



5
2 ej.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"**

**"ESTUDIO DE UNA NUEVA TECNICA PARA LA
FOSFORILACION DE ALCOHOLES Y AMINAS CON
CIANOFOSFONATO DE DIETILO"**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A :
CUAUHEMOC ALVARADO SANCHEZ

**U N A M
F E S
Z A R A G O Z A**



ASESOR: DR. ANGEL GUZMAN SANCHEZ

MEXICO, D. F.

1997

**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.

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio L-5 de la Unidad de Investigación en Plantas Medicinales (UIPM), del Instituto de Química de la UNAM; bajo la dirección del Doctor Angel Guzmán S. y con el apoyo de una beca del CONACyT, con número de proyecto 400361-S-3352E.

Quiero dedicar este trabajo.

Al Dr. Angel Germán Sánchez.

Por su tremendo apoyo, consejos y la acertada dirección de estas tesis.

Al Dr. Adrián Conarubias Zúñiga.

Por la beca, sus consejos y por su decidido apoyo a la comunidad de la F.C.O.S. Barajas.

A mis Padres:

*Benjamín Alvarado Gallego
Leticia Sánchez Olivares*

Quiénes me dieron el ser, con amor y paciencia me fueron guiando y con sus sabios consejos y cuidados me condujeron a ser lo que ahora soy.

Quiénes hacer también un reconocimiento muy especial a mi madre y rendirle toda mi admiración y respeto por su forma de ser, por que si hay alguien que lo entregó todo por una causa es ella, la causa sus hijos.

*A mi abuela, la señora:
Trinidad Olivares Arias*

*A quien todavía recuerdo cocinándose ropa en tiempos difíciles y llorando en mi graduación de la primaria.
¿Fortunadamente aún está conmigo, pero, como se puede apreciar tanto bien?*

A mis Hermanos:

*Conrado Alvarado Sánchez
Olga Sánchez Jimenez
Lilia Ana Alvarado Sánchez
Moisés Alvarado Sánchez
Trinidad Sánchez Jimenez
Xochitl Alvarado Sánchez*

A quien más podrías yo dedicar este trabajo sino a mis hermanos, aquellas con las que he compartido toda mi vida y hemos compartido los buenos y malos momentos y quienes siempre han creído en mí, más de lo que yo mismo algunas veces lo hago, los que de una u otra forma me apoyaron para seguir con mis estudios. Feliz este reconocimiento a ellos, ya que sin su ayuda no lo hubiera yo logrado.

*Salomé Alvarado Sánchez
David Alvarado Sánchez
Israel Alvarado Sánchez
Janet Alvarado Sánchez*

A mis hermanos pequeños sólo quiero decirles que el camino es difícil pero no imposible, espero que este trabajo les sirva de inspiración y salgan adelante.

A Ludivina Clara Rojas Vera

Quien es el amor de mi vida y mi gran inspiración y apoyo para seguir adelante.

*A mi tío el Lic. Silvestre Olivares
Arias.*

Quien me apoyó en un momento crítico de mi vida brindándome el impulso necesario para continuar.

Claro, no me olvidé de mis sobrinas:

Angela, Carla, Circe, Misy.

A mis compañeros de la Universidad:

*Alma Delia Gutiérrez Medina
Jorge López Trujillo
Jorge L. Sánchez Morales*

*Por quienes pasé los mejores momentos de
la carrera y que ahora son buenas
amistades.*

A mis compañeros del Instituto:

*José Díaz Domínguez
Amanda González Lucas
Eduardo Ríos Borrero y
Ricardo Alfaro gracias por el apoyo
técnico*

*Finalmente, a toda la gente que directa o
indirectamente me apoyó y que quizás por
error o por olvido este omitiendo.*

*A mis profesores, a la UDECA y a
su Instituto de Química.*

Tabla de Contenido.

	<i>No. de</i>
	<i>Página</i>
Resumen.....	1
1.0.0. Introducción.....	2
2.0.0. Marco Teórico.....	4
2.1.0. Historia y métodos de fosforilación.....	4
2.2.0. Aplicaciones de los ésteres y amidas fosfóricos en síntesis orgánica.....	12
2.3.0. Compuestos organofosforados como insecticidas.....	19
2.4.0. Compuestos organofosforados como retardantes de flama.....	20
2.5.0. Papel del fósforo en los sistemas orgánicos.....	23
2.5.1. Síntesis de oligonucleótidos de Letsinger-Caruthers.....	26
3.0.0. Planteamiento del Problema.....	29
4.0.0. Objetivos.....	31
5.0.0. Hipótesis.....	32
6.0.0. Metodología.....	33
6.1.0. Métodos generales.....	33
6.2.0. Material.....	35
6.3.0. Métodos de preparación.....	35
7.0.0. Resultados.....	37
8.0.0. Análisis de Resultados.....	45
9.0.0. Conclusiones.....	55
Bibliografía.....	56

RESUMEN.

El presente trabajo trata acerca del estudio de una nueva técnica para la fosforilación de alcoholes y aminas con cianofosfonato de dietilo, reactivo que nunca se había utilizado para esta transformación.

Se puede ver también la importancia del fósforo y de sus derivados, los cuales son ampliamente utilizados en la química orgánica sintética y en la industria. El fósforo se encuentra además en los sistemas orgánicos, en donde juega un papel fundamental.

Durante el desarrollo experimental se trataron de fosforilar 8 diferentes tipos de compuestos, encontrándose que: los *alcoholes primarios* reaccionan rápidamente y con altos rendimientos, los *alcoholes secundarios* tanto *cíclicos* como *no cíclicos* reaccionan más lentamente y con rendimientos menores; pero los *terciarios* fueron con los que las velocidades de reacción y los rendimientos fueron los menores. Con las aminas se encontró que las *aminas primarias* reaccionan rápidamente y con altos rendimientos, pero lo hicieron mejor las *aminas secundarias cíclicas*, no así las *secundarias acíclicas* con las que disminuyeron las velocidades de reacción y los rendimientos; las *aminas aromáticas* prácticamente no reaccionaron.

De los resultados se llegó a las conclusiones: que el **cianofosfonato de dietilo** es un buen agente fosforilante para alcoholes y aminas primarias y secundarias cíclicas y que los principales factores que afectan a la reacción de fosforilación son el impedimento estérico y la basicidad de alcoholes y aminas.

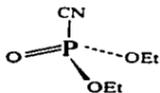
1. INTRODUCCION.

Las moléculas biológicas que poseen grupos fosfato (ésteres y amidas del ácido fosfórico), forman una parte extremadamente grande de la matriz celular. La importancia de estas sustancias se ve subrayada por su presencia en los ácidos nucleicos (ARN y ADN), proteínas, carbohidratos, lípidos, coenzimas y esteroides;¹ todas estas sustancias juegan un papel importante en los procesos biológicos tales como la formación de las proteínas, la cadena respiratoria y el metabolismo en general. Por otro lado, muchos ésteres fosfóricos tienen aplicaciones importantes, por ejemplo: los fenoles o alcoholes fosfatados forman una importante clase de insecticidas.² Dentro de la metodología orgánica sintética, estos ésteres son también intermediarios en una de las técnicas que existen para reducir fenoles a hidrocarburos aromáticos.⁴ En casos de carácter industrial, el almidón de maíz es fosforilado para aumentar su solubilidad en agua; también se han preparado celulosas fosforadas de intercambio iónico de alta capacidad³ y finalmente, se han preparado derivados orgánicos fosforados que reducen la inflamabilidad de algunos materiales poliméricos tales como telas o plásticos.⁵

En el caso de las amidas fosfóricas, éstas se han utilizado para la preparación de carbodiimidas, cetenaiminas, isocianatos e isotiocianatos,⁶ así como N-halofosoramidas.⁷

Los ésteres y amidas fosfóricas se han preparado por diversos métodos, sin embargo, técnicas que sean rápidas, fáciles de manipular y de altos rendimientos siempre serán de utilidad en la química orgánica sintética. Es por ello que el tema de esta tesis es

el estudio de una nueva técnica para preparar ésteres fosfóricos de alcoholes y amidas fosfóricas, la cual utiliza como reactivo el *cianofosfonato de dietilo*.



Cianofosfonato de Dietilo.

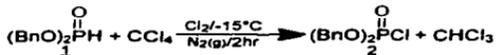
2. MARCO TEORICO.

2.1. HISTORIA y METODOS DE FOSFORILACION.

Por su importancia tanto en los sistemas orgánicos, como intermediario en síntesis orgánica e industrialmente, es muy necesaria la obtención de compuestos organofosforados; existen varios métodos sintéticos para su preparación, los cuales, con pequeñas modificaciones o mejoras de algunos de ellos, se han utilizado a través de los años.

La primera síntesis adecuada de ésteres y amidas del ácido fosfórico fue reportada por **Atherton, Openshaw y Todd** en 1945,⁸ siendo ésta la base para métodos de preparación posteriores de estos compuestos.

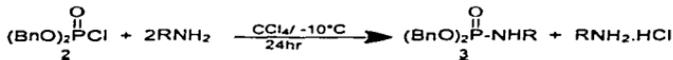
En esta síntesis, el dibenzilclorofosfonato (2) (agente fosforilante), se preparó por acción del cloro con dibenzilfosfito (1) en tetracloruro de carbono, burbujando nitrógeno al medio de reacción, según la ecuación 1.



ec. 1

Como puede observarse por la producción del cloroformo, el tetracloruro de carbono tiene dos funciones, es el agente clorante y el disolvente.

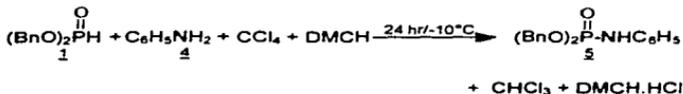
El compuesto (2), se obtiene *in situ* y sin ser aislado del medio de reacción; se adiciona lentamente a 2 equivalentes de una amina, produciéndose la amida fosfórica correspondiente (3), según la ecuación 2.



ec. 2

En esta reacción, la amina misma es la base que atrapa el ácido clorhídrico liberado, con lo cual se desperdicia un equivalente de ella. No se reportaron rendimientos de reacción para (3).

