

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA.

FACULTAD DE CIENCIAS.

ESCUELA DE QUÍMICA.



TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

SÍNTESIS DE 4-AMINOCUMARINAS SUSTITUIDAS.

Trabajo especial de grado presentado
ante la ilustre Universidad Central de
Venezuela, por la Br. Diana Cristina
Rangel Moncada, para optar el título
de Licenciado en Química

Caracas, Octubre de 2017.

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA.

FACULTAD DE CIENCIAS.

ESCUELA DE QUÍMICA.



TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

SÍNTESIS DE 4-AMINOCUMARINAS SUSTITUIDAS.

Presentado por: Br. Diana Rangel

Tutor: Dr. Gustavo Cabrera

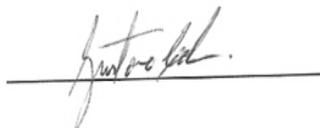
Caracas, Octubre de 2017.

Yo, Profesor Cabrera Gustavo, Investigador del Laboratorio de Productos Naturales de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela.
Certifico que, el presente Seminario de Investigación, titulado:

“SÍNTESIS DE 4-AMINOCUMARINAS SUSTITUIDAS”

Que presenta la Br. Diana Cristina Rangel Moncada, para aspirar al título de Licenciado en Química, ha sido realizado en el Laboratorio de Productos Naturales, de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela, bajo mi dirección, durante los años 2016 y 2017, y con esta fecha autorizo su presentación.

Caracas, Octubre de 2017.



Dr. Gustavo Cabrera

Los abajo firmantes designados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del Trabajo Especial de Grado titulado: SÍNTESIS DE 4-AMINOCUMARINAS SUSTITUIDAS. Presentado por la Br. Diana Cristina Rangel Moncada, certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar por el título de Licenciado en Química.



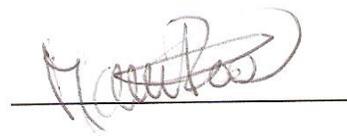
Dr. Gustavo Cabrera

(Director)



Dra. María Luisa Serrano.

(Jurado)



Dra. María Rodríguez

(Jurado)

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a mis padres Adrián Rangel y Cristina Moncada, por todo el apoyo, comprensión, dedicación y amor incondicional que siempre me han brindado, por guiarme en todo momento, por darme la fuerza para crecer cada día como persona, alentarme a seguir adelante y ayudarme a cumplir mis metas y sueños, este logro tiene plasmado sus nombre y sus esfuerzos, sin ustedes nada de esto sería posible. A mi hermana victoria por animarme y apoyarme en todo momento, a mi prima Daniela por escucharme, aconsejarme y por estar allí siempre que lo necesite, a mi abuela por todo tu cariño y comprensión, y a toda mi familia.

Quiero dar un agradecimiento especial a Iván Romero, por ser mi cotutor sin su ayuda este trabajo no sería posible, gracias por todos los conocimientos, consejos y experiencias aprendidas, por ser mi amigo, compañero, guía y profesor.

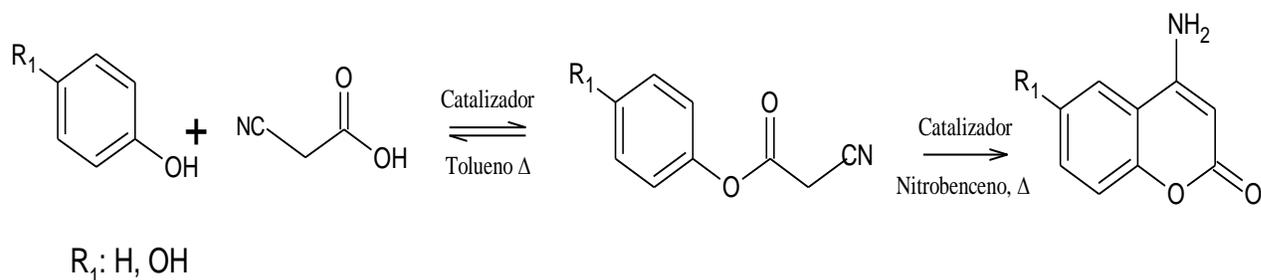
A todos mis amigos Jessica, salvador, juan, guillen, Bárbara, Itzamar, que me han acompañado, guiado durante toda la carrera, por compartir todo eso buenos momentos y llenar de risas, alegría, felicidad cada materia y laboratorio, sin ustedes no sería lo mismo; sobre todo quiero agradecer a Melanie por brindarme su amistad en las buenas y malas, por apoyarme, aconsejarme en todo momento.

También quiero agradecer a la profesora lola, por ayudarme y realizar los espectros con tanta amabilidad y comprensión. A los profesores de orgánica Jairo, María Rodríguez, Inés, Manuel por estar siempre dispuestos a brindar su ayuda y conocimiento. A Lourdes y Daniela por sus enseñanzas, buenos consejos y por brindarme su apoyo y ayuda en todo momento, también quiero agradecer a mis compañeros de tesis José, Adriana y Mafer por acompañarme durante este trayecto.

Finalmente gracias a mi tutor, el profesor Gustavo Cabrera, por darme la oportunidad de realizar este trabajo, por todas las enseñanzas, consejos y recomendaciones dadas.

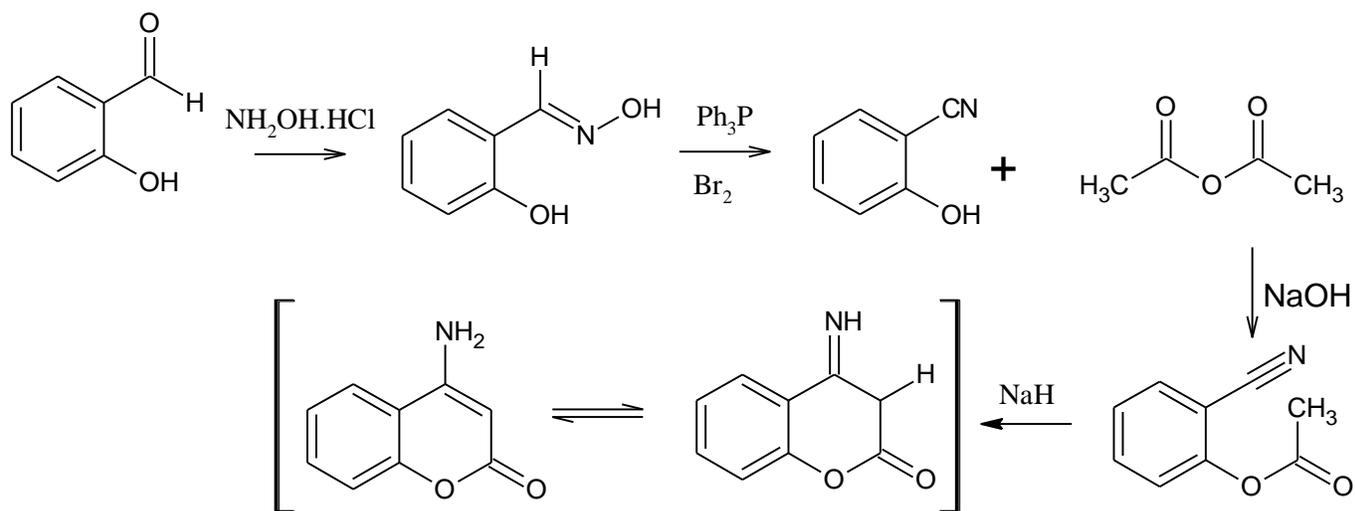
RESUMEN

En el siguiente trabajo se realizó la síntesis de derivados 4-aminocumarinas por dos rutas diferentes, la primera ruta sintética constó de dos pasos, el primer paso fue la esterificación/ transesterificación del fenol e hidroquinona con ácido cianoacético /cianoacetato de metilo utilizando diferentes catalizadores como: ácido oxálico, trifenilfosfina en tetracloruro de carbono y ácido sulfúrico, seguido de la ciclación intramolecular del éster correspondiente usando tricloruro de aluminio como ácido de Lewis.



En esta ruta se optimizaron las condiciones de reacción, modificando dos variables: la cantidad de catalizador y tiempo de reacción, en el caso del ácido oxálico se manejó en un rango de 13% al 35% mol del catalizador con tiempos de reacción de 8 y 16 horas, obteniendo el cianoacetato de fenilo con un rendimiento del 9% y cianoacetato de 4-hidroxifenilo con un rendimiento del 15%, además se obtuvo en un solo paso la 6-hidroxi-4-aminocumarina con un rendimiento del 11%, en cambio en la esterificación con trifenilfosfina los rendimientos fueron 7% del acetato de fenilo y 9% cianoacetato de 4-aminocumarilo utilizando cantidades equivalentes de los reactantes. Por último, en la transesterificación con ácido sulfúrico se obtuvieron en un solo paso la 4-aminocumarina y 4-amino-6-hidroxicumarina con un rendimiento del 13% y 5% respectivamente.

La segunda ruta sintética fue a partir de o-cianofenol y constó de cuatro pasos: el primero fue la obtención de la oxima del salicilaldehído, el segundo fue la deshidratación con trifenilfosfina y bromo formando el o-cianofenol, seguido de la acetilación con anhídrido acético y por último la ciclación intramolecular promovida por el hidruro de sodio.



Finalmente, en la segunda ruta cada uno de los productos intermedios fueron aislados con un rendimiento del 92% para la oxima, un 49% del o-cianofenol, 39% de acetato de 2-cianofenol y 16% de la 4-aminocumarina, con esta ruta se obtuvo la 4-aminocumarina por un nuevo método, diferente a los reportados para la síntesis de este tipo de esqueletos.

Palabras claves: Cumarinas, síntesis, esterificación, cianoacetato de fenilo.

INDICE GENERAL

CAPITULO 1	1
1. INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO 2	3
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 CUMARINAS	3
2.2 CLASIFICACIÓN	4
2.2.1 Cumarinas simples	4
2.2.2 Cumarinas complejas	5
2.2.3 Cumarinas diversas	6
2.3 EXTRACCIÓN	7
2.4. ACTIVIDAD BIOLÓGICA	8
2.4.1. Anticoagulante	9
2.4.2. Antimicrobiana	9
2.4.3 Actividad fotoprotectora	11
2.4.4 Antiinflamatorio y analgésica	11
2.4.5. Actividad antitumoral	12
2.4.6 Inhibición enzimática	14
2.4.7 Actividad antioxidante	15
2.5 BIOSÍNTESIS	15
2.6 SÍNTESIS	20
2.6.1. Síntesis a partir de salicilaldehído	20

2.6.2. Síntesis a partir de o-hidroxibenzofenona	22
2.6.3 Síntesis a partir de fenol	24
2.7 MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN	27
CAPITULO 3	28
3.0 ANTECEDENTES	28
CAPITULO 4	38
4.0 OBJETIVOS	38
4.1 Objetivo General	38
4.2 Objetivos Específicos	38
RETROSÍNTESIS	40
SÍNTESIS PROPUESTAS	41
CAPITULO 5	43
5.0 METODOLOGIA EXPERIMENTAL	43
5.1 Reactivos y solventes	43
5.2. Materiales utilizados	44
5.3. Procedimiento experimental	45
5.3.1 Ruta 1. Síntesis de 4-aminocumarinas por ciclación de derivados de cianoacetato de fenilo	45
5.3.2 Ruta 2. Síntesis de 4-aminocumarinas por acetilación de O-cianofenol con anhídrido acético y posterior ciclación usando NaH.	54
CAPITULO 6	57
6.0. RESULTADOS Y DISCUSIONES	57
6.1. Ruta 1. Síntesis de 4-aminocumarinas por ciclación de derivados de cianoacetato de fenilo	57

6.1.1.1 Esterificación con catalizador tipo ácido de Bronsted	57
6.1.1.2. Transesterificación con catalizador tipo ácido de Bronsted	67
6.1.1.3: Esterificación por sistema acoplante con trifenilfosfina (PPh ₃ / CCl ₄)	76
6.1.2. Ciclación intramolecular con catalizador tipo Lewis	83
6.2. Ruta 2. Síntesis de 4-amino cumarinas por acetilación de O-cianofenol con anhídrido acético y posterior ciclación usando NaH	84
6.2.1 Formación de la oxima del salicilaldehído	84
6.2.2 Formación del o-cianofenol	86
6.2.3 Acetilación del o-cianofenol	87
6.2.4 Ciclación intramolecular con NaH	88
CAPITULO 7	94
7.0. CONCLUSIONES	94
7.1. RECOMENDACIONES	96
CAPITULO 8	97
8.0 ANEXOS	97
CAPITULO 9	98
9.0 REFERENCIAS	98

INDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Biosíntesis de la cumarina _____	16
Esquema 2. Biosíntesis de Umbeliferona _____	17
Esquema 3. Biosíntesis de la escupetina y escopoletina _____	18
Esquema 4. Biosíntesis de furanocumarinas _____	19
Esquema 5. Reacción de Perkin _____	21
Esquema 6. Reacción de Knoevenagel _____	21
Esquema 7. Reacción de Wittig _____	22
Esquema 8. Reacción de Kostanecki-Robinson _____	23
Esquema 9. Reacción de Reformatsky. _____	24
Esquema 10. Reacción de Pechmann _____	24
Esquema 11. Reacción de Pechmann-Duisberg _____	25
Esquema 12. Reacción de ácidos propargílicos _____	26
Esquema 13. Síntesis de 4-amino-3-nitrocumarinas _____	28
Esquema 14. Síntesis de 4-aminocumarinas _____	29
Esquema 15. Ruta 1 síntesis de 3-ciano-4oxocumarinas _____	30
Esquema 16. Ruta 2 síntesis de 3-ciano-4oxocumarinas _____	30
Esquema 17. Esterificación de ácido cianoacético _____	31
Esquema 18. Ruta 1 Síntesis de 4-aminocumaria _____	32
Esquema 19. Ruta 2 Síntesis de 3- ciano 4-hidroxi 6-nitrocumarina _____	33
Esquema 20. Ruta 1 Síntesis de 4-aminoquinolinas _____	34
Esquema 21. Ruta 2 Síntesis de 4-aminoquinolinas _____	35
Esquema 22. Síntesis de 3-ciano-4-animo-2-quinolona _____	36
Esquema 23. Reacción de Pechmann con zeolitas _____	36
Esquema 24. Retrosíntesis 1 _____	40
Esquema 25. Retrosíntesis 2 _____	40
Esquema 26. Ruta sintética 1 _____	41

Esquema 27. Ruta sintética 2	42
Esquema 28. Derivatización de las 4-aminocumarina	42
Esquema 29. Ruta 1 Síntesis de 4-aminocumarina	45
Esquema 30. Ruta 2 síntesis de 4-aminocumarina	54
Esquema 31. Mecanismo de reacción de la esterificación con un ácido de Bronsted	57
Esquema 32. Estructuras de resonancia de la 4-aminocumarina	61
Esquema 33. Mecanismo de reacción de la ciclación intramolecular con ácido oxálico	65
Esquema 34. Mecanismo reacción de la acetilación con piridina	66
Esquema 35. Mecanismo de reacción de transesterificación con ácido de Bronsted.	67
Esquema 36. Mecanismo de reacción de la hidrólisis del nitrilo y descarboxilación.	75
Esquema 37. Mecanismo de reacción de la esterificación del ácido cianoacético con trifenilfosfina (PPh ₃ / CCl ₄)	77
Esquema 38. Mecanismo de reacción de la ciclación intramolecular con PPh ₃ / CCl ₄	82
Esquema 39. Mecanismo de reacción de la ciclación con un ácido de Lewis	83
Esquema 40. Mecanismo de reacción de formación de oxima	84
Esquema 41. Mecanismo de reacción de formación del O-cianofenol	86
Esquema 42. Mecanismo de reacción de acetilación del O-cianofenol	87
Esquema 43. Mecanismo de reacción de la ciclación intramolecular	88

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cumarinas simples más comunes _____	4
Tabla 2. Furanocumarinas lineales y angulares más comunes _____	5
Tabla 3. Fuentes naturales de algunas cumarinas _____	7
Tabla 4. Condiciones de reacción de esterificación del fenol con ácido cianoacético _	47
Tabla 5. Optimización de la reacción de esterificación de la hidroquinona con ácido cianoacético _____	48
Tabla 6. Resumen de los intermediarios aislados en la ruta 2 _____	92
Tabla 7. Rendimiento de las cumarinas obtenida _____	93

INDICE DE ESPECTROS

Espectro 1. IR del cianoacetato de fenilo _____	59
Espectro 2. IR del cianoacetato de 4-hidroxifenilo _____	60
Espectro 3. IR de 4-amino-6-hidroxycumarina. _____	62
Espectro 4. IR del 6-acetato de 4-acetamido N-Cumarilo _____	63
Espectro 5. Decovolución del carbonilo de la acetilación de la 4-amino6- hidroxycumarina _____	64
Espectro 6. IR del acetato de fenilo _____	68
Espectro 7. IR de la 4-aminocumarina _____	70
Espectro 8. IR de la 4-acetamida N-cumarina _____	71
Espectro 9. IR del acetato de 4-hidroxifenilo _____	73
Espectro 10. IR de la 4-amino-6-hidroxycumarina _____	74
Espectro 11. IR del 6-cianoacetato de 4-aminocumarilo _____	79
Espectro 12. IR del 6-cianoacetato de 4-acetamida-N-cumarilo _____	81
Espectro 13. IR de la Oxima de salicilaldehído _____	85
Espectro 14. IR del acetato de 2-cianofenilo _____	88
Espectro 15. IR de la 4-aminocumarina _____	90
Espectro 16. IR del 4-acetamida N-cumarina _____	91

CAPITULO 1

1. INTRODUCCIÓN

La síntesis orgánica se basa en construcción de estructuras complejas de interés biológico e industrial a partir de moléculas más simples, una de las ramas con mayor auge es la síntesis de fármacos, ya que permite la creación de nuevos compuestos con actividad biológica a partir de compuestos análogos, además mediante modificaciones en la estructura principal es posible potenciar la actividad biológica.

La mayoría de los compuestos activos de los fármacos son metabolitos secundarios aislados de plantas o microorganismos, uno de estos metabolitos secundarios que poseen una gran variedad de actividad biológica son las cumarinas, conocidas por sus propiedades anticoagulante, antibiótica, antiinflamatoria, analgésica, antitumoral, antiviral, antioxidante y fotoprotectora ^{1,2,3}, además son utilizadas en el área de cosméticos, perfumería, insecticida y alimentaria.

La estructura básica de las cumarinas consiste en un esqueleto de benzo α pirona, se derivan del ácido shikimico vía el ácido cinámico, estas se encuentra en forma de glicósidos o libre en diversas familias de plantas y son obtenidas mediante extracciones, pero debido a la demanda tanto a nivel farmacéutico e industrial por su innumerables beneficios se plantearon varias rutas de sintéticas como: la reacción de Perkin, Pechmann, Pechmann-Duisberg, Knoevenagel, Reformatsky y Wittig; los cuales principalmente consiste en construir el anillo pirona con un derivado de benceno

adecuado como fenoles o salicilaldehído (o-hidroxibenzaldehído) con anhídridos y estructuras de tipo ésteres o ácidos.^{2,3}

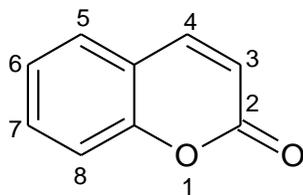
Nuestro interés recae en la síntesis de 4-aminocumarinas debido a poseen actividad biológica como antimicrobiana y analgésica, además de que la síntesis con el grupo amino específicamente en dicha posición ha sido poco reportada, por lo plantea la optimización de la síntesis de las 4-aminocumarinas, además de la exploración de una nueva ruta de obtención, usando o-cianofenol como intermediario clave.

Por otro lado las 4-aminocumarinas al igual que las 4-hidroxycumarinas poseen equilibrios tautomérico que generan tres especies. Así se plantea la síntesis de este esqueleto para formar una base de datos de compuestos los cuales luego puedan ser estudiados a través de química computacional en cuanto a su estabilidad; dando así una contribución mayor al trabajo que se ha venido haciendo en el grupo de investigación en cuanto a síntesis y modelado molecular de este tipo de compuestos.

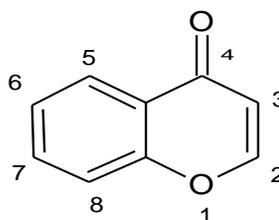
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 CUMARINAS

Las cumarinas (1) son compuestos orgánicos que están formadas por un anillo bencénico, condensado a una lactona insaturada de 6 miembros, la estructura básica de las cumarinas consiste en benzo α pirona,^{1,2} la cumarina tiene un isómero que se encuentra en menor proporción y se le conoce como la cromona (2) cuya estructura básica consiste en un anillo de benzo y pirona. A continuación se muestra la estructura básica de una cumarina y cromona.



1



2

Las cumarinas son metabolitos secundarios que se encuentran presentes en plantas superiores y algunos microorganismos, su nombre proviene “Coumarou” el nombre común del haba tonka, una de las principales fuentes de cumarina: *Dipteryx odorata*, *Coumarouna odorata* Aubl. Fam. Leguminosae/Fabaceae.¹

Se han aislado cerca de 1000 cumarinas naturales provenientes de 150 especies distribuidas en 30 familias, de las que destacan: Umbeliferae/Apiaceae, Rutaceae, Leguminosae/Fabaceae, Papilionaceae, Rubiaceae, Lamiaceae, Astareaceae,

Solanaceae, Gramineae.¹ En estas familias las cumarinas se pueden encontrar en su forma libre o glicosiladas, a partir de las especies aisladas de cumarinas, se han realizado la siguiente clasificación.

2.2 CLASIFICACIÓN

2.2.1 Cumarinas simples

Presentan derivados alcoxilados, oxigenados, alquilados o glicosilados, en las posiciones 6,7,8 del núcleo bencénico y 3,4 del núcleo de la lactona, en este grupo se encuentran las monohidroxycumarinas, dihidroxycumarinas y trihidroxycumarinas; la mayoría de las cumarinas se encuentran sustituidas en la posición 7 por un sustituyente oxigenado. A continuación se muestra una lista de las cumarinas simples más comunes.

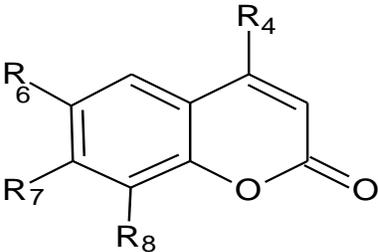
	Est.	R ₄	R ₆	R ₇	R ₈	Nombre
	1	H	H	H	H	Cumarina
	3	H	H	OH	H	Umbeliferona
	4	H	H	OCH ₃	H	Herniarina
	5	H	OH	OH	H	Esculetina
	6	H	H	OH	OCH ₃	Hidrangetina
	7	H	OCH ₃	OH	H	Escopeletina
	8	H	OCH ₃	OH	OH	Fraxetina
	9	H	Oglu	OH	H	Esculina
	10	CH ₃	H	OH	H	Hymecromone

Tabla 1. Cumarinas simples más comunes

2.2.2 Cumarinas complejas

Se clasifican en Furanocumarinas y Piranocumarinas, las furanocumarinas están compuestas por un anillo de furano condensado a la cumarina y dependiendo de la posición del anillo se subclasifican en lineales y angulares. Las furanocumarinas lineales o Psoralenos se unen al anillo en la posición C-6 y C-7, en cambio las furanocumarinas angulares se une en la posición C-7 y C-8. En la tabla 2. Se pueden observar las estructuras de las furanocumarinas lineales y angulares más comunes.^{1,2}

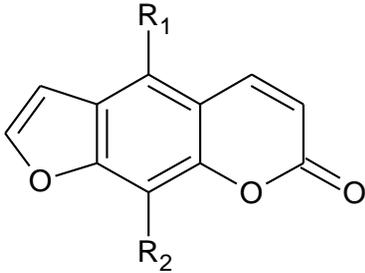
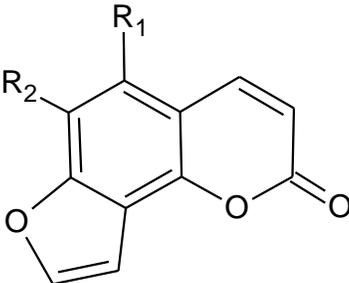
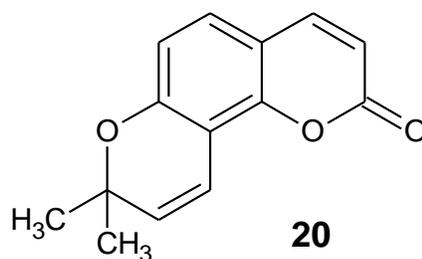
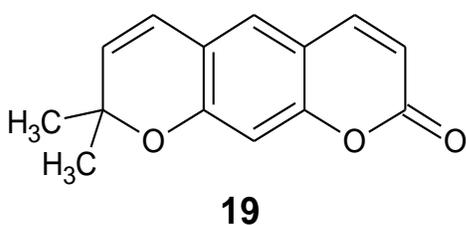
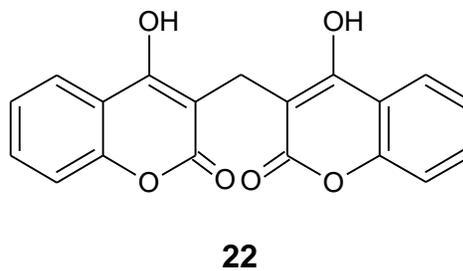
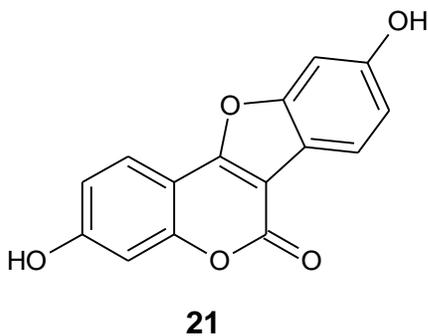
Lineales				Angulares			
							
Est	R1	R2	nombre	R1	R2	nombre	Est
11	H	H	Sposoleno	H	H	Angelicina	16
12	H	OH	Xantotoxol	H	OCH3	Isobergapteno	17
13	H	OCH3	Xantotoxina	OCH3	OCH3	pimpinellina	18
14	OCH3	H	Bergapteno				
15	OCH3	OCH3	Isopimpinellina				

Tabla 2. Furanocumarinas lineales y angulares más comunes

Las Piranocumarinas están compuestas por un anillo de pirano condensado a la cumarina y dependiendo de la posición del anillo se subclasifican en lineales y angulares. Las piranocumarinas lineales se unen anillo en la posición C-6 y C-7 como la Xantitetina (19), en cambio las piranocumarinas angulares se unen en la posición C-7 y C-8 como la sesilina (20)^{1,2}



2.2.3 Cumarinas diversas: son cumarinas que presentan variaciones en su estructura, se encuentran presente grupos más voluminosos y funcionalizados como el cumestrol (21) y dicumarol (22)



2.3 EXTRACCIÓN

Las cumarinas son generalmente aisladas a partir de plantas y se encuentran distribuidas en las raíces, tallo y hojas, pero la mayor proporción se encuentran a nivel de semillas y en los frutos², en su forma libre o glicosilada. A continuación se muestra una lista de las principales fuentes de cumarinas.

Cumarina	Est	Fuente natural
Cumarina	1	<i>Mikania glomerata spreng</i> (guaco), <i>Lavandula officinalis</i> (Lavanda), <i>Justicia pectoralis Jacq</i> y <i>Haba tonca Leguminosae/ Fabaceae</i>
Umbliferona	3	<i>Solanaceae, Thymeliaceae</i>
Herniarina	4	Compuesta <i>Lavandula</i> y <i>Artemisia drancuculus</i> (Estragón)
Esculetina	5	Castaño de indias <i>Rosaceae</i>
Hidragentina	6	Hortensia <i>Hydrangea macrophylla</i>
Escopoletina	7	Tabaco, Bella dona <i>Solanaceae</i>
Franxetina	8	<i>Apocinacear (Echites ursuta) Oleaceae</i>
Xantotoxina	13	Apio cimarrón <i>Umbeliferae, Ammi majus</i>
Dicumarol	22	<i>Melilotus albus, Leguminosae</i>
Hidroxycumarina		<i>Matricarias Chamomilla, M Recutita</i> (Manzanilla)
Furanocumarinas	11	Anís <i>Pimpinella anisum</i> y Naranja amarga <i>Citrus aurantium</i>

Tabla 3. Fuentes naturales de algunas cumarinas

Las cumarinas se puede obtener del material fresco o seco por medio de extracción con disolventes de polaridades diferentes como: etanol, metanol, benceno, cloroformo, éter dietílico y éteres de petróleo o mezclas.^{1,4}

La extracción exhaustiva de cumarinas se realiza mediante una disolución de etanol ya sea en frío o en caliente, seguida de la evaporación del agente de extracción luego se purifica por tratamiento con cloroformo y éter dietílico o éter de petróleo, el tratamiento con éter generalmente se realiza para eliminar grasas, también pueden ser purificadas por saponificación, este método consiste en agregar una base y luego un ácido, causando que el anillo se abra por la acción de la base formando sales de ácido cumárico y por la acidificación se cierra el anillo de nuevo, la desventaja de este método es la posible formación de productos secundarios, la deshidratación y la isomerización de algunos hidroxycumarinas.⁴

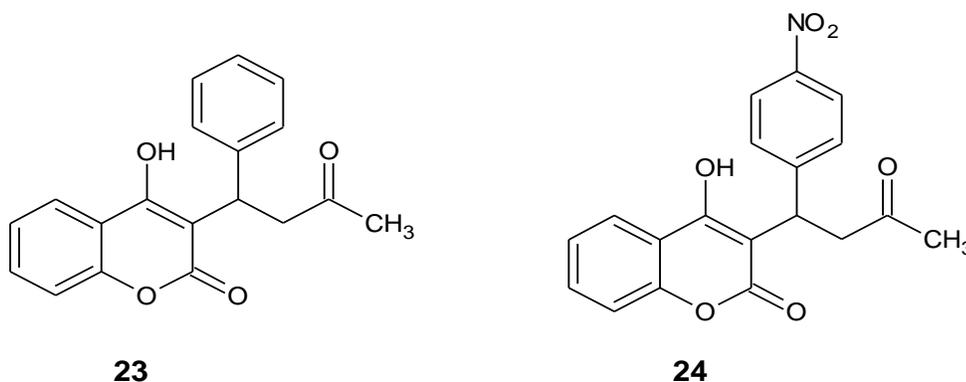
La extracción con solventes depende de la estructura de cada cumarina, para la extracción de cumarinas hidroxiladas, alcoxiladas y glicosiladas se realiza mediante una disolución de etanol acuoso al 80% seguido de tratamiento con agua caliente, filtración, y múltiples procesos de re-extracción con cloroformo, acetato de etilo, y butanol, a diferencia de las furanocumarinas, donde se realiza la extracción con éter de petróleo. Otro método adicional es la separación por métodos cromatográficos, ya sea cromatografía en columna con gel de sílice, óxido de aluminio o de papel.⁴

2.4. ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Las cumarinas representan una clase de compuestos orgánicos que poseen diversas actividades biológicas y terapéuticas tales como: antiviral, antibacterial, antiinflamatoria, antitumoral, antifúngica, inhibición enzimática, anticoagulante, antioxidante y fotoestabilizante.³

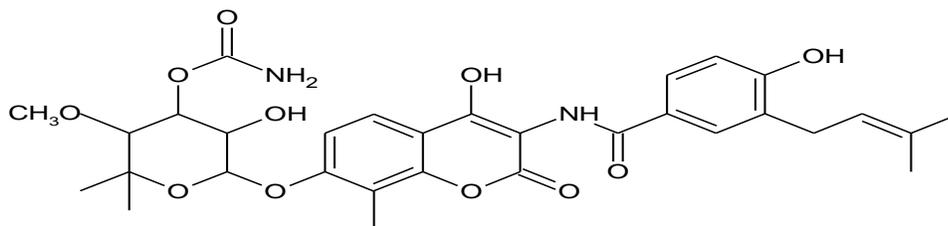
2.4.1. Anticoagulante

El dicumarol(22) fue el primer anticoagulante aislado en el trébol y pasto, este inhibe la protombina y otras vitaminas necesarias para la coagulación de la sangre, a partir del dicumarol se han sintetizado análogos como la warfarina (23) y acemocumarol (24) que son utilizados para el tratamiento de trombosis y embolias post-operatorias.^{1,3}

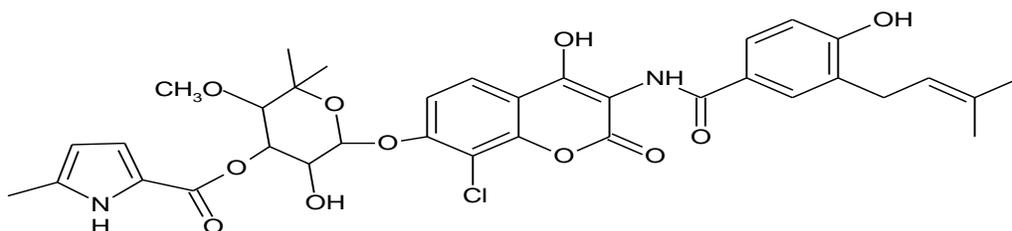


2.4.2. Antimicrobiana

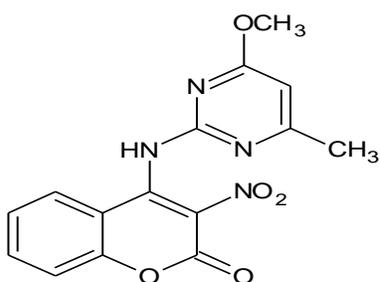
Novobiocina (25) es un antibiótico 3-aminocumarínico natural producido por la bacteria *Streptomyces niveus*, otro antibiótico natural es el clorobiocina (26)³. También se ha encontrado que derivados 4-aminocumarinas poseen actividad antimicrobiana como el compuesto 4-[(N-pirimidina)] amino-3-nitrocumarina (27) que muestra un efecto antibacterial contra las bacterias gram positiva y negativa como: *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus coccus*, *Micrococcus flavus*, *Sarcina lutea* y *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus bilidad garis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella enteritidis*, además posee actividad antifúngica contra hongos como: *Aspergillus niger*, *Candida albicans*.⁵



