

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS
Y BIOTECNOLÓGICAS**
PROGRAMA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**“SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE POTENCIALES
AGONISTAS DEL RECEPTOR CANNABINOIDE CB2”**

Tesis Presentada por:

Bach. Escalante Rocha Leidy Diana

Para optar al Título Profesional de **Químico
Farmacéutico**

Asesor:

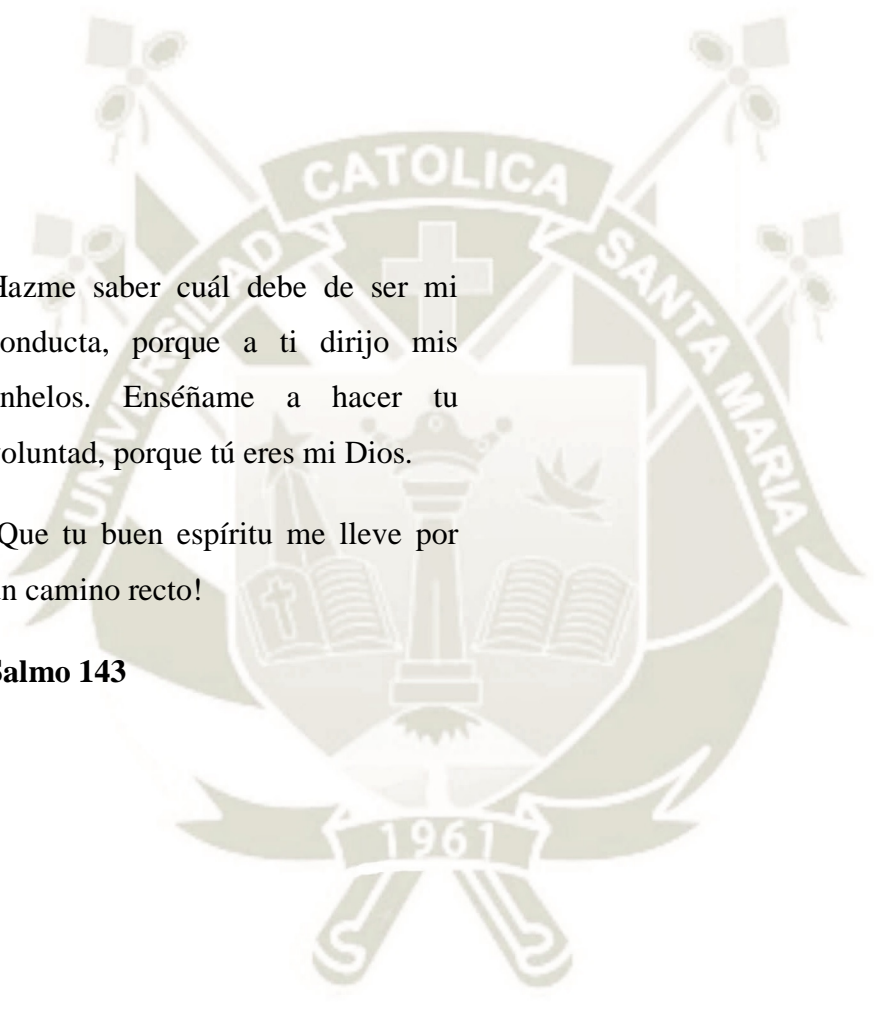
Jaime Cárdenas García, PhD

Arequipa – Perú

2013

“Se alcanza el éxito convirtiendo
cada paso en una meta y cada meta
en un paso”

C.C Cortéz



Hazme saber cuál debe de ser mi
conducta, porque a ti dirijo mis
anhelos. Enséñame a hacer tu
voluntad, porque tú eres mi Dios.

¡Que tu buen espíritu me lleve por
un camino recto!

Salmo 143

“El secreto de mi felicidad está en
no esforzarme por el placer, sino
en encontrar el placer en el
esfuerzo”

André Gide

NOTA DE CONFIDENCIALIDAD Y NO DIVULGACIÓN

Este informe es confidencial. Se considera información confidencial a toda información, independientemente de la forma en que se presenta (oral, escrito, magnético, electrónico, gráfico, digital, prototipos, dibujos de planos, descripciones...) que contengan o se compongan de información operativa, financiera, técnica, comercial, administrativa o relacionada con la gestión o cualquier derecho de propiedad intelectual del Instituto de Química Albert Lespagnol.

PRESENTACIÓN

Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas.

Señora Directora del Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica.

Señores Miembros del Jurado Dictaminador de la Tesis

De conformidad con las disposiciones del Reglamento de Grados y Títulos del Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica, pongo a vuestra consideración el presente trabajo de investigación titulado:

“SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE POTENCIALES AGONISTAS DEL RECEPTOR CANNABINOIDE CB2”

El trabajo de investigación fue realizado aplicando los conocimientos adquiridos durante mi formación universitaria, el mismo que al ser aprobado me permitirá optar por el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Arequipa, 28 de Junio del 2013

DEDICATORIA

A Dios

Por su amor, su bondad y su gracia,
de haberme permitido llegar a este
punto dándome salud, fortaleza y
sabiduría.

A mis padres Antonio y Gloria

Por su ejemplo de responsabilidad,
perseverancia y su entrega de amor
al apoyarme a lo largo de mis
estudios profesionales.

Por sus palabras de aliento y de
motivación, todos sus cuidados y
oraciones.

A mis hermanas, Kelly por
pedirme venir a este mundo, por sus
consejos, su paciencia y su ejemplo
de fortaleza; y **Ana Maria** por
compartir conmigo todas sus
ocurrencias, por recordarme la
sencillez de la vida y llenarme de
alegrías todos los días.

AGRADECIMIENTO

A mi asesor **Jaime Cárdenas García, PhD** por brindarme su apoyo, su tiempo y compartir conmigo sus conocimientos para resolver cada duda.

A la **Universidad Católica de Santa María**, al **Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica**, de forma especial a todos los docentes que durante los cinco años de estudios me brindaron las enseñanzas para triunfar en mi formación profesional.

A todo el equipo del **Instituto de Química Farmacéutica Albert Lespagnol** de la **Universidad de Lille 2- Francia**, de manera especial a la **Dra. Natascha Chavin Leleu** que durante mi internado farmacéutico me brindó su apoyo con paciencia y amabilidad lo que permitió que logre culminar éste trabajo.

A mi **fraternidad Juventud Franciscana JUFRA**, a todos mis hermanos que en los momentos de desánimo, con sus oraciones y palabras me ayudaron a seguir adelante.

ÍNDICE	
RESUMEN.....	6
ABSTRACT.....	7
LISTA DE ABREVIATURAS	8
CAPÍTULO I: GENERALIDADES	9
INTRODUCCIÓN	10
HIPÓTESIS.....	11
OBJETIVO.....	12
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	13
1. Generalidades.....	14
2. Sistema endocannabinoide.....	15
2.1. Receptor CB ₁	16
2.2. Receptor CB ₂	16
2.3. Endocannabinoides.....	17
3. Antecedentes de síntesis de agonistas CB ₂	18
3.1. Constante de inhibición (K _i).....	19
3.2. Cannabinoides clásicos.....	21
3.3. Cannabinoides no clásicos.....	21
4. Enfermedades inflamatorias del intestino.....	22
4.1. Generalidades	23
4.2. Síntomas	23
4.3. Rol del receptor CB ₂ en las EII.....	24
5. Relación con el grupo benzotiazol con el receptor CB ₂	24
CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS	26
1. Materiales de vidrio	26
2. Materiales de laboratorio	27
3. Reactivos.....	28
4. Métodos	28
4.1. Diseño de derivados	28
4.2. Síntesis de derivados	29
4.2.1. Síntesis del producto de partida: 6-bromo-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD9).....	31

4.2.2.	Síntesis de 6-bromo-3-pentil-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD2).....	31
4.2.3.	Síntesis de 6-bromo-3-[3-(dimetilamino)propil]-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD32).....	33
4.2.4.	Síntesis de 6-bromo-3-[2-(morfolin-4-yl)]-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD33).....	35
4.2.5.	Síntesis de 6-tributilestaño-3-pentil-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD4).....	36
4.2.6.	Síntesis de 6-tributilestaño-3-[3-(dimetilamino)propil]-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD64)	38
4.2.7.	Síntesis de 6-tributilestaño-3[2-(morfolin-4-yl) etil]-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD53).....	39
4.2.8.	Síntesis de 3-pentil-6-(2,2,3,3-tetrametilciclopropanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD65).....	41
4.2.9.	Síntesis de 3-pentil-6-(ciclopentanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD67).....	42
4.2.10.	Síntesis de 3-pentil-6-(cicloheptanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD69).....	44
4.2.11.	Síntesis de 3-[3-(dimetilamino)propil]-6-(1-adamantanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD68).....	46
4.2.12.	Síntesis de 3-[2-(morfolin-4-yl)etil]-6-(1-adamantanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD54).....	48
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		51
1.	Diseño de derivados.....	52
2.	Síntesis y caracterización de derivados	53
2.1.	Brominación: 6-bromo-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD9).....	53
2.2.	<i>N</i> - alquilación de compuestos	54
2.2.1.	Síntesis y caracterización de la 6-bromo-3-pentil-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD2).....	54
2.2.2.	Síntesis y caracterización de la 6-bromo-3-[3-(dimetilamino)propil]-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD32)	59
2.2.3.	Síntesis y caracterización de la 6-bromo-3-[2-(morfolin-4-yl)]-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD33).....	63
2.3.	Acoplamiento de Stille	64
2.3.1.	Síntesis y caracterización de 6-tributilestaño-3-pentil-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD4)	64

2.3.2. Síntesis y caracterización de 6-tributilestaño-3-[3-(dimetilamino)propil]-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD64)	69
2.3.3. Síntesis y caracterización de 6-tributilestaño-3[2-(morfolin-4-yl)etil]-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD53)	73
2.4. Acoplamiento de Stille: Acilación del derivado estañado.....	74
2.4.1. Síntesis y caracterización de la 3-pentil-6-(2,2,3,3-tetrametilciclopropanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD65)	74
2.4.2. Síntesis y caracterización de la 3-pentil-6-(ciclopentanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD67).....	79
2.4.3. Síntesis y caracterización de la 3-pentil-6-(cicloheptanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD69).....	83
2.4.4. Síntesis y caracterización de la 3-[3-(dimetilamino)propil]-6-(1-adamantanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD68)	84
2.4.5. Síntesis y caracterización de la 3-[2-(morfolin-4-yl)etil]-6-(1-adamantanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD54)	88
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS.....	94
CONCLUSIONES	95
SUGERENCIAS	96
BIBLIOGRAFÍA.....	97

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2. 1: Metabolitos secundarios del THC	14
Figura 2. 2: Δ^9 -THC	15
Figura 2. 3: Estructura 2D del receptor CB ₁	16
Figura 2. 4: Estructura en 2D del receptor CB ₂	17
Figura 2. 5: Estructura química del ácido araquidónico	17
Figura 2. 6: Estructuras químicas de los endocannabinoides	19
Figura 2. 7: Esquema de equilibrio de rotación de la enzima en presencia y en ausencia de inhibidores reversibles	20
Figura 2. 8: Estructuras químicas de análogos a 1-deoxy- Δ^8 -THC: HU-210, JWH-133	22
Figura 2. 9: Estructura de HU-308 y CP-55,940	22
Figura 2. 10: Estructura del riluzol	25
Figura 3. 1: Estructura 1,3 benzotiazolínica básica.	28
Figura 3. 2: Estructura del 1,3-benzotiazol-2-ona	29
Figura 4. 1: RMN del compuesto ALIBD2	55
Figura 4. 2: RMN del compuesto ALIBD2 (H _{c'} , H _{d'} y H _{e'})	56
Figura 4. 3: RMN del compuesto ALIBD2 (H _{a'})	57
Figura 4. 4: RMN del compuesto ALIBD2 (H _b y H _c)	57
Figura 4. 5: RMN del compuesto ALIBD32	60
Figura 4. 6: RMN del compuesto ALIBD32 (H _a , H _b y H _c)	61
Figura 4. 7: RMN del compuesto ALIBD32 (H _{a'} , H _{b'} , H _{c'} , H _{d'} , H _{e'})	62
Figura 4. 8: RMN del compuesto ALIBD4	65
Figura 4. 9: RMN del compuesto ALIBD4 (H _a , H _b y H _c)	66
Figura 4. 10: RMN del compuesto ALIBD4 (H _{a'} - H _{e'} y H _{a''} - H _{i''})	67
Figura 4. 11: RMN del compuesto ALIBD64	69
Figura 4. 12: RMN del compuesto ALIBD64 (H _{d'} y H _{e'})	70
Figura 4. 13: RMN del compuesto ALIBD64 (H _{a''} , H _{b''} , H _{c''})	71
Figura 4. 14: RMN del compuesto ALIBD65	75
Figura 4. 15: RMN del compuesto ALIBD65 (H _a , H _b y H _c)	76
Figura 4. 16: RMN del compuesto ALIBD65 (H _{a'})	76
Figura 4. 17: RMN del compuesto ALIBD65 (H _{c'} y H _{d'})	77
Figura 4. 18: RMN del compuesto ALIBD67	79
Figura 4. 19: RMN del compuesto ALIBD67 (H _a , H _b y H _c)	80
Figura 4. 20: RMN del compuesto ALIBD67 (H _{b''} , H _{e''} y H _{e'})	81
Figura 4. 21: RMN del compuesto ALIBD68	84
Figura 4. 22: RMN del compuesto ALIBD68 (H _a , H _b y H _c)	85
Figura 4. 23: RMN del compuesto ALIBD68 (H _{a'})	86
Figura 4. 24: RMN del compuesto ALIBD68 (H _{d'} y H _{e''})	87
Figura 4. 25: Estructuras de catalizadores de paladio	90

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2. 1: Diferencias de síntomas entre CU y EC	24
Tabla 4. 1: Relación estructura – actividad con los radicales R_1	52
Tabla 4. 2: Relación estructura – actividad con los radicales R_2	53
Tabla 4. 3: Área de integración en el espectro con respecto al número de hidrógenos del compuesto ALIBD2	58
Tabla 4. 4: Área de integración en el espectro con respecto al número de hidrógenos del compuesto ALIBD32	62
Tabla 4. 5: Área de integración en el espectro con respecto al número de hidrógenos del compuesto ALIBD4	68
Tabla 4. 6: Área de integración en el espectro con respecto al número de hidrógenos del compuesto ALIBD64	72
Tabla 4. 7: Área de integración en el espectro con respecto al número de hidrógenos del compuesto ALIBD65	78
Tabla 4. 8: Área de integración en el espectro con respecto al número de hidrógenos del compuesto ALIBD67	82
Tabla 4. 9: Área de integración en el espectro con respecto al número de hidrógenos del compuesto ALIBD68	87
Tabla 4. 10: Cinco potenciales agonistas del receptor cannabinoide CB2.....	92

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio del Instituto de Química Farmacéutica Albert Lespagnol de la Universidad de Lille 2 – Francia, con el propósito de sintetizar ligandos selectivos al receptor cannabinoide CB2.

El producto de partida fue proporcionado por el laboratorio, la 1,3-benzotiazol-2-ona, el cual fue sometido a una halogenación con bromo, de acuerdo al trabajo previo realizado por Davy Baudelet. Este compuesto se sometió a una alquilación con 3 diferentes productos: iodopentano (ALIBD2), cloruro dimetilaminopropil (ALIBD32) y cloroetil morfolina (ALIBD33). Cada uno de estos productos fue estañizado mediante la reacción de Stille usando como catalizador al tetrakis(trifenilfosfina) Pd. Posteriormente se aciló los tres productos estañizados con 2,2,3,3-ciclopropanocarbonil cloruro (ALIBD65), cicloentanocarbonil cloruro (ALIBD67), cicloheptanocarbonil cloruro (ALIBD69) y adamantanocarbonil cloruro (ALIBD68) (ALIBD54); de esta manera se obtuvieron cinco productos finos los cuales fueron purificados.

Cada producto fue caracterizado mediante espectroscopía de masas y resonancia magnética nuclear (RMN); comprobando de esta manera que las estructuras propuestas para cada compuesto fueron las correctas.

ABSTRACT

The present research was conducted in the laboratory of the Institute of Pharmaceutical Chemistry Albert Lespagnol University of Lille 2 - France, in order to synthesize ligands selective CB2 cannabinoid receptor.

The starting material was provided by the laboratory, 1,3-benzothiazol-2-one, which was subjected to halogenation with bromine, according to previous work done by Davy Baudelet. This compound was subjected to an alkylation with 3 different products iodopentano (ALIBD2), dimethylaminopropyl chloride (ALIBD32) and chloroethyl morpholine (ALIBD33). Each of these products was tinilized by Stille reaction using the catalyst tetrakis (triphenylphosphine) Pd. Subsequently acylated with three tinilization products 2,2,3,3-cyclopropanecarbonyl chloride (ALIBD65), cyclopentanecarbonyl chloride (ALIBD67) cicloheptanocarbonil chloride (ALIBD69) and adamantanocarbonil chloride (ALIBD68) (ALIBD54) thus obtained five products fines which were purified.

Each product was characterized by mass spectroscopy and nuclear magnetic resonance (NMR); thus checking that the proposed structures for each compound were correct.

LISTA DE ABREVIATURAS

THC:	Tetrahidrocannabinol
Δ^9 -THC:	delta-9-tetrahydrocannabinol
CE:	Cannabinoides endógenos
AEA :	Anandamida
2-AG:	2-araquidonoilglicerol
CB1:	Receptor cannabinoide1
CB2:	Receptor cannabinoide2
SNC:	Sistema nervioso central
AA:	Ácido araquidónico
MAGL:	Monoacilglicerol lipasa
FAAH:	Ácidos grasos de amida hidrolasa
PAA:	Palmitoiletanolamida
COX-2:	Ciclooxigenasa-2
Ki:	Constante de inhibición
EII:	Enfermedad inflamatoria del intestino
CU:	Colitis ulcerosa
EC:	Enfermedad de Crohn
EtOAc:	Acetato de etilo
ELA:	Esclerosis lateral amiotrófica



CAPÍTULO I: GENERALIDADES

INTRODUCCIÓN

El sistema endocannabinoide es un sistema de comunicación intercelular compuesto por endocannabinoides, receptores cannabinoides y enzimas. Se trata de un sistema de neurotransmisión, aunque es mucho más que eso, ya que se encuentra en otros órganos y tejidos del cuerpo y no exclusivamente en el cerebro. La función principal del sistema endocannabinoide es la regulación de la homeostasis del cuerpo, jugando un papel importante en muchos aspectos de las funciones neuronales, incluyendo el aprendizaje y la memoria, la emoción, el comportamiento adictivo, la alimentación y el metabolismo, el dolor y la neuroprotección. También se ve involucrado en la modulación de distintos procesos a nivel cardiovascular e inmunológico. Debido a su localización predominante del receptor cannabinoide CB2 en el sistema inmune, su modulación en la liberación de las citoquinas responsables de la inflamación y la asistencia en la modulación de la activación de células gliales que contribuye a la limitación del dolor viene a ser un nuevo objetivo interesante para los profesionales de la salud debido a que posee una amplia gama de tratamientos de enfermedades y en particular las enfermedades inflamatorias crónicas, como las enfermedades inflamatorias del intestino. Su principal ventaja se basa en el hecho de que los agonistas del CB2 están desprovistos de efectos psicotrópicos. Ahí radica el interés de sintetizar agonistas de dicho receptor para poder dar un mejor tratamiento a estas enfermedades mediante una forma farmacéutica que no sea la convencional donde, el medicamento se desintegra rápidamente en el contenido estomacal, el fármaco se libera y se absorbe en el torrente sanguíneo; esto da como resultado altas concentraciones sistémicas, un aumento de los efectos colaterales y una baja concentración en el sitio de destino, en este caso, el del intestino grueso. Esto se puede superar si la liberación de la droga no se da ni en el estómago ni en el intestino delgado, pero si en el colon.

Actualmente, sólo unos pocos ligandos del receptor CB2 han sido diseñados y no muchos de ellos están en desarrollo clínico, es de esta manera que viendo la importancia de dicho receptor en el sistema endocannabinoide y motivada hacia la investigación para el aporte a la salud, es que se basa el presente trabajo que tiene por finalidad lograr la síntesis de potenciales agonistas del receptor cannabinoide CB2.



HIPÓTESIS

Dado el amplio interés por el sistema endocannabinoide, es probable que mediante síntesis química se pueda llegar a obtener moléculas que sean potenciales agonistas del receptor cannabinoide CB2.



OBJETIVO

Diseñar, sintetizar y caracterizar moléculas que puedan ser potenciales agonistas del receptor cannabinoide CB2 con estructura similar al riluzol.



CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

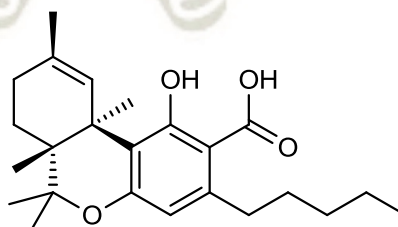
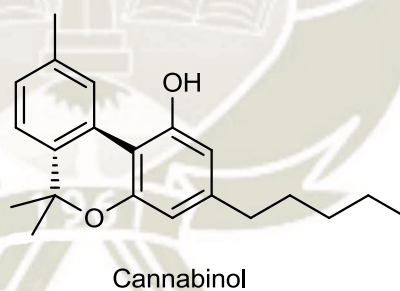
1. Generalidades

Cannabis sativa, también conocida como marihuana, es una especie herbácea de la familia Cannabaceae. Es una de las plantas más antiguas cultivadas por el humano como fuente textil, aceite de semillas y alimento, en el caso de las variedades sin contenido de tetrahidrocannabinol (THC). Esta planta es conocida por sus efectos psicotrópicos, sus usos médicos como para el tratamiento del dolor, espasmos, náuseas e insomnio; ⁽¹⁾ al igual que también se le conoce por sus efectos alucinógenos.

“Marihuana” es un término genérico empleado para denominar a los cogollos de la planta, que son su órgano reproductivo femenino y a las glándulas de resina de la flor, que contiene las concentraciones más altas de THC.

Esta planta contiene más de 480 compuestos, algunos de ellos son metabolitos primarios como aminoácidos, ácidos grasos y esteroides; como también tiene metabolitos secundarios como cannabinoides (Figura 2.1), los cuales son más de 70, ⁽²⁾ flavonoides, estilbenoides y terpenoides ⁽³⁾.

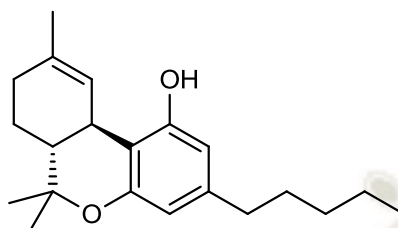
Figura 2. 1: Metabolitos secundarios del THC



FUENTE: Leleu-Chavain, 2006 ⁽⁴⁾

El mayor compuesto psicoactivo es el delta-9-tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC) (Figura 2.2) comúnmente llamado THC, descubierto en 1964 por Gaoni y Mechoulam⁽⁵⁾.

Figura 2. 2: Δ^9 -THC



FUENTE: Elaboración propia, ChemBioOffice 2010

Desde la última década, el interés por el uso terapéutico del cannabis ha sido considerado en varios trabajos de investigación.

Los cannabinoides poseen efectos beneficios en varias enfermedades como el asma, glaucoma o en desordenes como la enfermedad del Alzheimer,⁽⁶⁾ también es usado como antiemético, anti-inflamatorio y para efectos analgésicos. Desafortunadamente estos efectos benéficos están asociados con efectos indeseados como la alteración de la memoria, disforia y sedación.⁽²⁾ La mayoría de las propiedades de los cannabinoides están mediados por dos tipos de receptores cannabinoides, CB₁ y CB₂, ambos acoplados a la proteína-G.

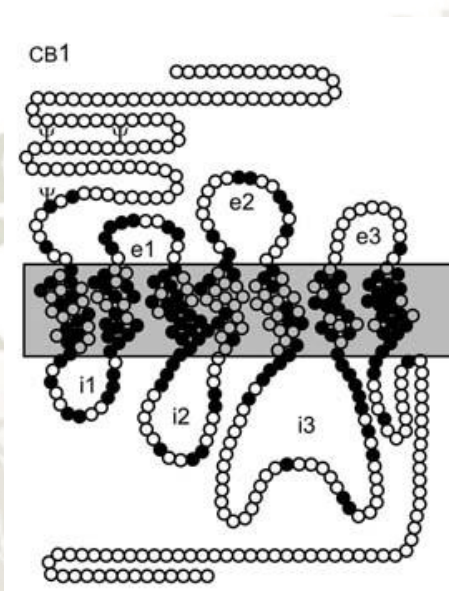
2. Sistema endocannabinoide

El sistema endocannabinoide es un sistema conformado por receptores cannabinoides, receptor CB₁ y receptor CB₂, y cannabinoides endógenos (CE), anandamida (AEA) y 2-araquidonoilglicerol (2-AG) (Figura 2.6), los cuales funcionan como mensajeros intercelulares lipídicos, señalando a las moléculas que son secretadas en una célula y activando los receptores cannabinoides presentes en otras células.

2.1. Receptor CB₁

Fue el primer receptor identificado, llamado receptor cannabinoide1 (CB1). Éste receptor está acoplado a la proteína G (Figura 2.3). Este es activado por los neurotransmisores de los cannabinoides endógenos, AEA y 2-AG.