Poco después, los mismos autores mejoraron la técnica anterior y la aplicaron también a alcoholes.^{9,10} En esta modificación, al compuesto (1) disuelto en CCl_4 se le adicionó lentamente la amina, anilina (4) y N-N-dimetilciclohexilamina (DMCH), disueltas en CCl_4 , según la ecuación 3.

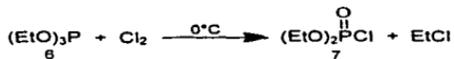


ec. 3

El anilinosfosonato de benzilo (5) se obtuvo en 62% de rendimiento. Lo novedoso e importante de esta reacción, es que se utiliza por primera vez una base diferente a la molécula misma que va a ser fosforilada, en este caso se utilizó DMCH.

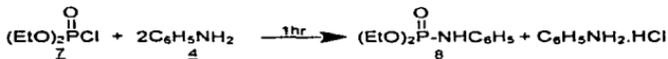
En el mismo trabajo se probaron además otros agentes clorantes, como pentacloro y hexacloroetano, comprobando que el hexacloroetano es adecuado ya que los rendimientos obtenidos con este fueron de alrededor de 90%; no así el pentacloroetano con el cual se obtuvieron rendimientos de 66% promedio.

También en 1945, McCombey & Stacey¹¹ realizan estudios de fosforilación desarrollando una técnica diferente. En este método utilizan como reactivos trialquilfosfitos, en particular al fosfito de trietilo (6), que, mediante una reacción conocida como *Reacción de Arbuzov*,^{12, 13, 14} se convierte al clorofosfonato de dietilo (7); el cual es el agente fosforilante. El método se lleva a cabo de la siguiente manera: primero se forma (7), según la ecuación 4.



ec. 4

Una vez formado el compuesto (7), se adiciona a (4), el cual se encuentra en forma pura o en solución y en exceso (2 eq.), según la ecuación 5.



ec. 5

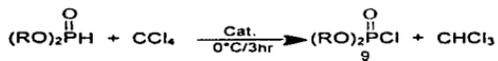
Con lo cual se forma el anilinosfosfonato de dietilo (**8**). No se reportan rendimientos de reacción para (**8**).

Poco después se informó que llevando a cabo las mismas reacciones de las ecuaciones 4 y 5, pero utilizando yodo en lugar de cloro, se obtenía un rendimiento de 95% para (**8**).^{15,16}

En la actualidad se sabe que el agente halogenante para la formación de un halofosfonato de dietilo, puede ser cloro, bromo o yodo, los cuales tienen reactividades semejantes;¹⁷ el fluorofosfonato de dietilo es menos reactivo,³ y se ha comprobado que es tóxico por inhalación y produce miosis,¹⁸ por lo cual no es recomendable su uso.^{16,19,20}

Durante los estudios de *McCombey & Stacey*,¹¹ por encontrar un trialkilfosfito más adecuado, probaron una gran cantidad de éstos, comprobando que los fosfitos de trimetilo y trietilo (**6**), además de dar mejores rendimientos, son más fáciles de manipular.

En 1950, *Steinberg*²¹ utilizando la reacción de *Atherton* (ec.2), probó por primera vez a la trietilamina (Et₃N) como base, comparándola con piridina, tributilamina y triamilamina, para la producción de los clorofosfonatos de dialquilo (**9**), según la ecuación 6.



ec.6

Basado en estudios cinéticos, encontró que la trietilamina fue sólo un poco más efectiva como base que la tributilamina, pero 1000 veces más efectiva que la piridina o la triamilamina.

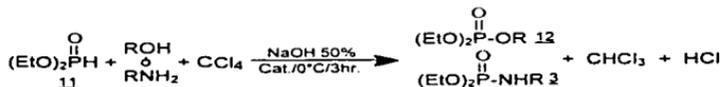
Otra importante contribución de *Steinberg*,³¹ fue el descubrimiento de que los clorofosfonatos de dialquilo (9), son extremadamente sensibles al calor y al ser expuestos a él, se polimerizan para producir (10), según la ecuación.7.



ec. 7

Durante 1975-1976, *Zwierzak* llevó al cabo la fosforilación de alcoholes³² y aminas³³ en un sistema de dos fases, teniendo como propósito demostrar que el método de fosforilación de *Atherton* también se puede llevar a cabo en este sistema. Este método fue inicialmente reportado por *Steinberg*³¹ y posteriormente desarrollado por *Kenner* y *Williams*⁴ para la preparación de dialquilo y diarilfosfatos.

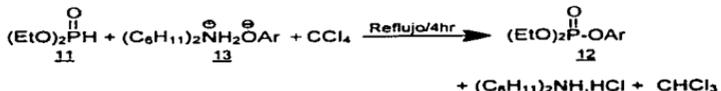
En esta técnica se usan como catalizadores de transferencia de fase, sales de amonio-o aluminio cuaternarias; por ejemplo, bromuro de tetrabutilaluminio o cloruro de trietilciclohexilamonio. Estas sales provocan que reactivos aniónicos sean transferidos de la fase acuosa a la fase orgánica. En este método el compuesto (11), se adicionó lentamente al medio de reacción el cual contiene al alcohol o la amina, tetracloruro de carbono, hidróxido de sodio y la sal cuaternaria, según la ecuación 8.



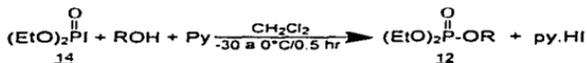
ec. 8

Los rendimientos reportados para esta reacción van de 37 a 89%

En 1988 **Purnanand, Batra y Pant;**²⁴ obtuvieron ésteres fosfóricos (12) a partir de (11) y sales fenólicas de dicitclohexilamina (13). En esta técnica, (13) se adiciona lentamente a (11), según la ecuación 9.



ec. 9



ec. 11

Los rendimientos reportados para (12) son casi cuantitativos, van de 98-99%.

Finalmente en 1996, Silverberg,¹⁶ et al;¹⁷ fosforilan fenoles utilizando una pequeña variante del método original de *Atherton* en el cual, el compuesto (1), se adiciona lentamente a una solución que contiene el alcohol, tetracloruro de carbono y las bases N-N-diisopropiletilamina (DIPEA), y N-N-dimetilaminopiridina (DMAP), todo en solución de acetonitrilo, según la ecuación 12.

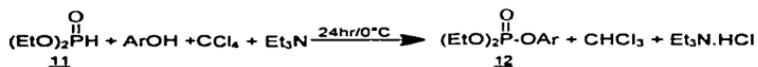


ec. 12

Los rendimientos reportados para (12), van de 87 a 97%.

2.2. APLICACIONES DE LOS ESTERES Y AMIDAS FOSFORICOS EN SINTESIS ORGANICA.

Kenner y Williams' fosforilaron fenoles y los redujeron a hidrocarburos aromáticos (16). la reacción procede de la siguiente forma: (11) y el fenol se disuelven en CCl_4 , se llevan a $0^\circ C$ y se adiciona lentamente trietilamina, según la ecuación 13.



ec. 13

Los rendimientos reportados para (12), van de 73 a 98%.

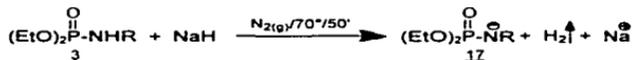
En la segunda parte de la reacción, la reducción, el metal se adiciona lentamente en pequeñas piezas durante 5 minutos, según puede verse en la ecuación 14.



ec. 14

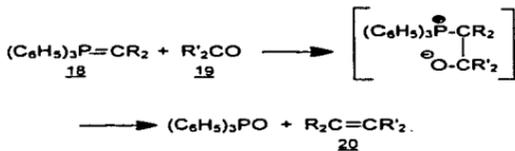
Los rendimientos reportados para (16), van de 54 a 90%, encontrándose que esta reacción es ampliamente recomendable para la obtención de estos compuestos.

Wadsworth y Emmons* prepararon carbodiimidas (23), cetenaiminas (25), isocianatos (22) e isotiocianatos (27) utilizando como intermediarios de reacción, compuestos del tipo (3), los cuales fueron preparados según la ecuación 2. Una vez preparados (3), se hicieron reaccionar con hidruro de sodio (NaH), para formar aniones estables (17), según la ecuación 15.



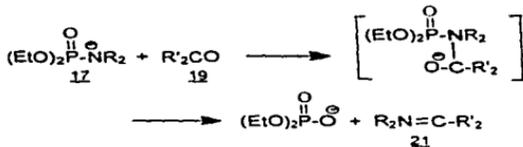
ec. 15

La formación de (17) es el paso fundamental para producir (22, 23, 25 y 27). (17) es totalmente análogo en su reactividad a los iluros de fosfonio o fosfoniminas (18), utilizados en la *reacción de Wittig*,³⁸ en la cual éstos se hacen reaccionar con un aldehído o cetona (19) para obtener un alqueno (20), según la ecuación 16.



ec. 16

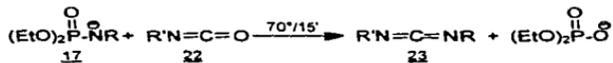
En este caso (17) se hace reaccionar con (19), según la ecuación 17.



ec. 17

Obteniéndose iminas (21). Este método tiene la ventaja de que la preparación de (17) es mucho más sencilla que la del iluro (18).

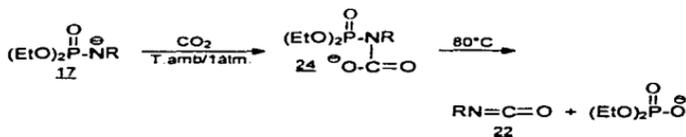
Para la formación de carbodiimidas (23), ésta procede de la siguiente forma: (22) es lentamente agregado a la solución obtenida de la ecuación 15, la cual contiene a (17), según la ecuación 18.



ec. 18

Los rendimientos reportados para (23), van de 60 a 84%.

