



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS
CENTRO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS

**“SÍNTESIS DE DERIVADOS TIPO 2-AMINOACETAMIDO DEL ÁCIDO
AMINOMETILENBISFOSFÓNICO”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN DISEÑO MOLECULAR Y NANOQUÍMICA

PRESENTA:

KEVIN GONZÁLEZ RINCÓN

DIRECTOR DE TESIS

DR. JOSÉ LUIS VIVEROS CEBALLOS

CUERNAVACA, MORELOS

NOVIEMBRE, 2021



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Instituto de
Investigación en
Ciencias
Básicas y
Aplicadas

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS



Control Escolar de Licenciatura

VOTOS DE APROBATORIOS

Secretaria ejecutiva del Instituto de Investigación en Ciencias Básicas Aplicadas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

P r e s e n t e .

Por medio de la presente le informamos que después de revisar la versión escrita de la tesis que realizó el C. **KEVIN GONZÁLEZ RINCÓN** con número de matrícula 20164004983 cuyo título es:

“Síntesis de derivados tipo 2-aminoacetamido del ácido aminometilenbisfosfónico”

Consideramos que SI reúne los méritos que son necesarios para continuar los trámites para obtener el título de **LICENCIADO EN DISEÑO MOLECULAR Y NANOQUÍMICA**.

Cuernavaca, Mor a 16 de octubre del 2021

Atentamente
Por una universidad culta

Se adiciona página con la e-firma UAEM de los siguientes:

DR. JOSÉ MARIO ORDÓÑEZ PALACIOS
DRA. ANGÉLICA BERENICE AGUILAR GUADARRAMA
DR. JOSÉ LUIS VIVEROS CEBALLOS
DRA. MARÍA DE LOS ÁNGELES RAMÍREZ CISNEROS
DRA. MARGARITA I. BERNAL-URUCHURTU

PRESIDENTE
SECRETARIO
VOCAL
PRIMER SUPLENTE
SEGUNDO SUPLENTE

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JOSE LUIS VIVEROS CEBALLOS | Fecha:2021-10-18 13:58:52 | Firmante

54HgQ0kA5VIA8CsUQzKQ0t0lgc61CNezOUwj4/o3GOD99wJpPmqirzV4Bjq0DpYKKeDH0mNeJ7ckf9GKTbHD9RBhWtp3etR82GtF2KYHe8gBQkHQSHYwnMb8ZqDSMd/DRAv/2LdyF0pRX4vFWG/nQ8Wjs9tojNLHSE7tbAA6k9gwMUBXi/UntEUsFr/rjBd4gFmiWLyxnUaRPkIRVrx06riIMJhPXidCoN2HJSrIXBrj2JB9JNWITILE69R5FDZqruW2YiTvSHBTSLFxb1bBkxtGalF+KmmzBFKEiGNad6gLSFDAm2DgayWt/J/Uz1DgSoolVnEJY65E+UNPBSQ==

ANGELICA BERENICE AGUILAR GUADARRAMA | Fecha:2021-10-18 14:14:40 | Firmante

z5PvAlGPBW1InnjUoF52XI/T+Kmr6LYmwudmGWom9GGqwkKjogjGRrklMk1uO1jScXU+ucJSUPCuPBzNQPPG1iAKJ9ZPcqsG4Tvgbf6g8p+WOSW9kKSznjzUF/diHmGRkNm4k6htepXE dl4Xqj+1fWIS+XsraSqtSbXKNXdzPEkwbwNjLbg+CkMshzaA1AW48yFj2TIOY7drsZnHBdMom9AUestbgOZIAwPtNuWW23eGaQZR/rmBPnt+zOHreAHml9v7CJv6NDhJ86xEgJRWCKf5Xatrl1isrxAMrSGNPFPL33iMipyg3oO7osC6+zRyOMOptH8GtU8DPaFh0w==

MARGARITA ISABEL BERNAL URUCHURTU | Fecha:2021-10-18 15:25:50 | Firmante

f4uTAmquyAgu5D1s8oALRAes8g1TXeX94psS368MQ4q7WGsVcVKyoQq+/jrVUHTxp+fyBnGggmRMkC441bSYzL+utB0UQf2N77k5/1K/aDkZPv6flEvTKweCpA4mGGhuB5EvHEBmXpOdbbSltyy4/Ydii4NM+VWpeZ9x2cxPv90jhb0FUhIClGg8gjXv+WTJxd/b8Bv+GMM9Hmxdht5bJlmlLz74Gms/oAQwiTtBSWI4LvtFUTPMSeS14zjDLyNBQbRMQ2uyPF++alOPk3QDUFSQFRWkjkyh8bnpMpvNB0sWRgx8GMFZQp9fRyqIG08IBKIEPEuKo+ahQVCeQ==

JOSE MARIO ORDOÑEZ PALACIOS | Fecha:2021-10-18 16:59:23 | Firmante

27C3jnzAru4qTylJMF23JIB/zBxex9cLui24WEEmvbT2nvPw/8QzCNf8OUI28xAlYtUNTYz4O6NaVdYgYbOERwa3Pb+O5GdvWKRtBz29UctfLFCWOMKA7CowSaqT694rtyMbwrt2n9K48klzQoCooq7Unj2W2gG8CqtW7+DK5UpMucPq19Cir2Lfs9gQVxg8UqcHc0hY4Kpu7XCRc8zG9TBsdPI4M1vt5FzmC3vh+fva83pFqOReXvwww6SseG984m3MbK5LITX45xNaLame1pVAkk4Pd9Me/w8Ye7O7kZqXewhDvMs0Ja9amgRkoHPXHdTORz1M3ENIXnGazWyyw==

MARIA DE LOS ANGELES RAMIREZ CISNEROS | Fecha:2021-10-19 02:06:44 | Firmante

MCbR73zJFyov8l0l5PKLIQM2yzkF1Uysh94YhHDVYZFd+XahlwNtx3m23gU181VPo/izewUMzsRdxoE5XLgNN4U+UO/GgZEafUCY5NdvU0rdiYRYgZox6YDYy7fBpccxWV4mag/gnTz+Ctdlw+/vwb6s+lx0XGeOUMzuHGQXg2hH6poTejBFYCV48D19CQvT0AVda2kVLieqKK8p9uxlr3rhJPY11crde+sgo8XRRTTR+KMoo3Gho3q2T15Ybjr5DXKV7QM952rNcDISLXJv+HiXNZDZ7s+FKK7PXiFeQnn5oBfP+PWWH6B93nUKlq4FaATP9evU2PFu3wHydHXSA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



FXyaGj9IL

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/X1VrJbwDAn9cnia5HCoSJ6KTdbAZbncm>

Jurado asignado según el tema:

Dr. José Mario Ordóñez	CIQ-UAEM
Dra. Angélica Berenice Aguilar Guadarrama	CIQ-UAEM
Dr. José Luis Viveros Ceballos	CIQ-UAEM
Dra. María de los Ángeles Ramírez Cisneros	CIQ-UAEM
Dra. Margarita I. Bernal-Uruchurtu	CIQ-UAEM

Candidato al grado:

Kevin Gonzalez

Kevin González Rincón

Director de tesis:



Dr. José Luis Viveros Ceballos

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, por ser mi segunda casa durante todo el periodo de mi carrera universitaria.

Al Centro de Investigaciones Químicas, por todos los conocimientos que pude adquirir gracias a los excelentes docentes que me impartieron alguna asignatura teórica o práctica.

Al Dr. José Luis Viveros Ceballos, por todos los conocimientos que pude obtener gracias a su manera de transmitirlos y hacer que me atrapara la química orgánica, por sus consejos y observaciones para siempre hacer las cosas de la mejor manera posible.

A los servicios técnicos del CIQ.

A mis amigos de grupo de investigación por hacer el tiempo en el laboratorio mucho más divertido y por su ayuda con mis dudas y preguntas.

A mis amigos de la carrera, por hacer los días menos cansados y estresantes.

A mis amigos externos a la carrera, por siempre brindarme su apoyo.

A mis papás por darme la oportunidad de estudiar una carrera universitaria y por su apoyo incondicional en todo este tiempo, y a mis hermanos por su apoyo y ayudarme a olvidar de a ratos el estrés generado por la carrera.

A Moy, Gary y July, mis mascotas, por darme su amor perruno y gatuno y acompañarme en las madrugadas de desvelo haciendo mi tarea o estudiando.

El presente trabajo se realizó en el Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (CIQ-UAEM), en el laboratorio 307, bajo la dirección del Dr. José Luis Viveros Ceballos, contando con el apoyo del proyecto CONACYT CB 2015-256985.

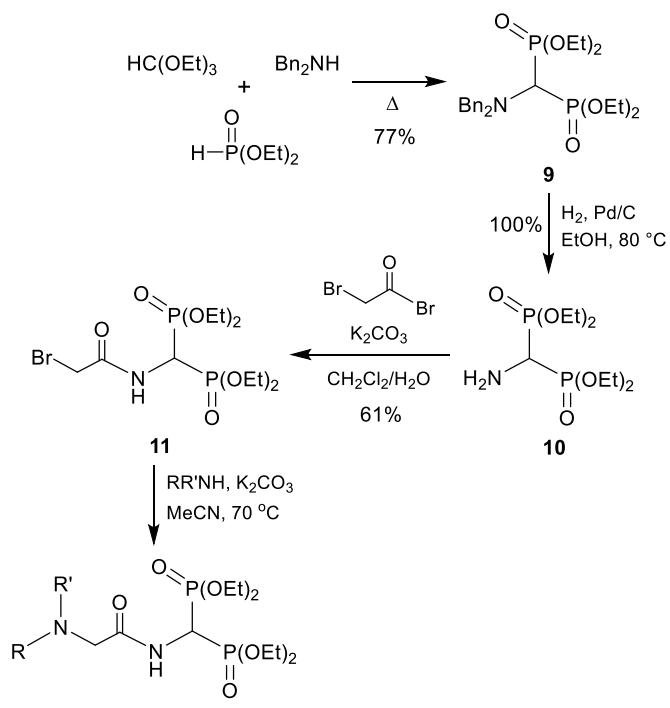
RESUMEN

Los ácidos α -aminofosfónicos pueden ser definidos como los análogos de los α -aminoácidos naturales, en los cuales el grupo ácido carboxílico es remplazado por un grupo ácido fosfónico. Y aunque difieren en su forma y acidez, pueden llegar a presentar propiedades similares, por lo que los análogos fosfónicos pueden actuar como falsos sustratos e inhibir enzimas.

Estos compuestos, considerados análogos hidrolíticamente estables del pirofosfato, presentan en su estructura el fragmento [P-C(N)-P], por lo que pueden presentar diferentes actividades biológicas y además ser quelantes de cationes metálicos, siendo esto último, lo que explica su principal aplicación: combatir la osteoporosis.

Considerando la importancia de los ácidos aminometilbifosfónicos y las amplias posibilidades de modificación estructural que ofrece el fragmento [P-C(N)-P], en este trabajo de investigación se propone el desarrollo de una metodología práctica y eficiente para la síntesis de derivados tipo 2-aminoacetamido del ácido aminometilbifosfónico, variando los sustituyentes en la posición *N*-terminal, los cuales son compuestos con amplio potencial biológico.

Para la síntesis de los compuestos objetivo, inicialmente se realizó una reacción multicomponente entre dibencilamina, ortoformiato de trietilo y fosfito de dietilo para generar el derivado *N,N*-dibencilado **9**, el cual se sometió a una reacción de hidrogenólisis catalizada con Pd/C, utilizando exclusivamente EtOH como disolvente y a una temperatura de 80 °C, obteniendo el correspondiente derivado con el grupo amino libre **10**. A continuación, sin purificación previa, el compuesto **10** se hizo reaccionar directamente con bromuro de bromoacetilo en presencia de K₂CO₃ en una mezcla de CH₂Cl₂/H₂O (4:1), durante 5h para obtener la bromoacetamida **11**, intermediario común para la obtención de los compuestos de interés. Una vez purificada, la bromoacetamida **11** se hizo reaccionar con dibencilamina en presencia de K₂CO₃, en acetonitrilo y a una temperatura de 70 °C durante 5 horas, obteniendo el compuesto **12a**. Considerando el buen rendimiento químico de esta transformación, las condiciones se replicaron para la preparación de los compuestos **12b** y **12c**.



12a; RR'NH = dibencilamina, 67%
12b; RR'NH = ciclohexilamina, 86%
12c; RR'NH = morfolina, 66%

INDICE DE CONTENIDO

1.- Introducción	1
2.- Antecedentes	4
2.1.- Osteoporosis	4
2.2.- Bisfosfonatos	6
2.3.- Bisfosfonatos empleados contra la osteoporosis	8
2.4.- Mecanismo de acción	9
2.5.- Seguridad de los bisfosfonatos	11
2.6.- Blanco biológico	11
2.7.- Ligando endógeno del blanco biológico y su similitud con los bisfosfonatos.	12
2.8.- Aspectos clínicos y efectos secundarios	13
2.9.- Diseño de los derivados tipo 2-aminoacetamido del ácido aminometilenbisfosfónico	15
2.10.- Síntesis de ácidos α -aminobisfosfónicos y α -aminobisfosfonatos	16
3.- Justificación	19
4.- Hipótesis	19
5.- Objetivo	20
5.1.- Objetivo general	20
5.2.- Objetivos específicos	20
6.-Resultados y discusión	21
6.1. Predicción de actividad biológica de las moléculas propuestas	21
6.2. Análisis retrosintético para la preparación de los α -aminometilenbisfosfonatos <i>N</i> -acilados 12a-c	21
6.3. Síntesis del α -aminometilenbisfosfonato <i>N,N</i> -dibencilado 9	22
6.4. Preparación de la bromoacetamida 11 , intermediario común para sintetizar los compuestos de interés	24
6.5. Síntesis de las moléculas objetivo 12a-c a partir de la bromoacetamida intermediaria 11	25
7.- Conclusiones	30
8.- Perspectivas	33
9. Parte experimental	34
9.1. Información general	34
9.2. Preparación del α -aminometilenbisfosfonato <i>N,N</i> -dibencilado 9	34

9.3. Preparación del α -aminometilenbisfosfonato con el grupo amino libre 10	35
9.4. Preparación de la bromoacetamida intermediaria 11	35
9.5. Preparación del (2-dibencilaminoacetamido)metilbisfosfonato de tetraetilo 12a	36
9.6. Preparación del (2-morfolinacetamido)metilbisfosfonato de tetraetilo 12b	37
9.7. Preparación del (2-ciclohexilaminoacetamido)metilbisfosfonato de tetraetilo 12c	37
10.- Anexo	39

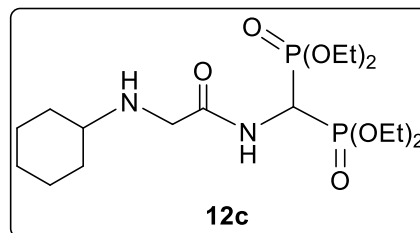
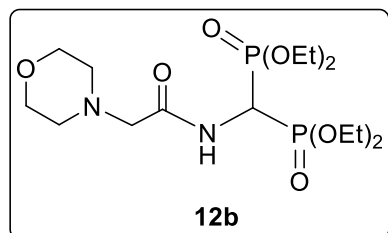
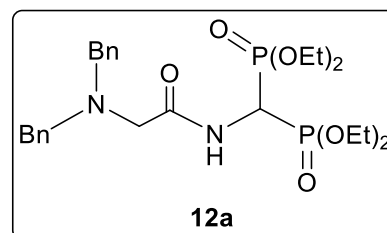
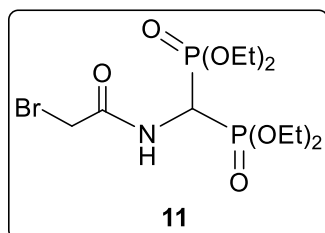
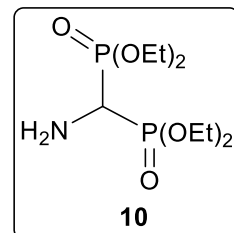
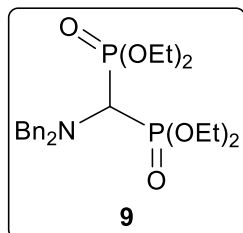
INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura general de α -aminoácidos, ácidos α -aminofosfónicos y ácidos α -aminometilenbisfosfónicos.	2
Figura 2. Primera generación de bisfosfonatos comerciales.	2
Figura 3. Ejemplos de bisfosfonatos nitrogenados y no nitrogenados.	8
Figura 4. Biosíntesis de pirofosfato de geranilo en la enzima farnesil pirofosfato sintetasa.	12
Figura 5. Comparación de las estructuras químicas de dimetilalil difosfato, isopentil difosfato y la estructura general de los bisfosfonatos.	12
Figura 6. Andamios resultantes del diseño de los derivados.	16
Figura 7. Resultados del estudio para la predicción de actividad biológica de las moléculas objetivo.	21
Figura 8. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) del compuesto 12a .	27
Figura 9. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) del compuesto 12a .	28
Figura 10. Espectro de RMN de ^{31}P (81 MHz, CDCl_3) del compuesto 12a .	29

INDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Mecanismos de acción de los bisfosfonatos según su estructura.	10
Esquema 2. Rutas para la síntesis de ácidos α -aminobisfosfónicos y α -aminobisfosfonatos.	16
Esquema 3. Ruta a) para la obtención de ácidos α -aminobisfosfónicos.	17
Esquema 4. Ruta b) para la obtención de ácidos α -aminobisfosfónicos y α -aminobisfosfonatos.	17
Esquema 5. Ruta c) para la obtención de ácidos α -aminobisfosfónicos y α -aminobisfosfonatos.	18
Esquema 6. Ruta d) para la obtención de ácidos α -aminobisfosfónicos y α -aminobisfosfonatos.	18
Esquema 7. Análisis retrosintético para la obtención de las moléculas objetivo.	22
Esquema 8. Reacción multicomponente para la obtención del α -aminometilenbisfosfonato <i>N,N</i> -dibencilado 9 .	23
Esquema 9. Mecanismo de reacción propuesto para la obtención del α -aminometilenbisfosfonato <i>N,N</i> -dibencilado 9 .	24
Esquema 10. Reacción de hidrogenólisis para la obtención del derivado con el grupo amino libre 10 .	25
Esquema 11. Reacción para la preparación de la bromoacetamida intermediaria 11 .	25
Esquema 12. Reacción para la síntesis del derivado <i>N,N</i> -dibencilado 12 .	25
Esquema 13. Reacción para la síntesis de los derivados que incorporan los núcleos de ciclohexilamina 12b y morfolina 12c .	29

ÍNDICE DE COMPUESTOS SINTETIZADOS



1.- Introducción.

