

## DEPARTAMENTO DE QUIMICA INORGANICA FARMACEUTICA

### “DEGRADACION DEL 4,5-DIAMINO-2,6-DIOXO-3-METIL-1,2,3,6-TETRAHIDROPIRIMIDINA EN DISOLUCION ACUOSA”

C. Valenzuela Calahorro<sup>\*</sup>, A. Matilla Hernández

#### SUMMARY

The kinetic of the degradation process of the 4,5-diamine-2,6-dioxo-3-methyl-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine has been studied in aqueous solution. The final product of the degradation process has been characterized by means of chemical analysis, espectrofotometry of mass, IR, NMR, suggests that the formula corresponds to 1,6-dimethyl-2,4,7,9-tetrahydroxypyrimido-4,5, h pteridine.

#### RESUMEN

Se ha estudiado la cinética del proceso de degradación del 4,5-diamino-2,6-dioxo-3-metil-1,2,3,6-tetrahidropirimidina en disolución acuosa. El producto final del proceso de degradación se ha caracterizado mediante análisis químico, espectrofotometría de masas, IR y RMN, sugiriéndose para el, la fórmula correspondiente al 1,6-dimetil-2,4,7,9-tetrahidroxipirimidina-4,5, h-pteridina.

#### INTRODUCCION

Las 4,5-diamino-pirimidinas, en estado sólido son consideradas como bastante estables, sin embargo en disolución acuosa casi todas ellas (1,2,3,4,5), excepto los derivados 2-tio (1,6), se degradan en un periodo de tiempo más o menos largo, dando a sus disoluciones coloraciones diversas y pasando por un estado intermedio en el que se suele presentar fluorescencia. Las reacciones que se producen en estas transformaciones se conocen desde hace años (1,7), así como el tipo de compuestos formados.

---

\* Dirección actual. Departamento de Química Inorgánica Facultad de Ciencias. Universidad de Extremadura.

La velocidad con que transcurre el proceso de degradación citado viene condicionada por diferentes factores tales como pH del medio, concentración del compuesto pirimidínico, concentración de oxígeno en la disolución etc. No obstante su cinética no ha sido estudiada con anterioridad.

El 4,5-diamino-2,6-dioxo-3-metil-1,2,3,6-tetrahidropirimidina (LH) es susceptible de ser utilizado como ligando en la formación de complejos de coordinación de potencial interés biológico. Uno de los aspectos más importantes a dilucidar, como paso previo a la síntesis de tales complejos, es la estabilidad de LH en el medio de reacción. Por ello, se decidió a estudiar la cinética de degradación de LH en disolución acuosa. Los resultados obtenidos se exponen en la presente memoria.

## PARTE EXPERIMENTAL

El 4,5-diamino-2,6-dioxo-3-metil-1,2,3,6-tetrahidropirimidina utilizado, fue previamente sintetizado siguiendo un método descrito en bibliografía (8) y caracterizado en la forma indicada en un trabajo anterior (9).

Los espectros de absorción en la zona UV así como las correspondientes medidas de absorbancia, se han efectuado en un espectrofotómetro Beckman DB-GT, provisto de registro gráfico y utilizando células de cuarzo de 1 cm de espesor óptico, termostatizadas mediante un equipo Selecta.

Los espectros de RMN, IR y de masas se han obtenido en equipos: Hitachi - Perkin Elmer R-20B de 60 Mz, Beckman IR - 246 y espectrometro de masas Hewlett Packar 5930 - A, respectivamente.

Los análisis elementales han sido realizados en el Instituto de Química Bio-Orgánica del C.S.I.C. en Barcelona.

## RESULTADOS Y DISCUSION

El 4,5-diamino-2,6-dioxo-3-metil-1,2,3,6-tetrahidropirimidina en fase sólida es estable hasta una temperatura de 240°C, según se deduce de sus diagramas de análisis térmico (9). Sin embargo, en disolución acuosa descompone a temperatura ambiente. Este proceso de descom-

posición puede seguirse fácilmente ya que se manifiesta por la progresiva disminución de intensidad y posterior desaparición de la banda centrada a 285 nm. en el espectro de esta sustancia (fig. 1), banda que corresponde a una transición  $n \rightarrow \pi^*$  en la especie molecular de LH (9), lo que sugiere la posibilidad de que la degradación afecte directamente a un átomo de nitrógeno básico de los sustituyentes del núcleo pirimidínico.

