

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE CIENCIAS



TESIS DE LICENCIATURA EN BIOQUÍMICA

“UNA REACCIÓN MULTICOMPONENTE EN QUÍMICA VERDE
APLICADA A LA SÍNTESIS DE ANÁLOGOS BIOACTIVOS DE
TOCOFEROL”

Mariana Ingold Franco

Tutores: Dra. Gloria V. López
Dr. Williams Porcal

Índice

ABREVIATURAS	2
1. INTRODUCCION	4
1.1 Química del siglo XXI	5
1.2 Química verde	6
1.3 Síntesis orientada a la diversidad	14
1.4 Reacciones multicomponente	16
2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACION	21
3. OBJETIVOS	25
4. QUIMICA	27
4.1 Diseño general	28
4.2 Síntesis de Feniletisonitrilo	29
4.3 Síntesis de Trolox [®]	31
4.4 Síntesis de los derivados tocoferol miméticos mediante reacción de Passerini	
4.4.1 Derivados de Passerini del Trolox [®]	32
4.4.2 Derivado de Passerini del acetato de Trolox [®]	36
4.4.3 Derivados de Passerini del Trolox [®] bencilado	37
5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	39
5.1 Conclusiones	40
5.2 Perspectivas	40
6. PARTE EXPERIMENTAL	41

Abreviaturas

CC: Cromatografía en columna
CCF: Cromatografía en capa fina
CDCl₃: Cloroformo deuterado
DEC: Densidad de energía cohesiva
DEPT: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DCM: Diclorometano
CH₂O: Formaldehído
CH₂Cl₂: Diclorometano
CO₂: Dióxido de carbono
COSY: Espectroscopia de correlación (Correlation Spectroscopy)
EDRF: Factor de relajación derivado del endotelio.
EtOH: Etanol
H₂: Hidrógeno
HCl: Ácido clorídrico
HCN: Ácido cianhídrico
HMBC: Correlación de enlace múltiple heteronuclear (Heteronuclear Multiple Bond Correlation)
HSQC: Correlación cuántica simple heteronuclear (Heteronuclear Single Quantum Correlation)
ITBA: Ioduro de tetrabutilamonio
KHSO₄: Hidrógeno sulfato de potasio
LiBr: Bromuro de litio
MeOH: Metanol
MS: Espectrometría de masa
MW: Microondas
N₂: Nitrógeno
NaCl: Cloruro de sodio
NaHCO₃: Bicarbonato de sodio
NaOH: Hidróxido de sodio
Na₂SO₄: Sulfato de sodio
NEt₃: Trietilamina

NH₃: Amoníaco

·NO: Óxido nítrico

POCl₃: Óxicloruro de fósforo

RMC: Reacciones multicomponente

RMCI: Reacciones multicomponente con Isonitrilos

RMN: Resonancia Magnética Nuclear

SiO₂: Óxido de silicio

SOD: Síntesis orientada a la diversidad

T.A: Temperatura ambiente

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 Química del siglo XXI

En este nuevo siglo, uno de los retos de la química medicinal es llegar a productos bioactivos con eficiencia química,¹ es decir crear selectivamente moléculas complejas, en una secuencia sintética única, sin intermedios ni refuncionalizaciones, con buenos rendimientos. Llegando directamente a la molécula objetivo obteniendo no solamente su esqueleto sino que también el correcto ordenamiento de los grupos funcionales. Esta idea de la “síntesis ideal” fue desarrollada por Hendrickson en 1975.² Por otra parte para lograr dicha eficiencia también se debería tener en cuenta la economía temporal, energética y de trabajo de la reacción,³ y el uso de condiciones medioambientalmente amigables siguiendo los principios de la Química Verde⁴. El desarrollo sustentable se ha convertido en una ideal fundamental del siglo 21, la conservación y gestión de los recursos para el desarrollo es el aspecto más importante. La química tiene un papel significativo que desempeñar para lograr la sustentabilidad y los químicos deben ser conscientes de la necesidad de lograr este reto y tomar la iniciativa a la hora de desarrollar nuevas tecnologías.⁵

¹ DuPont, J. Economía de átomos, engenharia molecular e catálise organometálica bifásica: conceitos moleculares para tecnologias limpas. *Química Nova* **2000**, 23(6), 825-831.

² Hendrickson, J.B. Systematic synthesis design. IV. Numerical codification of construction reactions *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 5784- 5800

³ Gaich, T.; Baran, P.S. Aiming for the ideal synthesis. *J. Org. Chem.* **2010**, 75 (14), 4657-4673.

⁴ Clark, J.H. Green chemistry: challenges and opportunities. *Green Chemistry.* **1999**, 1, 1-8.

⁵ Metzger, J.O; Eissen, M. Environmental Performance Metrics for Daily Use in Synthetic Chemistry. *Chem. Eur. J.* **2002**, 8 (16), 3581-3585.

1.2 Química Verde

La expresión Química Verde surgió a comienzos de la década del 90 y desde entonces se ha expandido vertiginosamente, a través de libros, revistas y publicación directa en Internet.⁶ Se define como “el diseño de productos y procesos químicos que reduzcan o eliminen el uso y la generación de sustancias peligrosas”.⁷

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 químicos y procesos químicos como criterios de diseño. Otro aspecto de dicha definición es la frase "uso y generación", en lugar de centrarse sólo sobre las sustancias indeseables que podrían ser producidas en un proceso, la química verde también incluye todas las sustancias que son parte del proceso.

También se incluye el término "peligroso" en esta definición. La química verde intenta reducir los riesgos y prever la contaminación haciendo frente a los peligros intrínsecos de las sustancias en lugar de las circunstancias y condiciones de su uso que pueda aumentar su riesgo. El riesgo, se define como el producto de los peligros y exposiciones: $\text{Riesgo} = \text{Peligro} \times \text{Exposición}$. Comúnmente la reducción de riesgos se centra en la reducción de la exposición a sustancias peligrosas, por lo que se requieren altas tecnologías de control y tecnología de tratamiento, como también equipamiento de protección personal tales como respiradores o guantes. Reduciendo el riesgo a través de la reducción del peligro, la química verde intenta reducir el costo y el potencial para el fracaso de los controles de exposición⁸.

⁶ a) Lenardão, E.J.; Freitag, R.A.; Dabdoub, M.J.; Ferreira Batista, A.C.; da Cruz Silveira, C. “Green Chemistry” – Os 12 Principios da química verde e sua insercao nas atividades de ensino e pesquisa. *Quim. Nova* **2003**, 26 (1), 123-129; b) Linthorst, J. A. An overview: origins and development of green chemistry. *Found Chem.* **2010**, 12, 55–68.

⁷ Anastas, P., Eghbali, N. Green Chemistry: Principles and Practice. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39, 301–312.

⁸ Tundo, P; Anastas, P; StC. Black,D; Breen, J; Collins,T; Memoli, S; Miyamoto,J; Polyakoff,M; Tumas, W. Synthetic pathways and processes in green chemistry. Introductory overview. *Pure Appl. Chem.* **2000**, 72 (7), 1207–1228.

El concepto “diseño” es el aspecto más importante de esta definición, ya que involucra la intención humana de crear, planear algo nuevo. Los doce principios de la Química Verde (Figura 1) son “reglas de diseño” que ofrecen un marco para los químicos que desean trabajar en el diseño de nuevos materiales, productos, procesos y sistemas que son benignos para la salud humana y el medio ambiente.⁹

Dichos principios no son una simple lista de objetivos, sino más bien un conjunto de metodologías para lograr un propósito, el diseño ecológico y sustentable. No pretenden ser doce metas independientes, sino que un sistema integrado de diseño que se refuerzan mutuamente.

Estos principios se utilizan a menudo para postular si una reacción es ambientalmente benigna o no, pero son principios cualitativos. Por lo que a la hora de evaluar dos procesos distintos con un mismo fin pero que cumplen de igual manera los principios, se genera la duda de cuál es más “verde”. Es entonces que se ve la necesidad de la cuantificación, por lo que la Química Verde introduce medidas generales (métricas) para dar significado cuantitativo a los procesos químicos. Algunas de las métricas generalmente usadas se muestran en la Figura 2 clasificadas por categorías. Como se observa no existe una única forma de medir si un proceso es verde o no, de acuerdo al enfoque que se le quiera dar es la métrica que se va a utilizar. Tampoco hay un consenso con respecto a que conjunto de métricas usar para determinado proceso^{5, 10, 11}.

⁹ Anastas, P; Zimmerman, J. Through the 12 Principles Green Engineering. *Environmental Science & Technology*. **2003**, 95–101.

¹⁰ Curzons, A. D; Constable, D.J.C; Mortimer, D.N; Cunningham, V.L. So you think your process is green, how do you know?—Using principles of sustainability to determine what is green—a corporate perspective. *Green Chemistry*, **2001**, 3, 1–6.

¹¹ Constable, D.J.C; Curzons, A.D; Cunningham, V.L. Metrics to ‘green’ chemistry—which are the best?. *Green Chemistry*, **2002**, 4, 521–527.

- 1. Prevención.** Es preferible evitar la producción de un residuo que tratarlo o limpiarlo una vez que se haya formado.
- 2. Economía atómica.** Los métodos de síntesis deberán diseñarse de manera que incorporen al máximo, en el producto final, todos los materiales usados durante el proceso, minimizando la formación de subproductos.
- 3. Uso de metodologías que generen productos con toxicidad reducida.** Siempre que sea posible, los métodos de síntesis deberán diseñarse para utilizar y generar sustancias que tengan poca o ninguna toxicidad, tanto para el hombre como para el medio ambiente.
- 4. Generar productos eficaces pero no tóxicos.** Los productos químicos deberán ser diseñados de manera que mantengan la eficacia y a la vez que reduzcan su toxicidad.
- 5. Utilizar solventes y auxiliares más seguros.** Se evitará, en lo posible, el uso de sustancias que no sean imprescindibles (disolventes, reactivos para llevar a cabo separaciones, etc.) y en el caso de que se utilicen que sean lo más inocuos posible.
- 6. Disminuir el consumo energético.** Los requerimientos energéticos serán catalogados por su impacto medioambiental y económico, reduciéndose todo lo posible. Se intentará llevar a cabo los métodos de síntesis a temperatura y presión ambientes.
- 7. Utilizar materias primas renovables.** La materia prima ha de ser preferiblemente renovable en vez de agotable, siempre que sea técnica y económicamente viable.
- 8. Evitar la derivatización innecesaria.** Se evitará en lo posible la formación de derivados (grupos de bloqueo, de protección/desprotección, modificación temporal de procesos físicos/químicos) ya que dichos pasos requieren reactivos adicionales y pueden generar desechos.
- 9. Potenciación de la catálisis.** Se emplearán catalizadores (lo más selectivos posible), reutilizables en lo posible, en lugar de reactivos estequiométricos
- 10. Generar productos biodegradables.** Los productos químicos se diseñarán de tal manera que al finalizar su función no persistan en el medio ambiente sino que se transformen en productos de degradación inocuos.
- 11. Desarrollar metodologías analíticas para la monitorización en tiempo real.** Las metodologías analíticas serán desarrolladas posteriormente para permitir una monitorización y control en tiempo real del proceso, previo a la formación de sustancias peligrosas
- 12. Minimizar el potencial de accidentes químicos.** Se elegirán las sustancias empleadas en los procesos químicos de forma que se minimice el riesgo de accidentes químicos, incluidas las emanaciones, explosiones e incendios.

