



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO SOBRE LA SINTESIS DE ETERES
DERIVADOS DE HIDROXICUMARINAS Y EL ACIDO
CLOROACETICO, A TRAVES DE LA SINTESIS DE
WILLIAMSON.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO

PRESENTA:

MARTIN

LOPEZ

MARTINEZ



MEXICO, D. F.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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 esta 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: Profa. Gloria Pérez Candejas.
Vocal: Prof. José Manuel Méndez Slivalet.
Secretario: Prof. Fernando León Cedeño.
1er. suplente: Prof. Ricardo Jorge Cárdenas Pérez.
2do. suplente: Profa. María del Consuelo Socorro Sandoval García.

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

Asesor del tema:



Q. Fernando León Cedeño

Sustentante:



Martín López Martínez

Esta tesis esta dedicada a mis padres, por haberme dado lo mejor de su vida, así como su apoyo y comprensión en todo momento.

MARIA DEL ROSARIO MARTINEZ ROSARIO

LUIS LOPEZ CASTELLANOS

A Olivia, por estar siempre presente.

A mis amigos y amigas que me brindaron su confianza, por los momentos inolvidables que compartimos, por demostrar que la amistad existe y es invaluable.

AGRADECIMIENTOS

Al Q. Fernando León Cedeño, por la paciencia y dedicación con la que dirigió esta tesis, pero aun más, por su amistad.

A la Dra. Gloria Pérez Cendejas y al M. en C. José Manuel Méndez Stivalet por sus comentarios y sugerencias al presente trabajo.

A las siguientes personas por su valiosa colaboración:

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

Q. Alejandrina Acosta Huerta por la elaboración de los espectros de R.M.N.-¹H.

Q. Patricia Elizalde Galván por las determinaciones de HPLC.

Esta tesis se realizó gracias al apoyo económico de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la U.N.A.M.
Proyecto DGAPA IN 210294.

A la U.N.A.M., especialmente a la Facultad de Química.

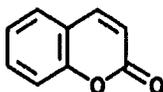
INDICE

| | |
|---|----|
| 1. Introducción. | 1 |
| 2. Antecedentes. | 4 |
| 2.1. El cáncer y su tratamiento. | 4 |
| 2.2. Síntesis de los derivados monohidroxilados de la cumarina. | 12 |
| 2.2.1. Síntesis de la 3-hidroxicumarina. | 12 |
| 2.2.2. Síntesis de la 4-hidroxicumarina. | 13 |
| 2.2.3. Síntesis de la 6-hidroxicumarina. | 15 |
| 2.2.4. Síntesis de la 7-hidroxicumarina. | 16 |
| 2.2.5. Síntesis de la 8-hidroxicumarina. | 18 |
| 2.3. Síntesis de Williamson. | 19 |
| 3. Resultados y Discusión. | 25 |
| 3.1. Obtención del ácido 2-(4'-cumarin-oxi)acético. | 30 |
| 3.2. Obtención del éster 2-(4'-cumarin-oxi)acetato de metilo. | 32 |
| 3.3. Obtención del ácido 2-(7'-cumarin-oxi)acético. | 36 |
| 3.4. Obtención del ácido 2-(6'-cumarin-oxi)acético. | 39 |
| 3.5. Obtención del ácido 2-(8'-cumarin-oxi)acético. | 41 |
| 3.6. Obtención del ácido 4-(5,7-dihidroxicumarin)acético. | 44 |
| 3.7. Obtención del ácido 4-cumarin-5,7-dioxi-triacético. | 46 |
| 4. Parte Experimental. | 49 |
| 4.1. Síntesis del ácido 2-(4'-cumarin-oxi)acético. | 50 |
| 4.2. Síntesis del éster 2-(4'-cumarin-oxi)acetato de metilo. | 51 |
| 4.3. Síntesis del ácido 2-(7'-cumarin-oxi)acético. | 52 |
| 4.4. Síntesis del ácido 2-(6'-cumarin-oxi)acético. | 53 |
| 4.5. Síntesis del ácido 2-(8'-cumarin-oxi)acético. | 54 |
| 4.6. Síntesis del ácido 4-(5,7-dihidroxicumarin)acético. | 55 |
| 4.7. Síntesis del ácido 4-cumarin-5,7-dioxi-triacético. | 56 |
| 5. Conclusiones. | 57 |
| 6. Bibliografía. | 59 |
| 7. Anexo. Espectroscopía. | 61 |

1. INTRODUCCION.

La cumarina se encuentra en la naturaleza como constituyente de algunas plantas, entre las cuales se encuentran las leguminosas (*Leguminosae*), las orquídeas (*Orchidaceae*), las rutáceas (*Rutaceae*) y umbelíferas (*Umbelliferae*).¹

Desde el punto de vista de su constitución química, las cumarinas y sus derivados son un grupo de compuestos derivados del ácido o-hidroxicinámico; se ha establecido que la cumarina esta formada por la fusión de un anillo de benceno y un anillo de una 1,2-pirrona; es decir, las cumarinas son una clase de compuestos heterocíclicos que contienen oxígeno².



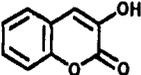
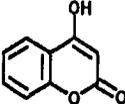
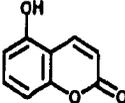
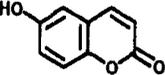
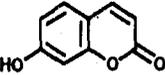
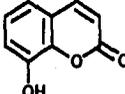
CUMARINA

(1)

Se ha demostrado que la cumarina, la cual es un compuesto con una baja actividad anticoagulante, presenta un efecto retardante en la evolución de neoplasias malignas (cánceres)³ en humanos, y activa tanto *in vivo* como *in vitro*, diversos mecanismos del sistema inmune (por ejemplo, estimulando la actividad fagocitaria de los macrófagos). Estas acciones estimulantes se han observado también en sujetos sanos y en animales de laboratorio, por lo que se les ha empezado a utilizar en el tratamiento de diversas neoplasias malignas.

La activación de los macrófagos es modesta. Sin embargo es probable que algunos derivados de la cumarina sean activadores más potentes de los macrófagos, y por lo tanto estos serán más eficaces en el tratamiento de las neoplasias malignas y de otros padecimientos que estan relacionados con la inmunodepresión.

Se ha demostrado que la cumarina se biotransforma en roedores y humanos⁴, dando lugar a compuestos hidroxilados en las posiciones 3, 4, 5, 6, 7 y 8. En base a esta evidencia, es posible que alguna de estas cumarinas hidroxiladas tenga una actividad-estimulante mayor que la cumarina misma⁵.

| | |
|--|---------------------------------|
|  <p>(2)</p> | <p>3-HIDROXICUMARINA</p> |
|  <p>(3)</p> | <p>4-HIDROXICUMARINA</p> |
|  <p>(4)</p> | <p>5-HIDROXICUMARINA</p> |
|  <p>(5)</p> | <p>6-HIDROXICUMARINA</p> |
|  <p>(6)</p> | <p>7-HIDROXICUMARINA</p> |
|  <p>(7)</p> | <p>8-HIDROXICUMARINA</p> |

En base a esto se creó un proyecto multidisciplinario entre el Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Química de la UNAM y el Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la UNAM, cuyo fin es el de llevar a cabo la síntesis y la evaluación farmacológica de diferentes cumarinas mono y dihidroxiladas. En su etapa inicial, el proyecto contempló la síntesis y evaluación de las cumarinas monohidroxiladas 3, 4, 5, 6, 7 y 8. La síntesis de la 5-hidroxicumarina no se ha logrado hasta el momento, y la 8-hidroxicumarina no mostró una solubilidad adecuada para poder hacer las determinaciones farmacológicas. Ante el problema que se presentó con la 8-hidroxicumarina en cuanto a su baja solubilidad para poder realizar las pruebas *in vitro*, se planteó la síntesis de una serie de derivados entre el ácido cloroacético y las hidroxicumarinas, para determinar si el nuevo éter-ácido derivado de las hidroxicumarinas presenta una mayor solubilidad. Así mismo se decidió establecer si se presenta alguna diferencia al utilizar ahora estos derivados cumarínicos, lo cuál pensamos va a facilitar su transporte dentro de la célula y de esta forma poder estudiar su actividad biológica como posibles fármacos con actividad inmuno-estimulante y antineoplásica.

2. ANTECEDENTES.

2.1 El cáncer y su tratamiento.

En ciertas condiciones, una célula que se encuentra estática (no crece ni se divide), puede presentar crecimiento y división activos, sin control, formando un tumor o un 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 linfática y sanguínea. Estas células no diferenciadas crecen y alteran la organización de los tejidos en donde se localizan⁶.

Hasta ahora, los métodos para tratar de corregir y controlar los efectos del cáncer caen dentro de tres métodos tradicionales:

1. Cirugía: remueve tumores.
2. Radiación: disminuye o destruye cánceres localizados que no son tratables con cirugía.
3. Quimioterapia: sistema de inyección de drogas para destruir el crecimiento canceroso en todo el cuerpo

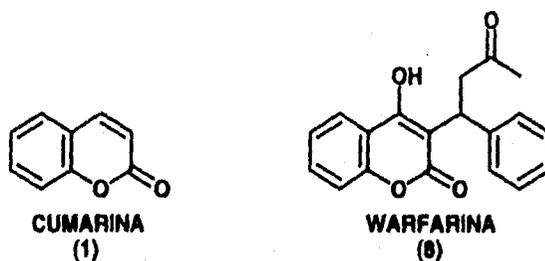
La necesidad de nuevos tratamientos es muy grande. Cada uno de los tratamientos, los cuales se pueden utilizar en forma individual o en conjunto (cirugía, radiación y quimioterapia) sanan el cáncer en casi la mitad de los pacientes en que se desarrolla. Sin embargo la incidencia de cáncer y por lo tanto el número de muertes permanece alta. Las estadísticas indican que la enfermedad se presenta en uno de cada cuatro individuos.

La evidencia de que muchas enfermedades están asociadas con inmunodeficiencia celular, ha 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 uso potencial como auxiliares de las vacunas en pacientes con deficiencias secundarias, incluyendo infecciones inmunodeficientes por virus, cáncer y autoinmunidad.

El sistema inmunológico es selectivo, ya que ataca normal y únicamente a células enfermas, ignorando a las sanas. Es por esta razón que los agentes inmunoestimulantes se han utilizado en el tratamiento contra un cáncer más específico.

Desafortunadamente los agentes inmunoestimulantes disponibles en la actualidad son poco potentes, por lo que su uso está muy restringido.

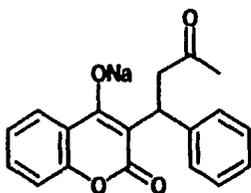
Se ha observado que la cumarina (1) y sus derivados como la Warfarina (8), son compuestos que retardan la evolución de algunos tipos de neoplasias malignas y alargan al doble⁹, el tiempo de sobrevivencia de los pacientes.



Se ha establecido que las drogas anticoagulantes tienen una acción antimetastásica en algunos modelos experimentales de tumores. Hilgard y Thorne demostraron que en animales⁸ se obtiene una reducción significativa en el número de tumores secundarios.

La cumarina, presenta una baja actividad anticoagulante, y se ha utilizado sola o en combinación con otros fármacos en el tratamiento de melanomas y carcinomas renales metastásicos en humanos^{8,10}, en los cuales se ha observado una disminución en la tasa de recurrencia durante la terapia, así como la estabilización de la enfermedad después del tratamiento.

De acuerdo a resultados obtenidos en estudios clínicos controlados, se ha demostrado que los anticoagulantes orales se pueden administrar sin peligro, durante tratamientos por períodos largos. Estos estudios se practicaron a 96 pacientes con cáncer avanzado, 15 de los 96 pacientes que fueron tratados sobrevivieron dos años. Posteriormente, en un experimento controlado con la sal de sodio de la Warfarina (9), en 128 casos de cáncer recurrente, se observó que el tiempo de sobrevida se incrementó al doble⁸.



**SAL DE SODIO DE LA WARFARINA
(9)**

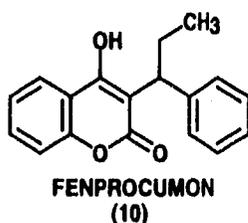
Control experimental de la sal de Sodio de la Warfarina como una terapia auxiliar en cáncer recurrente Tabla 1.

Tabla 1.

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

En base a estos resultados, se concluyó que la sal de sodio de la Warfarina (9) se puede usar como un auxiliar en el tratamiento de cáncer periódico, en combinación con la quimioterapia¹⁴.

En otras investigaciones, se estudiaron los efectos de otro derivado de la cumarina, el Fenprocumón (10), sobre tumores inducidos. Estas investigaciones demostraron que este compuesto es capaz de reducir el número de colonias de células cancerosas, tanto en animales con baja capacidad coagulante, como en aquellos que tuvieron una capacidad normal de coagulación, después de la administración de la Vitamina K¹¹.



Una vez que se determinó que la cumarina (1) se biotransforma en roedores y humanos⁴ en sus derivados hidroxilados en las posiciones 3, 4, 5, 6, 7 y 8, esta evidencia dió origen a un estudio cuyo propósito era investigar si los productos de hidroxilación de la cumarina presentan actividad inmunoestimulante en el ratón. En macrófagos peritoneales se cuantificó la secreción del factor α -necrosante de tumores (TNF α). En esplendocitos se cuantificó la secreción de interleucinas-3 (IL-3).

El sistema inmunitario¹² contiene diversos tipos celulares, que incluyen linfocitos, fagocitos mononucleares (monocitos y macrófagos) y granulocitos. Estas células controlan diferentes funciones inmunitarias y secretan una gran variedad de sustancias solubles que regulan el sistema inmunitario.

Existen tres tipos diferentes de linfocitos: células T, células B y células NK; las células T y B, pueden reconocer más de 10^{11} antígenos distintos mediante el uso de sus receptores glucoproteicos. Las células NK, se caracterizan por su capacidad para matar ciertas células tumorales. Las células NK reconocen y matan tumores autólogos (propios) y llevan a cabo una amplia variedad de actividades inmunitarias diferentes. Después del estímulo apropiado (por ejemplo, interacciones con ciertos tumores, células infectadas con virus, productos bacterianos, linfocitos o complejos inmunitarios), las células NK secretan varias citocinas, las cuales incluyen al interferón gama y al TNF.

Dentro de los fagocitos mononucleares¹², se encuentran los monocitos y los macrófagos, los cuales pueden funcionar como células APC (célula presentadora de antígeno) para linfocitos T al ingerir y degradar al antígeno externo.

El desarrollo de monocitos y macrófagos está afectado por la secreción de citosinas (CSF = factores estimulantes de las colonias) y linfocinas (interleucina-2 = IL-2, interleucina-3 = IL-3, interleucina-4 = IL-4).

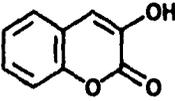
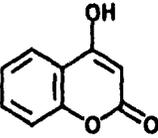
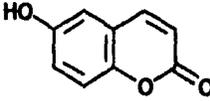
Las principales características funcionales de los monocitos-macrófagos, son la ingestión de partículas menores de $0.1 \mu\text{m}$ mediante pinocitosis, y englobamiento de partículas mayores de $0.1 \mu\text{m}$ mediante fagocitosis. En el englobamiento, al principio la partícula se adhiere a la membrana plasmática de la célula y después se ingiere.

Los macrófagos son las principales células productoras del factor de necrosis tumoral- α (TNF α). El TNF α , presenta actividad en el suero que induce necrosis hemorrágica en ciertos tumores *in vivo*. Así mismo, estimula a los macrófagos y a las células NK.

Los macrófagos¹² producen el TNF α en respuesta a diversos agentes que incluyen adyuvantes (potenciadores de la respuesta inmune), tales como los lipopolisacáridos (LPS).

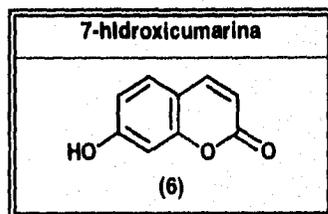
Los linfocitos T son los principales productores de IL-3 (interleucina-3), conocida como multi-CSF, la cual actúa sobre células madre pluripotentes para producir todos los tipos de células hematopoyéticas (células sanguíneas).

Se llevó a cabo la síntesis de los derivados monohidroxilados de la cumarina (1), y se realizó la evaluación farmacológica de los siguientes compuestos: 3, 4, 6, 7 y 8-hidroxicumarina. Los resultados obtenidos hasta el momento, indican que las cumarinas monohidroxiladas en 3, 4 y 6 no aumentaron la secreción del $\text{TNF}\alpha$ aún en presencia de los LPS.

| 3-hidroxicumarina | 4-hidroxicumarina | 6-hidroxicumarina |
|--|--|--|
|  (2) |  (3) |  (5) |

Al disminuir las dosis dependientes en la secreción del $\text{TNF}\alpha$ con las cumarinas hidroxiladas en 3 y 6, estas corresponden a disminuciones en la viabilidad celular. En cambio, las disminuciones en la secreción del $\text{TNF}\alpha$ observadas con la 4-hidroxicumarina (3) no corresponden a disminuciones en la viabilidad celular.

La 7-hidroxicumarina (6) aumenta la secreción del $\text{TNF}\alpha$ hasta en un 63% a concentraciones de 2.3 a 9.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en presencia de los LPS.



Con la 3-hidroxycumarina (2) se observaron aumentos en la secreción de la IL-3 en ausencia de los LPS, en concentraciones de 2.3 a 18.8 $\mu\text{g/mL}$. A la concentración de 9.4 $\mu\text{g/mL}$ el aumento fué de un 352%. Con la 6-hidroxycumarina (5) se observó un aumento en la secreción de la IL-3 a la concentración de 3.1 $\mu\text{g/mL}$ de 191%. Con la 7-hidroxycumarina (6) también se observó un aumento en la secreción de la IL-3 a las concentraciones de 18.8 y 75 $\mu\text{g/mL}$, de un 554% y de un 461% respectivamente, también en ausencia de los LPS.