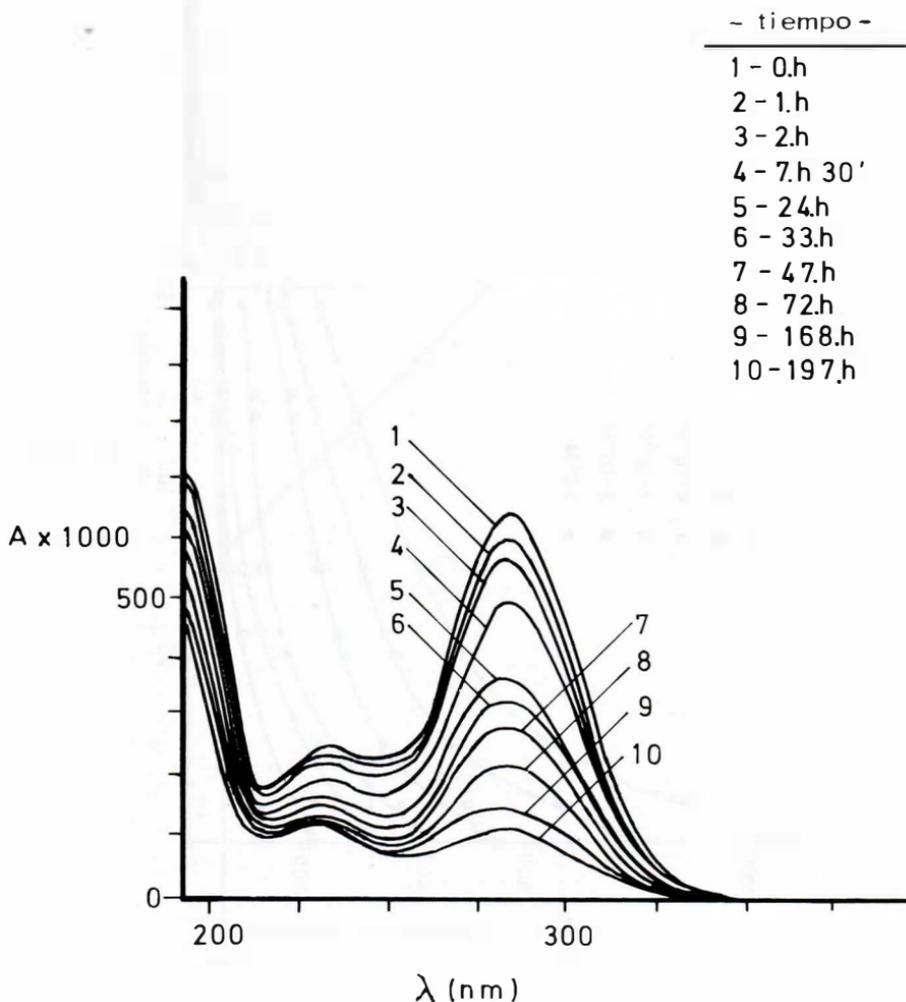


Figura 1.- Variación del espectro de absorción en el UV del 4,5-diamino-2,6-dioxo-3-metil-1,2,3,6-tetrahidropirimidina.  $[LH]_0 = 6.10^{-5}M$ .

