

ESTUDIO DEL BROMURO DE 5-FENIL-1,2,3,6-TETRAHIDRO-1,1-DIMETIL-3-OXOPIRIDINIO Y SUS DERIVADOS

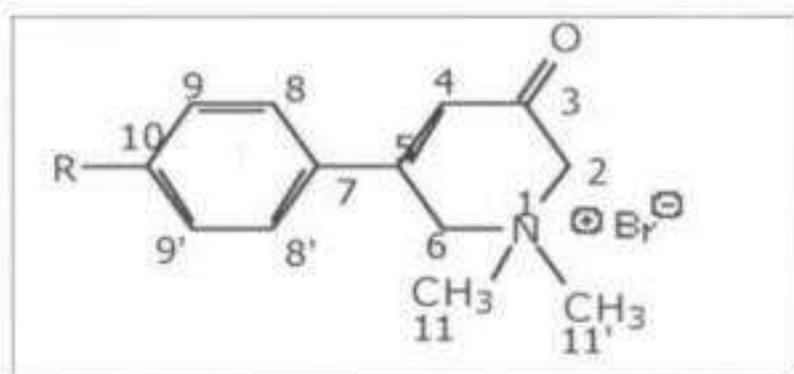
Celina LUIZAR OBREGÓN

INTRODUCCIÓN

La acetilcolinesterasa (AChE) es una enzima que participa en los procesos de neurotransmisión. Fue ampliamente estudiada en sus aspectos químicos como bioquímicos. Todavía por 1991, en diversos estudios estructurales, se identificaron dos centros activos; así el primero tiene como sustrato un grupo acilo y se cree que el segundo interacciona con una amina cuaternaria (Taylor, 2000). Ambos son responsables de las diversas actividades de esta enzima y de su selectividad y especificidad en las reacciones químicas relacionadas con el sistema nervioso. Sin embargo, poco se sabe sobre la relación de estos sitios activos con los fármacos usados en la estimulación o inhibición de dicha enzima.

Los estudios cuantitativos de relación estructura-actividad (QSAR) y de modelamiento molecular, sobre los requisitos que los inhibidores de la AChE deberían tener, concluyeron que la hidrofobicidad y la presencia de un átomo de N ionizable eran prerequisites para interactuar con la AChE. Entre los compuestos considerados están los derivados de la fisostigmina y huperizina (Kaur y Zhang, 2000), ambos fármacos introducidos ya en el mercado mundial.

La piridostigmina (Pyrd) es un derivado de la neostigmina. Su uso oral se orienta al tratamiento de *myasthenia gravis* (MG), Parkinson y Alzheimer (MA) (Taylor, 2000; Recantini, 1997; Lindstrom, 2000), donde la AChE juega un rol importante. Los derivados de la Pyrd pueden ser sintetizados a través de la ruta descrita por Dennis y Col. (Dennis et al, 1976), en la que se obtienen como intermedios, los bromuros de 1,2,3,6-tetrahidro-1,1-dimetil-3-oxopiridinio 5-fenil *p*-sustituídos, usados en este estudio.



- I: R = H;
II: R = OCH₃;
III: R = NO₂

Figura 1: Estructura Química del bromuro de 5-fenil-1,2,3,6-tetrahidro-1,1-dimetil-3-oxopiridinio y sus derivados metoxi y nitro.

En este trabajo se realiza el estudio espectroscópico de los derivados de Pyrd, focalizándose en los desplazamientos químicos de ^1H e ^{13}C , los cálculos teóricos de geometrías y cargas de Mulliken, a través del cálculo *ab initio* HF/631G**, para que en una etapa posterior, a través de la correlación de las cargas de Mulliken, los tamaños de enlaces en las moléculas y los dos sitios activos en la AChE se pueda analizar la acción del fármaco en la AChE.

PARTE EXPERIMENTAL

La adquisición de datos se realizó en los laboratorios del Instituto de Química de la Universidad Estatal de São Paulo, Brasil. Los espectros de RMN se colectaron en dos espectrómetros: GEMINI 300 (30 MHz para ^1H y 75.4 MHz para ^{13}C) e INOVA 500 de VARIAN (500 MHz para ^1H e 126 MHz para ^{13}C). Para la obtención de los espectros, se utilizó tetrametilsilano (0,03% TMS v/v) como referencia interna. Las muestras fueron preparadas en tubos de resonancia de 5 mm, de diámetro interno, en concentración de sustrato de 30-45 mg/mL.

