



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



Desarrollo de potenciales agentes antiinflamatorios a partir de 5-(hidroximetil)furfural como plataforma química renovable

Lic. Federico José Ortiz Astigarraga

Facultad de Química, Universidad de la República

Montevideo, Setiembre 2016 – Febrero 2019

Presentada en Octubre de 2020

Tesis presentada con el objetivo de obtener el título de Magíster en Química en el marco del Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas del Ministerio de Educación y Cultura y la Universidad de la República.

Directores de Tesis: Dr. Williams Porcal y Dra. Virginia López

Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República.
Laboratorio de Biología Vascular y Desarrollo de Fármacos. Institut Pasteur de Montevideo.

El tribunal de defensa de tesis es integrado por la Dra. Virginia Aldabalde, el Dr. Guzmán Álvarez, el Dr. Danilo Davyt y la Dra. Pilar Menéndez.

A mis padres, por su amor y comprensión

A mi familia, por aceptarme, escucharme e intentar entenderme

A mis tutores, por los conocimientos transmitidos, las críticas constructivas y la paciencia

A mis compañeras de laboratorio, por su amistad y los momentos compartidos

A mis amigos y Alfonso, por el apoyo incondicional

A mis colaboradores, por su disposición, aportes y perspectiva

A las agencias financiadoras, por confiar en nuestra capacidad y trabajo

Resumen

En la actualidad la búsqueda por minimizar nuestra dependencia del petróleo y sus derivados, a través de un remplazo progresivo por biomasa, tiene como uno de sus objetivos principales lograr un mayor grado de desarrollo sustentable. Gran parte de los precursores químicos que se utilizan para la obtención de principios activos farmacéuticos, en especial para aquellos de síntesis química, son derivados del petróleo. Los azúcares presentes en biomasa celulósica y lignocelulósica, pueden convertirse mediante ciertas transformaciones en productos de alto valor agregado, como por ejemplo combustibles, fibras, precursores de plásticos, disolventes y derivados químicos por tratamiento directo, las llamadas plataformas químicas. En particular, en este trabajo llevamos a cabo estudios iniciales hacia la producción de 5-(hidroximetil)furfural (HMF), una de las llamadas “plataformas químicas”, en escala de laboratorio a partir de D-fructosa y biomasa lignocelulósica (cascara de arroz y pajilla de trigo), en condiciones de hidrólisis y deshidratación en medio ácido presurizado utilizando sistemas bifásicos. En particular, los rendimientos obtenidos a partir de D-fructosa fueron moderados y permitieron obtener HMF de alta pureza. De esta forma, junto a la adquisición comercial de HMF, se obtuvieron cantidades suficientes para emplearlo en etapas posteriores de síntesis orgánica.

En la etapa de síntesis orgánica, trabajamos en la transformación de HMF como plataforma química renovable en estructuras que presenten potencial bioactividad como agentes antiinflamatorios: derivados de Ácidos Grasos de Furano (AGF) y nitroalquenilfuranos. Los AGF son compuestos naturales que están presentes principalmente en alimentos de origen marino, los cuales han evidenciado prometedora actividad antiinflamatoria. Ciertos derivados de nitroalquenos, tanto de ácidos grasos naturales como de sistemas aromáticos, han mostrado actividad antiinflamatoria y potencial aplicación en enfermedades con una inflamación crónica asociada.

Así, para la obtención de AGF se exploraron 3 rutas distintas a partir de HMF, llegando a un compuesto final mediante estrategia de *O*-alquilación en la formación de las cadenas laterales del anillo de furano. Por otra parte, se obtuvo una pequeña librería de 2-nitroalquenilfuranos los cuales se prepararon mediante condensación nitroaldólica entre nitrometano y HMF o derivados de este, bajo condiciones en consonancia con la química verde.

Algunos nitroalquenilfuranos mostraron ser capaces de inhibir la secreción de IL-1 β en el modelo celular utilizado, pudiendo actuar como aceptores de Michael y así, potencialmente modular la activación de eventos inflamatorios mediados por el inflamasoma NLRP 3.

En resumen, en el marco de este trabajo de Maestría en Química se exploró la posibilidad de obtener potenciales agentes antiinflamatorios como productos de alto valor agregado a partir de HMF. De esta forma, el estudiante desarrollo su trabajo de tesis en áreas de la química verde y la química medicinal.

Palabras clave: Biorefinería; Química Orgánica; Química verde; Agentes antiinflamatorios.

Abstract

At present the search to minimize our dependence on oil and its derivatives, through a progressive replacement by biomass, has as one of its main objectives to achieve a greater degree of sustainable development. A large part of the chemical precursors that are used to obtain active pharmaceutical ingredients, especially those of chemical synthesis, are derived from petroleum. The sugars present in cellulosic and lignocellulosic biomass can be converted through certain transformations into products with high added value, such as fuels, fibers, plastic precursors, solvents and chemical derivatives by direct treatment, the so-called chemical platforms. In particular, in this work we carry out initial studies towards the production of 5-(hydroxymethyl) furfural (HMF), one of the so-called “chemical platforms”, on a laboratory scale from D-fructose and lignocellulosic biomass (rice husk and wheat straw), under hydrolysis and dehydration conditions in a pressurized acid medium using biphasic systems. In particular, the yields obtained from D-fructose were moderate and allowed to obtain HMF of high purity. In this way, together with the commercial acquisition of HMF, sufficient quantities were obtained to use it in later stages of organic synthesis.

In the organic synthesis stage, we worked on the transformation of HMF as a renewable chemical platform to structures with potential bioactivity as anti-inflammatory agents: derivatives of Furan Fatty Acids (AGF) and nitroalkenylfurans. AGF are natural compounds that are present mainly in foods of marine origin and have shown promising anti-inflammatory activity. Certain nitroalkene derivatives, both from natural fatty acids and aromatic systems, have shown anti-inflammatory activity and potential application in diseases with associated chronic inflammation.

Thus, to obtain AGF, 3 different routes were explored from HMF, reaching a final compound through an *O*-alkylation strategy in the formation of the side chains of the furan ring. On the other hand, a small library of 2-nitroalkenylfurans was obtained, which were prepared by nitroaldolic condensation between nitromethane and HMF or derivatives thereof, under conditions consistent with green chemistry.

Some nitroalkenylfurans were shown to be capable of inhibiting IL-1 β secretion in the cell model used, being able to act as Michael acceptors and thus potentially modulate the activation of inflammatory events mediated by the NLRP 3 inflammasome.

In summary, within the framework of this Master in Chemistry research project, the possibility of obtaining potential anti-inflammatory agents as high value-added products from HMF was

explored. In this way, the student developed his thesis work in areas of green chemistry and medicinal chemistry.

Keywords: Biorefinery; Organic Chemistry; Green chemistry; Anti-inflammatory agents.

Tabla de Abreviaturas

^{13}C -RMN	Resonancia magnética nuclear de ^{13}C
^1H -RMN	Resonancia magnética nuclear de ^1H
ACS	Sociedad Americana de Química, por sus siglas en inglés
AF	Ácido fórmico
AGF	Ácido graso de furano
AL	Ácido levulínico
Atm	Atmósfera
ATP	Trifosfato de adenosina
BHMF	2,5-bis(hidroximetil)furano
BHMTHF	2,5-bis(hidroximetil)tetrahidrofurano
Boc	<i>tert</i> -butiloxicarbonil
BTX	Benceno, tolueno y xileno
C19	Compuesto orgánico genérico con 19 unidades atómicas de carbono
C4	Compuesto orgánico genérico con 4 unidades atómicas de carbono
C6	Compuesto orgánico genérico con 6 unidades atómicas de carbono
Cat.	Cantidades catalíticas
CMF	5-(clorometil)furfural
Conv	Calentamiento convencional, conducción térmica
COSY	Espectroscopía de correlación homonuclear, por sus siglas en inglés
COX	Ciclooxigenasas, familia de enzimas involucradas en el metabolismo del ácido araquidónico
DAE	Etilendiamina
DCM	Diclorometano
DFF	2,5-diformilfurano
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMFu	2,5-dimetilfurano
DMTHF	2,5-dimetiltetrahidrofurano

<i>DMSO</i>	Dimetilsulfóxido
<i>EC</i>	Economía circular
<i>ECNT</i>	Enfermedades crónicas no transmisibles
<i>ELISA</i>	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
<i>EMF</i>	5-(etoximetil)furfural
<i>FBS</i>	Suero fetal bovino, por sus siglas en inglés
<i>FDCA</i>	Ácido 2,5-furandicarboxílico, por sus siglas en inglés
<i>Fn</i>	Denominación genérica para AGF naturales según orden de elución en GC
<i>GC</i>	Cromatografía gaseosa, por sus siglas en inglés.
<i>GVL</i>	γ -valerolactona
<i>HMBC</i>	Espectroscopía de Correlación Heteronuclear múltiple enlace, por sus siglas en inglés.
<i>HMEF</i>	5-(hidroximetil)-5-etinilfurano
<i>HMF</i>	5-(hidroximetil)furfural
<i>HPLC</i>	Cromatografía líquida de alta performance, por sus siglas en inglés
<i>HSBC</i>	Espectroscopía de Correlación Heteronuclear simple enlace, por sus siglas en inglés
<i>HSR</i>	Respuesta al shock térmico, por sus siglas en inglés
<i>IBX</i>	Ácido o-iodoxibenzoico
<i>IC₅₀</i>	Concentración de un compuesto que reduce la viabilidad de una línea celular en un 50%
<i>ICBR</i>	Inflamación crónica de bajo ruido
<i>IL-1β</i>	Citoquina pro-inflamatoria
<i>IL-6</i>	Interleuquina 6
<i>Keap1</i>	Proteína asociada a Kelch ECH
<i>LCA</i>	Análisis de ciclo de vida, por sus siglas en inglés
<i>LE</i>	Levulinato de etilo
<i>LiHMDS</i>	Hexametildisililamido de litio
<i>LPS</i>	Lipopolisacárido
<i>MCP-1</i>	Proteína quimioatrayente de monocitos 1

<i>MCR-ALS</i>	Resolución curva multivariable - mínimos cuadrados alternados, por sus siglas en inglés
<i>MTT</i>	Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol
<i>MW</i>	Microondas, por sus siglas en inglés
<i>NAD(P)H</i>	Forma reducida de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
<i>NaHMDS</i>	Hexametildisililamido de sodio
<i>NCI</i>	Instituto nacional para el Cáncer, EE.UU.
<i>NF-κB</i>	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
<i>NIST</i>	Instituto nacional de estándares y tecnología, EE.UU.
<i>NMP</i>	N-metil-2-pirrolidona
<i>NO_x</i>	Óxidos de nitrógeno
<i>NREL</i>	Laboratorio Nacional de Energía Renovable, EE.UU.
<i>Nrf2</i>	Factor nuclear 2 relacionado al factor eritroide 2
<i>PET</i>	Tereftalato de polietileno, por sus siglas en inglés
<i>p-HMBA</i>	Ácido <i>p</i> -hidroximetilbenzoico
<i>PMA</i>	Forbol 12-miristato 13-acetato
<i>PMI</i>	Intensidad de masa de proceso, por sus siglas en inglés
<i>PPAR-γ</i>	Receptor gamma activado para la proliferación de peroxisomas
<i>QSAR</i>	Estudios de relación estructura-actividad cuantitativos, por sus siglas en inglés
<i>RH</i>	Cáscara de arroz, por sus siglas en inglés
<i>RP-HPLC</i>	Cromatografía líquida de alta performance en fase reversa
<i>RPMI</i>	Medio de cultivo
<i>SDS</i>	Dodecil sulfato de sodio, por sus siglas en inglés
<i>SDT</i>	Ditionito de sodio, por sus siglas en inglés
<i>SN₂</i>	Sustitución nucleofílica bimolecular
<i>SRB</i>	Ensayo de viabilidad celular con sulforodamina B
<i>THP-1</i>	Línea celular de monocitos humanos
<i>TLC</i>	Cromatografía en capa fina, por sus siglas en inglés
<i>TNF-α</i>	Factor de necrosis tumoral alfa
<i>TPPO</i>	Óxido de trifenílfosfina, por sus siglas en inglés

<i>US</i>	Ultrasonidos
<i>UV</i>	Ultravioleta
<i>WS</i>	Pajilla de trigo, por sus siglas en inglés
<i>βME</i>	β-mercaptoetanol

Índice de contenidos

1. Introducción.....	15
1.1 Sustentabilidad	15
1.2 Química Verde.....	16
1.2.1 Principios de la Química Verde	17
1.2.2 Indicadores en Química Verde.....	18
1.3 Plataformas químicas derivadas de la biomasa.....	19
1.3.1 HMF: una plataforma química derivada de azúcares.....	23
1.4 Ácidos grasos de furano (AGF).....	29
1.5 Inflamasoma como blanco terapéutico en enfermedades crónicas no transmisibles...32	
2. Hipótesis, objetivos y estrategias de investigación	36
2.1 Objetivo General	36
2.2 Objetivos específicos	36
2.3 Estrategias propuestas para el desarrollo del trabajo	37
2.3.1 Obtención de HMF a partir de cáscara de arroz como biomasa.....	37
2.3.2 Síntesis de derivados de ácidos grasos de furano (AGF).....	38
2.3.3 Síntesis de derivados de nitroalquenilfuranos.....	39
2.3.4 Potencial antiinflamatorio <i>in vitro</i>	39
3. Resultados y discusión.....	41
3.1 Obtención de HMF a partir de cáscara de arroz como biomasa	41
3.2 Síntesis de derivados de ácidos grasos de furano (AGF).....	51
3.3 Síntesis de derivados de nitroalquenilfuranos.....	64
3.4 Potencial antiinflamatorio <i>in vitro</i>	69
3.5 Actividad antitumoral de nitroalquenilfuranos	72
4. Conclusiones y Perspectivas.....	75
5. Agradecimientos	78
6. Materiales y Métodos.....	78
6.1 Obtención de HMF a partir de biomasa	79
6.1.1 HMF a partir de D-fructosa en sistema bifásico	79
6.1.2 5-(etoximetil)furfural (3).....	80
6.1.3 Cuantificación de HMF por análisis MCR-ALS de espectros UV	81
6.1.4 HMF (1) a partir de cáscara de arroz y pajilla de trigo	82
6.1.5 Síntesis de resina hidrazina	83
6.1.6 Anclaje y desanclaje de furfural a resina “scavenger”.....	83
6.2 Síntesis de derivados de AGF.....	85
6.2.1 Síntesis de sales de fosfonio soportadas y convencionales	85
6.2.2 Procedimiento general para reacciones de Wittig en fase sólida	86

6.2.3	Síntesis de ácido (<i>Z</i>)-11-(furan-2-il)undec-10-enoico (8a) y (<i>Z</i>)-11-(furan-2-il)undec-10-enoato de etilo (8b) mediante reacciones de Wittig en solución	86
6.3	Síntesis de derivados de AGF mediante metátesis de olefinas	88
6.3.1	Síntesis de 5-(hidroximetil)-2-vinilfuran (9).....	88
6.3.2	Síntesis de ((5-vinilfuran-2-il)metil)carbonato de <i>tert</i> -butilo (10).....	89
6.3.3	Procedimiento general para metátesis cruzada de olefinas	89
6.4	Síntesis de derivados de AGF mediante <i>O</i>-alquilación de alcoholes	90
6.4.1	10-((5-formilfuran-2-il)metoxi)decanoato de etilo (14).....	90
6.4.2	Síntesis de 10-((5-hidroximetilfuran-2-il)metoxi)decanoato de etilo (15).....	91
6.4.3	Síntesis de 10-((5-(aliloximetil)furan-2-il)metoxi)decanoato de etilo (16)	91
6.5	Síntesis de nitroalquenilfuranos.....	92
6.5.1	Síntesis de (5-(formil)furan-2-il)metil)carbonato de <i>t</i> -butilo (18).....	92
6.5.2	Síntesis de 5-(butoximetil)furfural (19)	92
6.5.3	Síntesis de nitroalquenilfuranos asistida por ultrasonido.....	93
6.5.4	Síntesis de (<i>E</i>)-((5-(2-nitrovinil)furan-2-il)metil)carbonato de <i>t</i> -butilo (24)	94
6.5.5	Síntesis de (<i>E</i>)-2-formil-5-(nitrovinil)furan (25).....	94
6.6	Cultivo de células THP-1	95
6.7	Evaluación de citotoxicidad inespecífica de nitroalquenilfuranos.....	95
6.8	Evaluación de la actividad antiinflamatoria de nitroalquenilfuranos	95
6.8.1	Reacción de Michael para evaluar la electrofilia de nitroalquenilfuranos	95
6.8.2	Evaluación del efecto de los compuestos sintetizados en la activación del inflammasoma NLRP3 en primera y segunda señal.....	96
7.	Referencias.....	96

Capítulo 1

Introducción

1. Introducción

1.1 Sustentabilidad

En la actualidad, la humanidad se enfrenta a múltiples desafíos que determinarán el futuro de las próximas generaciones. Si bien la fuerte industrialización trajo consigo un sinnúmero de mejoras para la calidad de vida de las personas, la liberación de contaminantes al medio ambiente y un modelo de explotación desmedido nos posicionan en una situación crítica con relación al futuro de nuestro planeta. En 1983, por resolución de la Asamblea General de las Naciones Unidas se crea la Comisión Mundial sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo con el objetivo de que todos los países trabajen juntos para alcanzar el desarrollo sostenible. En 1987 se publica el informe “Nuestro futuro común”, donde se define el desarrollo sostenible como la satisfacción de las necesidades de la generación presente sin comprometer la capacidad de las generaciones futuras para satisfacer sus propias necesidades.¹ En resumen, el desarrollo sostenible busca conjugar el desarrollo económico, social y la protección del medio ambiente. Para poder generar políticas eficientes es necesario entender el funcionamiento y la relación entre los múltiples elementos que coexisten en nuestra sociedad actual..

El uso racional de los recursos naturales es esencial para lograr el desarrollo sustentable y evitar el deterioro del medio ambiente. Uno de los criterios de clasificación de recursos más frecuentes se basa en la comparación entre la rapidez con que un recurso es capaz de regenerarse y su tasa de consumo. Es así como se puede clasificar como recursos renovables a fuentes de energía consideradas inagotables (radiación solar, energía eólica, hidroeléctrica, geotérmica entre otros) y factores bióticos (fauna y flora) que dependen de otros recursos renovables para su regeneración. Por el contrario, se clasifican como no renovables a aquellos que no se producen constantemente, como es el caso de los minerales, o que poseen un periodo de formación muy prolongado en el caso del petróleo, gas natural o derivados. Otros recursos como el agua o el suelo se consideran poco renovables y la sostenibilidad de su explotación depende del uso racional y equilibrado de los mismos.

Nuestras sociedades se sostienen económicamente por la extracción de recursos, transformación en productos de alto valor agregado y posterior comercialización de bienes. Un sistema productivo lineal como el mencionado tiende a agotar los recursos y degradar el medio ambiente.² En contraste con la economía lineal, que basa su modelo de producción en “tomar, hacer y desechar”, la economía circular (EC) busca separar gradualmente la actividad económica del consumo de recursos finitos y eliminar la generación de residuos en el sistema.

La EC se basa en tres principios: 1) Eliminación de residuos y fuentes de contaminación; 2) Mantener los productos y materiales en uso y 3) Regenerar sistemas naturales. Sostenido por una transición a fuentes de energía renovables, el modelo circular construye capital económico, natural y social por lo que apunta a redefinir el crecimiento, centrándose en beneficios positivos para toda la sociedad.³

La Sustentabilidad Química es un concepto amplio que trata todos los aspectos involucrados en el uso y manufactura de materiales empleados en las sociedades modernas, y abarca Reglamentaciones sobre el uso de Productos Químicos, Tecnologías de Remediación, Controles de Exposición, Química Verde, Purificación de Agua y Energías Alternativas, entre otros.⁴

1.2 Química Verde

La Química como ciencia y sus aplicaciones han tenido un impacto indiscutible en la mejora de nuestra calidad de vida y en el desarrollo de nuestra sociedad. Grandes avances y descubrimientos realizados por la humanidad se deben a la química, entre ellos el desarrollo de fármacos para el tratamiento de enfermedades, la mejora en la producción agrícola mundial, la generación de combustibles y materiales tecnológicos, entre muchos otros. A pesar de todo ello, también tiene aspectos perjudiciales que empañan sus contribuciones a través de ciertos tipos de procesos químicos y su mala utilización. En los últimos dos siglos el uso abusivo de disolventes, sustancias tóxicas y peligrosas, la generación de residuos y el elevado consumo de energía ha tenido un efecto muy negativo para el medio ambiente. Por estos motivos, hoy día la química se enfrenta a retos como la reducción del impacto ambiental de los residuos industriales y al manejo adecuado de recursos ambientales, entre otros.^{5,6}

En este contexto, uno de los mayores desafíos de la Química Orgánica y de la Química Médica actual, es la obtención de nuevos compuestos bioactivos o potenciales fármacos de manera eficiente, económicamente redituable y en condiciones amigables con el medio ambiente, siguiendo los principios de la Química Verde o Sostenible. Paul Anastas y John C. Werner definen la Química Verde como “el diseño de productos y procesos químicos que reduzcan o eliminen el uso y la generación de sustancias peligrosas”.^{7,8} Esta definición marca un cambio importante en la manera en que las cuestiones ambientales han sido consideradas o ignoradas en el diseño de nuevas moléculas o procesos, e involucra el impacto de los productos y procesos químicos como criterios de diseño. La ideología de la Química Verde requiere el desarrollo de nuevas reactividades químicas y de nuevas condiciones de reacción que puedan proporcionar

beneficios para la síntesis química en términos de recursos y eficiencia energética, selectividad del producto, simplicidad operativa, salud y seguridad ambiental.

1.2.1 Principios de la Química Verde

Como parte de su trabajo, Anastas y Werner enumeraron doce principios básicos en los que se soporta la Química Verde: **1) Prevención:** es preferible evitar la producción de un residuo antes que eliminarlo una vez formado; **2) Integración de materias:** los métodos de síntesis deberán diseñarse para que el producto final incorpore al máximo todos los materiales usados durante el proceso (elevada economía atómica); **3) Síntesis menos peligrosa:** siempre que sea posible, los métodos de síntesis deberán diseñarse para utilizar y generar sustancias de baja toxicidad, tanto para el hombre como para el medio ambiente; **4) Diseño seguro:** los productos químicos deberán ser diseñados para mantener su eficacia en el funcionamiento a la vez que reduzcan su toxicidad; **5) Reducción de sustancias auxiliares:** se evitará el uso de sustancias auxiliares (disolventes, reactivos de separación, etc.) y si se utilizan que sean lo más inocuo posible; **6) Eficiencia energética:** los requerimientos energéticos deberán ser minimizados en lo posible por su impacto medioambiental y económico. Serán preferibles métodos de síntesis a temperatura y presión ambiente; **7) Uso de materias primas renovables:** la materia prima debe de ser renovable, siempre que sea técnica y económicamente viable; **8) Reducción de derivados:** evitar en lo posible la derivatización (grupos bloqueantes, de protección-desprotección, modificación temporal de procesos físico-químicos); **9) Catálisis:** se emplearán catalizadores (lo más selectivos posible) en vez de reactivos estequiométricos; **10) Biodegradabilidad:** los productos químicos se diseñarán para que al finalizar su función no persistan en el medio ambiente sino que se degraden a productos inocuos; **11) Análisis continuo de contaminación:** es necesario desarrollar metodologías analíticas que permitan un monitoreo y control en tiempo real del proceso, previniendo la formación de sustancias peligrosas; **12) Seguridad intrínseca y prevención de accidentes:** se elegirán las sustancias empleadas y la forma en que éstas son usadas en los procesos químicos minimizando el potencial de accidentes químicos, incluidas las emanaciones, explosiones e incendios.^{7,8}

Por tanto, la incorporación de la Química Verde tanto a la industria como en la academia se justifica además desde un punto de vista económico y estratégico. Hasta la década de los 90 las industrias que producían productos con un alto valor añadido, como las farmacéuticas y de combustibles, muchas veces no contemplaban los aspectos anteriores por desconocimiento o por trabajar con procesos muy establecidos. La Química Verde permite en ciertos casos un ahorro económico, en la gestión y remediación de los residuos, en una mayor eficiencia del uso

de los reactivos y una reducción de la energía utilizada, lo que puede reflejarse en una disminución de los costes de producción y por tanto en una ventaja competitiva. Además, la Química Verde puede dar una mejor imagen del sector químico en general, lo que puede resultar positivo en temas de responsabilidad social corporativa y en otros asuntos estratégicos.⁹ En base a lo anterior, la Química Verde se engloba dentro de una filosofía mayor, hacia el desarrollo sostenible para satisfacer las necesidades del presente sin comprometer las capacidades de las futuras generaciones.

1.2.2 Indicadores en Química Verde

Buscar plasmar los principios de la Química Verde en el diseño de nuevos procesos y productos es un desafío no menor, para el cual se han desarrollado indicadores o herramientas métricas que permiten medir la eficiencia de los procesos químicos y el impacto sobre el medio ambiente. La existencia de indicadores es esencial en lo que respecta a la toma de decisiones relacionadas con el diseño y selección de procesos de producción, así como los insumos químicos utilizados. Se han generado plataformas que ayudan en la toma de decisiones (por ejemplo, GreenScreen[®] y iSUSTAIN[™], ambas de acceso libre) considerando algunas de las características deseables dentro del objetivo general de lograr procesos y productos ambientalmente preferidos. Es importante destacar que no existe una única herramienta adecuada para todos los problemas y por tanto la finalidad de estas plataformas es orientar la toma de decisión. A continuación, se presentan algunos de los indicadores más relevantes:

Economía atómica (EA): es una medida de la eficiencia de conversión respecto a la incorporación de los átomos presentes en las especies reactivas al producto final para un proceso químico determinado.¹⁰ Este concepto es independiente del rendimiento químico de una reacción, puesto que valores altos para este último aún pueden resultar en cantidades significativas de productos secundarios. Si bien la economía atómica es un indicador muy importante para la Química Verde, este no contempla otros aspectos como el uso de disolventes o la contaminación generada por el gasto energético que implica llevar a cabo la transformación.

Factor-E: desarrollado por Sheldon,¹¹ da una idea de la cantidad de residuos producidos relativa a la de producto generado, por lo que además da una idea de que tanto podría beneficiarse un proceso de innovaciones en Química Verde. Debido a su fácil aplicabilidad, este es uno de los indicadores más utilizados.

Intensidad de masa del proceso (PMI): fue introducido en 2005 en el marco de una mesa redonda farmacéutica llevada a cabo por el Instituto de Química Verde de la Sociedad

Americana de Química o “*American Chemical Society*”. Es el cociente entre la masa total de materiales de partida y la masa del producto final, para lo cual se tienen en cuenta todos los pasos de síntesis, aislamiento y purificación requeridos para obtener un producto activo farmacéutico. En la elaboración de esta herramienta, se observó que la mayor parte de los insumos utilizados corresponde a disolventes orgánicos y agua.¹²

Estudios de relación estructura-actividad cuantitativos (QSAR): consiste en utilizar técnicas computacionales predictivas para guiar el diseño de nuevas moléculas.¹³ Se basa en la detección de patrones estructurales a los cuales se asocia algún tipo de toxicidad. Asume que compuestos con motivos estructurales compartidos tendrían actividades biológicas o toxicidad similares.^{14,15} Para realizar predicciones de los posibles efectos sobre la salud que pueda tener un cierto tipo de arquitectura química, los datos utilizados para construir los modelos predictivos deben provenir de modelos animales bien establecidos.

Análisis de ciclo de vida (LCA): proporciona una visión general sobre múltiples aspectos que repercuten sobre el medio ambiente a lo largo de todo el ciclo de vida de un producto determinado, incluyendo la etapa de adquisición de materias primas, el proceso productivo, el uso y los residuos generados al final del ciclo de vida.¹⁶ Resulta excelente para evaluar oportunidades de mejora en cualquier punto del ciclo de vida de un producto. Existen distintas variantes dependiendo de cuál sea el punto de corte del análisis. La más completa se denomina “*cradle-to-grave*” e incluye un análisis desde la extracción-obtención de materias primas a las fases de uso y deposición.¹⁷ Se considera que un LCA tiene cuatro componentes: 1) objetivo y alcance, 2) inventario, 3) evaluación de impacto y 4) evaluación de mejoras.

1.3 Plataformas químicas derivadas de la biomasa

Históricamente, la biomasa ha servido como fuente de alimentos, energía y productos con valor agregado, como drogas, saborizantes y fragancias, entre otras. En los dos últimos siglos se han reportado antecedentes de su uso como materia prima, para la obtención de químicos y materiales como ésteres de celulosa, linóleo, saborizantes y fragancias, lubricantes y surfactantes a partir de plantas oleaginosas y otro gran número de productos a partir de carbohidratos. Sin embargo, los intereses económicos y la fuerte competencia contra productos más baratos producidos por rutas convencionales a partir de hidrocarburos han favorecido a estos últimos. En la Figura 1 se muestran diversos productos químicos obtenidos por la refinería del petróleo y sus principales derivados.^{18,19}

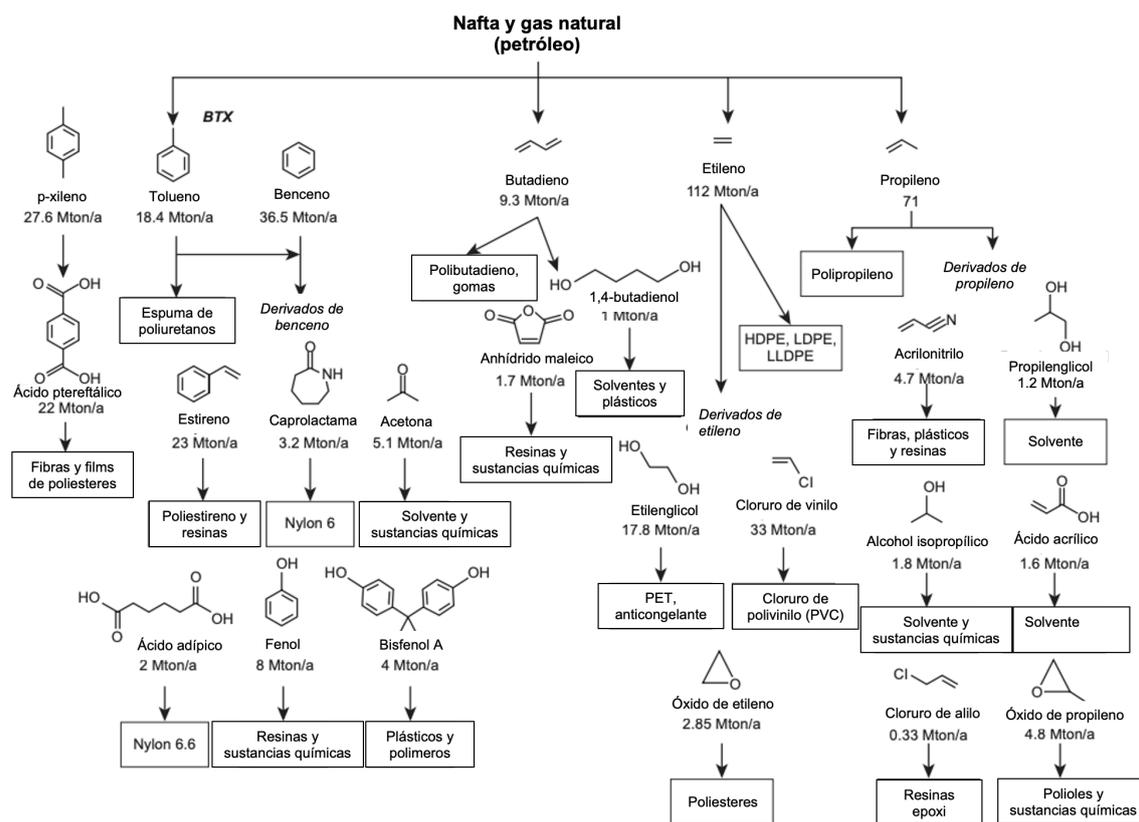


Figura 1. Productos Químicos obtenidos de la refinería del petróleo y sus principales derivados. Tomada de de Jong y Jungmeier.²⁰

El desarrollo de nuevas tecnologías para la conversión de fuentes renovables en energía sustentable²¹ y materias primas para la industria²², impulsa a reducir nuestra dependencia por el petróleo y sus derivados, lo cual sería deseable de acuerdo al principio 7 de la Química Verde referente al uso de materias primas renovables. La bioenergía es uno de las estrategias más importantes para reducir las emisiones de gases de efecto invernadero y actuar como sustituto de los combustibles fósiles.^{23,24} En este contexto aparecen las biorefinerías como potencial modelo industrial para la transformación de la biomasa en productos de alto valor agregado (Figura 2).²⁵ La biomasa es la materia prima de una biorefinería del mismo modo que el petróleo es la de una refinería tradicional. Los productos químicos que se generan tras las transformaciones primarias directas de la biomasa son las llamadas “plataformas químicas”, las cuales se utilizan como bloques para la construcción de otros productos finales.²⁶ Una característica importante de estas plataformas químicas es su gran versatilidad, pudiendo una plataforma ideal ser transformada fácilmente a una gran cantidad de productos finales con variadas aplicaciones.

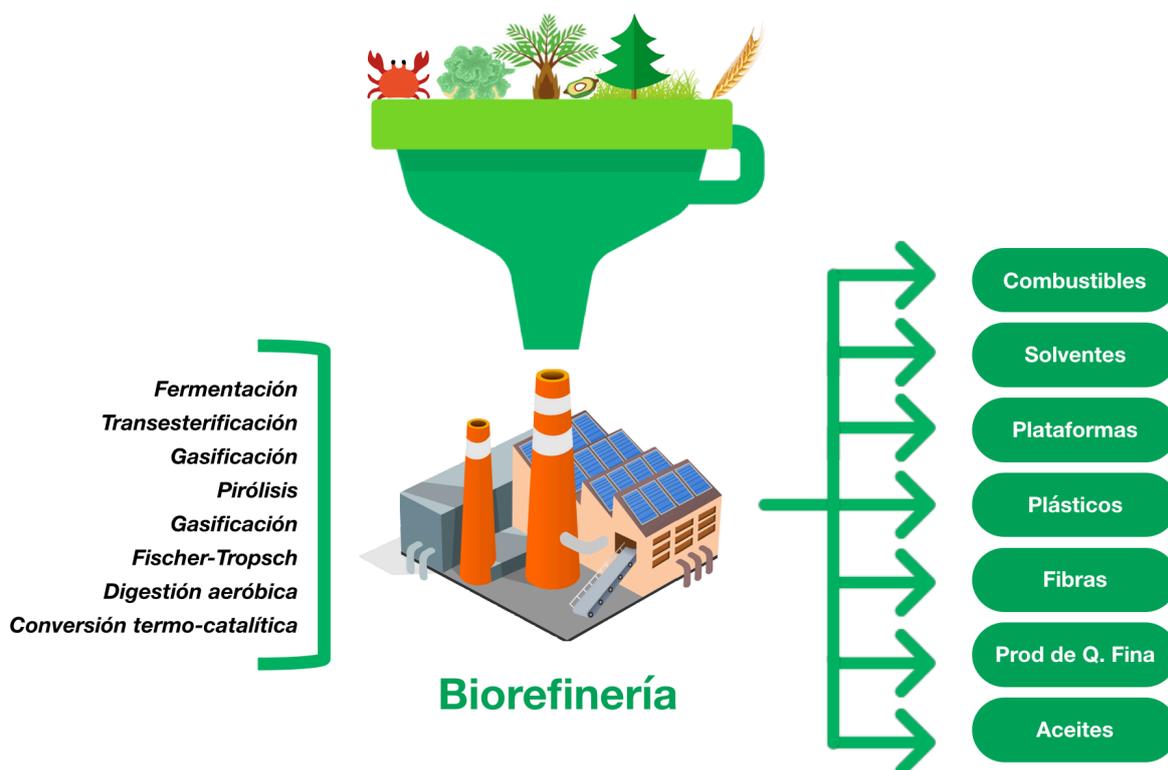


Figura 2. Conversión de biomasa a productos comercializables por biorefinería.