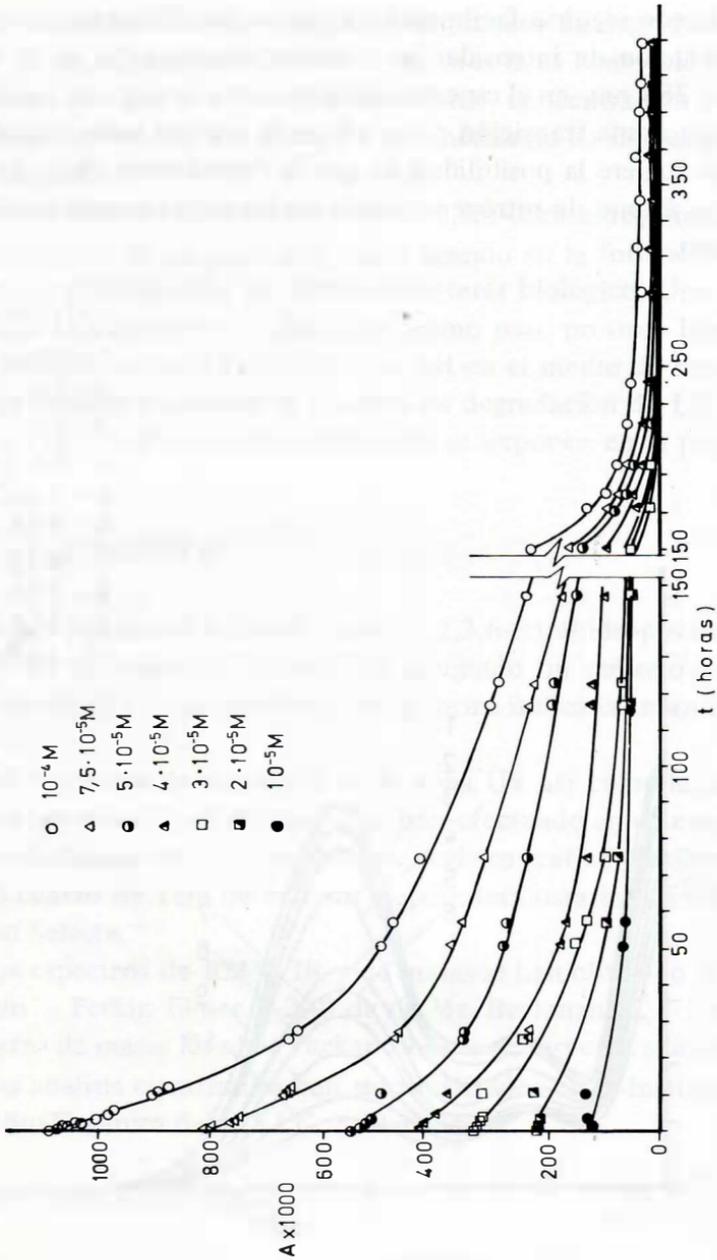


Figura 2.- Variación de la absorbancia en función del tiempo, de varias disoluciones acuosas de LH a  $25^{\circ}\text{C}$  y  $\lambda = 285$ .

El orden parcial del proceso respecto de (LH) ha sido calculado siguiendo el método diferencial de Vant Hoff, a partir de las curvas de la figura 2 obtenidas todas ellas a 25°C.

La representación de las velocidades iniciales ( $dA/dt$ ) vs. concentración, definen una línea recta (fig. 3) que ha sido ajustada siguiendo el método de los mínimos cuadrados, encontrando que su pendiente es

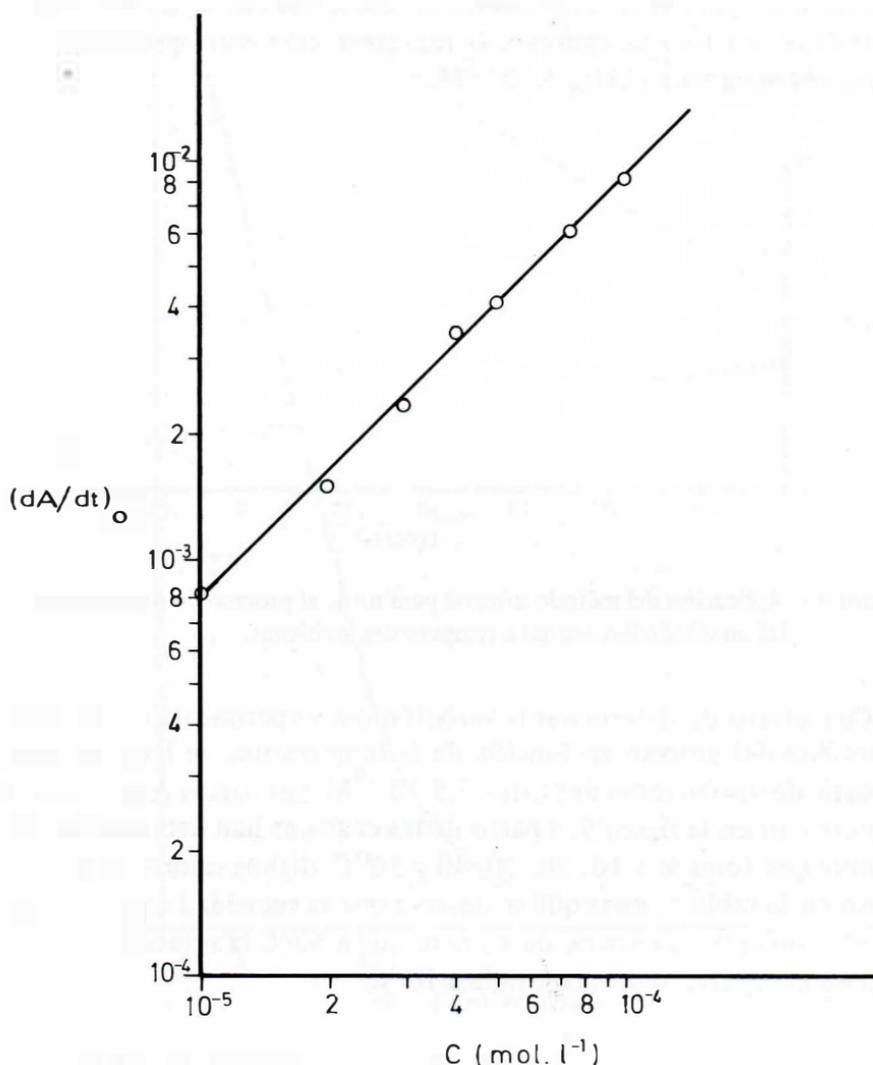


Figura 3.- Representación de las velocidades iniciales de degradación de LH en función de su concentración inicial en medio acuoso.

