calcula que las personas infectadas por *Staphylococcus aureus* resistentes a la metilina tienen una probabilidad de morir de un 64% mayor que las infectadas por cepas no resistentes. La resistencia también aumenta el costo de la atención sanitaria, pues alarga las estancias en el hospital y requiere más cuidados intensivos.

Existe una amplia diversidad de familias y grupos de antimicrobianos de interés clínico, siendo la pirimidina uno de los núcleos presentes en compuestos antimicrobianos y es el grupo de interés en esta investigación. En núcleo pirimidínico constituye una parte integral de los ácidos nucleicos, y los compuestos que lo

contienen, exhiben diversas actividades farmacológicas, incluidas la actividad antibacteriana y antifúngica.⁷

Ahora bien, como parte de un proyecto de investigación para la síntesis de compuestos heterocíclicos con potencial actividad antimicrobiana, que se realiza en el laboratorio de síntesis orgánica de la unidad de investigación, síntesis de medicamentos de la facultad de farmacia, en este trabajo se presenta los resultados obtenidos de la síntesis y evaluación de la actividad antimicrobiana de una serie de compuestos derivados de 6-amino-5-arildenopirimidin-2,4-dionas **2a-l** y de los análogos **3a-l**.



II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

II.1. Importancia biológica de las Pirimidinas ⁸⁻¹¹

Las pirimidinas poseen una historia importante que desde su descubrimiento hasta la actualidad como constituyentes de los ácidos nucleicos (AN) y como uso corriente en la quimioterapia. El uracilo, la timina y la citosina son tres principales componentes de los ácido nucleicos (figura 1).

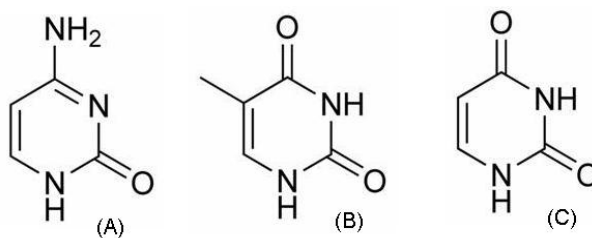


Figura 1. Estructuras químicas de citosina (A), timina (B) y uracilo (C).

Otras pirimidinas importantes son el ácido orótico, un intermedio en la biosíntesis de muchas pirimidinas existentes en la naturaleza y utilizado en el tratamiento de desórdenes metabólicos, o la willardina y el tingitanin, aminoácidos no proteicos. Algunas pirimidinas naturales son antibióticos, la más simple es la bacimetrina, activa contra levaduras y bacterias, *in vitro*, y contra infecciones producidas por *estafilococos*, *in vivo*. El alcaloide vasicina posee actividad broncodilatadora y la febrifugina, otro alcaloide, tiene propiedades antimaláricas (Figura 2).

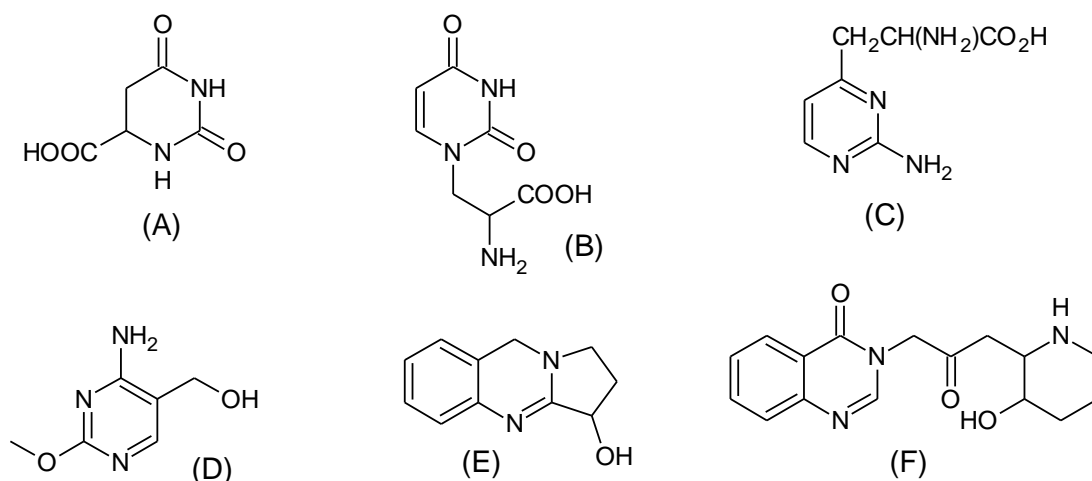


Figura 2. Estructuras químicas de ácido orótico (A), willardina (B), tingitanin (C), bacimetrina (D), vasicina (E) y febrifugina (F).

II.2. Pirimidinonas ¹²⁻²⁷

Las pirimidinonas son derivados de pirimidinas que poseen, por lo menos, un grupo ceto adicional, conteniendo dos átomos de nitrógeno localizados en la posición 1 y 3 en un anillo de seis miembros. Dependiendo de la disposición del grupo ceto, grados de sustituciones y saturación del anillo se pueden considerar diversos patrones de pirimidinonas. Existen pirimidinonas con el grupo ceto en la posición 2 y/o 4 y/o 6 (-ona, -diona y -triona), con diversos grados de saturación (tetrahidro-, dihidro- y sin saturación) y diversos sustituyentes (aril, vinil, alquil, haluro, éster, amida, amina, ácido carboxílico, entre otros) en las posiciones (N1, C2, N3, C4, C5, C6) (Figura 3).

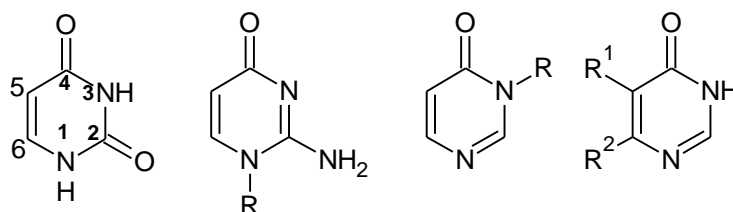


Figura 3. Estructuras químicas de algunos ejemplos de pirimidinonas con sistema de numeración.

Los compuestos que contienen núcleos pirimidínicos y pirimidinónicos, exhiben propiedades farmacológicas variadas, como agentes citostáticos, antivirales, anticonvulsivantes, antimaláricos y antituberculosos, analgésicos, anti-HIV, y antimicrobianos.

El mecanismo de acción de las pirimidinas y análogos consiste en la inhibición de la enzima dihidrofolatoreductasa (DHFR) de la bacteria invasora. La DHFR está involucrada en la biosíntesis del ADN bacteriano, por lo que su inhibición impide la supervivencia del microorganismo. Estos antifolatos son utilizados para la profilaxis y tratamiento de infecciones oportunistas en pacientes con sistemas inmunológicos debilitados como resultado de la infección con el virus de inmunodeficiencia o con terapias inmunosupresoras, por medio de un microorganismo oportunista.

II.3. Síntesis de Pirimidinas

II.3.1. Reacción de *Biginelli*¹²

Es la reacción de un aldehído, un β -ceto éster y urea en catálisis ácida para generar una dihidropirimidinona (Figura 4). Esta reacción de condensación en un solo paso produce compuestos de alto interés para la industria farmacéutica.

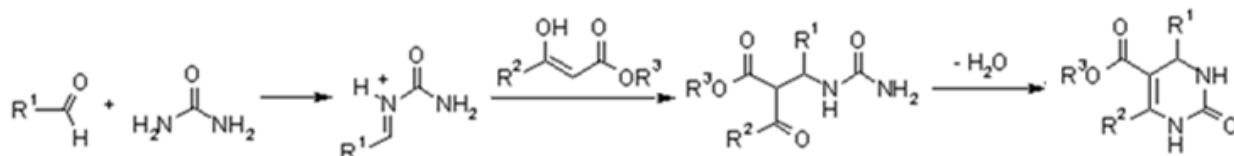


Figura 4. Síntesis general de *Biginelli*.

El mecanismo de la reacción de *Biginelli* comienza con la condensación entre el aldehído y la urea generando el intermediario imino que actúa como electrófilo para el

ataque del cetoester y el grupo carbonilo resultante es atacado por el grupo amino del otro extremo para dar el compuesto ciclado.

II.3.2. Reacción de *Knoevenagel*²⁸⁻³¹

La reacción de *Knoevenagel* es la reacción de condensación entre compuestos con metileno activo y con compuestos carbonílicos en medio básico para formar compuestos α,β -insaturados. Según el mecanismo de reacción propuesto (figura 5), la primera etapa es la abstracción del protón del grupo metilénico por una base, dando lugar a un carbanión (estabilizado por resonancia) que a continuación ataca al grupo carbonílico. Finalmente, se produce la eliminación agua para formar el doble enlace C=C mediante un mecanismo E1cb.

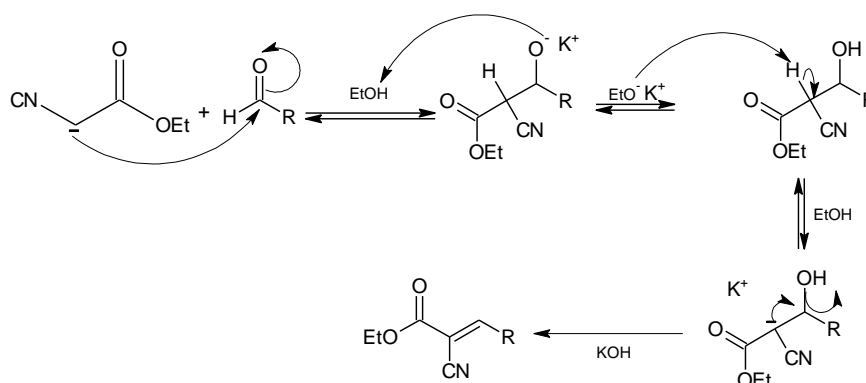


Figura 5. Mecanismo de reacción de la condensación general de Knoevenagel.

II.4. Antimicrobianos^{9,12,34-48}

Antimicrobiano es todo compuesto capaz de actuar sobre los microorganismos, inhibiendo su crecimiento o destruyéndolos. Los antimicrobianos se dividen en antibacterianos, antivirales, antimicóticos, antimicobacterianos, antiparasitarios y antirretrovirales.

II.5. Clasificación de los Antimicrobianos^{3,34,36,38,39,41,44-51}

II.5.1. Según su espectro antibacteriano

Según su espectro antibacteriano, se clasifican en antibióticos de amplio espectro, de espectro intermedio o de espectro reducido. Los antibióticos de amplio espectro tienen acción sobre una gran cantidad de gérmenes Gram positivos y negativos como las cefalosporinas, aminoglucósidos y quinolonas, y sobre microorganismos no bacterianos como hongos y *rickettsias*. Otros de espectro reducido, actúan sobre un grupo más limitado de especies bacterianas como la Vancomicina y la Eritromicina que actúan sólo sobre los Gram positivos. Mientras que los de espectro intermedio, actúan contra gran variedad de bacterias, pero sin abarcar la mayor parte de los gram positivos y negativos a la vez.

II.5.2. Según su mecanismo de acción

Los antimicrobianos se clasifican en:

- Antimicrobianos que inhiben la síntesis de la pared celular.
- Antimicrobianos que ejercen su acción a través de la membrana celular y afectan su permeabilidad.
- Fármacos que inhiben la síntesis proteica (inhibición de la traducción del material genético).
- Inhibición de la síntesis de los ácidos nucleicos.

II.6. Inhibidores de la enzima dihidrofolato reductasa (DHFR)⁵¹

La dihidrofolato reductasa (DHFR) es una enzima que se encuentra distribuida en todos los seres vivos. Esta función central en el metabolismo nitrogenado de la célula hace que su inhibición sea crítica. Así, la inhibición de la DHFR da lugar a un bloqueo de la síntesis, metilación y reparación del ADN, llevando a la muerte del microorganismo. Esto hace que esta enzima sea muy interesante como diana para fármacos antimicrobianos. En los antecedentes de este trabajo, se describirán algunos de los inhibidores de DHFR ya que sus estructuras químicas se relacionan con las estructuras sintetizadas en la investigación.

II.7. Resistencia a los Antimicrobianos^{38,47}

La resistencia es una propiedad de las bacterias de evadir la acción bactericida o bacteriostática de los antibióticos. La resistencia puede ser natural (intrínseca) o adquirida. La resistencia natural es propia de cada familia, especie o grupo bacteriano. La resistencia adquirida es variable y es obtenida por una cepa de una especie bacteriana. La resistencia adquirida es la que puede llevar a un fracaso terapéutico cuando se utiliza un antibiótico supuestamente activo sobre el germen que produce la infección.

II.8. Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS)^{52,53,63-65}

La definición de IAAS, corresponde a la definición de Infección Asociada al Cuidado de la Salud (IACS) y reemplaza otras definiciones previamente utilizadas en otros escenarios tales como infección nosocomial e infección intrahospitalaria.

Las IAAS son aquellas infecciones que el paciente adquiere mientras recibe tratamiento para alguna condición médica o quirúrgica y en quien la infección no se había manifestado ni estaba en período de incubación en el momento del ingreso a la institución. Las IAAS ocurren en cualquier ámbito de atención, incluyendo hospitales, centros de atención ambulatoria, sitios de cuidado crónico incluyendo centros de rehabilitación. Las infecciones se asocian con varias causas, incluyendo pero no limitándose al uso de dispositivos médicos, complicaciones postquirúrgicas, transmisión entre pacientes y trabajadores de la salud o como resultado de un consumo frecuente de antibióticos. Además, las IAAS son causadas por una variedad de agentes infecciosos, incluyendo bacterias, hongos y virus. Las IAAS son consideradas como el evento adverso que más se presenta en el país y el cual es el resultado de una atención en salud que de manera no intencional produce algún daño al paciente.

El riesgo de las infecciones que se presentan durante los procesos de atención en salud, se relaciona directamente con el modo de transmisión de los agentes infecciosos, el tipo de cuidado y las condiciones inmunológicas de base de los pacientes. Entre estos últimos se destacan la presencia de comorbilidades como antecedente de enfermedad neoplásica, diabetes, desnutrición, presencia de quemaduras extensas o trauma.

Los pacientes inmunodeprimidos, ya sea por algún padecimiento (por ejemplo, VIH-SIDA) o por tratamientos quimioterapéuticos (por ejemplo, tratamiento cancerígeno), hace a éstos foco de microbios oportunistas, los cuales invaden al organismo en condiciones especiales de falta de inmunidad por parte del paciente, resultando en el padecimiento de la infección y la muerte, cuando, en organismos con sistemas inmunológicos sanos, no ocurre la infección o la misma es combatida inmediatamente.

Las enfermedades fúngicas y microbianas originan la mayor morbilidad en cualquier especialidad médica y frecuentemente también la mortalidad en pacientes inmunosuprimidos. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el 90% de las defunciones prematuras especialmente en niños y adultos jóvenes son causadas por seis enfermedades infecciosas mortales (neumonía, tuberculosis, enfermedades diarreicas, malaria, sarampión y VIH/SIDA).

Entre el 5% y el 10% de los pacientes que ingresan a los centros de atención en salud de países desarrollados tienen el riesgo de contraer una o más infecciones. Las IAAS se encuentran entre las principales causas de muerte en los Estados Unidos y se estima que ocasionan 1.7 millones de infecciones y hasta 99.000 muertes al año. Datos del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de EUA revelan que los principales tipos de infección que se presentan en los hospitales son las infecciones del tracto urinario (34%), las infecciones de sitio quirúrgico (17%), las infecciones del torrente sanguíneo (14%) y las neumonías (13%). Estimaciones Europeas indican que las IAAS causan 16 millones de días de estancia extra, 37 mil muertes atribuibles al año y contribuyen a unas 110 mil muertes anuales.

II.9. Microorganismos patógenos evaluados

II.9.1. *Bacillus cereus*.⁶⁶

Bacillus cereus es una bacteria Gram-positiva productora de esporas y formadora de toxinas termoestables ampliamente distribuida en el medio ambiente, que puede ser transmitida al ser humano a través de alimentos contaminados, generándole una toxiinfección alimentaria de dos tipos: por una parte, una intoxicación debido a las propias toxinas y, por otra parte, una infección por la ingesta de células que producen enterotoxinas en el intestino delgado. Es un patógeno ubicuo en el medio ambiente,

que se encuentra en suelos, polvo, aguas y vegetación, por lo que se está presente habitualmente en una gran variedad de materias primas y alimentos de origen agrícola y ganadero: cereales, especias, hierbas aromáticas, hortalizas, frutas, leche, carne, etc.

Bacillus cereus es una causa importante de enfermedades de transmisión alimentaria en las personas, ya que provoca dos tipos de toxiinfecciones alimentarias:

- Intoxicación emética debida a la ingesta de la toxina formada en el alimento caracterizada por náuseas y vómitos.
- Toxiinfección gastrointestinal debida a la ingesta de células y esporas de *B. cereus* que producen enterotoxinas en el intestino delgado, caracterizada por diarrea, náuseas y dolores abdominales. Además, es importante destacar que un número bajo de esporas puede desencadenar la toxiinfección.

La deshidratación ligada a los síntomas gastrointestinales hace que sea de especial importancia en personas con el sistema inmunitario débil (bebés y niños menores de 5 años, personas mayores de 60 años, enfermos de cáncer, diabéticos, portadores del VIH, pacientes tratados con corticoesteroides, etc.) donde puede desencadenar problemas más graves, como deshidratación, dolor de cabeza, calambres musculares, alteración presión sanguínea y coronaria.

II.9.2. *Staphylococcus aureus*⁶⁶⁻⁶⁸

Staphylococcus aureus es una bacteria muy resistente en el medio ambiente y ampliamente distribuida en la naturaleza que puede encontrarse en el aire, agua, residuos, maquinaria y superficies de la industria alimentaria, pero su principal reservorio son los animales y humanos, encontrándose en la piel, cabello, fosas nasales

y garganta. En consecuencia, pueden transmitirse a una amplia gama de alimentos, principalmente alimentos derivados de animales (leche, carne y huevos y los productos derivados) y alimentos consumidos en crudo (frutas, verduras, etc.). Es un reconocido patógeno humano, siendo agente etiológico de un amplio espectro de infecciones de origen comunitario y nosocomial. Es una de las bacterias patógenas humanas formadoras de toxinas más resistente y puede sobrevivir durante largos periodos de tiempo en un ambiente seco, y son muy persistentes en alimentos con contenido alto en sales y azúcares. Los síntomas características de la intoxicación estafilocócica son náuseas, vómitos, dolores estomacales y abdominales y ocurren rápidamente (1-6h) tras la ingesta del alimento contaminado. La deshidratación ligada a los síntomas gastrointestinales hace que sea de especial importancia en personas con el sistema inmunitario débil (bebés y niños menores de 5, personas mayores de 60 años, y enfermos de cáncer, diabéticos, portadores del VIH, pacientes tratados con corticosteroides y otros grupos de riesgo) donde puede desencadenar problemas más graves: deshidratación, dolor de cabeza, calambres musculares, alteración presión sanguínea y coronaria.

II.10.3. *Pseudomonas aeruginosa*^{69,70}

Pseudomonas aeruginosa es un bacilo Gram-negativo, aerobio, no-esporulado, no-fermentador de glucosa y móvil debido a la presencia de un flagelo polar. El primer relato sobre estas bacterias lo realizó Luke, en 1862, al observar pus de color azul verdusco presente en algunas infecciones purulentas. Esa misma coloración había sido relatada por otros investigadores y, debido a este hecho, inicialmente se llamó *Bacillus pyocyaneus*. *Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria común en el medio ambiente y puede encontrarse en las heces, el suelo, el agua y las aguas residuales. Puede proliferar en ambientes acuáticos, así como en la superficie de materias orgánicas propicias en contacto con el agua. *Pseudomonas aeruginosa* es una fuente conocida de

infecciones intrahospitalarias y puede producir complicaciones graves. Se han aislado en gran variedad de ambientes húmedos, como fregaderos, baños de agua, sistemas de distribución de agua caliente, duchas y bañeras de hidromasaje. Esta bacteria, causa infecciones en distintos órganos y sistemas. Puede causar infecciones de vías aéreas superiores, como por ejemplo otitis; infecciones de las válvulas cardíacas (endocarditis bacteriana), infecciones de vías urinarias, infecciones de herida quirúrgica en pacientes post-operados, infecciones pulmonares (neumonía) en pacientes que utilizan ventilación mecánica. Como dijimos, este tipo de infecciones suelen presentarse en pacientes susceptibles con defensas disminuidas incluyendo pacientes con cáncer. Las infecciones nosocomiales generalmente incluyen neumonías, bacteremias, infección de herida quirúrgica e infecciones de vías urinarias.

II.10.4. *Escherichia coli*^{66,67}

E. coli es una de las especies bacterianas más minuciosamente estudiadas, y no solamente por sus capacidades patogénicas, sino también como sustrato y modelo de investigaciones metabólicas, genéticas, poblacionales y de diversa índole. Ella está integrada por bacilos Gram negativos no esporulados, móviles con flagelos peritricos o inmóviles, aerobios-anaerobios facultativos. Se trata de bacterias de rápido crecimiento y amplia distribución en el suelo, el agua, vegetales y gran variedad de animales. En conjunto, la importancia de las enterobacterias en patología humana puede cuantificarse constatando que constituyen el 50% aproximadamente de todos los aislamientos clínicamente significativos en los laboratorios microbiológicos, y hasta el 80% de todos los bacilos Gram negativos identificados.

E. coli es la especie tipo del género *Escherichia*. Coloniza el tracto gastrointestinal a las pocas horas de vida del niño, y establece con el huésped una relación estable de mutuo beneficio. Como integrante de la flora normal del hombre y de muchos animales, se lo considera un germen indicador de contaminación fecal cuando

está presente en el ambiente, agua y alimentos, junto con otros similares agrupados bajo la denominación de "bacterias coliformes". Sin embargo, hay algunas cepas de *E. coli* productoras de toxinas, llamadas vero-toxinas o toxinas de tipo shiga que pueden causar cuadros gastrointestinales graves en el ser humano. Existen diversos alimentos asociados a las toxiinfecciones de *E.coli*, pero la fuente más frecuente es la carne de vacuno y los productos cárnicos de vacuno (hamburguesas, carne picada, etc.) que hayan sido poco cocinados, así como la leche cruda sin pasteurizar y los productos elaborados con ella (queso, nata, etc.). Sin embargo, las frutas y verduras lavadas o regadas con agua contaminada también pueden ser transmisoras de la bacteria. Asimismo, el pescado y los moluscos pueden estar contaminados si el agua en el que se encuentran está contaminada con *E.coli*. También los alimentos cocinados listos para el consumo pueden estar contaminados con *E.coli* por contaminación cruzada con materia prima contaminada.

II.10.5. *Candida tropicalis*⁷²⁻⁷⁴

El término levadura etimológicamente significa "organismo unicelular que se reproduce por brotación". Esta definición no es totalmente correcta ya que: a) algunas levaduras se reproducen por fisión, b) algunas levaduras producen micelio verdadero bajo ciertas condiciones nutricionales (dimorfismo) y c) ciertos hongos filamentosos pueden existir en forma unicelular o levaduriforme (dimorfismo). Son heterótrofas, que viven a expensas de otros seres vivos (levaduras parásitas) o sobre materia orgánica muerta (levaduras saprófitas).

Están ampliamente distribuidas en la naturaleza; se las encuentra en las frutas, granos, miel y otros alimentos que contienen azúcar, en el suelo, aire, mar, piel y mucosa de mamíferos. Muchas de ellas son útiles para el hombre, como las que se emplean en la producción de cerveza, vino y pan; otras son perjudiciales, ya que

descomponen alimentos, deterioran fibras textiles o causan enfermedades en las plantas, los animales y el hombre.

La candidosis o candidiasis es una micosis causada por diversas especies de levaduras del género *Candida*. Cualquier tejido puede ser afectado por lo que se presentan diversos cuadros clínicos, cada uno de ellos asociado directamente al estado inmunológico del paciente. Las candidosis de mucosas y piel son las más frecuentes, mientras que las sistémicas son de evolución aguda o crónica y generalmente severas. Aunque se han reportado más de 17 especies patógenas, el 90% de las infecciones se atribuyen a: *C. albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. parasilopsis*, *C. tropicalis*.

Los hongos del género *Candida* son integrantes normales de la biota corporal humana, su homeostasis es compleja y depende de muchos factores; entre ellos, la inmunidad mediada por células desempeña un papel destacado ya que la asociación “linfocitos CD4-macrófago” ejerce un poder de vigilancia y su déficit redundante en una mayor facilidad de *Candida* para adherirse a las células epiteliales.

III. ANTECEDENTES

Dada la dificultad de extraer compuestos específicos de fuentes naturales (bacterias, poríferos, algas, equinodermos, anfibios, reptiles e invertebrados superiores, entre otros), tanto por su disposición, como por su cantidad; se han sintetizado compuestos equivalentes a los naturales, así como, variantes de los mismos, haciéndole modificaciones sutiles o sustanciales, respecto a grupos funcionales y/o a estructura, sustituyendo elementos o átomos; y comprobándose su actividad sobre virus, bacterias, hongos, parásitos, disfunciones orgánicas genético-degenerativas, entre otras.

Asimismo, durante las dos últimas décadas, se han desarrollado varios derivados de pirimidinas como agentes quimioterapéuticos con amplias aplicaciones clínicas, tomando en cuenta su analogía con las bases nitrogenadas pirimidínicas (citocina, uracilo y timina), entre otros compuestos naturales esenciales para la replicación celular.⁷⁵

Hay un gran número de antimetabolitos, análogos de pirimidinas. Por lo general, se relacionan estructuralmente con los sustratos endógenos que antagonizan o compiten. La modificación estructural puede estar en el anillo de pirimidina o en el azúcar enlazado (ribosa y desoxirribosa).⁷⁵

III.1. Metoxipirimidinas y metilpirimidinas

Algunas sulfonamidas antibacterianas utilizadas clínicamente, como la sulfametoxidiazina (Figura 6), la sulfazomidina, la sulfadimetoxina y la sulfametomidina (Figura 7), contienen el sistema de pirimidina.¹¹

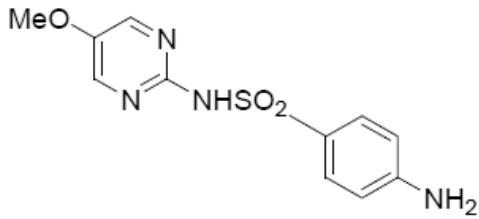


Figura 6. Estructura química de sulfametoxidiazina.

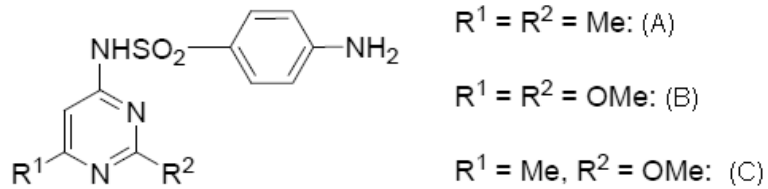


Figura 7. Estructura química de sulfazomidina (A), sulfadimetoxina (B) y sulfametomidina (C).

Los compuestos sulfadoxina y sulfisomidina, son ejemplos de sulfonamidas pirimidínicas, con sustituyentes metoxi y metilo, el primero de ellos usado para el tratamiento de malaria, con una vida media de 7 a 9 días; y el segundo se usó como combinación sulfamida para tratamientos veterinarios, con una vida media de 7 horas (Figura 8).⁷⁵

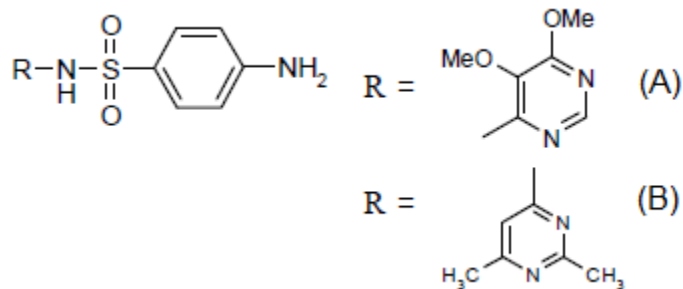


Figura 8. Estructura química de sulfadoxina (A) y sulfisomidina (B).

El compuesto 4-sulfonamidopirimidina, sulfametoxina⁷⁵, con dos sustituyentes metoxi en posiciones 5 y 6, tiene la vida media más larga, de alrededor de 150 h, respecto a muchas sulfonamidopirimidinas. Sulfametoxina (nombre comercial Di-Methox, Albon) es un antibiótico de sulfonamida. Albon es producido por Pfizer Animal Health y está disponible como una suspensión oral, tableta o bolo. Se utiliza en el tratamiento de muchas infecciones, incluyendo el tratamiento de las vías respiratorias, del tracto urinario, intestinal y las infecciones de tejidos blandos. Se utiliza con mayor frecuencia en la medicina veterinaria. Sulfametoxina inhibe la síntesis bacteriana de ácido fólico (ácido pteroilglutámico) y de ácido para-aminobenzoico. También, se utiliza comúnmente para el tratamiento de la coccidiosis en muchas especies (Figura 9).

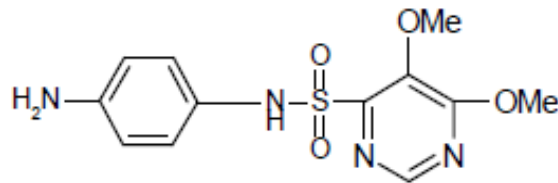


Figura 9. Estructura química de sulfametoxina.

Los Compuestos sulfadiazina⁷⁵, sulfamerazin⁷⁵ y sulfadimidina⁷⁵ son antibacterianos de uso veterinario, que poseen buena solubilidad en agua y, por lo tanto, llevan a un mínimo riesgo de daño renal, lo que los hace seguros, incluso en pacientes con alteración de las funciones renales. Asimismo, metildiazina tiene una vida media de 65 h, mientras que sulfametoxidiazina posee una vida media significativamente larga. (Figura 10).

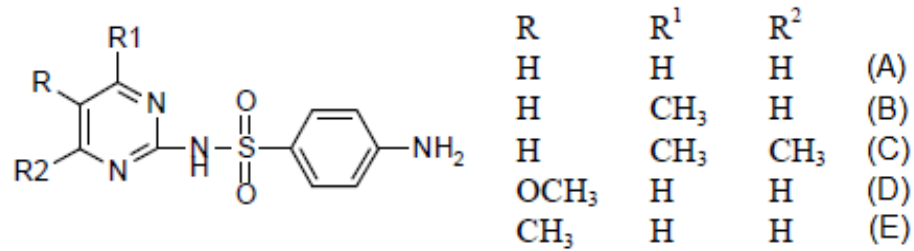


Figura 10. Estructura química de sulfadiazina (A), sulfamerazin (B), sulfadimidina (C), sulfametoxidiazina (D) y metildiazina (E).

III.2. Aminopirimidinas

El sistema anular de pirimidina también se encuentra en vitaminas como la tiamina. Algunas pirimidinas naturales son antibióticos. La más simple es la bacimetrina, activa *in vitro* contra levaduras y bacterias e, *in vivo*, contra infecciones producidas por estafilococos (Figura 11).^{11,75}

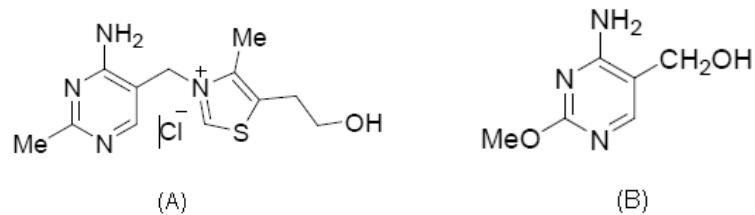


Figura 11. Estructura química de tiamina (A) y bacimetrina (B).

El compuesto nimustina⁷⁵ se descubrió después de la formulación de la teoría antimetabolito de Woods y Fildes en 1940. Este fármaco evita la utilización de los metabolitos celulares normales. La estructura consiste en una nitrosourea con actividad antineoplásica. Nimustina alquila y entrecruza al ADN, provocando la fragmentación del mismo, la inhibición de la síntesis de proteínas, y la muerte celular (Figura 12).

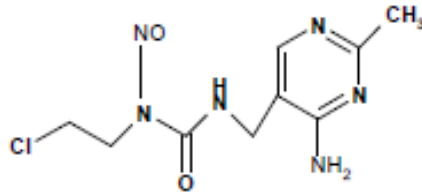


Figura 12. Estructura química de nimustina.

III.3. Análogos de ácido fólico, citosina, uracilo y timina

Derivados de la 2,4-diaminopirimidina con un sustituyente de tipo arilo en posición 5, son conocidos como análogos del ácido fólico de “molécula corta” y tienen utilidad como antibacterianos.¹¹

En 1948, Hitchings hizo una importante observación de que un gran número de 2,4-diaminopirimidinas y algunos 2-amino-4-hidroxipirimidinas son antagonistas de ácido fólico. Desde entonces, un gran número de 2,4-diaminopirimidinas se han sintetizado como antifolatos. Finalmente, se demostró que estas pirimidinas son inhibidores de la enzima dihidrofolatoreductasa (DHFR)⁷⁵

Entre los derivados de pirimidinas inhibidores de DHFR se encuentran las diaminopirimidinas como iclaprin²⁶, trimetoprin^{26,75} y emtricitabina²⁶ (Figura 13), análogos de la citosina, a los que se les incorporó un sustituyente en la posiciones C5, y, sólo en el último compuesto, un sustituyente en la posición N1. Trimetoprin resultó con inhibición selectiva a dihidrofolatoreductasa, por ello, su resaltada importancia. Estos antifolatos son utilizados para la profilaxis y tratamiento de infecciones oportunistas en pacientes con sistemas inmunológicos debilitados como resultado de la infección con el virus de inmunodeficiencia o con terapias inmunosupresoras.

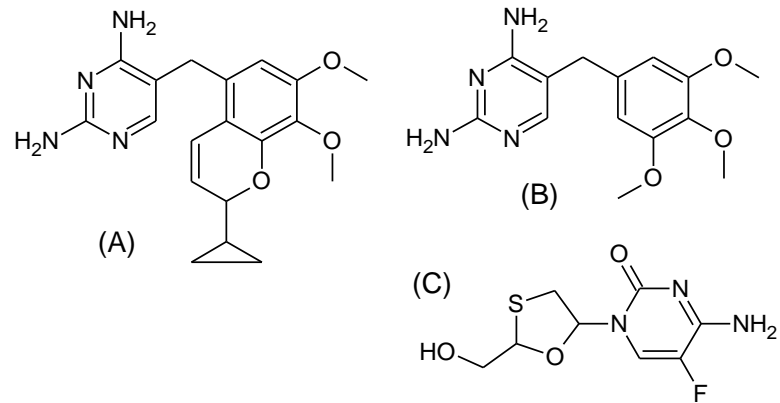


Figura 13. Estructura química de iclaprin (A), trimetoprim (B) y emtricitabina (C).

El compuesto brodimoprim⁷⁵, análogo del trimetoprim, reemplazando el sustituyente aromático metoxi en posición 4 por un átomo bromo; ha sido un muy efectivo antimicrobiano, inhibidor de la enzima dihidrofolatoreductasa (Figura 14).

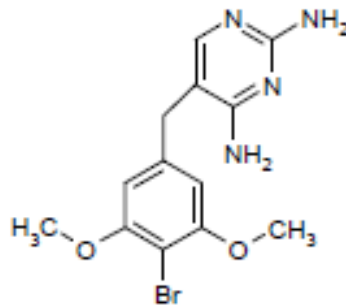


Figura 14. Estructura química de brodimoprim.

El compuesto aloxano⁷⁵ es conocido por su acción diabotogénico en un cierto número de animales. Barbitona⁷⁵, el primer barbitúrico hipnótico sedante y anticonvulsivo derivado de pirimidinas (Figura 15).

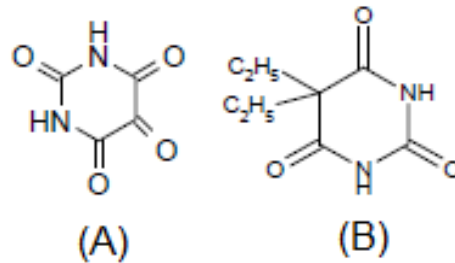


Figura 15. Estructura química de aloxano (A) y barbitona (B).

El compuesto gourgetin⁷⁵, un derivado de citosina, es activo contra micobacterias, así como una serie de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Hay más derivados de citosina a saber, amicetin⁷⁵ y plicacetin⁷⁵, que exhiben actividad frente a las bacterias ácido rápidas y Gram-positivas, como también algunos otros organismos. Derivados de pirimidina de tipo sulfonamidas, como sulfadiazina, sulfamerazina y sulfadimidina son superiores a muchas otras sulfonamidas y se utilizan en algunas infecciones UT agudas, meningitis cerebrospinal y para los pacientes alérgicos a pencillinas. Sulfacitina⁷⁵ se ha reportado ser de 3-10 veces más potente que sulfaisoxazol y sulfisodimidine (Figura 16).

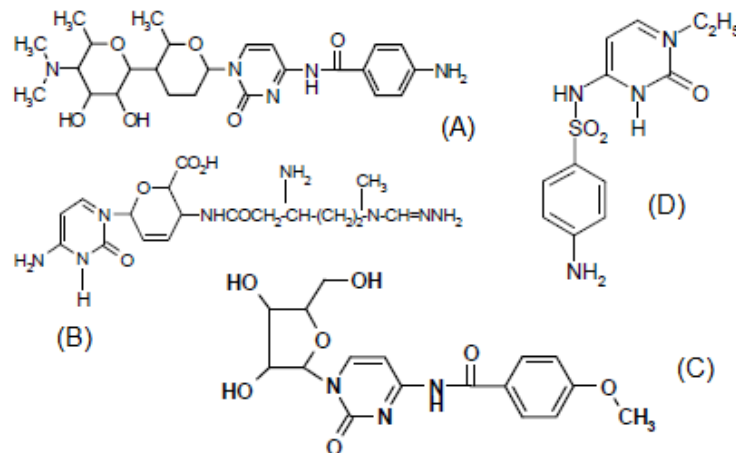


Figura 16. Estructuras químicas de plicacetin (A), gourgetin (B), amicetin (C) y sulfacitina (D).

Una serie de compuestos diaminopirimidínicos^{26,32,33} (Figura 17), derivados de la citosina, con sustituyente R-arileno en C5, únicamente reportado por el grupo de investigación de Síntesis de Medicamentos de la Facultad de Farmacia (UCV); se estudiaron como antimicrobianos, ante Gram-positivos: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Bacillus cereus* (ATCC 14579), Gram-negativos: *Escherichia coli* (ATCC 35218) y *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), y la levadura *Candida tropicalis* (MLDM 372), obteniéndose que los derivados **1**, **2**, **4** y **8** presentaron actividad antimicrobiana sólo sobre **1**: *E.coli* y *C.tropicalis*; **2**: *B.cereus* y *S.aureus*; **4**: *E.coli* y *B.cereus*; **8**: *B.cereus* y *S.aureus*; los compuestos **5**, **6** y **7** presentaron actividad sobre todos los microorganismos probados, es decir, considerados de amplio espectro, incluyendo a la levadura *C.tropicalis*, siendo más activos sobre las bacterias gram positivas que las gram negativas, y presentaron valores de actividad comparables a los que mostraron los antibióticos comerciales utilizados en este estudio [amikacina (AM), ampicilina (AN), norfloxacin (N) y nistatina (Ny)]. También es de resaltar la actividad que todos estos compuestos mostraron sobre *P.aeruginosa*, bacteria gram negativa resistente a una gran cantidad de antibióticos comerciales, presentando en este estudio una actividad comparable al de la norfloxacin y ligeramente por debajo de la amikacina. Los compuestos **3**, **9**, y **10** también fueron considerados de amplio espectro, ya que mostraron una moderada actividad sobre organismos gram positivos y gram negativos, destacándose el compuesto **3** por su actividad sobre *P.aeruginosa* y el compuesto **10** por su actividad sobre *S.aureus* (**3**: no presentó actividad ante *S.aureus* y *C.tropicalis*; **9**: no presentó actividad ante *B.cereus*).