Las materias primas carbonadas utilizadas como biomasa pueden ser de orígenes muy variados, pudiendo ser algunas de ellas productos de origen agrícola, forestal, acuícola, otro tipo de desechos industriales como restos de alimentos y basura doméstica. A partir de estos, mediante distintos tipos de tratamiento, es posible obtener materiales que presentan variadas utilidades.²⁵ Si bien existen varias formas de clasificar a las biorefinerías, una de las más frecuentes consiste en separarlas por generaciones tecnológicas (Tabla 1). En la primera generación se incluye a los biocombustibles obtenidos a partir de azúcar, almidón, aceites vegetales o grasas animales utilizando tecnologías convencionales.²⁴ Utilizar estos recursos para la producción de biocombustibles genera una gran polémica ya que se genera una competencia por los recursos alimenticios. Las biorefinerías de segunda y tercera generación también se denominan biorefinerías avanzadas. En la segunda generación se emplea biomasa residual de cultivos, como pajilla de trigo; maíz y madera. Posteriormente, las microalgas surgieron como otra alternativa viable e interesante, debido a su alto contenido lipídico por biomasa sumado a que pueden cultivarse inclusive en aguas no potables.²⁷ En el caso de las biorefinerías de cuarta generación también se utilizan microalgas, pero la diferencia radica en que se optimiza la producción de lípidos mediante ingeniería genética.²⁸

Tabla 1. Clasificación de biorefinerías por generación tecnológica. Tomado del libro *Biorefineries* por A. Demirbas.²⁴

Generación	Materia prima	Ejemplos
Biorefinerías de 1° generación	Azúcar, almidón, aceites vegetales y grasas animales	Bio-alcoholes, aceite vegetal, biodiesel, gas de síntesis y biogas
Biorefinerías de 2° generación	Cultivos no aptos para consumo, pajilla de trigo, madera, residuos sólidos y cultivos energéticos	Bio-alcoholes, biocombustibles, DMF, hidrógeno, diesel por Fischer-Tropsch
Biorefinerías de 3° generación	Microalgas	Aceite vegetal y biodiesel
Biorefinerías de 4° generación	Microalgas: Aceite vegetal, biodiesel	Biogasolina

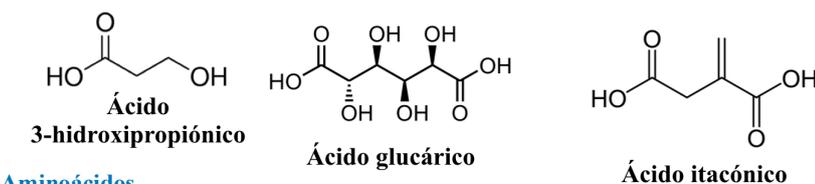
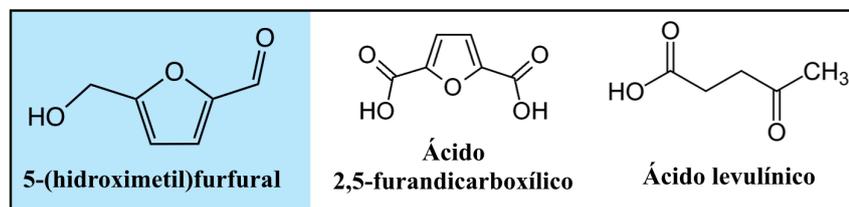
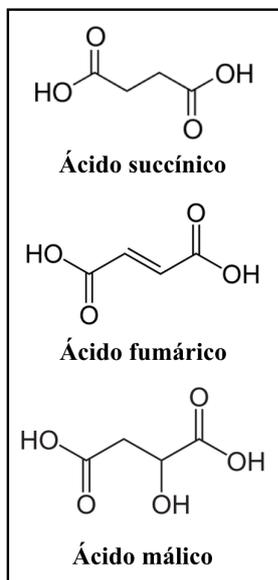
La biomasa además de ser un elemento clave para la producción de energía de forma sustentable, es potencialmente fuente de insumos para la industria química. El Departamento de Energía de los Estados Unidos elaboró un listado que identifica doce productos químicos básicos que se pueden producir a partir de azúcares a través de conversiones biológicas o químicas.²⁹ Se identificaron doce compuestos químicos o también llamados “bloques de construcción o plataformas químicas”, los cuales pueden ser subsecuentemente convertidos a una serie de productos químicos o materiales de alto valor agregado.

Las sustancias químicas consideradas en este listado son moléculas con múltiples grupos funcionales que poseen el potencial de transformarse en nuevas familias de moléculas útiles. Las plataformas químicas que provienen de azúcares son 1,4-diácidos (succínico, fumárico y málico), ácido 2,5-furandicarboxílico (FDCA, por sus siglas en inglés), ácido 3-hidroxiopropiónico, ácido aspártico, ácido glucárico, ácido glutámico, ácido itacónico, ácido levulínico (AL), 3-hidroxi-butirilactona, glicerol, sorbitol y xilitol/arabinitol (Figura 3). Se incluyó al 5-(hidroximetil)furfural (HMF) en la Figura puesto que éste, además de ser intermediario en la síntesis de FDCA y AL, se incluye en la lista extendida Top 10+4 de plataformas químicas derivadas de biomasa.²⁹

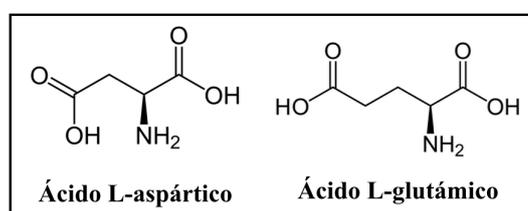
La síntesis de cada una de estas plataformas químicas y sus derivados se plantea como un camino de dos partes. La primera parte es la transformación de azúcares complejos en las denominadas plataformas químicas. La segunda parte es la conversión de las plataformas químicas a productos químicos secundarios o familias de derivados. Las transformaciones biológicas representan la mayoría de las rutas desde materias primas vegetales hasta plataformas químicas, pero la química tradicional predomina en la conversión de plataformas en derivados moleculares e intermediarios. La complejidad y el desafío que representa el uso

de materias primas vegetales como insumos para la industria son abordados en números estudios, con el fin último de lograr que esta vía de producción sea económicamente competitiva.²²

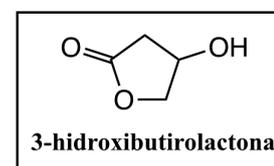
C4 1,4-diácidos



Aminoácidos



Lactona



Poliholes

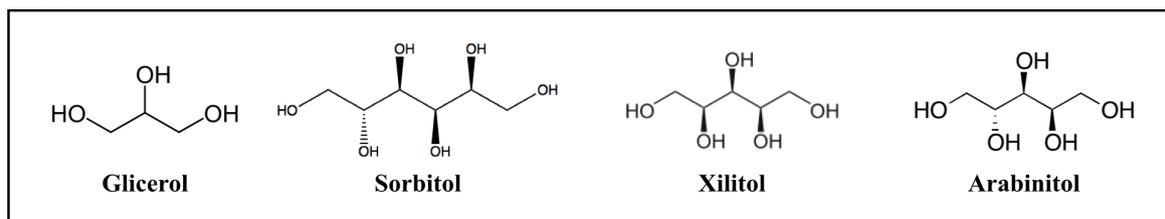


Figura 3. Plataformas químicas prometedoras listadas por el Departamento de Energía de los Estados Unidos. En esta figura se agrupan C4 1,4-diácidos, aminoácidos, polioles y derivados de 5-(hidroximetil)furfural. Además, este último compuesto se incluye en la lista extendida de compuestos derivados de biomasa.

1.3.1 HMF: una plataforma química derivada de azúcares

HMF es una plataforma química de seis carbonos (C6) que es obtenida a partir de fructosa o vía isomerización de glucosa a fructosa, así como a partir de celulosa (Figura 4). Ésta última es un homopolisacárido compuesto por unidades de D-glucopiranosas unidas por enlace glicosídico β -1 \rightarrow 4, por lo que la utilización de celulosa como material de partida requiere de un proceso hidrolítico para liberar sus unidades monoméricas. Las condiciones más comunes para llevar a cabo la despolimerización y deshidratación incluyen medios ácidos, temperatura y presión elevadas. Estas condiciones resultan en la formación de numerosos productos secundarios por reacciones sobre los monosacáridos y constituye uno de los principales desafíos para la producción de HMF.^{30,31}

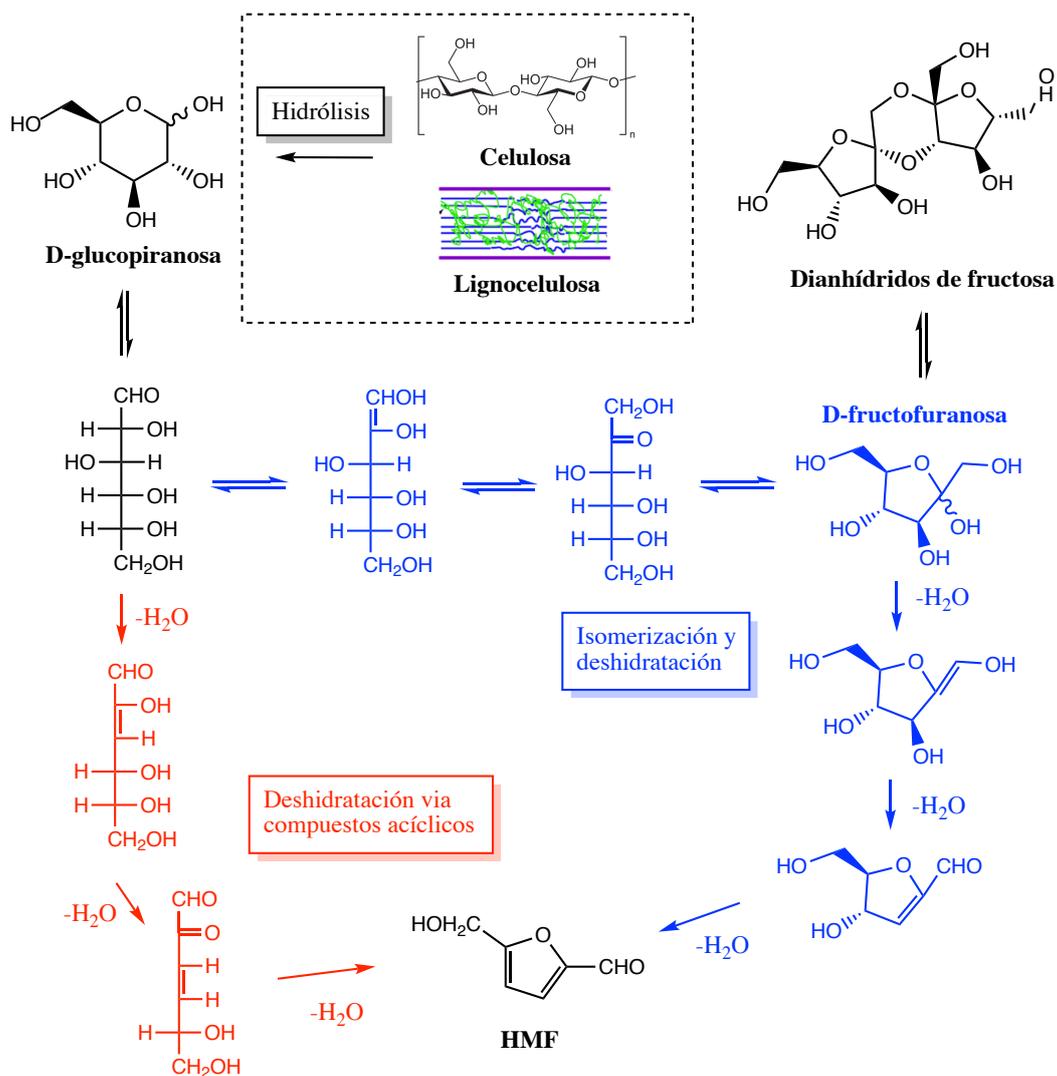


Figura 4. Obtención de HMF a partir de azúcares simples y complejos. Se esquematizan en azul y rojo dos mecanismos propuestos para la transformación de D-glucosa a HMF. La representación de la lignocelulosa es tomada de Mosier y colaboradores.³² La lignina, hemicelulosa y celulosa se muestran en púrpura, verde y azul respectivamente.

La elección del material de partida, teniendo en cuenta criterios de complejidad y reactividad, determina el rendimiento y selectividad de la producción. Comparativamente, la fructosa (cetosa) es más reactiva que la glucosa (aldosa) y esto se explica por la mayor abundancia de fructosa acíclica vs. glucosa acíclica en solución acuosa.³³ La glucosa puede formar estructuras cíclicas muy estables y la cinética de enolización en solución es más lenta que para la fructosa, que forma estructuras cíclicas menos estables. La enolización es el paso limitante para la formación de HMF y por lo tanto la fructosa reacciona más rápido que la glucosa. Además, la fructosa puede estar presente como dianhídridos de fructosa, donde sus grupos más reactivos se encuentran protegidos, explicando la menor formación de productos secundarios. Por otra parte, la glucosa formando parte de oligosacáridos con la presencia de grupos reductores libres, presenta un mayor riesgo para la polimerización cruzada entre estos e intermedios del proceso

de formación de HMF.³⁴ De los dos mecanismos propuestos en la literatura, los estudios de Antal y colaboradores mostraron que la formación de HMF a partir de glucosa ocurre por isomerización a fructosa, pasando por intermedios cíclicos.³¹

También es posible utilizar biomasa lignocelulósica para la producción de HMF. La biomasa lignocelulósica está compuesta por lignina (biopolímero complejo formado principalmente por precursores tipo fenilpropano), hemicelulosa (heteropolisacárido formado por unidades de glucosa, galactosa, manosa, xilosa y arabinosa) y celulosa.³² Algunos ejemplos de material lignocelulósico son residuos de actividades agrícolas como la pajilla de trigo, las maderas y cultivos energéticos como *Miscanthus giganteus*. La heterogeneidad en la composición de este tipo de materias primas representa un gran desafío para lograr una producción económicamente competitiva de HMF, requiriendo la optimización de procesos buscando minimizar la cantidad de productos secundarios generados y facilitar en el aislamiento del producto.³⁵ Dadas las condiciones severas comúnmente aplicadas en el tratamiento hidrotérmico de la lignocelulosa, se observa la formación de huminas como producto secundario. Las huminas son un material polimérico polidisperso y heterogéneo con abundancia de grupos furánicos. Se producen por condensaciones aldólicas y sustituciones electrofílicas sucesivas entre los productos de deshidratación de azúcares y los polímeros en crecimiento.^{36,37}

En la revisión de Rosatella y colaboradores en 2011, se recopilan experimentos donde se evalúa el uso de múltiples disolventes, sustratos de partida (incluyendo la importancia de las concentraciones iniciales), la utilización y reutilización de catalizadores.³⁸ En cuanto a los últimos, Cottier y colaboradores los clasifica en 5 grupos: ácidos orgánicos, ácidos inorgánicos, sales, ácidos de Lewis y otros (Tabla 2).³⁹ Los catalizadores utilizados con mayor frecuencia son los ácidos sulfúrico y clorhídrico por ser baratos y accesibles. Utilizando HCl como catalizador, Riisager y colaboradores reportaron una selectividad de 63% para HMF con una conversión de fructosa de 52%.⁴⁰ Experimentos utilizando H₂SO₄ permitieron una conversión completa de fructosa, con una selectividad para HMF cercana a 70%.⁴¹ El uso de sales orgánicas e inorgánicas también ha sido objeto de numerosos estudios. Fayet y Gelas en su trabajo utilizaron múltiples sales de piridinio, alcanzando rendimientos de alrededor de 70% y 5%, partiendo de fructosa y glucosa, respectivamente.⁴² En la búsqueda de lograr una producción sustentable, se han ensayado ácidos de Lewis,⁴³⁻⁴⁵ catalizadores heterogéneos con la posibilidad de ser reutilizados⁴⁶⁻⁴⁸ y ácido metanosulfónico,^{49,50} por nombrar algunos ejemplos.

Tabla 2. Clasificación de catalizadores utilizados en la producción de HMF y ejemplos de cada grupo.
Adaptado de Cottier y colaboradores.³⁹

Ácidos orgánicos	Ácidos inorgánicos	Sales	Ácidos de Lewis	Otros
Ácido oxálico	Ácido fosfórico	(NH ₄) ₂ SO ₄ /SO ₃	ZnCl ₂	Resinas de intercambio iónico
Ácido levulínico	Ácido sulfúrico	Piridina fosfato e hidrocloreuro	AlCl ₃	Zeolitas
Ácido maléico	Ácido clorhídrico	Porfirinas de V, Zr, Cr y Ti	BF ₃	
p-TsOH	Yodo o ácido yodohídrico generado in situ	Sales de Al		
		Iones Th y Zr		
		Fosfato de zirconio		
		Oxicloruro de zirconio		

Otra variable considerada en la producción de HMF es el medio de reacción. Utilizar agua como solvente es económico y va en línea con la Química Verde, pero existen tres problemas: 1) HMF es un compuesto muy hidrofílico y su extracción de medios acuosos resulta difícil; 2) su rehidratación en medio ácido conduce a la formación de ácido levulínico y ácido fórmico disminuyendo los rendimientos y 3) HMF es uno de los intermediarios clave en la formación de huminas a partir de hexosas/cetosas o materiales que las contengan sometidos a tratamiento hidrotérmico con catálisis ácida.^{37,51,52} Teniendo en cuenta estos antecedentes se desprende que para la producción de este compuesto no solo es necesario elegir las condiciones que llevan a mayores rendimientos, sino también es necesario prever métodos de aislamiento y purificación eficientes.

La producción de HMF a partir de biomasa o fructosa se ha llevado a cabo en sistemas acuosos, mezclas de agua y disolventes miscibles, disolventes orgánicos puros,^{53,54} líquidos iónicos⁵⁵⁻⁵⁸ y más recientemente sistemas bifásicos. En el caso de esta última condición, se utiliza una fase acuosa que es el medio de reacción y una fase orgánica para extraer el HMF, evitando así una disminución en su degradación. Roman-Leshkov y Dumesic en su trabajo probaron múltiples sistemas bifásicos para la deshidratación de fructosa a HMF.⁵¹ Sus experimentos demuestran que el uso de medios acuosos saturados en sales como NaCl, aumenta significativamente el reparto de HMF hacia la fase orgánica y al mismo tiempo permite crear sistemas bifásicos usando disolventes miscibles con agua, como sería el caso del THF, disolvente con el cual logran los mejores resultados.

Además del rol protector de la fase extractiva, en el caso de THF se ha demostrado mediante simulaciones de dinámica molecular que su presencia facilita el fraccionamiento de biomasa

lignocelulósica por solubilización de fibras de celulosa e impidiendo la agregación de lignina sobre las primeras.⁵⁹⁻⁶¹ Complementario a los desarrollos realizados en materia de producción de HMF, sus áreas de aplicación incluyen la síntesis de productos de interés farmacéutico, combustibles, disolventes, entre otros.⁶² En la Figura 5 se muestran algunos de los derivados de HMF que presentan aplicación en las áreas anteriormente mencionadas.

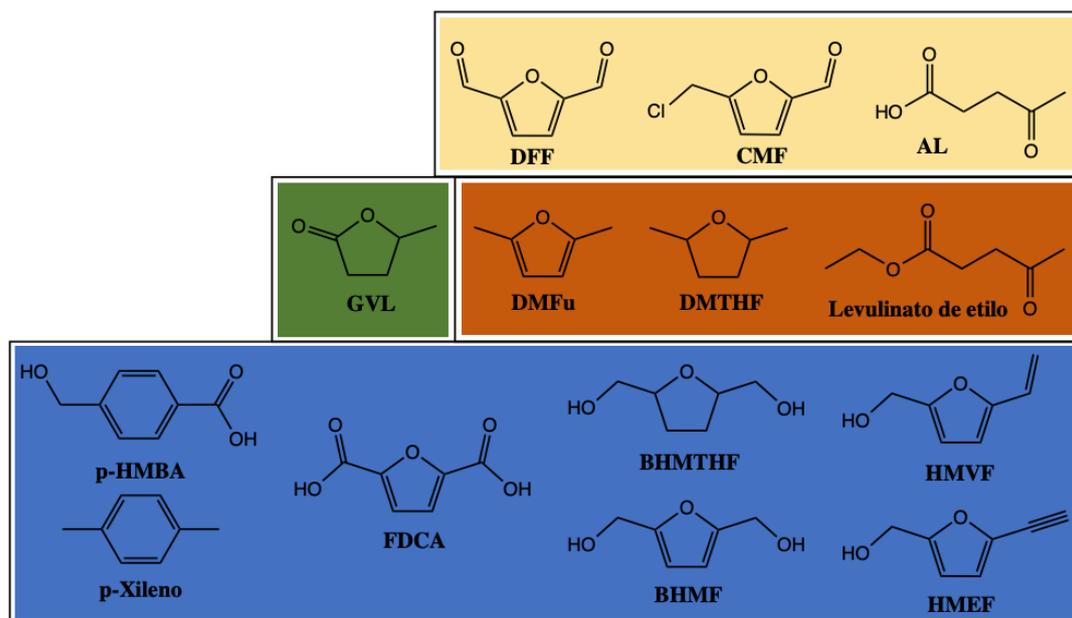


Figura 5. Derivados de HMF. Se utilizan distintos colores de fondo para distinguir las áreas de aplicación, donde un fondo azul, verde, anaranjado y amarillo corresponden a precursores para polímeros, disolvente, aditivos para combustibles y plataformas químicas respectivamente.

El área de mayor impulso en relación a la transformación química de HMF se relaciona con el desarrollo de precursores hacia la producción de polímeros, donde una de las propuestas es buscar rutas alternativas para la obtención de monómeros convencionales. Como ejemplo de esta estrategia, se destacan reacciones de cicloadición [4+2] sobre compuestos furánicos obtenidos a partir de HMF, permitiendo acceder a compuestos como *p*-xileno y ácido *p*-hidroximetilbenzoico, los cuales podrían constituir una vía renovable hacia la producción de ftalatos y tereftalato de polietileno (PET por sus siglas en inglés).^{63,64} Por otro lado, gran parte de los desarrollos químicos mediante esta estrategia apuntan a la producción de polímeros con propiedades similares o superiores a aquellos producidos mediante vías convencionales, incorporando nuevos precursores que puedan ser obtenidos a partir de materia prima renovable. El ácido 2,5-furandicarboxílico (FDCA, Figura 5) puede ser empleado en la producción de poliésteres, ya que como diácido es un posible reemplazo para el ácido *p*-tereftálico, monómero utilizado para la obtención de poliésteres derivados del petróleo (siendo PET uno de los más

comunes).⁶⁵ El polietilenfuranoato, cuyos precursores son el FDCA y etilenglicol, se utiliza actualmente en impresión 3D.⁶⁶ Por su parte, 2,5-bis(hidroximetil)furano (BHMF, Figura 5) se plantea como posible sustituto de *m/p*-dihidroximetilbenceno en la producción de poliuretanos, poliésteres o resinas epoxi.⁶⁷ El producto de hidrogenación de este último, 2,5-bis(hidroximetil)tetrahidrofurano (BHMTHF, Figura 5), también ha demostrado ser un potencial precursor en la producción de poliésteres.⁶⁸ Por último, se incluyó a 5-(hidroximetil)-2-vinilfurano y 5-(hidroximetil)-5-etinilfurano (HMFV y HMEF, Figura 5) ya que estos compuestos pueden ser incorporados a poliolefinas y poliacetilenos.^{69,70}

Otra área muy explorada en relación con la industria química es la obtención de combustibles o aditivos derivados de materia prima renovable. Para dar ejemplos de este grupo, se puede nombrar a 2,5-dimetiltetrahidrofurano (DMTHF), 2,5-dimetilfurano (DMFu), y levulinato de etilo (Figura 5), los cuales han demostrado potencial como aditivos oxigenados para combustibles superiores al etanol.^{71,72} La γ -valerolactona (GVL, Figura 5) es un éster cíclico que posee características que lo posicionan como un disolvente verde, ya que posee un bajo punto de fusión (-31 °C), un alto punto de ebullición (207 °C), una temperatura de autoignición moderada-alta (96 °C), posee un suave olor que permite detectar pérdidas, es de baja toxicidad, y su alta solubilidad en agua favorece su biodegradación.⁷³ Además, es estable tanto a temperatura ambiente como a temperaturas elevadas en ausencia de humedad y únicamente muestra descomposición térmica en presencia de catalizadores.⁷⁴

Por otra parte, el 5-(clorometil)furfural (CMF, Figura 5) se caracteriza por ser una plataforma equivalente a HMF con la principal ventaja de que posee una mejor estabilidad en medios ácidos, es más fácilmente extraíble de medios acuosos y por tanto se obtiene con mejores rendimientos.⁷⁵ Desde el punto de vista de la sustentabilidad, tiene la desventaja de que generalmente se utilizan disolventes halogenados para su extracción, pero el uso de otros disolventes ha sido explorado.^{76,77} El ácido levulínico (AL, Figura 5) es producto de rehidratación de HMF y el principal producto en ausencia de fases extractivas.⁷⁸ Como se mencionó al principio de esta sección, AL forma parte de la lista de las 12 plataformas químicas más prometedoras elaborada por la NREL.²⁹ Sus aplicaciones son muy variadas, por citar algunas se incluye la síntesis de productos bioactivos, polímeros, aditivos para combustibles, saborizantes, entre otros.^{79,80} El 2,5-diformilfurano (DFF, Figura 5) es un dialdehído simétrico fácilmente derivatizable que permite el acceso a compuestos como furfurilaminas,⁸¹ dicianofurano,⁸² dietinilfurano,⁷⁰ diácidos α - β insaturados,⁸³ entre otros.

1.4 Ácidos grasos de furano (AGF)

Los AGF son ácidos grasos que se caracterizan por presentar en posición α del anillo de furano una cadena de ácido graso no ramificado de 9, 11 o 13 átomos de carbono y en la otra posición α un grupo alquilo de cadena lineal, generalmente de 3 o 5 átomos de carbono. En cuanto a los patrones de sustitución en las posiciones β del furano, puede encontrarse disustituidas, con dos grupos metilos, o monosustituida con un grupo metilo adyacente a la porción ácida de la molécula (Tabla 3).⁸⁴ Suelen nombrarse como F_n , siendo n un número que incrementa según su orden de elución en cromatografía gaseosa de sus correspondientes ésteres metílicos. El AGF más abundante en la naturaleza (F_6) se encuentra disustituido en β , mientras que en las posiciones α presenta un grupo pentilo y una cadena lineal de 11 átomos de carbono en la porción ácida. El esqueleto carbonado es sintetizado de unidades de acetato y los metilos en posición β tienen origen en el aminoácido metionina.^{85,86} El precursor determina el largo de la cadena alifática siendo de 3 o 5 átomos de carbono partiendo de ácido 9,12-hexadecadienoico y ácido linoleico respectivamente.⁸⁷

El primer reporte de AGF data de 1966, detectándose como componentes minoritarios en aceites obtenidos de semillas de la familia de las Santaláceas (Santalaceae).⁸⁸ Los AGF se incorporan a nuestra dieta principalmente a través de alimentos de origen marino: algas, peces y derivados.⁹⁰ La producción de este tipo de compuestos es exclusiva del reino vegetal. Los peces adquieren AGF a través de su dieta y su acumulación depende de la especie, el sexo y puede ser órgano-específica. Estudios de radio-marcaje demostraron que los AGF pueden sufrir β -oxidación parcial, elongación, reducción a los correspondientes alcoholes de furano, sin embargo, los mismos estudios descartan la síntesis *de novo* en estos animales.⁹¹ Buscando entender el metabolismo de AGFs en mamíferos, un grupo de científicos diseñó un experimento donde se alimentaron ratas con un precursor C19, análogo del ácido linoleico, y luego buscaron evidencias de su incorporación en los AGFs. Sin embargo, no se encontraron éstas evidencias sugiriendo que las ratas no cuentan con la maquinaria biosintética para producir AGFs.⁹² Contrario al lento metabolismo de AGFs en peces, el catabolismo de los mismos en ratas es más rápido y empieza por β -oxidación hasta 3 átomos de distancia del anillo furánico y el resto puede eliminarse como tal o como conjugados.⁹³ Los metabolitos (ácidos urofuránicos) son eliminados a través de la orina y son similares a ácidos urofuránicos humanos.

Tabla 3. Principales AGF de origen natural. Adaptado de Spiteller⁹⁰

<i>Compuesto</i>	<i>m</i>	<i>n</i>	<i>R</i>
F ₁	2	8	CH ₃
F ₂	4	8	H
F ₃	4	8	CH ₃
F ₄	2	10	CH ₃
F ₅	4	10	H
F ₆	4	10	CH ₃
F ₇	4	12	H
F ₈	4	12	CH ₃

En 2011, Wakimoto y colaboradores desarrollaron un protocolo de semisíntesis de F₆ y llevaron a cabo estudios de actividad antiinflamatoria en modelos de artritis inducida por adyuvante en ratas Wistar.⁹⁴ Sus resultados mostraron que los AGF eran uno de los responsables de la actividad antiinflamatoria atribuida a los extractos de *Perna canaliculus*, presentando una capacidad comparable a la del fármaco naproxeno (Figura 6).⁹⁴ La actividad antiinflamatoria de estos extractos ha sido comprobada tanto en animales como humanos y se plantea como alternativa a antiinflamatorios no esteroideos puesto que no presenta efectos secundarios de ningún tipo.⁹⁵ Los mecanismos de acción de AGF en los sistemas biológicos no se han elucidado completamente, uno de los planteos es que estos tienen un rol importante como “scavengers” de radicales libres.^{90,96} Además, tanto el extracto comercial como los AGFs purificados han demostrado una fuerte inhibición hacia distintas isoformas de las COX y se propone que estos podrían intervenir en el metabolismo del ácido araquidónico.⁹⁷

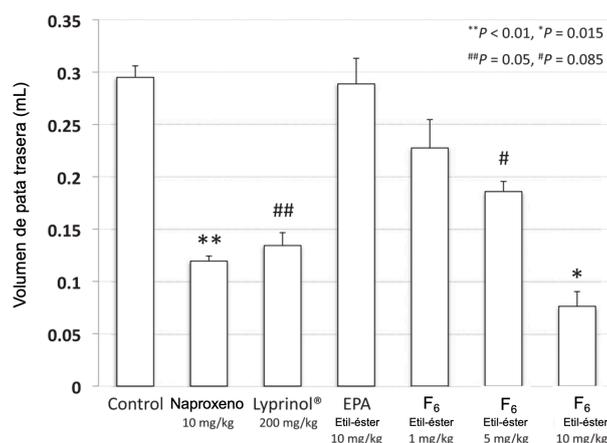
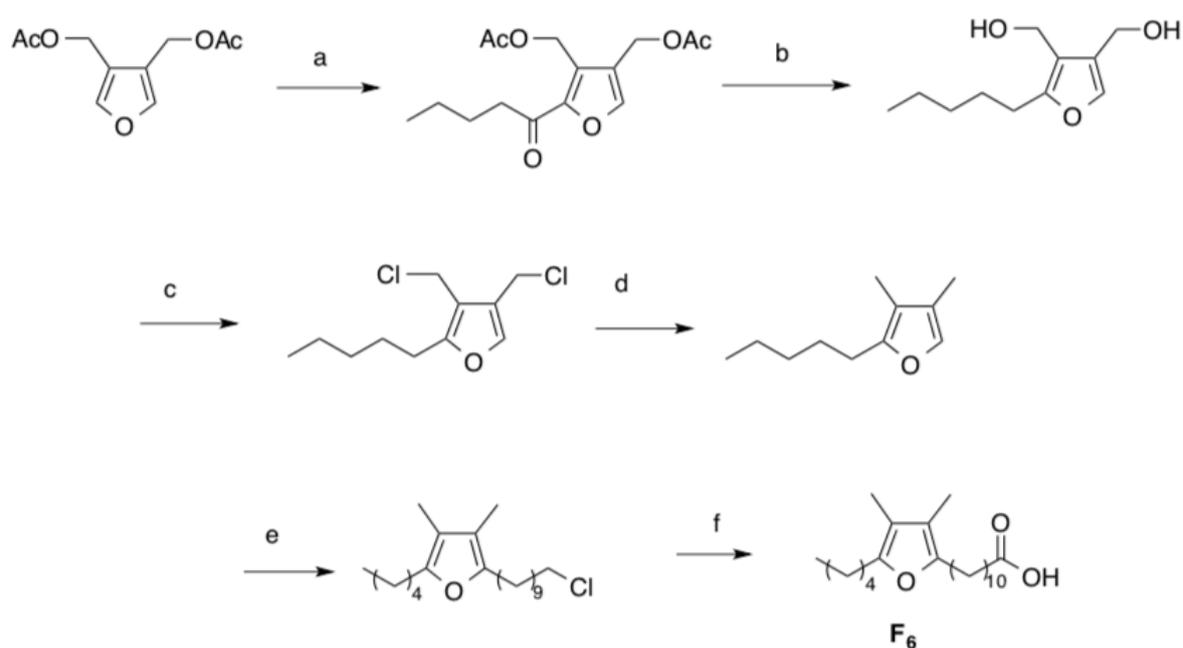


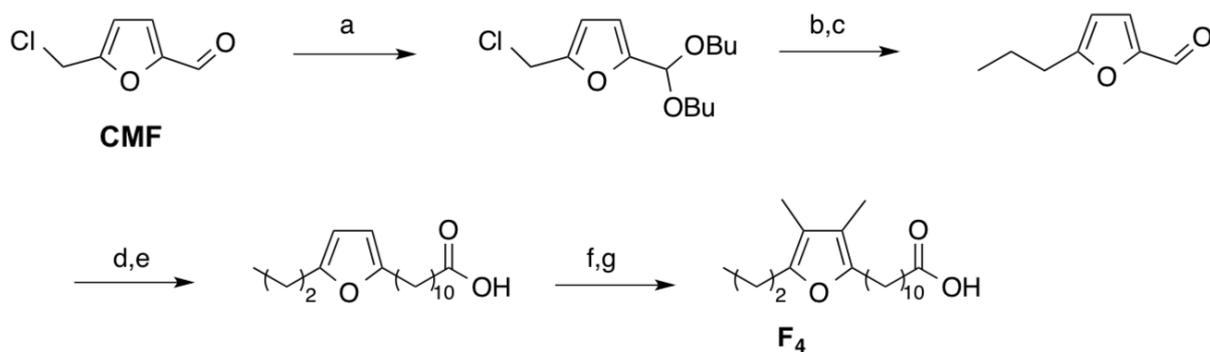
Figura 6. Estudios de actividad antiinflamatoria en modelo de artritis inducida en ratas Wistar. Naproxeno es un antiinflamatorio no esteroideo disponible comercialmente. Lyprinol[®] es el extracto comercial de *Perna canaliculus*. Los ácidos grasos fueron ensayados como ésteres etílicos fueron: EPA (ácido eicosapentanoico) y F₆ (Tabla 3). Tomado de Wakimoto y colaboradores.

El bajo contenido en AGF de las diversas fuentes naturales que los contienen, la dificultad para su aislamiento y su potencial farmacológico llevaron a la exploración de múltiples rutas sintéticas para la obtención de AGF. Schlenk y colaboradores fueron los primeros en llevar a cabo la síntesis de F₆ y F₅. La síntesis era sistemática e involucraba partir de un compuesto que permita tener el correcto patrón de sustitución en β, la generación de un intermediario alquilfurano y por último la introducción de la cadena lateral ácida (esquema de síntesis de F₆ en Esquema 1).⁹⁸ Los rendimientos globales obtenidos para ambos casos eran menores a 10%.



Esquema 1. Reactivos: a. $[\text{CH}_3\text{CO}]_2\text{O}$, BF_3 , benceno, T.A., 5h; b. N_2H_4 , KOH , $(\text{CH}_2\text{OH})_2$, 190 °C, 4h (60%, 2 pasos); c. COCl_2 , tolueno, T.A., 4h; d. LiAlH_4 , éter etílico, reflujo, 1.5h (76%, 2 pasos); e. N-BuLi , THF, 0 °C; 1-cloro-10-iododecano, éter etílico, T.A., 5h (58%); f. Li , CO_2 , MeOH, éter etílico, 0 °C, 2h (32%).

Si bien se han desarrollado múltiples rutas para la síntesis de AGFs naturales,⁹⁹⁻¹⁰³ se destaca la ruta sintética propuesta en 2015 por Mascal y colaboradores, donde partieron de 5-(clorometil)furfural (CMF) para la obtención de F₄ en un total de 7 pasos de reacción con un rendimiento global del 60%.¹⁰⁴ La adición de la cadena alifática se realiza mediante una reacción de Grignard, la cadena lateral ácida mediante una reacción de Wittig con posterior hidrogenación y por último se incorporan metilos en las posiciones β (Esquema 2). Cabe destacar que CMF es también una plataforma química derivada de biomasa.¹⁰⁵



Esquema 2. Reactivos: a. BuOH, HCl (cat), 99%; b. EtMgCl, Ni(acac)₂, DAE, THF, -30 °C; c. HCl/H₂O, (83%, 2 pasos); d. Yoduro de (9-carboxinonil)trifenilfosfonio, LiHMDS, THF/DMSO; e. H₂, Pd/C, THF, (92%, 2 pasos); f. Paraformaldehído, HBr, AcOH; g. H₂, Pd/C, THF/H₂O, (80%, 2 pasos).

1.5 Inflamasoma como blanco terapéutico en enfermedades crónicas no transmisibles

Las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNTs) son la principal causa de mortalidad en el mundo, equivalente al 71% del total de defunciones registradas por año.¹⁰⁶ Las principales ECNTs son las enfermedades cardiovasculares, cánceres, enfermedades respiratorias crónicas y diabetes. Las personas que padecen estas enfermedades presentan lo que se conoce como inflamación crónica de bajo ruido, la cual se manifiesta en ausencia de lesiones, y se asocia con la activación de vías de señalización celular mediadas por NF-κB y el inflamasoma NLRP3.^{107–112}

El inflamasoma NLRP3 es un complejo multiproteico citosólico que se activa en respuesta a señales de peligro y promueve la activación de la caspasa-1, enzima que interviene en maduración proteolítica de precursores de citoquinas proinflamatorias como IL-1β e IL-18.¹¹³ Una de las hipótesis mecanísticas referente a la activación del inflamasoma NLRP3 incluye dos eventos de señalización que desencadenan la respuesta inflamatoria.¹¹⁴ La primera señal consiste en la autofosforilación de receptores tipo Toll (TLRs) frente a la presencia de señales de peligro, la subsecuente activación del factor de NF-κB por fosforilación de su inhibidor y su translocación al núcleo, donde induce la transcripción de genes de NLRP3 y el precursor de IL-1β.¹¹⁵ La segunda señal, necesaria para el ensamblaje y activación del inflamasoma NLRP3, se da por compuestos asociados al daño celular, como pueden ser la presencia de ATP extracelular, cristales de urato monosódico o el hialuronano, entre otros.^{116–118}

Se ha determinado que una respuesta inflamatoria crónica promueve la nitración olefínica de ácidos grasos poliinsaturados llevando a la formación de nitroalquenos.^{119,120} Estas moléculas desencadenan respuestas inflamatorias pleiotrópicas a través de la modificación post-traduccional de proteínas claves para la regulación del metabolismo y la inflamación.¹²¹

Los nitroalquenos son activadores del receptor gamma activado para la proliferación de peroxisomas (PPAR- γ), la respuesta a shock térmico (HSR), el factor nuclear 2 relacionado al factor eritroide 2 junto con la proteína asociada a Kelch ECH (Nrf2-Keap1) en tanto inhiben respuestas proinflamatorias reguladas por el factor de transcripción NF- κ B.^{119,122-126} Si bien los nitroalquenos derivados de ácidos grasos naturales poseen actividad inmunomoduladora y han sido exitosos para el tratamiento de la aterosclerosis, hipertensión pulmonar y diabetes,¹²⁷⁻¹³² su uso como agentes terapéuticos es limitado por desventajas metabólicas y la inactivación por β -oxidación, hidrogenación de enlaces olefínicos o conjugación con tioles endógenos para detoxificación.¹³³

Existen reportes de nitroalquenos sintéticos que presentan actividad antiinflamatoria (Figura 7). Estudios realizados con el compuesto MNS sugieren que los dominios tipo NOD y ricos en leucina del inflamasoma NLRP3 son los blancos intracelulares de este compuesto y que el grupo nitroalqueno es esencial para su actividad inhibitoria.¹³⁴ NATxME y NATOH son compuestos electrofílicos análogos del α -tocoferol (componente de la vitamina E) que incorporan la funcionalidad nitroalquenilo conjugada al anillo cromano. La evaluación en un modelo de macrófagos murinos, de NATxME demostró que éste era capaz de inhibir la secreción de citoquinas proinflamatorias (MCP-1, IL-6 y TNF- α) frente a una estimulación por LPS.¹³⁵ Es sabido que la secreción de estas citoquinas es característica de la respuesta mediada por NF- κ B y por tanto, críticas para la iniciación del proceso inflamatorio. En el mismo trabajo se observó que NATxME también es capaz de activar la transcripción de genes regulados por Nrf2, promoviendo la síntesis de enzimas antioxidantes y detoxificantes que limitan la inflamación y el daño causado por la liberación de especies reactivas del oxígeno. Por su parte, NATOH fue sometido a ensayos *in vivo* en ratones knock-out ApoE y su administración oral mostró una disminución en la expresión de marcadores proinflamatorios de regulados por NF- κ B y se considera que podría ser eficiente para el tratamiento y/o prevención de la aterosclerosis.¹³⁶

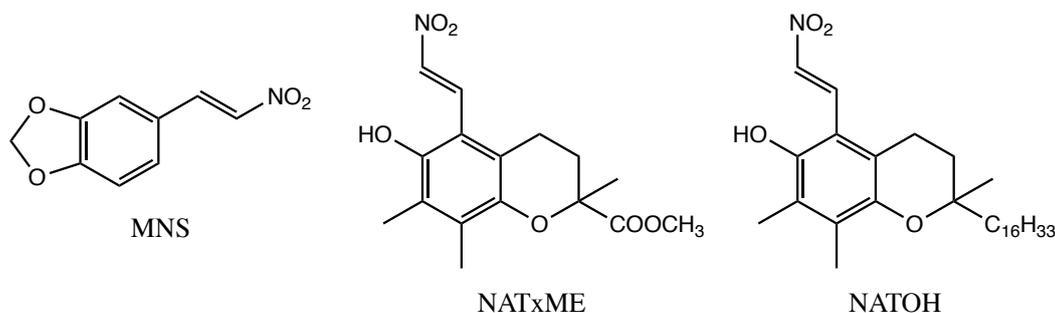


Figura 7. Nitroalquenos con actividad antiinflamatoria.