1,01, y el coeficiente de regresión lineal  $r = 0,998$ . Por consiguiente, puede considerarse que el proceso estudiado es de orden  $n = 1$  respecto de [LH]. A efectos de comprobación, los resultados experimentales han sido representados en la forma,  $\log A$  vs.  $t$ . de acuerdo con la expresión resultante de la integración de la ecuación de velocidad correspondiente a un proceso irreversible de orden  $n = 1$  respecto de [LH], encontrando un ajuste satisfactorio en todos los casos. En la figura 4 se incluye, a título de ejemplo, la representación correspondiente a la curva obtenida para  $[LH]_0 = 5 \cdot 10^{-5} M$ .

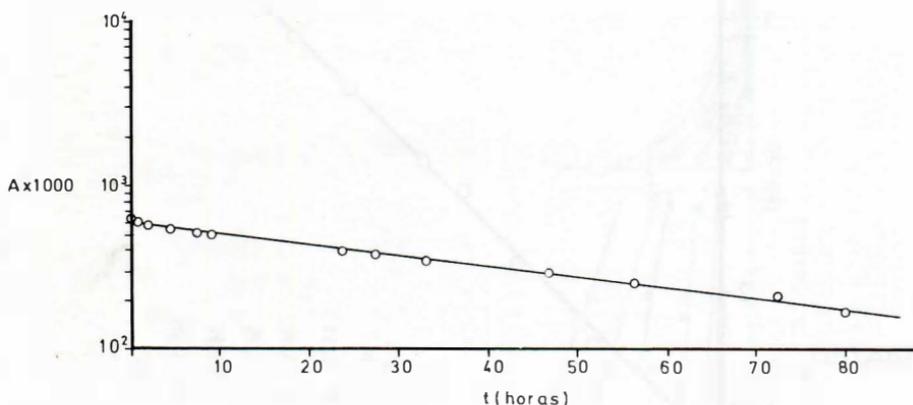


Figura 4.- Aplicación del método integral para  $n=1$ , al proceso de degradación de LH en disolución acuosa a temperatura ambiente.

Con objeto de determinar la variación que experimenta la velocidad específica del proceso en función de la temperatura, se han obtenido a partir de disoluciones de  $[LH] = 7,5 \cdot 10^{-5} M$ . Las curvas  $A$  vs.  $t$ . que se representan en la figura 5, a partir de las cuales se han determinado los valores que toma  $k$  a 10, 20, 30, 40 y  $50^{\circ}C$ , dichos valores de  $k$  se indican en la tabla 1, en la que se observa que la velocidad específica aumenta con la temperatura, de manera que a  $50^{\circ}C$  la velocidad es unas 200 veces superior a la encontrada a  $10^{\circ}C$ .

El ajuste analítico de la recta definida al representar  $\log K/T$  vs.  $1/T$  (fig. 6), ha permitido calcular los valores que toma la entalpía y la entropía de activación del proceso.