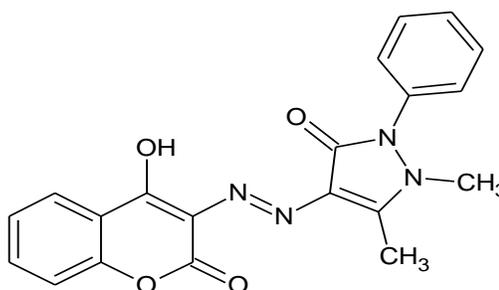
25



26



27

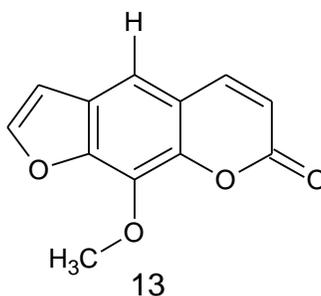


28

Otro potente antimicrobiano son derivados de 4-hidroxycumarinas, específicamente el (3-azo-1,4(1,5-dimetil-2-fenil-pirazol-3-ona)-4-hidroxycumarina (28) mostró actividad antibacterial contra bacterias patógenas como: *Escherichia coli*, *Salmonella enterica ser. typhi*, *enterica typhimurium*, *S. enterica paratyphi*, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholera*, *Klebsiella pneumonia*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus circulans*, *Streptococcus mitis*, *Pectobacterium carotovorum*, y antifúngica contra: *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Cryptococcus neoformans* y *Trichophyton rubrum*, por otro lado muestra propiedades antioxidantes y cicatrizantes.^{6,7}

2.4.3 Actividad fotoprotectora

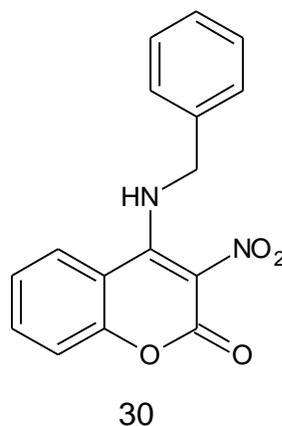
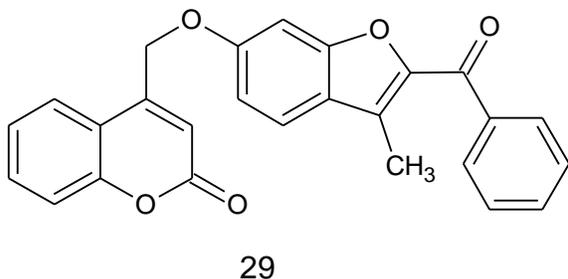
Los furanocumarinas lineales como Bergapteno (14) y la xantotoxina (13) son usados para el tratamiento fotoquimioterapéutico de la de psoriasis y vitiligo, también facilitan la repigmentación de la piel, minimizan el riesgo de quemaduras extremas y cáncer de piel.¹



La actividad fotosensibilizante de estos compuestos, se explica fundamentalmente por la reactividad en su estado excitado triplete, que se genera por efecto de la luz UV, ocasionando posibles reacciones de tipo radicalario, como reacciones enlazantes con proteínas o macromoléculas (ADN o ARN) o reacciones de transferencia de energía al oxígeno molecular.¹

2.4.4 Antiinflamatorio y analgésica

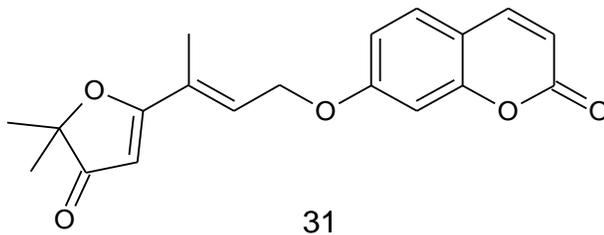
Los derivados de 4-ariloxicumarina de metilo y heteroarilo son conocidos por su actividad anti-inflamatoria, recientemente se encontró que los éteres de cumarinas también pueden exhibir una buena actividad antiinflamatoria y baja toxicidad aguda, como los éteres de benzofuranilo de cumarinas (2'-benzoilo-3'-metil-benzofuran-5'-iloximetil)cumarina (29)⁸ es un potente antiinflamatorio, además se encontró que la actividad aumentaba al sustituir cloro y metoxi en el anillo de cumarina.^{6,7,8}



Los compuestos derivados de 4-amino-3-nitrocumarinas también poseen actividad analgésica y neurotrópica, ya que disminuyen la actividad motora, induce el sueño en los ratones y disminuye la hiperactividad, además tiene una baja toxicidad, se encontró que el compuesto más activo [4-amino-(N-bencil)3-nitrocumarina] (30), La actividad es dependiente de la estructura del grupo amino, las aminas primarias disminuye la acción motora espontánea (6-10 veces), que disminuye la hiperactividad anfetamina 2-5 veces y aumenta el sueño 2 veces, por otro lado algunas aminas terciaria y secundaria debilitan la acción del músculo.⁹

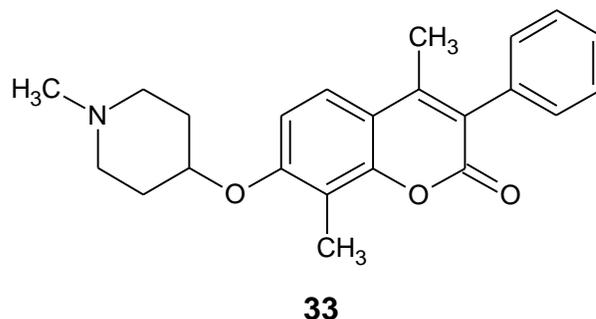
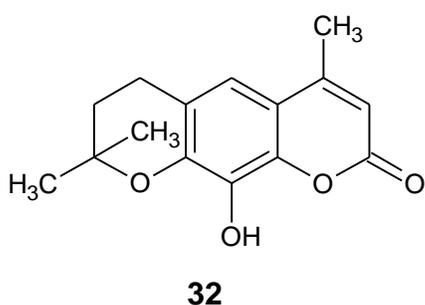
2.4.5. Actividad antitumoral

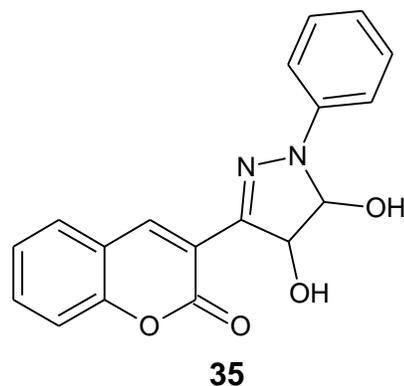
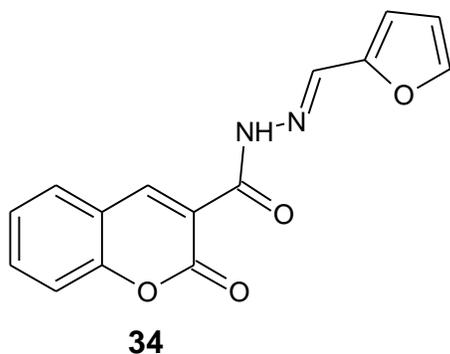
La Geiparvarina (31) es una cumarina natural, aislada de las hojas de *geijera parviflora Lindl*, es conocida por su significativa actividad contra el cáncer *in vitro*.³



Investigaciones biológicas revelaron que las cumarinas actúan como agente anticancerígeno, ya que dirigen a una serie de vías contra el cáncer, tales como la inhibición de las enzimas quinasa, telomerasa, anhidrasa carbónica, aromatasas y sulfatasas, también inhibe la proteína de choque térmico (HSP90), la angiogénesis, monocarboxilato de transportadores, la actividad antimetabólica y el detenimiento del ciclo celular.¹⁰

Estudios realizados mostraron que la 8-hidroxi-piranocumarina (32) posee un alto potencial antiproliferativo, mientras que las 7-aminocumarinas mostraban una modesta actividad de inhibición contra la quinasa, también se ha encontrado que compuestos derivados 3-aryl-cumarina como la especie (33) muestra actividad antiproliferativa, por la inhibición de HSP90, también se observó que los compuestos análogos a la hidrazida-hidrazonacumarinas (34) son indispensable para la actividad antitumoral, ya que exhibe efecto antiproliferativo y regulan la enzima quinasa. Los análogos de 3-pirazolcumarinas como 3-[pirazol-3-eno-1-fenil-4,5-dihidro]cumarina (35) exhiben un amplio espectro de actividad contra el cáncer.¹⁰

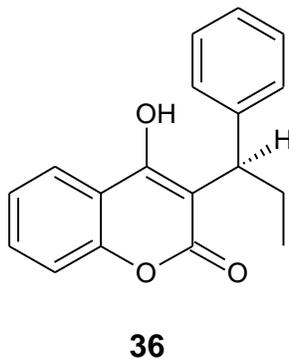




2.4.6 Inhibición enzimática

Se ha demostrado que las cumarinas poseen potente actividad inhibidora de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) y la monoamino oxidasa (MAO), la cuales inhibe la formación de la proteína amiloide-beta (A), causante de enfermedades de neurológicas y neurodegenerativas como Alzheimer y mal de parkinson.^{3,11}

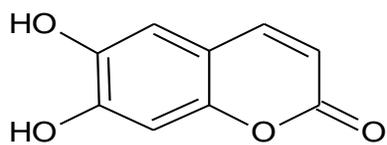
La cumarinas también exhiben actividad antiviral debido a la inhibición del VIH-1 proteasa (VIH-PR) y el VIH-1 integrasa, se ha encontrado que el femprocumon(36), warfarina(23), y derivados de 4-hidroxicumarinas, son agentes inhibidores de VIH-PR, también se encontró que ciertos dímeros de cumarina que contienen restos hidrófobos, muestran una potente actividad inhibidora contra VIH-1 integrasa³



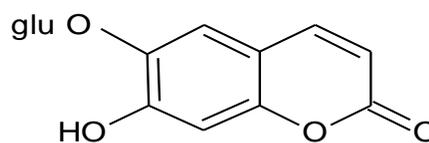
2.4.7 Actividad antioxidante

Las actividades biológicas más relevantes descritas para las cumarinas, tales como anti- inflamatorio, antiproliferativo y neuroprotector, pueden ser una consecuencia de su actividad antioxidante , ya que inhiben el estrés oxidativo responsable de daños en lípidos, proteínas y ADN que contribuyen al desarrollo de varias enfermedades inflamatorias, cancerígenas, envejecimiento, mediante la prevención de la producción de ROS (especies reactivas de oxígeno) o por inhibir el consumo de antioxidantes endógeno como monoamino oxidasa-B (MAO-B), HSP90, etc. ¹¹

Entre los antioxidantes naturales se encuentra la esculetina(5) y esculina (9), el número de grupos hidroxilo en la estructura de anillo de cumarinas se correlaciona con los efectos de supresión de ROS, por eso la esculetina, tiene la mayor afinidad acomplejamiento con la xantina oxidasa (XO) y la eliminación de radicales. ¹²



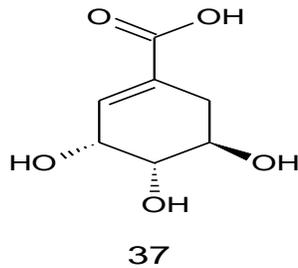
5



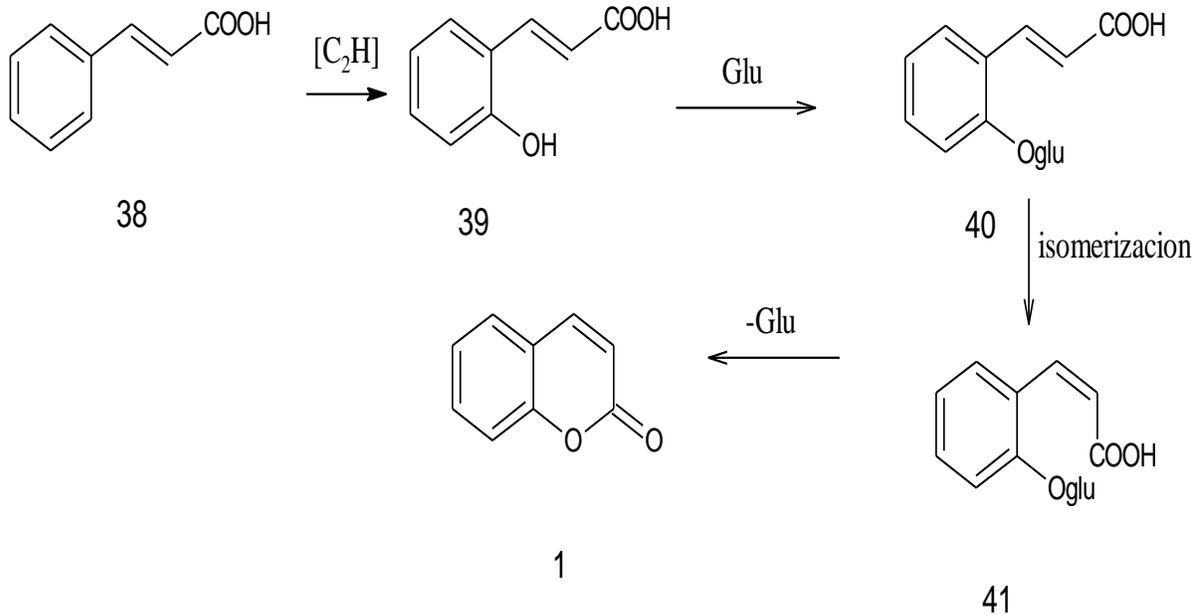
9

2.5 BIOSÍNTESIS

Las biosíntesis de las cumarinas se derivan del ácido shikimico (37) vía ácido cinámico (38), la cumarina específicamente se origina del ácido o-cumárico (39), en cambio la umbelífera (3) y las demás cumarinas, se deriva del ácido p-cumárico(42). En general la formación de cumarina en plantas superiores, ocurre en forma radicalaria, por la acción de enzimas del tipo peroxidasa. ¹

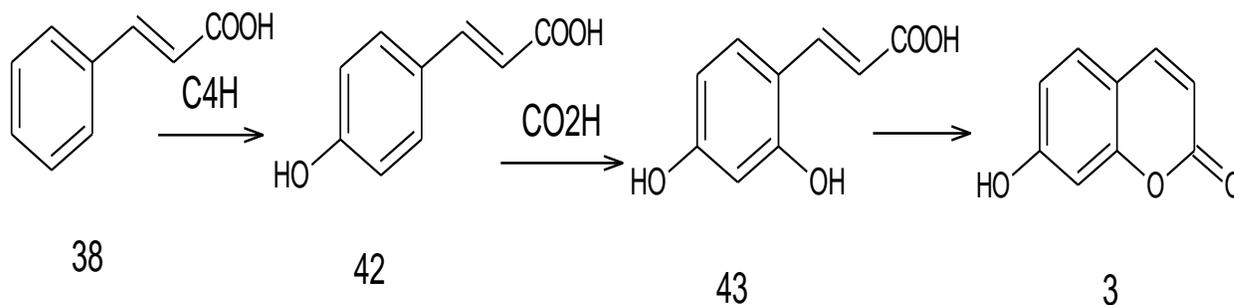


La biosíntesis de la cumarina consiste en la hidroxilación en posición orto del ácido cinámico catalizada por la enzima la [C₂H] Acido cinámico 2-hidroxisilasa, produciendo el ácido o-cumárico (39), seguido de una glicosilación del hidróxido que genera la estructura (40), luego ocurre una isomerización del doble enlace formando el derivado del ácido o-cumarínico (41) y posterior lactonización, generando así la cumarina (1) ^{1,13}



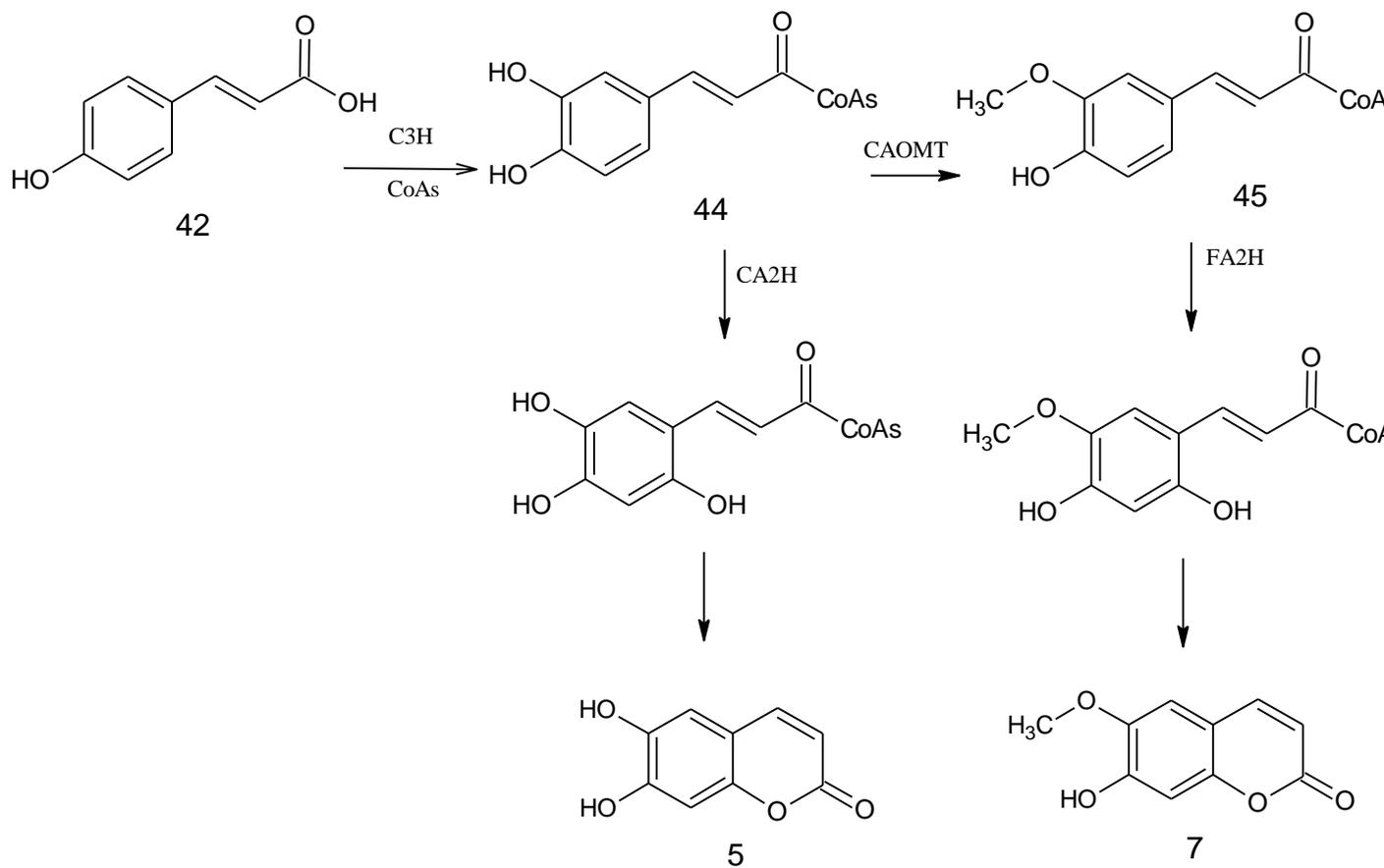
Esquema 1. Biosíntesis de la cumarina

A diferencia en la biosíntesis de umbeliferona (3) la consiste primero en la hidroxilación en la posición 4 del ácido cinámico(38) por medio de la enzima [C4H] ácido cinámico 4-hidroxilasa, que es un citocromo P450 monooxigenasa de la familia CYP73A, que cataliza la formación del ácido p-cumárico (42), seguida de la hidroxilación en la posición orto que genera la estructura (43) por medio de la enzima CO₂H ácido cumárico 2-hidroxilasa y finalmente ocurre la lactonización generando la 7-hidroxicumarinas.¹³



Esquema 2. Biosíntesis de Umbeliferona

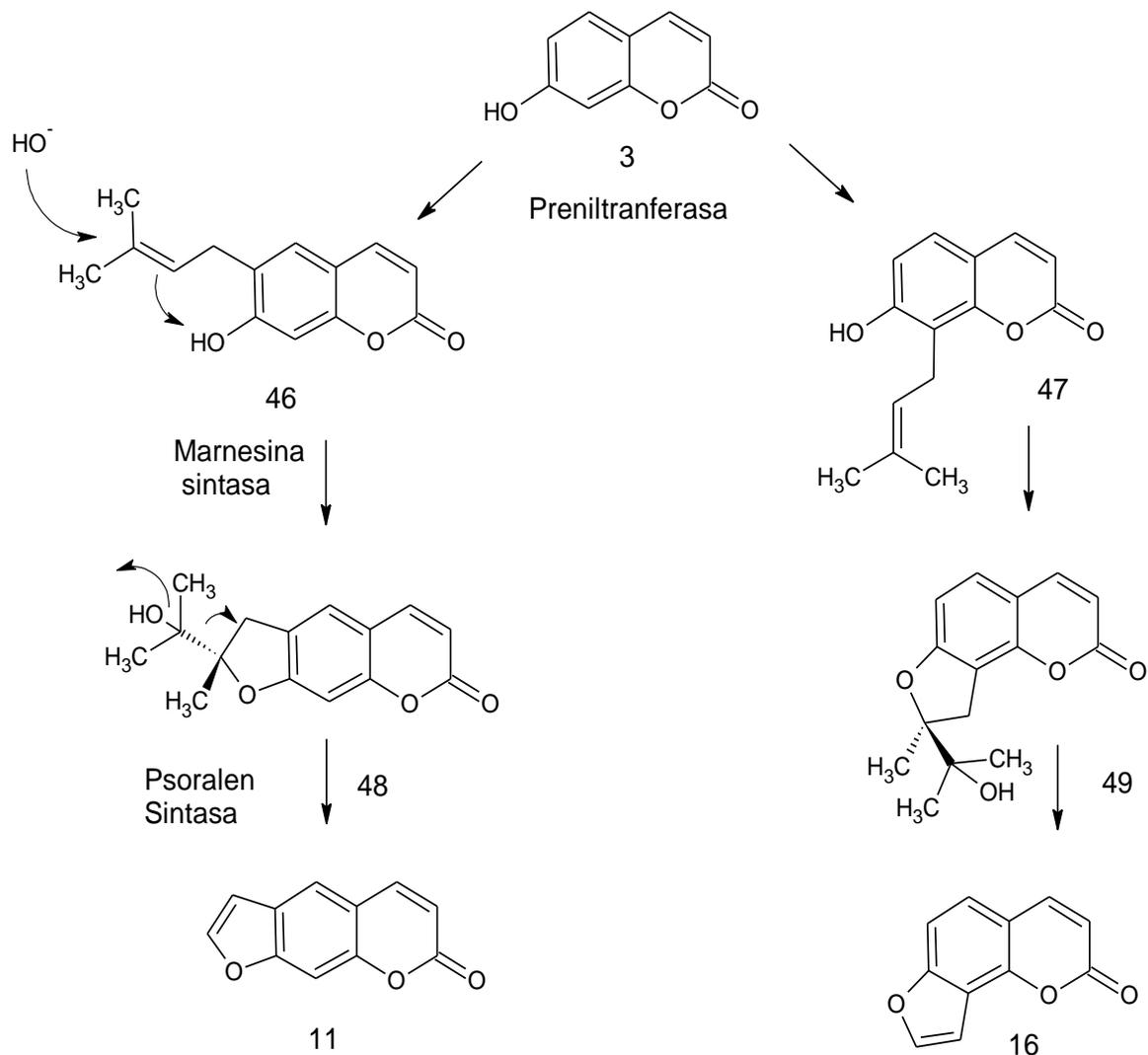
La biosíntesis de la escupetina (5) y escopoletina (7), se deriva del ácido cafeíco (44) y el ácido ferúlico (45) respectivamente, y ambos son provenientes del ácido p-cumárico (42)



Esquema 3. Biosíntesis de la escupetina y escopoletina

En cambio las furanocumarinas se derivan de la umbeliferona (3) y su formación es catalizada por la enzima preniltransferasa, dependiendo de la unión en la posición 6 o 8 con la cumarina, se forma la dimetilsuberosina (46) originando las furanocumarinas lineales ó el Osthénol (47) originando las furanocumarinas angulares; luego de la prenilación la dimetilsuberosina (46) reacciona con la Marmesin Sintasa, para producir la (+)marmesina (48), finalmente reacciona con la enzima Psoralen sintasa, promoviendo la eliminación de la acetona y la formación del Sposoleno (11), las biosíntesis de furanocumarinas angulares es similar y es catalizada por el cytochrome

P450 monooxygenase; sin embargo, no se tiene certeza de la enzima que interacciona. Luego de la formación del Osthenol (47) reacciona con la enzima Columbianetina sintasa, para producir la (+)Columbianetina (49), finalmente reacciona con la enzima angelicina sintasa, formando así Angelicina (16).¹³



Esquema 4. Biosíntesis de furanocumarinas

2.6 SÍNTESIS

La síntesis clásica para obtener cumarinas es a partir de la reacción de Perkin, Pechmann, Pechmann-Duisberg y Knoevenagel, los métodos más recientes son: la reacción de Reformatsky, Kostanecki-Robinson y Wittig³, todos estos métodos consisten en hacer reaccionar derivados de fenoles o salicilaldehído (o-hidroxibenzaldehído) con anhídridos y estructuras de tipo ésteres o ácidos, que tengan en posición beta un carbono susceptible a ataque nucleofílico.

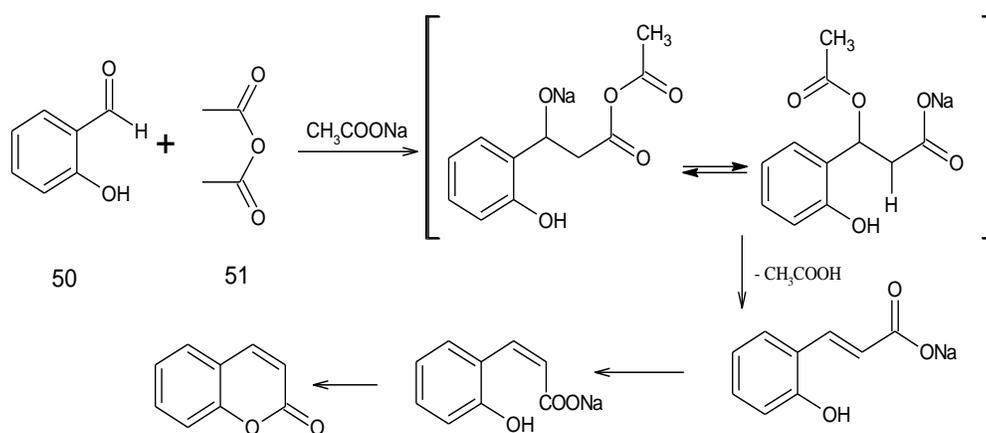
El método tradicional de síntesis de cumarinas se basa en el calentamiento térmico, ya sea calentamiento directo por llamas o por resistencia eléctrica, este método se ha sustituido por otras técnicas denominadas no convencionales, que están basadas en el uso de fluidos supercríticos, ultrasónido y microondas.²

2.6.1. Síntesis a partir de salicilaldehído

Reacción de Perkin

La reacción consiste en una condensación aldólica entre el salicilaldehído (50) con anhídrido acético (51) y acetato de sodio anhidro que es la sal alcalina catalizadora. Esta reacción ocurre por la formación de un derivado del ácido o-cumárico, gracias a la ayuda del catalizador se transforma en un derivado del ácido cumarínico provocando la ciclación espontáneamente, para generar la cumarina correspondiente. La síntesis de Perkin es análoga a la biosíntesis ya que el precursor de la cumarina es un derivado del ácido o-cumárico.^{2,3,15}

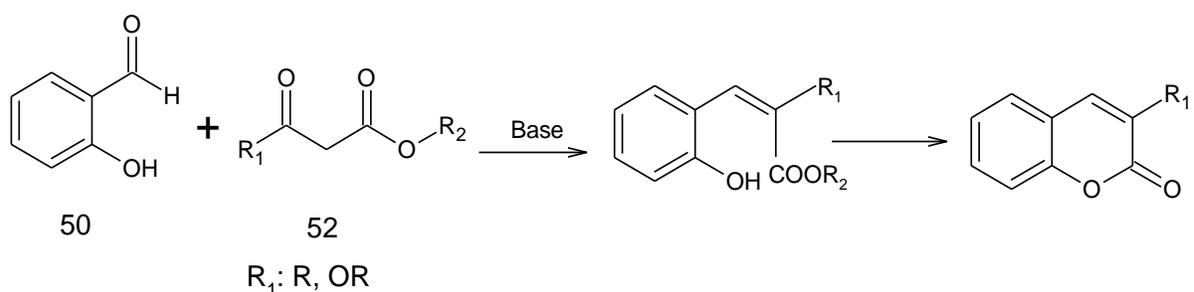
El inconveniente de estas reacciones es lo difícil de sintetizar derivados de salicilaldehídos con buenos rendimientos; por otro lado mediante este procedimiento no se obtiene cumarinas sustituidas en el anillo de la pirona.¹⁵



Esquema 5. Reacción de Perkin

Reacción de Knoevenagel

La reacción consiste en una condensación aldólica entre el salicilaldehído (50) con estructuras (52) como malonato de etilo, acetoacetato de etilo y cianoacetato, utilizando como catalizador una base como piperidina mediante calentamiento en reflujo con etanol como solvente, se puede obtener cumarinas sustituidas en la posición 3 de la pirona y el en anillo bencénico.^{2,3,15}



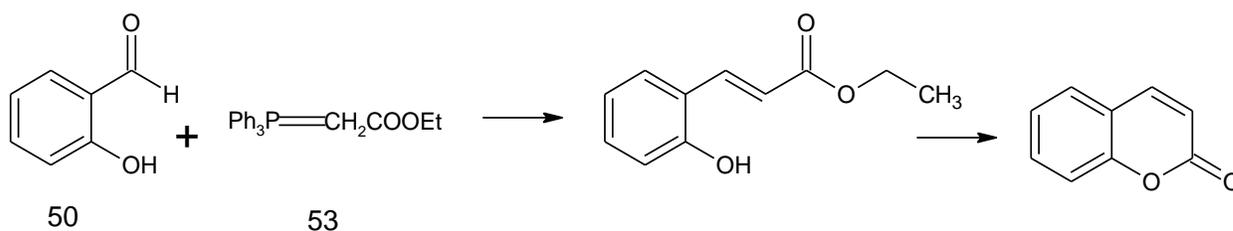
Esquema 6. Reacción de Knoevenagel

Se puede mejorar la técnica utilizando un soporte gel de sílice con grupos aminos, evitando así utilizar la piperidina o piridina como medio catalítico realizando una síntesis libre de solvente, también se puede mejorar utilizando las técnicas no convencionales como radiación de microondas (MO)²

La modificación de Doebner es una variación de la condensación de Knoevenagel, este utiliza ácidos carboxílicos como el ácido malónico en vez de ésteres y como catalizador utiliza una base más débil como la piridina, la reacción ocurre por medio de la descarboxilación.²

Reacción de Wittig.

La reacción consiste en hacer reaccionar compuestos carbonílicos como salicilaldehído (50) con iluros de fosfonio (53) en benceno, formando un éster derivado del ácido o-cumárico, el cual espontáneamente se cicla formando la cumarina correspondiente.^{3,15}

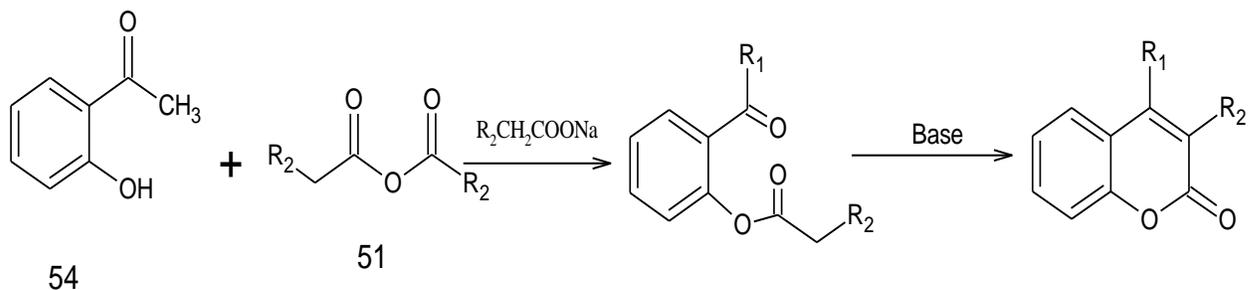


Esquema 7. Reacción de Wittig

2.6.2. Síntesis a partir de o-hidroxibenzofenona

Reacción de Kostanecki-Robinson.

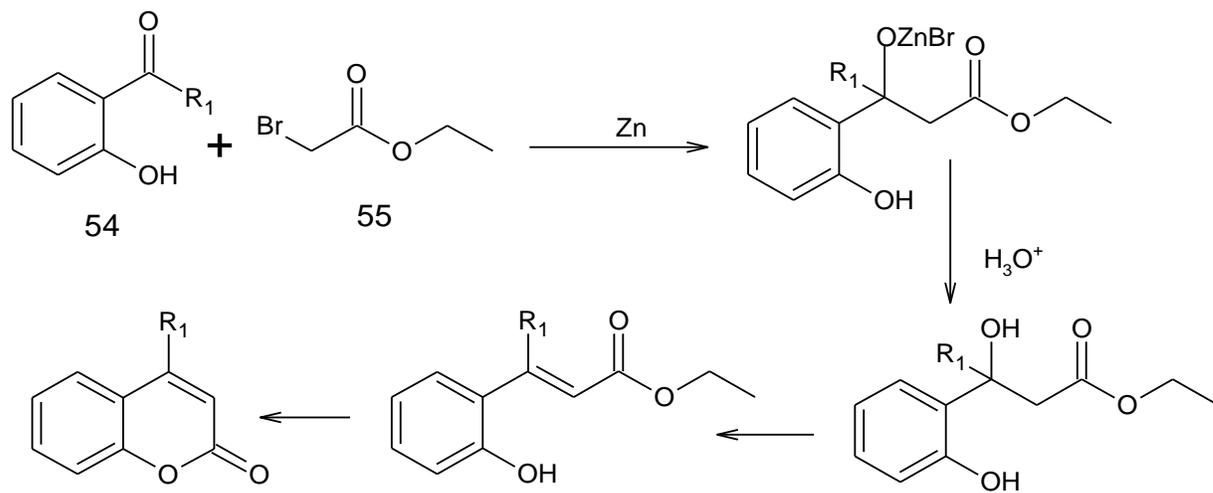
La reacción consiste en la esterificación de derivados de o-hidroxibenzofenona (54) con anhídridos o ésteres, cuyo carbono beta al carbono carbonílico posee grupos atractores de carga que hagan a los protones del metileno más acídicos; seguido de una lactonización mediante una reacción de condensación intramolecular promovida por una base, por este método se pueden obtener cumarinas sustituidas en posición 3 y 4 como: 4-fenil-3-cianocumarinas.^{3,15}



Esquema 8. Reacción de Kostanecki-Robinson

Reacción de Reformatsky.

