

MEMORIA FINAL

IMPLANTACIÓN DE PRÁCTICAS QUE INCLUYEN METODOLOGÍAS ACTUALES EN LOS PROCESOS DE OBTENCIÓN DE FÁRMACOS

DEPARTAMENTO: CIENCIAS FARMACÉUTICAS

AREA: QUÍMICA FARMACÉUTICA

CURSO: 2016/2017

PROGRAMA DE FINANCIACIÓN DE PRÁCTICAS DOCENTES SINGULARES EN TITULACIONES DE GRADO O MÁSTER

REGISTRO UNICO
UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

ENTRADA

006 Nº. 201700024994

29/06/2017 13:27:29

INTRODUCCIÓN

La solicitud planteada en esta convocatoria se incluye en el apartado de Innovación en metodologías docentes para clases prácticas en laboratorios de Química Orgánica y Química Farmacéutica.

En primer lugar, manifestar que los resultados logrados, que pueden derivar de la concesión de este proyecto, se pueden considerar solamente desde el punto de vista parcial pues las clases prácticas comenzaron antes de la resolución del mismo.

Sin embargo, no consideramos que esto sea un inconveniente sino todo lo contrario pues la concesión del mismo ha beneficiado a estudiantes de este curso académico y redundará en gran medida en la mejora de las prácticas del primer cuatrimestre del curso 2017/2018.

RESULTADOS OBTENIDOS

Los estudiantes de Grado en Farmacia y Grado en Biotecnología y los pertenecientes a los másteres, Máster en Evaluación y Desarrollo de Medicamentos y Máster en Química y Farmacia de Productos Naturales, desarrollan las prácticas en los laboratorios del edificio anexo a la Facultad de Farmacia asignados a la unidad de Química Farmacéutica.

1.- Estudios de Grado. Materias Optativas

De los estudiantes matriculados en los grados respectivos, 149 corresponden a estudiantes que han realizado asignaturas optativas y que son las que hemos considerado para este proyecto.

Tabla 1 ASIGNATURAS OPTATIVAS IMPLICADAS

Titulación	Asignaturas	Alumnos 2016-17	Material solicitado
Grado en Farmacia Optativas	Síntesis de fármacos	12	<ul style="list-style-type: none">• Síntesis asimétrica• Evaporación• Cromatografía• Disolventes RMN
	Química de compuestos naturales	61	<ul style="list-style-type: none">• Evaporación• Cromatografía• Disolventes RMN
	Análisis de medicamentos	63	<ul style="list-style-type: none">• Evaporación• Cromatografía• T^a de fusión de sólidos• Disolventes RMN
Grado en Biotecnología Optativa	Metabolitos secundarios	13	<ul style="list-style-type: none">• Evaporación• Cromatografía• Disolventes RMN

Como se observa en la Tabla 1, en todas estas asignaturas se utiliza una serie de procedimientos comunes y otros específicos para cada caso esto implica el uso de material común en los procedimientos de separación y purificación por cromatografía correspondiente a placas cromatográficas, sílice; en algunos casos se ha hecho uso de Sephadex LH-20 para separar compuestos de bajo peso molecular en función de su tamaño molecular.

En todas estas prácticas se han realizado espectros de RMN de protón y carbono con el fin de que los estudiantes aprendan la preparación de muestras en disolventes deuterados, a elegir en función de su polaridad cloroformo (menos polar) o más polares como metanol o DMSO. Posteriormente se les ha enseñado y explicado el fundamento del aparato donde se realizan, el procedimiento de adquisición para pasar a su registro e interpretación de los resultados. Para realizar este punto tan interesante de las prácticas que permite aprender la elucidación estructural de los compuestos se trabaja en grupos de unos 10 estudiantes como máximo.

Se incluyen en la memoria algunas fotocopias de los espectros de RMN¹H y ¹³C realizados como evidencias de las actividades realizadas.

En la asignatura **Síntesis de fármacos** y también como consecuencia de un proyecto de innovación docente concedido, este curso se ha introducido una nueva metodología basada en el aprendizaje mediante la realización de casos prácticos. Los estudiantes han diseñado los experimentos a realizar en las clases prácticas. En las mismas han efectuado la preparación de lorazepam y lidocaína. Como evidencia se adjunta el guión elaborado por un estudiante en el que se muestra la realización experimental de la misma (Evidencia 1).

En la asignatura **Análisis de medicamentos** se aplican diversas técnicas para la identificación y caracterización de los principios activos presentes en un medicamento, aplicando la normas exigidas por la Real Farmacopea Española. Así por ejemplo, se realiza el reconocimiento y caracterización de paracetamol, para ello se utilizan técnicas

cromatográficas, punto de fusión de material de partida (Pf = 179 °C) y de los derivados obtenidos y se realizan sus espectros de RMN.

Metabolitos secundarios, asignatura del Grado en Biotecnología, los estudiantes realizan la identificación de los productos aislados de plantas y proceden a la comparación con patrones puros y a la determinación del porcentaje en el extracto (Evidencia 2). De forma similar se trabaja en **Química de compuestos naturales**.

Utilidad de los resultados

Con la realización de estas prácticas nos hemos asegurado de que los estudiantes adquieran las competencias que figuran en las fichas correspondientes y que se pueden agrupar en los siguientes términos:

- 1.- Trabajar correctamente en un laboratorio utilizando las metodologías más adecuadas para la manipulación de reactivos y aparataje, el registro anotado de resultados, la seguridad, y la eliminación de residuos.
- 2.- Adquirir conocimientos y capacidad para manipular, analizar y controlar la calidad, de materias primas y de medicamentos.
- 3.- Diseñar, realizar y analizar experimentos y/o aplicaciones mediante la aplicación del método científico para la resolución de problemas.
- 4.- Contribuir a la investigación básica, al desarrollo tecnológico y a la innovación de medicamentos.

2.- Estudios de Máster

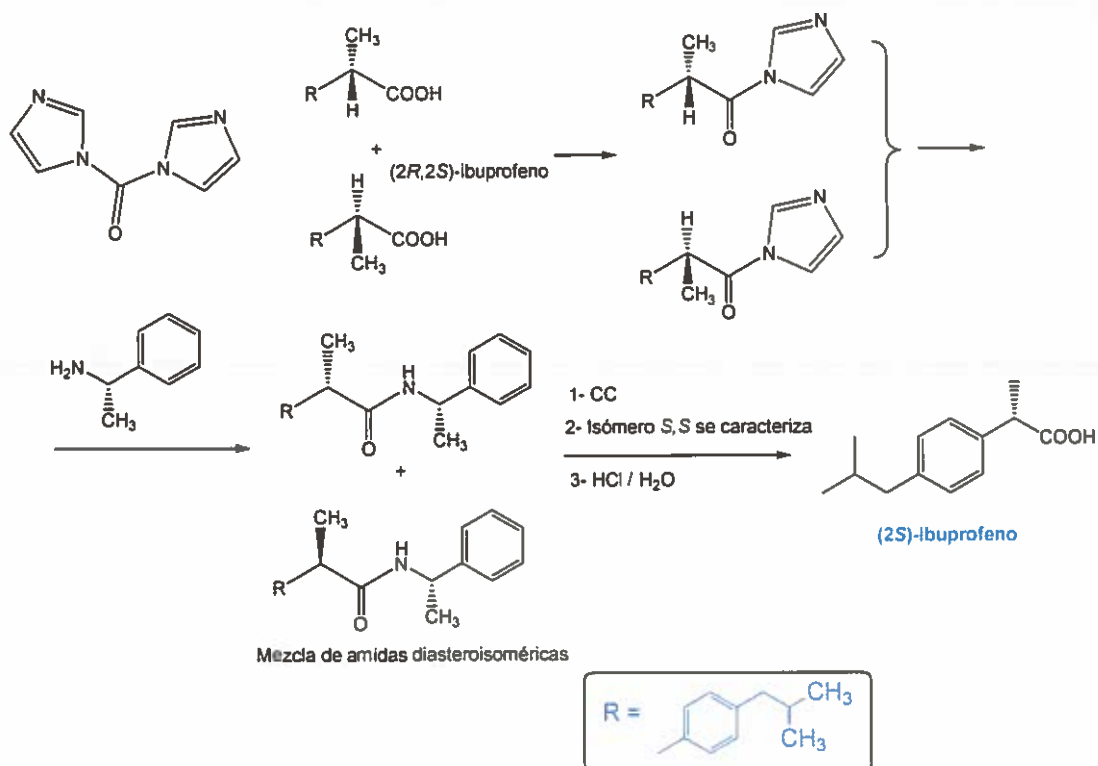
En relación con los estudios de máster se han impartido cinco asignaturas con un total de 47 estudiantes que han realizado prácticas de laboratorio especializadas (Tabla 2).

