

1
223



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"ESTUDIO SOBRE SINTESIS DE CUMARINAS Y
ALGUNOS DERIVADOS CUMARINICOS"



EXAMEN DE PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

Q U I M I C A

P R E S E N T A :

ALENKA ACEVEDO ACOSTA



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.,

1994



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado Asignado

Presidente: Dra. Elvira Santos Santos.

Vocal: Dra. Rocío Pozas Horcasitas.

Secretario: Q. Fernando León Cedeño.

1er. Suplente: M.C. José Gustavo Avila Zárraga.

2do. Suplente: M.C. Blas Flores Pérez.

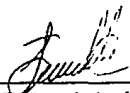
Sitio donde se desarrolló el tema:
Laboratorio 203, D.E.Pg., Facultad de Química.

Asesor del tema:



Dra. Elvira Santos Santos.

Supervisor Técnico:



Q. Fernando León Cedeño.

Sustentante:



Alenka Acevedo Acosta.

A mi Mía Brenda René Acosta Stevens, porque su ejemplo, me enseña cada día
a ser mejor.

A Chaly, porque su vida es un ejemplo de lucha por la superación.

A mis hermanos Fikos y Brenda, y a sus respectivas parejas en la vida.

A mis sobrinos Arturo y Alejandro.

A mi hija Drussila.

"Algún día, cuando hayamos dominado los vientos y las mareas y las olas y la gravedad, amarraremos en Dios las energías del amor: y luego, por segunda vez en la historia del mundo, los hombres habrán descubierto el fuego".

Pierre Teilhard de Chardin.

"Quiero la igualdad, la verdadera igualdad, la económica, firme base de la libertad. Que esto sea socialismo, que sea anarquismo, no importa la denominación".

Ricardo Flores Magón.
México, 1911.

Agradecimientos.

A Fernando León Cedeño por la ayuda para la realización de esta tesis y sus consejos en mi formación profesional.

A la Dra. Elvira por proporcionarme la oportunidad de realizar esta tesis.

A Marisela Gutiérrez Franco y Graciela Chávez por la elaboración de los espectros de I.R.

Patricia Elizalde Galván, por las determinaciones de HPLC.

Alejandrina Acosta Huerta, Rubén Gaviño y Héctor Ríos por la elaboración de los espectros de R.M.N. ¹H.

Esta tesis se realizó gracias al apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

Proyecto 212220-5-2115-M9303.

CONTENIDO.

	Página
Introducción	1
Objetivos	10
Antecedentes	11
Resultados y discusión	17
Parte experimental	48
Conclusiones	58
Bibliografía	62
Espectroscopía	64

INTRODUCCION

Crecimiento celular en tumores¹.

En ciertas condiciones, una célula que se encuentra estática (esto es que no crece ni se divide) en un momento determinado puede presentar crecimiento y división activos, sin control, formando un tumor o crecimiento canceroso. El cáncer es el resultado de la proliferación sin control de células no diferenciadas de un tejido, llevándose a cabo el crecimiento en forma exponencial. El cáncer puede estar localizado en una cierta zona o formar *metástasis*, esto es, que se extiende a todo el organismo por medio de las corrientes linfáticas y sanguínea. Estas células no diferenciadas crecen y alteran la organización de los tejidos en donde se localizan.

Inmuno-activación².

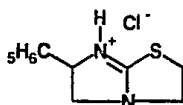
La demostración de que muchas enfermedades, más que ser una inmunodeficiencia primaria, están asociadas con inmunodeficiencia celular, han dado origen a una expansión en la investigación de agentes biológicos y drogas con un posible uso en el tratamiento de las enfermedades humanas. Las drogas inmunoestimulantes tienen un potencial uso como auxiliar de las vacunas en pacientes con deficiencias secundarias, incluyendo infecciones inmunodeficientes por virus, cáncer y autoinmunidad. Los agentes inmunoactivantes pueden dividirse en dos grandes grupos:

- Los agentes modificadores del huésped.
- Los agentes anticancerígenos que actúan directamente.

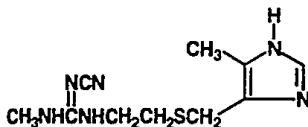
La paradoja del uso de ambos, inmunosupresores e inmunoestimulantes para la autoinmunidad, se explica por el concepto de que la presencia de las enfermedades, se debe a una irregularidad en el sistema inmunológico. El uso de cualquiera de los dos, supresión o activación del sistema inmune o ambos, pueden dar lugar a una mejoría clínica.

Existen muchas razones para el uso de inmunoestimulantes en pacientes con cáncer. Agentes como el interferón, tienen una acción directa antitumoral. Una terapia antisupresora con cimetidina o con indometacina para bloquear supresores en la formación de macrófagos, ha sido altamente efectiva en animales.

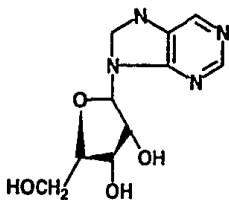
Algunos agentes biológicos son los interferones (alfa, beta o gamma), citocinas, hormonas del timo, extractos de leucocitos, productos bacteriales, productos de hongos. Del lado de los agentes químicos, se encuentran los clorohidratos de levamisol, Isoprinosinol, cimetidina.



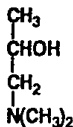
Levamisol



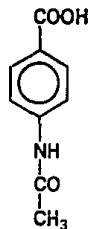
Cimetidina



• 3



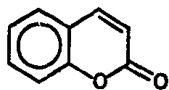
• 3



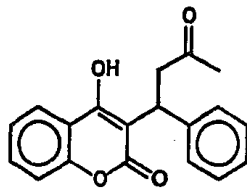
Isoprinosinol (complejo)

Esquema 1.

Se ha observado que la cumarina y sus derivados como la warfarina, son compuestos que retardan la evolución de algunos tipos de neoplasias malignas, y alargan el tiempo de sobrevivencia de los pacientes al doble:^{3,4}



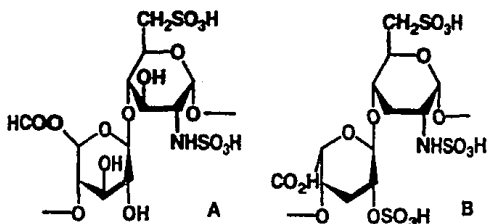
Cumarina



Warfarina

Esquema 2.

Se ha establecido que las drogas anticoagulantes tienen una acción antimetastásica en algunos modelos experimentales de tumores. Hilgard y Thorne, demostraron que se obtiene una reducción significativa en el número de tumores secundarios en animales². Esta evidencia se deriva de experimentos en los que se inyectaron células cancerosas, con el subsecuente monitoreo de los tumores depositados en pulmón. En la tabla I se muestran los avances en este campo, por orden cronológico, en los que se observa que únicamente la cumarina y sus derivados producen una reducción en la metástasis de una manera consistente. Los otros anticoagulantes dan resultados variables⁵:

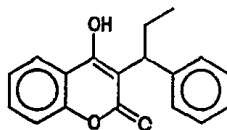


Heparina

Polímero constituido por los disacáridos A y B

Esquema 3.

Estudios sobre tumores inducidos, utilizando el fenprocumón (un derivado cumarínico), demostraron que aparentemente, este compuesto es capaz de reducir el número de colonias de células cancerosas, no sólo en animales con baja capacidad coagulante sino que también en aquellos en los que se observa una capacidad normal de conglomeración después de la administración de vitamina K⁶.



fenprocumón

Esquema 4.

Tabla 1.

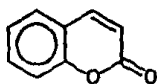
Autor	Tumor	Animal	Droga	Efecto
Wood (1956)	Carcinoma 150	Ratón	Heparina	Baja metástasis y tumor
Lacour (1957)	Epitelioma T8	Rata	Cumarina	Baja metástasis en nodo linfático
Retik(1962)	Sarcoma DBA 49	Ratón	Heparina	Elevación metástasis, no efecto en tumor
Hagmar (1969)	Rabdomio-sarcoma	Ratón	Heparina	Aumento metástasis
Hagmar (1969)	Rabdomio-sarcoma	Ratón	Cumarina	Baja metástasis
Szacki (1973)	Sarcoma Yoshida	Rata	Cumarina	Baja metástasis, sobrevida
Hilgard (1977)	Pulmón de Lewis	Ratón	Ancrod (enzima)	Ningún efecto en la metástasis
Kodama (1978)	Carcinoma V2	Conejo	Uroquinasa (enzima)	Ningún efecto en la metástasis
Donati (1979)	Pulmón de Lewis	Ratón	Batroxobina (enzima)	Aumento metástasis o no hay efecto.

Este efecto no se observa con otros anticoagulantes como la heparina. Se ha observado que los compuestos cumarínicos estimulan la actividad fagocitaria^{7,8}. Al administrar sustancias que inhiben selectivamente la actividad fagocitaria, se inhibe el efecto antimetastásico de la cumarina. Esto nos indica, que la actividad biológica de los compuestos cumarínicos depende de su efecto activador de macrófagos y no de su actividad como anticoagulante.

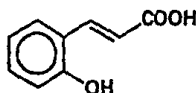
La cumarina, compuesto con baja actividad anticoagulante, se ha utilizado sola o en combinación con otros fármacos en el tratamiento de melanomas y carcinomas renales metastásicos en humanos,^{3,9} en los cuales se ha producido una disminución en la tasa de recurrencia durante la terapia así como la estabilización de la enfermedad después del tratamiento.

En resumen, se ha demostrado que varias cumarinas tienen un efecto retardante en la evolución de neoplasias malignas en humanos.

Mead, Smith y Williams¹⁰, estudiaron el metabolismo de la cumarina y del ácido o-cumarínico:



cumarina



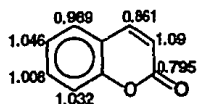
ácido o-cumarínico

Esquema 5.

Estos autores proporcionaron a los conejos directamente en su dieta la cumarina, se colectaron la orina y los desechos fecales. Las muestras biológicas se trataron y se detectó la presencia del núcleo cumarínico cualitativamente por su absorción en U.V.

La identificación de las cumarinas hidroxiladas se realizó por medio de una cromatografía en papel. Así se detectaron la 3-, 7- y trazas de la 8-

hidroxicumarina. Los mismos autores explicaron que estas posiciones son hidroxiladas directamente *in vivo* partiendo de la cumarina suministrada. Esto también se observa en ratas y en el puerco de Guinea. Además en estos dos últimos animales también se observaron trazas de 5-hidroxicumarina. El hecho de que no se presenta la hidroxilación directa en las posiciones 4 y 6. puede proporcionar una evidencia de que el ácido o-cumarínico no sufre una fusión de anillo, ya que la 4-hidroxicumarina es un metabolito de este ácido. Para explicar la falta de reactividad en la posición 4, se basan en la explicación dada por Isaac¹⁷ (1955) en la que se estudia la densidad de carga en las posiciones de la cumarina:

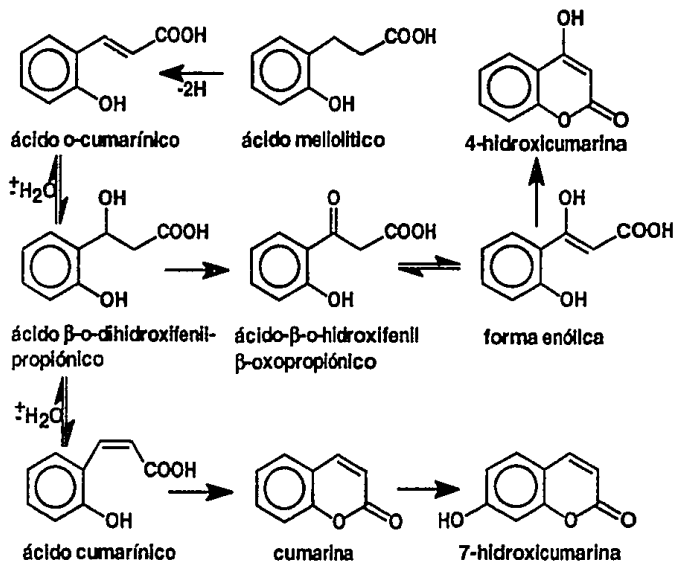


Esquema 6.

Como se puede observar los centros nucleofílicos se encuentran en las posiciones 1, 3, 6, 7 y 8 (mayor densidad de carga). Por otro lado, los centros electrofílicos son 2, 4 y 5. Como consecuencia de esto, la sustitución electrofílica sobre la cumarina se lleva a cabo preferentemente en las posiciones 3, 6 y 8, mientras que la sustitución nucleofílica se vé facilitada en la posición 4, lo que hace que *in vivo*, no se hidroxile la posición 4 (por ser un centro electrofílico).

Los mismos autores comentan que es posible que los precursores de las hidroxicumarinas *in vivo*, puedan ser 1,2-dihidro-1,2-dioles. Para esto se propone que los 3,4-, 5,6-, 6,7- y 7,8-dihidro-dioles, por una deshidratación darían preferentemente la 3-, 6-, u 8-hidroxicumarina, con pequeñas cantidades de 5- y 7-hidroxicumarina, pero prácticamente no se tendría 4-hidroxicumarina.

También proponen una posible explicación del metabolismo del ácido o-cumarínico y su conversión a los derivados hidroxilados en las posiciones 4 y 7, el cuál involucra una isomerización trans-cis y una ciclización *in vivo*. Esta se basa en el conocimiento de que el ácido o-cumarínico sigue el proceso normal de β -oxidación (el cuál no se oxida hasta el ácido salicílico) y muchos de estos intermediarios de la β -oxidación ciclizan de acuerdo a lo mostrado en el esquema no. 7.



Esquema 7.

La cumarina se biotransforma en roedores y humanos¹² en compuestos hidroxilados en las posiciones 3, 4, 5, 6, 7 y 8. De acuerdo a estos datos es que

es posible que alguna de estas cumarinas hidroxiladas, tenga una actividad inmuno-estimulante y antineoplásica mayor que la cumarina misma¹³.

En base a todo esto, se creó un proyecto multidisciplinario entre la Facultad de Medicina (Departamento de Farmacología), la Facultad de Química (Departamento de Química Orgánica) y el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez (Departamento de Biología Celular), cuyo fin tiene sintetizar este tipo de metabolitos cumarínicos y probar su actividad biológica como posibles fármacos con actividad inmuno-estimulante y antineoplásica.

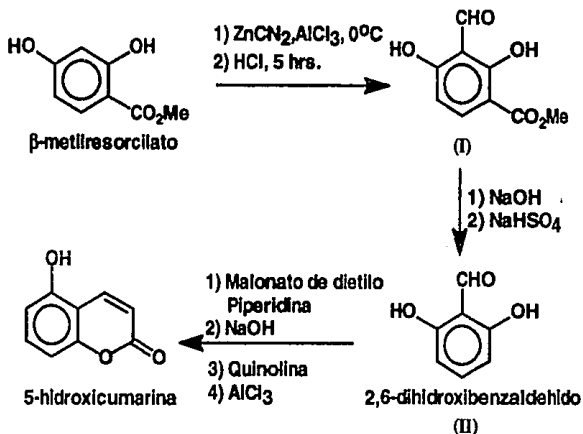
OBJETIVOS

- Sintetizar la 5-hidroxicumarina.
- Sintetizar la 7-hidroxicumarina por un método alterno al reportado en la literatura.
- Sintetizar el derivado metoxilado y acetoxilado de la 7-hidroxicumarina.
- Sintetizar la 8-hidroxicumarina mediante un método no reportado en la literatura.
- Sintetizar el derivado metoxilado y acetoxilado de la 8-hidroxicumarina.
- Probar la actividad antimetastásica de estos derivados de la cumarina.

ANTECEDENTES

Síntesis de la 5-hidroxicumarina.

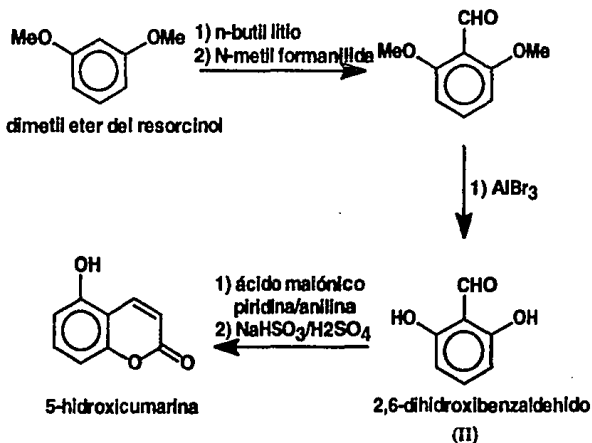
La primera síntesis reportada de la 5-hidroxicumarina fué por R.C. Shah y M.C. Laiwalla¹⁴. Esta síntesis utiliza como materia prima el β -resorcilato de metilo, el cual a través de una reacción de Formilación de Gattermann, dá lugar a un aldehído éster (I); a través de la descarboxilación del compuesto (I), previa hidrólisis básica, se obtiene el 2,6-dihidroxibenzaldehído (II). Este se somete a una reacción de condensación tipo Knoevenagel¹⁵ (en presencia de piperidina), con malonato de dietilo, obteniéndose el éster 3-carboxietil-5-hidroxicumarina, que después de una hidrólisis básica y posterior descarboxilación, da lugar finalmente a la 5-hidroxicumarina. La secuencia sintética se muestra en el esquema no. 8.



Esquema 8.

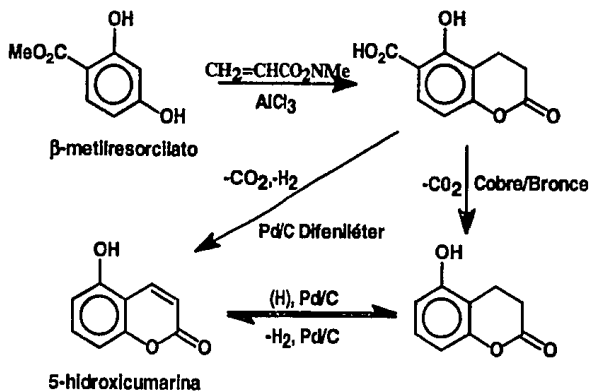
La segunda secuencia sintética reportada para obtención de la 5-hidroxicumarina, es de R. Adams y T.E. Bockstahler¹⁶, los cuales parten del

dimetil éter del resorcínol, el cuál a través de una formilación directa, da lugar al 2,6-dihidroxibenzaldehído (II). El compuesto (II) es condensado con ácido malónico, dando el ácido 3-carboxi-5-hidroxicumarínico, el cuál se somete a una descarboxilación con bisulfito acuoso, seguido de un tratamiento con ácido sulfúrico concentrado, para dar finalmente la 5-hidroxicumarina, según el esquema no. 9.



Esquema 9.

