

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE (+)-(1R,2R)- Y (-)-(1S,2S)-1,2-DIFENIL-1,2-ETILENDIAMINA (DIAMINA QUIRAL CON SIMETRÍA-C₂) VÍA ACOPLAMIENTO REDUCTIVO DE IMINAS Y OBTENCIÓN DE ENANTIÓMEROS PUROS POR RESOLUCIÓN ÓPTICA FRACCIONAL

JEYSON ANDRÉS CORTÉS MITTE



UNIVERSIDAD DEL CAUCA

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

POPAYÁN

2015

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE (+)-(1R,2R)- Y (-)-(1S,2S)-1,2-DIFENIL-1,2-ETILENDIAMINA (DIAMINA QUIRAL CON SIMETRÍA-C₂) VÍA ACOPLAMIENTO REDUCTIVO DE IMINAS Y OBTENCIÓN DE ENANTIÓMEROS PUROS POR RESOLUCIÓN ÓPTICA FRACCIONAL

Trabajo de grado presentado como requisito parcial
para optar al título de Químico

JEYSON ANDRÉS CORTÉS MITTE

Director:

LUIS ALBERTO LENIS VELASQUEZ, Ph.D.

Grupo de Investigación Química de Productos Naturales (QPN)
Departamento de Química
Universidad del Cauca

Asesor:

JAIME MARTIN FRANCO, Ph.D.

Grupo de Investigación Química de Productos Naturales (QPN)
Departamento de Química
Universidad del Cauca

UNIVERSIDAD DEL CAUCA

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

POPAYÁN

2015

Nota de aceptación:

Director _____
Luis Alberto Lenis Velázquez, Ph D.

Jurado _____
Fabio Antonio Cabezas Fajardo, Ph D.

Jurado _____
Juan Carlos Argoti Burbano, Ph D.

Fecha de sustentación: Popayán, 09 de Abril de 2015

AGRADECIMIENTOS

En esta parte quiero manifestar mis más sinceros agradecimientos a aquellas personas que con sus esfuerzos, consejos y confianza, me permitieron cumplir este anhelado sueño de ser un profesional en Química.

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser la luz que me dio fortaleza en los momentos más difíciles.

A mis padres, Samuel Cortés y Luz Marina Mitte, que desde mi caluroso Tumaco “Perla del Pacífico” creyeron en mí, me sacaron adelante, dándome ejemplos dignos de superación y entrega, en gran parte gracias a ustedes, hoy puedo ver alcanzado mi meta, siempre estuvieron impulsándome en los momentos más difíciles y que el orgullo que sienten por mí, fue lo que me hizo ir hasta el final. Va por ustedes, por lo que valen, porque admiro su fortaleza y por lo que han hecho de mí. A mis hermanas Emna, Dalia, Yesenia y a todos mis sobrinos, mil palabras no bastarían para agradecerles su apoyo y su comprensión por todo este tiempo lejos de casa.

A mi familia de sangre (MITTE, VALVERDE y HUILA RAMIREZ) y adoptiva (ASTUDILLO y ACOSTA), por estar siempre acompañándome en mis logros, quienes me enseñaron que debo luchar por alcanzar mis sueños. A los que ya no están con nosotros en cuerpo (Santos, Antonio y Telmo) pero sé que son mi guía espiritual y me están cuidando siempre, que Dios los tenga en su gloria.

Agradecer de manera especial y sincera al Ph.D. Luis Alberto Lenis Velásquez por aceptarme para realizar la Tesis de pregrado bajo su dirección en el grupo de investigación de Química de Productos Naturales (QPN). Su apoyo, confianza en mi trabajo y su capacidad para guiarme ha sido un aporte esencial, no solamente en el desarrollo de esta Tesis, sino también en mi formación como investigador, que Dios lo bendiga y lo colme de alegría junto a su familia.

A mis compañeros de aventura: LADY CARVAJAL, JOSE MEZA, Victoria Beltrán, Carolina Coronell, Fernanda Alvira, Edier Gaviria, Evelyn Alegría, Marcela Martínez, Leidy Herrera, Ghisell Sanchez, Carolina Castro y Alexis Flor, por su amistad, fortaleza y ejemplo; quienes me han acompañado incondicionalmente y con los que he compartido momentos gratos y difíciles, haciéndome sentir parte de sus familias.

Gracias a todos mis profesores y compañeros de la Universidad del Cauca, quienes se encargaron de guiarme en mi carrera y me ayudaron en mi formación tanto académica como personal, especialmente a los profes: Jaime Martin por sus asesorías en mi trabajo, Olga Hoyos por su apoyo en momentos difíciles y ser como una Madre, a Ricardo Benítez y German Cuervo por la formación académica, a mis jurados de trabajo de grado (Fabio Cabezas y Juan Carlos Argotti) por la dedicación y consejos y por último a mis compañeros de carrera: Omar Portilla, Leonardo Álvarez, Felipe Vidal, Yuli Artunduaga e Iván Liz, que en una u otra medida aportaron para la finalización de este trabajo y de mi carrera.

	Pág.
1. CAPÍTULO 1. GENERALIDADES	16
1.1. Resumen	17
1.2. Introducción	19
1.3. Planteamiento del problema	20
1.4. Justificación	22
1.5. Objetivos	23
1.5.1. Objetivo general	23
1.5.2. Objetivos específicos	23
2. CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES: MARCO TEÓRICO	24
2.1. Quiralidad. noción de centro estereoquímico	25
2.2. Rutas para la obtención de compuestos enantioméricamente puros	26
2.2.1. Estrategias de separación de enantiómeros por resolución	27
2.2.1.1. Métodos directos	27
2.2.1.2. Métodos indirectos	27
2.2.2. Agentes de resolución	29
2.2.3. Desalinización de diasterómeros	30
2.3. Ligandos quirales	30
2.3.1 Principales tipos de ligandos quirales	30
2.3.1.1 Ligandos bidentados con simetría C_2	31
2.4. Diaminas vecinales quirales en catálisis	32
2.4.1. Aplicaciones de los derivados DFEDA	33
2.4.2. Métodos de síntesis de diaminas vecinales	38
2.5. Síntesis de diaminas por acoplamiento reductivo de iminas	42
2.6. Resolución de DFEDA	42
2.7. Análisis estadístico	43
2.7.1. Supuestos	43
2.7.1.1. Distribución normal de las poblaciones (prueba de Shapiro-Wilk)	43
2.7.1.2. Homogeneidad de varianza	43
3. CAPÍTULO 3. SECCIÓN EXPERIMENTAL	45
3.1. Disolventes y reactivos	46
3.2. Caracterización física	46
3.3. Instrumentación	46
3.3.1. Punto de Fusión	46
3.3.2. Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR)	47
3.3.3. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN)	47
3.3.4. Polarimetría	47
3.3.5. Espectroscopia ultravioleta-visible (UV-vis)	48
3.3.6. Calorimetría de barrido diferencial (DSC)	48
3.4. Cromatografía	48
3.4.1. Cromatografía en capa fina (CCF)	48
3.4.2. Cromatografía flash	48
3.5. Cristalización	49
3.6. Proceso de síntesis de 1,2-DFEDA quirales	49

	Pág.	
3.6.1.	Etapa 1	49
3.6.1.1.	Síntesis de PE1	49
3.6.1.2.	Monitoreo por CCF	51
3.6.1.3.	Diferenciación entre benzaldehído y PE1	51
3.6.1.4.	Caracterización del producto de la etapa 1 (PE1)	51
3.6.2.	Etapa 2	51
3.6.2.1.	Síntesis de PE2	51
3.6.2.1.1.	Método A	52
3.6.2.1.2.	Método B	52
3.6.2.2.	Monitoreo por CCF	53
3.6.2.3.	Separación y purificación de PE2	54
3.6.2.3.1.	Cromatografía flash	54
3.6.2.3.2.	Cristalización selectiva	54
3.6.2.4.	Caracterización de los productos de la etapa 2 (PE2a, PE2b y PE2c)	54
3.6.3.	Etapa 3	55
3.6.3.1.	Resolución Óptica fraccional de (±)-PE2b	55
3.6.3.1.1.	Obtención de (+)-PE3b ((+)-mandelato de PE2b)	55
3.6.3.1.2.	Obtención de (-)-PE3b ((-)-mandelato de PE2b)	56
3.6.3.2.	Monitoreo por CCF	56
3.6.3.3.	Desalinización	57
3.6.3.4.	Caracterización de los productos de la etapa 3 (PE3b)	59
3.6.4.	Etapa 4	59
3.6.4.1.	Obtención de (+)- y (-)-PE4b	59
3.6.4.1.1.	Acetilación de (+)- y (-)-PE2b	59
3.6.4.1.2.	Hidrólisis de (+)- y (-)-PE2b acetilados	60
3.6.4.2.	Monitoreo por CCF	60
3.6.4.3.	Caracterización de los productos de la etapa 4	60
3.6.5.	Etapa 5	61
3.6.5.1.	Obtención de Diaminas (+)- y (-)-PE5b	61
3.6.5.2.	Monitoreo por CCF	62
3.6.5.3.	Caracterización de los productos de la etapa 5 (PE5)	63
3.7.	Análisis Estadístico	63
3.8.	Elucidación de los compuestos sintetizados	63
3.8.1.	“Hidrobencamida” (PE1)	63
3.8.2.	Amarina (PE2a)	63
3.8.3.	Isoamarina (PE2b)	63
3.8.4.	Iofina (PE2c)	63
3.8.5.	Mandelato de isoamarina ((+)-PE3b)	64
3.8.6.	R,R-(+)-isoamarina ((+)-PE2b)	64
3.8.7.	(±)- <i>N</i> -acetil- <i>N'</i> -benzoil-1,2-difeniletildiamina ((±)-PE4b)	64
3.8.8.	(+)- <i>S,S</i> - <i>N</i> -acetil- <i>N'</i> -benzoil-1,2-difeniletildiamina ((+)-PE4b)	64
3.9.9.	Dibromuro de R,R-(+)-difeniletildiamina ((+)-PE5b)	64

	Pág.
4. CAPÍTULO 4. ANÁLISIS Y RESULTADOS	65
4.3. Proceso de síntesis de 1,2-DFEDA quirales	66
4.3.1. Etapa 1	66
4.3.2. Etapa 2	74
4.3.3. Etapa 3	85
4.3.4. Etapa 4	97
4.3.5. Etapa 5	105
5. CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	117
6. CAPÍTULO 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	121
7. CAPÍTULO 7. ANEXOS	129

	Pág.
Tabla 1. Condiciones de variables para la síntesis de PE1	50
Tabla 2. Condiciones de variables para la síntesis de PE2 por el método A	52
Tabla 3. Condiciones de variables para la síntesis de PE2 por el método B	53
Tabla 4. Datos de la síntesis de (+) y (-)-PE3b	56
Tabla 5. Datos para la síntesis de (+)- y (-)-PE4b	60
Tabla 6. Datos para la síntesis de (+) y (-)-PE5b	62
Tabla 7. Resultados del porcentaje de conversión de PE1	67
Tabla 8. Datos de solubilidad de PE1	70
Tabla 9. Resultados del porcentaje de conversión de PE2b	76
Tabla 10. Resultados del porcentaje de conversión de PE2b en el método B, variando tiempo y temperatura en el segundo paso de reacción	77
Tabla 11. Datos de solubilidad de PE2 (a, b y c)	79
Tabla 12. Datos de puntos de fusión para PE2 (a, b y c).	80
Tabla 13. Valores de transiciones de primer orden para PE2 (a, b y c)	81
Tabla 14. Resultados del porcentaje de conversión de (+)-PE3b y (-)-PE3b	86
Tabla 15. Resultados del porcentaje de recuperación de la (+)- y (-)-PE2b en el proceso de desalinización de los mandelatos quirales	87
Tabla 16. Datos de solubilidad de (+)-PE3b y (+)-PE2b	88
Tabla 17. Datos de puntos de fusión para (+)-PE3b y (+)-PE2b	89
Tabla 18. Valores de transiciones de primer orden para (+)-mandelato de PE2b y (+)-PE2b	90
Tabla 19. Datos de rotación específica de los compuestos obtenidos en la etapa 3	93
Tabla 20. Resultados del espectro RMN- ¹ H de (+)-PE2b y de la isoamarina teórica	93
Tabla 21. Resultados del espectro RMN- ¹³ C de (+)-PE2b y de la isoamarina teórica	95
Tabla 22. Resultados del porcentaje de conversión de (±)-PE4b, (+)- y (-)-PE4b	99
Tabla 23. Datos de solubilidad de (±)-PE4b y (+)-PE4b	100
Tabla 24. Datos de puntos de fusión para (±)-PE4b y (+)-PE4b	101
Tabla 25. Valores de transiciones de primer orden para (±)-PE4b y (+)-PE4b	102
Tabla 26. Resultados del porcentaje de conversión de (±)-PE5b, (+)- y (-)-PE5b	106
Tabla 27. Datos de solubilidad de sal de (±)-PE5b y (±)-PE5b	108
Tabla 28. Datos de puntos de fusión para (+)-PE5b y su respectiva sal	109
Tabla 29. Valores de transiciones de primer orden para (+)-PE5b y su respectiva sal	109
Tabla 30. Datos de rotación específica de la sal de (+)-PE5b	112
Tabla 31. Resultados del espectro RMN- ¹ H de la sal de (+)-PE5b	112
Tabla 32. Resultados del espectro RMN- ¹³ C normal y DEPT de la sal de (+)-PE5b	113
Tabla 33. Prueba de Normalidad de Shapiro Wilks	138
Tabla 34. Prueba de Tukey para disolventes	138
Tabla 35. Prueba de Tukey para buffer	139

	Pág.
Tabla 36. Prueba de Tukey para tiempo	139
Tabla 37. Prueba de Tukey para interacciones entre disolvente y tiempo	139
Tabla 38. Prueba de Normalidad de Shapiro Wilks	140
Tabla 39. Prueba de Tukey para base (método A)	140
Tabla 40. Prueba de Tukey para base (método B)	141
Tabla 41. Prueba de Tukey para tiempo (método B)	141
Tabla 42. Prueba de Tukey para temperatura (método B)	141
Tabla 43. Prueba de Tukey para disolventes entre los dos métodos	141
Tabla 44. Prueba de Normalidad de Shapiro Wilks para la conversión de (+)- y (-)-PE3b	142
Tabla 45. Prueba de Tukey para los dos métodos, en la conversión de (+)- y (-)-PE3b	142
Tabla 46. Prueba de Normalidad de Shapiro Wilks para la recuperación de (+)- y (-)-PE2b	143
Tabla 47. Prueba de Tukey en la recuperación de (+)- y (-)-PE2b	143
Tabla 48. Prueba de Normalidad de Shapiro Wilks	144
Tabla 49. Prueba de Tukey para el tiempo de acetilación e hidrólisis en la conversión de (±)-PE4b, utilizando AcONa como base y sin atmósfera inerte	145
Tabla 50. Prueba de Tukey para bases y atmósfera inerte en la conversión de (±)-PE4b	145
Tabla 51. Prueba de Tukey para las conversiones de (±)-PE4b, (+)-PE4b y (-)-PE4b, utilizando como base AcONa y sin atmósfera inerte	145
Tabla 52. Prueba de Normalidad de Shapiro Wilks	146
Tabla 53. Prueba de Tukey para la relación de ácidos	146
Tabla 54. Prueba de Tukey para el tiempo de reflujo	147
Tabla 55. Prueba de Tukey para las conversiones de (±)-PE5b, (+)-PE5b y (-)-PE5b a 24 horas de reflujo y relación de mezcla de ácidos 1:3	147

	Pág.
Figura 1A.	Formas enantioméricas de una molécula quiral, comparación con la quiralidad de la palma de las manos 25
Figura 1B.	Estructuras de diastereoisómeros 25
Figura 2.	Estructura de (R) y (S)-talidomida 26
Figura 3.	Algunos agentes de resolución comúnmente usados 30
Figura 4.	Estructuras de ligandos privilegiados 31
Figura 5.	Estructuras de fuentes de quiralidad 32
Figura 6.	Estructuras de compuestos quirales de derivados de DFEDA 17 y CHDA 18 34
Figura 7.	Estructuras de complejos metálicos derivados de DFEDA 34
Figura 8.	Ejemplos de graficas de varianzas de residuos versus predicho: a) varianza homogénea y b) varianza heterogénea 44
Figura 9.	Montaje realizado para la síntesis de PE1 50
Figura 10.	Montaje realizado para la síntesis de PE2 53
Figura 11.	Montaje realizado para la resolución óptica fraccional de (±)-PE2b 56
Figura 12.	Procesos de a) desalinización y b) separación. 58
Figura 13.	Soluciones orgánicas antes (a) y después (b) del secado con Na ₂ SO ₄ anhidro. 58
Figura 14.	Montaje realizado para la síntesis de PE4b 61
Figura 15.	Montaje realizado para la síntesis de PE5b 62
Figura 16.	Tiempos de reacción en la síntesis “hidrobenzamida”: a) fase homogénea a las 0 h y b) formación de precipitado después de 0.4 h. 67
Figura 17.	Monitoreo de la reacción a 9, 24 y 36 h respectivamente y revelado con DNFH. a) Placa húmeda. b) Placa seca. 68
Figura 18.	a) Cristales blancos de PE1; CCF de benzaldehído y PE1: b) Revelado con luz UV a 254 nm. c) Revelado con DNFH 69
Figura 19.	Espectro UV-vis de PE1 en cloroformo 71
Figura 20.	Termograma de DSC con doble barrido de temperatura para PE1 71
Figura 21.	Espectro IR de PE1 72
Figura 22.	CCF de la etapa 2. a) Método A. b) Método B 75
Figura 23.	Cambio en la coloración del proceso de reacción en la formación de la posible isoamarina. Tiempos de reacción: a) 0 seg, b) 60 seg en THF, c) 60 seg en DMSO y d) > 120 seg. 76
Figura 24.	Compuestos recristalizados. a) PE2a, b) PE2b y c) PE2c 78
Figura 25.	Espectro UV-vis de PE2a, PE2b y PE2c en cloroformo 80
Figura 26.	Termogramas de DSC con doble barrido de temperatura para: a) PE2a, b) PE2b y c) PE2c 81
Figura 27.	Espectros IR de PE2 (a, b y c). 83
Figura 28.	CCF de la reacción de resolución a la hora y media de reflujo. Lado izquierdo isoamarina y derecho el mandelato de isoamarina 86
Figura 29.	Compuestos recristalizados. a) (+)-PE3b y b) (+)-PE2b 88
Figura 30.	Espectro UV-vis del (+)-PE3b, disuelto en etanol 89

	Pág.
Figura 31. Termogramas de DSC con doble barrido de temperatura para: a) (+)-mandelato de PF2b y b) (+)-PF2b	90
Figura 32. Espectros IR de a) AM y b) (+)-PE3b	92
Figura 33. a) Estructura de la isoamarina. b) Espectro RMN- ¹ H para (+)-PE2b en cloroformo deuterado	94
Figura 34. Espectro RMN- ¹³ C para (+)-PE2b en cloroformo deuterado	96
Figura 35. Espectro DEPT 135 de (+)-PE2b en cloroformo deuterado	96
Figura 36. CCF en las reacciones de formación de (±)-PE4b. Reacción de: a) acetilación y b) hidrólisis	98
Figura 37. (±)-PE4b recristalizado	100
Figura 38. Espectro UV-vis del (+)-PE4b, disuelto en etanol	101
Figura 39. Termogramas de DSC con doble barrido de temperatura para: a) (±)-PE4b y b) (+)-PE4b	103
Figura 40. Espectro IR de (±)-PE4b	104
Figura 41. CCF en las reacciones de formación de (±)-PE5b	106
Figura 42. Compuestos sintetizados y recristalizados en la etapa 5: a) sal de (±)-PE5b y b) (±)-PE5b	107
Figura 43. Espectro UV-vis de: a) Sal de (+)-PE5b y b) (+)-PE5b, disueltos en etanol	108
Figura 44. Termogramas de DSC con doble barrido de temperatura para: a) sal de (+)-PE5 y b) (+)-PE5	110
Figura 45. Espectro IR de la sal de (+)-PE5b	111
Figura 46. a) Estructura del dibromuro de R,R-(+)-DFEDA. b) Espectro RMN- ¹ H para la sal de (+)-PE5b en metanol deuterado	113
Figura 47. Espectro RMN ¹³ C de la sal de (+)-PE5b en metanol deuterado: a) espectro normal y b) espectro DEPT 135	114
Figura 48. Espectro HMBC de la sal de (+)-PE5b	115
Figura 49. Destilación fraccionada del benzaldehído. a) Montaje b) benzaldehído purificado	131
Figura 50. a) Formación de peróxido de THF. Test de peróxidos: b) antes y c) después de la eliminación de peróxidos	132
Figura 51. Eliminación de peróxidos de THF. a) Reflujo, b) destilado, c) y d) residuos.	134
Figura 52. Proceso de presecado. a) 0 h y b) 24 h	134
Figura 53. A) Radical cetil benzofenona. B) Descomposición de la benzofenona	135
Figura 54. Proceso de secado del THF. a) Reflujo 1 h sin benzofenona, b) reflujo 3 h con benzofenona, c) reflujo 5 h con benzofenona, d) destilación de THF y e) mantenimiento del secado de THF en N ₂	136
Figura 55. Proceso de secado de DMSO por criogenización. Tiempo de secado: a) 0 h y b) 12 h	136
Figura 56. a) Proceso de purificación del ácido benzoico. CCF en la purificación del benzaldehído: b) Revelado bajo luz UV a 254 nm. b) Revelado con DNFH	137

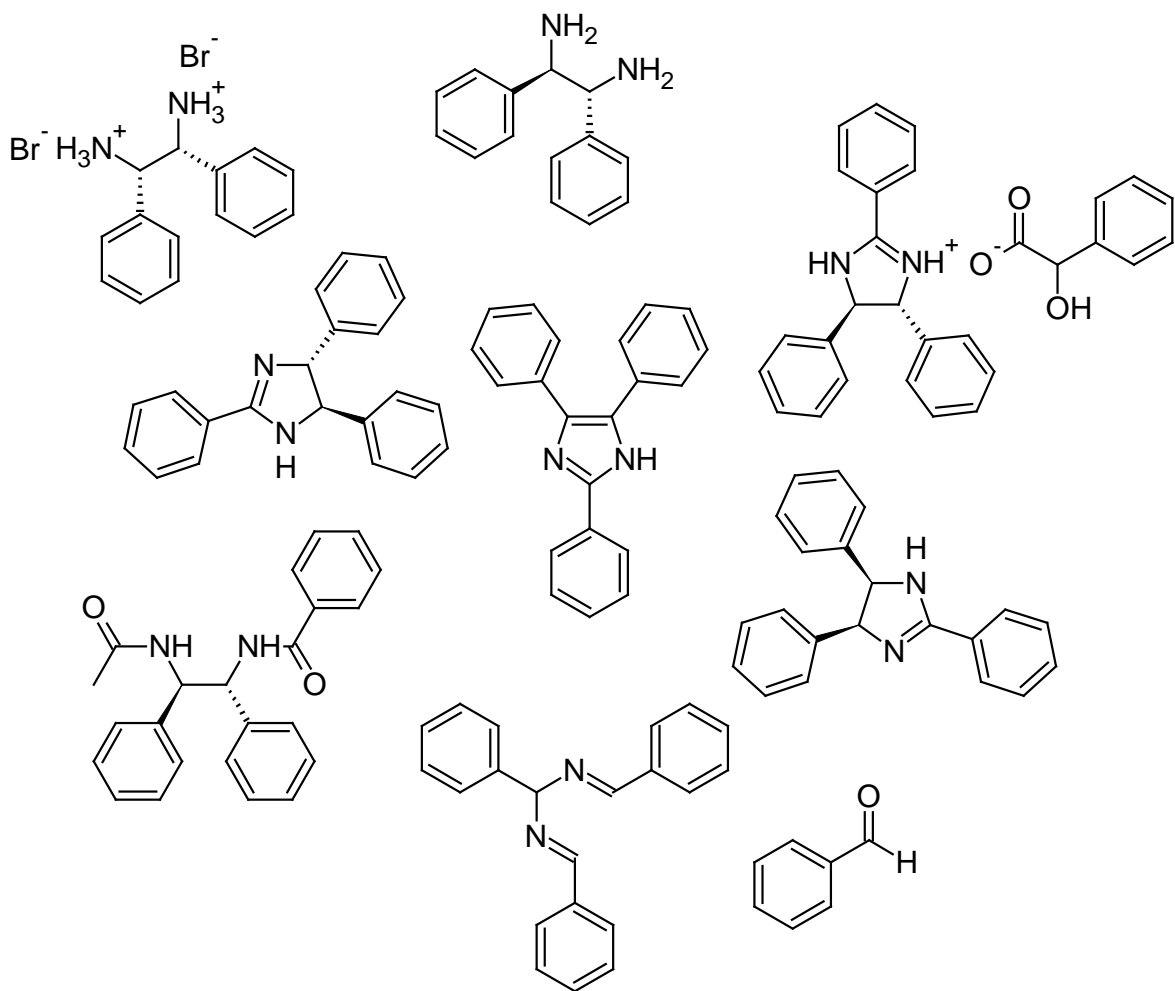
	Pág.
Figura 57. Residuos Vs predicho para determinar homogeneidad de varianzas de PE1	138
Figura 58. Residuos Vs predicho para determinar homogeneidad de varianzas de PE2b	140
Figura 59. Residuos Vs predicho para determinar homogeneidad de varianzas de la conversión de (+)- y (-)-PE3b	142
Figura 60. Residuos Vs predicho para determinar homogeneidad de varianzas de la recuperación de (+)- y (-)-PE2b	143
Figura 61. Residuos Vs predicho para determinar homogeneidad de varianzas de PE4b	144
Figura 62. Residuos Vs predicho para determinar homogeneidad de varianzas de PE5b	146

	Pág.
Esquema 1. Métodos para la obtención de compuestos enantioméricamente puros	27
Esquema 2. Diferentes técnicas de resolución quiral	28
Esquema 3. Separación de enantiómeros puros por cristalización fraccional	29
Esquema 4. Reacciones enantioselectivas catalizadas por derivados de DFEDA	36
Esquema 5. Rutas sintéticas de diaminas vecinales	38
Esquema 6. Síntesis de DFEDA y derivados según Bailar, Sharpless, Fujisawa y Corey	39
Esquema 7. Síntesis de DFEDA y derivados, según Pansare, Corey, Raimondi y Namy	40
Esquema 8. Síntesis de DFEDA y derivados, según Campos y Mistryukov	40
Esquema 9. Síntesis de DFEDA según Braddock y Chin	41
Esquema 10. Síntesis de DFEDA según Okano	41
Esquema 11. Estrategia seguida en la resolución de racémicos	42
Esquema 12. Reacción para la síntesis de “hidrobenzamida” (PE1)	49
Esquema 13. Reacción para la síntesis de isoamarina (PE2)	51
Esquema 14. Obtención de (+)- y (-)-isoamarina ((+)- y (-)-PE2) mediante R.O.F. y posterior desalinización	55
Esquema 15. Proceso de separación de enantiómeros de PE2b por resolución óptica fraccional	57
Esquema 16. Síntesis de (+)-N'-acetil-N'-benzoil DFEDA ((+)-PE4) a partir de la acetilación y posterior hidrólisis de la (+)-isoamarina ((+)-PE2)	59
Esquema 17. Síntesis de (+)-DFEDA	61
Esquema 18. Formación de “hidrobenzamida”	66
Esquema 19. Mecanismo de reacción en la síntesis de la “hidrobenzamida”	73
Esquema 20. Obtención de cis- y trans-imidazolinas e imidazol.	74
Esquema 21. Mecanismo de reacción en la síntesis de amarina, isoamarina e iofina	85
Esquema 22. Mecanismo de reacción en la separación de R,R-(+)-isoamarina: a) resolución y b) desalinización	97
Esquema 23. Mecanismo de reacción de las reacciones de la etapa 4. a) Acetilación de isoamarina y b) hidrólisis de acetilisoamarina	105
Esquema 24. Mecanismo de reacción en la formación de DFEDA y su respectiva sal: a) adición de agua (nucleófilo) catalizada por un ácido, b) eliminación del ion diamino (grupo saliente) catalizado por ácido y c) neutralización de la sal de dibromuro de DFEDA	116

		Pág.
Anexo 1.	Purificación de disolventes y reactivos (sección experimental)	130
Anexo 2.	Purificación de disolventes y reactivos (resultados y análisis)	132
Anexo 3.	Realización de Supuestos y prueba de Tukey para la conversión de PE1	138
Anexo 4.	Realización de Supuestos y prueba de Tukey para la conversión de PE2b	140
Anexo 5.	Realización de Supuestos y prueba de Tukey para la conversión de (+)- y (-)-PE3b y recuperación de (+)- y (-)-PE2b	142
Anexo 6.	Realización de Supuestos y prueba de Tukey para la conversión de (±)-PE4b, (+)- y (-)-PE4b	144
Anexo 7.	Realización de Supuestos y prueba de Tukey para la conversión de (±)-PE5b, (+)- y (-)-PE5b	146

LISTA DE ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

AAM	Ácido acetilmandélico
acac	Ácido acético
AcOEt	Acetato de Etilo
AM	Ácido mandélico
AQ	Auxiliar quiral
AR	Agente de Resolución
ASQ	Agentes de solvatación quiral
AT	Ácido tartárico
BuOH	Butanol
°C	Grados Celsius
CCF	Cromatografía de capa fina
CF	Cristalización Fraccional
CHDA	Ciclohexano-1,2-diamina
cm	Centímetros
DCM	Diclorometano
DFEDA	1,2-difenil-1,2-etilendiamina
dm	Decímetros
DMSO	Dimetilsulfoxido
DSC	Escaneo Calorimétrico Diferencial
EtOH	Etanol
Fdo	Filtrado
FT-IR	Infrarrojo con transformada de Fourier
g	Gramos
h	Hora
IP	Índice de Polaridad
isoPrOH	isoPropanol
Me	Metilo
MeOH	Metanol
min	Minutos
MHz	Megahertz
mL	Mililitros
nm	Nanómetros
OCQ	Organocatalizador quiral
Pdo	Precipitado
Ph	Fenilo
PrOH	Propanol
p/v	Peso/volumen
Py	Piridina
RMN-¹³C	Resonancia magnética nuclear de carbono
RMN-¹H	Resonancia magnética nuclear protónica
ROF	Resolución Óptica Fraccional
SQ	Selector quiral
Terc Bu	Terc Butano
Terc BuOK	Terc Butoxido de Potasio
THF	Tetrahidrofurano
UV	Ultravioleta
v/v	Volumen/volumen



GENERALIDADES

CAPÍTULO 1

1.1. RESUMEN

En el presente trabajo, se llevó a cabo la síntesis de R,R-(+)- y S,S-(-)-1,2-difenil-1,2-etilendiamina (DFEDA), a través de 5 reacciones denominadas etapas, las cuales fueron codificadas como etapa 1, 2, 3, 4 y 5.

En la primera etapa se obtuvo la “hidrobenzamida” a partir de la mezcla entre benzaldehído y NH₄OH introducidos en un alcohol saturado como disolvente (MeOH, EtOH, PrOH, isoPrOH y BuOH), el cual es obtenido por condensación de tres unidades de benzilimina (compuesto intermediario). Los mayores porcentajes de conversión fueron obtenidos al utilizar NH₄Cl para la formación del buffer en la solución, siendo el isoPrOH, el mejor disolvente, a un tiempo de 24 horas, obteniendo un porcentaje del 95.43%.

En la segunda etapa se sintetizó la isomarina racémica por dos métodos distintos usando como disolventes THF y DMSO, realizando la ciclización térmica de la “hidrobenzamida”, siendo esta catalizada por una base fuerte, la reacción se realizó bajo atmósfera inerte, las mejores conversiones se lograron utilizando como disolvente THF, como base tercBuOK, a una temperatura de 63 °C y a un tiempo de 3 horas obteniendo un porcentaje del 99%. Al usar DMSO se encontró que las mejores conversiones fueron obtenidas utilizando KOH como base fuerte, realizando primero la conversión de la amarina a 50 °C y 2 h de reacción y luego la isomerización de ésta, llevando el calentamiento a 130 °C y a un tiempo de 2 h.

En la tercera etapa, se llevó a cabo la resolución óptica de la isomarina racémica por cristalización fraccional, utilizando como agente de resolución los enantiómeros del ácido mandélico ((+)- y (-)-AM) y como disolvente isopropanol. Esta reacción se realizó en reflujo durante hora y media, obteniendo los mandelatos de isoamarina por dos métodos diferentes, encontrando que no hay diferencias significativas al realizar la síntesis por cualquiera de las dos formas, obteniendo conversiones de la primera sal diastereomérica del 90.3% y de la segunda del 78.6%. Posteriormente fueron desalinizados los mandelatos, empleando NaOH al 4%, finalmente extrayéndolos con diclorometano obteniendo rendimientos de 97.4% de (+)-isoamarina y 95.1% de (-)-isoamarina.

En la cuarta etapa se sintetizó inicialmente la diamida racémica utilizando como reactivo de partida la isoamarina racémica, realizando dos procedimientos consecutivos, una acetilación empleando una mezcla de (CH₃CO)₂O/CH₃COONa seguida de una hidrólisis con HCl concentrado provocando la apertura del anillo. La mayor conversión (87.1%) se obtuvo al realizar 3 h de acetilación seguida de 2 h de hidrólisis. La síntesis de las diamidas quirales se realizó con las condiciones anteriormente mencionadas, logrando porcentajes de conversión de 86.2% y 85.3% de (+)- y (-)-diamida, respectivamente.

Finalmente en la última etapa se sintetizó la diamina racémica, realizando la desprotección de la diamida racémica, utilizando ácido acético glacial y ácido bromhídrico al 48% como mezcla de reacción, obteniendo la mayor conversión (91.9%) a un tiempo de 24 h en reflujo y utilizando una relación de ácidos 1:3 (acac/HBr), las diaminas quirales fueron sintetizadas utilizando el tiempo y la relación de ácidos anteriores, logrando conversiones del 91.7% para (+)-DFEDA y del 89.5% para (-)-DFEDA. La identificación de los compuestos sintetizados se estableció mediante técnicas espectroscópicas como FT-IR, UV-vis, RMN-¹H y -¹³C; además de polarimetría, puntos de fusión, DSC. Los datos obtenidos en esta investigación sobre la síntesis de los compuestos de las etapas 1, 2, 3, 4 y 5, se procesaron con el programa INFOSTAT versión 2013, demostrando la coherencia y confiabilidad de las metodologías empleadas.

Palabras clave: condensación, conversión, ciclización térmica, atmósfera inerte, racémica, isomerización, resolución óptica, cristalización fraccional, sal diastereomérica, enantiómeros, quirales, desprotección, INFOSTAT y polarimetría.

1.2. INTRODUCCIÓN.

La obtención de moléculas quirales con dos funciones nitrogenadas adyacentes constituye un objetivo de gran importancia en el campo de la síntesis orgánica actual. Dicha unidad estructural no sólo forma parte de numerosos productos naturales y de utilidad terapéutica sino que juega un papel importante en muchas estrategias sintéticas dirigidas hacia la obtención de productos más complejos. [1] Dada la importancia de las 1,2-diaminas, un gran número de métodos para la síntesis de estos derivados han sido desarrollados. [2]

Las diaminas vecinales quirales son de considerable interés como ligandos para el desarrollo de catalizadores estereoselectivos y como intermediarios en la síntesis de fármacos. Los catalizadores a base de diaminas han sido utilizados para un gran número de reacciones, que incluyen oxidación, reducción, hidrólisis, y reacciones de formación de enlaces carbono-carbono. Los compuestos bioactivos que se basan en diaminas vecinales incluyen anticancerígenos, antivirales, antibacteriales, antidepresivos, y agentes antihipertensivos. De hecho, el motivo estructural de estas diaminas podría considerarse “privilegiadas” cuando se trata de catalizadores en desarrollo y drogas. Numerosas publicaciones, incluyendo varios artículos de revisión, han aparecido en la síntesis y aplicaciones de diaminas quirales. [3] Aunque se ha avanzado mucho, ha sido un desafío para desarrollar una ruta fácil, eficiente, y general para una amplia gama de diaminas quirales en forma enantioméricamente pura. La CHDA y DFEDA son los bloques de construcción diaminos más comúnmente utilizados para la preparación de catalizadores estereoselectivos. La DFEDA racémica puede ser preparada de la hidrólisis de isoamarina y obtenida de forma enantiopura mediante resolución óptica por agentes de resolución como son AT y AM. Este enfoque sintético para la DFEDA es particularmente atractivo debido a los materiales de partida económicos. [4]

1.3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Uno de los principales objetivos de la química orgánica, desde sus inicios, ha sido mejorar la eficiencia y sencillez en la síntesis de compuestos orgánicos, optimizando el tiempo de reacción y las cantidades de reactivos a emplear, además de su interés para disminuir la generación de residuos; dichos factores se han tenido en cuenta para la síntesis de nuevos materiales quirales y en especial de los obtenidos de manera enantioselectiva, como los fármacos enantioméricamente puros (desde la tragedia que ocasionó el consumo de (\pm)-talidomida en mujeres embarazadas, produciendo malformaciones a los fetos y posteriormente su aborto). [5]

Estos compuestos quirales enantioméricamente puros o enriquecidos, son ampliamente empleados en síntesis asimétrica ya sea como auxiliar quiral, ligando quiral o reactivo quiral. En catálisis asimétrica se utilizan, como ligandos quirales, sustancias que tienen heteroátomos en su estructura, algunos de los más empleados poseen nitrógeno y oxígeno como átomos donadores de electrones capaces de acomplejarse con un centro metálico, además de poseer un eje de simetría. Un ejemplo claro son las 1,2-diaminas simétricas, una clase de compuestos que han encontrado amplias aplicaciones en medicina y química analítica, [6] donde una de las más eficientes 1,2-diaminas quirales con simetría C_2 es la DFEDA, [7] ésta, es muy utilizada en síntesis asimétrica ya sea como agente de resolución, agente de solvatación, selector quiral o para la formación de complejos quirales, siendo un compuesto de gran importancia y por ende su elevado precio.

Las estrategias de mayor eficiencia que se emplean hoy en día, para la obtención de este tipo de compuestos, presentan algunas desventajas como es el costo de catalizadores quirales y la toxicidad del centro metálico, como sucede con el osmio en la dihidroxilación asimétrica de Sharpless de estilbena, el cual está ligado a una amina quiral conocida como Cinchona; además de aumentar la protección de grupos lábiles incrementando el número de etapas, la cantidad de reactivos y el costo global de la síntesis debido a condiciones especiales de reacción. En otros casos los precursores pueden llegar a presentar dificultades en su manejo debido a su inestabilidad o disponibilidad, contaminación, tratamiento especial de los residuos de las reacciones, posible inhibición del catalizador y/o contaminación del producto final. [8] Existen muchas rutas sintéticas para la obtención de la DFEDA, en las cuales se utilizan reactivos quirales (ligandos o complejos metálicos quirales), que son bastantes costosos, además de condiciones especiales de reacción y por otro lado, el gasto excesivo de disolventes.

En este trabajo se planteó realizar la síntesis de esta diamina a partir de reactivos económicos (benzaldehído y amoníaco, los cuales son compuestos aquirales), mediante acoplamiento reductivo de iminas (método sencillo en el cuál no se emplean catalizadores quirales metálicos), donde se modificó las condiciones de síntesis de la ruta clásica (tiempo, temperatura y reactivos) para mejorar la eficiencia del mismo, este proceso de síntesis apunta al desarrollo de esta y otras aminas para uso como agentes de partida para la producción de ligandos quirales tipo Salen que puedan ser usados en procesos de catálisis asimétrica.

1.4. JUSTIFICACIÓN

Las 1,2-diaminas quirales son sustancias que son usadas como bloques de construcción para la síntesis de un gran número de compuestos, ya sea para la industria farmacéutica o para la generación de ligantes, auxiliares o catalizadores metálicos quirales empleados para catálisis asimétrica. Por lo anterior, primero se buscan procedimientos o rutas sintéticas, mucho más eficientes que generen un gran interés, y segundo que los compuestos obtenidos sean de alta pureza enantiomérica, para que se puedan emplear directamente para síntesis enantioselectiva. La metodología de síntesis de las 1,2-diaminas quirales, desarrolladas en este trabajo pretende encontrar las mejores condiciones de reacción para lograr porcentajes de conversión mucho más altos que los encontrados en la literatura.

1.5. OBJETIVOS

1.5.1. OBJETIVO GENERAL

Sintetizar 1,2-diaminas quirales con átomos de nitrógeno vecinales como son (+)-(1R,2R) y (-)-(1S,2S)-1,2-difenil-1,2-etilendiamina, por vía acoplamiento reductivo de iminas, mediante el uso de resolución óptica fraccional.

1.5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Sintetizar la (\pm)-DFEDA simétrica, haciendo uso de materiales de partida de bajo costo y disponibles comercialmente, como son benzaldehído y amoniaco.

Obtener por resolución óptica fraccional, los dos enantiómeros puros de la DFEDA, mediante el uso de un agente de resolución como el AM.

Caracterizar los productos o compuestos de síntesis mediante técnicas espectroscópicas como RMN-¹H y -¹³C, FT-IR, UV-vis, DSC y polarimetría.

Aplicar diversas técnicas tales como cristalización, recristalización, cromatografía, entre otras, en la separación y purificación de los productos sintetizados.

2. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

2.1. QUIRALIDAD. NOCIÓN DE CENTRO ESTEREOQUÍMICO

Los estereoisómeros son moléculas con la misma fórmula molecular y los mismos enlaces que difieren solo en el ordenamiento espacial de ciertos átomos o grupos de átomos. Los estereoisómeros que no se superponen con sus imágenes especulares se conocen como isómeros ópticos o enantiómeros y la mezcla de ambas formas moleculares, como mezcla racémica. Los enantiómeros tienen idénticas propiedades físicas y químicas en estado líquido, sólido o gaseoso cuando se encuentran puros y también en sus disoluciones en todo tipo de solventes aquirales. Una molécula quiral es aquella que puede existir en por lo menos dos formas enantioméricas. Los diastereómeros son estereoisómeros que no son superponibles pero tampoco son imágenes especulares entre sí; dentro de este grupo se encuentran los isómeros cis-trans y las moléculas con más de un centro quiral. Un átomo de carbono con cuatro sustituyentes diferentes constituye un centro quiral. Un ejemplo claro de un par enantiomérico se muestra en la figura 1. Además del carbono, otros elementos como azufre, nitrógeno, fósforo y boro producen centros quirales estables y algunas moléculas con impedimento a la libre rotación de sus átomos también presentan quiralidad (atropoisomerismo). Una molécula quiral se manifiesta como tal, solo cuando es afectada por una influencia quiral tal como los reactivos quirales, o la luz polarizada. [9]

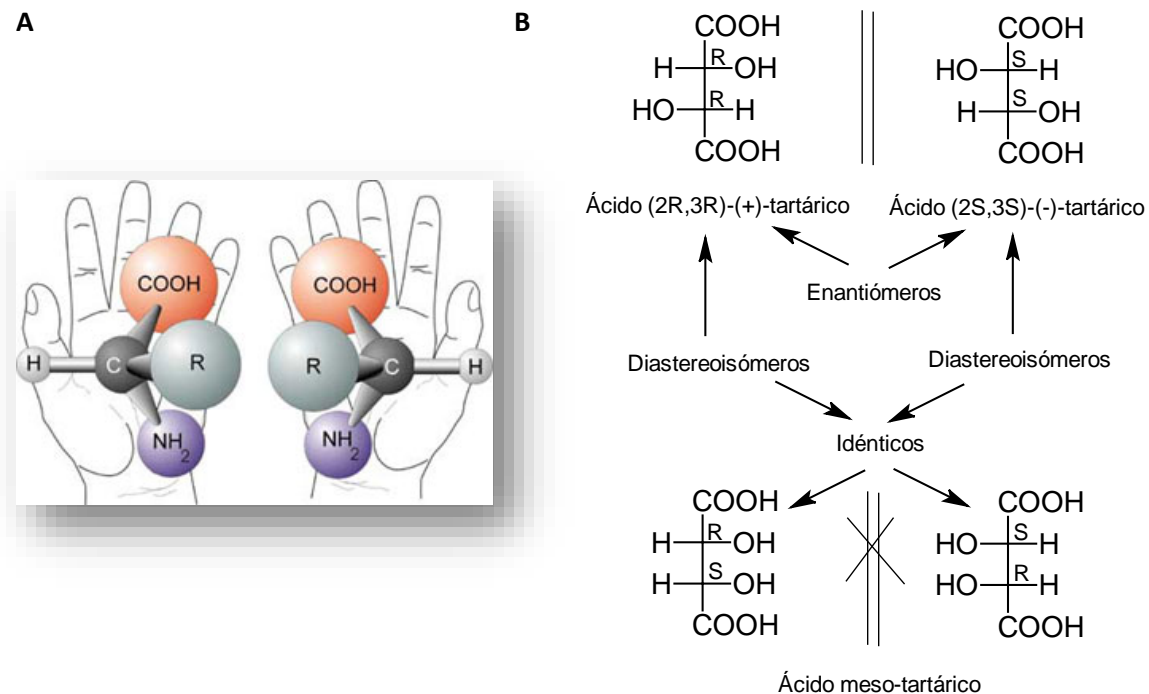


Figura 1. A. Formas enantioméricas de una molécula quiral, comparación con la quiralidad de la palma de las manos. **B.** Estructuras de diastereoisómeros

2.2. RUTAS PARA LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS ENANTIOMÉRICAMENTE PUROS

La observación de la acción enantioselectiva de las drogas quirales en los inicios de la farmacología moderna fue considerada como un hecho curioso y hasta casi sin importancia dentro del perfil global de la actividad de la droga.

A principios de 1960 la producción de medicamentos se vio duramente afectada por la tragedia de la talidomida **1** (imida del ácido N-ftalilglutámico), esquematizada en la figura 2. Hasta entonces no se sabía que el efecto sedante y antiemético de la droga es debido solo a uno de los enantiómeros. Recién en 1979 se reconoció que el S(-)-enantiómero tiene efecto teratogénico, responsable de serias malformaciones en bebés recién nacidos de mujeres a las que se les había administrado la droga para combatir las náuseas durante los primeros meses de embarazo. Tras esta tragedia, quedó claro que la asimetría (quiralidad) jugaba un papel importante en las ciencias de la vida. Así, la industria farmacéutica incrementó su interés en la obtención de moléculas ópticamente puras y no una mezcla racémica (enantiómeros). En este sentido, existen básicamente dos métodos para la obtención de compuestos enantioméricamente puros [10, 11] los cuales se pueden observar en el esquema 1.

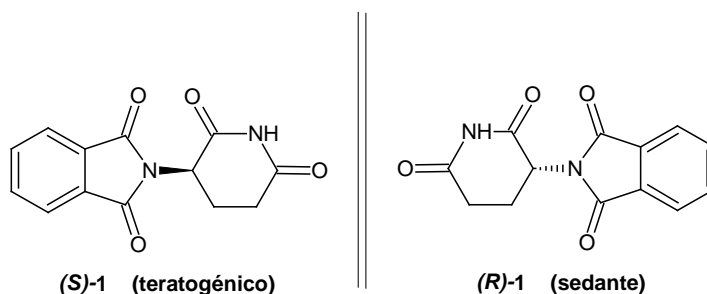
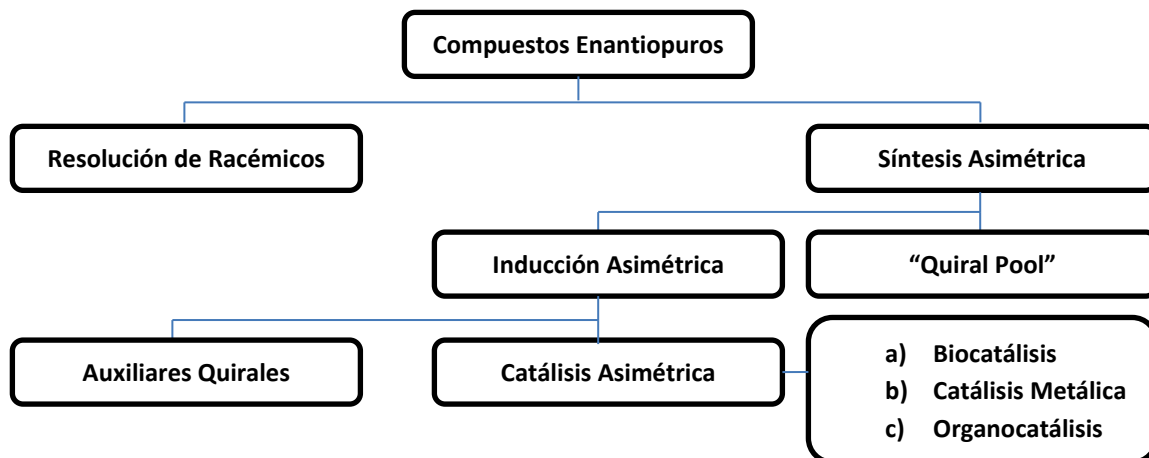


Figura 2. Estructura de (R) y (S)-talidomida

La creciente necesidad de disponer de compuestos enantioméricamente puros tanto en la industria farmacéutica como en la alimentaria (saborizantes, edulcorantes, conservantes, etc.) o en agroquímica (insecticidas, pesticidas y feromonas) hace tanto de la síntesis asimétrica o estereoselectiva como de la resolución de racémicos una de las áreas más importantes de investigación y desarrollo en química orgánica [12] siendo éste último el método aplicado en este trabajo para la obtención de compuestos diaminos enantioméricamente puros.



Esquema 1. Métodos para la obtención de compuestos enantioméricamente puros.

2.2.1. ESTRATEGIAS DE SEPARACIÓN DE ENANTIÓMEROS POR RESOLUCIÓN

La aplicación de cualquiera de las metodologías separativas mencionadas en el esquema 2 para la resolución de enantiómeros, puede basarse en: [9]

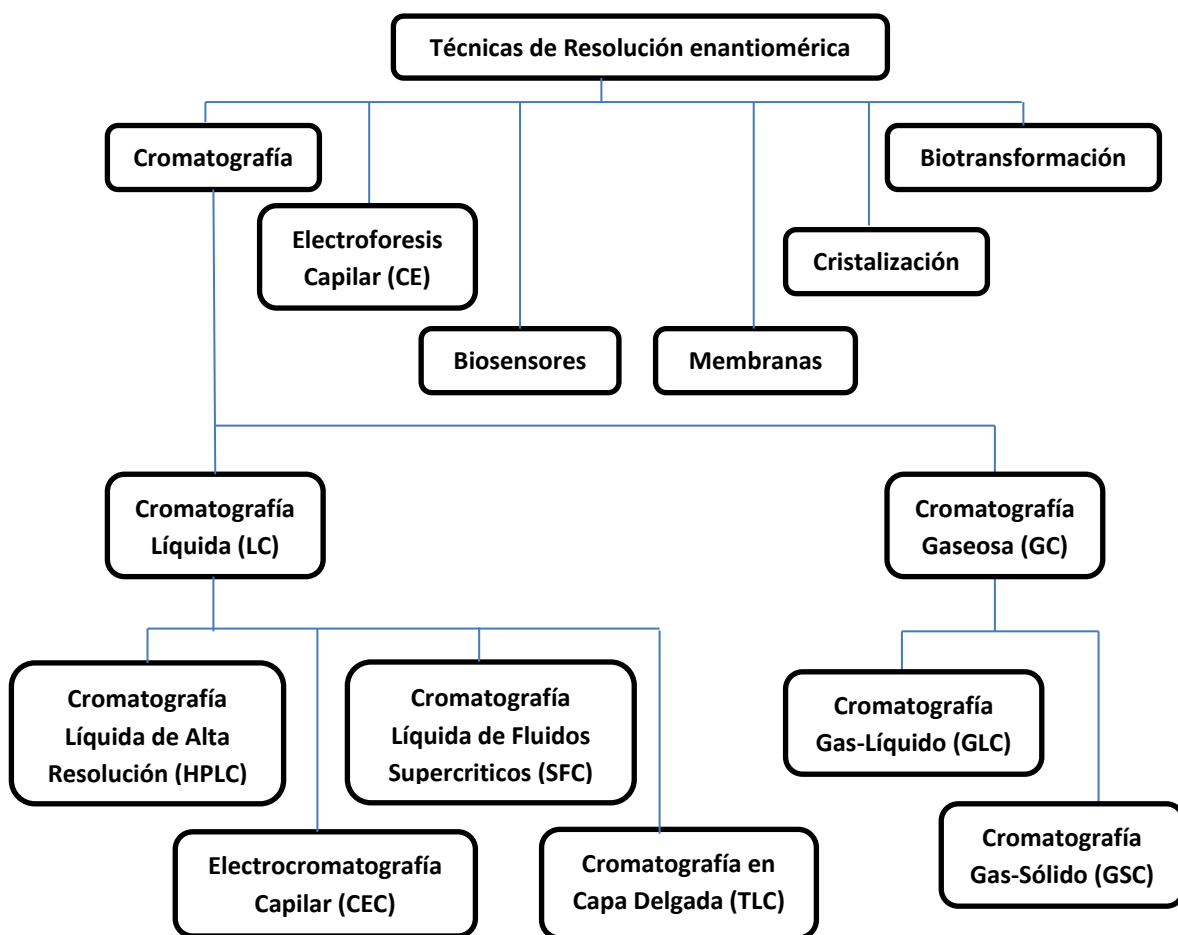
2.2.1.1. Métodos directos

Estos no requieren la formación previa de diasterómeros. La resolución directa de los enantiómeros es posible utilizando técnicas separativas en las que el reconocimiento quiral ocurre mediante una molécula ópticamente activa denominada selector quiral que puede asociarse transitoriamente con preferencia a uno de los enantiómeros de la mezcla. Este selector quiral forma parte de la fase estacionaria en HPLC.

