

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA.

FACULTAD DE CIENCIAS.

ESCUELA DE QUÍMICA.



TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

SÍNTESIS DE CUMARINAS SUSTITUIDAS.

Trabajo Especial de Grado presentado ante la ilustre Universidad Central de Venezuela, por el Br. Iván Exehomio Romero Cordero, para optar al título de Licenciado en Química.

Caracas, Octubre de 2015.

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA.

FACULTAD DE CIENCIAS.

ESCUELA DE QUÍMICA.



TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

SÍNTESIS DE CUMARINAS SUSTITUIDAS.

Presentado por: Br. Iván Romero.

Tutor: Dr. Gustavo Cabrera.

Caracas, Octubre de 2015.

Yo, profesor Gustavo Cabrera, Investigador del Laboratorio de Productos Naturales de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela.

Certifico que el presente Trabajo Especial de Grado, titulado:

SÍNTESIS DE CUMARINAS SUSTITUIDAS.

Que presenta el Br. Iván Exehomio Romero Cordero, para aspirar al título de Licenciado en Química, ha sido realizado en el Laboratorio de Productos Naturales, de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela, bajo mi dirección, durante los años 2014 y 2015, y con esta fecha autorizo su presentación.

Caracas, Octubre de 2015.

Dr. Gustavo Cabrera.

(Tutor).

Los abajo firmantes designados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del Trabajo Especial de Grado titulado: SÍNTESIS DE CUMARINAS SUSTITUIDAS. Presentado por el Br. Iván Exehomio Romero Cordero, certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar por el título de Licenciado en Química.

Dr. Gustavo Cabrera

(Director)

Dra. María Luisa Serrano.

(Jurado)

Dr. Carlos China.

(Jurado)

AGRADECIMIENTOS.

A mi pequeña familia. Mi madre, Eva siempre iluminando el camino y enseñando a sus hijos a lograr las metas propuestas de forma honesta. Mi Papá, Heriberto, gracias por la educación dada y tus palabras para siempre seguir adelante. Te dedico este logro, aunque no estés en esta dimensión para compartirlo conmigo. Gracias a mi hermano Ángel por ser mi primer ejemplo académico y ayudarme en momentos clave de mi carrera, a mi hermana, Teresa por simplemente siempre estar ahí y, por traer al mundo a Ellencita, en el momento indicado para nuestras vidas.

A mis queridos amigos de la gran Facultad de Ciencias. Bárbara, Jessica, Génesis, Samantha, Ellana, Luz, Alejandro, Luis y Morgan, con quienes comencé este sueño y siempre han estado conmigo en las buenas y no tan buenas. Un especial agradecimiento a mi amiga y mano derecha en todas las materias, Giordana, con quien puedo decir que disfruté esta carrera. Y disfrutaremos la experiencia de estar bajo las nubes de Calder recibiendo nuestro título.

A todo el grupo del Laboratorio de Productos Naturales. A los profesores Pablo y Jairo por siempre ofrecer una mano amiga. A la profesora Lola de Lima por siempre tratar mis muestras con agrado y disposición. Y en especial a Lourdes y Daniela por recibirme como un amigo en el laboratorio, por sus consejos y todos los cafés compartidos.

Finalmente gracias a mi tutor, profesor Gustavo Cabrera, por darme la oportunidad de realizar este trabajo, por todos los conocimientos enseñados, por los consejos, por comportarse como un amigo.

RESUMEN.

En este trabajo especial de grado se probaron tres rutas sintéticas para la obtención de cumarinas con diversos patrones de sustitución tanto en el anillo bencénico como en el de pirona, mediante el uso de fenoles con diferente reactividad hacia la transesterificación/esterificación con acetoacetato de etilo y ácido cianoacético y ciclación de los intermediarios correspondientes.

En la primera ruta se hicieron reaccionar fenoles sustituidos (resorcinol, 2-nitroresorcinol, 4-aminofenol) con acetoacetato de etilo, catálisis ácida y solventes polares apróticos (acetonitrilo y DMF). Esta reacción se dio a través de una transesterificación con posterior ciclación (reacción de Pechmann-Duisberg). La segunda ruta se llevó a cabo en dos pasos, esterificación mediante destilación azeotrópica con tolueno, de fenoles (resorcinol e hidroquinona) con ácido cianoacético y posterior ciclación del éster obtenido, promovida por calor, usando nitrobenzeno y AlCl_3 . Por último, la tercera ruta se inició con la esterificación del 5-nitrosalicilato de metilo con ácido cianoacético en condiciones de catálisis ácida, en DMSO y, posterior ciclación del diéster mediante el uso de NaH . Como método alternativo se realizó la reacción mediante la transesterificación del 5-nitrosalicilato de metilo con cianoacetato de metilo, mediante catálisis básica, usando NaH , para obtener el producto esperado en un paso experimental.

En la primera ruta fue identificada mediante espectroscopia de IR, ^{13}C RMN y ^1H RMN, la 7-hidroxi-4-metilcumarina, en la segunda se propuso la obtención de 4-amino-6-hidroxycumarina y la 4,7-dihidroxycumarina que fueron caracterizadas por espectroscopia de IR. Finalmente, en la tercera ruta se propuso la obtención de la 4-hidroxi-6-nitrocumarina y la 3-ciano-4-hidroxi-6-nitrocumarina que fueron caracterizadas por espectroscopia de IR.

ÍNDICE GENERAL.

CAPÍTULO 1	
1.0 INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 2	
2.0 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Cumarinas	3
2.2 Clasificación	4
2.2 A. Cumarinas simples	4
2.2 B. Cumarinas complejas	5
2.2 C. Cumarinas diversas	7
2.3 Extracción de cumarinas	8
2.4 Biosíntesis de cumarinas	9
2.5 Síntesis de cumarinas	12
2.5 A. Reacción de Perkin	12
2.5 B. Reacción de Pechmann	12
2.5 C. Reacción de Pechmann-Duisberg	13
2.5 D. Reacción de Knoevanegel	14
2.5 E. Reacción de Wittig	15
2.5 F. Reacción de Kostanecki-Robinson	15
2.5 G. Reacción de Reformatsky	16
2.6 Actividad biológica de cumarinas	16
2.6 A. Antimicrobiana y Molusquicida	17

2.6 B. Antiviral	18
2.6 C. Antitumoral	18
2.6 D. Inhibición enzimática	19
2.6 F. Anti-inflamatoria	19
2.6 E. Anticoagulante/cardiovascular	20
2.6 G. Anti-hiperglicémica y antidislipidémica	20
2.6 H. Afecciones de la piel	21

CAPÍTULO 3

3.0 ANTECEDENTES	22
------------------	----

CAPÍTULO 4

4.0 OBJETIVOS	30
4.1 Objetivo General	30
4.2 Objetivos específicos	30

CAPÍTULO 5

5.0 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	31
5.1 Reactivos, solventes usados, materiales y equipos usados	31
5.2 Ruta 1: Reacción de Pechmann-Duisberg entre derivados fenólicos y acetoacetato de etilo	33
5.2 A. Síntesis de la 7-hidroxi-4-metilcumarina	33
5.2 B. Intento de síntesis de la 6-amino-4-metilcumarina	33
5.2 C. Intento de síntesis de la 7-hidroxi-4-metil-8-nitrocumarina	36

5.3 Ruta 2: Esterificación del ácido cianoacético con hidroquinona y resorcinol y posterior ciclación promovida por calor_____	38
5.3 A. Esterificación del ácido cianoacético e hidroquinona y ciclación del producto obtenido _____	39
5.3 B. Esterificación del ácido cianoacético y resorcinol y ciclación del producto obtenido_____	40
5.4 Ruta 3. Esterificación/transesterificación del ácido cianoacético/cianoacetato de metilo con 5-nitrosalicilato de metilo y posterior ciclación por ataque de grupo metileno al carbono carbonílico, usando NaH_____	41
5.4 A. Nitración del salicilato de metilo_____	41
5.4 B. Esterificación del 5-nitrosalicilato de metilo con ácido cianoacético, catalizada por ácido y ciclación del producto usando NaH_____	42
5.4 C. Transesterificación del 5-nitrosalicilato de metilo con cianoacetato de metilo usando NaH_____	42

CAPÍTULO 6 _____

6.0 RESULTADOS Y DISCUSIONES_____	44
6.1. Ruta 1: Reacción de Pechmann-Duisberg entre derivados fenólicos y acetoacetato de etilo_____	44
6.1 A. Síntesis de la 7-hidroxi-4-metilcumarina_____	45
6.2 B. Intento de síntesis de la 6-amino-4-metilcumarina_____	49
6.3 C. Intento de síntesis de la 7-hidroxi-4-metil-8-nitrocumarina_____	56
6.2 Ruta 2: Esterificación del ácido cianoacético con hidroquinona y resorcinol y posterior ciclación promovida por calor_____	60
6.2 A. Esterificación de la hidroquinona y resorcinol con ácido cianoacético__	61
6.2 B. Ciclación del producto de hidrólisis (94) del cianoacetato de 3-hidroxifenilo y del cianoacetato de 4-hidroxifenilo. _____	63

6.3 Ruta 3. Esterificación/transesterificación del ácido cianoacético/cianoacetato de metilo con 5-nitrosalicilato de metilo y posterior ciclación por ataque de grupo metileno al carbono carbonílico, usando NaH	65
6.3 A. Nitración del salicilato de metilo	65
6.3 B. Esterificación del 5-nitrosalicilato de metilo con ácido cianoacético	66
6.3 C. Ciclación del diéster (110) usando NaH	68
6.3 D. Transesterificación del 5-nitrosalicilato de metilo con cianoacetato de metilo, usando NaH	70

CAPÍTULO 7

7.0 CONCLUSIONES	75
7.1 RECOMENDACIONES	76

CAPÍTULO 8

8.0 ESPECTROS	77
---------------	----

CAPÍTULO 9

9.0 BIBLIOGRAFÍA	98
------------------	----

ÍNDICE DE ESQUEMAS.

Esquema 1.0. Biosíntesis de la cumarina_____	9
Esquema 1.1. Biosíntesis de la Umbeliferona_____	10
Esquema 1.2. Biosíntesis de Furanocumarinas_____	11
Esquema 1.3. Reacción de Perkin_____	12
Esquema 1.4. Reacción de Pechmann_____	13
Esquema 1.5. Reacción de Pechmann-Duisberg_____	13
Esquema 1.6. Reacción de Pechmann-Duisberg usando pentóxido de fosforo_____	13
Esquema 1.7. Reacción de Knoevanegel_____	14
Esquema 1.8. Reacción de Wittig_____	15
Esquema 1.9. Reacción de Kostanecki-Robinson_____	15
Esquema 2.0. Reacción de Reformatsky_____	16
Esquema 2.1. Mecanismo detallado de reacción de Pechmann-Duisberg_____	44
Esquema 2.2. Formación de complejo σ de la 7-hidroxi-4-metilcumarina_____	45
Esquema 2.3. Hidrólisis y descarboxilación del acetoacetato de etilo_____	46
Esquema 2.4. Deslocalización de electrones en el enlace olefínico de la 7-hidroxi-4-metilcumarina_____	48
Esquema 2.5. Procedimientos usados para la protección del grupo amino del 4-aminofenol_____	49

Esquema 2.6. Estructura de resonancia del producto de transesterificación de la 4-hidroxiacetanilida y acetoacetato de etilo_____	52
Esquema 2.7. Síntesis de la diamida del ácido oxálico del 4-aminofenol_____	53
Esquema 2.8. Planos de simetría de la diamida del ácido oxálico del 4-aminofenol y carbonos equivalentes_____	54
Esquema 2.9. Formación del complejo σ de la 7-hidroxi-4-metil-8-nitrocumarina_____	58
Esquema 3.0. Formación del fenóxido del 2-nitroresorcinol y estabilización del mismo_____	59
Esquema 3.1. Mecanismo propuesto para síntesis de 4-aminocumarinas_____	60
Esquema 3.2. Hidrólisis del cianoacetato de 3-hidroxifenilo_____	62
Esquema 3.3. Síntesis de la 4,7-dihidroxycumarina_____	63
Esquema 3.4. Nitración del salicilato de metilo_____	65
Esquema 3.5. Esterificación de 5-nitrosalicilato de metilo con ácido cianoacético_____	67
Esquema 3.6. Ciclación del diéster (110) usando NaH_____	68
Esquema 3.7. Transesterificación del 5-nitrosalicilato de metilo con cianoacetato de metilo y ciclación del producto_____	71
Esquema 3.8. Equilibrios tautoméricos de la 3-ciano-4-hidroxi-6-nitrocumarina_____	72

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1.0. Cumarinas simples	4
Tabla 1.1. Furanocumarinas angulares naturales	6
Tabla 1.2. Furanocumarinas lineales naturales	6
Tabla 1.3. Piranocumarinas angulares con propiedades anti-hiperglicémicas y antidislipidémicas	21
Tabla 1.4. Cumarinas obtenidas por diferentes métodos de catálisis	27
Tabla 1.5. Desplazamientos químicos en ^{13}C RMN y DEPT 135 ° de la 7-hidroxi-4-metilcumarina en DMSO- d_6	47
Tabla 1.6. Desplazamientos químicos en ^1H RMN de la 7-hidroxi-4-metilcumarina en DMSO- d_6	48
Tabla 1.7. Tabla 1.7. Desplazamientos químicos de ^{13}C RMN de la diamida del ácido oxálico del 4-aminofenol experimentales en DMSO- d_6 y simulados en ChemSketch	55
Tabla 1.8. Desplazamientos químicos de ^1H RMN de la diamida del ácido oxálico del 4-aminofenol en DMSO- d_6	55
Tabla 1.9. Desplazamientos químicos de ^1H RMN de la diamida del ácido oxálico simulados en ChemSketch	56
Tabla 2.0. Desplazamientos químicos experimentales y teóricos, simulados usando B3LYP 6-311 (d,p) de la 4-hidroxi-6-nitrocumarina en DMSO- d_6	70
Tabla 2.1. Cumarinas obtenidas y condiciones de reacción	73

ÍNDICE DE ESPECTROS.

Espectro 1.0. IR de la 7-hidroxi-4-metilcumarina_____	77
Espectro 1.1. ¹³ C RMN de la 7-hidroxi-4-metilcumarina (DMSO-d ₆) _____	78
Espectro 1.2. DEPT 135 ° de la 7-hidroxi-4-metilcumarina, comparado con ampliación (DMSO-d ₆) _____	79
Espectro 1.3. ¹ H RMN de la 7-hidroxi-4-metilcumarina (DMSO-d ₆) _____	80
Espectro 1.4. Acoplamientos y sus constantes en ¹ H RMN de la 7-hidroxi-4-metilcumarina (DMSO-d ₆) _____	81
Espectro 1.5. IR del acetato de 4-acetamidofenilo_____	82
Espectro 1.6. IR de la 4-hidroxi-acetanilida_____	83
Espectro 1.7. IR de la diamida del ácido oxálico del 4-aminofenol_____	84
Espectro 1.8. ¹³ C RMN de la diamida del ácido oxálico del 4-aminofenol (DMSO-d ₆) _____	85
Espectro 1.9. ¹ H RMN de la diamida del ácido oxálico del 4-aminofenol (DMSO-d ₆) _____	86
Espectro 2.0. IR del acetoacetato de etilo_____	87
Espectro 2.1. IR de fracción soluble en acetona de mezcla de reacción entre 2-nitroresorcinol y acetoacetato de etilo en DMSO_____	88
Espectro 2.2. IR del producto de hidrólisis del cianoacetato de 3-hidroxifenilo_____	89
Espectro 2.3. IR del cianoacetato de 4-hidroxifenilo_____	90
Espectro 2.4. IR de la 4,7-dihidroxicumarina_____	91

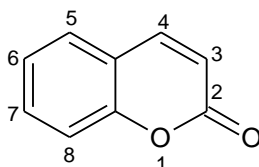
Espectro 2.5. IR de la 4-amino-6-hidroxycumarina_____	92
Espectro 2.6. IR del 5-nitrosalicilato de metilo_____	93
Espectro 2.7. IR de la 4-hidroxi-3-cianocumarina_____	94
Espectro 2.8. ¹³ C RMN de la 4-hidroxi-6-nitrocumarina (DMSO-d ₆)_____	95
Espectro 2.9. DEPT 135 ° de la 4-hidroxi-6-nitrocumarina (DMSO-d ₆)_____	96
Espectro 3.0. IR de la 3-ciano-4-hidroxi-6-nitrocumarina_____	97

CAPÍTULO 1

1.0 INTRODUCCIÓN.

La síntesis orgánica es un área de la química de gran alcance ya que mediante ésta es posible obtener especies, con importantes propiedades a nivel biológico e industrial, que son útiles y mejoran la calidad de vida de los seres humanos; como polímeros, colorantes, conservantes, fármacos, etc. La síntesis de especies con alta actividad biológica y baja toxicidad se ha desarrollado ampliamente, en muchos casos se diseña a partir de metabolitos secundarios con actividad biológica comprobada ante alguna patología y estructura conocida, extraídos de algún ser vivo (plantas y bacterias). De esta manera, partiendo de estructuras más sencillas, se puede obtener un compuesto de interés, mediante una síntesis total. Por otro lado, a partir de algún sustrato aislado de una fuente natural, es posible hacer pequeñas modificaciones en el esqueleto con el fin de aumentar su actividad.

Las cumarinas (1) son metabolitos secundarios presentes en múltiples especies vegetales, que consisten en derivados lactónicos del ácido *o*-hidroxi-Z-cinámico o del benzopirano. Se encuentran en forma de glicósidos o libre, las más comunes en la naturaleza son las hidroxicumarinas y la oxigenación en 7 es la más observada¹.



Estructura 1. Cumarina

Se ha demostrado que las cumarinas tienen alta actividad biológica y baja toxicidad². Éstas poseen propiedades: antiinflamatoria, antimicrobianas, antitumoral y anticoagulante; además son usadas en la industria de cosméticos³ y

perfumería, también como colorantes, aditivos de alimentos y en la preparación de insecticidas⁴.

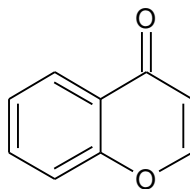
Las cumarinas sustituidas pueden ser obtenidas mediante múltiples métodos: haciendo reaccionar reactivos como derivados de fenoles, ácidos y ésteres con grupos metilenos en α activados, mediante reacciones de esterificación o transesterificación y posteriormente promoviendo la ciclación en las condiciones adecuadas; sin embargo, también se pueden obtener cumarinas sustituidas partiendo del metabolito y haciendo reacciones de SEA en el esqueleto. La síntesis por el primer método puede lograrse mediante catálisis ácida (ácido Bronsted y Lewis) y catálisis nucleofílica⁵.

CAPÍTULO 2

2.0 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

2.1 Cumarinas^{1,2,5,6}.

La etimología de estos compuestos proviene de “Coumarou” nombre común de la haba tonka, una de las principales fuentes de cumarinas (*Dipteryx odorata* Willd, *Coumarouna odorata* Aubl. Fam. Leguminosae/Fabaceae)⁶. Las cumarinas son metabolitos secundarios presentes en plantas superiores y pueden estar localizadas en la raíz, tallo y hojas; también se encuentran en algunos microorganismos. Están conformadas por un esqueleto de benzo α pirona (estructura 1) y en la naturaleza la mayoría de ellas poseen un sustituyente oxigenado en la posición 7, en forma de hidroxilo, metoxi o glicósido. Las cumarinas tienen un isómero que se encuentra menos distribuido, consiste en la cromona (2), formada por un esqueleto de benzo y pirona⁵.



Estructura 2. Cromona

El estudio de la cumarinas ha sido bastante amplio y lleva más de 200 años de desarrollo. Se aisló por primera vez en el año 1812, en forma de glicósido por Vauquelin de una muestra de *Daphne alpina*¹, posteriormente en el año 1820 fue aislada por Vogel la cumarina libre en Guyana y en el año 1868 Perkin realizó la primera síntesis, en un estudio de perfumes vegetales, donde obtuvo el mismo compuesto aislado por Vogel¹. Sin embargo, solo en el año 1870 se conoció la estructura universalmente conocida de la cumarina. Actualmente, se han aislado cerca de 1000 cumarinas naturales provenientes de 150 especies distribuidas en 30 familias, de las que destacan: Umbeliferae/Apiaceae, Rutaceae, Leguminosae/Fabaceae,

Papilionaceae, Rubiaceae, Lamiaceae, Astareaceae, Solanaceae, Gramineae, etc. De este gran número de estructuras ha surgido la siguiente clasificación⁶:

- Cumarinas simples.
- Cumarinas complejas.
 - Furanocumarinas.
 - Piranocumarinas.
- Cumarinas diversas.

2.2 Clasificación.

2.2 A. Cumarinas simples.

Este grupo está formado por estructuras con el esqueleto de la cumarina, sustituidas en las posiciones 6,7 y 8 del núcleo bencénico. Como se muestra a continuación.

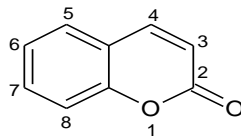
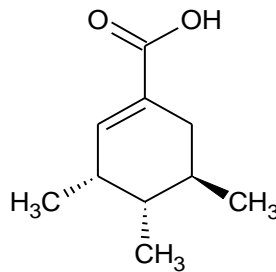


Tabla 1.0. Cumarinas simples.

R ₆	R ₇	R ₈	Nombre	Origen principal.
H	H	H	Cumarina	Haba tonka Leguminosae/Fabaceae
H	OH	H	Umbeliferona	Solanaceae, Thymeliaceae
H	OCH ₃	H	Herniarina	Compuesta <i>Lavandula sp</i> , <i>Ruta graveolens</i>
OH	OH	H	Escuelitina	Castaño de indias, Rosaceae
H	OH	OCH ₃	Hidrangetina	<i>Hydrangaea macrophylla</i> (Hortensia)
OCH ₃	OH	H	Escopelletina	Tabaco, Bella Solanaceae
OCH ₃	OH	OH	Fraxetina	Apocinaceae (<i>Echites ursuta</i>), Oleaceae.

2.2 B. Cumarinas complejas.

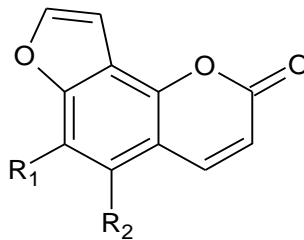
Son derivados del ácido shikímico (3) que se dividen en cumarinas piránicas y furánicas, a su vez se clasifican como lineales o angulares, dependiendo de la forma en que se condensa el isopentil pirofosfato para luego ciclar y formar el heterociclo⁷.



Estructura 3.Ácido shikímico.

- Furanocumarinas.

La furanocumarina angular más sencilla es la Angelicina (5) fue la primera furanocumarina aislada de la *Angelica archangelica* (Umbeliferae) y también en unas plantas leguminosas en India, *Psoralea corylifolia*. Se han encontrado otras especies con el mismo esqueleto, sustituidas en el anillo bencénico⁶.



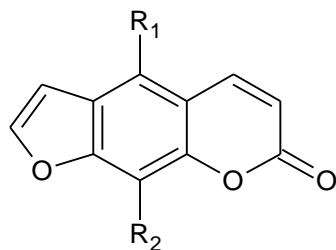
Estructura 4. Esqueleto de Furanocumarinas angulares.

Tabla 1.1. Furanocumarinas angulares naturales.

Estructura	R ₁	R ₂	Nombre
5	H	H	Angelicina
6	H	OCH ₃	Isobergapteno
7	OCH ₃	OCH ₃	Pimpinellina

Las Furanocumarinas lineales también son conocidas como Psoralenos, están ampliamente distribuidas en familias como Umberilaferae y Rutaceae.

Las Furanocumarinas lineales más conocidas son: psoraleno (9), bergapteno(10), xantotoxina(11), xantotoxol(12) e isopimpinellina(13)⁶.



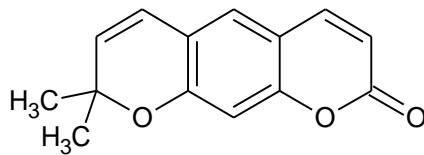
Estructura 8. Esqueleto de Furanocumarinas lineales.

Tabla 1.2. Furanocumarinas lineales naturales.

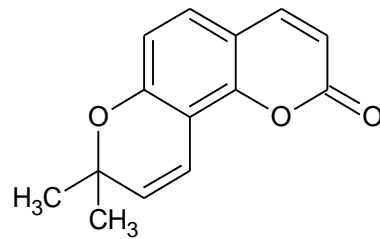
Estructura	R ₁	R ₂	Nombre
9	H	H	Psoraleno
10	OCH ₃	H	Bergapteno
11	H	OH	Xantotoxol
12	H	OCH ₃	Xantotoxina
13	OCH ₃	OCH ₃	Isopimpinellina

- Piranocumarinas.

Estas especies poseen un núcleo de pirano enlazado en las posiciones 6,7 (piranocumarina lineal) ó 7,8 (piranocumarina angular). En la naturaleza se encuentran la Xantiletina (14) y sesilina (15)⁶.



Estructura 14: Xantiletina

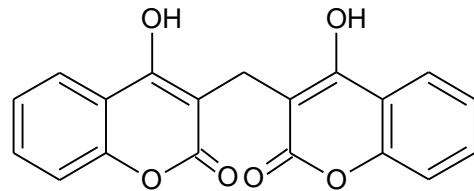


Estructura 15: Sesilina

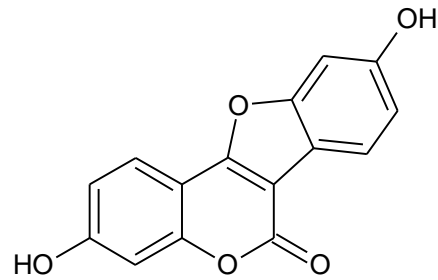
2.2 C. Cumarinas diversas.

Consisten en cumarinas que han sido aisladas y poseen, en muchos casos sustituyentes voluminosos que pueden estar presentes en formas de ciclos o como cadenas carbonadas.

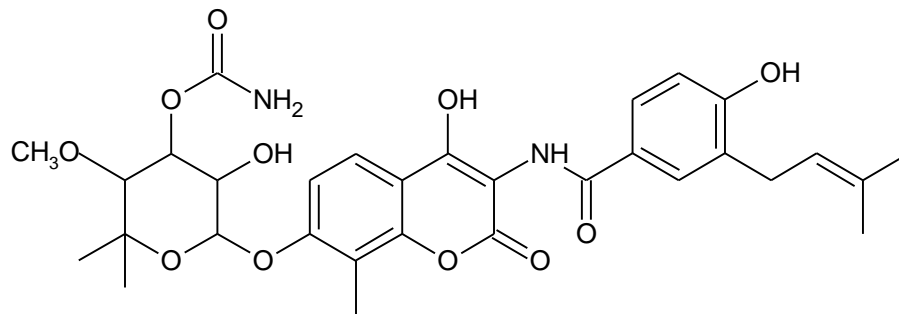
Algunas de las cumarinas diversas más conocidas son: el dicumarol (16), obtenido en la fermentación de hojas de trébol y pasto, la novobiocina (17) biosintetizada en la *Streptomyces niveus* y el cumestrol (18) que se encuentra presente en diversas plantas como: espinaca, soya, coles de Bruselas y trébol⁶.



Estructura 16: Dicumarol



Estructura 18: Cumestrol



Estructura 17: Novobiocina

2.3 Extracción de cumarinas.

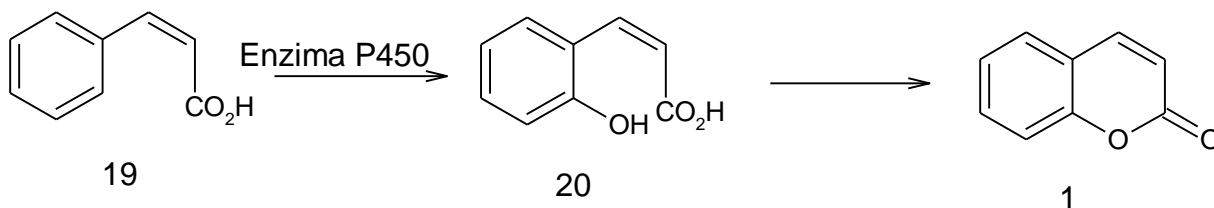
Las cumarinas pueden ser obtenidas de las hojas, tallo y semillas de las plantas, a partir del material seco y fresco. Son extraídas eficientemente, usando solventes altamente polares como: agua, metanol y etanol⁸. Mientras que las Furanocumarinas pueden ser extraídas exitosamente mediante un sistema de metanol en reflujo o con una extracción por Soxhlet⁸.

La extracción puede ser realizada para un determinado tipo de cumarinas, como las hidroxycumarinas. En este caso se realiza una extracción ácido-base, usando disolución acuosa de álcalis que posteriormente es acidificada, se trata con éter, para finalmente separar la cumarina de otras sustancias grasas con éter de petróleo. Por último se evapora al vacío y se recristaliza la hidroxycumarina⁸.

2.4 Biosíntesis de cumarinas.

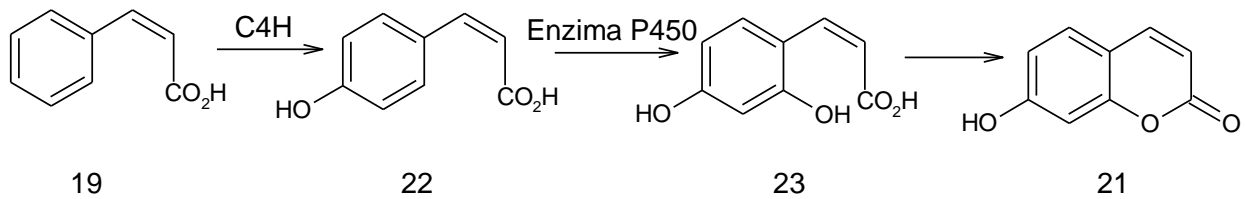
La biosíntesis de las cumarinas ha sido ampliamente estudiada desde los años 60 hasta estos tiempos. Sin embargo, aún no se conocen detalles de la misma ni como se den los diferentes procesos en las plantas para su producción. Es conocido que la biosíntesis de todas las cumarinas tiene su génesis en el ácido cinámico, el cual por medio de una serie de reacciones donde intervienen diversas enzimas y que se dan en organelos específicos de la planta, se transforma en los diferentes tipos de cumarinas⁷.

La biosíntesis de la cumarina parte del ácido cis-cinámico⁷ (19) el cual en un primer paso sufre una hidroxilación en posición orto para obtener el ácido o-cumárico (20) que posteriormente pasa por un proceso de lactonización para originar la cumarina (1). En este proceso se sugiere que participa una enzima del cytochrome P450 monooxygenase y que el mismo sucede en los cloroplastos de la *Mililotus alba*⁶.



Esquema 1.0. Biosíntesis de la Cumarina.

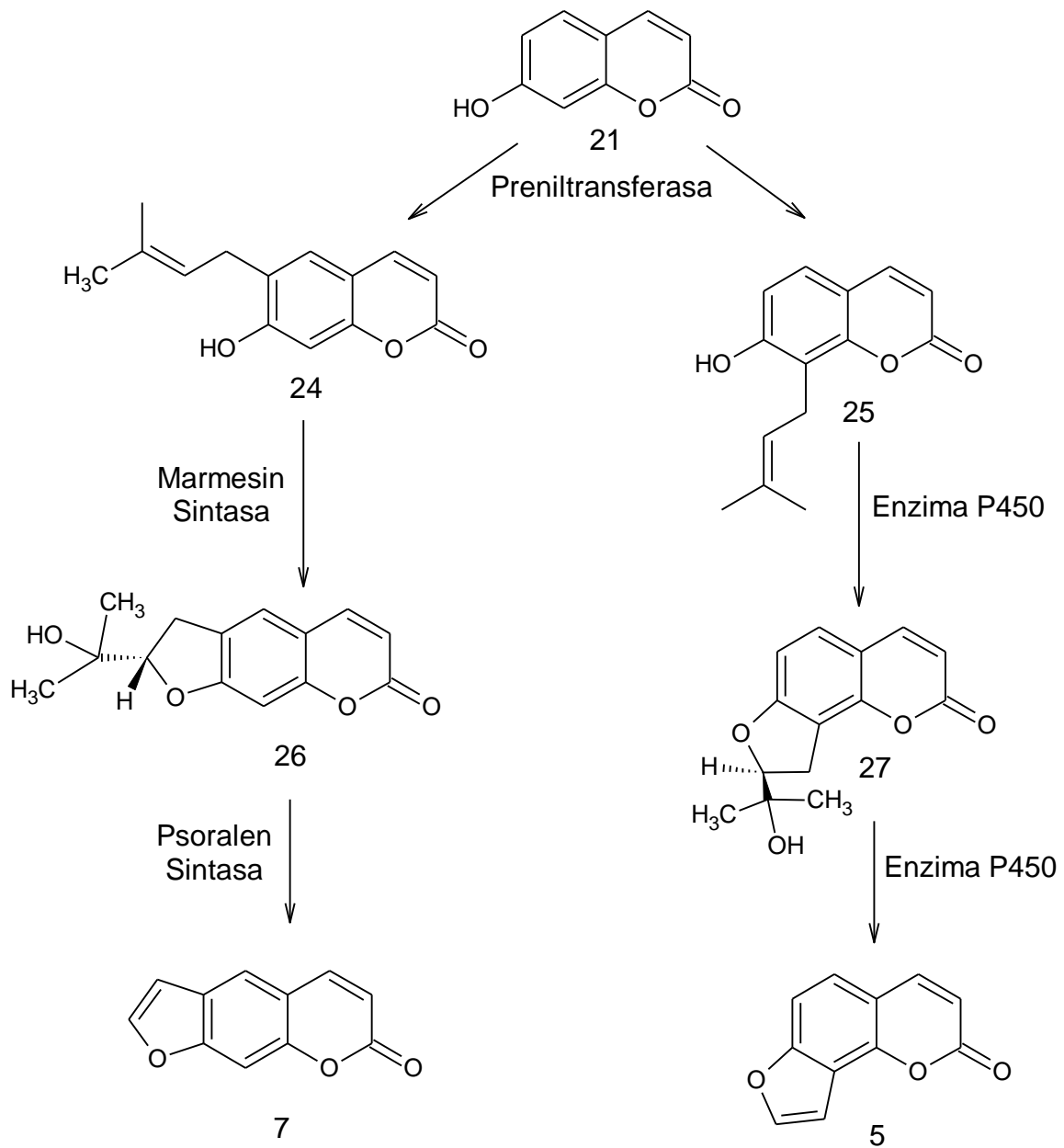
Para la obtención de la Umbeliferona (21) el proceso es similar. En este caso es conocido que la enzima cinnamate 4-Hydroxylase (C4H) cataliza la formación del ácido p-cumárico (22), luego se sugiere que el mismo se transforma al ácido 2,4-dihidroxicumárico (23) por medio de una enzima cytochrome P450 monooxygenase, finalmente ocurre una lactonización para generar (21)⁷.