Figura 2. 3: Estructura 2D del receptor CB₁



FUENTE: Leleu-Chavain, 2006 ⁽⁴⁾

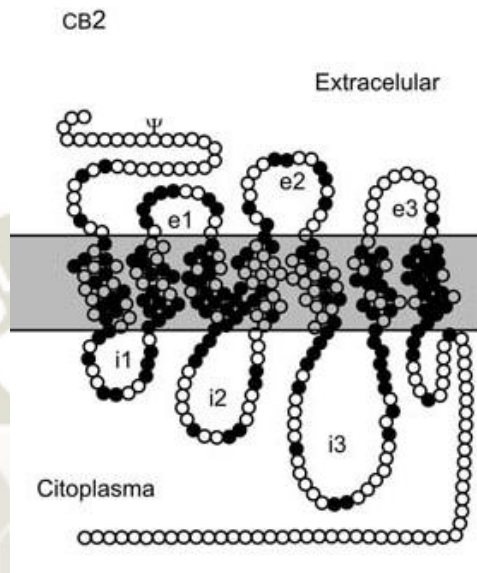
Su estructura se compone por 472 aminoácidos, que posee siete dominios transmembrana conectados por tres bucles intracelulares y tres extracelulares, una cola extracelular N-terminal, y una cola C-terminal intracelular. CB1 está ampliamente distribuido pero se localiza preferentemente en el cerebro y la médula espinal.

2.2. Receptor CB₂

El receptor cannabinoide2 (CB2) está acoplado a la proteína G, está codificada por el gen CNR2 en los seres humanos (Figura 2.4). Está estrechamente relacionado con el receptor CB1, que es responsable en gran medida de la eficacia de la inhibición pre sináptica mediada por los EC. El principal ligando endógeno para el receptor CB2 es el 2-AG.

Se compone de 360 aminoácidos y está pobremente expresado en los tejidos del sistema nervioso central (SNC) pero fuertemente en el sistema periférico.

Figura 2. 4: Estructura en 2D del receptor CB₂

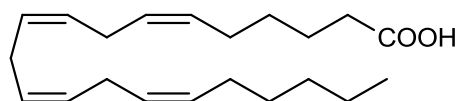


FUENTE: Leleu-Chavain, 2006⁽⁴⁾

2.3. Endocannabinoides

En 1992, el primer ligando endógeno del receptores CB1 se identificó en el cerebro de la especie porcina. Esta sustancia es la amida del ácido araquidónico (AA) (Figura 2.5) con etanolamina y fue nombrado AEA de la palabra "Amanda", que significa "felicidad".

Figura 2. 5: Estructura química del ácido araquidónico



FUENTE: Elaboración propia, ChemBioOffice 2010

Este componente del cerebro es capaz de reproducir los efectos en los comportamientos más típicos del THC en los roedores, en otras palabras, la inhibición de la actividad locomotora, la analgesia y la hipotermia rectal.

Después de 1995, otro ligando endógeno nuevo fue descubierto en el intestino de los perros y en los cerebros de ratas, 2-AG.

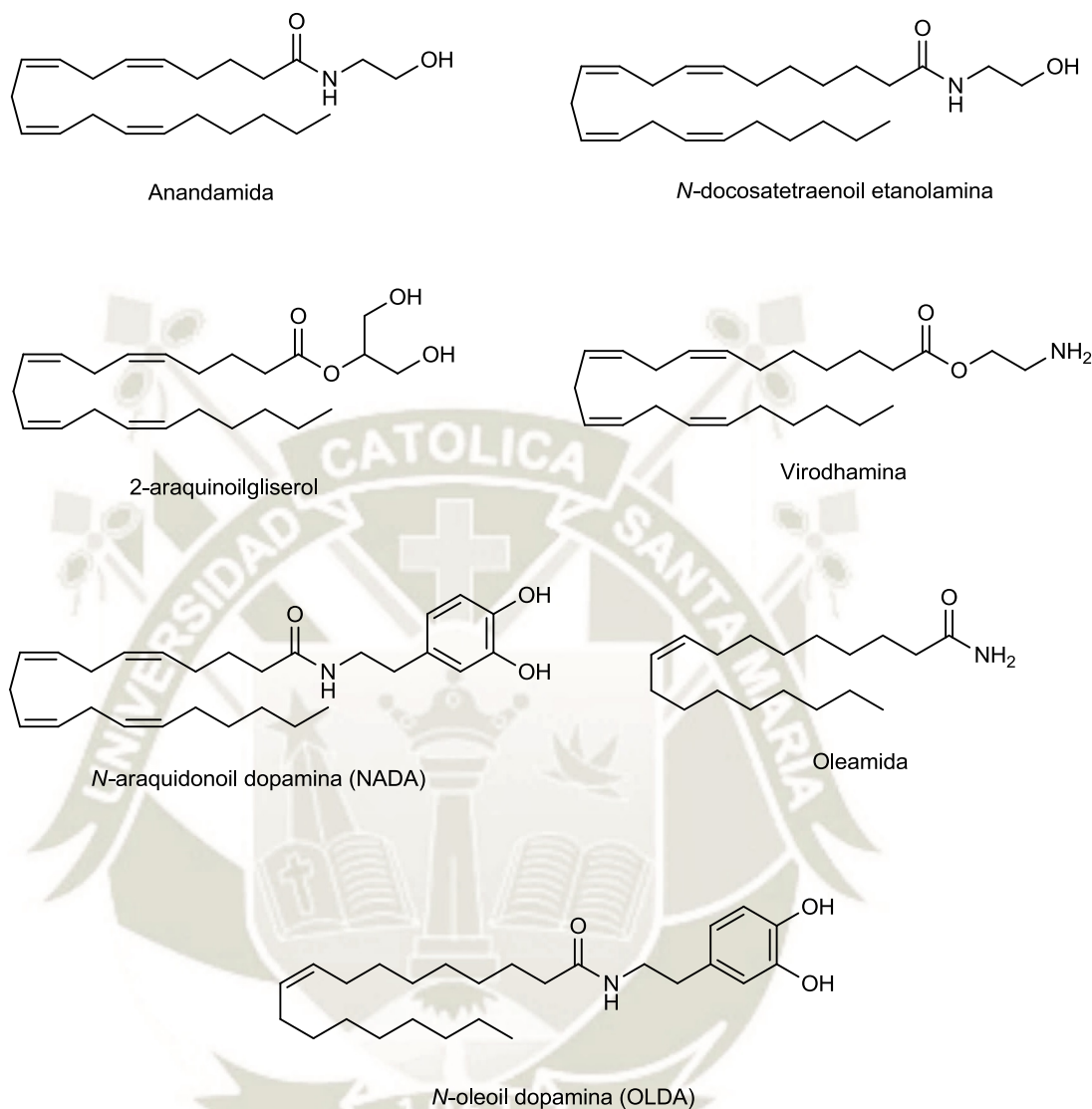
Hoy en día, 10 CE han sido identificados, pero AEA y 2-AG son los representantes principales y los más estudiados (Figura 2.6). Estos CE se retiran de sus sitios de acción por la captación celular y la degradación de enzimas tales como: monoacilglicerol lipasa (MAGL), ácidos grasos de amida hidrolasa (FAAH), palmitoiletanolamida (PAA), la ciclooxigenasa-2 (COX-2), lipoxigenasas y el citocromo P450 ⁽⁷⁾⁽⁸⁾.

Los CE supuestamente tienen las funciones neuromoduladoras e inmunomoduladoras, incluyendo la inhibición de la liberación del transmisor en curso a través de la señalización retrógrada, ⁽⁹⁾ la regla de liberación de citoquinas y regulación inmune de la migración celular ⁽¹⁰⁾.

3. Antecedentes de síntesis de agonistas CB2.

Como se señala anteriormente, el cannabis y sus derivados muestran una amplia gama de aplicaciones terapéuticas, que han sido estudiadas por diversos organismos mundiales, como el Comité Científico de Gran Bretaña (1998), el Instituto de Medicina de los Estados Unidos (1999) y la Comisión Especial del Senado sobre Drogas Ilegales en Canadá (2002). Desde el 2003, el cannabis medicinal se ha vendido en los Países Bajos por prescripción médica (Oficina del Cannabis Medicinal del 2005 ⁽¹¹⁾). Varios países han permitido y llevado a cabo ensayos clínicos sobre el cannabis y sus derivados; es así como desde 1975, se han publicado 110 estudios clínicos controlados con cannabinoides.

Figura 2. 6: Estructuras químicas de los endocannabinoides



FUENTE: Leleu-Chavain, 2006⁽⁴⁾

3.1. Constante de inhibición (K_i)

La reacción enzimática se inicia con la unión reversible del ligando (L) al receptor (R) para formar el complejo LR y se cuantifica por la constante de disociación (K_S). El primer modo de la interacción del inhibidor (I) que se puede considerar es una en la que el inhibidor se une al receptor, en competencia directa con el ligando. El equilibrio entre el complejo binario del RI se define por la constante de disociación K_i. El complejo del RI así formado podría enlazar el ligando para formar un complejo ternario RLI. La constante α define el grado en el que la unión del inhibidor afecta a la afinidad de la enzima por el sustrato.

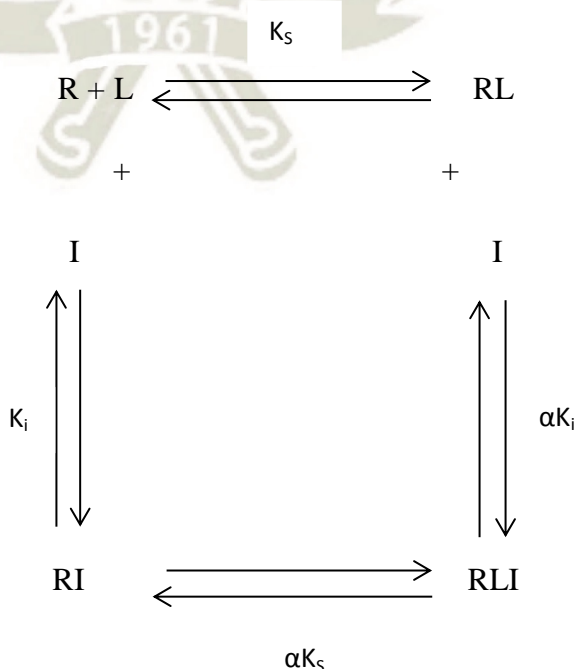
Si no hay ningún cambio en la afinidad de ligando debido a la formación del complejo del RI, entonces $\alpha = 1$. Si la formación del complejo RI excluye la unión adicional del sustrato, entonces $\alpha = \infty$ y si la formación de los complejos RI aumenta la afinidad del receptor por el ligando es $\alpha < 1$.⁽¹²⁾(Figura 2.7)

Para el descubrimiento y desarrollo de fármacos es importante conocer la afinidad que tiene un compuesto hacia su receptor, de esta manera se pueden hacer comparaciones cuantitativas del carácter de la inhibición, podemos hacer estas comparaciones sobre la base de la enzima-inhibidor de la constante de inhibición K_i .

Al cuantificar la afinidad de inhibidor en términos de K_i , también se puede definir la energía libre de Gibbs de la unión que acompaña a los cambios estructurales en el compuesto o la enzima. Esto proporciona un medio para definir las contribuciones energéticas de tipos específicos de interacciones entre los grupos en la enzima y funcionalidades en los compuestos de la energía de enlace global de la interacción.

Por lo tanto las comparaciones de afinidad para un inhibidor de la enzima se hacen mejor mediante la comparación de las constantes de inhibición, independientemente de la modalidad de la inhibición, donde se sabe que a menos K_i , más eficiente es la inhibición de la actividad del ligando.

Figura 2. 7: Esquema de equilibrio de rotación de la enzima en presencia y en ausencia de inhibidores reversibles



$$K_S = \frac{[LR]}{[L][R]} = \frac{nM}{nM \ nM} = nM^{-1}$$

$$K_i = \frac{[L][R]}{[LR]} = \frac{nM \ nM}{nM} = nM$$

FUENTE: Mechoulam R. et al, 1988⁽¹²⁾

3.2. Cannabinoides clásicos

Los cannabinoides clásicos representan a la familia de moléculas que tienen el típico tricíclico del THC.

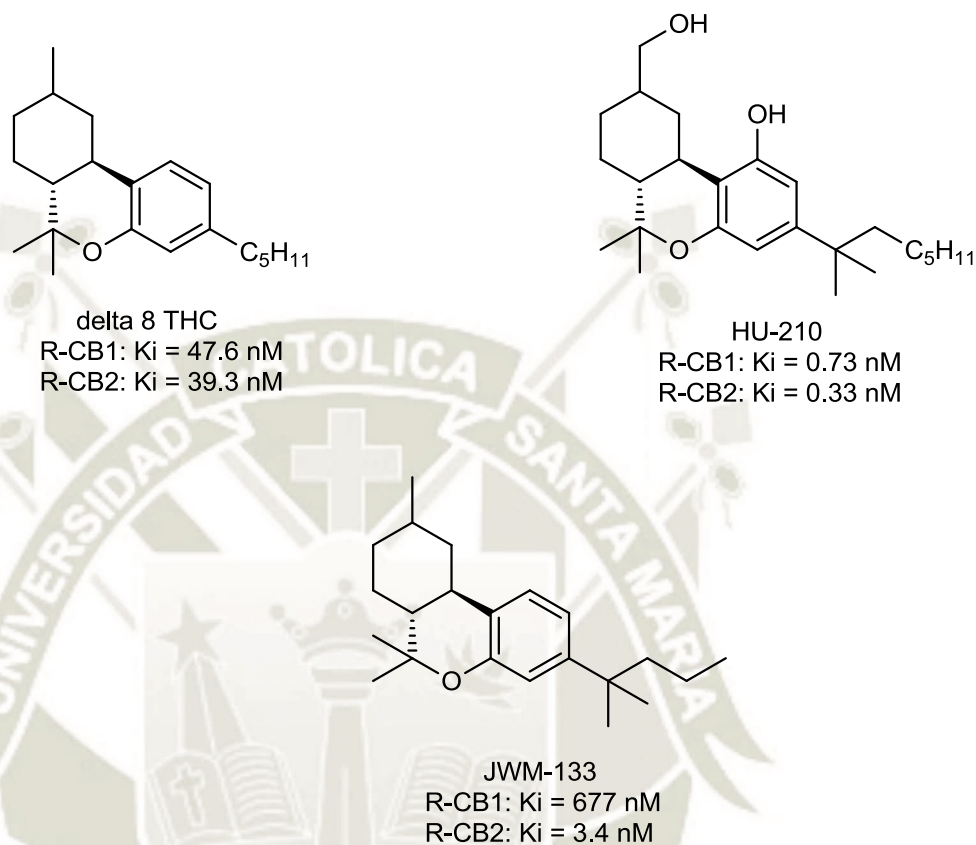
Varios cambios estructurales alrededor de esta molécula han dado compuestos con una buena afinidad del receptor CB2.

Por ejemplo, HU-210, se obtiene después de la introducción de una función alcohol en el C-9 del Δ^8 -THC (isómero de Δ^9 -THC) y la modificación de la cadena C-3, es uno de los agonistas más potentes utilizados en farmacología⁽¹²⁾. JWH-133, uno de los agonistas selectivos de CB2 más utilizados, también fue descubierto después de las modificaciones Δ^8 -THC⁽¹³⁾(Figura 2.8)

3.3. Cannabinoides no clásicos

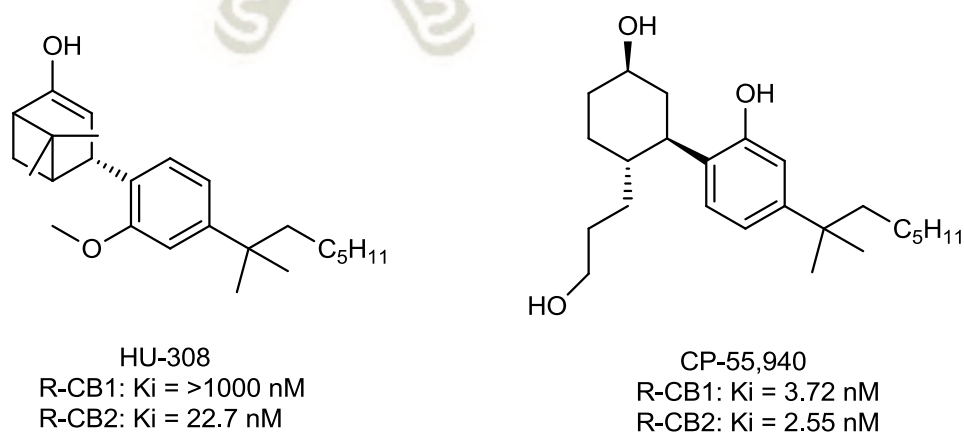
Esta familia de compuestos están directamente inspirados en los cannabinoides clásicos, donde el ciclo pirano es abierto. Los cambios realizados en esta serie dan a los agonistas CB2, CP-55,940 y HU-308, los cuales mejoran su selectividad y efecto analgésico y antiinflamatorio sin tener efectos adversos centrales⁽¹⁴⁾ (Figura 2.9).

Figura 2. 8: Estructuras químicas de análogos a 1-deoxy- Δ^8 -THC: HU-210, JWH-133



FUENTE: Leleu-Chavain, 2006⁽⁴⁾

Figura 2. 9: Estructura de HU-308 y CP-55,940



FUENTE: Stern, 2006⁽¹⁴⁾

4. Enfermedades inflamatorias del intestino

4.1. Generalidades

Enfermedad inflamatoria del intestino (EII) es el término usado para un grupo de enfermedades y trastornos que afectan al tracto intestinal. Las EII causan que los intestinos se inflamen e irriten.

Las EII se dividen en dos tipos:

- a) Colitis ulcerosa (CU): Es una enfermedad intestinal inflamatoria crónica caracterizada por brotes periódicos de inflamación de la mucosa, que se limita al colon o intestino grueso. La causa se desconoce pero las personas que padecen esta afección tienen problemas inmunitarios. El tratamiento médico consiste en administrar 5-aminosalicilatos o inmunomoduladores los cuales se usan para disminuir el número de ataques.⁽¹⁵⁾
- b) Enfermedad de Crohn (EC): Es una enfermedad que afecta por lo regular a los intestinos pero puede ocurrir en cualquier parte desde la boca hasta el recto. La causa de la EC se desconoce pero se presenta cuando el sistema inmunitario del propio cuerpo ataca por error y destruye el tejido corporal sano. El tratamiento médico es la administración de medicamentos para aliviar el dolor, la diarrea, etc.

4.2. Síntomas

La siguiente tabla explica los diferentes síntomas entre CU y EC

Tabla 2. 1: Diferencias de síntomas entre CU y EC

	CU	EC
Defecación	A menudo, esteatorrea	A menudo con mucosidad y sangrado.
Tenesmos	Poco común	Común
Fiebre	Común	Indica la severidad de la enfermedad.
Fistula	Común	Raramente
Pérdida de peso	A menudo	Raramente

FUENTE: Elaboración propia, Microsoft Word 2010

4.3. Rol del receptor CB₂ en las EII

Una distribución alta de los receptores CB₂ en los tejidos de células inmunes en el nivel periférico y central y su sobreexpresión durante la inflamación sugiere que juega un papel importante en el control de la inflamación.

Estas observaciones han sido confirmadas por la ausencia de inmunomodulación cannabinoide inducida en ratones que carecen de los receptores CB₂.⁽¹⁶⁾ El receptor CB₂ está implicado en el control de la homeostasis del sistema inmune a diferentes niveles: en la producción de citoquinas antiinflamatorias, así como en la migración, proliferación y activación de células inmunes.

Estudios recientes han destacado el papel del receptor CB₂ en varias enfermedades inflamatorias tales como enfermedades neurodegenerativas, enfermedades inflamatorias intestinales, artritis reumatoide, edema, inflamación del oído, aterosclerosis y encefalitis.

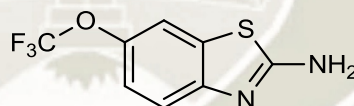
5. Relación con el grupo benzotiazol con el receptor CB₂

El riluzol⁽⁴⁾(Figura. 2.10), es un antagonista del glutamato, que ha sido aprobado por la Food and Drug Administration de EE.UU como tratamiento farmacológico para la

esclerosis lateral amiotrófica (ELA) que es una enfermedad neurodegenerativa, que primero se caracteriza por pequeños temblores o debilidad muscular durante la mitad de la vida, y luego, rápidamente se desarrolla la pérdida de neuronas, parálisis completa sin efecto de la cognición, en última instancia resulta en la muerte por paro respiratorio dentro de los 2 -5 años del diagnóstico. En los últimos años, se ha evidenciado a la ELA como una enfermedad de inflamación crónica. De hecho, los estudios post-mortem de los tejidos del sistema nervioso central de los pacientes que padecen ELA indican la activación de la microglía, sinónimo de estado de neuroinflamación primaria. Recientemente, los niveles elevados de receptores CB2 se han observado en pacientes post-mortem ELA.

Es por ello que la línea de investigación de la síntesis de potenciales ligandos del receptor cannabinoide CB2 se inicia con el grupo benzotiazol añadiendo radicales, de acuerdo con los datos que se tiene de base de acuerdo a las investigaciones anteriores.

Figura 2. 10: Estructura del riluzol



FUENTE: Leleu-Chavain, 2006⁽⁴⁾



CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

1. Materiales de vidrio

- Probeta 10 mL, 100 mL y 1000 mL
- Matraz de 250 mL
- Balones de 25 mL, 50 mL y 100 mL
- Kitasato
- Bagueta
- Columna de vidrio
- Cubas de elución
- Capilares
- Pera de separación de 100 mL

2. Materiales de laboratorio

- Espátula
- Equipo de refrigeración
- Agitador magnético
- Soporte universal
- Pinzas
- Termómetro
- Balanza ACC ALC 2100.1
- Placas pre-revestidas Kieselgel 60F254 (Merck)
- Hot plates Wencesco HP66YH
- Rotavapor Büchi R-3
- LC-MS en un HPLC combinada con un Surveyor MSQ (Thermo Electron) equipado con una fuente APCI
- Cromatografía flash Puriflash 800
- Cámara con luz UV (254 nm)
- Aparato capilar Büchi 535
- Espectrómetro de RMN Bruker AC 300

3. Reactivos

- Tolueno (p.a Merck)
- Cloroformo (p.a Merck)
- Etanol (p.a Merck)
- Dimetilformamida (p.a Merck)
- Carbonato de cesio (p.a Merck)
- Acetato de etilo (p.a Merck)
- Sulfato de magnesio (p.a Merck)
- Éter de petróleo (p.a Merck)
- Metanol (p.a Merck)
- Metanol grado HPLC (Merck)
- Ciclohexano (p.a Merck)
- Diclorometano (p.a Merck)
- CDCl_3 grado LC-MS (Merck)
- DMSO grado LC-MS (Merck)
- Gel de sílice 60 malla 230-400 (Merck)

4. Métodos

4.1. Diseño de derivados

Para la síntesis de los potenciales agonistas del receptor cannabinoide CB2 se continuó la línea de diseño, del Laboratorio de Química Farmacéutica Albert Lespagnol, hecha por Davy Baudalet; teniendo como objetivo la serie de derivados 1,3 benzotiazolínicos cuya, estructura base es: (Figura. 3.1)

Figura 3. 1: Estructura 1,3 benzotiazolínica básica.

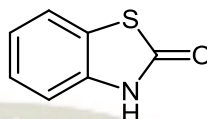


FUENTE: Elaboración propia, ChemBioOffice 2010

4.2. Síntesis de derivados

Para la preparación de los compuestos, se utilizó como estructura de partida la 1,3-benzotiazol-2-ona. (Figura. 3.2)

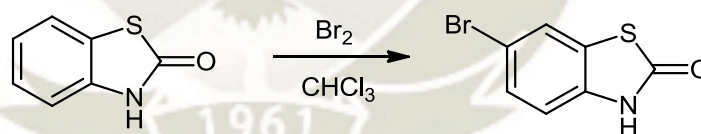
Figura 3. 2: Estructura del 1,3-benzotiazol-2-ona



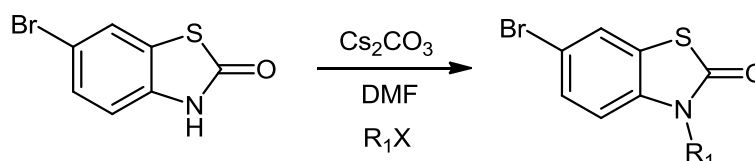
FUENTE: Elaboración propia, ChemBioOffice 2010

Los derivados fueron preparados por medio de 4 reacciones las que se describen a continuación:

- a) Primera reacción: Se procedió a una halogenación con Bromo en CHCl_3 en condiciones suaves a temperatura ambiente.

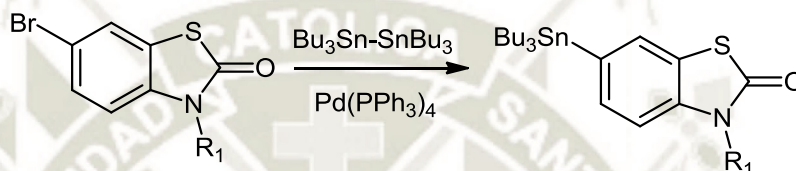


- b) Segunda reacción: *N*-alquilación con un haluro de alquilo del derivado bromado usando una base moderada (Cs_2CO_3) y DMF como medio de reacción.



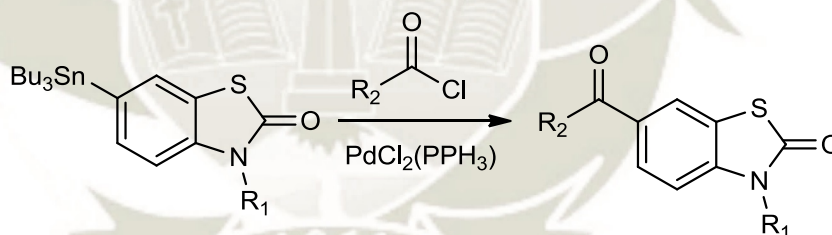
c) Tercera reacción: Acoplamiento de Stille

En esta parte se utilizó parcialmente el acoplamiento de Stille usando el método de estañización (tinilazation) para desplazar al halógeno del anillo aromático usando como catalizador al tetrakis(trifenilfosfina) Pd (0) usando DMF como medio de reacción.