Para la formación de isocianatos (22), se ha encontrado que (17) reacciona lentamente con CO₂ a temperatura ambiente y presión atmosférica para dar carbamatos (24); los cuales, calentados a la temperatura apropiada (80°C usualmente), producen (22), según la ecuación 19.



ec. 19

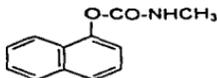
Los rendimientos reportados para (22), van de 30 a 75%.

Los compuestos del tipo (22), son utilizados en síntesis orgánica para obtener carbamatos (24), los cuales se obtienen por reacción de (22) con un alcohol o fenol,¹⁷ según la ecuación 20.



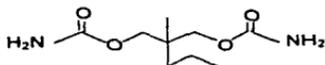
ec. 20

Los carbamatos (24) tienen amplias aplicaciones en la vida diaria¹⁸, por ejemplo: (ver figura 1).



1. N-Meticarbamato de 1-naftolo

Insecticida biodegradable.

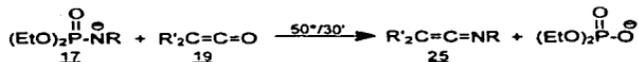


2. Meprobramato

Tranquilizante.

Figura 1. Aplicaciones de los carbamatos

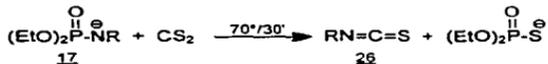
Las cetenaiminas (25), se han preparado por reacción de (17) con (19), según la ecuación 21.



ec. 21

Los rendimientos reportados para (25), van de 18 a 62%.

Los isotiocanatos (26), se preparan según la ecuación 22, con disulfuro de carbono(CS_2).



ec. 22

Los rendimientos reportados para (26), van de 30 a 75%.

Como una de las principales utilidades de compuestos del tipo (26) tenemos por ejemplo: El isotiocianato de fenilo (27), el cual se utiliza para descifrar la secuencia de las cadenas peptídicas de las proteínas, determinando el residuo N-terminal,¹⁸ (ver figura 2).

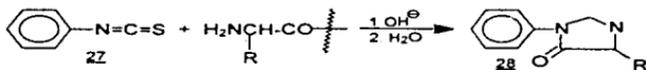
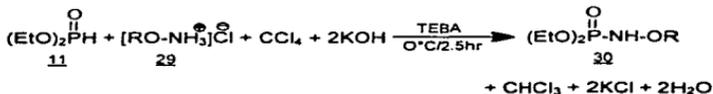


Figura 2. Determinación del residuo N-terminal con isotiocyanatos

Primero se genera una fenilhidantoina (28) por reacción de (27) con el residuo N-terminal del péptido, una vez formado (28) se hidroliza por medio de una carboxipeptidasa y entonces puede aislarse de la mezcla de reacción y de esta manera ser fácilmente identificado el aminoácido terminal.

Zwierzak y Brylikowzka⁷ utilizan (3), para preparar N-alcoxi-N-clorofosforamidos de dietilo (31) los cuales al ser adicionadas a olefinas (20), producen dos isómeros en proporción de 3:1, siendo el producto AntiMarkovnikoff el principal. La síntesis se lleva a cabo en tres etapas, en la primera de ellas, se forman los N-alcoxisfosforamidos de dietilo (30), según la ecuación 23.



ec.23

Esta reacción se lleva a cabo en un sistema de dos fases (ver ec.9), y en lugar de agregarse una amina, se agrega clorhidrato de o-alkilhidroxilamina (29). los rendimientos reportados para (30), van de 45 a 78%.

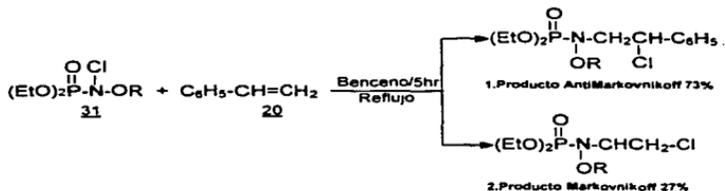
El siguiente paso es la obtención de (31), el cual se obtiene según la ecuación 24.



ec.24

Los rendimientos reportados para (31), van de 86 a 97%.

El paso final es la adición de (31) a (20), para obtener los isómeros según la ecuación 25.



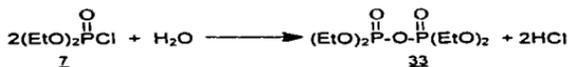
ec. 25

2.3. COMPUESTOS ORGANOFOSFORADOS COMO INSECTICIDAS.^{1,2,3,4}

Los insecticidas fueron descubiertos durante la Segunda Guerra Mundial, por *Saunders* en Inglaterra y por *Schrader* en Alemania. Sin embargo, los insecticidas basados en compuestos organofosforados se produjeron comercialmente primero en Inglaterra¹. Algunos de ellos son ésteres fosfóricos, por ejemplo:

Tetraetilpirofosfato (TEPP).^{1,2}

Toy^{1,2,3} preparó el TEPP (33) por la hidrólisis controlada de 2 moles de (Z), según la ecuación 26.



ec. 26

El TEPP es un líquido incoloro, inoloro, tóxico, soluble en agua; que es rápidamente absorbido por la piel. Se utiliza como aerosol para controlar las plagas en vegetales y flores y está relativamente libre de residuos tóxicos.

Dietil-p-nitrofenilfosfato (Paroxan).²⁹

El Paroxan (35) fue diseñado por *Schrader*, quien lo preparó con (7) y la sal sodica del p-nitrofenol (34), según la ecuación 27.



El Paroxan (35) es un aceite rojo, casi insoluble en agua, y posee acción antipulgas, antiarañas y antimoscas.

2.4. COMPUESTOS ORGANOFOSFORADOS COMO RETARDANTES DE FLAMA¹.

Se ha comprobado que la introducción de compuestos organofosforados a telas, plásticos o polímeros en general les confiere ciertas propiedades antiinflamatorias, por lo cual, se ha desarrollado una amplia gama de estos compuestos, también denominados *aditivos*. Estos *aditivos* deben cumplir cuatro condiciones.⁵

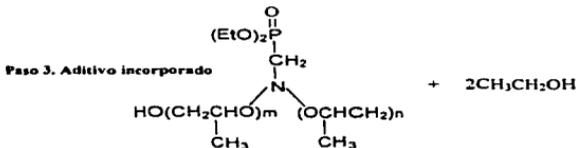
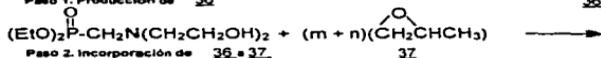
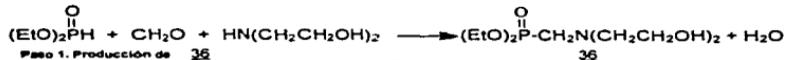
1. Deben estar permanentemente ligados al polímero.

2. Deben ser neutros; y no reactivos, de forma tal que no afecten de manera adversa las propiedades del polímero
3. Deben poseer un alto contenido de fósforo (15-20%).
4. El *aditivo* y su incorporación al polímero deben ser de bajo costo.

Para permanecer ligado al polímero, el *aditivo* debe ser capaz de reaccionar con él para formar enlaces, esto es, debe introducirse funcionalidad al *aditivo*, tal como grupos hidroxilo, aldehído o cetona.

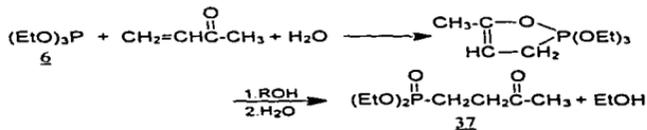
En el caso de las espumas de uretano, pueden introducirse a las moléculas del aditivo grupos hidroxilo, los cuales al reaccionar con los grupos isocianatos de los poliisocianatos (37) usados en la formulación del polímero, quedarán permanentemente ligados a él. Como ejemplo de estos tenemos:

Fyrol 6.ª



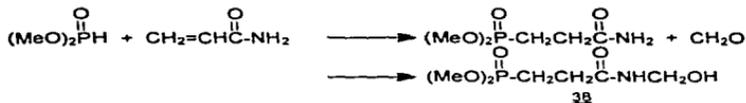
ec. 28

El fyrol 6 (36) (ec. 28), es un aditivo de tipo alcoholico de los más comunes y usados para espumas rígidas de uretano, así como (37) (ec 29) el cual posee un grupo funcional cetónico.³⁴



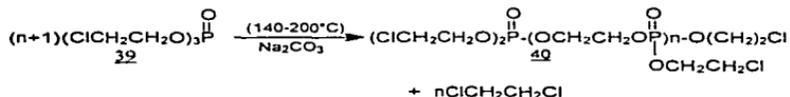
ec. 29

De los diversos aditivos utilizados como retardantes de flama para el algodón, el **Pyrovatex** (38)³ ha demostrado ser uno de los más efectivos; éste se prepara según la ecuación 30.



ec. 30

Y finalmente, un retardante de flama para plásticos, **Fyrol 99** (40). Este se prepara por la condensación de Tris-(2-cloroetil)-fosfato (39),³⁴ según ecuación 31.



ec. 31

2.5. PAPEL DEL FOSFORO EN LOS SISTEMAS ORGANICOS.¹⁴

El papel más importante de los compuestos organofosforados en los organismos vivos, es por supuesto su inclusión como parte de los ácidos nucleicos (ADN y ARN), los cuales son cadenas de diésteres del ácido fosfórico. Los fosfatos se encuentran también en el Adenosin Trifosfato (ATP) y Dinucleótido de Nicotinamida (NADPH), entre otros.