Figura 1. Los doce Principios de la Química Verde.⁷

Category		Units
Mass		
$\frac{\text{Total mass (kg)}}{\text{Mass of product (kg)}}$	(Mass intensity)	kg/kg
$\frac{\text{Total mass solvent (gross) (kg)}}{\text{Mass of product (kg)}}$		kg/kg
$\frac{\text{Mass of isolated product (kg)} \times 100}{\text{Total mass of reactants used in reaction (kg)}}$	(Reaction mass efficiency) RME	%
$\frac{\text{FW (g mol}^{-1}\text{) product} \times 100}{\text{FW of all reactants used in reaction}}$	(Atom economy)	%
$\frac{\text{Mass of carbon in product (kg)} \times 100}{\text{Total mass of carbon in key reactants (kg)}}$	(Carbon efficiency)	%
Energy		
$\frac{\text{Total process energy (MJ)}}{\text{Mass of product (kg)}}$		MJ/kg
$\frac{\text{Total solvent recovery energy (MJ)}}{\text{Mass of product (kg)}}$		MJ/kg
Pollutants/toxic dispersion		
Persistent and bioaccumulative		
$\frac{\text{Total (mass persistent + bioaccumulative) (kg)}}{\text{Mass product (kg)}}$		kg/kg
Ecotoxicity		
$\frac{\text{Total (mass persistent + bioaccumulative) (kg)}}{\text{EC}_{50}^a \text{ material/EC}_{50} \text{ DDT control}}$		kg
Human health		
$\frac{\text{Total (mass of material [for all materials]) (kg)}}{\text{Permissible exposure limit (ACGIH)}^b \text{ (ppm)}}$		kg/ppm
POCP (photochemical ozone creation potential)		
$\frac{\text{Total [mass of solvent (kg)} \times \text{POCP value} \times \text{vapour pressure (mm)}]}{\text{mass of product (kg)} \times \text{vapour pressure [toluene]} \times \text{POCP [toluene]}}$		kg/kg (as toluene)
Greenhouse gas emissions		
$\frac{\text{Total (mass of greenhouse gas from energy [as kg CO}_2 \text{ equiv.])}}{\text{mass of product (kg)}}$		kg/kg (as CO ₂)
$\frac{\text{Greenhouse gas, kg CO}_2 \text{ equivalent, ex energy for solvent recovery}}{\text{kg product}}$		kg/kg
Safety		
Thermal hazard		Highlight
Reagent hazard		Highlight
Pressure (high/low)		Highlight
Hazardous by-product formation		Highlight
Solvent		
Number of different solvents		Number
Overall estimated recovery efficiency		%
Energy for solvent recovery		MJ/kg
Mass intensity net of solvent recovery		kg/kg

^a EC50 = the concentration at which 50% of the organisms in an acute toxicity test die during the fixed time period of the study. ^b ACGIH = American Conference of Governmental Industrial Hygienists. A standards setting organisation convened to set Threshold Limit Values (TLV) for chemical and physical hazards, usually expressed as the time weighted average (TWA) concentration permitted over an 8 h exposure period.

Figura 2. Métricas en Química Verde. ¹⁰

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. Por lo tanto uno de los aspectos clave en el que hay que trabajar es en los disolventes. Los disolventes son materiales auxiliares, no son una parte integral de los reactivos, sin embargo, juegan un papel importante en la producción y la síntesis química. La función primaria de los disolventes es facilitar la transferencia de masa para modular las reacciones en términos de velocidad de reacción, rendimientos, conversiones y selectividad.

La mayor cantidad de “residuo de auxiliares” en la mayoría de las producciones químicas es asociado con el uso de disolventes. En un clásico proceso químico, se utilizan disolventes para disolver reactivos, extraer y lavar productos, separar mezclas, entre otras funciones. El legado de estos disolventes ha llevado a diversos problemas ambientales y de salud. El desarrollo de la Química Verde redefine el papel de un disolvente: Un disolvente ideal facilita la transferencia de masa, pero no disuelve. Además, un disolvente verde debe ser natural, no tóxico, barato y fácilmente disponible. Adicionalmente podría tener beneficios, como ayudar a la evolución de la reacción, la separación de la misma, o el reciclaje del catalizador.

El concepto de reacciones orgánicas “*sobre agua*” (del inglés “*on water*”), en el que reactivos no solubles en agua reaccionan en la interfase de la misma (interfase orgánico-agua) o formando una suspensión acuosa, para generar un producto no soluble que es fácilmente separable del agua, es un excelente ejemplo de esta nueva definición.¹²

En 1980, Rideout y Breslow estudiando el efecto del agua como disolvente, observaron una aceleración significativa en las reacciones de Diels-Alder con compuestos no polares en soluciones acuosas homogéneas, en comparación con la reacción libre de disolvente o llevada a cabo en disolventes orgánicos.

¹² Li, Chao-Jun; Trost, B. M. Green chemistry for chemical synthesis. *PNAS*. **2008**, 105, 36, 13197–13202.

Se observa también una alta selectividad del producto *endo* de ciertas reacciones de Diels-Alder usando agua como medio de reacción¹³ Mientras que la mayoría de estas reacciones acuosas se realizaron en una solución homogénea, hay también reportes de que estos aumentos en la velocidad de reacción se pueden lograr en la forma de suspensiones acuosas, es decir “*sobre agua*”.¹⁴

Cuando el agua es elegida como medio de reacción, muchas reacciones, tales como reordenamientos Claisen, son aceleradas notablemente cuando se realizan en suspensión acuosa (“*sobre agua*”) con respecto a los disolventes orgánicos o incluso en condiciones sin disolvente¹⁵. Por lo tanto una baja miscibilidad de los compuestos orgánicos con agua no es perjudicial; de hecho, facilita el aislamiento de los productos. Sin embargo, ya sea co-disolventes orgánicos y / o modificaciones de sustrato casi siempre se emplean en las reacciones llevadas a cabo a escala preparativa en agua, ya que se supone que se requiere solubilidad para una eficiente reacción. Si bien estas estrategias disminuyen la simplicidad y ventajas buscadas por el uso de agua como disolvente, debemos tener en cuenta que el supuesto de “las sustancias no interactúan a menos que se disuelvan”, puede ser claramente contraproducente.

Incluso cuando la aceleración de la velocidad es insignificante, el uso de agua como el único medio de soporte tiene otras ventajas, incluyendo la facilidad de aislamiento del producto y, sobre todo, la seguridad, gracias a su alta capacidad calorífica y la única estabilidad redox. El agua posee una capacidad calorífica muy elevada, es necesaria una gran cantidad de calor para elevar su temperatura 1.0 °K. Para los sistemas biológicos esto es muy importante pues la temperatura celular se modifica muy poco como respuesta al metabolismo.

¹³ Rideout, D. C; Breslow, R. Hydrophobic acceleration of Diels-Alder reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 7816-7817.

¹⁴ Jung, Y; Marcus, R. A.. On the Theory of Organic Catalysis “on Water”. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 5492-5502

¹⁵ K. B. Sharpless and col. “On Water”: Unique Reactivity of Organic Compounds in Aqueous Suspension. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 3275-3279

De la misma forma, los organismos acuáticos, si el agua no poseyera esa cualidad, se verían muy afectados o no existirían.

Un hecho importante a destacar es el señalado hace algunos años por el Prof. Barry Sharpless, cuyo grupo de trabajo se ha centrado en técnicas de síntesis que se basan en unos pocos tipos de reacciones casi perfectas¹⁵. El Prof. Sharpless remarcaba la apuesta de los químicos en la obtención de moléculas complejas que simulen a los productos naturales pero obtenidos mediante reacciones sencillas, en altos rendimientos y capaces de general complejidad estructural en pocos pasos de síntesis. Así, denomino a esta estrategia “*click chemistry*” y caracterizó algunas reacciones químicas que encajaban con este concepto. Posteriormente, en el transcurso de su trabajo se dió cuenta que muchas de estas reacciones suelen proceder de manera óptima en el agua pura, y en particular cuando los reactivos orgánicos son insolubles en la fase acuosa, es decir reacciones “*sobre agua*”.

Existen varias teorías que explican el mencionado efecto en las reacciones “*sobre agua*”, una de ellas sugiere que la dramática aceleración en el agua se debe principalmente a la facilidad de conexión de los grupos OH de las moléculas de agua interfacial para formar enlaces de hidrógeno con los grupos de enlace H-aceptor en el estado de transición en comparación con la de los reactivos, como se muestra en la Figura 3. De esta forma, se reduciría la barrera de activación y así mejoraría la tasa de conversión¹⁴.

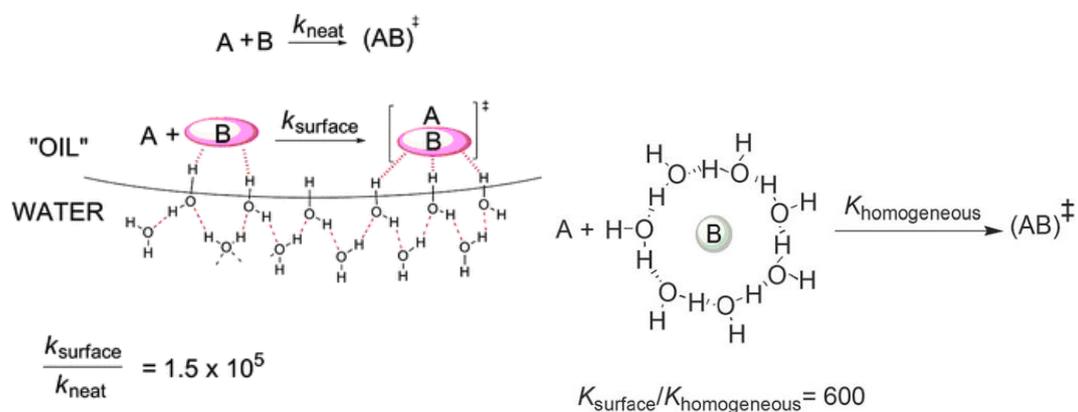


Figura 3. Esquema de catálisis “sobre agua”: comparación en condiciones de superficie y homogénea acuosa. Adaptado de referencia 14.

Otra explicación es la acción del efecto hidrofóbico. Cuando un compuesto no polar que es inmisible con el agua, se suspende en ella, se crea una cavidad en la estructura del agua. Las moléculas de agua se reordenan alrededor del soluto creando lo que se llama un clatrato, este arreglo minimiza la superficie de contacto entre el agua y el compuesto orgánico (Figura 4). Si existen varios clatratos en el medio, estos se unen formando clatratos más grandes, lo cuál es más favorable ya que el área de contacto entre el agua y el soluto no polar es menor para mayores volúmenes. Este efecto aumenta la concentración local de las moléculas hidrofóbicas, lo que explica el aumento de la velocidad de la reacción.

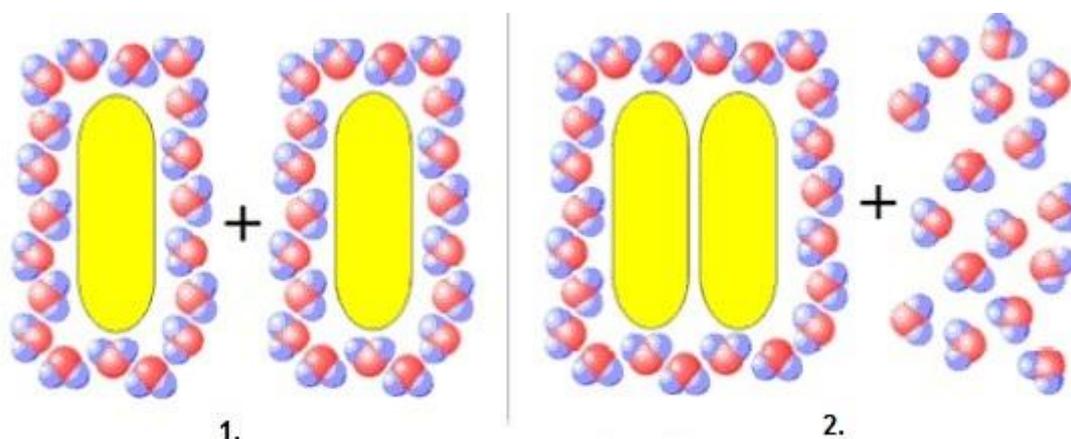


Figura 4. Representación de los estados posibles entre moléculas hidrofóbicas y agua: 1. Las dos moléculas hidrofóbicas están separadas y cada una tiene su propia "jaula" de moléculas de agua ordenadas alrededor. 2. Las dos moléculas hidrofóbicas están juntas, compartiendo una "jaula" de moléculas de agua en común. El número total de moléculas de agua que forman el clatrato es menor, por lo que parte de las moléculas que estaban fijas están libres en la disolución.