Esquema 1.1: Biosíntesis de la Umbeliferona.

Por otro lado las furanocumarinas se forman a partir de la Umbeliferona (21), primero ocurre una prenilación en posición 6 ó 8, para generar la furanocumarina lineal (24) o angular (25) respectivamente. Este proceso se da por medio de la preniltransferasa⁷.

*Furanocumarinas lineales*⁷: El compuesto (24) reacciona con la Marmesin Sintasa de manera estereoespecífica para producir la (+) marmesina (26), la cual por medio de la Psoralen sintasa se transforma en el psoraleno, la furanocumarina lineal correspondiente (7). El psoraleno por medio de más enzimas de la cytochrome P450 monooxygenase se hidroxila en posición 5 y 8, compuestos que luego se metilan para generar la Isopimpineline (13). Las Furanocumarinas angulares son biosintetizadas de manera similar, gracias a enzimas de la cytochrome P450 monooxygenase; sin embargo, no se tiene certeza de la enzima que interacciona.

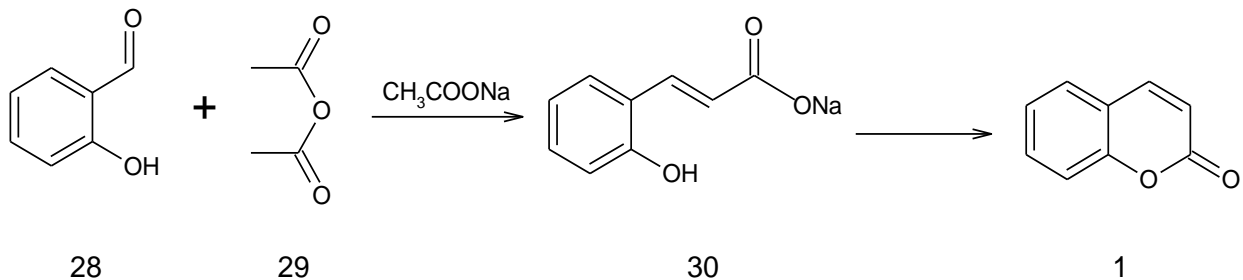


Esquema 1.2. Biosíntesis de Furanocumarinas.

2.5 Síntesis de cumarinas.

2.5 A. Reacción de Perkin.

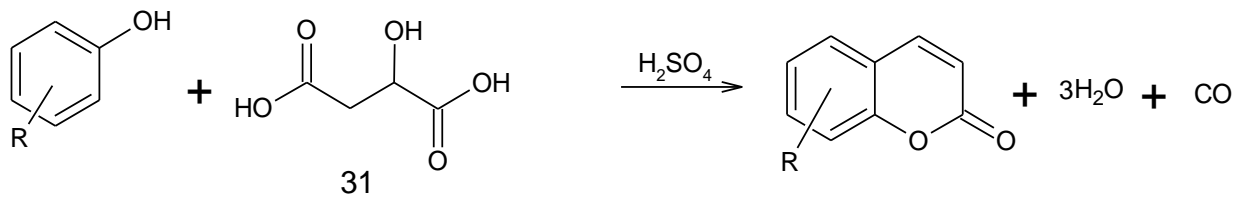
Al hacer reaccionar el salisaldehído (28) con anhídrido acético (29), mediante una condensación aldólica, en acetato de sodio anhidro y calentamiento, Perkin logró sintetizar la cumarina (1) en el año 1868^{5,3}. La reacción se da mediante el intermediario (30), de acetato o-hidroxicinámico de sodio, el cual al formar el ácido cicla espontáneamente para formar la lactona. Posteriormente, en el año 1937 E. Epäth trató de sintetizar varias cumarinas naturales por este método⁵. Sin embargo, los rendimientos totales fueron bajos debido, principalmente, por la dificultad de sintetizar derivados de o-hidroxibenzaldehído sustituidos. Mediante este método no se obtienen cumarinas sustituidas en el anillo de pirona.



Esquema 1.3. Reacción de Perkin.

2.5 B. Reacción de Pechmann⁵.

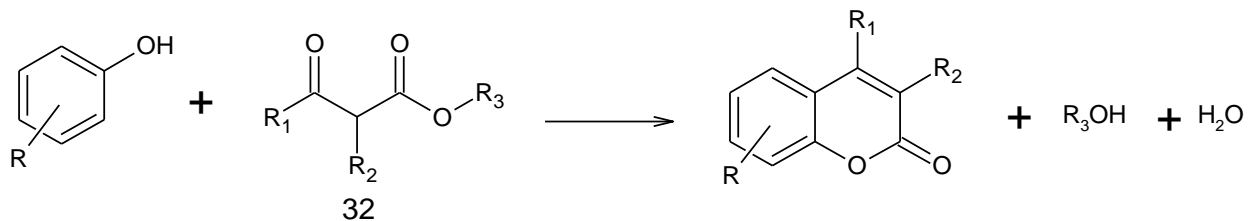
En el año 1884 Pechmann obtuvo cumarinas haciendo reaccionar fenoles con ácido málico (31), calentándolo en ácido sulfúrico concentrado. Con este método sólo se lograba obtener cumarinas sustituidas en el anillo bencénico y algunos fenoles no se podían usar en estas condiciones.



Esquema 1.4. Reacción de Pechmann.

2.5 C. Reacción de Pechmann-Duisberg.

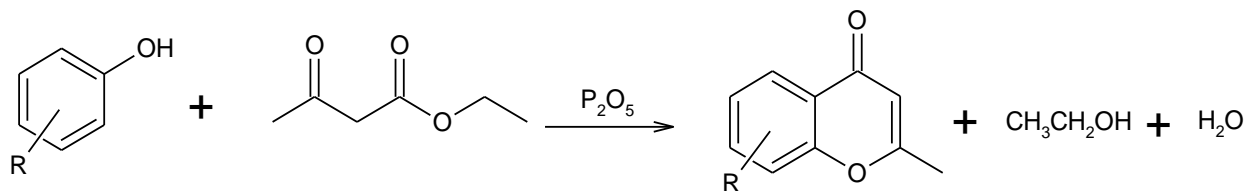
Esta reacción es una modificación de la anteriormente nombrada. Se hace reaccionar un fenol con un β -cetoéster (32) usando catálisis ácida³. Mediante este método se obtienen cumarinas sustituidas en ambos anillos, el bencénico y el de pirona en posiciones 3 y 4.



Esquema 1.5. Reacción de Pechmann-Duisberg.

Efecto del catalizador.

En el año 1914 Simonis y colaboradores realizaron la reacción de Pechmann-Duisberg, usando como catalizador pentóxido de fósforo y no ácido sulfúrico obteniendo, para todos los fenoles empleados la cromona correspondiente⁵.



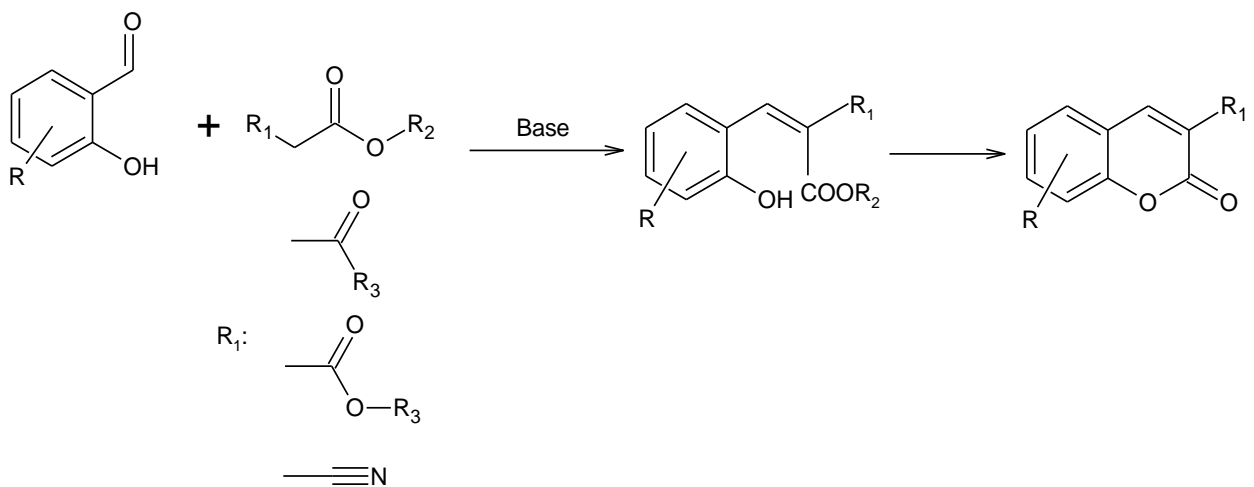
Esquema 1.6. Reacción de Pechmann-Duisberg usando pentóxido de fósforo.

Este fenómeno fue ampliamente discutido e investigado con diversos fenoles. Robertson y colaboradores utilizaron: resorcinol, floroglucinol, pirogalol y α -naftol, encontraron que se obtenían las cumarinas correspondientes sin importar el β -cetoéster usado. Posteriormente, Dey y Lakshminarayanam reportaron que el β -naftol, produce una mezcla de la cumarina y cromona cuando se usa ácido sulfúrico como catalizador⁵.

Por otro lado la reacción también puede ser catalizada por ácidos Lewis como AlCl_3 , FeCl_3 , SnCl_2 , TiCl_4 , ZnCl_2 e incluso en el año 1929 Naik, Desai y Trivedi introdujeron el uso de POCl_3 en la reacción⁵.

2.5 D. Reacción de Knoevenagel.

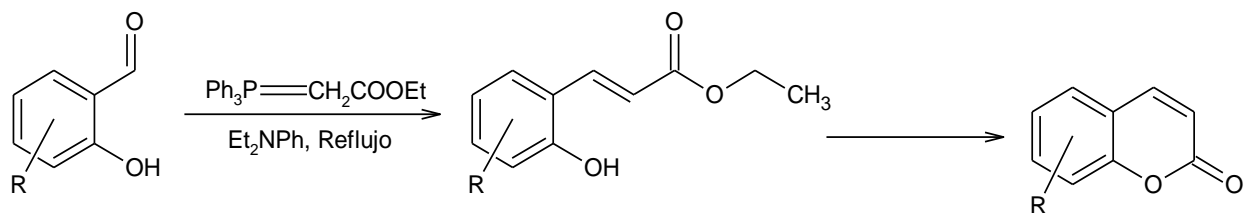
Consiste en hacer reaccionar un derivado de o-hidroxialdehido con malonato de etilo, acetoacetato de etilo o cianoacetato en presencia de amoníaco u otra amina³. La reacción puede realizarse mediante catálisis ácida y nucleofílica, mediante esta se obtienen cumarinas sustituidas en la posición 3.



Esquema 1.7. Reacción de Knoevenagel.

2.5 E. Reacción de Wittig.

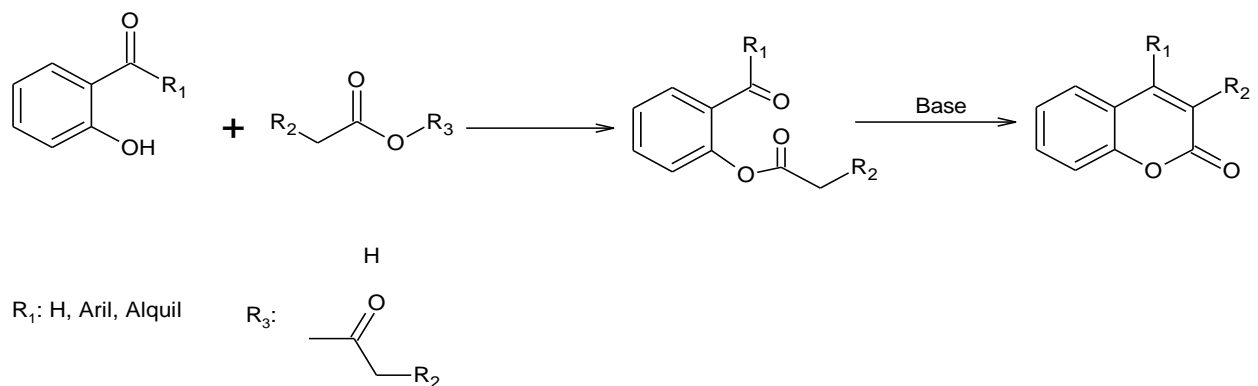
Las cumarinas pueden ser obtenidas a través de la reacción de Wittig, mediante la formación de un éster derivado del ácido cinámico. Para esto se hace reaccionar un derivado del salisaldehído con el iluro de fosforo correspondiente³. La reacción de Wittig, en este caso es estereoespecífica debido que la carga negativa en el iluro está estabilizada. Esto lleva a la formación del isómero trans del ácido cinámico.



Esquema 1.8. Reacción de Wittig.

2.5 F. Reacción de Kostanecki-Robinson.

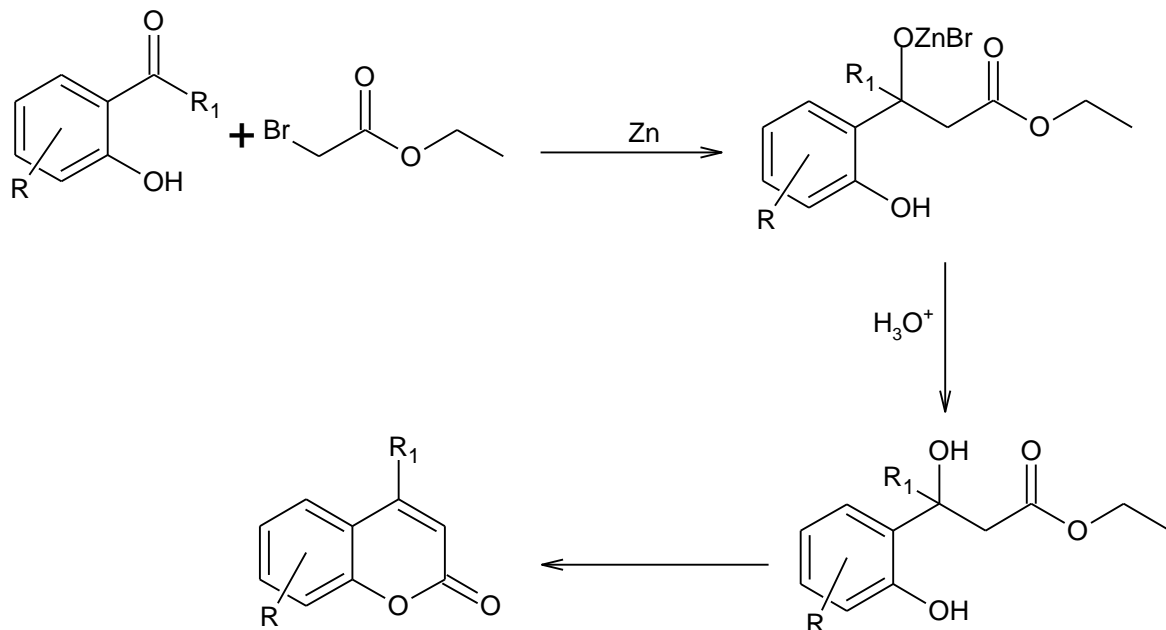
Consiste en hacer reaccionar derivados de o-hidroxibenzaldehído y arilcetona con ácidos alifáticos y anhídridos, seguido de una lactonización. Mediante este método es posible obtener cumarinas sustituidas en posición 3 y 4 como 3-ciano-4-metilcumarinas³.



Esquema 1.9. Reacción de Kostanecki-Robinson.

2.5 G. Reacción de Reformatsky.

Consiste en hacer reaccionar o-hidroxibenzaldehído o o-hidroxibenzofenona con una α -haloéster, para obtener un β -hidroxiéster del cual, luego se produce la lactonización³.



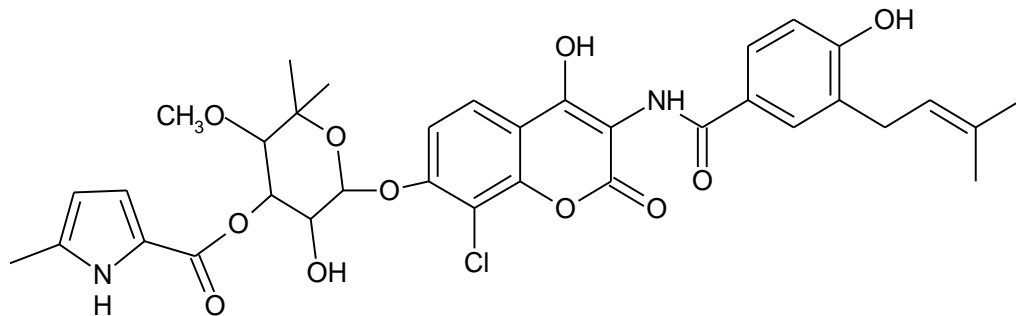
Esquema 2.0. Reacción de Reformatsky.

2.6 Actividad biológica³.

Las cumarinas son estructuras de relativa sencillez en cuanto a estructura y síntesis, esto hace que sean muy atractivas en cuanto al estudio de su importante actividad biológica. Se ha encontrado que las cumarinas tienen actividad: antimicrobiana, antiviral, antitumoral, antiinflamatoria, antioxidante, anticoagulante, inhibición enzimática y actividad en el sistema nervioso central. A continuación cada una de ellas es discutida brevemente.

2.6 A. Antimicrobiana y Molusquicida.

Cumarinas naturales como la Novobiocina (17) y clorobiocina (33) son conocidas por sus propiedades antibióticas contra bacterias gram-positivas, como cepas de *Staphylococcus*. Sin embargo, estas especies pueden tener alta toxicidad y desarrollo de resistencia en el organismo.



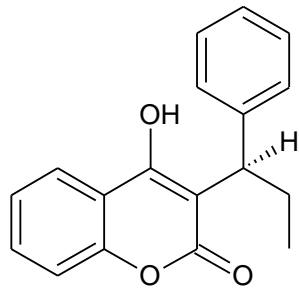
Estructura 33: Clorobiocina

Un dato interesante es que las cumarinas sustituidas con un grupo hidroxilo en la posición 6, presentan propiedades antimicóticas mientras que si la cumarina está sustituida en la posición 7, con un grupo hidroxilo, esta posee propiedades antibacteriales. En una exploración de las cumarinas con actividad microbiana se ha encontrado que las cumarinas con grupos carboxílico y éster presentan importante actividad frente a bacterias gram-positivas y gram-negativas, mientras que las cumarinas con grupos hidroxilo fenólicos tienen actividad contra la *Helicobacter pylori*.

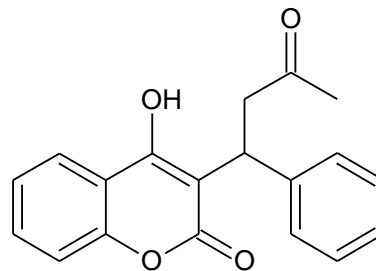
Finalmente, se reporta que algunos derivados de 4-fenilcumarinas y el dicumarol (16) tienen propiedades como Molusquicida.

2.6 B. Antiviral.

Se ha encontrado que algunas cumarinas sustituidas tienen importante actividad contra el HIV, generando inhibición en la HIV- Proteasa y HIV- Integrasa, algunas de estas especies son la warfina (34), fenprocomun (35).



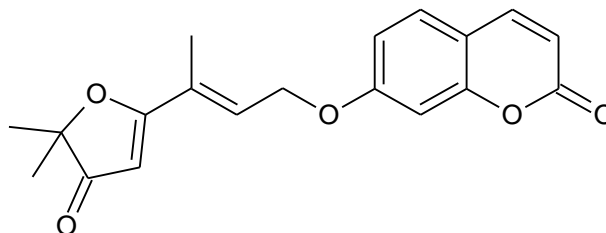
Estructura 34: Warfina



Estructura 35: Fenprocomun

2.6 C. Antitumoral.

Cumarinas simples y diversas han sido reportadas por actividad antitumoral, la más representativa de ellas es la geiparvarina (36), un producto natural obtenido de la *Geijera parviflora* y que ha mostrado excelentes resultados en pruebas in vitro. En cuanto a las cumarinas simples las 4-hidroxicumarinas, y las hidroxicumarinas con grupos nitro en el anillo bencénico han mostrado actividad frente a al melanoma y la anti-propagación de las células carcinógenas renales.



Estructura 36: Geiparvarina

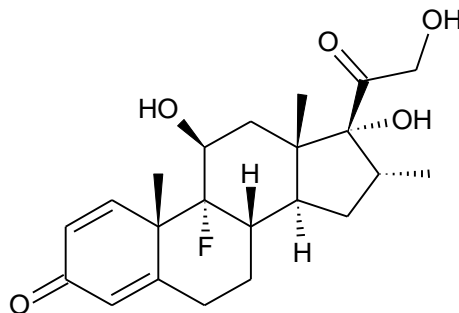
2.6 D. Inhibición enzimática.

Se ha encontrado que algunas cumarinas naturales y sintéticas pueden ser inhibidoras de enzimas como la acetilcolinesterasa (AChE) y la monoamino oxidasa (MAO). La inhibición de estas enzimas puede ser aprovechada para el tratamiento del Alzheimer y mal de Parkinsons ya que esto provoca la disminución del β -amiloide péptido característico en el Alzheimer⁹.

2.6 E. Anti-inflamatorio.

Las cumarinas pueden funcionar como un potente anti-inflamatorio no esterooidal. Esto se demostró mediante un estudio QSAR en el cual las cumarinas sustituidas en 4 y 7 mostraron esta característica.

El hecho de poder ser un anti-inflamatorio no esterooidal implica varias ventajas, debido a los efectos secundarios que las especies esterooidales, como la Dexametasona (37) con propiedades antiinflamatorias, poseen y que con un uso elevado puede provocar: Síndrome de Cushing, hipertensión arterial, Hiperglicemia, osteoporosis, trastornos de conducta, insuficiencia renal, diverticulitis¹⁰.

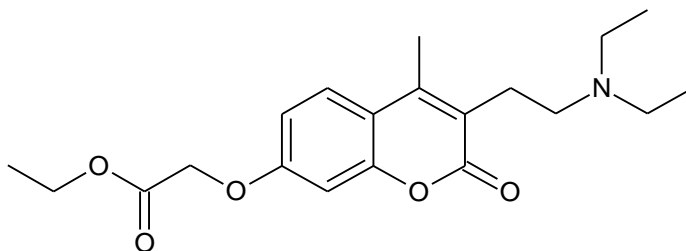


Estructura 37: Dexametasona

2.6 F. Anticoagulante/Cardiovascular.

La warfina (34) además de ser conocida por su actividad antiviral, también es anticoagulante, sin embargo se ha demostrado que las 4-hidroxycumarinas poseen un efecto aún mayor¹¹. El dicumarol (16) también es conocido por sus propiedades anticoagulantes y es usado en el tratamiento de infartos del miocardio³.

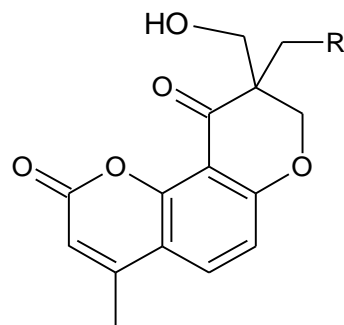
Con respecto a eventos cardiovasculares el carbocromeno (38) es conocido por su efecto vasodilatador coronario, usado en el tratamiento de la angina de pecho ocasionada por insuficiente suministro de sangre al corazón.



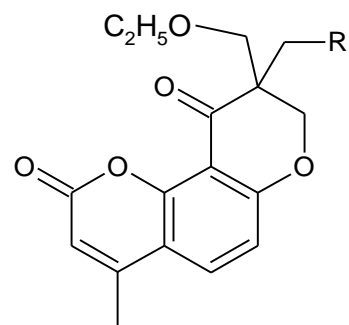
Estructura 38: Carbocromeno

2.6 G. Anti-hiperglicémica y antidislipidémica.

Se ha demostrado que algunas Piranocumarinas angulares tienen propiedades anti-hiperglicémicas y antidislipidémicas¹². Como las que se muestran a continuación.



39 a,b



40 a-e

Tabla 1.3. Piranocumarinas angulares con propiedades anti-hiperglicémicas y antidislipidémicas.

Estructura	a	b	c	d	e
R					

2.6 H. Afecciones de la piel⁶.

Algunas Psoralenos lineales, son usados en el tratamiento de enfermedades de la piel como psoriasis y el vitíligo. La xantotoxina (12), un psoraleno natural presente en al apio cimarrón, es usada para promover la repigmentación en dichas patologías.

CAPÍTULO 3

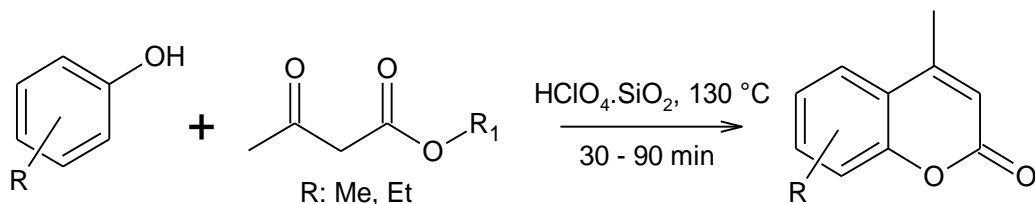
3.0 ANTECEDENTES.

Catálisis con ácidos Brönsted.

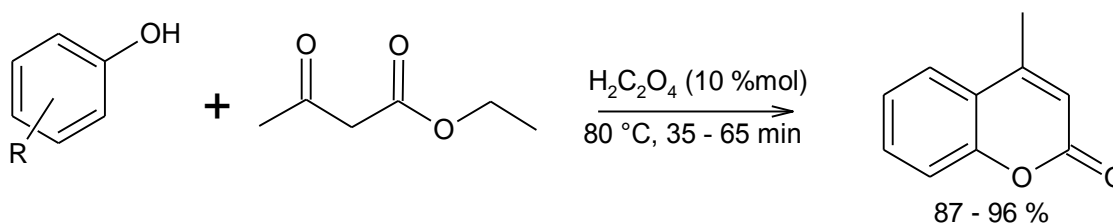
Maheswara y col⁴. En el año 2006 sintetizaron cumarinas sustituidas mediante la reacción de Pechmann-Duisberg, usando como catalizador HClO_4 adsorbido en gel de sílice.

El catalizador fue preparado según el procedimiento indicado por **Chakraborti y col¹³** en sus experimentos de Acetilación de alcoholes, tioles, fenoles y aminas. Consiste en hacer una suspensión de silica gel (230-400 mesh) en éter y agregar HClO_4 al 70 %. Posteriormente, se evapora el éter y el residuo obtenido se calienta a $100\text{ }^\circ\text{C}$ durante 3 días en vacío. Finalmente se obtiene un polvo finamente dividido que puede ser reutilizado hasta 4 veces, generando una disminución del rendimiento de 5 %, en el caso del β -naftol.

El procedimiento para la síntesis de las cumarinas se basa en mezclar en un balón de reacción: el fenol, acetoacetato de metilo o etilo y el catalizador de $\text{HClO}_4 \cdot \text{SiO}_2$. La mezcla se calienta $130\text{ }^\circ\text{C}$ en un baño de aceite precalentado durante un periodo de tiempo entre 30-90 min dependiendo del fenol usado. Una vez culminada la reacción (monitoreada por TLC). Se separa el catalizador por filtración, haciendo lavados con acetato de etilo. Los lavados son mezclados y concentrados para finalmente purificar el producto por cromatografía de columna. En la tabla 1.4 se muestran las cumarinas obtenidas, tiempo de reacción y rendimiento.

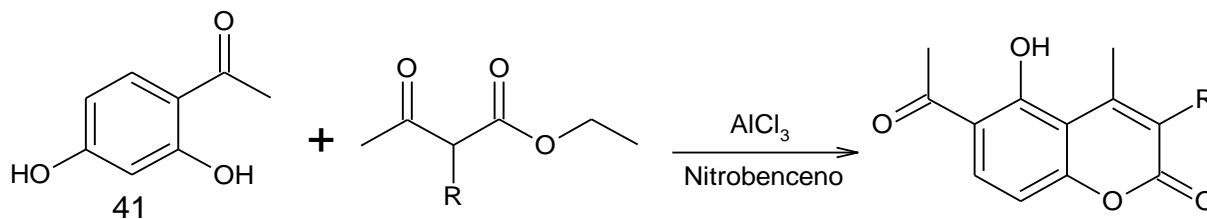


Kokare y col¹⁴ sintetizaron cumarinas en el año 2007 a partir de fenoles y usando catálisis ácida con ácido oxálico. Para lograrlo mezclaron cantidades equimolares del fenol, acetoacetato de etilo y 10 % mol de reactivo en ácido oxálico. La mezcla de reacción se calienta a 80 °C y se sigue la misma por TLC, una vez finalizada se deja a temperatura ambiente y luego se vierte en hielo con permanente agitación. Finalmente se filtra el sólido obtenido, se lava, seca y recristaliza en un solvente apropiado. (Ver tabla 1.4). Los investigadores realizaron las reacciones en diversos solventes, como acetonitrilo, THF y dioxano. Encontraron que la reacción consume menor tiempo y se obtiene mayor rendimiento en condiciones libres de solvente y que en el caso de usar algún solvente el más idóneo es el acetonitrilo, con el cual el rendimiento es un poco menor, el tiempo mayor y se necesita el doble de catalizador.



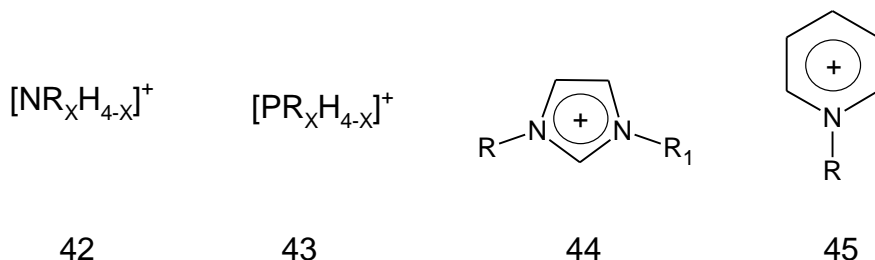
Catálisis con ácidos Lewis.

Deliwala y col¹⁵. Fueron de los primeros en sintetizar una cumarina sustituida, haciendo reaccionar la 2,4-dihidroxiacetofenona (41) con α -alquil acetoacetatos, usando AlCl_3 . La reacción se llevó a cabo en nitrobeneno. La cumarina correspondiente se obtuvo al verter la mezcla de reacción en hielo.

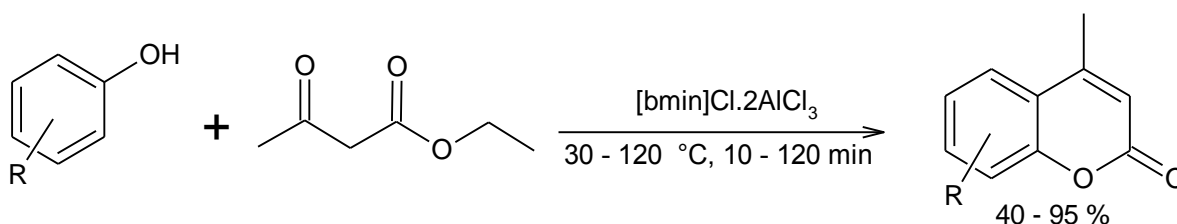


Potdar y col¹⁶. 59 años después obtuvieron cumarinas sustituidas, usando AlCl_3 como catalizador pero esta vez haciendo la reacción en líquidos iónicos¹⁷.

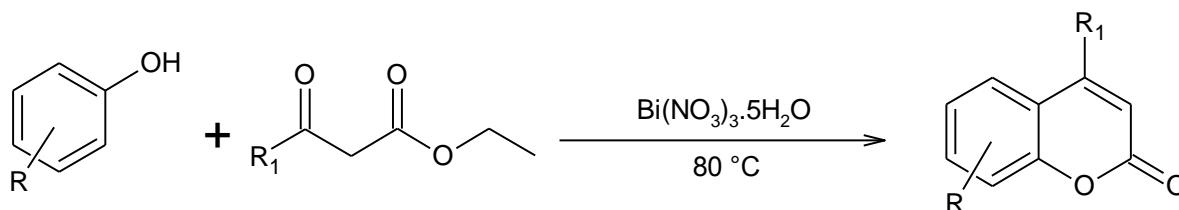
Los líquidos iónicos no son más que sales líquidas formadas por un anión o catión orgánico y la contraparte inorgánica. Esta característica confiere la propiedad de que estos líquidos pueden ser buenos para un ancho rango de compuestos orgánicos e inorgánicos¹⁷. Los líquidos iónicos son muy poco volátiles. Lo que permite eliminar a presión reducida otros componentes mientras que el líquido no se evaporará. Algunos de los cationes más usados en el diseño de líquidos iónicos son los siguientes: Alquilamonio (42), alquilfosforonio (43), N,N'-dialquilimidazol (44) y N-alquilpiridinio (45). Se suelen asignar ciclos a estas estructuras como el catión 1-etil-3-metilimidazol se conoce como [emin]⁺ y al 1-butil-3metilimidazol se le llama [bemin]⁺.



La reacción se llevó a cabo mezclando: el fenol, acetoacetato de etilo y [bmin]Cl. 2AlCl_3 durante tiempos entre 10 – 120 min y temperaturas de 30 – 120 °C.