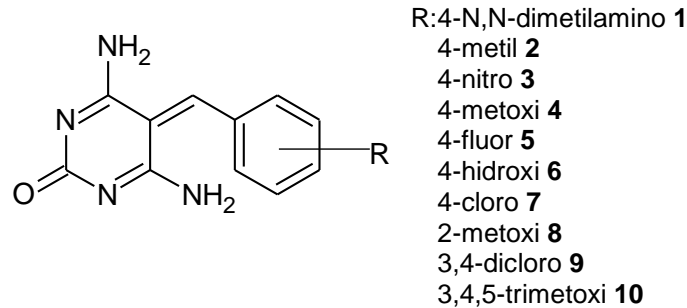


Figura 17. Estructura química de compuestos diaminopirimidínicos, derivados de la citosina (4,6-diamino-5-(bencilideno)-pirimidin-2-(5H)-ona).

Los compuestos 5-fluorouracilo^{11,75} y 5-tiouracilo⁷⁵ mostraron actividad antineoplásica, y los compuestos 2-tiouracilo⁷⁵, tiobarbital⁷⁵ y propiltiouracilo⁷⁵ son drogas efectivas ante hipertiroidismo (figura 18). Gemcitabina^{10,75}, fármaco cabeza de serie en el tratamiento de tumores sólidos, especialmente de pulmón y páncreas, probado contra tumores sólidos murinos; fluorocitosina^{11,27,75} con actividad antimicrobiana, antileucemico y antifungico, y pirimetamina^{27,75} como antimalárico. Uramustina y tegafur⁷⁵ son efectivos antineoplásicos (figura 19). IDU (5-yodo-2'-desoxiuridina)⁷⁵ y 5-trifluorometil-2'-desoxiuridina (F3 TDR)⁷⁵ se utilizan para tratamiento de infecciones virales. Zidovudina⁷⁵ y Zalcitabina⁷⁵ son activos frente a los virus tumorales de ARN (retrovirus), agentes causantes del SIDA y leucemia de células T, así como para controlar las infecciones oportunistas (figura 20).

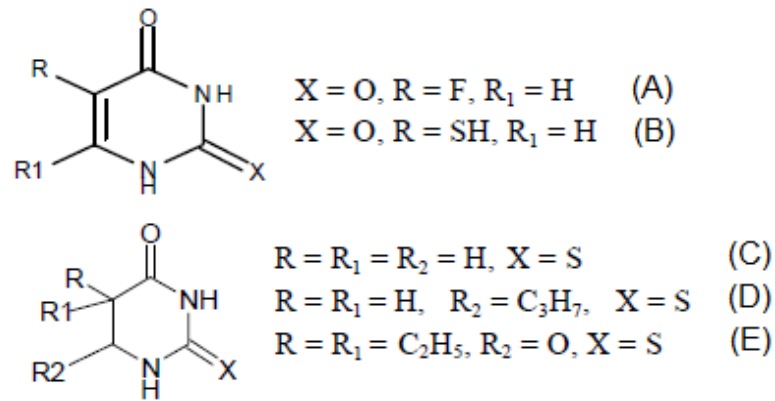


Figura 18. Estructura química de 5-fluorouracilo (A), 5-tiouracilo (B), 2-tiouracilo (C), propiltiouracilo (D) y tiobarbital (E).

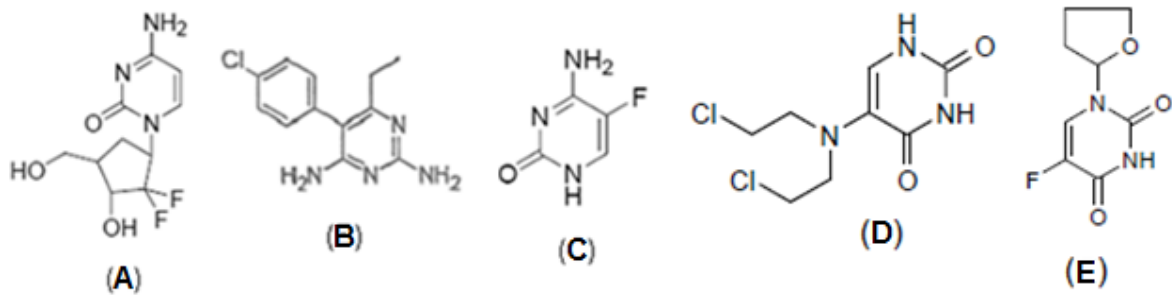


Figura 19. Estructura química de gemcitabina (A), pirimetamina (B), fluorocitosina (C), uramustina (D) y tegafur (E).

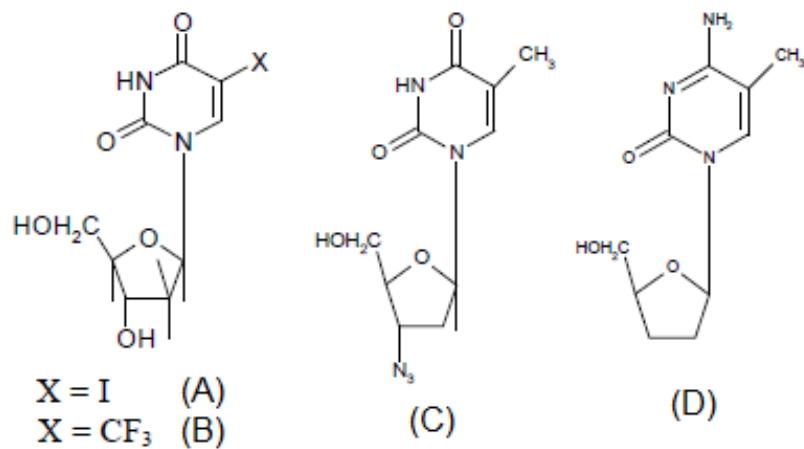


Figura 20. Estructuras químicas de 5-yodo-2'-desoxiuridina (A), 5-trifluorometil-2'-desoxiuridina (B), zidovudina (C) y zalcitabina (D).

Si tenemos en cuenta, por un lado, la creciente importancia de la química de los compuestos organofluorados y, por otro, que la mayoría de las moléculas biológicamente activas son compuestos nitrogenados, se puede comprender el interés en la síntesis de compuestos nitrogenados fluorados.¹⁰

Las pirimidinas ocupan un lugar distinto y único, teniendo gran importancia biológica y medicinal. Una gran variedad de medicamentos pirimidinínicos poseen una amplitud de propiedades medicinales. Estas propiedades incluyen el cáncer, antibacteriano, antiprotozoario, antimicrobianos, antivirales, antihipertensivos, antihistamínicos, anti-inflamatorio, analgésico, activo sobre el SNC a adyuvantes metabólicos.⁷⁵

IV. JUSTIFICACIÓN

Las bacterias son organismos microbianos con tendencia a mutaciones genéticas que las hacen resistentes a los fármacos que se desarrollan año tras año, ocasionando enfermedades graves en hospitales, clínicas y ambulatorios, siendo un grave problema en intervenciones quirúrgicas, tratamientos especiales inmunosupresores y pacientes con VIH.⁷⁶⁻⁷⁹

Las enfermedades fúngicas y microbianas originan la mayor morbilidad en cualquier especialidad médica y frecuentemente también la mortalidad en pacientes inmunosuprimidos. Según la OMS, el 90% de las defunciones prematuras especialmente en niños y adultos jóvenes son causadas por seis enfermedades infecciosas mortales (neumonía, tuberculosis, enfermedades diarreicas, malaria, sarampión y VIH/SIDA). Un alto porcentaje de infecciones hospitalarias se debe a bacterias muy resistentes, como *Staphylococcus aureus*.⁵²⁻⁵⁶

De acuerdo con un consenso de expertos de la Sociedad Venezolana de Infectología, la incidencia de las infecciones intrahospitalarias, oscila entre 3 y 17 por ciento en el mundo; lo aceptable es que éstas no superen el 5 por ciento, pero en Venezuela, se estima que puede llegar incluso a 25 por ciento, y hasta más.⁸⁰

Por ello, resulta necesario desarrollar compuestos con actividad antimicrobiana sobre microorganismos bacterianos *gram (+)* y *gram (-)*, así como sobre levaduras (candidiasis, por ejemplo), desarrollando nuevas estructuras basadas en derivados de bases nitrogenadas, en este caso concreto, 6-amino-5-arildenopirimidin-2,4-dionas **2a-I** y análogos **3a-I**

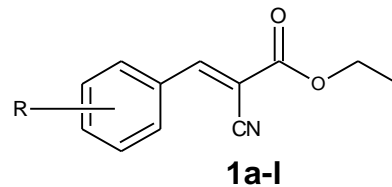
V. OBJETIVOS

V.1. Objetivo General

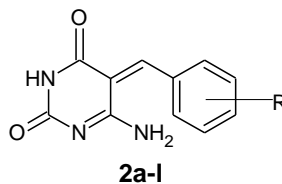
V.1.1. Sintetizar y caracterizar químicamente una serie de derivados de (*E*)-6-amino-5-arildenpirimidin-2,4-(3*H*, 5*H*)-dionas **2a-I** y los análogos **3a-I**, y evaluar posible actividad antimicrobiana contra *Gram-positivo* y *Gram-negativo*, y la levadura *Candida tropicalis*.

V.2. Objetivos Específicos

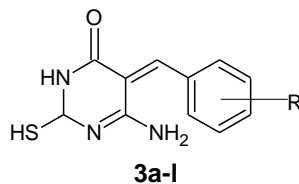
V.2.1. Sintetizar derivados intermediarios de (*E*)-2-cianocinamato de etilo **1a-I** a través de la reacción de *Knoevenagel* entre derivados de benzaldehídos con cianoacetato de etilo.



V.2.2. Sintetizar los derivados de (*E*)-6-amino-5-arildenpirimidin-2,4(3*H*, 5*H*)-dionas **2a-I** mediante una reacción ciclocondensación entre **1a-I** y urea.



V.2.3._ Sintetizar los derivados de (*E*)-6-amino-5-arilden-pirimidin-2-mercapto-(3*H*)-4-onas **3a-I** mediante una reacción ciclocondensación entre **1a-I** y tiourea.



V.2.4._ Caracterizar los compuestos sintetizados por técnicas de IR, RMN ^1H y ^{13}C y sus propiedades para ratificar sus estructuras.

V.2.5._ Determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* contra bacterias *Gram*-positivas, *Gram*-negativas, y levadura *C. tropicalis*, empleando el método de difusión sobre placas de agar.

VI. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

VI.1 Reactivos empleados

La síntesis y caracterización de los compuestos obtenidos se realizó utilizando los siguientes reactivos:

Benzaldehídos con los diferentes sustituyentes (Aldrich Co., 100%); cianoacetato de etilo (Aldrich Co., 100%); hidróxido de potasio (Riedel-de Haën); etanol recién destilado y secado sobre magnesio- I_2 ; urea y tiourea (Riedel-de Haën); carbonato de potasio (Riedel-de Haën); HCl al 35% v/v (Riedel-de Haën); bromuro de potasio anhidro (Riedel-de Haën); Dimetilformamida (DMF, Riedel-de Haën); dimetilsulfóxido (DMSO, Riedel-de Haën), cloroformo deuterado ($CDCl_3$, Aldrich Co.); dimetilsulfóxido deuterado ($DMSO-d_6$, Aldrich, Co): acetato de etilo (Aldrich 98%); hexano (Aldrich 96%).

VI.2 Materiales y equipos

El monitoreo de las reacciones se realizó por cromatografía en capa fina (CCF), empleando cromatofolios de sílica gel marca Merck tipo 60F25H, de un espesor de capa de 0,2 mm utilizando como eluente una mezcla de AcOET/Hx 7:3 y el análisis de las placas se llevó a cabo mediante una lámpara de UV de 254/365 nm, o empleando cámara de yodo; balanza analítica. Asimismo, se utilizó instrumental de vidrio e implementos de uso regular de laboratorio (planchas de laboratorio, agitadores magnéticos, espátulas, entre otros).

VI.3 Técnicas empleadas para la síntesis de los compuestos

VI.3.1 Determinación de puntos de fusión (P.F.)

Los puntos de fusión fueron medidos en un aparato Fisher-Johns y se reportaron sin corregir con intervalo de 2°C. Se reportan las temperaturas a la cual un determinado compuesto se descompone.

VI.3.2 Caracterización de compuestos mediante el análisis de los datos espectroscópicos de IR, RMN-¹H y ¹³C

Los espectros IR, fueron tomados en espectrofotómetros marca Shimadzu modelo 470, usando pastillas de KBr, las absorciones más importantes son reportadas en recíprocos de centímetros (cm⁻¹) y se reportan los grupos funcionales más importantes que indican el producto esperado.

Los espectros de Resonancia magnética nuclear de ¹H, ¹³C, HETCOR y DEPT-135, fueron determinados en un espectrómetro JEOL ECLIPSE 270 (270MHz/67.9 MHz) en CHCl₃-*d* o DMSO-*d*₆ y. Los desplazamientos químicos (δ) son reportados en partes por millón (ppm), como patrón interno trazas de DMSO y CHCl₃, respectivamente. El valor de las constantes de acoplamiento (*J*) se calcularon directamente del espectro como separaciones entre las señales proporcionadas y se expresan en Hertzios (Hz); las abreviaturas empleadas para indicar la multiplicidad de las señales son: singlete (*s*), singlete ancho (*sa*), banda ancha (*ba*), doblete (*d*), triplete (*t*), pseudo triplete(*st*); cuarteto (*c*), doblete de dobletes (*dd*), doblete de tripletes (*dt*) y multiplete (*m*).

VI.4 Síntesis y caracterización de los derivados de (*E*)-2-cianocinamatos de etilo (1a-l); pirimidindionas (2a-l), y 2-mercaptopirimidinonas (3a-l)

En la figura 21, se presenta el esquema de síntesis utilizado para la obtención de todos los derivados propuestos.

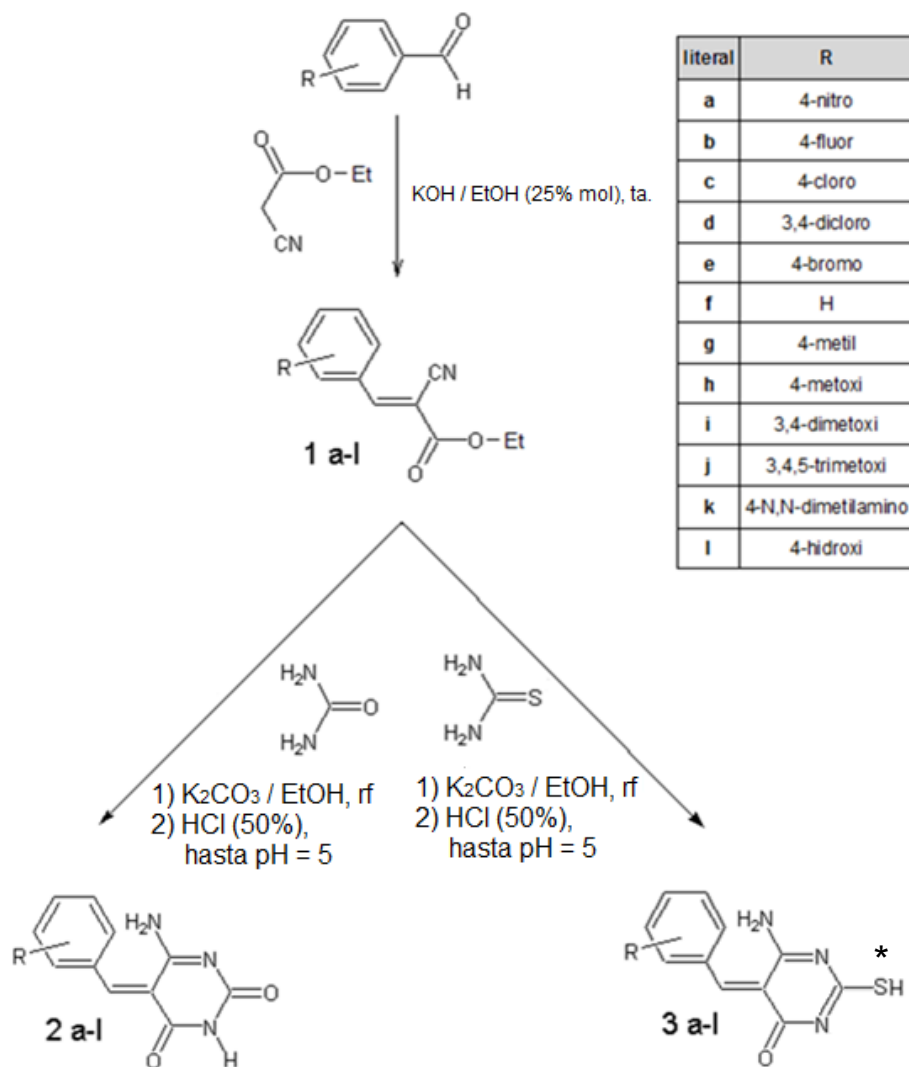
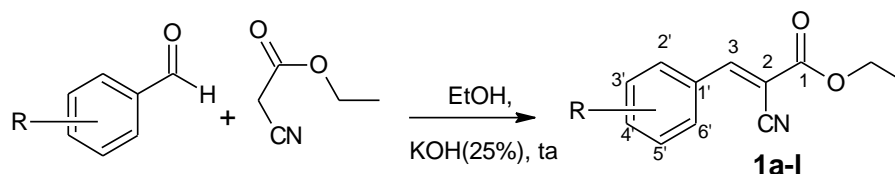


Figura 21. Esquema de síntesis de los derivados **1a-l**; **2a-l** y **3a-l**

(*) la propuesta inicial consistió en la formación de productos tiona, sin embargo, resultaron productos tioles (mercapto)

VI.4.1 Procedimiento general para la síntesis de los derivados (*E*)-2-cianocinamatos de etilo (**1a-l**) y caracterización.

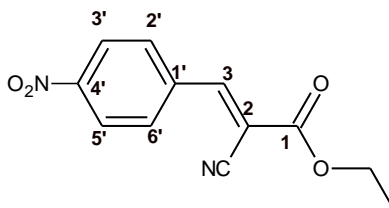


En un balón redondo con tapa provisto de agitación magnética, se preparó una solución de cianoacetato de etilo y el benzaldehído correspondiente (en cantidades equimolares), en etanol anhidro (10-20 mL) y se le añadió hidróxido de potasio (25% mol). La mezcla de reacción se dejó agitando a temperatura ambiente hasta la aparición de un sólido, que indicó la formación del producto (30 min-24h). El sólido formado se filtró y lavó con agua destilada, se dejó secar al aire y luego se recristalizó en etanol caliente. Los cristales formados se filtraron y secaron en una estufa al vacío. Una vez seco, se determinó el punto de fusión a cada derivado obtenido. Luego se registró el espectro de infrarrojo para identificar las señales de los grupos funcionales más importantes. En la tabla 1, se presentan las cantidades de materiales de partida, tanto del aldehído como de cianoacetato de etilo. Los datos obtenidos se reportan a continuación. Para caracterizar las estructuras de los derivados de (*E*)-2-cianocinamatos de etilo (**1a-l**) obtenidos, se resumen todos los datos espectroscópicos de los espectros de IR, ^1H RMN y ^{13}C RMN.

	R	Cianoacetato de etilo			
		Benzaldehído (g, mmoles)		(g, mmoles)	
a	4-nitro	1,00	6,62	0,75	6,62
b	4-fluor	1,00	8,06	0,91	8,06
c	4-cloro	1,00	7,12	0,81	7,12
d	3,4-dicloro	1,00	5,71	0,65	5,71
e	4-bromo	1,00	5,41	0,61	5,41
f	hidrogeno	1,00	9,42	1,65	9,42
g	4-metil	1,00	8,33	0,94	8,33
h	4-metoxi	1,00	7,35	0,83	7,35
i	3,4-dimetoxi	1,00	6,02	0,68	6,02
j	3,4,5-trimetoxi	1,00	5,10	0,58	5,10
k	4'-N,N-dimetilamino	1,00	6,71	0,76	6,71
l	4-OH	1,00	8,19	0,93	8,19

Tabla 1. Cantidad en g y mmoles de aldehídos y cianoacetato de etilo utilizados para la síntesis de los derivados cianocinamatos de etilo **1a-l**

VI.4.1.a. (E)-2-ciano-4'-nitrocinamato de etilo (1a):



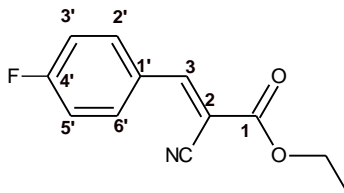
Sólido agujas anaranjadas brillantes. **R:** 98%. **P.f:** 208 °C.

IR (KBr) cm⁻¹: 2988(CH₂CH₃); 2220(C≡N); 1715(OC=O); 1594(CH-Ar);
1510(HC=C<).

RMN-¹H, 270 MHz, CDCl₃ δ: 1,41(*t*, 3H, CH₂CH₃); 4,39(*c*, 2H, CH₂CH₃); 8,13(*dd*, 2H, $J_{H2',H3'}=8,09$ y $J_{H2',H2'}=1,98$ Hz, **H2', H6'**); 8,29(*dd*, 2H, $J_{H3',H2'}=8,09$ y $J_{H3',H5'}=1,98$ Hz, **H3', H5'**); 8,17 (*s*, 1H, **H3**).

RMN-¹³C, 69 MHz, CDCl₃ δ: 14,13(**CH₃**); 63,34(**CH₂**); 107,64(**C2**); 114,45(**CN**); 124,24(**C2', C6'**); 131,49(**C3', C5'**); 137,01(**C1'**), 149,87(**C4'**); 151,62(**C3**); 161,42(**C=O**).

VI.4.1.b. (E)-2-ciano-4'-fluorocinamato de etilo (1b):



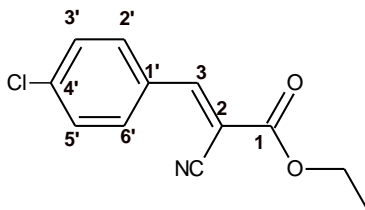
Sólido agujas blancas. **R:** 91%. **P.f:** 78-80 °C.

IR (KBr) cm⁻¹: 2996(CH₂CH₃); 2220(C≡N); 1717(OC=O); 1600(CH-Ar); 1514(HC=C<).

RMN-¹H, 270 MHz, CDCl₃ δ: 1,38(*t*, 3H, CH₂CH₃); 4,35(*c*, 2H, CH₂CH₃); 7,18(*td*, 2H, $J_{H3',H2'}=8,80$; $J_{H3',F}=8,30$ y $J_{H3',H5'}=1,80$ Hz, **F, H3', H5'**); 8,02(*td*, 2H, $J_{H2',H3'}=8,80$; $J_{H2',F}=6,20$ y $J_{H2',H6'}=1,80$ Hz, **F, H2', H6'**); 8,19(*s*, 1H, **H3**).

RMN-¹³C, 69 MHz, CDCl₃, δ: 14,15(**CH₃**); 62,77(**CH₂**); 102,93(**C2**); 115,36(**CN**); 116,90(**C3', C5'**); 128,00(**C1'**); 133,56(**C2', C6'**); 153,35(**C3**); 163,57(**C4'**); 167,52(**C=O**).

VI.4.1.c. (E)-2-ciano-4'-clorocinamato de etilo (1c):



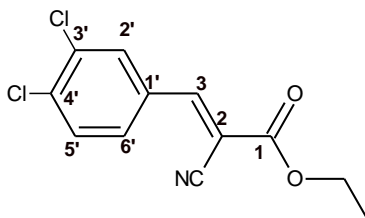
Sólido verde claro opaco. **R:** 96%. **P.f:** 80-82 °C.

IR (KBr) cm^{-1} : 2996(CH_2CH_3); 2216($\text{C}\equiv\text{N}$); 1715($\text{OC}=\text{O}$); 1600(CH-Ar); 1510($\text{HC}=\text{C}<$).

RMN- ^1H , 270 MHz, CDCl_3 δ : 1,36(*t*, 3H, CH_2CH_3); 4,36(*c*, 2H, CH_2CH_3); 7,48(*dd*, 2H, $J_{\text{H}3',\text{H}2'}=8,42$ y $J_{\text{H}3',\text{H}5'}=2,21\text{Hz}$, **H3',H5'**); 7,94(*dd*, 2H, $J_{\text{H}2',\text{H}3}=8,42$ y $J_{\text{H}2',\text{H}6}=2,21$ Hz, **H2',H6'**); 8,19(*s*, 1H, **H3**).

RMN- ^{13}C , 69 MHz, CDCl_3 , δ : 14,15(CH_3); 62,86(CH_2); 103,72(**C2**); 115,25(**CN**); 129,72(**C3',C5'**); 130,00(**C1'**); 132,20(**C2',C6'**); 139,59(**C4'**); 153,29(**C3**); 162,17(**C=O**).

VI.4.1.d. (E)-2-ciano-3',4'-diclorocinamato de etilo (1d):



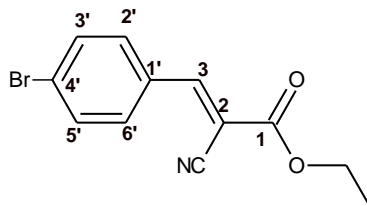
Sólido verde claro brillante. **R:** 97%. **P.f:** 120-122 °C.

IR (KBr) cm^{-1} : 2980(CH_2CH_3); 2216($\text{C}\equiv\text{N}$); 1715($\text{OC}=\text{O}$); 1606(CH-Ar); 1510($\text{HC}=\text{C}<$).

RMN- ^1H , 270 MHz, CDCl_3 δ : 1,38(*t*, 3H, CH_2CH_3); 4,39(*c*, 2H, CH_2CH_3); 7,58(*d*, 1H, $J_{\text{H}5',\text{H}6}=8,40$ Hz, **H5'**); 7,98(*dd*, 1H, $J_{\text{H}6',\text{H}5'}=10,08$ y $J_{\text{H}6',\text{H}2'}=2,21$ Hz, **H6'**); 7,99(*d*, 1H, $J_{\text{H}2',\text{H}6'}=1,97$ Hz, **H2'**); 8,13(*s*, 1H, **H3**).

RMN- ^{13}C , 69 MHz, CDCl_3 , δ : 14,11(CH_3); 63,34(CH_2); 107,64(**C2**); 114,45(**CN**); 123,00(**C5'**); 125,99(**C6'**); 128,00(**C2'**); 129,99(**C1'**); 132,00(**C3'**); 137,01(**C4'**); 152,00(**C3**); 161,70(**C=O**).

VI.4.1.e. (E)-2-ciano-4'-bromocinamato de etilo (1e):



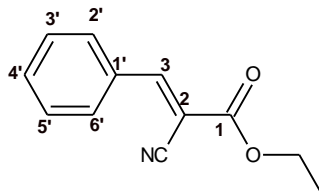
Sólido agujas verde-amarillentas. **R:** 95%. **P.f:** 86-88 °C.

IR (KBr) cm^{-1} : 2984(CH_2CH_3); 2208($\text{C}\equiv\text{N}$); 1715($\text{OC}=\text{O}$); 1608(CH-Ar); 1515 ($\text{C}=\text{C}<$).

RMN- ^1H , 270 MHz, CDCl_3 δ : 1,38(*t*, 3H, CH_2CH_3); 4,36(*c*, 2H, CH_2CH_3); 7,65(*dd*, 2H, $J_{\text{H}3',\text{H}2'}=8,39$ y $J_{\text{H}3',\text{H}5'}=1,72$ Hz, **H3',H5'**), 7,84(*dd*, 2H, $J_{\text{H}6',\text{H}5'}=8,39$ y $J_{\text{H}6',\text{H}2'}=1,72$ Hz, **H2',H6'**); 8,17(*s*, 1H, **H3**).

RMN- ^{13}C , 69 MHz, CDCl_3 , δ : 14,21(**CH₃**); 62,43(**CH₂**); 99,69(**C2**); 112,11(**CN**); 124,80(**C1'**); 127,73(**C3',C5'**); 132,70(**C2',C-6'**); 149,54(**C4'**); 154,57(**C3**); 163,12(**C=O**).

VI.4.1.f. (E)-2-ciano-cinamato de etilo (1f):



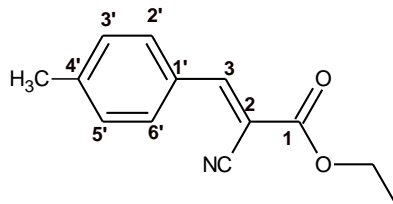
Sólido cristales verde vítrificado. **R:** 98%. **P.f:** 38-40 °C.

IR (KBr) cm^{-1} : 2992(CH_2CH_3); 2208($\text{C}\equiv\text{N}$); 1715($\text{OC}=\text{O}$); 1606(CH-Ar); 1510($\text{HC}=\text{C}<$)

RMN- ^1H , 270 MHz, CDCl_3 δ : 1,38(*t*, 3H, CH_2CH_3); 4,36(*c*, 2H, CH_2CH_3); 7,52(*m*, 3H, **H3',H4',H5'**); 7,97(*dd*, 2H, $J_{\text{H}2',\text{H}3'}=7,67$ y $J_{\text{H}2',\text{H}4'}=1,98$ Hz, **H2',H6'**); 8,24(*s*, 1H, **H3**).

RMN- ^{13}C , 69 MHz, CDCl_3 , δ : 14,16(**CH₃**); 62,71(**CH₂**); 103,43(**C2**); 115,41(**CN**); 129,00(**C3',C5'**); 132,00(**C2',C6'**); 132,20(**C1'**); 133,80(**C4'**); 155,90(**C3**); 163,53(**C=O**).

VI.4.1.g. (E)-2-ciano-4'-metilcinamato de etilo (1g):



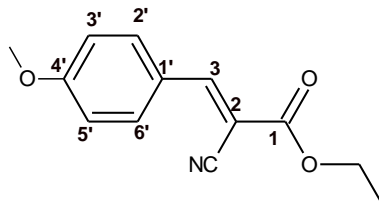
Sólido agujas verde claro. **R:** 99%. **P.f:** 110-112 °C.

IR (KBr) cm^{-1} : 3000(CH_2CH_3); 2208($\text{C}\equiv\text{N}$); 1718($\text{OC}=\text{O}$); 1594(CH-Ar); 1507($\text{HC}=\text{C}<$).

RMN- ^1H , 270 MHz, CDCl_3 δ : 1,38(*t*, 3H, CH_2CH_3); 2,42(*s*, 3H, CH_3); 4,38(*c*, 2H, CH_2CH_3); 7,29(*dd*, 2H, **H3',H5'**, $J_{\text{H3}'\text{H2}'}=8,15$ y $J_{\text{H3}'\text{H5}'}=2,70$ Hz) 7,89(*dd*, 2H, **H2',H6'**, $J_{\text{H3}'\text{H2}'}=8,15$ y $J_{\text{H3}'\text{H5}'}=2,68$ Hz); 8,20(*s*, 1H, **H3**).

RMN- ^{13}C , 69 MHz, CDCl_3 , δ : 14,18(CH_3); 21,83($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$); 62,58(CH_2); 101,70(**C2**); 115,65(**CN**); 129,14(**C1'**); 130,06(**C3',C5'**); 131,26(**C2',C6'**); 144,60(**C4'**); 155,00(**C3**); 162,30(**C=O**).

VI.4.1.h. (E)-2-ciano-4'-metoxycinamato de etilo (1h):



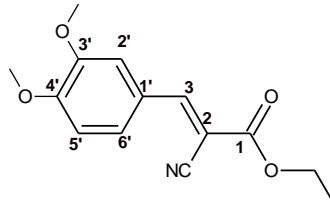
Sólido blanco. **R:** 94%. **P.f:** 68-70 °C.

IR (KBr) cm^{-1} : 2988(CH_2CH_3); 2208($\text{C}\equiv\text{N}$); 1712($\text{OC}=\text{O}$); 1584(CH-Ar); 1510($\text{HC}=\text{C}<$).

RMN- ^1H , 270 MHz, CDCl_3 δ : 1,38(*t*, 3H, CH_2CH_3); 3,88(*s*, 3H, OCH_3); 4,37(*c*, 2H, CH_2CH_3); 6,98(*dd*, 2H, $J_{\text{H3}'\text{H2}'}=8,91$ y $J_{\text{H3}'\text{H5}'}=2,00$ Hz, **H3',H5'**); 7,99(*dd*, 2H, $J_{\text{H2}'\text{H3}'}=8,64$ y $J_{\text{H2}'\text{H6}'}=1,73$ Hz, **H2',H6'**); 8,16(*s*, 1H, **H3**).

RMN- ^{13}C , 69 MHz, CDCl_3 , δ : 14,21(CH_3); 55,63(OCH_3); 62,42(CH_2); 99,75(**C2**); 114,85(**C3',C5'**); 116,17(**CN**); 124,53(**C1'**); 133,63(**C2',C6'**); 154,30(**C3**); 163,14(**C=O**); 163,87(**C4'**).

VI.4.1.i. (*E*)-2-ciano-3',4'-dimetoxicinamato de etilo (**1i**):



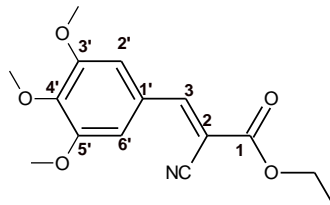
Sólido blanco. **R**: 93%. **P.f**: 150-152 °C.

IR (KBr) cm⁻¹: 2976(CH₂CH₃); 2216(C≡N); 1710(OC=O); 1600(CH-Ar);
1510(HC=C<)

RMN-¹H, 270 MHz, CDCl₃ δ: 1,38(*t*, 3H, CH₂CH₃); 3,95(*s*, 6H, 2OCH₃); 4,37(*c*, 2H, CH₂CH₃); 6,93(*d*, 1H, *J*_{H5'H6'}=8,64 Hz, **H5'**); 7,46(*dd*, 1H, *J*_{H6'H5'}=8,64 y *J*_{H6'H2'}=2,21 Hz, **H6'**); 7,78(*d*, 1H, *J*_{H2'H6'}=2,24 Hz, **H2'**); 8,14(*s*, 1H, **H3**).

RMN-¹³C, 69 MHz, CDCl₃, δ: 14,17(CH₃); 56,00(2OCH₃); 62,90(CH₂); 103,92(**C2**); 115,27(CN); 128,26(**C1'**); 130,42(**C5'**); 132,23(**C6'**); 132,74(**C2'**); 147,00(**C3'**); 151,00(**C3**); 153,43(**C4'**); 162,24(C=O).

VI.4.1.j. (*E*)-2-ciano-3',4',5'-trimetoxicinamato de etilo (**1j**):



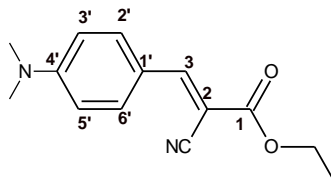
Sólido agujas amarillas brillantes. **R**: 85%. **P.f**: 72-74 °C.

IR (KBr) cm⁻¹: 2976(CH₂CH₃); 2208(C≡N); 1731(OC=O); 1600(CH-Ar);
1497(HC=C<)

RMN-¹H, 270 MHz, CDCl₃ δ: 1,38(*t*, 3H, CH₂CH₃); 3,90(*s*, 6H, 2OCH₃); 3,94(*s*, 3H, OCH₃); 4,38(*c*, 2H, CH₂CH₃); 7,28(*d*, 2H, **H2'H6'**); 8,13(*s*, 1H, **H3**).

RMN-¹³C, 69 MHz, CDCl₃, δ: 14,23(CH₃); 56,41(CH₂); 61,13(OCH₃); 62,66(2OCH₃); 101,47(**C2**); 108,83(**C2',C6'**); 115,90(CN); 126,63(**C1'**); 142,97(**C3',C5'**); 153,40(**C3**); 154,79(**C4'**); 162,79(C=O).

VI.4.1.k. (E)-2-ciano-4'-N,N-dimetilaminocinamato de etilo (1k):



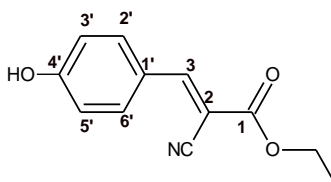
Sólido cristales anaranjados brillantes. **R:** 97%. **P.f:** 140-142 °C.

IR (KBr) cm⁻¹: 2984(CH₂CH₃); 2208(C≡N); 1727(OC=O); 1600(CH-Ar),
1510(HC=C<).

RMN-¹H, 270 MHz, CDCl₃ δ: 1,38(*t*, 3H, CH₂CH₃); 3,09(*s*, 6H, N(CH₃)₂); 4,31(*c*, 2H, CH₂CH₃); 6,72(*dd*, 2H, **H3',H5'**, *J*_{H3'H2'}=8,91 y *J*_{H3'H5'}=2,70 Hz); 7,93(*dd*, 2H, **H2',H6'**, *J*_{H3'H2'}=8,67 y *J*_{H3'H5'}=2,70 Hz); 8,06(*s*, 1H, **H3**).

RMN-¹³C, 69 MHz, CDCl₃, δ: 14,27(CH₃); 39,60(N(CH₃)₂); 56,41(CH₂); 101,47(C2);
112,15(C3',C5'); 116,00(CN); 126,62(C1'); 134,00(C2',C6'); 154,38(C3);
155,00(C4'); 162,80(C=O).

VI.4.1.l. (E)-2-ciano-4'-hidroxicinamato de etilo (1l):



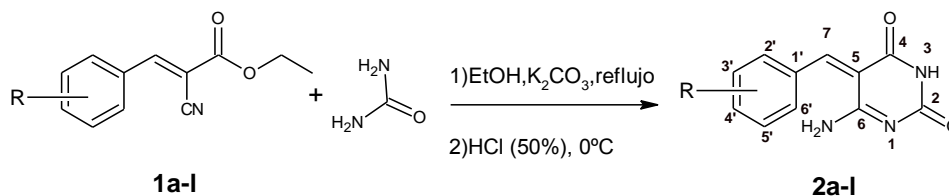
Sólido marrón claro. **R:** 90%. **P.f:** 212-214 °C.

IR (KBr) cm⁻¹: 3640(OH); 2992(CH₂CH₃); 2224(C≡N); 1729(OC=O); 1600(CH-Ar),
1510(HC=C<).

RMN-¹H, 270 MHz, CDCl₃ δ: 1,38(*t*, 3H, CH₂CH₃); 4,35(*c*, 2H, CH₂CH₃); 6,25(*ba*, 1H, OH);
6,96(*dd*, 2H, **H3',H5'**, *J*_{H2'H3'}=8,88 y *J*_{H2'H6'}=2,21 Hz); 7,96(*dd*, 2H, **H2',H6'**, *J*_{H2'H3'}=8,88 y *J*_{H2'H6'}=2,21 Hz); 8,18(*s*, 1H, **H3**).

RMN-¹³C, 69 MHz, CDCl₃, δ: 14,21(CH₃); 62,58(CH₂); 99,35(C2); 116,15(CN);
116,50(C3',C5'); 124,51(C1'); 133,89(C2',C6'); 154,79(C3); 160,76(C4');
163,13(C=O).

VI.4.2 Procedimiento general para la síntesis de los derivados (*E*)-6-amino-5-arildenpirimidin-(3*H*,5*H*)-2,4-dionas (**2a-l**) y caracterización



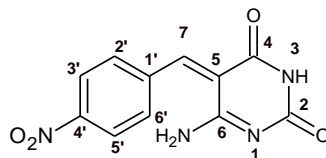
En un balón redondo de dos bocas 50 mL provisto de tapa, un refrigerante, agitación magnética y calentamiento, se colocaron urea y carbonato de potasio cantidades equimolares en etanol anhidro (10 mL) y se calentó a reflujo hasta la formación de una solución transparente amarillenta (30 m). Luego se agregó cuidadosamente 100 mg del derivado **1** respectivo. En la tabla 2, se muestran las cantidades de los reactantes utilizados en cada caso.