Stuhlmeier y colaboradores observaron que la cumarina (1) y la 7-hidroxycumarina (6) en presencia de los LPS inducen la secreción del IL-1 β en los macrófagos humanos. Roskopf, F. y colaboradores (1992) observaron aumento en la actividad fagocitaria en los macrófagos humanos de 124% y en los macrófagos peritoneales murinos de 84% con la 7-hidroxycumarina (6) en concentraciones de 2 y 20 $\mu\text{g/mL}$. De manera análoga, se observa sinergismo en macrófagos murinos entre la 7-hidroxycumarina (6) y los LPS con respecto a la secreción del TNF α . Este efecto de la 7-hidroxycumarina (6) es selectivo, ya que las otras tres monohidroxycumarinas no lo presentan.

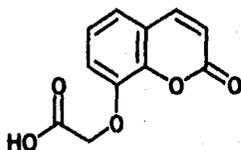
Las cumarinas activas en cuanto a la producción de la IL-3 particularmente la 3-hidroxycumarina (2), es el metabolito principal de la cumarina en ratones, y la actividad biológica observada podría ser de interés en la terapia en humanos como estimulante del sistema hematopoyético (formador de todas las células sanguíneas). Ya que no requieren la presencia de endotoxinas bacterianas para estimular, serían útiles para tratar por ejemplo anemias aplásticas e inclusive deficiencias en la producción de linfocitos como por ejemplo el Síndrome de Inmuno Deficiencia Adquirida (SIDA).

El metabolito principal en humanos es la cumarina, la cual en presencia de las endotoxinas (LPS) induce a las células fagocitarias a secretar una sustancia necrosante de tumores. Esto posiblemente explique porque, en los sujetos que las toman, disminuyen las metástasis de algunos tipos de carcinomas, por ejemplo de la próstata y el renal, así como el melanoma maligno.

Se ha determinado que el tiempo de vida media de las hidroxycumarinas es de 1.5 horas. Posiblemente la adición de grupos funcionales, potencie la acción de las cumarinas, al hacerlas más resistentes a la biotransformación, por lo que su efecto podría ser más prolongado y en consecuencia se requerirán de dosis a intervalos mayores.

De esta forma se planteó la síntesis de una serie de derivados entre el ácido cloroacético y las hidroxycumarinas, para determinar si el nuevo éter-ácido derivado de las hidroxycumarinas logra este propósito. Además se quiere comprobar si estos derivados presentan una mayor solubilidad, dado el problema que se presentó con la 8-hidroxycumarina al tratar de realizar las pruebas *in vitro*, por lo que esperamos que este grupo funcional facilitará el transporte del compuesto dentro de la célula y de esta forma se podrá estudiar su posible actividad inmunoestimulante.

Eter-ácido derivado de las hidroxycumarinas.



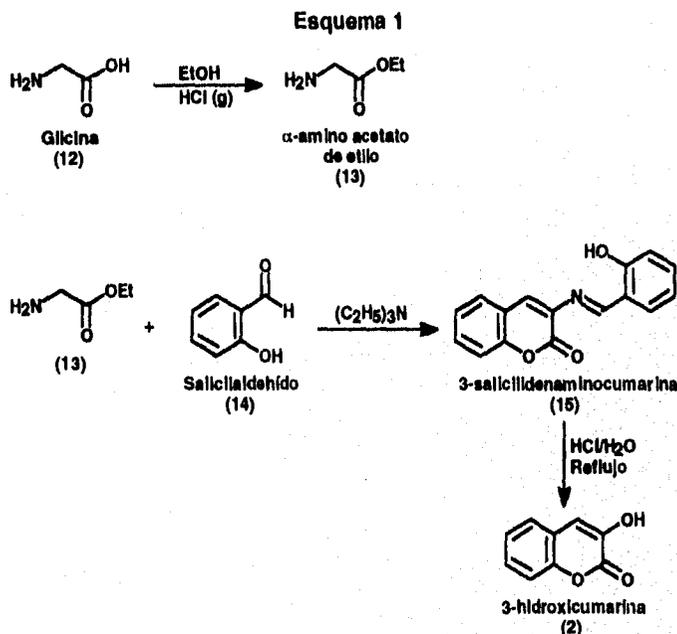
**Acido 2-(8'-cumarin-oxi)acético
(11)**

2.2 SINTESIS DE LOS DERIVADOS MONOHIDROXILADOS DE LA CUMARINA.

2.2.1. Síntesis de la 3-hidroxicumarina¹³.

Uno de los métodos descritos en la literatura para obtener la 3-hidroxicumarina (2), es en el que se hace uso de la reacción de Knoevenagel¹⁵.

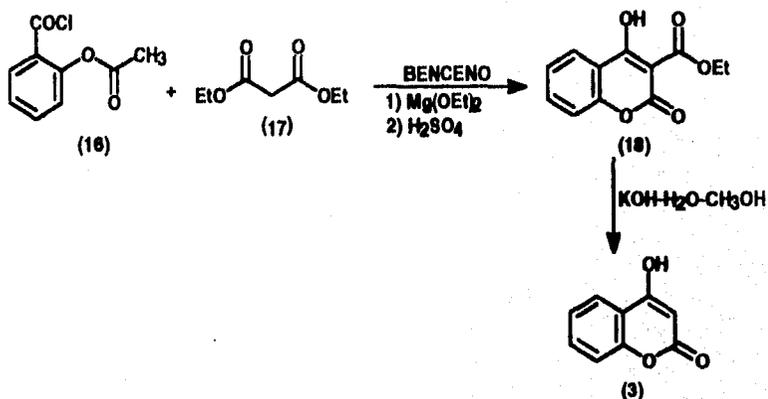
Esta síntesis utiliza como materia prima a la glicina (12), la cual al hacerla reaccionar con etanol en presencia de ácido clorhídrico gaseoso, bajo las condiciones de esterificación de Fischer, da lugar al glicinato de etilo (13). El éster etílico de la glicina¹⁴ (13) se trata con el salicilaldehído (14), para que en presencia de la trietilamina permita obtener la 3-salicilidenaminocumarina (15), la cual a través de una hidrólisis con ácido clorhídrico diluido (1.0 N) da como resultado la 3-hidroxicumarina (2), la cual presenta un punto de fusión de 150-151 °C y se obtiene con un rendimiento global del 35%, Esquema 1.



2.2.2. Síntesis de la 4-hidroxicumarina.

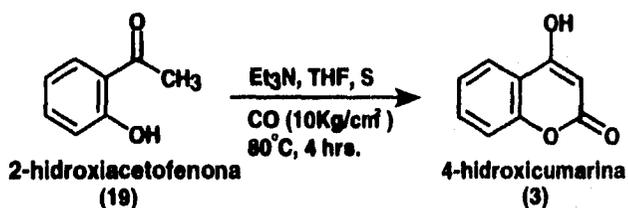
Entre los métodos principales descritos para la síntesis de la 4-hidroxicumarina (3), se encuentra el reportado por Das Gupta¹⁵, el cual utiliza como materia prima el cloruro de acetil saliciloilo (16), que se hace condensar con malonato de dietilo (17) en presencia de etóxido de magnesio como catalizador, dando lugar al éster 3-etoxicarbonil-4-hidroxicumarina (18), el cual a través de una hidrólisis alcalina (hidróxido de potasio en agua y metanol), da finalmente la 4-hidroxicumarina (3), Esquema 2.

Esquema 2.



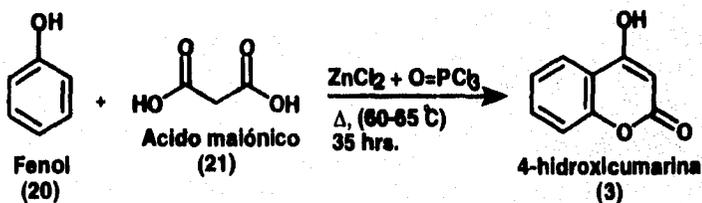
Por otro lado la 4-hidroxicumarina¹⁶ (3) también fué sintetizada, con excelentes rendimientos, a partir de una C-carbonilación de la 2-hidroxiacetofenona con monóxido de carbono en presencia de azufre y trietilamina, bajo condiciones de reacción suaves (80 °C, y 10 Kg/cm² de presión del monóxido de carbono), Esquema 3.

Esquema 3



Se ha descrito la síntesis de la 4-hidroxicumarina (3), al tratar al fenol (20) con el ácido malónico (21), en presencia de una mezcla de cloruro de zinc anhidro y oxiclورو de fósforo (2:3), como agente condensante, a una temperatura entre 60-65 °C, Esquema 4.

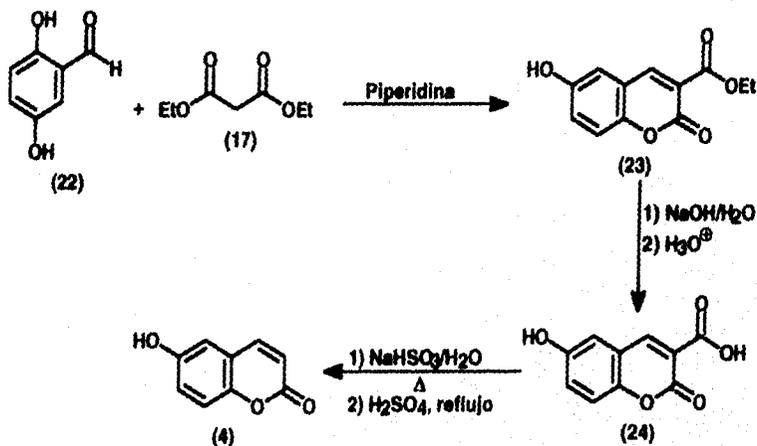
Esquema 4



2.2.3. Síntesis de la 6-hidroxicumarina¹⁹.

Para llevar a cabo la síntesis de este compuesto (4), se hace uso de la reacción de condensación de Knoevenagel¹⁹, utilizando como materia prima el 2,5-dihidroxibenzaldehído (22), el cual, al hacerlo condensar con malonato de dietilo (17) en presencia de piperidina como catalizador, da lugar al éster correspondiente, la 3-etoxicarbonil-6-hidroxicumarina (23). La saponificación del éster (23) se lleva a cabo mediante una hidrólisis básica (solución acuosa de hidróxido de sodio al 10%), obteniéndose el ácido 3-(6-hidroxicumarin)carboxílico (24), el cual a través de una reacción de descarboxilación con bisulfito de sodio y ácido sulfúrico concentrado, da como resultado la 6-hidroxicumarina (4), que presenta un punto de fusión de 250 °C y se obtiene con un rendimiento global del 65%, Esquema 5.

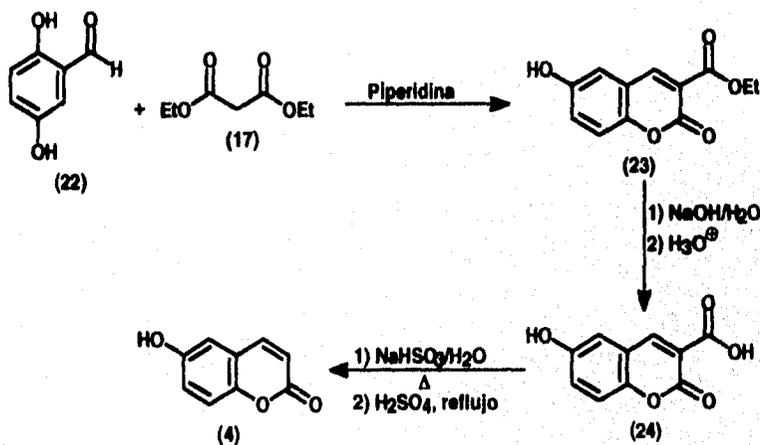
Esquema 5



2.2.3. Síntesis de la 6-hidroxicumarina¹⁸.

Para llevar a cabo la síntesis de este compuesto (4), se hace uso de la reacción de condensación de Knoevenagel¹⁹, utilizando como materia prima el 2,5-dihidroxibenzaldehído (22), el cual, al hacerlo condensar con malonato de dietilo (17) en presencia de piperidina como catalizador, da lugar al éster correspondiente, la 3-etoxicarbonil-6-hidroxicumarina (23). La saponificación del éster (23) se lleva a cabo mediante una hidrólisis básica (solución acuosa de hidróxido de sodio al 10%), obteniéndose el ácido 3-(6-hidroxicumarin)carboxílico (24), el cual a través de una reacción de descarboxilación con bisulfito de sodio y ácido sulfúrico concentrado, da como resultado la 6-hidroxicumarina (4), que presenta un punto de fusión de 250 °C y se obtiene con un rendimiento global del 65%, Esquema 5.

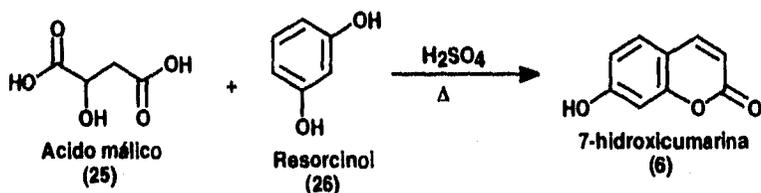
Esquema 5



2.2.4. Síntesis de la 7-hidroxicumarina.

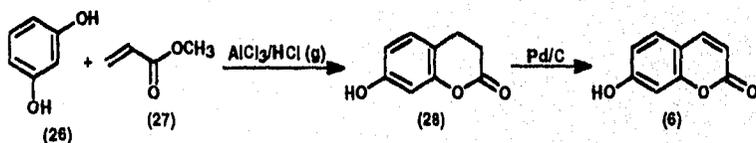
Uno de los métodos más utilizados para la obtención de este compuesto (6) es el que hace uso de la reacción de Pechmann²⁰, la cual consiste en la condensación del resorcinol (26) y el ácido málico (25), en presencia de ácido sulfúrico concentrado, Esquema 6.

Esquema 6



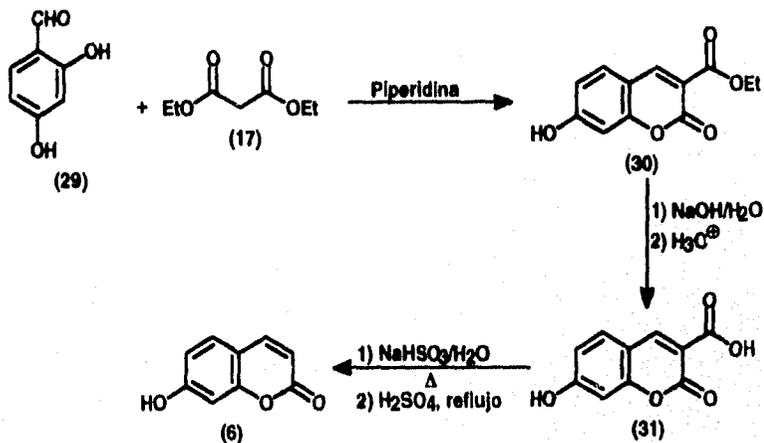
Otro método de síntesis, es el reportado por Das Gupta²¹, en el cual se condensa el resorcinol (26) y el acrilato de metilo (27), en presencia de cloruro de aluminio anhidro y de cloruro de hidrógeno seco, a 150-160 °C, obteniéndose la 7-hidroxi-3,4-dihidroxicumarina (28). La deshidrogenación de este compuesto da como resultado la 7-hidroxicumarina (6), Esquema 7.

Esquema 7



Un tercer método²² de síntesis, reportado para este compuesto, se lleva a cabo a través de la reacción de condensación de Knoevenagel¹⁹, utilizando como materias primas al 2,4-dihidroxibenzaldehído (29) y al malonato de dietilo (17), en presencia de piridina como catalizador, dando lugar al éster correspondiente, la 3-etoxicarbonil-7-hidroxicumarina (30). La saponificación del éster se lleva a cabo mediante una hidrólisis básica, (solución acuosa de hidróxido de sodio al 10%), obteniéndose el ácido 3-(7-hidroxicumarin)carboxílico (31), el cual a través de una reacción de descarboxilación con bisulfito de sodio y ácido sulfúrico concentrado, da como resultado la 7-hidroxicumarina (6), con un punto de fusión de 231 °C, Esquema 8.

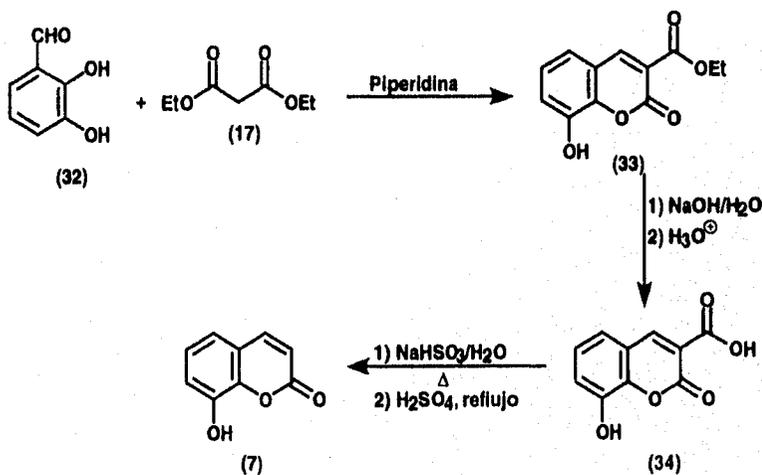
Esquema 8



2.2.5. Síntesis de la 8-hidroxicumarina²².

Para llevar a cabo la obtención de este compuesto se hace uso de la reacción de condensación de Knoevenagel¹⁹. Se utiliza como materia prima el 2,3-dihidroxibenzaldehído (32), que se condensa con el malonato de dietilo (17) en presencia de piperidina como catalizador, dando lugar al éster, 3-carboxietil-8-hidroxicumarina (33). La reacción de saponificación del éster se realiza mediante una hidrólisis básica (solución acuosa de hidróxido de sodio al 10%) obteniéndose el ácido 3-(8-hidroxicumarin)carboxílico (34). La descarboxilación posterior del ácido (34), empleando bisulfito de sodio y ácido sulfúrico concentrado, da como resultado la 8-hidroxicumarina (7) la cual presenta un punto de fusión de 159-161°C y se obtiene con un rendimiento global del 40%, Esquema 9.

