

## “SHYNTESIS OF HETEROCYCLES WITH GASTROPROTECT ACTIVITY”

### “SÍNTESIS DE HETEROCICLOS CON ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA”

Adrian Ulises Garnica-Ortega<sup>1</sup>, Orlando Omar Hernández-Ramírez<sup>1</sup>, Alejandra Vilches-Cruz<sup>2</sup>, Claudia Rebecca García-Palma<sup>2</sup>, Victoria Lomeli-Sánchez<sup>2</sup>, Mayte Guadalupe Cortes-Mendiola<sup>2</sup>, Selene Lagunas-Rivera,<sup>1</sup> Yolanda Alcaraz-Contreras,<sup>2</sup> Eduardo Peña-Cabrera,<sup>1</sup> Miguel Á. Vázquez.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, 36050, Guanajuato, Gto.

<sup>2</sup>Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta S/N, 36050, Guanajuato, Gto.

au.garnicaortega@ugto.mx; v.lomelisanchez@ugto.mx; cr.garciapalma@ugto.mx; oo.hernandezramirez@ugto.mx; mg.cortesmendiola@ugto.mx; a.vilchescruz@ugto.mx; yolalaca@ugto.mx; mvazquez@ugto.mx.

### Resumen

La mayoría de las enfermedades ácido-pépticas incluyen reflujo gastroesofágico, úlcera péptica y lesión de la mucosa.<sup>1</sup> En cada uno de los trastornos anteriores la erosión de la mucosa o la úlcera se origina cuando el efecto cáustico de diversos factores agresivos sobrepasa los factores de defensa de la mucosa gastrointestinal (moco, prostaglandinas, flujo sanguíneo y procesos de regeneración después de haber ocurrido lesión celular). Mas del 70 % de los casos de úlcera peptídica son causados por infección con la bacteria *Helicobacter pylori* (*Hpy*), malos hábitos alimenticios, estrés, o por el uso de antiinflamatorios no esteroideos.<sup>2</sup>

El sistema autoinmune puede causar enfermedades gastrointestinales al destruir células parietales gástricas, lo que lleva a la pérdida del factor intrínseco y reducción de la producción de ácido. Nuevos fármacos muestran actividad protectora gastrointestinal, entre ellos, destacan los derivados inhibidores de la ureasa, como los ácidos hidroxámicos, que coordinan metales como Fe (II), Zn (II) y Ni (II) para inhibir la ureasa producida por la bacteria *Hpy*. Esta cualidad permite la síntesis de derivados con diferentes sustituyentes, abriendo nuevas posibilidades para tratamientos gastrointestinales. Otras metodologías, proponen el diseño de mucoprotectores, a través de la síntesis de moléculas híbridas. En este proyecto de verano se abordó la síntesis de materias primas y pruebas preliminares para la funcionalización de dos tipos de núcleos con posible actividad gastroprotectora. Por un lado, núcleos de imidazo[1,2-a]piridina e imidazo[2,1-b]tiazol con sustituyentes 2-aril y cumaril, por otro, derivados de ácidos hidroxámicos de pirrol. Con esto se aborda dos posibles mecanismos de acción: 1) inhibidores de ureasas, y, 2) mucoprotectores. Finalmente, con el objetivo de estudiar previamente la posible actividad biológica previamente mencionada, se empleó el programa *Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS-Online)*.

**Palabras clave:** Enfermedad gastrointestinal, Úlceras pépticas, Fármacos, *Helicobacter pylori*, Mucoprotectores, PASS-online.

### Introducción

Gran parte de la población mexicana sufre gastritis (>80%), trastorno prevalente específico de órganos que es mediado por el sistema autoinmune, caracterizado por destruir células parietales gástricas.<sup>1,2</sup> La mayoría de las enfermedades ácido-pépticas, como el reflujo gastroesofágico, la úlcera péptica y las lesiones de la mucosa relacionadas con el estrés, se originan cuando diversos factores agresivos causan erosión o úlcera en la mucosa gastrointestinal,<sup>1</sup> entre los que destacan el consumo de alcohol, exceso de alimentos con grasa y picantes, estrés, antiinflamatorios no esteroideos (AINES) e infección por *Helicobacter pylori* (*Hpy*), por mencionar algunos. El descubrimiento de la bacteria microaerofílica, *Hpy* en 1982, permitió reconocer que era la responsable de más del 90% de las úlceras duodenales y del 70% de las úlceras gástricas, propiciando la implementación de un esquema de tratamiento (antibióticos) y gracias a este, se ha disminuido la prevalencia del patógeno humano en muchos países. Sin embargo, sigue siendo responsable de las principales enfermedades gastrointestinales por su incremento a su resistencia, asimismo, su relación con cáncer de este órgano<sup>1,3,4</sup>, colonizando en más del 50% de la población humana global<sup>5</sup>.

Como resultado de los efectos secundarios provocados por los diferentes fármacos, se continúa con el esfuerzo para desarrollar nuevos fármacos para minimizar dichos efectos, así como buscar otras dianas terapéuticas, han surgido compuestos de estructuras novedosas con actividad gastrointestinal que se encuentran en etapas de investigación. Entre ellos destaca una serie de derivados inhibidores de ureasas como los ácidos hidroxámicos y aquellos que actúan fortaleciendo las defensas de la mucosa gastrointestinal (mucoprotectores)<sup>6,7</sup>.

A partir de este hecho, se predice la capacidad de los derivados de ácidos hidroxámicos de ser inhibidores de ureasas, ya que pueden coordinar metales como el Fe (II), Zn (II) y Ni (II). Este último presente en la ureasa que es producida por la *Hpy*, y gracias a la capacidad de coordinación del hidroxamato, estos pueden interaccionar con alguno de los átomos de Ni (II) presentes en las ureasas, generando fácilmente su inhibición, cualidad que hace que se puedan sintetizar derivados con diferentes sustituyentes<sup>5,8</sup>. En 1983, la FDA aprobó el ácido acetohidroxámico (AHA, Lithostat, Figura 1) para tratar las infecciones urinarias crónicas por ruptura de urea y la hiperamonemia asociada a la cirrosis hepática causada por *Hpy* ureasa-positiva<sup>9</sup>. Hasta ahora, el AHA es el más estudiado y empleado como prototipo de esta clase de compuestos. Se trata de un inhibidor de la ureasa muy potente con un valor  $K_i$  de  $5 \mu\text{M}^{10}$ . Sin embargo, el AHA induce efectos secundarios graves, como teratogénesis y anemia hemolítica<sup>11</sup>. Estos efectos secundarios indeseables han provocado que el AHA en los últimos años sea menos empleado, lo que ha dado lugar a un aumento de la investigación sobre inhibidores alternativos de la ureasa con perfiles toxicológicos menos graves. Una premisa sobre la selección de la ureasa como diana terapéutica facilita la eliminación de la virulencia bacteriana con terapia combinada (antibióticos) sin afectar en gran medida a la viabilidad de las bacterias.