1	mg	mmoles	Urea		K ₂ CO ₃	
			mg	mmoles	mg	Mmoles
a	100	0,40	78	1,20	170	1,20
b	100	0,46	80	1,38	190	1,38
c	100	0,42	80	1,38	170	1,20
d	100	0,37	70	1,11	150	1,11
e	100	0,36	60	1,08	150	1,08
f	100	0,50	90	1,50	210	1,50
g	100	0,47	80	1,50	190	1,50
h	100	0,43	80	1,38	180	1,38
i	100	0,38	70	1,11	160	1,11
j	100	0,35	60	1,05	140	1,05
k	100	0,41	70	1,11	170	1,11
l	100	0,46	80	1,38	190	1,38

Tabla 2. Cantidad en g y mmoles de **1a-l**, urea y K₂CO₃ utilizados para la síntesis de los derivados de 6-amino-5-arildenpirimidin-(3*H*,5*H*)-2,4-dionas **2a-l**

La mezcla de reacción se dejó agitando en reflujo por 24 h, obteniéndose una sal. La sal se filtró inmediatamente sin dejar enfriar y fue lavada con pequeñas cantidades de etanol frío, luego acetona y se dejó secar en estufa al vacío. De esta sal se aislaron 5 mg para pruebas antimicrobianas. El resto se disolvió en agua (10 mL), el sólido no disuelto se separó por filtración a gravedad. La solución se colocó en un baño de hielo y fue acidificada con solución de HCl 50 % v/v, gota a gota hasta la precipitación de un sólido (pH = 5). El sólido resultante fue filtrado y lavado con agua y recristalizado en etanol caliente con algunas gotas de DMF, hasta lograr que todo el compuesto se disolviera. El sólido remanente se filtró en caliente. El filtrado se dejó enfriar lentamente, formándose nuevamente un sólido, que fue filtrado, lavado con agua y secado en estufa al vacío. Una vez seco, se determinó el punto de fusión de cada compuesto recristalizado. Se registraron los espectros de: IR; ^1H RMN y ^{13}C RMN (en 1D y 2D) de los productos **2a-l**.

VI.4.2.a. (E)-6-amino-5-(4'-nitrobenziliden)-pirimidin-(3H,5H)-2,4-diona (2a):



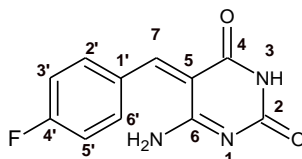
Sólido cristales rojizos. **R:** 90%. **P.f:** 130-134 °C

IR (KBr) cm⁻¹: 3750, 3675(NH₂); 3265(NH); 1715(C=O, C2); 1680(C=O, C4); 1600(CH-Ar), 1504(C=C).

RMN-¹H, 270 MHz, DMSOd₆ δ: 5,39(s, 2H NH₂); 6,92(dd, 2H, *J*_{H2'H3'}=8,10 y *J*_{H2'H5'}=1,99Hz, **H2',H6'**); 7,35(dd, 2H, *J*_{H3'H2'}=8,00 y *J*_{H3'H5'}=1,98 Hz, **H3',H5'**); 8,30(s, 1H, **H7**); 10,12(sa, 1H, NH).

RMN-¹³C, 69 MHz, DMSOd₆, δ: 116,31(**C5**); 126,56(**C3',C5'**); 129,00(**C2',C6'**); 139,00(**C1'**); 148,83(**C4'**); 150,90(**C7**); 161,00(C=O,C2); 162,00(C=O,C4); 166,00(**C6**).

VI.4.2.b. (E)-6-amino-5-(4'-fluorbenzilideno)-pirimidin-(3H,5H)-2,4-diona (2b):



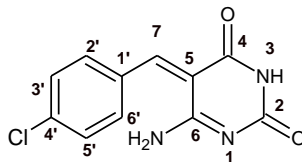
Sólido agujas amarillas. **R:** 88%. **P.f:** 258 °C (descomposición).

IR (KBr) cm⁻¹: 3536, 3461(NH₂); 3265(NH); 1721(C=O, C2); 1680(C=O, C4); 1593(CH-Ar); 1510(C=C).

RMN-¹H, 270 MHz, DMSOd₆ δ: 5,77(s, 2H, NH₂, intercambio con D₂O); 7,41(ddd, 2H, *J*_{H2',H3'}=8,80 y *J*_{H2',F}=8,30, *J*_{H2',H6'}=1,99 Hz, **1F,H3',H5'**); 7,60(ddd, 2H, *J*_{H3'H2'}=8,80, *J*_{H3'F}=6,20 y *J*_{H3'5'}=1,99 Hz, **1F,H2',H6'**); 7,61(s,1H, **H7**); 7,89-8,07(ba, 1H, NH, intercambio con D₂O).

RMN-¹³C, 69 MHz, DMSOd₆, δ: 115,94(**C5**); 116,45(**C3',C5'**); 131,47(**C2',C6'**); 131,56(**C1'**); 154,23(**C7**); 160,35(C=O,C2); 161,68(**C4'**); 164,89(C=O,C4); 166,23(**C6**).

VI.4.2.c. (E)-6-amino-5-(4'-clorobenciliden)-pirimidin-(3H,5H)-2,4-diona (2c):



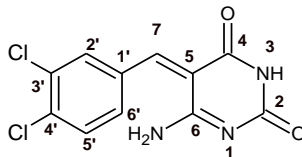
Sólido blanco. **R:** 87%. **P.f:** 240 °C (descomposición).

IR (KBr) cm⁻¹: 3536, 3461(NH₂); 3265(NH), 1792(C=O, C2); 1685(C=O, C4); 1600(CH-Ar); 1510(C=C).

RMN-¹H, 270 MHz, DMSOd₆ δ: 5,77(s, 2H, NH₂); 7,53(dd, 2H, *J*_{H3'H2'}=8,10 y *J*_{H3'H5'}=2,00 Hz, **H3',H5'**); 8,08(dd, 2H, *J*_{H2'H3'}=8,10 Hz y *J*_{H2'H6'}=2,00 Hz, **H2',H6'**); 8,34(s, 1H, **H7**); 8,99(*ba*, 1H, NH).

RMN-¹³C, 69 MHz, DMSOd₆, δ: 117,00(**C5**); 125,25(**C1'**); 129,98(**C3',C5'**); 132,03(**C2',C6'**); 135,99(**C4'**); 145,00(**C7**); 160,35(C=O,C2); 161,99(C=O,C4); 166,43(**C6**).

VI.4.2.d. (E)-6-amino-5-(3',4'-diclorobenciliden)-pirimidin-(3H,5H)-2,4diona (2d):



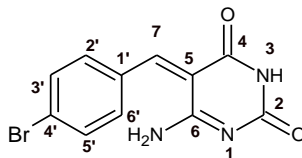
Sólido blanco. **R:** 85%. **P.f:** 172-174 °C.

IR (KBr) cm⁻¹: 3744, 3644(NH₂); 3287(NH); 1715(C=O, C2); 1680(C=O, C4); 1575(CH-Ar); 1510(C=C).

RMN-¹H, 270 MHz, DMSOd₆, δ: 5,22(s, 2H, NH₂); 7,55(dd, 1H, *J*_{H6'H5'}=8,10 y *J*_{H6'H2'}=2,00 Hz, **H6'**); 7,77(*d*, 1H, *J*_{H2'H6'}=2,00 Hz, **H2'**); 7,98(*d*, 1H, *J*_{H5'H6'}=8,41Hz, **H5'**); 8,04(s, 1H, **H7**); 9,89(*sa*, 1H, NH).

RMN-¹³C, 69 MHz, DMSOd₆, δ: 116,24(**C5**); 124,00(**C1'**); 131,03(**C6'**); 131,47(**C2'**); 131,56(**C5'**); 134,98(**C3'**); 135,50(**C4'**); 146,00(**C7**); 160,00(C=O,C2); 164,89(C=O,C4); 166,30(**C6**).

VI.4.2.e. (E)-6-amino-5-(4'-bromobenciliden)-pirimidin-(3H,5H)-2,4-diona (2e):



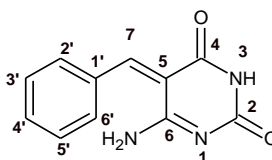
Sólido cristales amarillo claro. **R:** 87%. **P.f:** 206-210 °C.

IR (KBr) cm⁻¹: 3744,3638(NH₂); 3265(NH); 1715(C=O, C2); 1680(C=O, C4); 1578(CH-Ar); 1510(C=C).

RMN-¹H, 270 MHz, DMSOd₆ δ: 5,75(s, 2H, NH₂); 7,57(dd, 2H, *J*_{H₂'H₃'}=8,10 y *J*_{H₂'H₆'}=2,23 Hz, H3',H5'); 7,98(dd, 2H, *J*_{H₃'H₂'}=8,10 y *J*_{H₃'H₅'}=2,23 Hz, H2',H6'); 8,57(s, 1H, H7); 9,72(*ba*, 1H, NH).

RMN-¹³C, 69 MHz, DMSOd₆, δ: 116,99(C5); 125,00(C1'); 128,00(C3',C5'); 129,00(C4'); 129,99(C2',C6'); 149,54(C7); 158,00(C=O,C2); 162,13(C=O,C4); 165,99(C6).

VI.4.2.f. (E)-6-amino-5-bencililiden-pirimidin-(3H,5H)-2,4-diona (2f):



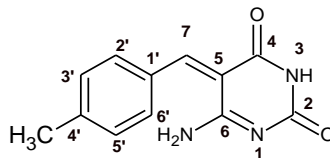
Sólido cristales beige. **R:** 80%. **P.f:** 162-164 °C.

IR (KBr) cm⁻¹: 3800,3750(NH₂); 3265(NH); 1715(C=O, C2); 1682(C=O, C4); 1600(CH-Ar); 1510(C=C).

RMN-¹H, 270 MHz, CDCl₃ δ: 4,72(s, 2H, NH₂); 7,55(*m*, 3H, H3',H4',H5'); 7,93(*m*, 2H, H2',H6'); 8,22(s, 1H, H7); 13,00(s, 1H, NH).

RMN-¹³C, 69 MHz, CDCl₃, δ: 117,01(C5); 128,01(C3',C5'); 129,15(C2',C6'); 131,12(C1'); 133,15(C4'); 145,23(C7); 159,00(C=O,C2); 163,12(C=O,C4); 165,23(C6).

VI.4.2.g. (*E*)-6-amino-5-(4'-metilbencililiden)-pirimidin-(3*H*,5*H*)-2,4-diona (2g):



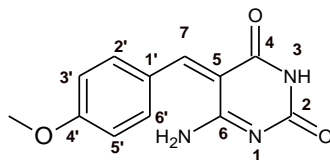
Sólido agujas verdes. **R:** 90%. **P.f:** 202-204 °C.

IR (KBr) cm⁻¹: 3530, 3445(NH₂) 3294(NH); 1715(C=O, C2); 1680(C=O, C4); 1586(CH-Ar); 1510(C=C).

RMN-¹H, 270 MHz, DMSO-d₆ δ: 2,42(s, 3H, CH₃), 5,71(s, 2H, NH₂); 7,20(dd, 2H, *J*_{H3'H2'}=10,55 y *J*_{H3'H5'}=1,98 Hz, **H3',H5'**); 8,13(dd, 2H, *J*_{H2'H3'}=10,55 y *J*_{H2'H6'}=1,98 Hz, **H2',H6'**); 8,57(s, 1H, **H7**); 9,88(s, 1H, NH).

RMN-¹³C, 69 MHz, DMSO-d₆, δ: 21,82(CH₃); 117,02(C5); 127,73(C3',C5'); 129,00(C1'), 130,66(C2',C6'); 142,00(C4'); 149,54(C7); 158,00(C=O,C2); 161,13(C=O,C4); 165,99(C6).

VI.4.2.h. (*E*)-6-amino-5-(4'-metoxibencililiden)-pirimidin-(3*H*,5*H*)-2,4-diona (2h):



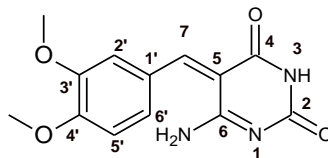
Sólido beige. **R:** 85%. **P.f:** 160 °C (descomposición).

IR (KBr) cm⁻¹: 3880, 3780(NH₂) 3264(NH); 1715(C=O, C2); 1688(C=O, C2); 1584(CH-Ar); 1510(C=C).

RMN-¹H, 270 MHz, DMSO-d₆ δ: 3,84(s, 3H, OCH₃); 5,43(s, 2H, NH₂); 6,60(dd, 2H, *J*_{H3'H2'}=8,41 y *J*_{H3'H5'}=1,98 Hz, **H3',H5'**); 7,70(dd, 2H, *J*_{H2'H3'}=8,41 y *J*_{H2'H6'}=1,98 Hz, **H2',H6'**); 7,79(s, 1H, **H7**); 9,88(sa, 1H, NH).

RMN-¹³C, 69 MHz, DMSO-d₆, δ: 55,63(OCH₃); 114,95(C3',C5'); 116,20(C5); 124,54(C1'); 133,63(C2',C6'); 139,99(C4'); 148,00(C7); 163,14(C=O,C2); 163,87(C=O,C4); 165,01(C6).

VI.4.2.i. (*E*)-6-amino-5-(3',4'-dimetoxibenciliden)-pirimidin-(3*H*,5*H*)-2,4diona (2i):



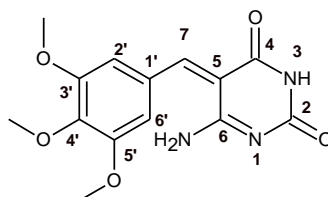
Sólido amarillo. **R:** 60%. **P.f:** 170-172 °C.

IR (KBr) cm^{-1} : 3680,3581(NH₂) 3270(NH); 1715(C=O, C2); 1682(C=O, C4); 1584(CH-Ar); 1510(C=C).

RMN-¹H, 270 MHz, DMSO-d₆ δ : 3,79(s, 3H, OCH₃); 3,83(s, 3H, OCH₃); 5,78(s, 2H, NH₂ intercambia con D₂O); 7,08(dd, 1H, $J_{\text{H6}'\text{H5}'}=7,41\text{Hz}$ y $J_{\text{H6}'\text{H2}'}=1,24\text{ Hz}$, **H6'**); 7,11(s, 1H, **H7**); 7,13-7,15(*m*, 2H, **H2'**, **H5'**); 7,94(s, 1H, NH intercambia con D₂O).

RMN-¹³C, 69 MHz, DMSO-d₆ δ : 56,14(OCH₃); 56,25(OCH₃); 112,05(**C5**); 112,82(**C6'**); 116,33(**C2'**); 122,03(**C5'**); 126,56(**C1'**); 146,72(**C7**); 148,84 (**C3'**); 150,91(**C4'**); 160,99(C=O,C2); 161,81(C=O,C4); 166,43(**C6**).

VI.4.2.j. (*E*)-6-amino-5-(3',4',5'-trimetoxibenciliden)-pirimidin-(3*H*,5*H*)-2,4-diona (2j):



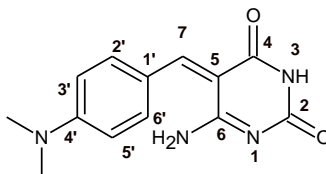
Sólido beige. **R:** 50%. **P.f:** 166 °C (descomposición)

IR (KBr) cm^{-1} : 3562,3462(NH₂); 3265(NH); 1715(C=O, C2); 1680(C=O, C4); 1588(CH-Ar); 1510(C=C).

RMN-¹H, 270 MHz, DMSO-d₆ δ : 3,94(s, 6H, 2OCH₃); 3,96(s, 3H, OCH₃); 5,78(s, 2H, NH₂); 6,64(s, 1H, **H2'**,**H6'**); 8,39(s, 1H, **H7**); 9,88(s, 1H, NH).

RMN-¹³C, 69 MHz, DMSO-d₆ δ : 61,13; (2OCH₃); 62,66(OCH₃); 108,83(**C2'**,**C6'**); 117,13(**C5**); 132,03(**C1'**); 145,15(**C7**); 153,04(**C3'**,**C5'**); 154,80(**C4'**); 160,00(C=O,C2); 162,78(C=O,C4); 166,00(**C6**).

VI.4.2.k. (*E*)-6-amino-5-(4'-*N,N*-dimetilaminobenciliden)-pirimidin-(3*H*,5*H*)-2,4-diona (2K):



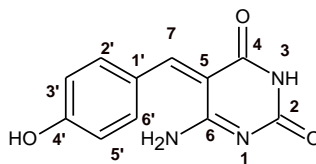
Sólido cristales anaranjados. **R:** 90%. **P.f:** 216-218 °C.

IR (KBr) cm⁻¹: 3565,3465(NH₂); 3294(NH); 1715(C=O, C2); 1688(C=O, C4); 1606(CH-Ar); 1510(C=C).

RMN-¹H, 270 MHz, CDCl₃ δ: 3,06(s, 6H, [NCH₃]); 5,65(s, 2H, NH₂, intercambio con D₂O); 7,00(dd, 2H, *J*_{H3'H2'}=8,59 y *J*_{H3'H5'}=1,65 Hz, **H3,H5'**); 7,55(dd, 2H, *J*_{H2'H3'}=8,91 y *J*_{H2'H6'}=1,97 Hz, **H2',H6'**); 8,46(s, 1H, **H7**); 9,60(*ba*, 1H, NH, intercambio con D₂O).

RMN-¹³C, 69 MHz, CDCl₃, δ: 40,20[(N(CH₃)₂); 111,87(**C3',C5'**); 116,01(**C5**); 120,00(**C1'**); 133,85(**C2',C6'**); 145,00(**C7**); 152,00(**C4'**); 158,00(C=O,C2); 165,00(C=O,C4); 168,00(**C6**).

VI.4.2.l. (*E*)-6-amino-5-(4'-hidroxibenciliden)-pirimidin-(3*H*,5*H*)-2,4-diona (2l):



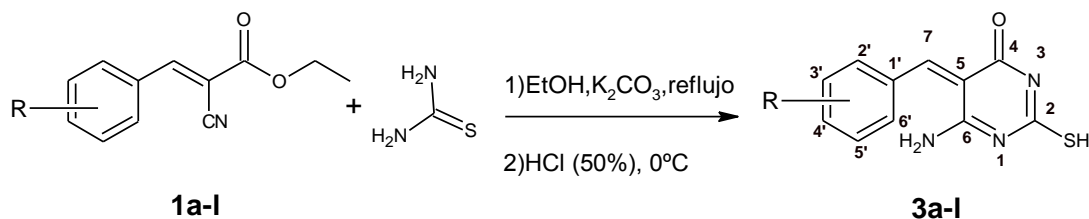
Sólido cristales marrón oscuro. **R:** 89%. **P.f:** : 250-254° C.

IR (KBr) cm⁻¹: 3780-3400(OH, NH₂, NH); 1715(C=O, C2); 1670(C=O, C4); 1590(CH-Ar); 1510(C=C).

RMN-¹H, 270 MHz, CDCl₃ δ: 5,25(s, 3H, OH, NH₂); 6,91(dd, 2H, *J*_{H3'H2'}=8,66 y *J*_{H3'H5'}=2,23 Hz, **H3',H5'**); 7,35(dd, 2H, *J*_{H2'H6'}=8,91 y *J*_{H2'H6'}=2,20 Hz, **H2',H6'**); 8,29(s, 1H, **H7**); 10,12(*ba*, 1H, NH).

RMN-¹³C, 69 MHz, CDCl₃, δ: 112,01(**C3',C5'**); 116,97(**C5**); 120,00(**C1'**); 134,01(**C2',C6'**); 145,00(**C7**); 158,02(C=O,C2); 160,01(**C4'**); 162,90(C=O,C4); 165,94(**C6**).

VI.4.3 Procedimiento general para la síntesis de los derivados (*E*)-6-amino-5-arilden-2-mercaptopirimidin-(5*H*)-4-ona (**3a-l**) y caracterización.



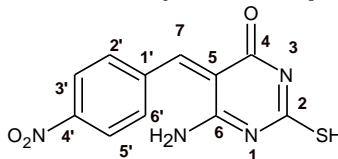
En un balón redondo de dos provisto de un agitador magnético y equipo de reflujo, se agregaron tiourea y carbonato de potasio en cantidades equimolares (Tabla 3), etanol anhidro (10 mL), dejándose agitando bajo reflujo por 30m, y luego se añadió cuidadosamente el respectivo cianocinamato **1a-l**, 100mg suspendidos en etanol (5mL) (tabla 3). Una vez que se añadió el cianocinamato, todos los componentes se disolvieron por completo, se continuo la reacción bajo reflujo por 24-48h. La sal formada en esta etapa, fue filtrada y lavada con etanol y secada en estufa al vacío.

Cinamato 1	mg	mmoles	tiourea		K ₂ CO ₃	
			mg	mmoles	mg,	mmoles
a	100	0,40	90	1,20	0,17	1,20
b	100	0,46	110	1,38	0,19	1,38
c	100	0,42	100	1,26	0,17	1,20
d	100	0,37	90	1,11	0,15	1,11
e	100	0,36	80	1,08	0,15	1,08
f	100	0,50	110	1,50	0,21	1,50
g	100	0,47	110	1,41	0,19	1,50
h	100	0,43	100	1,29	0,18	1,38
i	100	0,38	90	1,14	0,16	1,11
j	100	0,35	80	1,05	0,14	1,05
k	100	0,41	100	1,23	0,17	1,11
l	100	0,46	119	1,38	0,19	1,38

Tabla 3. Cantidad en g y mmoles de **1a-l**, tiourea y K₂CO₃ utilizados para la síntesis de los derivados de 6-amino-5-arilden-pirimidin-2-mercapto-(5*H*)-4-ona **3a-l**

De la sal formada, se aislaron 5 mg para pruebas antimicrobianas. La sal restante fue disuelta en agua (10mL) y fue colocada en baño de hielo para acidificar con HCl al 50% v/v hasta pH = 5, formándose un sólido, que fue filtrado y lavado con agua suficiente para eliminar trazas de ácido y luego con etanol frío. Se secó al aire y fue recristalizado en etanol caliente. A los productos obtenidos se les determinaron los puntos de fusión. Se registraron los espectros de IR, RMN ^1H y RMN ^{13}C junto con experimentos 2D (HETCOR y DEPT 135 $^\circ$) para corroborar las estructuras obtenidas **3a-I**. Los datos extraídos se describen a continuación:

VI.4.3.a. (E)-6-amino-5-(4'-nitrobenziliden)-2-mercapto-pirimidin-(5H)-4-ona (3a):



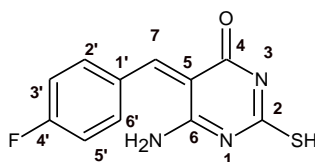
Sólido cristales marrón oscuro. **R:** 90%. **P.f:** 202-204 °C.

IR (KBr) cm⁻¹: 3750 y 3650, (2 bandas NH₂); 2576(SH); 1641(C=O,C4); 1600(CH-Ar); 1510(C=C).

RMN-¹H, 270 MHz, CDCl₃ δ: 3,38(s, 1H, SH); 5,22(s, 2H, NH₂); 7,55(dd, 2H, *J*_{H3'H2'}=8,91 y *J*_{H3'H5'}=2,44 Hz, H2',H6'); 7,77(dd, 2H, H3',H5', *J*_{H2'H3'}=8,91 y *J*_{H2'H6'}=2,44 Hz); 7,98 (s, 1H, H7).

RMN-¹³C, 69 MHz, CDCl₃, δ: 126,00(C3',C5'); 129,00(C5); 132,00(C2',C6'); 139,00(C1'); 149,00(C7); 150,08(C4'); 163,00(C=O); 165,50(C-NH₂); 175,00(C-SH).

VI.4.3.b (E)-6-amino-5-(4'-fluorbenziliden)-2-mercapto-pirimidin-(5H)-4-ona (3b):



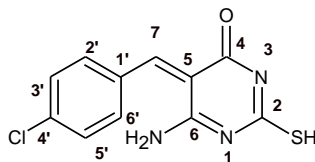
Sólido cristales blancos. **R:** 88%. **P.f:** 168-170 °C.

IR (KBr) cm⁻¹: 3625 y 3525 (2 bandas NH₂); 2500 (SH); 1660(C=O,C4), 1600(CH-Ar); 1510(C=C).

RMN-¹H, 270 MHz, CDCl₃ δ: 2,60(s, 1H, SH); 5,15(s, 2H, NH₂); 7,45(dt, 2H, *J*_{H2',H3'}=8,80; *J*_{H2',F}=6,20, *J*_{H2',H6'}=1,99 Hz, 1F,H3',H5'); 7,92(td, 2H, *J*_{H3'H2'}=8,80; *J*_{H3'F}=8,30 y *J*_{H3'5'}=1,99, 1F,H2',H6'); 8,20(s, 1H-H7).

RMN-¹³C, 69 MHz, CDCl₃, δ: 115,88(C3',C5'); 128,01(C5); 131,00(C2',C6'); 132,00(C1'); 147,00(C7); 161,00(C4'); 167,50(C=O); 173,00(C-NH₂); 176,00(C-SH).

VI.4.3.c (E)-6-amino-5-(4'-clorobenciliden)-2-mercapto-pirimidin-(5H)-4-ona (3c):



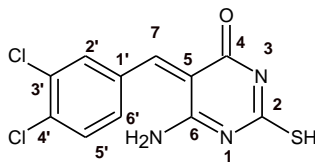
Sólido cristales blancos. **R:** 90%. **P.f:** 240 °C (descomposición).

IR (KBr) cm^{-1} : 3372 y 3272(2 bandas NH_2); 2540 (SH); 1650($\text{C}=\text{O}$,C4); 1599(CH-Ar); 1510($\text{C}=\text{C}$).

RMN- ^1H , 270 MHz, CDCl_3 δ : 3,65(s, 1H, SH); 4,97(s, 2H, NH_2); 7,39(dd, 2H, $J_{\text{H}_3'\text{H}_2'}=8,39$ y $J_{\text{H}_3'\text{H}_5'}=1,97$ Hz, **H3',H5'**); 7,89(dd, 2H, $J_{\text{H}_2'\text{H}_3'}=8,40$ y $J_{\text{H}_2'\text{H}_5'}=1,97$ Hz, **H2',H6'**); 8,18(s, 1H, **H7**).

RMN- ^{13}C , 69 MHz, CDCl_3 , δ : 125,99(**C5**); 126,00(**C1'**); 130,00(**C3',C5'**); 134,00(**C2',C6'**); 137,00(**C4'**); 146,00(**C7**); 160,50($\text{C}=\text{O}$); 162,00(**C6**); 170,50(**C2**).

VI.4.3.d (E)-6-amino-5-(3',4'-diclorobenciliden)-2-mercapto-pirimidin-(5H)-4-ona (3d):



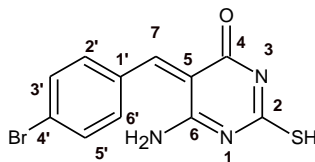
Sólido blanco. **R:** 85%. **P.f:** 176-178 °C

IR (KBr) cm^{-1} : 3436 y 3336(2 bandas NH_2); 2599(SH); 1680($\text{C}=\text{O}$, C4); 1598(CH-Ar); 1510($\text{C}=\text{C}$).

RMN- ^1H , 270 MHz, CDCl_3 δ : 3,39(s, 1H, SH intercambio con D_2O); 5,59(s, 2H, NH_2 intercambio con D_2O); 7,39(d, 1H, $J_{\text{H}_2'\text{H}_6'}=1,97$ Hz **H2'**); 7,73(dd, 1H, $J_{\text{H}_6'\text{H}_5'}=8,10$ y $J_{\text{H}_6'\text{H}_2'}=1,97$ Hz, **H6'**); 7,99(d, 1H, $J_{\text{H}_5'\text{H}_6'}=8,10$ Hz **H5'**); 8,13(s, 1H, **H7**).

RMN- ^{13}C , 69 MHz, CDCl_3 , δ : 126,56(**C5**); 129,00(**C1'**); 130,09(**C2'**); 132,00(**C6'**); 133,50(**C5'**); 135,00(**C3'**); 138,00(**C4'**); 148,00(**C7**); 160,00($\text{C}=\text{O}$); 161,81(**C6**); 170,00(**C2**).

VI.4.3.e (E)-6-amino-5-(4'-bromobenciliden)-2-mercapto-pirimidin-(5H)-4-ona (3e):



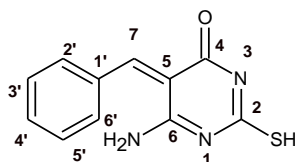
Sólido beige claro. **R:** 87%. **P.f:** 150°C (descomposición).

IR (KBr) cm⁻¹: 3373,3273(NH₂) (2 bandas); 2570(SH); 1680(C=O,C4); 1600(CH-Ar); 1510(C=C).

RMN-¹H, 270 MHz, CDCl₃ δ: 3,38(s, 1H, SH); 5,22(s, 2H, NH₂); 7,55(dd, 2H, *J*_{H3'H2'}=8,15 y *J*_{H3'H5'}=2,03 Hz, **H3',H5'**); 7,77(dd, 2H, *J*_{H2'H3'}=8,15, y *J*_{H2'H6'}=2,03 Hz, **H2',H6'**); 7,98(s, 1H, **H7**).

RMN-¹³C, 69 MHz, CDCl₃, δ: 125,01(**C5**); 129,00(**C1'**); 132,56(**C3',C5'**); 135,50(**C2',C6'**); 137,00(**C4'**); 147,00(**C7**); 162,00(C=O); 169,00(**C6**); 177,00(**C2**).

VI.4.3.f (E)-6-amino-5-benciliden-2-mercapto-pirimidin-(5H)-4-ona (3f):



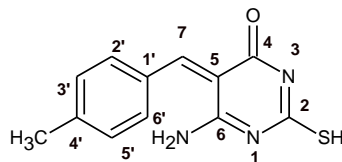
Sólido amarillo. **R:** 80%. **P.f:** 280 °C (descomposición).

IR (KBr) cm⁻¹: 3445 y 3345(NH₂); 2540(SH); 1690(C=O,C4); 1601(CH-Ar); 1510(C=C).

RMN-¹H, 270 MHz, CDCl₃ δ: 3,72(s, 1H, SH, intercambio con D₂O); 5,60(s, 2H, NH₂ intercambio con D₂O); 7,20-7,40(*m*, 3H, **H3',H4',H5'**); 7,60-7,70(*m*, 2H, **H2',H6'**); 8,00(s, 1H, **H7**).

RMN-¹³C, 69 MHz, CDCl₃, δ: 125,25(**C5**); 129,50(**C1'**); 132,03(**C3',C5'**); 134,25(**C4'**); 135,50(**C2',C6'**); 147,00(**C7**); 160,00(C=O); 165,00(**C6**); 172,00(**C2**).

VI.4.3.g (E)-6-amino-5-(4'-metilbenciliden)-2-mercapto-pirimidin-(5H)-4-ona (3g):



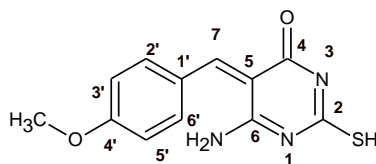
Sólido amarillo. **R:** 90%. **P.f:** 292-294 °C (descomposición).

IR (KBr) cm^{-1} : 3361 y 3261(2 bandas, NH_2); 2585(SH); 1675($\text{C}=\text{O}$,C4); 1599(CH-Ar); 1510($\text{C}=\text{C}$).

RMN- ^1H , 270 MHz, CDCl_3 δ : 2,42(s, 3H, CH_3); 3,60(s, 1H, SH); 5,20(s, 2H, NH_2); 7,52(dd, 2H, $J_{\text{H}_3'\text{H}_2'}=8,15$ y $J_{\text{H}_3'\text{H}_6'}=2,03$ Hz, H_3' , H_5'); 7,86(dd, 2H, $J_{\text{H}_2'\text{H}_3'}=8,15$ y $J_{\text{H}_2'\text{H}_6'}=2,03$ Hz, H_2' , H_6'); 8,07(s, 1H, H7).

RMN- ^{13}C , 69 MHz, CDCl_3 , δ : 22,00(CH_3); 128,00(C5); 130,00(C3',C5'); 131,50(C2',C6'); 134,00(C1'); 137,00(C4'); 146,00(C7); 161,00($\text{C}=\text{O}$); 163,00(C6); 171,00(C2).

VI.4.3.h (E)-6-amino-5-(4'-metoxibenciliden)-2-mercapto-pirimidin-(5H)-4-ona (3h):



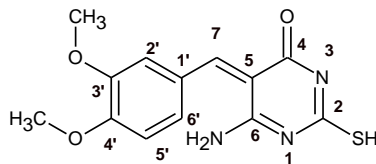
Sólido beige. **R:** 85%. **P.f:** > 300 °C.

IR (KBr) cm^{-1} : 3440 y 3340(2 bandas, NH_2); 2540(SH); 1640($\text{C}=\text{O}$,C4); 1600(CH-Ar); 1510($\text{C}=\text{C}$).

RMN- ^1H , 270 MHz, CDCl_3 δ : 3,25(s, 1H, SH); 3,85(s, 3H, OCH_3); 4,29(s, 2H, NH_2); 6,60(dd, 2H, $J_{\text{H}_3'\text{H}_2'}=8,17$ y $J_{\text{H}_3'\text{H}_6'}=1,97$ Hz, H_3' , H_5'); 6,96(dd, 2H, $J_{\text{H}_2'\text{H}_3'}=8,91$ y $J_{\text{H}_2'\text{H}_6'}=1,99$ Hz, H_2' , H_6'); 8,17(s, 1H, H7).

RMN- ^{13}C , 69 MHz, CDCl_3 , δ : 55,26(OCH_3); 124,10(C3',C5'); 127,10(C5); 129,10(C1'); 132,20(C2',C6'); 147,00(C7); 162,00(C4'); 168,00($\text{C}=\text{O}$); 169,01(C6); 170,00(C2).

VI.4.3.i (E)-6-amino-5-(3',4'-dimetoxibenciliden)-2-mercapto-pirimidin-(5H)-4-ona (3i):



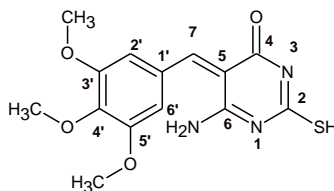
Sólido beige. **R:** 60%. **P.f:** 200-202 °C.

IR (KBr) cm^{-1} : 3440 y 3342 (2 bandas, NH_2); 2590(SH); 1655($\text{C}=\text{O}$, C4); 1601(CH-Ar); 1514($\text{C}=\text{C}$).

RMN- ^1H , 270 MHz, CDCl_3 δ : 2,42(s, 1H, SH); 3,72(s, 3H, OCH_3); 3,78(s, 3H, OCH_3); 5,03(s, 2H, NH_2); 6,93(d, 1H, $J_{\text{H}2'\text{H}6'}=1,97$ Hz, **H2'**); 7,70(dd, 1H, $J_{\text{H}6'\text{H}5'}=8,17$ y $J_{\text{H}6'\text{H}2'}=1,97$ Hz, **H6'**); 7,90(d, 1H, $J_{\text{H}5'\text{H}6'}=8,17$ Hz, **H5'**); 8,11(s, 1H, **H7**).

RMN- ^{13}C , 69 MHz, CDCl_3 , δ : 55,25(OCH_3); 55,26(OCH_3); 112,05(**C2'**); 112,82(**C6'**); 125,56(**C5**); 129,30(**C5'**); 130,04(**C1'**); 147,03(**C7**); 148,83(**C3'**); 151,00(**C4'**); 160,91($\text{C}=\text{O}$); 166,43(**C6**); 173,98(**C2**).

VI.4.3.j (E)-6-amino-5-(3',4',5'-trimetoxibenciliden)-2-mercapto-pirimidin-(5H)-4-ona (3j):



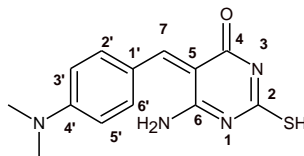
Sólido beige. **R:** 50%. **P.f:** 250°C (descomposición).

IR (KBr) cm^{-1} : 3409 y 3310 (2 bandas, NH_2); 2540(SH); 1680($\text{C}=\text{O}$,C4); 1600(CH-Ar); 1510($\text{C}=\text{C}$).

RMN- ^1H , 270 MHz, CDCl_3 δ : 3,25(s, 1H, SH); 3,80(s, 9H, 3OCH_3); 5,56(s, 2H, NH_2); 7,08(s, 2H, **H2',H6'**); 8,12(s, 1H, **H7**).

RMN- ^{13}C , 69 MHz, CDCl_3 , δ : 56,31(2OCH_3); 59,90(OCH_3); 110,20(**C2',C6'**); 128,99(**C5**); 132,00(**C1'**); 150,00(**C7**); 153,40(**C3',C5'**); 154,80(**C4'**); 168,79($\text{C}=\text{O}$); 169,00(**C6**); 172,90(**C2**).

VI.4.3.k (E)-6-amino-5-(4'-dimetilaminobenciliden)-2-mercapto-pirimidin-(5H)-4-ona (3k):



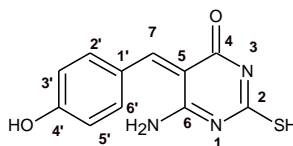
Sólido cristales amarillo brillantes. **R:** 90%. **P.f:** > 300° C (descomposición).

IR (KBr) cm⁻¹: 3400 y 3270 (2 bandas, NH₂); 2500(SH); 1673(C=O,C4); 1600(CH-Ar); 1510(C=C).

RMN-¹H, 270 MHz, CDCl₃ δ: 3,08(s, 6H, [NCH₃]); 3,60(s, 1H, SH intercambio lento con D₂O); 5,65(s, 2H, NH₂ intercambio rápido con D₂O); 6,74(dd, 2H, H_{3'},H_{5'}, J_{H_{3'}H_{2'}}=8,91 y J_{H_{3'}H_{5'}}=2,13 Hz); 7,95(dd, 2H, H_{2'},H_{6'}, J_{H_{2'}H_{3'}}=8,91 y J_{H_{2'}H_{6'}}=2,13 Hz); 8,07(s, 1H, H₇).

RMN-¹³C, 69 MHz, CDCl₃, δ: 40,20(N(CH₃)₂); 111,87(C_{3'},C_{5'}); 121,50(C₅); 133,40(C_{1'}); 134,00(C_{2'},C_{6'}); 147,00(C₇); 154,28(C_{4'}); 167,03(C=O); 172,00(C₆); 177,03(C₂).

VI.4.3.l (E)-6-amino-5-(4'-hidroxibenciliden)-2-mercapto-pirimidin-(5H)-4-ona (3l):



Sólido cristales marrones. **R:** 89%. **P.f:** 220° C (descomposición).

IR (KBr) cm⁻¹: 3400 y 3300(2 bandas, NH₂); 2540(SH); 1670(C=O, C4); 1600(CH-Ar); 1510(C=C).

RMN-¹H, 270 MHz, CDCl₃ δ: 2,30(s, 1H, SH); 5,35(s, 2H, NH₂); 6,61(ba, 1H, OH); 6,80(dd, 2H, H_{3'},H_{5'}, J_{H_{3'}H_{2'}}=8,80 y J_{H_{3'}H_{5'}}=2,03 Hz); 7,03(dd, 2H, H_{2'},H_{6'}, J_{H_{2'}H_{3'}}=8,91 y J_{H_{2'}H_{6'}}=2,05 Hz); 8,11(s, 1H, H₇).

RMN-¹³C, 69 MHz, CDCl₃, δ: 116,36(C_{3'},C_{5'}); 124,93(C₅); 129,00(C_{1'}); 130,72(C_{2'},C_{6'}); 147,03(C₇); 159,87(C_{4'}); 161,85(C=O); 166,49(C₆); 174,98(C₂).

VI.5 Evaluación de la actividad antimicrobiana de los derivados 2a-I y 3a-I

Se ensayaron los 24 compuestos finales obtenidos (**2a-I** y **3a-I**), bajo la forma de sales potásicas y en su forma neutra, para un total de 48 compuestos evaluados. Los ensayos *in vitro* se realizaron utilizando el método de difusión sobre placas de agar.⁷⁹ Las muestras fueron resuspendidas en la mezcla de solventes DMSO/H₂O/EtOH/Acetona en proporción 30:50:10:10. Se prepararon soluciones de aproximadamente 1 - 5 mg en 1 ml (C=1-5 mg/ml) y se colocaron sobre discos de papel absorbente ($\emptyset = 5$ mm, 5 μ l). La actividad biológica se evaluó contra las bacterias Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25963) y *Bacillus cereus* (ATCC 14579), y Gram-negativas: *Escherichia coli* (ATCC 35218) y *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145), y la levadura *Candida tropicalis* (MLDM 345611).

- **ATCC**: American Type Culture Collection
- **MLDM**: Micoteca Lorenzo De Montemayor (USB).

P. aeruginosa, *B. cereus* y *C. tropicalis* fueron incubados a 30 °C, mientras que *E. coli* y *S. aureus* fueron incubados a 37 °C. Para los organismos bacterianos, se sembraron 0,1 ml en superficie en agar Mueller-Hinton (Merck 1.05437), de los cultivos crecidos en placas LB preparados en el laboratorio,⁸¹ y fueron ajustados en solución salina (0,85% v/v) a la concentración correspondiente al Standard de McFarland N° 0,5. En el caso de *Candida tropicalis*, se utilizó una placa de YPD para la evaluación, ya que las levaduras crecen mejor en este medio. Sobre el césped microbiano se colocaron los discos de papel de filtro con las diferentes muestras y los controles.