2.2.1.2. Métodos indirectos

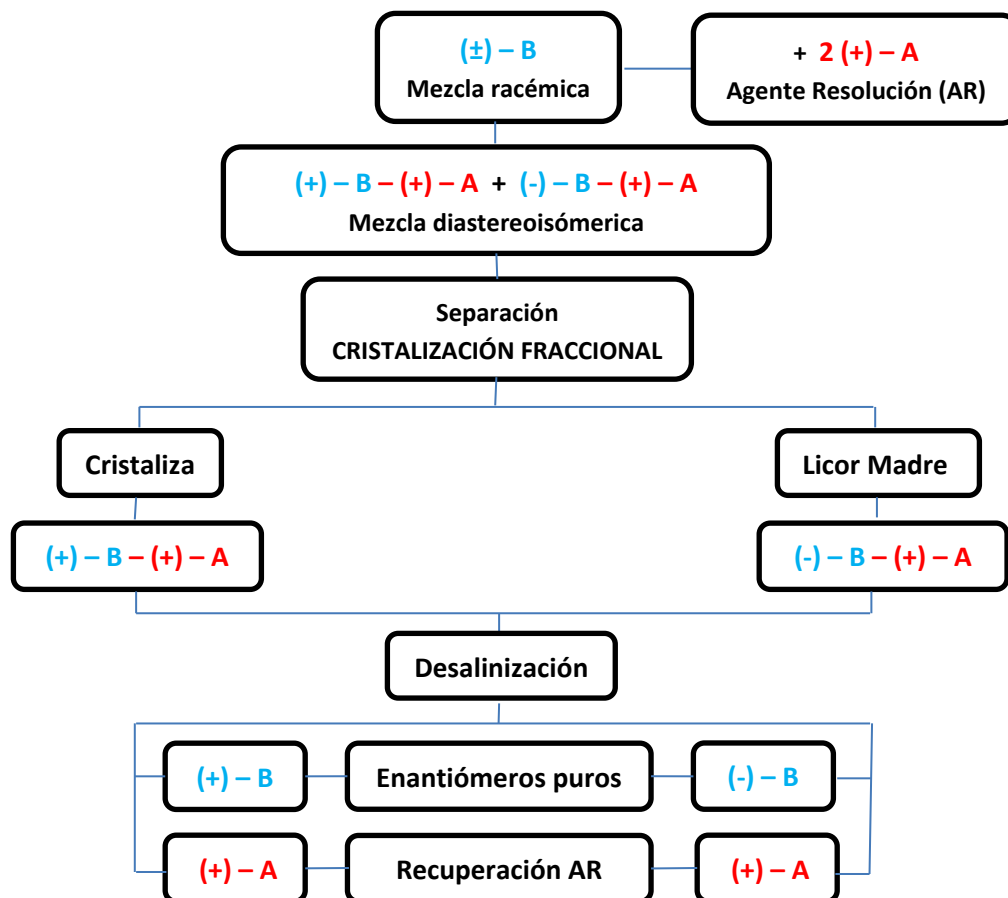
Son los métodos basados en la reacción química de la mezcla racémica con un agente de resolución (AR), para obtener un par diastereomérico. Este método es introducido por Pasteur, siendo uno de los más clásicos en química orgánica, además de ser uno de los más atractivos a nivel industrial por su simplicidad operativa. [13] Los diastereoisómeros formados en este método, poseen diferentes propiedades fisicoquímicas y en consecuencia pueden separarse por procedimientos habituales como destilación o recristalización fraccionada, cromatografía clásica, etc. Si es necesario recuperar los enantiómeros puros se requiere que una vez separados los diasterómeros, se invierta la reacción química que los formó. [14]

Una de las ventajas de estos métodos indirectos es que los diasterómeros pueden ser separados mediante técnicas convencionales. En HPLC se emplean columnas quirales usuales, significativamente más económicas, con características apropiadas al tipo y polaridad del diasterómero formado. Una segunda ventaja es el amplio rango de aplicación debido a la variedad de reactivos quirales para derivatización disponibles y la facilidad con que estos pueden cambiarse. Entre sus desventajas se puede citar: la alta pureza enantiomérica que debe tener el reactivo quiral, muchas veces la selección del sistema de detección está limitada por el reactivo elegido, la extensión del tiempo total de análisis. [9]



Esquema 2. Diferentes técnicas de resolución quiral.

El método de resolución por cristalización fraccional, se resume en el esquema 3.



Esquema 3. Separación de enantiómeros puros por cristalización fraccional. [15]

2.2.2. AGENTES DE RESOLUCIÓN

Los compuestos ópticamente activos utilizados para generar los diastereómeros son llamados agentes de resolución (AR). Estos deben presentar una alta pureza óptica y se clasifican principalmente como ácidos y bases. [15] Para la resolución de ácidos racémicos, son disponibles varios alcaloides de origen natural tales como, Bruchina, Cinchona o Quinina. Las desventajas de estos alcaloides, además de su toxicidad, es el hecho de que sólo un enantiómero está disponible. Los alcaloides (-)-Quinina y (+)-Quinidina forman una excepción inusual, son “pseudoenantiómeros”. Para la resolución de aminas racémicas, la elección de los agentes de resolución ácidos es limitada. El ácido tartárico y sus derivados se usan ampliamente y son relativamente baratos. A diferencia de los agentes de resolución básicos, ambos enantiómeros son comercialmente disponibles. Otros comúnmente usados son ácido mandélico, ácidos canfor sulfónicos (ver figura 3). [16, 17]

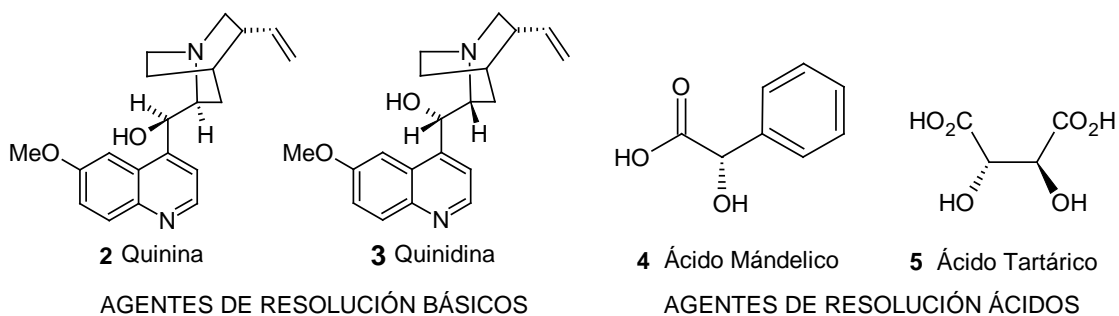


Figura 3. Algunos agentes de resolución comúnmente usados.

2.2.3. DESALINIZACIÓN DE DIASTEROMÉROS

Después de un experimento de resolución es necesario separar el agente de resolución del compuesto enantioméricamente puro. Éste proceso de recuperación debe ser simple y selectivo, no debe causar la racemización del material resuelto, y debe permitir la recuperación del agente de resolución. El método de elección depende del sistema. Generalmente, se usan procedimientos de extracción orgánica estándar y el método de elección es una cuestión de sentido común y de conocimiento de las solubilidades de varios compuestos en los disolventes utilizados.

Si una amina ha sido resuelta con un agente de resolución ácido, por lo general, es posible mezclar la sal con una base diluida (ej. NaOH, NH₄OH o Na₂CO₃) y extraer la amina con un disolvente orgánico. Después de la acidificación de la fase acuosa y posterior extracción, el agente de resolución ácido puede ser recuperado. [16]

Cuando un ácido racémico es resuelto con un agente de resolución básico, la sal es usualmente tratada con un ácido acuoso, después de lo cual el ácido se extrae con un disolvente orgánico. Si falla el procedimiento estándar, otros métodos tales como resinas de intercambio iónico pueden ser utilizados. Estos son especialmente útiles si ambos componentes son solubles en agua. [16]

2.3. LIGANDOS QUIRALES

2.3.1. PRINCIPALES TIPOS DE LIGANDOS QUIRALES

La elección adecuada de un ligando quiral en función de sus propiedades electrónicas, estéricas y conformacionales resulta fundamental para el desarrollo de un catalizador efectivo, ya que dicho ligando no sólo genera un entorno asimétrico alrededor del metal, sino que además puede provocar cambios en la reactividad y selectividad de éste.

Tradicionalmente el diseño de ligandos quirales se ha llevado a cabo teniendo en cuenta las potenciales interacciones estéricas, mientras que los efectos electrónicos, han sido muchos menos estudiados.

Adicionalmente, hay que considerar otro tipo de factores que resultan cruciales para lograr una alta eficacia en una transformación asimétrica, como son el esqueleto carbonado, la simetría y la naturaleza de los sustituyentes de ligando, así como la geometría y el tamaño del complejo final.

Con excepción de un número muy reducido de ligandos monodentados, los ligandos más efectivos son de naturaleza bidentada, que conducen a la formación de intermedios organometálicos más rígidos desde los que, en principio, es más favorable el proceso de inducción asimétrica. En catálisis se utilizan ligandos bidentados tanto con simetría C_1 (ligandos bidentados mixtos) como con simetría C_2 , siendo este último la simetría del ligando a sintetizar en este trabajo. [18, 19]

2.3.1.1. Ligandos bidentados con simetría C_2

Entre los miles de ligandos quirales preparados hasta el momento, sólo unos pocos han destacado por ser altamente eficientes en un amplio rango de transformaciones asimétricas sustancialmente diferentes. Estas estructuras, en su mayoría de naturaleza bidentada con simetría C_2 , han recibido el nombre de ligandos privilegiados (figura 4). La principal ventaja de este tipo de ligandos, es que reducen a la mitad el número de estados de transición diastereoméricos en competencia, lo que además facilita el análisis del estudio estereoquímico del proceso. [18]

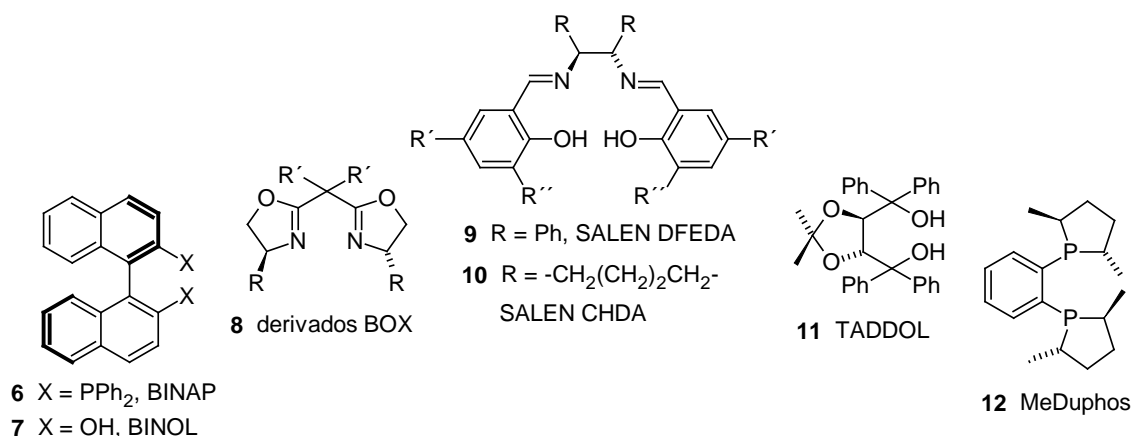


Figura 4. Estructuras de ligandos privilegiados.

La coordinación al metal de este tipo de ligandos con simetría C_2 puede ser de tipo O,O (como por ejemplo el BINOL o el TADDOL), coordinación N,N (como BOX y las 1,2 diaminas vecinales DFEDA y CHDA), coordinación N,N,O,O (especialmente los complejos de ligandos SALEN) o coordinación P,P como el BINAP, MeDuPhos, Chiraphos, DPPBA, MeO-Biphep o los ligandos Segphos (figura 5). En todos estos ligandos se utiliza como fuente de quiralidad la presencia de centros estereogénicos (quiralidad central) o de ejes estereogénicos (quiralidad axial). [18]

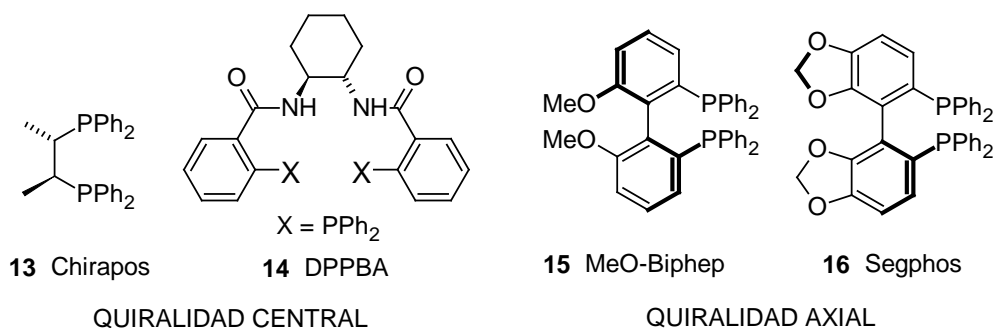


Figura 5. Estructuras de fuentes de quiralidad.

2.4. DIAMINAS VECINALES QUIRALES EN CATÁLISIS.

La síntesis asimétrica catalítica provee a los químicos de nuevas y poderosas herramientas para la síntesis eficiente de moléculas complejas. Aunque muchos de los sistemas catalíticos más notables presentan centros metálicos y ácido de Lewis quirales, basados en catálisis organometálica redox, un número creciente de reacciones asimétricas son catalizadas por nucleófilos quirales orgánicos, basándose en la gran variedad de reacciones que existen en la naturaleza, en la que los nucleófilos desempeñan un papel esencial. [20]

En las últimas décadas los complejos metálicos con ligantes quirales enantiopuros han cobrado importancia como inductores quirales muy eficientes. Los átomos donadores de electrones, como el nitrógeno, oxígeno y fósforo de los ligantes quirales se coordinan a los átomos de metal de los reactivos organometálicos formando complejos quirales. En la literatura se pueden encontrar muchas publicaciones en la que se estudian ligantes con átomos de fósforo como donadores de electrones, sin embargo el interés por los ligantes que poseen nitrógeno y oxígeno como donador ha aumentado últimamente, [21] siendo estos complejos utilizados para diversas reacciones enantioselectivas.

El grupo amino se encuentra presente en un gran número de compuestos naturales como son los alcaloides, ácidos nucleicos, aminoácidos, etc., algunos de los cuales tienen aplicación en síntesis orgánica como precursores de otras sustancias, como ligantes o como agentes derivatizantes, desempeñando un papel central en esta zona en expansión de la catálisis asimétrica, utilizándose para obtener productos ópticamente enriquecidos en una alta selectividad y rendimientos que pueden no ser accesibles a través de la tecnología asimétrica alternativa. Históricamente, los alcaloides tipo Cinchona fueron las primeras aminas quirales para ser usadas en catálisis asimétrica, sobre todo en el trabajo pionero de Pracejus de la década de 1960 sobre alcoholisis de cetonas disustituidas, la cual presenta un costo muy elevado, lo que llevó a buscar nuevas moléculas de aminas quirales. [20]

Las diaminas y poliaminas quirales han atraído una atención considerable en química orgánica sintética, debido a sus interesantes actividades biológicas, aplicaciones farmacológicas potenciales, donde su actividad farmacéutica está relacionada con su configuración absoluta, y a su catálisis asimétrica. [6, 22-24] Estas aminas enantioméricamente puras, son componentes de muchos productos naturales, especialmente péptidos, con valiosas propiedades biológicas y terapéuticas, además de ser constituyentes de agroquímicos, polímeros y materiales funcionales en síntesis orgánica. [25]

La importancia de la funcionalidad de las 1,2-diaminas en química medicinal, síntesis estereoselectiva y química analítica, ha provocado una gran cantidad de investigaciones para el desarrollo de nuevos métodos en la síntesis de estos compuestos. [26] Las diaminas con simetría C_2 , como DFEDA **17** y CHDA **18** han demostrado ser populares bloques de construcción quirales para la síntesis de reactivos y auxiliares quirales (AQ) **19 y 20**, [27] sensores quirales (SQ) **21 y 22** [28] y derivación quiral o agentes de solvatación (ASQ) **23 y 24**, [29, 30] y se han utilizado recientemente para la preparación de organocatalizadores de alta enantioselectividad (OCQ) **25 y 26**, [31] cada una de estas estructuras se pueden observar en la figura 6.

2.4.1. APLICACIONES DE LOS DERIVADOS DFEDA

En los últimos años, varios derivados de diaminas sintéticas de DFEDA, también han sido empleados como agentes medicinales, particularmente en quimioterapia, los complejos diaminos quirales de platino como el $Pt(DFEDA)SO_4H_2O$ **27** están siendo evaluados como agentes antitumorales que pueden emplearse como sustitutos de cisplatino, para reducir la toxicidad y evitar la resistencia a los medicamentos, [32] recientemente han sido reportados el uso de complejos metálicos de bases de Schiff de Salen como el

[salenAl^{III}]Cl **28** en las que se han unido selectivamente a ADN por interacciones covalentes [33] (ver estructura, figura 7).

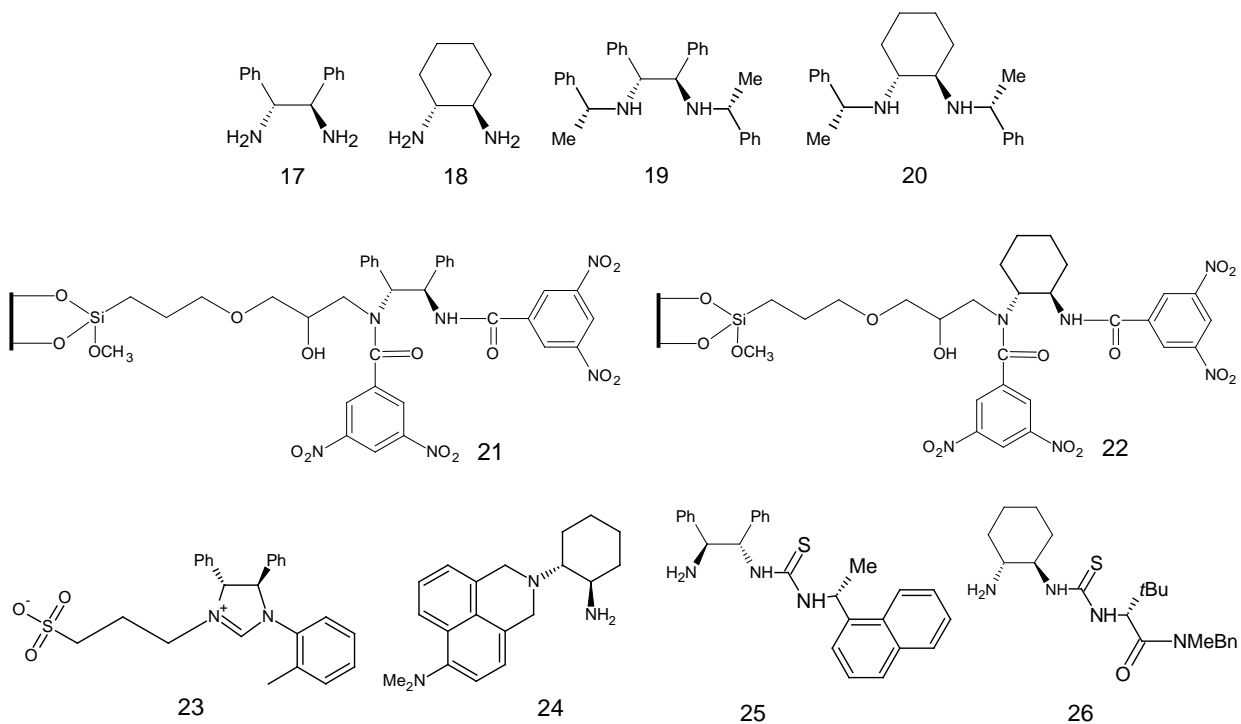


Figura 6. Estructuras de compuestos quirales de derivados de DFEDA **17** y CHDA **18**.

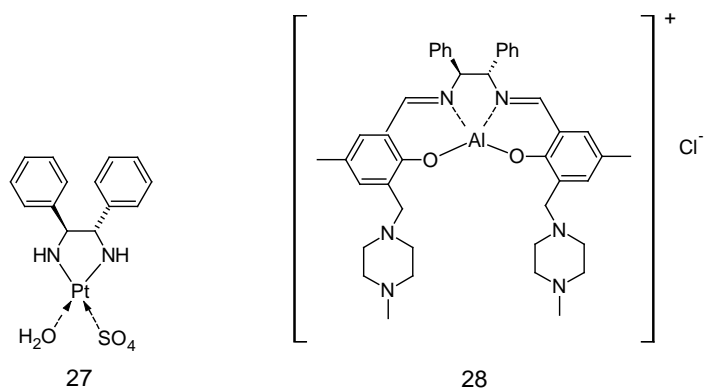


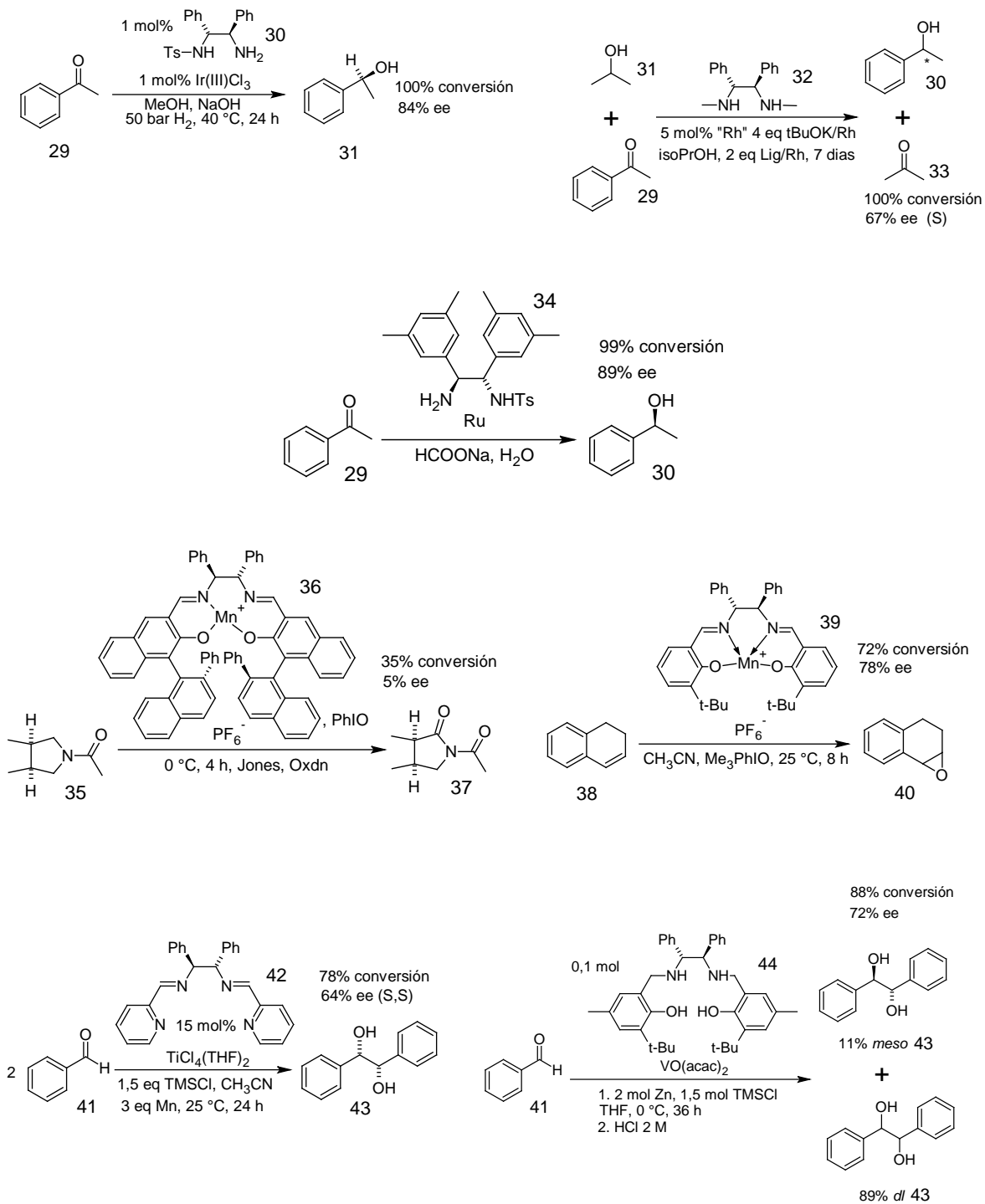
Figura 7. Estructuras de complejos metálicos derivados de DFEDA.

De la misma forma han sido ampliamente utilizados como ligandos quirales para la preparación de complejos de metales de transición para catálisis asimétrica como Cu, Fe, Os, Pd, Rh, Ru, Se Ir y Cr, dichos complejos se han utilizado para un gran número de reacciones, obteniendo niveles altos de enantioselectividades.

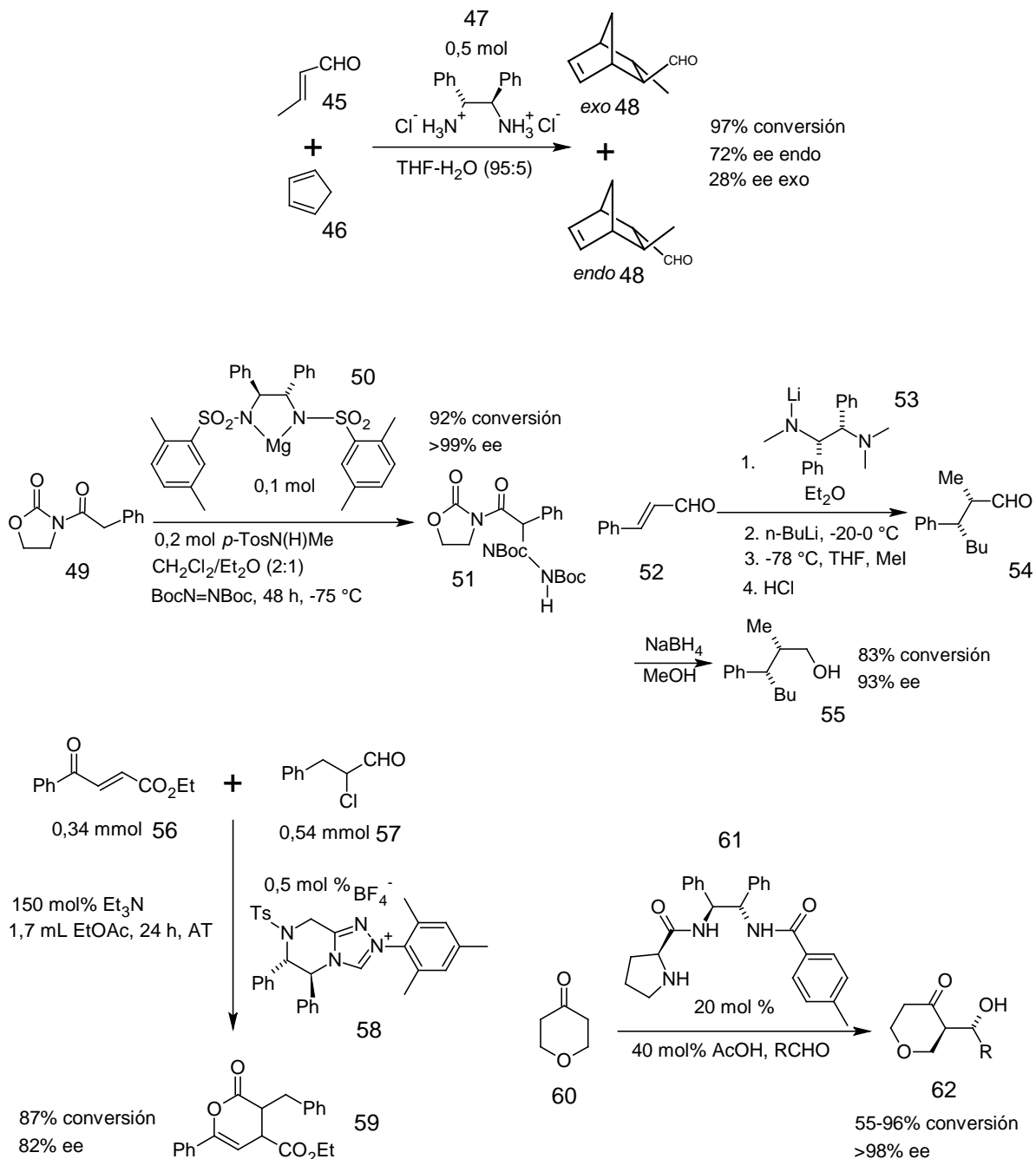
Estos catalizadores se han empleados para diversos tipos de transformaciones asimétricas incluyendo reacción aldólica, y adición de Michael, [7, 34] adiciones conjugadas, protonación de enolatos, ciclopropanaciones, y aziridinaciones.[25, 35] Por otra parte, han sido utilizados como ligandos en importante procesos asimétricos catalíticos, como la hidrogenación de cetonas catalizada por iridio (TsDFEDA) **30**, [36] transferencia de hidrógeno de cetona catalizada tanto por rodio (Me₂DFEDA-Rh) **32** como por rutenio (Me₄TsDFEDA-Ru) **34**, [37] desimetrización de pirrolidinas (salen I-Mn(III)) **36** y epoxidación de alquenos u olefinas catalizada por manganeso (salen II-Mn(III)) **39**, [38, 39] acoplamiento pinacol de aldehídos aromáticos catalizada por titanio (complejo B.S.-Ti) **42** y vanadio (complejo-V) **44**, [40, 41] cicloadición Diels-Alder catalizada por sal de bisamonio **47**, [42] fusión de enolización-aminación catalizada por bissulfonamida magnesio **50**, [43] carbolitiación de aldehídos protegidos por monolitioamida **53**, [44] oxidación Diels-Alder catalizada por sal de triazolío **58** [45] y adición aldólica de cetonas cíclicas catalizadas por ligando bifuncional **61**, [46] cada una de estas reacciones se pueden observar en el esquema 4.

Estas moléculas con simetría C₂ proporcionan mayores niveles de control estereoquímicos absolutos en comparación con aquellos que carecen de cualquier simetría. Es conocido que los ligandos con este tipo de simetría permiten reducir el número de geometrías complejo-sustrato posibles y por tanto, los posibles caminos de reacción y estados de transición, conduciendo a estereoselectividades elevadas como se pudieron observar en cada una de las reacciones del esquema anterior, este hecho también simplifica y facilita los estudios estructurales y mecanísticos. [47]

Recientemente la diamina quiral **17b** ha sido empleada como agente de resolución de compuestos racémicos; en el 2007 Katrusiak, la utilizó para resolver BINOL racémico, [48] mientras que Dunina y colaboradores en el 2011 sintetizaron el primer fosfapaladiociclo en sus formas enantiopuras, con paladio enlazado a un carbono estereogénico. [49] Gall *et al.*, obtienen los compuestos enantiopuros de aldehídos y cetonas quirales mediante la formación de compuestos amínicos a partir de las diaminas **17a** y **17b** (ver estructuras en el esquema 5). [25] Además estas diaminas quirales han sido inmovilizadas sobre silica mesoporosa por Liu *et al.* y poliestireno por Itsuno *et al.*, para utilizarlas en la hidrogenación asimétrica de cetonas aromáticas. [7, 35, 50] Alexakis y Chaurin las han empleados en el 2001 para determinar los excesos enantioméricos de algunos ácidos carboxílicos por RMN ³¹P. [51]



Esquema 4. Reacciones enantioselectivas catalizadas por derivados de DFEDA.

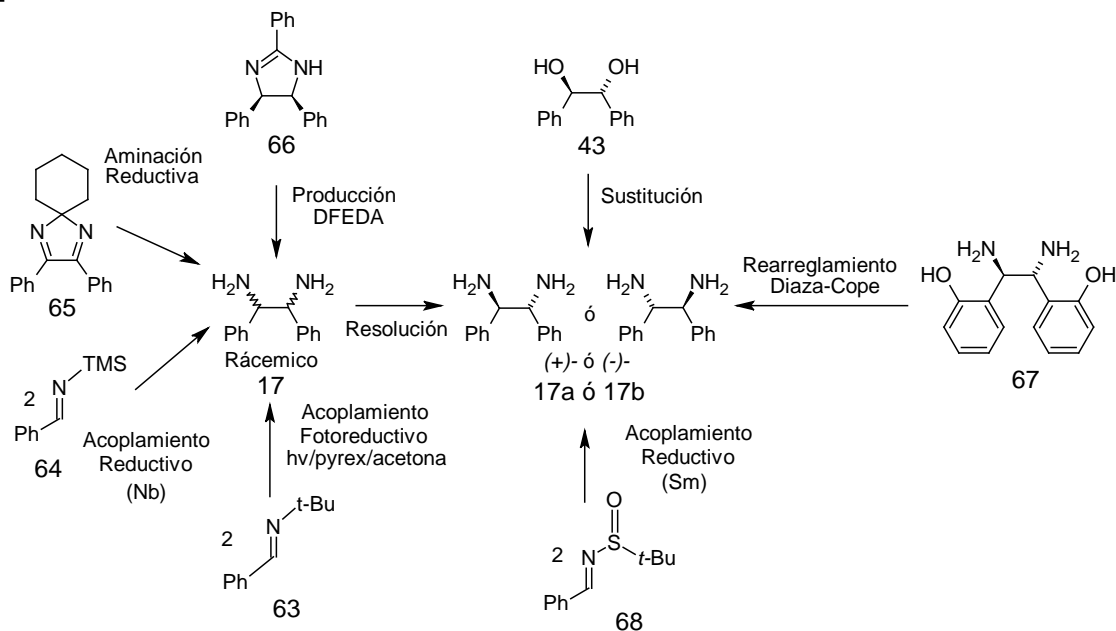


Esquema 4. Reacciones enantioselectivas catalizadas por derivados de DFEDA. (Continuación)

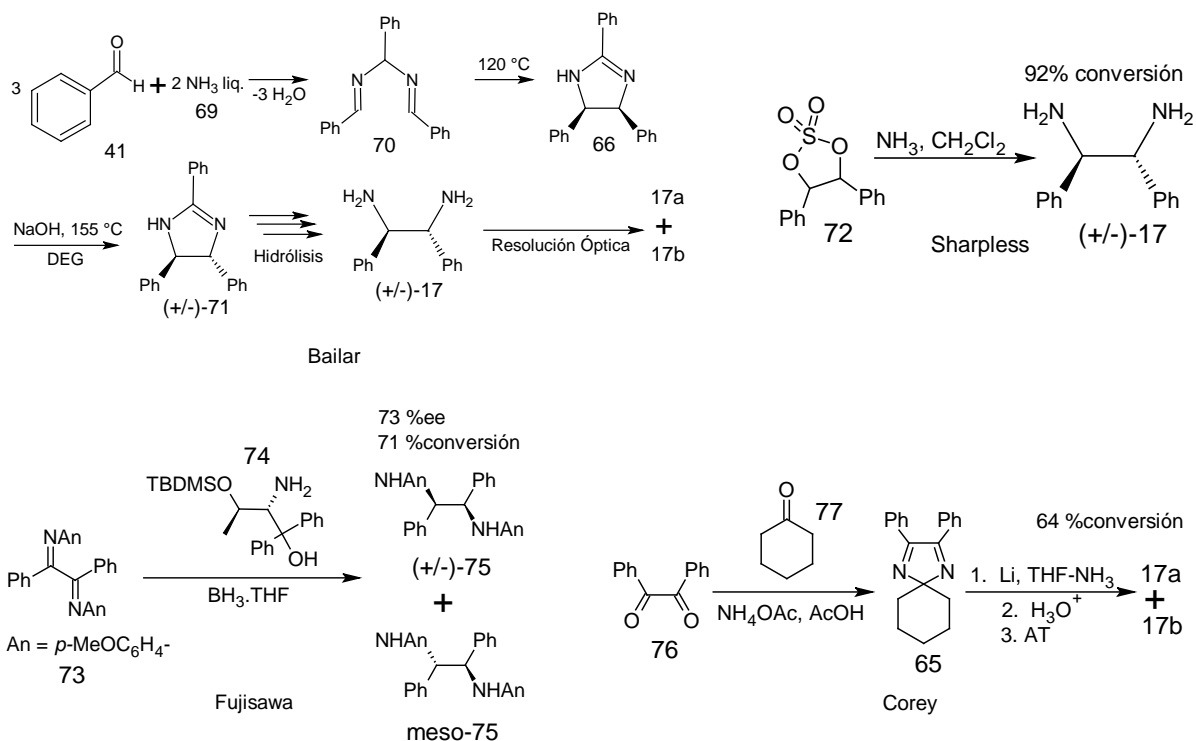
2.4.2. MÉTODOS DE SÍNTESIS DE DIAMINAS VECINALES

La prevalencia de las diaminas vecinales en las estructuras de catalizadores y compuestos bioactivos, ha llevado al desarrollo de docenas de métodos para la síntesis de dichas diaminas. Algunas de las rutas más prácticas de la síntesis de diaminas con simetría C_2 se muestran en el esquema 5. Existe un considerable interés en el desarrollo de síntesis de diaminas vecinales que son amplias en alcance. A menudo es difícil o tedioso para hacer diaminas vecinales enantioméricamente puras en gran escala. Por otra parte, la producción eficiente de DFEDA ha contribuido indudablemente al crecimiento explosivo en el campo. [52]

Dos de los métodos más comúnmente utilizados para sintetizar diaminas racémicas son la aminación reductiva de benzilo y el acoplamiento reductivo de iminas, siendo este último el más empleado por diversos investigadores. [53] Bailar en 1959 sintetizó la DFEDA en su forma racémica a partir de **41** y **69**, donde posteriormente por acoplamiento reductivo de **70** y posterior hidrólisis del compuesto **71** (formado a partir de **66**) se llega a la formación de las diaminas vecinales. [54] En el año de 1995 para la preparación de diaminas quirales se emplearon diferentes métodos, donde Sharpless *et al.* realizaron desplazamiento de sulfato por nucleófilos aminos en compuestos de ciclisulfatos **72**, [55] Fujisawa logró reducir 1,2-diiminas **73** reacción catalizada por oxazaborolidina **74**, [56] y Corey redujo benzilos **76** por aminación reductiva del intermediario **65** (ver esquema 6). [57]



Esquema 5. Rutas sintéticas de diaminas vecinales.

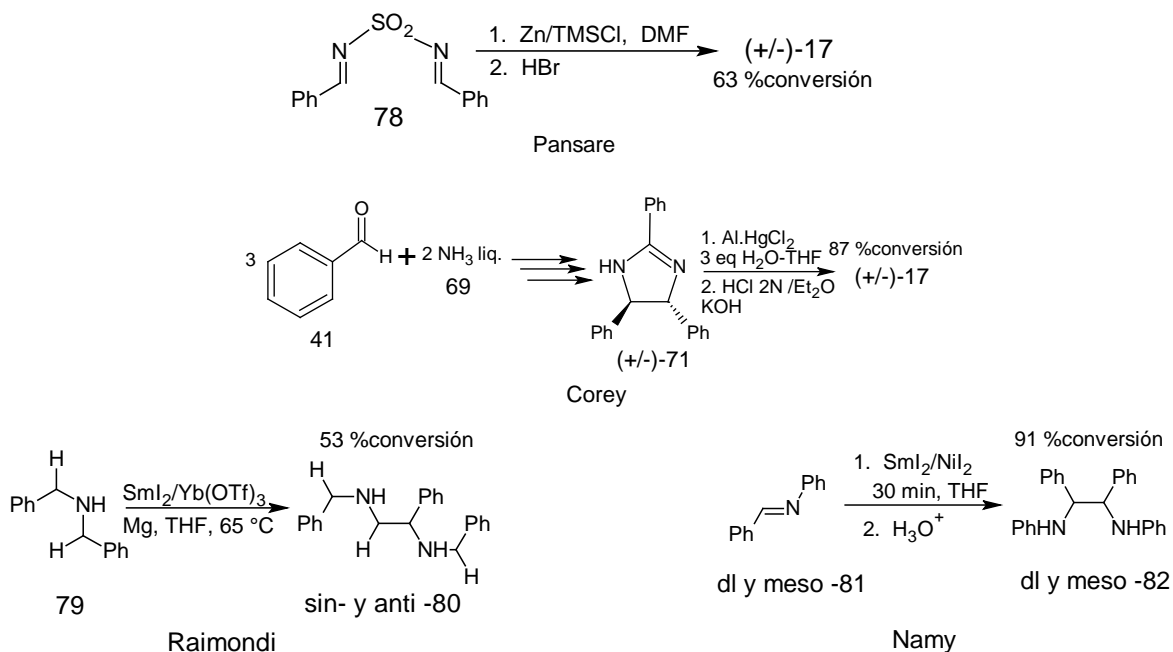


Esquema 6. Síntesis de DFEDA y derivados según Bailar, Sharpless, Fujisawa y Corey.

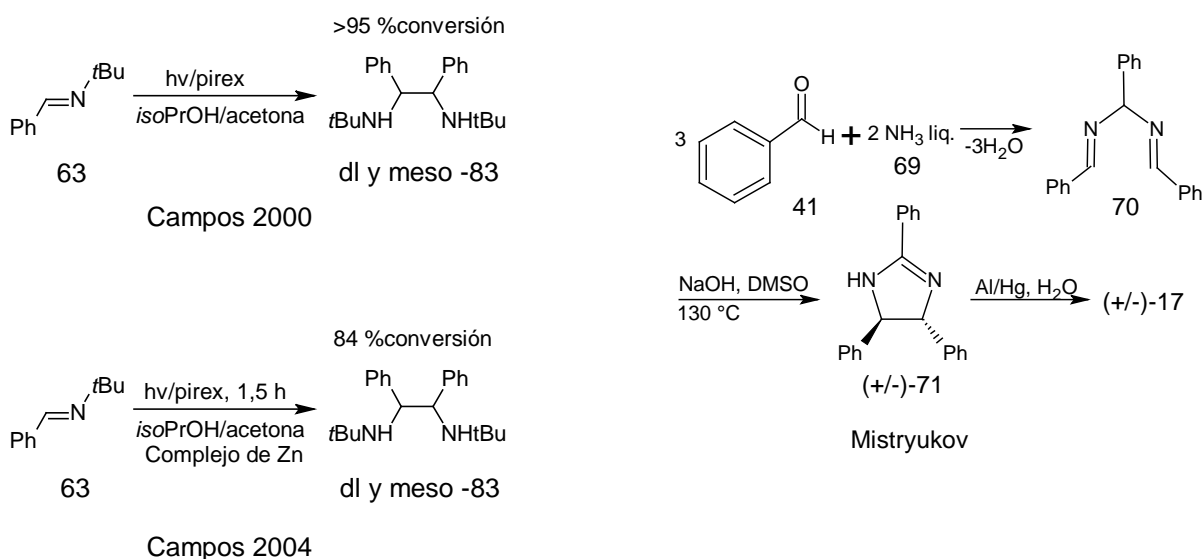
En 1996 Pansare y colaboradores sintetizaron diaminas racémicas vía acoplamiento reductivo intramolecular de sulfamidas **78**, [58] mientras que en 1997 Corey sintetizó la diamina **17** a partir de **41** y **69**, donde finalmente la reducción de **71** (formada a través del proceso), se logra con una amalgama de aluminio, [34] Raimondi en 1998 por medio de acoplamiento diastereoselectivo de aldiminas **79** catalizada por combinación de SmI_2 , $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ y magnesio metálico, logró la síntesis de diaminas quirales **80**, [59] por el contrario Namy en 1999, sintetizó diaminas **82** por heteroacoplamiento de aldiminas **81** catalizada por combinación de SmI_2 y NiI_2 , siendo éste, mucho más eficiente que el método empleado por Raimondi (ver esquema 7) . [60]

Campos y colaboradores en el año 2000 sintetizaron diaminas vecinales **83** mediante acoplamiento fotoreductivo de aldiiminas **63**, utilizando acetona como sensibilizador, [2] en el 2002 Mistryukov a diferencia de Corey, sintetizó *in situ* la diamina **17** a partir de **41** y **69** utilizando también amalgama de aluminio para reducir la imidazolina **5** formada, [61] Campos en el 2004 a diferencia del año 2000, sintetizó también las diaminas **83**, a partir de **63** utilizando como catalizador un complejo de zinc obteniendo bajos porcentajes de rendimientos con respecto a la otra investigación, [6] Martínez en el 2005, por la

importancia que tienen las diaminas vecinales, hace un estudio a fondo de su síntesis mediante acoplamiento fotoreductivo de aldiiminas (ver esquema 8). [62]

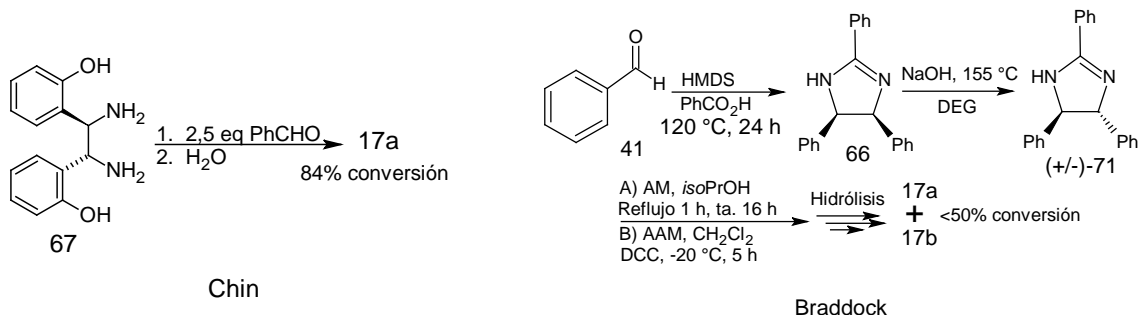


Esquema 7. Síntesis de DFEDA y derivados, según Pansare, Corey, Raimondi y Namy



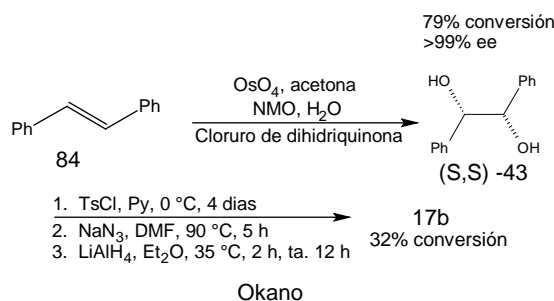
Esquema 8. Síntesis de DFEDA y derivados, según Campos y Mistryukov.

Braddock *et al.*, en el año 2006, sintetizan las diaminas **17a** y **17b** mediante acoplamiento reductivo de iminas *in situ*, obteniendo una mezcla racémica de **71**, la cual es separada por resolución óptica mediante agentes de resolución mostrado en el esquema 9 como A y B, [63, 64] en el 2008, Chin et al sintetizó las diaminas vecinales por resonancia asistida utilizando diamina madre (OHDFEDA) **67**, reacción dirigida por reordenamiento Cope-Diaza. [53]



Esquema 9. Síntesis de DFEDA según Braddock y Chin.

La síntesis de la diamina **17b** también se puede realizar mediante intercambio de grupo funcional a partir de **43**, por medio de tres reacciones consecutivas como son tosilación, azidación y reducción, obteniendo alto exceso enantiomérico de la diamina pero con bajo rendimiento. La síntesis del diol **43** se puede lograr de diversas formas, las cuales se centran en síntesis asimétricas, muchas de estas reacciones requieren de condiciones especiales además de catalizadores que son tóxicos como es el caso de la dihidroxilación asimétrica de Sharpless que necesita tetraóxido de osmio como catalizador además de Cinchona, el cual es un ligando muy caro por ser quiral. Okano en el 2011, realizó un review de las distintas formas de síntesis asimétrica de **43** en las cuales se encuentra dihidroxilación asimétrica de *trans*-estilbeno **84**, reducción asimétrica de **76** y benzoina ya sea, por medio bio o quimio-catalítico, apertura de anillo de óxido de estilbeno y acoplamiento pinacol asimétrico de **41** (ver esquema 10). [65]



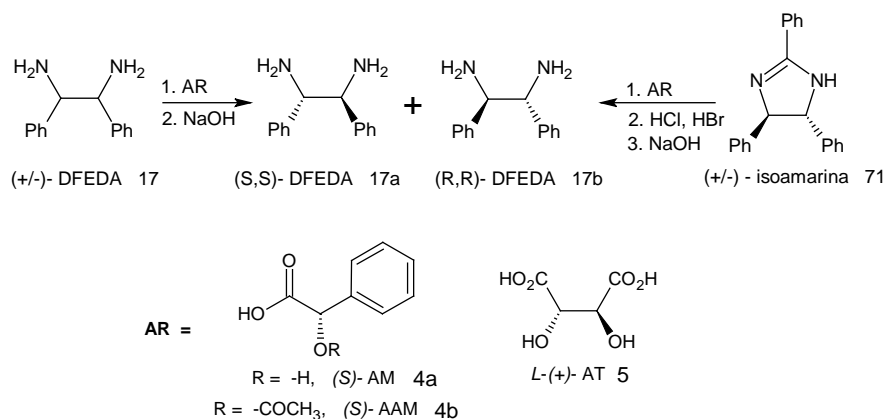
Esquema 10. Síntesis de DFEDA según Okano.