TABLA 2. ASIGNATURAS DE MÁSTER

Máster en Evaluación y Desarrollo de Medicamentos	Purificación e identificación de fármacos	12	<ul style="list-style-type: none"> • Síntesis asimétrica • Resolución de enantiómeros • Evaporación • Cromatografía • Disolventes RMN
	Obtención de sustancias bioactivas de procedencia natural	7	<ul style="list-style-type: none"> • Evaporación • Cromatografía • Disolventes RMN
	La síntesis orgánica en la búsqueda y obtención de fármacos	10	<ul style="list-style-type: none"> • Síntesis asimétrica • Evaporación • Cromatografía • Disolventes RMN
Máster en Química y Farmacia de Productos Naturales	Métodos de control físico-químico II	9	<ul style="list-style-type: none"> • Evaporación • Cromatografía • T^º de fusión de sólidos • Disolventes RMN
	Aislamiento e identificación de productos naturales	9	<ul style="list-style-type: none"> • Evaporación • Cromatografía • Disolventes RMN

La metodología de trabajo de los procedimientos habituales es común con las prácticas descritas anteriormente esto incluye aislamiento, purificación e identificación, por ello el material fungible utilizado se multiplica. Se destaca en este punto la utilización de rotavapores como instrumentación habitual en la evaporación de disolventes y del aparato de punto de fusión necesario para adquirir una propiedad física característica de cada compuesto.

En **Purificación e identificación de fármacos** se ha realizado la resolución de los enantiómeros de Ibuprofeno a partir de una muestra comercial del mismo mediante la formación de derivados diastereoisoméricos. Para ello se ha seguido el esquema de reacciones que se presenta a continuación:



Los pasos seguidos son dos: 1) Formación de las amidas (S,S) y (R,S) diastereoisoméricas utilizando (S)-(-)- α-metilbencilamina como agente quiral. A continuación se realiza una columna de cromatografía para separar los dos diastereoisómeros obtenidos y 2) hidrólisis del enlace amida en el diastereoisómero (S,S) seguido de su aislamiento.

Se caracteriza convenientemente el compuesto realizando el Pf, RMN ¹H, RMN ¹³C y poder rotatorio (PR). (Valores de (S)-ibuprofeno, Pf= 76 °C, PR= [α]_{20/D} +59°).

El ibuprofeno racémico requiere unos 40 minutos para iniciar su actividad biológica, mientras que el enantiómero (S) requiere menos de un tercio de ese tiempo, de aquí los posibles efectos secundarios asociados a la administración de la mezcla racémica, y el interés de la industria farmacéutica en la producción de fármacos enantioméricamente puros.

En la asignatura de **Obtención de Sustancias bioactivas de procedencia natural** se realiza una extracción con hexano en Soxhlet de las arcéstidas de *Cupressus sempervirens*, seguido de un fraccionamiento ácido-base. La fracción ácida se cromatografía sobre gel de sílice y se separan los dos ácidos mayoritarios: el ácido *trans*-comúnico y el ácido cuprésico que se identifican por métodos espectroscópicos. De forma similar se trabaja en **Aislamiento e identificación de productos naturales** utilizando *Juniperus oxycedrus* como fuente natural (Evidencia 3). **Métodos de control físico-químico II** se utilizan diferentes metodologías para la identificación y caracterización de compuestos orgánicos, preferentemente de origen natural. Particularmente, se realizan espectros de RMN de ¹H y de ¹³C y se lleva a cabo la interpretación de éstos con el objetivo de determinar la estructura de los compuestos que los han generado. Se adjuntan evidencias de los espectros de RMN realizados. (Evidencia 4)

En la asignatura de **Síntesis orgánica en la búsqueda y obtención de fármacos**, para complementar la formación de los estudiantes del máster, se aborda la parte sintética y en el laboratorio han preparado sustancias de interés farmacéutico utilizando material y condiciones de reacción diversas para aprender técnicas de laboratorio diferentes. (Evidencia 5).

Utilidad de los resultados

Las competencias descritas en la memoria del Máster en Evaluación y Desarrollo de Medicamentos, que han permitido adquirir y mejorar la realización de estas prácticas con la introducción de las modificaciones mencionadas en este proyecto de innovación se pueden concretar en:

Diseñar y llevar a cabo procesos de identificación, cuantificación, desarrollo, evaluación y control de medicamentos en las diferentes etapas de su desarrollo inicial.

Utilizar adecuadamente el instrumental analítico habitual en el análisis de medicamentos y validar los métodos analíticos, siendo capaz de determinar las propiedades que los definen y garantizando la calidad tanto de las materias primas como del producto final.

En cuanto al Máster en Química y Farmacia de Productos Naturales, las técnicas descritas en esta memoria han servido significativamente para:

Ser capaz de aislar, identificar, caracterizar y manipular los productos de origen natural, utilizando métodos químicos, analíticos y tecnológicos.

Ejercer funciones y tareas cualificadas en el laboratorio dedicadas a la obtención, preparación, distribución y utilización de productos naturales.

Informe económico

El presupuesto concedido se ha utilizado en la adquisición de reactivos quirales, disolventes para espectroscopía, gel de sílice, un rotavapor y dos aparatos para determinar el punto de fusión, adaptándonos a la solicitud y a la concesión realizada por la USAL.

EVIDENCIA 1 -

**PRÁCTICAS DE SÍNTESIS DE
FÁRMACOS**

Práctica 1. Síntesis de Paracetamol

4º Farmacia



**VNiVERSiDAD
D SALAMANCA**

INTRODUCCIÓN

En el siguiente cuaderno de laboratorio se presenta una descripción detallada de todo cuanto hicimos en las prácticas de la asignatura "Síntesis de Fármacos".

Estas prácticas tenían como objetivo la síntesis de diferentes fármacos (Lidocaína y Lorazepam), ayudándonos de un guión de prácticas que nosotros mismos elaboramos a partir de información contenida en revistas y patentes científicas.