Como control positivo se emplearon antibióticos comercialmente disponibles, **AN**: amikacina (30mcg); **SAM**: ampicilina/sulbactam (20mcg); **O**: ofloxacina (5mcg); **TIL**: tilmicosin (15mcg) y como control negativo se empleó la mezcla de solventes (**S**) utilizada para solubilizar las muestras. En la figura 22, se muestra la estructura química de los antibióticos utilizados como control positivo en la evaluación antimicrobiana.

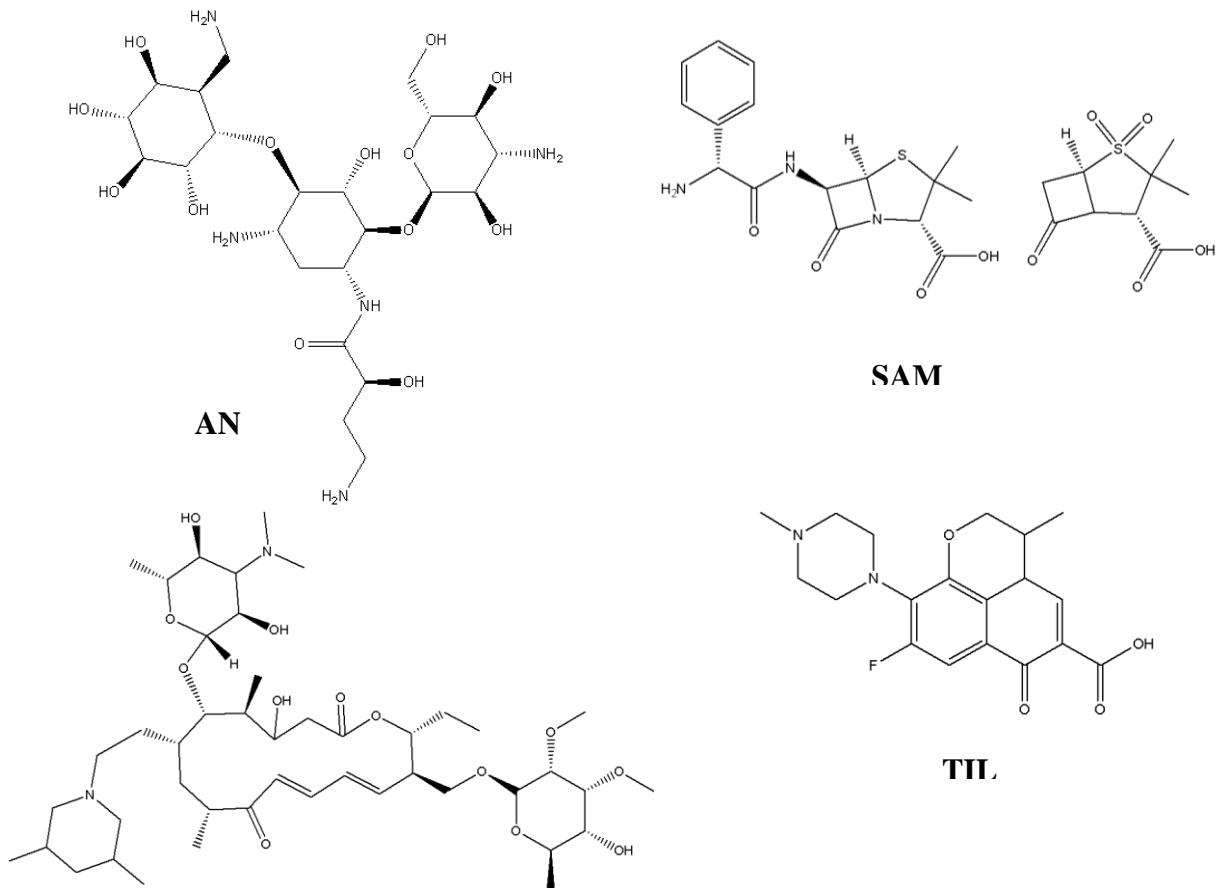


Figura 22. Estructura Química de **AN**: Amikacina, **SAM**: ampicilina/sulbactam, **O**: ofloxacina, **TIL**: tilmicosin.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

VII.1. Sección Química

VII.1.1. Síntesis de intermediarios (*E*)-2-cianocinamato de etilo **1a-l**

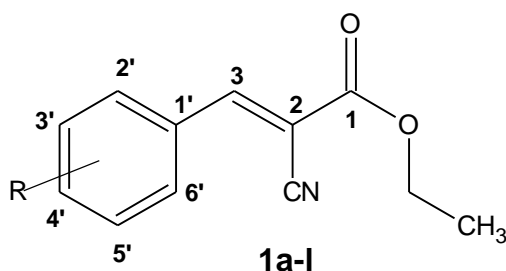
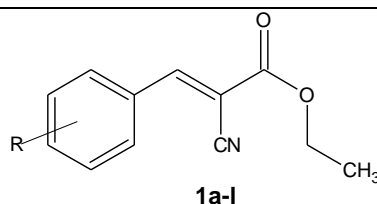


Figura 23. Estructura y esquema de asignación para RMN-¹H y ¹³C de **1a-l**.

Se obtuvo la serie de derivados ésteres α,β -insaturados 2-cianocinamatos **1a-l** mediante la condensación *Knoevenagel* de cianoacetato de etilo con el aldehído correspondiente en cantidades equimolares, en etanol seco a temperatura ambiente y utilizando 1,7 equivalente (25%) de hidróxido de potasio. La reacción procedió sin problemas dando los productos esperados en rendimientos por encima del 90%. Para establecer de alguna manera la velocidad de reacción, se tomó en cuenta el tiempo en que empezó a formarse un precipitado. Este tiempo fue variable dependiendo del grupo sustituyente en el anillo aromático, por ejemplo el derivado **1a** que posee un grupo $-\text{NO}_2$ (atractor de electrones en la posición *para*), el precipitado comenzó a formarse en menos de una hora mientras que el derivado **1l** que posee un grupo $-\text{OH}$ (dador de electrones en la misma posición *para*), tardó 48 horas para comenzar a formarse el sólido. Por lo que se concluye que, con sustituyentes más atractores de electrones (por resonancia o efecto inductivo), la reacción es más rápida; mientras que grupos dadores de electrones aumentan el tiempo de reacción. Se observó que tanto los

grupos dadores como atractores en los aldehídos arílicos afectaron el rendimiento y el tiempo de reacción. Sin embargo, se obtuvieron los 12 productos de la serie. En la tabla 4, se muestran los derivados obtenidos con los datos físicos más importantes, rendimientos y puntos de fusión. El sólido obtenido de cada derivado fue filtrado, secado y recristalizado en etanol. Una vez recristalizados, se secaron en una estufa a vacío y se realizó un análisis por TLC de cada uno utilizando como fase móvil AcOEt: Hx 3:7, resultando una única mancha, confirmándose la presencia de un solo compuesto (para lo cual se comparó con un TLC hecho al benzaldehído correspondiente en la misma fase móvil, y tras ensayar con diferentes fases móviles). Los puntos de fusión de los compuestos puros tienen un intervalo máximo de 2°C, ya que los puntos de fusión con este intervalo máximo certifican la presencia de compuestos puros.



1	R	R. (%)	P.f. °C (*)	IR (cm ⁻¹)				
				ν CH ₂ CH ₃	ν C≡N	ν C=O	ν (CH-Ar)	ν (C=C)
a	4-NO ₂	98	208	2988	2220	1715	1594	1510
b	4-F	91	78-80	2996	2220	1717	1600	1514
c	4-Cl	96	80-82	2996	2216	1715	1600	1510
d	3,4-Cl ₂	97	120-122	2980	2216	1715	1606	1510
e	4-Br	95	86-88	2984	2208	1715	1608	1515
f	H	98	38-40	2992	2208	1715	1606	1510
g	4-CH ₃	99	110-112	3000	2208	1718	1594	1507
h	4-OCH ₃	94	68-70	2988	2208	1712	1584	1510
i	3,4-(OCH ₃) ₂	93	150-152	2976	2216	1710	1600	1510
j	3,4,5-(OCH ₃) ₃	85	72-74	2976	2208	1731	1600	1497
k	4-N(CH ₃) ₂	97	140-142	2984	2208	1727	1600	1510
l	4-OH	90	212-214	2992	2224	1729	1600	1510

Tabla 4. Datos físicos de los derivados **1a-l**.* Productos puros

VII.1.1.1. Mecanismos de reacción propuesto para la obtención de la serie 1a-l

El mecanismo propuesto para la formación de los derivados cianocinamato **1a-l** mediante la reacción de *Knoevenagel*, se presenta en la figura 24. La síntesis inicia mediante una reacción ácido-base entre el etóxido de potasio y el protón α del éster cianoacetato de etilo formando el enolato (estabilizado por resonancia). Este enolato resultante actúa como nucleófilo, adicionándose al grupo carbonilo del benzaldehído correspondiente, formando el intermediario aldólico, que seguido inmediatamente de deshidratación mediante un mecanismo E1cB da lugar al producto α,β -insaturado.⁸²⁻⁸⁴

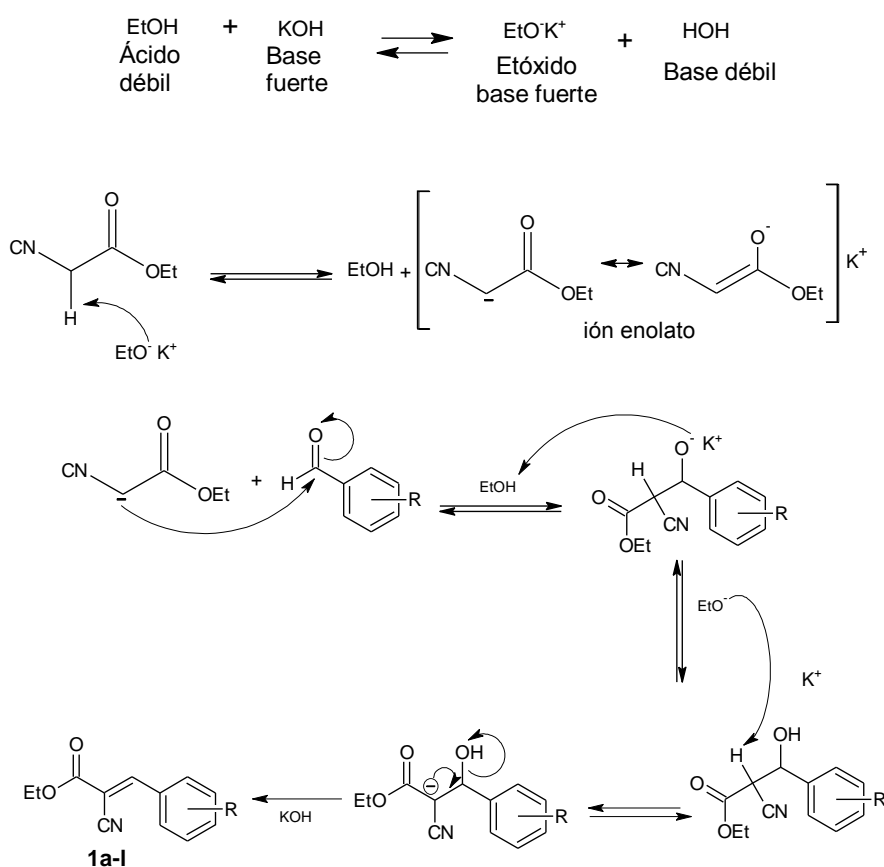


Figura 24. Mecanismo de reacción para la formación de **1a-l**

El proceso de deshidratación se produce mediante un mecanismo E1cB (Eliminación Unimolecular de la Base Conjugada). La deshidratación del aldol en medio básico, proporciona mayoritariamente el compuesto carbonílico α,β -insaturado con el doble enlace *E*. En la figura 25, se muestra el estado de transición que lleva al doble enlace *E*, no se experimentan las interacciones estéricas entre los grupos fenilo y éster. Los requisitos que tenga lugar una reacción E1cB son: a) presencia de un mal grupo saliente (el grupo hidroxilo en el caso del aldol). b) la presencia de un hidrógeno ácido. En este caso, en el aldol, el hidrógeno que captura la base está en posición α respecto al carbonilo y el grupo nitrilo por lo tanto es suficientemente ácido ⁸²⁻⁸⁴

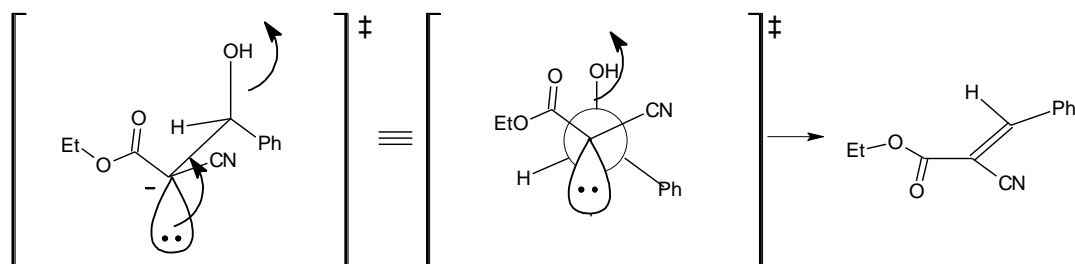


Figura 25. Formación del doble enlace *E* en una eliminación E1cB de **1a-I**

VII.1.1.2. Análisis de los datos espectroscópicos de la serie 1a-l

VII.1.1.2.a Espectroscopia de IR

El espectro de IR de cada uno de los derivados **1a-l** mostró las bandas de absorción más importantes situadas entre 1500 y 4000 cm^{-1} que confirman la presencia de los grupos funcionales más importantes en las estructuras esperadas. Las señales características de los grupos funcionales comunes encontrados en las estructuras de los derivados **1a-l** son las siguientes: 2988-3000 atribuida a CH_2CH_3 , 2224-2208 a $\text{C}\equiv\text{N}$, 1717-1715 a $\text{OC}=\text{O}$, 1594-1600 a Ar y 1495-1510 a $\text{HC}=\text{C}$ (figura 26).

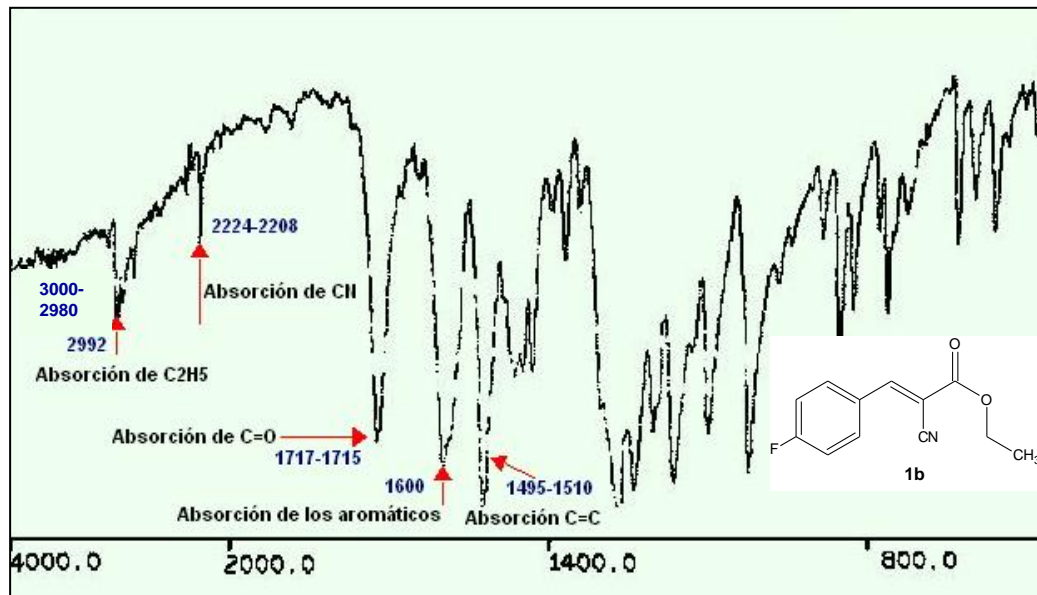


Figura 26. Espectro de IR(KBr) de **1b**. Se muestra los rango de absorción para **1a-l**

Entre 3000 y 2980 cm^{-1} aparece la banda característica de la absorción por estiramiento del enlace $\text{C}-\text{H}$ característico del grupo $-\text{CH}_2\text{CH}_3$. En la región entre 1731-1710 cm^{-1} surge la banda de absorción intensa que confirma la presencia del estiramiento del enlace $\text{C}-\text{O}$ del grupo $\text{C}=\text{O}$ de éster α,β -insaturado. La región entre 2224-2208 cm^{-1} la banda características del grupo $\text{C}\equiv\text{N}$ α,β -insaturado. La región entre

1600-1594 cm^{-1} banda intensa por vibraciones del C—H del anillo aromático. La región entre 1510-1509 cm^{-1} banda de tensión característica de dobles enlaces carbono—carbono trisustituidos ($>\text{C}=\text{CH}-$).

VII.1.1.2.b Análisis de RMN- ^1H

El espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 270 MHz) de todos los derivados **1a-i**, concordó con el patrón de sustitución respectivo, y de las porciones alifáticas (para los casos en los que posean sustituyentes metilo, metoxilo y dimetilamino). En la tabla 5, se muestran todos los protones de la serie.

Como ejemplos representativos, en la figura 27, se muestra el espectro de RMN- ^1H del derivado **1d**, con sustituyentes Cl en posición *meta* y *para*.

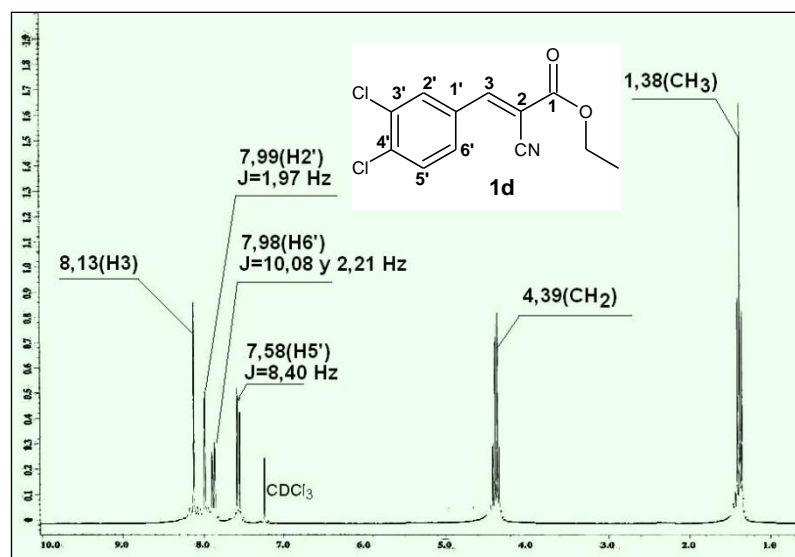
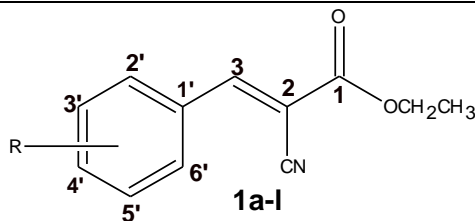


Figura 27. Espectro de RMN ^1H - (CDCl_3) **1d**



R, RMN ^1H (δ , ppm), J (Hz)

	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l
CH ₃	1,41 (t,3H)	1,38 (t,3H)	1,36 (t,3H)	1,38 (t,3H)	1,38 (t,3H)	1,38 (t,3H)	1,38 (t,3H)	1,38 (t,3H)	1,38 (t,3H)	1,38 (t,3H)	1,38 (t,3H)	1,38 (t,3H)
CH ₂	4,39 (c,2H)	4,35 (c,2H)	4,36 (c,2H)	4,39 (c,2H)	4,36 (c,2H)	4,36 (c,2H)	4,38 (c,2H)	4,37 (c,2H)	4,37 (c,2H)	4,38 (c,2H)	4,31 (c,2H)	4,35 (c,2H)
H ₃	8,17 (s,1H)	8,19 (s,1H)	8,19 (s,1H)	8,13 (s,1H)	8,17 (s,1H)	8,24 (s,1H)	8,20 (s,1H)	8,16 (s,1H)	8,14 (s,1H)	8,13 (s,1H)	8,06 (s,1H)	8,18 (s,1H)
H _{2'} ,H _{6'}	8,13 (dd,2H) 1.98 y 8.09	8,02 (td,F,2H) 1.80, 6.20 y 8.80	7,94 (dd,2H) 2.21 y 8.42	-	7,84 (dd,2H) 1.72 y 8.39	7,97 (dd,2H) 1.98 y 7.67	7,89 (dd,2H) 2.68 y 8.15	7,99 (dd,2H) 1.73 y 8.64	-	7,28 (d,2H)	7,93 (dd,2H) 2.70 y 8.67	7,96 (dd,2H, 2.21, 8.88)
H _{3'} ,H _{5'}	8,29 (dd,2H) 1.98 y 8.09	7,18 (td,F,2H) 1.80, 8.30 y 8.80	7,48 (dd,2H) 2.21 y 8.42	-	7,65 (dd,2H) 1.72 y 8.39	-	7,29 (dd,2H) 2.70 y 8.15	6,98 (dd,2H) 2.00 y 8.91	-	-	6,72 (dd,2H) 2.70 y 8.91	6,96 (dd,2H) 2.21 y 8.88
H _{2'}	-	-	-	7,99 (d,1H) 1.97	-	-	-	-	7,78 (d,1H) 2.24	-	-	-
H _{5'}	-	-	-	7,58 (d,1H) 8.40	-	-	-	-	6,93 (d,1H) 8.64	-	-	-
H _{6'}	-	-	-	7,98 (dd,1H) 2.21 y 10.08	-	-	-	-	7,46 (dd,1H) 2.21 y 8.64	-	-	-
H _{3'} ,H _{4'} ,H _{5'}	-	-	-	-	-	7,52 (m,3H)	-	-	-	-	-	-
-CH ₃	-	-	-	-	-	-	2,42 (s,3H)	-	-	-	-	-
-OCH ₃	-	-	-	-	-	-	-	3,88 (s,3H)	3,95 (s,6H)	3,90 (s,6H) y 3,94 (s,3H)	-	-
-N(CH ₃) ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,09 (s,6H)	-
-OH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,25 (ba,1H)

Tabla 5. Datos de RMN- ^1H de los grupos detectados ente δ 4.00-11,00 de los derivados **1a-l**.

En el espectro del derivado **1d** (figura 27) aparte de mostrar el *triplete* a 1,38 ppm y el *cuarteto* a 4,39 ppm y el *singlete* a δ 8,13 ppm, muestra un *doblete* a δ 7,58 ppm que integró para un protón asignado a **H5'** con una constante de acoplamiento *orto* $J_{H5'H6'}=8,40$ Hz. A δ 7,98 ppm un *doblete de doblete* que integró para un protón con constantes de acoplamiento *orto* y *meta* de $J_{H6'H5'}=10,80$ y $J_{H6'H2'}=2,21$ respectivamente, asignado al protón **H6'** y a δ 7,99 ppm otro *doblete* con constante de acoplamiento *meta* de $J_{H2'H6'}=1,97$ Hz asignado al protón **H2'**. En la figura 28, se muestra el espectro de protones del compuesto **1i** que contiene $-\text{OCH}_3$ en las posiciones C3' y C4', se puede observar el mismo esquema de sustitución aromática que para el derivado **1d**.

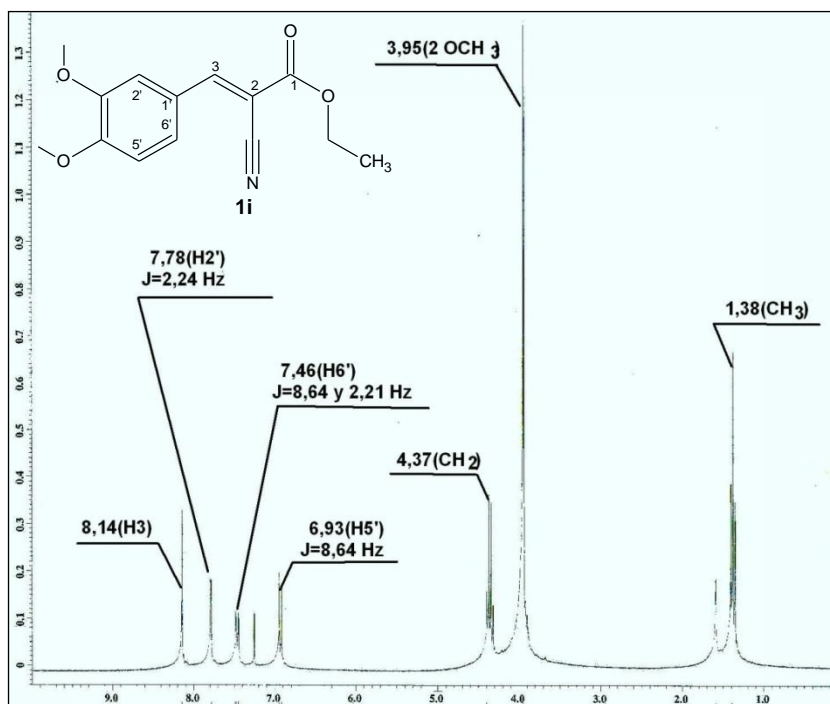
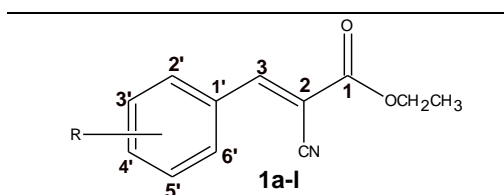


Figura 28. Espectro de RMN- ^1H -(CDCl_3) **1i**

VII.1.1.2.c Análisis de RMN de ^{13}C

En los espectros de RMN- ^{13}C (CDCl_3) de la serie **1a-l**, se detectan señales comunes en todos los derivados y se resumen en la tabla 6.



Tipo de carbono	δ (ppm)
- CH_3	14,83 – 14,11
- CH_2	62,90 – 56,41
-CN	116,17 – 112,11
C2	99,66 – 107,69
C1'	131,66 – 124,30
C3	151,00 – 155,00
-C=O	167,52 – 161,52

Tabla 6. Desplazamiento químico de RMN ^{13}C de los grupos comunes en todos los derivados **1a-l**.

Mediante el experimento en dos dimensiones de correlación heteronuclear protón-carbono (HETCOR), se identificó efectivamente el carbono **C3** alrededor de δ 151-155 ppm que se correlaciona con el protón olefínico (**H3**) que aparece entre δ 8,03-8,30 ppm en el RMN- ^1H . En la figura 29, se muestra el espectro HETCOR de **1a**, y la correlación establecida se resume en la tabla 7.

Tipo de Carbono/Numeración	RMN- ¹³ C/HETCOR	RMN ¹ H
-CH ₃	14,13 ppm	1,41 ppm
-CH ₂	63,34 ppm	4,39 ppm
CH/C2', C6'	124,24	8,13
CH/C3', C5'	131,49	8,29
CH/C3	151,62	8,17

Tabla 7. Correlaciones establecidas por espectro HETCOR para el compuesto **1a**

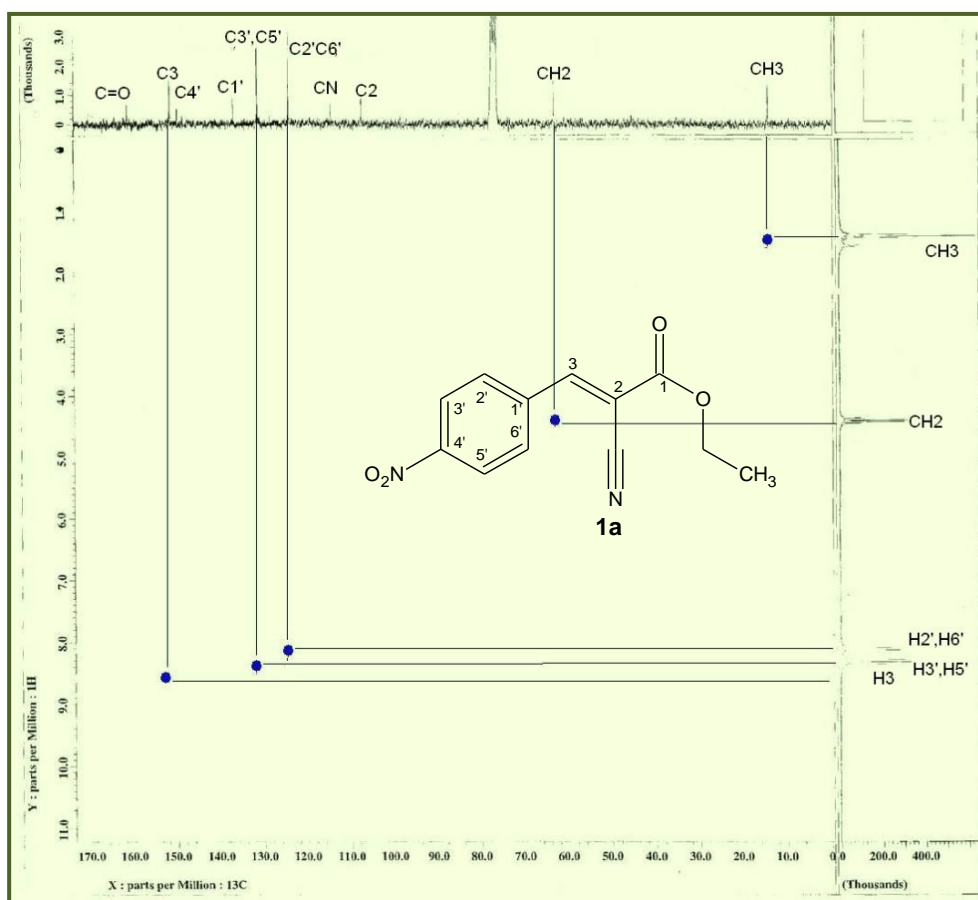


Figura 29. Espectro HETCOR de **1a**.

El *doblete de doblete* que aparece a δ 8,13 ppm en el espectro de RMN-¹H se correlaciona con la señal que aparecen a δ 124,24 ppm en el espectro de RMN-¹³C y fue asignada a los carbonos **C2'** y **C6'**. El segundo *doblete de doblete* que aparece a campo más bajo a δ 8,29 ppm se correlaciona con la señal a 131,49 ppm y fue asignada a los

carbonos **C3'** y **C5'**. Los carbonos **C3'** y **C5'** están más desapantallados por el efecto atractor de electrones por resonancia del grupo $-\text{NO}_2$ en posición *orto* a éstos. Esto se evidencia de igual forma en el espectro RMN ^1H (CDCl_3) y RMN ^{13}C (CDCl_3) (figura 30) del mismo compuesto.

Para asignar los carbonos cuaternarios en las estructuras de la serie, se registró el espectro bidimensional denominado DEPT (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*). Con el experimento DEPT-135°, solamente aparecen las señales CH , CH_2 y CH_3 . Los grupos CH y CH_3 salen como señales positivas y los CH_2 como señales negativas (hacia abajo). Los carbonos cuaternarios se obtienen por diferencia entre espectro normal de ^{13}C desacoplado y el DEPT-135°. Como ejemplo específico, se muestra en la figura 30 el espectro de carbono 13 desacoplado normal de **1a** y, en la figura 31, el espectro DEPT-135° del mismo compuesto.

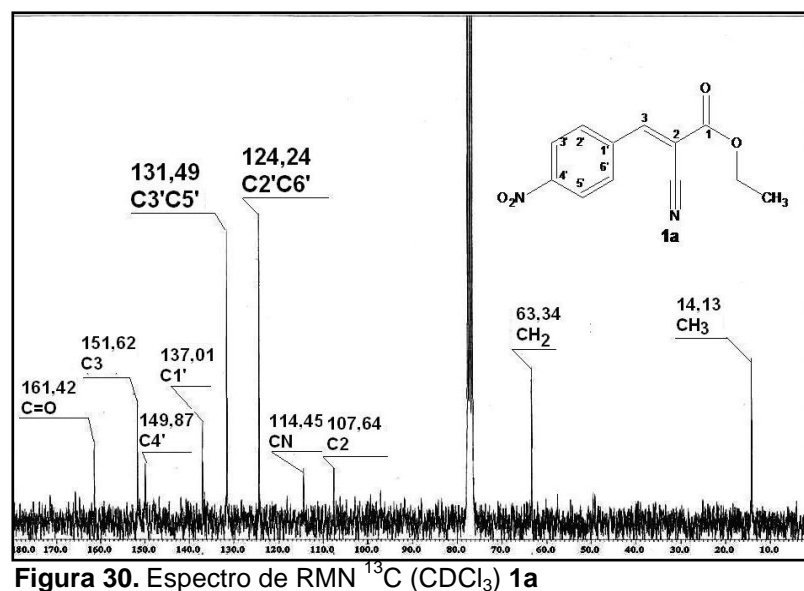


Figura 30. Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3) **1a**

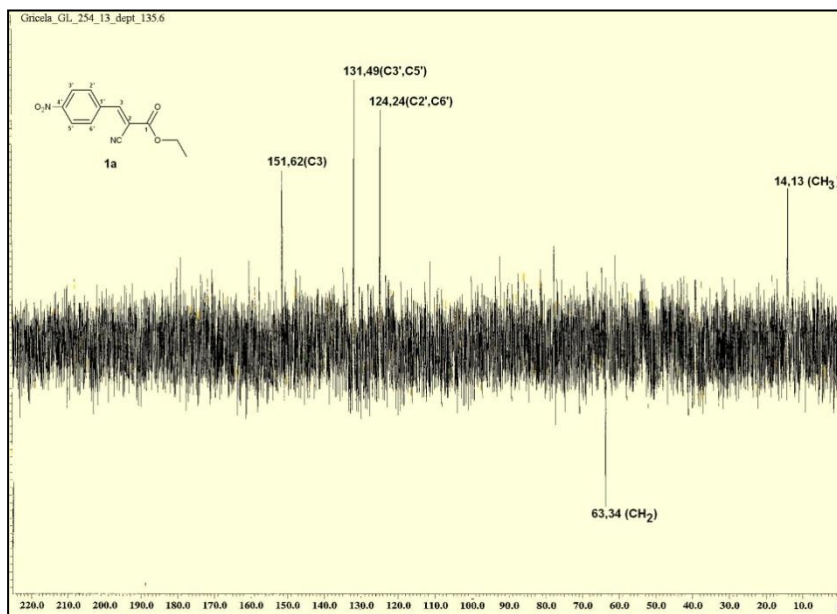


Figura 31. Espectro de DEPT-135° (CDCl₃) **1a**.

En el espectro de la figura DEPT-135° de **1a** (figura 31), se observan cuatro señales positivas, a δ 14,13 ppm la señal es asignada al grupo $-\text{CH}_3$, a δ 124,24 ppm a los carbonos **C2'** y **C6'**, a δ 131,49 ppm a los carbonos **C3'** y **C5'** y a δ 151,62 ppm al grupo **CH** del en **C3**. La señal negativa a δ 63,34 ppm es asignada al grupo $-\text{CH}_2$. Las señales que no aparecen corresponden a los grupos **C=O**, **C4'**, **C1'**, **CN** y al **C2**.

Como se comentó anteriormente, los dos dobletes de dobletes del patrón aromático del espectro de RMN ^1H (CDCl₃) y las señales correspondientes del espectro de RMN ^{13}C (CDCl₃) (espectro HETCOR de la tabla 7) están muy próximos entre sí, lo que significa que los efectos electrónicos de los sustituyentes **C1'** y **C4'** son muy parecidos, en este caso específico los dos grupos son atractores de electrones por resonancia. Los hidrógenos *orto* (**H3'**, **H5'**) con respecto al grupo nitro desplazan a mayor campo bajo δ (8,29 ppm) por estar más desapantallados por el efecto atractor de electrones de dicho grupo. Los hidrógenos **H2'** y **H6'** se asignan a una señal δ menor (8,13 ppm). Sin embargo, en el resto de los derivados, estos protones salen a δ más

alto, debido a que el grupo en C1' posee un efecto atractor de electrones por resonancia más intenso que el efecto atractor inductivo de los átomos de cloro (derivado **1c**) y bromo (derivado **1e**).

Las estructuras de los derivados (*E*)-2-cianocinamatos de etilo **1a-l** fueron corroboradas por los análisis de IR, RMN-¹H y RMN-¹³C y están de acuerdo con las esperadas.

VII.1.2 Síntesis de derivados (*E*)-6-amino-5-arilidenpirimidin-(3*H*,5*H*)-2,4-diona **2a-l**.

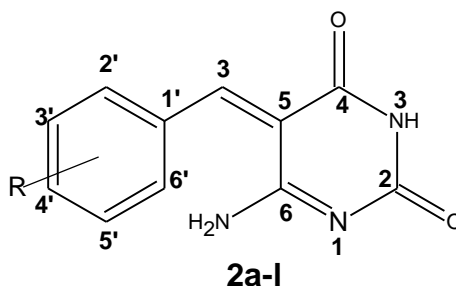


Figura 32. Estructura y esquema de asignación para RMN- ^1H y ^{13}C de **2a-l**.

De acuerdo al esquema de síntesis planteado en la metodología experimental (Figura 21), para preparar los derivados **2a-l**, se sometió cada derivado **1a-l** a una reacción de ciclocondensación con urea.

El primer estudio se hizo mezclando el derivado **1a**, urea, carbonato de potasio y etanol, se colocó la mezcla de reacción a reflujo. Al observarse el oscurecimiento de la reacción, y observándose una sola mancha en el centro de la placa de seguimiento por TLC (conllevando a inferir que se trata de un producto), se procedió a evaporar el solvente a presión reducida y el residuo se colocó sobre una pequeña cantidad de hielo. El producto obtenido consistió en una mezcla pastosa difícil de purificar.

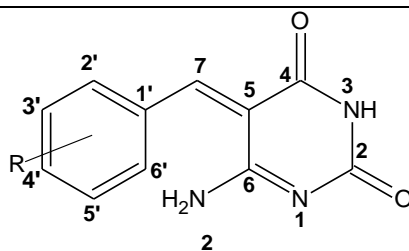
Se repitió la experiencia con otro derivado, el **1f**, asumiendo que por poseer **1a** un grupo atractor como el $-\text{NO}_2$, la reacción pudo darse muy acelerada y formar productos colaterales indeseables. Con el derivado **1f** sin sustituyente y el **1k** con un grupo dador, lamentablemente el producto obtenido no se pudo purificar para aislar y caracterizar.

Otro experimento consistió en disolver el compuesto **1**, urea en metanol seco y bajo agitación se añadió metóxido de sodio en cantidad catalítica y se dejó en reflujo hasta la formación de un producto marrón oscuro, se evaporó el solvente a presión reducida. El residuo se vertió sobre hielo formándose un sólido marrón. El sólido se filtró y recrystalizó. El rendimiento estuvo por debajo del 20% y el producto no era el esperado de acuerdo al análisis del RMN-¹H.

Finalmente, se preparó una mezcla de urea y carbonato de potasio en etanol seco por separado, que se calentó a la temperatura de reflujo del etanol, observándose una efervescencia hasta que se obtuvo una solución amarilla límpida. A esta solución caliente se añadió lentamente el derivado **1** previamente disuelto en etanol caliente. Una vez que se añadió todo el derivado **1**, la mezcla de reacción seguía translúcida y se iba tornando de otro color dependiendo del derivado **1**. Pasadas entre 12 y 48 h de reacción para todo los derivados, se formó un sólido. De la fase líquida se tomaba con un tubo capilar muestra para monitorear la reacción con TLC, observándose dos manchas, una con un determinado R_f correspondiente al derivado **1** y otra que se quedaba en la base de la placa, que aparentemente era el producto de la reacción. Se evidenció que el sólido formado era una sal, tomándose una muestra para averiguar su solubilidad en solvente orgánico y agua. Resultó ser soluble en agua únicamente. Inmediatamente se agregó ácido clorhídrico formándose un precipitado.