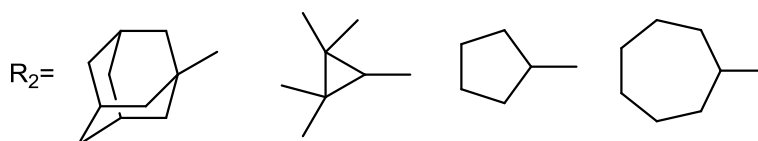
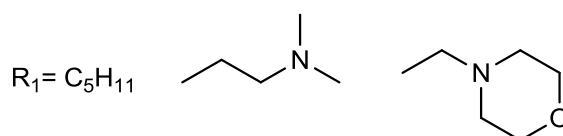


d) Cuarta reacción: Acilación del derivado estañado

Acilación del derivado estañado con un cloruro de acilo usando como catalizador al bis(difenilfosfina dicloro) Pd (II) usando DMF como medio de reacción.

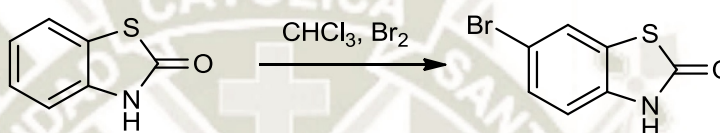


Dónde:



4.2.1. Síntesis del producto de partida: 6-bromo-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD9)

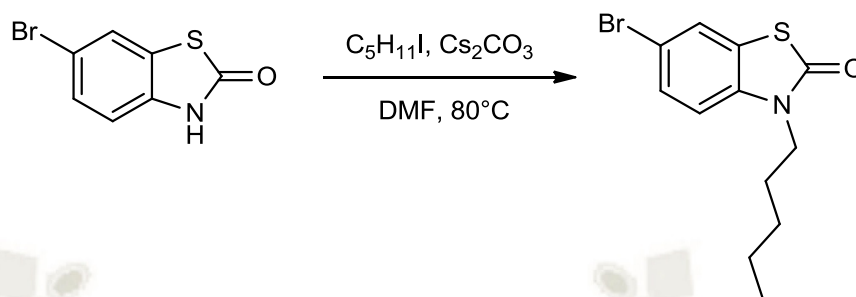
Bajo una campana de extracción, se llevó a un balón de 250 ml la 1,3-benzotiazol-2-ona (130 mmol) y luego cloroformo (200 mL). A continuación fue añadido el dibromo (150 mmol). La reacción fue agitada a temperatura ambiente por 24 horas. La solución fue filtrada a vacío a través de un embudo de buchner y el precipitado fue lavado varias veces con cloroformo y etanol. A continuación se presenta la reacción:



4.2.2. Síntesis de 6-bromo-3-pentil-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD2)

Bajo una campana de extracción, se armó el equipo de reflujo; en un balón de 50 ml se llevó 6-bromo-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD9) (8.70 mmol) y dimetilformamida (20 mL) a la solución se le añadió carbonato de cesio (13 mmol). Posteriormente se echó 1-yodopentano (19.12 mmol). La mezcla fue agitada a 80°C por 24 horas. Para comprobar que la reacción había terminado, se sembró en placa cromatográfica tres puntos: uno del producto de partida, otro el de la mezcla y el tercero de ambos; cuando en la siembra de la mezcla no aparecía el producto de partida significaba que la reacción había terminado y se paraba la reacción. El DMF se evaporó bajo presión reducida a 120°C. El residuo fue disuelto en 50 ml de acetato de etilo y se llevó a una pera de separación donde se añadió 50 ml de agua y se separó la fase orgánica de la acuosa, a ésta última se la volvió a llevar a la pera de separación y se añadió acetato de etilo; esta operación se realizó dos veces. La capa orgánica fue secada con MgSO₄, se separó el producto seco y se evaporó el acetato de etilo bajo presión reducida a 50°C.

A continuación se presenta la reacción:



a) Purificación en columna

Se armó el equipo de cromatografía en columna bajo una campana de extracción; donde se añadió un poco de arena a la columna de vidrio con la llave cerrada, luego en un matraz se echó el sílice con mucho cuidado y se añadió el ciclohexano cantidad suficiente, luego se echó ésta mezcla a la columna y se esperó a que toda la sílice este compacta, luego se añadió otra pequeña capa de arena y se abrió la llave de la columna para que salga el ciclohexano restante; terminado este paso se cierra la llave y el producto se añadió a la columna con una pipeta de tal manera que vaya todo en el centro de la columna y no choque las paredes. Se enjuagó el balón donde estaba el producto con unos pocos mililitros de ciclohexano, esto para lavar el balón y no quede nada de producto en él. Se abre nuevamente la llave y se dejó que el producto baje la capa de arena. En una probeta de 1000 ml se preparó fase móvil, ciclohexano:acetato de etilo 9:1 y se fue echando poco a poco en la columna y recibiendo en tubos de ensayo el producto hasta que se vio que todo el producto había salido.

Posteriormente se procedió a sembrar en placas cromatográficas el producto de cada tubo de ensayo para poder saber en qué tubos había el producto esperado, se comparó con la primera placa cromatográfica teniendo como R_f: 0.53 con ciclohexano:acetato de etilo (9:1) como fase móvil, y dichos tubos se los llevó al rotavapor a 70°C y finalmente se tuvo un producto de aspecto sólido blanco.

b) Análisis de los productos

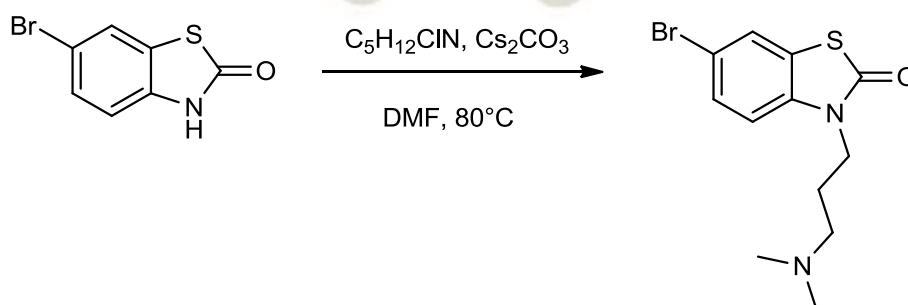
Mediante cromatografía líquida y espectro de masas se analizó el producto, una pequeña cantidad del producto se echó en un vial y se completó con metanol grado

LC-MS. Se esperaba el producto $C_{12}H_{14}BrNOS$, con un peso molecular de 300.22 g/mol; una vez que se obtuvo el resultado esperado; una pequeña cantidad de dicho producto se llevó a analizar por RMN.

4.2.3. Síntesis de 6-bromo-3-[3-(dimetilamino)propil]-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD32)

Bajo una campana de extracción, se armó el equipo de reflujo; en un balón de 50 ml se llevó 6-bromo-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD9) (8.69 mmol) en dimetilformamida (20 mL), a la solución se le añadió carbonato de cesio (13 mmol). Posteriormente se echó dimetilaminopropil (20.85 mmol). La mezcla fue agitada a $80^{\circ}C$ por 24 horas. Para comprobar que la reacción había terminado, se sembró en placa cromatográfica tres puntos: uno del producto de partida, otro el de la mezcla y el tercero de ambos; cuando en la siembra de la mezcla no aparecía el producto de partida significaba que la reacción había terminado y se paraba la reacción. El DMF se evaporó bajo presión reducida a $120^{\circ}C$. El residuo fue disuelto en 50 ml de acetato de etilo y se llevó a una pera de separación donde se añadió 50 ml de agua y se separó la fase orgánica de la acuosa, a ésta última se la volvió a llevar a la pera de separación y se añadió acetato de etilo; ésta operación se realizó dos veces. La capa orgánica fue secada con $MgSO_4$, se separó el producto seco y se evaporó el acetato de etilo bajo presión reducida a $50^{\circ}C$.

A continuación se presenta la reacción:



a) Purificación en columna

Se armó el equipo de cromatografía en columna bajo una campana de extracción; donde se añadió un poco de arena a la columna de vidrio con la llave cerrada, luego en un matraz se echó el sílice con mucho cuidado y se añadió el diclorometano cantidad suficiente, luego se echó ésta mezcla a la columna y se esperó a que toda la sílice este compacta, luego se añadió otra pequeña capa de arena y se abrió la llave de la columna para que salga el diclorometano restante; terminado este paso se cierra la llave y el producto se añadió a la columna con una pipeta de tal manera que vaya todo en el centro de la columna y no choque las paredes. Se enjuagó el balón donde estaba el producto con unos pocos mililitros de diclorometano, esto para lavar el balón y no quede nada de producto en él. Se abre nuevamente la llave y se dejó que el producto baje la capa de arena. En una probeta de 1000 ml se preparó fase móvil, diclorometano:metanol (9:1) y se fue echando poco a poco en la columna y recibiendo en tubos de ensayo el producto hasta que se vio que todo el producto había salido.

Posteriormente se procedió a sembrar en placas cromatográficas el producto de cada tubo de ensayo para poder saber en qué tubos había producto, se comparó con la primera placa cromatográfica teniendo como R_f : 0.26 con diclorometano:metano (9:1) como fase móvil, y dichos tubos se los llevó al rotavapor a 30°C y finalmente se tuvo un producto de aspecto líquido amarillo.

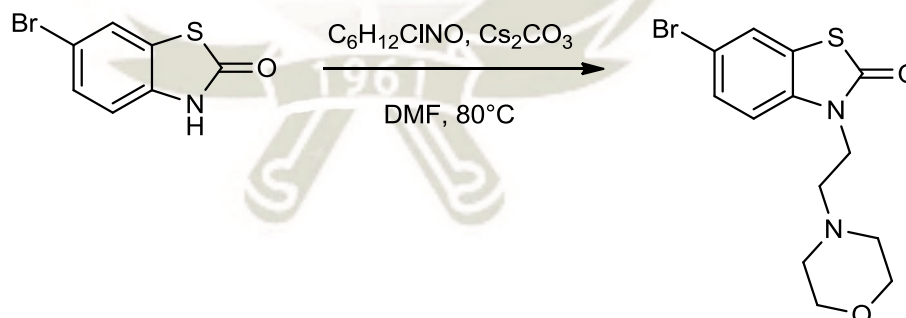
b) Análisis de los productos

Mediante cromatografía líquida y espectro de masas se analizó el producto, una pequeña cantidad del producto se echó en un vial y se completó con metanol grado LC-MS. Se esperaba el producto $C_{12}H_{15}BrN_2OS$, con un peso molecular de 315.23 g/mol; una vez que se obtuvo el resultado del producto esperado; una pequeña cantidad de dicho producto se llevó a analizar por RMN.

4.2.4. Síntesis de 6-bromo-3-(2-morfolinoetil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD33)

Bajo una campana de extracción, se armó el equipo de reflujo; en un balón de 50 ml se llevó 6-bromo-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD9) (8.69 mmol) y dimetilformamida (20 mL) a la solución se le añadió carbonato de cesio (13.04 mmol). Posteriormente se echó 4-(2-cloroetil) morfolina (19.12 mmol). La mezcla fue agitada a 80°C por 24 horas. Para comprobar que la reacción había terminado, se sembró en placa cromatográfica tres puntos: uno del producto de partida, otro el de la mezcla y el tercero de ambos; cuando en la siembra de la mezcla no aparecía el producto de partida significaba que la reacción había terminado y se paraba la reacción. El DMF se evaporó bajo presión reducida a 120°C. El residuo fue disuelto en 50 ml de acetato de etilo y se llevó a una pera de separación donde se añadió 50 ml de agua y se separó la fase orgánica de la acuosa, a ésta última se la volvió a llevar a la pera de separación y se añadió acetato de etilo; ésta operación se realizó dos veces. La capa orgánica fue secada con MgSO₄, se separó el producto seco y se evaporó el acetato de etilo bajo presión reducida a 50°C.

A continuación se presenta la reacción:



a) Purificación por cristalización

Se armó el equipo de filtración bajo una campana de extracción; en el mismo balón donde se obtuvo el producto se añadió unos cuantos mililitros de etanol absoluto hasta que el producto se disolvió, luego se llevó a calor moderado para asegurar que todo el producto este disuelto en el etanol. La solución se filtró al vacío y se esperó a

que enfriase formándose un sólido como pequeños cristales. Se sembró el producto en una placa cromatográfica y se comparó con la primera placa cromatográfica teniendo como Rf: 0.40 con ciclohexano: EtOAc (5:5) como fase móvil, finalmente se tuvo un producto de aspecto sólido blanco

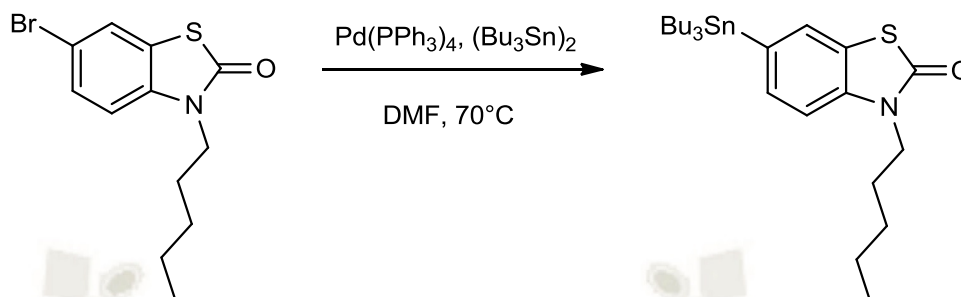
b) Análisis de los productos

Mediante cromatografía líquida y espectro de masas se analizó el producto, una pequeña cantidad del producto se echó en un vial y se completó con metanol grado LC-MS. Se esperaba el producto $C_{13}H_{15}BrN_2O_2S$, con un peso molecular de 343.24 g/mol; una vez que se obtuvo el resultado del producto esperado; una pequeña cantidad de dicho producto se llevó a analizar por RMN.

4.2.5. Síntesis de 6-tributilestaño-3-pentil-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD4)

Bajo una atmosfera de nitrógeno y bajo una campana de extracción, se armó un equipo de reflujo; en un balón de 25 ml se llevó 6-bromo-3-pentil-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD2) (3.33 mmol) y dimetilformamida (10 mL) fue añadido tetrakis (trifenilfosfina) paladio (0.33 mmol) y hexa *n*-butilestaño (5 mmol). La mezcla fue agitada a 70°C por 20 horas. Para comprobar que la reacción había terminado, se sembró en placa cromatográfica tres puntos: uno del producto de partida, otro el de la mezcla y el tercero de ambos; cuando en la siembra de la mezcla no aparecía el producto de partida significaba que la reacción había terminado y se paraba la reacción. El producto se filtró con celite, el resultado de la filtración fue un líquido marrón oscuro. El DMF fue evaporado bajo presión reducida a 120°C. El residuo fue lavado con éter de petróleo quedando un precipitado negro, luego se filtró al vació el líquido con celite y finalmente el éter de petróleo se evaporó bajo presión reducida a 35°C.

A continuación la reacción:



a) Purificación en columna

Se armó el equipo de cromatografía en columna bajo una campana de extracción; donde se añadió un poco de arena a la columna de vidrio con la llave cerrada, luego en un matraz se echó el sílice con mucho cuidado y se añadió el ciclohexano cantidad suficiente, luego se echó ésta mezcla a la columna y se esperó a que toda la sílice este compacta, luego se añadió otra pequeña capa de arena y se abrió la llave de la columna para que salga el ciclohexano restante; terminado este paso se cierra la llave y el producto se añadió a la columna con una pipeta de tal manera que vaya todo en el centro de la columna y no choque las paredes. Se enjuagó el balón donde estaba el producto con unos pocos mililitros de ciclohexano, esto para lavar el balón y no quede nada de producto en él. Se abre nuevamente la llave y se dejó que el producto baje la capa de arena. En una probeta de 1000 ml se preparó fase móvil, ciclohexano:acetato de etilo (9.5:0.5) y se fue echando poco a poco en la columna y recibiendo en tubos de ensayo el producto hasta que se vio que todo el producto había salido.

Posteriormente se procedió a sembrar en placas cromatográficas el producto de cada tubo de ensayo para poder saber en qué tubos había producto, se comparó con la primera placa cromatográfica teniendo como R_f: 0.65 con ciclohexano:acetato de etilo (9.5:0.5) como fase móvil, y dichos tubos se los llevó al rotavapor a 70°C y finalmente se tuvo un producto de aspecto líquido amarillo.

b) Análisis de los productos

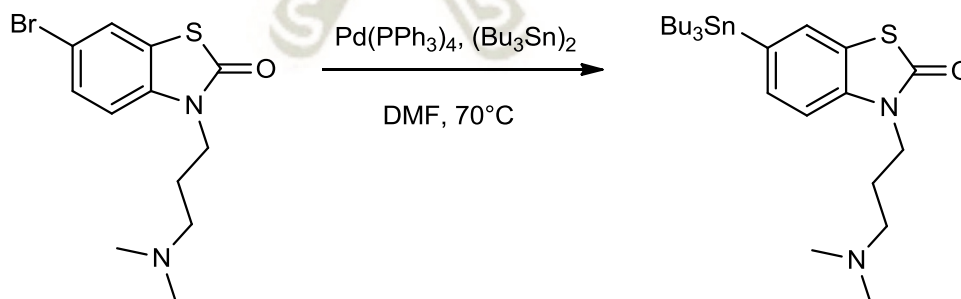
Mediante cromatografía líquida y espectro de masas se analizó el producto, una pequeña cantidad del producto se echó en un vial y se completó con metanol grado

LC-MS. Se esperaba el producto $C_{24}H_{41}NOSSn$, con un peso molecular de 510.36 g/mol; una vez que se obtuvo el resultado del producto esperado; una pequeña cantidad de dicho producto se llevó a analizar por RMN.

4.2.6. Síntesis de 6-tributilestaño-3-[3-(dimetilamino)propil]-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD64)

Bajo una atmosfera de nitrógeno y bajo una campana de extracción, se armó un equipo de reflujo; en un balón de 25 ml se llevó 6-bromo-3-[3-(dimetilamino)propil]-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD32) (3.71 mmol) y dimetilformamida (10 mL) se añadió tetrakis (trifenilfosfina) paladio (0.37 mmol) y hexa *n*-butilestaño (6.31 mmol). La mezcla fue agitada a 70°C por 48 horas. Para comprobar que la reacción había terminado, se sembró en placa cromatográfica tres puntos: uno del producto de partida, otro el de la mezcla y el tercero de ambos; cuando en la siembra de la mezcla no aparecía el producto de partida significaba que la reacción había terminado y se paraba la reacción. El producto se filtró con celite, el resultado de la filtración fue un líquido marrón oscuro. El DMF fue evaporado bajo presión reducida a 120°C. El residuo fue lavado con éter de petróleo quedando un precipitado negro, luego se filtró al vacío el líquido con celite y finalmente el éter de petróleo se evaporó bajo presión reducida a 35°C.

A continuación la reacción:



a) Purificación en cromatografía automática

Se utilizó una columna cromatográfica F40 (35 x 1.67 cm) la cual se puso en el equipo previamente encendido y habiendo escogido la presión (20 bar), el tiempo de

recolección (60 minutos) y la fase móvil que fue diclorometano:metanol (9:1). Se procedió a inyectar la muestra y el equipo empezó a correr la muestra. Una vez que se terminó la recolección se procedió a sembrar en placas cromatográficas el producto de cada tubo de ensayo para poder saber en qué tubos estaba el producto deseado comparándose con la primera placa cromatográfica que tuvo como Rf: 0.50 con diclorometano:metanol (9:1) como fase móvil, y dichos tubos se los llevó al rotavapor a 30°C y finalmente se tuvo un producto de aspecto líquido amarillo.

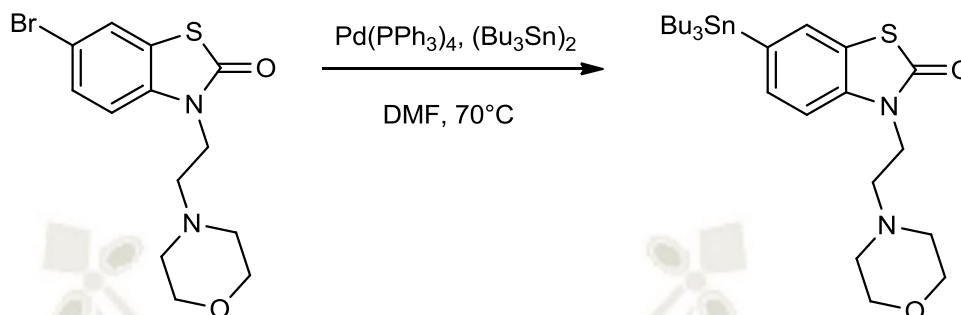
b) Análisis de los productos

Mediante cromatografía líquida y espectro de masas se analizó el producto, una pequeña cantidad del producto se echó en un vial y se completó con metanol grado LC-MS. Se esperaba el producto $C_{24}H_{42}N_2OSSn$, con un peso molecular de 525.38 g/mol; una vez que se obtuvo el resultado del producto esperado; una pequeña cantidad de dicho producto se llevó a analizar por RMN.

4.2.7. Síntesis de 6-tributilestaño-3(2-morfolinoetil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD53)

Bajo una atmosfera de nitrógeno y bajo una campana de extracción, se armó un equipo de reflujo; en un balón de 25 ml se llevó 6-bromo-3-(2-morfolinoetil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD33) (2.91 mmol) y dimetilformamida (10 mL) se añadió tetrakis (trifenilfosfina) paladio (0.29 mmol) y hexa -*n*-butilestaño (4.37 mmol). La mezcla fue agitada a 70°C por 48 horas. Para comprobar que la reacción había terminado, se sembró en placa cromatográfica tres puntos: uno del producto de partida, otro el de la mezcla y el tercero de ambos; cuando en la siembra de la mezcla no aparecía el producto de partida significaba que la reacción había terminado y se paraba la reacción. El producto se filtró con celite, el resultado de la filtración fue un líquido marrón oscuro. El DMF fue evaporado bajo presión reducida a 120°C. El residuo fue lavado con éter de petróleo quedando un precipitado negro, luego se filtró al vacío el líquido con celite y finalmente el éter de petróleo se evaporó bajo presión reducida a 35°C.

A continuación la reacción:



a) Purificación en cromatografía automática

Se utilizó una columna cromatográfica F40 (35 x 1.67 cm) la cual se puso en el equipo previamente encendido y habiendo escogido la presión (20 bar), el tiempo de recolección (60 minutos) y la fase móvil que fue ciclohexano:acetato de etilo (5:5). Se procedió a inyectar la muestra y el equipo empezó a correr la muestra. Una vez que se terminó la recolección se procedió a sembrar en placas cromatográficas el producto de cada tubo de ensayo para poder saber en qué tubos estaba el producto deseado comparándose con la primera placa cromatográfica que tuvo como R_f: 0.50 con ciclohexano:acetato de etilo (5:5) como fase móvil, y dichos tubos se los llevó al rotavapor a 50°C y finalmente se tuvo un producto de aspecto líquido amarillo.

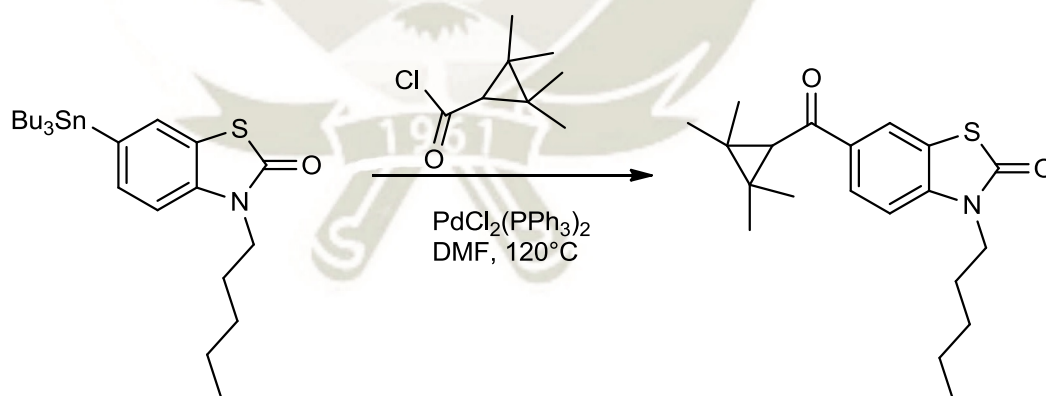
b) Análisis de los productos

Mediante cromatografía líquida y espectro de masas se analizó el producto, una pequeña cantidad del producto se echó en un vial y se completó con metanol grado LC-MS. Se esperaba el producto C₂₅H₄₂N₂O₂SSn, con un peso molecular de 553.39 g/mol; una vez que se obtuvo el resultado del producto esperado; una pequeña cantidad de dicho producto se llevó a analizar por RMN.

4.2.8. Síntesis de 3-pentil-6-(2,2,3,3-tetrametilciclopropanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD65)

Bajo una atmosfera de nitrógeno y bajo una campana de extracción, se armó un equipo de reflujo; en un balón de 25 ml se llevó 6-tributilestaño-3-pentil-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD4) (1.19 mmol) y dimetilformamida (10 mL) se añadió $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (0.12 mmol) y luego 2,2,3,3ciclopropanocarbonil cloruro (2.74 mmol). La mezcla fue agitada a 120°C por 24 horas. Para comprobar que la reacción había terminado, se sembró en placa cromatográfica tres puntos: uno del producto de partida, otro el de la mezcla y el tercero de ambos; cuando en la siembra de la mezcla no aparecía el producto de partida significaba que la reacción había terminado y se paraba la reacción. El producto se filtró con celite, el resultado de la filtración fue un líquido marrón oscuro. El DMF fue evaporado bajo presión reducida a 120°C . El residuo fue lavado con éter de petróleo quedando un precipitado negro, luego se filtró al vacío el líquido con celite; al filtrado resultante se volvió a lavar con éter de petróleo y a filtrar con celite. Finalmente el éter de petróleo se evaporó bajo presión reducida a 35°C .

