

# ESTUDIO EXPERIMENTAL Y TEÓRICO DE LA SÍNTESIS DE *N*-ALQUIL-NITROIMIDAZOLES

## EXPERIMENTAL AND THEORETICAL STUDY OF SHYNTESIS OF *N*-ALKYL-NITROIMIDAZOLES.

Constain SALAMANCA M.<sup>1\*</sup>, William TIZNADO V.<sup>2</sup>, Paula JARAMILLO G.<sup>3</sup>

Recibido: Diciembre 14 de 2009 Aceptado: Mayo 28 de 2010

### RESUMEN

En este trabajo se realizó un estudio experimental y teórico sobre la *N*-alquilación de nitroimidazoles. Los *N*-alquil-2-metil-nitroimidazoles corresponden a moléculas con actividad biológica, que se obtienen por la reacción del 2-metil-5-nitroimidazol y diferentes halogenuros de alquilo. En esta reacción se observó la formación de una mezcla de productos isoméricos en diferente proporción, denominados como *N*-alquil-2-metil-4-nitroimidazol y *N*-alquil-2-metil-5-nitroimidazol, respectivamente. La reacción sugiere la formación de un equilibrio tautomérico, que genera dos sitios nucleofílicos susceptibles a un ataque electrofílico por parte del halogenuro de alquilo. La reactividad local nucleofílica del anillo nitroimidazólico se determinó utilizando índices de reactividad local, como la función de Fukui y el potencial electrostático, además de la función de localización electrónica (ELF). La función de Fukui se integra en los átomos utilizando los esquemas de partición basados en el análisis de cargas de Mulliken y orbitales naturales de enlace (NBO). Por último, se evaluaron los perfiles de reacción. Los resultados mostraron una leve diferencia en la reactividad local, sin embargo, se observan diferencias significativas en las barreras energéticas, que explican la formación de un producto isomérico sobre el otro, encontrándose así, concordancia entre los resultados experimentales y los teóricos.

**Palabras clave:** síntesis química, estudio teórico, nitroimidazoles.

### ABSTRACT

In this work we realized an experimental and theoretical study of the *N*-alkylation of nitroimidazoles. The *N*-alkyl-2-methyl-nitroimidazoles correspond to biologically active molecules, obtained by reaction of 2-methyl-5-nitroimidazole and different alkyl halides. This reaction showed the formation of a mixture of isomeric products in different proportions, denominated like *N*-alkyl-2-methyl-4-nitroimidazole and *N*-alkyl-2-methyl-5-nitroimidazole, respectively. The reaction suggests the formation of a tautomeric equilibrium, which generates two nucleophilic sites susceptible to electrophilic attack by the alkyl halide. The local nucleophilic reactivity of the nitroimidazole ring is determined using local reactivity indices such as the Fukui function and the electrostatic potential, besides the electronic localization function (ELF). The Fukui function was integrated for each atom using partition schemes based on analysis of Mulliken charges and natural bond orbital (NBO). Finally the reaction profiles were assessed. The results show a minor difference in the local reactivity. Nevertheless a significant difference in energy barriers is observed explaining the formation of an isomeric product over another. These results agree quite well with the experimental data.

**Keywords:** chemical synthesis, theoretical study, nitroimidazoles.

1 Departamento de Farmacia. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. A.A. 1226. Medellín, Colombia.

2 Departamento de Ciencias Químicas. Facultad de Ecología y Recursos Naturales. Universidad Nacional Andrés Bello. Avenida República 275. Santiago, Chile.

3 Instituto de Física. Faculdade de Ciências. Universidade de São Paulo, Rua do Matão, Travessa R, 187. São Paulo-Brazil

\* Autor a quien se debe dirigir la correspondencia: csalamanca@farmacia.udea.edu.co

## INTRODUCCIÓN

Los imidazoles *N*-sustituídos, se han caracterizado por presentar varios tipos de actividades biológicas, entre ellas antifúngica (1), antiparasitaria (2) y antimicrobiana (3). Se ha reportado que el anillo nitroimidazólico participa en procesos inhibitorios de oxidación microsomal, así como en otros procesos de citotoxicidad, donde la longitud de la cadena alquímica de sustitución en el nitroimidazol, juega un papel preponderante en el tipo de actividad biológica que ejerce (4). Por otra parte, existe muy poca literatura donde se describa la formación de isómeros estructurales, a partir de la *N*-alquilación del anillo nitroimidazólico en presencia de halogenuros de alquilo. Por esta razón, se realiza un estudio experimental y teórico, correspondiente a la síntesis de una serie homóloga de *N*-alquil-nitroimidazoles, así como un estudio teórico sobre la reactividad del anillo nitroimidazol, con el fin de dar cuenta de la formación predominante de un producto isomérico sobre otro. La síntesis de los *N*-alquil-nitroimidazoles ha sido descrita previamente por Khahnadideh (5), en tanto que el estudio teórico computacional se enmarca en la teoría funcional de la densidad, comúnmente, denominada como DFT por sus siglas en inglés (6,7). Esta teoría se basa en el teorema de Hohenberg y Kohn, según el cual la densidad de estados electrónicos  $\rho(r)$  y el potencial externo  $v(r)$  se relacionan con el número total de electrones ( $N$ ), a partir de la normalización de la función de densidad electrónica, así:

$$\int \rho(r) dr = N \quad \text{Ecuación 1.}$$

Donde, el número de electrones  $N$  y el potencial externo núcleo-electrón  $v(r)$  permiten obtener el Hamiltoniano molecular óptimo ( $H_{op}$ ), teniendo en cuenta la aproximación de Born-Oppenheimer y sin considerar los efectos relativistas, tal como:

$$H_{op} = -\sum_i^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_A^n \sum_i^N \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i < j}^N \sum_j^N \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{B < A}^n \sum_A^n \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad \text{Ecuación 2.}$$

En esta ecuación, la sumatoria sobre  $i$  y  $j$  se refiere a los electrones;  $A$  y  $B$  a los núcleos;  $r_{ij}$ ,  $r_{iA}$ , y  $R_{AB}$

denotan las distancias electrón-electrón, electrón-núcleo y distancias inter-nucleares, respectivamente. Así, el  $H_{op}$  nos permite obtener la energía  $E$  de un sistema determinado, por medio de la ecuación de Schrödinger, de este modo:

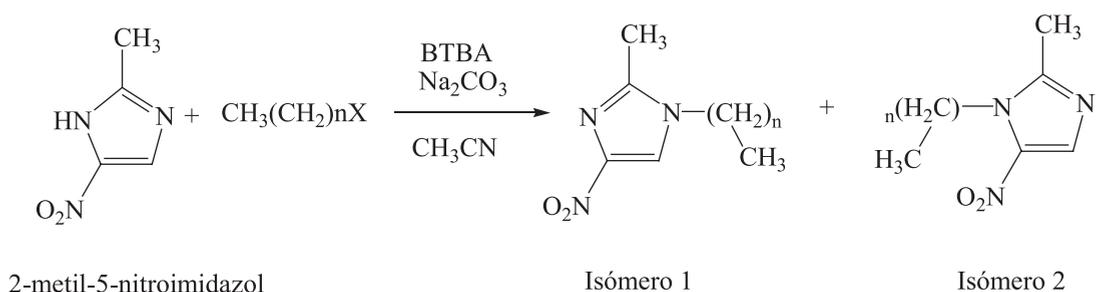
$$H_{op} \Psi = E \Psi \quad \text{Ecuación 3.}$$

donde,  $\Psi$  representa la función de onda electrónica. Así,  $\rho(r)$  finalmente permite determinar la energía del sistema y demás propiedades electrónicas en el estado fundamental. De esta forma, la DFT proporciona una base para el desarrollo de estrategias computacionales, que permite obtener información sobre las propiedades energéticas y estructurales de átomos y moléculas, y con ello, es posible abordar la reactividad química teóricamente, ya que esta teoría presenta el formalismo matemático para la descripción cualitativa y cuantitativa de las respuestas de un sistema químico frente a diferentes perturbaciones, donde es posible obtener y comparar ciertos descriptores electrónicos de naturaleza global y local pueden ser obtenidos y comparados con resultados experimentales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Síntesis de *N*-alquil-nitroimidazoles

Los derivados hemisintéticos fueron obtenidos a partir del 2-metil-5-nitroimidazol (Aldrich). Se utilizaron como agentes alquilantes yodo-metano (Fluka), bromo-etano (Aldrich), 1-yodo-propano (Aldrich), 1-bromo-butano (Merck), 1-bromo-pentano (Aldrich), 1-yodo-hexano (Aldrich). Como catalizadores se emplearon bromuro de tetrabutilamonio (Aldrich) y  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (Merck). Así mismo, el solvente de reacción utilizado fue Acetonitrilo (Merck), mientras que el diclorometano, metanol, acetato de etilo y éter de petróleo recién destilados, como agentes de extracción y recristalización. La obtención de los sustratos nitroimidazólicos se realizó siguiendo métodos descritos en la literatura (5,8-10). Esta reacción consiste en una sustitución nucleofílica con halogenuros de alquilo con longitudes de cadena variable ( $n=1-6$ ), usando un catalizador de transferencia de fase como el bromuro de tetrabutilamonio. A continuación aparece el esquema de reacción en la figura 1.



**Figura 1.** *N*-alquilación de derivados nitroimidazólicos (n: Numero de carbonos, X: halógeno. Isómero 1: *N*-alquil-2-metil-4-nitroimidazol, isómero 2: *N*-alquil-2-metil-5-nitroimidazol).

Para cada reacción se utilizaron cantidades estequiométricas de 236 mmoles para el sustrato nitroimidazólico, 7.08 mmoles para el BTBA y 472 mmoles para el carbonato de sodio en un volumen de 300 mL de acetonitrilo, bajo atmósfera de nitrógeno. Inicialmente se adicionó el sustrato nitroimidazólico en el solvente hasta su completa disolución. Luego, y una vez alcanzada la temperatura de reflujo, se agregaron el carbonato de sodio y el BTBA, formando un sistema heterogéneo. Finalmente, se adicionó el halogenuro de alquilo gota a gota, en proporción 1:2 respecto al nitroimidazol. La reacción fue monitoreada por cromatografía de capa fina hasta la completa desaparición del sustrato nitroimidazólico. La purificación se realizó por filtración al vacío, seguida de concentración a presión reducida; posteriormente, se hicieron particiones con mezclas de agua:diclorometano (50:50), separando así los productos alquilados y las sales presentes en la mezcla de reacción. La purificación de los isómeros se realizó por recrystalización con

solventes orgánicos y/o cromatografía en columna de fase normal; la caracterización de productos se determinó por espectroscopía de RMN <sup>1</sup>H, para la cual cada muestra se disolvió en una cantidad determinada de solvente deuterado, y cada espectro fue obtenido en un equipo de RMN marca Bruker de 300 MHz. Para esta reacción de *N*-alquilación se utilizó el catalizador de transferencia de fase bromuro de tetrabutil-amonio (BTBA), el cual permite que la base insoluble Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> pase a la solución y active el nucleófilo nitroimidazólico. La formación de esta sal orgánica pudo observarse por el cambio de color, que pasa de amarillo pálido a café. Éste proceso fue de aproximadamente 48 horas para las cantidades estequiométricas trabajadas. Una vez observado el cambio de color se procedió a adicionar gota a gota el halogenuro de alquilo para formar los *N*-alquil-nitroimidazoles. La purificación se realizó por etapas, comenzado por la obtención de una mezcla de productos isoméricos. Las condiciones de reacción y de purificación se resumen en la tabla 1.

**Tabla 1.** Datos de la *N*-alquilación del 2-metil-5-nitroimidazol.

Halogenuro de alquilo utilizado en la reacción	Tiempos de reacción (días)	Método de purificación de la mezcla isomérica
yoduro de metilo	0,5	Recrystalización en acetato de etilo
bromuro de etilo	2	Recrystalización en acetato de etilo
yoduro de propilo	4	Recrystalización con éter de petróleo: acetato de etilo (50:50)
bromuro de butilo	7	CC (sílica como fase estacionaria y diclorometano como fase móvil), posterior recrystalización en metanol
bromuro de pentilo	10	CC (sílica como fase estacionaria y acetato de etilo como fase móvil), posterior recrystalización en metanol
yoduro de hexilo	10	CC (sílica como fase estacionaria y diclorometano como fase móvil), posterior recrystalización en metanol

\*CC: cromatografía en Columna.