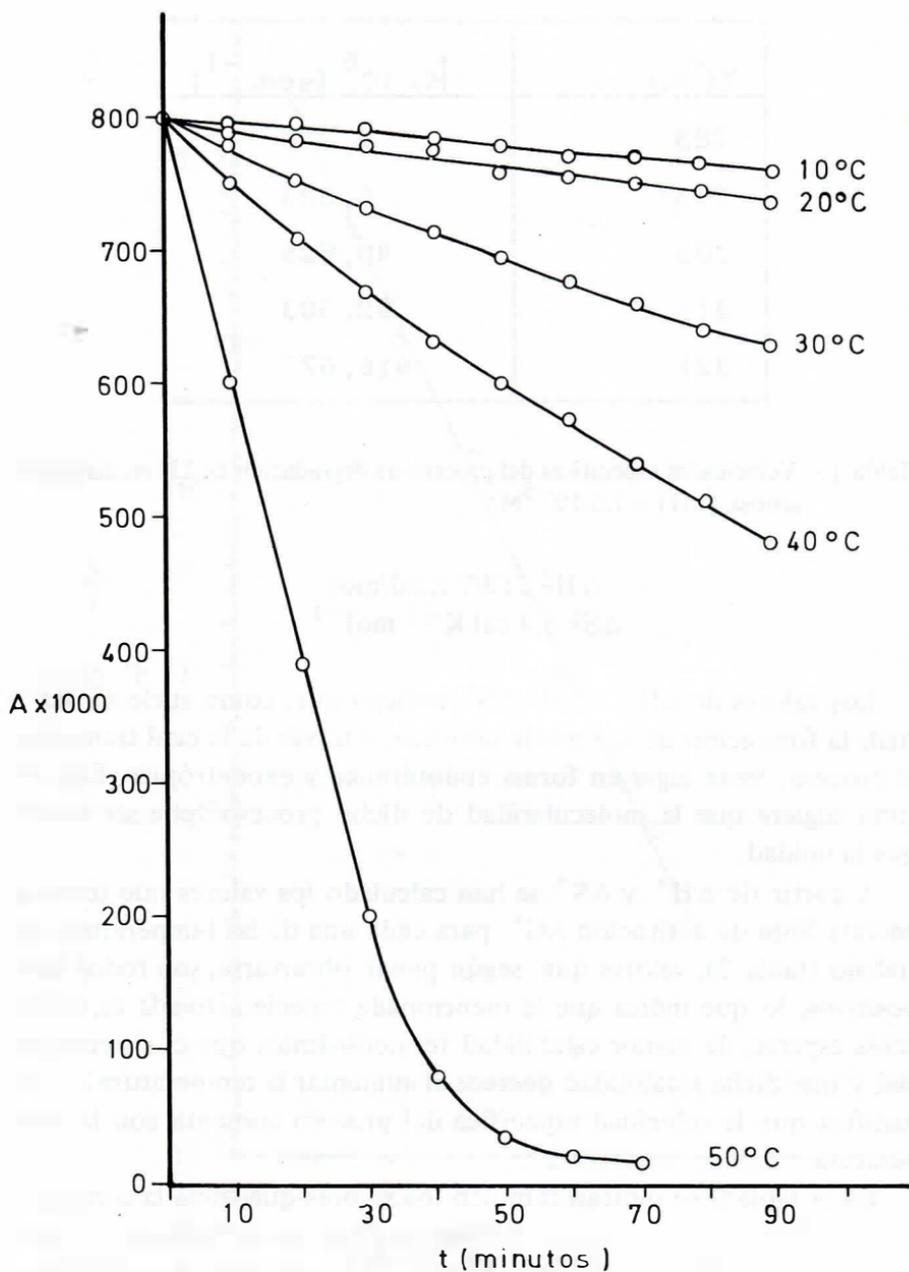


Figura 5.- Variación de la adsorbancia en función del tiempo y medida a 285 nm de una disolución acuosa  $7,5 \cdot 10^{-5}$  M de LH a 10, 20, 30, 40 y 50°C.

T(°K)	k. 10 <sup>6</sup> (seg. <sup>-1</sup> )
283	2,778
293	8,333
303	40,625
313	92.583
321	416,67

Tabla 1.- Velocidades específicas del proceso de degradación de LH en disolución acuosa. [LH] =  $7,5 \cdot 10^{-5}$  M.

$$\Delta H^* = 21,97 \text{ Kcal/mol}$$

$$\Delta S^* = 6,4 \text{ cal K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$$

Los valores de  $\Delta H^*$  y de  $\Delta S^*$  indican que, como suele ser habitual, la formación de la especie activada, a través de la cual transcurre el proceso, tiene lugar en forma endotérmica y exoentrópica. Esto último sugiere que la molecularidad de dicho proceso debe ser mayor que la unidad.

A partir de  $\Delta H^*$  y  $\Delta S^*$  se han calculado los valores que toma la energía libre de activación  $\Delta G^*$  para cada una de las temperaturas de trabajo (tabla 2), valores que, según puede observarse, son todos ellos positivos, lo que indica que la mencionada especie activada es, como cabía esperar, de menor estabilidad termodinámica que el sistema inicial y que dicha estabilidad decrece al aumentar la temperatura lo que justifica que la velocidad específica del proceso aumenta con la temperatura.

En la tabla 2 se indican también los valores que toma la constante de equilibrio K del proceso de formación de la especie activada, la cual varía entre  $4,2 \cdot 10^{-19}$  y  $5,2 \cdot 10^{-17} \text{ mol}^{-1}$ , aumentando con la temperatura.