Los cálculos teóricos se obtuvieron usando el programa Gaussian 98 (Frisco et al, 1998). Las geometrías se optimizaron a partir de geometrías previamente optimizadas, usando métodos semi-empíricos, *MM* e finalmente *ab-initio* HF/6-31G**.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C están presentados en las tablas 1 y 2 respectivamente. En ellas se puede observar los efectos de sustituyente, debido a los efectos de los sustituyentes donadores y retiradores de electrones.

Los espectros de RMN ^1H de los bromuros cíclicos tipo VII presentaron cuatro singletes con integración 6:2:2:1, correspondiendo a los hidrógenos H-11,11' del grupo dimetilamonio, del carbono metilénico enlazado al carbonilo (H-2), del carbono metilénico enlazado al doble enlace C=C (H-6) e hidrógeno (H-4) del carbono metínico vecino al carbonilo respectivamente.

Tabla N° 1

Desplazamientos Químicos ^1H (ppm) de Bromuros de 5-fenil-1,2,3,6-tetrahidro-1,1-dimetil-3-oxopiridinio (I) y derivados (II) y (III)

| R | ^1H (ppm) | | | Descripción |
|----------|--------------------|-------------------|-------------------|---------------------------|
| | I | II | III | |
| H-2 | 4,57 | 4,50 | 4,65 | 2H, s |
| H-4 | 6,77 | 6,73 | 6,92 | 1H, s |
| H-6 | 5,27 | 5,20 | 5,39 | 2H, s |
| H-11,11' | 3,51 | 3,51 | 3,51 | 6H, s |
| H-8,8' | 7,78 ^a | 7,78 ^b | 8,33 ^c | 2H, d, J ^{a,b,c} |
| H-9,9' | 7,53 ^a | 7,05 ^b | 8,09 | 2H, d, J ^{a,b,c} |
| H-10 | 7,53 | - | - | - |
| H-12 | - | 3,87 | - | 3H, s |

^a I J~7 Hz; ^b II 2H, dd, J~8 e J~2 Hz; ^c III J~9 Hz.

La atribución de H-2 y H-6 fue confirmada a través de los diagramas de contorno HSQC y HMBC. El procedimiento seguido para la serie es semejante a la anterior, y está correlacionada con la atribución de los espectros de RMN ^{13}C .

Tabla N° 2

Desplazamiento Químico ^{13}C (ppm) del Bromuro de 5-fenil-1,2,3,6-tetraidro-1,1-dimetil-3-oxo-piridinio y sus derivados *p*-metoxi y *p*-nitro sustituidos.

| R | $\delta^{13}\text{C}$ (ppm) | | |
|---------|-----------------------------|-------|-------|
| | I | II | III |
| C2 | 65,8 | 65,6 | 66,4 |
| C3 | 188,0 | 187,5 | 188,3 |
| C4 | 122,0 | 119,2 | 124,9 |
| C5 | 151,5 | 150,8 | 125,0 |
| C6 | 60,1 | 60,1 | 60,8 |
| C7 | 134,0 | 125,5 | 140,6 |
| C8,8' | 129,4 | 128,9 | 125,5 |
| C9,9' | 127,1 | 114,6 | 129,1 |
| C10 | 132,0 | 162,4 | 149,5 |
| C11,11' | 52,5 | 52,5 | 53,1 |

En el espectro de RMN de ^{13}C la señal más desprotegida, en 188,0 ppm, fue atribuida al único carbonilo en VII e identificada como C-3. Las señales en 151,5 ppm y 134,0 ppm son atribuidas a los carbonos cuaternarios C-5 y C-7, pero su elucidación definitiva necesita del análisis de espectros de HMBC. La atribución inequívoca de VIII fue realizada con ayuda de los diagramas de contorno de HSQC y COLOC.

Estudio de las Geometrías Moleculares de los bromuros

A partir de cálculos *ab initio* por HF/6-31G**, y después de la rotación de los respectivos ángulos diedro, entre el anillo aromático y el de piridinio, se encontró que el conformero que recuerda una media silla en el anillo de piridinio es aquel con menor energía entre los isómeros conformacionales encontrados.

Para el bromuro II (figura 1) los dos conformeros más estables son 4VII y 2VII (DE = 0 e 0,314 kcal/mol). El último se parece a una media silla torcida.