2.5. SÍNTESIS DE DIAMINAS POR ACOPLAMIENTO REDUCTIVO DE IMINAS

Las diaminas vecinales pueden prepararse a partir del acoplamiento reductivo de iminas, El acoplamiento reductivo intermolecular de sustratos C=N representa un átomo de construcción eficiente de un enlace C-C inherentemente funcionalizado, para la síntesis de diaminas vecinales, a partir de materiales de partida relativamente simples. [66] El acoplamiento reductivo es generalmente pensado para proceder por transferencia de un solo electrón (SET) a partir de un reactivo reductor para el componente C=N, formando un anión radical. Para este tipo de reacciones se ha utilizado catalizadores de Niobio, Níquel, Iterbio y Samario. En general, el acoplamiento reductivo intermolecular de iminas, da una mezcla de meso y *dl* diaminas. [4] Por otro lado se han utilizado bases fuertes como NaOH, KOH y *tert*-BuOK para producir la ciclación de diiminas intramoleculares por termólisis; siendo una reacción muy regioselectiva ya que puede producir sólo la forma meso o cada uno de los enantiómeros solo cambiando la temperatura. [61, 67]

2.6. RESOLUCIÓN DE DFEDA

Generalmente para la obtención de diaminas enantioméricamente puras como la DFEDA **17a** y **17b** se utilizan hidroxiácidos quirales como agentes de resolución tales como el **4a**, **4b** y **5** (ver esquema 11), siendo este último uno de los compuestos que mayores inconvenientes ha presentado ya que la separación de los diastereoisómeros no se logra totalmente, sin embargo con los dos primeros se han obtenido buenos resultados. Saigo en 1985, llevó a cabo la resolución óptica del compuesto **17**, utilizando el compuesto **4a** en relación 1:2, [14] en cambio recientemente Braddock sintetiza las DFEDA enantiopuras **17a** y **17b** a partir de la resolución de **71** y su posterior hidrólisis, utilizando para resolver, **4a** [67] y **4b** [61] en relación 1:1.



Esquema 11. Estrategia seguida en la resolución de racémicos.

2.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Uno de los aspectos más importantes en el tratamiento de datos es el contraste de la hipótesis nula: H_0 con la hipótesis alternativa: H_1 , el cual se puede realizar con el programa estadístico llamado INFOSTAT versión 2013. Para el contraste de hipótesis, como es el caso de variables cuantitativas, se cuenta con dos tipos de análisis: los paramétricos, que proceden de un modelo que obliga a cumplir ciertos supuestos acerca de los parámetros y la distribución de probabilidad de la población de la que se extrajo la muestra (prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas) y los no paramétricos, que son menos restrictivos para poder ser aplicados. [68] Antes de utilizar las pruebas paramétricas o no paramétricas, es indispensable comprobar ciertos supuestos para su aplicación, descritos brevemente a continuación:

2.7.1. SUPUESTOS.

2.7.1.1. Distribución Normal de las Poblaciones (Prueba de Shapiro-Wilk)

Para la comprobación del supuesto de normalidad, se emplea la prueba de Shapiro-Wilk para un número menor de 50 datos, de la cual se puede definir si es posible trabajar con el valor promedio de los datos obtenidos ó si por el contrario, no es posible y se debe utilizar otro tipo de variables. Así, si una muestra aleatoria que procede de cierta distribución desconocida y denotada por $F_{(x)}$, se le va a verificar si los datos fueron generados por un proceso normal, es necesario plantear las siguientes hipótesis estadísticas: [68]

Nula H_0 : “El conjunto de datos sigue una distribución normal”.

Alternativa H_1 : “El conjunto de datos no sigue una distribución normal”.

Seguidamente se calcula el estadístico W (contraste de normalidad), prueba de Shapiro–Wilk, para ver la normalidad de los datos, y si éste (teniendo en cuenta el número de muestras y la tabla de valores críticos ya tabulados) es menor que el $W_{(1-\alpha)}$ tabulado, se acepta que los datos proceden de una distribución normal con un nivel de significancia mayor de 0,05.

2.7.1.2. Homogeneidad de Varianzas (Grafica de Predicho Vs Residuo)

Para verificar el supuesto de homogeneidad de varianzas (homoscedasticidad) se pueden graficar residuales versus valores predichos, permitiendo visualizar si las varianzas son homogéneas o no. Si las varianzas no son homogéneas el grafico muestra típicamente una estructura de “embudo” a medida que los valores predichos son mayores, los residuos varían mas. En la figura 8 se observan varianzas homogéneas y heterogéneas.

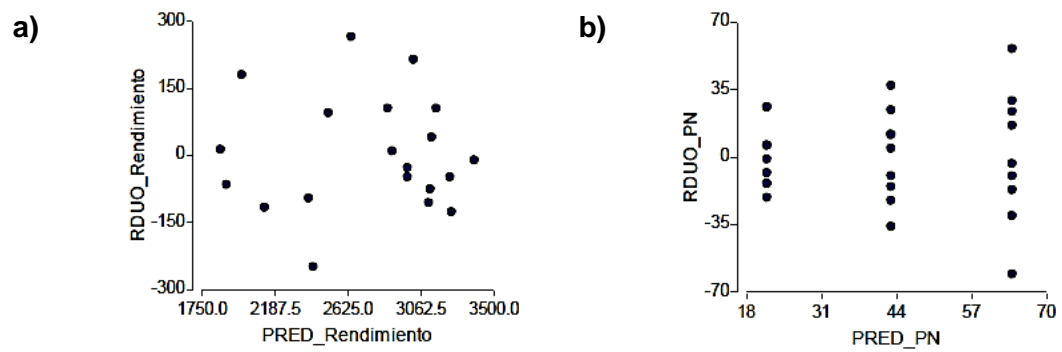
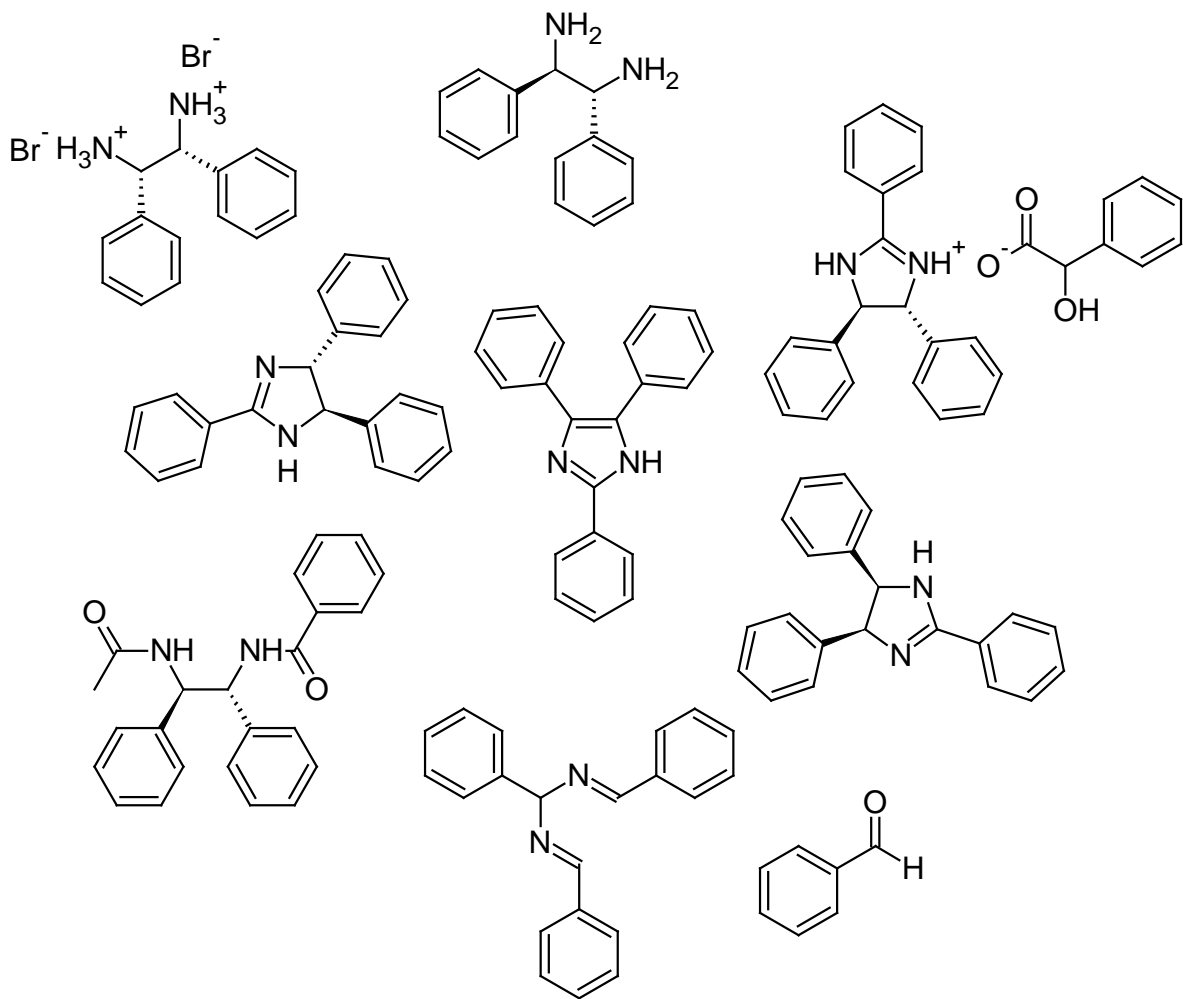


Figura 8. Ejemplos de graficas de varianzas de residuos versus predicho: a) varianza homogénea y b) varianza heterogénea.



SECCIÓN EXPERIMENTAL

CAPÍTULO 3

3.1. DISOLVENTES Y REACTIVOS

La mayoría de los reactivos y disolventes empleados tanto para la síntesis de los compuestos como para las purificaciones y los análisis de los mismos, fueron de alta pureza. El reactivo bromuro de potasio para espectroscopía, acetato de sodio dihidratado ACS, yoduro de potasio analítico, cloruro de cobre (I) 99%, bicarbonato de sodio 98%, benzofenona 99.5%, sodio metálico, hidróxido de sodio 99%, dinitrofenilhidrazina (DNFH) 99.5%, hidróxido de potasio 85%, terc butóxido de potasio 99.9%, cloruro de amonio 99.5% y sílica gel tipo 60 (70- 230 mesh) fueron comprados a Merck (Darmstadt, Alemania). El reactivo ácido acético glacial, ácido clorhídrico AR 37%, ácido bromhídrico 48%, (R)- y (S)-ácido mandélico 99%, e hidróxido de amonio fueron comprados a Sigma-Aldrich Chemie (Steinheim, Alemania). El reactivo cloroformo 99%, diclorometano 99.5% y acetonitrilo grado HPLC fueron comprados a Riedel-de-Haën (Hanover, Alemania). El reactivo tolueno 99%, n-butanol 99.9%, propanol >99%, isooctano 99.9%, piridina 99%, anhídrido acético 99.9%, tetrahidrofurano para análisis (THF) y peróxido de hidrógeno 40% fueron comprados a J. T. Baker (Finechem, Moscú). El reactivo dimetilsulfóxido (DMSO) 99.5%, acetona grado HPLC, hexano para CG y éter etílico fueron comprados a Fluka Chemie (Buchs, Suiza). El reactivo acetonitrilo grado HPLC, metanol 99.9%, acetato de etilo 99.8%, isopropanol para análisis y alcohol etílico absoluto anhidro 99.9% fueron comprados a Fischer Scientific (Waltham, USA). Las muestras para RMN fueron disueltas en metanol- d_4 y cloroformo- d con una pureza isotópica 99.5% de átomos de Deuterio (Aldrich, Milwaukee, USA).

3.2. CARACTERIZACIÓN FÍSICA

Los compuestos obtenidos en cada una de las síntesis, se caracterizaron inicialmente mediante sus propiedades físicas: color y solubilidad, para esta última se utilizaron distintos disolventes como son: isooctano, hexano, éter etílico, tolueno, diclorometano, cloroformo, tetrahidrofurano, acetato de etilo, isopropanol, etanol, acetona, acetonitrilo, metanol y agua.

3.3. INSTRUMENTACIÓN

3.3.1. Punto de fusión

Los puntos de fusión fueron determinados en grados Celsius ($^{\circ}\text{C}$) y no fueron corregidos, se usaron tubos capilares abiertos en un fusiómetro digital OptiMelt modelo MPA100 (Stanford Research System, Inc., Sunnyvale California, USA). La medida del punto de fusión, fue realizada por triplicado en un rango de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, de acuerdo a lo reportado en la literatura, con una tasa de cambio de temperatura de $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$. El rango promedio obtenido de estos, fue arrojado por el equipo y finalmente fueron comparados con la

literatura. El análisis fue realizado en los laboratorios de docencia de la Universidad del Cauca.

3.3.2. Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR)

Los espectros de infrarrojo de los compuestos sintetizados se realizó en estado sólido, sobre pastilla de KBr, en una concentración de aproximadamente 10%, la lectura se realizó en la ventana espectral comprendida entre 4000 y 400 cm^{-1} . El KBr se secó durante 12 h a 105 °C, después de lo cual se mantuvo en desecador con CaCl_2 . Para el análisis, se homogenizó la muestra solida con bromuro de potasio, en un mortero de ágata, y se sometió a presión mediante un troquel de acero inoxidable-318 hasta formar una pastilla translúcida. La muestra fue analizada con un espectrofotómetro FTIR Nicolet Modelo IR 200 (Thermo Electron, Massachusetts, USA), provisto del software Ezominic 33. En los espectros obtenidos, se indican las absorciones más características y los valores de transmitancia se expresan en cm^{-1} . Dicho análisis fue realizado en el Laboratorio de Catálisis de la Universidad del Cauca.

3.3.3. Espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN)

Los espectros de resonancia magnética nuclear, tanto de protón como de carbono, se tomaron en espectrómetros Bruker ACF-90 (^1H a 250,13 MHz y ^{13}C a 62,9 MHz, Bruker Optik GmbH, Ettlingen, Alemania) a temperatura ambiente, los datos obtenidos por el equipo fueron desarrollados con el software Mestrenova. En el análisis se utilizaron como disolventes deuterados, Cloroformo y metanol (CDCl_3 y CD_3OD , respectivamente), además como referencia interna para el primer disolvente, tetrametilsilano (TMS). Los valores de los desplazamientos químicos se describen en la escala delta (δ) y están expresados en ppm, tomando como referencia la señal del disolvente empleado (CDCl_3 , $\delta = 7,26$ para $\text{RMN-}^1\text{H}$; 77 para $\text{RMN-}^{13}\text{C}$ y CD_3OD , $\delta = 3,31$ y 4,79 para $\text{RMN-}^1\text{H}$, 49 para $\text{RMN-}^{13}\text{C}$). Las constante de acoplamiento (J), se expresan en hertzios (Hz). Las abreviaturas empleadas para indicar la multiplicidad de las señales en los espectros protónicos, son las siguientes: s (singulete), sa (señal ancha), d (doblete) y m (multiplete), en estos también se indican, el número de protones correspondientes a cada señal por medio de la integración de señales. Además de las técnicas $\text{RMN-}^1\text{H}$ y $\text{RMN-}^{13}\text{C}$, se realizaron también los experimentos DEPT 135 y HMBC. Dicho análisis fue realizado en la Universidad del Valle.

3.3.4. Polarimetría

Las medidas de las rotaciones ópticas de los compuestos quirales, se realizaron en un polarímetro digital multiopción modelo P-2000 (Jasco, Madrid, España) con lámpara de sodio (línea D, $\lambda = 589,59$ nm) y a temperatura ambiente (25 °C), la celda utilizada tiene un camino de paso óptico de 1 dm, perteneciente a la Universidad del Valle. Los poderes

rotatorios específicos fueron descritos como $([\alpha]_D^{25})$, indicándose en cada caso el disolvente utilizado, así como la concentración (c en g/100 mL).

3.3.5. Espectroscopia Ultravioleta-visible (UV-vis)

Los espectros de los compuestos sintetizados se determinaron en solución de cloroformo o etanol según su solubilidad, en el rango de longitudes de onda de 200 a 450 nm a una concentración de 1000 ppm, que corresponde a aproximadamente 3 mM. Para dicho análisis, se utilizó un espectrofotómetro UV-vis modelo Genesys 6 (Thermo, Waltham, USA), perteneciente a la Unidad de Análisis Industriales de la Universidad del Cauca.

3.3.6. Calorimetría de barrido diferencial (DSC)

Para determinar la pureza de los compuestos sintetizados, estos fueron sometidos a un barrido térmico doble, en un equipo de Calorimetría de Barrido Diferencial Q20 V24.8 (TA Instruments, Wilmington, USA); perteneciente al grupo de Reología de la Universidad del Cauca. Para esto se tomaron 5 mg del compuesto sintetizado y se depositaron en una cápsula de aluminio, posteriormente la cápsula fue sellada a presión utilizando una prensa. Una vez verificada la calidad del sellado en la capsula, esta fue introducida en el equipo para someterla al ciclo de enfriamiento-calentamiento-enfriamiento entre $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$. Durante el transcurso del tiempo de ciclo, el equipo genera una gráfica de análisis térmico en donde se refleja la absorción o liberación de energía plasmada en picos endotérmicos o exotérmicos respectivamente. Posteriormente y empleando el software para análisis de termogramas TA Universal Analysis 2000 V5.5.3, se llevaron los análisis respectivos.

3.4. CROMATOGRAFÍA

3.4.1. Cromatografía en Capa Fina (CCF)

Durante cada una de las reacciones, se llevó a cabo el monitoreo, utilizando la técnica de cromatografía en capa fina (CCF), empleando gel de sílice (fase estacionaria) de tipo 60 con indicador F_{254} , de un espesor de capa de 0.25 mm, soportadas sobre placas de aluminio de 20 x 66 mm (Merck). Estas fueron activadas por calentamiento en un horno a $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 h, antes de su uso. La visualización se realizó con una lámpara manual UV-Spectroline serie E con luz UV (Spectronics Corporation, New York, USA), a una longitud de onda corta ($\lambda = 254\text{ nm}$). Como eluyentes se utilizaron mezclas entre acetato de etilo-isooctano, acetona-isooctano y diclorometano-hidróxido de amonio; de los cuales fueron adicionados 2 mL de la mezcla a una cámara cromatográfica artesanal de 50 x 130 mm.

3.4.2. Cromatografía *flash*.

Para la realización de la cromatografía por columna, se utilizó sílica gel tipo 60 con un tamaño de partícula de 70-200 micrones (Merck), activada a una temperatura de $105\text{ }^{\circ}\text{C}$

por 12 h antes de su uso. La columna de vidrio (2 x 50 cm) se empacó con sílica gel húmedo, utilizando 100 mL de un disolvente apolar para formar la papilla. Una vez empaqueta la columna, se aplicó presión con aire para compactar totalmente la sílica. Las dimensiones de la fase estacionaria utilizada, para la separación de las muestras fueron de 2 x 30 cm. La muestra fue soportada sobre sílica gel, para facilitar la separación. Para realizar las eluciones se utilizaron 100 mL por mezcla de eluyente. La relación en masa entre la muestra y la fase estacionaria fue de 1/50. Una vez llevado a cabo la separación de las muestras, se realizaron lavados de la fase estacionaria, utilizando 100 mL de etanol y 100 mL de isooctano de forma consecutiva.

3.5. CRISTALIZACIÓN

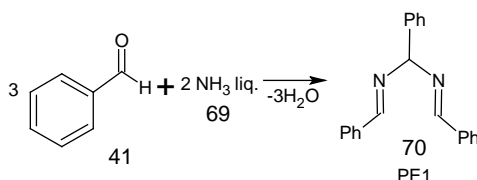
Las cristalizaciones fueron hechas dentro de cristalizadores, utilizando disolventes apropiados con respecto a la solubilidad de cada uno de los compuestos de síntesis. Se llevó hasta punto de ebullición 30 mL del disolvente, contenido en un beaker de 100 mL y se adicionó lentamente el compuesto de síntesis, hasta formar una solución saturada. Una vez llegado este punto se vertía toda la solución al cristizador y se dejaba que llegara hasta temperatura ambiente. La solución se mantenía sellada y guardada el tiempo necesario entre 1 y 12 h (según el compuesto), hasta que cristalizara por completo. Pasado este tiempo se filtran los cristales, se lavan con el mismo solvente en frío y se secan en horno. El proceso se hizo tres veces de forma consecutiva.

3.6. PROCESO DE SÍNTESIS DE 1,2- DFEDA QUIRALES

Para la síntesis de las diaminas quirales, a partir de benzaldehído, fue necesario realizar varias reacciones consecutivas, las cuales para su fácil comprensión fueron divididas en 5 etapas. Donde el producto formado en cada etapa (PE) fueron codificados como: PE1, PE2, PE3, PE4 y PE5.

3.6.1. ETAPA 1

3.6.1.1. Síntesis de PE1



Esquema 12. Reacción para la síntesis de “hidrobenzamida” (PE1).

Se preparó el PE1, siguiendo la metodología propuesta por Kaboudin, con modificaciones, donde se procedió a mezclar en una relación 1:2 v/v, benzaldehído (previamente destilado) y NH_4OH al 30% respectivamente, en un balón de tres bocas que contenía previamente un alcohol saturado como disolvente, a una relación igual del hidróxido de amonio. Se procedió a tapar el balón y se agitó constantemente la solución resultante por un determinado tiempo. Luego, el precipitado formado, se separó mediante filtración y se lavó con suficiente agua a $50\text{ }^\circ\text{C}$ ($\approx 1\text{ L}$). El producto obtenido se recristalizó en ciclohexano [67, 68] y posteriormente se secó en estufa a una temperatura de $75\text{ }^\circ\text{C}$ por 12 h. El PE1 se sintetizó en ausencia y presencia de buffer variando tanto disolvente como tiempo, en el primer caso se utilizó como disolventes MeOH, EtOH, PrOH, isoPrOH y BuOH y tiempo de 9, 24 y 36 h, en el segundo caso se utilizó como disolventes EtOH, isoPrOH y PrOH a los mismos tiempos anteriores. Para la formación del buffer se adicionó NH_4Cl a la mezcla que contenía hidróxido de amonio en una relación, 0.1:4 p/v, respectivamente. La síntesis de PE1, se hizo frente a una contra muestra que no contenía, ni disolvente ni NH_4Cl , a un tiempo de 36 h. Cada experimento se realizó por triplicado, para un total de 75 experimentos (ver condiciones de variables en la tabla 1).

Tabla 1. Condiciones de variables para la síntesis de PE1.

DISOLVENTE	BUFFER		TIEMPO (h)		
	No	Si	9	24	36
Sin disolvente	x	---	---	---	x
Metanol (MeOH)	x	---	x	x	x
Etanol (EtOH)	x	x	x	x	x
Propanol (PrOH)	x	x	x	x	x
IsoPropanol (isoPrOH)	x	x	x	x	x
Butanol (BuOH)	x	---	x	x	x

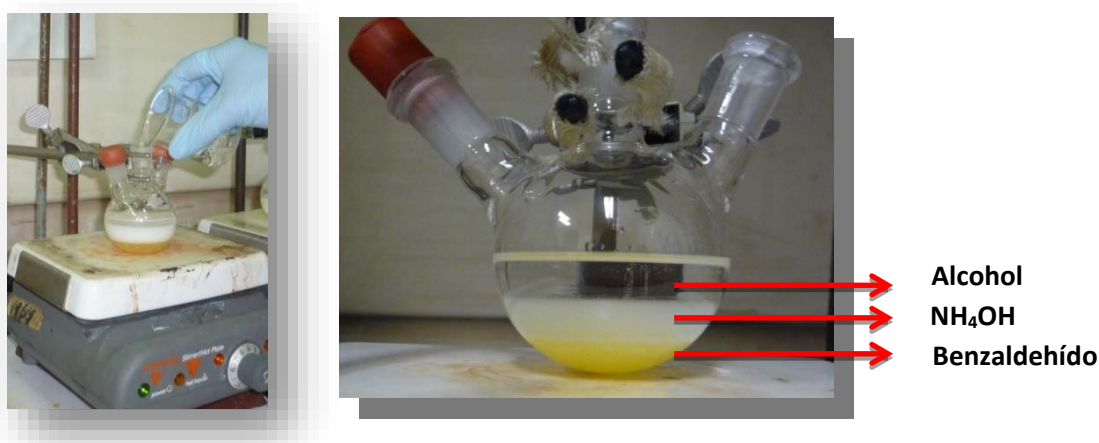


Figura 9. Montaje realizado para la síntesis de PE1

3.6.1.2. Monitoreo por CCF

La reacción fue monitoreada por CCF, tomando una alícuota de la reacción cada 3 h hasta terminar el tiempo de reacción de cada experimento, desarrollando la muestra con una mezcla de acetato de etilo/isooctano (1/9) como eluyente. La placa obtenida se introdujo dentro de un beaker de 100 mL que contenía una solución de DNFH al 1% preparada en HCl 2N, se retiró de forma rápida, se eliminó el exceso de solución, con papel absorbente y se dejó secar totalmente al ambiente, esto con el fin de revelar la desaparición del benzaldehído. Las alícuotas tomadas fueron comparadas con una solución de benzaldehído disuelto en el alcohol saturado respectivo como patrón y se analizó de manera visual, como desaparición del compuesto de partida debido a la precipitación del producto formado.

3.6.1.3. Diferenciación entre benzaldehído y PE1

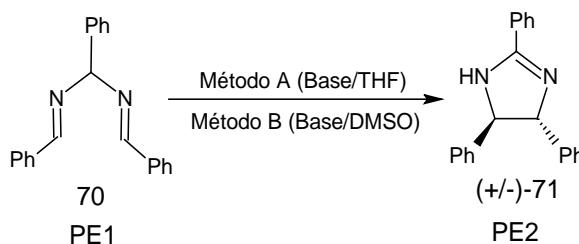
Una vez obtenido el compuesto de síntesis (PE1) recristalizado, se diluyó en tres disolventes diferentes (EtOH, THF y CHCl_3), preparando una solución al 5% y se comparó frente a soluciones de benzaldehído en las mismas condiciones. Se aplicaron las alícuotas de cada uno en placas diferentes y se realizó la CCF como se encuentra descrito en el apartado 3.6.1.2.

3.6.1.4. Caracterización del producto de la etapa 1 (PE1)

El PE1 recristalizado, se almacenó en un vial y se guardó dentro de un desecador con CaCl_2 ; se llevó a cabo la caracterización física (punto de fusión, DSC, color), y espectroscópica (IR, UV-vis)

3.6.2. ETAPA 2

3.6.2.1. Síntesis de PE2



Esquema 13. Reacción para la síntesis de isoamarina (PE2).

La síntesis de PE2 a partir de PE1 se llevó a cabo mediante dos métodos diferentes, usando como disolventes THF y DMSO, dicha síntesis se encuentra descritas a continuación:

3.6.2.1.1. Método A

En éste, se utilizó la metodología seguida por Proskurnina, con modificaciones, donde se adicionó 17 mL de THF seco con ayuda de una jeringa de vidrio, en un balón de tres bocas que contenía previamente una mezcla de 6.7 mmol de PE1 y 3.1 mmol de una base fuerte (NaOH, KOH y terc-BuOK), en un sistema cerrado en condiciones inerte. La solución resultante se agitó constantemente durante 3 h a reflujo. Después de este tiempo, se adicionaron a la solución anterior 50 mL de agua fría, el precipitado formado, se separó mediante filtración y se lavó posteriormente con agua caliente (94 °C, ≈1 L). [67] El producto obtenido se purificó por columna cromatográfica, se recrystalizó en acetato de etilo y se secó en horno a 100 °C. Cada experimento fue realizado por triplicado para un total de 9 experimentos. Las reacciones fueron monitoreadas por CCF.

3.6.2.1.2. Método B

En éste, se utilizó la metodología seguida por Mistryukov, con modificaciones, donde se adicionó 5 mL de DMSO seco con ayuda de una jeringa de vidrio, en un balón de tres bocas que contenía previamente una mezcla de 6.7 mmol de PE1 y 0.9 mmol de una base fuerte (NaOH, KOH y terc-BuOK), en un sistema cerrado en condiciones inerte. Se mezcló vigorosamente, por 5 min la mezcla resultante hasta homogenización. Inicialmente se calentó la solución a 50 °C con agitación constante durante 2 h. Después de este tiempo, se aumentó la temperatura a 130 °C por un tiempo de 4 h. Luego, se llevó la temperatura exactamente a 80 °C y se trató sucesivamente con un alcohol saturado (6 mL) y con una solución acuosa de NH₄OH concentrado (6 mL, adicionado lentamente). El precipitado formado, se separó mediante filtración y se lavó con agua caliente (94 °C, ≈1 L), [61] éste fue purificado por columna cromatográfica, se recrystalizó en acetato de etilo y se secó en horno a 100 °C. Como por CCF no fue posible continuar el monitoreo de la reacción después de las 2 h a 50 °C, se realizaron diferentes experimentos cambiando tanto el tiempo de reacción (2, 4 y 6 h), como la temperatura de calentamiento del mismo (110, 130 y 150 °C), además se realizó una reacción usando como base KOH y calentamiento directo a 130 °C por 4 h. Cada experimento fue realizado por triplicado para un total de 24 experimentos.

Tabla 2. Condiciones de variables para la síntesis de PE2 por el método A

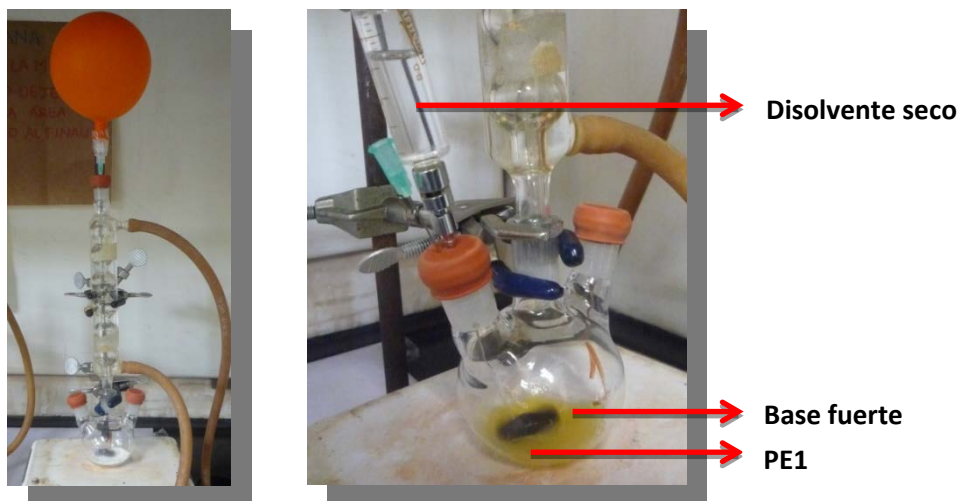
DISOLVENTE THF	
BASE (0.18M)	TIEMPO A 63 °C (h)*
KOH	3
NaOH	3
Terc-BuOK	3

* monitoreado por CCF

Tabla 3. Condiciones de variables para la síntesis de PE2 por el método B

DISOLVENTE DMSO				
BASE (0.18 M)	1° TIEMPO A 50 °C (h)*	2° TIEMPO (h)		
		110 °C	130 °C	150 °C
KOH	2	---	4	---
NaOH	2	---	4	---
Terc-BuOK	2	---	4	---
KOH	2	4	---	4
KOH	2	---	2	---
KOH	2	---	6	---
KOH	---	---	4	---

* monitoreado por CCF

**Figura 10.** Montaje realizado para la síntesis de PE2.**3.6.2.2. Monitoreo por CCF**

Las reacciones, tanto por el método A como B fueron monitoreadas por CCF, en ensayos preliminares, tomando una alícuota de la reacción cada 30 min hasta terminar el tiempo de reacción. Para los experimentos del método A se monitoreo durante 3 h y para B solo fue posible hasta las 2 primeras horas a 50 °C, tiempo en el cual desaparecía por completo el compuesto de partida (PE1). Se corrieron las muestras con dos mezclas de eluyentes diferentes como son: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{NH}_4\text{OH}$ 30% (9/1) y acetona/isooctano (8,5/1,5). Las alícuotas tomadas fueron comparadas con una solución de PE1 disuelto en el disolvente seco respectivo, como patrón y se analizó con luz UV. Las señales observadas en PE2, se representaron como PE2a, PE2b y PE2c, en orden creciente a su factor de reparto (R_f).

3.6.2.3. Separación y purificación de PE2

Para el compuesto de síntesis PE2, fue necesario realizar, separación y purificación, utilizando dos métodos distintos: cromatografía por columna y cristalización selectiva, las cuales se describen a continuación:

3.6.2.3.1. Cromatografía flash

A una muestra de 0.5 g de una mezcla impura del compuesto sintetizado en la etapa 2 (PE2), se le agregó 0.5 g de sílica gel, mezclándose hasta homogenización completa. La muestra soportada en sílica fue colocada sobre una columna de vidrio (forrada en papel aluminio), empacada con sílica humedecida con isooctano (papilla). La elución de la columna se hizo por gradiente con una mezcla de acetona-isooctano, aumentando gradualmente la polaridad. Recogiéndose un total de 20 fracciones de 5 mL. La separación fue seguida con cromatografía de capa fina (CCF) al realizar comparaciones con el compuesto obtenido en la etapa 2 como patrón, disuelto en cloroformo, usando como eluyente 2 mL de una mezcla de $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-NH}_4\text{OH}$ (9:1) y como revelador luz UV. Las fracciones recogidas fueron agrupadas de acuerdo a las separaciones, obteniendo al final solamente tres agrupaciones y representadas como PE2a, PE2b y PE2c. Las soluciones se concentraron a presión reducida en un Rota-Evaporador modelo Laborota 4001 (Heidolph, Karlsruhe, Alemania). Los sólidos obtenidos fueron recogidos, y posteriormente recristalizados. PE2a (acetato de etilo/ hexano, 1/6), PE2b (acetato de etilo puro) y PE2c (acetato de etilo/ hexano, 1/1).

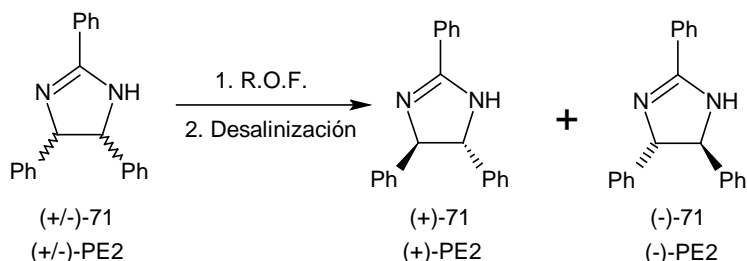
3.6.2.3.2. Cristalización selectiva

La separación de la mezcla impura de PE2 con PE2b como predominante se llevó a cabo de la siguiente manera: se adicionó lentamente 1.0 g de la mezcla de PE2 a 40 mL de acetato de etilo caliente, contenidos en un beaker de 200 mL y se cristalizó como se describió en la sección 3.5. Luego de 20 min el compuesto mayoritario empieza a cristalizarse y los demás compuestos quedan en la solución madre. Los cristales formados fueron recolectados y lavados con acetato de etilo. El procedimiento fue realizado tres veces para garantizar la pureza de PE2b. La reacción fue monitoreada por CCF (eluyente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{NH}_4\text{OH}$ 9/1 y revelador: luz UV).

3.6.2.4. Caracterización de los productos de la Etapa 2 (PE2a, PE2b y PE2c)

Una vez obtenido cada uno de los compuestos de la etapa 2 recristalizados, se llevó a cabo la caracterización física y espectroscópica de estos, de igual manera que en el apartado 3.6.1.4. Además se le realizó polarimetría a (\pm)-PE2b.

3.6.3. ETAPA 3



Esquema 14. Obtención de (+)- y (-)-isoamarina ((+)- y (-)-PE2) mediante R.O.F. y posterior desalinización.

En esta etapa se realizó la separación de los enantiómeros del compuesto mayoritario de la etapa 2 (PE2b), llevándose a cabo el proceso de resolución óptica fraccional (R.O.F.) o cristalización fraccional (C.F.), el cual se encuentra descrito en el apartado 3.6.3.1. Usándose como agente de resolución (A.R.) las dos formas enantioméricas del ácido mandélico (AM): R(-)-AM y S(+)-AM.

3.6.3.1. Resolución óptica fraccional de (±)-PE2b.

La síntesis de los mandelatos de (+)- y (-)-PE2b, se realizaron con dos métodos diferentes, en este apartado se detalla el primer método (ver esquema 15), que consta en realizar la resolución óptica, utilizando inicialmente S(+)-AM y luego R(-)-AM. En los dos métodos el procedimiento de reacción es el mismo, con la única variación del orden de adición del agente de resolución. Cada uno de estos procesos y la desalinización se hicieron por triplicado, obteniendo un total de 6 experimentos.

3.6.3.1.1. Obtención de (+)-PE3b ((+)-mandelato de PE2b)

Se pesaron en un balón fondo plano de 100 mL en una relación molar 1:1, 4.0 g de PE2b racémico y 2.0 g de S(+)-ácido mandélico, a esta mezcla sólida se le adicionó 40 mL de isopropanol llevándose posteriormente a reflujo, con agitación constante, por un tiempo de 1.5 horas (monitoreado por CCF). Una vez interrumpido el calentamiento y la agitación, se dejó enfriar la solución hasta temperatura ambiente. Los cristales blancos (formados a medida que se iba enfriando la solución y representados en el esquema 15 como pdo. 1), fueron recogidos por filtración, lavados y secados al vacío. Una vez seco este compuesto, se recrystalizó en isopropanol. Luego los cristales diastereoméricamente puros (pdo. 2), nuevamente se recogen por filtración, se lavan con isopropanol frío y se secan en horno a 100 °C durante 12 h. Los filtrados obtenidos después del reflujo y de la recrystalización (Fdo. 1 y 2, respectivamente), [66] fueron utilizados en el apartado 3.6.3.1.2.

3.6.3.1.2. Obtención de (-)-PE3b ((-)-mandelato de PE2b)

Los anteriores filtrados se mezclaron (≈ 60 mL) y se concentraron en el rotaevaporador, obteniendo 10 mL de un líquido viscoso. A esta mezcla viscosa, se la trató con una solución de NaOH al 4% (desalinización) y se le realizó extracción con diclorometano, ésta se lleva hasta sequedad en el rotaevaporador. El producto sólido, se recristalizó en acetato de etilo, se filtró, se lavó con el mismo disolvente pero en frío y se secó en horno a 100 °C por 12 h. Para la obtención de (-)-PE3b, se adicionó 20 mL de isopropanol, a una mezcla en relación equimolar de los cristales anteriores y de R-(-)-ácido mandélico, repitiendo el procedimiento del apartado 3.6.3.1.1, obteniendo finalmente el mandelato de (-)-PE2b (pdo. 4). Los filtrados 3 y 4 obtenidos en este proceso, fueron desechados.

Tabla 4. Datos de la síntesis de (+) y (-)-PE3b.

ADICIÓN DE AR*	MÉTODO	
	PRIMERO	SEGUNDO
1°	S-(+)-AM	R-(-)-AM
2°	R-(-)-AM	S-(+)-AM

* Los reflujos de las resoluciones ópticas fraccionales se llevaron a cabo por 1.5 h.

3.6.3.2. Monitoreo por CCF

Las reacciones de resolución óptica, tanto del primer como del segundo método, fueron monitoreadas por CCF, en ensayos preliminares, tomando una alícuota de la reacción cada 30 min hasta terminar el tiempo de reacción de 1.5 h, tiempo en el cual desaparecía por completo el compuesto de partida PE2b. Se corrieron las muestras con mezclas de eluyentes de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{NH}_4\text{OH}$ 30% (9/1). Las alícuotas tomadas fueron comparadas con una solución de PE2b disuelto en cloroformo, como patrón y se analizó con luz UV a 254 nm.

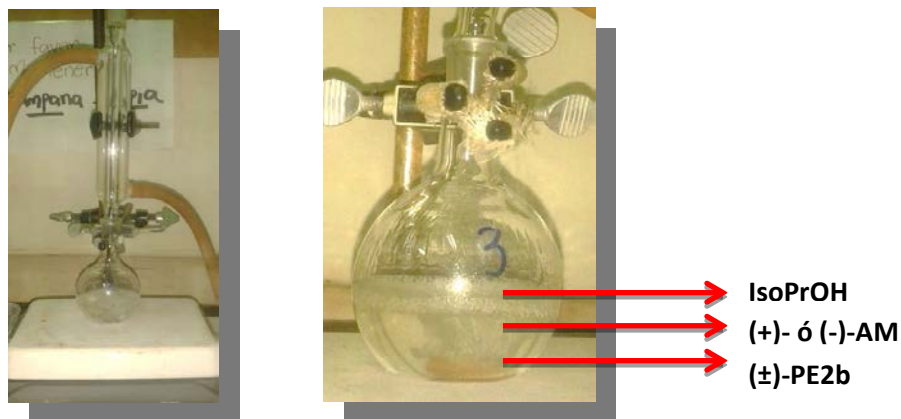
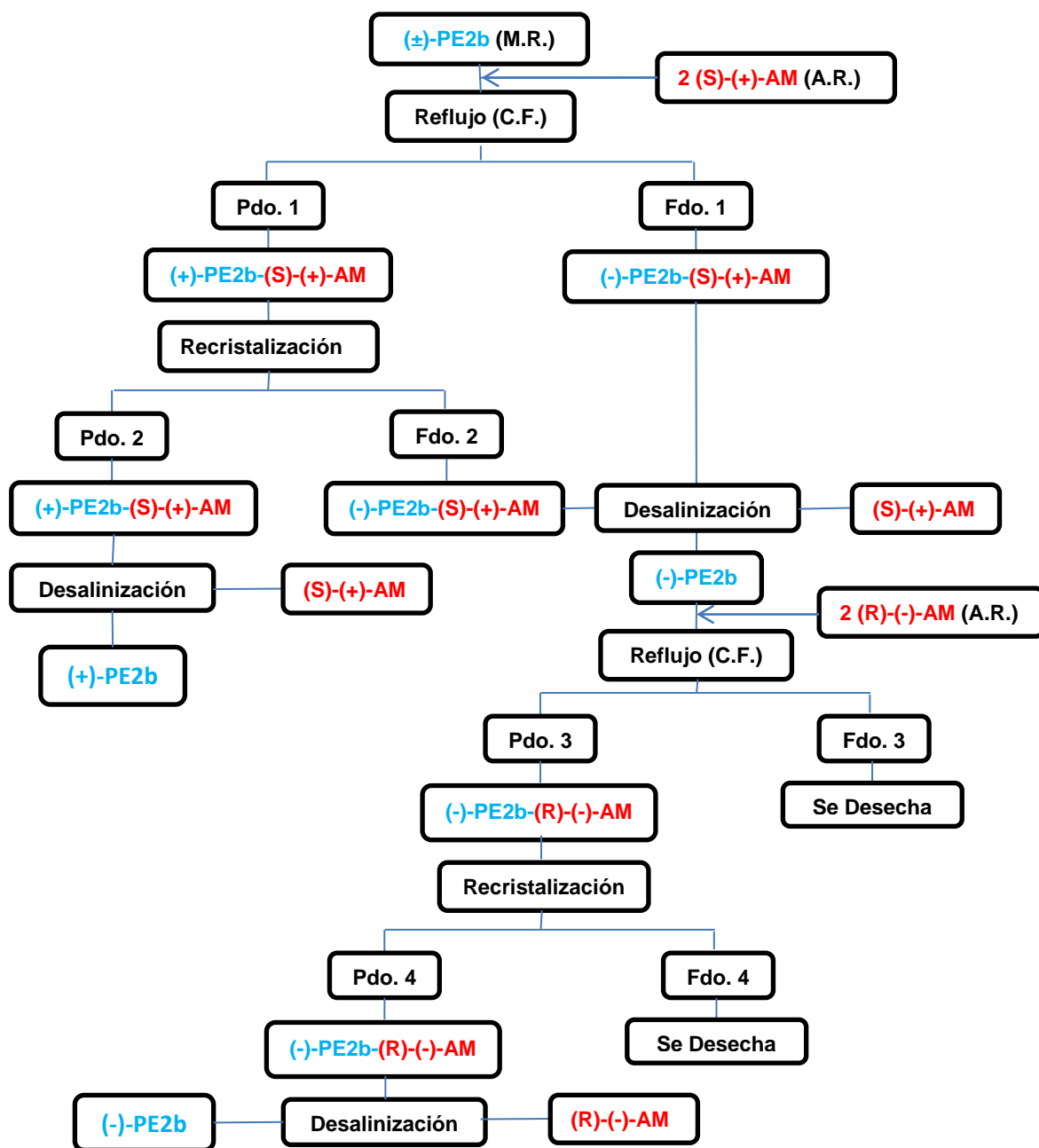


Figura 11. Montaje realizado para la resolución óptica fraccional de (\pm)-PE2b



Esquema 15. Proceso de separación de enantiómeros de PE2b por resolución óptica fraccional.

3.6.3.3. Desalinización

Obtenidos los diastereómeros del mandelato, se procedió a la liberación de los enantiómeros de PE2b. La desalinización de los diastereómeros, se llevaron a cabo de la

siguiente forma: Se adicionaron 20 mL de diclorometano a 2.0 g del mandelato previamente pesados en un beaker de 50 mL y a esta mezcla se adicionan 15 mL de NaOH 4%, agitándose vigorosamente por 3 min. La solución resultante se vierte a un embudo de decantación de 100 mL y se procede a separar la fase orgánica. A la fase acuosa se le realizan extracciones con diclorometano 3 veces por 10 mL cada una (ver figura 12).

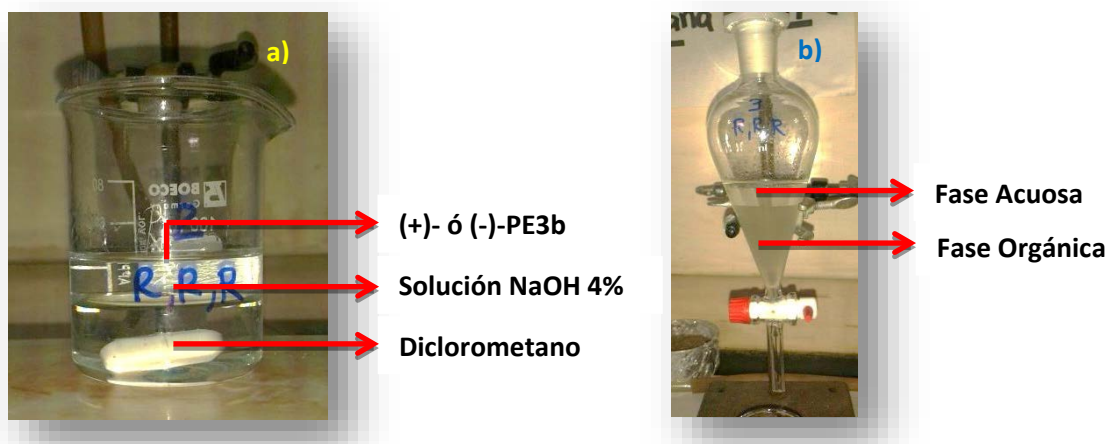


Figura 12. Procesos de: a) desalinización y b) separación.

Las fases orgánicas recogidas, se mezclan en un beaker de 100 mL y se le adiciona Na_2SO_4 anhidro. La mezcla se agita hasta desaparición de la turbidez (ver figura 13), luego se decanta y se procede a secar al vacío. El sólido obtenido se recrystaliza en acetato de etilo, se lavan con el mismo solvente pero frio y se seca en horno a $100\text{ }^\circ\text{C}$ por 12 h, obteniéndose finalmente (+)- y (-)-PE2b. [66]

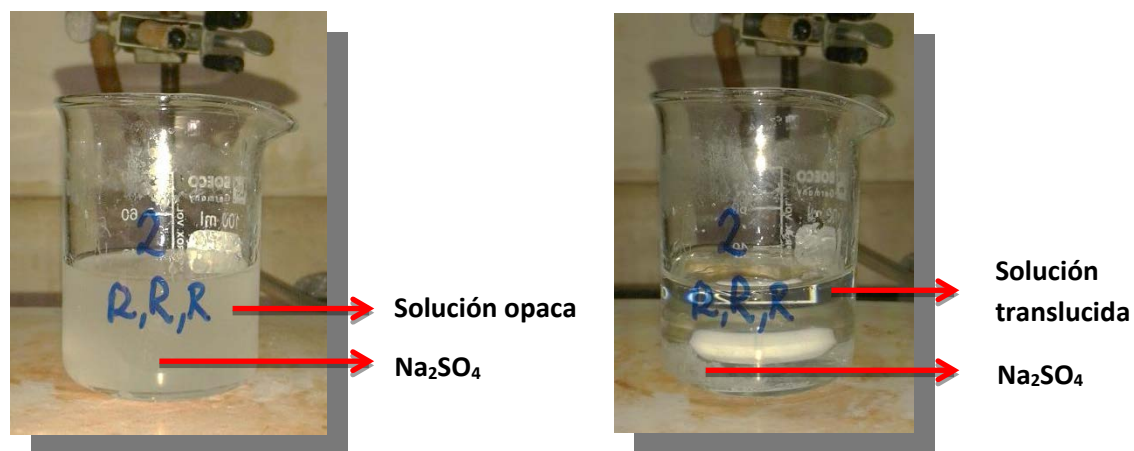
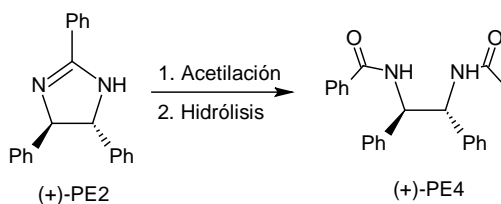


Figura 13. Soluciones orgánicas antes (a) y después (b) del secado con Na_2SO_4 anhidro.

3.6.3.4. Caracterización de los productos de la etapa 3 (PE3b)

Una vez obtenido cada uno de los compuestos de la fase 3 recristalizados, se llevaron a cabo las caracterizaciones de igual manera que en el apartado 3.6.1.4., para los compuestos (+)-PE2b y (+)-PE3b. Además a estos se les realizó análisis por polarimetría junto con el (S)-(+)-AM como valor de referencia. Para el enantiómero (+)-PE2b se realizó espectroscopia RMN: ^1H , ^{13}C (normal y DEPT 135).

3.6.4. ETAPA 4



Esquema 16. Síntesis de (+)-N'-acetil-N'-benzoil DFEDA ((+)-PE4) a partir de la acetilación y posterior hidrólisis de la (+)-isoamarina ((+)-PE2).

3.6.4.1. Obtención de (+)- y (-)-PE4b

Se llevó a cabo la síntesis de las diamidas enantioméricamente puras representadas como (+)- y (-)-PE4b, a partir de (+)- y (-)-PE2b; obtenidos en la desalinización de la etapa 3. Primero se hicieron pruebas preliminares utilizando como reactivo de partida el PE2b racémico. Para esto fue necesario realizar dos reacciones consecutivas en la que implica inicialmente una acetilación y posteriormente una hidrólisis. [69] Cada una de las reacciones se realizó por triplicado, variando el tiempo de reacción para cada procedimiento. Adicionalmente se realizó un ensayo utilizando como base débil 1 mL de piridina, el procedimiento de la reacción es igual que con CH_3COONa , el calentamiento a baño María de la acetilación se realizó por 3 h y la hidrólisis por 2 h.

3.6.4.1.1. Acetilación de (+)- y (-)-PE2b

1.0 g del compuesto enantiomérico puro ya sea (+)-PE2b o (-)-PE2b, se adicionó a un balón de 2 bocas, fondo plano de 100 mL junto con 0.07 g de CH_3COONa (previamente seco a $105\text{ }^\circ\text{C}$ por 24 h) y 13.5 mL de anhídrido acético (previo ensayo con NaHCO_3); la mezcla se calentó en baño María a $80\text{ }^\circ\text{C}$ por un tiempo determinado con agitación magnética constante (la reacción se monitoreó con CCF). Una vez pasado el tiempo de reacción de la acetilación, se llevó hasta temperatura ambiente. Los valores de tiempo fueron: 2, 3, 4 y 6 h.

3.6.4.1.2. Hidrólisis de (+)- y (-)-PE2b acetilados

A la mezcla del apartado anterior, se le adicionaron 3 mL de H₂O, y de manera cuidadosa, 0.3 mL de HCl concentrado. Se agitó suavemente la solución durante 5 min, luego esta se calentó a baño María (94 °C), por un tiempo determinado con agitación constante. Terminado este tiempo se le adicionó 30 mL de agua fría, el sólido blanco producido, se filtró, se lavó con suficiente agua caliente (≈1,0 L), se secó en un horno a 100 °C por 12 h y posteriormente se recrystalizó de metanol. Los tiempos de hidrólisis fueron: 2, 3, 4 y 6 h. Los sólidos obtenidos finalmente son codificados como (+)- y (-)- PE4b.

