

20  
223



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"ESTUDIO SOBRE LA SINTESIS DE LA  
6-HIDROXICUMARINA Y DERIVADOS DE LA MISMA "



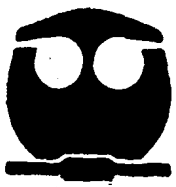
**T E S I S** EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
Q U I M I C A  
P R E S E N T A :  
L E T I C I A J U A R E Z R O J A S

**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 : Prof. ROCIO POZAS HORCASITAS**

**Vocal : Prof. JOSE MANUEL MENDEZ STIVALET**

**Secretario : Prof. FERNANDO LEON CEDEÑO**

**1er. suplente : Prof. ALEJANDRINA ACOSTA HUERTA**

**2do. suplente : Prof. BLAS FLORES PEREZ.**

**Sitio donde se desarrollo el tema :  
LAB. 203, DEPg., Facultad de Química.**

**Asesor del tema :**



---

**Q. FERNANDO LEON CEDEÑO**

**Sustentante :**



---

**LETICIA JUAREZ ROJAS**

***Este trabajo esta dedicado con un inmenso  
agradecimiento a mis padres de los cuales  
he recibido siempre amor, respeto y apoyo:***

***Angelina Rojas***

***Lázaro Juárez***

***A mis hermanos, por su incondicional ayuda:***

***Ma. Luisa, Daniel, Lázaro, Silvia y J. Gabriel.***

***Con cariño a mis sobrinos:***

***Chucho, el pequeño Angel, Ericka, Berenice y Sandy.***

***A la memoria de mis abuelitos: Clara, Flora, Teofanes y Fermin.***

***A Pepé por que siempre estuvo ahí.***

***A mis amigos de la generación.***

***A Martha, Odilia, Alejandra y Lucy.***

***A mis amigos del Laboratorio 203:***

***Juan, Marú, Nidia, Daniel y Martha.***

## **AGRADECIMIENTOS**

Con admiración, respeto y mi más sincero agradecimiento al Q. Fernando León Cedeno por su valioso asesoramiento en el desarrollo de este trabajo.

A la Dra. Rocío Pozas Horcasitas y al M. en C. José Méndez Stivalet por sus comentarios y sugerencias al presente trabajo.

A las siguientes personas por su valiosa colaboración:

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

Alejandrina Acosta Huerta por la elaboración de RMN H<sup>1</sup>.

A la UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.

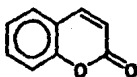
## INDICE

	PAGINA
INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES	5
RESULTADOS Y DISCUSION	30
PARTE EXPERIMENTAL	57
CONCLUSIONES	66
BIBLIOGRAFIA	67



## INTRODUCCION

Desde el punto de vista de su constitución química las cumarinas y sus derivados son un grupo de lactonas derivadas del ácido o-hidroxicinámico; se ha establecido que la cumarina esta formada por la fusión de un benceno y un anillo 1,2-pirano, es decir, las cumarinas son una clase de compuestos heterocíclicos que contienen oxígeno<sup>1</sup>.



Cumarina

La cumarina se encuentra en la naturaleza como constituyente de algunas plantas, y ha sido usada extensivamente como saborizante. Así mismo, se ha reportado y también se ha investigado su efecto tóxico y su metabolismo en ratas y conejos<sup>2</sup>. Varios de sus derivados son farmacológicamente activos y se les incluye como drogas anticoagulantes, raticidas e insecticidas<sup>3</sup>.

En los pacientes con cáncer, la desaparición espontánea del mismo es uno de los casos poco comunes en Medicina, y es frecuente citar como evidencia que el sistema inmune (la principal defensa natural del cuerpo en contra de virus y otros "extraños invasores" incluyendo transplantes de órganos) puede algunas veces enfrentar por sí mismo un ataque en contra del cáncer. Tal evidencia ha estimulado a varios investigadores, para buscar inmunoterapias en contra del cáncer, las cuales consisten en tratamientos encausados a incrementar la habilidad natural del sistema inmune para eliminar

células cancerosas. Una característica de estas células es que se dividen incontrolablemente y pueden separarse del tumor original continuando su crecimiento en otros tejidos.

La inmunoterapia puede ser compleja, costosa y asociada con varios efectos muy severos. Hasta ahora, los métodos para tratar los efectos del cáncer caen dentro de los 3 métodos tradicionales: a) cirugía para remover tumores, b) radiación para disminuir o destruir cánceres localizados que no son tratables por cirugía y c) la quimioterapia (sistema de inyección de drogas para destruir el crecimiento canceroso en todo el cuerpo).

La necesidad de nuevos tratamientos es muy grande. Cada uno de los tratamientos, por sí mismo ó en conjunto (la cirugía, la radiación y la quimioterapia) sanan el cáncer en casi la mitad de los pacientes en que se desarrolla. Pero aún así la incidencia de cáncer y por lo tanto del número de muertes permanece alta. Las estadísticas indican que la enfermedad se presenta en uno de cada cuatro individuos.

La inmunoterapia es particularmente un recurso adicional a los tratamientos ya existentes, en parte porque es parecida a la quimioterapia, y puede ser proyectada sistemáticamente para planear su uso en un tratamiento contra el cáncer.

El sistema inmune es selectivo ya que ataca normal y únicamente a células enfermas, ignorando a las sanas. De ahí que las inmunoterapias podrían planear su uso en un tratamiento contra un cáncer más específico que las quimioterapias, que frecuentemente destruyen células indiscriminadamente.

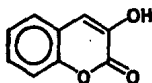
Los agentes estimulantes de los procesos inmunitarios son potencialmente de una utilidad excepcional en el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por bacterias, virus y hongos, así como en las neoplasias malignas (cánceres). Estos agentes tendrían la ventaja de no requerir el

diagnóstico previo de cuál es el agente causal de la infección, ni la determinación de su sensibilidad a los diversos antibióticos o agentes quimioterapéuticos, ya que no deprimiría al sistema inmunológico<sup>5</sup>.

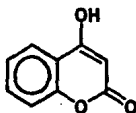
Desafortunadamente todos los agentes inmunoestimulantes disponibles en la actualidad, son poco potentes, por lo que su uso está muy restringido. Si se contara con un agente de gran potencia, los pronósticos de las enfermedades infecciosas de todo tipo, así como las neoplásicas, tratadas con dicho estimulante, mejorarían radicalmente, y los costos de dichos tratamientos se reducirían a una fracción mínima de los costos actuales.

Se ha demostrado que la cumarina y derivados de la misma tienen un efecto retardante en la evolución de neoplasias malignas en humanos, y estimulan, tanto *in vivo* como *in vitro*, diversos parámetros del sistema inmune lo que puede explicar su actividad antineoplásica. Estas acciones estimulantes se han observado también en sujetos sanos y en animales de laboratorio.

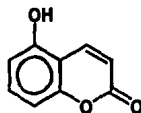
La cumarina se biotransforma en roedores y humanos a compuestos hidroxilados<sup>1,2</sup> en las posiciones 3, 4, 5, 6, 7 y 8.



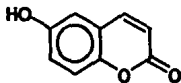
3-hidroxicumarina



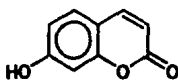
4-hidroxicumarina



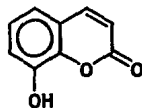
5-hidroxicumarina



6-hidroxicumarina



7-hidroxicumarina



8-hidroxicumarina

Es posible que alguna(s) de estas cumarinas tenga(n) una actividad inmuno-estimulante y antineoplásica mayor que la cumarina misma<sup>4</sup>.

Este trabajo forma parte de un proyecto multidisciplinario en el que participan la Facultad de Medicina a través de su Departamento de Farmacología, el Instituto Nacional de Cardiología a través de su Departamento de Biología Celular y la Facultad de Química a través de su Departamento de Química Orgánica, y cuyo objetivo es llevar a cabo la síntesis de las hidroxycumarinas ya mencionadas y sus derivados metoxilados y acetoxilados, con el fin de llevar a cabo estudios farmacológicos para determinar su efecto estimulante en líneas tumorales y en células cancerosas inducidas en ratón, con el objeto de identificar los compuestos más activos. En particular en este trabajo se reportan los estudios sintéticos para obtener la 6-hidroxycumarina, además de sus derivados metoxilado y acetoxilado. La valoración biológica, en sus diferentes aspectos se realizará por los participantes de este proyecto en la Facultad de Medicina y en el Instituto Nacional de Cardiología.

## 2. ANTECEDENTES

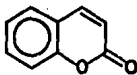
### 2.1 USOS DE LAS CUMARINAS

La aplicación de las cumarinas es muy amplia, y a continuación se comentan algunos usos:

- a) Saborizante
- b) Perfumería
- c) Raticidas
- d) Intoxicación
- e) Propiedades antimicrobianas
- f) Inhibición en el crecimiento de plantas
- g) Actividad inmuno-estimulante

#### 2.1.a. Saborizante

La cumarina fué empleada por los fabricantes de saborizantes para alimento, para aumentar y fijar el sabor y el aroma de éstas sustancias. Así mismo, se le ha empleado para aromatizar la mantequilla y otros alimentos, varias bebidas y el tabaco<sup>6</sup> (Esquema 1).

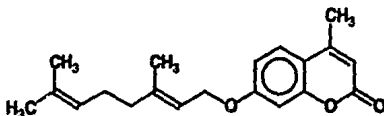


Esquema 1

## 2.1.b. Perfumería

Los fabricantes de perfumes agregan cumarina como fijador y para intensificar el olor de los aceites esenciales.

E.T. Theimer, sintetizó un éter cumarínico cuyas características son: ser incoloro, estable, inodoro, no irritante, así como ser efectivo contra las quemaduras del sol, por lo que fué incorporado en la preparación de cosméticos<sup>7</sup> (Esquema 2).

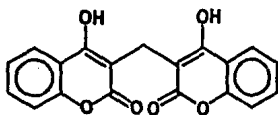


Esquema 2

## 2.1.c. Raticidas

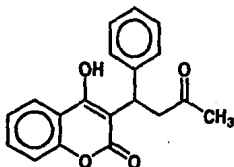
Se han empleado como raticidas algunas cumarinas que actúan interfiriendo en la coagulación de la sangre y por lo tanto causan la muerte por hemorragias internas<sup>10</sup>.

El uso de sustancias anticoagulantes se introdujo con el dicumarol (Esquema 3), el cual logró el control de ratas pues probó ser un fuerte raticida. Sin embargo se tuvo que restringir su uso debido a que se presentó el envenenamiento de los animales que consumían las ratas muertas.



**Esquema 3**

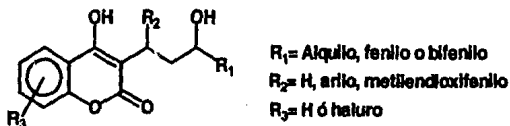
Así mismo la Warfarina es otro derivado de la cumarina que es muy eficaz. Una sola ingestión rara vez es fatal, pero sí los roedores la ingieren por un mínimo de 3 días mueren por hemorragias internas (Esquema 4).



**Warfarina**

**Esquema 4**

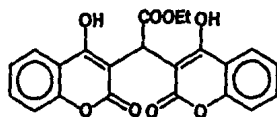
Otros raticidas son derivados de la 4-hidroxicumarina, los cuales producen una disminución en la producción de trombosis en el animal<sup>11</sup>. Se sintetizaron aproximadamente 29 compuestos de estructura semejante. (Esquema 5).



Esquema 5

#### 2.1.d. Intoxicación

En humanos, la causa de los accidentes producidos por las cumarinas, especialmente las hemorrágicas, obedecen a un exceso de dosis. La droga más peligrosa es el dicumarol (bis-hidroxycumarina) (Esquema 3), por su acción prolongada. La menos tóxica es el bis-cumacetato de etilo (Esquema 6).



Bis-cumacetato de etilo

Esquema 6

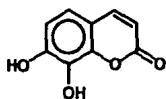
Los trastornos hemorrágicos más importantes que se manifiestan son epítaxis, encías sangrantes, hematésis, necrosis hemorrágica con taponamiento cardíaco que puede ser mortal, equimosis y necrosis hemorrágica en los miembros inferiores y en la mama en la mujer.



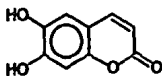
Además de las hemorragias descritas, pueden presentarse otros trastornos, generalmente leves, que consisten en náuseas, vómitos, cólicos y diarrea<sup>12</sup>.

### 2.1.e. Propiedades antimicrobianas

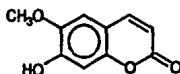
Las propiedades antimicrobianas de algunos derivados de la cumarina han sido estudiados. Los derivados estudiados fueron: la 7,8-dihidroxicumarina (A), la 6,7-dihidroxicumarina (B), la 6-metoxi-7-hidroxicumarina (C), la 6-hidroxicumarina (D) y la 8-hidroxicumarina (E) (Esquema 7).



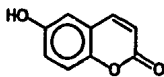
A



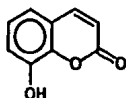
B



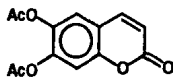
C



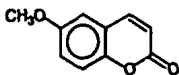
D



E



F



G

Esquema 7

De éstas sustancias, la 7,8-dihidroxicumarina y la 6,7-dihidroxicumarina presentaron actividad bactericida, pero no afectaron el crecimiento de los hongos que también fueron estudiados. La 6,7-diacetoxicumarina (F), también mostró efecto bactericida. La 6-metoxi-7-hidroxicumarina no mostró efecto bactericida, aunque inhibió el crecimiento de los mohos de *Penicillium chrysogenum*. La 6-hidroxicumarina fué completamente inefectiva contra todas las bacterias y hongos estudiados, con la excepción de *Botrytis cinerea*. La 6-metoxicumarina (G) inhibió el crecimiento de todas las bacterias y mohos estudiados. La 8-hidroxicumarina no mostró actividad contra las bacterias y hongos estudiados <sup>13</sup>.

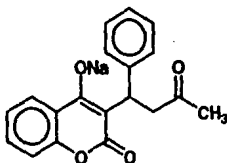
#### **2.1.f. Inhibición en el crecimiento de plantas**

Se ha observado que la cumarina causa inhibición en el crecimiento de las semillas de lechuga cuando se les aplica en concentraciones de 10 a 50 ppm.<sup>8</sup>

Por otro lado, se ha reportado que en semillas de arroz y retoños (plantas de semillero), la adsorción de oxígeno por las plantas jóvenes era inhibida por la 4-hidroxicumarina, pero no por la cumarina. Esta última incrementa la respiración en concentraciones de  $5 \times 10^{-4}$  y  $5 \times 10^{-3}$  M.<sup>9</sup>

### 2.1.g. Actividad Inmuno-estimulante

De acuerdo a los resultados obtenidos en estudios clínicos controlados, se ha mostrado que anticoagulantes orales pueden administrarse sin peligro por períodos largos. Estos estudios se practicaron a 96 pacientes con cáncer avanzado, 15 de los 96 pacientes que fueron tratados, sobrevivieron 2 años. Posteriormente, en un experimento controlado con la sal de sodio de la Warfarina, en 128 casos de cáncer recurrente se mostró que se alargan los 2 años de sobrevivencia (tiempo medio de sobrevivencia) a casi el doble<sup>14</sup>.