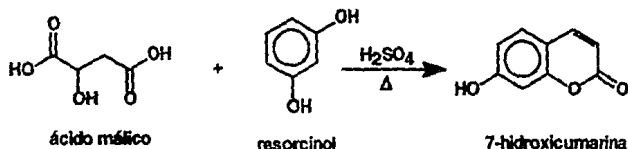
Finalmente, la más reciente publicación sobre la síntesis de la 5-hidroxicumarina, fue la hecha por A.K. Das Gupta y R.M. Chatterje¹⁷, la cual parte del β -resorcilato de metilo, que se condensa con acrilato de metilo en presencia de cloruro de aluminio a altas temperaturas. La deshidrogenación de la 5-hidroxi-3,4-dihidroxicumarina resultante, dá lugar a la 5-hidroxicumarina, según el esquema 10.



Esquema 10.

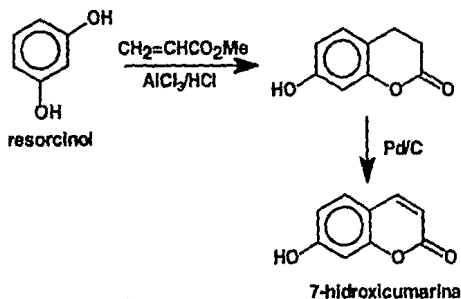
Síntesis de la 7-hidroxicumarina.

La síntesis más versátil para obtener este compuesto, es la que se basa en la reacción de Pechmann¹⁸, la cual parte de resorcinol y ácido málico, según secuencia sintética mostrada en el esquema 11.



Esquema 11.

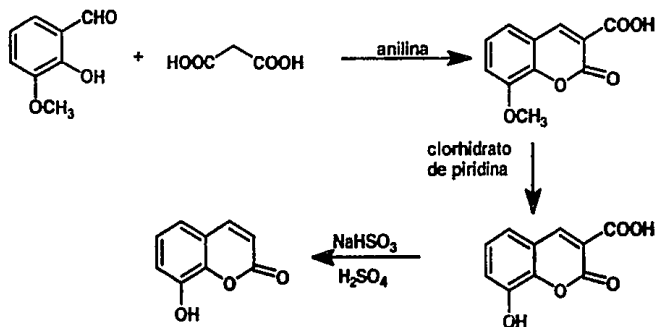
Otro método de síntesis de la 7-hidroxicumarina, está reportado por Das Gupta,¹⁷ en la cual se hace condensar resorcinol y acrilato de metilo en presencia de cloruro de aluminio anhidro, y de cloruro de hidrógeno seco, a 150-160°C para dar la 7-hidroxi-3,4-dihidroxicumarina. La deshidrogenación de este último compuesto, permite obtener finalmente la 7-hidroxicumarina (esquema 12).



Esquema 12.

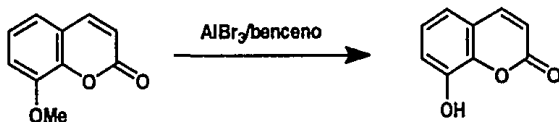
Síntesis de la 8-hidroxicumarina.

El primer reporte sobre la síntesis de la 8-hidroxicumarina es de Cingolani¹⁹, el cuál utiliza como materia prima la orto-vainillina que se condensa con un ácido o un éster con un grupo metilénico activo formando la 8-metoxicumarina sustituida en la posición 3, de acuerdo al esquema 13.



Esquema 13.

Otro método reportado para la síntesis de 8-hidroxicumarina es el de Böhme²⁰, el cuál hace la misma condensación de orto-vainillina, hasta llegar a la obtención de la 8-metoxicumarina, la cual se demetila en presencia de tribromuro de aluminio en benceno seco, según el esquema 14.



Esquema 14.

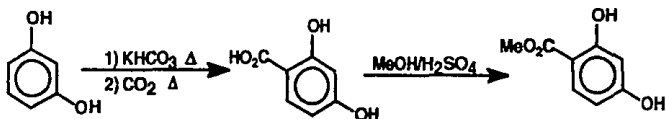
Otro método para llevar a cabo la obtención de la 8-hidroxicumarina, es de Sadavongvivad y Supavilai²¹, en el cual se obtiene a partir de la *alyxia lucida* mediante extracciones con cloroformo.

RESULTADOS Y DISCUSION

Síntesis de la 5-hidroxicumarina.

Inicialmente, se procedió a realizar la síntesis de la 5-hidroxicumarina, uno de los objetivos de la presente tesis, mediante la técnica reportada por A.R. Das Gupta y R. M. Chatterje¹⁷ debido a que las materias primas utilizadas para dicha síntesis están disponibles en el laboratorio.

Se necesitaba para este fin el β -resorcilato de metilo, el cuál se procedió a sintetizar a partir del resorcinol, mediante la secuencia mostrada en el esquema 15.



Esquema 15.

Primero se sometió el resorcinol a una reacción de Kolbe-Schmidt²² a través de la cual se obtuvo el ácido β -resorcílico con un rendimiento 60-75%. El producto es un sólido blanco cuyo punto de fusión es 217-219°C, que corresponde al reportado²³. El producto se caracterizó por espectroscopía.

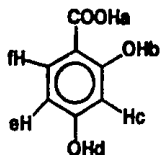
I.R. (espectro 1)

3400 cm^{-1} corresponde al OH fenólico

$2500\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ bandas pequeñas características del CH del ácido

1650 cm^{-1} corresponde al carbonilo del ácido

R.M.N. ^1H . (espectro 2).



6.2 ppm (Hc, He, y Hf); 7.6 ppm (Hb y Hd) desaparecen con agua deuterada; 8.5 ppm (Ha) desaparece con agua deuterada.

Para evaluar la influencia del catión en la reacción, se intentó hacer la reacción de Kolbe-Schmidt con bicarbonato de sodio en vez de utilizar la sal de potasio. Se procedió a repetir la reacción bajo las mismas condiciones, obteniéndose, para sorpresa nuestra, una serie de productos sólidos, ninguno de los cuales correspondía al obtenido de la reacción con bicarbonato de potasio. Suponemos que esto se debe, en gran medida a la diferencia de solubilidades entre la sal de potasio y de sodio. A mayor tamaño de catión, la esfera de solvatación es mayor. Al estar mejor solvatado el K^+ es posible que el anión bicarbonato esté más libre y participe de una forma más eficaz en la reacción de carbonatación del resorcinol.

La obtención del β -resorcilato de metilo se realizó utilizando benceno como disolvente, metanol como reactivo y ácido p-toluensulfónico como catalizador. Se utilizó una trampa de "Dean Stark", con el fin de eliminar el agua necesaria para completar la reacción. Se destiló el exceso de benceno y se aisló el producto por extracción con cloroformo. En estas condiciones, no se observó que ocurriera la reacción, por lo que se decidió cambiar las condiciones de reacción, utilizando directamente el metanol como disolvente y reactivo a la vez, y como catalizador unas gotas de ácido sulfúrico concentrado (esterificación de

Fisher). Finalmente el cambio de condiciones de reacción dió resultado y se obtuvo un sólido blanco con punto de fusión de 117-119°C, el cual corresponde a lo reportado.²³ Los rendimientos fueron de 50-60%. El producto también se caracterizó por espectroscopía.

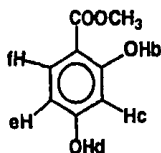
I.R. (espectro 3).

3600 cm^{-1} corresponde al OH fenólico

1650 cm^{-1} corresponde al carbonilo metálico

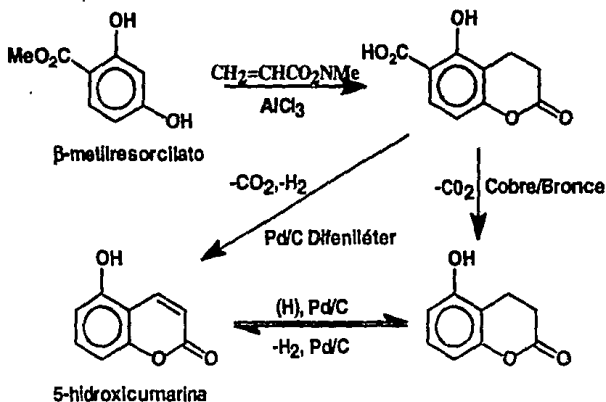
1150 cm^{-1} corresponde al éster metílico

R.M.N. ^1H . (espectro 4).



2 ppm (Hb, s) desaparece con agua deuterada; 3.88 ppm (CH_3 , s); 6.4 ppm (Hc, He, Hd, t) uno desaparece con agua deuterada 7.8 ppm (Hf, s) acoplamiento orto-para.

Una vez que se obtuvo el β -resorcilato de metilo, se procedió a la obtención de la 5-hidroxycumarina por el método antes mencionado¹⁷ (esquema 16).



Esquema 16.

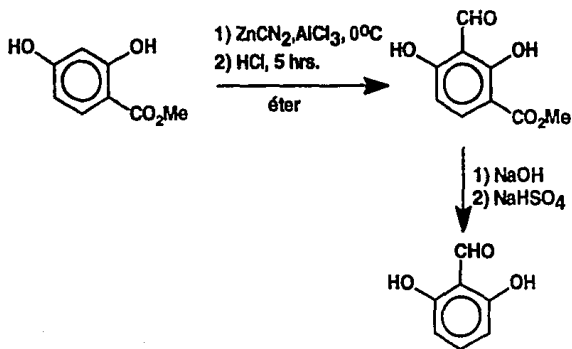
Como la reacción se debía llevar a cabo en un medio totalmente anhidro, se tomaron toda clase de precauciones: primeramente el acrilato (que en nuestro caso fué de etilo), se destilaba momentos antes de realizar la reacción. El cloruro de aluminio se sublimaba un día antes y se guardaba en el desecador. Finalmente, el éter se usó recién secado a reflujo con sodio metálico y utilizando como indicador de humedad la benzofenona. El material de vidrio se hallaba previamente flameado y guardado en la estufa por más de 12 hrs.

Se realizó la reacción en varias ocasiones, variando desde la temperatura de adición de los reactivos, hasta la forma de calentamiento de la reacción según la técnica descrita^{17b}. En todos los casos, se obtuvo un producto sólido, el cuál se intentó purificar por cromatografía en columna, lo que no se logró completamente ya que al hacer una cromatografía en capa fina (CCF), comparativa con la materia prima, se veía con gran sorpresa que era el resorcinol. Por otro lado, se obtenía una pasta semisólida, que parecía una

resina. Lo que concluimos fue, que en el seno de la reacción, al calentar a temperaturas bastante altas (150-160°C), después tratar con ácido y en seguida con base y volver a calentar^{17b}, lo que suponemos sucedía era que el β-resorcilato de metilo, se descarboxilaba, dando finalmente el resorcinol y que el producto pastoso semisólido, pudiera corresponder al acrilato de etilo, que en el seno de la reacción se llega a polimerizar.

Después de repetir varias veces esta reacción con resultados infructuosos, se decidió cambiar el método de obtención de la 5-hidroxycumarina. Se pensó en una reacción tipo Knoevenagel¹⁵, la cuál necesita como materia prima el 2,6-dihidroxibenzaldehido.

Según la referencia ya antes mencionada¹⁴, éste se obtiene a partir del β-resorcilato de metilo, el cual se somete posteriormente a una formilación en las condiciones de Gatterman, se hidroliza el éster y se descarboxila, para tener finalmente, el 2,6-dihidroxibenzaldehido (esquema 17).



Esquema 17.

En primer lugar se sintetizó el $ZnCN_2$, el cuál es un sólido blanco, totalmente insoluble en agua. Se obtiene mediante la siguiente reacción química²⁴.

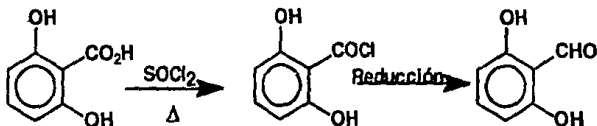


Como la materia prima es soluble en agua, se mezclan cantidades equimoleculares y se agita constantemente hasta la precipitación del cianuro de zinc.

La reacción de formilación se llevó a cabo en un medio totalmente anhidro, se purificó cloruro de aluminio anhidro (sublimación). El cianuro de cinc se dejó secar en una estufa. Todo el material de vidrio se flameó previamente y se guardó en la estufa, y bajo una agitación vigorosa se llevó a cabo la reacción entre el β -resorciolato de metilo y el cianuro de zinc. Posteriormente se adicionó HCl. Se obtuvo un sólido, el cuál se aisló por filtración, pero en una cantidad muy baja (miligramos).

Esta reacción se repitió varias veces, obteniéndose rendimientos muy bajos, por lo que se decidió tratar de llevar a cabo otra síntesis diferente del 2,6-dihidroxibenzaldehído.

El ácido 2,6-dihidroxibenzoico es un reactivo comercial, a partir del cual por medio de una reducción, se podría obtener el 2,6-dihidroxibenzaldehído a través de la secuencia mostrada en el esquema 18²⁵.



Esquema 18.

La reacción del ácido 2,6-dihidroxibenzoico con cloruro de tionilo para obtener el cloruro del ácido, se llevó a cabo fácilmente. El producto crudo, es un sólido naranja, el cuál se trató de purificar a través de una recristalización, lo cual no fué posible. Esto nos obligó a someter el producto crudo directamente a la reacción de reducción. Con el fin de comprobar que sí había ocurrido la reacción se le determinó al ácido puro su espectro de I.R., el cuál se comparó con el que se obtuvo del producto aislado, lo cuál corroboró la formación del cloruro de ácido.

I.R.

Ácido 2,6-dihidroxibenzoico: (espectro 5).

3412 cm^{-1} hidroxilo fenólico.

3048 cm^{-1} hidroxilo del ácido.

1672 cm^{-1} carbonilo del ácido.

Cloruro del ácido: (espectro 6).

3468 cm^{-1} hidroxilo fenólico.

1692 cm^{-1} carbonilo del cloruro del ácido.

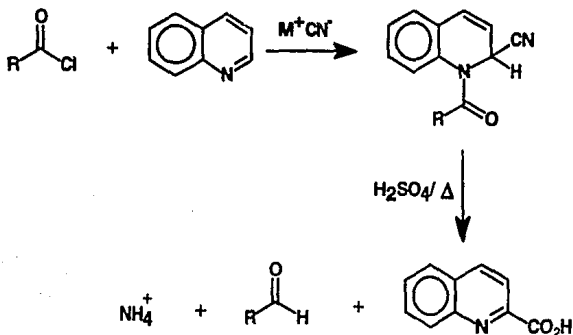
-Obtención del 2,6-dihidroxibenzaldehído.

Inicialmente se pensó hacer la reducción utilizando metanol como disolvente y NaBH_4 como agente reductor. La reducción se realizó de esta forma y se siguió el curso de la reacción por medio de cromatografía de capa fina, utilizando 2,4-dinitrofenilhidrazina como revelador. Se observó que sí había reacción, pero desafortunadamente los rendimientos fueron muy bajos

Existe descrito un método²⁶, en el cuál se realiza la reducción de cloruros de ácido a aldehídos con NaBH_4 en presencia de piridina, con D.M.F. y T.H.F. anhidro, con un tiempo de reacción de 60 segundos. La reacción se llevó a cabo bajo estas condiciones, y se realizó una cromatografía en capa fina, utilizando el

revelador ya mencionado, observándose con sorpresa, que si bien había una reacción, el producto de la misma no correspondía al aldehído que nosotros queríamos obtener, ya que no revelaba la mancha característica de un grupo carbonilo (reveló con I_2).

Ante estos resultados, se buscó otro tipo de obtención de aldehídos a partir de cloruros de ácido, y se encontró otro método reportado por A. Schwartz²⁷, en el cual se forma un compuesto tipo Reissert, utilizando quinolina y cianuro de sodio. Una vez que se forma el compuesto de Reissert con el cloruro del ácido, se hidroliza, obteniéndose el ácido 2-Quinolincarboxílico y el aldehído correspondiente (esquema 19).



Esquema 19.

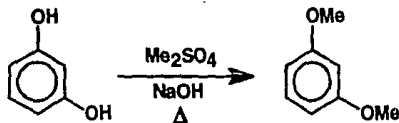
Para esto se coloca en un matraz la quinolina y el cianuro disuelto en la mínima cantidad de agua. Se agita la mezcla vigorosamente, y poco a poco se vá adicionando el cloruro de ácido en un disolvente que puede ser diclorometano (u otro en el cual sea soluble el cloruro del ácido). Se agita vigorosamente durante 2hr, se extrae la fase orgánica, se evapora el exceso de

disolvente para obtener un producto sólido. Este sólido, se hidroliza con ácido sulfúrico al 30%, con calentamiento, después se extrae con dicloroetano o cloroformo y después de evaporar el exceso de disolvente, se obtiene el aldehído deseado.

Se llevó a cabo esta técnica en repetidas ocasiones, obteniéndose al final, entre 20-30 miligramos de producto. Al realizar una cromatografía en placa fina, con revelador de 2,4-dinitrofenilhidrazina, se veía claramente la mancha correspondiente a la presencia del grupo carbonilo. Desgraciadamente, los rendimientos de esta reacción eran también muy bajos.

Los tres métodos diferentes de obtención del aldehído, a partir del cloruro de ácido, dieron rendimientos demasiado bajos, lo cuál se lo atribuimos a que al estar los dos grupos hidroxilo en posiciones 2 y 6 al cloruro del ácido, presenta un severo impedimento estérico, lo que no permite que se realice la reducción, o bien ésta no se lleva a cabo ya que el ataque del hidruro, o bien la formación del compuesto tipo Reissert no es del todo factible (debido a un alto impedimento estérico), lo que implica que estas reacciones se efectúen con rendimientos muy bajos.

Finalmente, se decidió sintetizar el 2,6-dihidroxibenzaldehído a través una formulación del dimetiléter del resorcinol metalado en la posición 2¹⁶. Para esto, se sintetizó el dimetiléter del resorcinol (esquema 20).



Esquema 20.

Se colocó el resorcinol, en un matraz al cual se le adaptó un agitador mecánico, se agregó el hidróxido de potasio, se enfrió el matraz en hielo. Se agitó vigorosamente y se le adicionó gota a gota el sulfato de dimetilo. Al término de la adición, se colocó un refrigerante en posición de reflujo y se calentó la mezcla durante 2 hrs. La reacción se siguió por cromatografía en capa fina. Se observaron 2 manchas, una más intensa que la otra (producto monometilado), ya que además presenta mayor polaridad. Se volvió a adicionar un equivalente más de base y el correspondiente de sulfato de dimetilo, se calentó la reacción a reflujo durante 2 horas más. El producto se aisló por extracción con cloroformo, se evaporó el exceso de disolvente y el residuo se purificó por cromatografía en columna (rendimiento 75%). Al producto puro se le determinó la estructura mediante I.R. y R.M.N. ^1H . Los resultados espectroscópicos son:

I.R. (espectro 7).

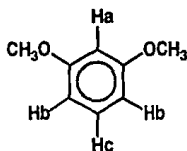
3000 cm^{-1} señal aromático.

2950 cm^{-1} éter $\text{O}-\text{CH}_3$ aromático.