Por otro lado, la propiedad de los disolventes llamada densidad de energía cohesiva (DEC), la fuerza intermolecular que le da a los líquidos su cohesividad, puede también explicar el efecto observado. La DEC es la energía necesaria para remover una molécula de sus vecinas más cercanas en el centro del líquido, creando de esta manera una cavidad. Su fórmula está definida por la energía molar de vaporización dividido por el volumen molar (Figura 5). Aplicando esta fórmula se ha calculado la DEC para varios líquidos, el agua tiene una de las DEC más altas, 550 cal/cm^3 a

25°C. Este concepto de la DEC permite la consideración energética del efecto hidrófobo. En la medida que la DEC está inversamente relacionada con el volumen molar, el agua tiene una de las más grandes DEC debido a su pequeño volumen molar (18 cm³/mol), la más pequeña de cualquier líquido comúnmente usado como un disolvente de reacción. Cuando compuestos orgánicos inmiscibles en agua interaccionan con ella, un vacío se crea y la cápsula de moléculas de agua formada alrededor del compuesto hidrófobo puede ser descrito como un clatrato, como se definió anteriormente. El costo energético de desplazar/liberar agua para formar este vacío en el volumen de agua se refiere a la DEC.^{16,17}

$$DEC = \frac{\Delta H_{vap} - RT}{M_r / \rho}$$

Figura 5. Fórmula de la DEC

1.3 Síntesis Orientada a la diversidad

La síntesis orientada a la diversidad (SOD) se define como la síntesis de colecciones de moléculas (bibliotecas) que cubren grandes áreas de espacio químico. Estas bibliotecas por lo general son creadas con el fin de descubrir alguna nueva actividad biológica pero sin una diana particular en mente. Por el contrario, se espera que la variedad de estructuras moleculares presentes en la biblioteca puedan proporcionar actividades biológicas interesantes y específicas a través de una serie de dianas.

La capacidad de las moléculas pequeñas para interactuar con macromoléculas biológicas tales como proteínas de una manera selectiva, a menudo reversible y dependiente de la dosis, ejerciendo efectos específicos, ha llevado a que

¹⁶ Pirrung, M.C; Das Sarma, K. Aqueous medium effects on multi-component reactions. *Tetrahedron*. **2005**, 61, 11456-11472.

¹⁷ Pirrung, M.C; Das Sarma, K; Wang, J. Hydrophobicity and Mixing Effects on Select Heterogeneous, Water-Accelerated Synthetic Reactions. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 8723–8730.

sean consideradas como herramientas poderosas para alterar de forma selectiva la función biológica de dicha macromolécula.

El descubrimiento de nuevas estructuras capaces de estas interacciones selectivas representa un reto importante. En el caso en que la diana biológica este bien definida, el diseño racional de potenciales ligandos en general es posible, particularmente cuando se conoce la estructura de un sustrato natural. Sin embargo, para enfermedades para las cuáles no se conoce moléculas diana, esto no es posible, y el descubrimiento de nuevos agentes terapéuticos depende en gran medida de la proyección de grandes colecciones de moléculas pequeñas.¹⁸ Por lo tanto un objetivo de la SOD es crear bibliotecas de pequeñas moléculas con esqueletos moleculares complejos, para lograr esto, la síntesis es abordada desde la dirección opuesta a la síntesis química tradicional. Es decir la planificación o análisis sintético se realiza hacia adelante, se planean los reactivos sin partir del producto, de lo sencillo hacia lo complejo, para así obtener acceso a amplias regiones del espacio químico de manera eficiente (Figura 6).

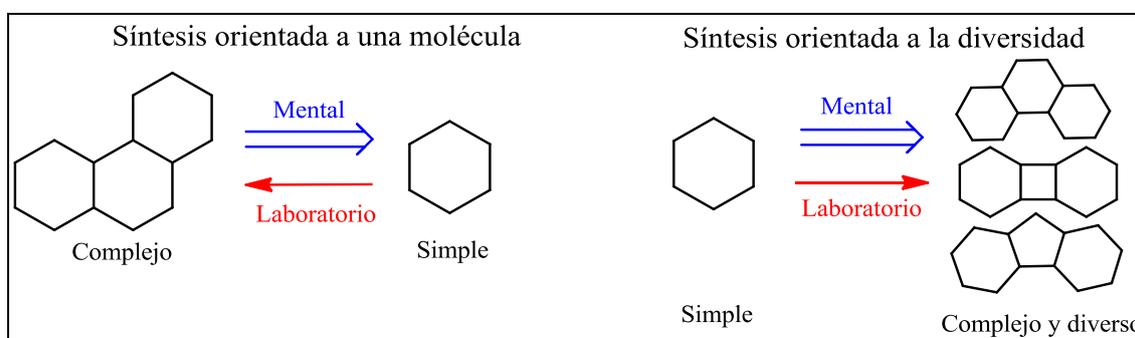


Figura 6. Comparación entre la síntesis tradicional y la SOD.

Para maximizar la eficiencia, las vías sintéticas no debe ser de más de tres a cinco pasos de reacción (lo que no dejaría lugar para las manipulaciones de protección de grupos funcionales). Por lo tanto, para lograr la complejidad del

¹⁸ a) Schreiber, S.L. Target-Oriented and Diversity-Oriented Organic Synthesis in Drug Discovery. *Science*. **2000**, 287, 1964-1969; b) O'Connell, K. M.G; Galloway, W. R.J D; Ibbeson, B. M; Isidro-Llobet, A; O'Connor, C. J; Spring, D. R. Diversity-Oriented Synthesis. Toy, P.H and Lam, Y. eds. *Solid-Phase Organic Synthesis: Concepts, Strategies, and Applications*. John Wiley & Sons, Inc. **2012**. p. 131-150.

esqueleto es crítico identificar y poner en práctica reacciones generadoras de diversidad que puedan ensamblar rápidamente esqueletos moleculares complejos. Reacciones de tipo multicomponente, de Diels–Alder o metátesis son ejemplos de reacciones generadoras de diversidad en las cuáles a partir de materiales de partida simples y en un solo paso se puede crear un producto complejo.¹⁹

1.4 Reacciones Multicomponente

A diferencia de las reacciones químicas comunes, en las cuáles por lo general participan uno o dos compuestos químicos y se requieren varios pasos de reacción para llegar a productos complejos; las reacciones multicomponente (RMC) son aquellas en las cuales se forman productos a partir de tres o más compuestos diferentes en un único paso de reacción y que en general incorporan todos los átomos de los reactivos. Los materiales de partida no reaccionan de forma simultánea, sino más bien en una secuencia de pasos elementales (Figura 7). Las reacciones con un paso irreversible son muy favorables, ya que se impulsa el equilibrio hacia la formación del producto.

En la síntesis clásica después de cada paso, el producto intermedio debe ser aislado y purificado por lo que cuantos más pasos, más trabajo debe llevarse a cabo y más material debe gastarse, además con cada uno de dichos pasos disminuye el rendimiento del producto final. Por el contrario, las RMC tienen la ventaja de que se llevan a cabo simplemente mediante la mezcla de reactivos, sin tener que llevar a cabo la reacción secuencialmente, sin tener que aislar y purificar los intermedios, dando como resultado un producto que se puede formar en un rendimiento más alto que lo convencional, por lo que se utilizan menos reactivos y se ahorran tiempo y esfuerzo.

¹⁹ Burke, M. D; Schreiber, S.L. A Planning Strategy for Diversity-Oriented Synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 46–58.

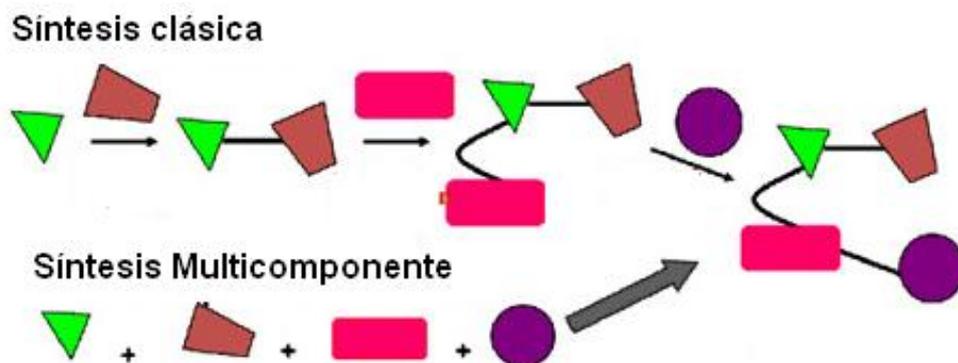


Figura 7. Representación de reacción multicomponente.

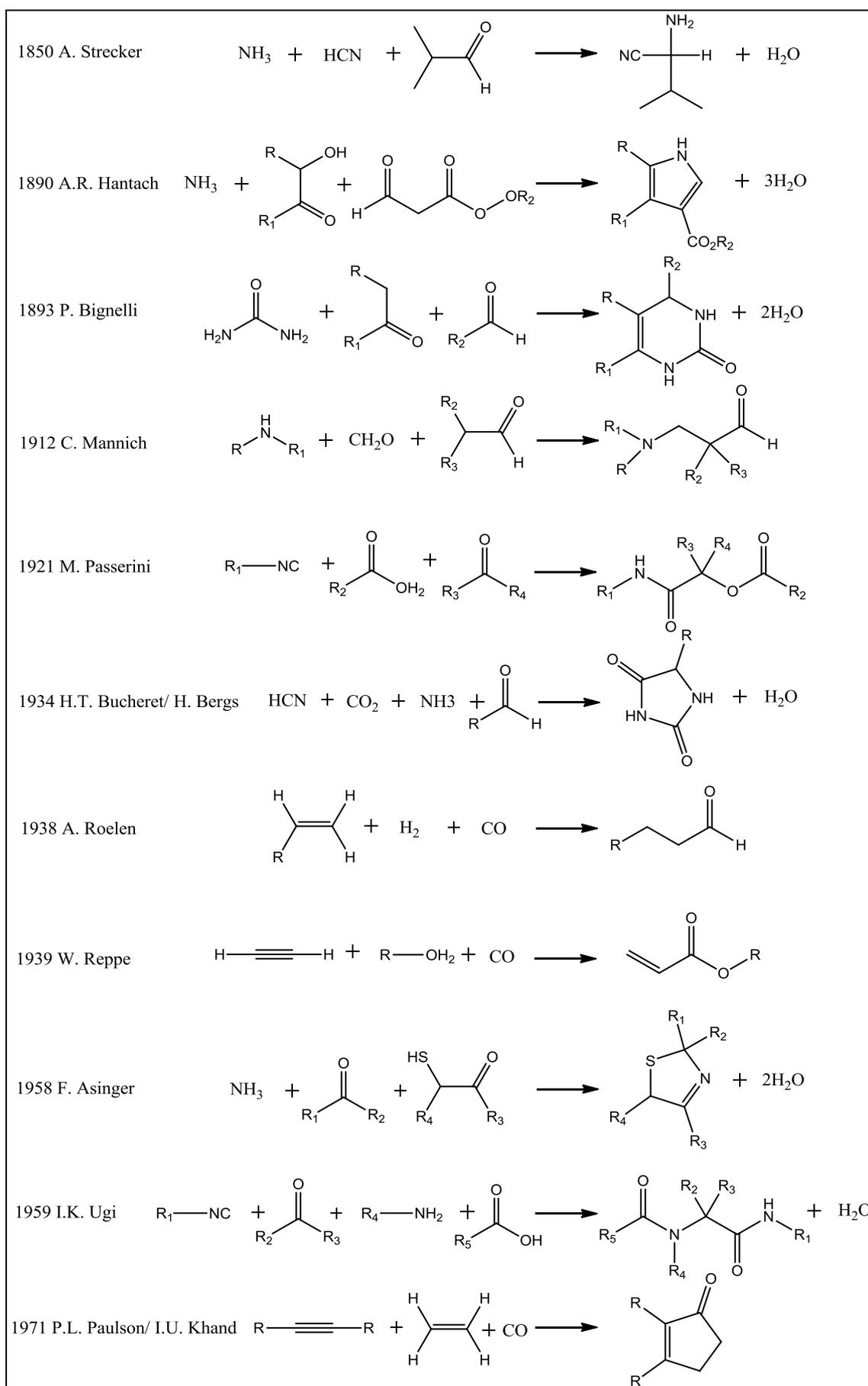
Además por lo general, los materiales de partida están disponibles, o se pueden preparar de una manera sencilla. Por lo que, las RMC están muy cerca de la idea de una “síntesis ideal”.^{20 21} Aunque las RMC se han investigado desde los primeros días de la química orgánica, son todavía muy poco utilizadas.

La primera RMC importante fue descubierta en 1850 por A. Strecker, en ella participan tres componentes, amoníaco, un aldehído, y el ácido cianhídrico, para obtener α -cianoaminas, que pueden ser fácilmente hidrolizadas en α -aminoácidos (Figura 8). En los últimos 160 años la química de las RMC se ha desarrollado, la mayoría de las reacciones creadas tienen un nombre en honor a su autor.²² En la Figura 5 se pueden ver las RMC más conocidas en orden cronológico.

