

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



Síntesis de un derivado hidroxibutanólido
[5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2-(3H)-ona]
con posible acción antiinflamatoria y analgésica
a partir de dos aldehídos asequibles
(4-metoxibenzaldehído y acetaldehído)

Trabajo de graduación en modalidad de tesis
presentado por Carlos Humberto Pineda Salazar
para optar al grado académico de licenciado en Química Farmacéutica

Guatemala,

2004

Síntesis de un derivado hidroxibutanólido
[5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2-(3H)-ona]
con posible acción antiinflamatoria y analgésica
a partir de dos aldehídos asequibles
(4-metoxibenzaldehído y acetaldehído)

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



Síntesis de un derivado hidroxibutanólido
[5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2-(3H)-ona]
con posible acción antiinflamatoria y analgésica
a partir de dos aldehídos asequibles
(4-metoxibenzaldehído y acetaldehído)

Trabajo de graduación en modalidad de tesis
presentado por Carlos Humberto Pineda Salazar
para optar al grado académico de licenciado en Química Farmacéutica

Guatemala,

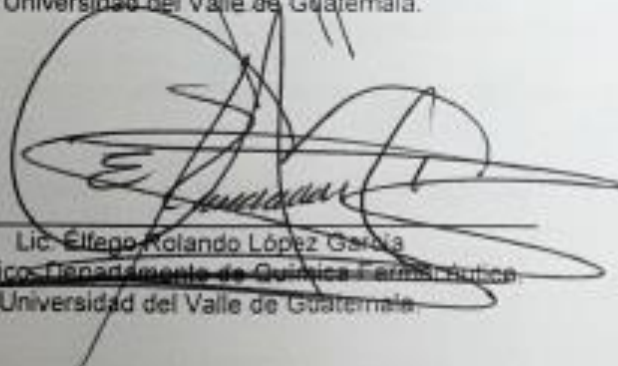
2004


Vo.Bo. _____
Lic. José Carlos Chiquín Suárez
Asesor

Tribunal Examinador


Vo.Bo. _____
Licda. Odette de Bocaletti
Catedrática. Departamento de Química.
Universidad del Valle de Guatemala.


Vo.Bo. _____
Lic. José Carlos Chiquín Suárez
Catedrático. Departamento de Química.
Universidad del Valle de Guatemala.


Vo.Bo. _____
Lic. Elfege Rolando López García
Catedrático. Departamento de Química y Física.
Universidad del Valle de Guatemala.

Fecha de aprobación: 30 de enero de 2004.

PREFACIO

Dedico todos los años de estudio, la energía y recursos invertidos en este trabajo

A Dios,	por las infinitas bendiciones que derrama sobre mí cada día. Jos. 1,9
A mis papás, Carlos y Lucy,	por todo su amor, cuidados y apoyo incondicional a todos los proyectos de mi vida. Gracias. Los amo.
A mis hermanos, Susana y Ricardo,	por su cariño y confianza. Los quiero mucho.
A mi familia,	por su cariño y por todos sus cuidados.
A la Virgen María,	por su innegable protección.
A mi abuelita María de Jesús,	con mucho amor.
A mi abuelita y madrina Ofelia ,	con mucho amor, que descansa en la paz de Nuestro Señor.
A mi novia Rocio Alejandra,	por todo su amor, apoyo, cuidados, paciencia y comprensión. Te amo.

Agradezco sinceramente

A la Fundación Herculano Aguirre,	por su valiosa ayuda y confianza durante todos los años de estudios universitarios.
Al licenciado Arcadio Madrid,	por su ayuda desinteresada antes de que todo esto empezara.
A mi tía Marita,	por su guía y ejemplo.
A mi tía Ana,	por su guía, cuidados, cariño y ejemplo de bondad y ayuda.
A mis amigos,	por su compañía en los momentos buenos y en los no tan buenos, dentro y fuera de la U.
A los buenos catedráticos,	de quienes sigo aprendiendo, incluso fuera de las aulas y de los laboratorios.
A la licenciada Odette de Bocaletti,	por sus valiosos consejos, siempre llenos de mucho cariño.
Al licenciado José Carlos Chiquín,	por ayudarme incondicionalmente con su tiempo y conocimientos para concluir este proyecto.
A las licenciadas María del C. Samayoa de Arriola y Maité Donis de Recinos,	por su valiosísima ayuda para realizar los análisis cromatográficos para la detección e identificación de los productos de la síntesis.
A M.Sc. Margarita Selle y al licenciado Gerardo Pirir,	por su valiosísima ayuda para realizar los análisis espectrofotométricos de los productos de la síntesis.
A M.A. Élfego Rolando López G.,	Por su ejemplo de servicio a los demás y su gran ayuda, siempre incondicional, para concluir este proyecto.
Al licenciado Igor Slowing ,	Por compartir conmigo este proyecto y por hacerme recordar que lo que se sueña sí se puede alcanzar con entrega, trabajo y preparación (esa que muchos llaman “suerte”). Gracias por tu amistad, ejemplo y apoyo en la distancia. Saludos.

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
PREFACIO	v
RESUMEN	xix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO CONCEPTUAL.....	3
2.1 Aspectos fisiológicos de los procesos inflamatorios.....	3
2.2 Aspectos bioquímicos de los procesos inflamatorios.....	6
2.3 Líneas generales de tratamiento de los procesos inflamatorios	22
2.4 Fosfolipasa A ₂ . Información. Participación y mecanismo de acción en los procesos inflamatorios	24
2.5 Procedimientos de preparación de algunos antiinflamatorios.....	29
3. JUSTIFICACIÓN	39
3.1 Planteamiento.....	40
3.2 Alcance y límites del trabajo de investigación.....	40
4. MARCO TEÓRICO.....	41
4.1 Petrosospongiólido.....	41
4.2 Información sobre <i>Petrosaspongia nigra</i>	41
4.3 Estudios sobre la actividad del petrosospongiólido	42
5. MARCO METODOLÓGICO.....	45
5.1 Objetivos	45

5.2 Hipótesis.....	45
5.3 Procedimiento.....	45
5.4 Recolección y tratamiento de los datos. Análisis espectrométrico, cromatográfico y pruebas de caracterización química de los productos de cada etapa y del producto final	75
5.5 Diseño de investigación.....	82
5.6 Análisis estadístico	82
6. MARCO OPERATIVO.....	83
6.1 Recursos	83
7. RESULTADOS	87
7.1 Resultados del procedimiento propuesto originalmente para la preparación de 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2-(3 <i>H</i>)-ona a partir de 4-metoxibenzaldehído y acetaldehído.....	87
7.2 Resultados del procedimiento propuesto alternativo para la preparación de 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2-(3 <i>H</i>)-ona a partir de 4-metoxibenzaldehído y acetato de etilo....	114
8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	137
8.1 Criterios para el análisis de los resultados experimentales de las distintas etapas de cada procedimiento.....	138
8.2 Análisis de las condiciones de reacción y del procedimiento	147
9. CONCLUSIONES.....	163
10. RECOMENDACIONES	167
11. BIBLIOGRAFÍA.....	173
12. ANEXO.....	179
12.1 Información complementaria sobre la fosfolipasa A ₂	179
12.2 Información sobre reactivos, intermediarios y productos.	185

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2.1 Mediadores de los procesos inflamatorios provenientes de células cebadas.....	9
Cuadro 5.1 Piezas de vidrio a limpiar y secar minuciosamente en el procedimiento 5.3.1.1.	51
Cuadro 5.2 Preparación de soluciones a emplear en la etapa No. 1A.....	52
Cuadro 5.3 Preparación de soluciones del procedimiento 5.3.1.4.1 de la etapa No.2A.....	59
Cuadro 5.4 Piezas de vidrio a limpiar y secar minuciosamente en el procedimiento 5.3.2.1.	67
Cuadro 5.5 Preparación de soluciones a emplear en la etapa No. 1B.....	67
Cuadro 5.6 Preparación de soluciones del procedimiento 5.3.2.3.2 de la etapa No.2B.....	72
Cuadro 6.1 Listado de materiales a utilizar.....	84
Cuadro 6.2 Listado de reactivos a utilizar.....	85
Cuadro 6.3 Listado de cristalería a utilizar.....	86
Cuadro 6.4 Información de los gastos a cubrir en el presente trabajo de investigación.....	86
Cuadro 7.1 Cambios observados al preparar fenillitio.....	87
Cuadro 7.2 Cambios observados al preparar dietilamida de litio.....	88
Cuadro 7.3 Cambios observados al preparar [(2 <i>E</i>)-3-(4-metoxifenil) acrilaldehído.....	88
Cuadro 7.4 Resultados de las pruebas de caracterización química de grupos funcionales realizadas al producto de la etapa 1A [(2 <i>E</i>)-3-(4-metoxifenil) acrilaldehído].....	89
Cuadro 7.5 Caracterización de la mezcla reaccionante producto de la etapa 1A por cromatografía de gases y espectrometría de masas con ionización por impacto de electrones	89
Cuadro 7.6 Cambios observados al preparar 2-(4-metoxifenil)-4-oxo-butano nitrilo.....	94
Cuadro 7.7 Resultados de las pruebas de caracterización química de grupos funcionales realizadas al producto de la etapa 2 [2-(4-metoxifenil)-4-oxo-butano nitrilo].....	95
Cuadro 7.8 Caracterización de la mezcla que contiene al producto de la etapa 2A [2-(4-metoxifenil)-4-oxo-butano nitrilo] por cromatografía de gases y espectrometría de masas con ionización por impacto de electrones.....	95
Cuadro 7.9 Asignación de grupos funcionales a las bandas de absorción del espectro de absorción molecular en Infrarrojo medio (IR) de la mezcla de productos de la etapa 2A.....	101
Cuadro 7.10 Cambios observados al preparar 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2-(3 <i>H</i>)-ona.....	104
Cuadro 7.11 Resultados de las pruebas de caracterización química de grupos funcionales realizadas al producto de la etapa 3A [5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)- dihidrofuran-2-(3 <i>H</i>)-ona...]	104

Cuadro 7.12 Caracterización de la mezcla que contiene al producto de la etapa 3A sin purificar [5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2-(3 <i>H</i>)-ona] por cromatografía de gases y espectrometría de masas con ionización por impacto de electrones.....	105
Cuadro 7.13 Asignación de grupos funcionales en el espectro de absorción molecular en infrarrojo medio (IR) de la mezcla que contiene al producto de la etapa 3A [5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2-(3 <i>H</i>)-ona].....	110
Cuadro 7.14 Resultados de la interpretación del espectro de resonancia magnética nuclear de protones del producto obtenido en la etapa 3A.....	112
Cuadro 7.15 Cambios observados al preparar (2 <i>E</i>)-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo.....	114
Cuadro 7.16 Resultados de las pruebas de caracterización química de grupos funcionales realizadas a la mezcla que contiene al producto de la etapa 1B.....	115
Cuadro 7.17 Caracterización de la mezcla que contiene al producto de la etapa 1B [Producto: (2 <i>E</i>)-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo] con cromatografía de gases y espectrometría de masas con ionización por impacto de electrones.....	115
Cuadro 7.18 Cambios observados al preparar 3-ciano-3-(4-metoxifenil)-propanoato de etilo...	119
Cuadro 7.19 Resultados de las pruebas de caracterización química de grupos funcionales realizadas a la mezcla que contiene al producto de la etapa 2B [3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo].....	119
Cuadro 7.20 Caracterización de la mezcla que contiene al producto de la etapa 2B [(3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo] con cromatografía de gases y espectrometría de masas con ionización por impacto de electrones.....	120
Cuadro 7.21 Asignación de grupos funcionales en el espectro de absorción molecular en infrarrojo medio (IR) de la mezcla que contiene al producto de la etapa 2 B [(3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo].....	123
Cuadro 7.22 Cambios observados a los derivados γ -butanólidos: 3-(4-metoxifenil) oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona.....	125
Cuadro 7.23 Resultados de las pruebas de caracterización química de grupos funcionales realizadas a los derivados γ -butanólidos: 3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona.....	125
Cuadro 7.24 Caracterización de la mezcla que contiene a los productos de la etapa 3B derivados γ -butanólidos: 3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona por cromatografía de gases y con espectrometría de masas con ionización.....	126
Cuadro 7.25 Asignación de grupos funcionales en el espectro de absorción molecular en infrarrojo medio (IR) de la mezcla que contiene a los productos de la etapa 3B derivados γ -butanólidos: 3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona ...	132
Cuadro 7.26 Interpretación del espectro de resonancia magnética nuclear de protones del producto de la etapa 3B.....	134
Cuadro 12.1 Información sobre sustratos y productos de la fosfolipasa A ₂	179
Cuadro 12.2 Información sobre la localización de la fosfolipasa A ₂ en órganos en el ser humano (Homo sapiens).....	182
Cuadro 12.3 Información sobre la localización de la fosfolipasa A ₂ a nivel celular en el ser humano.....	182

Cuadro 12.4 Sustancias activantes de la fosfolipasa A ₂ en humanos	183
Cuadro 12.5 Información sobre las sustancias inhibidoras de la fosfolipasa A ₂	184
Cuadro 12.6 Información cuantitativa y cualitativa de reactivos	185
Cuadro 12.7 Información cuantitativa y cualitativa de subproductos, intermediarios y producto final	186
Cuadro 12.8 Propiedades físicas de reactivos	187
Cuadro 12.9 Propiedades físicas de subproductos, intermediarios y producto final.....	188
Cuadro 12.10 Información sobre toxicidad y precauciones en el manejo de reactivos	189
Cuadro 12.11 Información sobre toxicidad y precauciones para el manejo de subproductos, intermediarios y producto final	191
Cuadro 12.12 Abreviaturas de revistas y otras publicaciones periódicas citadas en la bibliografía.....	192

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Diagrama esquemático del inicio y efecto de un proceso inflamatorio	7
Figura 2.2 Eventos bioquímicos para la activación y secreción plaquetarias	14
Figura 2.3 Rutas de biosíntesis de los derivados eicosanoides a partir del ácido araquidónico: Prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos	16
Figura 2.4 Estructura de un glicerofosfolípido mostrando la posición del araquidonato y el sitio de la reacción de hidrólisis catalizada por la fosfolipasa A ₂	17
Figura 2.5 Biosíntesis de leucotrienos a partir de ácido araquidónico, por la vía de la lipoxigenasa	19
Figura 2.6 Biosíntesis de prostaglandinas y tromboxanos a partir de ácido araquidónico, por la vía de la ciclooxigenasa	21
Figura 2.7 Sitios de acción de los medicamentos empleados en las tres líneas de tratamiento de los procesos inflamatorios.....	23
Figura 2.8 Diagrama esquemático del canal hidrofóbico con el sitio activo de la enzima, indicado por la flecha y del L-1,2-diacilglicerofosfolípido a hidrolizar	26
Figura 2.9 Mecanismo de reacción de hidrólisis de L-1,2-diacilglicerofosfolípidos catalizada por la fosfolipasa A ₂ (en el sitio activo de ésta)	27
Figura 2.10 Estructura del 5-nitro-2-furfuraldehído	29
Figura 2.11 Esquema de síntesis de acetaminofén.....	30
Figura 2.12 Esquema de síntesis de ibuprofeno.....	31
Figura 2.13 Estructura química de la indometacina.....	31
Figura 2.14 Esquema de síntesis de la orpanoxina	32
Figura 2.15 Estructura de la estrona mostrando sus cuatro centros quirales.....	33
Figura 2.16 Síntesis de progesterona, intermediario clave en la manufactura de corticosteroides, a partir de diosgenina.....	34
Figura 2.17 Estructuras del ácido cólico, cortisona e hidrocortisona.....	35
Figura 2.18 Esquema de síntesis de diacetato de etinodiol	36
Figura 2.19 Reacción para la preparación de estradiol valerato	36
Figura 2.20 Esquema de síntesis de acetato de fluorocortisona.....	37
Figura 2.21 Esquema de síntesis del norgestrel	38
Figura 4.1 Estructura química de Petrosaspongiólido M	41

Figura 5.1 Resumen de las reacciones a utilizar durante la síntesis A	46
Figura 5.2 Reacción para la preparación de fenillitio.....	46
Figura 5.3 Reacción para la preparación de la dietilamida de litio	47
Figura 5.4 Reacción para la preparación del (2 <i>E</i>)-3-(4-metoxifenil) acrilaldehído o 4-metoxicinamaldehído.....	47
Figura 5.5 Mecanismo de reacción para la síntesis de 4-metoxifenil acrilaldehído. Etapa No. 1A	48
Figura 5.6 Reacción para la preparación de 2-(4-metoxifenil)-4-oxo-butano nitrilo	48
Figura 5.7 Mecanismo de reacción para la síntesis de 2-(4-metoxifenil)-4- oxobutanonitrilo. Etapa No. 2A	49
Figura 5.8 Reacción para la preparación de 5-hidroxi-4-(4-metoxifenil) dihidrofuran-2(3 <i>H</i>)- ona	49
Figura 5.9 Mecanismo de reacción para la síntesis de 5-hidroxi-4-(4-metoxifenil) dihidrofuran-2(3 <i>H</i>)-ona. Etapa No. 3A	50
Figura 5.10 Sistema de destilación simple a utilizar en los incisos 5.3.1.2.2.1 y 5.3.1.2.2.2.....	52
Figura 5.11 Esquema para pesar sodio metálico (Procedimiento 5.3.1.2.6)	54
Figura 5.12 Sistema de destilación-reflujo con atmósfera inerte para la purificación de dietil éter (Procedimiento 5.3.1.2.6)	54
Figura 5.13 Sistema para la preparación de fenillitio (procedimiento 5.3.1.3.2)	57
Figura 5.14 Sistema para la reacción de la etapa 2A. (Procedimiento 5.3.1.4.2).....	59
Figura 5.15 Sistema para la hidrólisis del cianuro y formación de anillo heterocíclico (Procedimiento 5.3.1.5).....	62
Figura 5.16 Resumen de las reacciones a utilizar durante la síntesis B	62
Figura 5.17 Reacción para la purificación del sodio	63
Figura 5.18 Reacción para la preparación de (2 <i>E</i>)-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo	63
Figura 5.19 Mecanismo de reacción para la síntesis de (2 <i>E</i>)-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo. Etapa No. 1B	64
Figura 5.20 Reacción para la preparación de 3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo.....	64
Figura 5.21 Mecanismo de reacción para la preparación de 3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo. Etapa No. 2B	65
Figura 5.22 Reacción para la preparación de 3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi- 3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona.....	65
Figura 5.23 Mecanismos de reacción para la síntesis de 3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona. Etapa No. 3B.....	66
Figura 5.24 Sistema de destilación simple a utilizar en los incisos 5.3.2.2.2.1 y 5.3.2.2.2.2.....	68
Figura 5.25 Esquema para pesar sodio (y litio) metálico (Procedimiento 5.3.2.2.3.....)	69
Figura 5.26 Sistema para la preparación de (2 <i>E</i>)-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo (4-metoxicinamato de etilo) (procedimiento 5.3.2.2.....)	70

Figura 5.27 Sistema para la reacción de la etapa 2A. (Procedimiento 5.3.2.3.2).....	72
Figura 5.28 Sistema para la hidrólisis del cianuro y formación de anillo heterocíclico	75
Figura 7.1 Cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1A	91
Figura 7.2 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 6.792 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1A, identificado como bromobenceno con el 91% de coincidencia	92
Figura 7.3 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 9.784 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1A, identificado como N,N-dietil-N-fenilamina con el 94% de coincidencia.....	92
Figura 7.4 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 10.167 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1A, identificado como 4-metoxibenzaldehído con el 95% de coincidencia	93
Figura 7.5 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 10.616 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1A, identificado como 4-metoxibenzaldehído con el 81% de coincidencia	93
Figura 7.6 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 11.164 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1A, identificado como 1,1-bifenilo con el 81% de coincidencia	94
Figura 7.7 Cromatograma de gases de la mezcla de productos de la etapa 2A.....	97
Figura 7.8 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 6.801 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 2A, identificado como bromobenceno con el 91% de coincidencia	98
Figura 7.9 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 9.804 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 2A, identificado como N,N-dietil-N-fenilamina con el 94% de coincidencia.....	98
Figura 7.10 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 10.198 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 2A, identificado como 4-metoxibenzaldehído con el 95% de coincidencia	99
Figura 7.11 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 10.626 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 2A, identificado como 4-metoxibenzaldehído con el 81% de coincidencia	99
Figura 7.12 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 11.174 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 2A, identificado como 1,1-bifenilo con el 81% de coincidencia	100
Figura 7.13 Espectro de absorción molecular en infrarrojo medio (IR) de la mezcla de productos de la etapa 2A obtenido por reflectancia total atenuada sobre cristal de seleniuro de zinc ZnSe).....	103
Figura 7.14 Cromatograma de gases de la mezcla de productos de la etapa 3A.....	106
Figura 7.15 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 6.817 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3A, identificado como bromobenceno con el 95% de coincidencia	107

Figura 7.16 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 10.170 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3A, identificado como 4-metoxibenzaldehído con el 91% de coincidencia	107
Figura 7.17 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 11.134 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3A, identificado como bifenilo con el 93% de coincidencia.....	108
Figura 7.18 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 11.584 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3A, identificado como 4-metoxibenzoato de etilo con el 87% de coincidencia	108
Figura 7.19 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 12.614 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3A, identificado como 2-bromobifenilo con el 96% de coincidencia.....	109
Figura 7.20 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 14.520 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3A, identificado como o-terfenilo con el 96% de coincidencia	109
Figura 7.21 Espectro de absorción molecular de la mezcla de productos de la etapa 3A en infrarrojo medio (IR) obtenido por transmisión sobre tabletas de bromuro de potasio.....	111
Figura 7.22 Espectro de resonancia magnética nuclear de protones (¹ H-NMR) del producto de la etapa 3A, disuelto en cloroformo deuterado como solvente y tetrametilsilano como referencia del desplazamiento químico	113
Figura 7.23 Cromatograma de gases de la mezcla de productos de las etapas 1B	116
Figura 7.24 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 10.304 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1B, identificado como 4-metoxibenzaldehído con el 78% de coincidencia	117
Figura 7.25 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 13.313 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1B, identificado como ácido (2E)-3-(4-metoxifenil acrílico) [ácido 4-metoxicinámico] con el 93% de coincidencia.....	117
Figura 7.26 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 13.592 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1B, identificado como 4-metoxifenil-propanoato de etilo con el 95% de coincidencia	118
Figura 7.27 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 13.789 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1B identificado como 4-metoxifenil-propanoato de etilo con el 96% de coincidencia	118
Figura 7.28 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 13.676 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 2B, identificado como ácido (2E)-3-(4-metoxifenil) acrílico con el 97 % de coincidencia.....	121
Figura 7.29 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 14.333 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 2B, identificado como 3-ciano-3-(4-metoxifenil)-propanoato de etilo.....	121
Figura 7.30 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 15.539 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 2B, identificado como (2E)-3-(4-metoxifenil)-2-propen-1,1,1-trinitrilo	122

Figura 7.31 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 15.670 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 2B, identificado como 1-hidroxi-3-(4-metoxifenil) propano-1,1,3-trinitrilo.....	122
Figura 7.32 Espectro de absorción molecular en infrarrojo medio (IR) de la mezcla de productos de la etapa 2B obtenido por reflectancia total atenuada sobre cristal de cristal de seleniuro de zinc (ZnSe).....	124
Figura 7.33 Cromatograma de gases de la mezcla de productos de la etapa 3B.....	127
Figura 7.34 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 13.648 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3B, identificado como ácido (2E)-3-(4-metoxifenil) acrílico [ácido 4-metoxicinámico]	128
Figura 7.35 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 14.239 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3B, identificado como 3-(4-metoxifenil)-furan-2,5-diona.....	128
Figura 7.36 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 14.502 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3B, identificado como 3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y /o 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona.....	129
Figura 7.37 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 14.722 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3B, identificado como 1-hidroxi-3-(4-metoxifenil) propano-1,1,3-trinitrilo.....	129
Figura 7.38 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 16.157 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3B, identificado como ácido 4-etoxi-2-(4-metoxifenil)-4-oxobutanóico.....	130
Figura 7.39 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 16.442 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3B, identificado como ácido 2-(4-metoxifenil) succínico.....	130
Figura 7.40 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 17.023 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3B, identificado como ácido 1-hidroxi-3-(4-metoxifenil) propano-1,1,3-trióico.....	131
Figura 7.41 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 17.077 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3B, identificado como ácido 2-[4-amino-1,4,4-trihidroxi-3-(4-metoxifenil)butil]-propanodiimídico.....	131
Figura 7.42 Espectro de absorción molecular en infrarrojo medio (IR) de la mezcla de productos de la etapa 3B obtenido transmisión sobre tabletas de bromuro de potasio	133
Figura 7.43 Espectro de resonancia magnética nuclear de protones (1H-NMR) del producto de la etapa 3B, disuelto en cloroformo deuterado como solvente y tetrametilsilano como referencia del desplazamiento químico.....	135
Figura 8.1 Estructura química de 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2(3H)ona	137
Figura 8.2 3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona derivados γ -hidroxibutanóidos obtenidos en el procedimiento B (alternativo, propuesta en el presente trabajo) que pudieran tener semejantes efectos sobre la fosfolipasa A ₂	138
Figura 8.3 Estructura química de 2-(4-metoxifenil)-4-oxo-butanonitrilo. Producto de la etapa No. 2A.....	146

Figura 8.4 Estructura química de 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2(3 <i>H</i>)ona. Producto de la etapa No. 3A.....	147
Figura 10.1 Reacción para la preparación de 4-metoxicinamato de etilo	168
Figura 10.2 Mecanismo de reacción para la preparación de 4-metoxicinamato de etilo	169
Figura 10.3 Sistema para la preparación de 4-metoxicinamonitrilo.....	171
Figura 10.4 Sistema de destilación por arrastre de vapor.....	171
Figura 12.1 Estructuras de algunos de los sustratos de la fosfolipasa A ₂ en seres humanos.....	181
Figura 12.2 Estructuras de algunos de los activantes de la fosfolipasa A ₂ en seres humano	183
Figura 12.3 Estructuras de algunos de los inhibidores de la fosfolipasa A ₂ en seres humanos...	184
Figura 12.4 Estructuras de los compuestos identificados en las etapas 2 y 3 del procedimiento alternativo, referidas en los cuadros 7.20 y 7.24	193

RESUMEN

La alta recurrencia de efectos secundarios adversos derivados del uso de los principios activos disponibles para el tratamiento del dolor y la inflamación han promovido el estudio de nuevos compuestos sin estos efectos. Los derivados γ -hidroxibutanólicos han demostrado ser muy efectivos para el tratamiento de procesos inflamatorios y dolorosos pero el bajo rendimiento de extracción a partir de su fuente natural (*Petrosaspongia nigra*) exige el desarrollo de un procedimiento de síntesis en laboratorio de estos derivados. En este trabajo de investigación se planteó, desarrolló y evaluó un procedimiento para la síntesis (de tipo lineal, de tres etapas) de 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2(3H)-ona, que es un derivado γ -hidroxibutanólico. El procedimiento se desarrolló así: Etapa uno, reacción de condensación entre un aldehído y un carbonilo de un compuesto carbonílico para la formación de un compuesto α,β -insaturado; Etapa dos, adición de cianuro al carbono β del producto de la etapa uno; Etapa tres, ciclación del ácido carboxílico (generado por la hidrólisis del nitrilo producto de la reacción de la etapa dos) con el carbonilo generado en la etapa uno.

Dado que el aldehído a formar en la etapa uno es muy reactivo, al grado de ser inestable, se propuso un nuevo procedimiento de síntesis durante este trabajo, empleando etóxido de sodio como base fuerte y acetato de etilo (compuesto carbonílico) que reaccionaron para formar (2E)-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo (compuesto α,β -insaturado) con 84.0% de rendimiento. La adición de cianuro se realizó sobre el producto de la etapa uno, produciendo 3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo y 36.6% de rendimiento de esta reacción. La hidrólisis y ciclación de este compuesto generó al menos dos productos γ -butanólicos (3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona) con 36.4% de rendimiento. El rendimiento total de esta ruta sintética fue 11.2%. Todos los productos y subproductos se identificaron a partir de las mezclas en donde se formaron según análisis con cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masa, por espectrofotometría de absorción molecular en infrarrojo medio, por espectrometría de resonancia magnética nuclear de protones.

ABSTRACT

The high recurrence of adverse side effects derived from the use of the active ingredients available for the treatment of pain and inflammation have promoted the study of new compounds without these effects. The γ -hydroxybutanolide derivatives have proven to be very effective for the treatment of inflammatory and painful processes, but the low extraction yield from their natural source (*Petrosaspongia nigra*) requires the development of a laboratory synthesis procedure for these derivatives. In this research work, a procedure for the synthesis (of a linear, three-stage type) of 5-hydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-dihydrofuran-2(3H)-one, which is a γ -hydroxybutanolide derivated. The procedure was developed as follows: Step one, condensation reaction between an aldehyde and a carbanion from a carbonyl compound for the formation of an α,β -unsaturated compound; Stage two, cyanide addition to the β -carbon of the product of stage one; Stage three, cyclization of the carboxylic acid (generated by the hydrolysis of the nitrile produced by the reaction of stage two) with the carbonyl generated in stage one.

Since the aldehyde to be formed in stage one is highly reactive, to the extent of being unstable, a new synthesis procedure was proposed during this work, using sodium ethoxide as strong base and ethyl acetate (carbonyl compound) that reacted to form ethyl-(2E)-3-(4-methoxyphenyl) propanoate (α, β -unsaturated compound) in 84.0% yield. The addition of cyanide was performed on the product from step one, yielding ethyl 3-cyano-3-(4-methoxyphenyl) propanoate and 36.6% reaction yield. Hydrolysis and cyclization of this compound generated at least two γ -butanolide products (3-(4-methoxyphenyl)-oxolan-2,5-dione and 5-ethoxy-3-(4-methoxyphenyl)-oxolan-2-one) with 36.4 % yield. The total yield of this synthetic route was 11.2%. All the products and by-products were identified from the mixtures where they were formed based on analysis with gas chromatography coupled to a mass spectrometer, by medium infrared molecular absorption spectrophotometry and by proton nuclear magnetic resonance spectrometry.

1. INTRODUCCIÓN

Las manifestaciones fisiológicas y los procesos bioquímicos involucrados en la inflamación son los mismos indistintamente de sus causas (que puede ser física-mecánica, bioquímica o fisiopatológica). El tratamiento de los procesos inflamatorios con los fármacos disponibles produce una cantidad considerable de efectos adversos como irritación estomacal, nefropatías, alteraciones electrolíticas, y otras, que se acentúan cuando el tratamiento es duradero ante una inflamación crónica. Actualmente se investiga una serie de compuestos que son metabolitos de esponjas marinas (de la familia Thorectidae) que tienen acción antiinflamatoria y analgésica, con la ventaja de que no presentan los efectos adversos de los fármacos empleados para el tratamiento de dichas afecciones. Estos compuestos tienen un grupo funcional del tipo γ -hidroxibutanólido (ver Figura No. 5.1).

En estudios realizados en 1999, y posteriormente en 2002, se determinó que el mecanismo de acción de estos derivados γ -hidroxibutanólidos consiste en la inhibición de la acción de la enzima fosfolipasa A2 que cataliza la hidrólisis de fosfolípidos de la membrana celular ante un estímulo cualquiera, liberando el ácido araquidónico necesaria para iniciar y mantener un proceso inflamatorio.

Aún no se dispone de un procedimiento viable para síntesis de alguno de estos derivados pese a la gran importancia del estudio del uso de derivados γ -hidroxibutanólidos para la inhibición de un proceso inflamatorio. Por esta razón, en el presente trabajo de investigación se proponen dos procedimientos para la síntesis de un derivado de ese grupo funcional a partir de sustratos adecuados y accesibles. Los dos procedimientos se desarrollan en tres etapas de síntesis consecutivas. Los resultados de la realización del primer procedimiento propuesto en este trabajo, denominado "A", demostraron que con las condiciones de reacción planteadas, ensayadas, evaluadas, mejoradas, reensayadas y reevaluadas no se sintetizó el producto final requerido [5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2(3H)-ona] ya que con esas condiciones no fue viable sintetizar el producto de la primera de tres etapas, necesario para dichas síntesis.

Con el procedimiento “B” planteado y realizado durante el este trabajo de investigación se obtuvieron al menos dos productos γ -butanólidos (3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3 (4-metoxifenil) oxolan-2-ona, ver Figura No. 6.6) que fueron identificados mediante su análisis por cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas, y se comprobaron esos resultados con espectrometría de absorción molecular en infrarrojo y resonancia magnética nuclear.

2. MARCO CONCEPTUAL

2.1 Aspectos fisiológicos de los procesos inflamatorios

Los términos inflamación y proceso inflamatorio se utilizan indistintamente para referirse a la secuencia reactiva, morfológica y bioquímica de eventos que afectan a las células y a los vasos capilares adyacentes a un tejido dañado por diferentes estímulos, que pueden ser de naturaleza química, mecánica o por procesos autodestructivos (autoinmunes) (Bellanti 1971). Ante estos estímulos, la inflamación es una reacción protectora local desencadenada por un daño, lesión o destrucción de los tejidos (Goodman & Gilman 1996) (Menkin 1990) cuyo objetivo es retornar a las condiciones previas al daño o reparar el tejido (Bellanti 1971).

La respuesta inflamatoria es una reacción esencialmente protectora y restaurativa del cuerpo con el fin de mantener la homeostasis ante condiciones externas adversas (Bellanti 1971).

Causas de la inflamación. Inicio del proceso inflamatorio

Un proceso inflamatorio se manifiesta como respuesta a un estímulo dañino a un tejido, y las causas de este daño pueden ser traumas (golpes), infecciones bacterianas localizadas, respuestas autoinmunes no-controladas, interacciones antígeno-anticuerpo, isquemia, lesiones térmicas, lesiones físicas o de otra índole alrededor de un tejido (Goodman & Gilman 1996).

La finalidad de un proceso inflamatorio es hacer llegar al área afectada a los agentes celulares del organismo responsable de la defensa de éste contra agentes patológicos internos o externos mediante quimioatracción (quimiotaxis), facilitada por el aumento de la permeabilidad de los vasos capilares para permitir la salida del líquido intersticial (Menkin 1990).

Manifestaciones fisiológicas de una inflamación

La inflamación se manifiesta mediante hinchazón en el área afectada, aumento de temperatura en el área dañada, enrojecimiento (eritema), tumefacción, dolor al tacto (hiperalgesia) e incluso edema (que es la presencia de exceso de líquido en los espacios intercelulares). Todos estos signos clínicos dependen del tipo de inflamación, pudiendo ser aguda, subaguda o crónica (Menkin 1990).

El edema es un trasudado (es decir, un ultrafiltrado de plasma, estéril, de baja concentración de proteínas y de baja gravedad específica) producido ante el aumento de la permeabilidad vascular adyacente al área afectada por un daño de magnitud media. Un daño severo provoca mayor permeabilidad vascular por lo que se produce un exudado de una elevada gravedad específica en el que hay presentes proteínas y otras células. Algunos de estos exudados pueden ser serosos, hemorrágicos, fibrosos, purulentos, entre otros (Menkin 1990).

Tipos de inflamación

Inflamación aguda: Es una reacción de corta duración producida por un daño pequeño y transitorio. Puede durar desde horas hasta dos o tres días y pueden presentarse fiebre, leucocitosis u otras manifestaciones asociadas con el dolor como tumefacción o enrojecimiento, además de que pueden cambios vasculares en la región afectada y sus alrededores (Menkin).

En la inflamación aguda se pueden presentar cambios vasculares y eventos hemodinámicos que incluyen la constricción de pequeñas arterias en el área afectada. Casi inmediatamente después de la constricción se da una dilatación arteriolar que puede durar desde minutos hasta horas, con lo que puede aumentar el flujo sanguíneo hasta diez veces el valor normal con apertura de los lechos capilares en el lugar afectado, produciendo hiperemia activa (Menkin 1990).

Los cambios de la permeabilidad vascular alrededor del sitio dañado contribuyen a la estasis por los siguientes mecanismos:

- Contracción de las células endoteliales de las vénulas (lo que produce la respuesta inmediata) y de los capilares (unos minutos después).
- Aumento de la permeabilidad vascular, con el consecuente movimiento de líquidos hacia los tejidos afectados, favoreciendo la congestión y edema del área.
- Ataque directo al agente dañino en el lugar del daño endotelial. (Menkin 1990).

Inflamación subaguda: La inflamación subaguda se presenta a continuación de la inflamación aguda y se caracteriza por la acumulación de linfocitos, monocitos y por la formación de tejido de granulación. Se da entre uno y tres días después del daño, manifestándose con una gran proliferación de células endoteliales y de fibroblastos. Los fibroblastos son sintetizadores activos de proteína y su principal función es depositar colágena en el sitio dañado. Conforme se acumulan estas proteínas, la fuerza de tensión en el área de acumulación de colágena aumenta por lo que se facilita la formación de nuevas estructuras para la reconstrucción del tejido (Bellanti 1971).

Inflamación crónica: Este tipo de inflamación es una reacción persistente a un estímulo de daño continuo (ya sea por un material extraño inerte, infección persistente producida por un microorganismo o por parásitos presentes crónicamente). También puede ser el resultado de una condición autoinmune que ataque a los propios tejidos del cuerpo en condiciones crónicas. La inflamación puede durar desde 4 días hasta meses, o más. Aunque los síntomas no son tan agudos, predominan la incomodidad, la pérdida de la función y movilidad del área afectada (Menkin 1990).

La inflamación crónica difiere de la inflamación aguda en que el evento vascular importante y notorio de la inflamación aguda (el edema o “hinchazón”) es mínimo o está ausente. Los eventos celulares son los mayores componentes de la respuesta inflamatoria crónica y se caracterizan principalmente por la acumulación de grandes cantidades de células blancas (leucocitos); Los macrófagos y los linfocitos se encuentran en gran cantidad en el área afectada mientras que los neutrófilos no se encuentran en gran cantidad cerca de esta área (Bellanti 1971).

Las principales manifestaciones de la inflamación crónica son:

- Efectos constitucionales como fiebre, anorexia, malasia, etc.
- Destrucción del tejido.
- Formación de pus por necrosis del tejido.
- Fibrosis y cicatrices. (Menkin 1990).

Curso, finalización y secuelas de una inflamación

Toda respuesta inflamatoria presenta las siguientes fases:

- Fase transitoria aguda, con vasodilatación local y aumento de la permeabilidad capilar.
- Fase subaguda tardía, con infiltración de leucocitos y fagocitos.
- Fase proliferativa crónica, con degeneración y fibrosis tisular. (Goodman & Gilman 1996).

El proceso inflamatorio perdura mientras se mantiene la causa que lo desencadenó. Al cesar ese estímulo sobre los tejidos, las manifestaciones del proceso inflamatorio permanecen hasta que las sustancias involucradas en estas manifestaciones son degradadas. Las manifestaciones de la inflamación se reducen, hasta desaparecer, conforme se restablece el equilibrio vascular en el área (lo que incluye la desaparición del edema) (Goodman & Gilman 1996).

Las secuelas de los procesos inflamatorios agudos son mayoritariamente nulas al restablecerse el equilibrio vascular. Las secuelas de los procesos inflamatorios crónicos generalmente son granulomas, fibrosis y cicatrices (Goodman & Gilman 1996).

2.2 Aspectos bioquímicos de los procesos inflamatorios

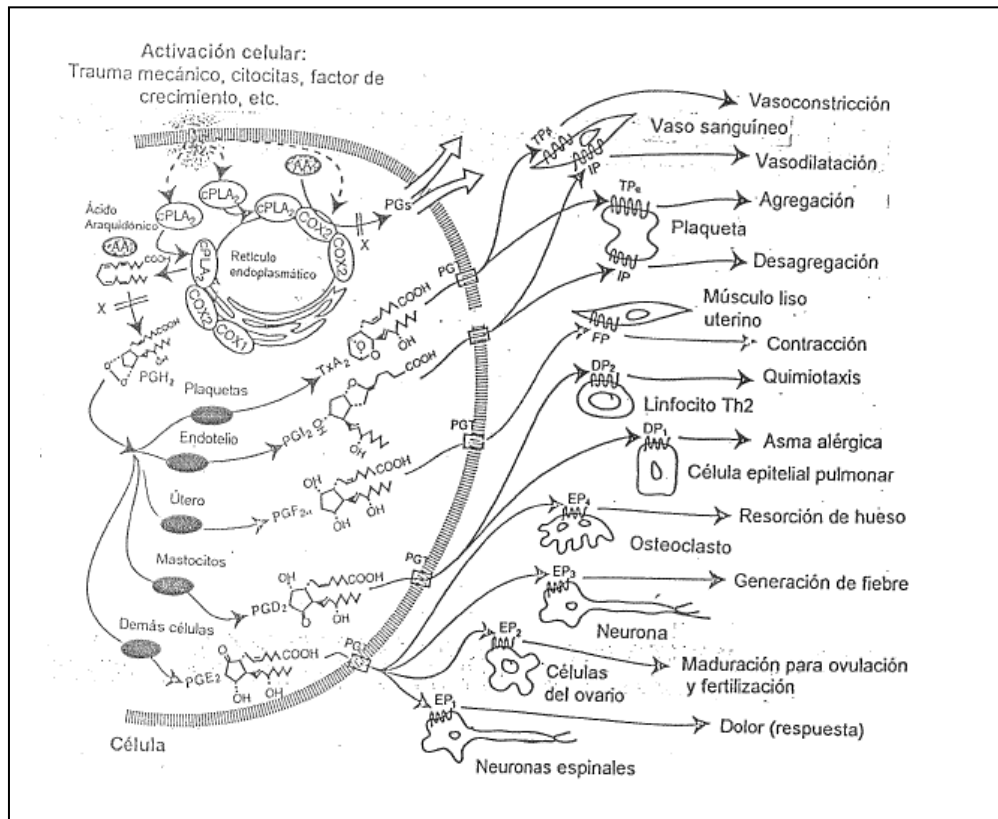
Causas de la inflamación e inicio del proceso inflamatorio

El proceso inflamatorio se inicia cuando un estímulo dañino sobre un tejido produce uno o más de los siguientes efectos a nivel celular:

- Estimulación de los receptores de inmunoglobulina E (IgE) que activan a la fosfolipasa C para la hidrólisis de los fosfolípidos de inositol (involucrados en los procesos de comunicación intracelular, especialmente en los que participa el calcio intracelular) (Lehninger *et al.* 1993).
- Alteración del equilibrio electrolítico del calcio celular, inducido por secretagogo o a través de otros receptores a nivel de la membrana celular que siguen el patrón general de acoplamiento estímulo-secreción, en el que el incremento de la concentración de calcio intracelular es el elemento que desencadena la exocitosis de los mediadores de la inflamación (Braunwald *et al.* 2002).
- Activación de mastocitos (también llamadas células cebadas) y basófilos que liberan mediadores de la inflamación (Goodman & Gilman 1996).
- Activación de la fosfolipasa A2 (por la vía de los receptores IgE y por el aumento en la concentración del calcio intracelular) para la liberación de ácido araquidónico de la membrana celular y producción de sus metabolitos. Entre estos metabolitos se encuentran las prostaglandinas, los tromboxanos y los leucotrienos (Goodman & Gilman 1996) (Menkin 1990).

- Activación de factores desencadenantes de los mediadores de la inflamación por exposición a la colágena y otros componentes celulares liberados ante un daño tisular (Braunwald et al. 2002) (Goodman & Gilman 1996).
- Activación de las células endoteliales, que preconditionan y orientan a las células circundantes hacia los sitios de inflamación mediante su adherencia celular. Esta adherencia se produce por reconocimiento de glucoproteínas y carbohidratos liberados por las células dañadas. La acumulación de células de inflamación en los sitios de lesión involucra a otros mediadores que son agonistas quimiotácticos (quimioatrayentes) como el factor C5a del complemento, el factor activador de plaquetas, el factor de necrosis tumoral, la interleucina-1, la interleucina-4, entre otros (Goodman & Gilman 1996). Ver Figura 2.1

Figura 2.1 Diagrama esquemático del inicio y efecto de un proceso inflamatorio.



Abreviaturas: AA, ácido araquidónico; COX₁, ciclooxigenasa-1; COX₂, ciclooxigenasa-2; cPLA₂, fosfolipasa A₂ citosólica; PGD₂, prostaglandina D₂; PGE₂, prostaglandina E₂; PGF_{2α}, prostaglandina F_{2α}; PGH₂, prostaglandina H₂; PGs, prostaglandinas; PGI₂, prostaciclina; PGT, transportador de prostaglandinas; TxA₂, tromboxano A₂; TxS, tromboxanos; EP₁, EP₂, EP₃, EP₄, DP₁, DP₂, FP, IP, TP y TP_β, receptores celulares.

(Funk 2011)

La Figura 2.1 muestra los efectos bioquímicos que se manifiestan en una célula al ser activada por un trauma mecánico, citocinas, factores de crecimiento o cualquier otro estímulo inflamatorio. La fosfolipasa A₂ se traslada hacia las membranas nucleares y del retículo endoplasmático para liberar ácido araquidónico a partir de sus glicerofosfolípidos. A partir del ácido araquidónico se sintetizan las prostaglandinas E₂, D₂, F_{2α}, prostaciclina y tromboxano A₂. Estos prostanoides son movilizados por el transportador de prostaglandinas al exterior de la célula por transporte facilitado para tener efectos autócrinos o parácrinos sobre los receptores EP₁, EP₂, EP₃, EP₄, DP₁, DP₂, FP, IP, TP y TP_β en las diferentes células indicadas en la Figura. Se muestran solamente los principales efectos de las prostaglandinas. La X en la Figura muestra los sitios de inhibición por parte de fármacos antiinflamatorios (Funk 2001).

Las respuestas inflamatorias se producen a partir de la activación de los factores que estimulan la movilización, infiltración y activación de basófilos, granulocitos, macrófagos, polimorfonucleares y neutrófilos al área afectada. Todos estos mediadores bioquímicos producen respuesta de inflamación independientemente de la causa que origina su liberación (Goodman & Gilman 1996).

En esta activación intervienen diversas células endoteliales y moléculas de adherencia celular que incluyen a las selectinas E, P y L, la molécula-1 de adherencia de células vasculares y las integrinas leucocíticas (para la adherencia de leucocitos, plaquetas y células de endotelio) (Goodman & Gilman 1996).

Mediadores bioquímicos involucrados en los procesos inflamatorios:

Los mediadores bioquímicos son especies endógenas involucradas en la iniciación y mantenimiento de la respuesta inflamatoria. Los principales mediadores, debido a su potencia intensa, provienen de las células cebadas o mastocitos (Braunwald *et al.* 2002) y se muestran en el Cuadro 2.1

Cuadro 2.1 Mediadores de los procesos inflamatorios provenientes de células cebadas

Tipo	Mediador	Efectos fisiológicos
Preformados	Histamina Factor- α de necrosis tumoral Proteasas	Vasodilatación y aumento de permeabilidad vascular. Regulación de moléculas de adherencia. Vasodilatación y aumento de permeabilidad vascular.
Derivados de lípidos	Leucotrieno C ₄ (LTC ₄) Leucotrieno B ₄ (LTB ₄) Prostaglandina D ₂ Factor activador de plaquetas	Vasodilatación y aumento de permeabilidad vascular. Quimioatracción de leucocitos. Vasodilatación y aumento de permeabilidad vascular. Quimioatracción de leucocitos.
Citocinas	Factor- α de necrosis tumoral Interleucina-1 (IL-1) Interleucina-3 (IL-3) Interleucina-4 (IL-4) Interleucina-5 (IL-5) Interleucina-6 (IL-6) Interleucina-8 (IL-8) Factor estimulante de colonias de granulocitos/macrófagos Proteína inflamatoria de macrófagos-1 α	Regulación de moléculas de adherencia. Estimulación de inflamación. División de células cebadas. División de células cebadas. Diferenciación y quimioatracción de eosinófilos. Crecimiento y diferenciación de linfocitos. Quimioatracción para leucocitos. Estimulación de neutrófilos, eosinófilos y macrófagos. Quimioatracción de monocitos, linfocitos T y eosinófilos.

(Goodman & Gilman 1996).

El contenido de los gránulos de los mastocitos es histamina (que aumenta la permeabilidad capilar y la presión arterial), heparina (que además de anticoagulante actúa como lipasa de lipoproteínas liberando ácidos grasos de éstas), serotonina y prostaglandina D₂ (Paniagua 1993).

Se reconocen cinco grupos bioquímicos de mediadores inflamatorios, dentro de los cuales se pueden situar a los mediadores provenientes de las células cebadas:

- 4.1.1 Aminas vasoactivas.
- 4.1.2 Factores del plasma.
- 4.1.3 Productos de los leucocitos.
- 4.1.4 Factores activadores de plaquetas y otros.
- 4.1.5 Derivados del ácido araquidónico. (Menkin 1990).

4.1.1 Aminas vasoactivas

Histamina: La histamina es una sustancia endógena que interviene en la respuesta alérgica inmediata. Se sintetiza a partir de histidina en todos los tejidos de los mamíferos. Los principales

depósitos de histamina son las células cebadas (o mastocitos) y los basófilos presentes en tejidos como la piel, la mucosa del árbol bronquial y la mucosa intestinal. La histamina, junto con las prostaglandinas, es uno de los mediadores más importantes en los procesos inflamatorios (Goodman & Gilman 1996).

Durante una respuesta alérgica se libera histamina del mastocito como resultado de la interacción de un antígeno con anticuerpos IgE en la superficie del mastocito (Craig y Stitzel 1994).

Los principales efectos de la histamina son la dilatación de vasos sanguíneos pequeños, con lo que aumenta la permeabilidad en las vénulas. Las histaminas son quimioatrayentes para leucocitos además de favorecer la llegada y acumulación de eosinófilos en el área afectada (Menkin 1990).

Serotonina: La serotonina, también conocida como 5-HT (5-hidroxitriptamina), es una sustancia endógena producida por el cerebro y las células enterocromafines (localizadas en la mucosa del tubo digestivo, principalmente en el duodeno). Tiene funciones de neurotransmisor del sistema nervioso central como regulador de varias funciones cerebrales, regula la función plaquetaria y la de los músculos lisos en los aparatos cardiovascular y digestivo (Goodman & Gilman 1996).

La serotonina es liberada de las células enterocromafines por el movimiento peristáltico del tracto gastrointestinal. La serotonina es captada del torrente sanguíneo por las plaquetas, en donde es almacenada y liberada cuando las plaquetas establecen contacto con endotelio lesionado.

La fijación de serotonina a los receptores plaquetarios 5-HT_{2A} (receptores de serotonina del tipo 2A) desencadena una reacción de agregación débil que se intensifica ante la presencia de colágena (Goodman & Gilman 1996).

La serotonina ejerce un efecto vasoconstrictor directo para promover la hemostasia en caso de que el vaso sanguíneo dañado se encuentre lesionado hasta una profundidad en la que queda expuesto el músculo liso vascular. Los autacoides liberados a nivel local también fomentan esta acción de la serotonina (Goodman & Gilman 1996).

Los tipos de subreceptores de la 5-hidroxitriptamina 2 están enlazados con la fosfolipasa C por lo que están relacionados con la generación de segundos mensajeros, diacilgliceroles (que activan a la proteínquinasa) y el trifosfato de inositol (que producen la liberación de las reservas de calcio intracelular), para promover la liberación de ácido araquidónico y posterior formación de prostanoïdes y leucotrienos (Goodman & Gilman 1996).

4.2.2. Factores del Plasma

Cininas o Quininas: Las quininas (bradicinina y calicreína) son sustancias endógenas sintetizadas y liberadas por el hígado en su forma inactiva (a estas formas inactivas se les conocen como cininógenos). La forma activa (cinina) es producto de reacciones proteolíticas activadas por lesión tisular, reacciones alérgicas, infecciones y otros procesos inflamatorios. Por ejemplo, la precalicreína (forma inactiva de la calicreína) es desdoblada y activada por el factor XII (o de Hageman) de la cascada de coagulación (Ver factores de coagulación) (Goodman & Gilman 1996).

Las cininas son péptidos autacoides que interactúan con los receptores acoplados a proteínas G en la membrana celular para activar a las fosfolipasas A₂ y C. La fosfolipasa C activada por las cininas hace que aumente el trifosfato de inositol (y con ello el calcio citosólico) y el diacilglicerol.

Otros mediadores potentes de la inflamación son los metabolitos del ácido araquidónico liberado de los fosfolípidos de la membrana celular por la fosfolipasa A₂ activa (Goodman & Gilman 1996)

Los receptores B₁ de bradicinina, presentes en células involucradas en la inflamación como los macrófagos, pueden desencadenar la producción de los mediadores inflamatorios interleucina-1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral (TNF) (Dray & Perkins 1993).

En la inflamación, las cininas no atraen a otras células involucradas en el proceso inflamatorio, pero sí producen la dilatación de arteriolas y vénulas con aumento en la permeabilidad de éstas (especialmente por las cininas plasmáticas, que son hasta 10 veces más potentes que la histamina) (Menkin 1990).

El aumento de la permeabilidad vascular en regiones con microcirculación hace que aumente la separación entre células endoteliales, generando edema, debido al mayor gradiente de presión hidrostática en el área afectada. Las cininas también producen dolor y contracción de la mayoría de los músculos lisos (Menkin 1990).

Complemento: El complemento es un conjunto de proteínas efectoras y enzimas plasmáticas encargadas de destruir a microorganismos patógenos y de promover su identificación por parte de otras células para que sean fagocitados por macrófagos-monocitos y neutrófilos. El sistema del complemento involucra una activación en cascada para los eventos de homeostasis sanguínea y ciertas respuestas anafilácticas (Braunwald et al. 2002).

Las acciones inflamatorias las realizan los fragmentos C3a y C5a (conocidos como anafilotoxinas) que tienen acción directa sobre los vasos sanguíneos, produciendo dilatación y aumento en la permeabilidad vascular. También producen la liberación de histamina almacenada en los mastocitos (Menkin 1990).

Los fragmentos C3a, C5a, C5, C6 y C7 son quimiotácticos para neutrófilos, haciendo que éstos lleguen al área del daño. El fragmento C3a aumenta la liberación de neutrófilos de la médula ósea y el C3b tiene funciones de opsonina. El fragmento C5a permite la liberación de las enzimas lisosomales de los neutrófilos, aumenta la producción de leucotrienos por la ruta de la lipoxigenasa y es quimiotáctico para otras sustancias involucradas en la inflamación. Los fragmentos C2b y C4a poseen actividad semejante a la de las cininas (o quininas) sobre los vasos sanguíneos (Menkin 1990).

Factores de Coagulación: El factor XII (Hageman) cataliza la formación de cininas por su acción proteolítica sobre los cininógenos para producir las formas activas (cininas). Los principales efectos de los factores de coagulación son convertir a la precalicreína en calicreína y activar al factor XII de la cascada de coagulación. El factor XII es activado por el contacto con las cargas negativas (como las de la colágena) generadas por lesión o daño tisular. La calicreína tiene el efecto de retroalimentación positivo sobre el factor XIIa, que a su vez estimula el factor XII inactivo (Goodman & Gilman 1996).

Los fibrinopéptidos son quimiotácticos para neutrófilos y aumentan la permeabilidad vascular mientras que los productos de degradación de la fibrina son quimioatrayentes de neutrófilos (Braunwald *et al.* 2002), constituyendo un ciclo de alimentación positiva.

4.2.3. Productos de los leucocitos.

La importancia de los leucocitos en el proceso de inflamación está relacionada con sus funciones en el sistema inmune al proveer muchos antígenos de superficie con funciones quimioatrayentes, de activación de la producción de citocinas, activación de otras células del sistema inmune, entre otras (Braunwald *et al.* 2002).

Los leucocitos producen la degranulación de los mastocitos, son quimiotácticos para monocitos (macrófagos), linfocitos, basófilos y neutrófilos, e inmovilizan a estos últimos para mantenerlos en el área dañada. Los leucocitos promueven la síntesis de prostaglandinas y leucotrienos además de

promover la activación de enzimas proteolíticas de los lisosomas responsables de muchos de los efectos patológicos de la inflamación (Menkin 1990).

Entre los productos secretados por los monocitos-macrófagos se encuentran las enzimas hidrolíticas, el factor- α de necrosis tumoral e interleucinas (1, 6, 10, 12, 15 y 18), que son cininas quimioatrayentes relacionadas con las respuestas inmunitarias e inflamatorias en los tejidos (Braunwald *et al.* 2002).

Los mediadores de los basófilos y mastocitos pueden agruparse en tres categorías funcionales:

- Los que incrementan la permeabilidad vascular y contraen el músculo liso (Histamina, factor activador de plaquetas, bradicinina A, entre otras).
- Los que atraen a otras células inmunes.
- Los que regulan la liberación de otros mediadores de la inflamación. (Braunwald *et al.* 2002).

2.2.4. Factor activador de plaquetas y citocinas

Factor activador de plaquetas: El factor activador de plaquetas es un antígeno (inmunoglobulina E) producido por plaquetas, basófilos, mastocitos, neutrófilos, monocitos, células endoteliales y por el endotelio vascular (Menkin 1990).

El factor activador de plaquetas se sintetiza a partir de 1-*O*-alquil-2-acil-glicerofosfocolina (por hidrólisis y posterior acetilación en la posición 2). Esta síntesis puede ser estimulada durante las reacciones antígeno-anticuerpo o por diversos agentes como péptidos quimiotácticos, trombina, colágena y otros autacoides, además de que estimula su propia formación (Goodman & Gilman 1996).

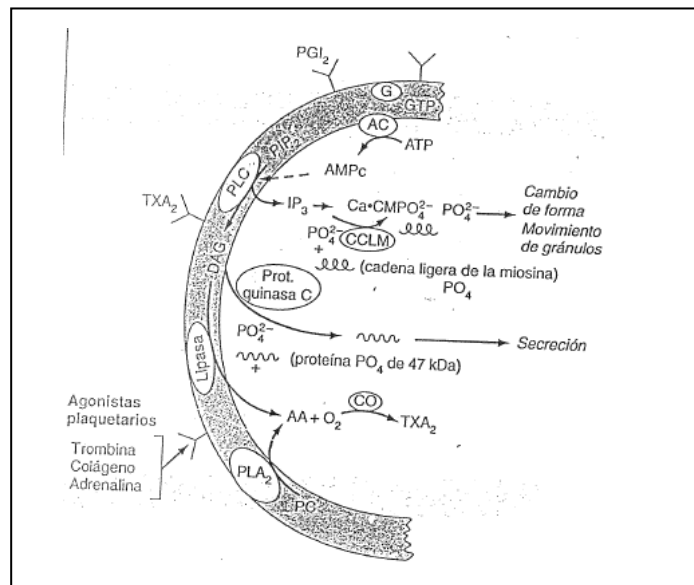
Los principales efectos del factor activador de plaquetas son vasodilatación periférica con permeabilidad vascular y salida de líquido desde los vasos sanguíneos hacia el espacio intersticial (es entre 1000 a 10000 veces más potente que la histamina y la bradiquinina). Produce la agregación de plaquetas, la liberación de mediadores granulares de histaminas (principalmente serotonina), activa la agregación de polimorfonucleares, enzimas lisosómicas y la liberación de leucotrienos (Goodman & Gilman 1996).

El factor activador de plaquetas es quimiotáctico para eosinófilos, neutrófilos y monocitos; Estimula la adherencia de los neutrófilos a las células endoteliales dañadas mediante la expresión de proteínas superficiales ante el aumento de este factor a nivel intracelular (Goodman & Gilman 1996).

El factor activador de plaquetas promueve y aumenta la síntesis de leucotrienos (principalmente tromboxano A₂) y de prostaglandinas mediante el estímulo de los receptores de superficie celular vinculados con la proteína G, que a su vez estimula a las fosfolipasas C, D y A₂ con lo que se liberan fosfato de inositol, diacilgliceroles y ácido araquidónico, respectivamente. El ácido araquidónico liberado por el factor activador de plaquetas es transformado en prostaglandinas, tromboxano A₂ o leucotrienos que pueden actuar como mediadores extracelulares de los efectos del factor activador de plaquetas (Goodman & Gilman 1996).

La hidrólisis del fosfolípido de la membrana produce diacilgliceroles y trifosfato de inositol, que actúan como mediadores en el desplazamiento de calcio dentro del citosol plaquetario. Tras su activación, las plaquetas liberan el contenido de sus gránulos hacia el plasma. El tromboxano A₂, producto plaquetario del ácido araquidónico estimula la acción y secreción de los gránulos de las plaquetas hacia el plasma. De estos gránulos se liberan calcio, serotonina, difosfato de adenosina (ADP) y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas con lo que se inicia el tapón hemostático y la inflamación (Braunwald *et al.* 2002).

Figura 2.2 Eventos bioquímicos para la activación y secreción plaquetarias



(Braunwald *et al.* 2002)

Abreviaturas: AC, adenilato ciclasa; G, proteína G o proteína de fijación del nucleótido de guanina; PIP₂, 4,5-difosfato de fosfatidilinositol; PLC, fosfolipasa C; DAG, diacilglicerol; PLA₂, fosfolipasa A₂; PC, fosfatidilcolina; AA, ácido araquidónico; CO, ciclooxigenasa; O₂, oxígeno; IP₃, trifosfato de inositol; AMP, monofosfato de adenosina; AMPc, monofosfato de adenosina cíclico; Ca-CM, complejo calcio-calmodulina; KLM, cinasa de la cadena ligera de miosina. (Braunwald *et al.* 2002).

Citocinas: Las citocinas son productos de células del sistema inmune y de otras células con efectos inflamatorios quimioatrayentes y de activación de macrófagos, linfocitos y otras células de autodefensa. Son importantes en la estimulación de los fibroblastos para la revascularización, la reparación de tejido (Craig y Stitzel 1994) y fiebre (interleucina-1, interleucina-6, el factor de necrosis tumoral, el factor neurotrópico ciliar e interferón- α). De manera general, las citocinas circulantes provocan la aparición de fiebre a través de la síntesis de prostaglandina E₂ (Braunwald *et al.* 2002). Tienen importantes efectos inflamatorios al promover la dilatación y la permeabilidad vascular; ejercen funciones de encapsulamiento-marginamiento y pegado al estimular la adhesión de células del sistema inmune alrededor del área afectada (Menkin 1990).

Las principales citocinas involucradas en los procesos inflamatorios son la interleucina-1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral (TNF). Ambas sustancias producen respuestas inflamatorias que incluyen la inducción de fiebre, sueño, anorexia, inducción de las enzimas ciclooxigenasa y lipoxigenasa, aumento en la expresión de las células de adherencia, movilización y activación de polimorfonucleares, linfocitos B y T, así como la producción de otras citocinas. Contribuyen, además, a la fibrosis, a la degeneración tisular de la fase proliferativa crónica de la inflamación, a la estimulación de la proliferación de fibroblastos y a la inducción de la producción de colágena (Goodman & Gilman 1996). Por todo lo anterior, las citocinas están involucradas en la amplificación del proceso inflamatorio entero (Menkin 1990).

2.2.5. Derivados del ácido araquidónico.

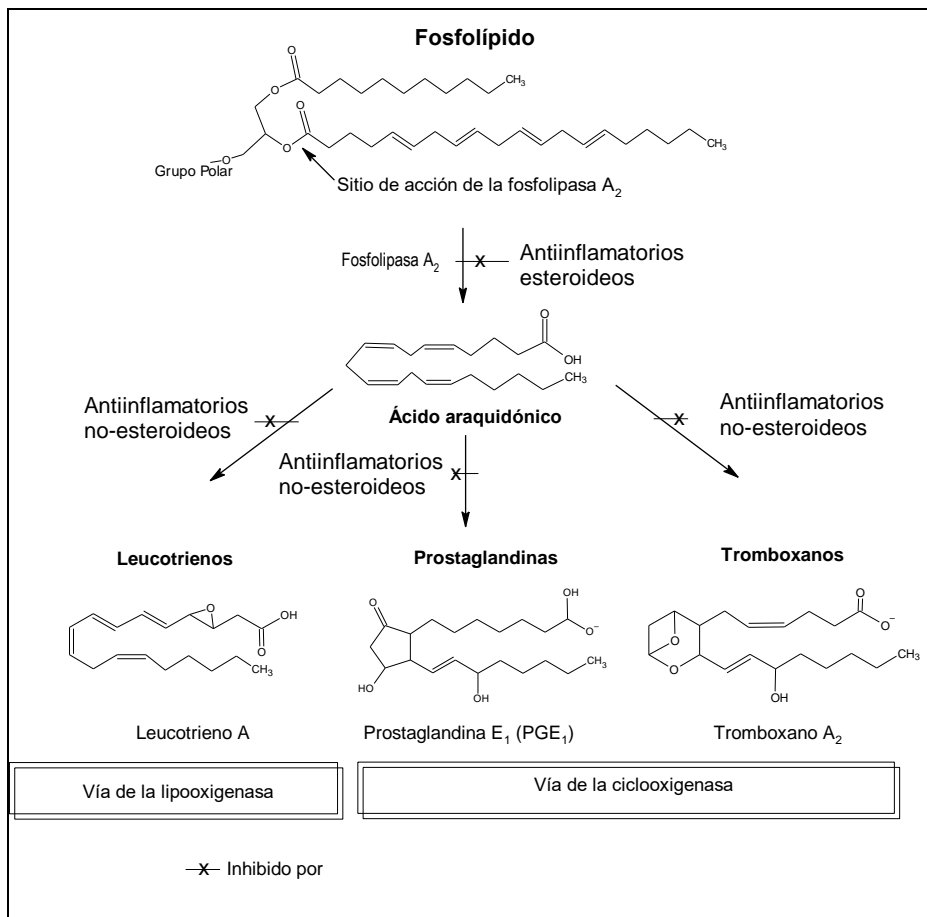
Los derivados del ácido araquidónico son las prostaglandinas, los tromboxanos y los leucotrienos. Estos metabolitos se involucran en todos los aspectos de la inflamación, que incluyen los eventos celulares y vasculares. Los derivados del ácido araquidónico potencian por quimiotaxis el dolor producido por quininas, además de que activan a las células del sistema inmune (Lehninger 1996). Se considera que los derivados del ácido araquidónico son los mediadores más importantes en la fase tardía de la inflamación (Menkin 1990).

Para la generación de estos mediadores lipídicos es necesaria la traslocación de la fosfolipasa A₂ citosólica (que es dependiente del ion calcio) hasta la membrana perinuclear, acción que se da

como respuesta a cualquier estímulo dañino que esté relacionado con la inflamación (Funk 2001). Véase la Figura 2.1 y el inciso 2.4 para más información de la fosfolipasa A₂.

Eicosanoides: Los eicosanoides son derivados de ácidos grasos poliinsaturados de 20 átomos de carbono que tienen varias acciones, semejantes a las de las hormonas, sobre los tejidos de los mamíferos. Los eicosanoides se dividen en prostanooides y leucotrienos dependiendo de la ruta metabólica que siga el ácido araquidónico (Murray *et al.* 1994). La biosíntesis de eicosanoides es divergente, por lo que las dos rutas biosintéticas (la de prostanooides vía la ciclooxigenasa y la de leucotrienos vía la lipoxigenasa) compiten entre sí por el sustrato (el ácido araquidónico), tal como se muestra en la Figura 2.3

Figura 2.3 Rutas de biosíntesis de los derivados eicosanoides a partir del ácido araquidónico: Prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos

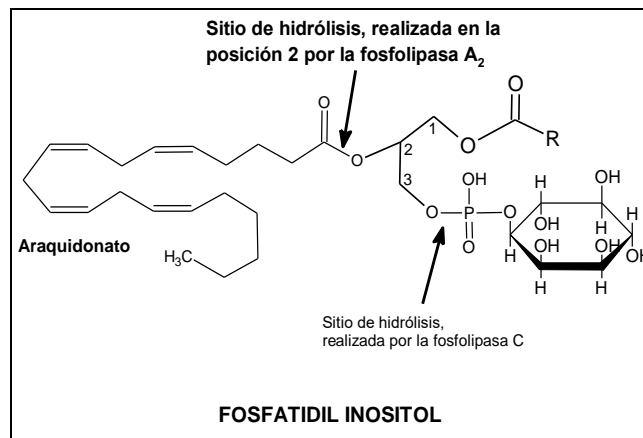


(Murray *et al.* 1994)

Los prostanoides están formados por el grupo de las prostaglandinas, la prostaciclina y los tromboxanos. Los prostanoides actúan como hormonas locales a través de los receptores enlazados a proteínas G para producir diferentes efectos bioquímicos en otras células. Los derivados de los eicosanoides intervienen en los procesos reproductivos, en la inflamación, la fiebre, el dolor asociado al daño o enfermedad, en la secreción gástrica de ácido, en la formación de coágulos sanguíneos, en la regulación de la presión sanguínea y en muchos otros procesos biológicos (Murray *et al.* 1994).

La biosíntesis de los prostanoides se inicia con la hidrólisis del enlace éster en la posición 2 del glicerol de los glicerofosfolípidos presentes en la membrana celular. Esta reacción es catalizada por la fosfolipasa A₂. El ácido graso que generalmente se encuentra esterificado en esta posición es el ácido araquidónico (Murray *et al.* 1994). En la Figura 2.4 se muestra el sitio de acción de la fosfolipasa A₂ sobre un fosfolípido que contiene araquidonato en la posición 2 (Funk 2001).

Figura 2.4 Estructura de un glicerofosfolípido mostrando la posición del araquidonato y el sitio de la reacción de hidrólisis catalizada por la fosfolipasa A₂.



(Funk 2001).

El ácido araquidónico liberado puede ser biotransformado por la vía de la 5-lipooxigenasa para formar leucotrienos, o por la vía de la ciclooxygenasa para producir prostaglandinas y tromboxanos como se muestra en la Figura 2.3.

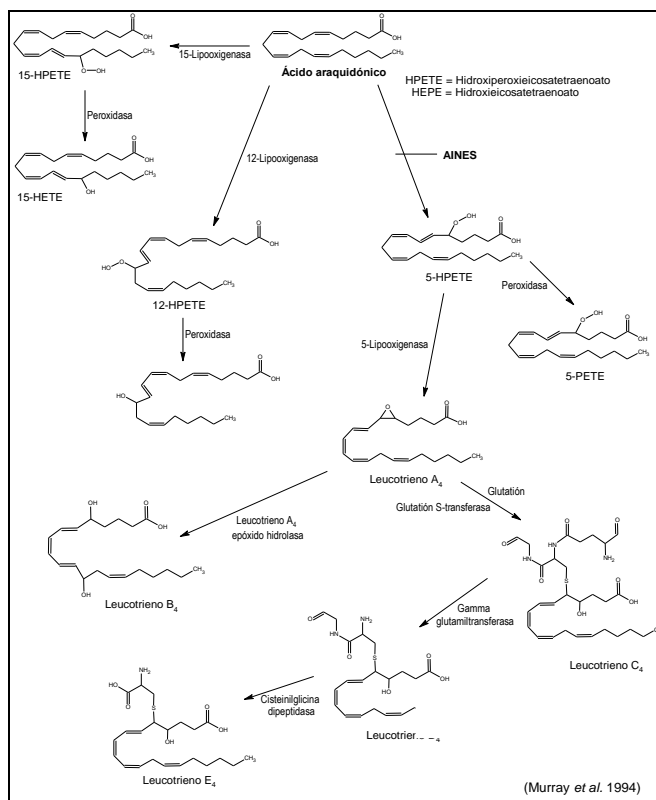
Leucotrienos: Los leucotrienos son una familia de trienos conjugados que se forman a partir de ácidos eicosanóicos en los leucocitos, mastocitos, plaquetas y macrófagos por la vía de la 5-lipooxigenasa en respuesta a estímulos inmunológicos y no-inmunológicos (Murray *et al.* 1994).

Los leucotrienos B₄, C₄ y D₄ componen lo que se denomina sustancia de anafilaxis de baja reactividad y son capaces de producir una respuesta inflamatoria sistémica (anafilaxis) incluso 24 a 48 horas después de la exposición (Craig y Stitzel 1994).

El primer objetivo del leucotrieno B₄ es el leucocito, sobre el cual produce quimiotaxis para la adherencia y agregación (este leucotrieno es muy importante para el desarrollo y mantenimiento de las reacciones inflamatorias y de estados patológicos que incluyen inflamación) (Sammuelsson 1983). Los leucotrienos actúan en las vénulas postcapilares. El leucotrieno B₄ tiene efectos en la adhesión de neutrófilos a células endoteliales y en la trasvasación de leucocitos. Además, es un potente quimioatrayente de polimorfonucleares, eosinófilos y monocitos. Provoca agregación, degranulación, generación de superóxido y movilización del calcio asociado a la membrana. En presencia de fibrinógeno, el leucotrieno B₄ induce la producción de interleucina-8 (IL-8) por parte de los neutrófilos, provocando una amplificación autocrina de la inflamación (Sammuelsson 1983).

En la biosíntesis de leucotrienos, la 5-lipooxigenasa convierte al ácido araquidónico en un epóxido inestable (leucotrieno A₄) que es el intermediario central en la biosíntesis de leucotrienos (ver Figura 2.5). El leucotrieno A₄ es hidrolizado por la enzima leucotrieno-A₄-hidrolasa a leucotrieno B₄ (que es potente quimioatrayente de neutrófilos y estimulador de la adhesión de leucocitos a células endoteliales) para después formar el leucotrieno C₄ en una reacción catalizada por la leucotrieno-C₄-sintasa (Funk 2001).

Figura 2.5 Biosíntesis de leucotrienos a partir de ácido araquidónico, por la vía de la 5-lipooxigenasa



(Murray *et al.* 1994)

AINES = Antiinflamatorios no-esteroides
 HPETE = Hidroxiperoxieicosatetraenoato
 HETE = Hidroxieicosatetraenoato
 AINES = Antiinflamatorios no-esteroides
 ⊖ = Inhibido por

Prostaglandinas: Las prostaglandinas son derivados del ácido araquidónico y se sintetizan por la vía de la prostaglandina H-sintasa, comúnmente conocida como ciclooxigenasa (ver Figura 2.6). A las prostaglandinas se les considera hormonas locales o autacoides debido a que actúan de manera parácrina o autócrina por lo que el alcance de su actividad está limitado a los alrededores del sitio de su liberación (debido al tiempo de vida media reducido que tienen). Las prostaglandinas se sintetizan en función de su demanda a partir del ácido araquidónico liberado de las membranas celulares ya que no son almacenadas en las células (Funk 2001) (Lehninger *et al.* 1993).