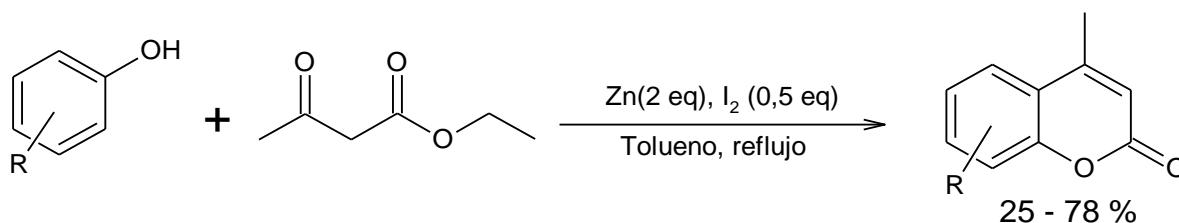


Varughese y col¹⁸. En 2005 sintetizaron cumarinas sustituidas (ver tabla 1.4) usando nitrato de bismuto como ácido Lewis.



En este trabajo además se obtuvo que en la reacción entre el resorcinol y diferentes β-cetoésteres sustituidos en y con: Metilo, cloruro, trifluorometilo y fenilo. El que reacciona más rápido y con mayor rendimiento es el menos impedido, es decir el acetoacetato de etilo.

Subhash y col¹⁹. Usando un sistema de Zn/I₂ como catalizador estos investigadores obtuvieron cumarinas sustituidas (ver tabla 1.4) mezclando cantidades estequiométricas de acetoacetato de etilo y el fenol; usando como solvente tolueno.



Prajapati y col²⁰. Usando yodo como un ácido Lewis débil sintetizaron cumarinas mediante la reacción de Pechmann-Duisberg. Las reacciones las realizaron en un reactor de microondas, y en calentamiento clásico usando acetonitrilo como solvente o ninguno. A continuación se muestran los procedimientos que siguieron en cada caso.

Irradiación microondas.

La reacción se realiza en un reactor de microondas ProlaboSynthwaveMicrowave a 100 °C, donde es insertada la mezcla equimolar del fenol y acetoacetato de etilo y 1 %mol de I₂. Finalizada la reacción (monitorear por TLC) se agrega una disolución de tiosulfato de sodio y el precipitado obtenido se recristaliza. Ver tabla 1.4.

Calentamiento clásico.

Por este método, la reacción se lleva a cabo en un baño de aceite a 80 °C, mezclando los reactivos de igual forma al caso anterior, monitoreando por TLC y añadiendo una disolución de tiosulfato de sodio para obtener la cumarina correspondiente. Ver Tabla 1.4.

Los Investigadores reportan que el uso de ningún solvente en la reacción es altamente beneficioso ya que, obtuvieron que, en acetonitrilo a temperatura ambiente los tiempos de reacción estaban entre 4 y 7 horas y se obtenían menores rendimientos.

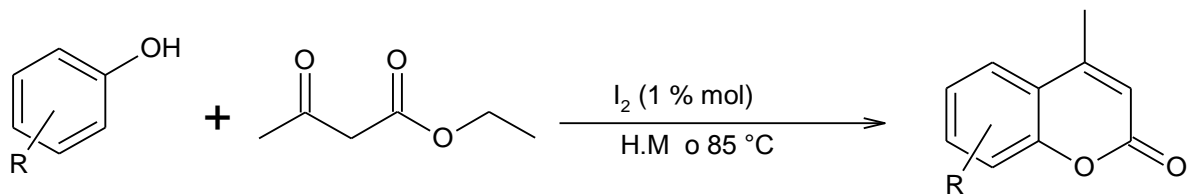
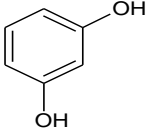
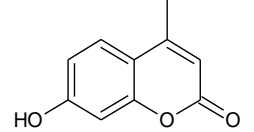
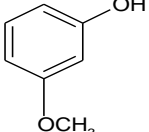
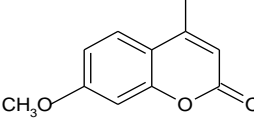
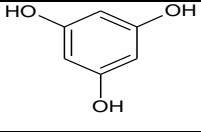
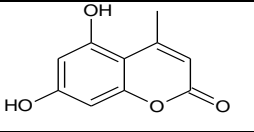
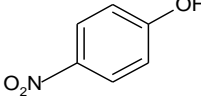
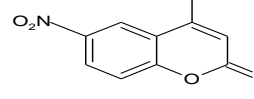
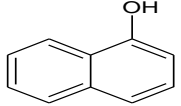
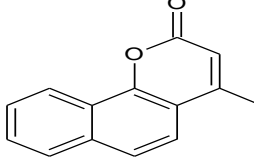
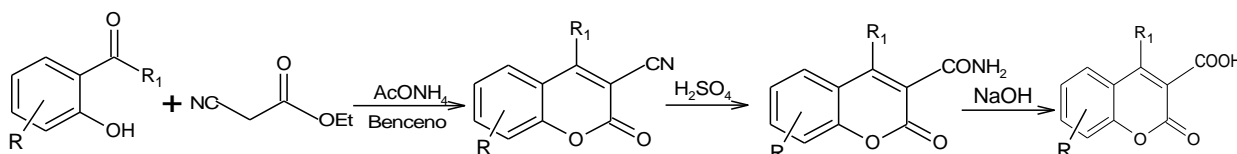


Tabla1.4. Cumarinas obtenidas por diferentes métodos de catálisis.

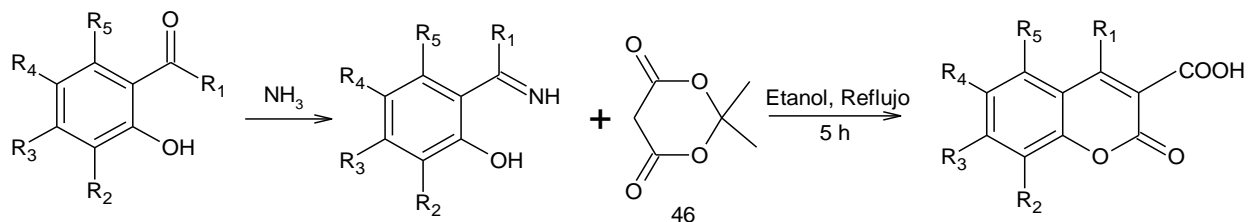
Fenol	Cumarina	Método de catálisis													
		HClO ₄ .SiO ₂		H ₂ C ₂ O ₄		[bmin]Cl.2AlCl ₃		Bi(NO ₃) ₃		Zn/I ₂		I ₂			
												M.O		C. T	
		t (min)	% R	t (min)	%R	t (min)	% R	t (min)	% R	t (h)	% R	t (min)	% R	t (h)	%R
		35	95	35	96	10	95	15	94	----	--	1,5	95	1,0	90
		----	----	45	93	10	92	20	91	---	---	4,0	85	2,0	80
		60	97	45	91	10	90	20	92	----	--	2,0	93	1,0	88
		----	----	65	92	----	----	120	76	5	40	----	--	---	---
		65	89	50	95	30	86	120	72	5	63	5,0	88	2,2	80

Los resultados expuestos en la tabla 1.4 muestran lo rápidos y eficientes que pueden ser los diferentes métodos de catálisis para obtener cumarinas mediante la reacción de Pechmann. Por otro lado se observa como la naturaleza del sustrato, es decir el fenol afecta en el rendimiento y tiempo de la reacción por dos variables: la presencia de grupos negativos o positivos en el anillo bencénico y el impedimento estérico; en el primero la presencia de un grupo fuertemente negativo como el nitro genera un rendimiento menor y tiempo mayor, lo que sugiere que el paso lento de la reacción es la transesterificación. Que también se ve afectada por impedimento estérico como se observa en el caso del α -naftol.

Wiener y col²¹. Sintetizaron 4-alkil-3-carboxi-cumarinas en el año 1957, haciendo reaccionar o-hidroxi-acetofenonas con cianoacetato de etilo, mediante la reacción de Knoevenegel. El primer paso dicha reacción consiste en la condensación aldólica del aldehído y el éster, donde ocurre la eliminación espontánea de agua. La reacción ocurre mediante la adición de acetato de amonio. Obtenida la 4-alkil-3-cianocumarina, se procede a obtener la amida, mediante la adición de ácido sulfúrico concentrado y luego esta se hidroliza, usando hidróxido de sodio.

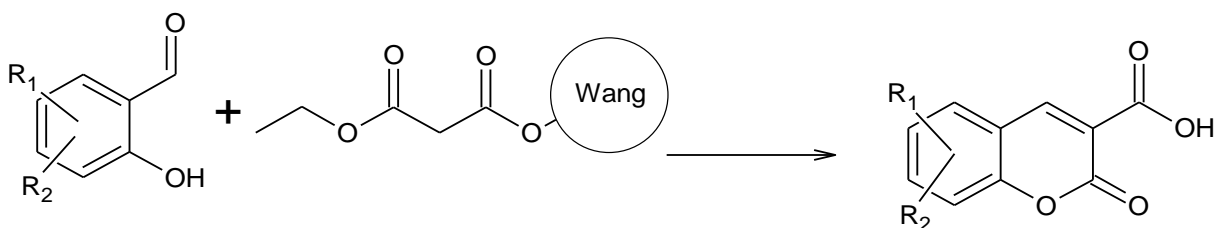


Song y col²². Mediante la reacción de Knoevenegel sintetizaron ácidos 3-carboxicumaricos, usando o-hidroxiaril aldehídos o cetonas y el ácido de Meldrum (46). Los aldehídos se trataron de manera directa debido a su alta reactividad, mientras que las cetonas, primero se transformaron en la correspondiente ketamina, tratándolas con disolución amoniacal en metanol, para luego hacerla reaccionar con el ácido de Meldrum.



Síntesis en fase sólida.

Watson y col²³. Realizaron la síntesis de cumarinas en fase sólida, mediante la reacción de Knoevenagel. Usando el malonato de etilo soportado en la resina de Wang, para obtener 3-carboxicumarinas.



Para lograr la reacción se sigue la siguiente secuencia: primero el malonato de etilo se fija a la resina, luego esta se suspende en piridina, el o-hidroxialdehído y cantidades catalíticas de piperidina, se realizan lavados consecutivos y finalmente se produce el clivaje entre la cumarina y la resina con ácido trifluoroacético (TFA) y diclorometano.

CAPÍTULO 4

4.0 OBJETIVOS.

4.1 *Objetivo General.*

- Sintetizar cumarinas sustituidas.

4.2 *Objetivos Específicos.*

- Transesterificar el acetoacetato de etilo con el resorcinol, 2-nitroresorcinol y la 4-hidroxiacetanilida.
- Sintetizar cumarinas sustituidas mediante el método de Pechmann-Duisberg bajo diferentes condiciones.
- Esterificar el ácido cianoacético con hidroquinona y resorcinol.
- Promover la ciclación intramolecular de ésteres fenólicos del ácido cianoacético mediante el uso de $AlCl_3$ y calor.
- Nitrar al salicilato de metilo.
- Esterificar / Transesterificar el ácido cianoacético / cianoacetato de metilo con el producto de nitración del salicilato de metilo.
- Ciclar el diéster obtenido a través del ataque del grupo metileno al carbono carbonílico, usando NaH.
- Purificar todos los productos obtenidos mediante técnicas cromatográficas y de recristalización.
- Caracterizar los productos obtenidos mediante técnicas espectroscópicas.

CAPÍTULO 5

5.0 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.

5.1 Reactivos, solventes y equipos usados.

Reactivos usados.	Solventes Usados.
<ul style="list-style-type: none"> • Resorcinol. • Hidroquinona. • 4-aminofenol. • 2-nitroresorcinol. • Salicilato de metilo. • Ácido cianoacetico. • Acido oxálico. • Resina sulfonada de divinilbenceno. • Anhídrido acético. • Cianoacetato de metilo. • Acetoacetato de etilo. • Hidruro de sodio. • Hidróxido de sodio. • H₂SO₄ 96 %p/p; ρ: 1.83 g/mL. • HNO₃ 65 % p/p; ρ: 1.4 g/mL. • HCl 37 % p/p; ρ: 1.19 g/mL. 	<ul style="list-style-type: none"> • Acetonitrilo. • * Etanol. • N,N-dimetilformamida (DFM). • Dimetilsulfoxido (DMSO). • * Tolueno. • Nitrobenceno. • Cloroformo. • Acetona. <p>(*): Destilado.</p>

Materiales y equipos usados.*Cromatografía de capa fina (CCF o TLC).*

Placas de aluminio de 20X20 cm de gel de sílice 60 F₂₅₄. Merck.

Cromatografía de columna.

Gel de sílice 60, 0.06 – 0.2 mm, para cromatografía en columna (70 - 230 mesh ASTM).

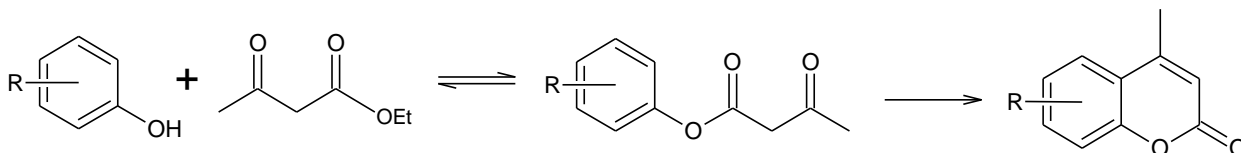
Espectros de infrarrojo (IR).

Todas las muestras fueron analizadas en un espectrómetro de Thermo Electron Corporation, modelo Nicolet 380 FT-IR. En forma de película sobre ventanas de bromuro de potasio (KBr) o como pastillas de KBr.

Espectros de resonancia magnética ¹³C RMN y ¹H RMN.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de protones y carbono 13 fueron registrados en un espectrómetro JEOL Eclipse 270 MHz. El desplazamiento químico (δ) está reportado en ppm con relación al DMSO-d₆ residual como referencia interna.

5.2. Ruta 1. Reacción de Pechmann-Duisberg entre derivados fenólicos y acetoacetato de etilo.



5.2 A. Síntesis de la 7-hidroxi-4-metilcumarina

Se pesaron (0.87345 ± 0.00001 g; 7.933 mmol) de resorcinol, (0.07402 ± 0.00001 g; 0.822 mmol) de ácido oxálico, se agregaron en un balón de fondo redondo junto con un agitador magnético; a esta mezcla se le adicionó suficiente acetonitrilo para disolver los sólidos y finalmente se agregó (1.0 ± 0.1 mL; 7.899 mmol) de acetoacetato de etilo. La mezcla de reacción se calentó a temperatura de reflujo durante 24 horas. Pasado el tiempo de reacción se dejó enfriar la mezcla, evaporó el solvente a presión reducida y el sólido obtenido se recrystalizó en etanol. Se obtuvieron (0.34752 ± 0.00001 g; 1.972 mmol) de unos cristales cúbicos blancos con intervalo de fisión ($186 - 188 \pm 2$ °C) y rendimiento de 25 % correspondiente a la 7-hidroxi-4-metilcumarina.

5.2 B. Intento de síntesis de la 6-Amino-4-metilcumarina.

- Protección del 4-Aminofenol. Primer procedimiento.

Se pesaron (0.62622 ± 0.00001 g; 5.739 mmol) de 4-aminofenol, se colocaron en un balón y disolvieron con tolueno, luego se agregaron (0.50 ± 0.01 mL; 5.289 mmol) anhídrido acético y tres gotas de piridina. La mezcla se calentó a temperatura de reflujo durante 45 minutos. Se evaporó el solvente y se recrystalizó el sólido en agua, usando carbón activado. Se obtuvieron (0.38642 ± 0.00001 g; 2.000 mmol) de cristales pardos con intervalo de fusión de ($166 - 170 \pm 2$ °C) y rendimiento de 38 % correspondiente al producto diacetilado y no la 4-Hidroxiacetanilida.

- *Protección del 4-Aminofenol. Segundo procedimiento.*

Se pesaron (0.16412 ± 0.00001 g; 1.504 mmol) de 4-aminofenol, se llevaron a un balón de fondo redondo y se disolvieron en la mínima cantidad de agua, se agregaron (0.50 ± 0.01 mL; 5.289 mmol) anhídrido acético y tres gotas de piridina. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y el sólido obtenido se recrystalizó en agua, usando carbón activado. Se obtuvieron (0.09134 ± 0.00001 g; 0.473 mmol) de cristales rosados con intervalo de fusión ($162 - 166 \pm 2$ °C) y rendimiento del 31 % correspondientes al producto diacetilado y no el esperado.

- *Protección del 4-Aminofenol. Tercer procedimiento.*

Se pesaron (1.16315 ± 0.00001 g; 10.659 mmol) de 4-aminofenol, se llevaron a un balón de fondo redondo con agitador magnético. Por otro lado se tomó (1.0 ± 0.1 mL; 10.578 mmol) de anhídrido acético y se diluyó a la mitad con agua destilada, obteniendo una disolución 5.3 M de anhídrido acético. Se colocó al balón con el 4-aminofenol en agitación, a temperatura ambiente y se añadió lentamente la disolución de anhídrido acético preparada, finalizada la adición se dejó la mezcla bajo agitación la durante 30 minutos; se trasvasó el contenido del balón, con ayuda de agua destilada a un beacker, donde se recrystalizó el producto usando carbón activado. Finalmente se obtuvieron (0.67539 ± 0.00001 g; 4.470 mmol) de cristales cúbicos de color beige con un intervalo de fusión ($168 - 170 \pm 2$ °C) y rendimiento del 42 % correspondiente a la 4-hidroxiacetanilida.

- *Intento de síntesis de la 6-Acetanilida-4-metilcumarina. Primer procedimiento.*

Se pesaron (1.11973 ± 0.00001 g; 7.410 mmol) de 4-hidroxiacetanilida, (0.23038 ± 0.00001) g de una resina de divinilbenceno sulfonada, se disolvió el fenol en suficiente acetonitrilo y se agregaron (1.0 ± 0.1 mL; 7.838 mmol) de acetoacetato de etilo. Pasadas 24 horas de reflujo, no se observaron cambios y sólo se logró recuperar el material de partida.

- *Intento de síntesis de la 6-Acetanilida-4-metilcumarina. Segundo procedimiento.*

Se pesaron (0.45224 ± 0.00001 g; 2.993 mmol) de 4-hidroxiacetanilida, se llevaron a un balón, disolvieron con suficiente N,N-dimetilformamida (DFM), se le añadió (0.50 ± 0.01 mL; 3.319 mmol) de acetoacetato de etilo y 5 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Se calentó la mezcla a temperatura de reflujo durante 30 horas, monitoreando por TLC con una mezcla etanol/cloroformo (90/10) %. Se evaporó el solvente y recristalizó el sólido obtenido en agua para recuperar el material de partida.

- *Intento de síntesis de la 6-Amino-4-metilcumarina a partir del clorhidrato del 4-aminofenol.*

Se pesaron (1.02690 ± 0.00001 g; 9.410 mmol) de 4-aminofenol se colocaron en un balón y trataron con suficiente agua, se añadieron (1.2 ± 0.1 mL; 14.476 mmol) de ácido clorhídrico concentrado, una vez formado el clorhidrato de 4-aminofenol, se añadieron al balón (1.2 ± 0.1 mL; 9.479 mmol) de acetoacetato de etilo y (0.16251 ± 0.00001 g; 1.805 mmol) de ácido oxálico. La mezcla se calentó a temperatura de reflujo durante 24 horas, luego se dejó enfriar, neutralizó la mezcla de reacción con una disolución de NaOH al 10 % p/p, evaporó el solvente a presión reducida y el sólido obtenido se recristalizó en etanol, usando carbón activado. Se obtuvieron (0.04198 ± 0.00001 g; 0.081 mmol) de unos cristales grises con forma de escamas, rendimiento de 4% e intervalo de fusión ($224 - 228$ °C ± 2 °C) y donde a 220 °C se observó el ennegrecimiento de los cristales y posterior fusión. El producto obtenido se identificó como la diamida del ácido oxálico correspondiente al 4-aminofenol.

5.2 C. Intento de síntesis de la 7-Hidroxi-4-metil-8-nitrocumarina.

- *Primer procedimiento.*

Se pesaron (1.62122 ± 0.00001 g; 10.452 mmol) de 2-nitroresorcinol, (0.09217 ± 0.00001 g; 1.024 mmol) de ácido oxálico se llevaron a un balón junto con un agitador magnético, se disolvieron los sólidos con suficiente acetonitrilo y finalmente se agregaron (1.0 ± 0.1 mL; 7.899 mmol) de acetoacetato de etilo. Se calentó a temperatura de reflujo durante 72 horas. No se observó ningún cambio en la mezcla de reacción por un análisis por TLC usando tolueno/butanol (90/10) como fase móvil, solo se observó un punto para la mezcla de reacción con Rf 0.70 correspondiente al 2-nitroresorcinol. Finalmente se evaporó el solvente y recristalizó en agua para recuperar el material de partida.

- *Segundo procedimiento.*

Se pesaron (1.53462 ± 0.00001 g; 9.894 mmol) de 2-nitroresorcinol, (0.22646 ± 0.00001 g; 2.515 mmol) de ácido oxálico. Esta mezcla se disolvió con un exceso de acetoacetato de etilo (10.0 ± 0.1 mL; 78.992 mmol), se calentó a temperatura de reflujo durante 24 horas y se observó cambio de coloración en la mezcla de reacción de naranja intenso a pardo, se monitoreó por TLC usando tolueno/butanol (90/10) observando aún 2-nitroresorcinol y dos nuevos puntos de mayor polaridad, uno de ellos fuertemente retenido a la sílica. Pasadas 48 horas de reflujo se evaporó el solvente por destilación al vacío y se obtuvo una masa oscura, se realizaron lavados con cloroformo de los cuales se obtuvo un aceite naranja y un sólido negro finamente dividido soluble en una disolución de NaOH al 10 % e insoluble en agua, etanol y acetona, y con punto de fusión mayor a 270 °C. El aceite obtenido se analizó por TLC usando una mezcla tolueno/butanol (90/10) %, observando un punto naranja oscuro con Rf de 0.73 correspondiente al 2-nitroresorcinol y otro naranja claro con Rf de 0.51 igual al del acetoacetato de etilo. Se realizó una separación mediante una placa preparativa separando la línea de menor Rf y obteniendo 0.03506 g de un aceite el cual fue

analizado mediante espectroscopia de IR, indicando que no se obtuvo la cumarina esperada.

- *Tercer procedimiento.*

Se pesaron (2.00306 ± 0.00001 g; 12.914 mmol) de 2-nitroresorcinol, (0.51387 ± 0.00001 g; 5.708 mmol) de ácido oxálico y se mezclaron en un balón con suficiente tolueno para disolver los sólidos y (1.0 ± 0.1 mL; 7.899 mmol) de acetoacetato de etilo. Se calentó a temperatura de reflujo durante 27 horas, se observó una leve coloración oscura en el fondo del balón, sin embargo, en un análisis por TLC solo se observaron los materiales de partida. Finalmente se evaporó el solvente a presión reducida y se recrystalizó el 2-nitroresorcinol en agua.

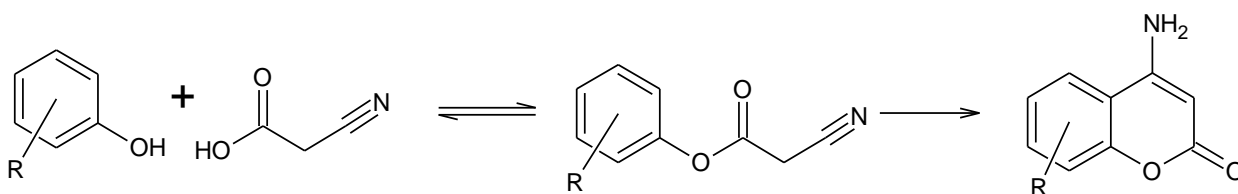
- *Cuarto procedimiento.*

Se pesaron (0.66586 ± 0.00001 g; 4.293 mmol) de 2-nitroresorcinol, (0.11854 ± 0.00001 g; 1.317 mmol) de ácido oxálico, se llevaron a un balón y se disolvieron en la mínima cantidad de dimetilsulfoxido (DMSO), se agregaron (0.30 ± 0.10 mL; 2.370 mmol) de acetoacetato de etilo. Se calentó a temperatura de reflujo durante 22 horas, observando un cambio de color en la mezcla de reacción de naranja a vinotinto. Se evaporó el solvente y el sólido obtenido se lavó con cloroformo para retirar el 2-nitroresorcinol y acetoacetato de etilo sin reaccionar. Se observó que el sólido vinotinto obtenido se solubilizaba totalmente en NaOH al 10 % y parcialmente en acetona y los análisis por TLC con mezclas etanol/cloroformo (30/70), (50/50) y acetonitrilo/cloroformo (50/50) mostraron el desplazamiento del compuesto de coloración roja siempre dejando colas, lo que no permitió plantear una separación efectiva.

- *Quinto procedimiento.*

Se planteó la síntesis de la 7-hidroxi-4-metil-8-nitroumarina a partir de la formación del fenóxido del 2-nitroresorcinol para esto, se pesaron (1.34207 ± 0.00001 g; 8.652 mmol) y se formó el fenóxido agregando (0.34575 ± 0.00001 g; 8.644 mmol) de NaOH disueltos en la mínima cantidad de agua; se evaporó el agua y, el fenóxido formado, un sólido negro, se llevó a un balón donde se disolvió con suficiente N,N-dimetilformamida (DMF) y se agregaron (1.1 ± 0.1 mL; 8.689 mmol) de acetoacetato de etilo. Se calentó a temperatura de reflujo durante 5 días en los cuales no se observó ningún cambio en el análisis por TLC, solo el fenóxido retenido en la sílice y el acetoacetato de etilo. Finalmente se evaporó el solvente, se disolvió el sólido en agua y se llevó a un pH de 1 usando ácido sulfúrico concentrado, para obtener el 2-nitroresorcinol y poder recuperarlo por recristalización en agua. Sin embargo, no se logró recuperar el 2-nitroresorcinol.

5.3. Ruta 2. Esterificación del ácido cianoacético con hidroquinona y resorcinol y posterior ciclación promovida por calor.



R = OH

5.3 A. *Esterificación del ácido cianoacético e hidroquinona y ciclación del producto obtenido.*

- *Esterificación del ácido cianoacético con hidroquinona.*

Se pesaron (1.66679 ± 0.00001 g; 15.137 mmol) de hidroquinona, (1.16475 ± 0.00001 g; 13.693 mmol) ácido cianoacético y (0.21692 ± 0.00001 g; 2.409 mmol) de ácido oxálico. Se llevaron los sólidos a un balón en el que se agregó suficiente cantidad de tolueno; dicho balón se acopló a un aparato de Dean-Stark y este a su vez a un condensador. Se calentó a temperatura de reflujo y se recogió el líquido destilado de la trampa en tres oportunidades, agregando más tolueno al balón de ser necesario; luego la mezcla se dejó a temperatura de reflujo durante 5 horas. En el fondo del balón se observó la formación de un aceite marrón oscuro, pasado el tiempo se reacción, se decantó la mezcla de reacción en un beacker teniendo cuidado de no trasvasar el aceite, el cual se disolvió en agua y filtró, se realizaron extracciones sucesivas de la fase acuosa con cloroformo, para finalmente obtener (0.53802 ± 0.00001 g; 3.037 mmol) de un aceite amarillo con rendimiento de 22 % correspondiente al cianoacetato de 4-hidroxifenilo.

- *Ciclación del producto de esterificación promovida por calor.*

Se pesaron (0.53802 ± 0.00001 g; 3.037 mmol) del acetite obtenido anteriormente, se llevaron a un balón y disolvieron con suficiente nitrobenzeno, además se añadieron (0.82370 ± 0.00001 g; 6.177 mmol) de tricloruro de aluminio. Se acopló el balón a un condensador y en la parte superior del mismo se colocó un tubo guard con CaCl_2 . La mezcla de reacción se calentó a temperatura de reflujo, hasta no observar formación de vapores de cloruro de hidrógeno, 3 horas aproximadamente. Se agregó hielo a la mezcla de reacción, 1 mL de ácido clorhídrico concentrado, luego se neutralizó con NaOH al 10 % y evaporó el solvente. Se obtuvo una masa oscura que se trató con etanol y carbón activado, se evaporó la fase etanólica y purificó por cromatografía de columna usando gel de sílice como fase estacionaria y una mezcla

cloroformo/etanol (90/10) % como fase móvil. Así se obtuvieron (0.02242 ± 0.00001 g; 0.126 mmol) de un sólido marrón oscuro con un rendimiento de 4 % correspondiente a la 4-amino-6-hidroxicumarina.

5.3 B. Esterificación del ácido cianoacético y resorcinol y ciclación del producto obtenido

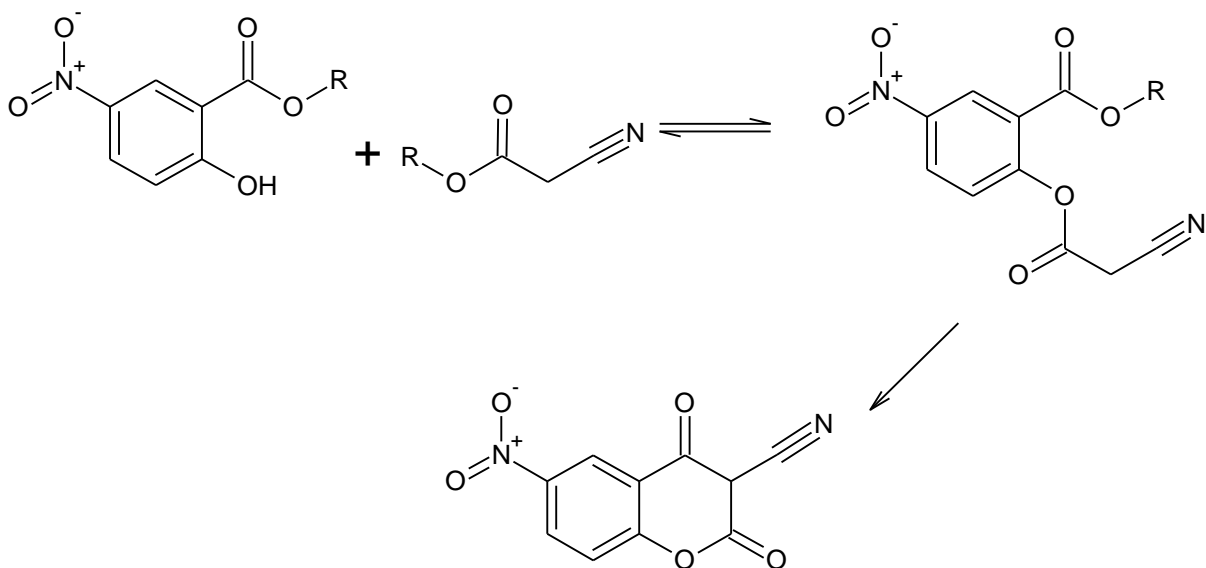
- Esterificación del ácido cianoacético con resorcinol.

Para esta esterificación se repitió el procedimiento usado con la hidroquinona, primero se pesaron (1.60684 ± 0.00001 g; 14.593 mmol) de resorcinol, (1.20893 ± 0.00001 g; 14.212 mmol) de ácido cianoacético y (0.22229 ± 0.00001 g; 2.469 mmol) de ácido oxálico, se realizó la destilación azeotrópica usando tolueno como solvente y se recogió la mezcla destilada en dos oportunidades; luego se calentó a temperatura de reflujo durante 7 horas adicionales. Se obtuvieron (0.30876 ± 0.00001 g; 1.574 mmol) de un aceite amarillo con rendimiento de 11 % correspondiente al producto de hidrólisis del cianoacetato de 3-hidroxifenilo.

- Ciclación del producto de esterificación promovida por calor.

Para realizar la ciclación se repitió el procedimiento anterior; se pesaron (0.30876 ± 0.00001 g; 1.574 mmol) del producto de esterificación, se añadieron en un balón y mezclaron con suficiente nitrobenzeno, por otro lado se adicionaron (0.48365 ± 0.00001 g; 3.627 mmol) de tricloruro de aluminio y se calentó a temperatura de reflujo durante 3 horas aproximadamente. La masa negra obtenida se trató con etanol y carbón activado y purificó mediante cromatografía de columna usando gel de sílice como fase estacionaria y una mezcla tolueno/acetonitrilo (66.6/33.4) % como fase móvil. Se obtuvieron (0.00132 ± 0.00001 g; 0.0081 mmol) de sólido marrón con rendimiento de 1 % correspondiente a la 7,4-dihidroxicumarina .

5.4. Ruta 3. Esterificación/transesterificación del ácido cianoacético/cianoacetato de metilo con 5-nitrosalicilato de metilo y posterior ciclación por ataque de grupo metileno al carbono carbonílico, usando NaH.



5.3 A. Nitración del salicilato de metilo.

Se preparó en frío (0 ° C) una mezcla nitrante usando (2.0 ± 0.1 mL; 28.884 mmol) de ácido nítrico concentrado y (1.0 ± 0.1 mL; 17.908 mmol) de ácido sulfúrico concentrado. Por otra lado se colocaron en un balón de fondo redondo (2.0 ± 0.1 mL; 15.511 mmol) de salicilato de metilo, disueltos en 4 mL de una disolución acuosa de ácido sulfúrico 50 % p/p. Dicho balón se sumergió en un baño de hielo, se sometió a agitación magnética la mezcla y se comenzó a añadir lentamente la mezcla nitrante preparada, finalizada la adición, la mezcla se dejó en agitación durante 1 hora. Se evaporó el solvente y purificó el sólido obtenido mediante cromatografía de columna, usando gel de sílice como fase estacionaria y cloroformo como fase móvil. Se obtuvieron (1.51038 ± 0.00001 g; 7.661 mmol) de un polvo amarillo claro con intervalo de fusión (110 – 114 ± 2 °C) y un rendimiento del 49% correspondiente al 5-nitrosalicilato de metilo.

5.4 B. Esterificación del 5-nitrosalicilato de metilo con ácido cianoacético, catalizada por ácido y ciclación del producto usando NaH.