La osteoporosis es un padecimiento óseo metabólico caracterizado por una baja masa ósea y un deterioro de la microarquitectura del tejido óseo. Las fracturas osteoporóticas más frecuentes son las fracturas del fémur proximal, las vértebras y el radio distal. La incidencia de fracturas varía mucho dependiendo del país, pero en promedio hasta el 50% de las mujeres mayores de 50 años están en riesgo de padecerlas.¹ Las fracturas afectan severamente la calidad de vida de un individuo y se están convirtiendo en un importante problema de salud pública debido al envejecimiento de la población.¹

Los ácidos α -aminofosfónicos pueden ser definidos como los análogos de los α -aminoácidos naturales, en los cuales el grupo ácido carboxílico es remplazado por un grupo ácido fosfónico. Aunque estos dos grupos difieren en su forma (tetraédrica para el grupo fosfónico y trigonal plana para el carboxílico) y acidez (siendo el grupo fosfónico significativamente más ácido),² por lo general presentan propiedades similares que se traduce en que los análogos fosfónicos puedan ser reconocidos por enzimas o receptores como falsos sustratos o inhibidores, de ahí su aplicación como inhibidores enzimáticos.²

Dentro de esta familia de compuestos, los ácidos aminometilenbisfosfónicos se caracterizan por la presencia del fragmento [P-C(N)-P] y pueden considerarse como análogos hidrolíticamente estables de pirofosfato, en el que un átomo de oxígeno se encuentra unido a los dos átomos de fósforo, sustituyendo el átomo de carbono (Figura 1).³ Estos compuestos han demostrado actividades biológicas importantes como antivirales y antimicrobianos;⁴ además, se distinguen por su capacidad para actuar como agentes quelantes de cationes metálicos.⁵ Es esta propiedad, la que

¹ Richard, E.; Terence, W. O.; Lorenz, C. H.; Bente, L.; Ian, R. R.; Deborah, T. G.; Steven, R. C. *Nat rev Dis primers*. **2016**, 2, 1-16.

² Mucha, A.; Kafarski, P.; Berlicki, L. *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 5995–5980.

³ Dunford, J. E.; Thompson, K.; Coxon, F. P.; Luckman, S. P.; Hahn, F. M.; Poulter, C. D.; Ebetino, F. H.; Rogers, M. J. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2001**, 296, 235–242.

⁴ Naydenova, E. D.; Todorov, P. T.; Troev, K. D. *Amino acids*. **2010**, 38, 23–30.

⁵ Kiss, T.; Lázár, I. Structure and Stability of Metal Complexes in Solution. *In Aminophosphonic And Aminophosphinic Acids. Chemistry and Biological Activity*; Kukhar, V. P.; Houdson, H. R.; Eds.; Jhon Wiley & Sons: Chichester. **2000**, 285–325.

explica su aplicación médica principal en el combate de la osteoporosis ya que presentan una afinidad muy fuerte por el tejido óseo, lo que los lleva a ser rápidamente absorbidos por la superficie del hueso.²

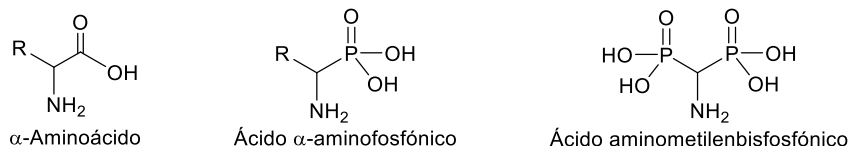


Figura 1. Estructura general de α-aminoácidos, ácidos α-aminofosfónicos y ácidos α-aminometilénbifosfónicos.

Así, diversos compuestos bisfosfónicos como el ácido etidróico, el ácido alendróico y el ácido zoledróico son utilizados para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el metabolismo del calcio y en donde existe un incremento de la resorción ósea, tales como la osteoporosis, metástasis óseas y la enfermedad de Paget.⁶ Sin embargo, el principal inconveniente de estos compuestos es su alta hidrofiliidad que limita su proceso de absorción, lo cual podría remediarse con la supresión del grupo hidroxilo o el incremento de la lipofilia con la incorporación de cadenas hidrofóbicas, razonamiento que llevó al ácido incandrónico, un ácido aminometilénbifosfónico que mostró un incremento en la actividad biológica (Figura 2).⁷

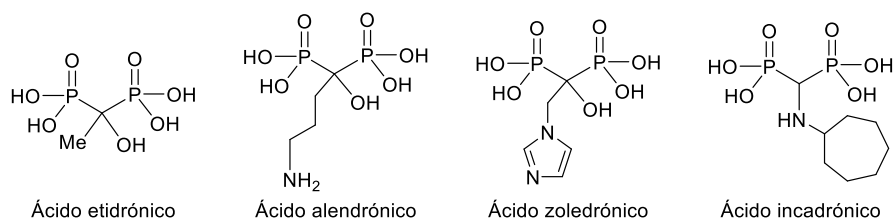


Figura 2. Primera generación de bisfosfonatos comerciales.

Considerando la importancia de los ácidos aminometilénbifosfónicos y las amplias posibilidades de modificación estructural que ofrece el fragmento [P-C(N)-P], en este trabajo de investigación se propone el desarrollo de una metodología práctica y eficiente para la síntesis de derivados tipo 2-aminoacetamido del ácido

⁶ Martin, M. B.; Arnold, W.; Heath III, H. T.; Urbina, J. A.; Oldfield, E. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1999**, 263, 754–758.

⁷ Takeuchi, M.; Sakamoto, S.; Yoshida, M.; Abe, T.; Isomura, Y. *Chem Pharm Bull.* **1993**, 41, 688–693.

aminometilenbisfosfónico, variando los sustituyentes en la posición *N*-terminal, los cuales son compuestos con amplio potencial biológico.

2.- Antecedentes.

2.1.- Osteoporosis.

La osteoporosis es una enfermedad generalizada del hueso que se caracteriza por una disminución de la masa ósea y una alteración de su microestructura, que provoca un aumento del riesgo de fracturas, mejor definida como “enfermedad esquelética sistémica” que se caracteriza por densidad mineral ósea baja y deterioro de la microarquitectura del tejido óseo, con el consecuente aumento de la fragilidad del hueso y la susceptibilidad a presentar fracturas.⁸ Específicamente, esta enfermedad produce una pérdida, adelgazamiento y falta de conexión entre las trabéculas óseas, además de una alteración en el remodelado y la geometría ósea.⁹ En general, el tratamiento de la osteoporosis debe ser preventivo, y ha de comenzar antes de que la destrucción de la estructura ósea sea irreversible. Las fracturas son las únicas consecuencias clínicas y se pueden producir en cualquier región, siendo las más relevantes las que afectan al fémur proximal, al antebrazo distal y a la columna vertebral. Las fracturas del tercio superior del fémur (cadera) son las más graves, ya que conllevan una mortalidad mayor (del 15 al 50% en los primeros meses) y suponen un elevado gasto sanitario. Se estima que, de aquí a la mitad del siglo, el número de fracturas del cuello del fémur se triplicará en el mundo, pasando de 1,7 millones en 1990 a 6,3 millones en el año 2050.¹⁰

La masa ósea disminuye con la edad, y por ello la incidencia de fracturas aumenta exponencialmente y llega a ser un problema alarmante en la población de edad avanzada, un sector demográfico con clara tendencia ascendente.

El hueso se encuentra sometido de forma permanente a un proceso de remodelado que repara las microfracturas y mantiene la estructura ósea sana. La eficacia de este proceso depende de un equilibrio entre la actividad resorptiva (osteoclástica) y la neoformadora (osteoblástica). En la osteoporosis este equilibrio se rompe, bien

⁸ Peck, W. A. *Am J Med.* **1993**, *94*, 646–650.

⁹ Recker, R.; Barger-Lux, M. *Curr Osteoporos Rep.* **2004**, *2*, 97–100.

¹⁰ Martin-Aragon, S.; Benedi, J. *Farm prof.* **2004**, *18*, 60–65.

por la formación de cavidades erosivas demasiado grandes, o porque el hueso nuevo formado es demasiado escaso para ocuparlas.⁷

Existen diversos factores de riesgo implicados en el desarrollo de la enfermedad de osteoporosis y, por ende, de fracturas. Los cuales son:

- **Hipogonadismo:** En la mujer, el déficit de estrógenos en la etapa de la menopausia es un factor de riesgo establecido de pérdida de densidad mineral ósea, provocada por la activación de los osteoclastos llevando a un aumento significativo de la resorción ósea. En los hombres, el déficit de andrógenos se ha relacionado con el aumento de la pérdida de densidad mineral ósea.¹¹
- **Sexo:** El sexo femenino, presenta un mayor riesgo de padecer cualquier tipo de fractura osteoporótica. Esto ha sido atribuido a que el sexo masculino presenta una mayor densidad mineral ósea; así como, a diferencias el tamaño y ancho de los huesos.^{12,13}
- **Edad:** La remodelación ósea (formación y resorción ósea) está en equilibrio de los 30 a los 35 años, pero después de estos años comienza a presentarse la pérdida de densidad de mineral óseo, en donde se ven involucrados, el comienzo de la menopausia en las mujeres y la disminución de la secreción de testosterona en los hombres, a partir de los 60 años.^{12,13}
- **Embarazo y lactancia:** El embarazo y la lactancia son otros de los factores importantes, ya que durante este periodo las necesidades de calcio son más elevadas, lo que provoca una pérdida de densidad de mineral óseo.^{12,13}

¹¹ Ebeling, P. R. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* **2010**, *17*, 284–292.

¹² Mundy, G.; Chen, D.; Oyajobi, B. *Primer on metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism.* Washington. **2003**, 46–57.

¹³ Turner, C. *Osteoporos Int.* **2002**, *13*, 97–104.

- **Inactividad crónica:** Otro de los factores importantes es el sedentarismo y la falta de actividad motriz, ya que puede llegar a provocar hasta un 30% de pérdida de densidad mineral ósea. En determinadas circunstancias, también puede provocarse por parálisis provocadas por lesiones espinales, paraplejía y por inmovilización por fracturas de miembros inferiores.^{12,13}
- **Tabaco:** El tabaco duplica el riesgo de osteoporosis. En las mujeres que fuman, se presenta una disminución de densidad mineral ósea en un porcentaje del 10-50%.^{12,13}
- **Consumo de fármacos:** Hay una lista muy amplia de fármacos que influyen de manera negativa en los huesos, ya que provocan una pérdida directa o indirecta de la densidad mineral ósea. En esta lista podemos encontrar los glucocorticoides, los anti-andrógenos y anti-estrógenos, además de antiepilépticos e inmunosupresores.^{12,13}
- **Enfermedades sistémicas:** Distintas enfermedades sistémicas han sido asociadas con la pérdida de densidad mineral ósea y osteoporosis, como pueden ser las enfermedades gastrointestinales (Celiaquía, intolerancia a la lactosa o gastrectomía), enfermedades hematológicas (mieloma), enfermedades inflamatorias (artritis reumatoide, enfermedad de Crohn) y también enfermedades endocrinológicas (hipercortisolismo endógeno o exógeno, hipertiroidismo y diabetes mellitus tipo I).^{12,13}

2.2.- Bisfosfonatos.

Los bisfosfonatos se usaron inicialmente en el tratamiento de la enfermedad de Paget, pero los buenos resultados obtenidos en la osteoporosis los han convertido en otro de los tratamientos básicos para la enfermedad.⁷

Estructuralmente, los bisfosfonatos son derivados químicamente estables del pirofosfato inorgánico (PPi), un compuesto natural en el que 2 grupos fosfato están unidos por esterificación. Dentro de los humanos, PPi se libera como un

subproducto de muchas de las reacciones sintéticas del cuerpo; por lo tanto, se puede detectar fácilmente en muchos tejidos, incluida la sangre y la orina.¹⁴

Los estudios pioneros de la década de 1960, demostraron que PPI era capaz de inhibir la calcificación, al unirse a los cristales de hidroxapatita (constituyente inorgánico de los huesos y dientes), lo que lleva a la hipótesis de que la regulación de los niveles de PPI podría ser el mecanismo por el cual se regula la mineralización ósea.¹⁵ Además de su capacidad para inhibir la calcificación, los bisfosfonatos inhiben la descomposición de la hidroxapatita, suprimiendo así la resorción ósea.¹⁶

Los primeros bisfosfonatos que no contienen nitrógeno (etidronato, clodronato y tiludronato) se consideran bisfosfonatos de primera generación. Debido a su estrecha similitud estructural con PPI. Los bisfosfonatos que no contienen nitrógeno se incorporan a las moléculas de trifosfato de adenosina (ATP) recién formado por la absorción de clase II de la superficie mineral ósea.⁸ Se cree que la acumulación intracelular de estos análogos de ATP no hidrolizables es citotóxica para los osteoclastos porque inhiben múltiples procesos celulares dependientes de ATP, lo que conduce a la apoptosis (muerte celular provocada por el mismo organismo, con el fin de controlar su desarrollo y crecimiento, y está desencadenada por señales celulares controladas genéticamente) de los osteoclastos.¹⁷

A diferencia de los bisfosfonatos tempranos, los bisfosfonatos de segunda y tercera generación (alendronato, risedronato, ibandronato, pamidronato y ácido zoledrónico) tienen cadenas laterales que contienen nitrógeno (Figura 3). El mecanismo por el cual los bisfosfonatos que contienen nitrógeno promueven la apoptosis de los osteoclastos, es distinto al de los bisfosfonatos que no contienen nitrógeno, y se relaciona con la inhibición de la enzima farnesil pirofosfato (FPP) sintasa.¹⁸

¹⁴ Russell R.G. *Ann N Y Acad Sci.* **2006**, 1068, 367–401.

¹⁵ Fleisch, H.; Russell R.G.; Straumann, F. *Nature.* **1966**, 212, 901–903.

¹⁶ Russell, R.G.; Muhlbauer, R.C.; Bisaz, S.; Williams, D.A.; Fleisch, H. *Calcif Tissue Res.* **1970**, 6, 183–196.

¹⁷ Drake, M.T.; Clarke, B.L.; Khosla, S. *Mayo Clin Proc.* **2008**, 83, 1032–1045.

¹⁸ Dunford, J.E.; Thompson, K.; Coxon, F.P.; Luckman, S.P.; Hahn, F.M.; Poulter, C.D.; Ebetino, F.H.; Rogers, M.J. *J Pharmacol Exp Ther.* **2001**, 296(2), 235–242

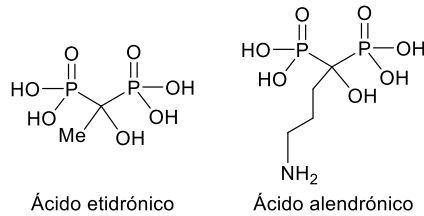


Figura 3. Ejemplos de bisfosfonatos nitrogenados y no nitrogenados.

La capacidad de inhibición de la resorción ósea ligada a los bisfosfonatos parece estar potenciada por la presencia de grupos amino en la cadena lateral, tal como ocurre en el alendronato. Esta capacidad es máxima cuando el grupo está integrado dentro de un anillo aromático (piridina), como ocurre en el risedronato. Los tratamientos para retrasar la resorción ósea son mucho más efectivos que los destinados a promover la remineralización.⁷

2.3.- Bisfosfonatos empleados contra la osteoporosis.