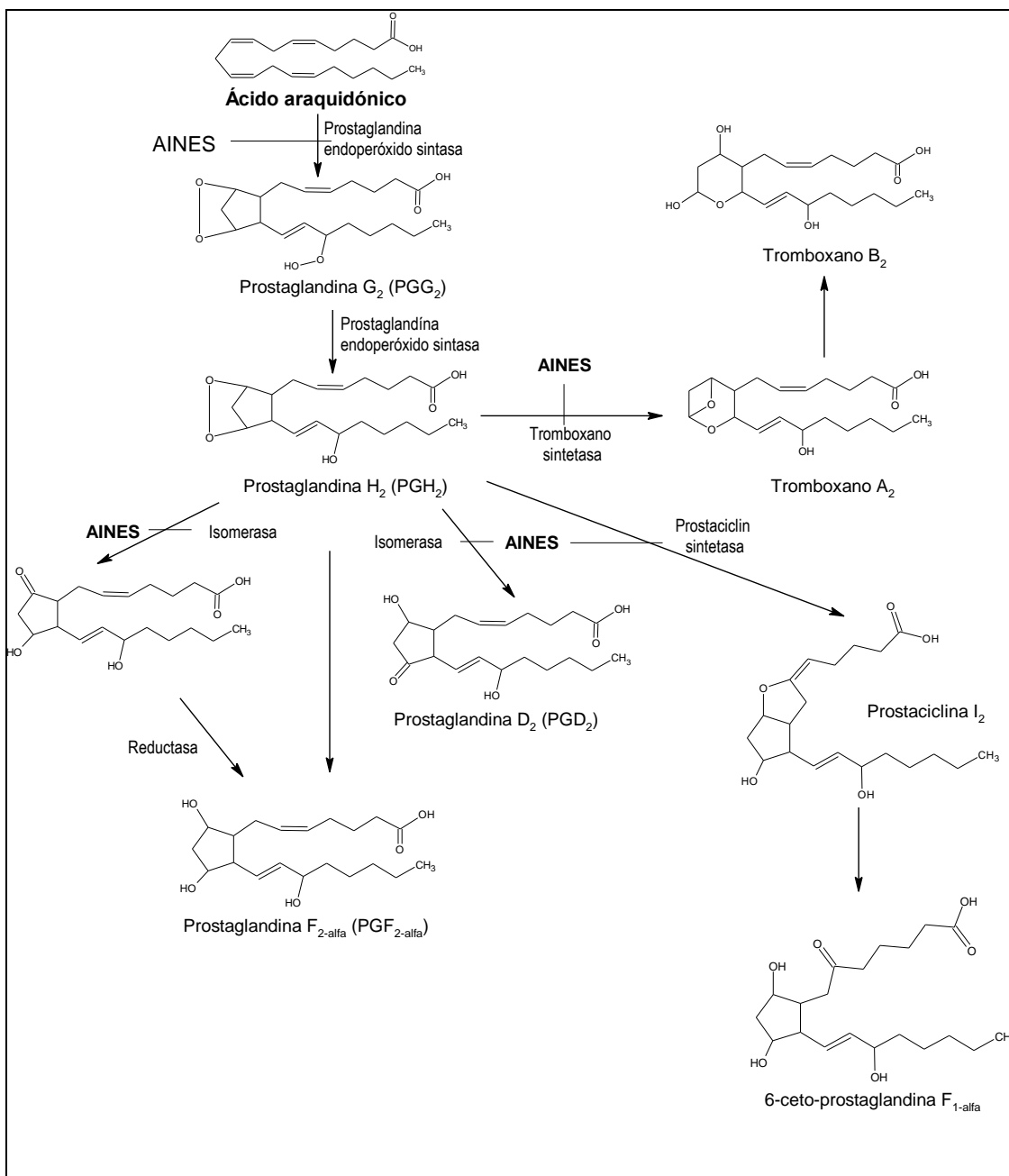
Las prostaglandinas están involucradas en procesos de inflamación, fiebre, regulación de la presión sanguínea, en el control de procesos reproductivos, en el del crecimiento de tejidos y en la regulación del ciclo del sueño (Diwan 1998) (Lehninger *et al.* 1993).

El mecanismo de acción de las prostaglandinas se inicia con su liberación de las células en donde son sintetizadas mediante transporte facilitado por el transportador de prostaglandinas (PGT), que es un polipéptido de la familia de los transportadores aniónicos (Funk 2001). Ver Figura 2.1.

Se conocen por lo menos nueve formas de receptores de prostaglandinas. Cuatro de los subtipos de receptores se enlazan a prostaglandina E_2 (EP_1 - EP_4), dos a prostaglandina D_2 (DP_1 y DP_2) y un receptor que se enlaza la prostaglandina $F_{2-\alpha}$ (FP), prostaciclina (IP) y tromboxano A_2 (TP). Los receptores IP, DP_1 , EP_2 y EP_4 , que se conocen como receptores relajantes, forman un grupo que aumentan la cantidad de monofosfato de adenosina cíclico (AMP cíclico) intracelular a través de su efecto sobre una proteína G provocando los efectos intracelulares correspondientes a este mediador. El efecto de la acción sobre los receptores EP_1 , FP y TP es el aumento de la concentración del calcio intracelular mientras que el efecto de la acción sobre el receptor EP_3 es la inhibición de la formación del AMP cíclico. Recientemente se determinó que la prostaciclina y la prostaglandina E_2 están involucradas con los receptores del dolor a través de las funciones de sus receptores celulares IP y PGE_2 , respectivamente (Funk 2001).

Tromboxanos: Los tromboxanos son sustancias producidas por las plaquetas y actúan en la formación de coágulos sanguíneos, así como en la reducción del flujo sanguíneo en el sitio del coágulo (Lehninger 1992). La Figura 2.6 muestra la ruta de biosíntesis de tromboxanos a partir de ácido araquidónico.

Figura 2.6 Biosíntesis de prostaglandinas y tromboxanos a partir de ácido araquidónico, por la vía de la ciclooxigenasa



(Murray *et al.* 1994)

AINES = Antiinflamatorios no-esteroides

⊖ = Inhibido por

Manifestaciones-efectos. Secuelas de una inflamación

Todos los mediadores bioquímicos promueven la movilización de leucocitos, eosinófilos, mastocitos, macrófagos, neutrófilos y monocitos. Los neutrófilos, monocitos y células locales alteradas constituyen el exudado inflamatorio o pus.

Los neutrófilos reaccionan ante el factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos para producir citocinas y señales quimioatrayentes (como el factor- α de necrosis tumoral, interleucina-8 y proteína inflamatoria de los macrófagos-1) que regulan la respuesta inflamatoria con los efectos fisiológicos antes descritos. Los efectos bioquímicos son movilización, infiltración y activación de basófilos, granulocitos, macrófagos, polimorfonucleares y neutrófilos para que realicen sus funciones inmunitarias y de restauración. En presencia de fibrinógeno, el leucotrieno B₄ induce la producción de interleucina-8 por parte de los neutrófilos, provocando una amplificación autocrina de la inflamación como se muestra en la Figura 2.1.

Finalización del proceso inflamatorio

Debido a que no se conoce exactamente el mecanismo bioquímico que da fin al proceso inflamatorio (además del mecanismo físico de ausencia de estímulo) actualmente se propone que la mieloperoxidasa participa en la interrupción del proceso inflamatorio al inactivar los factores quimiotácticos e inmovilizar a las células fagocíticas (Braunwald *et al.* 2002).

2.3 Líneas generales de tratamiento de los procesos inflamatorios

Debido a que los procesos inflamatorios siguen el mismo curso fisiológico y bioquímico sin importar la causa (química o física) que los inició, existen tres líneas generales para el tratamiento de estos procesos y por lo menos dos vías más en investigación para este tipo de tratamientos. Las líneas de tratamiento utilizadas actualmente son:

- Uso de antiinflamatorios esteroideos, debido a sus efectos sobre el metabolismo de proteínas, lípidos y el del calcio (principalmente). Se emplean en el tratamiento de crisis o traumas agudos severos que promueven la liberación de fosfolípidos de las membranas celulares. El objetivo del uso de estas sustancias es proteger las membranas celulares de los tejidos afectados con el fin de inhibir la liberación de fosfolípidos de éstas, así como interrumpir la cascada de biosíntesis de los metabolitos del ácido araquidónico involucrados en los procesos inflamatorios (ver Figura 2.3). Los efectos adversos

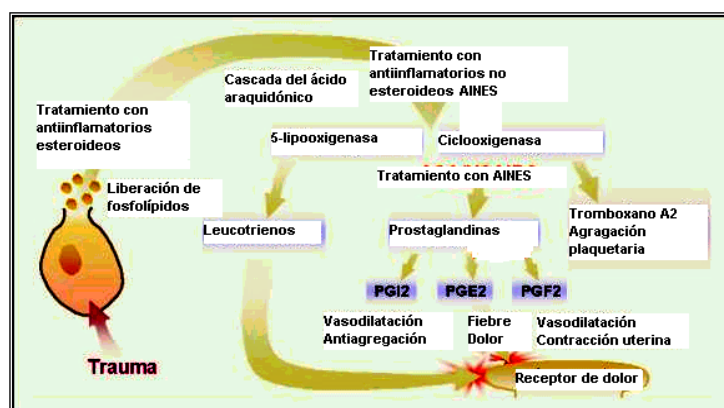
relacionados con el uso de compuestos esteroideos son alteraciones al balance hidroelectrolítico (que incluye edema, hipertensión, problemas con las concentraciones de electrolitos), en los procesos metabólicos de lípidos, inhibición de la producción de algunas hormonas pituitarias, inmunosupresión y otras (Reynolds 2000).

- Uso de antiinflamatorios no-esteroideos no-específicos, que inhiben a las dos isoformas de la enzima prostaglandina-H sintasa (ciclooxigenasa 1 y 2). Ver Figuras 2.5 y 2.6. Los efectos adversos relacionados con el uso de estos compuestos son las alteraciones gastrointestinales, especialmente las relacionadas con sangrados y úlceras debido a daños en la mucosa local. Algunos agentes antiinflamatorios producen cambios en la función renal e incluso tienen efectos nefrotóxicos (Reynolds 2000).
- Uso de antiinflamatorios no-esteroideos específicos para inhibir a la prostaglandina-H sintasa-2 (también conocida como ciclooxigenasa o COX-2), con lo que los efectos adversos a nivel gastrointestinal se reducen hasta el 50% de los efectos adversos producidos por el uso de antiinflamatorios no-esteroideos no-específicos (Reynolds 2000). Ver Figura 2.6

Las dos vías de investigación para el tratamiento de procesos inflamatorios son:

- Inhibición de la biosíntesis de prostanoideos y leucotrienos, vía inhibición de la fosfolipasa A2 para limitar la disponibilidad del ácido araquidónico precursor de estos mediadores de la inflamación (Braunwald et al. 2002) (Dal Piaz et al. 2002) (Pan et al. 2002).
- Alteración genética de la presencia y funcionalidad de los receptores de leucotrienos y prostaglandinas (Braunwald et al. 2002) (Funk 2001).

Figura 2.7 Sitios de acción de los medicamentos empleados en las tres líneas de tratamiento de los procesos inflamatorios



(Funk 2001)

Los fármacos utilizados actualmente para interrumpir los procesos inflamatorios presentan efectos adversos importantes, y en muchos casos, severos e irreversibles. El punto más adecuado para la interrupción de estos procesos se estima que es a nivel de la inhibición de la fosfolipasa A₂ por las siguientes razones:

- En condiciones normales, la inhibición de la fosfolipasa A₂ no compromete la disponibilidad del ácido araquidónico requerido para la biosíntesis de leucotrienos, prostaglandinas ni tromboxanos.
- No se interrumpe la biosíntesis normal de los derivados del ácido araquidónico, que tienen funciones fisiológicas importantes como la protección de la mucosa gastrointestinal, al no alterar la función de las enzimas (5-lipooxigenasa y ciclooxigenasa) involucradas en ese proceso. Se reduce al mínimo la posibilidad de promover la formación de úlceras gastrointestinales.
- No se altera la concentración de calcio intracelular, por lo que no hay modificaciones en los procesos metabólicos que requieren este ion para realizarse normalmente.
- No se introducen al organismo sustancias con estructura esteroidea, por lo que no se dan los efectos metabólicos adversos de los antiinflamatorios esteroideos.

2.4 Fosfolipasa A₂. Información. Participación y mecanismo de acción en los procesos inflamatorios

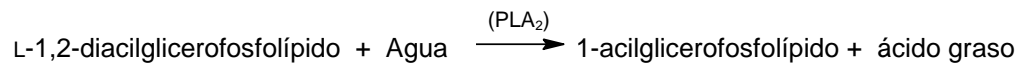
Información sobre la fosfolipasa A₂:

La fosfolipasa A₂ (PLA₂) también se conoce como lecitinasa A, fosfatidasa, fosfatidilcolina 2-acilhidrolasa, fosfatidolipasa y factor activador plaquetario acetilhidrolasa. A la fosfolipasa A₂ le corresponde el código E.C. 3.1.1.4 según el consenso enzimático (NIH 2003).

La fosfolipasa A₂ tiene actividad catalizadora hidrolítica sobre el grupo acilo en posición 2 de los L-1,2-diacilglicerofosfolípidos (ver Figura 2.4) y tiene preferencia sobre sustratos de glicerofosfolípidos agregados en micelas, monocapas, vesículas o membranas. La principal función de la fosfolipasa A₂ es unirse a agregados de fosfolípidos laminares o micelares y digerirlos. Esta enzima sufre el fenómeno de activación interfacial en el que la función basal normal de la enzima se activa cuando encuentra un agregado de fosfolípidos, al cual se adhiere por interacciones electrostáticas de los aminoácidos básicos de su superficie con la interfase lípido-agua. La actividad

de la fosfolipasa A₂ sobre fosfolípidos monoméricos dispersos es un evento celular de escasa importancia e irrelevante en experimentos *in vitro* de laboratorio (Scott *et al.* 1990).

La fosfolipasa A₂ cataliza *in vivo* la siguiente reacción general:



(Darnell *et al.* 1990)

En el Cuadro 12.1 y Figura 12.1 del anexo se muestran en detalle los sustratos y productos involucrados en la reacción de hidrólisis catalizada por la fosfolipasa A₂.

El cofactor de la fosfolipasa A₂ es el ion de calcio [Ca⁺²] (Dessen *et al.* 1999). La fosfolipasa A₂ tiene dos sitios de enlace con el calcio. En un sitio, un ion de calcio se enlaza fuertemente a la enzima y es esencial para su actividad; En el otro sitio, otro ion de calcio se enlaza débilmente a la enzima para promover la afinidad de ésta por las interfases lípido-agua (Donne-Op *et al.* 1983) y estabilizar el oxianión que se forma durante la reacción de hidrólisis (véase el detalle del mecanismo de reacción en la Figura 2.8). Los dos sitios de enlace del calcio son adyacentes en la estructura de la fosfolipasa A₂ (Persico *et al.* 1998) y los valores de pH óptimo de actividad de la fosfolipasa A₂ son 1.8, 6.0, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5. Los valores de pH óptimo extremos son 1.8 y 10.0 (Cubic 2003).

Los sitios en donde se encuentra fosfolipasa A₂ en el cuerpo del ser humano, así como las sustancias activantes e inhibidoras de esta enzima se muestran en los Cuadros 12.2, 12.3, 12.4, 12.5 y en las Figuras 12.2 y 12.3 del anexo.

El interés por esta enzima se debe a que media en las respuestas inflamatorias al liberar el ácido araquidónico que está en la posición 2 de los diacilglicerofosfolípidos de la membrana celular. El ácido araquidónico liberado es el precursor de los eicosanoides mediadores de la inflamación, entre los que se incluyen a los leucotrienos, los tromboxanos y las prostaglandinas (Scott *et al.* 1990) tal como se muestra en las Figuras 2.3 y 2.5.

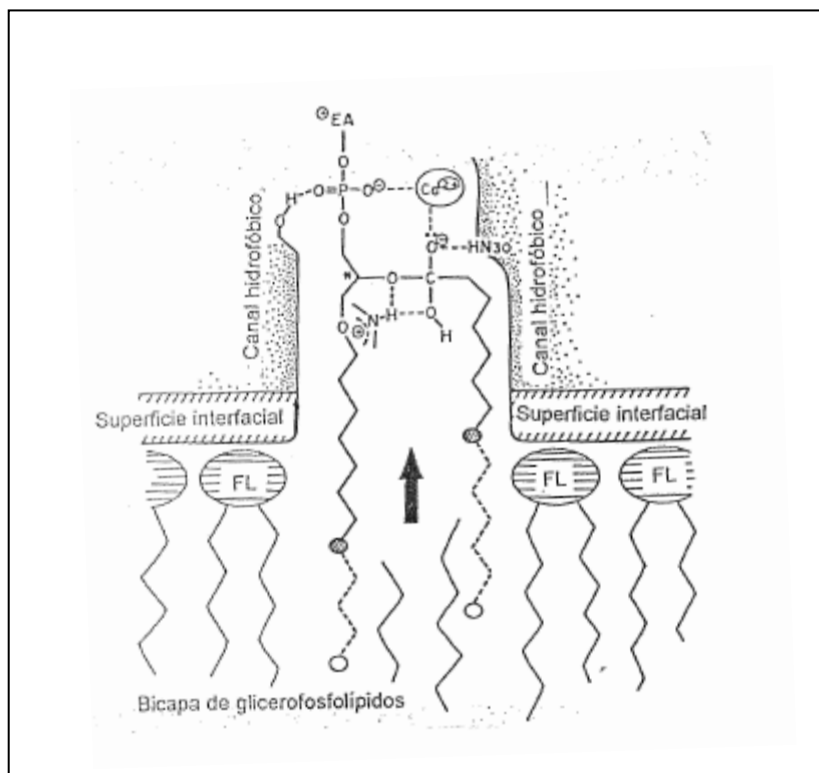
Mecanismo de catálisis de la fosfolipasa A₂ durante la hidrólisis de 1-acil-2-araquidonilglicerofosfolípidos

El sitio de acción de la fosfolipasa A₂ se localiza en el residuo de histidina-48 que está a aproximadamente 14 Å de la abertura próxima a la hélice amino-terminal en un canal hidrofóbico

favorable para los grupos acilo-grasos mientras se mantiene la porción a hidrolizar en el sitio activo tal como se muestra en la Figura 2.8 (Scott *et al.* 1990).

La disposición de las cadenas laterales de los ácidos grasos en los fosfolípidos agregados orienta a la existencia de una ruta común de acceso al sustrato para su interacción con el sitio activo de la fosfolipasa A₂. Comparaciones de diferentes complejos de sustratos con la fosfolipasa A₂ indican que la unión y catálisis óptimas se dan en la interfase lípido-agua adyacente a la membrana celular, vesicular o micelar. La difusión de la enzima a través del agregado de fosfolípidos (micelas o capa laminar) desde la superficie de enlace interfacial permite que el sustrato quede en el sitio catalizador de la enzima por lo que se descartó que la actividad catalítica de la enzima se deba a cambio estérico en ella (Scott *et al.* 1990).

Figura 2.8 Diagrama esquemático del canal hidrofóbico y del sitio activo de la enzima, indicado por la flecha, y del L-1,2-diacilglicerofosfolípido a hidrolizar



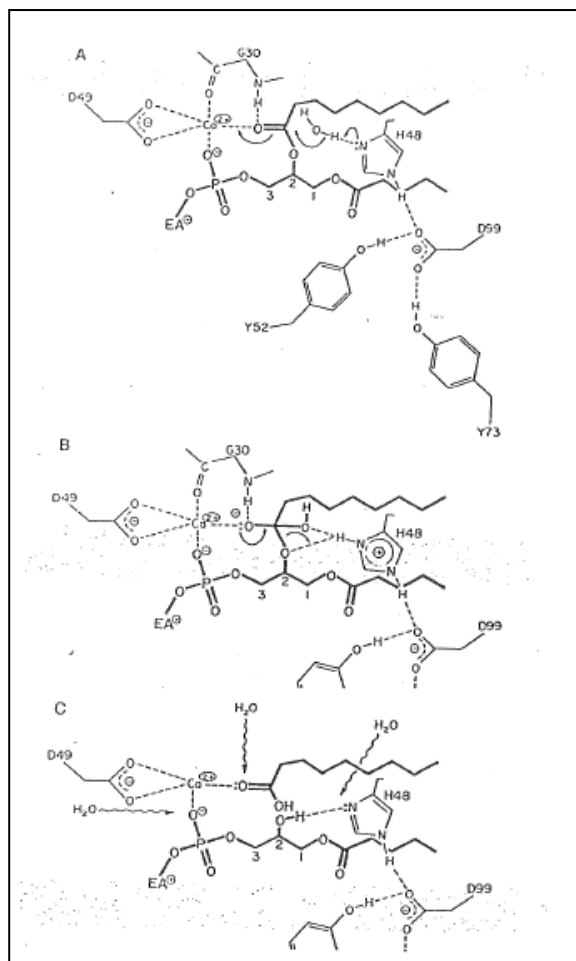
Abreviaturas: EA, etanolamina; FL, fosfolípido; G, glicina.

(Scott *et al.* 1990)

Durante la reacción catalizada por la fosfolipasa A₂, el agua actúa como nucleófilo para la hidrólisis del enlace éster de la posición 2 del glicerofosfolípido mediante la abstracción de un

hidrógeno por parte del residuo de histidina-48. Simultáneamente a este ataque nucleofílico, un ion de calcio estabiliza electrostáticamente al oxianión que forma el grupo fosfato del glicerofosfolípido; Interacciona además con el carbonilo del grupo 2-acilo, el carbonilo del residuo de glicina-30 y el carboxilato del residuo aspartato-49 tal como se muestra en la Figura 2.9. En la red catalítica de la fosfolipasa A₂ también están involucrados los residuos de tirosina 52 y 73, cuya principal función es proveer soporte estructural al formar puentes de hidrógeno con el carboxilato del aspartato-49 y entre sus grupos hidroxilo (Scott *et al.* 1990).

Figura 2.9 Mecanismo de reacción de hidrólisis de L-1,2-diacilglicerofosfolípidos catalizada por la fosfolipasa A₂ (en el sitio activo de ésta)



(Scott *et al.* 1990).

Abreviaturas: D, aspartato; EA, etanolamina; G, glicina; H, histidina.

En **A** se muestra el sustrato “enlazado” a la enzima en su sitio activo y el ataque catalítico sobre la posición *sn*-2 del acilo.

En **B** se muestra al intermediario tetraédrico y el colapso de éste para obtener los productos.

En **C** se muestra la liberación completa de los productos al moverse moléculas de agua (indicado con flechas) hacia el interior sitio activo.

Estudios previos sobre el efecto antiinflamatorio de la inhibición de la fosfolipasa A₂

El grupo II de fosfolipasas A₂ incluye a la enzima que se produce en los mamíferos y cuyo origen no es pancreático (Scott *et al.* 1991). Una gran cantidad de las enzimas del grupo II de fosfolipasa A₂ se acumula en los fluidos inflamatorios y en el suero de pacientes con procesos inflamatorios agudos o con enfermedades inflamatorias crónicas debido a que desempeñan un papel importante durante el daño a los tejidos en el curso de diferentes estados patológicos. Algunos tipos de fosfolipasa A₂ han sido asociados al cáncer (Abe *et al.* 1997).

Toda la información indica que la inhibición de la fosfolipasa A₂ puede controlar la producción excesiva de lípidos mediadores en la inflamación y ejerce, además, efectos protectores en desórdenes inflamatorios (Dal Piaz *et al.* 2002) (Garcia-Pastor *et al.* 1999).

Los sustratos de esta enzima son fosfolípidos y agua (Véase Cuadro 12.1 del anexo). De la acción de la fosfolipasa A₂ sobre los L-1,2-diacilglicerofosfolípidos se libera el ácido araquidónico que interviene en la biosíntesis de los eicosanoides involucrados en enfermedades inflamatorias (leucotrienos, tromboxanos y prostaglandinas). Además, estos compuestos tienen influencia sobre la agregación plaquetaria, en señales de transducción y en respuestas alérgicas (Rutgers *et al.* 2003).

Amandi-Burgermeister y colaboradores reportaron que la inhibición de fosfolipasa A₂ influye en el control de la artritis. Los inhibidores de la fosfolipasa A₂ muestran eficacia terapéutica en el modelo *in vivo* de inflamación crónica (en artritis inducida a ratas). Por el contrario, la superinducción de fosfolipasa A₂ puede establecer un círculo positivo de retroalimentación que convierte a la inflamación aguda en inflamación crónica. Consecuentemente, los inhibidores de fosfolipasa A₂ pueden limitar, e incluso prevenir, los procesos inflamatorios por interferencia de la biosíntesis de prostanoides y leucotrienos (Amandi-Burgermeister *et al.* 1997).

Garcia-Pastor y colaboradores demostraron que un inhibidor de fosfolipasa A₂ (el petrosaspongiólido M, que contiene un sustituyente del tipo γ -hidroxibutanólido) es efectivo en el tratamiento de inflamación crónica sin producir efectos tóxicos. Además, los resultados del trabajo de Garcia-Pastor y colaboradores confirman el papel de la fosfolipasa A₂ en las respuestas inflamatorias (Garcia-Pastor *et al.* 1999).

Para más información sobre este inhibidor de la fosfolipasa A₂ véase el marco teórico.

2.5 Procedimientos de preparación de algunos antiinflamatorios

Antiinflamatorios no-esteroides:

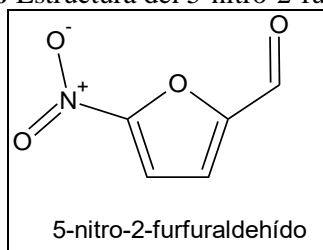
El grupo de los antiinflamatorios no-esteroides incluye a todos los fármacos antiinflamatorios que no poseen estructura esteroideal. Muchos de estos antiinflamatorios no-esteroides contienen anillos bencénicos con funciones farmacológicas significativas en cuanto a efecto y potencia, empleándose ampliamente para el tratamiento de procesos inflamatorios, dolorosos y de otra índole. Esa actividad se debe principalmente a la interacción de los electrones pi de su estructura (por efecto de alta densidad electrónica) con los sistemas biológicos. Por otra parte, pocas sustancias monocíclicas alifáticas se han empleado como agentes medicinales. La retención de la actividad biológica de los sistemas aromáticos sugiere que el anillo, por efecto estérico y de alta densidad electrónica, desempeña un papel determinante en la actividad de dichos compuestos (Lednicer & Mitscher 1977).

Los ácidos arilacéticos y arilpropiónicos tienen considerables efectos sobre las funciones de enzimas en los mamíferos, especialmente en los relacionados con la inflamación y el dolor (que frecuentemente se presentan al mismo tiempo) (Lednicer & Mitscher 1980).

Los derivados del ácido benzoico tienen efectos diferentes de éste; así, la inclusión de un grupo amino le confiere a las moléculas actividad antibacteriana e incluso antiemética. Los derivados del furano, y especialmente los derivados del 5-nitrofurfuraldehído (Figura 2.10) presentan actividad bacteriostática (Lednicer & Mitscher 1980).

La interposición de un anillo aromático (del tipo bencénico) entre el furano y el grupo nitro cambia radicalmente la actividad biológica para actuar como un potente relajante muscular (Lednicer & Mitscher 1980). Estos son ejemplos del efecto del cambio de función biológica al modificar parcial o totalmente la estructura química de una molécula.

Figura 2.10 Estructura del 5-nitro-2-furfuraldehído

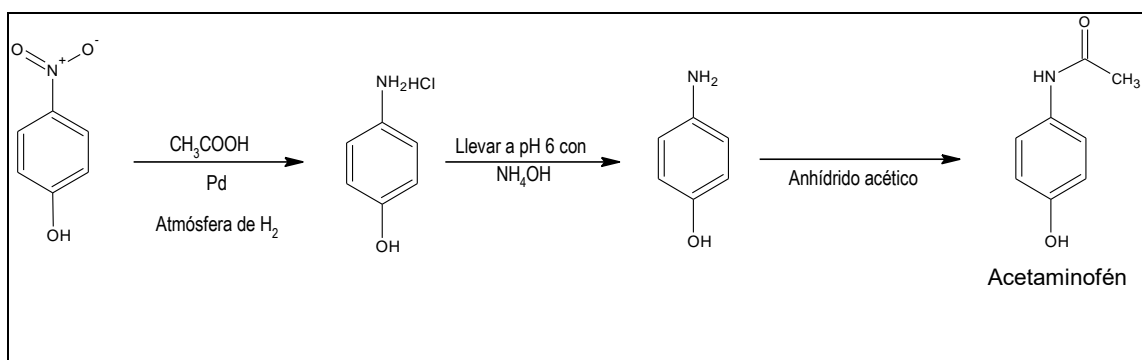


(Lednicer & Mitscher 1980)

A continuación, se muestran algunos de los esquemas y procedimientos más utilizados para preparar algunos antiinflamatorios. Nótese la cantidad de pasos requeridos para preparar estos compuestos, incluso cuando su estructura no es muy compleja en comparación con los compuestos esteroideos.

El **acetaminofén** fue sintetizado por primera vez en 1878 mediante la reducción de *p*-nitrofenol con paladio en ácido acético glacial. El *p*-aminofenol producido por la reducción no fue aislado, sino que fue acetilado *in situ* con anhídrido acético (Florey 1974).

Figura 2.11 Esquema de síntesis de acetaminofén



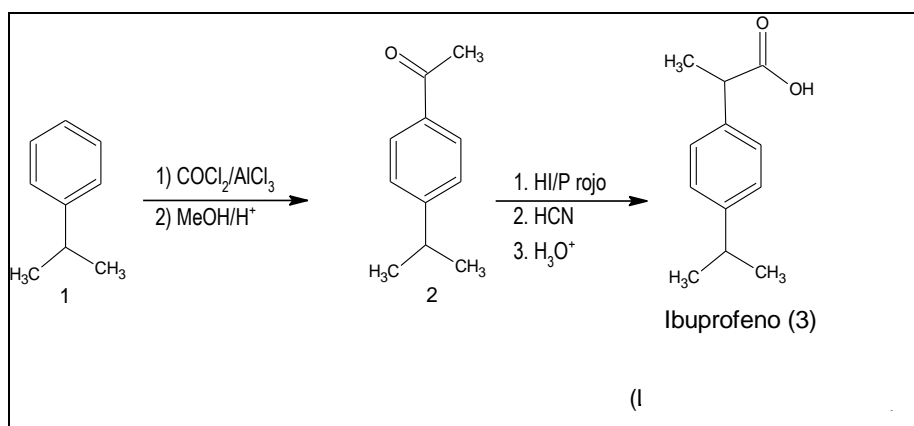
(Florey 1974)

Otras rutas sintéticas incluyen la saponificación de ésteres como el 4-acetamidofenilacetato, la hidroxilación de anilidas por procesos químicos, electrolíticos o enzimáticos y la descomposición de diazocompuestos. El acetaminofén también puede sintetizarse a partir de la hidrazona de la *p*-hidroxiacetofenona (Florey 1974).

El acetaminofén es purificado por recristalización con agua caliente. Las impurezas coloreadas se remueven durante la recristalización con carbón activado y la oxidación se evita empleando una pequeña cantidad de bisulfito de sodio. Uno de los procedimientos para el control de las condiciones de la recristalización requiere el uso de amoníaco para mantener el pH en 6.5. El procedimiento de purificación de acetaminofén patentado por Hahn y Quinn se refiere específicamente a la purificación de acetaminofén y compuestos relacionados de los intermediarios incoloros crudos (como el *p*-aminofenol). El acetaminofén se disuelve en agua caliente, se acidifica a pH entre 1 y 5 con un ácido mineral no-oxidante y se mantienen en una atmósfera inerte (con H_2 , CO_2 o SO_2). Esta solución se agita con carbón activado, se filtra y se deja cristalizar en presencia de un sulfito reductor alcalino (Florey 1974).

El **ibuprofeno** es un analgésico no-esteroido más tolerable en el tracto gastrointestinal que la aspirina. Se puede sintetizar a partir de la acilación de isopropilbenceno (1) para obtener la acetofenona (2) correspondiente (Figura 2.12). Esta última se convierte en su cianohidrina. Después de calentar con yoduro de hidrógeno y fósforo rojo se reduce el alcohol. Posteriormente se hidroliza el nitrilo para producir el ibuprofeno (3), que es casi seis veces más potente que la aspirina para el tratamiento del dolor (Lednicer & Mitscher 1980).

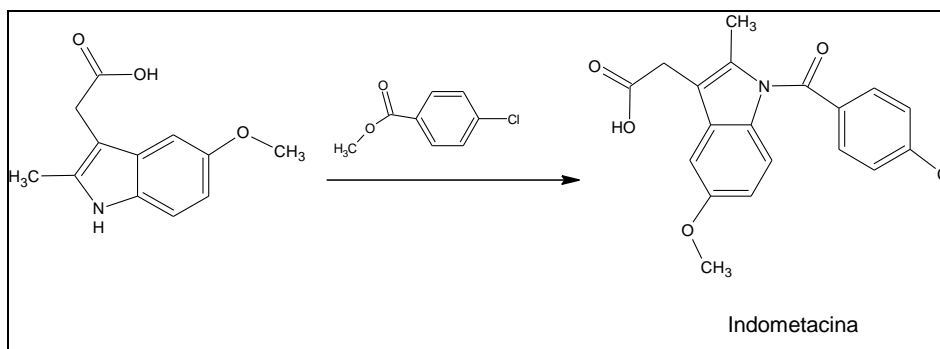
Figura 2.12 Esquema de síntesis de ibuprofeno



(Lednicer & Mitscher 1980)

1. La **indometacina** es un agente antiinflamatorio utilizado como referencia para la determinación del efecto y potencia terapéutica de otros compuestos antiinflamatorios pues se le considera el prototipo de los inhibidores de la ciclooxigenasa (o prostaglandina H-sintasa). Su estructura se muestra en la Figura 2.12.

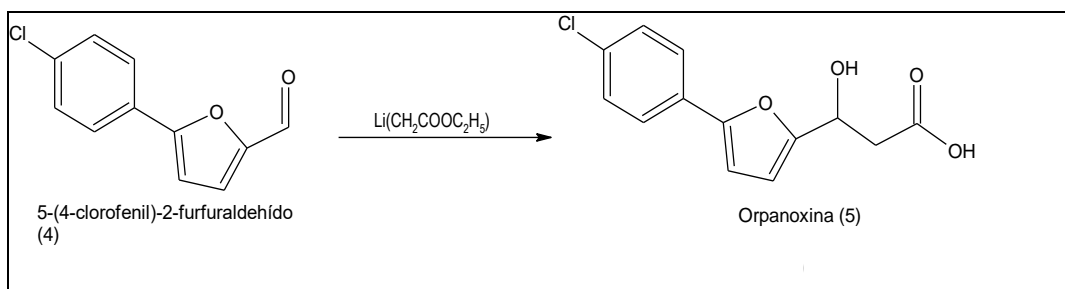
Figura 2.13 Estructura química de la indometacina



(Lednicer & Mitscher 1984).

La **orpanoxina** (5) es un potente antiinflamatorio no-esteroideo derivado del furano y de un anillo bencénico. El procedimiento de síntesis (Figura 2.14) incluye la adición de un organometálico al 5-(4-clorofenil)-2-furfuraldehído (4) seguido de una saponificación (Lednicer & Mitscher 1984).

Figura 2.14 Esquema de síntesis de la orpanoxina



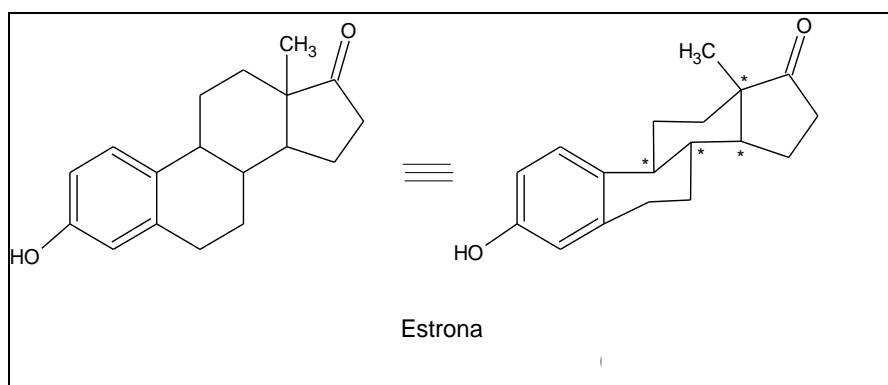
(Lednicer & Mitscher 1984)

Antiinflamatorios y otros análogos esteroideos

Los compuestos alicíclicos tetracíclicos conocidos como esteroideos se dividen en varias clases terapéuticamente útiles entre las que se encuentran los estrógenos, los andrógenos, las progestinas y los corticoides. Éstos últimos son los esteroideos derivados de la corteza adrenal y son de gran utilidad para aliviar la inflamación y los procesos dolorosos relacionados a ella (Lednicer & Mitscher 1977).

Aunque los compuestos que se incluyen a continuación no son antiinflamatorios esteroideos, poseen estructura esteroidea y los esquemas de su síntesis muestran la gran cantidad de pasos necesarios para la preparación de estos compuestos con estructura esterooidal. La síntesis de esteroideos es sumamente difícil debido a que estos compuestos son estructuralmente complejos. Cualquier compuesto de este tipo que sea relativamente simple tiene por lo menos tres anillos fusionados, dos de los cuales pueden dar origen a varios isómeros a partir de (por lo menos) cuatro centros quirales, tal como se observa en la estrona (uno de los esteroideos más sencillos) en la Figura 2.15. De todos los isómeros posibles, uno o dos son biológicamente activos y solamente uno tiene la potencia suficiente como para ser utilizado con fines terapéuticos. Por ejemplo, solamente uno de los dieciséis isómeros posibles de la estrona posee la actividad deseada con potencia biológica satisfactoria (Lednicer & Mitscher 1977).

Figura 2.15 Estructura de la estrona mostrando sus cuatro centros quirales

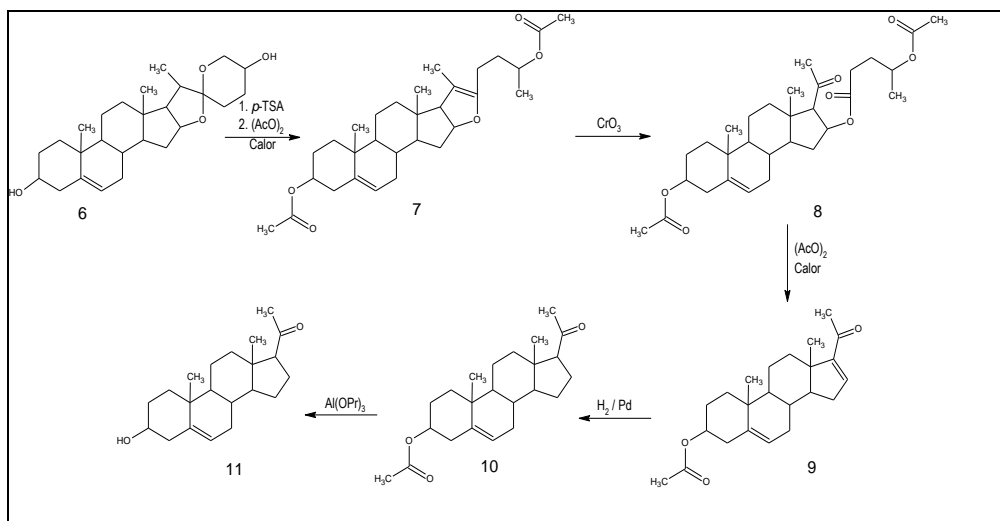


(Lednicer & Mitscher 1984).

Aunque la mayoría de los esteroides de las principales clases terapéuticas se pueden sintetizar completamente, casi todos se preparan por síntesis parcial a partir de productos naturales que contienen el núcleo esteroidal. Todos los productos esteroideos disponibles en el mercado se preparan a partir del ñame mexicano (una especie de *Dioscorea*) o de la soya, que proveen el núcleo esteroidal. A partir del ñame se obtiene la sapogenina llamada diosgenina (6, mostrada en la Figura 2.16), que es el compuesto que contiene el núcleo tetracíclico con el arreglo estereoquímico biológicamente activo, aunque contiene 6 átomos de carbono de más por lo que debe tratarse con anhídrido acético en la presencia de ácido *p*-toluensulfónico como catalizador para lograr la apertura del anillo espirano a dihidrofurano (7) de los compuestos esteroideos (Lednicer & Mitscher 1977).

El hidroxilo en el carbono 3 también es acetilado bajo esas condiciones. La oxidación de (7) con trióxido de cromo permite la formación de la 20-cetona deseada. El tratamiento del éster del β -cetoalcohol con anhídrido acético produce la eliminación del éster (8) que, tras una modificación, presenta cierta funcionalidad como la 16-dehidropregnenolona (9). La reducción catalítica ocurre preferentemente sobre el doble enlace conjugado para producir acetato de pregnenolona (10). Cuando la progesterona (11) es la molécula deseada, el acetato es removido por saponificación. La oxidación por la reacción Oppenauer produce el compuesto no-conjugado 3-ceto-5-eno. Las condiciones básicas de la reacción hacen que el doble enlace se desplace para conjugarse. De este modo, la progesterona (6) es un intermediario clave en la producción de esteroides (Lednicer & Mitscher 1977). Véase Figura 2.16, correspondiente al esquema de síntesis de la progesterona a partir de diosgenina.

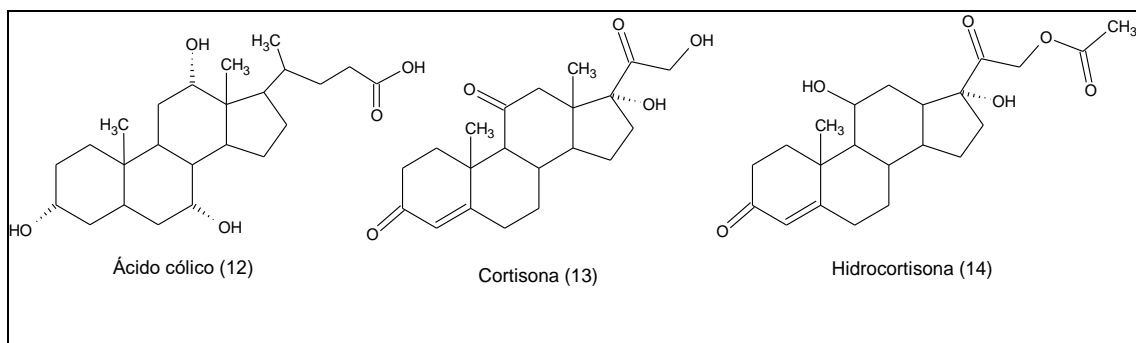
Figura 2.16 Síntesis de progesterona, intermediario clave en la manufactura de corticosteroides, a partir de diosgenina



(Lednicer & Mitscher 1977).

La cortisona y otros corticosteroides son compuestos relacionados con procesos de regulación del balance electrolítico, con el metabolismo de los carbohidratos, la resistencia al trauma y a los procesos inflamatorios. Debido a que la cortisona (13, Figura 2.17), el principal esteroide cortical, posee una sustitución con oxígeno en la posición 11 y a que no hay una forma de funcionalizar el carbono 11 por medio de reacciones químicas es necesario emplear moléculas que posean alguna funcionalidad en un carbono cercano como en el ácido cólico (12) (que es uno de los ácidos biliares que posee un oxígeno en la posición 12 y que se encuentra en grandes cantidades en la bilis del buey) mediante tres operaciones básicas que incluyen la degradación de cadenas laterales de los ácidos biliares hacia el sustrato requerido (dihidroxiacetona), la trasposición del oxígeno del carbono 12 al 11 y finalmente la generación del sistema 3-ceto-4-eno a partir del 3,7-diol (Lednicer & Mitscher 1977).

Figura 2.17 Estructuras del ácido cólico, cortisona e hidrocortisona



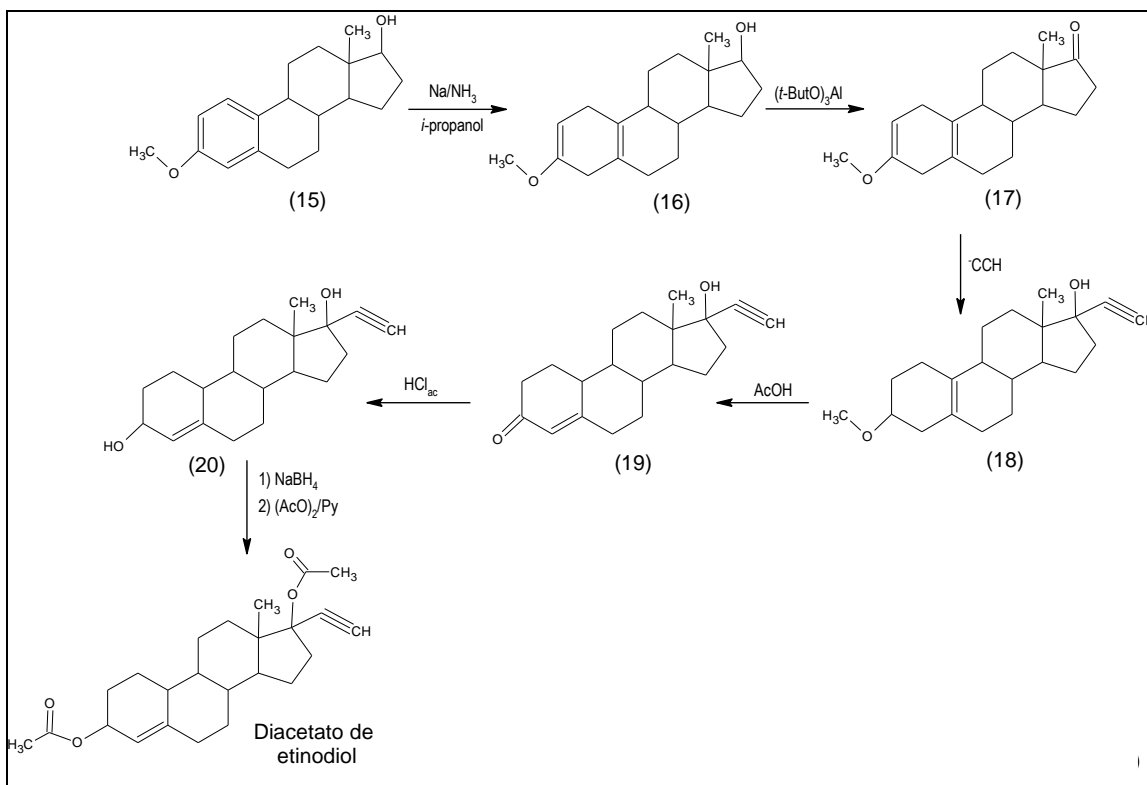
(Lednicer & Mitscher 1977).

La hidrocortisona acetato (14) es una droga importante por sí misma y se emplea como material de inicio para la síntesis de otros agentes antiinflamatorios (Lednicer & Mitscher 1977).

- El **diacetato de etinodiol** se preparó a partir de 3-metoxiestradiol (15) y 3 β -hidroxiandrost-5-en-17-ona (16) como materiales iniciales (Florey 1974).

En la Figura 2.18 se muestra la síntesis a partir de estradiol 3-metil éter (15) mediante la reducción por la modificación de Wills-Nelson para dar el derivado 1,4-dihidro (16). La oxidación de Oppenauer de (16) da la 17-cetona (17), que es etinilada para dar el enol éter intermediario (18). La reacción de (18) con ácido acético diluido produce noretinodrel (19). El tratamiento de (19) con ácido mineral acuoso produce noretindrona (20) que es convertida en etinodiol mediante la reacción con borohidruro de sodio. El diol es acetilado con anhídrido acético y piridina para producir el diacetato de etinodiol (Florey 1974).

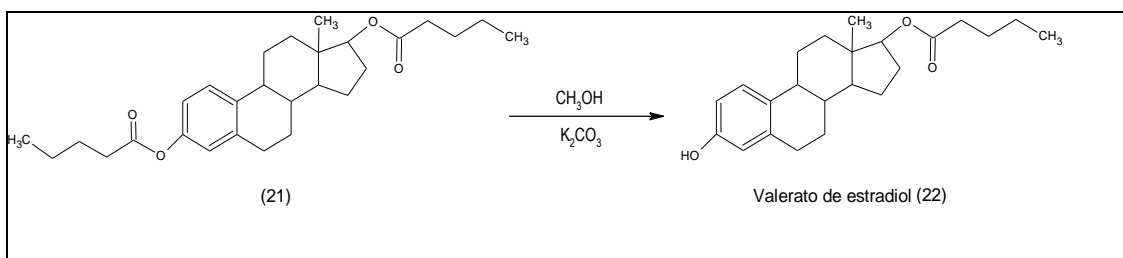
Figura 2.18 Esquema de síntesis de diacetato de etinodiol



(Florey 1974).

- El **valerato de estradiol** [estra-1,3,5-trieno-3,17 β -diol-17-pentanoato] fue preparado por primera vez a partir de la hidrólisis del divalerato de 3,17-estradiol (21) (Figura 2.19) (Florey 1974).

Figura 2.19 Reacción para la preparación de estradiol valerato

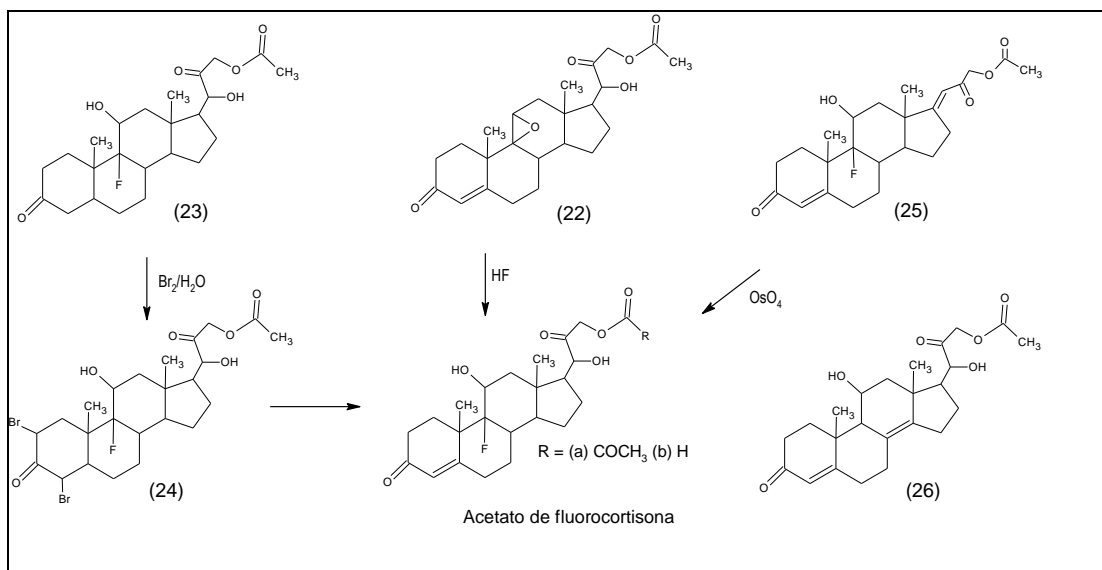


(Florey 1974).

El **acetato de fluorocortisona** [acetato de 9 α -fluoro-11 β , 17 α ,21-trihidroxi-4-pregnano-3, 20-diona] se sintetizó por primera vez por el tratamiento del epóxido (22) con fluoruro de hidrógeno.

Se encontró al compuesto (26) como subproducto de la reacción. En otras vías de síntesis se ha reportado la introducción del doble enlace en la posición 4 a través de una bromación (23 y 24) aunque con bajo rendimiento (Figura 2.20) (Florey 1974).

Figura 2.20 Esquema de síntesis de acetato de fluorocortisona

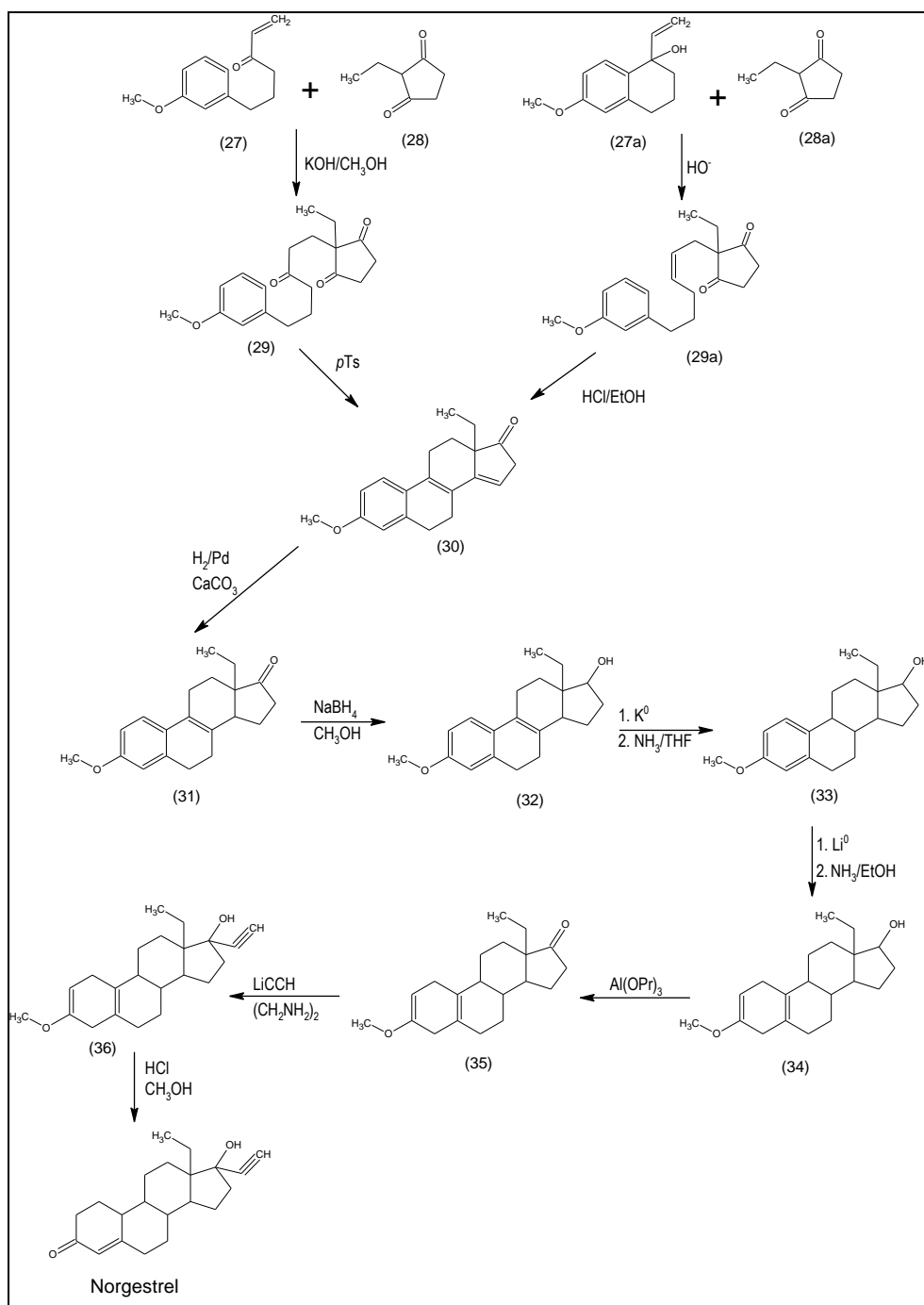


(Florey 1974).

- El **norgestrel** [*dl*-13-etil-17 α -etinil-17-hidroxi-gon-4-en-3-ona] se sintetiza por dos rutas básicas, que se muestran en la Figura 2.21. La formación del anillo se realiza por la condensación catalizada por base de 6-(*m*-metoxifenil)-1-hexen-3-ona (27) con 2-etilciclopenta-1,3-diona (28) para dar la triona (29). La ciclodeshidratación de (29) con ácido *p*-toluensulfónico forma la gonapentaen-17-ona (30). En esta ruta, la gonapentaen-17-ona se prepara por la ciclación con ácido clorhídrico metanólico del seco-oestratetraeno-14,17-diona (29a), preparada de la condensación catalizada con base de 2-etilciclopenta-1,3-diona (28a) con tetralol (27a) (Florey 1974).

La hidrogenación catalítica de (30) da la correspondiente gonatetraen-17-ona (31) que se convierte en el derivado (32) del estradiol por la reducción con borohidruro de sodio, seguido por potasio y posteriormente con amoníaco en tetrahidrofurano. La conversión de (33) por medio de la reducción de Birch modificada da el derivado 1,4-dihidro (34). Una oxidación de Oppenauer produce la 17-cetona (35) que posteriormente es etinilada para dar como intermediario un enol-éter (36). El tratamiento de (36) con ácido clorhídrico metanólico produce norgestrel.

Figura 2.21 Esquema de síntesis del norgestrel



(Florey 1974)

3. JUSTIFICACIÓN

La gran cantidad de efectos adversos que producen los fármacos empleados actualmente para el tratamiento de procesos inflamatorios y dolorosos hace necesario el estudio de líneas alternativas para el tratamiento de estos procesos y el desarrollo de nuevos fármacos. En 1997 se hizo el estudio del efecto antiinflamatorio y analgésico de un derivado γ -hidroxibutanólido de origen natural (Petrosaspongiólido M, extraído de la esponja marina *Petrosaspongia nigra*), en el que se demostró la eficacia de la potencia antiinflamatoria y analgésica de este compuesto sin los efectos adversos de los fármacos empleados con esos fines. En 2002 se dilucidó el mecanismo de acción de este compuesto y se determinó la participación e importancia del grupo γ -hidroxibutanólido presente en ese compuesto para disminuir significativamente el dolor y la inflamación al bloquear en un nuevo punto la ruta biosintética de los mediadores bioquímicos involucrados en dichos procesos.

La extracción de estos derivados γ -hidroxibutanólido tiene bajo rendimiento por lo que es necesario el desarrollo de un procedimiento viable para la preparación de compuestos sintéticos que posean este grupo en su estructura. Actualmente no existe un procedimiento para la síntesis de estos compuestos. Ante esta necesidad, en el presente trabajo de investigación se propone un procedimiento viable para la síntesis de un derivado γ -hidroxibutanólido [5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2(3H)-ona].

El planteamiento, ejecución, evaluación y optimización de un procedimiento viable para la preparación de estos derivados abre la posibilidad para la preparación de otras moléculas que posean el grupo γ -hidroxibutanólido por síntesis combinatoria, que pueden tener la acción y potencia antiinflamatoria y analgésica adecuada sin los efectos adversos de los fármacos utilizados con estos fines debido a que su mecanismo de acción es diferente. Con compuestos sintéticos que posean este grupo, como el que se obtuvo con el procedimiento planteado, será posible hacer más estudios farmacológicos de la inhibición de la fosfolipasa A₂ como línea de tratamiento de la inflamación y el dolor sin efectos secundarios.

3.1 Planteamiento

En este trabajo de investigación se plantea, desarrolla y evalúa un procedimiento viable para la síntesis de un derivado γ -hidroxibutanólido, es decir, de un compuesto que en su estructura posea el grupo 5-hidroxi-dihidrofuran-2(3H)-ona.

El procedimiento se planteó según reacciones químicas que involucran a grupos funcionales análogos en otros compuestos químicos con rendimientos aceptables y que pueden aplicarse a los sustratos propuestos en este trabajo para la obtención del producto a preparar. Para el desarrollo del procedimiento se trabajó en el laboratorio con el equipo, los reactivos y las condiciones de reacción necesarias establecidas en el procedimiento propuesto para su verificación. La evaluación del procedimiento se realizó con las técnicas de análisis químico e instrumental requeridas para este tipo de síntesis.

3.2 Alcance y límites del trabajo de investigación

En el presente trabajo de investigación se determinó la factibilidad de la preparación eficiente de un derivado γ -hidroxibutanólido [5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2(3H)-ona] con dos procedimientos de síntesis; El desarrollo de uno de ellos condujo al replanteamiento y optimización de otro procedimiento según el trabajo experimental, en los resultados de la caracterización química de los grupos funcionales presentes, los análisis espectroscópicos, cromatográficos y espectrométricos de los productos de cada etapa de síntesis.

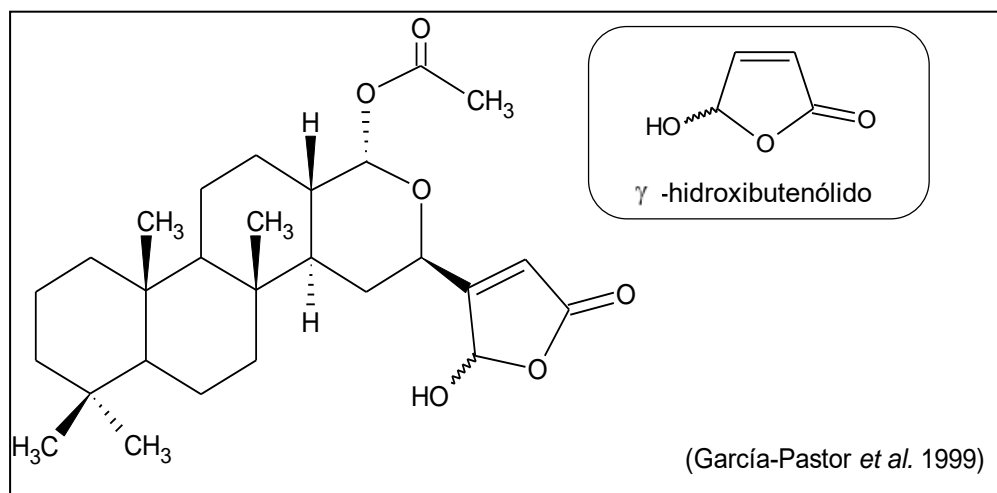
No se realizaron pruebas de verificación de la actividad biológica sobre la fosfolipasa A₂ en procesos inflamatorios de ningún tipo (*in vivo* ni *in vitro*) del compuesto sintetizado debido a los aspectos metodológicos y alcance de este trabajo de investigación.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 Petrosospongiólido M

El petrosospongiólido M (cuya estructura química se muestra en la Figura 4.1) es un metabolito que produce la esponja marina *Petrosaspongia nigra*. Este compuesto pertenece a la familia de los sesterpenos y tiene actividad antiinflamatoria debido a su potente actividad inhibidora sobre el grupo de enzimas II y III de la fosfolipasa A₂ (Dal Piaz *et al.* 2002) *in vitro* e *in vivo* en modelos de inflamación aguda y crónica (García-Pastor *et al.* 1999).

Figura 4.1 Estructura química del Petrosospongiólido M



(García-Pastor *et al.* 1999)

4.2 Información sobre *Petrosaspongia nigra*

Petrosaspongia nigra pertenece a la clase Demospongiae, orden Dictyoceratida y familia Thorectidae. El género *Petrosaspongia* lo describió Bergquist por primera vez en 1995 (Cook & Bergquist 2000).

Estas esponjas tienen un esqueleto de fibras laminadas que pueden ser primarias, secundarias y en algunas ocasiones terciarias. Las fibras primarias tienen un filamento que puede estar extendido hacia fibras secundarias. El esqueleto de fibras es regular y generalmente de arreglo rectangular. Las fibras, que pueden ser desde simples fibras hasta grupos fuertes, forman fascículos. Las zonas de desunión entre las capas fibrosas sucesivas permanecen adheridas produciendo una estructura homogénea con laminación contigua visible (Cook & Bergquist 2000).

Las esponjas de la familia Thorectidae tienen cámaras pequeñas, esféricas y diploides. El género *Petrosaspongia* se encuentra por todo el mundo, con excepción de los mares polares (Cook & Bergquist 2000).

4.3 Estudios sobre la actividad del petrosaspongiólido M

El petrosaspongiólido M evidenció una potente actividad antiinflamatoria e inhibió la acumulación celular en exudados inflamatorios a dosis entre 0.1 y 1.0 mmol/inyección. Con el tratamiento con petrosaspongiólido M se observó descenso significativo de los niveles de prostaglandina E₂, leucotrieno B₄ y factor α de necrosis tumoral a las dosis indicadas anteriormente. La respuesta inflamatoria mostró niveles altos de prostaglandina E₂, leucotrieno B₄ y factor α de necrosis tumoral en los exudados de los animales control inyectados con zymosan (Garcia-Pastor *et al.* 1999)

La administración de 20 mg/kg/día de petrosaspongiólido M a animales (con artritis inducida en las patas) redujo significativamente el edema en los días 18 a 23 después de la primera inyección. Los animales artríticos sin tratamiento con petrosaspongiólido M mostraron aumento significativo en los niveles de eicosanoides medidos en diferentes tejidos respecto a los controles realizados con animales no-artríticos al final del experimento realizado por Garcia-Pastor y colaboradores. Petrosaspongiólido M no modificó los niveles de prostaglandina E₂ en suero ni en el estómago; Tampoco modificó el nivel de tromboxano A₂ en suero en los animales tratados. Petrosaspongiólido M redujo los niveles séricos de leucotrieno B₄ y de prostaglandina E₂. Por el contrario, la indometacina (empleada como medicamento-control) produjo una marcada inhibición de niveles de prostaglandinas en suero y estómago. El estómago de los animales tratados con el antiinflamatorio no-esteroideo de referencia (indometacina) mostró coloración rojiza, mientras que las ratas tratadas con petrosaspongiólido M no mostraron esta coloración, lo cual fue consistente con los niveles inalterados de prostaglandina E₂ (Garcia-Pastor *et al.* 1999).

Además, el petrosaspongiólido M afectó significativamente los niveles de prostaglandina E₂ en tejidos inflamados durante inflamación crónica sin modificar el contenido de estos eicosanoides en el suero o el estómago. Por lo tanto, este compuesto marino, en contraste con los antiinflamatorios no-esteroides, redujo selectivamente la elevación anormal de prostaglandinas E₂ sin la reducción de los niveles de prostaglandinas con funciones protectoras en otros tejidos (García-Pastor *et al.* 1999).

4.3.1. Mecanismo de acción de petrosaspongiólido M. Perspectivas de uso farmacológico

Los detalles del mecanismo de inhibición del petrosaspongiólido M sobre la fosfolipasa A₂ no se conocen completamente aunque Dal Piaz y colaboradores determinaron que se produce un aducto covalente entre la fosfolipasa A₂ y el γ -hidroxibutenólido (recuadro de la Figura 4.1) contenido en la estructura de metabolitos marinos como la del petrosaspongiólido M; Ese aducto es consistente con la formación de una base de Schiff (imina) debido a la reacción del grupo ϵ -amino del residuo de lisina-85 de la fosfolipasa A₂ con el hemiacetal del petrosaspongiólido (que oculta a un grupo aldehído) en el carbono 25 del anillo γ -hidroxibutenólido (Dal Piaz *et al.* 2002).

El petrosaspongiólido M redujo la producción de eicosanoides derivados de las vías de ciclooxigenasa y 5-lipoxigenasa en la respuesta inflamatoria aguda debido a la inhibición de fosfolipasa A₂, disminuyendo así la disponibilidad del ácido araquidónico como sustrato para la biosíntesis de prostanoides y leucotrienos (García-Pastor *et al.* 1999).

Según los resultados de Dal Piaz y colaboradores, los cálculos de afinidad de la estructura de este compuesto en un modelo en tres dimensiones es muy posible que este compuesto y otros derivados γ -hidroxibutenólidos pueden ser de utilidad para el diseño de nuevos agentes antiinflamatorios cuyo objetivo sea la inhibición de la enzima fosfolipasa A₂ para así regular las respuestas inflamatorias (Dal Piaz *et al.* 2002).

5. MARCO METODOLÓGICO

5.1 Objetivos

1. Sintetizar el derivado γ -hidroxibutanólido 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2(3*H*)-ona [análogo de petrosaspongiólido M] a partir de reactivos asequibles.
2. Diseñar, ejecutar y evaluar nuevas posibilidades de síntesis de compuestos pertenecientes al grupo de los derivados γ -hidroxibutanólidos.
3. Aportar a la comunidad científica las propiedades físicas y espectroscópicas de los intermediarios y del producto a obtener en este trabajo de investigación para enriquecer las bases de datos de compuestos químicos.

5.2 Hipótesis

La síntesis de un derivado γ -hidroxibutanólido [el 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2(3*H*)-ona] puede lograrse con los procedimientos planteados en el presente trabajo a partir de sustratos asequibles.

5.3 Procedimiento

Se proponen dos procedimientos de síntesis:

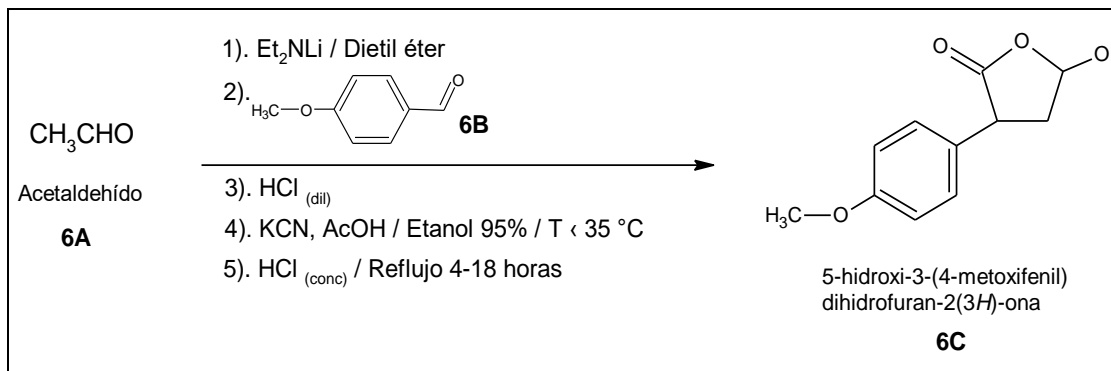
- A. A partir de aceltadehído (propuesta con la que se inició en este trabajo)
- B. A partir de acetato de etilo (propuesta realizada durante en este trabajo, tras los resultados obtenidos en el procedimiento A).

Nota: El porcentaje de rendimiento se estima según las transformaciones de compuestos con características similares, sujetos a las mismas condiciones de reacción y que siguen el mismo mecanismo de reacción que el reportado en las fuentes citadas.

A. Planificación de síntesis a partir de acetaldehído: Propuesta con la que se inició este trabajo.

Esquema general de síntesis a partir de acetaldehído:

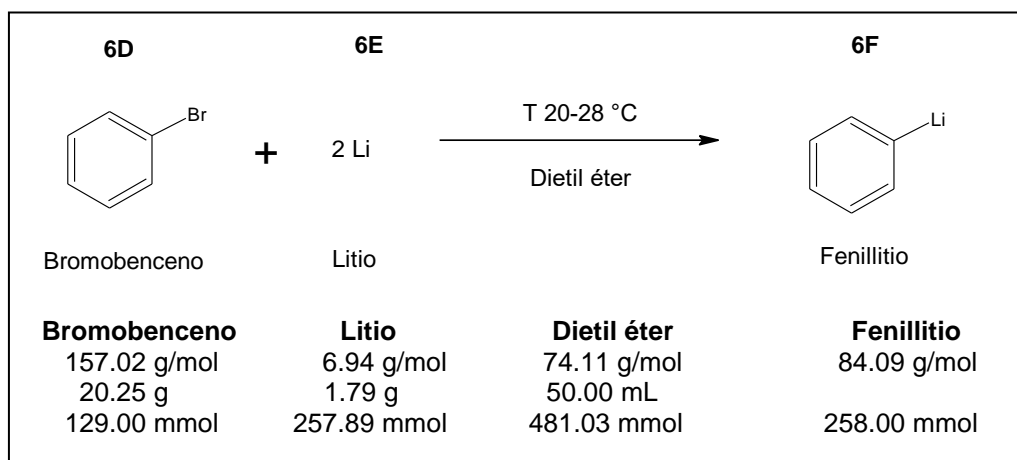
Figura 5.1 Resumen de las reacciones a utilizar durante la síntesis A



Estequiometría y mecanismos de reacción:

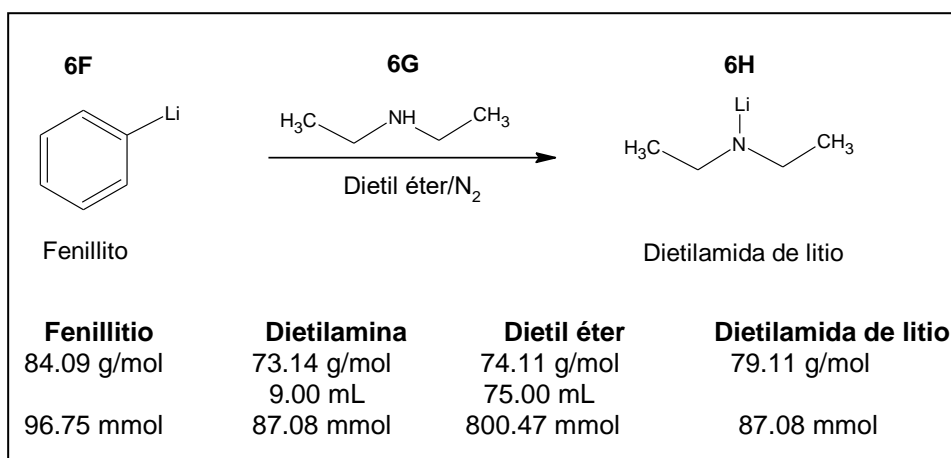
Etapa No. 1A. Preparación de (2E)-3-(4-metoxifenil) acrilaldehído [4-metoxicinamaldehído] a partir de acetaldehído y 4-metoxibenzaldehído.

Figura 5.2 Reacción para la preparación de fenillitio



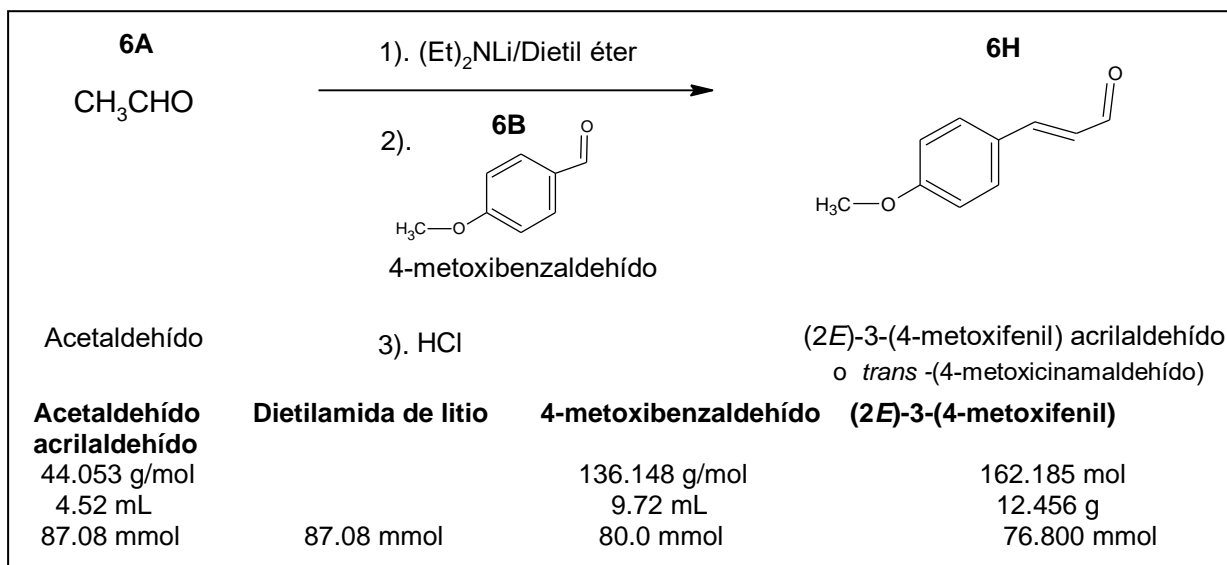
Rendimiento reportado: 75% (Fieser & Fieser 1967).