Se pesaron (0.70714 ± 0.00001 g; 3.587 mmol) de 5-nitro salicilato de metilo, (0.37512 ± 0.00001 g; 4.410 mmol) de ácido cianoacético y (0.13912 ± 0.00001 g; 1.545 mmol) de ácido oxálico; estos sólidos se disolvieron en la mínima cantidad de dimetilsulfoxido (DMSO) y se calentó a temperatura de reflujo durante 7 horas en un balón de reacción. En un análisis por TLC usando una mezcla cloroformo/etanol (50/50) % se observó la formación de una especie más polar con Rf de 0.40 y un punto menos intenso con Rf de 0.85 (material de partida) usando yodo como revelador. Observada la formación del diéster; se dejó alcanzar temperatura ambiente al balón, con la mezcla de reacción y se procedió a añadir (0.60792 ± 0.00001 g; 25.332 mmol) de hidruro de sodio, luego la mezcla de reacción se colocó en un baño de agua entre 50 – 60 ° C, durante 6 horas con agitación magnética, en las que se observó el total consumo del hidruro. Luego se evaporó el solvente y purificó el sólido obtenido mediante cromatografía de columna, usando como fase estacionaria gel de sílice y fase móvil una mezcla cloroformo/etanol (40/60) % y posterior gradiente de elución. Se obtuvo (0.56626 ± 0.00001 g; 2.734 mmol) de un polvo ocre con rendimiento de 76 % el cual se propuso como la 4-hidroxi-6-nitrocumarina.

5.4 C. Transesterificación del 5-nitrosalicilato de metilo con cianoacetato de metilo usando NaH.

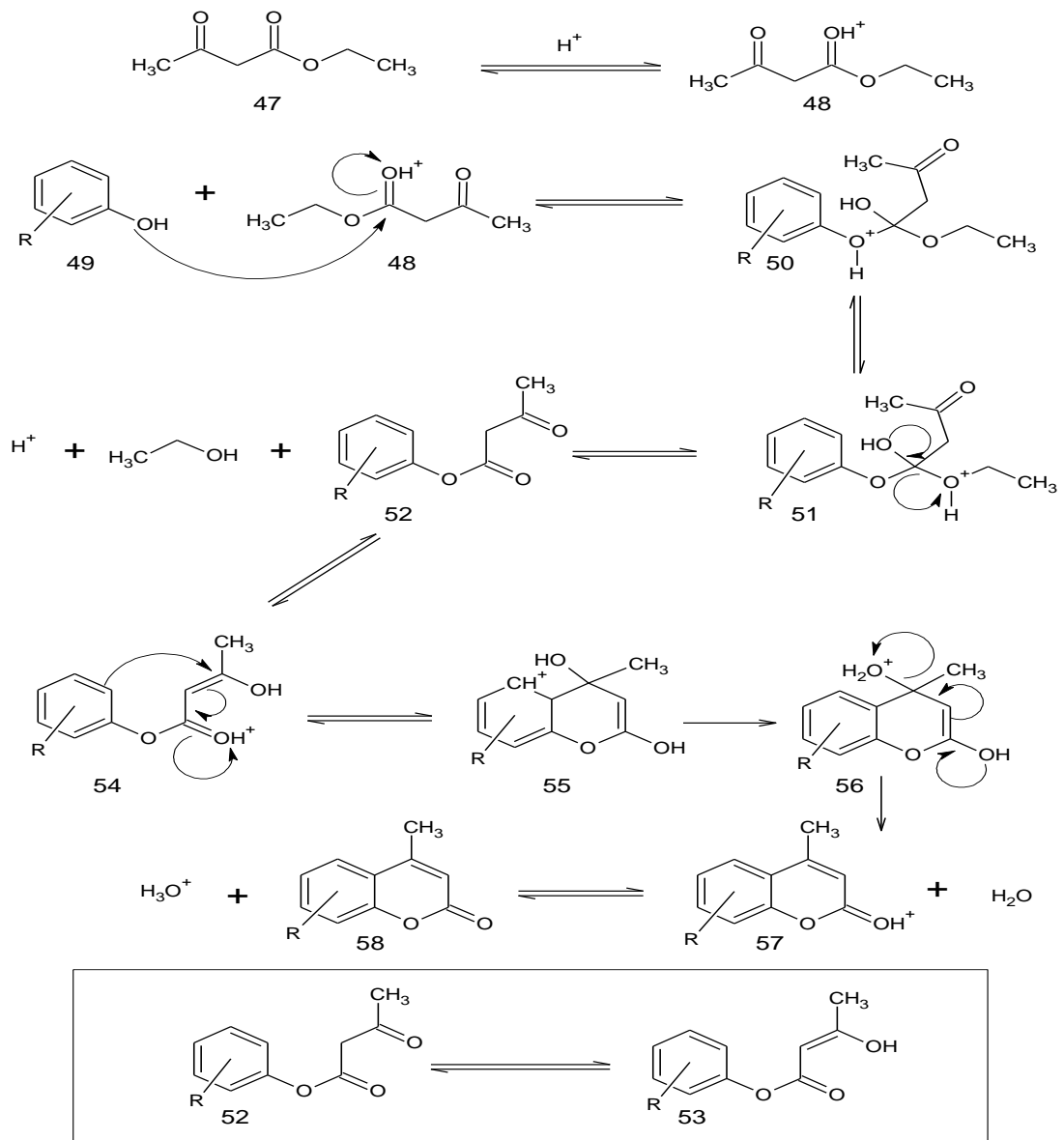
En un balón se preparó el fenóxido del 5-nitrosalicilato de metilo, disolviendo (0.78855 ± 0.00001 g; 4.000 mmol) del fenol en 20 mL de dimetilsulfoxido (DMSO) y, con agitación magnética se agregaron (0.93298 ± 0.00001 g; 38.878 mmol) de hidruro de sodio; dicha mezcla se dejó en agitación durante 30 minutos a temperatura ambiente para luego agregar gota a gota, mediante un embudo de adición una disolución de (0.40 ± 0.01 mL; 4.533 mmol) de cianoacetato de metilo disueltos en 20 mL de dimetilsulfoxido (DMSO). Finalizada la adición, se calentó la mezcla a

temperatura de reflujo durante 28 horas. Se evaporó el solvente, el sólido obtenido se lavó con cloroformo para eliminar cianoacetato de metilo sin reaccionar y se recristalizó en agua/etanol, previamente habiendo neutralizado el pH. Se obtuvieron (0.13465 ± 0.00001 g; 0.580 mmol) de un sólido naranja en forma de pequeñas esferas, con rendimiento del 15 % correspondiente a la 3-ciano-4-hidroxi-6-nitrocumarina.

CAPÍTULO 6

6.0 RESULTADOS Y DISCUSIONES.

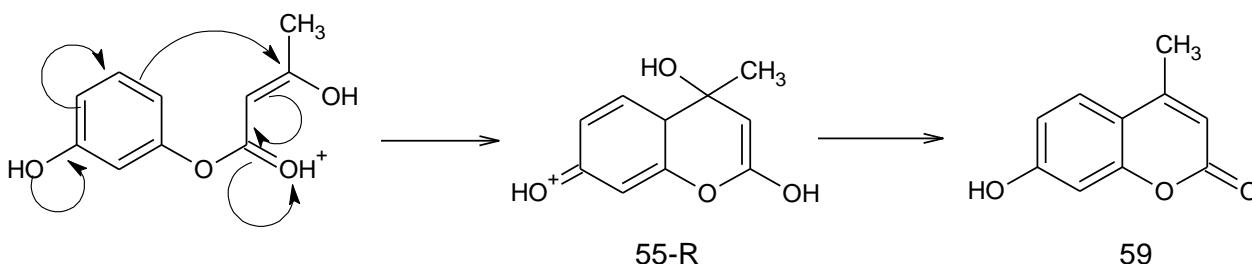
6.1. Ruta 1. Reacción de Pechmann entre derivados fenólicos y acetoacetato de etilo.



Esquema 2.1. Mecanismo detallado de reacción de Pechmann-Duisberg.

6.1 A. Síntesis de la 7-hidroxi-4-metilcumarina

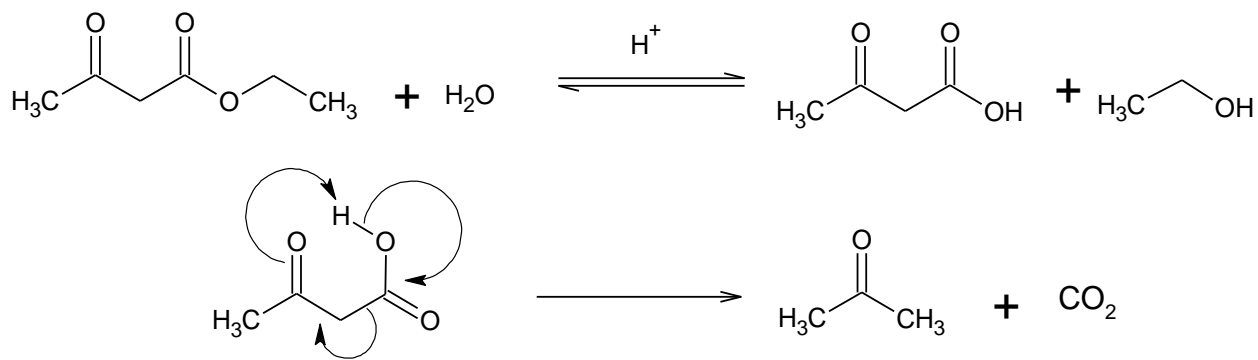
En esta reacción se mezclaron resorcinol y acetoacetato de etilo (47) en presencia ácido oxálico, a fin de aumentar la reactividad del éster, haciéndolo más susceptible al ataque nucleofílico del fenol. Durante la síntesis se observó cambio de coloración de beige a rosado cada vez más intenso, debido a la posible formación de alguno de los intermediarios (50) ó (55) que presentaban deslocalización de carga, generando una longitud de onda de máxima absorción (λ_{max}) en la zona visible del espectro. Sin embargo, la posible formación del intermediario (55) explicó mejor este hecho, ya que durante su formación se presentaba mayor deslocalización, además se encontraba directamente involucrado el anillo aromático, en la formación del complejo sigma, que por la naturaleza del fenol, resorcinol, con un grupo hidroxilo, dador de electrones en posición meta favoreció al intermediario (55-R) como se observa en el esquema 2.2 a partir del cual posteriormente se obtuvo la 7-hidroxi-4-metilcumarina (59).



Esquema 2.2. Formación de complejo sigma de la 7-hidroxi-4-metilcumarina.

La reacción se realizó a una temperatura de reflujo relativamente baja, usando acetonitrilo como solvente (PE = 82 ° C) debido a que el resorcinol era un sustrato favorecido para la formación de la cumarina correspondiente. El rendimiento obtenido del 25 % se pudo justificar por el tiempo de reacción que no permitió la formación de más producto o por la hidrólisis del acetoacetato de etilo, con trazas de agua

presentes en el acetonitrilo y que por las condiciones de reacción permitieron la hidrólisis y descarboxilación del beto-cetoéster como se muestra en el esquema 2.3.

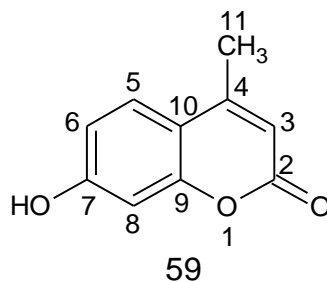


Esquema 2.3. Hidrólisis y descarboxilación del acetoacetato de etilo.

La 7-hidroxi-4-metilcumarina fue identificada mediante espectroscopia de IR (espectro 1.0) mostrando una banda ligeramente ancha correspondiente a la vibración del enlace O-H en $3497,5 \text{ cm}^{-1}$ y con dicha forma debido a interacciones tipo puente de hidrógeno intermoleculares entre los grupos hidroxilo de las molécula; otra señal intensa en $1670,1 \text{ cm}^{-1}$ correspondiente a la vibración del enlace C=O que, en este caso se encontraba conjugado con la olefina que apareció en $1605,2 \text{ cm}^{-1}$ y que, por esta razón la vibración C=O se observó a tan baja frecuencia, debido a la deslocalización de electrones en el sistema alfa-beta conjugado. También se observó la vibración correspondiente al sistema C-(C=O)-O-C, como una señal aguda y de mediana intensidad en $1276,9 \text{ cm}^{-1}$.

En el espectro ^{13}C RMN (espectro 1.1) se observaron 10 señales que se muestran en la tabla 1.5. Además del cambio en ellas en un espectro DEPT 135° (espectro 1.2) donde se evidencia la presencia de 5 carbonos cuaternarios cuyas señales no se observaron y, se realizó la asignación de cada una de ellas, según la estructura (59).

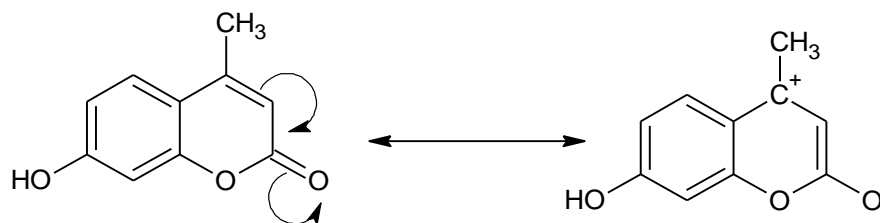
Tabla 1.5. Desplazamientos químicos en ^{13}C RMN Y DEPT 135 $^{\circ}$ de la 7-hidroxi-4-metilcumarina en DMSO- d_6 .



Carbono N $^{\circ}$	δ (ppm) ^{13}C RMN	δ (ppm) DEPT 135 $^{\circ}$
1	-----	-----
2	160,799	No observada
3	110,813	110,813
4	153,794	No observada
5	127,085	127,085
6	113,411	113,411
7	161,732	No observada
8	102,759	102,759
9	155,439	No observada
10	112,601	No observada
11	18,600	-----

En la tabla 1.5, correspondiente a los desplazamientos químicos en ^{13}C RMN se observó un valor interesante perteneciente al carbono 4, con desplazamiento de 153,794 ppm, este valor se encontró desplazado en campo bajo debido a que el par de electrones de la olefina se encontraban deslocalizados como se muestra en el esquema 2.4, generando cargas parciales positiva y negativa, que aumentaron la densidad de

carga en el sistema. Resultados como este y el obtenido en el espectro IR, para la vibración C=O, pueden ser señales clave para la elucidación de cumarinas.



Esquema 2.4. Deslocalización de electrones en el enlace olefínico de la 7-hidroxi-4-metilcumarina.

En el espectro ^1H RMN (espectro 1.3) se evidenció claramente la señal de un grupo hidroxilo a campo bajo, con un desplazamiento de 10,52 ppm. En la tabla 1.6 se muestran todas las señales con su respectiva asignación y constantes de acoplamiento (J).

Tabla 1.6. Desplazamientos químicos ^1H RMN de la 7-hidroxi-4-metilcumarina en DMSO- d_6 .

Asignación	δ (ppm)	Multiplicidad	Integral	J (Hz)
OH (C ₇)	10,52	s	0,94	-----
H (C ₅)	7,57	d	0,99	10,8
H (C ₆)	6,79	dd	1,01	10,8 ; 2,7
H (C ₈)	6,69	d	1,00	2,7
H (C ₃)	6,11	s	0,95	-----
H (C ₁₁)	2,35	s	3,00	-----

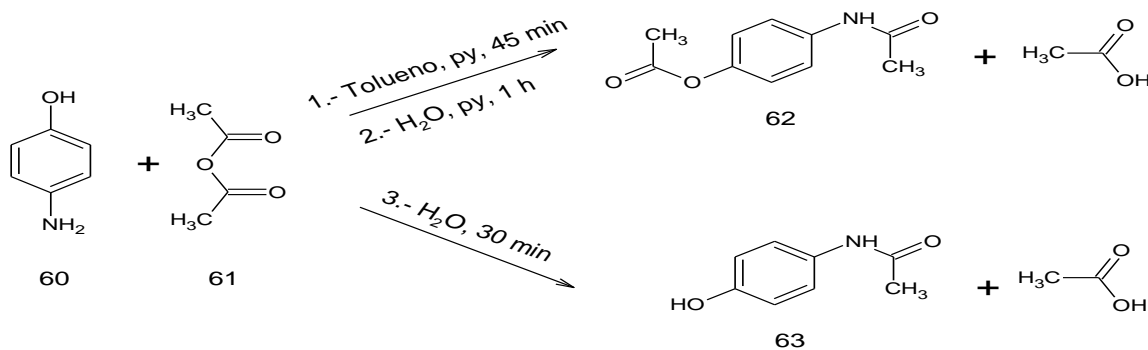
En el espectro 1.4 de ^1H RMN se observaron las señales correspondientes a los protones del anillo bencénico y el acoplamiento entre ellos. A campo más bajo se observó un doblete (d) centrado 7,57 ppm con J = 10,8 Hz, que evidenció el

acoplamiento con un protón en posición orto, a 6,79 ppm se observó un doblete de dobletes (dd), con constantes de $J = 10,8$ y $2,7$ Hz indicativas del acoplamiento del protón con uno en posición orto y otro en meta respectivamente, finalmente se observó otro doblete centrado en 6,69 ppm, con $J = 2,7$ Hz indicativo del acoplamiento con un protón en posición meta.

6.1 B. Intento de síntesis de la 6-Amino-4-metilcumarina.

- Protección del 4-aminofenol.

La reacción de protección (esquema 2.5) se trató de realizar bajo diferentes condiciones; de solvente, temperatura, catálisis y tiempo. En el primer procedimiento el 4-aminofenol (60) se calentó en tolueno a temperatura de reflujo durante 45 minutos con el anhídrido acético (61) y usando piridina como catalizador. En esta reacción se obtuvo el producto diacetilado (62). Debido a esto se procedió a realizar la reacción a temperatura ambiente usando agua como solvente, anhídrido acético y el mismo catalizador. La reacción se realizó en agua por motivos prácticos ya que el producto esperado recristalizaba en dicho solvente, por otro lado se agregó el anhídrido en exceso y esto puede explicar el hecho de que, al igual que el primer procedimiento se haya obtenido el producto diacetilado.



Esquema 2.5. Procedimientos usados para la protección del grupo amino del 4-aminofenol.

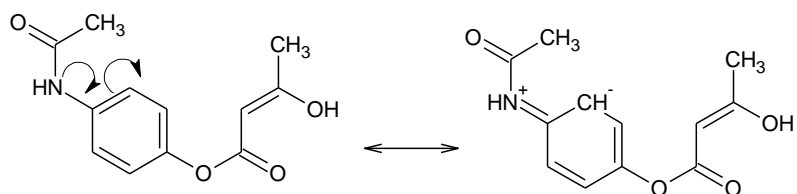
Las primeras dos condiciones fueron realizadas con exceso del anhídrido y en presencia de la piridina como catalizador nucleofílico. Debido a lo mencionado anteriormente, se realizó, como tercer procedimiento, la protección, sin el uso del catalizador, durante un menor lapso de tiempo y con una disolución acuosa del anhídrido acético que fue agregada lentamente al 4-aminofenol en agitación con la finalidad de que las moléculas del fenol reaccionaran rápidamente por el grupo amino con el anhídrido y así la mayor parte del mismo se consumiera durante el proceso de adición. Así se logró obtener la 4-hidroxiacetanilida (63).

Las estructuras (62) y (63) fueron identificadas mediante espectroscopia de IR. En el espectro 1.5 correspondiente a (62) se observó una banda aguda y de mediana intensidad en $3368,8\text{ cm}^{-1}$ asignada a la vibración del enlace N-H, evidenciando la presencia de la amida secundaria, por otro lado no se observó una banda ancha en dicha zona que correspondería a la vibración del enlace O-H, lo que demostró que la especie obtenida por las dos primeras vías no se trataba de la 4-hidroxiacetanilida. Como confirmación se observaron dos bandas agudas e intensas en $1743,4\text{ cm}^{-1}$ y $1691,2\text{ cm}^{-1}$ pertenecientes a las vibraciones C=O, del éster y la amida, respectivamente, debido a que, en el enlace del éster el efecto de deslocalización de carga hacía el carbonilo es menor que en el enlace tipo amida, ya que el oxígeno es más electronegativo que el nitrógeno y por lo tanto el par de electrones se encuentra menos disponible. También se observaron las señales de las vibraciones C-(C=O)-O-C en $1234,4\text{ cm}^{-1}$ y la de C-N fuera del plano en $868,1\text{ cm}^{-1}$.

En el espectro 1.6 corresponde a la 4-hidroxiacetanilida (63), se observó una señal de mediana intensidad en $3325,3\text{ cm}^{-1}$ perteneciente a la vibración N-H de la amida secundaria y que se encontró un poco solapada por una señal ancha y de intensidad media en $3160,8\text{ cm}^{-1}$ originada por la vibración del enlace O-H. La vibración del enlace C=O se observó en $1654,9\text{ cm}^{-1}$ y en $836,5\text{ cm}^{-1}$ la del enlace C-N.

- *Intento de síntesis de la 6-Acetanilida-4-metilcumarina.*

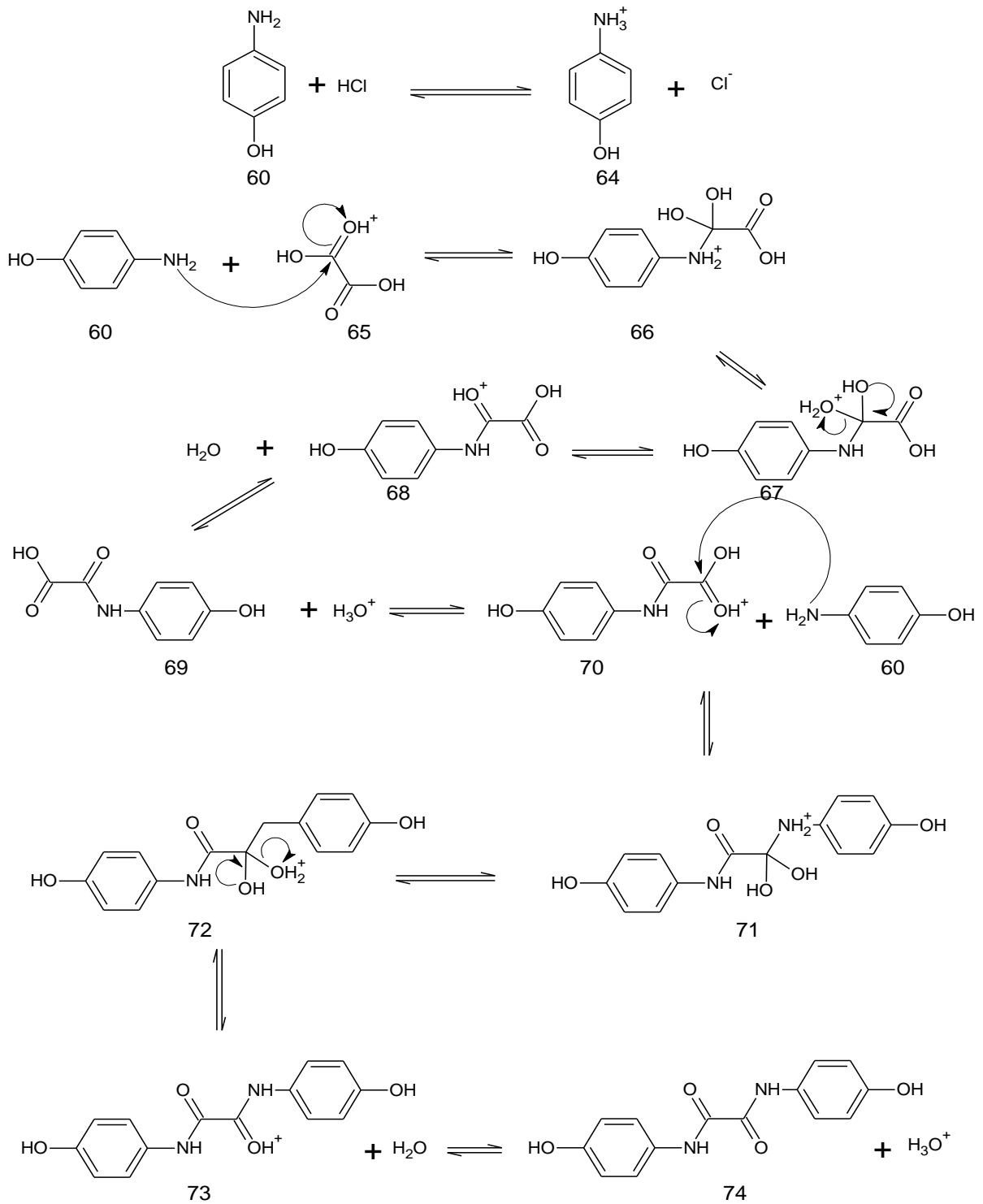
Se mezclaron la 4-hidroxiacetanilida (63) y el acetoacetato de etilo (47) usando acetonitrilo como solvente y una resina de divinilbenceno sulfonada como catalizador heterogéneo, sintetizada en el laboratorio de polímeros de escuela de química de la Universidad Central de Venezuela. Dicha resina se utilizó debido a su sencilla separación de la mezcla de reacción, mediante filtración y a que una separada y lavada podía ser reutilizada. Sin embargo, en este procedimiento luego de 24 horas reflujo no se obtuvo producto y debido a esto se realizó la reacción usando N,N-dimetilformamida (DMF) (PE= 153 ° C) como solvente, ácido sulfúrico como catalizador y mayor tiempo de reflujo (30 horas). Una vez finalizado el tiempo tampoco se obtuvo la cumarina esperada, esto posiblemente porque a pesar de que la 4-hidroxiacetanilida (63) se encontraba activada para la reacción de transesterificación por el efecto dador por resonancia que aumentaba la densidad de carga negativa del grupo hidroxilo y por lo tanto su nucleofilidad; el producto de transesterificación (ver esquema 2.6) era poco reactivo hacía la ciclación por (SEA), debido a que el sustituyente, grupo amida, orto-para director, se encontraba en posición 4 con respecto al grupo éster y no en posición 3 como en el caso del resorcinol (ver esquema 2.2) donde se encontraba favorecida la ciclación por parte de los dos sustituyentes. El éster correspondiente tampoco fue aislado porque la reacción es reversible como se muestra en el esquema 2.1, y el grupo saliente, etanol era más reactivo hacía la transesterificación que la 4-hidroxiacetanilida debido a lo que sólo se recuperó material de partida. Esto no se observó con el resorcinol debido a que el producto de transesterificación con acetoacetato de etilo se encontraba favorecido para la ciclación y por lo tanto la reacción llegó hasta un punto irreversible, la formación de la cumarina (59).



Esquema 2.6. Estructura de resonancia del producto de transesterificación de 4-hidroxiacetanilida y acetoacetato de etilo.

- *Intento de síntesis de la 6-Amino-4-metilcumarina a partir del clorhidrato del 4-aminofenol.*

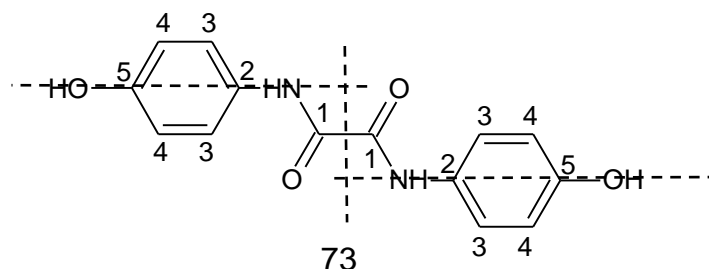
Se preparó el clorhidrato del 4-aminofenol (64) y se mezcló con acetoacetato de etilo (47), ácido oxálico y agua como solvente. Se pensó en realizar la síntesis a partir de la especie (64) por dos razones: primero, con el grupo amino protonado se esperaba que la reacción de transesterificación fuera selectiva y así el acetoacetato de etilo sólo reaccionaría con el grupo hidroxilo. Una vez obtenido el éster y con el grupo amino aún protonado se favorecía el paso de la ciclación ya que la amina pasaba de ser un orto-para director a ser un meta director en la SEA. Sin embargo, en esta reacción no se obtuvo la cumarina esperada debido probablemente a que el acetoacetato de etilo haya hidrolizado y descarboxilado debido al tiempo prolongado de reflujo y a la formación de un producto colateral originado por la reacción del 4-aminofenol (60) con el ácido oxálico como se muestra en el esquema 2.7.



Esquema 2.7. Síntesis de la diamida del ácido oxálico del 4-aminofenol.

La diamida (74) fue identificada mediante espectroscopia de IR, ^{13}C RMN y ^1H RMN. En el espectro 1.7 se muestran las señales de IR para la especie, siendo características la señal de vibración del enlace O-H en $2967,3\text{ cm}^{-1}$ esta señal tiene una forma bastante ancha debido a la formación de puentes de hidrógeno intermoleculares, favoreciendo la formación de estructuras poliméricas. En esta banda ancha pudo encontrarse solapada la banda correspondiente a la vibración del enlace N-H de la amida secundaria, que podría ser asignada a $3060,1\text{ cm}^{-1}$ como una pequeña señal y que, además su baja intensidad también podría explicarse debido a la formación de puentes de hidrógeno intramoleculares con el oxígeno del carbono carbonílico en posición β al nitrógeno, generando especies cíclicas de 5 miembros. En $1618,6\text{ cm}^{-1}$ se observó la señal correspondiente al enlace C=O de la amida y en $811,9\text{ cm}^{-1}$ la señal de la vibración C-N.

En el espectro 1.8 de ^{13}C RMN, se observaron 5 señales donde a campo más alto se encontraron dos señales intensas correspondientes a carbonos aromáticos no sustituidos que indicaron gran simetría en la molécula (esquema 2.8) resultado que indicó que no se trataba de la cumarina esperada debido a que su estructura no poseía simetría. En la tabla 1.7 se muestran cada una de las señales y su asignación así como los desplazamientos químicos simulados en el software ChemSketh.



Esquema 2.8. Planos de simetría de la diamida del ácido oxálico del 4-aminofenol y carbonos equivalentes.

Tabla 1.7. Desplazamientos químicos de ^{13}C RMN de la diamida del ácido oxálico del 4-aminofenol experimentales en DMSO-d_6 y simulación en ChemSketch.

Carbono N°	δ (ppm) ^{13}C RMN	δ (ppm) ^{13}C RMN (simulados)	Integral
1	164,26	160,58	1
2	134,60	133,83	1
3	119,16	121,44	1
4	116,34	115,43	1
5	152,12	155,10	1

En el espectro de ^1H RMN (espectro 1.9) se observó un doblete de dobletes indicativo de un acoplamiento entre protones del tipo orto-meta. Sin embargo, sólo se observó una constante de acoplamiento de 8,1 Hz y no la de aproximadamente 2 Hz, debido al posible solapamiento de los desplazamientos químicos del dd del protón del carbono 3 y del carbono 4. Las señales obtenidas se muestran en la tabla 1.8.

Tabla 1.8. Desplazamientos químicos de ^1H RMN de la diamida del ácido oxálico del 4-aminofenol en DMSO-d_6 .

Asignación	δ (ppm)	Multiplicidad	Integral	J (Hz)
H (C ₃)	6,72	d	1	8,1
H (C ₄)	6,62	d	1	8,1
H (C ₂ , C ₅)	5,43	s	2	-----

Se justificó que en la señal de 5.43 ppm se encontraran solapados los hidrógenos de la amida y del grupo hidroxilo debido a que la misma es bastante intensa en comparación a la señal de un grupo hidroxilo o amida independiente, además este hecho se fundamenta gracias a una simulación realizada en el software ChemSketch indicada en la tabla 1.9.

Tabla 1.9. Desplazamientos químicos de ^1H RMN de la diamida del ácido oxálico del 4-aminofenol simulados en ChemSketch.

Asignación	δ (ppm)	Multiplicidad
H (C ₃)	7,20	m
H (C ₄)	7,07	m
H (C ₂ , C ₅)	6,60	s

6.1 C. Intento de síntesis de la 7-Hidroxi-4-metil-8-nitrocumarina.

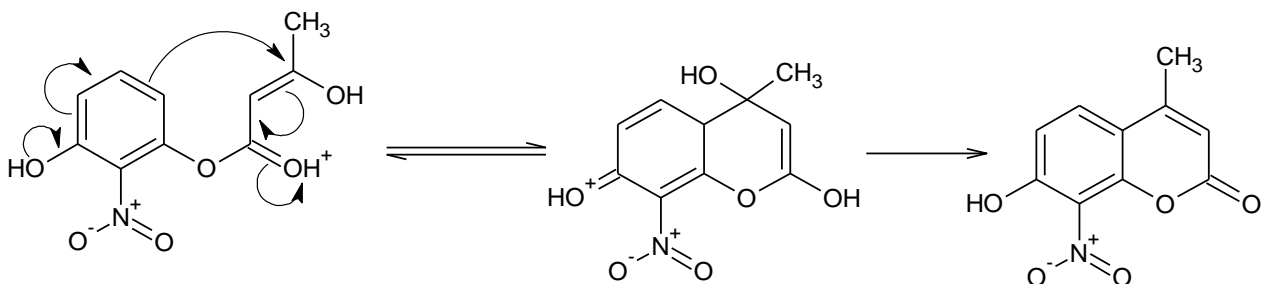
Se mezclaron 2-nitroresorcinol y acetoacetato de etilo bajo diferentes condiciones de: solvente, temperatura y catálisis, así se realizó en condiciones ácidas y básicas. En el primer caso se usó ácido oxálico y, acetonitrilo, acetoacetato de etilo, tolueno y dimetilsulfoxido (DMSO) como solvente. En acetonitrilo (PE = 82 °C) no se observó ningún cambio por lo que se decidió usar a unos de los reactivos como solvente, añadiendo un exceso de acetoacetato de etilo (PE = 181 °C), generando así un aumento aproximado en la temperatura de reflujo de 100 °C, sin embargo, en estas condiciones no se obtuvo la cumarina deseada luego de 48 horas de reflujo sino un aparente producto de descomposición oscuro, con punto de fusión mayor a 270 °C, insoluble en diversidad de solventes (agua, etanol, acetona, cloroformo) y soluble en disolución acuosa de NaOH al 10%, lo que indicó la presencia de al menos un grupo hidroxilo unido a un anillo aromático.