A continuación la reacción:



a) Purificación en cromatografía de columna

Se armó el equipo de cromatografía en columna bajo una campana de extracción; donde se añadió un poco de arena a la columna de vidrio con la llave cerrada, luego en un matraz se echó el sílice con mucho cuidado y se añadió el ciclohexano cantidad suficiente, luego se echó ésta mezcla a la columna y se esperó a que toda la sílice

este compacta, luego se añadió otra pequeña capa de arena y se abrió la llave de la columna para que salga el ciclohexano restante; terminado este paso se cierra la llave y el producto se añadió a la columna con una pipeta de tal manera que vaya todo en el centro de la columna y no choque las paredes. Se enjuagó el balón donde estaba el producto con unos pocos mililitros de ciclohexano, esto para lavar el balón y no quede nada de producto en él. Se abre nuevamente la llave y se dejó que el producto baje la capa de arena. En una probeta de 1000 ml se preparó fase móvil, ciclohexano:acetato de etilo (9:1) y se fue echando poco a poco en la columna y recibiendo en tubos de ensayo el producto hasta que se vio que todo el producto había salido.

Posteriormente se procedió a sembrar en placas cromatográficas el producto de cada tubo de ensayo para poder saber en qué tubos había producto, se comparó con la primera placa cromatográfica teniendo como Rf: 0.30 con ciclohexano:acetato de etilo (9:1) como fase móvil, y dichos tubos se los llevó al rotavapor a 70°C y finalmente se tuvo un producto de aspecto sólido blanco.

a) Análisis de los productos

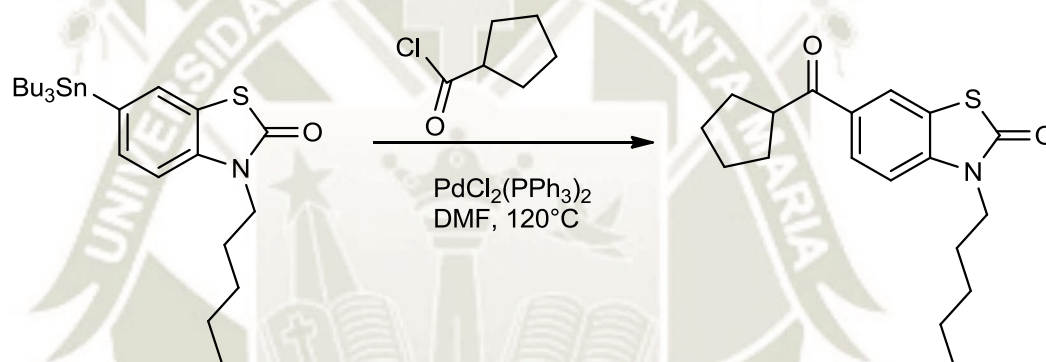
Mediante cromatografía líquida y espectro de masas se analizó el producto, una pequeña cantidad del producto se echó en un vial y se completó con metanol grado LC-MS. Se esperaba el producto $C_{20}H_{27}NO_2S$, con un peso molecular de 345.50 g/mol; una vez que se obtuvo el resultado del producto esperado; una pequeña cantidad de dicho producto se llevó a analizar por RMN.

4.2.9. Síntesis de 3-pentil-6-(ciclopentanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD67)

Bajo una atmosfera de nitrógeno y bajo una campana de extracción, se armó un equipo de reflujo; en un balón de 25 ml se llevó 6-tributilestano-3-pentil-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD4) (1.96 mmol) y dimetilformamida (10 mL) se añadió $PdCl_2(PPh_3)_2$ (0.19 mmol) y luego ciclopentanocarbonil cloruro (4.51 mmol). La mezcla fue agitada a 120°C por 24 horas. Para comprobar que la reacción había

terminado, se sembró en placa cromatográfica tres puntos: uno del producto de partida, otro el de la mezcla y el tercero de ambos; cuando en la siembra de la mezcla no aparecía el producto de partida significaba que la reacción había terminado y se paraba la reacción. El producto se filtró con celite, el resultado de la filtración fue un líquido marrón oscuro. El DMF fue evaporado bajo presión reducida a 120°C. El residuo fue lavado con éter de petróleo quedando un precipitado negro, luego se filtró al vacío el líquido con celite; al filtrado resultante se volvió a lavar con éter de petróleo y a filtrar con celite. Finalmente el éter de petróleo se evaporó bajo presión reducida a 35°C.

A continuación la reacción:



a) Purificación en cromatografía en columna

Se armó el equipo de cromatografía en columna bajo una campana de extracción; donde se añadió un poco de arena a la columna de vidrio con la llave cerrada, luego en un matraz se echó el sílice con mucho cuidado y se añadió el ciclohexano cantidad suficiente, luego se echó esta mezcla a la columna y se esperó a que toda la sílice este compacta, luego se añadió otra pequeña capa de arena y se abrió la llave de la columna para que salga el ciclohexano restante; terminado este paso se cierra la llave y el producto se añadió a la columna con una pipeta de tal manera que vaya todo en el centro de la columna y no choque las paredes. Se enjuagó el balón donde estaba el producto con unos pocos mililitros de ciclohexano, esto para lavar el balón y no quede nada de producto en él. Se abre nuevamente la llave y se dejó que el producto baje la capa de arena. En una probeta de 1000 ml se preparó fase móvil, ciclohexano:acetato de etilo (9:1) y se fue echando poco a poco en la columna y

recibiendo en tubos de ensayo el producto hasta que se vio que todo el producto había salido.

Posteriormente se procedió a sembrar en placas cromatográficas el producto de cada tubo de ensayo para poder saber en qué tubos había producto, se comparó con la primera placa cromatográfica teniendo como Rf: 0.33 con ciclohexano:acetato de etilo (9:1) como fase móvil, y dichos tubos se los llevó al rotavapor a 70°C. Se analizó el producto por LC-MS y éste aún no estaba puro por lo que se volvió a realizar una cromatografía en columna, siguiendo los mismos pasos anteriores pero la proporción de la fase móvil fue variada por ciclohexano:acetato de etilo (9.5:0.5) y finalmente se tuvo un producto de aspecto sólido amarillo.

b) Análisis de los productos

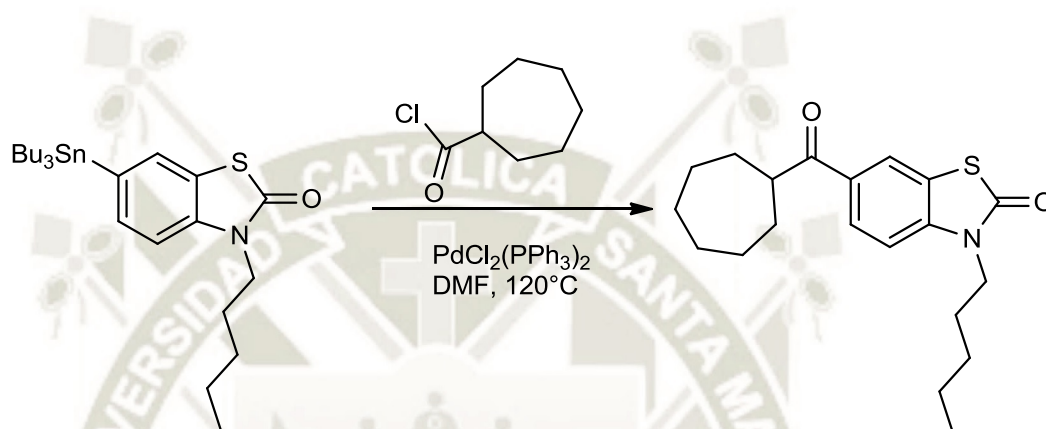
Mediante cromatografía líquida y espectro de masas se analizó el producto, una pequeña cantidad del producto se echó en un vial y se completó con metanol grado LC-MS. Se esperaba el producto $C_{18}H_{23}NO_2S$, con un peso molecular de 317.45 g/mol; una vez que se obtuvo el resultado del producto esperado; una pequeña cantidad de dicho producto se llevó a analizar por RMN.

4.2.10. Síntesis de 3-pentil-6-(cicloheptanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD69)

Bajo una atmosfera de nitrógeno y bajo una campana de extracción, se armó un equipo de reflujo; en un balón de 25 ml se llevó 6-tributilestano-3-pentil-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD4) (1.65 mmol) y dimetilformamida (10 mL) se añadió $PdCl_2(PPh_3)_2$ (0.16 mmol) y luego cicloheptanocarbonil cloruro (3.80 mmol). La mezcla fue agitada a 120°C por 48 horas. Para comprobar que la reacción había terminado, se sembró en placa cromatográfica tres puntos: uno del producto de partida, otro el de la mezcla y el tercero de ambos; cuando en la siembra de la mezcla no aparecía el producto de partida significaba que la reacción había terminado y se paraba la reacción. El producto se filtró con celite, el resultado de la filtración fue un

líquido marrón oscuro. El DMF fue evaporado bajo presión reducida a 120°C. El residuo fue lavado con éter de petróleo quedando un precipitado negro, luego se filtró al vacío el líquido con celite; al filtrado resultante se volvió a lavar con éter de petróleo y a filtrar con celite. Finalmente el éter de petróleo se evaporó bajo presión reducida a 35°C.

A continuación la reacción:



a) Purificación en cromatografía en columna

Se armó el equipo de cromatografía en columna bajo una campana de extracción; donde se añadió un poco de arena a la columna de vidrio con la llave cerrada, luego en un matraz se echó el sílice con mucho cuidado y se añadió el ciclohexano cantidad suficiente, luego se echó ésta mezcla a la columna y se esperó a que toda la sílice este compacta, luego se añadió otra pequeña capa de arena y se abrió la llave de la columna para que salga el ciclohexano restante; terminado este paso se cierra la llave y el producto se añadió a la columna con una pipeta de tal manera que vaya todo en el centro de la columna y no choque las paredes. Se enjuagó el balón donde estaba el producto con unos pocos mililitros de ciclohexano, esto para lavar el balón y no quede nada de producto en él. Se abre nuevamente la llave y se dejó que el producto baje la capa de arena. En una probeta de 1000 ml se preparó fase móvil, ciclohexano:acetato de etilo (9:1) y se fue echando poco a poco en la columna y recibiendo en tubos de ensayo el producto hasta que se vio que todo el producto había salido.

Posteriormente se procedió a sembrar en placas cromatográficas el producto de cada tubo de ensayo para poder saber en qué tubos había producto, se comparó con la primera placa cromatográfica teniendo como Rf: 0.33 con ciclohexano:acetato de etilo (9:1) como fase móvil, y dichos tubos se los llevó al rotavapor a 70°C y finalmente se tuvo un producto de aspecto sólido beige.

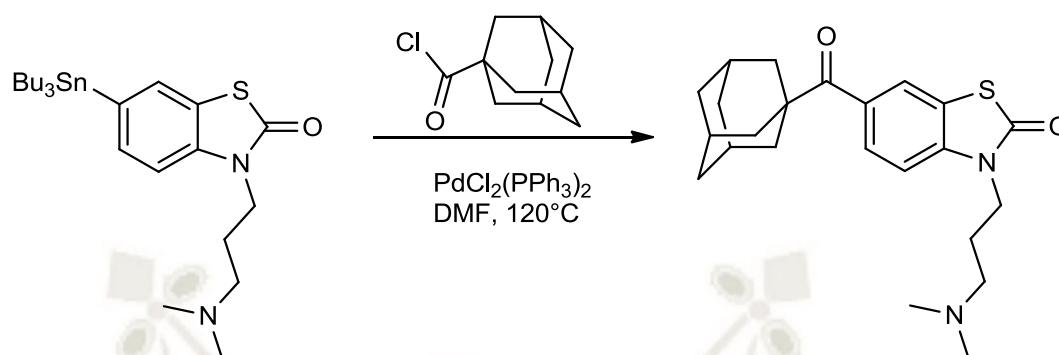
b) Análisis de los productos

Mediante cromatografía líquida y espectro de masas se analizó el producto, una pequeña cantidad del producto se echó en un vial y se completó con metanol grado LC-MS. Se esperaba el producto $C_{20}H_{27}NO_2S$, con un peso molecular de 345.50 g/mol; una vez que se obtuvo el resultado del producto esperado; una pequeña cantidad de dicho producto se llevó a analizar por RMN.

4.2.11. Síntesis de 3-[3-(dimetilamino)propil]-6-(1-adamantanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD68)

Bajo una atmosfera de nitrógeno y bajo una campana de extracción, se armó un equipo de reflujo; en un balón de 25 ml se llevó 6-tributylestaño-3-[3-(dimetilamino)propil]-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD64) (0.38 mmol) y dimetilformamida (10 mL) se añadió $PdCl_2(PPh_3)_2$ (0.038 mmol) y luego adamantanocarbonil cloruro (0.847 mmol). La reacción fue agitada a 120°C por 24 horas. Para comprobar que la reacción había terminado, se sembró en placa cromatográfica tres puntos: uno del producto de partida, otro el de la mezcla y el tercero de ambos; cuando en la siembra de la mezcla no aparecía el producto de partida significaba que la reacción había terminado y se paraba la reacción. El producto se filtró con celite, el resultado de la filtración fue un líquido marrón oscuro. El DMF fue evaporado bajo presión reducida a 120°C. El residuo fue lavado con éter de petróleo quedando un precipitado negro, luego se filtró al vació el líquido con celite; al filtrado resultante se volvió a lavar con éter de petróleo y a filtrar con celite. Finalmente el éter de petróleo se evaporó bajo presión reducida a 35°C.

A continuación la reacción:



a) Purificación en cromatografía en columna

Se armó el equipo de cromatografía en columna bajo una campana de extracción; donde se añadió un poco de arena a la columna de vidrio con la llave cerrada, luego en un matraz se echó el sílice con mucho cuidado y se añadió el diclorometano cantidad suficiente, luego se echó ésta mezcla a la columna y se esperó a que toda la sílice este compacta, luego se añadió otra pequeña capa de arena y se abrió la llave de la columna para que salga el diclorometano restante; terminado este paso se cierra la llave y el producto se añadió a la columna con una pipeta de tal manera que vaya todo en el centro de la columna y no choque las paredes. Se enjuagó el balón donde estaba el producto con unos pocos mililitros de diclorometano, esto para lavar el balón y no quede nada de producto en él. Se abre nuevamente la llave y se dejó que el producto baje la capa de arena. En una probeta de 1000 ml se preparó fase móvil, diclorometano:metanol (9:1) y se fue echando poco a poco en la columna y recibiendo en tubos de ensayo el producto hasta que se vio que todo el producto había salido.

Posteriormente se procedió a sembrar en placas cromatográficas el producto de cada tubo de ensayo para poder saber en qué tubos había producto, se comparó con la primera placa cromatográfica teniendo como R_f : 0.20 con ciclohexano:acetato de etilo (9:1) como fase móvil, y dichos tubos se los llevó al rotavapor a 30°C y finalmente se tuvo un producto de aspecto sólido blanco.

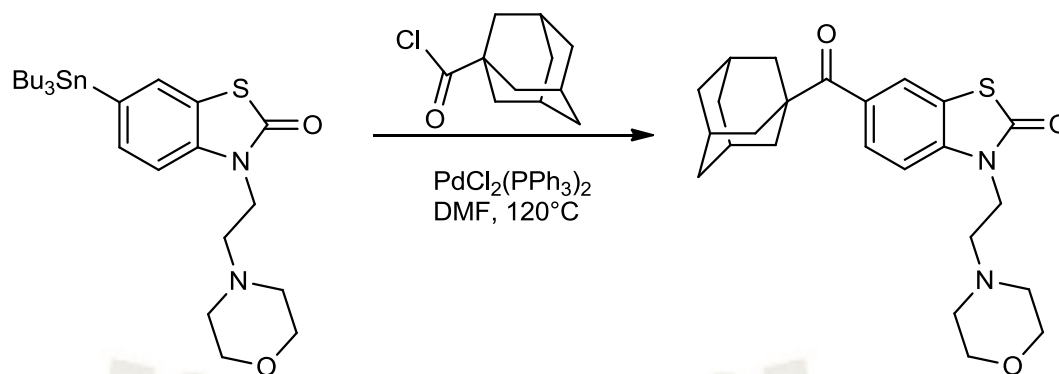
b) Análisis de los productos

Mediante cromatografía líquida y espectro de masas se analizó el producto, una pequeña cantidad del producto se echó en un vial y se completó con metanol grado LC-MS. Se esperaba el producto $C_{23}H_{30}N_2O_2S$, con un peso molecular de 398.56 g/mol; una vez que se obtuvo el resultado del producto esperado; una pequeña cantidad de dicho producto se llevó a analizar por RMN.

4.2.12. Síntesis de 3-(2-morfolinoetil)-6-(1-adamantanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD54)

Bajo una atmosfera de nitrógeno y bajo una campana de extracción, se armó un equipo de reflujo; en un balón de 25 ml se llevó 6-tributilestaño-3-(2-morfolinoetil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD53) (1.08 mmol) y dimetilformamida (10 mL) se añadió $PdCl_2(PPh_3)_2$ (0.11 mmol) y luego adamantanocarbonil cloruro (2.48 mmol). La mezcla fue agitada a $120^\circ C$ por 24 horas. Para comprobar que la reacción había terminado, se sembró en placa cromatográfica tres puntos: uno del producto de partida, otro el de la mezcla y el tercero de ambos; cuando en la siembra de la mezcla no aparecía el producto de partida significaba que la reacción había terminado y se paraba la reacción. El producto se filtró con celite, el resultado de la filtración fue un líquido marrón oscuro. El DMF fue evaporado bajo presión reducida a $120^\circ C$. El residuo fue lavado con éter de petróleo quedando un precipitado negro, luego se filtró al vacío el líquido con celite; al filtrado resultante se volvió a lavar con éter de petróleo y a filtrar con celite. Finalmente el éter de petróleo se evaporó bajo presión reducida a $35^\circ C$.

A continuación la reacción:



a) Purificación en cromatografía columna

Se armó el equipo de cromatografía en columna bajo una campana de extracción; donde se añadió un poco de arena a la columna de vidrio con la llave cerrada, luego en un matraz se echó el sílice con mucho cuidado y se añadió el diclorometano cantidad suficiente, luego se echó ésta mezcla a la columna y se esperó a que toda la sílice este compacta, luego se añadió otra pequeña capa de arena y se abrió la llave de la columna para que salga el diclorometano restante; terminado este paso se cierra la llave y el producto se añadió a la columna con una pipeta de tal manera que vaya todo en el centro de la columna y no choque las paredes. Se enjuagó el balón donde estaba el producto con unos pocos mililitros de diclorometano, esto para lavar el balón y no quede nada de producto en él. Se abre nuevamente la llave y se dejó que el producto baje la capa de arena. En una probeta de 1000 ml se preparó fase móvil, diclorometano:metanol (9:1) y se fue echando poco a poco en la columna y recibiendo en tubos de ensayo el producto hasta que se vio que todo el producto había salido.

Posteriormente se procedió a sembrar en placas cromatográficas el producto de cada tubo de ensayo para poder saber en qué tubos había producto, se comparó con la primera placa cromatográfica teniendo como R_f : 0.20 con ciclohexano:acetato de etilo (9:1) como fase móvil, y dichos tubos se los llevó al rotavapor a 30°C y finalmente se tuvo un producto de aspecto sólido blanco.

b) Análisis de los productos

Mediante cromatografía líquida y espectro de masas se analizó el producto, una pequeña cantidad del producto se echó en un vial y se completó con metanol grado

LC-MS. Se esperaba el producto $C_{23}H_{30}N_2O_2S$, con un peso molecular de 398.56 g/mol; una vez que se obtuvo el resultado del producto esperado; una pequeña cantidad de dicho producto se llevó a analizar por RMN.





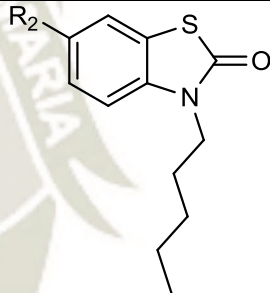
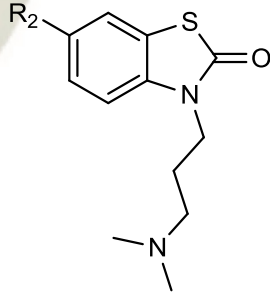
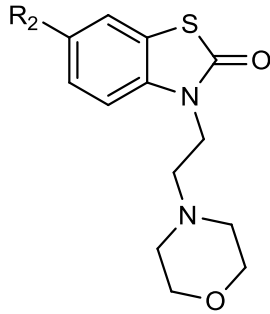
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados presentados en el siguiente capítulo siguen la secuencia de métodos del capítulo anterior.

1. Diseño de derivados

De acuerdo a las investigaciones hechas por Devane et al ⁽¹⁷⁾ se siguió el modelo del WIN-55,212-2, un agonista de los receptores CB1 y CB2, de esta manera para el diseño se tomó la serie de los 1,3 benzotiazolínicos teniendo como patrón la estructura del riluzol. Fue así que se continuó con el trabajo de Davy Baudelet, integrante del grupo de investigación del ICPAL, teniendo como resultado tres moléculas según el radical que se usó:

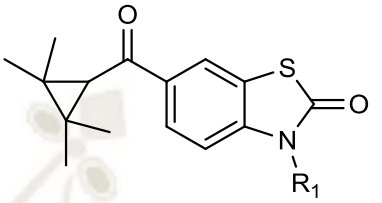
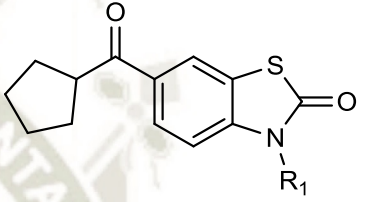
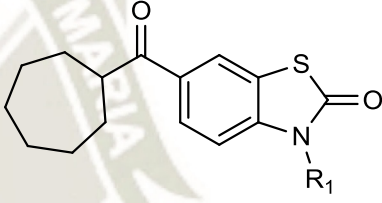
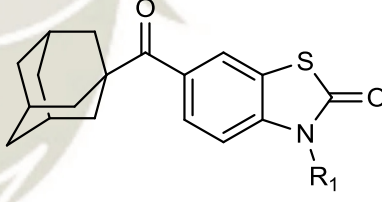
Tabla 4. 1: Relación estructura – actividad con los radicales R₁

R ₁	Iodopentano: Buena afinidad y lipofilicidad hacia el receptor CB2. ⁽¹⁴⁾	
	Dimetilaminopropil: Carácter lipofílico ⁽¹⁸⁾	
	4-(2-cloroetil) morfolina: Alta afinidad, lipofilicidad y unión al receptor CB2. ⁽¹⁹⁾	

FUENTE: Elaboración propia, Microsoft Word 2010

Se tomó en cuenta las investigaciones de Eric Stern et al ⁽¹⁴⁾ para la elección de los sustituyentes de R₂ los cuales fueron los siguientes cuatro radicales:

Tabla 4. 2: Relación estructura – actividad con los radicales R₂

R₂	2,2,3,3-tetrametilciclopropanocarbonil cloruro: Óptima selectividad y buena afinidad hacia el receptor CB2. ⁽¹⁴⁾	
	Ciclopentanocarbonil cloruro: Óptima selectividad y buena afinidad hacia el receptor CB2. ⁽¹⁴⁾	
	Cicloheptanocarbonil cloruro: Óptima selectividad y buena afinidad hacia el receptor CB2. ⁽¹⁴⁾	
	Adamantanocarbonil cloruro: Óptima selectividad y buena afinidad hacia el receptor CB2. ⁽¹⁴⁾	

FUENTE: Elaboración propia, Microsoft Word 2010

2. Síntesis y caracterización de derivados

2.1. Brominación: 6-bromo-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD9)

El compuesto ALIBD9, compuesto de partida, fue sintetizado y analizado por RMN y cromatografía de masas en el laboratorio Albert Lespagnol por Davy Baudelet.

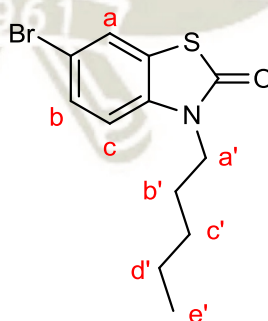
Dicho producto se me entregó y a partir de éste empecé la síntesis de los demás compuestos.

2.2. N- alquilación de compuestos

El nitrógeno del heterocíclico se pudo alquilar, en condiciones semejantes a los trabajos realizados por Xuefei Zoi et al (20), con el uso de una base suave como carbonato de cesio en DMF. Esta base puede remover el protón de H del N y esto se ve favorecido por el uso el solvente aprótico DMF. Como resultado dio la sustitución del hidrógeno por el radical alquilo. Se utilizó tres radicales diferentes ya mencionados en el punto 1.