Figura 5.3 Reacción para la preparación de la dietilamida de litio



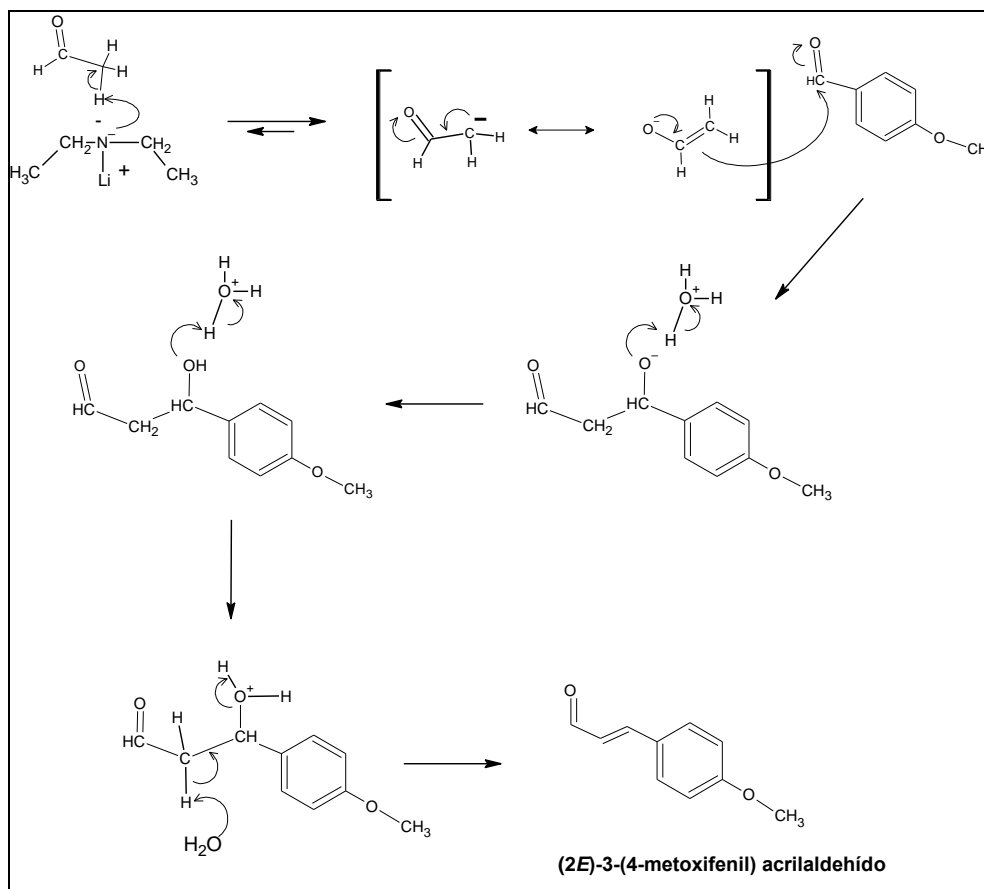
Rendimiento estimado: 97% según Fieser & Fieser 1967.

Figura 5.4 Reacción para la preparación del (2E)-3-4-metoxifenil acrilaldehído o 4-metoxicinamaldehído



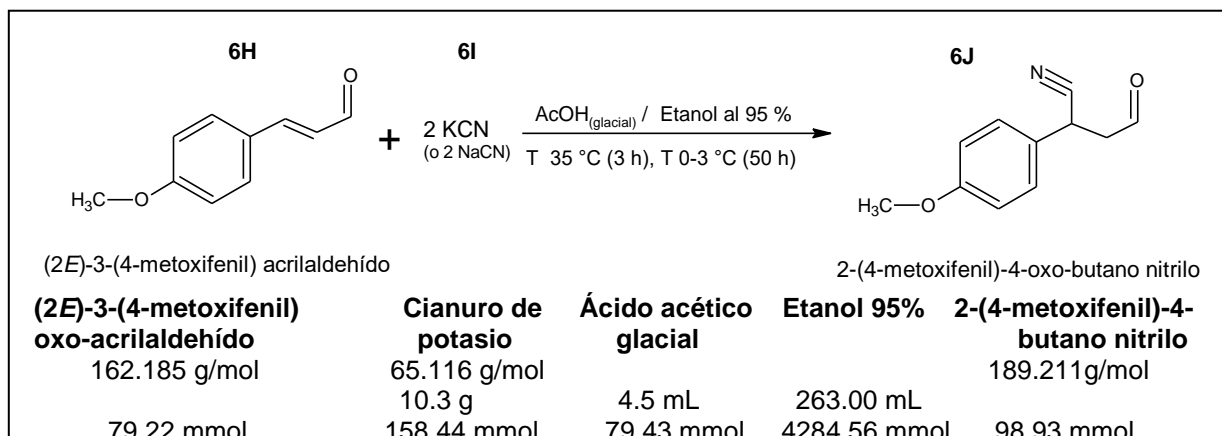
Rendimiento estimado: 96% según Evans y Allen 1973.

Figura 5.5 Mecanismo de reacción para la síntesis de (2E)-3-(4-metoxifenil) acrilaldehído.
Etapa No. 1A



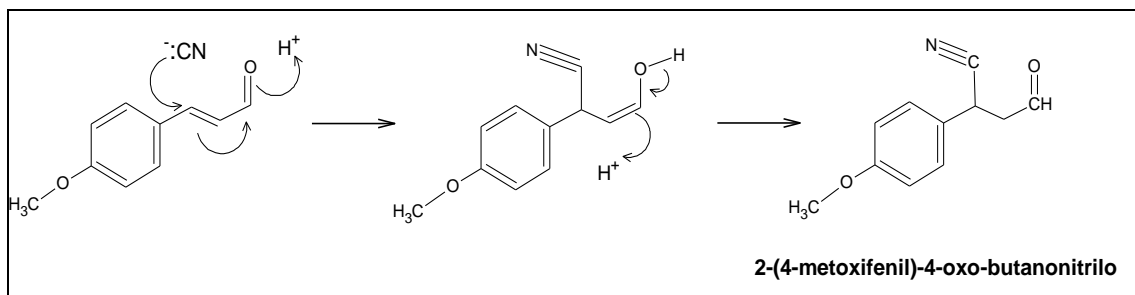
Etapa No. 2A. Preparación de 2-(4-metoxifenil)-4-oxo-butano nitrilo.

Figura 5.6 Reacción para la preparación de 2-(4-metoxifenil)-4-oxo-butano nitrilo



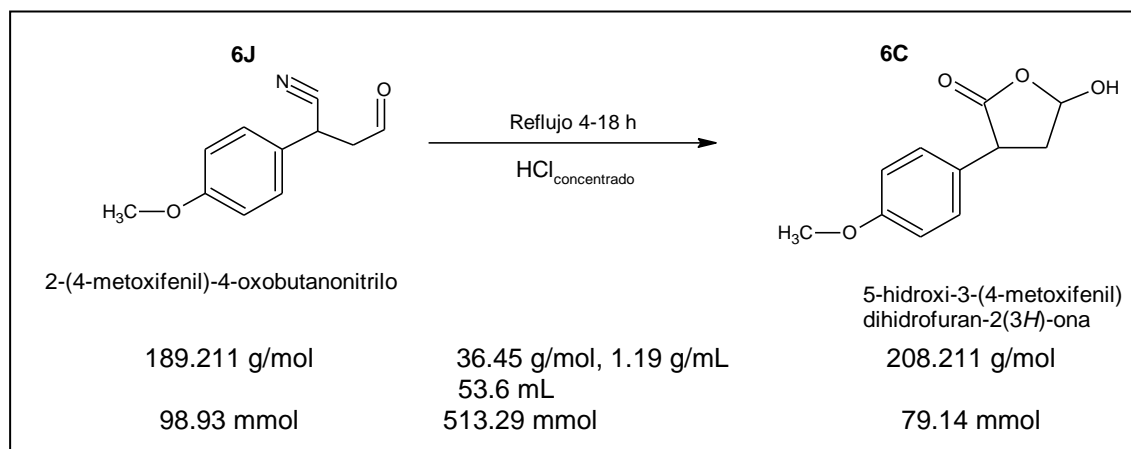
Rendimiento estimado: 93-96% según Allen & Kimball 2003.

Figura 5.7 Mecanismo de reacción para la síntesis de 2-(4-metoxifenil)-4-oxo-butanonitrilo.
Etapa No. 2A



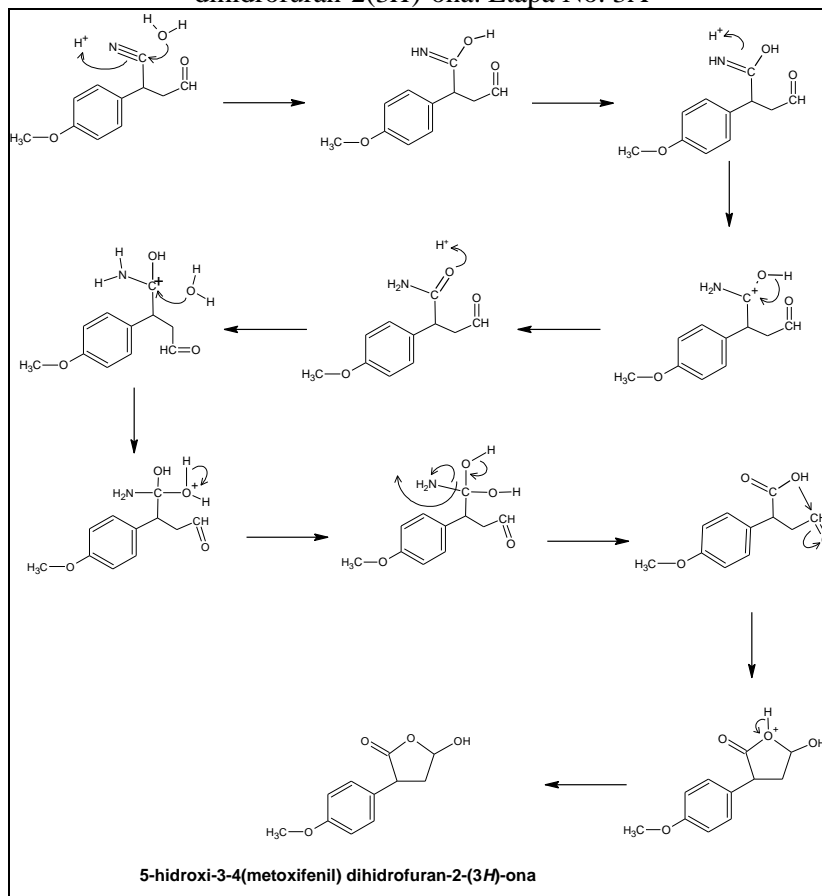
Etapa No. 3A. Preparación de 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil) dihidrofuran-2(3H)-ona.

Figura 5.8 Reacción para la preparación de 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil) dihidrofuran-2(3H)-ona



Rendimiento estimado: 80% según Allen & Johnson 1963.

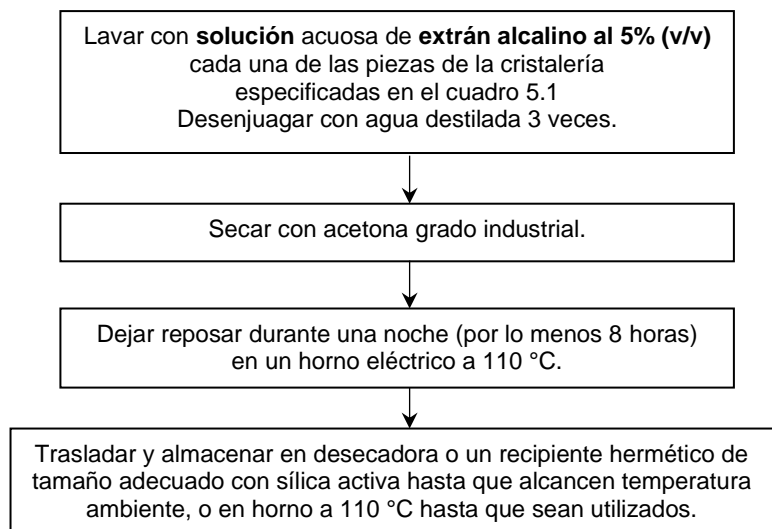
Figura 5.9 Mecanismo de reacción para la síntesis de 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil) dihidrofuran-2(3*H*)-ona. Etapa No. 3A



5.3.1. Etapas de síntesis del procedimiento A.

5.3.1.1 Limpieza rigurosa de cristalería y purificación de reactivos.

(Tiempo aproximado: 2 horas lavado + 24 horas secado = **26 horas**)



Cuadro 5.1 Piezas de vidrio a limpiar y secar minuciosamente en el procedimiento 5.3.1.1

Pieza	Capacidad	Cantidad
Adaptador para destilación al vacío	-----	2
Adaptador para termómetro	-----	4
Ampolla graduada con boca esmerilada	250 mL	2
Ampolla con boca esmerilada	125 mL	2
Balón de fondo redondo	25 mL	4
Balón de fondo redondo de 3 bocas	250 mL	2
Beaker	50 mL	3
Beaker	100 mL	1
Condensador	-----	2
Condensador Claisen (reflujo)	-----	1
Conector de 3 vías	-----	1
Vial de vidrio color ámbar	20 mL	2

La información de reactivos, intermediarios y productos cuantitativa y cualitativa, propiedades físicas, toxicidad y precauciones en el manejo de reactivos, intermediarios y productos se presenta en los cuadros 12.6 a 12.11 del anexo.

5.3.1.2 Preparaciones previas para Etapa No. 1A de síntesis.

5.3.1.2.1 Preparación de soluciones a emplear en la etapa No. 1A.

(Tiempo aproximado: **35 minutos**)

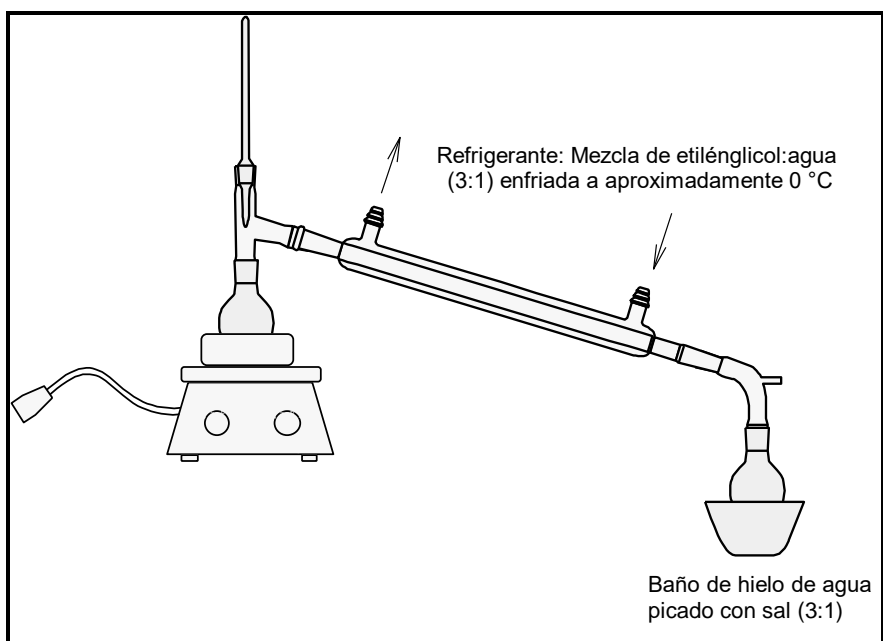
Cuadro 5.2 Preparación de soluciones a emplear en la etapa No. 1A

Solución (concentración aproximada*)	Preparación		
	Recipiente	Solvente (Volumen)	Sustancia (pura)
Ácido clorhídrico 10% (v/v)	Beaker 500 mL	Agua destilada (250 mL)	Ácido clorhídrico concentrado (25 mL)
Extrán 5% (v/v)	Piseta 250 mL	Agua destilada (95 mL)	Extrán concentrado (5 mL)
Hidróxido de potasio al 10% (p/v)	Beaker 500 mL	Agua destilada (500 mL)	Hidróxido de potasio (50 g)
Refrigerante (Etilénglicol:agua)	Beaker 500 mL	Agua destilada (450 mL)	Etilénglicol (150 mL)
Peróxido de hidrógeno al 3% (v/v)	Beaker 250 mL	Agua destilada (135 mL)	Peróxido de hidrógeno al 30% (v/v) (15 mL)

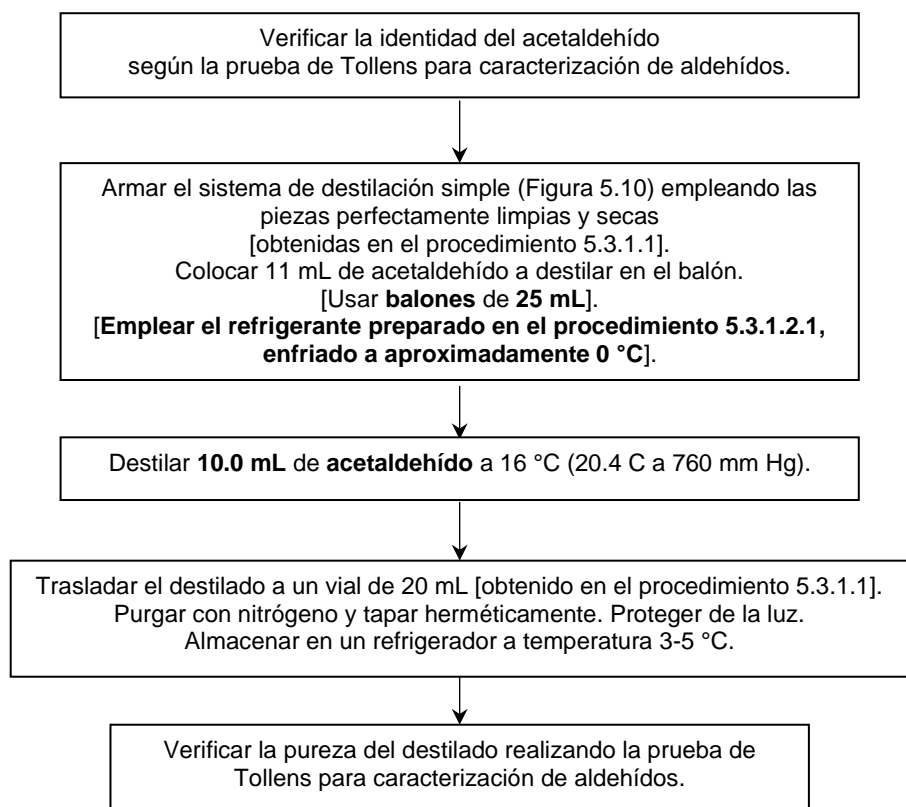
* No se requiere que estas soluciones sean de concentración exactamente conocida debido a su uso.

5.3.1.2.2 Purificación de solventes. (Tiempo aproximado: 9 horas).

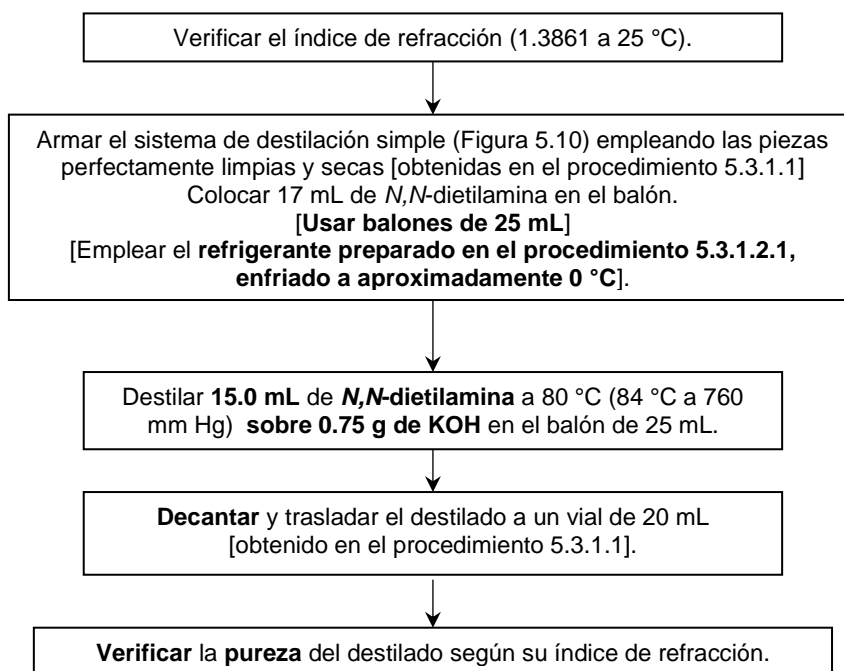
Figura 5.10 Sistema de destilación simple a utilizar en los incisos 5.3.1.2.2.1 y 5.3.1.2.2.2



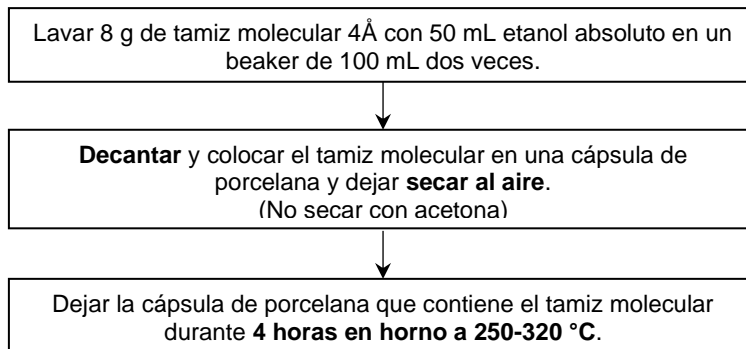
5.3.1.2.2.1 Purificación de acetaldehído. (Tiempo aproximado: 30 minutos).



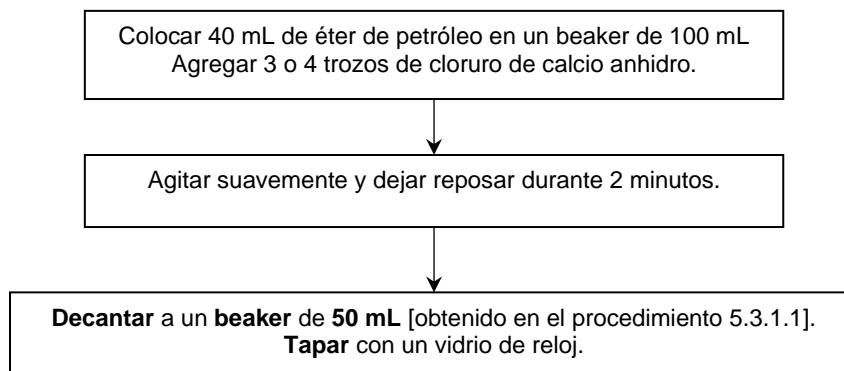
5.3.1.2.2 Purificación de *N,N*-dietilamina. (Tiempo aproximado: **30 minutos**).



5.3.1.2.2.3 Activación del tamiz molecular 4 Å (aluminosilicato de sodio). (Tiempo aproximado: 15 minutos lavado + 4 horas secado + 2 horas enfriado = **6 horas**).



5.3.1.2.2.4 Purificación de éter de petróleo. (Tiempo aproximado: **5 minutos**).



5.3.1.2.5 Purificación de hexano. (Tiempo aproximado: 5 minutos).

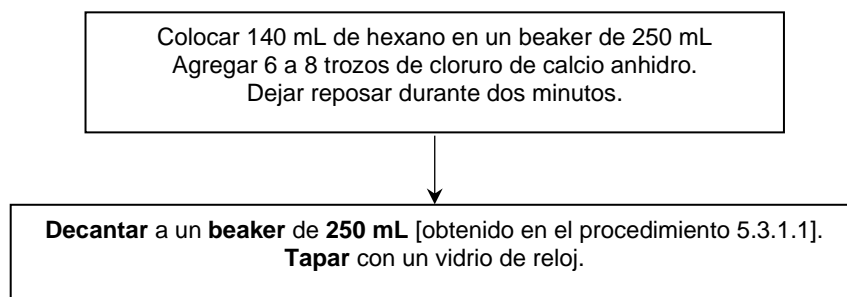


Figura 5.11 Esquema para pesar sodio (y litio) metálico (Procedimiento 5.3.1.2.6)

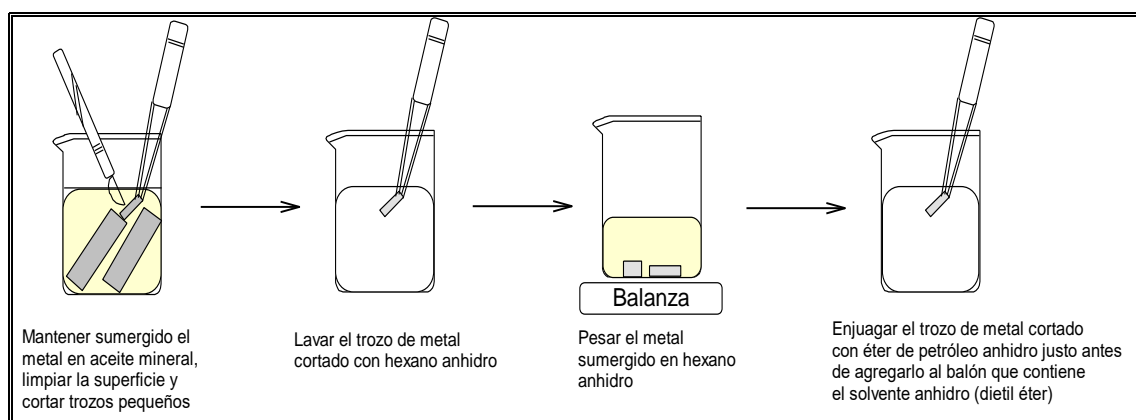
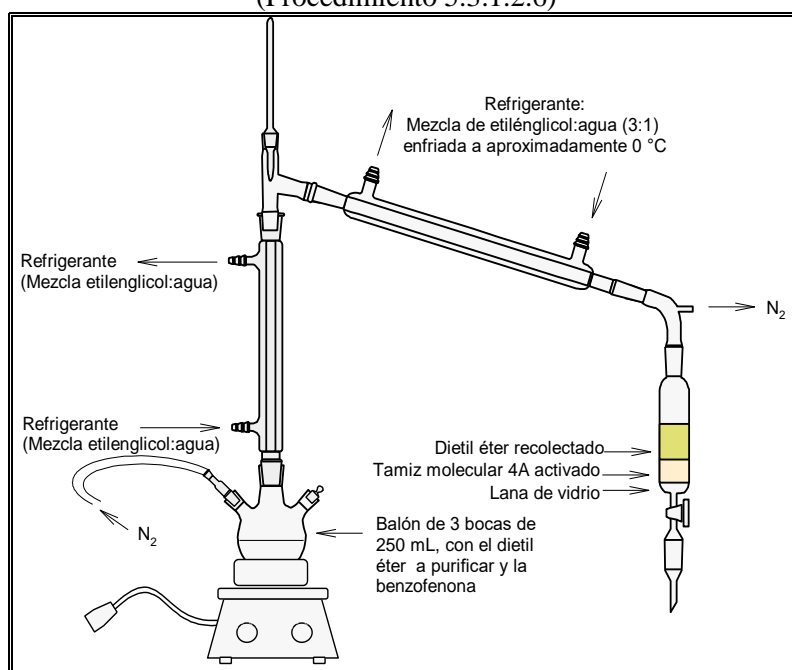
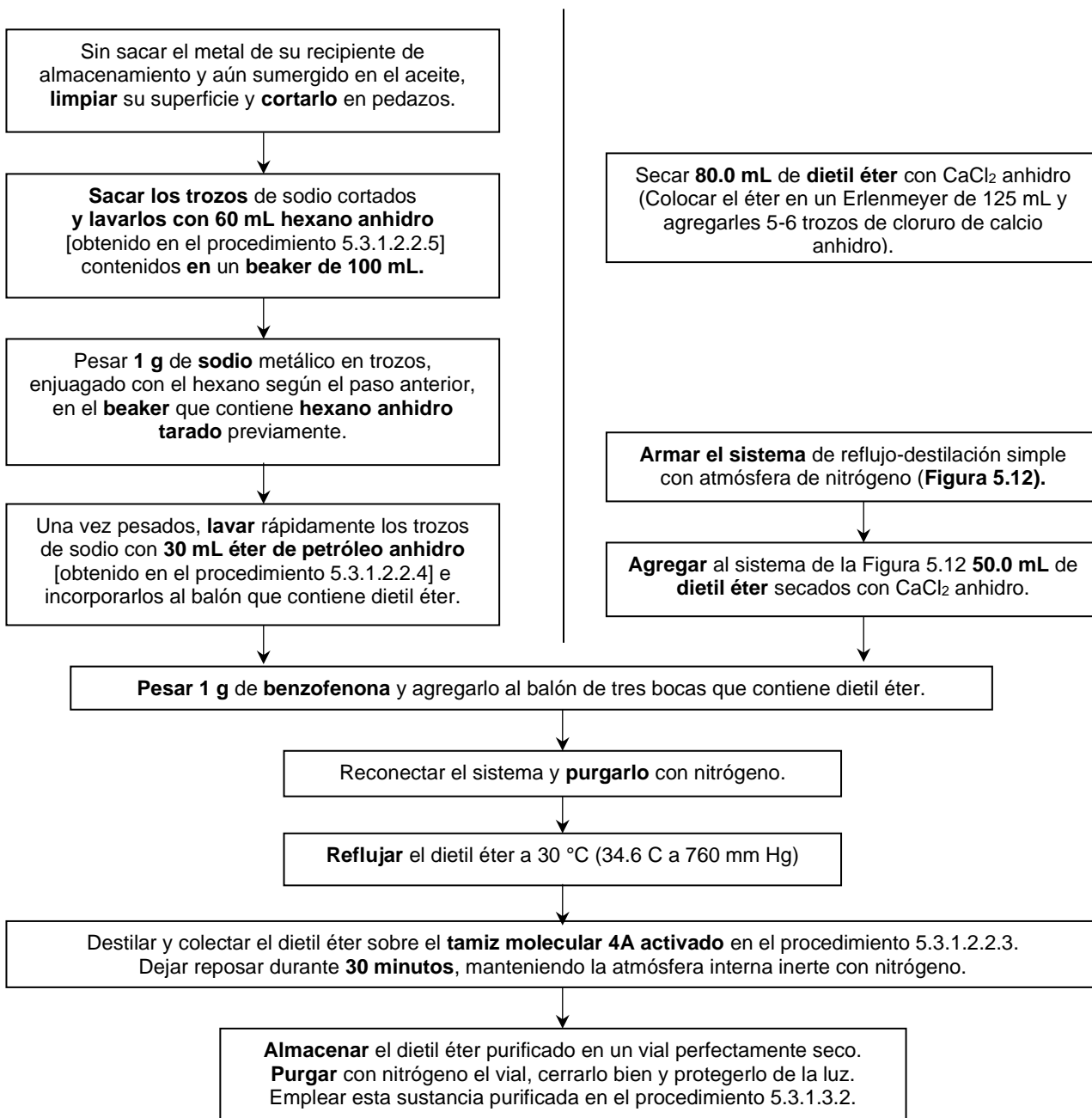


Figura 5.12 Sistema de destilación-reflujo con atmósfera inerte para la purificación de dietil éter (Procedimiento 5.3.1.2.6)



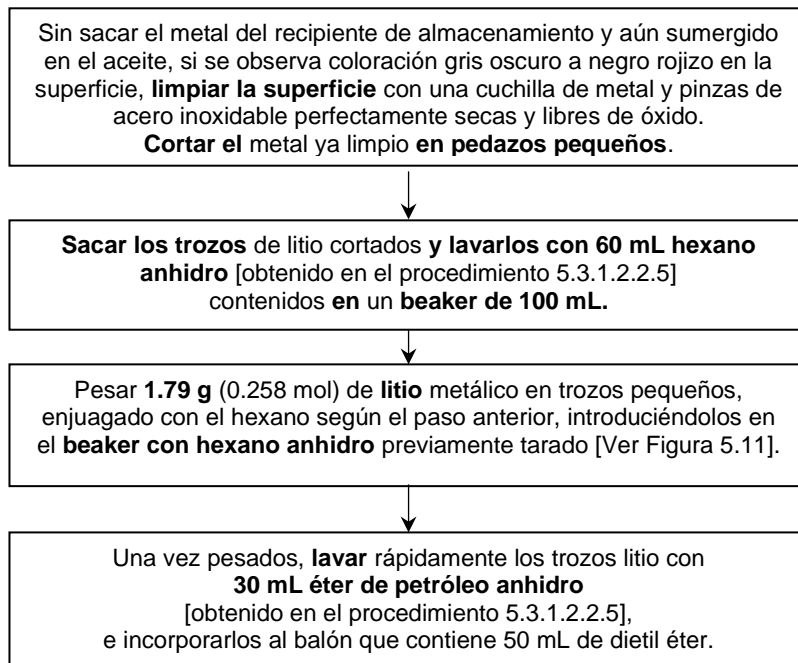
5.3.1.2.6 Purificación de dietil éter y pesado de sodio metálico (continuación).

(Tiempo aproximado: 1 hora).



5.3.1.3 Etapa 1A de síntesis. Preparación de (2E)-3-(4-metoxifenil) acrilaldehído.
[4-metoxicinamaldehído]. (Tiempo aproximado: **2 horas 37 minutos**).

5.3.1.3.1 Pesado de litio. (Tiempo aproximado: **25 minutos**)



5.3.1.3.2 Preparación de fenillitio. (Tiempo aproximado: **12 minutos**).

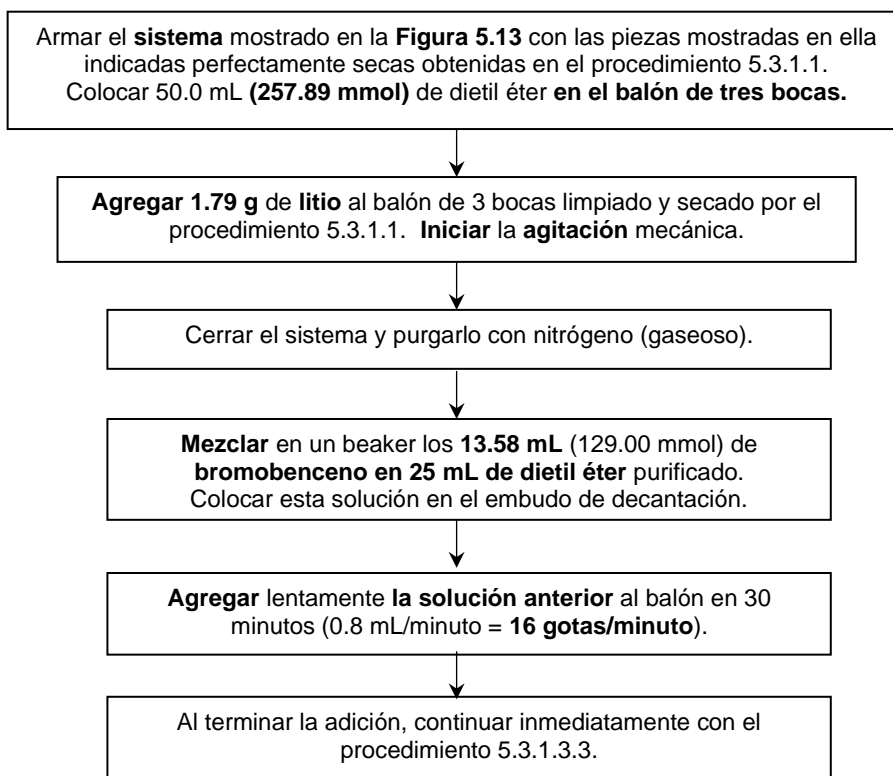
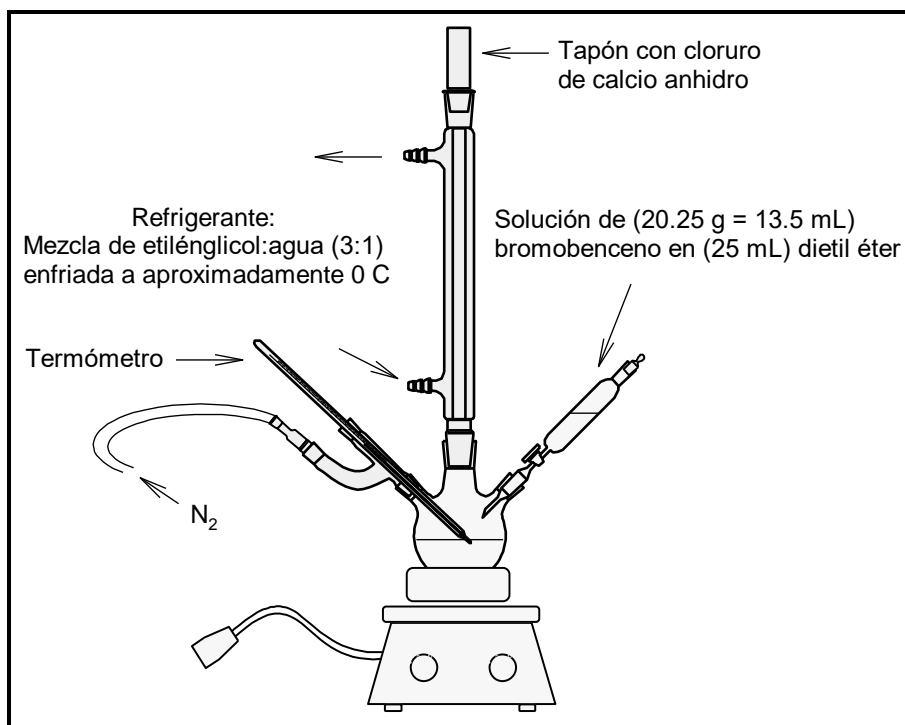
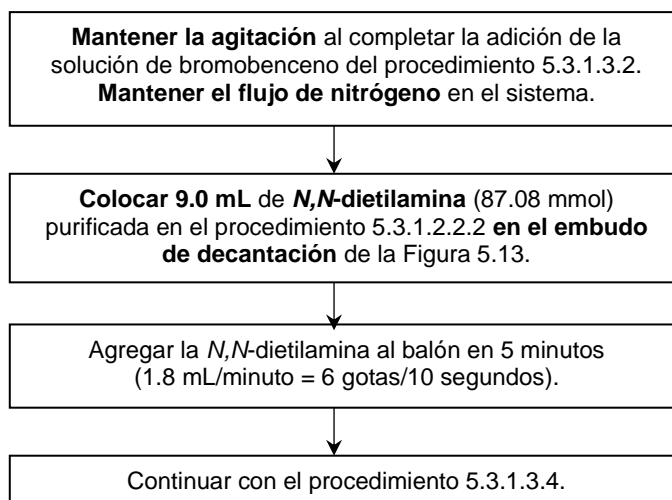


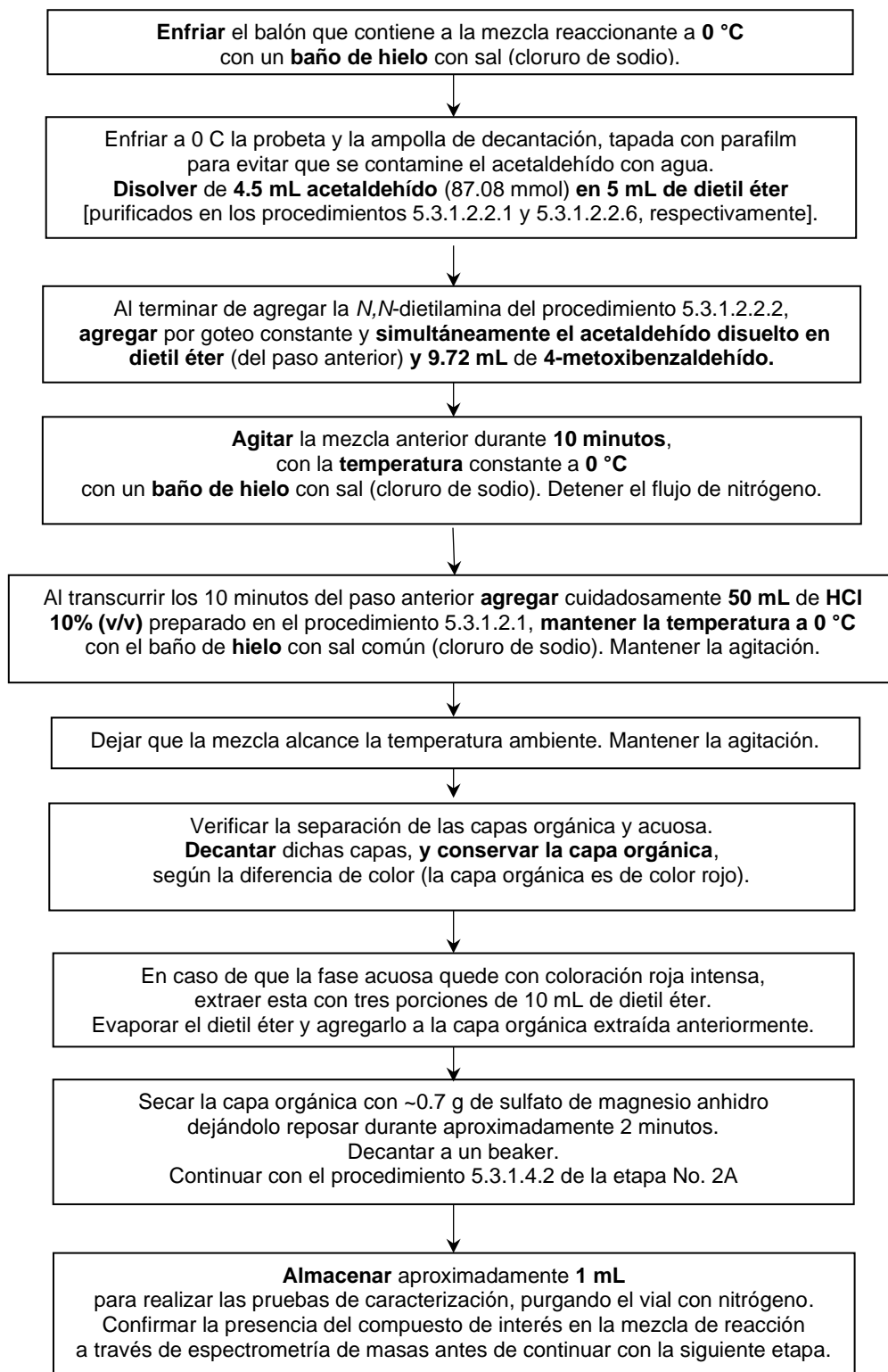
Figura 5.13 Sistema para la preparación de fenilitio (procedimiento 5.3.1.3.2).



5.3.1.3.3 Preparación de dietilamida de litio. (Tiempo aproximado: **45 minutos**).



5.3.1.3.4 Formación del enolato del acetaldehído y condensación de éste con 4-metoxibenzaldehído. (Tiempo aproximado: **1 hora 30 minutos**).



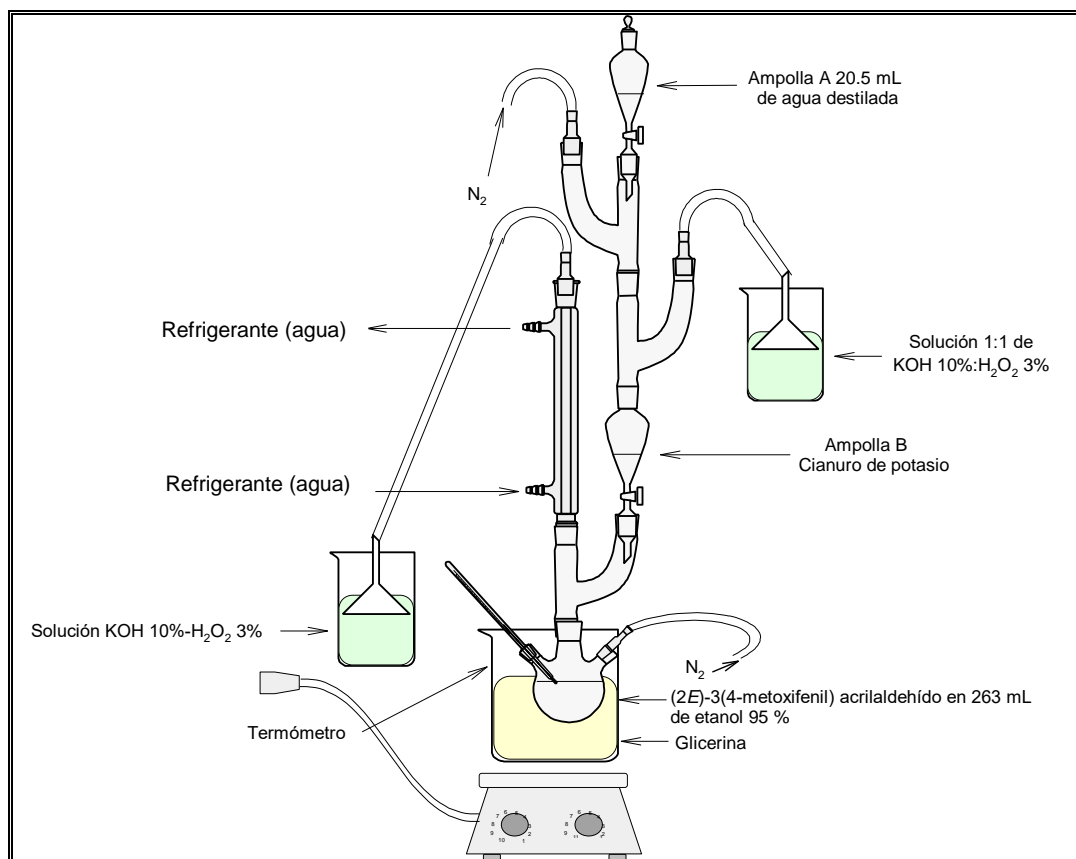
5.3.1.4 Etapa No. 2A de síntesis. Preparación de 2-(4-metoxifenil)-4-oxo-butano nitrilo.
(Tiempo aproximado: **54 horas 35 minutos**).

5.3.1.4.1 Preparación de soluciones a emplear en el procedimiento 5.3.1.4.2.
(Tiempo aproximado: **35 minutos**)

Cuadro 5.3 Preparación de soluciones a utilizar en el procedimiento 5.3.1.4.2 de la etapa No. 2A
(Tiempo aproximado: **20 minutos**)

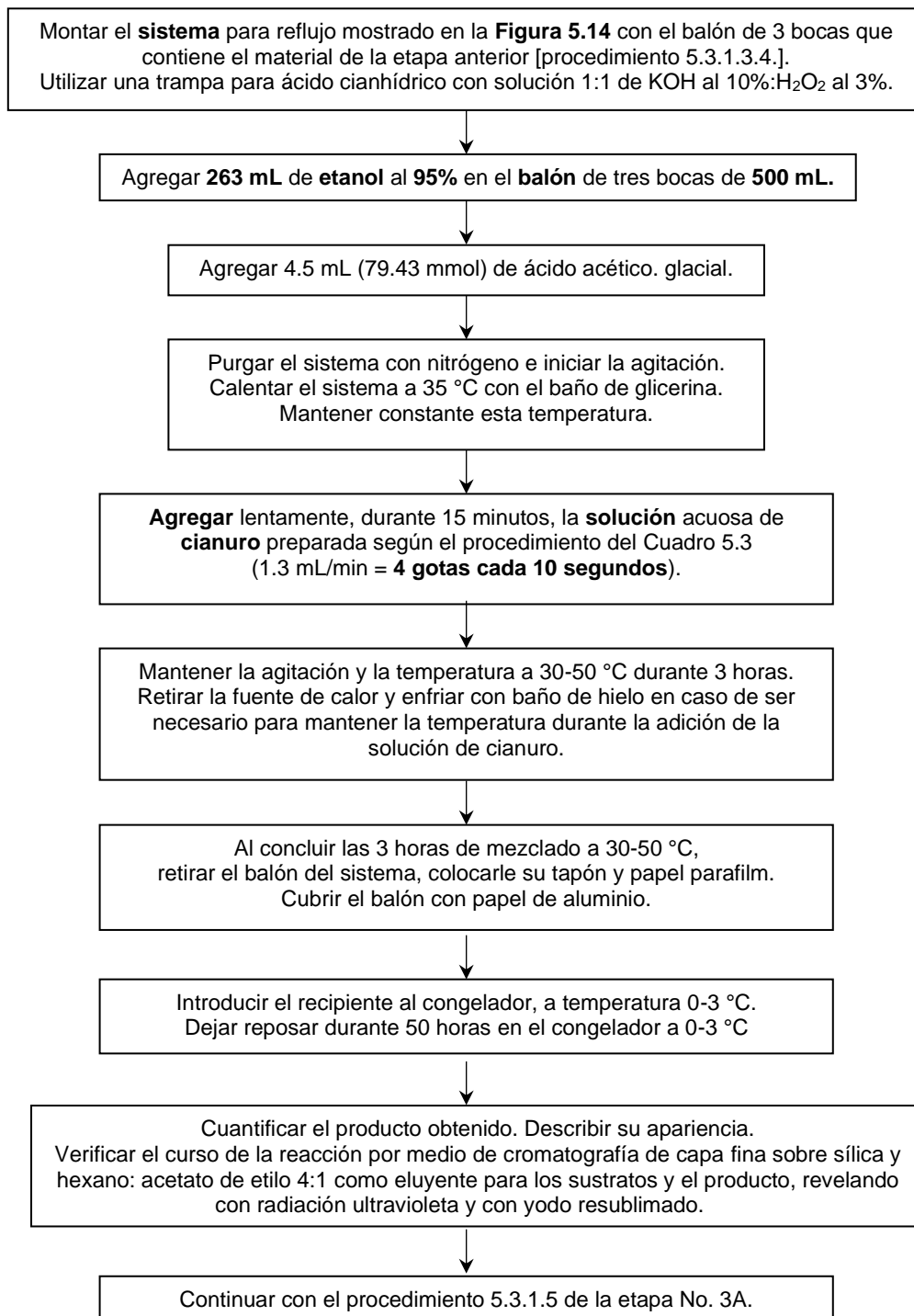
Solución	Preparación		
	Recipiente	Solvente (Volumen)	Sustancia (pura)
Disolución de cianuro de potasio en agua destilada	Ampolla de 125 mL	Agua destilada (20.5 mL)	Cianuro de potasio (10.3 g)
<p>Preparación: Armar el sistema mostrado en la Figura 5.14 En la campana de extracción, pesar 10.3 g (0.158 mol) de cianuro de potasio (o 7.76 g de cianuro de sodio) sobre un beaker de 25 mL. Colocar el cianuro en la ampolla B, que tenga un tapón de lana de vidrio en el fondo. Reconectar el sistema, verificando la trampa de gases. Agregar gota a gota el agua destilada de la ampolla A al contenido de la ampolla B. Verificar la disolución del cianuro, agitando si fuera necesario para completar su disolución.</p>			

Figura 5.14 Sistema para la reacción de la etapa 2A. (Procedimiento 5.3.1.4.2)



5.3.1.4.2 Adición de cianuro al (2E)-3-(4-metoxifenil) acrilaldehído.

(Tiempo aproximado 3 horas 30 minutos + 50 horas en congelador = **53 horas 30 minutos**).



5.3.1.5 Etapa No. 3A de síntesis.

Preparación de 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2-(3H)-ona.

(Tiempo aproximado: 6 horas 35 minutos).

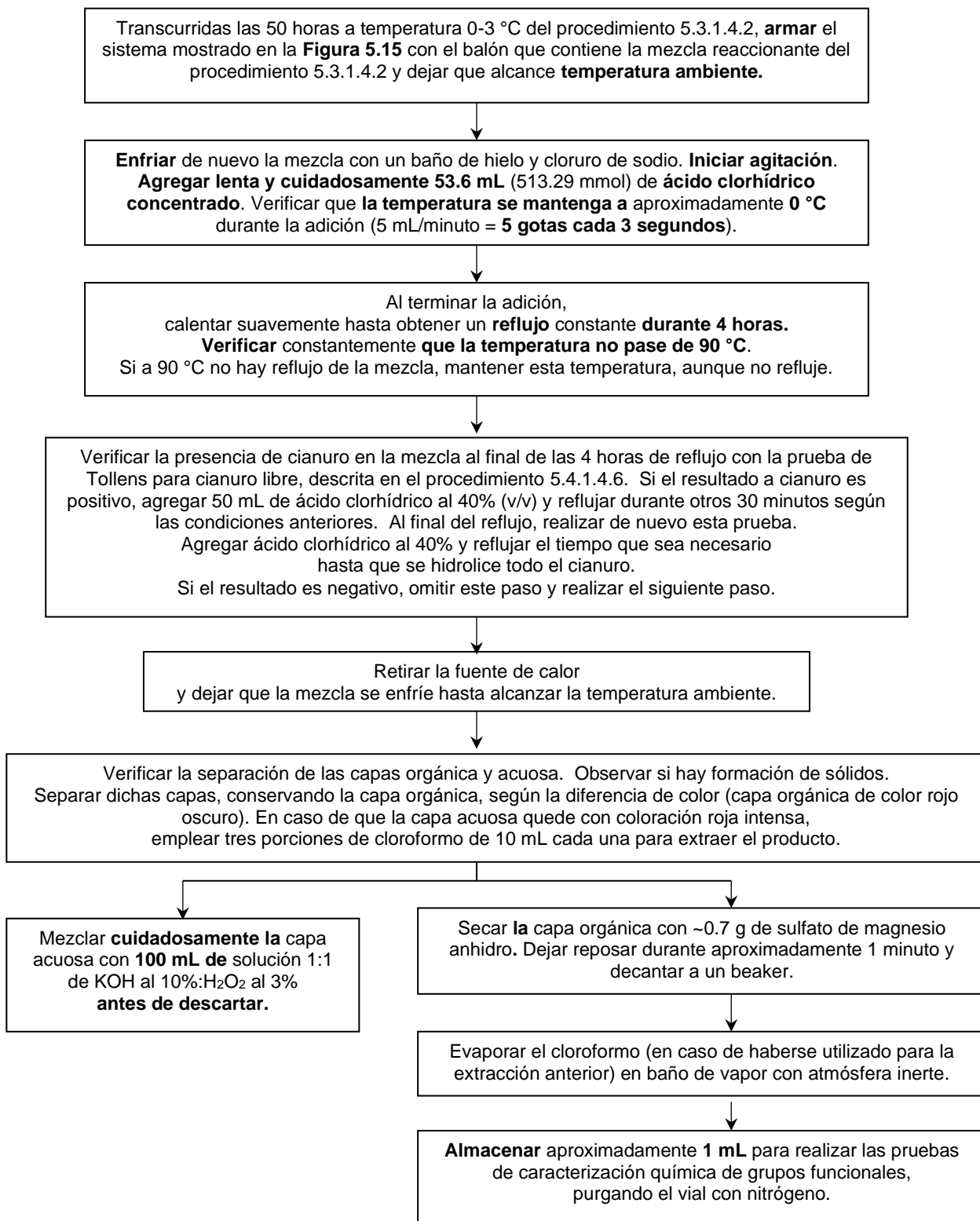
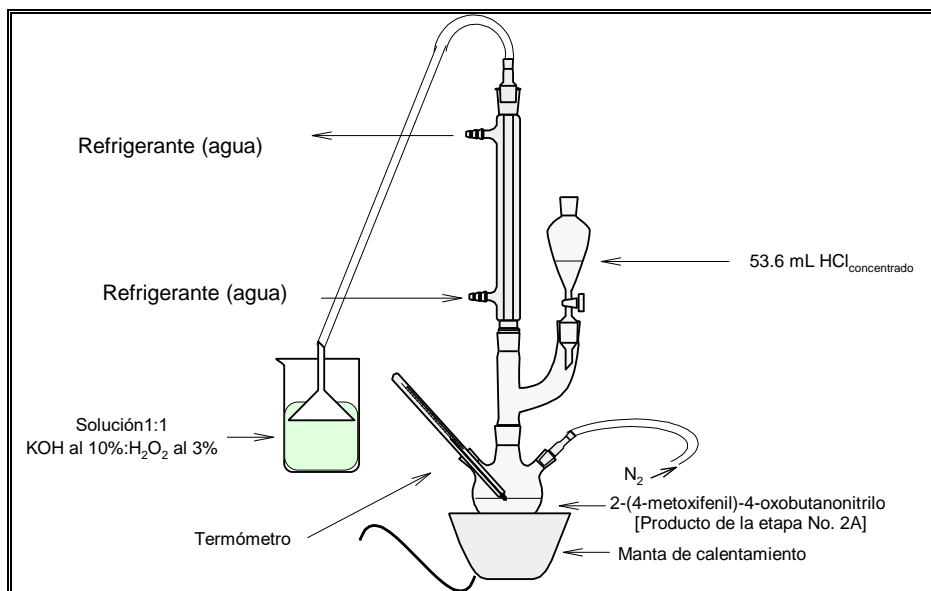


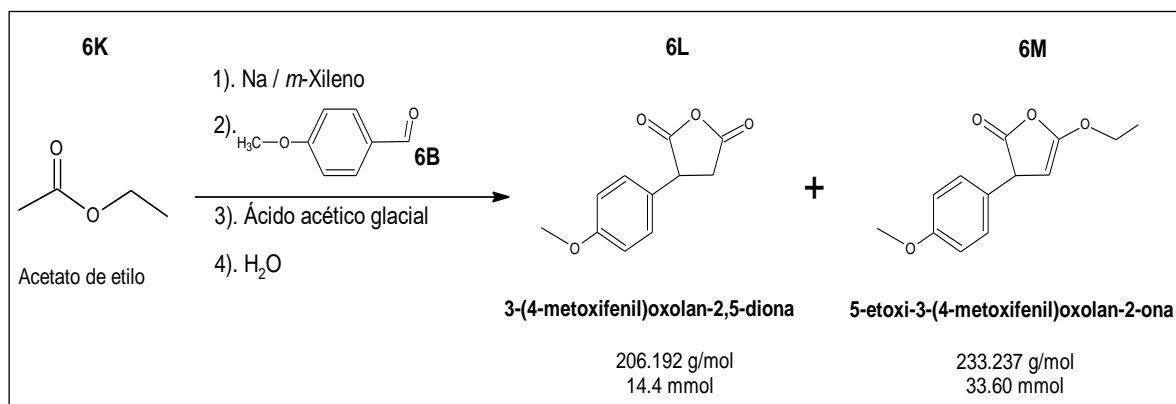
Figura 5.15 Sistema para la hidrólisis del cianuro y formación de anillo heterocíclico.
(Procedimiento 5.3.1.5)



B. Planificación de síntesis a partir de acetato de etilo: Propuesta realizada durante este trabajo

Esquema general de síntesis a partir de acetato de etilo:

Figura 5.16 Resumen de las reacciones a utilizar durante la síntesis B

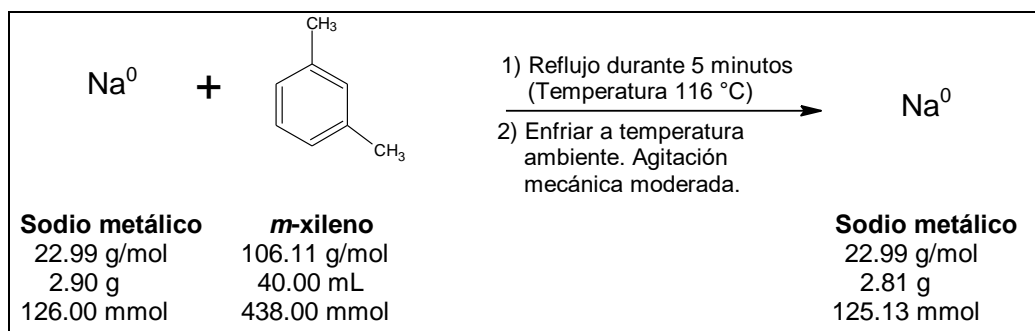


Nota: El porcentaje de rendimiento se estima según las transformaciones de compuestos con características similares, sujetos a las mismas condiciones de reacción y que siguen el mismo mecanismo de reacción que el reportado en las fuentes citadas.

Estequiometría y mecanismos de reacción:

Etapa No. 1B. Preparación de (2E)-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo [4-metoxicinamato de etilo] a partir de acetato de etilo y 4-metoxibenzaldehído.

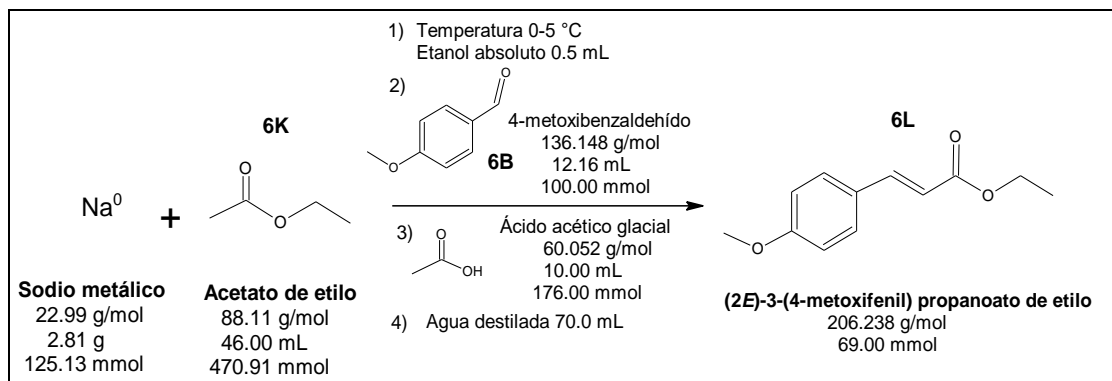
Figura 5.17 Reacción para la purificación del sodio



Rendimiento estimado: 97% según Casey K *et al.* 1990.

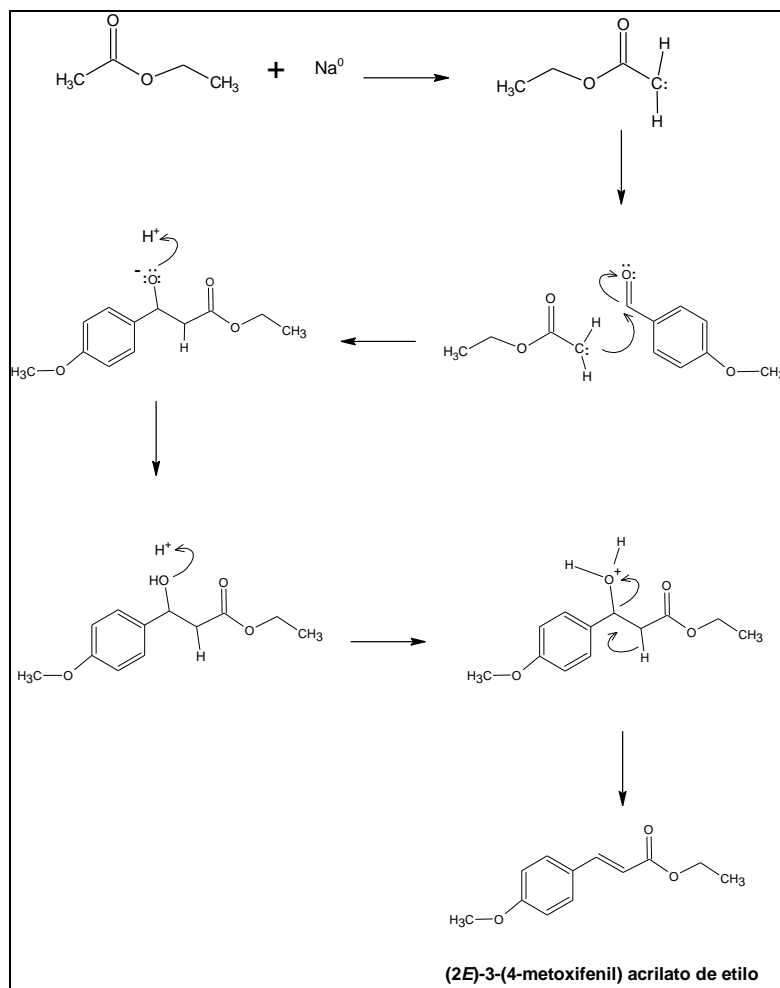
Continúa en Figura No. 5.18

Figura 5.18 Reacción para la preparación de (2E)-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo



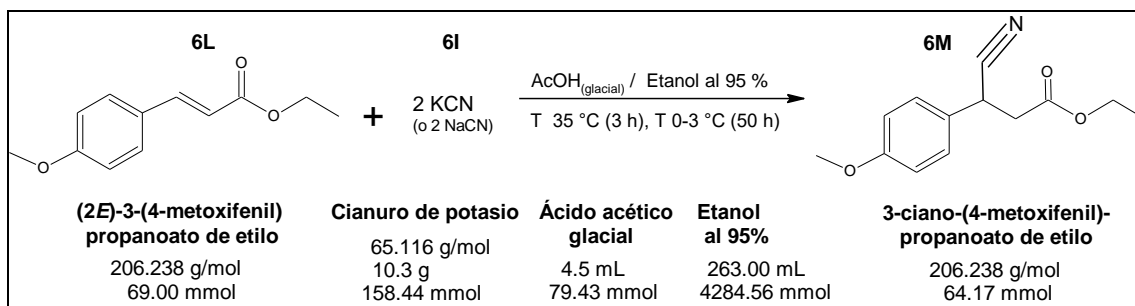
Rendimiento estimado: 69% según Marvel & King 1929.

Figura 5.19 Mecanismo de reacción para la síntesis de (2E)-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo. Etapa No. 1B



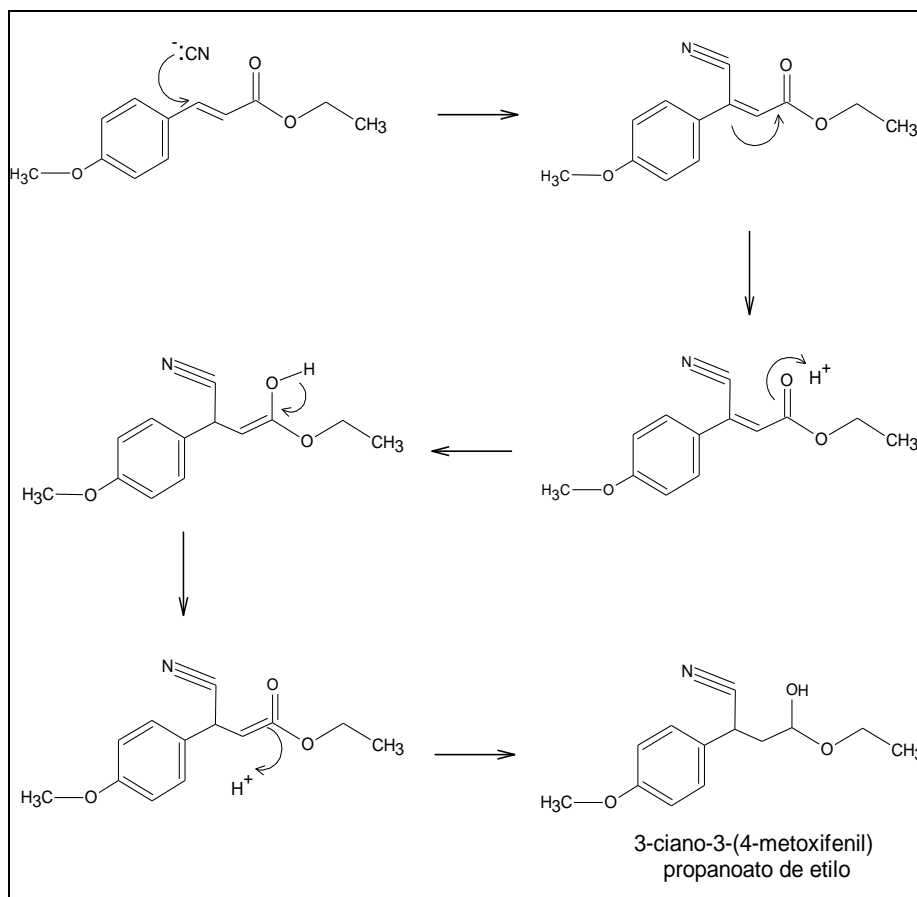
Etapa No. 2B. Preparación de 3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo.

Figura 5.20 Reacción para la preparación de 3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo



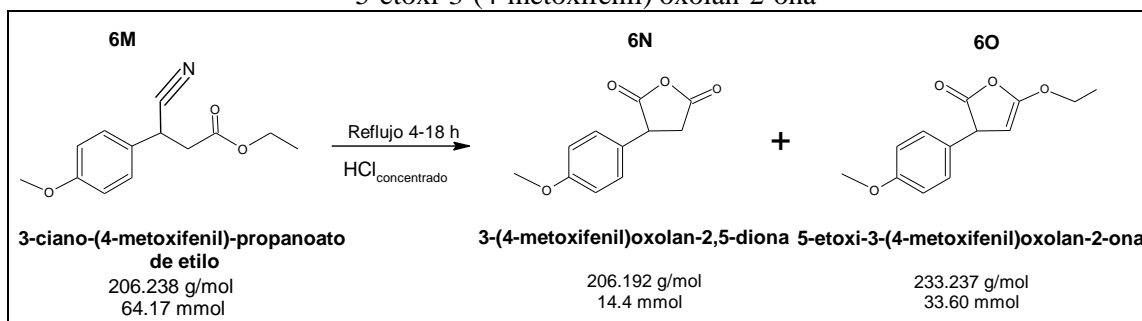
Rendimiento estimado: 93-96% según Allen & Kimball 2003.

Figura 5.21 Mecanismo de reacción para la preparación de 3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo. Etapa No. 2B



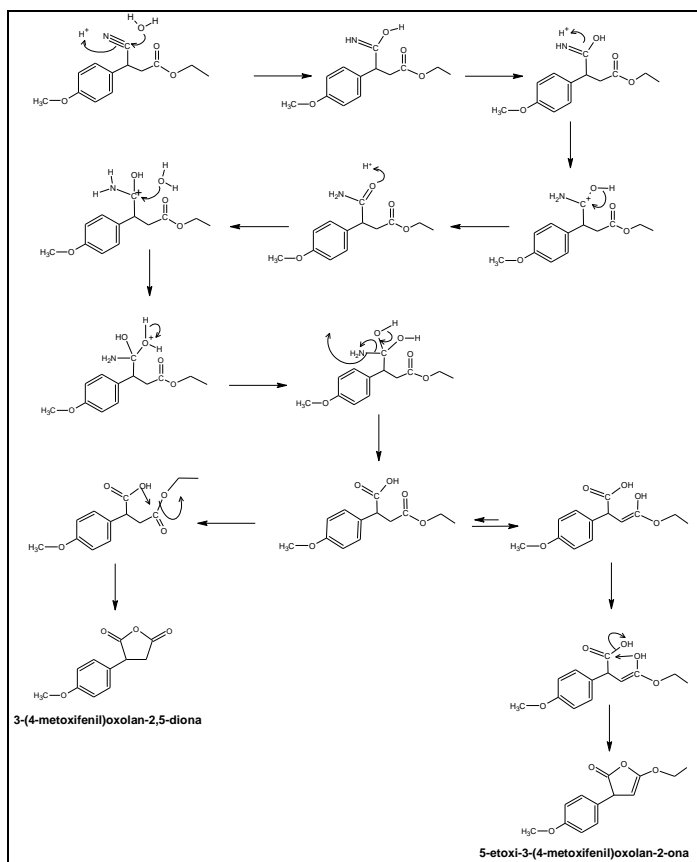
**Etapa No. 3B. Preparación de los derivados γ -butanólicos:
3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona.**

Figura 5.22 Reacción para la preparación de 3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona



Rendimiento estimado: 70% según Allen & Kimball 2003.

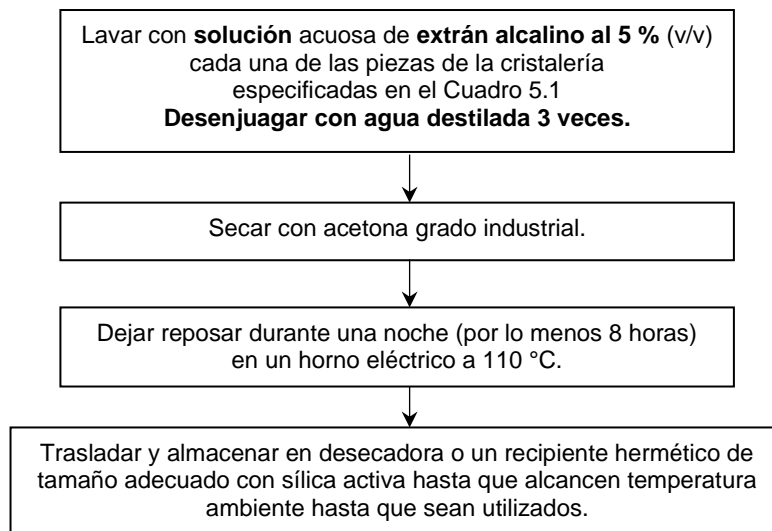
Figura 5.23 Mecanismos de reacción para la síntesis de 3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona. Etapa No. 3B



5.3.2. Etapas de síntesis del procedimiento B.

5.3.2.1 Limpieza rigurosa de cristalería y purificación de reactivos.

(Tiempo aproximado: 2 horas lavado + 24 horas secado = **26 horas**).



Cuadro 5.4 Piezas de vidrio a limpiar y secar minuciosamente en el procedimiento 5.3.2.1

Pieza	Capacidad	Cantidad
Adaptador para destilación al vacío	-----	2
Adaptador para termómetro	-----	4
Ampolla graduada con boca esmerilada	250 mL	2
Ampolla con boca esmerilada	125 mL	2
Balón de fondo redondo	25 mL	4
Balón de fondo redondo de 3 bocas	250 mL	2
Beaker	50 mL	3
Beaker	100 mL	1
Condensador	-----	2
Condensador Claisen (reflujo)	-----	1
Conector de 3 vías	-----	1
Vial de vidrio color ámbar	20 mL	2

La información de reactivos, intermediarios y productos cuantitativa y cualitativa, propiedades físicas, toxicidad y precauciones en el manejo de reactivos, intermediarios y productos se presenta en los cuadros 12.6 a 12.11 del anexo.

5.3.2.2 Etapa No. 1B de síntesis. Preparación de (2E)-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo.
(Tiempo aproximado: **12 horas 35 minutos**).

5.3.2.2.1 Preparación de soluciones a emplear en la etapa No. 1B.
(Tiempo aproximado: **35 minutos**)

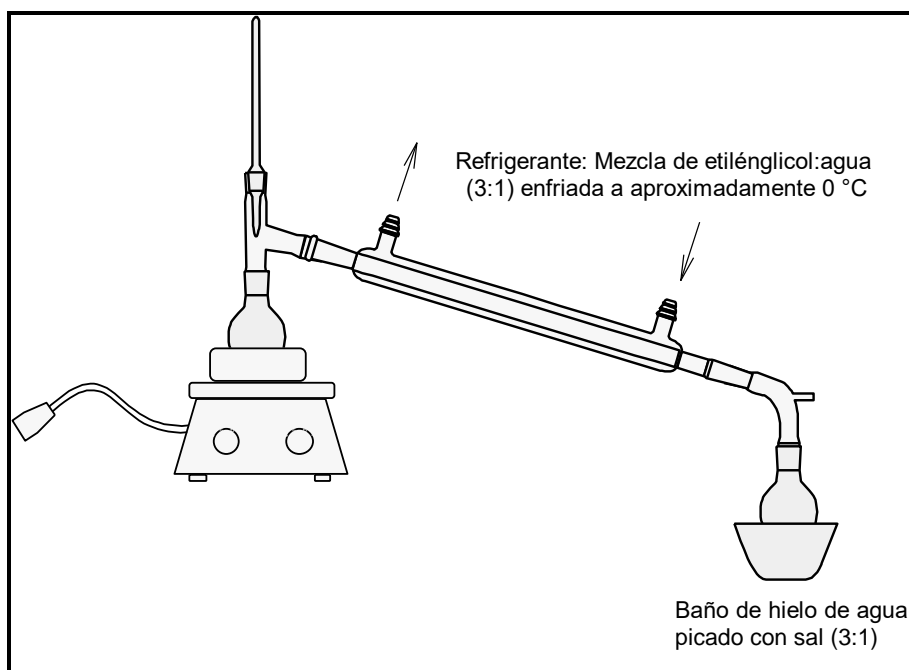
Cuadro 5.5 Preparación de soluciones a emplear en la etapa No. 1B

Solución (concentración aproximada*)	Preparación		
	Recipiente	Solvente (Volumen)	Sustancia (pura)
Ácido clorhídrico 10% (v/v)	Beaker 500 mL	Agua destilada (250 mL)	Ácido clorhídrico concentrado (25 mL)
Extrán 5% (v/v)	Piseta 250 mL	Agua destilada (95 mL)	Extrán concentrado (5 mL)
Hidróxido de potasio al 10% (p/v)	Beaker 500 mL	Agua destilada (500 mL)	Hidróxido de potasio (50 g)
Refrigerante (Etilénglicol:agua)	Beaker 500 mL	Agua destilada (450 mL)	Etilénglicol (150 mL)
Peróxido de hidrógeno al 3% (v/v)	Beaker 250 mL	Agua destilada (135 mL)	Peróxido de hidrógeno al 30% (v/v) (15 mL)

* No se requiere que estas soluciones sean de concentración exactamente conocida debido a su uso.