Los bisfosfonatos más utilizados actualmente para el tratamiento de la osteoporosis son los siguientes:

- Etidronato.

Es eficaz en la prevención de fracturas vertebrales en mujeres osteoporóticas, aunque no existe evidencia suficiente sobre su eficacia frente a las fracturas no vertebrales. Se administra a dosis de 400 mg/día, por vía oral, en ciclos de 2 semanas cada trimestre. Sus efectos adversos son poco importantes e infrecuentes y, de forma ocasional, puede causar intolerancia digestiva.⁷

- Alendronato.

Se ha demostrado que es eficaz en mujeres con osteoporosis o con antecedentes de fracturas por fragilidad ósea, reduciendo de forma significativa el riesgo de sufrir fracturas vertebrales y no vertebrales, incluso las de cadera. Se administra por vía oral, a dosis de 10 mg/día. Debe tomarse como mínimo 30 minutos antes de la primera comida, bebida o medicación del día, únicamente con agua. La FDA ha aprobado la dosis de 5 mg/día para la prevención de osteoporosis y, recientemente, la dosis única semanal de 70 mg para el tratamiento de la osteoporosis.⁷

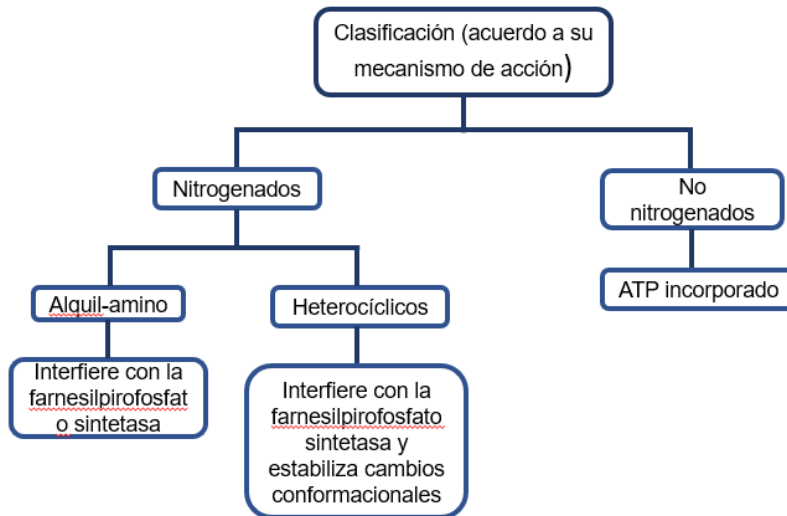
- Risedronato.

Se incorpora al ya amplio grupo de bisfosfonatos, agentes inhibidores de la resorción ósea, cuyo interés terapéutico ha ido creciendo con los años y, especialmente, con la evolución de su estructura molecular. La elevada potencia de su actividad inhibitoria de la resorción ósea, le hace especialmente interesante en la prevención o el tratamiento de las patologías que se caracterizan por una alteración sustancial del metabolismo óseo. Inhibe de forma potente la resorción ósea, pero sin afectar al proceso de mineralización del hueso. Algunos estudios indican que es capaz de provocar la apoptosis de los osteoclastos. Se ha demostrado el efecto beneficioso del risedronato en la reducción del riesgo de fracturas vertebrales y no vertebrales en mujeres posmenopáusicas con osteoporosis y con fracturas. Se administra por vía oral a dosis de 5 mg/día.⁷

2.4.- Mecanismo de acción.

Tal como se señaló de manera general, los bisfosfonatos disminuyen el ritmo de la resorción ósea y retrasan la pérdida ósea por 2 mecanismos: (1) Los bisfosfonatos que no contienen nitrógeno tienen similitud con el pirofosfato, que se incorporan a la molécula de adenosina trifosfato (ATP), produciendo ATP no hidrolizable, que se acumula e inhibe múltiples procesos celulares dependientes de ATP y, finalmente, causa toxicidad; (2) los bisfosfonatos que contienen nitrógeno inhiben la enzima farnesil pirofosfato (FPP) sintasa, implicada en la vía del mevalonato, que es necesaria para la construcción del citoesqueleto y la supervivencia del osteoclasto. Esta vía es crítica para la producción de esteroides, como el colesterol y los lípidos isoprenoides. Estos esteroides son esenciales para las modificaciones postraduccionales de proteínas. Ejemplos de esto son las modificaciones a las proteínas unidas al trifosfato de guanosina como Rab, Rac y Rho.¹⁰

Estas proteínas están involucradas en procesos centrales de regulación de las actividades celulares del osteoclasto, como el ensamblaje de fibras, el plegamiento de la membrana y la supervivencia. Su alteración genera, finalmente, la apoptosis del osteoclasto y evita la resorción ósea (Esquema 1).¹⁰



Esquema 1. Mecanismos de acción de los bisfosfonatos según su estructura.

Los aminobisfosfonatos presentan además un mecanismo de acción adicional al mencionado anteriormente, se trata de su capacidad de incrementar la vida media de los osteocitos, que no es otra cosa más que evitar un proceso apoptótico prematuro, como se observa en la osteoporosis. Esto ha sido demostrado en modelos *in vitro* e *in vivo* de osteoporosis inducida por corticoides, tratada con etidronato, alendronato, pamidronato y olpadronato.¹⁹

Respecto del mecanismo de acción a nivel molecular, Hawkins ha publicado anteriormente una buena revisión sobre este mecanismo, donde se plantea que los bisfosfonatos pueden provocar alteraciones citoesqueléticas que provocan cambios en la morfología del osteoclasto, principalmente en el borde rugoso que estos poseen, y al parecer, se pierde. La pérdida de este borde puede llegar a explicar la disminución de la adhesión que los osteoclastos tienen sobre la superficie ósea, disminuyendo así su actividad biológica a ese nivel, que en realidad es el más activo metabólicamente en la resorción ósea.²⁰

¹⁹ Plotkin, L.; Weinstein, R.; Parfitt, A.; Roberson, K.; Manolagas, S.; Bellido, T. *J Clin Invest.* **1999**, *104*, 1363–1374.

²⁰ Hawkins, F.; Jodar, E. *REEMO.* **2000**, *9*, 169–171.

2.5.- Seguridad de los bisfosfonatos.

Los bisfosfonatos modernos se han empleado eficazmente en tratamientos prolongados contra osteoporosis, mostrando una buena tolerancia cuando las indicaciones médicas se siguen al pie de la letra.^{21,22}

Con respecto a su seguridad, se han realizado estudios tridimensionales de la microestructura y las propiedades mecánicas del hueso esponjoso presente en la columna lumbar canina, donde fueron tratados con aledronato o residronato por un periodo de un año y se demostró que estos bisfosfonatos aumentan efectivamente el volumen óseo, el grosor trabecular, y a su vez, mejoran las propiedades mecánicas de los huesos en cuestión.²³

Además, diversos estudios histomorfométricos y microrradiográficos de tejido óseo, proveniente de mujeres postmenopáusicas bajo el tratamiento con aledronato, han indicado un aumento de densidad mineral ósea (DMO) y la reducción de las fracturas, gracias al aumento de la mineralización, mayor efectividad en el control del remodelado óseo y el rellenado de los espacios previamente vacíos en la microarquitectura del hueso.^{24,25}

2.6.- Blanco biológico.

La farnesil pirofosfato sintetasa, también conocida como dimetiltransferasa, es una enzima que se encuentra involucrada en la biosíntesis de precursores terpenoides que participan en la síntesis de importantes compuestos y metabolitos secundarios en diferentes organismos, tales como los monoterpenoides, ruta que se origina con el compuesto geranil difosfato. A su vez, el geranil difosfato es un compuesto necesario para la síntesis de farnesil difosfato, compuesto del que derivan los *ditrans*-policis-poliprenoles, sesquiterpenoides, preescualeno difosfato (del cual a su vez derivan los triterpenoides y los esteroides); vía geranilgeranilo difosfato en la

²¹ Rizzoli, R.; Greenspan, S.; Bone, G 3rd.; Schnitzer, T.; Watts, N.; Adami, S.; Foldes, A.J.; Roux, C.; Levine, M.A.; Uebelhart, B.; Santora 2nd, A.C.; Kaur, A.; Peverly, C.A.; Orloff, J.J. *J Bone Miner Res.* **2002**, *17*, 1988–1996.

²² Gordon, M.; Gordon M. *Endocr Pract.* **2002**, *8*, 202–207.

²³ Ding, M.; Day, J.; Burr, B.; Mashiba, T.; Hirano, T.; Weinans, H. et all. *Calcif Tissue Int.* **2003**, *72*, 737–744.

²⁴ Chavassieux, P.; Arlot, M.; Reda, C.; Wei, L.; Yates, A.; Meunier, P. *J Clin Invest.* **1997**, *100*, 1475–1480.

²⁵ Eriksen, E.; Melsen, F.; Sod, E.; Barton, I.; Chines, A. *Bone.* **2002**, *31*, 620–625.

síntesis de diterpenoides y carotenoides; y vía geranilfarnesil difosfato en la síntesis de sesterpenoides y sesquiterpenoides. Esta enzima se encarga de catalizar la reacción química entre el dimetilalil difosfato y el isopentil difosfato, para obtener como producto pirofosfato de geranilo (GPP) (Figura 4).²⁶

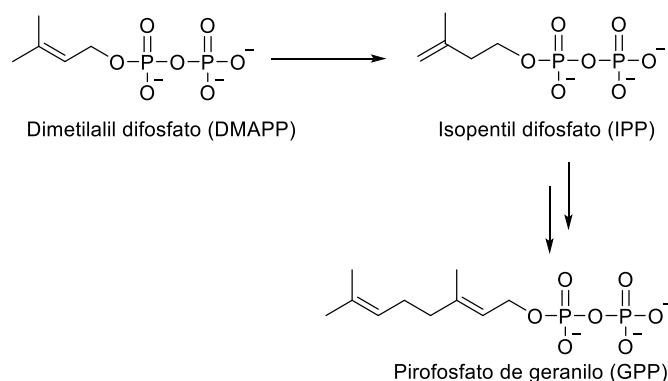


Figura 4. Biosíntesis de pirofosfato de geranilo en la enzima farnesil pirofosfato sintetasa.

2.7.- Ligando endógeno del blanco biológico y su similitud con los bisfosfonatos.

El blanco biológico de los bisfosfonatos nitrogenados es la enzima farnesil pirofosfato sintetasa, que participa en la catálisis de una reacción biológica entre dos sustratos, el dimetilalil difosfato y el isopentil difosfato, que poseen en su estructura un grupo difosfato. Esta característica, es la principal semejanza con los bisfosfonatos, que, aunque en este caso se presenta un átomo de carbono entre los dos fosfonatos, logran ser reconocidos por la enzima, actuando como un inhibidor competitivo.

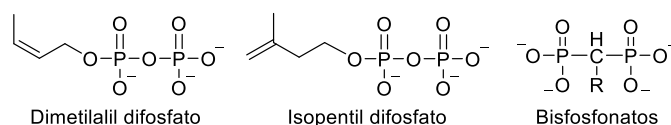


Figura 5. Comparación de las estructuras químicas de dimetilalil difosfato, isopentil difosfato contra la estructura general de los bisfosfonatos.

²⁶ Banthorpe, D. V.; Bucknall, G. A.; Doonan, S.; Doonan, H.J.; Rowan, M. G. *Phytochemistry*. **1967**, *15*, 91–100.

2.8.- Aspectos clínicos y efectos secundarios.

Ya que los bisfosfonatos no son biodegradables, son almacenados y excretados por el cuerpo sin ser metabolizados. Mientras que la biodisponibilidad de una dosis intravenosa es del 100%, la biodisponibilidad de una dosis oral es solo del 1 al 5%. La absorción se logra a través de la difusión pasiva en el estómago y el intestino, y disminuye cuando el medicamento se administra con las comidas, especialmente en presencia de calcio, por lo que se recomienda que su administración ocurra al menos 30 minutos antes del desayuno (aunque también se puede administrar 2-3 horas después una comida) y sólo con agua.

Desde su introducción a la práctica clínica hace más de 3 décadas, los bisfosfonatos se han utilizado cada vez más para una variedad de trastornos esqueléticos. Los bisfosfonatos ahora se usan para tratar afecciones tan variadas como trastornos esqueléticos hereditarios en niños, osteoporosis posmenopáusica e inducida por glucocorticoides (GIO) y metástasis óseas en pacientes con neoplasias malignas. Los bisfosfonatos pueden ofrecer un beneficio clínico sustancial en condiciones en las que un desequilibrio entre la formación ósea mediada por osteoblastos y la resorción ósea mediada por osteoclastos subyace en la patología de la enfermedad; sin embargo, los bisfosfonatos pueden llegar a presentar diferentes afectaciones patológicas, como pueden ser:

- Osteonecrosis de la mandíbula

Entre los posibles eventos clínicos adversos asociados con el uso de bisfosfonatos, ninguno ha recibido mayor atención que la osteonecrosis de mandíbula (ONM). Casi todos los casos de ONM (94%) se han descrito en pacientes que reciben altas dosis de bisfosfonatos IV (principalmente ácido zoledrónico y pamidronato) para afecciones oncológicas.²⁷

²⁷ Woo, S.B.; Hellstein, J.W.; Kalmar, J.R. *Ann Intern Med.* **2006**, *144*(10), 753–761.

- Fibrilación auricular

Además de la preocupación por la ONM, otra preocupación con la terapia con bisfosfonatos, que recientemente ha salido a la luz, es la fibrilación auricular. En el ensayo HORIZON Pivotal Fracture Trial, en el que los pacientes fueron tratados anualmente con ácido zoledrónico IV, se observó un aumento estadísticamente significativo en la incidencia de fibrilación auricular (o arritmia) grave.²⁸

- Respuesta inflamatoria aguda

Aproximadamente del 10% al 30% de los pacientes que reciben su primera infusión de bisfosfonato, que contiene nitrógeno, experimentarán una reacción de fase aguda, caracterizada más comúnmente por pirexia transitoria con mialgias, artralgias, dolores de cabeza y síntomas similares asociados a la gripe. Esta tasa disminuye en más de la mitad con cada infusión posterior, de modo que se encontró una tasa del 2.8% después de la tercera infusión.¹⁴

- Efectos adversos oculares

Se ha informado que el uso de bisfosfonatos intravenosos y orales puede generar efectos adversos oculares por un aumento transitorio de las citocinas pirogénicas y una mayor producción de interleucina-6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) mediada por γ / δ linfocitos T.²⁹

- Toxicidad renal

La toxicidad renal es infrecuente en pacientes con osteoporosis tratados con bisfosfonatos (BF) orales y los casos publicados son anecdóticos. La mayoría de los casos de toxicidad renal publicados se observaron con el uso de BF intravenosos.³⁰

²⁸ Black, D.M.; Delmas, P.D.; Eastell, R.; et al. *N Engl J Me.*, **2007**, *356(18)*, 1809–1822.

²⁹ Diel, I.J.; Bergner, R.; Grötz, K.A. *J Support Oncol.* **2007**, *5*, ,475–482.

³⁰ Balla, J. *Oncologist.* **2005**, *10*, 306–308.

2.9.- Diseño de los derivados tipo 2-aminoacetamido del ácido aminometilenbisfosfónico.

Las moléculas objetivo presentadas en este trabajo, fueron diseñadas racionalmente en nuestro grupo.³¹ A continuación, se señalan los pasos que se siguieron para el diseño racional de las moléculas objetivo.

Como primer paso, se realizó un *docking* flexible, donde se utilizó el ácido minodrónico como referencia. Lo primero que se observó en este estudio, es que los ácidos aminobisfosfónicos interaccionan electrostáticamente con tres iones de Mg^{+2} que se encuentran en el sitio activo de la enzima, estabilizados por residuos de aspartato. Además, se observó que el ligando puede establecer interacciones de distinto tipo, como enlaces de hidrógeno, con diferentes residuos clave para la actividad biológica.

Gracias a lo observado en el estudio de *docking* y a la problemática que presentan los ácidos aminobisfosfónicos sobre su biodisponibilidad, se propuso eliminar el grupo -OH ya que no es indispensable para que los compuestos presenten una alta actividad biológica. Esto condujo al remplazo bioisotérico de este grupo funcional por otro (-NH) que mantuviese la formación de enlaces de hidrógeno. Además, se observó que la distancia entre los átomos de fósforo y la amina es crucial en varios ejemplos donde se presentan las mejores características farmacodinámicas. Así, el nitrógeno se encuentra en la posición 6 de la cadena lateral de los ácidos aledrónico, zoledrónico y risedrónico.

Esta información, condujo al andamio A, en el que la estructura presenta dos átomos de nitrógeno, uno colocado en la posición 3 y el otro en la posición 6. El primero de ellos se estabilizaría para formar enlaces de hidrógeno, y el segundo, tiene el objetivo de mimetizar el carbocación generado en el estado de transición. Por otro lado, en el andamio B, se inserta un grupo amida en la posición 3 de la cadena lateral, ya que podría conferir interacciones de enlace de hidrógeno adicionales con el motivo de aspartato y residuos de arginina y lisina.