Esquema 9



2.3 SINTESIS DE ETERES DE WILLIAMSON^{23,24}.

El trabajo de Alexander William Williamson en el período de 1850-1860, proporcionó un método general para la síntesis de éteres, el cual consiste en la reacción entre un alcóxido (o un ion fenóxido) y un halogenuro de alquilo²³.

La conversión de un alcohol (o un fenol) en un nucleófilo eficaz, el cual desplaza a un buen grupo saliente presente en otro sustrato, constituye uno de los métodos más importantes para formar el enlace C-O-C, Esquema 10.

Esquema 10



Estas reacciones de sustitución nucleofílica, ocurren a través de un mecanismo S_N2 (Sustitución Nucleofílica Bimolecular), Esquema 11.

Esquema 11



(R = alquilo o arilo)

En el método normal para llevar a cabo la síntesis de éteres de Williamson, se trata el halogenuro de alquilo con el ion alcóxido (o fenóxido), preparado a partir de un alcohol (o un fenol), Esquema 10. Sin embargo, también es posible mezclar el halogenuro de alquilo y el alcohol (o fenol) directamente con la base, en el disolvente correspondiente, Esquema 12.

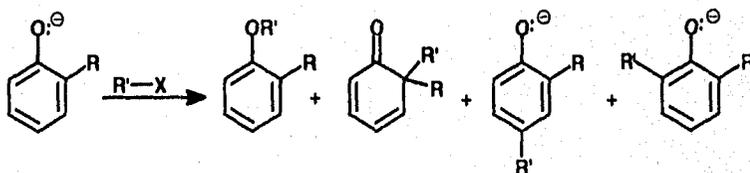
Esquema 12



Para la formación del alcóxido (o del fenóxido) se pueden utilizar entre otras bases, el hidruro de sodio, el hidróxido de sodio, el hidróxido de potasio, amidiuro de sodio, sodio o potasio en disolventes de alto punto ebullición como benceno, tolueno, dioxano o xileno; así como el uso de bases débiles, pero estas se utilizan exclusivamente para la preparación de los fenóxidos.

En la reacción de un ion fenóxido con un halogenuro de alquilo, se presenta en algunas ocasiones la reacción de C-alquilación como una reacción lateral, Esquema 13.

Esquema 13



En estas reacciones de sustitución, la naturaleza del grupo alquilo del sustrato, el grupo saliente, el ataque nucleofílico, el disolvente y la temperatura son factores importantes que influyen en el desarrollo de la reacción, específicamente en el grado de sustitución (O-alkilación y C-alkilación).

La relación S_N2/E_2 en las reacciones nucleofílicas bimoleculares, no se altera significativamente por la naturaleza del grupo saliente. Con respecto al disolvente, se ha demostrado que las sales de los fenoles (en una gran variedad de disolventes), reaccionan a través de procesos bimoleculares con halogenuros de alquilo, para dar lugar a los éteres correspondientes, con buenos rendimientos y se observa una baja proporción de los productos de C-alkilación. Sin embargo cuando estas reacciones se efectúan en disolventes que forman puentes de hidrógeno fuertes, tales como agua y alcoholes fluorados se obtienen cantidades considerables de los productos de C-alkilación con respecto a los de la O-alkilación (Tabla 2).

TABLA 2.

Efectos de los disolventes sobre la distribución de productos en la alquilación homogénea de sales fenólicas.

| Disolvente | Sal | Agente Alquilante | % Rendimiento | |
|---------------------------------|---------------------|-------------------|---------------|---------------|
| | | | O-alquilación | C-alquilación |
| Alcohol t-Butílico | PhO:Na ⁺ | Bromuro de alilo. | 100 | |
| Eter | PhO:Na ⁺ | Bromuro de alilo. | 99 | |
| Etanol | PhO:Na ⁺ | Cloruro de alilo. | 100 | |
| Metanol | PhO:Na ⁺ | Cloruro de alilo. | 100 | |
| Fenol (43 °C) p.f. 43 °C | PhO:Na ⁺ | Cloruro de alilo. | 22 | 78 |
| 2,2,3,3-tetrafluoro-1-propanol. | PhO:Na ⁺ | Cloruro de alilo. | 58 | 37 |
| 2,2,2-trifluoro-etanol. | PhO:Na ⁺ | Bromuro de alilo. | 37 | 42 |
| Tetrahidrofurano | PhO:Na ⁺ | Cloruro de alilo. | 96 | |
| Agua | PhO:Na ⁺ | Cloruro de alilo. | 49 | 41 |

La influencia de los disolventes²⁵ en la relación de productos de alquilación en el átomo de carbono y de oxígeno, se explica por la fuerza del puente de hidrógeno del disolvente para solvatar al oxígeno del fenóxido de una forma tan eficaz que disminuye su capacidad para llevar a cabo desplazamientos nucleofílicos, lo cual origina que los átomos de carbono compitan con buen resultado en el desplazamiento nucleofílico.

En disolventes apróticos con alta constante dieléctrica, predomina la formación del éter (Tabla 3).

TABLA 3.

Efecto del disolvente en reacciones del bromuro de bencilo con el nafóxido de sodio.

| Constante dieléctrica. | Disolvente | % C-alquilación. | % O-alquilación. |
|------------------------|-----------------------|------------------|------------------|
| 37 | Dimetil formamida | 0 | 97 |
| 45 | Dimetil sulfóxido | 0 | 95 |
| 7 | Etilenglicol | 22 | 70 |
| 7 | Tetrahidrofurano | 36 | 60 |
| 33 | Metanol | 34 | 57 |
| 24 | Etanol | 28 | 52 |
| 27 | 2,2,2-trifluoroetanol | 85 | 7 |
| 80 | agua | 84 | 10 |
| | Benceno-agua | 83 | 7 |

El grado de alquilación en los átomos de oxígeno y de carbono, también depende de la naturaleza del halogenuro de alquilo, lo cuál está en función del efecto estérico. En general, a mayor impedimento estérico se observa una mayor C-alquilación con respecto a la O-alquilación (Tabla 4).

TABLA 4

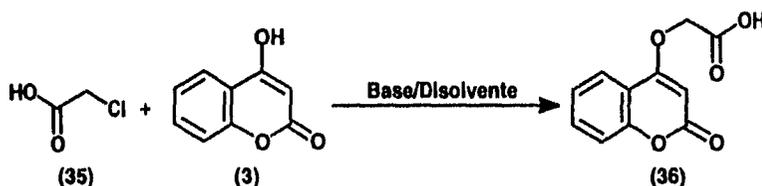
Alquilación de 2,6-di-terbutilfenóxido de potasio.

| ioduro de alquilo | % O-alquilación | %C-alquilación |
|--------------------------|------------------------|-----------------------|
| Metilo | 88 | 6 |
| Etilo | 11 | 66 |
| Isopropilo | 0 | 100 |

3. RESULTADOS Y DISCUSION.

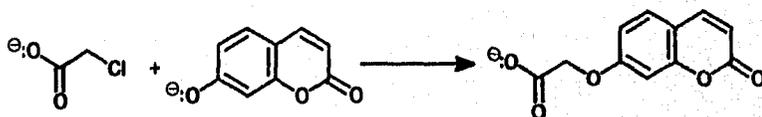
La estrategia que se planteó para formar los éteres de las cumarinas hidroxiladas y el ácido cloroacético (35), consistió en la síntesis de Williamson de éteres, la cual se muestra en el Esquema 14. No obstante que la reacción parece ser sencilla, esta no se encuentra descrita en la literatura, por lo cual se estudiaron diferentes condiciones de reacción para llevar a cabo esta transformación.

ESQUEMA 14.



El estudio sintético se realizó empleando el método normal de la reacción de Williamson²⁴ (Esquema 15), el cual consiste en tratar a la sal de la hidroxycumarina, con el ion cloroacetato, en presencia del disolvente seleccionado.

ESQUEMA 15.



Las variables^{23,26,27} que se estudiaron para llevar a cabo esta transformación fueron: el tipo de base, la concentración de la base, la temperatura y el tiempo de reacción.

En la tabla No. 5 se muestran las diferentes condiciones que se probaron para tratar de llevar a cabo esta reacción. La relación molar entre el ácido cloroacético, la hidroxycumarina y la base, utilizados en la reacción de eterificación fué de 1:1:2.

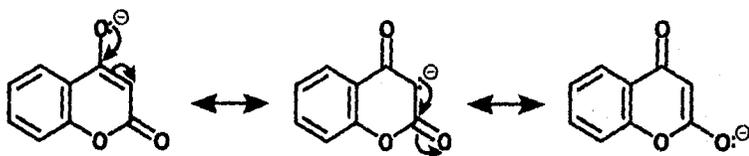
Tabla 5.

| BASE | DISOLVENTE | CONDICIONES |
|--------------------------------|---------------------------------|---|
| NaOH | H ₂ O | Conc. NaOH: 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 M. 1) temp. amb.; 2) calentamiento a reflujo. 24 horas. |
| NaH | THF | 1) temp. amb.; 2) calentamiento a reflujo. 24 horas. |
| KOH | Etanol | Conc. KOH: 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 M. Calentamiento a reflujo. 24 horas. |
| NaOH | Etanol | Conc. NaOH: 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 M. Calentamiento a reflujo. 24 horas. |
| K ₂ CO ₃ | Acetona | 1) temp. amb.; 2) calentamiento a reflujo. 24 horas. |
| KOH | DMSO | 1) temp. amb.; 2) calentamiento a reflujo. 24 horas. |
| NaH | THF | HMPA. 1) temp. amb.; 2) calentamiento a reflujo. 24 horas. |
| NaOH | CH ₂ Cl ₂ | n-Bu ₄ N ⁺ Br ⁻ . 1) temp. amb.; 2) calentamiento a reflujo. 24 horas. |
| NaOH | H ₂ O | Cloruro de benciltrimetilamonio. 1) temp. amb.; 2) calentamiento a reflujo. 24 horas. |
| K ₂ CO ₃ | Acetona | n-Bu ₄ N ⁺ Br ⁻ . Calentamiento a reflujo. 24 horas. |

Bajo cada una de estas condiciones, sólo se recuperó la materia prima. El principal problema que se presentó en la mayoría de los métodos, fué la disminución de la solubilidad durante el desarrollo de la reacción, lo cual no permitió que se realizara la O-alkilación para la formación del éter correspondiente y puesto que se recuperó la materia prima no pudo haber ocurrido una C-alkilación como una reacción lateral.

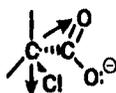
Se volvió a estudiar la reacción con la 4-hidroxicumarina (3) y el ácido cloroacético (35), en presencia de hidróxido de sodio a diferentes concentraciones, encontrándose que la reacción finalmente ocurrió con una concentración de 4.3 M y un tiempo de reacción de 24 horas. Analizando estos resultados se llega a lo siguiente: el anión de la 4-hidroxicumarina es una base débil, dada la deslocalización de carga a través del sistema conjugado presente en la estructura del anión, Esquema 16.

Esquema 16



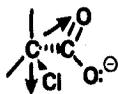
De acuerdo a esto, se considera a este anión como un buen nucleófilo en las reacciones de desplazamiento. Sin embargo, al utilizar concentraciones bajas de hidróxido de sodio, el agua que actúa como disolvente se encuentra en una proporción tal que solvata de una forma eficaz al átomo de oxígeno del anión de la 4-hidroxicumarina, disminuyendo su capacidad como reactivo nucleofílico. Al aumentar la concentración de hidróxido de sodio, esto implica una disminución en la cantidad de agua presente, originando una desolvatación del oxígeno del anión correspondiente, lo cual da lugar a la reacción de desplazamiento nucleofílico con el anión cloroacetato, obteniéndose de esta forma el ácido 2-(4'-cumarin-oxi)acético (36).

Al analizar los resultados en base a la teoría de ácidos y bases duros y blandos^{23,33,34}, encontramos que para el anión de la 4-hidroxycumarina, el oxígeno del mismo se considera como una base blanda de acuerdo a la deslocalización de carga (Esquema 16), lo cual le confiere una alta polarizabilidad al oxígeno del anión correspondiente. Con respecto al otro reactivo involucrado, el anión cloroacetato, se analizó el átomo de carbono- α al grupo carbonilo.



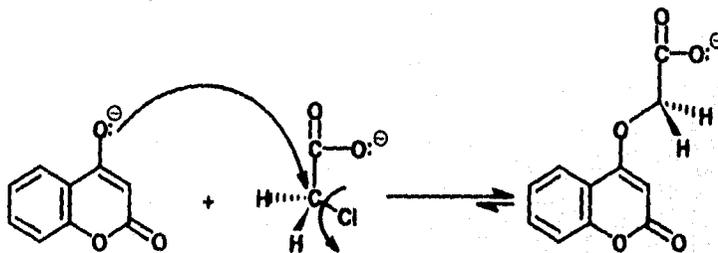
El átomo de carbono- α al grupo carbonilo, contiene dos sustituyentes, el átomo de cloro y el grupo carboxilato, que son dos grupos atradores de electrones, esto implica que se presente una dispersión de carga en el átomo de carbono- α ; sin embargo, como no se encuentra presente una carga neta en este átomo, se puede considerar como un ácido blando.

Comparando el anión cloroacetato con otros sustratos involucrados en reacciones de sustitución nucleofílica bimoleculares, tales como el clorometano (CH_3Cl) y el yodometano (CH_3I), encontramos que estos tres sustratos se consideran ácidos blandos:



Al poner en contacto estos sustratos con una base blanda, como el ion fenóxido, se lleva a cabo la reacción de sustitución nucleofílica correspondiente. Sin embargo se ha observado²⁷ que se presenta mayor dificultad al realizar este tipo de reacción con el anión cloroacetato, debido al impedimento estérico que presenta este sustrato, originado por los sustituyentes voluminosos presentes en el mismo; es decir, el átomo de cloro y el grupo carboxilato. Esto explica el porque se utilizan condiciones de reacción tan drásticas (considerando la estructura molecular de la 4-hidroxycumarina), esto es una concentración de hidróxido de sodio 4.3 M y 24 horas de calentamiento a reflujo, para llevar a cabo la reacción de sustitución nucleofílica bimolecular entre el anión de la 4-hidroxycumarina (base blanda) y el anión cloroacetato (ácido blando), Esquema 17.

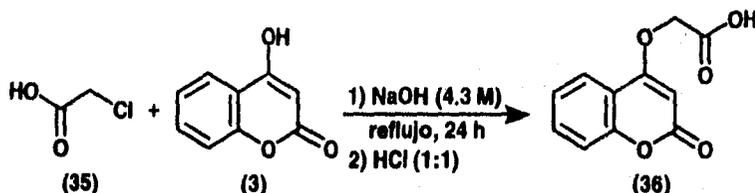
Esquema 17



3.1 Obtención del ácido 2-(4'-cumarín-oxi)acético.

Las condiciones experimentales bajo las cuales se obtuvo el ácido 2-(4'-cumarín-oxi)acético (36) fueron las siguientes: la 4-hidroxycumarina (3) se hizo reaccionar con el ácido cloroacético (35), en presencia de una solución de hidróxido de sodio (4.3 M), con un tiempo de calentamiento a reflujo de 24 horas, obteniéndose el éter ácido derivado correspondiente (36), como un sólido blanco, con un punto de fusión de 232 °C y un rendimiento del 37%, Esquema 18.

ESQUEMA 18

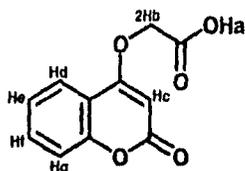


El compuesto puro se caracterizó por análisis espectroscópico I.R. y R.M.N.-¹H.

I.R. (Espectro 1).

El espectro de infrarrojo muestra una señal en 3500-2500 cm⁻¹, característica del grupo hidroxilo (O-H) del ácido carboxílico. En 1718 cm⁻¹ se observan dos señales que se sobreponen y que corresponden al carbonilo (C=O) del ácido y de la lactona α,β-insaturada. En 1626-1450 cm⁻¹ se observan las señales características del anillo aromático y de la doble ligadura conjugada. En 1272 y 1162 cm⁻¹ se observan las señales que corresponden al éster α,β-insaturado (-C-O-). Las señales correspondientes al éter vinílico se localizan en 1242 y 1030 cm⁻¹. En 770 cm⁻¹ se observa una señal que corresponde a un anillo aromático *orto*-disustituido.

R.M.N.-¹H (Espectro 2).



En el espectro de R.M.N.-¹H el hidrógeno del ácido se observa en **5.8 ppm (1Ha)** como un singlete ancho que desaparece con D₂O. Los hidrógenos del metileno aparecen como un singlete que integra para dos hidrógenos en **4.8 ppm (2Hb)**. Para el hidrógeno de la doble ligadura en C-3 se observa un singlete en **5.64 ppm (1Hc)**. Los hidrógenos aromáticos en C-6 y C-7 corresponden a un multiplete en **7.35 ppm (1He, 1Hf)**. En **7.94 ppm** se observa una señal que es un doble de dobles, que corresponde al hidrógeno en C-5 ($J_{orto} = 8.0 \text{ Hz}$, $J_{meta} = 2.0 \text{ Hz}$, **1Hd**). En **7.59 ppm** se observa un multiplete que corresponde al hidrógeno aromático en C-8 ($J_{orto} = 8.0 \text{ Hz}$, $J_{meta} = 2.0 \text{ Hz}$, **1Hg**) y este multiplete se observa como una señal que es un doble de dobles.