**Sal de sodio de la Warfarina**

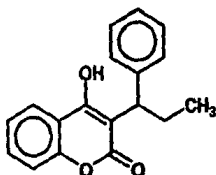
#### **Control experimental de la sal de sodio de la Warfarina como una terapia auxiliar en cáncer recurrente.**

	No.	Pacientes	
		Vivos	Muertos
Warfarina	64	26 (40.6%)	38 (59.4%)
Control	64	11 (17.8%)	53 (82.2%)

De la evidencia presentada, puede parecer que la Warfarina puede ser usada en la quimioterapia y así podría disminuir lentamente el crecimiento de tumores.

De esta manera, ésta puede ser usada como un auxiliar en el tratamiento de cáncer periodico, en combinación con la quimioterapia<sup>4</sup>.

En otras investigaciones se estudiaron los efectos de otro derivado de la cumarina, el Fenprocumon, sobre extensas colonias cancerosas (inducidas) y se mostró que esta droga fue capaz de reducir el número de éstas, tanto en animales anticoagulados como en animales que tuvieron una capacidad normal de coagulación despues de la administración de anticoagulantes dependientes de la vitamina K. Estos hallazgos son fuertemente fundamentados en el modo de acción del Fenprocumon, el cual es independiente de la coagulación de la sangre, sugiriendo una única propiedad farmacológica de las cumarinas<sup>5</sup>.



Fenprocumon

La cumarina tal cual, compuesto con poca actividad anticoagulante se le ha utilizado sola o en combinación con otros farmacos, en el tratamiento de melanomas y carcinomas renales metastásicos en humanos<sup>3</sup> en los cuales se ha reducido la tasa de recurrencia durante la terapia así como durante la estabilización de la enfermedad después del tratamiento.

En resumen, se ha demostrado que varias cumarinas tienen un efecto retardante de la evolución de neoplasias malignas en humanos, y estimulan tanto *in vivo* como *in vitro*, diversos parámetros en la actividad del sistema inmune, lo que puede explicar su actividad antineoplásica. Estas acciones

estimulantes se observan también en sujetos sanos y en animales de laboratorio.

Como ya se mencionó, la cumarina se biotransforma en roedores y en humanos en compuestos hidroxilados en las posiciones 3,4,5,6,7 y 8. Es posible que alguna(s) de estas hidroxycumarinas tengan una actividad antineoplásica e inmunestimulante mayor que la cumarina misma<sup>15</sup>, de ahí la importancia que tiene el proyecto multidisciplinario del cual forma parte este trabajo.

## 2.2 SINTESIS DE CUMARINAS Y SUS DERIVADOS

Los métodos sintéticos generales para la obtención de cumarinas se pueden clasificar de acuerdo al tipo de sustratos y reactivos.

Su clasificación se hará en base a los distintos sustratos, los cuales se mencionaran a continuación.

A partir de : 2.2.1. o-hidroxibenzaldehído

2.2.2. Fenoles\*

2.2.3. Cumarinas\*

2.2.4. Hidroxicinamatos\*

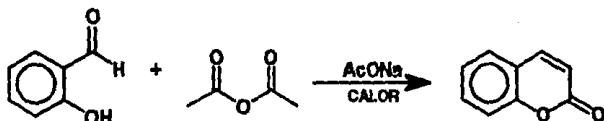
2.2.5. Constituyentes en plantas\*

2.2.6. Quinonas

\* Síntesis reportada para la 6-hidroxycumarina.

## 2.2.1. SINTESIS A PARTIR DE O-HIDROXIBENZALDEHIDOS

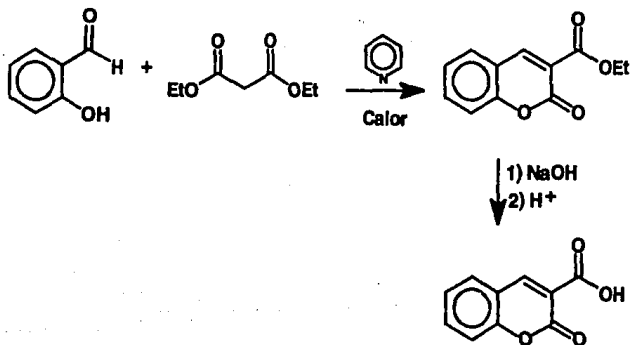
**2.2.1.A** Esta es la síntesis clásica descubierta por W.H. Perkin<sup>16</sup>, el cual obtuvo la cumarina por calentamiento de anhídrido acético, salicilaldehído y acetato de sodio anhidro (Esquema 8).



Esquema 8

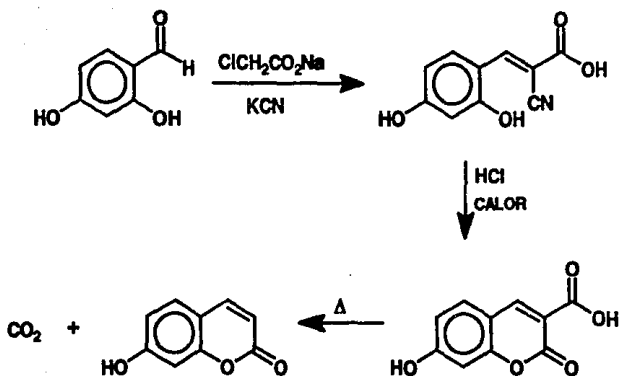
**2.2.1.B** Una reacción similar a la de Perkin es la condensación de E. Knoevenagel, la cual está definida como la reacción entre un aldehído (o-hidroxibenzaldehídos particularmente para la obtención de cumarinas) o una cetona y cualquier compuesto que contenga un grupo metileno activado, en presencia de una base orgánica. La activación del grupo metileno es debido a un enlace directo de un grupo como: nitro, ciano o acilo, y en la mayoría de los casos dos grupos de éstos son requeridos para propiciar una suficiente activación<sup>17</sup>.

Así, la condensación del o-hidroxibenzaldehído con malonato de dietilo en piridina da la correspondiente 3-etoxicarbonilcumarina, cuya hidrólisis básica (solución de NaOH al 10%) da lugar al ácido 3-cumaríncarboxílico (Esquema 9).



Esquema 9

Un ejemplo de esta aproximación sintética se encontró en la síntesis de la (2-<sup>14</sup>C)-7-hidroxicumarina<sup>18</sup>. Así, el 2,4-dihidroxibenzaldehído se hizo reaccionar con el ión cianoacetato, generado in situ con la mezcla de las soluciones de cloroacetato de sodio y cianuro de potasio <sup>14</sup>C. El producto de la condensación (86%), fué calentado a reflujo con HCl al 4% por 30 minutos para dar el ácido 3-(7-hidroxicumarin)carboxílico (95%), el cual fué descarboxilado para dar la 7-hidroxicumarina (Esquema 10).

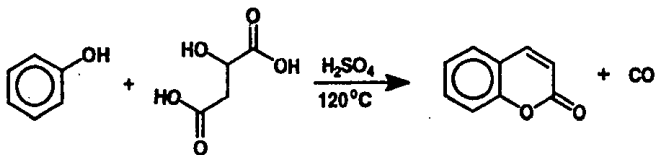


Esquema 10

## 2.2.2 CONDENSACION A PARTIR DE FENOLES

**\*2.2.2.A** Un método alternativo que supera el problema asociado con la obtención de los o-hidroxibenzaldehídos es la síntesis de Pechmann. En está, un fenol es condensado con ácido málico o un  $\beta$ -cetoéster en la presencia de ácido sulfúrico concentrado<sup>19</sup> (Esquema 11).

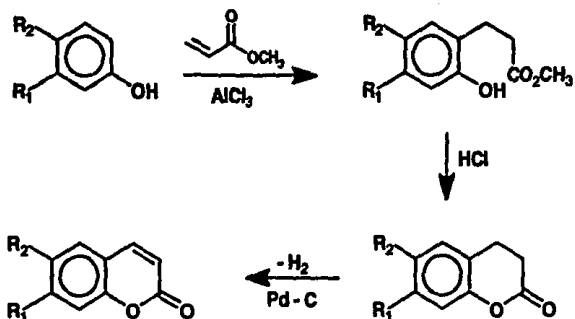




**Esquema 11**

Se encontró que la reactividad con fenoles sustituidos depende de la naturaleza y de la posición de los sustituyentes en el fenol. Los grupos alquilo tienen un efecto inhibitorio muy pequeño en la reacción, mientras que con los halógenos este efecto se ve incrementado. Cuando los sustituyentes electroattractores de electrones, como el grupo nitro o el grupo carbonilo están presentes, la reacción no sucede. En general se muestra que con sustituyentes electroattractores no ocurre la condensación. Con respecto a la posición de los sustituyentes en el anillo, se muestra una tendencia en la cual cuando la posición meta está sustituida la condensación ocurre rápidamente, pero con los compuestos con sustituyentes en posiciones orto y para son casi inertes.

**\*2.2.2.B** A través de la reacción de fenoles dihidricos con acrilato de metilo en la presencia de HCl (gas) y tricloruro de aluminio anhidro, se obtienen las 3,4-dihidrocumarinas, las que por una posterior deshidrogenación catalítica (Pd/C) en difenil éter o con yodo y acetato de potasio en ácido acético glacial, dan lugar a las 5-, 6- y 7-hidroxycumarinas (Esquema 12).



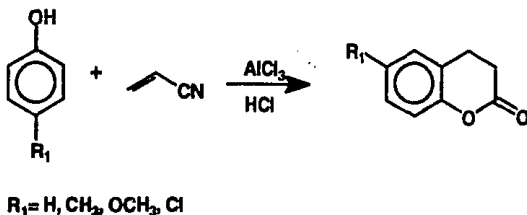
	$R_1$	$R_2$
a)	OH	H
b)	H	OMe
c)	OH	$\text{CO}_2\text{Me}$

**Esquema 12**

La condensación con hidroquinona para la síntesis de la 6-hidroxycumarina realizada por Das Gupta no se llevó a cabo, no obstante que ésta se llevó a cabo a varias temperaturas (0-180°C), usando dioxano y nitrobenzeno<sup>20</sup>.

**2.2.2.C** Otra síntesis, similar a la anterior, para obtener dihidrocumarinas y posteriormente realizar su deshidrogenación, es la reacción de acrilonitrilo con fenol o fenoles sustituidos en para, en presencia de tricloruro de aluminio y HCl (gas), dando buenos rendimientos de dihidrocumarinas.

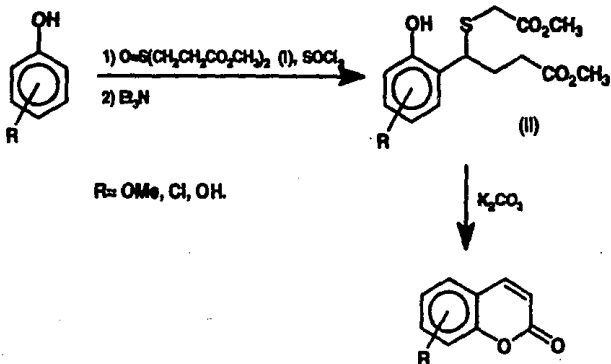
sustituidas en la posición 6. Sin embargo, la reacción no procede con fenoles que están bastante desactivados por grupos electroatrayentes<sup>21</sup> (Esquema 13).



Esquema 13

**\*2.2.2.D** Se ha descrito, que empleando la orto alquilación selectiva de fenoles con varios sulfóxidos activados por cloruro de tionilo ( $SOCl_2$ ) ó con cloro sulfonato de fenilo ( $ClSO_2$ fenilo) como primer paso, el fenol alquilado será ciclizado para dar cumarinas<sup>22</sup>.

De esta forma la reacción de 3,3'-sulfonildipropionato de dimetilo (I) y fenoles, dará lugar a los fenoles alquilados (II). La ciclización del compuesto (II) se lleva a cabo con carbonato de potasio en acetona como disolvente, dando varias cumarinas (Esquema 14).

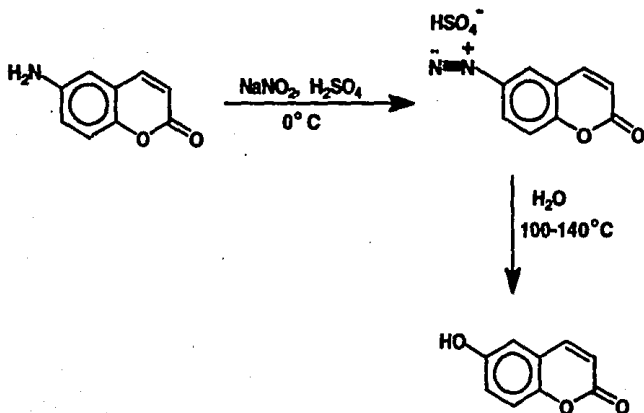


Esquema 14

### \*2.2.3 REACCIONES DE CUMARINAS

La formación de la sal de diazonio de la 6-aminocumarina permite la sustitución del nitrógeno por el grupo hidroxilo, en una reacción característica de las sales de diazonio.

La reacción de diazoación de la 6-aminocumarina en presencia de  $\text{NaNO}_2$  y  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 60%, a una temperatura de  $0^\circ\text{C}$ , produce la sal de diazonio, la cual al ser tratada con agua y calor ( $100\text{-}140^\circ\text{C}$ ) genera el fenol correspondiente (Esquema 15).

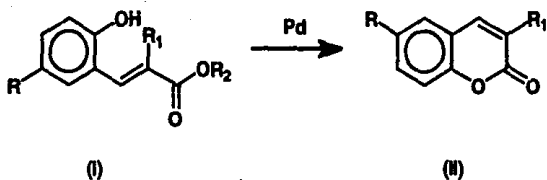


Esquema 15

En este caso, la 6-hidroxicumaina se usa como intermediario en la manufactura de agentes vidriantes para el platinado de níquel, y la cual es obtenida en alto rendimiento<sup>24</sup>.