³¹ Marbán-González, A. *Diseño y síntesis de α -amino-bis-fosfonatos N-sustituídos como posibles inhibidores de la enzima farnesil pirofosfato sintasa*. Cuernavaca, Morelos, México, **2018**.

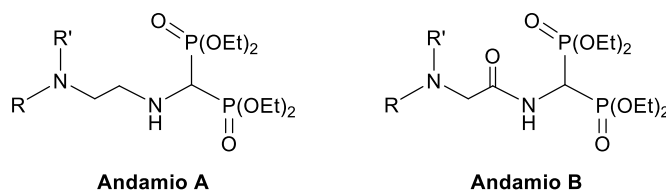
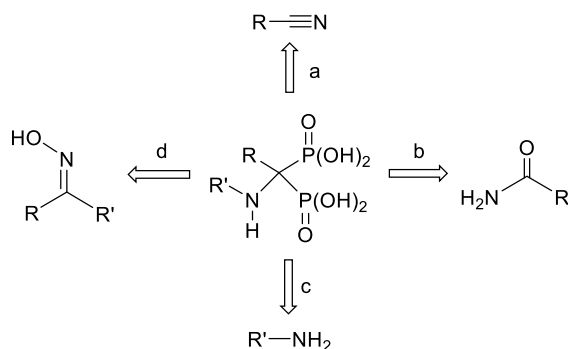


Figura 6. Andamios resultantes del diseño de los derivados.

2.10.- Síntesis de ácidos α -aminobisfosfónicos y α -aminobisfosfonatos.

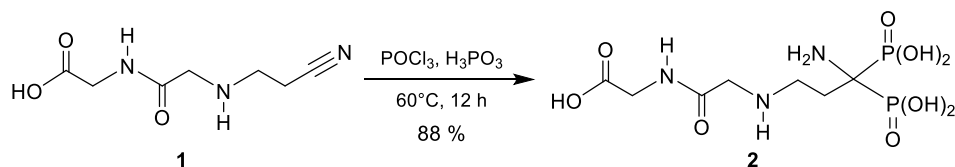
Los ácidos α -aminobisfosfónicos pueden obtenerse por diferentes rutas de síntesis. Una de ellas es la adición de nucleófilos de fósforo a compuestos que presentan en su estructura nitrilos (a) y amidas cíclicas o acíclicas (b). Otra forma de obtener estos compuestos es a partir de reacciones de tres componentes entre aminas primarias o secundarias, agentes fosforilantes y aldehídos (c). También se pueden obtener a través de la reacción de reordenamiento de Beckmann y, como segundo paso, la adición de nucleófilos de fósforo (d) (Esquema 2). A continuación, se detallan brevemente.



Esquema 2. Rutas para la síntesis de ácidos α -aminobisfosfónicos y α -aminobisfosfonatos.

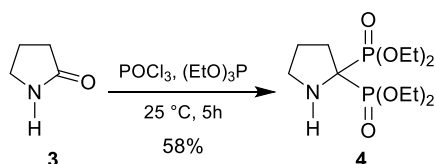
Los ácidos α -aminobisfosfónicos se pueden sintetizar a partir de nitrilos (ruta a). Un claro ejemplo es la reacción del péptido que incorpora un nitrilo **1** con tricloruro de fósforo y ácido fosforoso, proporcionando el ácido α -aminobisfosfónico **2** con un 88% de rendimiento químico (Esquema 3).³²

³² Romanenko, V. D.; Kukhar, V. P. *Arkivoc.* **2012**, 5, 127–166.



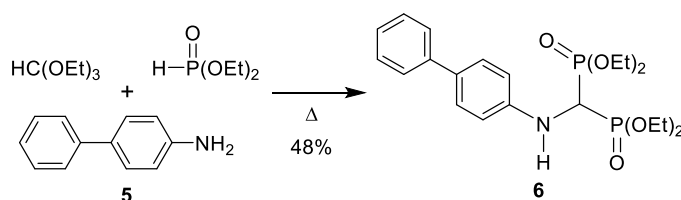
Esquema 3. Ruta a) para la obtención de ácidos α -aminobisfosfónicos.

Este tipo de compuestos puede obtenerse también a partir de una reacción entre la pirrolidin-2-ona **3** con oxiclورو de fósforo y fosfito de trietilo (ruta b), obteniendo como producto el pirrolidin-2,2-bis-fosfonato de tetraetilo **4** con un rendimiento de 58% (Esquema 4).³³



Esquema 4. Ruta b) para la obtención de ácidos α -aminobisfosfónicos y α -aminobisfosfonatos.

Otro método práctico para llevar a cabo la síntesis de una gran variedad de α -aminobisfosfonatos, son las llamadas reacciones de tres componentes (ruta c). Un ejemplo de ello es la reacción de la 4-[1,1'-bifenil]-amina **5** con ortoformiato de trietilo y fosfito de dietilo a reflujo, obteniendo como producto el α -aminobisfosfonato **6** con un rendimiento químico del 48% (Esquema 5).^{34,35}



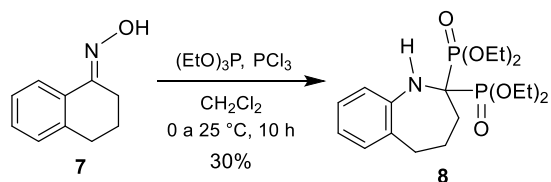
Esquema 5. Ruta c) para la obtención de ácidos α -aminobisfosfónicos y α -aminobisfosfonatos.

³³ Olive, G.; Le Moigne, F.; Mereier, A.; Tordo, P. *Synthetic Commun.* **2000**, *30*, 619–627.

³⁴ Kaboudin, B.; Alipour, S. *Tetrahedron lett.* **2009**, *50*, 4243–4245.

³⁵ Ghosh, S.; Chan, J. M.; Lea, C. R.; Meints, G. A.; Lewis, J. C.; Tovian, Z. S.; Flessner, R. M.; Loftus, T. C.; Bruchhaus, L.; Kendrick, H.; Croft, S. L.; Kemo, R. G.; Kobayashi, S.; Nozaki, T.; Olfield, E. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 175–187.

Otro método que se puede utilizar para la síntesis de este tipo de compuestos es a partir de la oxima **7** (ruta d), que por medio del reordenamiento de Beckmann genera un iminocarboación, que al hacerse reaccionar con fosfito de trietilo y tricloruro de fósforo en diclorometano, da lugar al α -aminobisfosfonato de tetraetilo **8** con un rendimiento de reacción de 30% (Esquema 6).³⁶



Esquema 6. Ruta d) para la obtención de ácidos α -aminobisfosfónicos y α -aminobisfosfonatos.

³⁶ Yokomatsu, T.; Yoshida, Y.; Nakayabashi, N.; Shibuya, S. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7562–7564.

3.- Justificación.

Considerando por un lado, que la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha catalogado a la osteoporosis como una de las epidemias de este siglo por ser una de las enfermedades crónicas y progresivas más comunes a nivel mundial, y por el otro, la importancia de los ácidos aminometilenbisfosfónicos para el tratamiento de la misma, en este trabajo de investigación, se propone el desarrollo de una metodología práctica y eficiente para la síntesis de derivados tipo 2-aminoacetamido del ácido aminometilenbisfosfónico, variando los sustituyentes en la posición *N*-terminal, los cuales son compuestos con amplio potencial biológico para el tratamiento de la osteoporosis.

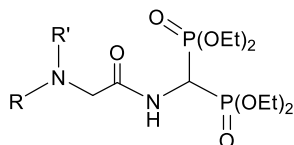
4.- Hipótesis.

El α -aminometilenbisfosfonato **9** puede servir como un intermediario sintético valioso en la síntesis de distintos derivados tipo 2-aminoacetamido del ácido aminometilenbisfosfónico.

5.- Objetivo.

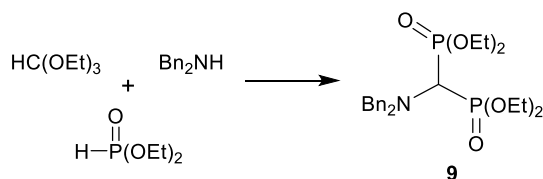
5.1.- Objetivo general.

- Desarrollar una metodología práctica y eficiente para la síntesis de una serie de derivados tipo 2-aminoacetamido del ácido aminometilenbisfosfónico.

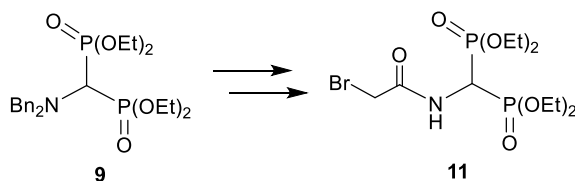


5.2.- Objetivos específicos.

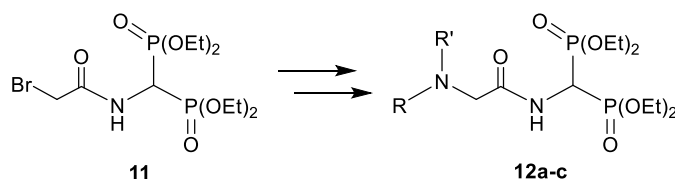
- Construir la estructura del α -aminometilenbisfosfonato a partir de una reacción de tres componentes.



- Obtener la bromoacetamida **11** a partir del α -aminometilenbisfosfonato *N,N*-dibencilado **9**, siendo la primera el intermediario común para tener acceso a los compuestos de interés.



- Establecer las condiciones óptimas para la síntesis de las moléculas **12a-c** a partir de la bromoacetamida intermediaria **11**.



6.-Resultados y discusión.

6.1. Predicción de actividad biológica de las moléculas propuestas.

El *software* de acceso libre PASS Online (Calculo de actividad para sustancias) predice más de 4000 tipos de actividad biológica, incluidos efectos farmacológicos, mecanismos de acción, efectos tóxicos y adversos, interacción con enzimas y transportadores metabólicos, influencia en la expresión genética, etc. PASS proporciona predicciones simultáneas de distintos tipos de actividad biológica basado en la estructura de los compuestos orgánicos. PASS se puede utilizar para estimar los perfiles de actividad biológica de moléculas virtuales, antes de su síntesis química y evaluación biológica. La precisión media de PASS es de aproximadamente el 95.5%.

El enfoque utilizado en PASS se basa en la premisa de que la actividad de un compuesto es función de su estructura. Por tanto, al comparar la estructura de un compuesto con las estructuras de sustancias biológicamente activas, es posible predecir si tal compuesto puede tener un efecto particular.

Los estudios realizados a las moléculas objetivo con este programa, arrojan una predicción biológica bastante prometedora, ya que las probabilidades de actividad (Pa) antiosteoporótica son superiores a 0.8, siendo 1.0 el valor máximo esperado.

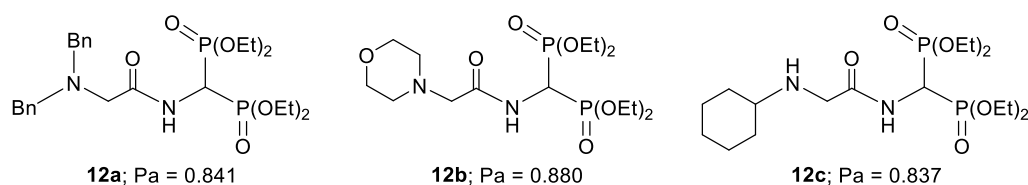
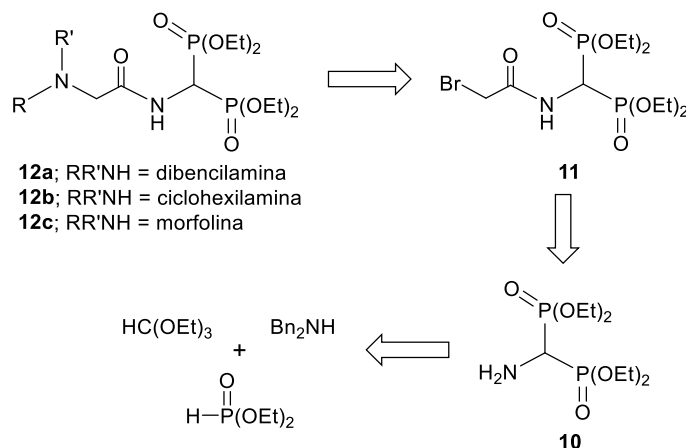


Figura 7. Resultados del estudio para la predicción de actividad biológica de las moléculas objetivo.

6.2. Análisis retrosintético para la preparación de los α -aminometilbisfosfonatos *N*-acilados 12a-c.

Para la preparación de las moléculas objetivo **12a-c**, inicialmente se propuso el análisis retrosintético mostrado en el Esquema 7, de esta manera, se puede

observar que los α -aminometilenbisfosfonatos *N*-acilados **12a-c**, se pueden obtener a partir de una sustitución nucleofílica en el carbono α de la bromoacetamida **11**, la cual puede provenir de la *N*-acilación del α -aminobisfosfonato **10** que, a su vez, puede obtenerse a partir de una reacción multicomponente “A₂BC 4CR” entre ortoformiato de trietilo, fosfito de dietilo y dibencilamina (Esquema 7).



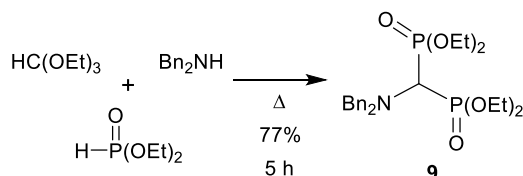
Esquema 7. Análisis retrosintético para la obtención de las moléculas objetivo.

6.3. Síntesis del α -aminometilenbisfosfonato *N,N*-dibencilado **9**.

Para la preparación del α -aminometilenbisfosfonato *N,N*-dibencilado **9**, se partió de una reacción multicomponente, ya que permite reducir los tiempos de trabajo y el coste energético. La metodología para la obtención de estos compuestos se encuentra descrita en la literatura y se ha empleado anteriormente para la obtención de compuestos que poseen una actividad potencial como agentes anticancerígenos, herbicidas, antibacteriales y antiosteoporóticos.³⁷ Así, se hizo reaccionar ortoformiato de trietilo, fosfito de dietilo y dibencilamina en condiciones de reflujo, durante 5 h, obteniendo el compuesto **9** con un rendimiento químico de 76.91%. Para esta reacción, se seleccionó la dibencilamina como reactivo, ya que

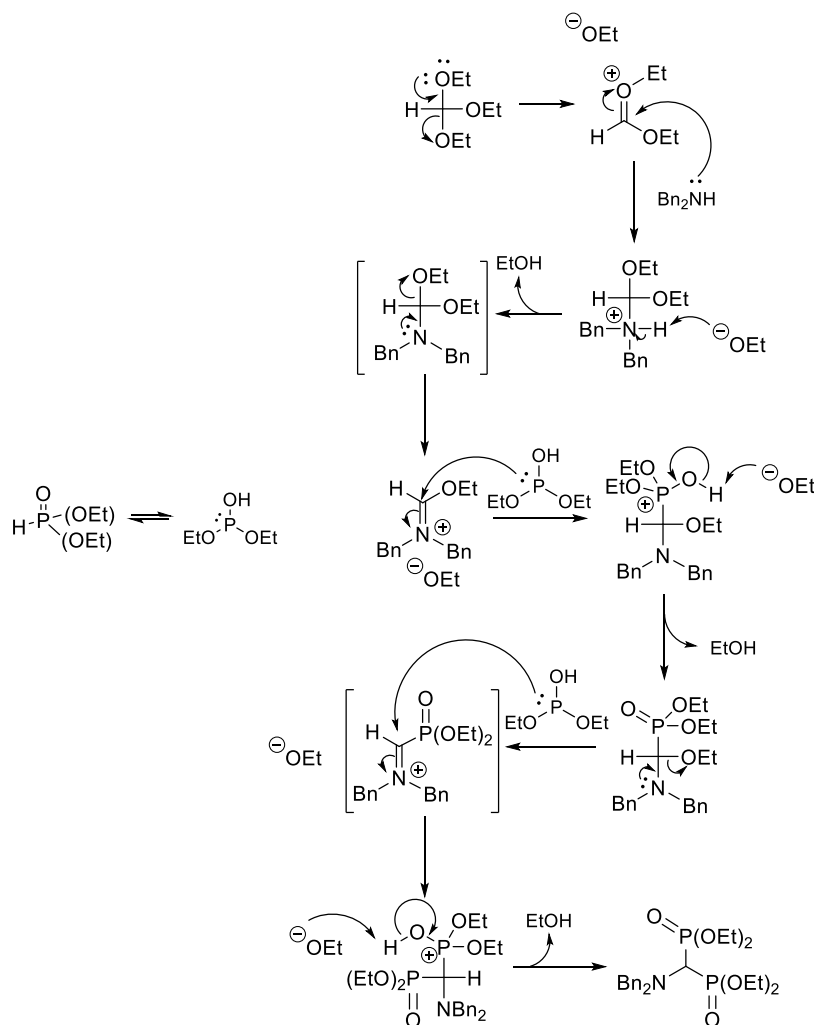
³⁷ Ewa, D.; Agnieszka, B.; Artur, M.; Ewa, M.; Wanda, S.; Lukasz, B.; Pawel, P. *J. Organomet. Chem.* **2009**, 694, 3806-3813.

los grupos bencilo del α -aminometilenbisfosfonato **9** pueden ser removidos a través de una reacción de hidrogenólisis, permitiendo tener acceso al correspondiente derivado con el grupo amino libre (Esquema 8).