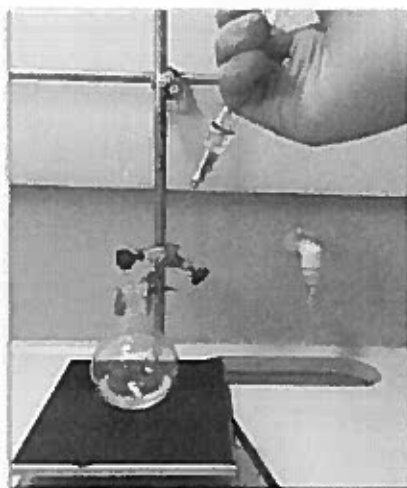
Cabe destacar, que este cuaderno no se trata del guión de prácticas en sí, sino una redacción de los acontecimientos que tuvieron lugar mientras realizábamos las síntesis, por lo tanto, para poder seguir paso a paso este cuaderno, se recomienda haber leído los guiones previamente.

Síntesis de Lorazepam

El primer día lo comenzamos con la síntesis del Lorazepam. En primer lugar seleccionamos los materiales que íbamos a necesitar y realizamos una modificación en el guión: en lugar de utilizar Cloruro de Cloroacetilo en la reacción con 2-amino-5,2'-diclorobenzofenona, utilizaríamos Bromuro de bromoacetilo, ya que el Bromo es mucho mejor grupo saliente que el Cloro.

Como podemos observar, el guión de prácticas indica que hay que tomar 26,61 g de 2-amino-5,2'-diclorobenzofenona y 200 mL de Tolueno y llevarlo a un matraz de fondo redondo, no obstante, en la práctica hemos reducido esta cantidad a 3 g de 2-amino-5,2'-diclorobenzofenona y 15 mL de Tolueno, puesto que no pretendemos realizar una síntesis a nivel industrial.

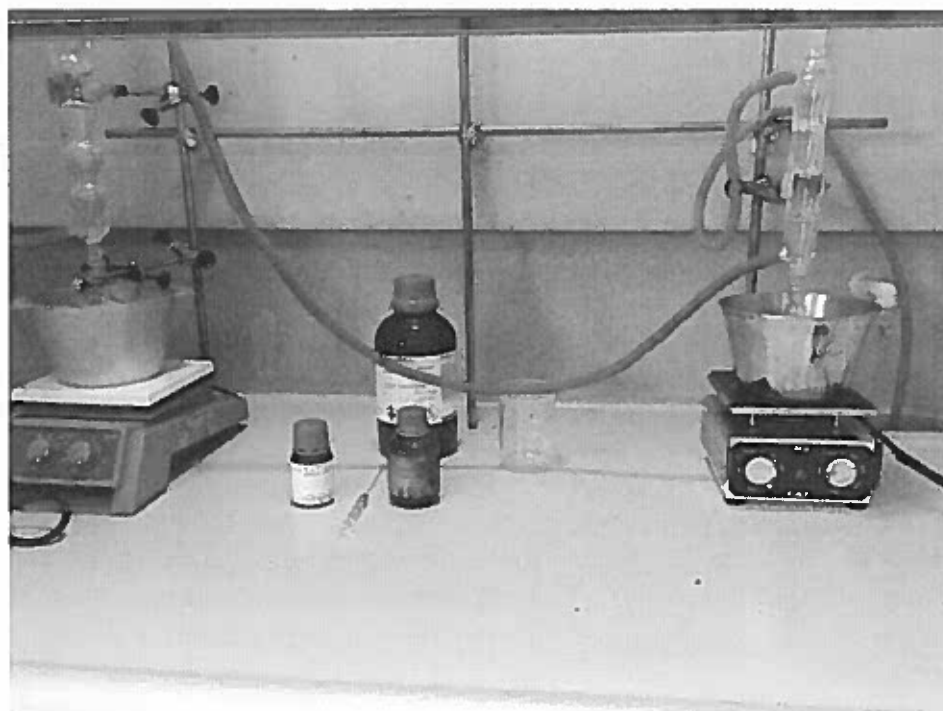
Posteriormente, bajo campana extractora, añadimos la solución de Bromuro de Bromoacetilo en Tolueno a la solución anterior ayudándonos de una jeringuilla. La adición debía ser lenta, en continua agitación (para lo cual utilizamos un imán agitador) y con la temperatura controlada, puesto que ésta no debía superar los 10°C, no obstante, rápidamente observamos que salían vapores tras la adición y que la temperatura subía demasiado, por lo que decidimos poner un poco de hielo en un vaso de precipitados.



Adición del Bromuro de Bromoacetilo I

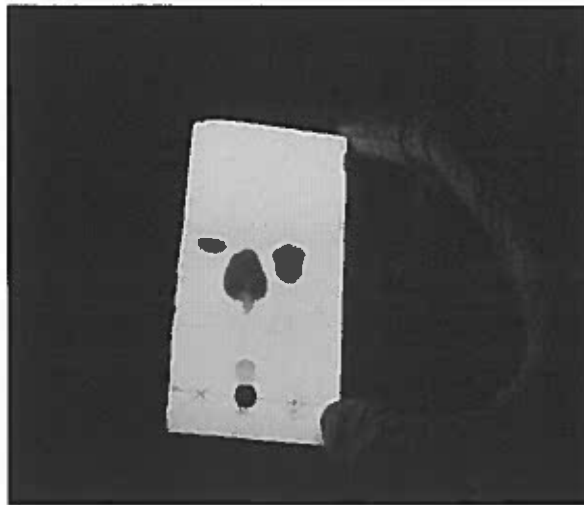
Dejamos en agitación un rato hasta que la disolución obtuvo una tonalidad marrón oscura y seguidamente montamos un reflujo en tándem bajo placa calefactora con nuestros compañeros. Cabe destacar que para calentar la disolución, utilizamos un baño de arena en lugar de agua, ya que el Tolueno tiene un punto de ebullición de 110°C mientras que el del agua es de 100°C y ésta se evaporaría. Este reflujo duró aproximadamente 2 horas.

Al cabo de un tiempo observamos que la disolución está emitiendo muchos vapores que irritan los ojos, decidimos comprobar si se trata de HBr (producto de reacción) utilizando papel indicador, y el color rojo nos indica claramente que estamos en lo cierto. Posteriormente dejamos el reflujo durante 1 hora y observamos que sigue saliendo HBr por lo tanto, sigue habiendo reacción en el matraz.



Reflujo en Tándem I

A la media hora, decidimos picar una placa y realizar una cromatografía para ver si queda material de partida en nuestra solución, para ello utilizamos Hexano y Acetato de etilo al 50% como fase móvil. El resultado fue el siguiente:



Cromatografía I

La columna de la izquierda marca el patrón (Benzofenona en cloruro de metileno) y la columna de la derecha es nuestra muestra (la columna intermedia corresponde a otros compañeros).

Como podemos observar, en nuestra muestra todavía quedaba producto de partida, por lo tanto dejamos toda la noche en agitación para que se complete la reacción.

Al siguiente día, llevamos el matraz al rotavapor para evaporar el disolvente por destilación y obtenemos un residuo (2-cloroacetamido-5,2'-diclorobenzofenona) que vamos a disolver en 15 mL de metanol para purificarlo. Como podemos ver, volvemos a cambiar las cantidades del guión. Nos ayudamos con un baño caliente para ayudar a disolver este residuo.

Al cabo de un tiempo observamos que no se disuelve, por lo tanto decidimos añadir más metanol.

Rápidamente empezamos a notar como vuelven a irritarse los ojos, por lo que sospechamos que aun queda producto de partida por reaccionar.

Vemos que con el Metanol añadido y el baño de agua caliente, el residuo sigue sin disolverse, por lo tanto decidimos realizar otro reflujo en Tándem dentro de la vitrina y vamos añadiendo diferentes cantidades de Metanol y Etanol para ver si ayudan en la disolución del producto.