Uno de los objetivos de nuestro grupo de investigación es el desarrollo de moléculas que incorporen la funcionalidad nitroalqueno y puedan ejercer una actividad inmunomoduladora. En base a los antecedentes presentados, se plantea a partir de la plataforma química HMF la generación de derivados de AGF, híbridos AGF-nitroalqueno y nitroalquenilfuranos simples.

Capítulo 2

Hipótesis, objetivos y estrategias de investigación

2. Hipótesis, objetivos y estrategias de investigación

Como hipótesis de investigación en primer lugar nos planteamos la factibilidad de optimizar condiciones de obtención de la molécula plataforma 5-hidroximetilfurfural (HMF), a partir de cáscara de arroz como biomasa. Como segundo punto planteamos la posibilidad de generar potenciales agentes antiinflamatorios a partir de HMF, mediante el diseño y modulación de su reactividad química. En este contexto, buscamos responder a la posibilidad de generar moléculas bioactivas de forma eficiente y económicamente rentable a partir de una materia prima renovable como la biomasa.

2.1 Objetivo General

En base a lo expuesto anteriormente, nos propusimos como objetivo general de la presente tesis sintetizar i) derivados de ácido grasos de furano; y ii) nitroalquenilfuranos; considerando principios de química verde a partir de la molécula plataforma HMF obtenida de biomasa; así como estudios iniciales del potencial antiinflamatorio para los derivados desarrollados.

Con la presente propuesta pretendemos estudiar y optimizar procedimientos que nos permitan obtener moléculas de alto valor agregado, potenciales agentes antiinflamatorios, a partir de una plataforma química derivada de biomasa, utilizando reactivos simples y de fácil acceso, con buenos rendimientos y mediante el uso de reactivos y condiciones ambientalmente amigables.

Para llevar adelante el cumplimiento del objetivo general nos planteamos los siguientes objetivos específicos:

2.2 Objetivos específicos

2.2.1. Estudiar condiciones que permitan optimizar la obtención y aislamiento de HMF a partir de cáscara de arroz como biomasa.

2.2.2. A partir de HMF diseñar una ruta sintética adecuada para la obtención de derivados de ácidos grasos de furano (AGF) considerando principios de química verde.

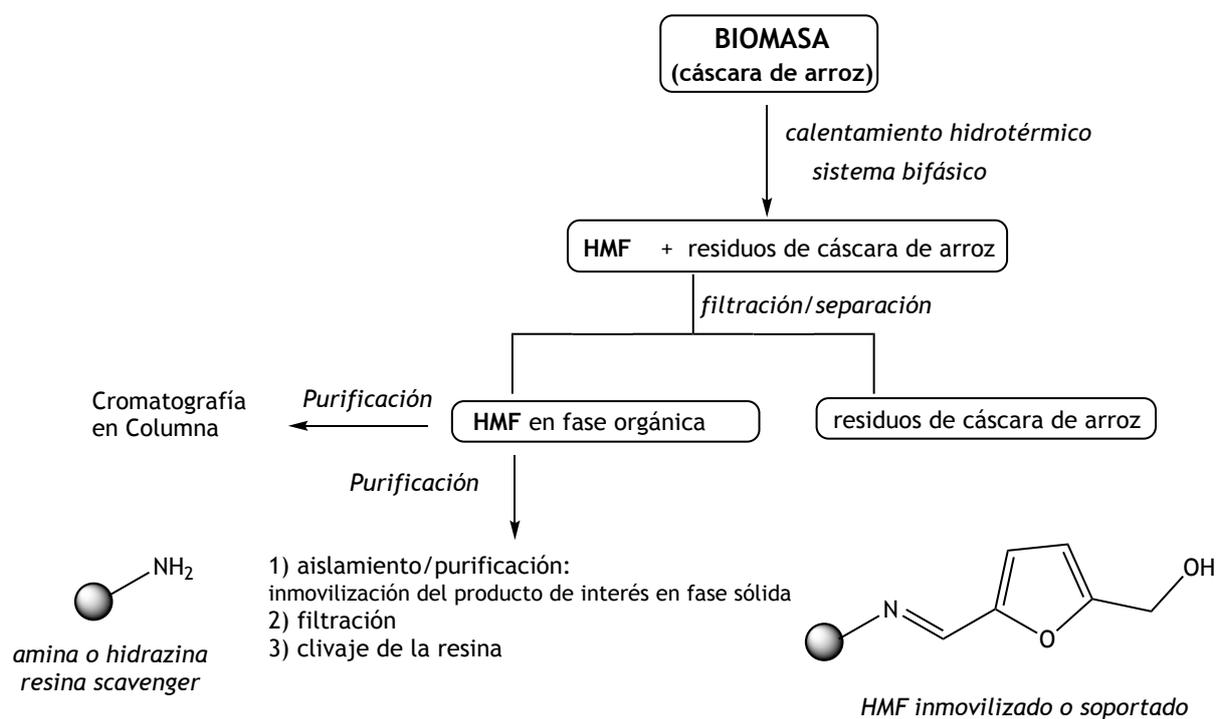
2.2.3. A partir de HMF sintetizar derivados de nitroalquenilfuranos considerando principios de química verde.

2.2.4. Estudiar el potencial antiinflamatorio *in vitro* de productos obtenidos ((i) AGF y análogos; (ii) nitroalquenilfuranos), analizando su efecto sobre la activación del inflamasoma NRLP3 en un sistema celular.

2.3 Estrategias propuestas para el desarrollo del trabajo

2.3.1 Obtención de HMF a partir de cáscara de arroz como biomasa

Considerando que el Uruguay, debido a sus características climáticas y geográficas puede desarrollar la producción de arroz como una de las actividades primordiales de su sistema de producción agroindustrial, resulta de interés investigar la posibilidad aprovechar todos los productos generados por esta industria¹³⁷⁻¹³⁹. Según datos de la producción arrocería correspondiente a la zafra 2010-2011, donde se produjo un total de 1.657.500 toneladas de arroz con cáscara y 331.500 toneladas de cáscara de arroz, el volumen de cáscara de arroz residual que se genera anualmente es cercano al 20 % de la producción de arroz.

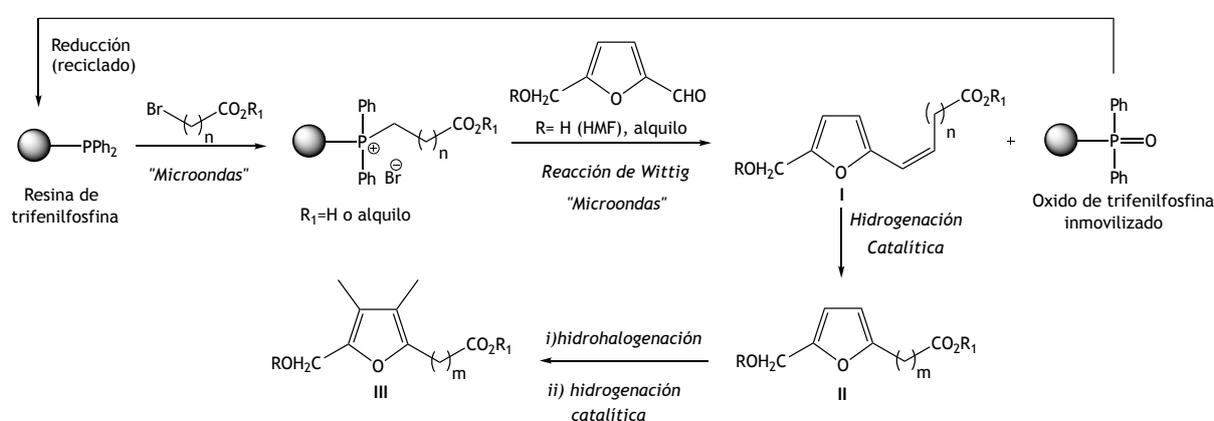


Esquema 3. Estrategia de aislamiento y purificación de moléculas plataforma derivadas de biomasa

En el Esquema 3 se representa la estrategia propuesta para la producción y el aislamiento de HMF partiendo de cáscara de arroz. En el mismo, la biomasa se somete a un tratamiento hidrotérmico en sistemas bifásicos en presencia de ácidos como catalizadores. Esta etapa requiere de una optimización a microescala de los parámetros como la carga de biomasa, catalizador ácido, la temperatura y tiempo de exposición. Una vez encontradas las condiciones óptimas para la producción del analito deseado, se lleva a cabo el aislamiento de los productos mediante cromatografía en columna o mediante la utilización de resinas “scavenger” que inmovilizan compuestos carbonílicos a través de uniones covalentes tipo imino. La liberación de estos compuestos se da mediante catálisis ácida.

2.3.2 Síntesis de derivados de ácidos grasos de furano (AGF)

En el Esquema 4 se representa la ruta sintética propuesta para la obtención de AGF. A partir de HMF o productos de *O*-alquilación de éste^{69,140} y ácido bromodecanoico mediante reacción de Wittig en fase sólida se obtiene el intermedio olefínico I.¹⁴¹ Teniendo en cuenta la experiencia de nuestro grupo tanto en la síntesis de sales de fosonio en fase sólida generadas de forma altamente eficiente bajo calentamiento de microondas,^{142,143} como en la reacción de Wittig en fase sólida,¹⁴¹ es que se propuso inicialmente la reacción sobre el derivado comercial ácido 10-bromodecanoico,¹⁴⁴ con posterior posibilidad de reciclar la resina de trifenilfosfina luego de la reacción de Wittig.



Esquema 4. Estrategia sintética propuesta para la obtención de derivados de AGF.

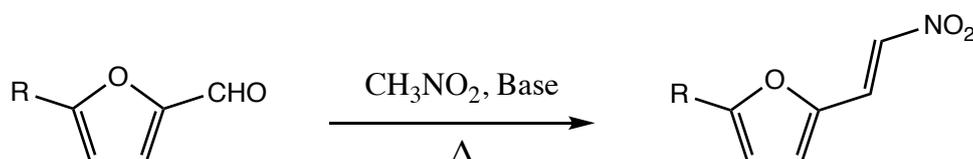
Las olefinas **I** generadas se reducirían mediante una reacción de hidrogenación catalítica en condiciones suaves, de manera de no hidrogenar el anillo de furano.^{145,146} Para esto podría utilizarse H₂ (1 atm)¹⁰⁴ o un sistema generador del mismo *in situ*, como el sistema ácido fórmico /formiato de amonio, el cual ha demostrado ser altamente eficiente para este tipo de reacciones.¹⁴⁷ El ácido fórmico en presencia de Pd/C, se descompone en H₂ y CO₂, actuando en hidrogenaciones de transferencia catalítica, donde una molécula de ácido fórmico puede ser vista como equivalente a una molécula de hidrógeno. Por lo tanto, este podría considerarse un sistema de hidrogenación más amigable y verde comparado con el sistema tradicional a escala de laboratorio.¹⁴⁸

Así, mediante reacción de hidrogenación se obtendrían los derivados de AGF **II**, los cuales presentarían un largo de cadena carbonada en la posición 2 similar al derivado natural **F₆** (Tabla 3), el cual demostró excelentes propiedades antiinflamatorias.⁹⁴ Dado que este derivado natural de AGF presenta sustituidas las posiciones 3 y 4 del anillo furano con grupos metilo, nos planteamos obtener análogos metilados en esas posiciones. Así, mediante un primer paso de

reacción de hidrohaleogación sobre los derivados **II** en presencia de ácido fórmico y posterior reacción de hidrogenación catalítica, condiciones que pueden ser ensayadas en un solo paso, se obtendrían los análogos **III** de AGF.

2.3.3 Síntesis de derivados de nitroalquenilfuranos

Para la síntesis de compuestos con funcionalidad nitroalquenilfuranos se plantea la condensación nitroaldólica de 2-furaldehídos y nitrometano (Esquema 5). Esta reacción permite acceder de manera simple, rápida y eficiente a un conjunto de nitroalquenos simples para la evaluación de su actividad antiinflamatoria y complementar posteriores estudios de relación estructura actividad.¹⁴⁹ Como derivados protegidos se propuso utilizar productos de *O*-alquilación o el derivado *t*-butoxicarbonilo de HMF.¹⁵⁰



Esquema 5. Síntesis de nitroalquenilfuranos a partir de furaldehídos. $R=H$, CH_2OH o CH_2OG (siendo G un grupo protector).

2.3.4 Potencial antiinflamatorio *in vitro*

Los ensayos de activación *in vitro* del inflamasoma NLRP3 se llevan a cabo utilizando células THP-1 (ATCC[®], TIB-202[™], Manassas, VA). Se plantea evaluar la capacidad de los compuestos para inhibir la secreción de IL-1 β frente al estímulo con LPS (primera señal) y ATP (segunda señal); esto implica llevar a cabo experimentos independientes donde la exposición de células a los compuestos ocurre durante una de las dos señales. Finalizados los experimentos se mide la secreción de IL-1 β mediante un kit de ELISA (Human IL-1 β /IL-1F2 Quantikine HS ELISA Kit, B&D) y la viabilidad celular por MTT.

Capítulo 3

Resultados y discusión

3. Resultados y discusión

3.1 Obtención de HMF a partir de cáscara de arroz y D-fructosa

Como primera aproximación a los sistemas de producción de HMF a partir de materia prima renovable se decidió realizar pruebas de concepto partiendo de D-fructosa. Como se mencionó en la sección 1.3.1., la deshidratación de hexosas a HMF requiere de la isomerización de los correspondientes azúcares a D-fructofuranosa, siendo este el intermedio clave para la reacción.^{151,152} Basándonos en los sistemas bifásicos orgánico/acuoso presentados por Roman-Leshkov y colaboradores,⁵¹ verificamos que las herramientas y metodologías disponibles en nuestro laboratorio eran las adecuadas tanto para el proceso de producción de HMF como su posterior purificación, utilizando el modelo disponible más simple. Esta etapa exploratoria permitió obtener cantidades significativas de HMF (**1**) que fueron posteriormente empleadas en las etapas posteriores de síntesis.

En la Figura 8 se esquematizan las reacciones básicas observadas para la D-fructofuranosa en un medio acuoso ácido bajo calentamiento no pirolítico. En ausencia de una fase extractiva y con un tiempo de exposición lo suficientemente prolongado, los productos mayoritarios esperables son AL (**2**) y AF. La presencia de una fase extractiva permite captar el HMF a medida que este se produce y por tanto es ideal cuando HMF es el producto de interés. Como en todo proceso extractivo, existe un reparto entre fases y la fracción remanente de HMF en la fase acuosa es capaz de seguir reaccionando. Teniendo en cuenta las consideraciones expuestas en 1.3, se optó por utilizar THF como disolvente en las pruebas con sistemas bifásicos.

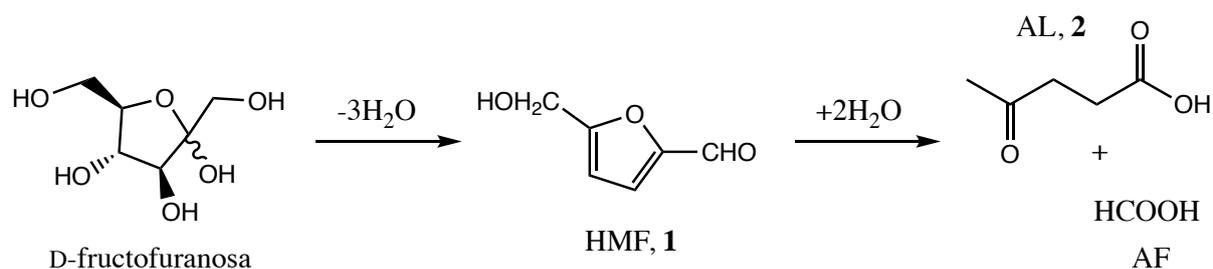


Figura 8. Esquema general para la transformación de D-fructosa a HMF o en su defecto ácido levulínico y ácido fórmico.

Adicionalmente, se probó la síntesis directa de 5-(etoximetil)furfural partiendo de D-fructosa teniendo en cuenta las condiciones optimizadas reportadas en el trabajo de Morales y colaboradores (Figura 9).¹⁵³ La síntesis de **3** se llevó a cabo principalmente para contar con un

derivado éter de HMF a ser utilizado como material de partida alternativo. En las condiciones de reacción siempre se observa la formación de levulinato de etilo como producto secundario.

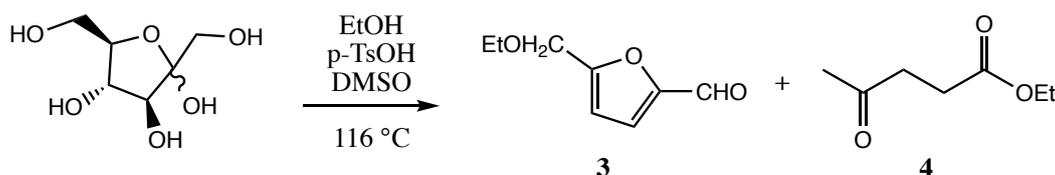


Figura 9. Síntesis de 5-(etoximetil)furfural y levulinato de etilo a partir de D-fructosa.

Los experimentos propuestos fueron estudiados bajo irradiación de microondas como fuente eficiente de calentamiento (reactor multimodo), ajustando temperatura, potencia de irradiación y tiempo de exposición, puesto que las condiciones experimentales reportadas utilizan fuentes de calentamiento convencionales por largos tiempos. En la Tabla 4 se muestran los rendimientos obtenidos para los productos purificados. En la Figura 10 se muestran los espectros de ^1H -RMN del producto aislado en las reacciones de las entradas 1-4 con sus asignaciones correspondientes.

Tabla 4. Resultados obtenidos para la producción de HMF y EMF 3 adaptando técnicas previamente reportadas a la producción en un reactor de microondas. Se incluyen los rendimientos de AL y LE 4 como principal producto secundario obtenido en cada reacción. ND: No determinado.

Entrada	Productos	Condiciones	Tiempo (min)	Rendimiento* (%)				
				1	2	3	4	
1	HMF (1) y AL (2)	D-Fructosa (7 mmol). $\text{HCl}_{(\text{ac})}$ pH 0.6/THF 1:3.3 ($V_f = 13$ mL). 160 °C (600 W)	5	44	13	-	-	
2			32	10	-	-		
3			6	8	-	-		
4	EMF (3) y LE (4)	D-Fructosa (7 mmol). $\text{HCl}_{(\text{ac})}$ pH 0.6/THF 1:3.3 ($V_f = 13$ mL). 140 °C (400 W)	5	51	11	-	-	
5			D-Fructosa (14 mmol). $\text{HCl}_{(\text{ac})}$ pH 0.6/THF 1:3.3 ($V_f = 25$ mL), ditionito de sodio (3 mol%). 140 °C (400 W)	5	31	ND	-	-
6				60	-	-	9	1
7				120	-	-	54	14
8	D-Fructosa (2.2 mmol), p-TsOH 13.5 mol%, DMSO 8.3% (v/v) y EtOH_{abs} ($V_f = 11.1$ mL). 116 °C (200 W)	180	-	-	43	33		
9		240	-	-	50	25		

*Para los compuestos 3 y 4 el rendimiento se calcula a partir de la mezcla.

Comparando las entradas 1-3 para la obtención de HMF (Tabla 4), donde la única variable es el tiempo de exposición, se notó la disminución en los rendimientos conforme aumentaba la severidad del tratamiento. En base a esos resultados, se decidió repetir el experimento reduciendo la temperatura y potencia de irradiación (Tabla 4, entrada 4); bajo estas condiciones

se observó una mejora respecto a las condiciones anteriores. Por último y con el objetivo de producir HMF en mayor cantidad, se hicieron dos lotes en paralelo donde se duplicó la cantidad de fructosa utilizada y se agregó ditionito de sodio para evitar la descomposición de HMF (Tabla 4, entrada 5);¹⁵⁴ al finalizar, se juntaron las mezclas de reacción y se procesaron como una única reacción. En este caso, la disminución en el rendimiento de HMF podría atribuirse a dos factores: mayores cantidades de fructosa requieren mayores tiempos de reacción y/o la presencia de ditionito de sodio, un agente reductor. En el trabajo de Roman-Leshkov y Dumesic del cual se adaptaron las condiciones para la producción de HMF, reporta un rendimiento de 78%, sin embargo este fue calculado mediante un análisis por HPLC y no corresponde al producto aislado.⁵¹ Nuestros resultados indicarían que la producción de HMF a partir de D-fructosa u otras fuentes de azúcares utilizando microondas como método de calentamiento podría lograr disminuir los tiempos de reacción al mismo tiempo que se trabaja en condiciones más suaves.

Dado que el objetivo de estos experimentos fue la obtención de HMF para su posterior uso, se implementó un *work-up* básico (con agregado de solución saturada en NaHCO₃) con el cual se logró una fácil separación de HMF y el AL formado, previo a su purificación por cromatografía en columna. En el inserto de la Figura 10 se presentan los espectros del producto obtenido (Tabla 4, entradas 1-4), en los mismos se observan múltiples señales de menor intensidad en la región correspondiente a protones de aldehído y furánicos. Ante esta situación, luego de tener el producto en mayores cantidades (Tabla 4, entrada 5), se aplicó un protocolo previamente reportado para la cristalización de HMF utilizando éter etílico a -20° C, con el objetivo de aumentar su pureza.¹⁵⁵ Luego de la filtración, se analizó el sobrenadante por ¹H-RMN y se encontró un compuesto con el mismo patrón de señales que el HMF cristalizado (Figura 10, espectro en verde) donde las diferencias observadas correspondían al protón de aldehído, el protón furánico en posición 4 y el metileno en posición 5 (Figura 10, espectro en rojo). El compuesto encontrado corresponde al dímero formado por la unión de dos unidades de HMF mediante un enlace éter en los carbonos 6, lo cual se confirmó por comparación del espectro de ¹H-RMN con uno previamente reportado.¹⁵⁴ El producto **1** cristalizado, filtrado y lavado fue utilizado en etapas posteriores.

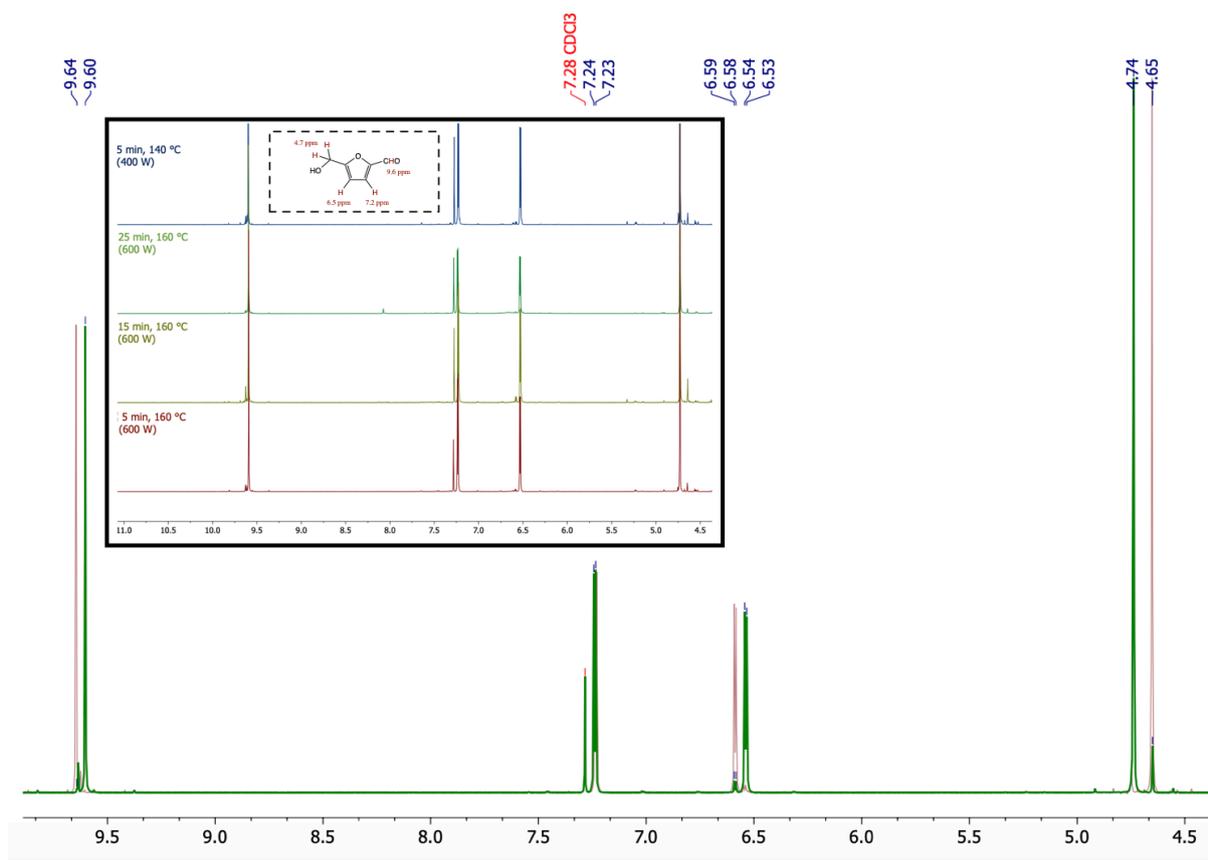


Figura 10. Espectros ^1H -RMN de HMF y dímero de HMF, en verde y rojo, respectivamente. El dímero de HMF formado es uno de los productos secundarios durante la síntesis de HMF a partir de D-fructosa.

En las entradas 6 a 9 de la Tabla 4 se muestran los resultados obtenidos para la síntesis de los derivados **3** y **4**. La resolución en la separación cromatográfica de los mismos no fue suficiente y por tanto se obtuvieron mezclas cuya proporción se determinó por análisis de la integración de las señales en los espectros de ^1H -RMN. Para ello se empleó el sistema de ecuaciones mostrado en la Figura 11, donde se incluye como ejemplo el espectro de una de las mezclas (entrada 7, Tabla 4, relación aproximada 4:1 para derivados **3** y **4**). Si bien el trabajo donde se reportaban condiciones similares de síntesis alcanzaba rendimientos mayores sin tener en cuenta la purificación del producto (alrededor de 40 y 80% a las 2 y 8h de reacción respectivamente), el uso de microondas logró mayores rendimientos en menor tiempo.¹⁵³ Dado que sería de esperar que la cetona del compuesto **4** presente menor reactividad que la funcionalidad aldehído de HMF en la primer etapa de la síntesis propuesta, un acople C-C mediante reacción de Wittig, se decidió que era suficiente utilizar las mezclas obtenidas para realizar las pruebas correspondientes, esperando además que el producto de tal reacción fuese fácilmente separable de **4**.

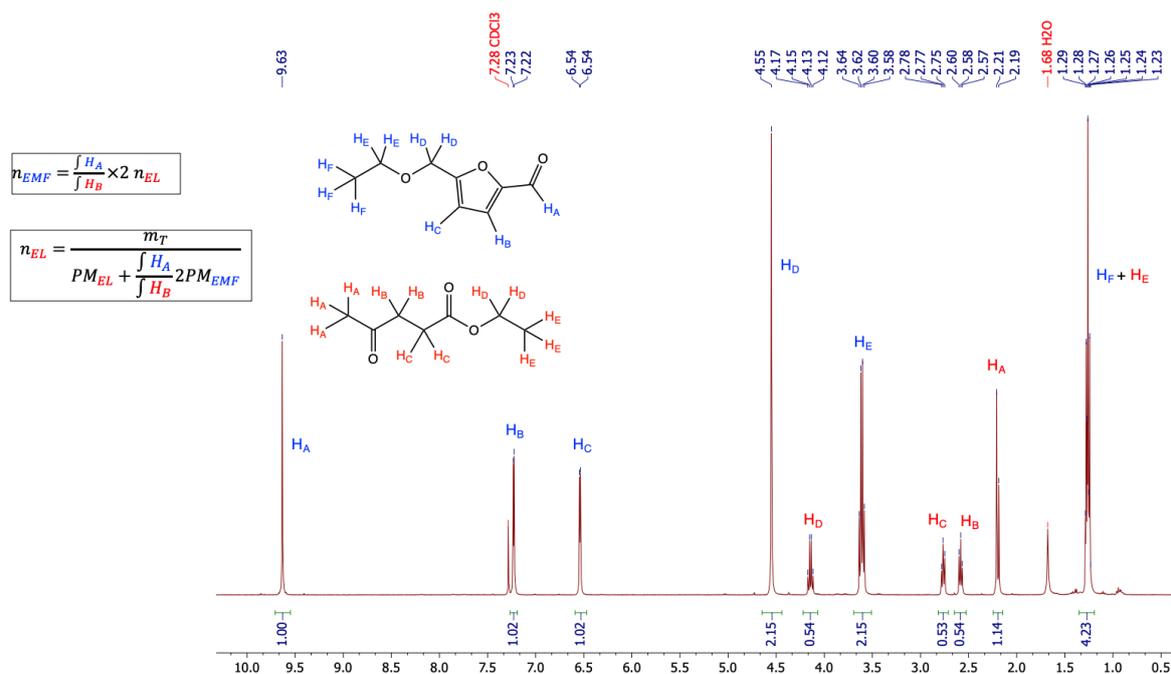


Figura 11. Espectro ^1H -RMN de una mezcla de los derivados 3 y 4 con la asignación correspondiente en azul y rojo para EMF y LE, respectivamente. Las ecuaciones utilizadas para el cálculo de proporciones emplean el valor de las integrales de las señales correspondientes a H_A (3), H_B (4) y el peso total de la muestra para determinar la cantidad en moles de cada uno de los compuestos.

Con los resultados obtenidos en las pruebas de concepto y habiendo presentado un proyecto de Iniciación a la Investigación ante CSIC, el cual fue aprobado y financiado, se logró llevar a cabo el estudio de la producción de HMF a partir de biomasa (cascara de arroz y pajilla de trigo) en el marco de una pasantía de investigación en el grupo de Bosques, Naturaleza y Biomasa de la Universidad de Copenhague (Dinamarca) con la supervisión del Prof. Claus Felby y la Dra. Yohanna Orozco.

En primer lugar, fue necesario definir la metodología a utilizar para la cuantificación de HMF. Generalmente, la cuantificación de HMF se realiza por RP-HPLC con un detector UV.³⁸ La cuantificación directa por espectroscopía UV no es recomendable en presencia de compuestos con cromóforos que pueden interferir en el análisis, como por ejemplo furfural, AL (dependiendo de su concentración) o huminas, ya que estas últimas tienen en su estructura fragmentos furánicos provenientes de HMF y/o furfural.³⁶ Sin embargo, existen metodologías que permiten cuantificar mezclas furfural/HMF por diferencia de absorbancias con o sin modificaciones químicas posteriores.^{156,157} Alternativamente, es posible resolver el problema de superposición de señales espectrales utilizando métodos quimiométricos como resolución curva multivariable-mínimos cuadrados alternados (MCR-ALS) para lograr una resolución adecuada.^{158,159} La principal ventaja de aplicar MCR-ALS consiste en que no es necesario

conocer o incluir los interferentes en la construcción de modelos informáticos para la cuantificación. Esta estrategia ha sido validada para la cuantificación de mezclas HMF/AL.¹⁶⁰ Para que las señales correspondientes a AL sean lo suficientemente intensas como para interferir con las señales de 2-furonaldehídos, este debe estar presente en un rango de concentración de 10-100 mM al realizar las diluciones. AL es el producto mayoritario cuando no se utiliza una fase extractiva que pueda prevenir la rehidratación del HMF, por lo tanto no se esperaba que este interfiriera.⁷⁸ Los resultados de las pruebas de concepto con D-fructosa mostraron que un sistema bifásico permite obtener HMF como producto principal, lo cual también se cumplió en los experimentos posteriores partiendo de biomasa, por lo que AL no fue un interferente detectable por espectroscopía UV a las concentraciones de trabajo en ningún caso.

Se prepararon mezclas con concentraciones conocidas de furfural y HMF para la generación de un modelo MCR-ALS con la herramienta PLS Toolbox 2.0 teniendo en cuenta las concentraciones reportadas por Terra y colaboradores.¹⁶⁰ En la sección de Materiales y Métodos se detallan los pasos para la construcción del modelo para cuantificación simultánea de furfural y HMF. El modelo es capaz de deconstruir espectros y asignar una puntuación para cada uno de los elementos, los cuales se corresponden con los espectros de los compuestos puros (Figura 12 A). Las puntuaciones o scores resultantes de las mezclas de concentración conocidas se utilizaron para la construcción de curvas de calibración (Figura 12 B). La validación metodológica fue realizada con los espectros de mezclas que fueron excluidas con ese propósito desde un principio utilizando un algoritmo incorporado en el paquete utilizado.

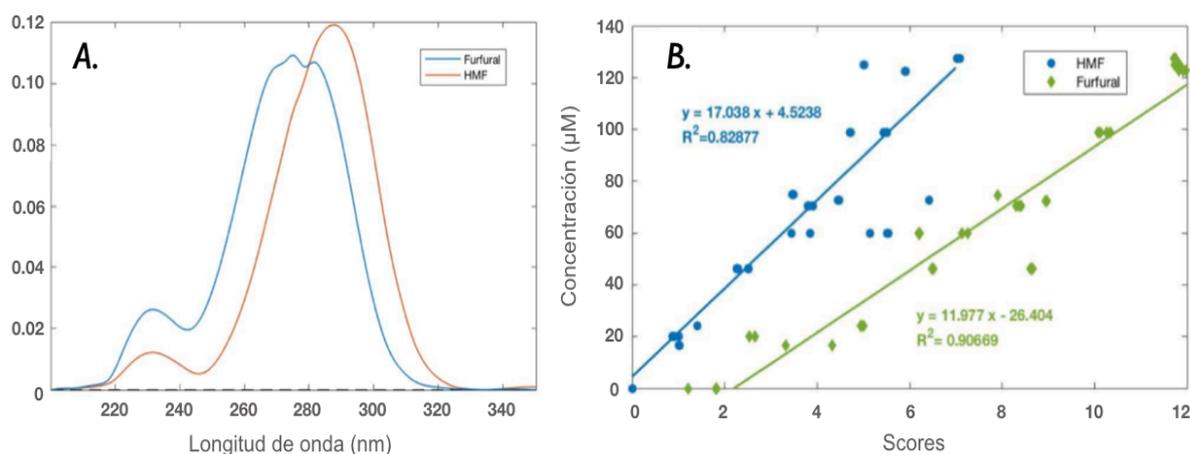


Figura 12. En A se muestran los espectros resueltos de HMF y furfural que coinciden con los de los compuestos puros (no incluidos) y en B las curvas de calibración que se obtuvieron a partir del modelo, utilizando MCR-ALS.

Antes de iniciar los experimentos para la producción de HMF se realizó un análisis composicional de la biomasa a ser utilizada, para lo cual se aplicaron los protocolos de NREL para determinación de carbohidratos estructurales, lignina y cenizas.^{161,162} De esta forma se pudo calcular los rendimientos molares de HMF en base a la cantidad de hexosas de cada muestra. Para la verificación de resultados del análisis composicional se realizó la determinación en paralelo de componentes de una muestra estándar de pajilla de trigo (material de referencia, NIST). Todas las muestras fueron sometidas a un pretratamiento cuyas condiciones no son suficientes para la digestión y deshidratación de celulosa y por tanto no comprometen la producción de HMF. El pretratamiento consistió en 4 lavados secuenciales con agua y etanol en un sistema de extracción automatizado a 100 °C y 110 bar -mediante agregado de N₂-. Los lavados con etanol aseguran la eliminación de material resinoso que puede coprecipitar durante la filtración poshidrólisis ácida, causando dificultades en la filtración y una sobrestimación del contenido de lignina; por otra parte el agua sirve para eliminar material inorgánico, material nitrogenado, azúcares ácidos, y azúcares no estructurales que pueden interferir en el análisis de carbohidratos estructurales.¹⁶³ En la Tabla 5 se muestran los resultados obtenidos del análisis de composición realizado para la cáscara de arroz (RH, por sus siglas en inglés) y pajilla de trigo (WS, por sus siglas en inglés), siendo este último el material de referencia utilizado. Estos valores, en conjunto con los porcentajes de humedad de las muestras, se utilizaron para conocer la cantidad exacta de hexosas presentes en los materiales de partida utilizados.