Consiste en hacer reaccionar salicilaldehído (50) ó o-hidroxibenzofenona (54) con un α -haloéster (55), para obtener un β -hidroxiéster, seguido de una eliminación, obteniendo un derivado del ácido o-cumárico, y finalmente se produce la lactonización.^{3,15}

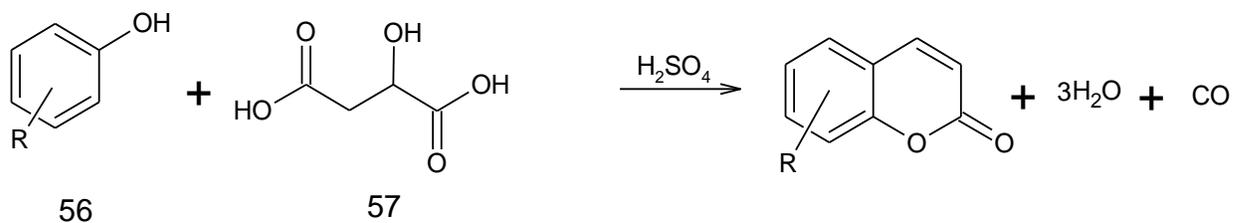


Esquema 9. Reacción de Reformatsky.

2.6.3 Síntesis a partir de fenol

Reacción de Pechmann

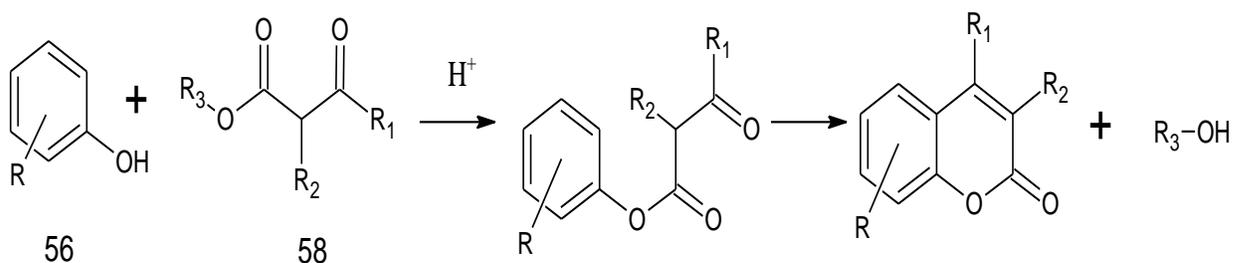
La reacción consiste en sintetizar cumarinas a partir de derivados fenólicos (56) y el ácido málico (57) en presencia de ácido sulfúrico concentrado mediante calentamiento. Este método tiene como desventajas que no muchos fenoles sustituidos reaccionan bajo estas condiciones, por otro lado no se obtiene cumarinas sustituidas en el anillo de la pirona.^{3,15,16}



Esquema 10. Reacción de Pechmann

2.6.3. Reacción de Pechmann-Duisberg

Es una modificación de la reacción de Pechmann, en la cual se sintetizan cumarinas a partir de un derivado fenólico (56) y un β -cetoéster (58) en presencia de un catalizador ácido (Lewis o Bronsted), mediante calentamiento. Este es el método más simple y conveniente para sintetizar cumarinas ya que el material de partida es sencillo, aparte se pueden obtener cumarinas sustituidas en el anillo de pirano.^{2,3,15.}



Esquema 11. Reacción de Pechmann-Duisberg

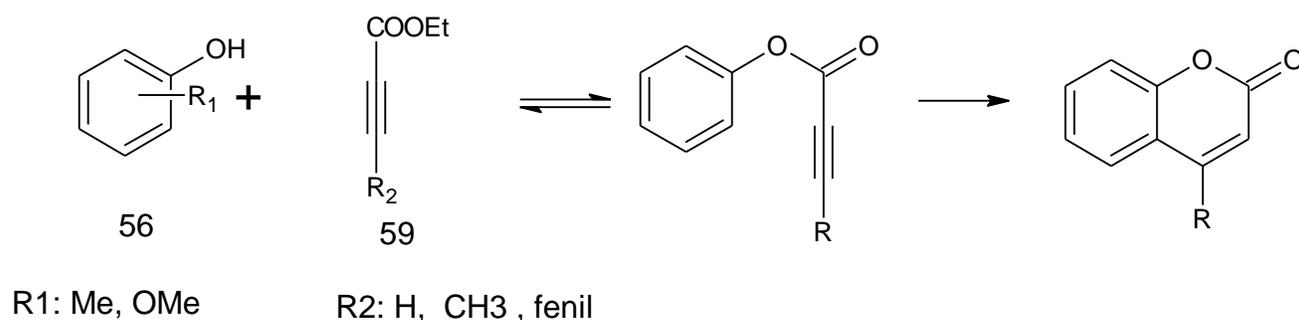
En La reacción de Pechmann es vital el uso de un catalizador para la síntesis de cumarinas, se utilizan catalizadores ácidos como: ácido sulfúrico (H₂SO₄), ácido clorhídrico (HCl)¹⁵, ácido fosfórico (H₃PO₄), ácido trifluoroacético, y ácidos de Lewis como: tricloruro de aluminio (AlCl₃), tricloruro de hierro (FeCl₃) y cloruro de (ZnCl₂)^{2,15}, mediante el uso de estos catalizadores se pueden generar productos secundarios, largos tiempos de reacción y se utiliza un exceso del catalizador aparte que no son reciclables, por estas razones se han buscado catalizadores simple, reutilizable, no contaminantes y tiempo de reacción más cortos, se ha utilizado una gran variedad de catalizadores reciclables como sólidos ácidos (zeolita Beta, Montmorillonita, Nafion-H, Amberlyst) y líquidos iónicos, funcionalizado mesoporoso Zr-TMS, Sm(NO₃)₃6H₂O,

$\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, hasta irradiación de microondas y ultrasonido, estos son métodos no convencionales que se utilizan para disminuir los tiempos de reacción.¹⁶

2.6.8 Reacción de ácidos propargílicos

La reacción consiste en la esterificación del fenoles con un derivado del éster o ácido propinoico(59) en presencia de cloruro de zinc anhidro, pero con este agente condensador los rendimientos son bajos, se ha observado que utilizando catalizadores como ácido sulfúrico concentrado, pentóxido de fósforo, ácido trifluoroacético, ácido polifosfórico (PPA) en presencia de paladio los rendimientos mejoran.^{3,15,17}

La utilización de paladio cataliza la síntesis de cumarinas con ácidos propinoicos que tiene como sustituyentes terminales al alquino, grupos arilo, sililo, hidroxilo, ciano y amino.³



Esquema 12. Reacción de ácidos propargílicos

2.7 MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN

Las cumarinas se pueden identificar mediante espectroscopía UV-visible, infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN), La propiedad física más importante de estos compuestos es la fluorescencia generada a la luz ultravioleta, esta propiedad es ampliamente usada para su detección, por el efecto de la luz UV a 325 nm las cumarinas simples presentan fluorescencia verde - azul y absorben a 274 y 311 nm ($\log \epsilon$: 4.03 y 3.72), en cambio su isómero minoritario la cromona (2) simple absorbe 240-250 nm ($\log \epsilon$: 3.8), y cuando tiene presente sustituciones oxigenadas en la posición 7, presenta un efecto batocrómico en la banda, la posición de nuevas bandas depende de la posibilidad de conjugación con otros agentes cromóforos.^{1,2}

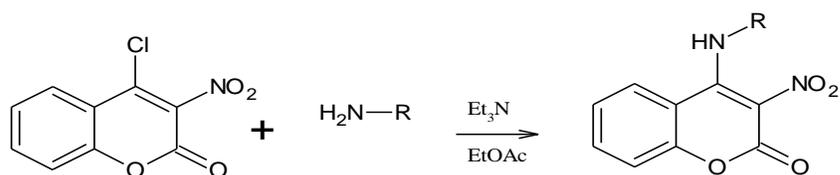
Por espectroscopía IR se observa una banda intensa a 1715-1745 nm correspondiente al carbonilo(C=O) de la α pirona (lactona), además en los espectros de RMN de carbono (C^{13}) e hidrogeno (H^1) son diferentes ya que depende del sustituyente de la cumarinas.^{1,2}

Debido a la estabilidad térmica de las cumarinas y sus puntos de ebullición, pueden ser separadas por cromatografía de gases (CG) y analizadas por espectrometría de masas MS, la fragmentación típica de las cumarinas es M-28 correspondiente a la pérdida de $(-CO)^2$

3.0 ANTECEDENTES

Biljana Dekić [2010]

Sintetizaron 4-Amino-3-nitrocumarinas mezclando cantidades equimolares de 4-cloro-3-nitrocumarinas y diferentes aminas en acetato de etilo a temperatura de reflujo en presencia de trietilamina durante 1-3 h, después enfriaron la mezcla, filtraron e hicieron lavados del sólido con acetato de etilo y agua, la pureza de los compuestos sintetizados se comprobó mediante TLC y obtuvieron rendimientos de 65- 89%.⁵

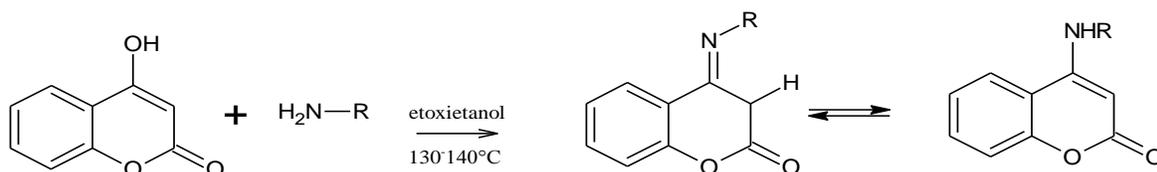


Esquema 13. Síntesis de 4-amino-3-nitrocumarinas

Yves Jacquot [2007]

Sintetizaron 4-aminocumarinas a partir 4-hidroxicumarias con aminas primarias, formando como intermediarios bases de schiff (imina), que luego por el equilibrio tautomérico se desplaza a la formación de la 4-aminocumarina, debido a que sería el tautómero más estable, porque forma un sistema conjugado.¹⁸

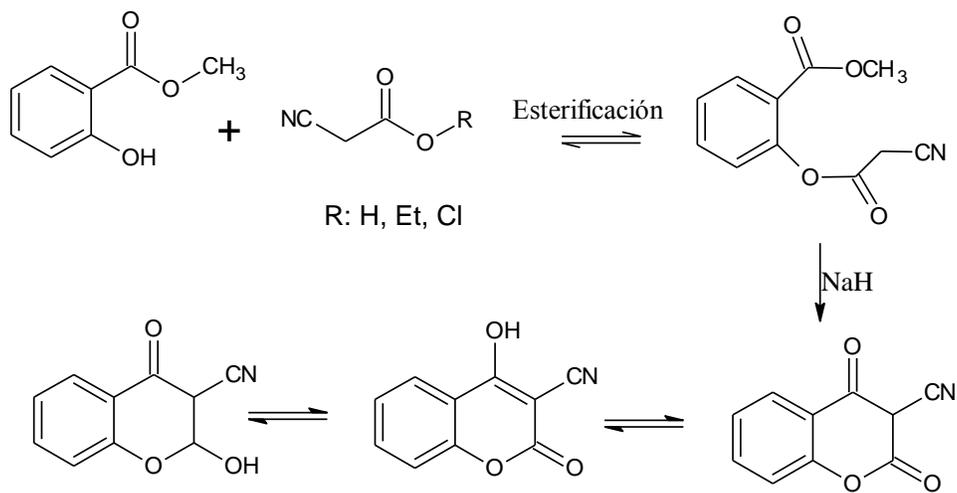
Mezclaron la 4-hidroxycumarina con 1,5 equiv de la amina primaria en etoxietanol, recién destilado, luego añadieron hidróxido de potasio, la mezcla se agitó a temperatura de reflujo durante 6 horas. El disolvente se evaporó a vacío, el sólido se filtró y se lavó con éter dietílico, obteniendo la 4-aminocumarinas con un rendimiento de 70-80%



Esquema 14. Síntesis de 4-aminocumarinas

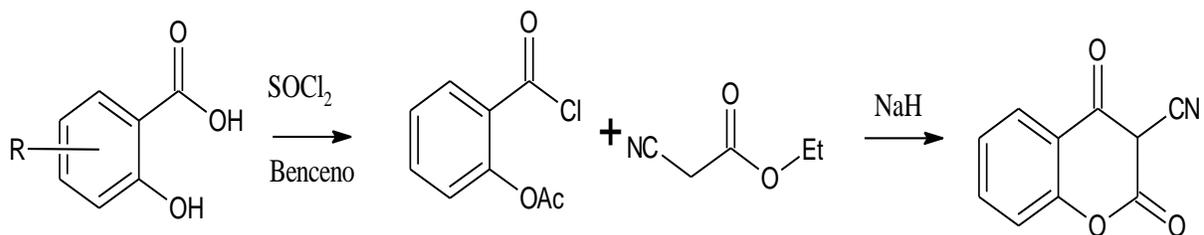
Guevara y Cabrera [2009]

Realizaron el estudio del equilibrio tautomérico y algunas propiedades por métodos computacionales de estructura electrónica con cálculos semiempíricos de 3-ciano-4oxocumarinas, para ello realizaron la síntesis por dos rutas diferentes, la primera ruta consistió en dos pasos, el primer paso fue la formación de diéster a partir del salicilato de metilo con ácido cianoacético por diferentes método de esterificación, utilizando como catalizador la trifenilfosfina en tetracloruro de carbono (PPh₃/CCl₄) y N,N'-diciclohexil-carbodiimida en dimetilsulfoxido (DCC/DMSO), además realizaron la formación del diéster por transesterificación del ácido cianoacético y utilizando cloruro de tionilo (SOCl₂), finalmente la ciclación intramolecular fue promovida por el hidruro de sodio (NaH).¹⁹ Pero por ningún método de esterificación se obtuvo el diéster correspondiente, y por transesterificación tampoco se obtuvo la cumarina correspondiente sino el ácido salicílico.



Esquema 15. Ruta 1 síntesis de 3-ciano-4oxocumarinas

La segunda ruta consistió en la formación del cloruro de acilo, a partir del ácido acetil salicílico con cloruro de tionilo (SOCl₂), luego lo hicieron reaccionar con el cianoacetato de etilo y el hidruro de sodio en N,N dimetilformamida, pero tampoco obtuvieron el producto esperado.¹⁹

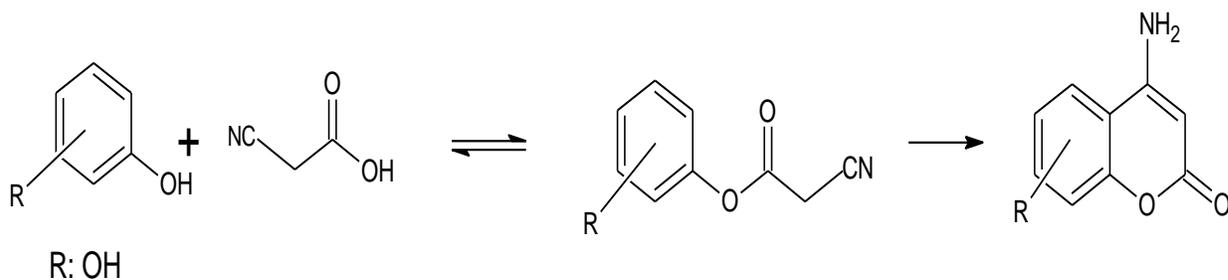


Esquema 16. Ruta 2 síntesis de 3-ciano-4oxocumarinas

Pérez y Cabrera [2010]

Realizaron un estudio sobre el uso de catalizadores de tipo ácidos de Lewis como agentes promotores de ciclación intramolecular de ésteres obtenidos a partir de fenol y resorcinol con ácido cianoacético para la síntesis de 4-aminocumarinas.

La síntesis de 4-aminocumarina constó de dos pasos: el primer paso fue la esterificación del fenol y resorcinol con ácido cianoacético por diferentes métodos por esterificación de Fischer y utilizando diferentes catalizadores como: $P(Ph)_3/CCl_4$, DCC y DCC/DMAP, seguido de la ciclación intramolecular promovida por diversos catalizadores como: $ZnCl_2$, $AlCl_3$, $POCl_3$ y $P_2O_5/POCl_3$ y por calor.

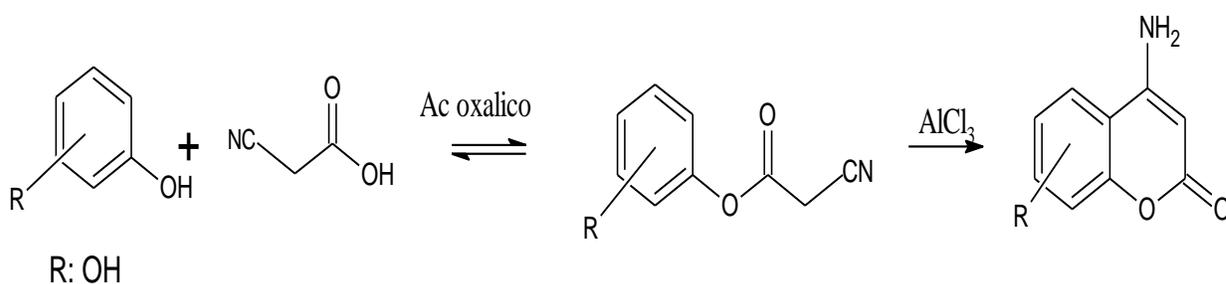


Esquema 17. Esterificación de ácido cianoacético

Obtuvieron un rendimiento del 32% para el cianoacetato de fenilo y 18% del cianoacetato de *m*-hidroxifenilo mediante la esterificación de Fischer, en cambio por los otros métodos $P(Ph)_3/CCl_4$, DCC y DCC/DMAP no obtuvieron el éster correspondiente. Por otra parte no obtuvieron la ciclación del cianoacetato de fenilo con ninguno de los catalizadores empleados, en cambio la ciclación intramolecular del cianoacetato de *m*-hidroxifenilo obtuvieron un rendimiento del 16% con $P_2O_5/POCl_3$, 10% $ZnCl_2$, 8% $POCl_3$, 7% $AlCl_3$ y 2% para la ciclación con calor.

Romero y Cabrera [2015]

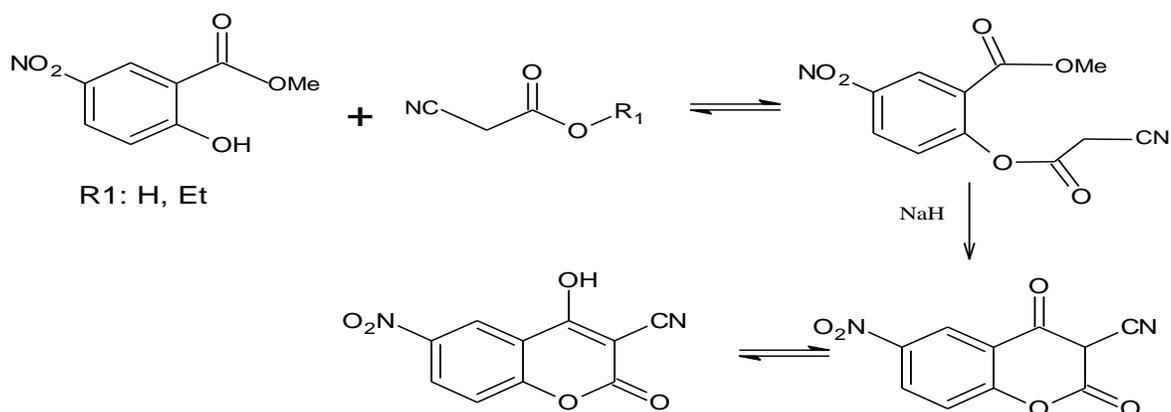
Sintetizaron 4-amino-6-hidroxicumarina en una reacción de dos pasos; primero realizaron la esterificación de la hidroquinona y resorcinol con el ácido cianoacético mediante destilación azeotrópica y catálisis ácida, seguida de la ciclación intramolecular utilizando como catalizador tricloruro de aluminio.²⁰



Esquema 18. Ruta 1 Síntesis de 4-aminocumarina

Realizaron una mezcla equimolar de hidroquinona con ácido cianoacético y se agregó como catalizador ácido oxálico, lo disolvieron en suficiente tolueno; dicho balón se acopló una trampa Dean-Stark y este a su vez a un condensador, se dejó en reflujo por 5 horas, finalmente se extrajo el producto usando cloroformo, obteniendo el cianoacetato de 4-hidroxifenilo con un rendimiento del 22%; seguidamente el éster se disolvió en nitrobenzono y se añadió tricloruro de aluminio, la reacción se calentó en reflujo durante 3 horas para promover la ciclación intramolecular, el producto fue purificado por cromatografía de columna obteniendo la 4-amino-6-hidroxicumarina con un rendimiento del 4%; se realizó el mismo procedimiento con el resorcinol obteniendo el cianoacetato de 3-hidroxifenilo con un rendimiento del 11%, y un rendimiento del 1% de la 7,4-dihidroxicumarina.

También realizaron la síntesis de 3-ciano-4-hidroxi-6-nitrocumarinas por dos métodos diferentes, primero realizaron la esterificación del 5-nitrosalicato de metilo con el ácido cianoacético en catálisis ácida durante 7 horas de reflujo, seguido de la ciclación intramolecular promovida por hidruro de sodio durante 6 horas de reflujo. Obtuvieron un rendimiento del 35% del diéster correspondiente y 76% de la 3-ciano-4-hidroxi-6-nitrocumarinas

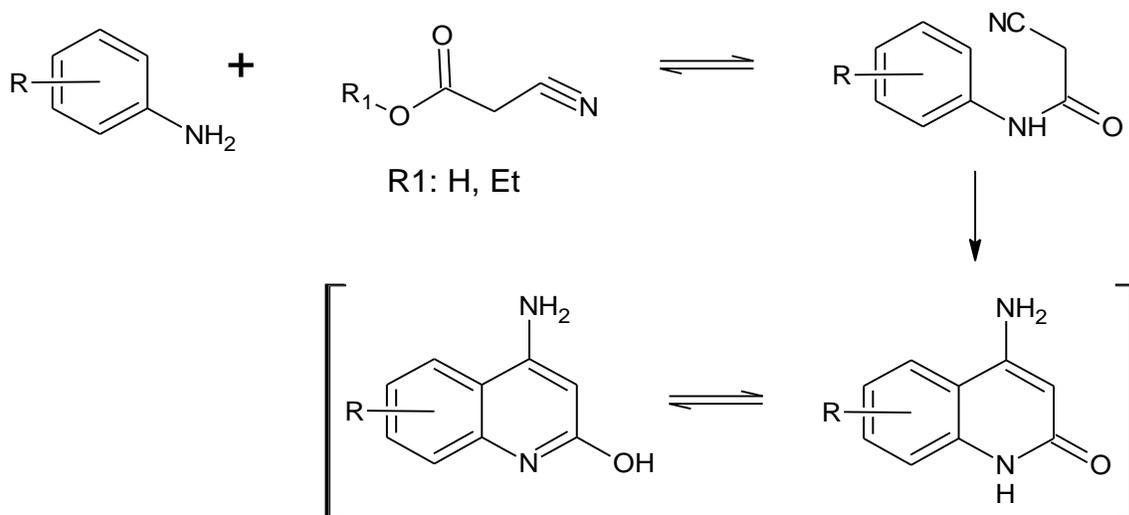


Esquema 19. Ruta 2 Síntesis de 3- ciano 4-hidroxi 6-nitrocumarina

El segundo método fue la síntesis del 3-ciano-4-hidroxi-6-nitrocumarina en un solo paso experimental, mediante la transesterificación del 5-nitrosalicato de metilo con cianoacetato de metilo en presencia de hidruro de sodio durante 28 horas de reflujo. Obtuvieron la 3-ciano-4-hidroxi-6-nitrocumarina con un rendimiento del 15%.²⁰

Cabrera y Márquez [1998]

Sintetizaron 4-aminoquinolinas y 4-aminoquinolonas, que son análogos de 4-aminocumarinas, en una reacción de dos pasos, el primer paso consta de la formación de N-fenilcianoacetamidas, a partir de varias anilinas con ácido cianoacético y cianoacetato de etilo con diferentes catalizadores como: ácido acético glacial y trifenilfosfina en tetracloruro de carbono; seguido de la ciclación intramolecular promovida con diferentes catalizadores ácidos tipo Lewis como (AlCl_3 , ZnCl_2 , SnCl_4).



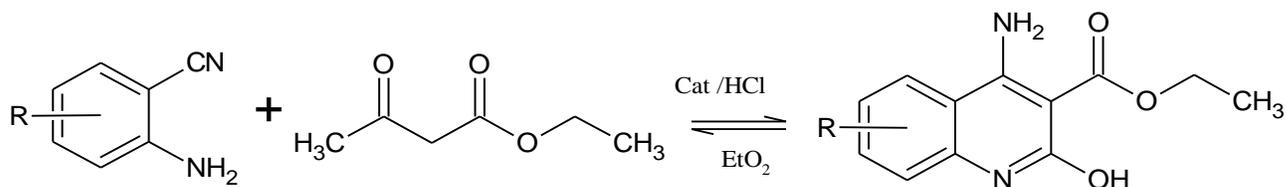
Esquema 20. Ruta 1 Síntesis de 4-aminoquinolinas

Realizaron la síntesis de N-fenilcianoacetamidas a partir de cianoacetato de etilo y P-toluidina, usando como catalizador ácido acético glacial calentando a temperatura de reflujo durante 48 horas en atmosfera inerte, obteniendo un rendimiento del 15% de la N-fenilcianoacetamida correspondiente. Por otro lado realizaron la síntesis con el ácido cianoacético y p-toluidina, usando como catalizador trifenilfosfina (PPh_3) con

tetracloruro de carbono y trietilamina a temperatura ambiente con agitación magnética durante 48 horas, obtuvieron un rendimiento del 27% de la N-fenilcianoacetamidas correspondiente, luego realizaron la optimización de la reacción mediante un método simplex modificado obteniendo un rendimiento del 60% N-fenilcianoacetamida para anilinas p- sustituida, y 40% O-sustituidas.

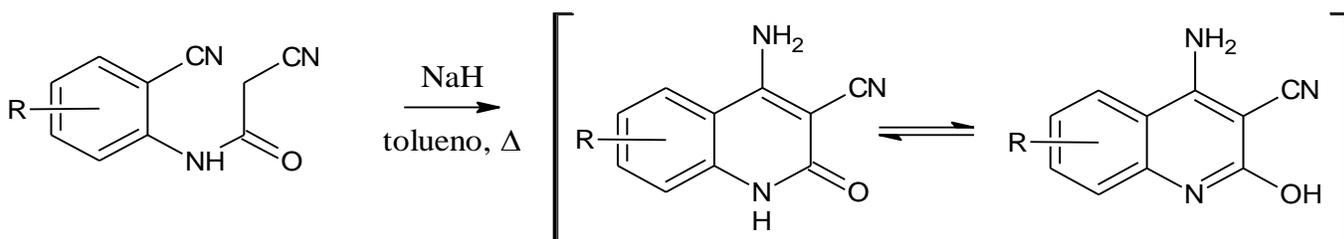
La ciclación intramolecular fue promovida por diferentes ácido de Lewis, disolviendo la N-fenilcianoacetamida correspondiente en éter seco, seguidamente le burbujearon HCl durante 1h, luego lo dejaron reposar durante 24 horas a una temperatura de -10°C, obteniendo un rendimiento de 42% con el catalizador SnCl₄, 55% ZnCl₂ y 41% AlCl₃

Además realizaron la síntesis de 4-amino-3-carboetoxi-2-metilquinolina, a partir de 2-aminobenzonitrilo con acetoacetato de etilo, utilizando diferentes catalizador ácidos tipo Lewis como: AlCl₃, ZnCl₂, SnCl₄, SnCl₂.2H₂O, realizando el mismo procedimiento anterior, obteniendo un rendimiento del 62% con el catalizador de SnCl₄, 48% con ZnCl₂, 36% con AlCl₃ y 15% con SnCl₂.2H₂O.



Esquema 21. Ruta 2 Síntesis de 4-aminoquinolinas

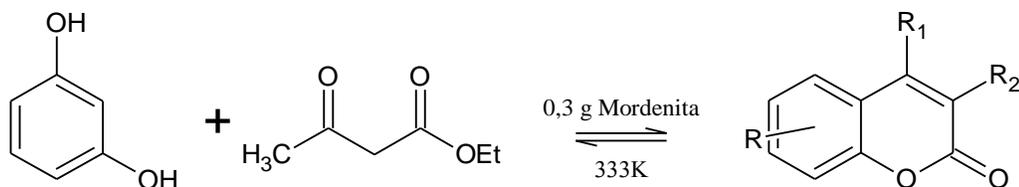
Finalmente sintetizaron 4-amino-3-ciano-2-quinolonas a partir de la ciclación intramolecular de N-(o-cianofenil)cianoacetamida promovida por hidruro de sodio, disolviéndolo en tolueno y calentado en reflujo por 72 horas, obteniendo un rendimiento del 60%.²¹



Esquema 22. Síntesis de 3-ciano-4-amino-2-quinolona

Gutiérrez C [2009]

Sintetizaron derivados de cumarinas a través de reacción de Pechmann entre resorcinol y acetatoacetato de etilo utilizando como catalizador zeolitas, mediante dos métodos, el primer método fue el método convencional y segundo fue por el método no convencional utilizando ultrasonido.²²



Esquema 23. Reacción de Pechmann con zeolitas

Utilizaron diferentes zeolitas como: mordenita, Beta, Y, ZSM-5, a diferentes temperatura a 30 y 60°C, por los dos métodos, el método convencional consistió en mezclar en porciones equimolares el resorcinol y acetoacetato de etilo, con 0,3 g del catalizador, lo disolvieron en acetona y lo agitaron durante 7 h; en cambio el método no convencional, consistió en mezclar en proporciones equimolares de resorcinol y acetoacetato de etilo, con 0,3 g del catalizador y lo suspendieron en un baño de ultrasonidos. Obtuvieron mejores resultados fue con la Mordenita con un rendimiento del 70% por el método no convencional y 40% por el método convencional a 60°C

Para obtener mejores rendimientos, optimizaron las condiciones de reacción, en función de la cantidad del catalizador y la relación molar del acetoacetato de etilo con el resorcinol, por los dos métodos de síntesis, manteniendo constante la temperatura y el tiempo de reacción, el cual fue 7 horas y 60°C, primero realizaron la reacción con porciones equimolares el resorcinol y acetoacetato de etilo, variando la cantidad de catalizador (0,1; 0,2 y 0,3 g) de modernita, obteniendo mejores rendimiento con 0,3g de modernita, finalmente mantuvieron fijo la proporción de catalizador y variaron la relación molar (1:1 ; 1:1,2 ; 1:1,5 , 1:2) de acetoacetato de etilo con el resorcinol, obteniendo mejores rendimientos con la relación 1:2 acetoacetato de etilo con el resorcinol. Las condiciones óptimas de la reacción de pechmann es una mezcla de resocinol y acetoacetato de etilo de 1:2, 0,3 g de modernita a 60°C durante 7 horas, obteniendo un rendimiento del 66% por el método convencional y 88% por el método no convencional.²²

4.0 OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Sintetizar la 4-aminocumarina y la 4-amino-6-hidroxicumarina.

4.2 Objetivos Específicos

Para cumplir este objetivo se plantaron dos rutas de síntesis.

4.2.1 Ruta 1. Obtener las 4-aminocumarinas correspondientes a partir de fenol y la hidroquinona

- Optimizar las condiciones de reacción para la obtención del cianoacetato de fenilo y cianoacetato de 4-hidroxifenilo.
- Esterificar el fenol y la hidroquinona con ácido cianoacético utilizando dos catalizadores: ácido oxálico y el sistema $\text{PPh}_3/\text{CCl}_4$
- Transesterificar el fenol y la hidroquinona con el cianoaceto de etilo utilizando ácido sulfúrico.
- Optimizar la ciclación del cianoacetato de fenilo y cianoacetato de 4-hidroxifenilo para la obtención de la 4-aminocumarina y la 4-amino-6-hidroxicumarina, respectivamente.
- Ciclar el cianoacetato de fenilo y cianoacetato de 4-hidroxifenilo usando como catalizador un ácido tipo Lewis como el tricloruro de aluminio (AlCl_3)

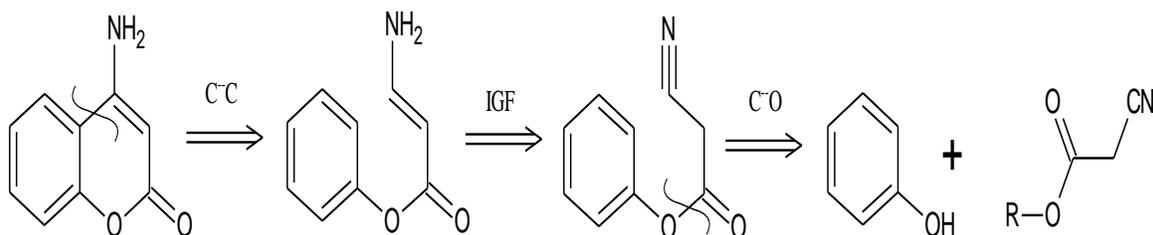
4.2.2 Ruta 2. Obtener la 4-aminocumarina a partir de o-cianofenol

- Sintetizar la oxima del salicilaldehído a partir del salicilaldehído.
- Obtener el o-cianofenol a partir de la oxima del salicilaldehído
- Acetilar el o-cianofenol con anhídrido acético
- Ciclar intramolecularmente el producto acetilado mediante el uso de hidruro de sodio y usando DMSO como solvente.
- Purificar todos los compuestos obtenidos
- Realizar la caracterización de cada especie por espectroscópicas de infrarrojo (IR)
- Confirmar la obtención de las cumarinas mediante derivatizaciones por acetilación de cada una.

RETROSÍNTESIS

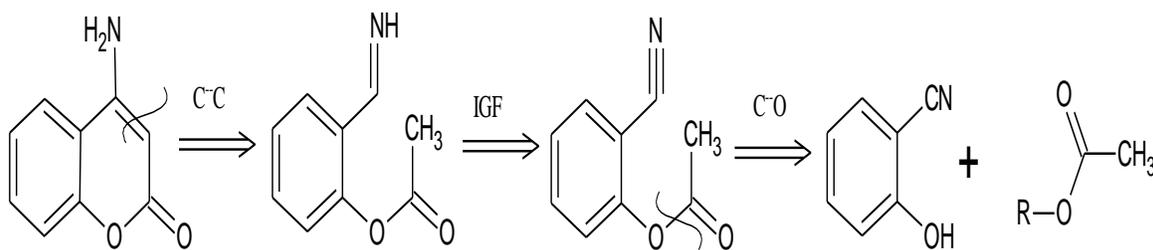
Debido a que la síntesis del esqueleto de 4-aminocumarinas no se encuentra ampliamente reportada a partir de derivados fenólicos, sino que se obtienen por reacciones de sustituciones nucleofílica aromáticas (SNA) a partir de 4-cloro-3-nitrocumarina y por reacciones de condensación formando iminas a partir de 4-hidroxycumarina, se propone el siguiente análisis retrosintético con la finalidad de plantear posibles rutas para la obtención de estas especies.