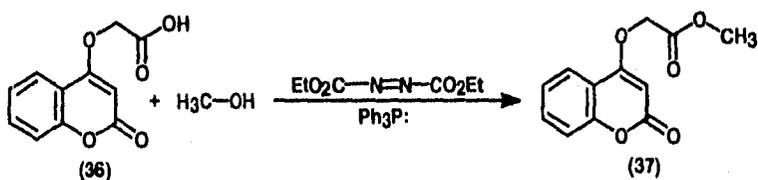
Así mismo la caracterización del ácido 2-(4'-cumarin-oxi)acético (**36**) se realizó en base a su equivalente de neutralización. El equivalente de neutralización^{28,29} permite determinar el peso molecular del compuesto caracterizado, siendo para este compuesto de **E.N. = 217**, por lo que dentro del error experimental, se confirma el peso molecular teórico del éter-ácido derivado (**36**, **PM = 220 g/mol**).

3.2 Obtención del éster 2-(4'-cumarin-oxi)acetato de metilo.

La obtención de este derivado se llevó a cabo a través de la reacción de esterificación de Mitsunobu^{30,31,32}.

La reacción de Mitsunobu se lleva a cabo con el azodicarboxilato de dietilo y la trifetilfosfina, para llevar a cabo la esterificación del ácido 2-(4'-cumarin-oxi)acético (36) en presencia de metanol, dando como resultado el éster 2-(4'-cumarin-oxi)acetato de metilo (37), Esquema 19.

Esquema 19

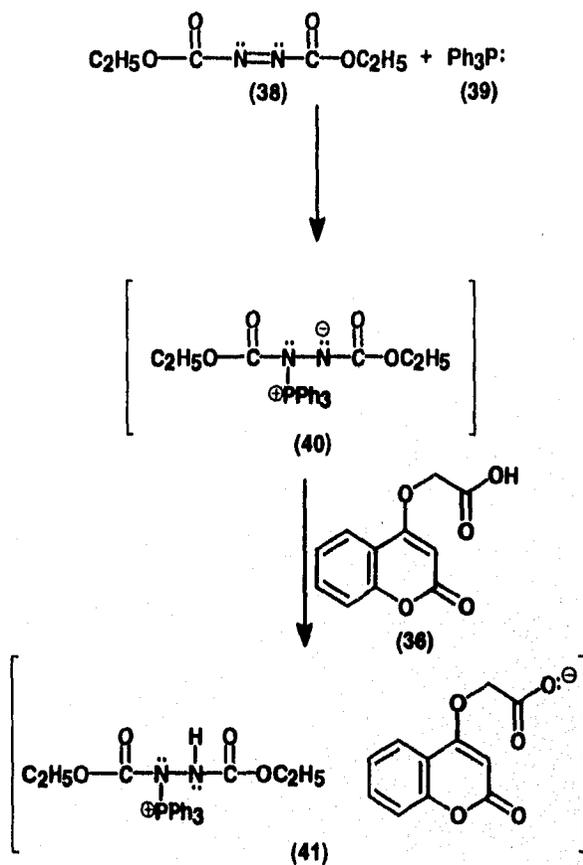


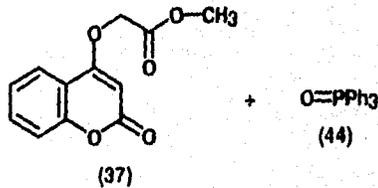
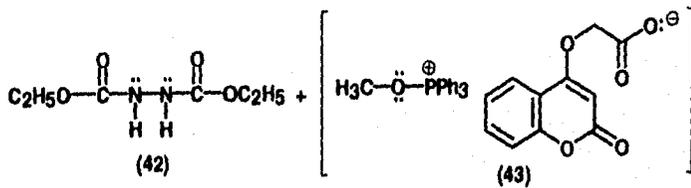
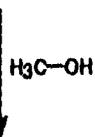
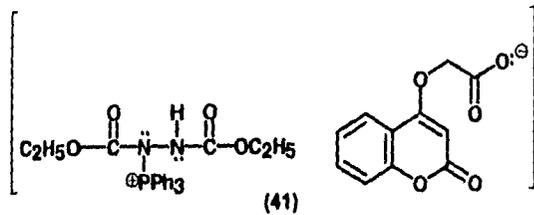
Debido a que esta reacción no se encontró descrita en la literatura, se estudiaron las condiciones experimentales bajo las cuales se pudo llevar a cabo esta reacción.

Para obtener el éster 2-(4'-cumarin-oxi)acetato de metilo (37), se modificaron las dos variables independientes de la reacción: el tiempo y la temperatura. Con un tiempo de reacción de 18 horas y un intervalo de temperatura entre 0 y 20 °C y utilizando THF como disolvente, se obtuvo una mezcla de productos. Al analizar la mezcla por cromatografía de líquidos (HPLC), se observó la presencia del éster derivado, pero al mismo tiempo, aparecían otros compuestos diferentes. La mezcla de reacción se purificó por esta técnica, obteniéndose el producto puro.

En el esquema 20, se muestra el mecanismo de reacción, para la reacción de esterificación de Mitsunobu³³.

Esquema 20





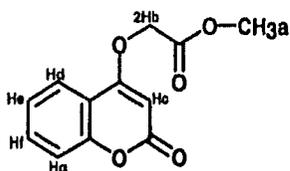
La reacción procede a través de la adición de la trifenilfosfina (39), al azodicarboxilato de dietilo (38), para dar la sal cuatemaria de fosfonio (40). La protonación de esta sal con el ácido 2-(4'-cumarin-oxi)acético (36), origina el intermediario correspondiente (41). La adición de metanol da lugar a la hidrazinadicarboxilato de dietilo (42) y a una sal de alcoxifosfonio (43), la cual a través de una reacción tipo S_N2 , da como resultado, el éster 2-(4'-cumarin-oxi)acetato de metilo (37) y al óxido de la trifenilfosfina (44).

El producto puro presentó un punto de fusión de 180-181 °C y se obtuvo con un rendimiento del 60%. Se caracterizó por análisis espectroscópico de I.R. y R.M.N.-¹H.

I.R. (espectro 3).

El espectro de infrarrojo muestra señales en 1760 cm^{-1} que corresponde al grupo carbonilo (C=O) del éster alifático y en 1142 cm^{-1} , la cual corresponde al metil éster (-C-O-CH₃). En 1718 cm^{-1} se observa una señal que corresponde al grupo carbonilo (C=O) de la lactona α,β -insaturada. En 1622-1410 cm^{-1} se observan las señales características al anillo aromático y a la doble ligadura conjugada. Las señales correspondientes al éter vinílico (=C-O-C-) aparecen en 1220 y 1042 cm^{-1} . En 762 cm^{-1} se observa una señal que corresponde al anillo aromático *orto*-disustituido.

R.M.N.-¹H. (Espectro 4).

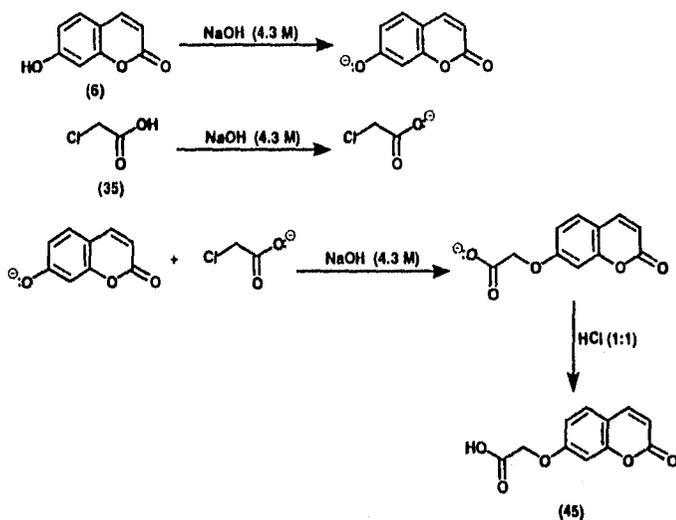


En el espectro de RMN-¹H, los hidrógenos del metilo aparecen como un singlete en **3.14 ppm**, que integra para tres hidrógenos (**3Ha**). Los hidrógenos del metileno aparecen en **4.96 ppm** como un singlete que integra para 2 hidrógenos (**2Hb**). En **5.8 ppm** se observa un singlete correspondiente al hidrógeno en **C-3 (1Hc)**. En **7.84 ppm** se observa una señal que es un doble de dobles que corresponde al hidrógeno aromático en **C-5 ($J_{orto} = 8.0$ Hz, $J_{meta} = 2.0$ Hz, 1Hd)**. Los hidrógenos aromáticos en **C-6 y C-7** corresponden al multiplete en **7.33 ppm (1He, 1Hf)**. En **7.56 ppm** aparece un multiplete que corresponde al hidrógeno en **C-8 ($J_{orto} = 8.0$ Hz, $J_{meta} = 2.0$ Hz, 1Hg)**.

3.3 Obtención del ácido 2-(7'-cumarin-oxi)acético.

La síntesis de este éter-ácido derivado, procedió por el método normal de Williamson²⁴. Se formaron los aniones correspondientes de la 7-hidroxicumarina (**6**) y del ácido cloroacético (**35**), utilizando una solución de hidróxido de sodio (4.3 M). La reacción del anión de la 7-hidroxicumarina (**6**), que actúa como reactivo nucleofílico, con el ion cloroacetato, bajo calentamiento a reflujo por 24 horas, dió lugar al desplazamiento del halogenuro del cloroacetato, obteniéndose el anión 2-(7'-cumarin-oxi)acetato, el cual a través de una reacción ácido-base (acidulando con HCl 1:1) permitió que se formara el ácido 2-(7'-cumarin-oxi)acético (**46**), como un sólido blanco, con un punto de fusión de 210 °C y el cual se obtuvo con un rendimiento del 48%, Esquema 21.

ESQUEMA 21

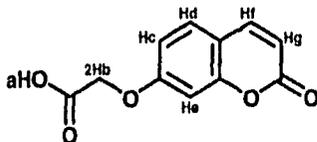


El compuesto puro se caracterizó por análisis espectroscópico: I.R. y R.M.N.-¹H.

I.R. (Espectro 5).

El espectro de infrarrojo muestra una señal ancha en **3500-2500 cm⁻¹** característica del grupo hidroxilo (**O-H**) del ácido carboxílico. En **1724 cm⁻¹** se observan dos señales que se superponen y que corresponden al grupo carbonilo (**C=O**) del ácido y de la lactona α,β -insaturada. En **1610-1420 cm⁻¹** aparecen las señales características al anillo aromático y a la doble ligadura conjugada. En **1230 y 1126 cm⁻¹** aparecen las señales características de la lactona α,β -insaturada **-CO-O-** (**C-O**). Las señales correspondientes al éter vinílico se observan en **1254 y 1074 cm⁻¹**. Las señales características del anillo aromático 1,2,4-trisustituído aparecen en **836 y 870 cm⁻¹**.

R.M.N.-¹H. (Espectro 6).



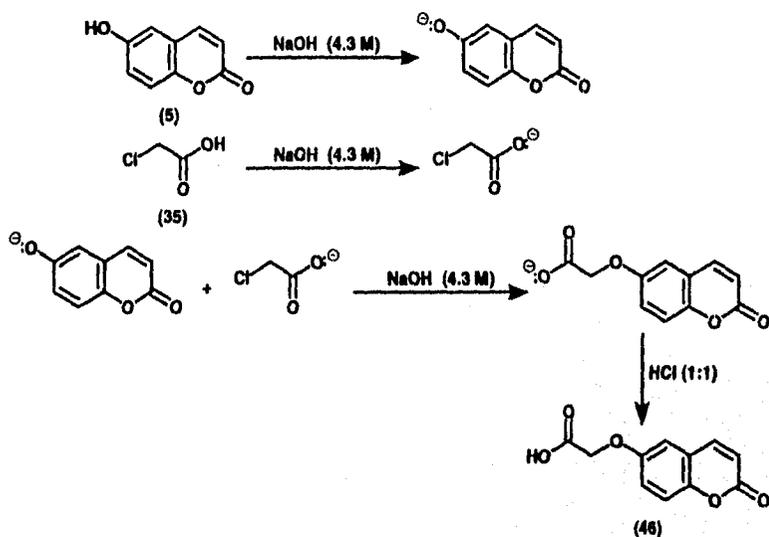
En el espectro de RMN-¹H se observa el hidrógeno del ácido en **4.7 ppm (1Ha)**, como un singulete ancho que desaparece con D₂O. Los hidrógenos del metileno aparecen como un singulete que integra para 2 hidrógenos (**2Hb**) en **4.65 ppm**. En **7.45 ppm** se presenta un doblete que corresponde al hidrógeno en **C-4** ($J_{cis} = 10 \text{ Hz}$, **1Hg**). En **6.25 ppm** aparece un doblete que corresponde al hidrógeno en **C-3** ($J_{cis} = 10 \text{ Hz}$, **1Hf**). En **7.7 ppm** se observa un doblete que corresponde al hidrógeno aromático en **C-5** ($J_{orto} = 10 \text{ Hz}$, **1Hd**). El hidrógeno aromático en **C-6** aparece como una señal doble de dobles en **6.9 ppm** ($J_{orto} = 10 \text{ Hz}$, $J_{meta} = 2.2 \text{ Hz}$, **1Hc**). En **6.8 ppm** se observa la señal del hidrógeno aromático en **C-8** ($J_{meta} = 2.2 \text{ Hz}$, **1He**).

Una vez caracterizado el ácido 2-(7'-cumarin-oxi)acético (**45**), se determinó el peso molecular del mismo a través de su equivalente de neutralización²⁹, el cual fué de: **E.N. = 218**, por lo que dentro del error experimental, se confirma el peso molecular teórico del compuesto (**P.M. = 220 g/mol**).

3.4 Obtención del ácido 2-(6'-cumarin-oxi)acético.

Para comprobar la versatilidad del método, utilizando la reacción de Williamson²⁴, se llevó a cabo la síntesis del ácido 2-(6'-cumarin-oxi)acético (46), bajo las mismas condiciones que se utilizaron para obtener el ácido 2-(7'-cumarin-oxi)acético (45), utilizando como sustrato la 6-hidroxicumarina (5), Esquema 22.

ESQUEMA 22



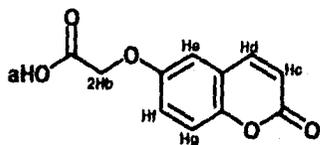
Se obtuvo el ácido 2-(6'-cumarin-oxi)acético (46), como un sólido amarillo, de punto de fusión de 227-229 °C y en un rendimiento del 41%.

El compuesto puro se caracterizó por análisis espectroscópico I.R. y R.M.N.-¹H, así como por su equivalente de neutralización²⁹.

I.R. (Espectro 7).

El espectro de infrarrojo muestra una señal ancha en $3500-2500\text{ cm}^{-1}$ característica del grupo hidroxilo (O-H) del ácido. En 1704 cm^{-1} se observa la señal que corresponde al carbonilo (C=O) del ácido. La lactona α,β -insaturada presenta una señal en 1750 cm^{-1} , la que corresponde al grupo carbonilo (C=O) y en 1269 y 1191 cm^{-1} correspondientes al enlace C-O. En $1633-1434\text{ cm}^{-1}$ aparecen las señales características del anillo aromático y de la doble ligadura conjugada. Las señales correspondientes al éter vinílico se localizan en 1222 y 1092 cm^{-1} . En 824 y 864 cm^{-1} se observan las bandas correspondientes al anillo aromático 1,2,4-trisustituido.

R.M.N.-¹H. (Espectro 8).



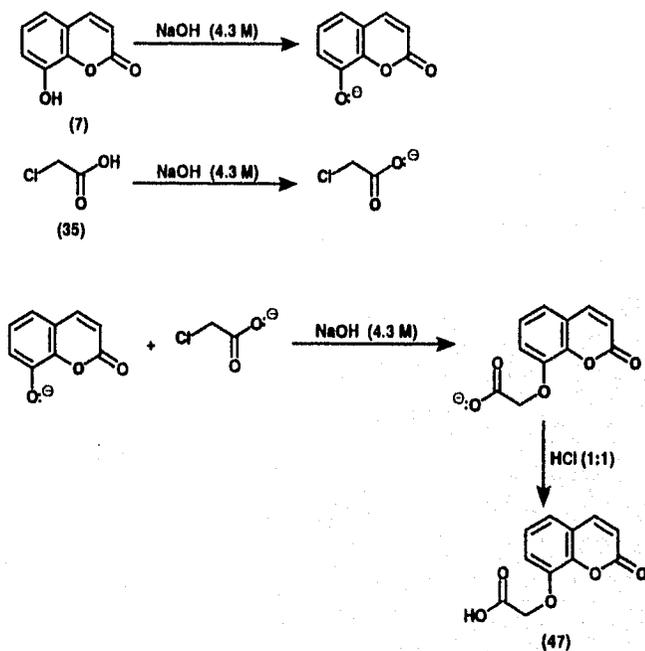
En el espectro de RMN-¹H, el hidrógeno del ácido se observa en **12.8 ppm (1Ha)** como un singlete ancho que desaparece con D₂O. Los hidrógenos del metileno aparecen como un doblete que integra para dos hidrógenos en **4.45 ppm (2Hb)**. En **5.9 ppm** se observa un doblete que corresponde al hidrógeno en **C-3** ($J_{cis} = 13\text{ Hz}$, **1Hc**). En **7.1 ppm** aparece un doblete que corresponde al hidrógeno en **C-4** ($J_{cis} = 13\text{ Hz}$, **1Hd**). En **6.86 ppm** aparece un doblete que corresponde al hidrógeno aromático en **C-5** ($J_{meta} = 1.5\text{ Hz}$, **1He**). En **7.2-7.4 ppm** aparece un multiplete que corresponde a los hidrógenos aromáticos de las carbonos **C-7** y **C-8** (**1Hf**, **1Hg**).