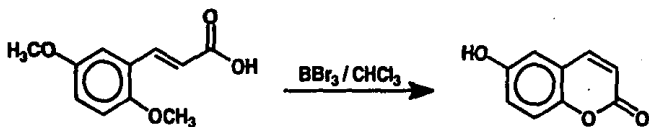
## 2.2.4 REACCIONES DE HIDROXICINAMATOS

\*2.2.4.A. La ciclización de 2-hidroxicinamatos I (  $\text{R} = \text{H}, \text{OH}$ ;  $\text{R}^1 = \text{H}, \text{Me}$ ;  $\text{R}^2 = \text{H}, \text{Me}, \text{Ph}, \text{ciclohexilo}$ ) a el compuesto II ( cumarina y derivados ), fué obtenida por el empleo de metales del grupo VIII como catalizadores (por ejemplo  $\text{Pd}$ )<sup>25</sup> (Esquema 16).



**Esquema 16**

**\*2.2.4.B** Se ha descrito que empleando el ácido 2,5-dimetoxicinámico con  $\text{BBr}_3$  en cloroformo, se obtiene la 6-hidroxicumarina en un rendimiento del 77%. El método es usado para la preparación de otras cumarinas hidroxiladas <sup>26</sup> (Esquema 17).



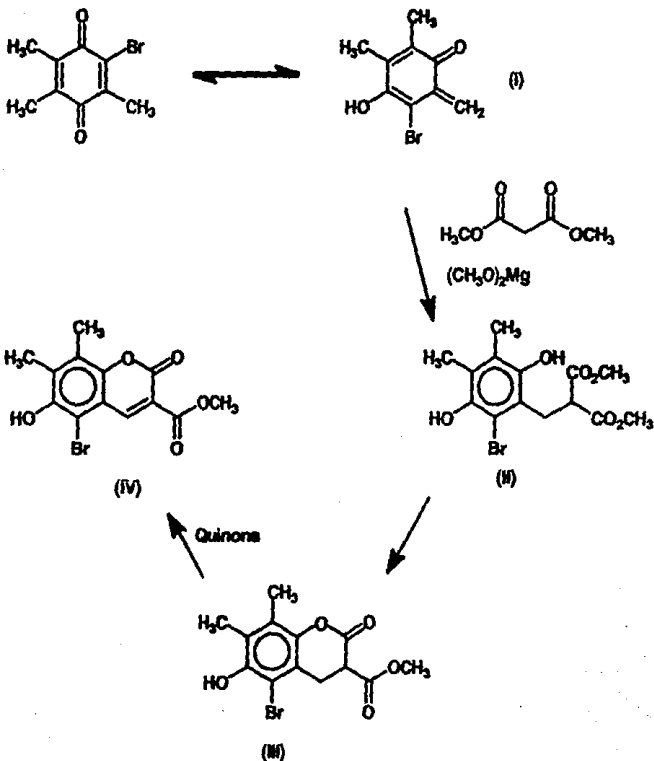
**Esquema 17**

## 2.2.5. CONSTITUYENTE BIOLÓGICO

Aunque si bien no es una síntesis de laboratorio, si vale la pena mencionar que la 6-hidroxicumarina ha sido aislada de las hojas de la *Grevillea robusta*, por lo que puede mencionarse como una fuente natural<sup>27</sup>.

## 2.2.6 REACCIONES CON QUINONAS

La reacción de condensación entre quinonas metiladas y enolatos metálicos, da lugar a las cumarinas correspondientes. Esta involucra 4 etapas: (a) la quinona pasa a su forma enólica (I); (b) una reacción de Michael involucrando la adición del enolato metálico a el nuevo sistema conjugado en I, produce la hidroquinona II; (c) la ciclización de II a una hidrocumarina III; y (d) la deshidrogenación de ésta a la cumarina IV<sup>23</sup> (Esquema 18).



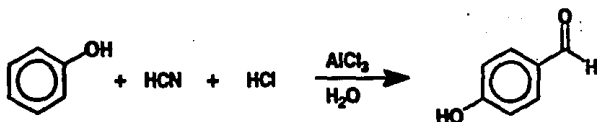
Esquema 18



## 2.3. SINTESIS DE COMPUESTOS ORTO HIDROXIBENZALDEHIDOS

Los o-hidroxibenzaldehídos se pueden sintetizar de las siguientes maneras:

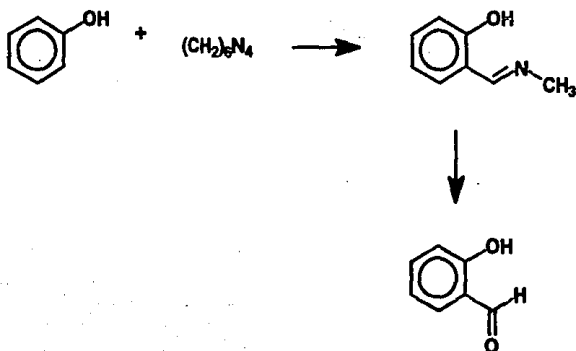
**2.3.1** La reacción de Gattermann, utiliza ácido cianhídrico y HCl (gas), la cual se puede aplicar a fenoles y éteres aromáticos en benceno. Con solo un grupo hidroxilo en el anillo, es recomendable utilizar tricloruro de aluminio como catalizador; pero para fenoles di y tri-sustituídos, en la posición meta la reacción se lleva a cabo con cloruro de zinc anhidro (Esquema 19). La sustitución toma lugar, usualmente, en la posición para<sup>2a</sup> (a menos que este ocupada, la sustitución se llevará en la posición orto).



Esquema 19

**2.3.2.** En esta síntesis el fenol es calentado a elevadas temperaturas por 10-30 minutos, con una mezcla de hexametilentetraamina, ácido bórico y glicerol. El líquido viscoso resultante es acidulado con ácido sulfúrico diluido, y entonces el aldehído puede ser aislado.

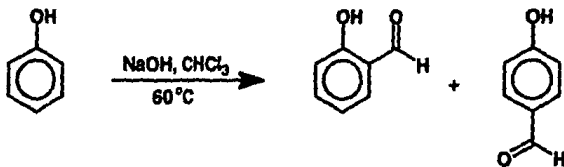
Principalmente se lleva a cabo la sustitución orto (o una pequeña cantidad de disustitución orto-para). Los rendimientos van en promedio del 15 al 20%<sup>29</sup> (Esquema 20).



Esquema 20

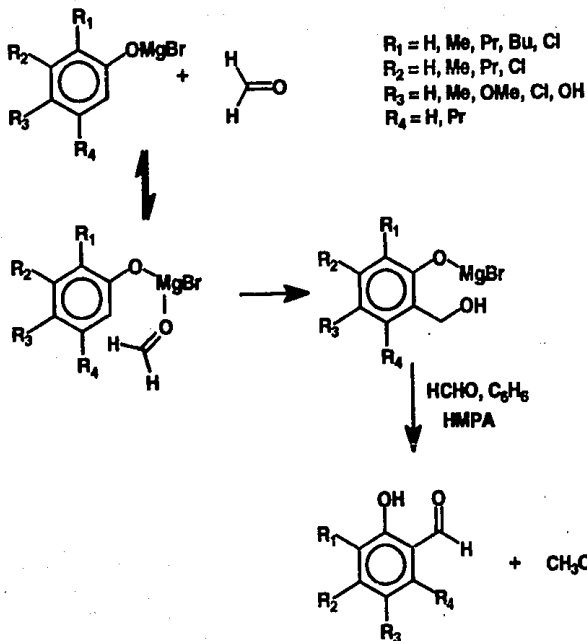
**2.3.3** La reacción de Reimer-Tiemann permite obtener los o-hidroxibenzaldehídos empleando fenol y cloroformo en medio alcalino<sup>30</sup>. Esta reacción tiene la ventaja de que utiliza medio acuoso, en comparación con las 2 anteriores que se llevan a cabo bajo condiciones anhidras y/o ácidas. En la reacción de Gattermann el grupo aldehído usualmente ocupa la posición *para* con respecto al grupo hidroxilo. Sin embargo la síntesis anterior falla con fenoles

polihídricos y fenoles que contengan sustituyentes electrodonadores. La reacción de Reimer-Tiemann es un método de formilación directa de fenoles (Esquema 21).



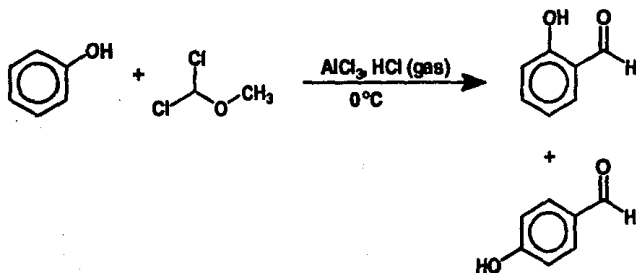
Esquema 21

**2.3.4** La siguiente síntesis implica la reacción de formaldehído con un fenóxido metálico o su complejo con hexametilfosforamida (HMPA) con sustratos alquili sustituidos los cuales son completamente reactivos<sup>31</sup> (Esquema 22).



Esquema 22

2.3.5 Cuando el fenol fué tratado con el diclorometil metil éter I en presencia de un exceso de tricloruro de aluminio a baja temperatura, se obtuvieron el salicilaldehído (15%) y el p-hidroxibenzaldehído (68%)<sup>32</sup> (Esquema 23).



Esquema 23

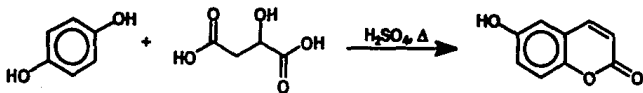
### 3. RESULTADOS Y DISCUSION

Existen dos síntesis descritas en la literatura para la obtención de la 6-hidroxycumarina. Una de ellas, hace uso de la síntesis de Pechmann, la cual tiene como materias primas: hidroquinona, ácido málico y ácido sulfúrico concentrado y que por su manejo accesible en el laboratorio se llevo a cabo. Sin embargo la obtención de la 6-hidroxycumarina por este método dió siempre un rendimiento bajo (8%). La otra síntesis tiene como primer paso la orto alquilación del fenol (hidroquinona) con varios sulfóxidos activados para que posteriormente se lleve a cabo la ciclización con carbonato de potasio para dar cumarinas.

Se ha reportado la reacción de Knoevenagel, utilizando el malonato de dietilo ó el ácido malónico como compuestos con grupo metileno activo<sup>19</sup>. Asi mismo, la síntesis de la 5-hidroxycumarina se ha reportado<sup>39</sup> a partir del 2,6-dihidroxibenzaldehido y ácido malónico.

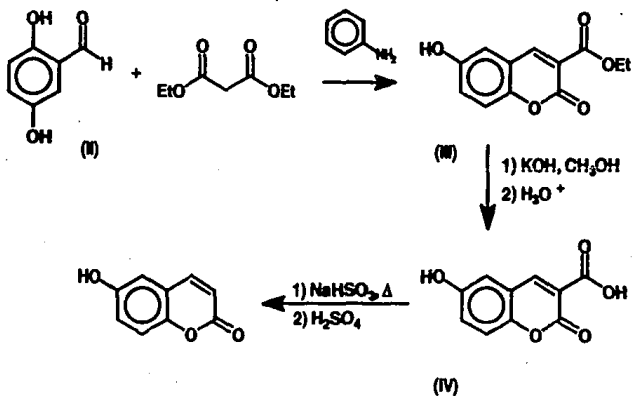
En base a esto, se decidió llevar a cabo la obtención de la 6-hidroxycumarina utilizando la condensación de Knoevenagel, empleando como materia prima el 2,5-dihidroxibenzaldehído y como compuesto con metileno activos el malonato de dietilo<sup>17</sup>, así como el ácido malónico (no reportada).

Síntesis descrita en la literatura



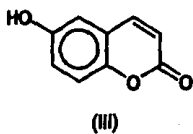
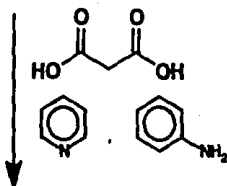
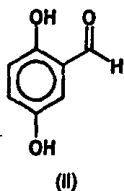
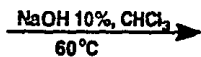
Secuencia planteada para la obtención de la 6-hidroxycumarina:

Tipo A. Síntesis de Knoevenagel utilizando malonato de dietilo\*.



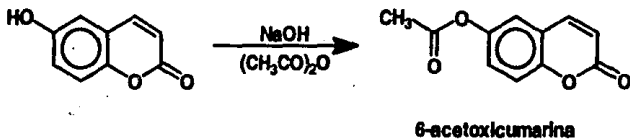
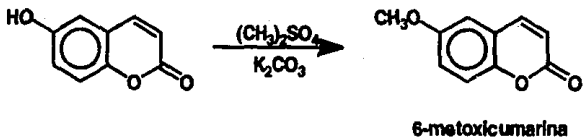
\*De esta ruta sintética solo la primera reacción se encuentra reportada en la literatura para la obtención de la 3-etoxicarbonil-6-hidroxycumarina (III)<sup>17</sup>.

**Tipo B.** Síntesis de Knoevenagel utilizando ácido malónico.





## Síntesis de los derivados metoxilado y acetoxilado

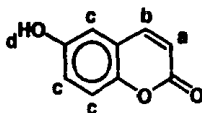


### 3.1 DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

#### 3.1.1. Síntesis descritas en la literatura. Síntesis de Pechmann.

##### Obtención de la 6-hidroxicumarina.

Esta síntesis se llevó a cabo a partir de la hidroquinona, la cual es calentada con ácido málico y ácido sulfúrico concentrado hasta que la evolución de gases es completa. Al finalizar la reacción se obtiene un precipitado negro, del cual se aísla por medio de extracciones de la mezcla de reacción con acetato de etilo la 6-hidroxicumarina, para posteriormente purificarla por cromatografía en columna. Sin embargo esta síntesis presentó un rendimiento bajo (8%), por lo que se realizó otro tipo de síntesis<sup>38</sup>.



#### Espectroscopía I.R.

##### ESPECTRO 1

- 3000- 3500 Banda de vibración O-H.
- 2970- 3055 Sobretonos de vibración C-H aromático.
- 1676 Banda larga y fina correspondiente al grupo carbonilo.
- 1612, 1566 C=C insaturado.
- 1492 C=C insaturado.