Todos los compuestos, para pasar al interior de una célula, necesitan no estar ionizados, pero una vez dentro, para disolverse en la capa líquida de la misma (citósol), y no salir de ella, necesitan poseer cierta carga o estar ionizados. Para evitar esta salida, la célula coloca a estos compuestos un grupo fosfato; la supervivencia de una célula depende de ello ya que muchos de estos compuestos proporcionan la energía necesaria para los procesos metabólicos.¹⁵ El ácido fosfórico es un ácido moderadamente fuerte, y uno de sus grupos hidroxilo ácido, generalmente se encuentra libre; este posee un pKa aproximado de 2, por tanto, al pH biológico que es de 7 aproximadamente, este grupo

estará siempre ionizado, con una carga negativa neta. Un gran número de metabolitos, incluyendo muchas coenzimas, son ésteres fosfóricos.

Por otra parte, como se dijo al inicio de este trabajo, el material genético es un diéster del ácido fosfórico y posee muchos enlaces de éster fosfórico; el rompimiento de uno de ellos, aunque podría ser tolerado, también podría ser fatal, por lo cual debe ser extraordinariamente estable frente a la hidrólisis, y precisamente la carga negativa del diéster fosfórico es lo que le confiere la estabilidad. Estas cargas además de tener la función de retener el material genético dentro de la célula, lo estabilizan o disminuyen el nivel de hidrólisis ya que repelen a los nucleófilos (H_2O , OH^-), causantes de la misma. No obstante que el enlace éster fosfórico es más estable que el de los ácidos carboxílicos comunes, esta carga le confiere todavía mayor estabilidad.

De mucha importancia es el papel de los fosfatos en el ATP (ver figura 3), que es el principal compuesto para el almacenamiento de la energía química metabólica, también conocido como el *Adhesivo Genético*. La energía entra a las células en moléculas como azúcares y lípidos principalmente; la degradación de estas moléculas produce una gran cantidad de energía, esta energía para ser conservada, es utilizada en la síntesis del ATP a partir de ADP, y fosfato inorgánico. El ATP, el ADP y el fosfato, están presentes en todas las células y desempeñan universalmente el papel del sistema transmisor de la energía. La energía química conservada de este modo en forma de ATP, puede trabajar de cuatro formas diferentes:³⁷

1. Puede proporcionar la energía necesaria para el trabajo químico de la biosíntesis. El ATP transfiere enzimáticamente un grupo o grupos fosfato a las

moléculas precursoras *energizándolas*, con lo cual se preparan para ensamblarse.

2. El ATP es la fuente de energía para la movilidad de la célula.
3. Se utiliza también para el transporte de elementos nutritivos a través de las membranas en contra de gradientes de concentración.
4. Se emplea para asegurar la transferencia exacta de la información genética durante la biosíntesis del ADN, ARN y proteínas

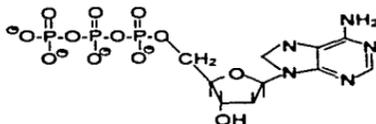


Fig.3 ATP.³⁸

La energía libre para la hidrólisis del ATP es de -7.3 Kcal/mol en comparación con -2.2 Kcal/mol para la hidrólisis de un éster fosfórico ordinario

De lo expuesto anteriormente se desprende la importancia, o la necesidad de sintetizar compuestos orgánicos fosforados y de desarrollar métodos sintéticos adecuados para ello. En el campo de la química de los oligonucleótidos es donde más se han necesitado y por lo tanto, desarrollado y aplicado las técnicas de fosforilación.

2.5.1. SINTESIS DE OLIGONUCLEOTIDOS DE LETSINGER-CARUTHERS.

La primera síntesis practicable de ésteres del ácido fosfórico con carbohidratos fue descrita por *Neuberg y Pollak*,⁸ quienes trataron soluciones acuosas de azúcar con cloruro de fosforilo en presencia de hidróxido o carbonato de calcio; *E. Fischer*⁹ probó el método anterior trabajando con cloruro de fosforilo en piridina anhidra a -20°C ; su método se ha aplicado a la fosforilación de nucleótidos, tanto protegidos³, como no protegidos,^{10,11} desgraciadamente los rendimientos por ellos obtenidos fueron muy bajos.

*Atherton y cols.*⁸ introdujeron a (1) como agente fosforilante (ver ec.1). Este reactivo tiene las cualidades de que reacciona rápidamente con alcoholes y aminas, produciendo buenos rendimientos; sin embargo, lo mejor de este método es que los grupos bencilo (41) pueden quitarse facilmente de (12) mediante hidrogenólisis sin afectar otra parte de la molécula, según la ecuación 32.



ec. 32

El que (41) pueda ser facilmente removido puede ayudar en la síntesis de oligonucleótidos, según se verá más adelante.

Lewis A. Slottin,¹ reportó una amplia revisión de los métodos de fosforilación de moléculas biológicas, la cual precedió a una anterior publicada en 1961,⁴¹ en la cual se informa que la síntesis más adecuada de oligonucleótidos hasta ahora, es la desarrollada por Letsinger⁴² y Caruthers⁴³ de la cual se hablará más adelante. Existen en la actualidad métodos automatizados para la producción del ADN, los cuales fueron desarrollados por Sanger y Gilbert, trabajo que los hizo acreedores a recibir el Premio Nobel en 1980.⁴

La síntesis original de Letsinger,⁴² consistió en condensar fosforamidatos, compuestos de fórmula general [RO-P-(NR₂)₂], con los grupos hidroxilo de la desoxirribosa, estos fosforamidatos son posteriormente oxidados a fosfato con yodo molecular. El método sin embargo, fue modificado por Caruthers⁴³ quien sustituyó los fosforamidatos por fosfito de trietilo (6).

La síntesis de oligonucleótidos de Letsinger-Caruthers consiste en unir un nucleótido (42) a un soporte sólido tal como gel de sílice, por medio del grupo oxhidrilo en C₃ (44). Por otro lado se prepara el nucleótido fosforilado y protegido en el oxhidrilo en C₃ con un grupo 2,4-dimetoxitritilo, el cual se puede quitar fácilmente cuando se desea (43). El reactivo protegido se hace enseguida reaccionar con (44). El fosfato-fosfito resultante (45) se oxida con yodo para producir el dinucleótido protegido (46), y así sucesivamente hasta formar cadenas de oligonucleótidos de hasta 50 o más unidades que es lo que se puede lograr mediante este método. Una vez terminada la cadena, los grupos

etoxilo protectores de los fosfatos, así como el DMTO protector del grupo 5-OH del último azúcar unido al oligonucleótido son retirados; y el oligonucleótido es liberado del soporte sólido.

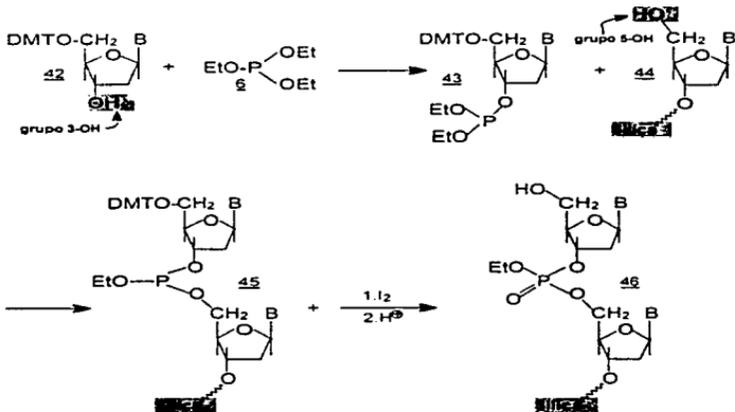
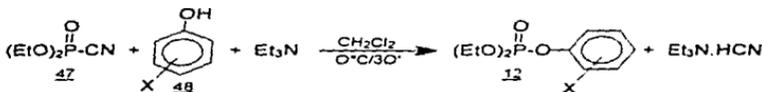


Figura 4. Síntesis de oligonucleótidos de Lettinger-Caruthers.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En este laboratorio de investigación se encontró que el *cianofosfonato de dietilo* (47) reacciona con fenoles (48) en presencia de trietilamina, bajo condiciones extremadamente suaves." Ecuación 33.



ec. 33

A partir de este descubrimiento se desarrolló la técnica y en todos los casos estudiados se obtuvieron rendimientos excelentes. Teniendo estos resultados en mente, se decidió investigar las posibilidades de formación de ésteres fosfóricos de alcoholes y amidas fosfóricas derivadas de aminas. Esta nueva técnica tiene las características de que por primera vez se utiliza a (47) como agente fosforilante y es además, rápida, fácil de manipular y de altos rendimientos.

Durante el desarrollo del Marco Teórico, pudo verse la gran importancia de los compuestos organofosforados y la necesidad de su preparación; también pudieron conocerse las diferentes técnicas de preparación de éstos, con lo cual, pudo notarse que

ninguna de ellas cumple con las tres características de rapidez, facilidad de manipulación y altos rendimientos encontradas en la técnica desarrollada en este laboratorio.

Otro hecho que es necesario hacer notar, es que no se ha hecho un estudio sistemático de las diferentes técnicas reportadas en cuanto a probar su eficacia con los diferentes tipos de alcoholes (1os., 2os. cíclicos, no cíclicos y 3os.) y aminas (1as., 2as cíclicas, no cíclicas, y aminas aromáticas); con excepción de *Zwierzak y Cols.*^{12,23}, de los que desgraciadamente, su técnica es algo complicada y sus rendimientos van de 37 a 86%, mientras que en la encontrada en este laboratorio el promedio es de 90%.

La técnica desarrollada en este laboratorio, tal como se mencionó al inicio del Planteamiento, hasta ahora sólo ha sido aplicada a fenoles con resultados altamente satisfactorios; estudiar la aplicación de esta nueva técnica en los diferentes tipos de alcoholes y aminas y determinar sus posibilidades para la obtención de ésteres y amidas fosfóricos, es el tema de esta tesis.

4. OBJETIVOS.

1. Complementar el estudio de la técnica desarrollada para la fosforilación de fenoles, aplicandola a los diferentes tipos de alcoholes y aminas.
2. Comprobar la eficacia de la técnica, para fosforilar alcoholes y aminas.
3. Introducir un nuevo agente fosforilante, el *cianofosfonato de dietilo*.
4. Contribuir al desarrollo de nuevas y mejores técnicas para la síntesis químico-orgánica de compuestos organofosforados.
5. Conocer y resaltar la importancia de los compuestos organofosforados, tanto en los sistemas orgánicos como en sus múltiples usos en la vida diaria.