La determinación del peso molecular del compuesto caracterizado fué en base a su equivalente de neutralización²⁹, el cual fué de E.N. = 217, por lo que dentro del error experimental, corresponde al peso molecular teórico del compuesto (P.M. 220 g/mol).

3.5 Obtención del ácido 2-(8'-cumarin-oxi)acético.

Las condiciones de reacción para llevar a cabo la síntesis de este derivado, fueron las ya descritas para obtener el ácido 2-(7'-cumarin-oxi)acético (45), utilizando como sustrato a la 8-hidroxicumarina (7), Esquema 23.

ESQUEMA 23



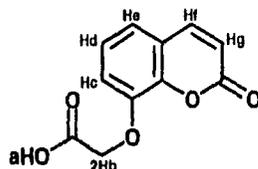
El ácido 2-(8'-cumarin-oxi)acético (47) se obtuvo como un sólido blanco, el cual presentó un punto de fusión de 115-117 °C y un rendimiento del 43%.

El producto puro se caracterizó por sus propiedades espectroscópicas: I.R. y R.M.N.¹H, así como por su equivalente de neutralización²⁹.

I.R. (Espectro 9).

El espectro de infrarrojo muestra una señal ancha en **3500-2500 cm⁻¹** característica del grupo hidroxilo (**O-H**) del ácido carboxílico. En **1706 cm⁻¹** se observan dos señales que se superponen y que corresponden al carbonilo (**C=O**) del ácido y de la lactona α,β -insaturada. En **1610-1400 cm⁻¹** aparecen las señales que corresponden al anillo aromático y a la doble ligadura conjugada. En **1190 y 1230 cm⁻¹** aparecen las señales correspondientes a la lactona α,β -insaturada. Las señales correspondientes al éter vinílico aparecen en **1230 y 1100 cm⁻¹** (**=C-O-C**). En **740 y 696 cm⁻¹** se observan las señales del anillo aromático 1,2,3-trisustituido.

R.M.N.-¹H. (Espectro 10).



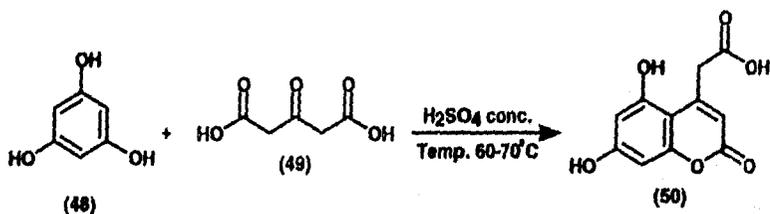
En el espectro de R.M.N.-¹H, el hidrógeno del ácido aparece en 4.45 ppm (1Ha) como un singlete ancho, que desaparece con D₂O. En 4.75 ppm aparece un singlete que corresponde a los hidrógenos del metileno (2Hb). En 6.45 ppm aparece un doblete el cual corresponde al hidrógeno en C-3 ($J_{\text{cis}} = 10\text{Hz}$, 1Hg). En 7.1 ppm se observa un multiplete que corresponde a los hidrógenos aromáticos de las carbonos C-5, C-6 y C-7 (1Hc, 1Hd, 1He). En 7.95 ppm aparece un doblete que corresponde al hidrógeno en C-4 ($J_{\text{cis}} = 10\text{Hz}$, 1Hf).

La determinación del peso molecular del compuesto, se realizó en base a su equivalente de neutralización, el cual fué de E.N. = 217, por lo que dentro del error experimental, se confirma el peso molecular teórico del compuesto (PM = 220 g/mol).

3.6 Obtención del ácido 4-(5,7-dihidroxicumarin)acético.

Este derivado de la cumarina, se obtuvo a través de la reacción de Pechmann²⁰, la cual constituye uno de los métodos clásicos utilizados para preparar cumarinas sustituidas. La síntesis de este ácido (50), se llevó a cabo al utilizar como materia prima al 1,3,5-trihidroxibenceno (48, Floroglucinol), el cual se hizo reaccionar con el ácido 1,3-acetondicarboxílico (49), en presencia de ácido sulfúrico concentrado (como agente condensante) y un tiempo de calentamiento de 1 hora, controlando la temperatura de reacción en un intervalo de 60-70 °C, con el fin de evitar reacciones laterales o la carbonización del producto. El ácido 4-(5,7-dihidroxicumarin)acético (50) se obtuvo como un sólido amarillo, con un rendimiento del 67%, Esquema 24.

ESQUEMA 24

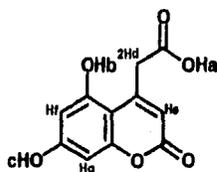


El compuesto puro se caracterizó por análisis espectroscópico I.R. y R.M.N.-¹H, así como por su equivalente de neutralización²⁰.

I.R. (Espectro 11).

El espectro de infrarrojo muestra una señal ancha en $3500\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ característica del grupo hidroxilo (O-H) del ácido carboxílico. En 3402 y 3246 cm^{-1} se observan las señales correspondientes a los hidroxilos (O-H) fenólicos. El carbonilo (C=O) correspondiente al ácido carboxílico aparece en 1662 cm^{-1} . En 1710 cm^{-1} se observa una señal que corresponde al carbonilo (C=O) de la lactona α,β -insaturada. De 1610 a 1394 cm^{-1} aparecen las señales características del anillo aromático y de la doble ligadura conjugada. En 836 cm^{-1} se observa una señal que corresponde a un anillo aromático 1,2,3,5-tetrasustituido.

R.M.N.- ^1H . (Espectro 12).



En su espectro de R.M.N.- ^1H , el hidrógeno del ácido y los hidrógenos de los grupos hidroxilos fenólicos se observan en 10.75 ppm (1Ha, 1Hb, 1Hc), como un singlete ancho que desaparece con D_2O y que integra para 3 hidrógenos. Los hidrógenos del metileno aparecen como un singlete que integra para dos hidrógenos en 3.85 ppm (2Hd). En 5.9 ppm se observa un singlete que corresponde al hidrógeno en C-3 (1Hc). En 6.2 ppm aparece un doblete que corresponde a los hidrógenos en C-6 y C-8 (1Hf, 1Hg).

El equivalente de neutralización permitió determinar el peso molecular del éter-ácido derivado, multiplicando este valor por el número de hidrógenos ácidos que hay en la molécula caracterizada, en este caso son 3 hidrógenos ácidos.

El equivalente de neutralización²⁹, determinado para este derivado, fué de $\text{E.N.} = 79 \times 3 = 237$, por lo que dentro del error experimental, se confirma el peso molecular teórico del compuesto ($\text{P.M.} = 236\text{ g/mol}$).

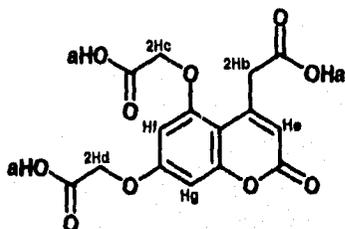
El ácido 4-cumarin-5,7-dioxi-triacético (51) fué un sólido amarillo, con un punto de fusión de 223-225 °C. Este producto se obtuvo con un rendimiento del 49%.

El compuesto puro se caracterizó por análisis espectroscópico I.R. y R.M.N.-¹H.

I.R. (Espectro 13).

El espectro de infrarrojo muestra una señal ancha en 3500-2500 cm⁻¹ que corresponde a los grupos hidroxilos (O-H) de los ácidos carboxílicos. En 1766 cm⁻¹ se observa la señal característica del carbonilo (C=O) de la lactona α,β-insaturada. En 1700 cm⁻¹ se observa una señal ancha que corresponde a los carbonilos (C=O) de los ácidos carboxílicos. En 1608-1400 cm⁻¹ aparecen las señales correspondientes al anillo aromático y a la doble ligadura conjugada. Las señales correspondientes al éter vinílico aparecen en 1180 y 1090 cm⁻¹. En 854 cm⁻¹ se observa la señal correspondiente al anillo aromático 1,2,3,5-tetrasustituído.

R.M.N.-¹H. (Espectro 14).



En su espectro de R.M.N.-¹H, los hidrógenos correspondientes a los ácidos carboxílicos aparecen en 7.1 ppm (3Ha), como un singlete ancho que integra para 3 hidrógenos y que desaparece con D₂O. En 3.8 ppm se observa un singlete que integra para dos hidrógenos que corresponden al metileno sustituyente en C-4 (2Hb). Los hidrógenos de los sustituyentes en los carbonos C-5 y C-7, aparecen en 4.5 ppm como un doblete que integra para cuatro hidrógenos (2Hc, 2Hd).

En **5.9 ppm** aparece un singlete que integra para 1 hidrógeno, y que corresponde a **C-3 (1Hc)**. En **6.25 ppm** se observa un doblete que integra para dos hidrógenos que corresponden a los carbonos **C-6 y C-8** ($J_{\text{mola}} = 2.0 \text{ Hz}$, **1Hf**, **1Hg**).

El equivalente de neutralización²⁹ permitió determinar el peso molecular del éter-ácido derivado, multiplicando este valor por el número de hidrógenos ácidos que hay en la molécula caracterizada (3 hidrógenos ácidos). **E.N. = 117 X 3 = 351**, por lo que dentro del error experimental, se confirma el peso molecular teórico del compuesto (**P.M. = 352 g/mol**).

4. PARTE EXPERIMENTAL.

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Fisher-Johns, y estan dados en grados centígrados.

Los espectros de infrarrojo (IR) se realizaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 559-B de rejilla, en pastilla de bromuro de potasio. Las longitudes de onda de absorción de las bandas características se dan en cm^{-1} .

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear Protónica (R.M.N.- ^1H), se determinaron en un espectrómetro Varian EM-390 y Varian Gemini 2000, utilizando cloroformo deuterado y dimetil sulfóxido deuterado como disolventes y tetrametilsilano como referencia interna. Los desplazamientos químicos se dan en ppm, relativas al TMS, utilizando el parámetro δ .

El avance de las reacciones se verificó por cromatografía en capa fina utilizando placas de silicagel 60 F 254 Aldrich como adsorbente y vapores de yodo o lámpara de luz ultravioleta (UVSL-25) como reveladores.

4.1 Síntesis del ácido 2-(4'-cumariln-oxi)acético (36).

En un matraz de 50 mL de fondo redondo, de dos bocas con juntas esmeriladas 14/20, equipado con un refrigerante y una barra magnética, se colocaron 1.62 g (0.01 mol) de la 4-hidroxycumarina (3) y 1.04 g (0.011 mol) del ácido cloroacético (35) y se adicionó gota a gota y con agitación una solución de 0.9 g (0.0225 mol) de hidróxido de sodio en 5.2 mL de agua. La mezcla se agitó y se le burbujeó nitrógeno durante media hora, se mantuvo en esta atmósfera y se calentó a reflujo por 24 horas. Transcurrido el tiempo de reacción la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se colocó en 20 mL de una solución saturada de cloruro de sodio. Posteriormente se aciduló con ácido clorhídrico (HCl 1:1) hasta la precipitación total del producto. El precipitado amarillo formado se aisló por filtración, se lavó con agua fría y se recrystalizó de agua utilizando carbón activado. Se obtuvo un sólido blanco (0.810 g, 37% de rendimiento) con un punto de fusión de 232 °C.

Determinación del equivalente de neutralización²⁹ (E.N.). 0.1735 g del producto puro se disolvieron en 50 mL de una mezcla etanol-agua (2:3) y se titularon con una solución de hidróxido de sodio previamente valorada (0.0988 N), utilizando fenolftaleína como indicador.

El equivalente de neutralización del éter-ácido derivado se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Equivalente de Neutralización} = (\text{Peso de la muestra} \times 1000) / (\text{volumen de NaOH} \times N)$$

Peso de la muestra: 0.1735 g

Volumen de NaOH gastado: 8.1 mL

NaOH 0.0988 N

E.N. = 217. Peso molecular teórico del compuesto caracterizado **P.M. = 220 g/mol.**

IR (pastilla KBr, cm^{-1}): 3500-2500; 1718; 1626-1450; 1272, 1162; 1242, 1030; 770.

RMN-¹H. (DMSO, ppm): δ 5.8 (s.a 1H), 4.8 (s, 2H), 5.64 (s, 1H), 7.35 (m, 2H), 7.94 (dd, 1H), 5.59 (m, 1H).

4.2. Síntesis del éster 2-(4'-cumarin-oxi)acetato de metilo (37).

En un matraz de 50 mL de fondo redondo, de dos bocas con juntas esmeriladas 14/20, equipado con refrigerante, septum y barra magnética, se colocaron 0.3406 g (0.0013 mol) de trifenílfosfina (39) y 0.1 mL (0.0026 mol) de metanol en tetrahidrofurano (10 mL). Se mantuvo bajo atmósfera de nitrógeno y la mezcla se agitó y enfrió a 0 °C. Se adicionó, gota a gota, 0.2 mL (0.0013 mol) de azodicarboxilato de dietilo (38), y se dejó que la mezcla alcanzara la temperatura ambiente, la agitación se continuó por 15 minutos a esta temperatura y nuevamente se enfrió a 0 °C. Se adicionaron, lentamente, 0.286 g (0.0013 mol) de ácido 4-cumarin-oxi-acético (36) en tetrahidrofurano (5 mL). Se mantuvo la atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. El producto se aisló por cromatografía de líquidos (HPLC). Se obtuvo un sólido blanco (0.23 g, 75% de rendimiento), con un punto de fusión de 180-181°C.

I.R., (pastilla KBr, cm⁻¹): 1760 y 1718; 1622-1410; 1142; 1220, 1042; 762.

R.M.N.-¹H (DMSO/DCCl₂, ppm): δ 3.74 (s, 3H), 4.98 (s, 2H), 5.8 (s, 1H), 7.84 (dd, 1H), 7.33 (m, 2H), 7.58 (dd, 1H).

4.3 Síntesis del ácido 2-(7'-cumarin-oxl)acético (45).

En un matraz de 50 mL de fondo redondo, de dos bocas con juntas esmeriladas 14/20, equipado con un refrigerante y barra magnética, se colocaron 1.62 g (0.01 mol) de 7-hidroxycumarina (6), se adicionó lentamente y con agitación una solución de 0.45 g (0.0112 mol) de hidróxido de sodio en 2.6 de agua. La mezcla se agitó y se le burbujeó nitrógeno, simultáneamente se adicionó gota a gota y con agitación 1.04 g (0.011 mol) del ácido cloroacético (35) en una solución de 0.45 g (0.0112 mol) de hidróxido de sodio en 2.6 mL de agua. Se continuó el burbujeo de nitrógeno por media hora. Se mantuvo esta atmósfera y se calentó a reflujo por 24 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se colocó en 20 mL de una solución saturada de cloruro de sodio. Se aciduló con HCl (1:1) hasta la precipitación total del producto. El precipitado café formado se aisló por filtración, se recristalizó de agua en presencia de carbón activado. Se obtuvo un sólido blanco (0.93 g, 42% de rendimiento) con un punto de fusión de 210 °C.

Determinación del equivalente de neutralización²⁹ (E.N.). 0.1838 g del producto puro se disolvieron en 50 mL de una mezcla etanol-agua (2:3) y se titularon con una solución de hidróxido de sodio previamente valorada (0.0988 N), utilizando fenolftaleína como indicador.

El equivalente de neutralización del éter-ácido derivado se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Equivalente de Neutralización} = (\text{Peso de la muestra} \times 1000) / (\text{volumen de NaOH} \times N)$$

Peso de la muestra: 0.1838 g

Volumen de NaOH gastado: 8.5 mL

NaOH 0.0988 N

E.N. = 218. Peso molecular teórico del compuesto caracterizado **P.M. = 220 g/mol**

IR (pastilla KBr, cm⁻¹): 3500-2500; 1724; 1610-1420; 1230, 1126; 1254, 1074; 836, 870.

R.M.N.-¹H. (DMSO, ppm): δ 4.7 (s.a, 1H), 4.65 (s, 2H), 7.45 (d, 1H), 6.25 (d, 1H), 7.7 (d, 1H), 6.9 (dd, 1H), 6.8 (m, 1H).

4.4 Síntesis del ácido 2-(6'-cumarin-oxi)acético (46).

La síntesis de este derivado (46) se llevó a cabo bajo la misma técnica que para obtener el ácido 2-(7'-cumarin-oxi)acético (45), utilizando 1.62 g (0.01 mol) de 6-hidroxycumarina (5) y 1.04 g (0.011 mol) de ácido cloroacético (35). Se obtuvo (46) como un sólido amarillo (0.91 g, 41% de rendimiento), con un punto de fusión de 227-229 °C.

Determinación del equivalente de neutralización²⁹ (E.N.). 0.1883 g del producto puro se disolvieron en 50 mL de una mezcla etanol-agua (2:3) y se titularon con una solución de hidróxido de sodio previamente valorada (0.0989 N), utilizando fenolftaleína como indicador.

El equivalente de neutralización del éter-ácido derivado se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Equivalente de Neutralización} = (\text{Peso de la muestra} \times 1000) / (\text{volumen de NaOH} \times N)$$

Peso de la muestra: 0.1883 g

Volumen de NaOH gastado: 8.8 mL

NaOH 0.0989 N

E.N. = 217. Peso molecular teórico del compuesto caracterizado **P.M. = 220 g/mol**

I.R., (pastilla KBr, cm^{-1}): 3500-2500; 1750, 1704; 1677-1434; 1269, 1191; 1222, 1092; 824, 864.