El porcentaje de pureza de cada producto, se determinó por HPLC con arreglo de diodos, para la cual se compararon las señales eludías en una misma muestra. El equipo usado fue un cromatógrafo Merck-Hitachi lacrom, con columna Merck RP18 y detector UV L-7450.

### Detalles computacionales

Todos los reactivos, intermediarios, productos y estados de transición fueron optimizados con el funcional híbrido B3LYP, para el cual se utilizó el conjunto de bases gaussianas 6-31G (d,p), implementados en el paquete computacional Gaussian 03 (11). Los estados de transición se verificaron a través de un análisis de frecuencias vibracionales y se encontró solo una frecuencia imaginaria, la cual está asociada al movimiento en la dirección de la coordenada de reacción. Se trazó la coordenada intrínseca de reacción (IRC), con el objetivo de verificar los perfiles de energía que conectan al estado de transición con los dos mínimos energéticos asociados a reactivos y productos. La función

de Fukui nucleofílica condensada al átomo k se obtuvo bajo el esquema de condensación de cargas Mulliken (12) y NBO (13). La función de localización electrónica (ELF) (14), fue calculada usando el programa computacional TOPMOD (15).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Síntesis de *N*-alquil-Nitroimidazoles

Los productos obtenidos en cada recristalización mostraron ser una mezcla isomérica correspondiente a las series homologas *N*-alquil-2-metil-4-nitroimidazol y al *N*-alquil-2-metil-5-nitroimidazol. La caracterización estructural, así como la determinación de la proporción isomérica se realizó por espectroscopia de RMN <sup>1</sup>H. Los derivados *N*-alquil-2-metil-4-nitroimidazol se obtuvieron siempre como producto mayoritario, lo cual se puede apreciar en el espectro de RMN <sup>1</sup>H de la mezcla isomérica del *N*-propil-2-metil-4-nitroimidazol y *N*-propil-2-metil-5-nitroimidazol que se observa en la figura 2.

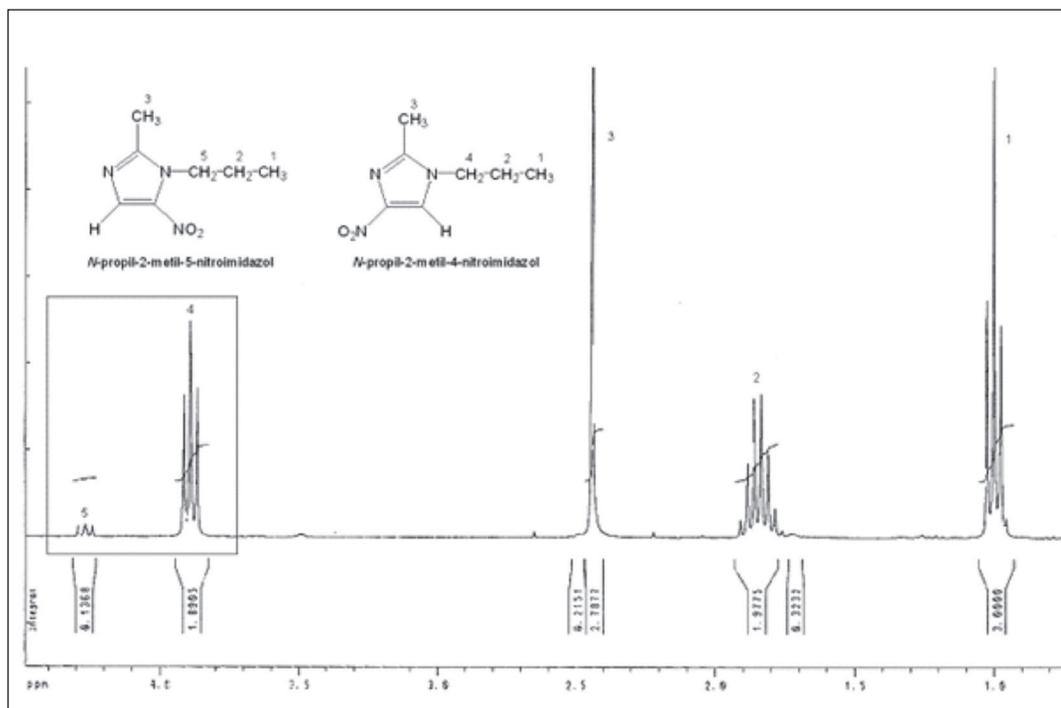


Figura 2. Espectro RMN <sup>1</sup>H de la mezcla isomérica de *N*-propil-nitroimidazoles.

En este espectro se observan dos señales denominadas como (4) y (5), las cuales se asignaron a los hidrógenos del grupo metileno unido al nitrógeno del anillo nitroimidazólico. Ambas señales corresponden a tripletes desplazados a campo bajo del espectro, con valores de desplazamiento químico

de 3,9 y 4,3 ppm, respectivamente. La diferencia entre ambos valores se puede explicar por la acción de desprotección generada por los nitrógenos del anillo imidazólico, así como por su cercanía al grupo electroattractor nitro; la presencia de ambas señales se observaron para cada sistema sintetizado.

La formación de estos dos productos isoméricos en diferente proporción, sugiere que en el anillo nitroimidazólico se generan dos sitios nucleofílicos, donde uno de ellos está más favorecido de recibir un ataque por parte de un electrófilo. Los resultados de la proporción de isómeros en la mezcla, así como el porcentaje de rendimiento de cada reacción se muestran en la tabla 2.

**Tabla 2.** Porcentaje de rendimiento y porcentaje de formación de productos isoméricos en la *N*-alquilación de los derivados del 2-metil-5-nitroimidazol.

Reacción	Porcentaje de Rendimiento	Proporción de isómeros de <i>N</i> -alquil-NIM	
		Isómero 1 (%)	Isómero 2 (%)
SNIM + CH <sub>3</sub> I	88	90	10
SNIM + CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> Br	85	93	7
SNIM + CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> I	86	96	4
SNIM + CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> Br	84	96	4
SNIM + CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> Br	77	95	5
SNIM + CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> I	65	97	3

\*SNIM: Sustrato Nitroimidazólico.