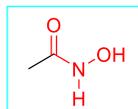


Figura 1.

Por su parte, la investigación sintética y biológica en el campo de los heterociclos de imidazol [2,1-*b*] [1,3,4] tiadiazol ha dado como resultado algunos análogos con potencial terapéutico, como es el caso de las sulfonamidas, cumarinas, derivados del imidazol[1,2-*a*]heterociclo, entre otros<sup>12,13</sup>.

Como consecuencia de estos antecedentes y con el objetivo de estudiar nuevas estructuras con potencial antiulcerantes, en este trabajo se plantea diseñar y sintetizar moléculas híbridas con núcleo de imidazo[1,2-*a*]piridina e imidazo[2,1-*b*]tiazol con cumarina con la finalidad de determinar la posible actividad biológica de las moléculas mediante el programa *Prediction of Activity Spectra for Substances*<sup>14</sup>.

## Materiales y metodología

### *Síntesis de derivados de pirrol*

#### Síntesis de oxazolona

En un matraz redondo se adicionó 1 equivalente del aminoácido y 3 mL de acetonitrilo e inmediatamente colocar en agitación constante. Se miden 3 equivalentes del anhídrido trifluoroacético y se adicionaron lentamente. La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 4 horas, tomando nota de los cambios de coloración que se produjeron durante el proceso. Una vez transcurrido el tiempo de reacción, el matraz se retiró de la parrilla de agitación y lavando con acetato de etilo, se colocó en un vaso de precipitado donde se neutralizó con una solución de bicarbonato de sodio. Una vez que deje de efervescer, se decantó en un embudo de separación, se conservó la fase orgánica y se lavó con agua (3x20 mL). Una vez obtenida la fase orgánica, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se secó al vacío.

#### Síntesis de pirrol

En un matraz redondo se adicionaron 3 equivalentes de oxazolona y 1 equivalente de  $\alpha$ -bromocinamaldehído. Posteriormente, se adicionó 3 mL de acetonitrilo como disolvente y se colocó en agitación en un sistema de reflujo. Una vez comenzado el reflujo, se añadió 1.5 equivalentes de trietilamina. La reacción permaneció en reflujo durante 4 horas mientras se hace seguimiento por placa TLC para observar que la materia prima haya terminado de reaccionar. Una vez terminado el tiempo de reacción se le añade

sílice al matraz y se secó al vacío para poder preparar una columna de cromatografía utilizando sílice y sistemas Hex:AcOEt (9:1, 8:2 y 7:3).

### Reacción de Wittig

En un matraz redondo completamente seco se adicionó 1 equivalente del pirrol y 2 equivalentes del (trifenilfosforanilideno)-acetaldehído. El matraz se coloca en un sistema de reflujo donde se purga con N<sup>2</sup> para liberar la mayor cantidad de humedad del sistema. Una vez purgado, se adicionan 5 mL de disolvente anhidro (acetonitrilo o THF) y se coloca en reacción por aproximadamente 12 horas, en donde se siguió el avance por un monitoreo desde la segunda hora de reacción.

### *Síntesis de derivados de cumarina-imidazo e imidazol[1,2-a]heterociclo*

#### Síntesis de 3-acetilcumarinas

En un matraz de fondo redondo con agitador magnético adicionó 1.0 equivalentes de salicilaldehído, 1.2 equivalentes de acetoacetato de etilo y 0.1 equivalentes de morfina en 10 ml de etanol. Se agitó y calentó la mezcla de reacción a 78°C en un microondas CEM Discover® por 20 minutos. Al terminar, se evaporó el solvente y purificó mediante recristalización con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Hexano.

#### Síntesis de 3-(2-bromoacetil)-cumarinas

En un matraz de fondo redondo con agitador magnético se adicionó 1.0 equivalentes de 3-acetilcumarina, 2.0 equivalentes de ácido trifluoroacético y 1.2 equivalentes de N-bromosuccinimida en 10 mL de acetonitrilo (CH<sub>3</sub>CN). Se agitó y calentó la mezcla de reacción a 80°C en un microondas CEM Discover® por 40 minutos. Al terminar el tiempo de reacción, se evaporó el disolvente y purificó mediante columna cromatográfica con sílice 230-400, empleando sistema de disolventes 8:2 Hexano/AcOEt.

#### Síntesis de los derivados 2-(cumarin-3-il)-imidazol[1,2-a]heterociclo

En un matraz de fondo redondo con agitador magnético se adicionó 1.0 equivalentes de 3-(2-bromoacetil)cumarina, 1.1 equivalentes de 2-aminoheterociclo y 1.5 equivalentes de bicarbonato de sodio en 5 mL de etanol. Se llevó a agitación y calentamiento con reflujo durante 4 horas a 125°C. Una vez completado el tiempo de reacción, se evaporó y se disolvió en 10 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se pasó la solución a un embudo de separación para realizar lavados a la fase orgánica con agua (3x10 ml). Se secó la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró al vacío. Se purificó el producto mediante columna cromatográfica con sílice 230-400, empleando sistema de disolventes 6:4 Hexano/AcOEt.

#### Síntesis de los derivados imidazol[1,2-a]heterociclo

Se siguieron dos objetivos, el primero consistió en la síntesis de los derivados variando en el sistema α-bromoacetofenona, el segundo es la síntesis de los derivados variando el 2-aminoheterociclo. El proceso para todos los derivados consistió en mezclar en un matraz redondo 1.0 equivalente de 2-aminoheterociclo, 1.1 equivalente de sistema α-bromoacetofenona y 1.8 equivalentes de bicarbonato de sodio (NaHCO<sub>3</sub>) en 7 mL de EtOH a reflujo. Finalizado el tiempo de reacción se rotó evaporó el disolvente y se purificó los productos realizando dos extracciones de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O y una recristalización en EtOH/H<sub>2</sub>O.