Definitivamente los derivados **2a-I** fueron obtenidos mediante una ciclocondensación de los derivados **1a-I** con urea en etanol, y, como base, carbonato de potasio y reflujo. Comparada con los primeros procedimientos, esta reacción transcurre nítidamente. El sólido formado se filtró en caliente, se lavo con etanol y luego con acetona y se dejó secando en estufa al vacío. Luego la sal fue disuelta en agua en forma pulcra y se agregó ácido clorhídrico al 50% v/v. El sólido formado se filtro y lavó con suficiente agua. La recrystalización de todos los productos se realizó en etanol

caliente y pocas gotas de DMF, necesario en algunos casos. El sólido o los cristales formados se filtraron, lavaron con suficiente agua y secaron en estufa al vacío. Se les midió el punto de fusión, se registraron los respectivos IR y los experimentos de RMN-¹H y ¹³C utilizando DMSO-d₆ o CDCl₃ dependiendo del producto. El análisis de estos datos confirmaron efectivamente las estructuras esperadas **2a-I**. En la tabla 8, se muestra los rendimientos (50-90%); puntos de fusión y especialmente las bandas nuevas que aparecen en los espectros de IR pertenecientes al núcleo de pirimidina.



2	R	R. (%)	P.f °C	IR (cm ⁻¹)					
				νNH ₂	νNH	νC=O, C2	νC=O, C4	νCH-Ar	νC=C
a	4-NO ₂	90	130-134	3750, 3675	3265	1715	1680	1600	1504
b	4-F	88	258 desc.	3536, 3461	3265	1721	1680	1593	1510
c	4-Cl	87	240 desc.	3536, 3461	3265	1792	1685	1600	1510
d	3,4-Cl ₂	85	172-174	3744, 3644	3287	1715	1680	1575	1510
e	4-Br	87	206-210	3744, 3638	3265	1715	1680	1578	1510
f	H	80	162-164	3800, 3750	3265	1715	1682	1600	1510
g	4-CH ₃	90	202-204	3530, 3445	3294	1715	1680	1586	1510
H	4-OCH ₃	85	160 desc.	3880, 3780	3264	1715	1688	1584	1510
I	3,4-(OCH ₃) ₂	60	170-172	3680, 3581	3270	1715	1682	1584	1510
J	3,4,5-(OCH ₃) ₃	50	166 desc.	3562, 3462	3265	1715	1680	1588	1510
K	4-N(CH ₃) ₂	90	216-218	3565, 3465	3294	1715	1688	1606	1510
I*	4-OH	89	250-254	*3780-3400(OH, NH ₂ NH)		1715	1670	1590	1510

Tabla 8. Datos físicos de los derivados **2a-I**. desc.: descomposición.

VII.1.2.1. Mecanismos de reacción propuestos para la obtención de la serie 2a-I

Como el producto de la reacción ciclocondensación entre urea y derivados cianocinamatos **1a-I** es una sal de potasio, se propone que cuando la urea reacciona con el carbonato de potasio a la temperatura de reflujo del etanol, se forma la sal del ácido carbámico y ácido carbónico. El ácido carbónico se descompone produciendo CO₂ hecho que se evidenció por la efervescencia observada. Se asume que el nucleófilo es la sal del ácido carbámico, conocido también como ácido carbamimídico. El ácido carbamimídico es la monoamida de ácido carbónico y, como tal amida, tiene una forma imídica tautómera, el *ácido imidocarbónico* (figura 33).⁸² En este trabajo, la propuesta es que se forma la sal, forma químicamente más estable, que está estabilizada por resonancia entre la estructura imídica **I** y la diamida **II**. La forma imídica **I** realiza primero, la sustitución nucleofílica al carbonilo acílico y luego la adición intramolecular al grupo nitrilo.

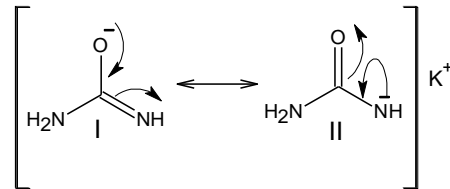


Figura 33. Estructuras de resonancia de la sal de potasio del ácido imidocarbónico.

Etapa 1. Formación del nucleófilo: La sal del ácido carbamimídico o imidocarbónico que se estabiliza por resonancia entre las estructura **I** y **II**. En la figura 34, se presenta la reacción neta para la formación del nucleófilo.

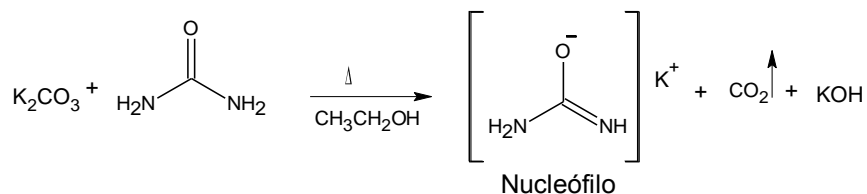


Figura 34. Reacción neta para la formación del nucleófilo.

Etapa 2. Sustitución nucleofílica al grupo acilo y adición nucleofílica intramolecular al nitrilo:

Primer paso: Una sustitución nucleofílica al carbonilo acílico, con salida del grupo etoxi generando la estructura **I**.

Segundo paso: En **I**, el amino terminal ataca al carbono electrofílico del grupo nitrilo, realizándose una adición nucleofílica intramolecular que conduce al anillo de la estructura **II**, en el que, el grupo imino se transforma en amino mediante un equilibrio tautomérico en la que está favorecida la forma **III** por intercambio del átomo de H en los átomo adyacente **N1** y **C6** en la molécula.⁸⁵ La sal con la estructura **III** se transforma en **IV** por adición de HCl. Finalmente entre **IV** y **2** debe llevarse a cabo otro equilibrio tautomérico por intercambio de un protón entre los átomos adyacentes **C2** y **N3**, con el restablecimiento resultante del grupo carbonilo, en el que la forma de **2** está favorecida. En la figura 35, me muestra el mecanismo propuesto para formar las pirimidinas esperadas.

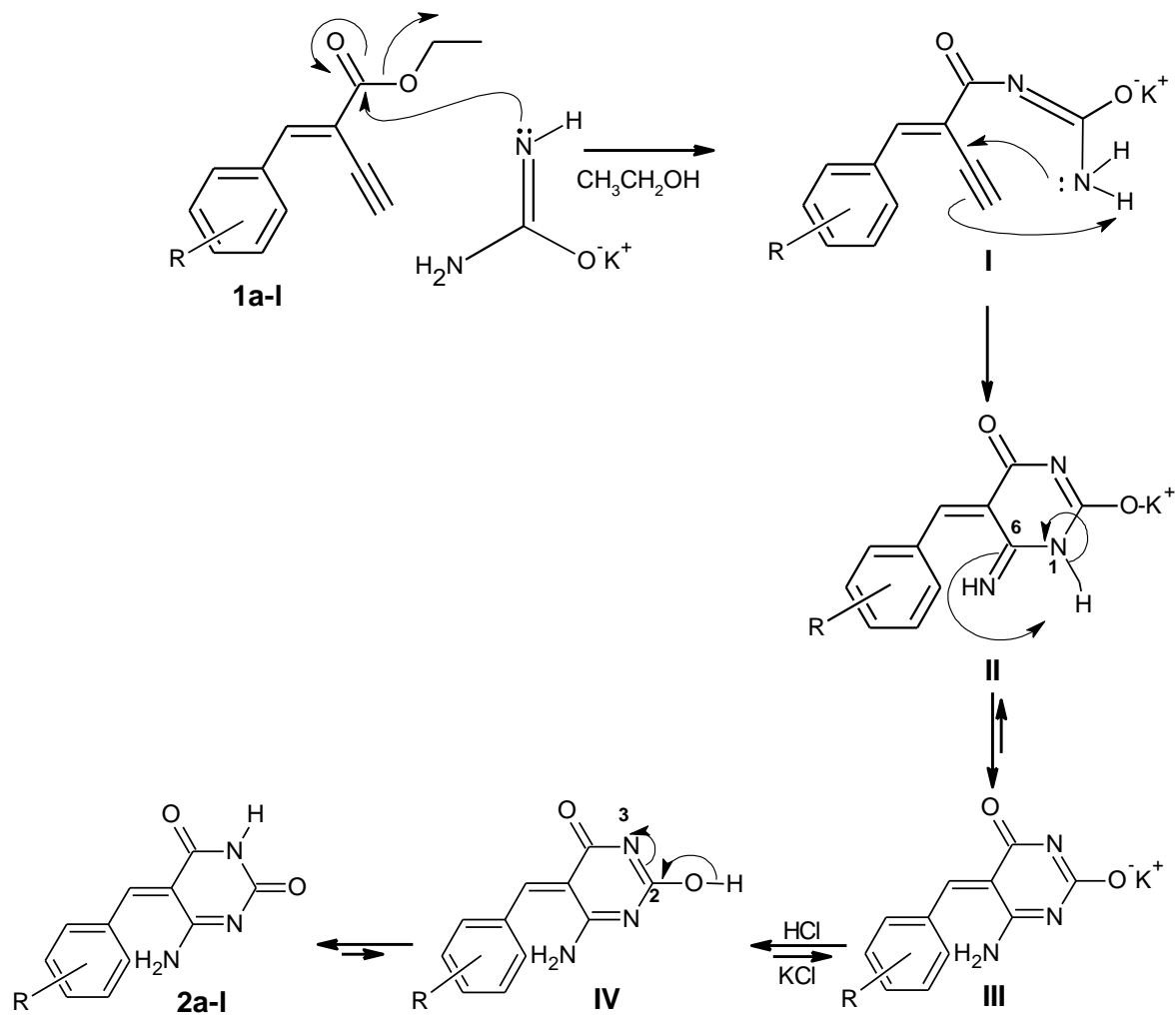


Figura 35. Mecanismo propuesto para formar las pirimidinas **2a-I**.

VII.1.2.2. Análisis de los datos espectroscópicos de la serie 2a-I

VII.1.2.2.a Espectroscopia de IR

El espectro de IR de cada uno de los derivados **2a-I**, mostró las bandas de absorción más importantes situadas entre 3880 y 1510 cm^{-1} . Se confirman la detección de nuevas bandas de absorción y desaparición de otras.

En el espectro de IR de todos los derivados **2a-I** se muestran la aparición de las siguientes bandas nuevas: dos bandas de absorción por estiramiento asimétrico y simétrico del enlace N—H característica del grupo $-\text{NH}_2$ en la posición C6 de la pirimidina (la primera banda aparece entre 3880-3530 cm^{-1} y la segunda aparece entre 3750-3461 cm^{-1}); entre 3294-3256 cm^{-1} aparece una banda característica de las vibraciones del enlace N—H del grupo $-\text{NH}-$ en la posición N3 del núcleo pirimidina; una banda doble característica del estiramiento del enlace C—O de carbonilo (la primera banda aparece entre 1792-1715 cm^{-1} y la segunda entre 1688-1670 cm^{-1}) y pertenecen al grupo $-\text{C}=\text{O}$ en las posiciones C2 y C4, respectivamente. Es importante resaltar que las bandas del grupo $-\text{C}\equiv\text{N}$ y del grupo $-\text{C}_2\text{H}_5$ desaparecen. Otras bandas presentes son: entre 1600-1575 cm^{-1} , la banda de absorción intensa por vibraciones del enlace CH-Ar; y entre 1510-1505 cm^{-1} , la banda de tensión característica de dobles enlaces carbono—carbono trisustituídos ($>\text{C}=\text{CH}-$). Todos estos datos comprueban la presencia del producto de ciclocondensación entre **1a-I** y urea.

Como ejemplo se muestra el espectro de IR del derivado **2j** en la figura 36. Las dos bandas a 3562 y 3462 cm^{-1} son característicos del grupo $-\text{NH}_2$; la banda a 3265 cm^{-1} es característico del grupo $-\text{NH}-$; la banda a 1715 cm^{-1} corresponde al grupo $-\text{C}=\text{O}$ en la posición C2 y la que se detecta a 1680 corresponde al grupo $-\text{C}=\text{O}$ en la posición C4.

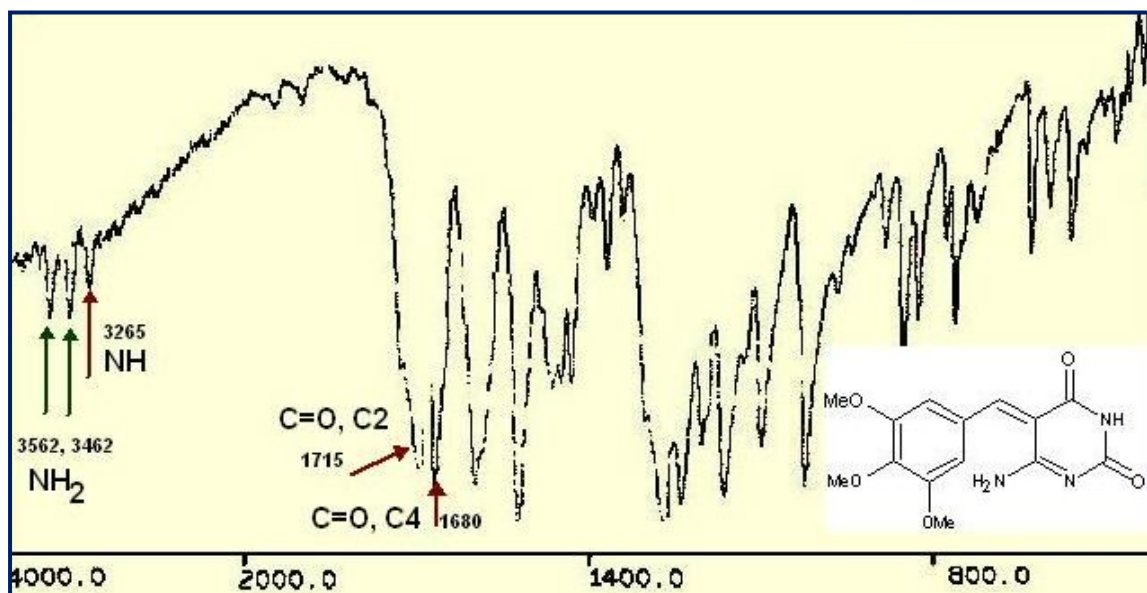
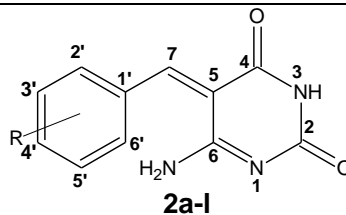


Figura 36. Espectro de IR de 2j

VII.1.2.2.b Análisis de RMN-¹H

El espectro de RMN ¹H (DMSO_d₆, 270 MHz) de todos los derivados **2a-l**, concordó con el patrón de sustitución respectivo, y de las porciones alifáticas (para los casos en los que posean sustituyentes metilo, metoxilo y dimetilamino). Desaparecen el *cuarteto* y *triplete* característicos de los grupos -CH₂ y -CH₃, pertenecientes del grupo éster del material de partida. Indicando que se dio el ataque nucleofílico al carbono acílico, que provocó la salida del grupo ⁻OCH₂CH₃. Todos los resultados se resumen en la tabla 9.



R, RMN ^1H (δ , ppm), J (Hz)

	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l
NH ₂	5,39 (s,2H)	5,77* (s,2H)	5,77 (s,2H)	5,22 (s,2H)	5,75 (s,2H)	4,72 (s,2H)	5,71 (s,2H)	5,43 (s,2H)	5,78* (s,2H)	5,78 (s,2H)	5,65* (s,2H)	5,25 (s,3H) (+OH)
NH	10,12 (sa,1H)	7,89- 8,07* (ba,1H)	8,99 (ba,1H)	9,89 (sa,1H)	9,72 (ba,1H)	13,00 (s,1H)	9,88 (s,1H)	9,88 (sa,1H)	7,94* (s,1H)	9,88 (s,1H)	9,60* (ba,1H)	10,12 (ba,1H)
H7	8,30 (s,1H)	7,61 (s,1H)	8,34 (s,1H)	8,04 (s,1H)	8,57 (s,1H)	8,22 (s,1H)	8,57 (s,1H)	7,79 (s,1H)	7,11 (s,1H)	8,39 (s,1H)	8,46 (s,1H)	8,29 (s,1H)
H2',H6'	6,92 (dd,2H) 1.99 y 8.10	7,60 (ddd,F,2H) 1.99, 6.20 y 8.80	8,08 (dd,2H) 2.00 y 8.10	-	7,98 (dd,2H) 2.23 y 8.10	7,93 (m,2H)	8,13 (dd,2H) 1.98 y 10.55	7,70 (dd,2H) 1.98 y 8.41	-	6,64 (d,2H)	7,55 (dd,2H) 1.97 y 8.91	7,35 (dd,2H) 2.20 8.91
H3',H5'	7,35 (dd,2H) 1.98 y 8.00	7,41 (ddd,F,2H) 1.99, 8.30 y 8.80	7,53 (dd,2H) 2.00 y 8.10	-	7,57 (dd,2H) 2.23 y 8.10	-	7,20 (dd,2H) 1.98 y 10.55	6,60 (dd,2H) 1.98 y 8.41	-	-	7,00 (dd,2H) 1.65 y 8.59	6,91 (dd,2H) 2.23 y 8.66
H2'	-	-	-	7,77 (d,1H) 2.00	-	-	-	-	7,13- 7,15	-	-	-
H5'	-	-	-	7,98 (d,1H) 8.41	-	-	-	-	(m,2H)	-	-	-
H6'	-	-	-	7,55 (dd,1H) 2.00 y 8.10	-	-	-	-	7,08 (dd,1H) 1.24 y 7.41	-	-	-
H3',H4',H5'	-	-	-	-	-	7,55 (m,3H)	-	-	-	-	-	-
-CH ₃	-	-	-	-	-	-	2,42 (s,3H)	-	-	-	-	-
-OCH ₃	-	-	-	-	-	-	-	3,84 (s,3H)	3,79 (s,3H) y 3,83 (s,3H)	3,94 (s,6H) y 3,96 (s,3H)	-	-
-N(CH ₃) ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,06 (s,6H)	-
-OH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,25 (s,3H) (+NH ₂)

Tabla 9. Datos de RMN- ^1H de los grupos detectados ente δ 4.00-11,00 de los derivados **2a-l**.*: Intercambio con D₂O.

El espectro de RMN ^1H de **2k** (figura 37). En el espectro A, se observan las siguientes señales: δ 3,06 ppm, un *singlete* que integró para seis protones asignados al grupo $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$; a δ 5,65 ppm, un *singlete* que integró para dos protones asignados a los protones del grupo amino $-\text{NH}_2$ en la posición C6 del anillo de la pirimidina; δ 7,00 ppm, un *doblete de dobletes* que integró para dos protones con constantes de acoplamiento *orto* $J_{\text{H}_3'\text{H}_2'}=8,59$ y *meta* $J_{\text{H}_3'\text{H}_5'}=1,65$ Hz, asignados a los protones **H3'** y **H5'** (al estar influenciados por el grupo dador de electrones por resonancia del grupo dimetilamino, estos protones están más apantallados y por consiguiente aparecen a δ más bajo); δ 7,55 ppm, un *doblete de dobletes* que integró para dos protones con constantes de acoplamiento *orto* $J_{\text{H}_2'\text{H}_3'}=8,91$ y *meta* $J_{\text{H}_2'\text{H}_6'}=1,97$ Hz, asignados a los protones **H2'** y **H6'**; a δ 8,46 ppm un *singlete* que integró para un protón, asignado al protón olefínico **H7**; entre δ 9,60 ppm, una *banda ancha* que integró para un protón, asignada al protón del grupo $-\text{NH}$. El intercambio de los protones en los grupos $-\text{NH}_2$ y $-\text{NH}-$ con D_2O , causó que sus señales desaparecieran como era de esperar, y se observa en el espectro **B**.

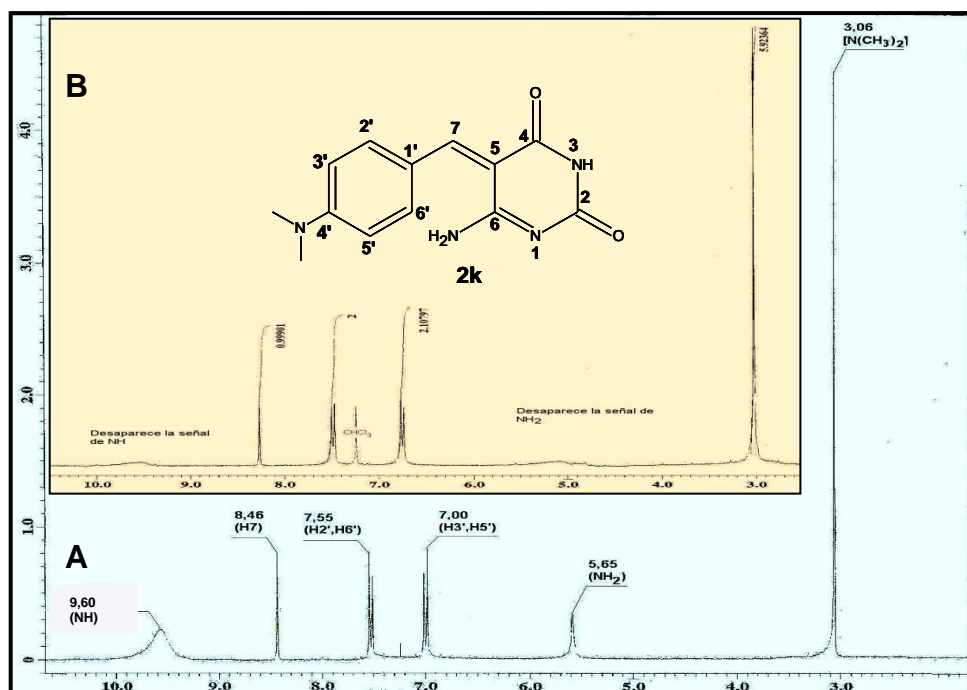
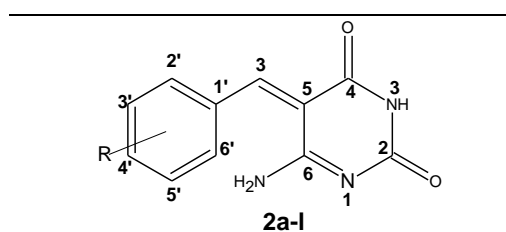


Figura 37. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3) **2k**. A: CDCl_3 . B $\text{CDCl}_3 + \text{D}_2\text{O}$.

VII.1.2.2.c Análisis de RMN-¹³C

En los espectros de RMN-¹³C (DMSO_d₆) de la serie **2a-l**, se detectan señales comunes en todos los derivados y se resumen en la tabla 10.



Tipo de carbono	δ (ppm)
C5	112,05 - 117,13
C1'	120,00 - 139,00
C7	145,00 - 150,90
C2	158,00 - 163,14
C4	161,13 – 165,00
C6	165,01 – 168,00

Tabla 10. Desplazamiento químico de RMN ¹³C de los grupos comunes en todos los derivados **2a-l**.

En el espectro de RMN-¹³C de los productos resultantes **2a-l**, desaparecen las señales a δ 14,21-63,36 ppm, correspondientes a los grupos como –CH₂, –CH₃, y la del grupo –C≡N en torno a δ 112-116 ppm. En general, el espectro de RMN-¹³C normal, en conjunto con los espectros bidimensionales como HETCOR y DEPT-135^o, permitieron asignar de forma positiva el desplazamiento químico de cada uno de los carbonos presentes en las moléculas. En la figura 38, se muestra el espectro HETCOR del compuesto **2l** y la correlación establecida, se resume en la tabla 11.

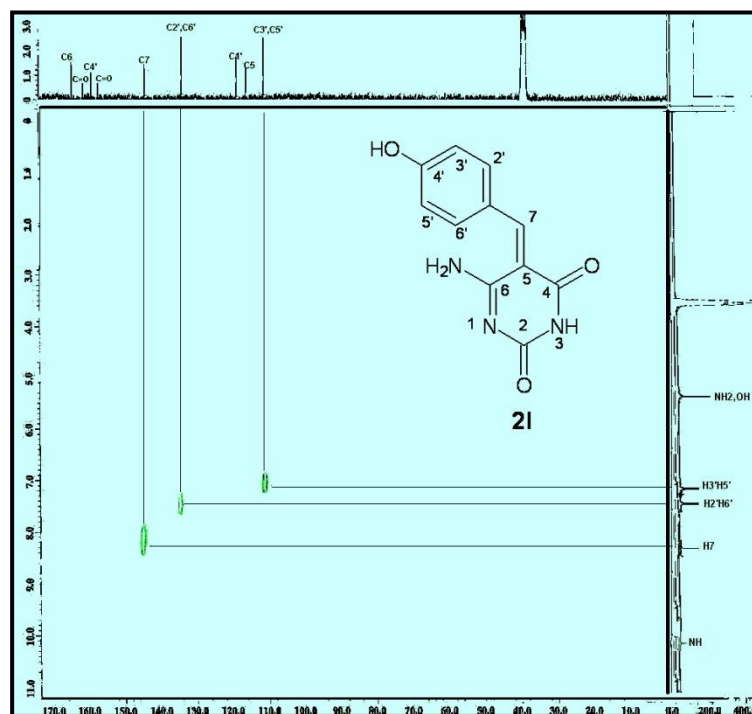


Figura 38. Espectro HETCOR de compuesto **2I**.

Tipo de Carbono/Numeración	RMN- ¹³ C/HETCOR	RMN ¹ H
CH/C7	145,00 ppm	8,29 ppm
CH/C2', C6'	134,01 ppm	7,35 ppm
CH/C3', C5'	112,01 ppm	6,91 ppm

Tabla 11. Correlaciones establecidas por espectro HETCOR para el compuesto **2I**.

Como un ejemplo, en la figura 39, se muestra el espectro de RMN-¹³C (DMSO_d₆) del derivado **2I**. Se observan 9 picos y corresponden con el número de carbonos presentes en su estructura: a δ 112,01 ppm (**C3'**, **C5'**); a δ 116,97 ppm (**C5**); a δ 120,00 ppm (**C1'**); a δ 134,01 ppm (**C2'**, **C6'**); a δ 145,00 ppm (**C7**); a δ 160,01 ppm (**C4'**); a δ 158,02 ppm (**C=O**, **C2**); a δ 162,90 ppm (**C=O**, **C4**), y a δ 165,94 ppm (**C6**). Cabe enfatizar que la asignación precisa del **C7** se realizó mediante el respectivo espectro HETCOR.

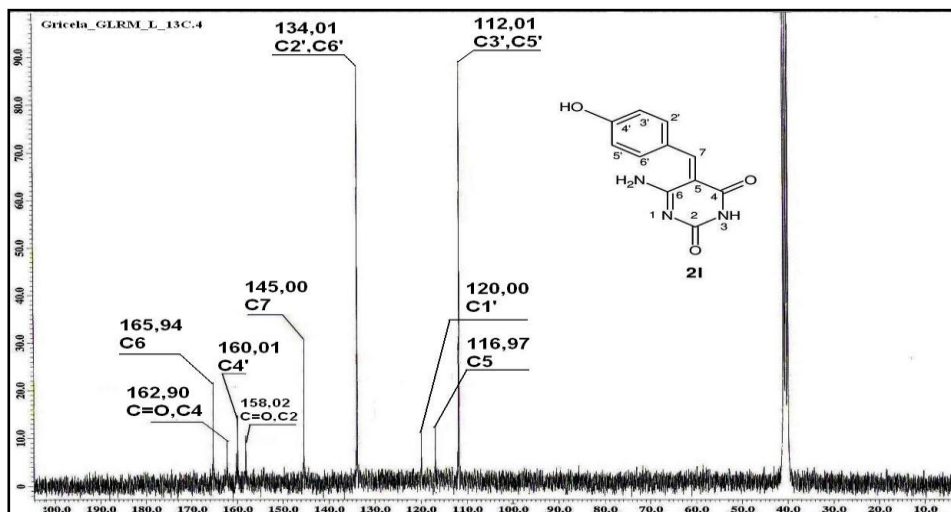


Figura 39. Espectro de RMN- ^{13}C (DMSO_d_6) de **21**

En la figura 40, se muestra el espectro DEPT-135 $^\circ$ de **21**. Como se puede observar, el espectro muestra tres picos mientras que el espectro normal muestra 9 picos. La diferencia de señales corresponden a los carbonos cuaternarios, así que a δ 145,00 ppm corresponde al **C7** que contiene el tipo de carbono CH; a δ 112,01 ppm el pico corresponde a los carbonos **C3'**, **C5'** ya son del tipo CH, al igual que a δ 134,01 ppm el pico corresponde a los carbonos **C2'**, **C6'**.

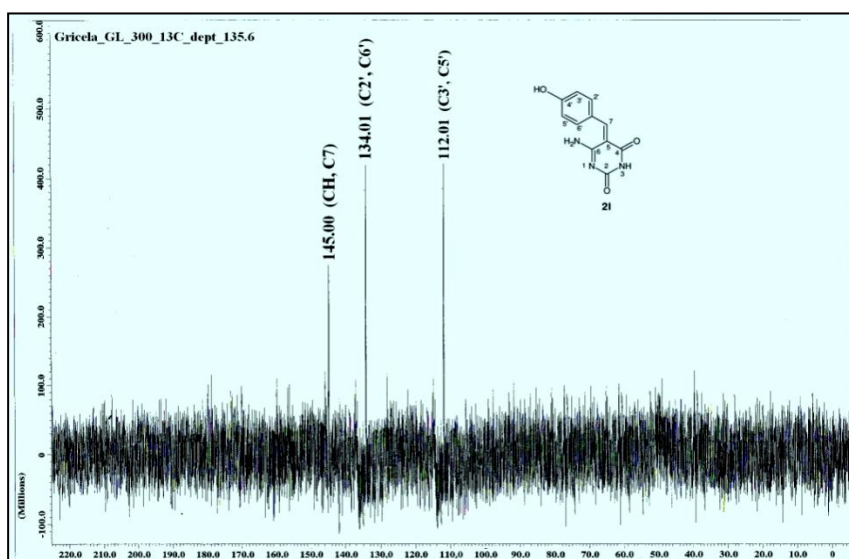


Figura 40. Espectro DEPT-135 de **21**

Al comparar el espectro de RMN-¹³C (figura 39) y el dept-135 (figura 40), se obtienen los carbonos cuaternarios, para el caso de **2I**, son: **C2** y **C4** de los carbonilo en el anillo pirimidínico; **C5** y **C6** también del anillo pirimidínico; **C1'** y **C4'** carbonos cuaternarios del anillo aromático. De acuerdo a todos los datos espectroscópicos analizados, que permitieron caracterizar a la serie de compuestos derivados de pirimidinas **2a-I**, se logró determinar que sus estructuras concuerdan con las esperadas.

VII.1.3 Síntesis de derivados (*E*)-6-amino-5-aríden-2-mercaptopirimidin-(5*H*)-4-ona **3a-l**

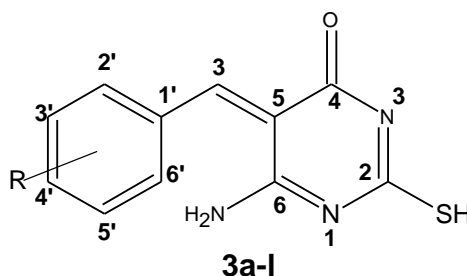
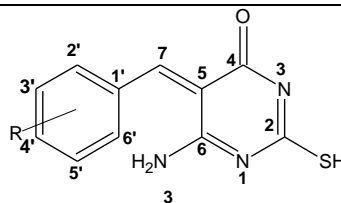


Figura 41. Estructura y esquema de asignación para RMN-¹H y ¹³C de **3a-l**.

12 compuestos nuevos de (*5H*)-6-amino-5-aríden-2-mercapto-pirimidin-4-(*5H*)-ona **3a-l** fueron obtenidos mediante la reacción de ciclocondensación de **1a-l** con tiourea. Al añadir cuidadosamente tiourea a una mezcla de etanol y carbonato bajo reflujo, se observó una efervescencia tal como sucedió en la síntesis de la serie **2a-l**. Esta efervescencia es evidencia de liberación de CO₂. En la figura 21, en la metodología experimental, se muestra la secuencia de reacciones para la síntesis de estos compuestos.

.La reacción procedió en forma limpia. Se demostró que el producto de la reacción para cada caso es una sal cuando se investigó su solubilidad en agua de una pequeña muestra. Luego la sal fue disuelta en agua y al acidificar con ácido clorhídrico al 50% v/v se formó un sólido. Este sólido fue filtrado y lavado con suficiente agua para eliminar cualquier residuo de ácido. La recristalización de todos los productos obtenidos se realizó en etanol caliente. El sólido o los cristales formados luego de recristalización repetida, se filtraron, lavaron con etanol frío y secaron en estufa al vacío. Se les midió el punto de fusión que se reportan sin corregir; se registraron los respectivos IR y los experimentos de RMN-¹H y ¹³C utilizando CDCl₃. En la tabla 12 se muestra:

rendimientos que se encuentra entre 50-90%; puntos de fusión; nuevas bandas que se detectaron en los espectros de IR; las bandas que permanecen y las que desaparecen al compararlas con los IR de los materiales de partida **1a-l**.



3	R	R. (%)	P.f °C	IR (cm ⁻¹)				
				νNH ₂ ,	νSH	νC=O, C4	νCH-Ar	νC=C
a	4-NO ₂	90	202-204	3750, 3650	2576	1641	1600	1510
b	4-F	88	168-170	3625, 3525	2500	1660	1600	1510
c	4-Cl	90	240 desc.	3372, 3272	2540	1650	1599	1510
d	3,4-Cl ₂	85	176-178	3436, 3336	2599	1680	1598	1510
e	4-Br	87	150 desc.	3373, 3273	2570	1680	1600	1510
f	H	80	280 desc.	3445, 3345	2540	1690	1601	1510
g	4-CH ₃	90	292-294	3361, 3261	2585	1675	1599	1510
h	4-OCH ₃	85	>300	3440, 3340	2540	1640	1600	1510
i	3,4-(OCH ₃) ₂	60	200-202	3440, 3342	2590	1655	1601	1514
j	3,4,5-(OCH ₃) ₃	50	250 desc.	3409, 3310	2540	1680	1600	1510
k	4-N(CH ₃) ₂	90	>300 desc.	3400, 3270	2500	1673	1600	1510
l*	4-OH	89	220 desc.	3400, 3300	2540	1670	1600	1510

Tabla 12. Datos físicos de los derivados **3a-l**. desc.: descomposición.

VII.1.3.1. Mecanismos de reacción propuestos para la obtención de la serie **3a-l**

Debido a que el producto final es una sal de potasio de los derivados **3a-l**, se propone que cuando la tiourea reacciona con el carbonato de potasio a la temperatura de reflujo del etanol, se forma la sal potásica del ácido tiocarbamimídico estabilizado por resonancia entre las estructuras **I** y **II** (amidina de tiourea), análoga a la amidina de urea (figura 42).⁸⁶ Esta amidina actúa como nucleófilo y la forma más estable es la **I**.

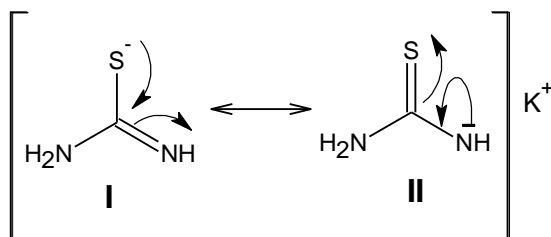


Figura 42. Estructuras de resonancia de la sal de potasio del ácido tioimidocarbónico.

Etap 1. Formación del nucleófilo: Sal del ácido tiocarbamimídico que se estabiliza por resonancia entre las estructura **I** y **II**, se forma por la reacción de tiourea con carbonato de potasio bajo la temperatura de reflujo del etanol con liberación de CO_2 . (Figura 43).

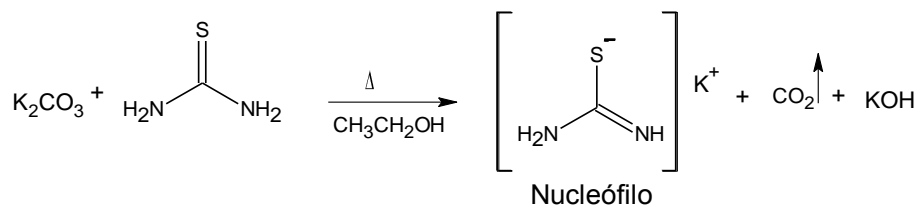


Figura 43. Reacción neta para la formación del nucleófilo

Etap 2. Sustitución nucleofílica al grupo acilo y adición nucleofílica intramolecular al nitrilo:

Ocurre una sustitución nucleofílica al carbonilo acílico en **1** con salida del grupo etoxilo formando la estructura **I**. Luego en **I**, el amino terminal se adiciona intermolecularmente al carbono electrofílico del nitrilo conduciendo a la estructura **II**. Mediante un equilibrio tautomérico en la que está favorecida la forma **III** por intercambio de un átomo de H entre los átomos adyacente **N1** y **C6** en la molécula, se genera la sal de pirimidina **III**.⁸⁵ Finalmente, la sal estructura **III** se transforma en **3** por adición de HCl; como se aprecia en la figura 44.

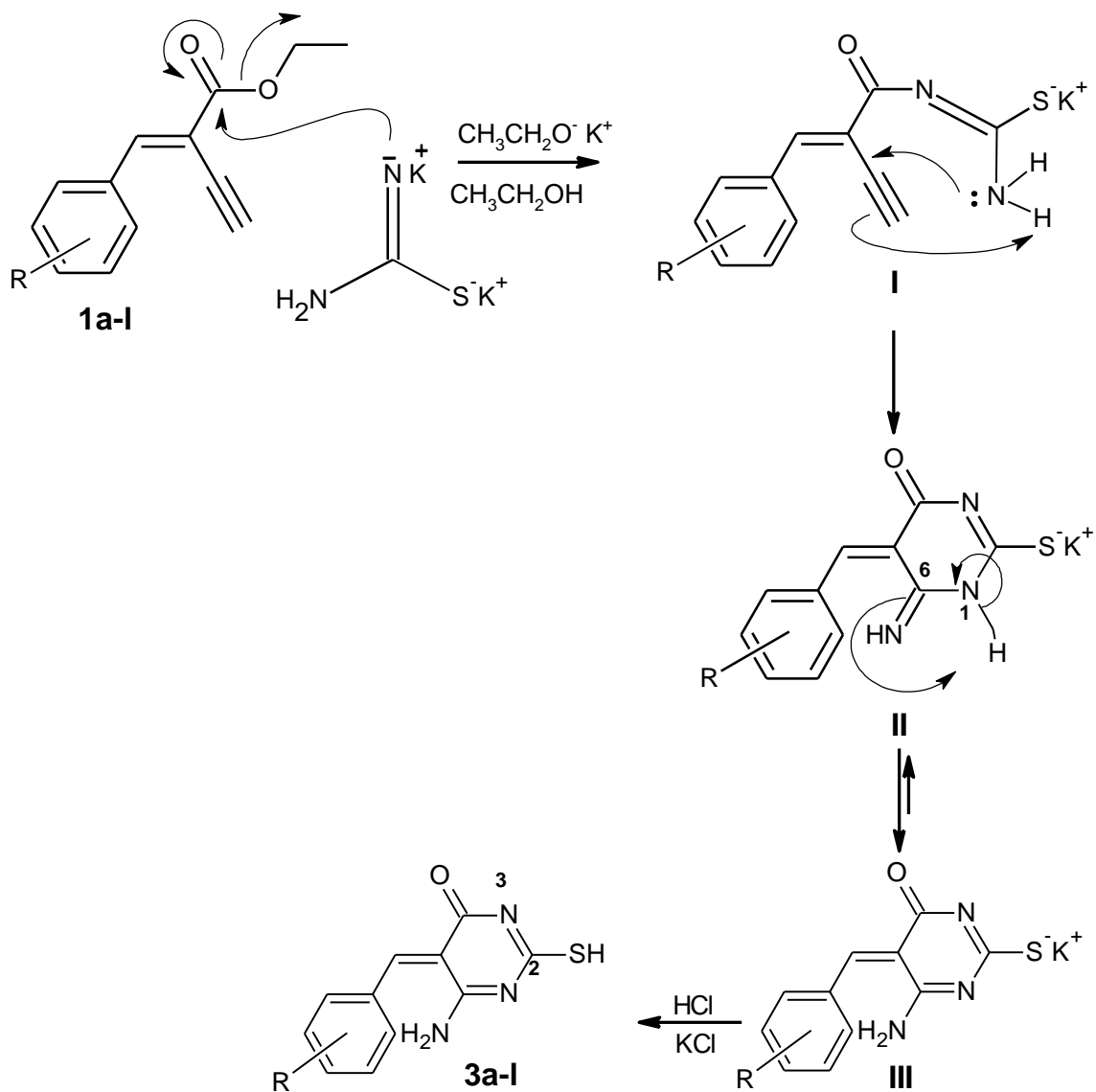


Figura 44. Mecanismo propuesto para formar las pirimidinas **3a-I**.