Esquema 8. Reacción multicomponente para la obtención del α -aminometilenbisfosfonato *N,N*-dibencilado **9**.

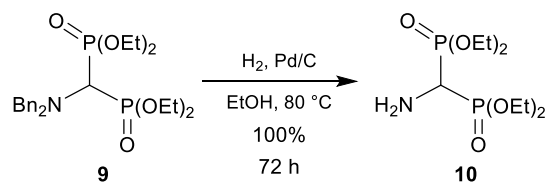
La obtención del α -aminometilenbisfosfonato *N,N*-dibencilado **9** a partir de esta reacción multicomponente, puede explicarse de acuerdo con el siguiente mecanismo de reacción. El ortoformiato de trietilo comienza a disociarse propiciado por las condiciones de reacción, liberando de su estructura un grupo EtO⁻, generándose así un compuesto carbonílico activado, el cual, al presentar un carbono con deficiencia electrónica, es susceptible a ataques nucleofílicos, ocurriendo así una reacción de condensación con la amina, generando el ión iminio. En este ión iminio, se presenta un átomo de carbono susceptible a ataques nucleofílicos, el cual es atacado por el fosfito de dietilo, para así poder obtener un α -aminofosfonato. A continuación, la expulsión del tercer grupo etoxilo genera un iminiofosfonato que sufre la adición de una segunda molécula de fosfito de dietilo para obtener la molécula objetivo **9** (Esquema 9).



Esquema 9. Mecanismo de reacción propuesto para la obtención del α -aminometilénbifosfonato *N,N*-dibencilado **9**.

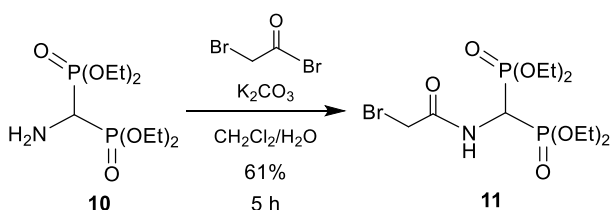
6.4. Preparación de la bromoacetamida **11**, intermediario común para los compuestos de interés.

Para la preparación de la bromoacetamida **11**, el compuesto **9** se sometió a una reacción de hidrogenólisis catalizada con Pd/C, utilizando EtOH como disolvente a una temperatura de 80 °C, monitoreando el avance de la reacción por cromatografía en capa fina. Después de 72 h de reacción, se obtuvo el derivado correspondiente con el grupo amino libre, el α -aminometilénbifosfonato **10**, con un rendimiento químico de 100% (Esquema 10).



Esquema 10. Reacción de hidrogenólisis para la obtención del derivado con el grupo amino libre **10**.

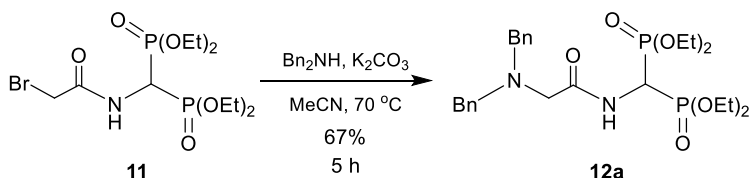
Para la obtención de la bromoacetamida **11**, se hizo reaccionar el α -aminometilénbifosfonato **10** con bromuro de bromoacetilo en presencia de K_2CO_3 , en una mezcla de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$ (4:1) y a temperatura ambiente durante 5h, obteniendo el intermediario común **11** con un rendimiento químico de 61% (Esquema 11).



Esquema 11. Reacción para la preparación de la bromoacetamida intermediaria **11**.

6.5. Síntesis de las moléculas objetivo **12a-c** a partir de la bromoacetamida intermediaria **11**.

Para la síntesis de la primer molécula objetivo, se utilizó *N,N*-dibencilamina, la cual se hizo reaccionar con **11** en presencia de K_2CO_3 , utilizando como disolvente acetonitrilo y una temperatura de reacción de $70\text{ }^\circ\text{C}$ durante 5h, obteniendo así el derivado *N,N*-dibencilado **12** con un rendimiento del 66.66% (Esquema 12).



Esquema 12. Reacción para la síntesis del derivado *N,N*-dibencilado **12**.

A continuación, se presentan los análisis espectroscópicos correspondientes a la molécula objetivo **12a**.

En la Figura 8 se representa el espectro de RMN ^1H del compuesto **12a**, en el cual se puede observar una señal triple con un desplazamiento químico de 1.26 ppm, la cual integra para doce protones y corresponde a los metilos de los grupos etoxilo de los fosfonatos; mientras que la señal múltiple con un desplazamiento químico de 4.12 ppm, que integra para ocho protones, corresponde a los protones de los metilenos de este mismo grupo etoxilo. En 4.96 ppm aparece una señal doble de triples por su acoplamiento con el protón unido al nitrógeno y los dos átomos de fósforo, que integra para un protón, perteneciente al protón del carbono α a los grupos fosfonato. La señal simple con un desplazamiento químico de 3.14 ppm que integra para dos protones corresponde a los protones del carbono α al carbonilo. Por otra parte, la señal correspondiente a los protones de los metilenos de los grupos bencilo aparece en 3.60 ppm e integra para cuatro protones. En el rango de 7.30-7.39 ppm aparecen las señales correspondientes a los protones aromáticos, y finalmente, en 7.89 ppm aparece una señal doble propia del protón de la amida, la cual se desdobla por el acoplamiento con el protón vecino (Figura 8).

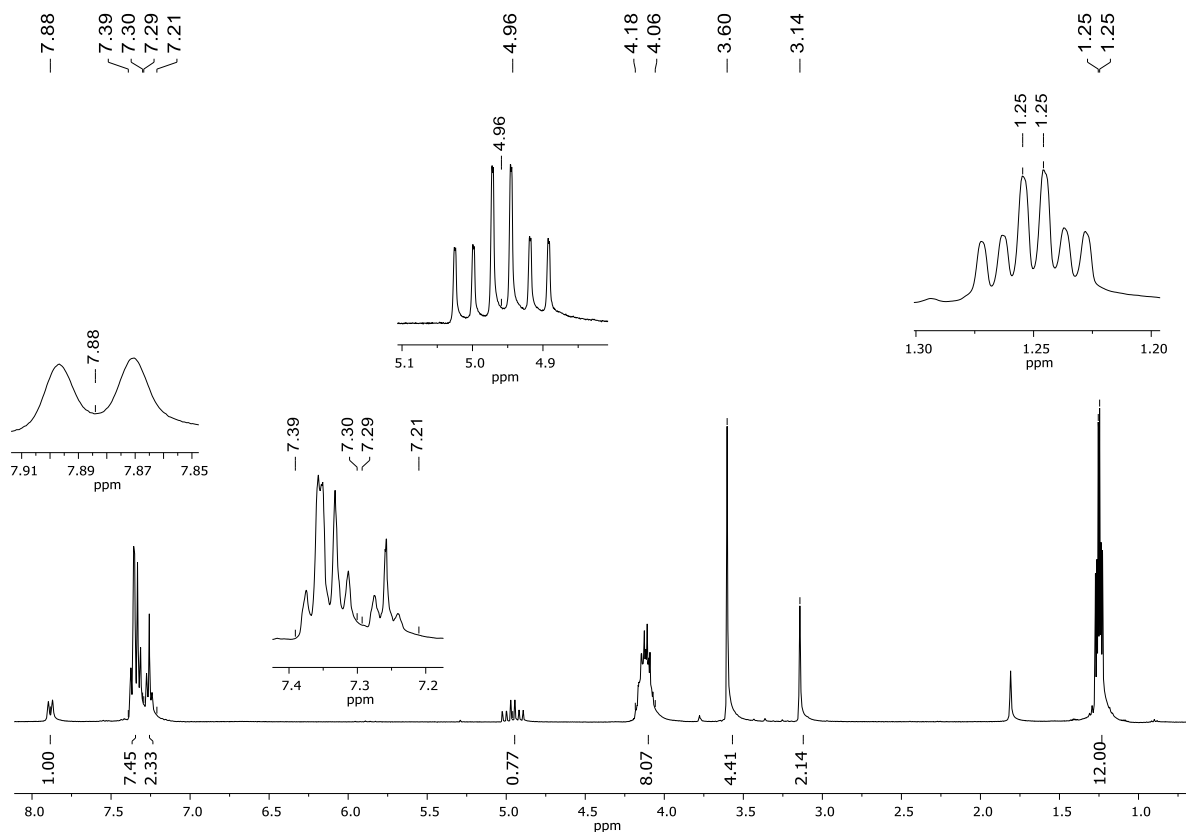


Figura 8. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) del compuesto **12a**.

En la Figura 9, se observa el espectro de ^{13}C que corresponde al compuesto **12a**. La señal con un desplazamiento químico de 16.3 ppm pertenece a los carbonos de los metilos de los grupos etoxilo. Por otra parte, en 43.40 aparece una señal triple correspondiente al carbono alfa a los grupos fosfonatos, la cual presenta una constante de acoplamiento de 141.1 Hz, característica del acoplamiento ^{13}C - ^{31}P .³⁸ Alrededor de 56.6 ppm y 58.5 ppm aparecen las señales correspondientes a los carbonos de los metilenos bencílicos y del carbono alfa al carboxilo, y en 63.5 la señal propia de los metilenos de los grupos etoxilo. En 127.5, 128.6, 129.0 y 137.7 ppm aparecen las cuatro señales correspondientes a los carbonos aromáticos, mientras que la señal del carbono del grupo amida se encuentra en 170.0 ppm (Figura 9).

³⁸ Ernoe, P.; Philippe, B.; Christian, A. *Structure Determination of Organic Compounds*. 2020.

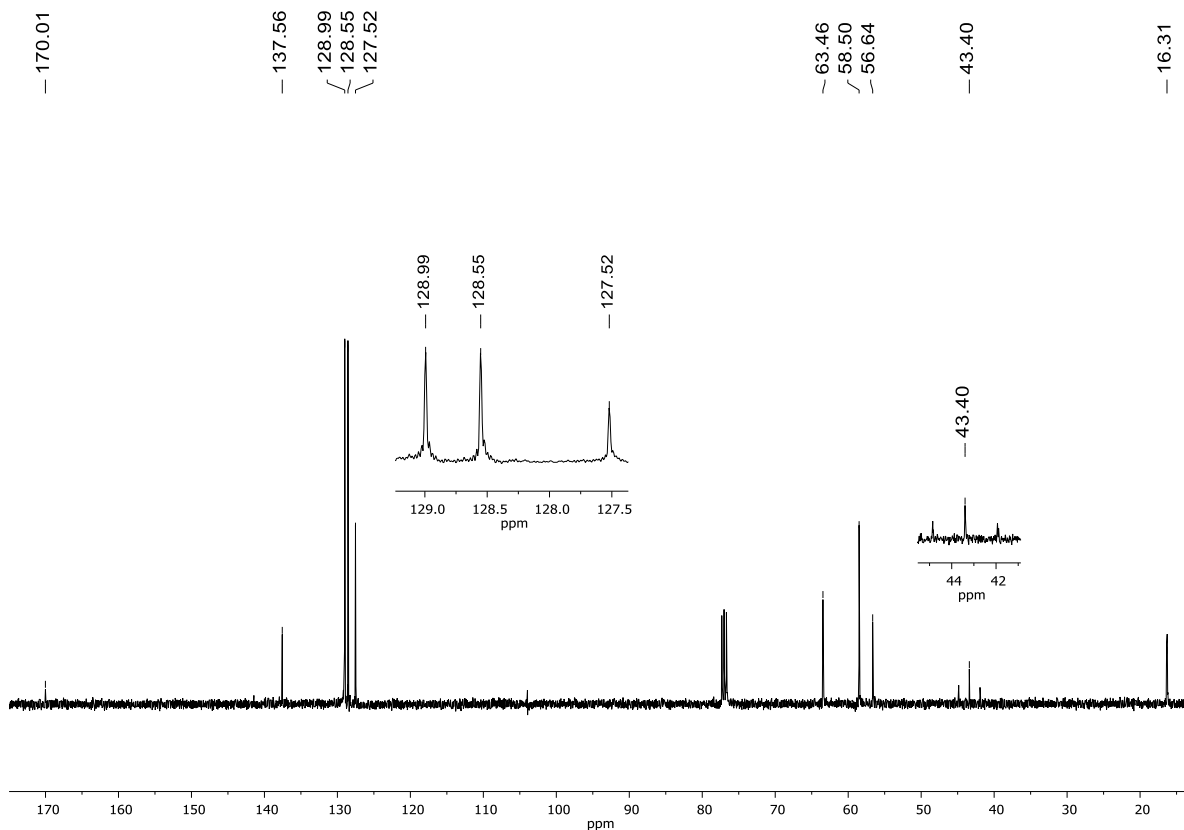


Figura 9. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) del compuesto **12a**.

Finalmente, se presenta el espectro de ^{31}P del compuesto **12a**, en el cual se puede observar una señal simple, con un desplazamiento químico de 13.22 ppm, correspondiente al fósforo del grupo fosfonato de dietilo (Figura 10).

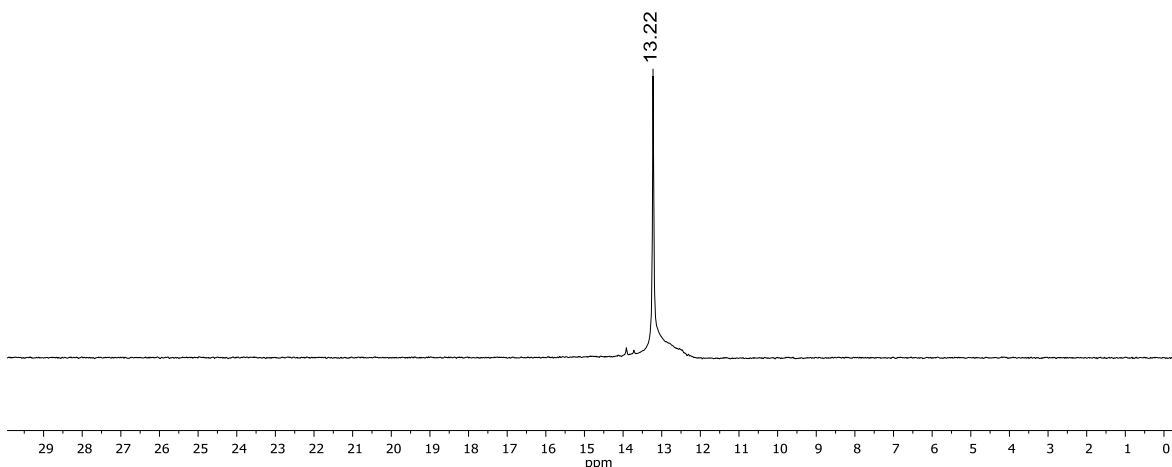
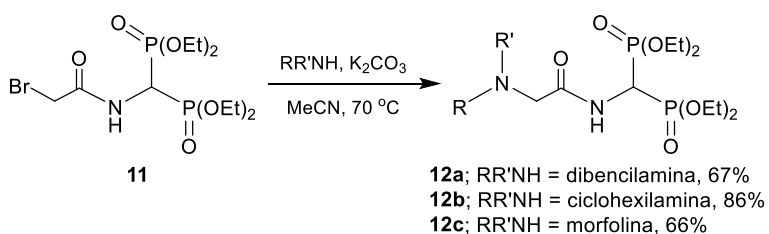


Figura 10. Espectro de RMN de ³¹P (81 MHz, CDCl₃) del compuesto **12a**.

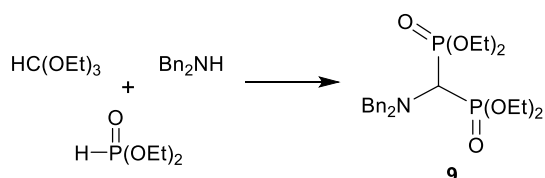
Considerando los buenos resultados obtenidos en la síntesis de la molécula **12a**, se decidió replicar las condiciones para la síntesis de los derivados que incorporan los núcleos de morfolina y ciclohexilamina. De esta manera, la reacción de sustitución a partir de la bromoacetamida **11**, pero utilizando las aminas mencionadas, permitió obtener las moléculas objetivo **12b** y **12c** con rendimientos químicos de 85.8% y 66% respectivamente (Esquema 13).