Tabla 5. Datos para la síntesis de (+)- y (-)-PE4b

BASE DÉBIL	TIEMPO DE REACCIÓN (h)	
	Acetilación *	Hidrólisis **
Acetato de Sodio	2	2
	3	2
	4	2
	6	2
	3	3
	3	4
	3	6
Piridina	3	2

Baño María a * 80 °C y ** 94 °C.

3.6.4.2. Monitoreo por CCF

La reacción de acetilación, fue monitoreada por CCF, en cambio en la de hidrólisis no fue posible el monitoreo, debido a la acidez de la solución, ya que en la reacción de acetilación, el compuesto racémico no se consume por completo, fue necesario hacer variación en el tiempo, a las 3 horas de acetilación se obtuvo la mejor conversión y con este tiempo se realizaron las variaciones en el tiempo de hidrólisis. Para el monitoreo, se tomó una alícuota de la reacción de acetilación cada hora y se corrieron las muestras con mezclas de eluyentes de CH₂Cl₂/NH₄OH 30% (9/1). Las alícuotas tomadas fueron comparadas con una solución de PE2b disuelto en cloroformo, como patrón y se analizó con luz UV. Adicionalmente una vez obtenida la diamida enantioméricamente pura, se diluyó en etanol y de ahí se tomó una alícuota, se corrió la placa frente al patrón anteriormente mencionado y en las mismas condiciones.

3.6.4.3. Caracterización de los productos de la etapa 4

Una vez obtenido cada uno de los compuestos de la etapa 4 recrystalizados, se llevó a cabo las caracterizaciones de igual manera que en el apartado 3.6.1.4., para el enantiómero (+)-PE4b y para el PE4b racémico.

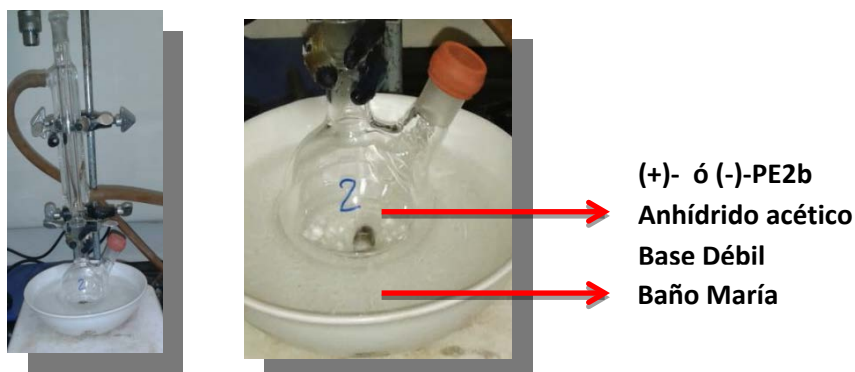
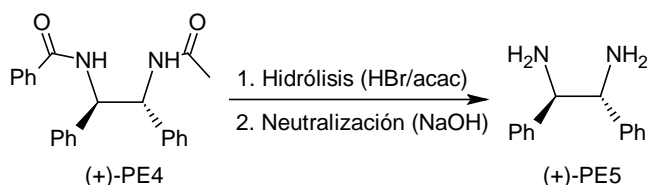


Figura 14. Montaje realizado para la síntesis de PE4b.

3.6.5. ETAPA 5



Esquema 17. Síntesis de (+)-DFEDA

Finalmente se llevó a cabo la síntesis de las diaminas enantioméricamente puras, a partir de las diamidas (+)- y (-)- PE4b, obtenidas en la etapa 4. Se realizó pruebas preliminares utilizando como reactivo de partida la diamida PE4b racémica. Para esta etapa, fue necesario realizar la desprotección de las diamidas utilizando una mezcla de ácidos, variando la relación de estos (1:1, 1:2 y 1:3), los ácidos utilizados fueron: ácido acético glacial y HBr 48% respectivamente. Al obtener la mejor relación de ácidos, se optó variar el tiempo de reacción de 24 a 48 h. Cada una de los procesos se realizó por triplicado. Las diaminas quirales fueron sintetizadas utilizando una relación de ácidos 1:3 y un tiempo de 24 h de calentamiento a reflujo.

3.6.5.1. Obtención de diaminas (+)- y (-)-PE5b

Se pesó en un balón de tres bocas fondo plano 1.0 g de la diamida (+)-PE4b y se adicionó 18 mL de la mezcla de ácidos en relación 1:3. La solución se agitó de manera magnética por un tiempo determinado hasta que se diluyera totalmente la muestra, se llevó la mezcla a reflujo durante 24 h, ésta se concentró a 1/3 del volumen original y se mantuvo a 5 °C durante 2 h. El precipitado formado se filtró, se lavó con éter etílico frío y finalmente se disolvió en agua, luego se filtró la fase acuosa para remover productos insolubles,

posteriormente se adicionó al filtrado lentamente una solución de NaOH 40% (hasta neutralización de la solución) sin que la temperatura excediera los 25 °C, ésta se enfrió a 5 °C por 15 min, el precipitado resultante de la fase acuosa fue extraído con 3 porciones de 20 mL de diclorometano. Las capas orgánicas se combinaron, se secó sobre NaOH sólido, se filtró y se concentró mediante presión reducida. Este se recristalizó en una mezcla de éter de petróleo:éter etílico (1:2) a una temperatura de 50 °C. [63] El sólido obtenido codificado como (+)-PE5b, se lavó con éter de petróleo y se secó con flujo de Nitrógeno. Se realizó el mismo procedimiento anterior, para la síntesis de la diamina (-)-PE5b teniendo en cuenta como material de partida, la otra forma enantiomérica de la diamida (-)-PE4b.

Tabla 6. Datos para la síntesis de (+) y (-)-PE5b.

TIEMPO (h)	RELACIÓN DE ÁCIDOS (18 mL)
24	1:1
24	1:2
24	1:3
48	1:3



Figura 15. Montaje realizado para la síntesis de PE5b.

3.6.5.2. Monitoreo por CCF

La reacción no fue monitoreada por CCF debido a la acidez de la solución. Una vez obtenidas las diaminas enantioméricamente puras se procedió a diluir en etanol y se comparó frente a un patrón de (+)-PE4b disuelto en iguales condiciones. Las alícuotas tomadas fueron corrida con una mezcla de eluyentes de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{NH}_4\text{OH}$ 30% (9/1) y se utilizó como revelador luz UV.

3.6.5.3. Caracterización de los productos de la etapa 5 (PE5)

Una vez recristalizado la sal de (+)-PE5b, se llevó a cabo la caracterización física (punto de fusión, DSC, color), espectroscópica (IR, UV-vis RMN: ^1H , ^{13}C (normal y DEPT 135) y HMBC) y polarimétrica, de igual manera que en el apartado 3.6.1.4.

3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los porcentajes de conversiones en cada una de los procesos de las etapas de síntesis (etapa 1, 2, 3, 4 y 5), están soportados por un tratamiento estadístico utilizando el programa INFOSTAT versión 2013. Realizándose inicialmente los supuestos de normalidad (prueba de Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianza (gráfica de predicho Vs residuo) y aplicando posteriormente la prueba de Tukey (ANOVA, prueba paramétrica).

3.8. ELUCIDACIÓN DE LOS COMPUESTOS SINTETIZADOS

3.8.1. “Hidrobenzamida” (PE1)

Cristales blancos en lentejas, p.f.: 102.8–105.4 °C (sin descomposición); UV-vis (CHCl_3) λ_{max} 254 nm; IR (KBr) ν_{max} 3029 y 2658 (C-H, Ar), 1800-1963 (C=C sobretono, Ar monosustituido), 1633 (C=N_{str}), 1577 (C=C, Ar), 1448, 1371 (C-H, Ar t_{asim}) y 1296 (C-N_{str}) cm^{-1} .

3.8.2. Amarina (PE2a)

Polvo amarillento, p.f.: 129.1-132.6 °C (sin descomposición); UV-vis (CHCl_3) λ_{max} 232, 258 nm; IR (KBr) ν_{max} 3449, 3160 (N-H_f t_{sim}), 2928 (C-H t_{asim}, Ar), 1650-2000 (C=C sobretono, Ar monosustituido), 1607 (C=N_{str}), 1464 (N-H_{in}), 1332, 1278 (C-H, Ar t_{asim}), 924-1071 (C-H_{ip}, Ar) y 694, 754 (C-H_{ip} sobretono, Ar) cm^{-1} .

3.8.3. Isoamarina (PE2b)

Cristales tornasol en agujas, $[\alpha]_D^{25}$ 0.0° (c 0.016, CHCl_3); p.f.: 202.9-205.3 °C (sin descomposición); UV-vis (CHCl_3) λ_{max} 234, 257 nm; IR (KBr) ν_{max} 3445, 3156 (N-H_f t_{sim}), 2919 (C-H t_{asim}, Ar), 1650-2000 (C=C sobretono, Ar monosustituido), 1620 (C=N_{str}), 1460 (N-H_{in}), 1332, 1279 (C-H, Ar t_{asim}), 924-1071 (C-H_{ip}, Ar) y 690, 762 (C-H_{ip} sobretono, Ar) cm^{-1} .

3.8.4. Iofina (PE2c)

Cristales blancos en algodón, p.f.: 274.7-276.2 °C (sin descomposición); UV-vis (CHCl_3) λ_{max} 234 y 309 nm; IR (KBr) ν_{max} 3419 (N-H_f t_{sim}), 2300-3100 (C=C conjugación), 1700-2000 (C=C sobretono, Ar monosustituido), 1596 (C=N_{str}), 1460 (N-H_{in}), 924-1071 (C-H_{ip}, Ar) y 769, 617 (C-H_{ip} sobretono, Ar) cm^{-1} .

3.8.5. Mandelato de isoamarina ((+)-PE3b)

Cristales blancos en agujas, $[\alpha]_D^{25} +129.4^\circ$ (c 0.0085, EtOH); p.f.: 192.9-196.1 °C (sin descomposición); UV-vis (EtOH) λ_{\max} 208, 236 nm; IR (KBr) ν_{\max} 3432 cm^{-1} (O-H_f t_{sim}), 2000-3300 (N-H, =NH⁺, t_{asim}), 1600-2000 (C=C sobretono, Ar monosustituido), 1358, 1556 (C=O y el C-O, -COO⁻ t_{sim} y t_{asim}) y 697, 764 (C-H_{ip} sobretono, Ar) cm^{-1} .

3.8.6. R,R-(+)-isoamarina ((+)-PE2b)

Cristales tornasol en agujas, $[\alpha]_D^{25} +47.2^\circ$ (c 0,0159, CHCl₃); p.f.: 177.4-179.7 °C (sin descomposición); UV-vis (CHCl₃) λ_{\max} 233, 257 nm; IR (KBr) ν_{\max} 3447, 3155 (N-H_f t_{sim}), 2920 (C-H t_{asim}, Ar), 1700-2000 (C=C sobretono, Ar monosustituido), 1619 (C=N_{str}), 1461 (N-H_{ip}), 1333, 1281 (C-H, Ar t_{asim}), 920-1075 (C-H_{ip}, Ar) y 691, 762 (C-H_{ip} sobretono, Ar) cm^{-1} ; RMN-¹H (δ ; 250.13 MHz; CDCl₃) 4.95 (s, 2H; NCH), 5.45 (s, 1H; NH), 7.43-7.28 (m, 10H; Ar-H), 7.58-7.46 (m, 3H; Ar-H) y 7.99 (d, 2H; J = 6,9 Hz; Ar-H) ppm; RMN-¹³C (δ ; 62.9 MHz) 126.7 (C-a), 127.4 (C-b), 127.6 (C-c), 128.6 (C-d), 128.8 (C-e), 130.2 (C-f), 131.0 (C-g), 143.6 (C-h) y 163.1 (C-i) ppm.

3.8.7. (±)- N-acetil-N'-benzoil-1,2-difeniletildiamina ((±)-PE4b)

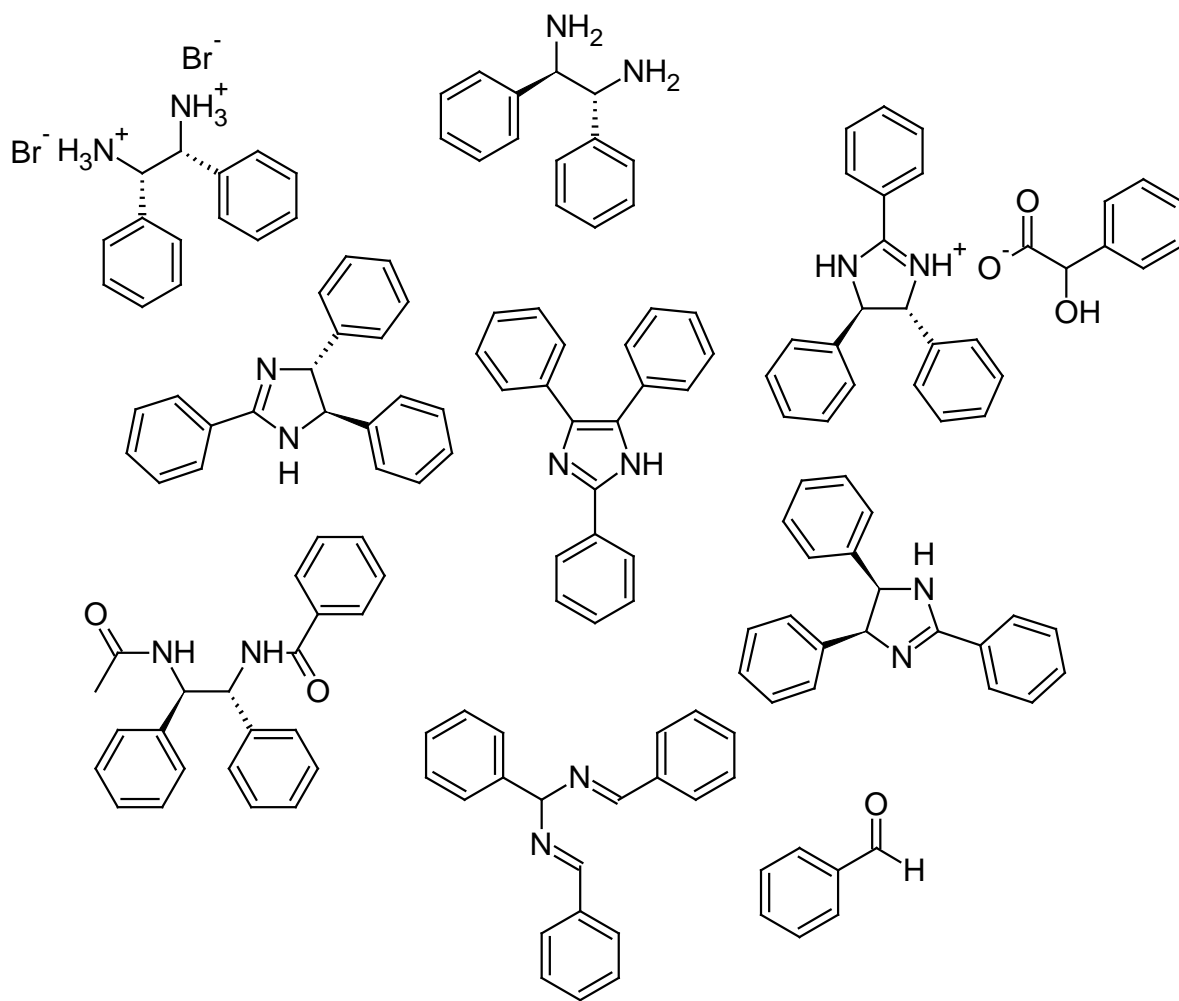
Polvo blanco, p.f.: 242.4–246.1 °C (sin descomposición); UV-vis (EtOH) λ_{\max} 210 nm; IR (KBr) ν_{\max} 3335 (N-H t_{sim}, amida 2^a), 3038 (C-H t_{asim}, Ar), 1639 (C=O, NHCOCH₃), 1526 (C=O, NHCOAr), 1364 (CH₃C-N t_{sim}), 1298 (ArC-N t_{sim}), 700 (N-H_{oop}) y 638, 582 (C-H_{ip} sobretono, Ar) cm^{-1} .

3.8.8. (+)-S,S- N-acetil-N'-benzoil-1,2-difeniletildiamina ((+)-PE4b)

Polvo blanco, p.f.: 260.2–263.9 °C (sin descomposición); UV-vis (EtOH) λ_{\max} 211 nm; IR (KBr) ν_{\max} 3336 (N-H t_{sim}, amida 2^a), 3037 (C-H t_{asim}, Ar), 1639 (C=O, NHCOCH₃), 1527 (C=O, NHCOAr), 1364 (CH₃C-N t_{sim}), 1297 (ArC-N t_{sim}), 700 (N-H_{oop}) y 638, 583 (C-H_{ip} sobretono, Ar) cm^{-1} . Los datos anteriores son iguales para (-)-R,R-N-acetil-N'-benzoil-1,2-difeniletildiamina.

3.8.9. Dibromuro de R,R-(+)-difeniletildiamina ((+)-PE5b)

Cristales blancos en lentejas, $[\alpha]_D^{25} +3.49^\circ$ (c 0,0430, H₂O); p.f.: 300.7-303.2 °C (sin descomposición); UV-vis (EtOH) λ_{\max} 214, 260 nm; IR (KBr) ν_{\max} 3454, 2857 (NH_f⁺ t_{sim}), 1571 (NH⁺ t_{sim}), 1481 (NH⁺ t_{asim}), 1043, 989 (C – NH_{ip}⁺ t_{sim}) y 761, 695 (C-H_{ip} sobretono, Ar) cm^{-1} . Los datos anteriores son iguales para dibromuro de S,S-(-)-N-acetil-N'-benzoil-1,2-difeniletildiamina e igualmente la mezcla racémica. RMN-¹H (δ ; 250.13 MHz; CD₃OD) 3.65 (s, 1H, -CH-), 5.80 (d, J = 8,3 Hz, 2H, Ar-H), 6.05-5.91 (m, 3H, Ar-H) ppm; RMN-¹³C (δ ; 62.9 MHz) 126.8 (C-a), 128.0 (C-b), 128.9 (C-c), 129.2 (C-d), 55.4 (C-e) ppm.



RESULTADOS Y ANÁLISIS

CAPÍTULO 4

4.1. PROCESO DE SÍNTESIS DE 1,2-DFEDA QUIRALES.

4.1.1. ETAPA 1.

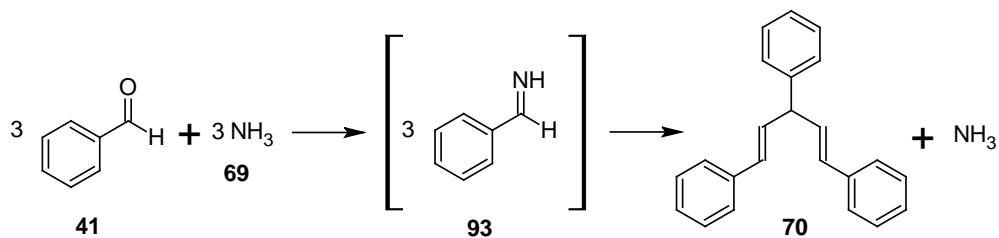
De acuerdo a la literatura, la síntesis de la “hidrobenzamida” se puede realizar de muchas formas, utilizando principalmente benzaldehído y amoniac. Una de ellas es realizando la reacción con o sin disolvente, [54] otra es utilizando amoniac gaseoso inmerso en algún disolvente tipo alcohólico o amoniac acuoso [67] y por ultimo formando un buffer en la solución utilizando NH_4Cl .

En esta etapa se llevó a cabo la síntesis de la “hidrobenzamida”, mezclando benzaldehído y amoniac acuoso (NH_4OH) junto con un alcohol saturado como disolvente (MeOH, EtOH, PrOH, isoPrOH ó BuOH), además de la adición de cloruro de amonio en ciertos experimentos. En cada uno de los experimentos fue necesario variar el tiempo de reacción para saber cuál era el valor óptimo de la síntesis.

En la reacción el hidróxido de amonio se encuentra en equilibrio con el amoniac según la siguiente reacción:



El amoniac **69** (nucleófilo básico) reacciona con el benzaldehído **41** mediante la reacción conocida como condensación, donde el nucleófilo se adiciona al grupo carbonilo del aldehído para formar una base de Schiff o imina denominada benzilimina **93**, esta a su vez se condensa con dos moléculas más de la imina, produciendo la “hidrobenzamida” **70** (ver esquema 18). [71]



Esquema 18. Formación de “hidrobenzamida”

En la tabla 7 se encuentran los datos del porcentaje de conversión promedio del compuesto obtenido en ésta etapa denominado PE1, donde inicialmente la síntesis se realizó sin disolvente a un tiempo de 36 h utilizándolo como control positivo de la reacción,

de igual forma se emplearon disolventes ya descritos arriba, realizando la reacción sin buffer, obteniendo porcentajes superiores al 90 % desde las 9 h solo para EtOH, PrOH e isoPrOH, los cuales se tuvieron en cuenta para repetir la reacción utilizando NH_4Cl .

Tabla 7. Resultados del porcentaje de conversión de PE1.

SOLVENTE	BUFFER	% CONVERSIÓN \pm s (%CV)*		
		9 h	24 h	36 h
Sin solvente	No	---	---	75.33 \pm 0.75 (1.00)
MeOH	No	88.60 \pm 0.10 (0.11)	88.60 \pm 0.26 (0.30)	90.73 \pm 0.50 (0.55)
EtOH	No	90.30 \pm 0.46 (0.51)	90.97 \pm 0.32 (0.35)	91.23 \pm 0.35 (0.38)
PrOH	No	90.80 \pm 0.75 (0.83)	90.43 \pm 0.25 (0.28)	90.87 \pm 0.40 (0.44)
isoPrOH	No	91.83 \pm 0.45 (0.49)	92.00 \pm 0.79 (0.86)	92.27 \pm 0.55 (0.60)
BuOH	No	77.57 \pm 0.67 (0.86)	78.37 \pm 0.50 (0.64)	78.87 \pm 0.76 (0.97)
EtOH	Si	92.97 \pm 0.60 (0.65)	93.40 \pm 0.56 (0.60)	92.97 \pm 0.61 (0.66)
PrOH	Si	92.33 \pm 0.74 (0.80)	93.77 \pm 1.03 (1.09)	94.00 \pm 0.36 (0.38)
IsoPrOH	Si	91.70 \pm 0.10 (0.11)	95.43 \pm 0.25 (0.26)	95.17 \pm 0.32 (0.34)

* s (desviación estándar), %CV (% Coeficiente de variación), buffer: No (NH_4OH), Si (NH_4OH y NH_4Cl).

De acuerdo a los resultados de la tabla anterior, se observa que al utilizar disolventes como MeOH, EtOH, PrOH e isoPrOH se obtienen porcentajes de conversión superiores al 90% a 36 h, ya que de esta forma los reactivos presentan mayor contacto, debido a la fase homogénea presente (figura 16a), hecho que no sucede con el BuOH, puesto que en este medio los reactivos no se solubilizan por completo, obteniendo resultados muy cercanos (78.87%) con respecto a la reacción sin utilizar disolvente (75.33%).

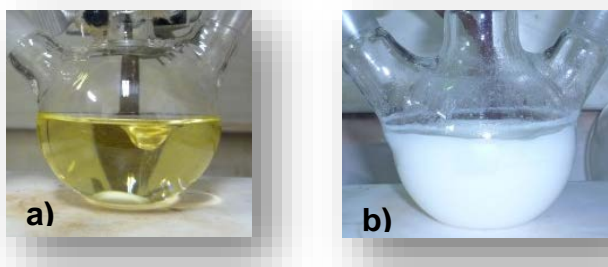


Figura 16. Tiempos de reacción en la síntesis de “hidrobenzamida”: a) fase homogénea a las 0 h y b) formación de precipitado después de 0.4 h.

De acuerdo al seguimiento de la reacción (CCF), se observa como el benzaldehído empieza a desaparecer de la solución a medida que transcurre el tiempo, esto se debe a que el producto formado PE1 precipita (ver figura 26b), apareciendo una sola mancha en la placa perteneciente al compuesto de partida, la cual se observa en la figura 17.

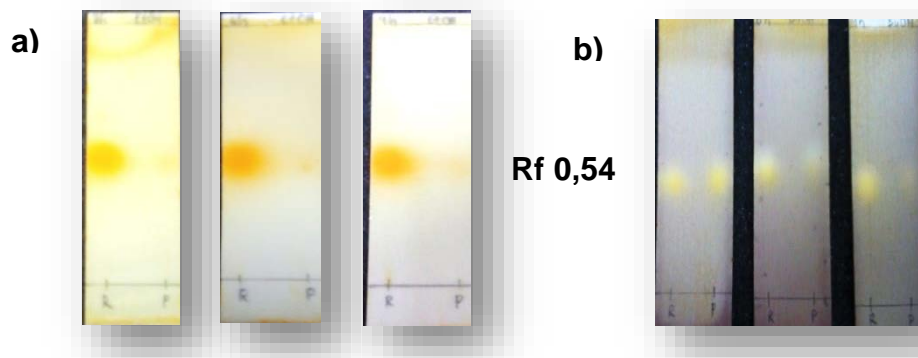


Figura 17. Monitoreo de la reacción a 9, 24 y 36 h respectivamente y revelado con DNPH. a) Placa húmeda. b) Placa seca.

Un análisis más confiable de los porcentajes de la conversión de la posible “hidrobenzamida” (PE1), fue realizado con el programa estadístico INFOSTAT, teniendo en cuenta los disolventes, el tiempo y la presencia o ausencia de buffer.

En primer lugar se asume que los resultados obtenidos en la conversión de PE1 tienen distribución normal, debido a que se acepta la hipótesis nula H_0 , en virtud a que la prueba de normalidad Shapiro Wilk (< 50 datos) exhibida en la tabla 33, anexo 3, produjo p- valores superiores a 0.05, además que los datos presentan homogeneidad de varianza ya que en la figura 57, se observa que no tiene forma de embudo o cono, concluyendo que los datos cumplen con los supuestos, realizando finalmente las pruebas comparativas de Tukey, encontrando que las mejores conversiones se obtienen utilizando buffer, esto posiblemente se deba a la inestabilidad de las iminas a pH bajos, donde el buffer lograría que el medio de la reacción sea apropiado para la formación de la imina.

Por otro lado, de acuerdo a la tabla 36, se tiene que las conversiones a los tres tiempos de reacción 9, 24 y 36 h son significativamente diferentes; esto se deduce de lo obtenido por el programa INFOSTAT cuando fueron tabulados los datos, en los cuales las letras asignadas son distintas, siendo 24 h la que presenta mejor conversión. La tabla 34, muestra que el mejor disolvente es el isoPrOH, esto se corroboró con la prueba de Tukey para interacciones entre disolvente y tiempo, (tabla 37) observando que son significativamente iguales las conversiones entre PrOH a 36 h e isoPrOH tanto a 24 h como a 36 h y a su vez mejores que las otras combinaciones, de acuerdo a lo anterior, la mejor conversión del PE1 definitivamente sería utilizando como disolvente isoPrOH a un tiempo de 24 h, como se vio en el resultado de la prueba de Tukey para tiempo (tabla 33). También se observa que existe una diferencia significativa entre la conversión obtenida sin disolvente y con butanol, siendo esta última mejor, concluyendo que las mejores

conversiones para la síntesis de la posible hidrobenzamida son cuando se utiliza algún tipo de disolvente.

Muchos investigadores reportan la recristalización de la “hidrobenzamida” en ciclohexano, siendo este disolvente el utilizado para la recristalización de PE1, obteniendo cristales de color blanco en forma de lentejas (ver figura 18a) y con un olor muy leve a benzaldehído; para descartar que el PE1 presentara impurezas del compuesto de partida se realizó CCF utilizando como eluyente acetato de etilo/isooctano (1/9) y como revelador DNFH, donde el benzaldehído utilizado como patrón y el PE1 se disolvieron en tres disolventes con diferentes polaridad (EtOH, THF y CHCl_3), obteniendo los resultados que se observan en la figura 18 (b y c). De acuerdo a lo anterior, en las tres placas se observa que ambos compuestos son los mismos ya que presentan igual R_f (0.51), esto indica que el PE1 en solución, al utilizar cualquier disolvente se hidroliza produciendo nuevamente el benzaldehído encontrándose en equilibrio con la “hidrobenzamida”.

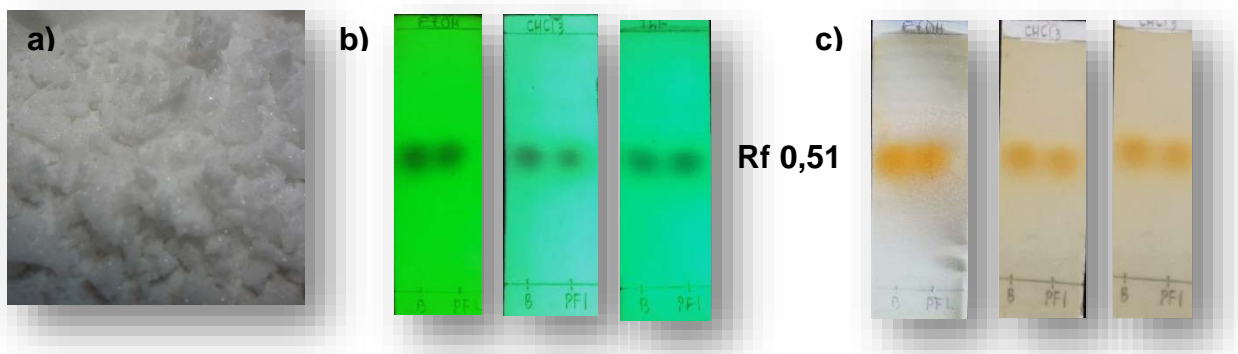


Figura 18. a) Cristales blancos de PE1. CCF de benzaldehído y PE1: b) Revelado con luz UV a 254 nm. c) Revelado con DNFH.

Al obtener el PE1 se realizaron pruebas de solubilidad tanto a temperatura ambiente como con calentamiento, obteniendo los datos que se encuentran en la tabla 8; mostrando que el compuesto presenta polaridad intermedia ya que éste a temperatura ambiente, no es soluble ni en compuestos apolares como son isooctano y hexano, ni tampoco en muy polares como el agua, también se observa que este no es muy soluble en disolventes próticos como los alcoholes saturados evidenciándonos que las interacciones presente entre soluto y disolvente son muy bajas, cosa que si pasa en los disolvente apróticos como la acetona y el acetonitrilo, esto es posible a que el compuesto presenta algún tipo de interacción con los posibles grupos iminos presente en la molécula, esto quiere decir que el compuesto tiene un alto rango de solubilidad desde disolventes

con IP de 2.3 hasta 4.3. Al calentar los disolventes donde el compuesto no es soluble, se observa que la solubilidad aumenta, siendo únicamente insoluble en agua caliente, hecho que se espera puesto que el compuesto presenta tres grupos aromáticos en su estructura dándole baja polaridad.

Tabla 8. Datos de solubilidad de PE1.

DISOLVENTE	IP	T. AMBIENTE	CALENTAMIENTO
Isooctano	-0.4	Insoluble	Soluble
Hexano	0.0	Insoluble	Soluble
Tolueno	2.3	Soluble	----
Eter etílico	2.8	Soluble	----
Diclorometano	3.4	Muy soluble	----
Tetrahidrofurano	4.0	Muy soluble	----
Cloroformo	4.1	Muy Soluble	----
Acetato de etilo	4.3	Soluble	----
Isopropanol	4.3	Medianamente soluble	Soluble
Etanol	5.2	Ligeramente soluble	Soluble
Acetona	5.4	Soluble	----
Acetonitrilo	6.2	Soluble	----
Metanol	6.6	Medianamente soluble	Soluble
Agua	9.0	Insoluble	Insoluble

IP = Índice de polaridad.

Para tomar el espectro UV-vis del PE1 se solubilizó la muestra utilizando cloroformo como disolvente, haciendo la medición respectiva en el ultravioleta, obteniendo los resultados que se observan en la figura 19. Los grupos iminos (C=N) presentes en la hidrobenzamida presenta dos bandas características en la región del UV, a 180 nm aparece una banda intensa que presenta un desplazamiento hipsocrómico al disminuir la polaridad del disolvente correspondiente a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$, la otra banda que aparece en torno a 240 nm, se asocia a la transición $n \rightarrow \pi^*$ y se caracteriza por su menor coeficiente de extinción molar y un desplazamiento batocrómico al disminuir la polaridad del disolvente. Las características del medio, así como los diferentes sustituyentes del grupo imino, influyen considerablemente en el comportamiento espectroscópico de los mismos. Además, es importante señalar que se trata de un cromóforo débil y es común que quede enmascarado si hay otros cromóforos presentes en la molécula. Así, la conjugación con grupos olefínicos o arilos da lugar a un apantallamiento de la banda débil $n\pi^*$, consecuencia de la absorción fuerte asociada a las bandas $\pi\pi^*$ o bandas de transferencia de carga, que suelen aparecer en torno a 230 nm. [62]



Figura 19. Espectro UV-vis de PE1 en cloroformo.

De acuerdo a la figura anterior se tiene que la banda del grupo imino de la posible hidrobencamida, ha sido solapada por la banda característica de los anillos bencénicos presente en la molécula, debido a que no se observa absorción a 240 nm, estos anillos presentan dicha absorción ($\pi \rightarrow \pi^*$) a 255 nm, hecho que se corrobora en la máxima absorción de longitud de onda de la muestra, la cual es de 254 nm.

El rango promedio del punto de fusión del compuesto PE1 obtenido por el equipo es de 102.8–105.4 °C, siendo consistente con el dato de punto de fusión reportado en la literatura para la “hidrobencamida” (105-107 °C), [67, 72] se puede notar que este valor no difiere significativamente. Para sustentar dicho valor se realizó un análisis de calorimetría diferencial de doble barrido, obteniendo el termograma que se observa en la figura 20, la cual permite realizar el análisis de la temperatura de fusión del PE1.

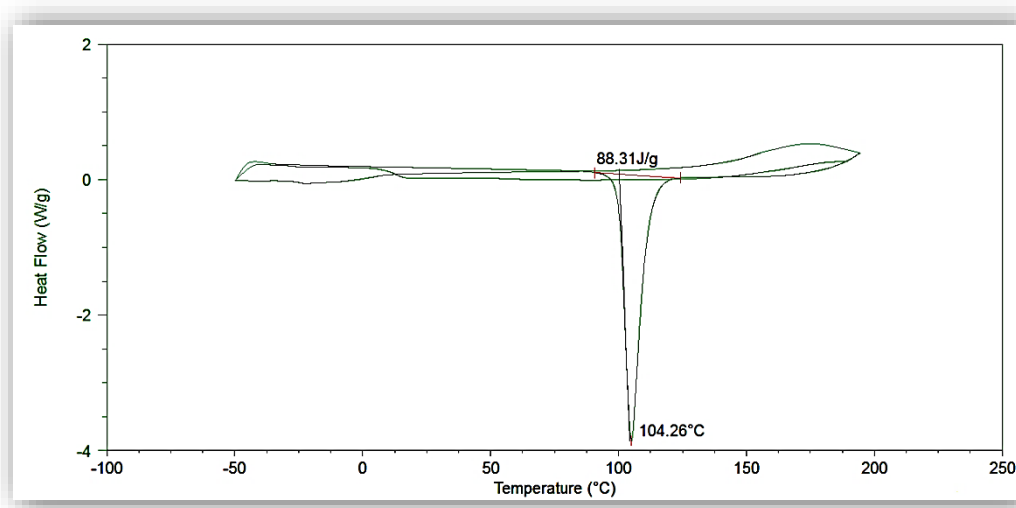


Figura 20. Termograma de DSC con doble barrido de temperatura para PE1.

En la figura anterior se observa un pico endotérmico (transición de primer orden) perteneciente al punto de fusión de la muestra con un valor de 104.26 °C, obtenido por la integración del área bajo el pico, siendo coherente con el dato del punto de fusión citado anteriormente correspondiente a la hidrobenzamida, dicha figura muestra solo un pico característico, lo que comprueba que se tiene un material libre de impurezas ya sea del ácido benzoico (p.f. 122 °C) o hasta del mismo reactivo de partida (benzaldehído).

En la figura 21 se muestra el IR del compuesto PE1, apareciendo 2 bandas referentes a los estiramiento asimétrico del enlace C-H del grupo aromático (3029 y 2658 cm^{-1}); además de sus armónicos (1800-1963 cm^{-1}) el cual indica que los grupos aromáticos solo han sufrido un tipo de sustitución, presentando las 4 bandas características de aromáticos monosustituídos. La señal intensa en el espectro a 1633 cm^{-1} , corresponde a la vibración de estiramiento del grupo imino (C=N), la banda a 1577 cm^{-1} pertenece a la vibración de los enlaces C=C de los anillos aromáticos el cual se encuentra desplazado debido a la conjugación del doble enlace del grupo imino con el anillo aromático, también se observan 2 bandas (1448 y 1371 cm^{-1}) pertenecientes a la vibración de deformación asimétrica del C-H de los grupos aromáticos junto con las vibraciones de deformación dentro del plano ubicados entre 1026-1296 cm^{-1} , además de las bandas de las vibraciones fuera del plano (650-1000 cm^{-1}), por último la señal de intensidad media a 1296 cm^{-1} pertenece al estiramiento de la vibración de enlace C-N. El espectro obtenido para este compuesto coincide con lo reportado en la base de datos japonés de espectros SDBS.

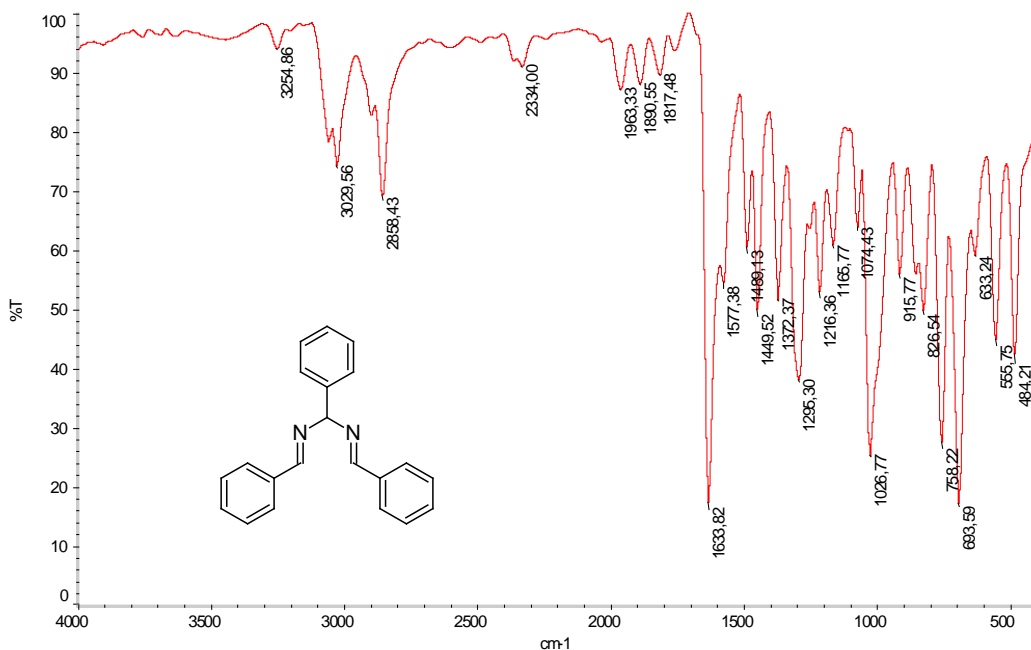
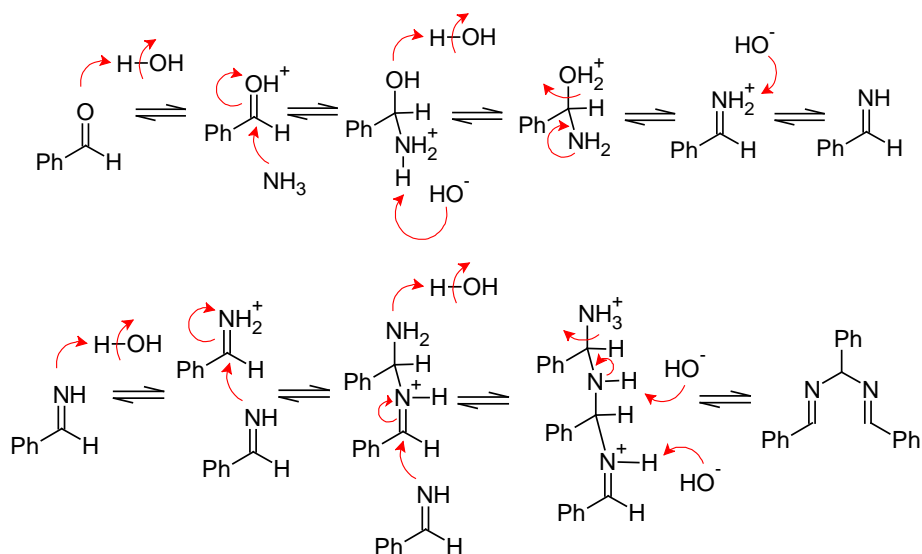


Figura 21. Espectro IR de PE1.

Todos los datos anteriores (UV-vis, punto de fusión e IR) son consistentes con la literatura [67] y son suficientes para determinar que el PE1 es la “hidrobenzamida”, de acuerdo a esto y a los datos obtenidos en la tabla 7, se tiene que al utilizar como disolvente EtOH y como medio de reacción buffer (NH₄OH/NH₄Cl) a un tiempo de 24 horas, se obtiene mejor rendimiento (93.4%) que lo que se reporta en la literatura (80%), [67] donde se utiliza NH₄Cl y amoníaco inmerso en etanol al 95% a un tiempo de 6 horas, siendo el tiempo indispensable en esta reacción, también se observa que al no utilizar ni disolvente ni buffer hay un descenso en el porcentaje de conversión (75.33%) siendo este menor que lo reportado por Bailar (99.5%), [54] hecho que no es posible comparar puesto que no se reporta el tiempo de reacción.

El mecanismo de la reacción se observa en el esquema 19; inicialmente se da la protonación del grupo carbonilo aumentando la polaridad positiva sobre el carbono, favoreciendo el ataque nucleofílico del amoníaco, reorganizándose y quedando el grupo amino cargado positivamente, luego se lleva a cabo la protonación del grupo hidroxilo para transformarlo en buen grupo saliente provocando la pérdida de agua y la formación de una imina protonada, finalmente se libera el protón produciendo la molécula de benzilimina.



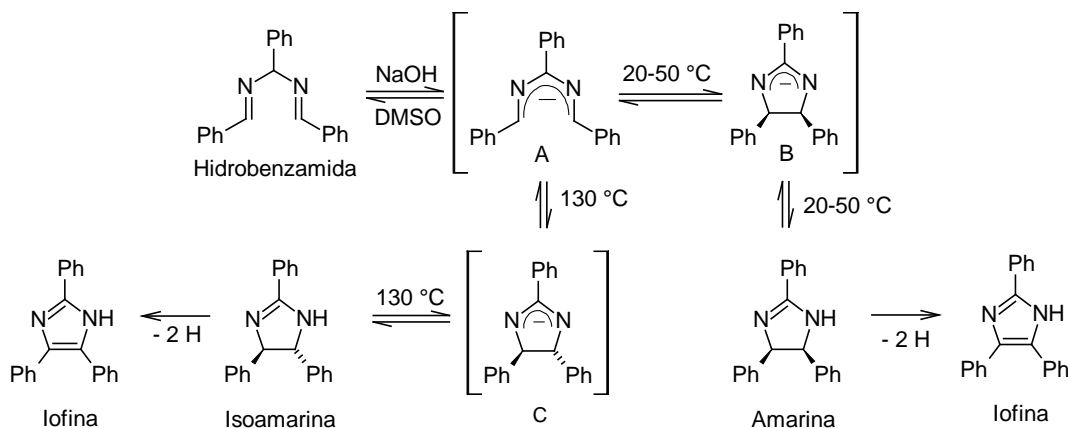
Esquema 19. Mecanismo de reacción en la síntesis de la “hidrobenzamida”.

Una vez formado el anterior compuesto se lleva a cabo la condensación con otras moléculas de sí mismo; llevándose dos condensaciones consecutivas con los grupos iminos de otras moléculas, dándose inicialmente la protonación del grupo imino para

favorecer el primer ataque nucleofílico y luego la pérdida del amoniaco para finalmente formarse el trímero o “hidrobenzamida”. [72]

4.1.2. ETAPA 2.

La desprotonación de la “hidrobenzamida” con una base fuerte o bajo condiciones térmicas, produce el anión transitorio 2,4-diazapentadienilo (**A**), llevándose a cabo de manera rápida el cierre del anillo por medio de un movimiento concertado disrotatorio formando la amarina (cis-imidazolina); en este proceso la ciclación forma un nuevo enlace σ con rotación de 90° en direcciones opuestas, de los orbitales extremos participantes, involucrando un sistema de 6 electrones π . La isomerización de la cis-imidazolina con base y calor proporciona la isoamarina (trans-imidazolina). [73, 74] Anteriormente, se utilizaron bases fuertes tales como amida de potasio y fenil-litio para la ciclación del anillo, produciendo bajos rendimientos de cis-imidazolina, por otro lado, el intento de utilizar irradiación ultravioleta durante el directo cierre del anillo del anión de hidrobenzamida para formar trans-imidazolina no tuvo éxito, produciendo también un rendimiento bajo (7-16 %). [67] Se ha encontrado que la ciclación, ocurre de forma exotérmica y en $\sim 100\%$ de rendimiento, cuando cantidades catalítica (5-12 mol %) de NaOH en DMSO o THF son utilizado. La formación del anión **A**, se ve favorecida, por un disolvente muy polar, éste se cicla rápidamente creando el anión diazaalílico (**B**), cuya protonación permite la formación de la amarina. En presencia de una cantidad catalítica de la base solamente, las transformaciones de los compuestos hidrobenzamida y Amarina proceden a través de los aniones **A** y **B** siendo reversibles. Cuando la temperatura aumenta hasta 130°C , se forma la isoamarina termodinámicamente más estable (mediante el anión **C** formado lentamente). [61] Estas imidazolinas pueden oxidarse con facilidad hasta la obtención del imidazol (Iofina), ver reacciones en el esquema 20. [67]



Esquema 20. Obtención de cis- y trans-imidazolinas e imidazol.

Para realizar la desprotonación de la “hidrobenzamida”, se utilizaron tres bases fuertes (NaOH, KOH y terc-BuOK) y como disolventes, THF (método A) y DMSO (método B). Por medio de reacciones preliminares fue establecido que para el método A solo era necesario realizar 3 horas de reflujo, puesto que el compuesto de partida desaparece por completo, observándose la formación de tres compuestos codificados como PE2a (Rf 0.41), PE2b (Rf 0.58) y PE2c (Rf 0.75), presentando este último fluorescencia, hecho visto por CCF; donde el compuesto PE2b era mayoritario según la mancha observada; siendo esta posiblemente la isomarina según la literatura. [61] En el método B la reacción se da en dos pasos, obteniendo en el primer paso (50 °C por 2 horas de reflujo) la desaparición completa de la hidrobenzamida; observando por CCF, una mancha alargada de solapamiento entre PE2a y PE2b (Rf 0.48) y otra perteneciente a PE2c (Rf 0.77), esta última fluoresce bajo la luz UV a 254 nm, en el segundo paso no fue posible determinar el tiempo en el cual PE2a empieza a disminuir ya que el disolvente (DMSO) es afín a estos dos últimos compuestos logrando su solapamiento, en éste se realizó inicialmente la reacción a 130 °C por 4 horas de reflujo (ver figura 22).

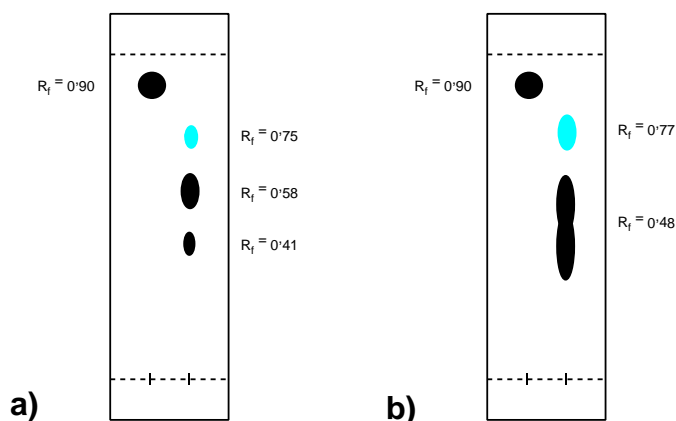


Figura 22. CCF de la etapa 2. a) Método A. b) Método B.

De acuerdo a la figura anterior el orden de polaridad de menor a mayor sería: PE2c < PE2b < PE2a, puesto que el compuesto de mayor Rf es más afín a la mezcla de eluyente (DCM:NH₄OH, 9:1) siendo más apolar que los otros dos, los cuales son retenidos por la fase estacionaria.

Al realizar las reacciones utilizando cualquiera de los disolventes (THF y DMSO) y las bases (KOH, NaOH y terc-BuOK), se obtiene al inicio de la reacción, una coloración azul intensa en ocasiones azul clara, la cual desaparece gradualmente hasta una coloración amarilla, la coloración inicial se debe a que cuando la base abstrae el protón de la “hidrobenzamida” se forma el anión A descrito anteriormente, el cual posee una coloración

purpura o azul en solución, [67, 74] evidenciando la formación de un nuevo compuesto. Este cambio de coloración es de manera rápida puesto que el compuesto anionico es bastante inestable, dicho proceso se observa en la figura 23.

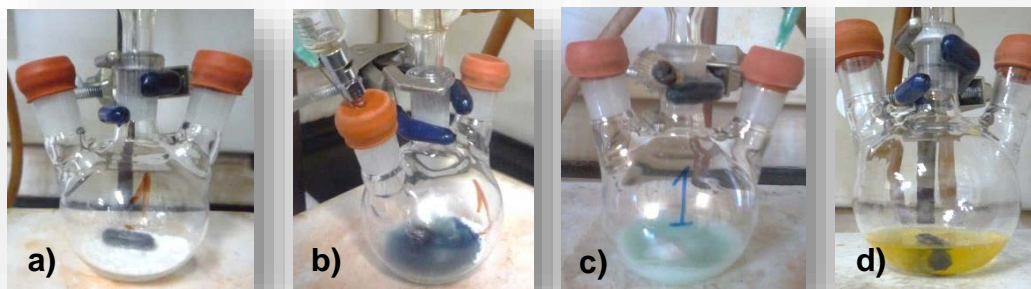


Figura 23. Cambio en la coloración del proceso de reacción en la formación de la posible isoamarina. Tiempos de reacción: a) 0 seg, b) 60 seg en THF, c) 60 seg en DMSO y d) > 120 seg.

La purificación de la mezcla del producto de la etapa 2, se realizó por dos métodos distintos, en el primero se llevó a cabo la separación de PE2a, PE2b y PE2c utilizando cromatografía por columna, obteniendo porcentajes menores al 1.00 % de los compuestos PE2a y PE2c, siendo PE2b el compuesto mayoritario (verificado por CCF), en este método se gasta una gran cantidad de disolvente, puesto que para tratar 1.00 g de muestra impura se gasta un total de 500 mL de mezcla de disolvente (acetona/isooctano) siendo poco favorable desde el punto de vista económico, a diferencia del método de cristalización selectiva donde solo se obtiene puro el compuesto de interés (PE2b, mayoritario), gastándose solo 40 mL de disolvente (acetato de etilo) por gramo de muestra impura, más 30 mL que se utiliza en el lavado, siendo un método más económico y amigable con el medio ambiente, en este método el compuesto PE2b es poco soluble en el disolvente a diferencia de los otros dos, garantizando que en la recristalización solo precipite el compuesto mayoritario y los demás queden en la solución madre. En la tabla 9 se muestra los resultados obtenidos para la conversión del compuesto mayoritario denominado PE2b.

Tabla 9. Resultados del porcentaje de conversión de PE2b.