VII.1.3.2. Análisis de los datos espectroscópicos de la serie 3a-l

VII.1.3.2.a Espectroscopia de IR

En general, en el espectro de IR de cada uno de los derivados **3a-l**, se detectan las bandas de absorción más importantes situadas entre $3880\text{-}1510\text{ cm}^{-1}$.

Desparece la banda a 2992 cm^{-1} debida al estiramiento C–H del grupo $\text{–CH}_2\text{CH}_3$ unido al grupo carbonilo acílico ($>\text{C}=\text{O}$) y la otra entre $2224\text{-}2210\text{ cm}^{-1}$ característico del grupo $\text{–C}\equiv\text{N}$, lo que indica que tanto la sustitución nucleofílica al carbono acílico así como la adición nucleofílica intramolecular al grupo nitrilo, se llevó a cabo como era lo esperado. Se detectan dos bandas nuevas muy similares, la primera se observa entre $3880\text{-}3372\text{ cm}^{-1}$ y la segunda entre $3750\text{-}3172\text{ cm}^{-1}$ características de amina primaria; entre $2600\text{-}2550\text{ cm}^{-1}$ se detecta otra banda nueva característica de las tensiones del enlace S–H; entre $1690\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$ se observa la banda típica del grupo $\text{–C}=\text{O}$. Permanecen las bandas entre $1601\text{-}1599\text{ cm}^{-1}$ características de CH-Aromático y entre $1510\text{-}1504\text{ cm}^{-1}$ característica del grupo ($>\text{C}=\text{CH}\text{–}$).

En la figura 45 se muestra el espectro de IR del derivado **3k** como un ejemplo específico. Se puede observar que a 3400 y 3270 cm^{-1} aparece un par de bandas correspondiente a la absorción por estiramiento asimétrico y simétrico del enlace N–H característica del grupo –NH_2 ; a 2500 cm^{-1} la banda de absorción por estiramiento, característicamente del enlace S–H; a 1673 cm^{-1} la banda aguda de absorción por estiramiento típica del enlace C–O característica del grupo carbonilo α,β -insaturado.

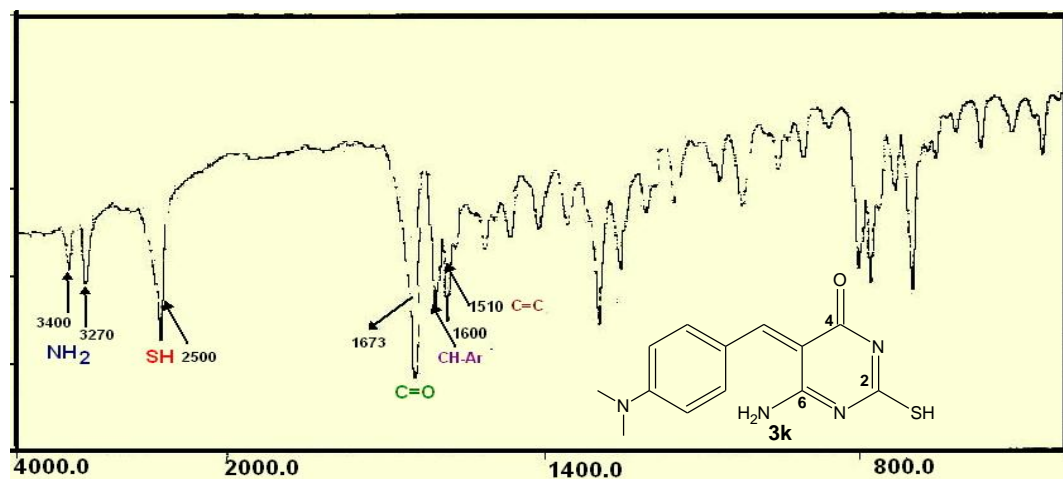


Figura 45 Espectro de IR de 3k.

Vale resaltar que como se propuso en el esquema de síntesis inicial, se esperaba que al hacer reaccionar cada derivado de la serie **1a-I**, con tiourea se obtendrían productos con el -C=S (tiona) en la posición C2 del núcleo de pirimidina. Pero la ausencia de bandas intensas entre $1028\text{-}1082\text{ cm}^{-1}$ característico de dicho grupo funcional y en su lugar la aparición de una banda intensa entre $2500\text{-}2600\text{ cm}^{-1}$ característica del grupo SH (tiol), permite asumir que debe existir un equilibrio tautomérico, debido a la deslocalización electrónica mostrada en la figura 46, entre dos estructuras tautoméricas I y II como en las tiosemicarbazonas.⁸⁷⁻⁸⁹ Donde la forma tiol, estructura más estable, es la predominante.

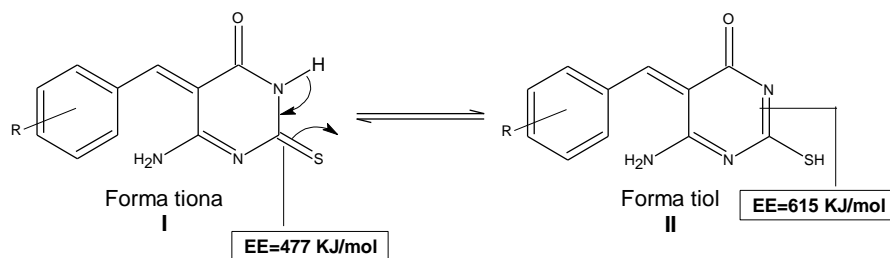


Figura 46. Formas tautoméricas de compuestos de la serie **3a-I**

Por otra parte, la energía de enlace de C=N es 615 KJ/mol y la de C=S es 477 KJ/mol . Al ser el enlace C=N más fuerte que el de C=S , lo hace más estable y, como consecuencia, la forma tiol que contiene este grupo es la predominante en la serie de derivados **3a-I**. Al comparar estos valores con los que se relacionan con las

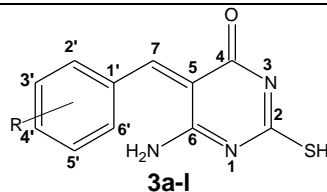
estructuras de la serie **2a-I**, se tiene que la energía de enlace C=O es 745 KJ/mol mayor que la del enlace C=N, por lo tanto es más estable y, como consecuencia, la forma predominante es para las dionas.⁹⁰⁻⁹² Está ampliamente reportado en la bibliografía, así como en las tablas de energías de enlace (tabla 13), que el enlace C=N (enlace π) es más fuerte (estable) que el enlace C=S, lo que hace que los productos de la serie **3a-I** sean tioles, siendo el equilibrio desplazado de forma mayoritaria hacia el producto más estable, la forma II como se muestra en la figura 46. A continuación, se presenta la tabla 13, donde se observan los valores de Energías de Enlace, resaltándose en color amarillo los valores de energía de los enlaces C=N y C=S.⁹⁰⁻⁹²

ENLACE	ENERGÍA DE ENLACE (KJ / mol)	ENLACE	ENERGÍA DE ENLACE (KJ / mol)
H-H	436,4	O=O	498,7
H-F	568,2	F-F	150,6
H-Cl	431,9	Cl-Cl	242,7
H-Br	366,1	Br-Br	192,5
H-I	298,3	I-I	151,0
N≡N	941,4	C-S	255
H-N	393	C=S	477
H-O	460	N-N	193
H-S	368	N=N	418
H-P	326	N-O	176
C-H	414	N-P	209
C-C	347	O-O	142
C=C	620	O-P	502
C≡C	812	O=S	469
C-N	276	P-P	197
C=N	615	P=P	489
C≡N	891	S-S	268
C-O	351	S=S	352
C=O	745		
C-P	263		

Tabla 13. Valores de energías de enlace entre átomos de diferentes elementos químicos.⁹⁰⁻⁹²

VII.1.3.2.b Análisis de RMN-¹H

El *tripleto* a δ 1,36-1,41 ppm y el *cuarteto* a δ 4,30-4,39 ppm presente en los intermediarios de partida **1a-I**, desaparecieron, indicando que la sustitución nucleofílica al carbono acílico con la salida del grupo $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ se dio. En la tabla 14, se resumen los δ de los protones SH, NH₂, H7, CH-aromáticos y de los sustituyentes respectivos.



R, RMN ^1H (δ , ppm), J (Hz)

	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l
NH ₂	5,22 (s,2H)	5,15 (s,2H)	4,97 (s,2H)	5,59* (s,2H)	5,22 (s,2H)	5,60* (s,2H)	5,20 (s,2H)	4,29 (s,2H)	5,03 (s,2H)	5,56 (s,2H)	5,65* (s,2H)	5,35 (s,2H)
SH	3,38 (s,1H)	2,60 (s,1H)	3,65 (s,1H)	3,39* (s,1H)	3,38 (s,1H)	3,72* (s,1H)	3,60 (s,1H)	3,25 (s,1H)	2,42 (s,1H)	3,25 (s,1H)	3,60** (s,1H)	2,30 (s,1H)
H7	7,98 (s,1H)	8,20 (s,1H)	8,18 (s,1H)	8,13 (s,1H)	7,98 (s,1H)	8,00 (s,1H)	8,07 (s,1H)	8,17 (s,1H)	8,11 (s,1H)	8,12 (s,1H)	8,07 (s,1H)	8,11 (s,1H)
H2',H6'	7,55 (dd,2H) 2.44 y 8.91	7,92 (td,F,2H) 1.99, 8.30 y 8.80	7,89 (dd,2H) 1.97 y 8.40	-	7,77 (dd,2H) 2.03 y 8.15	7,60- 7,70 (m,2H)	7,86 (dd,2H) 2.03 y 8.15	6,96 (dd,2H) 1.99 y 8.91	-	7,08 (d,2H)	7,95 (dd,2H) 2.13 y 8.91	7,03 (dd,2H) 2.05 y 8.91
H3',H5'	7,77 (dd,2H) 2.44 y 8.91	7,45 (dt,F,2H) 1.99, 6.20 y 8.80	7,39 (dd,2H) 1.97 y 8.39	-	7,55 (dd,2H) 2.03 y 8.15	-	7,52 (dd,2H) 2.03 y 8.15	6,60 (dd,2H) 1.99 y 8.17	-	-	6,74 (dd,2H) 2.13 y 8.91	6,80 (dd,2H) 2.03 y 8.80
H2'	-	-	-	7,39 (d,1H) 1.97	-	-	-	-	6,93 (d,1H) 1.97	-	-	-
H5'	-	-	-	7,99 (d,1H) 8.10	-	-	-	-	7,90 (d,1H) 8.17	-	-	-
H6'	-	-	-	7,73 (dd,1H) 1.97 y 8.10	-	-	-	-	7,70 (dd,1H) 1.97 y 8.17	-	-	-
H3',H4',H5'	-	-	-	-	-	7,20- 7,40 (m,3H)	-	-	-	-	-	-
-CH ₃	-	-	-	-	-	-	2,42 (s,3H)	-	-	-	-	-
-OCH ₃	-	-	-	-	-	-	-	3,85 (s,3H)	3,72 (s,3H) y 3,78 (s,3H)	3,80 (s,9H)	-	-
-N(CH ₃) ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,08 (s,6H)	-
-OH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,61 (ba,1H)

Tabla 14. Grupos de protones detectados entre δ 2,30-8,20 ppm de los derivados **3a-l**.

*: Intercambio con D₂O; **: intercambio lento con D₂O.

En la figura 47, se muestra el espectro del compuesto **3k**. En el espectro **A**, se observan las siguientes señales; a δ 3,08 ppm un *singlete* que integró para seis protones que fueron asignados al grupo $(\text{CH}_3)_2\text{N}$ – en la posición C4'; δ 3,60 ppm un *singlete* que integró para un protón asignado al grupo SH –; δ 5,65 ppm un *singlete* que integró para dos protones asignados a los protones del grupo $-\text{NH}_2$; δ 6,74 ppm un *doblete de dobletes* con constantes de acoplamiento *orto* y *meta* de $J_{\text{H}_2'\text{H}_3'}=8,91$ y $J_{\text{H}_2'\text{H}_5'}=2,13$ Hz asignados a los protones **H3'** y **H5'**; a δ 7,95 ppm otro *doblete de doblete* que integraron para dos protones con constantes de acoplamiento *orto* y *meta* de $J_{\text{H}_3'\text{H}_2'}=8,91$ y $J_{\text{H}_3'\text{H}_6'}=2,13$ Hz asignados a los protones **H2'** y **H6'**; y a δ 8,07 ppm un *singlete* que integró para un protón asignado al protón **H7**.

El espectro **B**, es el resultado de agregar unas gotas agua deuterada (D_2O) a la muestra. La finalidad del estudio fue realizar el intercambio selectivo de protón-deuterio en los grupos con hidrógenos unido a los átomos de nitrógeno y azufre para corroborar la presencia de estos grupos en las estructuras sintetizadas. Como se puede observar, la señal asignada al grupo $-\text{NH}_2$ a δ 5,65 ppm desapareció dejando un pequeño hundimiento característico, como demostración de la presencia de una señal desaparecida, e indicando que se realizó un intercambio rápido con D_2O . La señal asignada al grupo $-\text{SH}$ a δ 3,60 ppm se ensancha y se desplaza a δ 3,34 ppm. El ensanchamiento de la señal indica que el intercambio es lento. Se sabe que el protón sobre azufre usualmente intercambia a baja velocidad,⁹³ sin embargo, el intercambio puede ser rápido aumentando la cantidad D_2O , agitando bien la muestra y dejandola reposando unos minutos antes de registrar el espectro nuevamente, como se puede observar en la figura 48, con el espectro del derivado **3f**.

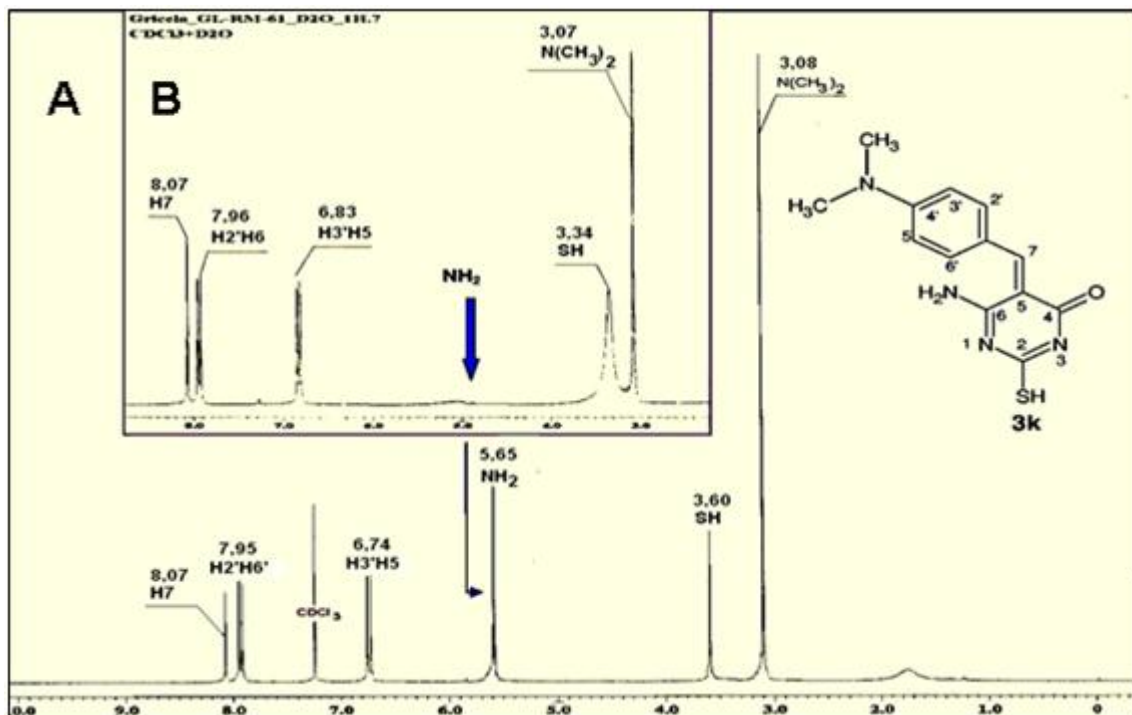


Figura 47. Espectro de RMN ^1H **3k**. A: CDCl_3 . B: $\text{CDCl}_3 + \text{D}_2\text{O}$

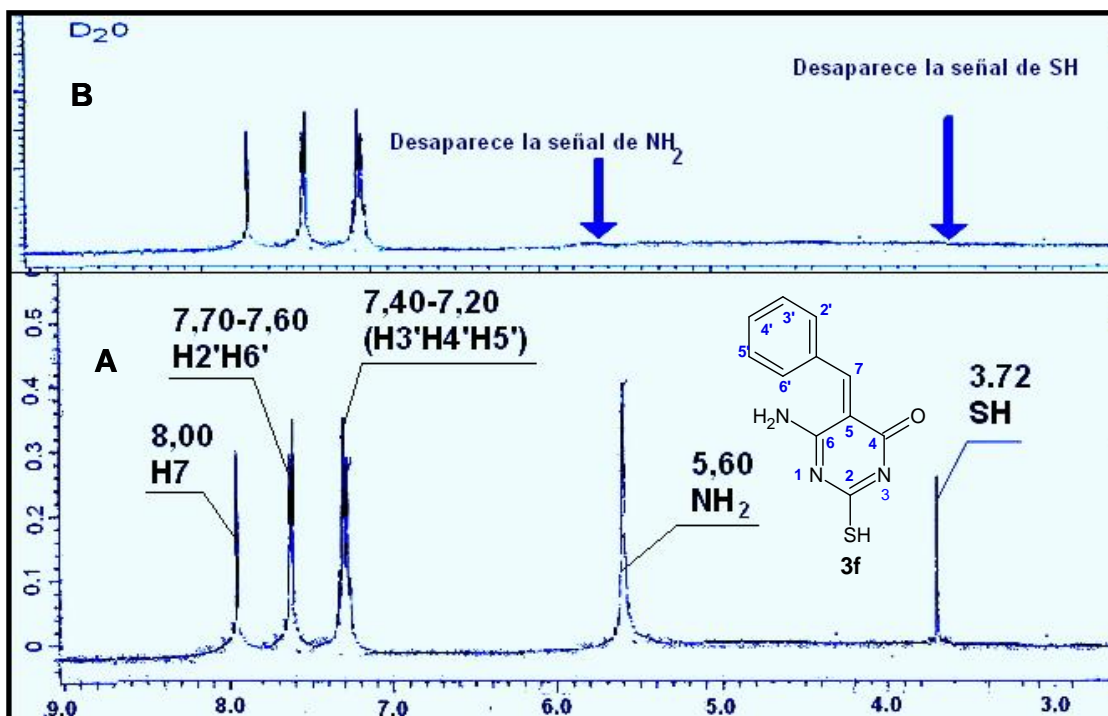
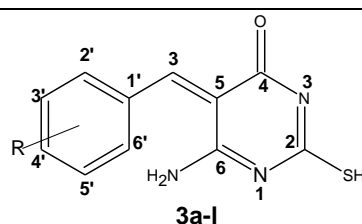


Figura 48. Espectro RMN ^1H (CDCl_3) **3f**. A: sin D_2O . B: ($\text{CDCl}_3 + \text{D}_2\text{O}$ 1:1)

VII.1.3.2.c. Análisis de RMN-¹³C

En los espectros de RMN-¹³C (CDCl₃) de la serie **3a-l**, se detectan señales comunes en todos los derivados y se resumen en la tabla 15.



Tipo de carbono	δ (ppm)
C5	121,50 - 129,00
C1'	126,00 - 139,00
C7	146,00 - 150,00
C2	170,00 – 177,03
C4	160,00 – 168,79
C6	161,81 – 173,00

Tabla 15. Desplazamiento químico de RMN ¹³C de los grupos comunes en todos los derivados **3a-l**.

Para todos los derivados **3a-l**, se observan todas las señales características de los derivados, y el número de señales se ajusta bien y está de acuerdo al patrón de sustitución correspondiente de cada uno de los mismos. En la figura 49, se presenta el espectro HETCOR del compuesto **3h** y la correlación establecida se resume en la tabla 16.

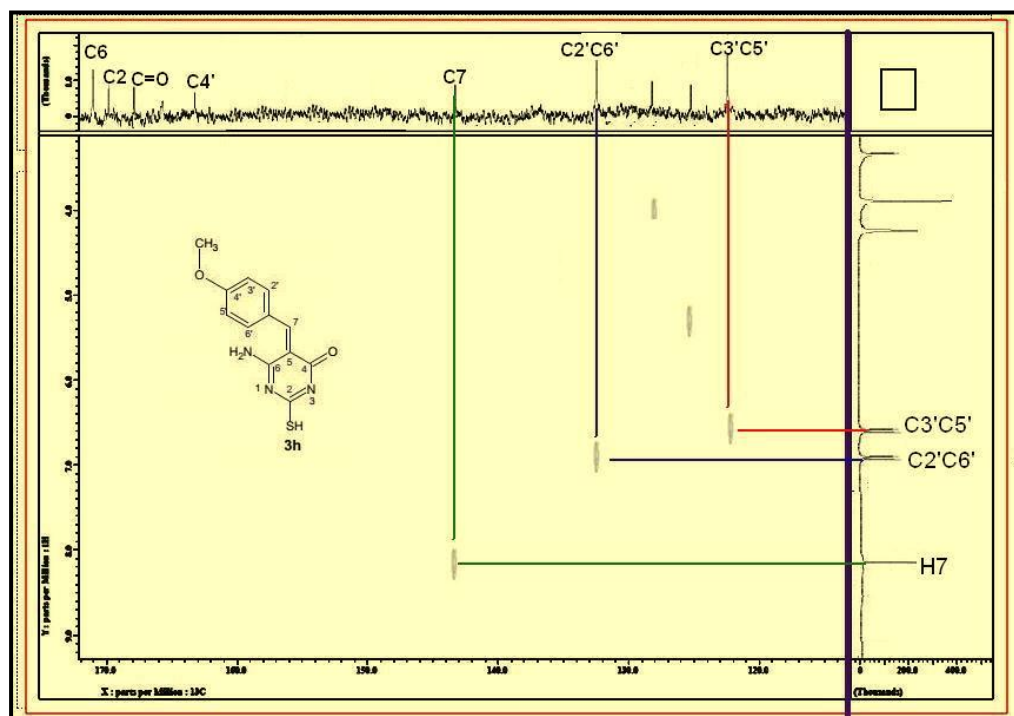


Figura 49. Espectro HETCOR de **3h**.

Tipo de Carbono/Numeración	RMN- ¹³ C/HETCOR	RMN ¹ H
CH/C7	147,00 ppm	8,17 ppm
CH/C2', C6'	132,20 ppm	6,96 ppm
CH/C3', C5'	124,10 ppm	6,60ppm

Tabla 16. Correlaciones establecidas por espectro HETCOR para el compuesto **3h**.

En la figura 50, se muestra el espectro de RMN-¹³C normal del compuesto **3h** y en figura 51 el espectro dept-135° del mismo compuesto.

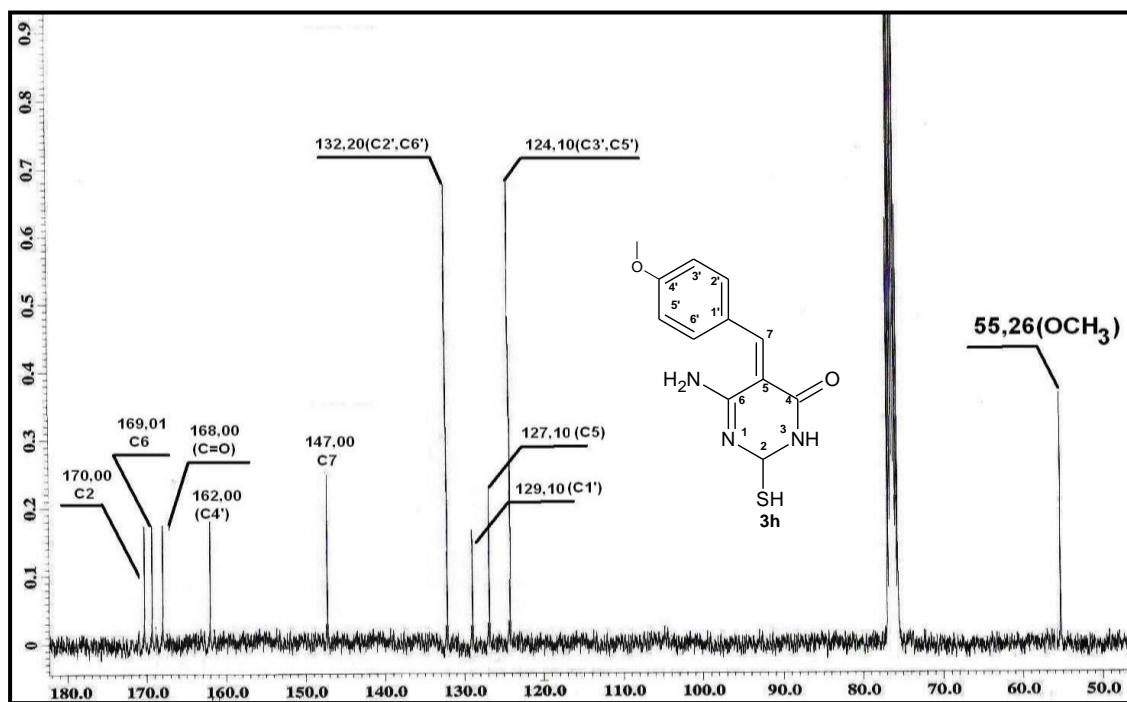


Figura 50. Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃) de 3h.

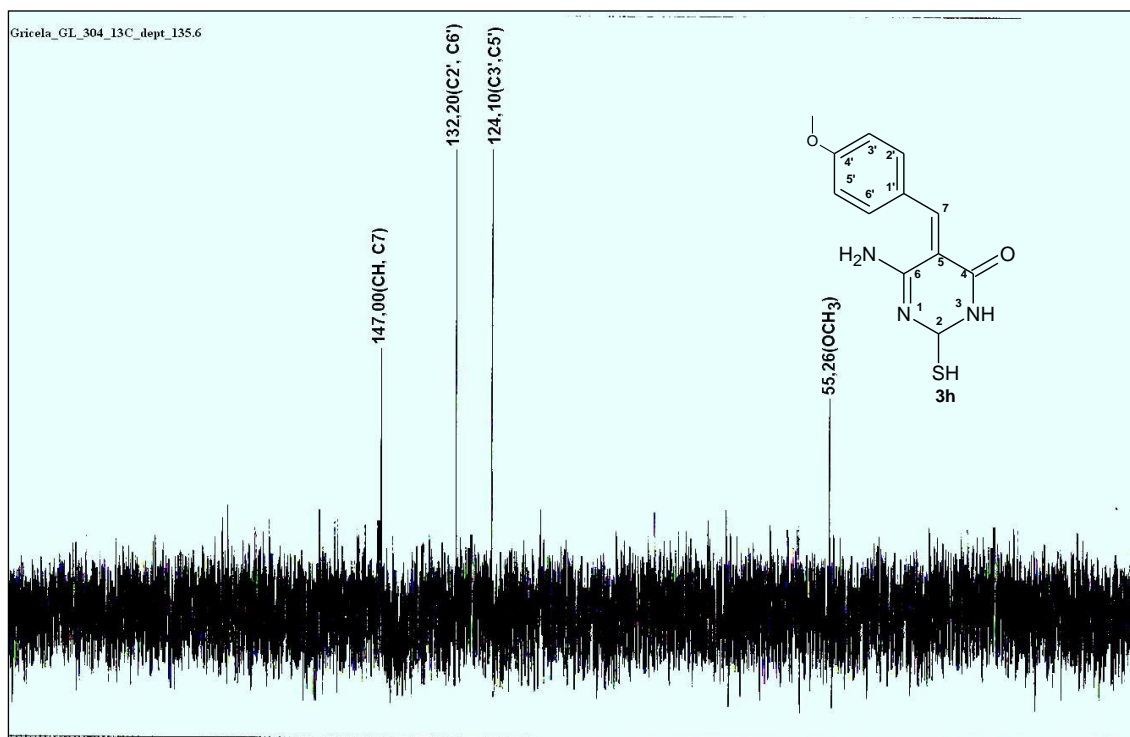


Figura 51. Espectro DEPT-135° de 3h.

Las señales que no aparecen en el espectro dept-135° corresponden a los carbonos cuaternarios. La señal observada en el espectro dept-135° a δ 55,26 ppm corresponde al grupo $-\text{OCH}_3$ ubicado en **C4'** y éste en el espectro de RMN- ^{13}C normal aparece en 162,00 ppm. La siguiente señal que desaparece a δ 127,10 ppm es asignada al **C5**, el carbono del anillo de pirimidina más apantallado. Las señales de CH aromáticas que se conservan a δ 124,10 y 132,20 ppm corresponden a los carbonos equivalentes (**C3'**, **C5'**) y (**C2'**, **C6'**) respectivamente. La señal a δ 121,10 ppm desaparecida en el dept es asignada al **C1'**. Con respecto al resto de las señales en el espectro de RMN- ^{13}C normal de **3h** (figura 51), la señal a δ 170,00 ppm, fue asignada al **C2**; a δ 169,01 ppm al **C6** y a δ 162,00 ppm al carbonilo de α,β -insaturado (carbono acílico).

VII.2. Evaluación biológica (Actividad Antimicrobiana)

Se evaluó la actividad antimicrobiana de 48 compuestos sintetizados, tanto como en forma de sales potásicas como en su forma neutra, contra bacterias Gram-positivas (G+): *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*, y Gram- negativos (G-): *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, y la levadura *Candida tropicalis*.

Como control positivo se emplearon antibióticos comercialmente disponibles, como lo son **AN**: amikacina (30mcg), **SAM**: ampicilina/sulbactam (20mcg), **O**: ofloxacina (5mcg), **TIL**: tilmicosin (15mcg), **PB**: polimixina B: (300 UI) y como control negativo **S** = mezcla de solventes o vehículo.

VII.2.1. Resultados obtenidos de la actividad antimicrobiana

Los resultados obtenidos de la actividad antimicrobiana contra bacterias gram (+) y gram (-) y contra *C. tropicalis* de los compuestos sintetizados **2a-I** y **3a-I**, se resumen en la tabla 17. En las graficas 1, 2, 3 y 4 se muestra la actividad expresada en diámetros del halo de inhibición reportados en mm.

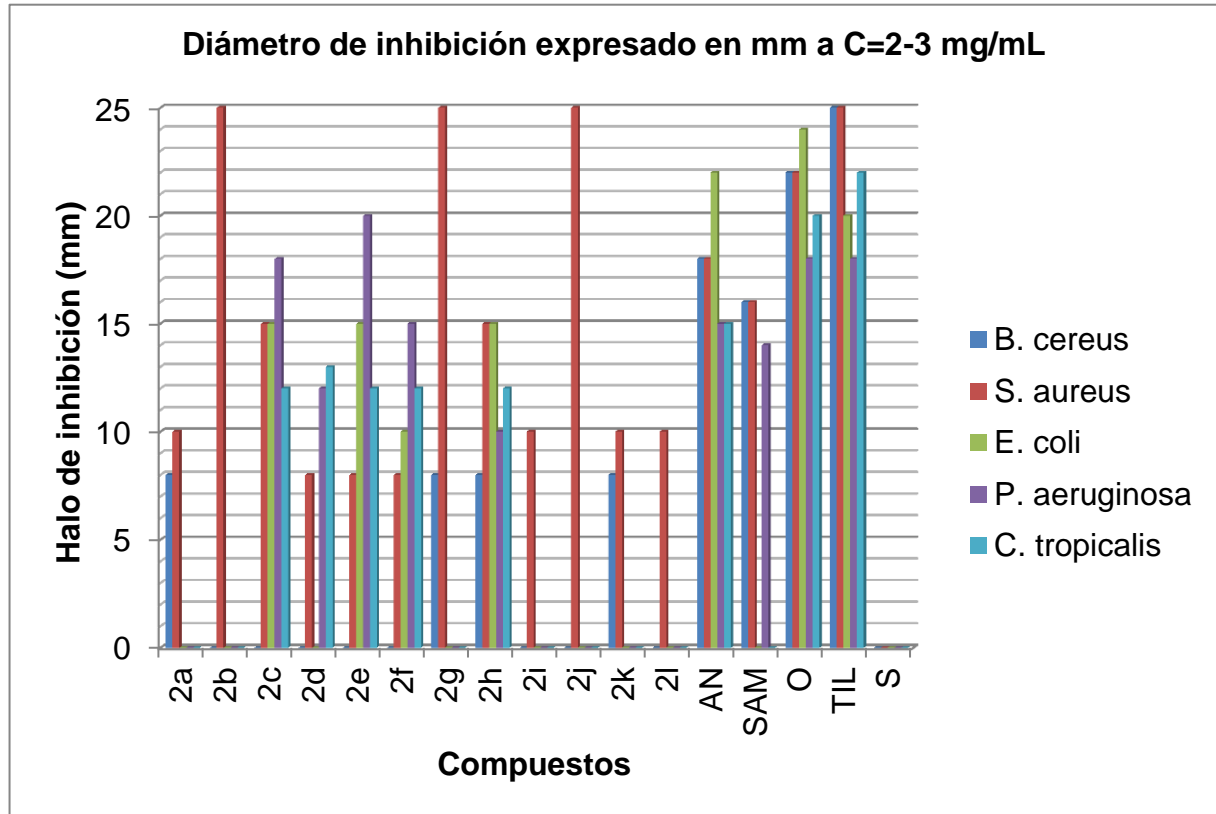
Halo de inhibición observada (mm)										
Microorganismo										
Comp.	Gram Positivas				Gram Negativas				Levadura	
	<i>B. cereus</i>		<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>C. tropicalis</i>	
	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N
2a	8	10	10	-	-	-	-	-	-	-
2b	-	12	25	-	-	-	-	-	-	-
2c	-	8	15	10	15	8	18	-	12	8
2d	-	14	8	15	-	12	12	-	13	15
2e	-	8	8	13	15	-	20	-	12	-
2f	-	8	8	8	10	15	15	10	12	12
2g	8	-	28	-	-	-	-	-	-	-
2h	8	10	15	10	15	-	10	-	12	12
2i	-	-	10	-	-	8	-	8	-	10
2j	-	10	25	8	-	-	-	-	-	14
2k	8	-	10	-	-	10	-	8	-	10
2l	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-
3a	-	10	15	11	-	12	14	11	14	-
3b	15	-	25	-	10	-	-	-	14	-
3c	15	-	12	10	15	-	13	-	-	-
3d	8	-	-	10	8	-	10	-	8	-
3e	-	15	10	10	10	10	-	-	-	14
3f	-	-	12	-	10	-	-	-	-	-
3g	28	10	28	12	-	10	-	-	-	-
3h	12	10	10	10	-	-	-	-	-	-
3i	-	-	10	-	10	-	12	-	14	-
3j	-	-	28	-	10	-	-	-	-	-
3k	-	12	10	13	-	12	-	-	-	-
3l	-	-	-	-	-	12	-	8	-	-
AN	18		18		22		15		15	
SAM	16		16		-		14		-	
O	22		22		24		18		20	
TIL	25		25		20		18		22	
S	-		-		-		-		-	

N: Compuesto neutro; **S:** Compuesto en forma de sal de potasio. **(-):** No inhibición.

AN: Amikacina; **SAM:** ampicilina/sulbactam; **O:** ofloxacina; **TIL:** tilmicosin; **S:** mezcla de solventes.

Tabla 17. Actividad antimicrobiana de los productos **2a-l** y **3a-l**, tanto sales potásicas (**S**) como neutros (**N**).

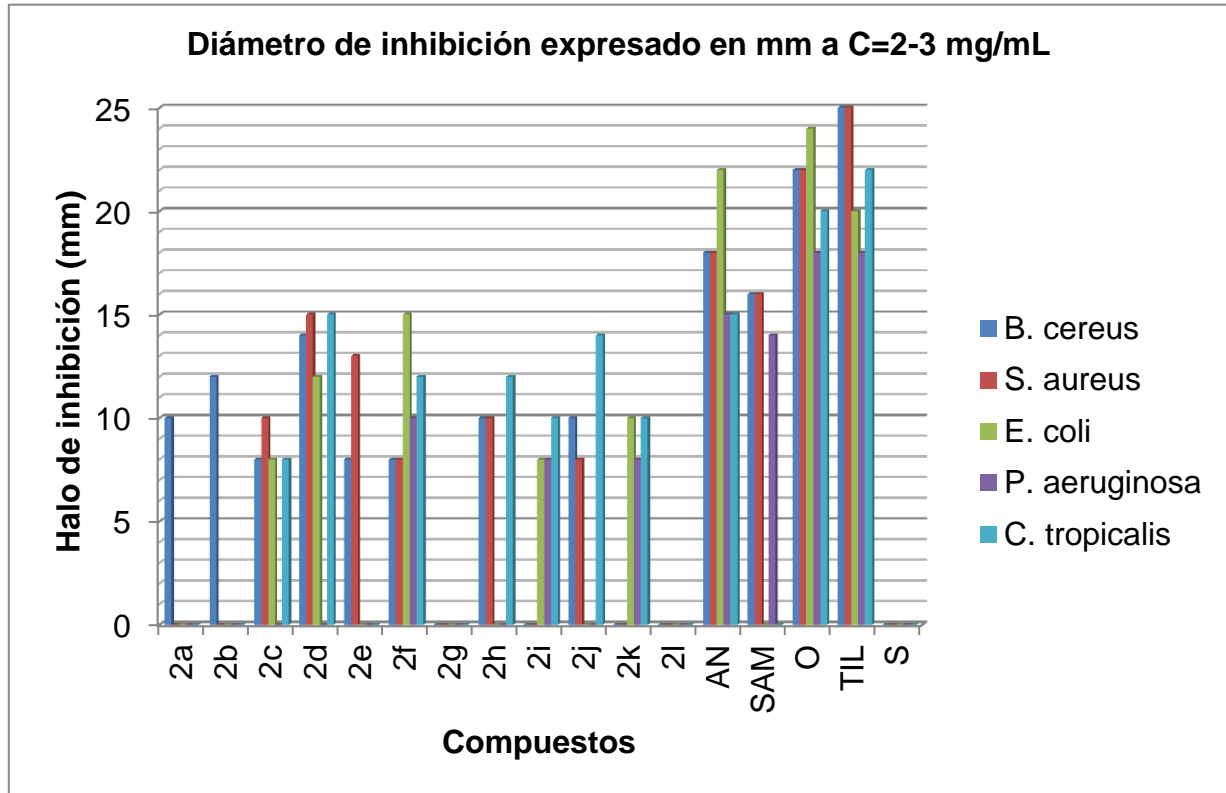
Como se puede apreciar, no se presentó actividad inhibitoria por parte de la mezcla de solventes que se utilizó, lo cual es importante denotar, porque conlleva a afirmar que el efecto antimicrobiano es sólo atribuido a cada compuesto evaluado.



Grafica 1. Actividad antimicrobiana de los compuestos evaluados **2a-l**, como sales potásicas.