Finalmente, y tras un largo tiempo de espera, decidimos retirar el matraz del reflujo puesto que no se ha disuelto casi nada. La profesora de prácticas propone a otros grupos utilizar disolventes diferentes para ver si con otros productos se consigue disolver el residuo.

Como resultado, hemos obtenido un líquido amarillento dentro del cual teníamos nuestro residuo sin disolver. Separamos por un lado el sólido (polvo de color mostaza),

que filtramos con el Buchner y pesamos, obteniendo 3,5 g; y por otro lado pusimos el líquido amarillo en hielo para ver si cristalizaba algo, pero no tuvimos éxito.

Para acabar esta práctica, decidimos realizar un espectro con el sólido que obtuvimos y confirmar así de que se trataba, para lo cual utilizamos cloroformo deuterado como disolvente, ya que éste no interfiere con las señales del hidrogeno.

NOTAS DE INTERÉS:

A la hora de llevar a cabo la práctica, no funcionaba una de las cámaras extractoras y en otra de ellas el conducto de agua estaba inutilizable, lo cual nos dificultó bastante el desarrollo de la práctica en el laboratorio.

Es importante tener una buena logística así como material disponible para poder realizar cualquier práctica correctamente, de lo contrario se dificulta bastante el trabajo.

Síntesis de Lidocaína

PASO 1

Para llevar a cabo la Síntesis de la Lidocaína cogimos un matraz de 125 mL y añadimos 3.0 mL de 2,6-Dimetilanilina, 15 mL de Ácido acético glacial y 2 mL de Cloruro de cloroacetilo, como podemos observar, a diferencia de la Síntesis del Lorazepam, en este caso no hemos utilizamos Bromuro de Bromoacetilo.

A continuación hemos llevado el matraz a un baño de vapor y hemos agitado durante 1 minuto o 2 cuidadosamente. Hemos retirado y añadimos 25 mL de una solución acuosa de Acetato de Sodio trihidratado al 25% (Para prepararlo hemos tomado 6,2 g del acetato sódico).



Baño de vapor I

Por último hemos enfriado utilizando un baño de hielo y el sólido que nos ha quedado lo hemos filtrado con ayuda del Buchner, lo hemos pesado (1,8 g) y hemos calculado el rendimiento de este intermedio amídico.

Además medimos su punto de fusión obteniendo un valor de 138°C.

PASO 2

Posteriormente colocamos la Amida en un matraz de fondo redondo de 50 mL que contenía 7,5 mL de Dietilamina y 25 mL de Tolueno y llevamos a reflujo durante una hora bajo cámara extractora.

La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y la llevamos a un embudo de decantación donde la lavamos 4 veces con 50 mL de agua para remover el clorhidrato de dietilamina y el exceso de dietilamina. La capa orgánica la extrajimos con 20 mL de HCl aq. 3M y después con 20 mL de agua.

Finalmente añadimos NaOH 3M hasta neutralizar la disolución y precipitar la Lidocaína.

Tuvimos que preparar las disoluciones de HCl aq. 3M y NaOH 3M:

1. Preparación de HCl aq. 3M

- Tenemos HCl Concentrado ($d = 1,19 \text{ g/mL}$; 37% pureza). Si queremos preparar 100 mL de HCl 3M, sacaremos primero los moles que hay en 0,1 L:

$$\begin{aligned} 3 \text{ M} &= 3 \text{ moles} \rightarrow 1 \text{ L} \\ X \text{ moles} &\rightarrow 0,1 \text{ L} \\ X &= 0,3 \text{ moles de HCl en } 100 \text{ mL.} \end{aligned}$$

- Posteriormente, sacaremos los gramos que corresponden a esos 0,3 moles de HCl ($PM = 36,5 \text{ g/mol}$):

$$\text{Moles} = \text{masa}/PM \rightarrow \text{Masa} = \text{moles} \times PM = 0,3 \times 36,5 = 10,95 \text{ g de HCl}$$

- Finalmente obtenemos el volumen que tenemos que coger del HCl concentrado:

$$\begin{aligned} d &= \text{masa}/\text{volumen} \rightarrow V = \text{masa}/d \rightarrow V = 10,95 \text{ g} / 1,19 \text{ g/mL} = 9,20 \text{ mL HCl} \\ \text{Como está la } 37\%: & 9,20 \text{ mL HCl} \times (100 \text{ mL}/37 \text{ mL HCl}) = 24,86 \text{ mL de HCl y} \\ & \text{llevamos hasta } 100 \text{ mL con } H_2O \end{aligned}$$

2. Preparación de NaOH 3M

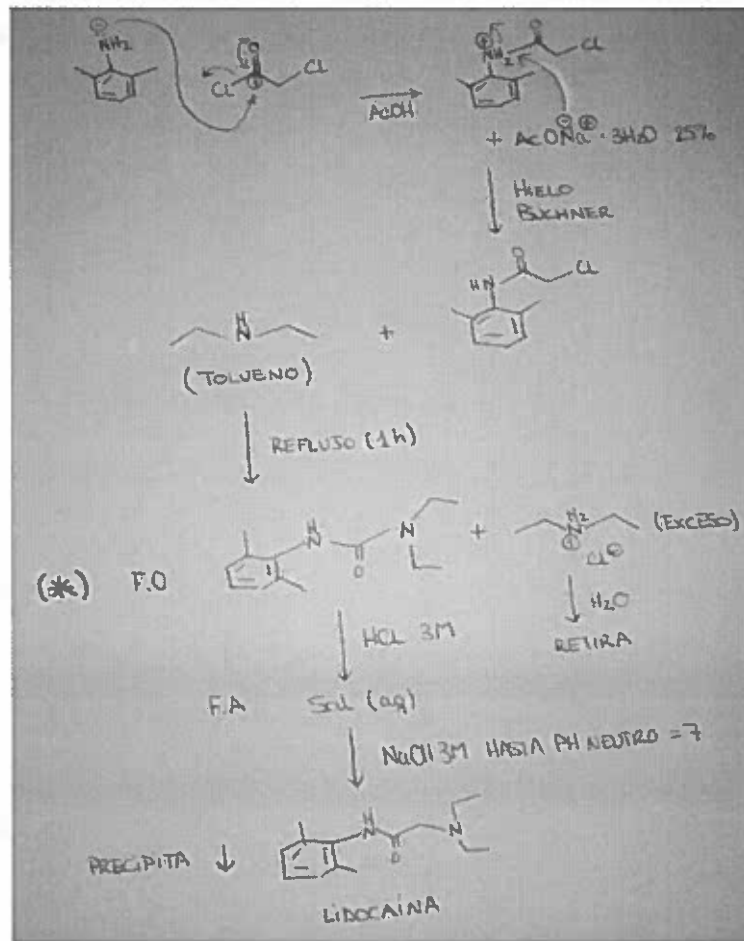
- Tenemos NaOH concentrado ($PM = 40,00 \text{ g/mol}$; 100% pureza). Si queremos preparar 100 mL de NaOH 3M, sacaremos primero los moles que hay en 0,1 L:

$$\begin{aligned} 3M &= 3 \text{ moles} \rightarrow 1 \text{ L} \\ X \text{ moles} &\rightarrow 0,1 \text{ L} \\ X &= 0,3 \text{ moles en } 100 \text{ mL} \end{aligned}$$