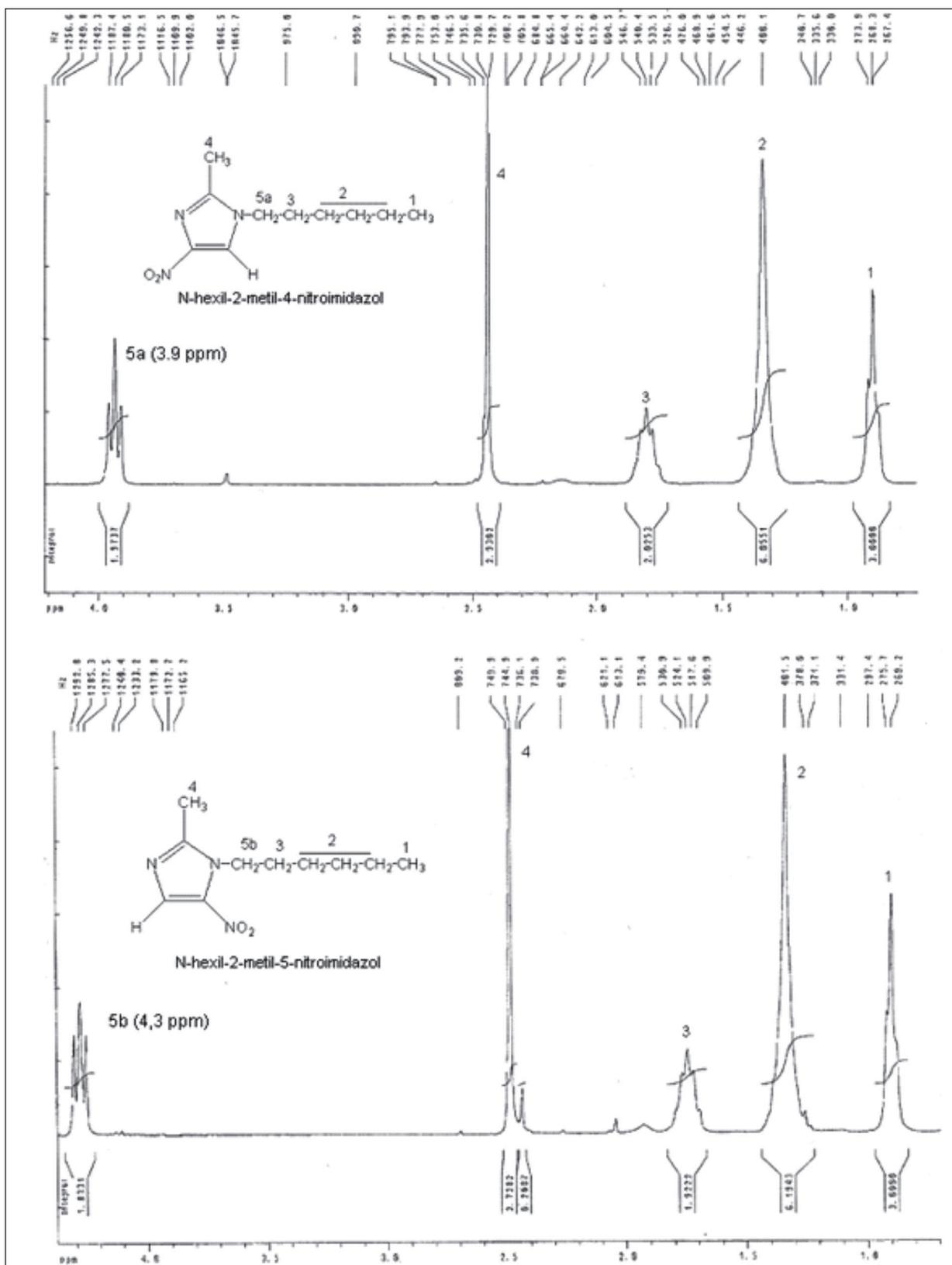
A partir de la tabla 2 se puede observar que la eficiencia de cada reacción varía con la longitud de la cadena alquílica del agente alquilante, siendo mayor cuando el halógeno de alquilo presenta cadenas cortas. Por otra parte, la proporción de isómeros obtenida en cada reacción, se obtuvo a partir de la comparación entre las áreas correspondientes a la señal de los hidrógenos metilénicos unidos a los nitrógenos del anillo nitroimidazólico en el espectro de RMN <sup>1</sup>H de la mezcla isomérica. Cada una de estas mezclas fue separada a partir de cromatografía en columna, utilizando sílica gel como fase estacionaria y mezclas de diclorometano y acetato de etilo en diferente proporción, dependiendo de la longitud de la cadena alquílica del sustrato nitroimidazólico. Una vez separados los compuestos isoméricos se determinó su porcentaje de pureza, utilizando cromatografía líquida de alta eficiencia

(HPLC) con arreglo de diodos. En cada corrida cromatográfica las condiciones fueron: mezcla de acetonitrilo y metanol en proporción 64:36 como fase móvil; flujo de 50 ml/min y sílica gel modificada con Octa-decil-silano como fase estacionaria. Los resultados del tiempo de elusión y el porcentaje de pureza de cada isómero se muestran a continuación en la tabla 3.

**Tabla 3.** Tiempos de retención y Porcentajes de pureza de los isómeros *N*-alquil-nitroimidazoles obtenidos por HPLC.

Compuesto	t retención (min)	% Pureza
<i>N</i> -metil-2-metil-4-nitroimidazol	6,21	99,85
<i>N</i> -metil-2-metil-5-nitroimidazol	6,35	99,12
<i>N</i> -etil-2-metil-4-nitroimidazol	7,55	99,91
<i>N</i> -etil-2-metil-5-nitroimidazol	7,63	99,32
<i>N</i> -propil-2-metil-4-nitroimidazol	10,11	99,93
<i>N</i> -propil-2-metil-5-nitroimidazol	10,75	99,21
<i>N</i> -butil-2-metil-4-nitroimidazol	15,09	99,79
<i>N</i> -butil-2-metil-5-nitroimidazol	15,20	99,45
<i>N</i> -pentil-2-metil-4-nitroimidazol	24,75	99,70
<i>N</i> -pentil-2-metil-5-nitroimidazol	25,02	99,56
<i>N</i> -hexil-2-metil-4-nitroimidazol	46,45	99,94
<i>N</i> -hexil-2-metil-5-nitroimidazol	46,56	99,89

En la tabla 3 se puede observar una alta eficiencia en la separación de los compuestos nitroimidazólicos de su mezcla isomérica. Por otra parte, la caracterización estructural de cada isómero aislado, se realizó por espectroscopia RMN <sup>1</sup>H. En la figura 3 se muestran los espectros de RMN <sup>1</sup>H de los isómeros correspondientes a los productos isoméricos *N*-hexil-2-metil-4-nitroimidazol y *N*-hexil-2-metil-5-nitroimidazol. Allí es posible, apreciar claramente el cambio en el desplazamiento químico de los hidrógenos del grupo metileno unido al nitrógeno del anillo nitroimidazólico, mientras que el resto de las señales son muy similares en cada producto isomérico.