²⁰ Dömling, A; Ugi, I. Multicomponent Reactions with isocyanides. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 3168-3210.

²¹ Ugi, I; Werner, B; Dömling, A. The Chemistry of Isocyanides, their MultiComponent Reactions and their Libraries. *Molecules.* **2003**, 8, 53-66

²² Ugi, I; Dömling, A; Hörl, W. Multicomponent reactions in organic chemistry. *Endeavour, New Series*, **1994**, 18, 3, 115-122.

Figura 8. RMC más conocidas.²⁰

Las reacciones multicomponentes que utilizan isonitrilos (RMCI) como uno de los reactivos han sido de particular interés debido a la gran cantidad de materiales de partida disponible, así como a la variedad de las transformaciones que pueden ser realizadas^{18, 19}. Es así que estas reacciones son una herramienta ideal para abarcar grandes regiones del espacio químico. En las últimas dos décadas, el campo de las RMCI ha tenido un enorme crecimiento. Sobre todo en la investigación y desarrollo de nuevas variaciones de las clásicas reacciones de Passerini y de Ugi. Varias universidades y compañías farmacéuticas han utilizado estas RMC con el fin de desarrollar fármacos para distintas dianas.²³

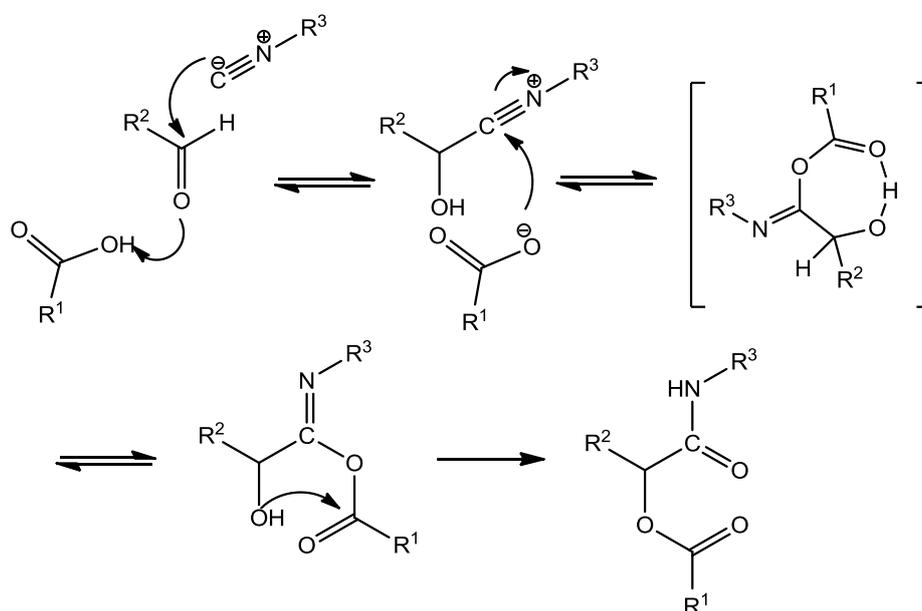


Figura 9. Posible mecanismo de reacción para la reacción de Passerini¹⁸

La reacción de Passerini es una RMC en donde un aldehído, un isonitrilo y un ácido carboxílico reaccionan para dar una α -aciloxiamida con alta eficiencia atómica. Dicha reacción fue descubierta por Mario Passerini en 1921²⁴. El mecanismo de reacción no ha sido del todo definido, pero un mecanismo propuesto involucra en primer lugar la formación de un aducto entre el ácido

²³ a) Akritopoulou-Zanze, I. Isocyanide-based multicomponent reactions in drug Discovery Current. *Opinion in Chemical Biology*. **2008**, 12, 324–331; b) Dömling, A. Recent Developments in Isocyanide Based Multicomponent Reactions in Applied Chemistry. *Chem. Rev.* **2006**, 106, 17-89.

²⁴ a) Passerini, M., Simone, L. Sopra gli isonitrili (I). Composto del p-isonitrili-azobenzolo con acetone ed acido acética. *Gazz. Chim. Ital.* **1921**, 51, 126-129; b) Passerini, M., Ragni, G. Sopra gli isonitrili. *Gazz. Chim. Ital.* **1931**, 61, 964-969.

carboxílico y el compuesto carbonílico. Seguidamente la adición del carbono nucleofílico del isonitrilo al carbonílico electrófilico del aldehído y posterior adición del oxígeno nucleofílico del ácido carboxílico al carbono electrófilo formado del isonitrilo, formándose así un estado de transición cíclico (Figura 9). Este aducto luego se rearregla a través de una transacilación intramolecular para formar la α -aciloxiamida ¹⁸.

Esta reacción se ha llevado a cabo clásicamente en disolventes orgánicos, pero en los últimos años se han explorado condiciones medioambientalmente más amigable o más “verdes en las cuales se pueda realizar. En primer lugar se ha estudiado el uso de agua como disolvente.²⁵ En estos estudios se ha encontrado que las reacciones en esas condiciones se ven favorecidas desde el punto de vista del aumento del rendimiento y la disminución de los tiempos de reacción con respecto a utilizar disolventes orgánicos volátiles. También se ha ensayado esta reacción sin disolventes en un reactor de microondas.²⁶ En este caso también se obtuvieron muy buenos resultados, aumentando los rendimientos y disminuyendo los tiempos de reacción. Por otra parte, también se han ensayado mezclas de disolventes orgánicos y agua para así estudiar la aceleración o no de estas reacciones.²⁷

²⁵ Pirrung, M.C; Das Sarma, K. Multicomponent reactions are accelerated in water. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 444-445.

²⁶ Barreto, A. F. S; Vercillo, O . E; Andrade, C.K.Z. Microwave-assisted Passerini reactions under solvent-free conditions. *J. Braz. Chem. Soc.* **2011**, 22, 3, 462-467.

²⁷ Mirnov, M.A; Ivantsova, M.N; Tokareva, M.I; Mokrushin, V.S. Acceleration of the Passerini reaction in the presence of nucleophilic additives. *Tetrahedron Letters.* **2005**, 46, 3957-3960.

CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

Antecedentes y Justificación

El óxido nítrico ($\cdot\text{NO}$) es un radical libre que actúa en diversos procesos celulares fisiológicos y patológicos como transductor de señales. Por otra parte se ha hallado al $\cdot\text{NO}$ como el factor de relajación derivado del endotelio (EDRF) y esto ha fundado las bases farmacológicas del rol de los liberadores de óxido nítrico¹. Esta molécula es de suma importancia en el sistema cardiovascular, sin embargo, su actividad presenta una gran variedad de funciones como mensajero clave tanto en el sistema cardiovascular, como en el nervioso e inmune. Por todo esto desde la mitad de los años 80, se han desarrollado nuevos liberadores de $\cdot\text{NO}$ como herramientas farmacéuticas y de investigación que han ofrecido grandes ventajas, tales como liberación espontánea de óxido nítrico, liberación controlada según el pH, e incluso liberación de $\cdot\text{NO}$ en determinados tejidos.

Existe una gran variedad estructural de moléculas liberadoras de $\cdot\text{NO}$, principalmente se pueden identificar tres grandes tipos de farmacóforos: 1) Nitratos y nitritos orgánicos y nitrosotioles; 2) 1,2-diolato de diazenio (NONOatos) y 3) *N*-óxido de 1,2,5-oxadiazol (furoxanos). Generalmente los liberadores de $\cdot\text{NO}$ se han utilizado para el control de las enfermedades cardiovasculares, sin embargo actualmente están emergiendo nuevas posibilidades farmacoterapéuticas para estos farmacóforos, como en desordenes gastrointestinales y respiratorios, respuesta inmune y regulación del crecimiento de tumores.

¹ a) Palmer, R.M.J; Ferrige, A.G; Moncada, S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*. **1987**, 327, 524-526; b) Ignarro, L.J; Buga, G.M; Wood, K.S; Byrns, R.E; Chaudhuri, G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.**1987**, 84, 9265-9269; c) Moncada, S.; Palmer, R.M.J; Higgs, E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev.* **1991**, 43, 109-142.

Dentro de estos, el estudio de la relación entre el óxido nítrico y la biología tumoral es destacable ya que la misma no está completamente definida.²

Recientemente se han desarrollado fármacos híbridos, acoplando una molécula con propiedades farmacológicas per se, junto a una estructura liberadora de ·NO por ejemplo aspirina-liberador de ·NO³, saquinavir -liberador de ·NO⁴, con objeto de disminuir efectos secundarios no deseados. Por otro lado, se desarrollaron fármacos híbridos que combinan en su estructura moléculas de reconocimiento bioquímico para el transporte selectivo de ·NO a su sitio de acción. Así se están desarrollando análogos de la vitamina E liberadores de ·NO, con potencial aplicación en el tratamiento de la aterosclerosis. La misma estrategia se utilizó en el diseño de V-PROLI/NO, una prodroga hepato-selectiva liberadora de ·NO con actividad antitumoral.^{5,6}

Por lo tanto, la generación de quimiotecas de moléculas orgánicas con potencial capacidad de liberar óxido nítrico mediante una estrategia ambientalmente amigable y un screening biológico primario sobre diversas

² a) Wang, P.G.; Xian, M.; Tang, X.; Wu., X., Wen, Z., Tingwei, C., Janczuk, A.J. Nitric Oxide Donors: Chemical Activities and Biological Applications. *Chem. Rev.*, **2002**, 102, 4, 1091–1134; b) Keefer, L.K. Progress toward clinical application of the nitric oxide-releasing diazeniumdiolates. *Chem. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2003**, 43, 585-607.

³ S, Fiorucci; P, Del Soldato. NO-aspirin: mechanism of action and gastrointestinal safety. *Digestive and Liver Disease.* **2003**, 35, 2, S9–S19

⁴ Maksimovic-Ivanic D, Mijatovic S, Miljkovic D, Harhaji-Trajkovic L, Timotijevic G, Mojic M, Dabideen D, Cheng KF, McCubrey JA, Mangano K, et al. The antitumor properties of a nontoxic, nitric oxide-modified version of saquinavir are independent of Akt. *Mol Cancer Ther.* **2009**, 8, 1169–1178

⁵ a) López, G.V.; Batthyány, C.; Blanco, F.; Botti, H.; Trostchansky, A.; Migliaro, E.; Radi, R.; González, M.; Cerecetto, H.; Rubbo, H. Design, synthesis, and biological characterization of potential antiatherogenic nitric oxide releasing tocopherol analogs. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, 13, 20, 5787-5796; b) López, G.V., Blanco, F., Hernández, P., Ferreira, A., Piro, O.E., Batthyány, C., González, M., Rubbo, H., Cerecetto, H. Second generation of α -tocopherol analogs-nitric oxide donors: Synthesis, physicochemical, and biological characterization. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 18, 6262-6272.

⁶ a) Huerta, S., Chilka, S., Bonavida, B. Nitric oxide donors: Novel cancer therapeutics (Review). *Int J Oncol.* **2008**, 33, 5, 909-927; b) Aguirre G, Boiani M, Cerecetto H, Fernández M, González M, León E, Pintos C, Raymondo S, Arredondo C, Pacheco JP, Basombrío MA: Furoxan derivatives as cytotoxic agents: preliminary in vivo antitumoral activity studies. *Pharmazie.* **2006**, 61, 54-59; c) Boiani, M., Cerecetto, H., González, M., Risso, M., Olea-Azar, C., Piro, O.E., Castellano, E.E., López de Ceráin, A., Ezpeleta, O., Monge-Vega A. 1,2,5-Oxadiazole N-oxide derivatives as potential anti-cancer agents: synthesis and biological evaluation. Part IV. *Eur J Med Chem.* **2001**; 36, 10, 771-782; d) Cerecetto, H., González, M., Risso, M., Seoane, G., López de Ceráin, A., Ezpeleta, O., Monge, A., Suescun, L., Mombrú, A., Bruno, A.M. Synthesis and Biological Evaluation of 1,2,5-Oxadiazole N-Oxide Derivatives as Potential Hypoxic Cytotoxins and DNA-Binders. *Arch Pharm (Weinheim).* **2000**; 333, 11, 387-393.

dianas terapéuticas, constituyen una excelente herramienta en la búsqueda de moléculas cabezas de serie o líderes contra las patologías antes mencionadas.

En este sentido, la propuesta de este trabajo involucra la síntesis de análogos bioactivos de la vitamina E liberadores de óxido nítrico a través de una reacción multicomponente en condiciones de química orgánica “verde”.