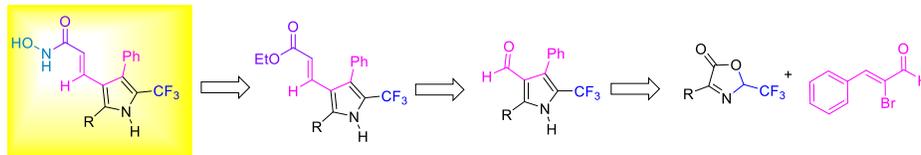
### Reacción de Vilsmeier-Haack

Para la funcionalización de los derivados imidazol[1,2-a]heterociclo se basó en la metodología de Vilsmeier-Haack para insertar el grupo formilo en la posición 3 del anillo de imidazol. El proceso para todos los derivados se realizó en condiciones anhidras. En un vial se disolvió 1.0 equivalente del imidazo derivado con 3 mL de DMF. Para la formación del ion cloroiminio en un matraz redondo se depositó 1.1 equivalente de DMF y se colocó en baño de hielo por 10 min. Después de ese tiempo se adicionó lentamente 1.1 equivalente de oxiclorigenato de fosforo (POCl<sub>3</sub>) y se mantuvo la mezcla en agitación en baño de hielo por 10 min. Posteriormente la solución del reactivo 8a-b se transfirió al matraz con el ion cloroiminio por medio de una cánula de acero, terminando la adición el matraz se calentó a 70°C. Terminada la reacción el crudo se neutralizó con solución saturada de bicarbonato de sodio (NaHCO<sub>3</sub>) dando resultado la precipitación de un sólido que se filtró. Finalmente se llevó a cabo una recristalización con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Hexano.

## Resultados y discusión

## Síntesis de precursores de ácidos hidroxámicos

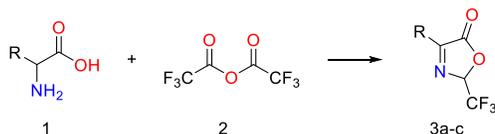
El primer objetivo fue la síntesis de materias primas para llegar a los derivados de ácidos hidroxámicos derivados de pirrol. La ruta general de síntesis es la propuesta en el Esquema 1. Se indica que en este verano solo se abarcó la síntesis de 3-formilpirrol y pruebas preliminares en la reacción de Wittig.



*Esquema 1. Estrategia general para la síntesis de derivados de ácidos hidroxámicos.*

La primera materia prima sintetizada fueron las oxazolonas **3a-c** (Tabla 1). Se emplean aminoácidos (**1**) y el anhídrido trifluoroacético a temperatura ambiente por 4 h o reflujo, la purificación fue simple a través de lavados. Los productos **3a-c** se obtuvieron en rendimiento entre 86-94%. La comprobación del producto se realizó además de tlc, por RMN <sup>1</sup>H (Figura 4), donde se comprobó por integración del área bajo la curva, multiplicidad, constantes de acoplamiento y desplazamientos químicos que el producto era el esperado.

*Tabla 1. Proyección de las condiciones de reacción para oxazolona.*



Oxazolona	R	T	t	Rendimiento
3a	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	T. A	4 h	94%
3b	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> OH	T. A	4 h	89%
3c	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub>	Reflujo	6 h	86%

\*Condiciones: 1 equivalente de α-aminoácido, 3 equivalentes de anhídrido. Disolvente MeCN.

Se realizó un análisis de resonancia magnética nuclear de protón (<sup>1</sup>H, 500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) para la oxazolona **3a** como estructura de referencia. En este espectro, se observaron varias señales correspondientes al anillo aromático con un desplazamiento químico entre 6.2 a 8.4 ppm. Esta característica es consistente con la presencia del anillo aromático en la estructura de la oxazolona **3a**, lo que proporciona evidencia de que el compuesto analizado es el esperado. Además, en el espectro, se identificó un cuartete distintivo, el cual proviene del hidrógeno que forma parte del heterociclo. Este cuarteto se produce debido a que este hidrógeno está acoplado magnéticamente con los tres átomos de flúor vecinos, que se encuentran a una distancia de tres enlaces. En conclusión, el análisis del espectro de RMN de protón para la oxazolona **3a** mostró señales características del anillo aromático y un cuartete distintivo del hidrógeno del heterociclo (Figura 2).

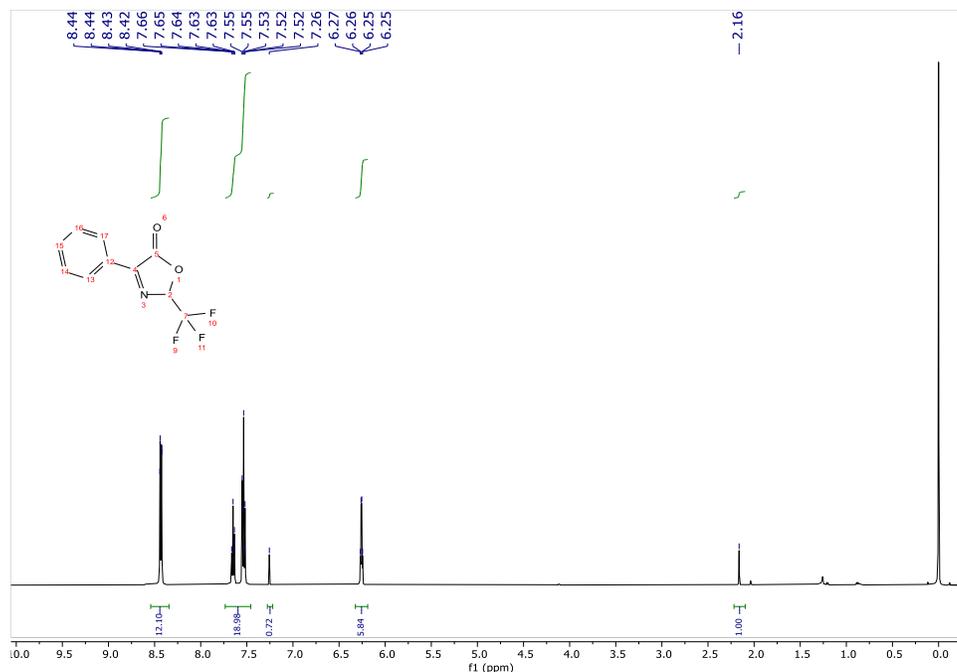
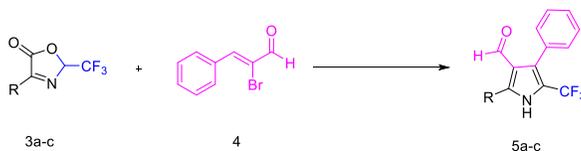


Figura 2. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 Mz,  $\text{CDCl}_3$ ) de la oxazolona **3a**.