5. HIPOTESIS

El desarrollo de nuevas y mejores técnicas para la preparación de compuestos organofosforados, debido a la gran importancia de estos, es muy necesario; la nueva técnica desarrollada para la fosforilación de fenoles con *cianofosfonato de dietilo* en la cual se basa esta tesis, demostró ser altamente satisfactoria, pero es necesario probar su efectividad con los diferentes tipos de alcoholes y aminas para complementar su estudio. La hipótesis se basa en que si las moléculas de cualquier amina o alcohol poseen pares electrónicos libres y pueden actuar como nucleófilos de la misma forma que los fenoles para formar el compuesto organofosforado correspondiente, entonces se espera que esta nueva técnica sea efectiva también para estos compuestos y se convierta en un mejor método para la preparación de compuestos organofosforados.

6. METODOLOGIA.

6.1. METODOS GENERALES.

Todas las reacciones se siguieron por Cromatografía en Capa Fina (CCF), usando como adsorbente silica gel 60 F₂₅₄ de 0.25 mm. de espesor de Merck o Macherey-Nagel. Se usaron como reveladores luz Ultravioleta (UV), de una lampara Mineraligth UVGL-25 y vapores de yodo.

Las purificaciones de los productos se realizaron :

- a). Por cromatografía en columna, usando como adsorbente silica gel flash.
- b). Por cromatografía en placa preparativa, usando como adsorbente silica gel 60 F₂₅₄, de 20x20x0.2 cm.
- c) Por destilación al vacío.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMN-¹H), se determinaron en un Espectrómetro Varian, modelo Gemini 200 o 300. El desplazamiento químico está expresado en partes por millón (ppm) o δ.

Como estandar interno se utilizó Tetrametilsilano (TMS), el disolvente usado fue cloroformo deuterado (CDCl₃).

La terminología usada en RMN es la siguiente: singulete (s), doblete (d), doblete de dobletes (dd), triplete(t), triplete de tripletes(tt), cuarteto (c), y multiplete o señal compleja (m).

Los espectros de Infra Rojo (IR), se determinaron en un Espectrofotómetro Nicolet, modelo Magna IR-750, utilizando poliestireno para la calibración; los espectros se determinaron en solución de cloroformo.

Los espectros de Masas por Impacto Electrónico (EM-IE), se determinaron a 70 electrón-volts (e.v.) y se realizaron en el equipo Espectrómetro de Masas JEOL, modelo JMS-AX505 HA. Se da el valor del ión molecular como M^+ (m/z).

Los puntos de fusión reportados fueron obtenidos en un aparato BUCHI 510.

6.2. MATERIAL.

- Matraz de fondo redondo de tres bocas de 50 ml.
- Matraz de fondo redondo de dos bocas de 50 ml.
- Termómetro de -10 a 150°C.
- Tubo con drierita.
- Agitador magnético.
- Pipetas graduadas de 1 y 5 ml.
- Mantilla de calentamiento.
- Parrilla de agitación.
- Embudo de separación de 50 ml.
- Probeta de 50 ml.
- Perilla de seguridad.
- Baño de hielo.
- Placas para cromatografía.
- Refrigerante.
- Evaporador rotatorio.

6.3. METODOS DE PREPARACION.

Técnica I.

En un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 50 ml., seco, equipado con un termómetro, un tubo con drierita y agitador magnético, se disolvieron 10 mmoles de alcohol o amina en 8 ml. de diclorometano. La solución se enfrió a 0°C en baño de benceno y hielo seco. A esta temperatura se adicionaron 11 mmoles (1.1 eq.), de cianofosfonato de dietilo y 22 mmoles (2.2 eq.), de trietilamina. La reacción se dejó en

agitación durante 30 minutos. Se diluyó con 20 ml. de diclorometano y se lavó con 8 ml. de solución saturada de ácido oxálico y agua (8ml.); se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se evaporó y el residuo se purificó.

Técnica 2.

Es exactamente igual a la número 1, sólo que la reacción se dejó agitando durante 24 horas a la temperatura ambiente.

Técnica 3.

En un matraz de fondo redondo de 2 bocas, de 50 ml., seco, equipado con refrigerante, tapón de teflón y agitador magnético, se disolvieron 10 mmoles del alcohol o la amina en 15 ml. de cloroformo, enseguida y con agitación, se adicionaron 11 mmoles (1.1 eq.), de cianofosfonato de dietilo y 22 mmoles (2.2 eq.), de trietilamina. La mezcla se calentó a reflujo durante 5 horas. La mezcla de reacción se diluyó con 20 ml. de diclorometano y se lavó con 10 ml. de solución saturada de ácido oxálico y agua (10 ml.), se secó con sulfato de sodio anhidro, se evaporó y el residuo se purificó.

7. RESULTADOS.

Tabla 1. Esteres Fosfóricos.

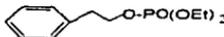
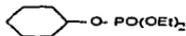
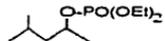
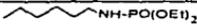
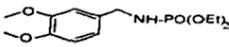
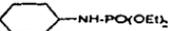
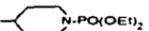
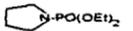
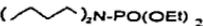
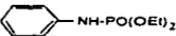
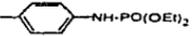
<i>No. de Compuesto</i>	<i>Fórmula</i>	<i>Condiciones de reacción</i>	<i>P.f., P.eb. °C/mmHg.</i>	<i>Rend. %.</i>
49		0°C/30 min	146-148/2.2	83
50		0°C/30 min	126-127/2.0	95
51	HCF ₂ CF ₂ CH ₂ -O-PO(OEt) ₂	0°C/30 min	74/1.8	89
52		T.amb./24 hrs.	104-106/3.0	77
53		Reflujo/5 hrs.	46-48/0.9	58
54		Reflujo/5 hrs.	66-68/0.9	10

Tabla 2. Amidas Fosfóricas.

No. de Compuesto	Fórmula	Condiciones de reacción	P.f., P.eb. °C/mmHg	Rend. %
<u>55</u>		0°C/30 min.	Aceite	90
<u>56</u>		0°C/30 min.	112-114/5.5	91
<u>57</u>		0°C/30 min.	60-62 Cristales	93
<u>58</u>		0°C/30 min.	72-74 Cristales	89
<u>59</u>		T.amb./24 hrs.	76-78/4.5	84
<u>60</u>		0°C/30 min.	Aceite	96
<u>61</u>		0°C/30 min.	Aceite	98
<u>62</u>		Reflujo/5 hrs.	80-82/0.8	40
<u>63</u>		Reflujo/5 hrs.	Aceite	6
<u>64</u>		Reflujo/5 hrs.	Aceite	5

Por la técnica 1, se obtuvieron los siguientes compuestos:

49. Se purificó por destilación.

P.M. 274.259 g/mol. **Rendimiento:** 83%.

P.eb. 146/148°C/2.2 mmHg; **I.R.** 2991, 1480, 1458, 1277, 1037, 983 cm^{-1} .

RMN-¹H δ ppm (CDCl_3) 1.31(m, 6H, 2CH_3), 3.81(s, 3H, $\text{CH}_3\text{-O}$), 4.07(m, 4H, $2\text{CH}_2\text{-O}$), 5.00(d, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.90(d, 2H, arom), 7.35(d, 2H, arom).

EM(IE) m/z 274 (M^+).

50. Se purificó por destilación.

P.M. 258.259 g/mol. **Rendimiento:** 95%.

P.eb. 126-127°C/2.0 mm Hg; **I.R.** 2984, 1497, 1454, 1273, 1030, 975 cm^{-1} .

RMN-¹H δ ppm (CDCl_3) 1.29(t, 6H, 2CH_3), 3.00(t, 4H, 2CH_2), 4.03(c, 4H, $2\text{CH}_2\text{-O}$), 4.23(c, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 7.26(m, 5H, arom). **EM(IE)** m/z 258 (M^+).

51. Se purificó por destilación.

P.M. 268.156 **Rendimiento:** 89%

P. eb. 74°C/1.8 mmHg; **I.R.** 2985, 1466, 1250, 1035, 980 cm^{-1} .

RMN-¹H δ ppm (CDCl_3) 1.36(t, 6H, 2CH_3), 4.16(m, 4H, $2\text{CH}_2\text{-O}$), 4.35(m, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 5.73, 5.91, 6.08(tt, 1H, H- CF_2). **EM(IE)** m/z 268 (M^+).

55. Se purificó por cromatografía en columna flash.

P.M. 237.285 g/mol. **Rendimiento:** 90%.

Aceite: **I.R.** 3232, 2932, 1237, 1034, 965 cm^{-1} .

RMN-¹H δ ppm (CDCl_3) 0.89(t, 3H, CH_3), 1.32(t, 6H, 2CH_3), 1.46(m, 8H, 4CH_2), 2.89(m, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 4.06(m, 4H, $2\text{CH}_2\text{-O}$). **EM(IE)** m/z 237 (M^+).

56. Se purificó por destilación.

P.M. 195.204 g/mol. **Rendimiento:** 91%.

P.eb. 112-114°C/5.5 mmHg; **I.R.** 3241, 2980, 1454, 1228, 1032, 966 cm^{-1} .

RMN-¹H δ ppm (CDCl_3) 0.91(t, 3H, CH_3), 1.32(t, 6H, 2CH_3), 1.51(m, 2H, CH_2), 2.86 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 4.06(m, 4H, $2\text{CH}_2\text{-O}$). **EM(IE)** m/z 195 (M^+).

57. Se purificó por cromatografía en columna flash y posteriormente se recrystalizó de hexano.

P.M. 317.329 g/mol. **Rendimiento:** 93%.