Retrosíntesis 1.



Esquema 24. Retrosíntesis 1

Retrosíntesis 2.

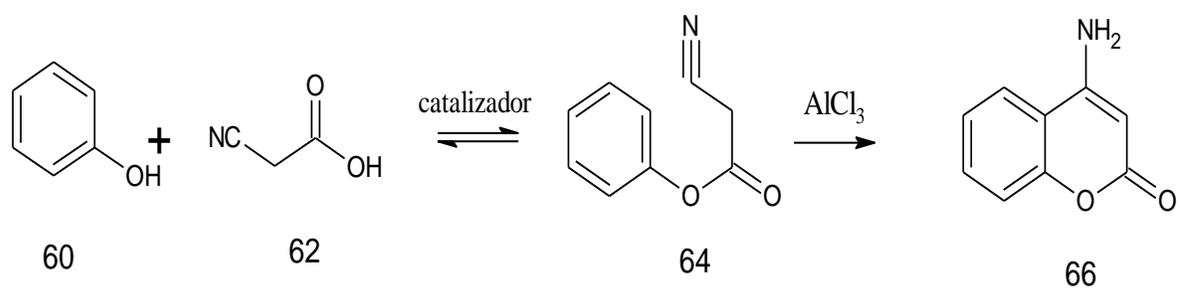


Esquema 25. Retrosíntesis 2

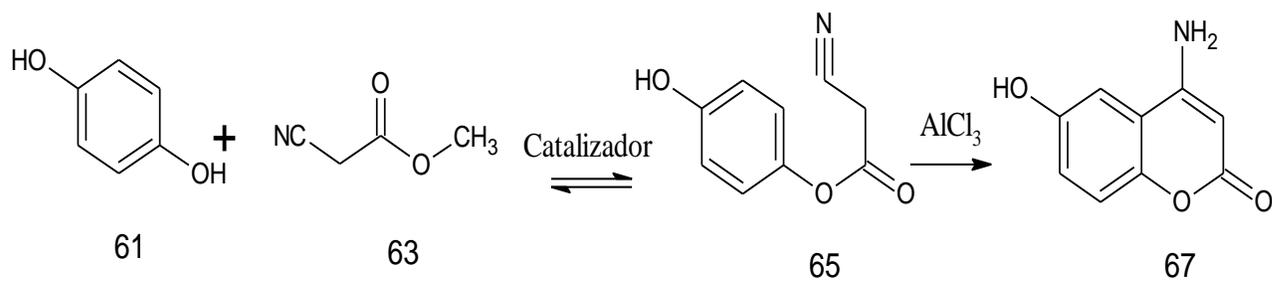
SÍNTESIS PROPUESTAS

Ruta 1: Síntesis de 4-aminocumarinas por ciclación de derivados de cianoacetato de fenilo.

Esterificación

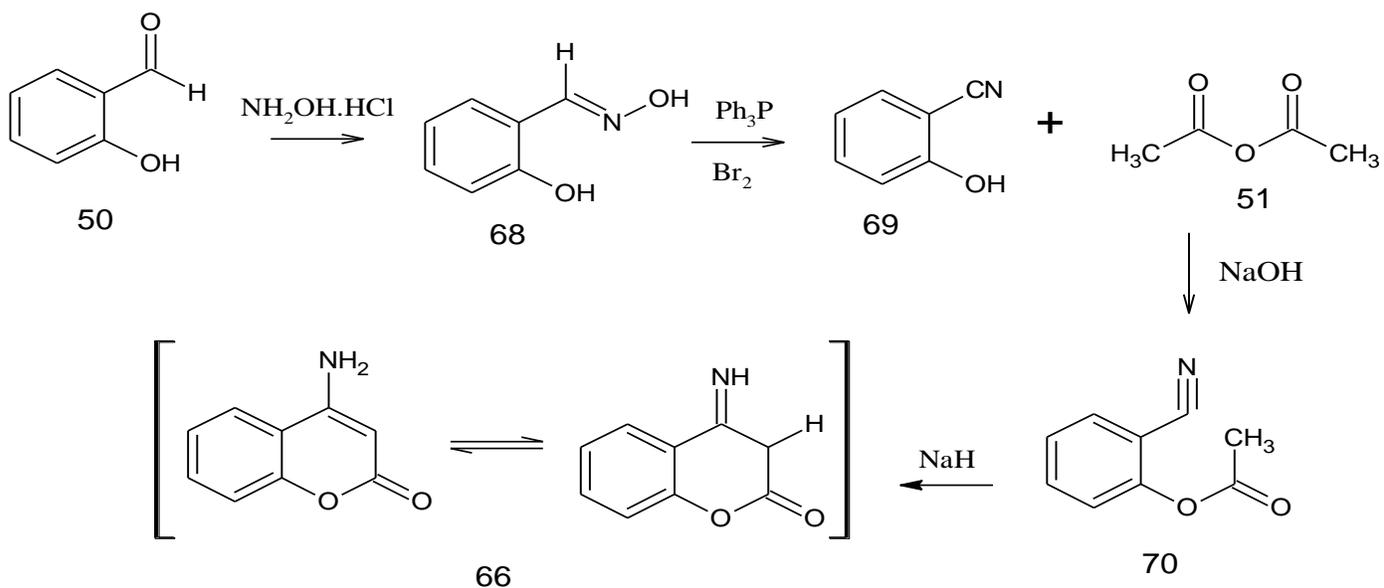


Transesterificación



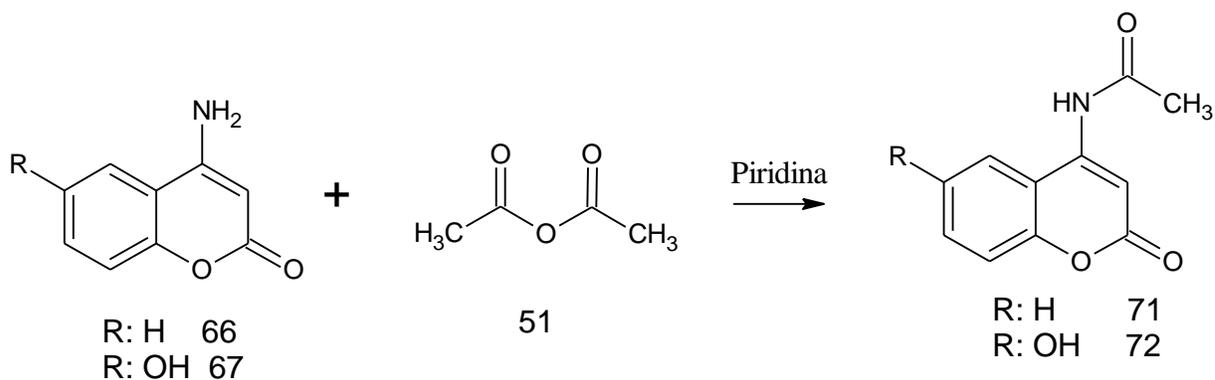
Esquema 26. Ruta sintética 1

Ruta 2: Síntesis de 4-aminocumarinas por ciclación de derivados de o-cianofenol



Esquema 27. Ruta sintética 2

Derivatización de las 4-aminocumarinas obtenidas



Esquema 28. Derivatización de las 4-aminocumarina

5.0 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

5.1 Reactivos y solventes

Reactivos

- Acetato de sodio
- Ácido cianoacético
- Ácido clorhídrico
- Ácido oxálico
- Ácido sulfúrico
- Anhídrido acético
- Bromo
- Carbonato de potasio
- Cianoacetato de etilo
- Clorhidrato de hidroxilamina
- Fenol
- Hidroquinona
- Hidróxido de potasio
- Hidruro de sodio
- Salicilaldehído
- Tricloruro de aluminio
- Tricloruro férrico
- trietilamina
- Trifenilfosfina
- Piridina

Solventes

- Acetona
- Acetonitrilo
- Butanol
- Cloroformo
- Etanol
- Nitrobenceno
- Tetracloruro de carbono
- Tolueno

5.2. Materiales utilizados

Cromatografía de capa fina (CCF o TLC).

Placas de aluminio de 20X20 cm de gel de sílice 60 F254. Merck.

Cromatografía de columna.

Gel de sílice 60, 0.06 – 0.2 mm, para cromatografía en columna (70 -230 mesh ASTM).

Espectros de infrarrojo (IR).

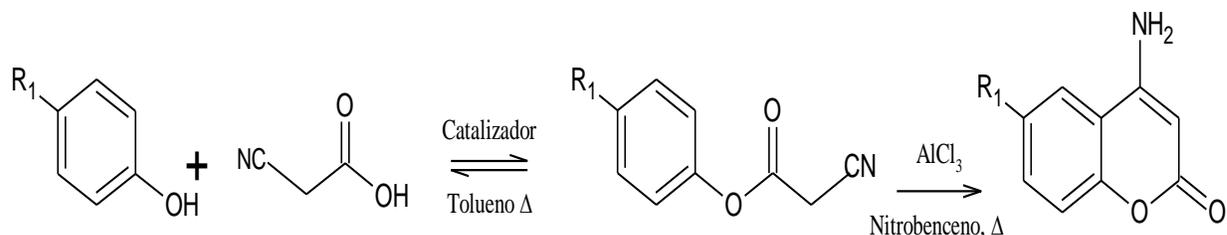
Todas las muestras fueron analizadas en un espectrómetro de Thermo Electron Corporation, modelo Nicolet 380 FT-IR. En forma de película sobre ventanas de bromuro de potasio (KBr) o como pastillas de KBr.

5.3. Procedimiento experimental

La obtención de 4-aminocumarina se realizó mediante dos rutas sintéticas, la primera ruta consistió en la esterificación/ transesterificación del fenol e hidroquinona, utilizando diferentes catalizadores (ácido oxálico, trifenilfosfina/ ácido sulfúrico) seguido de la ciclación intramolecular utilizando como catalizador tricloruro de aluminio; La segunda ruta consistió en cuatro pasos: primero es la formación la oxima del salicilaldehído, el segundo es la deshidratación con trifenilfosfina formando el o-cianofenol, seguido de la acetilación y por último la ciclación intramolecular promovida por hidruro de sodio.

Los productos de cada reacción se identificaron mediante espectroscopia de infrarrojo (IR), debido a que los cambios estructurales en cada paso se podían seguir con bastante facilidad en el espectro de IR. Además se corroboró la obtención de las 4-aminocumarinas mediante derivatización y pruebas de grupo funcional.

5.3.1 Ruta 1. Síntesis de 4-aminocumarinas por ciclación de derivados de cianoacetato de fenilo



Esquema 29. Ruta 1 Síntesis de 4-aminocumarina

5.3.1.1. Paso 1: Esterificación con catalizador tipo ácido de Bronsted

- **Procedimiento general para la esterificación del ácido cianoacético con fenol**

Se agregó una mezcla equimolar de fenol y ácido cianoacético en un balón, se disolvieron en suficiente tolueno, luego se añadió el ácido oxálico; dicho balón se acopló a una trampa de Dean-Stark y este a su vez a un condensador, se calentó a temperatura de reflujo, monitoreándolo por TLC. Se observó la formación de una capa naranja oscuro en el fondo del balón y una capa amarilla pálida en el tope, se separó con la ayuda de un embudo de separación, a la capa orgánica (capa amarilla) se le realizaron lavados con disolución acuosa de NaOH al 30%, por otra parte a la capa acuosa (capa naranja) se agregó 5 mL de una disolución acuosa de NaOH al 30% seguido de extracciones sucesivas con cloroformo;^{20,21} finalmente se secaron las capas orgánicas con sulfato de magnesio y se dejó evaporar el solvente, obteniendo en ambas capas orgánicas un aceite amarillo correspondiente al cianoacetato de fenilo (64) con un punto de ebullición (180-184±1) °C y un factor de retención R_f igual a 0,85 usando una mezcla 95:5 $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$.

Para optimizar la reacción primero se varió la cantidad del catalizador (13%, 23% y 35%) moles de ácido oxálico con respecto al reactivo limitante, el fenol, manteniendo constante el tiempo de reacción (8 horas). Se obtuvo el éster con un rendimiento del 4%; 5% y 5% respectivamente. Finalmente, se varió el tiempo de reacción a 16 horas, manteniendo la cantidad del catalizador más alta (35%). En este caso se obtuvo 9% del cianoacetato de fenilo. A continuación se muestra en la tabla 4 las condiciones de reacción para las esterificaciones.

Fenol		Ácido Cianoacético		Ac oxálico	Tiempo (h)	Éster	Rendimiento (%)
Peso(g) ±0,00001	Moles	Peso (g) ±0,00001	Moles	(%) mol		Peso(g) ±0,00001	
1,70152	0,0181	1,7375	0,0204	13,2	8	0,11447	3,93
1,67357	0,0178	1,7259	0,0203	23,1	8	0,13410	4,68
1,11904	0,0119	1,15550	0,0136	35,5	8	0,09546	4,98
1,19616	0,0127	1,1552	0,0136	35,5	16	0,19147	9,35

Tabla 4. Condiciones de reacción de esterificación del fenol con ácido cianoacético

- **Procedimiento general para la esterificación del ácido cianoacético con la hidroquinona.**

Se realizó el mismo procedimiento anterior, se agregó en un balón una mezcla equimolar de la hidroquinona y ácido cianoacético, se disolvieron en suficiente tolueno luego se añadió el ácido oxálico y se procedió a realizar la destilación azeotrópica, calentando a temperatura de reflujo, monitoreándolo por TLC. Se observó la formación de una capa marrón oscuro en el fondo y una capa amarilla pálida en el tope, se separó con la ayuda de un embudo de separación, se realizaron lavados sobre la capa orgánica (capa amarilla) con una disolución acuosa de NaOH al 30%, por otra parte la capa acuosa (capa marrón) se realizaron extracciones sucesivas con cloroformo, se secaron las capas orgánicas con sulfato de magnesio y finalmente se dejó evaporar el solvente, obteniéndose en ambas capas orgánicas un aceite marrón correspondiente al cianoacetato de 4-hidroxifenilo (65) con un factor de retención R_f igual 0,65 usando como fase móvil una mezcla 90:10 $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$; no se pudo medir el punto de ebullición, debido a su alta viscosidad.

Para optimizar la reacción primero se varió la cantidad del catalizador (20% y 30%) de ácido oxálico, manteniendo constante el tiempo de reacción, el cual fue 10 horas. Se obtuvo el cianoacetato de 4-hidroxifenilo con un rendimiento del 12% y 14% respectivamente. Finalmente, se varió el tiempo de reacción a 14 horas, manteniendo la cantidad del catalizador (30%). Se purificó por cromatografía en columna usando gel de sílice como fase estacionaria y como fase móvil una mezcla 90:10 cloroformo: etanol, obteniendo 15% de un aceite marrón correspondiente al cianoacetato de 4-hidroxifenilo con un factor de retención igual a 0,65. Además, se obtuvo un sólido marrón correspondiente a la 4-amino-6-hidroxicumarina (67) con un rendimiento del 11% y un factor de retención igual a 0,22 usando una mezcla 90:10 CHCl₃/EtOH. A continuación se muestra en la tabla 5 las condiciones de reacción.

Hidroquinona		Ácido cianoacético		Ac oxálico	Tiempo	Éster	Rendimiento
Peso(g) ±0,00001	Moles	Peso (g) ±0,00001	Moles	% mol	(h)	Peso(g) ±0,00001	(%)
1,92835	0,0175	1,74594	0,0205	20,5	10	0,31155	11,8
1,31958	0,0120	1,06285	0,0125	30,4	10	0,28614	13,7
1,20192	0,0109	0,9751	0,0115	30,9	14	0,28379 0,20538	14,6 10,6

Tabla 5. Optimización de la reacción de esterificación de la hidroquinona con ácido cianoacético

Para confirmar la obtención de la 4-aminocumarina se realizó la prueba de aminas aromáticas, por diazotación seguido de la copulación con β-Naftol. Se obtuvo un precipitado naranja-marrón, como se observa en la imagen 1 y 2. Indicando la presencia de una amina. Además se realizó la derivatización mediante la reacción de acetilación, formando la amida correspondiente.

Acetilación de la 4-amino-6-hidroxicumarina

La 4-amino-6-hidroxicumarina ($0,06312 \pm 0,00001$ g; $0,39$ mmol) se disolvió en acetonitrilo, luego se añadió un exceso de anhídrido acético ($0,2 \pm 0,01$ mL; $2,11$ mmol), 4 gotas de piridina y se dejó a temperatura de reflujo por 3 horas. Finalmente, se evaporó el solvente y el sólido remanente se lavó con agua, obteniendo ($0,05616 \pm 0,00001$ g) de un sólido marrón, correspondiente a la cumarina diacetilada (80) con un rendimiento del 58,7% y un factor de retención de 0,77 usando como fase móvil una mezcla 90:10 $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$.

5.3.1.2. Paso 1: Transesterificación con catalizador tipo ácido de Bronsted

- **Transesterificación del cianoacetato de metilo con fenol**

Se agregó una mezcla equimolar de fenol ($1,22378 \pm 0,00001$ g; $13,0$ mmol) y cianoacetato de metilo ($1,5 \pm 0,1$ ml; $13,6$ mmol) en un balón con nitrobenceno y unas 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado y se calentó a temperatura de reflujo durante 5 horas. La reacción se monitoreo por TLC.^{19,21} La solución se tornó marrón oscura y se formó un sólido marrón oscuro en el fondo del balón, se filtró el sólido y a la capa orgánica se realizaron extracciones sucesivas con una disolución acuosa de HCl al 20%, se neutralizó, pero no se obtuvo la cumarina correspondiente.

Debido a que no se obtuvo el éster de interés, se decidió realizar la reacción de transesterificación aumentando el tiempo de reacción. En esta oportunidad se pesaron ($1,1876 \pm 0,00001$ g; $12,6$ mmol) de fenol y ($1,0 \pm 0,1$ ml; $10,8$ mmol) de cianoacetato de metilo, se mezclaron en nitrobenceno, se añadieron 5 gotas de ácido sulfúrico

concentrado y se dejó a temperatura de reflujo durante 21 horas. La solución se tornó marrón oscura y se formó un sólido marrón oscuro en el fondo del balón, se filtró el sólido remanente y se realizaron lavados sucesivos con una disolución acuosa de HCl al 20%, se neutralizó, precipitando un sólido, el cual se lavó con una mezcla etanol-agua, obteniendo finalmente ($0,18044 \pm 0,00001$ g) de un sólido marrón claro, correspondiente a la 4-aminocumarina (66) con un rendimiento del 10,3% y un punto de fusión de ($226-240 \pm 2^\circ\text{C}$). Además se corroboró la presencia de la amina mediante la diazotación, obteniendo un precipitado marro-naranja, como se observa en la imagen 1 y 2.

La capa orgánica se extrajo con una disolución acuosa de HCl al 20%, se neutralizó y se dejó evaporar el solvente obteniendo un sólido beige que se purificó por cromatografía en columna usando como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil una mezcla 98:2 $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$. Se obtuvo un aceite amarillo ($0,06304 \pm 0,00001$ g), correspondiente al acetato de fenilo, (4,3% de rendimiento y un factor de retención R_f de 0,71). Además se obtuvo ($0,03891 \pm 0,00001$ g) de un sólido marrón claro correspondiente a la 4-aminocumarina con un rendimiento del 2,2% con un factor de retención de 0,46 usando como fase móvil una mezcla 90:10 $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$. Obteniendo en total un rendimiento del 13% de la 4-aminocumarina (66).

Acetilación de la 4-aminocumarina

Por último, se disolvieron ($0,06660 \pm 0,00001$ g; 0,4132 mmol) de la 4-aminocumarina en acetonitrilo, luego se añadió un exceso ($0,2 \pm 0,01$ mL; 4,23 mmol) de anhídrido acético con 5 gotas de piridina y se calentó a temperatura de reflujo por 3 horas. Finalmente, se evaporó el solvente, el sólido remanente se lavó con agua y se filtró por gravedad, obteniendo ($0,04834 \pm 0,00001$)g de la cumarina acetilada (71) con un rendimiento del 57,5%.

- **Transesterificación del cianoacetato de metilo con hidroquinona**

Se realizó el mismo procedimiento anterior, se pesó ($1,2120 \pm 0,0001$ g; 11mmol) de hidroquinona y ($1,3 \pm 0,1$ mL; 12,6mmol) de cianoacetato de metilo, se disolvieron en nitrobenceno y se añadieron 6 gotas de ácido sulfúrico concentrado, la mezcla se calentó a temperatura de reflujo por 5 horas. La solución se tornó negra con un sólido negro en el fondo del balón, se filtró el sólido y a la solución resultante se le realizaron extracciones sucesivas con una solución acuosa de HCl al 10%. La capa acuosa se neutralizó, precipitó un sólido marrón oscuro que fue lavado con etanol, obteniéndose ($0,5946 \pm 0,00001$ g) del sólido marrón.

Se purificó el sólido anterior por cromatografía de columna usando gel de sílice como fase estacionaria y como fase móvil se utilizó un gradiente de elución (99:1), (95:5) y finalmente (90:10) $\text{CH}_3\text{Cl}:\text{EtOH}$. Se obtuvo: ($0,14074 \pm 0,00001$ g) de un aceite mostaza correspondiente al cianoacetato de 4-hidroxifenilo (65), con un rendimiento del 7,2% y un factor de retención R_f de 0,62; ($0,27486 \pm 0,00001$ g) de un aceite amarillo pálido correspondiente al acetato de 4-hidroxifenilo con un rendimiento del 14,4%, y un R_f de 0,56. Finalmente, ($0,08889 \pm 0,00001$ g) de un sólido marrón correspondiente a la 4-amino-6-hidroxicumarina (67) con un rendimiento del 5%, un R_f de 0,29 usando como fase móvil una mezcla 90:10 $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$. Además se corroboró la presencia de la amina mediante la diazotación y copulación, obteniendo un precipitado marrón -naranja, como se observa en la imagen 1 y 2.

5.2.1.3. Paso 1: Esterificación por sistema acoplante (PPh₃/ CCl₄)

- **Esterificación del ácido cianoacético con fenol**

Se realizó un mezcla equimolar en acetona de trifenilfosfina (2,63489 ± 0,00001g; 10,3 mmol), ácido cianoacético (0,86822 ± 0,00001g; 10,2 mmol), etilendiamina (1,5 ± 0,1 mL; 10,8mmol) y fenol (0,97330 ± 0,00001 g; 10,3 mmol) y (1,5 ± 0,1 mL; 15mmol) de tetracloruro de carbono, que se agitó magnéticamente a temperatura de reflujo durante 5 horas, monitoreando la reacción por TLC.^{19,22,25} La solución se tornó naranja con un precipitado en el fondo, se filtró el sólido y la capa orgánica se lavó con una solución acuosa de NaOH al 30%. Se secó con sulfato de magnesio y se dejó evaporar el solvente, obteniendo un sólido marrón (1,2766 ± 0,00001 g) el cual se purificó por cromatografía en columna, usando como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil CHCl₃. Se obtuvo un aceite amarillo (0,09983 ± 0,00001g) con un rendimiento del 7,18% correspondiente al acetato de fenilo con un factor de retención R_f de 0,97 y óxido de trifenilfosfina P_f (148 ± 2 C°) con un R_f de 0,57 usando una mezcla 95:5 CHCl₃/EtOH.

- **Esterificación del ácido cianoacético con hidroquinona**

Se realizó el mismo procedimiento anterior, se pesaron (2,63662 ± 0,00001g; 10 mmol) de trifenilfosfina, se disolvió en tolueno, luego se agregaron CCl₄ (2,0 ± 0,1 mL; 19,4mmol), ácido cianoacético (0,90759 ± 0,00001g; 10,7mmol) etilendiamina (2,0 ± 0,1mL; 14,7mmol) e hidroquinona (1,13643 ± 0,00001g; 10,3 mmol). Se agitó magnéticamente a temperatura ambiente durante 2 horas, monitoreando la reacción por TLC, como no se observó ningún cambio aparente, se calentó el balón en un baño de arena a temperatura de reflujo por 5 horas. Se obtuvo un sólido marrón amorfo con cristales blancos (4,32834 ± 0,00001g). Se purificó por cromatografía en columna

usando como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil una mezcla 90:10 $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$. Obteniendo ($0,26570 \pm 0,00001$ g) sólido marrón correspondiente al 6-cianoacetato de 4-aminocumarina (105), con un rendimiento 10,2%. Además se corroboró la presencia de la amina mediante la diazotación y copulación, obteniendo un precipitado marrón-naranja, como se observa en la imagen 1 y 2.

Acetilación de la 4-aminocumarina

Por último se disolvió la 4-aminocumarina ($0,18987 \pm 0,00001$ g; $0,77752$ mmol) obtenida en acetonitrilo, luego se añadió ($0,3 \pm 0,01$ mL; $3,1737$ mmol) de anhídrido acético con 5 gotas de piridina y se dejó a temperatura de reflujo por 2 horas. Finalmente, se evaporó el solvente, el sólido remanente se lavó con agua y se filtró por gravedad, obteniendo ($0,04569 \pm 0,00001$) g de 6-cianoacetato de 4-acetamida-N-cumaril (106) con un rendimiento del 21,8%.

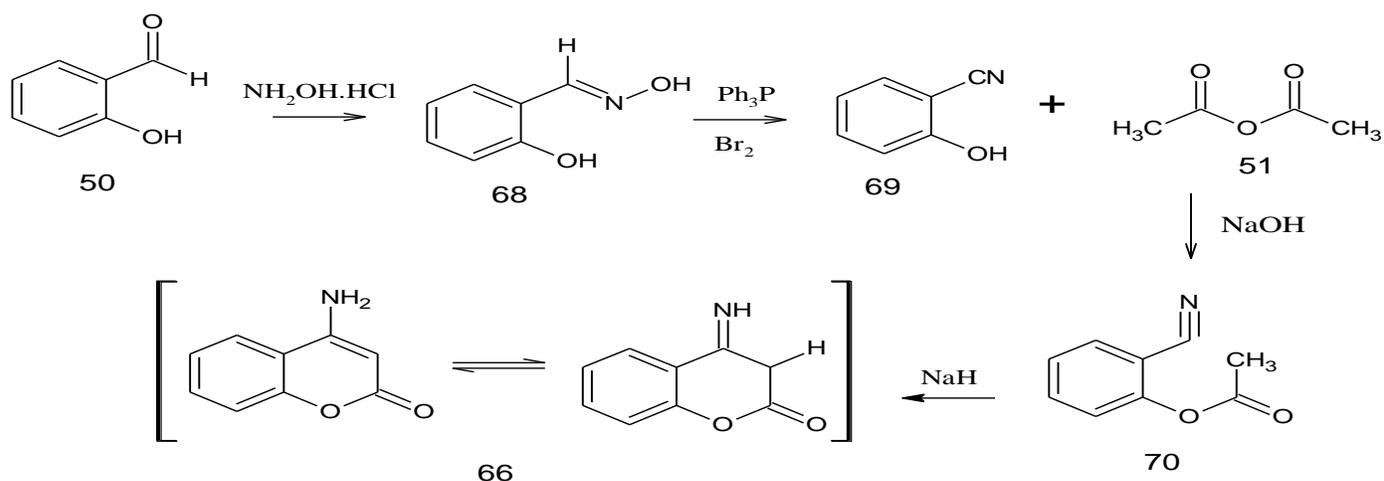
5.3.2.0 Paso 2: Ciclación intramolecular con catalizador tipo Lewis

- **Ciclación del cianoacetato de fenilo**

Se pesaron ($0,54749 \pm 0,00001$ g; $3,5$ mmol) de cianoacetato de fenilo y ($0,88501 \pm 0,00001$ g; $6,6$ mmol) de tricloruro de aluminio, se disolvieron en nitrobenzono, el balón se conectó un condensador y se dejó calentar a temperatura de reflujo por 20 horas. La solución se tornó negra y se formó un sólido negro en el fondo, se filtró el sólido y a la capa orgánica se realizaron extracciones sucesivas con una disolución de HCl al 10%, se neutralizó, pero no se obtuvo la cumarina correspondiente. Por otra parte al sólido, se realizaron lavados sucesivos con una disolución acuosa de HCl al 10%, el extracto acuoso se tornó marrón rojizo, se neutralizó y se evaporó el solvente, se observó en el TLC un R_f de 0,46 igual al de la 4-aminocumarina aislada, usando como fase móvil una

mezcla 90:10 CHCl₃/EtOH. Pero no se obtuvo suficiente cantidad para hacer una identificación espectroscópica.

5.3.2 Ruta 2. Síntesis de 4-aminocumarinas por acetilación de O-cianofenol con anhídrido acético y posterior ciclación usando NaH.



Esquema 30. Ruta 2 síntesis de 4-aminocumarina

5.3.1 Formación de la oxima del salicilaldehído

Se mezclaron en un balón con condensador clorhidrato de hidroxilamina (1,06991 ± 0,00001g; 15 mmol) y de acetato de sodio (1,06615 ± 0,00001g; 12,9 mmol) y agua (5,0 ± 0,1 mL). Luego, se añadieron una solución de salicilaldehído (0,69246 ± 0,00001g; 5,6 mmol) y etanol (5,0 ± 0,1 mL). Se calentó en baño de agua con agitación magnética durante dos horas. Finalmente, se enfrió la mezcla de reacción en un baño de hielo, se dejó evaporar el solvente. Se obtuvo un sólido en forma de aguja (0,71458 ± 0,00001g) correspondiente a la oxima del salicilaldehído (68) un con un rendimiento del 91,9%; el punto de fusión es de (50-54 ± 2) °C y el factor de retención es de 0,39 usando una fase móvil de CHCl₃.²⁶

5.3.2 Formación del o-cianofenol

Se pesaron ($0,95655 \pm 0,00001\text{g}$; 3,6 mmol) de trifenilfosfina, ($0,20415 \pm 0,00001\text{g}$; 1,5 mmol) de carbonato de potasio anhidro y se disolvieron en acetonitrilo. Luego se añadieron ($0,49432 \pm 0,00001\text{g}$; 3,6mmol) de la oxima, y lentamente se adicionó ($0,20 \pm 0,01\text{mL}$; 3,9 mmol) de bromo, se agitó magnéticamente por 1 hora a temperatura ambiente, se monitoreó la reacción por TLC. Luego se conectó un condensador y se calentó la reacción a la temperatura de reflujo por 6 horas.²³ Se observó que la solución se tornó naranja amarillento, se añadió a la solución acetato de etilo y luego se realizaron extracciones con una disolución acuosa de hidróxido de sodio al 30%, la capa acuosa se tornó amarillenta; finalmente se neutralizó, obteniendo un sólido grumoso rosado pálido, el cual se filtró por gravedad y se secó, obteniendo ($0,21094 \pm 0,00001\text{g}$) el sólido correspondiente al o-cianofenol (69), con un rendimiento del 49,1%.^{27,28}

5.3.3 Acetilación del o-cianofenol

Se colocó en un balón ($0,21094 \pm 0,00001\text{g}$; 1,77 mmol) de sólido anterior y se disolvieron en ($2,0 \pm 0,1$) mL de una solución acuosa de hidróxido de sodio al 10%, se agitó magnéticamente y se añadieron lentamente ($0,4 \pm 0,01$ mL; 4,23mmol) de anhídrido acético, se observó inmediatamente la formación de una emulsión marrón. Luego de una hora de agitación, se calentó la solución en un baño de agua a 60° C durante 1 hora, la solución se tornó amarillo pálido con una capa marrón en el fondo del balón. Posteriormente, se añadió tetracloruro de carbono, se separó la capa orgánica mediante un embudo de separación y posteriormente se lavó la capa orgánica con bicarbonato de sodio y se secó con sulfato de sodio, finalmente se evaporó el solvente,

obteniendo ($0,11147 \pm 0,00001$ g) de un aceite marrón, correspondiente al acetato de 2-cianofenilo (70), con un rendimiento del 39,1%.²⁶

5.3.4 Ciclación intramolecular con NaH

Se disolvió el acetato de 2-cianofenilo ($0,10961 \pm 0,00001$ g; 0,68mmol) en 15 mL dimetilsulfoxido (DMSO), seguidamente se agregaron ($0,20466 \pm 0,00001$ g; 8,5 mmol) de hidruro de sodio y se agitó magnéticamente a temperatura ambiente por 2 horas. Luego, la solución se calentó a temperatura de reflujo y agitación magnética por 5 horas más. Se dejó agitando magnéticamente hasta que se consumió totalmente el hidruro de sodio. Finalmente, se destiló al vacío el solvente, obteniendo un sólido marrón aceitoso, el sólido se redisolvió en agua y se añadió una disolución acuosa de HCl al 20%. Precipitó un sólido marrón, el cual fue filtrado por succión. El sólido fue identificado como la 4-aminocumarina (66) ($0,0175 \pm 0,0001$ g) con un rendimiento de 15,96%. Se corroboró la presencia de la amina mediante la diazotación y copulación, obteniendo un precipitado marrón-naranja, como se observa en la imagen 1 y 2.

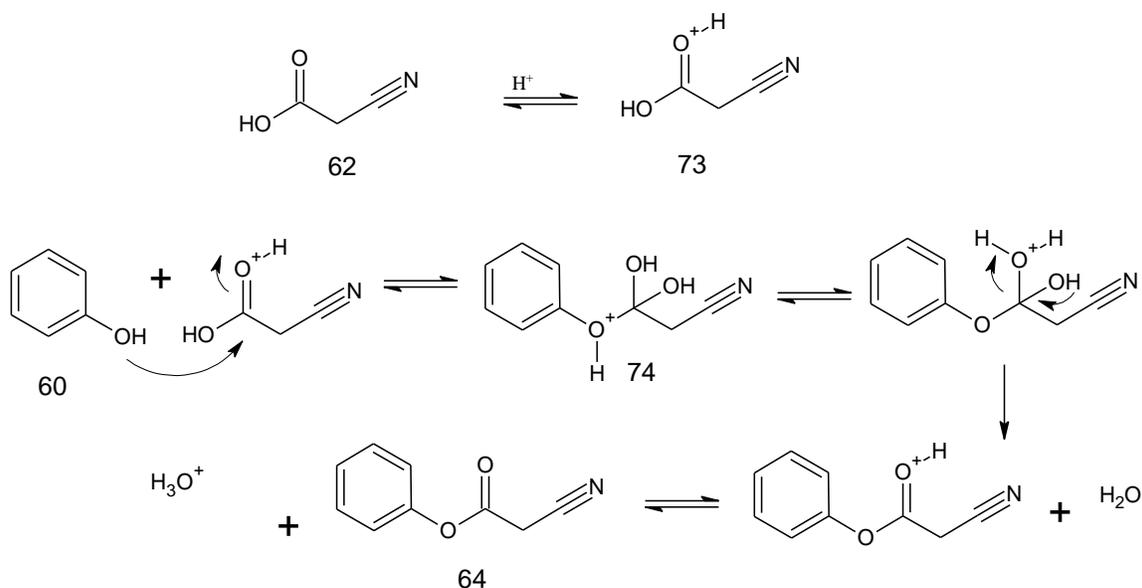
Acetilación de la 4-aminocumarina

Finalmente se disolvieron ($0,004872 \pm 0,00001$)g 4-aminocumarina anterior en suficiente acetonitrilo, luego se añadieron ($0,2 \pm 0,01$) mL de anhídrido acético y 4 gotas de piridina, se calentó a temperatura de reflujo por 3 horas, se evaporó el solvente y el sólido remanente se lavó con agua, obteniéndose ($0,00074 \pm 0,00001$)g de la cumarina acetilada (71) con un rendimiento del 12,04%.