R.M.N.-¹H (DMSO, ppm): δ 12.8 (s.a, 1H), 4.45 (s, 2H), 5.9 (d, 1H), 7.1 (d, 1H), 6.86 (d, 1H), 7.2-7.4 (m, 2H).

4.5 Síntesis del ácido 2-(8'-cumarin-oxi)acético (47).

La síntesis de este derivado (47) se llevó a cabo bajo la misma técnica que para obtener el ácido 2-(7'-cumarin-oxi)acético (45), utilizando 1.62 g (0.01 mol) de 8-hidroxycumarina (7) y 1.04 g (0.011 mol) de ácido cloroacético (35). Se obtuvo un sólido blanco (0.95 g, 43% de rendimiento) con un punto de fusión de 115-117 °C.

Determinación del equivalente de neutralización²⁹ (E.N.). 0.1966 g del producto puro se disolvieron en 50 mL de una mezcla etanol-agua (2:3) y se titularon con una solución de hidróxido de sodio previamente valorada (0.0996 N), utilizando fenolftaleína como indicador.

Peso de la muestra: 0.1966 g

Volumen de NaOH gastado: 9.1 mL

NaOH 0.0996 N

E.N. = 217. Peso molecular teórico del compuesto caracterizado **P.M. = 220 g/mol**

I.R., (pastilla KBr, cm^{-1}): 3500-2500; 1706; 1610-1400; 1190; 1230, 1100; 696, 740.

R.M.N.-¹H (DMSO/ DCCl_2): δ 4.45 (s.a, 1H), 4.75 (s, 2H), 6.45 (d, 1H), 7.1 (m, 3H), 7.95 d (1H).

4.6 Síntesis del ácido 4-(5,7-dihidroxicumarin)acético (50).

En un matraz de 50 mL de fondo redondo, de dos bocas con juntas esmeriladas 14/20, equipado con termómetro, embudo de adición y barra magnética, se colocaron 1.62 g (0.01 mol) de 1,3,5-trihidroxibenceno (48, florigiucinol) y 1.46 g (0.01 mol) de ácido acetondicarboxílico (49). Se adicionaron lentamente y con agitación 3 mL de ácido sulfúrico concentrado. El matraz fué sumergido en un baño de aceite. La mezcla se agitó y calentó manteniendo la temperatura entre 60-70 °C, por una hora. El contenido del matraz se colocó en una mezcla hielo-agua y se agitó vigorosamente hasta la formación de un sólido de color naranja. El precipitado se aisló por filtración y se lavó con agua fría. Se recristalizó de una mezcla etanol-agua en presencia de carbón activado. Se obtuvo un sólido amarillo (1.6 g, 67% de rendimiento), punto de fusión indeterminado.

Determinación del equivalente de neutralización²⁹ (E.N.). 0.1959 g del producto puro se disolvieron en 50 mL de una mezcla etanol-agua (2:3) y se titularon con una solución de hidróxido de sodio previamente valorada (0.0989 N), utilizando fenolftaleína como indicador.

Peso de la muestra: 0.1959 g

Volumen de NaOH gastado: 25 mL

NaOH 0.0989 N

E.N. = 79. Este valor se multiplicó por el número de grupos ácidos en la molécula, en este caso son tres grupos ácidos, dando como resultado un equivalente de neutralización de: **79 X 3 = 237**, que corresponde al peso molecular teórico del compuesto caracterizado **P.M. = 236 g/mol**.

IR (pastilla KBr, cm^{-1}): 3500-2500; 1710, 1662; 1610 1400; 836.

R.M.N.-¹H (DMSO, ppm): δ 10.75 (s.a, 3H), 3.85 (s, 2H), 5.9 (s, 1H), 6.2 (d, 2H).

4.7 Síntesis del ácido 4-cumariln-5,7-dioxi-triacético (51).

En un matraz de 50 mL de fondo redondo, de dos bocas con juntas esmeriladas 14/20, equipado con un refrigerante y barra magnética se colocaron 1.18 g (0.005 mol) de ácido 4-(5,7-dihidroxicumarin)acético (50), se adicionó lentamente y con agitación una solución de 0.67 g (0.0167 mol) de hidróxido de sodio en 4.0 mL de agua. La mezcla se agitó y se le burbujeó nitrógeno, simultáneamente se adicionó gota a gota y con agitación 1.0 g (0.0106 mol) de ácido cloroacético (35) en una solución de 0.42 g (0.0106 mol) de hidróxido de sodio en 2.5 mL de agua. Se continuó el burbujeo de nitrógeno por media hora. Se mantuvo esta atmósfera y se calentó a reflujo por 24 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se colocó en 20 mL de una solución saturada de cloruro de sodio. Se aciduló con ácido clorhídrico (HCl 1:1). El producto se precipitó agitando la mezcla de reacción, durante 12 horas, con cloruro de sodio sólido. El precipitado de color café formado, se aisló por filtración, se recristalizó de agua en presencia de carbón activado. Se obtuvo un sólido amarillo (0.87 g, 49% de rendimiento) con un punto de fusión de 223-225 °C.

Determinación del equivalente de neutralización²⁹ (E.N.). 0.1986 g del producto puro se disolvieron en 50 mL de una mezcla etanol-agua (2:3) y se titularon con una solución de hidróxido de sodio previamente valorada (0.1095 N), utilizando fenolftaleína como indicador.

Peso de la muestra: 0.1986 g

Volumen de NaOH gastado: 15.5 mL

NaOH 0.1095 N

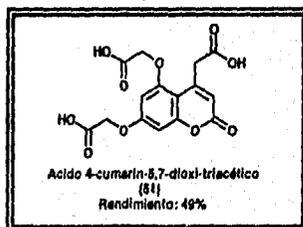
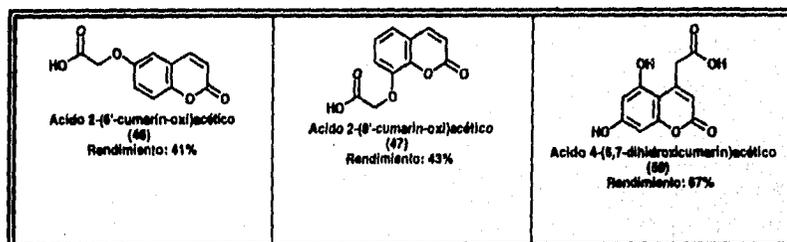
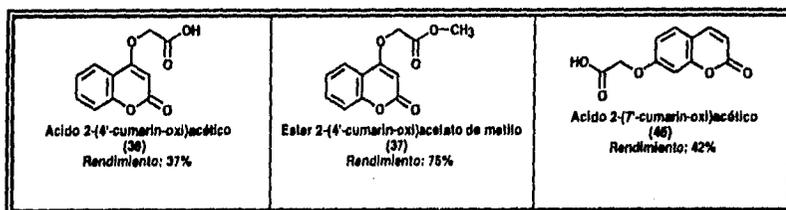
E.N. = 117. Este valor se multiplicó por el número de grupos ácidos en la molécula, en este caso son tres grupos ácidos, dando como resultado un equivalente de neutralización de: $117 \times 3 = 351$, que corresponde al peso molecular teórico del compuesto caracterizado **P.M. = 352 g/mol**.

I.R., (pastilla KBr, cm^{-1}): 3500-2500; 1766-1700; 1608-1400; 1180, 1090; 854.

R.M.N.-¹H. (DMSO/DCCl₂, ppm): δ 7.1 (s.a, 3H), 3.8 (s, 2H), 4.5 (d, 4H), 5.9 (s, 1H), 6.25 (d, 2H).

5. CONCLUSIONES:

1. Se realizó un amplio estudio sobre la síntesis de éteres de Williamson, el cual se aplicó a la obtención de éter-ácidos, derivados de las hidroxycumarinas y el ácido cloroacético.
2. Se sintetizaron los siguientes compuestos, no descritos en la literatura y con los rendimientos indicados:



3. Se realizó un estudio de la reacción de esterificación de Mitsunobu.
4. Los compuestos sintetizados se caracterizaron por espectroscopía de Infrarrojo y Resonancia Magnética de Protón, así como por su Equivalente de Neutralización.
5. Estos productos se enviarán a las pruebas farmacológicas, *in vitro*, las cuales determinarán su posible actividad inmunoestimulante y la importancia de estos compuestos en el estudio de la terapia del cáncer.

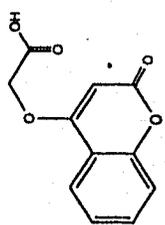
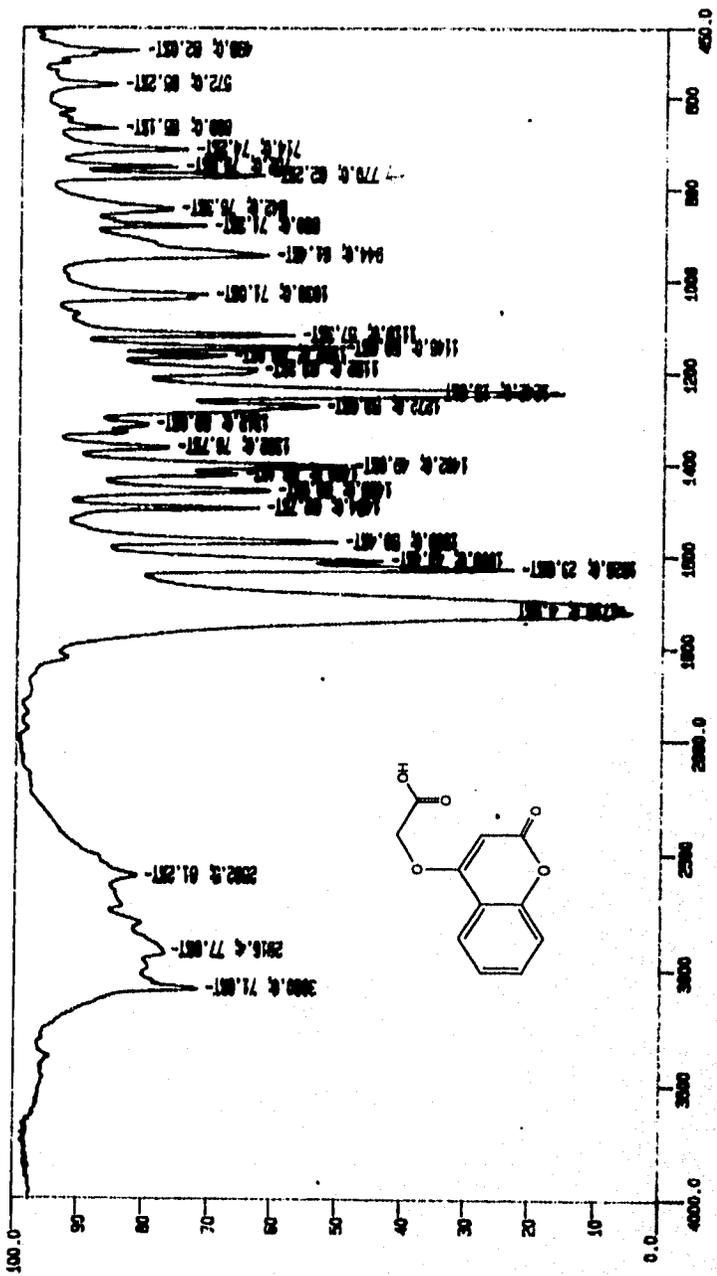
6. BIBLIOGRAFIA.

1. Domínguez, X.A. **Métodos de Investigación Fitoquímica**. Edit. Limusa, México 1973, pag.124.
2. Sethna, S.M. et. al. **Chem. Revs.** 1945, 36, 1-62.
3. Rosenberg, S.A. **Medicine**. 1990, may, 94.
4. Shilling, W.H. et. al. **Nature**. 1969, 221, 664.
5. Urban, J.L. et. al. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. 1986, 83, 5233.
6. Glese, A. C. **Fisiología Celular y General**. 4a. Ed. Edit. Interamericana, 4a. México, 1984, pag. 654.
7. Hadden, W. et. al. **J.A.M.A.** 1992, 286, 2964.
8. Thomes, R.D. **Cáncer**. 1975, 35, 91.
9. Zacharski, L.R. et. al. **J.A.M.A.** 1981, 245, 831.
10. Terranova, T. **Bull. Sc. Ital. Biol. Sper.** 1952, 28, 1224.
11. Hilgard, P. et. al. **Europ. J. Cancer**. 1979, 15, 183.
12. Stites, P.D. **Inmunología Básica y Clínica**. 7a Ed. Edit. El Manual Moderno. México, 1993, pag.65-110.
13. Kokotos, G. et. al. **J. Heterocyclic Chem.** 1886, 23, 87.
14. Greenstein, J.P. et. al. **Chemistry of Amino Acids**. 1961, 3, 924. New York, Wiley.
15. Das Gupta, A.K. et. al. **Indian J. Chem., Sect. B**, 1981, 20, 511.
16. Mizuno, T. et. al. **Synthesis**. 1988, 257-259.
17. Shah, V.R. et. al. **Chemical Communications**. 1985, 25, 677-678.
18. Juarez, L.R. **Estudio sobre la síntesis de la 6-hidroxicumarina y derivados de la misma**. 1994, Tesis, U.N.A.M.
19. Jones, G. **Org. React.** 1967, 15, 204.
20. Sethna, S. et. al. **Org. React.** 1953, 7, 7-20.
21. Das Gupta, A.K. et. al. 1968, 42, 4463. *Ibid.* **Tetrahedron Letters**. 1968.
22. Acevedo, A.A. **Estudio sobre síntesis de cumarinas y algunos derivados cumarínicos**. 1994, Tesis, U.N.A.M.

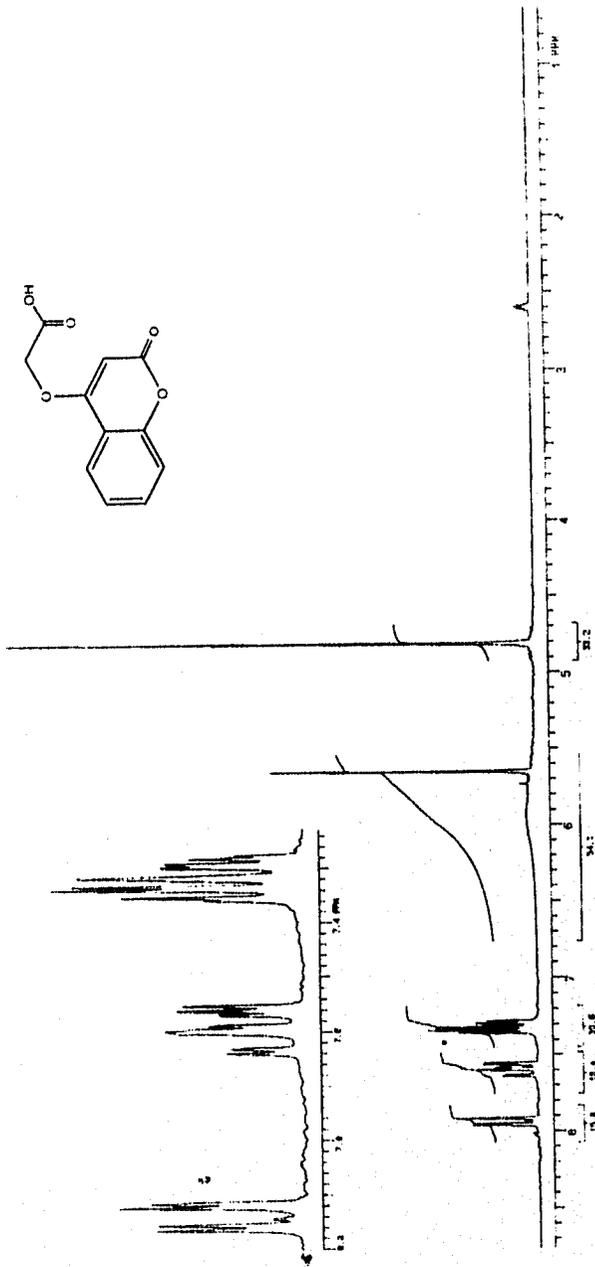
23. March, J. **Advanced Organic Chemistry**. 1992, 4th. John Wiley & Sons, pag. 227-236, 342-343, 387.
24. Staude and Patat, in Patai, **The Chemistry of Ether Linkage**. pag. 446-450, 460-468, Interscience, New York, 1967.
25. Komblum, N. et. al. **J. Am. Chem. Soc.** 1960, 82, 1257, Idem. 1963, 85, 1141.
26. Larock, R.C. **Comprehensive Organic Transformations**. VCH publishers, 445-462.
27. Vogel's. **Textbook of Practical Organic Chemistry**. 4a. Ed. Longman, New York, 1978, p. 754, 1104.
28. Morrison, R.B. **Química Orgánica**. 2a. Ed., Fondo educativo Interamericano, México, D.F., 1985, p. 802.
29. Shriner, R.L. **Identificación Sistemática de Compuestos Orgánicos**. 2a Ed. Edit. Limusa, México, 1974, p. 554-560.
30. Jenkins, D.I. et. al. **J.Org.Chem.** 1989, 54, 3045-3049; Idem 1989, 54, 3049-3054.
31. Crich, D. et. al. **J. Org. Chem.** 1989, 54, 257-259.
32. Mitsunobu, O. **Synthesis**. 1981, 1-28.
33. Kes, Peter. **Mecanismos de Reacción en Química Orgánica**, 2da. Ed., Ediciones Martínez Roca, Barcelona 1968.
34. Pearson R. G. **J. Am. Chem. Soc.** 1963, 85, 3533.