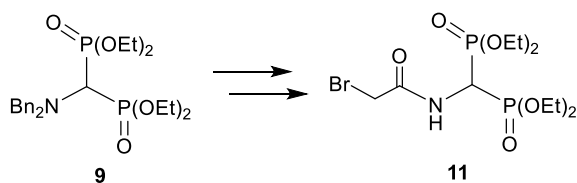
Esquema 13. Reacción para la síntesis de los derivados que incorporan los núcleos de ciclohexilamina **12b** y morfolina **12c**.

7.- Conclusiones

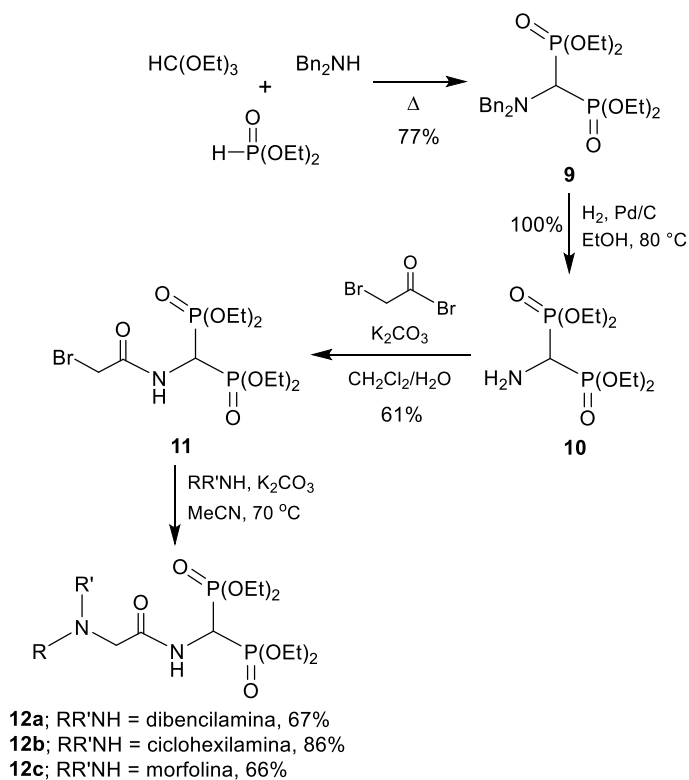
- Se confirmó al α -aminometilenbisfosfonato **9** como un intermediario sintético valioso para la obtención de distintos derivados tipo 2-aminoacetamido del ácido aminometilenbisfosfónico.
- Se logró obtener el α -aminometilenbisfosfonato *N,N*-dibencilado a través de una reacción de multicomponente “A₂BC 4CR” entre ortoformiato de trietilo, fosfito de dietilo y dibencilamina.



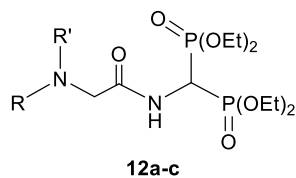
- Se logró la síntesis del intermediario común para la preparación de las moléculas objetivo planteadas en el trabajo.



- Se establecieron las condiciones óptimas para la obtención de las moléculas objetivo **12a-c**, presentadas en el siguiente esquema:



- Se logró desarrollar una metodología práctica y eficiente para la obtención de los α -aminometileno-bisfosfonatos **12a-c**.



Las ventajas de esta metodología incluyen:

1. Le economía atómica, reducción del uso de disolventes y obtención de moléculas complejas a través de las reacciones multicomponentes (Química verde).
2. Bajos tiempos de reacción.
3. La obtención de diversos productos finales a través de una sola molécula intermediaria.
4. Una síntesis que integra sólo 4 pasos de reacción.

5. Un rendimiento global en la síntesis de las moléculas objetivo en un rango de 66-86%
- Este trabajo se considera de un alto potencial, ya que muestra una metodología práctica y eficiente para la obtención de una gran cantidad de α -aminometilenbisfosfonatos al poder modificar la naturaleza de la amina en el último paso de reacción. Con esto, se puede obtener una gran biblioteca de este tipo de compuestos para evaluarlos biológicamente y así poder definir qué tipo de amina es la más adecuada en términos de su efecto biológico.

8.- Perspectivas

- Extender la metodología para la incorporación de una gran variedad de aminos primarias, secundarias; cíclicas o acíclicas para crear una lista de compuestos con alto potencial para combatir la osteoporosis.
- Realizar la evaluación biológica de dichos compuestos para determinar su potencia.

9. Parte experimental.

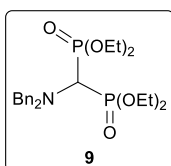
9.1. Información general.

Todos los reactivos disponibles comercialmente fueron adquiridos de Aldrich y otras distribuidoras de materiales, reactivos y equipos de laboratorio y se emplearon sin purificación adicional. El material de vidrio, barras de agitación magnética, cánulas, jeringas y agujas que se emplearon se secaron en una estufa a 100 °C durante 24 horas, antes de ser utilizados.

El curso de las reacciones se siguió por cromatografía en capa fina (TLC), utilizando placas recubiertas de gel de sílice 60 F254 (Merck) y como reveladores se utilizó luz ultravioleta (254 nm), yodo y disolución de ninhidrina (ninhidrina/etanol/ácido acético). La purificación de los productos se llevó a cabo por cromatografía en columna *flash*, utilizando gel de sílice Merck 60® (230-400nm).

Los espectros de RMN se obtuvieron en los espectrómetros Inova Unity de 400 MHz, Mercury Plus de 400 MHz y Mercury de 200 MHz, todos ellos de la marca Varian. Las constantes de acoplamiento (*J*) están dadas en Hertz (Hz) y los desplazamientos químicos (δ) se reportan en partes por millón (ppm) con respecto a la referencia interna de tetrametilsilano (TMS), o en su defecto, utilizando como estándar interno la señal residual del disolvente. La multiplicidad de las señales se denotó con las siguientes abreviaturas: **s** para indicar una señal simple, **d** para una señal doble, **t** para una señal triple, **m** para una señal múltiple y **a** para una señal ancha, empleando en ocasiones combinaciones de ellas. Todos los espectros fueron adquiridos en CDCl₃.

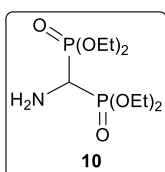
9.2. Preparación del α -aminometilenbisfosfonato *N,N*-dibencilado **9**.



En un matraz redondo de 20 mL con agitador magnético y bajo atmosfera de nitrógeno, se colocaron 2218 mg, 2.16 mL (11.245 mmol) de dibencilamina, 2000 mg, 2.24 mL (13.495 mmol) de ortoformiato de trietilo y 4659 mg, 4.34 mL (33.737 mmol) de fosfito de dietilo. La mezcla de reacción se calentó a 150 °C por 5.0 horas. Una vez

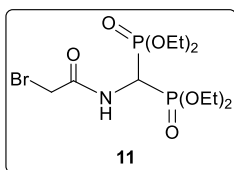
terminado el tiempo de reacción, la mezcla se concentró a presión reducida y el residuo resultante se lavó con CH₂Cl₂, posteriormente se lavó con una disolución acuosa de NaOH al 5% (8 mL x 3) y con una disolución saturada de NaCl (5 mL x 2). El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna utilizando Hexano/AcOEt (3:1) hasta AcOEt (100%) como eluyente, obteniendo (5012 mg, 72%) del α -aminometilenbisfosfonato *N,N*-dibencilado **9** como un aceite amarillo. **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.32 (t, *J* = 7.07 Hz, 6H, CH₃CH₂O), 1.33 (t, *J* = 7.07 Hz, 6H, CH₃CH₂O), 3.55 (t, *J* = 25.1 Hz, 1H, CHP), 3.91-4.26 (m, 4H, NCH₂Ph), 3.91-4.26 (m, 8H, CH₃CH₂O), 7.23 (t, *J* = 7.21 Hz, 2H, H_{para}), 7.30 (dd, *J* = 7.33 Hz, 4H, H_{arom}), 7.34-7.48 (m, 4H, H_{arom}) ppm. **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃) δ : 16.7 (CH₃CH₂O), 56.39 (t, *J* = 141.1 Hz, CHP), 56.6 (s, NHCH₂Ph), 62.6 (CH₃CH₂O), 127.4, 128.3, 129.6, 129.6 ppm (Ph). **RMN ³¹P** (81 MHz, CDCl₃) δ : 17.17 (s) ppm.

9.3. Preparación del α -aminometilenbisfosfonato con el grupo amino libre **10**.



En un matraz redondo de 50 mL con agitador magnético y bajo atmosfera de nitrógeno, se colocaron 2000 mg (4.1391 mmol) del α -aminometilenbisfosfonato *N,N*-dibencilado **9**, 400 mg (20% en peso) de Pd/C como catalizador y 40 mL de EtOH. Después, el matraz de reacción se saturó con hidrógeno y se calentó a 78 °C durante 72.0 horas. La mezcla de reacción resultante fue filtrada en celita y el disolvente fue evaporado a presión reducida, obteniendo así el α -aminometilenbisfosfonato con el grupo amino libre **10** como un aceite color amarillo claro.

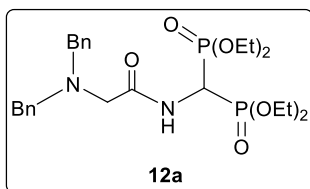
9.4. Preparación de la bromoacetamida intermediaria **11**.



En un matraz redondo de 50 mL conteniendo al α -aminometilenbisfosfonato con el grupo amino libre **10**, se añadió una mezcla de CH₂Cl₂/H₂O (4:1) a temperatura ambiente. Posteriormente el matraz de reacción se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se adicionaron 700 mg (5.0614 mmol) de K₂CO₃, seguido de la adición gota a gota de 1530 mg, 0.66 mL (7.58 mmol) de bromuro de bromoacetilo. Al terminar la adición, el matraz fue retirado del baño de hielo y se agregó nuevamente

700 mg (5.0614 mmol) de K_2CO_3 . La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1.0 horas. La mezcla resultante se sometió a una separación líquido-líquido con agua (3 x 4 mL). La fase orgánica obtenida se secó con Na_2SO_4 anhidro la cual fue filtrada para posteriormente ser concentrada a presión reducida, el resultante fue purificado por cromatografía en columna utilizando una mezcla de CH_2Cl_2 /Isopropanol (95:5) como eluyente, obteniendo (1055 mg, 61%) de la bromoacetamida intermediaria **11** como un sólido blanco. **RMN 1H** (400Hz, $CDCl_3$) δ : 1.34 (t, $J = 7.06$ Hz, 6H, CH_3CH_2O), 1.35 (t, $J = 7.06$ Hz, 6H, CH_3CH_2O), 3.95 (s, 2H, $C(O)CH_2Br$), 4.13-4.30 (m, 8H, CH_3CH_2O), 4.95 (dt, $J = 21.59, 10.1$ Hz, 1H, CHP), 7.35 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H, NH) ppm. **RMN ^{13}C** (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 16.5 (CH_3CH_2O), 28.2 (s, $C(O)CH_2Br$), 44.6 (t, $J = 146.01$ Hz, CHP), 64.9 (CH_3CH_2O), 165.5 ($C(O)$) ppm. **RMN ^{31}P** (81 MHz, $CDCl_3$) δ : 12.50, 12.65 ppm.

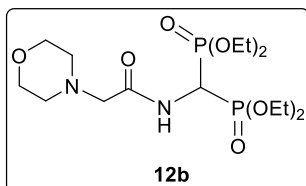
9.5. Preparación del (2-dibencilaminoacetamido)metilbisfosfonato de tetraetilo **12a**.



En un matraz redondo de 25 mL con agitador magnético, se agregaron 150 mg (0.3536 mmol) de la bromoacetamida intermediaria **11**, 73.2 mg, 0.0713 mL (0.3674 mmol) de dibencilamina y 230 mg (0.7090 mmol) de K_2CO_3 . La mezcla de reacción se calentó a 70 °C durante 5.0 horas. El avance de la reacción se monitoreó en cromatografía en capa fina. Una vez terminado el tiempo de reacción se evaporó el disolvente a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna utilizando mezclas de CH_2Cl_2 /Isopropanol (95:5) hasta CH_2Cl_2 /Isopropanol (90:10) como eluyente, obteniendo (127.4 mg, 66.66%) del (2-dibencilaminoacetamido)metilbisfosfonato de tetraetilo **12a** como un aceite amarillo oscuro. **RMN 1H** (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 1.25 (t, $J = 7.07$ Hz, 6H, CH_3CH_2O), 1.25 (t, $J = 7.07$ Hz, 6H, CH_3CH_2O), 3.14 (s, 2H, $C(O)CH_2N$), 3.60 (s, 4H, NCH_2Ph), 3.95-4.30 (m, 8H, CH_3CH_2O), 4.96 (dt, $J = 21.3, 10.3$ Hz, 1H, PCHP), 7.21-7.29 (m, 2H, H_{para}), 7.30-7.39 (m, 8H, H_{arom}), 7.89 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H, $C(O)NH$) ppm. **RMN ^{13}C** (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 16.3 (CH_3CH_2O), 43.4 (t, $J = 147$ Hz, PCHP),

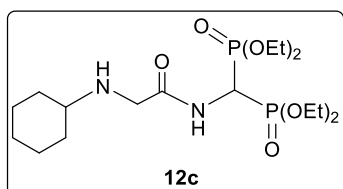
56.6, 58.5, 63.4 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 127.5, 128.5, 129.0, 137.6, 170.0 (C(O)) ppm. **RMN ^{31}P** (81 MHz, CDCl_3) δ : 13.22 ppm.

9.6. Preparación del (2-morfolinacetamido)metilbisfosfonato de tetraetilo **12b**.



En un matraz redondo de 25 mL con agitador magnético, se agregaron 150 mg (0.3536 mmol) de la bromoacetamida intermediaria **11**, 32 mg, 0.0324 mL (0.3673 mmol) de morfolina y 98 mg (0.7090 mmol) de K_2CO_3 . La mezcla de reacción se calentó a 70 °C durante 5.0 horas. El avance de la reacción se monitoreo en cromatografía en capa fina. Una vez terminado el tiempo de reacción se evaporó el disolvente a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna utilizando una mezcla de CH_2Cl_2 /Isopropanol (96:4) como eluyente, obteniendo (100 mg, 66%) del (2-morfolinacetamido)metilbisfosfonato de tetraetilo **12b** como un aceite incoloro. **RMN ^1H** (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.34 (t, $J = 7.06$ Hz, 6H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 1.34 (t, $J = 7.06$ Hz, 6H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 2.55 (t, $J = 4.57$ Hz, 4H, CH_2N), 3.08 (t, $J = 1.24$ Hz, 2H, C(O) CH_2N), 3.74 (t, $J = 4.57$ Hz, 4H, CH_2O), 4.15-4.28 (m, 8H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 4.97 (dt, $J = 21.42$ Hz, 10.42 Hz, 1H, PCHP), 7.65 (d, $J = 10.54$ Hz, 1H, NH). **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3) δ : 16.5 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 43.3 (t, $J = 147.1$ Hz, PCHP), 53.6 (s, CH_2N), 61.7 (s, C(O) CH_2N), 63.7 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 67.0 (s, CH_2O), 169.2 (C(O)). **RMN ^{31}P** (81 MHz, CDCl_3) δ : 13.24, 14.40.