**Figura 3.** Espectros de RMN <sup>1</sup>H de los isómeros *N*-hexil-2-metil-4-nitroimidazol y *N*-hexil-2-metil-5-nitroimidazol.

Los datos de la caracterización por RMN <sup>1</sup>H de los productos isoméricos purificados se resumen en la tabla 4.

**Tabla 4.** Datos de RMN <sup>1</sup>H de las series homologas *N*-alquil-2-metil-4-nitroimidazol y *N*-alquil-2-metil-5-nitroimidazol.

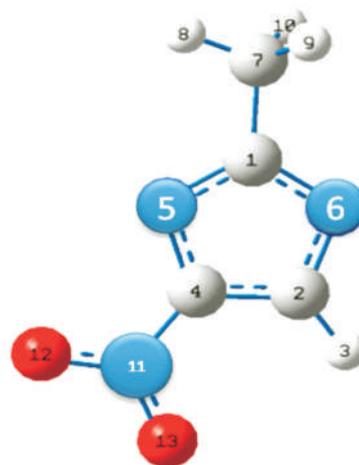
Compuesto	RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>2</sub> )
<i>N</i> -metil-2-metil-4-nitroimidazol	δ 2,43 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); δ 3,69 (s, 3H, N-CH <sub>3</sub> ); δ 7,68 (s, 1H)
<i>N</i> -metil-2-metil-5-nitroimidazol	δ 2,41 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); δ 4,29 (s, 3H, N-CH <sub>3</sub> ); δ 7,70 (s, 1H)
<i>N</i> -etil-2-metil-4-nitroimidazol	δ 1,49 (t, 3H, J = 7,4; CH <sub>3</sub> ); δ 2,44 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); δ 3,99(Q, 2H, N-CH <sub>2</sub> ); δ 7,72 (s, 1H)
<i>N</i> -etil-2-metil-5-nitroimidazol	δ 1,47 (t, 3H, J = 7,4; CH <sub>3</sub> ); δ 2,44 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); δ 4,32(Q, 2H, N-CH <sub>2</sub> ); δ 7,68 (s, 1H)
<i>N</i> -propil-2-metil-4-nitroimidazol	δ 1,00 (t, 3H, J = 7,6; CH <sub>3</sub> ); δ 1,84 (m, 2H, J = 7,3; CH <sub>2</sub> ); δ 2,43 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); δ 3,89 (t, 2H, J = 7,3; N-CH <sub>2</sub> ); δ 7,68 (s, 1H)
<i>N</i> -propil-2-metil-5-nitroimidazol	δ 1,00 (t, 3H, J = 7,6; CH <sub>3</sub> ); δ 1,84 (m, 2H, J = 7,3; CH <sub>2</sub> ); δ 2,43 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); δ 4,31 (t, 2H, J = 7,3; N-CH <sub>2</sub> ); δ 7,68 (s, 1H)
<i>N</i> -butil-2-metil-4-nitroimidazol	δ 0,99 (t, 3H, J = 7,3; CH <sub>3</sub> ); δ 1,40 (m, 2H, J = 7,4; CH <sub>2</sub> ); 1,78 (m, 2H, J = 7,3; CH <sub>2</sub> ); δ 2,44 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); 3,91 (t, 2H, J = 7,3; N-CH <sub>2</sub> ); 7,68 (s, 1H)
<i>N</i> -butil-2-metil-5-nitroimidazol	δ 1,00 (t, 3H, J = 7,3; CH <sub>3</sub> ); δ 1,40 (m, 2H, J = 7,4; CH <sub>2</sub> ); 1,78 (m, 2H, J = 7,3; CH <sub>2</sub> ); δ 2,44 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); 4,33 (t, 2H, J = 7,3; N-CH <sub>2</sub> ); 7,68 (s, 1H)
<i>N</i> -pentil-2-metil-4-nitroimidazol	δ 0,93 (t, 3H, J = 6,7; CH <sub>3</sub> ); δ 1,33 (m, 4H, CH <sub>2</sub> ); 1,80 (m, 2H, J = 7,3; CH <sub>2</sub> ); δ 2,43 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); δ 3,90 (t, 2H, J = 7,3; N-CH <sub>2</sub> ); δ 7,68 (s, 1H)
<i>N</i> -pentil-2-metil-5-nitroimidazol	δ 0,93 (t, 3H, J = 6,7; CH <sub>3</sub> ); δ 1,33 (m, 4H, CH <sub>2</sub> ); 1,80 (m, 2H, J = 7,3; CH <sub>2</sub> ); δ 2,43 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); δ 4,32 (t, 2H, J = 7,3; N-CH <sub>2</sub> ); δ 7,68 (s, 1H)
<i>N</i> -hexil-2-metil-4-nitroimidazol	δ 0,89 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); δ 1,33 (s, 6H, (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> ); δ 1,79 (m, 2H, J = 6,7; CH <sub>2</sub> ); δ 2,44 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); δ 3,93 (t, 2H, J = 7,2; N-CH <sub>2</sub> ); δ = 7,72 (s, 1H)
<i>N</i> -hexil-2-metil-5-nitroimidazol	δ 0,90 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); δ 1,33 (s, 6H, (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> ); δ 1,79 (m, 2H, J = 6,7; CH <sub>2</sub> ); δ 2,44 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); δ 4,29 (t, 2H, J = 7,2; N-CH <sub>2</sub> ); δ = 7,72 (s, 1H)