## **Espectroscopía R.M.N.**

### **ESPECTRO 2**

- Ha 6.4 ppm Hidrógeno en posición 3; señal doblete; 1H.  
Hc 6.9-7.3 ppm Hidrógenos del anillo aromático; señal multiplete; 3H.  
Hb 7.9 ppm Hidrógeno en posición 4; señal doblete: 1H  
Hd 9.6 ppm Hidrogeno del OH; señal singulete: 1H

### **3.1.2. Síntesis planteadas.**

Tanto en la síntesis planteada tipo A como la tipo B consisten de 2 tipos de reacciones: la primera, una reacción para obtener el 2,5-dihidroxibenzaldehído; y la segunda, una reacción de condensación para la obtención de la cumarina hidroxilada.

#### **Obtención del 2,5-dihidroxibenzaldehído.**

1. En la primera parte, el compuesto (II) se generó a partir de hidroquinona (I), empleando una solución de NaOH al 10% y cloroformo.

Esta reacción tiene la ventaja de que no requiere condiciones anhidras.

La posición de formilación es preferente en *orto* y *para*, pero como la segunda se encontrará ocupada únicamente se formilará en *orto*.

Esta síntesis se estudió con el fin de encontrar las condiciones óptimas para sintetizar el compuesto, así como su aislamiento por extracción de la mezcla de reacción, y su purificación.

Originalmente no se logró llevar a cabo la formilación de la hidroquinona tratando de reproducir la síntesis realizada por Tiemann<sup>42</sup> para la obtención del 2,5-dihidroxibenzaldehído, en la que utiliza una cantidad de NaOH mucho mayor que la de  $\text{CHCl}_3$ . Se reporta un rendimiento menor al 10%.

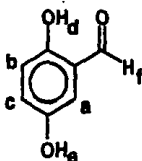
Al estudiar la reacción, se llevaron a cabo los siguientes cambios:

a. Puesto que la reacción se lleva a cabo en dos fases se utilizó etanol, con el objeto de lograr una mayor superficie de contacto. Al terminar la reacción el alcohol se destilaba. Con este cambio se logró que la reacción se llevara a cabo.

b. No obstante que la formilación ya se había llevado a cabo (lo cual se determinó por cromatografía en capa fina), el siguiente problema fué llevar a cabo su aislamiento por extracción, ya que en la reacción se formaba una resina negra, la cual era difícil de manejar. El compuesto formilado se encontraba tanto en la resina como en la mezcla de reacción, por lo que se hicieron extracciones con éter y lavados de  $\text{NaHSO}_4$ , pero se extraían una gran cantidad de compuestos incluyendo la materia prima, la cual no se lograba separar fácilmente. Debido a esto, se volvieron hicieron cambios en la concentración de NaOH y  $\text{CHCl}_3$ , hasta establecer una concentración menor del primero con respecto al segundo obteniendo así el compuesto formilado, en una mezcla de reacción de la cual era separado el producto formilado por medio de una extracción continua líquido-líquido utilizando éter como disolvente de extracción.

c. Se cambió el disolvente de extracción por cloroformo haciendo una extracción continua líquido-líquido, se extraía únicamente el aldehído y la materia prima. Debido a que la hidroquinona solo es soluble en cloroformo caliente, se logró separar ésta casi totalmente teniendo que hacer solo algunos lavados de  $\text{NaHSO}_4$  para obtener así el aldehído puro con un rendimiento del 40% (rendimiento teórico menor al 10%)<sup>42</sup>.

La caracterización se llevó a cabo por espectroscopía de infrarrojo y de resonancia magnética protónica, presentando las siguientes señales.



### Espectroscopía I.R.

#### ESPECTRO 3

3100- 3500	Banda correspondiente a la vibración del enlace O-H.
1650	Banda larga y fina debida al enlace C=O, posición que indica un aldehído con puente de hidrógeno intramolecular.
1578	C=C aromático.
1488	C=C arómico
1286	Del alcohol fenólico
832- 772	Bandas que indican la sustitución 1,2,4 del anillo aromático.

### Espectroscopía R.M.N.

#### ESPECTRO 4

He	5.0 ppm	Hidrógeno del OH en posición 5; señal de singulete; 1H
Hd	10.8 ppm	Hidrógeno del OH en posición 2; señal de singulete; 1H
Ha	7.2 ppm	Hidrógeno en posición 6; señal doblete; 1 H
Hb	6.9-7.0 ppm	Hidrógeno en posición 3; señal cuadruplete (doblete dobleteado); 1H

Hc	6.8-6.9 ppm	Hidrógeno en posición 4; señal doblete; 1H
H	9.8 ppm	Hidrógeno del CHO, señal de singulete; 1H.

2. La segunda parte de la reacción implicó la condensación de Knoevenagel.

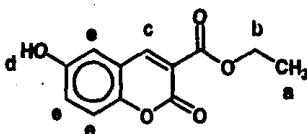
### **Tipo A. Síntesis de Knoevenagel utilizando malonato de dietilo.**

A semejanza de la obtención de la 5-hidroxicumarina, en la que parten del 2, 6-dihidroxibenzaldehído y ácido malónico para la obtención del ácido 3-(5-hidroxicumarin)carboxílico y su posterior descarboxilación da lugar a la 5-hidroxicumarina<sup>39,40</sup> se adaptó en nuestro caso.

Para obtener la 6-hidroxicumarina se utilizaron como materias primas el 2,5-dihidroxibenzaldehído (II) y malonato de dietilo en presencia de piperidina, para dar la 3-etoxicarbonil-6-hidroxicumarina (III)<sup>17</sup>. La saponificación y liberación de la 3-etoxicarbonil-6-hidroxicumarina (en este caso), se realizó con una solución de KOH en metanol a reflujo, seguido de su acidulación, dando lugar al ácido 3-(6-hidroxicumarin)carboxílico<sup>39</sup>, el cual a través de una reacción de descarboxilación y eliminación en presencia de bisulfito de sodio, generará la 6-hidroxicumarina<sup>40</sup> con rendimientos altos. Hay que mencionar que la primera reacción de esta síntesis sí se encontró reportada<sup>17</sup>.

## Obtención de la 3-etoxicarbonil-6-hidroxicumarina.

La síntesis de este compuesto (3) se lleva a cabo sin complicación alguna. El 2,5-dihidroxi-benzaldehído se trató con malonato de dietilo, en presencia de presencia de anilina como catalizador. El compuesto crudo se obtuvo con rendimiento del 95%. Su purificación se llevó a cabo con recristalizaciones de etanol, obteniéndose un compuesto puro con un punto de fusión de 192°C, rendimiento del 85-90%.



El producto se caracterizó por sus propiedades espectroscópicas:

### Espectroscopía I.R.

#### ESPECTRO 5

- |             |  |
|-------------|--|
| 3200-3500   | Banda correspondiente a la vibración del enlace O-H. |
| 3080        | C-H insaturado.                                      |
| 2930- 2980  | Sobretonos de C-H saturado.                          |
| 1746        | Banda larga y fina debida al enlace C=O.             |
| 1672 y 1572 | C=C insaturado.                                      |
| 1440 y 1380 | C-H saturado.  |
| 1188        | De la vibración R-CO-OR.                             |

## Espectroscopía R.M.N.

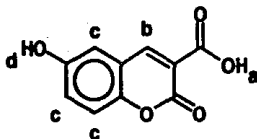
### ESPECTRO 6

Ha	1.3 ppm	Hidrógeno del metilo; señal triplete; 3H.
Hb	4.3 ppm	Hidrógeno del metileno; señal de cuadruplete; 2H.
He	7.1-7.4 ppm	Hidrógenos del anillo aromático; señal multiplete; 3H.
Hc	8.6 ppm	Hidrógeno en posición 4; señal singulete; 1H.
Hd	9.9 ppm	Hidrógeno del OH; señal singulete; 1H.

### Obtención del ácido 3-(6-hidroxicumarin) carboxílico.

El siguiente paso de la ruta fué la saponificación del éster: 3-etoxicarbonil-6-hidroxicumarina con KOH-metanol. Su posterior tratamiento con HCl permitió aislar el ácido con un rendimiento de producto crudo de 90-95%. Su purificación se realizó en base a sus propiedades ácido-base, para obtenerlo puro con un rendimiento del 90%.

El compuesto se caracterizó por sus propiedades espectroscópicas.





## **Espectroscopía I.R.**

### **ESPECTRO 7**

- 3000-3450 Banda correspondiente a la vibración O-H.  
2500- 2800 Banda correspondiente a la vibración O-H, pero del grupo COOH.  
1732 Banda larga y fina perteneciente a la vibración C=O.  
1666, 1622 C=C insaturado  
1570 C=C insaturado.  
1434 Banda debida a la vibración entre el O-H y C-O del grupo ácido.

## **Espectroscopía R.M.N.**

### **ESPECTRO 8**

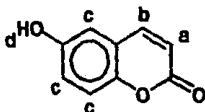
- Hc 7.2 ppm Hidrógenos del anillo aromático; señal multilette; 3H.  
Hb 8.7 ppm Hidrógeno en posición 4; señal singulete; 1H.  
Ha Fuera de campo.  
Hd Fuera de campo.

## **Obtención de la 6-hidroxícumarina**

Esta reacción implicó la descarboxilación del compuesto (4) con una solución de  $\text{NaHSO}_3$  y calentamiento, seguida de la adición de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado y continuando el tiempo de calentamiento a reflujo por una hora. El rendimiento obtenido fué del 45%, bajando el rendimiento global de la ruta. Debido a esto, se realizaron unos pequeños cambios en la técnica descrita<sup>39</sup>, que permitieron mejorar el rendimiento hasta un 85-93% del compuesto crudo,

el rendimiento del compuesto puro es del 85%. Estos cambios se describen en la parte experimental.

El producto se caracterizó por sus propiedades espectroscópicas:



### Espectroscopía I.R.

#### ESPECTRO 1

- 3000- 3500 Banda de vibración O-H.  
2970- 3055 Sobretonos de vibración C-H aromático.  
1676 Banda fina y larga correspondiente al grupo C=O.  
1612, 1568 C=C insaturado.  
1492 C=C insaturado.

### Espectroscopía R.M.N.

#### ESPECTRO 2

- Ha 6.4 ppm Hidrógeno en posición 3; señal doblete; 1H.  
Hc 6.9-7.3 ppm Hidrógenos del anillo aromático; señal multiplete; 3H.  
Hb 7.9 ppm Hidrógeno en posición 4; señal doblete; 1H.  
Hd 9.6 ppm Hidrógeno del OH; señal singulete; 1H.

**Tipo B. Síntesis de Knoevenagel utilizando ácido malónico. Obtención del ácido 3-(6-hidroxicumarin) carboxílico, y de la 6-hidroxicumarina.**

Esta reacción se llevó a cabo al hacer reaccionar al 2,5-dihidroxibenzaldehído con el ácido malónico en una relación (1:2) con la mínima cantidad de piridina y como catalizador anilina.

La obtención del compuesto se llevó a cabo haciendo un estudio en el que se varió:

a) Cantidad de piridina,

Para 0.5 g de 2,5-dihidroxibenzaldehído, 0.7536 g de ácido malónico, anilina y 2 horas de calentamiento a reflujo (Tabla 1).

piridina (ml)	Producto*
10	0 %
5	0 %
3	17 %

Tabla 1

b) tiempo de calentamiento a reflujo,

Para 0.5 g de 2,5-dihidroxibenzaldehído, 0.75 g de ac. malónico, 3ml de piridina, anilina (Tabla 2).

tiempo (hrs)	Producto*
1	0 %
2	17.0 %
3	10.7 %
4-5	7.8 %

**Tabla 2**

c) concentración de ácido malónico,

Manteniendo anilina, 3ml de piridina y 2 horas de calentamiento a reflujo (Tabla 3).

aldehído	ac. malónico	Producto*
1 mol	1 mol	0.0 %
1 mol	2 mol	17.0 %

**Tabla 3**

d) el catalizador.

Con 0.5 g de 2,5-dihidroxibenzaldehído, 0.75 g de ac. malónico, 3 ml de piridina y 2 horas de calentamiento (Tabla 4).

Catalizador	Producto*
Anilina	17.0 %
Piperidina	0.0 %

**Tabla 4**

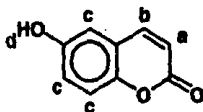
Producto\* = 6-hidroxycumarina

De lo anterior citaremos que la obtención de la 6-hidroxicumarina se llevó a cabo utilizando el 2,5-dihidroxibenzaldehído y ácido malónico en una relación 1:2 (mol) teniendo anilina como catalizador, así como la mínima cantidad de piridina. Esta mezcla de reacción se mantuvo a reflujo ( $T = 115^{\circ}\text{C}$ , p.e. de la piridina) por un tiempo de 2 horas. Posteriormente se aciduló la mezcla de reacción obteniendo un precipitado blanco, logrando obtener un rendimiento máximo del 17%.

Bajo las condiciones anteriores se logró obtener la 6-hidroxicumarina, sin embargo al tratar de reproducirlas, varias veces se obtuvo otro compuesto (precipitado amarillo).

La mezcla de compuestos se separó por cromatografía en columna, resultando ser la 6-hidroxicumarina menos polar que el precipitado amarillo.

Estos compuestos se caracterizaron por espectroscopía y resultaron ser los siguientes.



### Espectroscopía I.R.

#### ESPECTRO 1

3000- 3500 Banda de vibración correspondiente al grupo O-H.

2970- 3055 Sobretonos de vibración C-H aromático.

1676 Banda ancha y fina correspondiente al grupo carbonilo.

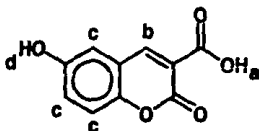
1612, 1566 C=C insaturado.

1492 C=C insaturado

### **Espectroscopía R.M.N.**

#### **ESPECTRO 2**

- Ha 6.4 ppm Hidrógeno en posición 3; señal de doblete; 1H.  
Hc 6.9- 7.3 ppm Hidrógenos del anillo aromático; señal multiplete; 3H.  
Hb 7.9 ppm Hidrógeno en posición 4; señal doblete: 1H.  
Hd 9.6 ppm Hidrógeno del OH; señal singulete; 1H.



### **Espectroscopía I.R.**

#### **ESPECTRO 7**

- 3000- 3450 Banda correspondiente a la vibración O-H.  
2500- 2800 Banda correspondiente a la vibración CH, pero perteneciente al grupo COOH.  
1732 Banda larga y fina perteneciente a la vibración C=O.  
1666, 1570 C=C insaturado.  
1434 Banda debida a la vibración entre el O-H y C-O del grupo ácido.