## Síntesis de pirrol

La segunda materia prima, fueron los pirroles **5a-c** (Tabla 2). Para su síntesis se emplearon las oxazolonas sintetizadas anteriormente (**3a-c**) junto con el  $\alpha$ -bromocinamaldehído (**4**) durante 4 horas a reflujo, y donde se aplicó un proceso de purificación por cromatografía en columna. Los productos **5a-c** se obtuvieron con un rendimiento de entre 73-88 %. La comprobación se realizó con TLC y RMN donde se observó por integración del área bajo la curva, multiplicidad, constantes de acoplamiento y desplazamientos químicos que el producto era el esperado (Figura 3).

Tabla 2. Proyección de las condiciones de reacción para pirrol.



Pirrol	R	Temperatura	Tiempo	Rendimiento
5a	$\text{C}_6\text{H}_5$	Reflujo	4 h	88 %
5b	$\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$			82%
5c	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$			73%

\*Condiciones: 3 equivalentes de oxazolona, 1 equivalente de  $\alpha$ -bromocinamaldehído. Disolvente: MeCN.

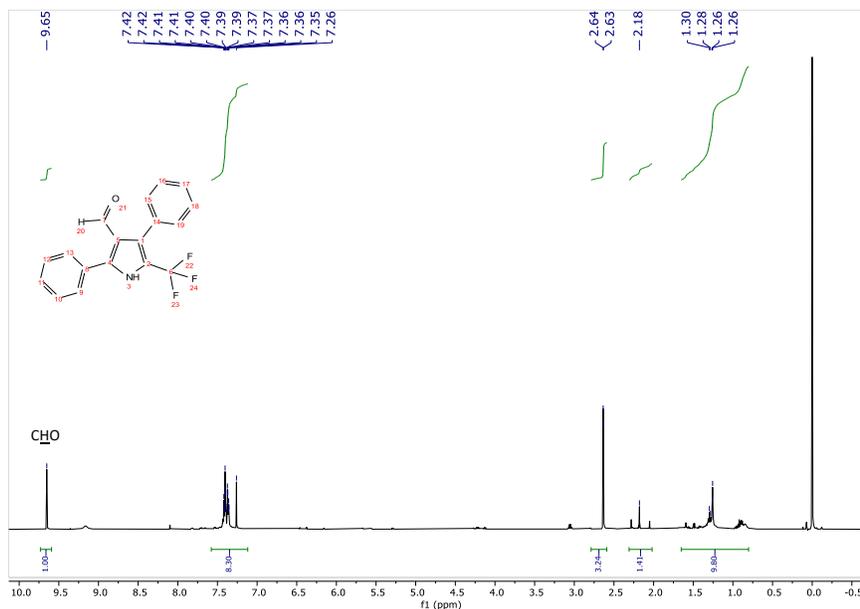


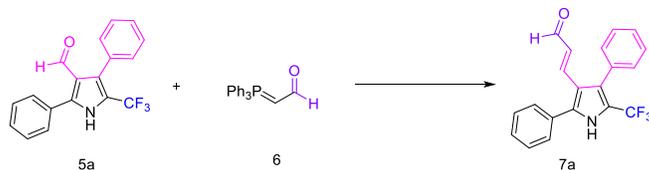
Figura 3. Espectro de RMN –  $^1\text{H}$  (500 Mz,  $\text{CDCl}_3$ ) del pirrol **5a**.

Por otro lado, el producto obtenido para la síntesis de pirrol utilizando la oxazolona **3a** y anhídrido  $\alpha$ -bromomaleico se analizó, de igual forma, por resonancia magnética nuclear de protón ( $^1\text{H}$ , 500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) y se comparó respecto al espectro de la oxazolona **3a**. Se observó que la señal del hidrógeno (H4) de la oxazolona (materia prima) desaparece (6.2 ppm). De igual forma, las señales del sistema aromático se mantienen, como se espera. En la región de los aldehídos (9.0 ppm -10 ppm) se observa una señal en 9.65 ppm, el cual se puede predecir es el aldehído del pirrol por la equivalencia electrónica y la desaparición de la materia prima como el  $\alpha$ -bromocinamaldehído (Figura 3). De esta manera, se concluye que la oxazolona se ha consumido en la reacción y se ha formado exitosamente nuestro heterociclo pirrol.

### Reacción de Wittig

A partir de los pirroles (**5a-c**) (Tabla 3) se generó la reacción de Wittig con el iluro de fósforo (**6**) durante 12 horas a reflujo. El crudo de reacción de **7a** fue monitoreado mediante c.c.f y RMN donde se comprobó por integración del área bajo la curva, multiplicidad, constantes de acoplamiento y desplazamientos químicos que el producto era el esperado en ambas configuraciones, tanto el isómero *E* como *Z* (Figura 4).

Tabla 3. Proyección de las condiciones de reacción Wittig



Pirrol	R	Temperatura	Tiempo	Observaciones
5a	$\text{C}_6\text{H}_5$	Reflujo	12 h	Transformación

\*Condiciones: 1 equivalente del pirrol, 2 equivalentes del iluro de fósforo. Disolvente: THF.

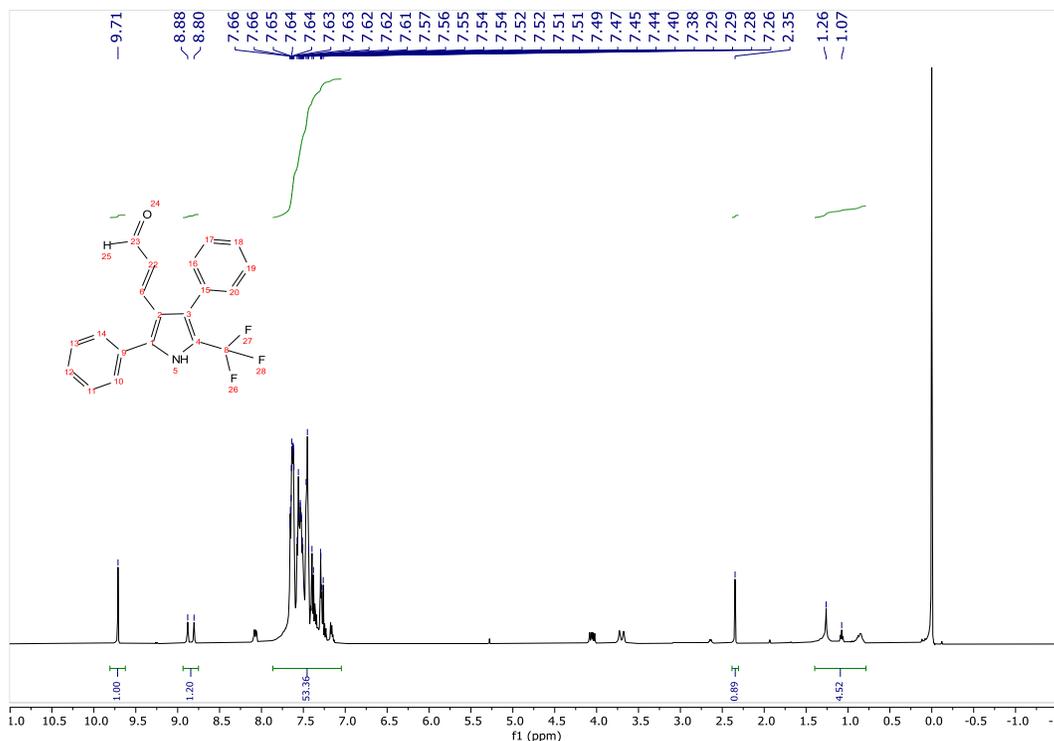


Figura 4. Espectro de RMN –  $^1\text{H}$  (500 Mz,  $\text{CDCl}_3$ ) de la reacción de Wittig (Producto 7a)