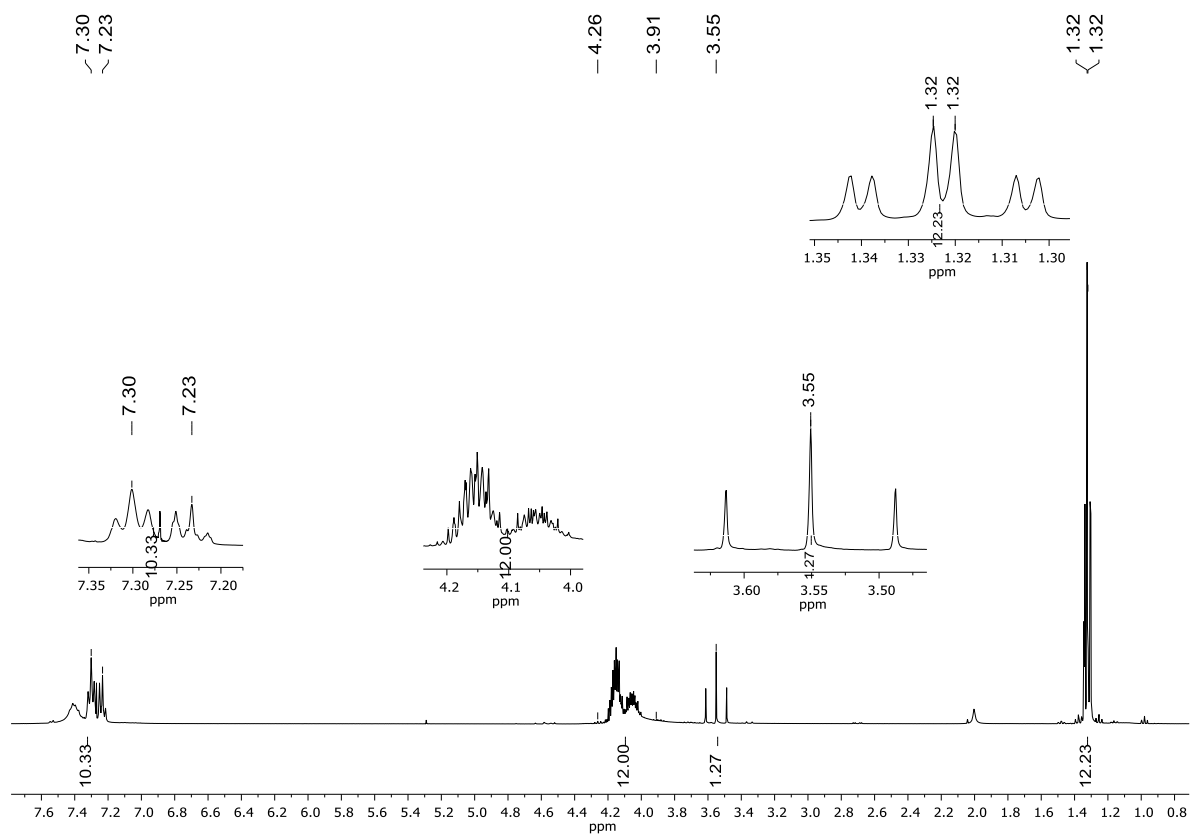
9.7. Preparación del (2-ciclohexilaminoacetamido)metilbisfosfonato de tetraetilo **12c**.



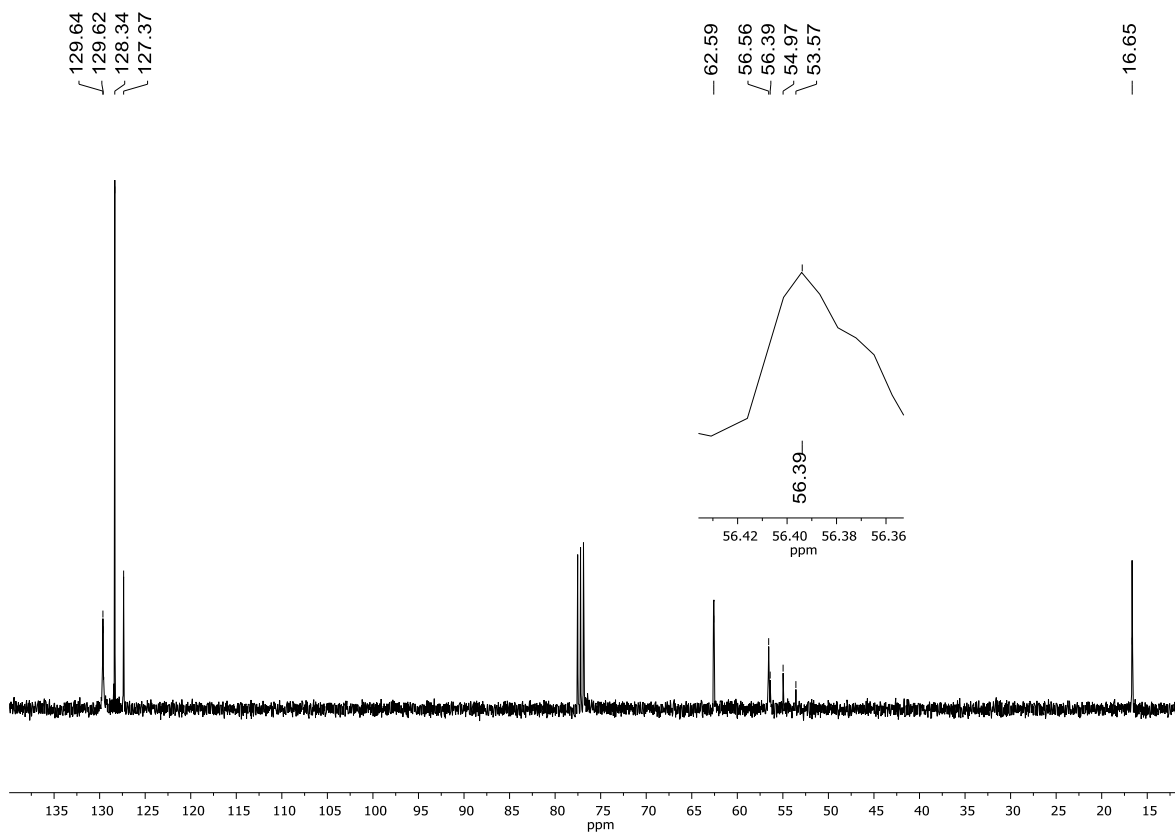
En un matraz redondo de 25 mL con agitador magnético, se agregaron 150 mg (0.3536 mmol) de la bromoacetamida intermediaria **11**, 36 mg, 0.042 mL (0.3630 mmol) de ciclohexilamina y 98 mg (0.7090 mmol) de K_2CO_3 . La mezcla de reacción se calentó a 70 °C durante 5.0 horas. El avance de la reacción se monitoreo en cromatografía en capa fina. Una vez terminado el tiempo de reacción se evaporó el disolvente a presión reducida y el residuo

resultante se purificó por cromatografía en columna utilizando una mezcla de CH₂Cl₂/Isopropanol (96:4) como eluyente, obteniendo (128.7 mg, 85.8%) del (2-morfolinacetamido)metilbisfosfonato de tetraetilo **12c** como un aceite incoloro.

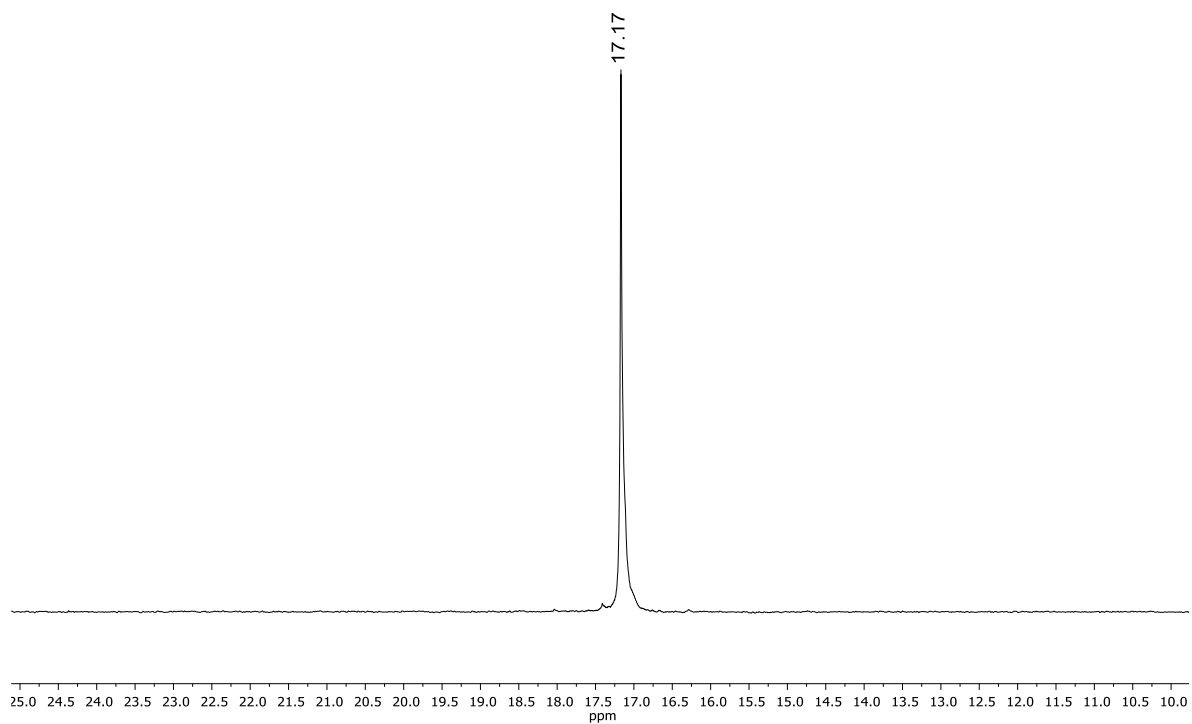
10.- Anexo



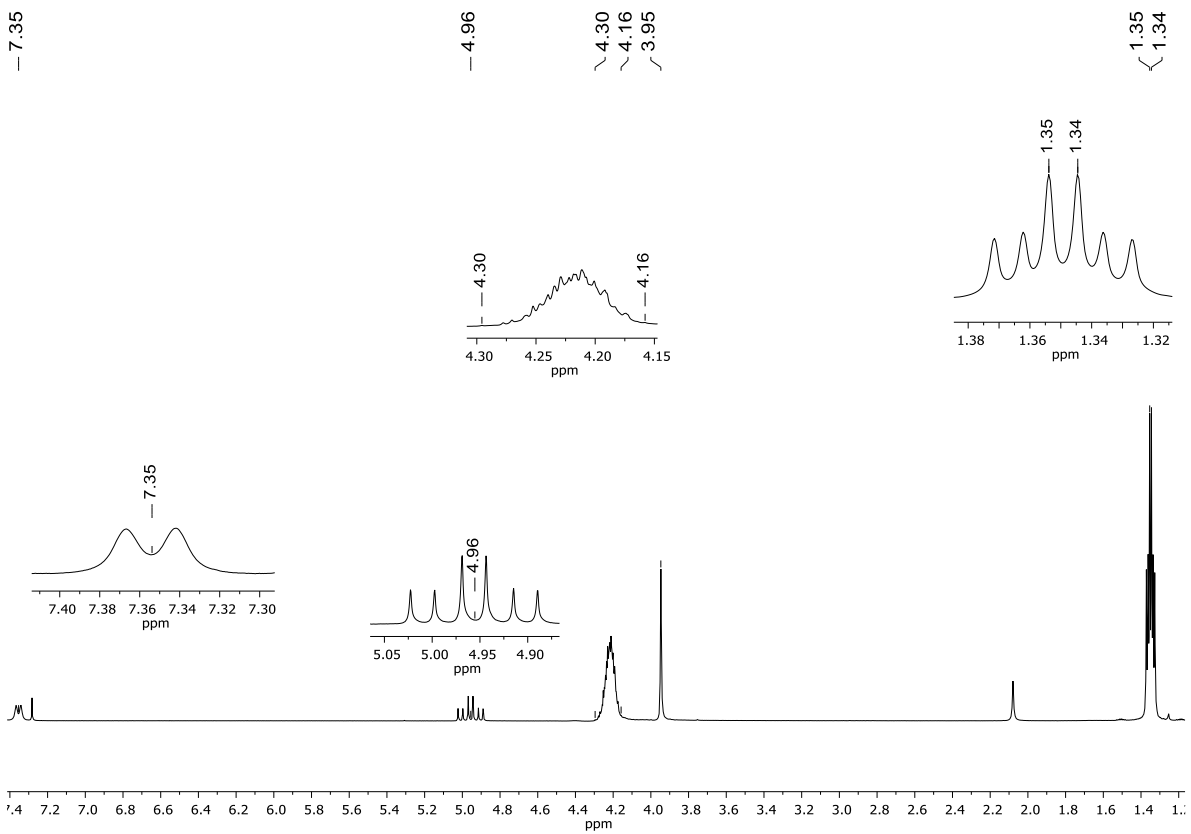
Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) del compuesto **9**.



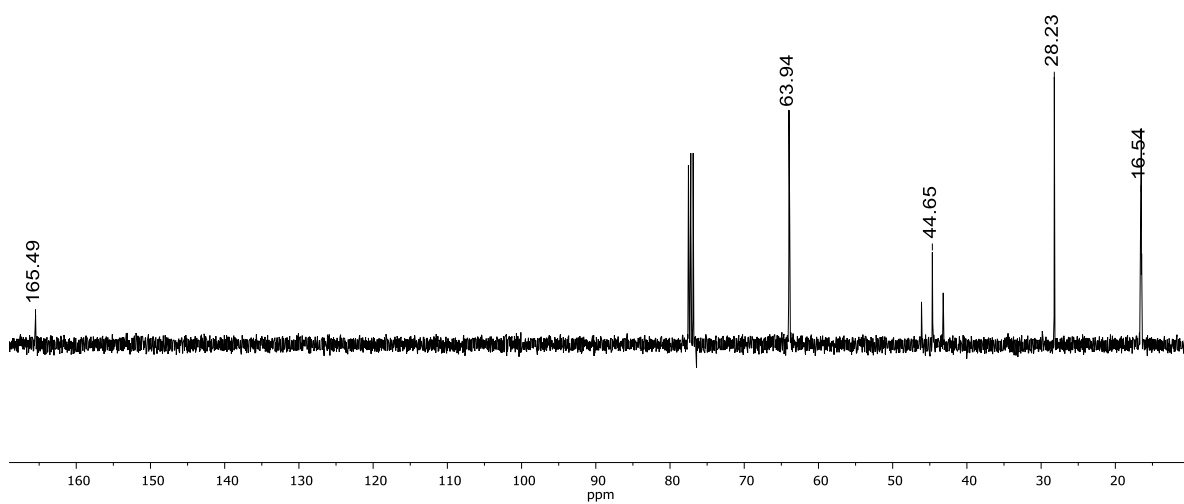
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) del compuesto **9**.



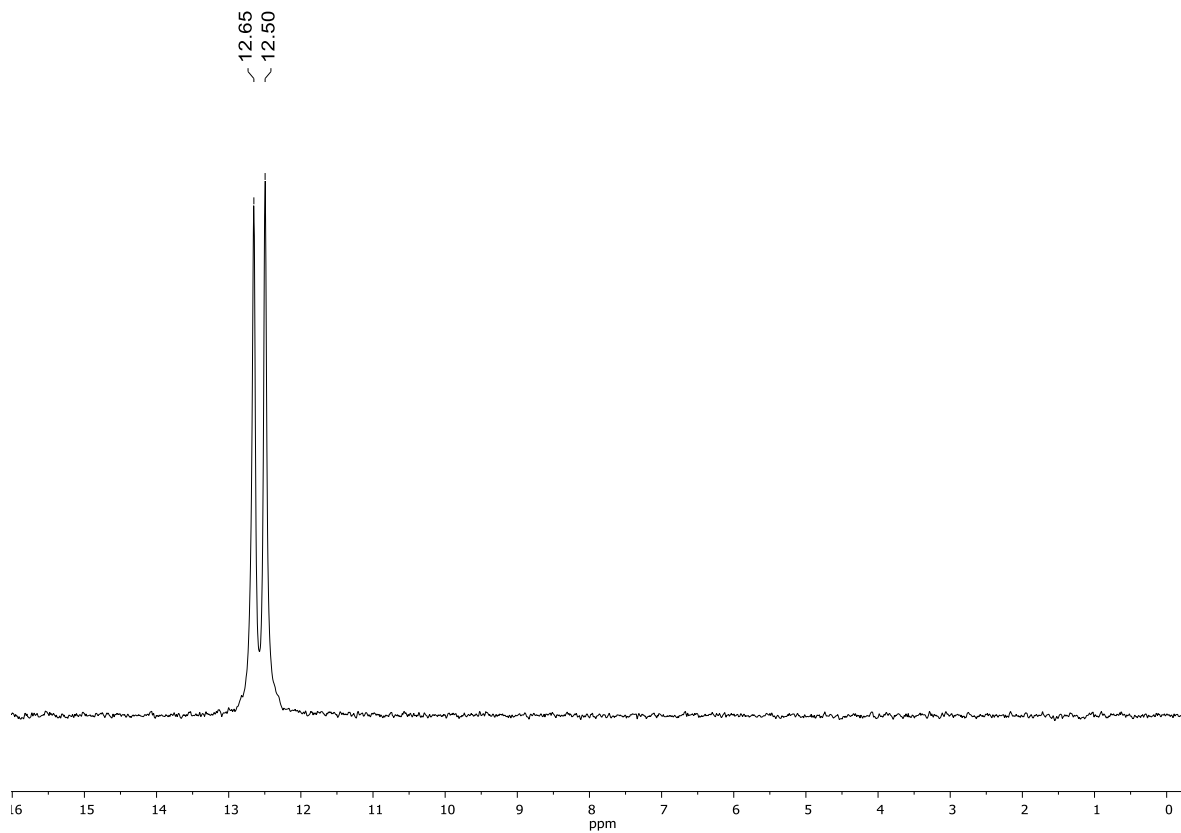
Espectro de RMN de ^{31}P (81 MHz, CDCl_3) del compuesto **9**.