Por otro lado mediante lavados con cloroformo del sólido, se obtuvo un aceite naranja que por TLC mostraba dos puntos separados con R_f de 0,73 (2-nitroresorcinol) y 0,51, por lo que se realizó la separación en la cual se obtuvo que el punto naranja con R_f = 0,51 no correspondía a la cumarina esperada, el análisis por espectroscopia de IR (espectro 2.0) indicó la presencia de acetoacetato de etilo en mayor cantidad debido a la señal correspondiente a la vibración de los enlaces C=O de

1744,8 cm^{-1} y 1719,6 cm^{-1} del beto-ceto éster y una señal de muy poca intensidad en la zona del enlace O-H, debido al puente de hidrógeno intramolecular formado. Estos datos fueron muy cercanos a los reportados para el acetoacetato de etilo. Este resultado indicó que el punto con $R_f = 0,51$, igual al del acetoacetato de etilo, tenía tonalidad naranja debido a una fuerte interacción de trazas del 2-nitroresorcinol con el acetoacetato de etilo debido a la formación múltiples puentes de hidrógeno.

Tomando en cuenta la posible descomposición del 2-nitroresorcinol, se realizó la reacción en tolueno (PE = 111 °C), aumentando así la temperatura de reflujo unos 29 °C aproximadamente con respecto al acetonitrilo, también se aumentó la cantidad de catalizador en % mol con respecto al acetoacetato de etilo de un 13 %, en acetonitrilo a 72 %, en tolueno. Luego de 27 horas de reflujo no se obtuvieron resultados, sólo se observó la presencia de una leve coloración oscura en el fondo del balón, generada posiblemente por descomposición del reactivo. Por otro lado se observó en el esquema 2.1 que la reacción se planteó a través de la formación de dos intermediarios tetraédricos, el de la transesterificación y la ciclación, que se verían favorecidos en presencia de solventes polares apróticos, capaces de solvatarlos.

Tomando en cuenta esto, se realizó la reacción usando dimetilsulfoxido (DMSO) como solvente, ya que el mismo estabilizaría los intermediarios por su alta polaridad y, debido a su alto punto de ebullición (PE = 189 °C) favorecería el primer paso de la reacción, la transesterificación, donde el 2-nitroresorcinol se encontraba altamente desactivado, debido a la presencia del grupo nitro, atractor de electrones, entre los dos grupos hidroxilo. Cumplido este paso, el siguiente, la (SEA) estaría altamente favorecida debido a la posición de los sustituyentes, favoreciendo así la formación del ciclo de 6 miembros de α -pirona (esquema 2.9).

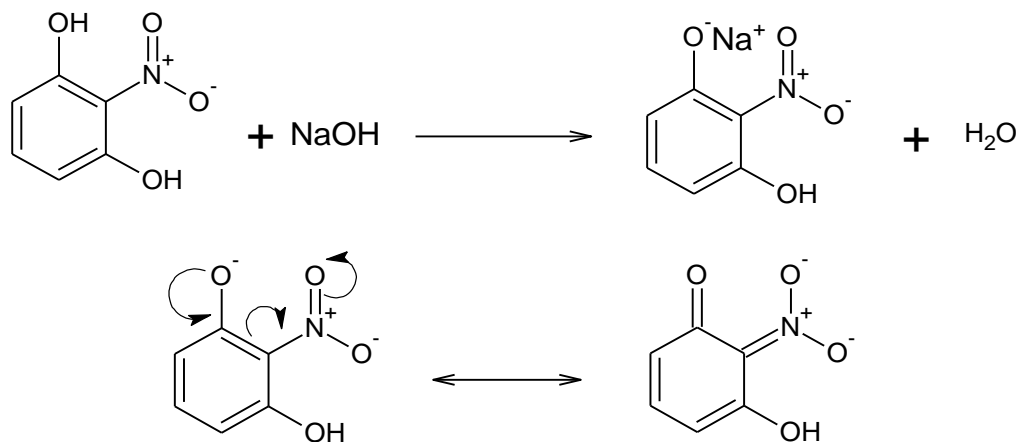


Esquema 2.9. Formación del complejo sigma de la 7-hidroxi-4-metil-8-nitrocumarina.

Luego de 22 horas de reflujo usando el 55 % mol de acetoacetato de etilo en catalizador, se observó un cambio de coloración de naranja a vinotinto. El sólido obtenido era soluble en base (NaOH 10%) y parcialmente soluble en acetona, sin embargo, no se pudo separar, debido a que por TLC siempre dejaba una cola en la placa y no se logró recrystalizar en acetona. Así se analizó por espectroscopia de IR (espectro 2.1) la fracción soluble en acetona. Se observa una señal intensa correspondiente a la vibración del enlace O-H a $3408,1\text{ cm}^{-1}$ y en 1634 cm^{-1} otra señal asignada a la vibración de C=O. No se pudieron identificar más señales debido a que, el espectro no se encontraba bien resuelto, posiblemente por la presencia de producto de descomposición del 2-nitroresorcinol, que no fue posible de separar de la cumarina esperada por el comportamiento en TLC y que además ambas especies eran solubles en disolución acuosa de NaOH, indicativo de la presencia de un fenol.

Con estos resultados obtenidos se decidió plantear la reacción catalizada por base, usando para esto el fenóxido del 2-nitroresorcinol, el cual se formó con un equivalente de NaOH, para que tomara el protón de solo uno de los grupos hidroxilo del fenol. Con esta especie, el primer paso de la reacción, la transesterificación, debió estar más favorecido ya que se aumentaba la reactividad del grupo hidroxilo, cuando el mismo se encontrara desprotonado. Sin embargo, se evidenció la buena estabilización de la base conjugada debido al grupo nitro vecino (esquema 3.0). Basado en este hecho se pudo explicar que luego de 5 días de reflujo en N,N-dimetilformamida (DMF) no se obtuvo la cumarina esperada. Además la gran

estabilización de la base conjugada del 2-nitroresorcinol se demostró por otro lado, ya que una vez evaporado el solvente se disolvió en agua el sólido negro obtenido y acidificó la solución para recuperar el 2-nitroresorcinol pero no se logró obtener el material de partida nuevamente.

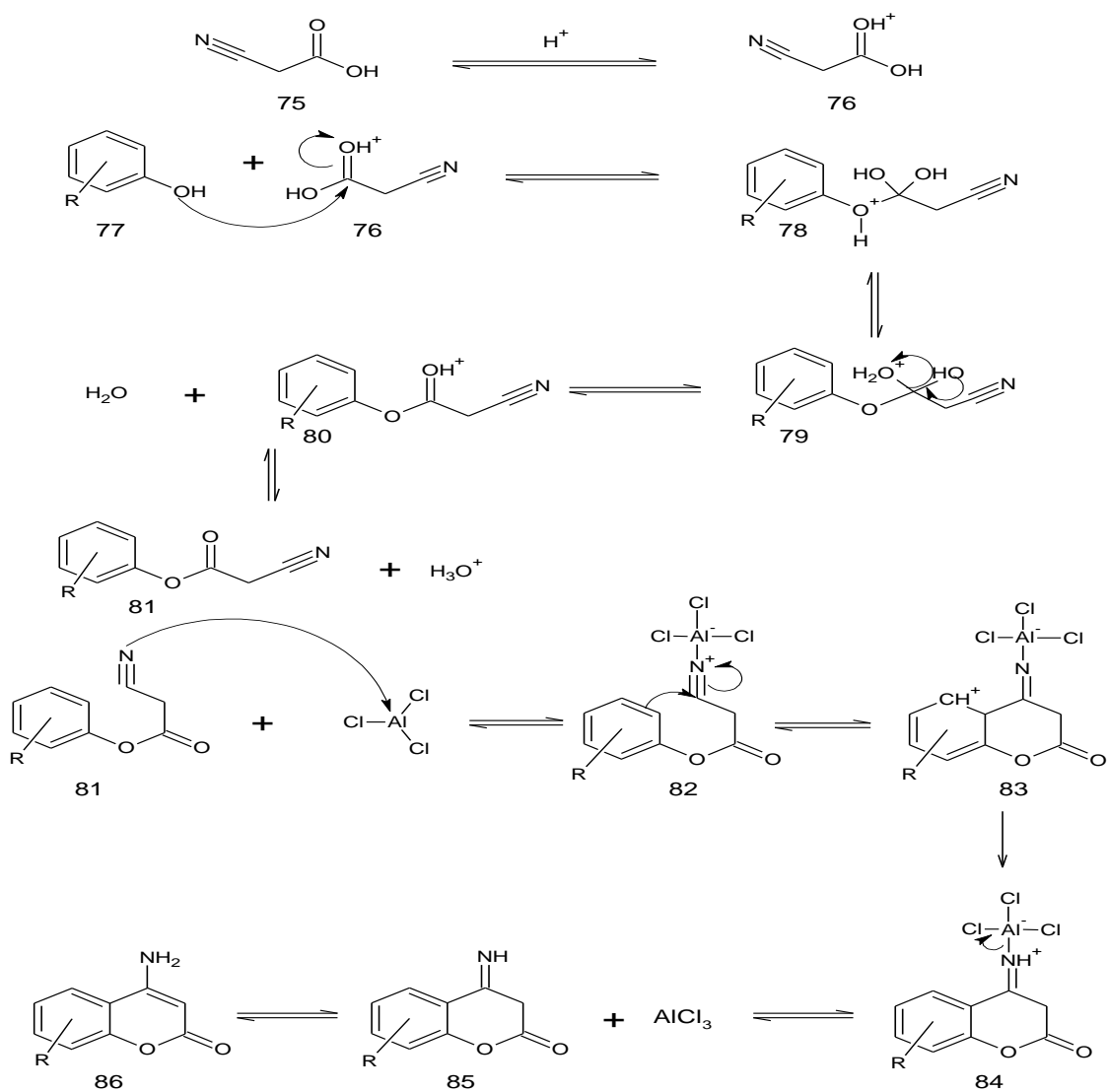


Esquema 3.0. Formación del fenóxido del 2-nitroresorcinol y estabilización del mismo.

Este resultado contrasta con el obtenido usando resorcinol, con el que se obtuvo la 7-hidroxi-4-metilcumarina. Indicando que entre los dos pasos de la reacción: transesterificación y ciclación; la transesterificación podría considerarse como el paso lento de la misma ya que, en ambos casos la ciclación por SEA se veía favorecida por la posición de los sustituyentes; usando resorcinol el grupo OH en el éster (55) actuó como para-director y con 2-nitroresorcinol además el grupo nitro actuaría como meta-director, favoreciendo la formación del anillo de α pirona. Sin embargo, en el segundo caso el sustrato se encontraba mucho menos activado para la reacción de transesterificación.

6.2. Ruta 2. Esterificación del ácido cianoacético con hidroquinona y resorcinol y posterior ciclación promovida por calor.

El mecanismo de esta ruta se muestra en el esquema 3.1. Se postula que la misma se da en dos pasos: el primero la esterificación del fenol (77) con el ácido cianoacético en su forma protonada (76), catalizada por un ácido Bronsted y el segundo la ciclación promovida por calor y un ácido Lewis.

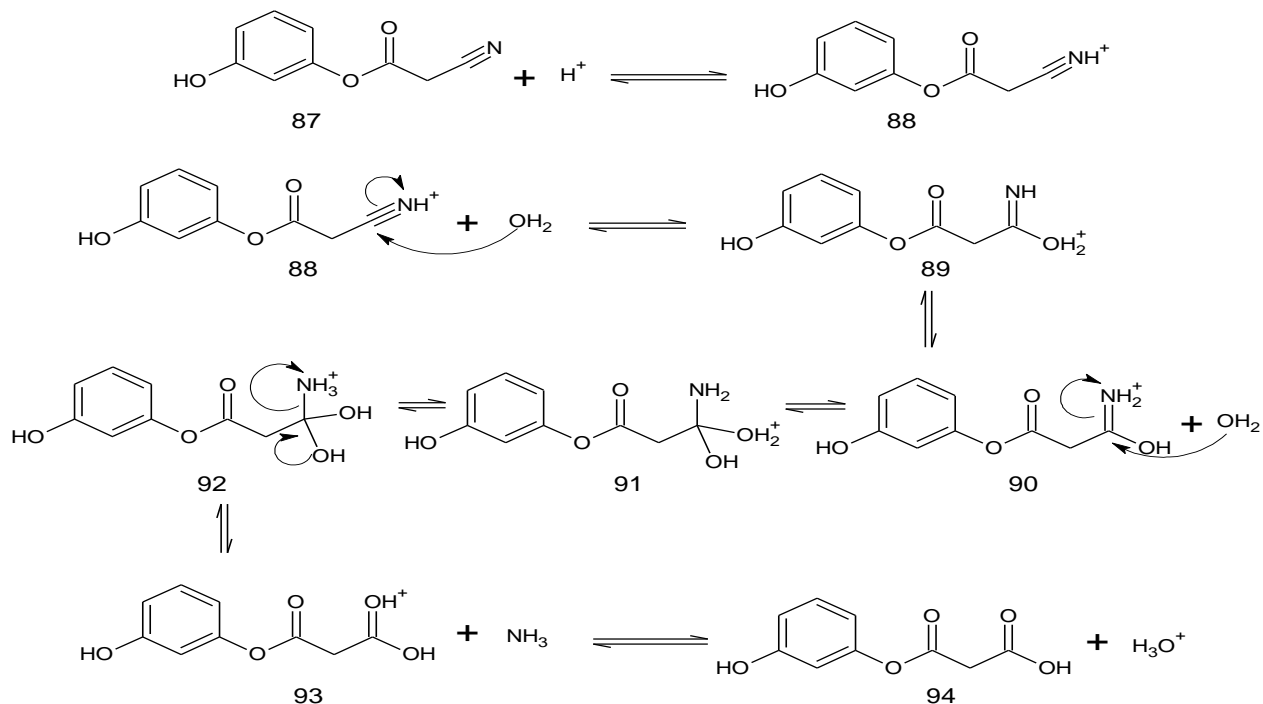


Esquema 3.1. Mecanismo propuesto para síntesis de 4-aminocumarinas.

6.2 A. *Esterificación de la hidroquinona y resorcinol con ácido cianoacético.*

La esterificación de los fenoles se realizó mediante una destilación azeotrópica con tolueno, usando una trampa de Dean – Stark, para desplazar el equilibrio, mostrado en el esquema 3.1 hacía los productos.

Se obtuvieron los productos de esterificación de la hidroquinona y el resorcinol con rendimientos de 22 % y 11 % respectivamente. Con respecto a los productos de esterificación obtenidos, se evidenció que para la reacción entre el resorcinol y ácido cianoacético, no se obtuvo el producto inicialmente deseado, el cianoacetato de 3-hidroxifenilo (87), ya que después de llevarse a cabo la esterificación el grupo ciano hidrolizó al ácido correspondiente como se observa en el esquema 3.2. Debido a que el tiempo de reacción fue mayor y con las condiciones ácidas del sistema se favoreció la hidrólisis. En el espectro de IR 2.2 no se observó la banda correspondiente a la frecuencia de vibración del triple enlace del grupo CN alrededor de 2200 cm^{-1} . Las señales observadas fueron: en $3367,2\text{ cm}^{-1}$ una señal ancha y de mediana intensidad correspondiente a la vibración del enlace O-H del fenol y del ácido que podrían estar solapadas, en $2921,4\text{ cm}^{-1}$ y 2850 cm^{-1} señales de los enlaces C-H del anillo aromático (sp^2) y C-H alifático (sp^3) del éster, en $1764,4\text{ cm}^{-1}$ la vibración del enlace C=O del ácido y en $1736,5\text{ cm}^{-1}$ la vibración del enlace C=O del éster y en $1230,4\text{ cm}^{-1}$ se observó la señal del sistema C-(C=O)-O-C.



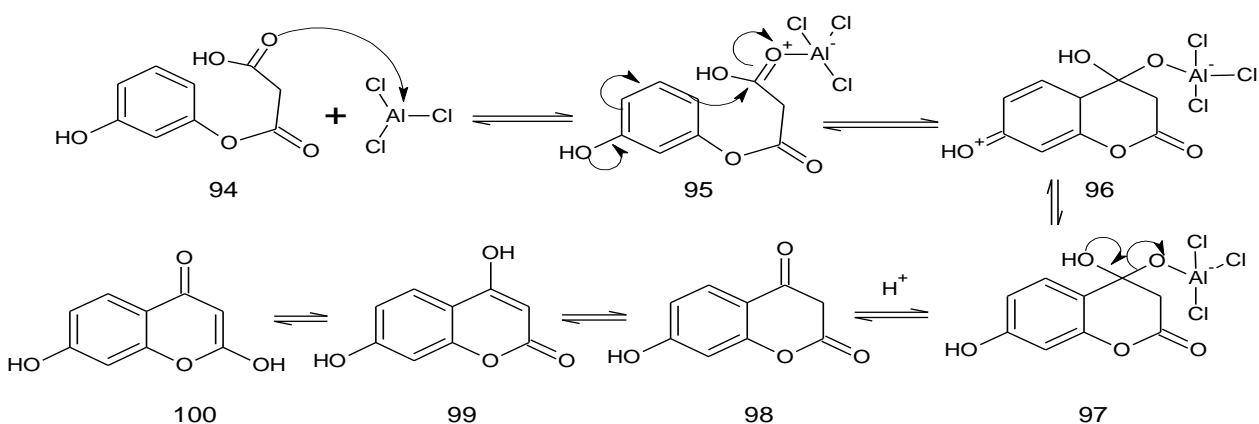
Esquema 3.2. Hidrólisis del cianoacetato de 3-hidroxifenilo.

En la reacción de esterificación entre la hidroquinona y el ácido cianoacético si se obtuvo el producto esperado, el cianoacetato de 4-hidroxifenilo y este fue identificado mediante espectroscopia de IR; en el espectro 2.3 se observó una banda ancha e intensa en $3413,0\text{ cm}^{-1}$ correspondiente a la vibración del enlace O-H y que tiene esta forma debido a las interacciones intermoleculares de tipo puente de hidrógeno que tienen los grupos hidroxilo en posición para, y que en los grupos hidroxilo en posición meta se ve menos favorecida debido a impedimento estérico de la nube π del anillo aromático, como se pudo observar en el espectro 2.2. También se observó una señal aguda y de baja intensidad en $2271,5\text{ cm}^{-1}$ perteneciente a la vibración del enlace $\text{C}\equiv\text{N}$ y en $1755,2\text{ cm}^{-1}$ y $1225,0\text{ cm}^{-1}$ las señales de $\text{C}=\text{O}$ y $\text{C}-(\text{C}=\text{O})-\text{O}-\text{C}$ características del grupo éster.

6.2 B. *Ciclación del producto de hidrólisis (94) del cianoacetato de 3-hidroxifenilo y del cianoacetato de 4-hidroxifenilo.*

Las reacciones de ciclación fueron llevadas a cabo mezclando los aceites obtenidos con nitrobenzeno y tricloruro de aluminio, durante la realización de las mismas se observó que pocos minutos después de colocar la mezcla a calentar a temperatura de reflujo, la mezcla de reacción adquirió tonalidad muy oscura. Esta tonalidad oscura permaneció durante toda la reacción y, al finalizar la misma, lo que hizo que el proceso de purificación fuera bastante engorroso ya que luego de hacer tratamientos sucesivos con carbón activado se logró aclarar la mezcla, sin embargo, se pudo haber perdido producto durante dicho tratamiento. Posteriormente, los productos fueron purificados mediante cromatografía de columna, usando gel de sílice.

De acuerdo a los productos de esterificación obtenidos, se observó que las cumarinas esperadas debían estar sustituidas con grupos amino e hidroxilo en posición 4. El mecanismo propuesto para la primera se muestra en el esquema 3.1, mientras que el correspondiente a la 4-hidroxicumarina en el esquema 3.3.



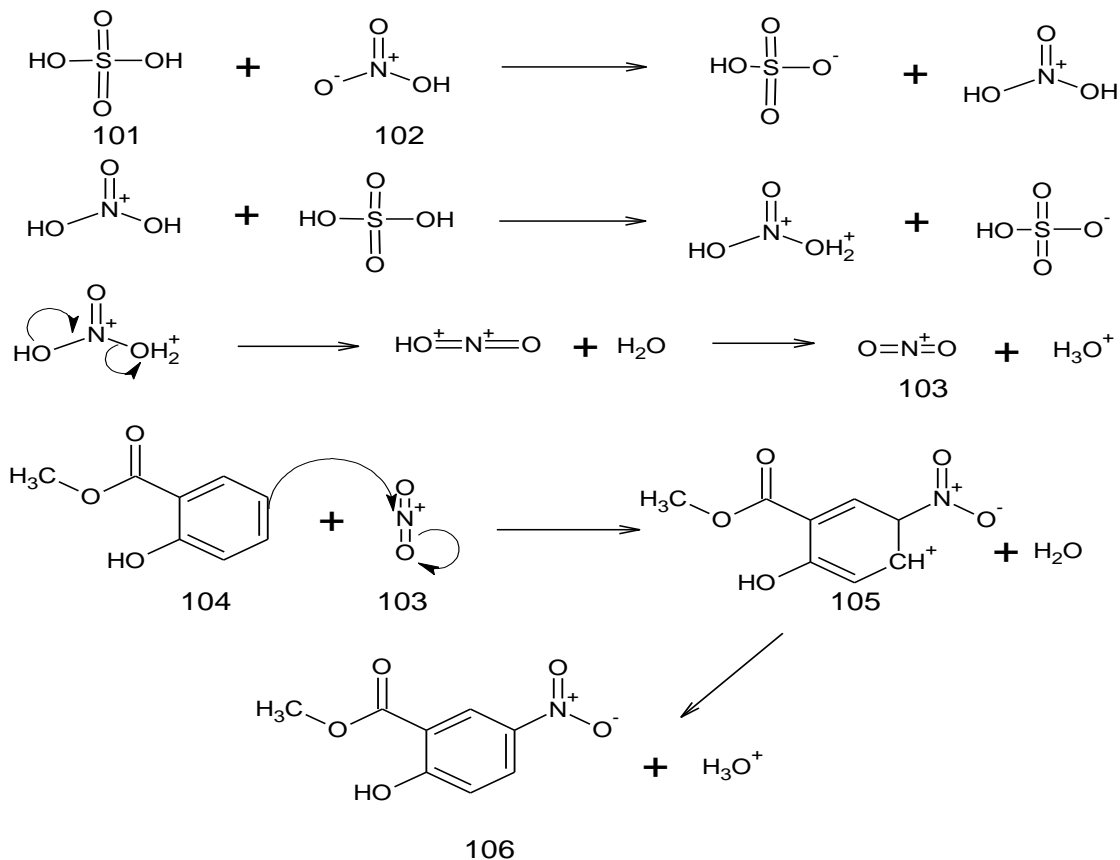
Esquema 3.3. Síntesis de la 4,7-dihidroxicumarina.

En el espectro 2.4, correspondiente al producto de ciclación de la especie (94) se observó la presencia de una señal correspondiente a un enlace C=O conjugado a $1701,6\text{ cm}^{-1}$ y la vibración del enlace olefínico a $1622,2\text{ cm}^{-1}$. Además se observó la señal perteneciente al sistema -CC(O)OC- del grupo éster a $1263,2\text{ cm}^{-1}$ y, finalmente una señal ancha y de mediana intensidad a $3275,4\text{ cm}^{-1}$ la cual fue asignada a la vibración de los enlaces O-H presentes en la molécula. Estos valores permitieron proponer que se obtuvo la 4,7-dihidroxicumarina (99).

El producto de ciclación del cianoacetato de 4-hidroxifenilo, también se identificó mediante espectroscopia de IR. Del espectro 2.5 se pudieron señalar las siguientes frecuencias de vibración características: en $3306,7\text{ cm}^{-1}$ perteneciente al enlace O-H, señal intensa y ancha, debido a la formación de puentes de hidrógeno intermoleculares, en dicha zona del espectro se esperaba encontrar dos señales de la vibración N-H del grupo amino en posición 4. Sin embargo, esta señal se encontró solapada por la del grupo hidroxilo. En $1703,0\text{ cm}^{-1}$ se observó la señal del enlace C=O, perteneciente al sistema conjugado con la olefina, cuya frecuencia de vibración del enlace C=C se encontró en $1618,2\text{ cm}^{-1}$. En $1203,8$ se observó la otra señal característica del éster, perteneciente al sistema C-(C=O)-O-C, finalmente en $816,1\text{ cm}^{-1}$ y $780,4\text{ cm}^{-1}$ se observaron las señales de vibración del modo de tijereteo (scissoring) del enlace N-H, se observaron dos señales debido a la presencia de la una amina primaria. Con dicha información se propuso como estructura la 4-amino-6-hidroxicumarina.

6.3. Ruta 3. Esterificación/transesterificación del ácido cianoacético/cianoacetato de metilo con 5-nitrosalicilato de metilo y posterior ciclación por ataque de grupo metileno al carbono carbonílico, usando NaH.

6.3 A. Nitración del salicilato de metilo.



Esquema 3.4. Nitración del salicilato de metilo.

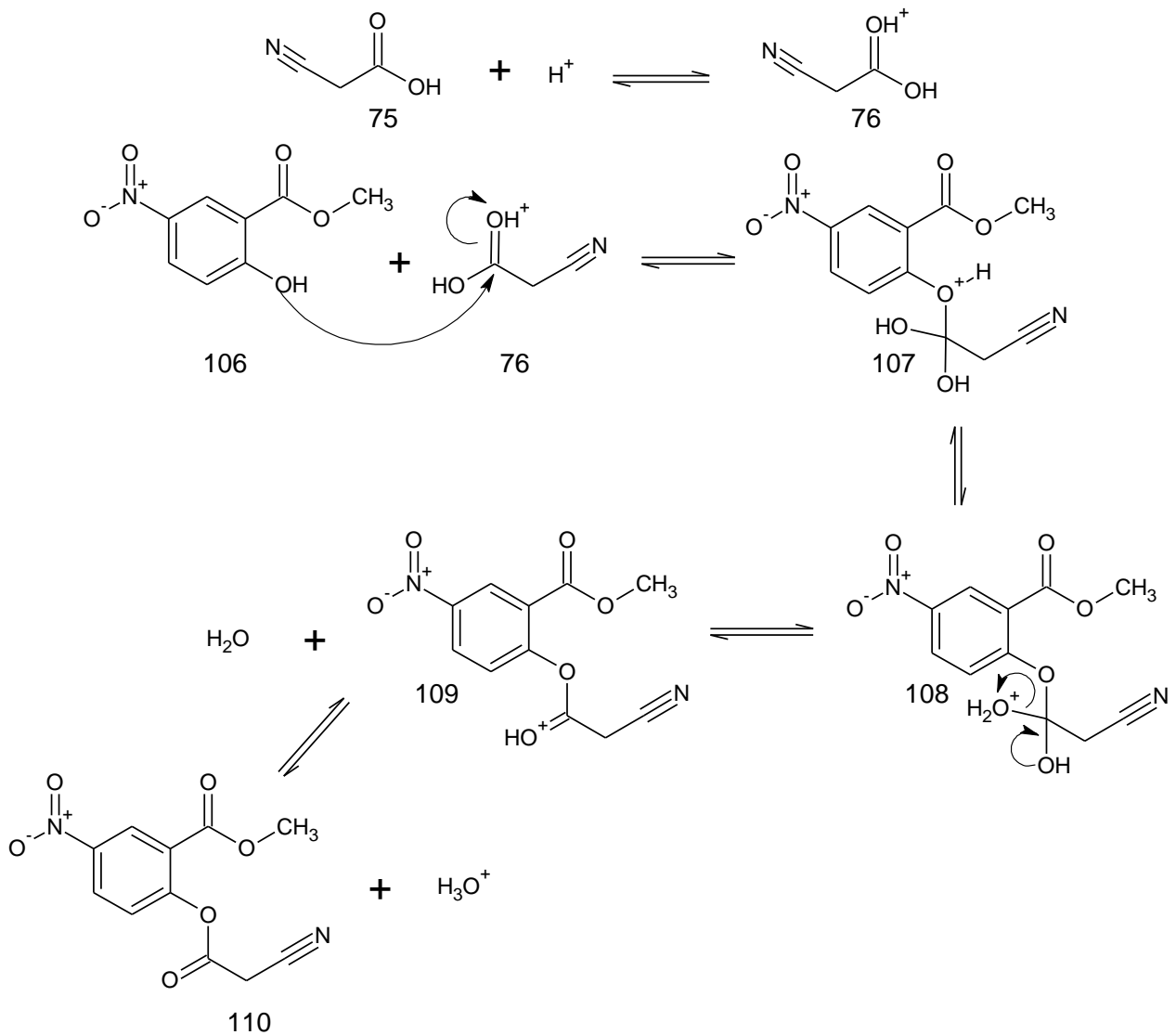
La nitración del salicilato de metilo (104) se realizó mediante una mezcla nitrante, usando ácido sulfúrico (101) y nítrico (102), debido a que el salicilato de metilo (104) se encontraba desactivado para la (SEA) por la presencia de un grupo carbonilo enlazado al anillo aromático. Por otro lado también se usó ácido sulfúrico para miscibilizar el salicilato de metilo con el agua y así favorecer el ataque del anillo aromático al ion nitronio (103), presente en disolución acuosa. La mezcla nitrante y la

reacción de nitración se realizaron a 0 °C, debido a que estos procedimientos eran altamente exotérmicos.

Se obtuvo como producto mayoritario el 5-nitrosalicilato de metilo (106), que fue identificado comparando el punto de fusión medido ($110 - 114 \pm 2$) °C con el reportado de (114 – 117) °C. También mediante espectroscopia de IR, donde en el espectro 2.6 se observó una señal ancha y de poca intensidad correspondiente a la vibración del enlace O-H en $3096,2 \text{ cm}^{-1}$, dicha señal era poco intensa debido a la formación de un puente intramolecular; las señales del grupo éster se observaron en $1679,8 \text{ cm}^{-1}$ para el enlace C=O y $1203,3 \text{ cm}^{-1}$ para el sistema C-(C=O)-O-C. La nitración del salicilato de metilo se evidenció por la presencia de tres señales en $1521,2 \text{ cm}^{-1}$, $1357,2 \text{ cm}^{-1}$ y $1337,1 \text{ cm}^{-1}$ correspondientes a la vibración de estiramiento (stretching) del grupo nitro (-NO₂) en su forma asimétrica y simétrica respectivamente. Para la vibración simétrica en compuestos nitrados aromáticos es común observar 2 señales²⁵.

6.3 B. Esterificación del 5-nitrosalicilato de metilo con ácido cianoacético.

La esterificación del 5-nitrosalicilato de metilo (106) con ácido cianoacético (74) se realizó usando catálisis ácida como se muestra en el esquema 3.5. Debido a la presencia de dos grupos atractores de electrones la reacción fue realizada a temperatura de reflujo usando dimetilsulfoxido (DMSO) como solvente (PE = 189 ° C), durante 7 horas, en las cuales se observó por un análisis por TLC la aparición de un punto con R_f de 0,40, menor al del material de partida de 0,85. Este valor de R_f se justificó debido a que el diéster (110) era más polar que el 5-nitrosalicilato de metilo (106) y por tanto queda más retenido en el gel sílice. El compuesto 106 a pesar de que tenía un grupo hidroxilo, interaccionó de forma menos eficaz con el gel de sílice, ya que el mismo tenía una fuerte interacción intramolecular de tipo puente de hidrógeno con el grupo carbonilo en posición orto.

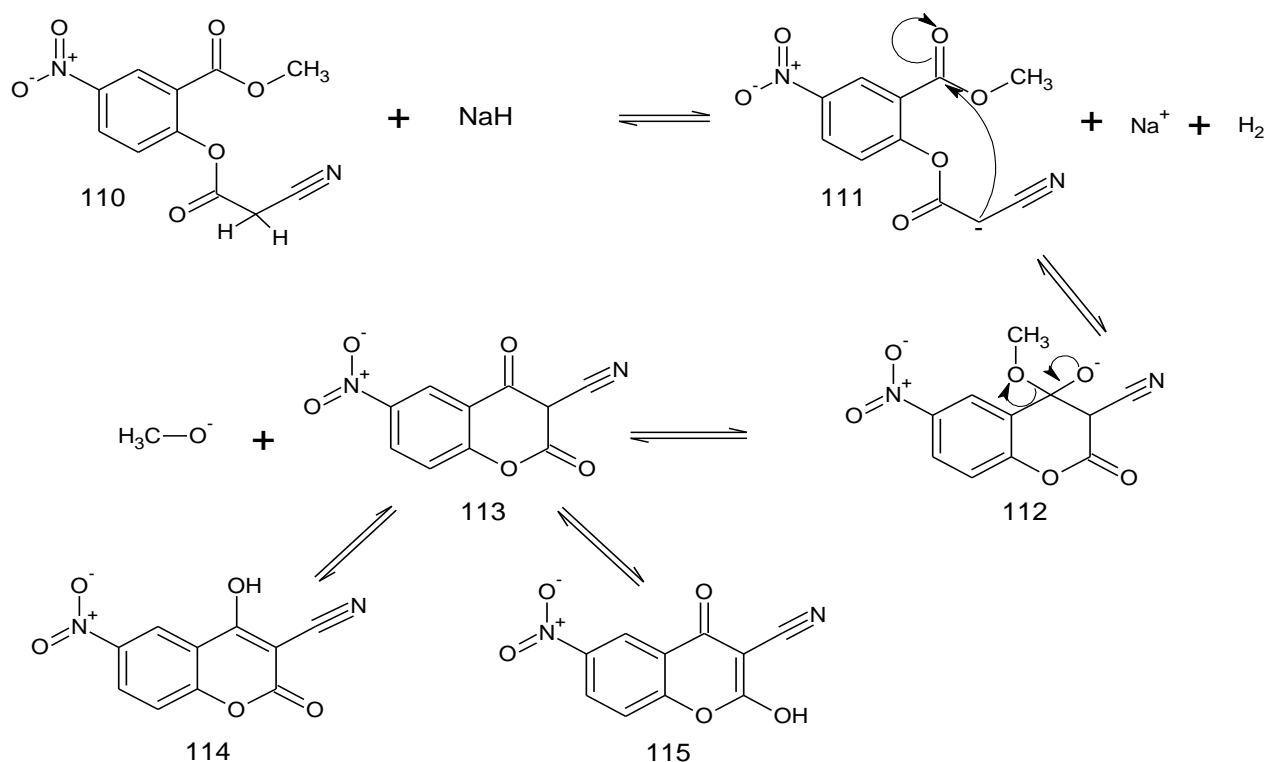


Esquema 3.5. Esterificación de 5-nitrosalicilato de metilo con ácido cianoacético.