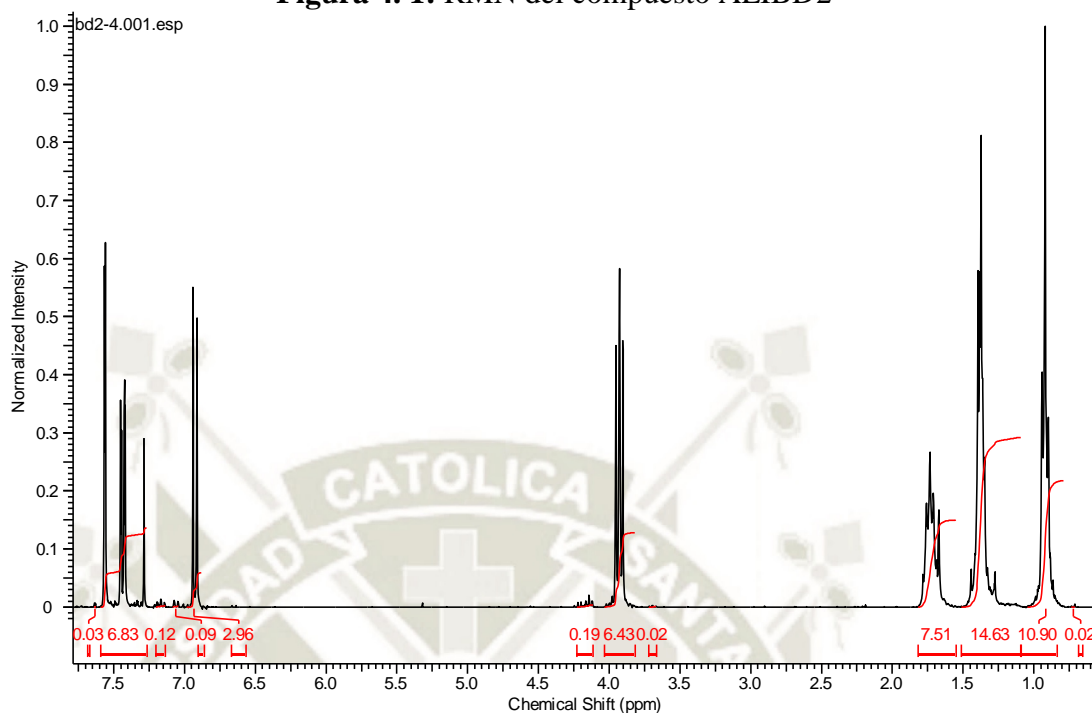
2.2.1. Síntesis y caracterización de la 6-bromo-3-pentil-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD2)

A continuación se presenta la estructura del compuesto ALIBD2 con sus respectivos análisis de RMN y LC-MS



En el espectro de la figura 4.1 se puede observar que hay siete desplazamientos que van desde 0.7 ppm hasta 7.5 ppm, donde posteriormente va ser ampliado para ver cada uno de los desplazamientos.

Figura 4. 1: RMN del compuesto ALIBD2



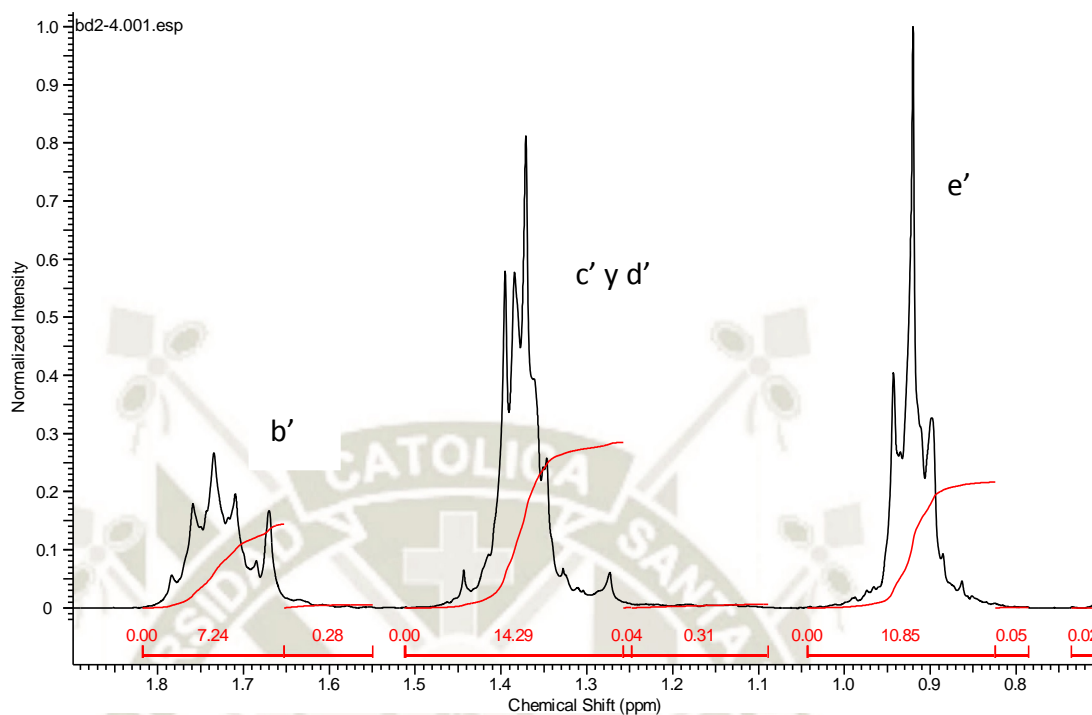
FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

^1H NMR (DMSO- d_6) δ 7.56 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H_a) 7.42 (1H, dd, $J = 2.0; 8.6$ Hz, H_b), 6.94 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H_c), 3.93 (2H, t, $J = 7.1$ Hz, $\text{H}_{a'}$), 1.73 (2H, quint., $J = 6.9$ Hz, $\text{H}_{b'}$), 1.37 (4H, m, $\text{H}_{c'}$, $\text{H}_{d'}$), 0.92 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, $\text{H}_{e'}$)

LC-MS (APCI $^+$) m/z 300.0

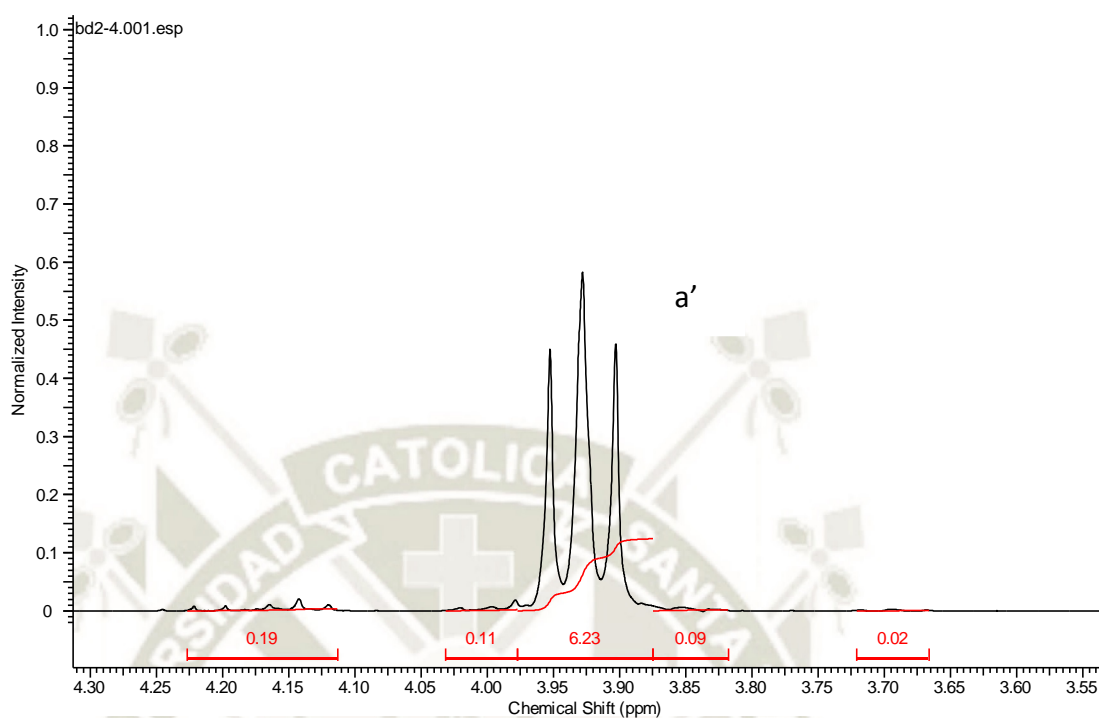
En la figura 4.2 se presenta la ampliación de los desplazamientos entre 0.8 y 1.8 ppm, donde se ven un quintuplete, multiplete y un triplete que corresponde a los hidrógenos de los carbonos b' , c' , d' y e' respectivamente.

Figura 4. 2: RMN del compuesto ALIBD2 ($H_{b'}$, $H_{c'}$, $H_{d'}$ y $H_{e'}$)



FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

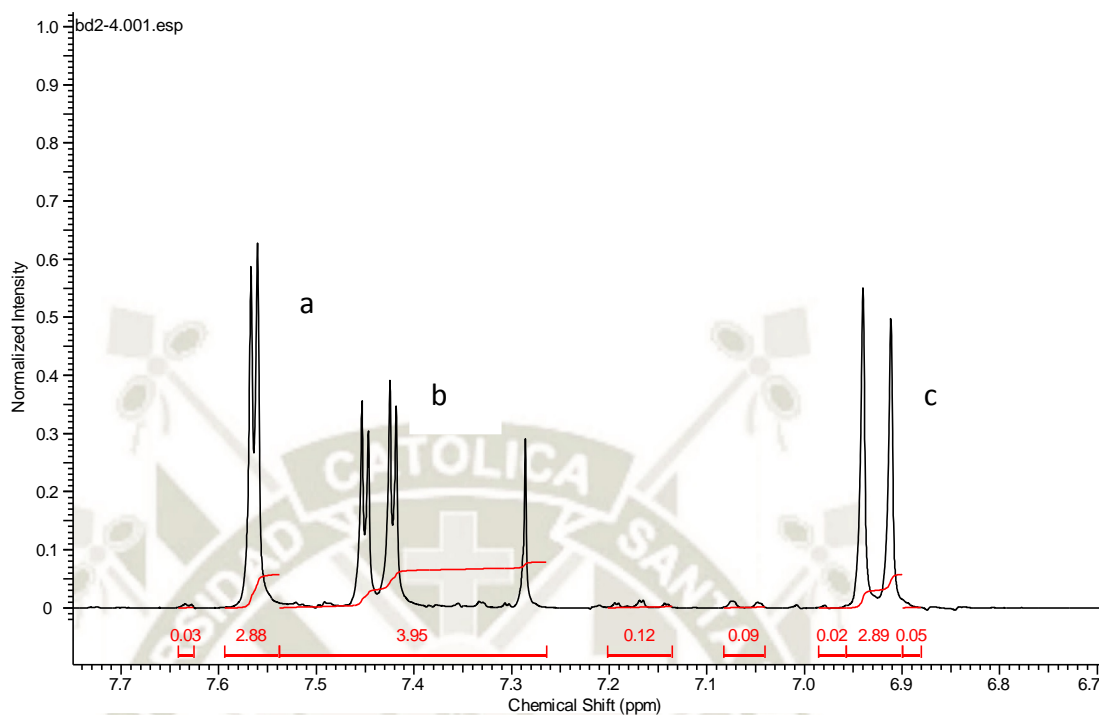
En la figura 4.3 se presenta la ampliación el desplazamiento entre 3.55 y 4.30 ppm, donde se ve un triplete que corresponde a los hidrógenos del carbono a'.

Figura 4. 3: RMN del compuesto ALIBD2 ($H_{a'}$)

FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

En la figura 4.4 se presenta la ampliación de los desplazamientos entre 6.7 y 7.7 ppm, donde se observa un doblete, un doble doblete y otro doblete que pertenecen a los hidrógenos de los carbonos a, b y c respectivamente.

Figura 4. 4: RMN del compuesto ALIBD2 (H_a , H_b y H_c)



FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

Teniendo los resultados prácticos se llena la tabla 4.3 donde se muestra los resultados de las áreas de integración de algunos desplazamientos del espectro de la RMN y su número de hidrógenos.

Tabla 4. 3: Área de integración en el espectro con respecto al número de hidrógenos del compuesto ALIBD2

	Área de integración en el espectro	H
H_a	2.88	1
H_c	2.89	1
$H_{a'}$	6.23	2
$H_{c', d'}$	14.29	4
$H_{e'}$	10.85	3

FUENTE: Elaboración propia, Microsoft Word 2010

El resultado de dividir las áreas de integración de los espectros y el número de hidrógenos de un carbono del compuesto ALIBD2 da aproximadamente la misma cifra, lo que indica que el resultado obtenido en la parte práctica está conforme.

$$\frac{He'}{Ha'} = \frac{10.85}{6.23} = 1.74 \cong \frac{3}{2} = 1.5$$

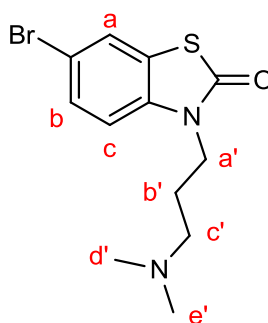
$$\frac{Hc'yd'}{Ha'} = \frac{14.29}{6.23} = 2.29 \cong \frac{4}{2} = 2$$

$$\frac{Hc}{Ha} = \frac{2.89}{2.88} = 1.00 \cong \frac{1}{1} = 1$$

Como resultado se obtuvo un sólido blanco con un rendimiento del 54% y un punto de fusión de $47 \pm 1^\circ\text{C}$. De acuerdo a todos los resultados obtenidos se concluyó que la estructura presentada del compuesto ALIBD2 es correcta.

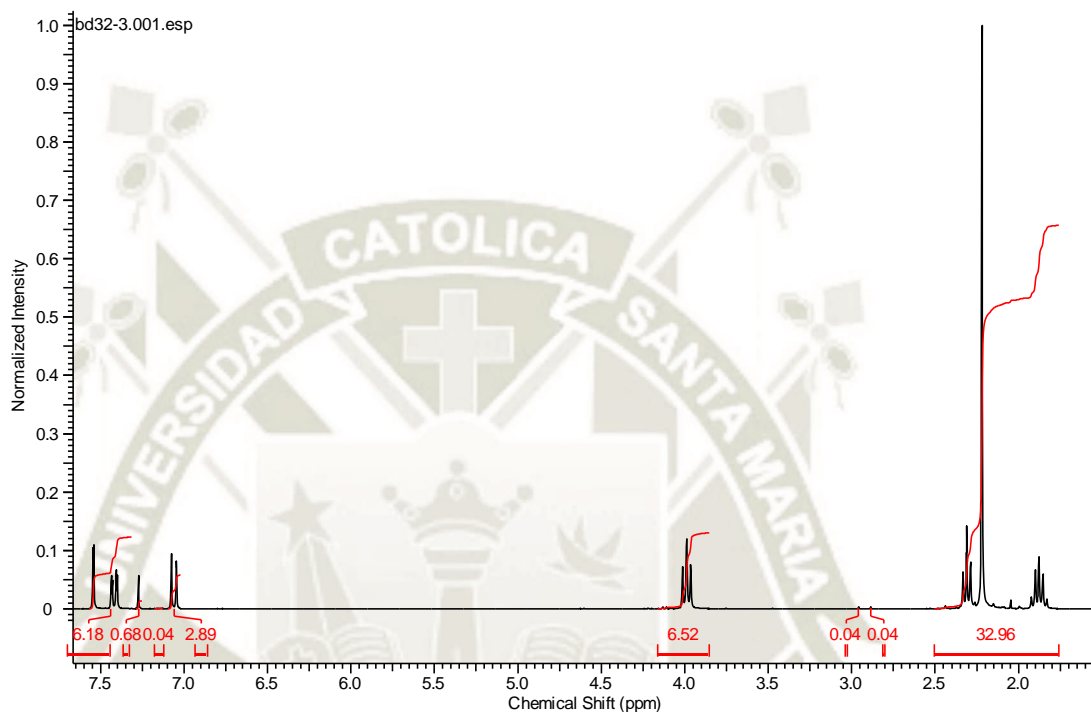
2.2.2. Síntesis y caracterización de la 6-bromo-3-[3-(dimetilamino)propil]-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD32)

Se presenta la estructura del compuesto ALIBD32 con sus respectivos análisis de RMN y LC-MS



En el espectro de la figura 4.5 se puede observar que hay siete desplazamientos que van desde 2 ppm hasta 7.5 ppm, donde posteriormente va ser ampliado para ver cada uno de los desplazamientos.

Figura 4. 5: RMN del compuesto ALIBD32

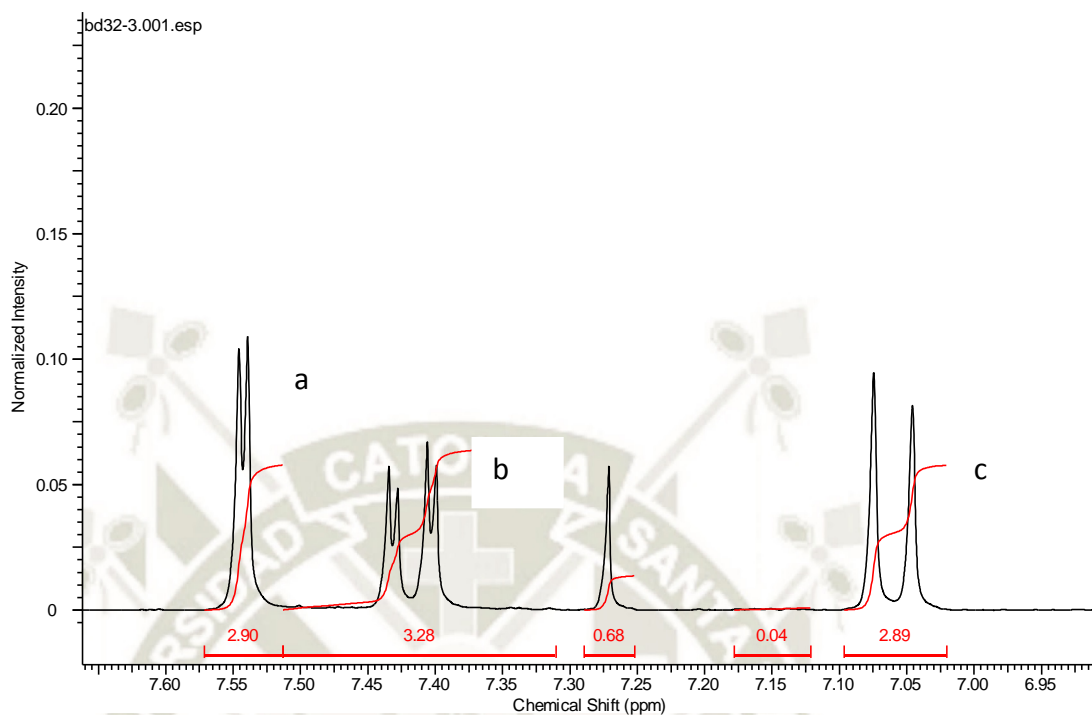


FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.55 (1H, dd, $J = 2.0; 8.6$ Hz, H_a), 7.43 (1H, s, $J = 2.0$ Hz H_b), 7.07 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H_c), 3.99 (2H, t, $J = 7.1$ Hz, H_a'), 2.31 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, H_c'), 2.22 (6H, s, H_d' y H_e'), 1.88 (2H, quint., $J = 7.0$ Hz, H_b')

LC-MS (APCI $^+$) m/z 315.0

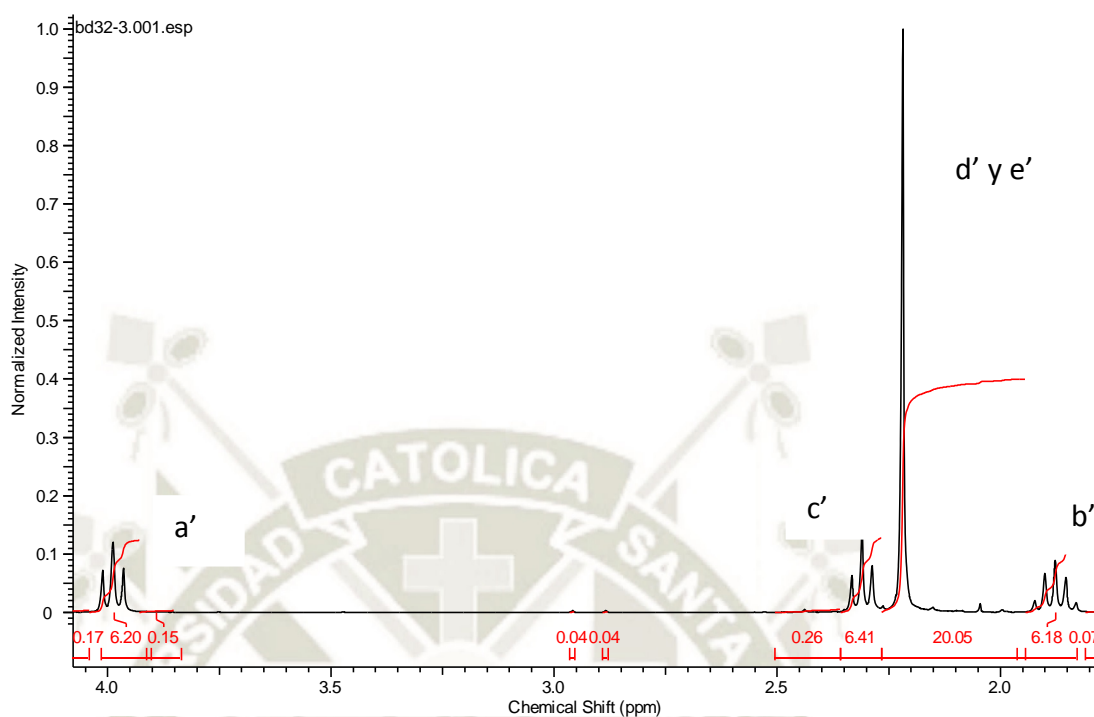
En la figura 4.6 se presenta la ampliación de los desplazamientos entre 6.95 y 7.60 ppm, donde se observa un doblete, un dobledoblete y otro doblete que pertenecen a los hidrógenos de los carbonos a, b y c respectivamente.

Figura 4. 6: RMN del compuesto ALIBD32 (H_a , H_b y H_c)

FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

En la figura 4.7 se presenta la ampliación de los desplazamientos entre 2.0 y 4.0 ppm, donde se observa dos tripletes, dos singuletes y un quintuplete que pertenecen a los hidrógenos de los carbonos a', c', d', e' y b' respectivamente.

Figura 4. 7: RMN del compuesto ALIBD32 (H_a , H_b , H_c , H_d , H_e)



FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

Teniendo los resultados prácticos se llena la tabla 4.4 donde se muestra los resultados de las áreas de integración de algunos desplazamientos del espectro de la RMN y su número de hidrógenos.

Tabla 4. 4: Área de integración en el espectro con respecto al número de hidrógenos del compuesto ALIBD32

	Área de integración en el espectro	H
H_a	2.90	1
H_c	2.89	1
$H_{a'}$	6.20	2
$H_{b'}$	6.18	2
$H_{c'}$	6.41	2

FUENTE: Elaboración propia, Microsoft Word 2010

El resultado de dividir las áreas de integración de los espectros y el número de hidrógenos de un carbono del compuesto ALIBD32 da aproximadamente la misma cifra, lo que indica que el resultado obtenido en la parte práctica está conforme.

$$\frac{H_a}{H_c} = \frac{2.90}{2.89} = 1.00 \cong \frac{1}{1} = 1.00$$

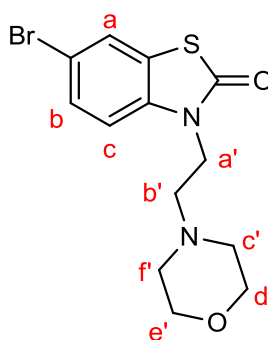
$$\frac{H_{a'}}{H_{b'}} = \frac{6.20}{6.18} = 1.00 \cong \frac{2}{2} = 1.00$$

$$\frac{H_{c'}}{H_{a'}} = \frac{6.41}{6.20} = 1.03 \cong \frac{2}{2} = 1.00$$

Como resultado se obtuvo un líquido amarillo con un rendimiento del 38%. De acuerdo a todos los resultados obtenidos se concluyó que la estructura presentada del compuesto ALIBD32 es correcta.

2.2.3. Síntesis y caracterización de la 6-bromo-3-(2-morfolinoetil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD33)

Se presenta la estructura del compuesto ALIBD33 con sus respectivos análisis de RMN y LC-MS



Se tiene en el análisis de la RMN siete desplazamientos que van desde 2.47 ppm hasta 7.47 ppm.

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.47 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H_a), 7.35 (1H, dd, $J = 2.0$; 8.6 Hz, H_b), 6.91 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H_c), 3.99 (2H, t, H_d), 3.60 (2H, t, H_e), 2.59 (2H, t, H_b), 2.47 (4H, t, H_d)

LC-MS (APCI⁺) m/z 343.0

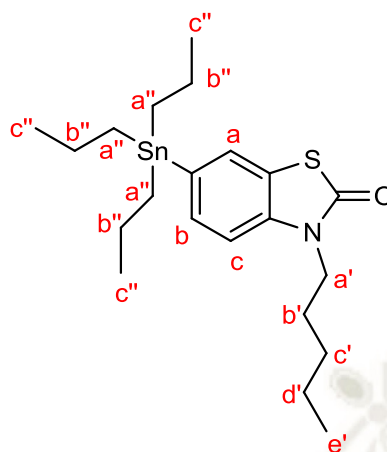
Como resultado se obtuvo un sólido blanco con un rendimiento del 67%. De acuerdo a todos los resultados obtenidos se concluyó que la estructura presentada del compuesto ALIBD33 es correcta.

2.3. Acoplamiento de Stille

Como dice Lee et al ⁽²¹⁾ la reacción de Stille permite la formación de enlaces C-C usando compuestos organometálicos de estaño. En esta primera etapa, el compuesto estañado reemplazó al halógeno (Bromo) habiendo usando compuestos de Paladio como catalizador.