- Posteriormente, sacaremos los gramos que corresponden a esos 0,3 moles de NaOH:

$$\text{Moles} = \text{masa}/PM \rightarrow \text{Masa} = \text{moles} \times PM = 0,3 \times 40,00 = 12,0 \text{ g de NaOH y disolvemos con } H_2O \text{ hasta } 100 \text{ mL.}$$

A continuación se incluye un esquema de esta síntesis en el que se puede observar perfectamente que ha pasado en cada uno de los pasos:

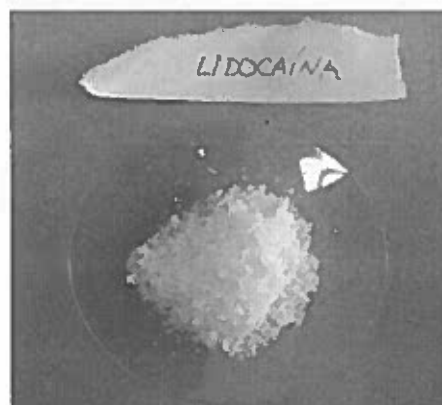


Esquema síntesis Lidocaína I

Para comprobar que obtuvimos un medio neutro a la hora de añadir NaOH 3M utilizamos papel indicador.

No obstante a medida que íbamos variando el PH vimos que la Lidocaína no precipitaba, por lo que decidimos empezar desde el punto (*) es decir, retrocedimos hacia atrás y volvimos a poner la disolución en un embudo de decantación junto con Tolueno y volvimos a extraer pero esta vez utilizando menos cantidad de HCl y NaOH para que la disolución se saturara antes y precipitara la Lidocaína.

Finalmente, precipitó nuestro compuesto y lo filtramos con el Buchner, obtuvimos así un polvo de color blanco que pesamos y del cual sacamos el rendimiento.

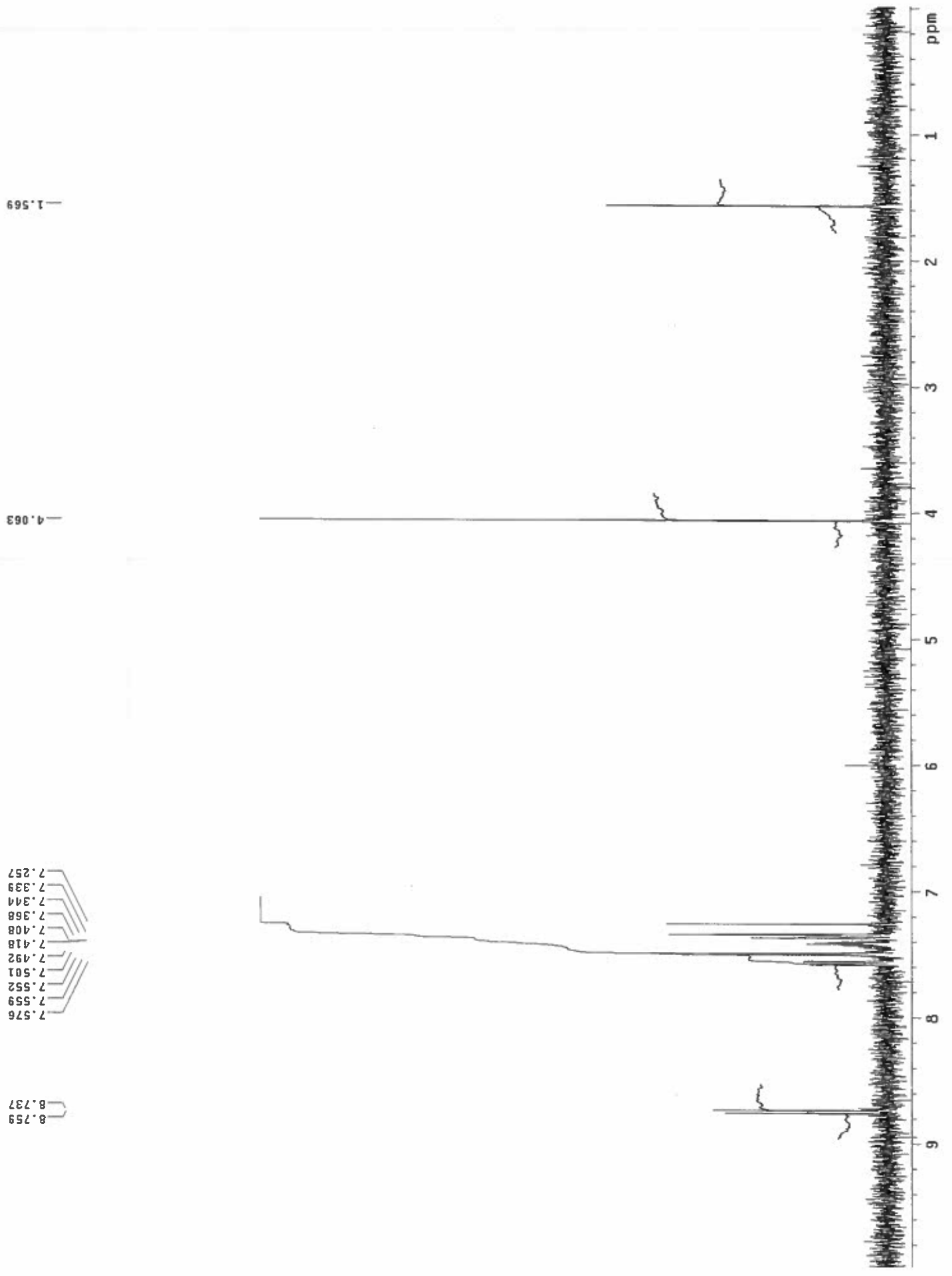


Finalmente, al igual que hicimos con el Lorazepam, obtuvimos el espectro de una muestra de Lidocaína para confirmar la estructura y objetivamente, quedó bastante bien.

RENDIMIENTOS

	LIDOCAÍNA PASO 1	LIDOCAÍNA PASO 2
RENDIMIENTO	36%	65%

LOKREVDAT 1 - P00.