Los resultados de los compuestos **2a-l**, con valores de halo de inhibición mayores a los controles positivos, evaluados como sales potásicas, mostrados en el gráfico 1, son los siguientes:

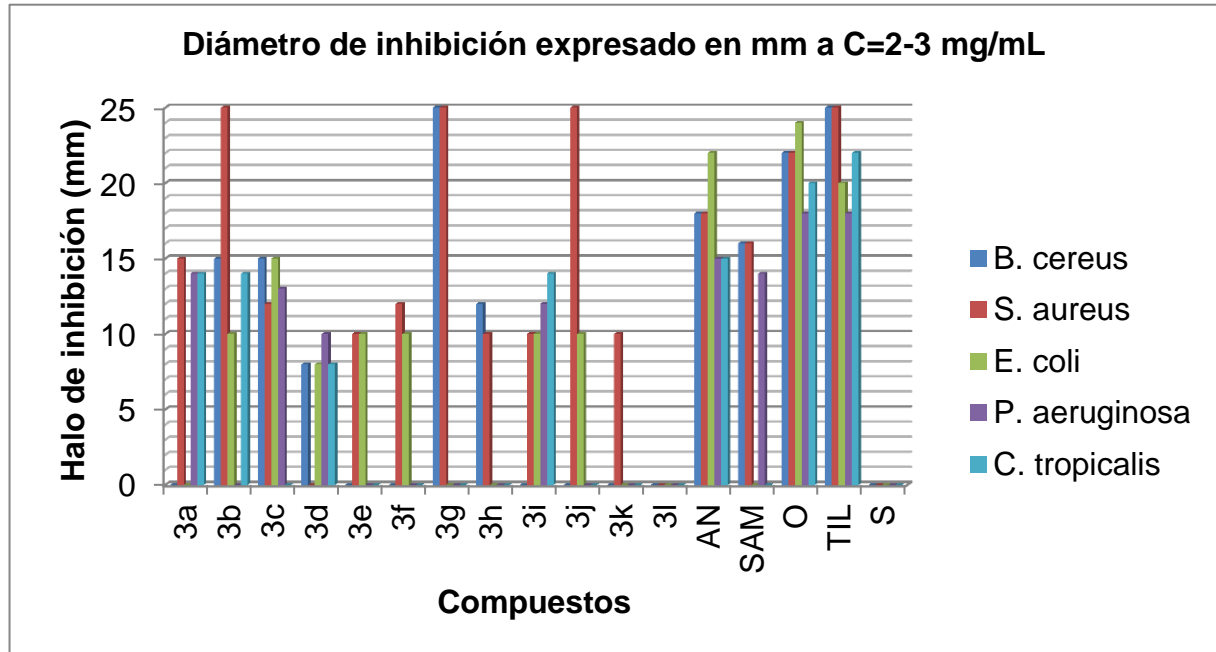
- El compuesto **2c** fue activo sólo contra las bacterias *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*.
- El compuesto **2h** fue activo sólo contra las bacterias *S. aureus* y *E. coli*.
- El compuesto **2e** fue activo sólo contra las bacterias *E. coli* y *P. aeruginosa*.
- El compuesto **2f** fue activo sólo contra la bacteria *P. aeruginosa*.
- Los compuestos **2b**, **2g** y **2j** fueron activos sólo contra la bacteria *S. aureus*.



Grafica 2. Actividad antimicrobiana de los compuestos evaluados **2a-l**, como neutros.

Los resultados de los compuestos **2a-l**, evaluados neutros, con valores de halo de inhibición mayores a los controles positivos, mostrados en el gráfico 2, son los siguientes:

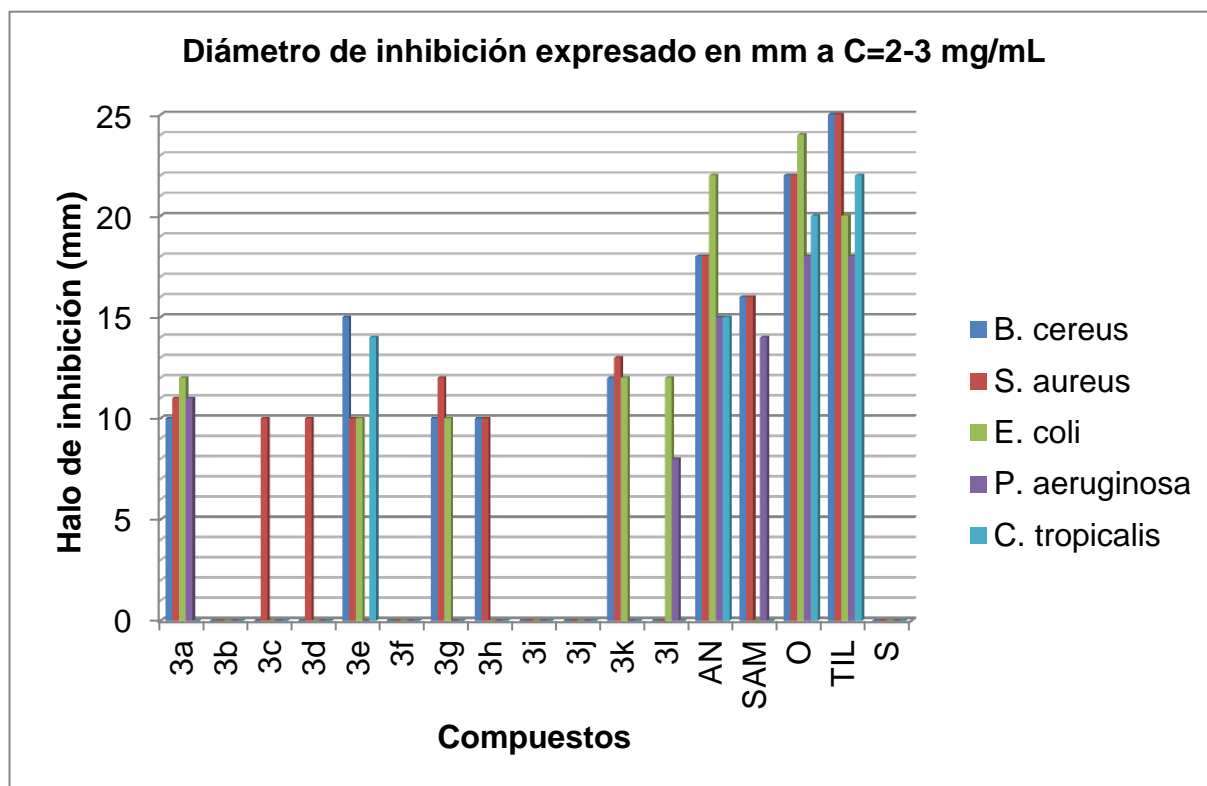
- El compuesto **2d** fue activo contra todos los microorganismos, menos *E. coli* y *P. aeruginosa*.
- El compuesto **2f** fue activo sólo contra *E. coli*.
- El compuesto **2j** fue activo sólo contra *C. tropicalis*.



Grafica 3. Actividad antimicrobiana de los compuestos evaluados **3a-l**, como sales potásicas.

Los resultados de los compuestos **3a-l**, con valores de halo de inhibición mayores a los controles positivos, evaluados como sales potásicas, mostrados en el gráfico 3, son los siguientes:

- El compuesto **3c** fue activo contra todos los microorganismos bacterianos evaluados, menos *S. aureus*.
- Los compuestos **3b** y **3g** fueron activos sólo contra las bacterias *B. cereus* y *S. aureus*.
- El compuesto **3a** fue activo sólo contra las bacterias *S. aureus* y *P. aeruginosa*, y la levadura.
- El compuesto **3j** fue activo sólo contra la bacteria *S. aureus*.
- El compuesto **3i** fue activo sólo contra la levadura *C. tropicalis*.



Grafica 4. Actividad antimicrobiana de los compuestos evaluados **3a-l**, como neutros.

Los resultados de los compuestos **3a-l**, con valores de halo de inhibición mayores a los controles positivos, evaluados neutros, mostrados en el gráfico 4, son los siguientes:

- El compuesto **3e** fue activo sólo contra *B. cereus* y *C. tropicalis*.

VII.2.2. Comparación de actividad de los productos evaluados por sustituyentes

VII.2.2.1. Compuestos halogenados

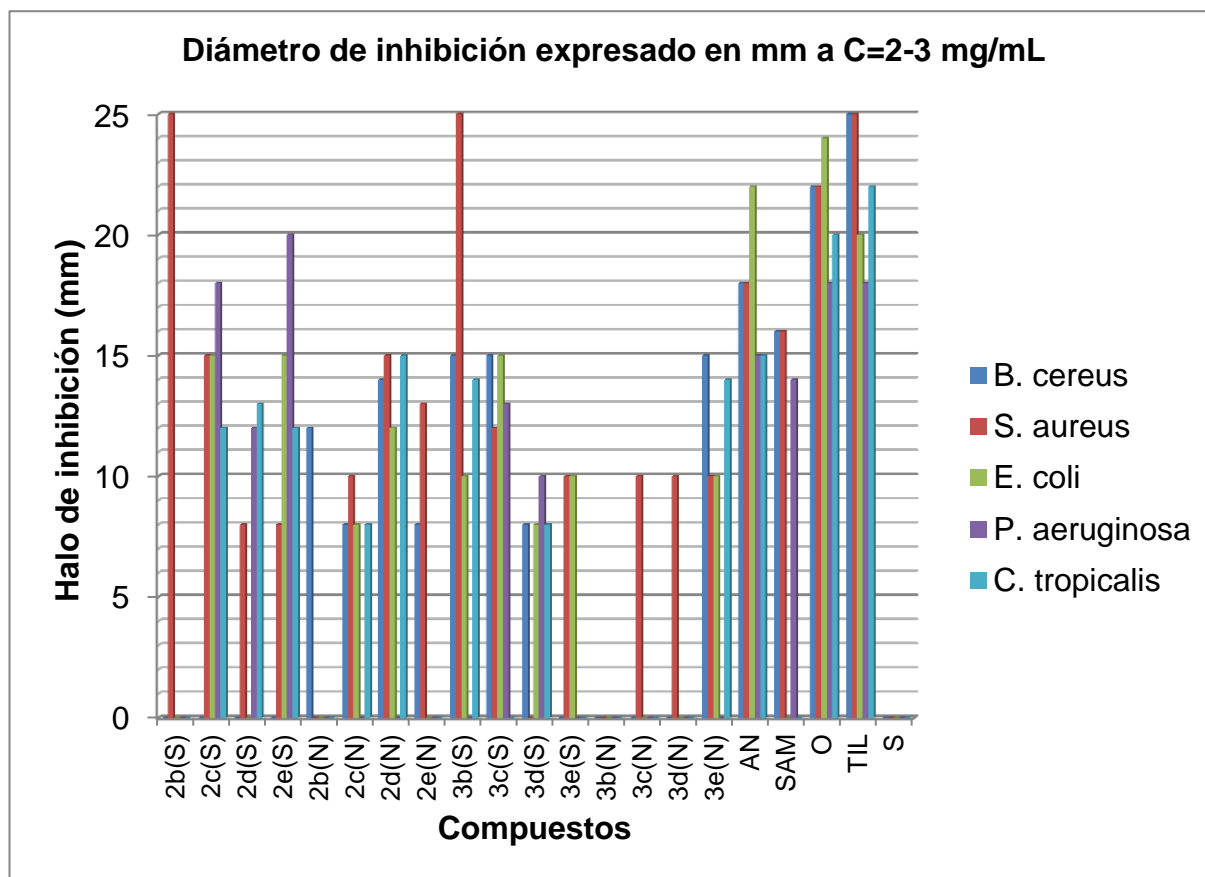
Los compuestos organohalogenados y, en especial, los organofluorados, están ampliamente reportados como compuestos con importante actividad biológica, incluyendo actividad antimicrobiana diversa.

Los compuestos de las series **2a-I** y **3a-I**: **2b** y **3b** (4-F), **2c** y **3c** (4-Cl), **2d** y **3d** (3,4-dicloro) y **2e** y **3e** (4-Br), son los compuestos halogenados de todos los productos evaluados, incluyendo sus formas de sales potásicas y neutras; un total de 16 productos de los 48 productos pirimidínicos evaluados (sumando sus formas de sales potásicas y neutras).

De todos estos, como se observa en la grafica 5, todos los productos fueron activos ante al menos algún microorganismo, ya sea bajo su forma de sal potásica o como compuesto neutro. Sin embargo, el compuesto **2b** fue activo únicamente ante un microorganismo (siendo ampliamente reportada la actividad antimicrobiana de los compuestos con este sustituyente); los compuestos **2c**, **2d**, **2e**, **3b**, **3c**, **3d**, **3e** (sal potásica) fueron activos contra 3 o más microorganismos. Muy importante la actividad de **2b** y **3b** ante *S. aureus*.

Otro aspecto importante a considerar consiste que las sales potásicas de estos compuestos fueron apreciablemente más activas y efectiva ante más microorganismos, que los productos neutros (con la excepción de los compuestos **2d** y **3e**). Esto se debe a que los compuestos bajo la forma sal son solubles en medio acuoso, y la mayor parte de los organismos vivos es agua, y, los mecanismos bioquímicos son en este mismo medio.

Por último, se resalta que los compuestos halogenados con sustituyente en posición 4 fueron más activos que los sustituidos en posición 3,4, ya sea en actividad específica o en número de microorganismos. Esto puede deberse al aumento del tamaño del sustituyente bencilideno del anillo pirimidínico, con el aumento de sustituyentes halógenos (los cuales tienen nubes electrónicas grandes), tomando en cuenta que las pirimidinas naturales modelos (citosina y uracilo), poseen un hidrogeno o metilo, envés del sustituyente bencilideno de estos productos evaluados.



Grafica 5. Actividad antimicrobiana de los compuestos en forma de sales y neutros con sustituyente halógeno.

Es importante resaltar que, a pesar de que el flúor es un elemento muy común en la corteza terrestre, ocupando el décimo tercer lugar en abundancia, llama la atención su escasa presencia en moléculas de origen natural, quizás debida a la dificultad que encuentran los organismos vivos de incorporar este elemento por la fuerte energía de solvatación del ión fluoruro en agua.^{94,95} Sin embargo, cada vez se encuentran un mayor número de compuestos farmacológicamente activos, llamados organofluorados, ya que alrededor del 20-25% de las moléculas utilizadas como principios activos farmacéuticos alrededor del mundo contienen al menos un átomo de flúor en su estructura.^{94,95} De hecho, muchos de los fármacos que generan mayores ganancias en ventas mundialmente son fluorados.^{94,95}

El uso del flúor como sustituyente en compuestos farmacológicos es debido a que, la alta electronegatividad y pequeño tamaño del flúor, así como el hecho de poder alterar dramáticamente la reactividad de las moléculas que lo poseen, son sólo algunas de las variables tomadas en consideración por los diseñadores de fármacos cuando desean hacer cambios en el desarrollo de nuevas entidades químicas con actividad farmacológica a partir de un líder. También, se resalta la importancia de que, en la mayoría de los casos, los nuevos candidatos incorporan de 1-3 átomos de flúor para sustituir a grupos hidroxilo, o bien hidrógenos.^{94,95}

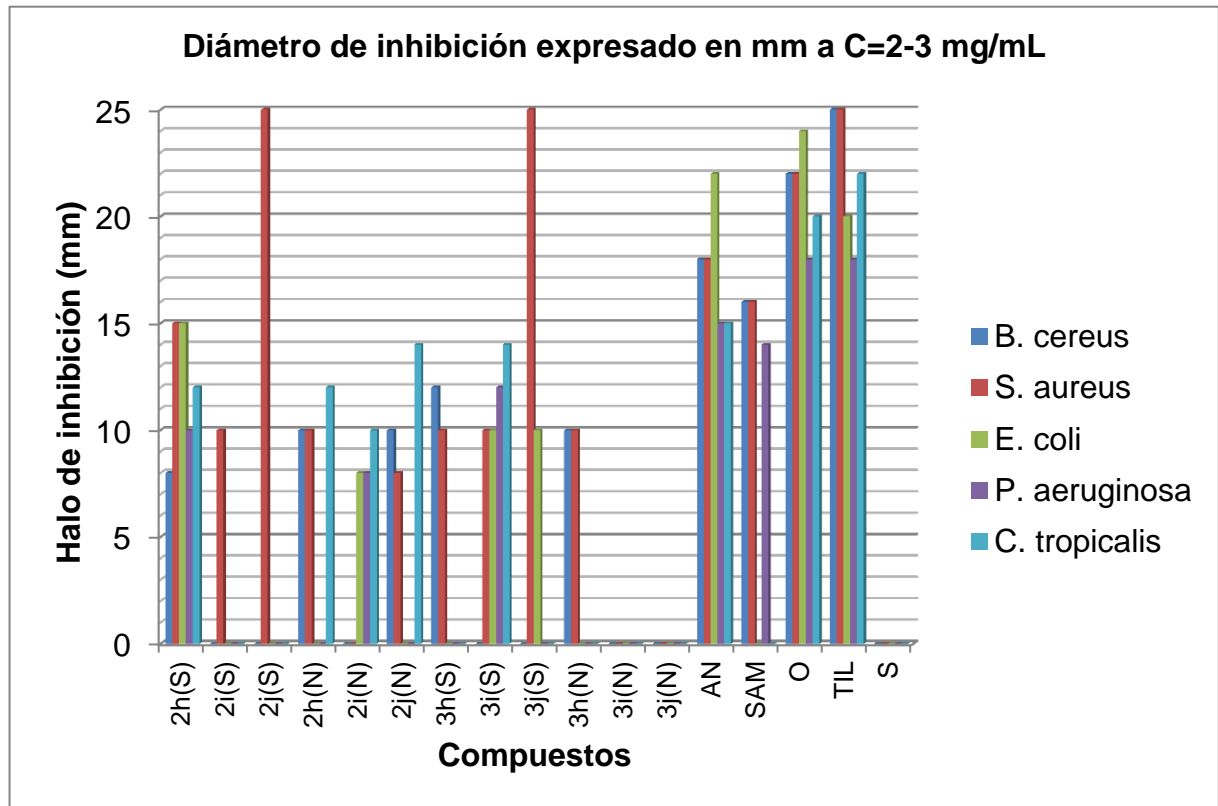
Asimismo, según los resultados obtenidos por el grupo de investigación²⁶, uno de los grupos más activos fue el producto con sustituyente 4-F, análogo del compuesto **2b**. Como se puede apreciar, no es común que el compuesto **2b** (4-F) sea activo contra un único microorganismo evaluado, a pesar de que resultó ser más activo ante *S. aureus* (al igual que **3b**, también 4-F) que los restantes productos de ambas series.

VII.2.2.2. Compuestos metoxilados

Los sustituyentes metoxi de fenilos y afines son de gran interés en la farmacología, ya que se ha probado actividad de muchos compuestos como antineoplásicos, antimicrobianos, antiVIH, antimaláricos, etc. Además, antimicrobianos comerciales como iclaprin, trimetoprim y brodimoprim (ver Figuras 31 y 32) son análogos a los productos metoxilados evaluados. También, existen ejemplos de compuestos naturales metoxilados, los cuales hacen seguros los productos sintéticos análogos, usando a los naturales como plantilla para su síntesis. También, el grupo de investigación ha probado compuestos análogos a los productos evaluados²⁶, reportando actividad de 4-metoxi ante 2 microorganismos evaluados (*B. cereus* y *E. coli*) y de 3,4,5-trimetoxi contra todos los microorganismos, salvo *C. tropicalis*.

Del total de compuestos evaluados (48, sales potásicas y neutros), 12 son metoxilados, presentados en la grafica 6. De éstos, **2h** (4-metoxi) y **3i** (3,4-dimetoxi) resultaron activos ante todos o 4 de los 5 microorganismos evaluados, respectivamente; mientras que **2i** (3,4-dimetoxi), **2j** (3,4,5-trimetoxi), **3h** (4-metoxi) y **3j** (3,4,5-trimetoxi) fueron activos contra 2 o 1 microorganismo. Estos resultados son algo inesperados, ya que se esperaba que los compuestos trimetoxilados fuesen muy activos, al igual que los 4-metoxi, mientras que los dimetoxilados pudiesen ser poco activos, dado a su asimetría, y a lo obtenido por el grupo de investigación. Asimismo, se resalta menor actividad de los compuestos neutros respecto a sus sales potásicas, sobre todo en los productos **3a-l** con dichos sustituyentes, siendo nula para los compuestos **3i** y **3j**. Sin embargo, para los compuestos **2i**, **2j** y **3h** hubo una actividad parecida de los compuestos sales potásicas y neutros, e inclusive mayor de los segundos (**2i** y **2j**), respecto al número de microorganismos contra los que fueron activos.

Por último, se resalta las actividades inhibitorias de los compuestos **2j** y **3j** ante *S. aureus* muy marcada, respecto a los demás compuestos y microorganismos.



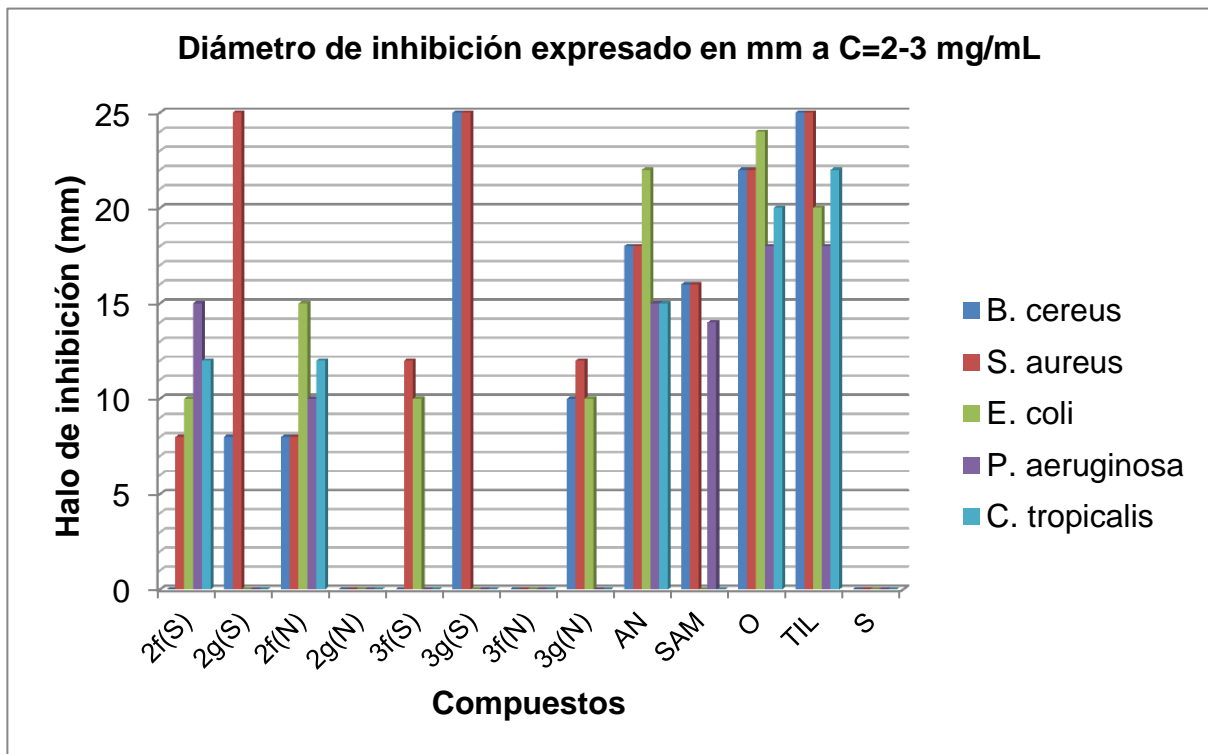
Grafica 6. Actividad antimicrobiana de los compuestos en forma de sales y neutros con sustituyentes metóxido.

VII.2.2.3. Compuestos metilo e hidrogeno sustituidos

Los sustituyentes metilo son muy comunes en la naturaleza y en la farmacología. Estos sustituyentes hacen al compuesto más lipofílico, por lo que disminuiría su actividad en medio acuoso. Es por ello que se espera que los compuestos metilsustituidos sean menos activos que sus equivalentes hidrogenados. Sin embargo, como se puede observar en la grafica 7, existen actividades variadas de los compuestos con estos sustituyentes, siendo **2f** (H), bajo su forma de sal potásica, el compuesto con actividad ante mayor numero de microorganismos (todos menos *B. cereus*), y, bajo su forma neutra, activo contra los 5 microorganismos; mientras que **2g** (4-metil) y **3g** (4-metil), bajo su forma de sal potásica, fueron los compuestos con mayor actividad ante microorganismos en específico (**2g** con 8 mm ante *B. cereus* y 28 mm

ante *S. aureus*, y **3g** con 28 mm ante ambas bacterias), mientras que la forma neutra de **2g** fue inactiva ante todos los microorganismos, y de **3g** fue activa ante las mismas 2 bacterias, con menor halo de inhibición, y también ante *E. coli*; y **3f** (H) tuvo actividad moderada ante *S. aureus* y *E. coli*, en su forma de sal potásica, mientras que su forma neutra tuvo actividad nula ante todos los microorganismos.

De estos resultados, se extrae que **2f** (neutra) presentó actividad moderada ante todos los microorganismos, mientras que **2g** (sal potásica) tuvo actividad moderada ante *B. cereus* y alta ante *S. aureus*, y **3g** (sal potásica) tuvo actividad alta ante *B. cereus* y *S. aureus*. Según los resultados obtenidos por el grupo de investigación, el análogo 4-metil obtuvo actividad ante las mismas 2 bacterias que **2g** y **3g**, compuestos con el mismo sustituyente.



Gráfica 7. Actividad antimicrobiana de los compuestos en forma de sales y neutros sin sustituyentes y sustituyente metilo.

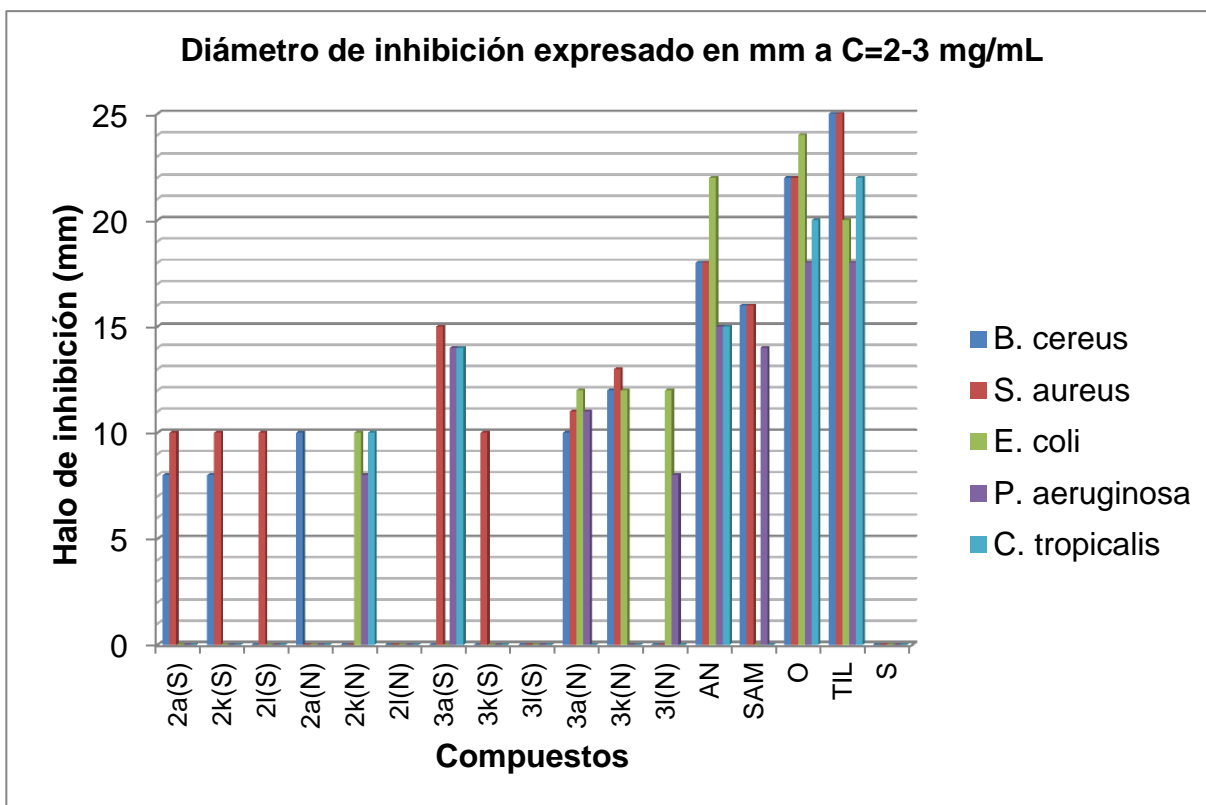
VII.2.2.4. Compuestos hidroxilo, amino y nitro sustituidos

Estos sustituyentes son relativamente conocidos en la farmacología, aunque no son tan ampliamente utilizados como los demás sustituyentes, salvo el sustituyente 4-hidroxilo, ya que posee una propiedad de solubilidad en medio acuoso y una acidez relativa significativa.

Como se aprecia en la grafica 8, los compuestos **2a** (4-nitro), **3a** (4-nitro), **2l** (4-hidroxilo) y **3l** (4-hidroxilo) mostraron mucha menor actividad (ante 1 o 2 microorganismos y de moderada a baja actividad) que la reportada para sus análogos en la investigación realizada por el grupo de investigación²⁶. En este trabajo citado, los compuestos con estos sustituyentes obtuvieron actividad contra todos los microorganismos para el sustituyente 4-hidroxilo y contra las 4 cepas bacterianas para el sustituyente 4-nitro. De hecho, los compuestos **2l** (forma neutra) y **3l** (forma sal potásica) resultaron ser inactivos ante todos los microorganismos, contrariamente a lo reportado por el grupo de investigación para el análogo a la citosina.

Otro detalle a resaltar consiste en que el compuesto **3a** tuvo actividad moderada ante 3 microorganismos (*S. aureus*, *P. aeruginosa* y *C. tropicalis*), bajo su forma de sal potásica, mientras que una actividad ligeramente inferior ante 4 microorganismos (las 4 bacterias objeto), bajo su forma neutra, lo cual es un resultado importante.

Respecto a los productos **2k** y **3k** (4-N,N-dimetilamino) resultaron activos ante 3, 2 o 1 microorganismo, semejante al producto reportado por el grupo de investigación para el análogo; sin embargo, los productos evaluados resultaron con actividades variadas respecto a los microorganismos con actividad positiva (**2k(s)**: *B. cereus* y *S. aureus*; **2k(n)**: *E. coli*, *P. aeruginosa* y *C. tropicalis*; **3k(s)**: *S. aureus*; **3k(n)**: *B. cereus*, *S. aureus* y *E. coli*), incluyendo diferencias entre sus formas de sal potásica y neutra, mientras que el reportado resultó positivo contra *E. coli* y *C. tropicalis*.



Grafica 8. Actividad antimicrobiana de los compuestos en forma de sales y neutros con sustituyentes nitro, amino e hidroxilo.

VII.2.3. Comparación de actividad biológica por series (2a-I Vs 3a-I)

La diferencia entre ambas series evaluadas es la sustitución isostérica del oxígeno de C-2 por azufre, con una diferencia de grupo funcional ona por tiol, sulfanil o mercapto, dado a las diferencias de las energías de enlace C=N y C=O Vs C=N y C=S, lo cual ya se discutió en la sección correspondiente en el punto VII.1.3.

Se observó una diferencia importante por el efecto de sustitución isostérica, sin embargo, no se obtuvo una tendencia estándar en todos los productos, ya que en algunos casos (**a, b, d, i, j**) se observó mayor actividad del producto mercapto, mientras que en otros (**e, f, g, h, k, l**) hubo mayor actividad de los productos ona, y sólo uno (**c**) se presentó la misma cantidad de microorganismos (4) al que son

activos, pero el **2c** no es activo contra *B. cereus*, y **3c** no es activo contra *C. tropicalis*.

VII.2.4. Comparación de actividad biológica de la forma de sal potásica Vs forma neutra

La diferencia entre ambas presentaciones de cada compuesto evaluado no tuvo una tendencia absoluta. Los compuestos **2a, 2e, 2g, 2h, 2l, 3b, 3c, 3d, 3f, 3i** y **3j** tuvieron mayor actividad bajo forma de sal potásica que la forma neutra, mientras que los compuestos **2d, 2f, 2i, 2j, 2k, 3a, 3e, 3g, 3k** y **3l** tuvieron la tendencia opuesta, y los compuestos **2b, 2c** y **3h** tuvieron el mismo número de microorganismos contra los que tuvieron actividad. Aunque, los compuestos que tuvieron mayor halo de inhibición (mayor actividad antimicrobiana) son bajo la forma de sal potásica. Este resultado es esperado, ya que los mecanismos bioquímicos se llevan a cabo bajo medio acuoso, dado a que el agua compone en un alto porcentaje a los seres vivos.

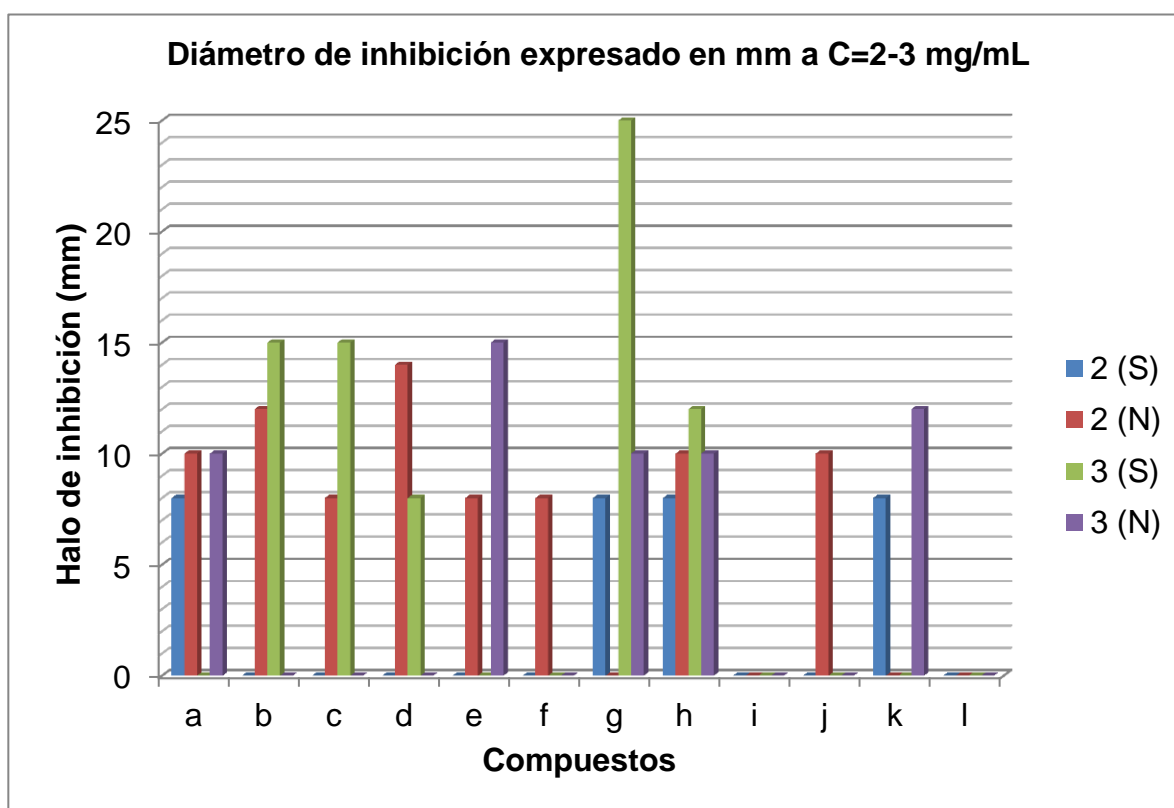
VII.2.5. Comparación de actividad biológica por microorganismo

VII.2.5.1. Actividad ante *B. cereus*

Como se puede apreciar en la grafica 9, 26 compuestos (**3a(S), 2b(S), 3b(N), 2c(S), 3c(N), 2d(S), 3d(N), 2e(S), 3e(S), 2f(S), 3f(S), 3f(N), 2g(N), 2i(S), 2i(N), 3i(S), 3i(N), 2j(S), 3j(S), 3j(N), 2k(N), 3k(S), 2l(S), 2l(N), 3l(S), 3l(N)**) resultaron con actividad nula frente a la bacteria evaluada; 8 compuestos (**2a(S), 2c(N), 3d(S), 2e(N), 2f(N), 2g(S), 2h(S), 2k(S)**) resultaron con actividad mínima frente a la misma (<10 mm); 13 compuestos (**2a(N), 3a(N), 2b(N), 3b(S), 3c(S), 2d(N), 3e(N), 3g(N), 2h(N), 3h(S), 3h(N), 2j(N), 3k(N)**) resultaron con actividad media frente a la bacteria (10-20 mm); y 1 compuesto (**3g(S)**) resultó con actividad significativa frente a la bacteria evaluada (>20 mm), y los valores de los controles positivos tienen un intervalo de 16-25 mm de diámetro de halo de inhibición.

Los resultados de los compuestos **3b(S)** (15 mm), **3c(S)** (15 mm), **3e(N)** (15 mm) y **3g(S)** (28 mm), son comparables a los obtenidos por los compuestos de referencia, lo que le da la posibilidad de realizar futuros bioensayos (sobre seres vivos), siguiendo los estándares para la aprobación de nuevos fármacos.

A continuación, se muestra en la grafica 9, la actividad mostrada de productos evaluados, tanto bajo forma de sal potásica como neutra, frente a la bacteria Gram (+) *B. cereus*.



Grafica 9. Actividad antimicrobiana de los compuestos en forma de sales y neutros contra la bacteria *B. cereus*.

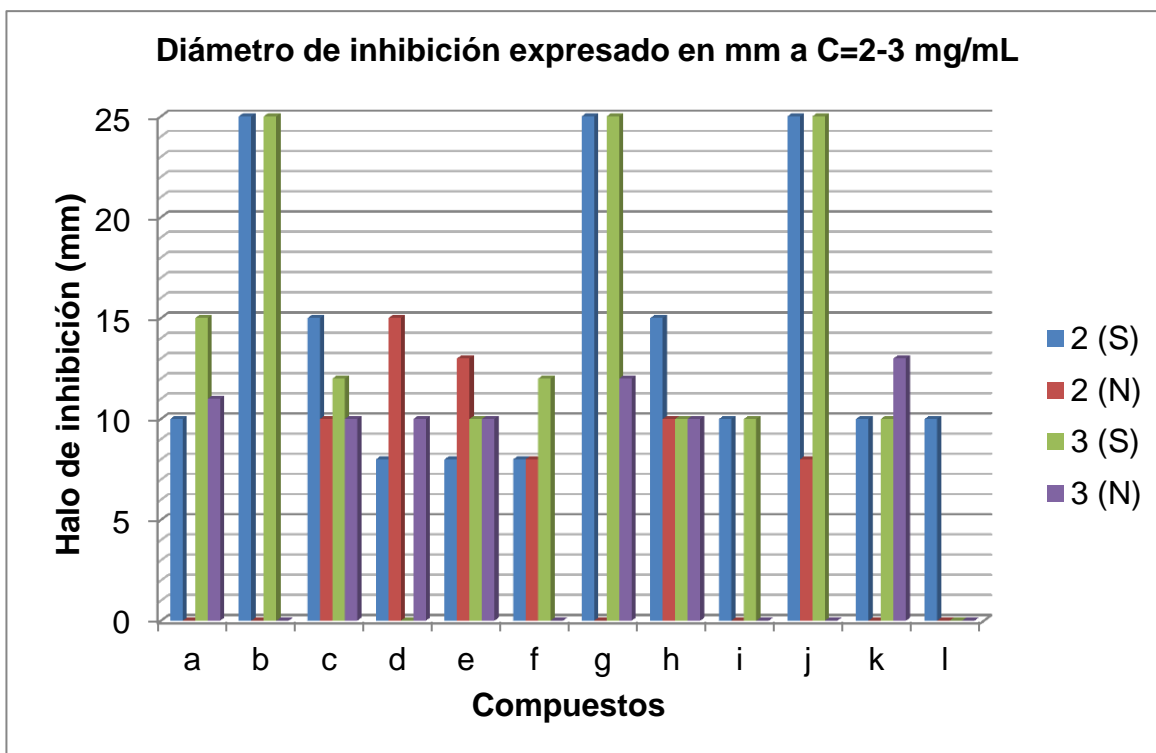
VII.2.5.2. Actividad ante *S. aureus*

Como se puede apreciar en la grafica 10, 13 compuestos (**2a(N)**, **2b(N)**, **3b(N)**, **3d(S)**, **3f(N)**, **2g(N)**, **2i(N)**, **3i(N)**, **3j(N)**, **2k(N)**, **2l(N)**, **3l(S)**, **3l(N)**) resultaron con actividad nula frente a la bacteria evaluada; 5 compuestos (**2d(S)**, **2e(S)**,

2f(S), 2f(N), 2j(N)) resultaron con actividad mínima frente a la misma (<10 mm); 24 compuestos (**2a(S), 3a(S), 3a(N), 2c(S), 2c(N), 3c(S), 3c(N), 2d(N), 3d(N), 2e(N), 3e(S), 3e(N), 3f(S), 3g(N), 2h(S), 2h(N), 3h(S), 3h(N), 2i(S), 3i(S), 2k(S), 3k(S), 3k(N), 2l(S)**) resultaron con actividad media frente a la bacteria evaluada (10-20 mm); y 6 compuestos (**2b(S), 3b(S), 2g(S), 3g(S), 2j(S), 3j(S)**) resultaron con actividad significativa frente a la bacteria (>20 mm), y los valores de los controles positivos tienen un intervalo de 16-25 mm de diámetro de halo de inhibición.