6.0. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1. Ruta 1. Síntesis de 4-aminocumarinas por ciclación de derivados de cianoacetato de fenilo

6.1.1.1 Esterificación con catalizador tipo ácido de Bronsted



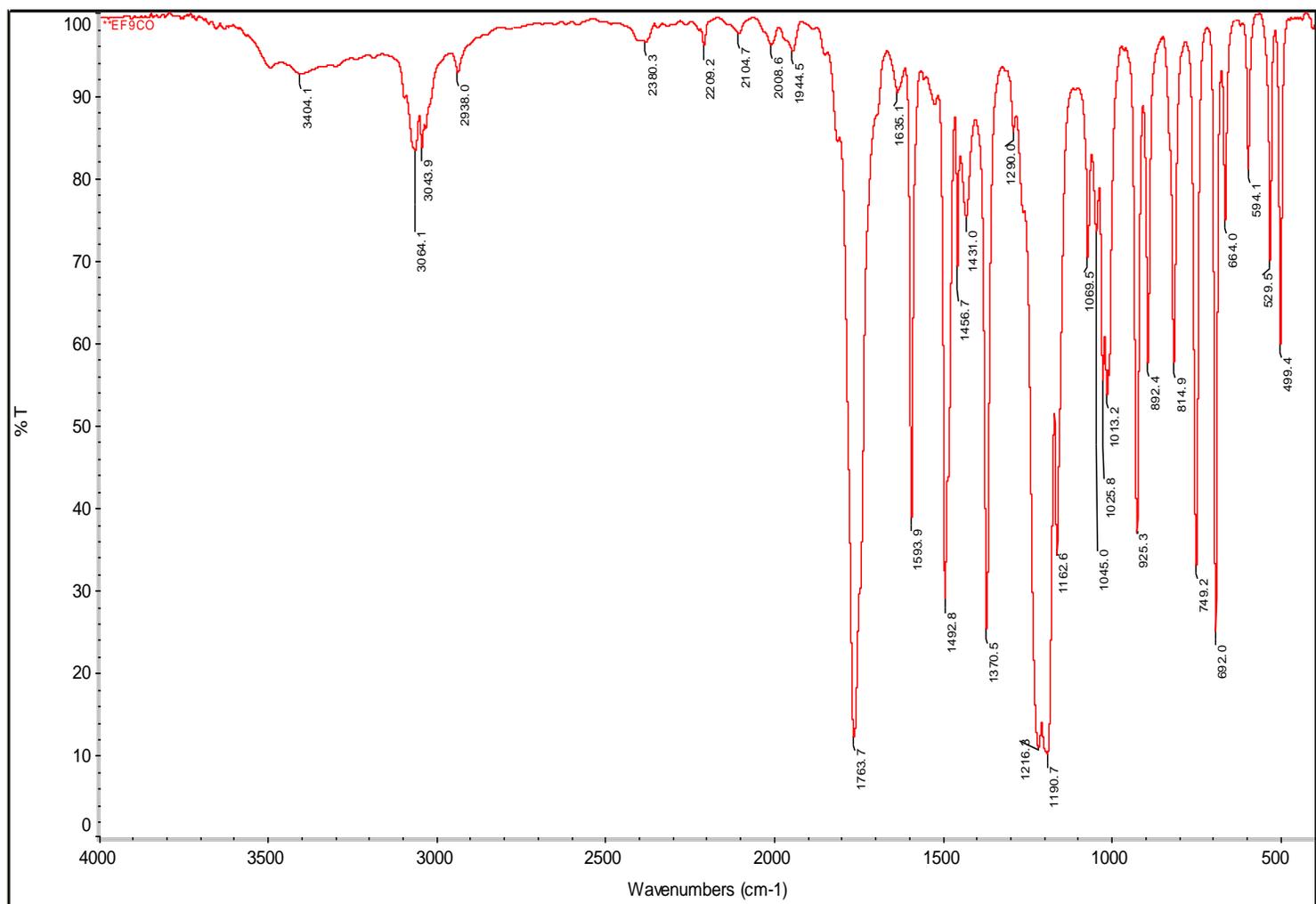
Esquema 31. Mecanismo de reacción de la esterificación con un ácido de Bronsted

Se realizó la esterificación utilizando como catalizador el ácido oxálico para aumentar el carácter electrofílico del carbonillo del ácido cianoacético (62), formando el ácido cianoacético en su forma protonada (73) lo cual lo hace más susceptible al ataque nucleofílico del fenol y de la hidroquinona. El ataque del fenol va seguido de una

reacción ácido-base y posterior eliminación de agua, para finalmente obtener el cianoacetato de fenilo (64).

Considerando la reversibilidad de la reacción se utilizó la destilación azeotrópica con el tolueno para eliminar el agua del medio de reacción mediante la trampa Dean-Stark, favoreciendo el equilibrio hacia la formación del éster.

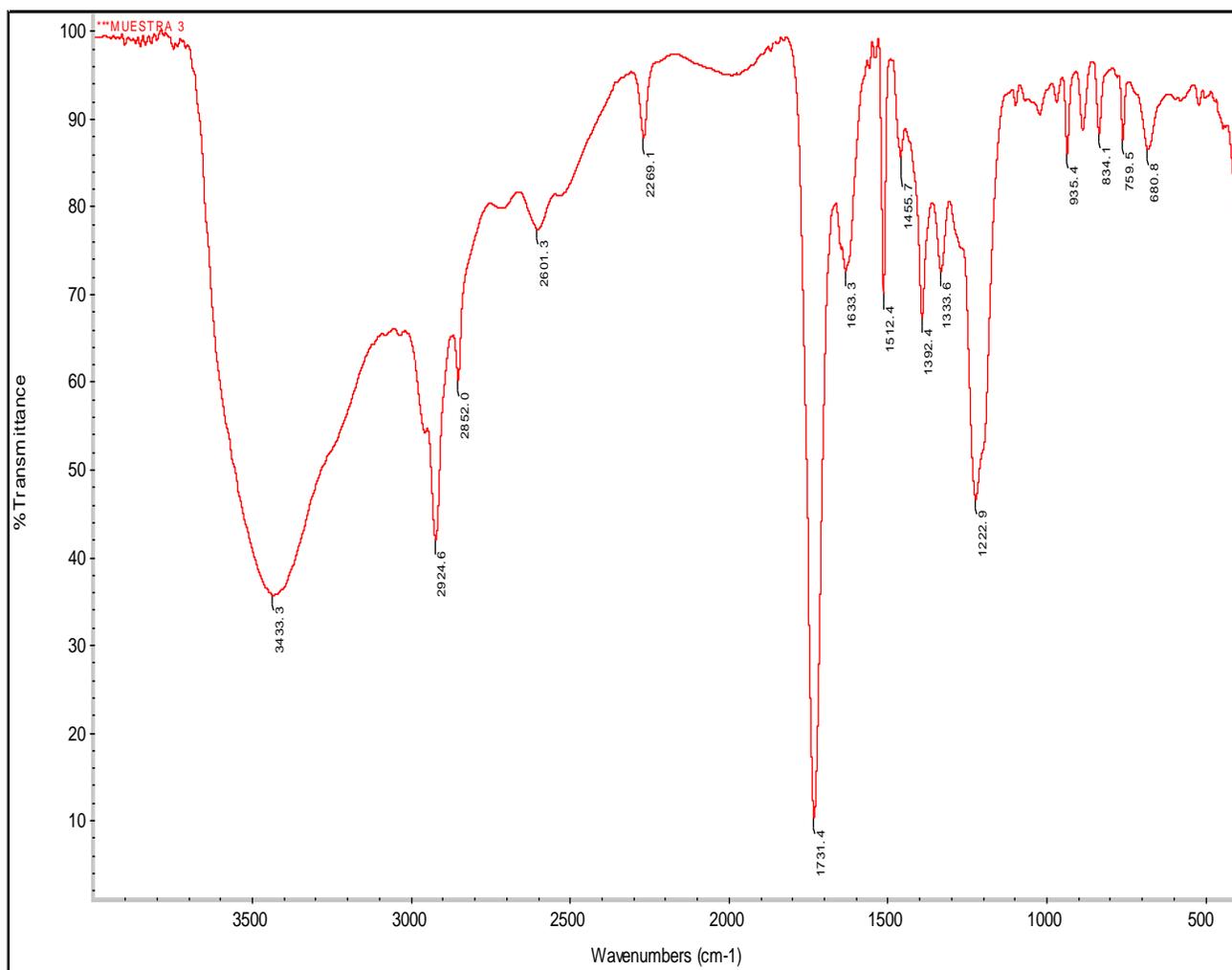
En todos los casos, esterificación del ácido cianoacético con el fenol, se obtuvo el producto esperado, el cianoacetato de fenilo (64), el cual fue identificado por espectroscopia de infrarrojo (IR). En el espectro 1, se observó una banda de baja intensidad en 2209 cm^{-1} correspondiente a la vibración del triple enlace del nitrilo ($\text{C}\equiv\text{N}$), también se observó una banda intensa en 1763 cm^{-1} , correspondiente a la vibración del enlace carbonílico $\text{C}=\text{O}$ del éster, y dos bandas agudas e intensas en los 1216 cm^{-1} y 1190 cm^{-1} correspondiente al sistema $\text{R}-(\text{C}=\text{O})-\text{O}-\text{R}$ del éster, mostrando una señal característica de los acetatos de fenilo en los 1190 cm^{-1} - 1140 cm^{-1} . Además, se observaron dos bandas de baja intensidad en 3064 cm^{-1} y 3043 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace $\text{C}_{(\text{sp}^2)}-\text{H}$ aromático y por último se observaron dos bandas de intensidad intermedia en los 749 cm^{-1} y 692 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace $\text{C}_{(\text{sp}^2)}-\text{H}$ monosustituido.



Espectro 1. IR del cianoacetato de fenilo

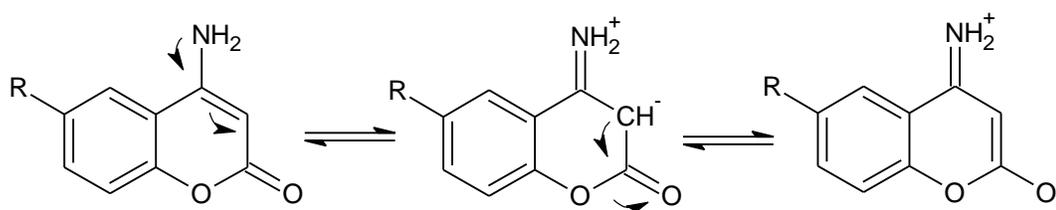
Por otro lado, cuando se llevó a cabo la esterificación de la hidroquinona se obtuvieron dos productos que fueron separados por cromatografía de columna. El compuesto menos polar fue identificado por espectroscopía de IR (espectro 2) como el cianoacetato de 4-hidrofeno (65). En el espectro de IR se observa una banda delgada y de baja intensidad en 2269 cm⁻¹ correspondiente al estiramiento del triple enlace del nitrilo (C≡N), también se observó una banda intensa y delgada en 1731 cm⁻¹,

correspondiente al estiramiento del enlace carbonílico C=O del éster y una banda de intensidad intermedia en 1222 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace C-O del sistema R-(C=O)-O-R del éster. Además, se observó una banda ancha e intensa en los 3433 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace O-H. También, se observó una banda intensa y delgada en 2924 cm^{-1} y 2851 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace $\text{C}_{(\text{sp}^3)}\text{-H}$ α al carbonilo del éster, y por último se observó una banda de baja intensidad en los 834 cm^{-1} correspondiente a la flexión del enlace $\text{C}_{(\text{sp}^2)}\text{-H}$ aromático para sustituido.

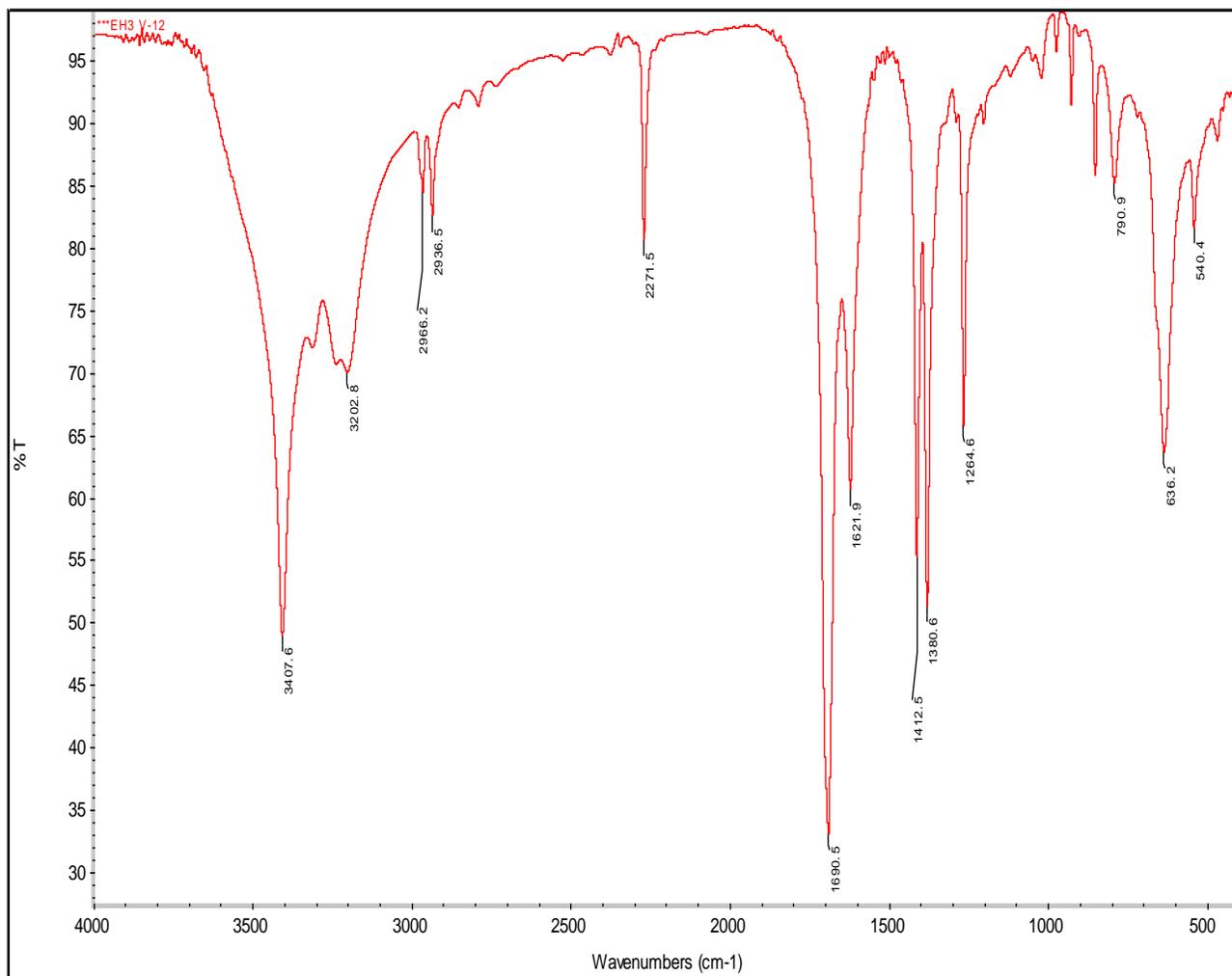


Espectro 2. IR del cianoacetato de 4-hidroxifenilo

El compuesto más polar, también se identificó. Se separó por cromatografía en columna un compuesto más polar que la hidroquinona, el cual se identificó por espectroscopia de infrarrojo. En el espectro 3 se observó una banda aguda e intensa en 3407 cm^{-1} , y un ensanchamiento de la señal entre 3500 cm^{-1} y 3300 cm^{-1} lo que podría asignarse a las vibraciones de los enlaces N-H y O-H. La presencia de una banda de intensidad intermedia en 1621 cm^{-1} correspondiente a la flexión del enlace N-H y las bandas en 790 cm^{-1} - 540 cm^{-1} asignadas a la vibración en abanico del enlace N-H sugería que este compuesto se trataba de una amina. También se observó una banda intensa y delgada en 1690 cm^{-1} , correspondiente al estiramiento del enlace carbonílico C=O del éster conjugado. Este desplazamiento del grupo carbonilo podría explicarse proponiendo una estructura en la que el grupo amino deslocaliza su par de electrones libres por todo el anillo de la pirona, debilitando el enlace carbonílico y bajando la frecuencia de absorción, como se observa en el esquema 32. Se observa una banda delgada de intensidad intermedia en 1264 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace C-O del sistema R-(C=O)-O -R del éster. Por otro lado, se observó una banda delgada de intensidad intermedia en los 2263 cm^{-1} correspondiente a la vibración del triple enlace del nitrilo (C≡N). Esta señal indica que la muestra se encuentra contaminada con el material de partida. Ya que podría tratarse de la 4-aminocumarina, se procedió a acetilar dicho producto a fin de obtener un derivado N-acetilado, considerando que en presencia de ambos grupos -OH y NH₂, la amina (mejor nucleófilo) debía reaccionar de manera más rápida (quimioselectividad) y por lo tanto generar la amida correspondiente.



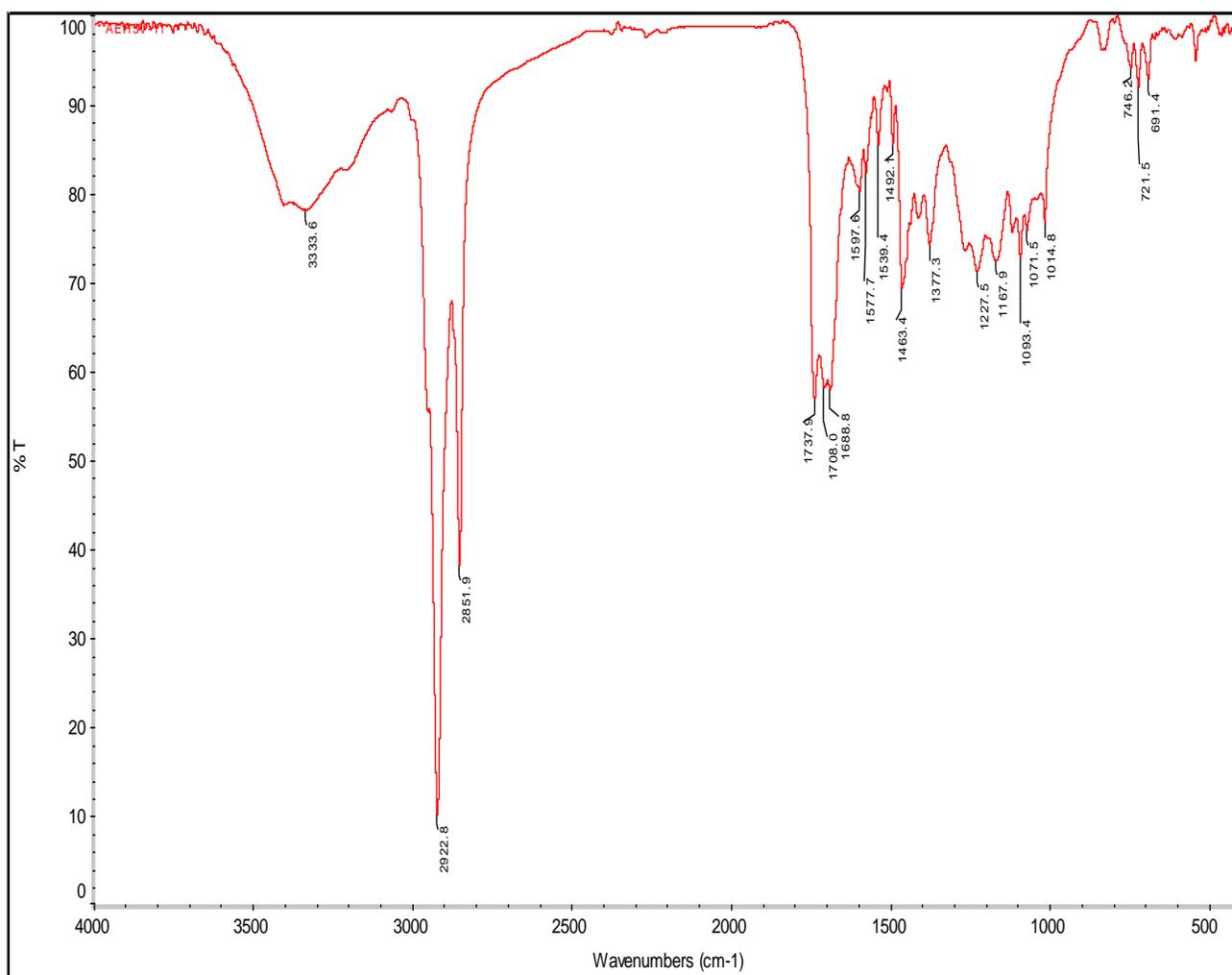
Esquema 32. Estructuras de resonancia de la 4-aminocumarina



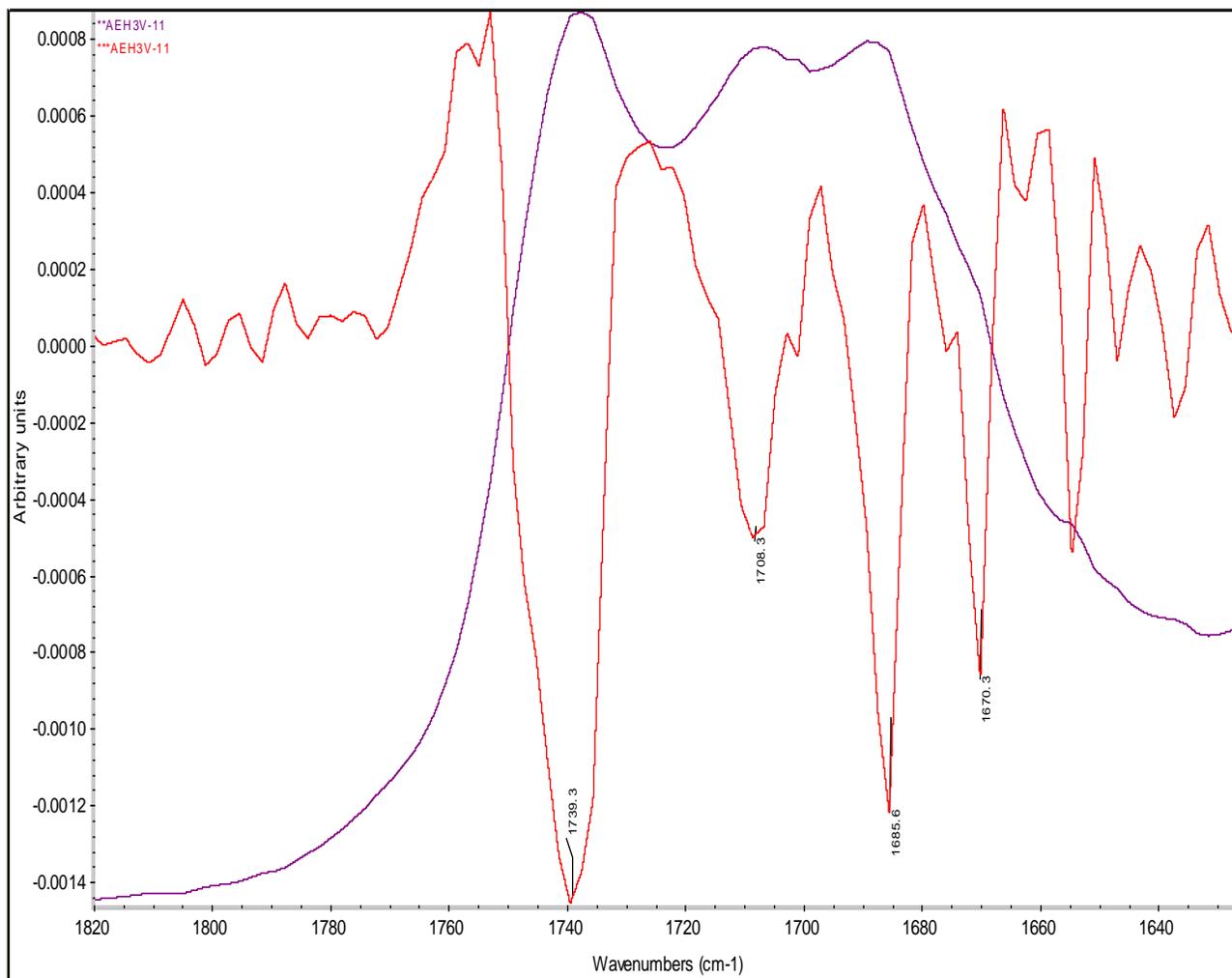
Espectro 3. IR de 4-amino-6-hidroxycumarina.

En el espectro 4, correspondiente a la acetilación de la 4-amino-6-hidroxycumarina, se observó una banda en 3333 cm^{-1} correspondiente a la vibración de estiramiento del enlace N-H, característica de amidas secundarias. Considerando la congestión en la zona de los grupos carbonilos del espectro IR, se realizó la deconvolución en esta zona, (espectro 5) en cual se observó las señales correspondiente a la banda de amida I y II en 1685 cm^{-1} y 1670 cm^{-1} debido al estiramiento del enlace C=O y flexión del enlace N-H, respectivamente. También se observaron la bandas

características del éster en 1737 cm^{-1} y 1708 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace (C=O) carbonílico del éster saturado de la lactona y el grupo hidroxilado acetilado. Además se observó una banda de intensidad intermedia en 1227 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace C-O del éster. Los datos de los espectros de IR sugieren que se obtuvo 6-acetato de 4-acetamido N-Cumaril (80), proveniente de la diacetilación de la 4-amino-6 hidroxycumarina (67).

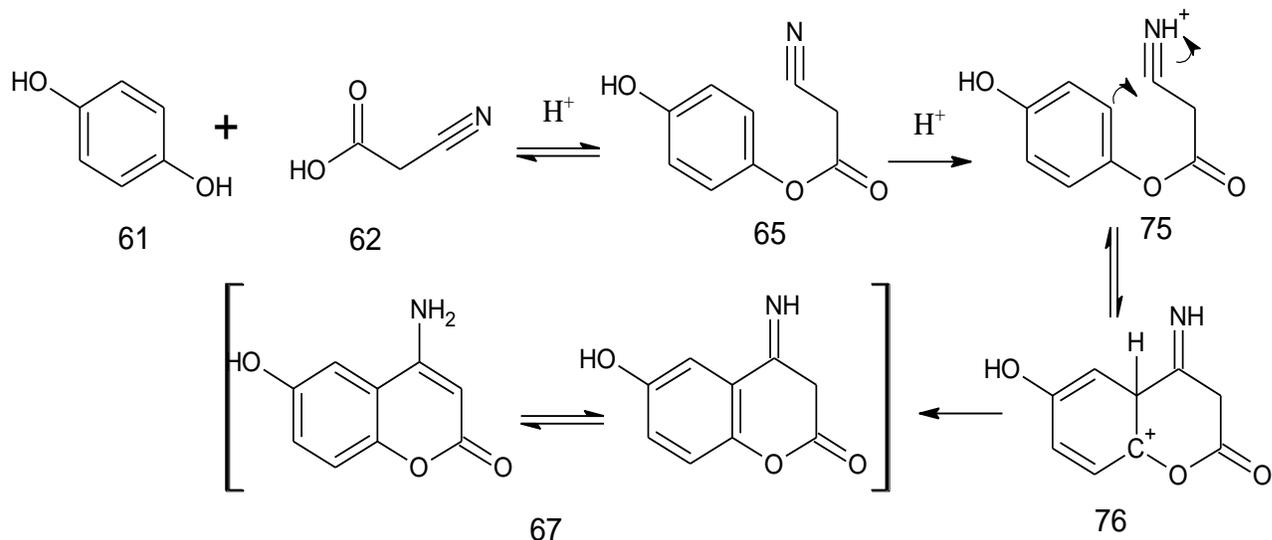


Espectro 4. IR del 6-acetato de 4-acetamido N-Cumarilo



Espectro 5. Decovolución del carbonilo de la acetilación de la 4-amino6-hidroxicumarina

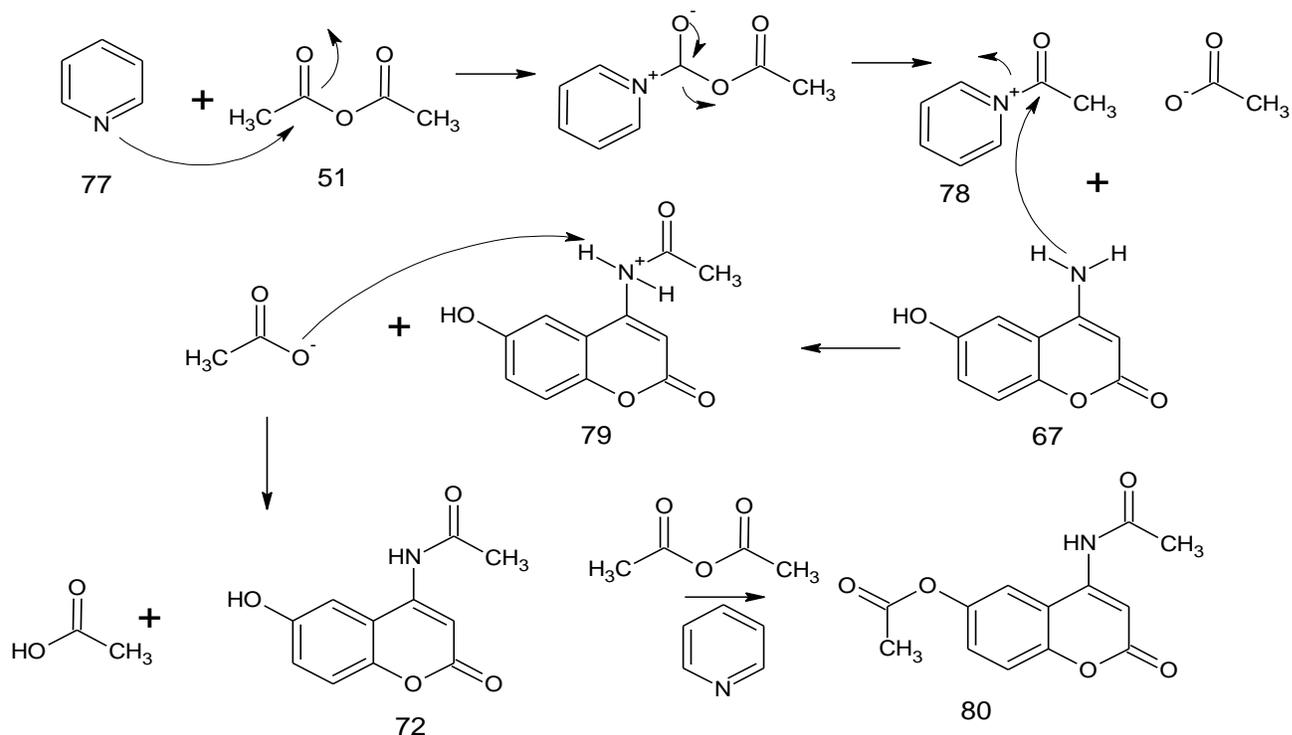
El mecanismo propuesto para la síntesis de la 4-aminocumarina es el siguiente: una vez formado el cianoacetato de 4-hidrofeno (65), ocurre en un primer paso la protonación del nitrilo por efecto del catalizador (75), haciéndolo más susceptible a la reacción de sustitución electrofílica aromática (SEA), seguido de la formación del complejo sigma (76) y finalmente ocurre la pérdida del protón, obteniendo por el equilibrio tautomérico la 4-amino-6-hidroxicumarina (67). Como se observa en el esquema 33.



Esquema 33. Mecanismo de reacción de la ciclación intramolecular con ácido oxálico

El mecanismo propuesto para la acetilación de la 4-amino-6-hidroxicumarina (67) es el que se observa en el esquema 34, donde la piridina ataca al anhídrido acético (51) generando un especie más reactiva (78) y el acetato, luego ocurre el ataque de la amina a la especie más reactiva generando la estructura (79), seguido de la salida del protón de la amina promovida por el acetato, obteniendo la amida correspondiente (72) y el ácido acético, del mismo modo ocurre la acetilación del grupo hidroxilo, obteniendo la cumarina diacetilada (80)

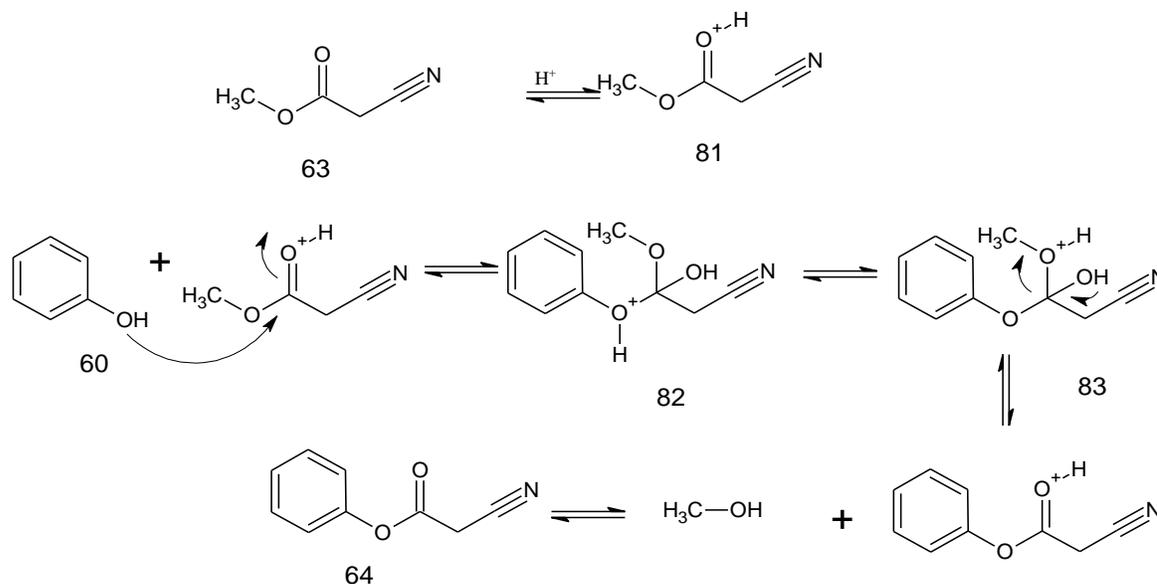
Debido a que la acetilación se realizó con un exceso de anhídrido acético y a temperatura de reflujo se acetilaron ambos grupos, el grupo amino e hidroxilo de la 4-amino-6-hidroxicumarina, obteniendo la cumarina diacetilada (80).