## Espectroscopía R.M.N.

### ESPECTRO 8

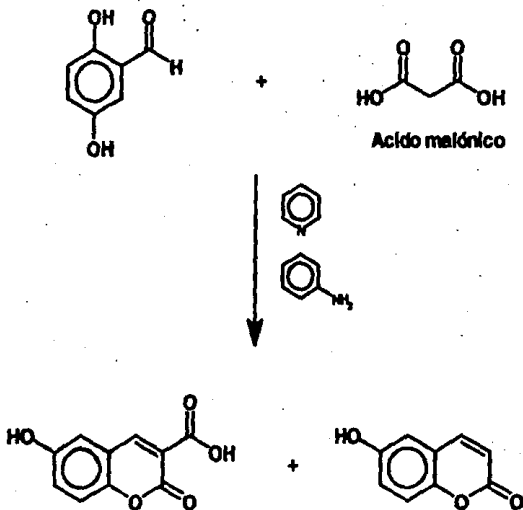
Hc 7.2 ppm Hidrógenos del anillo aromático; señal multiplete; 3H.

Hb 8.7 ppm Hidrógeno en posición 4; señal singulete; 1H

Ha Protones fuera de campo.

Hd Protones fuera de campo.

La obtención de los dos compuestos, el ácido 3-(6-hidroxicumarín)carboxílico y la 6-hidroxicumarina, nos muestra que la reacción no fué completa, fallando posiblemente la temperatura de reacción para que se llevara a cabo la reacción de descarboxilación con un rendimiento mayor.



Esquema 24

Pensamos que el cambio de agente alquilante de una síntesis de Knoevenagel a la otra, fue determinante para obtener el 3-etoxicarbonil-6-hidroxicumarina en un rendimiento alto en un caso y que en el otro se obtuviera un rendimiento bajo (6-hidroxicumarina), ya que las ciclizaciones clave para formar la lactona (éster cíclico) dependen de la salida de 2 grupos salientes diferentes: agua (en el caso de utilizar ácido malónico) y etanol (en el caso de utilizar malonato de dietilo).

Debido a que la síntesis planteada tipo B para la obtención de la 6-hidroxicumarina tuvo rendimientos bajos, y puesto que el propósito de este estudio no solo involucra la obtención de la cumarina hidroxilada por esta ruta, sino que también requiere la obtención de ésta en cantidades suficientes para los ensayos *in vitro* en animales realizados posteriormente en la Facultad de Medicina, se optó por utilizar la síntesis planteada tipo A con mejores rendimientos y en donde se realizaron cambios donde así lo requirió.

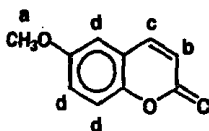
## **DERIVADOS METOXILADO Y ACETOXILADO**

### **Obtención de la 6-metoxicumarina**

En la obtención del derivado metoxilado, se realizó el tratamiento de la 6-hidroxicumarina en presencia de sulfato de dimetilo y carbonato de potasio en acetona como disolvente.<sup>35,36</sup>



El compuesto crudo se obtuvo con un rendimiento del 73%, el cual se recristalizó de etanol, para obtener el compuesto puro con un rendimiento del 70%.



El producto se caracterizó por sus propiedades espectroscópicas:

#### **Espectroscopía I.R.**

##### **ESPECTRO 9**

- 2850- 3050 Pequeñas bandas correspondientes a la vibración C-H insaturado.
- 2830 Banda pequeña correspondiente a la vibración C-H del metoxilo.
- 1704 Banda fina y larga correspondiente a la vibración C=O.
- 1568, 1450 C=C insaturado.
- 1280 Vibración =C-O-C (éter).

#### **Espectroscopía R.M.N.**

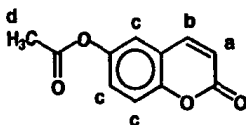
##### **ESPECTRO 10**

- Ha 3.7 ppm Hidrógenos del grupo metilo; señal singulete; 3H.
- Hb 6.3 ppm Hidrógeno en posición 3; señal doblete; 1H
- Hd 6.8- 7.3 ppm Hidrógeno del anillo aromático; señal multiplete; 3H.
- Hc 7.6 ppm Hidrógeno en posición 4; señal doblete; 1H

## Obtención de la 6-acetoxicumarina

El derivado acetilado se preparó mediante la reacción entre el anhídrido acético y la cumarina hidroxilada en un medio alcalino. La cantidad de alcalí usada debe ser suficiente para tener un medio ligeramente básico hasta finalizar la reacción.<sup>37</sup>

El rendimiento del compuesto crudo fué del 44%. El compuesto puro se obtuvo por recristalización de cloroformo con un rendimiento del 40%.



### Espectroscopía I.R.

#### ESPECTRO 11

- 2924- 3000 Pequeñas bandas correspondientes a C-H saturado.  
1742 Banda larga y fina correspondiente a la vibración C=O.  
1624,1568 C=C insaturado.  
1486 C=C insaturado.  
1372 C-H saturado.  
1230 Banda larga y fina correspondiente al grupo CH<sub>3</sub>-CO-O-R.

### Espectroscopía R.M.N.

#### ESPECTRO 12

- Hd 2.2 ppm Hidrógenos del metilo; señal sigulete; 3H.  
Ha 6.3 ppm Hidrógeno en posición 3; señal doblete; 1H

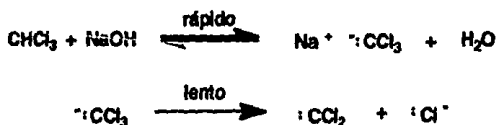
Hc 7.1-7.2 ppm Hidrógenos del anillo aromático; señal multiplete; 3H.

Hb 7.6 ppm Hidrógeno en posición 4; señal doblete; 1H.

### Reacción de formilación de hidroquinona.

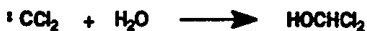
Resulta conveniente considerar la reacción de formilación en 2 pasos, considerando a la primera como la reacción ácido-base del cloroformo, y la segunda, como la reacción del fenol con el diclorocarbeno generado *in situ*.

La primera reacción involucra la generación del carbeno por la eliminación unimolecular de un ión cloruro proveniente del anión triclorometilado.



La estructura electrónica del diclorocarbeno cuenta con un par de electrones en un orbital híbrido de un carácter mas o menos  $sp^2$  y un orbital  $p$  vacío. Es decir, el carbeno combina un par solitario del carbanión y el vacío del ión carbonilo en un solo carbono.

Se ha reportado<sup>41</sup>, que el diclorocarbeno reacciona rápidamente con agua para generar monóxido de carbono, mientras que después lentamente se hidroliza a formiato de sodio en medio alcalino.



La segunda parte de la reacción involucra un ataque electrofílico de el dihalocarbeno sobre el anión fenóxido, dando un derivado del 2-diclorometilfenol, el cual que es hidrolizado en medio alcalino.

Aparentemente, las dos últimas etapas carecerían de importancia frente a la reacción principal, la cual involucra la formación de un enlace entre el carbeno y el fenol. Sin embargo, la hidrólisis del carbeno consume alcalí y compite con la reacción de formilación.

Cambiando condiciones, como el uso de agentes de transferencia de fase (bajo las cuales aparentemente la reacción puede llevarse a cabo), podría aumentar el rendimiento de la reacción, ya que el sustrato fenólico permanece en la fase acuosa alcalina, mientras el carbeno esta presente en el cloroformo, reduciendose así la hidrólisis del carbeno.

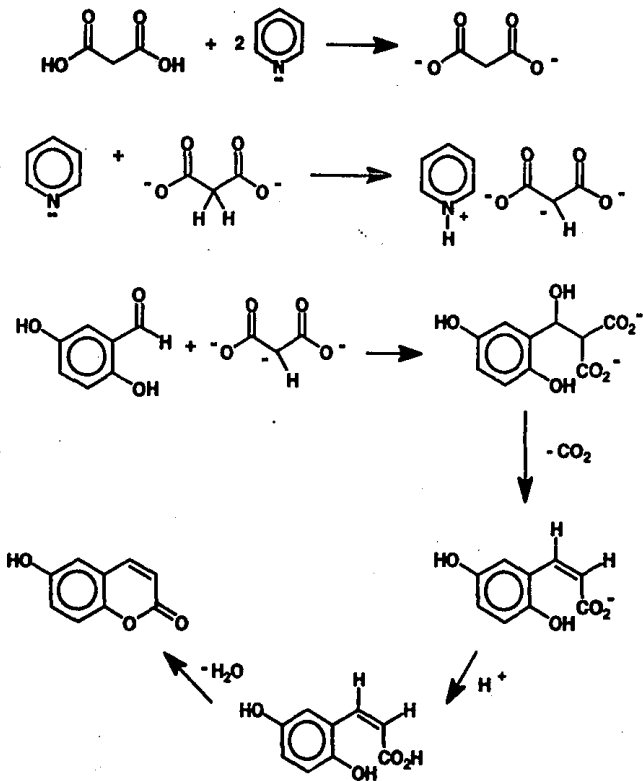
## Reacción de condensación.

Extrapolando el mecanismo propuesto por Hann y Lapworth<sup>41</sup> a esta reacción, se llevaría a cabo de la siguiente manera: (1) la presencia de una base (piridina) extraerá un protón ácido de un compuesto que contenga un grupo metileno activo produciendo así un carbanión, (2) el cual se adicionará al grupo carbonilo dando un intermediario hidroxilado. El intermediario (3) por una posterior deshidratación daría lugar a compuesto  $\alpha,\beta$ -insaturado, esto es, vendría a dar el ácido 2,5-dihidroxicinámico. Por último, (4) el ataque fenólico del OH fenólico en posición orto, hacia el grupo ácido llevará al cierre del anillo, obteniendo la cumarina (Esquema 25).

Sin embargo, al efectuar la reacción se obtuvieron resultados que no concuerdan con lo anterior. En la condensación de Knoevenagel, síntesis tipo A (aldehído, piperidina, malonato de dietilo), en la presencia de la amina secundaria, como catalizador, se obtiene la cumarina con rendimientos satisfactorios.

En cambio, en la condensación Knoevenagel-Doebner, la cual se utiliza en la síntesis planteada (aldehído, anilina, piridina y ácido malónico), se observa que solo al agregar una amina **primaria** (anilina) como catalizador la reacción procede. En cambio, cuando se utilizó como catalizador una amina secundaria, la reacción no procedió.

En base a los resultados experimentales obtenidos, se propone el mecanismo mostrado en el esquema 26.



Esquema 25

En este mecanismo se explica el hecho de que es necesario utilizar la anilina, ya que se propone como intermediario una base de Schiff, la cual se forma con facilidad al utilizar una amina primaria.

Los intermediarios que se forman en dicho mecanismo son los siguientes:

**Paso (1'):** Formación del aminoalcohol (I).

Este paso consiste en la adición nucleofílica de la anilina al grupo carbonilo del aldehído, para formar así el aminoalcohol (I).

**Paso (2'):** Formación de la base de Schiff (II).

La protonación del grupo OH del compuesto (I), acompañada de la eliminación de agua, da lugar a la sal de iminio (II), la cual es una base de schiff protonada.

**Paso (3'):** Formación del enlace C-C.

La adición del carbanión dimalonato al compuesto (II), da lugar al producto de condensación (III).

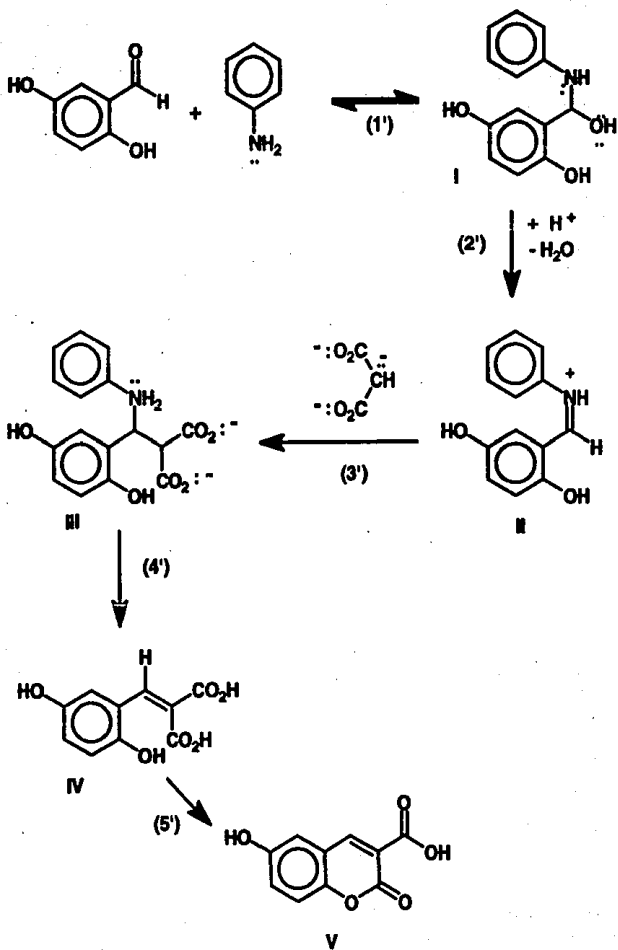
**Paso (4'):** Reacción de eliminación.

La eliminación de la sal de anilinio y del H en  $\beta$ , da lugar al sistema  $\alpha,\beta$ -insaturado mostrado en el intermediario (IV), el cual posiblemente sufre una muy lenta descarboxilación (que explicaría la obtención de la 6-hidroxicumarina).

**Paso (5'):** Reacción de lactonización.

El ataque del OH sobre el ácido carboxílico da lugar a la lactona correspondiente, el ácido 6-hidroxi-3-cumarincarboxílico (V).

Los resultados presentados indican que el intermediario IV, bajo las condiciones llevadas a cabo, sufre una reacción de descarboxilación muy lenta, necesitando temperaturas mayores a la estudiada (el p.e. piridina= 115°C). Por ello, este trabajo queda abierto a probar disolventes con punto de ebullición más altos que la piridina, permitiendo mantener una temperatura mayor y ver si se puede lograr descarboxilación completa.



Esquema 26



#### 4. PARTE EXPERIMENTAL

Los espectros de IR se determinaron en un espectrofotómetro de Infrarrojo modelo 1320, Perkin Elmer. Las determinaciones se hicieron en pastilla de KBr, y las unidades se expresan en  $\text{cm}^{-1}$ .

Los espectros de RMN- $\text{H}^1$  de hidrógeno fueron registrados en un espectrómetro Varian EM-390 utilizando como disolvente DMSO,  $\text{CDCl}_3$  y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los desplazamientos químicos se informan en partes por millón (ppm), relativas al TMS, tomando el parámetro  $\delta$ .

La pureza de los reactivos, así como el desarrollo de la reacción se determinó cualitativamente por cromatografía en capa fina, utilizando placas con gel de sílice 60GF 254 como adsorbente y vapores de yodo como revelador.