El diéster (110) no fue aislado debido a que para el planteamiento de su separación era necesario eliminar el DMSO de la mezcla de reacción, proceso altamente engorroso debido al alto punto de ebullición del mismo. Además este solvente sería usado para el paso siguiente, así la reacción de esterificación se realizó hasta casi no observar material de partida para luego proceder al realizar la ciclación.

6.3 C. Ciclación del diéster (110) usando NaH.

Una vez obtenido el diéster 110 se procedió a realizar la ciclación, como se observa en el esquema 3.6. Para este paso, el efecto de los sustituyentes en el anillo aromático contrastaba con el observado en la esterificación, ya que la presencia de grupos atractores de carga, como el nitro, favorecían la reacción de ciclación, debido a que, por efectos inductivos y de resonancia hacían más electrofílico al carbono carbonílico y por tanto más sensible al ataque nucleofílico. Así la reacción se realizó con un exceso de NaH, debido a la posible hidrólisis del reactivo con trazas de agua presentes en el DMSO y con fuerte agitación y calentamiento ligero entre 50 – 60 °C, en dichas condiciones se observó el desprendimiento de pequeñas burbujas de hidrógeno indicativas de la reacción ácido-base entre el hidruro y el protón ácido presente en la estructura 110.



Esquema 3.6. Ciclación del diéster (110) usando NaH.

El producto de la reacción de ciclación fue separado y analizado por espectroscopia de IR (espectro 2.7) donde no se observó la señal característica a la frecuencia de vibración del triple enlace del CN aproximadamente a 2200 cm^{-1} . Las señales observadas fueron: a $3432,5\text{ cm}^{-1}$ una banda ancha y de mediana intensidad característica de la vibración de un enlace tipo O-H, a $1652,5\text{ cm}^{-1}$ una señal de baja frecuencia que podría ser asignada a la vibración de un enlace C=O conjugado con un enlace olefínico cuya señal se observó a $1599,2\text{ cm}^{-1}$; en $1530,3\text{ cm}^{-1}$ y $1343,7\text{ cm}^{-1}$ se observaron las señales de vibración asimétrica y simétrica características del grupo NO_2 y finalmente en $1146,4\text{ cm}^{-1}$ una señal que fue asignada para el sistema CC(O)OC presente en ésteres. Con estos datos se propuso que en la estructura (110) durante la reacción de esterificación se produjo la hidrólisis y descarboxilación del grupo ciano debido a la condición ácida y la temperatura de reflujo elevada. Obteniendo así en el paso de la ciclación la 4-hidroxi-6-nitroumarina.

Para confirmar que se había obtenido la 6-nitro-4-hidroxiumarina se tomó un espectro de ^{13}C RMN (espectro 2.8) y un DEPT (espectro 2.9). El espectro 2.8 muestra un número de señales mayor al esperado lo que indica que el compuesto no se encontraba puro. Sin embargo, se intentó asignar las señales del posible compuesto. Para llevar esto a cabo, se realizó una simulación del espectro de RMN del compuesto en cuestión utilizando para ello el modelado molecular. La optimización se llevó a cabo usando B3LYP 6-311 (d,p). Los datos obtenidos se compararon con los observados en el espectro. La presencia de carbonos cuaternarios y primarios fue determinada por el DEPT.

Las señales, todas cuaternarias, en $173,86\text{ ppm}$; $169,50\text{ ppm}$; $169,33\text{ ppm}$; $161,34$ y $123,09\text{ ppm}$ pueden ser asignadas a los carbonos C-2, C-4, C-6, C-9 y C-10, respectivamente. Se podría considerar que las señales de C-4 y C-6 son intercambiables. El resto de las asignaciones se muestra en la tabla 2.0.

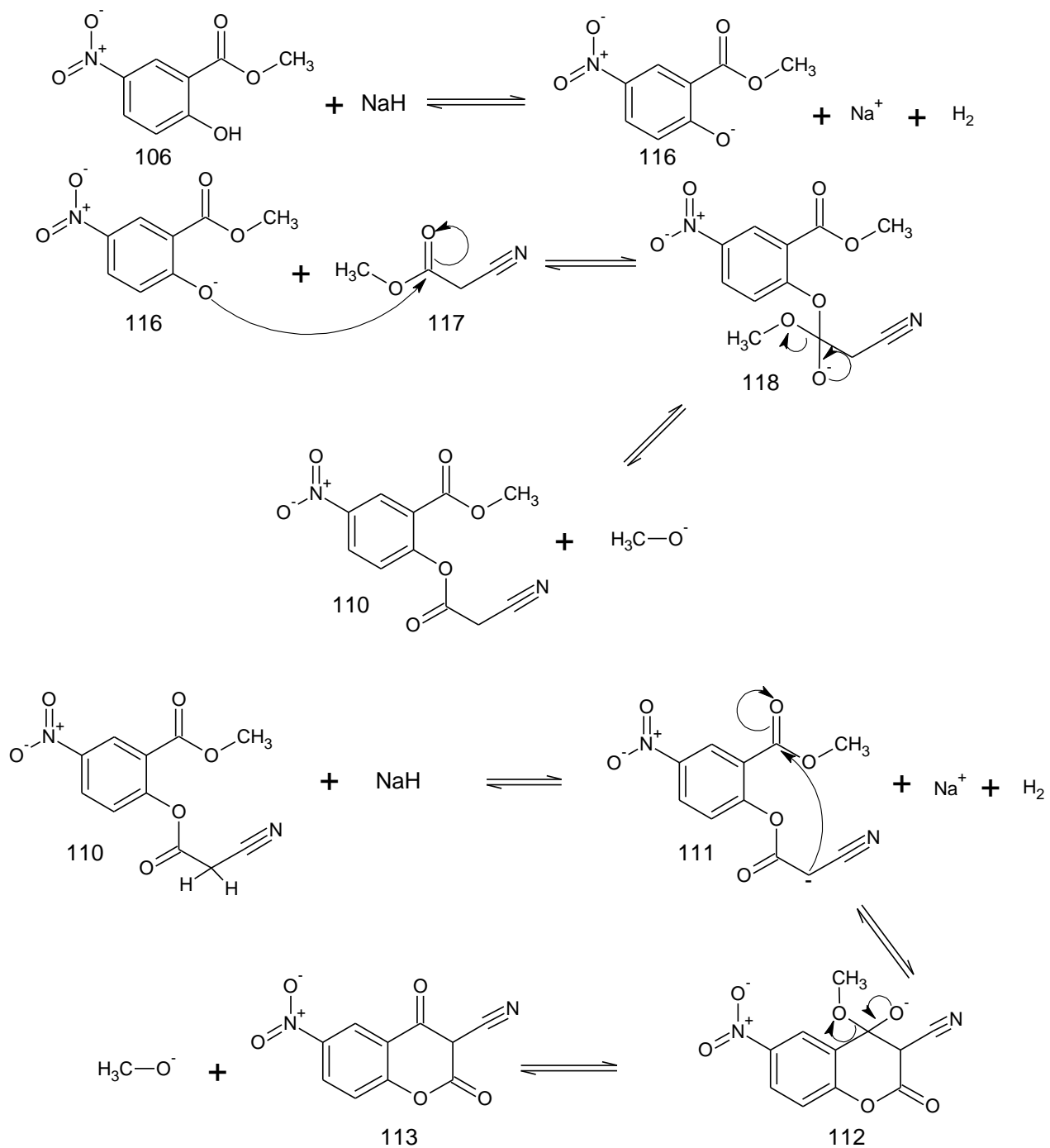
Tabla 2.0. Desplazamientos químicos experimentales y teóricos, simulados usando B3LYP 6-311 (d,p) de la 4-hidroxi-6-nitrocumarina en DMSO-d₆.

Carbono.	Valor teórico B3LYP 6-311 (d,p)	Valor experimental. (ppm)	DEPT
C-3	104,15	111,93	CH
C-5	127,84	126,96	CH
C-7	129,18	128,85	CH
C-8	122,75	125,53	CH

6.3. D. Transesterificación del 5-nitrosalicilato de metilo con cianoacetato de metilo, usando NaH.

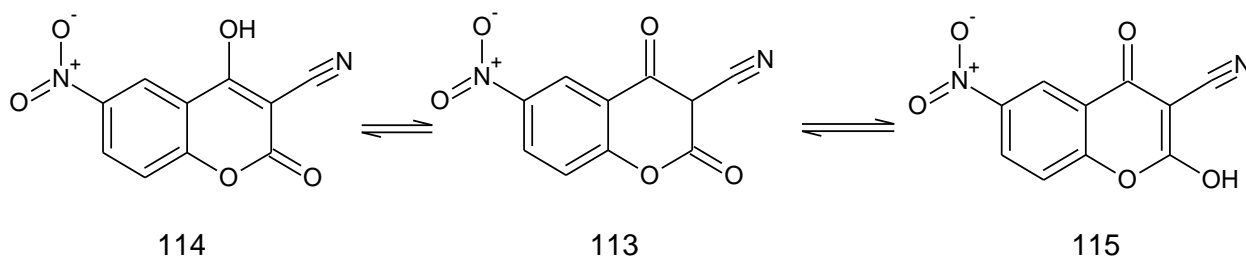
Tomando en cuenta la poca reactividad del 5-nitrosalicilato de metilo (106) hacía la reacción de esterificación, se decidió realizar la síntesis mediante una transesterificación catalizada por base, como se muestra en el esquema 3.7 para que mediante un calentamiento prologando se lograra obtener el producto en un solo paso experimental.

La reacción de transesterificación se realizó formando el fenóxido primero, con un exceso de NaH. En el segundo paso de reacción el hidruro tomaba un protón ácido de la estructura 110 para ciclar y formar a 113. Así se procedió a agregar gota a gota el cianoacetato de metilo (117) disuelto en DMSO a través de un embudo de adición, al fenóxido formado (116), con agitación constante, para que se diera la transesterificación y luego la ciclación debido al exceso de base presente y así disminuir la reversibilidad de la reacción en la formación del intermediario propuesto 118 ya que el ion metóxido era un mejor nucleófilo que el fenóxido (116). Luego, mediante el calentamiento prolongado a temperatura de reflujo se promovió la formación de más producto.



Esquema 3.7. Transesterificación del 5-nitrosalicilato de metilo con cianoacetato de metilo y ciclación del producto.

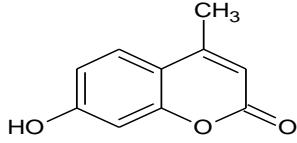
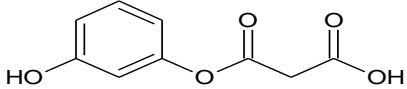
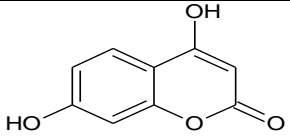
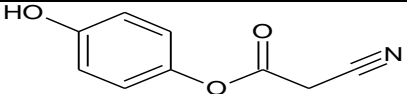
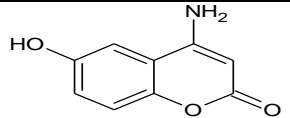
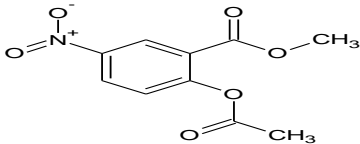
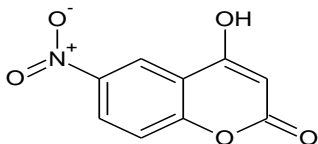
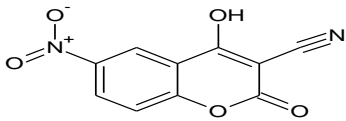
Es importante destacar que la estructura 113 presenta equilibrios tautoméricos (Esquema 3.8), hacía la formación de la 3-ciano-4-hidroxi-6-nitrocumarina (114) y la 3-ciano-2-hidroxi-6-nitrocromona (115) y que se determinó mediante el análisis espectroscópico del sólido obtenido, la estructura mayoritaria y por lo tanto más estable.



Esquema 3.8. Equilibrios tautoméricos de la 3-ciano-4-hidroxi-6-nitrocumarina.

En el espectro de IR (espectro 3.0) se observaron las siguientes señales: en $3346,2\text{ cm}^{-1}$ una pequeña señal ancha asignada a la frecuencia de vibración de un enlace O-H con interacciones tipo puente de hidrógeno intramoleculares, a $2495,2\text{ cm}^{-1}$ una pequeña señal que fue asignada a la vibración del triple enlace del CN asociado intramolecularmente por puentes de hidrógeno, en $1667,5\text{ cm}^{-1}$ una señal asignada a la vibración de un enlace C=O conjugado con un enlace olefínico cuya señal se observó a $1611,6\text{ cm}^{-1}$; en $1527,2\text{ cm}^{-1}$; $1350,5\text{ cm}^{-1}$ y $1309,0\text{ cm}^{-1}$ se observaron las señales de vibración asimétricas y simétricas características de un anillo bencénico nitrado, por último en $1280,4\text{ cm}^{-1}$ se observó la señal del sistema CC(O)OC del grupo éster. Estos datos permitieron proponer que el producto obtenido fue la 3-ciano-4-hidroxi-6-nitrocumarina (114).

A continuación en la tabla 2.1 se muestran cada una de las cumarinas obtenidas mediante las diferentes rutas sintéticas planteadas y se analizan los resultados obtenidos a partir de las condiciones usadas.

Tabla 2.1. Cumarinas obtenidas y condiciones de reacción.			
Fenol	Intermediario – condiciones	Cumarina	% R
Resorcinol	-----	 Acetonitrilo, 24 h reflujo y 10 % H ₂ C ₂ O ₄	25
Resorcinol	 Tolueno, 7 h de reflujo y 17 % H ₂ C ₂ O ₄ R = 11 %	 Nitrobenceno, 3 h reflujo, 2 eq AlCl ₃	1
Hidroquinona	 Tolueno, 5 h de reflujo y 17 % H ₂ C ₂ O ₄ R = 22 %	 Nitrobenceno, 3 h reflujo, 2 eq AlCl ₃	4
5-nitrosalicilato de metilo	 DMSO, 7 h de reflujo y 35 % H ₂ C ₂ O ₄	 DMSO, 6 h (50 – 60) °C y NaH	76
5-nitrosalicilato de metilo	-----	 DMSO, 28 h de reflujo y NaH	15

La tabla 2.0. Muestra como pequeños cambios en la reacciones de esterificación con ácido cianoacético llevaron a obtener intermediarios totalmente distintos. Se observó que cuando la reacción se realizó en tolueno el aumento de dos horas en el tiempo de reacción generó la hidrólisis del grupo ciano. Por otro lado se observó que con el aumento de la temperatura reflujo en unos 78 ° C aproximadamente usando DMSO y el mismo tiempo de reacción generó la hidrólisis y descarboxilación del éster para generar la 4-hidroxicumarina correspondiente. Con respecto a los rendimientos obtenidos para las 4-hidroxicumarinas se tiene que el mejor correspondió a la reacción de esterificación en DMSO y catálisis ácida con posterior ciclación usando NaH, lo que permite proponer esta ruta para su síntesis usando derivados de salicilatos con diferentes patrones de sustitución.

CAPÍTULO 7

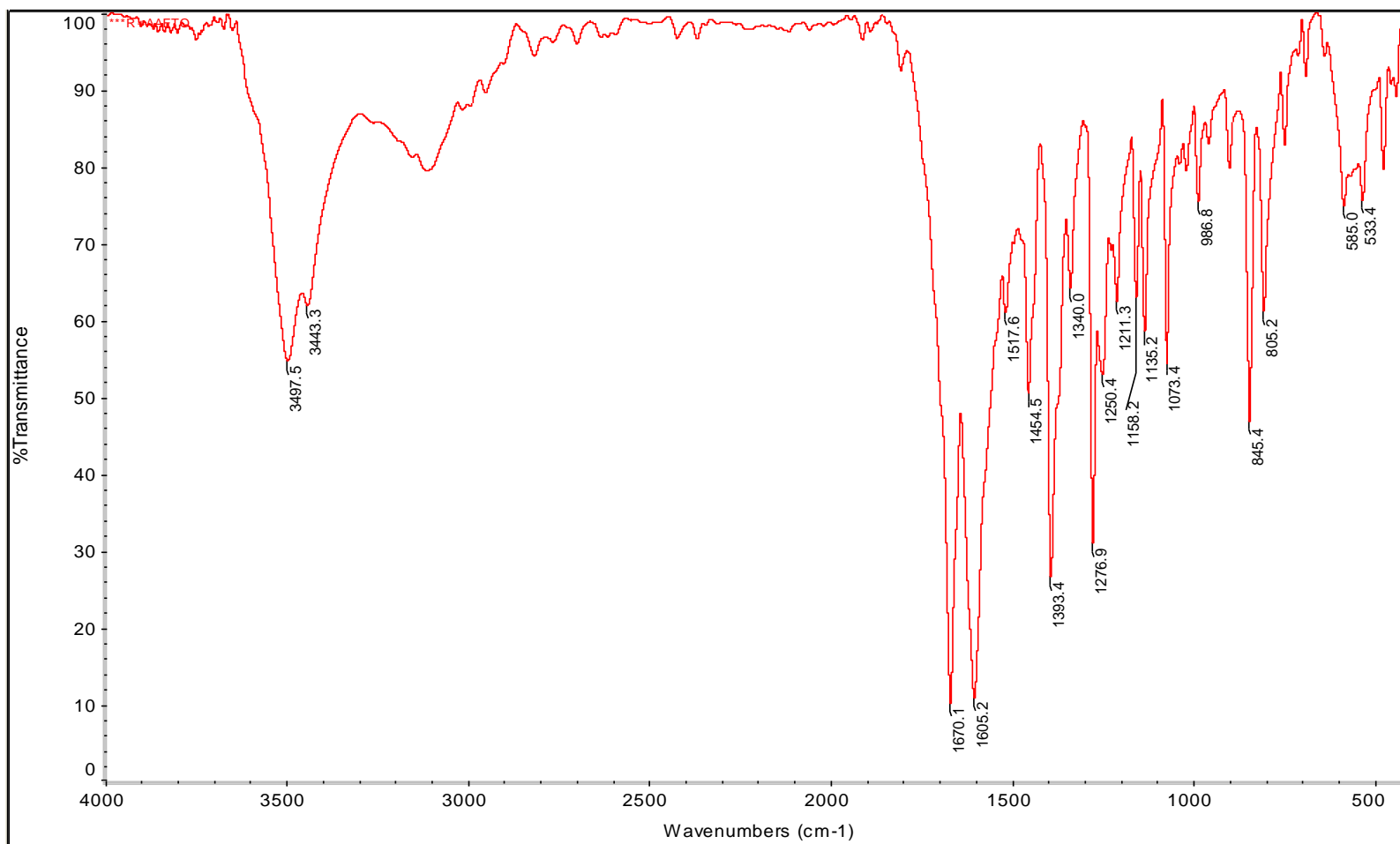
7.0 CONCLUSIONES.

- Se sintetizó la 7-hidroxi-4-metilcumarina con un rendimiento de 25 %.
- La obtención de la 4,7-dihidroxicumarina, 4-amino-6-hidroxicumarina, 4-hidroxi-6-nitrocumarina y la 3-ciano-4-hidroxi-6-nitrocumarina se propuso a partir de sus espectros de IR.
- La presencia de grupos dadores de densidad electrónica en posición para, favorecen la esterificación / transesterificación de fenoles con ácido cianoacético y acetoacetato de etilo.
- La ciclación del éster formado entre fenoles y ácido cianoacético o acetoacetato de etilo se favorece con fenoles sustituidos en posición meta con grupos dadores de densidad electrónica.
- El acetoacetato de etilo, ácido cianoacético y sus derivados provenientes de ésteres fenólicos son sensibles a hidrólisis y hasta descarboxilación con calentamiento de moderado a fuerte.
- La 7-hidroxi-4-metil-8-nitrocumarina no pudo ser sintetizada debido a la poca reactividad del 2-nitroresorcinol hacía la transesterificación.
- Mediante el uso ácido cianoacético se pueden obtener 4-hidroxicumarinas y 4-aminocumarinas.
- La lenta adición de una disolución acuosa al 50 % de anhídrido acético al 4-aminofenol, consiste en un procedimiento sencillo para la protección del grupo amino.
- El sistema conjugado olefina-carbonilo de las cumarinas es clave para la elucidación de las mismas mediante espectroscopia de IR y ^{13}C RMN.

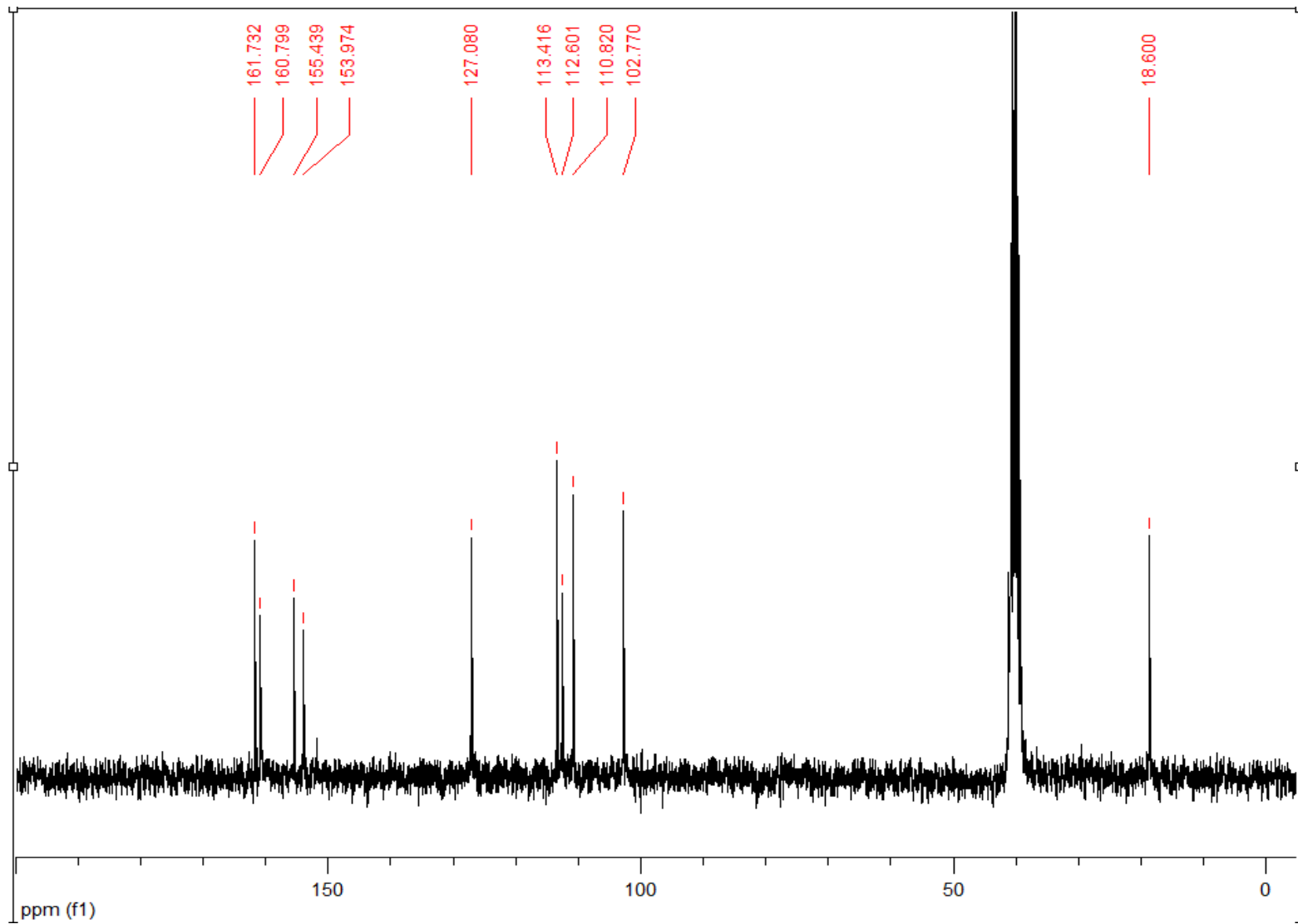
8.0 RECOMENDACIONES.

- Sintetizar cumarinas sustituidas en fase sólida, mediante el uso de la resina de Wang, malonato de etilo y derivados de salisaldehído, salicilatos y o-hidroxiacetofenona.
- Sintetizar aminocumarinas en fase sólida, mediante el uso de la resina de Merrifield, aminofenoles y acetoacetato de etilo o ácido cianoacético.
- Sintetizar cumarinas sustituidas mediante catálisis heterogénea, usando sólidos meso-porosos de tipo SBA-15, con ácidos Bronsted o metales de transición acoplados.
- Optimizar la reacción de obtención de la diamida del ácido oxálico del 4-aminofenol, para usarla en protección de anilinas.
- Optimizar la reacción de ciclación promovida por calor de ésteres tipo cianoacetato de fenilo.
- Realizar esterificaciones de fenoles con ácido cianoacético usando agentes acoplantes, como sistemas DCC/DMAP y $\text{PPh}_3/\text{CCl}_4$.
- Acoplar la 7-hidroxi-4-metilcumarina a aminoácidos y péptidos.
- Determinar la citotoxicidad de las cumarinas obtenidas.

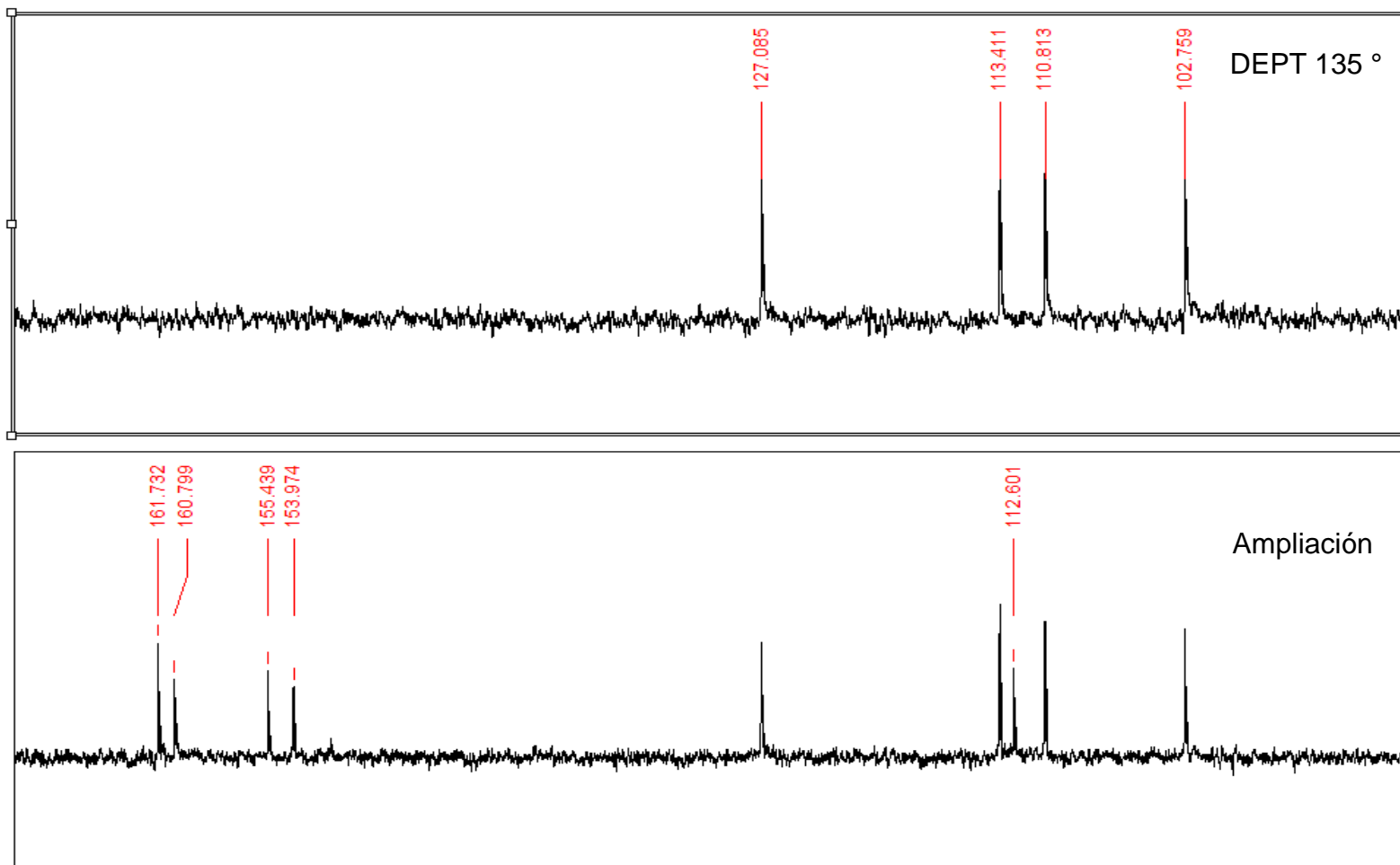
8.0 ESPECTROS.



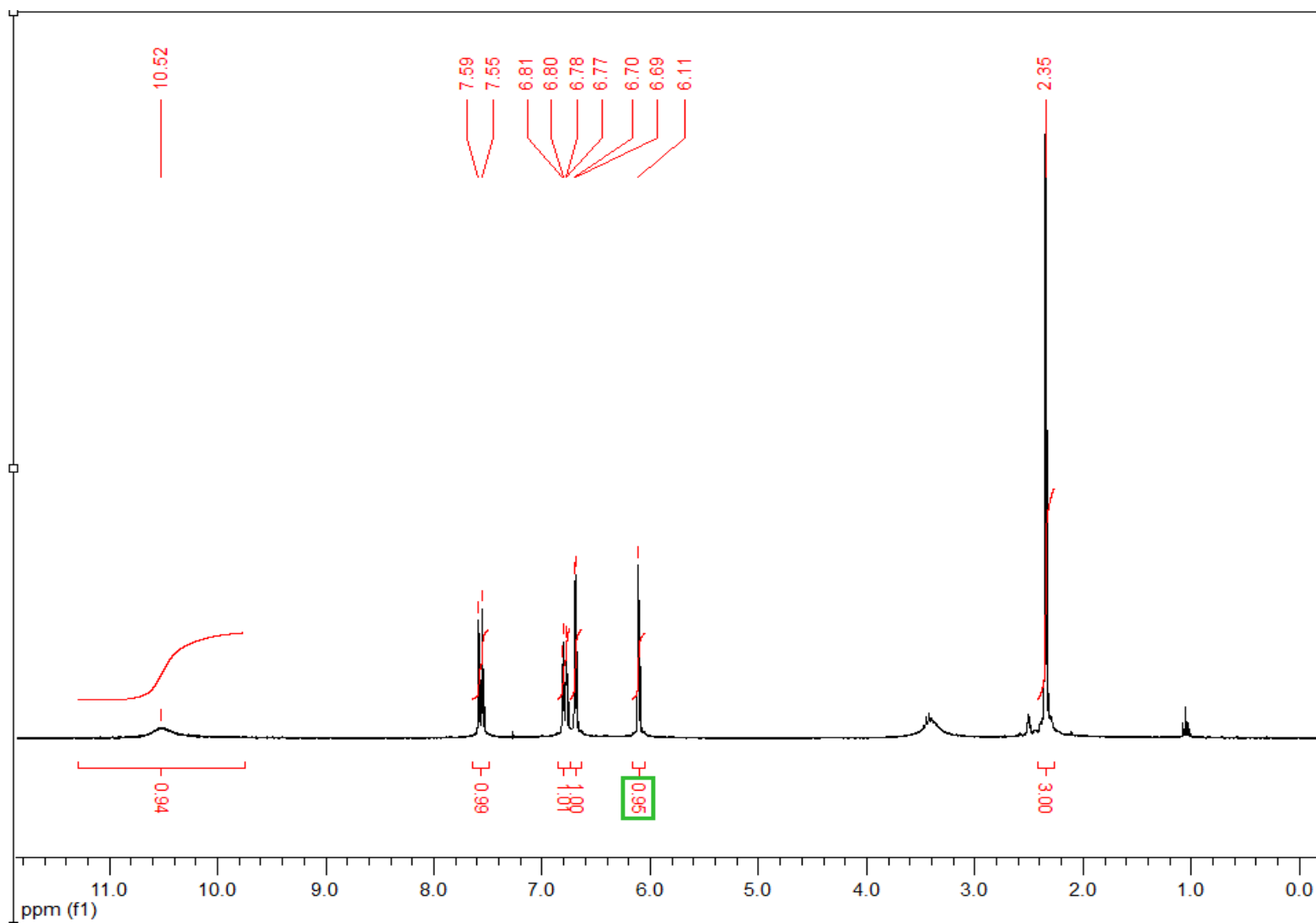
Espectro 1.0. IR de la 7-hidroxi-4-metilcumarina.