1.569

4.063

7.257
7.339
7.344
7.368
7.408
7.418
7.492
7.501
7.552
7.559
7.576

8.759

ppm

1

2

3

4

5

6

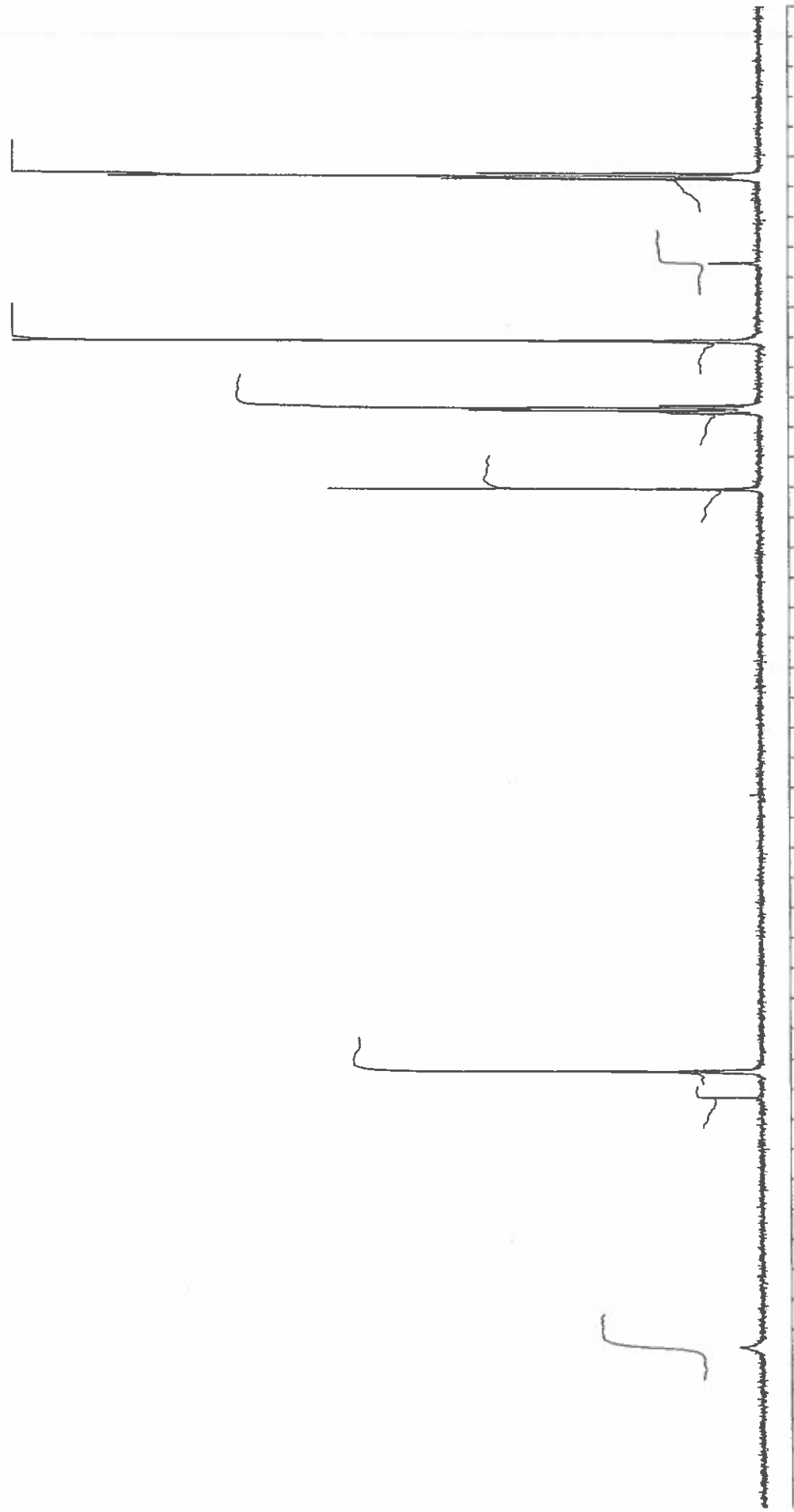
7

8

9

ppm

1 2 3 4 5 6 7 8 9



1.150
1.132
1.115

1.709

2.229

2.712
2.693
2.676
2.658

3.216

7.256
7.085

SM717017

PRÁCTICA 1. EXTRACCIÓN DE CAFEÍNA

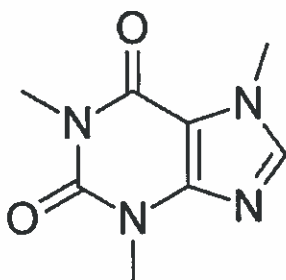
PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN

1. Pesamos una cantidad alrededor de 15 g de hojas de té secas y las trituramos un poco.
2. **ADICIÓN DE UNA BASE:** añadimos a las hojas de té molidas Na_2CO_3 disuelto en H_2O .
3. **EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO:** filtramos la disolución con papel de filtro y colocamos el filtrado en un embudo de decantación. Añadimos acetato de etilo para realizar una extracción líquido-líquido.
Extraemos la fase orgánica y repetimos el procedimiento para extraer tanta cafeína como sea posible.
Añadimos agua hasta que el pH sea neutro, eliminándola posteriormente con el embudo de decantación.
4. Añadimos al disolvente con los extractos del té sulfato sódico anhidro para eliminar el agua residual.
5. Filtramos el disolvente con los extractos para separarlos de la sal y evaporamos el disolvente con ayuda de un rotavapor.
6. **CRISTALIZACIÓN DE LA CAFEÍNA:** añadimos al matraz metanol, lo tapamos y lo colocamos en el baño con agua caliente hasta que se solubilice. Dejamos reposar el matraz con el metanol a temperatura ambiente.
7. Comprobamos la identidad de los cristales obtenidos con resonancia magnética nuclear.

DISCUSIÓN DEL PROTOCOLO

El objetivo del siguiente protocolo consiste en aislar y purificar cafeína a partir de hojas de té, en forma de cristales. A continuación, se procede a explicar las razones por las que se han llevado a cabo cada una de las principales etapas del procedimiento descrito anteriormente.

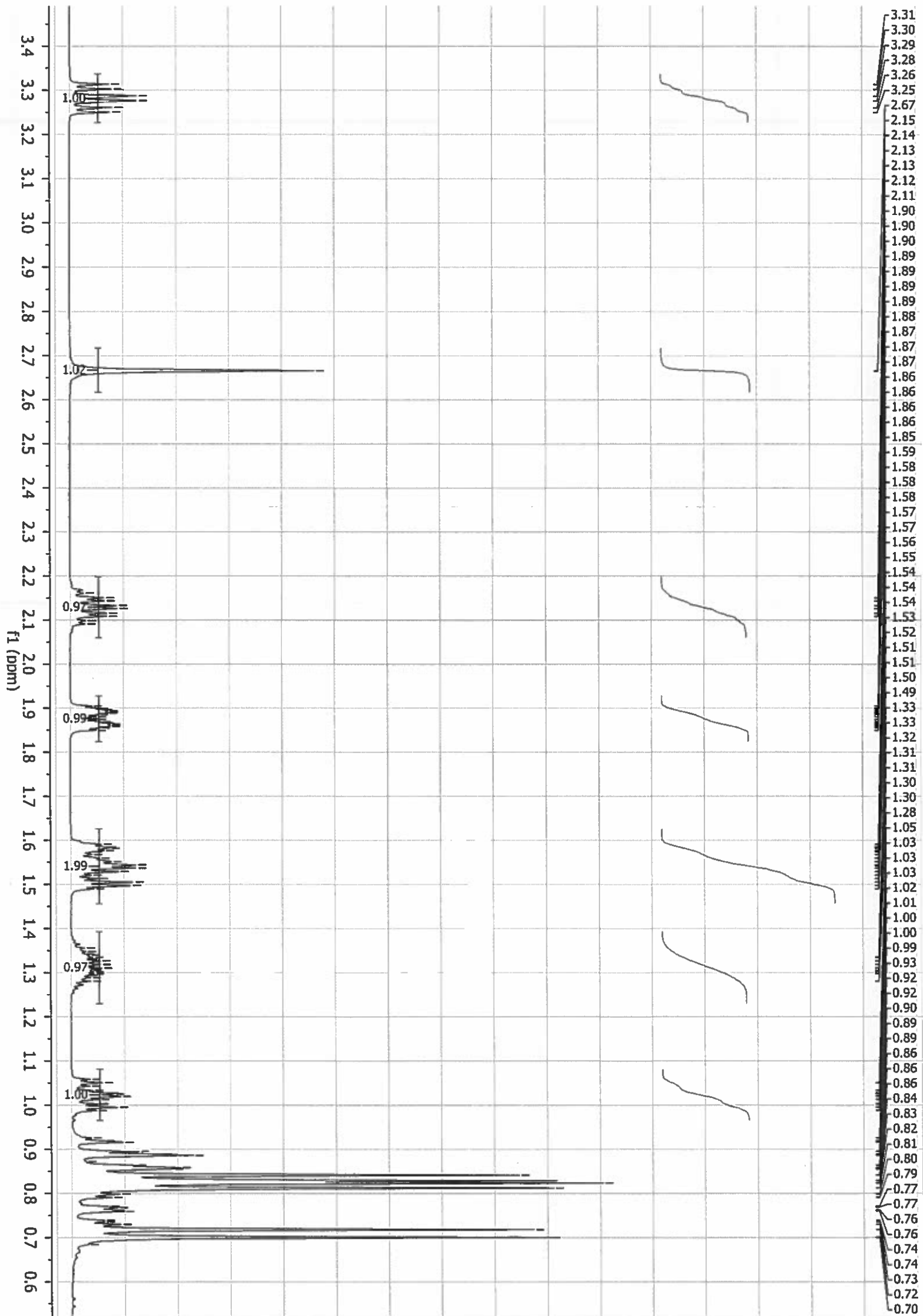
ADICIÓN DE UNA BASE: Las hojas de té presentan taninos, que son sustancias ligeramente ácidas por la presencia de grupos hidroxilo en su estructura. Estos grupos hidroxilo les permiten interaccionar ligeramente con la cafeína y dificulta su extracción, pues parte de ellos se disolverán también en el disolvente orgánico. Para facilitar la extracción de la cafeína, añadiremos antes de realizar la extracción líquido-líquido una base, el Na_2CO_3 , que hará que los taninos se desprotonen y queden en forma de sales. Al aumentar su solubilidad en agua y disminuir en el disolvente polar, lograremos separarlos eficientemente de la cafeína, que tiene una mayor preferencia por este último disolvente.



EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO: Como puede observarse en la imagen de la izquierda, la cafeína es un alcaloide, que presenta átomos de nitrógeno y oxígeno. Estos heteroátomos otorgan a la cafeína una ligera polaridad, que la hace ligeramente soluble en H_2O , pero hará que presente una mayor preferencia por disolventes orgánicos, como el diclorometano. A pesar de que este disolvente es el más utilizado para la extracción de cafeína, en la presente práctica empleamos otro, el acetato de etilo, que tiene una constante dieléctrica similar, por lo que se espera que el rendimiento del proceso sea similar.

CRISTALIZACIÓN DE LA CAFEÍNA: el objetivo de este último paso es purificar la cafeína y aislarla de otros sólidos que se hayan extraído. Al calentar el matraz con los sólidos y el metanol por debajo de la temperatura de ebullición de este último, la solubilidad de la cafeína aumenta en el disolvente. Cuando se deja reposar el matraz a temperatura ambiente, la solubilidad de la cafeína en el metanol vuelve a decrecer. Dado que la cafeína no es muy soluble en metanol a temperatura ambiente, comienza a cristalizar a medida que se enfría el disolvente.

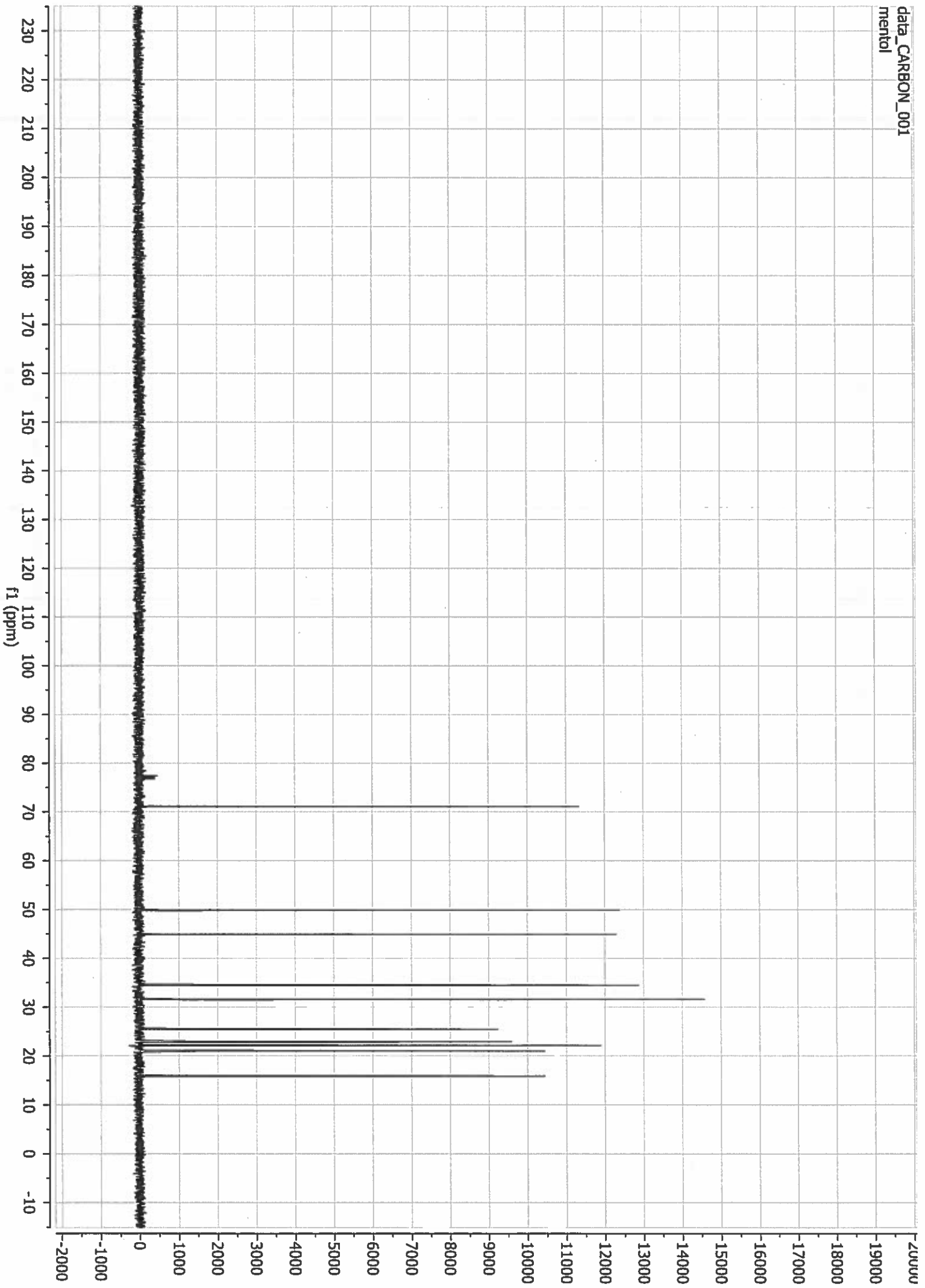
En definitiva, el metanol es un disolvente adecuado para cristalizar la cafeína por la escasa solubilidad de esta última a temperatura ambiente en él y su capacidad de disolverse cuando el disolvente es calentado por debajo de su punto de ebullición.