1600 cm^{-1} señal aromático.

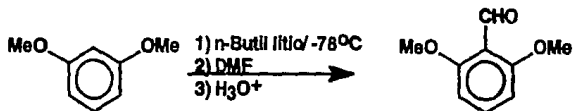
1460 cm^{-1} éter metílico aromático.

R.M.N. ^1H (espectro 8).



3.55 ppm (OCH_3 , s); 6.3 ppm (Ha, acoplamiento meta-para); 6.34 ppm (Hb, acoplamiento orto-meta-para); 7.08 ppm (Hc, acoplamiento orto-para).

Una vez que se obtuvo el dimetil éter del resorcinol, se procedió a realizar la formulación del mismo, de acuerdo al esquema 21.



Esquema 21.

Se llevó a cabo la reacción a una temperatura de -78°C , se colocaron 3 g. de dimetil éter del resorcinol, se le agregaron 10 ml de THF anhidro y después se le adicionaron 6ml de n-butil litio, y se dejó que se equilibre la formación del anión durante 1-1.5 hr. Después de este tiempo, se agregaron 6 ml de DMF poco a poco.

Se dejó la reacción a una temperatura de -78°C durante otras 4 hr. y se monitoreó el avance de la reacción por cromatografía en capa fina. Al término de este tiempo, no se observó cambio alguno. En seguida se dejó que la reacción subiera a temperatura ambiente y se siguió monitoreando. Se dejó agitando durante toda la noche. No hubo cambio alguno.

En base a estos resultados se decidió calentar ligeramente a reflujo, la mezcla de reacción. El tiempo de calentamiento fue de aproximadamente 8 horas, finalmente se apreció un cambio en la reacción. Se purificó el producto por cromatografía en columna. Se caracterizó por espectroscopía.

I.R. (espectro 9).

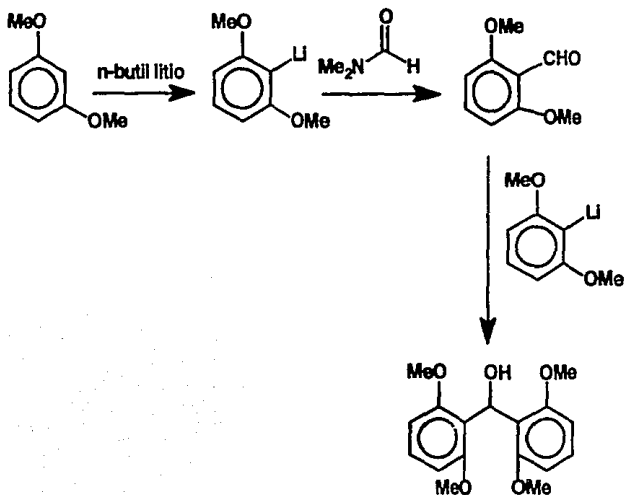
3362 cm^{-1} banda que corresponde a la presencia de un grupo hidroxilo.

$<3000 \text{ cm}^{-1}$ bandas que corresponden a c-c insaturado.

2856 cm^{-1} banda que corresponde al O-CH_3 aromático (1460, 1340 cm^{-1}

- 1) 1250 cm^{-1} banda característica del grupo O-Me aromático.

De acuerdo con estos resultados, podemos concluir que al calentar a ebullición durante un tiempo prolongado, ocurrió la adición del anión sobre el carbonilo del aldehído de acuerdo al esquema 22.



Esquema 22.

Para comprobar la estructura de este producto, se debería tener un espectro de resonancia magnética nuclear de protón, pero desafortunadamente el compuesto se obtuvo en pequeña cantidad (miligramos).

La reacción se volvió a repetir con ausencia de calentamiento, para evitar la formación del alcohol. Sin embargo, sin el calentamiento, no se observó cambio alguno.

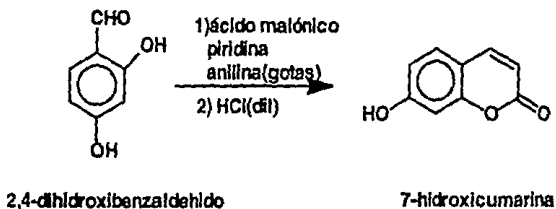
Ante los resultados obtenidos, pensamos que esta reacción se podría llevar a cabo utilizando como agente formilante la N-metilformamida, en lugar de la N,N-dimetilformamida, para disminuir el problema del impedimento estérico en esta reacción, desafortunadamente este compuesto no está disponible por el momento en el laboratorio, por lo que queda pendiente para un estudio próximo.

Como no se pudo obtener el 2,6-dihidroxibenzaldehído, no fué posible obtener la 5-hidroxicumarina.

Síntesis de la 7-hidroxicumarina y sus derivados.

La obtención de la 7-hidroxicumarina se llevó a cabo a través de la reacción de condensación de Knoevenagel,¹⁵ la cuál no se encontró descrita en la literatura.

La secuencia sintética de la condensación de Knoevenagel¹⁵, para la obtención de la 7-hidroxicumarina utiliza como materias primas el 2,4-dihidroxibenzaldehído y el ácido malónico (esquema 23).



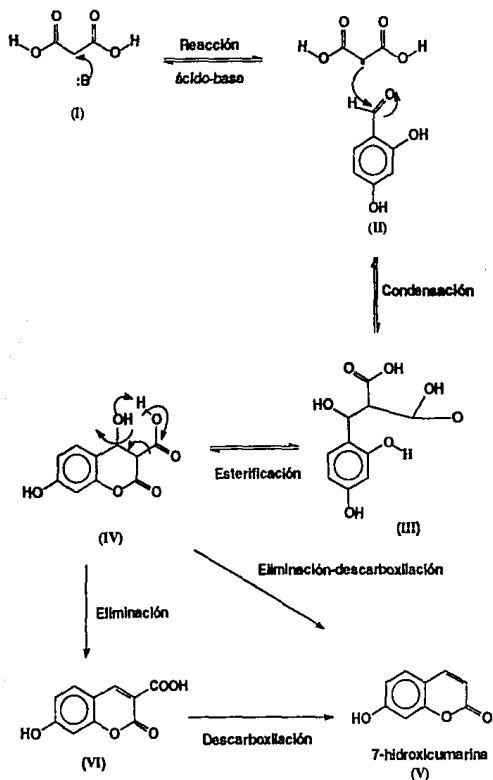
Esquema 23.

Se estudió esta reacción para obtener la 7-hidroxicumarina, estableciendo como variable el tiempo de reacción. Con un tiempo de calentamiento de 2 hrs, se obtuvo una mezcla compleja de productos. Al analizar el producto por cromatografía de gases, se observó que sí se había formado la 7-hidroxicumarina, pero al mismo tiempo, aparecían dos compuestos diferentes. Al tratar de purificar la mezcla de reacción por cromatografía en columna, no se pudo obtener el producto puro.

Si los 2 compuestos eran intermediarios de la reacción, se pensó que la descarboxilación del intermediario no se llevó a cabo de una forma total, o bien que la temperatura de la reacción para la obtención del producto final no fuera lo suficientemente alta para propiciar la descarboxilación.

De cualquier forma, la diferencia de R_f de las manchas era tan pequeña, que en una columna de cromatografía, no se pudo llevar a cabo la separación.

El esquema siguiente, muestra el mecanismo de reacción para la formación de la 7-hidroxicumarina.



Esquema 24.

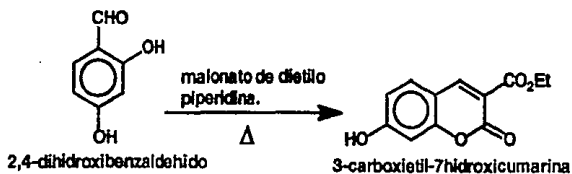
Se puede ver que el primer paso de la reacción es promovida por la presencia de una base, que en nuestro caso corresponde a la piridina (pK_b 8.81) la cuál abstrae un protón ácido en posición α a ambos grupos carboxilo, como se muestra en el esquema anterior (I). El segundo paso corresponde a la condensación del anión (I) con el carbonilo del 2,4-dihidroxibenzaldehído (II).

En el siguiente paso (III), se puede apreciar que ocurre la pérdida de una molécula de agua, con el cierre del anillo para formar el intermediario (IV), el cuál en las condiciones de reacción, puede sufrir una descarboxilación y la pérdida de otra molécula de agua, para producir la 7-hidroxicumarina.

Otra posibilidad que se puede dar, es que ocurra en primer lugar la eliminación de agua, de tal manera que se forme el ácido 7-hidroxi-3-cumarincarboxílico (VI), y que posteriormente se descarboxile este ácido para dar la 7-hidroxicumarina.

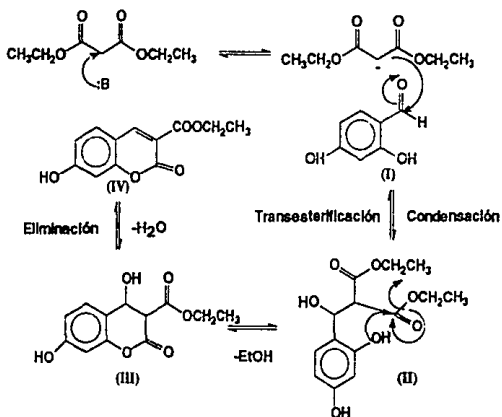
Suponemos que la presencia de las dos manchas que no se pueden identificar en la cromatografía de gases, se pueden deber a los intermediarios (III), (IV) o (VI), los cuales se forman en el caso del primero debido a que no esté dando la reacción de ciclización; en el caso del intermediario (IV), a que no ocurra la reacción de descarboxilación; y en el caso del intermediario (VI) a que tampoco se lleve a cabo la reacción de descarboxilación.

Al ver esto, decidimos cambiar el método de obtención de la 7-hidroxicumarina, vía la condensación de Knoevenagel¹⁵, utilizando en vez del ácido malónico, el malonato de dietilo que teniendo mejor grupo saliente (etanol), hiciera más fácil el cierre del anillo de una forma espontánea (reacción de transesterificación), aún cuando después se tuviera que saponificar el éster y posteriormente descarboxilar el producto obtenido. El esquema sintético sería el que se muestra en el esquema 25.

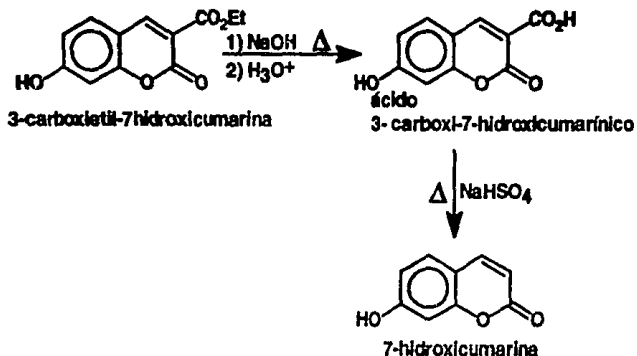


Esquema 25.

En este caso el mecanismo no sería muy diferente del mostrado en el esquema 23, sin embargo al tener como grupo saliente etanol en vez de agua, se vería más favorecida la ciclización intramolecular [intermediario (II)], ya que en este caso se llevaría a cabo una reacción de transesterificación y en el caso de la reacción anterior, se efectúa una reacción de esterificación, la cual necesita una energía de activación mayor y debido a que no se tienen las condiciones necesarias en el seno de la reacción para que esto suceda, esta no se lleva a cabo. El mecanismo de reacción se muestra en el esquema 26.



Esquema 26.



Esquema 27.

En la reacción de hidrólisis se obtuvo un producto sólido amarillo, el cuál tuvo un punto de fusión de 209-212°C (rendimiento 90%). A este producto se le realizó su análisis espectroscópico.

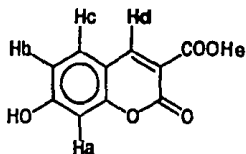
I.R. (espectro 12).

3424 cm⁻¹ corresponde al hidroxilo fenólico.

1680 cm⁻¹ corresponde al ácido benéfico.

1614 cm⁻¹ corresponde a la cetona α,β -insaturada.

R.M.N. ¹H (espectro 13).



6.3 ppm (Ha); 6.5 ppm (Hb); 7.6 ppm (Hc); 8.5 ppm (Hd); 9.7 ppm (He)
desaparece con agua deuterada.

Al ver que efectivamente se había hidrolizado el éster al ácido, se procedió a realizar la descarboxilación. Se obtuvo un sólido color crema, con un punto de fusión de 223-225°C, el cuál corresponde al reportado en la literatura (rendimiento 40 %)²⁸. Además se le hizo su análisis espectroscópico.

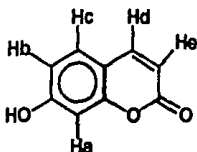
I.R. (espectro 14).

3200 cm^{-1} corresponde al hidroxilo fenólico.

1704 cm^{-1} corresponde al carbonilo.

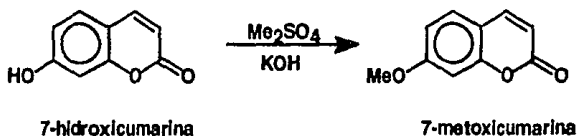
1600 cm^{-1} corresponde a la cetona α,β insaturada.

R.M.N. ^1H . (espectro 15).



5.2 ppm (He, d); 6.8 ppm (Ha); 7.4 ppm (Hb); 7.9 ppm (Hc); 8.1 ppm (Hd)

Una vez que se obtuvo la 7-hidroxycumarina, se procedió a obtener su derivado metilado, mediante una reacción con sulfato de dimetilo, mediante la secuencia sintética mostrada en el esquema 28²⁹.



Esquema 28.

Esta reacción se siguió por cromatografía en capa fina, después de un tiempo de calentamiento aproximado de 2 hrs a reflujo, se observó que había

desaparecido totalmente la materia prima. El producto se purificó mediante una recristalización de alcohol y se obtuvo un precipitado color beige, el cuál tuvo un punto de fusión de 117-120°C (rendimiento 35 %). Al producto puro se le realizó su análisis espectroscópico.

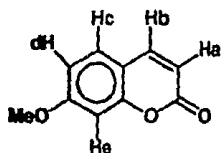
I.R. (espectro 16).

2900 cm^{-1} corresponde al éter metílico aromático, también se aprecian las bandas de 1460, 1380, 1256 y 1125 cm^{-1} que corresponden al éter.

1736 cm^{-1} corresponde al carbonilo de la lactona cíclica.

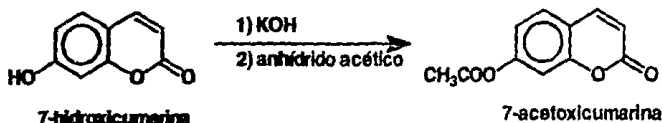
1604, 1560, 1422 cm^{-1} corresponde a la presencia del anillo aromático.

R.M.N. ^1H (espectro 17).



3.91 ppm (CH_3 , s); 6.872 ppm (Ha); 7.923 ppm (Hb); 7.392 ppm (Hc); 6.94 ppm (Hd); 6.969 ppm (He).

Así mismo se sintetizó el derivado acetoxilado de la 7-hidroxicumarina, mediante la reacción mostrada en el esquema 29³⁰.



Esquema 29.

Esta reacción se llevó a cabo colocando la 7-hidroxicumarina en un matraz Erlenmeyer, el cual tenía adaptado un tapón monohoradado. Se le

agregó una solución de potasa al 10% y en seguida unos 30 g de hielo. Bajo una agitación vigorosa, se le agregó el anhídrido acético lentamente, sin dejar de agitar. Se produjo un cambio en la coloración de la solución que inicialmente era amarilla, se tomó blanca. En este momento se dejó enfriar el matraz y se observó la formación de un sólido. Este sólido se recristalizó de agua y tuvo un punto de fusión de 203-206°C (rendimiento 40%). Al producto puro se le hizo su análisis espectroscópico, obteniéndose los siguientes resultados.

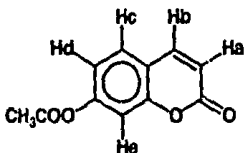
I.R. (espectro 18).

3054, 1616, 1568, 1506 cm^{-1} corresponden al núcleo aromático.

1740 cm^{-1} carbonilo de la lactona y del éster, se puede apreciar un hombro en la banda del espectro.

1190 cm^{-1} vibración asimétrica del éster R-CO-OR

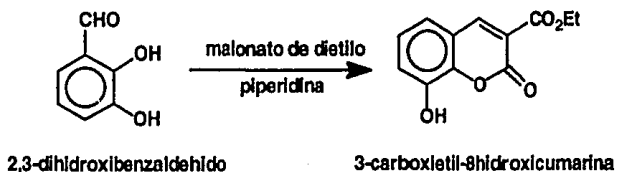
R.M.N. ^1H . (espectro 19).



2.3 ppm (CH₃, s); 7.1 ppm (He, Ha, Hd); 7.8 ppm (Hc); 8.6 ppm (Hb).

Síntesis de la 8-hidroxicumarina y sus derivados.

Para comprobar la versatilidad del método, utilizando la reacción de Knoevenagel¹⁵, se llevó a cabo la síntesis de la 8-hidroxicumarina, utilizando como materia prima el 2,3-dihidroxibenzaldehído. Del mismo modo que para la 7-hidroxicumarina, primero se obtiene el derivado 3-carboxietil-8-hidroxicumarina, como se muestra en el esquema 30:



Esquema 30.

Se procedió a realizar la reacción obteniéndose un sólido crema con un punto de fusión de 146-148°C y un R_f de 0.842 (rendimiento del 88%). El producto puro se caracterizó por espectroscopía obteniéndose los siguientes resultados:

I.R. (espectro 20).

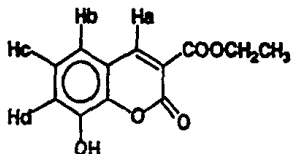
3306 cm^{-1} corresponde al hidroxilo fenólico.

3000 - 3050 cm^{-1} bandas corresponden al anillo aromático.

1746 cm^{-1} carbonilo del éster α - β insaturado.

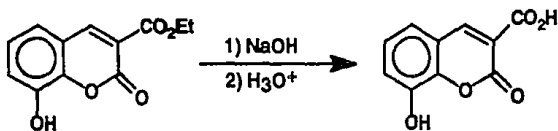
1696 cm^{-1} carbonilo del éster alifático.

R.M.N. ^1H . (espectro 21).



1.4 ppm (CH₃,t); 2.7 ppm (OH,s); 4.4 ppm (CH₂, c); 7.2 ppm (Hb,Hc y Hd); 8.5 ppm (Ha, s)

Una vez que se corroboró que se tenía al éster, se procedió a hidrolizarlo, utilizando hidróxido de sodio al 10 %, según se muestra en el esquema 31:



3-carbetoiletíl-8-hidroxicumarina

ácido 3-carboxi-8-hidroxicumarínico

Esquema 31.