Tabla 5. Resultados de análisis composicional de material pretratado con H₂O/EtOH en ASE 350. Los resultados se expresan como porcentajes. Se incluyen valores esperados para material de referencia utilizados para la validación del análisis.

<i>Biomasa</i>	<i>Inorgánicos estructurales</i>	<i>Extractivos</i>	<i>Lignina</i>	<i>Glucanos</i>	<i>Xylanos</i>	<i>Galactanos</i>	<i>Arabinanos</i>	<i>Mananos</i>	<i>Total</i>
<i>RH</i>	19.7	12.8	26.3	26.4	8.6	0.9	1.5	0.0	96.0
<i>WS</i>	7.7	18.1	ND	37.9	14.8	0.8	2.9	0.0	82.1
<i>WS_{REF}*</i>	6.5	17.1	15.0	33.6	19.3	0.6	2.2	0.0	94.3

** Valores esperados para el material de referencia utilizado. ND: no determinado*

Dado que se contaba con cantidades suficientes del material de referencia, se decidió incluirlo en las pruebas de producción de HMF. La estrategia elegida para el tratamiento de la biomasa lignocelulósica fue la hidrólisis y deshidratación en medio ácido presurizado. Para definir las condiciones del tratamiento nos basamos en las condiciones reportadas por Bevilaqua y colaboradores para la producción de AL a partir de cáscara de arroz, donde las condiciones que maximizaban el rendimiento de AL utilizaban HCl o H₂SO₄ a concentraciones de 4.0-4.5 % m/m, sustrato al 10% m/v en relación a la fase acuosa, 170 °C de temperatura, y tiempos de

exposición de entre 60-90 minutos.⁷⁸ Siendo HMF un producto intermedio en la producción de AL, optamos por disminuir los tiempos de exposición, mantener la temperatura, agregar una fase orgánica para la extracción continua de HMF y mantener la relación biomasa/fase acuosa. En nuestros experimentos fijamos la concentración de ácido a 4.5 % e incluimos al ácido metanosulfónico como alternativa más verde.¹⁶⁴ Teniendo en cuenta resultados previamente reportados sobre la solubilización de celulosa, donde se utilizaron concentraciones menores de ácido y sistemas H₂O/THF, nuestras condiciones serían ampliamente suficientes para lograr una solubilización completa.⁶⁰ Estudios de estabilidad de HMF han demostrado que el agregado de ditionito de sodio (Na₂S₂O₄, SDT) a las mezclas de reacción resulta útil para evitar la descomposición de HMF pudiendo mejorar los rendimientos, por lo que se decidió probar condiciones de tratamiento que lo incluyesen.¹⁵⁴

En la Tabla 6 se resumen las condiciones de reacción utilizadas para la digestión de los distintos materiales de partida empleados y los rendimientos de HMF obtenidos en cada caso. Si bien en ausencia de ácido no se detectó formación de HMF, interesantemente, por inspección visual de los espectros UV se identificaron señales con patrón de 2-furandaldehído atribuidas a la formación de furfural por auto-hidrólisis y deshidratación de pentosas, componentes de la hemicelulosa (Tabla 6, entradas 1-4; Figura 13, curvas señaladas). A su vez, se observó que el agregado de SDT inhibe la formación de furfural. La ausencia de furfural en las demás condiciones se atribuyó a su descomposición en las condiciones de trabajo.

Tabla 6. Resultados de producción de HMF a partir de biomasa con cuantificación por MCR-ALS/UV. Los mismos se expresan como el promedio de los rendimientos obtenidos con sus respectivas desviaciones estándar.

Entrada	4.5 % m/m ácido	2 % m/m biomasa aditivo	Tiempo (min)	Rendimiento HMF (%)	
				WS	RH
1	-	-	30	ND	ND
2	-	-	60	ND	ND
3	-	SDT	30	ND	ND
4	-	SDT	60	ND	ND
5	H ₂ SO ₄	-	30	42.1 ± 3.0	46.7 ± 0.2
6	H ₂ SO ₄	-	60	10.1 ± 3.9	10.6 ± 5.8
7	H ₂ SO ₄	SDT	30	25.9 ± 5.8	13.8 ± 6.2
8	H ₂ SO ₄	SDT	60	43.0 ± 2.2	43.2 ± 12.4
9	HCl	-	30	10.8 ± 3.3	12.9 ± 4.3
10	HCl	-	60	28 ± 16.4	31.1 ± 19.1
11	HCl	SDT	30	19.9 ± 16.7	19.6 ± 15.5
12	HCl	SDT	60	20.1 ± 7.1	8.9 ± 3.2
13	MeSO ₃ H	-	30	16.1 ± 1.1	13.1 ± 2.1
14	MeSO ₃ H	-	60	43.4 ± 3.4	57.8 ± 6.5
15	MeSO ₃ H	SDT	30	10.4 ± 1.6	5.5 ± 1.5
16	MeSO ₃ H	SDT	60	18.6 ± 2.4	6.0 ± 1.2

* WS: pajilla de trigo; RH: cáscara de arroz; ND: no detectado.

Las condiciones de las entradas 5, 8 y 14 en de la Tabla 6 indican cuales son las condiciones óptimas encontradas en este estudio. Se demostró que el agregado de una sal reductora, como el ditionito de sodio, puede mejorar el rendimiento obtenido para tiempos de reacción prolongado al utilizar H_2SO_4 , ya que este es de carácter oxidante (comparar entradas 6 y 8). En el caso de un ácido más suave, como sería el ácido metansulfónico ($MeSO_3H$), el agregado de la sal reductora no mostró efectos positivos en el rendimiento de HMF (comparar entradas 14 y 16). Además, la mejor condición al utilizar este ácido fue la correspondiente al mayor tiempo de exposición ensayado (entrada 14). En cuanto a los tratamientos con HCl (Tabla 6, condiciones 9-12), la condición descrita en la entrada 10 dio mejores resultados para ambos materiales de partida, sin embargo, en comparación a los obtenidos con los demás ácidos, los rendimientos con HCl fueron significativamente inferiores. Los resultados obtenidos mostraron una tendencia distinta a la de sistemas monofásicos utilizados para obtener AL a partir de cáscara de arroz, donde a la misma temperatura y con un tratamiento análogo los rendimientos de AL son superiores al reemplazar con HCl.⁷⁸ Por último, se observó que los resultados obtenidos para ambos materiales de partida fue muy similar, coincidiendo aquellas condiciones donde se maximizan los rendimientos de HMF.

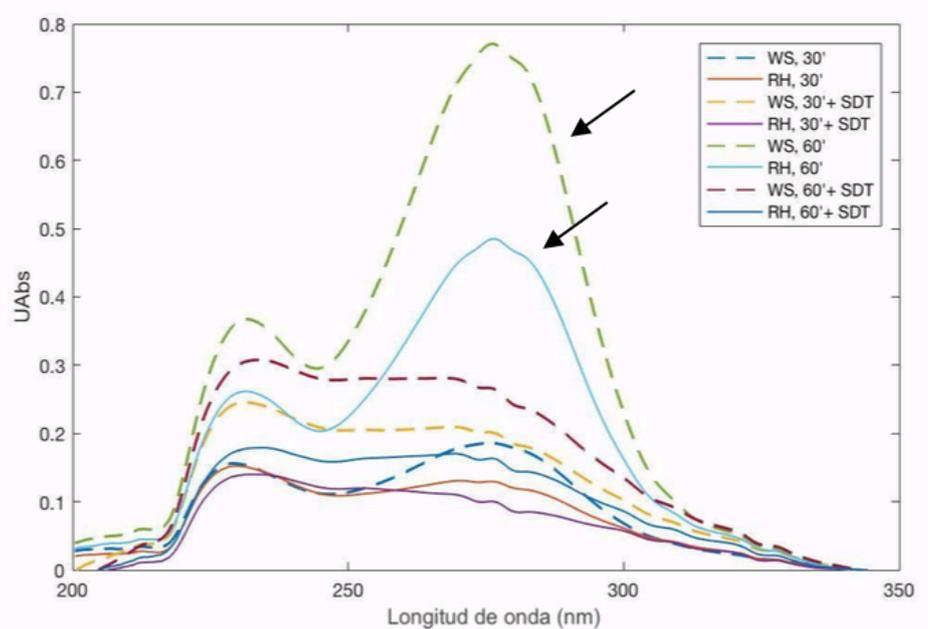
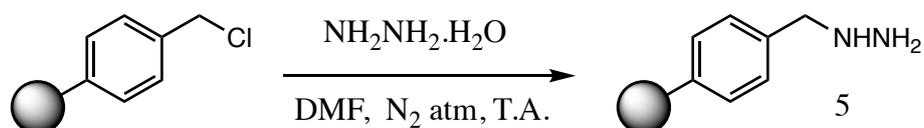


Figura 13. Espectros UV tomados de muestras preparadas por dilución de la fase orgánica para las condiciones de auto-hidrólisis (Tabla 3, entradas 1-4).

En los experimentos llevados a cabo para la evaluación de condiciones de reacción no se aisló el producto en ningún caso, dado que las cantidades obtenidas eran muy pequeñas debido a la

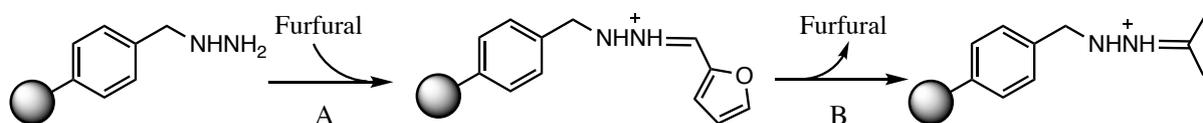
escala de trabajo (100 mg de biomasa por experimento). En una etapa siguiente sería de interés replicar los experimentos en las mejores condiciones aumentando la escala de trabajo y trabajar en la obtención del producto aislado.

En referencia a nuestra propuesta de utilizar resinas funcionalizadas como nueva estrategia para el aislamiento y purificación de HMF, decidimos generar una resina “*scavenger*” con el objetivo de lograr la unión reversible de aldehídos aromáticos a la misma. Para ello se llevó a cabo la funcionalización de una resina Merrifield con monohidrato de hidracina (Esquema 6). Esta reacción se encuentra previamente descrita y transcurre de forma cuantitativa.¹⁶⁵



Esquema 6. Funcionalización de resina Merrifield para generar una resina *scavenger* de aldehídos aromáticos.

Una vez obtenida la resina “*scavenger*”, se iniciaron estudios preliminares referentes al anclaje y desanclaje de aldehídos aromáticos en búsqueda de condiciones óptimas para realizar la purificación de este tipo de compuestos de mezclas complejas, como sería un hidrolizado de biomasa lignocelulósica en las condiciones estudiadas. En su trabajo, Zhu y colaboradores, utilizan una resina análoga a la sintetizada según el Esquema 6 y describen un protocolo de anclaje y desanclaje validado para una serie de aldehídos aromáticos, obteniendo resultados variables en cuanto a rendimiento y pureza.¹⁶⁵ En el Esquema 7 se presenta la estrategia general, basada en aquella previamente reportada para otros aldehídos aromáticos e incluimos nuevas condiciones tanto para el anclaje como el desanclaje.



Esquema 7. Anclaje y desanclaje de furfural a una resina Merrifield-hidracina. A. Condiciones de anclaje: MeOH, AcOH 3% (v/v), atm N₂, 24 h, T.A. (Zhu y colaboradores); MeOH, Et₃N 5% (v/v), atm N₂, 24 h, T.A.; MeOH, AcOH 3% (v/v), 80°C, 20 min o 100°C, 10 min, MW (100 W). B. Condiciones de desanclaje: THF, Acetona (exceso), HCl (c) (6 mmol), 30 min, T.A..

Se optó por realizar las primeras pruebas con furfural, puesto que este es un reactivo comercial y plataforma química barata y accesible. Durante las pruebas, se observó que cuando el anclaje se llevó a cabo en medio ácido, la resina tomaba un color rojizo lo cual se asoció a la formación

de la sal de iminio. Al llevar a cabo el anclaje asistida por trietilamina, la resina no presentó ninguna coloración. Al culminar cada condición de desanclaje ensayada, se filtró y se monitorizó mediante cromatografía en capa fina (TLC). Al replicar las condiciones de desanclaje del trabajo citado se observó una descomposición total de la muestra. Disminuyendo la cantidad de ácido utilizado a una concentración 10 mol %, el análisis cualitativo por TLC reveló la presencia de furfural, pero aún se notaba una presencia importante de productos de descomposición, por lo que el protocolo de desanclaje aún requeriría más ajustes. Alternativamente, se probó una condición de desanclaje por desplazamiento por acetona en medio ácido utilizando AcOH 3% (v/v), sin embargo, no se obtuvieron resultados positivos.

Dado que los resultados obtenidos en estas pruebas de anclaje-desanclaje son muy preliminares, sería razonable realizar más pruebas antes de descartar la viabilidad de este método de purificación. En caso de obtener resultados positivos sería de interés diversificar los aldehídos utilizados, para notar si existe realmente una selectividad por aldehídos aromáticos y finalmente que la resina sea útil para el aislamiento de estos, cuando están presentes en una mezcla compleja como sería un hidrolizado de biomasa lignocelulósica.

3.2 Síntesis de derivados de ácidos grasos de furano (AGF)

Siguiendo la planificación detallada en la sección 2.3.2, la síntesis de AGFs se inició con la obtención de las sales de fosfonio que permitirían acoplar al núcleo furánico una cadena con la cantidad necesaria de carbonos para lograr compuestos análogos a F₆ (sección 1.4). Si bien el plan inicial implicaba el uso de sales de fosfonio soportadas con la posibilidad de una fácil recuperación y reutilización, dado los resultados que se describen más adelante se sintetizaron también las sales de fosfonio para reacciones de Wittig convencionales (en solución). Así, se sintetizaron un total de 4 sales de fosfonio (**6a-b** y **7a-b**), dos de las cuales correspondían a las sales de fosfonio soportadas sobre una resina (Tabla 6), partiendo de ácido 10-bromodecanoico, 10-bromodecanoato de etilo, trifenilfosfina y/o una resina comercial con un “*linker*” trifenilfosfina.

Las condiciones de reacción utilizadas en la síntesis de las sales de fosfonio soportadas en resina **6a** y **6b** con calentamiento asistido por microondas fueron propuestas en base a trabajos previos de nuestro grupo de investigación, obteniéndose las mismas con excelentes rendimientos en cortos tiempos de reacción (entradas 1 y 2, Tabla 6).¹⁴¹

La sal de fosfonio **7a** se sintetizó siguiendo condiciones previamente descritas,¹⁴⁴ obteniéndose rendimientos de 77 y 95% en tolueno y acetonitrilo, respectivamente (entradas 3 y 4, Tabla 6).

Adicionalmente, se evaluó el uso de calentamiento asistido por irradiación de microondas con el objetivo de reducir tiempos de reacción. Así, se lograron rendimientos de 69 y 88% para la misma reacción en acetonitrilo a 120 °C durante 1h y 160 °C durante 2h, respectivamente. Se evaluó también la condición con calentamiento asistido por microondas a 160 °C durante 2h para la síntesis de **7b**, la cual se obtuvo con un rendimiento de 82%. De esta forma, se lograron altos rendimientos de reacción disminuyendo en casi en 10 veces el tiempo de las mismas. Las sales libres, **7a** y **7b**, resultaron ser muy higroscópicas, muy difíciles de cristalizar y por lo tanto se liofilizaron para minimizar el contenido de agua antes de ser utilizadas. En general, observamos que la síntesis de sales de fosfonio, tanto soportadas como libres, se ven muy favorecidas por el uso de microondas, lo cual está en consonancia con el sexto principio de la química verde referente a la eficiencia energética.

Tabla 6. Condiciones ensayadas para la obtención de sales de fosfonio

Entrada	Reactivos		Condiciones	Producto	R (%)
	R ₁	R ₂			
1	Resina	H	NMP, 160 °C (MW), 5min	6a	90
2	Resina	Et	NMP, 160 °C (MW), 10min	6b	94
3	Ph	H	MeCN, reflujo, 24h	7a	95
4	Ph	H	Tolueno, reflujo, 24h	7a	77
5	Ph	H	MeCN, 120 °C (MW), 1h	7a	69
6	Ph	H	MeCN, 160 °C (MW), 2h	7a	88
7	Ph	Et	MeCN, 160 °C (MW), 2h	7b	82

En primera instancia, contando con las sales de fosfonio **6a** y **6b** soportadas iniciamos nuestras primeras pruebas de acople utilizando como aldehídos a HMF (**1**), 5-etoximetilfurfural (**3**) o furfural, siguiendo diversas condiciones de reacción (bases, disolventes y temperatura) sin obtener los productos deseados (Tabla 7). La lógica de las reacciones de Wittig depende del tipo de base utilizada en la formación de iluros y su selección depende de la acidez de la sal de fosfonio en cuestión, pudiéndose también entender esto último por la estabilización de iluros mediante estructuras de resonancia.^{166,167} Si bien nuestras sales de fosfonio formarían iluros de tipo no estabilizados (pka 20 aprox.), requiriendo el uso de bases fuertes, igualmente al inicio evaluamos el uso de una base débil como el carbonato de potasio basado en el trabajo de Westman.¹⁶⁸ Este describe una combinación eficiente en un solo paso de calentamiento por microondas y el uso de trifenilfosfina con soporte sólido para reacciones de Wittig, condiciones que se encuentra en consonancia con la química verde. Cuando ensayamos la reacción

partiendo de HMF y la sal de fosfonio **6a** bajo calentamiento asistido por microondas a 150 °C no evidenciamos formación del producto de interés (entrada 1, Tabla 7). Posiblemente el resultado se deba a la utilización de iluros no estabilizados, marcando la importancia del tipo de sal de fosfonio y la necesidad de condiciones de reacción más drásticas.

Tabla 7. Condiciones ensayadas en la reacción de Wittig en fase sólida.

Entrada	R ₂	R ₃	Condiciones
1	H	CH ₂ OH (HMF, 1)	K ₂ CO ₃ , EtOH/H ₂ O, 150 °C (MW), 5min ^a
2	H	CH ₂ OH (HMF, 1)	LiOH, THF/ <i>i</i> -PrOH ^b
3	Et	CH ₂ OH (HMF, 1)	NaH, THF ^b
4	Et	CH ₂ OCH ₂ CH ₃ (3)	NaH, THF ^b
5	Et	CH ₂ OCH ₂ CH ₃ (3)	<i>t</i> -BuOK, THF ^b
6	H	H (Furfural)	NaH, THF ^{b,c}
7	H	H (Furfural)	<i>t</i> -BuOK, THF ^{b,d}

^a Los reactivos se colocan todos juntos en el reactor de microondas. ^b Se agita a T.A. durante 1h, seguidamente se añade el derivado aldehído. ^c Se obtiene el producto **8a** en un 20%. ^d Se obtiene el producto **8a** en un 11%.

Las siguientes condiciones ensayadas para la misma reacción fueron incrementando la fuerza de la base utilizada, LiOH (a temperatura ambiente y con calentamiento), *t*-BuOK y NaH, no obstante, no se evidenció formación de producto en ningún caso (entradas 2-5, Tabla 7). Considerando antecedentes exitosos de la formación del iluro a partir de la sal de fosfonio **6a** utilizando *t*-BuOK como base y de una Wittig convencional con un derivado de furfural,^{104,169} se repiten las reacciones con la base mencionada o NaH para la formación del iluro con posterior agregado del aldehído **3**, buscando descartar la posible interferencia del grupo hidroximetilo en posición 5, sin embargo no se evidenció la formación del producto olefínico. Dadas las dificultades encontradas en esta etapa, se decidió realizar más pruebas con furfural, cuyas ventajas son la ausencia del grupo hidroximetilo/etoximetilo, reduciendo el espectro de posibles reacciones secundarias, además de ser un reactivo con un costo bastante menor. Utilizando furfural en lugar del aldehído **3** se observó la formación del producto **8a** con rendimientos de 11 y 20% cuando se utilizó *t*-BuOK y NaH como bases, respectivamente (Entradas 6 y 7, Tabla 7). Se determinó que el producto aislado de la reacción con NaH corresponde al estereoisómero *Z* por análisis de constantes de acoplamiento de las señales de protones olefínicos en el espectro de ¹H-RMN (*J* = 11.8 Hz). Una posible explicación a la nula

o baja reactividad de las sales de fosfonio unidas a soporte polimérico en la reacción de Wittig puede deberse a la elevada carga de la resina original (resina de trifenilfosfina 3 mmol/g), sumado al largo de la cadena carbonada utilizada para generar las sales de fosfonio **6a** y **6b**, situación que podría provocar un gran impedimento en el acceso del aldehído al sitio activo de reacción en la fase sólida.

La reacción de Wittig es comúnmente utilizada para ejemplificar una reacción con economía atómica pobre y su inclusión en nuestra ruta propuesta se justificaba por el fácil aislamiento de productos al trabajar en fase sólida y la posible reutilización de la resina. Sin embargo, los bajos rendimientos obtenidos nos llevaron a probar reacciones de Wittig convencionales para comparar los resultados y evaluar la hipótesis de que la baja reactividad se podría deber a poca accesibilidad de los sitios activos en la resina y a su vez obtener producto en mayores cantidades.

En la Tabla 8 se muestran las condiciones de reacción de Wittig en solución ensayadas y los resultados obtenidos para cada una de ellas. Se utilizó un equivalente adicional de base cuando la sal de fosfonio presentó un grupo ácido carboxílico (derivado **7a**, Tabla 8). Cuando se trabajó con la sal de fosfonio del éster etílico **7b** se logró aislar también el producto de hidrólisis de la olefina resultante, por tanto, se indica entre paréntesis el porcentaje correspondiente a **8a** en esos casos. Considerando la suma de los porcentajes para el caso de aquellas reacciones donde se observan ambos productos, si bien estos son inferiores al 50 % en todos los casos, estos son bastante superiores a los obtenidos en fase sólida. El grado de conversión de furfural se siguió de forma cualitativa por TLC, observándose su casi completa desaparición en todos los casos. En las reacciones donde se utilizó *t*-BuOK o NaH, las sales de fosfonio se encontraban recientemente liofilizadas; por el contrario, las sales tenían un tiempo mayor luego de liofilizadas cuando se utilizó NaHMDS como base,¹⁰¹ lo cual podría influir en el rendimiento obtenido.

En líneas generales, se obtuvieron mejores resultados utilizando la sal de fosfonio **7b**, a pesar de la hidrólisis competitiva sobre el grupo éster (entrada 5 vs 6, entrada 9 vs 10, Tabla 8). Si bien la reacción de Wittig fue realizada bajo atmósfera de nitrógeno y con el agregado de tamices moleculares con la finalidad de reducir la cantidad de agua al mínimo en la mezcla de reacción, utilizado NaH como base y THF como disolvente, se obtuvo el producto de hidrólisis casi en las mismas proporciones que el éster (entrada 8, Tabla 8). Al agregar DMSO como codisolvente, se promovió la solubilización de las sales de fosfonio, se redujeron los tiempos de reacción a 1h y en consecuencia se disminuyó la hidrólisis del éster (entradas 6, 10 y 11,

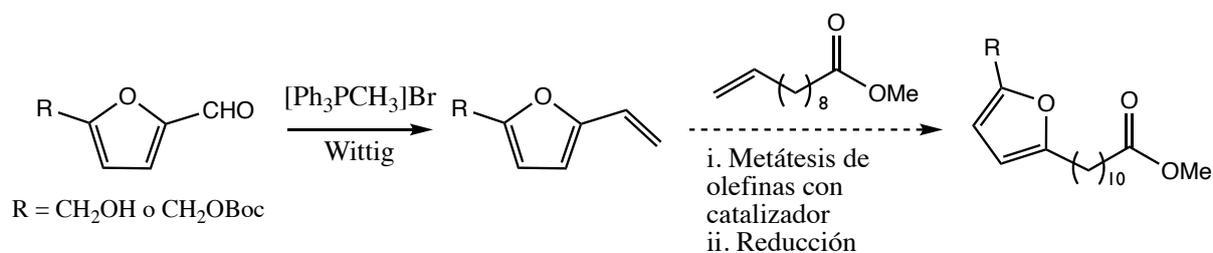
Tabla 8). Además, se utilizó LiBr como sal auxiliar de la base NaHMDS puesto que otros trabajos utilizan LiHMDS como base, y el litio podría llegar a asistir formando aductos de Lewis.¹⁰⁴ Al igual que para el producto obtenido en la reacción Wittig en fase sólida, el análisis por ¹H-RMN mostró la presencia de un único producto tanto para **8a** como **8b** obtenidos en condiciones de Wittig en disolución, los cuales corresponderían al estereoisómero *Z* considerando la constante de acoplamiento de 11.8 Hz para los protones olefínicos. De todas formas, la estereoisomería sería irrelevante para nuestra ruta sintética puesto que el paso siguiente implicaría la hidrogenación de las olefinas generadas.

Tabla 8. Condiciones ensayadas en la reacción de Wittig en solución.

Entrada	R ₂	R ₃	Base / eq	Condiciones ^a	Compuesto (Rendimiento)
1			K ₂ CO ₃ / 4.6	Dioxano/H ₂ O, reflujo, 8h	Np
2	H	CH ₂ OH (HMF, 1)	K ₂ CO ₃ / 5.1	THF/H ₂ O, reflujo, 8h	Np
3			<i>t</i> -BuOK / 3.4	THF, T.A., 24h	Np
4	H	H (furfural)	<i>t</i> -BuOK / 2.4	THF, T.A., 24h	Np
5			<i>t</i> -BuOK / 2.4	THF/DMSO, T.A., 1h	8a (5%)
6	Et	H (furfural)	<i>t</i> -BuOK / 1.4	THF/DMSO, T.A., 1h	8b (28%), 8a (6%)
7	H	H (furfural)	NaH / 2.4	THF, T.A., 24h	8a (20%)
8	Et	H (furfural)	NaH / 4.0	THF, T.A., 24h ^a	8b (24%), 8a (18%)
9	H	H (furfural)	NaH / 2.4	THF/DMSO, T.A., 1h	8a (12%)
10	Et	H (furfural)	NaH / 2.4	THF/DMSO, T.A., 1h	8b (28%), 8a (13%)
11	Et	H (furfural)	NaHMDS / 1.1	LiBr, THF/DMSO, T.A., 1h	8b (17%)

Np: no se obtuvo el producto deseado. ^a Las reacciones fueron realizadas bajo atmósfera de nitrógeno y en presencia de tamices moleculares.

Dados los bajos rendimientos obtenidos, se decidió explorar dos nuevas rutas sintéticas alternativas para la síntesis de derivados de AGF. Cada una de las alternativas realiza el acople de plataformas químicas seleccionadas de manera distinta. La primera de las nuevas estrategias diseñadas implica llevar a cabo el acople entre vinil derivados de HMF y 10-undecenoato de metilo mediante metátesis cruzada de olefinas, seguido de la hidrogenación del nuevo doble enlace generado (Esquema 8).



Esquema 8. Estrategia sintética para la obtención de derivados de AGF vía reacción de metátesis.

Esta propuesta se basó inicialmente en el trabajo de Kawai y colaboradores; donde se estudió la reacción de metátesis cruzada de vinil heterociclos aromáticos utilizando el catalizador de Grubbs y Schrock, con rendimientos de moderados a buenos.^{169,170} En este contexto, Lee y colaboradores describieron recientemente la síntesis del derivado F₅ de AGF, mediante estrategia de metátesis cruzada en la cadena lateral seguida de hidrogenación catalítica.¹⁷⁰ En el Esquema 8 se presenta la estrategia propuesta, en primera instancia la obtención de derivados 2-vinilfuran mediante reacciones de Wittig, siguiendo nuestra línea previa de trabajo; en segundo lugar, el acople C-C mediante reacciones de metátesis cruzada entre las olefinas obtenidas y ácidos grasos ω-insaturados, en particular el ácido 10-undecenoico (o sus respectivos ésteres) y finalmente la hidrogenación de olefinas. El ácido mencionado es una plataforma química que se obtiene a partir del aceite de ricino de manera sustentable y en esta propuesta llevaría a producir un AGF con el mismo largo de cadena propuesto inicialmente.¹⁷¹

En principio, aún no es posible eliminar la reacción de Wittig de la ruta sintética (reacción con muy pobre economía atómica), pero al menos para la reacción entre furfural, HMF o éteres de HMF y bromuro de metiltrifenilfosfonio se reportan rendimientos superiores al 50% en comparación con los rendimientos obtenidos para otras reacciones de Wittig mostrados en nuestro trabajo.^{69,172} En la Tabla 9 se muestran los rendimientos obtenidos mediante reacción de Wittig para los dos 2-vinilfuranos **9** y **10** sintetizados a partir de HMF o su derivado protegido con el grupo Boc, respectivamente. Se buscó obtener la olefina protegida como posible ruta de acceso a 5-(etenil)furan-2-aldehído, plataforma con dos grupos funcionales ortogonales considerando la posterior modificación vía metátesis de olefinas y condensación nitroaldólica. Se obtuvieron mejores resultados utilizando HMF como material de partida y carbonato de potasio como base.

Tabla 9. Síntesis de 2-vinilfuranos mediante reacciones de Wittig

Entrada	R	Base	Solvente	T (°C)	t (h)	Compuesto (Rendimiento %)
1	CH ₂ OH	K ₂ CO ₃	DCM	40	6	9 (49%)
2		K ₂ CO ₃	Dioxano	90	3	9 (60%)
3	CH ₂ OBoc	NaH	THF	0	4*	10 (11%)
4		t-BuOK	THF	0	4*	10 (13%)

* La primera hora de reacción corresponde a la formación del iluro en ausencia de aldehído.

Las metátesis de olefinas son reacciones reversibles catalizadas por carbenos metálicos donde una reorganización de olefinas implica un intercambio de sus mitades alquilideno.¹⁷³ Si bien se plantea como una reacción reversible, la generación y volatilización de etileno podría trasladar ese equilibrio hacia los productos de metátesis de olefinas terminales. Como parte del mecanismo, las olefinas se coordinan a un centro metálico a través de un intermedio metalaciclobutano, que se resuelve y da lugar al intercambio de sustituyentes (Figura 14).¹⁷⁴ Pese a que el mecanismo admite múltiples arreglos de olefinas, no todas las combinaciones son posibles y esto se encuentra limitado principalmente por el impedimento estérico dado por sustituyentes voluminosos tanto en el catalizador como en las olefinas. En particular, se ha observado que para el caso de reacciones de metátesis cruzada de olefinas, los homodímeros de 2-vinilheterociclos aromáticos no se forman por esta razón.^{175,176}

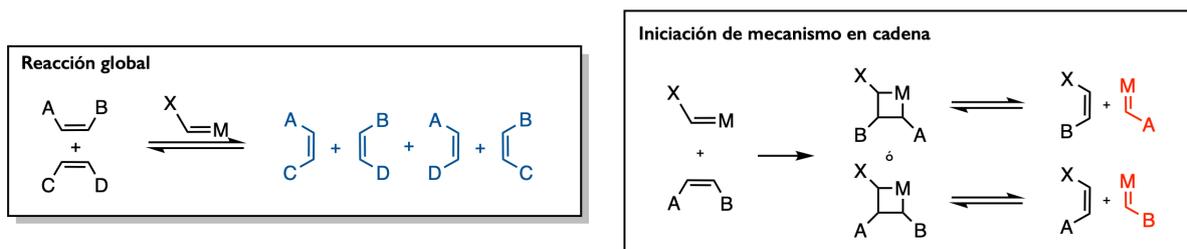


Figura 14. Esquema general para reacciones de metátesis de olefinas. M es el metal correspondiente dependiendo del catalizador utilizado y X-C=M se refiere al catalizador como complejo metal-carbeno. Adaptado de Chauvin.¹⁷⁴

En la Figura 15 se muestran las condiciones de metátesis cruzada ensayadas. Se utilizaron catalizadores con centro metálico de rutenio: Hoveyda-Grubbs 2da generación (HG-2), Grubbs 1era y 2da generación (G-1 y G-2). Estos catalizadores se caracterizan por presentar una reactividad buena y por ser fácilmente manejables en comparación a catalizadores de

molibdeno, siendo posible utilizarlo inclusive sin la necesidad de generar una atmósfera inerte en el caso de HG-2.¹⁷⁷ El único antecedente que se encontró para una reacción similar a esta corresponde a la metátesis entre 2-vinilfurano y 1-octeno donde se obtuvo un 50% de heterodímero y 50% de homodímero utilizando Grubbs-1era generación; y un 78 % de heterodímero frente a un 14% y 7.8% para homodímeros de 1-octeno y 2-vinilfurano respectivamente con el catalizador de Schrock, el cual tiene como centro metálico un átomo de molibdeno.¹⁷⁵ En el mismo trabajo, los autores observaron que la cinética de formación y resolución del intermedio metalaciclobutano de olefinas alifáticas terminales es más rápida que con olefinas conjugadas a heterociclos aromáticos.

En base a esto, desarrollamos un protocolo de reacción donde se mantuvo una relación molar 2-vinilfurano/10-undecenoato de metilo alta mediante adición controlada del último. Todas las reacciones de metátesis fueron llevadas a cabo bajo reflujo de tolueno y en atmósfera de nitrógeno en tiempos de entre 5 y 8h. Las pruebas para obtener el heterodímero **11** se hicieron con el catalizador HG-2 a concentraciones de 2 y 3 mol% y las reacciones para obtener el heterodímero **12** se hicieron con G-1 y G-2, ambos a concentraciones de 10 mol%. En ningún caso se detectaron los heterodímeros deseados, sin embargo, en todos los experimentos se detectó por TLC un tercer compuesto de carácter muy apolar, el cual fue purificado e identificado como el homodímero **13** en una de las condiciones (HG-2, 3 mol%), obteniéndose con un rendimiento de 82%.

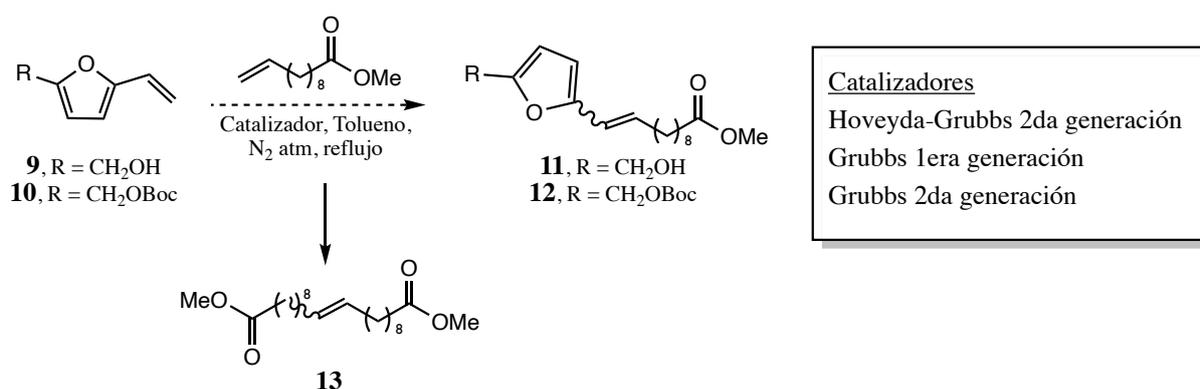


Figura 15. Condiciones ensayadas para la obtención de derivados de AGF mediante metátesis cruzada de olefinas con catalizadores de rutenio.

Como última estrategia ensayada en esta tesis hacia la síntesis de derivados de AGF se propuso la ruta mostrada en el Esquema 9. La misma consta de 3 pasos, siendo el primero de ellos la *O*-alquilación de HMF con 10-bromodecanoato de etilo, seguido de reducción de la función aldehído al alcohol primario correspondiente y por último nuevamente una reacción de *O*-

alquilación. Mediante el desarrollo de esta estrategia en la presente tesis fue posible obtener únicamente un derivado de AGF (Esquema 9). Estructuralmente, el compuesto final **16** obtenido a partir de esta ruta, difiere de los productos finales de rutas previamente planteadas por: a) la presencia de enlaces éter en ambos sustituyentes de las posiciones α ; b) el largo de cadena del sustituyente con el grupo carboxilo terminal (12 vs 11 átomos); y c) la presencia de un alqueno terminal en la cadena alifática en posición 5 del anillo de furano. Este último sustituyente fue seleccionado inicialmente pensando en ensayar posteriormente condiciones de nitración sobre la olefina terminal, con el objetivo de desarrollar un compuesto híbrido nitroalqueno-AGF.

Inicialmente, teniendo presente como antecedente un trabajo reciente que describe la síntesis de diversos éteres simples de HMF,¹⁴⁷ ensayamos algunas variantes al protocolo con la finalidad de obtener el producto de *O*-alquilación partiendo de 10-bromodecanoato de etilo como agente alquilante. En la Tabla 10 se muestran los rendimientos obtenidos en la síntesis del éter **14**. En un principio se consideró también la obtención de los ácidos correspondientes a la alquilación de HMF con ácido 10-bromodecanoico (Tabla 10, entradas 1 y 2). Sin embargo, como no se logró obtener el producto de esa reacción y considerando los antecedentes en los cuales las evaluaciones de bioactividad se llevaron a cabo con ésteres de AGF, optamos por seguir únicamente con los ésteres etílicos producto de la alquilación con 10-bromodecanoato de etilo.⁹⁴ Las reacciones correspondientes a las entradas 2 y 4 fueron llevadas a cabo en viales de reacción presurizados en un reactor de calentamiento eficiente (Monowave 50, Anton Paar). De acuerdo con datos basados en cálculos termodinámicos provisto por la compañía que fabrica el reactor de síntesis Monowave 50, las condiciones de las entradas 3 bajo calentamiento convencional, podrían ser similares a las de la entrada 4, bajo calentamiento eficiente (correlación entre aumento de temperatura y disminución del tiempo de reacción). La adición de yoduro de potasio permite un intercambio de bromuro-yoduro, siendo el yoduro un mejor grupo saliente en la reacción de sustitución nucleofílica (S_N2) (entrada 3). La adición del éter 18-corona-6 promueve la quelación del catión K^+ , aumentando la disponibilidad de yoduro para el intercambio (entrada 4). Su incorporación al medio de reacción junto a menor temperatura y mayor tiempo de reacción contribuyeron a la mejora observada en el rendimiento de la reacción. (Tabla 10, comparar entradas 3 y 4).