CAPÍTULO 3

OBJETIVOS

Objetivos

El objetivo general de este trabajo es la optimización de una reacción multicomponente en química orgánica verde orientada a la generación de una quimioteca de análogos bioactivos de la vitamina E liberadores de óxido nítrico.

Los objetivos específicos del trabajo son:

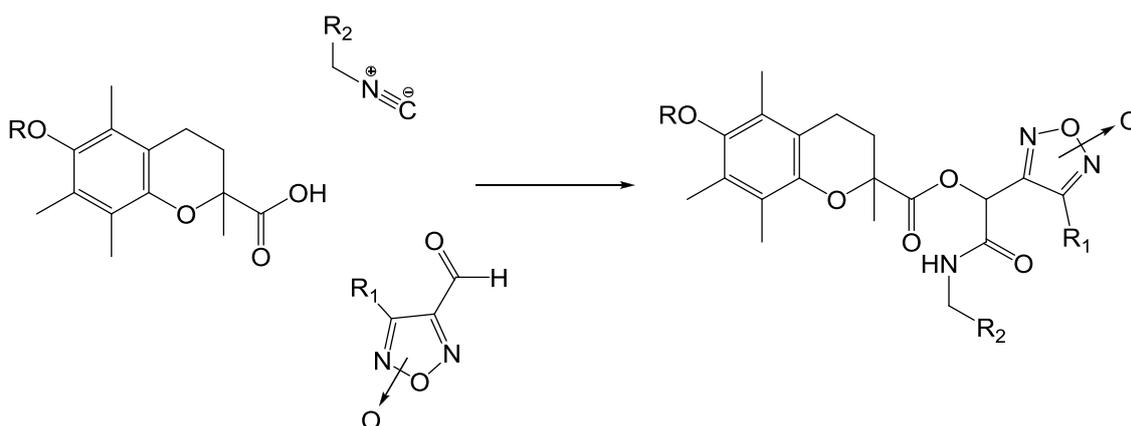
1. Diseño y síntesis de una colección de moléculas análogas de la vitamina E liberadoras de óxido nítrico mediante reacciones multicomponente en condiciones de química verde (solución acuosa, sin disolvente, irradiación con microondas).
2. Caracterización espectroscópica de los compuestos generados.

CAPÍTULO 4

QUÍMICA

4.1 Diseño general

En el presente trabajo se ha planteado el diseño y la síntesis de una colección de moléculas análogas de la vitamina E liberadoras de óxido nítrico mediante reacciones multicomponente. Para cumplir con dicho objetivo, como ya se mencionó, se planteó la Reacción de Passerini, una RMC en la cual participan un aldehído, un ácido carboxílico y un isonitrilo en un único paso de reacción para dar una α -aciloxiamida compleja con alta eficiencia atómica. Como aldehído se seleccionó un derivado de furoxano, el cual tiene capacidad de liberar óxido nítrico y como ácido carboxílico se eligió un análogo de tocoferol. En el Esquema 1 se muestra el esquema general de la reacción.



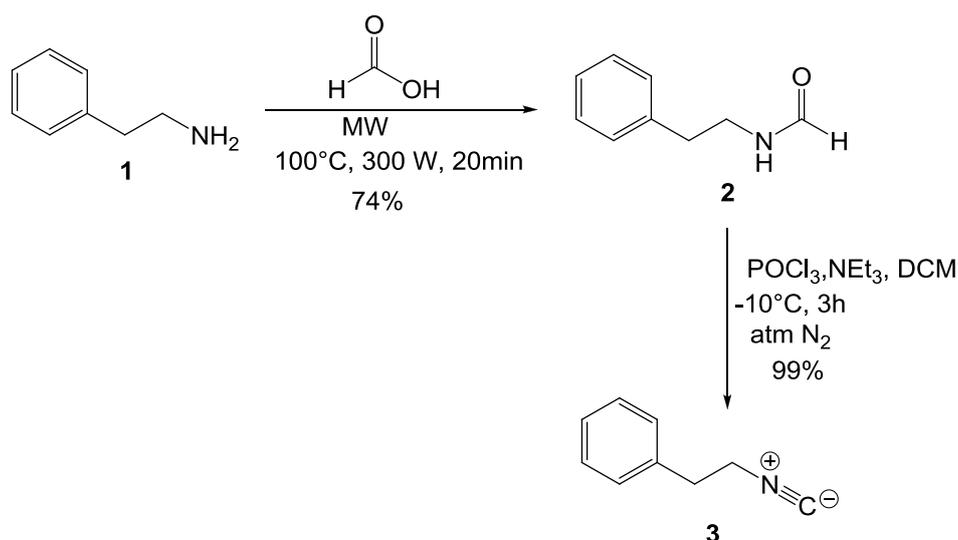
Esquema 1. Esquema general de la reacción multicomponente (reacción de Passerini)

Como material de partida se utilizaron los siguientes reactivos:

- Feniletisonitrilo sintetizado para este trabajo.
- *N*-óxido de 4-metil-1,2,5-oxadiazol-3-carbaldehído disponible en el Laboratorio de Química Orgánica
- Ácido (\pm)-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromancarboxílico (Trolox[®]) sintetizado para este trabajo
- Ácido (\pm)-6-aciloxi-2,5,7,8-tetrametilcromancarboxílico (Acetato de Trolox) disponible en el Laboratorio de Química Orgánica
- Ácido (\pm)-6-benciloxi-2,5,7,8-tetrametilcromancarboxílico (Trolox bencilado) disponible en el Laboratorio de Química Orgánica

4.2 Síntesis de Feniletisonitrilo

Para la preparación de Feniletisonitrilo (**3**) se utilizó una ruta sintética de dos pasos, tal como se muestra en el Esquema 2. En primer lugar se llevó a cabo la formación de *N*-fenetilformamida (**2**) usando como reactivos feniletilamina (**1**) y ácido fórmico. Esta reacción se realizó libre de disolventes, sin la utilización de ningún agente activante y en un horno microondas multimodo (WX-4000, EU Chemicals Instruments). Esta novedosa técnica involucra condiciones medioambientalmente amigables y se aplican principios de la química verde. De esta manera se obtuvo *N*-fenetilformamida en un rendimiento del 74%. A continuación se hizo reaccionar la amida obtenida con óxido de fosfórico y trietilamina en diclorometano para obtener el isonitrilo correspondiente con excelente rendimiento.



Esquema 2. Ruta sintética de Feniletisonitrilo.

Mediante experimentos de ^1H -RMN (Figura 10) y ^{13}C -RMN (Figura 11) se confirmó la estructura del compuesto **3**, en dichas figuras se observan claramente las señales correspondientes a los distintos tipos de protones y carbonos presentes en la molécula. La correcta asignación de las señales de los mencionados espectros fue realizada mediante la ayuda de los experimentos COSY, HMBC y HSQC.

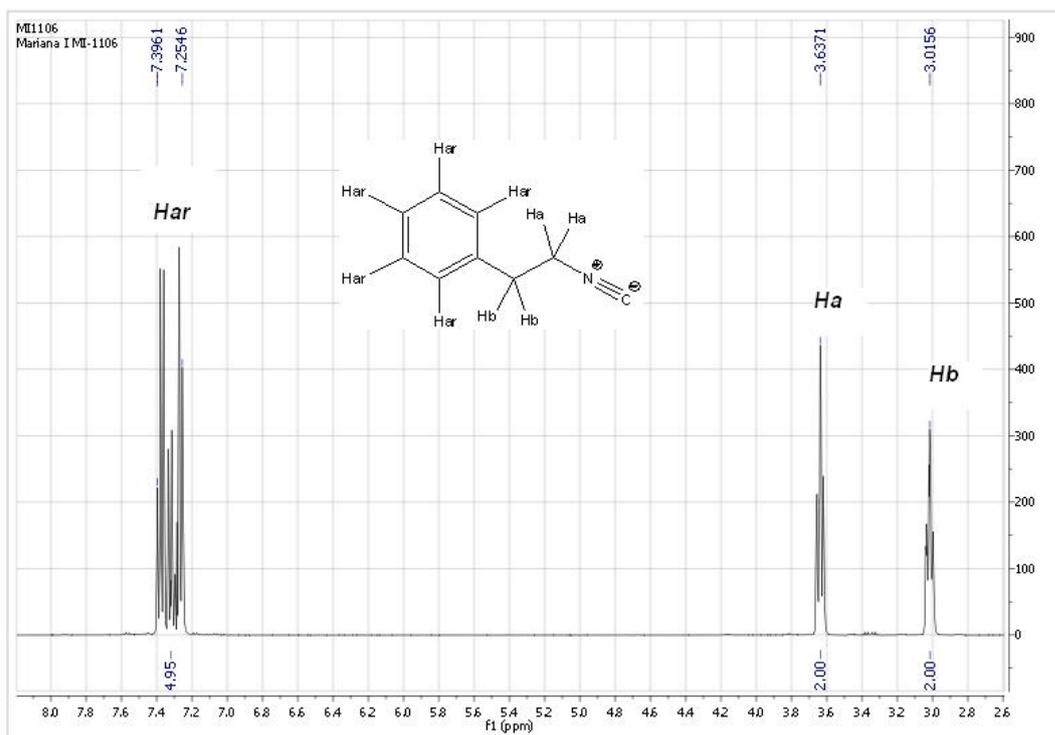


Figura 10. Espectro de ^1H -RMN de Feniletisonitrilo

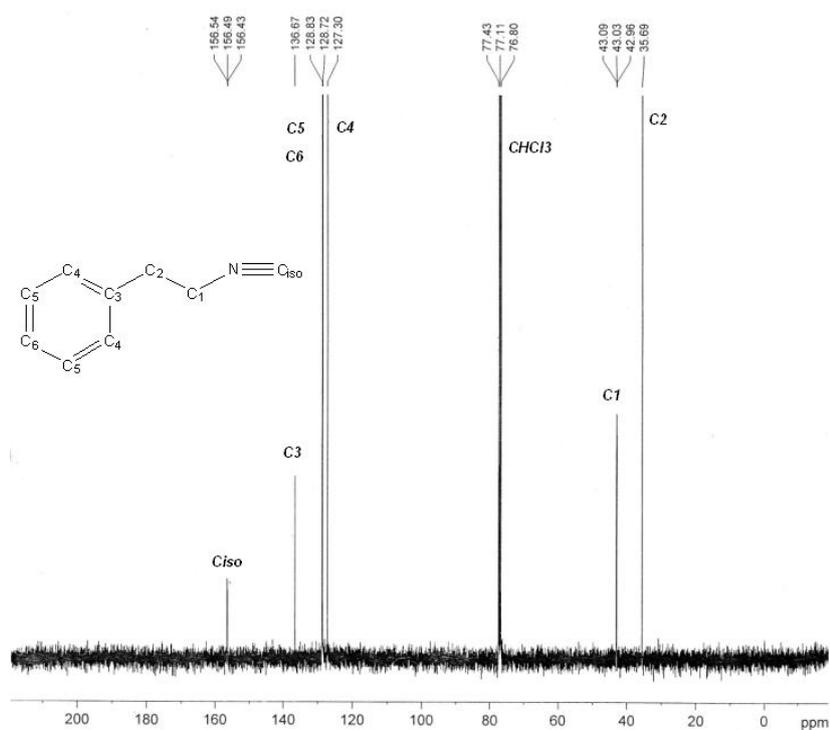
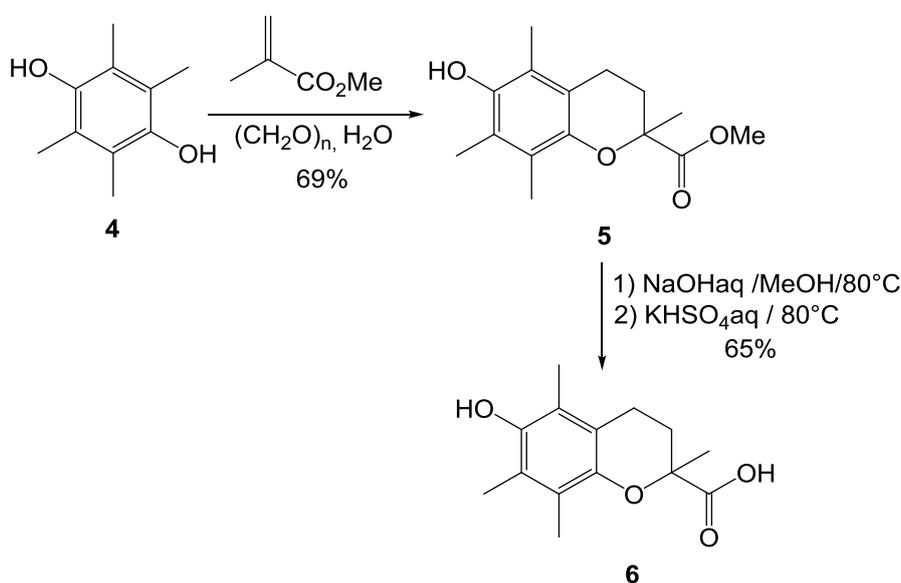


Figura 11. Espectro de ^{13}C -RMN de Feniletisonitrilo

4.3 Síntesis del Trolox®

Trolox® es la marca comercial de Hoffman-LaRoche del Ácido (±)-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (**6**), un derivado hidrosoluble de la vitamina E.