Se realizó la reacción y se obtuvo un sólido amarillo con un punto de fusión de 275-278°C (rendimiento del 90%). El producto puro se caracterizó por espectroscopía y se obtuvieron los siguientes resultados:

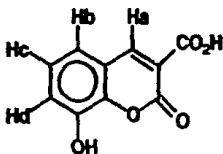
I.R. (espectro 22).

3100 cm^{-1} corresponde a ambos hidroxilos el del ácido y el fenólico, pues se ve una señal delgada y otra ancha.

1724 y 1666 cm^{-1} carbonilo del éster α y β insaturado y al carbonilo del ácido.

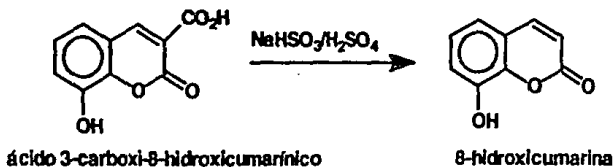
1600-1500 cm^{-1} bandas características de la presencia de un núcleo aromático.

R.M.N. ^1H . (espectro 23).



4.0 ppm (OH fenólico); 7.2 ppm (Hb, Hc y Hd); 8.7 (Ha); 10 ppm (ácido).

En seguida, se procedió a descarboxilar el ácido, en presencia de bisulfito de sodio y ácido sulfúrico a temperatura alta, como se muestra en el esquema 32:



Esquema 32.

Se realizó la reacción de descarboxilación y se obtuvo un sólido blanco, con un punto de fusión de 159-161°C. que corresponde al reportado en la literatura¹⁹ con un rendimiento del 40 %. El producto tiene un R_f de 0.578 y se caracteriza por espectroscopía dando los siguientes resultados:

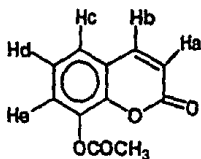
I.R. (espectro 24).

3338 cm⁻¹ corresponde al hidroxilo fenólico.

1714 cm⁻¹ corresponde al carbonilo del éster α - β insaturado.

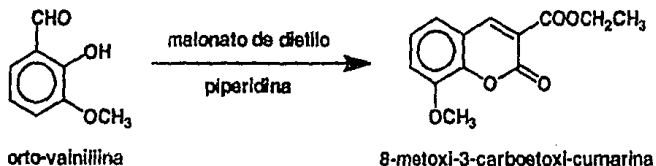
1600-1500 cm⁻¹ bandas que corresponden a la presencia de un núcleo aromático.

R.M.N. ^1H . (espectro 29).



2.4 ppm (CH₃, s); 6.5 ppm (Ha); 7.3 ppm (Hc, Hd y He); 7.7 ppm (Hb).

Como se mencionó anteriormente, un método para la obtención de la 8-hidroxycumarina, parte de la orto vainillina y un grupo metilénico activo, que en la mayoría de los casos se utiliza ácido malónico. Nosotros procedimos a realizar la reacción a partir de *orto*-vainillina, utilizando malonato de dietilo. La secuencia de la reacción se muestra en el esquema 35.



Esquema 35.

Aún cuando después debemos hidrolizar y descarboxilar, al ver los problemas que se presentaron en la síntesis de la 7-hidroxycumarina con el ácido malónico (por el efecto del grupo saliente alcohol contra agua), preferimos realizar la síntesis, a través de esta propuesta. Se llevó a cabo la reacción fácilmente y se obtuvo un precipitado crema, con un punto de fusión de 80-82°C y con un R_f de 0.540 (rendimiento 87%). El producto puro se analizó por espectroscopía y se tienen los siguientes resultados.

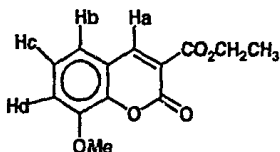
I.R. (espectro 30).

2846, 1474, 1370, 1246 cm^{-1} corresponden al éter metílico aromático.

1750 cm^{-1} corresponde al carbonilo del éster.

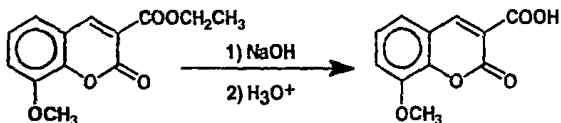
1692 cm^{-1} corresponde al carbonilo de la lactona.

R.M.N. ^1H (espectro 31).



1.4 ppm (CH₃, t); 3.9 ppm (CH₃, s); 4.4 ppm (CH₂, c); 7.2 ppm (Hb, Hc, y Hd); 8.5 ppm (Ha).

Una vez que se obtuvo el compuesto anterior, se procedió a realizar la hidrólisis del mismo utilizando una solución de hidróxido de sodio y calentamiento como se muestra en el esquema 36.



8-metoxi-3-carboetoxi-cumarina

ácido-8-metoxi-3-carboxicumarínico

Esquema 36.

Se llevó a cabo la reacción anterior, obteniéndose un sólido amarillo con un punto de fusión de 219-220°C (rendimiento 90%). El producto puro se caracterizó por espectroscopía y se tienen los siguientes resultados.

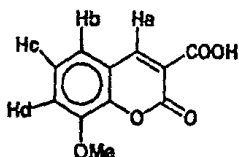
I.R. (espectro 32).

2844, 2948, 1474, 1348 cm^{-1} bandas que corresponden al éter metílico
tipo fenólico.

1750 cm^{-1} corresponde al carbonilo de la lactona.

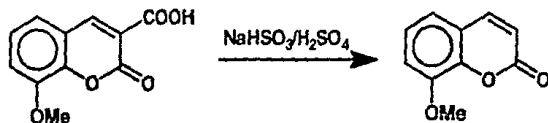
1670 cm^{-1} corresponde al carbonilo del ácido.

R.M.N. ^1H . (espectro 33).



3.8 ppm (CH_3 , s); 4.2 ppm (H ácido) desaparece con agua deuterada; 7.4 ppm (Hb, Hc y Hd); 8.2 ppm (Ha).

Una vez que se obtuvo el ácido 8-metoxi-3-cumarínico, se procedió a realizar la descarboxilación del mismo a través de la técnica que utilizamos anteriormente, con bisulfito de sodio y ácido sulfúrico con un calentamiento directo con mechero, como se muestra en el esquema 37.



ácido-8-metoxi-3-carboxicumarínico

8-metoxi-cumarina

Esquema 37.

Se realizó la reacción antes descrita, obteniéndose un sólido blanco, con un punto de fusión de 86-88°C que corresponde al mismo obtenido en la

reacción de síntesis de la 8-metoxicumarina realizada anteriormente, llegando al compuesto reportado en la literatura.

Esto es importante, pues se está proponiendo una síntesis alternativa, ya que cuando nosotros realizamos la reacción tipo Knoevenagel con ácido malónico esta no dió, por lo que se tuvo que utilizar el malonato de dietilo, que aún cuando se realiza un paso más (hidrólisis del éster), este paso adicional no presenta ningún problema, y se puede obtener el producto deseado.

Quizá la reacción que presenta más problemas en el desarrollo de esta ruta sintética alternativa, es la descarboxilación, que en algunos casos no es tan sencilla. Pensamos que esto se debe a que en el desarrollo de la reacción, se debe poner la mínima cantidad de agua para disolver el bisulfito de sodio, ya que si se coloca más agua que la necesaria, al momento de la separación del compuesto del seno de la reacción el compuesto descarboxilado queda disuelto en el exceso de agua y el medio ácido y su extracción se hace bastante difícil. En cambio, al evaporar un tanto, antes de adicionar el ácido sulfúrico concentrado, al término de la reacción únicamente se adiciona agua fría y así se lleva a cabo una precipitación inmediata del producto descarboxilado.

PARTE EXPERIMENTAL

El progreso de las reacciones así como la pureza de las mismas se siguió por c.c.f. utilizando cromatoplasas Merck de sílica gel 60 (0.25 mm. de espesor y aproximadamente 2.5 cm. de ancho por 5 cm. de largo).

Los compuestos se identificaron por espectrofotometría en I.R. en un Espectrofotómetro de Infrarrojo modelo 1320, Perkin Elmer y mediante RMN H^1 en un espectrómetro Varian EM-390 utilizando como disolvente $CDCl_3$ y/o DMSO y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

Síntesis de la 5-hidroxycumarina.

-Obtención del ácido β -resorcílico.

En un matraz de fondo redondo de una boca esmerilado 14/20, de 100 ml. se colocan 2.5 g. de resorcinol, 12.5 g. de $KHCO_3$ y 25 ml de agua. Se adapta el refrigerante en posición de reflujo y se calienta a ebullición durante 4 horas. Después de este tiempo se calienta la mezcla de reacción directamente con el mechero, pasándole una corriente de CO_2 (la cual se genera a partir de hielo seco y agua) durante 30 minutos. Todavía cuando la mezcla de reacción se encuentra caliente, se le agrega poco a poco y con agitación 11.5 ml de ácido clorhídrico concentrado, teniendo cuidado, ya que se desprende CO_2 . Posteriormente la mezcla de reacción se enfría en hielo. Se obtiene un precipitado blanco, el cual se recristaliza de agua caliente (rend. 60-75%). El punto de fusión fué de 217-219°C. I.R.(pastilla, KBr, cm^{-1}) 3400. 2500, 1650. R.M.N. H^1 ($CDCl_3$ + DMSO, δ , ppm) 6.2, 7.6, 8.5.

-Obtención del β -resorcilato de metilo.

Se colocan en un matraz de 100 ml de una boca esmerilada 14/20, 7.8 g. de ácido β -resorcílico, 12 ml de metanol y 2 ml de ácido sulfúrico. Se coloca el

refrigerante en posición de reflujo y se calienta a ebullición durante 5 horas. Al término del calentamiento, se evapora el metanol, se agregan 125 ml de agua y se extrae el producto con 75 ml de éter. Se obtiene un precipitado, el cual se recristaliza de agua y tiene un punto de fusión de 117-119°C (rend. 50-60%). I.R. (KBr, pastilla, cm^{-1}) 3600, 1650, 1150. R.M.N. ^1H . (CDCl_3 , δ , ppm) 2, 3.88, 6.4, 7.8.

-Reacción para la obtención de la 5-hidroxycumarina.

2.19 g. de β -resorcilato de metilo, en 2 ml de acrilato de etilo y 2.4 g. de AlCl_3 , se colocan en 15 ml de éter anhidro, en un matraz de 100 ml con junta esmerilada 24/40, el cual está sumergido en un baño de hielo. Se le burbujea HCl seco durante 1 hr. Después de este tiempo, se destila el éter y se calienta entre 150-160°C durante 6 hr. Después se deja a temperatura ambiente durante 16 horas.

mezcla de reacción se extrae con éter y se calienta en KOH metanólica. Se evapora el metanol, se vuelve a extraer con éter. Se extrae la solución con NaHCO_3 . En la solución neutra se forma un precipitado. Se realiza cromatografía en columna de sílica, obteniéndose el resorcinol.

-Reacción para la obtención del 2,6-dihidroxi-benzaldehído por la reacción de Gatterman.

a) Obtención del cianuro de zinc.

10 g. de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en 100 ml de H_2O se mezclan con agitación constante, con una solución de 5 g. de KCN en 50 ml de H_2O , hasta la precipitación de un sólido blanco, el cual es lavado repetidamente con agua caliente y se seca con alcohol y éter o en una estufa a 70°C.

b) Reacción de Gatterman.

En un matraz de fondo redondo con una junta esmerilada 24/40, se colocan 1.5 g. del β -resorciato de metilo, con 2.1 g. de $Zn(CN)_2$ y 2.4 g. de $AlCl_3$ en éter seco. Se deja en agitación durante más de 5 hrs. Se agregan 20 ml de agua y se calienta media hora a reflujo. Se filtra y se hace placa (ccf).

- Reacción para la obtención del cloruro de ácido del ácido 2,6-dihidroxibenzoico.

En un matraz de fondo redondo y esmerilado 14/20 de 50 ml se colocan 0.5 g. de ácido 2,6-dihidroxibenzoico, en 5 ml de $SOCl_2$, se coloca el refrigerante en posición de reflujo y se calienta a ebullición durante 2 horas. I.R. (KBr, pastilla, cm^{-1}) 3468, 1692.

- Reacción para la reducción del cloruro del ácido con $NaBH_4$.

En un matraz de fondo redondo esmerilado 14/20 de 50 ml, se colocan 0.6 g. de cloruro de ácido en 5 ml de metanol y se agregan 0.1 g. de $NaBH_4$ (aproximadamente de 4 espátulazos del reductor), se deja agitando a temperatura ambiente durante 2 hrs. Después se adiciona una solución saturada de bisulfito de sodio en la menor cantidad de agua, no se forma el compuesto de adición bisulfítica.

- Reacción para la reducción del cloruro del ácido con $NaBH_4$, DMF y piridina.

En un matraz de fondo redondo de 50 ml con una junta esmerilada 14/20 se colocan 3.4 mmol de $NaBH_4$ y 2 ml de piridina, en 5 ml de DMF y 3 ml de THF anhidro, se enfrían a $0^\circ C$; se agregan rápidamente (en menos de 5 seg.), una solución de 4 mmol de cloruro de ácido en 2 ml de THF. Esta mezcla se agita durante un minuto a $0^\circ C$. En seguida se agregan 0.5 ml de agua. La

mezcla de reacción se agita por 60 seg. Se adicionan 50 ml de una mezcla 4:1 de hexano-éter. Los glóbulos de piridina-BH₃ se eliminan por filtración rápida en una columna de florisil. Se adicionan 25 ml de disolvente, para terminar la elución. Se extrae con éter y la fase orgánica se lava con una solución de NaCl, NaOH, se seca la fase orgánica con MgSO₄ y se evapora el éter.

- Reacción de reducción del cloruro del ácido, mediante la formación del compuesto de Reissert.

En una matraz de 100 ml de tres bocas esmeriladas 14/20, en el cual se adapta un agitador mecánico, se colocan 3.8 ml de agua, con 0.55 g de NaCN, y se agita hasta la disolución total de la sal. En seguida se agregan 1.3 ml de Quinolina en 4.5 ml de CH₂Cl₂, la mezcla se agita vigorosamente y se adicionan 1.9 ml de cloruro de ácido en 4.5 ml de diclorometano. Inicialmente la mezcla se vuelve naranja y después toma una coloración amarilla. Después de agitar durante 2 hrs., la mezcla se pone en un embudo de separación y se extrae la fase acuosa con diclorometano. La fase orgánica se lava con Na₂CO₃, con HCl diluido y finalmente con agua. El compuesto de Reissert se hidroliza posteriormente con ácido sulfúrico y calentamiento.

-Reacción para la obtención del dimetil éter del resorcinol.

En un matraz de fondo redondo de 100 ml con 3 bocas esmeriladas 14/20, se colocan 20 g. de resorcinol en 100 ml de una solución de KOH al 10%, en un matraz de tres bocas de 500 ml, el cual se encuentra sumergido en hielo y tiene adaptado un agitador mecánico. Con un embudo de adición compensada, se agregan gota a gota 35 ml de sulfato de dimetilo, manteniéndose a agitación constante. Después de terminar de adicionar el sulfato de dimetilo, se coloca un refrigerante en posición de reflujo y se calienta

a ebullición durante 2 horas, al término de este tiempo, se vuelve a colocar el matraz en un baño de hielo y se agrega otro equivalente de base y de sulfato de dimetilo. Se vuelve a calentar a reflujo otras 2 horas.

Al término del calentamiento, se agregan 100 ml de agua y porciones de 50 ml de diclorometano, para extraer la fase orgánica. Se lava repetidas veces la fase orgánica con agua, y una solución de NaHCO_3 hasta tener un pH neutro. La fase orgánica se seca con sulfato de sodio anhidro y se evapora el exceso de disolvente.

El producto crudo se purifica por medio de una cromatografía en columna, soportada en sílica gel (rend. 75%). I.R. (película, KBr , cm^{-1}) 2950, 3000, 1600, 1460. R.M.N. ^1H (CDCl_3 , δ , ppm) 3.55, 6.3, 6.34, 7.08.

- Reacción de formilación del dimetil-éter del resorcinol.

En un matraz de 50 ml de dos bocas esmeriladas 14/20, previamente flameado y guardado en la estufa por más de 12 horas. En una boca se le adapta un tapón septum y en la otra boca, se coloca un refrigerante en posición de reflujo, que también está seco, y se le adapta una llave con un globo de nitrógeno, haciendo la atmósfera de la reacción lo más inerte posible. El matraz se coloca en un recipiente en el cuál se tiene hielo seco y acetona anhidra, manteniendo la temperatura en -78°C . Por medio de una jeringa, se colocan en el matraz de reacción 10 ml de THF anhidro, 3 ml de dimetil-éter del resorcinol y 6 ml de n-butil litio. Se deja que el sistema se equilibre por media hora. Después de este tiempo, se agrega a la mezcla de reacción 3 ml de DMF, se deja agitando durante un tiempo a -78°C y después se permite que el sistema se equilibre con la temperatura ambiente. Se monitorea la reacción y si se requiere calentamiento, se utiliza el refrigerante y se calienta a ligera ebullición.

Síntesis de la 7-hidroxicumarina y sus derivados.

-Reacción para la obtención de la 7-hidroxicumarina, con ácido malónico.

En un matraz de 100 ml esmerilado 14/20 de una boca, se colocan 1 g. de 2,4-dihidroxibenzaldehído y 0.5 g. de ácido malónico en 5 ml de piridina y unas gotas de anilina. Se coloca un refrigerante en posición de reflujo, se calienta la mezcla a ebullición durante 3 horas. Se ve en la cromatografía en capa fina una serie de manchas. Se hace el seguimiento por cromatografía de gases, variando el tiempo de calentamiento.

-Reacción para la obtención de la 7-hidroxicumarina, con malonato de dietilo.

En un matraz de 100 ml esmerilado 14/20 de una boca, se colocan 1 gr. 2,4-dihidroxibenzaldehído con 2 ml de malonato de dietilo, y unas gotas de piperidina, se coloca el refrigerante en posición de reflujo y se calienta a ebullición durante 2 horas. Se deja enfriar y se tiene un precipitado crema. El cual se recristaliza de etanol. Su punto de fusión es de 173-174°C (rend. 90%). Este compuesto corresponde al éster 3-carboxi-7-hidroxicumarina I.R. (pastilla, KBr, cm^{-1}) 1738, 1618, 3550, 1224. R.M.N. ^1H (CDCl_3 + DMSO, δ , ppm) 1.3, 4.2, 6.7, 6.9, 7.6, 8.5.

Dicho éster (0.5 g), se colocan en un matraz de 50 ml 14/20 de una boca, con 10 ml de KOH al 10%, se calienta ligeramente durante media hora. La mezcla de reacción se deja enfriar y se le agrega ácido clorhídrico hasta neutralización. El precipitado obtenido se recristaliza de agua hirviendo. El punto de fusión es de 209-212°C, el compuesto corresponde al ácido 3-carboxi-7 hidroxicumarínico (rend. 90%). I.R. (pastilla, KBr, cm^{-1}) 3424, 1680, 1614. R.M.N. ^1H (CDCl_3 + DMSO, δ , ppm) 6.3, 6.5, 7.6, 8.5, 9.7.