Tabla 10. O-alkilación de HMF con ácido 10-bromodecanoico o 10-bromodecanoato de etilo.

Entrada	R	Condiciones	Compuesto (Rendimiento)
1	H	CsCO ₃ (3.0 eq.), 50 °C, 10 h.	-
2	H	CsCO ₃ (3.0 eq.), 110 °C (monowave), 0.5 h.	-
3	Et	CsCO ₃ (1.5 eq), KI (cat.), éter 18-corona-6 (cat.) , 50 °C, 10 h.	14 (23%)
4	Et	CsCO ₃ (1.5 eq), KI (cat.), 110 °C (monowave), 0.5 h	14 (13%)

Al realizar la purificación e identificación de **14**, se separó y elucidó además el producto de transesterificación entre HMF y el éster de partida (rendimiento 12%). En la Figura 16 se muestran los espectros de protón con sus asignaciones correspondientes, pudiendo notarse que las señales minoritarias en el espectro de **14** se corresponden con señales del producto de transesterificación. Las asignaciones de protones del producto principal se corroboraron mediante espectros bidimensionales COSY, HSQC, HMBC.

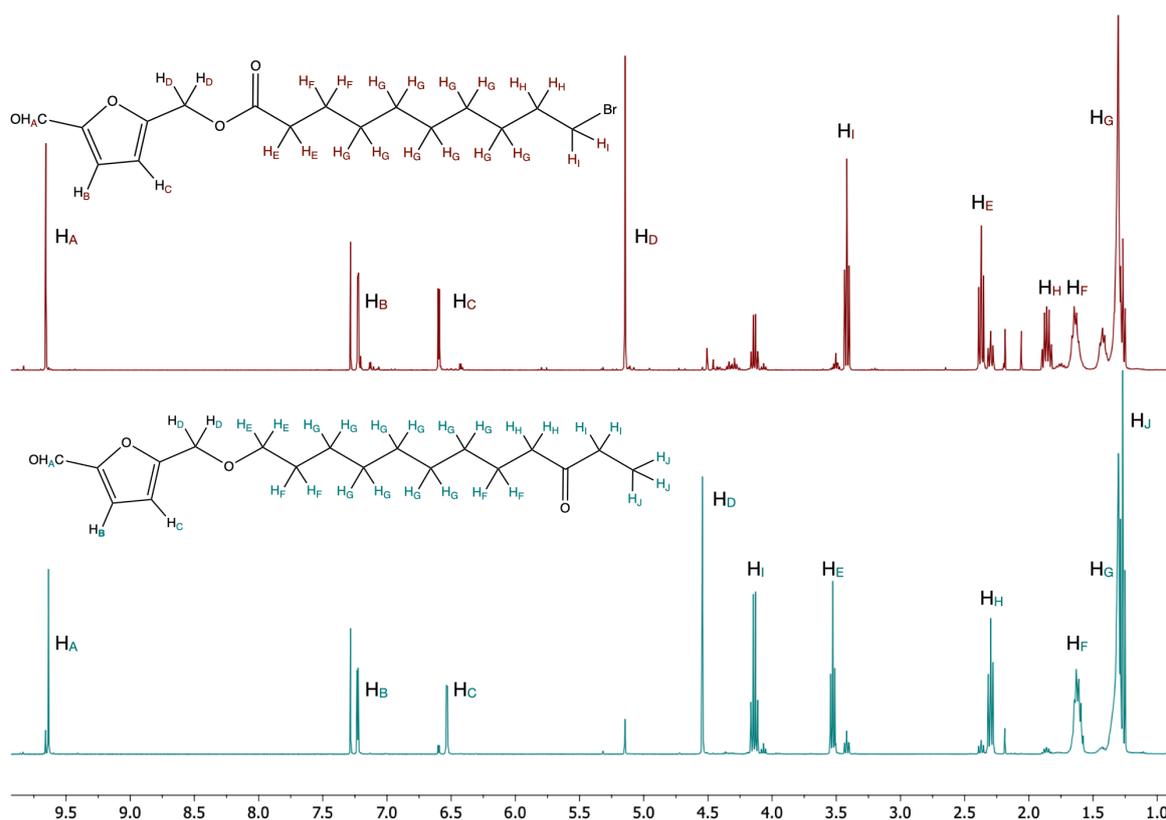
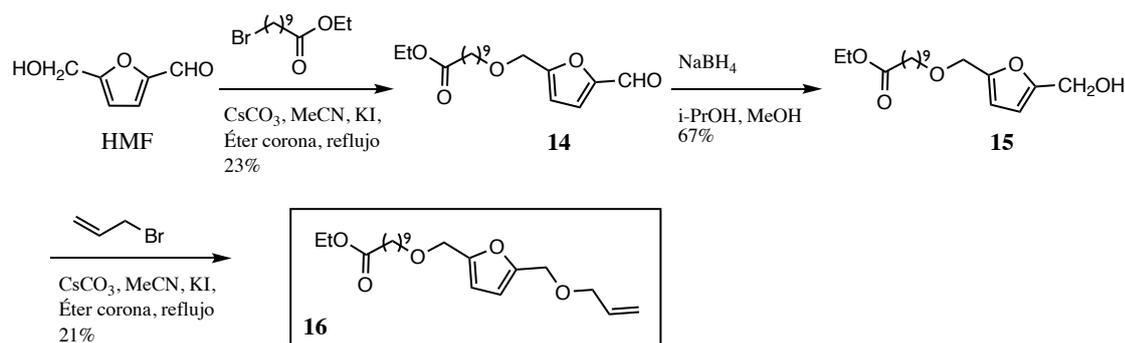


Figura 16. Espectros de ¹H-RMN del éter **14** (abajo) y el producto de transesterificación en CDCl₃ (arriba) respectivamente.

La reducción de la funcionalidad aldehído en **14** al correspondiente alcohol **15** se realizó tal como se presenta en el Esquema 9, utilizando borohidruro de sodio como agente reductor en una mezcla de *i*-PrOH/MeOH como disolventes, se obtuvo **15** con un rendimiento de 67%. Concluyendo con la etapa de la última estrategia sintética para la generación de AGF, se obtuvo el compuesto **16** mediante *O*-alquilación con bromuro de alilo sobre el derivado **15**. La reacción se llevó a cabo en las mismas condiciones de *O*-alquilación de HMF presentadas en la entrada 4 de la Tabla 10, obteniéndose el derivado de AGF **16** con un rendimiento de 21% (3% de rendimiento global).



Esquema 9. Síntesis del derivado de AGF **16** mediante estrategia de reacciones de *O*-alquilación partiendo de HMF.

La correcta asignación de los protones del derivado **16** fue realizada mediante experimentos de ¹H-RMN y COSY (Figuras 17 y 19). La presencia del protón H_A como multiplete en 5.85 ppm junto a los dobletes en 5.22 (H_C) y 5.13 ppm (H_D, con integración de 1H cada señal) evidencian la presencia de un grupo vinilo, lo cual sumado a la presencia del doblete en 3.95 ppm con integración de 2H (H_H), confirman la presencia del agrupamiento alilo. Estas asignaciones se confirman además mediante la correlación que presentan los protones nombrados en el espectro COSY (Figura 19).

Por otra parte, la asignación de los carbonos en el derivado de AGF **16** se realizó mediante el espectro de ¹³C-RMN (Figura 18) en conjunto con experimentos de correlación heteronuclear HSQC y HMBC (Figuras 20 y 21). En este contexto, mediante el espectro de HSQC podemos definir cada carbono unido a su protón por correlación a un simple enlace. Observando luego el espectro de correlación protón-carbono a más de un enlace (HMBC) podemos confirmar tanto los carbonos no unidos directamente a protones, como la conectividad en los grupos funcionales. Ejemplo de ello representa la confirmación de las señales de carbono correspondiente al agrupamiento alilo, mediante correlación de protones del grupo metilénico en 3.95 ppm con los correspondientes carbonos del sistema olefina en 117 y 133 ppm (Figura 21).

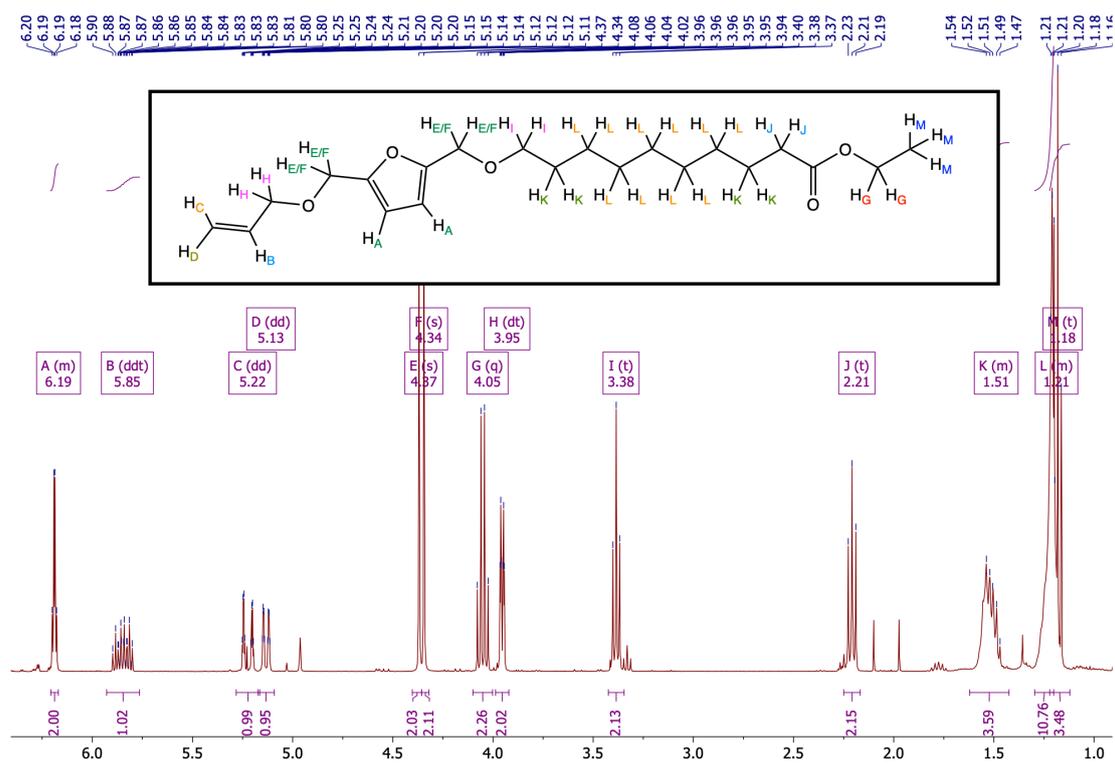


Figura 17. Espectro de ^1H -RMN en CDCl_3 del compuesto **16** con la asignación completa de protones.

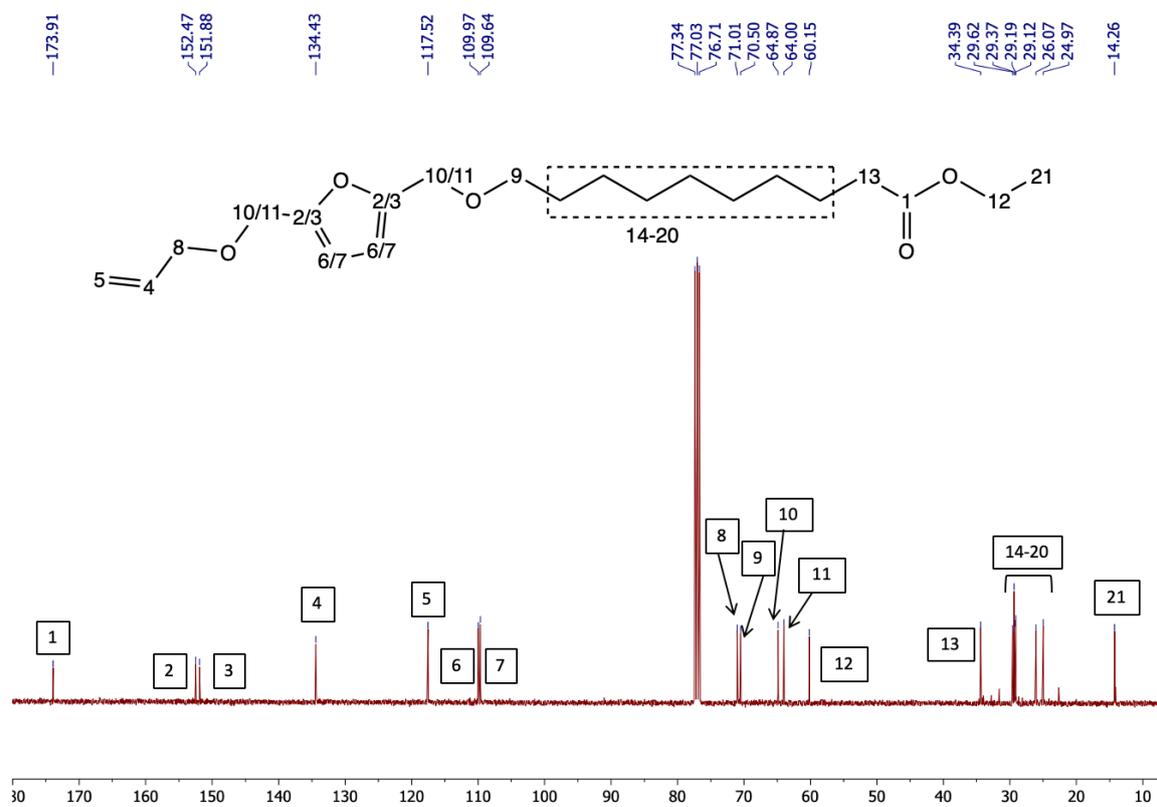


Figura 18. Espectro de ^{13}C -RMN en CDCl_3 del compuesto **16** con la asignación completa de carbonos. Se observa el triplete correspondiente al CDCl_3 entre 77.3 y 76.7 ppm.

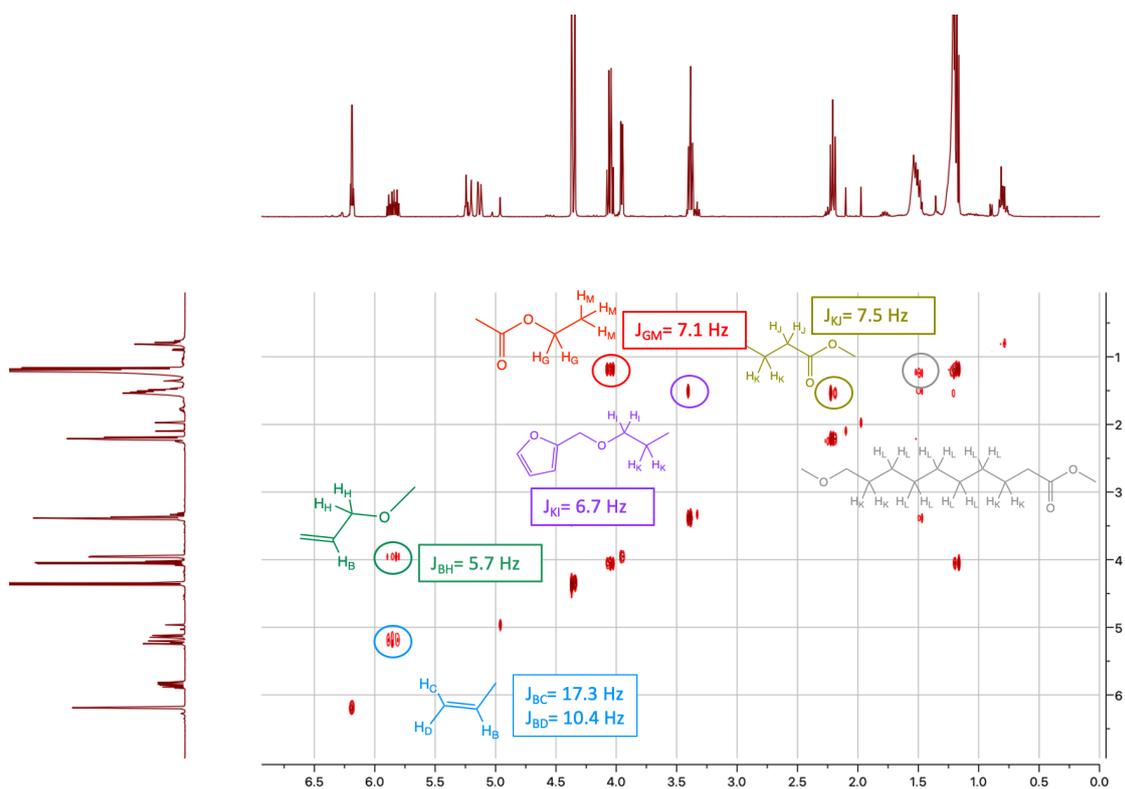


Figura 19. Espectro bidimensional de correlación ^1H - ^1H (COSY) del compuesto **16**. Se muestran las correlaciones entre protones de distintos fragmentos y las constantes de acoplamiento calculadas a partir del espectro unidimensional.

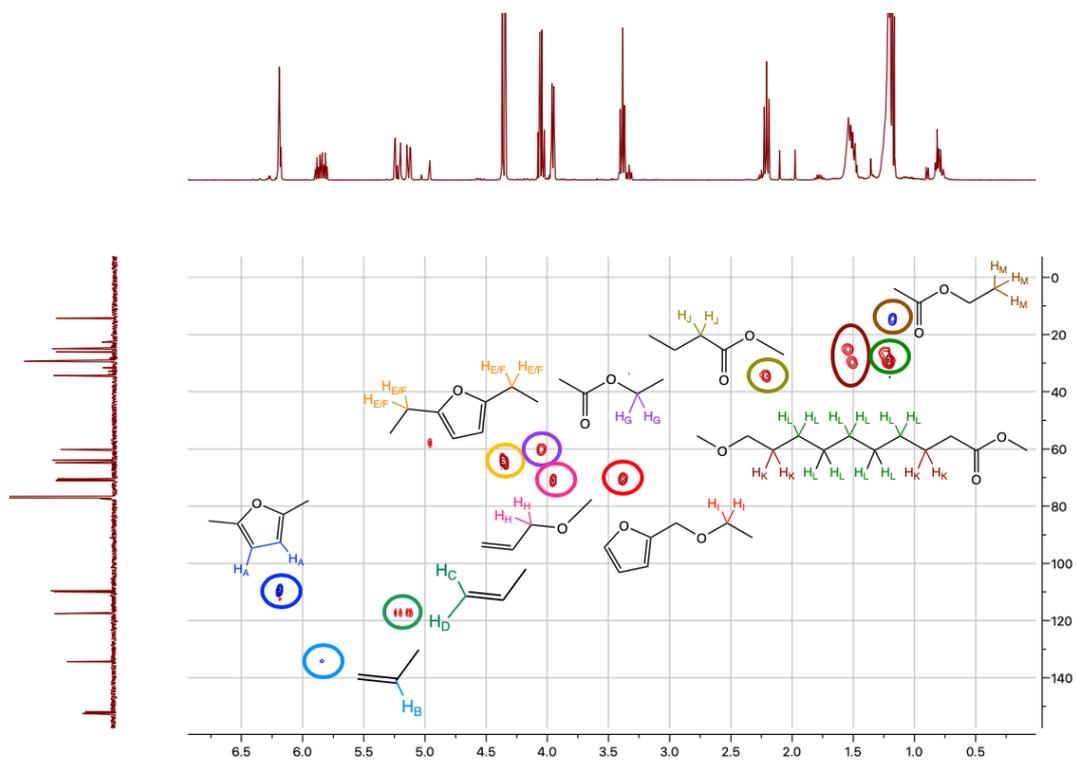


Figura 20. Espectro bidimensional de correlación a un enlace ^1H - ^{13}C (HSQC) del compuesto **16**. Se muestran las correlaciones que permiten identificar las señales de carbono primarios y secundarios.

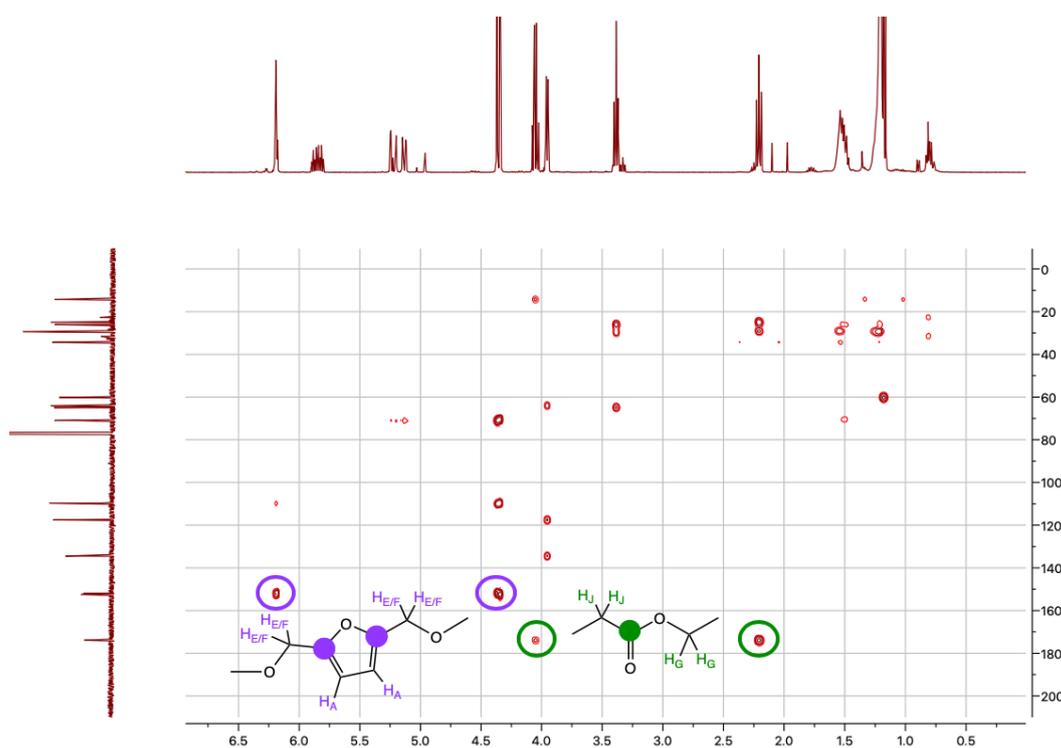


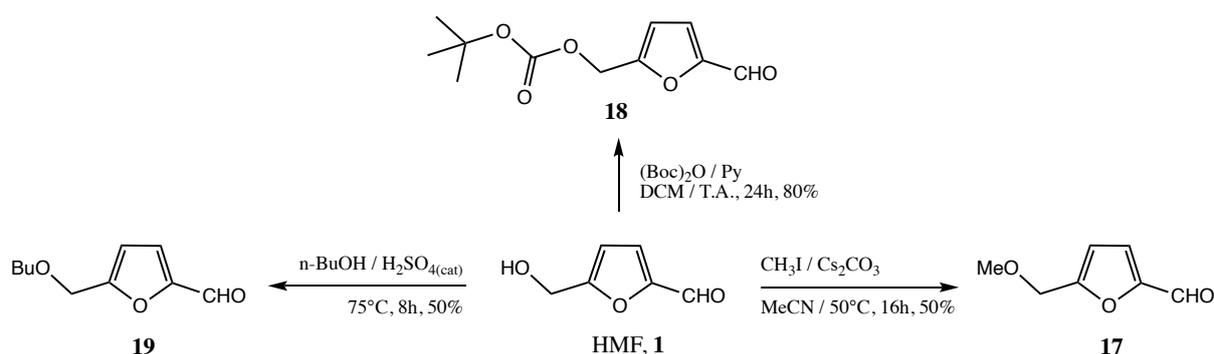
Figura 21. Espectro bidimensional de correlación a más de un enlace ^1H - ^{13}C (HMBC) del compuesto **16**. Se muestran las correlaciones que permiten identificar las señales de carbono cuaternarios.

3.3 Síntesis de derivados de nitroalquenilfuranos

En la ruta sintética propuesta para la obtención de derivados nitroalquenilfuranos mediante condensación nitroaldólica de 2-furaldehídos y nitrometano (sección 2.3.3), se plantea tanto la utilización de las plataformas químicas furfural y HMF como de derivados protegidos en posición 5 del HMF. En este contexto, se sintetizaron los derivados 5-(metoximetil)furfural **17** y BocHMF **18** según se describe en el trabajo de Xu y colaboradores (Esquema 10).¹⁵⁰ Los rendimientos obtenidos fueron similares a los reportados por los autores (50 y 80% para **17** y **18** respectivamente).

Se sintetizó también el derivado 5-(butoximetil)furfural **19** (Esquema 10), teniendo en cuenta las condiciones previamente descritas en la literatura,^{153,178} donde se plantea la obtención de éteres a partir de HMF o directamente de D-fructosa al igual que para la síntesis del derivado 5-(etoximetil)furfural **3**. Para la síntesis de este compuesto, considerando la dificultad encontrada para la separación entre un derivado éter de HMF y el éster de AL con mismo largo de cadena (Figura 11) y considerando que el calentamiento en un medio fuertemente ácido utilizando n-butanol en exceso promovería también la formación del éster butílico de AL, se optó por partir de HMF y usar tiempos de reacción menores, condiciones en las que la formación de ésteres de AL es despreciable según se describe.¹⁵³ Utilizando ácido sulfúrico en

cantidades catalíticas y partiendo de HMF se obtuvo el compuesto **19** con rendimientos de 50 y 37% para tiempos de reacción de 8 y 24 h respectivamente. Mediante análisis por TLC de las mezclas de reacción se evidenció la presencia del éster butílico de AL. Además, se encontró que para la separación de éteres de HMF y ésteres de AL, las fases móviles que lograron mejores resoluciones fueron mezclas hexano/éter etílico; con las cuales se logró obtener el éter butílico puro. En consecuencia, contamos con un conjunto de 2-furfuraldehídos los cuales por condensación nitroaldólica de nitrometano permitirían obtener los derivados 2-nitroalquenilfurano correspondientes.



Esquema 10. Síntesis de 2-furaldehidos a partir de HMF.

Posteriormente, para iniciar las pruebas de condensación nitroaldólica o reacción de Henry, nos remitimos a una condición descrita para la síntesis del nitroalqueno derivado de HMF, la cual tomamos como punto de partida para evaluar la influencia de distintos métodos de calentamiento y de la concentración de nitrometano en la mezcla de reacción.¹⁴⁹ Inicialmente optamos por utilizar furfural en la búsqueda de las condiciones de reacción óptimas. Los resultados de dichas pruebas se resumen en la Tabla 11, siendo la entrada 6 la que corresponde a las condiciones previamente reportadas. Los resultados correspondientes a las entradas 1, 2 y 4 permiten evaluar distintos métodos de calentamiento de la reacción, y las condiciones descritas en 2, 3 y 5 el efecto de la cantidad de nitrometano utilizado.

En primer lugar, aplicando las condiciones reportadas (Tabla 11, entrada 6) se observó que el furfural no se consumió completamente y por lo tanto se decidió aumentar la temperatura de la reacción de 70 a 110 °C (entrada 1, Tabla 11). Empleando metodologías de calentamiento alternativo se pudo llevar a cabo la reacción sin necesidad de aumentar la temperatura por encima de 70 °C, con rendimientos similares para la obtención del nitroalqueno **20** (entradas 2 y 4) y en el caso de microondas con una reducción en el tiempo de reacción.

Tabla 11. Resultados obtenidos en reacciones de condensación nitroaldólica utilizando AcONH_4 como base. Las variables estudiadas fueron equivalentes de base utilizados, método de calentamiento, temperatura y tiempo de exposición.

Entrada	R	CH_3NO_2 (eq.)	Método de calentamiento	T (°C)	t (h)	Compuesto (Rendimiento)	EA (%)	PMI (%)	EO (%)
1	H	9.3	Conv.	110	1*	20 (68%)	89	14	16
2		9.3	MW	70	0.5	20 (64%)		14	15
3		4.65**	US	70	2	20 (38%)		14	16
4		9.3	US	70	2	20 (62%)		13	15
5		18.6	US	70	1.5	20 (70%)		8	9
6	CH_2OH	9.3	Conv.	70	1	21 (75%)	90	18	20
7		3	Conv.	70	1.75	21 (34%)		19	21
8		9.3	US	70	1.5	21 (53%)		13	14

US: ultrasonido; MW: microondas; EA: [(masa molecular del producto/masa molecular total de reactivos) × 100]; PMI: [(masa del producto aislado/masa total de reactivos) × 100]; EO: eficiencia óptima [(PMI/EA) × 100]; * Previo calentamiento a 70 °C por 2 h; **Se agrega un volumen de etanol 95% tal que el volumen final de la mezcla de reacción sea el mismo que al agregar 9.3 eq.

Comparando los resultados de las entradas 6 y 8 cuando se utilizó HMF como material de partida (Tabla 11), obtuvimos un resultado inferior para el nitroalqueno **21** cuando la reacción se llevó a cabo bajo calentamiento por ultrasonido, donde el tiempo de exposición fue mayor. Con respecto a la cantidad de nitrometano, se observó que duplicar los equivalentes no produjo aumentos significativos en el rendimiento, pero su disminución si se tradujo en una disminución significativa del producto de interés (entradas 3 y 5; 6 y 7, Tabla 11).

Por último, se incluyó el cálculo de EA, PMI y eficiencia óptima (EO) de la reacción como indicadores “verdes”. EA asume rendimiento del 100% y estequiometría equivalente. Este parámetro es una excelente medida para evaluar la eficiencia con que la reacción ha sido diseñada con respecto a la utilización de los reactivos. Como ninguna de las reacciones de la Tabla 11 tiene una estequiometría equivalente, PMI proporciona una imagen más real de la utilización de reactivos. La misma se basa en la masa, e incorpora el rendimiento y la estequiometría. EA proporciona el máximo teórico de eficiencia de utilización de reactivo, mientras que PMI proporciona el observado. EO es la comparación entre ambas métricas y permite la comparación directa de diferentes tipos de reacción que no siempre es posible con EA o PMI.¹⁷⁹ La razón principal por la que todas las reacciones presentan una EA alta pero PMI y EO bajas es el uso de nitrometano en exceso, siendo la condición de la entrada 5 la menos eficiente de todas.

La síntesis de los derivados 2-nitroalquenilfurano **22** y **23** (Figura 22), se llevó a cabo a partir de los aldehídos **17** y **18** bajo irradiación de ultrasonido por 2h con rendimientos de 59 y 61%, respectivamente. Para la síntesis del nitroalqueno **24** (Figura 22) se usaron las condiciones convencionales de la entrada 6 (Tabla 11), obteniéndose el mismo con un rendimiento de 39%.

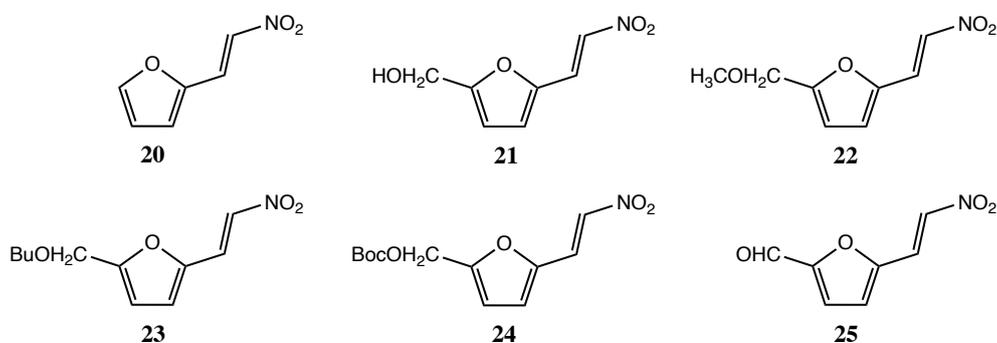


Figura 22. Derivados de 2-nitroalquenilfuran sintetizados.

Por otra parte, sobre el nitroalqueno **21** se ensayaron diversas condiciones de oxidación con el objetivo de obtener los correspondientes derivados aldehído y ácido carboxílico (Figura 23). Para llevar a cabo estas reacciones, se consideraron condiciones de oxidación suave buscando cumplir con algunos de los principios de la Química Verde. En ese sentido, las oxidaciones utilizando el reactivo comercial Oxone[®],¹⁸⁰ el cual es considerado ambientalmente seguro, permiten la oxidación de compuestos de organoiodo en cantidades catalíticas en disolventes acuosos a su estado hipervalente, promoviendo la oxidación de alcoholes primarios a sus correspondientes ácidos carboxílicos.^{181,182} Así, se probaron dos condiciones (i y ii, Figura 23) para la oxidación del derivado furfural alcohol **21**, una calentado a 70 °C durante 6h y otra a 120 °C durante 15 min donde observamos únicamente la descomposición total del reactivo de partida.

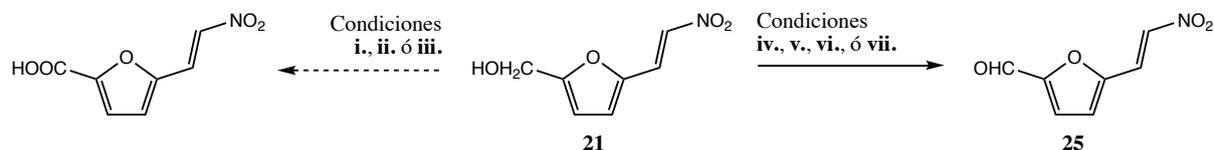


Figura 23. Reacciones de oxidación del compuesto **21**. Las condiciones ensayadas para la obtención del ácido fueron: i) Oxone/IBX, CH₃CN, 70°C, 6h;¹⁸² ii) Oxone/IBX, CH₃CN, 120°C (MW), 15min; y iii) NaClO₂(ac), NaH₂PO₄, H₂O₂, CH₃CN, 10°C, 3h;¹⁸³. Las condiciones para la obtención del aldehído **25** fueron: iv) TEMPO(cat), acetona, T.A.; v) PhI(OAc)₂, TEMPO(cat), acetona, T.A., 1h; vi) Oxone, TEMPO(cat), KBr, acetona, T.A.; vii) NaClO₂, TEMPO(cat), acetona, T.A..

También se ensayó la condición con ClO₂⁻/H₂O₂ como sistema oxidante verde,¹⁸⁴ sin embargo tampoco se evidenció la presencia del ácido deseado como producto de oxidación. Si bien estos

sistemas pueden emplearse para la oxidación de diversos aldehídos, la preoxidación del compuesto sería una condición necesaria para lograr obtener el ácido carboxílico.¹⁸³ En este contexto, TEMPO es un radical nitroxilo estable que mediante combinación con agentes oxidantes y utilizado en cantidades catalíticas, promueve la oxidación a temperatura ambiente de alcoholes primarios y secundarios a sus correspondientes compuestos carbonílicos.¹⁸⁵

Se ensayaron 4 condiciones donde se utilizó este catalizador en ausencia o presencia de distintos agentes oxidantes: (diacetoxiiodo)benceno, Oxone[®] y clorito de sodio. Bajo las condiciones iv), vi) y vii) (Figura 23) la obtención del compuesto **25** fue observable por TLC pero en muy baja proporción, sin embargo, en presencia de (diacetoxiiodo)benceno (condición v, Figura 23) se obtuvo el compuesto 2-formil-5-nitrovinilfurano **25** con un rendimiento del 80%. Con el objetivo de completar la caracterización estructural de este compuesto, el cual no se ha reportado aun en literatura, se incluyó el análisis del espectro de masas en la modalidad impacto electrónico a 70eV (Figura 24). En el espectro de masa se destacan las señales correspondientes al ión molecular y los distintos fragmentos generados por la pérdida de grupos funcionales, confirmando la estructura previamente elucidada por RMN de ¹H y ¹³C (incluida en sección 6.5.2, Materiales y Métodos).

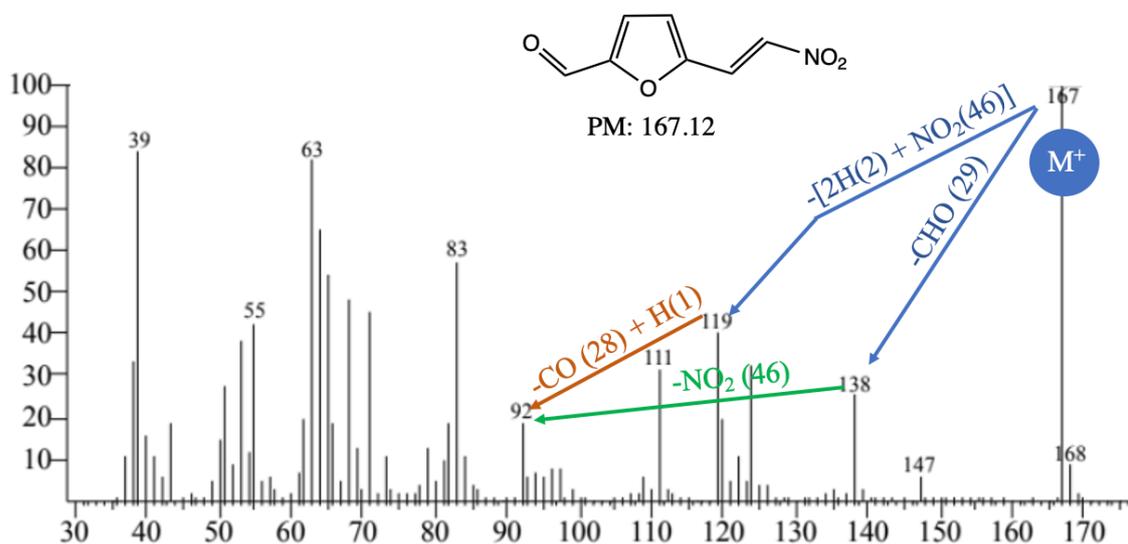


Figura 24. Patrón de fragmentación del compuesto **25** producido por impacto electrónico. M⁺ corresponde al ión molecular. Los fragmentes resultantes de la pérdida de un grupo funcional se indican como - “grupo funcional (masa)”.