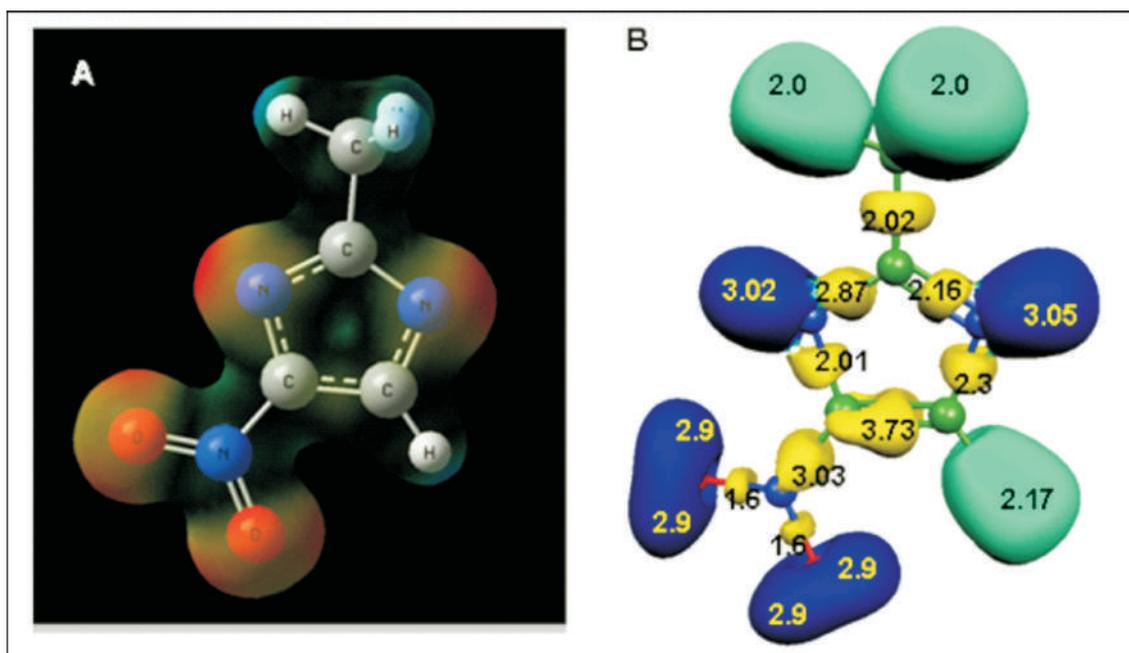
Cabe mencionar que la actividad farmacológica de este tipo de compuestos ha sido atribuida a los isómeros *N*-alquil-2-metil-4-nitroimidazol (5). Por esta razón, es importante analizar las diferencias entre ambos sitios nucleofílicos y explicar la formación mayoritaria de los isómeros *N*-alquil-2-metil-4-nitroimidazol sobre los isómeros *N*-alquil-2-metil-5-nitroimidazol.

### Estudio computacional

Con el fin de buscar una posible explicación a la formación prioritaria de un isómero sobre otro, se realizó un estudio teórico computacional en el marco de la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT). Este estudio mostró una concordancia con los resultados experimentales, donde la formación prioritaria de un isómero sobre otro depende de diversos factores, tales como la reactividad estática que muestran los nitrógenos y las diferencias en las barreras de activación. Todos los datos obtenidos en los estudios teóricos se realizaron para el intermediario nitroimidazólico, para los cuales se tuvo en cuenta la numeración de los átomos que se presenta en la figura 4. Además se realizó un mapeo correspondiente a una isosuperficie de

densidad electrónica con los valores coincidentes del potencial electrostático, tal como se muestra en la figura 5A, donde las coloraciones rojas representan la tendencia a ataques electrofílicos, mientras que las coloraciones azules muestran la tendencia a ataques nucleofílicos. También se muestran los valores obtenidos de la función de localización electrónica (ELF) en la figura 5B.

**Figura 4.** Estructura del intermediario nitroimidazólico.



**Figura 5.** (A) Densidad electrónica a una isosuperficie de 0,005 unidades atómicas, pintada con los valores coincidentes del potencial electrónico. (B) Basines de la Función de Localización Electrónica (ELF) a un valor de isosuperficie de 0,75, y sus respectivos valores de población electrónica condensados en estos basines.

A partir de la figura 5 (A), es posible observar que tanto las zonas correspondientes a los pares de electrones libres de los nitrógenos imidazólicos, así como los oxígenos del grupo nitro son susceptibles a ataques electrofílicos. Por otro lado, la figura 5 (B) muestra los basines o regiones obtenidas, a partir de la función de localización electrónica, la cual se puede asociar con distribuciones electrónicas tipo Lewis, debido a que ésta función presenta máximos en aquellas regiones donde existe la mayor probabilidad de encontrar pares electrónicos. En cada basin encontrado en el anillo nitroimidazólico, se pueden apreciar los valores condensados de la densidad electrónica asociada a cada uno de éstos. Cada resultado concuerda con lo hallado cualitativamente por el mapeo del potencial electrostático, donde las zonas más ricas en electrones y susceptibles a un ataque electrofílico corresponden a los pares libres de los nitrógenos imidazólicos, así como a los pares libres de los oxígenos del grupo nitro. Con el fin de explicar la selectividad o preferencia del electrófilo sobre uno de los nitrógenos imidazólicos, específicamente sobre el nitrógeno 6, se realizaron cálculos de la función de Fukui nucleofílica condensada, que es muy útil al momento de discriminar entre diferentes sitios reactivos en una misma molécula, tal como se muestra en la tabla 5.

**Tabla 5.** Cargas Mulliken, Cargas NBO y la función de Fukui nucleofílica  $f_k^-$  calculadas con estos dos esquemas de condensación a nivel de teoría B3LYP/6-31G(d,p).