Esquema 34. Mecanismo reacción de la acetilación con piridina

Tanto en la esterificación del fenol como en la de la hidroquinona se observaron mejores rendimientos cuando se utilizó mayor cantidad de catalizador (30% mol). Además, se obtuvo un rendimiento mayor con la hidroquinona, debido a que está más activada como nucleófilo por la presencia de un grupo dador por resonancia (O-H) en posición para. Por otro lado, mayor tiempo de reacción en la esterificación con hidroquinona promueve la ciclación, obteniendo en un solo paso la cumarina correspondiente.

6.1.1.2. Transesterificación con catalizador tipo ácido de Bronsted



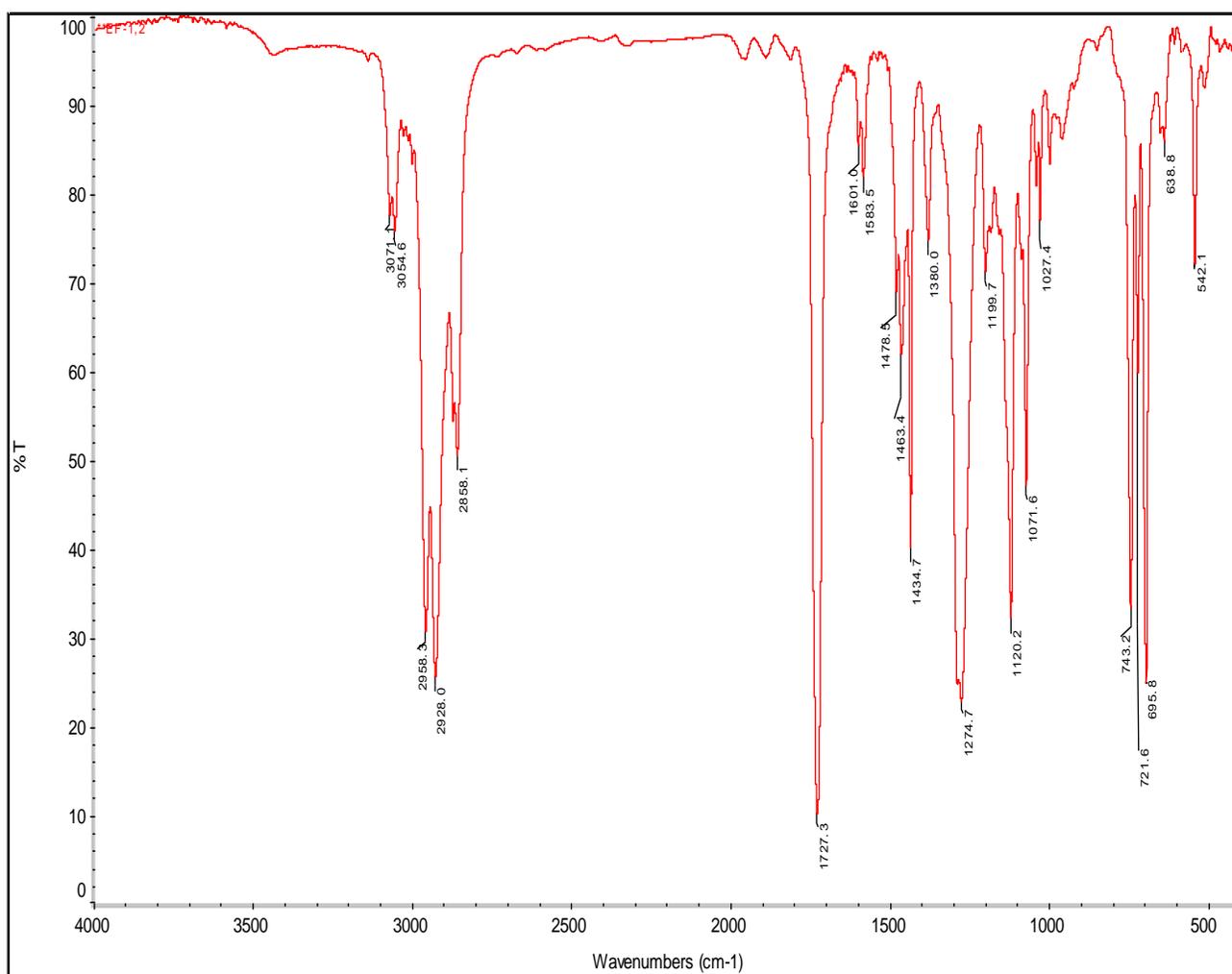
Esquema 35. Mecanismo de reacción de transesterificación con ácido de Bronsted.

La transesterificación se realizó con cianoacetato de metilo (63) y como catalizador se usó ácido sulfúrico, para formar el cianoacetato de metilo en su forma protonada (81) lo cual lo hace más susceptible al ataque nucleofílico del fenol o de la hidroquinona, El ataque del fenol va seguido de una reacción ácido-base y posterior eliminación de agua, para finalmente obtener el cianoacetato de fenilo (64).

En la primera transesterificación del fenol no se obtuvo el producto esperado, debido a que el tiempo de reacción fue muy corto. Cuando se aumentó el tiempo de reacción se obtuvo en un solo paso el producto ciclado.

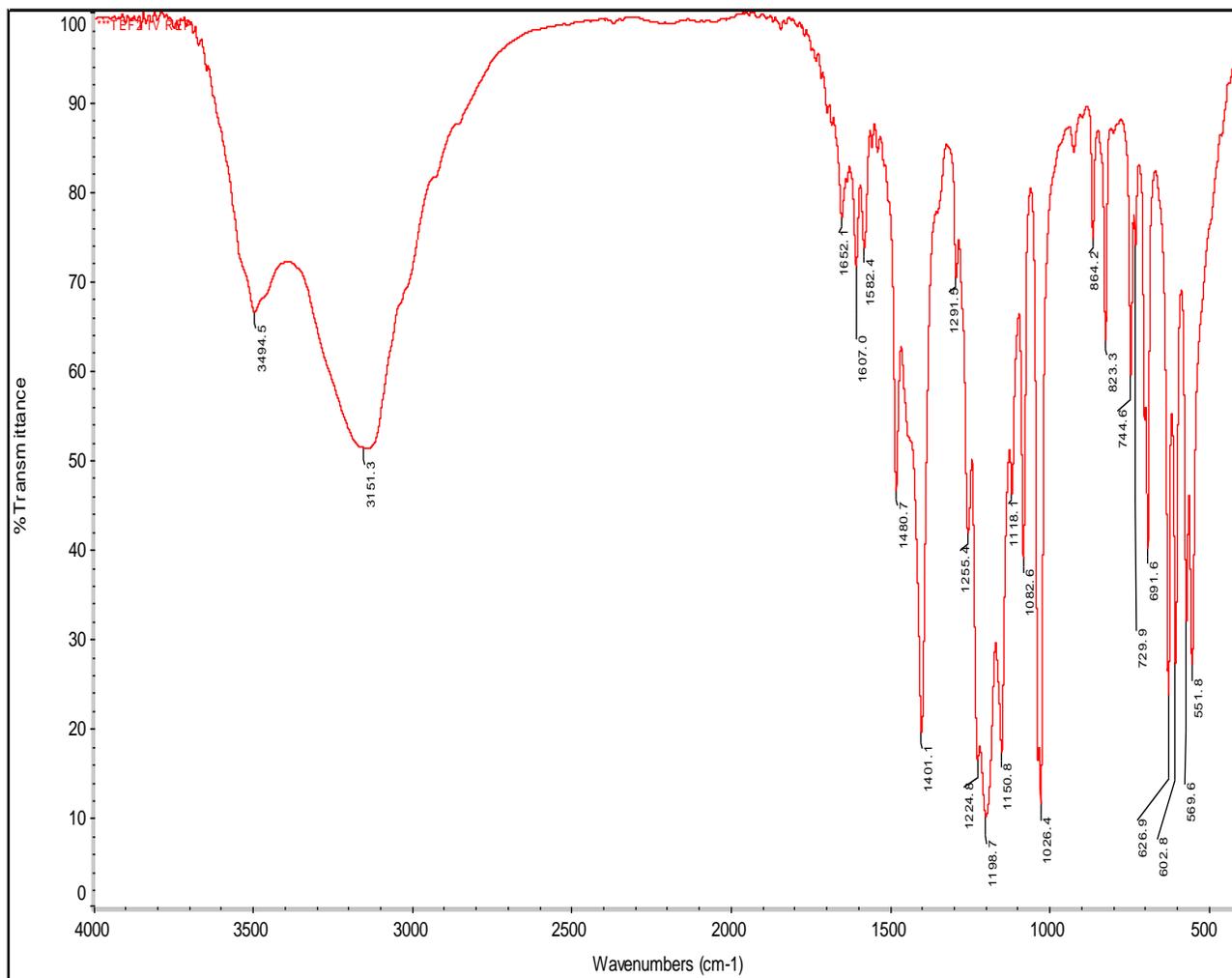
En el espectro de IR 6, se observó una banda intensa y aguda en 1727 cm⁻¹, correspondiente a la vibración del enlace carbonílico C=O del éster y una banda intensa y aguda en 1274cm⁻¹ correspondiente al sistema R-(C=O)-O-R del éster. También se observaron dos bandas de baja intensidad en 3071 cm⁻¹ y 3054 cm⁻¹ correspondiente a

la vibración del enlace $C_{(sp^2)}-H$ aromático, dos bandas en 743 cm^{-1} y 695 cm^{-1} correspondiente a un compuesto aromático monosustituido. Por último, se observó una serie de bandas intensas y agudas en 2958 cm^{-1} , 2928 cm^{-1} y 2858 cm^{-1} correspondientes a la vibración del enlace $C_{(sp^3)}-H$. La intensidad de estas bandas pueden estar asociadas a impurezas en el compuesto. Por otro lado, no se observó la banda del nitrilo en los 2200 cm^{-1} , por eso se propone como posible estructura el acetato de fenilo (90)



Espectro 6. IR del acetato de fenilo

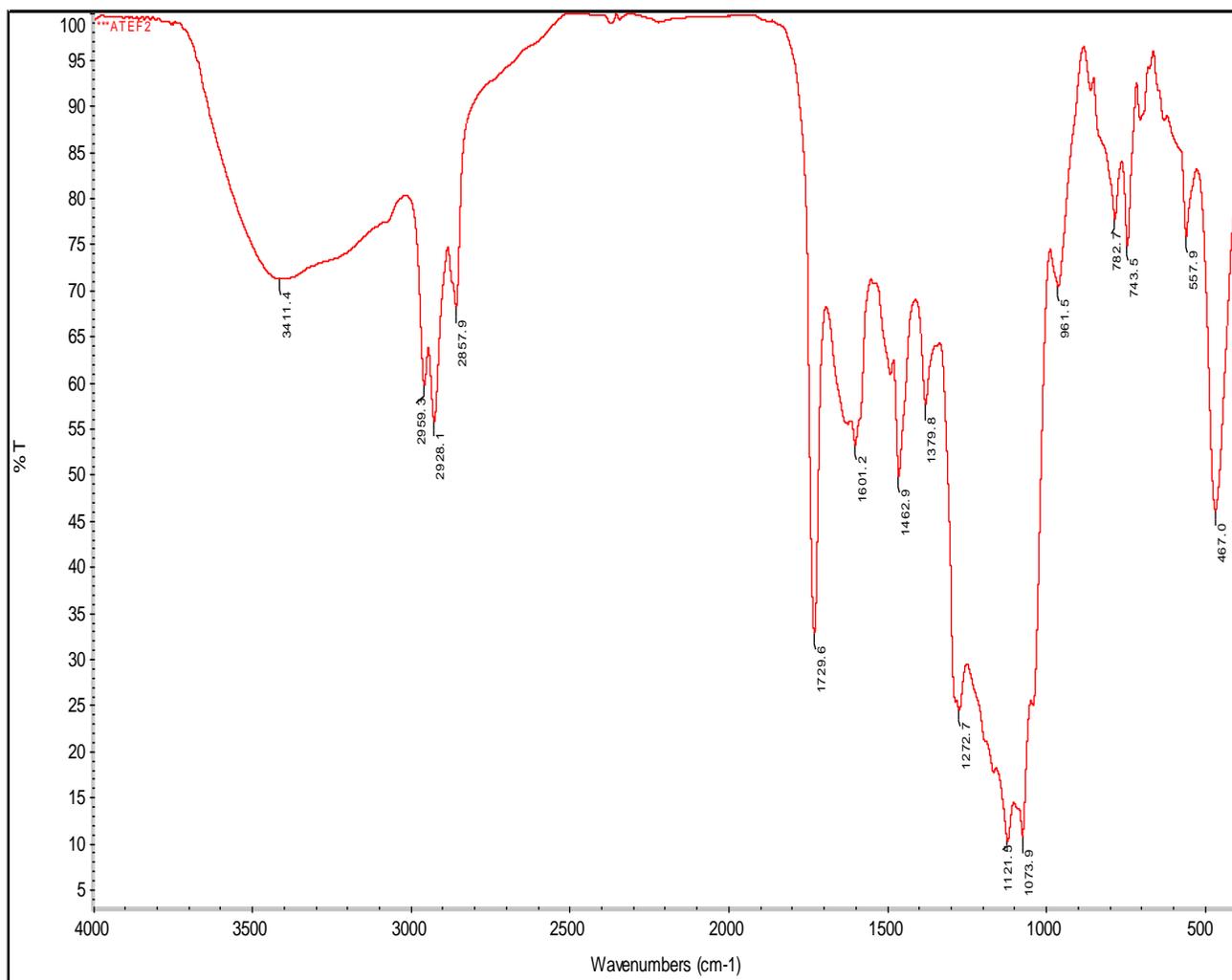
En la segunda transesterificación con fenol se obtuvo un sólido marrón, el cual fue identificado por IR como la 4-aminocumarina (66). En el espectro de IR 7, se observó una banda ancha y de intensidad intermedia en 3494 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace N-H de la amina, una banda en 1607 cm^{-1} correspondiente a la flexión del enlace N-H, una banda en 1255 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace C-N, también se observó una banda en 1652 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace C=O del éster conjugado, debido a que el grupo amino ejerce un efecto de resonancia, que se deslocaliza por todo el anillo de la pirona, el cual debilita el enlace carbonílico y baja la frecuencia de absorción, como se observó en el esquema 32; dos bandas intensas en 1224 cm^{-1} y 1198 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace C-O del sistema C-(C=O)-O-C del éster. También se observó una banda en 1582 cm^{-1} correspondiente a la vibración del doble enlace (C=C), por último se obtuvo una banda ancha en los 3151 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace O-H del fenol, indicando que el compuesto no estaba totalmente puro. Por otro lado no se observaron las bandas correspondientes a los enlaces $\text{C}_{(\text{sp}^3)}\text{-H}$ ni el grupo ciano. Estos datos parecían indicar que se había obtenido la 4-aminocumarina correspondiente (66).



Espectro 7. IR de la 4-aminocumarina

De nuevo, para corroborar que estábamos en presencia de la 4-aminocumarina se llevó a cabo su acetilación. En el espectro de IR 8, se observan algunas bandas características de amidas secundarias, como lo son la banda de ancha en 1601 cm^{-1} corresponde a la banda de amida I y II debido al estiramiento del enlace C=O y flexión del enlace N-H, y las vibraciones en 800 cm^{-1} - 700 cm^{-1} en forma de abanico debido a la flexión fuera del plano del enlace N-H. También se observa una banda en 3411 cm^{-1} en la que podrían estar superpuestas las bandas correspondientes a la vibración de

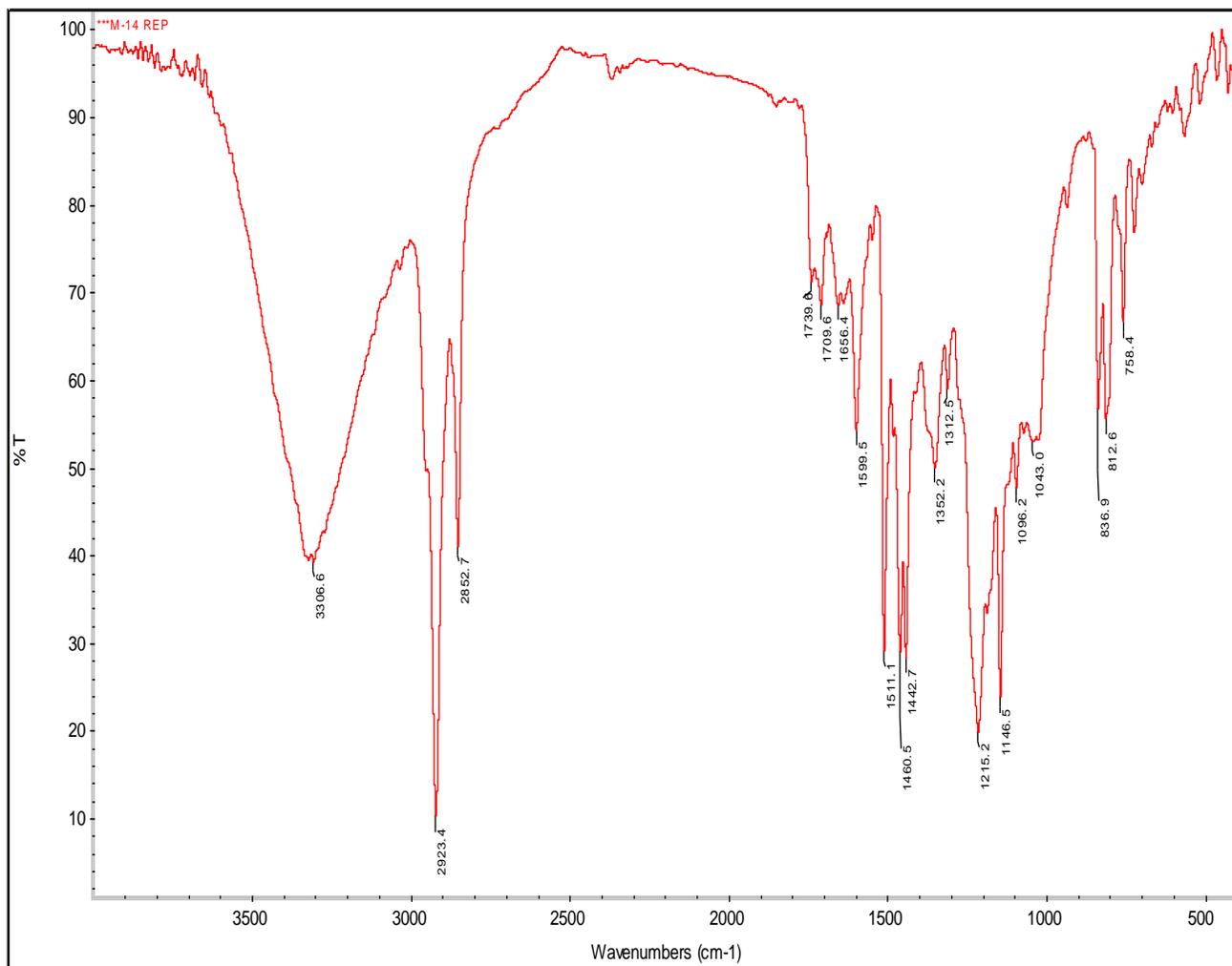
estiramiento del enlace N-H y del O-H del material de partida. Además, se observan las bandas características del éster en 1729 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace (C=O) carbonílico del éster saturado de la lactona y una banda de intensidad intermedia en 1272 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace C-O del éster, con estos datos se propone que se obtuvo la 4-acetamida N-cumarina, correspondiente a la 4-aminocumarina acetilada (71).



Espectro 8. IR de la 4-acetamida N-cumarina

Por otro lado, en la transesterificación de la hidroquinona se observaron varios puntos en la cromatografía de capa fina, algunos más polares que la hidroquinona y otros menos polares. Se separaron por cromatografía en columna y se identificaron por espectroscopia de infrarrojo. El primer compuesto aislado de la columna corresponde al cianoacetato de 4-hidroxifenilo (65), Se observó las mismas bandas que en el espectro 2 de IR, una banda aguda y de baja intensidad en 2205 cm^{-1} correspondiente a la vibración del triple enlace del nitrilo ($\text{C}\equiv\text{N}$), también se observó una banda en 1735 cm^{-1} , correspondiente a la vibración del enlace carbonílico $\text{C}=\text{O}$ del éster, y una banda aguda de intensidad intermedia en 1171 cm^{-1} correspondiente al sistema $\text{R}-(\text{C}=\text{O})-\text{O}-\text{R}$ del éster. Además, se observó una banda ancha en 3300 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace $\text{O}-\text{H}$; también se observó una banda de baja intensidad en 827 cm^{-1} correspondiente a un compuesto aromático para sustituido.

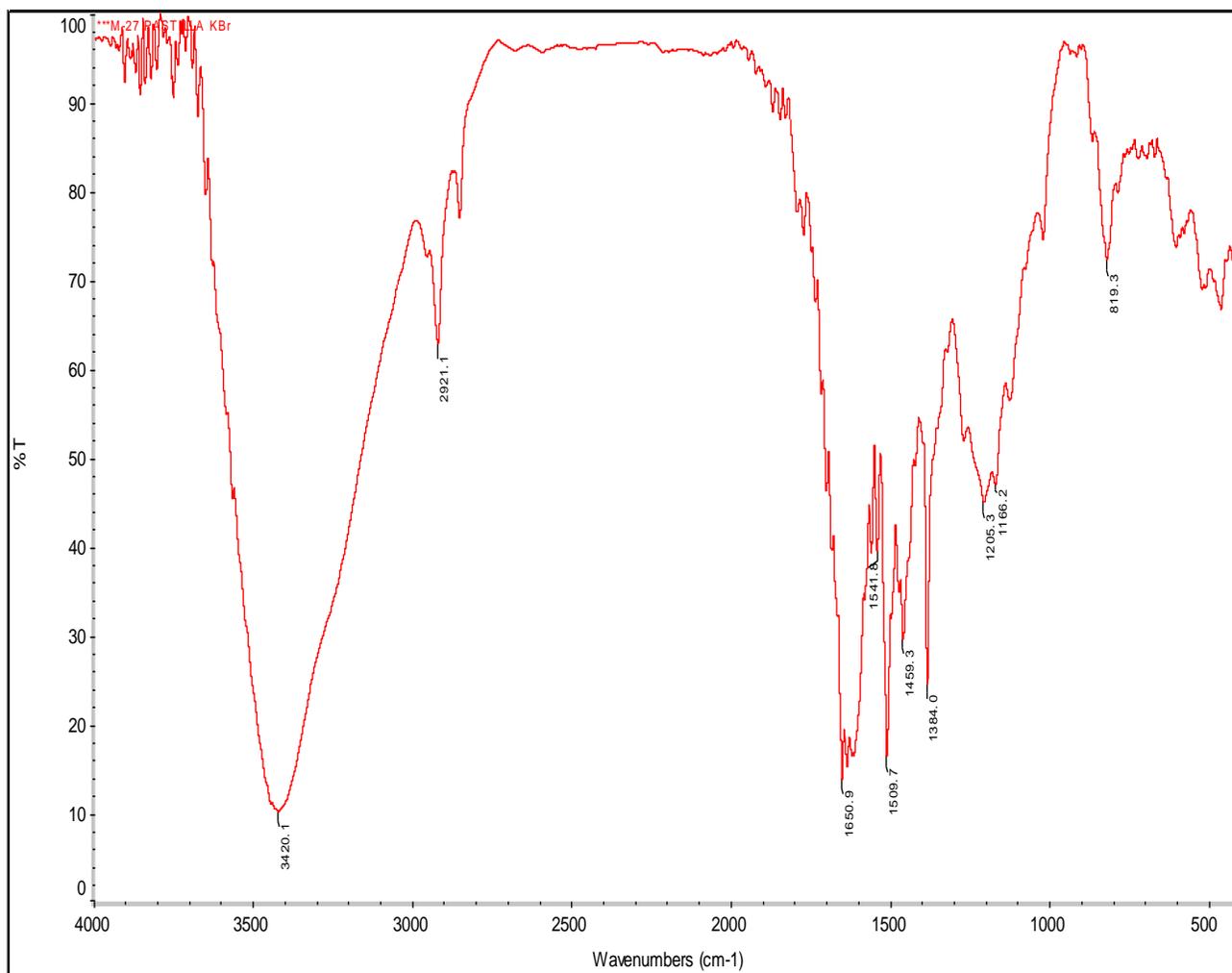
El segundo producto aislado de la columna se identificó por espectroscopia de IR. Se observa en el espectro 9 una banda en 1739 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace carbonílico $\text{C}=\text{O}$ del éster y una banda en 1215 cm^{-1} correspondiente al sistema $\text{R}-(\text{C}=\text{O})-\text{O}-\text{R}$ del éster. Además, se observa una banda intensa en 3306 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace $\text{O}-\text{H}$; también se observó una banda en 836 cm^{-1} correspondiente a un compuesto aromático para sustituido. Finalmente, se observaron dos bandas intensas y agudas en 2921 cm^{-1} y 2851 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace $\text{C}_{(\text{sp}^3)}-\text{H}$ de los hidrógenos alifáticos α al carbonilo del éster, la intensidad de estas bandas pueden estar asociadas a impurezas en el compuesto. Por otro lado no se observó las bandas del grupo nitrilo, por lo que se propuso como posible compuesto el acetato de 4-hidroxifenilo (91)



Espectro 9. IR del acetato de 4-hidroxifenilo

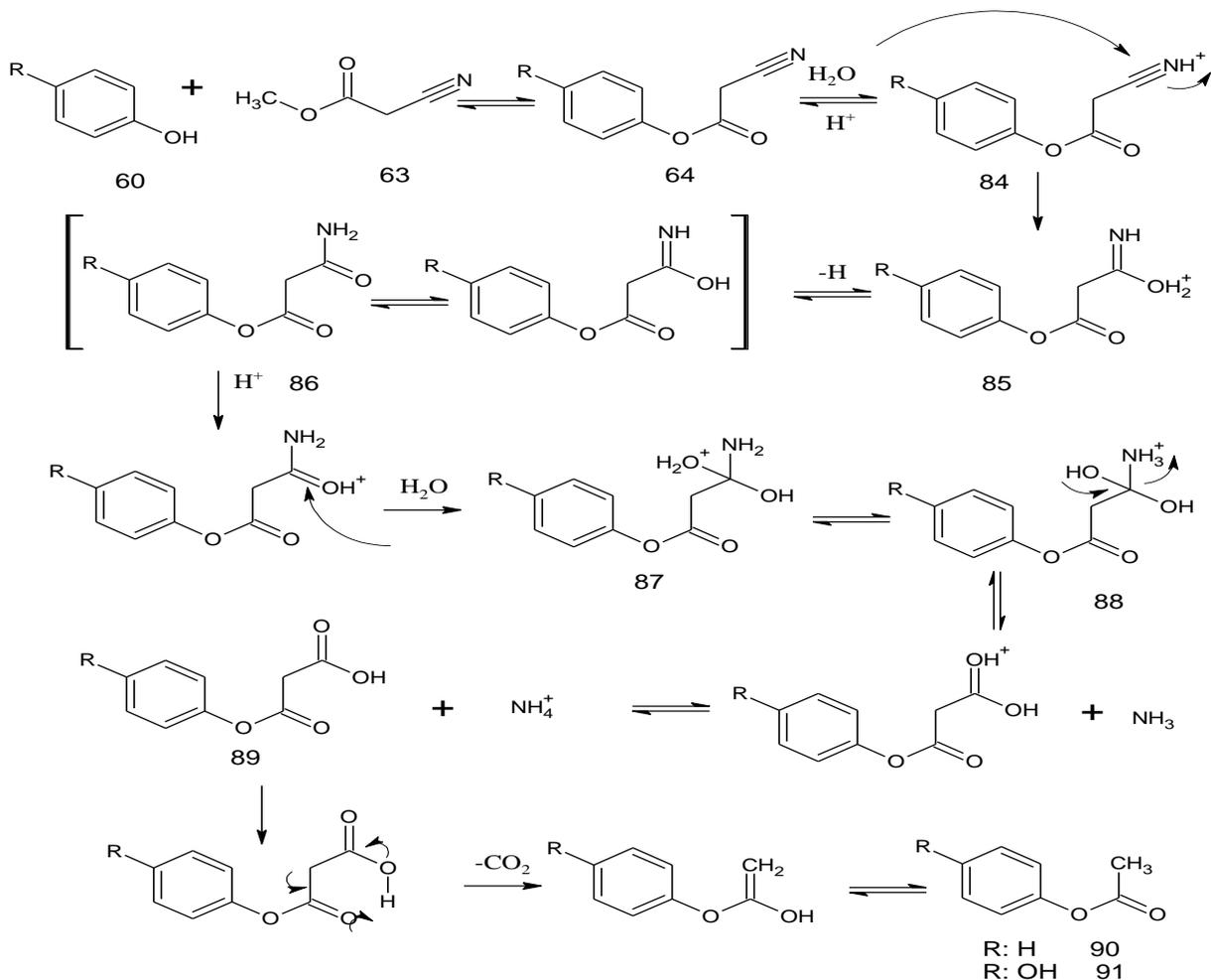
El tercer compuesto aislado de la columna se identificó por espectroscopia de infrarrojo como 6-hidroxi-4-aminocumarina. En el espectro 10 se observó una banda ancha e intensa en 3420 cm^{-1} correspondiente a la estiramiento del enlace N-H de la amina y O-H del fenol, además se observa una banda en los 1620 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace N-H, también se observó una banda en 1650 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace C=O del éster conjugado, una banda en 1205 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace C-O, del sistema C-(C=O)-O-C del

éster, además se observó una banda en 1600 cm^{-1} correspondiente a la vibración del doble enlace (C=C). Por otro lado no se observó la banda del nitrilo, y es más polar que la hidroquinona. Debido a que no se obtuvo suficiente sólido no se realizó la acetilación; pero dio positiva la prueba aminas aromáticas.



Espectro 10. IR de la 4-amino-6-hidroxycumarina

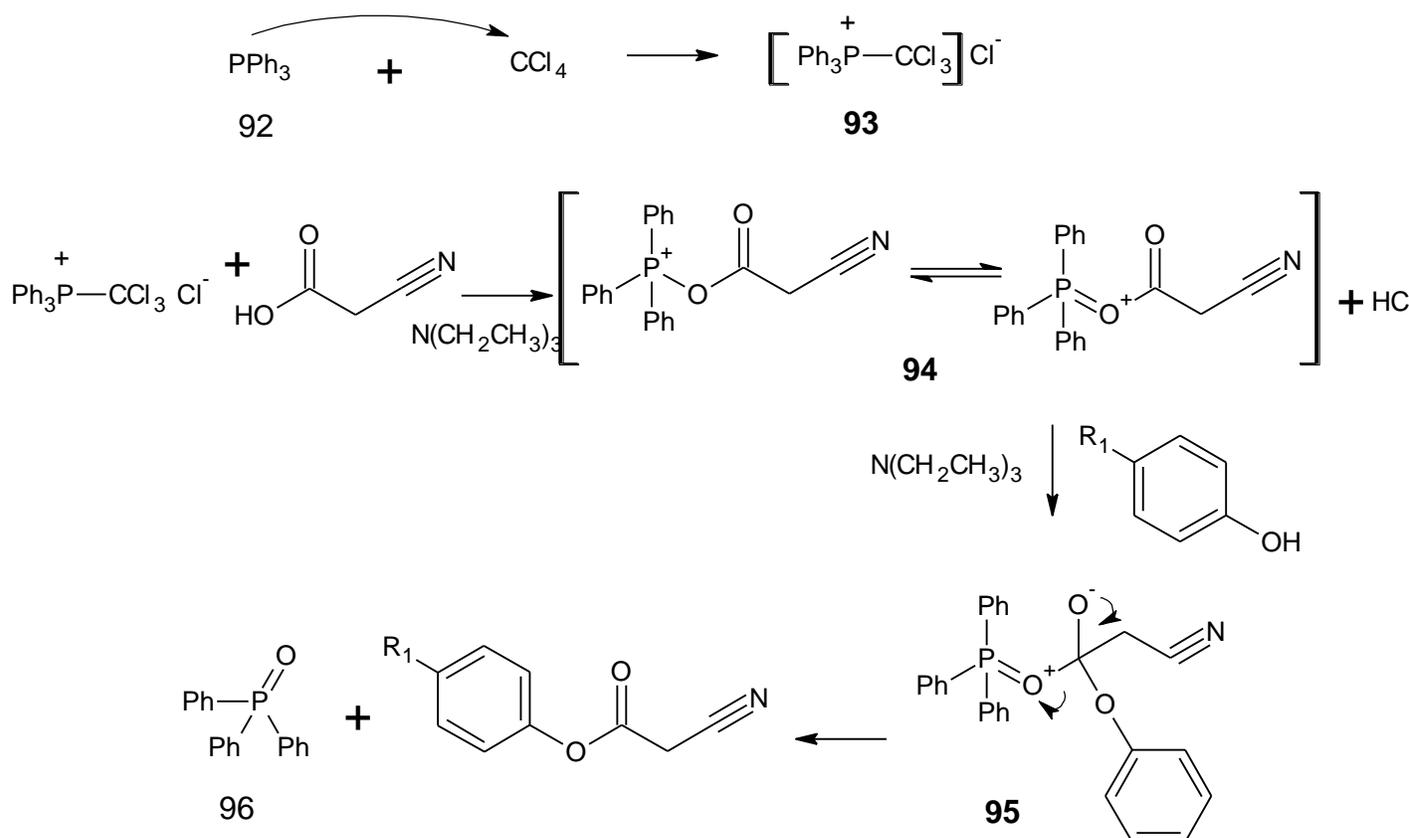
El mecanismo propuesto para la obtención del acetato de fenilo, incluye la hidrólisis completa del grupo ciano, formando el β -cetoácido, seguido por descarboxilación, como se observa en el esquema 36.