El monitoreo de la reacción mediante RMN- $^1\text{H}$  se realizó enfocándose en el protón del aldehído presente en el crudo de reacción. En el espectro de RMN, tanto los reactivos como el producto contienen protones de aldehído, pero cada uno de ellos muestra un desplazamiento químico diferente, lo que indica que tienen diferentes entornos químicos y, por lo tanto, diferentes equivalencias electrónicas. En la región de los aldehídos (9.0 ppm - 10 ppm) del espectro, se observó una señal a 9.71 ppm, que se puede atribuir al aldehído de la materia prima y otras dos señales entre 8.7 y 9.0 ppm. Esto sugiere que la reacción ha tenido lugar y ha dado lugar a la formación del aldehído condensado, como se esperaba, pero aún no se ha consumido en su totalidad la materia prima. Este hallazgo sugiere que puede haber faltado tiempo de reacción para que todo el iluro (reactivo de Wittig) se condensara completamente con el pirrol inicial, lo que resultó en la presencia de una mezcla de productos, que incluye el aldehído condensado y una cantidad no reaccionada del aldehído original. En resumen, el análisis del espectro de RMN enfocado en el protón del aldehído permitió detectar tanto el producto esperado de la reacción de Wittig (aldehído condensado) como la presencia residual del aldehído de partida, lo que sugiere que el tiempo de reacción puede haber sido insuficiente para lograr una conversión completa del iluro con el pirrol. El posible mecanismo de esta transformación se indica en la Figura 5.

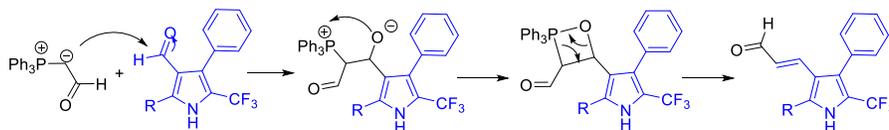


Figura 5. Propuesta de mecanismo para la reacción de Wittig.

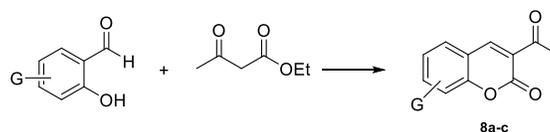
### Síntesis de cumarina-imidazo derivados

#### Etapa 1: Síntesis de 3- acetilcumarinas

A partir de salicilaldehído, acetoacetato de etilo, y utilizando morfolina como catalizador, se obtuvieron 3-acetilcumarinas (**8a-c**). El monitoreo de la reacción fue evaluado mediante cromatografía de capa fina, utilizando sistema 9:1 Hexano/Acetato de Etilo. Se purificó mediante recristalización con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y Hexano, y se obtuvieron rendimientos desde 75 % hasta 88 % (Tabla 4). La caracterización del producto se llevó a cabo

mediante RMN  $^1\text{H}$ , donde se comprobó la existencia de los derivados por integración del área bajo la curva, multiplicidad, constantes de acoplamiento y desplazamientos químicos.

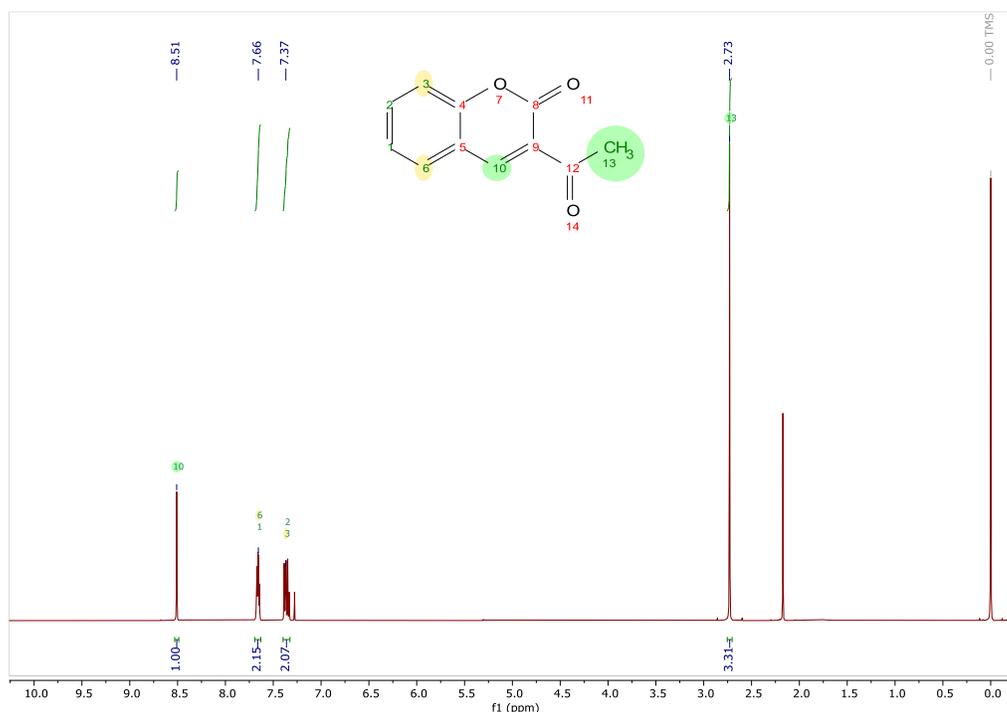
**Tabla 4.** Proyección de las reacciones de la síntesis de 3-acetilcumarinas.



Experimento	Producto	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Rendimiento
1	8a	H	H	H	78	20	82 %
2	8b	MeO	H	H	78	20	88 %
3	8c	Br	H	Br	78	20	75 %

Condiciones: 1.0 equivalentes de aldehído, 1.2 equivalentes de acetoacetato de etilo, 0.1 equivalentes de morfolina.