En un matraz de 50 ml con una boca esmerilada 14/20 se colocan 0.2 g. del ácido en 5 ml de NaHSO_4 al 10% y se calienta ligeramente media hora. La mezcla de reacción se enfría, se obtiene un precipitado color crema, el cuál se recristaliza de alcohol. El punto de fusión es de 223-225°C (rend. 40%). I.R. (pastilla, KBr , cm^{-1}) 3200, 1704, 1600 $\text{R.M.N.}^1\text{H}$ (CDCl_3 + DMSO , δ , ppm) 6.2, 6.8, 7.4, 7.9, 8.1.

- Reacción para la obtención de la 7-metoxycumarina.

En un matraz de 100 ml de tres bocas esmeriladas 14/20, se adapta un agitador mecánico, un embudo de adición y un refrigerante en posición de reflujo. Se ponen 0.64 g de cumarina en 10 ml de KOH al 10% con agitación constante y se enfrían en hielo. Se agregan gota a gota por medio del embudo de adición 0.6 ml de sulfato de dimetilo, sin dejar de agitar se calienta e ebullición por dos horas. Al término de este tiempo, la mezcla de reacción se enfría y el sólido obtenido, se recristaliza de metanol. Hojuelas blancas con punto de fusión de 117-120°C (rend.35%). I.R. (pastilla, KBr , cm^{-1}) 2900, 1460, 1380, 1256, 3044, 1736, 1604, 1560. $\text{R.M.N.}^1\text{H}$ (CDCl_3 + DMSO , δ , ppm) 3.91, 6.872, 7.923, 7.392, 6.94, 6.969.

- Reacción para la obtención de la 7-acetoxycumarina.

En un matraz Erlenmeyer se colocan 0.5 g de 7-hidroxycumarina, en 20 ml de KOH al 10 %, con agitación vigorosa se agregan 30 g de hielo. En seguida se adicionan 10 ml de anhídrido acético y se deja agitar por 20 minutos. Después de este tiempo, se filtra el sólido formado. Se recristaliza de agua. Agujas blancas con punto de fusión de 203-206°C (rend. 40%). I.R. (pastilla, KBr , cm^{-1}) 1740, 1190, 3054, 1616, 1568, 1506. $\text{R.M.N.}^1\text{H}$ (CDCl_3 + DMSO , δ , ppm) 2.3, 7.1, 7.8, 8.6.

Síntesis de la 8-hidroxycumarina y sus derivados.

-Síntesis de la 3-carboetoxi-8-hidroxycumarina.

En un matraz de 100 ml esmerilado 14/20 de una boca, se coloca 1 gr. de 2,3-dihidroxibenzaldehído con 2 ml de malonato de dietilo y 2 gotas de piperidina. Se coloca un refrigerante en posición de reflujo y se calienta a ebullición durante una hora. Al término del tiempo de calentamiento, se observa un precipitado, el cuál se remueve con etanol y se filtra. El precipitado se recristaliza de etanol. Sólido cristalino de color crema con un punto de fusión de 146-148°C (rend. 88%). I.R. (KBr, pastilla, cm^{-1}) 1746, 1696, 3306, 3000; RMN ^1H (CHCl_3 -DMSO, δ , ppm) 1.4, 4.4 2.7, 7.7, 8.5.

-Síntesis del ácido 3-carboxi-8-hidroxycumarínico.

En un matraz de 50 ml esmerilado 14/20, se colocan 0.5 gr. del éster 3-carboetoxi-8-hidroxycumarina, con 5 ml de NaOH al 10%; se adapta el refrigerante en posición de reflujo y se calienta a ebullición durante una hora. Entonces se agrega gota a gota HCl al 10% hasta pH 7, se obtiene un precipitado naranja el cual se recristaliza de una mezcla de agua-etanol. Se obtiene un precipitado amarillo con un punto de fusión de 275-278°C (rend. 90%). I.R. (KBr, pastilla, cm^{-1}) 3100, 1724, 1666, 1600-1500; R.M.N. ^1H . (CHCl_3 -DMSO, δ , ppm) 4, 7.2, 8.7, 10.

-Síntesis de la 8-hidroxycumarina.

En un matraz de 50 ml esmerilado 14/20 se colocan 1.5 gr. de ácido 3-carboxi-8-hidroxycumarínico, en 11ml de agua y se le agrega 2.6 gr. de bisulfito de sodio, esta mezcla se calienta a fuego directo con mechero con flama baja hasta que se termine el desprendimiento de gases. Se deja evaporar una parte del disolvente y después se le adiciona lentamente 6.5 ml de ácido sulfúrico, se

adapta el refrigerante en posición de reflujo y se calienta a ebullición durante una hora. Se deja enfriar y se le adiciona agua fría hasta que deje de precipitar. El precipitado se recristaliza de agua y tiene un punto de fusión de 159-161°C (rend. 40%). I.R. (KBr, pastilla, cm^{-1}) 3338, 1714, 1600-1500; R.M.N. ^1H . (CHCl_3 , δ , ppm) 6.4, 7, 7.7, 9.5.

-Síntesis de la 8-metoxicumarina.

En un matraz de 50 ml de dos bocas esmerilado 14/20, se colocan 0.5 gr. de 8-hidroxycumarina y se le agregan 10 ml de NaOH al 10%, poco a poco se le adicionan 1 ml de sulfato de dimetilo, se coloca el matraz en posición de reflujo y se calienta a ebullición durante 2 horas. Se le agrega 5 ml de hidroxido de amonio y 20 ml de agua; se le agrega ácido diluido hasta pH neutro. La fase orgánica se extrae con cloroformo. Se evapora el exceso de disolvente y el sólido obtenido se recristaliza de agua. Se obtiene un sólido color crema con un punto de fusión de 86-88°C (rend. 40%). I.R. (KBr, pastilla, cm^{-1}) 3006, 1712, 2838, 1468, 1346, 1280. R.M.N. ^1H . (CHCl_3 -DMSO, δ , ppm) 3.9, 6.45, 7.3, 7.7.

-Síntesis de la 8-acetoxicumarina.

En un matraz Erlenmeyer de 50 ml se colocan 0.5 gr de cumarina con 20 ml de NaOH al 10%, se agregan 5 gr. de hielo y se comienza una agitación vigorosa, después se le adicionan 10 ml de anhídrido acético sin dejar de agitar. Después de 5 min, se enfría la mezcla y se tiene un precipitado blanco con un punto de fusión de 127-129°C (rend. 40%). I.R. (KBr, pastilla, cm^{-1}) 1762, 1726, 1260. R.M.N. ^1H (CHCl_3 -DMSO, δ , ppm) 2.4, 6.5, 7.3, 7.7.

-Síntesis del 8-metoxi-3-carboetoxicumarina.

En un matraz bola de 50 ml esmerilado 14/20, se colocan 1 gr. de orto-vainillina y 2 ml de malonato de dietilo, con dos gotas de piperidina, se coloca un

refrigerante en posición de reflujo y se calienta a ebullición durante 1 hr. al término del calentamiento, se agrega agua fría y precipita un sólido blanco, que se recrystaliza de alcohol. El producto es un sólido cristalino con un punto de fusión de 80-82°C (rend. de 87%). I.R. (KBr, pastilla, cm^{-1}) 2846, 1474, 1370, 1246, 1750, 1692. R.M.N. ^1H (CHCl_3 , δ , ppm) 1.4, 3.8, 4.4, 7.2, 8.5.

-Síntesis del ácido 8-metoxi-3-carboxicumarínico.

En un matraz bola de 50 ml esmerilado 14/20, se colocan 1 gr. de 8-metoxi-3-carboetoxi-cumarina y 10 ml de una solución de NaOH al 10%; se coloca un refrigerante en posición de reflujo y se calienta a ebullición durante una hora. Al término se agrega gota a gota una solución de HCl al 10% hasta que precipite. El precipitado se recrystaliza de alcohol. El producto puro tiene un punto de fusión de 219-220°C (rend. 90%). I.R. (KBr, pastilla, cm^{-1}) 2948, 2844, 1474, 1420, 1348, 1750, 1670. R.M.N. ^1H (CHCl_3 , δ , ppm) 3.9, 4.2, 7.4, 8.7.

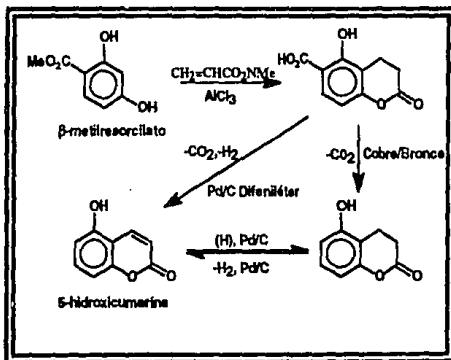
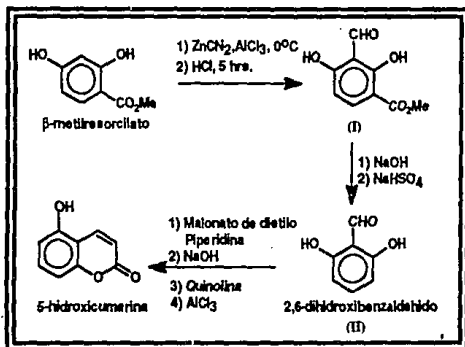
-Síntesis de la 8-metoxi-cumarina.

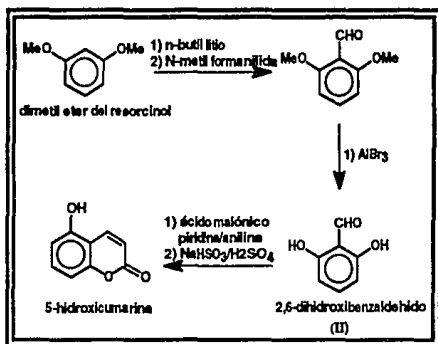
En un matraz bola de 50 ml esmerilado 14/20, se colocan 0.41 g de ácido 8-metoxi-3-carboxicumarínico, con 0.54 gr. de bisulfito de sodio y 2.4 ml de agua. La mezcla se calienta ligeramente a flama directa de mechero hasta disolución total del sólido. Se deja evaporar un poco la solución y se le adicionan gota a gota 1.3 ml de ácido sulfúrico concentrado y se pone un refrigerante en posición de reflujo. Se deja calentar todavía durante una hora. Al término de este tiempo, la solución se enfría y se adiciona gota a gota agua de hiefo hasta la precipitación. El sólido se recrystaliza de alcohol. Su punto de fusión es de 86-88°C (rend. 35%).

CONCLUSIONES

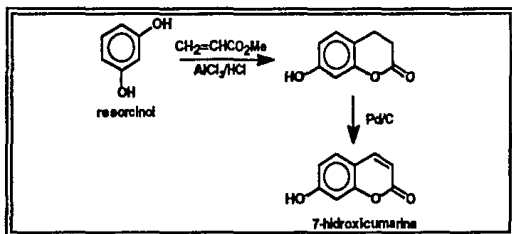
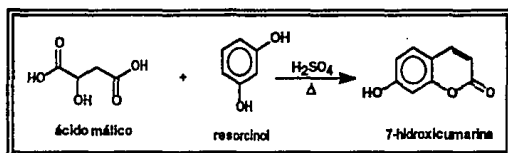
1. Se trabajó con derivados cumarínicos por su importancia biológica debido a su posible actividad antimetastásica y a la importancia de ésta en el estudio de la terapia del cáncer.

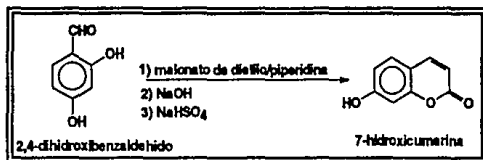
2. Se realizó un amplio estudio sobre la síntesis de la 5-hidroxicumarina, la cual desafortunadamente no se pudo sintetizar debido a que las síntesis descritas en la literatura no fueron reproducibles en nuestro laboratorio.





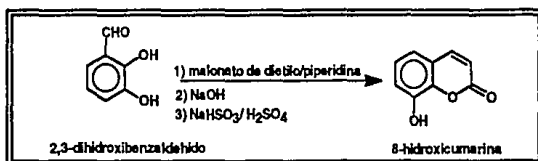
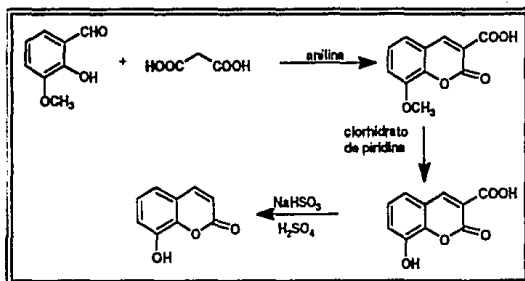
3. Se realizó la síntesis de la 7-hidroxicumarina por un nuevo método diferente al reportado en la literatura química, obteniéndose buenos resultados.



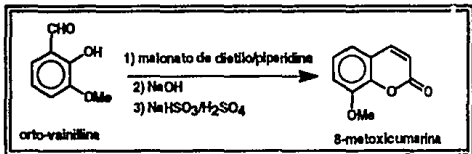
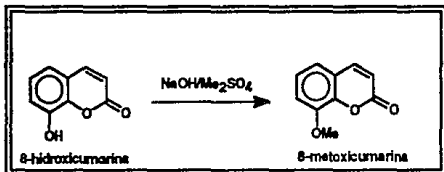
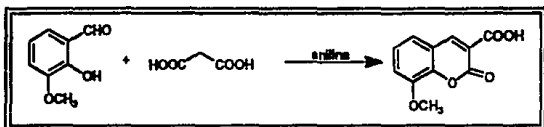


4. Se sintetizaron los derivados 7-metoxi y 7-acetoxicumarina, para probar su actividad biológica, por metilación y acetilación clásica de 7-hidroxicumarina.

5. Se sintetizó la 8-hidroxicumarina por una ruta alterna a la propuesta en la literatura.



6. Se sintetizó el derivado 8-metoxicumarina por dos rutas diferentes, una a partir de la 8-hidroxicumarina antes obtenida y otra mediante la condensación con orto-vainillina, utilizando como agente condensante el malonato de dietilo.



7. Se sintetizó el derivado 8-acetoxicumarina.

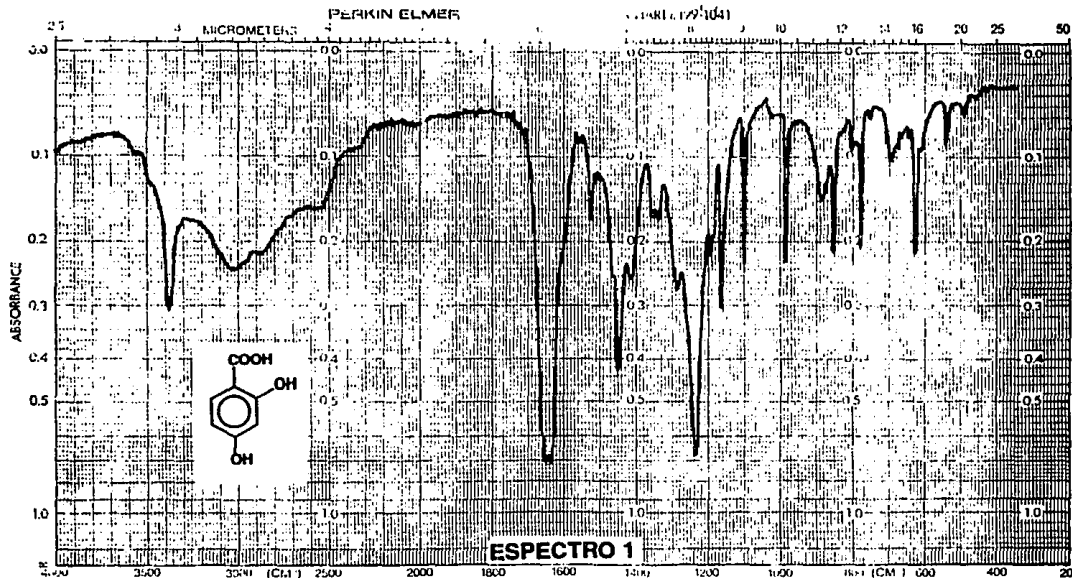
8. Todos los compuestos preparados se caracterizaron por espectroscopía de Infra-rojo y/o Resonancia magnética de protón, y por las propiedades físicas de los descritos, cuando era el caso.

9. Estos productos fueron enviados a las pruebas biológicas, lamentablemente todavía no tenemos los resultados.

BIBLIOGRAFIA

1. Glese, A.C., "Fisiología celular y general", Edit. Interamericana, 4a. Ed. México, 1984, p.654.
2. Hadden, W; Smith, D., *J.A.M.A.* (1992), 286, 2964
3. Thornes, R.D., *Cancer* (1975), 35,91.
4. Zacharski, L.R, et. al. *J.A.M.A.* (1981), 245, 831.
5. Matt, B., et. al. *J. Cancer Res. Oncol.* (1981), 101, 275
6. Hilgard, P., et. al *Europ. J. Cancer* (1979), 15, 183.
7. Piller, N.B. *J. Exp. Path.*(1978), 59, 93.
8. Hardt, T.J.; Ritschel, W.A. Meth and. *Find. Exptl. Clin. Pharmacol.* (1983), 5, 39.
9. Terranova, T. ; Chiossone F. *Bull. Soc. Ital. Biol. Sper.* (1952), 28,1224.
10. Mead. J. ; Smith, J.N. *Bioch. J.* (1958), 68,67.
11. Isaac S. C.R. *Acad. Sci. Paris.* (1965), 240, 2534.
12. Shilling, W.H.. et. al. *Nature* (1969), 221, 664.
13. Urban, J.L., et. al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1966), 83, 5233.
14. Shah, R.C., Laiwalla, M.C., *J. Chem. Soc.* (1938), 1828.
15. Jones. (rev). , *Org. Reac.* (1967), 15, 204.
16. Adams, R., Bockstahler, T., *J. Amer. Chem. Soc.*, (1952), 74, 5346.
17. a) Das Gupta, A. K.; Chatterje, R.M., et. al., *J. Chem. Soc. (c)* (1969), 29.
b) *Ibid. Tetrahedron Letters*, (1968), 42, 4463.
18. Sethna, S., et. al., *Org. Reac.* (1953), 7, 20.
19. Cingolani, E., *Gazz. Chim. Ital.* (1954), 84, 843.
20. Böhme, H., *Ber* (1939), 72, 2130.
21. Sadavongvivad, C.; Supavilai, P., *Phytochemistry*, (1977), 16, 1451.
22. Vogel's "Textbook of practical Organic Chemistry". 4a. Ed. Longman. New York, 1978. p. 832.
23. *Dictionary of Organic Compounds*. 5a. Ed. Vol. 2, D-04247, Chapman and Hall.