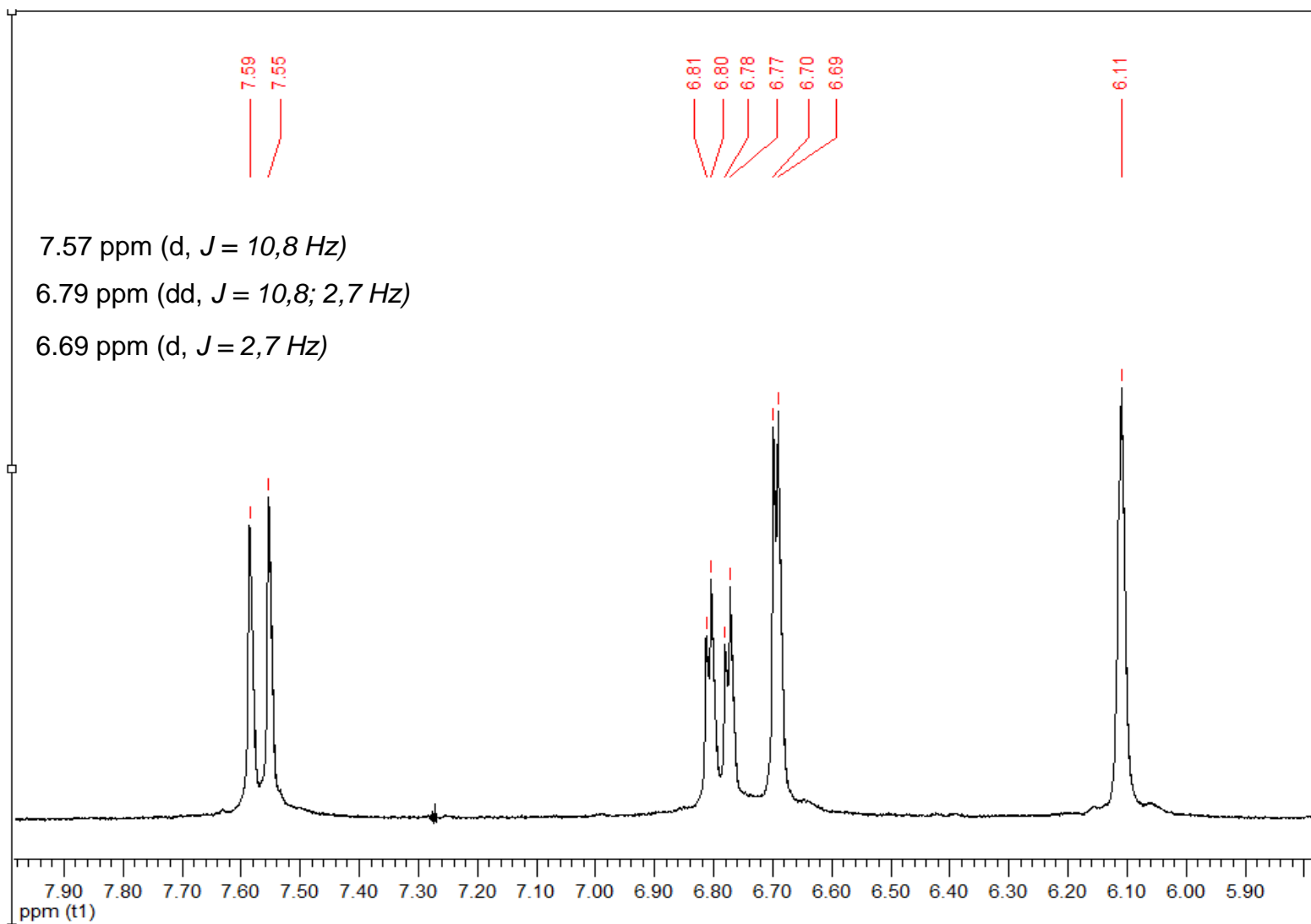
Espectro 1.1. ^{13}C RMN de la 7-hidroxi-4-metilcumarina (DMSO-d_6).



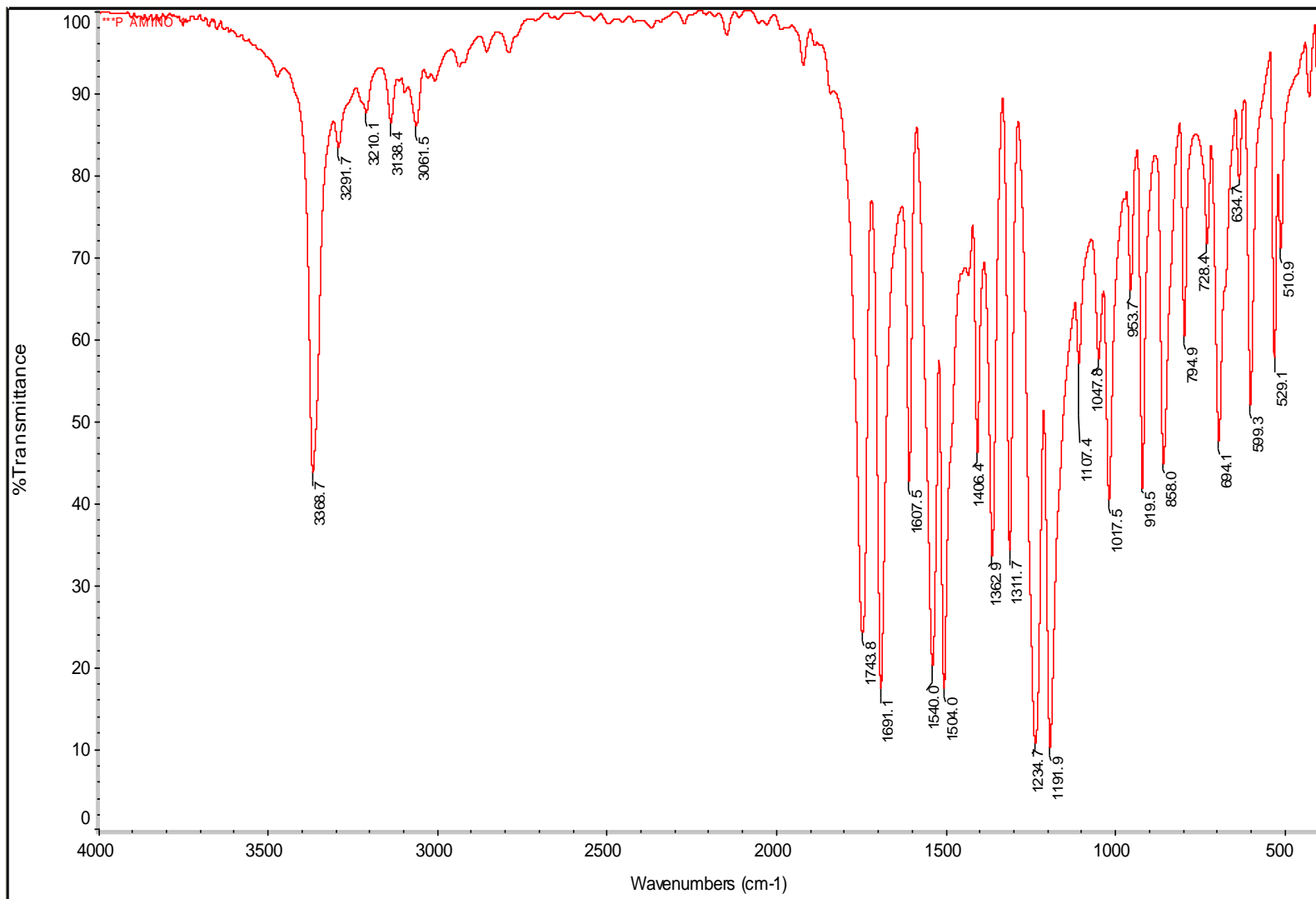
Espectro 1.2. DEPT 135° de la 7-hidroxi-4-metilcumarina comparado con ampliación (DMSO- d_6).



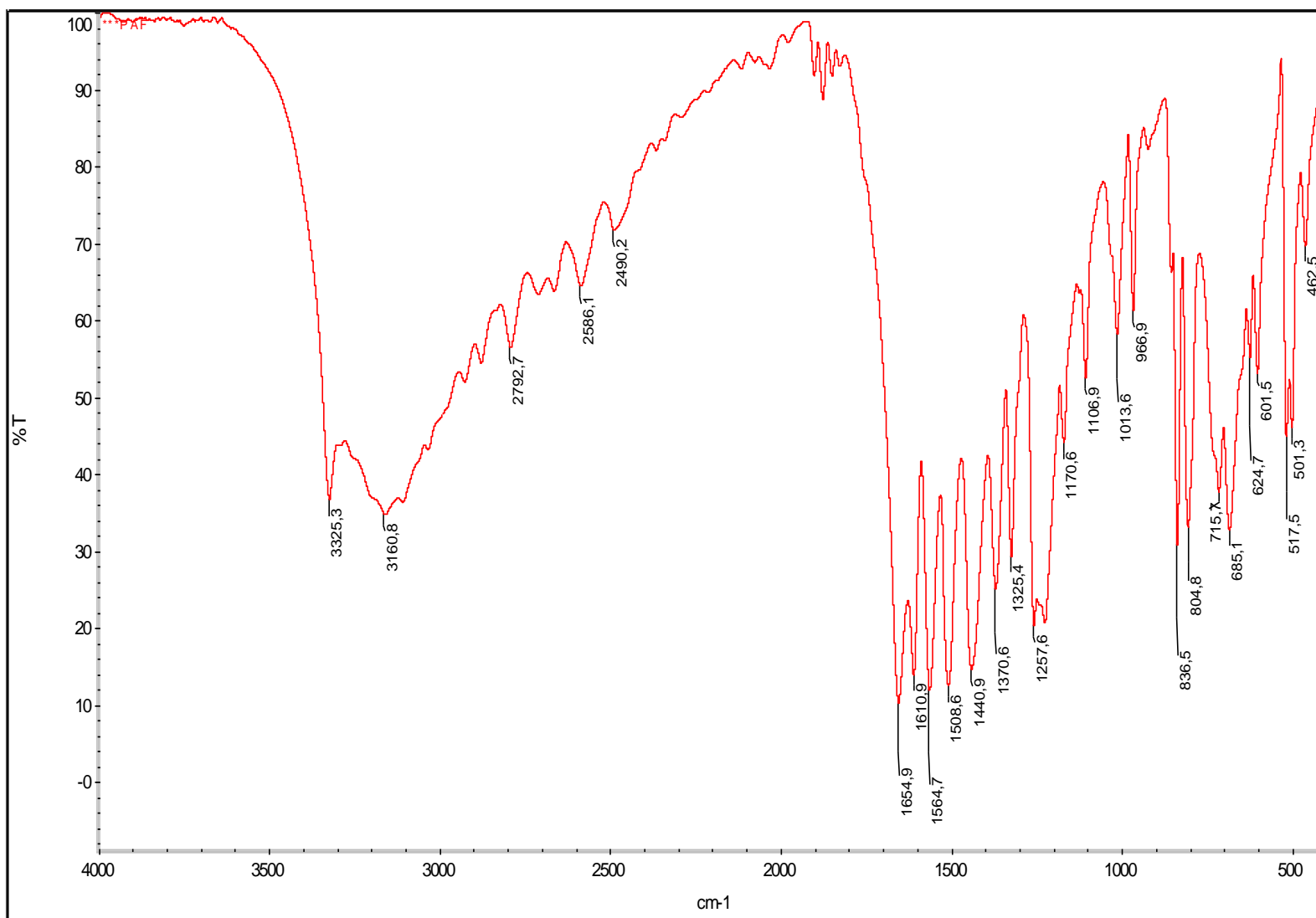
Espectro 1.3. ^1H RMN de la 7-hidroxi-4-metilcumarina (DMSO-d_6).



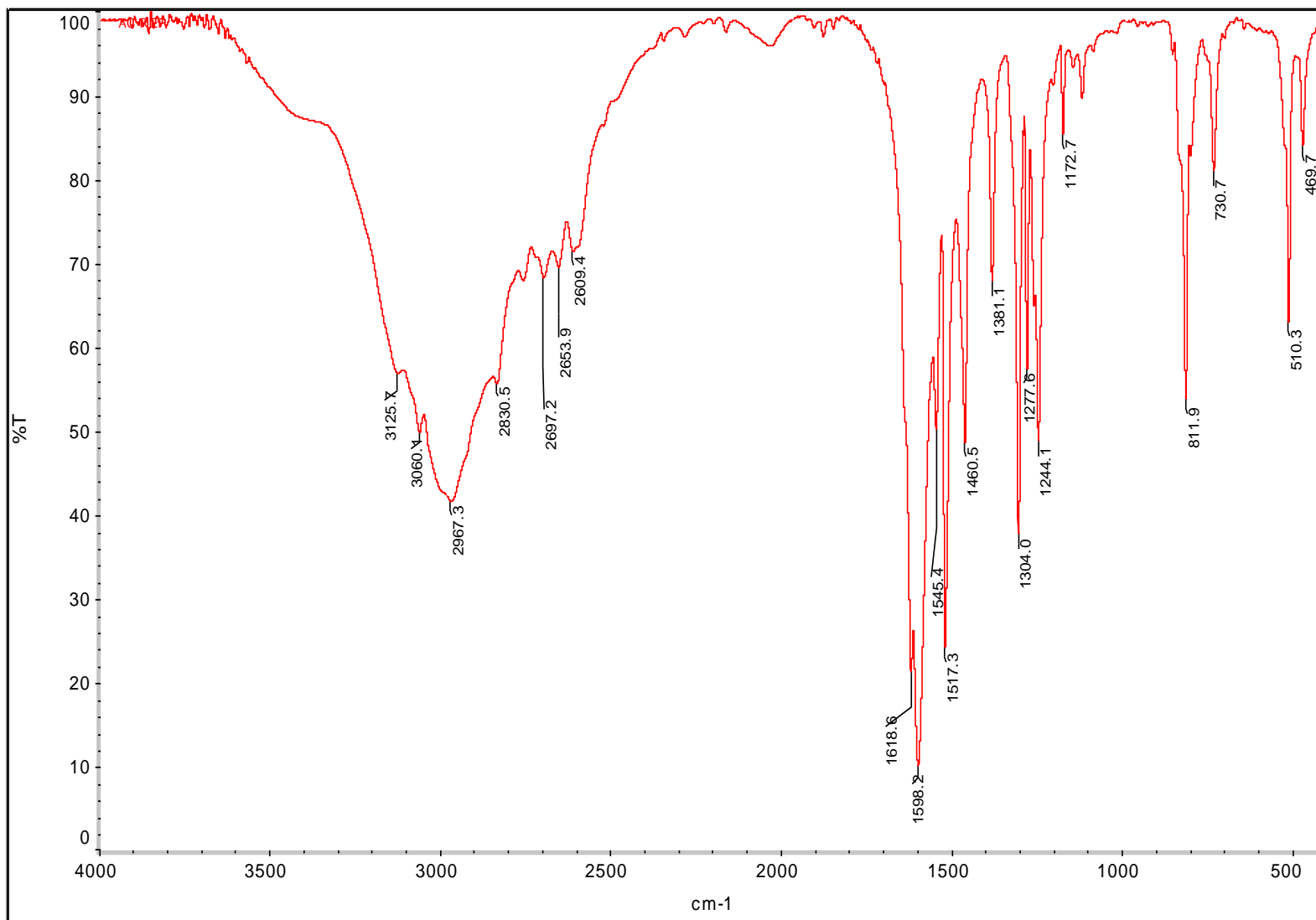
Espectro 1.4. Acoplamientos y sus constantes de la 7-hidroxi-4-metilcumarina (DMSO-d₆).



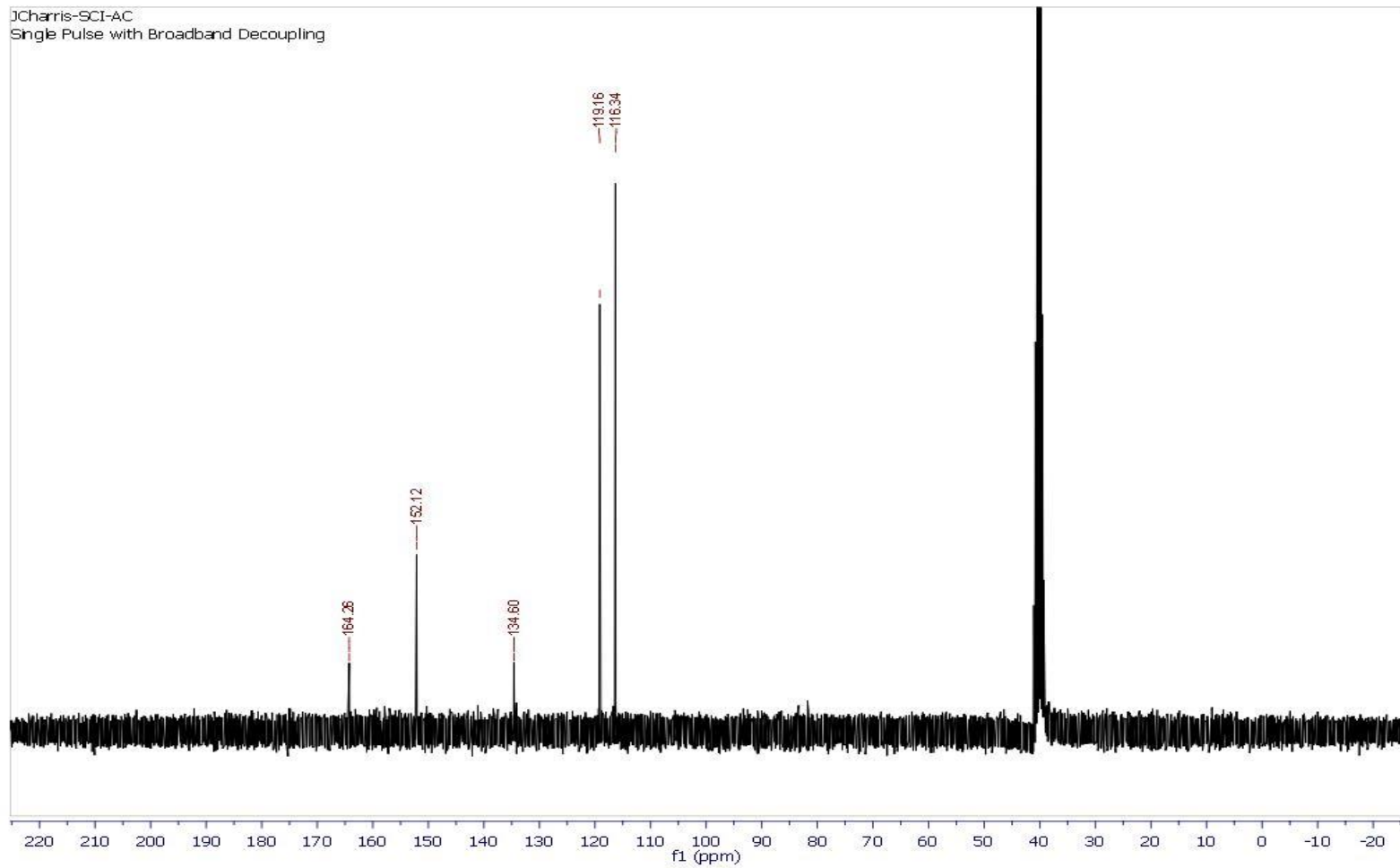
Espectro 1.5. IR del acetato de 4-acetamidofenilo.



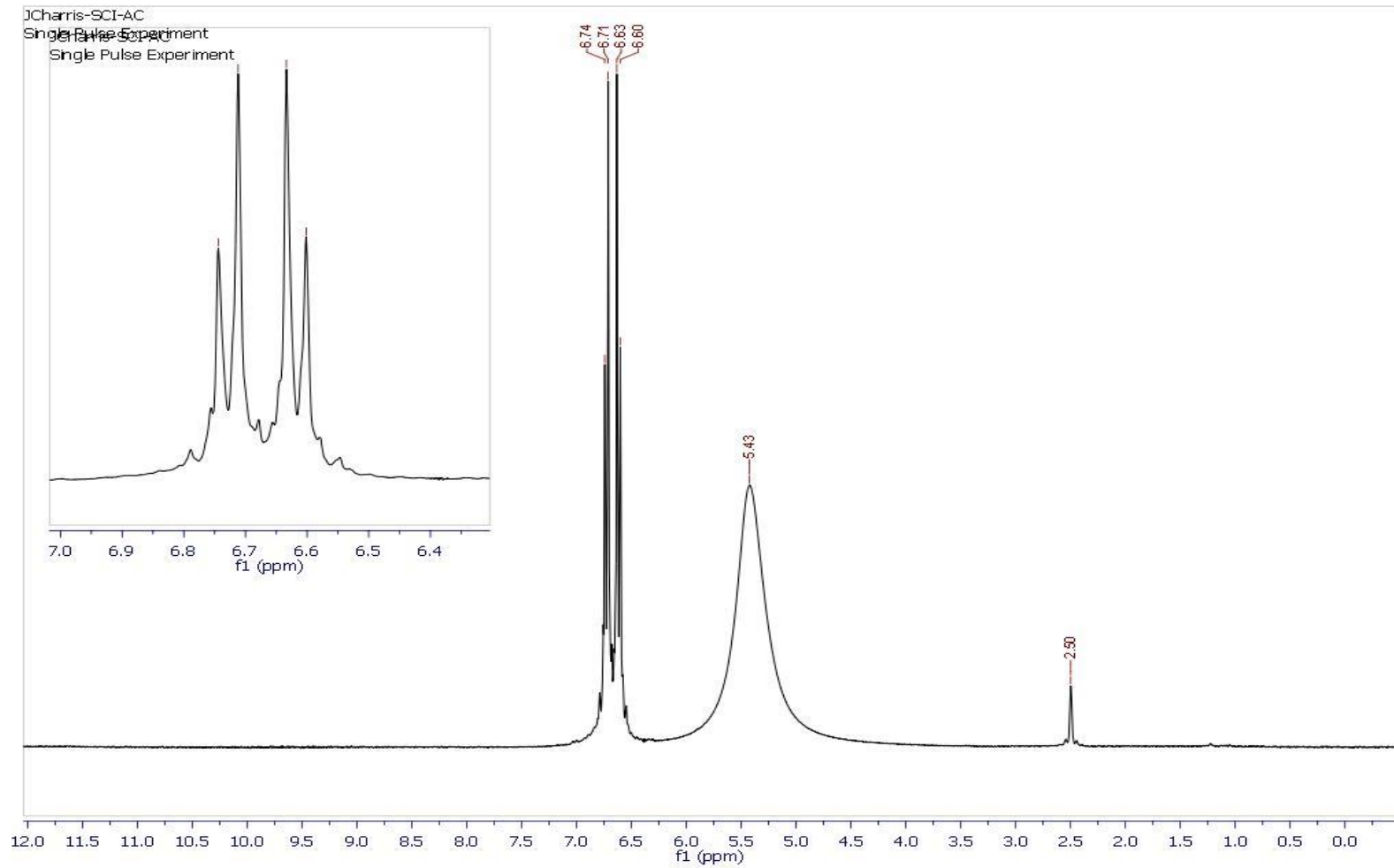
Espectro 1.6. IR de la 4-hidroxiacetanilida.



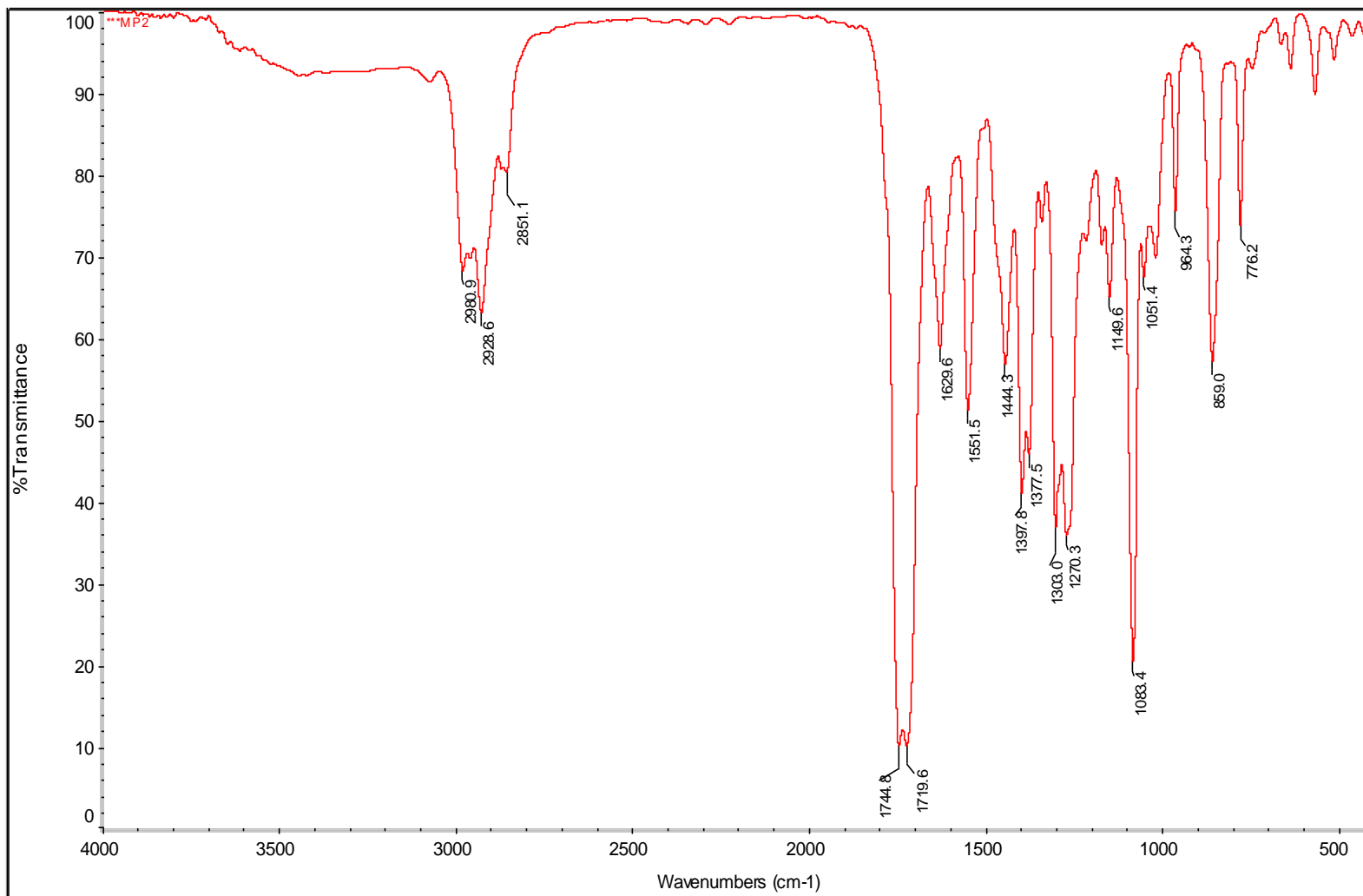
Espectro 1.7. IR de la diamida del ácido oxálico del 4-aminofenol.



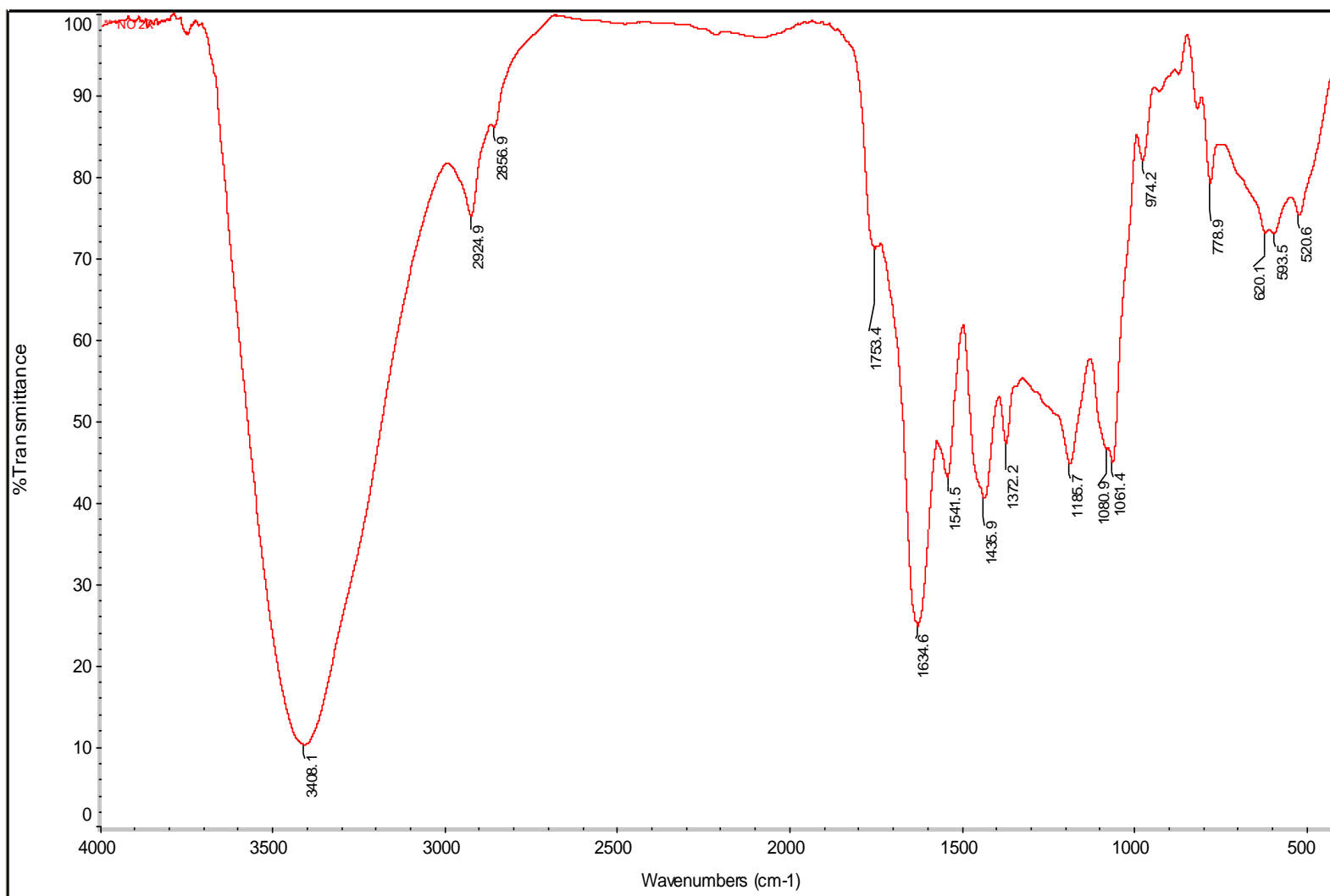
Espectro 1.8. ^{13}C RMN de la diamida del ácido oxálico del 4-aminofenol (DMSO-d_6).



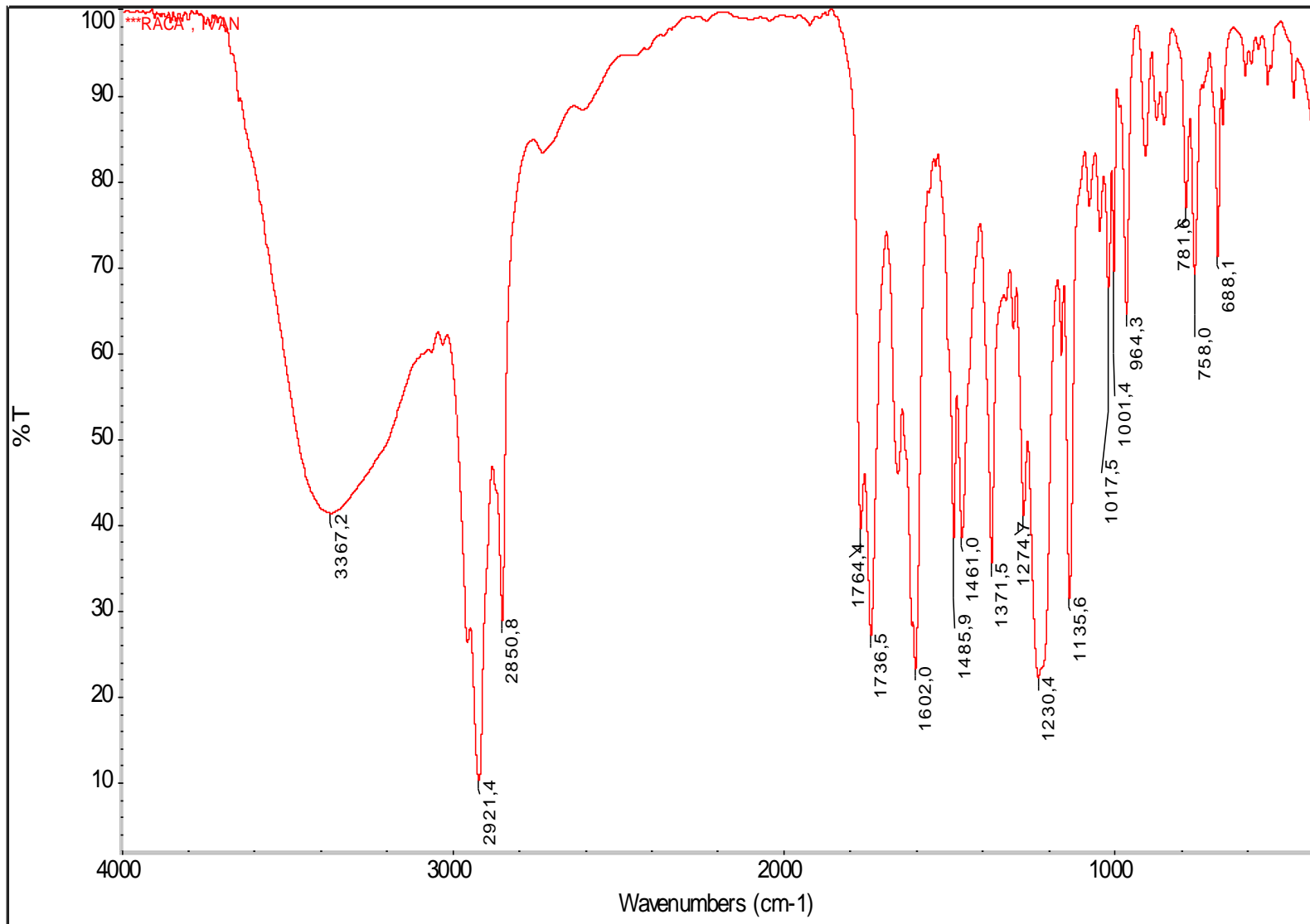
Espectro 1.9. ^1H RMN de la diamida del ácido oxálico del 4-aminofenol (DMSO-d_6).