Las purificaciones de compuestos en las que se utilizó la cromatografía en columna se utilizó gel de sílice 60 (35-70 mesh).

#### 4.1 Síntesis de la 6-hidroxicumarina. Síntesis de Pechmann.

Se colocan en un matraz de fondo redondo (de 250 ml con 2 juntas esmeriladas) 2 g de hidroquinona, 2.4 g de ácido málico y 2.8 ml de ácido sulfúrico concentrado. La mezcla de reacción es calentó hasta 150°C En el transcurso del calentamiento se desprendieron gases, y al llegar a esa temperatura se dejó a reflujo por una hora. Posteriormente la mezcla se vertió en un vaso de precipitados conteniendo 100 g. de hielo dando un precipitado negro. El producto se aisló por extracción con acetato de etilo (3 x 30 ml), se secó con sulfato de sodio anhidro y el disolvente se eliminó por evaporación al alto vacío. El producto se purificó por cromatografía (soporte: gel de sílice, eluyente: hexano:acetato de etilo 70:30), obteniéndose 0.23 g de un precipitado blanco de p.f. de 250°C, con rendimiento del 8%.

El producto se caracterizó en base a sus propiedades espectroscópicas:

IR: 3000-3500  $\text{cm}^{-1}$ , 2970-3055  $\text{cm}^{-1}$ , 1676  $\text{cm}^{-1}$ , 1612  $\text{cm}^{-1}$ , 1566  $\text{cm}^{-1}$ .

RMN- $^1\text{H}$ : 6.4 ppm (doblete),1H; 6.9-7.3 ppm (multiplete),3H; 7.9 ppm (doblete),1H; 9.6 ppm (singlete), 1H.

#### 4.2 Síntesis del 2,5-dihidroxibenzaldehído

2 g. de hidroquinona y 40 ml. de cloroformo en 30 ml. de una solución de NaOH al 10%, se coloca en un matraz de fondo redondo con tres bocas bajo agitación constante y a una temperatura de 60°C por un tiempo de reacción de 2 horas. Al término de éste, las 2 fases presentes son separadas y la fase acuosa se acidula con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado hasta un pH cercano a 4. A esta porción se le realiza una extracción continua líquido-líquido con CHCl<sub>3</sub> durante 20 horas. Después de esta extracción se observará un precipitado amarillento sobrenadando en el disolvente ( materia prima ) la cual deberá ser filtrada. El disolvente de extracción se lavó ( 2 veces) con una solución de NaHSO<sub>4</sub> al 25%, seguida de su acidulación y posteriormente otra extracción con cloroformo. Este se secó sobre sulfato de sodio anhidro. La eliminación del disolvente se llevó a cabo a presión reducida en un rotavapor.

Se obtuvieron 0.95 g. de un precipitado amarillo, con punto de fusión de 99°C, correspondiendo a un 40% de rendimiento.

El producto presentó las siguientes propiedades espectroscópicas:

IR: 3100-3500 cm<sup>-1</sup>, 1650 cm<sup>-1</sup>, 1578 cm<sup>-1</sup>, 1488 cm<sup>-1</sup>, 1286 cm<sup>-1</sup>, 832- 772 cm<sup>-1</sup>.

RMN- H<sup>1</sup>: 5.0 ppm (singulete), 1H; 10.8 ppm (singulete), 1H; 7.2 ppm (doblete), 1H; 6.9 ppm (doblete), 1H; 6.8 ppm (doblete), 1H; 9.8 ppm (singulete), 1H.  
(singulete).

### **4.3 Síntesis de la 3-etoxicarbonil-6-hidroxicumarina. Síntesis de Knoevenagel Tipo A con malonato de dietilo.**

En un matraz de fondo redondo con 2 juntas esmeriladas, se colocan 1 g. de 2,5 dihidroxibenzaldehído y 4 ml de malonato de dietilo con 3 gotas de piperidina, la mezcla de reacción se calienta a 110°C y se mantiene esa temperatura por 2 horas. Al término de éste, se suspende el calentamiento hasta que cristalice la mezcla de reacción. El producto se recristaliza de alcohol, filtrando y lavando los cristales amarillos resultantes. Después de 2 recristalizaciones con carbon activado se obtienen 1.5 g. de cristales amarillos con punto de fusión de 192°C, con rendimiento del 85-90%.

El producto se caracterizó por sus propiedades espectroscópicas:

IR: 3200-3500  $\text{cm}^{-1}$ , 3080  $\text{cm}^{-1}$ , 2930- 2980  $\text{cm}^{-1}$ , 1746  $\text{cm}^{-1}$ , 1672  $\text{cm}^{-1}$ , 1572  $\text{cm}^{-1}$ , 1440  $\text{cm}^{-1}$ , 1380  $\text{cm}^{-1}$ , 1180  $\text{cm}^{-1}$ .

RMN- H1: 1.3 ppm (triplete), 4.3 ppm (cuadruplete), 7.1-7.4 ppm (multiplete), 8.6 ppm (singulete), 9.9 ppm (singulete).

#### 4.4 Síntesis del ácido 3-(6-hidroxicumarin)carboxílico. Saponificación del 6-hidroxi-3-carboxilato de etilo.

En un matraz (de fondo redondo con una junta esmerilada), se colocan 1.5 g del éster, los cuales se calientan a reflujo con una solución al 10% de metanol-KOH, por una hora. La mezcla de reacción se diluye con agua y se precipita el ácido carboxílico con HCl conc., obteniéndose un precipitado de color amarillo, los cuales son recristalizados de etanol, o bien disueltos en una solución diluida de  $\text{NaHCO}_3$  y posteriormente precipitados agregando HCl conc. Se obtiene 1.15 g del compuesto en un rendimiento del 90% como cristales de color amarillo, con p.f. de 278-290°C.

El producto se caracterizó por sus propiedades espectroscópicas.

IR: 3000- 3450  $\text{cm}^{-1}$ , 2500- 2800  $\text{cm}^{-1}$ , 1732  $\text{cm}^{-1}$ , 1666  $\text{cm}^{-1}$ , 1622  $\text{cm}^{-1}$ ,  
1570  $\text{cm}^{-1}$ , 1434  $\text{cm}^{-1}$ .

RMN-H1: 7.2 ppm (multiplete), 8.7 ppm (singulete).

#### 4.5 Síntesis de la 6-hidroxicumarina Tipo A. Descarboxilación del ácido 6-hidroxicumarin-3-carboxílico.

En un matraz (de fondo redondo con una junta esmerilada) se colocaron 1.15 g. del ácido 3-(6-hidroxicumarin)carboxílico con 2 g. de  $\text{NaHSO}_3$  y 8.5 ml. de agua, bajo una agitación vigorosa. Se calienta suavemente la mezcla de reacción hasta disolución completa e inmediatamente se observará el desprendimiento de gases. En cuanto cese la evolución de los gases, se suspende el calentamiento y se agregan lentamente casi 5 ml. de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  conc., ya que la reacción es exotérmica, su adición provoca proyecciones y desprendimiento de más gases. Una vez que se termine la adición, se corroborará si no hay más desprendimiento de gases. En caso de ser afirmativo, se enfriará la mezcla de reacción (comenzará a aparecer un precipitado gris). Se evapora el disolvente hasta concentrar el volumen a 3/4 partes del volumen inicial y posteriormente se mantiene a reflujo por una hora. Al finalizar el calentamiento, la mezcla se enfría en hielo, se diluye con agua y el compuesto se aísla por filtración. El producto se lava con bastante agua. El rendimiento fué del 85-93%. Después de su recristalización en carbon activado se obtienen 0.76 g de un precipitado blanco con p.f. de  $250^\circ\text{C}$  y rendimiento del 85%.

El producto mostró las siguientes señales por espectroscopía:

IR:  $3000\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ ,  $2970\text{-}3055\text{ cm}^{-1}$ ,  $1676\text{ cm}^{-1}$ ,  $1612\text{ cm}^{-1}$ ,  $1566\text{ cm}^{-1}$ ,  
 $1492\text{ cm}^{-1}$ .

RMN-H1: 6.4 ppm (doblete), 6.9- 7.3 ppm (multiplete), 7.9 ppm (doblete), 9.6 ppm (singulete).

#### **4.6 Síntesis de la 6-hidroxicumarina. Síntesis de Knoevenagel con ácido malónico.**

En un matraz (de fondo redondo con una boca esmerilada) se colocan 1 g de 2, 5-dihidroxibenzaldehído, 1.53 g de ácido malónico y 2 gotas de anilina en 7 ml de piridina. Se calentó la mezcla a reflujo, con una trampa de cloruro de calcio conectada al refrigerante. Después de 2 horas de calentamiento la mezcla de reacción se vertió en un vaso de precipitados con aproximadamente 100 g de hielo y 5 ml de HCl concentrado. Esto dió como resultado un precipitado café, el cual fué purificado por cromatografía en columna (soporte: gel de sílice, eluyente hexano-acetato de etilo 70-30%). Se obtuvieron 0.199 g de la 6-hidroxicumarina, precipitado blanco, con rendimiento del 17% ( p.f. de 250°C.).

Si se agrega más ácido clorhídrico a la mezcla de hielo-HCl precipitará un compuesto amarillo de p.f. 278-290°C con rendimiento del 70%, correspondiente al ácido 3-(6-hidroxicumarin)carboxílico.

El compuesto se caracterizó en base a sus propiedades espectroscópicas.

IR: 3000- 3500  $\text{cm}^{-1}$ , 2970-3055  $\text{cm}^{-1}$ , 1676  $\text{cm}^{-1}$ , 1612  $\text{cm}^{-1}$ , 1566  $\text{cm}^{-1}$ .

RMN-H1: 6.4 ppm (doblete), 6.9- 7.3 ppm (multiplete), 7.9 ppm (doblete), 9.6 ppm (singulete).

#### 4.7 Síntesis de la 6-metoxicumarina

En un matraz de una boca se colocan 1.5 g. de 6-hidroxycumarina, 18.5 g. de carbonato de potasio anhidro y 25 ml. de sulfato de dimetilo, en 170 ml. de acetona seca. Esta mezcla se calienta a reflujo y con agitación vigorosa. Después de 2 horas de calentamiento se adicionan 20 ml. de hidroxido de amonio concentrado, gota a gota, bajo agitación y se calienta por 10 minutos. La mezcla es diluida con agua en un volumen total aproximado a 300 ml. El producto se aísla por extracciones (3 x 50 ml.) con cloroformo, las cuales se colectan y se lavan con agua. Se secan con sulfato de sodio anhidro y el disolvente se elimina por evaporación al alto vacio. Después de su recristalización de etanol se obtienen 1.2 g de hojuelas ligeramente amarillas, con p.f. de 98-99°C y rendimiento del 73%.

El producto se caracterizó en base a sus propiedades espectroscópicas:  
IR: 2850- 3050  $\text{cm}^{-1}$ , 2830  $\text{cm}^{-1}$ , 1704  $\text{cm}^{-1}$ , 1568  $\text{cm}^{-1}$ , 1450  $\text{cm}^{-1}$ , 1280  $\text{cm}^{-1}$ .  
RMN-H1: 3.7 ppm (tripleto), 6.3 ppm (doblete), 6.8- 7.3 ppm (multiplete), 7.6 ppm (doblete).



#### 4.8 Síntesis de la 6-acetoxicumarina.

En un matraz Erlenmeyer, disolver 0.5 g. de 6-hidroxycumarina en 20 ml. de solución de hidróxido de sodio al 10%. Agregar casi 40 g. de hielo e inmediatamente se agregan 10 ml. de anhídrido acético. Rápidamente se tapa el matraz con tapon de corcho y agitar vigorosamente la mezcla de reacción durante 10 minutos (destapar el matraz ocasionalmente, para evitar que la presión lo bote). En este lapso la reacción debe ser completa y se observará la formación de un sólido. Filtrar el sólido formado, lavarlo con agua. El producto crudo se recristalizará de cloroformo.

El compuesto se obtenido, 0.264 g de hojuelas blancas, con p.f. de 147°C, con rendimiento del 42%.

El producto se caracterizó por sus propiedades espectroscópicas:

IR: 2924-3000  $\text{cm}^{-1}$ , 1742  $\text{cm}^{-1}$ , 1624  $\text{cm}^{-1}$ , 1568  $\text{cm}^{-1}$ , 1486  $\text{cm}^{-1}$ , 1372  $\text{cm}^{-1}$ , 1230  $\text{cm}^{-1}$ .

RMN-H1: 2.2 ppm (singulete), 6.3 ppm (doblete), 7.- 7.2 ppm (multiplete), 7.6 ppm (doblete).

## CONCLUSIONES

Se efectuó la síntesis de la 6-hidroxicumarina mediante 3 rutas sintéticas, las cuales fueron seleccionadas en base a la mayor viabilidad de llevarse a cabo en el laboratorio.

De las 3 rutas realizadas, la que proporcionó mayor rendimiento (75%)\*, fué la condensación de Knoevenagel tipo A, en la que se utiliza 2,5-dihidroxibenzaldehído y malonato de dietilo como materias primas.

Al llevar a cabo la síntesis de Knoevenagel con ácido malónico y 2,5-dihidroxibenzaldehído, se obtuvo el ácido 3-(6-hidroxicumarin)carboxílico.

Se observa la necesidad de utilizar una amina primaria (catalizador) en la síntesis planteada y por lo tanto se ha propuesto la formación de una sal de iminio como un posible intermediario de la reacción (lo cual esta sujeto a comprobación).

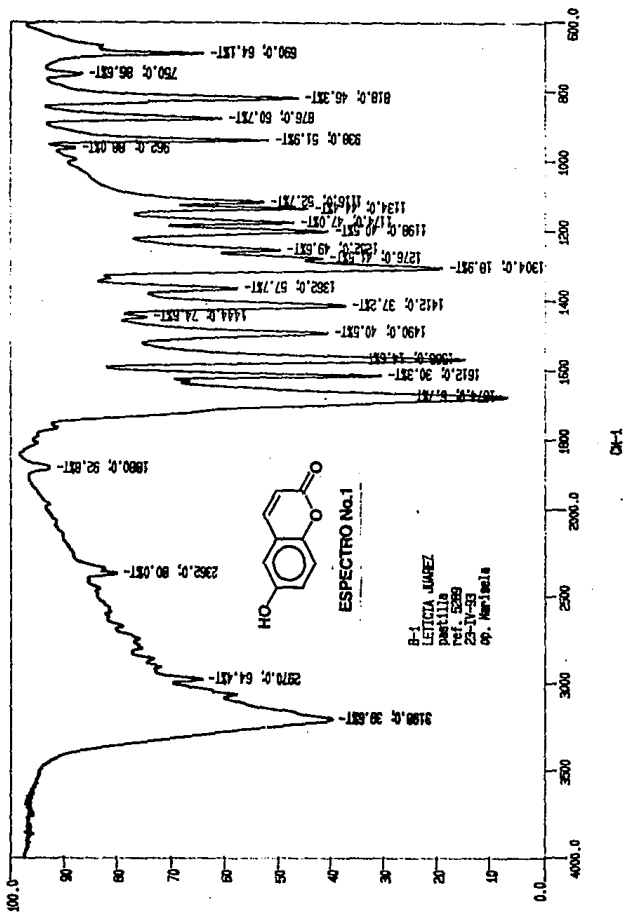
Así mismo se reporta la obtención de la 6-metoxicumarina y la 6-acetoxicumarina con un rendimiento del 73% y 42% respectivamente.