La síntesis utilizada para su formación involucra una ruta sintética de dos pasos.¹ En primer lugar se obtiene el ester metílico de Trolox (**5**), y luego en un segundo paso de hidrólisis se obtiene el ácido carboxílico deseado, tal como se muestra en el Esquema 3.



Esquema 3. Ruta sintética para el Trolox®.

El primer paso de esta reacción, es decir la formación del anillo de cromo, es una técnica novedosa en donde en un único paso de reacción, un fenol, una olefina, y formaldehído reaccionan en condiciones suaves, en ausencia de catalizador, en presencia de agua y sin la utilización de co-disolventes. Los rendimientos obtenidos son buenos gracias a la utilización de un reactor de presión para llevar a cabo la reacción. Estas condiciones están de acuerdo con ciertos principios de la Química Verde.

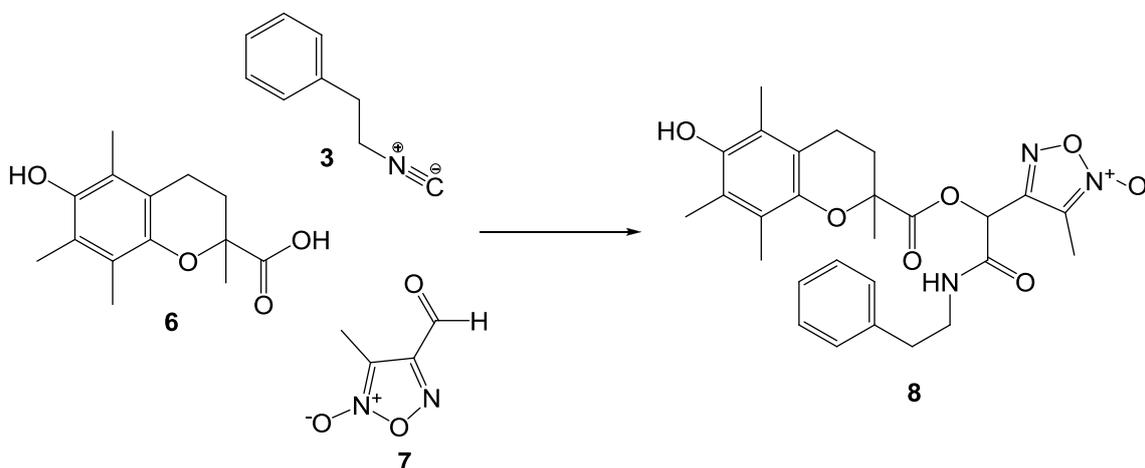
¹ Hidaka, T. Mitsubishi Gas Chemical Company Inc. "Process for producing chroman compound". Patent EP 1710239 A1. 11 October 2006

4.4 Síntesis de los derivados tocoferol miméticos mediante reacción de Passerini

Para la formación de las moléculas análogas de la vitamina E liberadoras de óxido nítrico se utilizaron tres ácidos carboxílicos distintos derivados del Trolox[®]. Lo que dió como resultado tres α -aciloxiamidas distintas, las cuales fueron sintetizadas en diferentes condiciones.

4.4.1 Derivado de Passerini del Trolox[®]

Para la formación del derivado del Trolox[®] via Passerini (Esquema 4) se ensayaron diversas condiciones de reacción las cuales se resumen en la Tabla 1.



Esquema 4. Esquema de formación del producto derivado del Trolox[®] de Passerini

Tabla 1. Condiciones de reacción ensayadas para la formación del producto de Passerini 8.

Entrada	Disolvente	Tiempo	Temperatura	Rendimiento (%)
1	H ₂ O	4 h	T.A.	25
2	CH ₂ Cl ₂	4 h	T.A.	41
3	LiBr ac (2,5 M)	4 h	T.A.	35
4	Glucosa ac. (1M)	4 h	T.A.	35
5	H ₂ O	24 h	T.A.	27
6	H ₂ O (ITBA cat.)	24 h	T.A.	19
7	H ₂ O	72 h	T.A.	27
8	H ₂ O:Acetonitrilo (3:1)	72 h	T.A.	19
9	H ₂ O:Acetonitrilo (1:3)	72 h	T.A.	25
10	Acetonitrilo	72 h	T.A.	52
11	H ₂ O	5 min	MW, 60°	52
12	Acetonitrilo	10 min	MW, 60°	53
13	-	10 min	MW, 100 W	56

Entonces, si se comparan los rendimientos obtenidos utilizando agua como disolvente a temperatura ambiente pero a distintos tiempos de reacción (Tabla 1, entradas 1, 5 y 7), se observa que luego de 4 horas la reacción no avanza y se obtienen rendimientos entre 25% y 27%.

Por otra parte, teniendo en cuenta reportes en la literatura² que describen que si se lleva a cabo la reacción en agua pero agregando determinados solutos como LiBr (iónico) o glucosa (no iónico), aumentan los rendimientos y disminuyen los tiempos de reacción con respecto al uso de agua pura. Es bien conocido que las soluciones acuosas pueden presentar diferencias en las propiedades con respecto al agua pura, como las propiedades coligativas: punto de congelación y el punto de ebullición. Solutos solvatados pueden interactuar con agua por enlaces de hidrógeno, interacciones dipolo-dipolo o interacciones ión-dipolo, como en el caso de glucosa o una sal como LiBr. Por lo tanto, la solvatación de moléculas hidrófilas o iónicas conduce a la organización de las aguas alrededor del soluto, aumento así la estructura del agua. Cuando ensayamos condiciones similares en nuestra reacción (Tabla 1, entradas 3 y 4) se puede observar que dichos solutos aumentan los rendimientos a un 35%. Si bien existe un incremento del rendimiento el mismo no es de gran importancia.

Por otra parte, pensando en las condiciones de reacción “sobre agua” o en la interfase de la suspensión acuosa, también se ensayó la reacción utilizando ioduro de tetrabutilamonio (ITBA) como catalizador de transferencia de fase. En este caso no hubo aumento del rendimiento con respecto al agua pura, sino por el contrario una disminución al 19%.

Por otro lado la reacción se realizó utilizando disolventes orgánicos como el diclorometano (Tabla 1, entrada 2) y acetonitrilo (Tabla 1, entrada 10), y mezclas de agua - acetonitrilo en diferentes proporciones (Tabla 1, entradas 8 y 9). Bajo estas condiciones se observa que el rendimiento de la reacción aumenta a 41% en diclorometano y al 52 % en acetonitrilo. Las mezclas de acetonitrilo/agua no muestran una mejora en los rendimientos.

² a) Pirrung, M.C; Das Sarma, K. Multicomponent reactions are accelerated in Water. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 444-445; b) Pirrung, M.C; Das Sarma, K. Aqueous medium effects on multi-component reactions. *Tetrahedron.* **2005**, 61, 11456-11472.

En otro orden, la síntesis fue llevada a cabo en un reactor de Microondas comercial multimodo (WX-4000, EU Chemicals Instruments). Las condiciones utilizadas involucraron el uso de agua o acetonitrilo como disolventes o libre de disolventes (Tabla 1, Entradas 11 a 13). En los tres casos se aprecia un aumento en el rendimiento de la reacción, siendo el mejor sin disolvente (56%) y además hay un dramático descenso del tiempo de reacción (10 minutos).

Estas condiciones, en donde se obtuvieron los mejores resultados sintéticos están en el marco de la química verde, ya que no se utilizan disolventes, ni catalizadores y no se utilizan grandes cantidades de energía para llevar a cabo dicha reacción. De este modo, mediante la aplicación de irradiación de microondas se obtiene un producto complejo en un único paso, en donde la reacción elegida integra en el producto todos los átomos de los reactivos.

La estructura del compuesto **8** se confirmó mediante experimentos de ^1H -RMN (Figura 12) y ^{13}C -RMN (Figura 13), se observan claramente las señales correspondientes a los distintos tipos de protones y carbonos presentes en la molécula. En el espectro de ^1H -RMN se observan las señales que corresponden al compuesto deseado obtenido como una mezcla de diasterómeros en cantidades equivalentes. La correcta asignación de las señales de los mencionados espectros fue realizada mediante la ayuda de los experimentos COSY, HMBC, HSQC y DEPT. También se confirmó la estructura mediante espectrometría de masas.

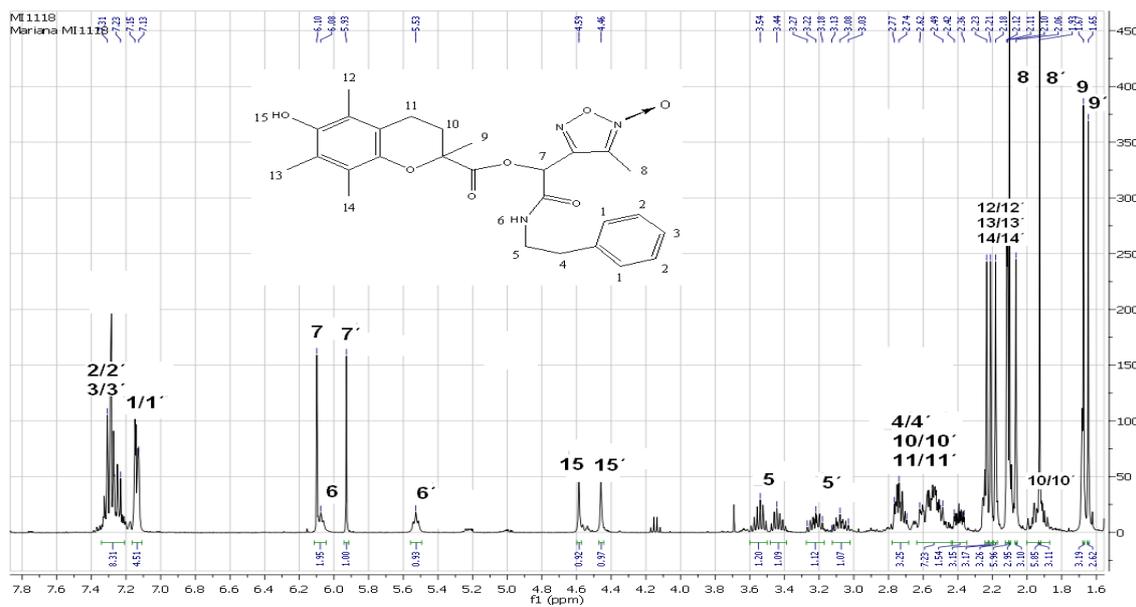


Figura 12. Espectro de ¹H-RMN para el compuesto 8.