El espectro de RMN- $^1\text{H}$  revela información valiosa sobre la molécula en cuestión (Figura 6). Las señales observadas en regiones específicas se correlacionan con grupos o átomos particulares presentes en la estructura molecular. En el espectro, se pueden identificar señales características del fragmento aromático en la región de (7.0-8.0 ppm), lo que indica la presencia del anillo aromático en la molécula. Además, se destaca una señal a 3.31 ppm, la cual corresponde al desplazamiento químico del grupo metilo ( $-\text{CH}_3$ ) unido a un carbonilo ( $=\text{C}=\text{O}$ ). Esta señal proporciona evidencia de la presencia de un grupo alquilo unido a un carbonilo en la molécula. Asimismo, se observa una señal distintiva a 8.51 ppm, lo cual confirma la presencia del anillo de pirano en la cumarina, ya que esta señal está asociada con los átomos específicos presentes en dicho anillo.

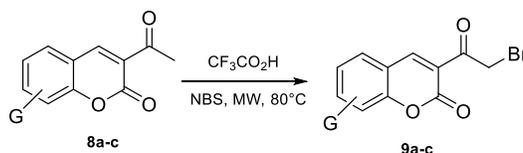


**Figura 6.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 Mz,  $\text{CDCl}_3$ ) de la cumarina (Producto 8a)

## Etapa 2: Síntesis de 3-(2-bromoacetil) cumarinas

A partir de 3-acetilcumarinas (**8a-c**), ácido trifluoroacético y N-bromosuccinimida, se obtuvieron 3-(2-bromoacetil) cumarinas (**9a-c**). El monitoreo de la reacción fue evaluado mediante cromatografía de capa fina, utilizando sistema 8:2 Hexano/Acetato de Etilo. Se purificó mediante columna cromatográfica con sílice 230-400, empleando sistema de disolventes 8:2 Hexano/AcOEt, y se obtuvieron rendimientos desde 72 % hasta 80 % (Tabla 5). La caracterización del producto se llevó a cabo mediante RMN <sup>1</sup>H, donde se comprobó la existencia de los derivados por integración del área bajo la curva, multiplicidad, constantes de acoplamiento y desplazamientos químicos.

Tabla 5. Proyección de las reacciones de la bromación con  $\alpha$ -carbonilo.



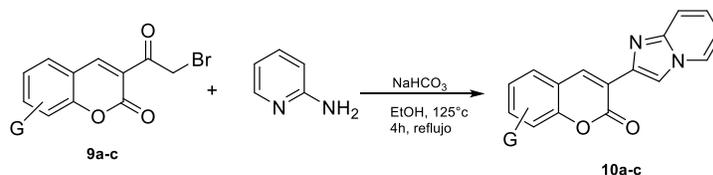
Experimento	Producto	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Rendimiento
1	9a	H	H	H	80	40	80 %
2	9b	MeO	H	H	80	40	75 %
3	9c	Br	H	Br	80	40	72 %

Condiciones: 1.0 equivalentes de cumarina, 2 equivalentes de ácido trifluoroacético, 1.2 equivalentes de NBS. Disolvente: MeCN.

## Etapa 3: Síntesis de los derivados 2-(cumarin-3-il)imidazol[1,2-a]heterociclo

A partir de 3-(2-bromoacetil) cumarinas (**9a-c**), 2-aminopiridina y NaHCO<sub>3</sub>, se obtuvieron 2-(cumarin-3-il)imidazol[1,2-a]piridina (**10a-c**). El monitoreo de la reacción fue evaluado mediante cromatografía de capa fina, utilizando sistema 6:4 Hexano/Acetato de Etilo. Se purificó mediante columna cromatográfica con sílice 230-400, empleando sistema de disolventes 6:4 Hexano/AcOEt, y se obtuvieron rendimientos desde 74 % hasta 82 % (Tabla 6). La caracterización del producto se llevó a cabo mediante RMN <sup>1</sup>H, donde se comprobó la existencia de los derivados por integración del área bajo la curva, multiplicidad, constantes de acoplamiento y desplazamientos químicos.

Tabla 6. Proyección de las reacciones de la ciclocondensación.



Experimento	Producto	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Rendimiento
1	10a	H	H	H	125	4	82 %
2	10b	MeO	H	H	125	4	74 %
3	10c	Br	H	Br	125	4	-*

Condiciones: 1.0 equivalentes de 2-aminopiridina, 1.1 equivalentes de 3-(2-bromoacetil)cumarinas, 1.5 equivalentes de NaHCO<sub>3</sub>. Disolvente: EtOH. \*Se encontró evidencia del producto, sin embargo, fue insuficiente para aislarse y cuantificarse.

La caracterización del producto realizada mediante RMN-<sup>1</sup>H (Figura 7) indicó la presencia del producto deseado, puesto que las señales encontradas en el espectro corresponden a los núcleos de la molécula. En el espectro señalado podemos encontrar las señales características del anillo aromático (6.8-8.4 ppm), que son señales que se esperaban tener. Posteriormente podemos encontrar la aparición de señales H-3 de los núcleos imidazo formado en 8.4 ppm. Y finalmente podemos encontrar una señal característica en 8.65 ppm que se caracteriza por la presencia de un singulete que nos sigue indicando la presencia del núcleo de cumarina. El análisis del espectro de RMN-<sup>1</sup>H nos proporciona evidencia clara de que el producto deseado

ha sido sintetizado, ya que las señales detectadas corresponden a los núcleos atómicos característicos del anillo aromático, los anillos imidazo y el núcleo de cumarina presentes en la molécula final. Esto respalda la exitosa formación del compuesto objetivo.