24. Adams, Levine, *J. Amer. Chem. Soc.* (1923), 45, 2375.
25. Vogel's "Textbook of practical Organic Chemistry". 4a. Ed. Longman, New York, 1978. p. 498.
26. Babler, J. H., *Synthetic communications* (1982), 12, 839.
27. Schwartz, A., *J. Org. Chem.* (1982), 47, 2213.
28. *Dictionary of Organic Compounds*. 5a. Ed. Vol. 3, H-01315, Chapman and Hall.
29. Vogel's "Textbook of practical Organic Chemistry". 4a. Ed. Longman, New York, 1978. p.755.
30. *Ibid.* p.1103.

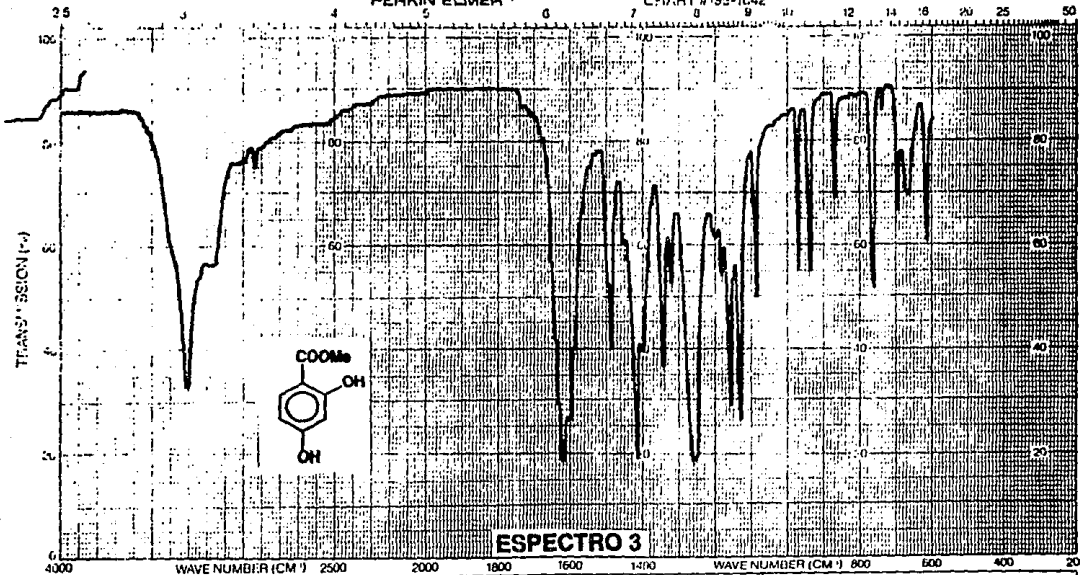


ABSORPTION DATE: <u>11-27-92</u> SAMPLE: <u>3,4-dihydroxybenzoic acid</u> PREP: <u>Alonso Alvarez</u>	ORDINATE EXPANSION: _____ UNIT: ABS REMARKS: <u>Pa. Telle</u>	SCAN TIME: <u>128.9</u> MULTIPLIER: <u>4</u> SLIT PROGRAM: <u>A</u> SOLVENT: <u>KBr</u> CONCENTRATION: _____	HCP SCAN: _____ SINGLE BEAM TIRAL DRIVE: _____ OPERATOR: <u>Chila</u> DATE: <u>11-27-92</u> CELL PATH: _____ REFERENCE: <u>Ac</u>
--	--	--	---

SERIAL NO. _____
 REF. NO. _____

PERKIN ELMER*

CHART # 1133-1042



ESPECTRO 3

ABSCISSA		ORDINATE		SCAN TIME <u>12</u>	REP. SCAN _____	SINGLE BEAM _____
EXPANSION _____		EXPANSION _____		MULTIPLIER <u>1</u>	TIME DRIVE _____	
SAMPLE <u>3,4-dihydroxybenzoate</u>		REMARKS <u>pastilla</u>		SPLIT PROGRAM <u>W</u>		OPERATOR <u>Harold - Chik</u> DATE <u>10-17-92</u>
ORIGIN <u>Blisku Nevada</u>				SOLVENT <u>KOH</u>		CELL PATH _____
				CONCENTRATION _____		REFERENCE <u>none</u>

SAMPLE REF. NO. 1042

Varian Instrument Division

START OF SWEEP



END OF SWEEP

ESPECTRO 4

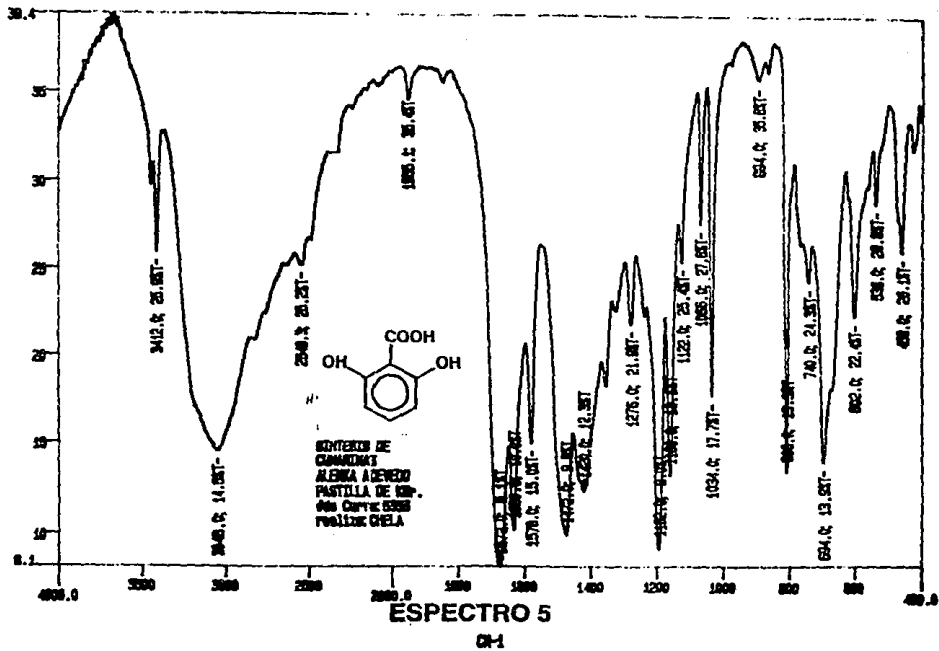
TOP SCALE
 BOTTOM SCALE
 CENTER
 LEFT SCALE
 RIGHT SCALE

1000	SEVENTH ANNUAL	L. S. ARCO	SWEEP TIME	5	MIN	OPERATION	11
1000	ENTER	0.05	SWEEP WIDTH	10	MIN	GENERAL	TAL 5
1000	ENTER	0.05	ENTER SWEEP	0	MIN	SAMPLE TIME	A

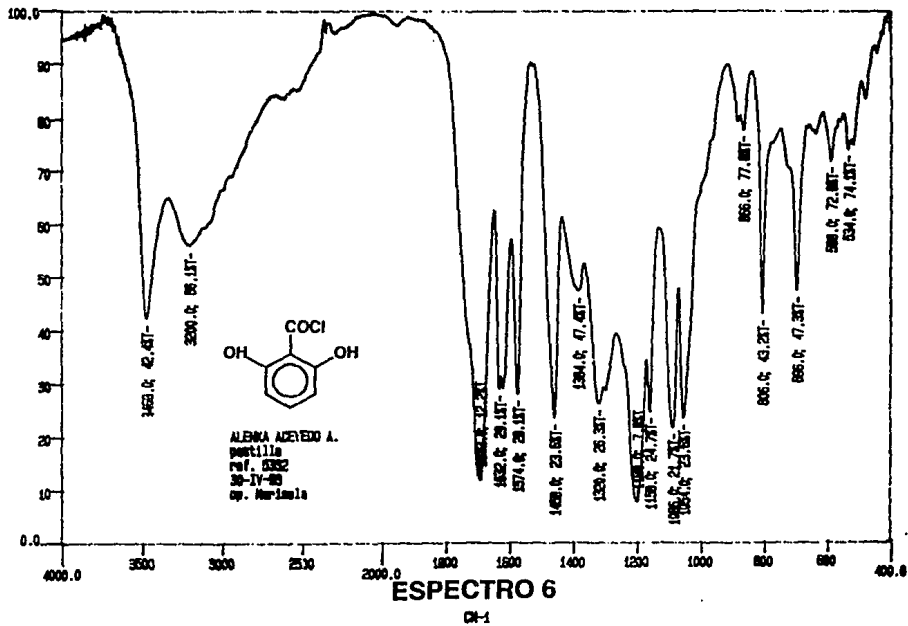
SAMPLE: *2,4-dihydroxybenzoic acid*
 PREPARED BY: *...*
 DATE: *...*
 OPERATOR: *...*
 12/17/50

EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

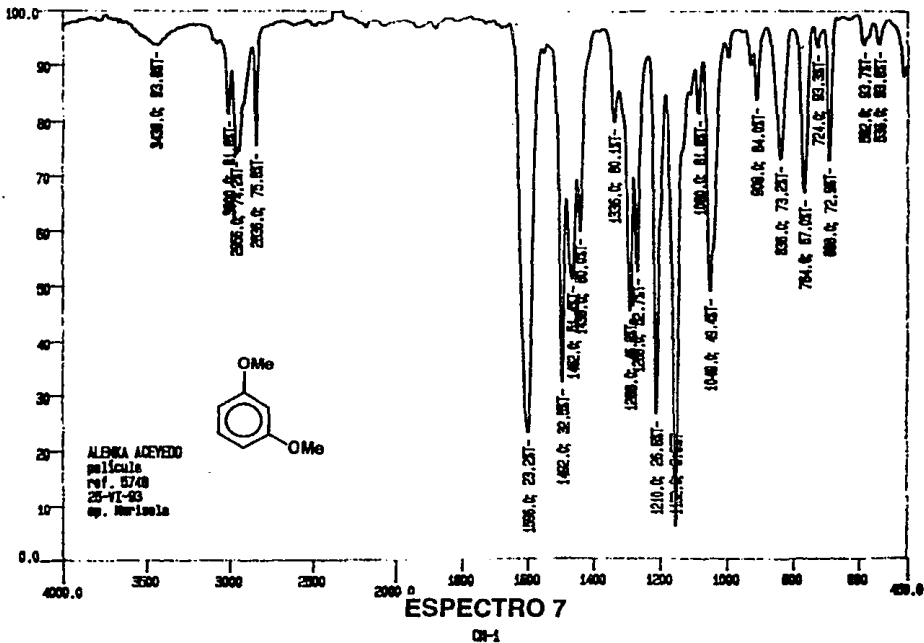
51



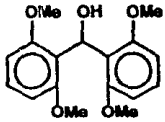
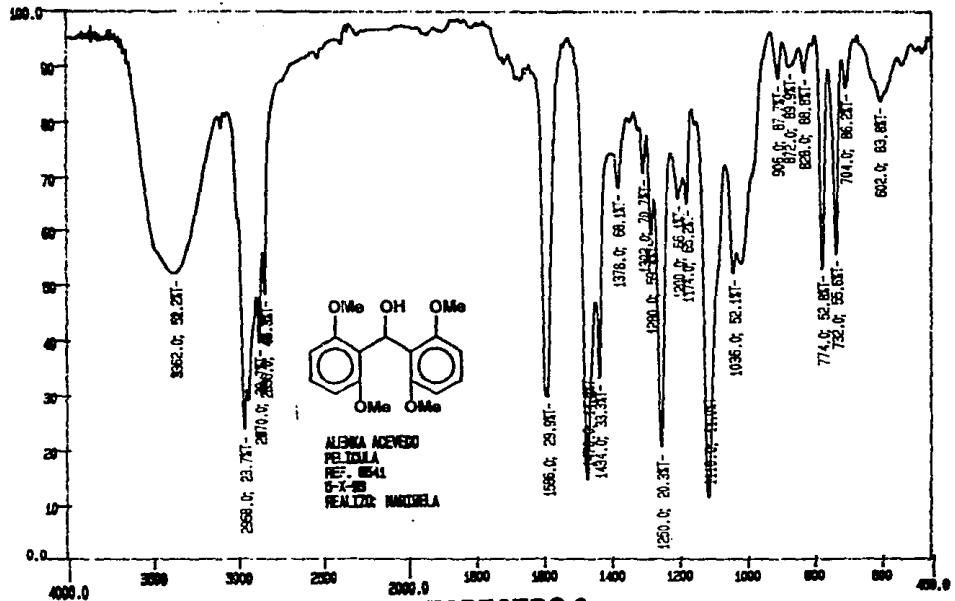
57



57



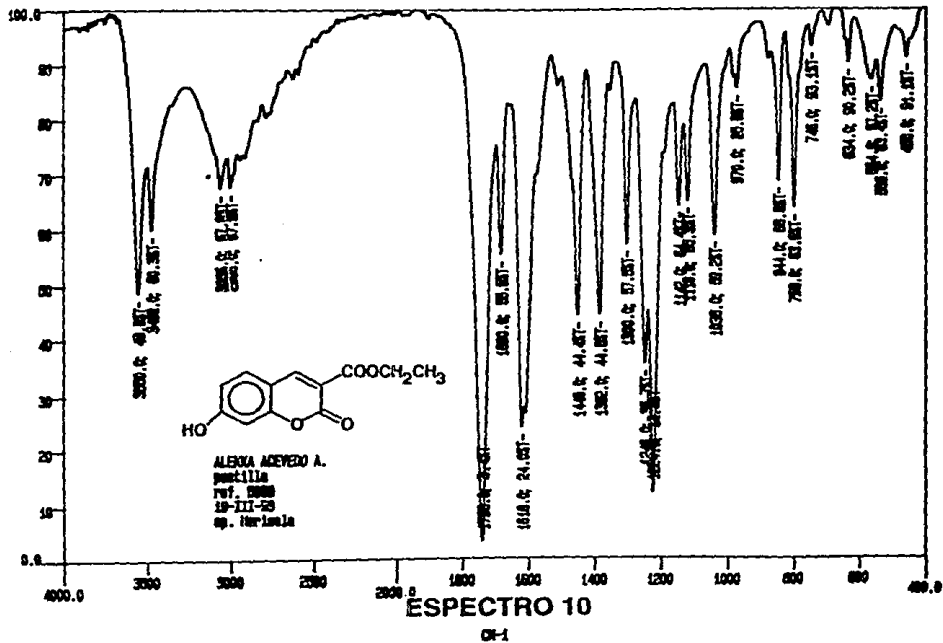
51



ALFONSO ACERVO
PIRELLA
S.P.A.
REALIZZAZIONE: MARCHIA

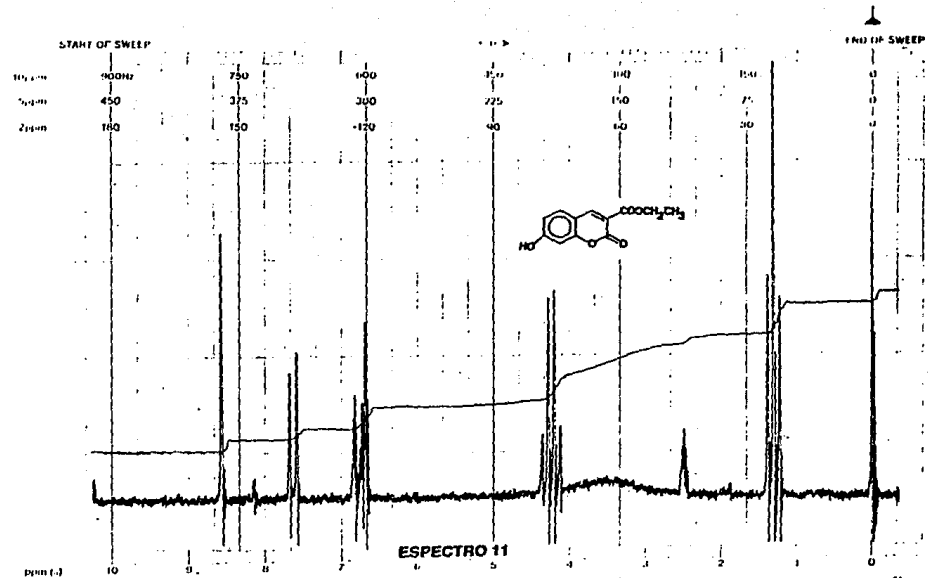
ESPECTRO 9

9-1



WATER 5.34

varian instrument division



LOCK POS
 LOCK POWER
 DECOUPLE LOG
 RECORDING POWER

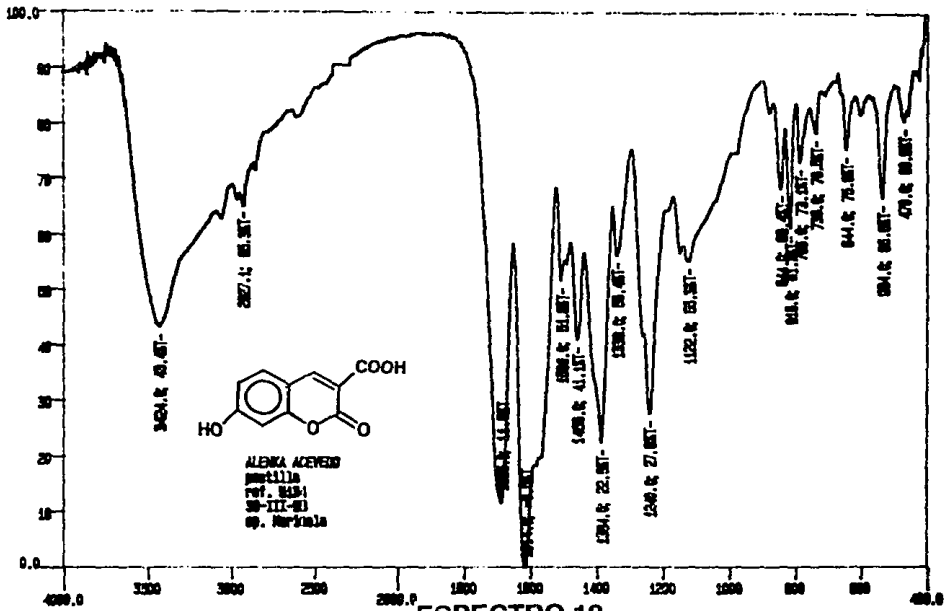
ppm SPECTRUM AMPL. 7.5
 FILED 0.0 sec SWEEP WIDTH 7.5
 dB POWER 7.5