3.4 Potencial antiinflamatorio *in vitro*

Los nitroalquenos son moléculas orgánicas electrófilas que pueden reaccionar con aminoácidos nucleófilos presentes en proteínas reguladoras del metabolismo celular (como las proteínas relacionadas con procesos inflamatorios). La reactividad de la molécula de nitroalqueno está determinada principalmente por la presencia del grupo nitro (NO₂) sobre el doble enlace del alqueno, el cual convierte al carbono β adyacente al grupo nitro en un centro atrayente de electrones, y por tanto en compuestos altamente electrofílicos.

Inicialmente se propuso evaluar la electrofilia de los nitroalquenilfuranos, en particular su capacidad para actuar como aceptores de Michael, principal mecanismo por el cual actuarían estas moléculas (Figura 25). Los nitroalquenos **22** y **23** no fueron incluidos en el estudio debido a que no contábamos con producto suficiente para llevar a cabo las evaluaciones correspondientes. Los productos **20**, **21**, **24** y **25** se incubaron a una concentración de 50 μM en presencia de un nucleófilo modelo de bajo peso molecular en cantidades equimolares, β-mercaptoetanol (βME), en solución buffer fosfato de sodio 25 mM, pH 7.4, 1% SDS y se registraron los espectros de absorción a distintos tiempos durante los primeros minutos de reacción. En la Figura 26 se muestra el seguimiento por espectroscopía UV de la reacción entre βME y los nitroalquenilfuranos mencionados. Todos los compuestos presentan un máximo de absorción entre 350 y 370 nm.

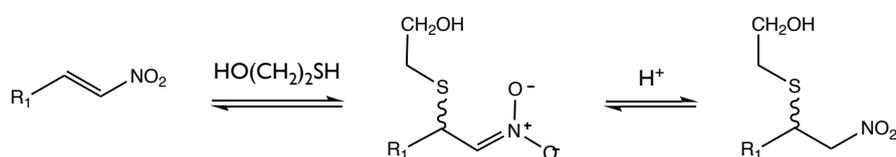


Figura 25. Reacción de nitroalquenos con βME (Adición de Michael).

Siendo **20** el miembro más simple de la serie, asociamos el máximo de absorción a estas longitudes de onda a la presencia de 2-nitroalquenilfuranos como grupos cromóforos. Los espectros de **21** y **24** presentan el mismo patrón que el 2-(nitrovinil)furano, con ligeros corrimientos en el máximo de absorción, y muestran la misma tendencia a medida que avanza el tiempo de exposición a βME. En cambio el nitroalqueno **25**, si bien presenta un espectro inicial similar a los demás compuestos, presenta una señal que de intensidad mayor alrededor de 280 nm, característica de 2-furfuraldehídos. En todos los casos, se observa un decaimiento exponencial de la absorbancia en la región de 350-370 nm (Figura 26) a medida que transcurre el tiempo, lo cual sugiere que los nitroalquenilfuranos sintetizados son efectivamente aceptores de Michael potencialmente reactivos frente a nucleófilos presentes en medios biológicos.

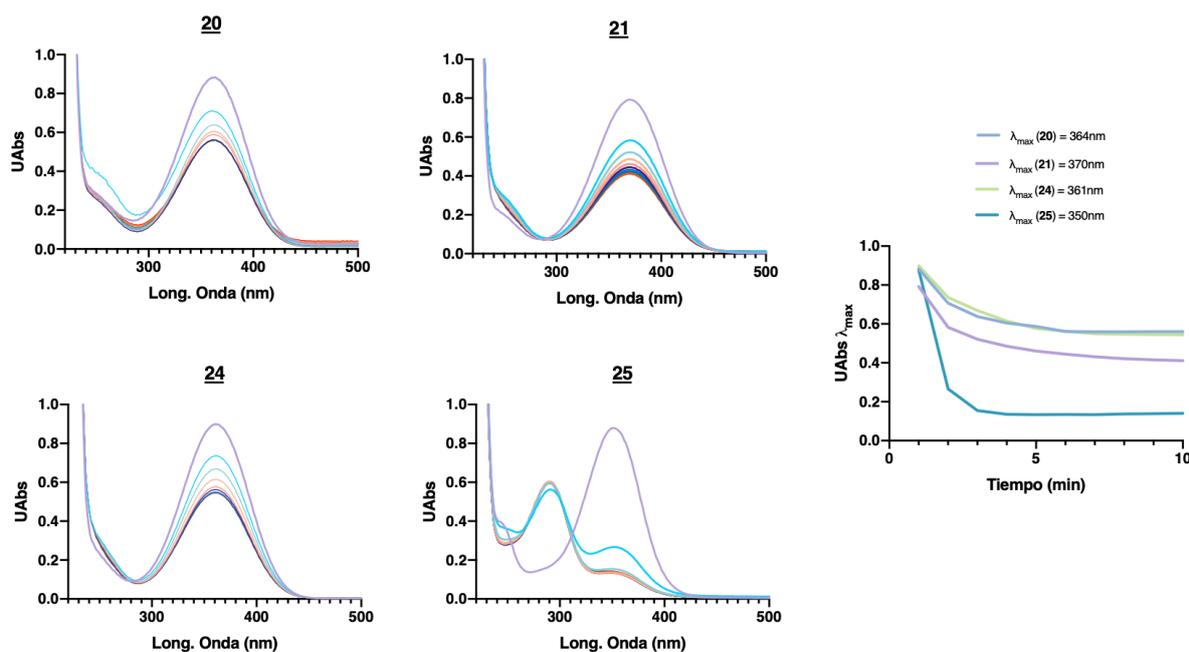


Figura 26. Electrofilia de los nitroalquenos **20**, **21**, **24** y **25**. La gráfica de absorbancia en función del tiempo muestra el decaimiento exponencial en la absorptividad dado por la reacción entre los compuestos y β ME a las longitudes de onda correspondientes a los máximos de absorción.

Previo a los ensayos de evaluación de actividad antiinflamatoria *in vitro* de los compuestos nitroalquenilfuranos, hicimos una valoración de la citotoxicidad inespecífica de los compuestos en una línea celular de monocitos humanos (THP-1, la cual es diferenciada a macrófagos mediante incubación con forbol 12-miristato 13-acetato), que luego se utilizó en los estudios de actividad antiinflamatoria. La citotoxicidad inespecífica se determinó mediante ensayos de viabilidad celular con MTT, donde se mide la actividad metabólica celular mediante la reducción de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol (MTT) a formazán, acompañado de desarrollo de color lo cual se cuantifica espectroscópicamente.¹⁸⁶ Esta reacción es catalizada por oxidoreductasas citosólicas dependientes de NAD(P)H y por lo tanto es un indicador del potencial reductor de una célula, que a su vez depende de la disponibilidad de los agentes reductores necesarios que intervienen en la bioenergética celular.¹⁸⁷ Los resultados se expresan como EC_{50} (concentración de compuestos que reduce la absorbancia a 570nm respecto del control en un 50%). Así, se evaluó el efecto citotóxico inespecífico de los nitroalquenilfuranos **20**, **21**, **24** y **25**; los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 12. En base a ellos se determinó utilizar una concentración 10 μ M de los compuestos para los ensayos de actividad antiinflamatoria, con el fin de obtener un control mostrando que estos no causan muerte celular apreciable.

Tabla 12. EC_{50} (μM) de compuestos seleccionados ensayados en la línea celular THP-1, una línea de monocitos humanos.

Compuesto	20	21	24	25
EC_{50} (μM)	51	33	19	24

En la Figura 27 se presentan los resultados obtenidos para los ensayos de actividad antiinflamatoria en células THP-1, expuestas a los mismos nitroalquenilfuranos, estimulando la activación del inflamasoma NLRP3 usando como primera señal LPS y segunda señal ATP y utilizando como evidencia la detección en forma cuantitativa de IL-1 β liberada al medio por los macrófagos, así como también la viabilidad celular de estos luego de todo el tratamiento. Los resultados corresponden a la cuantificación de IL-1 β secretada por las células, mediante un kit de ELISA, expresados en relación al experimento de activación en presencia de vehículo (DMSO).

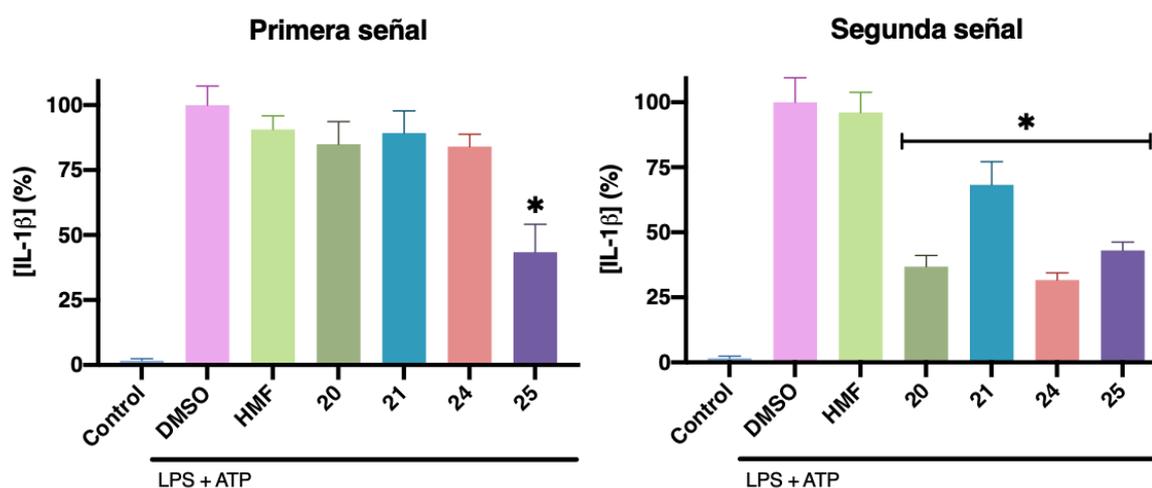


Figura 27. Evaluación del efecto de los nitroalquenilfuranos en la activación del inflamasoma NLRP3 en células THP-1. A la izquierda y derecha se muestra el efecto sobre la secreción de IL-1 β luego de incubar a las células con los compuestos durante la primera y segunda señal respectivamente. El experimento es $n = 2$ y en cada uno las condiciones se hicieron por triplicado. Los valores están mostrados como promedio \pm error estándar de la media. * $p < 0.0001$

Cuando los compuestos se añadieron junto con la primera señal (Figura 27), únicamente el nitroalqueno **25** presentó una disminución en la secreción de IL-1 β . No obstante, cuando los mismos se adicionaron junto con la segunda señal, todos presentaron una disminución significativa en grados variables. Es importante mencionar que la presencia de los compuestos no altera significativamente la viabilidad celular en el contexto de un evento inflamatorio. Por lo tanto, el efecto que se observa de inhibición de la secreción de IL-1 β no está dado por la toxicidad de los compuestos, indicando que los nitroalquenilfuranos efectivamente presentan

potencial antiinflamatorio y en estudios posteriores se analizará la aplicabilidad terapéutica de estas moléculas.

3.5 Actividad antitumoral de nitroalquenilfuranos

Teniendo en cuenta que el inflamasoma tiene un potencial rol en el desarrollo de ciertos tipos de cáncer,^{188,189} se evaluó la actividad antiproliferativa de algunos de los compuestos sintetizados en 6 líneas celulares tumorales humanas en el marco de una colaboración con el grupo dirigido por el Dr. José M. Padrón del Centro de Investigaciones Biomédicas de Canarias, Instituto Universitario de Bio-Orgánica “Antonio González”, Universidad de la Laguna, España. Las líneas celulares utilizadas son procedentes de tumores sólidos de origen diverso: HBL100 (células de cáncer de mama), HeLa (células de cáncer de cérvix), SW1573 (células de cáncer de pulmón), T-47D (células de cáncer de mama), WiDr (células de cáncer de colon) y A549 (células de cáncer de pulmón). Los resultados están expresados como GI₅₀ que es la concentración del compuesto que resulta en una reducción del 50% del crecimiento celular neto tras 48h de exposición en comparación con los valores de las células control no tratadas, aplicando el protocolo de National Cancer Institute (NCI) de los EE.UU.,¹⁹⁰ utilizando el ensayo SRB.¹⁹¹

Tabla 13. GI₅₀ (μM) de compuestos seleccionados ensayados en líneas celulares de cánceres humanos. Se incluyen los resultados de cisplatino y etopósido como compuestos de referencia. Los valores son promedios de tres experimentos ± error estándar de la media.

Compuesto	A549	HBL-100	HeLa	SW1573	T-47D	WiDr
	Pulmón	Mama	Cervix	Pulmón	Mama	Cólon
20	28 ± 2	31 ± 5	20 ± 1	19 ± 1	38 ± 7	37 ± 9
21	19 ± 3	15 ± 1	18 ± 6	13 ± 3	19 ± 1	19 ± 3
22	4.5 ± 0.6	3.9 ± 0.4	3.5 ± 0.4	4.6 ± 0.3	4.3 ± 1.1	3.5 ± 0.2
23	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
24	2.5 ± 0.9	2.7 ± 0.2	2.3 ± 0.7	2.3 ± 0.4	2.8 ± 0.1	2.5 ± 0.3
Cisplatino	2.1 ± 0.6	1.9 ± 0.3	2.0 ± 0.3	3.0 ± 0.4	15 ± 2	26 ± 5
Etopósido	0.7 ± 0.2	2.3 ± 0.9	3.0 ± 0.9	15 ± 2	22 ± 6	26 ± 3

En la Tabla 13 se presentan los resultados correspondientes a los ensayos de actividad antiproliferativa en líneas celulares tumorales humanas para 5 de los nitroalquenilfuranos sintetizados. El nitroalqueno **25** no fue incluido en estos estudios puesto que, al momento de enviar las muestras para la realización de las evaluaciones correspondientes no contábamos con cantidades suficientes de este producto. Los nitroalquenos **20**, **21** y **23** presentaron valores

de GI₅₀ muy superiores a los de los compuestos de referencia, salvo en las líneas celulares resistentes T-47D (cáncer de mama) y WiDr (cáncer de colon), donde los derivados **20** y **21** mostraron valores similares a los fármacos de referencia. Los resultados obtenidos para los nitroalquenilfuranos **22** y **24** están en el mismo orden que los GI₅₀ de los compuestos de referencia e inclusive presentan mayor actividad antiproliferativa en las líneas resistentes T-47D y WiDr, para las cuales los compuestos de referencia, cisplatino y etopósido, presentan menor efectividad. Además, para **24** comparamos la citotoxicidad para los macrófagos THP-1 y la actividad antiproliferativa para cada línea celular tumoral utilizando el índice de selectividad (IS), determinado como la relación entre EC₅₀ para macrófagos y GI₅₀ para cada línea celular tumoral, presenta valores IS (6.8-7.6) de al menos el doble de los valores de GI₅₀ correspondientes.

Capítulo 4

Conclusiones y Perspectivas

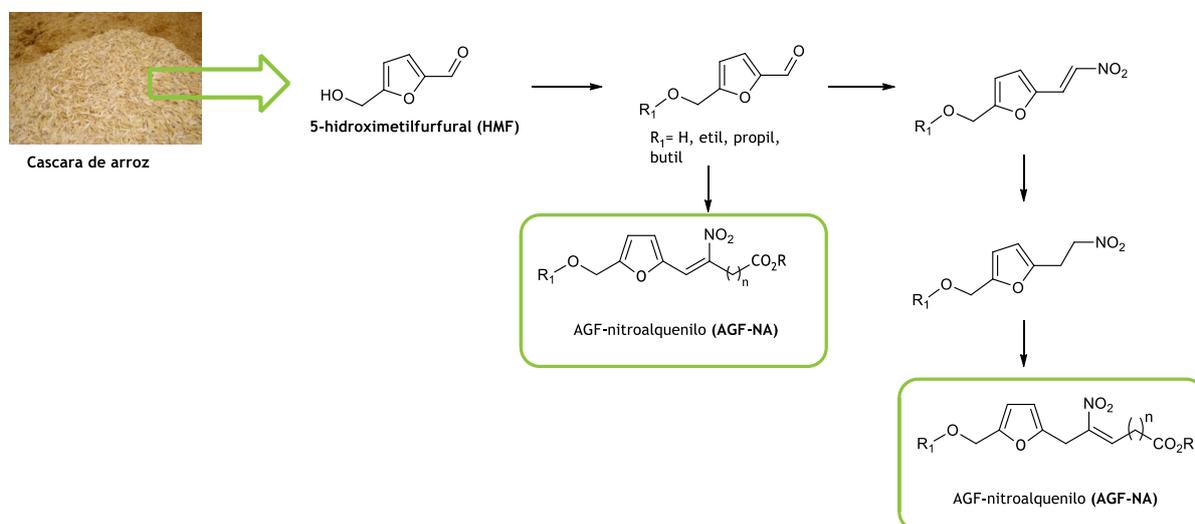
4. Conclusiones y Perspectivas

En lo que respecta a la obtención de HMF a partir de biomasa, se probaron y compararon 16 condiciones de tratamiento distintas, de las cuáles dos se destacaron como óptimas tanto para pajilla de trigo como para cáscara de arroz. Se desarrolló una metodología alternativa para la cuantificación de HMF en mezclas, eliminando la necesidad de aislar el producto luego de cada experimento y permitiendo un screening rápido de condiciones de reacción para su obtención. Además, los resultados de tratamientos con ácido metanosulfónico, el cual es considerado un ácido verde por ser no corrosivo,^{164,192} y natural, dado que sus productos de degradación son CO₂ y SO₄²⁻,¹⁹³ indican que este es un buena candidato para reemplazar a su contraparte mineral (H₂SO₄) sin comprometer rendimientos en el tratamiento de biomasa. En suma, se encontró una condición amigable con el medio ambiente a ensayar a futuro en la obtención y aislamiento de HMF a partir de biomasa en una mayor escala de trabajo.

Los ensayos preliminares del uso de resinas “*scavenger*” para la purificación de aldehídos aromáticos muestran que la misma es capaz de unir 2-furfuraldehídos de manera reversible. De todas maneras, este proceso aún requiere de ajustes, principalmente referente a las condiciones de desanclaje. Como pendientes para la continuidad de esta línea de investigación en el grupo quedan la síntesis y evaluación de resinas con otro tipo de funcionalidades (aminas y semicarbazidas),^{194,195} con el fin de encontrar aquella más apropiada para el aislamiento de 2-furfuraldehídos de mezclas complejas como sería un hidrolizado de cáscara de arroz o pajilla de trigo. Adicionalmente, sería de interés probar el desempeño de resinas en el aislamiento de 2-furfuraldehídos producidos en las condiciones optimizadas en el marco de este trabajo de tesis.

En cuanto a la síntesis de derivados de AGF, se encontraron dificultades para trabajar con la reacción de Wittig en fase sólida, primera etapa de nuestra ruta sintética inicial. Buscando racionalizar las dificultades encontradas, llevamos a cabo múltiples pruebas utilizando furfural, aprovechando su mayor estabilidad y menor costo. Las pruebas con furfural en fase sólida permitieron obtener la olefina, aunque con rendimientos muy bajos. Si bien las reacciones de Wittig en disolución con furfural dieron rendimientos mayores, en ningún caso superaron el 50 %. Así nos propusimos realizar cambios en la ruta propuesta y para ello evaluamos dos estrategias distintas. La primera de ellas involucró la síntesis de 2-vinilfuranos y su acople a un ácido graso mediante metátesis cruzada de olefinas, sin embargo, los resultados obtenidos en esa instancia no fueron satisfactorios, observándose únicamente productos de metátesis entre 2 ácidos grasos.

Por otra parte, la segunda ruta ensayada permitió la síntesis de derivados de AGF mediante una secuencia de *O*-alquilación; reducción; *O*-alquilación. Si bien esta última permitió llegar a compuestos finales, los rendimientos globales obtenidos fueron muy bajos. De todas maneras, las cantidades de producto obtenidas permitirán llevar a cabo futuros ensayos de bioactividad, lo que determinará la continuidad de esta línea de investigación en base al interés del grupo por esta familia de compuestos. Los estudios de bioactividad serán llevados a cabo en el marco de los estudios de doctorado de la Lic. Lucía Colella, tesis que se desarrolla dentro de un proyecto de investigación fundamental Fondo Clemente Estable (FCE_1_2017_1_136081) financiado por ANII. En este contexto, se pretende ampliar la familia de compuestos derivados de ácidos grasos de furano y explorar la posible conjugación de estos con el farmacóforo nitroalqueno:



Por último, el uso de 2-furfuraldehídos como plataformas químicas renovables nos permitió un acceso rápido a una serie de moléculas, los nitroalquenilfuranos, que pueden actuar como aceptores de Michael en medios biológicos y potencialmente controlar la activación de eventos inflamatorios mediados por el inflammasoma NLRP3. También se destacan los resultados de actividad antiproliferativa observados en líneas celulares tumorales para los nitroalquenos **22** y **24**, los cuales tuvieron desempeño similar a los compuestos de referencia en 4 de las líneas estudiadas y superior para 2 líneas donde los compuestos de referencia encuentran cierta resistencia. Por lo tanto, como proyección de esta tesis dentro del grupo de trabajo se pretende llevar a cabo estudios de relación estructura-actividad de los nitroalquenilfuranos obtenidos a partir de HMF y furfural, como potenciales agentes antiinflamatorios y antitumorales, así como profundizar en el estudio de los mecanismos de acción involucrados en esta familia de compuestos bioactivos. De esta forma esperamos avanzar en la posibilidad de seleccionar candidatos para futuros estudios preclínicos en las patologías estudiadas.

Agradecimientos

Materiales y métodos

Referencias

5. Agradecimientos

Al Institut Pasteur de Montevideo y a Facultad de Química (Udelar) por el acceso a sus instalaciones y equipamiento en el desarrollo de la presente tesis. A PEDECIBA-Química por el apoyo financiero como estudiante de posgrado. A la Agencia Nacional de Investigación e Innovación por financiar este trabajo a través de una Beca de Maestría y de un proyecto Fondo Clemente Estable (FCE_1_2017_1_136081). A CSIC-Udelar por financiar el proyecto de Iniciación a la Investigación (Ini-2017 ID 238) en el marco del cual se llevaron a cabo las actividades de investigación en Dinamarca. Al grupo del Prof. Claus Felby y la Dra. Yohanna Cabrera (Bosques, Naturaleza y Biomasa), Instituto de Geociencias y Manejo de Recursos Naturales, de la Universidad de Copenhague (Dinamarca), por recibirme y darme acceso a todas sus instalaciones. Al grupo del Dr. José María Padrón (BioLab) Instituto Universitario de Bio-Orgánica "Antonio González" (IUBO-AG), Centro de Investigaciones Biomédicas de Canarias, de la Universidad de la Laguna (España), por los ensayos de actividad antiproliferativa.

6. Materiales y Métodos

En esta sección se detallan las metodologías, los datos experimentales y el análisis espectroscópico de los compuestos (intermedios y productos finales) obtenidos.

La cáscara de arroz fue suministrada por la empresa COOPAR (Blue Patna, Planta industrial ruta 15, Lascano, Rocha).

Los disolventes y otros reactivos fueron adquiridos en empresas comerciales y usados sin purificación (Sigma-Aldrich, Fluka, Merck, Carlos Erba, Siquimia).

Para las reacciones con calentamiento asistido por microondas se utilizó un digestor por Microondas multimodo (WX-4000, Zhejiang Scientific). El equipo permite llevar a cabo hasta 6 reacciones en paralelo en viales de teflón de 60mL. Alternativamente, el calentamiento asistido por microondas se lleva a cabo en un reactor de microondas monomodo (Discover, CEM). Las reacciones con calentamiento asistido por ultrasonidos se llevan a cabo en un baño multi-frecuencia 37/80 KHz (Elmasonic P, Elma).

Los espectros UV se tomaron con un espectrofotómetro Ocean Optics Flame con lámparas de deuterio-halógena utilizando cubetas de cuarzo.

Los grados de avance de las reacciones y la pureza de los productos se examinan por TLC. Se utilizó sílicagel con indicador fluorescente sobre placas de PET (Sigma Aldrich). Las fases

móviles utilizadas fueron mezclas de AcOEt:Hexanos (en distintas proporciones) y éter etílico/Hexanos (en diversas proporciones).

Los cromatogramas se revelaron por alguno de los siguientes métodos:

- Exposición a la luz ultravioleta (254 nm)
- Exposición a vapores de yodo
- asperjado con: a) mezcla de etanol/Ácido sulfúrico/Anisaldehído 95:4:1 (v:v:v) y posterior quemado, o b) reactivo de Brady (solución de 2,4-Dinitrofenilhidrazina en Ácido sulfúrico y EtOH).

Para las cromatografías en columna, se utilizó sílica flash (Carlo Erba, tamaño 0.063 mm).

Todas las reacciones que involucran reactivos sensibles a la humedad o aire se realizan bajo atmósfera de nitrógeno.

Los espectros ^1H -RMN y ^{13}C -RMN de los compuestos se realizan en un equipo Bruker DPX 400 (400 MHz y 100 MHz, respectivamente). Como disolvente se utilizó CDCl_3 (excepto que se indique otro disolvente) y TMS como estándar interno. Los valores de desplazamiento químico son descritos en unidades de δ (ppm) y las multiplicidades según s: singulete, d: doblete, dd: doblete de doblete, t: triplete, c: cuarteto, q: quinteto, m: multiplete, sa: señal ancha. Los datos que se describen corresponden a los espectros adquiridos a 303 K. La completa caracterización es realizada con la combinación de experimentos COSY, HSQC y HMBC.

La determinación de puntos de fusión de compuestos sólidos se hizo en tubos capilares en un equipo Electrothermal 9100 (Electrothermal Eng Ltd., United Kingdom).

Los espectros de masa se obtienen por impacto electrónico (IE) utilizando un equipo Shimadzu GCMS QP 2010 ULTRA a un potencial de ionización de 70 eV por inyección directa.

6.1 Obtención de HMF a partir de biomasa

6.1.1 HMF y ácido levulínico a partir de D-fructosa en sistema bifásico

Se prepara una solución acuosa ácida (HCl, pH 0.6) saturada en NaCl. En un vial de teflón de 60 mL para el digestor por microondas, se agregan 1.29 g de D-fructosa (7.14 mmol) y se disuelve en 3.2 mL de la solución ácida preparada anteriormente. Luego se agrega 9.6 mL de THF, se tapa el vial y se coloca en el reactor. Se seleccionan valores máximos de temperatura, potencia de irradiación y presión. Al terminar el tiempo de reacción en estudio, se deja enfriar los viales hasta llegar a temperatura ambiente. Se realiza un filtrado rápido de la solución con

celite y se lava con THF. Se separan las fases y se evapora el THF a presión reducida. El crudo de reacción obtenido como aceite marrón se disuelve en 20 mL de AcOEt y se coloca en un embudo de decantación. Se ajusta el pH a 9 de la fase acuosa previamente separada con el agregado de solución saturada en NaHCO₃ y se coloca en el embudo de decantación. Se mezclan las fases y se controla el pH de la fase acuosa, en caso de ser necesario, debe agregarse más solución alcalina para mantener el pH en 9. Se separan fases y se vuelve a extraer de la fase acuosa con AcOEt hasta lograr la extracción total de HMF. Se juntan los extractos, se seca con NaSO₄ anhidro, se filtra y se evapora el disolvente. Se purifica el HMF por cromatografía en columna utilizando una fase móvil AcOEt:Hexanos (1:1). Se obtiene el compuesto como un aceite de color ámbar, realizando una cristalización con éter etílico a -20 °C para aumentar el grado de pureza. Los desplazamientos y constantes de acoplamiento del espectro de ¹H-RMN se corresponden con los valores reportados para el compuesto en la literatura.¹⁹⁶ ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ(ppm) 9.60 (s, 1H), 7.24 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 6.54 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H) y 4.74 (s, 2H).

Por otra parte, la fase acuosa básica (pH 9) se ajusta a pH 4-5 mediante el agregado de una solución de HCl 1M. Seguidamente se extrae con AcOEt, se seca la fase orgánica con Na₂SO₄, se filtra y destila a vacío para obtener ácido levulínico. Los desplazamientos y constantes de acoplamiento del espectro de ¹H-RMN se corresponden con los valores reportados para el compuesto en la literatura.¹⁹⁷ ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ(ppm) 2.77 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.59 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H) y 2.21 (s, 3H).

6.1.2 5-(etoximetil)furfural (3)

En un reactor de teflón de 60 mL se agregan 0.40 g de D-fructosa (2.22 mmol), 0.06 g de *p*-TsOH (0.30 mmol), 10 mL de EtOH absoluto y 0.92 mL de DMSO. La reacción se lleva a cabo en un reactor de microondas de cavidad multimodo, seleccionando 116 °C como temperatura máxima con una potencia de irradiación de 400 W y el tiempo de reacción en estudio. Finalizada la reacción, se deja alcanzar temperatura ambiente y se destila el EtOH a presión reducida. Seguidamente al crudo de reacción se agregan 30 mL de agua, 1 mL de solución saturada en NaCl y se realizan extracciones con AcOEt (6x10 mL). Las fases orgánicas combinadas se secan utilizando Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. Se purifica el producto por cromatografía en columna utilizando sílica flash como fase estacionaria y una mezcla AcOEt:hexanos (3:7) como fase móvil, obteniéndose en todos los casos mezclas de 3/4 (levulinato de etilo) que se cuantifican por ¹H-RMN. Los desplazamientos

y constantes de acoplamiento se corresponden con los valores reportados para los compuestos.^{198,199}

3: ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ(ppm) 9.63 (s, 1H), 7.23 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 6.54 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 4.55 (s, 2H), 3.61 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H) y 1.26 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H).

4: ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ(ppm) 4.14 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.76 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 2.58 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 2.20 (s, 3H) y 1.26 (s, 3H).

6.1.3 Cuantificación de HMF por análisis MCR-ALS de espectros UV

Se prepararon las mezclas HMF:furfural especificadas en la Tabla 13 por duplicado y se tomaron sus respectivos espectros por duplicado, sumando un total de 4 espectros por mezcla. La región del espectro utilizada para hacer el análisis fue de 200 a 350 nm.

Tabla 14. Mezclas HMF:furfural preparadas para la construcción de modelo MCR-ALS

	Planeamiento		Concentraciones (μM)	
	HMF	Furfural	HMF	Furfural
A	0	0	70.4	70.4
B	0	-2	72.6	16.7
C	-2	-2	16.7	20.0
D	-2	2	20.0	122.7
E	2	0	122.5	72.5
F	0	2	74.7	125.1
G	2	2	125.0	127.5
H	2	-2	127.4	24.0
I	-2	0	24.0	74.6
J	-1	1	46.3	98.8
K	1	1	98.7	98.7
L	1	-1	98.8	46.3
M	-1	-1	46.2	46.2
N	X	-	60.0	0.0
O	-	Y	0.0	60.0
P	X	Y	60.0	60.0

En primer lugar, se realizó una separación de los espectros de todas las mezclas en un grupo de calibración (42 espectros) y otro de validación (22 espectros) utilizando el algoritmo Onion implementado en el paquete PLS Toolbox 2.0 v8.6.1. Para el análisis por MCR-ALS se usaron restricciones de no negatividad. Se realizaron correcciones de línea de base (Filtro Whittaker, $\lambda=1 \times 10^5$ and $p=1 \times 10^{-5}$). Se generó un modelo de dos componentes, pudiendo identificarse que

estos coincidiesen con los espectros reales de furfural y HMF; se construyeron dos curvas de calibración utilizando los scores asignados a cada espectro.

6.1.4 HMF (1) a partir de cáscara de arroz y pajilla de trigo

La determinación de carbohidratos estructurales, en particular de hexosas, es necesaria para el cálculo de rendimientos molares de HMF. El análisis composicional de los materiales de partida se hizo según protocolos NREL.¹⁶² La cascara de arroz se molió y tamizó, de modo que el tamaño de partícula seleccionado fue de entre 250 y 1000 μm ; la pajilla de trigo utilizada es un material de referencia pre-molido (RM 8494, NIST). El contenido de los monosacáridos D-(+)-celobiosa, D-(+)-glucosa, D-(+)-xilosa, L-(+)-arabinosa, D-(+)-galactosa y D-(+)-manosa (kit de 6 componentes, Absolute Standards, Inc) se determinó en un sistema DIONEX ICS5000 equipado con una columna CarboPac-PA1 y un detector de pulso amperométrico (Dionex, Sunnyvale, CA, USA). El flujo de fase móvil fue de 1 mL/min. El programa de elución inicia con 35 min de agua milliQ como eluente y luego aumenta hasta 200 mM de NaOH en 10 min; finalmente se incluyen 10 min con agua milliQ para equilibrar el sistema. Para mejorar la detección, se utilizó un mezclado post-columna con NaOH 200 mM a un flujo de 0.5 mL/min. Los resultados de análisis composicional se muestran en la Tabla 5, donde se incluyen además los valores esperados para el material de referencia utilizado. Las desviaciones observadas para este último se consideran aceptables

En primer lugar, se preparan las soluciones ácidas al 4.5 % m/m (HCl, H₂SO₄ y MeSO₃H) saturadas en NaCl en cantidades suficientes para la realización de todos los experimentos.

El procedimiento general consiste en agregar, en una placa de acero inoxidable de 4 pocillos de 18 mL de capacidad, 100 mg del material de partida previamente molido, tamizado, lavado (4 extracciones con H₂O y EtOH a 100 °C y 110 bar -con agregado de N₂- en ASE 350, Thermo Scientific) y secado, 1 mL de solución ácida saturada en NaCl y 3.2 mL de THF. Adicionalmente, en los experimentos con Na₂S₂O₄, éste se agrega antes de adicionar cualquier disolvente. Todas las condiciones ensayadas se muestran en la Tabla 6. La placa se cubre con una cinta de silicona, para evitar la pérdida de disolventes, y se lleva a la plancha calefactora. Esta última cuenta con un sistema de prensa para poder trabajar a temperaturas superiores al punto de ebullición de los disolventes seleccionados. Las mezclas de reacción se mantienen durante 30 o 60 min a 170 °C. Finalizado el tiempo de reacción, el sistema se enfría a temperatura ambiente mediante un flujo de agua corriente y posteriormente se coloca la placa en un congelador a -30 °C durante 10 min. Se realizan diluciones agua:fase orgánica 1:500, se

toman espectros por triplicado, se selecciona el rango indicado para la cuantificación y se procesan con el modelo generado según 6.1.3. A cada espectro se asigna un score que es utilizado para calcular concentraciones de HMF por interpolación de la curva de calibración y finalmente los rendimientos para cada condición ensayada se calculan según la ecuación:

$$R(\%) = 100 \frac{n_{HMF}}{n_{hexosas}} = 100 \frac{V_{THF} C_{HMF} PM_{HMF}^{-1} PM_{hexosas}}{1.111 f_{hexosas} m_{biomasa} (1 - \frac{H}{100})}$$

Donde V_{THF} es el volumen de THF en mL, C_{HMF} es la concentración de HMF en $g mL^{-1}$, PM_{HMF} y PM_{hexosa} son los pesos moleculares de HMF y hexosa respectivamente, 1.111 es un factor de conversión de masa hexosa/hexosano, $f_{hexosas}$ es la fracción de hexosas (Glc+Gal) en biomasa. $m_{biomasa}$ es la masa utilizada en gramos y H es el contenido de humedad de la biomasa.

6.1.5 Síntesis de resina hidrazina

En un balón de dos bocas provisto de un sistema de atmósfera de N_2 se suspende 10.0 g de resina Merrifield (16 mmol, carga 1.56 mmol g^{-1}) en 40 mL de DMF, se añade 8 mL de hidrazina monohidrato (160mmol) y se mantiene con agitación orbital suave a temperatura ambiente durante 6 h.¹⁶⁵ Finalizado el tiempo de reacción, se transfiere el contenido del balón a un cartucho de filtración y se realizan 3 lavados con cada uno de los siguientes disolventes: MeOH, MeOH/DMF 1:1, DMF, THF y éter etílico (40 mL por cada lavado). Por último se seca la resina en un desecador con sílica gel.

6.1.6 Anclaje y desanclaje de furfural a resina “scavenger”

Anclaje 1: en un balón de dos bocas provisto de un sistema de atmósfera de N_2 se agrega 0.468 g de resina hidrazina (0.3 mmol, carga 1.56 mmol g^{-1}) y se deja hidratar con 4.5 mL de metanol durante 5 min. Seguidamente, se agrega 0.288 g de furfural (3.0 mmol), 4.5 mL de metanol y 0.3 mL de ácido acético glacial (5.2 mmol). La mezcla se mantiene con agitación orbital suave a temperatura ambiente durante 24 h. Finalizado el tiempo de incubación, se transfiere el contenido del balón a un cartucho de filtración y se realizan 3 lavados con MeOH, MeOH/DMF 1:1, DMF, THF y éter etílico (5 mL por cada lavado) y se seca la resina en un desecador.

Anclaje 2: en un balón de dos bocas provisto de un sistema de atmósfera de N_2 se agrega 0.468 g de resina hidrazina (0.3 mmol, carga 1.56 mmol g^{-1}) y se deja hidratar con 4.5 mL de metanol durante 5 min. Seguidamente, se agrega 0.288 g de furfural (3.0 mmol), 4.5 mL de metanol y 0.4 mL de trietilamina (3.0 mmol). La mezcla se mantiene con agitación orbital suave a

temperatura ambiente durante 24 h. Finalizado el tiempo de incubación, se procede igual que en Anclaje 1.

Anclaje 3: en un vial de teflón de 60 mL se agrega 0.468 g de resina hidrazina (0.3 mmol, carga 1.56 mmol g^{-1}) y se deja hidratar con 4.5 mL de metanol durante 5 min. Seguidamente, se agrega 0.288 g de furfural (3.0 mmol), 4.5 mL de metanol y 0.3 mL de ácido acético glacial (5.2 mmol). La mezcla se calienta durante 20 min a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ o 10 min a $100 \text{ }^\circ\text{C}$ en el digestor por microondas multimodo con una potencia de 100 W. Finalizado el tiempo de incubación, se procede igual que en Anclaje 1.