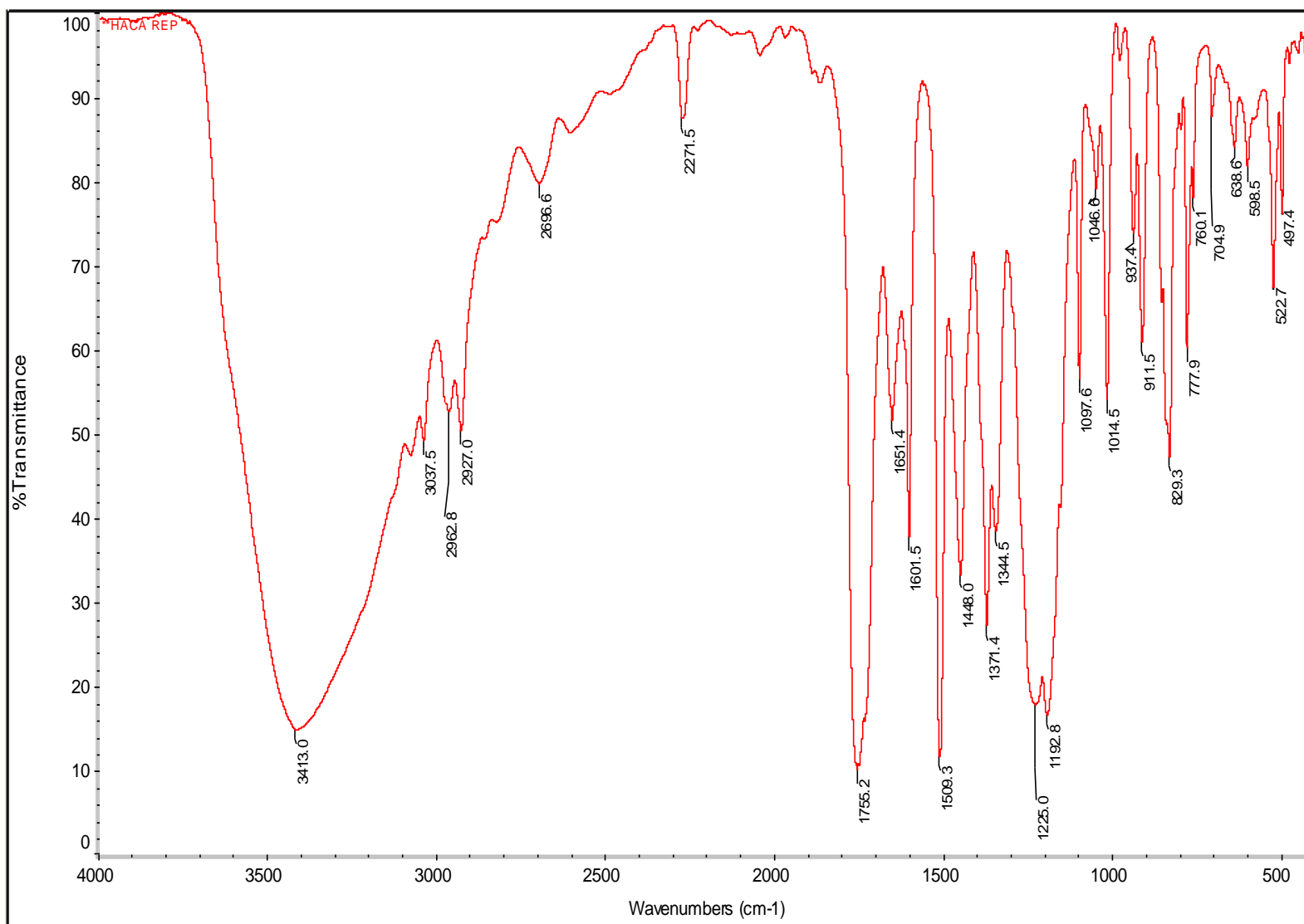
Espectro 2.0. IR del acetoacetato de etilo.



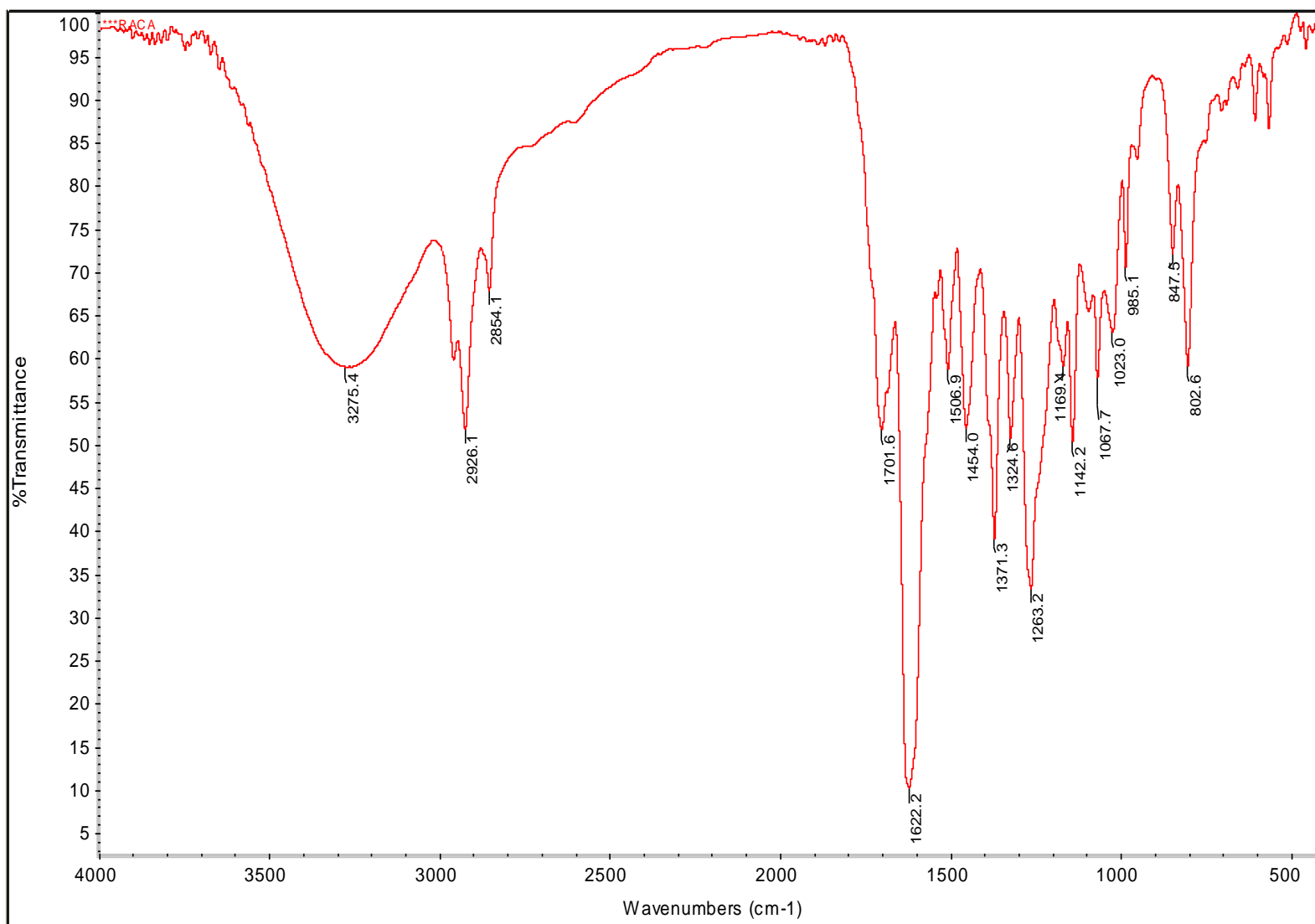
Espectro 2.1. IR de fracción soluble en acetona de mezcla de reacción entre 2-nitroresorcinol y acetoacetato de etilo en DMSO.



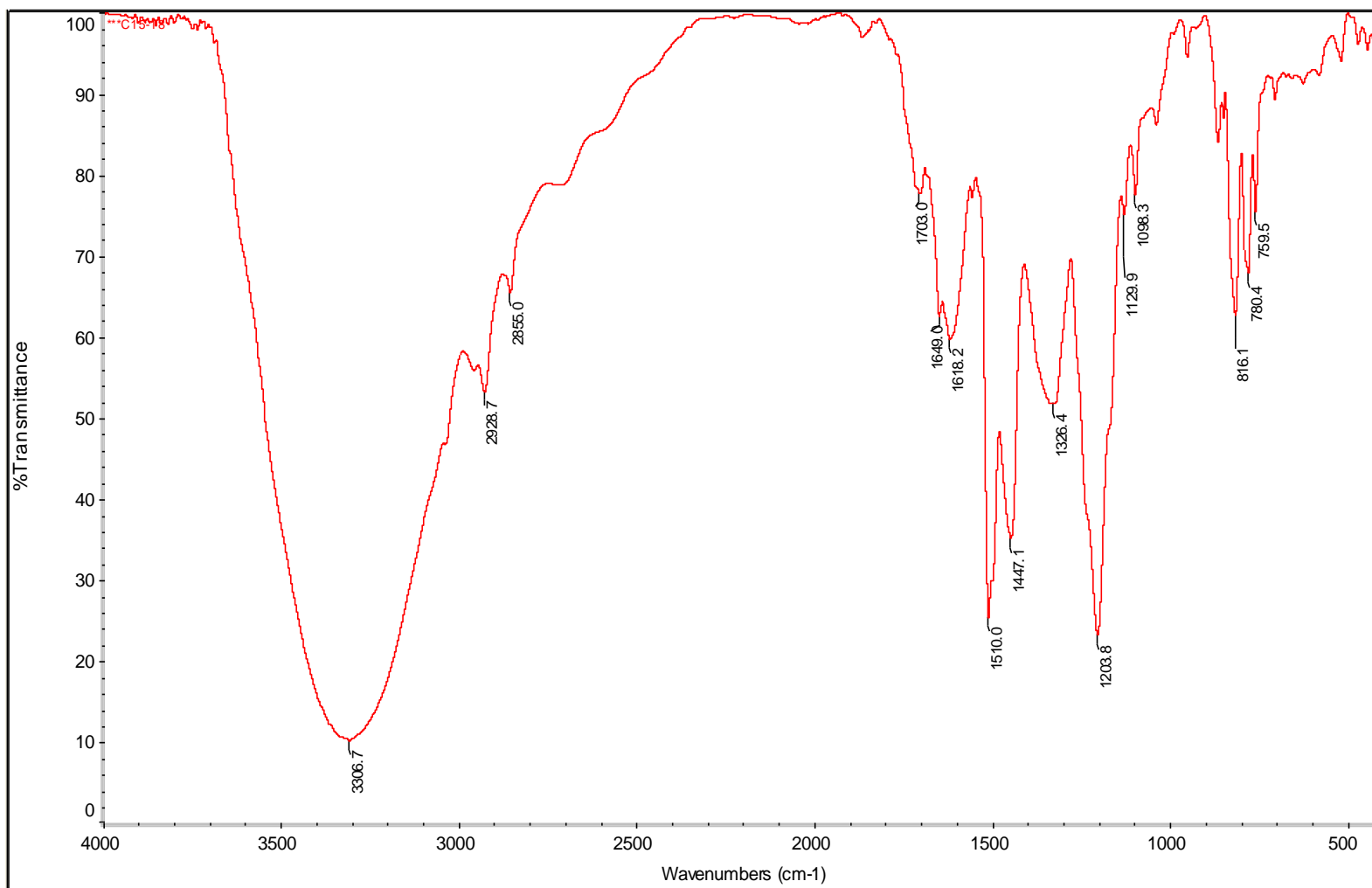
Espectro 2.2. IR del producto de hidrólisis del cianoacetato de 3-hidroxifenilo.



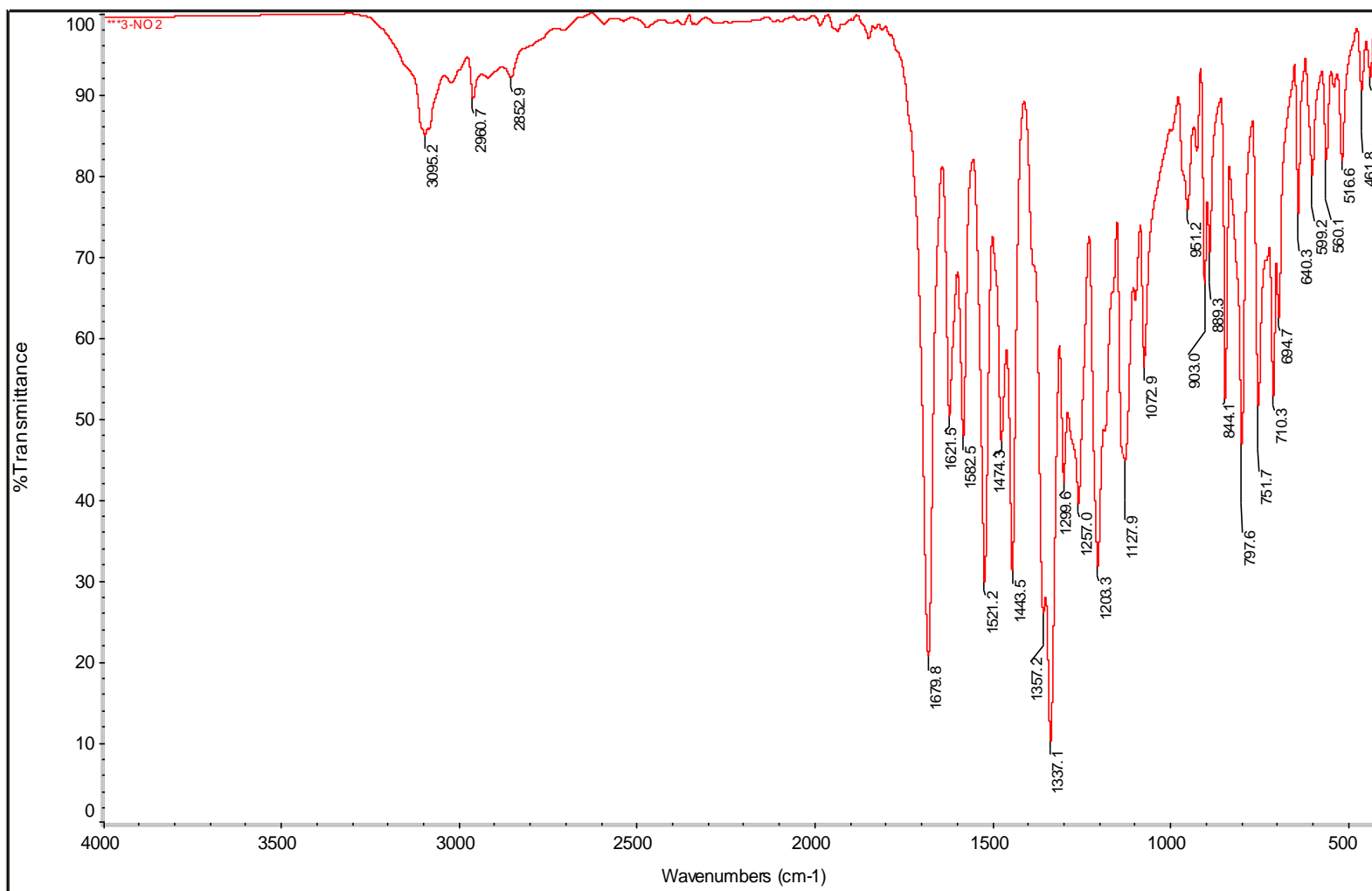
Espectro 2.3. IR del cianoacetato de 4-hidroxifenilo.



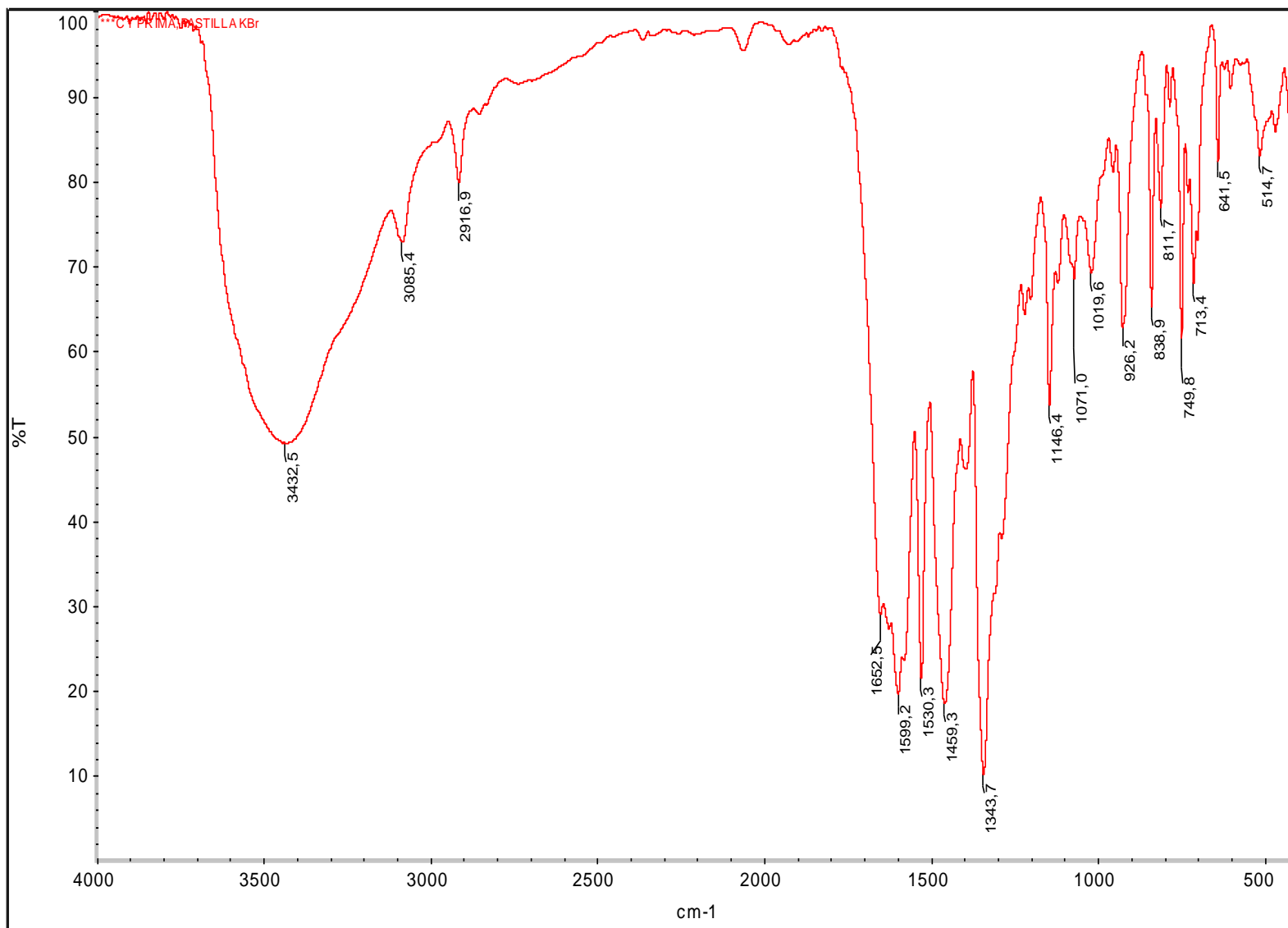
Espectro 2.4. IR de la 4,7-dihidroxicumarina.



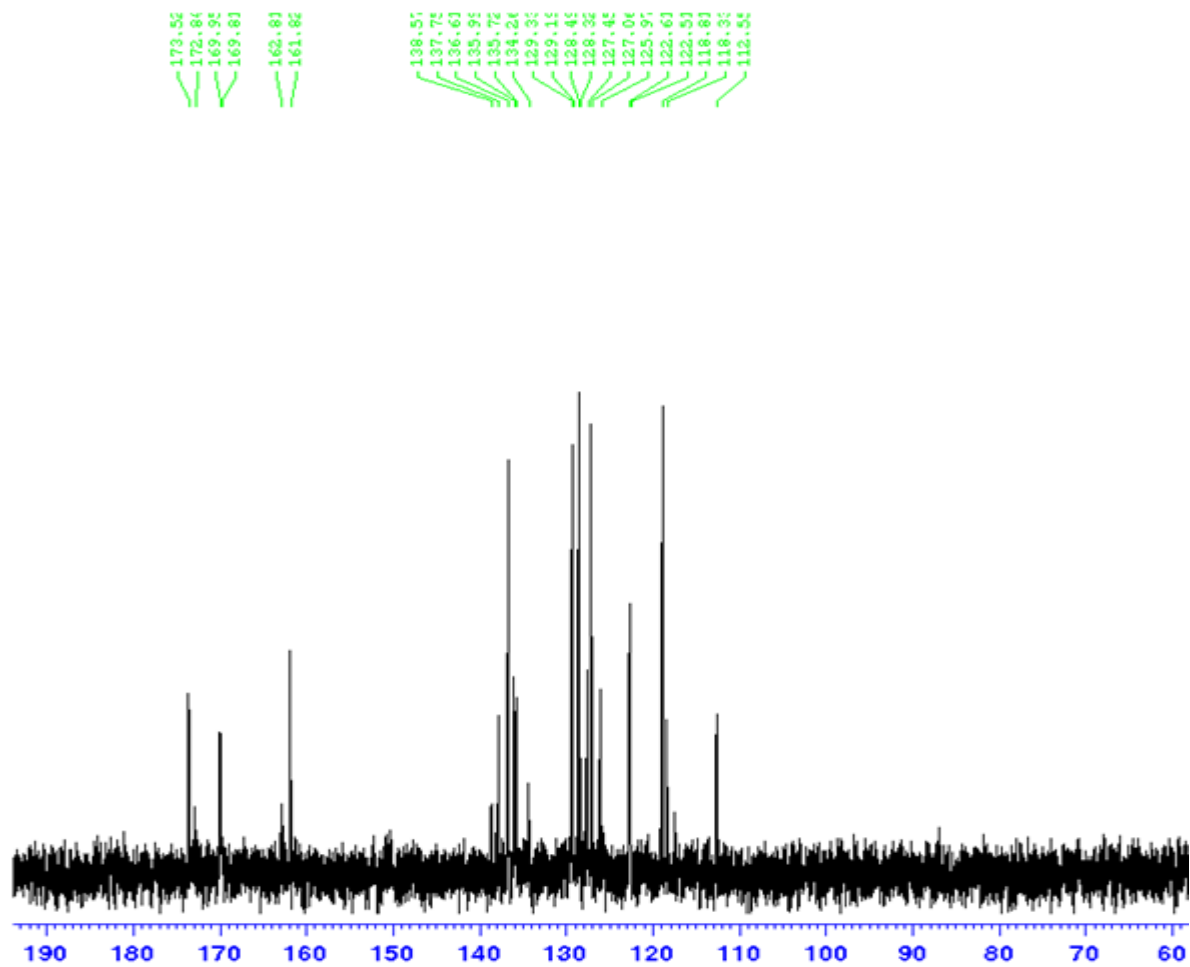
Espectro 2.5. IR de la 4-amino-6-hidroxycumarina.



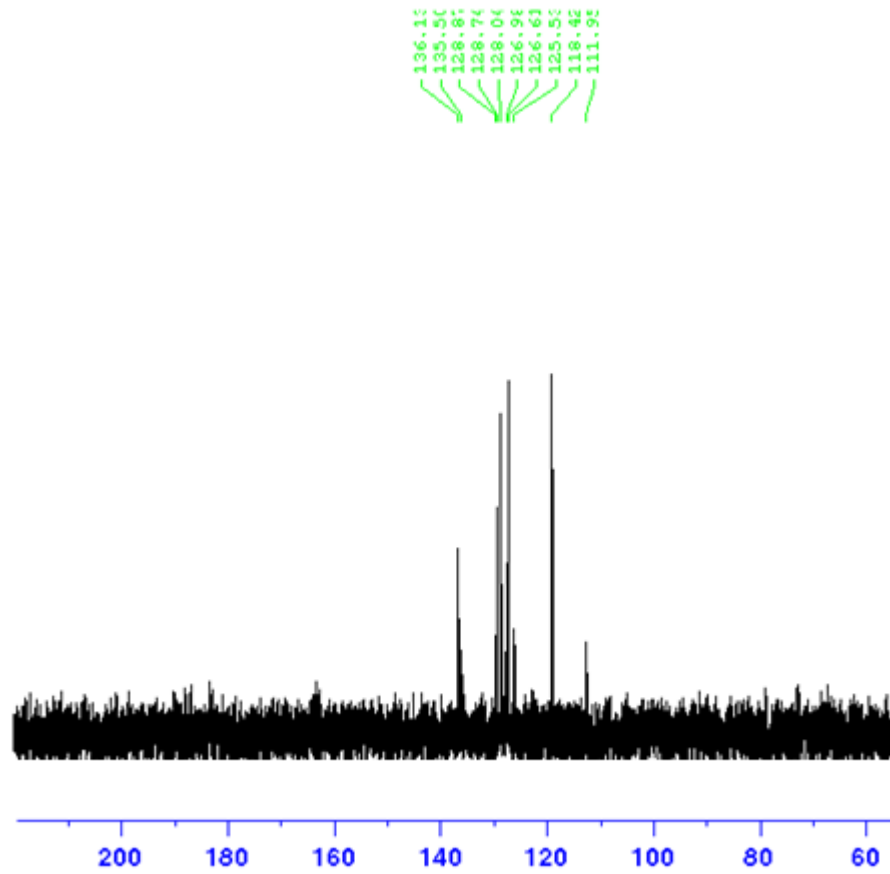
Espectro 2.6. IR del 5-nitrosalicilato de metilo.



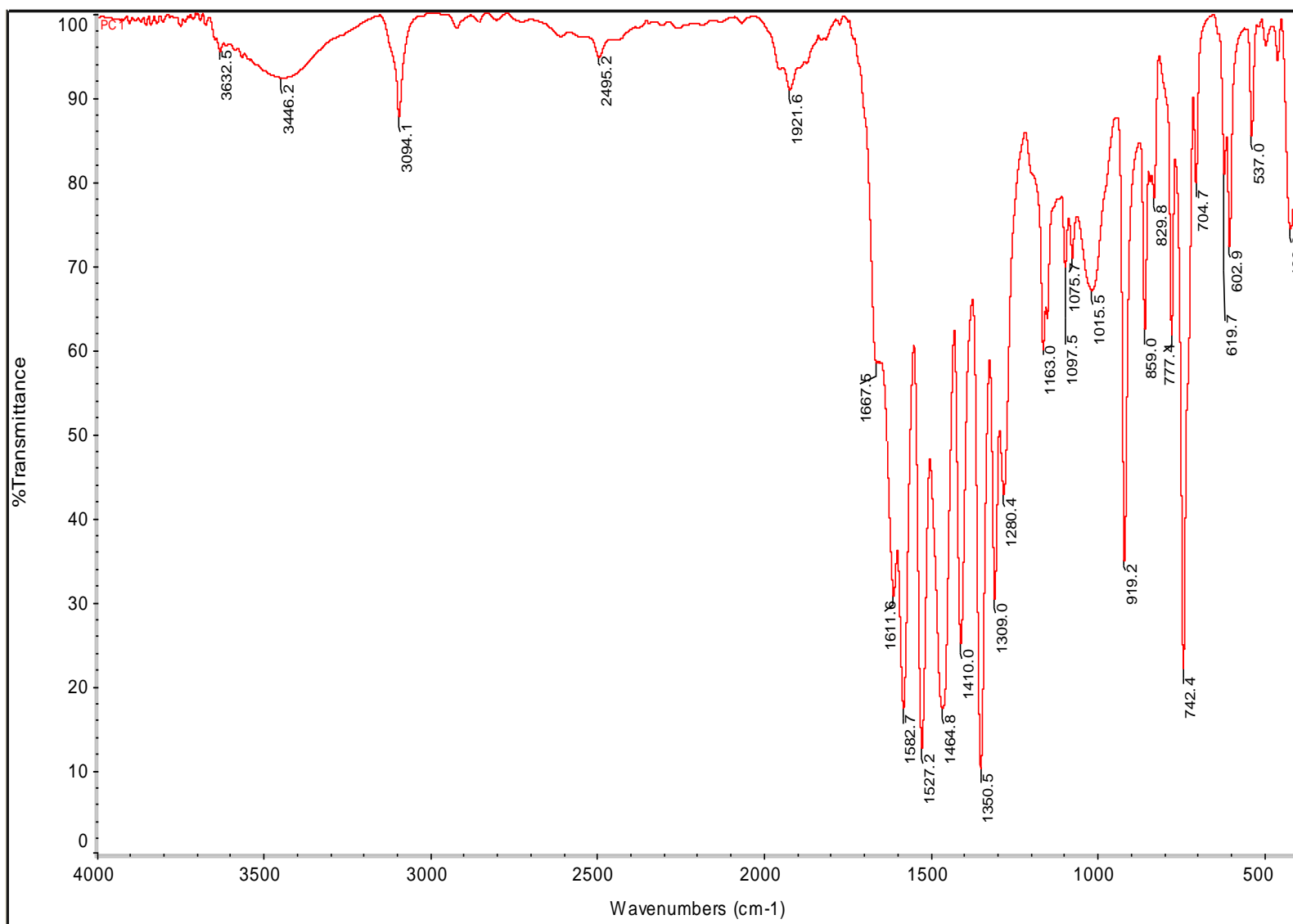
Espectro 2.7. IR de la 4-hidroxi-6-nitroumarina.



Espectro 2.8. ^{13}C RMN de la 4-hidroxi-6-nitroumarina (DMSO- d_6).



Espectro 2.9. DEPT 135 ° de la 4-hidroxi-6-nitroumarina (DMSO-d₆).



Espectro 3.0. IR de la 3-ciano-4-hidroxi-6-nitroumarina.

CAPÍTULO 9

9.0 BIBLIOGRAFÍA.

- ¹ S. Barata. Identificación de cumarinas en especies autóctonas del género pterocaulonell. *Universidad de Belgrano*. Buenos Aires (2010).
- ² P. Guevara, G. Cabrera. Síntesis de 3-cianocumarinas sustituidas. Estudio del modelaje molecular. *U.C.V.* (2009).
- ³ F. Borges, F. Roleria, N. Milhazes, L. Santana, E. Uriarte. Simple coumarins and analogues in medicinal chemistry: occurrence, synthesis and biological activity. *Current Med Chem*. Ed 12 (2005) 887-916.
- ⁴ M. Maheswara, V. Siddaiah, G. Lakishmi, Y. Koteswara, C. Venkata. A Solvent-free synthesis of coumarins via Pechmann condensation using heterogeneous catalyst. *J. Mol. Cat.* Ed 225 (2006) 49–52.
- ⁵ Suresh M. Sethna, Narsinh M. Shah. The chemistry of coumarins. *Chem Rev.* Ed 36, Vol 1 (1944) 1-62.
- ⁶ G. Arango. Introducción al metabolismo secundario. Compuestos derivados del ácido shikímico. *Universidad de Antioquia. Medellín* (2010).
- ⁷ F. Bourgaud, A. Hehn, R. Larbat, S. Doerper, E. Gontier, S. Kellner, U. Matern. Biosynthesis of coumarins in plants: A major pathway still to be unraveled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochem Rev.* Ed 5 (2006) 293-308.
- ⁸ F. Bourgaud, A. Poutaraud, A. Guckert. Extraction of coumarins from plant material (Leguminosae). *Phytochemical Analysis*. Vol5 (1994) 127-132.
- ⁹ C. Brühlmann, F. Ooms, P-A. Carrupt, B. Testa, M. Catto, F. Leonetti, C. Altomare, A. Carotti. Coumarins derivatives as dual inhibitors of acetylcholinesterase and monoamine oxidase. *J. Med. Chem.* Ed 14 (2001) 3195-3198.
- ¹⁰ Y. Muktans, R. Navarrete. Guía Spilva de las especialidades farmacéuticas. XXXIª Edición. Global Ediciones. Caracas (2009).

- ¹¹ I. Manolov, ND. Danchev. Synthesis, toxicological and pharmacological assessment of some 4-hydroxycoumarins derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* Ed 30 (1995) 531-535.
- ¹² A. Kumar, R. Maurya, S. Sharma, P. Ahmad, A.B. Singh, G. Bhatia, A. Srivastava. Pyranocoumarins: A new class of anti-hyperglycemic and anti-dyslipidemic agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* Ed 19 (2009) 6447-6451.
- ¹³ K. Asit, Chakraborti, R. Gulhane. Perchloric acid adsorbed on silica gel as a new, highly efficient and versatile catalyst for acetylation of phenols, thiols, alcohols and amines. *ChemComm.* (2003) 1896-1897.
- ¹⁴ N. Kokare, J. Sangshetti, D. Shinde. Oxalic acid catalyzed solvent-free one pot synthesis of coumarins. *Chinese Chemical Letters.* Ed 18 (2007) 1309-1312.
- ¹⁵ C.V. Deliwala, N.M. Shah. Aluminum chloride, a new reagent for the condensation of β -ketonic esters with phenols. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences.* (1942) 7-10.
- ¹⁶ K.Potdar, S. Mohile, M. Salunkhe. Coumarin synthesis via Pechmann condensation in Lewis acidic chloroaluminate ionic liquid. *Tetrahedron letters.* Ed 42 (2001) 9285-9287.
- ¹⁷ T. Welton. Room-Temperature ionic liquids. Solvents for synthesis and catalysis. *Chem. Rev.* Ed 99 (1999) 2071-2083.
- ¹⁸ A. Varughese, B. Ramakrishna, S. Shrinivas. Bismuth(III) nitrate pentahydrate—a mild and inexpensive reagent for synthesis of coumarins under mild conditions.
- ¹⁹ C. Subhash, R. Shivasankar, R. Sivappa, R. Kale. Zinc mediated transesterification of β -ketoesters and coumarins synthesis. *Tetrahedron Letters.* Ed 43 (2002) 8583-8586.
- ²⁰ D. Prajapati, M. Gohain. Iodine a simple, effective and inexpensive catalyst for the synthesis of substituted coumarins. *Catal. Lett.* Ed 119 (2007) 59-63.

- ²¹ C. Wiener, H. Collin, Schroeder y Karl Paul Link. The synthesis of various 3-substituted -4-alkylcoumrins. *J. Am. Chem. Soc.* Ed 79 (1957) 5301-5303.
- ²² A. Song, X. Wang, K. Lam. A convenient synthesis of coumarin-3-carboxylic acids via Knoevenagel condensation of Meldrum's acid with ortho-hydroxyaryl aldehydes or ketones. *Tetrahedron Letters.* Ed 44 (2003) 1755-1758.
- ²³ T. Watson, E. Christiansen. Solid phase synthesis of substituted coumarins-3-carboxylic acids via de Knoevenagel condensation. *Tetrahedron Letters.* Ed 39 (1998) 6087-6090.
- ²⁴ E. Pérez, G. Cabrera. Estudio de catalizadores de tipo ácido Lewis para la ciclación de ésteres y obtención de cumarinas. *U.C.V.* (2010).
- ²⁵ E. Pretsch, P. Bühlmann, M. Badertscher. Structure determination of organic compounds. Tables of spectral data. Springer. Ed 4^a (2009).