SWEEP TIME 5
 ZERO REF

SAMPLE 26.4
 SOLVENT: CH₂Cl₂
 DATE 10-20-57
 SPECTRUM NO 11 B B

EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

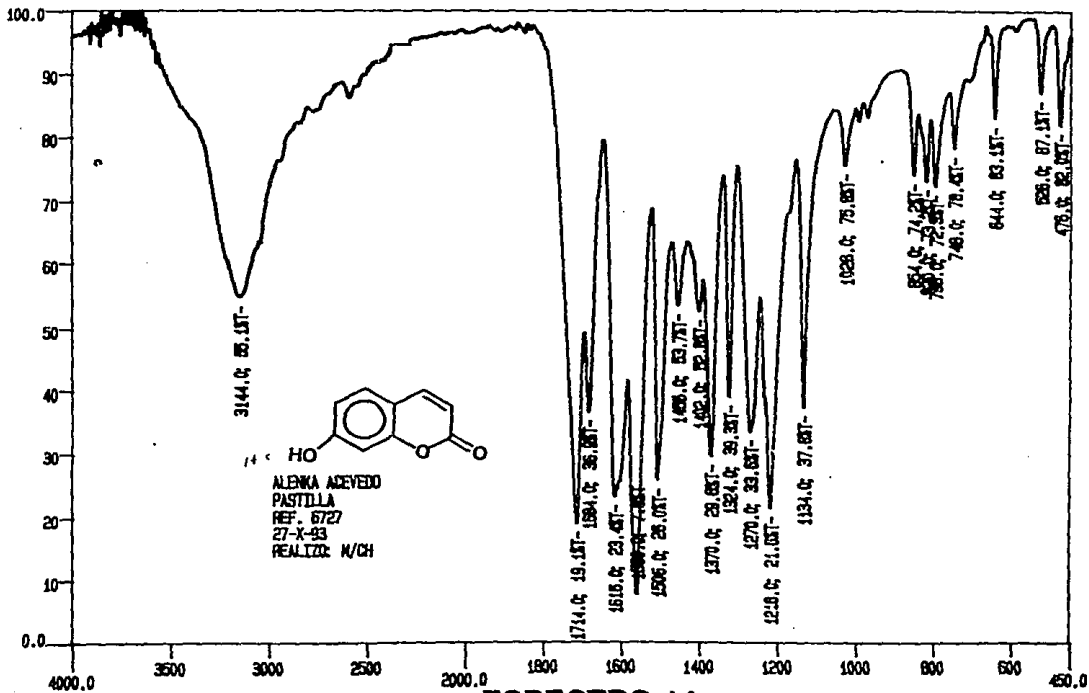
ST



ESPECTRO 12

CH-1

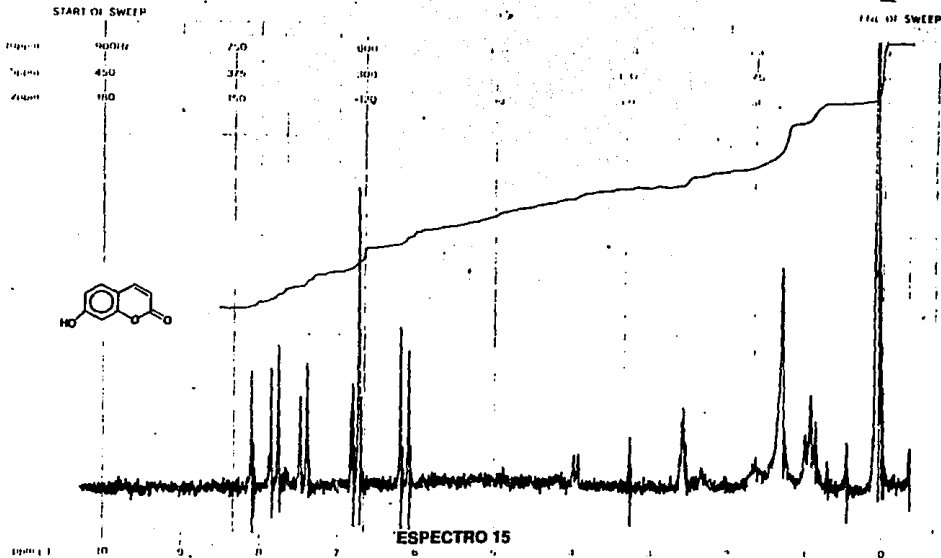
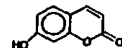
BT



ESPECTRO 14

04-1

Varian Instrument Division



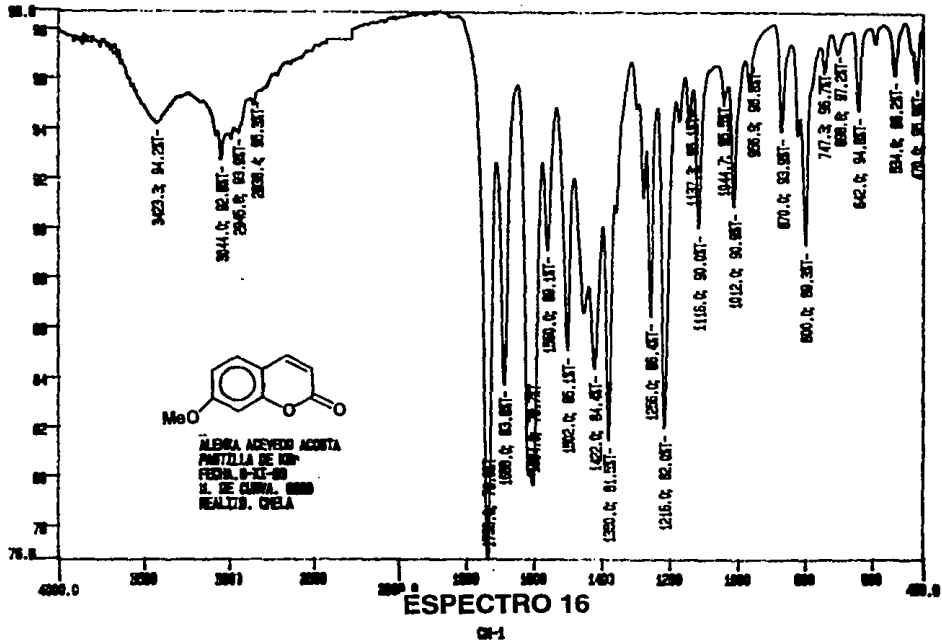
DATE	10/16/92	OPERATOR	...
EXPT NO.	...	SWEEP TIME	5
PROB	...	SWEEP WIDTH	...
...

Handwritten notes: *coumarin 6*, *10-16-92*, *...*

EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

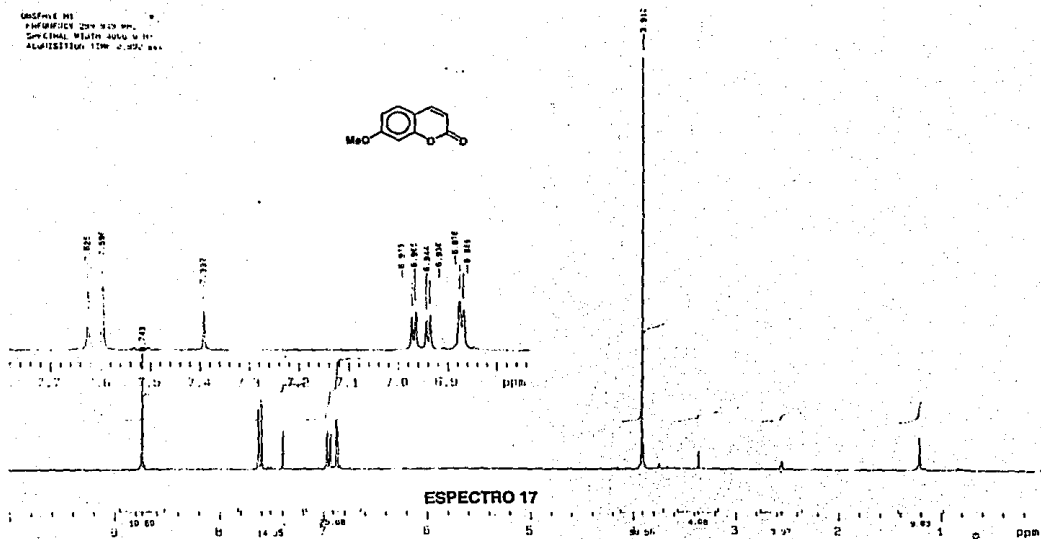
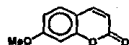
ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

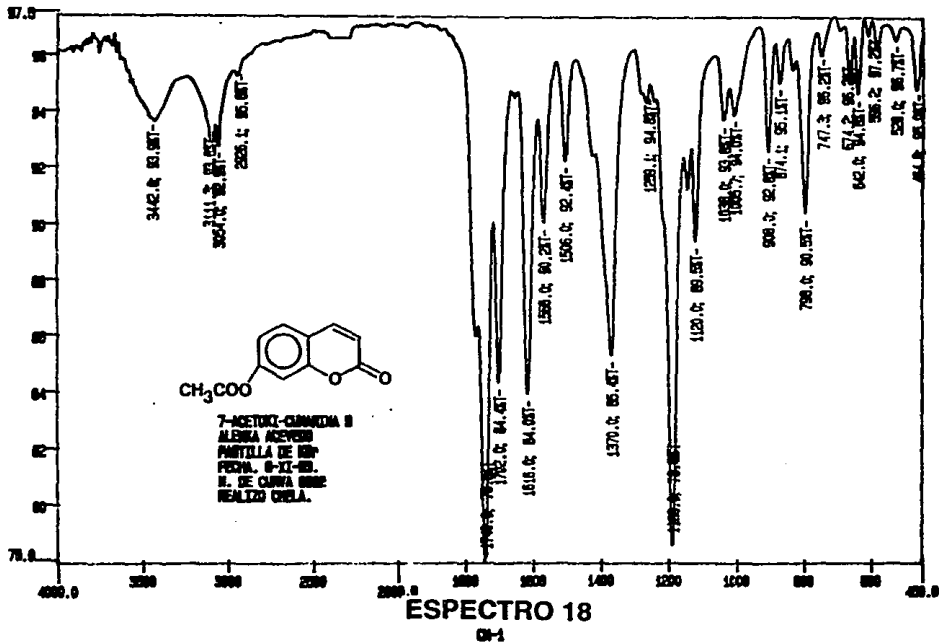
14

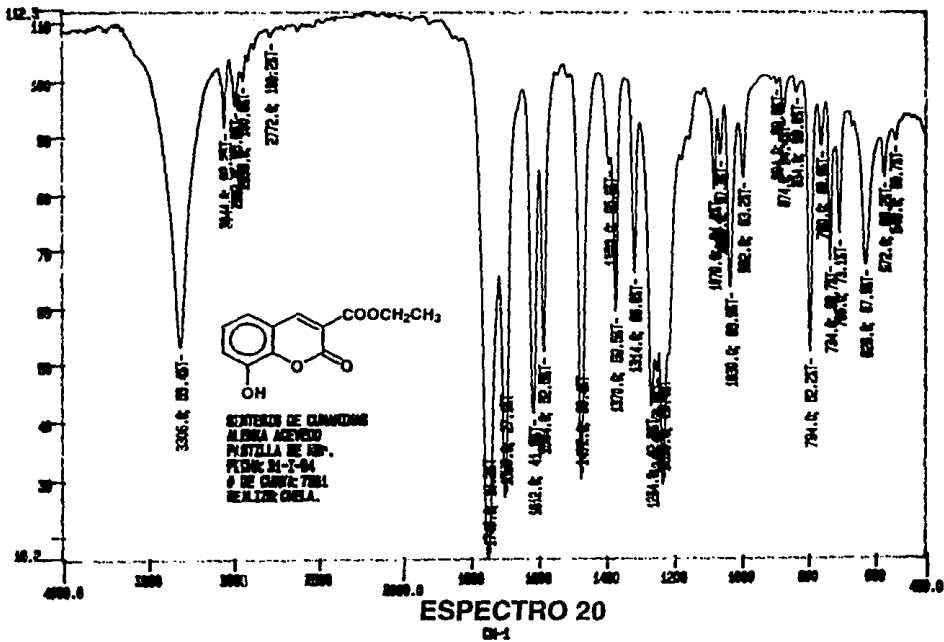


A1 (CUC12)(CUC1) - Pa E. Santos NG

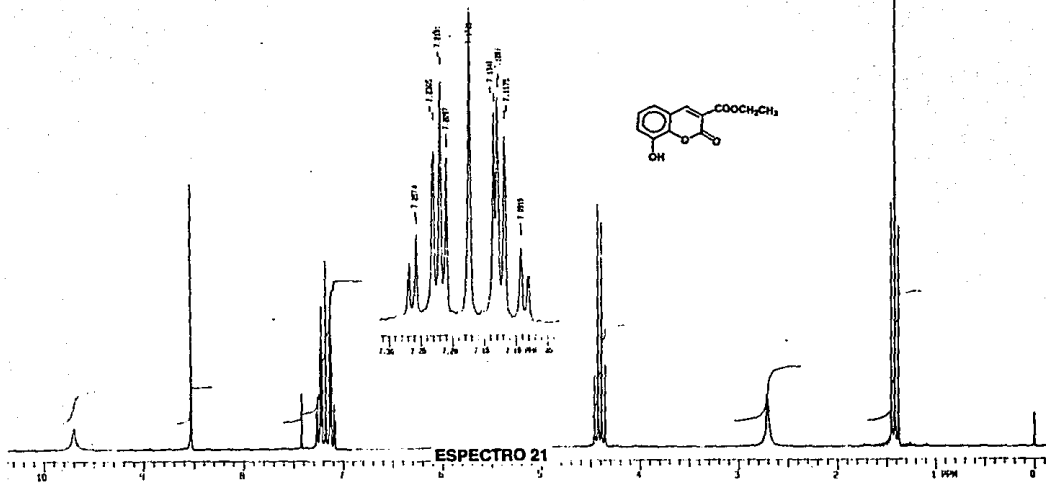
005F-414 MS
PROMPTIC 200 919 mm.
SOLVENT: MeOH d₄ 0.1
ACQUISITION: 120 0.250 sec



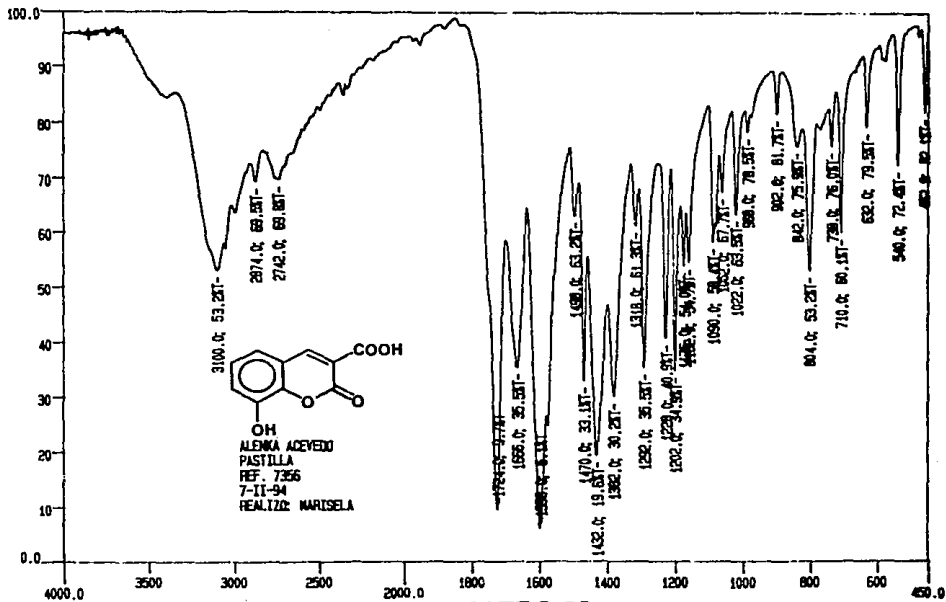




LACTINA A 440



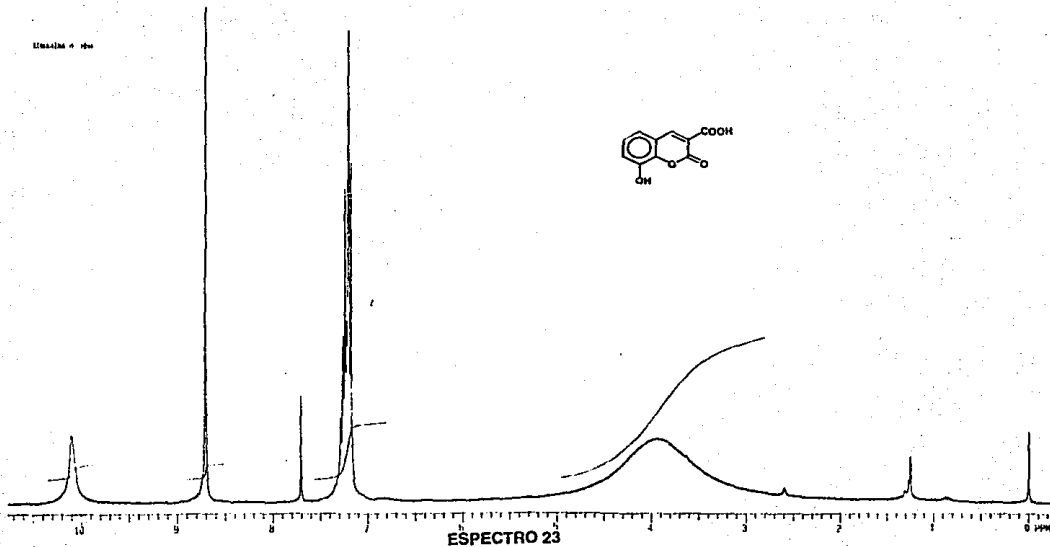
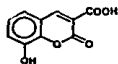
11