Es de señalar por otra parte que, de acuerdo con la bibliografía (10, 11), el proceso de degradación de los derivados 4,5-diamino-pi-

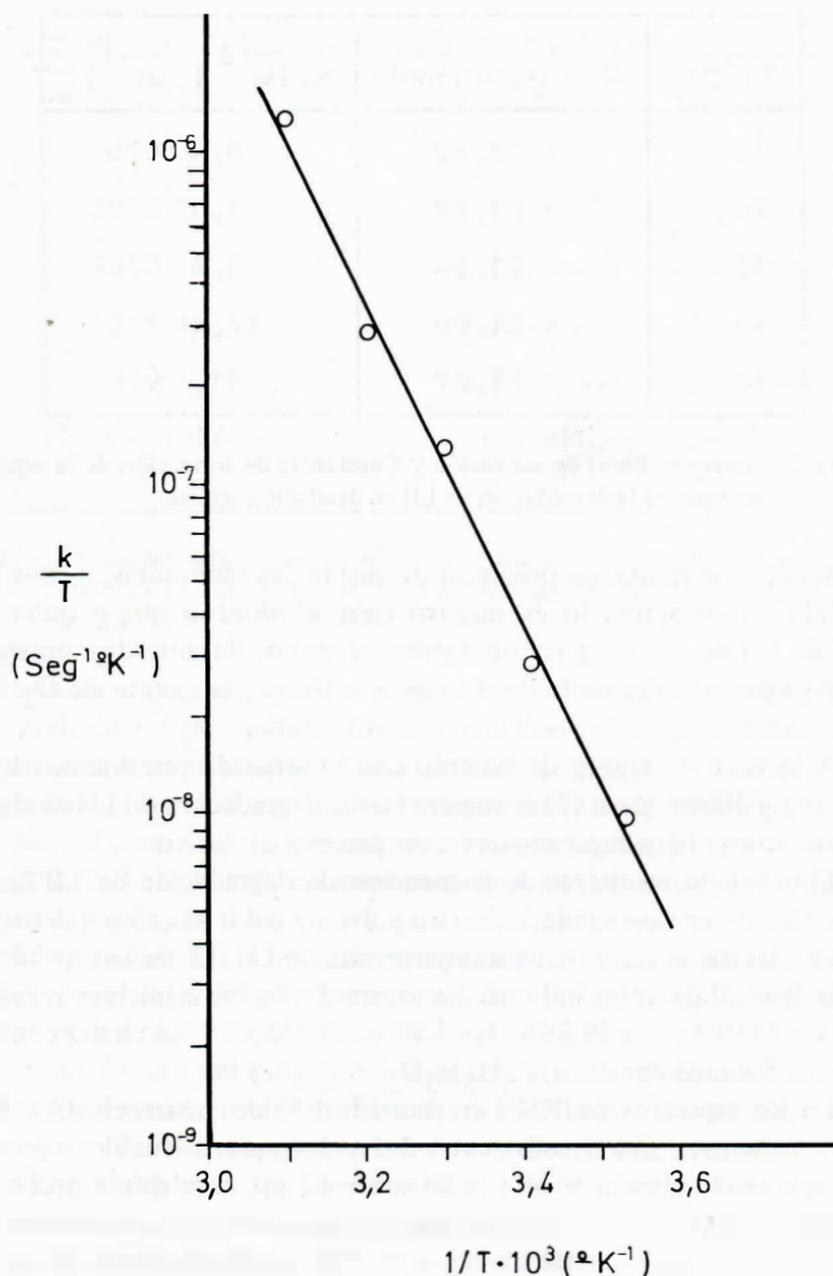


Figura 6.- Variación de la velocidad específica del proceso de degradación de LH en disolución acuosa dividida por la temperatura absoluta en función del inverso de esta temperatura.

T(°C)	$\Delta G^*$ (Kcal/mol)	K. $10^{18}$ (mol <sup>-1</sup> ) <sup>-1</sup>
10	23,80	0,42
20	23,87	1,37
30	23,94	5,41
40	24,00	17,48
50	24,07	51,75

Tabla 2.- Energías libres de activación y Constantes de formación de la especie activada de la degradación de LH en disolución acuosa.

rimidinicos se inhibe en presencia de sustancias reductoras, lo que ha podido ser comprobado en nuestro caso, al observar que el espectro UV de LH no sufre alteración alguna, al menos durante dos semanas, si en la preparación de la disolución se utiliza agua exenta de O<sub>2</sub> y si se mantiene sobre esta disolución una atmósfera de N<sub>2</sub>.

A la vista de ello, y de acuerdo con lo señalado por Polonovski y col. (1) y Blicke y col (7) se sugiere que la degradación de LH en disolución acuosa tiene lugar mediante un proceso oxidativo.

El producto resultante de la mencionada degradación de LH ha sido obtenido en fase sólida, como un polvo de color amarillo que precipita en las disoluciones acuosas envejecidas de LH. El análisis químico de la fase sólida antes indicada ha suministrado los siguientes resultados C=43,08%, N=29,86%, H=3,59%, O=23,47% los cuales conducen a la fórmula empírica C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>.