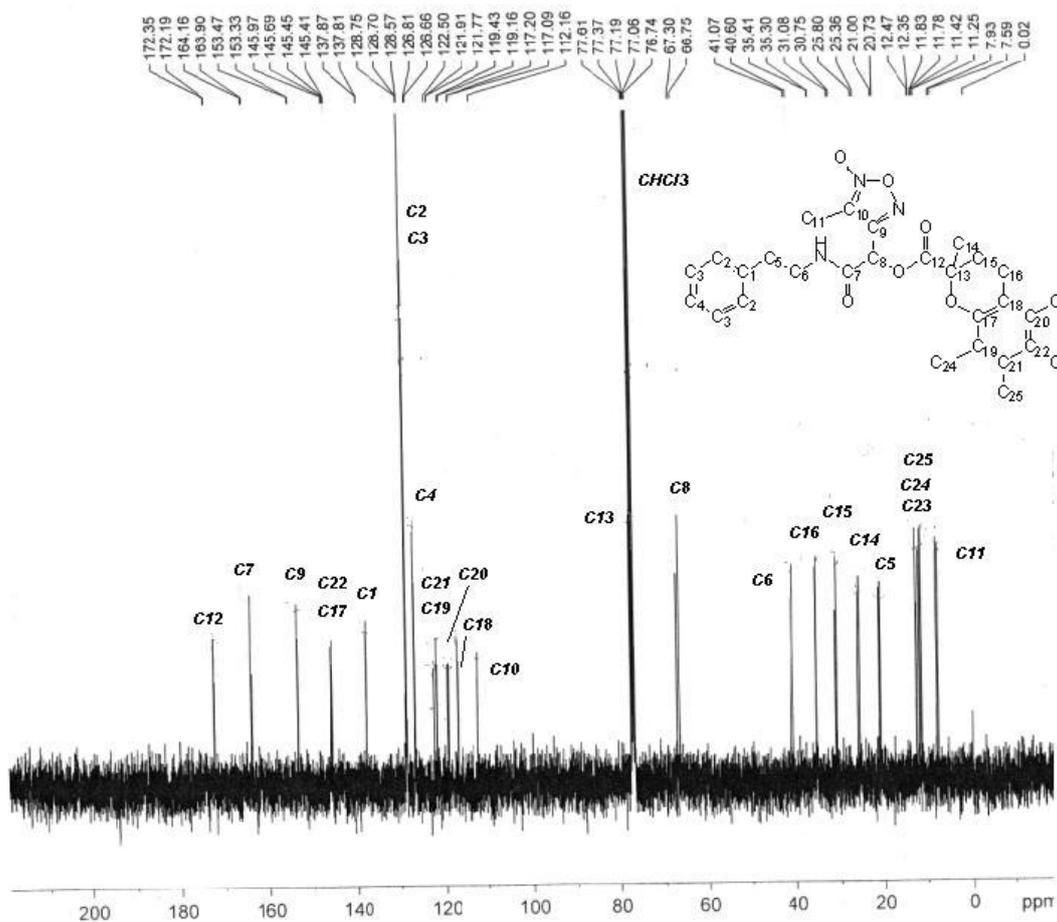
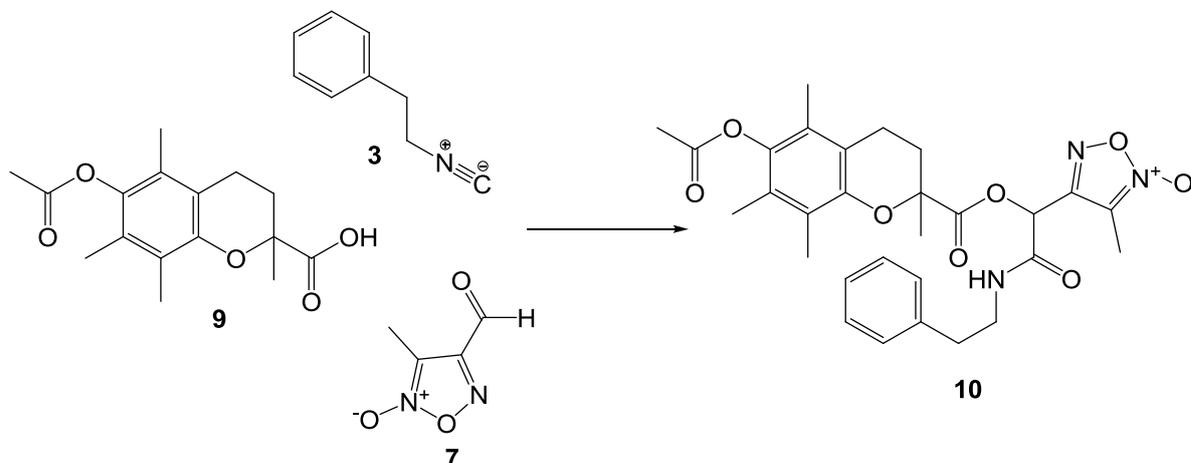


Figura 13. Espectro de ¹³C-RMN para el compuesto 8

4.4.2 Derivado de Passerini del Acetato de Trolox

Para sintetizar el derivado del acetato de Trolox de Passerini (Esquema 5) se llevo a cabo la reacción en dos condiciones, resumidas en la Tabla 2.



Esquema 5. Esquema de formación del producto derivado del Acetato de Trolox de Passerini

Tabla 2. Condiciones de reacción ensayadas para la formación del producto de Passerini **10**.

<i>Entrada</i>	<i>Disolvente</i>	<i>Tiempo (h)</i>	<i>Temperatura</i>	<i>Rendimiento (%)</i>
1	H ₂ O	24	T.A.	47
2	CH ₂ Cl ₂	24	T.A.	55

Esta reacción, utilizando un derivado del Trolox® en donde el OH no está libre, (en este caso se encuentra acetilado) es de interés ya que de esta manera es posible estudiar cómo influye el cambio en la solubilidad en agua de este reactivo y su interacción con los otros reactivos que son insolubles en medio acuoso en el rendimiento de la reacción.

Los resultados descritos en la Tabla 2 muestran que cuando la reacción se realiza tanto en agua como en diclorometano durante el mismo tiempo, dan el producto deseado con rendimientos muy similares.

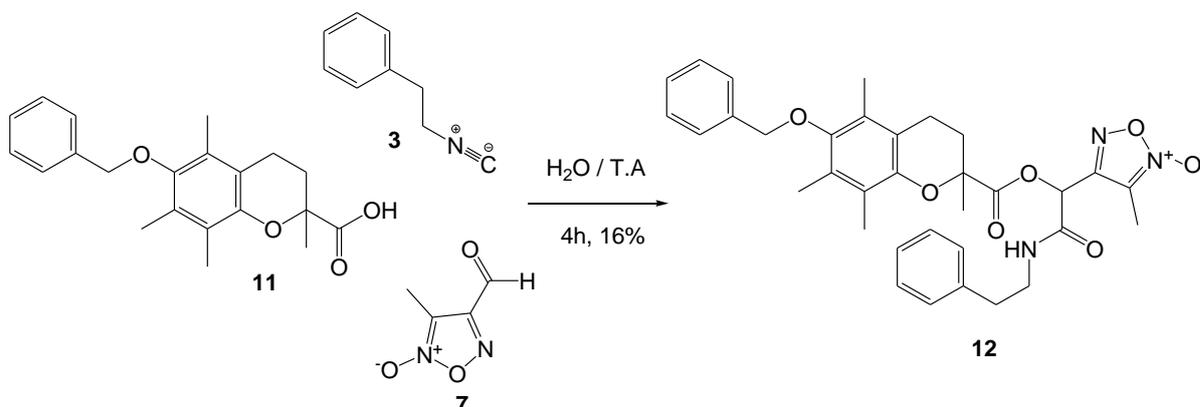
Sin embargo, si se compara este rendimiento en medio acuoso (Tabla 2, entrada 1) con el obtenido para el compuesto **8** (Tabla 1, entradas 1 y 5), si se aprecia un aumento, aunque los rendimientos siguen siendo bajos o modestos (menores a 50%). Por lo tanto, en principio el OH libre no es responsable de los rendimientos bajos, si bien su acetilación mejora los rendimientos.

Una potencial explicación de estos resultados es la posibilidad de un mayor efecto hidrófobo, el cual hacía referencia a la formación de clatratos alrededor de una molécula hidrófoba en agua, y la tendencia de las gotitas hidrofóbicas de fusionar con el fin de minimizar el área superficial de contacto entre las moléculas hidrófobas y agua. Por lo tanto, se espera que la aceleración de una reacción a través del efecto hidrófobo se correlacione con la superficie hidrofóbica de la sustancia a reaccionar. Otra posible explicación del aumento de rendimiento en las condiciones ensayadas, es la protección del grupo fenol como acetato, que impediría que este actúe como potencial nucleófilo en el medio de reacción, y por lo tanto evitando reacciones secundarias.

En otro orden, la estructura del compuesto **10** se confirmó mediante experimentos de ^1H -RMN y espectrometría de masas. El ^1H -RMN mostraba las señales que corresponden al compuesto deseado obtenido como una mezcla de diasterómeros en cantidades equivalentes (ver parte experimental). Dichas señales se asignaron correctamente gracias a la ayuda de los experimentos COSY, HMBC y HSQC.

4.4.3 Derivado de Passerini del Trolox[®] bencilado

La síntesis del derivado de Passerini del Trolox bencilado (Esquema 6) se realizó únicamente en medio acuoso.



Esquema 6. Esquema de formación del producto derivado del Trolox[®] bencilado de Passerini

Esta síntesis se llevó a cabo para poder observar definitivamente la influencia del grupo OH libre en el rendimiento de la reacción. Al bencilar el fenol se le incorpora a la molécula un grupo muy apolar que asegura que el reactivo va a ser insoluble y va a estar en contacto con los demás. En estas condiciones se obtiene el compuesto deseado con un rendimiento menor (Esquema 6) a los obtenidos para los otros derivados (ver Tabla 1, entrada 1 y Tabla 2, entrada 1). A partir de estos resultados, se puede concluir que el grupo OH libre o el patrón de sustitución en este grupo funcional (diferentes grupos protectores) puede afectar el rendimiento de la reacción por diferentes situaciones. En este último caso en particular, un efecto estérico importante (grupo bencilo) puede influir negativamente en la reacción, lo cual puede ser supuesto en base al mecanismo de MCR para la reacción de Passerini ².

La caracterización estructural del compuesto **12** se realizó mediante experimentos de ¹H-RMN y espectrometría de masas. El ¹H-RMN mostraba señales que corresponden al compuesto deseado obtenido como una mezcla de diastereómeros en cantidades equivalentes (ver parte experimental). Dichas señales se asignaron correctamente gracias a la ayuda de los experimentos COSY, HMBC y HSQC.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

5.1 Conclusiones

- En el presente trabajo se han diseñado y sintetizado moléculas análogas de la vitamina E liberadoras de óxido nítrico con el objetivo de obtener potenciales fármacos multidiaria.
- Se sintetizaron tres productos finales en distintas condiciones a través de la reacción de Passerini, encontrando que las óptimas para su síntesis eran aquellas que involucraban metodologías de química verde.
- Se aplicaron conceptos de la química verde, la utilización de Reacciones multicomponente como metodología de síntesis, el uso de agua como solvente, el uso de reactores de microondas, la no utilización de sustancias auxiliares y también el llevar a cabo reacciones sin solvente.
- Los productos generados fueron caracterizados utilizando técnicas espectroscópicas tales como ^1H -RMN, ^{13}C -RMN, COSY, RMN heteronuclear (HSQC y HMBC), y espectrometría de masas.
- Se sintetizaron los reactivos de partida Trolox y Feniletisonitrilo, también utilizando estrategias medioambientalmente amigables con muy buenos resultados. Los mismos también fueron espectroscópicamente caracterizados

5.2 Perspectivas

- Este trabajo nos ha brindado una primera aproximación en el estudio de las Reacciones Multicomponentes como potente método para el desarrollo de fármacos. Esto constituye un punto de inicio para continuar desarrollando moléculas análogas de la vitamina E liberadoras de óxido nítrico mediante la Reacción de Passerini y también mediante la Reacción de Ugi para así lograr la biblioteca deseada.

CAPÍTULO 6

PARTE EXPERIMENTAL

Síntesis Orgánica

Consideraciones generales

En este apartado se describen los procedimientos experimentales de obtención de los compuestos y el análisis espectroscópico de los mismos.

* Los disolventes se purifican y secan, previo a su utilización, por métodos convencionales. Otros reactivos fueron adquiridos en empresas comerciales y usados sin purificación.

* El avance de las reacciones y la pureza de los productos se examinan por cromatografía en capa fina (CCF). Para esto se utiliza sílica gel o alúmina con indicador fluorescente en placas de poliéster o de aluminio. Los cromatogramas se revelan por alguno de los siguientes métodos:

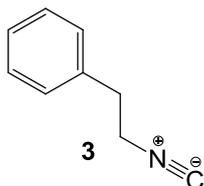
- exposición a la luz ultravioleta a 254nm
- asperjado con: a) mezcla de Etanol: Ácido sulfúrico: Anisaldehído (95:4:1) (v:v:v) y posterior quemado, o b) reactivo de Brady (solución de 2,4-Dinitrofenilhidrazina en Ácido sulfúrico y EtOH).
- exposición a vapores de yodo.