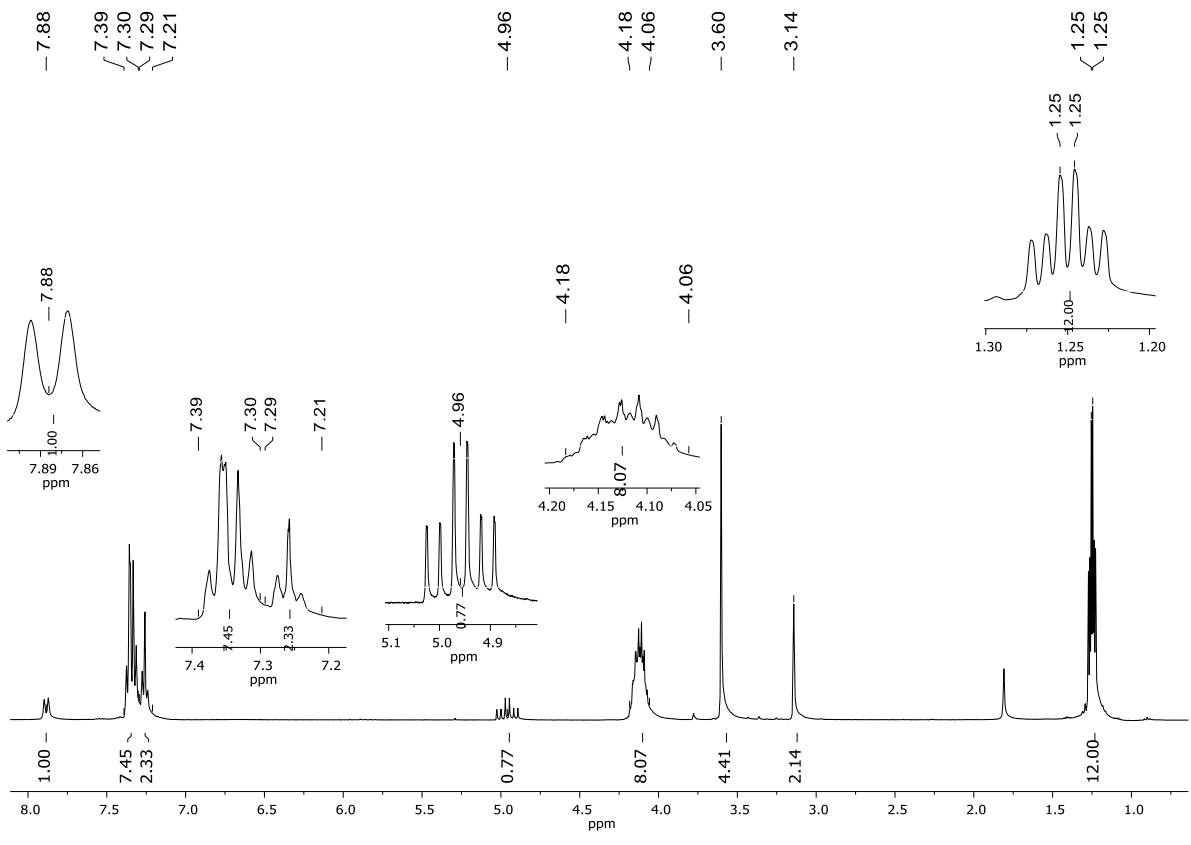
Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) del compuesto **11**.



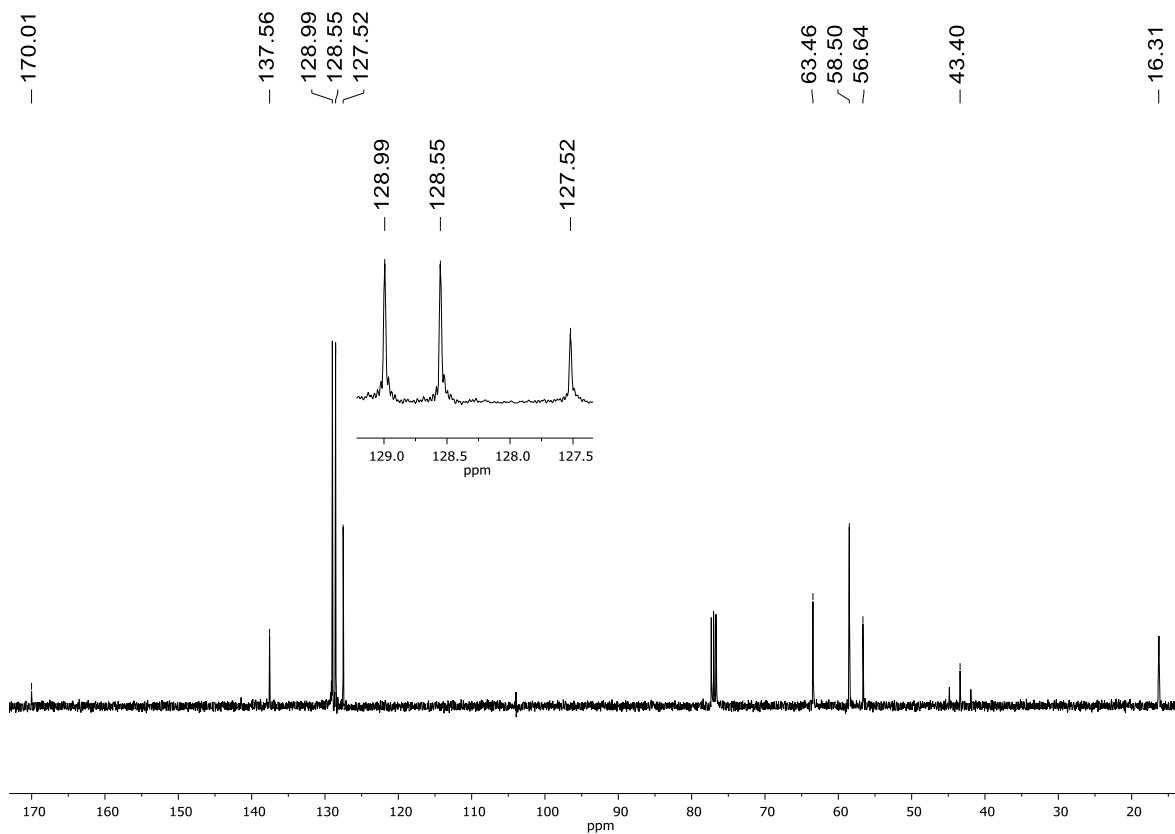
Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) del compuesto 11.



Espectro de RMN de ^{31}P (81 MHz, CDCl_3) del compuesto **11**.

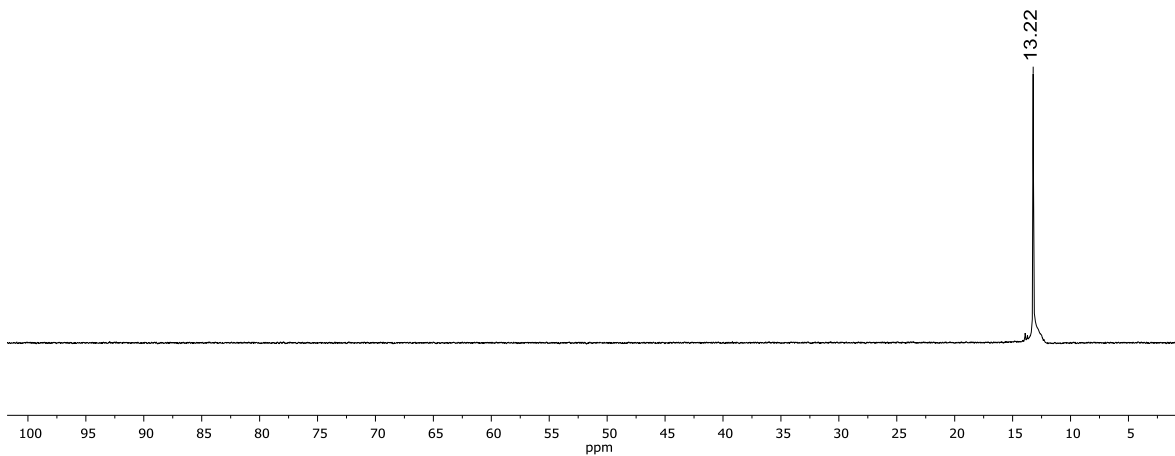


Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) del compuesto **12a**.

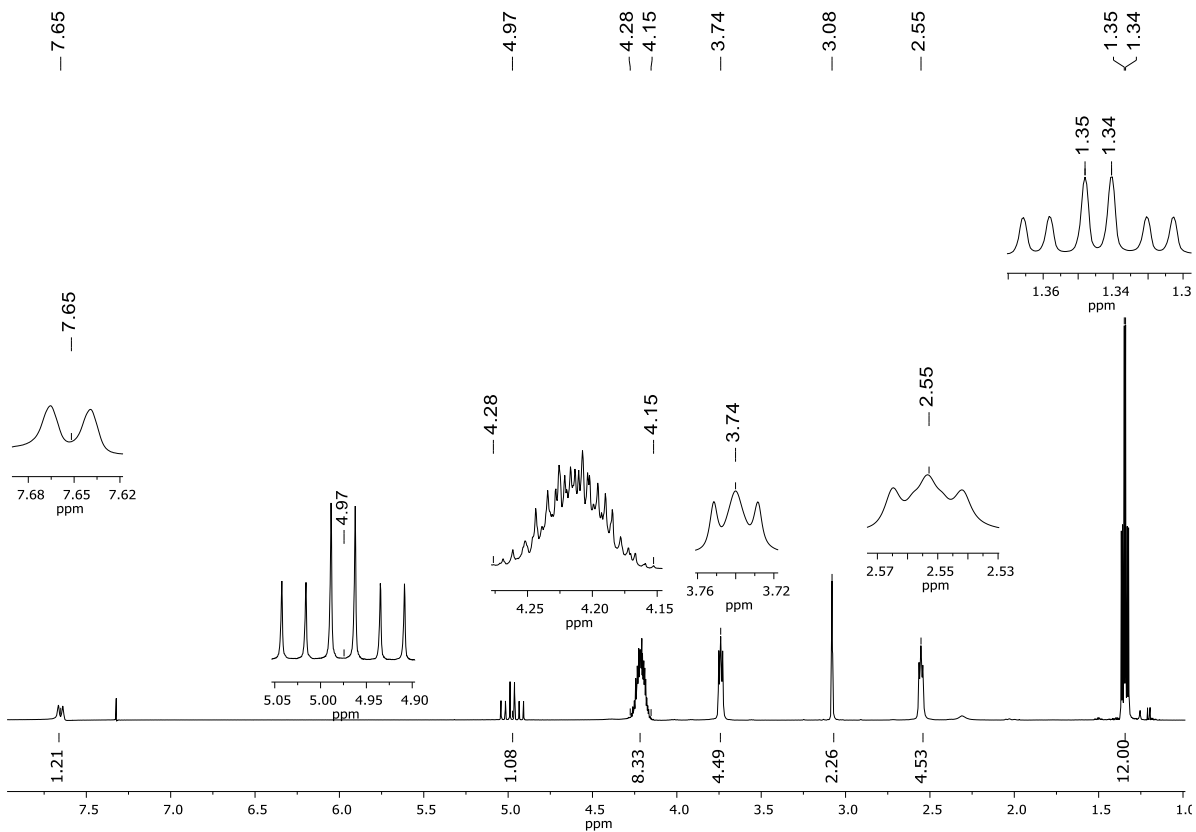


Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) del compuesto **12a**.

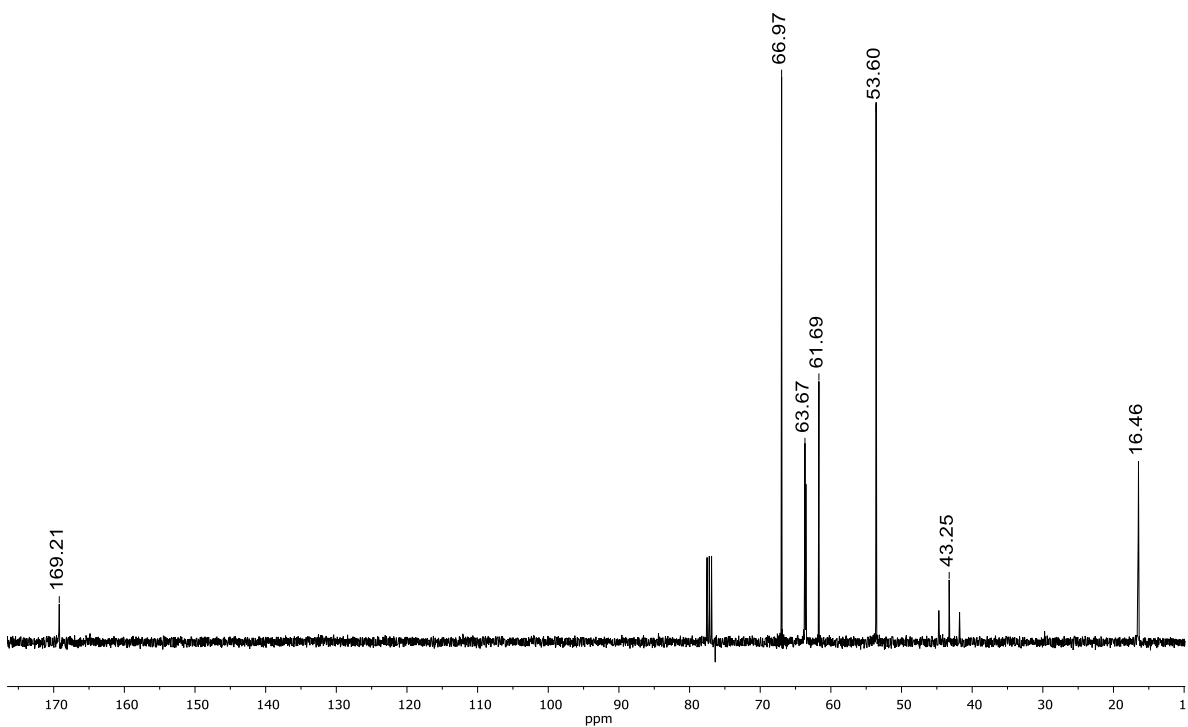
AMG032-31P
AMG032
31P, CDCl₃
81 MHz
03-02-17
MSS



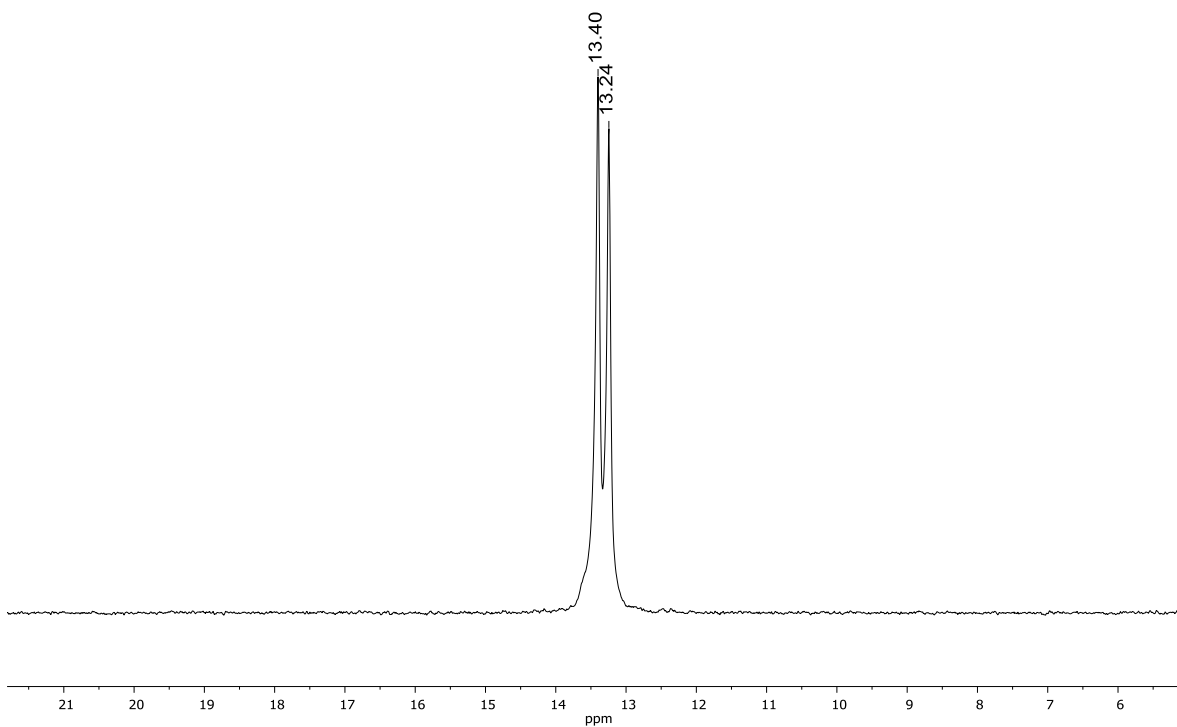
Espectro de RMN de ³¹P (81 MHz, CDCl₃) del compuesto **12a**.



Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) del compuesto **12b**.



Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) del compuesto **12b**.



Espectro de RMN de ^{31}P (81 MHz, CDCl_3) del compuesto **12b**.