\* Rendimiento a partir del 2,5-dihidroxibenzaldehído (compuesto comercial).

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Sethna, S.M., and Shah, N.M., *Chem. Revs.* 1945, 36, 1.
- 2.- Shilling, W.H.; Crampton, R.F.; Longland, R.C., *Nature* 1969, 221: 664-669
- 3.- Mead, J.; Smith, J.N.; Williams, R.T., *Bloch. J.* 1958, 68, 67.
- 4.- Raghunathan, V.N. y cols., *Carcinogenesis* 1991, 12, 65- 69.
- 5.- Rosenberg, S.A., *Medicine* May, 1990, pg. 94.
- 6.- Kirt, R.E. y Othmer, O.F. *Enciclopedia de Tecnología Química*. Vol. 6  
UTHEA, Mex. (1966).
- 7.- Theiner, E.T. Pat. U.S. 36259776      C.A. 76, 131 500e
- 8.- Chatterji, U.N. et al., *Biochem. Physiol. Pflanz.* 1971, 42.  
C.A. 1972, 76, 69039f
- 9.- Oshlo, H. et al., *Nippon Dujo- Hiriyogaku Zasshi* 1971, 42.  
C.A. 1972, 76, 95639w
- 10.- Gaines, Thomas B. *J. of Parasitology* 1951, No. 5, 39.
- 11.- Lipha, Pat. Brit 1252088      C.A. 1972, 76, 34103v
- 12.- Burger, A., *Medicinal Chemistry* Parte 2, 3a. Ed. Wiley- Interscience.  
New York 1970.
- 13.- Jurd, L. et al., *Phytochemistry* 1971, 10  
C.A. 1972, 77, 164392v
- 14.- Thomes, R.D., *Cancer* 1975, 35: 91- 92.
- 15.- Raghunathan, V.N. y cols., *Carcinogenesis* 1991, 12, 1: 65- 69.
- 16.- Setha, S.M. and Shah, N.M., *Chem. Revs.* 1945, 36, 1.
- 17.- Jones, G., *Org. Reactions* 1967, 15, 204.
- 18.- Brown, S.A. *Phytochemistry* 1963, 2, 137.
- 19.- Sethna, S.M. and Phadke, R. *Org. Reactions* 1953, 7, 1
- 20.- Das Gupta, ei. al., *J. Chem. Soc., Part (C)*, 1969, 1, 29.
- 21.- Sato, K.; Amakasu, T., and Abe, S., *J. Org. Chem.* 1964, 29(10), 2971.

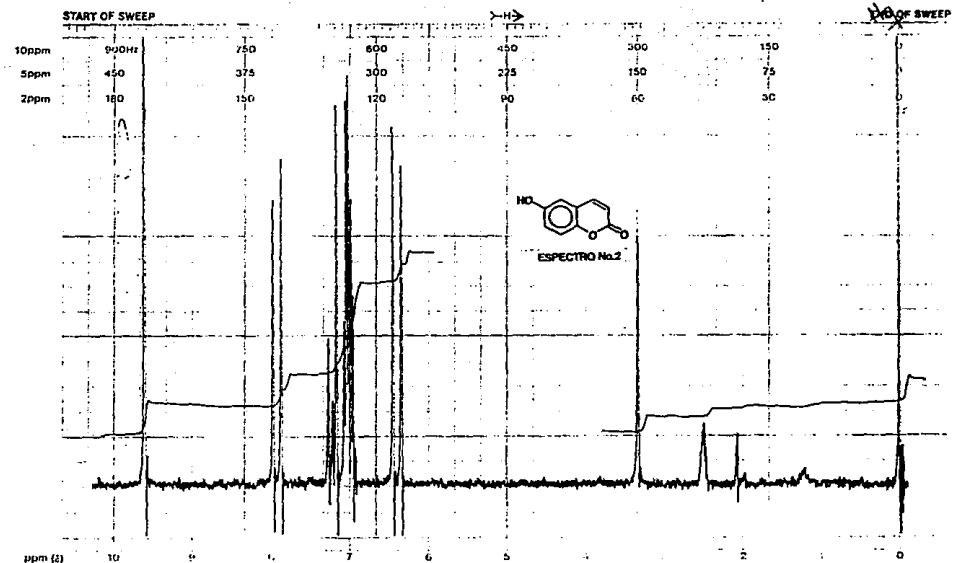
- 22.- Sato, K., *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1* 1987, 8, 1753.
- 23.- Smith, L.I., and Wiley, P.F., *J. Amer. Chem. Soc.* 1946, 68, 887.
- 24.- Clauss, W., Pat. Ger. Offen 1930241 C.A. 74(11)53538r.
- 25.- Reichenbacher, P.H., Forsythe, T.M., U.S. 3998851  
C.A. 87(5)39281p
- 26.- De Graw, J., Tsakotellis, *J. Chem. Eng. Data.* 1969, 14(4), 509.
- 27.- Cannon, J.R., Chow, P.W., *Aust. J. Chem.* 1973, 26, 2257
- 28.- Truce, W.E., *Org. Reactions* 1957, 9, 37.
- 29.- Ferguson, L.N., *Chem. Revs.* 1946, 38, 229.
- 30.- Wynberg, H., *Org. Reactions* 1982, 28, 1.
- 31.- Casiraghi, G.; Casnati, G., *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1*, 1978, 318.
- 32.- Amakasu, T.; Sato, K., *Bull. Chem. Soc. of Jpn.*, 1967, 40, 1428.
- 33.- Vogel's *Textbook of Practical Organic Chemistry*, pp. 802 4th. Ed.,  
Ed. Longman, London, 1979.
- 34.- Günther, H.; Prestien, J., *Org. Magnetic Resonance*, 1975, 7, 339.
- 35.- Mirrington, R.N. and Feutrill, A. G., *Org. Syntheses. Collective. Vol. 6*  
pp.859 (1988).
- 36.- Vogel's *Textbook of Practical Organic Chemistry* pp. 472 4th Ed.  
Ed. Longman, London, 1979.
- 37.- Vogel's *Textbook of Practical Organic Chemistry*, pp. 1102 4th. Ed.  
Ed. Longman, London, 1979.
- 38.- Cussans, N.J.; Huckerby, T.N. *Tet.*, 1975, 31, 2729.
- 39.- Vogel's *Textbook of Practical Organic Chemistry*, pp. 493 4th. Ed.  
Ed. Longman, London. 1979.
- 40.- Adams, R.; Bockstahler, T.E., *J. Am. Chem. Soc.* 1952, 74, 5346.
- 41.- Hann and Lapworth, *J. Chem. Soc.*, 1904, 85, 46.
- 42.- Tiemann, F., *Ber.*, 1881, 14, 1985.





varian instrument division

palo alto, california



LOCK POS. ppm. SPECTRUM REF. 3500000 SWEEP TIME 5 min. PULSES 1

LOCK POWER mG FILTER 0.05 sec SWEEP WIDTH 40 ppm ZERO REF. 145

DECOUPLE POS. ppm.

DECOUPLING POWER mG RF POWER 2.5 mG END OF SWEEP 0 ppm SAMPLE TEMP. 4 C SOLVENT: DMSO

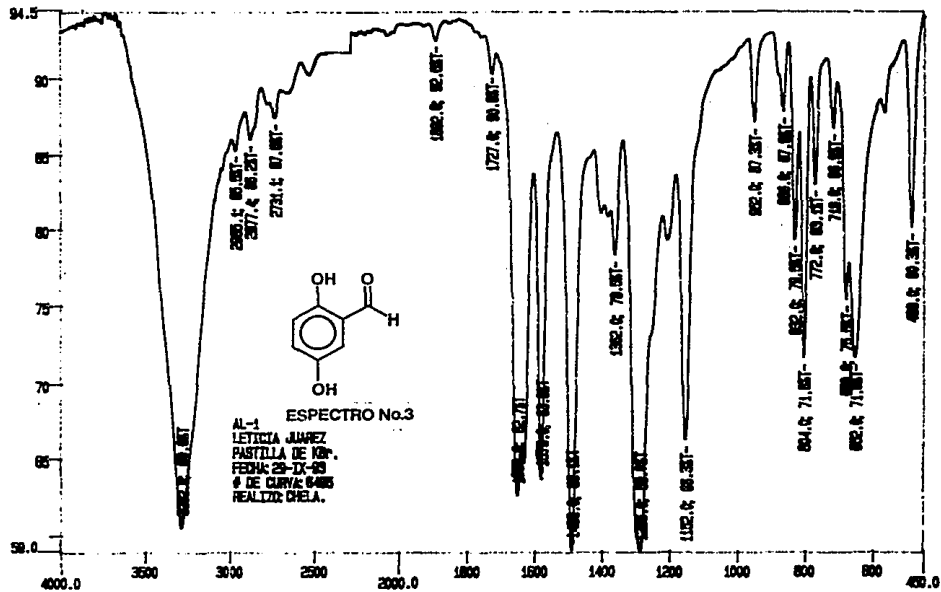
SAMPLE: 2400-3-3 OPERATOR: J. J. ...

DATE: 2-2-62

SPECTRUM NO. 1132

EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

ST

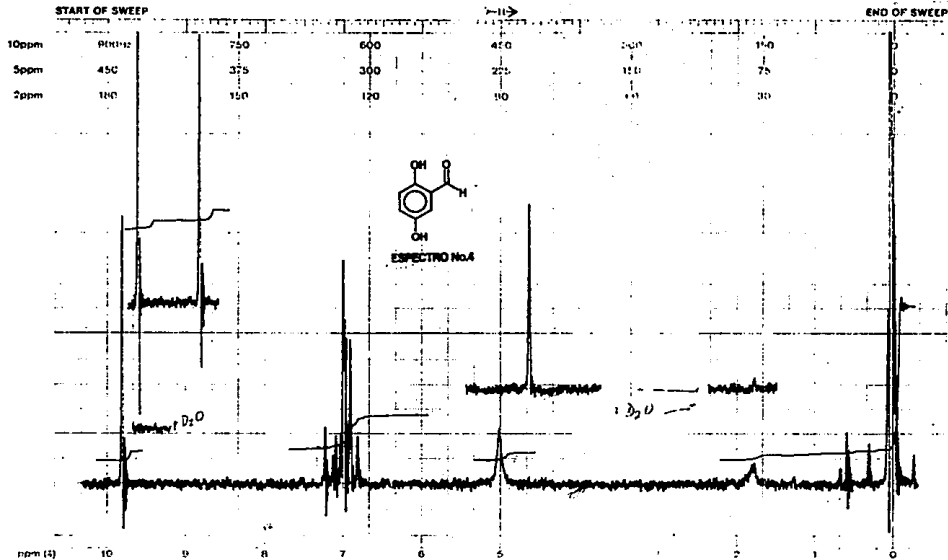


CH-1

varian instrument division



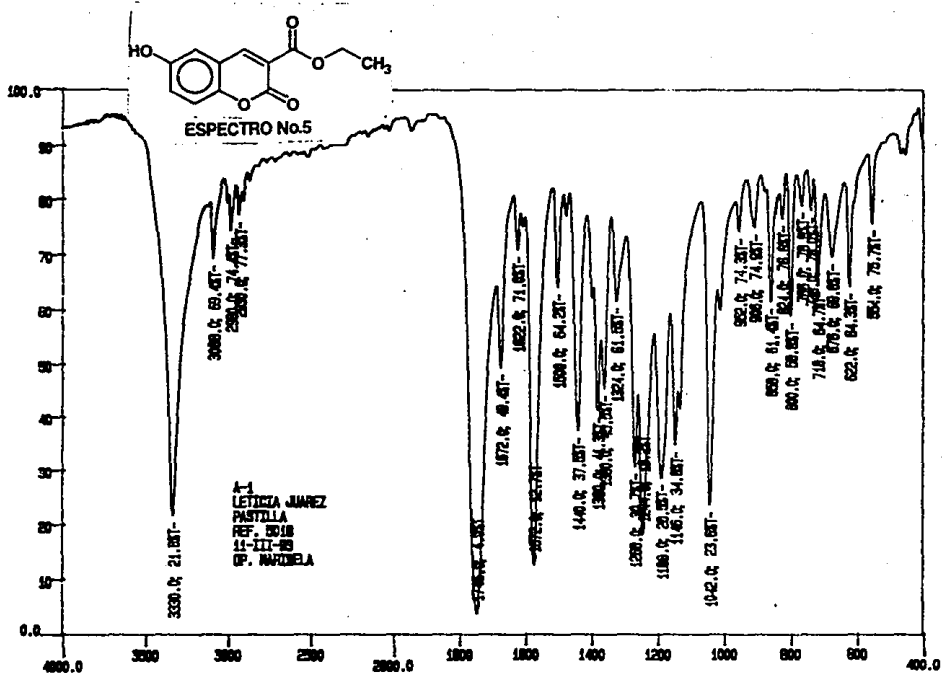
radio str. instruments



EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

LOCK POS.	ppm	SPECTRUM AMPL	$4 \times 10^4$	SWEEP TIME	5	min	NUCLEI	H	SAMPLE	Salicylal	OPERATOR	W. J. ...
LOCK POWER	dB	FILTER	0.05	sec	10	ppm	ZERO HLI	1.25	DATE	8-21-57		
DECOUPLE POS.	ppm	HF POWER	0.05	mG	0.1	ppm	SAMPLE TEMP.	R	SOLVENT	$C_2H_5OH$	SPECTRUM NO	11027