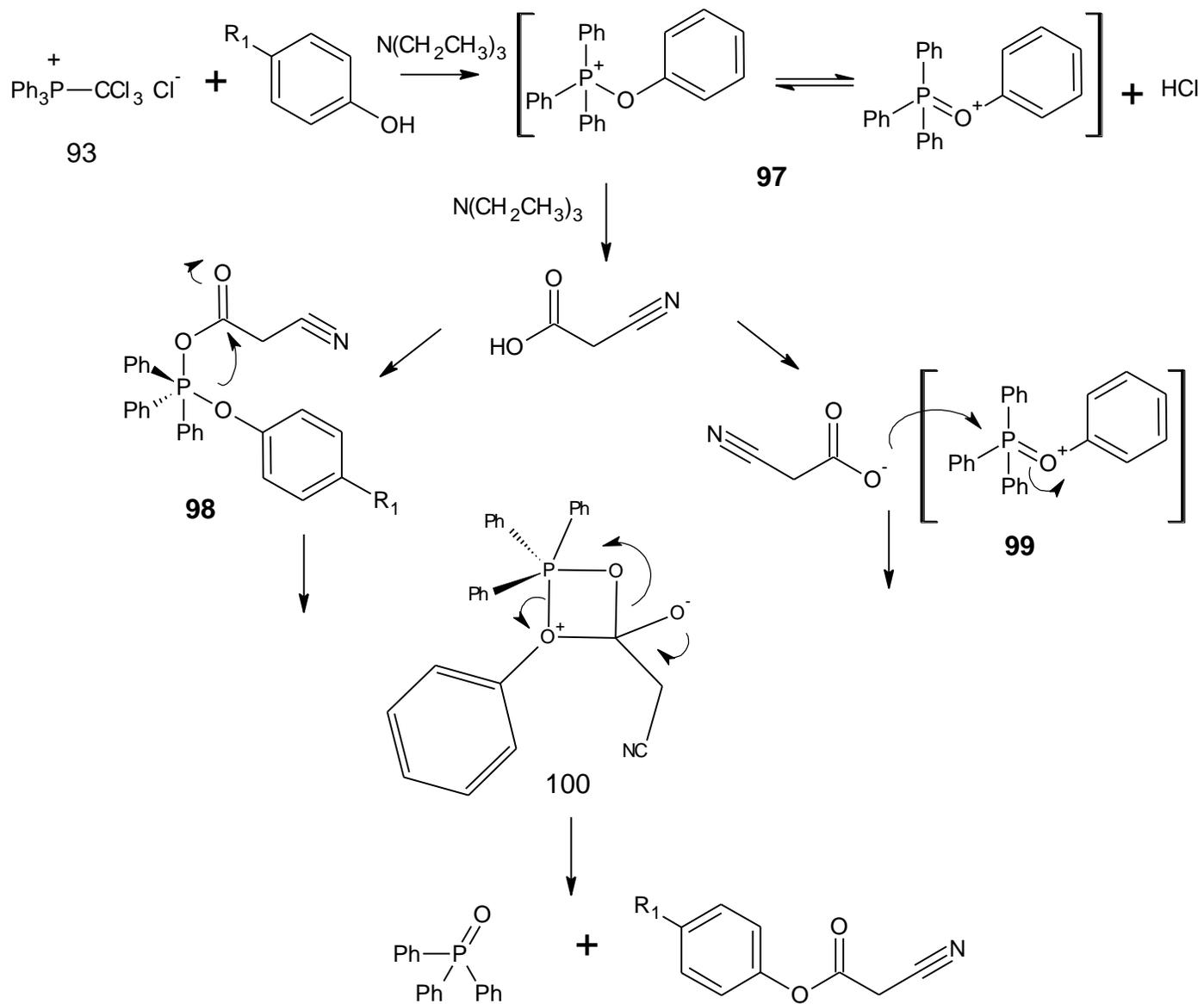
Esquema 36. Mecanismo de reacción de la hidrólisis del nitrilo y descarboxilación.

Tanto en la transesterificación del fenol y como en la hidroquinona se obtuvo la hidrólisis completa del ciano y posterior descarboxilación, obteniendo el acetato de fenilo (90) en vez del cianoacetato de fenilo (66). Este proceso se ve favorecido por temperatura elevadas o prolongados tiempo de reacción. Sin embargo, la transesterificación del cianoacetato de metilo con ácido sulfúrico, también promueve la ciclación del cianoacetato fenilo, obteniendo así la 4-aminocumarina correspondiente.

6.1.1.3: Esterificación por sistema acoplante con trifenilfosfina (PPh₃/ CCl₄)



El mecanismo de esterificación con trifenilfosfina no se conoce en su totalidad, en el esquema 37, se propone como primer paso la formación del par iónico de la sal de clorofosfonio (93), el cual puede seguir dos posibles rutas al ser atacado por el ácido cianoacético o el fenol/ hidroquinona. Si es atacado por el ácido cianoacético, forma el intermediario (94) haciendo más electrofílico el carbono carbonílico del ácido, promoviendo el ataque nucleofílico del fenol y formando un intermediario tetraédrico (95) seguido de la salida del óxido de trifenilfosfina (96) y obteniendo el cianoacetato de fenilo correspondiente (64).²²



Esquema 37. Mecanismo de reacción de la esterificación del ácido cianoacético con trifenílfosfina (PPh_3/CCl_4)

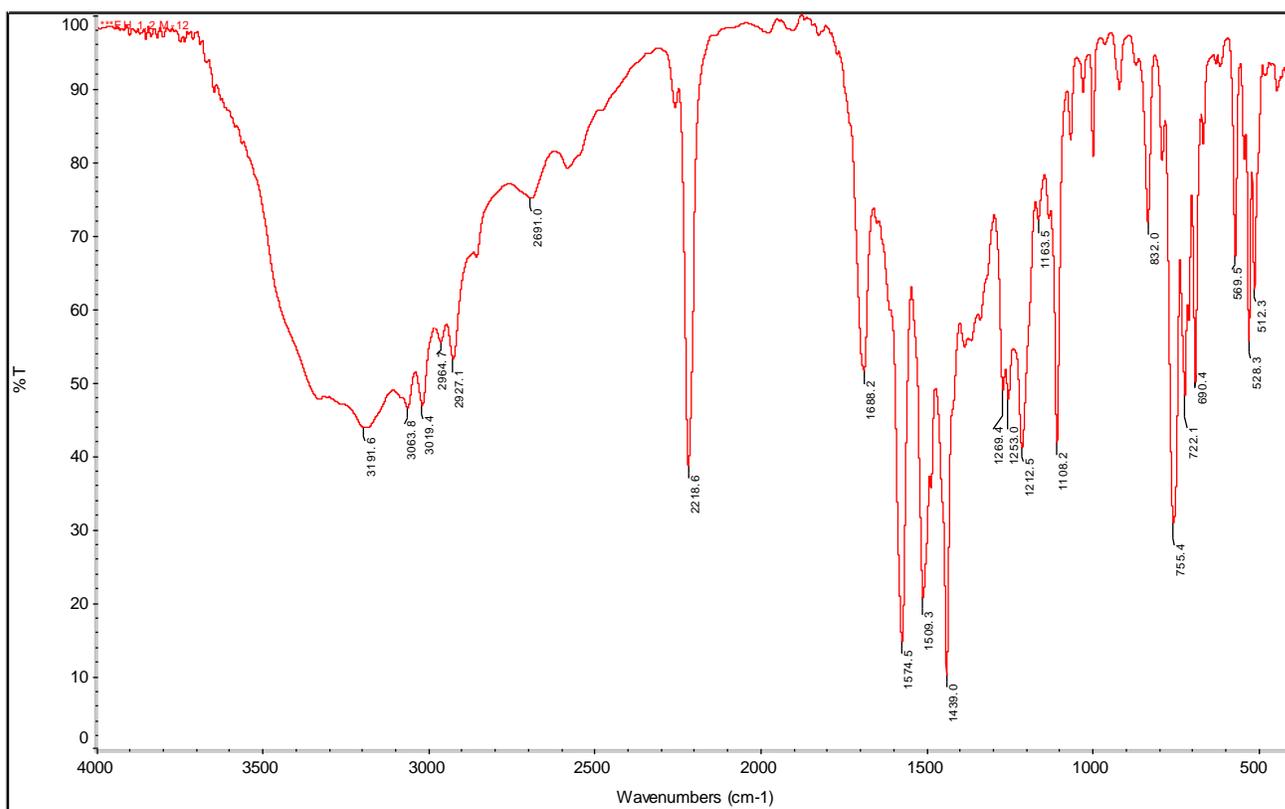
Por otro lado, si la sal de clorofosfonio (93) es atacado por el fenol, forma el intermediario (97) que puede formar dos posibles intermediarios, pasando por un par

iónico (99) o por un intermediario pentacoordinado (98), el cual permite mayor acercamiento entre el ácido cianoacético y el fenol o hidroquinona, promoviendo el ataque nucleofílico del fenol al carbono carbonílico del ácido mediante un posible estado de transición cíclico (100), en el cual la ruptura y formación del enlace puede ser concertado o no, obteniendo el cianoacetato de fenilo correspondiente y óxido de trifenilfosfina.^{20,22.}

En la esterificación del fenol con trifenilfosfina, se obtuvo un aceite amarillo que identificó por IR como el acetato de fenilo. Se observó las mismas bandas que en el espectro 6. Una banda intensa y delgada en 1732 cm^{-1} , correspondiente a la vibración del enlace carbonílico C=O del éster, y una banda delgada de intensidad intermedia en 1261 cm^{-1} correspondiente al sistema R-(C=O)-O-R del éster, además se observó unas series de banda intensa y aguda en 2957 cm^{-1} , 2922 cm^{-1} y 2852 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace $\text{C}_{(\text{sp}^3)}\text{-H}$ de los hidrógenos alifáticos α al carbonilo del éster, la intensidad de estas bandas pueden estar asociadas a impurezas en el compuesto. Por último, se observaron dos banda en 3071 cm^{-1} y 3054 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace $\text{C}(\text{sp}^2)\text{-H}$ aromáticos y en 722 cm^{-1} y 693 cm^{-1} correspondiente a un compuesto aromático monosustituido, por otra parte no se observó la banda del nitrilo en los 2200 cm^{-1} , por eso se propone como como posible estructura el acetato de fenilo (90).

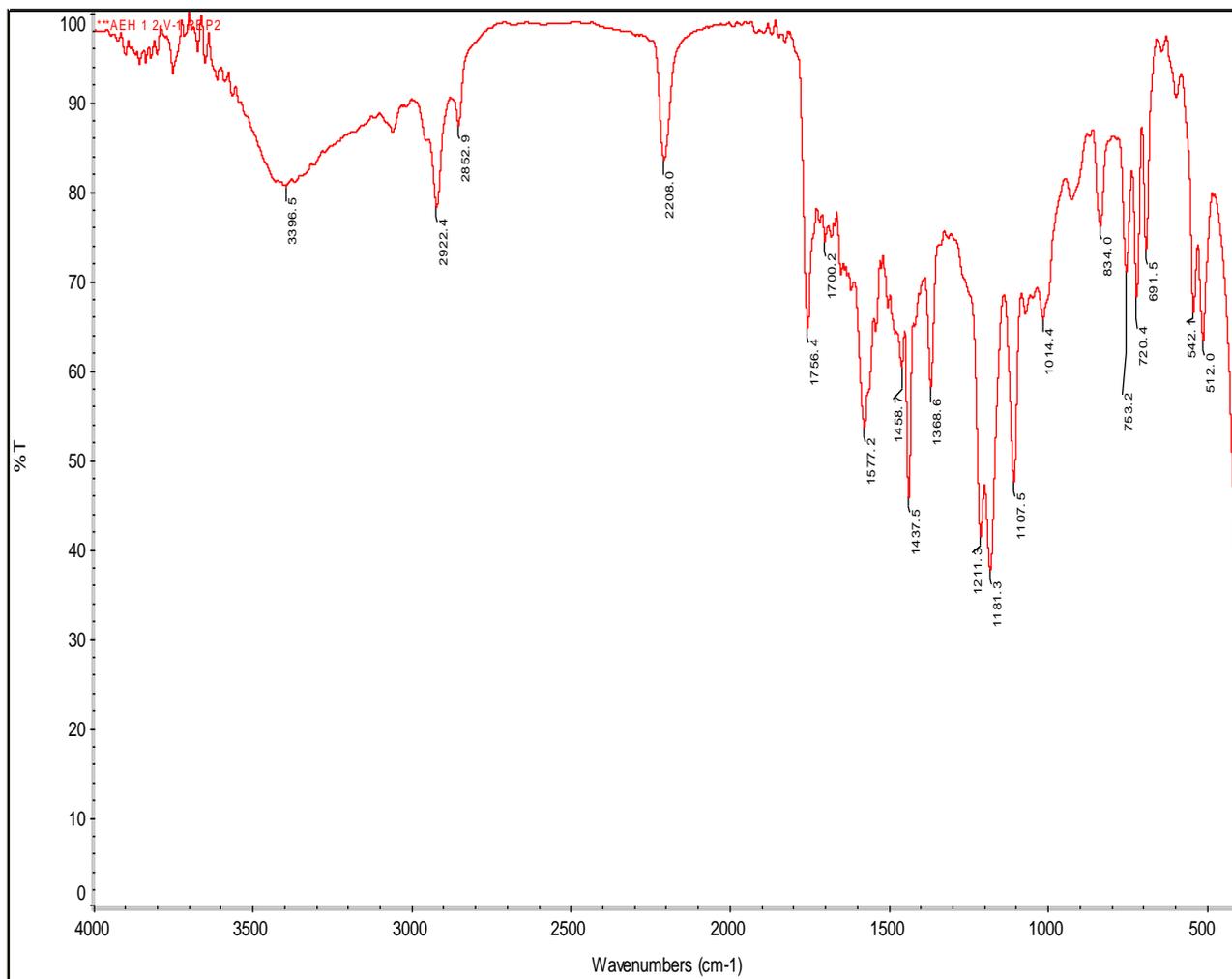
Por el contrario, en la esterificación de la hidroquinona no se aisló el éster correspondiente como en las anteriores esterificaciones, sino se obtuvo en un solo paso la cumarina correspondiente. El compuesto aislado de la columna fue un sólido marrón, el cual fue identificado por IR. En el espectro 11, se observó un ensanchamiento en 3500 cm^{-1} y 3000 cm^{-1} , lo sugiere que el sólido no estaba totalmente puro, además esta banda podría asignarse al estiramiento del enlace N-H; una banda en 1269 cm^{-1}

correspondiente a la vibración del enlace C-N de la amina y unas bandas en 755 cm^{-1} cm^{-1} - 690 cm^{-1} correspondiente a la vibración en abanico del enlace N-H de la amina, también se observó una banda intensa y delgada en los 1688 cm^{-1} , correspondiente a la vibración del enlace carbonílico C=O del éster conjugado, una banda aguda de intensidad intermedia en 1212 cm^{-1} correspondiente al sistema R-(C=O)-O-R del éster. Por último, se observó una banda aguda en 2927 cm^{-1} y 2964 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace $\text{C}(\text{sp}^3)\text{-H}$ de los hidrógenos α al carbonilo del éster, por otro lado se observó una banda aguda de intensidad intermedia en 2218 cm^{-1} correspondiente a la vibración del triple enlace del nitrilo ($\text{C}\equiv\text{N}$), lo que indica que el compuesto podría ser la 4-amino-6-hidroxycumarina (67) y estar contaminado con el material de partida o tratarse del 6-cianoacetato de 4-aminocumarilo (105), Para estar seguro de la estructura de la 4-aminocumarina, se realizó la acetilación del grupo amino.



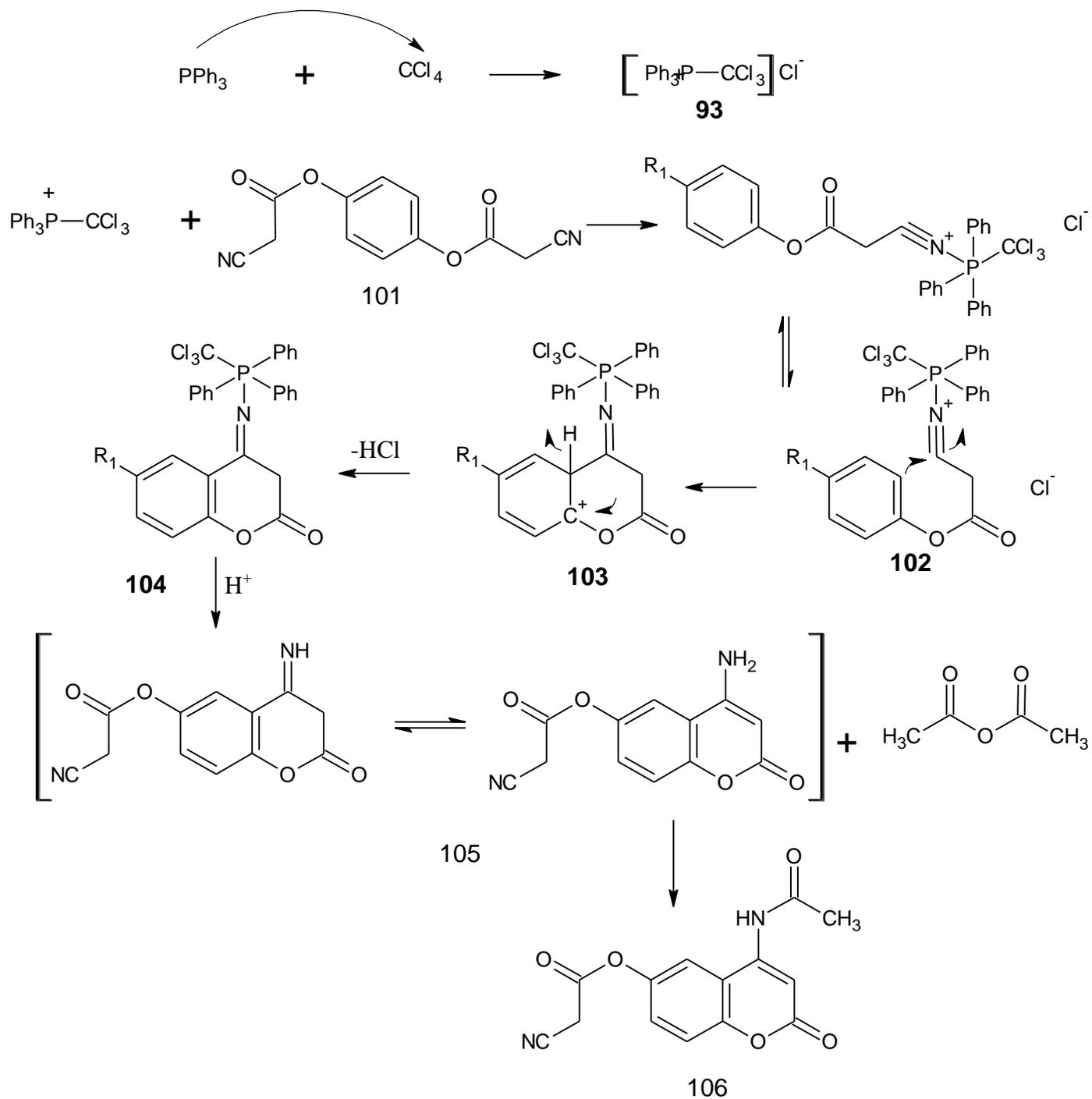
Espectro 11. IR del 6-cianoacetato de 4-aminocumarilo

El espectro de IR 12, corresponde a la acetilación del cumarina anterior, en el cual se observaron las bandas características de amidas secundarias, la banda en 3396 cm^{-1} corresponde a la vibración de estiramiento N-H; un banda ancha de intensidad intermedia en 1577 cm^{-1} correspondiente a la banda de amida I y II debido al estiramiento del enlace C=O y flexión del enlace N-H, las vibraciones en los 834 cm^{-1} - 691 cm^{-1} en forma de abanico corresponde a la flexión fuera del plano del enlace N-H, también se observaron las bandas características del éster en 1756 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace (C=O) carbonílico del éster saturado de la lactona, dos bandas de intensidad intermedia en 1211 cm^{-1} y 1190 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace C-O del éster. Por otro lado se observó la banda en 2208 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace (C≡N) del nitrilo. Indicando que se obtuvo la 6-cianoacetato de 4-acetamida-N-cumarilo (106), correspondiente a la acetilación del 6-cianoacetato de 4-aminocumarilo (105).



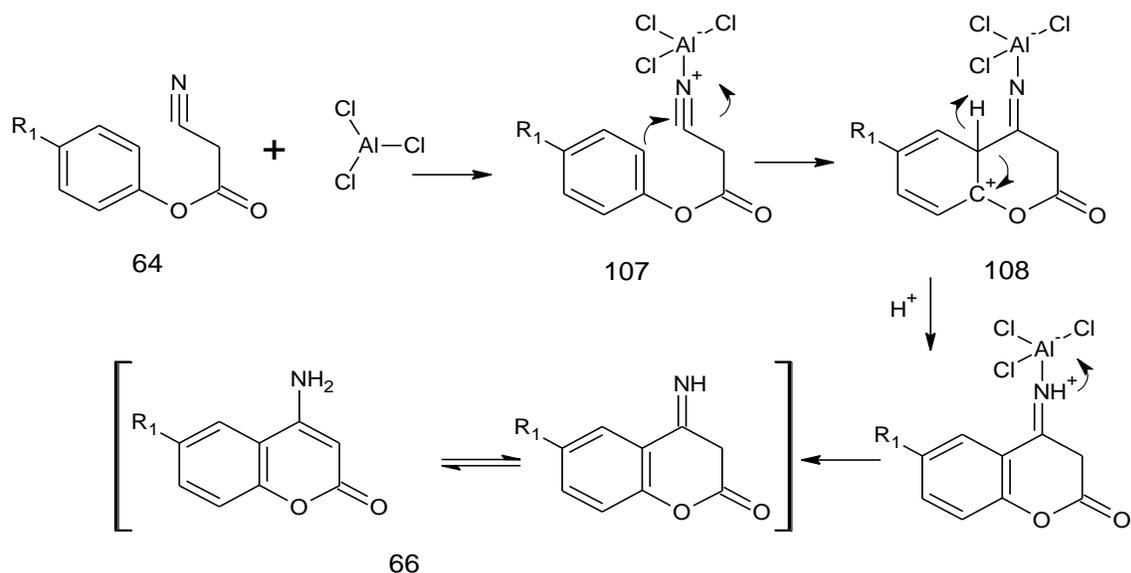
Espectro 12. IR del 6-cianoacetato de 4-acetamida-N-cumarilo

El mecanismo propuesto para la síntesis del 6-cianoacetato de 4-aminocumarilo (105), es como primer paso la diesterificación de la hidroquinona, formado el cianoacetato de 1,4-fenileno (101), seguido del acoplamiento con la sal de clorofosfonio (85) formando un par iónico (102), el cual promueve la sustitución electrofílica aromática SEA formando el complejo sigma (103) y por último la salida del protón promovida por el cloruro (104), obteniendo finalmente la cumarina correspondiente (105).



Esquema 38. Mecanismo de reacción de la ciclación intramolecular con $\text{PPh}_3/\text{CCl}_4$

6.1.2. Ciclación intramolecular con catalizador tipo Lewis



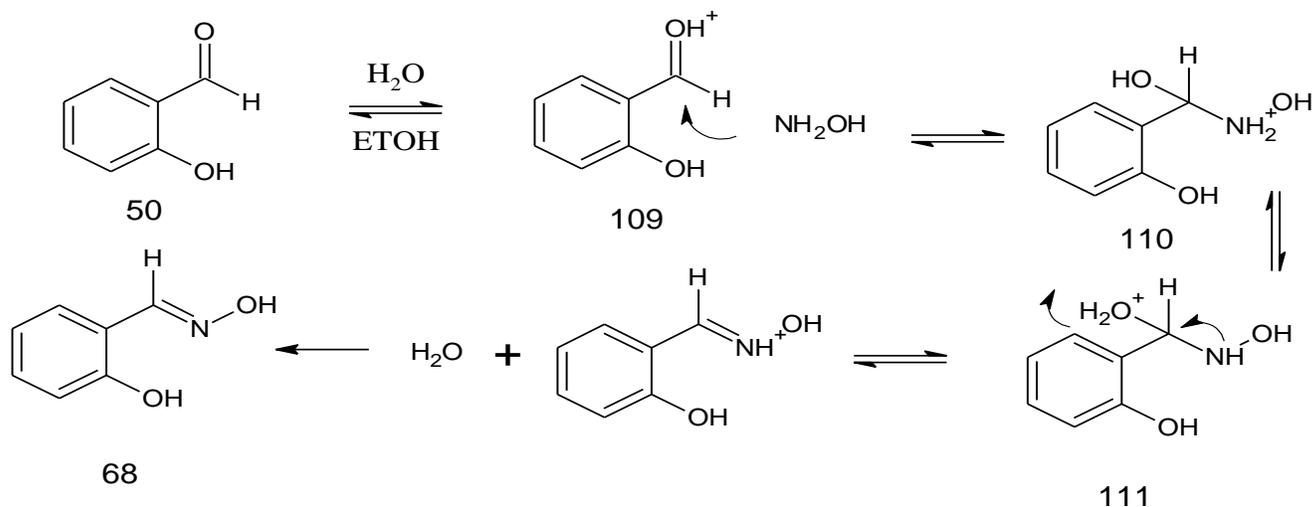
Esquema 39. Mecanismo de reacción de la ciclación con un ácido de Lewis

La ciclación intramolecular fue promovida por el tricloruro de aluminio que es un catalizador ácido tipo Lewis, el cual se acompleja al nitrilo del cianoacetato de fenilo (107), haciéndolo más electrofílico, promoviendo la sustitución electrofílica aromática (SEA) y la formación del complejo sigma (108), finalmente por la adición del ácido se desacopla el catalizador y por equilibrio tautomérico, se obtiene la 4-aminocumarina correspondiente (66).

No se obtuvo suficiente producto debido a que la separación y purificación del producto fue muy engorroso

6.2. Ruta 2. Síntesis de 4-amino cumarinas por acetilación de O-cianofenol con anhídrido acético y posterior ciclación usando NaH

6.2.1 Formación de la oxima del salicilaldehído

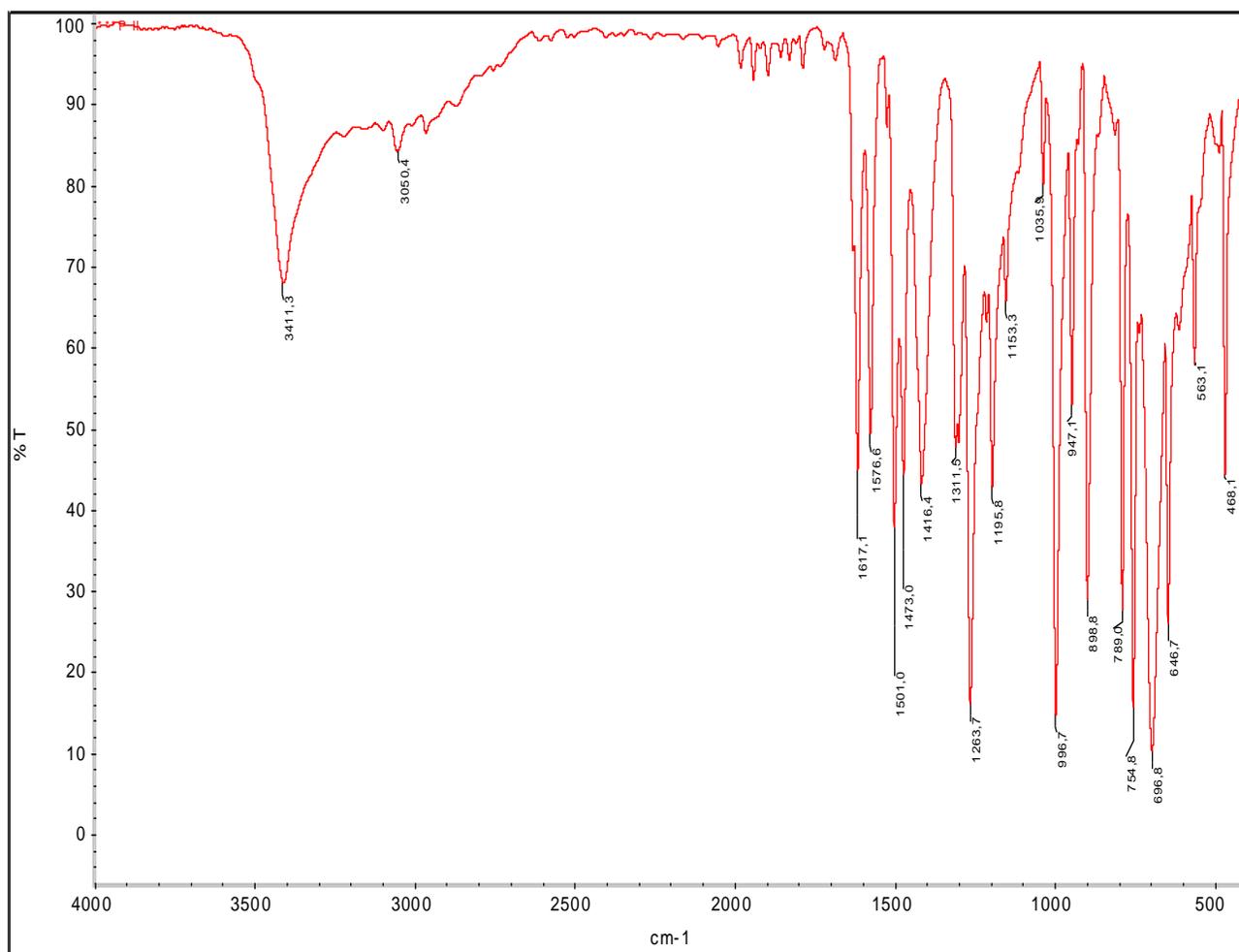


Esquema 40. Mecanismo de reacción de formación de oxima

Se realizó la síntesis de la oxima en un medio débilmente ácido, para aumentar el carácter electrofílico del carbono carbonílico del salicilaldehído(109), haciéndolo más susceptible al ataque nucleofílico de la hidroxilamina, pasando por un estado intermediario tetraédrico (110), en el cual ocurre un equilibrio ácido-base interno (111) y posteriormente la eliminación del agua, obteniendo finalmente la oxima correspondiente (68) con un rendimiento del 92%

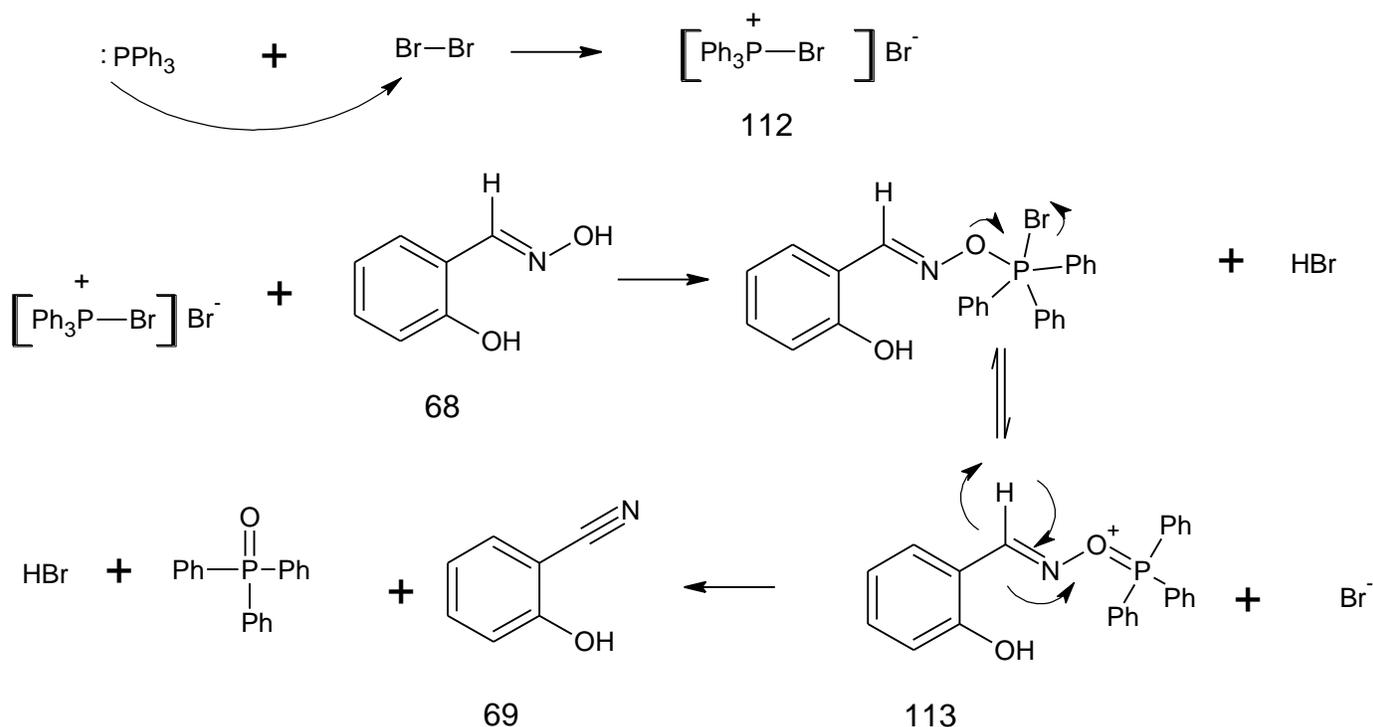
Se identificó el producto por espectroscopia de infrarrojo, espectro 13. Se observan las bandas correspondientes a la oxima: una banda de intensidad intermedia en 3411 cm⁻¹ correspondiente al estiramiento del enlace O-H que se encuentra formando puente de hidrógeno intramolecular, una banda 1617 cm⁻¹ correspondiente a

la vibración del enlace C=N de la oxima aromática, una banda en 1473 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace O-H de la oxima y una banda en 996 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace N-O de la oxima, también se observa la banda del fenol en 1263 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace O-H. Además, no se observó las señales del aldehído como la resonancia de Fermi, ni la señal del carbonilo (C=O), por eso se concluyó que se obtuvo la oxima de salicilaldehído, también se confirmó la estructura por el punto de fusión, el obtenido fue $(50-54 \pm 2)^\circ\text{C}$ y el valor reportado es de $55-59^\circ\text{C}$.