En los espectros de RMN en dimetilsulfóxido, aparecen sólo, dos tipos de señales, una de ellas entre 3,2 y 3,4 ppm. asignables a protones unidos a carbono y otra señal sobre 12 pp, asignable a protones unidos a nitrógeno. Las bandas más significativas del espectro IR del citado sólido pulverulento de color amarillo aparecen reseñadas en la tabla 3. Es de destacar la no existencia de bandas asignables a grupos NH<sub>2</sub> y la aparición de las vibraciones características de los grupos OH, CH<sub>3</sub> y de los N-H anulares.

Frecuencia ( $\text{cm}^{-1}$ )	Asignación
3480 y 3550	$\nu$ (OH)
3020	$\nu_{\text{as}}$ (C-H)
3980	$\nu_{\text{s}}$ (C-H)
3350	$\nu$ (>N-H) N-anular
1358	$\delta$ (C-H)
850	$\delta$ { N-H) N-anular
1700 - 1600	$\nu$ (C=N) y (C=O)

Tabla 3.- Principales frecuencias de vibración y asignaciones, correspondientes al espectro IR. del producto final de degradación de LH en disolución acuosa.

Mediante espectroscopía de masas se ha intentado determinar la masa molecular del compuesto en cuestión, pero en las condiciones experimentales en que se opera, dicha sustancia es inestable y descompone rápidamente para dar radicales de menor masa, entre los que se han detectado al comienzo de la lectura los de masas iguales a: 256, 242, 213. 194, 185. En consecuencia la masa molecular del compuesto objeto de estudio debe ser superior a dichos valores.

Blicke y Godt (7) al estudiar compuestos similares al nuestro, llegan a la conclusión de que el calentamiento a reflujo durante 12 horas en presencia de HCl concentrado, da lugar a la formación de un nuevo compuesto dímico del progenitor en el que se ha perdido parte de la molécula del monómero de partida. Baudisch y Bogert tras estudiar diversos derivados 4,5-diaminoporimidínicos, llegan a la conclusión de que como paso previo a la condensación, el monómero sufre una oxidación selectiva de grupos imino, originando un nuevo compuesto que es el que se condensa para formar el producto final.

Teniendo en cuenta los trabajos de Blicke y Godt, se ha tratado 1 g. ( $6,4 \cdot 10^{-3}$  moles) de LH con una cantidad equimolecular de HCl disueltos en 10 cc. de agua desionizada y la disolución se hirvió a reflu-

jo durante 12 horas, tras lo cual se obtuvo una fase sólida de color amarillo. Esta se trató con 10 cc. de  $\text{NaHCO}_3$  al 5 %, se filtró y se recristalizó en dimetil-formamida, obteniéndose un sólido pulverulento de color amarillo cuyo análisis elemental, espectro I.R. y de RMN, coinciden con los del producto obtenido en la degradación espontánea de LH en disolución acuosa.

A la vista de estos resultados y de los existentes en bibliografía cabe establecer que el producto final de degradación de LH en disolución acuosa es el 1,6-dimetil-2,4,7,9-tetrahydroxi-pirimido-(4,5, h)-pteridina y se sugiere que el proceso puede transcurrir en la forma que se esquematiza en la figura 7.

El hecho de que en una primera fase del proceso de degradación estudiado, se observe fluorescencia en la disolución, podrá ser debido a la presencia de derivados monocíclicos resultantes de la oxidación del monómero (12). Esta fluorescencia decrece en el tiempo, quedando extinguida horas antes de que finalice la precipitación del producto final de la reacción, como consecuencia probablemente, de la condensación del monómero, para dar lugar al compuesto cíclico final.

De todo lo expuesto anteriormente se sugiere que la degradación de LH, en disolución acuosa, es un proceso oxidativo que transcurre según el esquema de la figura 7 para originar 1,6-dimetil-2,4,7,9-tetrahydro-pirimido-(4,5,h)-pteridina.

Dicho proceso se puede inhibir mediante la adición de antioxidantes al medio, o utilizando agua exenta de  $\text{O}_2$  y atmósfera de nitrógeno, siendo este último un procedimiento adecuado, si se quiere evitar interferencias a la hora de estudiar las propiedades de LH y su capacidad complejante.

Es de señalar, por otra parte, que a partir de LH se puede obtener la 1,6-dimetil-2,4,7,9-tetrahydroxi-pirimido-(4,5,h)-pteridina con un rendimiento del 29 % y con un buen grado de pureza, siguiendo el método preparativo antes indicado.