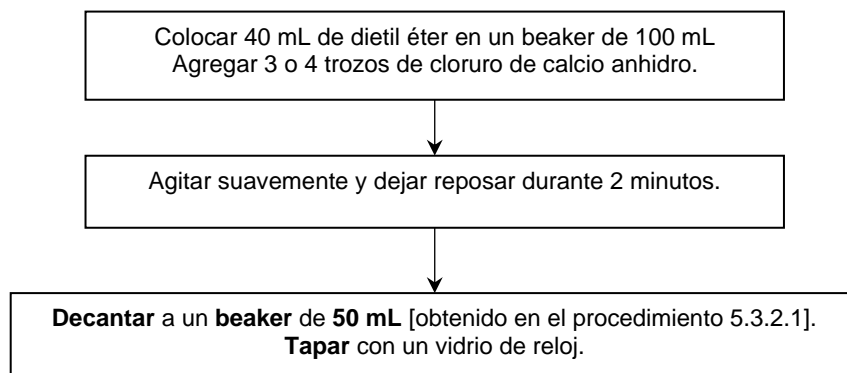
5.3.2.2.2 Purificación de solventes. (Tiempo aproximado: **9 horas**).

Figura 5.24 Sistema de destilación simple a utilizar en los incisos 5.3.2.2.2.1 y 5.3.2.2.2.2



5.3.2.2.2.1 Purificación de éter de petróleo anhidro.

(Tiempo aproximado: **5 minutos**).



5.3.2.2.2.2 Purificación de hexano. (Tiempo aproximado: **5 minutos**).

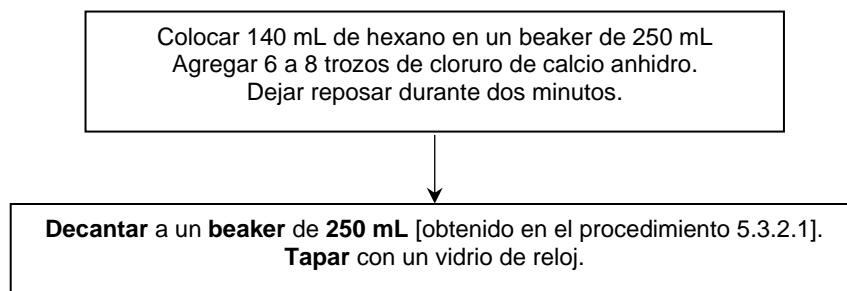
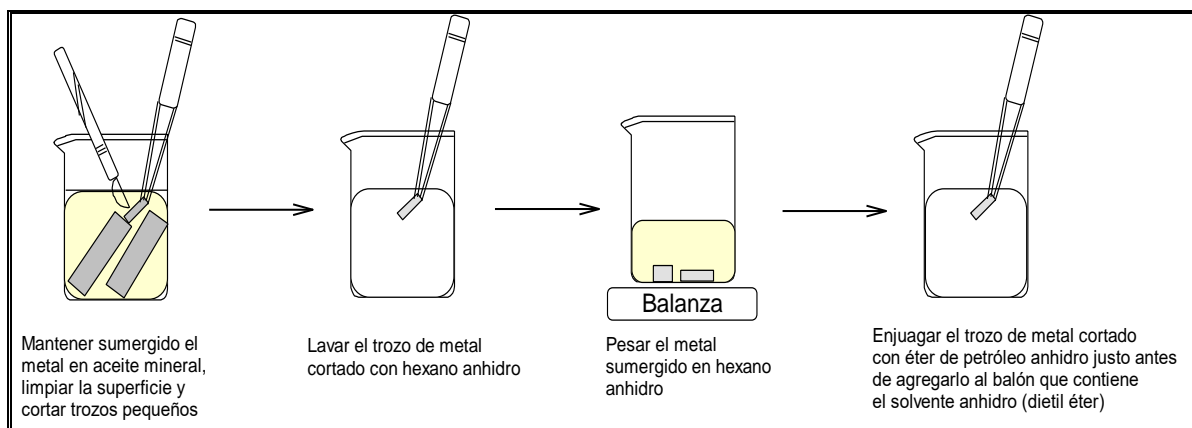


Figura 5.25 Esquema para pesar sodio (y litio) metálico (Procedimiento 5.3.2.2.3)



5.3.2.2.3. Pesado de sodio metálico (continuación) (Tiempo aproximado: 1 hora).

Secar **80.0 mL** de **dietil éter** con CaCl_2 anhidro (Colocar el éter en un Erlenmeyer de 125 mL y agregarles 5-6 trozos de cloruro de calcio anhidro).

Sin sacar el metal de su recipiente de almacenamiento y aún sumergido en el aceite, **limpiar** su superficie y **cortarlo** en pedazos.

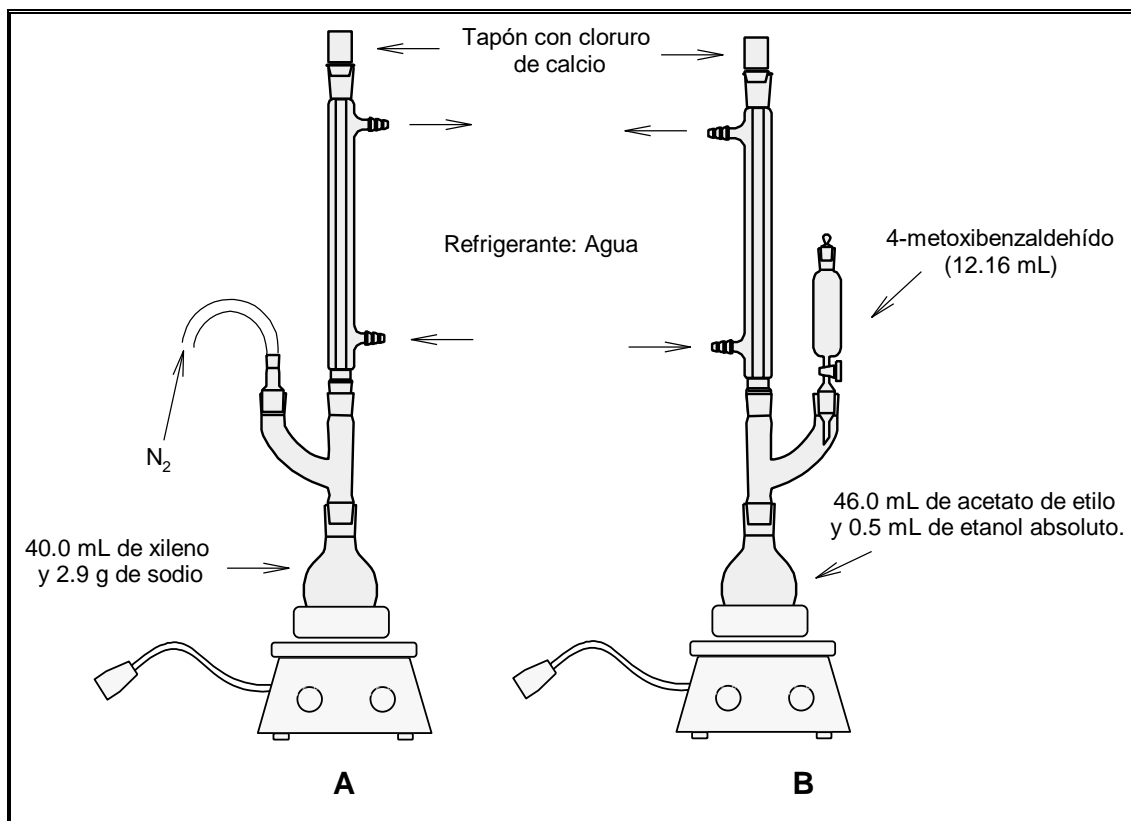
Sacar los trozos de sodio cortados y **lavarlos con 60 mL hexano anhidro** [obtenido en el procedimiento 5.3.2.2.2] contenidos en un **beaker de 100 mL**.

Pesar **1 g** de **sodio** metálico en trozos, enjuagado con el hexano según el paso anterior, en el **beaker** que contiene **hexano anhidro tarado** previamente.

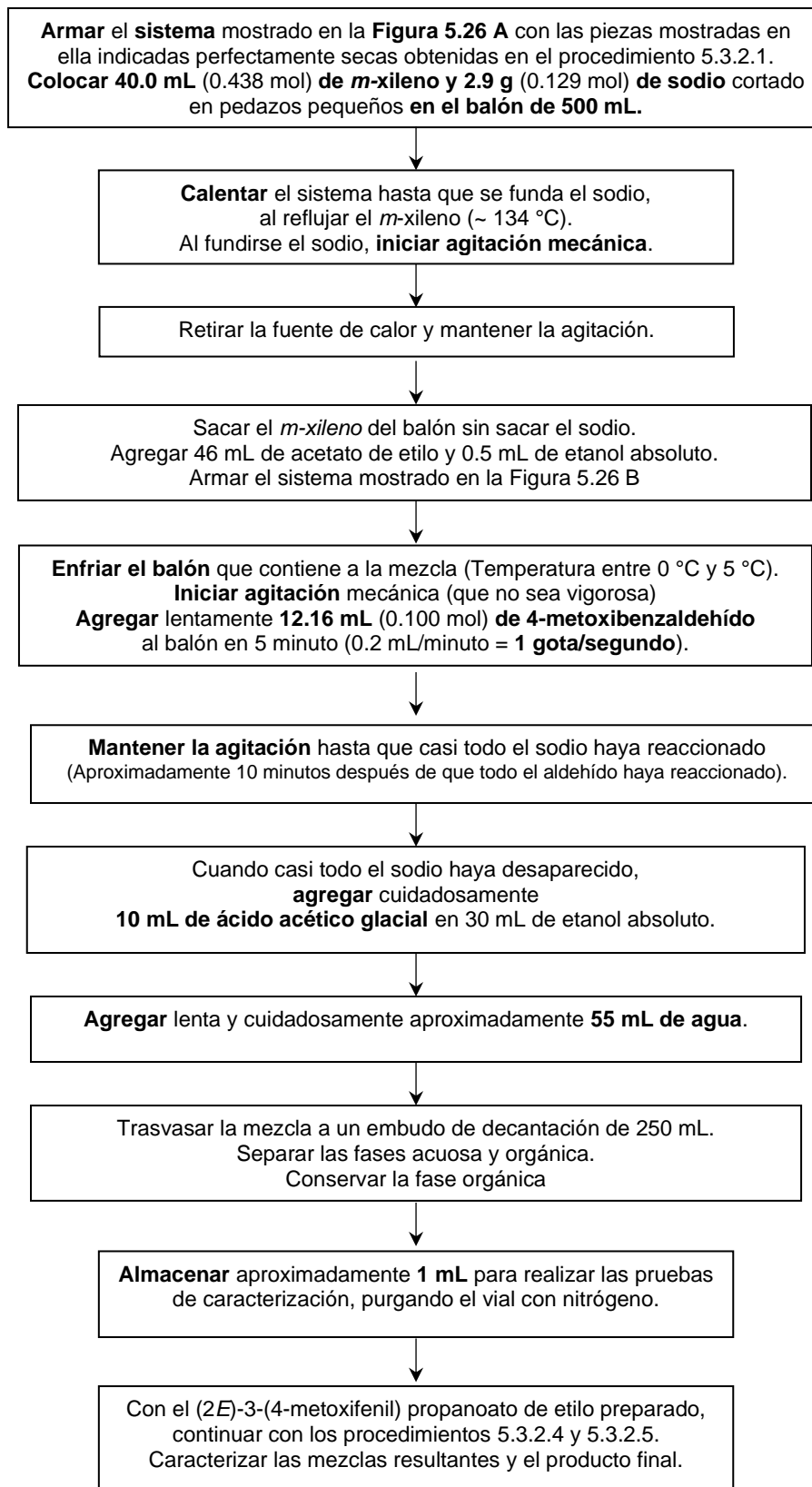
Una vez pesados, **lavar** rápidamente los trozos de sodio con **30 mL éter de petróleo anhidro** [obtenido en el procedimiento 5.3.2.2.1] e incorporarlos al balón que contiene dietil éter.

Armar el sistema de reflujo-destilación simple con atmósfera de nitrógeno (**Figura 5.26A**).

Figura 5.26 Sistema para la preparación de (2*E*)-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo (4-metoxicinamato de etilo) (procedimiento 5.3.2.2)



**5.3.2.2.3 Preparación de (2E)-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo.
(4-metoxicinamato de etilo) (Tiempo aproximado: 1 hora 30 minutos).**



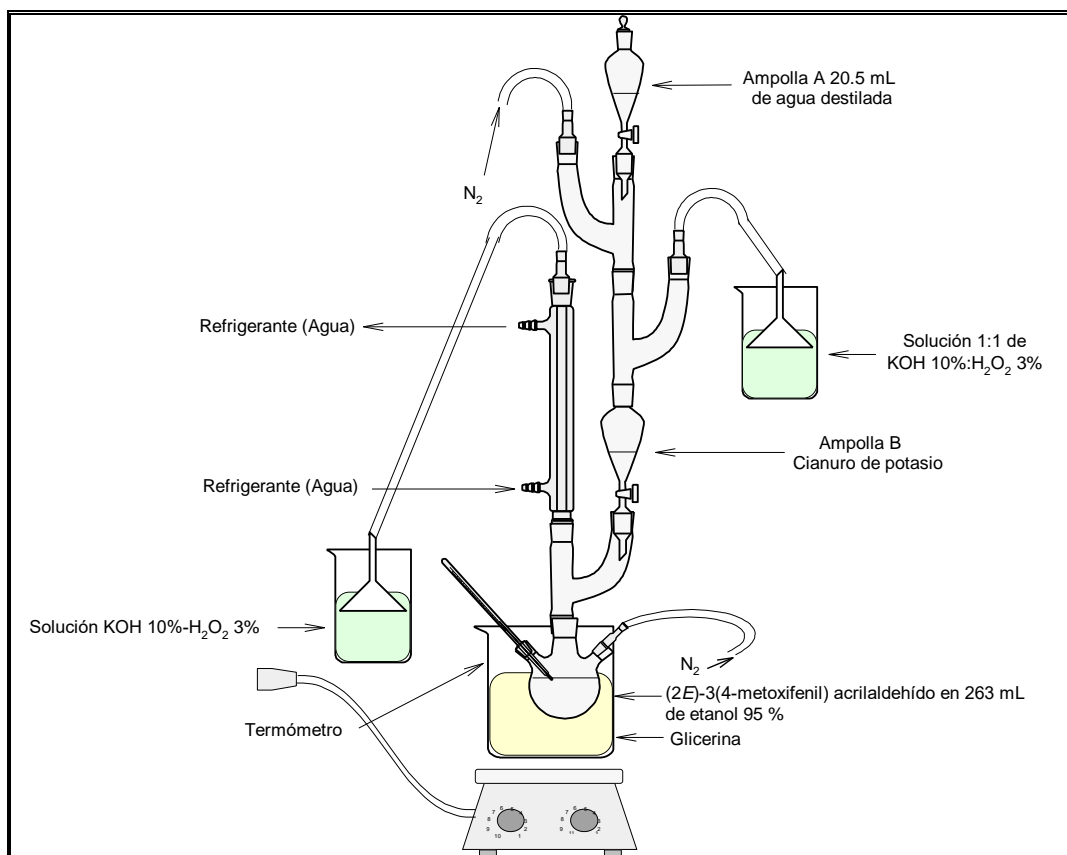
5.3.2.3 Etapa No. 2B de síntesis. Preparación de 3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo.
(Tiempo aproximado: 35 minutos).

5.3.2.3.1 Preparación de soluciones a emplear en el procedimiento 5.3.2.3.2
(Tiempo aproximado: 35 minutos).

Cuadro 5.6 Preparación de soluciones a utilizar en el procedimiento 5.3.2.3.2 de la etapa No. 2B (Tiempo aproximado: 20 minutos)

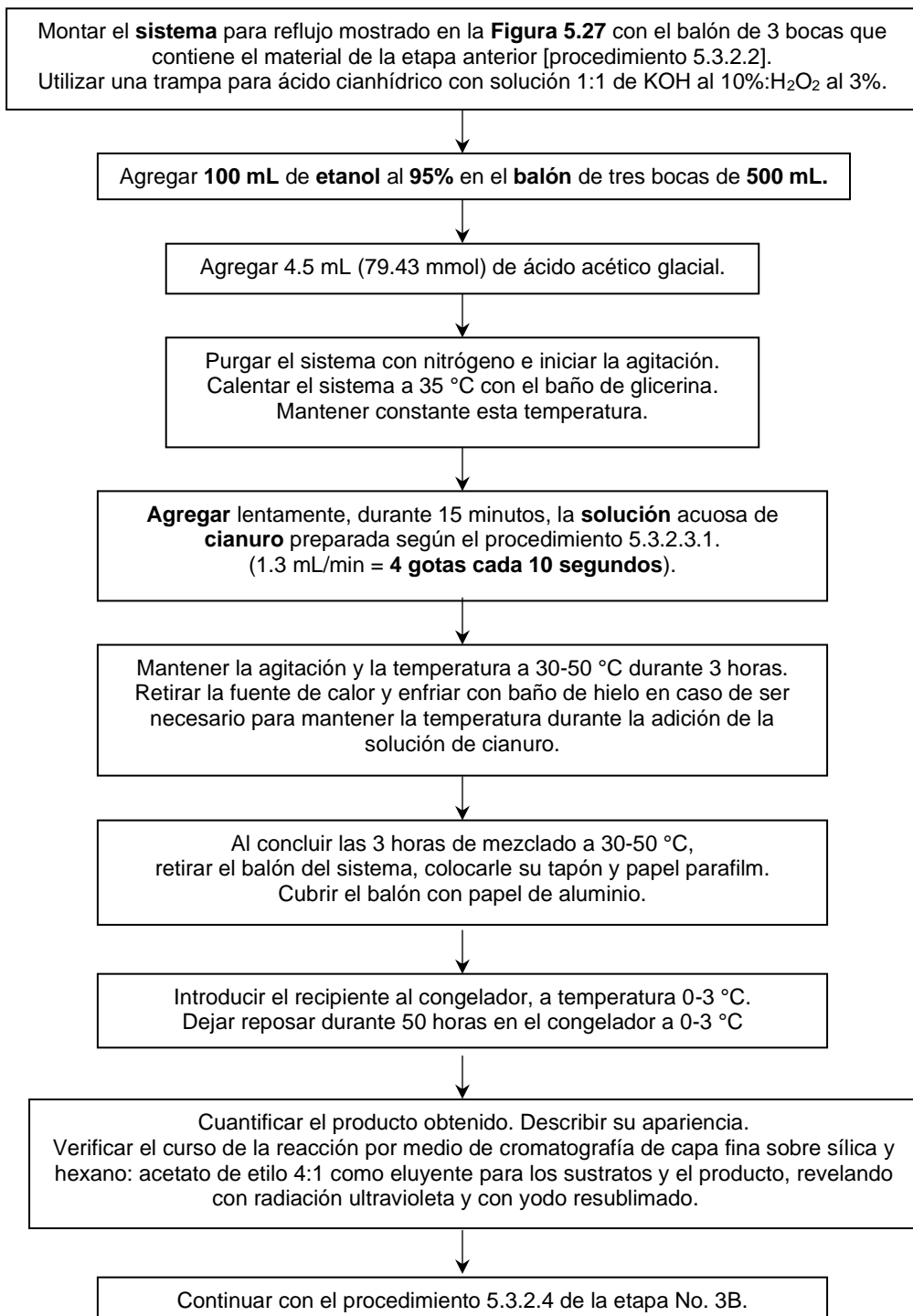
Solución	Preparación		
	Recipiente	Solvente (Volumen)	Sustancia (pura)
Disolución de cianuro de potasio en agua destilada	Ampolla de 125 mL	Agua destilada (75 mL) + Etanol al 95% (25 mL)	Cianuro de potasio (10.3 g)
<p>Preparación: Armar el sistema mostrado en la Figura 5.27 En la campana de extracción, pesar 10.3 g (0.158 mol) de cianuro de potasio (o 7.76 g de cianuro de sodio) sobre un beaker de 25 mL. Colocar el cianuro en la ampolla B, que tenga un tapón de lana de vidrio en el fondo. Reconectar el sistema, verificando la trampa de gases. Agregar gota a gota el agua destilada + etanol al 95% de la ampolla A al contenido de la ampolla B. Verificar la disolución del cianuro, agitando si fuera necesario para completar su disolución.</p>			

Figura 5.27 Sistema para la reacción de la etapa 2A. (Procedimiento 5.3.2.3.2)



5.3.2.3.2 Adición de cianuro al (2E)-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo.

(Tiempo aproximado 3 horas 30 minutos + 50 horas en congelador = **54 horas 30 minutos**).



**5.3.2.4 Etapa No. 3B de síntesis. Preparación de los derivados γ -butanólicos:
3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona.**
(Tiempo aproximado: **6 horas**).

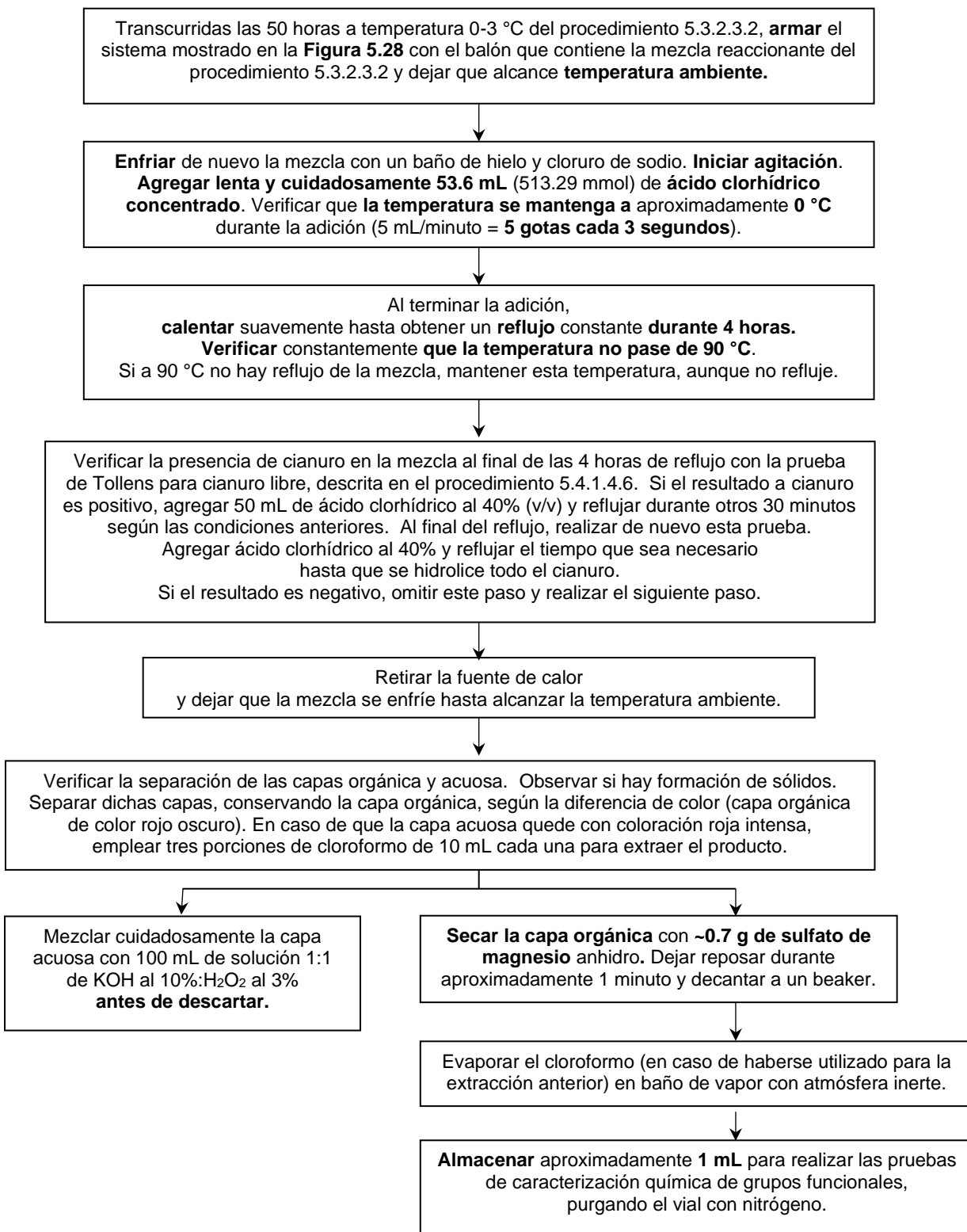
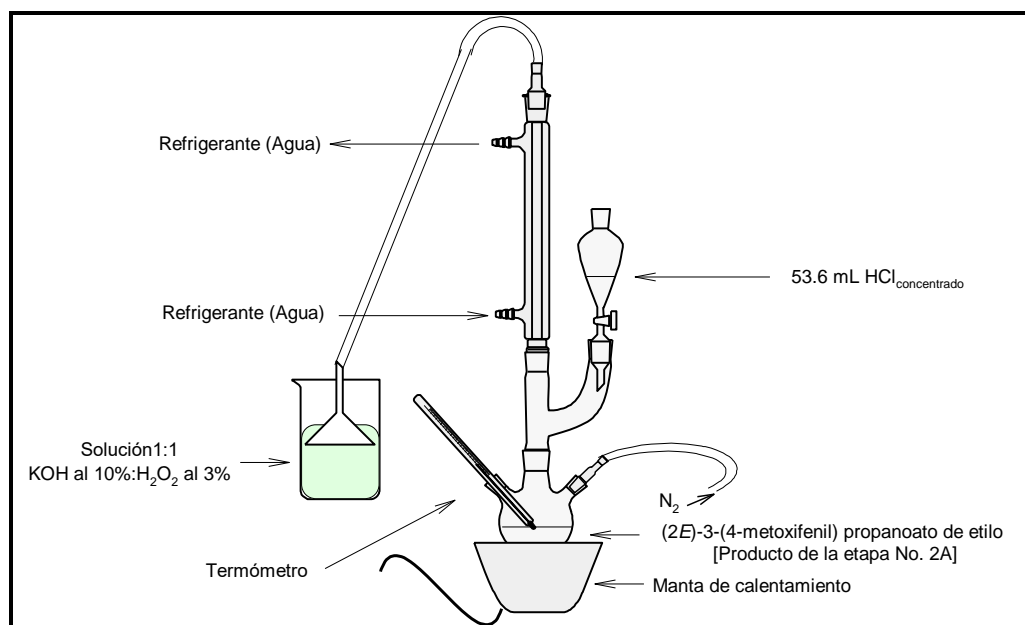


Figura 5.28 Sistema para la hidrólisis del cianuro y formación de anillo heterocíclico. (Procedimiento 5.3.2.4).

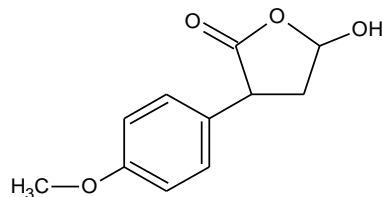


5.4 Recolección y tratamiento de los datos. Análisis espectrométrico, cromatográfico y pruebas de caracterización química de los productos de cada etapa y del producto final

5.4.1 Caracterización del producto.

5.4.1.1 Nombre: 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil) dihidrofuran-2-(3H)-ona.

5.4.1.2 Estructura, fórmula y peso molecular.



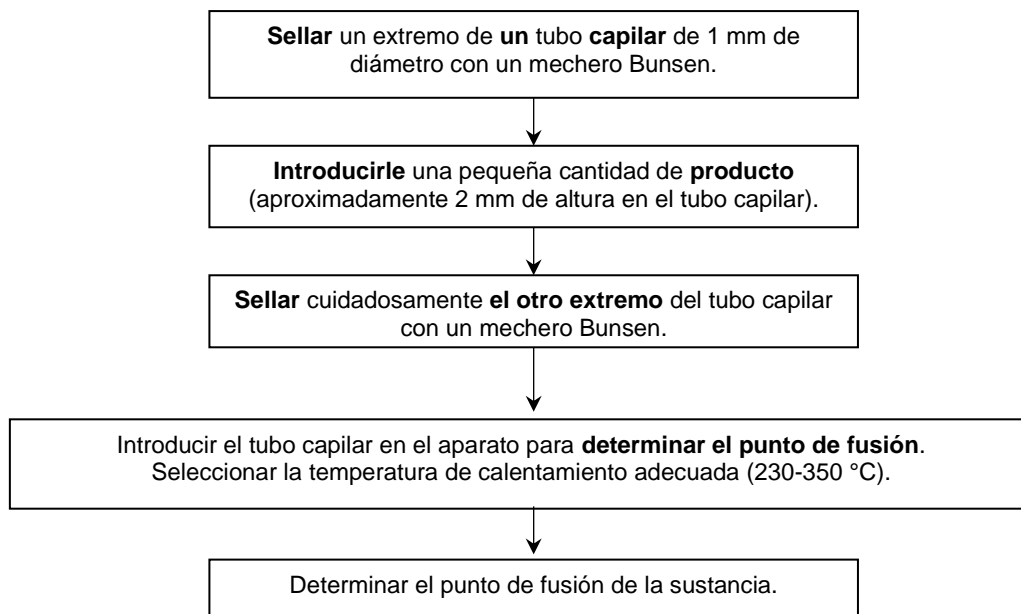
$(C_{11}H_{12}O_4) = 208.211 \text{ g/mol}$

5.4.1.3 Propiedades físicas del producto (Apariencia, color, punto de fusión y solubilidad).

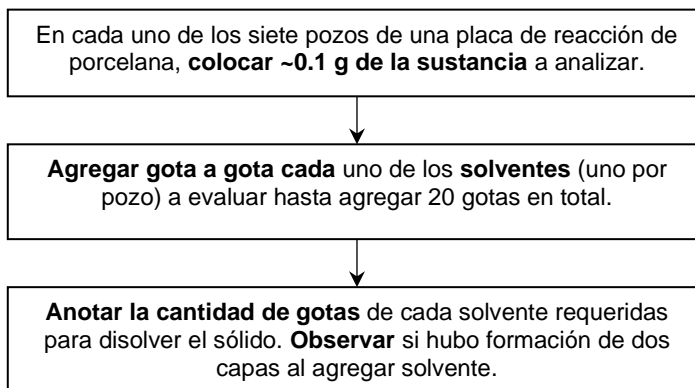
5.4.1.3.1 Descripción de la apariencia del producto final.

Colocar aproximadamente **0.5 g del producto** en un beaker, **observar su apariencia y color** (e intensidad de éste).

5.4.1.3.2 Determinación del punto de fusión del producto final.

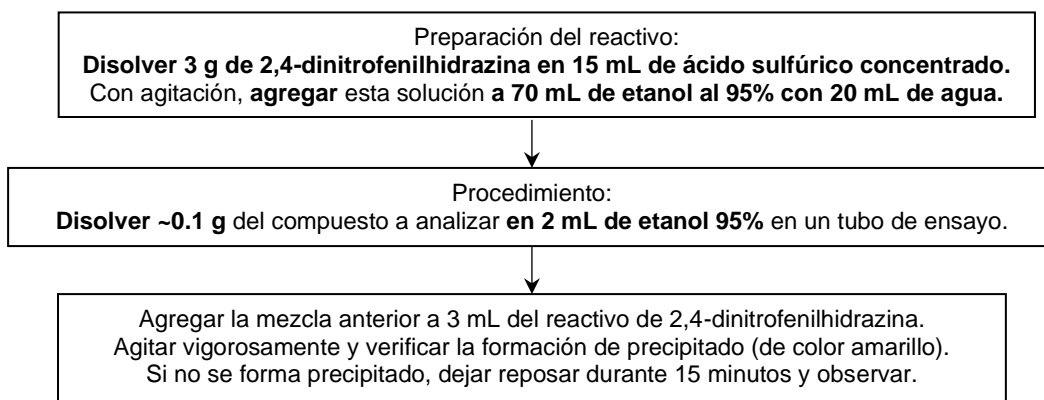


5.4.1.3.3 Pruebas de solubilidad en acetona, cloroformo, etanol, dietil éter, y agua (neutra, ácida a pH 3.0 y alcalina a pH 10.0) del producto final.

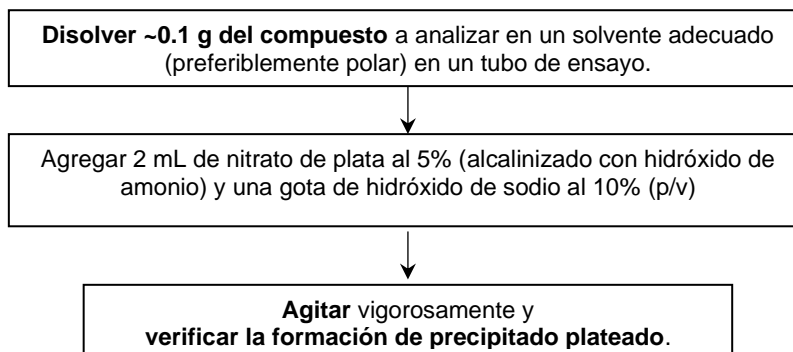


5.4.1.4 Pruebas de caracterización química de grupos funcionales.

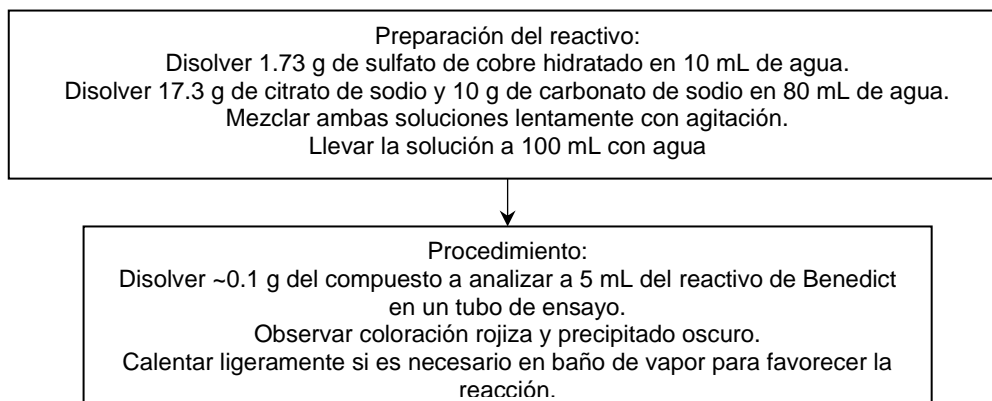
5.4.1.4.1 Detección de aldehídos (2,4-dinitrofenilhidrazina).



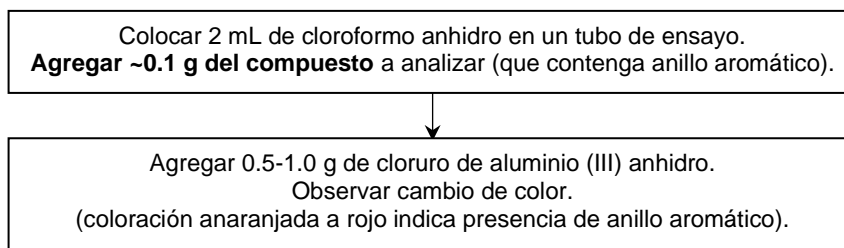
5.4.1.4.2 Detección de aldehídos (Prueba de Tollens).



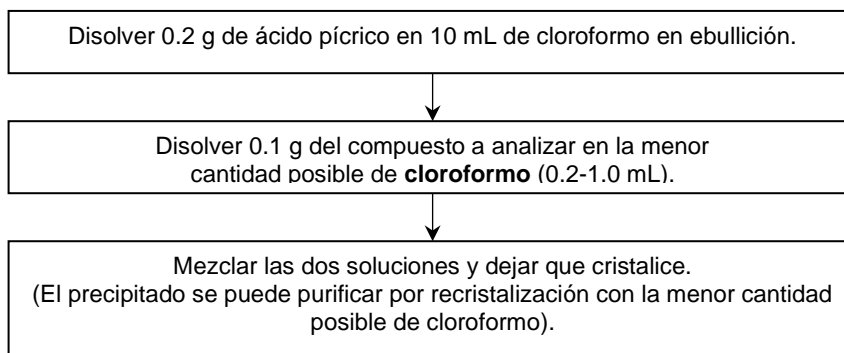
5.4.1.4.3 Detección de aldehídos (Prueba de Benedict).



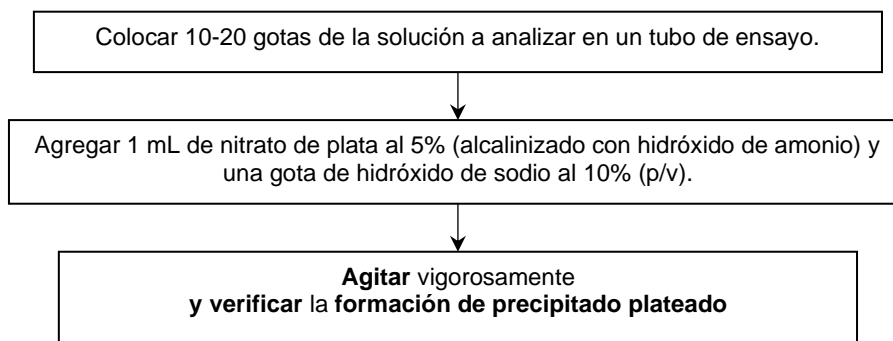
5.4.1.4.4 Detección de anillos aromáticos (Cloruro de aluminio III).



5.4.1.4.5 Detección de éteres (ácido pícrico).

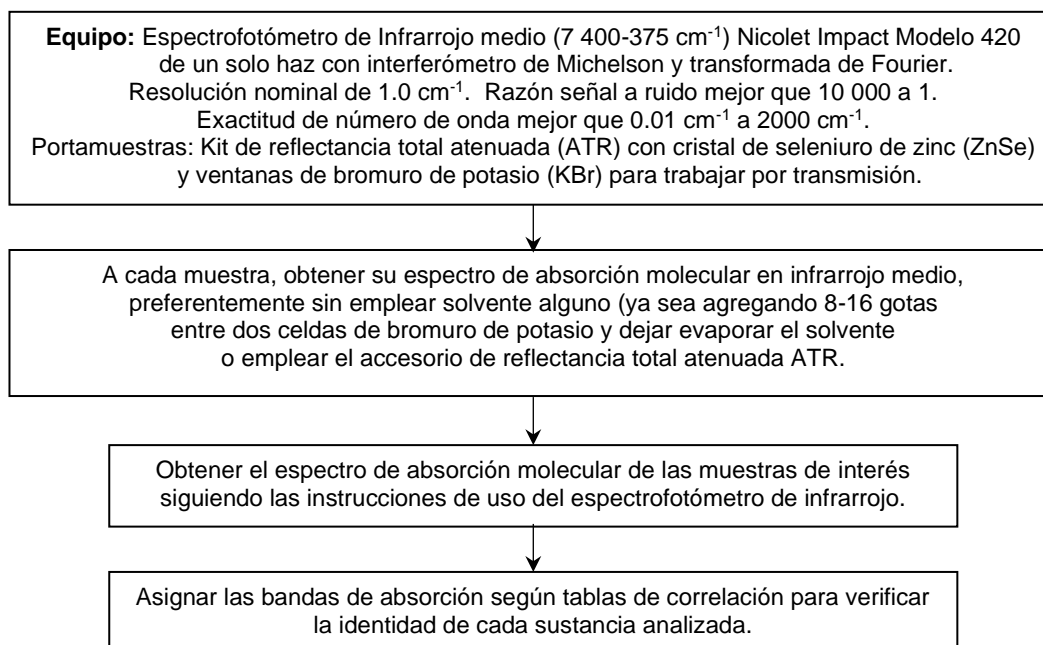


5.4.1.4.6 Detección de cianuro libre (Tollens).



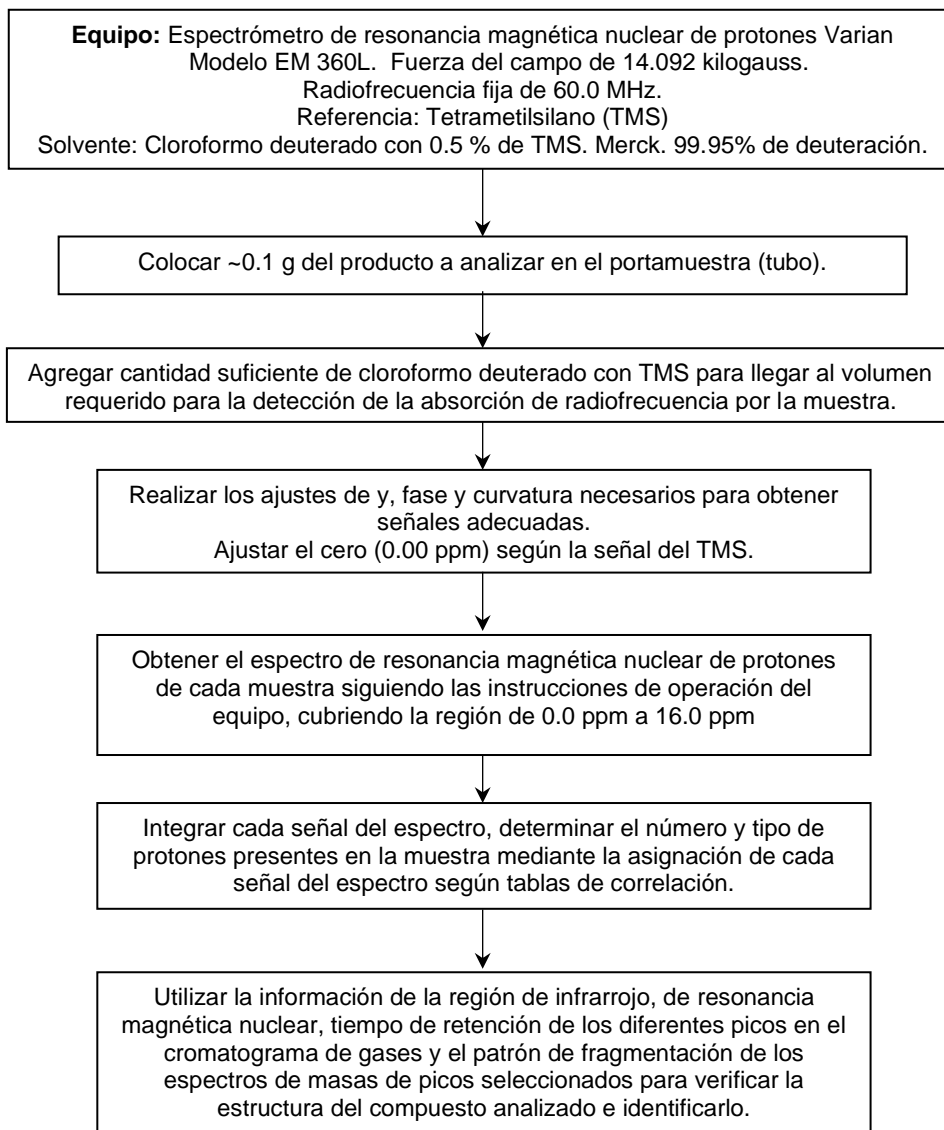
5.4.1.5 Caracterización espectrométrica.

5.4.1.5.1 Espectro de absorción molecular en infrarrojo medio de los productos de las etapas 2A, 2B y de los productos finales 3A y 3B.



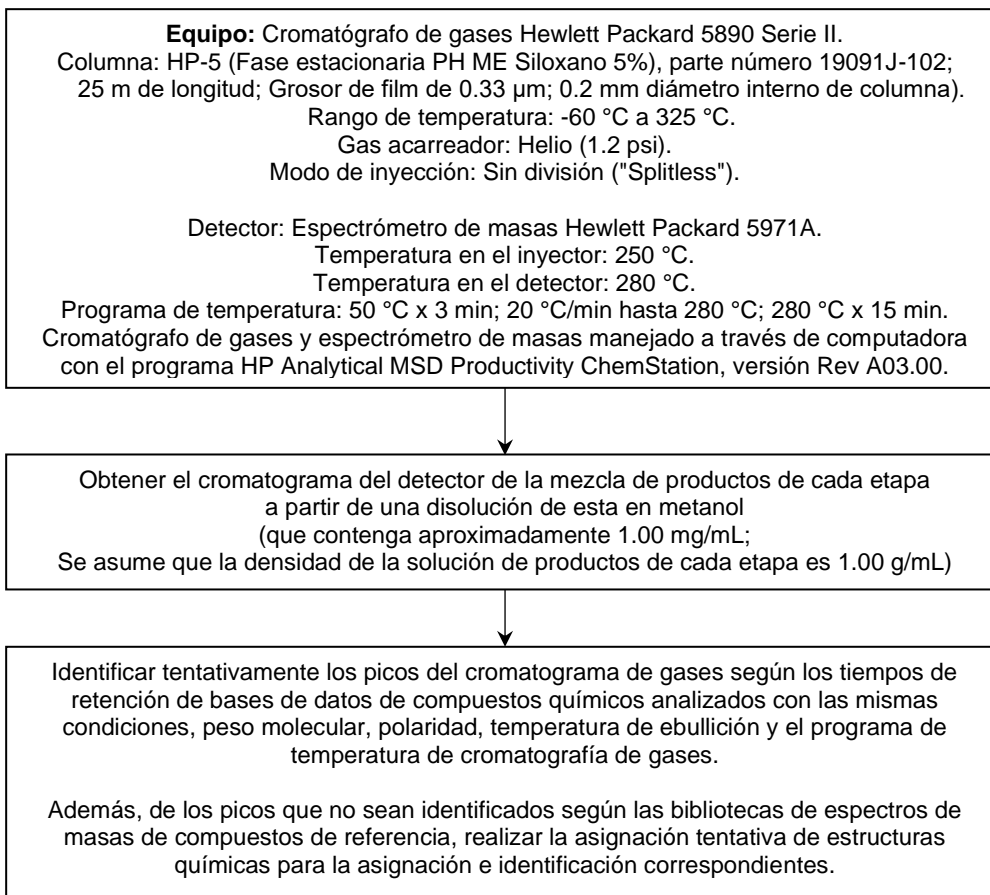
5.4.1.5.2 Espectro de resonancia magnética nuclear de protones.

5.4.1.5.2.1 Obtención del espectro de resonancia magnética nuclear de protones del producto final, empleando tetrametilsilano (TMS) como referencia y cloroformo deuterado como solvente.



5.4.1.5.3 Cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas.

5.4.1.5.3.1 Obtención del cromatograma de gases [y del espectro de masas (con ionización por impacto de electrones) de los diferentes picos observados en el cromatograma de gases para la detección e identificación del producto de la etapa 1 y del producto final, empleando metanol como solvente].



5.5 Diseño de investigación

El diseño de este trabajo de investigación es de tipo científico-experimental desarrollado en tres fases principales:

- ◆ Planteamiento de un procedimiento de síntesis (reactivos químicos, condiciones de reacción, equipo y técnicas de análisis) a partir de acetaldehído [procedimiento A] para la síntesis en el laboratorio de un compuesto químico [5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2-(3*H*)-ona], que es un derivado γ -hidroxibutanólido.
- ◆ Ejecución del procedimiento planteado (trabajo de laboratorio con los reactivos, condiciones de reacción y equipo necesarios para la síntesis del compuesto descrito anteriormente) para verificar y comparar la viabilidad y rendimiento. Evaluación de las condiciones de reacción y análisis instrumental de los productos de las distintas etapas de síntesis para determinar el éxito en la obtención del producto planteado, los puntos críticos en los procedimientos propuestos e implementar las mejoras necesarias para obtener el producto requerido.
- ◆ En caso de no poderse completar el procedimiento de síntesis o que el producto obtenido no sea el requerido, se evaluarán las condiciones de reacción y análisis instrumental de los productos de las distintas etapas de síntesis para plantear un procedimiento B con las mejoras necesarias para obtener al menos un producto γ -butanólido, cercano en estructura química, a partir de acetato de etilo para la síntesis en el laboratorio.

En todos los casos, la ejecución del procedimiento planteado (trabajo de laboratorio con los reactivos, condiciones de reacción y equipo necesarios para la síntesis del compuesto descrito anteriormente) se realizará para verificar y comparar la viabilidad de los procedimientos de síntesis, así como el rendimiento experimental de éstos.

5.6 Análisis estadístico

El presente trabajo de investigación no requirió análisis estadístico alguno.

6. MARCO OPERATIVO

6.1 Recursos (o medios)

6.1.1 Humanos.

Autor: Carlos Humberto Pineda Salazar.
Asesores: Lic. José Carlos Chiquín Suárez.
Lic. Igor Iván Slowing Umaña.

6.1.2 Materiales.

6.1.2.1 Instalaciones.

Universidad del Valle de Guatemala.

6.1.2.2 Reactivos, cristalería y equipo.

Proporcionados por el Departamento de Química de la Universidad del Valle de Guatemala.

El análisis espectrométrico (espectrofotometría de absorción molecular en infrarrojo medio y espectrometría de resonancia magnética nuclear de protones) de las mezclas de productos intermedios y del producto final se realizó en laboratorio del Programa de Análisis Químico (PAQ) de la Universidad del Valle de Guatemala.

El análisis por cromatografía de gases acoplado con espectrometría de masas con ionización por impacto de electrones de las mezclas de productos intermedios y producto final se realizaron en el laboratorio del Departamento de Toxicología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Cuadro 6.1 Listado de materiales a utilizar

Cantidad	Nombre	Especificaciones
2	Agitadores magnéticos	Grandes
5	Agitadores magnéticos	Pequeños
4 L	Agua destilada	Recipiente
5	Anillos de metal	Uno grande y 4 pequeños (que ajusten las camisas)
2	Baños maría / de vapor	Uno grande y uno pequeño
2	Camisas de calentamiento	Una grande y una pequeña
1	Cuchilla de metal	Para cortar el sodio metálico
3	Estufas / agitador	-----
8	Mangueras	(4) Plásticas y (4) de hule de aprox. 70 cm de largo
3	Palanganas de aluminio	Grandes
Un rollo	Papel de aluminio	-----
Un rollo	Papel encerado	
5	Papel filtro	Whatman No. 4
Un rollo	Papel parafilm	-----
2	Pinzas de acero inoxidable 20 cm	Para manipular el sodio metálico
1	Pinzas largas	Para sujetar beaker
2	Placas de sílica	Para cromatografía de capa fina
1	Refractómetro	Con cristal de bromonaftaleno y bromonaftaleno GR.
4	Rejillas de asbesto	Que se ajusten a los anillos pequeños
2	Reóstatos	-----
12	Pinzas	De tres puntos de apoyo, para las piezas del Kit
8	Soportes de metal	Con tres puntos de apoyo
2	Termómetros	De -10 a 100 °C
2	Termómetros	De -10 a 400 °C
30	Tubos capilares de vidrio	De 1 mm de diámetro interno sin heparina

Cuadro 6.2 Listado de reactivos utilizados

Cantidad	Nombre	Grado / pureza	Ubicación en bodega del Departamento de Química de la Universidad del Valle de Guatemala
50 mL	4-metoxibenzaldehído	Para síntesis	O2 173.02
100 mL	Aceite mineral	Industrial	OM 9
30 mL	Acetaldehído	Para síntesis	O3 11
300 mL	Acetato de etilo	Reactivo	O4 329.01
250 mL	Acetona	Reactivo	O4 30
100 mL	Acetona	Industrial	O4 30
100 mL	Ácido acético glacial	Reactivo	O1 15
1 g	Ácido pícrico	Reactivo	I9 273
150 mL	Ácido clorhídrico concentrado	Reactivo	I9 273
150 mL	Ácido sulfúrico concentrado	Analítico	I9 672.02
3 g	Benzofenona	Reactivo	O4 175
100 mL	Bromobenceno	Para síntesis	
40 g	Cianuro de potasio (o de sodio)	Para síntesis	I7 541
100 mL	Cloroformo	Reactivo	O4 274
25 g	Cloruro de calcio anhidro	Reactivo	I2 242
30 mL	Diclorometano	Reactivo	
1500 mL	Dietil éter	Reactivo	
100 mL	Dietilamina	Reactivo	O2 90.01
200 mL	Etanol absoluto	Reactivo	O2 323
2000 mL	Etanol al 95%	95%	
1000 mL	Éter de petróleo	Reactivo	O4 325
400 mL	Glicerina	Industrial	O2 2779
70 mL	n-Hexano	Reactivo	O1 3 392
15 g	Hidróxido de potasio	Reactivo	I4 550
12 g	Litio (Metálico)	Para síntesis	
45 mL	Metanol	Reactivo	
	Nitrógeno	Para análisis	
500 g	Sílica gel para desecadora	Para análisis	I4 586
20 g	Sodio metálico	Para síntesis	I1 589.01
100 mL	Solución alcalina de extrán	----	IM 331.01
25 g	Sulfato de magnesio anhidro	Reactivo	I2 446.02
8 g	Tamiz molecular 4Å	Para síntesis	IM 331.01
100 mL	Tolueno	Reactivo	
200 mL	<i>m</i> -xileno	Reactivo	
5 g	Yodo resublimado	Para síntesis	

Cuadro 6.3 Listado de cristalería a utilizar

Cantidad	Nombre	Especificaciones
2	Ampolla	250 mL graduada, tapón y punta de
3	Balón de 3 bocas	500 mL Pyrex
3	Beaker	25 mL Pyrex
5	Beaker	50 mL Pyrex
8	Beaker	100 mL Pyrex
3	Beaker	250 mL Pyrex
2	Beaker	500 mL Pyrex
2	Beaker	1000 mL Pyrex
1	Cápsula de porcelana	Pequeña
1	Desecadora	Mediana
1	Embudo Büchner	Para el kitasato de 125 mL
2	Embudos de vidrio	Pequeños, de tallo corto
2	Erlenmeyer	125 mL
4	Kit Corning	19/22
1	Kitasato	125 mL
1	Pipeta graduada	10 mL Pyrex
1	Pipeta graduada	5 mL Pyrex
3	Pisetas	250 mL
2	Placas de reacción	3 x 5 pozos, de porcelana
2	Probeta	10 mL Pyrex
3	Probeta	25 mL Pyrex
4	Probeta	100 mL Pyrex
2	Probeta	250 mL Pyrex
5	Vidrio de reloj	150 mm diámetro
	Gasa	
	Lana de vidrio (3 g)	

6.1.3 Aspectos económicos.

Los reactivos fueron proporcionados por el Departamento de Química de la Universidad del Valle de Guatemala, con autorización del director de dicho departamento.

El equipo fue prestado por el Departamento de Química y el Departamento de Química Farmacéutica de la Universidad del Valle de Guatemala, con autorización del director de cada departamento.

Cuadro 6.4 Información de los gastos a cubrir en el presente trabajo de investigación

Recurso	Costo aproximado
Materiales de oficina	Q. 2,750.00
Reactivos	Q. 5,500.00
Equipo	Q. 5,600.00
Depreciación de equipo	Q. 200.00
Tiempo	Q. 15,500.00
Otros	Q. 1,850.00
Total estimado	Q. 31,400.00

7. RESULTADOS

7.1 Resultados del procedimiento propuesto originalmente para la preparación de 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2-(3H)-ona a partir de 4-metoxibenzaldehído y acetaldehído.

7.1.1 Observaciones al preparar (2E)-3-(4-metoxifenil) acrilaldehído. Etapa No. 1A.

Cuadro 7.1 Cambios observados al preparar fenillitio (procedimiento 5.3.1.3.2)

Procedimiento	Observaciones y resultados
Temperatura del ambiente: 24 °C. Flujo de nitrógeno en el sistema para crear y mantener condiciones de atmósfera inerte. Color de los trozos de litio: Gris metálico. Se mantuvo moderada la agitación.	
Adición de 13.57 mL (20.25 g) de bromobenceno disuelto en 25 mL de dietil éter al balón que contiene 1.79 g de litio en 50 mL de dietil éter.	<p>Al minuto 7 de la adición del bromobenceno: La solución fue blanquecina-grisácea. Temperatura de la mezcla reaccionante 22 °C. La superficie del litio fue de color anaranjado-cobre, y se liberaron partículas sólidas a partir de los trozos de litio (que se mantuvieron suspendidas).</p> <p>Al minuto 10 de la adición del bromobenceno: La solución era grisácea. Temperatura de la mezcla reaccionante: 20 °C. Hubo burbujeo alrededor de los trozos de litio, que fueron de menor tamaño que los trozos iniciales, sin reflujó de la mezcla (es decir, hubo reacción de éste con la solución). Los trozos de litio fueron de color cobre. Los sólidos suspendidos en la mezcla fueron de menor tamaño y de color negro.</p> <p>Al minuto 40 de la adición del bromobenceno: Aún había trozos de litio sin reaccionar. Temperatura de la mezcla: 34 °C, reflujó la mezcla. La solución fue de color negro con sólidos negros suspendidos. El tiempo total de adición fue de 40 minutos. Solución reaccionante de color negro. Dos fases: Líquida y sólidos suspendidos.</p>

Cuadro 7.2 Cambios observados al preparar dietilamida de litio (Procedimiento 5.3.1.3.3)

Procedimiento	Observaciones y resultados
Flujo de nitrógeno en el sistema para mantener condiciones de atmósfera inerte. Temperatura del ambiente: 24 °C.	
Adición de 9.00 mL de N,N-dietilamina a la mezcla resultante del Procedimiento 5.3.1.3.2	Aumentó rápidamente la temperatura de la mezcla reaccionante a 38 °C al iniciar la adición de la N,N-dietilamina por lo que refluyó vigorosamente. Se redujo la velocidad de adición para que la reacción no fuera tan vigorosa. El tiempo total de adición fue de 12 minutos. Solución reaccionante fue de color café oscuro. Dos fases: Líquida y sólidos suspendidos.

Cuadro 7.3 Cambios observados al preparar [(2E)-3-(4-metoxifenil) acrilaldehído] (Procedimiento 5.3.1.3.4)

Procedimiento	Observaciones y resultados
Flujo de nitrógeno en el sistema para mantener condiciones de atmósfera inerte. Temperatura del ambiente: 24 °C.	
Adición por goteo constante y simultáneamente de 4.5 mL de acetaldehído disuelto en 5.0 mL de dietil éter y 9.72 mL de 4-metoxibenzaldehído.	Temperatura de la mezcla reaccionante: 8 °C Solución reaccionante de color anaranjado amarillento, no se observaron partículas sólidas.
Adición cuidadosa 50 mL de HCl 10% (v/v) preparado en el Procedimiento 5.3.1.2.1, con el baño de hielo con sal común. Agitación moderada.	Temperatura de la mezcla reaccionante: 12 °C Durante la agitación, el color de la mezcla reaccionante fue anaranjado rojizo. Se observó emanación de gas (H ₂) al reaccionar los restos de litio con la solución de ácido clorhídrico al 10% (v/v).
Separación de las capas orgánica y acuosa. Separar dichas capas y conservar la capa orgánica.	Fase acuosa , inferior, no-traslúcida (turbia), color amarillento-anaranjado. Volumen ~70 mL. Soluble en agua neutra, agua ácida (pH 3.0) y agua básica (pH 10.0). Insoluble en acetona, cloroformo y dietil éter (no hubo coloración en estos solventes, por lo que no se hizo extracción alguna a esta fase.) Fase orgánica , superior, no-traslúcida/turbia, color anaranjado-rojizo claro. Volumen ~70 mL. Soluble en acetona, cloroformo y dietil éter. Insoluble en agua neutra, agua ácida (pH 3.0) y agua básica (pH 10.0).
Secado de la fase orgánica con sulfato de magnesio anhidro.	No se secó la fase orgánica debido a que se empleó etanol al 95% en la etapa 2A, por lo que no era necesario que la muestra estuviera libre de agua para realizar la siguiente reacción.

Cuadro 7.4 Resultados de las pruebas de caracterización química de grupos funcionales realizadas al producto sin purificar de la etapa 1A [(2*E*)-3-(4-metoxifenil) acrilaldehído] (Procedimiento 5.4.1.4)

Prueba	Resultado
Detección de aldehídos (2,4-dinitrofenilhidrazina) (Procedimiento 5.4.1.4.1)	Positivo. Confirma la presencia de aldehídos*
Detección de aldehídos (Prueba de Tollens) (Procedimiento 5.4.1.4.2)	Positivo. Confirma la presencia de aldehídos*
Detección de aldehídos (Prueba de Benedict) (Procedimiento 5.4.1.4.3)	Positivo. Confirma la presencia de aldehídos*
Detección de anillos aromáticos (Cloruro de aluminio III) (Procedimiento 5.4.1.4.4)	Positivo. Confirma la presencia de anillo aromático (de tipo bencénico)*
Detección de éteres (ácido pícrico) (Procedimiento 5.4.1.4.5)	Positivo. Confirma la presencia de éteres*

* Estos resultados confirman únicamente la presencia de los grupos indicados y no se consideran concluyentes ya que los grupos funcionales del producto esperado está presentes también en los sustratos empleados.

7.1.1.1 Detección e identificación de (2*E*)-3-(4-metoxifenil) acrilaldehído con cromatografía de gases acoplado con espectrometría de masas con ionización por impacto de electrones. Etapa No. 1A.

Cuadro 7.5 Caracterización de la mezcla reaccionante producto de la etapa 1A por cromatografía de gases y espectrometría de masas con ionización por impacto de electrones. (Procedimiento 5.4.1.5.3)

Tiempo de retención (min)	Nombre del compuesto detectado	Porcentaje de coincidencia	Área de pico (min x cuentas)	Porcentaje de este compuesto en la mezcla
6.792	Bromobenceno	91	31652618	43.99
9.784	<i>N,N</i> -dietil- <i>N</i> -fenilamina	94	7132493	9.91
10.167	4-metoxibenzaldehído	95	27385598	38.06
10.616	4-metoxibenzaldehído	81	1683007	2.34
11.164	1,1-Bifenilo	81	4094075	5.69
				Total: 99.99%

Se identificaron los picos observados en el cromatograma de gases mediante la comparación de los espectros de masas experimentales con espectros de masas de compuestos de referencia, empleándose el programa de identificación de Hewlett-Packard (1996). Los picos que se observan en el cromatograma y no se incluyeron en el Cuadro 7.5 corresponden a fragmentos de dimetilpolisiloxano, ácidos grasos de cadena larga y derivados de éstos, que son productos de la degradación de la fase estacionaria de la columna capilar.

La detección e identificación de los productos (sin purificar) de esta etapa se hizo al finalizar las tres etapas de síntesis debido a que el uso de los equipos correspondientes estuvo limitado a dos días únicamente por lo que no pudo programarse de modo que se analizaran los productos de cada etapa de síntesis previo a la realización de la siguiente etapa.

Figura 7.1 Cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1A. Concentración: 1.00 mg/mL en metanol. Columna: HP-5 (25 m; 0.25 μ m diámetro interno). Gas acarreador: Helio (1.2 psi). Modo de inyección: Sin división (“splitless”). Temperatura en el inyector: 250 °C. Temperatura en el detector: 280 °C. Programa de temperatura: 50 °C x 3 min; 20 °C/min hasta 280 °C; 280 °C x 15 min.

16

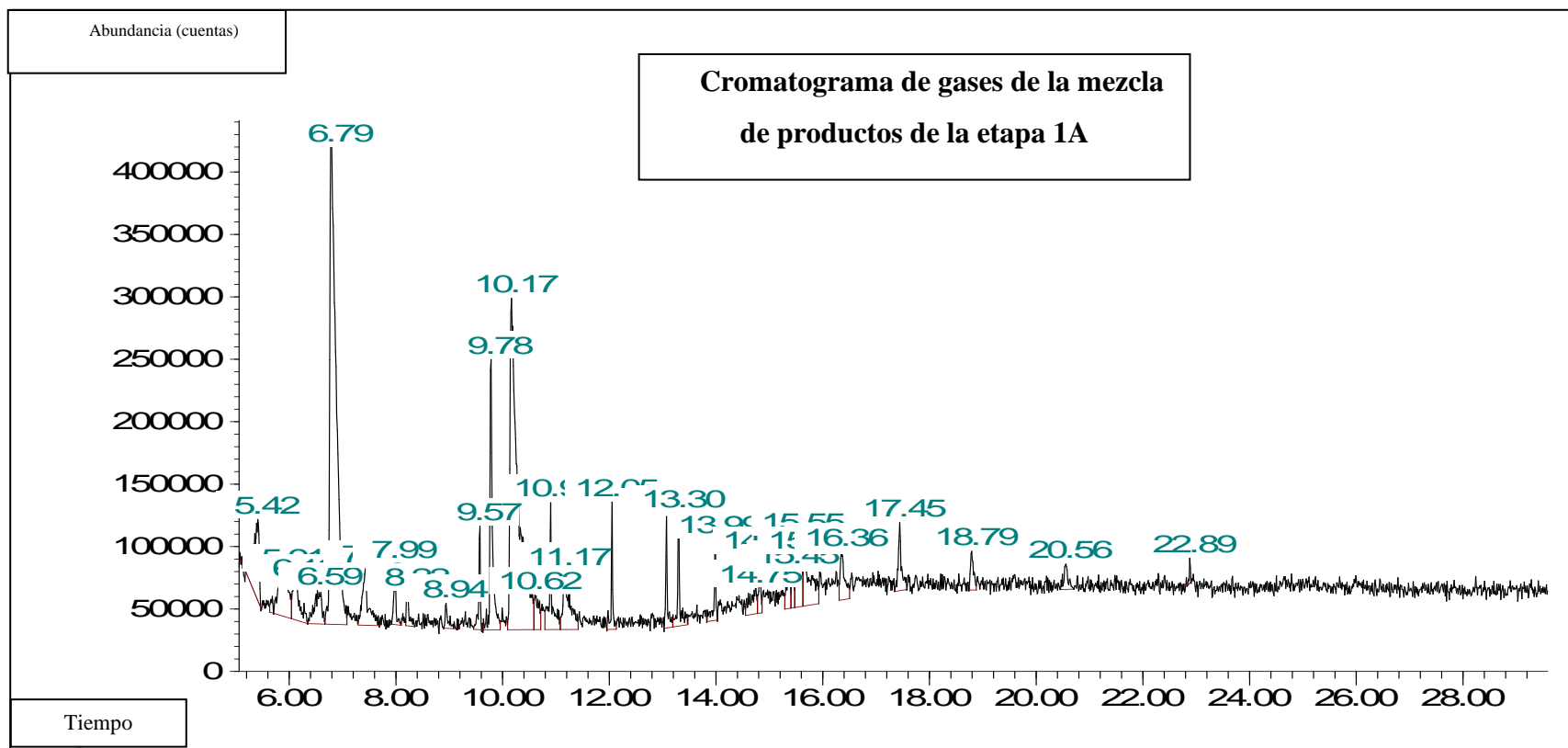


Figura 7.2 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 6.792 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1A, identificado como bromobenceno con el 91% de coincidencia. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

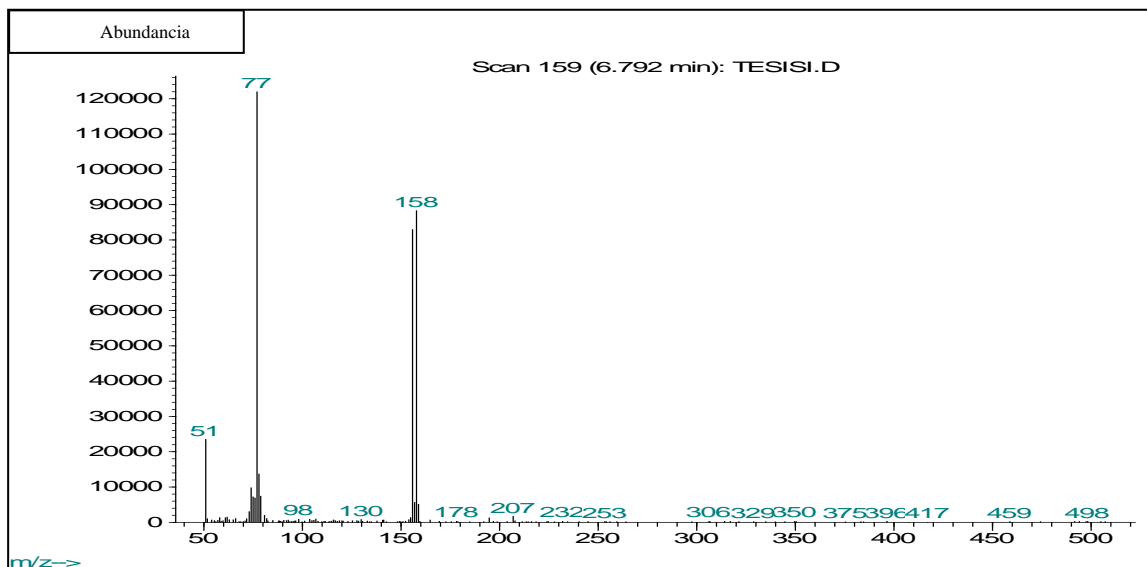


Figura 7.3 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 9.784 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1A, identificado como *N,N*-dietil-*N*-fenilamina con el 94% de coincidencia. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

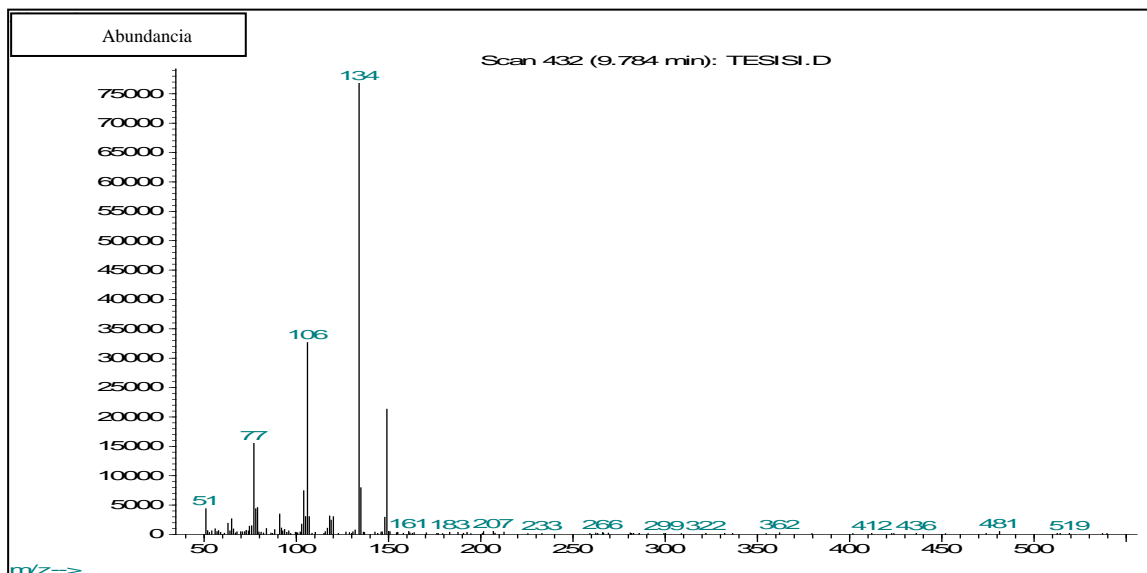


Figura 7.4 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 10.167 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1A, identificado como 4-metoxibenzaldehído con el 95% de coincidencia. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

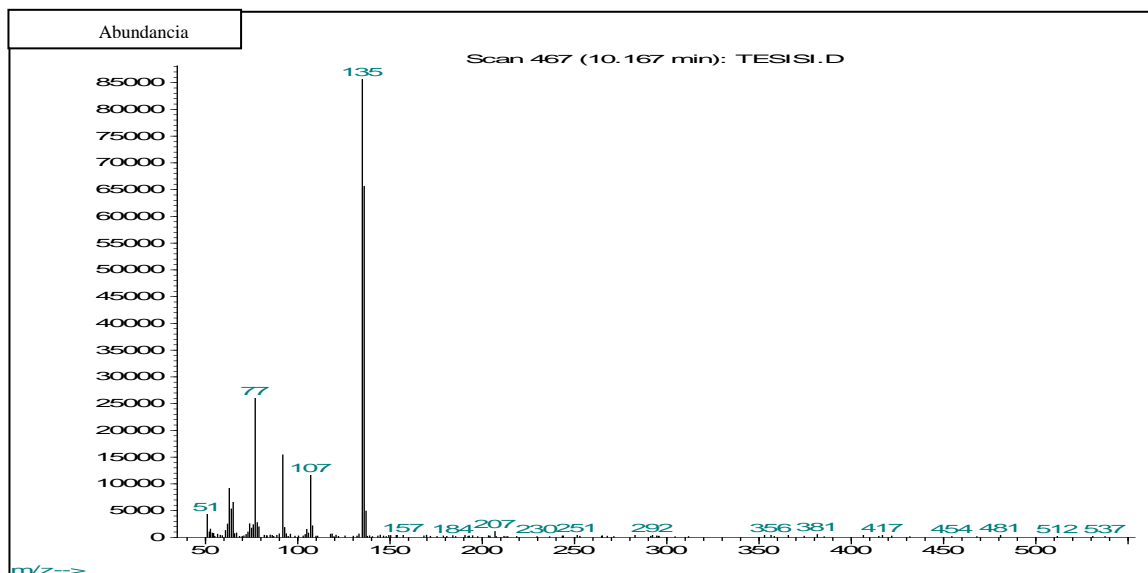


Figura 7.5 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 10.616 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1A, identificado como 4-metoxibenzaldehído con el 81% de coincidencia. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

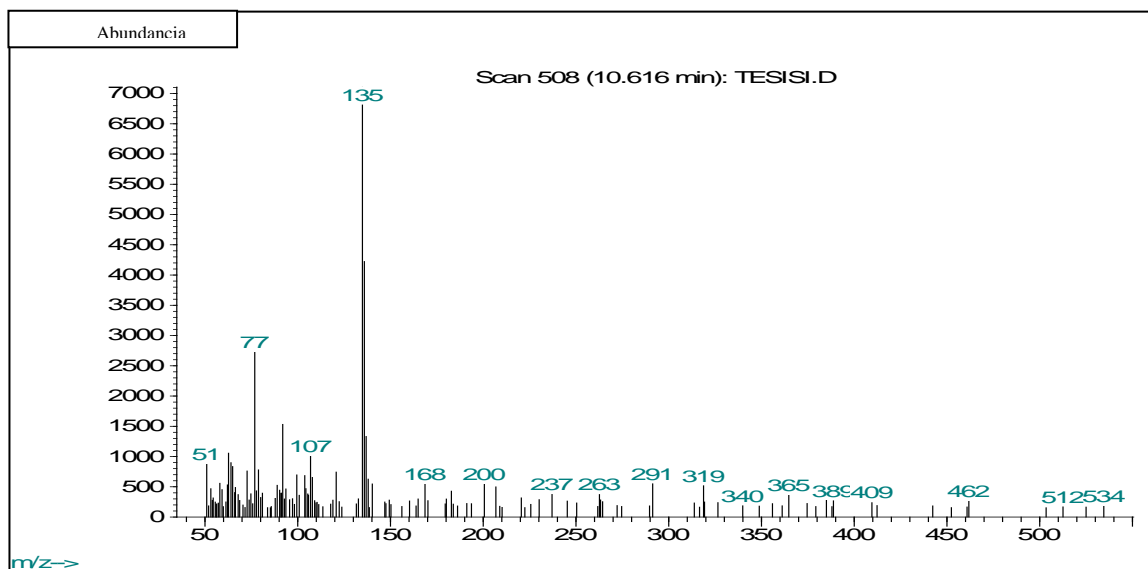
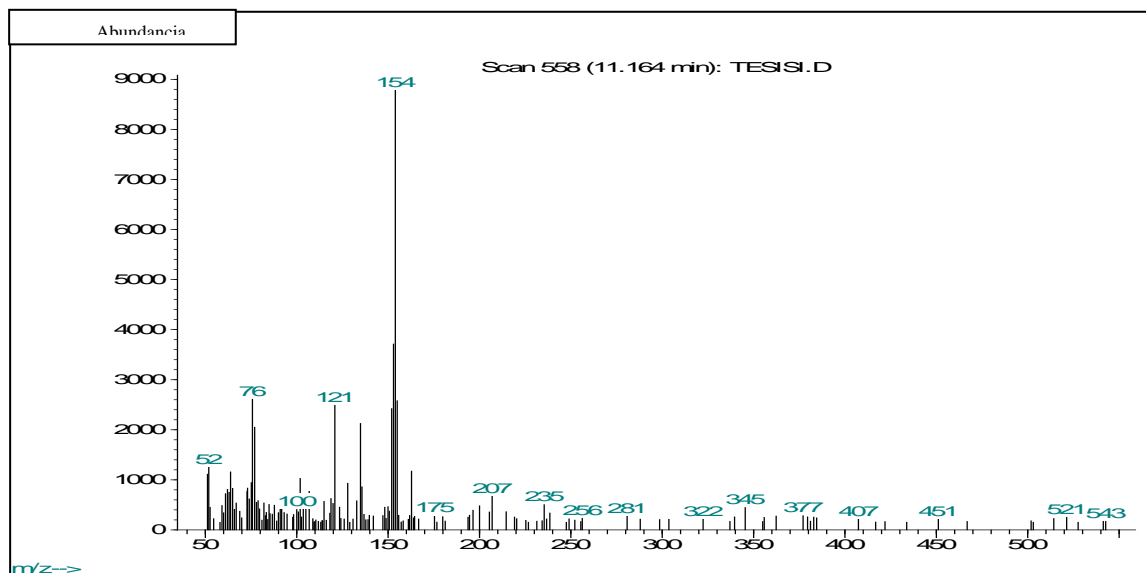


Figura 7.6 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 11.164 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1A, identificado como 1,1-bifenilo con el 81% de coincidencia. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.