* Para las cromatografías en columna (CC), se utiliza sílica gel (Kieselgel, tamaño 0.063-0.2 mm, J. T. Baker)

* Los espectros de ^1H -RMN y de ^{13}C -RMN se realizan en un equipo Bruker DPX 400 (400 MHz y 100 MHz, respectivamente) utilizando los disolventes indicados en cada caso 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. La completa caracterización se realiza con la combinación de experimentos HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence), HMBC (Heteronuclear Multiple

Bond Correlation), COSY (CORrelated SpectroscopY) y DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer).

* 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.

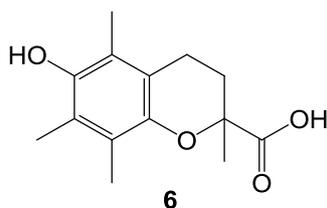


2-feniletilsonitrilo (3). Se coloca en un tubo de vidrio apropiado fenetilamina (10.4 mL, 82.64 mmol) y ácido fórmico (1.6 mL, 41.32 mmol), se lleva al horno microondas y es irradiado a 300 W por 20 minutos a 100°C. Se disuelve el aceite obtenido en CH₂Cl₂ (100 mL). La capa orgánica así obtenida se lava con solución de HCl al 10% (2 x 50 mL). Se neutraliza mediante lavados con solución saturada de NaHCO₃. Se seca con Na₂SO₄, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. La *N*-fenetilacetamida obtenida se utiliza en el siguiente paso sin previa purificación.

Se disuelve *N*-fenetilacetamida (4.53 g, 30.4 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (50 mL) a -10°C. Se agrega trietilamina (15.35 g, 152 mmol) y luego gota a gota se agrega una solución de POCl₃ (7.00 g, 45.6 mmol) en 25 mL de CH₂Cl₂ anhidro. La reacción se agita por 3 horas a -10°C bajo atmósfera de N₂. Luego de ese tiempo la reacción se detiene por agregado de 100 mL de una solución saturada de NaHCO₃. Se separa la capa orgánica, se lava con una solución saturada de NaHCO₃ (2 x 50 mL) y con solución saturada de NaCl (50 mL). Se seca con Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purifica por CC (SiO₂ flash, Hexanos: Acetato de etilo (8:2)) para dar un aceite amarillo (3.93 g, 73%)

¹H-NMR (CDCl₃): δ= 7.40 – 7.25 (m, 5H), 3.64 (m, 2H), 3.02 (m, 2H)

¹³C-NMR: δ= 156.49, 136.67, 128.83, 128.72, 127.30, 43.03, 35.69

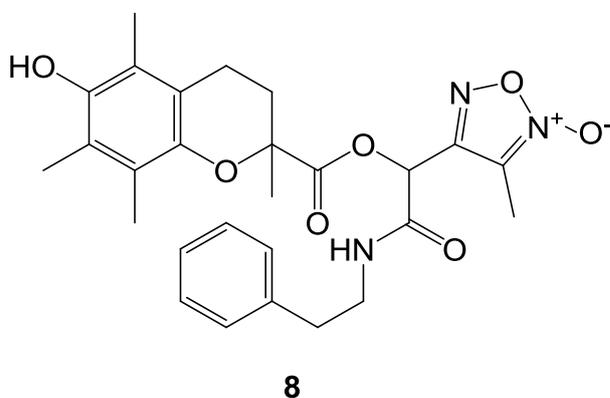


Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (6).

En un reactor de presión de acero inoxidable equipado con agitador se coloca 1,4-dihidroxi-2,3,5-trimetilbenceno (**4**) (10.00 g, 65.7mmol), paraformaldehído (4.00 g, 133.2 mmol), metacrilato de metilo (35.0 mL, 327 mmol) y agua (3 mL). La mezcla se deja reaccionar a 180 °C por 3 horas bajo agitación mientras el reactor esta bien cerrado. Luego de completada la reacción, la mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente y se adiciona metanol a la misma, donde precipitan los cristales. Los mismos se filtran para dar el éster metílico correspondiente (**5**) como polvo blanco. Se recrystaliza de metanol (11.28 g, 69%).

En un balón se coloca el éster metílico de trolox obtenido en el paso anterior (2.74 g, 10.4 mmol) y se disuelve en MeOH (9.0 mL). Se adiciona gota a gota una solución conteniendo NaOH (0.74 g, 18.5 mmol) en agua (7 mL) durante dos horas. Luego se lleva a cabo la hidrólisis por dos horas a 80 °C. La mezcla de reacción se neutraliza por agregado de una solución de NaHSO₄ (2.45 g, 18.5 mmol) en agua (7 mL) a 80 °C por dos horas. Luego la mezcla de reacción se deja enfriar y se filtra. El crudo obtenido se purifica por CC (SiO₂, Eter etílico) para dar cristales blancos (1.68 g, 65%)

¹H-NMR (CDCl₃): δ= 11.18 (s, 1H), 2.73 – 2.59 (m, 2H), 2.42 – 2.36 (m, 1H), 2.19 (s, 6H), 2.11 (s, 3H), 2.00 – 1.93 (m, 1H), 1.63 (s, 3H).



4-(1-(6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carbonil)oxi)-2-oxo-2-(fenetilamino)etil-3-metilfuroxano (8).

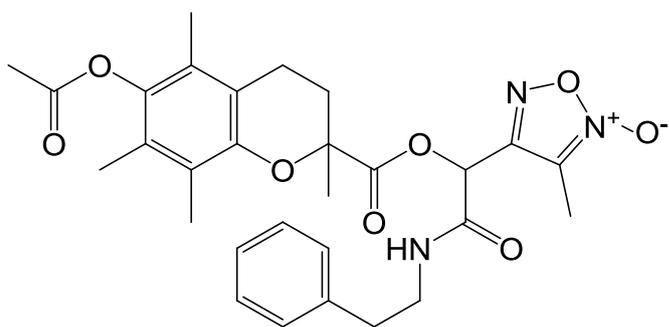
Procedimiento 1) A una suspensión de Trolox (0.150 g, 0.6 mmol) en 2 mL del disolvente elegido en agitación, se le agrega el aldehído derivado de furoxano (7) (0.077 g, 0.6 mmol) y luego el feniletisonitrilo (3) (0.079 g, 0.6 mmol). La reacción se agita por el tiempo indicado en la Tabla 1, a temperatura ambiente. Posteriormente la mezcla de reacción se diluye con solución saturada de NaHCO₃ (15.0 mL) y se extrae con CH₂Cl₂ (2 x 20 mL). La capa orgánica se lava con solución saturada de NaCl. Se seca sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra el agente desecante y evapora el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purifica por CC (SiO₂ flash, Hexanos: Acetato de etilo (7:3)) para dar una aceite amarillo (rendimientos en la Tabla 1).

Procedimiento 2) Se coloca en un tubo de vidrio apropiado Trolox (0.150 g, 0.6 mmol), 7 (0.077 g, 0.6 mmol) y feniletisonitrilo (3). Si fuera el caso se agrega 2 mL del disolvente elegido. Se lleva al horno microondas y es irradiado a 100 W por el tiempo indicado en la Tabla 1 a 60°C. Posteriormente la mezcla de reacción se diluye con solución saturada de NaHCO₃ (15.0 mL) y se extrae con CH₂Cl₂ (2 x 20 mL). La capa orgánica se lava con solución saturada de NaCl. Se seca sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra el agente desecante y evapora el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purifica por CC (SiO₂ flash, Hexanos: Acetato de etilo (7:3)) para dar una aceite amarillo (rendimientos en la Tabla 1).

¹H-NMR (CDCl₃): δ= 7.33 – 7.22 (m, 6H), 6.09 (s, 1H), 6.05 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 5.92 (s, 1H), 5.51 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 4.51 (s, 1H), 4.40 (s, 1H), 3.59 – 3.50 (m, 1H), 3.47 – 3.39 (m, 1H), 3.26 – 3.17 (m, 1H), 3.11 – 3.02 (m, 1H), 2.76 – 2.36 (m, 12H), 2.23 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.93 (s, 3H), 1.99 – 1.88 (m, 2H), 1.67 (s, 3H), 1.64 (s, 3H).

¹³C-NMR: δ= 172.35, 164.16, 153.47, 145.97, 145.45, 137.87, 128.70, 126.81, 122.50, 121.91, 119.43, 117.20, 112.16, 77.61, 66.75, 40.0, 35.41, 30.75, 25.36, 20.73, 12.47, 11.83, 11.42, 7.93.

MS(IE, 70eV): m/z(%)= 509 (M⁺, 100), 452 (35), 250 (19), 205 (73), 203 (93), 189 (20), 164 (25), 105 (25), 91 (18), 69 (25).



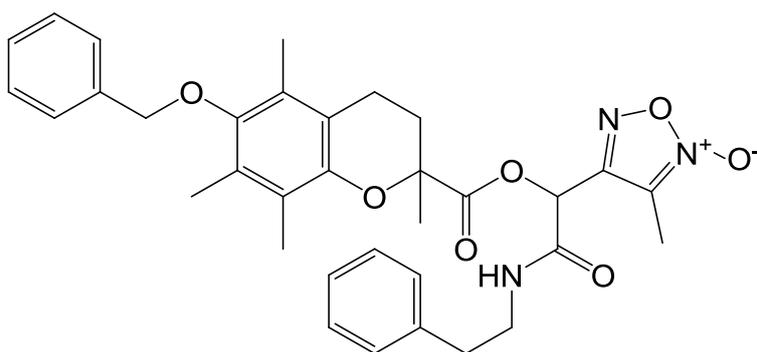
10

4-(1-(6-acetoxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carbonil)oxi)-2-oxo-2-(fenetilamino)etil)-3-metilfuroxano (10)

El compuesto **10** fue preparado mediante el procedimiento 1 que se describió para **8**, utilizando acetato de Trolox (**9**) (0.150 g, 0.51 mmol), **7** (0.060 g, 0.47 mmol) y feniletisonitrilo (**3**) (0.060 g, 0.47 mmol). El crudo obtenido se purifica por CC (SiO₂ flash, Hexanos: Acetato de etilo (7:3)) para dar una aceite amarillo (rendimientos en la Tabla 2).

¹H-NMR (CDCl₃): δ= 7.31 – 7.24 (m, 3H), 7.14 (d, J=7.04 Hz, 2H), 6.06 (s, 1H), 5.52 (sa, 1H), 3.25 (sa, 1H), 3.11 (sa, 1H), 2.70 – 2.51 (m, 5H), 2.37 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 2.09 (s, 6H), 2.00 (s, 3H), 1.97 – 1.94 (m, 1H), 1.67 (s, 3H).

MS(IE, 70eV): m/z(%)= 551 (M+, 12), 509 (100), 493 (15), 452 (21), 250 (14), 205 (37), 203 (53), 189 (11), 164 (14), 105 (18), 91 (14), 69 (13).



12

4-(1-(6-benciloxi)-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carbonil)oxi)-2-oxo-2-(fenetilamino)etil)-3-metilfuroxano (12)

El compuesto **12** fue preparado mediante el procedimiento 1 que se describió para **8**, utilizando Trolox bencilado (**11**) (0.150 g, 0.44 mmol), **7** (0.056 g, 0.44

mmol) y feniletisonotrilo (**3**) (0.058 g, 0.44 mmol). El crudo obtenido se purifica por CC (SiO₂ flash, Hexanos: Acetato de etilo (7:3)) para dar una aceite amarillo (rendimiento en la Tabla 3).

¹H-NMR (CDCl₃): δ= 7.53 – 7.50 (m, 4H), 7.47 – 7.37 (m, 6H), 7.30 – 7.23 (m, 3H), 7.21 – 7.14 (m, 7H), 6.12 (s, 1H), 6.03 (t, J= 6.0 Hz, 1H), 5.88 (s, 1H), 5.47 (t, J= 6.0 Hz, 1H), 4.75 (s, 2H), 4.72 (s, 1H), 4.71 (s, 1H), 3.55 – 3.38 (m, 2H), 3.25 – 3.16 (m, 1H), 3.11 – 3.03 (m, 1H), 2.77 – 2.71 (m, 3H), 2.64 – 2.48 (m, 6H), 2.42 – 2.36 (m, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.26 (s, 3H), 2.21 (s, 6H), 2.16 (s, 3H), 2.14 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.00 – 1.93 (m, 2H), 1.70 (s, 3H), 1.68 (s, 3H).

MS(IE, 70eV): m/z(%)= 599 (M⁺, 10), 509 (27), 508 (89), 250 (14), 249 (21), 231 (27), 205 (49), 203 (76), 189 (18), 175 (14), 120 (15), 105 (49), 104 (28), 91 (100), 79 (10), 69 (14), 65 (14).