BASE (0,18 M)	% CONVERSIÓN \pm s (%CV)*	
	MÉTODO A (THF) ^{a)}	METODO B (DMSO) ^{b)}
KOH	97.30 \pm 0.40 (0.41)	95.63 \pm 1.42 (1.48)
NaOH	97.57 \pm 0.65 (0.67)	94.73 \pm 0.60 (0.64)
TercBuOK	99.10 \pm 0.20 (0.20)	92.27 \pm 2.16 (2.34)

* s (desviación estándar), %CV (% Coeficiente de variación). a) = reacción realizada a 63 °C por 3 h. b) = reacción realizada inicialmente a 50 °C por 2 h y luego 130 °C por 4 h.

De acuerdo a la tabla anterior se tiene que las mejores conversiones se obtuvieron con *terc*-BuOK para el método A y KOH para el método B, posiblemente por la solubilidad de estas bases en el medio de reacción. Ya que no fue posible determinar para el segundo paso en el método B por CCF el tiempo de reacción exacto en el que desaparece el PE2a, se decidió realizar nuevos experimentos a 2 y 6 horas, obteniendo porcentajes de conversiones muy cercanos entre ellos, escogiendo 2 horas como mejor tiempo; teniendo en cuenta este tiempo, se realizó cambios en la temperatura de reacción, utilizando valores de 110 y 150 °C, obteniendo también conversiones cercanas entre ellas. En la tabla 10 se observan los resultados obtenidos al variar las condiciones de temperatura y tiempo de reacción.

Tabla 10. Resultados del porcentaje de conversión de PE2b en el método B, variando tiempo y temperatura en el segundo paso de reacción.

TIEMPO (h)	TEMPERATURA (°C)	% CONVERSIÓN ± s (%CV)*
2	130	95.53 ± 0.15 (0.16)
6	130	95.40 ± 0.62 (0.65)
2	110	95.83 ± 0.40 (0.42)
2	150	95.57 ± 0.15 (0.16)

* s (desviación estándar), %CV (% Coeficiente de variación).

Un análisis más confiable de los porcentajes de la conversión de la posible isoamarina (PE2b), fue realizado con el programa estadístico INFOSTAT, teniendo en cuenta los disolventes, bases, temperatura y tiempo de reacción.

En primer lugar se asume que los resultados obtenidos en la conversión de PE2b tienen distribución normal, debido a que se acepta la hipótesis nula H_0 , en virtud a que la prueba de normalidad Shapiro Wilk exhibida en la tabla 38, anexo 4, produjo p-valores superiores a 0.05, además que los datos presentan homogeneidad de varianza ya que en la figura 58, se observa que no tiene forma de embudo, llevándonos a la conclusión que los datos cumplen con los supuestos, realizando finalmente las pruebas comparativas de Tukey. Según la tabla 39, en el método A las mejores conversiones se obtienen al utilizar como base *terc*BuOK por tener un p-Valor con letra B, el cual significa que es significativamente diferente y mejor que al utilizar NaOH y KOH las cuales presentan la misma letra (A); en cambio para el método B, la mejor respuesta se logra al utilizar KOH, por las mismas razones anteriores (ver tabla 40).

Tenemos también que para el método B, en el segundo paso de la reacción, las variables de tiempo no presenta diferencias significativas si la reacción se realiza a 2, 4 o 6 horas, hecho que se observa en la tabla 41 de anexos, concluyendo que a 2 horas de reacción es más que suficiente para que la reacción se dé con excelentes resultados, igualmente sucede con la temperatura de reacción en este paso, según los resultados de la tabla 42,

se alcanzan conversiones similares si se realiza la reacción a 110, 130 o 150 °C, indicándonos que la reacción puede estar en el intervalo entre 110-150 °C obteniendo porcentajes de conversiones iguales, por este motivo se decide emplear una temperatura fija de 130 °C. Por último se observa en la tabla 43, que las mejores conversiones resultan cuando se utiliza como disolvente THF, ya que el p-valor es mayor identificado con letra B, indicándonos que las conversiones con este disolvente son significativamente diferentes y mejores que al utilizar DMSO.

Las cristalizaciones de cada uno de los compuestos obtenidos por cromatografía flash, se hicieron utilizando la mezcla de disolvente que se encuentra en el apartado 3.6.2.3.1 de la sección experimental, obteniendo un compuesto de color blanco y en forma de aguja para PE2b, tornasol y en forma de algodón para PE2c y un polvo de color amarillo muy leve para PE2a, los tres compuestos no presentaron olor (ver figura 24).



Figura 24. Compuestos recrystalizados. a) PE2a, b) PE2b y c) PE2c.

En la tabla 11 se encuentran reportados los datos de solubilidad de cada uno de los compuestos puros obtenidos en esta etapa, en esta se observa que ninguno de los tres compuestos son solubles en disolventes muy polares como el agua ni muy apolares como el isooctano o el hexano ya sea a temperatura ambiente o en calentamiento dando una idea inicial de las polaridades de los tres compuestos, presentando estas polaridades intermedias, esto se evidencia en la capa fina realizada ya que los compuestos presentan R_f entre 0.4-0.8, de acuerdo a los resultados el PE2a es mucho más polar que los demás compuestos ya que presenta mejor solubilidad en disolventes con índice de polaridad entre 3.4-6.6, siendo corroborado en las placas realizadas, ya que es el compuesto que presenta menor R_f siendo afín a la fase estacionaria y no a la mezcla de disolvente, a diferencia del PE2c que es más soluble en disolventes con IP entre 2.3-4.3 siendo el menos polar de los tres, corroborado también por CCF, el cual presente un R_f mayor siendo más afín al disolvente y poco a la fase estacionaria, por último el PE2b, presenta

solubilidad limitada en disolventes con IP entre 3.4-4.1, indicándonos que presenta una polaridad intermedia a los otros dos. También se observa porque se puede realizar la cristalización selectiva ya que el PE2b es poco soluble en acetato de etilo en cambio PE2a y PE2c son muy solubles. Los efectos de solubilidades intermedias posiblemente se deba a las interacciones que puedan tener los disolventes tanto con el grupo amino como imino por enlaces de hidrogeno o fuerzas de Van der Waalls por las interacciones entre los carbonos de los anillos aromáticos.

Tabla 11. Datos de solubilidad de PE2 (a, b y c).

DISOLVENTE	IP	T. AMBIENTE			CALENTAMIENTO		
		PE2a	PE2b	PE2c	PE2a	PE2b	PE2c
Isooctano	-0.4	I	I	I	I	I	I
Hexano	0.0	I	I	I	I	I	I
Tolueno	2.3	S ²	S ¹	S ²	S ⁴	S ⁴	S ⁴
Eter etílico	2.8	I	I	S ³	I	I	S ⁴
Diclorometano	3.4	S ⁴	S ²	S ³	---	---	---
Tetrahidrofurano	4.0	S ⁴	S ³	S ⁴	---	S ⁴	---
Cloroformo	4.1	S ⁴	S ⁴	S ³	---	---	---
Acetato de etilo	4.3	S ⁴	S ¹	S ⁴	---	S ⁴	---
Isopropanol	4.3	S ³	S ¹	S ¹	---	S ⁴	S ⁴
Etanol	5.2	S ³	S ¹	S ¹	---	S ⁴	S ⁴
Acetona	5.4	S ⁴	S ²	S ¹	---	S ⁴	S ⁴
Acetonitrilo	6.2	S ²	S ²	S ¹	S ⁴	S ⁴	S ⁴
Metanol	6.6	S ⁴	S ²	I	---	S ⁴	S ⁴
Agua	9.0	I	I	I	I	I	I

IP = Índice de polaridad. I = insoluble, S = soluble (S⁴ = muy soluble, S³ = soluble, S² = medianamente soluble, S¹ = poco soluble).

Los espectros UV-vis de cada uno de los compuestos purificados y recristalizados se encuentran en la figura 25, en esta se observa claramente que los tres compuestos presentan las mismas absorciones de longitud de onda máxima promedio a 233 nm perteneciente a la absorción de las transiciones electrónica $n \rightarrow \pi^*$ del cromóforo débil (C=N), los cuales se encuentran desplazados a longitud de onda menor (desplazamiento batocrómico), los compuestos PE2a y PE2b presentan una absorción de longitud de onda máxima promedio a 257 nm y PE2c a 309 nm, estas absorciones son pertenecientes a las transiciones electrónicas $\pi \rightarrow \pi^*$ de los anillos aromáticos, siendo el último valor más desplazado debido a la conjugación de los dobles enlace dentro de la molécula.

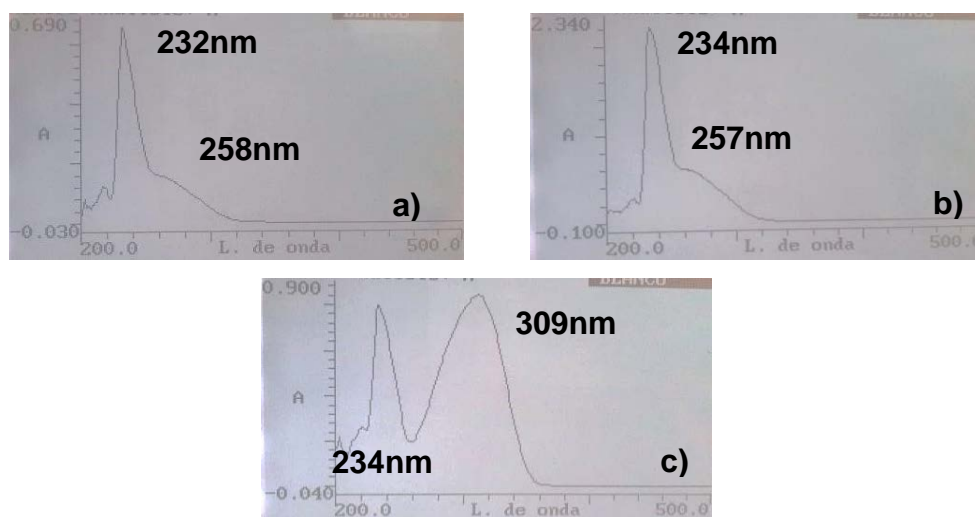


Figura 25. Espectro UV-vis de a) PE2a, b) PE2b y c) PE2c en cloroformo.

La determinación de los puntos de fusión de los PE2 (a, b y c), permitieron la elucidación preliminar de estas sustancias. Al comparar los valores obtenidos con los reportados en la literatura, se puede notar que estos valores son cercanos. Los resultados obtenidos para cada una de las muestras previamente purificadas y recristalizadas en las mezclas de disolventes respectivos se reportan en la tabla 12.

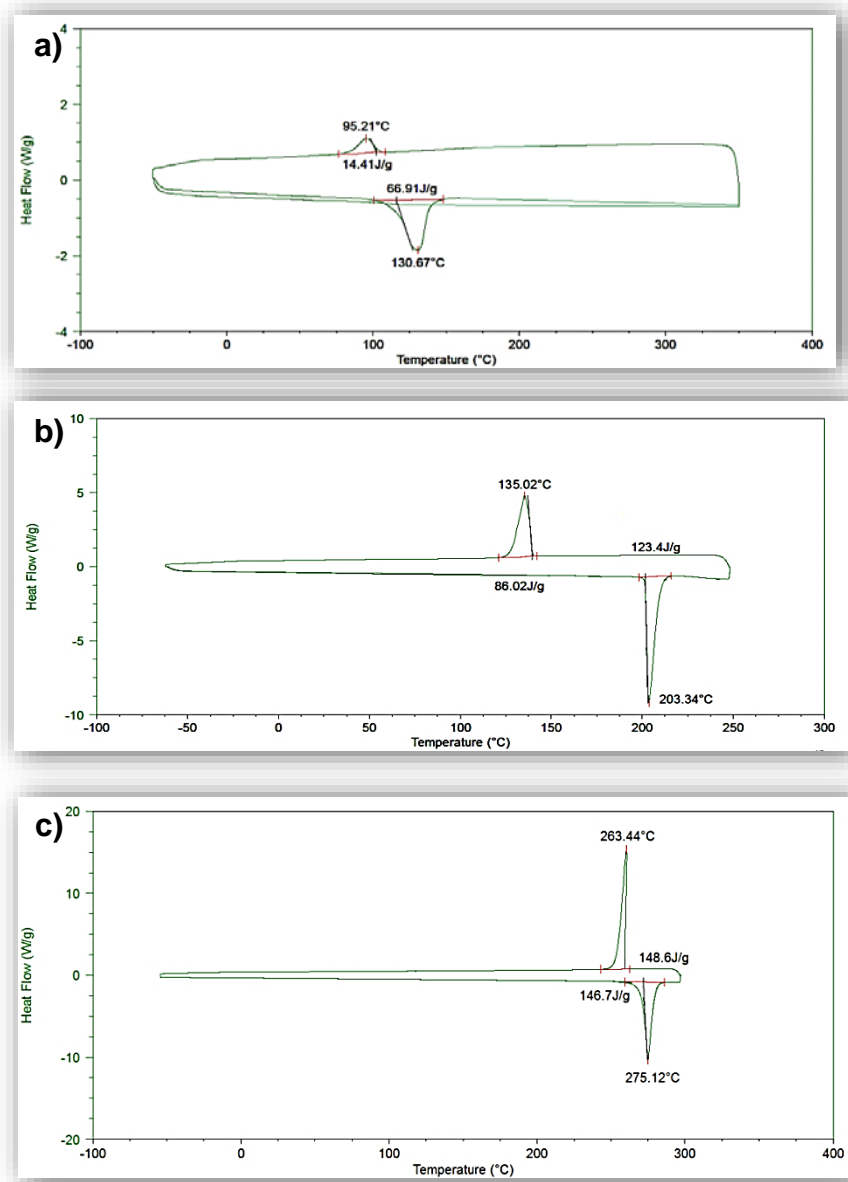
Tabla 12. Datos de puntos de fusión para PE2 (a, b y c).

COMPUESTO	p.f. REPORTADO (°C)	COMPUESTO	p.f. EXPERIMENTAL (°C)
Amarina	128 – 131 [63]	PE2a	129.1 - 132.6
(±)-Isoamarina	199 – 204 [63]	PE2b	202.9 - 205.3
lofina	274 – 275 [72]	PE2c	274.7 - 276.2

Para sustentar dichos valores se realizaron análisis de calorimetría diferencial de doble barrido, obteniendo los termogramas que se observan en la figura 26, los cuales permiten determinar las temperaturas de fusión de cada uno de los compuestos. En estas figuras se observan picos de transición de primer orden, hacia arriba picos exotérmicos pertenecientes a las temperaturas de cristalizaciones (T.c.) de cada muestra y hacia abajo, picos endotérmicos referentes a las temperaturas de fusión (T.m.). Los valores de estas transiciones fueron obtenidos por las integraciones del área bajo el pico y se encuentran registrados en la tabla 13, siendo coherentes con los datos de los puntos de fusión citados anteriormente, correspondientes a PE2 (a, b y c), dichas figuras muestran solo un pico en cada transición, lo que comprueba que se tienen muestras libres de impurezas, ya sea del compuesto de partida (hidrobenzamida) o de la mezcla de reacción de PE2.

Tabla 13. Valores de transiciones de primer orden para PE2 (a, b y c).

COMPUESTO	T.c. (°C)	T.m. (°C)
PE2a	95.21	130.67
PE2b	135.02	203.34
PE2c	263.44	275.12

**Figura 26.** Termogramas de DSC con doble barrido de temperatura para: a) PE2a, b) PE2b y c) PE2c.

Los espectros IR de cada uno de los compuestos PE2 (a, b y c) se encuentran en la figura 27, mostrando que los tres espectros presentan bandas semejantes, siendo coherente puesto que los grupos presentes en las moléculas son los mismos. Para el análisis se tomó como referencia el compuesto PE2b, encontrando las siguientes bandas: 3445 y 3156 cm^{-1} pertenecientes a las vibraciones de estiramiento simétrico del enlace N-H (libre) y N-H (puente de hidrógeno) correspondientemente, a 2919 cm^{-1} referente a los estiramiento asimétrico del enlace C-H del grupo aromático, 4 bandas de baja intensidad ubicadas entre 1650-2000 cm^{-1} de las vibraciones de tensión de C=C de los aromáticos (sobretonos), indicando que la molécula no ha sufrido ningún tipo de sustitución en el anillo aromático (monosustituido), la banda a 1620 cm^{-1} del grupo imino (C=N), la cual se encuentra desplazada debido a la conjugación de su doble enlace con el anillo aromático además de la tensión que presenta el anillo.

También se observa una banda a 1460 cm^{-1} referente a las vibraciones en el plano del enlace N-H, las dos bandas (1332 y 1279 cm^{-1}) pertenecientes a la vibración de deformación asimétrica del C-H del anillo, además las vibraciones de deformación dentro del plano de los enlaces C-H de los grupos aromáticos, ubicados entre 924-1071 cm^{-1} y por último las 2 bandas bastantes intensas y cercanas (690 y 762 cm^{-1}) referentes a las vibraciones del enlace C-H de los anillos aromáticos indicándonos nuevamente la monosustitución de los anillos.

El compuesto PE2a presenta las bandas un poco desplazadas con respecto al compuesto anterior esto posiblemente se deba a la posición geométrica cis- de los grupos fenilos enlazado al anillo de 5 miembros, siendo consistente con lo reportado por Xiong. [75]. El compuesto PE2c presenta algunas diferencias en relación a los compuestos PE2a y PE2b siendo bastante notable en el espectro, debido al doble enlace dentro del anillo de cinco miembros, dándole característica aromática, desplazando las bandas y a su vez disminuyendo la intensidad de algunas señales, la banda a 3419 cm^{-1} perteneciente a las vibraciones de los enlaces N-H libres; se ven afectadas también la banda referente al grupo imino ubicada a 1596 cm^{-1} y por último se observa una secuencia de bandas entre 2300-3100 cm^{-1} debido a la conjugación de los dobles enlaces en toda la molécula. Este espectro es consistente con lo que se encuentra en la base de datos japonés de espectros para compuestos orgánicos (SDBS).

Todos los datos anteriores (UV-vis, punto de fusión e IR) son consistentes con la literatura y son suficientes para determinar que los compuestos PE2a, PE2b y PE2c son Amarina, Isoamarina e Iofina respectivamente; de acuerdo a esto y a los datos obtenidos en las tablas 9 y 10, se tiene que en esta investigación ya sea utilizando cualquiera de los dos métodos se obtienen mejores resultados que en la literatura; para el método A se tiene que la mejor conversión se obtiene con terc-BuOK (99.10 %); en lo reportado por Proskur-

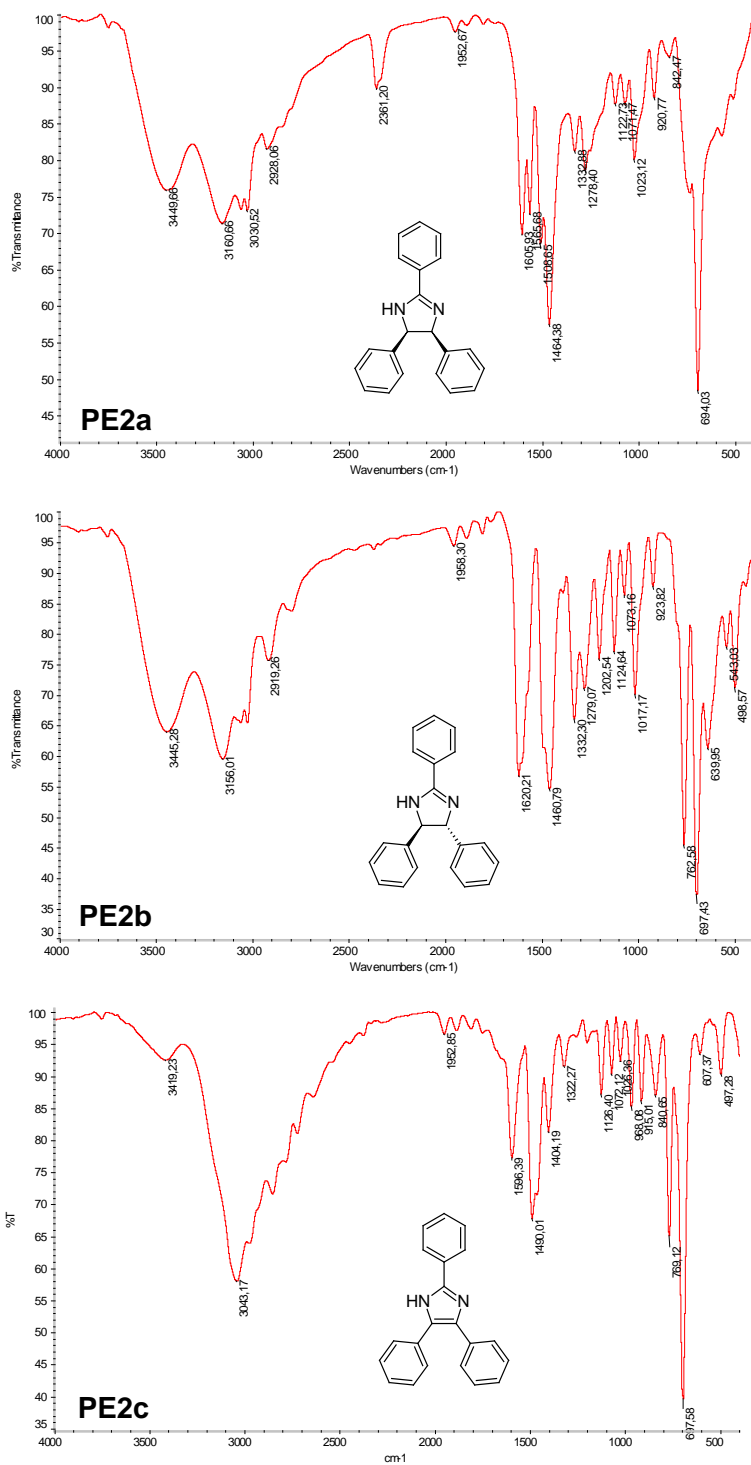
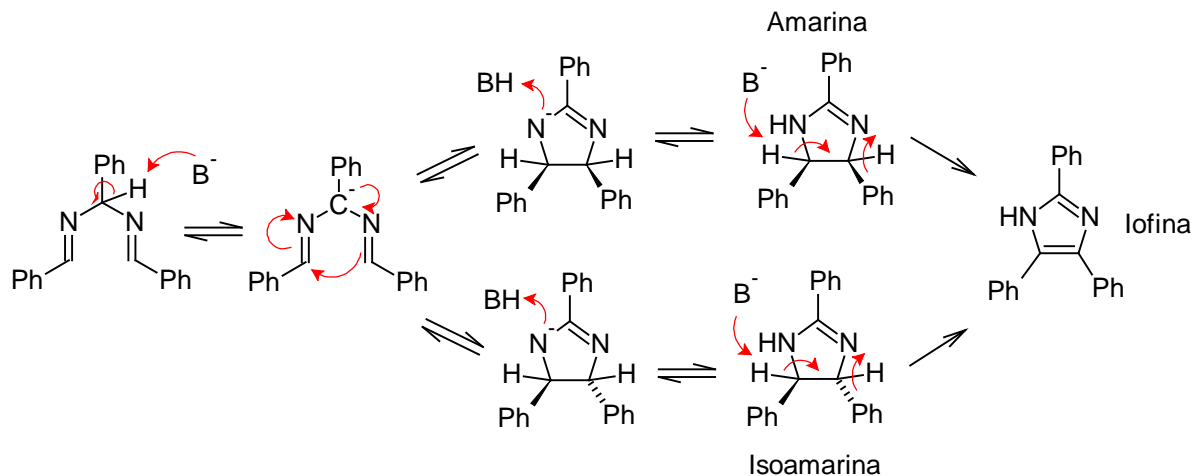


Figura 27. Espectros IR de PE2 (a, b y c).

nina, [67] se utiliza la misma base para llevar a cabo el cierre del anillo pero obteniendo porcentajes de conversión del 90 %, esto posiblemente al tiempo de reacción, ya que se realizó el reflujo de la reacción por tres horas y no a dos horas como se encuentra en la literatura. En el segundo método se observó, que los mejores resultados se obtuvieron con KOH logrando conversiones del 95.63%; con una reacción de dos etapas, la primera a una temperatura de 50 °C por 2 horas y la segunda 130 °C igualmente a 2 horas, para un total de reacción de 4 horas, en esta investigación se lograron también mejores resultados ya sea por el tipo de base empleada o por el tiempo en las etapas de reacción, a diferencia de Mistryukov que obtuvo una conversión del 90 % utilizando como base NaOH y realizando el reflujo primero a 50 °C por una hora y la otra a 130 °C por 3 horas. [61]

Una vez corroborado que el compuesto PE2b era la isoamarina y para garantizar que esta se encontraba en forma racémica se realizó una disolución en clorofomo y se leyó en el polarímetro frente a un blanco del mismo disolvente, obteniendo un valor de cero en la rotación óptica observada (c 0,016, CHCl_3) garantizando que el compuesto es una mezcla racémica, presentando tanto la forma levógira y dextrógira de la molécula, llevándose a cabo la anulación de la luz polarizada. Cabe destacar que en la literatura la síntesis de isoamarina se obtiene libre de impurezas, en esta investigación se obtuvo una mezcla de compuestos, los cuales fueron elucidados.

La formación de la lofina, en esta mezcla de reacción, posiblemente se deba a que de alguna forma la amarina o isoamarina tuvieron contacto directo con el oxígeno del aire para producirla o en su defecto que la base fuerte actuó sobre los hidrógenos de los grupo metinos de estos dos compuestos, oxidando las moléculas de amidazolinas, perdiendo 2 átomos de hidrógeno y formando un doble enlace dentro del anillo dándole característica aromática. En el esquema 21 se encuentra el mecanismo de reacción en la formación de la isoamarina, donde inicialmente la base, ya sea esta NaOH, KOH o *tert*-BuOK abstrae el único protón ácido del grupo metino de la molécula de la “hidrobenzamida”, el anión producido se reorganiza cerrando el anillo de manera disrotatoria, quedando un ciclo tipo anión, éste intermediario es mucho más básico que el anión del *tert*-butóxido por el grupo funcional amidina que presenta; la relación molar no puede ser igual porque habría una competencia entre estos dos aniones, por eso la “hidrobenzamida” es adicionada en exceso.



Esquema 21. Mecanismo de reacción en la síntesis de amarina, isoamarina e iofina.

4.1.3. ETAPA 3.

Los enantiómeros de la isoamarina, pueden ser resueltos por formación de diastereoisómeros con ácido tartárico o mandélico seguida por cristalización fraccional y formación de las bases libres. Recientemente Braddock realizó dicha resolución por dos métodos distintos; el primero por acoplamiento de la (\pm)-isoamarina con ácido (R)-acetilmandélico mediante diciclohexilcarbodiimida (DCC), formando dos N-acil diastereoisómeros con rendimientos cuantitativos, llevando a cabo luego la separación de estos por cristalización fraccional, [63] en el segundo método realiza la resolución utilizando ambas formas enantioméricas del ácido mandélico, obteniendo sales diastereoméricas, las cuales son separadas por cristalización fraccional; de esta manera se sintetiza con el enantiómero R del agente de resolución, la (S,S)-(-)-isoamarina y con la S la (R,R)-(+)-isoamarina. [64] En esta etapa se realizó la separación de los enantiómeros de isoamarina utilizando el segundo método de Braddock, con algunas modificaciones. En este se emplearon las dos formas del ácido mandélico, efectuando la reacción por dos métodos, diferenciándose en el orden de adición de los AM, empleando en uno de ellos inicialmente la forma S del agente de resolución y posteriormente al proceso de separación, se adiciona la forma R. En el otro método, la adición de los enantiómeros es al contrario (primero R y luego S); esto se hizo con el fin de comparar si el orden de la adición de los agentes de resolución afectan el rendimiento de las sales diastereoméricas. Las reacciones de resolución, se monitorearon por CCF, encontrando que el tiempo en el cual desaparecía por completo el compuesto de partida (isoamarina racémica) era a la hora y media de reflujo, el nuevo compuesto formado (mandelato de isoamarina) presenta

una señal muy débil mostrando un R_f de 0.1 (ver figura 28). Al realizar estos experimentos se obtuvieron los porcentajes de conversión que se observan en la tabla 14.

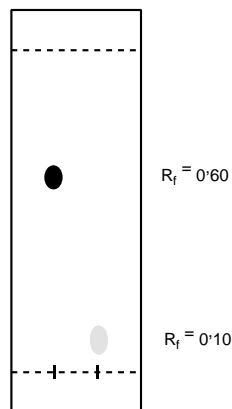


Figura 28. CCF de la reacción de resolución a la hora y media de reflujo. Lado izquierdo isoamarina y derecho el mandelato de isoamarina.

Tabla 14. Resultados del porcentaje de conversión de (+)-PE3b y (-)-PE3b.

MÉTODO	ADICIÓN DE AR	MANDELATO	% CONVERSIÓN \pm s (%CV)*
Primero	(S)-(+)-AM (1 Paso)	(+)-PE3b	90.70 \pm 0.46 (0.51)
	(R)-(-)-AM (2 Paso)	(-)-PE3b	78.47 \pm 0.50 (0.64)
Segundo	(R)-(-)-AM (1 Paso)	(-)-PE3b	89.90 \pm 0.75 (0.84)
	(S)-(+)-AM (2 Paso)	(+)-PE3b	78.93 \pm 0.83 (1.05)

* s (desviación estándar), %CV (% Coeficiente de variación).

Al comparar los dos métodos de la tabla anterior, se deduce que siempre en el primer paso de adición de los agentes de resolución se van obtener porcentajes de conversión promedio de 90.3%, ya sea con una forma enantiomérica del AM u otra; igualmente sucede en el segundo paso, ambos métodos presentan porcentajes de conversiones aproximadamente en 78.7%. En cualquiera de los dos métodos, el porcentaje de conversión es mayor, en el primer paso que en el segundo, esto posiblemente se deba al procedimiento de obtención de las sales enantioméricamente puras, puesto que es muy extenso, llevándose la posible pérdida durante el proceso.

Las sales diastereomericamente puras obtenidas en cada uno de los métodos fueron agrupados y codificados como (+)-PE3b y (-)-PE3b, los signos de (+) y (-) fueron asignados debido a los agentes de resolución utilizados ((S)-(+)-AM y (R)-(-)-AM), respectivamente; donde de acuerdo a la teoría, [64] la forma dextrógira del ácido mandélico precipita la forma dextrógira de la isoamarina produciendo el (+)-mandelato y la forma levógira del agente resolución precipita la forma levógira del compuesto, formando el (-)-mandelato. Estas sales fueron sometidas a un proceso de desalinización por

separado, utilizando NaOH concentrado, el cual hidroliza las sales formando nuevamente la trans-imidazolinas, encontrándose enantioméricamente puras, estos enantiómeros fueron extraídos de la fase acuosa con diclorometano obteniendo los porcentajes de recuperación que se muestran en la tabla 15.

Tabla 15. Resultados del porcentaje de recuperación de la (+)- y (-)-PE2b en el proceso de desalinización de los mandelatos quirales.

ENANTIÓMEROS	% RECUPERACIÓN \pm s (%CV)*
(+)-PE2b	97.42 \pm 0.49 (0.51)
(-)-PE2b	95.08 \pm 0.48 (0.50)

* s (desviación estándar), %CV (% Coeficiente de variación).

De acuerdo a la tabla anterior los enantiómeros presentan porcentajes de recuperación superiores al 95.0%, habiendo una diferencia no mayor del 3.0% entre ellos dos, indicándonos que el enantiómero (+)-PE2b es mucho más a fin al disolvente utilizado para la extracción, que el (-)-PE2b, posiblemente a una pequeña diferencia de solubilidad.

Realizando la estadística respectiva de los resultados de las tablas 14 y 15, utilizando el programa INFOSTAT se tiene que los datos cumplen con los supuestos, siendo normales y homogéneos (ver tablas y figuras del anexo 5), realizando finalmente las pruebas comparativas de Tukey, encontrando que no hay diferencias significativas en los valores de conversiones, si se realiza la formación de las sales diastereoméricas ((+)- y (-)-PE3b) por cualquiera de los dos métodos, puesto que tanto en la primera adición del AR ya sea (S)- ó (R)-AM, como en la segunda los p-valores son iguales presentando igual letra; además existe una diferencia significativa en las conversiones, siendo mejor cuando la formación de las sales diastereoméricas se realiza en la primera adición de los agentes de resolución ya sea en el primer o segundo método, esto posiblemente se deba al procedimiento llevado a cabo, ya que puede haber pérdida de las sales durante el mismo. La estadística de las recuperaciones de los enantiómeros (+)- y (-)-PE2b, nos muestra que sus porcentajes presentan diferencias significativas debido al p-valor, los cuales se encuentran representados con letras distintas, siendo mejor cuando se realiza la recuperación del enantiómero (+)-PE2b, posiblemente por su solubilidad siendo más a fin al disolvente utilizado (CH₂Cl₂).

Los compuestos obtenidos en esta etapa, tanto en la formación de las sales diastereoméricas como en la desalinización de estos, fueron recristalizados en los disolventes respectivos, obteniendo compuestos o sustancias cristalinos de color blanco, los cuales son inoloros, siendo detallados solo una de las formas de cada uno de los compuestos en la figura 29.

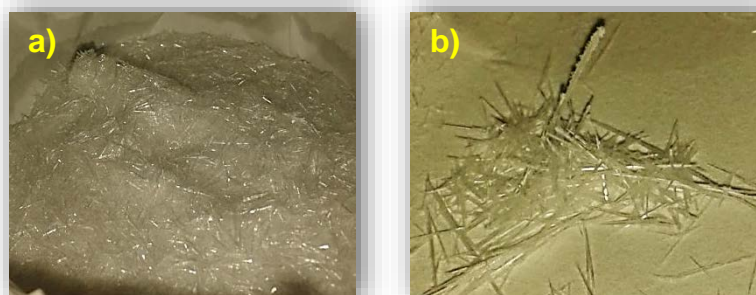


Figura 29. Compuestos recristalizados. a) (+)-PE3b y b) (+)-PE2b.

En la tabla 16 se reportan los datos de solubilidad de (+)-PE3b y (+)-PE2b, mostrando una idea inicial de las polaridades de cada uno de estos compuestos. Era de esperarse que el (+)-PE3b sea soluble en disolventes de polaridad alta, puesto que al ser una sal orgánica se disocia en el disolvente, llevándose a cabo la solvatación de los iones por medio de los grupos polares de los disolventes (-OH).

Tabla 16. Datos de solubilidad de (+)-PE3b y (+)-PE2b.

DISOLVENTE	IP	T. AMBIENTE		CALENTAMIENTO	
		(+)-PE3b	(+)-PE2b	(+)-PE3b	(+)-PE2b
Isooctano	-0.4	I	I	I	I
Hexano	0.0	I	I	I	I
Tolueno	2.3	I	S ¹	I	S ⁴
Eter etílico	2.8	I	I	I	I
Diclorometano	3.4	I	S ²	I	---
Tetrahidrofurano	4.0	I	S ³	I	S ⁴
Cloroformo	4.1	I	S ⁴	I	---
Acetato de etilo	4.3	I	S ¹	I	S ⁴
Isopropanol	4.3	S ²	S ¹	S ⁴	S ⁴
Etanol	5.2	S ³	S ¹	---	S ⁴
Acetona	5.4	S ²	S ²	S ⁴	S ⁴
Acetonitrilo	6.2	I	S ²	I	S ⁴
Metanol	6.6	S ³	S ²	---	S ⁴
Agua	9.0	I	I	I	I

IP = Índice de polaridad. I = insoluble, S = soluble (S⁴ = muy soluble, S³ = soluble, S² = medianamente soluble, S¹ = poco soluble).

Siendo coherente con la CCF realizada, ya que la sal producida presenta un R_f muy bajo (0.1) siendo afín a la fase estacionaria por ende el compuesto debe ser polar, hay que destacar que el compuesto no es soluble en agua, esto puede explicarse debido a que el compuesto formado presenta 4 anillos aromáticos en la estructura, impidiendo su

disociación en el disolvente. El compuesto (+)-PE2b presenta la misma solubilidad que el (±)-PE2b obtenido en la etapa 2, esto se debe a que estructuralmente los compuestos son los mismos, solo que el segundo compuesto se presenta en mezcla racémica y el primero es uno de sus enantiómeros.

El espectro UV-vis del (+)-PE2b es igual al del compuesto obtenido en la segunda etapa representado como PE2b racémico, esto es de esperarse puesto que los grupos que provocan las transiciones electrónicas son los mismos en ambos compuestos. El espectro de (+)-PE3b se muestra en la figura 30, en esta se observa claramente las absorciones de longitud de onda máxima a 208 y 236 nm, estando esta última banda solapada con la primera, estas absorciones son pertenecientes a las transiciones electrónica $n \rightarrow \pi^*$ del grupo carboxi (COO-) y $\pi \rightarrow \pi^*$ de los anillos aromáticos respectivamente.

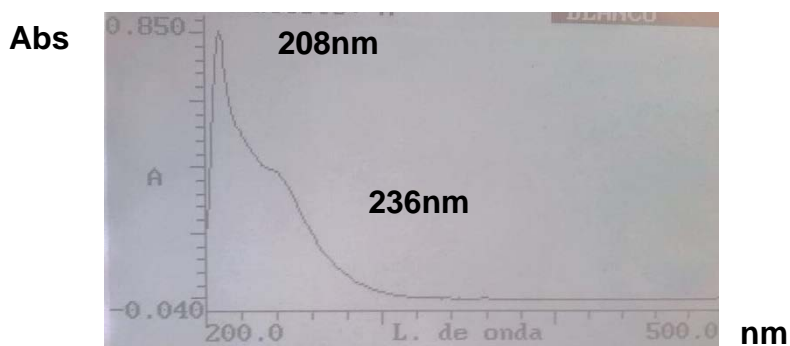


Figura 30. Espectro UV-vis del (+)-PE3b, disuelto en etanol.

El punto de fusión promedio del (+)-PE3b, no fue posible compararlo con algún dato en la literatura, puesto que no hay reportes de las sales diastereomérica entre la isoamarina y el ácido mandélico, a diferencia de (+)-PE2b, el cual si fue posible ya que hay reportes de la R,R-(+)-isoamarina, permitiendo la elucidación de esta sustancia, pudiéndose notar que este valor no difiere significativamente. Los resultados obtenidos para cada una de las muestras previamente purificadas y recrystalizadas en las mezclas de disolventes respectivos se reportan en la tabla 17.

Tabla 17. Datos de puntos de fusión para (+)-PE3b y (+)-PE2b.

COMPUESTO	p.f. REPORTADO (°C)	COMPUESTO	p.f. EXPERIMENTAL (°C)
SD (I:AM)	NR	(+)-PE3b	192.9 - 196.1
R,R-Isoamarina	177-180 [64]	(+)-PE2b	177.4 - 179.7

SD (I:AM) = sal diastereomérica (isoamarina: Ácido Mandélico). NR = No hay Reporte

Para sustentar dichos valores se realizaron análisis de calorimetría diferencial de doble barrido, obteniendo los termogramas que se observan en la figura 31, los cuales permiten

realizar los análisis respectivos de las temperaturas de fusión de cada uno de los compuestos. En estas figuras se observan picos de transición de primer orden, encontrando que para el (+)-PE3b no existe un pico de temperatura de cristalización (T.c.), en cambio para (+)-PE2b existen ambos picos (T.c.) y (T.m.). Los valores de estas transiciones fueron obtenidos por las integraciones del área bajo el pico y se encuentran registrados en la tabla 18, siendo coherentes con los datos de los puntos de fusión citados anteriormente, correspondientes al (+)-PE3b y (+)-PE2b, dichas figuras muestran solo un pico en la transición de T.m., lo que comprueba que se tienen muestras libres de impurezas, ya sea del compuesto de partida (isoamarina racémica) o de la mezcla de reacción de la desalinización.

Tabla 18. Valores de transiciones de primer orden para (+)-PE3b y (+)-PE2b.

COMPUESTO	T.c. (°C)	T.m. (°C)
(+)-PE3b	---	194.23
(+)-PE2b	102.77	178.07

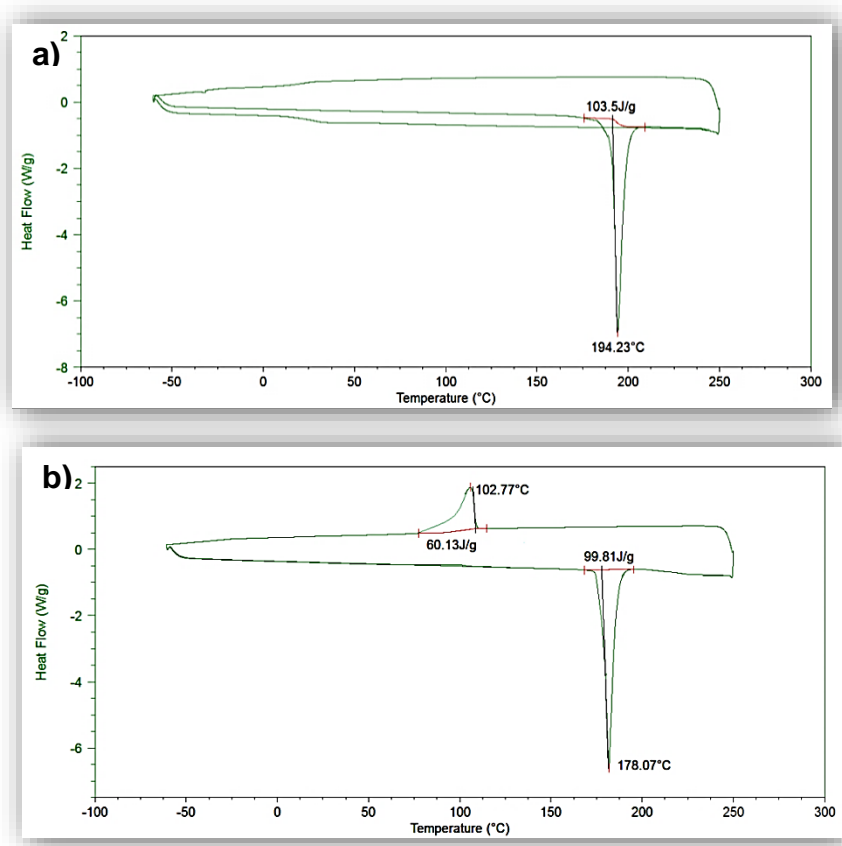


Figura 31. Termogramas de DSC con doble barrido de temperatura para: a) (+)-PE3b y b) (+)-PE2b.

El espectro IR del (+)-PE3b producido en esta etapa, se registra en la figura 32, el cual fue comparado con el espectro del ácido mandélico, mostrando una gran diferencia entre ellos, siendo coherente puesto que los grupos principales presentes en las moléculas no son los mismos, encontrando las siguientes bandas: a 3449 cm^{-1} una banda aguda intensa, perteneciente a las vibraciones de estiramiento simétrico del grupo O-H libre, tanto del alcohol como del ácido; también una banda ancha e intensa entre $2600\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ referente a las tensiones del O-H del -COOH que se encuentran asociados, encontrándose superpuesta con la señal de tensión del C-H (2658 cm^{-1}), una banda ancha y bastante pronunciada a 1723 cm^{-1} , la cual pertenece a la vibración de tensión del C=O posiblemente proveniente de ácidos dimerizados, la señal poco intensa a 1451 cm^{-1} es referente a la deformación de la vibración de tensión del C-O, entre $1100\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$, aparece una banda ancha y solapada de la vibración en el plano de deformación del C-OH del ácido, además de las vibraciones de deformación dentro del plano de los enlaces C-H de los grupos aromáticos, ubicados entre $850\text{-}1070\text{ cm}^{-1}$ y por último las 2 bandas con intensidad media y cercanas (693 y 727 cm^{-1}) referentes a las vibraciones del enlace C-H de los anillos aromáticos indicando nuevamente la monosustitución de los anillos.

En el espectro de la sal diastereomérica se observa que aparecen dos señales anchas y con intensidad fuerte (1358 y 1556 cm^{-1}), característico de las sales de los ácidos carboxílicos, esto debido a que el anión carboxilato ($-\text{COO}^-$) tiene dos enlaces carbono oxígeno fuertemente acoplados con fuerza de enlaces intermedia entre el C=O y el C-O, siendo la primer señal referente a la tensión simétrica y la otra a la tensión asimétrica del enlace C-O, la banda débil a 3432 cm^{-1} perteneciente a la tensión de O-H libre viéndose afectada por la formación del grupo carboxilato, además de la banda ancha y puntiaguda entre $2000\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$ referentes a las vibraciones de enlaces del N-H junto con las de $=\text{NH}^+$, en este espectro si es notorio las 4 bandas débiles de vibraciones de enlace C=C de los armónicos ($1600\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$), evidenciándose la monosustitución de los anillos aromáticos siendo confirmada con las dos bandas agudas de intensidad media a 697 y 764 cm^{-1} , las otras bandas son pertenecientes a las vibraciones del C-H de los anillos aromáticos siendo cercanas que en el espectro del AM. Este espectro es consistente con lo que se encuentra en la literatura. [64] El espectro de (+)-PE2b no se muestra porque es idéntico al espectro de PE2b racémico (ver figura 27b).

Los compuestos (+)-PE3b y (+)-PE2b obtenidos en esta etapa, fueron disueltos en etanol absoluto y en cloroformo respectivamente, esto con el fin de realizar la medición de la actividad óptica en un polarímetro y garantizar la formación de los enantiómeros, encontrando los resultados que se registran en la tabla 19. Cabe destacar que se le realizó la actividad óptica al agente de resolución (S)-(+)-AM, utilizándolo como valor patrón, para tener en cuenta el error realizado en la técnica de análisis.

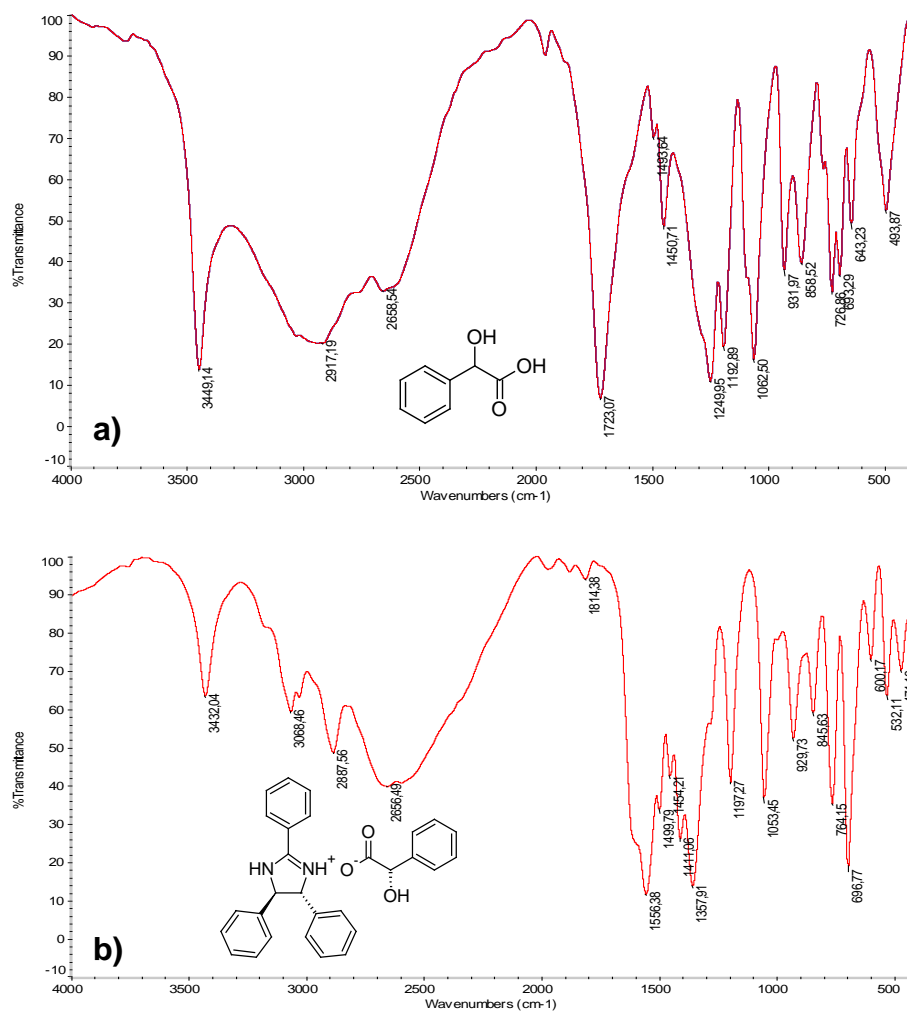


Figura 32. Espectros IR de a) AM y b) (+)-PE3b.

$$[\alpha]_{\lambda}^t = \frac{\alpha}{L * C} \quad \text{Ecuación 2}$$

Dónde:

t = temperatura en °C.

λ = longitud de onda de la luz incidente; para la lámpara de sodio D, se indica simplemente D: corresponde a 589 nm, la raya de emisión amarilla del vapor de sodio.

α = rotación óptica observada.

L = longitud de la cubeta que contiene la muestra, en decímetros; su valor suele ser 1 (es decir, 10 cm).

C = concentración (g mL⁻¹).

Tabla 19. Datos de rotación específica de los compuestos obtenidos en la etapa 3.

SUSTANCIA	[] g/mL	DISOLVENTE	n	$\alpha \pm s$ (%CV)*	$[\alpha]_D^{25} \pm s$ (%CV)
(S)-(+)-AM	0.0108	Agua	5	$+1.68 \pm 4.9E-04$ (0.03)	$+155.56^\circ \pm 0.05$ (0.03)
(+)-PE2b	0.0159	Cloroformo	5	$+0.75 \pm 3.5E-04$ (0.02)	$+47.17^\circ \pm 0.03$ (0.02)
(+)-PE3b	0.0085	Etanol	5	$+1.10 \pm 2.1E-04$ (0.02)	$+129.41^\circ \pm 0.02$ (0.02)

n = grados de libertad, s = desviación estándar, %CV = % Coeficiente de variación, α = Rotación óptica observada, $[\alpha]_D^{25}$ = Rotación específica calculada. * Los datos se encuentran ya corregidos con los valores arrojados de los disolventes como blancos.

Las rotaciones específicas de las tres sustancias son positivas y fueron halladas utilizando la fórmula de la ecuación 2, involucrando principalmente la rotación observada y la concentración de la muestra, esto indica que los tres compuestos rotan el plano de luz polarizada hacia la derecha, siendo coherente con el agente de resolución utilizado ((S)-(+)-AM) puesto que este precipitaría la forma dextrógira de PE2b, ya que estos compuestos presentan valores de rotación específica distintas de cero y con signo positivo, los tres serían (+)-enantiómeros. Los datos de $[\alpha]_D^{25}$ de las sustancias son consistentes con lo que se encuentra en la literatura [64], para Braddock las rotaciones específicas de la sal diastereomérica (ácido mandélico:isoamarina, 1:1) y la R,R-isoamarina son: +128.0 y +46.0 respectivamente, siendo cercanos a los valores obtenidos en esta investigación (< 2.0 unidades). No fue posible analizar por polarimetría a los compuestos (-)-PE3b y (-)-PE2b, los cuales fueron obtenidos cuando se utilizó el agente de resolución (R)-(-)-AM, se esperaría que estos compuestos arrojaran valores parecidos a los datos de la tabla 19 pero con signos negativos.

En el espectro protónico del (+)-PE2b se encuentran cinco regiones representadas como I, II, III, IV y V (ver figura 33). El análisis de estas regiones se resumen en la tabla 20, la señal singlete de la primera región corresponde a los protones metínicos (-CH-) del anillo de la imidazolina en configuración trans el cual se encuentra bastante desplazado debido a la cercanía de los anillos aromáticos presente en la molécula, la señal singlete de la región II es perteneciente al protón del grupo amino secundario (-NH-) que se encuentran en el anillo de la imidazolina encontrándose desplazada por las mismas razones de la señal de la primera región. Las señales de las regiones III, IV y V, corresponden a los protones de 3 anillos aromáticos monosustituídos (Ar-H), la señal III nos evidencia la existencia de dos anillos aromáticos simétricos.