7.1.2 Observaciones al preparar 2-(4-metoxifenil)-4-oxo-butano nitrilo. Etapa No. 2A.

Cuadro 7.6 Cambios observados al preparar 2-(4-metoxifenil)-4-oxo-butano nitrilo (Procedimiento 5.3.1.4.2)

Procedimiento	Observaciones y resultados
Flujo de nitrógeno en el sistema para mantener condiciones de atmósfera inerte. Temperatura del ambiente: 24 °C. Se utilizó la fase orgánica de la etapa anterior (Procedimiento 5.3.1.3.4). Volumen aproximado 40 mL.	
Adición de 263 mL de etanol al 95% en el balón de tres bocas de 500 mL que contiene a la fase orgánica del paso anterior. Adición de 4.5 mL de ácido acético glacial. Purgado del sistema con nitrógeno e inicio de la agitación. Calentamiento del sistema a 35 °C con el baño de agua. Mantener constante esta temperatura.	Solución de color rojo, traslúcida Una sola fase.
Adición de la solución acuosa de cianuro de potasio a la mezcla reaccionante.	Se emplearon 7.7 g de cianuro de potasio (0.118 mmol) en lugar de 10.3 g (0.158 mmol).
Al concluir las 3 horas de calentamiento a 35-40 °C, retirar el balón del sistema, tapan el balón y cubrir el balón con papel de aluminio.	No hubo cambios en la apariencia de la solución (color rojo, traslúcida, una sola fase).
Introducir el recipiente al congelador, a temperatura 0-3 °C. Dejar reposar a 0-3 °C durante 49 horas.	Solución de color rojo, una sola fase (líquida).

Cuadro 7.7 Resultados de las pruebas de caracterización química de grupos funcionales realizadas al producto sin purificar de la etapa 2A [2-(4-metoxifenil)-4-oxo-butano nitrilo] (Procedimiento 5.4.1.4)

Procedimiento	Resultado
Detección de aldehídos (2,4-dinitrofenilhidrazina) (Procedimiento 5.4.1.4.1)	Positivo. Confirma la presencia de aldehídos*
Detección de aldehídos (Prueba de Tollens) (Procedimiento 5.4.1.4.2)	Positivo. Confirma la presencia de aldehídos*
Detección de aldehídos (Prueba de Benedict) (Procedimiento 5.4.1.4.3)	Positivo. Confirma la presencia de aldehídos*
Detección de anillos aromáticos (Cloruro de aluminio III) (Procedimiento 5.4.1.4.4)	Positivo. Confirma la presencia de anillo aromático (de tipo bencénico)*
Detección de éteres (ácido pícrico) (Procedimiento 5.4.1.4.5)	Positivo. Confirma la presencia de éteres*

* Estos resultados confirman únicamente la presencia de los grupos indicados y no se consideran concluyentes ya que los grupos funcionales del producto esperado está presentes también en los sustratos empleados.

7.1.2.1 Detección e identificación de 2-(4-metoxifenil)-4-oxo-butano nitrilo sin purificar con cromatografía de gases acoplado con espectrometría de masas con ionización por impacto de electrones y con espectrofotometría en infrarrojo medio. Etapa No. 2A.

Cuadro 7.8 Caracterización de la mezcla que contiene al producto de la etapa 2A sin purificar [2-(4-metoxifenil)-4-oxo-butano nitrilo] por cromatografía de gases y espectrometría de masas con ionización por impacto de electrones. (Procedimiento 5.4.1.5.3)

Tiempo de retención (min)	Nombre del compuesto detectado	Porcentaje de coincidencia	Área de pico (min x cuentas)	Porcentaje de este compuesto en la mezcla
6.801	Bromobenceno	91	29220000	43.16
9.804	<i>N,N</i> -dietil- <i>N</i> -fenilamina	94	2307991	3.41
10.198	4-metoxibenzaldehído	95	27390821	40.46
10.626	4-metoxibenzaldehído	81	2911162	4.30
11.174	1,1-Bifenilo	81	5871561	8.67
				Total: 100.00%

Los compuestos detectados/identificados al final de la etapa 2A son los mismos que los que se identificaron en la etapa 1A. Estos resultados muestran que la reacción de esta etapa no se llevó a cabo completamente por no detectarse ni identificarse el producto esperado de esta etapa de síntesis. Para mayor detalle véase la discusión.

Se identificaron los picos observados en el cromatograma de gases mediante la comparación de los espectros de masas experimentales con espectros de masas de compuestos de referencia, empleándose el programa de identificación de Hewlett-Packard (1996). Los picos que se observan en el cromatograma y no se incluyeron en el Cuadro 7.8 corresponden a fragmentos de

dimetilpolisiloxano, ácidos grasos de cadena larga y derivados de éstos, que son productos de la degradación de la fase estacionaria de la columna capilar.

La detección e identificación de los productos (sin purificar) de esta etapa se hizo al finalizar las tres etapas de síntesis debido a que el uso de los equipos correspondientes estuvo limitado a dos días únicamente por lo que no pudo programarse de modo que se analizaran los productos de cada etapa de síntesis previo a la realización de la siguiente etapa.

Figura 7.7 Cromatograma de gases de la mezcla de productos de la etapa 2A. Concentración: 0.50 mg/mL en metanol. Columna: HP-5 (25 m; 0.25 μ m diámetro interno). Gas acarreador: Helio (1.2 psi). Modo de inyección: Sin división (“splitless”). Temperatura en el inyector: 250 °C. Temperatura en el detector: 280 °C. Programa de temperatura: 50 °C x 3 min; 20 °C/min hasta 280 °C; 280 °C x 15 min.

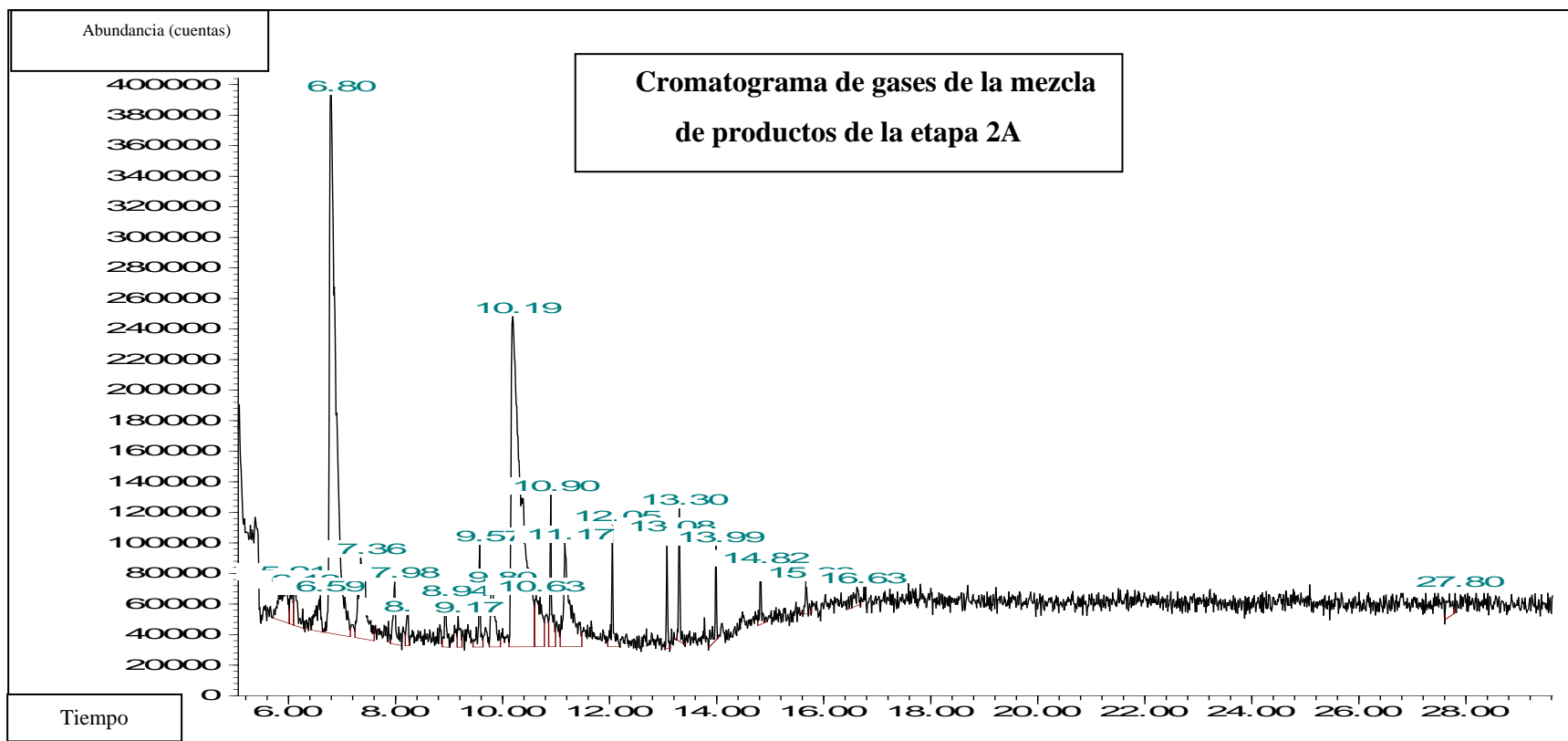


Figura 7.8 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 6.801 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 2A, identificado como bromobenceno con el 91% de coincidencia. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

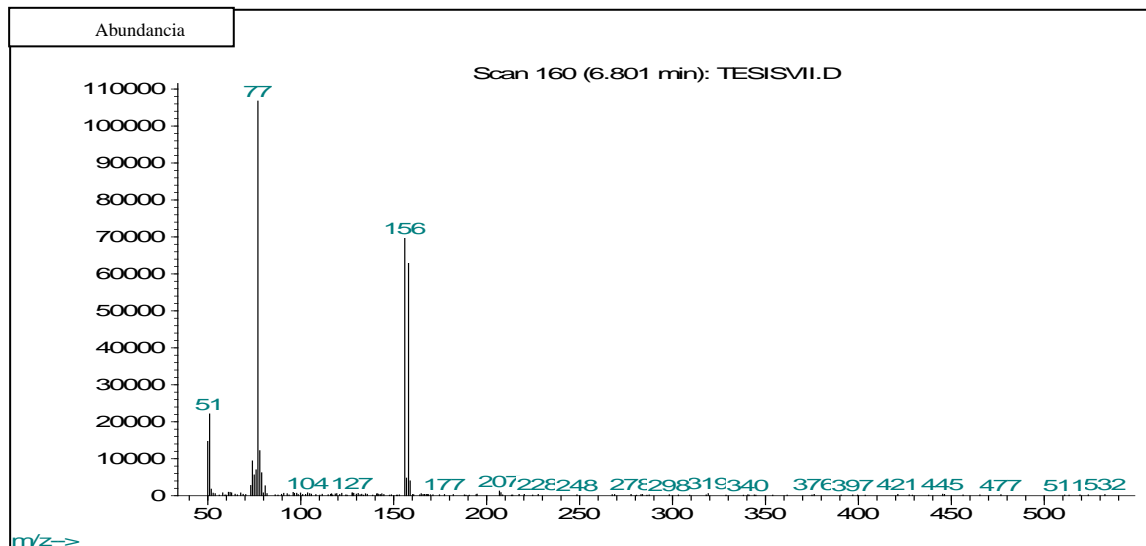


Figura 7.9 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 9.804 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 2A, identificado como N,N-dietil-N-fenilamina con el 94% de coincidencia. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

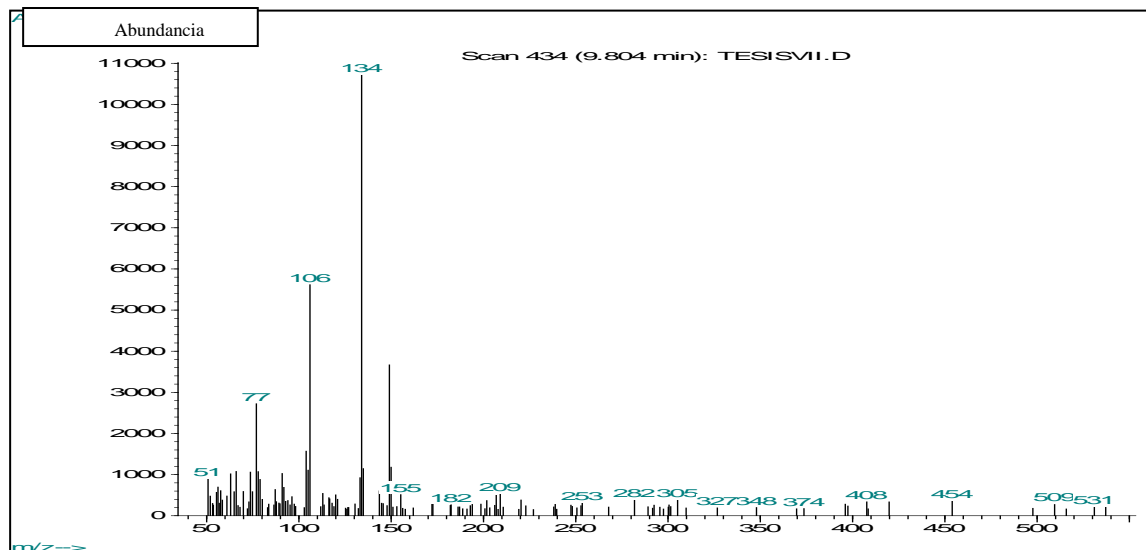


Figura 7.10 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 10.198 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 2A, identificado como 4-metoxibenzaldehído con el 95% de coincidencia. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

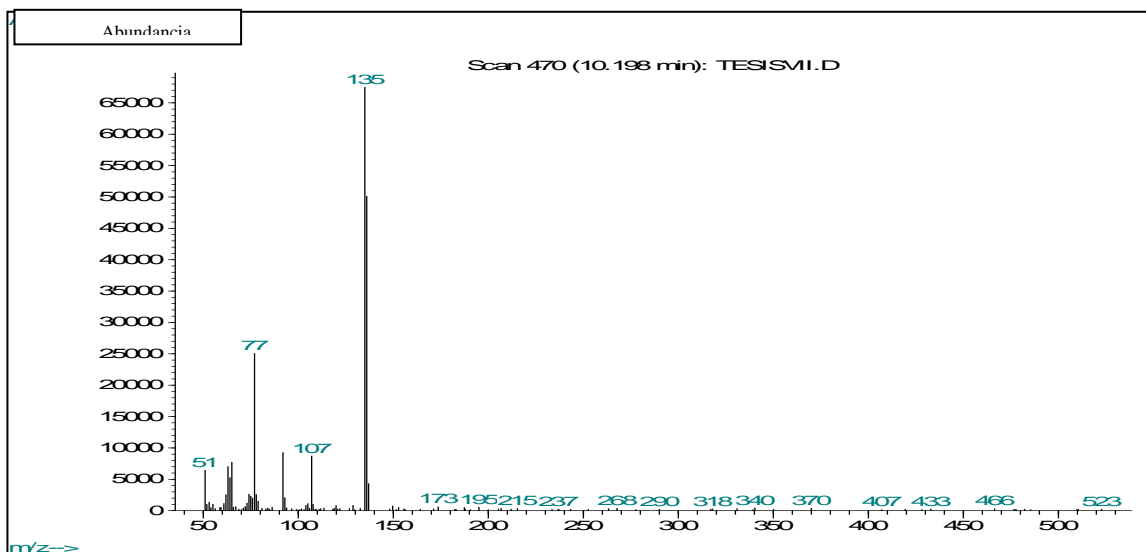


Figura 7.11 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 10.626 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 2A, identificado como 4-metoxibenzaldehído con el 81% de coincidencia. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

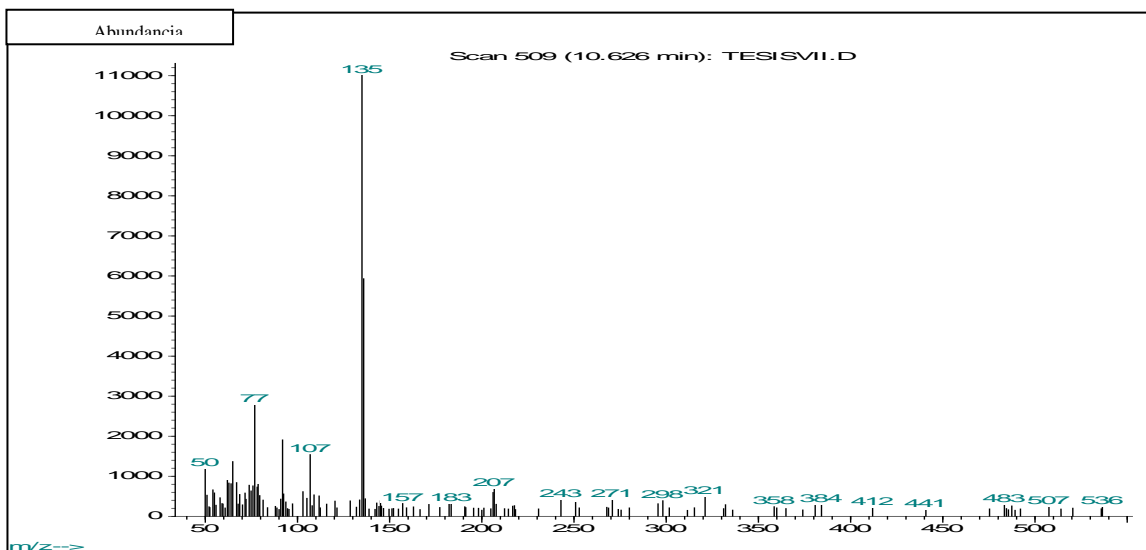
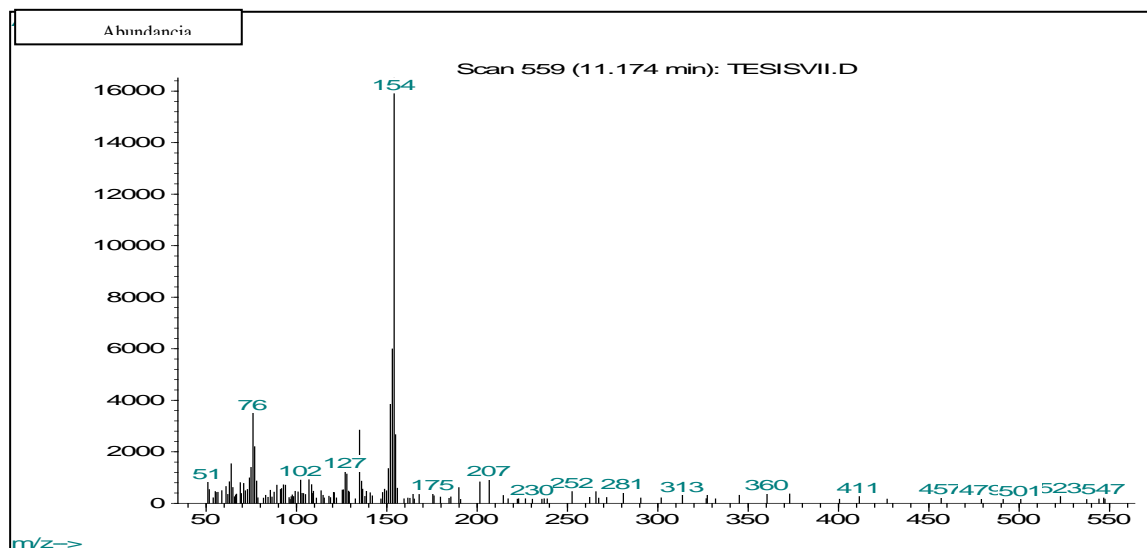


Figura 7.12 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 11.174 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 2A, identificado como 1,1-bifenilo con el 81% de coincidencia. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.



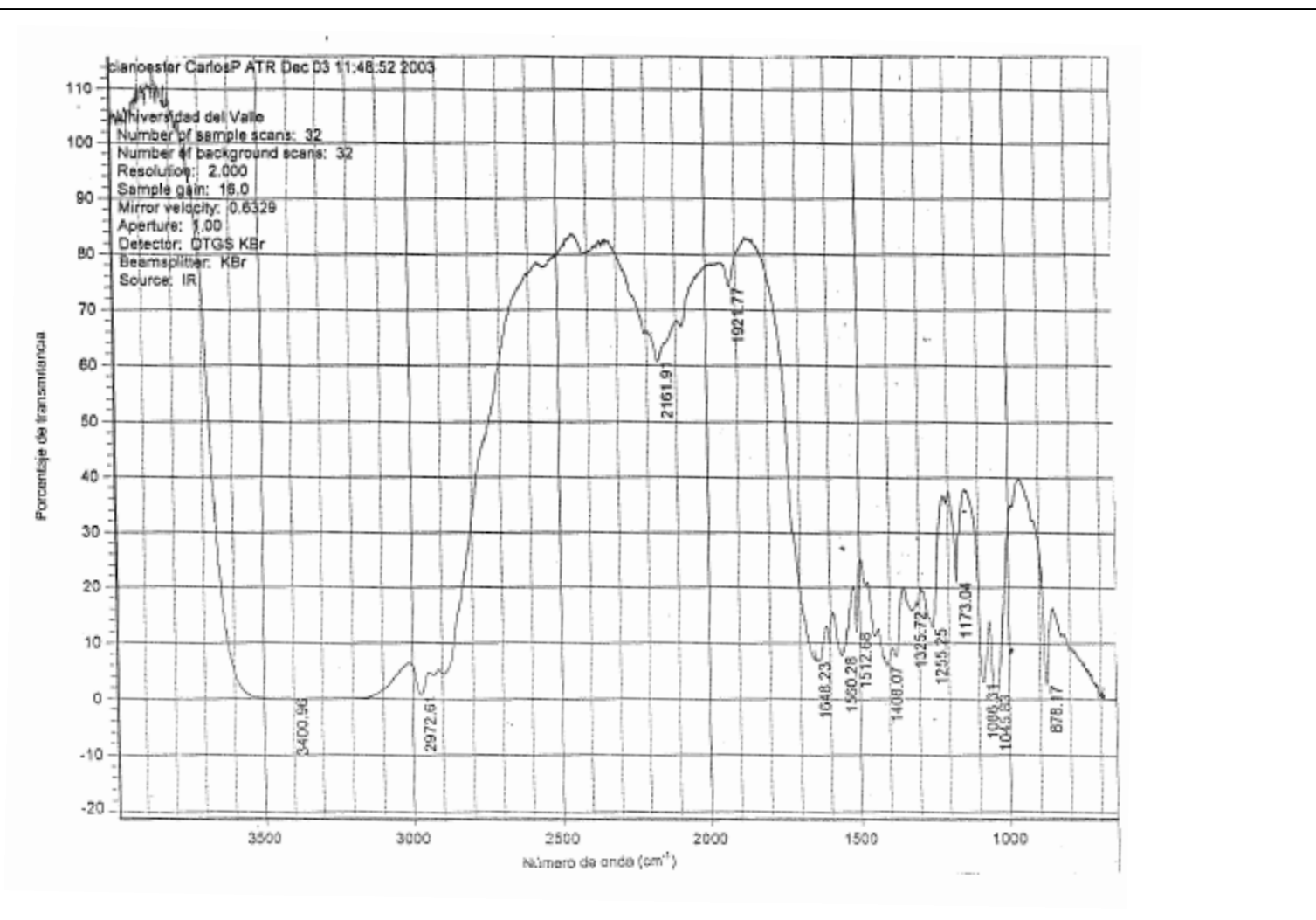
Cuadro 7.9 Asignación de grupos funcionales a las bandas de absorción del espectro de absorción molecular en infrarrojo medio (IR) de la mezcla de productos de la etapa 2A (Procedimiento 5.4.1.5.1)

Número de onda observado ($\text{cm}^{-1} \pm \text{cm}^{-1}$)	Posibles grupos funcionales que presentan absorción en este número de onda	
Banda intensa, muy ancha y sin estructura fina entre 3700 cm^{-1} y 3030 cm^{-1} , con centro en 3309.44 cm^{-1} .	3623	O-H Hidroxilo. Monómero.
	3550-3200	O-H Hidroxilos con puentes de hidrógeno. Dos bandas, una intensa y algo delgada, la otra delgada.
	3333	N-H Amina (con puentes de hidrógeno).
	3300-3100	N-H Amina con puentes de hidrógeno.
	3300-2500	N-H Amina. Dímeros (puentes de hidrógeno). Banda ancha e intensa, con centro en aproximadamente 3300 cm^{-1} .
	3100-2990	C-H Metileno y metino de alcanos cíclicos.
	3095-3075	C-H Metileno.
	3040-3010	CH=CH Alqueno.
2969.64	>3000	C-H Alqueno, protones en anillo aromático.
	3000-2840	C-H Alcano.
~ 2931	2962	C-H Metilo. Adyacente a un carbonilo aumenta la intensidad de la banda, pero a menor frecuencia ($1439\text{-}1399 \text{ cm}^{-1}$).
	2926	C-H Metileno ($\pm 10 \text{ cm}^{-1}$).
~ 2885	2900-2800	CHO Banda débil. Resonancia de Fermi en $\sim 1390 \text{ cm}^{-1}$
	2890	C-H Carbono terciario.
	2872	C-H Metilo.
Absorción intensa, sin estructura fina entre 3000 cm^{-1} y 2700 cm^{-1}	3000-2840	C-H Alcano.
	2962	C-H Metilo. Adyacente de un carbonilo aumenta la intensidad de la banda, pero a menor frecuencia ($1439\text{-}1399 \text{ cm}^{-1}$).
	2926	C-H Metileno ($\pm 10 \text{ cm}^{-1}$).
	2900-2800	CHO Banda débil. Resonancia de Fermi en $\sim 1390 \text{ cm}^{-1}$
	2890	C-H Carbono terciario.
	2872	C-H Metilo.
	2850-2815	C-O O-Me (Metil éteres)
	2825-2700	C-H Aldehído. Dos bandas intensas, con resonancia en 1390 cm^{-1} .
~2250	2260-2240	CN Banda intensa a medio-intensa. Es fina en nitrilos alifáticos. Grupos electroattractores disminuyen la intensidad de la absorción.
	2240-2214	CN Nitrilo conjugado con un alqueno.
2161.83	2200-2070	-CN Cianuro libre.
1923.61	2000-1650	Anillo aromático 1,4-disustituido, intensidad débil.
~1660	2000-1650	Anillo aromático 1,4-disustituido, intensidad débil.
	1695-1660	C=O α,β -insaturado
	1690-1665	C=C Ar-C=C-C=O, (α,β -insaturado con fenilo)
	1685-1666	C=O Carbonilo conjugado con alqueno o arilo
	1685-1650	C=N Nitrilo alifático.
	1678-1668	C=C Alqueno trans disustituido. Intensidad variable.
	1675-1665	C=C Alqueno trisustituido, intensidad débil.
	1667-1640	C=C Alqueno no-conjugado.
	~1675	C=O Dos bandas intensas.
	~1675	C=O Dos bandas
	1670	C=C Alqueno disustituido, trans.
	1648.89	1650-1600
1650-1600		C=O α,β -insaturado
1650-1460		C=C Alqueno trisustituido. Dos bandas de intensidad media.
1640		C=C Alqueno monosustituido (vinilo).
~1600	1650-1600	C=O α,β -insaturado
	1650-1460	Alqueno trisustituido. Dos bandas de intensidad media.
	~1595	C=C CH=C-C=O, alqueno conjugado con carbonilo.
1576.44	1650-1460	Alqueno trisustituido. Dos bandas de intensidad media.

Cuadro 7.9 Continuación. Asignación de grupos funcionales a las bandas de absorción del espectro de infrarrojo (IR) de la mezcla de productos de la etapa 2A (Procedimiento 5.4.1.5.1)

Número de onda observado ($\text{cm}^{-1} \pm \text{cm}^{-1}$)	Posibles grupos funcionales que presentan absorción en este número de onda		
1576.44	1650-1460	Alqueno trisustituido. Dos bandas de intensidad media.	
1512.08			
~1470	1465	C-H	Metileno.
~1450	1450	C-H	Metilo. Adyacente de un carbonilo aumenta la intensidad de la banda, pero a menor frecuencia ($1439\text{-}1399 \text{ cm}^{-1}$).
~1408	1440-1395	N-H	Ácido.
	1416	C-H	Vinilo
1379.81	1375	C-H	Metilo.
1329.52	1330	N-H	Alcohol secundario.
	1320-1210	C-O	Ácido.
1271.96	1275-1200	C-O-C	Ar-C-O-Al (Aрил-alkuil éteres)
~1260	1260-1000	C-O	Alcohol.
~1185	~1185	C=O	Dos bandas intensas.
~1160	1210-1100	C-O	Alcohol terciario.
1086.57	1125-1000	C-O	Alcohol secundario.
	1120-1080		Anillo aromático 1,4-disustituido. Intensidad media.
1048.60	1075-1020	C-O-C	Ar-C-O-Al (Aрил-alkuil éteres)
	1075-1000	C-O	Alcohol primario.
	1040-1000		Anillo aromático 1,4-disustituido. Intensidad media
877.70	1000 - 650	C-H	Alqueno.
	960 - 880	OC-OH	Banda ancha e intensa (sólo en dímeros).
	900 - 675	C-H	Hidrógenos adyacentes en aromáticos homonucleares
	840 - 800		Anillo aromático 1,4-disustituido. Dos bandas intensas.

Figura 7.13 Espectro de absorción molecular en infrarrojo medio (IR) de la mezcla de productos de la etapa 2A obtenido por reflectancia total atenuada sobre cristal de seleniuro de zinc (ZnSe)



7.1.3 Observaciones al preparar 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2-(3H)-ona. Etapa No. 3A.

Cuadro 7.10 Cambios observados al preparar 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2-(3H)-ona (Procedimiento 5.3.1.5)

Procedimiento	Observaciones y resultados
Se emplearon 20 mL de la mezcla del procedimiento de la etapa 2 (Procedimiento 5.3.1.4.2). Solución de color anaranjado pardo, una sola fase (líquida).	
Enfriar de nuevo a mezcla con un baño de hielo y cloruro de sodio. Iniciar agitación. Agregar lenta y cuidadosamente ácido clorhídrico concentrado.	Se emplearon 35.0 mL de ácido clorhídrico concentrado en lugar de 53.6 mL, según la cantidad empleada para esta etapa y la estequiometría correspondiente. Al agregar el ácido clorhídrico se generó gas de color blanco; se observó un rastro blanquecino en la pared del balón al caer la gota del ácido. La temperatura de la mezcla aumentó y osciló entre 10 y 15 °C. Tiempo total de adición: 10 minutos. Al terminar la adición la mezcla fue una sola fase (líquida) y de color café-anaranjado.
Al terminar la adición, calentar suavemente hasta obtener un reflujo constante durante 4 horas. Verificar constantemente que la temperatura no pase de 90 °C.	Cuando la temperatura de la mezcla era de 42 °C se generó gas (que burbujeó directamente en la trampa de gases). La mezcla reaccionante fue una sola fase (líquida), de color café oscuro. La mezcla reflujo durante 4 horas a 87 °C. Al final del reflujo, la mezcla fue una solución de una sola fase, de color café. No se observó separación de dos fases (acuosa ni orgánica).

Cuadro 7.11 Resultados de las pruebas de caracterización química de grupos funcionales realizadas al producto sin purificar de la etapa 3A
[5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2-(3H)-ona] (Procedimiento 5.4.1.4)

Procedimiento	Resultado
Determinación de la temperatura de fusión	305-311 °C. Se observó decoloración de la muestra a partir de 281 °C.
Detección de aldehídos (2,4-dinitrofenilhidrazina) (Procedimiento 5.4.1.4.1)	Positivo. Confirma la presencia de aldehídos*
Detección de aldehídos (Prueba de Tollens) (Procedimiento 5.4.1.4.2)	Positivo. Confirma la presencia de aldehídos*
Detección de aldehídos (Prueba de Benedict) (Procedimiento 5.4.1.4.3)	Positivo. Confirma la presencia de aldehídos*
Detección de anillos aromáticos (Cloruro de aluminio III) (Procedimiento 5.4.1.4.4)	Positivo. Confirma la presencia de anillo aromático (de tipo bencénico)*
Detección de éteres (ácido pícrico) (Procedimiento 5.4.1.4.5)	Positivo. Confirma la presencia de éteres.

* Estos resultados confirman únicamente la presencia de los grupos indicados, y no se consideran concluyentes ya que los grupos funcionales del producto esperado está presentes también en los sustratos empleados.

7.1.3.1 Detección e identificación de 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran--(3H)-ona por cromatografía de gases acoplado con espectrometría de masas con ionización por impacto de electrones, por espectrofotometría en infrarrojo medio y por resonancia magnética nuclear de protones. Etapa No. 3A.

Cuadro 7.12 Caracterización de la mezcla que contiene al producto de la etapa 3A sin purificar[5-hidroxi-3-4-metoxifenil)-dihidrofuran-2-(3H)-ona] por cromatografía de gases y espectrometría de masas con ionización por impacto de electrones (Procedimiento 5.4.1.5.3)

Tiempo de retención (min)	Nombre del compuesto detectado	Porcentaje de coincidencia	Área de pico (min x cuentas)	Porcentaje de este compuesto en la mezcla
6.817	Bromobenceno	95	133397622	62.26
10.170	4-metoxibenzaldehído	91	4054176	1.89
11.134	1,1-Bifenilo	93	66804803	31.18
11.584	4-metoxibenzaldehído	87	6264531	2.92
12.614	2-bromobifenilo	96	1964865	0.92
14.520	o-terfenilo	96	1785427	0.83
				Total: 100.00%

Los compuestos detectados/identificados al final de la etapa 3A son los mismos que los que se identificaron en la etapa 1A. Estos resultados muestran que la reacción de esta etapa no se llevó a cabo por no detectarse ni identificarse el producto esperado de esta etapa de síntesis. Para mayor detalle véase la discusión.

Se identificaron los picos observados en el cromatograma de gases mediante la comparación de los espectros de masas experimentales con espectros de masas de compuestos de referencia, empleándose el programa de identificación de Hewlett-Packard (1996). Los picos que se observan en el cromatograma y no se incluyeron en el Cuadro 7.12 corresponden a fragmentos de dimetilpolisiloxano, ácidos grasos de cadena larga y derivados de éstos, que son productos de la degradación de la fase estacionaria de la columna capilar.

La detección e identificación de los productos (sin purificar) de esta etapa se hizo al finalizar las tres etapas de síntesis debido a que el uso de los equipos correspondientes estuvo limitado a dos días únicamente por lo que no pudo programarse de modo que se analizaran los productos de cada etapa de síntesis previo a la realización de la siguiente etapa.

Figura 7.14 Cromatograma de gases de la mezcla de productos de la etapa 3A. Concentración: 1.00 mg/mL en metanol. Columna: HP-5 (25 m; 0.25 μm diámetro interno). Gas acarreador: Helio (1.2 psi). Modo de inyección: Sin división (“splitless”). Temperatura en el inyector: 250 $^{\circ}\text{C}$. Temperatura en el detector: 280 $^{\circ}\text{C}$. Programa de temperatura: 50 $^{\circ}\text{C}$ x 3 min; 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta 280 $^{\circ}\text{C}$; 280 $^{\circ}\text{C}$ x 15 min.

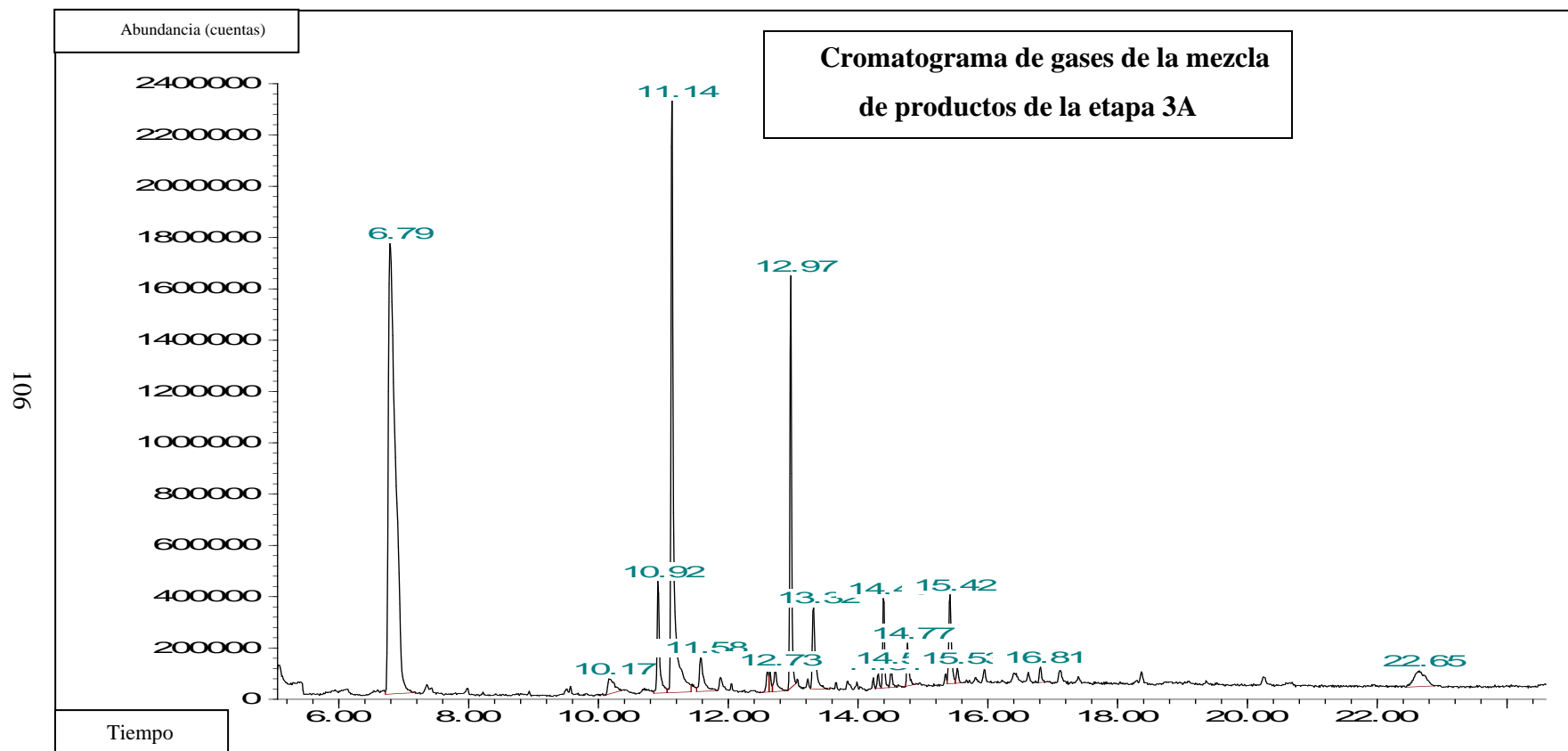


Figura 7.15 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 6.817 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3A, identificado como bromobenceno con el 95% de coincidencia.
Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

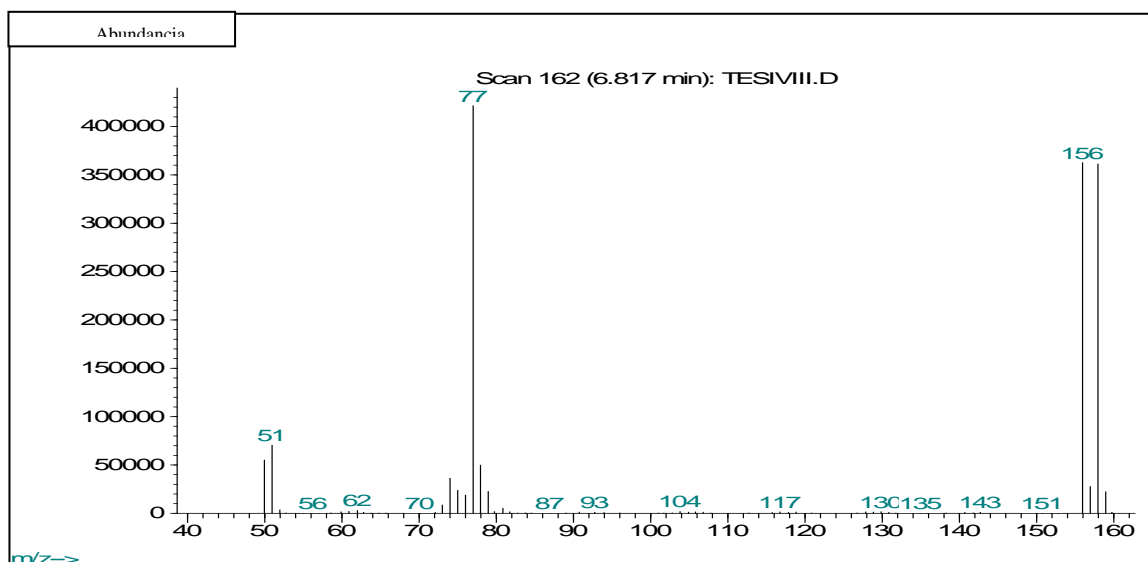


Figura 7.16 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 10.170 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3A, identificado como 4-metoxibenzaldehído con el 91% de coincidencia.
Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

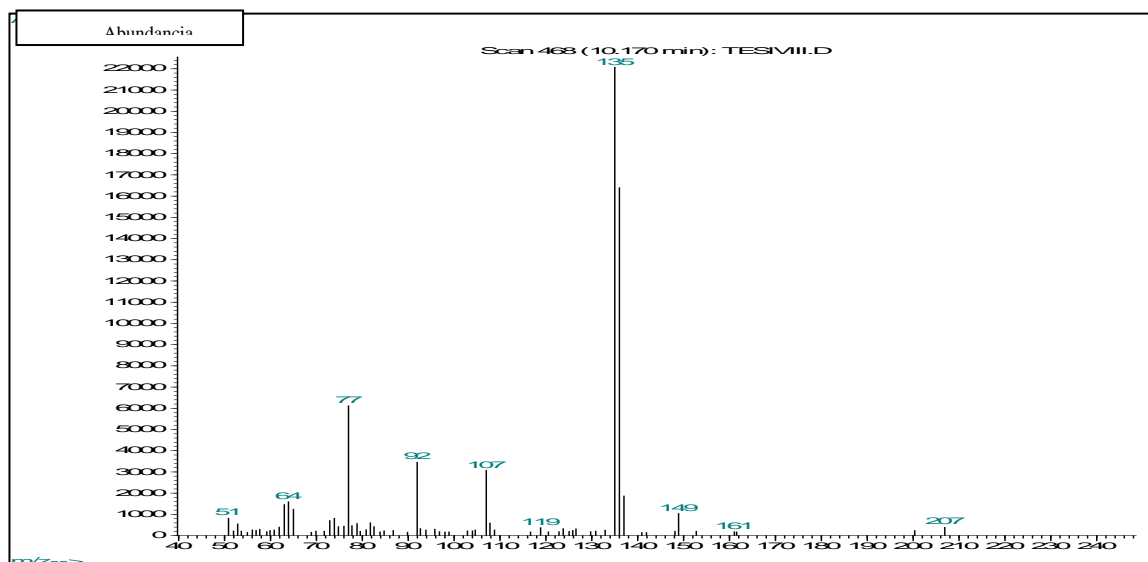


Figura 7.17 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 11.134 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3A, identificado como bifenilo con el 93% de coincidencia. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

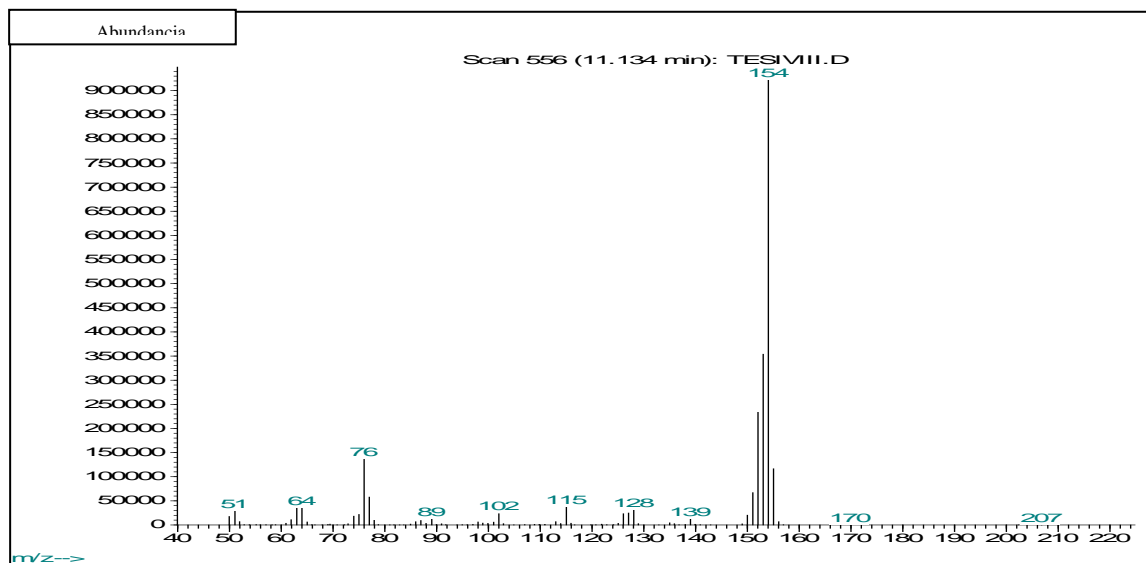


Figura 7.18 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 11.584 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3A, identificado como 4-metoxibenzoato de etilo con el 87% de coincidencia. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

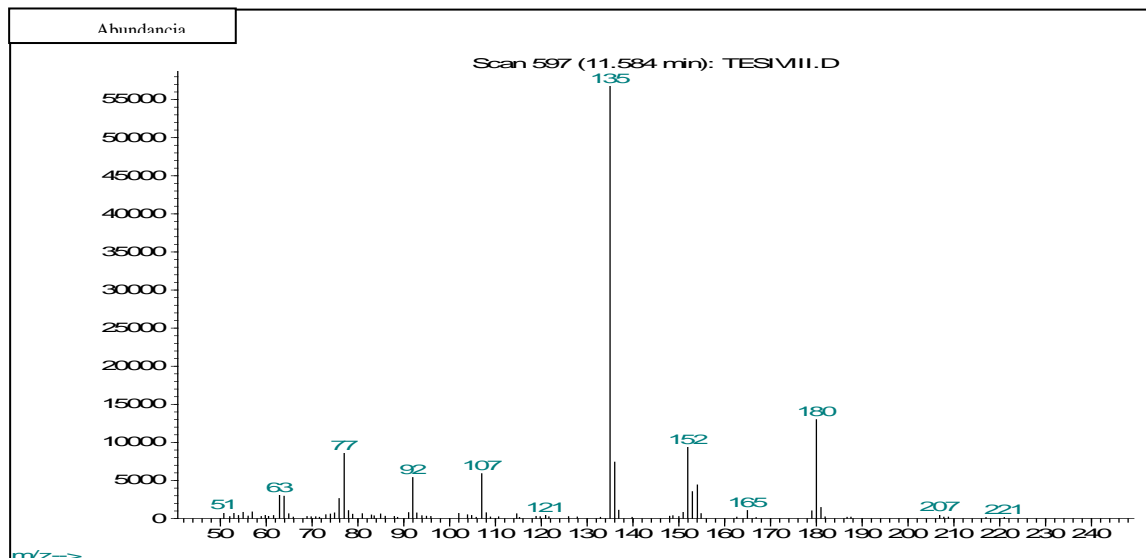


Figura 7.19 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 12.614 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3A, identificado como 2-bromobifenilo con el 96% de coincidencia.
Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

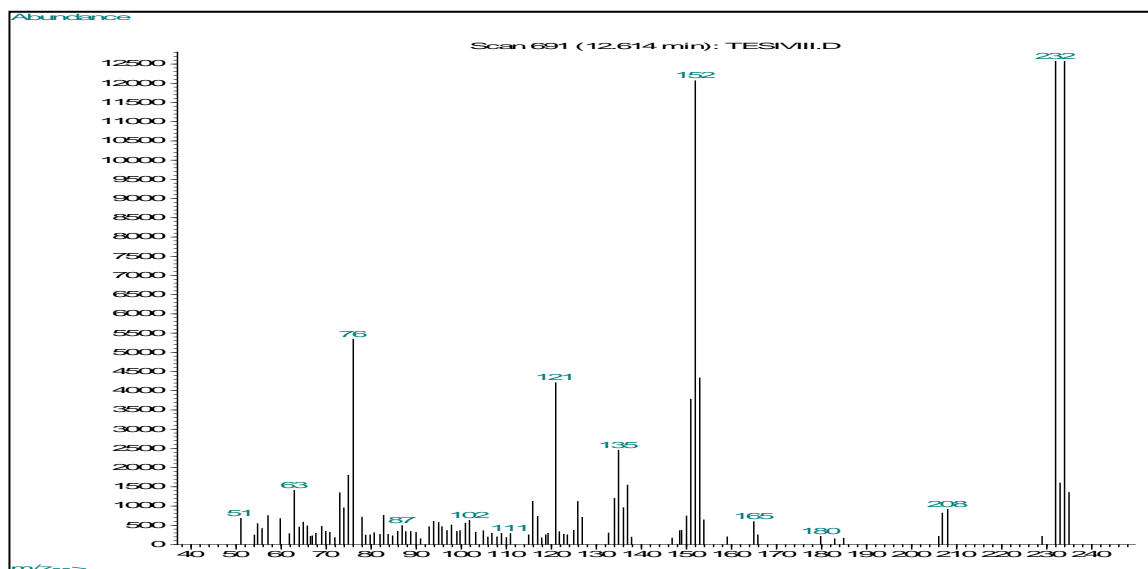
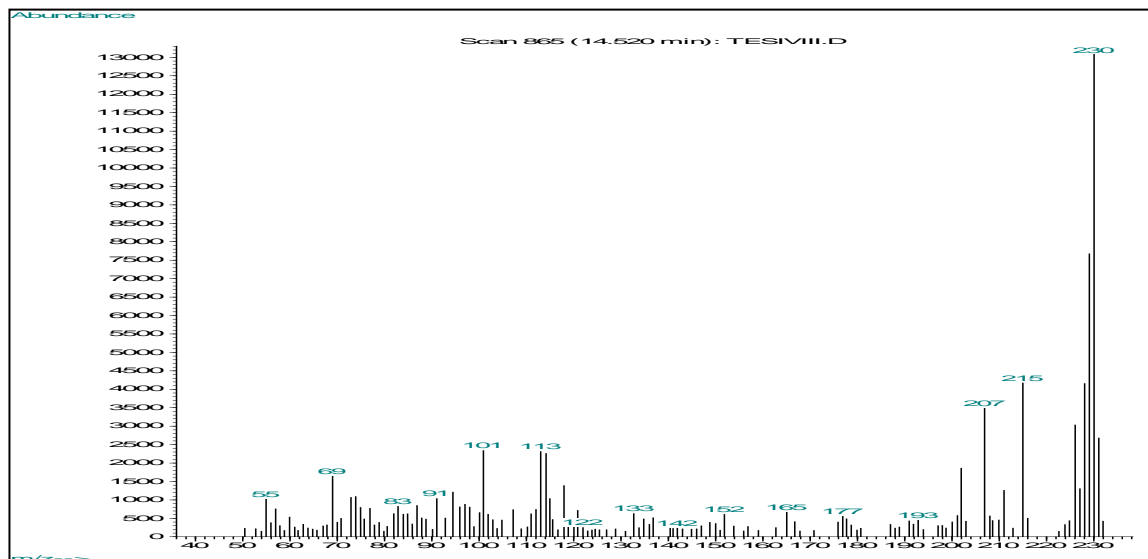


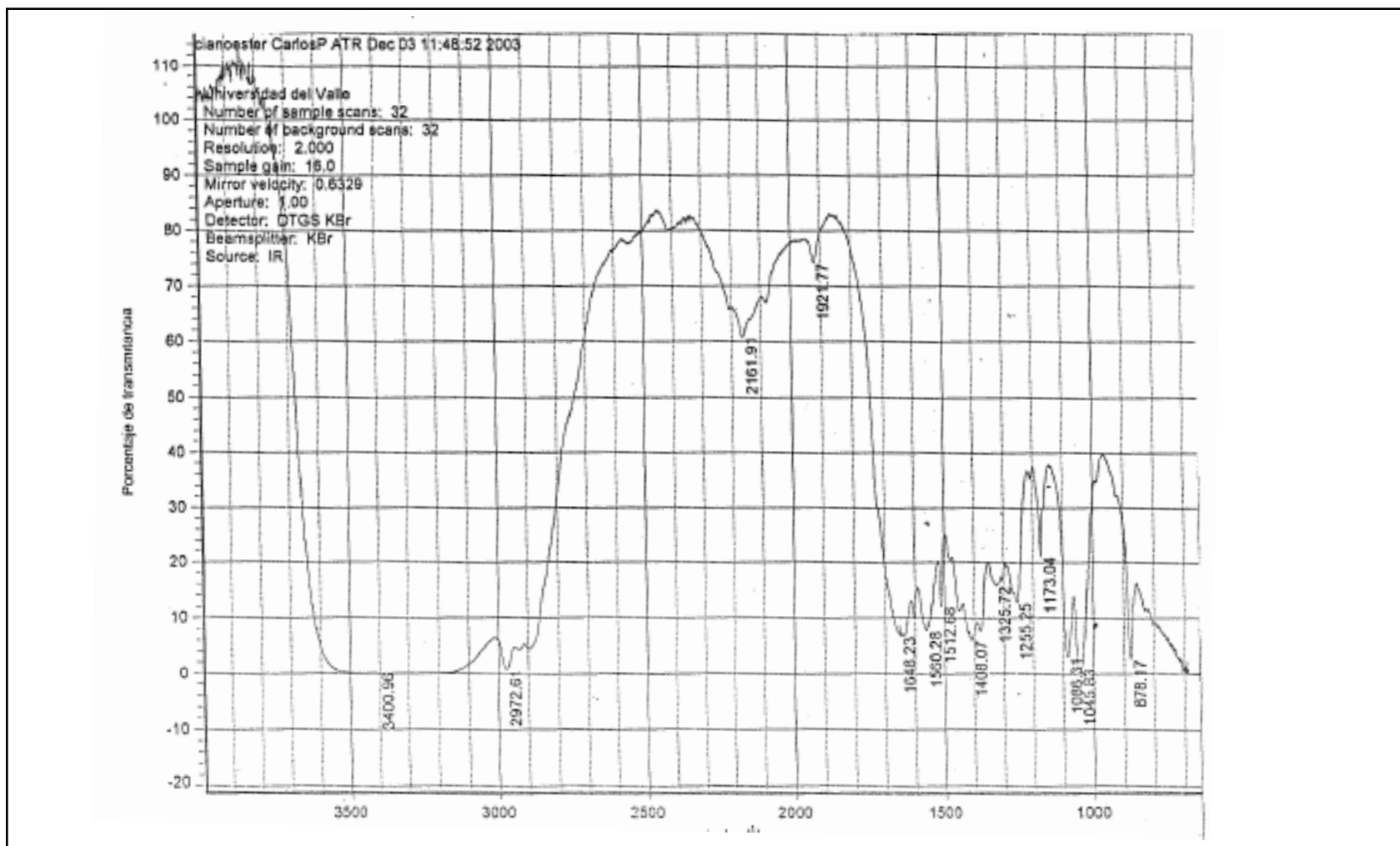
Figura 7.20 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 14.520 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3A, identificado como *o*-terfenilo con el 96% de coincidencia.
Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.



Cuadro 7.13 Asignación de grupos funcionales a las bandas de absorción del espectro de absorción molecular en infrarrojo medio (IR) de la mezcla que contiene al producto de la etapa 3A [5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2-(3*H*)-ona] (Procedimiento 5.4.1.5.1)

Número de onda observado (cm ⁻¹ ± cm ⁻¹)	Posibles grupos funcionales que presentan absorción en este número de onda	
~3070	3100-2990	C-H Metileno y metino de alcanos cíclicos.
~3030	3040-3010	C-H Alqueno.
	>3000	C-H Alqueno, protones en anillo aromático.
~2990	3000-2840	C-H Alcano.
~2950	2962	C-H Metilo. Adyacente de un carbonilo aumenta la intensidad de la banda pero a menor frecuencia (1439-1399 cm ⁻¹).
	3000-2840	C-H Alcano.
	2962	C-H Metilo. Adyacente de un carbonilo aumenta la intensidad de la banda pero a menor frecuencia (1439-1399 cm ⁻¹).
2930.46	2926	C-H Metileno (± 10 cm ⁻¹).
2837.25	2900-2800	CHO Banda débil.
y ~2845	2890	C-H Carbono terciario.
	2872	C-H Metilo.
	2853	C-H En alifáticos.
	2850-2815	C-O O-Me (Metil éteres)
	2825-2700	C-H Aldehído. Dos bandas intensas, sobretono de 1390 cm ⁻¹
1730.21	~1750	C=O Lactona cíclica de cinco miembros α,β-insaturada. Banda en 1780 cm ⁻¹ si la posición alfa está libre.
	1750-1735	C=O Ésteres alifáticos.
	1730-1710	C=O Vinil-éster (α,β-insaturado).
	1720-1706	C=O Dímero de ácido (puentes de hidrógeno).
1651.52	1675-1665	C=C Alqueno trisustituido, intensidad débil.
	1667-1640	C=C Alqueno no-conjugado.
	~1665	C=O α,β,γ,δ-insaturado.
	1650-1600	C=O α,β-insaturados
	1650-1460	Alqueno trisustituido. Dos bandas de intensidad media.
	1640	C=C Alqueno monosustituido (vinilo).
1609.11	1650-1600	C=C Alqueno
	1650-1600	C=O α,β-insaturados
	1650-1460	Alqueno trisustituido. Dos bandas de intensidad media.
1557.12	1650-1460	Alqueno trisustituido. Dos bandas de intensidad media.
1511.49	1650-1460	Alqueno trisustituido. Dos bandas de intensidad media.
1463.53	1465	C-H Metileno.
1442.33	1450	C-H Metilo. Adyacente de un carbonilo aumenta la intensidad de la banda pero a menor frecuencia (1439-1399 cm ⁻¹)
1403.46	1440-1395	O-H Ácido carboxílico.
1367.74	1375	C-H Metilo.
1301.98	1320-1210	C-O Ácido.
	1315-1280	C-O Dímero de ácido (puentes de hidrógeno).
1249.87	1275-1200	C-O-C Ar-C-O-Al (Aрил-alquil éteres)
	1260-1000	C-O Alcohol.
1117.91	1210-1100	C-O Alcohol terciario.
	~1185	C=O Dos bandas intensas.
	~1180	C=O γ-lactonas y δ-lactonas
1112.32	1150-1085	C-O-C Al-O-Al (Éter alifático)
	1125-1000	C-O Alcohol secundario.
	1120-1080	Alqueno trisustituido, intensidad media.
	1120-1080	Anillo aromático 1,4-disustituido. Intensidad media
1030.95	1075-1020	C-O-C Ar-C-O-Al (Aрил-alquil éteres)
	1040-1000	Anillo aromático 1,4-disustituido. Intensidad media
	1000 - 650	C-H Alqueno.
~900	900 - 675	C-H Hidrógenos adyacentes en aromáticos homonucleares.
833.81	840 - 800	Anillo aromático 1,4-disustituido. Dos bandas intensas. La banda de mayor frecuencia es más intensa.

Figura 7.21 Espectro de absorción molecular de la mezcla de productos de la etapa 3 en infrarrojo medio (IR) obtenido por transmisión sobre tabletas de bromuro de potasio (KBr)



Cuadro 7.14 Resultados de la interpretación del espectro de resonancia magnética nuclear de protones del producto obtenido en la etapa 3A

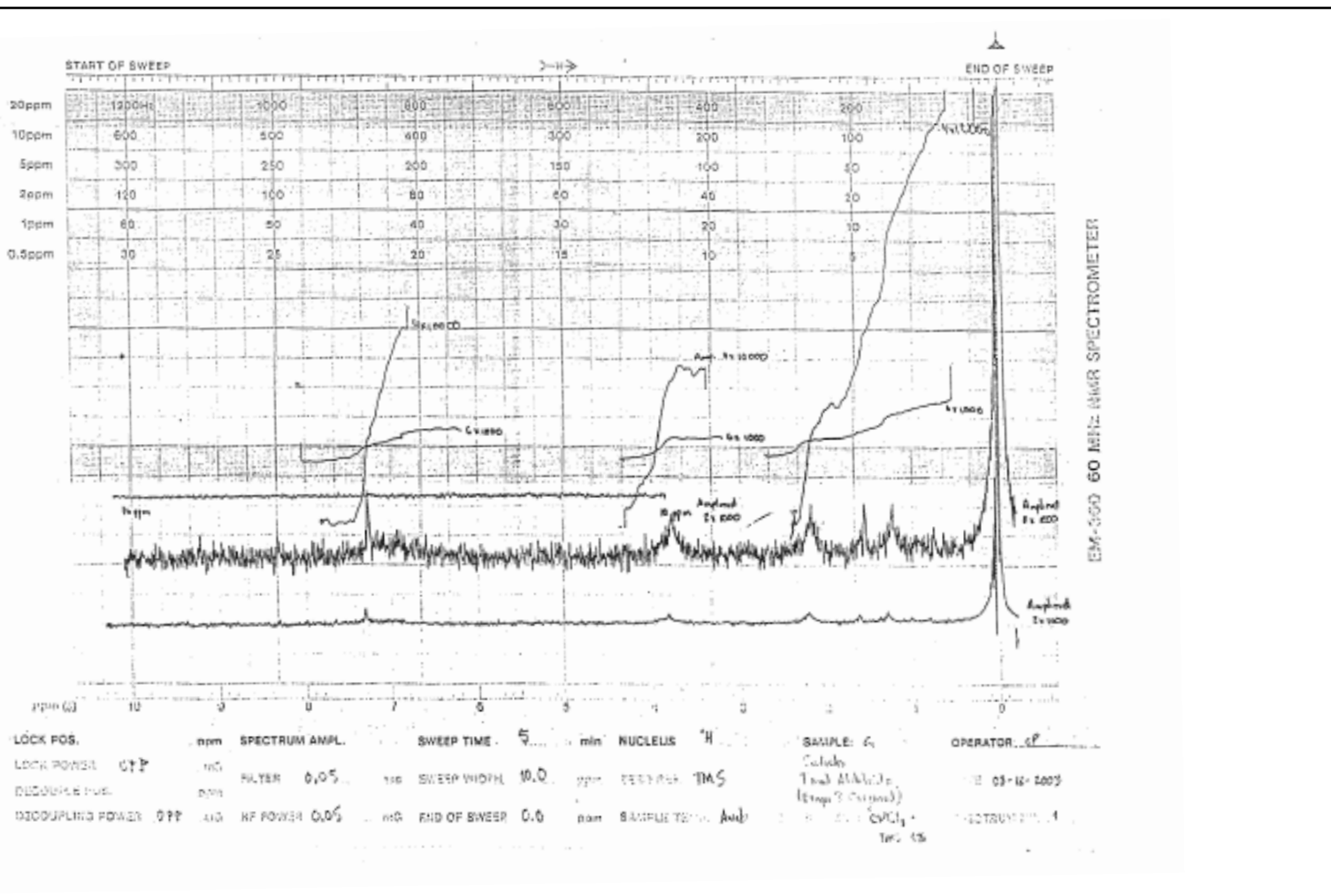
Desplazamiento químico observado (ppm ± ppm)	Protones que presenta desplazamiento químico semejante (ppm ± ppm)
7.30	H – Ar Aromático H ₂ –C=C conjugado Vinilo H–C(R)=C Metino (C 3°) acíclico conjugado
3.80	H ₃ C – O Metilo (éter)
2.20	HC–(C=O)(H) Metino (C 3°) HC–(C=O)(R) Metino (C 3°) HC–(C=O)(OH) Metino (C 3°) H ₂ C–(C=O)(H) Metileno H ₂ C–(C=O)(OH) Metileno H ₂ C–(C=O)(R) Metileno
1.60	HC– R ₃ Metino (C 3°) HC–(Ar)(CN)(CH ₂) Metino (C 3°) HC–(Ar)(COOH)(CH ₂) Metino (C 3°) HC–C–O–(C=O)(R) Metileno HC–C=C Metilo H ₂ C–C–CH ₂ Metino
1.29	H ₂ C saturado Metileno H ₂ C–CH ₂ –C (3°) Metileno HC–CH ₂ –C (3°) Metino (C 3°) H ₂ N–R Amina primaria HC–C–O–Ar Metilo HC–C–O–(C=O)(R) Metilo

(Dean 1986)

(Pretsch *et al.* 1989)

(Silverstein & Webster 1997)

Figura 7.22 Espectro de resonancia magnética nuclear de protones ($^1\text{H-NMR}$) del producto de la etapa 3A, disuelto en cloroformo deuterado como solvente y tetrametilsilano (como referencia del desplazamiento químico)



7.2 Resultados del procedimiento propuesto alternativo para la preparación de 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2-(3H)-ona a partir de 4-metoxibenzaldehído y acetato de etilo.

7.2.1 Observaciones al preparar (2E)-3-(4-metoxifenil) acrilato de etilo. Etapa No. 1B.

Cuadro 7.15 Cambios observados al preparar (2E)-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo (Procedimiento 5.3.2.2.3)

Procedimiento	Observaciones y resultados
Colocar 40.0 mL (0.438 mol) de <i>m</i> -xileno y 2.9 g (0.129 mol) de sodio cortado en pedazos pequeños en el balón de 500 mL. Reflujar la mezcla, verificando que se funda el sodio (~ 116 °C). Iniciar agitación mecánica moderada.	Se emplearon 3.1 g (0.135 mol) de sodio en lugar de 2.9 g (0.129 mol) de sodio. Al fundirse el sodio metálico, el <i>m</i> -xileno mostró coloración amarillenta.
Retirar la fuente de calor y mantener la agitación hasta que la mezcla alcance temperatura ambiente.	Durante el enfriamiento, la agitación permitió que el sodio formara pequeñas esferas de color plateado. Además, se observaron partículas sólidas de color anaranjado-amarillento.
Sacar el <i>m</i> -xileno del balón sin sacar el sodio. Enfriar el balón que contiene a la mezcla (temperatura 0-5 °C) con baño de hielo. Agregar 46 mL de acetato de etilo y 0.5 mL de etanol absoluto.	Se observó burbujeo al agregar el acetato de etilo sobre el sodio metálico.
Iniciar agitación mecánica (que no sea vigorosa). Agregar lentamente 12.16 mL (0.100 mol) de 4-metoxibenzaldehído al balón en 5 minutos.	Al agregar el 4-metoxibenzaldehído, la solución se tornó de color rojo y se observó burbujeo alrededor de las esferas de sodio.
Mantener la agitación hasta que casi todo el sodio reaccione	Se consumió todo el sodio después de 25 minutos de haber agregado todo el 4-metoxibenzaldehído. Una sola fase (líquida) de color rojo oscuro.
Cuando casi todo el sodio haya desaparecido, agregar lenta y cuidadosamente 10 mL de ácido acético glacial en 30 mL de etanol absoluto. Mantener la agitación mecánica.	La solución reaccionante se solidificó (con color anaranjado rojizo) al agregar los primeros mililitros de la mezcla de ácido acético glacial en etanol. Al continuar la adición del ácido se disolvió el sólido pastoso. Aumentó la temperatura de la mezcla a 40 °C.
Agregar lenta y cuidadosamente aproximadamente 55 mL de agua.	Al agregar el agua, la solución fue de color rojo intenso y de una sola fase (líquida).
Trasvasar la mezcla a un embudo de decantación de 250 mL. Separar las fases acuosa y orgánica. Conservar la capa orgánica.	Fase acuosa , inferior, no-traslúcida (turbia), color anaranjado pálido. Volumen ~80 mL. Soluble en agua neutra, agua ácida (pH 3.0) y agua básica (pH 10.0). Soluble en acetona. Insoluble en cloroformo y dietil éter (no hubo coloración en estos solventes, por lo que no se hizo extracción alguna a esta fase.) Fase orgánica , superior, no-traslúcida (turbia), color rojo. Volumen ~55 mL. Soluble en acetona, cloroformo y dietil éter. Insoluble en agua neutra, agua ácida (pH 3.0) y agua básica (pH 10.0).

Cuadro 7.16 Resultados de las pruebas de caracterización química de grupos funcionales realizadas a la mezcla que contiene al producto de la etapa 1B [(2E)-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo] (Procedimiento 5.3.2.2.3)

Procedimiento	Resultado
Detección de aldehídos (2,4-dinitrofenilhidrazina) (Procedimiento 5.4.1.4.1)	Positivo. Confirma la presencia de aldehídos.
Detección de aldehídos (Prueba de Tollens) (Procedimiento 5.4.1.4.2)	Positivo. Confirma la presencia de aldehídos
Detección de aldehídos (Prueba de Benedict) (Procedimiento 5.4.1.4.3)	Positivo. Confirma la presencia de aldehídos.
Detección de anillos aromáticos (Cloruro de aluminio III) (Procedimiento 5.4.1.4.4)	Positivo. Confirma la presencia de anillo aromático (de tipo bencénico).
Detección de éteres (ácido pícrico) (Procedimiento 5.4.1.4.5)	Positivo. Confirma la presencia de éteres.

7.2.1.1 Detección e identificación de [(2E)-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo] con cromatografía de gases acoplado con espectrometría de masas con ionización por impacto de electrones. Etapa No. 1B.

Cuadro 7.17 Caracterización de la mezcla que contiene al producto de la etapa 1B [Producto:(2E)-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo] con cromatografía de gases y espectrometría de masas con ionización por impacto de electrones (Procedimiento 5.4.1.5.3)

Tiempo de retención (min)	Nombre del compuesto detectado	Porcentaje de coincidencia	Área de pico (min x cuentas)	Porcentaje de este compuesto en la mezcla
10.304	4-metoxibenzaldehído [p-anisaldehído]	78	4797255	7.07
13.131	Ácido (2E)-3-(4-metoxifenil) acrílico [ácido 4-metoxicinámico]	93	3003033	4.43
13.592	4-metoxifenil-propanoato de etilo (4-metoxicinamato de etilo)	95	5712585	84.20
13.789	4-metoxifenil-propanoato de etilo (4-metoxicinamato de etilo)	96	2913852	4.30

Total: 100.00%

La identificaron los picos observados en el cromatograma de gases mediante la comparación de los espectros de masas experimentales con espectros de masas de compuestos de referencia, empleándose el programa de identificación de Hewlett-Packard (1996). Los picos que se observan en el cromatograma y no se incluyeron en el Cuadro 7.17 corresponden a fragmentos de dimetilpolisiloxano, ácidos grasos de cadena larga y derivados de éstos, que son productos de la degradación de la fase estacionaria de la columna capilar.

Figura 7.23 Cromatograma de gases de la mezcla de productos de la etapa 1B. Concentración: 1.00 mg/mL en metanol. Columna: HP-5 (25 m; 0.25 μ m diámetro interno). Gas acarreador: Helio (1.2 psi). Modo de inyección: Sin división (“splitless”). Temperatura en el inyector: 250 °C. Temperatura en el detector: 280 °C. Programa de temperatura: 50 °C x 3 min; 20 °C/min hasta 280 °C; 280 °C x 15 min.