Espectro 13. IR de la Oxima de salicilaldehído

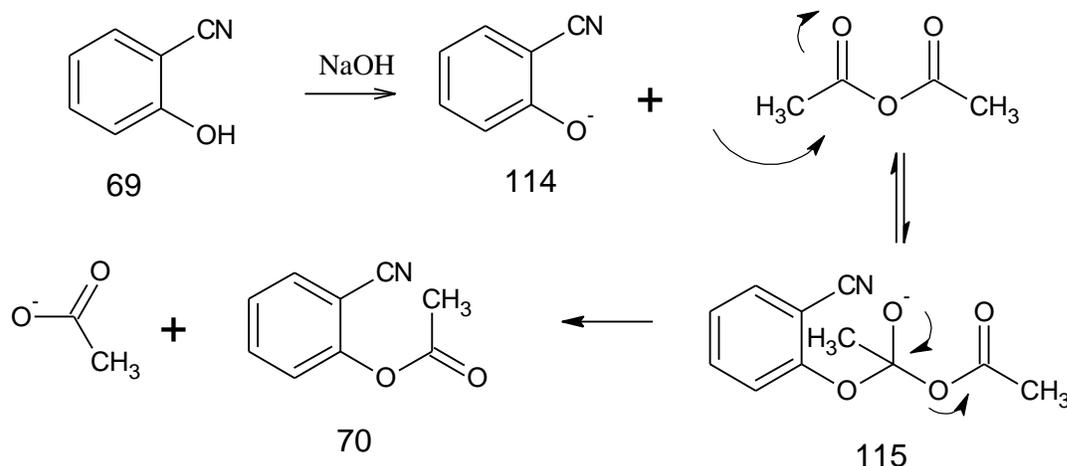
6.2.2 Formación del o-cianofenol



Esquema 41. Mecanismo de reacción de formación del O-cianofenol

La formación del o-cianofenol, consiste en la deshidratación de la oxima, mediante la catálisis acoplante con trifenilfosfina. Como primer paso ocurre la formación del par iónico (112), seguido del ataque nucleofílico de la oxima, formando el intermediario (113). Finalmente, ocurre la eliminación concertada del protón promovida por el bromuro y el óxido de trifenilfosfina para la formación del nitrilo, obteniendo así el o-cianofenol (69).

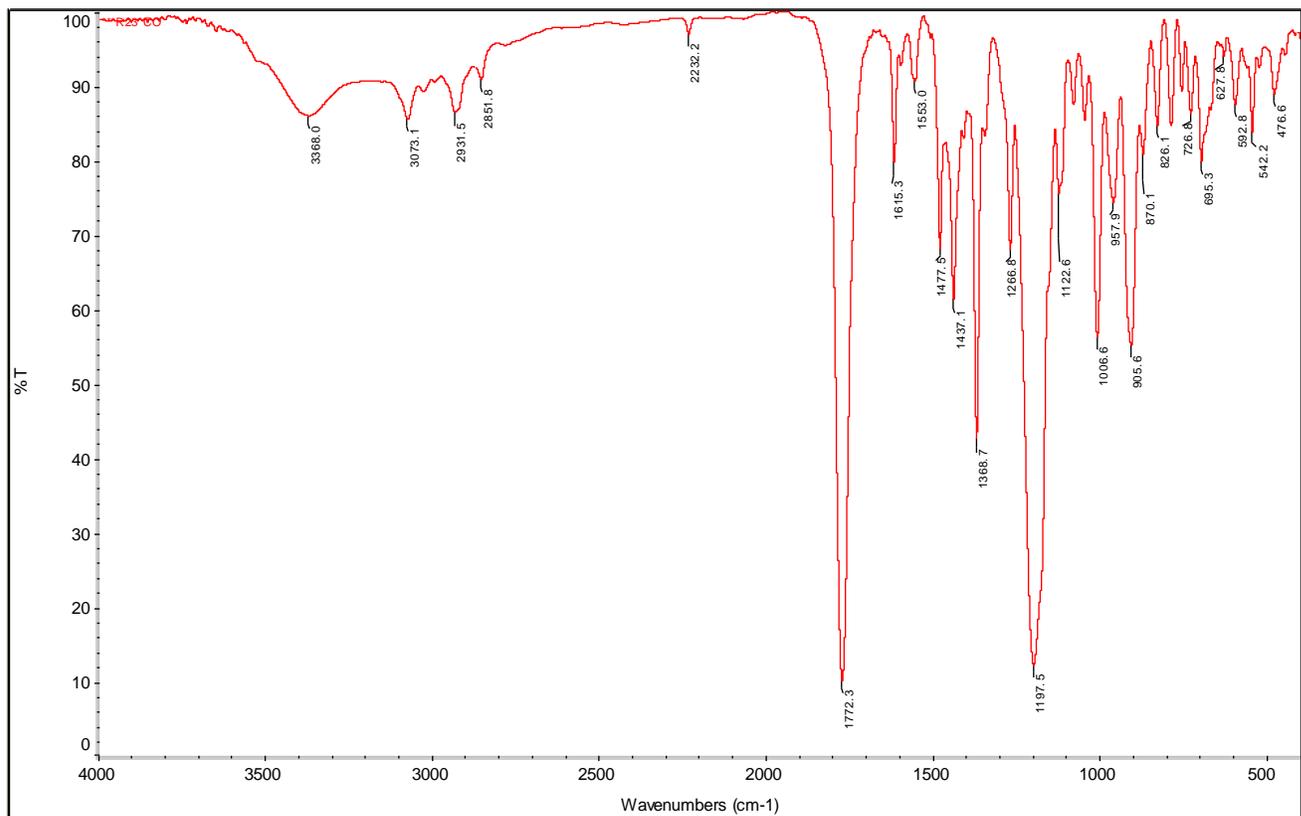
6.2.3 Acetilación del o-cianofenol



Esquema 42. Mecanismo de reacción de acetilación del O-cianofenol

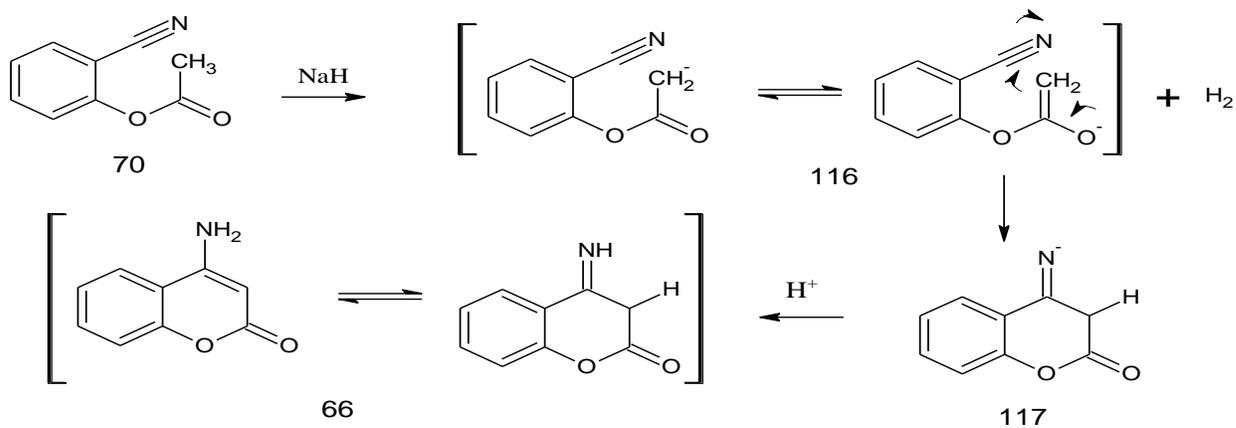
Se realizó la acetilación en un medio básico, para formar el fenóxido (114) y favorecer el ataque nucleofílico al carbono carbonílico del anhídrido, este pasa por un estado intermediario (115) y posteriormente ocurre la eliminación del acetato, que es un buen grupo saliente, obteniendo el acetato de 2-cianofenilo (70)

Se identificó el producto por espectroscopia de infrarrojo como el acetato de 2-cianofenilo. En el espectro 14, se observó una banda aguda y de baja intensidad en 2232 cm^{-1} correspondiente a la vibración del triple enlace del ciano ($\text{C}\equiv\text{N}$), también se observó una banda intensa y aguda en 1772 cm^{-1} , correspondiente a la vibración del enlace carbonílico $\text{C}=\text{O}$ del éster, una banda aguda e intensa en 1197 cm^{-1} correspondiente a sistemas $\text{R}-(\text{C}=\text{O})-\text{O}-\text{R}$ del éster, y por último se observó una banda en 2931 cm^{-1} y 2851 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace $\text{C}_{(\text{sp}^3)}-\text{H}$ de los hidrógenos alifáticos α al carbonilo éster.



Espectro 14. IR del acetato de 2-cianofenilo

6.2.4 Ciclación intramolecular con NaH

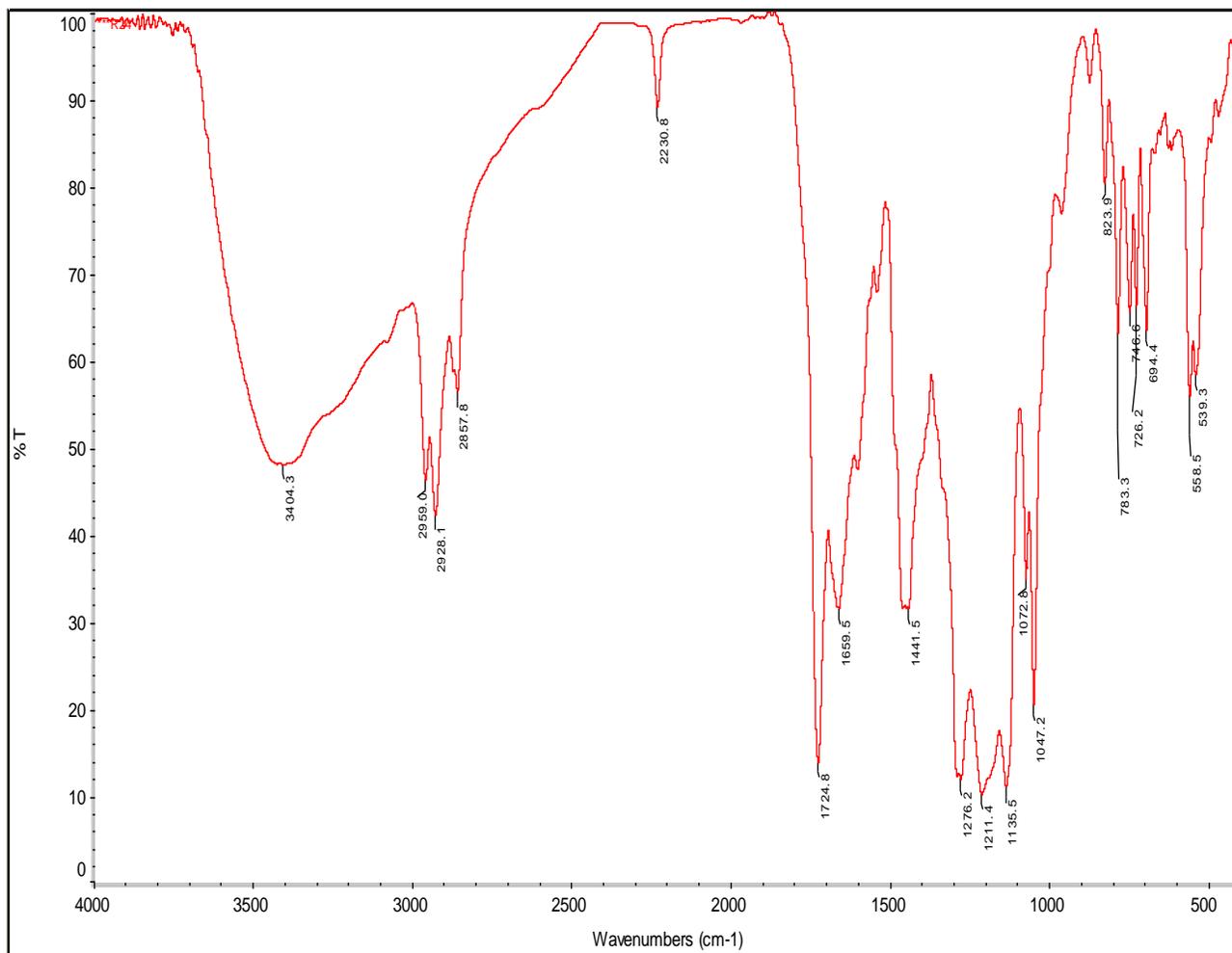


Esquema 43. Mecanismo de reacción de la ciclación intramolecular

La ciclación intramolecular fue promovida por una base fuerte como NaH, la cual abstrae el protón α del carbonilo del éster, formando el enolato, que es estabilizado por resonancia por el carbonilo, como se observa el intermediario (116), seguido del ataque nucleofílico al carbono del grupo ciano, promoviendo la ciclación intramolecular para formar el anillo de la pirona (117), finalmente por la adición del ácido y por equilibrio tautomérico se obtiene la 4-aminocumarina (66).

Se formó efervescencia, debido a la formación de hidrógeno gaseoso como subproducto de la reacción, indicando la formación del enolato. Al acidificar el medio de reacción, precipitó un sólido marrón correspondiente a la 4-aminocumarina, la purificación del sólido fue muy engorrosa debido a la dificultad de eliminar el solvente (DMSO).

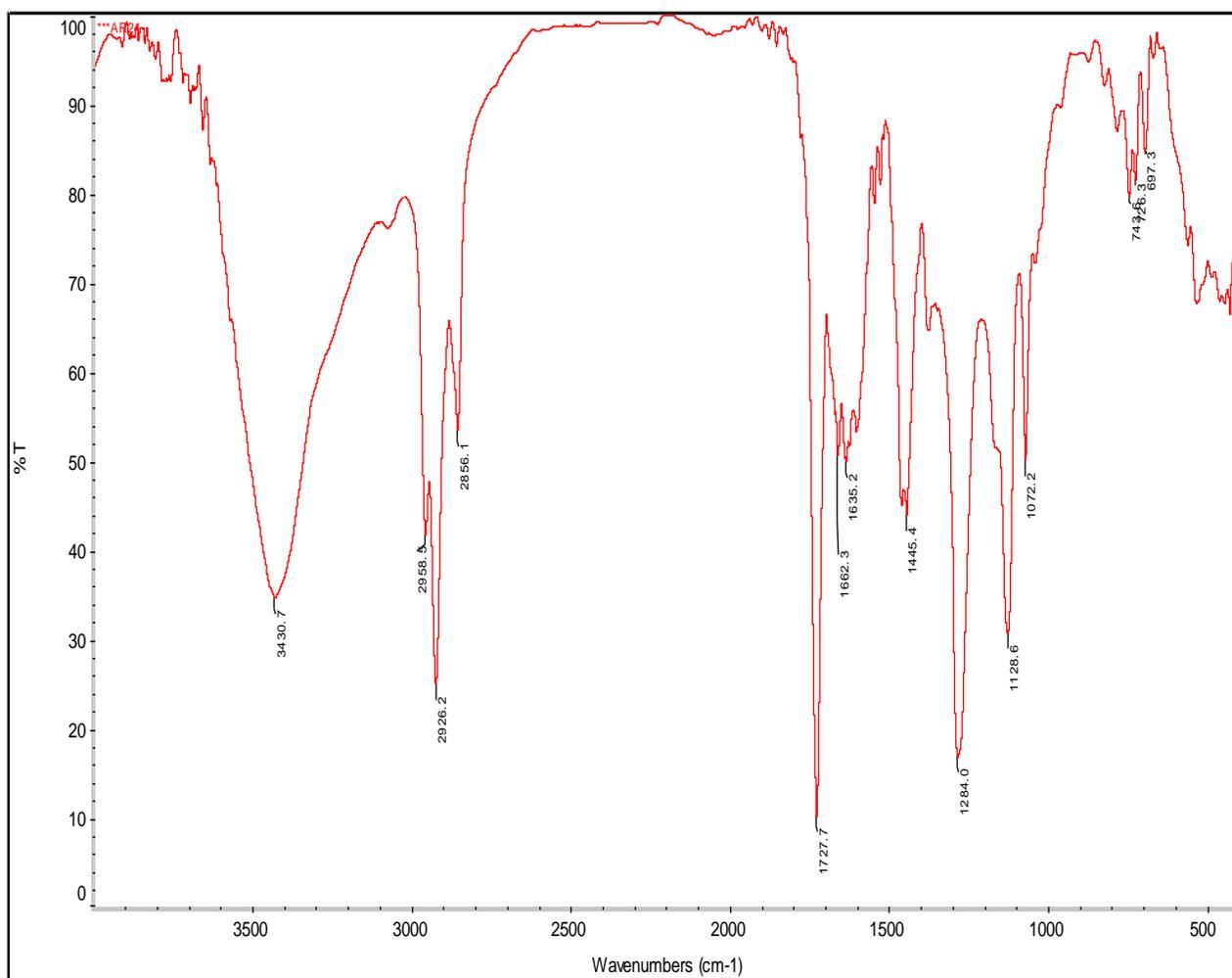
Se identificó el producto por espectroscopia de infrarrojo como 4-aminocuarina. En el espectro 15 se observa una banda ancha de intensidad intermedia en los 3404 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace N-H de la amina, una banda en los 1276 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace C-N y bandas delgadas de intensidad intermedia en 823 cm^{-1} - 694 cm^{-1} correspondiente a la vibración en abanico del enlace N-H de la amina. También se observó una banda en 1659 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace C=O del éster conjugado, formando la pirona y una banda intensa en 1211 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace C-O, del sistema C-(C=O)-O-C del éster. Por otra parte, se observó una banda en 1724 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace C=O del éster y una banda en 2230 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace C \equiv N del nitrilo, lo que indicaba la presencia de material de partida. De nuevo, se realizó la acetilación para comprobar la presencia del grupo amino.



Espectro 15. IR de la 4-aminocumarina

El espectro de IR 16 corresponde a la acetilación del 4-aminocumarina. Se observaron las banda características de amidas secundarias, la banda aguda e intensa en 3430 cm^{-1} corresponde a la vibración de estiramiento N-H; dos bandas en 1662 cm^{-1} y 1635 cm^{-1} corresponde a la banda de amida I y II debido al estiramiento del enlace C=O y flexión del enlace N-H y las vibraciones en los $800\text{ cm}^{-1} - 697\text{ cm}^{-1}$ en forma de abanico debido a la flexión fuera del plano del enlace N-H. También se observaron la bandas características del éster en 1729 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del

enlace (C=O) carbonílico del éster saturado de la lactona y una banda de intensidad intermedia en 1284 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace C-O del éster, además no se observó la banda del nitrilo, con eso se concluyó que se obtuvo la 4-acetamida N-cumarina (71), correspondiente a la acetilación de la 4-aminocumarina (66)



Espectro 16. IR del 4-acetamida N-cumarina

A continuación se observa en la tabla 6 un resumen del rendimiento de los productos obtenidos en cada paso de la ruta 2 para la obtención de la 4-aminocumarina.

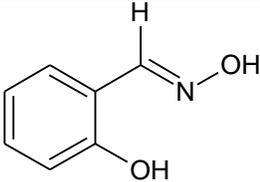
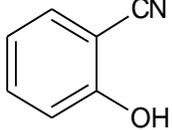
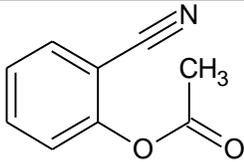
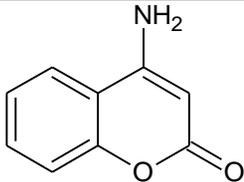
Reacción		Tiempo (h)	Rendimiento %
Oxima		2h	92
O-cianofenol		7 h 30 min	49
Acetilación		2 h	39
Ciclación		7 h	16

Tabla 6. Resumen de los intermediarios aislados en la ruta 2

Esta ruta es un método alternativo para la síntesis de 4-aminocumarina, aunque tiene mayor cantidad de pasos que la ruta 1, pero son pasos sencillos, con tiempo de reacción cortos y con buenos rendimientos, alrededor del 90-40%. Además se obtuvo un rendimiento del 16% de la 4-aminocumarina, en cambio por la otra ruta sólo obtuvo el 13%.

A continuación en la tabla 7, se muestra un resumen del rendimiento de los diferentes productos obtenidos por dos diferentes rutas sintéticas planteadas.

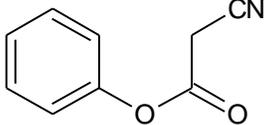
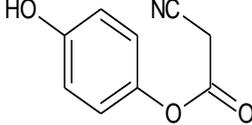
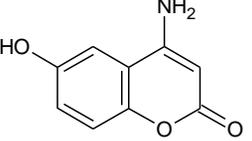
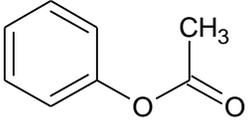
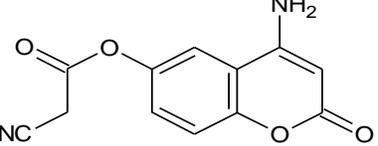
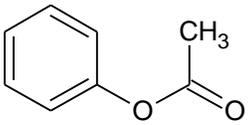
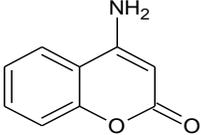
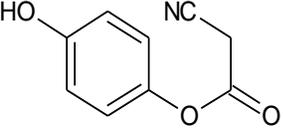
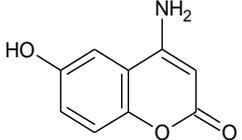
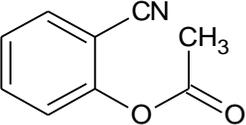
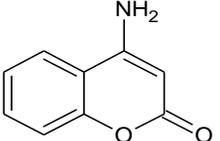
Ruta 1	Fenol		Hidroquinona	
	Éster	Cumarina	Éster	cumarina
Esterificación ácido oxálico	 9%	-	 15%	 11%
Esterificación trifenilfosfina	 7%	-	-	 10%
Transesterificación	 4%	 13%	 7%	 5%
Rutas 2	 39%			 16%

Tabla 7. Rendimiento de las cumarinas obtenida

7.0. CONCLUSIONES

- Las condiciones óptimas de la reacción de esterificación del fenol e hidroquinona con ácido cianoacético son: 30% del ácido oxálico y 16 horas de reacción.
- Se obtuvo en la esterificación con ácido oxálico el cianoacetato de 4-hidroxifenilo con un rendimiento del 15% y el cianoacetato de fenilo con un rendimiento del 9%.
- Tiempos de reacción más largos en la esterificación de hidroquinona con ácido oxálico favorece la ciclación, obteniendo 11% de la 4-amino-6-hidroxicumarina.
- Se sintetizó 4-aminocumarina y la 4-amino 6-hidroxicumarina con un rendimiento de 13% y 5% respectivamente por transesterificación y posterior ciclación en un procedimiento one pot.
- En la transesterificación del cianoacetato de metilo con ácido sulfúrico se obtuvieron productos colaterales como el acetato de fenilo y acetato de 4-hidroxifenilo producidos por hidrólisis del nitrilo y posterior descarboxilación.
- Se sintetizó 6-cianoacetato de 4-aminocumaril con un rendimiento del 10%, por esterificación de la hidroquinona con trifenilfosfina.
- No se obtuvo la 4-aminocumarina mediante la ciclación con tricloruro de aluminio.
- La trifenilfosfina es un buen catalizador para la esterificación, ciclación de cumarinas y deshidratación de oximas
- Se aislaron todos los intermediarios de la ruta dos con rendimientos del 92% para la oxima del salicilaldehído, 49% del o-cianofenol, 39% del 2-cianoacetato de fenilo y 16% de la 4-aminocumarina.

- Se obtuvo la 4-aminocumarina con un 16% rendimiento a partir del o-ciano fenol y 13% por transesterificación del fenol, por lo tanto la ruta 2 propuesta resulta ser un método alternativo más eficaz de obtener 4-aminocumarinas.
- La acetilación con anhídrido acético es un método alternativo para corroborar la obtención y purificación de 4-aminocumarinas.
- Las señales características del carbonilo del éster (C=O) de las 4-aminocumarinas es de 1680 cm^{-1} - 1650 cm^{-1} , debido a que el grupo amino ejerce un efecto de resonancia que se deslocaliza por todo el anillo de la pirona, debilita el enlace carbonílico y baja la frecuencia de absorción, en cambio para 4-acetamida N-cumarina, la señal del carbonilo del éster es de 1760 cm^{-1} - 1720 cm^{-1} debido a que no hay efecto de resonancia.

7.1. RECOMENDACIONES

- Esterificar el ácido cianoacético con una variedad de fenoles sustituidos con grupos atractores y dadores de densidad electrónica, para obtener una base de datos amplia de las 4-aminocumarinas.
- Esterificar el ácido cianoacético con el fenol usando como catalizador DCC/DMAP y $AlCl_3$.
- Sintetizar 4-aminocumarinas por método no convencionales como ultrasonido o microondas, para comparar y mejorar el rendimiento de la reacción.
- Optimizar las condiciones reacción para la obtención de la 4-aminocumarina a partir del o-cianofenol.
- Sintetizar 4-aminocumarinas con una variedad de o-cianofenol sustituidos
- Determinar la citotoxicidad de las 4-aminocumarinas obtenidas.
- Caracterizar las 4-aminocumarinas obtenidas por espectroscopia de UV.

8.0 ANEXOS

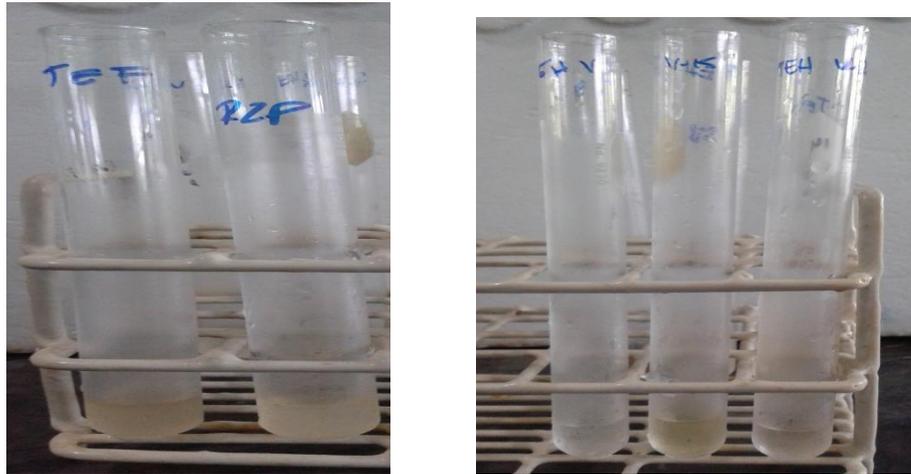


Imagen 1. Antes de la Diazotación – copulación de las 4-aminocumarina

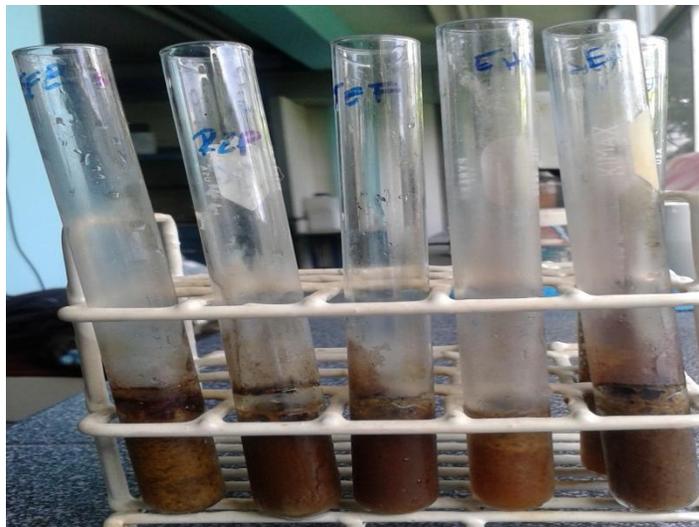


Imagen 2. Después de la diazotación- copulación de las 4-aminocumarina

EH: Esterificación hidroquinona

TEF: transesterificación fenol

TEH: Transesterificación hidroquinona

R2P: Ruta 2

9.0 REFERENCIAS

1. Arango, G. **Introducción al metabolismo secundario. Compuestos derivados del ácido shikímico.** Universidad de Antioquia. Medellín (2010).
2. Cueva Q, Mercedes M. **Utilización para la radiación de microondas para la síntesis de cuatro cumarinas mediante condensación de knoevenagel.** Escuela politécnica nacional. Quito (2013).
3. Borgues F, Roleira F, Santana L, Uriarte E. **Simple Coumarins and Analogues in Medicinal Chemistry: Occurrence, Synthesis and Biological Activity.** Current medicinal chemistry.(2005).
4. A. V. Lozhkin and E. I. Sakanyan. **Structure of chemical compounds, methods of analysis and process control natural coumarins: methods of isolation and analysis (2006).** Pharmaceutical Chemistry Journal. Vol. 40, No. 6, pp. 47 – 56.
5. Biljana D, Vidoslav D, Niko R, Rastko V,Radosav P. **Synthesis of new antimicrobial 4-aminosubstituted 3-nitrocoumarins.** Department of Chemistry, Faculty of Science and Mathematics, University of Priština, Lole Ribara 29, 38220 Kosovska Mitrovica, Serbia. (2009).
6. Jyotirmaya Sahoo, M. Pharm and P. Sudhir Kumar. **Biological evaluation and spectral characterization of 4-hydroxy coumarin analogues.** Department of Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmaceutical Sciences, Siksha 'O' Anusandhan University, Bhubaneswar, Odisha, India(2014)
7. Hamdi N, Saoud, M; Romerosa, A. Borj. **4-Hydroxy Coumarine: a Versatile Reagent for the Synthesis of Heterocyclic and Vanillin Ether**

- Coumarins with Biological Activities** Cedria Higher Institute of Sciences and Technology of Environment, Ecopark of Borj Cedria Touristic road of Soliman, Tunisia (2007).
8. Manjunath G, Kusanur b R, Kulkarni M. **Synthesis and in vivo analgesic and anti-inflammatory activity of some bi heterocyclic coumarin derivatives.** Department of Pharmaceutical Chemistry, Krupanidhi College of Pharmacy Bangalore-Department of Chemistry, Karnatak Univesity, Dharwad, India (2005).
 9. V. L. Savel'ev, N. T. Pryanishnikova, O. S. Artamonova, I. V. Fedina, and V. A. Zagorevskii. **Synthesis and pharmacological. Activity of 4-amino-3-nitrocoumarins.** Institute of Pharmacology, Academy of Medical Sciences of USSR, Moscow(1975) Vol. 9, No. 6, pp. 10-12
 10. Jacquot Y, Ioanna L, Cleeren A, Nonclercq D, Bermont J, Bernard Refouvelet, a Thakur, R. Singla, V. Jaitak, **Coumarins as anticancer agents: A review on synthetic strategies, mechanism of action and SAR studies.** European Journal of Medicinal Chemistry(2015)
 11. Borges, G; Da Rocha, D; Medina, A; Von Poserb, G; Lamuela, R; Eifler V y Garciaa, S. **The Antioxidant Activity of Coumarins and Flavonoids.** Toxicology Laboratory, Department of Clinical and Toxicological Analysis, , Federal University of Rio Grande, Medicinal Organic Synthesis Laboratory. Barcelona Spain.(2013).
 12. Lee B, So Yong L, Hwa Jeong L, Gwan-Sub S, Jin-Hui K, Jin-Hwa K, Young-Ho C , Dong-Hwan L, Hyeong-Bae P, Tae-Boo C, Dong M, Yeo Pyo Y, and Tae H, J. **Anti-oxidative and Photo-protective Effects of Coumarins Isolated Fraxinus chinensis.** College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea, 1R&D Center, Hanbul Cosmetics Co.(2007)

13. Bourgaud F, Hehn A, Larbat R, Doerper S, Gontier E, Kellner S, Mater U. **Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes** (2006)
14. Yang, S; Shim, G; Kim, B y Ahn, J. **Biological synthesis of coumarins in Escherichia coli**. Microbial Cell Factories (2015).
15. Garazd, M; Garazd L y Khilya V. **Neoflavones. Methods for synthesizing and modifying 4-arylcoumarins**. Chemistry of Natural Compounds, Vol. 41, No. 3 (2005).
16. Majid M. Heravi¹, Soheila Khaghaninejad, Manizhe Mostofi. **Pechmann Reaction in the Synthesis of Coumarin Derivatives** Department of Chemistry, School of Sciences, Alzahra University, Vanak, Tehran, Iran
17. López P, A J; Bejblova', M; Fedorov A, J C; Yu Nyuchev A, V y Beletskaya I, P. **Catalytic methods of creation and functionalization of the coumarin skeleton**. Chemistry of Heterocyclic Compounds, Vol. 48, No. 1, April, 2012 Russian Original Vol. 48, No. 1, January, (2012)
18. Jacquot Y, Laios I, Cleeren A, Nonclercq D, Bermont L, Refouvelet B, Boubekeur K, Xicluna A, Leclercq G y Laurentd G. **Synthesis, structure, and estrogenic activity of 4-amino-3-(2-methylbenzyl)coumarins on human breast carcinoma cells**. Bioorganic & Medical Chemistry. (2007)
19. Guevara P, Cabrera G. **Síntesis de 3-cianocumarinas sustituidas. estudio de modelaje molecular** (UCV). Caracas (2009)
20. Pérez, E; Cabrera, G. **Estudio de catalizadores de tipo ácido de Lewis para la ciclación de esteres y obtención de cumarinas**. Universidad central de Venezuela (UCV). Caracas 2010.
21. Romero, I; Cabrera G. **Síntesis de cumarinas sustituidas**. Universidad central de Venezuela. caracas (2015).
22. Cabrera G. **Síntesis y estudio biológico de 4-aminoquinolinas sustituidas**. Universidad Central de Venezuela (1998).

23. Márquez, C; Cabrera G. **Síntesis de 4-aminoquinolinas promovidas por ácidos de Lewis**. Universidad central de Venezuela (1999)
24. Gutiérrez S, C; Calvino C, V; E. Pérez M, E; Martín A, R. **Coumarins Preparation by Pechmann Reaction Under Ultrasound Irradiation. Synthesis of Hymecromone as Insecticide Intermediate**. (2009).
25. Otera, J; Nishikido, J. **Esterification Methods, reactions and applications**. Wiley-vch. 2010.
26. Vogel, A. **Elementary practical Organic chemistry. Part I. Small scale preparations**. (1957)
27. Darvish F, Movassagh B *, Masoud. **Triphenylphosphine dibromide: A useful reagent for conversion of aldoximes into nitriles**. Toosi University of Technology, P.O. Tehran, Iran (2012).
28. Denton R, An J, Lindovska P, Lewis W. **Phosponium salt-catalysed synthesis of nitriles from in situ activated oximes**. School of Chemistry University of Nottingham, University Park, Nottingham.(2012)
29. Wade, L. **Química Orgánica**. 5ta Edición. Pearson educación, S.A. Madrid. (2004).
30. Silverstein, R; Webster, F; Kiemle, D. **Spectrometric Identification of Organic compounds**. Seventh edition. John Wiley & Sons, INC. (2005) New York.
31. E. Pretsch, P. Bühlmann, M. Badertscher. **Structure determination of organic compounds. Tables of spectral data**. Springer. Ed 4^a (2009).