Tabla 20. Resultados del espectro RMN-¹H de (+)-PE2b y de la isoamarina teórica.

REGIÓN	INTEGRACIÓN	ANÁLISIS δ	ANÁLISIS δ TEORICO [63, 67]
I	0,96	4.95 ppm (s, 2H)	4.90 ppm (s, 2H; NCH)
II	0,47	5.45 ppm (s, 1H)	5.42 ppm (s, 1H; NH)
III	5,21	7.43-7.28 ppm (m, 10H)	7.40-7.25 ppm (m, 10H; Ar-H)
IV	1,53	7.58-7.46 ppm (m, 3H)	7.55-7.42 ppm (m, 3H; Ar-H)
V	1,00	7.99 ppm (d, 2H; J = 6.9 Hz)	7.95 ppm (d, 2H; J = 8.3 Hz; Ar-H)

La señal poco intensa a un desplazamiento de 7.28 ppm pertenece al protón del disolvente (CDCl_3). Las señales IV y V pertenecen a los protones del tercer aromático siendo dividida en dos regiones, la señal doblete con mayor desplazamiento (región V) pertenece a los protones que se encuentran cerca al $-\text{C}(\text{NH})=\text{N}$ siendo simétricos ya que la integración muestra 2 protones, y el multiplete de la señal de la región IV corresponden a los protones restantes del anillo aromático, completando los 5 protones de un anillo aromático monosustituido. Todos los desplazamientos de las señales obtenidas son consistentes con lo reportado por Proskurnina y Braddock [67, 64] ya que los datos resultantes de la muestra (+)-PE2b son muy cercanos a los datos teóricos de la isoamarina.

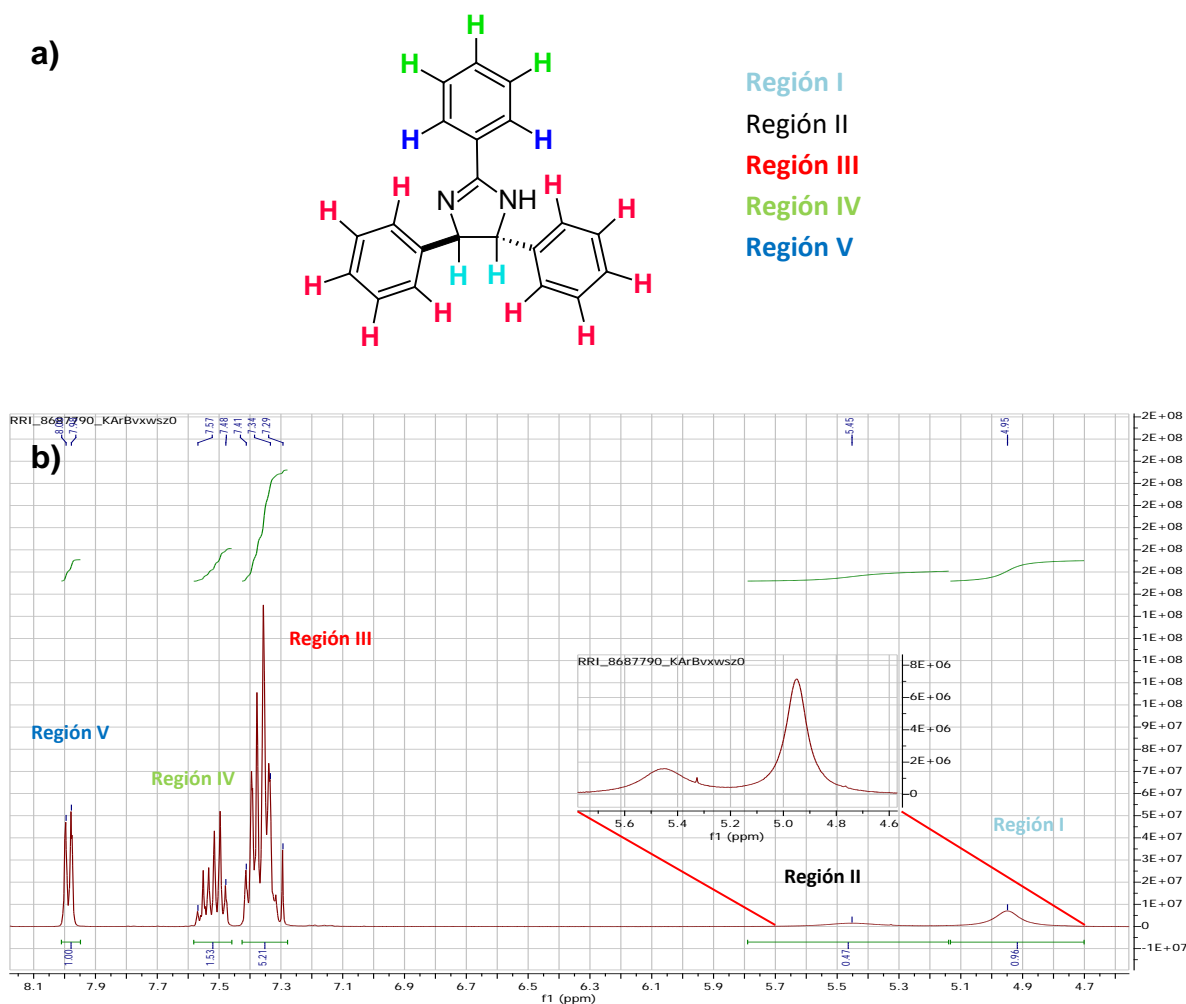


Figura 33. a) Estructura de la isoamarina. b) Espectro RMN- ^1H para (+)-PE2b en cloroformo deuterado.

En el espectro de RMN-¹³C (figura 34) se observa un triplete con desplazamiento aproximado de 77 ppm corroborando que el disolvente utilizado es el cloroformo; esta señal se desaparece en el espectro DEPT (figura 35) siendo coherente; además se observan 9 señales representadas con letras (a-i), el análisis de estas señales arrojaron los resultados que se encuentran en la tabla 21. Las señales a 143.6 y 163.1 ppm indican que pertenecen a carbonos que presentan insaturaciones, debido a que estos presentan desplazamientos muy altos, hecho que se corrobora con el espectro DEPT ya que las señales se desaparecen, igualmente sucede con la señal a 130 ppm por ende esta señal también presenta insaturación. Las señales restantes son pertenecientes a los carbonos que hacen parte de los 3 anillos aromáticos (=CH-). La señal correspondiente a los carbonos metínicos del anillo imidazolina no se observa, debido posiblemente a que se encuentra solapada dentro del multiplete del disolvente.

Tabla 21. Resultados del espectro RMN-¹³C de (+)-PE2b y de la isoamarina teórica.

CARBONO	EXPERIMENTAL δ	DEPT 135 δ	δ TEORICO [63]
a	126.7 ppm	126.7 ppm	126.9 ppm
b	127.4 ppm	127.4 ppm	127.5 ppm
c	127.6 ppm	127.6 ppm	127.6 ppm
d	128.6 ppm	128.6 ppm	128.7 ppm
e	128.8 ppm	128.8 ppm	128.8 ppm
f	130.2 ppm	---	130.2 ppm
g	131.0 ppm	131.0 ppm	131.1 ppm
h	143.6 ppm	---	143.6 ppm
i	163.1 ppm	---	163.1 ppm
j	Solapada con señal de CDCl ₃	---	71.8 ppm

Todos los datos anteriores (UV-vis, punto de fusión, IR, RMN y polarimetría) son consistentes con la literatura y son suficientes para determinar que los compuestos (+)-PE2b y (+)-PE3b son, R,R-(+)-isoamarina y S-(+)-mandelato de R,R-(+)-isoamarina respectivamente; de acuerdo a esto y a los datos obtenidos en las tablas 14 y 15, se obtuvieron mejores conversiones del (+)-mandelato (sal diastereomérica, \approx 90%) ya que la resolución llevada a cabo se realizó en un tiempo mayor (90 min) y no a 60 min como lo reporta Braddock [64] donde obtienen conversión del 80%; el tiempo de resolución (90 min) fue determinado por CCF desapareciéndose el compuesto de partida, indicando que esta variable es significativamente importante a la hora de separar los enantiómeros. En el proceso de desalinización y extracción, se obtiene porcentaje de recuperación más bajo (\approx 96%) que lo que reporta el autor anterior (100%), esto posiblemente se debe al procedimiento realizado, aun así se puede resaltar que en esta investigación los reactivos utilizados para la extracción, son la quinta parte de lo reportado [64], siendo algo muy importante ya que se emplea poco diclorometano (50 mL), el cual es un reactivo bastante costoso y tóxico, ayudando así al medio ambiente, siendo un método mucho más

amigable además de que el porcentaje de recuperación es aceptable ya que es mayor al 95%.

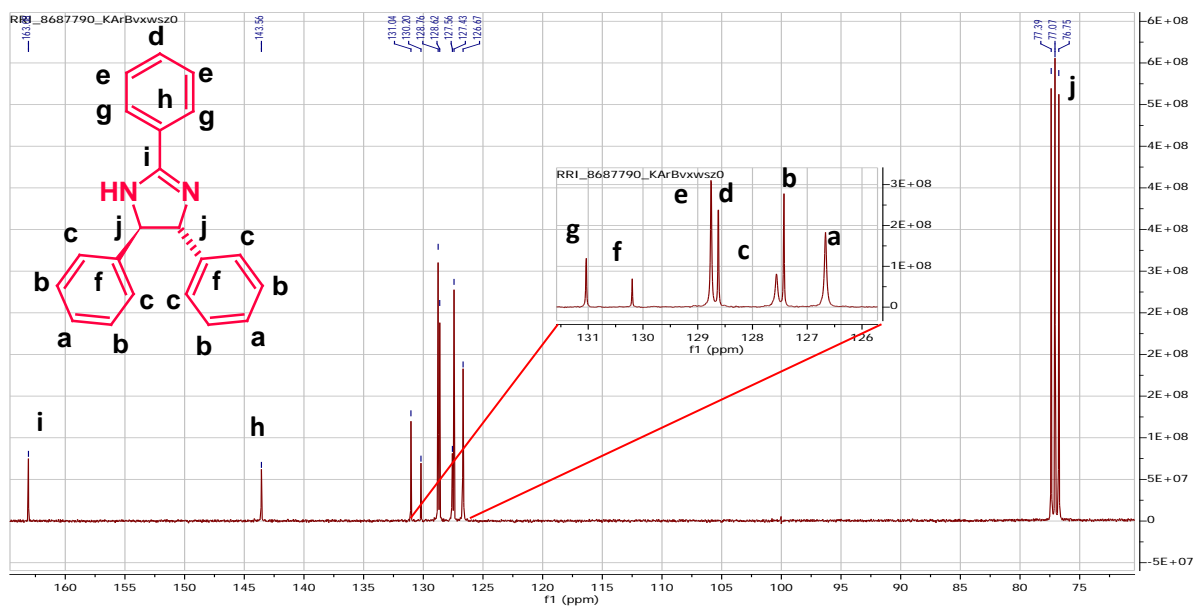


Figura 34. Espectro RMN- ^{13}C para (+)-PE2b en cloroformo deuterado.

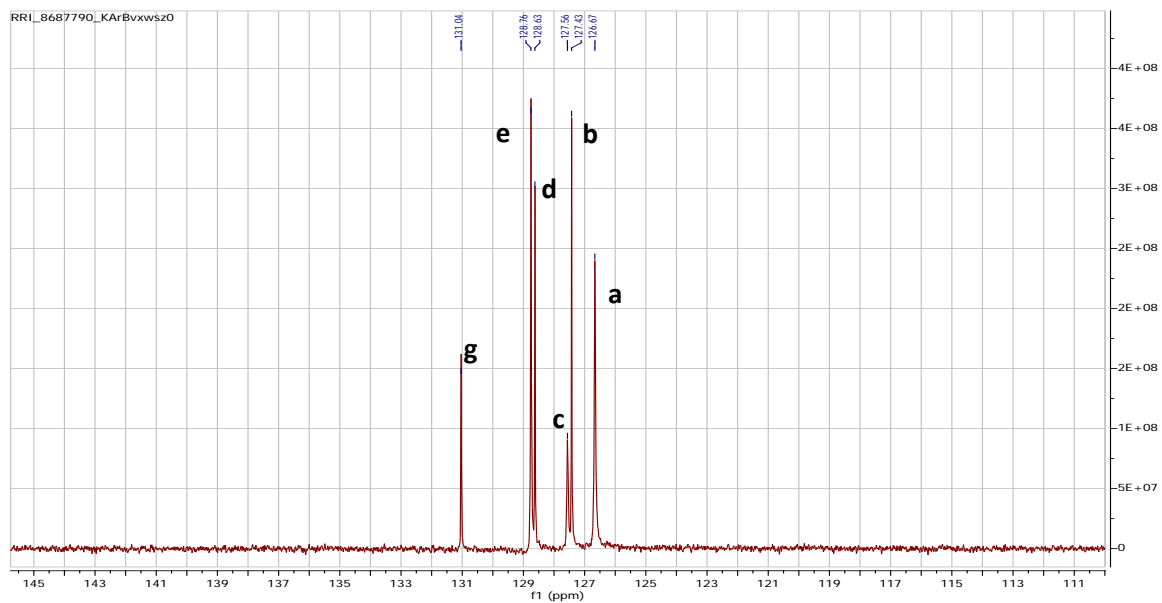
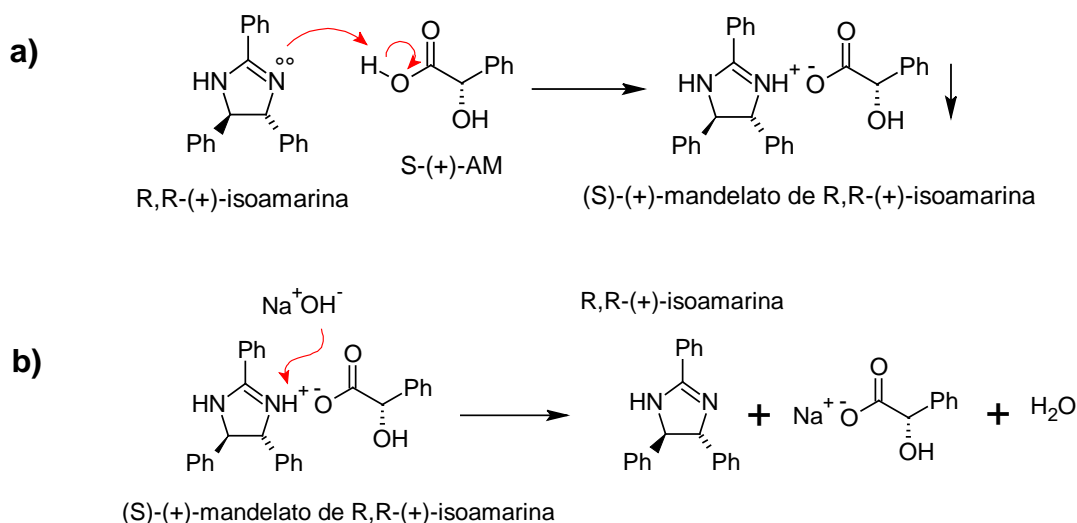


Figura 35. Espectro DEPT 135 de (+)-PE2b en cloroformo deuterado.

El mecanismo de las reacciones de esta etapa se encuentra en el esquema 22, la isoamarina actúa como base de Bronsted-Lowry, aceptando el protón del ácido mandélico y llevándose a cabo la formación del mandelato, en esta reacción ambos enantiómeros de la isoamarina reaccionan con el agente de resolución produciéndose dos sales diastereoméricas, las cuales se diferencian por su solubilidad (cristalización fraccional), en primera instancia precipita la isoamarina que presenta el mismo sentido de rotación que el AM utilizado y en solución queda la otra forma de la isoamarina, de esta forma fue posible separar en estado sólido cada una de las sales diastereoméricas. El anillo imidazolina presenta dos nitrógenos, los cuales son básicos, siendo mucho más fuerte el que presenta el doble enlace (C=N, grupo imino), este reacciona con el agente de resolución ácido extrayéndole el protón produciendo el anión carboxilato del AM estabilizado por resonancia. En la reacción de desalinización ocurre el proceso contrario, produciendo nuevamente la trans-imidazolina, en el cual el NaOH extrae el protón del grupo imino protonado produciendo además de isoamarina, mandelato de sodio y agua, el agente de resolución se recuperó adicionando a la fase acuosa HCl.



Esquema 22. Mecanismo de reacción en la separación de R,R-(+)-isoamarina: a) resolución y b) desalinización.

4.1.4. ETAPA 4.

La apertura del anillo de isoamarina en condiciones ácidas es bastante complicada debido a que el grupo funcional amidina de un compuesto cíclico es resistente a hidrólisis catalizada por ácido, incluso a reflujo, puesto que el ácido conjugado (ion imidazolínio) presenta una alta estabilidad, sin embargo la N-acetilamidina es fácilmente hidrolizable ya

que el nuevo grupo ceto en la molécula genera cierta inestabilidad a ésta, provocando que el anillo se abra para poder estabilizarse. [34, 63] En esta etapa se generaron diamidas tanto racémica como enantiomérica puras representadas como (\pm)-PE4b, (+)-PE4b y (-)-PE4b, iniciando con la acetilación de la isoamarina y su posterior hidrólisis catalizada por ácido clorhídrico; en los procesos de acetilación e hidrólisis fue necesario variar el tiempo de reacción, para encontrar en qué punto se obtiene la mejor conversión, dichas reacciones se monitorearon por CCF, encontrando en cada uno de los procesos que el reactivo de partida no desaparecía por completo. En la acetilación se observa que el compuesto formado presenta un R_f más alto (0.76) y el producto en la hidrólisis presenta un R_f más bajo (0.28) que la isoamarina, obteniendo una primera deducción de que el producto final de la reacción de acetilación e hidrólisis es mucho más polar que la isoamarina ya que este nuevo compuesto es más afín a la fase estacionaria. En la última reacción se tomaron alícuotas para desarrollar la CCF pero no fue posible la correcta visualización del compuesto formado, debido a que la elevada acidez de la mezcla de reacción quemaba la placa; realizando la CCF finalmente del compuesto formado una vez precipitado, lavado y secado. Las placas obtenidas en el monitoreo de las reacciones se observan en la figura 36. Al realizar estos experimentos se obtuvieron los porcentajes de conversión que se observan en la tabla 22.

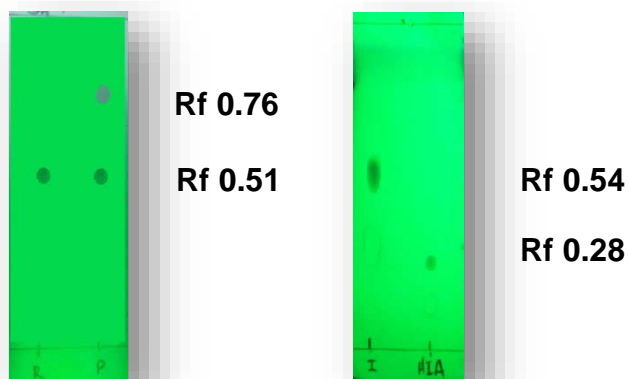


Figura 36. CCF en las reacciones de formación de (\pm)-PE4b. Reacción de: a) acetilación y b) hidrólisis.

En dicha tabla, se tiene que la mejor conversión del compuesto (\pm)-PE4b utilizando como base débil acetato de sodio, es cuando se realiza la acetilación y la hidrólisis a 3 y 2 horas respectivamente, obteniendo un porcentaje del 90.07%; debido a que el anhídrido acético es fácilmente hidrolizabable, por el vapor de agua del ambiente, siendo necesario corroborar que la reacción no fue afectada por tal condición, realizando el procedimiento en atmósfera inerte obteniendo un resultado muy cercano a la conversión anterior (88.40%), concluyendo que el anhídrido no es hidrolizado durante la reacción. Por ende al realizar la reacción al ambiente no afecta el porcentaje de conversión del mismo. Por otro

lado al utilizar como base débil piridina se obtiene un resultado similar (90.57%) que cuando se utiliza acetato de sodio, indicando finalmente que la formación de las diamidas puede realizarse utilizando acetato de sodio (reactivo no tóxico) en ausencia de atmósfera inerte, siendo un método bastante apropiado. La misma metodología fue aplicada para la formación de los compuestos (+)- y (-)-PE4b obteniendo resultados muy cercanos entre ellos (86.17 y 85.33%, correspondientemente) y un poco más bajo que cuando se realiza la reacción para obtener la diamida racémica.

Tabla 22. Resultados del porcentaje de conversión de (±)-PE4b, (+)- y (-)-PE4b.

COMPUESTO	BASE	A (h)	H (h)	GAS N ₂	%CONVERSIÓN ± s (%CV)
(±)-PE4b	AcONa	2	2	No	84.33 ± 1.17 (1.39)
(±)-PE4b	AcONa	3	2	No	90.07 ± 0.15 (0.17)
(±)-PE4b	AcONa	4	2	No	79.30 ± 3.51 (4.42)
(±)-PE4b	AcONa	6	2	No	54.57 ± 0.85 (1.56)
(±)-PE4b	AcONa	3	3	No	82.47 ± 2.75 (3.34)
(±)-PE4b	AcONa	3	4	No	82.67 ± 1.91 (2.32)
(±)-PE4b	AcONa	3	6	No	70.33 ± 0.80 (1.14)
(±)-PE4b	AcONa	3	2	Si	88.40 ± 0.61 (0.69)
(±)-PE4b	Piridina	3	2	No	90.57 ± 2.04 (2.26)
(+)-PE4b	AcONa	3	2	No	86.17 ± 1.21 (1.40)
(-)-PE4b	AcONa	3	2	No	85.33 ± 1.10 (1.29)

A (acetilación), H (hidrólisis), s (desviación estándar), %CV (% Coeficiente de variación).

Realizando la estadística respectiva de los resultados de la tabla 22 por medio del programa INFOTAT se tiene que los datos cumplen con los supuestos, siendo normales y homogéneos (ver tablas y figura del anexo 6), realizando finalmente las pruebas comparativas de Tukey, según la tabla 49 se encontró que las conversiones más bajas (54.57 y 70.33%) se obtienen cuando se realizan la acetilación a 6 y 3 horas y la hidrólisis a 2 y 6 horas correspondientemente y que la mejor conversión (90.07%) se logra cuando la reacción se somete a 3 horas de acetilación y 2 horas de hidrólisis. Esto se concluye ya que de acuerdo a las letras de los p-valores, la conversión de esta es significativamente diferente al resto siendo el mejor resultado. Según el resultado de la tabla 50, se encontró que se obtienen conversiones significativamente iguales (igual letra, A) si la reacción se realiza con acetato de sodio o con piridina y con o sin atmósfera inerte, concluyendo que esta se puede realizar utilizando condiciones normales de reacción, sin utilizar reactivos contaminantes y tóxicos como la piridina e incluso minimizando costo de la reacción al no emplear nitrógeno como atmósfera inerte. Por otro lado, teniendo en cuenta los resultados de la tabla 51, se observa que las conversiones de (+)- y (-)-PE4b son significativamente iguales (86.17 y 85.33% respectivamente), pero diferentes a la conversión de (±)-PE4b (90.07%), siendo esta última la mejor conversión; esto se debe posiblemente a la diferencia de solubilidades entre los compuestos quirales y el racémico.

Los compuestos sintetizados en esta etapa ((±)-PE4b, (+)- y (-)-PE4b) fueron recristalizados de metanol, obteniendo compuestos pastosos de color blanco, los cuales son inoloros. En la figura 37 solo se muestra las características del (±)-PE4b ya que son iguales a la de los otros compuestos quirales ((+)- y (-)-PE4b).



Figura 37. (±)-PE4b recristalizado.

En la tabla 23 se encuentran reportados los datos de solubilidad de (±)-PE4b y (+)-PE4b, mostrándonos una idea inicial de las polaridades de cada uno de estos compuestos.

Tabla 23. Datos de solubilidad de (±)-PE4b y (+)-PE4b.

DISOLVENTE	IP	T. AMBIENTE		CALENTAMIENTO	
		(±)-PE4b	(+)-PE4b	(±)-PE4b	(+)-PE4b
Isooctano	-0.4	I	I	I	I
Hexano	0.0	I	I	I	I
Tolueno	2.3	I	I	I	I
Eter etílico	2.8	I	I	I	I
Diclorometano	3.4	I	I	I	I
Tetrahidrofurano	4.0	I	S ¹	I	S ⁴
Cloroformo	4.1	I	S ²	I	---
Acetato de etilo	4.3	S ¹	S ²	S ⁴	S ⁴
Isopropanol	4.3	S ²	S ³	S ⁴	---
Etanol	5.2	S ³	S ⁴	---	---
Acetona	5.4	S ²	S ³	S ⁴	---
Acetonitrilo	6.2	S ¹	S ²	S ⁴	S ⁴
Metanol	6.6	S ¹	S ²	S ⁴	S ⁴
Agua	9.0	I	I	I	I

IP = Índice de polaridad. I = insoluble, S = soluble (S⁴ = muy soluble, S³ = soluble, S² = medianamente soluble, S¹ = poco soluble).

Los datos de la tabla anterior son coherente con la CCF realizada, ya que los compuestos producidos presentan un R_f muy bajo (0.27) siendo afín a la fase estacionaria, por ende el compuesto debe ser polar y esto se corrobora ya que son solubles en disolventes con IP entre 4.3-6.6, hay que destacar que el compuesto no es soluble en agua, esto puede

explicarse debido a que éste presenta 3 anillos aromáticos en la estructura impidiendo la solvatación. Según la tabla, el compuesto racémico ((±)-PE4b) es menos soluble que sus enantiómeros puros, esto posiblemente a que es más compleja su solvatación por la orientación de todos los anillos de las moléculas, presente en la mezcla racémica, este resultado coincide con las conversiones obtenidas en las reacciones ya que el valor es mayor, corroborando que este resultado es alto por la baja solubilidad del compuesto en el medio de reacción.

En la figura 38 sólo se muestra el espectro UV-vis del enantiómero (+)-PE4b, por ser idéntico a los espectro del enantiómero contrario y a la mezcla racémica de este mismo compuesto. En este espectro se observa claramente la absorción de longitud de onda máxima a 210 nm y un hombro aproximadamente a 230 nm, pertenecientes a las absorciones de las transiciones electrónica $\pi \rightarrow \pi^*$ de los anillos aromáticos.

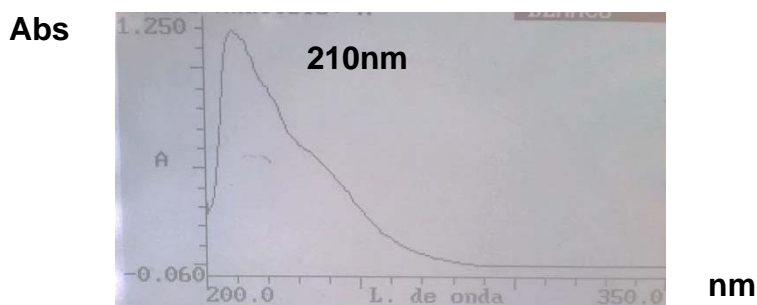


Figura 38. Espectro UV-vis del (+)-PE4b, disuelto en etanol.

El punto de fusión promedio de los compuestos recristalizados (±)-PE4b y (+)-PE4b se registran en la tabla 24; siendo coherente con lo que se encuentra en la literatura, [64,76] el compuesto codificado como (±)-PE4b presenta un valor muy cercano a lo encontrado para la diamida racémica ((±)-*N*-acetil-*N'*-benzoil-1,2-difeniletildiamina) teniendo una desviación promedia de 4 °C. La diamida (+)-PE4b presenta un rango de punto de fusión alto y es coherente con lo reportado en la literatura ya que para la (+)-*S,S*- *N*-acetil-*N'*-benzoil-1,2-difeniletildiamina se reporta punto de fusión superior a 230 °C, a pesar de que no es un valor específico, el resultado obtenido cumple con esta condición (260.2-263.9 °C), estos valores nos permiten la elucidación preliminar de estas dos sustancias.

Tabla 24. Datos de puntos de fusión para (±)-PE4b y (+)-PE4b.

COMPUESTO	p.f. REPORTADO (°C)	COMPUESTO	p.f. EXPERIMENTAL (°C)
(±)-diamida	240 [76]	(±)-PE4b	242.4 – 246.1
(+)-diamida	> 230 [64]	(-)-PE4b	260.2 – 263.9

Para sustentar dichos valores se realizaron análisis de calorimetría diferencial de doble barrido, obteniendo los termogramas que se observan en la figura 39, los cuales permiten realizar los análisis respectivos de las temperaturas de fusión de cada uno de los compuestos. En estas figuras se observan picos de transición de primer orden, encontrando que para ambos compuestos existen picos tanto de cristalización (T.c.), como de fusión (T.m.). Los valores de estas transiciones fueron obtenidos por las integraciones del área bajo el pico y se encuentran registrados en la tabla 25, siendo coherentes con los datos de los puntos de fusión citados anteriormente, dichas figuras muestran solo un pico en cada transición, lo que comprueba que se tienen muestras libres de impurezas, ya sea del compuesto de partida (isoamarina) o de la mezcla de reacción de acetilación e hidrólisis.

Tabla 25. Valores de transiciones de primer orden para (±)-PE4b y (+)-PE4b.

COMPUESTO	T.c. (°C)	T.m. (°C)
(±)-PE4b	85.15	243.70
(-)-PE4b	135.29	261.99

En la figura 40 se muestra el espectro IR de (±)-PE4b, encontrando las siguientes bandas: a 3335 cm^{-1} una banda aguda e intensa, perteneciente a las vibraciones de estiramiento simétrico del grupo N-H de una amida secundaria, junto con la señal de tensión del C-H (3038 cm^{-1}), las bandas intensas a 1639 y 1526 cm^{-1} son pertenecientes a los carbonilos de los grupos diamidas presentes en la molécula, la primera es del N-acetil y la segunda del N-benzoil, esta última se encuentra bastante desplazada debido a la conjugación que presenta el doble enlace del grupo carbonilo con los dobles enlaces del anillo aromático, las anteriores bandas se encuentran superpuestas con las bandas de los sobretonos de los anillos aromáticos impidiendo la visualización de la sustitución de dichos anillos, las señales a 1364 y 1298 cm^{-1} , corresponde a las señales de vibración de enlace simétrico dentro del plano del C-N, pertenecientes a los dos grupos diamidas que se encuentran en la molécula siendo la primera para el C-N del N-acetil y la segunda del N-benzoil; la señal bastante intensa a 700 cm^{-1} pertenece a las vibraciones fuera del plano del enlace N-H, por último las 2 bandas con intensidad media y cercanas (638 y 582 cm^{-1}) referentes a las vibraciones del enlace C-H de los anillos aromáticos indicando la monosustitución de estos. Este espectro es consistente con lo que se encuentra en la literatura. [64] El espectro de (+)- y (-)-PE4b no se muestran porque son idénticos al de PE4b racémico.

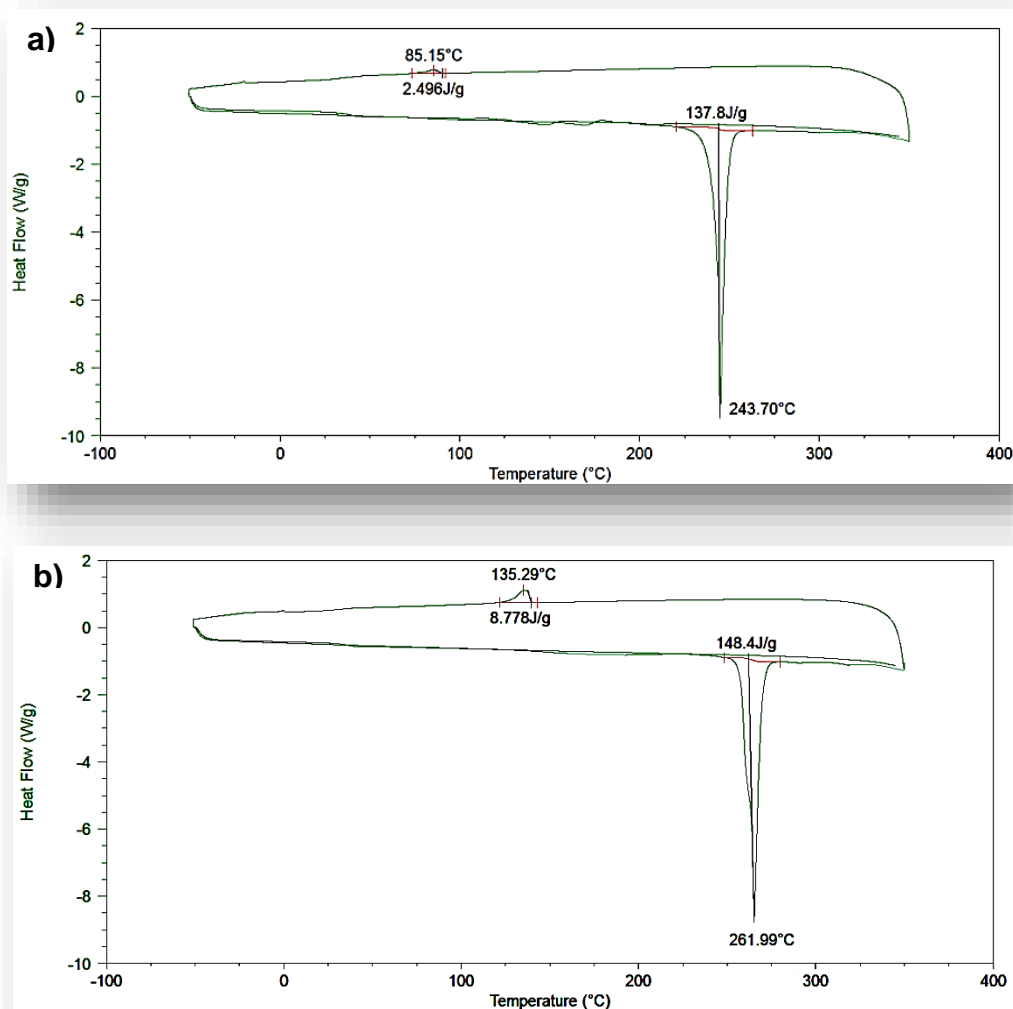


Figura 39. Termogramas de DSC con doble barrido de temperatura para: a) (±)-PE4b y b) (+)-PE4b.

Todos los datos anteriores (UV-vis, punto de fusión, solubilidad e IR) son consistentes con la literatura y son suficientes para determinar que los compuestos (±)- y (+)-PE4b, son (±)- y (+)-*N*-acetil-*N'*-benzoil DFEDA respectivamente. De acuerdo a esto y a los datos obtenidos en las tabla 22, se tiene que en esta investigación la mejor conversión se obtienen a 3 horas de acetilación y 2 horas de hidrólisis con un porcentaje del 90.07% para la diamida racémica, tiempos que concuerdan con las metodologías encontradas en la literatura. Este resultado es menor que lo reportado por Braddock [64] el cual obtiene conversiones del 95% y mayor a lo reportado por anónimo [76] que logra conversión del

42%. Cabe destacar que el porcentaje de conversión obtenida en esta etapa es buena siendo un método bastante apropiado para sintetizar las diamidas de DFEDA.

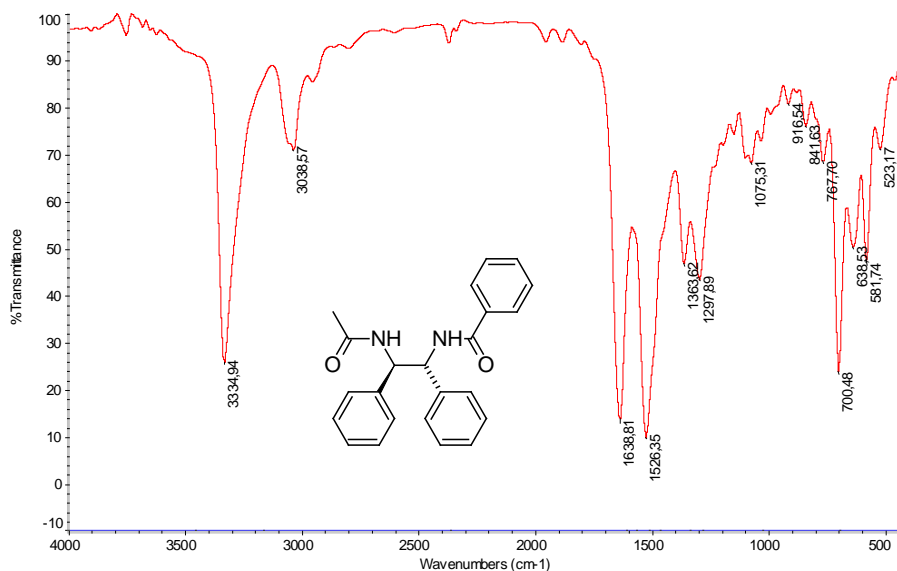
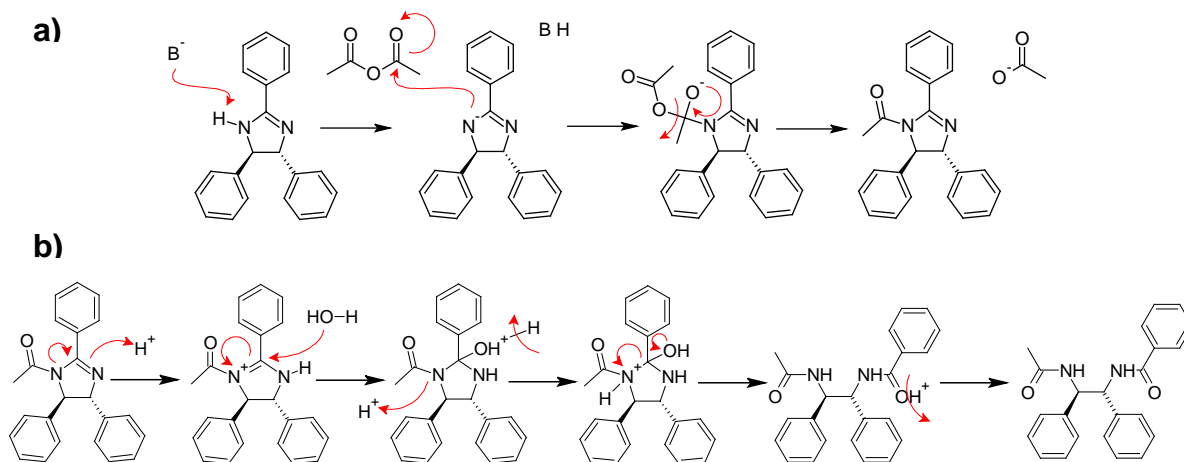


Figura 40. Espectro IR de (±)-PE4b.

El mecanismo de las reacciones de acetilación e hidrólisis se encuentran en el esquema 23, en la primera etapa la base débil ya sea el acetato de sodio o la piridina, abstrae el protón del anillo de imidazolina de la isoamarina para generar un anión cíclico, el cual ataca nucleofílicamente a uno de los grupos carbonilos del anhídrido acético provocando un reordenamiento de carga y liberando el ion carboxilato (acetato) el cual es estabilizado por resonancia, formando la acetil isoamarina junto con el acetato de piridinio o en su defecto un buffer de acetato de sodio y ácido acético, la acetilisoamarina formada, es protonada en la segunda etapa, por el ácido clorhídrico adicionado, formando un catión cíclico, una molécula de agua presente en el medio de reacción ataca nucleofílicamente al grupo imino protonado generando la apertura del anillo por el reordenamiento de la carga positiva y formando un nuevo grupo carbonilo en la molécula, el cual es estabilizado por la liberación de un protón, produciendo finalmente la *N*-acetil-*N'*-benzoil DFEDA.



Esquema 23. Mecanismo de reacción de las reacciones de la etapa 4. a) Acetilación de isoamarina y b) hidrólisis de acetilisoamarina.

4.1.5. ETAPA 5.

La síntesis de diaminas a través de diamidas se ha realizado por dos métodos diferentes, en los cuales involucran la hidrólisis de los grupos amidas presentes en las moléculas utilizando mezcla entre EtOH-HCl y HBr-acac, obteniendo bajos rendimientos con el primer método. [54] En esta etapa se realizó la síntesis de diaminas utilizando el método propuesto por Bailar donde las diamidas fueron sometidas a hidrólisis ácida en reflujo a 24 horas, utilizando una mezcla entre ácido acético glacial y ácido bromhídrico al 48%, en el cual se varió la relación de mezcla de ácidos (1:1, 1:2 y 1:3, respectivamente), encontrando excelentes resultados con la relación 1:3; teniendo en cuenta esta relación se varió también el tiempo de reacción a 48 horas. El monitoreo por CCF no fue posible, debido a que la alta acidez del medio de reacción dificultaba la visualización de los compuestos formados, por este hecho la CCF fue realizada con el compuesto obtenido al final del proceso ya purificado y recristalizado en éter de petróleo:éter etílico (1:2), dicho compuesto fue disuelto en etanol y eluido con una mezcla de DCM:NH₄OH en relación 9:1, presentando un R_f bastante bajo (0.13) comparado con el compuesto de partida (R_f 0.33), lo cual indica que el compuesto sintetizado es mucho más polar por ser más afín a la fase estacionaria y no al eluyente, esto es de esperarse ya que el nuevo compuesto presentaría dos grupos aminos los cuales pueden interactuar con la sílice por medio de enlaces de hidrógeno a diferencia de la diamida que las interacciones son un poco más impedida. La CCF realizada se observa en la figura 41.

Al realizar estos experimentos se obtuvieron los porcentajes de conversión que se observan en la tabla 26.

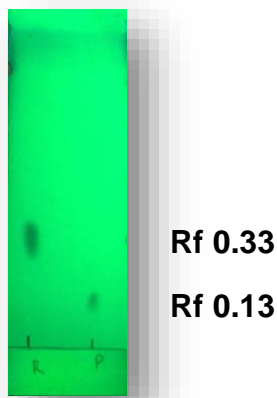


Figura 41. CCF en las reacciones de formación de (\pm)-PE5b.

Tabla 26. Resultados del porcentaje de conversión de (\pm)-PE5b, (+)- y (-)-PE5b.

COMPUESTO	RELACIÓN DE ÁCIDOS*	TIEMPO (h)	%CONVERSIÓN \pm s (%CV)
(\pm)-PE5b	1:1	24	48.67 \pm 0.95 (1.94)
(\pm)-PE5b	1:2	24	48.40 \pm 1.22 (2.51)
(\pm)-PE5b	1:3	24	91.87 \pm 2.10 (2.29)
(\pm)-PE5b	1:3	48	89.33 \pm 0.68 (0.76)
(+)-PE5b	1:3	24	91.70 \pm 2.44 (2.66)
(-)-PE5b	1:3	24	89.47 \pm 1.64 (1.84)

*ácido acético glacial /HBr 48%, s (desviación estándar), %CV (% Coeficiente de variación).

De acuerdo a los datos de la tabla anterior se observa que la mejor conversión del compuesto (\pm)-PE5b se obtiene cuando se utiliza una mezcla de ácidos en relación 1:3 a 24 horas de reflujo, logrando un porcentaje de conversión bastante alto (91.87%), las conversiones en relación 1:1 y 1:2 de la posible diamina racémica son cercanas entre ellas (48.67 y 48.40%, respectivamente) y esta última concuerda con lo que reporta Braddock al utilizar una relación de ácidos 1:2 a 24 horas en reflujo obteniendo 49% de conversión. Al utilizar la relación de ácidos 1:3 pero a 48 horas en reflujo, arroja conversiones similares a la de 24 horas; además se observa que los resultados de (+)- y (-)-PE5b (91.70 y 89.47%, correspondientemente) son cercanos a los del compuesto racémico 91.87%.

Realizando la estadística respectiva de los resultados en la tabla 26, por medio del programa INFOSAT, se tiene que los datos cumplen con los supuestos, siendo normales y homogéneos (ver tablas y figura del anexo 7), realizando finalmente las pruebas comparativas de Tukey, según la tabla 53 se corroboró que la mejor conversión es

obtenida en relación 1:3 siendo significativamente diferente a las conversiones cuando se utiliza las relaciones de ácido 1:1 y 1:2, estas relaciones producen conversiones significativamente iguales ya que presentan el mismo p-valor, en la tabla 54 se muestra que cuando la reacción de hidrólisis se realiza ya sea a 24 o 48 horas las conversiones no son significativamente diferentes puesto que sus p-valores son iguales confirmando lo anteriormente dicho. Por último como se observa en la tabla 55, las conversiones tanto de (\pm)-PE5b como de (+)- y (-)-PE5b son elocuentemente iguales presentando los tres la misma letra (A) como p-valor.

Los compuestos sintetizados en esta etapa ((\pm)-PE5b, (+)- y (-)-PE5b) fueron recristalizados en el disolvente anteriormente mencionado, obteniendo compuestos polvorientos de color blanco, los cuales son inodoros; además de estos compuestos también se obtuvieron como productos intermedios las sales de bromo de los compuestos de síntesis anteriormente mencionados, los cuales son cristalinos, blancos e inodoros; utilizándolos también para su posterior elucidación. En la figura 42 se muestra los compuestos (\pm)-PE5b y el bromuro de (\pm)-PE5b, ya que las características de estos, son iguales a la de los otros compuestos quirales ((+)- y (-)-PE5b y sus respectivas sales de bromo).

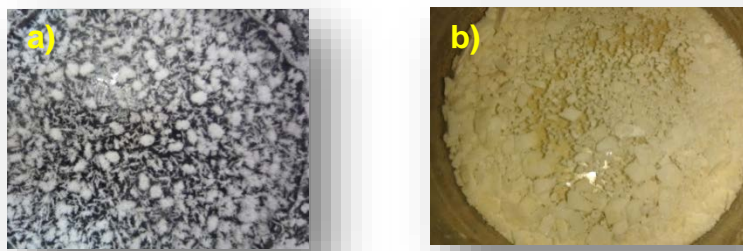


Figura 42. Compuestos sintetizados y recristalizados en la etapa 5: a) sal de (\pm)-PE5b y b) (\pm)-PE5b.

En la tabla 27 se encuentran reportados los datos de solubilidad del (\pm)-PE5b y su respectiva sal de bromuro, mostrando una idea inicial de las polaridades de cada uno de estos compuestos. De acuerdo a los datos de la tabla, el compuesto (\pm)-PE5b es polar, ya que este es soluble en disolventes con IP entre 3.4-6.6, hecho que se corrobora cuando se realiza la CCF puesto que el compuesto formado presenta un R_f bajo (0.13) indicando la afinidad que tiene por sustancias polares, hay que destacar que este compuesto es bastante soluble en varios disolventes pero a temperaturas elevadas, indicando que este presenta una polaridad intermedia, esto posiblemente a los grupos aromáticos y aminos presentes en la molécula, de la misma manera se tiene que la respectiva sal del compuesto racémico presenta polaridad alta ya que este es soluble en disolventes con IP entre 6.6-9.0 ó especialmente en disolventes con grupos polares hidroxilo como el etanol

(IP 5.2), lo cual es de esperarse puesto que los disolventes polares solvatan con mayor facilidad sustancias que presentan cargas iónicas como las sales. Los otros compuestos no se muestran porque presentan la misma solubilidad.

Tabla 27. Datos de solubilidad de sal de (±)-PE5b y (±)-PE5b.

DISOLVENTE	IP	T. AMBIENTE		CALENTAMIENTO	
		Sal de (±)-PE5b	(±)-PE5b	Sal de (±)-PE5b	(±)-PE5b
Isooctano	-0.4	I	I	I	I
Hexano	0.0	I	I	I	I
Tolueno	2.3	I	I	I	I
Eter etílico	2.8	I	I	I	I
Diclorometano	3.4	I	S ³	I	---
Tetrahidrofurano	4.0	I	S ³	I	---
Cloroformo	4.1	I	S ³	I	---
Acetato de etilo	4.3	I	S ²	I	S ⁴
Isopropanol	4.3	S ¹	S ³	S ⁴	---
Etanol	5.2	S ³	S ⁴	---	---
Acetona	5.4	S ²	S ³	S ⁴	---
Acetonitrilo	6.2	S ²	S ²	S ⁴	S ⁴
Metanol	6.6	S ⁴	S ³	---	---
Agua	9,0	S ⁴	S ²	---	S ⁴

IP = Índice de polaridad. I = insoluble, S = soluble (S⁴ = muy soluble, S³ = soluble, S² = medianamente soluble, S¹ = poco soluble).

En la figura 43 se muestran los espectros UV-vis solo de uno de los enantiómeros del compuesto PE5b y su respectiva sal, observando que ambos espectros presentan 2 bandas de absorción muy parecidas entre ellas. La sal de (+)-PE5b presenta las bandas de absorción a 214 y 260 nm siendo un poco más desplazadas que las bandas de absorción del compuesto (+)-PE5b (212 y 254 nm), debido posiblemente a la gran densidad electrónica que presentan los átomos de Bromo. Estas absorciones de longitud de onda máximas son pertenecientes a las transiciones electrónica $\pi \rightarrow \pi^*$ de los anillos aromáticos.

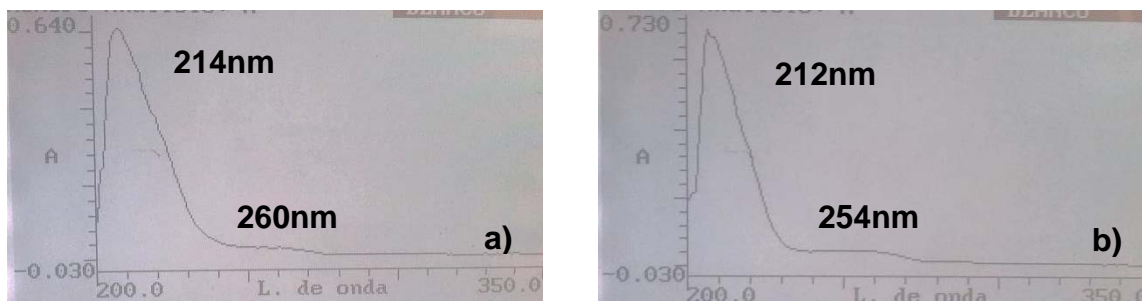


Figura 43. Espectro UV-vis de: a) Sal de (+)-PE5b y b) (+)-PE5b, disueltos en etanol.

El punto de fusión promedio de los compuestos recristalizados ((+)-PE5b y su respectiva sal), se registran en la tabla 28, en esta se observa que la sal de (+)-PE5b presenta un punto de fusión alto (300.7-303.2 °C), hecho que se espera puesto que las sales orgánicas presentan puntos de fusión entre 200-400 °C, debido a que no hay reporte en la literatura no fue posible comparar este valor. A diferencia de la sal si fue posible comparar el compuesto (+)-PE5b con el R,R-(+)-DFEDA, encontrando que el punto de fusión promedio del compuesto sintetizado (79.3-87.6 °C) es cercano al reportado (78-82 °C) presentando un rango muy amplio, indicando posibles impurezas, hecho que se explica por la facilidad que tienen las aminas por oxidarse con el oxígeno del aire formando nitrosaminas, evidenciándose por el cambio en la coloración del sólido obtenido, pasando de blanco a amarillento.

Tabla 28. Datos de puntos de fusión para (+)-PE5b y su respectiva sal.

COMPUESTO	p.f. REPORTADO (°C)	COMPUESTO	p.f. EXPERIMENTAL (°C)
Dibromuro de DFEDA	NR	Sal de (+)-PE5b	300.7-303.2
R,R-(+)-DFEDA	78-82 [63]	(+)-PE5b	79.3-87.6

NR = No hay reporte.