116

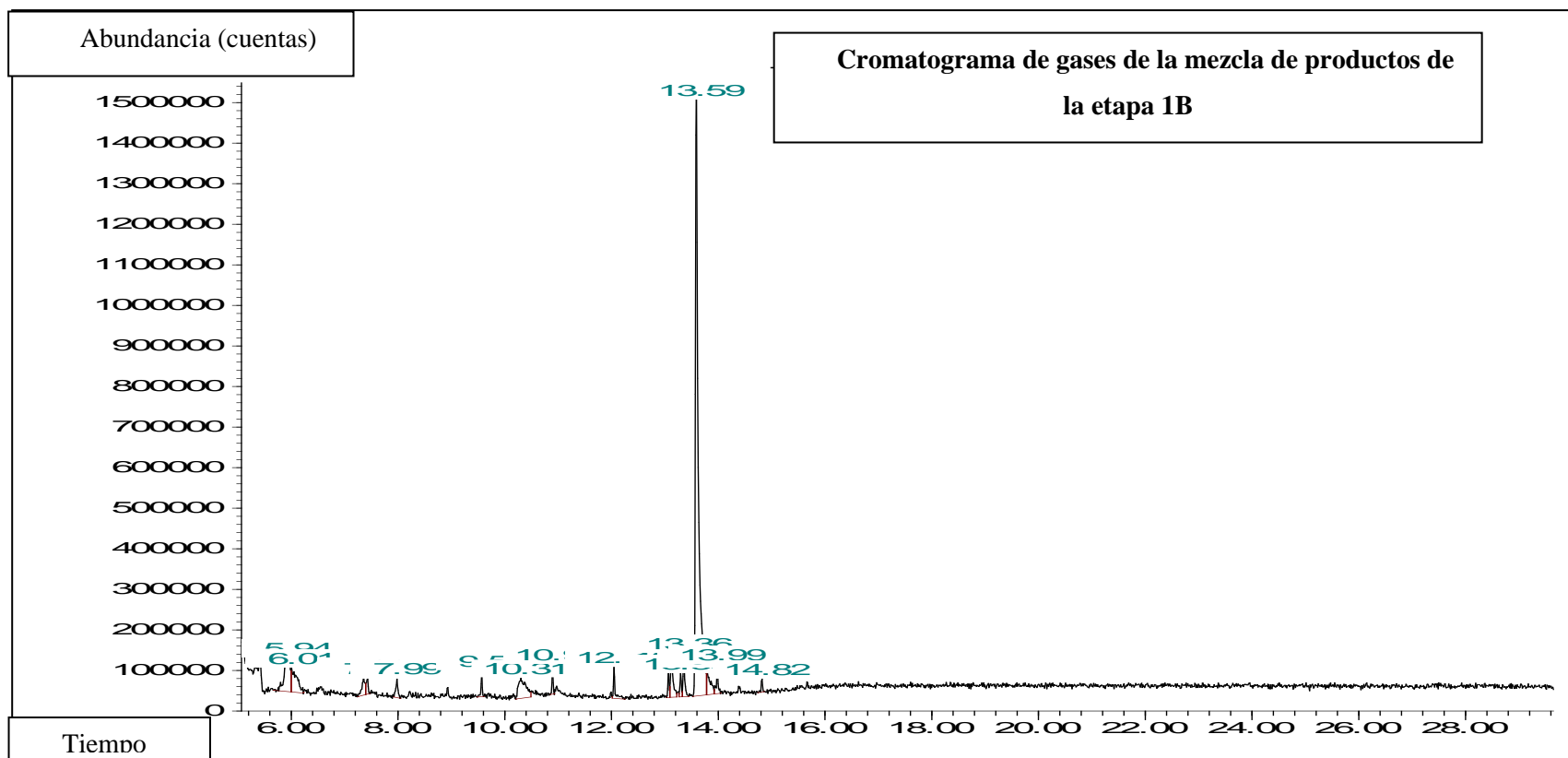


Figura 7.24 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 10.304 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1B, identificado como 4-metoxibenzaldehído con el 78% de coincidencia. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

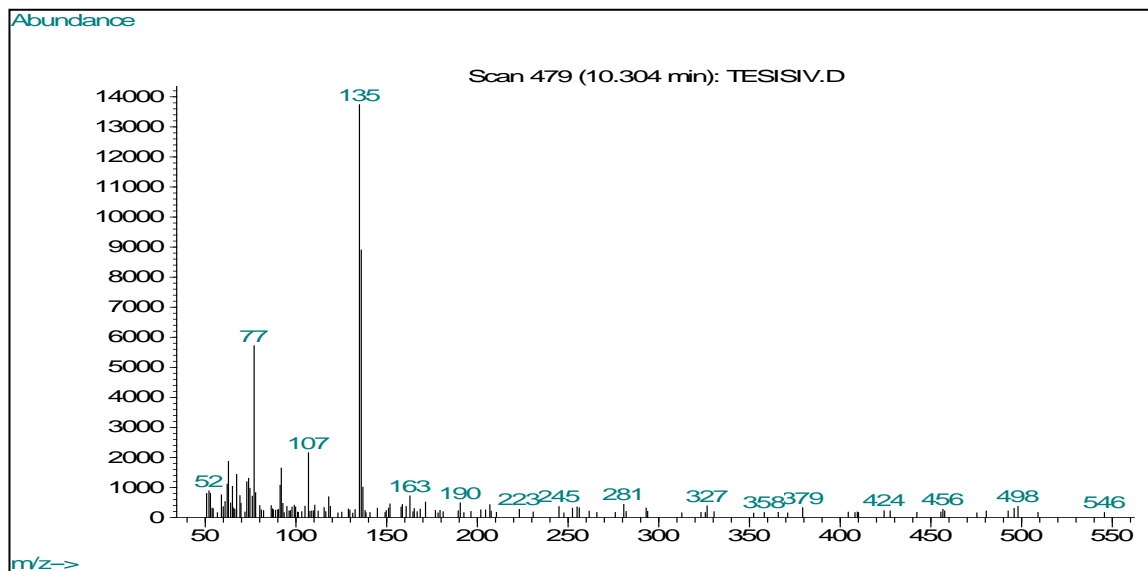


Figura 7.25 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 13.313 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1B, identificado como ácido (2E)-3-(4-metoxifenil acrílico [ácido 4-metoxicinámico] con el 93% de coincidencia. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

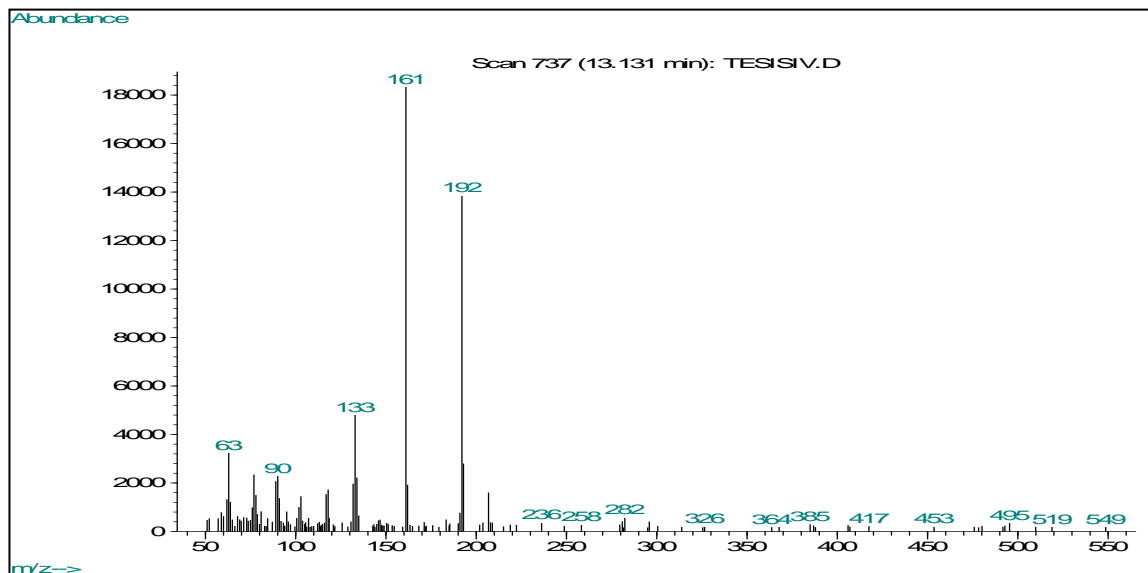


Figura 7.26 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 13.592 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1B, identificado como 4-metoxifenil-acrilato de etilo (4-metoxicinamato de etilo) con el 95% de coincidencia. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

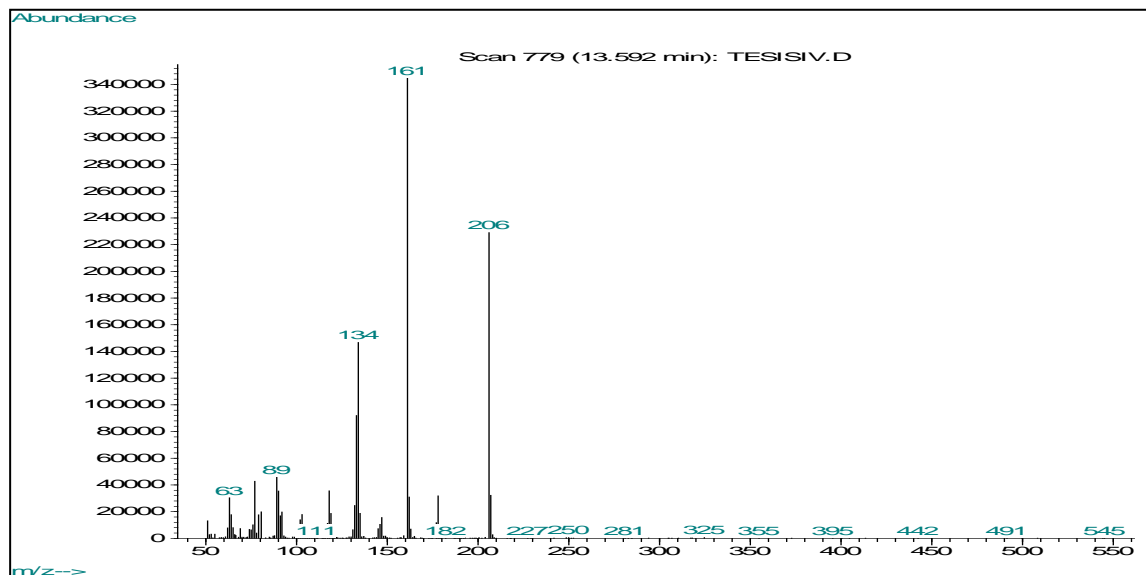
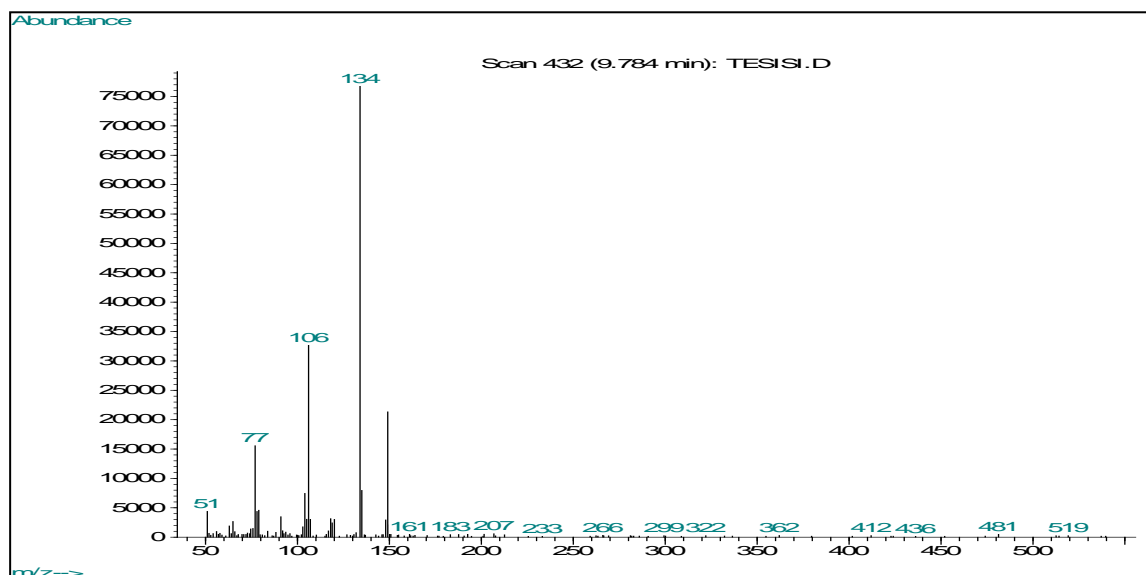


Figura 7.27 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 13.789 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 1B, identificado como 4-metoxifenil-acrilato de etilo (4-metoxicinamato de etilo) con el 96% de coincidencia. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.



**7.2.2 Observaciones al preparar 3-ciano-3-(4-metoxifenil)-propanoato de etilo.
Etapa No. 2B.**

Cuadro 7.18 Cambios observados al preparar 3-ciano-3-(4-metoxifenil)-propanoato de etilo
(Procedimiento 5.3.2.3.2)

Procedimiento	Observaciones y resultados
Flujo de nitrógeno en el sistema para mantener condiciones de atmósfera inerte. Temperatura del ambiente: 21 °C. Se utilizó la fase orgánica de la etapa anterior (Procedimiento 5.3.2.2.3).	
Adición de 100 mL de etanol al 95% en el balón de tres bocas de 500 mL que contiene a 22 mL de la fase orgánica del paso anterior. Adición de 4.5 mL de ácido acético glacial. Purgado del sistema con nitrógeno e inicio de la agitación. Calentamiento del sistema a 35 °C con el baño de agua. Mantener constante esta temperatura.	Solución de color amarillo-anaranjado, translúcida Una sola fase.
Adición de la solución de cianuro de potasio a la mezcla reaccionante.	Se emplearon 10.9 g de cianuro de potasio (0.118 mmol) disueltos en 25 mL de etanol al 95% y 75 mL de agua destilada.
Al concluir las 3 horas de calentamiento a 35-40 °C, retirar el balón del sistema, tapan el balón y cubrir el balón con papel de aluminio.	Cambió la apariencia de la solución de color rojo, translúcida y una sola fase (líquida) a una solución de color café, no-translúcida y de una sola fase (líquida).
Introducir el recipiente al congelador, a temperatura 0-3 °C. Dejar reposar a 0-3 °C durante 49 horas.	Solución de color anaranjado pardo, una sola fase (líquida).

Cuadro 7.19 Resultados de las pruebas de caracterización química de grupos funcionales realizadas a la mezcla que contiene al producto de la etapa 2B
[3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo] (Procedimiento 5.4.1.4)

Procedimiento	Resultado
Detección de aldehídos (2,4-dinitrofenilhidrazina) (Procedimiento 5.4.1.4.1)	Positivo. Confirma la presencia de aldehídos.
Detección de aldehídos (Prueba de Tollens) (Procedimiento 5.4.1.4.2)	Positivo. Confirma la presencia de aldehídos
Detección de aldehídos (Prueba de Benedict) (Procedimiento 5.4.1.4.3)	Positivo. Confirma la presencia de aldehídos.
Detección de anillos aromáticos (Cloruro de aluminio III) (Procedimiento 5.4.1.4.4)	Positivo. Confirma la presencia de anillo aromático (de tipo bencénico).
Detección de éteres (ácido pícrico) (Procedimiento 5.4.1.4.5)	Positivo. Confirma la presencia de éteres.

7.2.2.1 Detección e identificación de [3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo] con cromatografía de gases acoplado con espectrometría de masas con ionización por impacto de electrones y con espectrofotometría en infrarrojo medio. Etapa No. 2B.

Cuadro 7.20 Caracterización de la mezcla que contiene al producto de la etapa 2B [(3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo] con cromatografía de gases y espectrometría de masas con ionización por impacto de electrones (Procedimiento 5.4.1.5.3)

Tiempo de retención (min)	Nombre del compuesto detectado	Porcentaje de coincidencia	Área de pico (min x cuentas)	Porcentaje de este compuesto en la mezcla
10.498	4-metoxibenzaldehído [<i>p</i> -anisaldehído]	81	1373710	14.80
13.676	Ácido (2 <i>E</i>)-3-(4-metoxifenil) acrílico [ácido 4-metoxicinámico]	97	5003271	53.90
14.333	3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo	--- ^{1,2}	1263089	13.61
15.539	(2 <i>E</i>)-3-(4-metoxifenil)-2-propen-1,1,1-trinitrilo	--- ^{1,2}	1329139	14.32
15.670	1-hidroxi-3-(4-metoxifenil) propano-1,1,3-trinitrilo	--- ^{1,2}	313133	3.37
				Total: 100.00%

La identificaron los picos observados en el cromatograma de gases mediante la comparación de los espectros de masas experimentales con espectros de masas de compuestos de referencia, empleándose el programa de identificación de Hewlett-Packard (1996). Los picos que se observan en el cromatograma y no se incluyeron en el Cuadro 7.20 corresponden a fragmentos de dimetilpolisiloxano, ácidos grasos de cadena larga y derivados de éstos, que son productos de la degradación de la fase estacionaria de la columna capilar.

¹ La identificación se realizó según los picos observados en el cromatograma de gases, la presencia del pico correspondiente el ion molecular y al verificarse la presencia de los fragmentos propuestos posibles para cada uno de los compuestos enunciados.

² Los fragmentos propuestos para estos compuestos se muestran en el anexo, Figuras 12.4, 12.5 y 12.6, respectivamente.

Figura 7.28 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 13.676 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 2B, identificado como ácido (2E)-3-(4-metoxifenil) acrílico [ácido 4-metoxicinámico] con el 97 % de coincidencia. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

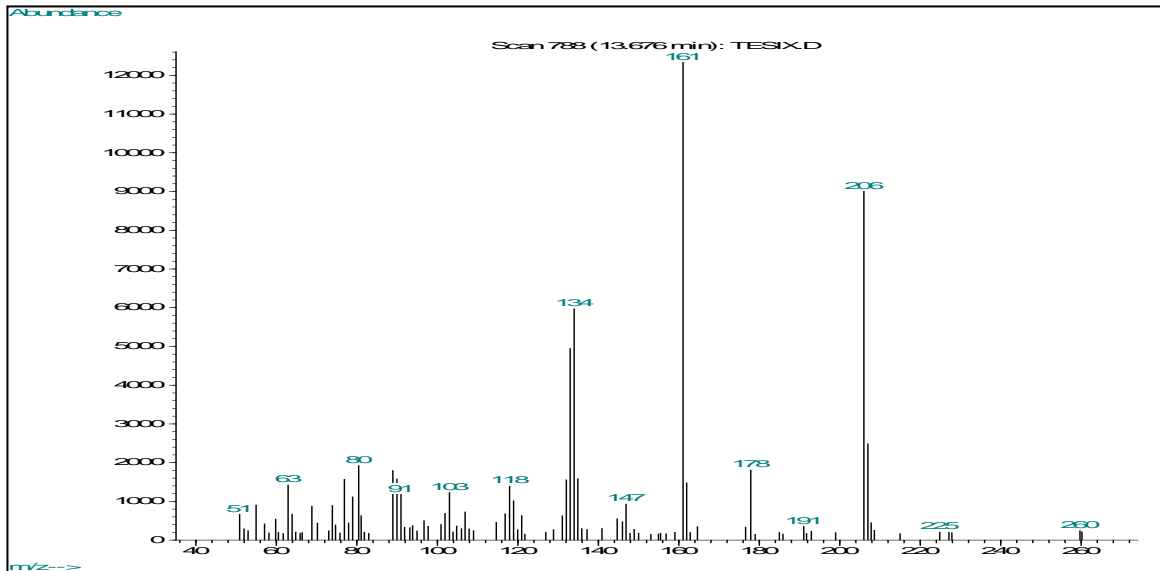


Figura 7.29 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 14.333 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 2B, identificado como 3-ciano-3-(4-metoxifenil)-propanoato de etilo. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

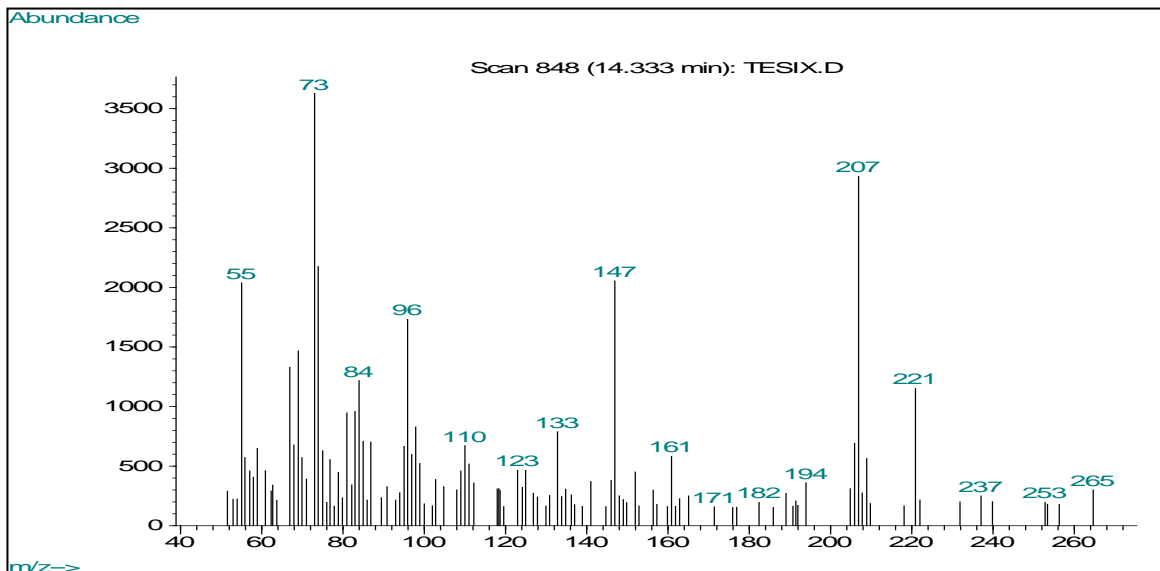


Figura 7.30 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 15.539 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 2B, identificado como (2E)-3-(4-metoxifenil)-2-propen-1,1,1-trinitrilo. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

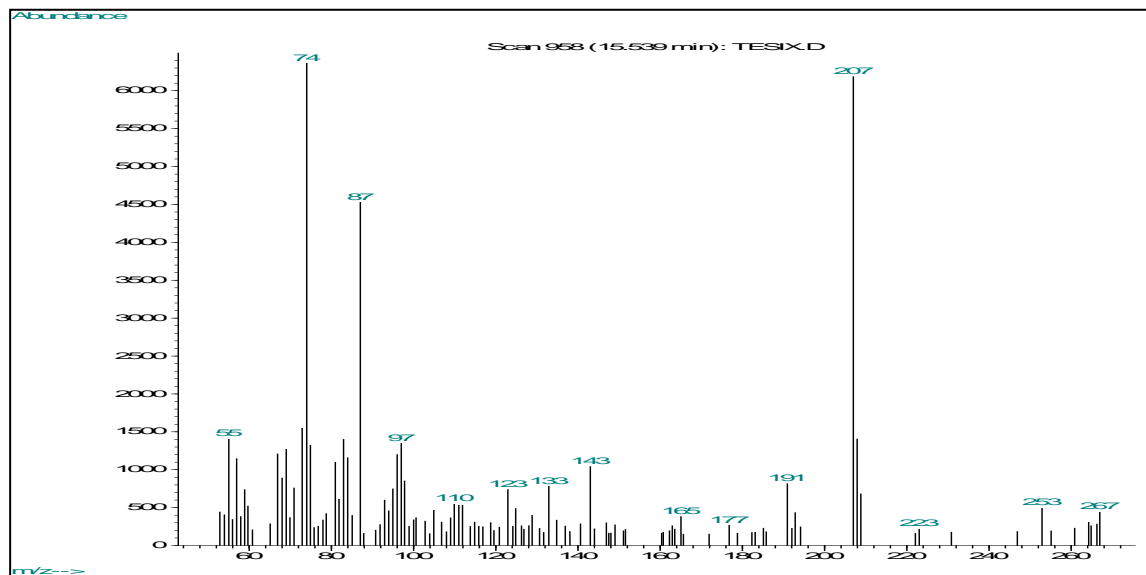
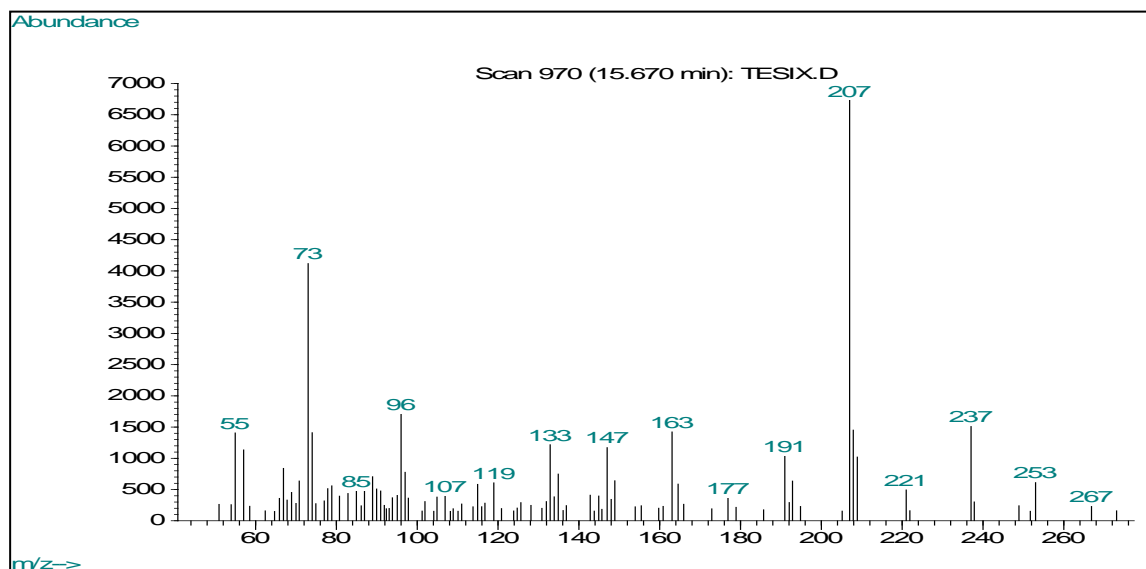


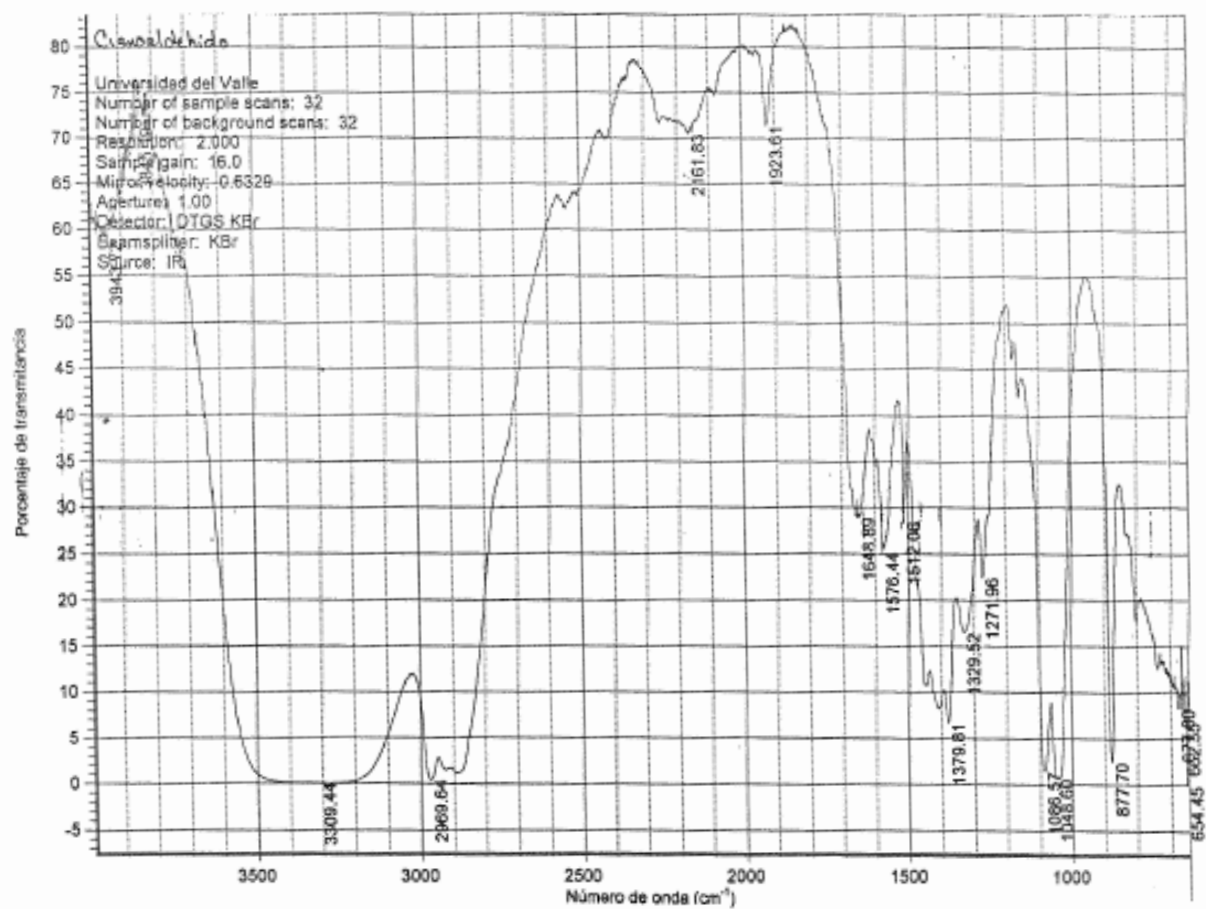
Figura 7.31 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 15.670 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 2B, identificado como 1-hidroxi-3-(4-metoxifenil) propano-1,1,3-trinitrilo. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.



Cuadro 7.21 Asignación de grupos funcionales en el espectro de absorción molecular en infrarrojo medio (IR) de la mezcla que contiene al producto de la etapa 2B [(3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo] (Procedimiento 5.4.1.5.1)

Número de onda (cm ⁻¹) observado	Posibles grupos funcionales que presentan absorción en este número de onda	
Banda intensa, muy ancha y sin estructura fina entre 3700 cm ⁻¹ y 3030 cm ⁻¹ , con centro en 3400.96 cm ⁻¹	3700-3584 3623 3333 3300-3100 3300-2500 3100-2990 3095-3075 3040-3010 >3000	O-H Hidroxilos libres (sin puentes de hidrógeno). Banda intensa y delgada. O-H Hidroxilo. Monómero. O-H Hidroxilo. Polímero (con puentes de hidrógeno). O-H Hidroxilo con puentes de hidrógeno. O-H Dímeros (puentes de hidrógeno). Banda ancha e intensa, con centro en aproximadamente 3300 cm ⁻¹ . C-H Metileno y metino de alcanos cíclicos. C-H Metileno. C-H Alqueno. C-H Alqueno, protones en anillo aromático.
2972.61	3000-2840 2962	C-H Alcano. C-H Metilo. Adyacente de un carbonilo aumenta la intensidad de la banda, pero a menor frecuencia (1439-1399 cm ⁻¹).
~ 2930	2926	C-H Metileno (± 10 cm ⁻¹).
~ 2895	2900-2800 2890 2872	CHO Banda débil. Resonancia de Fermi en ~1390 cm ⁻¹ C-H Carbono terciario. C-H Metilo.
Ausentes de bandas en la región 2200-2000 cm ⁻¹	2260-2240 2240-2214 2200-2070	CN Banda intensa a medio-intensa. CN Nitrilo conjugado con un alqueno. CN Cianuro libre.
1921.77 Banda doble, intensa.	2000-1650	Anillo aromático 1,4-disustituido, intensidad débil.
~ 1600	1690-1665 1685-1666 1685-1650 1678-1668 1675-1665 1667-1640 1650-1600 1650-1460	C=C Ar-C=C-C=O (α,β -insaturado con fenilo) C=O Carbonilo conjugado con alqueno o arilo (α,β -insaturados). C=N Alifático. C=C Alqueno trans disustituido. Intensidad variable. C=C Alqueno trisustituido, intensidad débil. C=C Alqueno no-conjugado. C=O α,β -insaturado Alqueno trisustituido. Dos bandas de intensidad media.
1560.28 Banda ancha e intensa.	1650-1460	Alqueno trisustituido. Dos bandas de intensidad media.
~ 1480 Banda ancha.	1650-1460	Alqueno trisustituido. Dos bandas de intensidad media.
~ 1450	1465 1450	C-H Metileno. C-H Metilo. Adyacente de un carbonilo aumenta la intensidad de la banda, pero a menor frecuencia (1439-1399 cm ⁻¹)
1408.07	1440-1395 1420	O-H Ácido carboxílico. O-H Alcohol secundario.
~1385	1375	C-H Metilo.
1325.72	1330 1320-1210	O-H Alcohol secundario. C-O Ácido.
1255.25	1275-1200 1260-1000	C-O-C Ar-C-O-Al (Aрил-алquil éteres) C-O Alcohol.
~1205	1210-1100	C-O Alcohol terciario.
1173.04	1125-1000	C-O Alcohol secundario.
1086.31	1120-1080	Anillo aromático 1,4-disustituido. Intensidad media.
1045.83	1075-1020 1075-1000 1040-1000	C-O-C Ar-C-O-Al (Aрил-алquil éteres) C-O Alcohol primario. Anillo aromático 1,4-disustituido. Intensidad media
877.17	1000 - 650 900 - 675	C-H Alqueno. C-H Hidrógenos adyacentes en aromáticos homonucleares.

Figura 7.32 Espectro de absorción molecular en infrarrojo medio (IR) de la mezcla de productos de la etapa 2B obtenido por reflectancia total atenuada sobre cristal de cristal de selenuro de zinc (ZnSe)



7.2.3 Observaciones al preparar los derivados γ -butanólidos: 3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona. Etapa No. 3B.

Cuadro 7.22 Cambios observados a los derivados γ -butanólidos:
3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona
(Procedimiento 5.3.2.4)

Procedimiento	Observaciones y resultados
Se emplearon 20 mL de la mezcla del procedimiento de la etapa 2 (Procedimiento 5.3.2.3.2). Solución de color anaranjado pardo, una sola fase (líquida).	
Enfriar de nuevo a mezcla con un baño de hielo y cloruro de sodio. Iniciar agitación. Agregar lenta y cuidadosamente ácido clorhídrico concentrado.	Se emplearon 35.0 mL de ácido clorhídrico concentrado en lugar de 53.6 mL, con base en la cantidad empleada para esta etapa y la estequiometría correspondiente. Al agregar el ácido clorhídrico se generó gas de color blanco; se observó un rastro blanquecino en la pared del balón al caer la gota del ácido. La temperatura de la mezcla aumentó y osciló entre 10 °C y 15 °C. Tiempo total de adición: 10 minutos. Al terminar la adición la mezcla era de color mostaza. Se observaron dos fases líquidas, inmiscibles entre sí: Una, de color mostaza claro y mayoritaria; y la otra, de color café, en la parte superior de la mezcla. Además, se observaron sólidos suspendidos de color anaranjado en la superficie de la mezcla.
Al terminar la adición, calentar suavemente hasta obtener un reflujo constante durante 4 horas. Verificar constantemente que la temperatura no pase de 90 °C.	Se generó gas (que burbujeó directamente en la trampa de gases). La mezcla reflujo durante 4 horas a 94 °C. Durante el calentamiento, las tres fases observadas anteriormente se mezclaron. Al final del reflujo, la mezcla fue una solución de una sola fase, de color anaranjado-mostaza. No se observó separación de dos fases (acuosa ni orgánica).

Cuadro 7.23 Resultados de las pruebas de caracterización química de grupos funcionales realizadas al producto de la etapa 3B derivados γ -butanólidos:
3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona
(Procedimiento 5.4.1.4)

Procedimiento	Observaciones y resultados
Descripción del producto final	Sólido de color café oscuro.
Temperatura de fusión	285-323 C. El sólido se decoloró a aproximadamente 294 °C.
Detección de aldehídos (2,4-dinitrofenilhidrazina) (Procedimiento 5.4.1.4.1)	Negativo. Confirma la ausencia de aldehídos.
Detección de aldehídos (Prueba de Tollens) (Procedimiento 5.4.1.4.2)	Negativo. Confirma la ausencia de aldehídos
Detección de aldehídos (Prueba de Benedict) (Procedimiento 5.4.1.4.3)	Negativo. Confirma la ausencia de aldehídos.
Detección de anillos aromáticos (Cloruro de aluminio III) (Procedimiento 5.4.1.4.4)	Positivo. Confirma la presencia de anillo aromático (de tipo bencénico).
Detección de éteres (ácido pícrico) (Procedimiento 5.4.1.4.5)	Positivo. Confirma la presencia de éteres.

**7.2.3.1 Detección e identificación de los derivados γ -butanólidos:
3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona por
cromatografía de gases acoplado con espectrometría de masas con ionización
por impacto de electrones y con espectrofotometría en infrarrojo medio. Etapa No. 3B.**

Cuadro 7.24 Caracterización de la mezcla que contiene los productos de la etapa 3B derivados γ -butanólidos: 3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona por cromatografía de gases y con espectrometría de masas con ionización por impacto de electrones (Procedimiento 5.4.1.5.3)

Tiempo de retención (min)	Nombre del compuesto detectado	Porcentaje de coincidencia	Área de pico (min x cuentas)	Porcentaje de este compuesto en la mezcla
13.648	Ácido (2E)-3-(4-metoxifenil) acrílico [ácido 4-metoxicinámico]	97	3888108	8.71
14.239	3-(4-metoxifenil) dihidrofuran-2,5-diona	--- ^{3,4}	907078	2.03
14.502	5-hidroxi-3-(4-metoxifenil) dihidrofuran-2(3H)-ona	--- ^{3,4}	9834920	22.02
14.722	1-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-propano-1,1,3-trinitrilo	--- ^{3,4}	6777660	15.18
16.157	Ácido 4-etoxi-2-(4-metoxifenil)-4-oxobutanóico	--- ^{3,4}	2418448	5.42
16.442	Ácido 2-(4-metoxifenil) succínico	--- ^{3,4}	14744771	33.02
17.023	Ácido 1-hidroxi-3-(4-metoxifenil) propano-1,1,3-trióico	--- ^{3,4}	1964640	4.40
17.077	Ácido 2-[4-amino-1,4,4-trihidroxi-3-(4-metoxifenil)butil] propenodiiimídico	--- ^{3,4}	4119888	9.23
Total:				100.00%

La identificaron los picos observados en el cromatograma de gases mediante la comparación de los espectros de masas experimentales con espectros de masas de compuestos de referencia, empleándose el programa de identificación de Hewlett-Packard (1996). Los picos que se observan en el cromatograma y no se incluyeron en el Cuadro 7.24 corresponden a fragmentos de dimetilpolisiloxano, ácidos grasos de cadena larga y derivados de éstos, que son productos de la degradación de la fase estacionaria de la columna capilar.

³ La identificación se realizó con base en los picos observados en el cromatograma de gases, la presencia del pico correspondiente el ion molecular y al verificarse la presencia de los fragmentos propuestos posibles para cada uno de los compuestos enunciados.

⁴ La estructura de los compuestos identificados en el Cuadro 7.24 en el cromatograma de gases de la mezcla de productos de la etapa 3 del procedimiento alternativo se muestran en la Figura 13.4 del anexo.

Figura 7.33 Cromatograma de gases de la mezcla de productos de la etapa 3B. Concentración: 0.50 mg/mL en metanol. Columna: HP-5 (25 m; 0.25 µm diámetro interno). Gas acarreador: Helio (1.2 psi). Detector: Modo de inyección: Sin división (“splitless”). Temperatura en el inyector: 250 °C. Temperatura en el detector: 280 °C. Programa de temperatura: 50 °C x 3 min; 20 °C/min hasta 280 °C; 280 °C x 15 min.

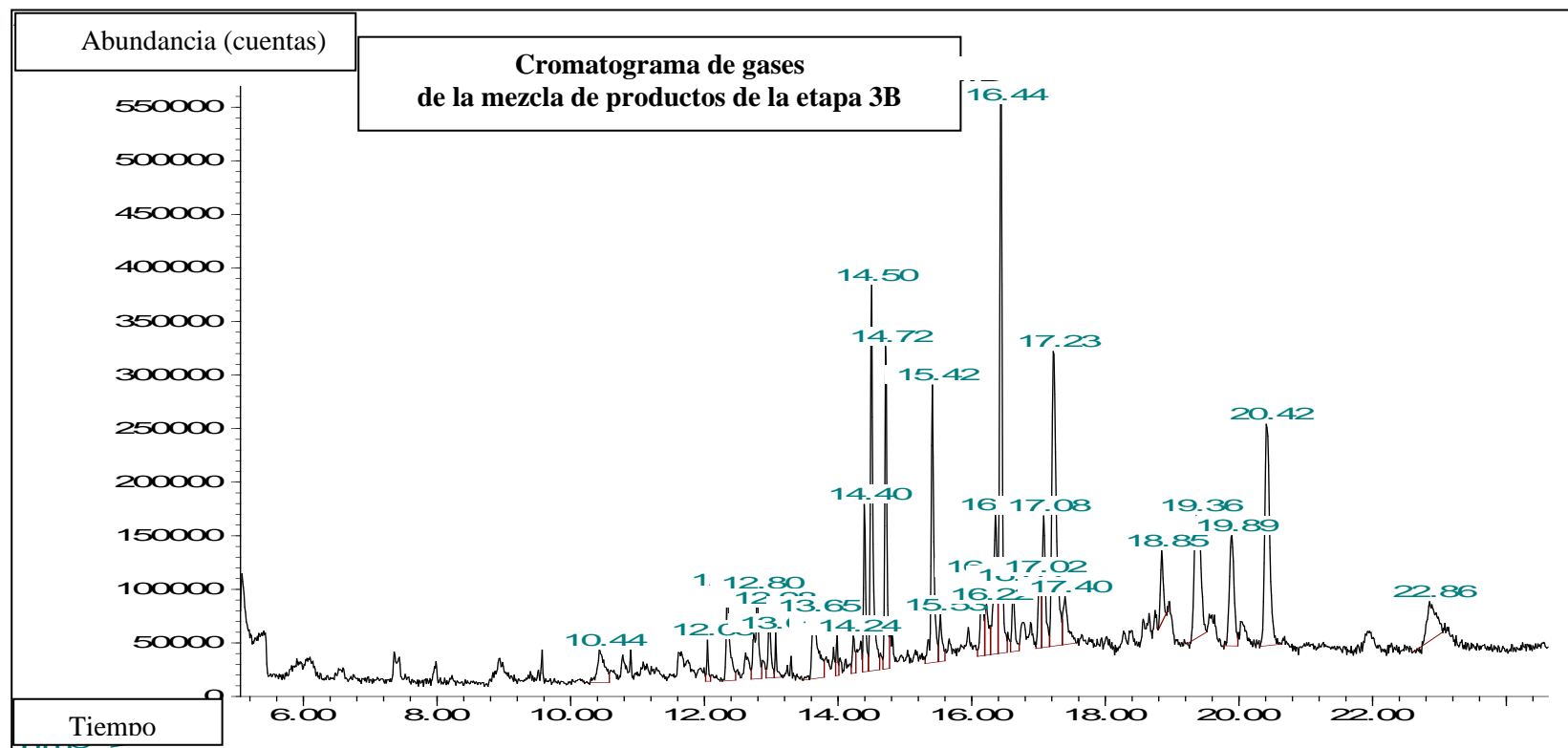


Figura 7.34 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 13.648 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3B identificado como ácido (2E)-3-(4-metoxifenil) acrílico [ácido 4-metoxicinámico]. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

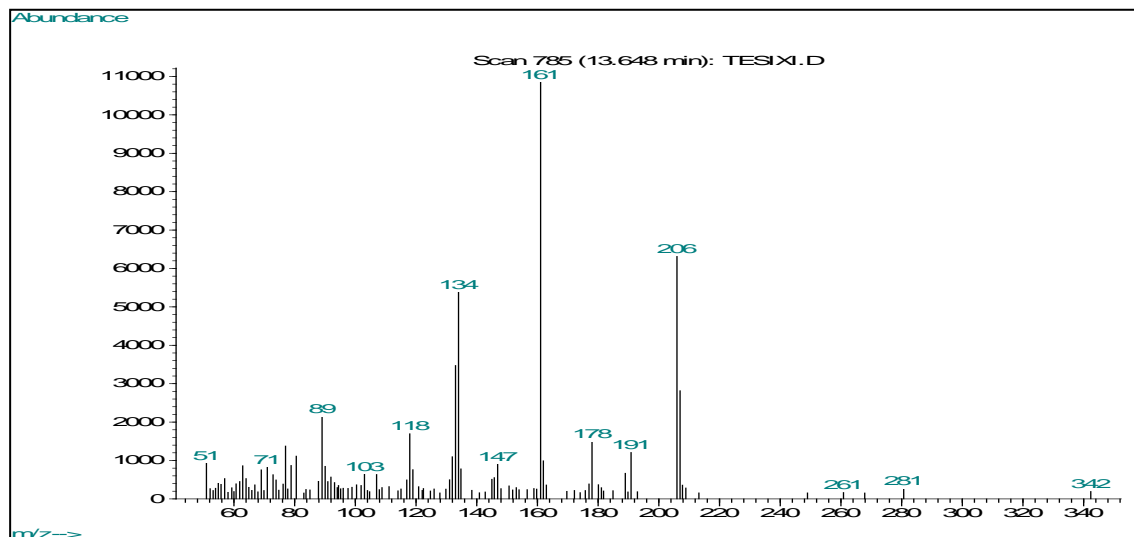


Figura 7.35 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 14.239 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3B, identificado como 3-(4-metoxifenil)-furan-2,5-diona. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

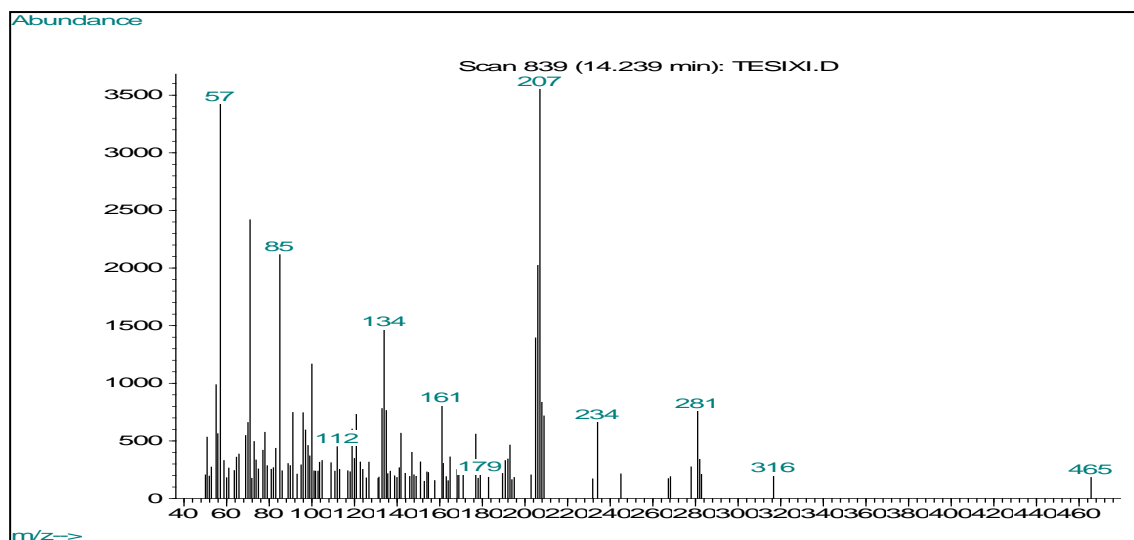


Figura 7.36 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 14.502 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3B, identificado como 3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y/o 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona
Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

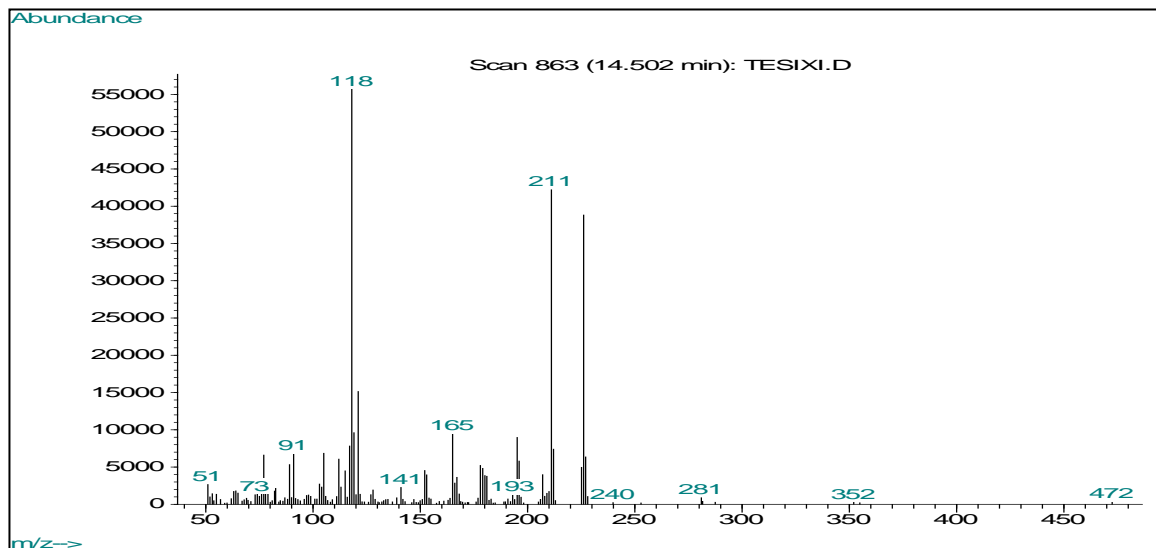


Figura 7.37 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 14.722 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3B, identificado como 1-hidroxi-3-(4-metoxifenil) propano-1,1,3-trinitrilo.
Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

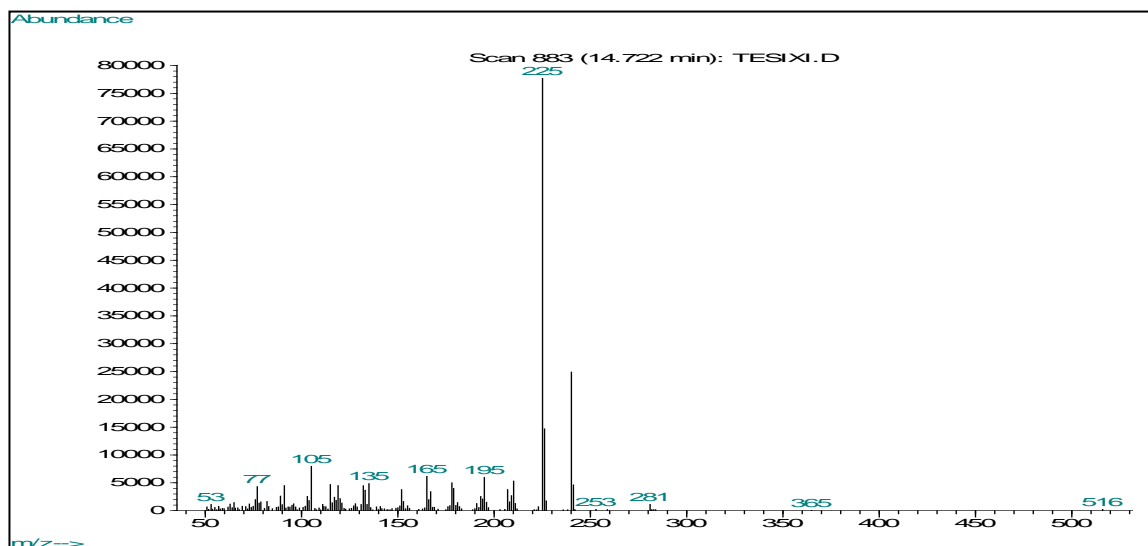


Figura 7.38 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 16.157 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3B, identificado como ácido 4-etoxi-2-(4-metoxifenil)-4-oxobutanóico. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

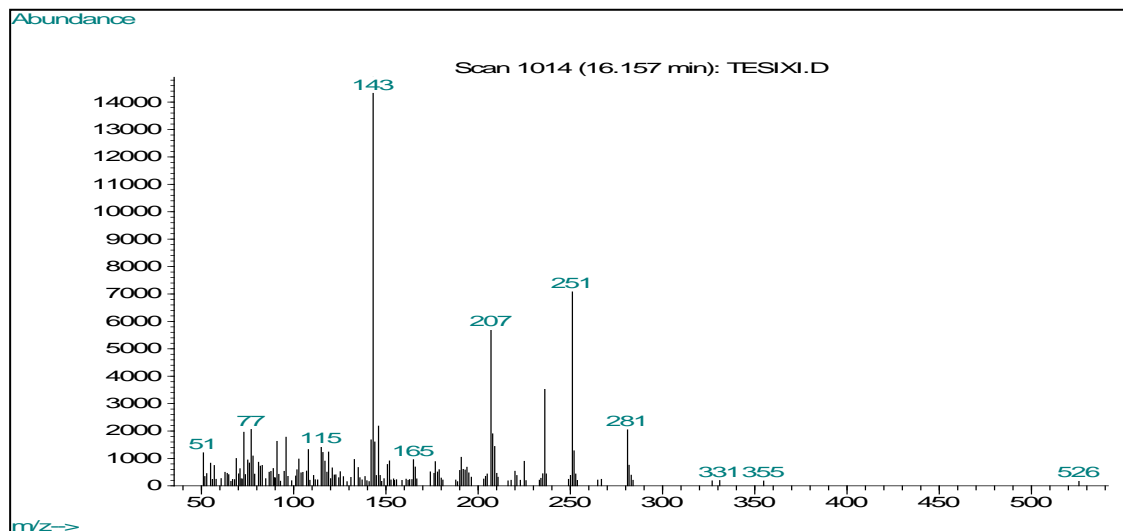


Figura 7.39 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 16.442 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3B, identificado como ácido 2-(4-metoxifenil) succínico. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

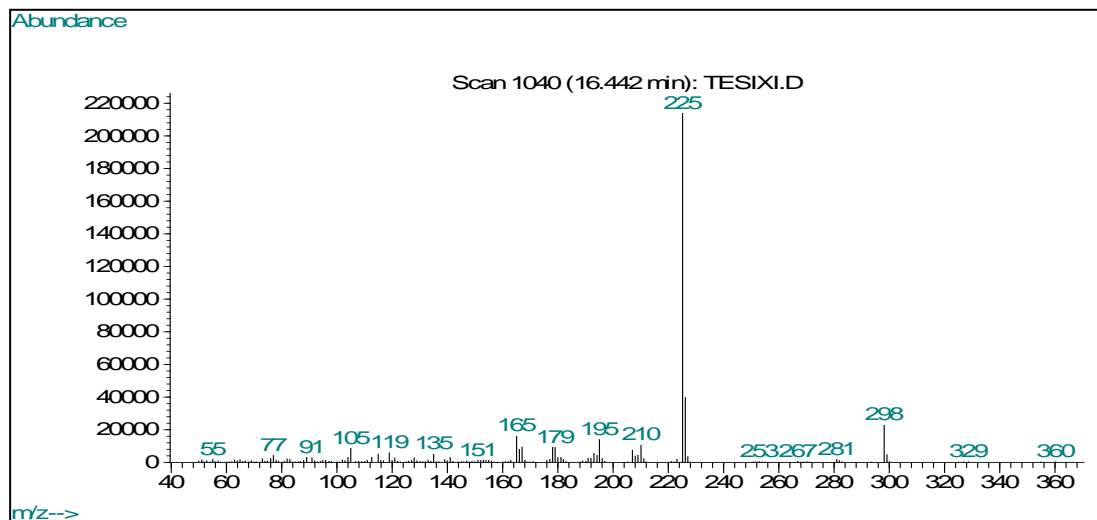


Figura 7.40 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 17.023 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3B, identificado como ácido 1-hidroxi-3-(4-metoxifenil) propano-1,1,3-trióico. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.

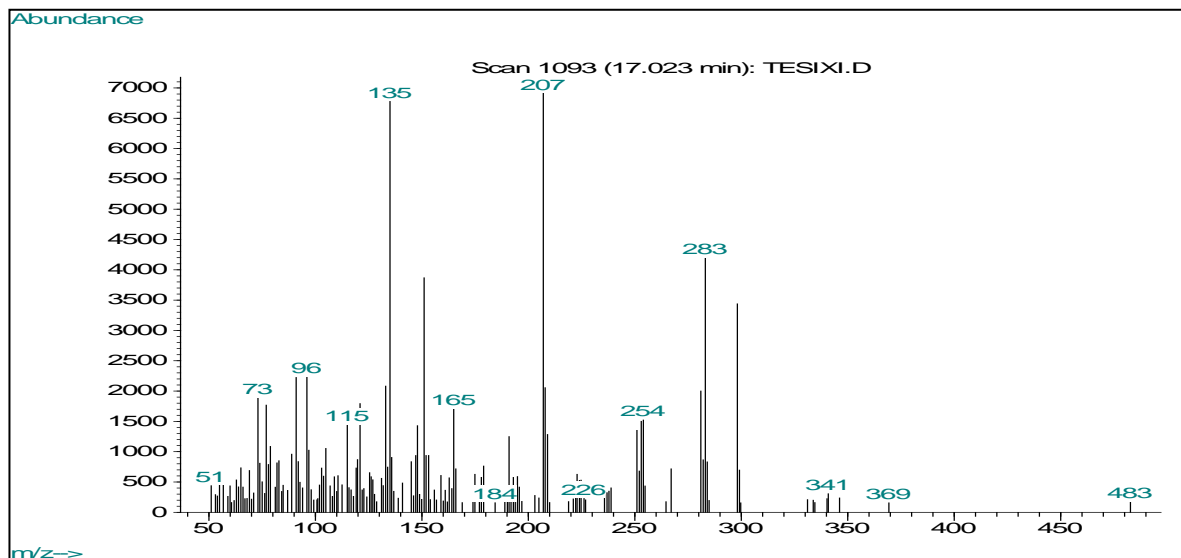
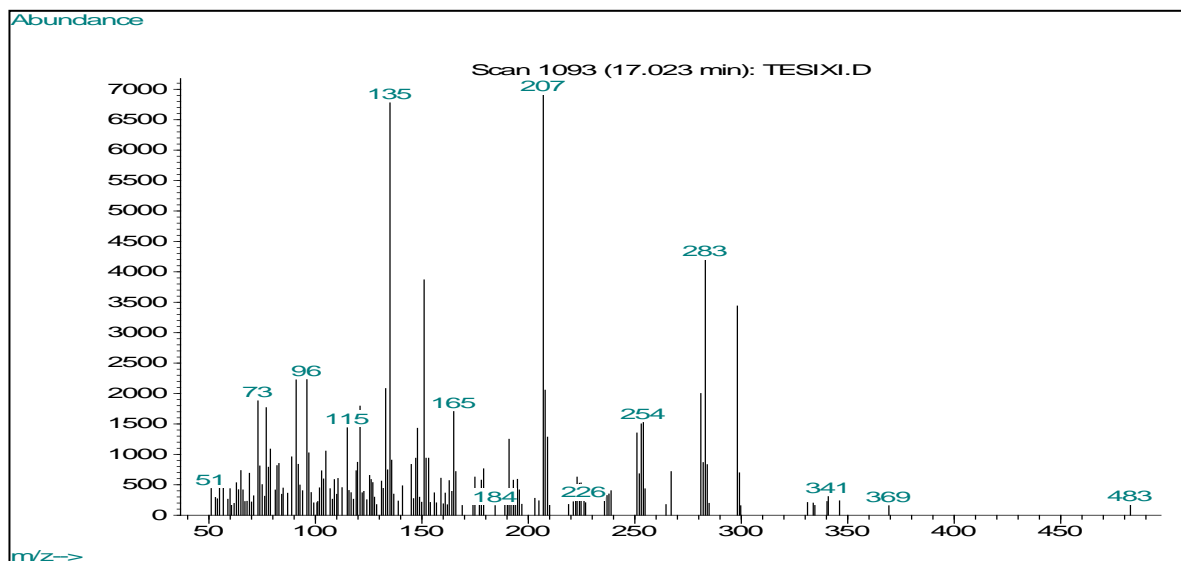


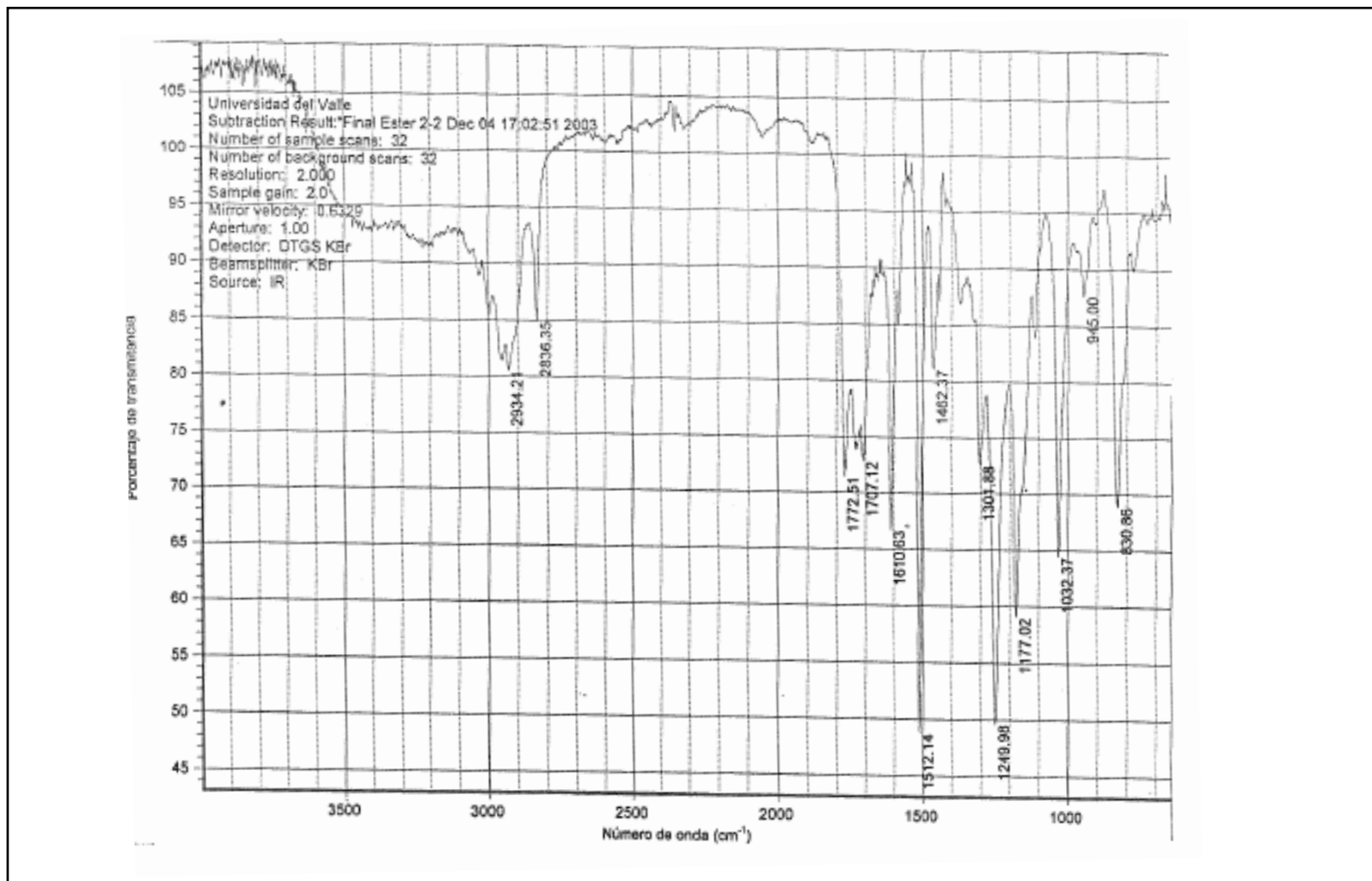
Figura 7.41 Espectro de masas del pico observado con tiempo de retención de 17.077 min en el cromatograma de gases de la mezcla de productos la etapa 3B, identificado como ácido 2-[4-amino-1,4,4-trihidroxi-3-(4-metoxifenil)butil]-propenodimídico. Concentración: 1.00 mg/mL diluido con metanol.



Cuadro 7.25 Asignación de grupos funcionales en el espectro de absorción molecular en infrarrojo medio (IR) de la mezcla que contiene a los productos de la etapa 3B derivados γ -butanólidos: 3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona (Procedimiento 5.4.1.5.1)

Número de onda (cm ⁻¹) observado	Posibles grupos funcionales que presentan absorción en este número de onda		
3105.38 ~ 3080 ~ 3040	3150-2990 3095-3075 3040-3010 >3000	C-H C-H C-H C-H	Metileno y metino de alcanos cíclicos. Metileno. Alqueno. Alqueno, protones en anillo aromático.
~ 2960	2962	C-H	Metilo. Adyacente de un carbonilo aumenta la intensidad de la banda pero a menor frecuencia (1439-1399 cm ⁻¹)
2934.21	2926	C-H	Metileno (± 10 cm ⁻¹).
2836.35	2900-2800 2890 2872 2853 2850-2815	CHO C-H C-H C-H C-O	Banda débil. Resonancia de Fermi en ~1390 cm ⁻¹ Carbono terciario. Metilo. En alifáticos. O-Me (Metil éteres)
1772.51 ~ 1760 1728.78	1800-1740	C=O	Monómero de ácidos alifáticos. Banda más intensa que la de las cetonas
1707.12	1720-1706 1710-1685 1710-1680	C=O C=O R-C=O	Dímero de ácido (puentes de hidrógeno). Ar-C=O (aldehídos aromáticos) y compuestos α,β -insaturados Ácido carboxílico aromático o insaturado.
1610.63	1650-1600 1650-1600 1650-1460	C=C C=O	α,β -insaturados Alqueno trisustituido. Dos bandas de intensidad media.
~ 1590 1512.14	1650-1460 ~1595	C=C	Alqueno trisustituido. Dos bandas de intensidad media. CH=C-C=O, alqueno conjugado con carbonilo.
1462.37 ~ 1440	1650-1460 1465 1450	C-H C-H	Alqueno trisustituido. Dos bandas de intensidad media. Metileno. Metilo. Adyacente de un carbonilo aumenta la intensidad de la banda pero a menor frecuencia (1439-1399 cm ⁻¹)
~ 1370	1375	C-H	Metilo.
1301.88	1320-1210 1315-1280	C-O C-O	Ácido carboxílico. Dímero de ácido (puentes de hidrógeno).
1246.96 1177.02	1320-1210 1315-1280 ~1180	C-O C-O C=O	Ácido carboxílico. Dímero de ácido (puentes de hidrógeno). γ -lactonas y δ -lactonas
~ 1150 ~ 1105	1150-1085 1125-1000 1120-1080 1120-1080 1075-1020	C-O-C C-O C-O C-O-C	Al-O-Al (Éter alifáticos) Alcohol secundario. Alqueno trisustituido, intensidad media. Anillo aromático 1,4-disustituido. Intensidad media. Ar-C-O-Al (Aрил-alkil éteres)
1032.37	1075-1000 1040-1000 1000 - 650	C-O C-H	Alcohol primario. Anillo aromático 1,4-disustituido. Intensidad media Alqueno.
945.00 830.86 ~ 780	~ 960 960 - 880 900 - 675 ~ 950 840 - 800 840 - 790	C-H OC-OH C-H C-H C=C	CH=CH-C-OR Banda ancha e intensa (generalmente sólo en dímeros). Hidrógenos adyacentes en aromáticos homonucleares. CH=CH-O-C=O Anillo aromático 1,4-disustituido. Dos bandas intensas. La banda a mayor frecuencia es más intensa. Alqueno trisustituido, intensidad media.

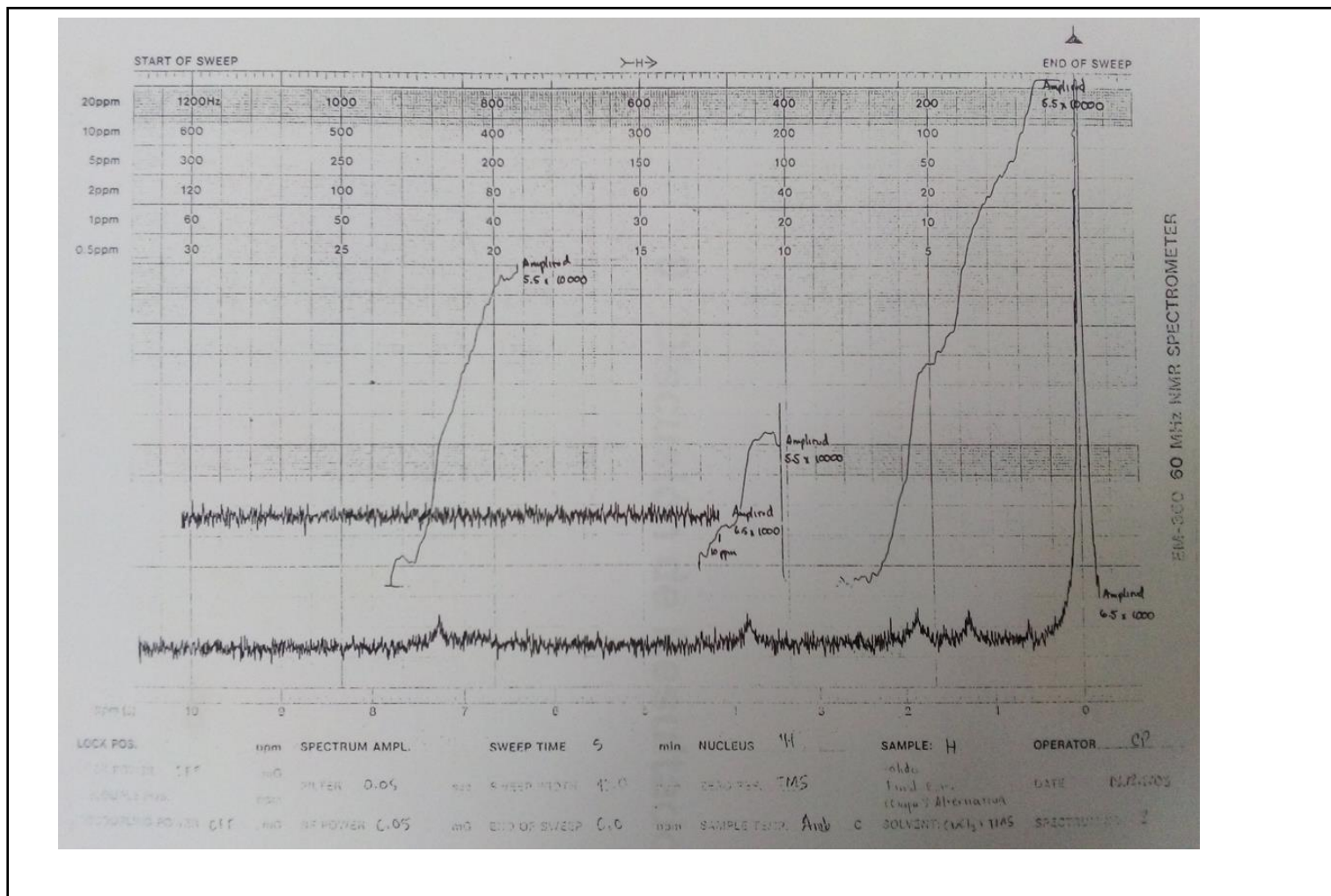
Figura 7.42 Espectro de absorción molecular en infrarrojo medio (IR) de la mezcla de productos de la etapa 3B obtenido por transmisión sobre tabletas de bromuro de potasio.



Cuadro 7.26 Resultados de la interpretación del espectro de resonancia magnética nuclear de protones de la mezcla de productos obtenidos en la etapa 3B

Desplazamiento químico observado (ppm ± ppm)	Protones que presenta desplazamiento químico semejante (ppm ± ppm)	
7.30	H – Ar H ₂ –C=C conjugado H–C(R)=C	Aromático Vinilo Metino (C 3°) acíclico conjugado
3.80	H ₃ C – O	Metilo (éter)
2.20	HC–(C=O)(H) HC–(C=O)(R) HC–(C=O)(OH) H ₂ C–(C=O)(H) H ₂ C–(C=O)(OH) H ₂ C–(C=O)(R)	Metino (C 3°) Metino (C 3°) Metino (C 3°) Metileno Metileno Metileno
1.60	HC– R ₃ HC–(Ar)(CN)(CH ₂) HC–(Ar)(COOH)(CH ₂) HC–C–O–(C=O)(R) HC–C=C H ₂ C–C–CH ₂	Metino (C 3°) Metino (C 3°) Metino (C 3°) Metileno Metilo Metino
1.29	H ₂ C saturado H ₂ C–CH ₂ –C (3°) HC–CH ₂ –C (3°) H ₂ N–R HC–C–O–Ar HC–C–O–(C=O)(R)	Metileno Metileno Metino (C 3°) Amina primaria Metilo Metilo

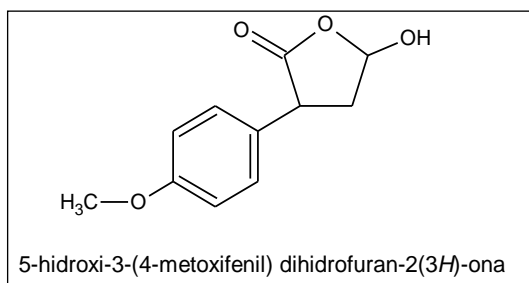
Figura 7.43 Espectro de resonancia magnética nuclear de protones ($^1\text{H-NMR}$) del producto de la etapa 3, disuelto en cloroformo deuterado como solvente



8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El objetivo principal de este trabajo de investigación fue sintetizar el derivado γ -hidroxibutanólido [5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2(3*H*)-ona] (Figura 8.1) con el procedimiento propuesto originalmente.

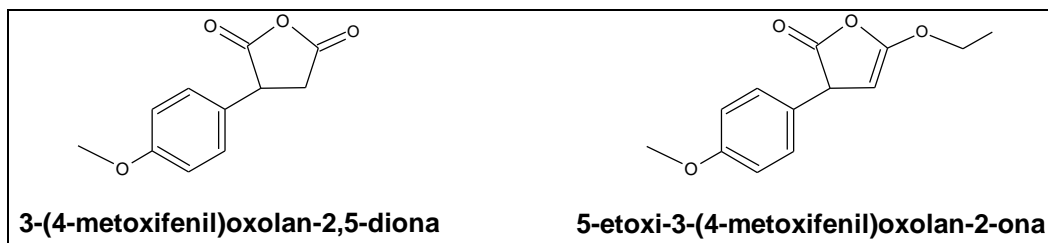
Figura 8.1 Estructura química de 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2(3*H*)-ona



Durante la ejecución del procedimiento fue necesario variar significativamente al orden de adición de los reactivos respecto al planteamiento original para intentar obtener el mismo compuesto final ya que los resultados y colores observados de cada etapa durante las reacciones no fueron las esperadas tal como se discute más adelante.

Según las modificaciones y resultados fue necesario proponer y desarrollar otro procedimiento, denominado alternativo, cuyo compuesto objetivo a sintetizar fue al menos un derivado γ -hidroxibutanólido; Debido a los reactivos, estabilidad y reactividad de los productos intermedios así como su mecanismo de reacción, y según los resultados de caracterización en este trabajo, se propone que se obtuvieron, por lo menos, dos compuestos químicos con diferencias en su estructura química con diferencia a los derivados γ -hidroxibutanólidos que pudieran tener semejantes efectos sobre la fosfolipasa A_2 .

Figura 8.2 3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona
Derivados γ -hidroxibutanólicos obtenidos en el procedimiento B
(alternativo, propuesta en el presente trabajo)
que pudieran tener semejantes efectos sobre la fosfolipasa A₂.



8.1 Criterios para el análisis de los resultados experimentales de las distintas etapas de cada procedimiento.

Se dio seguimiento a las etapas de cada procedimiento según los resultados de:

- Las observaciones de los cambios en las mezclas de reacción de cada paso del procedimiento para cada etapa.
- Las pruebas de caracterización química de grupos funcionales realizadas a los productos o mezclas de productos de cada etapa.
- El análisis del cromatograma de gases de la mezcla de productos de cada etapa.
- Análisis de los espectros de masas de picos de interés de los compuestos que generaron picos importantes en intensidad correlacionado con tiempo de retención dentro del intervalo de temperatura de ebullición posible de los compuestos esperados en el cromatograma de gases respectivo.
- Análisis del espectro de absorción molecular en infrarrojo medio de la mezcla de productos de cada etapa (cuando fue posible y de utilidad crítica) para verificar la formación del producto de esa etapa, necesario para continuar con la siguiente etapa de síntesis.
- Análisis del espectro de resonancia magnética nuclear de protones de los productos finales, para corroborar los resultados obtenidos en los análisis anteriores.