Desanclaje 1: en un balón se agregan las resinas con furfural anclado (0.15 mmol, correspondiente a la mitad de la resina asumiendo 100% de rendimiento), 4.5 mL de THF, 2.25 mL de acetona y 0.22 mL de HCl 37% (2.7 mmol). La mezcla se mantiene con agitación orbital suave a temperatura ambiente durante 30 min. Finalizado el tiempo de incubación, se transfiere el contenido del balón a un cartucho de filtración y se realizan 2 lavados con THF y MeOH (4.5 mL por cada lavado). Se toma el filtrado y se evapora el disolvente utilizando un evaporador rotatorio. Se disuelve la mezcla en 25 mL de AcOEt y se realizan lavados con 10 mL de solución saturada en NaHCO_3 , 10 mL de agua y 10 mL de solución saturada en NaCl. Se seca la fase orgánica con Na_2SO_4 anhidro, se filtra y se evapora el disolvente. Se verifica la presencia de furfural mediante TLC utilizando un patrón comercial.

Desanclaje 2: en un balón se agregan las resinas con furfural anclado (0.15 mmol, correspondiente a la mitad de la resina asumiendo 100% de rendimiento), 4.5 mL de THF, 2.25 mL de acetona y $1.2 \text{ } \mu\text{L}$ de HCl 37% (15 nmol). La mezcla se mantiene con agitación orbital suave a temperatura ambiente durante 1 h. Finalizado el tiempo de incubación, se procede igual que en Desanclaje 1.

Desanclaje 3: en un balón se agregan las resinas con furfural anclado (0.15 mmol, correspondiente a la mitad de la resina asumiendo 100% de rendimiento), 4.5 mL de THF, 2.25 mL de acetona y 0.15 mL de ácido acético glacial (2.62 mmol). La mezcla se mantiene con agitación orbital suave a temperatura ambiente durante 1 h. Finalizado el tiempo de incubación, se procede igual que en Desanclaje 1.

6.2 Síntesis de derivados de AGF

6.2.1 Síntesis de sales de fosfonio soportadas y convencionales

Procedimiento general de síntesis de sales de fosfonio soportadas: El procedimiento es equivalente para ambas sales (**6a** y **6b**). En un vial de teflón de 60 mL se agregan 0.6833 g de resina trifenilfosfina (carga 1.6 mmol/g), se agrega la mitad del volumen de NMP (volumen final de 10 mL) y se deja hidratar por 10 min. Pasado ese tiempo, se agrega 1.72 mmol de ácido 10-bromodecanoico o 10-bromodecanoato de etilo, utilizando el volumen restante de NMP para lavar el vial donde se pesaron los compuestos. Las reacciones se llevan a cabo en un reactor de microondas de cavidad multimodo seleccionando como temperatura máxima 160 °C con una potencia de irradiación máxima de 600 W. Una vez alcanzada la temperatura se mantiene la misma durante 10 min. Finalizado el tiempo de reacción, se deja enfriar hasta alcanzar temperatura ambiente, se filtra y se realizan dos lavados con NMP, DCM y éter etílico (10mL por lavado). Las sales se secan a vacío y se calculan los rendimientos por gravimetría.

Bromuro de (9-carboxinonil)trifenilfosfonio soportada (**6a**). El rendimiento es de 90% (carga 1.44 mmol⁻¹, 0.504 g).

Bromuro de (9-(etoxicarbonil)nonil)trifenilfosfonio soportada (**6b**). El rendimiento es de 94 % (carga 1.29 mmol⁻¹, 0.947 g)

Procedimiento general de síntesis de sales de fosfonio en solución: el procedimiento es equivalente para ambas sales (**7a** y **7b**). En un vial de teflón de 60 mL se agrega 3.8 mmol de ácido 10-bromodecanoico o 10-bromodecanoato de etilo, 0.997 g de trifenilfosfina (3.8 mmol) y 10 mL de acetonitrilo. El vial se coloca en un reactor de microondas de cavidad multimodo seleccionando como temperatura máxima 160 °C con una potencia de irradiación máxima de 600 W. Una vez alcanzada la temperatura, se mantiene la misma durante 2 h. Finalizado el tiempo de reacción, se deja enfriar hasta temperatura ambiente y se transfiere el crudo de reacción a un balón para destilar el disolvente. Una vez que se evapora todo el disolvente se obtiene un aceite que se tritura con éter etílico hasta obtener una cera, este proceso se repite hasta que se verifique por TLC que la fase etérea no contenga trifenilfosfina/óxido de trifenilfosfina (10 mL de éter por lavado). Antes de ser utilizadas las sales, se elimina el contenido de agua por liofilización.

Bromuro de (9-carboxinonil)trifenilfosfonio (**7a**). Se obtiene como un aceite (forma cristales de bajo punto de fusión luego de liofilizado durante 2 días). En las condiciones mencionadas

el rendimiento es de 1.79g (88%). Los desplazamientos y constantes de acoplamiento se corresponden con los valores reportados para el compuesto.²⁰⁰ ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ(ppm) 7.90-7.67 (m, 15H), 3.53-3.43 (m, 2H), 2.38 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.69-1.49 (m, 4H) y 1.35-1.16 (m, 10H).

Bromuro de (9-(etoxicarbonil)nonil)trifenilfosfonio (7b): Se obtiene como un aceite (forma cristales de bajo punto de fusión luego de liofilizado durante 2 días). En las condiciones mencionadas el rendimiento es de 1.66g (82%). Los desplazamientos y constantes de acoplamiento se corresponden con los valores reportados para el compuesto.¹⁶⁷ ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ(ppm) 7.94-7.66 (m, 15H), 4.12 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.27 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.58 (t, *J* = 7.2 Hz, 4H) y 1.41-1.12 (m, 13H).

6.2.2 Procedimiento general para reacciones de Wittig en fase sólida

En un balón de dos bocas provisto de un sistema de atmósfera de N₂ se agregan 0.36 mmol de sal de fosfonio soportada **6a** o **6b** (sal de ácido 1.44 mmol/g y sal de éster 1.29 mmol/g), se adicionan 6 mL de THF anhidro y se deja hinchar la resina durante 5 min con agitación orbital suave. Pasado este periodo de tiempo se agregan los siguientes equivalentes de base dependiendo de la sal en cuestión:

- **(6a)**: NaH (3 eq.), t-BuOK (3 eq.), LiOH (3 eq.) o K₂CO₃ (5 eq.)
- **(6b)**: NaH (1.6 eq.), t-BuOK (1.6 eq.), LiOH (1.6 eq.) o K₂CO₃ (5 eq.)

Luego del agregado de base, en el caso de las bases fuertes pasados 15 min se filtra la resina, se lava (3x10 mL de THF), se coloca la resina en un balón de dos bocas provisto de un sistema de atmósfera de N₂ y se agrega el aldehído disuelto en la misma cantidad de THF (0.33 mmol). En el caso de las reacciones con K₂CO₃, el agregado de base y aldehído es simultaneo. La mezcla de reacción se mantiene con agitación orbital suave a temperatura ambiente y se sigue el avance de reacción por TLC.

6.2.3 Síntesis de ácido (Z)-11-(furan-2-il)undec-10-enoico (**8a**) y (Z)-11-(furan-2-il)undec-10-enoato de etilo (**8b**) mediante reacciones de Wittig en solución

Procedimiento para reacciones con THF como único disolvente. En un balón de dos bocas provisto de un sistema de atmósfera de N₂ y baño de hielo, se agrega 0.93 mmol de sal de fosfonio recientemente liofilizada, THF anhidro (5 mL), los equivalentes de base según se especifica en la Tabla 8 y se mantiene con agitación magnética durante 1 h. Finalizado este periodo se agrega 0.08 g de furfural (0.84 mmol) y se mantiene bajo agitación por 24 h a temperatura ambiente. Finalizado el tiempo de reacción, se evapora el disolvente, se agrega 10

mL de agua y se ajusta el pH entre 4-5 con HCl concentrado en un baño de hielo. La fase acuosa se transfiere a un embudo de decantación y se extrae con AcOEt (3x20mL). Se seca el extracto orgánico obtenido con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente. Se purifican los compuestos por cromatografía en columna con sílica flash como fase estacionaria y mezclas AcOEt:hexanos, 3:7 y 1:9 para el ácido (Z)11-(furan-2-il)undec-10-enoico y (Z)11-(furan-2-il)undec-10-enoato de etilo respectivamente.

Procedimiento para reacciones con THF/DMSO. En un balón de dos bocas provisto de un sistema de atmósfera de N₂ se agregan los equivalentes de base según Tabla 8 y se cierra el sistema con un septo de goma. Se agrega 0.93 mmol de sal de fosfonio disuelta en 2.4 mL de THF/DMSO 1:1 mediante una jeringa y se mantiene con agitación magnética en baño de hielo durante 15 min. Luego, se agrega gota a gota furfural disuelto en THF anhidro (0.84 mmol en 4.2 mL) y mantiene con agitación durante 1 h. Finalizado este tiempo, se evapora el disolvente, se añaden 10 mL de agua y se ajusta el pH entre 4-5 con HCl concentrado. Se transfiere a un embudo de decantación y se realizan extracciones con éter etílico (3x20 mL). Se seca el extracto orgánico con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente. Se realiza la purificación posterior igual que para las reacciones con THF como solvente único.

Variantes para la reacción con NaHMDS. En un balón de dos bocas provisto de un sistema de atmósfera de N₂ se agrega 0.061g de LiBr (0.84 mmol), la sal de fosfonio disuelta en una mezcla THF/DMSO 1:1 (0.93 mmol en 2.4 mL) y NaHMDS en THF (1.85mmol, 0.698 mmol/mL) utilizando jeringas. Se incuba por 15 minutos bajo agitación magnética en baño de hielo. Luego de esto se procede igual que como se explicó en la sección anterior (Procedimiento para reacciones con THF/DMSO).

Ácido (Z)-11-(furan-2-il)undec-10-enoico (8a): se obtiene como un sólido amarillo pálido (rendimientos en Tabla 8). ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ(ppm) 7.39 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.41 (dd, *J* = 3.3 Hz, *J* = 1.8 Hz, 1H), 6.27 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 6.20 (dt, *J* = 11.8 Hz, *J* = 1.8 Hz, 1H), 5.56 (dt, *J* = 11.8 Hz, *J* = 7.3 Hz, 1H), 2.46 (qd, *J* = 7.3 Hz, *J* = 1.8 Hz, 2H), 2.35 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.59-1.70 (m, 2H), 1.43-1.54 (m, 4H) y 1.25-1.42 (m, 6H). ¹³C-RMN (CDCl₃, 100 MHz): δ(ppm) 171.7 (C=O), 153.2 (Ar-C2), 141.2 (Ar-C5), 131.2 (C=C), 117.3 (C=C), 111.0 (Ar-C4), 108.8 (Ar-C3), 31.6 (CH₂-CO₂H), 29.4 (CH₂), 29.2 (3CH₂), 28.7 (CH₂), 28.6 (CH₂) y 25.3 (CH₂).

(Z)-11-(furan-2-il)undec-10-enoato de etilo (8b): se obtiene como un aceite transparente (rendimientos en Tabla 8). ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ(ppm) 7.39 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 6.41

(dd, $J = 3.3$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1H), 6.26 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 6.20 (dt, $J = 11.8$ Hz, $J = 1.8$ Hz, 1H), 5.57 (dt, $J = 11.8$ Hz, $J = 7.3$ Hz, 1H), 4.14 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.45 (qd, $J = 7.3$ Hz, $J = 1.8$ Hz, 2H), 2.30 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.59-1.70 (m, 2H), 1.43-1.54 (m, 4H) y 1.25-1.42 (m, 9H). ^{13}C -RMN (CDCl_3 , 100 MHz): δ (ppm) 173.9 (C=O), 153.4 (Ar-C2), 141.2 (Ar-C5), 131.4 (C=C), 117.2 (C=C), 111.0 (Ar-C4), 108.7 (Ar-C3), 60.2 ($\text{CH}_2\text{-CO}_2$), 34.4 ($\text{CH}_2\text{-OC=O}$), 29.5 (CH_2), 29.3 (2 CH_2), 29.2 (2 CH_2), 29.1 (CH_2), 25.0 (CH_2) y 14.3 (CH_3).

6.3 Síntesis de derivados de AGF mediante metátesis de olefinas

6.3.1 Síntesis de 5-(hidroximetil)-2-vinilfurano (9)

Reacción en DCM: En un balón de dos bocas se agregan 0.250 g de HMF (2.0 mmol), 0.778 g de bromuro de metiltrifenilfosfonio (2.2 mmol), 1.1 g de K_2CO_3 (7.9 mmol), 40 μL de agua destilada (2.2 mmol) y 15 mL de DCM. La mezcla de reacción se mantiene con agitación magnética a reflujo durante 6 h. Finalizada la reacción, se elimina el disolvente a presión reducida. Se disuelve el aceite resultante en 50 mL de éter etílico, se transfiere a un embudo de decantación y se realizan 3 lavados con agua destilada (3x15 mL). Se seca la fase etérea con Na_2SO_4 , se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. Se purifica el producto por cromatografía en columna usando sílica flash como fase estacionaria y una mezcla hexanos:AcOEt (7:3) como fase móvil. El producto puro se obtiene como un aceite transparente (0.121 g, R = 49%).

Reacción en dioxano: En un balón de dos bocas se agregan 1.5 g de HMF (12.0 mmol), 4.6 g de bromuro de metiltrifenilfosfonio (13.0 mmol), 6.5 g de K_2CO_3 (47.2 mmol) y 96 mL de 1,4-dioxano. La mezcla de reacción se mantiene con agitación magnética a 90 °C durante 3 h. Finalizada la reacción, se filtra la mezcla de reacción en un embudo con celite y se realizan 2 lavados con AcOEt (2x15 mL). Se evapora el disolvente a presión reducida. Se disuelve el aceite resultante en 50 mL de éter etílico y se mantiene a -20 °C durante 24 h para permitir la precipitación total del óxido de trifenilfosfina. El sólido formado se filtra y se hacen lavados con éter etílico frío. Se elimina el disolvente a presión reducida y el producto crudo se purifica por cromatografía en columna usando sílica flash como fase estacionaria y una fase móvil con gradiente de hexanos:AcOEt de 9:1 hasta 6:4. El producto puro se obtiene como un aceite transparente (0.991 g, R = 60%). Los desplazamientos y constantes de acoplamiento se corresponden con los valores reportados para el compuesto.⁶⁹ ^1H -RMN (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm) 6.56 (dd, $J = 17.6$ Hz, $J = 11.3$ Hz, 1H), 6.38 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 6.30 (d, $J = 3.2$ Hz,

1H), 5.56 (dd, $J = 17.6$ Hz, $J = 1.2$ Hz, 1H), 5.27 (t, $J = 5.8$ Hz, 1H), 5.15 (dd, $J = 11.3$ Hz, $J = 1.2$ Hz, 1H) y 4.38 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H).

6.3.2 Síntesis de ((5-vinilfuran-2-il)metil)carbonato de *tert*-butilo (**10**)

Reacción con NaH: en un balón de dos bocas provisto de un sistema de atmósfera de N₂, se agregan 0.950 g de bromuro de metiltrifenilfosfonio (2.7 mmol), 0.124 g de NaH al 60% (3.1 mmol) y 13 mL de THF anhidro. La mezcla se mantiene con agitación magnética en baño de hielo durante 1 h. Se disuelven 0.5 gramos del aldehído **19** (2.2 mmol) en 8 mL de THF seco y se agrega lentamente la solución de aldehído a la mezcla de reacción. Se deja agitando la reacción a 0°C por 3h. Finalizado el tiempo de reacción, se evapora el disolvente a presión reducida. Se purifica el producto por cromatografía en columna usando sílica flash como fase estacionaria y una mezcla hexanos:AcOEt (95:5) como fase móvil. El producto puro se obtiene como un aceite transparente (0.055 g, R = 11%).

Reacción con *t*-BuOK: en un balón de dos bocas provisto de un sistema de atmósfera de N₂, se agregan 0.950 g de metiltrifenilfosfonio (2.7 mmol), 0.496 g de *t*-BuOK (2.0 mmol) y 13 mL de THF anhidro. La mezcla de reacción se mantiene con agitación magnética en un baño de hielo durante 1 h. Se disuelven 0.5 gramos del aldehído **19** (2.2 mmol) en 8 mL de THF seco y se agrega lentamente la solución de BocMF a la mezcla de reacción. Se deja agitando la mezcla de reacción a 0°C por 3h. Finalizado el tiempo de reacción, se evapora el disolvente a presión reducida. Se purifica el producto crudo por cromatografía en columna usando sílica flash como fase estacionaria y una mezcla hexanos:AcOEt (95:5) como fase móvil. El producto puro se obtiene como un aceite transparente (0.065 g, R = 13%).

¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) 6.39 (dd, $J = 17.5$ Hz, $J = 11.3$ Hz, 1H), 6.33 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 6.14 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 5.62 (dd, $J = 17.5$ Hz, $J = 1.1$ Hz, 1H), 5.12 (dd, $J = 11.3$ Hz, $J = 1.1$ Hz, 1H), 4.96 (s, 2H) y 1.42 (s, 9H). ¹³C-RMN (CDCl₃, 100 MHz): δ (ppm) 153.9 (C=O), 153.2 (Ar-C2), 148.5 (Ar-C5), 124.8 (C=C), 113.2 (C=C), 112.5 (Ar-C4), 108.7 (Ar-C3), 82.6 (C-(CH₃)), 60.6 (CH₂) y 27.8 (3C) (C-(CH₃)).

6.3.3 Procedimiento general para metátesis cruzada de olefinas

En un balón de dos bocas conectado a un ecualizador bajo atmósfera de N₂ se agrega el catalizador y luego el derivado de 2-vinilfuran (**9** o **10**) disuelto en tolueno seco mediante una jeringa. Seguidamente, se agrega la cantidad requerida de 10-undecenoato de metilo disuelto en tolueno al ecualizador y se calienta el medio de reacción sobre un baño de aceite hasta alcanzar un reflujo. Se añade la olefina derivada de ácido graso gota a gota. Finalizada la

reacción, se evapora el tolueno en un evaporador rotatorio. Se purificó la mezcla de reacción por cromatografía en columna utilizando sílica flash como fase estacionaria y como fase móvil mezclas de hexanos:AcOEt en un gradiente desde 99:1 hasta 7:3. El único compuesto visualizado y aislado correspondía al homodímero C₂₀+2 (**13**), producto de la metátesis cruzada entre dos moléculas de 10-undecenoato de metilo. ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) 5.35 (m, 2H), 3.66 (s, 6H), 2.30 (t, *J* = 8.0 Hz, 4H), 1.99 (m, 4H), 1.61 (m, 4H) y 1.30 (s, 20H).

6.4 Síntesis de derivados de AGF mediante *O*-alquilación de alcoholes

6.4.1 10-((5-formilfuran-2-il)metoxi)decanoato de etilo (**14**)

En un balón de dos bocas equipado con un tubo de refrigeración y un sistema de atmósfera de nitrógeno se agrega 0.126 g de HMF (1.0 mmol), 0.838 g de 10-bromodecanoato de etilo (3.0 mmol), 0.489 g de carbonato de cesio (1.5 mmol), 2 mL de acetonitrilo, yoduro de potasio y éter 18-corona-6 en cantidades catalíticas (punta de espátula). La mezcla de reacción se mantiene con agitación magnética a 50 °C durante 10 h. Finalizado el tiempo de reacción, se filtra la mezcla por celite y se lava con AcOEt (3x10 mL). Se transfiere el filtrado a un embudo de decantación, se agrega 10 mL de agua y se ajusta el pH de la fase acuosa a 3 con HCl_{con}. Se separan las fases y realizan 2 extracciones con AcOEt (2x15 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavan con una solución saturada en NaCl (2x10 mL), se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. Se purificó mediante cromatografía en columna con sílica flash como fase estacionaria y mezclas hexanos:AcOEt en un gradiente de 95:5, 9:1 hasta 8:2. El producto **14** se obtiene como un aceite de color amarillo claro con un rendimiento de 23% (0.081 g). ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) 9.64 (s, 1H), 7.23 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 6.53 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 4.54 (s, 2H), 4.14 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.53 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.30 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.71-1.54 (m, 4H), 1.40-1.29 (m, 10H) y 1.27 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H). ¹³C-RMN (CDCl₃, 100 MHz): δ(ppm) 177.7 (CHO), 173.9 (CO₂R), 159.0 (Ar-C5), 152.6 (Ar-C2), 111.0 (Ar-C3 y Ar-C4), 71.4 (furano-CH₂O), 65.0 (CH₂OCH₂-furano), 60.16 (CH₂-OC=O), 34.4 (CH₂-CO₂R), 29.6 (CH₂), 29.3 (2CH₂), 29.2 (CH₂), 29.1 (CH₂), 26.0 (CH₂), 25.0 (CH₂) y 14.3 (CH₃).

Además, como subproducto de esta reacción se aisló e identificó al compuesto 10-bromodecanoato de (5-formilfuran-2-il)metilo. ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) 9.66 (s, 1H), 7.23 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 6.60 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 5.15 (s, 2H), 3.42 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 2.37 (t, *J* = 7.5, 2H), 1.92-1.81 (m, 2H), 1.70-1.56 (m, 2H) y 1.38-1.29 (m, 10H).

6.4.2 Síntesis de 10-((5-hidroximetilfuran-2-il)metoxi)decanoato de etilo (15)

En un balón se suspende 10.8 mg de NaBH₄ (0.15 mmol) en 154 µL de i-PrOH. Por otra parte, se disuelven 100 mg de **14** (0.31 mmol) en 154 µL de MeOH, y se agrega la solución gota a gota al balón de reacción. La mezcla de reacción se mantiene con agitación magnética a temperatura ambiente durante 2 h. Finalizado el tiempo de reacción, se agrega 10 mL de agua, se transfiere la solución a un embudo de decantación y se realizan extracciones con AcOEt (2x15 mL). Se lava la fase orgánica con 10 mL de solución saturada en NaCl, se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. Se purificó el producto crudo por cromatografía en columna con sílica flash como fase estacionaria y una mezcla de hexanos:AcOEt (7:3) como fase móvil. El producto se obtiene como un aceite incoloro con un rendimiento de 67% (0.061 g). ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) 6.26 (q, *J* = 3.2 Hz, 2H), 4.61 (s, 2H), 4.43 (s, 2H), 4.14 (q, *J* = 7.1, 2H), 3.48 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 2.30 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.67-1.55 (m, 4H), 1.39-1.29 (m, 10H) y 1.27 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H). ¹³C-RMN (CDCl₃, 100 MHz): δ(ppm) 174.0 (CO₂R), 154.2 (Ar-C5), 152.2 (Ar-C2), 109.8 (Ar-C3), 108.4 (Ar-C4), 70.55 (furano-CH₂-OR), 64.8 (CH₂OCH₂-furano), 60.2 (CH₂-OC=O), 57.6 (furano-CH₂OH), 34.4 (CH₂-CO₂R), 29.6 (CH₂), 29.3 (2CH₂), 29.2 (CH₂), 29.1 (CH₂), 26.0 (CH₂), 25.0 (CH₂) y 14.3 (CH₃).

6.4.3 Síntesis de 10-((5-(aliloximetil)furan-2-il)metoxi)decanoato de etilo (16)

En un balón de dos bocas equipado con un sistema de atmósfera de N₂, se agregan 61.2 mg de **15** (0.2 mmol), 49 µL de bromuro de alilo (*d* = 1.398 g/mL, 0.6 mmol), 91.5 mg de carbonato de cesio (0.3 mmol), ioduro de potasio en cantidades catalíticas, éter 18-corona-6 en cantidades catalíticas en 2 mL de acetonitrilo. La mezcla de reacción se mantiene con agitación magnética a 50 °C durante 10 h. Finalizada la reacción, se filtra la mezcla por celite y se lava con AcOEt (3x10 mL). Se transfiere el filtrado a un embudo de decantación y se agrega 10 mL de agua. Se separan las fases y realizan 3 extracciones con AcOEt (3x10 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavan con una solución saturada en NaCl (2x10 mL), se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora el disolvente usando un evaporador rotatorio. El producto se purifica mediante cromatografía en columna con sílica flash como fase estacionaria y mezclas hexanos:AcOEt en un gradiente de 9:1 a 7:3. El producto se obtiene como un aceite amarillo con un rendimiento de 21% (0.014 mg). ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) 6.19 (q, *J* = 3.3 Hz, 2H), 5.85 (ddt, *J* = 17.3 Hz, *J* = 10.4 Hz, *J* = 5.7 Hz, 1H), 5.22 (dd, *J* = 17.3 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H), 5.13 (dd, *J* = 10.4, *J* = 1.5 Hz, 1H), 4.37 (s, 2H), 4.34 (s, 2H), 4.05 (q, *J* = 7.1 Hz,

2H), 3.95 (dt, $J = 5.7$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 2H), 3.39 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 2.21 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.61-1.45 (m, 6H), 1.30-1.20 (m, 10H) y 1.18 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). ^{13}C -RMN (CDCl_3 , 100 MHz): δ (ppm) 173.9 (C=O), 152.5 (Ar-C2/C5), 151.9 (Ar-C2/C5), 134.4 ($\underline{\text{C}}=\text{CH}_2$), 117.5 (C= $\underline{\text{C}}\text{H}_2$), 110.0 (Ar-C3/C4), 109.6 (Ar-C3/C4), 71.0 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 70.5 ($\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_2(\text{CH}_2)_8\text{COOR}$), 64.9 (CH_2 -furano), 64.0 (CH_2 -furano), 60.2 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-OC=O}$), 34.4 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CO}_2\text{R}$), 29.6 (CH_2), 29.4 (CH_2), 29.2 (CH_2), 29.1 (CH_2), 26.1 (CH_2), 25.0 (CH_2) y 14.3 (CH_3). MS (IE, 70eV): m/z (%) 366 (M^+ , 0.1), 308 (12, M^+ - alcohol alílico), 167 (7, M^+ - decanoato de etilo), 150 (96), 121 (43) y 109 (100).

6.5 Síntesis de nitroalquenilfuranos

6.5.1 Síntesis de (5-(formil)furan-2-il)metilcarbonato de *t*-butilo (**18**)

En un balón colocado sobre un baño de hielo se agrega 1.053 g de HMF (8.4 mmol), 3.645 g de anhídrido Boc (16.7 mmol), 33 mL de diclorometano y 1.35 mL de piridina (16.7 mmol, gota a gota). La mezcla de reacción se mantiene con agitación magnética sobre el baño de hielo durante 30 min, luego se retira el baño y se mantiene a temperatura ambiente durante 15 h. Finalizado el tiempo de reacción, se evapora el disolvente a presión reducida, se agregan 100 mL de AcOEt, se transfiere a un embudo de decantación y se realizan lavados con HCl 0.1 N (3 x 25 mL), $\text{NaHCO}_3(\text{sat})$ (2 x 25 mL), $\text{CuSO}_4(\text{sat})$ (2 x 25 mL) y $\text{NaCl}(\text{sat})$ (2 x 25 mL). La fase orgánica se separa, se seca con Na_2SO_4 anhidro, se filtra y se evapora el disolvente usando un evaporador rotatorio. El producto **18** se purifica mediante cromatografía en columna con sílica flash como fase estacionaria y mezclas hexanos:AcOEt 6:1. El producto se obtiene como un aceite amarillo con un rendimiento de 91% (1.718 g). Los desplazamientos y constantes de acoplamiento se corresponden con los valores reportados para el compuesto.¹⁵⁰ ^1H -RMN (CDCl_3 , 400 MHz): 9.66 (s, 1H), 7.22 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 6.63 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 5.12 (s, 2H) y 1.51 (s, 9H).

6.5.2 Síntesis de 5-(butoximetil)furfural (**19**)

En un balón de 2 bocas de 50 mL se agregan 2.5 mL de *n*-BuOH, 0.126 g de HMF (1.0 mmol) y 2.7 μL de H_2SO_4 97% (0.05 mmol). La mezcla de reacción se mantiene con agitación magnética a 75 °C por 24h. Finalizado el tiempo de reacción, se deja enfriar hasta alcanzar temperatura ambiente, se agregan 50 mg de Na_2CO_3 y se continúa agitando por 15 minutos. Se filtra el crudo de reacción utilizando sílica gel y se lava con AcOEt (3x10mL). Se evapora el disolvente y se purifica por cromatografía en columna con sílica flash como fase estacionaria y una mezcla hexanos:éter etílico (5:1). Se obtiene el producto puro como un aceite amarillo

con un rendimiento de 50% (0.112 g). Los desplazamientos y constantes de acoplamiento se corresponden con los valores reportados para el compuesto.¹⁹⁸ ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ(ppm) 9.61 (s, 1H), 7.22 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 6.52 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 4.53 (s, 2H), 3.51 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 1.59 (m, 2H), 1.38 (m, 2H) y 0.93 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

6.5.3 Síntesis de nitroalquenilfuranos asistida por ultrasonido.

En un balón se agrega 38.5 mg de AcONH₄ (0.5 mmol), 1 mL de nitrometano (18.6 mmol) y el aldehído seleccionado (2 mmol). Luego se coloca el mismo en el baño de ultrasonidos, se fija como temperatura máxima 70 °C y se expone durante 2 h (100W y 37 Hz). Finalizado el tiempo de reacción, se enfría la mezcla hasta alcanzar temperatura ambiente y se destila el exceso de nitrometano a presión reducida. Seguidamente, se agregan 10 mL de agua y se realizan 3 extracciones con 15 mL de AcOEt. Se seca la fase orgánica utilizando Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se destila el disolvente a presión reducida obteniéndose un sólido amarronado. Se purifica el producto crudo por cromatografía en columna utilizando sílica flash como fase estacionaria y mezclas de hexanos:AcOEt como fase móvil (7:3 para **20**, 8:2 para **22** y **23**, 1:1 para **21** y 9:1 para **24**).

(E)-2-(2-nitrovinil)furano (**20**): se obtiene como un sólido amarillo (Pf= 72.8 - 74.0 °C) con un rendimiento de 0.172 g (62%). Los desplazamientos y constantes de acoplamiento se corresponden con los valores reportados para el compuesto.¹⁷² ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ(ppm) 7.80 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 7.62 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.55 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 6.92 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 6.60 (dd, *J* = 3.5 Hz, *J* = 1.5, 1H). MS (IE, 70eV): m/z (%) 139 (M⁺, 4), 81 (16).

(E)-5-(hidroximetil)-2-(2-nitrovinil)furano (**21**): se obtiene como sólido amarillo (Pf= 84.4 - 85.6 °C) con un rendimiento de 0.226 g (67%). ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ(ppm) 7.76 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 7.54 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 6.87 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 6.51 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 4.71 (s, 2H), 2.10 (bs, 1H). ¹³C-RMN (CDCl₃, 100 MHz): δ(ppm) 159.0 (Ar-C2), 146.4 (Ar-C5), 134.7 (C=CHNO₂), 125.4 (C=C₂HNO₂), 121.1 (Ar-C3), 111.1 (Ar-C5) y 57.6 (CH₂OH). MS (IE, 70eV): m/z (%) 169 (M⁺, 100), 152 (5), 138 (41), 121 (21), 97 (61) y 67 (22).

(E)-5-(metoximetil)-2-(2-nitrovinil)furano (**22**): se obtiene como un aceite amarillo ámbar con un rendimiento de 0.039 g (59%) utilizando 18.6 eq. de nitrometano. ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ(ppm) 7.76 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 7.55 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 6.87 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H),

6.51 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 4.46 (s, 2H) y 3.44 (s, 3H). ^{13}C -RMN (CDCl_3 , 100 MHz): δ (ppm) 156.7 (Ar-C2), 146.6 (Ar-C5), 134.9 ($\text{C}=\text{CHNO}_2$), 125.3 ($\text{C}=\text{CHNO}_2$), 120.8 (Ar-C3), 112.4 (Ar-C5), 66.4 (CH_2OR) y 58.5 (OCH_3).

(E)-5-(butoximetil)-2-(2-nitrovinil)furano (23): se obtiene como un aceite amarillo ámbar con un rendimiento de 0.055 g (61%) utilizando 18.6 eq. de nitrometano. ^1H -RMN (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm) 7.75 (d, $J = 13.2$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J = 13.2$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 6.50 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 4.50 (s, 2H), 3.53 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 1.54-1.68 (m, 2H), 1.33-1.48 (m, 2H) y 0.94 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H). ^{13}C -RMN (CDCl_3 , 100 MHz): δ (ppm) 157.4 (Ar-C2), 146.5 (Ar-C5), 134.8 ($\text{C}=\text{CHNO}_2$), 125.4 ($\text{C}=\text{CHNO}_2$), 120.9 (Ar-C3), 112.1 (Ar-C5), 70.9 (furano- CH_2OCH_2), 64.8 (furano- CH_2OCH_2), 31.6 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{R}$), 19.2 (CH_2CH_3) y 13.8 (CH_3).

6.5.4 Síntesis de (E)-((5-(2-nitrovinil)furan-2-il)metil)carbonato de *t*-butilo (24)

En un balón de dos bocas equipado con tubo de refrigeración se agrega 15.3 mg de AcONH_4 (0.25 mmol), 0.4 mL de nitrometano (7.4 mmol) y 0.179 g del aldehído **18** (0.8 mmol). La mezcla de reacción se mantiene con agitación magnética a 70 °C durante 2 h. Finalizado el tiempo de reacción, se enfría la mezcla hasta alcanzar temperatura ambiente y se destila el exceso de nitrometano a presión reducida. Seguidamente, se agregan 10 mL de agua y se realizan 3 extracciones con 15 mL de AcOEt . Se seca la fase orgánica utilizando Na_2SO_4 anhidro, se filtra y se destila el disolvente a presión reducida obteniéndose un sólido amarronado. Se purifica el producto crudo por cromatografía en columna utilizando sílica flash como fase estacionaria y una mezcla de hexanos: AcOEt 9:1 como fase móvil. El compuesto **24** se obtiene como un sólido amarillo ($\text{Pf} = 73.9 - 75.0$) con un rendimiento de 0.083 g (39%). ^1H -RMN (CDCl_3 , 400 MHz): δ (ppm) 7.75 (d, $J = 13.2$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J = 13.2$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 6.51 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 5.09 (s, 2H) y 1.52 (s, 9H). MS (IE, 70eV): m/z (%) 269 (M^+ , 0.1), 212 ($\text{M}^+ - t\text{-BuOH}$, 32), 152 ($\text{M}^+ - \text{OBoc}$, 58), 138 (fragmento nitroalquenilfuranilo, 15), 122 (12), 105 (25) y 57 ($t\text{-BuOH}$, 100).

6.5.5 Síntesis de (E)-2-formil-5-(nitrovinil)furano (25)

En un balón se agrega 0.300 g del aldehído **21** (1.8 mmol), 0.685 g de (diacetoxiiodo)benceno (2.1 mmol), 55 mg de TEMPO (0.4 mmol) y 8.5 mL de acetona. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente por 90 minutos. Finalizado el tiempo de reacción, se evapora la acetona a presión reducida. Se disuelve el crudo de reacción en 20 mL de AcOEt , se transfiere a un embudo de decantación y se realizan 3 lavados con agua (3x10 mL). Se seca la fase orgánica

con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. Se purifica el producto mediante cromatografía en columna utilizando sílica flash como fase estacionaria y una mezcla de hexanos:AcOEt (6:4), obteniéndose el producto como un sólido anaranjado (0.241g, R = 80%). ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ (ppm) 9.79 (s, 1H), 8.05 (d, *J* = 13.5 Hz, 1H), 7.39 (d, *J* = 13.5 Hz, 1H), 7.59 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H) y 7.40 (s, *J* = 3.7 Hz, 1H). ¹³C-RMN (CDCl₃, 100 MHz): δ(ppm) 178.3 (C=O), 154.2 (Ar-C5), 150.7 (Ar-C2), 138.4 (C=CHNO₂), 124.9 (C=CHNO₂), 122.5 (Ar-C3) y 120.4 (Ar-C4). MS (IE, 70eV): m/z (%) 167 (M⁺, 100), 138 (25), 119 (40), 92 (18) y 66 (18). MS (IE, 70eV): m/z (%) 167 (M⁺, 100), 138 (25), 119 (40), 92 (18), 83 (57) y 71 (45).

6.6 Cultivo de células THP-1

Las células THP-1 se cultivan un medio de cultivo FBS/RPMI 10% y son diferenciadas a macrófagos mediante incubación con forbol 12-miristato 13-acetato (PMA) 200 nM durante 48 h a 37 °C en atmósfera de CO₂ al 5%.

6.7 Evaluación de citotoxicidad inespecífica de nitroalquenilfuranos

Los ensayos se realizan en placas de 96 pocillos, en los cuales se dispensa 150,000 células tomadas de una suspensión de 2,000,000 células/mL y se diferencian tal como se explica en 6.6. Finalizado el periodo de diferenciación, se renueva el medio de cultivo de las células, se incorporan al mismo los compuestos a evaluar en concentraciones variables y se incuban por 24 h. Al final del periodo de exposición a los compuestos, se vuelve a renovar el medio de cultivo incorporando MTT a una concentración de 0.5 mg/mL, se incuba durante 1 h, se agrega 200 μL de isopropanol a cada pocillo y se miden las absorbancias a 570 nm en un lector de placas. Todos los experimentos se realizan por triplicado. Los cálculos de porcentaje de viabilidad celular se hacen respecto al promedio de un control positivo. Los datos se procesan en el software GraphPad Prism 8 y los resultados se presentan como EC₅₀ (μM).

6.8 Evaluación de la actividad antiinflamatoria de nitroalquenilfuranos

6.8.1 Reacción de Michael para evaluar la electrofilia de nitroalquenilfuranos

Se disuelven entre 1y 3 mg de cada compuesto en 1 mL de DMSO, se calcula la concentración de la solución y se realiza una última dilución para alcanzar una concentración de 50 μM en buffer de fosfatos 100 mM con un pH de 7.4. La reacción de Michael se lleva a cabo en concentraciones equimolares de los compuestos y βME, para lo cual se agregan 200 μL del

compuesto disuelto en buffer en una cubeta de cuarzo, se agregan 0.7 μ L de una solución de β ME 14.2 mM y se toman espectros de absorción en intervalos de 1 min en un total de 10 min.