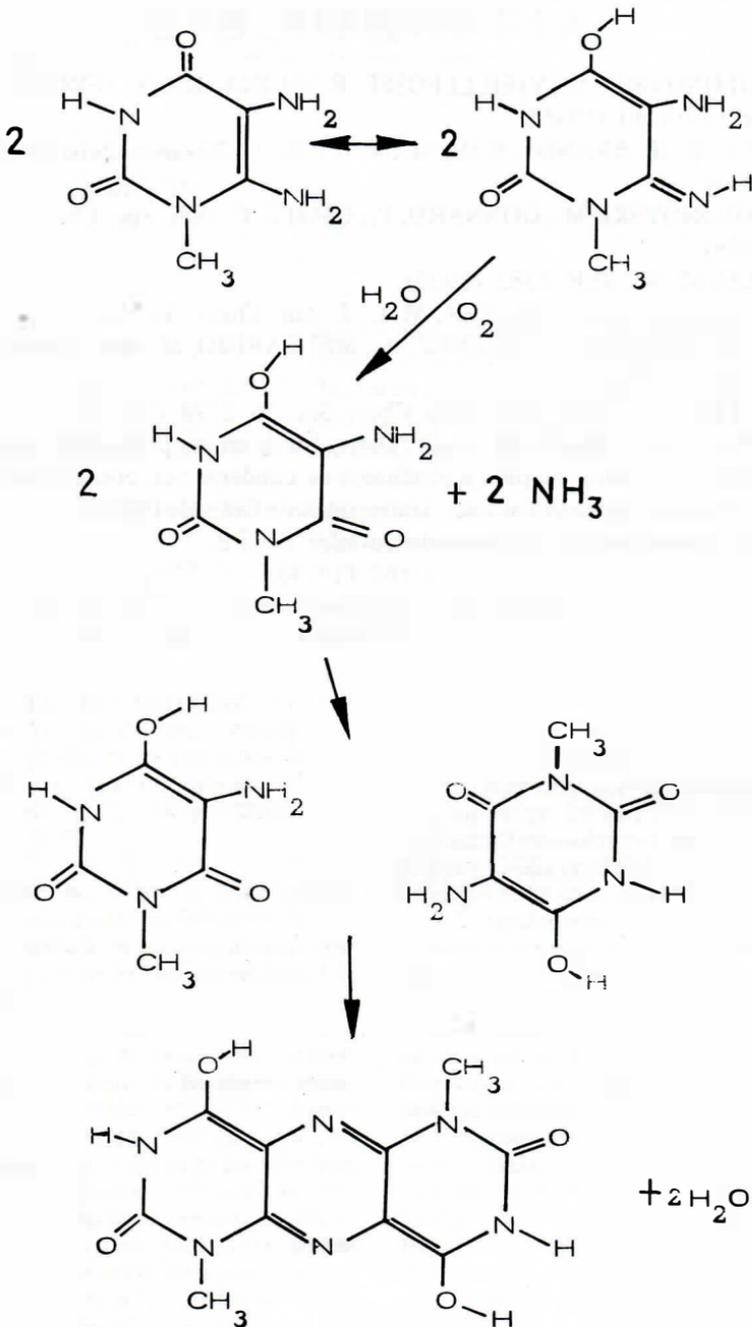


Figura 7.- Mecanismo de degradación de LH en disolución acuosa.

## BIBLIOGRAFIA

1. POLONOVSKI, M.; VIEILLEFOSSE, R.; GUINANDA, S.; JEROME H. Bull. Soc. Chem. 80 (1946).
2. EULER, H.; BRANDT, K.M.; NEUMULLEK, G. Biochem. Zeitsch 281, 206 (1935).
3. POLONOVSKI, M.; GONNARD, P.; GLOTZ, C. Bull. Soc. Chem. 6. 1557 (1929).
4. TRAUBE, W.; BER 1382 (1900).
5. STIMSON M.M.; TREUTER, M.A.; J. Am. Chem. Soc. 63 697 (1941).
6. VALENZUELA, C.; JIMENEZ, A.; MELGAREJO, M.; Ars. Pharmaceutica 22 494 (1981).
7. BLICKE, F.; GODT, H.C. J. Am. Chem. Soc. 76 2798 (1954).
8. RODRIGUEZ MELGAREJO, C. "Derivados de amino pirimidinas, estudio de amino pirimidinas simples y productos de condensación con glucosa". Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias. Universidad de Granada (1979).
9. Próxima publicación en Anales de Química. Serie B.
10. BAUDISCH, O.J. Bol. Chem. 60 155 (1924).
11. BOGERT, T.; DAVIDSON, D. J. Am. Chem. Soc. 54 4754 (1932).
12. WIELAND, H.; TARTTER, A.; PURKMANN, R. Ann. 545-209 (1940).