A continuación, se detalla la importancia y criterios aplicados en cada paso del análisis de resultados:

8.1.1 Las observaciones de los cambios de cada paso del procedimiento.

Las observaciones de los cambios de la mezcla reaccionante permitieron dar seguimiento cualitativo al desarrollo de la reacción.

Cada procedimiento se realizó cuatro veces con la finalidad de optimizar los sistemas y procedimientos utilizados (cuya versión final se presentan en el marco metodológico). La repetición de los procedimientos permitió conocer los cambios y aspectos necesarios para detectar y corregir errores, como por ejemplo formación de un precipitado anaranjado al agregar 4-metoxibenzaldehído antes que acetaldehído al recipiente que contiene al fenillitio recién preparado y definir los tiempos de adición de reactivos con tal de procurar una reacción completa.

Esto fue especialmente útil por ser procedimientos nuevos, para así definir condiciones de reacción (tiempos, temperatura) y establecer parámetros de evaluación del avance de cada etapa durante las síntesis (coloración, cambios de estado).

8.1.2 Las pruebas de caracterización química realizadas a los productos o mezclas de productos de cada etapa.

Con las pruebas de caracterización química fue posible determinar la presencia (o ausencia) de los grupos funcionales de interés que poseían los diferentes compuestos involucrados en cada etapa, tanto en los reactivos como en los productos.

Este análisis fue especialmente útil en el seguimiento de las reacciones por su fácil aplicación y obtención rápida de los resultados confiables para verificar cambios en los grupos funcionales (cuando así fue), justo al terminar cada etapa.

Sin embargo, estos resultados tuvieron la limitante que fueron cuantitativos. Otra limitante importante fue que dichas pruebas tampoco son suficientemente selectivas para distinguir entre reactivos y productos ya que muestran el mismo resultado en moléculas distintas que poseen los mismos grupos funcionales en su estructura. Pese a que se veló porque las cantidades y condiciones de reacción fueran las propicias para una reacción completa, a modo de consumir todos los reactivos, se considera muy posible que remanentes de reactivos hayan generado resultados positivos ya que poseían los mismos grupos funcionales que los productos (aldehídos, anillos aromáticos, éteres) pues tampoco era posible realizar un proceso de separación y purificación

debido a la gran reactividad/inestabilidad de los productos intermedios y a la poca cantidad de estos disponibles para continuar con la siguiente etapa de síntesis.

Pese a ello, los resultados de estas pruebas fueron complementarios a los de los análisis espectrométricos en infrarrojo medio y de resonancia magnética nuclear de protones, manteniéndose una concordancia aceptable entre los resultados de todos los tipos análisis realizados y que permitieron proponer la identidad de los compuestos aquí trabajados.

8.1.3 El análisis del cromatograma de gases de la mezcla de productos de cada etapa y de los espectros de masas de picos de interés de los compuestos que generaron picos importantes en intensidad y con tiempo de retención de interés en el cromatograma de gases.

Se empleó esta técnica de análisis debido a su alta selectividad y a que no era necesario desarrollar un método de purificación en el que la descomposición de los productos de interés que son muy inestables hubiera sesgado su detección y cuantificación, ya que durante el propio análisis se realiza la separación de los distintos componentes de la mezcla.

Este análisis sólo fue posible realizarlo una vez, con las muestras de cada etapa de cada procedimiento debido a la disponibilidad limitada para el uso de estos equipos.

Con base en toda la información disponible se plantearon la composición (cualitativa y cuantitativa) de las diferentes mezclas de productos.

Se emplearon los siguientes criterios para la selección de los parámetros cromatográficos:

- ◆ **Temperaturas en el sistema de cromatografía de gases y espectrómetro de masas [Temperatura en el inyector: 250 °C. Temperatura en el detector: 280 °C. Programa de temperatura: 50 °C x 3 min; 20 °C/min hasta 280 °C; 280 °C x 15 min]**

La temperatura del inyector y del detector cumplen con ser mayor que la temperatura esperada del compuesto de mayor temperatura de ebullición involucrado en cada etapa de síntesis para así vaporizar, resolver y detectar todos y cada uno de los posibles componentes presentes en cada mezcla, por lo que se asegura una detección de dichos componentes.

Se consideró que la rampa de temperatura permitió una interacción adecuada entre fase estacionaria y los analitos para lograr resolución y detección útil para este trabajo.

◆ **Columna cromatográfica:** HP-5 [Grosor de film de 0.33 μm ; Longitud de 25 m; 0.25 μm diámetro interno]

Esta columna es muy versátil y naturaleza apolar (5% fenil y 95% dimetilpolisiloxano) es muy útil para la resolución de compuestos con bases aromáticas de otros compuestos con diferencias estructurales no-aromáticas, como las contenidas en las mezclas de este trabajo. Es una columna robusta y capaz de trabajar a temperatura superior a la esperada para los productos contenidos en las mezclas a resolver (más de 220 °C).

Dado que el grosor de su film es estándar y con capacidad intermedia, esta columna es capaz de resolver compuestos volátiles y no-volátiles, que son los que se esperaba encontrar en las mezclas a resolver.

La longitud de 25 m es intermedia, es decir no muy corta ni muy larga, lo que permite obtener resultados rápidamente, sin comprometer la capacidad de carga ni la resolución de la columna; Esto permitió trabajar con tres concentraciones distintas (ver inciso “concentración de trabajo”, en la siguiente página) para determinar la que generara una buena señal, sin dañarla y contaminarla.

El diámetro interno de 0.25 μm se considera de alta eficiencia en comparación con otros diámetros internos ya que permite la resolución de mezclas de compuestos químicos como los definidos a estar presentes en este trabajo.

Por todo lo anterior, la columna HP-5 se consideró como el mejor tipo de columna a emplear para este trabajo.

◆ **Solvente:**

La elección del etanol como solvente para hacer estas diluciones se hizo con base:

- En su naturaleza polar, capaz de disolver compuestos orgánicos de bajo peso molecular como los reactivos y alta afinidad para disolver productos de las etapas de síntesis de este trabajo.
- En su temperatura de ebullición baja (para que fuera vaporizado completamente de la muestra en las condiciones cromatográficas empleadas).
- En que no reacciona con los componentes de la muestra.
- En que no reacciona ni degrada la fase estacionaria de la columna cromatográfica.
- En que no reacciona ni degrada el soporte de la columna capilar.

- Que no interfiere con los picos de los componentes en el cromatograma de gases.

Todo lo anterior hizo que el etanol se considerara como solvente adecuado para realizar el trabajo de caracterización cromatográfica desarrollado en el presente trabajo.

◆ **Concentración de trabajo:**

Se analizaron diferentes diluciones de mezcla de producto de cada etapa (0.25 mg/mL, 0.50 mg/mL y 1.00 mg/mL), de cada procedimiento para establecer la concentración que generara señales adecuadas de picos de sus componentes.

Experimentalmente se determinó que la concentración que generó mejor señal en su cromatograma y en cada espectro de masas fue la de 1.00 mg/mL, esta concentración se refiere a la cantidad de mezcla disuelta en etanol.

Todas las mezclas se analizaron a una dilución de 1.00 mg/mL para que todos los cromatogramas fueran equivalentes y comparables, cuando fuera útil y/o necesario.

Se emplearon los siguientes criterios para analizar los resultados obtenidos por cromatografía de gases acoplado con espectrometría de masas:

- ◆ Verificación de la separación adecuada de los picos en los cromatogramas de gases, así como de intensidad aceptable respecto a la línea base y simetría adecuada de los picos en este cromatograma, lo que permitió analizar cada pico individualmente para los fines de este trabajo.
- ◆ Identificación de los posibles compuestos químicos con área de pico mayor o igual que 0.15% del área total de los picos en el cromatograma de gases. De este modo se aseguró que la señal considerada no fue producida por ruido o residuos de una naturaleza distinta a los compuestos químicos reactivos o productos involucrados en la etapa de síntesis en evaluación.

La integración del área y el cálculo de su porcentaje se hizo empleando la opción de autointegración del programa “ChemStation” (de Hewlett-Packard Versión Rev A.00.00, 1996 para el manejo del cromatógrafo de gases y del espectrómetro de masas) para tener

valores estándar automatizados, con error de cálculo reducido y permitiendo la comparación entre ellos.

La identificación de cada pico se hizo por comparación electrónica del espectro de masas experimental de los posibles compuestos que pudieron generar ese pico en el cromatograma de gases con los espectros de referencia contenidos en el programa “ChemStation” y se consideró válida esta identificación si su valor de porcentaje de concordancia fue mayor de 78% debido al efecto de la presencia de fragmentos moleculares de derivados de la fase estacionaria en los espectros de masas de todos los picos identificados. Este efecto se explica en el último inciso de este apartado.

Superposición (gráfica) de los cromatogramas de gases de las mezclas de las etapas de cada procedimiento para determinar diferencias entre estos. Se buscaron diferencias relacionadas con la presencia de picos con el mismo tiempo de retención y se consideró la intensidad de los picos para establecer variaciones en su concentración, siendo esta comparación adecuada ya que las concentraciones de cada mezcla fueron las mismas y, por lo tanto, comparables. Con base en el área de los picos se determinó el cambio en la concentración del compuesto que generó ese producto en la etapa de reacción sometida a análisis.

La aparición de un pico en un cromatograma que no apareció en el cromatograma de la mezcla del paso de síntesis anterior se consideró como una preparación de síntesis válida de ese compuesto que generó dicho pico, en esa etapa de síntesis.

De este modo, si comparativamente se mostró una reducción en la concentración de ese compuesto en la mezcla, se consideró que dicho compuesto reaccionó en la etapa en evaluación para generar un nuevo compuesto en la siguiente mezcla, que se observó en la aparición de otro pico en el cromatograma de gases.

Este análisis se extendió al comparar cuantitativamente los valores exactos de tiempo de retención, área y el porcentaje de coincidencia dado por el identificador de compuestos.

- ◆ Verificación de la consistencia de la reacción entre la temperatura de ebullición descrita para los compuestos químicos cuya presencia se esperó en la mezcla (por ser reactivo o producto) y el tiempo de retención observado en el cromatograma. Para esto se tomaron en cuenta aspectos como temperatura de ebullición relativo (debido a que eran mezclas

disueltas y diluidas, no sustancias puras) y su relación con la temperatura de la columna según la rampa de calentamiento en ese tiempo para asociarlo con su posible tiempo y secuencia de elución para separar los componentes por cromatografía de gases, la polaridad del componente, y su interacción con la columna, para sustentar que eluyera en ese tiempo, el peso molecular, y su grado relación con el pico del ion molecular, para sustentar su identificación mediante esta técnica.

- ◆ Comparación de espectro de masas experimental con el espectro de masas de referencia del compuesto identificado para verificar el cumplimiento del patrón de fragmentación del compuesto obtenido experimentalmente. Para los compuestos de los que no existe espectro de masa de referencia se consideraron los fragmentos moleculares posibles según los patrones de fragmentación descritos por Silverstein y colaboradores para compuestos orgánicos que presentan los mismos grupos funcionales que los compuestos de interés. Asimismo, se estableció la estructura de todos los productos con posibilidad de formarse durante la reacción de cada etapa y durante el análisis de los resultados descartándose aquellos compuestos que no cumplieron con la condición esencial de presentar el pico del ion molecular en los distintos espectros de masas (esto debido a que el método de ionización del espectrómetro empleado es por impacto de electrones por lo que la mayoría de compuestos orgánicos presentan pico de su ion molecular, o picos característicos según los grupos funcionales que posee).
- ◆ Posteriormente, de todos los posibles compuestos que sí cumplieron esta condición, se descartaron aquellos compuestos que no mostraron picos de fragmentos moleculares considerados críticos e importantes según su alta probabilidad de formación y presencia en el espectro de masas.

Finalmente, se verificó la presencia de la mayoría de los picos correspondientes a los fragmentos propuestos en el espectro de masa para cada uno de los compuestos remanentes para poder identificarlos.

- ◆ En todos los cromatogramas de gases se observaron picos que aparecen con el mismo tiempo de retención. Se identificaron estos picos y se estableció que son originados por fragmentos moleculares de los componentes de la fase estacionaria de la columna, que lamentablemente presentó degradación al momento de correr las muestras (por el prolongado tiempo de uso con otras muestras, por su uso con muestras de origen sanguíneo y otras razones fuera del alcance de este trabajo).

Entre los fragmentos identificados están varios derivados de metilpolisiloxano y ácidos grasos de cadena larga que eran los componentes principales de la fase estacionaria y del soporte de la columna HP-5 empleada, respectivamente. Además, en todos los espectros de masas se observaron picos correspondientes a estos derivados por lo que se omitieron para la interpretación de estos espectros.

La presencia de estas “impurezas” en el cromatograma de gases, y que inicialmente no se encontraban en las mezclas de productos de síntesis, provocó disminución del porcentaje de coincidencia en la identificación de los compuestos comparados con los espectros de referencia, y fue por esta razón que se aceptaron identificaciones con coincidencia mayor del 78%.

La magnitud del efecto de esos fragmentos de la fase estacionaria y del soporte no se pudo estandarizar ni cuantificar ya que su comportamiento fue errático, posiblemente por ser una degradación por el uso de la columna.

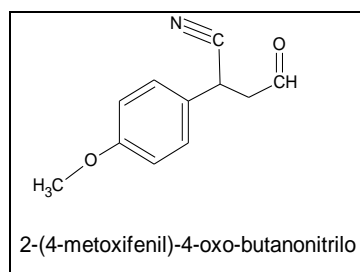
El efecto de la presencia de estos compuestos en la cuantificación de los componentes de la mezcla se corrigió al hacer el cálculo de su composición únicamente con el área de los picos cuya identificación concordó con uno de los productos esperados para esa etapa y se hizo con base en el área de los picos en el cromatograma de gases, tal como se muestra en los Cuadros 7.5, 7.8, 7.12, 7.17, 7.20 y 7.24.

En la sección de resultados se muestran únicamente los datos más relacionados con los productos de cada etapa de síntesis, por lo que no se presenta la identificación de los compuestos de degradación de la fase estacionaria ni del soporte de la columna que generaron los picos en el cromatograma de gases por no formar parte de la composición inicial de la mezcla de cada etapa analizada ni del alcance de este trabajo.

8.1.4 Análisis del espectro de absorción molecular en infrarrojo medio de la mezcla de productos de cada etapa, cuando fue posible y de utilidad crítica para continuar a la siguiente etapa de síntesis.

El análisis de los espectros de absorción molecular permitió detectar la presencia de grupos funcionales característicos del producto de las etapas analizadas y confirmar los resultados proporcionados por la caracterización química de grupos funcionales. Este análisis fue especialmente útil para verificar transformación de grupos funcionales que presentan absorciones características en infrarrojo medio, como el nitrilo que se presentó tal como se esperaba, al observarse en el producto de la etapa 2A tras la adición de cianuro al compuesto α,β -insaturado producido en la etapa 1A.

Figura 8.3 Estructura química de 2-(4-metoxifenil)-4-oxo-butanonitrilo.
Producto de la etapa No. 2^a

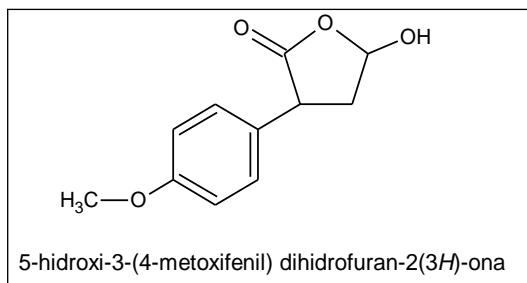


8.1.5 Análisis del espectro de resonancia magnética nuclear de protones del producto Final de la etapa 3A

El análisis de los espectros de resonancia magnética nuclear de protones permitió confirmar la presencia de los grupos funcionales identificados en el espectro de absorción molecular en infrarrojo medio y cuya presencia se propuso inicialmente en el análisis de los espectros de masas.

Se realizaron las correlaciones respectivas entre espectros IR y H-NMR de las muestras que contenían a los productos de las etapas 2A, 3A, 2B y 3B, encontrando coincidencia en cada juego de resultados, la presencia de protones aromáticos (en H-NMR) y las bandas de absorción de anillos aromáticos; Los protones adyacentes en éteres y las bandas correspondientes a enlaces C-O-C de éteres alifáticos; y sucesivamente, de todos los grupos funcionales presentes en las moléculas esperadas, de todas las mezclas y etapas.

Figura 8.4 Estructura química de 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2(3*H*)ona
Producto de la etapa No. 3A



Todos estos resultados se complementaron para confirmarse entre sí y generar la identificación presentada finalmente en los Cuadros 7.13 y 7.14.

8.2 Análisis de las condiciones de reacción y del procedimiento

8.2.1 Purificación de reactivos

Se verificó la identidad y pureza de los reactivos a utilizar mediante la comparación del espectro de resonancia magnética nuclear de protones e índice de refracción con sus valores teóricos antes de iniciar las distintas etapas del procedimiento. Los resultados de esta verificación fueron iguales a los mostrados en el Cuadro 13.8 para todos los reactivos purificados, por lo que se procedió a realizar el trabajo experimental con los reactivos de identidad y pureza adecuadas para las síntesis.

Se limpió la cristalería de manera rigurosa como se describe en el procedimiento 6.3.1.1 para eliminar cualquier suciedad, contaminación o residuo de algún uso previo, suciedad derivada de su almacenamiento e incluso, de cualquier resto de jabón que también pudo haber interferido de manera cualitativa o cuantitativamente en el desarrollo de las distintas etapas de reacción.

Era absolutamente necesario limpiarla para eliminar la posibilidad que ante la presencia de cualquier suciedad de naturaleza orgánica o inorgánica se limitara, evitara o impidiera la reacción requerida en cada etapa (la presencia de sustancias ajenas a las definidas en las etapas podrían limitar o evitar las reacciones por cambiar la naturaleza de los reactivos, o dirigir los equilibrios por modificación de la actividad todos los componentes de las mezclas, o pérdida de los productos mediante reacciones redox de éstos con las impureza, etc.).

La ausencia de agua y de compuestos con hidrógenos ácidos en el medio de reacción fue una condición especialmente importante para la preparación *in situ* de las bases fuertes requeridas

(dietilamida de litio y etóxido de sodio, en los procedimientos original y alternativo, respectivamente) pues éstas se destruyen en presencia de hidrógenos ácidos de compuestos ajenos a esta reacción impidiendo que la reacción se dé. Por esta razón se trabajó con reactivos, equipo y condiciones de reacción anhidras (desplazando el oxígeno y humedad del aire mediante un flujo constante de nitrógeno gaseoso).

8.2.2 Etapa 1A del procedimiento propuesto originalmente

Aunque la base fuerte más utilizada para generar enolatos es la diisopropilamida de litio, no se optó por su preparación *in situ* ya que requería el uso de condiciones de reacción más drásticas (baja temperatura, entre 0°C y -78 °C, condición muy difícil de alcanzar con los equipos disponibles para este trabajo); Se realizó la investigación bibliográfica correspondiente para preparar una base lo suficientemente fuerte en condiciones de fácil manejo. Por tal razón se planteó el uso de dietilamida de litio como base fuerte para formar el enol del acetaldehído necesario para su condensación con 4-metoxibenzaldehído en la etapa 1 de síntesis. Este planteamiento se hizo con base en el valor de pK_a (~17) del protón ácido del acetaldehído (por definición, el pK_a es el logaritmo negativo del valor de la constante de disociación ácida) (Warren 1998).

Para poder extraer el protón ácido del acetaldehído se requiere una base muy fuerte, razón por la que se planteó el uso de dietilamida de litio. El valor de pK_a ~36 del ácido conjugado de la dietilamida de litio, la dietilamina, indica que es viable la reacción de abstracción del protón ácido del acetaldehído por la dietilamida de litio dado que la diferencia de valores de pK_a es de 19 unidades, equivalente a 19 órdenes de magnitud en el valor de la constante de equilibrio para esa reacción, ya que, siendo mayor en valor de pK_a de la base fuerte, es de esperar que la reacción se realizara completamente.

La formación del enol depende directamente de la cantidad de dietilamida de litio disponible para reaccionar con acetaldehído, que a su vez depende del rendimiento de la reacción de formación de fenillitio. El ácido conjugado del fenillitio (el bromobenceno) tiene el valor de pK_a ~40 (es una base mucho más fuerte que la dietilamida de litio) por lo que la reacción entre fenillitio y dietilamina para la formación de dietilamida de litio está favorecida, aunque los valores de pK_a de fenillitio y dietilamida de litio son muy cercanos (40 y 36, respectivamente) esta reacción es viable y se reporta el 97% de rendimiento para esta reacción (Fieser & Fieser 1967). Del mismo modo, la reacción de formación del precursor de dietilamida de litio (fenillitio) es viable, con 67% de rendimiento (Fieser & Fieser 1967). De este modo, teóricamente, la probabilidad de la formación del enolato del acetaldehído necesario para la reacción de condensación con el 4-metoxibenzaldehído es muy

grande, aunque experimentalmente no se detectó al producto de tal condensación debido a la alta reactividad e inestabilidad del acetaldehído, que pudiendo oxidarse *in situ*, pudo no solamente no estar presente en forma de aldehído para reaccionar de la manera planteada sino que al convertirse en ácido acético pudo reaccionar con la base fuerte y limitar completamente toda la reacción en su primera etapa, crítica para los pasos siguientes. Todo compuesto con hidrógenos ácidos eliminar la reactividad de cualquier base fuerte preparada durante la reacción, con lo que pudo detenerse todo intento de síntesis desde este paso.

Se realizó el procedimiento propuesto con base en estos criterios. Sí hubo reacción entre el litio y el bromobenceno, según se observó en esos pasos del procedimiento, pero al analizar la mezcla final de productos de la etapa 1A no se detectó el producto de esta etapa [4-metoxifenil acriladehído]. Se presume que la alta reactividad del aldehído de este producto pudo oxidarse y que no fuera detectado en el análisis correspondiente.

La presencia de *N,N*-dietil-*N*-fenil amina D mostró que sí se formó fenillitio pero no fue posible determinar la cantidad exacta de fenillitio producida. Tampoco fue posible evaluar cualitativa ni cuantitativamente la formación de dietilamida de litio ya que en el procedimiento descrito para su titulación se necesitan sistemas completamente cerrados y anhidros para su manipulación, sistemas que no estuvieron disponibles durante este trabajo de investigación. Sin embargo, para futuras síntesis se recomienda el uso de la prueba con chalcona para la definición de las condiciones de reacción de este paso ya que con ella se podrá constatar la formación de la base fuerte y la ausencia de 4-metoxibenzaldehído (por haber reaccionado completamente) mediante la formación de la chalcona correspondiente.

La titulación de dietilamida de litio se puede realizar con el uso de los reactivos y el procedimiento que presenta Casey y colaboradores en la sección de procedimientos especiales (véase la bibliografía en esa sección).

Para poder explicar la no-detección del producto esperado de la reacción de la etapa 1A de síntesis se plantean las siguientes posibilidades:

- a) A pesar de que las reacciones de preparación de fenillitio y dietilamida son ampliamente conocidas y sus rendimientos son aceptables, la formación de dietilamida de litio tiene el inconveniente de que este compuesto, y su precursor (fenillitio), son muy reactivos. Esta gran reactividad limita considerablemente su disponibilidad, especialmente en presencia de protones que incluso en condiciones normales no se consideran ácidos; La presencia de

cualquier compuesto con protones más ácidos que tales bases fuertes (aun cuando su pKa es mayor de 18), e incluso los reactivos empleados para su preparación, pueden ser sustrato para reacciones de desprotonación, sustitución o adición secundarias con lo que se reduce o impide significativamente la formación y estabilidad de las bases fuertes a generar in situ. El fenillitio pudo haber realizado la sustitución del protón de la dietilamina por ser ésta una amina secundaria sin impedimento estérico. El producto de esta sustitución fue aproximadamente el 10% (p/v) de la composición de la mezcla. Debido a la relación molar entre este subproducto y el fenillitio, la cantidad de fenillitio que no estuvo disponible para la formación de dietilamida de litio fue por lo menos el 10% de la cantidad inicial de bromobenceno.

- b) En la mezcla de productos de la etapa 1A se detectó 1,1-bifenilo. La cantidad de este subproducto en la mezcla consumió aproximadamente 11.4% del bromobenceno agregado inicialmente (dos moles de fenillitio consumido por mol de bifenilo formado). En este punto, la cantidad de fenillitio que se pudo formar se redujo en aproximadamente 20%, por lo que el rendimiento inicial teórico de 69% disminuyó a un valor de rendimiento máximo de 49%.
- c) No fue posible establecer que, de haberse formado, el fenillitio se degradó a benceno por su reacción con protones ácidos presente en la mezcla debido a que no se detectó benceno en la mezcla de productos de la etapa 1A.

En el cromatograma no se observó el tiempo de retención del benceno (estimado con base en su temperatura de ebullición y en el programa de temperatura del cromatógrafo de gases) pues es menor que 5 minutos y este valor se encuentra en el intervalo de evaporación del solvente por lo que no se muestra en el cromatograma ni se detecta al hacer la integración electrónica de los picos. Tampoco fue posible detectar la presencia de benceno mediante las pruebas de caracterización química de grupos funcionales planteadas al inicio del presente trabajo, en el espectro de absorción en infrarrojo medio ni en el de resonancia magnética nuclear debido a que estas técnicas no permiten distinguir un compuesto en una mezcla de otros que tienen los mismos grupos funcionales.

- d) Tal como se indicó anteriormente, la gran reactividad del acetaldehído, que pudiendo oxidarse pudo ocasionar que ya no estuviera el compuesto inicial para la reacción planteada, sino que en su conversión en ácido acético, reaccionar directamente con la base fuerte e impedir por completo la síntesis objeto de este trabajo.

A pesar de que se modificó varias veces el orden de adición de los reactivos del procedimiento propuesto originalmente con el fin de favorecer la disponibilidad simultánea de dietilamida de litio (en caso de formarse, pero reaccionar y degradarse), acetaldehído y 4-metoxibenzaldehído para promover la reacción de condensación entre los últimos dos, y aunque el protón del acetaldehído es más ácido que el de dietilamina, no se pudo detectar el producto de la etapa 1A en ninguna de las pruebas realizadas.

Debido a que no se conocen las propiedades físicas exactas de este producto sino únicamente aproximaciones con base en sus grupos funcionales, estructura y peso molecular, y tomando como referencia el tiempo de retención del 4-metoxibenzaldehído, se analizó minuciosamente el cromatograma de gases y los espectros de masas de los picos con tiempo de retención entre 10.62 min y 13.07 min, que cubrió el rango de temperatura de ebullición de 247 °C (del 4-metoxibenzaldehído) y aproximadamente 300 °C), para detectar al 4-metoxifenil acrilaldehído. En este análisis no se detectó este compuesto, por lo que se decidió continuar con los procedimientos de las siguientes etapas de síntesis para descartar problemas de detección del producto de la etapa 1A mediante la detección de los productos de las etapas 2A y 3A. Para evitar el efecto de la posible descomposición de este producto se realizó el procedimiento de manera continua (sin tiempos muertos). En todos los casos, se consideró la corrección de temperatura de ebullición debido a la altitud sobre el nivel de mar de la ciudad de Guatemala.

No se detectaron los productos de las etapas 2A y 3A mediante el análisis de las mezclas de productos con cromatografía de gases y espectrometría de masas según los criterios de análisis descritos, espectrofotometría de absorción molecular en infrarrojo medio ni por resonancia magnética nuclear de protones.

De la interpretación de resultados de estas mezclas por cromatografía de gases y espectrometría de masas se determinó que la composición de las mezclas de productos de ambas etapas (2A y 3A) no variaron significativamente al ser sometidas a las diferentes condiciones de reacción. Así, la composición de la mezcla de productos de la etapa 2A se mantuvo constante respecto a la composición de la mezcla de productos de la etapa 1A, tanto cualitativa como cuantitativamente, sin detectarse la presencia del producto de la etapa 2A.

La mezcla de productos de la etapa 3A mostró variaciones en su composición y en la concentración de sus componentes. Estas variaciones se debieron a las condiciones de reacción de esta etapa. La formación del sólido en la etapa 3A se debió probablemente a:

- La oxidación del 4-metoxibenzaldehído a ácido 4-metoxibenzóico
- La polimerización del 4-metoxibenzaldehído, en moléculas no identificadas pero que siendo insolubles se precipitan, además de reducir e incluso limitar la formación del producto final.

Según los resultados anteriores, en la dependencia directa de la formación de los productos 2A y 3A a partir del producto de la etapa 1A, y ante la ausencia de los productos 2A y 3A, se comprobó la ausencia del producto de la etapa 1A, o bien, que su concentración en la etapa 1 fue tan baja que no pudo ser detectada en la concentración de la muestra de la mezcla analizada. Debido a la baja capacidad de carga de la columna del cromatógrafo (que era de tipo capilar) y a que la señal del pico del componente mayoritario (bromobenceno) fue bastante intensa no fue posible correr muestras de concentración mayor de 1 mg/mL para aumentar la probabilidad de detectarlo en caso de hacerse formado. En todo caso, y al no poder detectarlo o a que su porcentaje de rendimiento es muy bajo, se concluye que no es factible la reacción de la etapa 1A del procedimiento propuesto originalmente.

8.2.3 Etapa 2A del procedimiento propuesto originalmente

La composición de la mezcla de productos de la etapa 2A no varió significativamente respecto a la composición de la mezcla de productos de la etapa 1A y no se detectó la presencia del producto esperado de la reacción de la etapa 2A, tal como se describió anteriormente.

Los resultados de la interpretación de los espectros de absorción molecular en infrarrojo medio y de resonancia magnética nuclear de protones dieron el soporte necesario para establecer la ausencia de los productos esperados en las tres etapas.

8.2.4 Etapa 3A del procedimiento propuesto originalmente

Las variaciones de la composición y concentración de los componentes de la mezcla de productos 3A se debieron a las condiciones de reacción a las que sometieron los compuestos detectados en etapa 2A, razón por la que se produjo 4-metoxibenzoato de etilo por una esterificación de Fisher. No se detectó la presencia del producto esperado de la reacción de la etapa 3A, tal como se describió anteriormente y su ausencia se justifica en la ausencia de los productos de las etapas 2A y 1A, y en la imposibilidad de su preparación por ser una síntesis lineal.

Al haber no detectado el producto de la etapa 1A, ni otro subproducto relacionado directamente con la formación de la dietilamida de litio se sugiere emplear diisopropilamida de litio comercial

para comprobar la no-factibilidad del procedimiento propuesto originalmente ya que, si falla la generación *in situ* de la base fuerte, toda la síntesis está comprometida desde el primer paso.

Ante estos resultados, incluso después de haber modificado el orden de adición de los reactivos a modo de realizar los pasos en sistemas cerrados (protegiendo a los reactivos y productos intermedios de la humedad, del oxígeno, facilitando la forma de incorporación de cada reactivo empleando el sistema mostrado en las Figuras No. 5.13, 5.14 y 5.15) para reducir los tiempos y posibilidad a degradación por exposición al ambiente) se propuso un procedimiento alternativo que generara un producto final (o un tautómero que pudiera tener la funcionalidad en su estructura que presenta la actividad biológica en el petrosaspongióido M) aun cuando los intermediarios fueran diferentes.

Con base en la investigación bibliográfica se definió un procedimiento alternativo para la etapa 1, en el que se propuso preparar (2*E*)-3-(4-metoxifenil) acrilato de etilo [4-metoxicinamato de etilo].

La ventaja de la preparación de este compuesto es que no es tan inestable como el 4-metoxifenil acrilaldehído y que las condiciones de reacción de su preparación no son tan difíciles de controlar.

A continuación, se presentan la discusión de los resultados de las etapas de síntesis realizados alternativos, identificándoseles con la finalización "B" en cada etapa.

8.2.5 Etapa 1B (procedimiento alternativo, propuesto después de realizar el procedimiento original de este trabajo)

Aunque ambos procedimientos requieren control de las condiciones de reacción completamente anhidras, el procedimiento alternativo para la etapa 1B fue más conveniente en comparación con el procedimiento original debido a que el uso, cuidado y manejo de los reactivos y condiciones de reacción fue más sencillo, y a que los reactivos empleados en el procedimiento alternativo son menos tóxicos (por ejemplo, se evita el uso de bromobenceno).

La cantidad de los posibles productos secundarios de la reacción de condensación entre el acetato de etilo y el 4-metoxibenzaldehído es considerablemente menor debido a que no se requieren tantos reactivos para su realización, por lo que se disminuye la probabilidad de formación de productos secundarios. Aunque el porcentaje de rendimiento de las dos reacciones (etapa 1A y 1B) son teóricamente iguales en magnitud (69%), la reacción del procedimiento alternativo genera menos productos secundarios al ser una reacción de un solo paso. Este fue un factor crítico para su elección además de la fácil disponibilidad y bajo costo de los reactivos empleados en este procedimiento.

El porcentaje de rendimiento de la etapa 1B fue aproximadamente de 84%. El aumento significativo del porcentaje de rendimiento se justifica en que en el procedimiento descrito por Marvel & King (que reportan 69% de rendimiento) no se purga el sistema con nitrógeno, paso que se incluyó en este trabajo. Al purgar el sistema con nitrógeno se eliminó cualquier traza de humedad que pudiera adherirse a la superficie del sodio por lo que se favoreció la reacción de formación de la base fuerte (etóxido) empleada para la abstracción del hidrógeno ácido del acetato de etilo.

Además, se tuvo especial cuidado de mantener agitación constante al fundir y enfriar el sodio para que al solidificarse se formaran la mayor cantidad de esferas con el menor tamaño posible de sodio, por lo que al aumentarse el área efectiva del metal para la reacción se propició el porcentaje del rendimiento de esta etapa.

La no-realización de la extracción del 4-metoxifenil acrilato de etilo con solución de ácido clorhídrico al 10% (v/v) descrita en el procedimiento por estos autores pudo incidir favorablemente en el porcentaje de rendimiento de la reacción al reducir la posibilidad de hidrólisis del éster (a ácido 4-metoxifenil acrílico), por lo que no se perdió producto de la etapa 1B.

La regeneración constante de la base fuerte (etóxido) también se considera importante y fue crítica para el alto rendimiento de esta reacción. Al comparar los valores de pK_a del ácido conjugado del etóxido ($pK_a \sim 16$, es decir, etanol) y de la dietilamida de litio ($pK_a \sim 36$) se observa que la dietilamida de litio es una base 20 veces más fuerte que el etóxido, pero éste presenta la ventaja (respecto a la dietilamida de litio) que, aunque es muy reactivo, es significativamente más estable y fácil de generar que la dietilamida de litio pues su producción requiere únicamente un paso de reacción y no dos como la dietilamida de litio. A pesar de que la diferencia entre el valor de pK_a del ácido conjugado del etóxido y el protón metílico ácido del acetato de etilo ($pK_a \sim 25$) es de 9 unidades, que es menor que la diferencia entre los valores de pK_a de dietilamida de litio y el protón metílico ácido del acetaldehído ($pK_a \sim 17$), la diferencia de la primer pareja es suficientemente grande para que se de la extracción del protón ácido y la posterior reacción de condensación por lo que la reacción está favorecida, tal como se comprobó con el alto porcentaje de rendimiento.

El alto porcentaje de coincidencia del espectro de masas para el compuesto identificado como (2E)-3-(4-metoxifenil) acrilato de etilo en el cromatograma de gases de la mezcla de productos de la etapa 1B del procedimiento alternativo y los resultados positivos de la caracterización química de los grupos funcionales presentes en su estructura fueron suficientemente consistentes para su plena identificación.

8.2.6 Etapa 2B (procedimiento alternativo, propuesto después de realizar el procedimiento original de este trabajo)

Debido a que sí se logró la síntesis y plena identificación del producto de la etapa 1B, se procedió a realizar el procedimiento de la etapa 2B.

El rendimiento de la reacción de adición de cianuro a un compuesto α,β -insaturado descrito por Allen & Kimball es 80% y se refiere a la (2E)-1,3-difenil-2-propen-1-ona, que es un compuesto α,β -insaturado con alta densidad electrónica y únicamente un sitio de probable para la adición. La adición de cianuro es viable a otros compuestos α,β -insaturados [como el (2E)-3-(4-metoxifenil) acrilato de etilo] y de alta densidad electrónica (ésteres, aldehídos, fenilo, sulfato, nitrilo, entre otros) en esas posiciones ya que favorecen la adición del cianuro en el carbono con doble enlace en posición β . Sin embargo, debido a la estructura del 4-metoxifenil acrilato de etilo, es de esperar que el rendimiento de esta adición sea menor que el descrito por Allen & Kimball al tener más sitios de reacción:

- La adición de cianuro sobre el carbonilo del éster con eliminación de la porción alcohólica, con y/o sin la adición de cianuro al doble enlace.
- La doble adición del cianuro al carbonilo, con y/o sin la adición de cianuro al doble enlace.
- La doble adición de cianuro al carbonilo y sustitución del hidroxilo, con y/o la adición de cianuro al doble enlace.

Con estas posibilidades y además del producto de la adición única en la posición β del doble enlace se pueden producir siete derivados de adición de cianuro al 4-metoxifenil acrilato de etilo. Para la detección e identificación de cada uno de estos compuestos se emplearon los criterios de análisis de los resultados obtenidos por cromatografía de gases acoplado con espectrometría de masas descritos anteriormente.

Del análisis minucioso de los resultados pudo establecerse la presencia de los siguientes compuestos:

- 4-metoxibenzaldehído, correspondiente al reactivo empleado en la etapa 1B.
- Ácido (2E)-3-(4-metoxifenil) acrílico, generado por la hidrólisis del producto de la etapa 1B (éster).
- 3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo, producto de la adición de cianuro al carbono β del producto de la etapa 1B. Este compuesto fue el producto de principal interés en esta etapa ya que fue el precursor del producto final propuesto originalmente.

- (2E)-3-(4-metoxifenil)-2-propen-1,1,1-trinitrilo, producto de la doble adición de cianuro al carbonilo del éster y posterior sustitución nucleofílica de segundo orden sobre el hidroxilo formado por la doble adición de cianuro.
- 1-hidroxi-3-(4-metoxifenil)propano-1,1,3-trinitrilo, producto de la adición de cianuro al carbono β del producto de la etapa 1B y doble adición de cianuro al carbonilo de producto de la etapa 1B.

Mediante la comparación la composición de las mezclas 1B y 2B del procedimiento alternativo se estableció que el rendimiento de la reacción de adición de cianuro (etapa 2B) fue aproximadamente 37.17%, distribuido en cuatro productos de adición identificados. Este resultado se obtuvo al obtener el porcentaje de la cantidad de los tres productos de adición de la etapa 2B respecto de la cantidad del producto de la etapa 1A.

La cantidad del producto de interés [3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo] respecto a los tres productos de adición identificados en la mezcla de productos de la etapa 2 fue 36.62% por lo que el rendimiento de la síntesis acumulado hasta la reacción de la etapa 2 para la formación de este compuesto fue 30.76%. Este valor se obtuvo sacar el porcentaje de la cantidad del producto de interés respecto a la cantidad de todos los productos de adición presentes en la mezcla de productos de la etapa 2B del procedimiento alternativo por el rendimiento de la reacción de la etapa 1B.

La desventaja que presentó trabajar con el 4-metoxifenilacrilato de etilo fue la posibilidad de 7 productos de adición, de los cuales se detectaron 3, por lo que el porcentaje de rendimiento para la formación del compuesto de interés, 3-ciano-(4-metoxifenil) propanoato de etilo, fue menor del esperado. Consecuentemente, la cantidad de posibles productos de la etapa 3B fue mayor. Por esta razón se recomienda desarrollar un procedimiento para separación de estos compuestos para realizar la reacción de la etapa tres y obtener la menor cantidad de productos posibles. De esa manera se reduce la posibilidad de formación de subproductos que dificultan la purificación del producto final.

8.2.7 Etapa 3B del procedimiento alternativo

Debido a que sí se detectó el producto de interés de la etapa 2B, 3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo, se realizó el procedimiento de la etapa 3A propuesto originalmente. Debido a la presencia de este producto y de los 2 subproductos de adición identificados era probable la generación de 84 subproductos en la etapa 3B. Al aplicar los criterios para el análisis de la

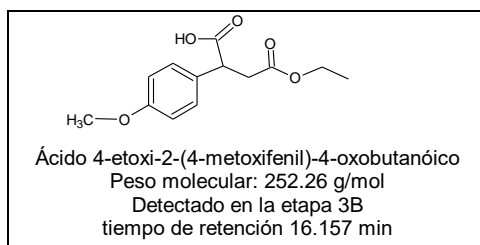
composición de esta mezcla por cromatografía de gases y espectrometría de masas descrito anteriormente pudo identificarse 7 compuestos además del ácido 4-metoxifenil acrílico presente en las etapas 1B y 2B.

Según el mecanismo de reacción mostrado en la Figura No. 5.23, a los resultados del análisis cromatográfico de la muestra, en los espectros de masas, en los espectros de absorción molecular en infrarrojo medio y de resonancia magnética nuclear de protones no se detectó la presencia del producto final objetivo de este trabajo de investigación: 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil) dihidrofuran-2(3H)-ona, sin embargo se obtuvieron los compuestos 3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona, que también son derivados γ -hidroxibutanólicos (ver Figura No. 8.2) con una posible actividad antiinflamatoria por ser tautómeros del producto objetivo de este trabajo, con una concentración de 22.02% (p/v), equivalentes al 36.43% de rendimiento a partir del producto de la etapa 2B y 11.20% de rendimiento de reacción general. Aunque este valor de rendimiento se considera bajo, dadas las condiciones de trabajo se consideró aceptable dado que no se realizó la purificación del producto de cada etapa y a que, según se determinó, no se completó la reacción de hidrólisis de los diferentes compuestos presentes en la mezcla de productos de la etapa 3B.

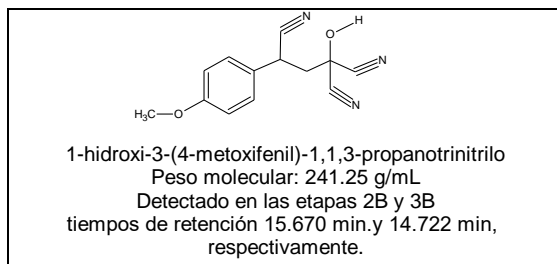
En esta mezcla también se detectó la presencia de 3-(4-metoxifenil) dihidrofuran-2,5-diona, compuesto cuya estructura conserva la funcionalidad de un derivado γ -hidroxibutanólico. Su baja concentración en la mezcla final, (2.02% (p/v) en la mezcla, permitió aclarar las dudas sobre la viabilidad de esta reacción para producir 3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona ya que teóricamente compiten por su formación en las condiciones de reacción utilizadas.

Se consideraron a 5 de los compuestos identificados como subproductos de la reacción de la etapa 3B:

1. Ácido (2E)-3-(4-metoxifenil) acrílico, remanente de su presencia en la etapa 2B.



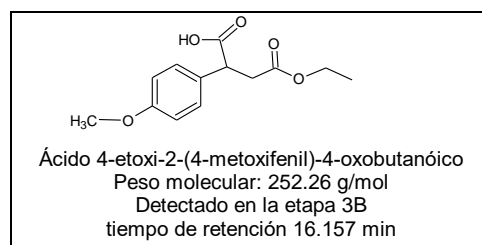
2. 1-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-1,1,3-propanotrinitrilo, el mismo compuesto detectado en la mezcla de productos de la etapa 2B y que no reaccionó en la etapa 3B ya que posiblemente requería condiciones de reacción más drásticas (mayor temperatura, más tiempo, mayor concentración de ácido, o cualquier combinación de éstas) para hidrolizarse.



El no haber reaccionado no afecta el porcentaje de rendimiento del producto final ya que incluso tras hidrólisis completa y posibles descarboxilaciones, por su estructura, no generaría el producto final de interés.

El mayor porcentaje de concentración de este compuesto en la mezcla de producto de la etapa 3B se debió a que para su dilución se asumió que la densidad de esta mezcla era 1.00 g/mL, pero por los resultados se infiere que su densidad fue mayor dado que durante la reacción de hidrólisis, y pese al uso del sistema de condensación para evitar la evaporación del solvente (etanol) a la temperatura de reacción (90 °C) probablemente sí hubo evaporación del solvente debido a las variaciones de presión en el sistema por la generación de amoníaco por la hidrólisis de los enlaces nitrilo.

3. Ácido 4-etoxi-2-(4-metoxifenil)-4-oxobutanóico, que fue el producto de la hidrólisis del nitrilo presente en el producto de la etapa 2B [3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo] pero sin hidrolizarse el éster.

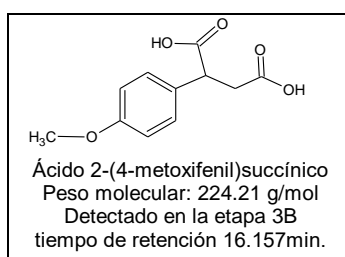


La hidrólisis de estos dos compuestos pueden formar por lo menos uno de los productos considerados de interés, ya sea por la condensación de los dos ácidos carboxílicos generados por la hidrólisis completa de su enlace nitrilo y éster previo a la ciclación [para formar 3-(4-metoxifenil) dihidrofuran-2,5-diona], o por condensación entre el ácido carboxílico generado durante la reacción de hidrólisis de la etapa 3B con el éster [para formar 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)dihidrofuran-2(3H)-ona]. Este último era el producto a sintetizar. Ante estas posibilidades y por la posible falta de medio ácido para lograr la ciclación del producto final, el porcentaje de rendimiento para la formación de este producto fue menor.

Por lo anterior se recomienda verificar la acidez de la mezcla durante la reacción de la etapa 3B para asegurar la hidrólisis completa de los nitrilos presentes en las diferentes estructuras, así como la destrucción de todo el cianuro libre disuelto en la mezcla.

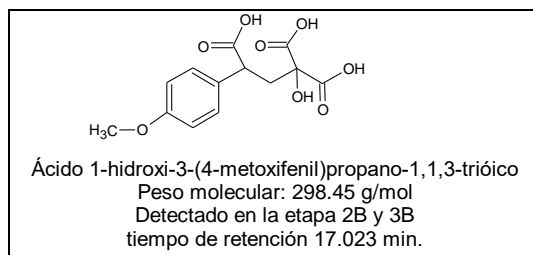
4. Ácido 2-(4-metoxifenil) succínico, que fue producto de la hidrólisis del éster del compuesto anterior [ácido 4-etoxi-2-(4-metoxifenil)-4-oxobutanóico].

Este subproducto, que fue el compuesto mayoritario en mezcla de productos de la etapa 3B es el precursor de 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil) dihidrofuran-2(3H)-ona, el producto a sintetizar en este trabajo de investigación. La razón probable por la que no se cicló para formar este compuesto pudo ser la falta del medio ácido necesario para esta reacción debido a que se consumió una gran cantidad durante la hidrólisis de los otros productos observados.

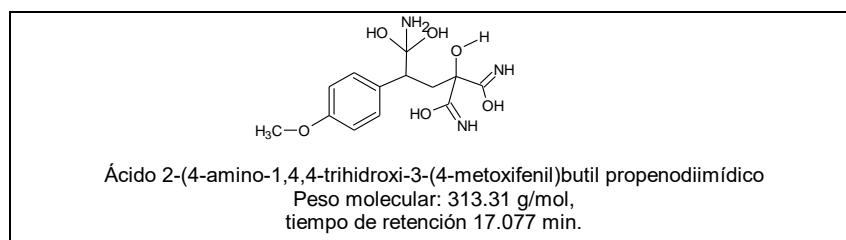


Del mismo modo que en el caso anterior, se recomienda verificar la acidez de la mezcla durante la reacción de la etapa 3B para asegurar la hidrólisis completa de los nitrilos presentes en las diferentes estructuras, así como la destrucción de todo el cianuro libre disuelto en la mezcla.

5. Ácido 1-hidroxi-3-(4-metoxifenil) propano-1,1,3-trióico, que fue producto de la hidrólisis de 1-hidroxi-3-(4-metoxifenil)propano-1,1,3-trinitrilo, compuesto detectado en la mezcla de productos de la etapa 2B. [que fue producto de la adición de cianuro al carbono β del producto de la etapa 1B y doble adición de cianuro al carbonilo de producto de la etapa 1B].



6. El ácido 2-[4-amino-1,4,4-trihidroxi-3-(4-metoxifenil)butil] propenodiimídico, que fue el producto de la hidrólisis parcial de 1-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-propano-1,1,3-trinitrilo, compuesto detectado en la mezcla de productos de la etapa 2B.



Así como en los casos anteriores, se recomienda verificar la acidez de la mezcla durante la reacción de la etapa 3B para asegurar la hidrólisis completa de los nitrilos presentes en las diferentes estructuras, así como la destrucción de todo el cianuro libre disuelto en la mezcla.

El porcentaje de rendimiento para la formación del producto final de interés podría aumentarse de 22.02% a por lo menos 31.42%, si se considera que la hidrólisis total del ácido 4-etoxi-2-(4-metoxifenil)-4-oxobutanóico y del ácido 2-[4-amino-1,4,4-trihidroxi-3-(4-metoxifenil)butil] propenodiimídico por ciclación generen el producto final ácido 2-(4-metoxifenil) succínico y que la ciclación de por lo menos la mitad de la cantidad de ácido 2-(4-metoxifenil) succínico forme este mismo producto.

Dado que sí se pudo sintetizar el compuesto objetivo con el procedimiento alternativo planteado y a que el procedimiento planteado en este trabajo puede ser referencia para posteriores síntesis o

síntesis combinatorias cuyo objetivo sea preparar algún derivado γ -hidroxibutanólido o derivado del 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2(3*H*)-ona, es necesario tener en cuenta que las reacciones de la primera etapa alternativa y segunda etapa empleadas en este trabajo no pueden realizarse con sustratos que posean grupos funcionales susceptibles a reacciones de eliminación, sustitución nucleofílica o que posean hidrógenos ácidos que limiten la reacción debido al uso de etóxido de sodio como base fuerte para la abstracción del hidrógeno ácido del acetato de etilo y a la reacción de condensación con el carbonilo del 4-metoxibenzaldehído aldehído. En la etapa tres también debe tenerse en cuenta que grupos sujetos a descarboxilación o eliminación pueden reducir el rendimiento de la reacción.

9. CONCLUSIONES

1. Según los cromatogramas y espectros de masas obtenidos, el uso de la columna [HP-5 (25 m; 0.25 μm diámetro interno)] y del programa de temperatura para la separación de los componentes por cromatografía de gases [50 °C x 3 min; 20 °C/min hasta 280 °C; 280 °C x 15 min] fueron adecuados para realizar la separación de los componentes. Con la concentración de trabajo empleada se obtuvieron señales adecuadas para los análisis reportados en este trabajo.
2. Según los resultados experimentales y al no haberse detectado el producto de la etapa 1A (por su ausencia o baja concentración) se concluye que no es factible la reacción de la etapa 1A del procedimiento propuesto originalmente para la síntesis de 4-metoxifenil acrilaldehído.
3. No se detectó la presencia de los productos 2A y 3A del procedimiento propuesto originalmente debido a la no-preparación del producto de la etapa 1A del procedimiento propuesto originalmente [4-metoxifenil acrilaldehído].
4. Con base en los resultados experimentales obtenidos en este trabajo de investigación, por infactibilidad de sintetizar el producto de la etapa 1A del procedimiento propuesto originalmente y por ser una síntesis de tipo lineal no se logró sintetizar de 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2(3*H*)-ona. Por lo anterior, tampoco fue posible aportar a la comunidad científica las propiedades físicas y espectroscópicas de los intermediarios y del producto a obtener en este trabajo de investigación para enriquecer las bases de datos de compuestos químicos.
5. Causas de la no-síntesis:
 - ◆ Alta reactividad del fenillitio en la etapa 1A, reaccionando entre sí para formar 1,1-bifenilo, reduciendo el fenillitio para la reacción de interés.
 - ◆ Finalización de la actividad de fenillitio ante la presencia de hidrógenos ácidos (de cualquier fuente en el medio o reactivos), acabando con su disponibilidad para reaccionar.
 - ◆ Alta reactividad del acetaldehído, que por su fácil oxidación hacia ácido acético no solamente reduce la cantidad de acetaldehído disponible para reaccionar, sino que el ácido acético destruye la naturaleza fuertemente básica del fenillitio para la reacción primaria.

6. Se logró la síntesis de (2*E*)-3-(4-metoxifenil) acrilato de etilo, producto de la condensación entre 4-metoxibenzaldehído y acetato de etilo en la reacción de la etapa 1B con el procedimiento alternativo propuesto, permitiendo avanzar con esta nueva propuesta de síntesis. El rendimiento estimado experimentalmente para esta reacción fue 84%. La identificación de este compuesto y la estimación del rendimiento de la reacción se hizo según el alto porcentaje de coincidencia (95%) de la identificación del producto al compararlo con el espectro de masas de referencia y los resultados positivos de la caracterización química de los grupos funcionales presentes en su estructura fueron suficientemente consistentes para su plena identificación.
7. Se logró la síntesis de 3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo, producto de la etapa 2B tras la adición de cianuro al carbono β del producto de la etapa 1B del procedimiento alternativo. El rendimiento estimado de la reacción de formación de este producto respecto a los tres productos de adición de cianuro identificados en la mezcla de productos de la etapa 2B fue 36.62% y el rendimiento de la síntesis acumulado hasta la etapa 2B (es decir, tomando en cuenta la etapa 1B y 2B) fue 30.76%.
8. Se identificaron los siguientes subproductos de la reacción de la etapa 2B al emplear (2*E*)-3-(4-metoxifenil) acrilato:
- ◆ Ácido (2*E*)-3-(4-metoxifenil) acrílico, generado por la hidrólisis del producto de la etapa 1A (éster).
 - ◆ 3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo, producto de la adición de cianuro al carbono β del producto de la etapa 1A. Este compuesto fue el producto de principal interés en esta etapa ya que fue el precursor del producto final propuesto originalmente.
 - ◆ (2*E*)-3-(4-metoxifenil)-2-propen-1,1,1-trinitrilo, producto de la doble adición de cianuro al carbonilo del éster y posterior sustitución nucleofílica de segundo orden sobre el hidroxilo formado por la doble adición de cianuro.
 - ◆ 1-hidroxi-3-(4-metoxifenil)propano-1,1,3-trinitrilo, producto de la adición de cianuro al carbono β del producto de la etapa 1A y doble adición de cianuro al carbonilo de producto de la etapa 1A.
9. Según los resultados del análisis cromatográfico de la muestra, en los espectros de masas, en los espectros de absorción molecular en infrarrojo medio y de resonancia magnética nuclear de protones se detectó la presencia del producto final objetivo de este trabajo de investigación: 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil) dihidrofurán-2(3*H*)-ona con concentración de 22.02% (p/v),

equivalente al 36.43% de rendimiento a partir del producto de la etapa 2 y 11.20% de rendimiento de reacción general.

10. Se identificaron los siguientes subproductos de la reacción de la etapa 3 al realizar el procedimiento de hidrólisis con la mezcla de productos de la etapa 2:

- ◆ Ácido (2*E*)-3-(4-metoxifenil)acrílico fue el remanente de su presencia en la etapa 2.
- ◆ 1-hidroxi-3-(4-metoxifenil)propano-1,1,3-trinitrilo, el mismo compuesto detectado en la mezcla de productos de la etapa 2 y que no reaccionó en la etapa 3 ya que posiblemente requería condiciones de reacción más drásticas (mayor temperatura, más tiempo, mayor concentración de ácido, o cualquier combinación de éstas) para hidrolizarse.
- ◆ Ácido 4-etoxi-2-(4-metoxifenil)-4-oxobutanóico fue el producto de la hidrólisis del nitrilo presente en el producto de la etapa 2 [3-ciano-3-(4-metoxifenil)propanoato de etilo] pero sin hidrolizarse el éster.
- ◆ Ácido 2-(4-metoxifenil)succínico es producto de la hidrólisis del éster del compuesto anterior [ácido 4-etoxi-2-(4-metoxifenil)-4-oxobutanóico]. Este subproducto, que fue el compuesto mayoritario en mezcla de productos de la etapa 3, es precursor de 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)dihidrofuran-2(3*H*)-ona, por lo que su presencia redujo el porcentaje de rendimiento de la etapa 3 y del rendimiento total de la síntesis.
- ◆ Ácido 1-hidroxi-3-(4-metoxifenil)propano-1,1,3-triíoico fue producto de la hidrólisis de 1-hidroxi-3-(4-metoxifenil)propano-1,1,3-trinitrilo, compuesto detectado en la mezcla de productos de la etapa 2.
- ◆ Ácido 2-[4-amino-1,4,4-trihidroxi-3-(4-metoxifenil)butil]propenodiimídico, que fue el producto de la hidrólisis parcial de 1-hidroxi-3-(4-metoxifenil)propano-1,1,3-trinitrilo, compuesto detectado en la mezcla de productos de la etapa 2.

11. Según los resultados del presente trabajo, se concluye que con los dos procedimientos planteados y realizados no es posible obtener los derivados γ -hidroxibutanóidos objetivo.

12. Se comprobó que la ruta de síntesis alternativa planteada en el procedimiento “B” para la formación de un compuesto α,β -insaturado, adición de cianuro en la posición β de este compuesto y en la hidrólisis de este producto es una ruta viable para la síntesis de un derivado γ -butanóido, pudiendo obtenerse 3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil)oxolan-2-ona. Estos compuestos, por su tamaño y estructura pudieran tener también actividad antiinflamatoria, similar al 5-hidroxi-3-(4-metoxifenil)-dihidrofuran-2(3*H*)-ona].

13. Las reacciones del procedimiento desarrollado en este trabajo deben realizarse con compuestos que carezcan de grupos funcionales susceptibles a reacciones de eliminación, adición, sustitución y/o descarboxilación, o bien, que estos grupos estén protegidos adecuadamente para que la reacción de condensación de la etapa uno, de adición de cianuro de la etapa dos y de hidrólisis y ciclación de la etapa tres produzcan derivados γ -hidroxibutanólicos o γ -butanólicos y que la cantidad de subproductos sea mínima.

10. RECOMENDACIONES

Se recomienda emplear la columna HP-5ms o DB-1 con grosor de film de 0.33 μm , longitud de 25 m, 0.25 μm diámetro interno con las condiciones cromatográficas siguientes para lograr una mejor resolución, sin remanentes de fase estacionaria en los cromatogramas ni en los espectros de masas:

Gas acarreador: Helio (1.2 psi).
Modo de inyección: Sin división ("Splitless").
Detector: Espectrómetro de masas Hewlett Packard 5971A.
Temperatura en el inyector: 250 °C.
Temperatura en el detector: 280 °C.
Programa de temperatura: 50 °C x 3 min; 10 °C/min hasta 280 °C; 280 °C x 15 min.
Solvente de muestra: Etanol o acetona

- ◆ Se recomienda realizar el análisis cromatográfico y caracterización espectrométrica de muestras de cada etapa de cada procedimiento para evaluar y optimizar las condiciones de reacción de cada una.
1. Se recomienda realizar la titulación de dietilamida de litio con 0.156 g de mentol disuelto en 5 mL de tetrahidrofurano anhidro purificado, 4 a 5 cristales de o-fenantrolina y con base en el procedimiento presentado por Casey y colaboradores para detectar la formación de dietilamida de litio, y así corroborar la razón de infactibilidad o bajísimo rendimiento de la reacción de la etapa 1 del procedimiento propuesto originalmente para la síntesis de 4-metoxifenil acrilaldehído (etapa 1A).
 2. Se recomienda emplear diisopropilamida de litio comercial como base fuerte para formar el enolato del acetaldehído necesario para la reacción de condensación con 4-metoxibenzaldehído y verificar la no-factibilidad del procedimiento propuesto originalmente (etapa 1A) en este trabajo de investigación.
 3. Se recomienda realizar una alternativa al procedimiento propuesto (etapa 1A), empleado etóxido de sodio en etanol, el lugar de la dietilamida de litio para formar el enolato del acetaldehído necesario para la reacción de condensación con 4-metoxibenzaldehído. Con esta variante también se podrá verificar la factibilidad o no del procedimiento propuesto originalmente en este

trabajo de investigación. Se recomienda realizar la purificación del producto 1B antes de realizar la etapa de síntesis 2A (adición de cianuro al compuesto α,β -insaturado) a modo de conocer exactamente la cantidad inicial y determinar el porcentaje de rendimiento real de esta reacción.

- Se recomienda desarrollar un procedimiento para la purificación de 3-ciano-3-(4-metoxifenil)propanoato de etilo, producto de la etapa 2B, antes de realizar el procedimiento de la etapa 3B para reducir la probabilidad de formación de subproductos en la etapa 3B mediante el control de las cantidades estequiométricas así como de las condiciones de reacción.
- Se recomienda verificar la acidez de la mezcla durante la reacción de la etapa 3B para asegurar la hidrólisis completa de los nitrilos presentes en las diferentes estructuras, así como la destrucción de todo el cianuro libre disuelto en la mezcla. Con esto se podría lograr mejorar el porcentaje de rendimiento de síntesis total.
- Se recomienda realizar la destilación a presión reducida del producto de la etapa 1B [(2E)-3-(4-metoxifenil)acrilato de etilo] para establecer el rendimiento real de esta etapa, y realizar los ajustes estequiométricos de las reacciones posteriores.
- Se recomienda realizar el procedimiento descrito a continuación para la preparación de 4-metoxicinamonitrilo, y realizar con este producto las reacciones de las etapas 2B y 3B propuestas en este trabajo para sintetizar ácido 2-(4-metoxifenil)succínico y verificar si es un intermediario importante para la síntesis de los derivados γ -butanólidos 3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona y 5-etoxi-3-(4-metoxifenil)oxolan-2-ona y su efecto sobre el rendimiento de éstos.

10.1 Preparación de 4-metoxicinamonitrilo (Tiempo aproximado: 2 horas 40 minutos)

Figura 10.1 Reacción para la preparación de 4-metoxicinamato de etilo.

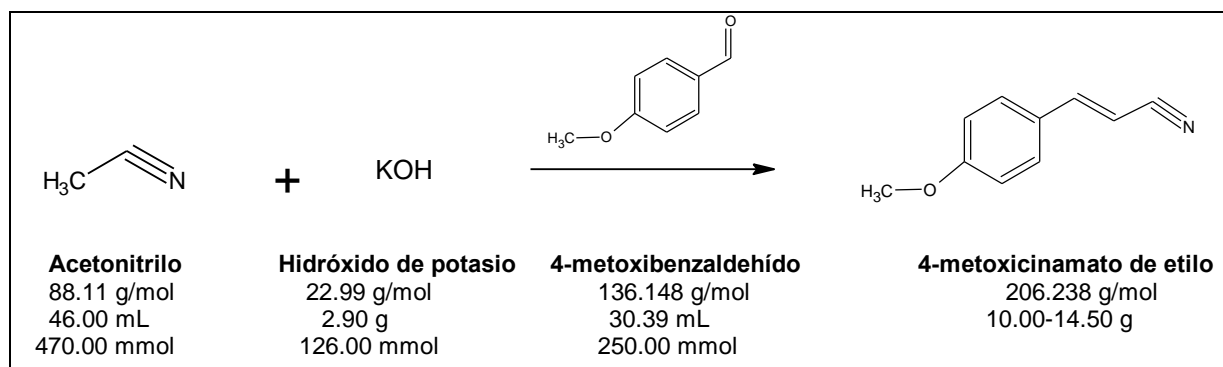
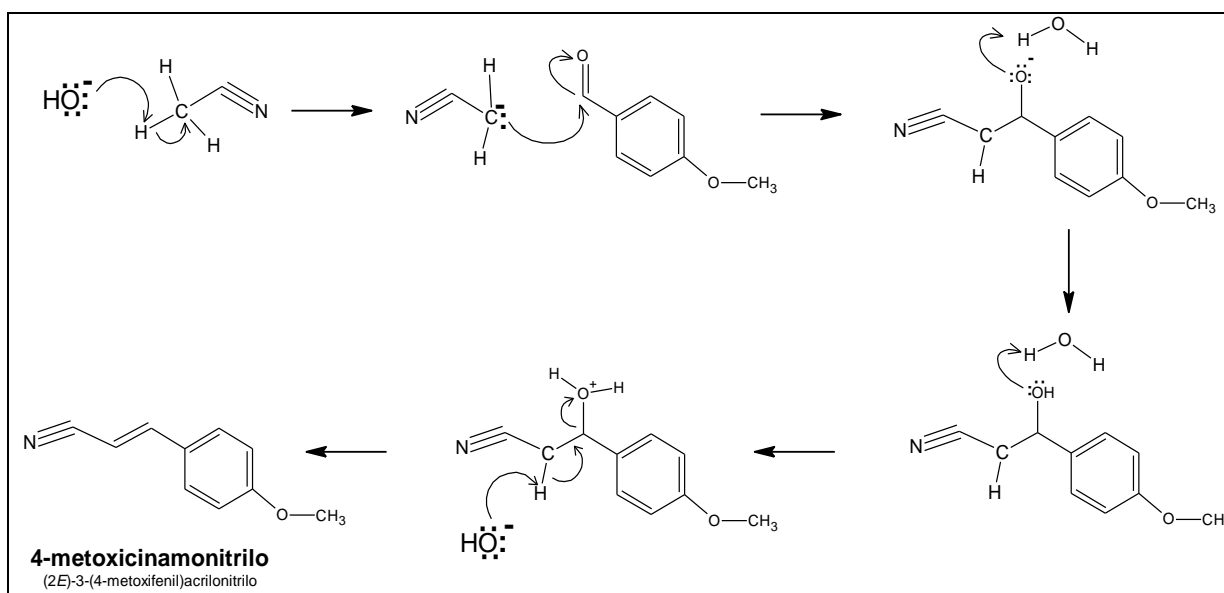


Figura 10.2 Mecanismo de reacción para la preparación de 4-metoxicinamato de etilo.



Rendimiento estimado: 31-45 % (DiBiase *et al.* 1929)

El porcentaje de rendimiento se estima con base en transformaciones de compuestos con características similares y sujetos a las mismas condiciones de reacción, y que siguen el mismo mecanismo de reacción que el reportado en las fuentes citadas.

10.1.1 Preparación de 4-metoxicinamonitrilo

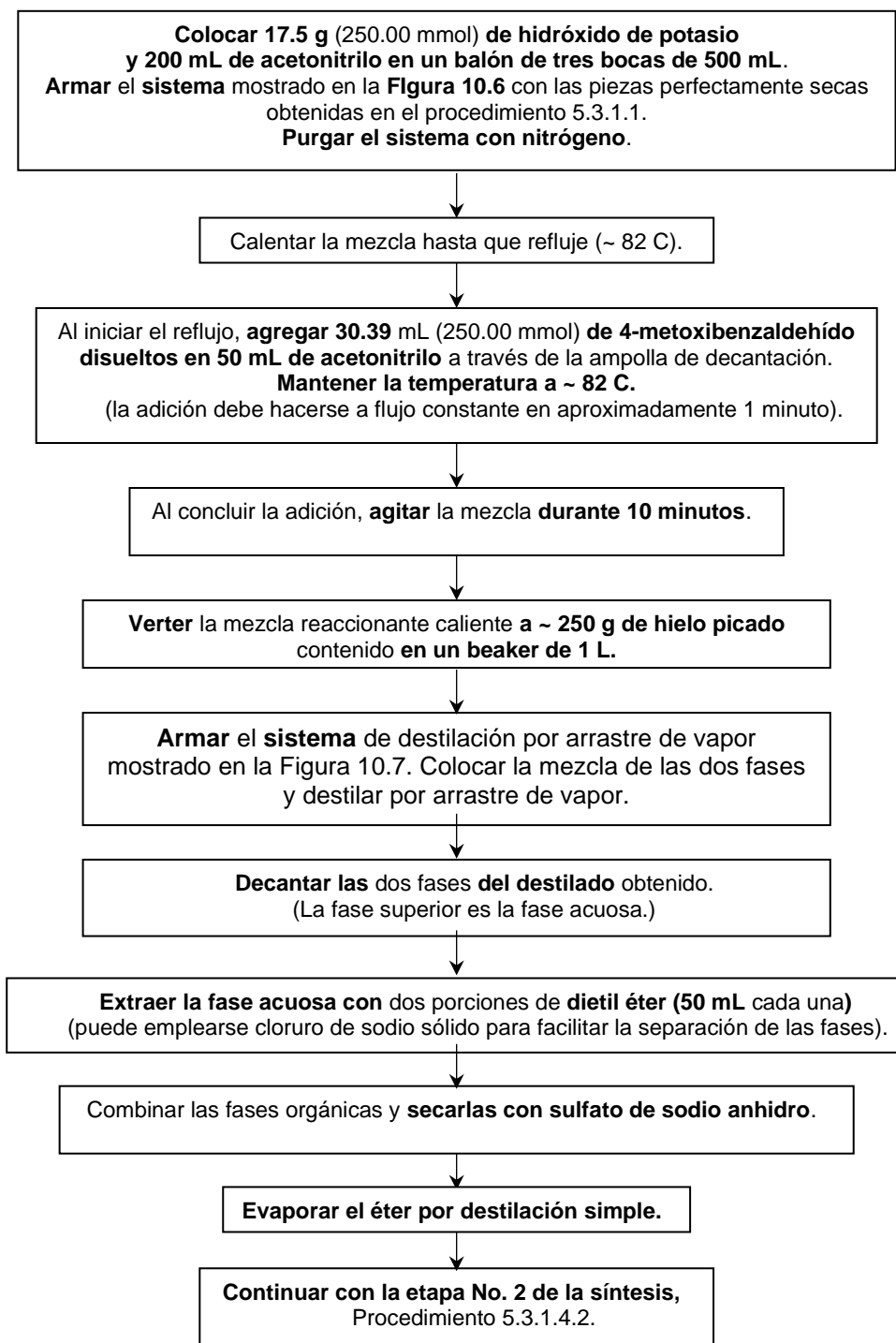


Figura 10.3 Sistema para la preparación de 4-metoxicinamonitrilo (procedimiento 10.1)

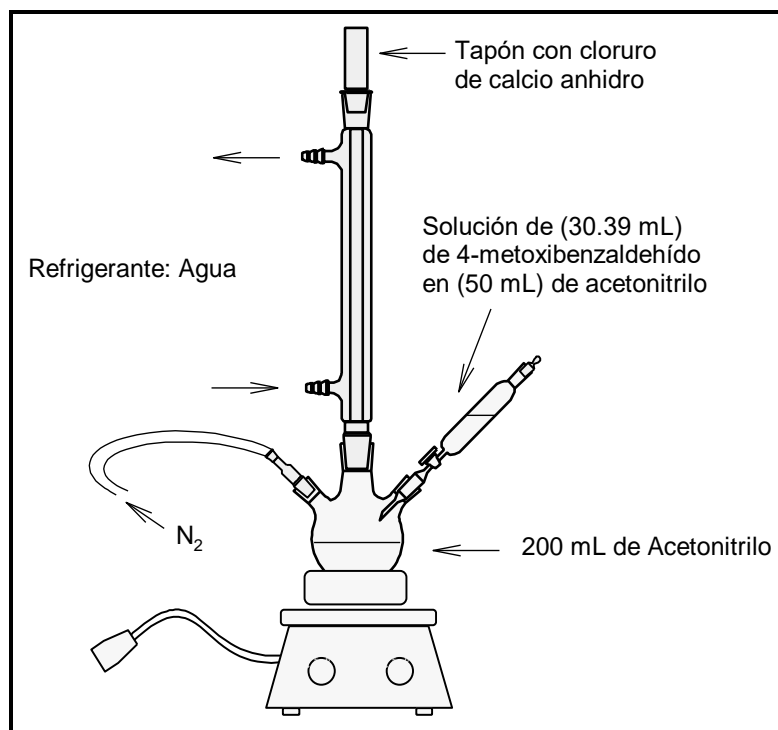
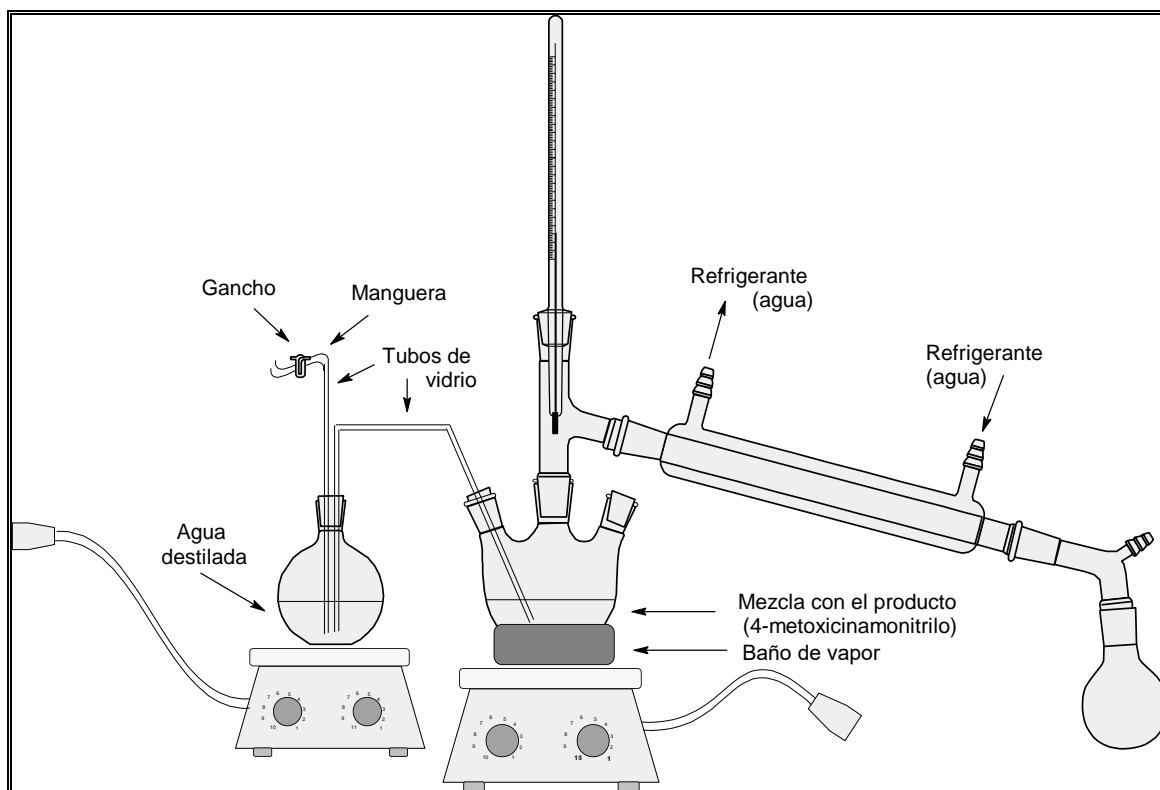


Figura 10.4 Sistema de destilación por arrastre de vapor (procedimiento 10.1.1)



11. BIBLIOGRAFÍA

1. Abe, T., Sakamoto, K., Kamohara, H., Hirano, Y., Kuwahara, N., y Ogawa, M. (1997). Group II phospholipase A₂ is increased in peritoneal and pleural effusions in patients with various types of cancer. *Int.J.Cancer*, (74), 245-250.
2. Adams, R., y Thal, A. (1929). Phenylacetic acid. *Organic Syntheses*. Collective Volume I. 436.
3. Agilent Technologies. (2003). Guía de selección de columnas Agilent JyW para GC. 143.
4. Akiba, S., Dodia, C., Chen, X., y Fisher, A. (1998). Characterization of acid Ca⁺²-independent phospholipase A₂ of bovine lung. *Comp.Biochem.Physiol.B*. (120), 393-404.
5. Allen, C., y Johnson, H. (1963). Phenylsuccinic acid. *Organic Syntheses*. Collective Volume IV. 804.
6. Allen, C., y Kimball, R. (1943). α -phenyl- β -benzoylpropionitrile. *Organic Syntheses*. Collective Volume II. 498.
7. Amandi-Burgermeister, E., Tibes, U., Kaiser, B., Friebe, W., y Scheuer, W. (1997). Suppression of cytokine synthesis, integrin expression and chronic inflammation by inhibitors of cytosolic phospholipase A₂. *Eu.J.Pharmacol.* (326), 237-250.
8. Balsinde, J., Bianco, I., Ackermann, E., Conde-Frieboes, K., y Dennis, E. (1995). Inhibition of calcium-independent phospholipase A₂ prevents arachidonic acid incorporation and phospholipid remodelling in P388D1 macrophages. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* (92), 8527-8531.
9. Bellanti, J. (1971). *Immunology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 584.
10. Braunwald, E., Fauci, A., Kasper, D., Hauser, S., Lange, D., y Jameson, L. (2002). *Principios de medicina interna*. (5 ed). Madrid: McGraw-Hill Interamericana. 3262.
11. Bondeson, J., y Sundler, R. (1996). Differential effects of tenidap on the zymosan- and lipopolysaccharide-induced expression of mRNA for proinflammatory cytokines in macrophages. *Biochem.Pharmacol.* (52), 35-42.
12. Bruice, P. (1983). Formation of a carbinolamine intermediate in the tertiary amine catalyzed enolization of oxaloacetic acid. An alternative mechanism for enolization. *J. Am. Chem. Soc.* (105), 4982-4996.
13. Bruice, P. (1990). Role of the acidity or the ketone in determining the mechanism of enolization via proton abstraction from ketone, carbinolamine, or imine. Catalysis of the enolization of 2,4-pentadione and 3-methyl-2,4-pentadione by oxyanions and by primary, secondary, and tertiary amines. *J.Am.Chem.Soc.* (112), 7361-7368.