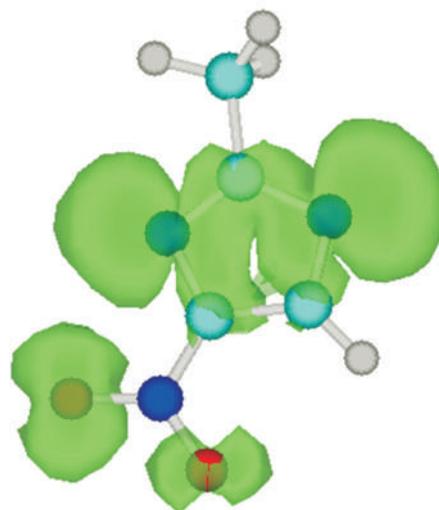
Átomo	Mulliken			NBO		
	anión	neutro	$f_k^-$	anión	neutro	$f_k^-$
1	0,378	0,463	0,085	0,326	0,515	0,189
2	0,046	0,133	0,087	-0,072	0,045	0,117
3	0,045	0,161	0,116	0,212	0,263	0,051
4	0,364	0,469	0,105	0,15	0,33	0,18
5	<b>-0,518</b>	<b>-0,44</b>	<b>0,078</b>	<b>-0,54</b>	<b>-0,485</b>	<b>0,055</b>
6	<b>-0,53</b>	<b>-0,44</b>	<b>0,09</b>	<b>-0,57</b>	<b>-0,49</b>	<b>0,08</b>
7	-0,365	-0,38	-0,015	-0,71	-0,75	-0,04
8	0,095	0,155	0,06	0,23	0,27	0,04
9	0,082	0,16	0,078	0,223	0,28	0,057
10	0,082	0,16	0,078	0,223	0,28	0,057
11	0,3	0,3	0	0,476	0,45	-0,026
12	-0,477	-0,35	0,127	-0,455	-0,33	0,125
13	-0,502	-0,38	0,122	-0,496	-0,37	0,126

La tabla 4 muestra los resultados del análisis de cargas mediante dos esquemas de integración o condensación de la densidad electrónica, tales como las cargas de Mulliken y las cargas evaluadas mediante un análisis de orbitales naturales (NBO). Cada análisis de carga fue evaluado, tanto para el sistema aniónico como para el sistema neutro en la geometría del anión y en su multiplicidad más

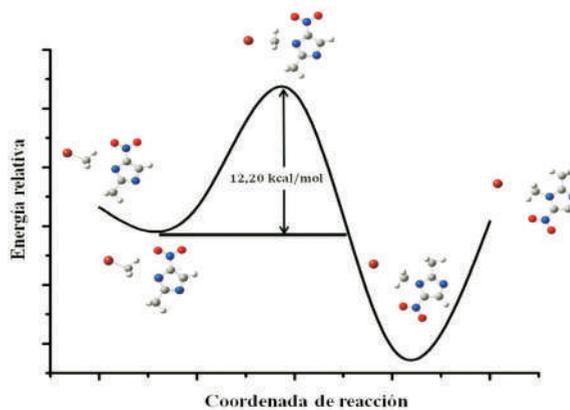
estable, que en este caso corresponde a un singlete para el anión y un doblete para el neutro. A partir de estos análisis de cargas fue posible obtener la función de Fukui nucleofílica condensada, y así evaluar la reactividad en cada uno de los átomos del anión nitroimidazólico. Los valores de la función de Fukui nucleofílica condensada en los átomos de interés (nitrógeno 5 y 6), son bajos comparados con los valores de reactividad para el resto de átomos no reactivos en la molécula. Sin embargo, ambos esquemas de condensación (Mulliken y NBO) muestran que entre los dos nitrógenos imidazólicos el átomo más reactivo es el nitrógeno 6.

Aunque no es concluyente, este resultado, conjuntamente con el análisis de la ELF y el potencial electrostático nos está brindando una buena descripción cualitativa de la reactividad local que muestra el experimento. La mala descripción de la reactividad local por medio de la función de Fukui puede obedecer a una activación de orbitales más internos en estados tempranos de la reacción. Para analizar esta posibilidad se realizó un análisis topológico de las densidades de los orbitales de frontera [HOMO] y [HOMO-1], que normalizados a la unidad vendrían a ser la función de Fukui local en el esquema de Kohn-Sham evaluados en los respectivos orbitales de frontera (16,17). En este análisis se encontró que la reactividad debida al par libre electrónico de los nitrógenos, queda mejor descrita por la condensación topológica de la densidad del orbital [HOMO-1]. Este resultado es totalmente acorde con lo obtenido experimentalmente, y muestra que los nitrógenos imidazólicos corresponden a las especies más susceptibles a un ataque electrofílico y que entre ambos, el nitrógeno 6 presenta la mayor susceptibilidad, dando cuenta del favorecimiento de la formación de un isómero sobre el otro. De esta manera se verifica la hipótesis que motivo este análisis. Los resultados obtenidos se aprecian en la figura 6.

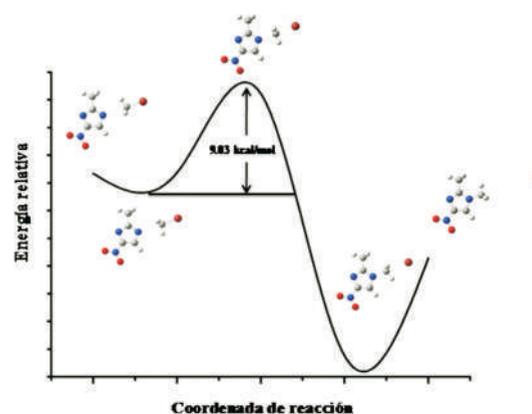
Por último, se trazaron las coordenadas de reacción intrínseca (IRC) y se calculó las barreras energéticas de activación asociadas a la reacción de *N*-alquilación de los intermediarios aniónicos nitroimidazólicos denominados como N5 y N6 respectivamente, en presencia de bromuro de metilo. Estos perfiles de reacción se observan en las figuras 7a y 7b.



**Figura 6.** Función de Fukui topológica calculada como  $[HOMO-1]^2$ .



**Figura 7 a.** Perfil de la reacción de *N*-alquilación del intermediario aniónico nitroimidazólico N5 en presencia de bromuro de etilo, en fase gaseosa.



**Figura 7 b.** Perfil de la reacción de *N*-alquilación del intermediario aniónico nitroimidazólico N6 en presencia de bromuro de etilo, en fase gaseosa.