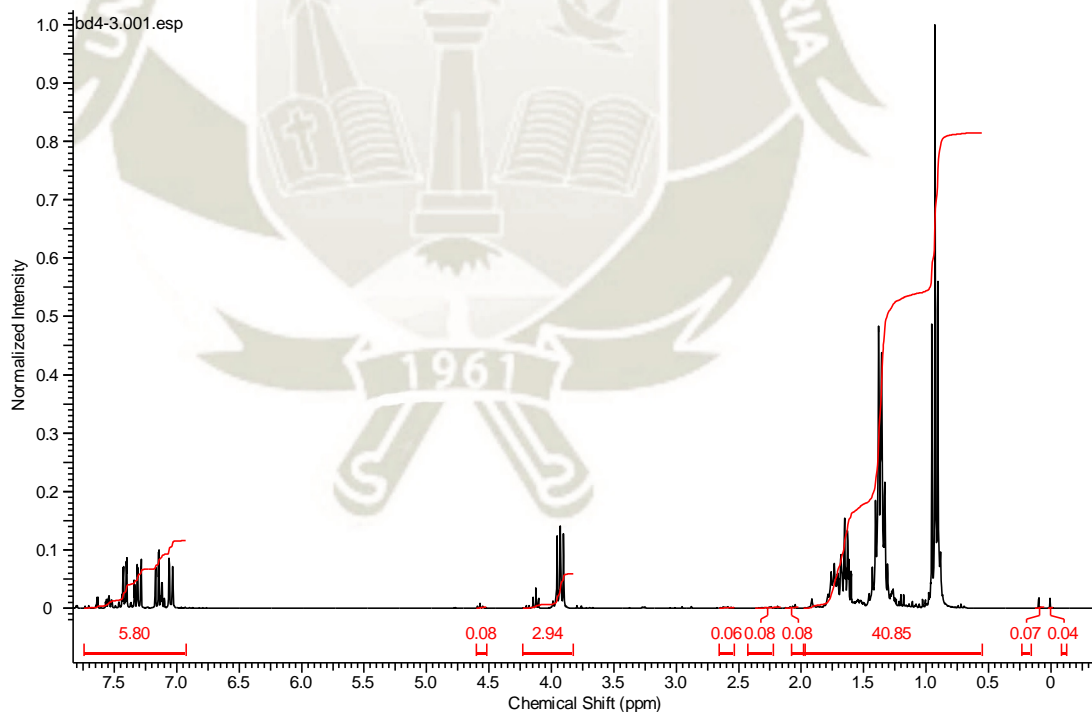
2.3.1. Síntesis y caracterización de 6-tributilestaño-3-pentil-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD4)

Se presenta la estructura del compuesto ALIBD4 con sus respectivos análisis de RMN y LC-MS



En el espectro de la figura 4.8 se puede observar que hay siete desplazamientos que van desde 0.5 ppm hasta 7.5 ppm, donde posteriormente va ser ampliado para ver cada uno de los desplazamientos.

Figura 4. 8: RMN del compuesto ALIBD4



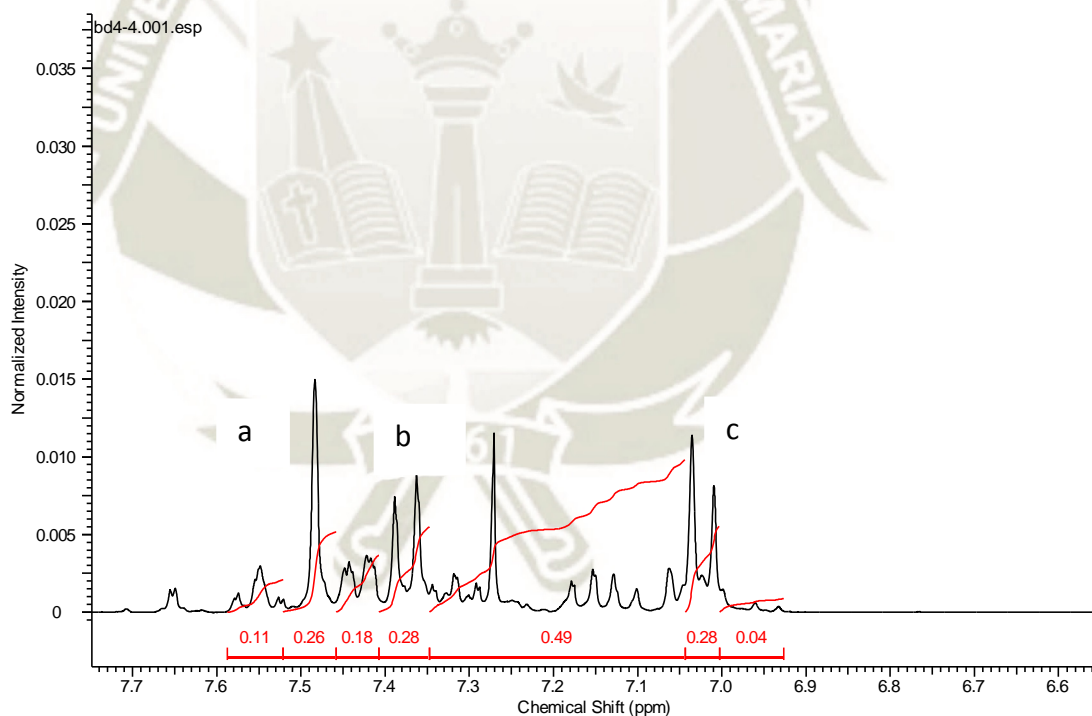
FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.50 (1H, s, H_a), 7.38 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H_b), 7.00 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H_c), 3.98 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, $\text{H}_{a'}$), 1.65 (8H, m, $\text{H}_{b'}$, $\text{H}_{a''}$), 1.37 (4H, m, $\text{H}_{d'}$, $\text{H}_{e'}$), 0.93 (3H, t, $\text{H}_{e''}$)

LC-MS (APCI $^+$) m/z 511.2 (MH^+)

En la figura 4.9 se presenta la ampliación de los desplazamientos entre 6.6 y 7.7 ppm, donde se observa un singulete y dos dobletes que pertenecen a los hidrógenos del carbono a, b y c respectivamente.

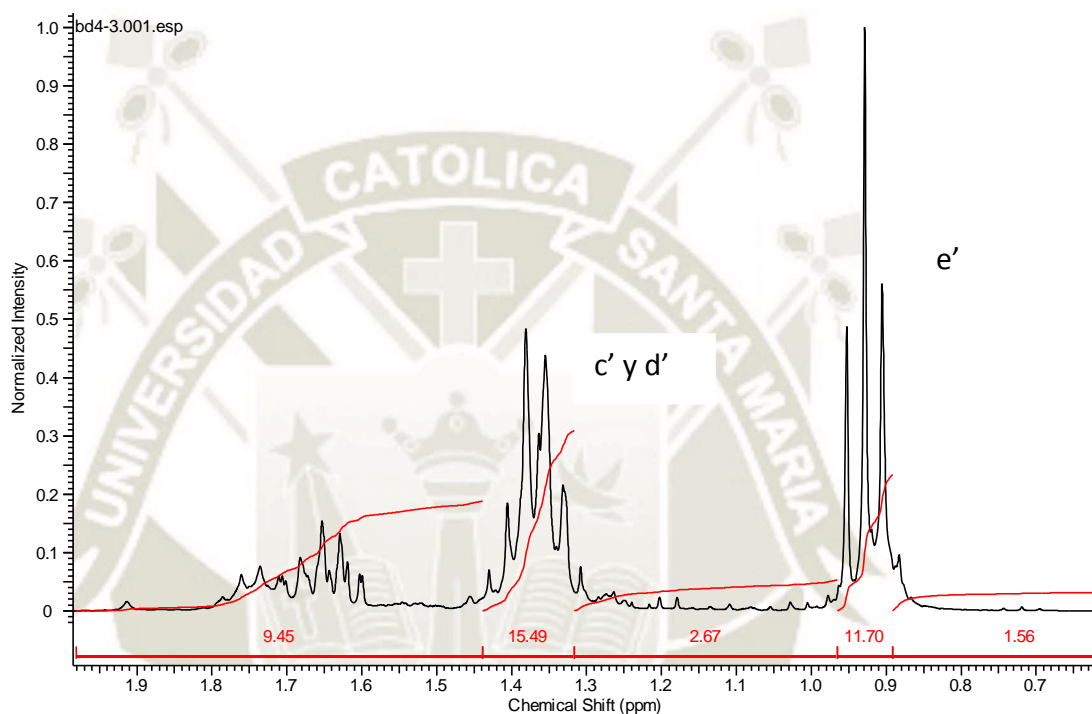
Figura 4. 9: RMN del compuesto ALIBD4 (H_a , H_b y H_c)



FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

En la figura 4.10 se presenta la ampliación de los desplazamientos entre 0.7 y 1.9 ppm, donde se observa un multiplete y un triplete que pertenecen a los hidrógenos del carbono c', d' y e' respectivamente.

Figura 4. 10: RMN del compuesto ALIBD4 ($H_{c'}$, $H_{d'}$ y $H_{e'}$)



FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

Teniendo los resultados prácticos, se llena la tabla 4.5 donde se muestra los resultados de las áreas de integración de algunos desplazamientos del espectro de la RMN y su número de hidrógenos.

Tabla 4. 5: Área de integración en el espectro con respecto al número de hidrógenos del compuesto ALIBD4

	Área de integración en el espectro	H
H_a	0.26	1
H_b	0.28	1
H_c	0.28	1
H_{c'} y H_{d'}	15.49	4
H_{e'}	11.70	3

FUENTE: Elaboración propia, Microsoft Word 2010

El resultado de dividir las áreas de integración de los espectros y el número de hidrógenos de un carbono del compuesto ALIBD4 da aproximadamente la misma cifra, lo que indica que el resultado obtenido de la parte práctica está conforme.

$$\frac{H_b}{H_a} = \frac{0.28}{0.26} = 1.07 \cong \frac{1}{1} = 1.00$$

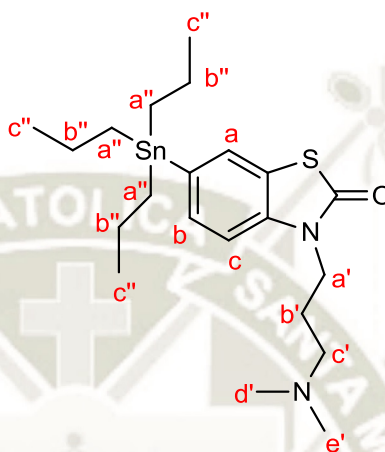
$$\frac{H_b}{H_c} = \frac{0.28}{0.28} = 1.00 \cong \frac{1}{1} = 1.00$$

$$\frac{H_{c'} \text{ y } d'}{H_{e'}} = \frac{15.49}{11.70} = 1.32 \cong \frac{4}{3} = 1.33$$

Como resultado se obtuvo un líquido amarillo con un rendimiento del 45%. De acuerdo a todos los resultados obtenidos se concluyó que la estructura presentada del compuesto ALIBD4 es correcta.

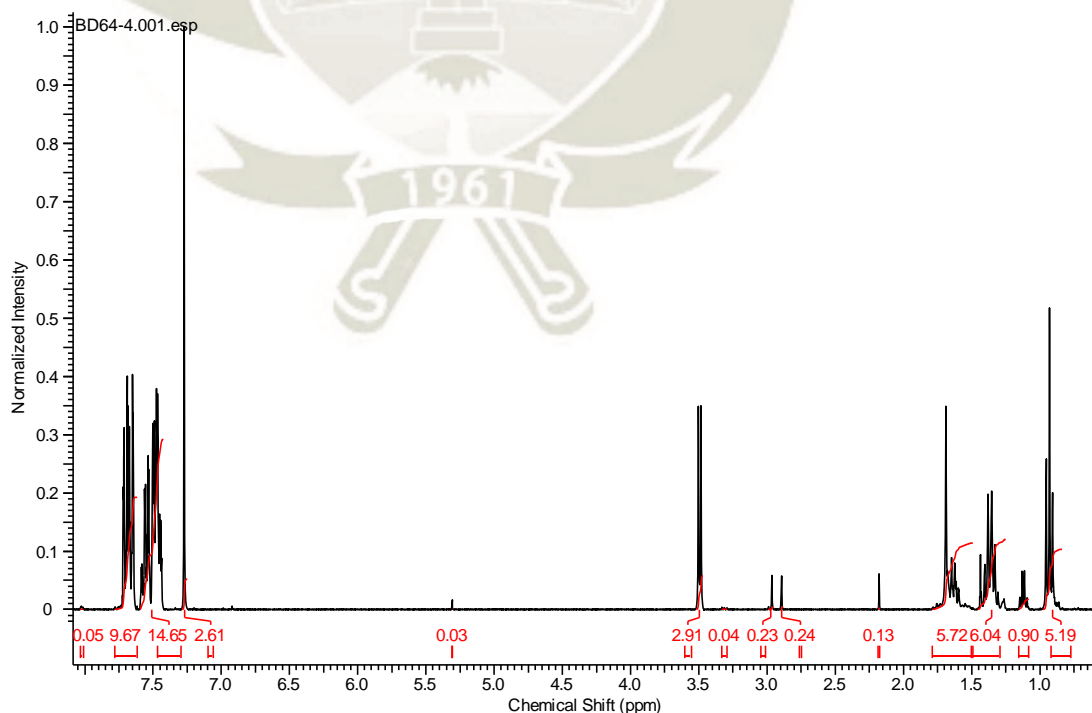
2.3.2. Síntesis y caracterización de 6-tribitilestaño-3-[3-(dimetilamino)propil]-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD64)

Se presenta la estructura del compuesto ALIBD64 con sus respectivos análisis de RMN y LC-MS



En el espectro de la figura 4.11 se puede observar que hay siete desplazamientos que van desde 1 ppm hasta 7.5 ppm, donde posteriormente va ser ampliado para ver cada uno de los desplazamientos.

Figura 4. 11: RMN del compuesto ALIBD64



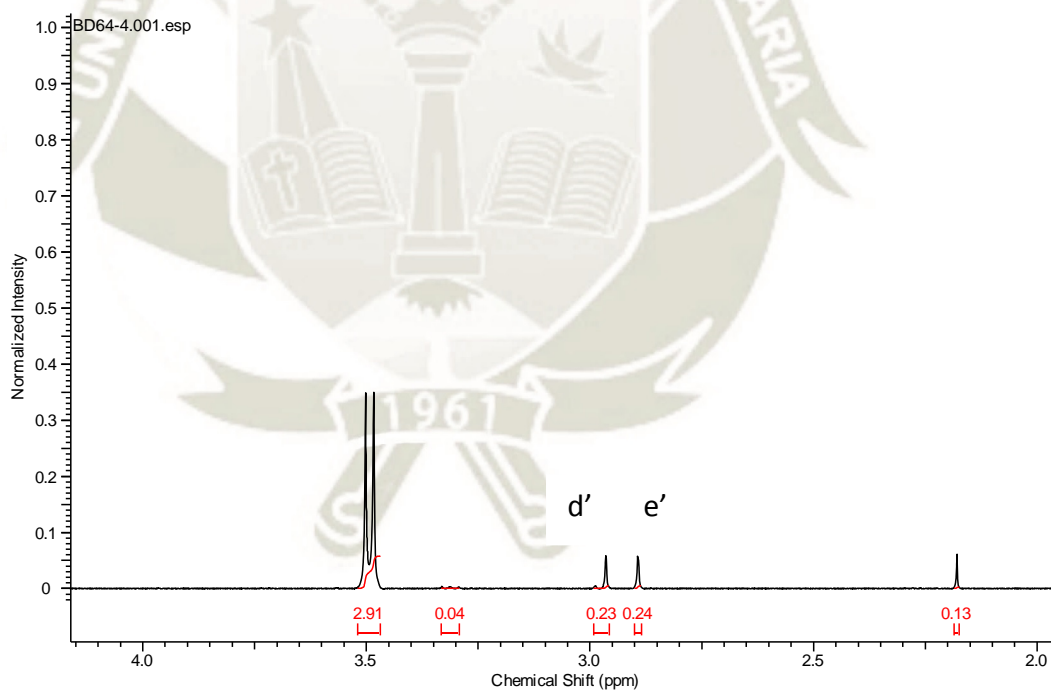
FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.49 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H_a), 7.37 (1H, dd, $J = 2.0$; 8.6 Hz, H_b), 6.88 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H_c), 3.88 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, $\text{H}_{a'}$), 1.38 (6H, m, $\text{H}_{b'}$, $\text{H}_{c'}$), 1.65 (6H, m, $\text{H}_{b''}$), 0.85 (6H, m, $\text{H}_{a''}$)

LC-MS (APCI $^+$) m/z 526.2 (MH^+)

En la figura 4.12 se presenta la ampliación de los desplazamientos entre 2.0 y 4.0 ppm, donde se observa dos singuletes que provienen de los hidrógenos de los carbonos d' y e'.

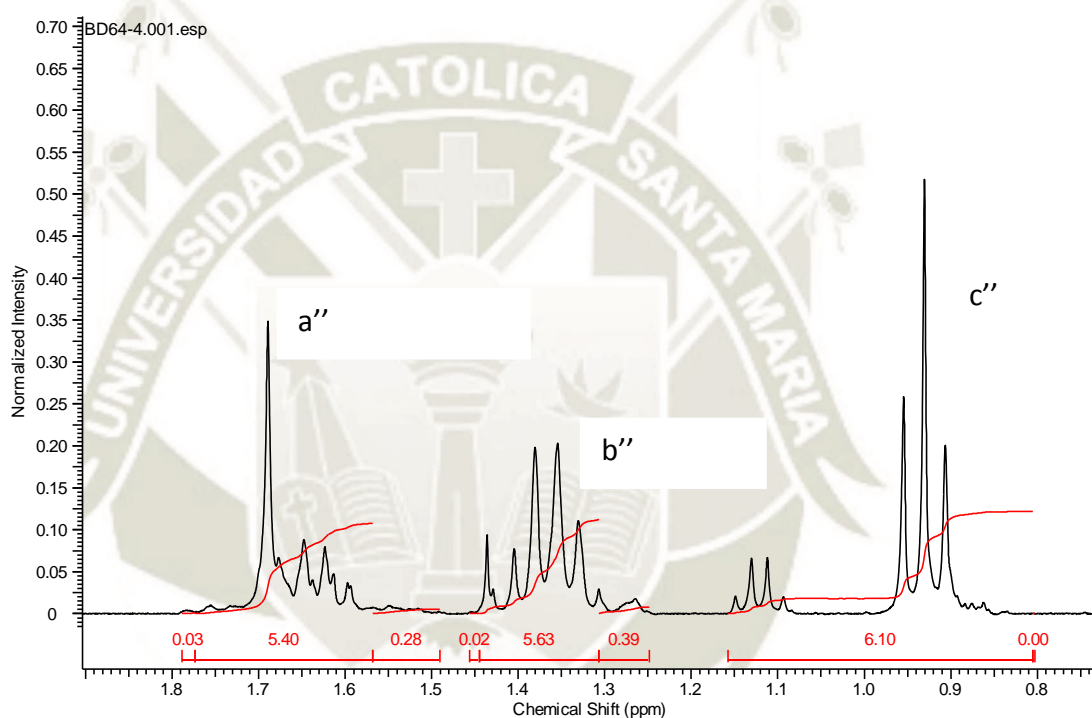
Figura 4. 12: RMN del compuesto ALIBD64 ($\text{H}_{d'}$ y $\text{H}_{e'}$)



FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

En la figura 4.13 se presenta la ampliación de los desplazamientos entre 0.8 y 1.8 ppm, donde se observa el triplete perteneciente a los hidrógenos de los carbonos c'', también se observa los multipletes de los hidrógenos de los carbonos b'' y otro multiplete de los hidrógenos a''

Figura 4. 13: RMN del compuesto ALIBD64 ($H_{a''}$, $H_{b''}$ y $H_{c''}$)



FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

Teniendo los resultados prácticos, se llena la tabla 4.6 donde se muestra los resultados de las áreas de integración de algunos desplazamientos del espectro de la RMN y su número de hidrógenos.

Tabla 4. 6: Área de integración en el espectro con respecto al número de hidrógenos del compuesto ALIBD64

Área de integración en el espectro	H
$H_{a''}, H_{d''}$ y $H_{g''}$	6
$H_{b''}, H_{e''}$ y $H_{h''}$	6
$H_{c''}, H_{f''}$ y $H_{i''}$	9
$H_{e'}$	3
$H_{d'}$	3

FUENTE: Elaboración propia, Microsoft Word 2010

El resultado de dividir las áreas de integración de los espectros y el número de hidrógenos de un carbono del compuesto ALIBD64 da aproximadamente la misma cifra, lo que indica que el resultado práctico está conforme con el teórico.

$$\frac{H_{b''}}{H_{a''}} = \frac{5.63}{5.40} = 1.04 \cong \frac{6}{6} = 1.00$$

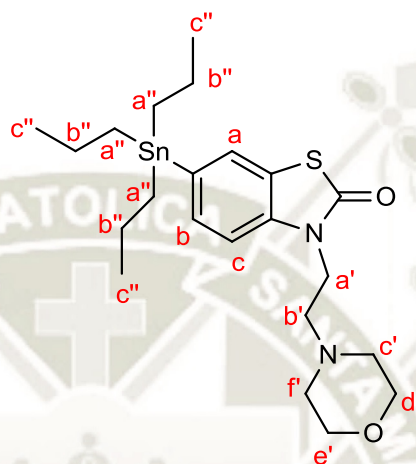
$$\frac{H_{c''}}{H_{a''}} = \frac{6.10}{5.40} = 1.12 \cong \frac{9}{6} = 1.5$$

$$\frac{H_{e'}}{H_{d'}} = \frac{0.24}{0.23} = 1.04 \cong \frac{3}{3} = 1.00$$

Como resultado se obtuvo un líquido amarillo con un rendimiento del 79%. De acuerdo a todos los resultados obtenidos se concluyó que la estructura presentada del compuesto ALIBD64 es correcta.

2.3.3. Síntesis y caracterización de 6-tributilestaño-3(2-morfolinoetil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD53)

Se presenta la estructura del compuesto ALIBD53 con sus respectivos análisis de RMN y LC-MS



Se tiene en el análisis de la RMN siete desplazamientos que van desde 1.34 ppm hasta 7.47 ppm.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7.47 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H_a), 7.36 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H_b), 7.04 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H_c), 4.04 (2H, t, $\text{H}_{a'}$), 3.66 (2H, t, $\text{H}_{f'}$), 2.65 (2H, t, $\text{H}_{b'}$), 2.52 (2H, t, $\text{H}_{d'}$), 1.53 (6H, m, $\text{H}_{b''}$), 1.34 (6H, m, $\text{H}_{c''}$)

LC-MS (APCI $^+$) m/z 553.2

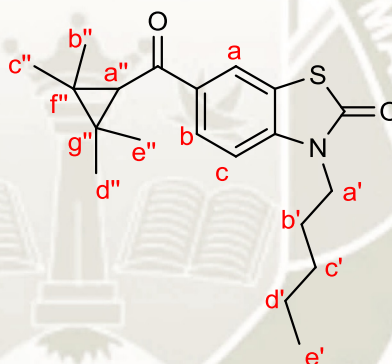
Como resultado se obtuvo un líquido amarillo con un rendimiento del 31%. De acuerdo a todos los resultados obtenidos se concluyó que la estructura presentada del compuesto ALIBD53 es correcta.

2.4. Acoplamiento de Stille: Acilación del derivado estañado

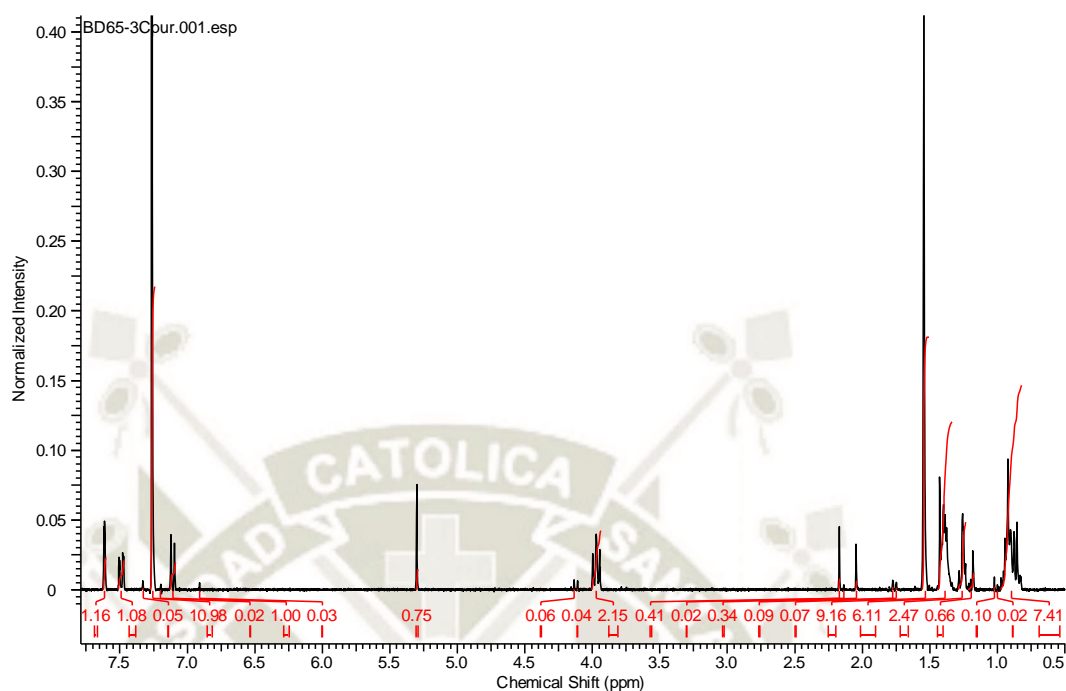
Coincidiendo con Vaughan et al ⁽²²⁾, en la segunda etapa de la reacción de Stille se produjo la adición de un electrófilo de R_2COCl que con ayuda de otro catalizador de Paladio permite la sustitución electrofílica en el anillo aromático.

2.4.1. Síntesis y caracterización de la 3-pentil-6-(2,2,3,3-tetrametilciclopropanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD65)

Se presenta la estructura del compuesto ALIBD65 con sus respectivos análisis de RMN y LC-MS



En el espectro de la figura 4.14 se puede observar que hay siete desplazamientos que van desde 0.5 ppm hasta 7.5 ppm, donde posteriormente va ser ampliado para ver cada uno de los desplazamientos.