P.fus. 60-62°C; **I.R.** 3229, 2986, 1591, 1445, 1236, 1028, 968 cm^{-1} .

RMN-¹H δ ppm (CDCl_3) 1.31(t, 6H, 2CH_3), 2.74(t, 2H, CH_2), 3.16(m, 2H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.87(d, 6H, $2\text{CH}_3\text{-O}$), 4.04(m, 4H, $2\text{CH}_2\text{-O}$), 6.77(m, 3H, arom.).

EM(IE) m/z 317 (M^+).

58. Se purificó por cromatografía en columna flash y posteriormente se recristalizó de hexano.

P.M. 235.269 g/mol. **Rendimiento:** 89%.

P.fus. 72-74°C; **I.R.** 3188, 2922, 1447, 1232, 1040, 968 cm⁻¹.

RMN-¹H δ ppm (CDCl₃) 1.32(t, 6H, 2CH₃), 1.64(m, 6H, 3CH₂), 1.95(d, 4H, 2CH₂), 3.17(m, 1H, CH-N), 4.05(m, 4H, 2CH₂-O). **EM(IE)** ^{m/z} 235 (M⁺).

60. Se purificó por cromatografía en columna flash.

P.M. 235.269 g/mol. **Rendimiento:** 96%.

Aceite; I.R. 2929, 1450, 1248, 1034, 962 cm⁻¹.

RMN-¹H δ ppm (CDCl₃) 0.93(d, 3H, CH₃), 1.31(t, 6H, 2CH₃), 1.52(m, 4H, 2CH₂), 2.64(m, 1H, CH), 3.51(m, 4H, 2CH₂-N), 4.02(m, 4H, 2CH₂-O).
EM(IE) ^{m/z} 235 (M⁺).

61. Se purificó por cromatografía en columna flash.

P. M. 207.215 g/mol. **Rendimiento:** 98%.

Aceite; I.R. 2980, 1446, 1256, 1028, 965 cm⁻¹.

RMN-¹H δ ppm (CDCl₃) 1.31(t, 6H, 2CH₃), 1.84(m, 4H, 2CH₂), 3.19(m, 4H, 2CH₂-N), 4.04(m, 4H, 2CH₂-O). **EM(IE)** ^{m/z} 207 (M⁺).

Por la técnica 2, se obtuvieron los siguientes compuestos:

52. Se purificó por destilación.

P.M. 236.253 g/mol.

Rendimiento: 77 %.

P. eb. 104-106°C/3.0 mmHg.; **I.R.** 2941, 1451, 1261, 1035, 979 cm⁻¹.

RMN-¹H δ ppm (CDCl₃) 1.33(t, 6H, 2CH₃), 1.53(m, 6H, 3CH₂), 1.75(m, 4H, 2CH₂), 4.1(m, 4H, 2CH₂-O), 4.35(m, 1H, CH-O). **EM(IE)** ^{m/z} 236 (M⁺).

59. Se purificó por destilación.

P.M. 209.231 g/mol.

Rendimiento: 84%.

P. eb. 76-78°C/4.5 mmHg; **I.R.** 2982, 1446, 1244, 1032, 966 cm⁻¹.

RMN-¹H δ ppm (CDCl₃) 1.04(t, 6H, 2CH₃), 1.31(t, 6H, 2CH₂), 3.08(m, 4H, 2CH₂-N), 4.03(m, 4H, 2CH₂-O). **EM(IE)** ^{m/z} 209 (M⁺).

Por la técnica 3, se obtuvieron los siguientes compuestos:

53. Se purificó por destilación.

P.M. 238.269 g/mol.

Rendimiento: 58%.

P. eb. 66-68°C/0.9 mmHg.; **I.R.** 2982, 1460, 1273, 1036 cm⁻¹.

RMN-¹H δ ppm (CDCl₃) 0.92(d, 6H, 2CH₃), 1.17(d, 3H, CH₃), 1.35(m, 6H, 2CH₂), 1.68(m, 2H, CH₂), 3.88(m, 1H, CH), 4.10(m, 4H, 2CH₂-O), 4.55(m, 1H, CH-O).
EM(IE) m/z 239 (M⁺).

54. Se purificó por destilación.

P.M. 210.215 g/mol.

Rendimiento: 10%.

P. eb. 46-48°C/0.9 mmHg.; **I.R.** 2986, 1446, 1263, 1167, 1032, 978 cm⁻¹.

RMN-¹H δ ppm (CDCl₃) 1.34(t, 6H, 2CH₃), 2.26(s, 9H, 3CH₃), 4.11(m, 4H, 2CH₂-O). **EM(IE)** m/z 99 (100%).

62. Se purificó por destilación.

P.M. 265.339 g/mol.

Rendimiento: 40%.

P. eb. 80-82°C/0.8 mmHg.; **I.R.** 2961, 1252, 1036, 962 cm⁻¹.

RMN-¹H δ ppm. (CDCl₃) 0.92(t, 6H, 2CH₃), 1.26(t, 6H, 2CH₃), 1.47(m, 8H, 4CH₂), 2.95(m, 4H, 2CH₂-N), 4.07(m, 4H, 2CH₂-O). **EM(IE)** m/z 265 (M⁺).

63. Se purificó por cromatografía en placa preparativa.

P.M. 229.221 g/mol.

Rendimiento: 6%.

Aceite; **I.R.** 2974, 1598, 1506, 1230, 1033, 928 cm⁻¹.

RMN-¹H δ ppm (CDCl₃) 1.25(t, 6H, 2CH₃), 3.15(c, 4H, 2CH₂-O), 6.65(m, 3H, arom.), 7.18(m, 2H, arom.). **EM(IE)** m/z 229 (M⁺).

64. Se purificó por cromatografía en placa preparativa.

P.M. 243.248

Rendimiento: 5%.

Aceite; **I.R.** 2927, 1619, 1521, 1451, 1232, 1017, 929 cm^{-1} .

RMN-¹H δ ppm (CDCl_3) 1.25(t, 6H, CH_3), 2.24(s, 3H, CH_3), 3.13(m, 4H, $2\text{CH}_2\text{-O}$), 6.54(d, 2H, arom.), 6.98(d, 2H, arom.). **EM(IE)** m/z 243 (M^+).

8. ANALISIS DE RESULTADOS.

La técnica previamente reportada para la fosforilación de fenoles (técnica 1), es extremadamente suave puesto que se efectúa a 0°C durante 30 minutos y con cantidades estequiométricas del cianofosfonato de dietilo y dos equivalentes de trietilamina,⁴⁴ es por esto que para iniciar el presente estudio con los diferentes tipos de alcoholes y aminas, se decidió usar estas condiciones.

Los alcoholes primarios como (50) y (51), reaccionaron rápidamente y bajo las condiciones de la técnica 1 dando altos rendimientos, de 89 y 95% respectivamente. Los alcoholes primarios son excelentes nucleófilos si tomamos en cuenta que generalmente una base fuerte es un buen nucleófilo y que poseen una alta basicidad (pKa aprox. de 18, ver tabla 3), además la carga negativa reside enteramente en el átomo de oxígeno.^{28,45}

Los alcoholes secundarios cíclicos como (52) reaccionaron más lentamente, puesto que fue necesario subir la temperatura a la ambiente y agitar durante 24 horas (técnica 2); el rendimiento ligeramente menor obtenido fue, para el compuesto mencionado de 77%, menor en comparación a los encontrados para los alcoholes primarios. Esto quizás se deba a que el oxígeno se encuentra unido a un grupo alquilo

más voluminoso (ciclohexano), en comparación con el de los alcoholes primarios; aunque su pKa es ligeramente mayor (ver tabla 3).

Los alcoholes secundarios no cíclicos como (53) reaccionaron aún más lentamente que los cíclicos dado que en este caso fue necesario calentar a reflujo en solución de cloroformo durante 5 hrs (técnica 3), para que se efectuara la reacción, obteniendo aún bajo estas condiciones disminución de los rendimientos (58%). Este resultado nos llevó a pensar que la reacción quizás estaba sujeta a retardación estérica.

Tabla 3. valores promedio de pKa de alcoholes y aminas.**

Alcohol	pKa	Amina	pKa
CH ₃ OH	15.2	RNH ₂	10-11
RCH ₂ OH	16.0	R ₂ NH	11
R ₂ CHOH	16.5	R ₃ N	10-11
R ₃ COH	17.0	ArNH ₂	3-5
ArOH	8-11		

Los alcoholes terciarios como (54) reaccionaron más lentamente que cualquiera de los anteriores, ya que sólo lo hacen bajo las condiciones de la técnica 3, el rendimiento obtenido es el menor, de tan solo 10%. Con este resultado llegamos a la conclusión de que el impedimento estérico sí jugaba un papel muy importante en la reacción.

Para entender mejor estos factores, se procederá a describir el mecanismo de reacción probable.