7. ESPECTROSCOPIA.

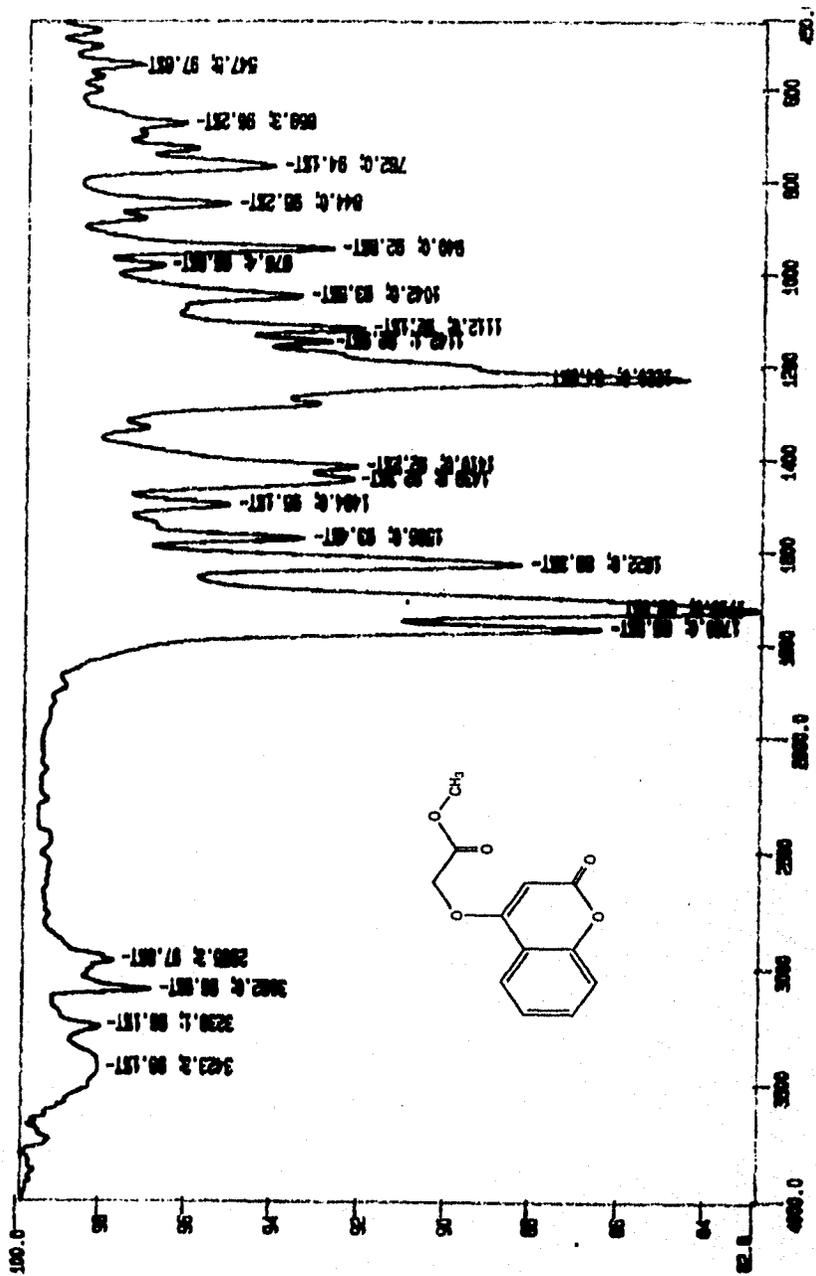
1. Acido 2-(-4'-cumarin-oxi)acético, (I.R.).
2. Acido 2-(-4'-cumarin-oxi)acético, (R.M.N.-¹H)
3. Ester 2-(-4'-cumarin-oxi)acetato de metilo, (I.R.).
4. Ester 2-(-4'-cumarin-oxi)acetato de metilo, (R.M.N.-¹H).
5. Acido 2-(-7'-cumarin-oxi)acético, (I.R.).
6. Acido 2-(-7'-cumarin-oxi)acético, (R.M.N.-¹H).
7. Acido 2-(-6'-cumarin-oxi)acético, (I.R.)
8. Acido 2-(-6'-cumarin-oxi)acético, (R.M.N.-¹H).
9. Acido 2-(-8'-cumarin-oxi)acético, (I.R.).
10. Acido 2-(-8'-cumarin-oxi)acético, (R.M.N.-¹H).
11. Acido 4-(5,7-dihidroxicumarin)acético, (I.R.).
12. Acido 4-(5,7-dihidroxicumarin)acético, (R.M.N.-¹H).
13. Acido 4-cumarin-5,7-dioxi-triacético, (I.R.).
14. Acido 4-cumarin-5,7-dioxi-triacético, (R.M.N.-¹H).



ESPECTRO No 1

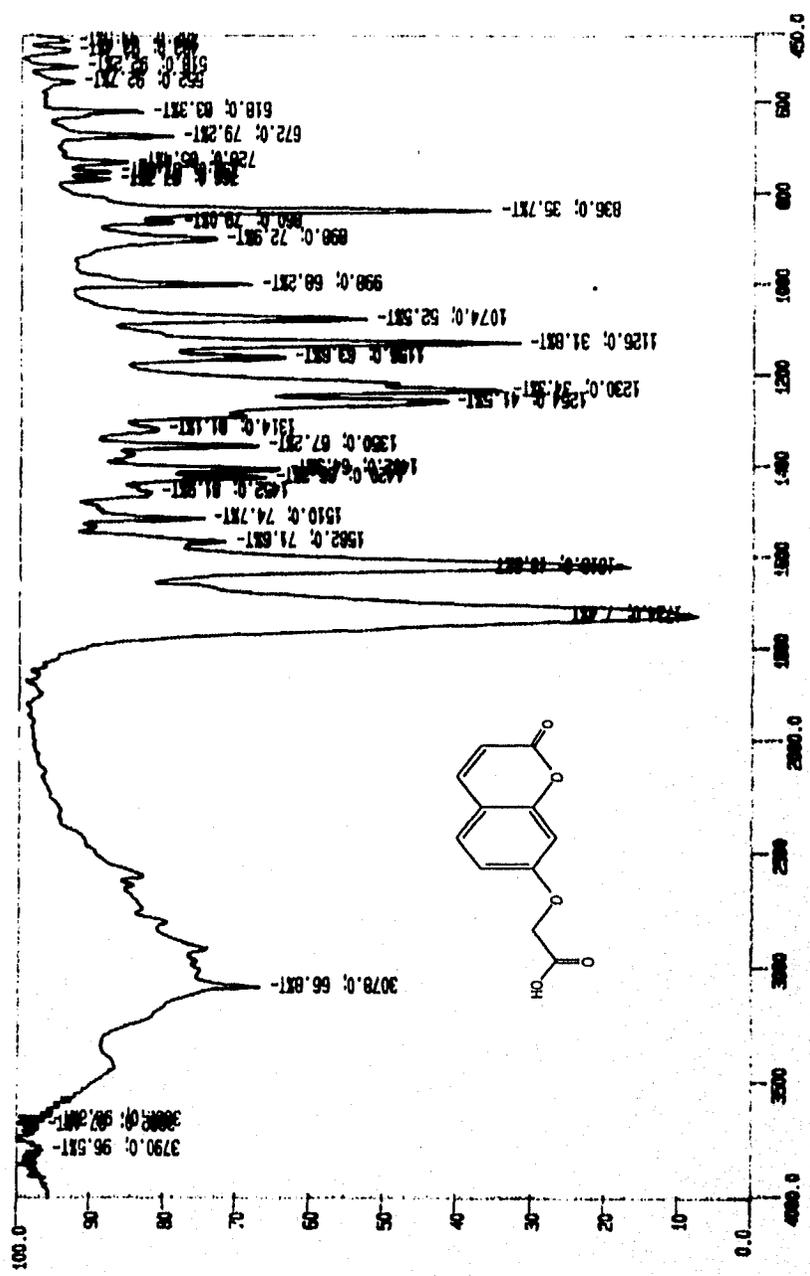


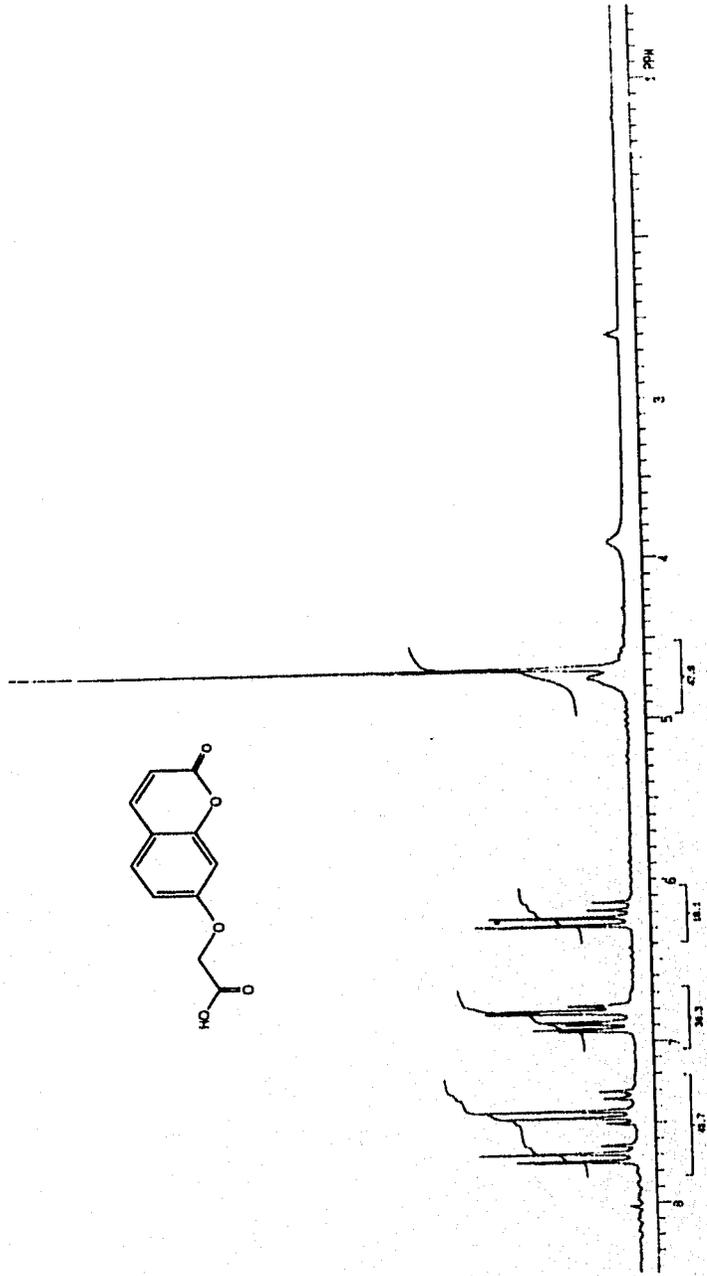
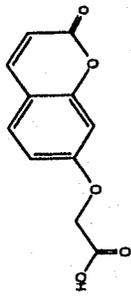
ESPECTRO No 2