Figura 4. 14: RMN del compuesto ALIBD65

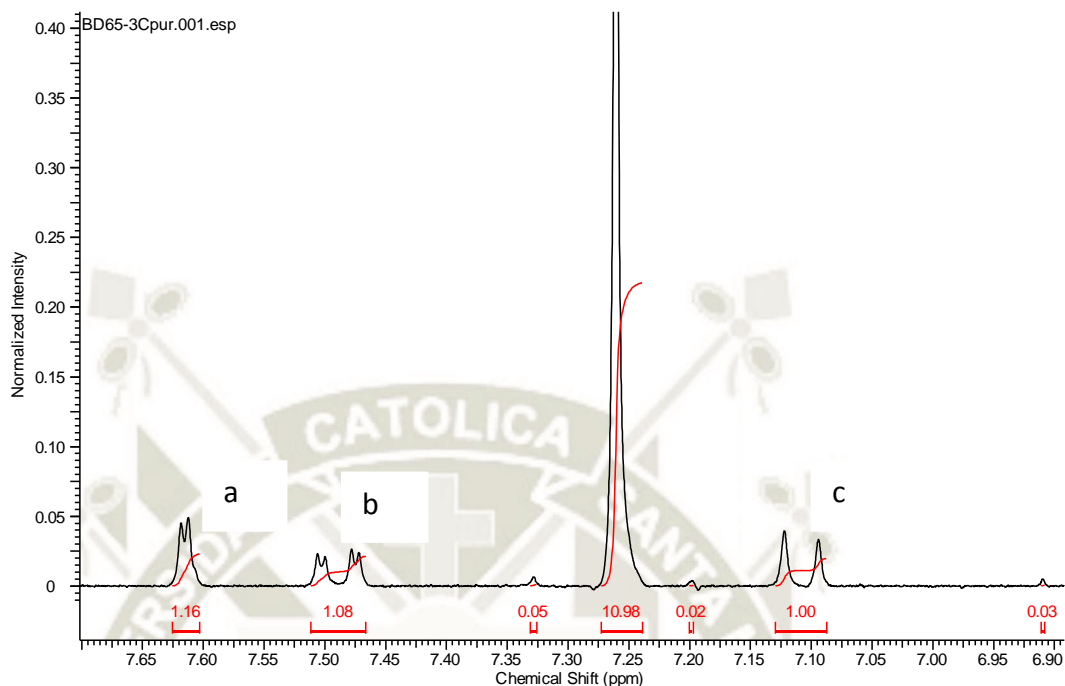
FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.62 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H_a), 7.49 (1H, dd, $J = 1.8; 8.8$ Hz, H_b), 7.12 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H_c), 3.98 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, H_a'), 1.55 (1H, s, H_a''), 1.41 (4H, m, H_c' , H_d'), 1.26 (6H, m, CH_3), 1.21 (6H, m, CH_3), 0.92 (3H, t, H_e')

LC-MS (APCI $^+$) m/z 346.2 (MH^+)

En la figura 4.15 se presenta la ampliación de los desplazamientos entre 6.90 y 7.65 ppm, donde se observa un doblete, un doblodoblete y otro doblete perteneciente a los hidrógenos de los carbonos a, b y c respectivamente.

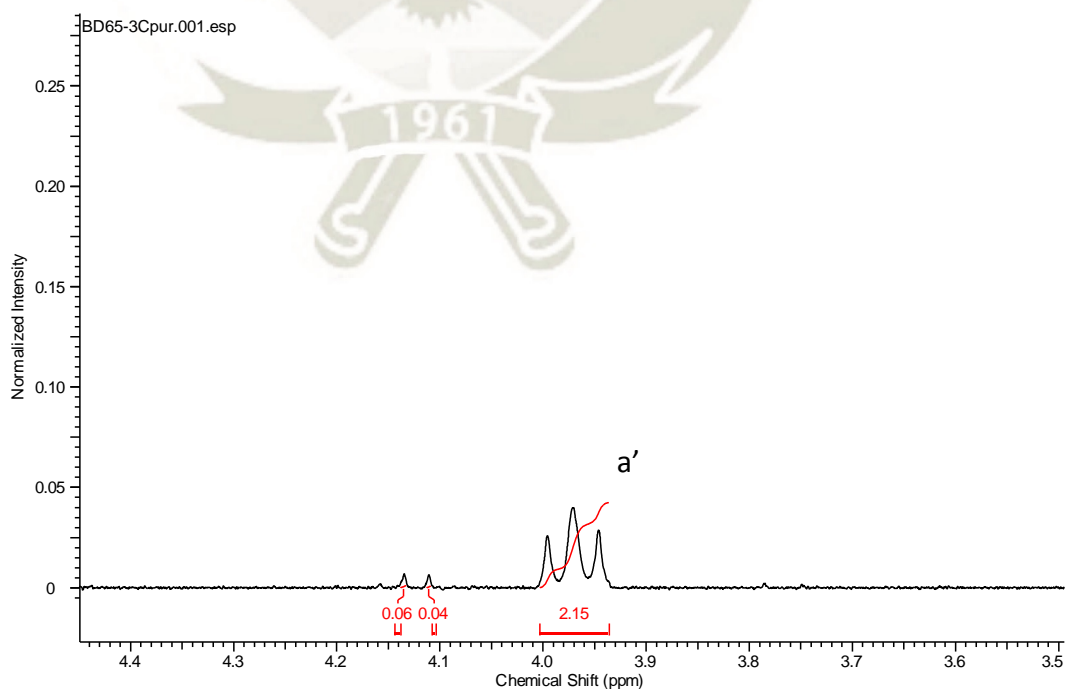
Figura 4. 15: RMN del compuesto ALIBD65 (H_a , H_b y H_c)



FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

En la figura 4.16 se presenta la ampliación de los desplazamientos entre 3.5 y 4.4 ppm, donde se observa un triplete perteneciente a los hidrógenos del carbono a'.

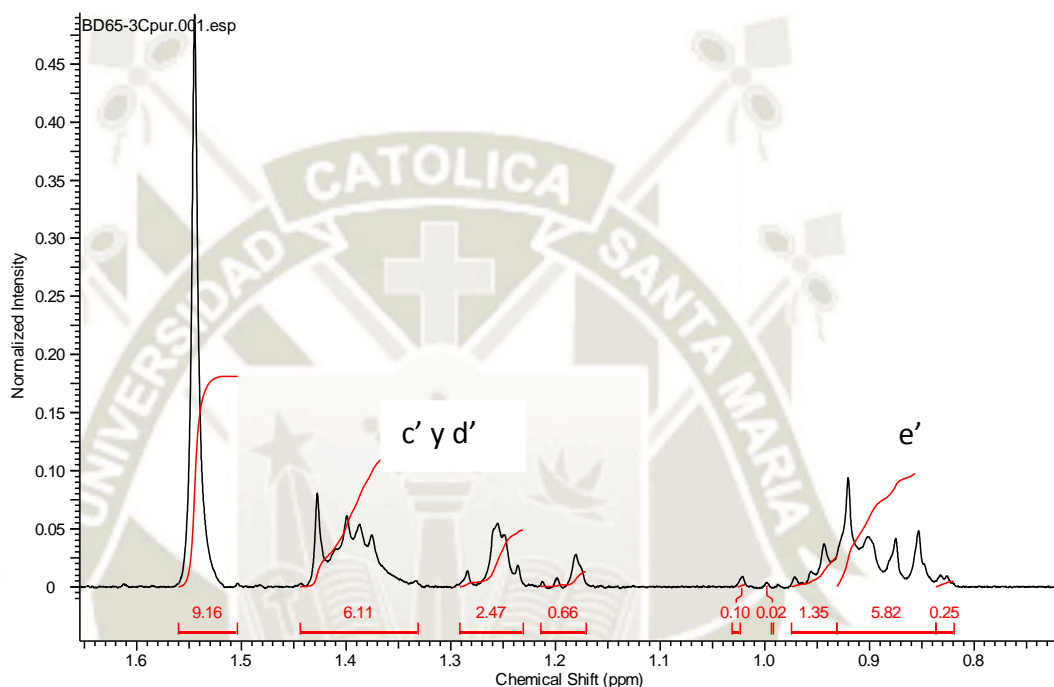
Figura 4. 16: RMN del compuesto ALIBD65 ($H_{a'}$)



FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

En la figura 4.17 se presenta la ampliación de los desplazamientos entre 0.8 y 1.6 ppm, donde se observa un multiplete y un triplete perteneciente a los hidrógenos de los carbonos c', d' y e'.

Figura 4. 17: RMN del compuesto ALIBD65 ($H_{c'}$, $H_{d'}$ y $H_{e'}$)



FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

Teniendo los resultados prácticos, se llena la tabla 4.7 donde se muestra los resultados de las áreas de integración de algunos desplazamientos del espectro de la RMN y su número de hidrógenos.

Tabla 4. 7: Área de integración en el espectro con respecto al número de hidrógenos del compuesto ALIBD65

	Área de integración en el espectro	H
H_{a'} ,	2.15	2
H_b	1.08	1
H_c	1.00	1
H_{c'} y H_{d'}	6.11	4
H_{e'}	5.82	3

FUENTE: Elaboración propia, Microsoft Word 2010

El resultado de dividir las áreas de integración de los espectros y el número de hidrógenos de un carbono del compuesto ALIBD65 da aproximadamente la misma cifra, lo que indica que el resultado práctico está conforme con el teórico.

$$\frac{H_{a'}}{H_{e'}} = \frac{2.15}{5.82} = 0.37 \cong \frac{2}{3} = 0.67$$

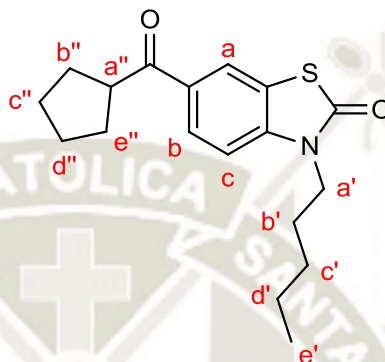
$$\frac{H_{c', d'}}{H_{e'}} = \frac{6.11}{5.82} = 1.04 \cong \frac{4}{3} = 1.33$$

$$\frac{H_b}{H_c} = \frac{1.08}{1.00} = 1.08 \cong \frac{1}{1} = 1.00$$

Como resultado se obtuvo un sólido blanco con un rendimiento del 50% y un punto de fusión de $109 \pm 1^\circ\text{C}$. De acuerdo a todos los resultados obtenidos se concluyó que la estructura presentada del compuesto ALIBD65 es correcta.

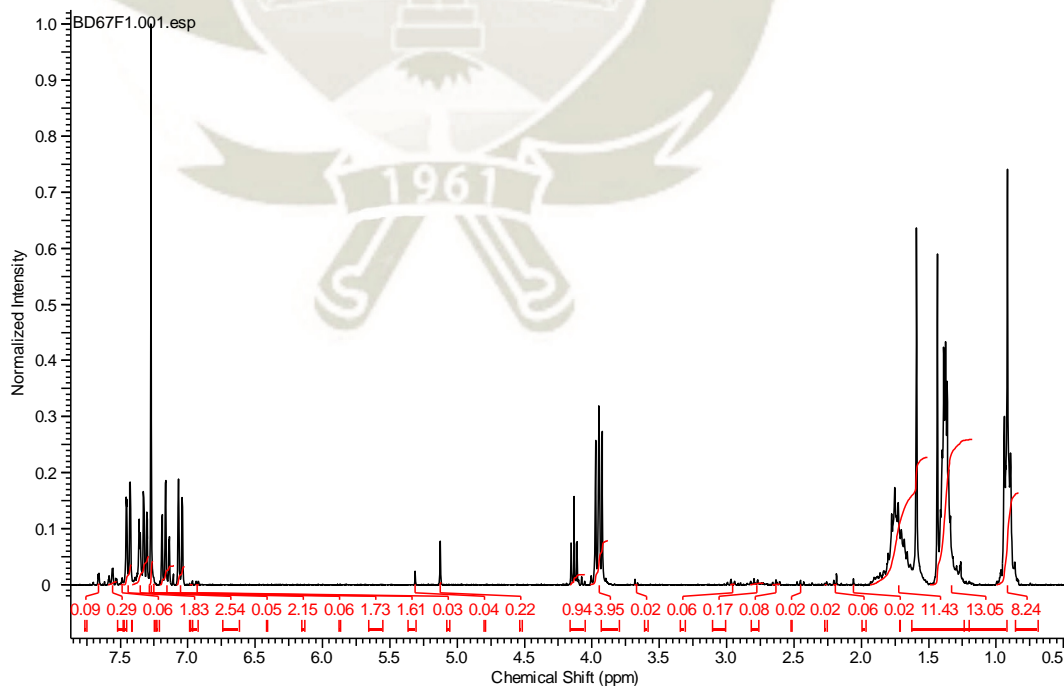
2.4.2. Síntesis y caracterización de la 3-pentil-6-(ciclopentanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD67)

Se presenta la estructura del compuesto ALIBD67 con sus respectivos análisis de RMN y LC-MS



En el espectro de la figura 4.18 se puede observar que hay ocho desplazamientos que van desde 0.5 ppm hasta 7.5 ppm, donde posteriormente va ser ampliado para ver cada uno de los desplazamientos.

Figura 4. 18: RMN del compuesto ALIBD67



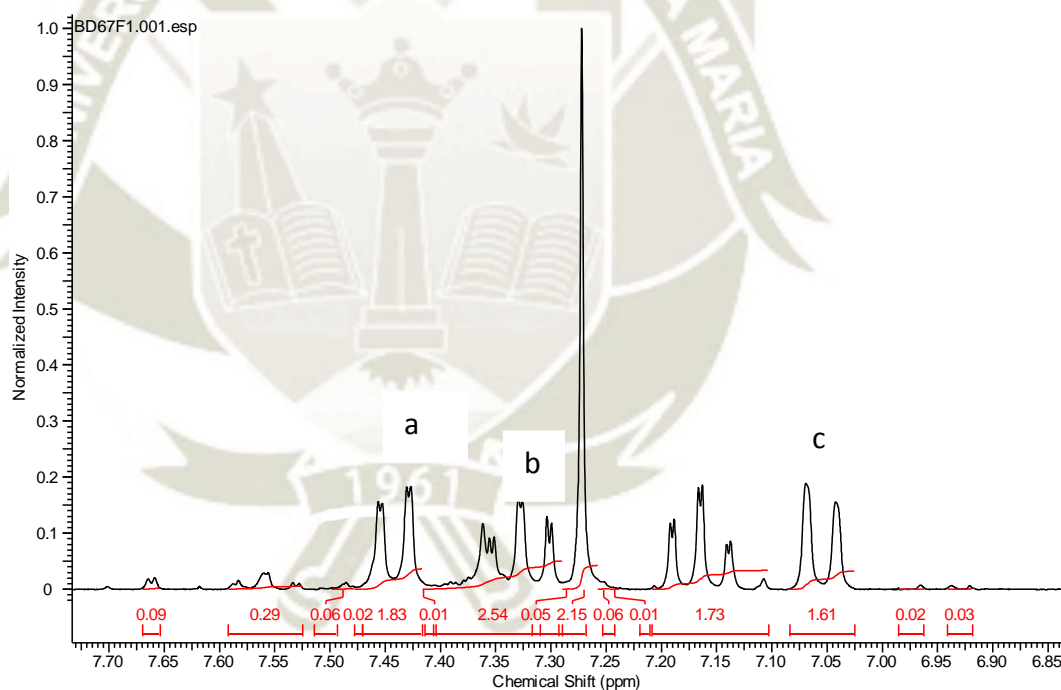
FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.45 (1H, d, $J = 1.7; 8.5$ Hz, H_a), 7.33 (1H, dd, $J = 1.7, 8.5$ Hz, H_b), 7.05 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H_c), 3.97 (2H, t, $\text{H}_{a''}$), 3.70 (1H, quint., $\text{H}_{a''}$), 1.92 (4H, m, $\text{H}_{b''}, \text{H}_{c''}$), 1.72 (6H, m, $\text{H}_{a''}, \text{H}_{c''}, \text{H}_{d''}$), 0.92 (3H, m, $\text{H}_{e''}$)

LC-MS (APCI $^+$) m/z 318.1 (MH^+)

En la figura 4.19 se presenta la ampliación de los desplazamientos entre 6.85 y 7.70 ppm, donde se observa un doblete, un doblodoublete y otro doblete perteneciente a los hidrógenos de los carbonos a, b y c respectivamente.

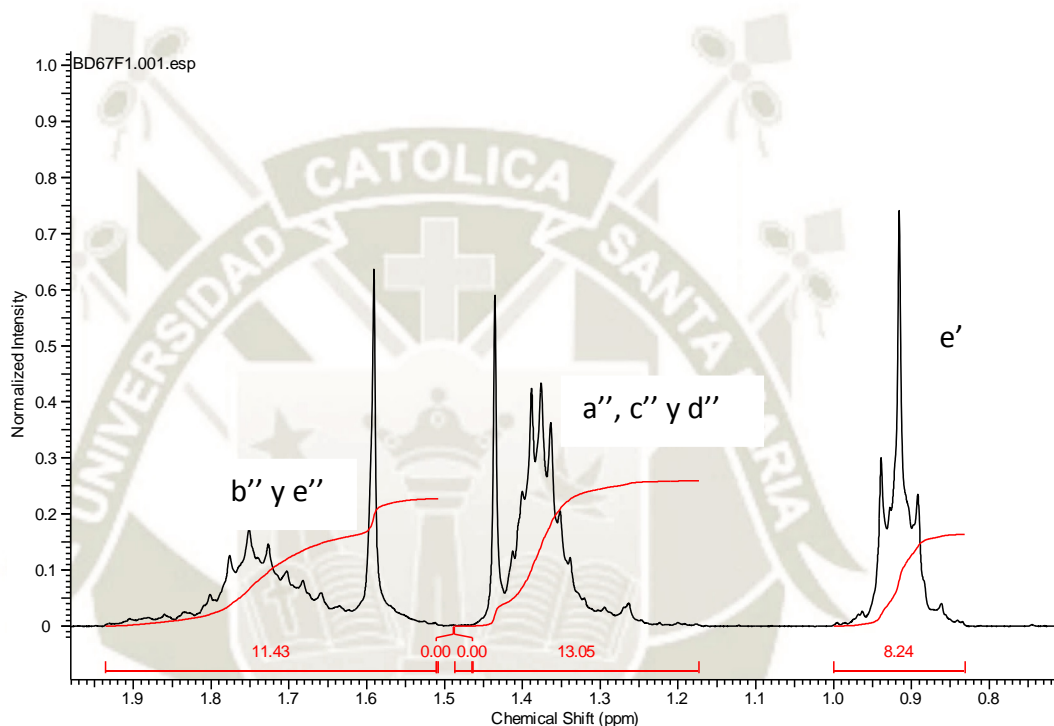
Figura 4. 19: RMN del compuesto ALIBD67 (H_a , H_b y H_c)



FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

En la figura 4.20 se presenta la ampliación de los desplazamientos entre 0.8 y 1.9 ppm, donde se observa un multiplete, un quintuplete y un triplete perteneciente a los hidrógenos de los carbonos b'', e'', a'', c'', d'' y e'.

Figura 4. 20: RMN del compuesto ALIBD67 (H_{b''}, H_{e''}, H_{a''}, H_{c''}, H_{d''} y H_{e'})



FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

Teniendo los resultados prácticos se llena la tabla 4.8 donde se muestra los resultados de las áreas de integración de algunos desplazamientos del espectro de la RMN y su número de hidrógenos.

Tabla 4. 8: Área de integración en el espectro con respecto al número de hidrógenos del compuesto ALIBD67

	Área de integración en el espectro	H
H _a	1.83	1
H _c	1.61	1
H _{b''} y H _{e''}	11.43	4
H _{a''} , H _{c''} y H _{d''}	13.05	5
H _{e'}	8.24	3

FUENTE: Elaboración propia, Microsoft Word 2010

El resultado de dividir las áreas de integración de los espectros y el número de hidrógenos de un carbono del compuesto ALIBD67 da aproximadamente la misma cifra, lo que indica que el resultado práctico está conforme con el teórico.

$$\frac{H_a}{H_c} = \frac{1.83}{1.61} = 1.14 \cong \frac{1}{1} = 1.00$$

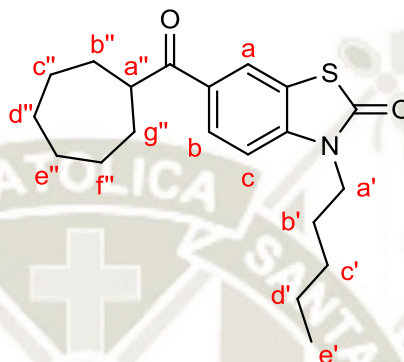
$$\frac{H_{b''} \text{ y } e''}{H_{a'', c''} \text{ y } d''} = \frac{11.43}{13.05} = 0.88 \cong \frac{4}{5} = 0.80$$

$$\frac{H_{b''} \text{ y } e''}{H_{e'}} = \frac{11.43}{8.24} = 1.39 \cong \frac{4}{3} = 1.33$$

Como resultado se obtuvo un sólido amarillo con un rendimiento del 6% y un punto de fusión de $101 \pm 1^\circ\text{C}$. De acuerdo a todos los resultados obtenidos se concluyó que la estructura presentada del compuesto ALIBD67 es correcta.

2.4.3. Síntesis y caracterización de la 3-pentil-6-(cicloheptanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD69)

Se presenta la estructura del compuesto ALIBD69 con sus respectivos análisis de RMN y LC-MS



Se tiene en el análisis de la RMN siete desplazamientos que van desde 0.90 ppm hasta 8.04 ppm.

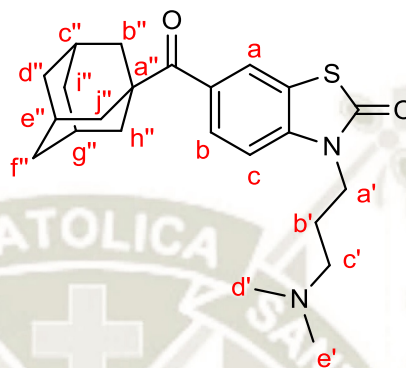
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 8.04 (1H, s, H_a), 7.93 (1H, dd, $J = 1.7; 8.5$ Hz, H_b), 7.09 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H_c), 3.95 (2H, t, $\text{H}_{a'}$), 1.80 (2H, m, $\text{H}_{b'}$), 1.30 (4H, m, $\text{H}_{c'}$, $\text{H}_{d'}$), 0.90 (3H, m, $\text{H}_{e'}$)

LC-MS (APCI $^+$) m/z 346.2 (MH^+)

Como resultado se obtuvo un sólido beige con un rendimiento del 8% y un punto de fusión de $101 \pm 1^\circ\text{C}$. De acuerdo a todos los resultados obtenidos se concluyó que la estructura presentada del compuesto ALIBD69 es correcta.

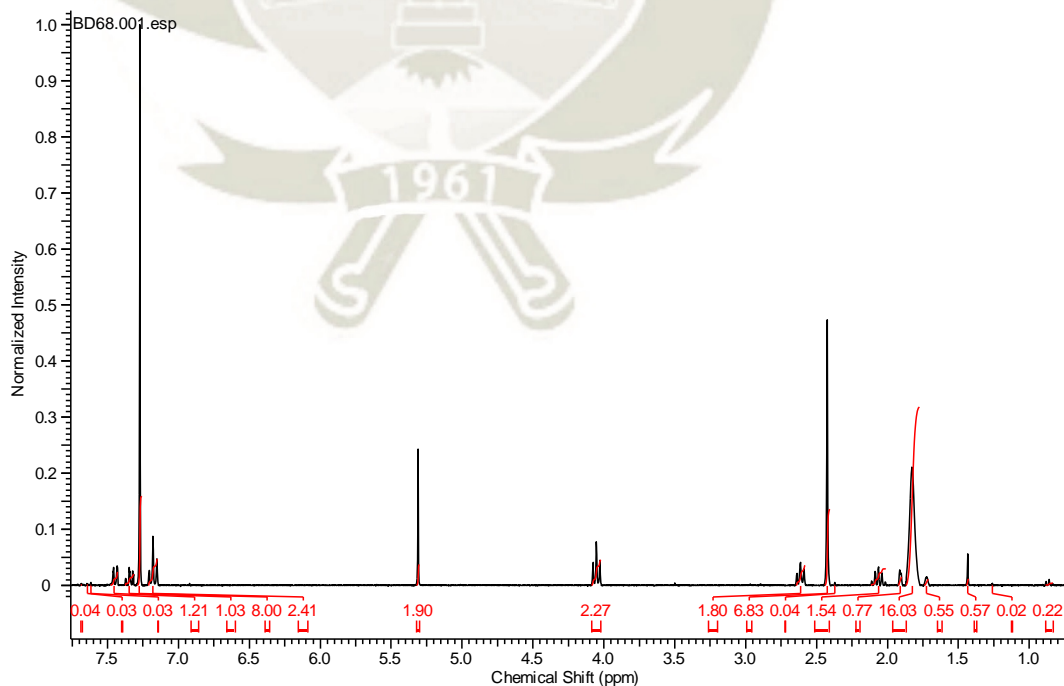
2.4.4. Síntesis y caracterización de la 3-[3-(dimetilamino)propil]-6-(1-adamantanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD68)

Se presenta la estructura del compuesto ALIBD68 con sus respectivos análisis de RMN y LC-MS



En el espectro de la figura 4.21 se puede observar que hay ocho desplazamientos que van desde 1 ppm hasta 7.5 ppm, donde posteriormente va ser ampliado para ver cada uno de los desplazamientos.