MECANISMO DE REACCION

Un compuesto de fósforo V como el cianofosfonato de dietilo (con 4 ligandos), tiene la forma de una pirámide trigonal (ver figura 5), en la cual los tres ligandos que se encuentran en la base de la misma son denominados *ecuatoriales*, mientras que el ligando que se encuentra en la cima o ápice de la estructura es denominado *apical*, estos ligandos se encuentran separados entre sí por ángulos de 109.5° .⁴⁴⁻⁴⁸

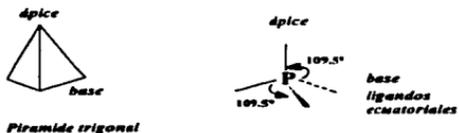


Figura 5. Estructura de un compuesto de P(V), con 4 ligandos

Las moléculas ligadas a un átomo de fósforo tienden a ocupar posiciones bien definidas dentro de la estructura piramidal, esas posiciones parecen estar determinadas por tres factores:

- a) La participación de los orbitales *d* del fósforo en los enlaces ecuatoriales.
- b) La electronegatividad de los ligandos.
- c) Las interacciones estéricas entre los ligandos.^{47, 48-50}

Estos 3 factores constituyen la *regla generalizada de la polaridad* y son la base de la química del fósforo.⁴⁷

Cálculos teóricos indican que un ligando en la posición ecuatorial tiene una gran capacidad para donar densidad electrónica al átomo de fósforo central; el comportamiento electrónico sugerido por estos cálculos puede ser debido a una reducción de las diferencias de polaridad entre el fósforo y sus ligandos ecuatoriales por la interacción de los orbitales *p_π* de éstos dentro de los orbitales *d* vacíos del fósforo, lo que provoca que los enlaces ecuatoriales sean más cortos y estables que los apicales, mientras que no existe interacción electrónica entre las moléculas de los enlaces apicales y el fósforo.^{47, 50, 51-53}

De esto se deduce entonces, que los ligandos o moléculas más electroatrayentes, siempre tenderán a colocarse en el ápice, donde serán más capaces de retener su densidad electrónica; un ligando o molécula con tendencia a permanecer en una posición apical es

denominado *apicofilico*, mientras que otro con tendencia ecuatorial es denominado *apicofúbico*.⁴⁷⁻⁴⁸

Se ha comprobado también que los alcóxiolos (MeO, EtO.....etc), tienen una fuerte tendencia a colocarse en posiciones ecuatoriales y dado que el oxígeno fosforilico puede acomodar también sus enlaces, principalmente el π con los orbitales d , también preferirá la posición ecuatorial;⁴⁴ por otro lado, el grupo saliente que generalmente es más electroatrayente que los otros ligandos, tenderá a colocarse en posición apical.

De acuerdo a esto, se sugirió que la estructura del cianofosfonato de dietilo podría ser la siguiente: (figura 6).

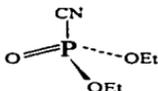


Figura 6. Estructura del cianofosfonato de dietilo.

Con los 2 etóxiolos y el oxígeno fosforilico en posiciones ecuatoriales y el cianuro en posición apical.

La reacción en sí y el mecanismo de la misma, están sustentados en argumentos similares a los usados en las reacciones de sustitución nucleofílica de los sistemas de carbono tetrahédricos.^{45,50,51-56} Se propone que la reacción deberá proceder

en dos pasos. En el primer paso, el nucleófilo, en este caso un alcohol o una amina, atacan al átomo de fósforo el cual posee una gran deficiencia electrónica debido a sus sustituyentes (dos alcoxidos, un oxígeno fosforílico y el cianuro), aumentada por su menor electronegatividad 2.1, en comparación con la del carbono 2.5 (escala de Pauling).²⁸ La regla de la polaridad favorece el ataque del nucleófilo en la posición apical no ocupada, o sea en el lado opuesto al grupo saliente, dado que en este lado o ápice son menores el impedimento estérico y la densidad electrónica que impedirían la entrada del mismo (ver figura 7).^{48,41-43}

La entrada del nucleófilo al átomo de fósforo empuja los electrones π hacia el átomo de oxígeno, pasando primero por el estado de transición,⁴⁴ posteriormente se forma el intermediario pentacoordinado con la estructura de una *bipiramide trigonal* (BPT); la formación de tal estructura ha sido comprobada por cristalografía de rayos X, y ha sido totalmente establecida como intermediario en las reacciones fosfóricas.^{45,44,47-49}

En el segundo paso, los electrones π regresan hacia el fósforo y provocan la salida del cianuro, este segundo paso depende principalmente de la basicidad del grupo saliente.^{28,44} Debido a que el nucleófilo entra por el ápice opuesto al grupo saliente, el resultado estérico final de la reacción, es una inversión de la configuración.⁴⁸

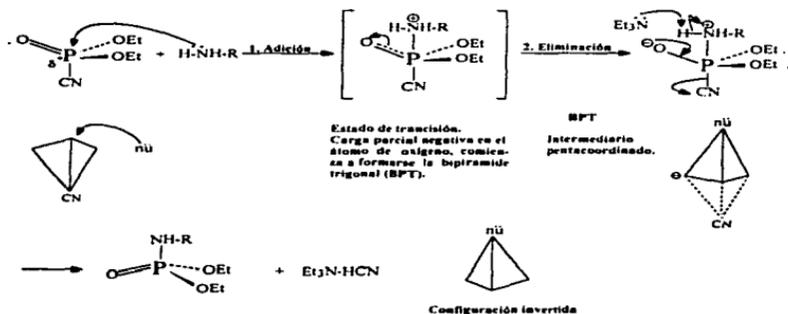


Figura 7. MECANISMO DE REACCIÓN.

Del mecanismo de reacción anteriormente descrito suponemos que es el primer paso de esta reacción el determinante, de la misma forma que en los compuestos carbonílicos, un nucleófilo que posea grandes grupos alquilo disminuirá la reacción, debido a que impide la formación del estado de transición. Es importante también señalar que el ataque a un compuesto fosforílico puede ser realizado solamente por un ápice, en tanto que un compuesto carbonílico posee sus dos ápices libres por donde pueda ser realizado. Se observa entonces que al aumentar el tamaño de los sustituyentes, la velocidad de la reacción disminuye, así como los rendimientos, de la misma forma que ocurre con los compuestos carbonílicos;^{28,45,66,71-72} esto lo podemos ver en la figura 8.

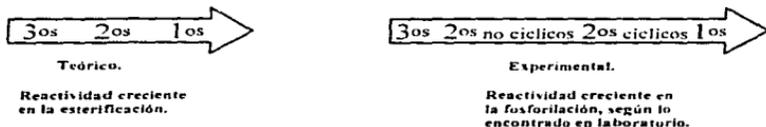


Figura 8. Nucleofilicidad de los alcoholes.

En el caso de las aminas, se espera que éstas sean mejores nucleófilos que los alcoholes debido a la menor electronegatividad del átomo de nitrógeno, respecto a la del oxígeno y por lo tanto tendrán mayor tendencia a ceder el par electrónico libre; así tenemos que, las aminas primarias como (55) y (56) con rendimientos de 90 y 91% respectivamente, lo cual indicó que fueron excelentes nucleófilos, este hecho se explica de la misma forma que con los alcoholes primarios, la carga negativa reside enteramente en el átomo de nitrógeno en este caso.^{36,45} La basicidad de este tipo de compuestos también es mayor a la de los alcoholes primarios (ver figura 8).

Con las aminas secundarias cíclicas como (60) y (61), los rendimientos obtenidos fueron casi cuantitativos (técnica 1), de 96 y 98% respectivamente, estos compuestos son los mejores nucleófilos de todos los probados. Las aminas secundarias cíclicas son más básicas que las primarias debido a que están directamente unidas a dos sustituyentes alquilo, los cuales además se encuentran retraídos y no provocan mucho impedimento estérico (ver tabla 3).^{36,45,66,73}

Las aminas secundarias no cíclicas como (59) y (62) reaccionaron más lentamente que las cíclicas y fue necesario en el caso de (59) utilizar la técnica 2 y en el caso de (62) la técnica 3; en ambos casos hay disminución de los rendimientos, los cuales fueron de 84 y 40% respectivamente. Nuevamente podemos darnos cuenta que el impedimento estérico es importante en esta reacción, ya que en este tipo de compuestos los sustituyentes se encuentran en libre movimiento y no retraídos como en las aminas secundarias cíclicas.^{38,45,66,72} Otro hecho del que podemos darnos cuenta, es que al aumentar el tamaño de los sustituyentes del nucleófilo, también disminuye la velocidad y los rendimientos de la reacción, ya que los sustituyentes del nucleófilo de (59) son dos etilos y los de (62) son dos butilos.

Resultados similares fueron obtenidos por *Arnett, Muller y Day*,⁷³ quienes estudiando la aminólisis del acetato de metilo observaron que la velocidad para la reacción con *sec*-butilamina fue 46 veces menor que con *n*-butilamina y la reacción con *ter*-butilamina fue inmensurablemente más baja; también observaron que las reacciones de *sec* y *ter*-butilamina con diisopropilfosforoclorhidrato son respectivamente 5 y 300 veces más bajas que con *n*-butilamina (ver figura 9).

Las aminas aromáticas como (57) y (58) son aquellas con las que se obtuvieron los rendimientos más bajos de todos los compuestos probados, esto es, de 5% en promedio por lo que podemos considerar que estos son los peores nucleófilos. Las anilinas son los compuestos menos básicos de los diferentes estudiados (ver tabla 3), lo cual se debe sin duda a que el par electrónico del nitrógeno entra en resonancia con el anillo aromático.

De acuerdo a los resultados obtenidos, la nucleofilicidad de los diferentes tipos de aminas hacia el fósforo sería: (ver figura 9).

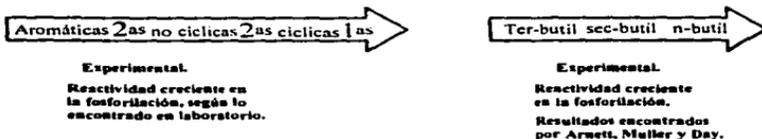


Figura 9. Nucleofilicidad de las aminas.

9. CONCLUSIONES.

Se estudió una nueva técnica para la fosforilación de alcoholes y aminas con cianofosfonato de dietilo, reactivo que nunca se había utilizado para esta transformación; se probaron 8 diferentes tipos de compuestos.

Se encontró que los alcoholes primarios reaccionan rápidamente y con altos rendimientos, los alcoholes secundarios tanto cíclicos como no cíclicos reaccionan más lentamente y con rendimientos menores; pero los terciarios fueron con los que las velocidades de reacción y los rendimientos fueron los menores.

Con las aminas se encontró que las primarias reaccionan rápidamente y con altos rendimientos, pero lo hicieron mejor las aminas secundarias cíclicas, no así las secundarias acíclicas con las que disminuyeron las velocidades de reacción y los rendimientos; las aminas aromáticas prácticamente no reaccionaron.