A partir de estos dos perfiles es posible obtener las energías de activación para la reacción de *N*-alquilación, mostrando que la reacción más favorecida corresponde al intermediario aniónico N6, lo cual está de acuerdo con los resultados experimentales. Por otra parte, si se realiza un análisis comparativo entre ambas energías de activación y asumiendo una distribución tipo Boltzmann para la formación de dichos productos, es posible escribir una razón simplificada que entrega una distribución teórica de productos, la cual se puede expresar como:

$$\frac{P_1}{P_2} = \frac{e^{-\frac{\Delta E_1^\ddagger}{RT}}}{e^{-\frac{\Delta E_2^\ddagger}{RT}}} \quad \text{Ecuación 4.}$$

Donde  $P_1/P_2$  corresponde a la razón de productos,  $\Delta E$  a la energía de activación y  $T$  a la temperatura de 298°K. A partir de esta expresión se encuentra una proporción de productos de (94:6), la cual es cercana a la razón obtenida experimentalmente de (90:10) para este mismo sistema. Estas diferencias entre las proporciones de isómeros obtenidas en forma experimental y teórica se pueden explicar, debido a que el estudio teórico computacional fue realizado usando el método B3LYP, el cual tiende a sobre conjugar los sistemas moleculares.

## CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos tanto por las metodologías experimentales como teóricas, podemos concluir que la síntesis de *N*-alquilación de nitroimidazoles se encuentra influenciada por el grupo electroattractor nitro, el cual disminuye el efecto nucleofílico del nitrógeno más cercano a dicho grupo electroattractor, llevando a la formación de dos isómeros estructurales con predominancia de un isómero sobre el otro. Este resultado es muy importante, ya que la actividad farmacológica de este tipo de compuestos ha sido atribuida a los isómeros *N*-alquil-2-metil-4-nitroimidazol.

Por otro lado, se encontró que los datos obtenidos a partir del estudio teórico son coherentes con los resultados experimentales. Sin embargo, dichos resultados teóricos muestran una breve descripción del fenómeno de isomerización, lo que hace necesario profundizar aun más en varios aspectos, a saber: la activación del orbital [HOMO-1], que describe adecuadamente la reactividad local de estos sistemas; el efecto de la longitud alquílica del halogenuro de alquilo, con el fin de tener una descripción de los efectos estéricos ocurridos en la reacción. La

introducción de un modelo de efecto de solvente por medio de polarizable continuo (PCM) o solvente explícito. Y finalmente, un análisis más detallado de la termodinámica asociada a ambos caminos de reacción.

## AGRADECIMIENTOS

Constain Salamanca M. agradece a la Agencia de Intercambio Académico Alemán (DAAD), que financió la beca Doctoral, que permitió parte de estos resultados; al Dr. Bruce Cassels de la Universidad de Chile y al Dr. Edwin Pérez, de la Universidad Pontificia Católica de Chile, por la donación de reactivos y la asesoría en la síntesis de los nitroimidazoles. William Tiznado agradece al proyecto de postdoctorado Fondecyt N° 3080042.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Norman S, Bennett R, Poling S, Maier V, Nelson M. Paclotrazol Inhibits Abscisic Acid Biosynthesis in *Cercospora rosicola*. *Plant Physiol.* 1986 Jan; 80 (1): 122-126.
2. Haythem S, Ibrahim M, Mustafa M. New Synthesis and Antiparasitic Activity of Model 5-Aryl-1-methyl-4-nitroimidazoles. *Molecules.* 2009 Jul 27; 14 (8): 2758-2767.
3. Paramashivappa R, Phani Kumar P, Subba Rao V, Srinivasa Rao A. Design, synthesis and biological evaluation of benzimidazole/benzothiazole and benzoxazole derivatives as cyclooxygenase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett.* 2003 Feb; 13 (4): 657-660.
4. Miller D, Griffiths E, Lenard J, Firestone R. Cell Killing by Lyso-somotropic Detergents. *J Cell Biol.* 1983 Dec 1; 97 (6): 1841-1851.
5. Khabnadideh S, Rezaei Z, Khalafi-Nezhad A, Bahrinajafi R, Mohamadi R, Farrokhrooz A. Synthesis of *N*-Alkylated Derivatives of Imidazole as Antibacterial Agents. *Bioorg Med Chem Lett.* 2003 Sep 1; 13 (17): 2863-2865.
6. Geerlings P, De Proft F, Langenacker W. Conceptual Density Functional Theory. *Chem Rev.* 2003 Apr 17; 103 (5): 1031-1115.
7. Parr R, Yang W. Density functional theory of atoms and molecules. First edition. New York: Oxford University Press, 1989. p. 40-91.
8. Silvestri R, Artico M, Massa S, Marceddu T, de Montis F, La Colla P. 1-[2-(Diphenylmethoxy)ethyl]-2-methyl-5-nitroimidazole - a potent lead for the design of novel NNRTIs. *Bioorg Med Chem Lett.* 2000 Feb 7; 10 (3): 253-256.
9. Ferretti G, DuKat M, Giannella M, Piergentili A, Quaglia W, Damaj M, *et al.* Chain-lengthened and imidazoline analogues of nicotine. *Bioorg Med Chem Lett.* 2000 Dec 4; 10 (23): 2665-2668.
10. Riche F, d'Hardemare A, Sèpe S, Riou L, Fagret D, Vidal M. Nitroimidazoles and hypoxia imaging: synthesis of three technetium-99m complexes bearing a nitroimidazole group: biological results. *Bioorg Med Chem Lett.* 2001 Jan 8; 11(1): 71-74.
11. Frisch M, Trucks W, H.Schlegel, *et al.* GAUSSIAN 03, revisión [CD-ROM]. Versión B,3, Gaussian, Inc. Pittsburg, PA USA; 2003. 1 CD-ROM.
12. Mulliken RS. Electronic Population Analysis on LCAO-MO Molecular Wave Functions. *J Chem Phys.* 1955; 23 (10): 1833-1840.
13. Reed AE, Weinhold F. Natural bond orbital analysis of near-Hartree - Fock water dimer. *J Chem Phys.* 1983 Mar 15; 78 (6): 4066-4073.
14. Becke A, Edgecombe K. A simple measure of electron localization in atomic and molecular systems, *J Chem Phys.* 1990 May 1; 92 (9): 5397-5403.
15. Noury S, Krokidis X, Fuster F, Silvi B. TopMoD package, Université Pierre et Marie Curie, 1997.
16. Senet P. Chemical hardnesses of atoms and molecules from frontier orbitals. *J Chem Phys.* 1997 Sep 5; 275 (5-6): 527-532.
17. Tiznado W, Chamorro E, Contreras R, Fuentealba P. Comparison among four different ways to condense the Fukui function. *J Phys Chem A.* 2005 Mar 18 ; 109 (14): 3220-3224.