Figura 4. 21: RMN del compuesto ALIBD68



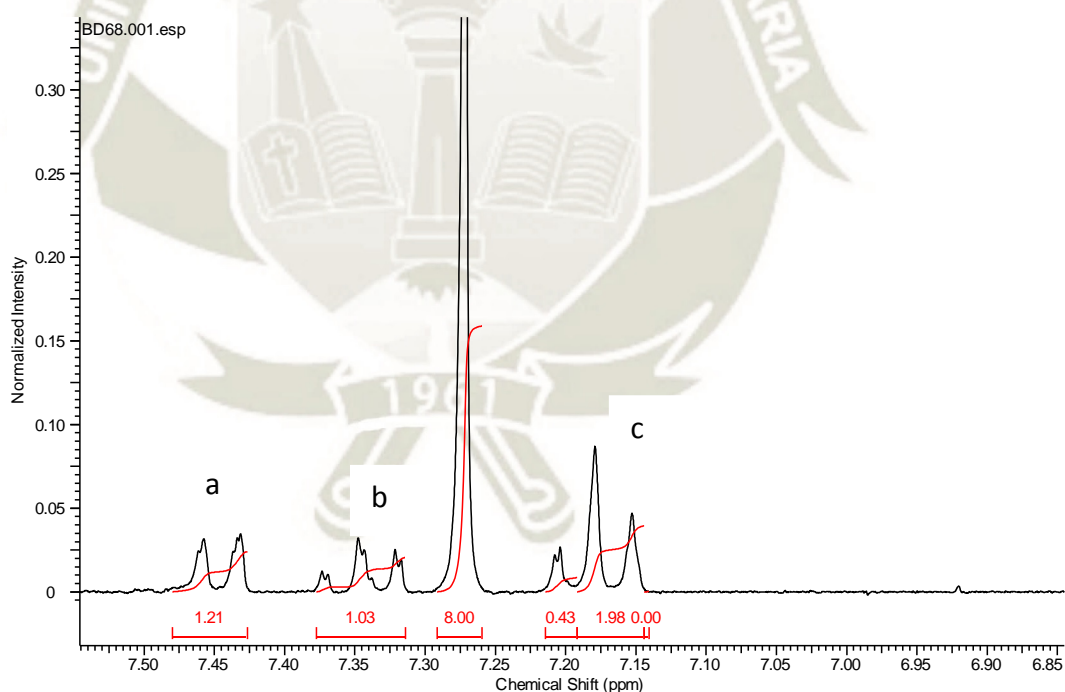
FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.79 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H_a), 7.70 (1H, dd, $J = 1.5$; 8.5 Hz, H_b), 7.04 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H_c), 4.05 (2H, t, H_d), 2.61 (2H, m, H_e), 2.06 (2H, m, H_f), 1.92 (6H, s, H_g , H_h , H_i), 1.34 (2H, s, H_j)

LC-MS (APCI $^+$) m/z 399.2 (MH^+)

En la figura 4.22 se presenta la ampliación de los desplazamientos entre 6.85 y 7.50 ppm, donde se observa un doblete, un doblodoblete y otro doblete perteneciente a los hidrógenos de los carbonos a, b y c respectivamente.

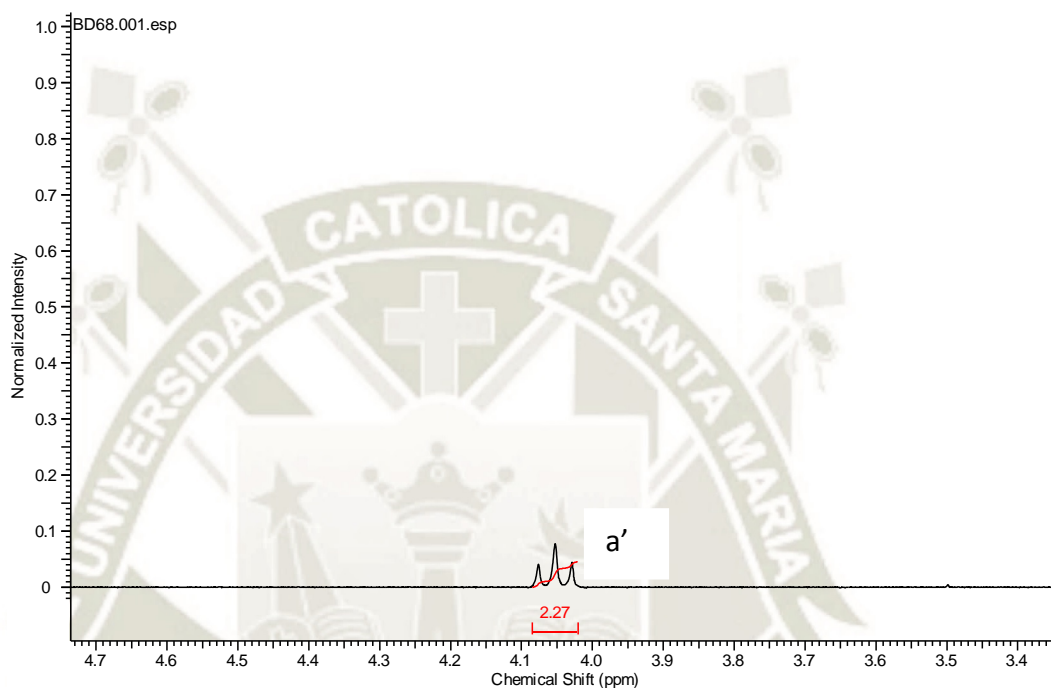
Figura 4. 22: RMN del compuesto ALIBD68 (H_a , H_b y H_c)



FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

En la figura 4.23 se presenta la ampliación de los desplazamientos entre 3.4 y 4.7 ppm, donde se observa un triplete perteneciente a los hidrógenos del carbono a'.

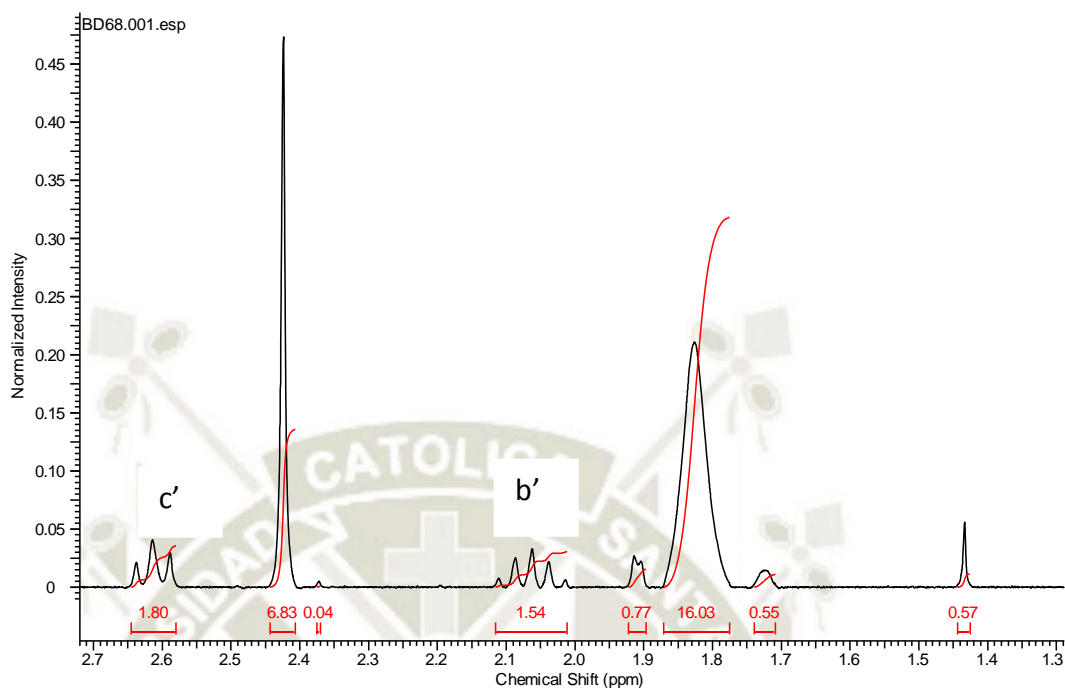
Figura 4. 23: RMN del compuesto ALIBD68 (H_a')



FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

En la figura 4.24 se presenta la ampliación de los desplazamientos entre 1.3 y 2.7 ppm, donde se observa un triplete y un quintuplete perteneciente a los hidrógenos de los carbonos c' y b' respectivamente.

Figura 4. 24: RMN del compuesto ALIBD68 ($H_{c'}$ y $H_{b'}$)



FUENTE: ICPAL elaboración propia, ACDLABS NMR Processor

Teniendo los resultados prácticos, se llena la tabla 4.9 donde se muestra los resultados de las áreas de integración de algunos desplazamientos del espectro de la RMN y su número de hidrógenos.

Tabla 4. 9: Área de integración en el espectro con respecto al número de hidrógenos del compuesto ALIBD68

	Área de integración en el espectro	H
$H_{c'}$	1.80	2
$H_{b'}$	1.54	2
$H_{a'}$	2.27	2
H_a	1.21	1
H_c	1.98	1

FUENTE: Elaboración propia, Microsoft Word 2010

El resultado de dividir las áreas de integración de los espectros y el número de hidrógenos de un carbono del compuesto ALIBD68 da aproximadamente la misma cifra, lo que indica que el resultado práctico está conforme con el teórico.

$$\frac{H_{c'}}{H_{b'}} = \frac{1.80}{1.54} = 1.17 \cong \frac{2}{2} = 1.00$$

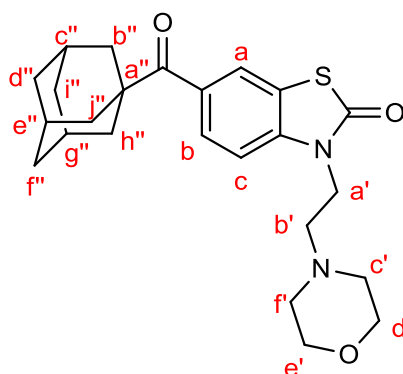
$$\frac{H_c}{H_a} = \frac{1.98}{1.21} = 1.63 \cong \frac{1}{1} = 1.00$$

$$\frac{H_{a'}}{H_{c'}} = \frac{2.27}{1.80} = 1.26 \cong \frac{2}{2} = 1.00$$

Como resultado se obtuvo un sólido blanco con un rendimiento del 33% y un punto de fusión de $107 \pm 1^\circ\text{C}$. De acuerdo a todos los resultados obtenidos se concluyó que la estructura presentada del compuesto ALIBD68 es correcta.

2.4.5. Síntesis y caracterización de la 3-(2-morfolinoetil)-6-(1-adamantanocarbonil)-1,3-benzotiazol-2-ona (ALIBD54)

Se presenta la estructura del compuesto ALIBD54 con sus respectivos análisis de RMN y LC-MS



Se tiene en el análisis de la RMN siete desplazamientos que van desde 0.93 ppm hasta 7.79 ppm.

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.79 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H_a), 7.70 (1H, dd, $J = 1.5; 8.5$ Hz, H_b), 7.04 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H_c), 3.95 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H_a'), 1.76 (2H, t, H_b'), 1.34 (6H, m, H_c' , H_d' , H_e'), 0.93 (2H, t, H_f')

LC-MS (APCI⁺) m/z 398.2

Como resultado se obtuvo un sólido blanco con un rendimiento del 68% y un punto de fusión de $113 \pm 1^\circ\text{C}$. De acuerdo a todos los resultados obtenidos se concluyó que la estructura presentada del compuesto ALIBD54 es correcta.

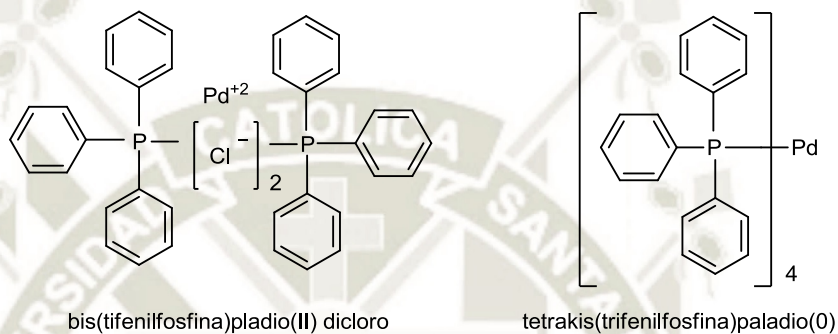
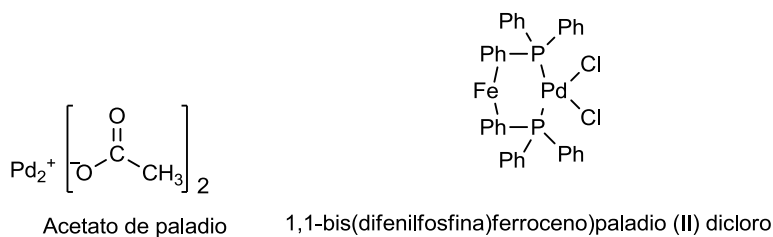
Viendo los resultados podemos afirmar que el acoplamiento de Stille es una gran herramienta para la síntesis química, donde así como en la tercera reacción como en la cuarta se utiliza sustancias que tienen paladio como catalizador. El uso de complejos con paladio se ha hecho bastante común pues permite la formación de enlaces C-C de manera simple y directa. (Figura 4.25)

El uso de éstos compuestos ha mejorado de manera notable las reacciones de síntesis química y sus promotores originales Richard F. Heck, Ei-ichi Negishi y Akira Suzuki (fueron honrados con el premio Nobel en Química en el año 2010.)

En nuestro caso se utilizó primeramente el $\text{Bu}_3\text{Sn-SnBu}_3$ usando como catalizador $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ lo que permite la sustitución de Bu_3Sn en vez de Bromo.

Con la formación de estos intermedios estañados (tinilizados) se puede llevar a cabo fácilmente una reacción de sustitución electrofílica con un derivado RCOCl usando como catalizador el $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$

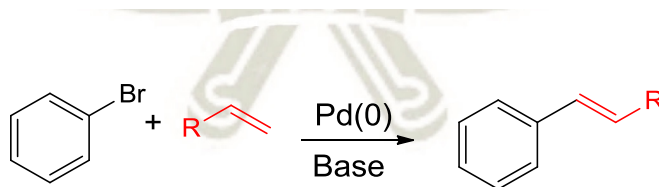
Figura 4. 25: Estructuras de catalizadores de paladio



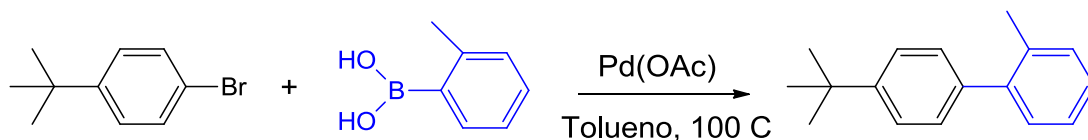
FUENTE: Elaboración propia, ChemBioOffice 2010

Hay una gran variedad de compuestos de paladio que permite el acoplamiento de dos sustancias que conducen a la formación del enlace C-C. Algunas de las reacciones más comunes son:

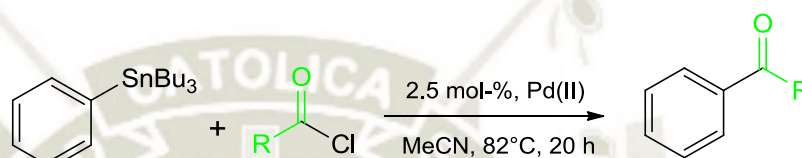
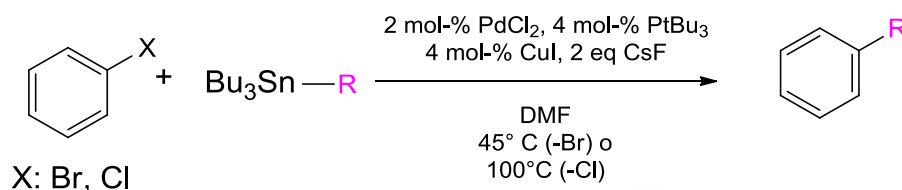
- Reacción de Heck entre alquenos y haluros de arilo ⁽²³⁾



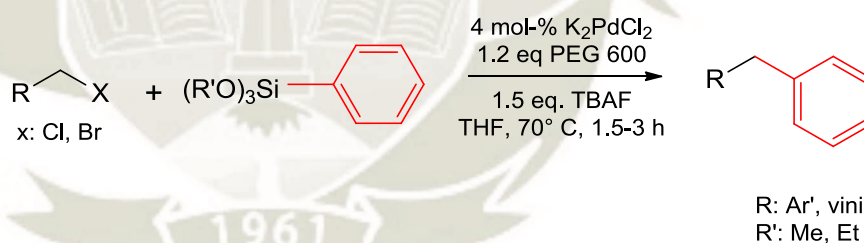
- Reacción de Suzuki entre haluros de arilo y ácidos bóricos ⁽²⁴⁾



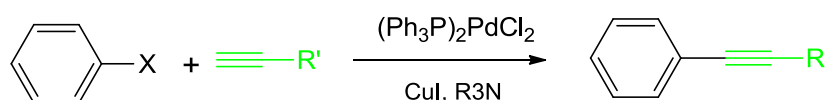
- Reacción de Stille entre organohaluros y compuestos de estaño ^{(21) (22)}



- Acoplamiento de Hiyama entre organohaluros y compuestos orgánicos de silicio. ⁽²⁵⁾



- Acoplamiento de Sonogashira entre haluros de arilo y alquinos, con yoduro de cobre como co-catalizador. ⁽²⁶⁾



Finalmente en la siguiente tabla se muestra el resultado de la síntesis de los 5 productos finos

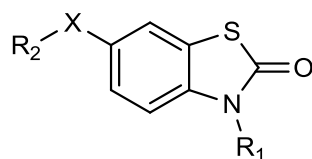
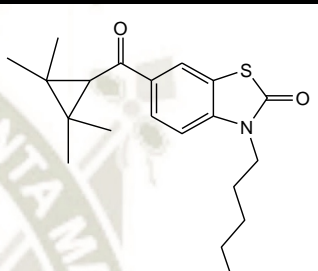
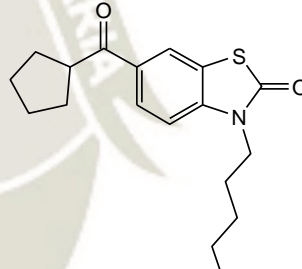
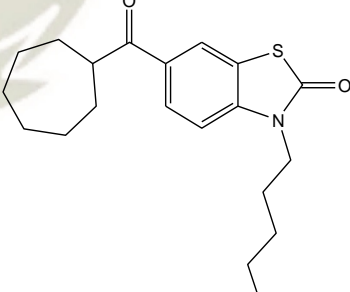
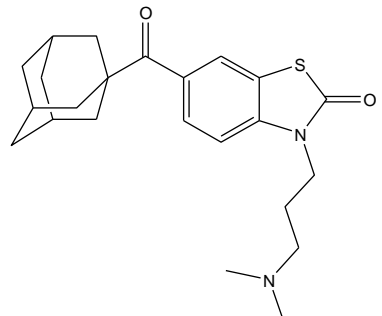
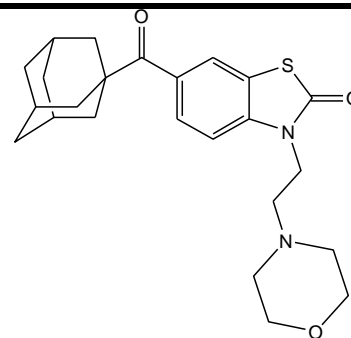


Tabla 4. 10: Cinco potenciales agonistas del receptor cannabinoide CB2

Compuesto	X	R ₁	R ₂	Estructura
ALIBD65	CO	<i>n</i> -pentil	2,2,3,3-tetrametil ciclopropil	
ALIBD67	CO	<i>n</i> -pentil	Ciclopentil	
ALIBD69	CO	<i>n</i> -pentil	Cicloheptil	
ALIBD68	CO	2-dimetil aminopropil	Adamantil	

ALIBD54 CO 2- Adamantil
morfolinoetil



FUENTE: Elaboración propia, Microsoft Word 2010





CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos se puede concluir:

Primero: Se ha logrado sintetizar cinco agonistas del receptor CB2 con estructura similar al riluzol.

Segundo: La molécula base para preparar los nuevos agonistas del receptor CB2 es el 6-bromo-1,3-benzotiazol-2-ona.

Tercero: El H en el grupo NH del ALIBD9 es posible removerlo usando una base Cs_2CO_3 en DMF lo que permite la *N*-Alquilación del compuesto de partida.

Cuarto: Usando un catalizador a base Pd es posible llevar a cabo la sustitución nucleofílica de Bu_3Sn en vez de bromo.

Quinto: Usando un catalizador a base de Pd es posible la sustitución electrofílica de Bu_3Sn por un radical RCOCl , con la consecuente formación de enlaces C-C.

SUGERENCIAS

1. Se propone analizar las moléculas sintetizadas analizadas *in vitro*
2. Posteriormente se sugiere probar la afinidad de cada molécula *in vivo*.
3. Se sugiere continuar la línea de investigación del receptor cannabinoide CB2 en el ICPAL.

Bibliografía

1. *Les vertus thérapeutiques du cannabis à travers les millénaires.* **Lambert, DM.** 57, 2002, págs. 21 - 29.
2. *Pharmacologie du cannabis et synthèse des analyses des principaux comités d'experts.* **MB, Amar.** 9-60, Montreal : Cannabis Drogues, Santé et Société, 2004.
3. **Isuett J F, Robert S.** *Secondary metabolism in cannabis.*
4. *Recent Advances in the development of selective CB2 agonist as promising anti-inflammatory agents.* **N, leleu-Chavain, y otros, y otros.** Lille - Francia : s.n.
5. **Gaoni Y, Mechoulam R.** *Isolation, Structure and Partial Synthesis of an Active Constituent of Hashish.* *J. Am. s.l. : J. Am. Chem. Soc,* 1964. págs. 86,1646-1647.
6. **A, Alsasua del Valle.** *Cell. Mol. Neurobiol.* 2006. págs. 26, 579-591.
7. **V, Di Marzo.** *Cannabinoids. Handbook of Experimental Pharmacology.* Heidelberg, Germany : Springer-Verlag, 2005. págs. 147-185. Vol. 168.
8. **Cravatt, B.F y Lichtman, A.H.** *The endogenous cannabinoid system and its role in nociceptive behavior.* s.l. : J. Neurobiol, 2004. págs. 149-160.
9. **Vaughan, C.W y Christie, M. J.** *Cannabinoids. Handbook of Experimental Pharmacology.* Heidelberg Germany : Springer-Verlag, 2005. págs. 367-383. Vol. 168.
10. **Cabral, G. A y Staab, A.** *Cannabinoids. Handbook of Experimental Pharmacology.* Heidelberg Germany : Springer-Verlag, 2005. págs. 367-423. Vol. 168.
11. **Goter, R.W, Butorac, M. y Pulido Cobian, E.** *Medical use of cannabis in the Netherlands.* s.l. : Neurology, 2005. págs. 917-919. Vol. 64.
12. **Mechoulam, R, y otros, y otros.** *Enantiomeric cannabinoids: stereospecificity of psychotropic activity.* s.l. : Experientia, 1988. págs. 762-764. Vol. 44.
13. **Huffman, J. W, y otros, y otros.** *3-(1',1'-Dimethylbutyl)-1-deoxy-delta8-THC and related compounds: synthesis of selective ligands for the CB2 receptor.* s.l. : Bioorg. Med. Chem., 1999. págs. 2905-2914. Vol. 7.
14. *Novel 4-Oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxamide Derivatives as New CB2 Cannabinoid Receptors Agonists: Synthesis, Pharmacological Properties and Molecular Modeling.* **E, Stern, y otros, y otros.** 2006, págs. 70-79.
15. **Podolsky, D. K.** *Inflammatory bowel disease.* s.l. : J. Med, 2002, págs. 417-429.
16. **Buckley, N. E, y otros, y otros.** *Immunomodulation by cannabinoids is absent in mice deficient for the cannabinoid CB(2) receptor.* s.l. : Pharmacol, 2000, págs. 141-149.

17. *Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain.* **Devane, K. A, y otros, y otros.** s.l. : Mol. Pharmacol., 1988, Vol. 35, págs. 605-613.
18. *Design, Synthesis and Pharmacology of Cannabimimetic Indoles.* **Huffman, J. W y Dong, D.** [ed.] Bioorg. Med. Chem. 1994, Vol. 4, págs. 563-566.
19. *Morpholine containing CB2 selective agonists.* **[23] Zindell, R., y otros, y otros.** s.l. : Bioorg. Med. Chem, 2009, Vol. 19, págs. 1604-1609.
20. *Highly regioselective Friedel–Crafts alkylation of indoles with α,β -unsaturated N-acylbenzotriazoles.* **Xuefei, Z, y otros, y otros.** 2006, págs. 3767-3771.
21. *Stille Coupling Made Easier - The Synergic Effect of Copper(I) Salts and the Fluoride Ion S.* **P. H. Lee, V. y Baldwin, J. E.** s.l. : Mee, Chem, 2004, Vol. 43, págs. 1132-1136.
22. *[17] Palladium-Catalyzed Chemoselective Cross-Coupling of Acyl Chlorides and Organostannanes.* **R. Lerebours, A. Camacho-Soto, C. Wolf.** s.l. : Org. Chem, 2005, Vol. 70, págs. 8601-8604.
23. **Guo-ping Lu, Chun Cai.** The Heck reaction in aqueous micelles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*,. 2010, Vol. 355, págs. 193-196.
24. **Timothy E. Barder, Shawn D. Walker, Joseph R. Martinelli, Stephen L. Buchwald.** [15] Catalysts for Suzuki-Miyaura Coupling Processes: Scope and Studies of the Effect of Ligand Structure. s.l. : AM. CHEM. SOC, 2005, Vol. 127, págs. 4685-4696.
25. **Halides D., Srimani A., Bej A., Sarkar J.** Palladium Nanoparticle Catalyzed Hiyama Coupling Reaction of Benzyl. s.l. : Org. Chem., 2010, Vol. 75, págs. 3518-3521.
26. **R. Severin, J. reimer, S. Doye.** One-Pot Procedure for the Synthesis of Unsymmetrical Diarylalkynes. s.l. : Org. Chem, 2010, Vol. 75, págs. 3518-3521.