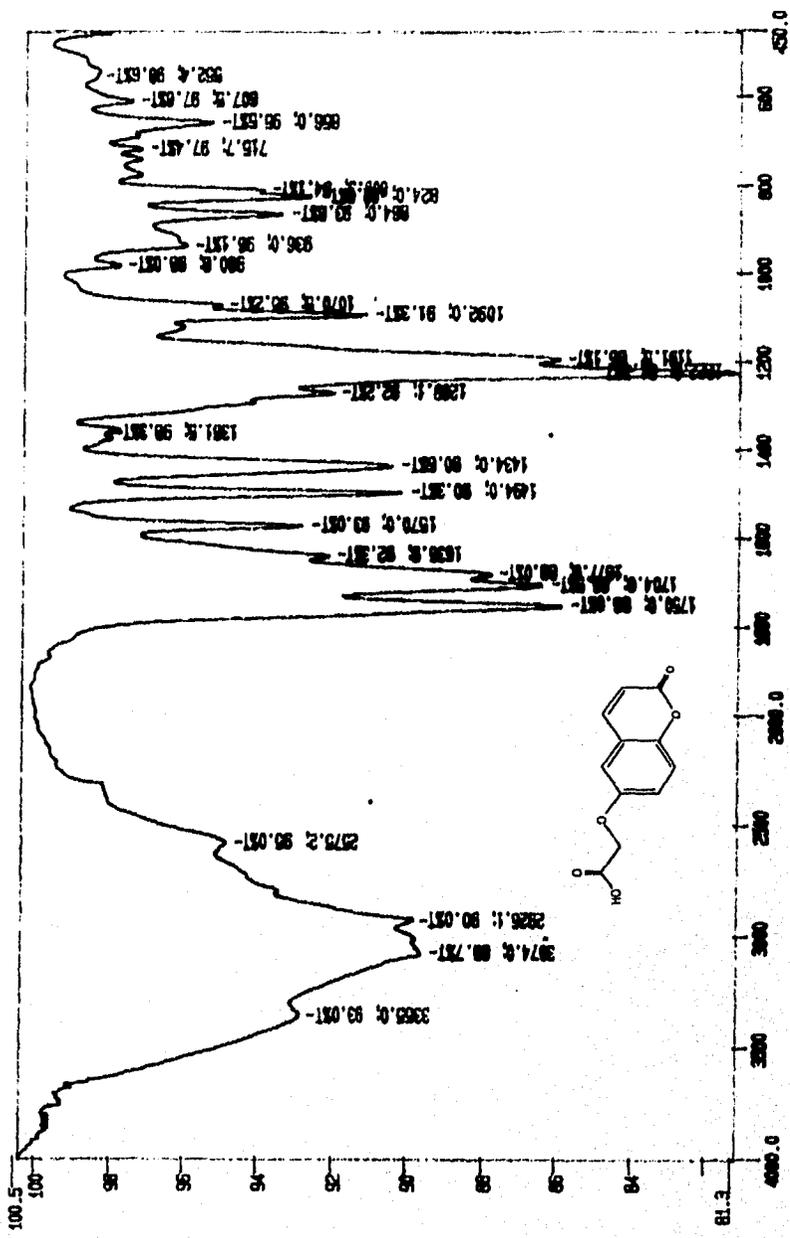
ESPECTRO No 3

ESPECTRO No 5

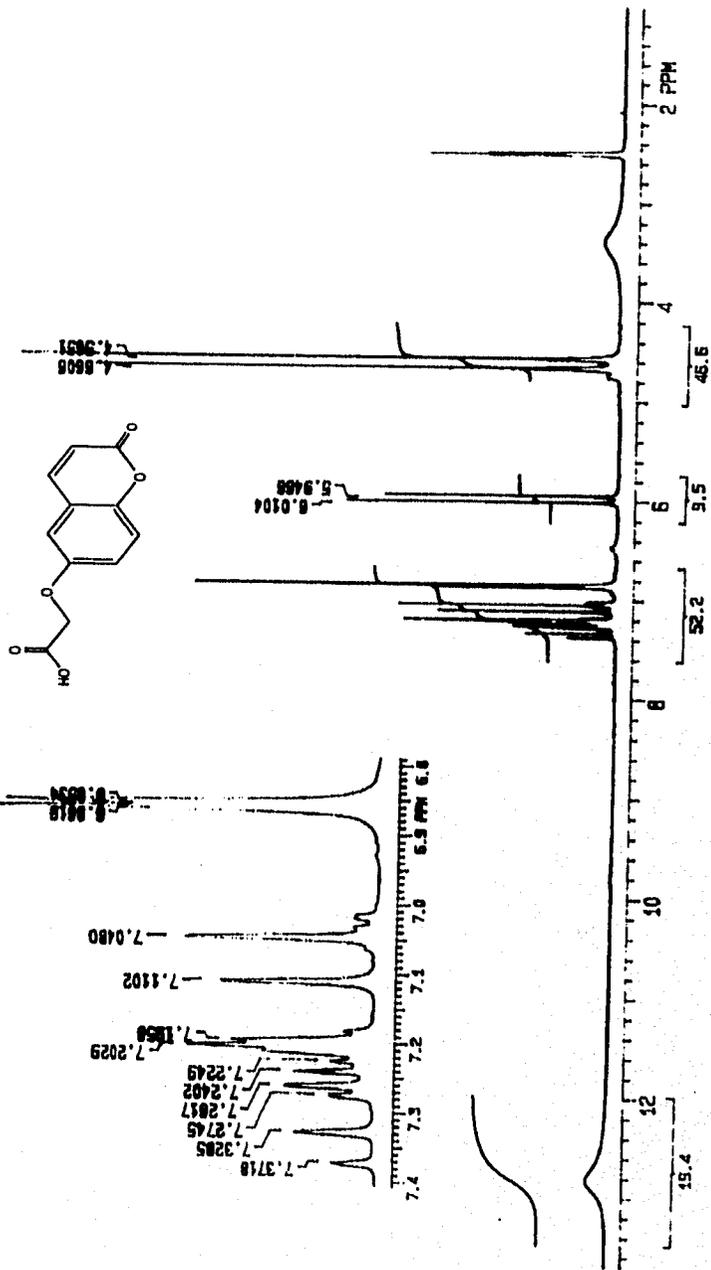




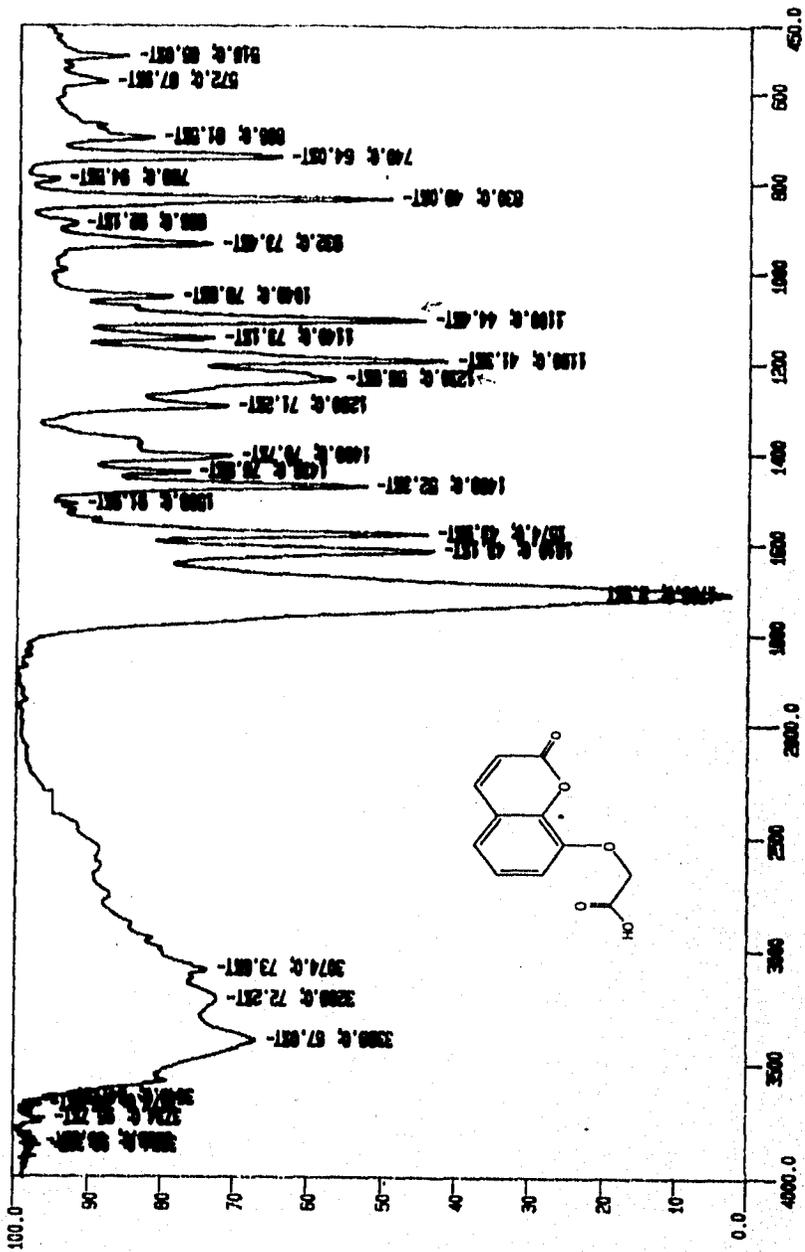
ESPECTRO No 6



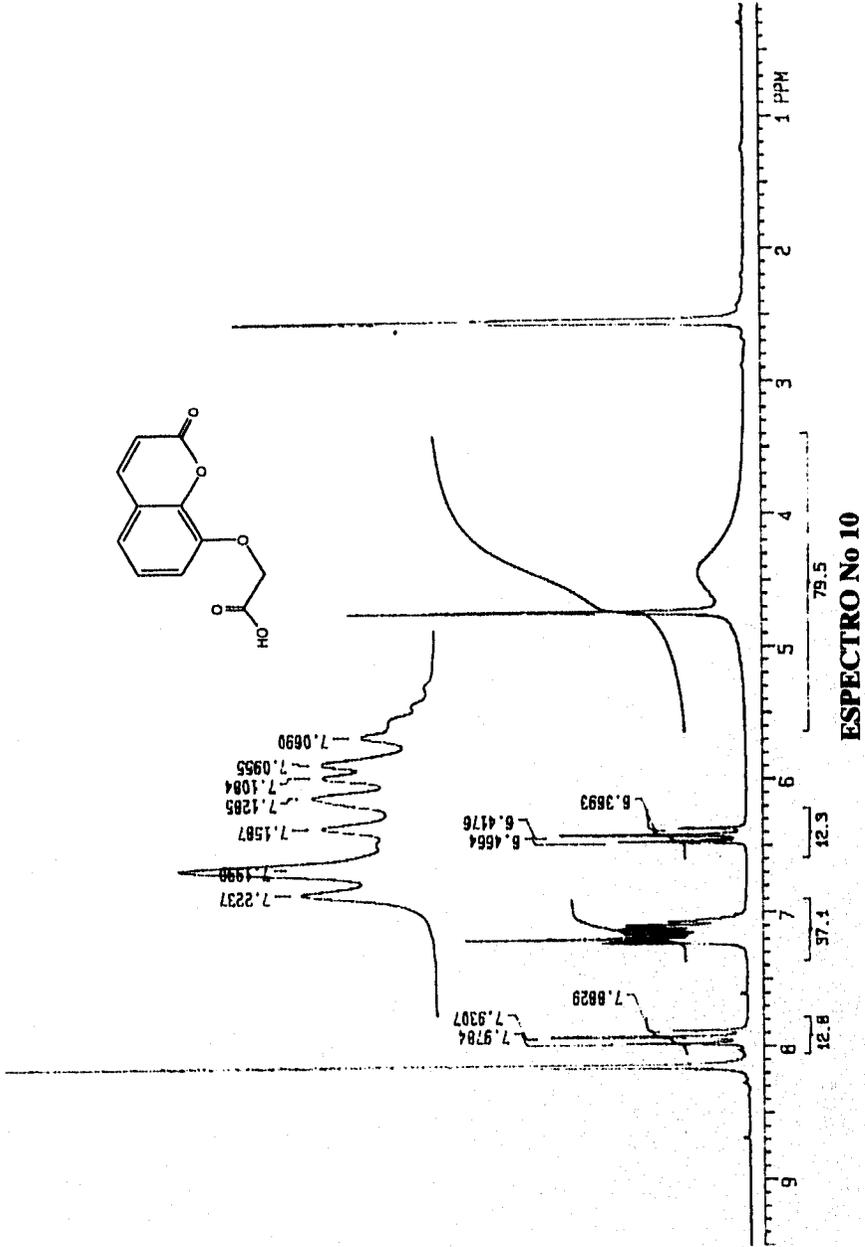
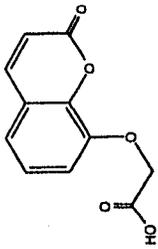
ESPECTRO No 7

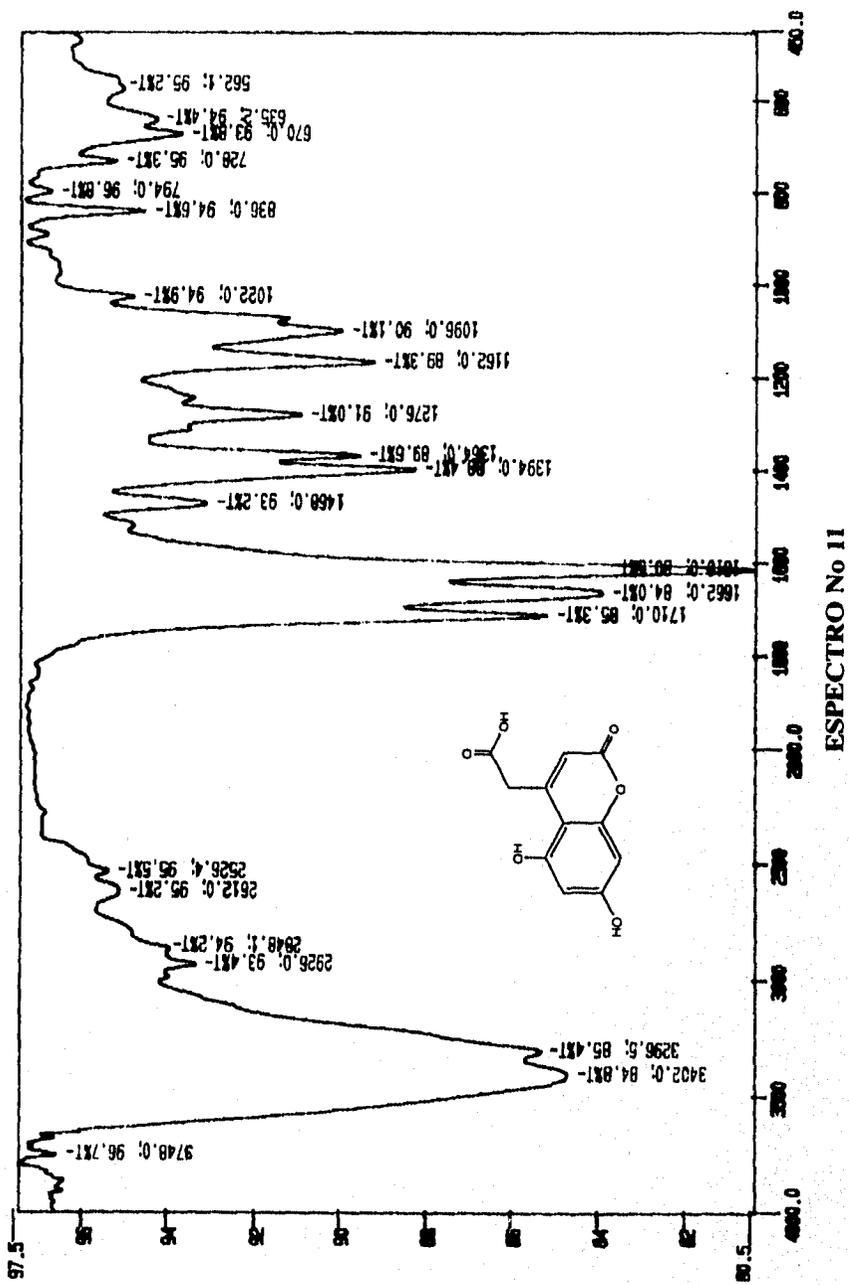


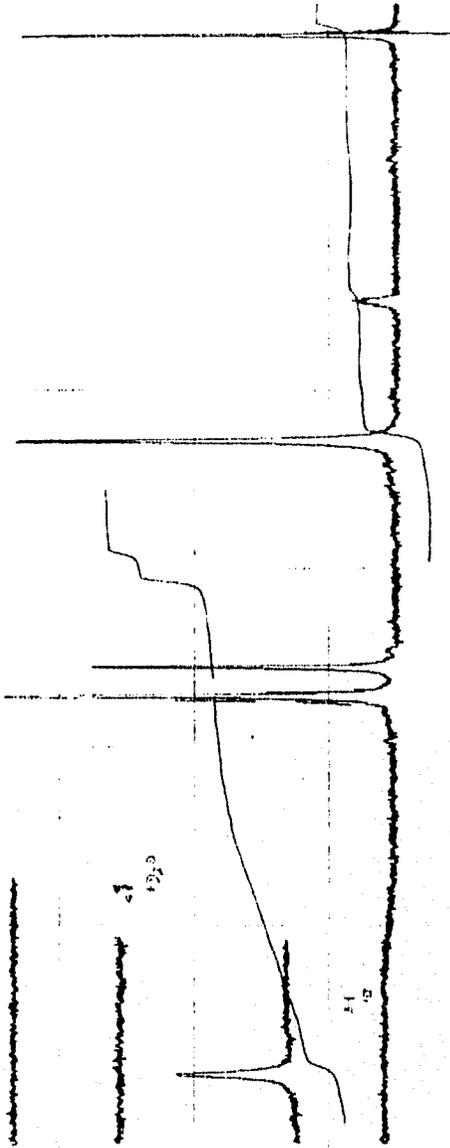
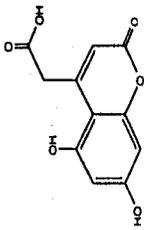
ESPECTRO No 8



ESPECTRO No 9

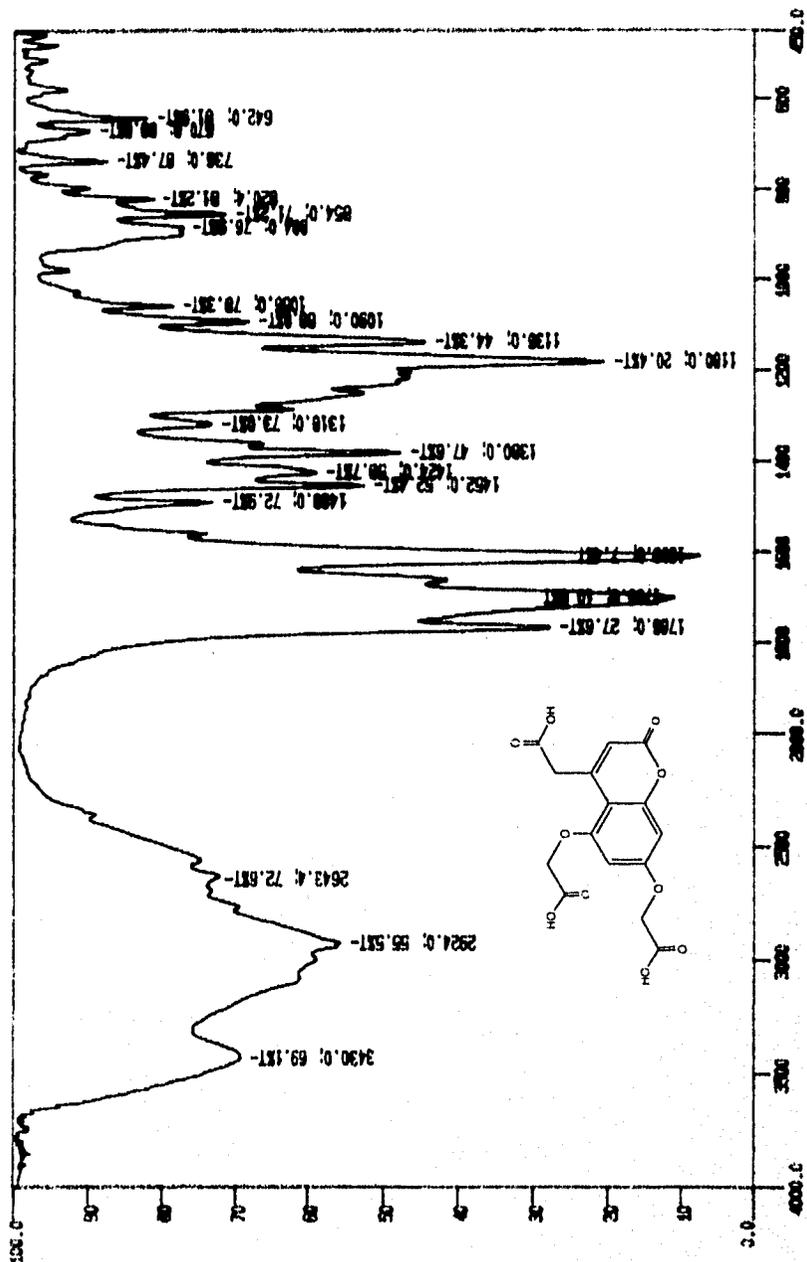


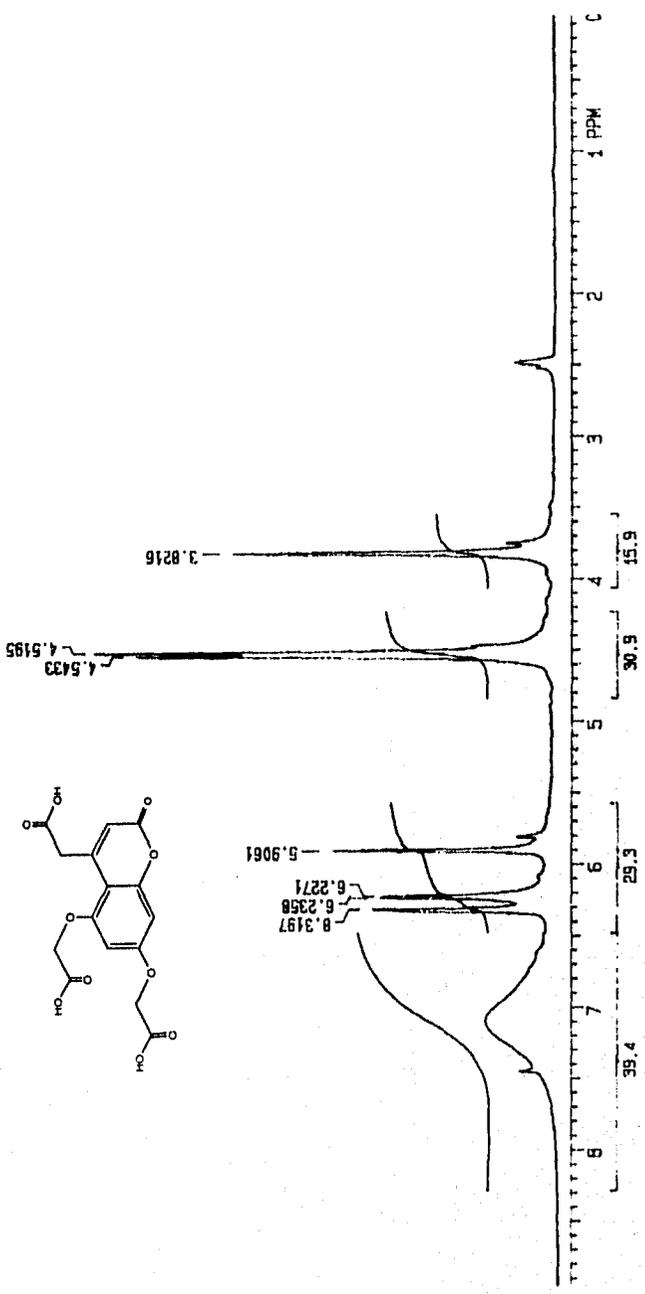




ESPECTRO No 12

ESPECTRO No 13





ESPECTRO No 14