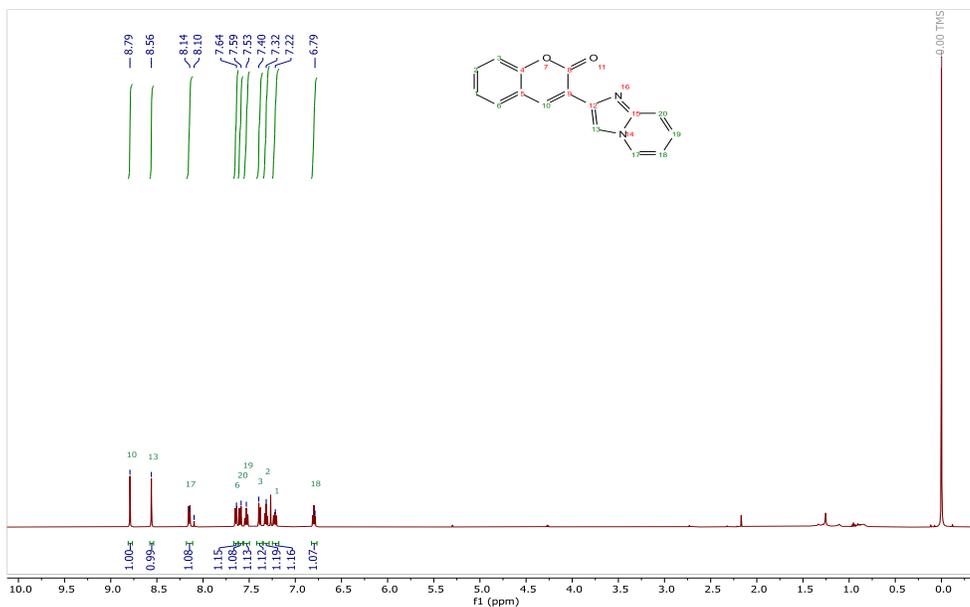
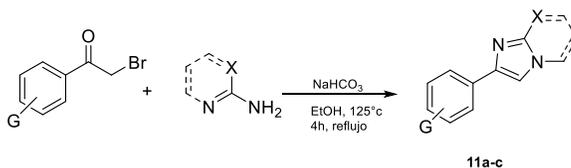


Figura 7. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 Mz,  $\text{CDCl}_3$ ) del 2-(cumarin-3-il)imidazol[1,2-a]piridina

### Síntesis de derivados de imidazol con sistema $\alpha$ -bromoacetofenona

En la Tabla 7 se muestran en resumen los resultados de los experimentos realizados. Los productos **11e** y **11g** se obtuvieron rendimientos de 35.7 y 55.2 respectivamente. En el caso del producto **11e** se varió el 2-aminoheterociclo que incluye un grupo electrodonador y el sistema  $\alpha$ -bromoacetofenona con un grupo electroattractor, y en el producto **11g** solo se varió el sistema  $\alpha$ -bromoacetofenona con un grupo electroattractor. Para ambos productos hubo dificultades en la purificación iniciando con las extracciones con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$  y al recrystalizar con  $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$ , por lo que el alcance de la reacción se limitará en estos compuestos.

Tabla 7. Proyección de las condiciones de reacción para el anillo de imidazol.



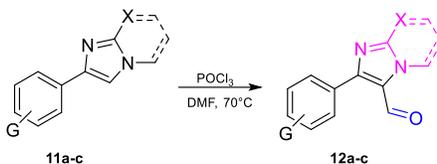
G	2-aminoheterociclo	Tiempo (h)	Rendimiento
Cl	2-aminopiridina	3	65.9
Cl	2-aminotiazol	3	79.2
H	2-aminopiridina	3	74.0
H	2-aminotiazol	3	69.2
Cl	2-amino-4-metilpirimidina	12	35.7
Cl	2-amino-4-metilpiridina	3	65.9
$\text{NO}_2$	2-aminopiridina	12	55.2

\*Condiciones: 1 equivalente de 2-aminoheterociclo, 1.1 equivalentes de sistema  $\alpha$ -bromoacetofenona, 1.8 equivalentes de bicarbonato de sodio. Disolvente EtOH.

### Reacción de Vilsmeier-Haack

En la Tabla 8 se muestra en resumen los experimentos realizados con los productos **12a** y **12b**. Se obtuvieron muy buenos resultados con un tiempo de 2 horas a una temperatura de 70°C, se observó la presencia de un solo producto, dando seguimiento a la señal característica del aldehído por medio de <sup>1</sup>H-RMN (Figura 9).

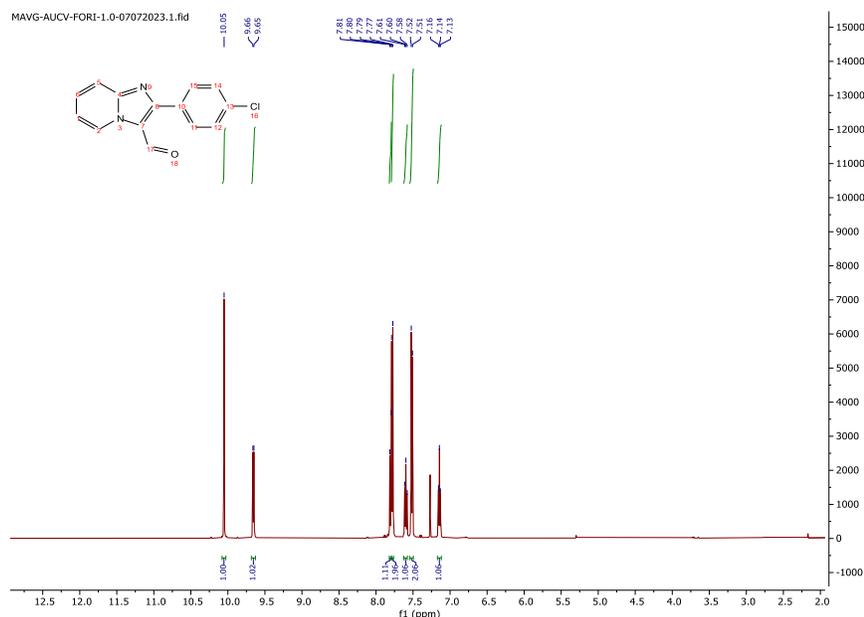
**Tabla 8.** Proyección de las condiciones de reacción para el anillo de imidazol.



Producto	Imidazol[1,2-a]heterociclo	Tiempo (h)	Rendimiento
<b>12a</b>	2-(4-clorofenil) imidazo[1,2-a]piridina	1.5	76.6
<b>12b</b>	6-(4-clorofenil) imidazo[2,1-b]tiazol	2	85.8

\*Condiciones: 1 equivalente de imidazo derivado, 1.1 equivalente de DMF, 1.1 equivalentes de oxiclورو de fosforo. Disolvente DMF.