Para sustentar dichos valores se realizaron análisis de calorimetría diferencial de doble barrido, obteniendo los termogramas que se observan en la figura 44, los cuales permiten realizar los análisis respectivos de las temperaturas de fusión de cada uno de los compuestos. En estas figuras se observan picos de transición de primer orden, encontrando que para la sal de (+)-PE5b existen tanto picos de fusión (T.m.) como de cristalización (T.c.) en cambio para el (+)-PE5b solo picos de fusión (T.m.). Los valores de estas transiciones fueron obtenidos por las integraciones del área bajo el pico y se reportan en la tabla 29, siendo coherentes con los datos de los puntos de fusión citados anteriormente. El termograma DSC de la sal (+)-PE5b solo presenta un punto de fusión indicando que esta muestra se encuentra libre de impurezas, en cambio el compuesto (+)-PE5b presenta dos puntos de fusión corroborando lo anteriormente dicho, el primer punto de fusión de 80.58 °C se encuentra dentro del rango del punto de fusión teórico del R,R-(+)-DFEDA y el segundo punto de fusión a 306.70 °C debe pertenecer al producto de oxidación de la diamina.

Tabla 29. Valores de transiciones de primer orden para (+)-PE5b y su respectiva sal.

COMPUESTO	T.c. (°C)	T.m. (°C)
Sal de (+)-PE5b	275.80	302.04
(+)-PE5b	---	80.58 y 306.70

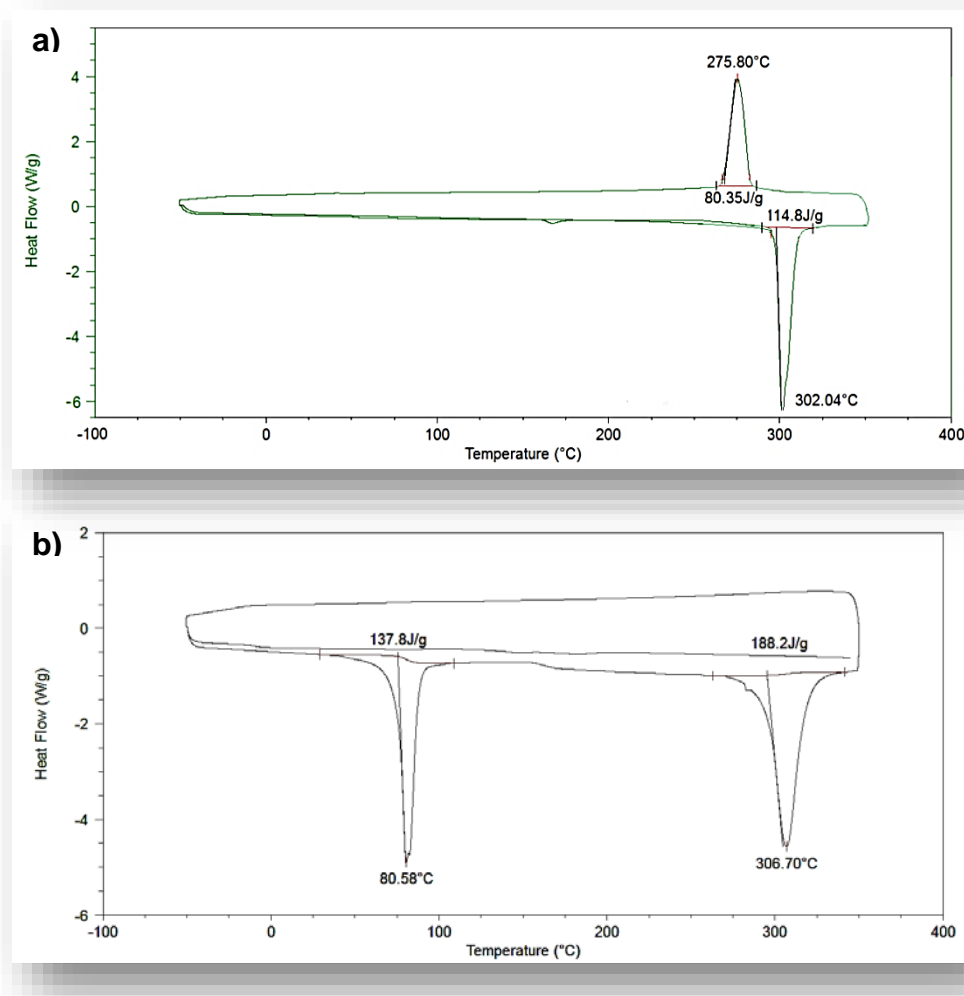


Figura 44. Termogramas de DSC con doble barrido de temperatura para: a) sal de (+)-PE5b y b) (+)-PE5b.

Los análisis de caracterización como IR, polarimetría y RMN sólo fueron posibles para la sal de (+)-PE5b debido a que la diamina es poco estable al ambiente. En la figura 45 se encuentra el espectro IR de la sal de (+)-PE5b, encontrando las siguientes bandas: a 3454 y 2857 cm^{-1} se encuentran dos bandas agudas e intensas, pertenecientes a las vibraciones de estiramiento simétrico del grupo N-H^+ libre y asociado a hidrógenos respectivamente, también aparecen dos bandas agudas con intensidad media (1571 y 1481 cm^{-1}), característico de las sales de aminas, siendo la primer señal referente a la tensión simétrica y la otra a la tensión asimétrica del enlace NH^+ , las señales a 1043 y 989 cm^{-1} , corresponde a las señales de vibración de enlace simétrico dentro del plano del C-N, pertenecientes a los dos grupos aminos protonados, los cuales se encuentran

desplazados por el anión bromuro; por último las 2 bandas con intensidad media y cercanas (761 y 695 cm^{-1}) referentes a las vibraciones del enlace C-H de los anillos aromáticos indicando la monosustitución de estos. Los espectros de (\pm)- y ($-$)-PE5b no se muestran porque son idénticos al de (+)-PE5b.

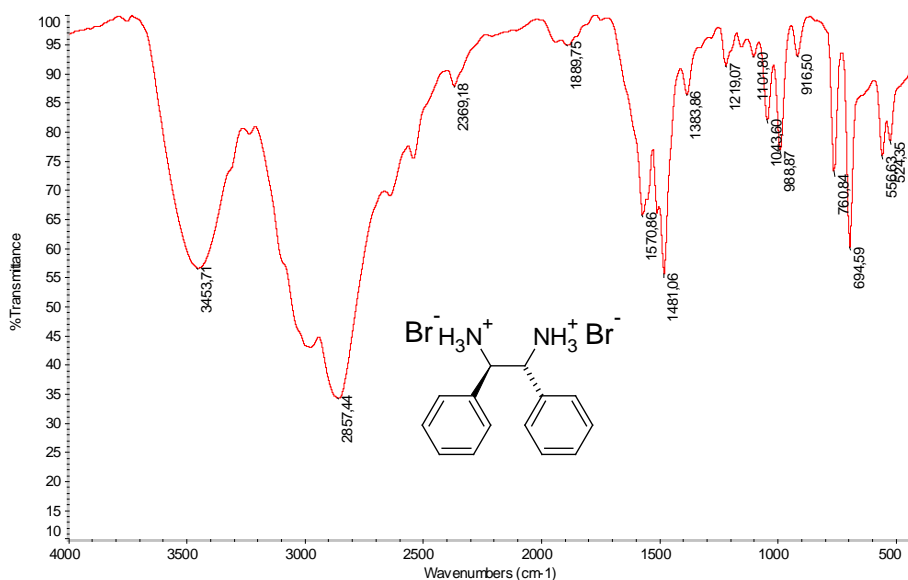


Figura 45. Espectro IR de la sal de (+)-PE5b.

La sal obtenida en esta etapa fue disuelta en agua, esto con el fin de realizar la medición de la actividad óptica en un polarímetro garantizando la formación de un enantiómero, de acuerdo a la tabla 30 se encontró que la rotación específica de la sustancia es positiva y fue hallada utilizando la fórmula de la ecuación 2, involucrando principalmente la rotación observada y la concentración de la muestra; esto indica que la sal rota el plano de luz polarizada hacia la derecha, siendo coherente con el proceso llevado en la etapa 3, ya que este compuesto fue obtenido a partir de (+)-PE2b el cual también presentaba un valor positivo de rotación específica, debido a que este compuesto presenta un valor de rotación específica distinto de cero y con signo positivo, sería un (+)-enantiómero, se asume que la sal ($-$)-PE5b presente el mismo valor pero con signo contrario. El dato de $[\alpha]_D^{25}$ de esta sustancia no fue posible compararla ya que no hay reportes en la literatura del dibromuro de R,R-(+)-DFEDA.

Tabla 30. Datos de rotación específica de la sal de (+)-PE5b.

SUSTANCIA	[] g/mL	DISOLVENTE	n	$\alpha \pm s$ (%CV)*	$[\alpha]_D^{25} \pm s$ (%CV)
Sal de (+)-PE5b	0.0430	Agua	5	$+0.15 \pm 4.0E-04$ (0.26)	$+3.49 \pm 0.09$ (2.58)

n = grados de libertad, s = desviación estándar, %CV = % Coeficiente de variación, α = Rotación óptica observada, $[\alpha]_D^{25}$ = Rotación específica calculada. * Los datos se encuentran ya corregidos con los valores arrojados del disolvente como blanco.

En el espectro protónico de la sal de (+)-PE5b se encuentran cuatro regiones representadas como I, II, III y IV (ver figura 46). El análisis de estas regiones arrojaron los resultados que se reportan en la tabla 31, a campo alto se observa la señal singlete de la primera región correspondiente a la señal del disolvente utilizado, en este caso metanol deuterado (CD_3OD); además esta señal, posiblemente se encuentra solapando la señal del grupo amino protonado (NH^+), la señal de la región II (campo alto), pertenece al protón del grupo metino ($-CH-$) el cual se encuentra desplazada a campo alto debido a la cercanía de los anillos aromáticos presente en la molécula además del grupo NH^+ y el bromo, Las señales de las regiones III y IV corresponden a los protones de un anillo aromático monosustituido (Ar-H), la señal doblete con desplazamiento de 5.80 ppm (región III) pertenece a los protones que se encuentran más cerca del enlace $-CHNH^+Br^-$ y el multiplete de la señal de la región IV corresponden a los protones restantes del anillo aromático, completando los 5 protones de un anillo aromático monosustituido.

Tabla 31. Resultados del espectro RMN- 1H de la sal de (+)-PE5b.

REGIÓN	INTEGRACIÓN	ANÁLISIS δ
I	---	3.31 ppm (CD_3OD)
II	1.00	3.65 ppm (s, 1H, $-CH-$)
III	1.96	5.80 ppm (d, $J = 8,3$ Hz, 2H, Ar-H)
IV	2.96	6.05-5.91 ppm (m, 3H, Ar-H)

En el espectro de RMN- ^{13}C (figura 47) se observan 5 señales representadas con letras (a-e), el análisis de estas señales arrojaron los resultados que se registran en la tabla 31. A campo bajo se observan 4 señales de carbono que corresponden a un anillo aromático, siendo un poco desplazadas a campo alto, posiblemente a la cercanía que estos tienen con el grupo $-CHNH^+Br^-$, la señal a 129.2 ppm pertenece a un carbono cuaternario, debido a que este presenta el mayor desplazamiento entre los cuatro, hecho que se corrobora con el espectro DEPT (figura 48) ya que la señal se desaparece, indicándonos que se trata del carbono de un anillo aromático monosustituido. Las señales restantes de esta región pertenecen a los carbonos metínicos del anillo aromático ($=CH-$), siendo estas las señales de los carbonos a, b y c los cuales presentan desplazamientos de 126.8, 128.0 y 128.9 respectivamente. La señal a 55.4 ppm corresponde a la señal de un carbono metínico ($-CH-$) de un compuesto alifático el cual se asignó con la letra e en la molécula del dibromuro de DFEDA.

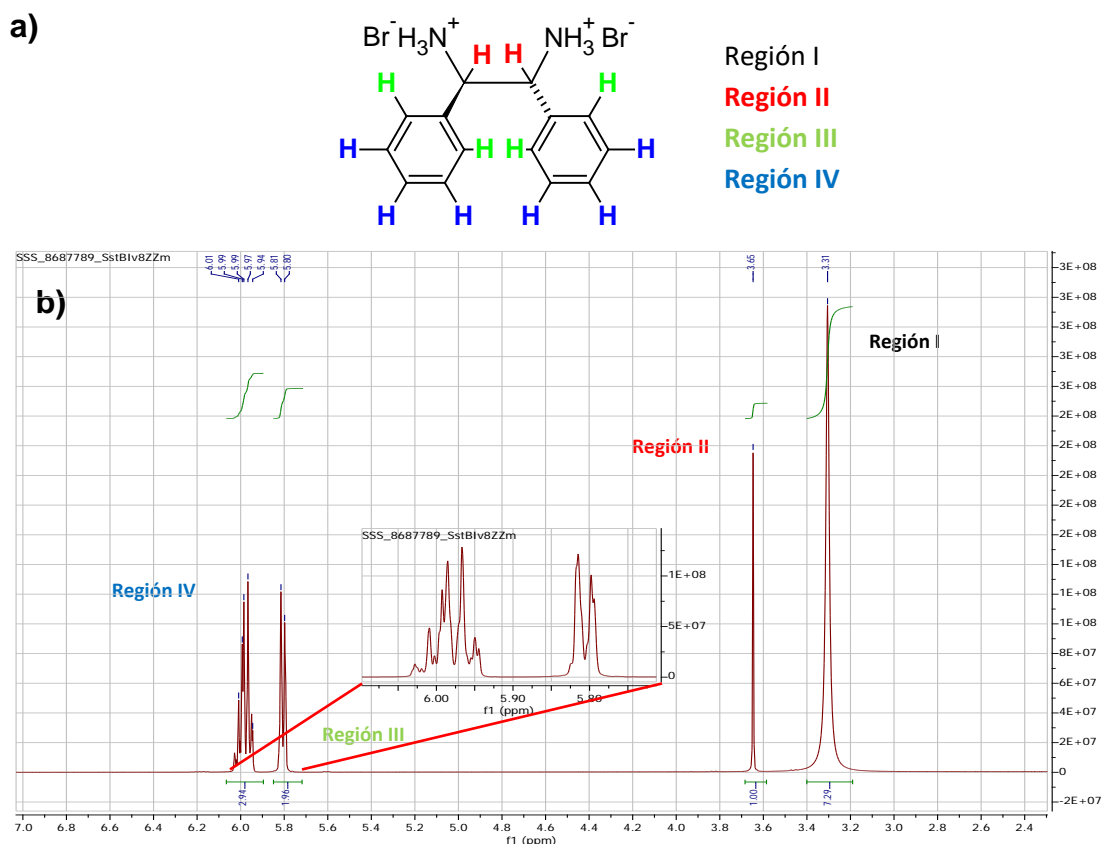


Figura 46. a) Estructura del dibromuro de R,R-(+)-DFEDA. b) Espectro RMN- ^1H para la sal de (+)-PE5b en metanol deuterado.

Tabla 32. Resultados del espectro RMN- ^{13}C normal y DEPT de la sal de (+)-PE5b.

CARBONO	NORMAL δ	DEPT 135 δ
a	126.8 ppm	126.8 ppm
b	128.0 ppm	128.0 ppm
c	128.9 ppm	128.9 ppm
d	129.2 ppm	---
e	55.4 ppm	55.4 ppm

Las señales tanto de protón como de carbono, observadas en las tablas 31 y 32 respectivamente se correlacionaron analizando los datos del espectro bidimensional HMBC (figura 48), donde con base a sus desplazamientos químicos se asignaron el tipo de carbono y la ubicación de estos dentro de la molécula, obteniendo señales de carbono alifáticos como el carbono metínico (-CH-) representado como e, señales de carbonos perteneciente a un grupo aromático (=CH-) representados como a, b y c, igualmente se corroboró que el carbono cuaternario (=C<) no tiene relación con ningún protón. En este

espectro se detalla además las correlaciones que tienen los carbonos con los protones adyacentes a éste. Por otro lado el carbono metínico alifático con desplazamiento de 55.4 ppm debe estar unido a un grupo alquílico determinado, como en los espectros RMN- ^1H y ^{13}C no se observan otro tipo de señales se asume que éste está unido a otro grupo metínico alifático, el cual se debe encontrar enlazado a un anillo aromático, indicando que la molécula es simétrica.

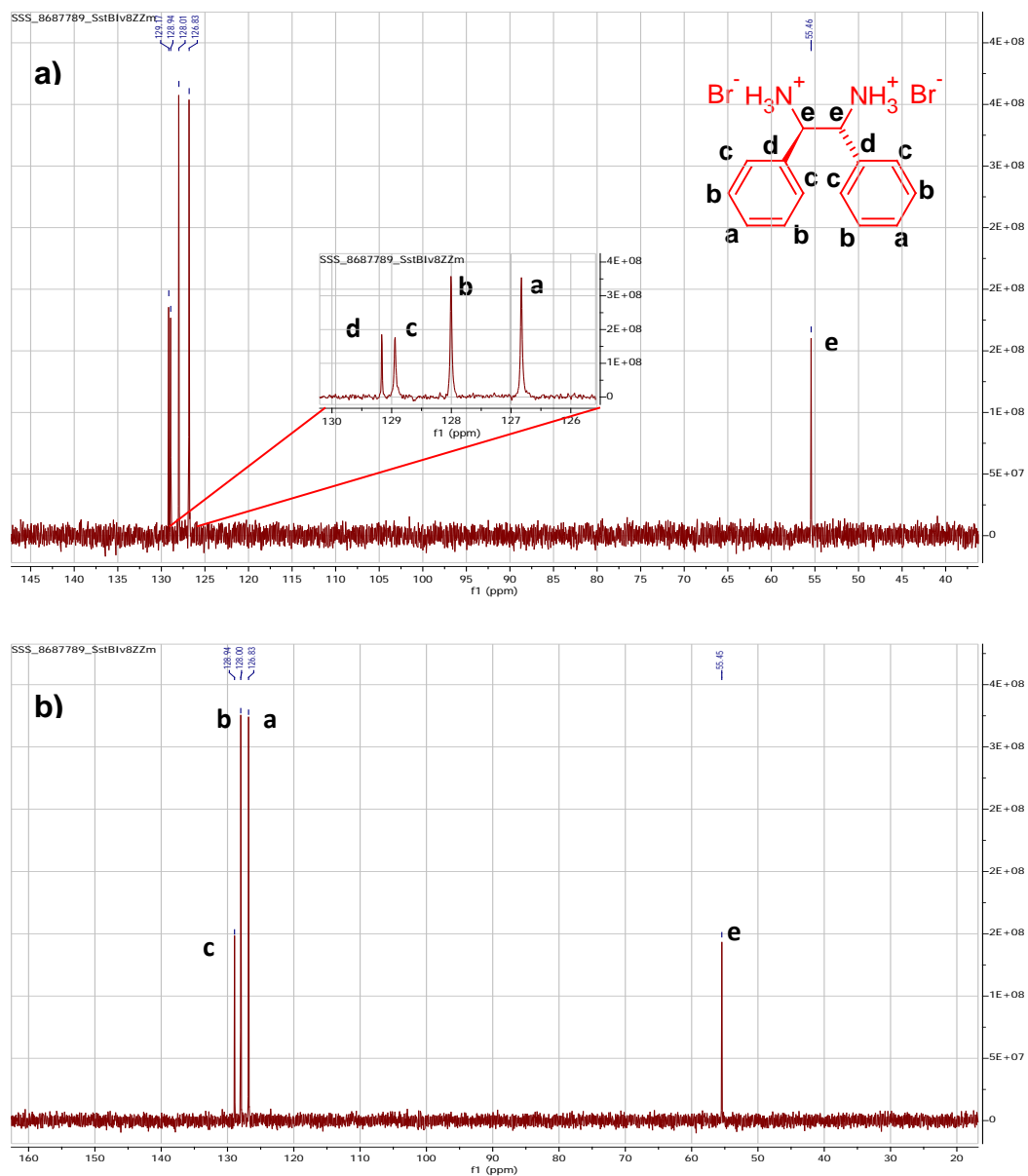


Figura 47. Espectro RMN- ^{13}C de la sal de (+)-PE5b en metanol deuterado: a) espectro normal y b) espectro DEPT 135.

Aunque los datos anteriores no fueron posibles compararlos por carencia de reportes del dibromuro de DFEDA, se puede asegurar que el compuesto precursor de la sal de (+)-PE5b es la DFEDA, ya que los datos iniciales del (+)-PE5b como solubilidad y punto de fusión determinado por DSC son consistentes con lo que se reporta en la literatura para la R,R-(+)-DFEDA. [63] De acuerdo a esto y a los datos obtenidos en la tabla 26, se tiene que en esta investigación se obtuvo mejor conversión ($\approx 91\%$) de la DFEDA cuando se utilizó una relación 1:3 de la mezcla de ácidos (acac glacial/ HBr 48%, respectivamente) siendo casi el doble de lo que reporta Braddock (49%), [63, 64] cabe destacar que Braddock sintetiza las diaminas utilizando una relación 1:2 de la mezcla de ácidos, dando una nueva alternativa para sintetizar diaminas quirales en alto rendimiento, además la metodología empleada para la síntesis de esta diamina es menos rigurosa puesto que se necesita menos tiempo de reflujo (24 h) para llevar a cabo la desprotección de la diamida y menos tiempo en la precipitación de la mezcla de reacción para realizar la neutralización de la sal formada, la nueva alternativa es mucho más eficiente que lo que se reporta en la literatura. [63]

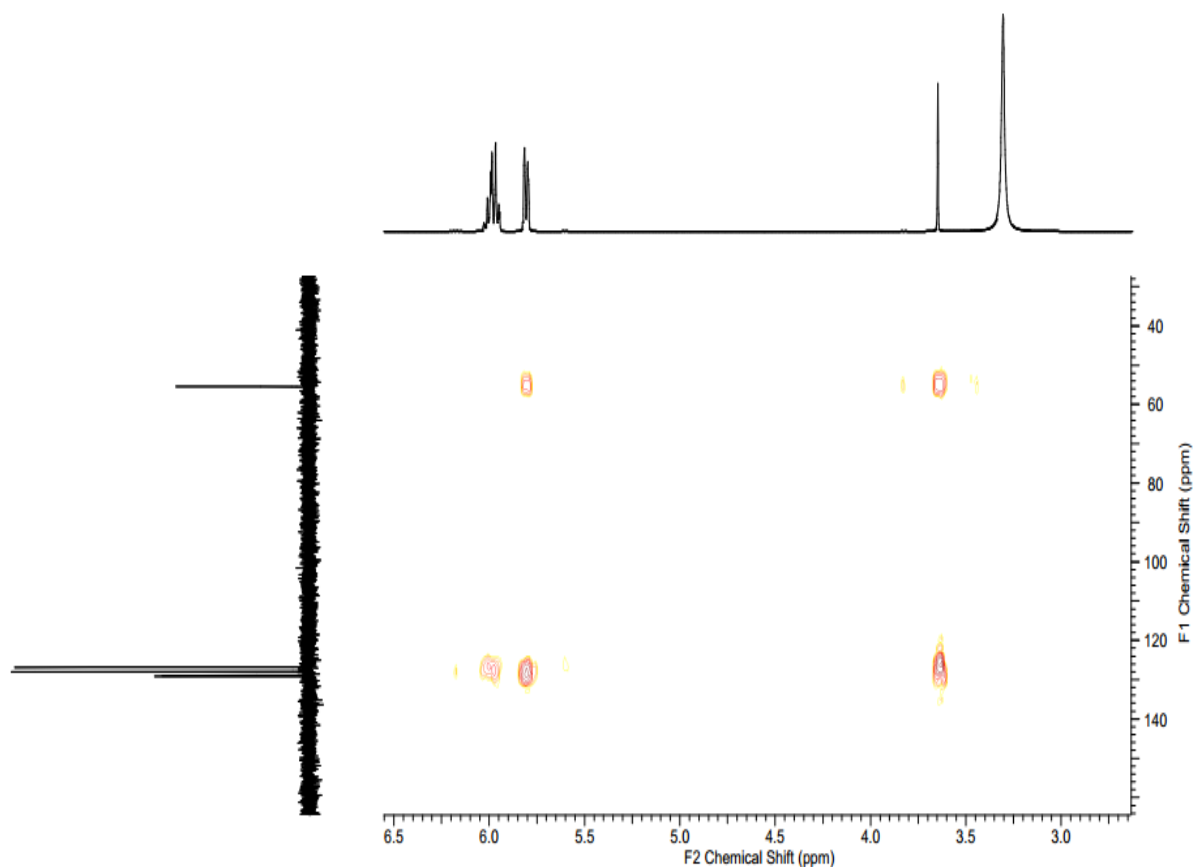
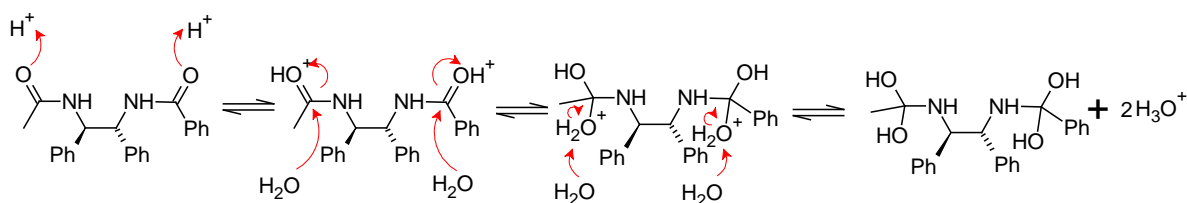


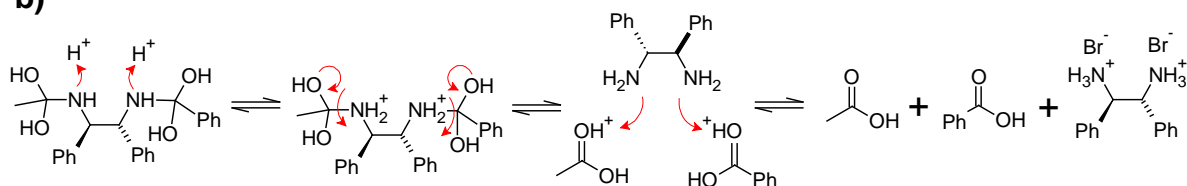
Figura 48. Espectro HMBC de la sal de (+)-PE5b.

El mecanismo de reacción en la formación de la DFEDA se encuentra en el esquema 24, donde la solución ácida hidroliza a los grupos diamidas produciendo sales de diaminas y por medio de una neutralización la respectiva diamina. Este proceso se realiza en dos etapas, primero se lleva a cabo la protonación del grupo carbonilo para activarlo frente a los ataques nucleofílicos del agua del medio de reacción obteniendo un intermedio tetraédrico, en la segunda etapa la protonación del grupo amino permite que se elimine la amina correspondiente, al finalizar dicha reacción se produce la sal de la diamina, ácido acético y ácido benzoico. Al realizar el primer filtrado se elimina el ácido acético el cual es soluble en la solución, luego al disolver en agua el producto impuro se solubiliza la sal de la diamina, quedando como residuo el ácido benzoico, posteriormente este es eliminado cuando se realiza la segunda filtración, como el ácido benzoico presenta algo de solubilidad en el agua, se eliminan trazas de este al lavar con éter etílico, obteniendo finalmente la sal de la diamina libre de impureza. En el proceso final, la neutralización de la sal genera bromuro de sodio que es soluble en agua y la diamina correspondiente, siendo esta última extraída con diclorometano.

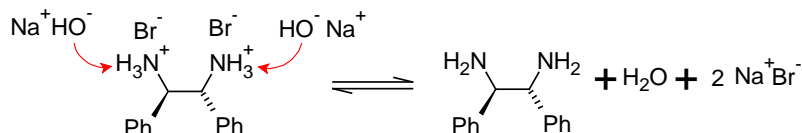
a)



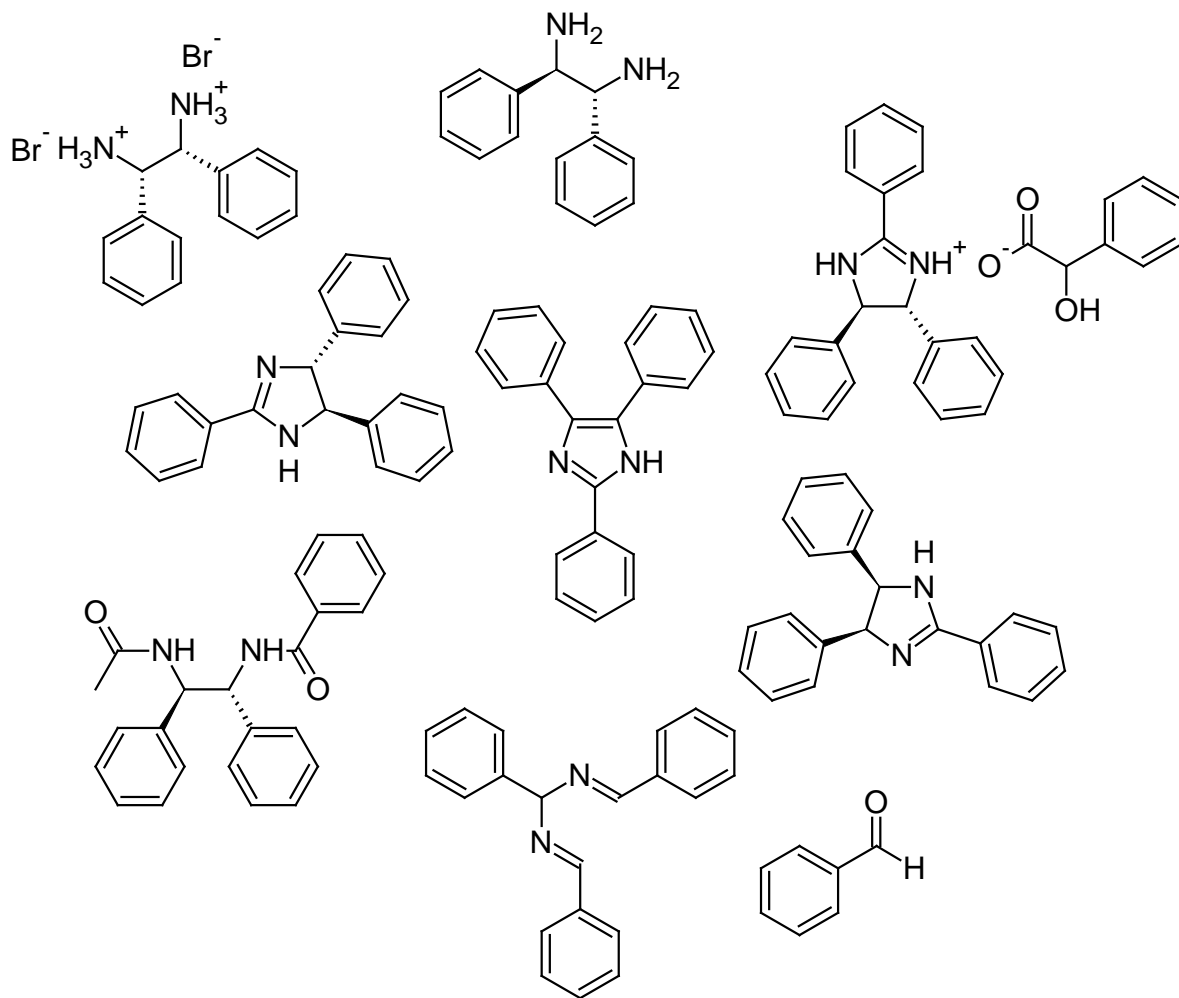
b)



c)



Esquema 24. Mecanismo de reacción en la formación de DFEDA y su respectiva sal: a) adición de agua (nucleófilo) catalizada por un ácido, b) eliminación del ion diamino (grupo saliente) catalizado por ácido y c) neutralización de la sal de dibromuro de DFEDA.



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Este trabajo de síntesis fue realizado en 5 etapas, obteniendo productos intermediarios como Hidrobenzamida (PE1), Amarina (PE2a), Isoamarina (PE2b), Iofina (PE2c), Mandelato de Isoamarina (PE3b) y N'-acetil-N'-benzoil DFEDA, los cuales se caracterizaron mediante técnicas espectroscópicas como UV, IR, DSC y propiedades físicas como punto de fusión y solubilidad. De igual forma se obtuvieron las diaminas quirales (+)-(1R,2R)- y (-)-(1S,2S)-DFEDA ((+)- y (-)-PE5b) caracterizadas en forma de sales de bromuro, utilizando las técnicas espectroscópicas anteriores y además RMN unidimensional como ^1H y ^{13}C (normal y DEPT 135) además de RMN bidimensional como el HMBC y finalmente polarimetría.

El mayor porcentaje de conversión para la hidrobenzamida (95,63%) se obtiene, cuando se realiza la reacción utilizando isoPrOH como disolvente, con una mezcla de NH_4OH y NH_4Cl (buffer) a un tiempo de 24 horas, siendo el compuesto principal el benzaldehído.

La transformación química de la hidrobenzamida produce Amarina, Isoamarina e Iofina, siendo el compuesto mayoritario la Isoamarina, obteniendo porcentajes de conversión del 99,10% al utilizar el método A (THF como disolvente y TerBuOK como base) y 95,63 % con el método B (DMSO como disolvente y KOH como base).

La separación de los enantiómeros de la isoamarina, empleando la técnica de resolución óptica fraccional, a través de los enantiómeros del agente de resolución de AM, no se ve alterada en el resultado final por el orden de adición de dichos agentes. De igual forma, la metodología reportada por Braddock y modificada durante la presente investigación, permitió un mayor porcentaje de conversión para el primer mandelato obteniendo un 90%. Se obtuvieron valores de actividad óptica de +129.41 y +47.17 para (+)-mandelato de isoamarina e (+)-Isoamarina respectivamente, siendo cercanos a los valores teóricos ($[\alpha]_D^{25} = +128$ y +46).

En la cuarta etapa se encontró que la formación de las diamidas es posible, llevando a cabo 3 horas de acetilación y 2 horas de hidrólisis, obteniendo porcentajes de conversión del 90.07%, 86.17% y 85.33% para (±)-diamida, (+)-diamida y (-)-diamida correspondientemente, siendo menor que lo reportado por Braddock (95% para (-)-diamida).

En la obtención de las diaminas, se encontró que la mayor conversión se consigue, cuando se realiza la desprotección de las diamidas utilizando una mezcla entre ácido acético glacial y ácido bromhídrico al 48% en una relación 1:3 respectivamente y a un tiempo de 24 horas, obteniendo $\approx 92\%$ de conversión, siendo una metodología eficiente puesto que Braddock y otros autores reportan 49% de conversión cuando utilizan una relación 1:2 de la mezcla de ácidos anteriormente mencionadas a 24 horas de reacción, este valor fue corroborado cuando se realizó la reacción a estas mismas condiciones.

Las diaminas obtenidas son bastante inestables, puesto que cambian de coloración al estar en contacto con el aire del medio ambiente, hecho que se corroboró cuando se realizó DSC, ya que en este se observan dos puntos de fusión, uno perteneciente a la diamina y la otra a la diamina oxidada; por lo cual fue necesario llevar a cabo los análisis respectivos de las sales de dichas diaminas, debido a su estabilidad.

Para la síntesis de la hidrobencamida es necesario que el benzaldehído a utilizar, se destile y se almacene hasta por un periodo de 24 horas previo a su utilización, evitando de esta forma purificación por columna del producto final de síntesis. La hidrobencamida una vez sintetizada y recristalizada, se debe almacenar en un recipiente color ámbar y con flujo de nitrógeno puesto que es bastante inestable a la humedad y a la luz.

Para la síntesis de la isoamarina los disolventes (THF y DMSO) utilizados deben estar recientemente destilados y secados puesto que la reacción no es posible en presencia de agua.

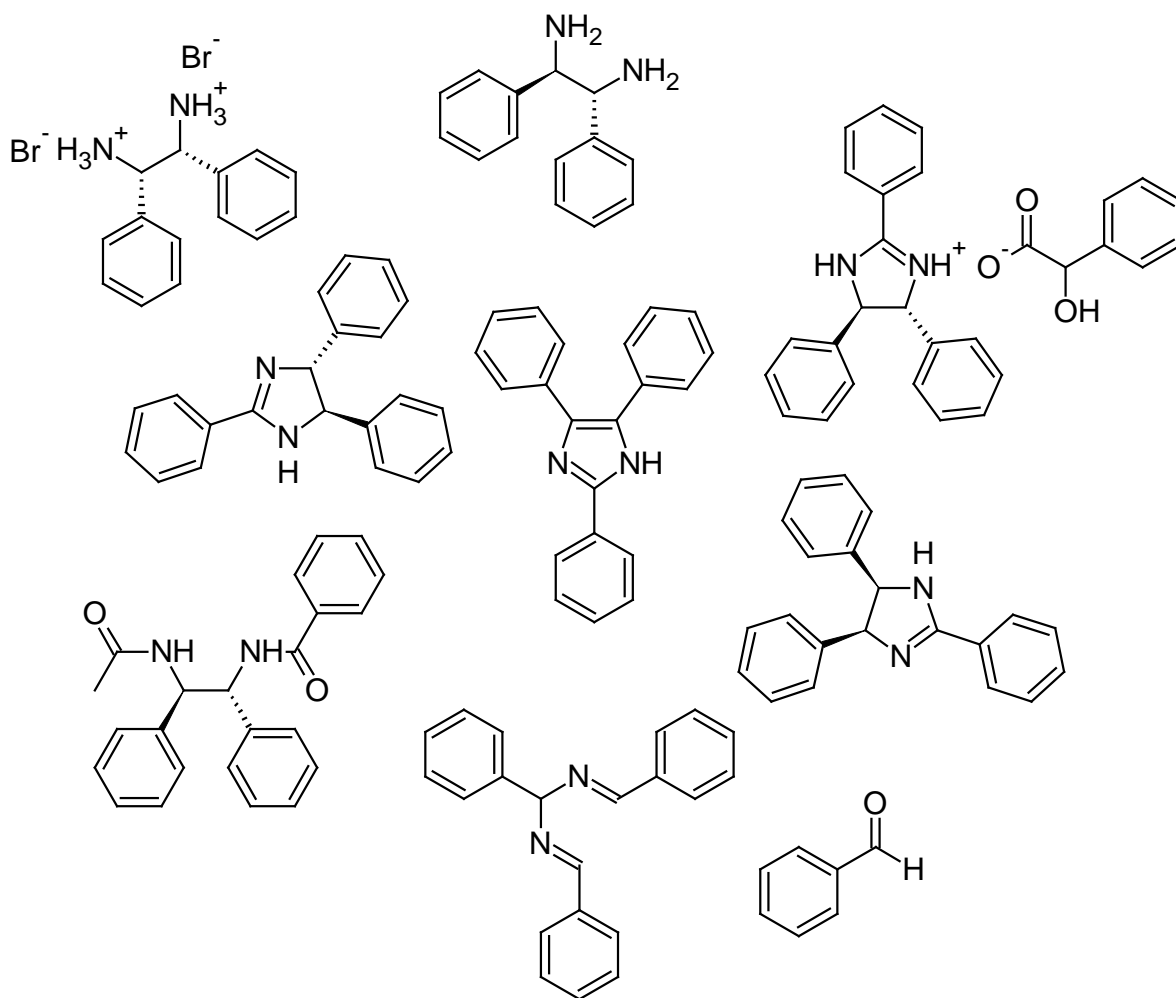
Debido a todo el proceso que se lleva a cabo en la síntesis de isoamarina utilizando como disolvente THF, se recomienda realizar la reacción utilizando DMSO ya que es una metodología ecológicamente amigable, puesto que se minimiza tiempo en todo el proceso empezando desde el tratamiento previo de secado del disolvente hasta la utilización del mismo para la obtención del compuesto final, de esta forma se evita gastar muchos reactivos en el secado.

La purificación de la isoamarina, sea por columna o por cristalización se debe realizar en un lugar donde no haya radiación de luz UV o en su defecto se debe cubrir con papel aluminio los recipientes utilizados (columna cromatográfica, beaker); puesto que este compuesto se isomeriza con facilidad formando amarina, siendo imposible la purificación del mismo.

Realizar la conversión de la isoamarina utilizando el método B pero realizando la reacción a una temperatura directa de 130 °C por un tiempo de 2 horas, esto con el fin de verificar si se puede minimizar el tiempo de la reacción y obtener el producto final al no realizar la reacción por etapas.

Verificar si la conversión de los mandelatos se pueden aumentar variando el disolvente utilizado ya sea este EtOH, MeOH y a su vez variar el tiempo de reflujo de la reacción.

Realizar la síntesis de diferentes diaminas quirales utilizando como compuestos de partida derivados del benzaldehído.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAPÍTULO 6

- [1] LANASPA A. M., Merino F. P. **Adiciones nucleofílicas a α -aminonitrinas quirales. Síntesis estereoselectiva de 1,2-diaminas y 2,3-diaminoácidos.** Tesis doctoral, Universidad de Zaragoza, España, 1988.
- [2] CAMPOS P. J., Arranz J., Rodríguez M. A. **Photoreductive Coupling of Aldimines. Synthesis of C_2 Symmetrical Diamines.** Tetrahedron, vol. 56, pp. 7285-7289, 2000.
- [3] GALL T. L., MIOSKOWSKI C., Lucet D. **The Chemistry of Vicinal Diamines.** Angewandte Chemie International Edition, vol. 37, pp. 2580-2627, 1998.
- [4] KIM H. **Hydrogen bond-directed stereospecific interactions in (a) general synthesis of chiral vicinal diamines and (b) generation of helical chirality with amino acids.** Tesis doctoral. University of Toronto. Canadá, 2009.
- [5] BARROSO S. **Catálisis asimétrica en reacciones de cicloadición mediante complejos quirales de Cu(II).** Tesis doctoral. Universitat de València, España. Año 2009.
- [6] CAMPOS P. J., Ortega M., Rodríguez M. A. **Zn-mediated catalytic photoreduction of aldimines. One-pot synthesis and separation of meso and *d,l* C_2 symmetrical.** Tetrahedron, vol. 60, pp. 6475-6478, 2004.
- [7] ITSUNO S., Takahashi M., Haraguchi N. **Preparation of a polymer-supported chiral 1,2-diamine and its application to the asymmetric hydrogenation of aromatic ketones.** Tetrahedron: Asymmetry, vol. 19, pp. 60-66, 2008.
- [8] MARQUEZ Ma. E., Herrera R. **El renacer de un nuevo campo: la Organocatálisis Asimétrica. Tioureas como organocatalizadores.** Anales de química, vol. 105, pp. 05-12, 2009.
- [9] KEUNCHKARIAN S. **Estudio Cromatográfico de Asociación entre solutos y Selectores Quirales en Fase Móvil. Aplicación al Desarrollo de Nuevas Fases.** Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata. Argentina. Año 2009.
- [10] CANTARERO J. L. **Reacciones Asimétricas de Aza-Henry con *N*-Sulfinilimas y Procesos Organocatalizados por Alcaloides Cinchona.** Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Madrid, España, 2009.
- [11] ESCORIHUELA J. **Catalizadores enantioselectivos soportados y homogéneos derivados de aminoácidos.** Tesis doctoral, Universidad Jaume I, España, 2009.
- [12] ALVAREZ A. M. **Síntesis estereoselectiva y aplicaciones de nuevos tioderivados con esqueletos norbornana.** Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid, España, 2002.
- [13] http://www.qo.ehu.es/s0040gicarcon/es/contenidos/informacion/gi0204_tesis/es_00204_tesis/Pdf/tesis%20silvia.pdf. Referencia 6 Noviembre 2014.
- [14] SAIGO K., Kubota N., Takebayashi S., Hasegawa M. **Improved Optical Resolution of (\pm)-1,2-Diphenylethylenediamine.** The Chemical Society of Japan, vol. 59, pp. 931-932, 1986.
- [15] NOHIRA H.; Sakai K. **Enantiomer Separation: Fundamentals and Practical methods. Optical resolution by means of crystallization.** Editorial Fumio Toda. Netherlands. pp. 165-191, 2007.

- [16] ANANDAMANOCHARAN P. **Isolation of Enantiomers via Diastereomer Crystallisation.** Tesis Doctoral, University College London, Inglaterra, 2010.
- [17] SUBBARAYUDUS V. **Formation and Crystallization based separation of Diastereomeric Salts.** Tesis Doctoral, Universitat Magdeburg, Alemania, 2012.
- [18] HERNANDEZ J. **Iminoesteres de α -aminoácidos en adiciones y cicloadiciones enantioselectivas catalizadas por complejos Cu-Fesulphos.** Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid. España, 2011.
- [19] PFALTZ A.; Drury W.J. **Design of Chiral ligands for asymmetric catalysis: from C₂-symmetric P,P and N,N-ligands to sterically and electronically nonsymmetrical P,N-ligands.** PNAS, vol 101, No 16, pp. 5723-5726, 2004
- [20] LECTKA T., France S., Guerin D. J., Miller S. J. **Nucleophilic Chiral Amines as Catalysts in Asymmetric Synthesis.** Chemical Reviews, vol. 103, pp. 2985-3012, 2003.
- [21] UEMURA M., Taniguchia N. **Stereoselective Pinacol Coupling of Planar Chiral (Benzaldehyde) Cr(CO)₃, (Benzaldimine)Cr(CO)₃, Ferrocene carboxaldehyde and (Dienal)Fe(CO)₃ Complexes with Samarium Diiodide.** Tetrahedron, vol. 54, pp. 12775-12788, 1998.
- [22] JUNG K. W., Salvatore R. N., Schmidt S. E., Shin S. I., Nagle A. S., Worrell J. H. **CsOH-promoted chemoselective mono-N-alkylation of diamines and polyamines.** Tetrahedron Letters, vol. 41, pp. 9705-9708, 2000.
- [23] SAVOIA D. **Progress in the Asymmetric Synthesis of 1,2-Diamines from Azomethine Compounds.** Topics in Organometallic Chemistry, vol. 15, pp. 1–58, 2005.
- [24] RAIMONDI L., BENAGLIA M., Annunziata R., Caporale M. **Synthesis of enantiomerically pure C₂-symmetric acyclic and cyclic 1,2-diamines via pinacol coupling of imines.** Tetrahedron: Asymmetry, vol. 13, pp. 2727-2734, 2002.
- [25] GALL T. L., MIOSKOWSKI C., Lucet D. **The Chemistry of Vicinal Diamines.** Angewandte Chemie International Edition, vol. 37, pp. 2580-2627, 1998.
- [26] RAIMONDI L., Annunziata R., Benaglia M., Cinquini M., Franco C. **Diastereoselective synthesis of 1,2-diphenyl-1,2-diaminoethanes by Yb(OTf)₃ accelerated reductive coupling of imines.** Tetrahedron Letters, vol. 39, pp. 3333-3336, 1998.
- [27] PARRODI C., Juaristi E., Walsh P.J. **Use of diamines containing the α -phenylethyl group as chiral ligands in the asymmetric hydrosilylation of prochiral ketones.** Tetrahedron, vol. 60, pp. 1781–1789, 2004.
- [28] URAY G., Maier N. M. **Efficient high-performance liquid chromatographic enantioseparation of five-membered aryl-substituted lactones and cyclic carbamates on a (R,R)-DADHEA-derived chiral stationary.** Journal of Chromatography A, vol. 740, pp.11-19, 1996.
- [29] WILHELM R. **Imidazolinium sulfonate and sulfamate zwitterions as chiral solvating agents for enantiomeric excess calculations.** Tetrahedron: Asymmetry, vol. 22, pp. 1632–1639, 2011.

- [30] FU E., Luo Z., Zhong C., Wu X. **Amphiphilic chiral receptor as efficient chiral solvating agent for both lipophilic and hydrophilic carboxylic acids.** *Tetrahedron Letters*, vol. 49, pp. 3385–3390, 2008.
- [31] WILLS M., Docherty G. **Asymmetric organocatalysis of the addition of acetone to 2-nitrostyrene using *N*-diphenylphosphinyl-1,2-diphenylethane-1,2-diamine (PODPEN).** *Tetrahedron Letters*, vol. 51 pp. 209–212, 2010.
- [32] GUST R., Beck W., Jaouen G., Schönenberger H. **Optimization of cisplatin for the treatment of hormone-dependent tumoral diseases. Part 2: Use of non-steroidal ligands.** *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 253, pp. 2760–2779, 2009.
- [33] PERUMAL P. T., Rajendran A., Magesh C. J. **DNA–DNA cross-linking mediated by bifunctional [SalenAl^{III}]⁺ complex.** *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 1780, pp. 282–288, 2008.
- [34] COREY E. J., Florian N. M. **A Simplified Synthesis of (+)-1,2-Diphenyl-1,2-diaminoethane (1) from Benzaldehyde and Ammonia. Revision of the Structures of the Long-Known Intermediates "Hydrobenzamide" and "Amarine".** *Tetrahedron Letters*, vol. 38, pp. 8631–8634, 1997.
- [35] ITSUNO S., Takahashi M., Tsuji A., Chiba M. **Synthesis of chiral 1,2-diamine immobilized on polystyrene and its application to asymmetric hydrogenation of aromatic ketones.** *Reactive and Functional Polymers*, vol. 65, pp. 1–8, 2005.
- [36] AMMAR R., Alarfaj N. A., El-Tohamy M. F. **Potentiometric Study of 1, 2-Diphenylethylenediamine Palladium (II) Complex with Some Selected Amino Acids.** *International Journal Electrochemical Science*, vol. 7, pp. 1512–1521, 2012.
- [37] LEMAIRE M., Sautet P. **Optically active nitrogen ligands in asymmetric catalysis. Effect of nitrogen substitution on the enantioselective hydride transfer reduction of acetophenone.** *Journal of Organometallic Chemistry*, vol. 567, pp. 133–136, 1998.
- [38] KATSUKI T., Punniyamurthy T. **Asymmetric Desymmetrization of Meso-Pyrrolidine Derivatives by Enantiotopic Selective C-H Hydroxylation Using (Salen) manganese (III) Complexes.** *Tetrahedron*, vol. 55, pp. 9439–9454, 1999.
- [39] KATSUKI T. **Catalytic asymmetric oxidations using optically active (Salen) manganese (III) complexes as catalysts.** *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 140, pp. 189–214, 1995.
- [40] YOU T. P., Li Y. G., Tian Q. S., Zhao J., Feng Y., Li M. J. **Symmetric pinacol coupling of aromatic aldehydes catalyzed by a new titanium–Schiff base complex.** *Tetrahedron: Asymmetry*, vol. 15, pp. 1707–1710, 2004.
- [41] DAI Z., Sun J., Li C., Pan X., Zhu C. **Enantioselective pinacol coupling reaction of aromatic aldehydes catalyzed by chiral vanadium complexes.** *Journal of Organometallic Chemistry*, vol. 694, pp. 3219–3221, 2009.
- [42] HA D. C., Kim K. H., Lee S., Lee D. W., Ko D. H. **Organocatalysis using protonated 1,2-diamino-1,2-diphenylethane for asymmetric Diels–Alder reaction.** *Tetrahedron Letters*, vol. 46, pp. 5991–5994, 2005.