6.8.2 Evaluación del efecto de los compuestos sintetizados en la activación del inflammasoma NLRP3 en primera y segunda señal.

Los ensayos se llevan a cabo en placas de 24 pocillos, en los cuales se dispensa 300,000 células tomadas de una suspensión de 2,000,000 células/mL y se diferencian tal como se explica en 6.6. La activación del inflammasoma se da en dos etapas: 1) las células se estimulan con LPS a 250 ng/mL durante 3 h y 2) se estimulan con ATP 5mM durante 45 min. La exposición a los compuestos (10 μ M) se da junto con la primera o la segunda señal.²⁰¹ Finalizado el periodo de activación, se toman los sobrenadantes para cuantificar IL-1 β mediante un kit de ELISA (Human IL-1 beta/IL-1F2 Quantikine HS ELISA Kit, B&D) y se realizan ensayos de viabilidad celular por MTT. Los resultados obtenidos para cada compuesto corresponden a 2 experimentos independientes de $n = 3$.

7. Referencias

- (1) Brundtland, G.; Khalid, M.; Agnelli, S.; Al-Athel, S.; Chidzero, B.; Fadika, L.; Hauff, V.; Lang, I.; Shijun, M.; de Botero, M.; Singh, M.; Okita, S.; Others. *Our Common Future ('Brundtland report')*; Oxford Paperback Reference; Oxford University Press, USA, 1987.
- (2) Stahel, W. R. *Nature* **2016**, *531* (7595), 435–438.
- (3) Ellen MacArthur Foundation. *Towards the Circular Economy Vol. 1: Economic business rationale for an accelerated transition*; 2012.
- (4) Zhang, W.; Cue, B. W. *Green Techniques for Organic Synthesis and Medicinal Chemistry*; Zhang, W., Cue, B. W., Eds.; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, UK, 2012.
- (5) Clark, J. H. *Green Chem.* **1999**, *1* (1), 1–8.
- (6) Linthorst, J. A. *Found. Chem.* **2010**, *12* (1), 55–68.
- (7) Anastas, P. T.; Warner, J. C. *Oxford Univ. Press* **1998**, *73* (1), 30.
- (8) Anastas, P.; Eghbali, N. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39* (1), 301–312.
- (9) Erythropel, H. C.; Zimmerman, J. B.; de Winter, T. M.; Petitjean, L.; Melnikov, F.; Lam, C. H.; Lounsbury, A. W.; Mellor, K. E.; Janković, N. Z.; Tu, Q.; Pincus, L. N.; Falinski, M. M.; Shi, W.; Coish, P.; Plata, D. L.; Anastas, P. T. *Green Chem.* **2018**, *20* (9), 1929–1961.
- (10) Trost, B. *Science (80-.)*. **1991**, *254* (5037), 1471–1477.
- (11) Sheldon, R. A. *Green Chem.* **2017**, *19* (1), 18–43.
- (12) Jimenez-Gonzalez, C.; Ponder, C. S.; Broxterman, Q. B.; Manley, J. B. *Org. Process Res. Dev.* **2011**, *15* (4), 912–917.
- (13) Muster, W.; Breidenbach, A.; Fischer, H.; Kirchner, S.; Müller, L.; Pähler, A. *Drug Discov. Today* **2008**, *13* (7–8), 303–310.
- (14) Kalgutkar, A.; Gardner, I.; Obach, R.; Shaffer, C.; Callegari, E.; Henne, K.; Mutlib, A.; Dalvie, D.; Lee, J.; Nakai, Y.; O'Donnell, J.; Boer, J.; Harriman, S. *Curr. Drug Metab.*

- 2005, 6 (3), 161–225.
- (15) Kavlock, R. J.; Ankley, G.; Blancato, J.; Breen, M.; Conolly, R.; Dix, D.; Houck, K.; Hubal, E.; Judson, R.; Rabinowitz, J.; Richard, A.; Setzer, R. W.; Shah, I.; Villeneuve, D.; Weber, E. *Toxicol. Sci.* **2008**, 103 (1), 14–27.
- (16) Guinée, J. B.; Heijungs, R.; Huppes, G.; Zamagni, A.; Masoni, P.; Buonamici, R.; Ekvall, T.; Rydberg, T. *Environ. Sci. Technol.* **2011**, 45 (1), 90–96.
- (17) Owens, J. W. *J. Ind. Ecol.* **1997**, 1 (1), 37–49.
- (18) Weissermel, K.; Arpe, H. *Industrial Organic Chemistry*, 4th ed.; Weissermel, K., Arpe, H.-J., Eds.; Wiley-VCH Verlag GmbH: Weinheim, Germany, 2003.
- (19) Cherubini, F. *Energy Convers. Manag.* **2010**, 51 (7), 1412–1421.
- (20) de Jong, E.; Jungmeier, G. In *Industrial Biorefineries & White Biotechnology*; Pandey, A., Höfer, R., Taherzadeh, M., Nampoothiri, K. M., Larroche, C., Eds.; Elsevier: Amsterdam, 2015; pp 3–33.
- (21) Chu, S.; Majumdar, A. *Nature* **2012**, 488 (7411), 294–303.
- (22) Vennestrøm, P. N. R.; Osmundsen, C. M.; Christensen, C. H.; Taarning, E. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2011**, 50 (45), 10502–10509.
- (23) Dincer, K. *Energy Sources, Part A Recover. Util. Environ. Eff.* **2008**, 30 (10), 963–968.
- (24) Demirbas, A. *Chapter 4. Biorefinery*; Springer London: London, 2010; pp 75–92.
- (25) Gavrilesu, M. In *Bioenergy Research: Advances and Applications*; Gupta, V. K., Tuohy, M. G., Kubicek, C. P., Saddler, J., Xu, F., Eds.; Elsevier: Amsterdam, 2014; pp 219–241.
- (26) Gallezot, P. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41 (4), 1538–1558.
- (27) Trivedi, J.; Aila, M.; Bangwal, D. P.; Kaul, S.; Garg, M. O. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2015**, 47, 295–307.
- (28) Dutta, K.; Daverey, A.; Lin, J.-G. *Renew. Energy* **2014**, 69, 114–122.
- (29) Werpy, T.; Petersen, P. Top Value Added Chemicals from Biomass. Volume I: Results of Screening for Potential Candidates from Sugars and Synthesis Gas <https://www.nrel.gov/docs/fy04osti/35523.pdf> (accessed Jan 1, 2017).
- (30) Saeman, J. F. *Ind. Eng. Chem.* **1945**, 37 (1), 43–52.
- (31) Antal, M. J.; Mok, W. S. L.; Richards, G. N. *Carbohydr. Res.* **1990**, 199 (1), 91–109.
- (32) Mosier, N.; Wyman, C.; Dale, B.; Elander, R.; Lee, Y. .; Holtzapple, M.; Ladisch, M. *Bioresour. Technol.* **2005**, 96 (6), 673–686.
- (33) van Dam, H. E.; Kieboom, A. P. G.; van Bekkum, H. *Starch - Stärke* **1986**, 38 (3), 95–101.
- (34) Kuster, B. F. M. *Starch - Stärke* **1990**, 42 (8), 314–321.
- (35) Kudakasseril Kurian, J.; Raveendran Nair, G.; Hussain, A.; Vijaya Raghavan, G. S. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2013**, 25, 205–219.
- (36) van Zandvoort, I.; Wang, Y.; Rasrendra, C. B.; van Eck, E. R. H.; Bruijninx, P. C. A.; Heeres, H. J.; Weckhuysen, B. M. *ChemSusChem* **2013**, 6 (9), 1745–1758.
- (37) Tsilomelekis, G.; Orella, M. J.; Lin, Z.; Cheng, Z.; Zheng, W.; Nikolakis, V.; Vlachos, D. G. *Green Chem.* **2016**, 18 (7), 1983–1993.
- (38) Rosatella, A. A.; Simeonov, S. P.; Frade, R. F. M.; Afonso, C. A. M. *Green Chem.* **2011**, 13 (4), 754.
- (39) Cottier, L.; Descotes, G. In *Trends in Heterocyclic Chemistry Volume 2*; Research Trends, 1991; pp 233–248.
- (40) Hansen, T. S.; Woodley, J. M.; Riisager, A. *Carbohydr. Res.* **2009**, 344 (18), 2568–2572.
- (41) Chen, J.-D.; Kuster, B. F. M.; Van Der Wiele, K. *Biomass and Bioenergy* **1991**, 1 (4), 217–223.

- (42) Fayet, C.; Gelas, J. *Carbohydr. Res.* **1983**, *122* (1), 59–68.
- (43) De, S.; Dutta, S.; Saha, B. *Green Chem.* **2011**, *13* (10), 2859.
- (44) Chan, J. Y. G.; Zhang, Y. *ChemSusChem* **2009**, *2* (8), 731–734.
- (45) Zhang, Z.; Wang, Q.; Xie, H.; Liu, W.; Zhao, Z. K. *ChemSusChem* **2011**, *4* (1), 131–138.
- (46) Moreau, C.; Durand, R.; Razigade, S.; Duhamet, J.; Faugeras, P.; Rivalier, P.; Ros, P.; Avignon, G. *Appl. Catal. A Gen.* **1996**, *145* (1), 211–224.
- (47) Carlini, C.; Patrono, P.; Galletti, A. M. R.; Sbrana, G. *Appl. Catal. A Gen.* **2004**, *275* (1), 111–118.
- (48) Qi, X.; Watanabe, M.; Aida, T. M.; Smith Jr., R. L. *Catal. Commun.* **2008**, *9* (13), 2244–2249.
- (49) Rackemann, D. W.; Bartley, J. P.; Doherty, W. O. S. *Ind. Crops Prod.* **2014**, *52*, 46–57.
- (50) Rackemann, D. W.; Bartley, J. P.; Harrison, M. D.; Doherty, W. O. S. *RSC Adv.* **2016**, *6* (78), 74525–74535.
- (51) Roman-Leshkov, Y.; Dumesic, J. A. *Top. Catal.* **2009**, *52* (3), 297–303.
- (52) Patil, S. K. R.; Heltzel, J.; Lund, C. R. F. *Energy & Fuels* **2012**, *26* (8), 5281–5293.
- (53) Musau, R. M.; Munavu, R. M. *Biomass* **1987**, *13* (1), 67–74.
- (54) Shimizu, K.; Uozumi, R.; Satsuma, A. *Catal. Commun.* **2009**, *10* (14), 1849–1853.
- (55) Moreau, C.; Finiels, A.; Vanoye, L. *J. Mol. Catal. A Chem.* **2006**, *253* (1–2), 165–169.
- (56) Zhang, Z.; Zhao, Z. K. *Bioresour. Technol.* **2010**, *101* (3), 1111–1114.
- (57) Li, C.; Zhang, Z.; Zhao, Z. K. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50* (38), 5403–5405.
- (58) Ståhlberg, T.; Fu, W.; Woodley, J. M.; Riisager, A. *ChemSusChem* **2011**, *4* (4), 451–458.
- (59) Smith, M. D.; Petridis, L.; Cheng, X.; Mostofian, B.; Smith, J. C. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, *18* (9), 6394–6398.
- (60) Mostofian, B.; Cai, C. M.; Smith, M. D.; Petridis, L.; Cheng, X.; Wyman, C. E.; Smith, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138* (34), 10869–10878.
- (61) Li, J.; Zhang, W.; Xu, S.; Hu, C. *Front. Chem.* **2020**, *8*.
- (62) Kucherov, F. A.; Romashov, L. V.; Galkin, K. I.; Ananikov, V. P. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2018**, *6* (7), 8064–8092.
- (63) Shiramizu, M.; Toste, F. D. *Chem. – A Eur. J.* **2011**, *17* (44), 12452–12457.
- (64) Pacheco, J. J.; Davis, M. E. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2014**, *111* (23), 8363 LP – 8367.
- (65) de Jong, E.; Dam, M. A.; Sipos, L.; Gruter, G.-J. M. In *Biobased Monomers, Polymers, and Materials*; ACS Symposium Series; American Chemical Society, 2012; Vol. 1105, pp 1–13.
- (66) Kucherov, F. A.; Gordeev, E. G.; Kashin, A. S.; Ananikov, V. P. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2017**, *56* (50), 15931–15935.
- (67) Chernyshev, V. M.; Kravchenko, O. A.; Ananikov, V. P. *Russ. Chem. Rev.* **2017**, *86* (5), 357–387.
- (68) Delidovich, I.; Hausoul, P. J. C.; Deng, L.; Pfützenreuter, R.; Rose, M.; Palkovits, R. *Chem. Rev.* **2016**, *116* (3), 1540–1599.
- (69) Yoshida, N.; Kasuya, N.; Haga, N.; Fukuda, K. *Polym. J.* **2008**, *40* (12), 1164–1169.
- (70) Romashov, L. V.; Ananikov, V. P. *Chem. – An Asian J.* **2017**, *12* (20), 2652–2655.
- (71) Yang, W.; Sen, A. *ChemSusChem* **2010**, *3* (5), 597–603.
- (72) Christensen, E.; Yanowitz, J.; Ratcliff, M.; McCormick, R. L. *Energy & Fuels* **2011**, *25* (10), 4723–4733.
- (73) Horváth, I. T.; Mehdi, H.; Fábos, V.; Boda, L.; Mika, L. T. *Green Chem.* **2008**, *10* (2), 238–242.
- (74) Wong, C. Y. Y.; Choi, A. W.-T.; Lui, M. Y.; Fridrich, B.; Horváth, A. K.; Mika, L. T.;

- Horváth, I. T. *Struct. Chem.* **2017**, *28* (2), 423–429.
- (75) Mascari, M. *ChemSusChem* **2015**, *8* (20), 3391–3395.
- (76) Kumari, N.; Olesen, J. K.; Pedersen, C. M.; Bols, M. *European J. Org. Chem.* **2011**, *2011* (7), 1266–1270.
- (77) Breeden, S. W.; Clark, J. H.; Farmer, T. J.; Macquarrie, D. J.; Meimoun, J. S.; Nonne, Y.; Reid, J. E. S. *J. Green Chem.* **2013**, *15* (1), 72–75.
- (78) Bevilaqua, D. B.; Rambo, M. K. D.; Rizzetti, T. M.; Cardoso, A. L.; Martins, A. F. *J. Clean. Prod.* **2013**, *47*, 96–101.
- (79) Leonard, R. H. *Ind. Eng. Chem.* **1956**, *48* (8), 1330–1341.
- (80) Bozell, J. J.; Moens, L.; Elliott, D. C.; Wang, Y.; Neuenschwander, G. G.; Fitzpatrick, S. W.; Bilski, R. J.; Jarnefeld, J. L. *Resour. Conserv. Recycl.* **2000**, *28* (3), 227–239.
- (81) Dunbabin, A.; Subrizi, F.; Ward, J. M.; Sheppard, T. D.; Hailes, H. C. *Green Chem.* **2017**, *19* (2), 397–404.
- (82) Xu, Y.; Jia, X.; Ma, J.; Gao, J.; Xia, F.; Li, X.; Xu, J. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2018**, *6* (3), 2888–2892.
- (83) Rapeyko, A.; Arias, K. S.; Climent, M. J.; Corma, A.; Iborra, S. *Catal. Sci. Technol.* **2017**, *7* (14), 3008–3016.
- (84) Glass, R. L.; Krick, T. P.; Sand, D. M.; Rahn, C. H.; Schlenk, H. *Lipids* **1975**, *10* (11), 695–702.
- (85) Scheinkönig, J.; Spiteller, G. *Liebigs Ann. der Chemie* **1993**, *1993* (3), 251–253.
- (86) Scheinkönig, J.; Spiteller, G. *Liebigs Ann. der Chemie* **1991**, *1991* (5), 451–453.
- (87) Batna, A.; Scheinkönig, J.; Spiteller, G. *Biochim. Biophys. Acta - Lipids Lipid Metab.* **1993**, *1166* (2–3), 171–176.
- (88) Morris, L. J.; Marshall, M. O.; Kelly, W. *Tetrahedron Lett.* **1966**, *7* (36), 4249–4253.
- (89) Hasma, H.; Subramaniam, A. *Lipids* **1978**, *13* (12), 905–907.
- (90) Spiteller, G. *Lipids* **2005**, *40* (8), 755–771.
- (91) Sand, D. M.; Glass, R. L.; Olson, D. L.; Pike, H. M.; Schlenk, H. *Biochim. Biophys. Acta - Lipids Lipid Metab.* **1984**, *793* (3), 429–434.
- (92) Gorst-Allman, C. P.; Puchta, V.; Spiteller, G. *Lipids* **1988**, *23* (11), 1032–1036.
- (93) Sand, D. M.; Schlenk, H.; Thoma, H.; Spiteller, G. *Biochim. Biophys. Acta - Lipids Lipid Metab.* **1983**, *751* (3), 455–461.
- (94) Wakimoto, T.; Kondo, H.; Nii, H.; Kimura, K.; Egami, Y.; Oka, Y.; Yoshida, M.; Kida, E.; Ye, Y.; Akahoshi, S.; Asakawa, T.; Matsumura, K.; Ishida, H.; Nukaya, H.; Tsuji, K.; Kan, T.; Abe, I. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2011**, *108* (42), 17533–17537.
- (95) Doggrell, S. A. *Evidence-Based Complement. Altern. Med.* **2011**, *2011*, 1–7.
- (96) Okada, Y.; Kaneko, M.; Okajima, H. *Biol. Pharm. Bull.* **1996**, *19* (12), 1607–1610.
- (97) McPhee, S.; Hodges, L. D.; Wright, P. F. A.; Wynne, P. M.; Kalafatis, N.; Harney, D. W.; Macrides, T. A. *Comp. Biochem. Physiol. Part B Biochem. Mol. Biol.* **2007**, *146* (3), 346–356.
- (98) Rahn, C. H.; Sand, D. M.; Wedmid, Y.; Schlenk, H.; Krick, T. P.; Glass, R. L. *J. Org. Chem.* **1979**, *44* (19), 3420–3424.
- (99) Marson, C. M.; Harper, S. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39* (3–4), 333–334.
- (100) Bach, T.; Krüger, L. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39* (13), 1729–1732.
- (101) Evans, A. B.; Flügge, S.; Jones, S.; Knight, D. W.; Tan, W. F. *Arkivoc* **2008**, *2008* (10), 95.
- (102) Tsukasa, H. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1993**, *57* (3), 511–512.
- (103) Wang, Y. Novel synthetic routes to furan fatty acids and their analogues, Loughborough University, 2016.
- (104) Chang, F.; Hsu, W.-H.; Mascari, M. *Sustain. Chem. Pharm.* **2015**, *1*, 14–18.

- (105) Luterbacher, J. S.; Martin Alonso, D.; Dumesic, J. A. *Green Chem.* **2014**, *16* (12), 4816–4838.
- (106) WHO. Noncommunicable diseases <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases> (accessed Oct 3, 2020).
- (107) Mayerl, C.; Lukasser, M.; Sedivy, R.; Niederegger, H.; Seiler, R.; Wick, G. *Virchows Arch.* **2006**, *449* (1), 96–103.
- (108) Anders, H.-J.; Muruve, D. A. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2011**, *22* (6), 1007–1018.
- (109) Hansson, G. K.; Hermansson, A. *Nat. Immunol.* **2011**, *12* (3), 204–212.
- (110) Strowig, T.; Henao-Mejia, J.; Elinav, E.; Flavell, R. *Nature* **2012**, *481* (7381), 278–286.
- (111) Guo, H.; Callaway, J. B.; Ting, J. P.-Y. *Nat. Med.* **2015**, *21* (7), 677–687.
- (112) Hansson, G. K. *Circulation* **2017**, *136* (20), 1875–1877.
- (113) Franchi, L.; Eigenbrod, T.; Muñoz-Planillo, R.; Nuñez, G. *Nat. Immunol.* **2009**, *10* (3), 241–247.
- (114) Schroder, K.; Tschopp, J. *Cell* **2010**, *140* (6), 821–832.
- (115) Liu, T.; Zhang, L.; Joo, D.; Sun, S.-C. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2017**, *2* (1), 17023.
- (116) Mariathasan, S.; Weiss, D. S.; Newton, K.; McBride, J.; O'Rourke, K.; Roose-Girma, M.; Lee, W. P.; Weinrauch, Y.; Monack, D. M.; Dixit, V. M. *Nature* **2006**, *440* (7081), 228–232.
- (117) Martinon, F.; Pétrilli, V.; Mayor, A.; Tardivel, A.; Tschopp, J. *Nature* **2006**, *440* (7081), 237–241.
- (118) Yamasaki, K.; Muto, J.; Taylor, K. R.; Cogen, A. L.; Audish, D.; Bertin, J.; Grant, E. P.; Coyle, A. J.; Misaghi, A.; Hoffman, H. M.; Gallo, R. L. *J. Biol. Chem.* **2009**, *284* (19), 12762–12771.
- (119) Bonacci, G.; Baker, P. R. S.; Salvatore, S. R.; Shores, D.; Khoo, N. K. H.; Koenitzer, J. R.; Vitturi, D. A.; Woodcock, S. R.; Golin-Bisello, F.; Cole, M. P.; Watkins, S.; St. Croix, C.; Batthyany, C. I.; Freeman, B. A.; Schopfer, F. J. *J. Biol. Chem.* **2012**, *287* (53), 44071–44082.
- (120) Salvatore, S. R.; Vitturi, D. A.; Baker, P. R. S.; Bonacci, G.; Koenitzer, J. R.; Woodcock, S. R.; Freeman, B. A.; Schopfer, F. J. *J. Lipid Res.* **2013**, *54* (7), 1998–2009.
- (121) Batthyany, C.; Schopfer, F. J.; Baker, P. R. S.; Durán, R.; Baker, L. M. S.; Huang, Y.; Cerveñansky, C.; Branchaud, B. P.; Freeman, B. A. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281* (29), 20450–20463.
- (122) Baker, P. R. S.; Lin, Y.; Schopfer, F. J.; Woodcock, S. R.; Groeger, A. L.; Batthyany, C.; Sweeney, S.; Long, M. H.; Iles, K. E.; Baker, L. M. S.; Branchaud, B. P.; Chen, Y. E.; Freeman, B. A. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280* (51), 42464–42475.
- (123) Cui, T.; Schopfer, F. J.; Zhang, J.; Chen, K.; Ichikawa, T.; Baker, P. R. S.; Batthyany, C.; Chacko, B. K.; Feng, X.; Patel, R. P.; Agarwal, A.; Freeman, B. A.; Chen, Y. E. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281* (47), 35686–35698.
- (124) Ferreira, A. M.; Ferrari, M. I.; Trostchansky, A.; Batthyany, C.; Souza, J. M.; Alvarez, M. N.; López, G. V.; Baker, P. R. S.; Schopfer, F. J.; O'Donnell, V.; Freeman, B. A.; Rubbo, H. *Biochem. J.* **2009**, *417* (1), 223–238.
- (125) Schopfer, F. J.; Batthyany, C.; Baker, P. R. S.; Bonacci, G.; Cole, M. P.; Rudolph, V.; Groeger, A. L.; Rudolph, T. K.; Nadtochiy, S.; Brookes, P. S.; Freeman, B. A. *Free Radic. Biol. Med.* **2009**, *46* (9), 1250–1259.
- (126) Groeger, A. L.; Cipollina, C.; Cole, M. P.; Woodcock, S. R.; Bonacci, G.; Rudolph, T. K.; Rudolph, V.; Freeman, B. A.; Schopfer, F. J. *Nat. Chem. Biol.* **2010**, *6* (6), 433–441.
- (127) Cole, M. P.; Rudolph, T. K.; Khoo, N. K. H.; Motanya, U. N.; Golin-Bisello, F.; Wertz, J. W.; Schopfer, F. J.; Rudolph, V.; Woodcock, S. R.; Bolisetty, S.; Ali, M. S.; Zhang,

- J.; Chen, Y. E.; Agarwal, A.; Freeman, B. A.; Bauer, P. M. *Circ. Res.* **2009**, *105* (10), 965–972.
- (128) Khoo, N. K. H.; Rudolph, V.; Cole, M. P.; Golin-Bisello, F.; Schopfer, F. J.; Woodcock, S. R.; Batthyany, C.; Freeman, B. A. *Free Radic. Biol. Med.* **2010**, *48* (2), 230–239.
- (129) K., R. T.; Volker, R.; M., E. M.; P., C. M.; Gustavo, B.; J., S. F.; R., W. S.; Andreas, F.; Michaela, P.; K.H., K. N.; H., H. A.; Stephan, B.; A., F. B. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2010**, *30* (5), 938–945.
- (130) Rudolph, V.; Rudolph, T. K.; Schopfer, F. J.; Bonacci, G.; Woodcock, S. R.; Cole, M. P.; Baker, P. R. S.; Ramani, R.; Freeman, B. A. *Cardiovasc. Res.* **2010**, *85* (1), 155–166.
- (131) Schopfer, F. J.; Cole, M. P.; Groeger, A. L.; Chen, C.-S.; Khoo, N. K. H.; Woodcock, S. R.; Golin-Bisello, F.; Motanya, U. N.; Li, Y.; Zhang, J.; Garcia-Barrio, M. T.; Rudolph, T. K.; Rudolph, V.; Bonacci, G.; Baker, P. R. S.; Xu, H. E.; Batthyany, C. I.; Chen, Y. E.; Hallis, T. M.; Freeman, B. A. *J. Biol. Chem.* **2010**, *285* (16), 12321–12333.
- (132) Zhang, J.; Villacorta, L.; Chang, L.; Fan, Z.; Hamblin, M.; Zhu, T.; Chen, C. S.; Cole, M. P.; Schopfer, F. J.; Deng, C. X.; Garcia-Barrio, M. T.; Feng, Y.-H.; Freeman, B. A.; Chen, Y. E. *Circ. Res.* **2010**, *107* (4), 540–548.
- (133) Rudolph, V.; Schopfer, F. J.; Khoo, N. K. H.; Rudolph, T. K.; Cole, M. P.; Woodcock, S. R.; Bonacci, G.; Groeger, A. L.; Golin-Bisello, F.; Chen, C.-S.; Baker, P. R. S.; Freeman, B. A. *J. Biol. Chem.* **2009**, *284* (3), 1461–1473.
- (134) He, Y.; Varadarajan, S.; Muñoz-Planillo, R.; Burberry, A.; Nakamura, Y.; Núñez, G. *J. Biol. Chem.* **2014**, *289* (2), 1142–1150.
- (135) Rodriguez-Duarte, J.; Dapuetto, R.; Galliussi, G.; Turell, L.; Kamaid, A.; Khoo, N. K. H.; Schopfer, F. J.; Freeman, B. A.; Escande, C.; Batthyány, C.; Ferrer-Sueta, G.; López, G. V. *Sci. Rep.* **2018**, *8* (1), 12784.
- (136) Rodriguez-Duarte, J.; Galliussi, G.; Dapuetto, R.; Rossello, J.; Malacrida, L.; Kamaid, A.; Schopfer, F. J.; Escande, C.; López, G. V.; Batthyány, C. *Br. J. Pharmacol.* **2019**, *176* (6), 757–772.
- (137) ACA. Informe arrocerero - Uruguay XXI <http://www.aca.com.uy/wp-content/uploads/2014/08/Informe-arrocerero-Dic-2013-Uruguay-XXI.pdf> (accessed May 19, 2017).
- (138) ACA. Arroz N°81 <http://www.aca.com.uy/revista-no-81-2#.WR8KIxPyvPA> (accessed May 19, 2017).
- (139) INIA. El cultivo en Uruguay: Uruguay exportador de arroz http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos_compartidos/111219220807164929.pdf (accessed May 19, 2017).
- (140) van Putten, R.-J.; van der Waal, J. C.; de Jong, E.; Rasrendra, C. B.; Heeres, H. J.; de Vries, J. G. *Chem. Rev.* **2013**, *113* (3), 1499–1597.
- (141) Castro, D.; Boiani, L.; Benitez, D.; Hernández, P.; Merlino, A.; Gil, C.; Olea-Azar, C.; González, M.; Cerecetto, H.; Porcal, W. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44* (12), 5055–5065.
- (142) Ríos, N.; Chavarría, C.; Gil, C.; Porcal, W. *J. Heterocycl. Chem.* **2013**, *50* (3), 720–726.
- (143) Ríos, N.; Varela, J.; Birriel, E.; González, M.; Cerecetto, H.; Merlino, A.; Porcal, W. *Future Med. Chem.* **2013**, *5* (15), 1719–1732.
- (144) Wube, A. A.; Hüfner, A.; Thomaschitz, C.; Blunder, M.; Kollroser, M.; Bauer, R.; Bucar, F. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19* (1), 567–579.
- (145) Yan, K.; Jarvis, C.; Lafleur, T.; Qiao, Y.; Xie, X. *RSC Adv.* **2013**, *3* (48), 25865.
- (146) Iqbal, S.; Liu, X.; Aldosari, O. F.; Miedziak, P. J.; Edwards, J. K.; Brett, G. L.; Akram, A.; King, G. M.; Davies, T. E.; Morgan, D. J.; Knight, D. K.; Hutchings, G. J. *Catal. Sci. Technol.* **2014**, *4* (8), 2280–2286.
- (147) Sawadjoon, S.; Lundstedt, A.; Samec, J. S. M. *ACS Catal.* **2013**, *3* (4), 635–642.

- (148) Gong, L.-H.; Cai, Y.-Y.; Li, X.-H.; Zhang, Y.-N.; Su, J.; Chen, J.-S. *Green Chem.* **2014**, *16* (8), 3746–3751.
- (149) Rajmohan, R.; Gayathri, S.; Vairaprakash, P. *RSC Adv.* **2015**, *5* (121), 100401–100407.
- (150) Xu, G. G.; Pagare, P. P.; Ghatge, M. S.; Safo, R. P.; Gazi, A.; Chen, Q.; David, T.; Alabbas, A. B.; Musayev, F. N.; Venitz, J.; Zhang, Y.; Safo, M. K.; Abdulmalik, O. *Mol. Pharm.* **2017**, *14* (10), 3499–3511.
- (151) Kooyman, C.; Vellenga, K.; De Wilt, H. G. J. *Carbohydr. Res.* **1977**, *54*, 33–44.
- (152) Hu, S.; Zhang, Z.; Song, J.; Zhou, Y.; Han, B. *Green Chem.* **2009**, *11* (11), 1746–1749.
- (153) Morales, G.; Paniagua, M.; Melero, J. A.; Iglesias, J. *Catal. Today* **2017**, *279*, 305–316.
- (154) Gomes, R. F. A.; Mitrev, Y. N.; Simeonov, S. P.; Afonso, C. A. M. *ChemSusChem* **2018**, *11* (10), 1612–1616.
- (155) Stålberg, T.; Jensen, J. S.; Riisager, A.; Woodley, J. M. Purification Of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) By Crystallization. WO 2013/024162 A1, 2013.
- (156) Martinez, A.; Rodriguez, M. E.; York, S. W.; Preston, J. F.; Ingram, L. O. *Biotechnol. Prog.* **2000**, *16* (4), 637–641.
- (157) Chi, C.; Zhang, Z.; Chang, H. M.; Jameel, H. J. *Wood Chem. Technol.* **2009**, *29* (4), 265–276.
- (158) Garrido, M.; Rius, F. X.; Larrechi, M. S. *Anal. Bioanal. Chem.* **2008**.
- (159) Jaumot, J.; de Juan, A.; Tauler, R. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2015**.
- (160) Terra, L. R.; Catrinck, M. N.; Teófilo, R. F. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2017**, *167*, 132–138.
- (161) Sluiter, A.; Hames, B.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D. *Nrel/Tp-510-42622* **2008**, No. April 2005, 18.
- (162) Sluiter, a.; Hames, B.; Ruiz, R.; Scarlata, C.; Sluiter, J.; Templeton, D.; Crocker, D. *Lab. Anal. Proced.* **2012**, No. April 2008, 17.
- (163) Sluiter, J. B.; Ruiz, R. O.; Scarlata, C. J.; Sluiter, A. D.; Templeton, D. W. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58* (16), 9043–9053.
- (164) Gernon, M. D.; Wu, M.; Buszta, T.; Janney, P. *Green Chem.* **1999**, *1* (3), 127–140.
- (165) Zhu, M.; Ruijter, E.; Wessjohann, L. A. *Org. Lett.* **2004**, *6* (22), 3921–3924.
- (166) Uijttewaal, A. P.; Jonkers, F. L.; Van der Gen, A. *J. Org. Chem.* **1978**, *43* (17), 3306–3311.
- (167) Uijttewaal, A. P.; Jonkers, F. L.; van der Gen, A. *J. Org. Chem.* **1979**.
- (168) Westman, J. *Org. Lett.* **2001**, *3* (23), 3745–3747.
- (169) Pi-Hui, L. Methods For Preparation Of Glycosphingolipids And Uses Thereof, 2012.
- (170) Lee, R. J.; Lindley, M. R.; Pritchard, G. J.; Kimber, M. C. *Chem. Commun.* **2017**, *53* (47), 6327–6330.
- (171) Van der Steen, M.; Stevens, C. V. *ChemSusChem* **2009**, *2* (8), 692–713.
- (172) Arekion, J.; Delmas, M.; Gaset, A. *Biomass* **1983**, *3* (1), 59–65.
- (173) Grubbs, R. H. *Tetrahedron* **2004**, *60* (34), 7117–7140.
- (174) Chauvin, Y. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2006**, *45* (23), 3740–3747.
- (175) Kawai, T.; Shida, Y.; Yoshida, H.; Abe, J.; Iyoda, T. *J. Mol. Catal. A Chem.* **2002**, *190* (1), 33–43.
- (176) Kawai, T.; Komaki, M.; Iyoda, T. *J. Mol. Catal. A Chem.* **2002**, *190* (1), 45–53.
- (177) Higman, C. S.; Lummiss, J. A. M.; Fogg, D. E. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2016**, *55* (11), 3552–3565.
- (178) Balakrishnan, M.; Sacia, E. R.; Bell, A. T. *Green Chem.* **2012**, *14* (6), 1626.
- (179) Ingold, M.; Dapuelto, R.; Lopez, G. V.; Porcal, W. *Educ. Química* **2016**, *27* (1), 15–20.
- (180) Frigerio, M.; Santagostino, M.; Sputore, S. *J. Org. Chem.* **1999**, *64* (12), 4537–4538.
- (181) Bunton, C. A.; Foroudian, H. J.; Gillitt, N. D. *J. Phys. Org. Chem.* **1999**, *12* (10), 758–

764.

- (182) Thottumkara, A. P.; Bowsher, M. S.; Vinod, T. K. *Org. Lett.* **2005**, 7 (14), 2933–2936.
- (183) Raach, A.; Reiser, O. *ChemInform* **2010**, 31 (46), no-no.
- (184) Dalcanale, E.; Montanari, F. *J. Org. Chem.* **1986**, 51 (4), 567–569.
- (185) De Mico, A.; Margarita, R.; Parlanti, L.; Vescovi, A.; Piancatelli, G. *J. Org. Chem.* **1997**, 62 (20), 6974–6977.
- (186) Mosmann, T. *J. Immunol. Methods* **1983**, 65 (1–2), 55–63.
- (187) Stockert, J. C.; Horobin, R. W.; Colombo, L. L.; Blázquez-Castro, A. *Acta Histochem.* **2018**, 120 (3), 159–167.
- (188) Hung, A. C.; Tsai, C.-H.; Hou, M.-F.; Chang, W.-L.; Wang, C.-H.; Lee, Y.-C.; Ko, A.; Hu, S. C.-S.; Chang, F.-R.; Hsieh, P.-W.; Yuan, S.-S. F. *Cancer Lett.* **2016**, 371 (2), 251–261.
- (189) Tsai, C.-H.; Hung, A. C.; Chen, Y.-Y.; Chiu, Y.-W.; Hsieh, P.-W.; Lee, Y.-C.; Su, Y.-H.; Chang, P.-C.; Hu, S. C.-S.; Yuan, S.-S. F. *Oncotarget* **2017**, 8 (11), 18106–18117.
- (190) Monks, A.; Scudiero, D.; Skehan, P.; Shoemaker, R.; Paull, K.; Vistica, D.; Hose, C.; Langley, J.; Cronise, P.; Vaigro-Wolff, A.; Gray-Goodrich, M.; Campbell, H.; Mayo, J.; Boyd, M. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* **1991**, 83 (11), 757–766.
- (191) Miranda, P. O.; Padrón, J. M.; Padrón, J. I.; Villar, J.; Martín, V. S. *ChemMedChem* **2006**, 1 (3), 323–329.
- (192) Finšgar, M.; Milošev, I. *Corros. Sci.* **2010**, 52 (7), 2430–2438.
- (193) Baker, S. C.; Kelly, D. P.; Murrell, J. C. *Nature* **1991**, 350 (6319), 627–628.
- (194) Ljungdahl, N.; Martikainen, L.; Kann, N. *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49 (42), 6108–6110.
- (195) Sardari, R. R. R.; Dishisha, T.; Pyo, S.-H.; Hatti-Kaul, R. *J. Biotechnol.* **2014**, 192, Part, 223–230.
- (196) Hu, S.; Zhang, Z.; Song, J.; Zhou, Y.; Han, B. *Green Chem.* **2009**, 11 (11), 1746.
- (197) Son, P. A.; Nishimura, S.; Ebitani, K. *React. Kinet. Mech. Catal.* **2012**, 106 (1), 185–192.
- (198) Viil, I.; Bredihhin, A.; Mäeorg, U.; Vares, L. *RSC Adv.* **2014**, 4 (11), 5689.
- (199) Khusnutdinov, R. I.; Baiguzina, A. R.; Smirnov, A. A.; Mukminov, R. R.; Dzhemilev, U. M. *Russ. J. Appl. Chem.* **2007**, 80 (10), 1687–1690.
- (200) Thurnhofer, S.; Vetter, W. *Tetrahedron* **2007**, 63 (5), 1140–1145.
- (201) Batthyány, C.; López, G. V.; Dapuerto, R.; Escande, C.; Rodriguez-Duarte, J. Nitroalkene trolox derivatives and methods of use thereof in the treatment and prevention of inflammation related conditions. US9994541B2, 2016.