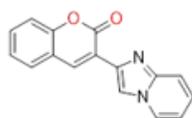
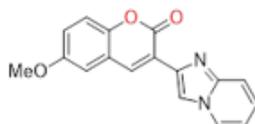
El monitoreo de la reacción mediante el espectro de RMN-<sup>1</sup>H se llevó a cabo al analizar el crudo de reacción purificado por recristalización. Se buscaba verificar si la reacción había sido cuantitativa, es decir, si se había logrado la completa conversión de la materia prima en el producto deseado. Durante el análisis, se observó la ausencia de la señal del protón en la posición 3 del anillo del crudo de reacción. Esto indica que el protón que solía estar presente en esa posición ha sido completamente sustituido por otra entidad química en el producto final. Además, se detectó una señal singular en 10.05 ppm, la cual es característica del protón del grupo formilo (-CHO) en la región de (9.0 ppm - 10.0 ppm). Esta señal confirmó que el grupo formilo se había incorporado exitosamente en la posición 3 del anillo. En conclusión, la presencia de la señal singulete en 10.05 ppm y la ausencia de la señal del protón en la posición 3 del anillo en el espectro de RMN indican que la reacción fue cuantitativa, es decir, se consumió completamente la materia prima y se formó el producto deseado.



**Figura 9.** Espectro de RMN – <sup>1</sup>H (500 Mz, CDCl<sub>3</sub>) de 2-(4-clorofenil) imidazo[1,2-a]piridina-3-carbaldehído (Producto **12a**)

De forma paralela se estuvieron analizando las estructuras por PASS-Online (Esquema 2)

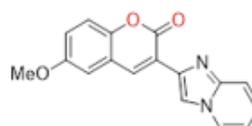




Pa: 0,806

Pi: 0,017

Probable Actividad (Pa):



Pa: 0,751

Pi: 0,035

Protector Mucomembranoso

*Esquema 2. Datos de moléculas analizados por PASS-Online*

## Conclusiones

Siguiendo las metodologías propuestas se obtuvieron materias primas de la síntesis de derivados de pirrol, de anillo de imidazol y de derivados imidazocumarina. Se optimizaron las metodologías y se obtuvieron altos rendimientos que fueron de gran ayuda para seguir con las etapas posteriores de síntesis. Con los compuestos obtenidos se alentará a la investigación para generar otras moléculas con posible actividad gastroprotectora, esto con ayuda de pruebas biológicas con el fin de evaluar su actividad y mecanismo de acción. Aprendimos a manejar reactivos, equipos, interpretar resultados y redactar reportes. Estos resultados son preliminares donde aterrizamos nuestros conocimientos y generar hábitos de lectura.

## Propuestas Futuras

- Continuar con la generación de análogos de ambos proyectos para evaluar las etapas propuestas en el Verano de la Ciencia.
- Continuar con la optimización para mejorar la síntesis de híbridos cumarina-imidazo derivados y de imidazo derivados.
- Caracterizar los productos obtenidos por diferentes pruebas analíticas.
- Evaluar su potencial terapéutico y su mecanismo de acción.

## Reconocimiento

Al grupo de síntesis orgánica al compromiso del Dr. Miguel Ángel Vázquez Guevara, Q. Luis Angel Perez, y el MC Edgar Armando Damián por su valioso apoyo.

## Bibliografía

- <sup>1</sup> Fahey, J. M.; Grassi, J. M.; J. M.; Greenblatt, D. J. Acute zolpidem administration produces pharmacodynamics and receptor occupancy changes at similar doses. *Pharm. Biochem. Behavior*. **2006**, 83, 21-27. Lenti, M.V., Rugge, M., Lahner, E. et al. Gastritis autoimmune. *Nat Rev Dis Primers* 6, 56 (2020).
- <sup>2</sup> Katzung, B.G.; *Farmacología básica y Clínica*. Décima edición. Editorial El Manual Moderno; **2007**; 1057. Saeed, A., Ur-Rehman, S., Channar, P. A., Larik, F. A., Abbas, Q., Hassan, M., Raza, H., & Seo, S. Y. (2017). Jack Bean Urease Inhibitors, and Antioxidant Activity Based on Palmitic acid Derived 1-acyl-3- Arylthioureas: Synthesis, Kinetic Mechanism and Molecular Docking Studies. *Drug Research*, 67(10), 596–605.
- <sup>3</sup> Fahey, J. M.; Grassi, J. M.; Reddi, J. M.; Greenblatt, D. J. Acute zolpidem administration produces pharmacodynamics and receptor occupancy changes at similar doses. *Pharm., Biochem. Behavior*, **2006**, 83, 1, 21-27
- <sup>4</sup> Katzung, B.G.; *Farmacología básica y Clínica*. Décima edición. Editorial El Manual Moderno; 2007; 1057.
- <sup>5</sup> Gupta Editor, S. P. (n.d.). Hydroxamic Acids A Unique Family of Chemicals with Multiple Biological Activities.
- <sup>6</sup> Citarella, A., Moi, D., Pinzi, L., Bonanni, D., & Rastelli, G. (2021). Hydroxamic Acid Derivatives: From Synthetic Strategies to Medicinal Chemistry Applications. In *ACS Omega* **2021**, 6, 21843–21849). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c03628>.
- <sup>7</sup> Jameson, J., Fauci, A., Kasper, D., Hauser, S., Longo, D., & Loscalzo, J. (2018). Harrison. Principios de Medicina Interna. México: McGraw Hill.
- <sup>8</sup> Supuran CT. Coumarin carbonic anhydrase inhibitors from natural sources. *J Enzyme Inhib Med Chem*. **2020** Dec;35(1):1462-1470. doi: 10.1080/14756366.2020.1788009. PMID: 32779543; PMCID: PMC7470141.
- <sup>9</sup> [9] Zullo, A. Helicobacter pylori and plasma ammonia levels in cirrhotics: Role of urease inhibition by acetohydroxamic acid. *Ital. J. Gastroenterol. Hepatol* **2020**, 30, 496384)
- <sup>10</sup> Griffith DP, Gibson JR, Clinton CW et al Acetohydroxamic acid: clinical studies of aurease inhibitor in patients with staghorn renal calculi. *J Urol* **1978**, 119:9–15
- <sup>11</sup> [ Kappaun, K., Regina, A., Regina, C. & Ligabue-braun, R. Ureases: Historical aspects, catalytic, and non-catalytic properties—A review. *J. Adv. Res.* **2018**, 13, 3–17 y; National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Acetohydroxamic acid, CID=1990, 1–19 <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1990#section=Pharmacology-and-Biochemistry> (2020)).
- <sup>12</sup> ] Çapan, G.; Ulusoy, N. Ergenç, N. Kiraz, M. New 6-phenylimidazo[2,1-b]thiazole Derivatives: bSynthesis and antifungal activity. *Monatsh. Chem.* **1999**, 130, 1399.
- <sup>13</sup> Andreani, A.; Rambaldi, M.; Bonazzi, D. Cardiotonic activity of 2,5-dimethoxyphenylimidazo[2,1b]thiazoles. *Arch. Pharm.* **1985**, 318, 1003.
- <sup>14</sup> <http://www.way2drug.com/passonline/>