14. Casey, M. Leonard, J. Lygo, B. Procter, G. (1990). *Advanced practical organic chemistry*. London: Blackie Academic y Professional. 264.
15. Chen, D., y Dennis, E. (1998). Expression and characterization of human group V phospholipase A₂. *Biochim.Biophys.Acta.* (1394), 57-64.
16. Cook, S., y Bergquist, P. (2000). Two new genera and five new species of the “*Cacospongia*” group (Porifera, Demospongiae, Dictyoceratida). *Zoosystema* (22), 383-400.
17. Craig, C., y Stitzel, R. (1994). *Modern pharmacology*. (4 ed). Boston: Little Brown and Company. 907.
18. Croxtall, J., Choudhury, Q., Tokumoto, H., y Flower, R. (1995). Lipocortino-1 and the control of arachidonic acid release in cell signalling glucocorticoids inhibit G protein-dependent activation of cPLA₂ activity. *Biochem.Pharmacol.* (50), 465-474.
19. Cubic (2003). Cologne University BioInformatics Center. *Brenda. Network of Bioinformatics Competence Centers (NBCC)*. Federal Ministry of Education and Research. Germany. <http://www.brenda.uni-koeln.de>
20. Dal Piaz, F., Casapullo, A., Randazzo, A., Riccio, R., Pucci, P., Marino, G., y Gomez-Paloma, L. (2002). Molecular basis of phospholipase A₂ inhibition by Petrosaspongiolide M. *ChemBioChem.* (3), 664-671.
21. Darnell, J. Lodish, H. Baltimore, D. (1990). *Molecular cell biology*. (2 ed). Oxford: Scientific American Books. 1105.
22. Dean, J. (1986). *Handbook of organic chemistry*. New York. McGraw-Hill. 450.
23. Dessen, A., Tang, J., Schmidt, H., Stahl, M., Clark, J., Seehra, J., y Somers, W. (1999). Crystal structure of human cytosolic phospholipase A₂ reveals a novel topology and catalytic mechanism. *Cell.* (97), 349-360.
24. DiBiase, A., Beadle, J., y Gokel, G. (1976). Synthesis of α,β -unsaturated nitriles from acetonitrile Cyclohexylideneacetonitrile and cinnamonitrile. *Organic Syntheses*. Collective Volume VII. 108.
25. Diwan, J. (1998). *Synthesis of eicosanoids*. RPI. United States of America.
26. Donne-Op, G., de Haas, G., y Egmond, M. (1983). *Localization of the second calcium ion binding site in porcine and equine phospholipase A₂*. *Biochemistry.* (22), 2470-2478.
27. Dray, A., y Perkins, M. (1993). Bradykinin and inflammatory pain. *Trends Neurosci.* (16), 99-104.
28. Evans, J., y Allen, C. (1943). 2-phenylpyridine. *Organic Syntheses*. Collective Volume II. 654.
29. Ewald, G., y McKenzie, C. (1995). *Manual of medical therapeutics*. The Washington manual. (28 ed). Boston: Little, Brown and Company. 641.
30. Faulkner. J. (2000). Marine pharmacology. *Antonie van Leeuwenhoek.* (77), 135–145.

31. Feigl, F., Anger, V., y Oesper, R. (1972). *Spot tests in inorganic chemistry*. (6 ed). Amsterdam: Elsevier Publishing Company. 351.
32. Fieser, L., y Fieser, M. (1967). *Reagents for organic synthesis*. New York: John Wiley and Sons. 1457.
33. Florey, K. (1975). *Analytical profiles of drug substances*. Pharmaceutical Analysis and Control Section Academy of Pharmaceutical Sciences. (Volumes 1-7). New York: Academic Press.
34. Fonteh, A., Bass, D., Marshall, L., Seeds, M., Samet, J., y Chilton, F. (1994). Evidence that secretory phospholipase A₂ plays a role in arachidonic acid release and eicosanoid biosynthesis by mast cells. *J.Immunol.* (152), 5438-5446.
35. Franken, P., van den Berg, L., Huang, J., Guniuzlu, P., Lugtigheid, R., Verheij, H., y de Haas, G. (1992). Purification and characterization of a mutant human platelet phospholipase A₂ expressed in *Escherichia coli*. *Eur.J.Biochem.* (203), 89-98.
36. Funk, C. (2001). Prostaglandins and leukotrienes. Advances in eicosanoid biology. *Science* (294), 1871-1875.
37. Garcia-Pastor, P., Randazzo, A., Gomez-Paloma, L., Alcaraz, M. J., y Payá, M. (1999). Effects of Petrosaspongiolide M, a novel phospholipase A₂ inhibitor, on acute and chronic inflammation. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* (289), 166-172.
38. Glaser, K. Mobilio, D. Chang, J. Senko, N. (1993). Phospholipase A₂ enzymes Regulation and inhibition. *TrendsPharmacol.Sci.* (14), 92-98.
39. Goodman y Gilman. (1996). *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. (9 ed). México: McGraw-Hill Interamericana. 1620.
40. Goppelt-Struebe, M. (1997). Molecular mechanisms involved in the regulation of prostaglandin biosynthesis by glucocorticoids. *Biochem.Pharmacol.* (53), 1389-1395.
41. Han, S., Ioon, E., y Cho, W. (1998). Bacterial expression and characterization of human secretory class V phospholipase A₂. *Biochem. J.* (331), 353-357.
42. Han, S., Lee, B., y Cho, W. (1997). Bacterial expression and characterization of human pancreatic phospholipase A₂. *Biochim.Biofis.Acta.* (1346), 185-192.
43. Hoffmann, G., Schneider, E., Brand, K., Kozumplik, V., y Fatoh-Moghadam, S. (1992). Characterization of a phospholipase A₂ in human serum. *Eur.J.Clin.Chem.Clin.Biochem.* (30), 111-117.
44. Iang, H., Farooqui, A., y Horrocks, L. (1996). Characterization of plasmalogen-selective phospholipase A₂ from bovine brain. *Adv.Exp.Med.Biol.* (416), 309-313.
45. Jacobson, P., Marshall, L., Sung, A., y Jacobs, R. (1996). Inactivation of human synovial fluid phospholipase A₂ by the marine natural product, Manoalide. *Biochem.Pharmacol.* (39), 1557-1564.

46. Kawauchi, I., Takasaki, J., Matsuura, I., y Masuho, I. (1994). Preparation and characterization of human rheumatoid arthritic synovial fluid phospholipase A₂ produced by recombinant baculovirus-infected cells. *J. Biochem.* (116), 82-87.
47. Kleinsmith, I., y Kish, V. (1995). *Principles of cell and molecular biology.* (2 ed). New York: Harper Collings. 810.
48. Lamura, E., Hillier, K., Kinkaid, A., y Wilton, D. (1997). Compartmentalization and characteristics of a Ca²⁺-dependent phospholipase A₂ in human colon mucosa. *Biochem.Pharmacol.* (53), 1323-1332.
49. Larsson-Forsell, P., Kennedi, B., y Clarsson, H. (1999). The human calcium-independent phospholipase A₂ gene. *Eur.J.Biochem.* (262), 575-585.
50. Lednicer, D., y Mitscher, L. (1977). *The organic chemistry of drug synthesis.* New York: John Wiley y Sons. (1), 471.
51. Lednicer, D., y Mitscher, L. (1980). *The organic chemistry of drug synthesis.* New York: John Wiley y Sons. (2), 526.
52. Lednicer, D., y Mitscher, L. (1980). *The organic chemistry of drug synthesis.* New York: John Wiley y Sons. (3), 284.
53. Lehninger, A., Nelson, D., y Cox, M. (1993). *Principles of biochemistry with an extended discussion of oxygen-binding proteins.* (2 ed). New York: Worth Publishers. 1073.
54. Lenga, R. (1988). *The Sigma-Aldrich library of chemical safety.* (2 ed). Sigma-Aldrich Corporation. Volumes I y II.
55. March, J. (1992). *Advanced organic chemistry. Reactions, mechanisms and structure.* (4 ed). New York: John Wiley and Sons. 464-472, 937.
56. Marshall, L.A., Bolognese, B., Winkler, J.D., y Roshak, A. (1997). Depletion of Human Monocyte 85-kDa Phospholipase A₂ does not Alter Leukotriene Formation. *J.Biol.Chem.* (272). 759-765.
57. Marvel, C., y King, W. (1929). Ethyl cinnamate. *Organic Syntheses.* Collective Volume I. 252.
58. Mathews, C., y Van Holde, K. (1996). *Biochemistry.* (2 ed). Merlo Park: The Benjamin Cummings Publishing Company. 1159.
59. Menkin, V. (1990). *Dynamics of Inflammation.* New York: The Macmillan Company. 244.
60. Merck Index. (1996). *The Merck Index An encyclopedia of chemical, drugs and biological.* (12 ed). Merck y Co. U.S.A.
61. Minami, T., Tojo, H., Shinomura, I., Matsuzawa, I., y Okamoto, M. (1993). Purification and characterization of a phospholipase A₂ from human ileal mucosa. *Biochim.Biophys.Acta.* (1170), 125-130.
62. Murray, R., Granner, D., Mayes, P., y Rodwell, V. (1994). *Bioquímica de Harper.* 13ª edición. México: Editorial El Manual Moderno. 961.

63. Naraba, H., Murakami, M., Matsumoto, H., Shimbara, S., Ueno, A., Kudo, I., y Ohishi, S. (1998). Segregated coupling of phospholipase A₂, cyclooxygenases, and terminal prostanoid synthases in different phases of prostanoid biosynthesis in rat peritoneal macrophages. *J.Immunol.* (160), 2974-2982.
64. NIH (National Institute of Health, United States of America Government), (2003) Resources for Macromolecular Modelling and Bioinformatics. [http //www.ks.uiuc.edu/](http://www.ks.uiuc.edu/)
65. Pan, Y., Yu, B., Singer, A., Ghomashchi, F., Lambeau, G., Gelb, M., Jain, M., y Bahnsen, B. (2002). Crystal structure of human group X secreted phospholipase A₂. Electrostatically neutral interfacial surface targets zwitterionic membranes. *J.Biol.Chem.* (2986), 277.
66. Paniagua, R., Nistal, M., Sesma, P., Alvarez-Vila, M., y Fraile, B. (1993). *Citología e histología vegetal y animal. Biología celular de las células y tejidos animales y vegetales.* New York: McGraw-Hill. 807.
67. Payá, M., Terencio, M., Ferrádiz, M., y Alcaraz, M.J. (1996). Involvement of secretory phospholipase A₂ activity in the zymosan rat air pouch model of inflammation. *Br.J.Pharmacol.* (117). 1773-1779.
68. Persico, O., Fong, S., Linch, D., Bicroft, M., y Williams, R. (1998). Crystal structure of a calcium- phospholipid binding domain from cytosolic phospholipase A₂. *J.Biol.Chem.* (273), 1596-1604.
69. Pfeilschifter, J., Schalkwijk, C., Briner, V., y Van den Bosch, H. (1993). Cytokine-stimulated secretion of group II phospholipase A₂ by rat mesangial cells its contribution to arachidonic acid release and prostaglandin synthesis by cultured rat glomerular cells. *J.Clin.Invest.* (92), 2516-2523.
70. Pretsch, E., Clerc, T., Seibl, J., y Simon, W. (1989). *Tales of Spectral Data for Structure Determination of Organic Compounds. ¹³C-NMR, ¹H-NMR, IR, MS, UV/VIS. Chemical Laboratory Practice.* (2 ed). Berlin: Springer-Verlag.
71. Price, C., y Judge, J. (1976). γ -crotonolactone [$\Delta^{\alpha,\beta}$ -Butenolide]. *Organic Syntheses.* Collective Volume V. 255.
72. Rehfeldt, W., Resch, K., y Goppelt-Estruebe, M. (1993). Cytosolic phospholipase A₂ from human monocytic cells. Characterization of substrate specificity and Ca²⁺-dependent membrane association. *Biochem.J.* (293), 255-261.
73. Reynolds, J. (2000). Martindale. The Extra Pharmacopoeia. (31 ed). London: The Pharmaceutical Press. 2363.
74. Ricoe, S., Soutan, C., Boid, H., Terrett, J., MacFee, C., Moores, K., Gloger, I., y Tew, D. (1998). Expression, purification and characterization of a human serine-dependent phospholipase A₂ with high specificity for oxidized phospholipids and platelet activating factor. *Biochem.J.* (330), 1309-1315.

75. Rutgers (The State University of New Jersey), San Diego Supercomputer Center (University of California, San Diego), National Institute of Standards and Technology, European Bioinformatics Institute Macromolecular Structure Database (United Kingdom), Institute for Protein Research (Osaka University, Japan) (2003). *PDB Protein Data Bank*. <http://www.rcsb.org/pdb/index.html>
76. Sahu, S., y Linn, W. (1977). Characterization of phospholipase A from pulmonary secretions of patients with alveolar proteinosis. *Biochim.Biofis.Acta.* (489), 307-317.
77. Samuelsson, B. (1983). Leukotrienes. Mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. *Science.* (220), 568-575.
78. Scott, D., White, S., Sbyszek, O., Yuan, W., Gelb, M., y Sigler, P. (1990). Interfacial catalysis. The mechanism of phospholipase A₂. *Science.* (250), 1541-1546.
- Scott, D., White, S., Sbyszek, O., Browning, J., Rosa, J., Gelb, M., y Sigler, P. (1991). Structures of free an inhibited human secretory phospholipase A₂ from inflammatory exudate. *Science.* (254), 1007-1010.
79. Silverstein, R., y Webster, F. (1997). *Spectrometric Identification of Organic Compounds.* (6 ed). New York: John Wiley y Sons. 482.
80. Takaiama, K., Kudo, I., Kim, D., Nagata, K., Nozawa, I., y Inoue, K. (1991). Purification and characterization of human platelet phospholipase A₂ which preferentially hydrolyzes an araquidonoil residue. *FEBS Lett.* (282), 326-330.
81. Takasaki, J., Kawauchi, Y., Yasunaga, T., y Masuho, Y. (1996). Human type II phospholipase A₂ induced MAC-1 expression on human neutrophils. *J.Leukoc.Biol.* (60), 174-180.
82. Van Lacker, J. (1976). *Molecular and cellular mechanisms in disease.* Berlin: Springer-Verlag. 1116.
83. Wada, A., Tojo, H., Sugiura, T., Fujiwara, Y., Kamada, T., Ueda, N., y Okamoto, M. (1997). Group II phospholipase A₂ as an autocrine growth factor mediating interleukin-1. Action on mesangial cells. *Biochim.Biophys.Acta.* (1345), 99-108.
84. Wery, J., Schevitz, R., Clawson, D., Bobbitt, J., Dow, E., Gamboa, G., Goodson, J., Hermann, R., Kramer, R., y McClure, D. (1991). Structure of recombinant human rheumatoid arthritic synovial fluid phospholipase A₂ at 2.2 Å resolution. *Nature.* (352), 79-82.
85. White, S. Scott, D. Sbyszek, O. Gelb, M. Sigler, P. (1990). Crystal structure of cobra-venom phospholipase A₂ in a complex with a transition-state analogue. *Science* (250), 1560-1563.
86. Wijkander, J O'Flaherty, J. Nixon, A. Wykle, R. (1995). 5-Lipoxygenase products modulate the activity of the 85-kDa phospholipase A₂ in Human neutrophils. *J.Biol.Chem* (270), 26543-26549.
87. Xie, L. Saunders, W. (1991). Unusual induced isotope effects in the reaction of 2-pentanone with dialkylamide bases. Evidence on the nature of the reactive base species. *J.Am.Chem.Soc.* (113), 3123-3130.

12. ANEXO

12.1 Información complementaria sobre la fosfolipasa A₂.

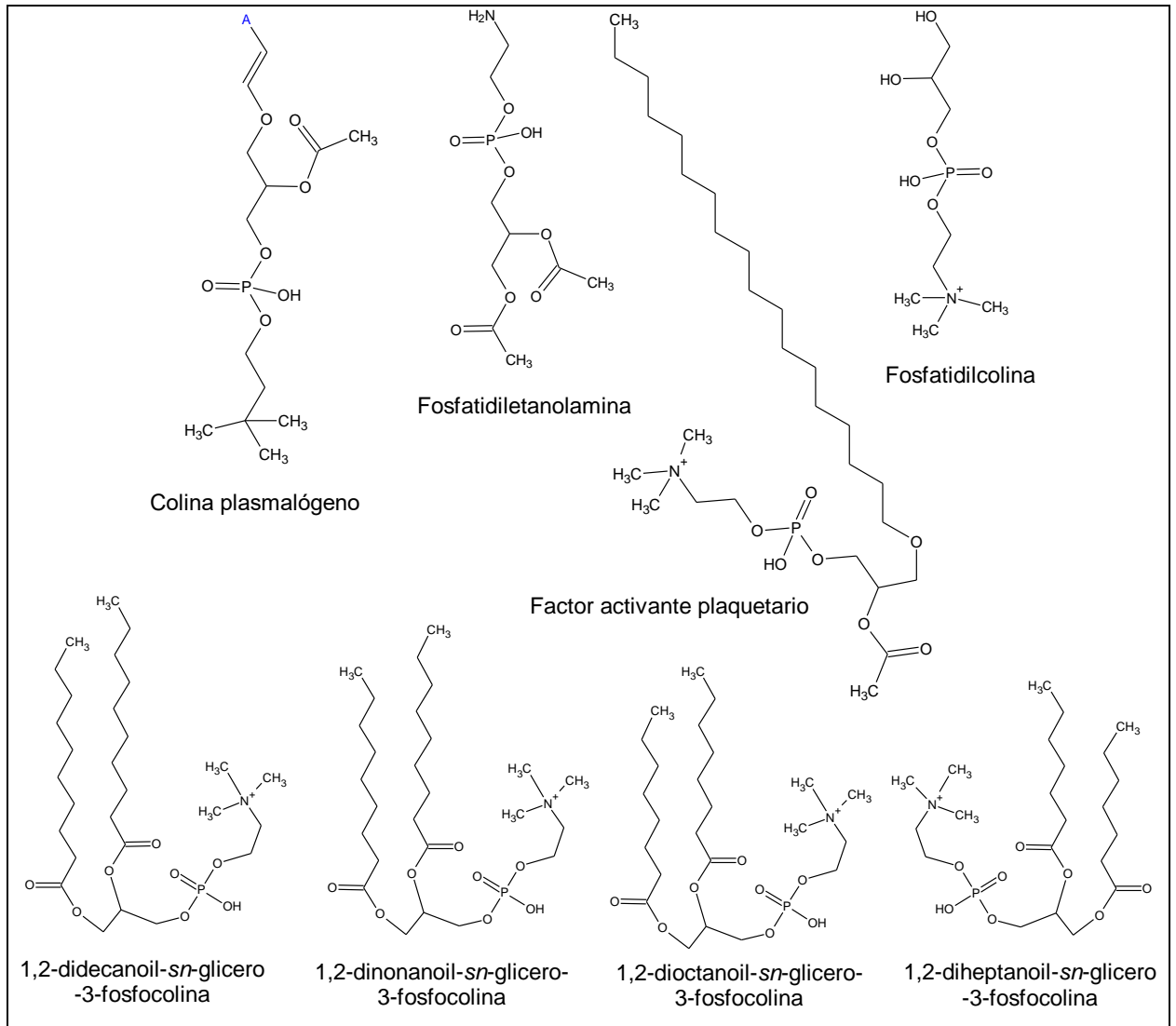
Cuadro 12.1 Información sobre sustratos y productos de la fosfolipasa A₂

Sustrato (más agua)	Producto	Referencia
1,2-didecanoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfocolina	1-decanoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfocolina + decanoato	(Franken <i>et al.</i> 1992)
1,2-didodecanoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfocolina	1-decanoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfocolina + decanoato	(Franken <i>et al.</i> 1992)
1,2-diheptanoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosforilcolina	1-heptanoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosforilcolina + heptanoato	(Franken <i>et al.</i> 1992)
1,2-diheptanoil- <i>sn</i> -glicero-3-sulfato	1-heptanoil- <i>sn</i> -glicero-3-sulfato + heptanoato	(Franken <i>et al.</i> 1992)
1,2-dihexanoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfocolina	1-hexanoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfocolina + hexanoato	(Franken <i>et al.</i> 1992)
1,2-dilauroil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfocolina	1-lauroil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfocolina + laurato	(Franken <i>et al.</i> 1992)
1,2-dimiriestoil- <i>sn</i> -fosfatidilcolina	1-miriestoil-fosforilcolina + ácido mirístico	(Franken <i>et al.</i> 1992)
1,2-dinonanoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfocolina	1-nonanoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfocolina + nonanoato	(Franken <i>et al.</i> 1992)
1,2-dioctanoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfocolina	1-octanoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfocolina + octanoato	(Han <i>et al.</i> 1997) (Franken <i>et al.</i> 1992)
1,2-dioctanoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfoglicol	1-octanoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfoglicerol + octanoato	(Franken <i>et al.</i> 1992)
1,2-dioleoil- <i>sn</i> -fosfatidilcolina	1-oleoil- <i>sn</i> -fosfatidilcolina + oleato	(Franken <i>et al.</i> 1992)
1,2-dioleoil- <i>sn</i> -fosfatidiletanolamina	1-oleoil- <i>sn</i> -fosfatidiletanolamina + oleico ácido	(Franken <i>et al.</i> 1992)
1,2-dipalmitoil- <i>sn</i> -fosfatidilcolina	1-palmitoil-glicerofosforilcolina + palmítico ácido	(Franken <i>et al.</i> 1992)
1,2-dipalmitoil- <i>sn</i> -fosfatidiletanolamina	1-palmitoil- <i>sn</i> -fosfatidiletanolamina + palmítico ácido	(Franken <i>et al.</i> 1992)
1-acil-2-araquidonoil-glicerofosfocolina	1-acil-glicerofosfocolina + ácido araquidónico	(Takaiama <i>et al.</i> 1991)
1-acil-2-araquidonoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfoetanolamina	1-acil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfoetanolamina + ácido araquidónico	(Takaiama <i>et al.</i> 1991)
1-hexadecanoil-2-(1-pirenodecanoil)-glicero-3-fosfoerina	1-hexadecanoil-glicero-3-fosfoerina + 1-pirenodecanoato	(Franken <i>et al.</i> 1992) (Takaiama <i>et al.</i> 1991)
1-oleoil-2-palmitoil- <i>sn</i> -fosfatidilcolina	1-oleoil- <i>sn</i> -fosfatidilcolina + palmítico ácido	(Takaiama <i>et al.</i> 1991)
1-palmitoil-2-araquidonoilfosfatidilcolina	1-palmitoil-glicerofosforilcolina + ácido araquidónico	(Ricoe <i>et al.</i> 1998)
1-palmitoil-2-araquidonoilfosfatidiletanolamina	1-palmitoil-glicerofosfoiletanolamina + ácido araquidónico	(Han <i>et al.</i> 1998)

Cuadro 12.1 Información sobre sustratos y productos de la fosfolipasa A₂
(continuación)

1-palmitoil-2-linoleilfosfatidilcolina	1-palmitoil-glicerofosforilcolina + linólico ácido	(Han <i>et al.</i> 1998) (Han <i>et al.</i> 1997)
1-palmitoil-2-linoleilfosfatidiletanolamina	1-palmitoil-glicerofosforiletanolamina + linólico ácido	(Han <i>et al.</i> 1998) (Han <i>et al.</i> 1997)
1-hexadecanoil-2-(1-pirenodecanoil)-glicero-3-fosfoglicerol	1-hexadecanoil-glicero-3-fosfoglicerol + 1-pirenodecanoato	(Han <i>et al.</i> 1998) (Han <i>et al.</i> 1997)
1-hexadecanoil-2-(1-pirenodecanoil)-glicero-3-fosfosserina	1-hexadecanoil-glicero-3-fosfosserina + 1-pirenodecanoato	(Han <i>et al.</i> 1998)
1-oleoil-2-palmitoil-fosfatidilcolina	1-oleoil-fosfatidilcolina + palmítico ácido	(Sahuet <i>et al.</i> 1977)
1-palmitoil-2-araquidonoilfosfatidilcolina	1-palmitoil-glicerofosforilcolina + ácido araquidónico	(Dessen <i>et al.</i> 1999) (Chen <i>et al.</i> 1998) (Akiba <i>et al.</i> 1998) (Lamura <i>et al.</i> 1997)
1-palmitoil-2-araquidonoilfosfatidiletanolamina	1-palmitoil-glicerofosforiletanolamina + ácido araquidónico	(Larsson <i>et al.</i> 1999)
1-palmitoil-2-linoloilfosfatidilcolina	1-palmitoil-glicerofosforilcolina + linólico ácido	(Chen <i>et al.</i> 1998)
1-palmitoil-2-linoloilfosfatidiletanolamina	1-palmitoil-glicerofosforiletanolamina + linólico ácido	(Chen <i>et al.</i> 1998) (Kawauchi <i>et al.</i> 1994)
1-palmitoil-2-oleoilfosfatidilcolina	1-palmitoil-glicerofosfocolina + oleico ácido	(Lamura <i>et al.</i> 1997) (Minami <i>et al.</i> 1993) (Sahuet <i>et al.</i> 1977)
1-palmitoil-2-oleoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfoetanolamina	1-palmitoil-2-oleoil- <i>sn</i> -glicero-3-fosfoglicerol + agua	(Minami <i>et al.</i> 1993)
1-estearoil-2-araquidonoilfosfatidilcolina	1-estearoil-glicerofosforilcolina + ácido araquidónico	(Dessen <i>et al.</i> 1999)
2-araquidonoil-fosfatidiletanolamina	fosfatidiletanolamina + ácido araquidónico	(Rehfeldt <i>et al.</i> 1993)
Colina plasmalógeno	Lisoplasmalógeno + ácido graso	(Ing <i>et al.</i> 1996)
Diaraquidonilfosfatidilcolina	Araquidonilfosfatidilcolina + ácido araquidónico	(Sahuet <i>et al.</i> 1977)
Dioloil fosfatidilglicerol		(Lamura <i>et al.</i> 1997) (Franken <i>et al.</i> 1992)
Fosfatidilcolinas oxidadas	1-acilglicerofosfocolina + ácidos grasos oxidados	(Ricoe <i>et al.</i> 1998) (Akiba <i>et al.</i> 1998) (Ricoe <i>et al.</i> 1998)
Fosfatidilcolina	1-acilglicerofosfocolina + ácido graso	(Akiba <i>et al.</i> 1998) (Rehfeldt <i>et al.</i> 1993) (Sahuet <i>et al.</i> 1977)
Fosfatidiletanolamina	Fosfatidiletanolamina + ácido araquidónico	(Rehfeldt <i>et al.</i> 1993)
Fosfatidilglicerol	1-acilglicerol + ácido graso	(Rehfeldt <i>et al.</i> 1993)
Fosfatidilinositol	Fosfatidilinositol + ácido graso	(Rehfeldt <i>et al.</i> 1993)
Fosfatidilserina	Fosfatidilserina + ácido graso	(Rehfeldt <i>et al.</i> 1993)
Factor activante de las plaquetas	----	(Ricoe <i>et al.</i> 1998)
rac-1,2-dihexanoilditiopropil-3-fosfocolina	----	(Franken <i>et al.</i> 1992)

Figura 12.1 Estructuras de algunos de los sustratos de la fosfolipasa A₂ en seres humanos



Cuadro 12.2 Información sobre la localización de la fosfolipasa A₂ en órganos en el ser humano (*Homo sapiens*)

Tejido fuente	Fuente
Cerebro	(log <i>et al.</i> 1996) (Larsson <i>et al.</i> 1999) (Ricoe <i>et al.</i> 1998)
Corazón	(Chen <i>et al.</i> 1998) (Ing <i>et al.</i> 1996) (Larsson <i>et al.</i> 1999)
Estómago	(Larsson <i>et al.</i> 1999)
Fluido sinovial artrítico	(Kawauchi <i>et al.</i> 1994)
Hígado	(Akiba <i>et al.</i> 1998)(Chen <i>et al.</i> 1998)
Leucocitos sanguíneos periféricos	(Chen <i>et al.</i> 1998) (Larsson <i>et al.</i> 1999) (Ricoe <i>et al.</i> 1998) (Rehfeldt <i>et al.</i> 1993)
Médula espinal	(Larsson <i>et al.</i> 1999)
Médula ósea	(Larsson <i>et al.</i> 1999)
Mucosa cecal	(Minami <i>et al.</i> 1993)
Mucosa del colon	http://www.brenda.uni-koeln.de/php/lit.php4?e=3.1.1.4&r=10 (Lamura <i>et al.</i> 1997) (Minami <i>et al.</i> 1993)
Mucosa ileal	(Minami <i>et al.</i> 1993)
Músculo esquelético	(Larsson <i>et al.</i> 1999)
Páncreas	(Han <i>et al.</i> 1997) (Donne-Op <i>et al.</i> 1983)
Placenta	(Chen <i>et al.</i> 1998)
Plaquetas	(Franken <i>et al.</i> 1992) (Takaiama <i>et al.</i> 1991)
Próstata	(Larsson <i>et al.</i> 1999)
Pulmón	(Akiba <i>et al.</i> 1998) (Chen <i>et al.</i> 1998) (Sahu <i>et al.</i> 1977)
Suero	(Hoffmann <i>et al.</i> 1992)
Testículos	(Larsson <i>et al.</i> 1999)
Tiroides	(Larsson <i>et al.</i> 1999)
Tráquea	(Larsson <i>et al.</i> 1999)

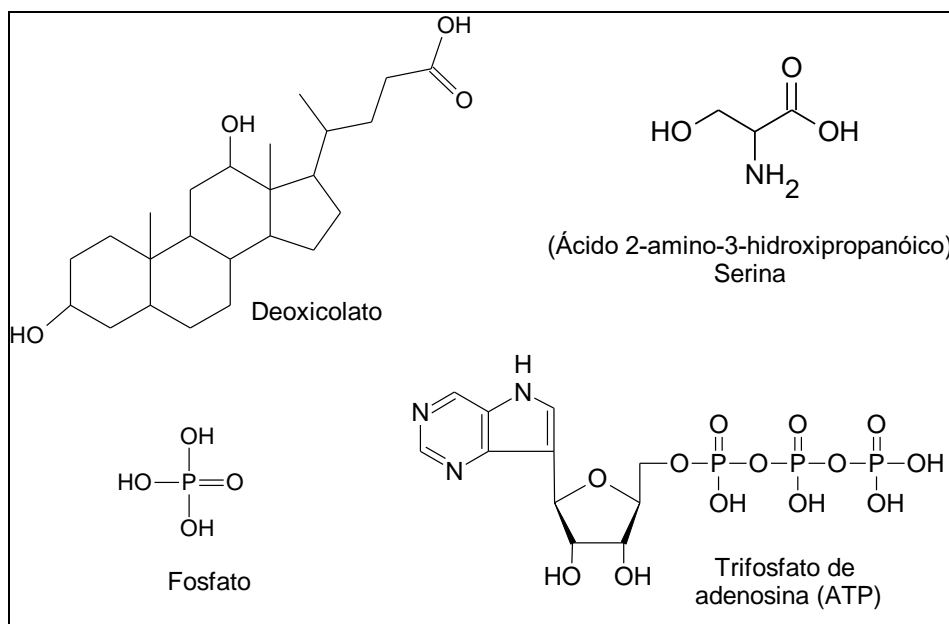
Cuadro 12.3 Información sobre la localización de la fosfolipasa A₂ a nivel celular en el ser humano

Ubicación	Fuente
Citoplasma	(Akiba <i>et al.</i> 1998) (Dessen <i>et al.</i> 1999) (Lamura <i>et al.</i> 1997) (Larsson <i>et al.</i> 1999) (Ing <i>et al.</i> 1996) (Rehfeldt <i>et al.</i> 1993) (Takaiama <i>et al.</i> 1991)
Microsoma	(Lamura <i>et al.</i> 1997)
Plasma y membrana	(Larsson <i>et al.</i> 1999) (Rehfeldt <i>et al.</i> 1993)
Vesícula secretora	(Chen <i>et al.</i> 1998) (Han <i>et al.</i> 1998)

Cuadro 12.4 Sustancias activantes de la fosfolipasa A₂ en humanos

Compuestos activantes	Comentario
Deoxicolato	-----
Fosfato	Requiere fosforilación para actuar (Rehfeldt <i>et al.</i> 1993)
Trifosfato de adenosina (ATP)	Plasmalógeno-específico a fosfolipasa A ₂ (Ing <i>et al.</i> 1996)
Serina	Fosfolipasa A ₂ dependiente de la serina humana (Ricoe <i>et al.</i> 1998)

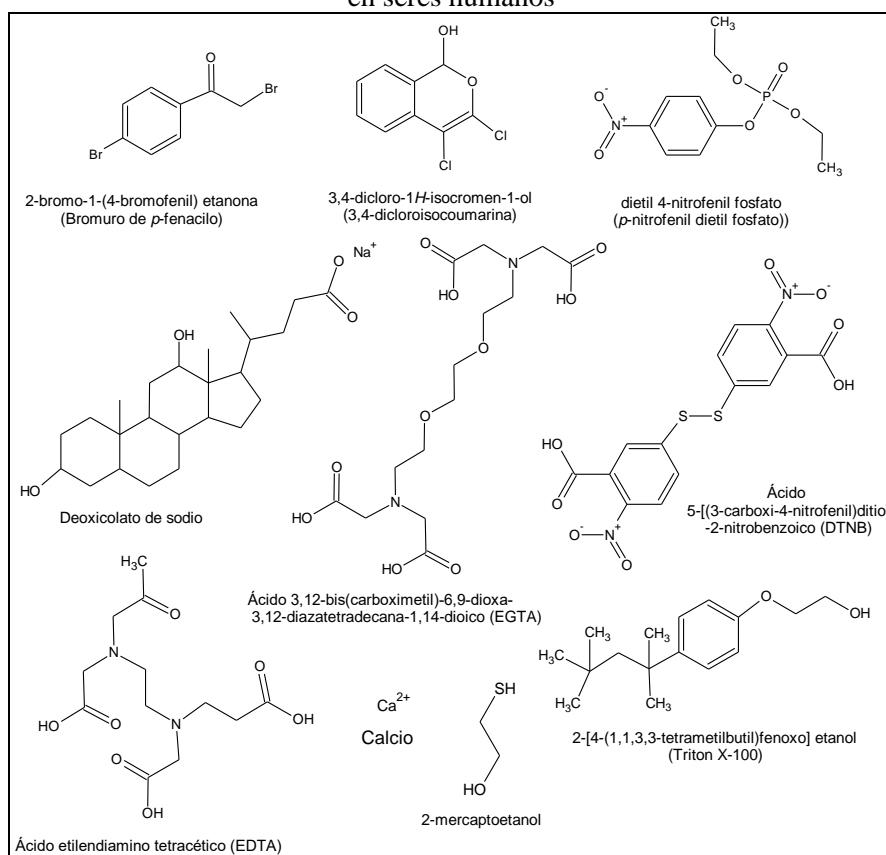
Figura 12.2 Estructuras de algunos de los activantes de la fosfolipasa A₂ en seres humanos



Cuadro 12.5 Información sobre las sustancias inhibidoras de la fosfolipasa A₂

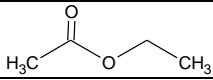
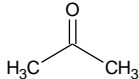
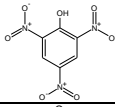
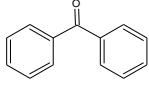
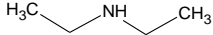
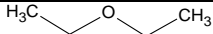
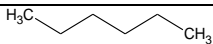

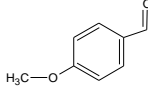
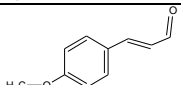
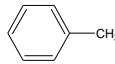
Inhibidores	Referencia
2-mercaptoetanol	(Rehfeldt <i>et al.</i> 1993)
2-tetradecanoilaminohexanol-1-fosfocolina 2-tetradecanoilaminohexanol-1-fosfoetanolamina 2-tetradecanoilaminohexanol-1-fosfoglicol	(Franken <i>et al.</i> 1992)
3,4-dicloroisocoumarina	(Ricoe <i>et al.</i> 1998) (Akiba <i>et al.</i> 1998)
Ácido 3-(3-acetamida-2-bencil-2-etilindolil-5-oxi)propano fosfónico	(Chen <i>et al.</i> 1998)
Bromoenuclona	(Ing <i>et al.</i> 1996)
p-bromofenacil bromuro	(Franken <i>et al.</i> 1992)
Ca ²⁺	(Kawauchi <i>et al.</i> 1994)
Deoxicolato de sodio	(Ing <i>et al.</i> 1996) (Kawauchi <i>et al.</i> 1994)
Dietyl p-nitrofenil fosfato	(Ricoe <i>et al.</i> 1998) (Akiba <i>et al.</i> 1998)
Diisopropil fluorofosfato	(Ricoe <i>et al.</i> 1998) (Akiba <i>et al.</i> 1998)
Ditiotreitol	(Lamura <i>et al.</i> 1997) http://www.brenda.uni-koeln.de/php/lit.php4?e=3.1.1.4&r=10
DTNB	(Ing <i>et al.</i> 1996)
EDTA	(Rehfeldt <i>et al.</i> 1993) (Franken <i>et al.</i> 1992)
EGTA	(Rehfeldt <i>et al.</i> 1993) (Takaiama <i>et al.</i> 1991)
Tris/maleato amortiguador	(Hoffmann <i>et al.</i> 1992)
Triton X-100	(Ing <i>et al.</i> 1996) (Kawauchi <i>et al.</i> 1994)

Figura 12.3 Estructuras de algunos de los inhibidores de la fosfolipasa A₂ en seres humanos



12.2 Información sobre reactivos, intermediarios y productos.

Cuadro 12.6 Información cuantitativa y cualitativa de reactivos

No.	Nombre	Estructura	Peso molecular	Calidad, pureza (concentración)	Observaciones
1	Acetaldehído	CH ₃ CHO	44.053 (C ₂ H ₄ O)	Para síntesis	CAS No. 75-07-0
2	Acetato de etilo		88.11 (C ₄ H ₈ O ₂)	Para síntesis	CAS No. 141-78-6
3	Acetona		58.11 (C ₃ H ₆ O)	Para síntesis	CAS No. 67-64-1
4	Acetonitrilo	CH ₃ CN	41.05 (C ₂ H ₃ N)	Para síntesis	CAS No. 75-05-8
5	Ácido acético glacial	CH ₃ COOH	60.052 (C ₂ H ₄ O ₂)	Para síntesis	CAS No. 64-17-7
6	Ácido clorhídrico	HCl	36.45	Para síntesis	
7	Ácido pícrico		229.11 (C ₆ H ₃ N ₃ O ₇)	Para síntesis	CAS No. 88-89-1
8	Benzofenona		103.12 (C ₁₃ H ₁₀ O)	Para síntesis	CAS No. 1000-47-0
9	Cloroforno	CHCl ₃	119.68	Para síntesis	CAS No. 67-66-3
10	Cloruro de calcio anhidro	CaCl ₂	110.92	Para síntesis	CAS No. 10043-52-4
11	Cianuro de potasio	KCN	65.116	Para síntesis	CAS No. 151-50-8
12	Cianuro de sodio	NaCN	49.007	Para síntesis	CAS No. 143-33-9
13	Diclorometano	CHCl ₂	84.93	Para síntesis	CAS No. 75-09-2
14	Dietilamina		73.137 (C ₄ H ₁₁ N)	Para síntesis	CAS No. 109-89-7
15	Dietil éter		74.112 (C ₄ H ₁₀ O)	Para síntesis	CAS No. 60-29-7
16	Etanol	CH ₃ CH ₂ OH	46.068 (C ₂ H ₆ O)	Para síntesis	CAS No. 64-17-5
17	Éter de petróleo	-----	-----	Para síntesis	CAS No. 8032-32-6
18	Hexano		86.175 (C ₆ H ₁₄)	Para síntesis	CAS No.
19	Metanol	H ₃ C—OH	32.042 (CH ₃ OH)	Para síntesis	CAS No. 67-56-1
20	Nitrógeno	N ₂	28.013	-----	-----
21	Tetrahidrofurano		72.11 (C ₄ H ₈ O)	Para síntesis	-----
22	Sodio	Na	22.9898	Para síntesis	CAS No. 7440-23-5
23	Sulfato de magnesio anhidro	MgSO ₄	120.36	Grado reactivo	CAS No. 7487-88-9
24	4-metoxi benzaldehído		136.148 (C ₈ H ₈ O ₂)	Para síntesis	CAS No. 123-11-5
25	3-(4-metoxifenil) acrilaldehído		162.85 (C ₁₀ H ₁₀ O ₂)	Para síntesis	-----
26	Tolueno		92.14 (C ₇ H ₈)	Grado reactivo	CAS No. 108-88-3

(Merck Index 1996)

Cuadro 12.7 Información cuantitativa y cualitativa de subproductos, intermediarios producto final

No.	Nombre	Estructura	Peso molecular	Observaciones
28	<i>m</i> -xileno		106.11 (C ₈ H ₁₀)	CAS No. 108-38-3
29	(2 <i>E</i>)-2-butenal (Crotonaldehído)		70.090 (C ₄ H ₆ O)	CAS No. 123-73-9
30	Benzoato de (2 <i>E</i>)-2-butenilo		176.212 (C ₁₁ H ₁₂ O ₂)	CAS No. 93-89-0
31	Benzoato de etilo		150.174 (C ₉ H ₁₀ O ₂)	CAS No. 93-89-0
32	(2 <i>E</i>)-4-hidroxi-3-metil-4-fenil-2-butenal		176.212 (C ₁₁ H ₁₂ O ₂)	-----
33	2-(4-metoxifenil) 4-oxo butano nitrilo		189.211 (C ₁₁ H ₁₁ NO ₂)	-----
34	(2 <i>E</i>)-4-(4-metoxifenil) pent-2-eno dinitrilo		198.221 (C ₁₂ H ₁₀ N ₂ O)	-----
35	2-hidroxi-4-(4-metoxifenil) pentano dinitrilo		216.236 (C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₂)	-----
36	(3 <i>E</i>)-2-hidroxi-4-(4-metoxifenil) but-3-eno nitrilo		189.211 (C ₁₁ H ₁₁ NO ₂)	-----
37	5-hidroxi-3-(4-metoxifenil) dihidrofuran-2(3 <i>H</i>)-ona		208.211 (C ₁₁ H ₁₂ O ₄)	-----
38	3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo		206.238 (C ₁₃ H ₁₅ O ₃ N)	-----
39	3-(4-metoxifenil)oxolan- 2,5-diona		206.192 (C ₁₁ H ₁₀ O ₄)	-----
40	5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona		233.237 (C ₁₃ H ₁₃ O ₃)	-----

(Merck Index 1996)

Cuadro 12.8 Propiedades físicas de reactivos

No.	Nombre	Características generales	Temperatura (C)				Densidad (g/mL)	Solubilidad
			Fus.	Ebul.	Descom	Inflama.		
1	Acetaldehído	Líquido incoloro Olor pungente	-123	20.4	> 400	140	0.78 a 25 C	Soluble en agua y etanol.
2	Acetato de etilo	Olor a frutas	-84	77	----	----	0.902	Soluble en agua, etanol, acetona, éter y cloroformo.
3	Acetona	Líquido incoloro $\eta = 1.3585$	-94	56	----	----	0.791	Soluble en agua, etanol, éter y cloroformo.
4	Acetonitrilo	Líquido incoloro $\eta = 1.3440$	-48	82	----	12	0.786	Soluble en agua, acetato de etilo, acetona, cloroformo y dietil éter.
5	Ácido Acético glacial	Olor pungente	17	116-118	----	44	1.06	Soluble en agua a 20 C Soluble en etanol
6	Ácido clorhídrico	Líquido incoloro	-15	----	----	----	1.20	Soluble en agua.
7	Ácido Pícrico	Cristales amarillos	122.5	----	300	----	----	1 g en 78 mL de agua. Soluble en cloroformo, etanol y éter.
8	Benzofenona	Cristales. Olor a geranio	49	305	----	----	----	Insoluble en agua. Soluble en etanol, éter y cloroformo.
9	Bromobenceno	Líquido incoloro.	-31	156	----	51	1.491	Insoluble en agua. Soluble en benceno y cloroformo.
10	Cloroformo	Líquido incoloro $\eta = 1.4460$	-63	61	----	----	1.492	Etanol, benceno y éter.
11	Cloruro de calcio anhidro	Polvo blanco	772	> 1600	----	----	2.150	Ligeramente soluble en agua.
12	Cianuro de potasio	Sólido blanco. Olor a almendra	624	1625	----	----	1.55	716 g/L en agua a 25 C 4.5 g/L en etanol a 19.5 C
13	Cianuro de sodio	Sólido blanco Olor a almendra	563	1496	>1500	----	1.6 a 20 C	370 g/L en agua a 20 C Ligeramente soluble en etanol
14	Diclorometano	Líquido incoloro $\eta = 1.4240$	-97	40	----	----	1.325	Soluble en cloroformo, éter, benceno y tolueno.
15	Dietilamina	Líquido incoloro $\eta = 1.3861$	-50	55	----	----	0.707	Soluble en agua, etanol, éter, benceno y tolueno.
16	Dietil éter	Líquido incoloro	-116.3	34.6	----	----	0.713	Soluble en benceno, etanol, cloroformo.
17	Etanol	Líquido incoloro	-114.5	78.3	----	42.5	0.790	Soluble en agua Soluble en cloroformo
18	Éter de petróleo	Líquido incoloro	----	35-60	----	----	0.640	Soluble en benceno, etanol, cloroformo.
19	Hexano	Líquido incoloro $\eta = 1.3749$	-95	69	---	-23	0.569	Soluble en solventes polares
20	Litio	Cable plateado.	180	1336	----	----	0.534	Soluble en hidróxido de amonio.
21	Metanol	Líquido incoloro $\eta = 1.3290$	-98	64.9	----	----	0.791	Soluble en agua, etanol, éter, benceno y acetona.
22	Nitrógeno	Gas	----	----	----	----	----	----
23	Tetrahidrofurano	Líquido incoloro $\eta = 1.4064$		66.1	----	----	0.889	----
24	Sodio	Metal plateado	97.8	881.4	----	----	0.968	Soluble en mercurio, con el cual forma amalgama.
25	Sulfato de magnesio anhidro	Polvo blanco	----	----	----	----	1.670	Ligeramente soluble en etanol. Soluble en agua.
26	4-metoxi benzaldehído	Olor a almendra $\eta = 1.572$	0-2	247-249	> 160	220	1.12 a 25 C	2 g/L en agua Soluble en etanol
27	Tolueno	Líquido incoloro $\eta = 1.4968$	-93	111	----	----	0.867	Insoluble en agua. Soluble en etanol, éter y cloroformo
28	Yodo resublimado	Gránulos grises	113.5	184.4	----	----	4.930	Soluble en acetona y ácido acético glacial.

(Merck Index 1996)

Cuadro 12.9 Propiedades físicas de subproductos, intermediarios y producto final

No.	Nombre	Características generales	Temperatura (C)				Densidad (g/mL)	Solubilidad
			Fus.	Ebull.	Descom	Inflama.		
29	(2E)-2-butenal (Crotonaldehído)	Líquido incoloro $\eta = 1.4365$	----	104	----	----	0.846	Soluble en agua.
30	Benzoato de (2E)-2-butenilo	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
31	Benzoato de etilo	Líquido incoloro $\eta = 1.5049$	-34	212	----	----	1.051	----
32	(2E)-4-hidroxi-3-metil-4-fenil-2-butenal	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
33	2-(4-metoxifenil) 4-oxobutano nitrilo	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
34	4-(4-metoxifenil) pent-2-eno dinitrilo	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
35	2-hidroxi-4-(4-metoxifenil) pentano dinitrilo	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
36	2-hidroxi-4-(4-metoxifenil) but-3-eno nitrilo	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
37	5-hidroxi-3-(4-metoxifenil) dihidrofuran-2(3H)-ona	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
38	3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
39	3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
40	5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND

Fus. = Fusión

Descom. = Descomposición

Ebull. = Ebullición

Inflama. = Inflamación

IND = Información no-disponible

(Merck Index 1996)

Cuadro 12.10 Información sobre toxicidad y precauciones en el manejo de reactivos

No.	Nombre	Dosis letal media LD ₅₀ (mg/kg)	Síntomas de intoxicación	Antídoto y tratamiento	Incompatibilidades y cuidados especiales
1	Acetaldehído	1930	Irritación, tos, náusea, vómitos, mareos, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	Agentes oxidantes / reductores Se descompone al aire. 2; d, j, a, f; C, G
2	Acetato de etilo	5620	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	Bases, ácidos, humedad, calor y agentes oxidantes 1; i, d, e, f; G, F
3	Acetona	5800	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	Bases, ácidos, humedad, calor y agentes oxidantes 1; i, d, e, f; G, F
4	Acetonitrilo	2730	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	Ácidos, bases, agentes oxidantes, reductores, metales alcalinos y humedad.
5	Ácido acético	3310	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Lavar con agua y bicarbonato. Oxígeno. Atención médica.	Bases fuertes.
6	Ácido clorhídrico	900	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Lavar con agua y bicarbonato. Oxígeno. Atención médica.	Álcalis 4; d, i, b, f; K, L
7	Ácido pícrico	----	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	Bases, agentes oxidantes y sales de metales 11; d, i, g, h, g; C, G
8	Benzofenona	2895	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	Bases, ácidos, oxidantes y reductores. 3; d, i, a, f; G
9	Bromobenceno	2699	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	Agentes oxidantes. 3; d, i, a, f; C, G
10	Cloroformo	908	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	Bases, ácidos, aluminio, metales. 2; d, i, a; K, L
11	Cloruro de calcio anhidro	1000	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	Ácidos fuertes. 4; i, g, h, f; K, L
12	Cianuro de potasio	LDLO Humanos 2.86 mg/kg	Irritación, tos, mareos, edema pulmonar. Hipoxia. Muerte.	Inhalar nitrito de amilo. Atención hospitalaria. Nitrito de sodio 3% IV	Agua, ácidos fuertes. 19; d, i, g, h, f; D, J
13	Cianuro de sodio	LDLO Humanos 2.86 mg/kg	Irritación, tos, mareos, edema pulmonar. Hipoxia. Muerte.	Inhalar nitrito de amilo. Atención hospitalaria. Nitrito de sodio 3% IV	Agua, ácidos fuertes. 19; d, i, g, h, f; D, J
14	Diclorometano	2136	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	Metales alcalinos, aluminio, calor. 2; i, k, f; C, G
15	Dietilamina	540	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	Ácidos, agentes oxidantes. 1; d, c, i, a, f; G
16	Dietil éter	1215	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	Agentes oxidantes y calor. 1; d, c, i, e, f; G, F
17	Étanol	7060	Irritación, tos, mareos, vómitos, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	Agentes oxidantes / reductores. 1; d, c, i, u, a, f; G
18	Éter de petróleo	----	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	Agentes oxidantes y calor. 1; d, c, i, e, f; G, F
19	Hexano	28710	Irritación, tos, náusea, vómitos, mareos, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	1; d, c, e, f; G

(Lenga 1998)

Cuadro 12.10 Información sobre toxicidad y precauciones en el manejo de reactivos
(continuación)

No.	Nombre	Dosis letal media LD ₅₀ (mg/kg)	Síntomas de intoxicación	Antídoto y tratamiento	Incompatibilidades y cuidados especiales
20	Litio	----	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	Ácidos, hierro y sus sales, fósforo, azufre, níquel y sus aleaciones. Solventes clorados, halógenos y agua. 7; d, c, i, b, f; E, O, J
21	Metanol	5628	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Ácidos, metales alcalinos, agentes oxidantes y reductores. 1; d, c, i, b, f; G
22	Nitrógeno	----	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	----
23	Tetrahidrofurano	2816	Irritación, tos, náusea, vómitos, mareos, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	Bases fuertes, hidruros metálicos Forma peróxidos explosivos. 1; d, c, i, e, f; G, F
24	Sodio	----	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Agentes oxidantes, aire, agua, ácidos, alcoholes. 7; d, c, i, b, f; G, F
25	Sulfato de magnesio anhidro	----	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	2; j, g, h, f; C, G
26	4-metoxi benzaldehído	1510	Irritación, vómitos dolor de cabeza, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	Agentes oxidantes / reductores Se descompone al aire. 2; d, j, a, f; C, G
27	3-(4-metoxifenil) acrilaldehído	----	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	----
28	Tolueno	5000	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Agentes oxidantes 1; d, c, i, e, f; G, F
29	Yodo resublimado	14	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Magnesio, zinc, amoniaco y aluminio. 16; d, i, k, f; B

(Lenga 1998)

El significado de los números, letras mayúsculas y minúsculas se muestra en la sección de anexo, en las páginas correspondientes a los métodos para descartar desechos químicos, medidas para extinción de fuego y procedimiento para el manejo de derrames y fugas, respectivamente.

Cuadro 12.11 Información sobre toxicidad y precauciones para el manejo de subproductos, intermediarios y producto final

No.	Nombre	Dosis letal media LD ₅₀ (mg/kg)	Síntomas de intoxicación	Antídoto y tratamiento	Incompatibilidades y cuidados especiales
30	(2E)-2-butenal	240	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	1; d, c, i, e, g; G, F
31	Benzoato de (2E)-2-butenilo	2100	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	3; d, i, k, f; G, C
32	Benzoato de etilo	----	Irritación, tos, náusea, vómitos, quemaduras, edema pulmonar.	Lavar con suficiente agua. Oxígeno. Atención médica.	
33	(2E)-4-hidroxi-3-metil-4-fenil-2-butenal	IND	IND	IND	IND
34	2-(4-metoxifenil) 4-oxobutano nitrilo	IND	IND	IND	IND
35	4-(4-metoxifenil) pent-2-eno dinitrilo	IND	IND	IND	IND
36	2-hidroxi-4-(4-metoxifenil) pentano dinitrilo	IND	IND	IND	IND
37	2-hidroxi-4-(4-metoxifenil) but-3-eno nitrilo	IND	IND	IND	IND
38	5-hidroxi-3-(4-metoxifenil) dihidrofuran-2(3H)-ona	IND	IND	IND	IND
39	3-ciano-3-(4-metoxifenil) propanoato de etilo	IND	IND	IND	IND
40	3-(4-metoxifenil)oxolan-2,5-diona	IND	IND	IND	IND
41	5-etoxi-3-(4-metoxifenil) oxolan-2-ona	IND	IND	IND	IND

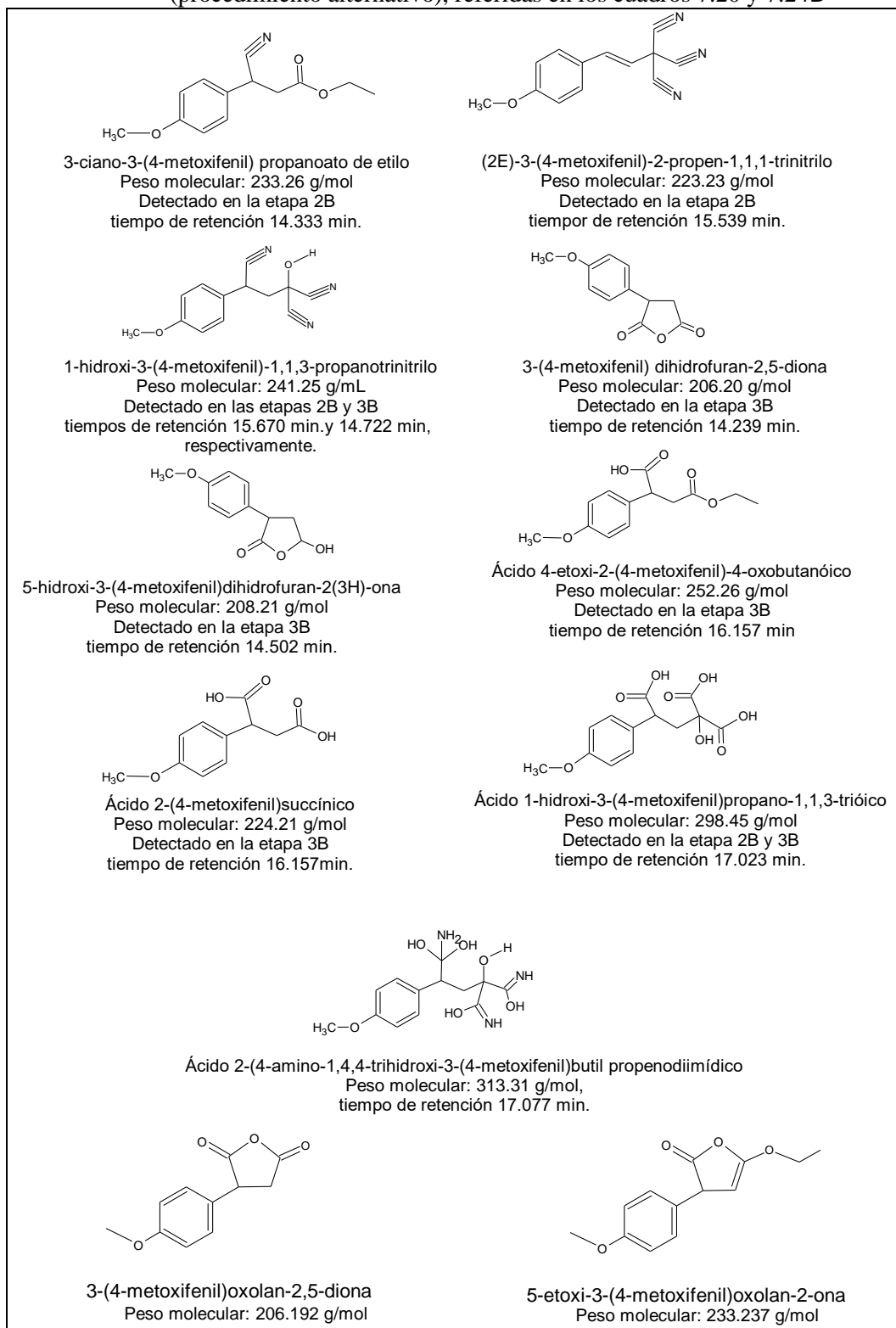
IND = Información no-disponible
(Lenga 1998)

El significado de los números, letras mayúsculas y minúsculas se muestra en la sección de anexo, en las páginas correspondientes a los métodos para descartar desechos químicos, medidas para extinción de fuego y procedimiento para el manejo de derrames y fugas, respectivamente.

Cuadro 12.12 Abreviaturas de revistas y otras publicaciones periódicas citadas en la bibliografía

Abreviatura	Título completo
<i>Adv.Enzymol.Relat.Areas.Mol.Biol.</i>	Advances in Enzymology and Related Ares of Molecular Biology
<i>Biochem.J.</i>	Biochemical Journal
<i>Biochim.Biophys.Acta.</i>	Biochimica et Biophysica ACTA
<i>Biochem.Pharmacol.</i>	Biochemical Pharmacology
<i>Br.J.Pharmacol.</i>	British Journal of Pharmacology
<i>Chem.Bio.Chem.</i>	An European Journal of Chemical Biology
<i>Comp.Biochem.Physiol.B</i>	Comparative Biochemistry and Physiology. B: Comparative Biochemistry
<i>Eur.J.Biochem.</i>	European Journal of Biochemistry
<i>Eur.J.Clin.Chem.Clin.Biochem.</i>	European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry
<i>Eur.J.Pharmacol.</i>	European Journal of Pharmacology
<i>FEBS.Lett</i>	FEBS Letters
<i>Int.J.Cancer</i>	International Journal of Cancer
<i>J.Am.Chem.Soc.</i>	Journal of the American Chemical Society
<i>J.Biochem.</i>	Journal of Biochemistry
<i>J.Biol.Chem.</i>	Journal of Biological Chemistry
<i>J.Clin.Invest.</i>	Journal of Clinical Investigation
<i>J.Leukoc.Biol.</i>	Journal of Leukocyte Biology
<i>J.Immunol.</i>	Journal of Immunology
<i>J.Pharmacol.Exp.Ther.</i>	Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics
<i>Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.</i>	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America
<i>Trends.Neurosci.</i>	Trends in Neurosciences

Figura 12.4 Estructuras de los compuestos identificados en las etapas 2B y 3B (procedimiento alternativo), referidas en los cuadros 7.20 y 7.24B



MÉTODOS PARA DESCARTAR DESECHOS QUÍMICOS

Lenga, R. *The Sigma-Aldrich Library of Chemical Safety*, 2nd. Edition. Sigma-Aldrich Corporation. Volume I & II. U.S.A. 1988.

Los métodos de descarte listado a continuación son solamente lineamientos generales. Se deben de tener consideraciones especiales con las propiedades físicas y químicas de las sustancias. Estos métodos fueron diseñados para pequeñas cantidades de material. El desecho de algunos químicos puede requerir la desactivación o modificación del material por medios químicos. Las reacciones químicas para el desecho de materiales de llevarse a cabo con el mismo cuidado y consideraciones empleados en los procedimientos sintéticos, así como para las condiciones de reacción. Las reacciones de desecho químico deben realizar en el interior de una campana de extracción en buenas condiciones, con cristalería de laboratorio apropiada, con equipo de seguridad y protección personal como guantes, mascarilla, anteojos o careta, etc.

Las reacciones iniciales en una secuencia de desecho deben realizarse en pequeña escala (5-10 g). La concentración de los reactivos no debe de exceder el 10% del volumen de reacción, y el volumen de reacción final no debe de exceder el 50% de la capacidad del recipiente de reacción, sin importar la escala de la reacción. Para el desecho de grandes cantidades de materiales, deben de tratarse en pequeñas porciones. Para asegurar que la reacción se complete, el procedimiento de descarte deberá llevarse a cabo durante por lo menos 4 a 8 horas después de que los materiales fueron mezclados. Todas las reacciones deberán llevarse a cabo por personal técnicamente cualificado y familiarizado con los riesgos potenciales de las reacciones químicas.

1. Quemar en un incinerador químico equipado con un quemador posterior y un fregadero, teniendo cuidado especial debido a que este material es altamente inflamable.
2. Disolver o mezclar el material con un solvente combustible e incinerar en un incinerador químico equipado adecuadamente.
3. Este material combustible puede ser quemado en un incinerador químico equipado adecuadamente.
4. Para pequeñas cantidades, agregar cuidadosamente a una gran cantidad de agua en agitación. Ajustar el pH a neutro, separar cualquier sólido o líquido inmiscible y empacarlos para el desecho de materiales peligrosos. Las soluciones acuosas descartar por el drenaje dejando correr abundante agua. Las reacciones de hidrólisis y neutralización pueden generar calor y vapores que pueden controlarse con la velocidad de la adición.
5. A una solución del producto en agua, agregar un exceso de ácido sulfúrico diluido. Dejar reposar durante una noche. Remover cualquier sustancia insoluble y enterarlas en un sitio adecuado y autorizado para el desecho de materiales peligrosos.
6. Disolver cuidadosamente el material en agua. Neutralizar inmediatamente con carbonato de sodio, o primero agregar un poco de ácido clorhídrico seguido de carbonato de sodio si el material no se disuelve completamente. Agregar cloruro de calcio en exceso de la cantidad requerida para precipitar el fluoruro y/o carbonato. Separar las porciones insolubles y enterarlas en un sitio adecuado y autorizado para el desecho de materiales peligrosos.
7. Bajo una atmósfera inerte, agregar cuidadosamente el material a butanol seco en un solvente apropiado. La reacción química puede ser vigorosa y/o exotérmica. Se debe prever la formación de grandes cantidades de gases altamente inflamables de hidrocarburos y/o de hidrógeno. Neutralizar la solución con ácido acuoso. Eliminar por filtración cualquier residuo sólido para su descarte como material peligroso. Quemar la porción líquida en un incinerador químico equipado.
8. Neutralizar la solución y agregar un agente de filtrado (10g por cada 100 mL). Evaporar el líquido y empacar el residuo sólido para que sea enterrado en un sitio adecuado y autorizado para el desecho de materiales peligrosos.
9. Disolver el sólido en, o diluir la solución con, un volumen grande de agua. Agregar cuidadosamente a una solución diluida de ácido acético o acetona a la mezcla en un área con buena ventilación. Se debe prever una ventilación segura del hidrógeno gaseoso emanado durante la descomposición. Verificar la acidez de la mezcla y ajustar a pH 1 si es necesario. Dejar reposar durante una noche. Neutralizar la solución (pH 7). Evaporar la solución enterrar el residuo en un sitio adecuado y autorizado para el desecho de materiales peligrosos.
10. Acidificar cuidadosamente la solución al 3 % del material a pH 2 con ácido sulfúrico. Agregar gradualmente un exceso de solución acuosa al 50% de bisulfito de sodio a temperatura ambiente y agitando la mezcla. El aumento de la temperatura indica que la reacción se está llevando a cabo. Si no se observa reacción alguna tras la adición de solución de bisulfito de sodio al 10%, iniciarla mediante la adición cuidadosa de más ácido. Si se encuentran presentes manganeso, cromo o molibdeno, ajustar el pH de la solución a 7 y tratarla con sulfuro para precipitarlos y enterrar en un sitio adecuado y autorizado para el desecho de materiales peligrosos. Destruir cualquier exceso de sulfuro, neutralizar y descartar por el drenaje dejando correr abundante agua.
11. Contactar al departamento de servicios técnicos. Asegúrese de mencionar el nombre, número de catálogo y la cantidad del material.
12. El material debe ser disuelto en 1) agua, 2) solución ácida o, 3) oxidado a un estado soluble en agua. Precipitar el material como sulfuro, ajustar el pH de la solución a 7 para completar la precipitación. Filtrar y descartar las porciones insolubles en un sitio adecuado para ello. Destruir cualquier exceso de sulfuro con hipoclorito de sodio.
13. Oxidar el compuesto con ácido nítrico. Ebullición para remover los óxidos de nitrógeno. Agregar ácido clorhídrico para una concentración de 2-4%. Enfriar. Agregar lentamente un exceso de sulfito de sodio para precipitar el elemento. Dejar reposar la mezcla durante una noche. Ebullición para coagular el precipitado para luego filtrarlo y

- lavarlo. Descartar el filtrado y el precipitado en un cementerio de desechos peligrosos.
14. Regirse por las regulaciones ambientales locales, estatales y federales.
 15. Enterrar en un sitio adecuado para el descarte de desechos peligrosos.
 16. El material en su estado elemental debe recuperarse para reciclarlo.
 17. Hacer cuidadosamente una solución al 5% del material en agua o ácido diluido. Pueden generarse reacciones violentas, exotérmicas o gases debido a la hidrólisis del material. Controlar cualquier reacción mediante enfriamiento y por la cantidad de material añadida. Agregar gradualmente hidróxido de amonio diluido para llevar a pH 10. Filtrar cualquier precipitado para su desecho en un cementerio de materiales peligrosos. Si no ocurre precipitación, ajustar gradualmente el pH de 10 a 6, hasta que ocurra precipitación.
 18. Catalizadores y metales costoso deben recuperarse para reciclarlos.
 19. Tratar una solución básica diluida (pH 10-11) del material con 50% de exceso de blanqueador comercial. Controlar la temperatura mediante la cantidad de blanqueador agregado, y ajustar el pH si es necesario. Dejar reposar durante una noche. Ajustar cuidadosamente el pH a 7. Puede ocurrir liberación vigorosa de gases. Precipitar cualquier metal pesado agregando sulfuro y aislarlo para enterrarlo. Se requieren equivalentes de hipoclorito adicionales si el metal puede ser oxidado a un estado de valencia mayor. Para carbonilos metálicos, la reacción debe llevarse a cabo bajo atmósfera de nitrógeno.
 20. Hacer, cuidadosamente, una solución al 5% del producto en agua. Ventilar adecuadamente debido a la posible liberación de hidrógeno gaseoso. Acidificar la solución a pH 1 mediante la adición gota a gota de ácido sulfúrico. La acidificación producirá liberación vigorosa de hidrógeno gaseoso. Dejar reposar la solución durante una noche. Evaporar la solución a sequedad y enterrar el residuo en un sitio adecuado y autorizado para el desecho de materiales peligrosos.
 21. Tomar el material, o su solución, y hacer una solución al 5% en tetrahidrofurano. Agregar cuidadosamente, gota a gota, esta solución a una solución básica de blanqueador comercial con agitación. La oxidación puede liberar gases inflamables de hidrocarburos que deben de ser ventilados. Dejar reposar durante una noche. Ajustar el pH a 7 o destruir el exceso de hipoclorito con bisulfito de sodio antes de descartar la solución.
 22. Bajo una atmósfera inerte, agregar cuidadosamente butanol seco o una mezcla de butano seco y un solvente adecuado a una solución del material en tetrahidrofurano. La reacción química puede ser vigorosa y/o exotérmica. Se debe prever la formación de grandes cantidades de hidrógeno gaseosos para su ventilación. Cuando cese la formación de gases, agregar cuidadosamente y gota a gota solución básica de hipoclorito de sodio. Dejar reposar durante toda la noche. Neutralizar la solución tratarla con bisulfito de sodio para destruir cualquier exceso de hipoclorito. Filtrar cualquier sólido para enterrarlo en un sitio adecuado y autorizado para el desecho de materiales peligrosos.
 23. Evaporar el agua de la solución a presión para la aspiración del agua. Mantener la temperatura a menos de 50 C. Disolver el residuo en un solvente combustible y quemarlo en un incinerador químico equipado adecuadamente.
 24. El descarte debe realizarse de acuerdo con las prácticas de desecho empleados para materiales infecciosos en su institución.
 25. Consultar las regulaciones locales, estatales y federales para el desecho de materiales radiactivos.
 26. Si no se puede obtener un servicio de descarte de desechos, descartarlos como sigue: 1) Dejar fluir agua en el drenaje durante 15 minutos antes de desechar el material. 2) Hacer una solución neutra al 1% del material y descartarlo a través de drenaje en forma lenta y gradual junto con agua fluyendo. 3) Dejar correr agua a través del drenaje durante 15 minutos. Es muy importante emplear una gran cantidad de agua para que el material sea lavado adecuadamente a través del drenaje.
 27. Contactar a la DEA (Drug Enforcement Administration) sobre el desecho de sustancias controladas.
 28. Cuidado. No devuelva el cilindro. No reutilice el cilindro vacío pues contendrá residuos tóxicos. Seguir técnicas adecuadas para su desecho.

PROCEDIMIENTO PARA EL MANEJO DE DERRAMES Y FUGAS

- a Absorber con arena o/ y colocarla en un contenedor cerrado para su descarte.
- b Cubrir con cal seca, arena o ceniza. Colocar en contenedores cubiertos sin utilizar herramientas chispeantes ni brillantes para transportar al exterior.
- c Apagar toda fuente de ignición.
- d Evacuar el área.
- e Cubrir con carbón activado como adsorbente, levantarlo y colocar en un recipiente cerrado. Transportar al exterior.
- f Ventilar el área y lavar el sitio del derrame después de que la recolección sea completa.
- g Barrer y colocarla en una bolsa para su descarte.
- h Evitar la acumulación de polvo.
- i Utilizar sistemas de respiración cerrada, botas de hele y guantes de hule gruesos.
- j Utilizar respirador, guantes de seguridad química, botas de hule y guantes de hule gruesos.
- k Cubrir con cal seca o ceniza, levantar y mantener en un contenedor cerrado y transportar para su desecho.
- l Barrer cuidadosamente y remover.
- m Mezclar con bicarbonato de sodio sólido.
- n Colocar en un recipiente apropiado.
- o Evacuar el área y mantener el personal en un lugar bien ventilado.
- p Descontaminar cualquier derrama con solución alcalina (NaOH) al 10%.
- q Utilizar equipo de protección completa como traje de hule butílico con sistema de respiración (oxígeno).
- r Emplear un sistema de respiración cerrado.
- s Utilizar overoles desechables y descartarlos después de su uso.
- t Carcinógeno regulado por OSHA.
- u Utilizar herramientas que no produzcan chispas
- v Utilizar recipientes y herramientas de polietileno únicamente.
- w Manejar como derrame radiactivo.
- x Contactar con el departamento de servicios técnicos, mencionándoles el nombre, número de catálogo y la cantidad del material.
- y El material derramado debe ser recolectado cuidadosamente en un balde. El área debe de ser limpiada a profundidad. El material para descontaminar deberá agregarse, en la campana de extracción, a una solución de hipoclorito hasta alcanzar una concentración del 5% del volumen de la solución y dejar reposar durante treinta minutos.
- z Colectar cuidadosamente el material derramado y agregarlo, en la campana de extracción, a una cubeta que contenga solución de hipoclorito al 5%. Dejar reposar durante 30 minutos. Ajustar el pH a 7.8-8.0 mediante la adición gota a gota de ácido clorhídrico 2 N, seguido de la adición de acetona hasta que la concentración de acetona sea al 5% (v/v). Dejar reposar otros 30 minutos. Los carcinógenos deberán ser convertidos en sus derivados dihidroxilados no-carcinogénicos. Se verifica que la reacción se ha completado cuando no se observa fluorescencia bajo radiación ultravioleta al puntear papel filtro con la solución.

MEDIDAS PARA EXTINCIÓN DE FUEGO

- A. Dióxido de carbono.
- B. Polvo químico seco
- C. Atomización con agua.
- D. Espuma de alcohol o polímero.
- E. Extinguidor para materiales clase D únicamente.
- F. El agua puede ser efectiva para enfriar pero puede no tener efecto extintor.
- G. Dióxido de carbono, polvo químico seco o espuma de alcohol o polímero.
- H. Espuma o agua son efectivos pero pueden provocar espuma.
- I. NO emplear polvo químico seco para extinguir este material.
- J. No emplear dióxido de carbono para extinguir este material.
- K. No-combustible.
- L. Utilizar un medio extintor apropiado a las condiciones adyacentes al fuego.
- M. No extinguir el gas en llamas si el flujo no puede ser interrumpido inmediatamente. Utilizar agua para mantener e cilindro frío. Mover el cilindro lejos de la fuente de fuego si no es peligroso.
- N. No extinguir el gas en llamas. Utilizar agua para mantener e cilindro frío. Mover el cilindro lejos de la fuente de fuego si no es peligroso.
- O. No utilizar agua.