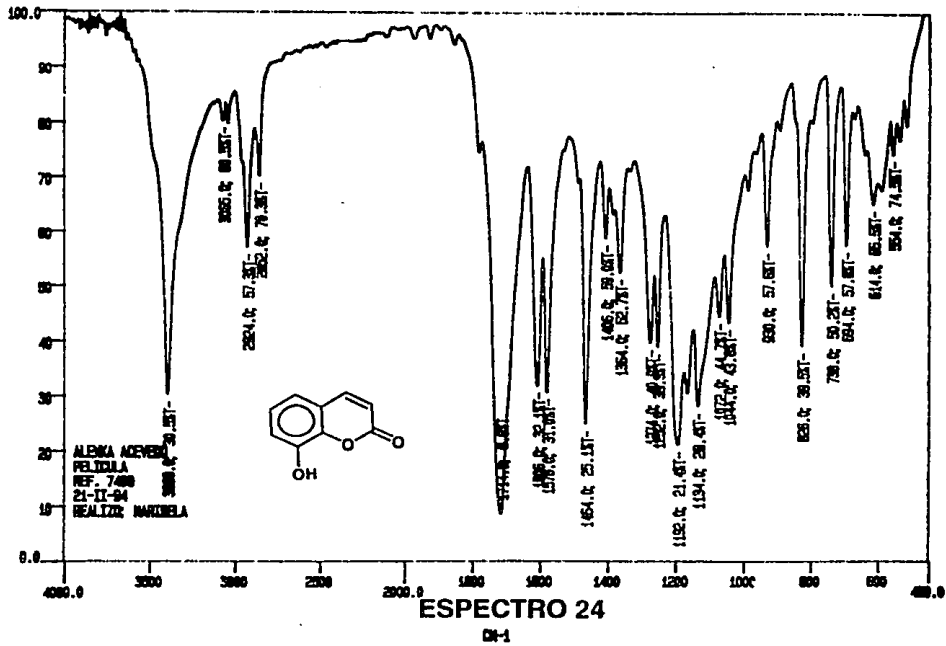
ESPECTRO 22

CP-1

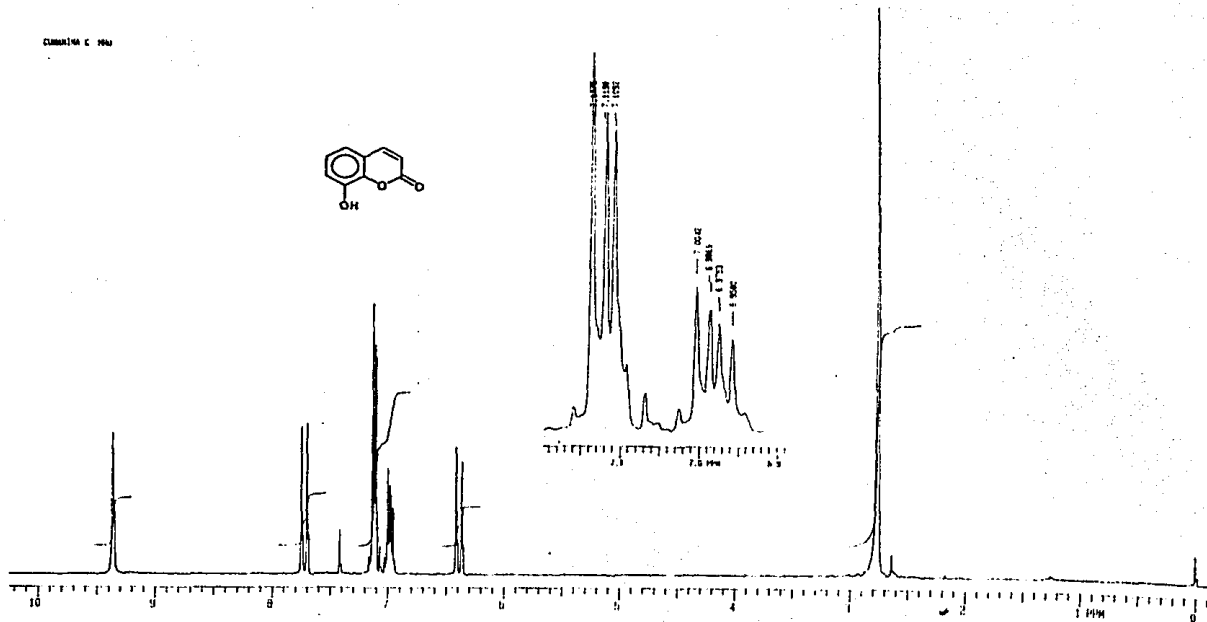
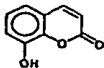
Uracilina + H₂O



BT

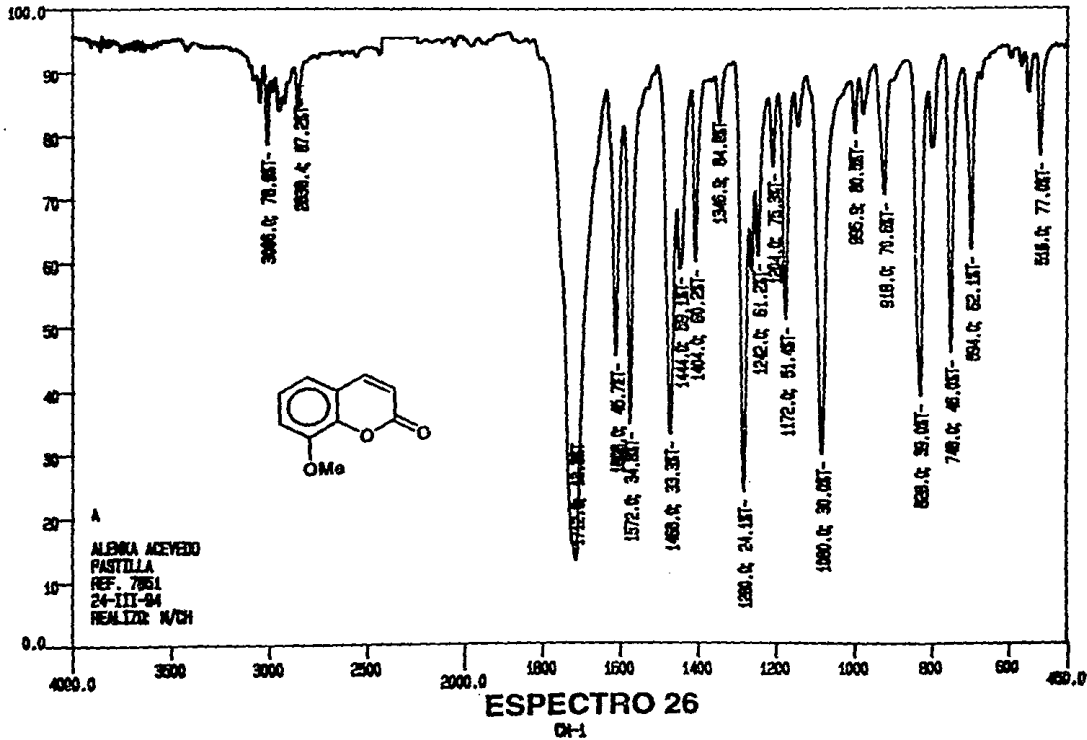


CLM 104 K 100

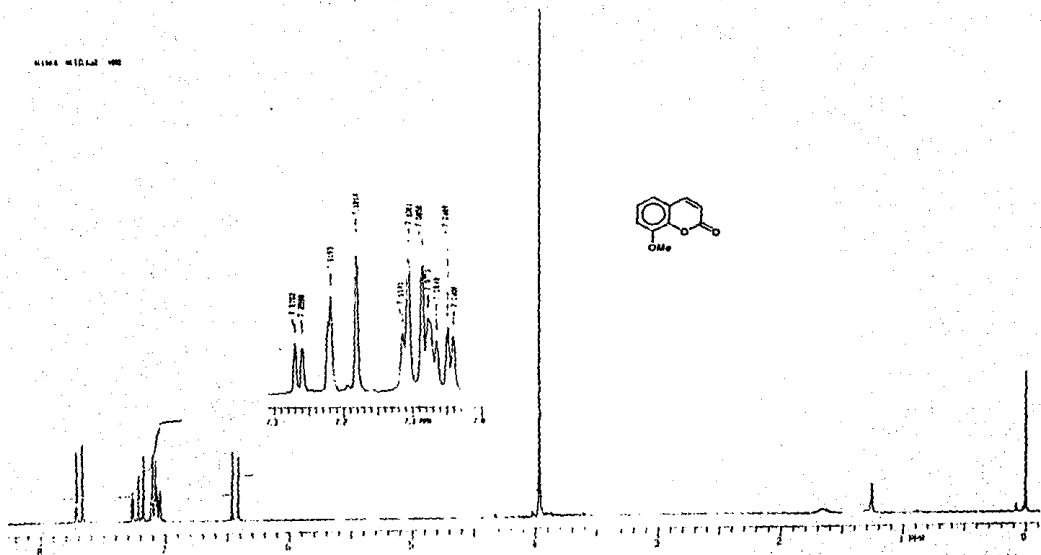


ESPECTRO 25

BT

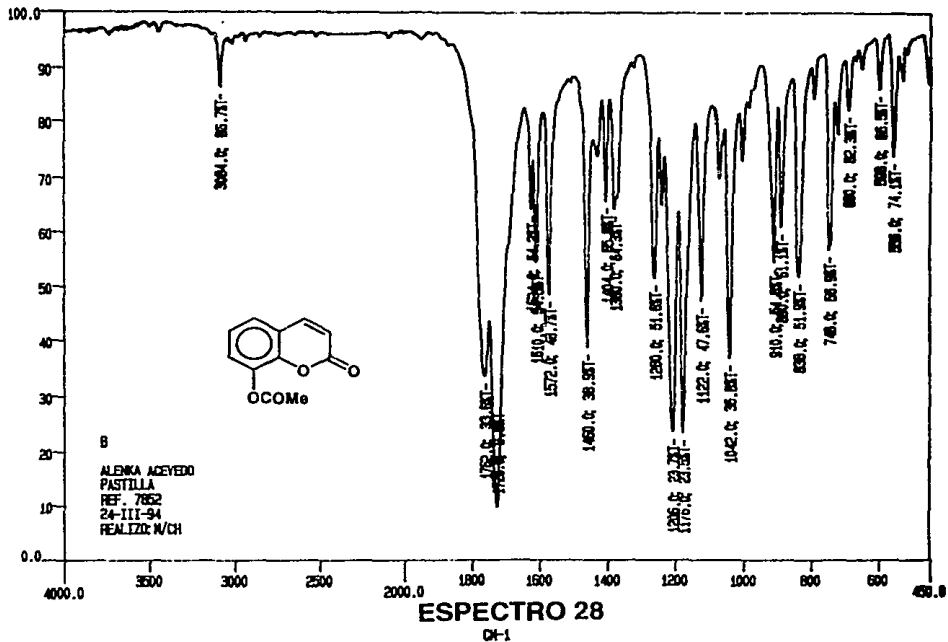


NIMA W10244 400

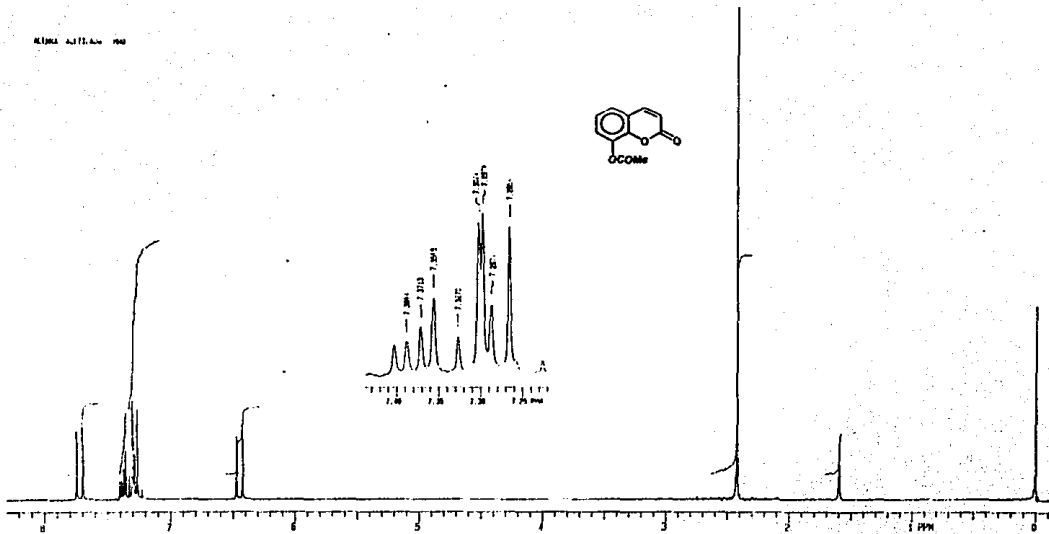


ESPECTRO 27

17

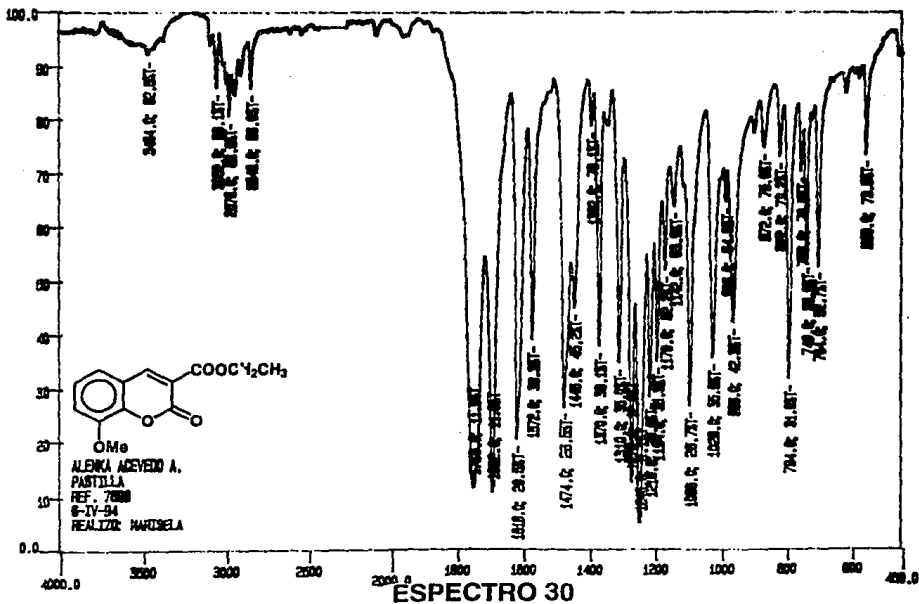


KLIMA A311.44 90



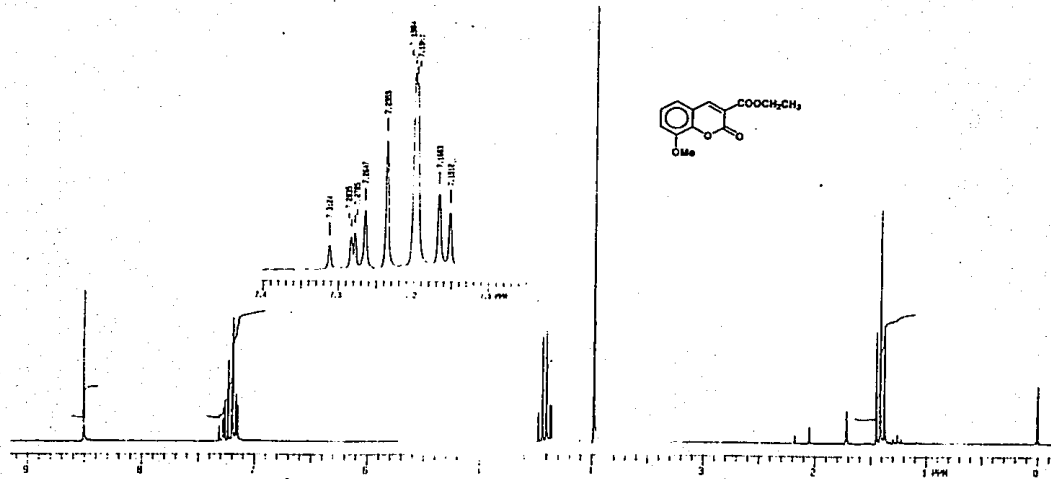
ESPECTRO 29

BT



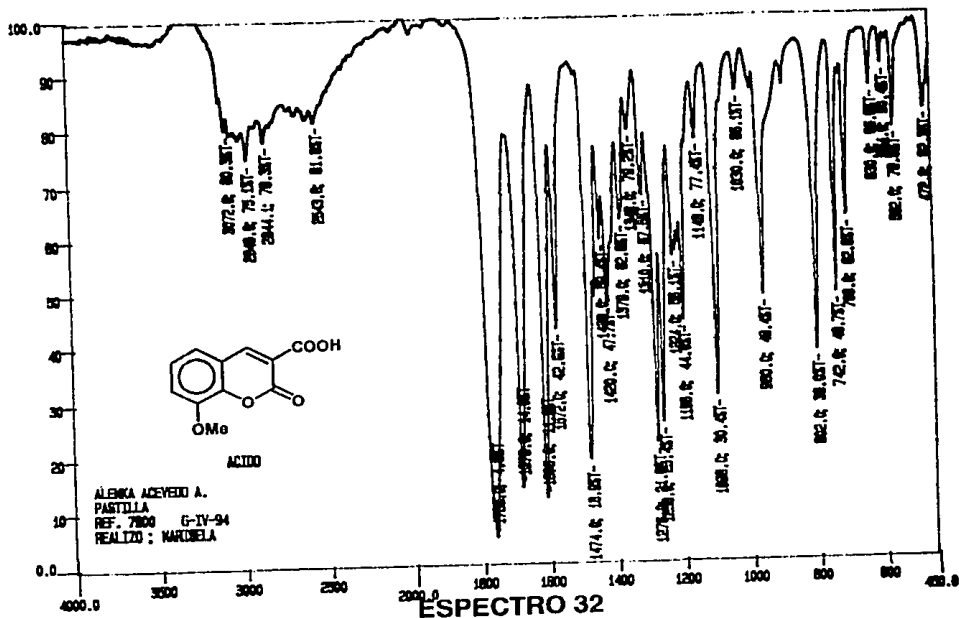
CH-1

MEMA ESTER 196



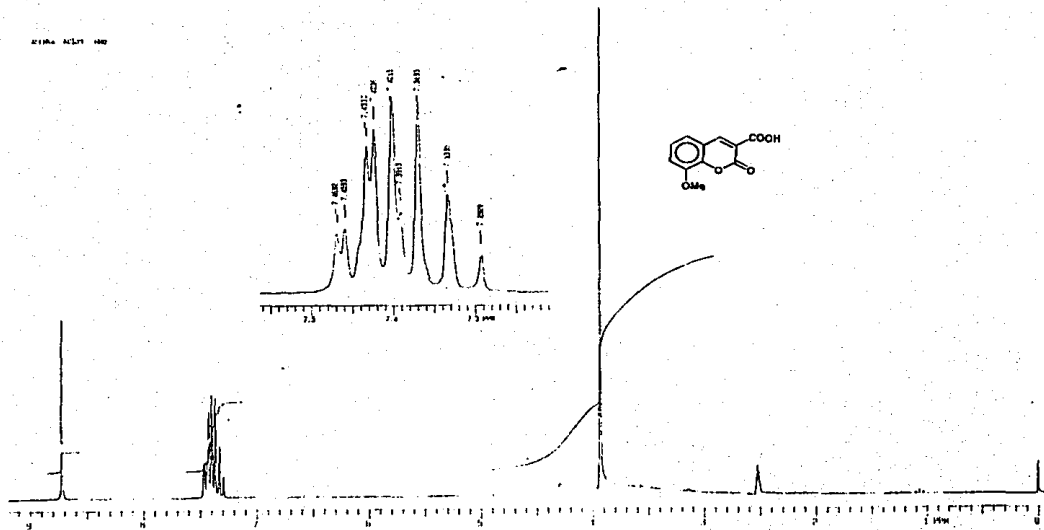
ESPECTRO 31

57



DI-1

2100 AC101 100



ESPECTRO 33