Al parecer, el tipo de sustituyente no influye en el aspecto general de las geometrías más estables. Así, el ángulo diedro entre ambos anillos (W_{23}), casi no cambia en I, II y III ($W_{23} = -47^\circ$, -44° e -46° , respectivamente).

El cambio de sustituyente no influye en el valor del ángulo diedro (W_{23}) que se forma entre el átomo de nitrógeno aminico, el plano constituido por los dos carbonos que unen ambos anillos y el carbono vecino al nitrógeno aminico ($W_{23} = 173^\circ$ en los tres casos). También, la distancia ($\text{Csp}^2\text{-Csp}^2$) entre los anillos permanece constante (1,50 Å) en los tres casos.

Tabla N° 3

Valores de carga Mulliken para los átomos de carbono, determinados para los bromuros I, II e III por HF/6-31G**

| R | I | II | III |
|---------|---------|---------|---------|
| C2 | -0,2536 | +0,365 | +0,0315 |
| C3 | +0,5175 | -0,2074 | -0,1603 |
| C4 | -0,2764 | +0,0670 | +0,0524 |
| C5 | +0,0189 | -0,5076 | -0,4793 |
| C6 | -0,1794 | +0,1444 | +0,1443 |
| C7 | +0,0036 | -0,2744 | -0,1992 |
| C8,8' | -0,2044 | +0,1085 | +0,0345 |
| C9,9' | -0,2250 | +0,0597 | +0,065 |
| C10 | -0,1987 | -0,2954 | -0,1656 |
| C11,11' | -0,1968 | -0,2511 | -0,1491 |
| C2 | -0,1839 | -0,1926 | -0,2589 |
| O (C=O) | -0,3369 | -0,0297 | -0,0333 |

En la tabla 3 se presenta los valores de cargas de Mulliken. En el bromuro I, los carbonos C3, C5 y C7 son los únicos que presentan cargas positivas (+0,5175; +0,0189 e 0,0036). En el bromuro II, los carbonos C2, C4, C 8,8' C11 y C12 presentan +0,365; +0,0670; +0,1444; +0,1085/+0,0597; +0,023 y +0,0379 respectivamente. La presencia de un grupo retirador NO₂ induce la localización de cargas positivas en los carbonos C2, C4, C6, C8,8' y C11 (+0,0315; +0,0524; +0,1443; +0,0345/+0,065; + 0,0229).

Estos datos sugieren que la presencia de cargas positivas en C2, C4 y C6 independen de si el sustituyente *p*-fenílico es donador o aceptor de electrones; lo mismo se puede afirmar de la carga negativa en C3. Las cargas negativas en el átomo de oxígeno carbónico son mayores ante la presencia de un grupo donador, como era de esperar.

CONCLUSIÓN

El análisis conjunto de los datos obtenidos sugieren que las moléculas sustituidas (II y III) podrían interactuar con el sitio activo de la acetilcolinesterasa, debido a que presentarían interacciones electrostáticas favorables, sin embargo, queda todavía un estudio sobre las comparaciones de las longitudes de enlace correlacionadas con las características del sitio activo, para determinar la afinidad final del sitio activo con los intermediarios de la piridostigmina.

BIBLIOGRAFÍA:

- DENNIS, N., KATRITZKY, A. R., RITTNER, R.
1976 "1,3-Dipolar character of six-membered aromatic rings. Part XXV. 5-Aryl-1-methyl-3-oxidopyridiniums". En: Journal of Chemical Society Perkin Trans 1., p. 2329-2334.
- FRISCH, M.J.T. et alii
1998 Gaussian. Inc.: Pittsburgh PA.
- KAUR, J., ZHANG, M. Q.
2000 "Molecular modelling and QSAR of reversible acetylcholinesterase inhibitors". En: Current Medical Chemistry 2000. 7(3): p. 273-294.
- LINDSTROM, J.M.
2000 "Acetylcholine receptors and myasthenia". En: Muscle & Nerve, 2000. 23(4): p. 453-477.
- RECANTINI, M.; CAVALLI, A., y HANSCH, C. A.
1997 "Comparative QSAR analysis of acetylcholinesterase inhibitors currently studied for the treatment of Alzheimer's disease". En: Chemico-Biological Interactions, 1997. 105(3): p. 199-228.
- TAYLOR, P.
1996 "Anticholinesterase agents", in Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, Editor. Molinoff, P.B., Ruddon, R.W.: New York. p. 161-176.