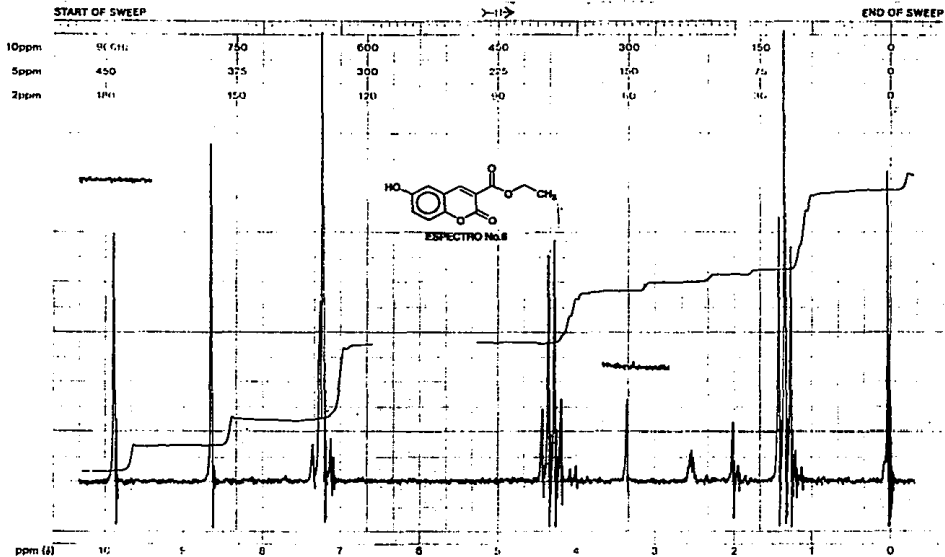






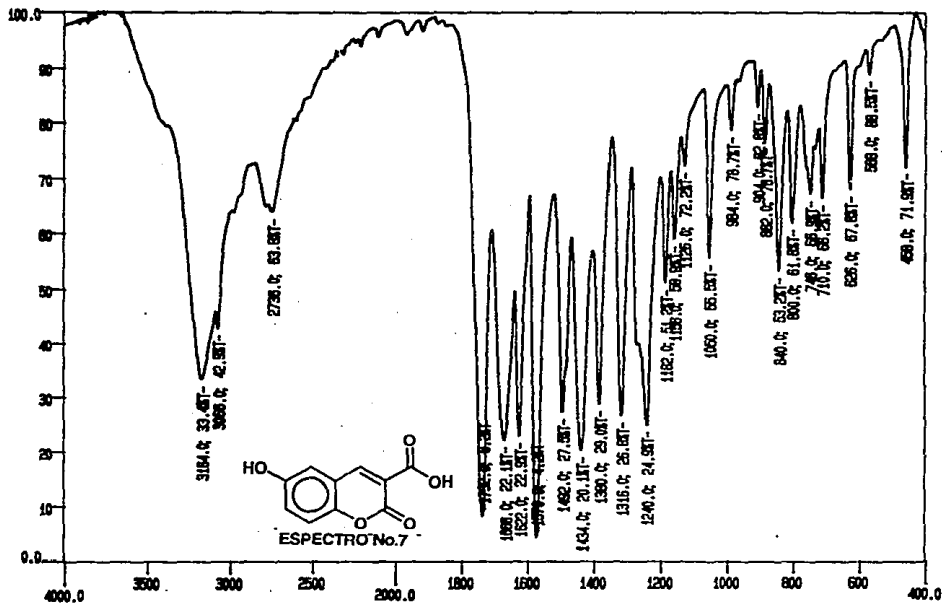
varian instrument division


PALM BEACH, FLORIDA

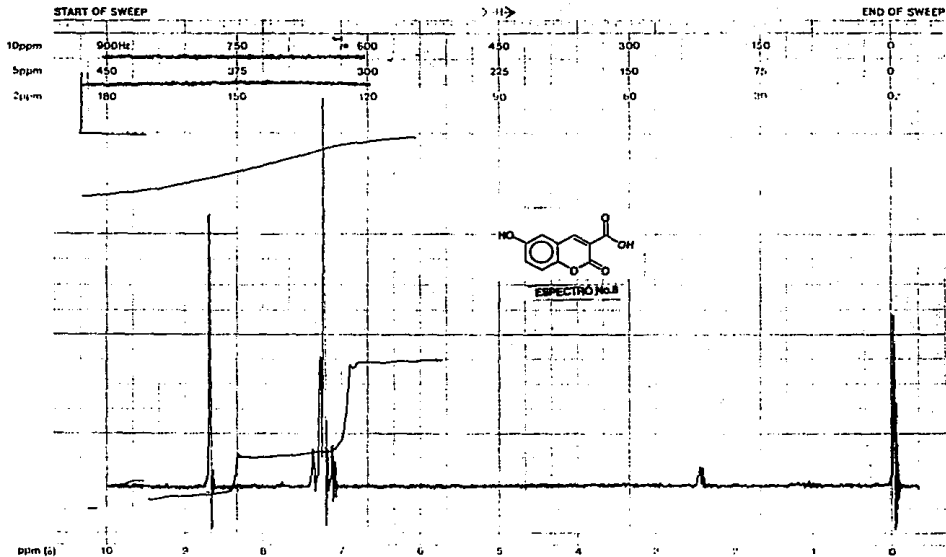


LOCK POS.	100m	SPECTRUM AMP.	23	sec	SWEEP TIME	2	min	NUCLUS	<sup>13</sup> C	SAMPLE:	ethyl ester	OPERATOR	W. J. ...	
LOCK POWER	mG	FILTER	0.65	sec	SWEEP WIDTH		ppm	ZERO REF.	7.85			DATE	... 22	
DECOUPLE POS.	ppm	RF POWER	0.65	mG	END OF SWEEP	0	ppm	SAMPLE TEMP.	25	C	SOLVENT:	CDCl <sub>3</sub>	SPECTRUM NO.	27322

EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

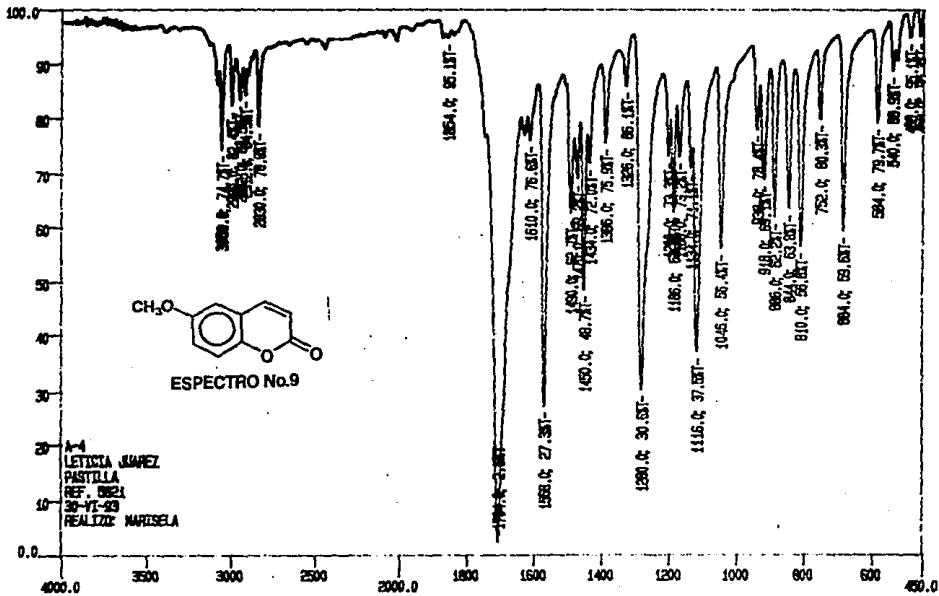



 varian instrument division    Palo Alto, California

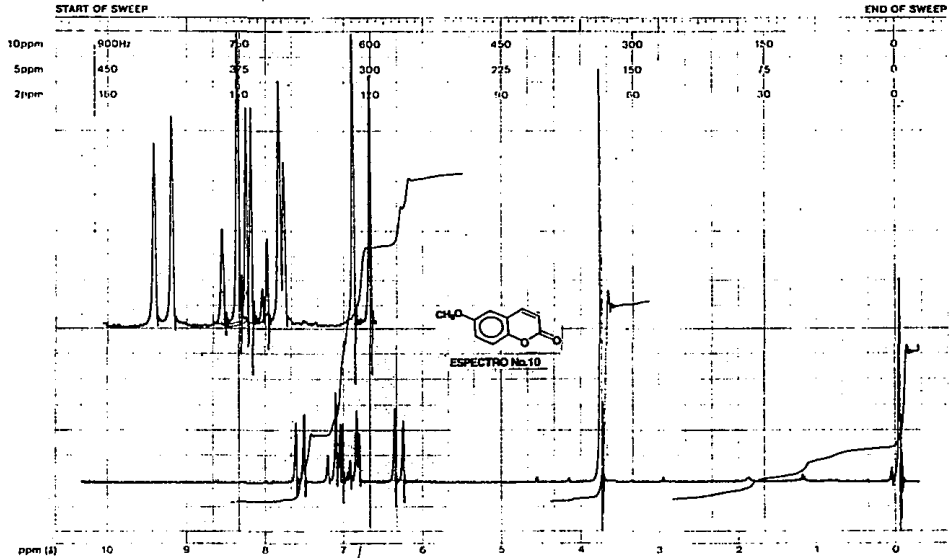


LOCK POS	ppm	SPECTRUM AMP	SWEEP TIME	min	NUCLEUS	SAMPLE: <i>5-hydroxy-7-methoxy-2-naphthoic acid</i>	OPERATOR: <i>Alperstein</i>
LOCK POWER	.mG	FILTER	SWEEP WIDTH	ppm	ZERO REF.	DATE: <i>11. 25. 63</i>	
DECOUPLE POS.	ppm	RF POWER	END OF SWEEP	ppm	SAMPLE TEMP.	SOLVENT: <i>CDCl<sub>3</sub></i>	SPECTRUM NO. <i>1272</i>

BT

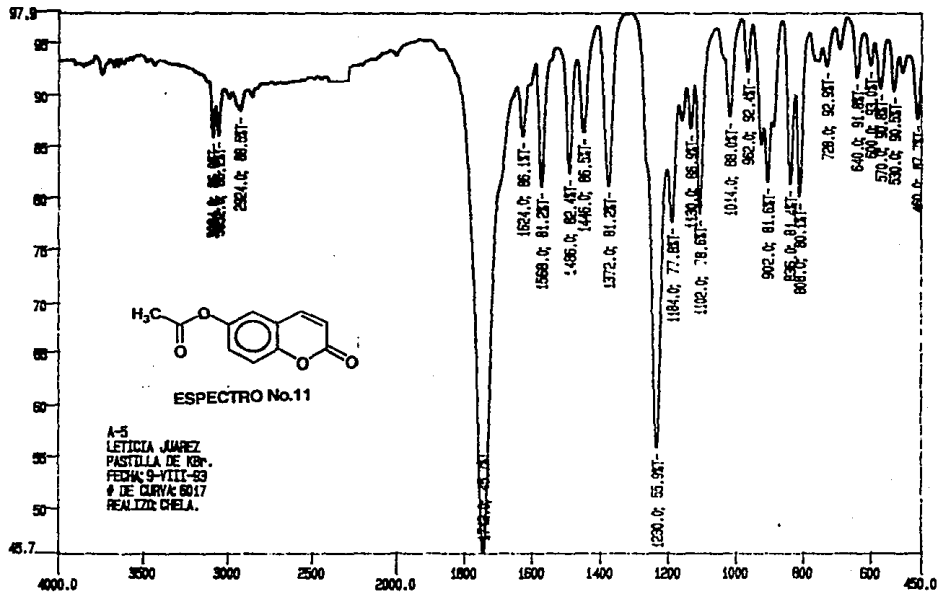


varian instrument division Palo Alto, California



LOCK POS	100m	SPECTRUM AMPL.	3.6	11.10.80	SWEEP TIME	6	min	NUCLEUS	<sup>1</sup> H	SAMPLE	1,4-dioxin	OPERATOR	Aljander	
LOCK POWLH	mG	FILTER	0.01	sec	SWEEP WIDTH	10	ppm	ZERO REF.	TMS	A-V		DATE	2-26-68	
DECOUPLE POS	100m	RF POWER	4.07	mG	END OF SWEEP	0	ppm	SAMPLE TEMP.	20	C	SOLVENT:	CDCl <sub>3</sub>	SPECTRUM NO.	17-60

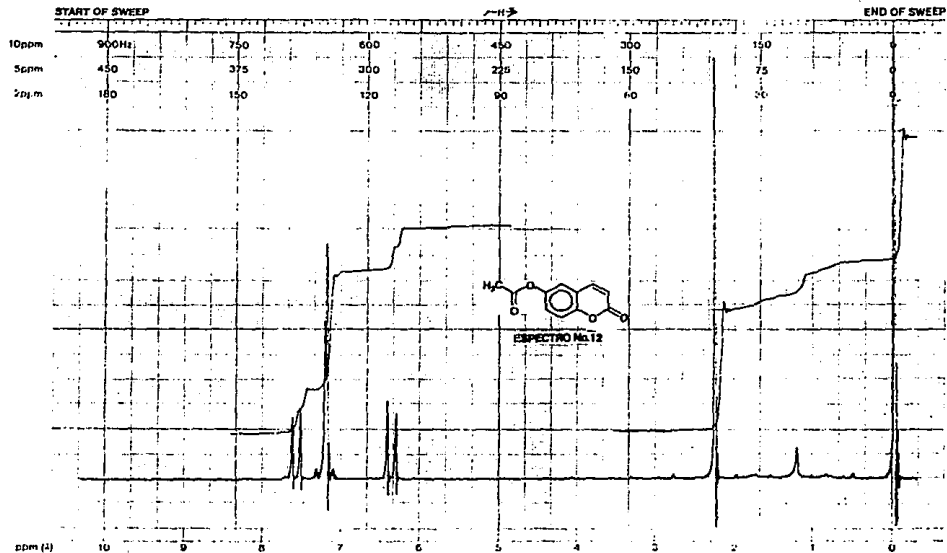
EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER





varian instrument division

part no. 104209 07



EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

LOCK POS. _____ ppm	SPECTRUM AMPL. <u>2.3</u>	SWEEP TIME _____ min	NUCLEUS _____	SAMPLE: <u>Adm J</u>	OPERATOR <u>Alj</u>
LOCK POWER _____ mG	FILTER <u>0.01</u> sec	SWEEP WIDTH _____ ppm	ZERO REF. _____	DATE: <u>6-29-73</u>	
DECOUPLE POS. _____ ppm	RF POWER <u>0.05</u> mG	END OF SWEEP _____ ppm	SAMPLE TEMP. <u>2</u> °C	SOLVENT: <u>CDCl<sub>3</sub></u>	SPECTRUM NO. <u>12 208</u>