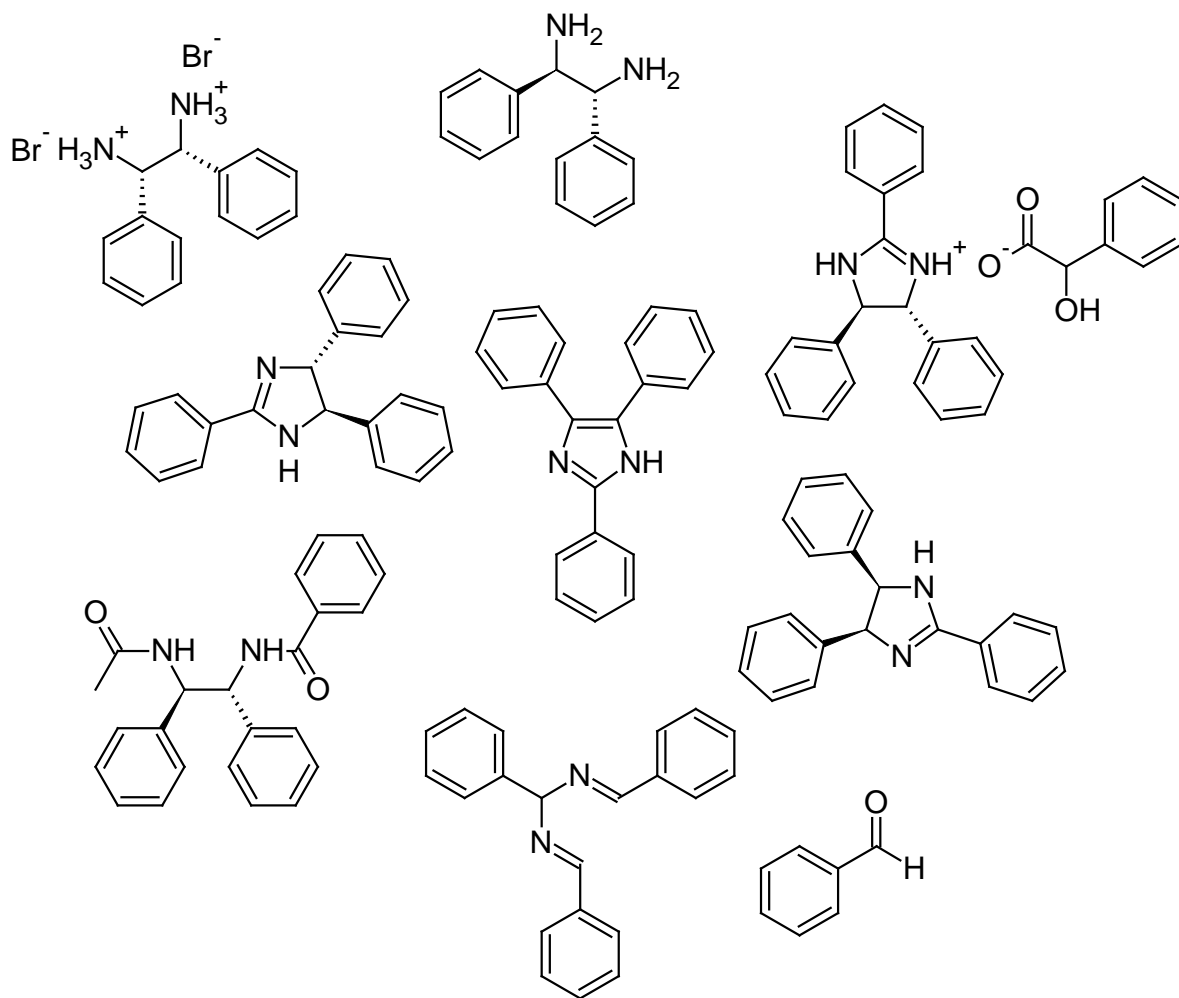
- [43] EVANS D. A., Nelson S. G. **Chiral Magnesium Bis (sulfonamide) Complexes as Catalysts for the Merged Enolization and Enantioselective Amination of *N*-Acyloxazolidinones. A Catalytic Approach to the Synthesis of Aryl glycines.** Journal American Chemical Society, vol. 119, pp. 6452-6453, 1997.
- [44] NORMANT J. F., Brémand N., Mangeney P. **An easy access to enantio-enriched α -substituted aldehydes by carbolithiation of β -phenyl or β -silyl- α,β -ethylenic aldehydes, protected with the monolithioamide of a chiral diamine.** Tetrahedron Letters, vol. 42, pp. 1883–1885, 2001.
- [45] YOU S. L., Rong Z. Q., Jia M. O. **(1*R*,2*R*)-DPEN-derived triazolium salts for enantioselective oxodiene Diels–Alder reactions.** Tetrahedron, vol. 67, pp. 9329–9333, 2011.
- [46] HULTIN P. G., Geary L. M. **The state of the art in asymmetric induction: the aldol reaction as a case study.** Tetrahedron: Asymmetry, vol. 20, pp. 131–173, 2009.
- [47] JOSHI N. N., Bhowmick K. C. **Syntheses and applications of C_2 -symmetric chiral diols.** Tetrahedron: Asymmetry, vol. 17, pp. 1901-1929, 2006.
- [48] KATRUSIAK A., GAWRONSKI J., Ratajczak S. M., Gawróńska K. **Racemate resolution via diastereomeric helicites in hydrogen-bonded co-crystals: the case of BINOL–diamine complexes.** Tetrahedron: Asymmetry, vol. 18, pp. 765–773, 2007.
- [49] DUNINA V. V., Gorunova O. N., Livantsov M. V., Grishin Y. K., Kochetkov K. A., Churakov A. V., Kuzmina L. G. **First enantiopure phosphapalladacycle with a palladium bonded stereogenic carbon as the sole chirality source.** Polyhedron, vol. 30, pp. 27–32, 2011.
- [50] LIU G., LI H., Liu M., Sun Y., Wang J., Sun C. **Mesoporous SBA-15-supported chiral catalysts: preparation, characterization and asymmetric catalysis.** Tetrahedron: Asymmetry, vol. 20, pp. 240–246, 2009.
- [51] ALEXAKIS A., Chauvin A. S. **Determination of the enantiomeric excess of chiral carboxylic acids by ^{31}P NMR with C_2 symmetrical diamines.** Tetrahedron: Asymmetry, vol. 12, pp. 1411–1415, 2001.
- [52] CHIN J., So M. S., Kim H., Kim B. M. **Preparation of chiral diamines by the diaza-cope rearrangement (DCR). Green, mild, and versatile synthetic methods.** Aldrichimica Acta, vol 41, No 3, pp. 77-88, 2008.
- [53] CHIN J., Nguyen Y., Yen C. P.-H., Chagal L., Lough A. J., Kim B. M. **Stereospecific Synthesis of C_2 Symmetric Diamines from the Mother Diamine by Resonance-Assisted Hydrogen-Bond Directed Diaza-Cope Rearrangement.** Journal American Chemical Society, vol 130, No 36, pp. 12184-12191, 2008.
- [54] BAILAR J. C., Williams O. F. **The Stereochemistry of Complex Inorganic Compounds. XXIV. Cobalt Stilbenediamine Complexes.** This Journal, vol. 81, pp. 4464-4469, 1959.
- [55] SHARPLESS K. B., Richardson P. F., Nelson L. T. **Synthesis of vicinal diamines from cyclic sulfates.** Tetrahedron letters, vol. 36, pp. 9241-9244, 1995.

- [56] FUJISAWA T., Shimizu M., Kamel M. **Stereocontrol in the Reduction of 1,2-Diimine with an Oxazaborolidine Catalyst. Highly Stereoselective Preparation of (R,R)-1,2-Diphenylethylenediamine.** Tetrahedron Letters, vol. 36, pp. 8607-8610, 1995.
- [57] COREY E. J., Lee D. H., Sarshar S. **Convenient Routes to Symmetrical Benzils and Chiral 1,2-Diaryl-1,2-diaminoethanes, Useful Controllers and Probes for Enantioselective Synthesis.** Tetrahedron: Asymmetry, vol. 6, pp. 3-6, 1995.
- [58] PANSARE S. V., Malusare M. G. **Intramolecular Imine Cross-Coupling in Dibenzylidene Sulfamides: Synthesis of Unsymmetrical 1,2-Diaryl Ethanediamines.** Tetrahedron Letters, vol. 37, pp. 2859-2862, 1996.
- [59] RAIMONDI L., Annunziata R., Benaglia M., Cinquini M., Cozzi F. **Diastereoselective Synthesis of 1,2-Diphenyl-1,2-diaminoethanes by Yb(OTf)₃ Accelerated Reductive Coupling of Imines.** Tetrahedron Letters, vol. 39, pp. 3333-3336, 1998.
- [60] NAMY J. L., Machrouhi F. **Samarium diiodide/Nickel diiodide an efficient system for homo and heterocoupling reactions of imines.** Tetrahedron Letters, vol. 40, pp. 1315-1318, 1999.
- [61] MISTRYUKOV E. A. **One-pot synthesis of rac-1,2-diphenylethylene-1,2-diamine.** Russian Chemical Bulletin, International Edition, vol. 51, pp. 2308-2309, 2002.
- [62] MARTINEZ M. O. **Fotoacoplamiento y fotoreducción de iminas. Aplicaciones sintéticas y estudio mecanísticos.** Tesis doctoral, Universidad de la Rioja, España, 2005.
- [63] BRADDOCK D. C., Redmond J. M., Hermitage S. A., Whitea A. J. **A Convenient Preparation of Enantiomerically Pure (+)-(1R,2R) and (-)-(1S,2S)-1,2-Diamino-1,2-diphenylethanes.** Advanced Synthesis and Catalysis, vol. 348, pp. 911-916, 2006.
- [64] BRADDOCK D. C., Hermitage S. A., Redmond J. M., White A. J. **Fractional crystallisation of (±)-iso-amarine with mandelic acid: convenient access to (R,R) and (S,S)-1,2-diamino-1,2-diphenyl ethanes.** Tetrahedron: Asymmetry, vol. 17, pp. 2935-2937, 2006.
- [65] OKANO K. **Synthesis and application of chiral hydrobenzoin.** Tetrahedron, vol. 67, pp. 2483-2512, 2011.
- [66] MAYNE C.G. **Reductive Coupling Reactions of nitrones and imines, modern versions of the pinacol reaction: expanded substrate scope and asymmetric induction.** http://www.chemistry.illinois.edu/research/organic/seminar_extracts/2005_2006/06_mayne.pdf. Referencia: 8 Noviembre 2014.
- [67] PROSKURNINA M. V., Lozinskaya N. A., Tsybezova V. V., Zefirov N. S. **Regioselective synthesis of cis and trans-2,4,5-triarylimidazolines and 2,4,5-triarylimidazoles from available reagents.** Russian Chemical Bulletin International Edition, vol. 52, pp. 674-678, 2003.
- [68] CORREA J. Rojas, L. **Estudio de Potencia de Pruebas de Homogeneidad de Varianza. En: Revista Colombiana de Estadística.** vol. 29, pp. 57-76, 2006.

- [69] KABOUDIN B., Afsharinezhad M. B. **Synthesis of a Novel Class of β -Lactam Derivatives of 1-Aminophosphonates by Staudinger Ketene-Imine [2+2]-Cycloaddition Reaction.** *Synthesis*, vol. 20, pp. 3504-3508, 2010.
- [70] LIFSCHITZ I., Bos J. G. **Über Darstellung und Spaltung des Razemischen 1,2-Diphenyl-1,2-diaminoethans (stilbendiamin).** *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*, vol 59 pp. 173-183, 1940.
- [71] LINDQUIST D. A., Hall S. E., Wilcox L., Tyree W. S. **Alumina and Synthesis Intermediates Derived from Diethylaluminum Amide, Benzaldehyde and Water.** *Journal of the Arkansas Academy of Science*. vol. 56, pp. 69-74, 2002.
- [72] CHU L. T., Chou C. H., Chiu S. J., Lee C. F., She Y. T. **Synthesis of N,N-di(arylmethylidene)arylmethanediamines by flash vacuum pyrolysis of arylmethyl azides.** *Tetrahedron*. vol 60, pp. 6581-6584, 2004.
- [73] WALSH P.J., Larter M.L., Phillips M., Ortega F., Aguirre G., Somanathan R. **Synthesis of Racemic cis and trans 2,4,5-tripyridylimidazolines.** *Tetrahedron Letters*. vol. 39, pp. 4785-4788, 1998.
- [74] HUISGEN R. **Important principle in the chemistry of heterocycles: electrophilic reactions of compounds of the pentadienyl anion type (review).** *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, vol.17, No 5, pp. 417-433, 1981.
- [75] XIONG R.-G., Huang X.-F., Song Y.-M., Wang X.-S., Pang J., Zuo J.-L. **Crystal structures of amarine and isoamarine and cooper (I) coordination chemistry with their allylation products.** *Journal of Organometallic Chemistry*, vol 691, pp. 1065-1074, 2006.
- [76] **Section two. Synthesis and Characterization of Schiff base polymers.** pp. 98-310. Referencia 2 Diciembre de 2014. <http://pr.hec.gov.pk/Chapters/4355H-2.pdf>.
- [77] WILLIAMS D. B, Lawton M. **Drying of Organic Solvents: Quantitative Evaluation of the Efficiency of Several Desiccants.** *Journal Organic Chemistry*, vol. 75, pp. 8351–8354, 2010.
- [78] HERNANDEZ R. **Estudio sobre la capacidad coordinante de bases de Schiff derivadas de orto- y meta-fnilendiaminas.** Tesis Doctoral. Universidad de la Laguna. España. 1996.
- [79] HARDEGGER E. **Introducción a las Prácticas de Química Orgánica. Parte general y Análítica.** Editorial Reverté. Barcelona, España, pp. 49, 2004.
- [80] ALFARO O. F., Cabrera S. P., Garcia R. A., Molina H. A., Renderos J. C. **Estudio de la cinética de la oxidación de yoduro por peróxido de hidrógeno.** Argumentado en: MILENKOVIĆ M. C., Stanisavljer D. R. The Kinetics of Iodide Oxidation by hydrogen Peroxide in acid Solution. *Russian Journal of Physical Chemistry*. vol. 85, No 13, pp. 2279-2282, 2011.
- [81] KOCHI J. K. **The decomposition of peroxides catalyzed by cooper compounds and the oxidation of alkyl radicals by cupric salts.** vol. 85, pp. 1958-1968, 1963.

[82] DASLER V., BAUER C. D. **Removal of Peroxides from Organic Solvents**. Industrial and Engineering Chemistry. vol. 18, No 1, pp. 52-54, 1946.

[83] MALLINKRODT. **The Benzophenone Ketyl Still Pot**. Referencia 12 Noviembre 2014. <http://www.erowid.org/archive/rhodium/chemistry/equipment/benzophenone.ketyl.html#refs>.



ANEXOS

CAPÍTULO 7

ANEXO 1. Purificación de disolventes y reactivos (sección experimental)

En el caso de los disolventes anhidros, utilizados para llevar a cabo reacciones bajo atmósfera inerte (nitrógeno), fueron tratados y secados antes de ser usados, según los procedimientos que a continuación se detallan:

7.1. TETRAHIDROFURANO (THF): [77]**7.1.1. Prueba de peróxidos.**

Se realizó la prueba de peróxidos a un blanco (H_2O), un patrón (solución de H_2O_2 al 4% v/v) y al THF utilizado para la reacción de síntesis. Se tomó 1 mL de cada muestra y se adicionó lentamente, a un tubo de ensayo cargado previamente con una mezcla de 1 mL de ácido acético glacial y 0.1 g de KI, mezclando continuamente hasta homogenización de la mezcla. Posteriormente se realizó la comparación respectiva con el blanco. Este procedimiento se hizo antes y después de realizar la eliminación de peróxidos.

7.1.2. Eliminación de peróxidos.

Para la eliminación de peróxidos, se realizó reflujo por 30 min a una solución al 0.5% de CuCl en THF, luego se destiló la mezcla resultante, el destilado obtenido fue almacenado en un balón forrado con papel aluminio, tapado y guardado fuera del alcance de la luz.

7.1.3. Presecado.

El presecado se realizó con lentejas de KOH al 85% de pureza por 24 h. Preparando una solución de KOH al 1% en THF. El sobrenadante se retiró por decantación y se almacenó fuera del alcance de la luz.

7.1.4. Secado.

Se preparó una solución de sodio metálico al 1% (activado previamente con tolueno en ebullición) en THF y se procedió a realizar reflujo, con un equipo totalmente cerrado cargado con trampa de $CaCl_2$, por un tiempo de 3 h. Al paso de este tiempo se adicionó benzofenona (0.2%) aumentando 2 h más de reflujo, tiempo en el cual la solución se torna azul oscuro. Posteriormente y de manera rápida, se cambió el montaje para realizar la destilación del disolvente (equipo montado también con trampa de $CaCl_2$), se recogió el destilado en un balón cubierto con papel aluminio y cargado previamente con tamiz molecular de 4 Å, se tapó con setump y se almacenó fuera del alcance de la luz y bajo atmósfera inerte.

7.2. DIMETILSULFOXIDO (DMSO):

El DMSO anhidro, fue previamente purificado por congelación parcial, aproximadamente a 10 °C. [78] Proceso que se hizo dentro de una nevera, por un tiempo de 12 h. una vez pasado este tiempo se eliminó el sobrenadante por decantación. El sólido formado se llevó a temperatura ambiente (líquido) y se almacenó en un balón bajo atmósfera inerte, este procedimiento fue realizado justo antes de la utilización del disolvente.

7.3. REACTIVOS.

Por la fácil oxidación de los aldehídos en contacto con el aire, fue necesario realizar la destilación del benzaldehído por 3 veces consecutivas. La destilación fraccionada fue realizada a presión reducida, asistida por una bomba de vacío modelo ME1 (Vaccubrand, Wertheim, Alemania) (ver montaje en la figura 49). Por otro lado, por la alta pureza que presentan cada uno de los enantiómeros del ácido mandélico, no se le realizaron, ningún tipo de purificación.



Figura 49. Destilación fraccionada del benzaldehído. a) Montaje b) benzaldehído purificado.

ANEXO 2. Purificación de disolventes y reactivos (resultados y análisis)

7.4. TETRAHIDROFURANO (THF).

El THF es un disolvente higroscópico, miscible con el agua en todas sus proporciones y en presencia de la luz junto con el oxígeno, forma rápidamente (en 1 o en 2 días) muchos peróxidos. [79] Como resultado de esto el THF no debe ser destilado a sequedad, ya que puede dejar un residuo altamente explosivo. Debido a lo anterior antes de llevarse a cabo el secado del disolvente, fue necesario realizar la eliminación de este tipo de compuestos, corroborando la existencia de estos con un test de peróxidos antes y después de la reacción de eliminación (ver figura 50).

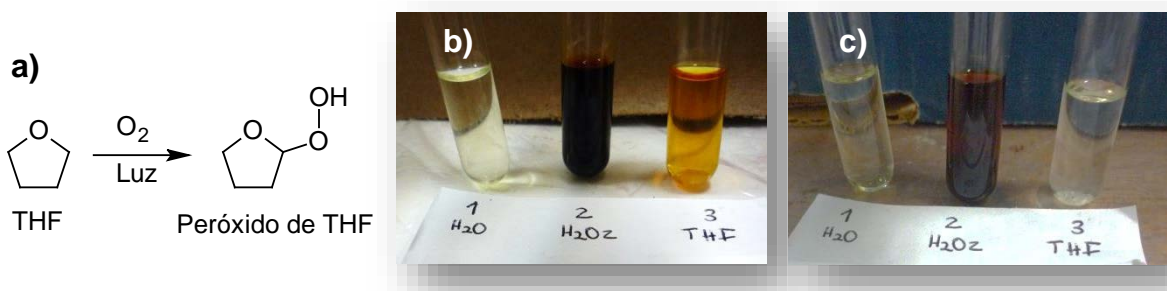
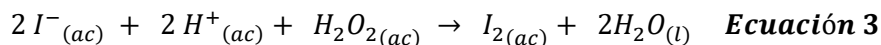


Figura 50. a) Formación de peróxido de THF. Test de peróxidos: b) antes y c) después de la eliminación de peróxidos.

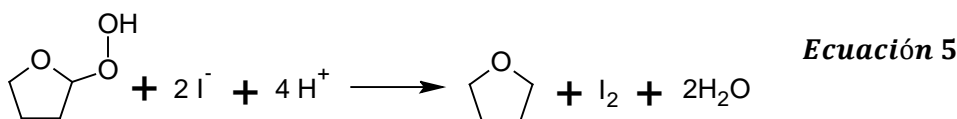
Al realizar el test antes de la eliminación de peróxidos, se observa que la prueba es positiva para estos compuestos, ya que la coloración de esta solución es naranja (ver figura 50b) además, al ser comparada con el blanco (H_2O) y con el patrón (H_2O_2 4%) nos indica la presencia de baja concentración de los mismos (< 4%), los cuales podrían producir reacciones colaterales a la hora de utilizarlo como medio de reacción ya que es un potente agente oxidante, además de llegar a ser explosivo en el momento del secado del disolvente. Una vez corroborado la presencia de peróxidos se realizó la eliminación de los mismos, utilizando CuCl , pasado el tiempo de reflujo de la reacción, el producto obtenido fue destilado, realizando nuevamente el test de peróxidos, indicando que dichos compuestos han sido eliminados del disolvente, ya que la coloración de la solución es igual a la del blanco (ver figura 50c).

En la reacción llevada a cabo para la prueba de peróxidos, los iones yoduro (I^-) proveniente del yoduro de potasio (KI) son oxidados por la acción del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en medio ácido (ácido acético glacial) produciendo yodo molecular (I_2) y a su vez ion triyoduro (I_3^-); esto se corrobora con el cambio de coloración de la solución,

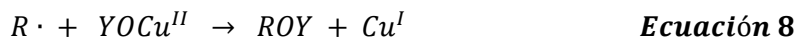
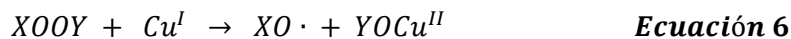
pasando de incoloro a marrón, en este proceso se realiza la descomposición de los peróxidos, produciendo también agua [80], dichas reacciones se pueden observar en las siguientes ecuaciones:



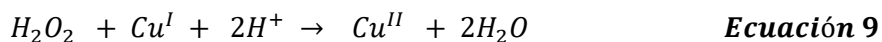
La reacción para los posibles peróxidos de THF, se plantea en la ecuación 5.



Una vez formado el yodo molecular, reacciona de la misma manera que en la ecuación 4. En el procedimiento de eliminación de peróxidos, la reacción es llevada por vía radicales libres, en el cual puede estar presente o no, un donador de protones, estabilizando finalmente los oxiradicales formados. La reacción general, es la siguiente: [81]



Suponiendo que X es todo el cuerpo del THF, Y es hidrógeno, RH es agua y observando las ecuaciones anteriores se tienen que en la ecuación 7 se produciría hidroxil-THF, en el cual, el agua donaría un protón estabilizando el oxiradical de THF formado. El ROY (H_2O_2) producido en la ecuación 8, se descompone de forma inmediata por la siguiente ecuación:



Finalmente la baja concentración de peróxidos en el THF son eliminados, mediante las reacciones de las ecuaciones anteriores. Al destilar el disolvente, las impurezas son retiradas, obteniendo THF libre de peróxidos. Parte de los residuos obtenidos presentaban una coloración café, esto posiblemente se deba a la formación de óxido de cobre en el medio de reacción, ya que la reacción no fue aislada del oxígeno presente en

la atmósfera. Por otro lado el estado de oxidación del cobre (Cu^{2+}), fue corroborado con la adición de agua, presentando la solución una coloración azul clara (ver figura 51).



Figura 51. Eliminación de peróxidos de THF. a) Reflujo, b) destilado, c) y d) residuos.

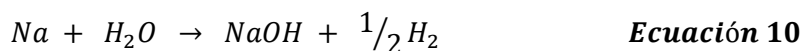
Una vez obtenido el THF libre de peróxidos, se almacenó en un balón que contenía lentejas de KOH y se procedió a cubrirlo con papel aluminio para evitar que la luz provocara la formación de nuevos peróxidos, además se mantuvo con una presión positiva de nitrógeno aislándolo del oxígeno presente en el ambiente. El KOH no solo destruye los peróxidos que se hayan formado sino que también actúa como un potente desecante (ver figura 52a). [82]



Figura 52. Proceso de presecado. a) 0 h y b) 24 h.

Una vez realizado el proceso de presecado, se observa que las lentejas de KOH se encontraban hinchadas y de color naranja (ver figura 52b), esto se debe a que el KOH había adsorbido parte del agua soluble en el disolvente y posiblemente la coloración se deba a impurezas presentes en el THF, ya sea por que hayan pasado durante las etapas anteriores o por la formación de nuevos peróxidos.

Para la eliminación total del agua, peróxidos y del oxígeno, el THF fue sometido a reflujo con sodio metálico por 3 h, en este tiempo el agua presente en el disolvente reacciona con el sodio metálico produciendo NaOH, como se muestra en la ecuación 10



Al terminar este tiempo de reflujo, se adicionó otra cantidad de sodio metálico activado y benzofenona, el sodio actúa sobre ésta formando un anión radical conocido como cetil benzofenona **85** (ver figura 53) el cual es soluble, reaccionando rápidamente con el agua y el oxígeno disueltos en el disolvente, el cetilo es formado por la reducción de un electrón del grupo carbonilo de la benzofenona. A medida que transcurre el tiempo de reacción una vez adicionado el indicador de humedad, la solución cambia de coloración, presentando tonalidades entre amarillo y azul. La coloración azul intensa de la solución indica cuantitativamente las condiciones anhidras y libres de oxígeno. De acuerdo a la literatura, después de un determinado tiempo de manifestarse las condiciones anhidras, la benzofenona empieza a descomponerse, produciendo benceno como residuo principal (≈ 150 ppm) y muchos compuestos más, los cuales han sido determinados por GC/MS, mostrando compuestos como **86**, **87**, **88**, **89**, **90**, **91** y **92**, estos se forman por algún tipo de reacción de radicales libres con los radicales fenilos. [83] Este hecho fue corroborado con el cambio de la coloración de azul intenso a un azul más claro (ver figura 54).

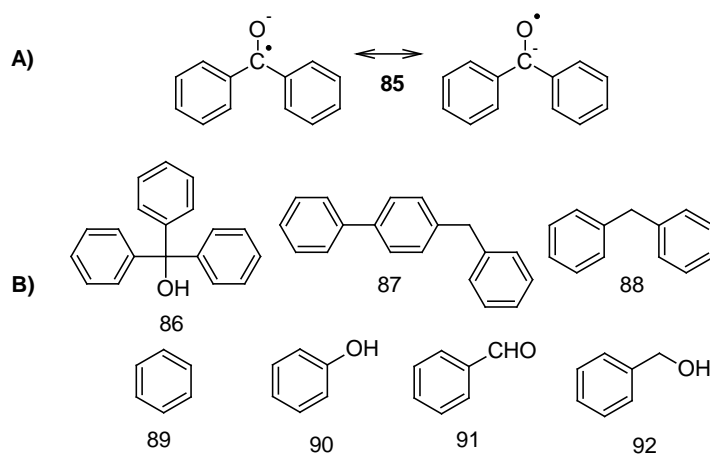


Figura 53. A) Radical cetil benzofenona. B) Descomposición de la benzofenona.

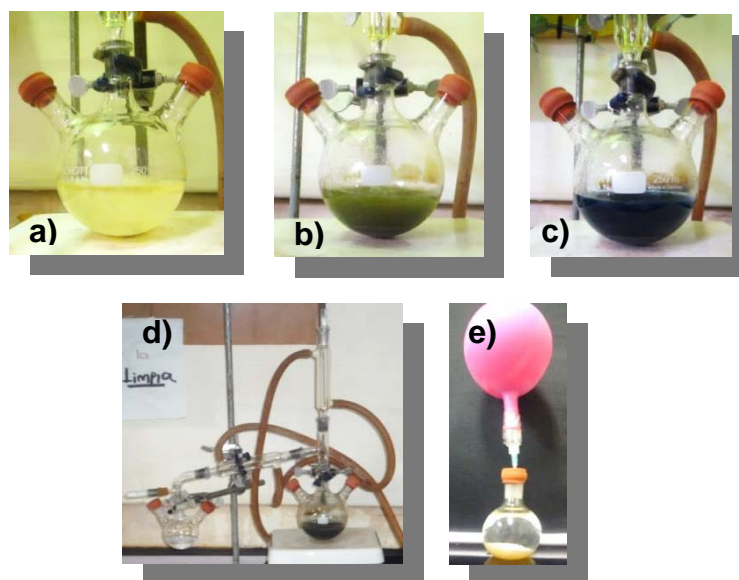


Figura 54. Proceso de secado del THF. a) Reflujo 1 h sin benzofenona, b) reflujo 3 h con benzofenona, c) reflujo 5 h con benzofenona, d) destilación de THF y e) mantenimiento del secado de THF en N_2 .

7.5. DIMETILSULFÓXIDO (DMSO).

El DMSO es un disolvente higroscópico, siendo su principal impureza el agua, para su secado, no se utilizó ningún tipo de reactivo, sino el método de criogenización, sometiendo el disolvente a refrigeración ($\approx 10\text{ }^\circ\text{C}$), a esta temperatura el DMSO cristaliza y las impurezas como el agua permanecen en solución, siendo fácilmente eliminadas por decantación (ver figura 55). [78]

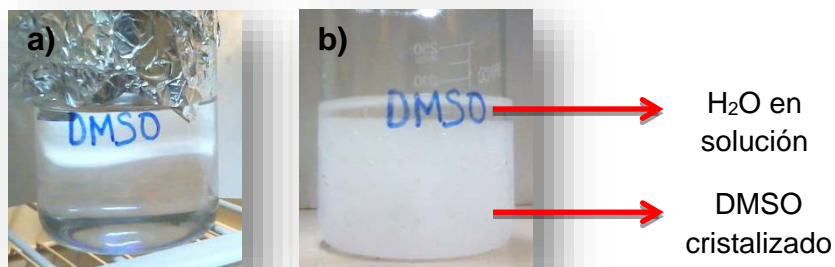


Figura 55. Proceso de secado de DMSO por criogenización. Tiempo de secado: a) 0 h y b) 12 h.

7.6. REACTIVOS.

El benzaldehído es un reactivo que se oxida fácilmente con el oxígeno del ambiente, formándose trazas de ácido benzoico, este último fue eliminado de la muestra por medio de tres destilaciones fraccionadas consecutivas, siendo corroborado por CCF, donde el benzaldehído puro (BP) fue comparado con una muestra de benzaldehído impuro (BI). El ácido benzoico una vez retirado del benzaldehído fue purificado por sublimación para ser usado en otras investigaciones (ver figura 56a).

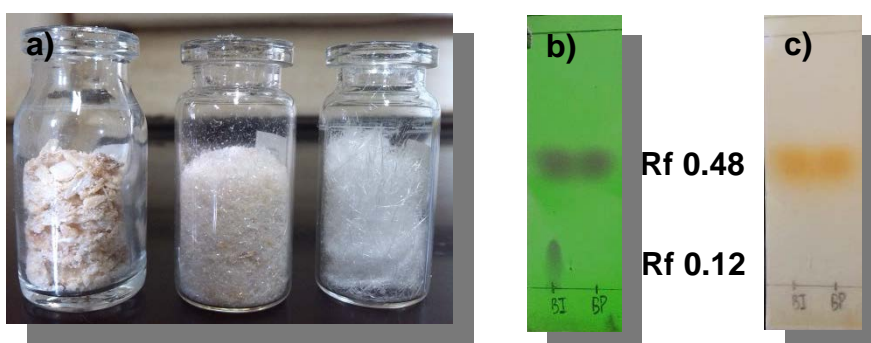


Figura 56. a) Proceso de purificación del ácido benzoico. CCF en la purificación del benzaldehído: b) Revelado bajo luz UV a 254 nm. b) Revelado con DNFH.

En la figura 56b se observa que antes de la purificación del compuesto (BI), existe la presencia de dos manchas, la de mayor Rf (0.48) es perteneciente al benzaldehído, el cual reacciona con la DNFH provocando una coloración naranja intensa producto de la formación de la hidrazona de benzaldehído (gráfica 56c) y la de menor Rf (0.12) al ácido benzoico, el cual no se revela con DNFH. El compuesto de menor Rf es afín a la fase estacionaria (silica), por su naturaleza polar (-COOH), el compuesto que presenta mayor Rf es afín con la mezcla de eluyente (acetato de etilo/ isooctano, 1/9) siendo menos polar por la función aldehído (-CHO). Una vez realizada la purificación (BP), se observa, en la placa revelada con lámpara una mancha, siendo esta perteneciente al benzaldehído.

ANEXO 3. Realización de Supuestos y prueba de Tukey para la conversión de PE1.

Tabla 33. Prueba de Normalidad de Shapiro Wilks.

DISOLVENTE	BUFFER	ESTADISTICA								
		9 h			24 h			36 h		
		n	W*	p	n	W*	p	n	W*	p
Sin disolvente	No	---	---	---	---	---	---	3	1,00	0.926
MeOH	No	3	1.00	>0.999	3	0.89	0.361	3	0.99	0.781
EtOH	No	3	0.96	0.639	3	0.87	0.296	3	0.99	0.844
PrOH	No	3	0.99	0.781	3	0.99	0.781	3	0.98	0.723
isoPrOH	No	3	1.00	0.877	3	0.89	0.361	3	1.00	0.902
BuOH	No	3	0.95	0.581	3	0.99	0.781	3	0.96	0.639
EtOH	Si	3	0.99	0.823	3	0.98	0.699	3	0.96	0.639
PrOH	Si	3	0,90	0.388	3	0.95	0.566	3	0.94	0.535
IsoPrOH	Si	3	1.00	>0.999	3	0.99	0.781	3	0.87	0.296

n = grados de libertad, W* = estadístico, p valor (unilateral D).

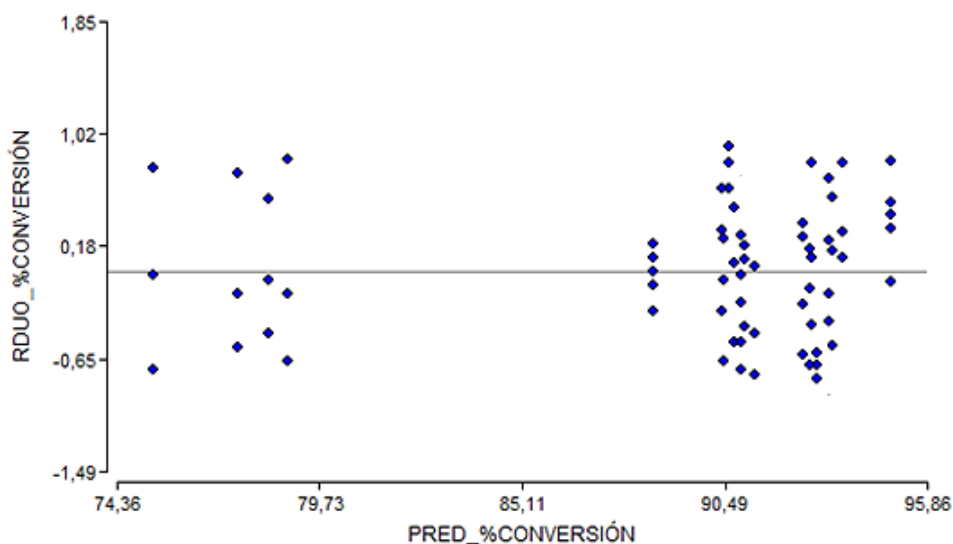


Figura 57. Residuos Vs predicho para determinar homogeneidad de varianzas de PE1.

Tabla 34. Prueba de Tukey para disolventes.

DISOLVENTE	MEDIAS	n	E.E.	p-Valor
Sin Solvente	75.33	3	0.32	A
BuOH	78.27	9	0.19	B
MeOH	89.31	9	0.19	C
EtOH	91.97	18	0.13	D
PrOH	92.03	18	0.13	D
isoPrOH	93.07	18	0.13	E

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Tabla 35. Prueba de Tukey para buffer.

BUFFER	MEDIAS	n	E.E.	p-Valor
No	87.42	48	0.08	A
Si	93.53	27	0.11	B

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Tabla 36. Prueba de Tukey para tiempo.

BUFFER	MEDIAS	n	E.E.	p-Valor
36	89.05	27	0.11	A
9	89.51	24	0.11	B
24	90.37	24	0.11	C

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Tabla 37. Prueba de Tukey para interacciones entre disolvente y tiempo.

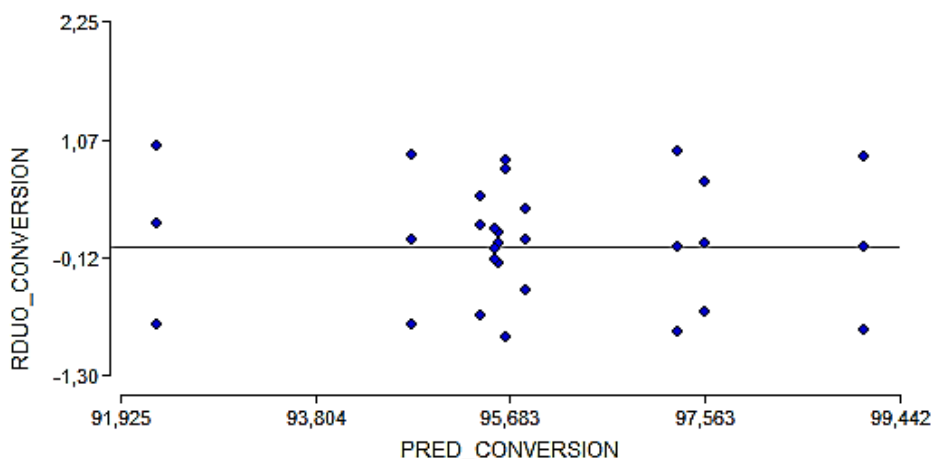
DISOLVENTE	TIEMPO (h)	MEDIAS	n	E.E.	p-Valor
Sin solvente	36	75.33	3	0.32	A
BuOH	9	77.57	3	0.32	B
BuOH	24	78.37	3	0.32	B
BuOH	36	78.87	3	0.32	B
MeOH	9	88.60	3	0.32	C
MeOH	24	88.60	3	0.32	C
MeOH	36	90.73	3	0.32	D
PrOH	9	91.57	6	0.23	D
EtOH	9	91.63	6	0.23	D
isoPrOH	9	91.77	6	0.23	D
EtOH	36	92.10	6	0.23	D
PrOH	24	92.10	6	0.23	D
EtOH	24	92.18	6	0.23	D
PrOH	36	92.43	6	0.23	D E
isoPrOH	36	93.72	6	0.23	E
isoPrOH	24	93.72	6	0.23	E

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

ANEXO 4. Realización de Supuestos y prueba de Tukey para la conversión de PE2b.**Tabla 38.** Prueba de Normalidad de Shapiro Wilks.

DSte	Base	T. (°C) [t. (h)]		n	w*	p
		Paso 1	Paso 2			
THF	KOH	63 [3]	---	3	1.00	>0.9999
THF	NaOH	63 [3]	---	3	1.00	0.9157
THF	Terc-BuOK	63 [3]	---	3	1.00	>0.9999
DMSO	KOH	50 [2]	130 [4]	3	0.78	0.0680
DMSO	NaOH	50 [2]	130 [4]	3	0.99	0.8232
DMSO	Terc-BuOK	50 [2]	130 [4]	3	0.99	0.8270
DMSO	KOH	50 [2]	130 [2]	3	0.96	0.6394
DMSO	KOH	50 [2]	130 [6]	3	0.92	0.4628
DMSO	KOH	50 [2]	110 [2]	3	0.98	0.7232
DMSO	KOH	50 [2]	150 [2]	3	0.96	0.6394

n = grados de libertad, W* = estadístico, p valor (unilateral D). DSte = disolvente, T. = temperatura, t. = tiempo

**Figura 58.** Residuos Vs predicho para determinar homogeneidad de varianzas de PE2b.**Tabla 39.** Prueba de Tukey para base (método A).

BASE	MEDIAS	n	E.E.	p-Valor
KOH	97.30	3	0.26	A
NaOH	97.57	3	0.26	A
Terc-BuOK	99.10	3	0.26	B

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Tabla 40. Prueba de Tukey para base (método B).

BASE	MEDIAS	n	E.E.	p-Valor
Terc-BuOK	92.27	3	0.88	A
NaOH	94.73	3	0.88	A
KOH	95.63	3	0.88	B

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Tabla 41. Prueba de Tukey para tiempo (método B).

TIEMPO (h)		MEDIAS	n	E.E.	p-Valor
1 PASO	2 PASO				
2	2	95.53	3	0.52	A
2	4	95.63	3	0.52	A
2	6	95.40	3	0.52	A

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Tabla 42. Prueba de Tukey para temperatura (método B).

TEMPERATURA (°C)		MEDIAS	n	E.E.	p-Valor
1 PASO	2 PASO				
50	110	95.83	3	0.15	A
50	130	95.53	3	0.15	A
50	150	95.83	3	0.15	A

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Tabla 43. Prueba de Tukey para disolventes entre los dos métodos.

DISOLVENTE	MEDIAS	n	E.E.	p-Valor
DMSO	95.00	21	0.29	A
THF	97.99	9	0.45	B

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

ANEXO 5. Realización de Supuestos y prueba de Tukey para la conversión de (+)- y (-)-PE3b y recuperación de (+)- y (-)-PE2b.

Tabla 44. Prueba de Normalidad de Shapiro Wilks para la conversión de (+)- y (-)-PE3b.

MÉTODO	ADICIÓN DE AR	MANDELATO	n	W*	p-Valor
Primero	(S)-(+)-AM	(+)-PE3b	3	0.96	0.6394
	(R)-(-)-AM	(-)-PE3b	3	0.99	0.7806
Segundo	(R)-(-)-AM	(-)-PE3b	3	0.99	0.7806
	(S)-(+)-AM	(+)-PE3b	3	0.92	0.4628

n = grados de libertad, W* = estadístico, p valor (unilateral D).

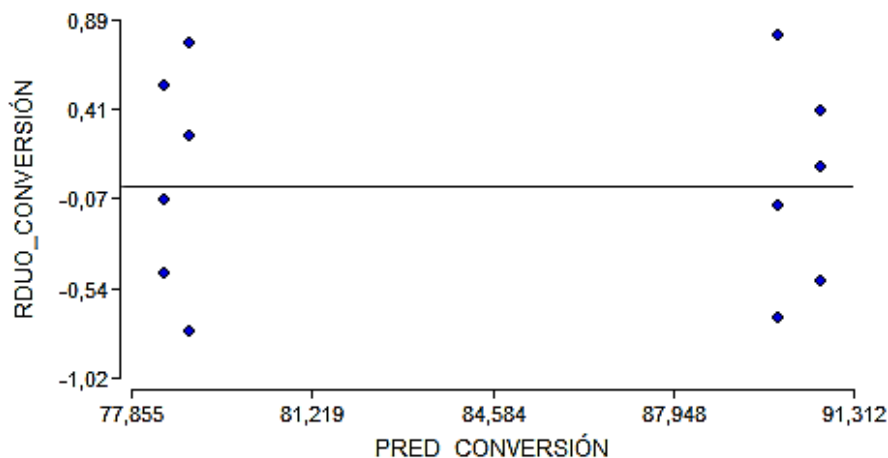


Figura 59. Residuos Vs predicho para determinar homogeneidad de varianzas de la conversión de (+)- y (-)-PE3b.

Tabla 45. Prueba de Tukey para los dos métodos, en la conversión de (+)- y (-)-PE3b.

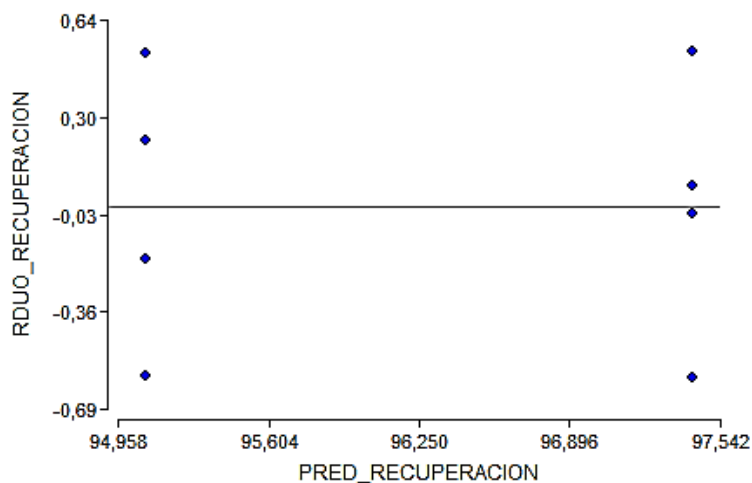
MÉTODO	ADICIÓN DE AR	MANDELATO	MEDIA	n	E.E.	p-Valor
Primero	(R)-(-)-AM	(-)-PE3b	78.47	3	0.38	A
Segundo	(S)-(+)-AM	(+)-PE3b	78.93	3	0.38	A
Primero	(S)-(+)-AM	(+)-PE3b	90.70	3	0.38	B
Segundo	(R)-(-)-AM	(-)-PE3b	89.90	3	0.38	B

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Tabla 46. Prueba de Normalidad de Shapiro Wilks para la recuperación de (+)- y (-)-PE2b

ENANTIOMERO	n	W*	p-Valor
(+)-PE2b	4	0.98	0.8900
(-)-PE2b	4	0.98	0.8740

n = grados de libertad, W* = estadístico, p valor (unilateral D).

**Figura 60.** Residuos Vs predicho para determinar homogeneidad de varianzas de la recuperación de (+)- y (-)-PE2b.**Tabla 47.** Prueba de Tukey en la recuperación de (+)- y (-)-PE2b.

ENANTIOMERO	MEDIAS	n	E.E.	p-Valor
(-)-PE2b	95.08	4	0.24	A
(+)-PE2b	97.43	4	0.24	B

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

ANEXO 6. Realización de Supuestos y prueba de Tukey para la conversión de (±)-PE4b, (+)- y (-)-PE4b.

Tabla 48. Prueba de Normalidad de Shapiro Wilks.

COMPUESTO	BASE	ACETILACIÓN	HIDRÓLISIS	A.I.	n	W*	p-Valor
(±)-PE4b	AcONa	2	2	No	3	0.99	0.8648
(±)-PE4b	AcONa	3	2	No	3	0.96	0.6394
(±)-PE4b	AcONa	4	2	No	3	0.94	0.5219
(±)-PE4b	AcONa	6	2	No	3	1.00	0.9318
(±)-PE4b	AcONa	3	3	No	3	1.00	0.9018
(±)-PE4b	AcONa	3	4	No	3	0.99	0.7698
(±)-PE4b	AcONa	3	6	No	3	0.99	0.8648
(±)-PE4b	AcONa	3	2	Si	3	0.82	0.1575
(±)-PE4b	Py	3	2	No	3	0.87	0.2822
(+)-PE4b	AcONa	3	2	No	3	0.90	0.3962
(-)-PE4b	AcONa	3	2	No	3	0.82	0.1734

n = grados de libertad, W* = estadístico, p valor (unilateral D), A.I. = atmósfera inerte, Py = piridina

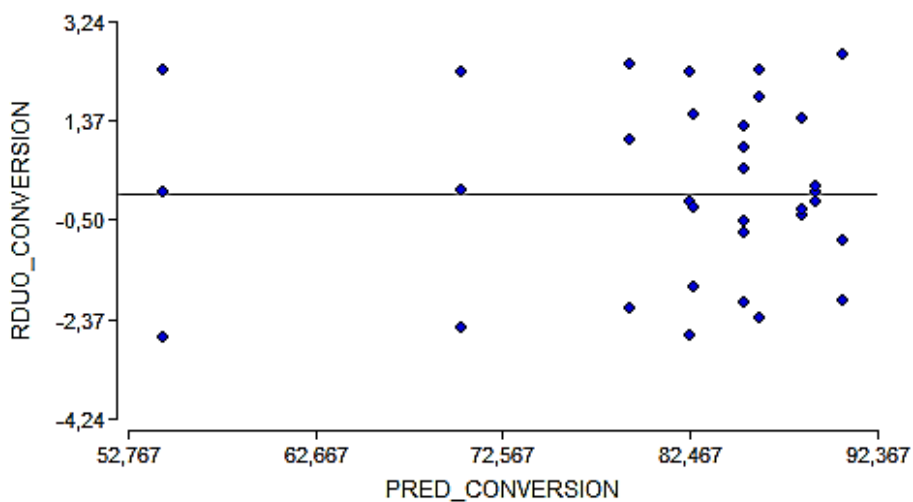


Figura 61. Residuos Vs predicho para determinar homogeneidad de varianzas de PE4b.

Tabla 49. Prueba de Tukey para el tiempo de acetilación e hidrólisis en la conversión de (\pm)-PE4b, utilizando AcONa como base y sin atmósfera inerte.

ACETILACIÓN	HIDRÓLISIS	MEDIAS	n	E.E.	p-Valor
6	2	54.57	3	1.12	A
3	6	70.33	3	1.12	B
4	2	79.30	3	1.12	C
3	3	82.47	3	1.12	C
3	4	82.67	3	1.12	C
2	2	84.33	3	1.12	C
3	2	90.07	3	1.12	D

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Tabla 50. Prueba de Tukey para bases y atmósfera inerte en la conversión de (\pm)-PE4b.

BASE	ACETILACIÓN	HIDRÓLISIS	A.I.	MEDIAS	n	E.E.	p-Valor
AcONa	3	2	No	90.07	3	0.71	A
AcONa	3	2	Si	88.40	3	0.71	A
Py	3	2	No	90.57	3	0.71	A

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Tabla 51. Prueba de Tukey para las conversiones de (\pm)-PE4b, (+)-PE4b y (-)-PE4b, utilizando como base AcONa y sin atmósfera inerte.

COMPUESTO	ACETILACIÓN	HIDRÓLISIS	MEDIAS	n	E.E.	p-Valor
(-)-PE4b	3	2	85.33	3	0.55	A
(+)-PE4b	3	2	86.17	3	0.55	A
(\pm)-PE4b	3	2	90.07	3	0.55	B

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

ANEXO 7. Realización de Supuestos y prueba de Tukey para la conversión de (±)-PE5b, (+)- y (-)-PE5b.

Tabla 52. Prueba de Normalidad de Shapiro Wilks.

COMPUESTO	RELACION DE ÁCIDOS	TIEMPO (h)	n	W*	p-Valor
(±)-PE4b	1:1	24	3	0.91	0.4070
(±)-PE4b	1:2	24	3	0.82	0.1575
(±)-PE4b	1:3	24	3	1.00	0.9461
(±)-PE4b	1:3	48	3	0.91	0.4213
(+)-PE4b	1:3	24	3	0.85	0.2333
(-)-PE4b	1:3	24	3	0.89	0.3490

n = grados de libertad, W* = estadístico, p valor (unilateral D).

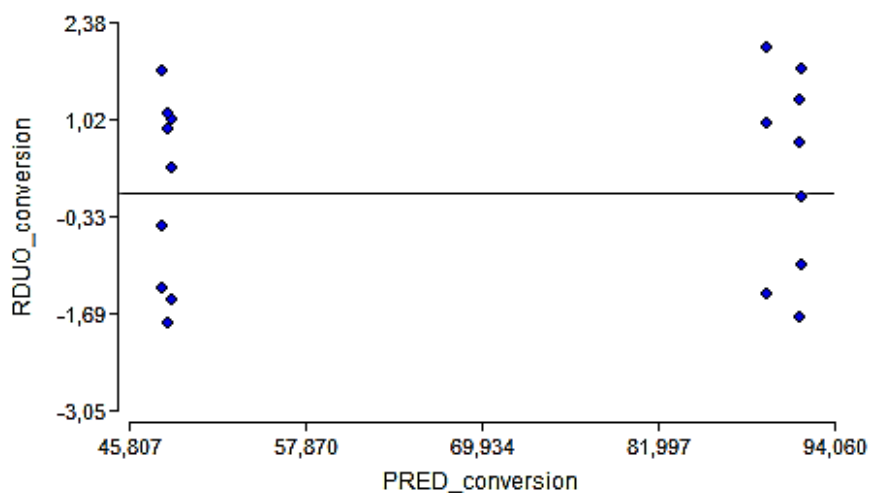


Figura 62. Residuos Vs predicho para determinar homogeneidad de varianzas de PE5b.

Tabla 53. Prueba de Tukey para la relación de ácidos.

RELACIÓN DE ÁCIDOS	TIEMPO REFLUJO (h)	MEDIAS	n	E.E.	p-Valor
1:2	24	48.40	3	0.87	A
1:1	24	48.67	3	0.87	A
1:3	24	91.87	3	0.87	B

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Tabla 54. Prueba de Tukey para el tiempo de reflujo.

RELACIÓN DE ÁCIDOS	TIEMPO REFLUJO (h)	MEDIAS	n	E.E.	p-Valor
1:3	24	91.87	3	0.90	A
1:3	48	89.33	3	0.90	A

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Tabla 55. Prueba de Tukey para las conversiones de (\pm)-PE5b, (+)-PE5b y (-)-PE5b a 24 horas de reflujo y relación de mezcla de ácidos 1:3.

COMPUESTO	MEDIAS	n	E.E.	p-Valor
(-)-PE5b	89.47	3	1.21	A
(+)-PE5b	91.70	3	1.21	A
(\pm)-PE5b	91.87	3	1.21	A

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).