Los resultados de los compuestos **3a(S)** (15 mm), **2b(S)** (25 mm), **3b(S)** (25 mm), **2c(S)** (15 mm), **2d(N)** (15 mm), **2g(S)** (28 mm), **3g(S)** (28 mm), **2h(S)** (15 mm), **2j(S)** (25 mm) y **3j(S)** (28 mm), son comparables a los obtenidos por los compuestos de referencia, lo que le da la posibilidad de realizar futuros bioensayos (sobre seres vivos), siguiendo los estándares para la aprobación de nuevos fármacos.

A continuación, se muestra en la grafica 10, la actividad mostrada de productos evaluados, tanto bajo forma de sal potásica como neutra, frente a la bacteria Gram (+) *S. aureus*.



Grafica 10. Actividad antimicrobiana de los compuestos en forma de sales y neutros contra la bacteria *S. aureus*.

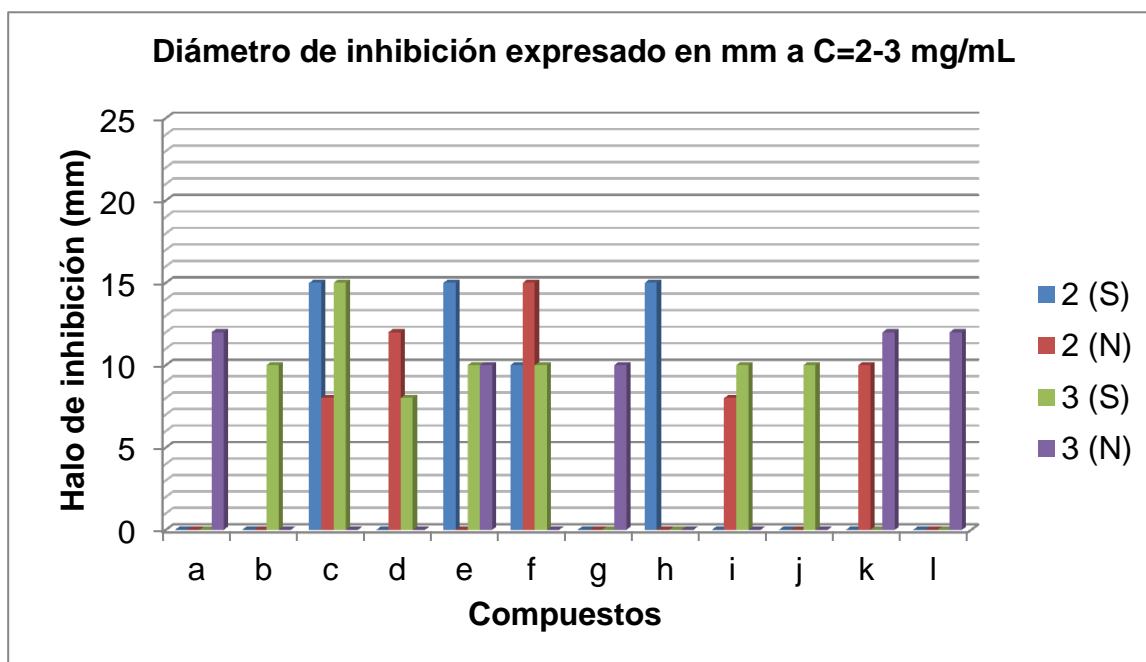
VII.2.5.3. Actividad ante *E. coli*

Como se puede apreciar en la grafica 11, 27 compuestos (**2a(S)**, **2a(N)**, **3a(S)**, **2b(S)**, **2b(N)**, **3b(N)**, **3c(N)**, **2d(S)**, **3d(N)**, **2e(N)**, **3f(N)**, **2g(S)**, **2g(N)**, **3g(S)**, **2h(N)**, **3h(S)**, **3h(N)**, **2i(S)**, **3i(N)**, **2j(S)**, **2j(N)**, **3j(N)**, **2k(S)**, **3k(S)**, **2l(S)**, **2l(N)**, **3l(S)**) resultaron con actividad nula frente a la bacteria evaluada; 3 compuestos (**2c(N)**, **3d(S)**, **2i(N)**) resultaron con actividad mínima frente a la bacteria (<10 mm); 18 compuestos (**3a(N)**, **3b(S)**, **2c(S)**, **3c(S)**, **2d(N)**, **2e(S)**, **3e(S)**, **3e(N)**, **2f(S)**, **2f(N)**, **3f(S)**, **3g(N)**, **2h(S)**, **3i(S)**, **3j(S)**, **2k(N)**, **3k(N)**, **3l(N)**) resultaron con actividad media frente a la misma (10-20 mm); y ningún compuesto resultó con actividad significativa frente a la bacteria (>20 mm), y los valores de los controles positivos tienen un intervalo de 20-24 mm de diámetro de halo de inhibición, con la excepción del antibiótico SAM, que resultó sin actividad. Esta información acerca

de los controles positivos (antibióticos comerciales de referencia), hace enfática la importancia de la investigación de nuevos antimicrobianos.

Los resultados de los compuestos **2c(S)** (15 mm), **3c(S)** (15 mm), **2e(S)** (15 mm), **2f(N)** (15 mm) y **2h(S)** (15 mm), son comparables a los obtenidos por los compuestos de referencia, siendo resaltante la inactividad de uno de éstos últimos, lo que le da la posibilidad de realizar futuros bioensayos (sobre seres vivos), de hecho prioritarios, siguiendo los estándares para la aprobación de nuevos fármacos.

A continuación, se muestra en la grafica 11, la actividad mostrada de productos evaluados, tanto bajo forma de sal potásica como neutra, frente a la bacteria Gram (-) *E. coli*.



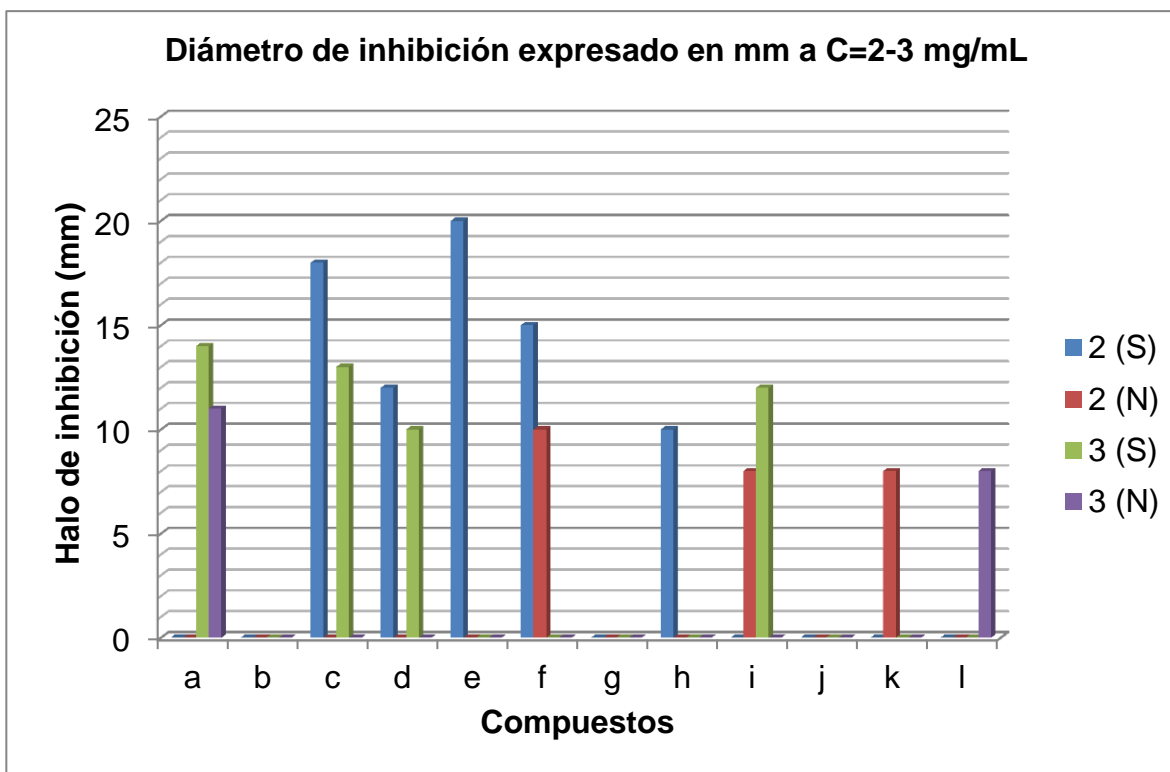
Grafica 11. Actividad antimicrobiana de los compuestos en forma de sales y neutros contra la bacteria *E. coli*.

VII.2.5.4. Actividad ante *P. aeruginosa*

Como se puede apreciar en la grafica 12, 34 compuestos (**2a(S)**, **2a(N)**, **2b(S)**, **2b(N)**, **3b(S)**, **3b(N)**, **2c(N)**, **3c(N)**, **2d(N)**, **3d(N)**, **2e(N)**, **3e(S)**, **3e(N)**, **3f(S)**, **3f(N)**, **2g(S)**, **2g(N)**, **3g(S)**, **3g(N)**, **2h(N)**, **3h(S)**, **3h(N)**, **2i(S)**, **3i(N)**, **2j(S)**, **2j(N)**, **3j(S)**, **3j(N)**, **2k(S)**, **3k(S)**, **3k(N)**, **2l(S)**, **2l(N)**, **3l(S)**) resultaron con actividad nula frente a la bacteria evaluada; 3 compuestos (**2i(N)**, **2k(N)**, **3l(N)**) resultaron con actividad mínima frente a la bacteria (<10 mm); 11 compuestos (**3a(S)**, **3a(N)**, **2c(S)**, **3c(S)**, **2d(S)**, **3d(S)**, **2e(S)**, **2f(S)**, **2f(N)**, **2h(S)**, **3i(S)**) resultaron con actividad media frente a la bacteria (10-20 mm); y ningún compuesto resultó con actividad significativa frente a la misma (>20 mm), y los valores de los controles positivos tienen un intervalo de 14-18 mm de diámetro de halo de inhibición, que resultan dichos valores menores, respecto a los valores de actividad obtenido de los mismos controles positivos ante los demás microorganismos.

Los resultados de los compuestos **3a(S)** (14 mm), **2c(S)** (18 mm), **3c(S)** (13 mm), **2d(S)** (12 mm), **2e(S)** (20 mm), **2f(S)** (15 mm) y **3i(S)** (12 mm), son comparables a los obtenidos por los compuestos de referencia, lo que le da la posibilidad de realizar futuros bioensayos (sobre seres vivos), siguiendo los estándares para la aprobación de nuevos fármacos.

A continuación, se muestra en la grafica 12, la actividad mostrada de productos evaluados, tanto bajo forma de sal potásica como neutra, frente a la bacteria Gram (-) *P. aeruginosa*.



Grafica 12. Actividad antimicrobiana de los compuestos en forma de sales y neutros contra la bacteria *P. aeruginosa*

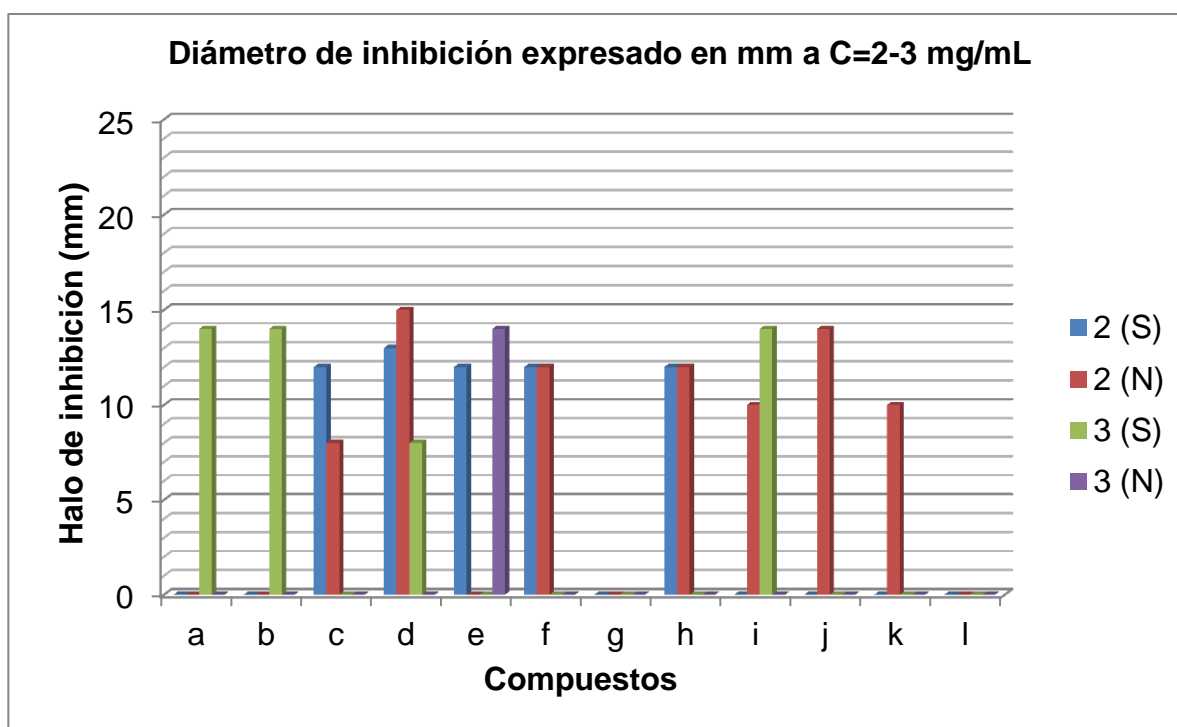
VII.2.5.5. Actividad ante *C. tropicalis*

Como se puede apreciar en la grafica 13, 31 compuestos (**2a(S)**, **2a(N)**, **3a(N)**, **2b(S)**, **2b(N)**, **3b(N)**, **3c(S)**, **3c(N)**, **3d(N)**, **2e(N)**, **3e(S)**, **3f(S)**, **3f(N)**, **2g(S)**, **2g(N)**, **3g(S)**, **3g(N)**, **3h(S)**, **3h(N)**, **2i(S)**, **3i(N)**, **2j(S)**, **3j(S)**, **3j(N)**, **2k(S)**, **3k(S)**, **3k(N)**, **2l(S)**, **2l(N)**, **3l(S)**, **3l(N)**) resultaron con actividad nula frente al microorganismo evaluado; 2 compuestos (**2c(N)**, **3d(S)**) resultaron con actividad mínima frente al microorganismo (<10 mm); 15 compuestos (**3a(S)**, **3b(S)**, **2c(S)**, **2d(S)**, **2d(N)**, **2e(S)**, **3e(N)**, **2f(S)**, **2f(N)**, **2h(S)**, **2h(N)**, **2i(N)**, **3i(S)**, **2j(N)**, **2k(N)**) resultaron con actividad media frente al microorganismo evaluado (10-20 mm); y ningún compuesto resultó con actividad significativa frente al microorganismo evaluado (>20 mm), y los valores de los controles positivos tienen un intervalo de 15-22 mm de diámetro de halo de inhibición, con la excepción del antibiótico SAM, que resultó sin actividad. Esta información acerca de los controles positivos

(antibióticos comerciales de referencia), hace enfática la importancia de la investigación de nuevos antimicrobianos.

Los resultados de los compuestos **3a(S)** (14 mm), **3b(S)** (14 mm), **2c(S)** (12 mm), **2d(S)** (13 mm), **2d(N)** (15 mm), **2e(S)** (12 mm), **3e(N)** (14 mm), **2f(S)** (12 mm), **2f(N)** (12 mm), **2h(S)** (12 mm), **2h(N)** (12 mm), **2i(S)** (14 mm) y **2j(N)** (14 mm), son comparables a los obtenidos por los compuestos de referencia, siendo resaltante la inactividad de uno de éstos últimos, lo que le da la posibilidad de realizar futuros bioensayos (sobre seres vivos), de hecho prioritarios, siguiendo los estándares para la aprobación de nuevos fármacos.

A continuación, se muestra en la grafica 13, la actividad mostrada de productos evaluados, tanto bajo forma sal potásica como neutra, frente a la levadura *C. tropicalis*.



Grafica 13. Actividad antimicrobiana de los compuestos en forma de sales y neutros contra la levadura *C. tropicalis*.

VIII. CONCLUSIONES

- Se obtuvieron 12 productos de la serie (*E*)-2-cianocinamatos de etilo (**1a-l**), con un rendimiento promedio de 85-99 %, y un tiempo de 30 min a 48 h.
- Se obtuvieron 12 productos de la serie (*5E*)-6-amino-5-arilden-pirimidin-(*3H,5H*)-2,4-diona (**2a-l**), con un rendimiento promedio de 90-50 %, y un tiempo de 24 a 48 h. No se obtuvo producto colateral de la *reacción Michael* que se pudiera caracterizar.
- Se obtuvieron 12 productos de la serie (*5E*)-6-amino-5-arilden-2-mercapto-pirimidin-(*5H*)-4-ona (**3a-l**) (productos sulfanil y no tiona), con un rendimiento promedio de 50-90 %, y un tiempo de 24 a 48 h. No se obtuvo producto colateral de que indicara que el mecanismo sea via *adición Michael*.
- Se obtuvo una marcada diferencia en la actividad antimicrobiana entre los compuestos **2a-l** y **3a-l**.
- Los compuestos bajo forma de sal potásica resultaron más activos que los compuestos neutros.
- Se obtuvieron 28 compuestos (entre sales potásicas(S) y productos neutros (N)) activos contra *B. cereus*, de los cuales, 4 productos (**3b(S)**, **3c(S)**, **3e(N)** y **3g(S)**) obtuvieron valores de actividad comparables a los fármacos de referencia.
- Se obtuvieron 35 compuestos (entre sales potásicas y productos neutros) activos contra *S. aureus*, de los cuales, 10 productos (**3a(S)**, **2b(S)**, **3b(S)**, **2c(S)**, **2d(N)**, **2g(S)**, **3g(S)**, **2h(S)**, **2j(S)** y **3j(S)**) obtuvieron valores de actividad comparables a los fármacos de referencia.
- Se obtuvieron 21 compuestos (entre sales potásicas y productos neutros) activos contra *E. coli*, de los cuales, 5 productos (**2c(S)**, **3c(S)**, **2e(S)**, **2f(N)** y **2h(S)**) obtuvieron valores de actividad comparables a los fármacos de referencia.
- Se obtuvieron 14 compuestos (entre sales potásicas y productos neutros) activos contra *P. aeruginosa*, de los cuales, 7 productos (**3a(S)**, **2c(S)**, **3c(S)**, **2d(S)**, **2e(S)**, **2f(S)** y **3i(S)**) obtuvieron valores de actividad comparables a los fármacos de referencia.

- Se obtuvieron 17 compuestos (entre sales potásicas y productos neutros) activos contra *C. tropicalis*, de los cuales, 13 productos (**3a(S)**, **3b(S)**, **2c(S)**, **2d(S)**, **2d(N)**, **2e(S)**, **3e(N)**, **2f(S)**, **2f(N)**, **2h(S)**, **2h(N)**, **2i(S)** y **2j(N)**) obtuvieron valores de actividad comparables a los fármacos de referencia.
- El compuesto **2h(S)** y **2f(N)** fueron activos contra todos los microorganismos evaluados, incluyendo a la levadura *C. tropicalis*.
- El compuesto **3a(N)** y **3c(S)** fueron activos contra todos los microorganismos bacterianos evaluados.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Avendaño M. Los productos naturales en la búsqueda de nuevos fármacos. Una visión de conjunto. Real Academia Nacional de Farmacia. 2011, 77(1), 12-26.
2. López S., Ayelen I., González M., Zacchino S., and Furlan R. Chemically engineered extracts as an alternative source of bioactive natural product-like compounds. PNAS. 2007, 104(2), 441-44.
3. Cué M., Morejón M. Antibacterianos de acción sistémica. Parte I. antibióticos betalactámicos. Rev Cubana Med Gen Integr, 1998; 14(4): 347-61.
4. OMS. Combatamos la resistencia a los antimicrobianos, con motivo del Día Mundial de la Salud, 2011. Disponible en: <http://www.who.int/world-health-day/2011>
5. Mandell GL. Introducción a las enfermedades bacterianas. En: Wyngaarden JB, Smith LIH, 359 Bennet JC ed. Cecil. Tratado de Medicina Interna, 19a ed. México DF: Interamericana Mc Graw- -Hill, 1994. vol 2, part 20, cap 283:1824
6. OMS. El primer informe mundial de la OMS sobre la resistencia a los antibióticos pone de manifiesto una grave amenaza para la salud pública en todo el mundo. 2014. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/>.
7. El-Ablak F., Etman H., Metwally, M., Amer F. Synthesis and Antimicrobial Activity of Novel Aminopyrimidinedione and Aminothiazolidinedione Derivatives. Heterocyclic Compounds. ChemInform. 1995, 26, 30.
8. González J. Ácidos nucleicos. Curso de Biomoléculas. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad del País Vasco. OM. Disponible en: http://www.ehu.es/biomoleculas/1b/pdf/12_acidos_nucleicos.pdf.
9. Quijano López ML. Síntesis de nucleósidos de pirimidinas fusionadas con otros heterociclos. Estudio de la actividad antibacteriana, anticancerosa y antiviral. [Tesis Doctoral]. Granada: Facultad de Farmacia, Universidad de Granada; 1990. Disponible en: <http://digibug.ugr.es/bitstream/10481/6237/1/0348.pdf>
10. Piera Balaguer J. Compuestos nitrogenados fluorados: síntesis y reactividad. [Tesis doctoral]. Valencia: Departamento de Química Orgánica, Universitat de Valencia; 2004. Disponible en: <http://roderic.uv.es/bitstream/handle/10550/14937/piera.pdf?sequence=1>

11. Blanco Díaz G. Fosfacenos en síntesis heterocíclica. Preparación de pirazino[2,1-b]pirimidinas y ligandos polidentados relacionados mediante procesos tándem-dominó. [Tesis Doctoral]. A Coruña: Departamento de Química Fundamental, Universidade da Coruña; 2008.
12. Amaral M. Funcionalização de 2-(s)-isopropil-pirimidinonas através de reações de suzuki-miyaura, sonogashira e cicloadição azida-acetileno: síntese de derivados triazólicos e precursores de β -aminoácidos. [Tesis de Maestría]. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo; 2010.
13. El-Gaby M., Abdei-Hamide S., El-Sayed M. Synthesis and anti-cancer activity in vitro of some new pyrimidines. *Acta Pharm.* 1999, 49, 149-158.
14. Shigeta S, Mori S, Watanab F, Takahashi K, Nagata T, Koike N, Wakayama T. Synthesis and antihpves virus activities of 5-alkil-2-thiopyrimidine nucleoside analogues. *Antivir. Chem. Chemoth.* 2002, 13, 67-82.
15. El-Galil A, Amr E, Sayed H, Abdulla M. Synthesis and reactions of some new substituted pyridine and pyrimidine derivatives as analgesic, anticonvulsant and antiparkinsonian agents. *Archi. Pharm.* 2005, 338(9), 433-440.
16. Agarwal A, Srivastava K, Puri S, Sinh S. A small library of trisubstituted pyrimidines as antimalarial and antitubercular agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2055, 15(23), 5218-5221.
17. Cieplik J, Stolarczyk M, Pluta J, Gubrynowicz O, Lis T. Synthesis and Antibacterial Properties of Pyrimidine Derivatives. *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research*, 2011, 68(1), 57-65.
18. El-Gaby M, et al. Novel synthesis and antifungal activity of pyrrole and pyrrolo [2, 3-d] pyrimidine derivatives containing sulfonamido moieties. *IL Farmaco*, 2001, 5(8), 613-693.
19. Holla B, Mahalinga M, Karthikeyan M, Akberal P, Shetty N. Synthesis of some novel pyrazolo[3,4-d]pyrimidine derivatives as potential antimicrobial agents. *Bioorg. Med. Chem.* 2006, 14(6), 2040-2047.
20. Sayed H., Shamroukh A., Rashad A. Synthesis and Biological evaluation of some pyrimidine, pyrido[2,1-b][1,3]thiazine and thiazole[3,2-a]pyrimidine derivatives. *Acta Pharmaceut.* 2066, 56, 231-244.
21. Morgan J, Haritakul R, Keller P. Antimalarial Activity of 2, 4-Diaminopyrimidines. *Lett. Drug Discov.* 2008, 5(4), 277-280.

22. El-Ablak F, Etman H, Metwally M, Amer F. Synthesis and Antimicrobial Activity of Novel Aminopyrimidinedione and Amino-thiazolidinedione Derivatives. *Heterocyclic Compounds. ChemInform.* 1995, 26, 30.
23. Martínez J., Sánchez F. Mecanismo de acción de los antibióticos. *JANO.* N° 1.660 (2007). [Documento en línea] disponible en: www.doyma.es/jano.
24. Podzamczar D., Salazar A., Jimenes J, Santin M, Consiglio E, Casanova A, Ruffi G, Gudiol F. Intermittent trimethoprim-sulfamethoxazole compared with dapsone-pyrimethamine for the simultaneous prophylaxis of pneumocystis pneumonia and toxoplasmosis in patients infected with HIV. *Ann. Intern. Med.*, 1995, 122, 755-761.
25. Roth B, J Strelitz, B Rauckman. 2,4-Diamino-5-benzylpyrimidines and analogues as antibacterial agents. CAlkylation of pyrimidines with Mannich bases and application to the synthesis of trimethoprim and analogues. *J. Med. Chem.* 23(4), 379-384 (1980)
26. Lobo G, Charris J, Taddei A, Monasterios M, Valderrama M, Romero J, Charris K. Síntesis y actividad antimicrobiana de una serie de 4,6-diaminopirimidinas análogos de citosina. *Avances en química.* 2012, 7(2), 119-128.
27. Lobo GM. Síntesis y evaluación de la actividad antimicrobiana de una serie de derivados nuevos de 5-arildenopirimidinonas y compuestos análogos. PI-06-00-6759-2007.
28. Marcano D, Cortés L. *Química Orgánica.* 3era Edición. Caracas: UCV; 2010. Tomos I y II.
29. El Khatib M, Porta N, Prieto A. Reacción de *knoevenagel*: obtención de ácido cinámico. Laboratorio de Química Orgánica II. Departamento de Química. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. Maracaibo, 2006.
30. Fuica A, Bartulín, J. Vinihormamidas, condensación de malondinitrilo y cianoacetato de etilo. Instituto Central de Química y de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de Concepción, 1968.
31. Corma Canós A. Estudio mediante métodos espectroscópicos 'in situ' de mecanismos de reacción utilizando catalizadores sólidos porosos. Instituto de Tecnología Química, Universitat Politècnica de València. 2006.
32. Lobo G, et al. 4,6-diamino-5-[4-(dimethylamino)benzylidene] pyrimidin-2(5h)-one. *Molbank* 2009, M615. ISSN 1422-8599.

33. Lobo G, et al. 4,6-diamino-5-(4-methylbenzylidene)pyrimidin-2(5h)-one. *Molbank* 2010, M653. ISSN 1422-8599.
34. Cordiés L, Machado L, Hamilton M. Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. *Acta Médica*, 1998; 8(1): 13-27.
35. Mateos P. Tema 20. Agentes antimicrobianos y microorganismos. Departamento de Microbiología y Genética. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. Disponible en: <http://webcd.usal.es/Web/educativo/micro2/tema20.html>.
36. Paredes V. Farmacología veterinaria II. Universidad Nacional Agraria. Facultad de Ciencia Animal. Departamento de Veterinaria. Managua, Nicaragua. Julio, 2009.
37. Chambers H, Sande M. Farmacos antimicrobianos. Consideraciones Generales. Cap. 43. Sección IX: Quimioterapia de las enfermedades microbianas. En: Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Novena Edición. Vol. 1. Mc Graw-Hill interamericana. México DF, 1996. P.P. 1095-1121.
38. Errecalde J. Uso de antimicrobianos en animales de consumo. Incidencia del desarrollo de resistencias en salud pública. FAO, Producción y Sanidad Animal. Roma, 2004.
39. Llop A, Valdés-Dapena M, Zuazo J. Microbiología y Parasitología Médicas. Editorial Ciencias Médicas. La Habana, Cuba, 2001. Tomo 1. Cap. 10. P.P. 81-90.
40. Núñez B. Generalidades del tratamiento Antimicrobiano. Uso racional de antibioticos. The Global Access to Health Platform (GAHP). Geneva Health Forum. Hôpitaux Universitaires de Genève. Université de Genève. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/26831513/GENERALIDADES-DEL-TRATAMIENTO-ANTIMICROBIANO>
41. Paredes F, Roca J. Acción de los antibióticos. Perspectiva de la medicación antimicrobiana. *Ámbito farmacéutico. Farmacología. OFFARM*. Marzo, 2004; 23(3): 116-124.
42. Mendoza R. Antimicrobianos 2002. Instituto Politécnico Nacional. Primera Edición. México, 2002. P.P. 41-89.
43. Toro C. Mecanismos de acción y resistencia a antibióticos. ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, 2008.
44. Camacho V. Los antimicrobianos en la práctica médica. Disponible en: <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/urgencia/antibioticos.pdf>.

45. Pascuzzo C, Colmenares Netty, Lugo N, et al. Farmacología Básica 2008. Edit. Carmine Pascuzzo–Lima. Decanato de Ciencias de la Salud. UCLA. Lima, 2008.
46. Agentes quimioterápicos antimicrobianos. Cátedra de Microbiología. Facultad de Farmacia. UCV. Disponible en:
http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/08_Tema_8_Antibi%C3%B3ticos.pdf.
47. Quintana A. Antibióticos, bases microbiológicas del uso de antimicrobianos. Disponible en:
<http://www.educa2.madrid.org/web/educamadrid/principal/files/6046b373-a0b6-4737-8f6b-4553dfefcd53/27.-%20Antibioticos.pdf>.
48. Orloff G, Haque N, et al. Proyecto CancerQuest. Universidad de Emory, desde 1998.
49. Giron W. Antimicrobianos. Artículo de revisión. Estudiante de 6to año de Medicina, Facultad de Ciencias Medicas, UNAH. Universidad Nacional Autónoma de Honduras. Rev. Fac. Cienc. Méd. Julio - Diciembre, 2008.
50. Roldán A, Martos D, Lloret P, et al. Farmacología de los antimicrobianos. Farmacología básica y clínica. Disponible en:
<http://www.ulceras.net/publicaciones/farmacologia%20de%20los%20antimicrobianos.pdf>
51. Rodríguez López JN. Uso de antifolatos como antimicóticos: conexión entre el ciclo del ácido fólico y la ruta de biosíntesis. International Journal of Antimicrobial Agents, Dic 2006; 28(6):560-567.
52. WHO (World Health Organization). The world health report. Changing history. Statistical annex. Death by cause, sex and mortality stratum in WHO regions, estimates for 2002. Geneva, Switzerland, WHO; 2004: pp. 120-121.
53. World Health Organization. Resistencia a los antimicrobianos (RAM). Nota descriptiva N° 194. Febrero 2011.
54. World Health Organization. Informe sobre las enfermedades infecto-contagiosas. 1999. Disponible en:
<http://www.who.int/infectious-disease-report/idr99-spanish/pages/ch2text.html>.

55. D Chu, J Plattner, L Chu, J Plattner, L Katz. New Directions in Antibacterial Research. *J. Med. Chem.*, 39, 3853-3874 (1996).
56. Cordell GA. Biodiversity and drug discovery--a symbiotic relationship. *Phytochemistry* 55:463-480, 2000.
57. B Beovic. The issue of antimicrobial resistance in human medicine. *Int. J. Food Microbiol.*, 112, 280-287 (2006).
58. R Finch, P Hunter. Antibiotic resistance—action to promote new technologies: report of an EU Intergovernmental Conference held in Birmingham, UK, 12–13 December 2005. *J. Antimicrob. Chemoth.*, 58, i3-i22 (2006).
59. Dean DA, Burchard KW. Fungal infection in surgical patients. *Am J Surg* 171: 374-382, 1996.
60. González CE, Venzon D, Lee S et al. Risk factors for fungemia in children infected with human immunodeficiency virus: a case control study. *Clin Infect Dis* 23: 515-521, 1996.
61. Sieradzki K, Wu SW, Tomasz A. Inactivation of the methicillin resistance gene *mecA* in vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Micro Drug Resist* 5: 253-257, 1999.
62. Protocolo de vigilancia epidemiológica de las infecciones asociadas a dispositivos en unidades de cuidado intensivo. Vigilancia y control en salud pública. Instituto Nacional de Salud. Colombia, 2012.
63. Revista Española de Quimioterapia. Septiembre 2001; Vol. 14, N^o.3. Disponible en: www.seq.es/seq/html/revista_seq/0301/rev2.html.
64. Manual de Farmacia Hospitalaria. Revista Española de Farmacia Hospitalaria. Terapéutica en enfermedades infecciosas. 1998. Disponible en:
http://www.sefh.es/bibliotecavirtual/manualresidentefh/VU2_98_Capitulo_3_12.pdf
65. Capdevila Morell JA. Protocolos de Enfermedades Infecciosas. Sociedad Española de Medicina Interna y Elsevier España, S.L. 2009. Disponible en: <http://www.fesemi.org/documentos/1354119963/publicaciones/protocolos/protocolos-enfermedades-infecciosas.pdf>
66. ELIKA, Fundación Vasca para la seguridad agroalimentaria. Febrero, 28, 2013. Disponible en: <http://www.elika.net>
67. Biblioteca Virtual en Salud—OPS/OMS Uruguay. Disponible en: <http://www.bvsops.org.uy/pdf/coli.pdf>.

68. Vigilancia de enterotoxinas en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de alimentos, Chile 2011–2012. Boletín Instituto de Salud Pública de Chile. Boletín ISP, Vol.3, No. 1. Enero 2013.
69. Ferreira H, Peres Lala E R. *Pseudomonas aeruginosa*: Um alerta aos profissionais de saúde. Artículo en Revisión. Rev Panam Infectol 2010; 12(2): 44-50.
70. López S, Tuhay N. *Pseudomonas aeruginosa*, resistente a betalactámicos e inhibidores de betalactamasas (*piperacilina/tazobactam*) Revista de Posgrado de la VIa Cátedra de Medicina - N° 121 – Noviembre 2002. Disponible en: <http://med.unne.edu.ar/revista/revista121/pseudomonas.htm>
71. Publicación del Laboratorio. *Pseudomonas aeruginosa* Fact Sheet. Special Pathogens Laboratory. Disponible en: <http://www.specialpathogenslab.com/SPL-Advantage/FactSheet-Pseudomonas.pdf>
72. Biasoli M. Candidiasis. Argentina, 2013. Disponible en: http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/file.php/118/MATERIALES_2013/TEORIAS_COS_2013/CANDIDIASIS_2013-1.pdf
73. Castañón Olivares LR. Candidiasis. Recursos en Micología, Departamento de Microbiología y Parasitología, UNAM. Última revisión: Junio, 2012. Disponible en: www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/micologia/candidosis.html
74. Desnos-Ollivier M, Bretagne S, Bernède C, Robert V, Raoux D, Chachaty E, Forget E, Lacroix C, Dromer F, et al. Clonal Population of Flucytosine-Resistant *Candida tropicalis* from Blood Cultures, Paris, France. Emerging Infectious Diseases. www.cdc.gov/eid. Vol. 14, No. 4, Abril 2008. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2570934/>
75. K. S. Jain, T. S. Chitre, P. B. Miniyar, et al. Biological and medicinal significance of Pyrimidines. Review article. Current science, marzo 2006; 90(6):793-803.
76. Kontoyannis D., Mantadakis E., y Samois G. "HOSPITAL INFECTIONS", 2003. 53, 243.
77. Gerber G. Drugs. 2001. 61, 1.
78. Janssen AM, Scheffer J, Svendsen A. Planta medica, 1987. 53,95.

79. Janssen, A.M., Scheffer, J.J.C., Baerheim Svendsen, A. Antimicrobial Activity of Essential Oils: A 1976-1986 Review. Aspects of Tests Methods. *Planta Medica* 53: 395-398, 1987.
80. Montiel G. Infecciones intrahospitalarias: la epidemia oculta. LUZ, Maracaibo, Venezuela, 04/06/2010. Disponible en: <http://www.agenciadenoticias.luz.edu.ve/index>.
81. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Vol. 3, Appendix A, pp A.1. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd. Edition, New York, 1989.
82. Klages F. *Tratado de química orgánica: Química orgánica sistemática*. Vol 1, Part 1, pp.418. Editorial Reverte. Barcelona, España; 2006.
83. Marcano D, Cortes L. *Química Organica*. Tomo 1, pp 508-536. 3° Edición. EBUC, Caracas, 2010.
84. Marcano D, Cortes L. *Química Organica*. Tomo 2, pp 619-626. 3° Edición. EBUC, Caracas, 2010.
85. Mohamed Abdel-Megid, K. M. Elmahdy & Aymn E. Rashad. Synthesis and Applications of Pyrimidinethiones. *Global Journal of Science Frontier Research Chemistry*. Volume 13 Issue 7 Version 1.0 Year 2013.
86. Álvarez A. Síntesis estereoselectiva y aplicaciones de Nuevos tioderivados con esqueleto Norbornánico. [Tesis de Doctorado]. Madrid: Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Complutense de Madrid; 2008.
87. Tenorio, R. P. et al. TIOSSEMICARBAZONAS: MÉTODOS DE OBTENÇÃO, APLICAÇÕES SINTÉTICAS E IMPORTÂNCIA BIOLÓGICA *Quim. Nova*, Vol. 28, No. 6, 1030-1037, 2005
88. Bharti, N.; Shailendra; Sharma, S.; Naqvi, F.; Azam, A.; New palladium(II) complexes of 5-nitrothiophene-2-carboxaldehyde thiosemicarbazones. synthesis, spectral studies and in vitro anti-amoebic activity. *Bioorg. Med.Chem.* 2003,11, 2923.
89. Antonini, I.; Claudi, F.; Franchetti, P.; Grifantini, M.; Marteli, S.; Elucidation of the structure of the antineoplastic agents, 2-formylpyridine and 1-formylisoquinoline thiosemicarbazones. *J. Med. Chem.* 1977, 20, 447
90. Cedrón J, Landa V y Robles J. *Química General*. Material de enseñanza. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2011. Disponible en: www.corinto.pucp.edu.pe/quimicageneral/sites/corinto.pucp.edu.pe/quimicageneral/files/images/unidad1/tabla EE.png.

91. Yonder C. Common Bond Energies. 2014. Disponible en: www.wiredchemist.com/chemistry/data/bond_energies_lengths.html.
92. Bond Energies. Organic Chemistry, Department of Chemistry, Michigan State University. Disponible en: www.cem.msu.edu/~reusch/OrgPage/bndenrgy.htm.
93. Silverstein R., Webster R. and Kiemle D. Spectrometric Identification Of Organic Compounds. 7^o Ed. John Wiley & sons, inc. 2005, p. 155
94. C.M. Kunin, Chemotherapy 4, 1, 1976; Lancet 1, 896, 1976; R.P. Frogdall, R.D. Miller, Anaesthesiology 40, 84, 1974.
95. López S, Romero A. Grupo trifluorometilo: un sustituyente importante en química medicinal. Revista Facultad de Farmacia, Vol.74, N^o 2, P.40-52. 2011.

XI. APENDICES

XI.1. Abreviaturas y Símbolos

α	Alfa
β	Beta
C	Carbono
<i>c</i>	Cuarteto
°C	Grado centígrado
Cl	Cloro
cm^{-1}	Centímetros recíprocos
CHCl_3	Cloroformo
CDCl_3	Cloroformo deuterado
δ	Desplazamiento químico
<i>d</i>	Doblete
<i>dd</i>	Doblete de doblete
<i>dt</i>	Doblete de tripletes
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO- d_6	Dimetilsulfóxido deuterado
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
g	Gramos
H	Hidrógeno
h	Hora
HETCOR	Correlación heteronuclear de desplazamiento químico
Hz	Hertz
IR	Espectroscopia infrarroja
<i>J</i>	Constante de Acoplamiento
KBr	Bromuro de potasio
MeOH	Metanol
MHz	Megahertz
μM	Micromolar
mg	Miligramo
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mmol	Milimol
min	Minutos
<i>m</i>	Multiplete
N	Nitrógeno
OMS	Organización Mundial de la Salud
PM	Peso molecular
P.F.	Punto de fusión

RMN1H	Resonancia magnética nuclear de protones
RMN13C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
s	Singlete
sa	Singlete ancho
st	Seudo triplete
t	Triplete
t.a.	Temperatura ambiente
TLC	Cromatografía de capa fina