De acuerdo a los resultados, se llegó a las conclusiones de que el cianofosfonato de dietilo es un buen agente fosforilante para alcoholes y aminas primarias y secundarias cíclicas según se ha demostrado, ya que son fosforiladas bajo condiciones suaves y con buenos rendimientos. También, que los principales factores que afectan a la reacción de fosforilación son el impedimento estérico y la basicidad de los alcoholes y aminas.

BIBLIOGRAFIA.

1. Slotin L. A.; **Synthesis**; (1977) 737.
2. Kosolapoff G. M.; **Organic Phosphorous Compounds**, 6; John Wiley & Sons Inc.; New York (USA), (1973) 442-446.
3. Bartlett P. D., Lonzetta C. M.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1983) 105, 1984.
4. Kenner G. W., Williams N. R.; **J. Chem. Soc.**; (1955) 522.
5. **Phosphorous Chemistry: Developments in American Science**; Edward N. Walsh, editor...(et. al.), 1991, (ACS Symposium Series, 0097-6156; 486), pag. 248-273.
6. Wadsworth W. S. and Emmons W. D.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1964) 29, 2816.
7. Zwierzak A., Brylikowska J.; **Synthesis**; (1975) 712.
8. Atherton F. R., Openshaw H. T., Todd A. R.; **J. Chem. Soc.**; (1945) 382.
9. Atherton F. R., Openshaw H. T., Todd A. R.; **J. Chem. Soc.**; (1945) 660.
10. Atherton F. R., Howard H. T., Todd A. R.; **J. Chem. Soc.**; (1948) 1106.
11. Mc Combie H., Saunders B. C., Stacey G. J.; **J. Chem. Soc.**; (1945) 380.
12. Kosolapoff G. M.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1947) 69, 1002.
13. Saunders B.; **Some Aspects of the Chemistry and Toxic Action of Organic Compounds Containing Phosphorous and Fluorine**; Cambridge University Press; England, (1957) 95-98.
14. Skowronska A., Pakulski M., Michalski J.; **Tetrahedron Letters**; (1980) 21, 321.
15. Cook H. G., Mc Combie H., Saunders B. C.; **J. Chem. Soc.**; (1945) 873.

BIBLIOGRAFIA.

1. Slotin L. A.; **Synthesis**; (1977) 737.
2. Kosolapoff G. M.; **Organic Phosphorous Compounds**, 6; John Wiley & Sons Inc.; New York (USA), (1973) 442-446.
3. Bartlett P. D., Lonsetta C. M.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1983) 105, 1984.
4. Kenner G. W., Williams N. R.; **J. Chem. Soc.**; (1955) 522.
5. **Phosphorous Chemistry: Developments in American Science**; Edward N. Walsh, editor...(et. al.), 1991, (ACS Symposium Series, 0097-6156; 486). pag. 248-273.
6. Wadsworth W. S. and Emmons W. D.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1964) 29, 2816.
7. Zwierzak A., Brylikowska J.; **Synthesis**; (1975) 712.
8. Atherton F. R., Openshaw H. T., Todd A. R.; **J. Chem. Soc.**; (1945) 382.
9. Atherton F. R., Openshaw H. T., Todd A. R.; **J. Chem. Soc.**; (1945) 660.
10. Atherton F. R., Howard H. T., Todd A. R.; **J. Chem. Soc.**; (1948) 1106.
11. Mc Combie H., Saunders B. C., Stacey G. J.; **J. Chem. Soc.**; (1945) 380.
12. Kosolapoff G. M.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1947) 69, 1002.
13. Saunders B.; **Some Aspects of the Chemistry and Toxic Action of Organic Compounds Containing Phosphorous and Fluorine**; Cambridge University Press; England, (1957) 95-98.
14. Skowronska A., Pakulski M., Michalski J.; **Tetrahedron Letters**; (1980) 21, 321.
15. Cook H. G., Mc Combie H., Saunders B. C.; **J. Chem. Soc.**; (1945) 873.

16. Mc Combie H., Saunders B. C., Stacey G. J.; *J. Chem. Soc.*; (1945) 921.
17. Kosolapoff G. M.; **Organic Phosphorous Compounds**; *Ibid* , 592-593.
18. Saunders B. C., Stacey G. J., et al.; *J. Chem. Soc.*; (1948) 699.
19. Mc Combie H., Saunders B. C.; *Nature*; (1946) 158, 382.
20. Cook H. G., Saunders B. C., Smith A.; *J. Chem. Soc.*; (1949) 635
21. Steinberg G. M.; *J. Org. Chem.*; (1950) 15, 637.
22. Zwierzak A.; *Synthesis*; (1976) 305.
23. Zwierzak A.; *Synthesis*; (1975) 507.
24. Pumanand, Batra B. S., Pant B. P.; *Tetrahedron Letters*; (1989) 30, 1687.
25. Watanabe Y., et al.; *Tetrahedron Letters*; (1993) 34, 3, 497.
26. Stowell J. K., Widlansky T.; *Tetrahedron Letters*; (1995) 36, 11, 1825.
27. Silverberg L. J., Dillon J. L., Vemishetti P.; *Tetrahedron Letters*; (1996) 37, 6, 771.
28. Fessenden R. J., Fessenden J. S.; **Química Orgánica**; Grupo Editorial Iberoamericano, México, (1983) 540-541.
29. Saunders B. C.; **Some Aspects of the...**; *Ibid*, 171-185.
30. Waliszewski S., Pardo V.; *Ciencia y Desarrollo*; (1992) 18, 105, 139.
31. Toy D. F.; *J Amer. Chem. Soc.*; (1948) 70, 3882.
32. Toy D. F.; *J. Amer. Chem Soc.*; (1949) 71, 2268.
33. Harvey R. G.; *Tetrahedron*; (1966) 2561.
34. Weil E. D., Fearing R. B., Jaffe F.; *J Fire Retardant Chem.*; (1982) 9, 39.
35. **Phosphorous Chemistry**, *Ibid*, 1-17.
36. Westheimer F. H.; *Science*; (1987) 235, 173.

37. Lehninger A. L.; **Biochemistry**, 2nd. ed.; Worth Publishers Inc., New York, (1975) 387-416.
38. Stryer L.; **Biochemistry**; 3rd. ed.; W. W. Freeman edit.; N. Y., (1988) 317.
39. Levene P. A., Tipson R. S.; **J. Biol. Chem.**; (1934) 106, 113.
40. Levene P. A., Tipson R. S.; **J. Biol. Chem.**; (1935) 111, 313.
41. Khorana H. G.; **Some Recent Developments in the Chemistry of Phosphate Esters of Biological Interest.**; Wiley & Sons. Inc., New York, (1961).
42. Letsinger R. L., Lunsford W. B.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1976) 98, 3655.
43. Caruthers M. H.; **Science.**; (1985) 230, 281.
44. Guzmán A., Díaz E.; **Synth. Comm.**; (1997) 27, 3035.
45. March J.; **Advanced Organic Chemistry**; 4a ed., John Wiley & Sons Inc.; USA, (1992).
46. Allinger N. L., Eliel E. L.; **Topics in Stereochemistry**, vol. 3; John Wiley & Sons Inc; New York, (1968) 61-68.
47. Ugi I., Ramirez F.; **Chem Britain**; (1972) 8, 5, 198.
48. Gillespie P., Ramirez F., Ugi I., Marquarding D.; **Angew Chem. Internat. Ed. Engl.**; (1973) 12, 2, 91.
49. La Placa S. J., Ramirez F., Smith C. P.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1967) 89, 2268.
50. Gillespie R. J.; **J. Chem. Educ.**; (1970) 47, 18.
51. Spratley R. D., Hamilton W. C., Ladell J.; **J. Amer. Chem Soc.**; (1967) 89, 2272.
52. Haque M., Caughlan C. N., Ramirez F., Pilot J. F., Smith C. P.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1971) 93, 5229.

53. Swank D. D., Caughlan C. N., Ramirez F., Pilot J. F.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1971) 93, 5236.
54. Frank D. S., Usher D.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1967) 89, 6360.
55. Haake P. C., Westheimer F. H.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1961) 83, 1102.
56. Covitz F., Westheimer F. H.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1963) 85, 1773.
57. Dennis E. A., Westheimer F. H.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1966) 88, 3431.
58. Kluger R., Kerst F., Lee D. G., Dennis E. A., Westheimer F. H.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1967) 89, 3918.
59. Kluger R., Covitz F., Dennis E., Williams L. D., Westheimer F. H.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1969) 91, 6066.
60. Eberhard A., Westheimer F. H.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1965) 87, 253.
61. Kumli K. F., Mc Ewen W. E., Van Der Werf C. A.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1959) 81, 3805.
62. Bladé-Font A., Van Der Werf C. A., Mc Ewen W. E.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1960) 82, 2396.
63. Parisek C. B., Mc Ewen W. E., Van Der Werf C. A.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1960) 82, 5503.
64. Mc. Ewen W. E., Bladé-Font A., Zanger M., Van Der Werf C. A.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1962) 84, 677.
65. Mc. Ewen W. E., Kumli K. F., Bladé-Font A., Zanger M., Van Der Werf C. A.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1964) 86, 2378.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

- o6. Morryson R. T., Neilson B. R.; **Organic Chemistry**, 3a. ed.; Allyn & Bacon Inc., USA, (1974).
67. Ramirez F., Bigler A. J., Smith C. P.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1968) 90, 3507.
68. Denney D. B., Dency D. J., Chang B. C., Marsi K. L.; **J. Amer Chem. Soc.**; (1970) 91, 5243.
69. Haque M., Caughlan C. N., Ramirez F., Pilot J. F., Smith C. P.; **J. Amer Chem. Soc.**; (1971) 93, 5229.
70. Ramirez F.; **Account Chem Res.**; (1968) 1, 168.
71. Devore G.; **Química Orgánica**; Publicaciones Culturales, México, (1979).
72. Pine,....et al.; **Química Orgánica**, 4a ed.; Mc. Graw Hill; México, (1982).
73. Arnett M.C., Miller G. J., Day R. A.; **J. Amer. Chem. Soc.**; (1950) 72, 5635.