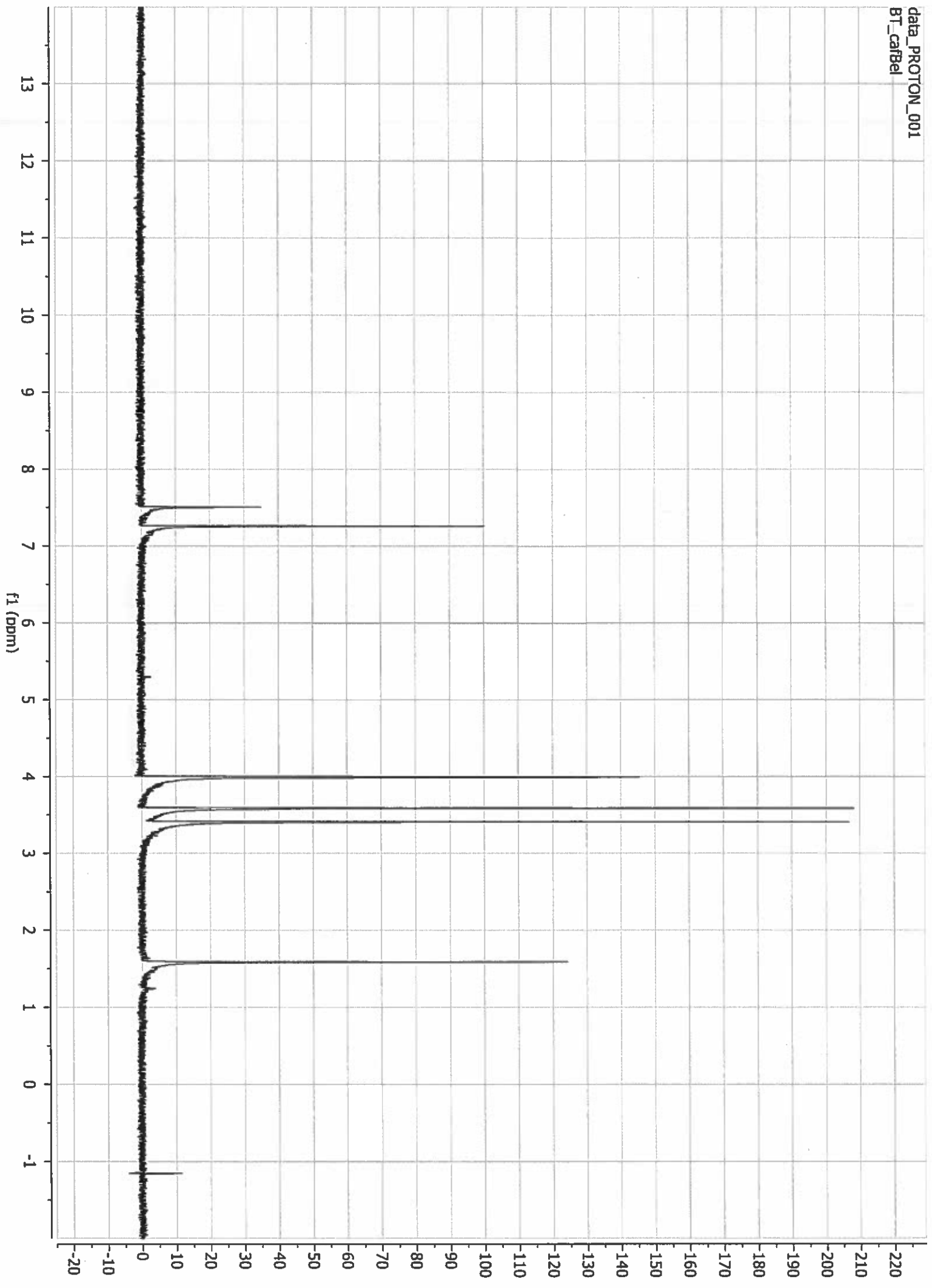


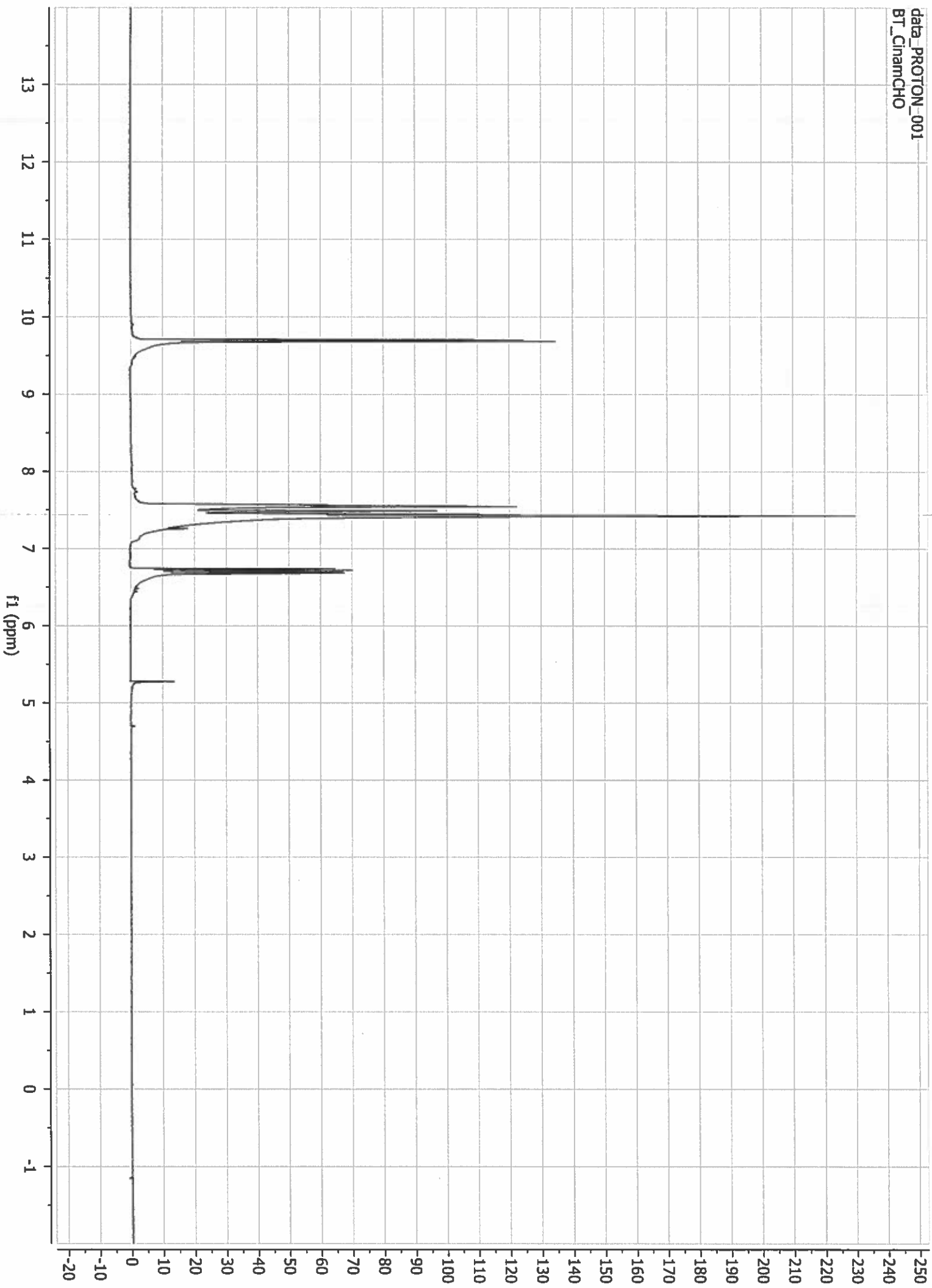
3.4 3.3 3.2 3.1 3.0 2.9 2.8 2.7 2.6 2.5 2.4 2.3 2.2 2.1 2.0 1.9 1.8 1.7 1.6 1.5 1.4 1.3 1.2 1.1 1.0 0.9 0.8 0.7 0.6

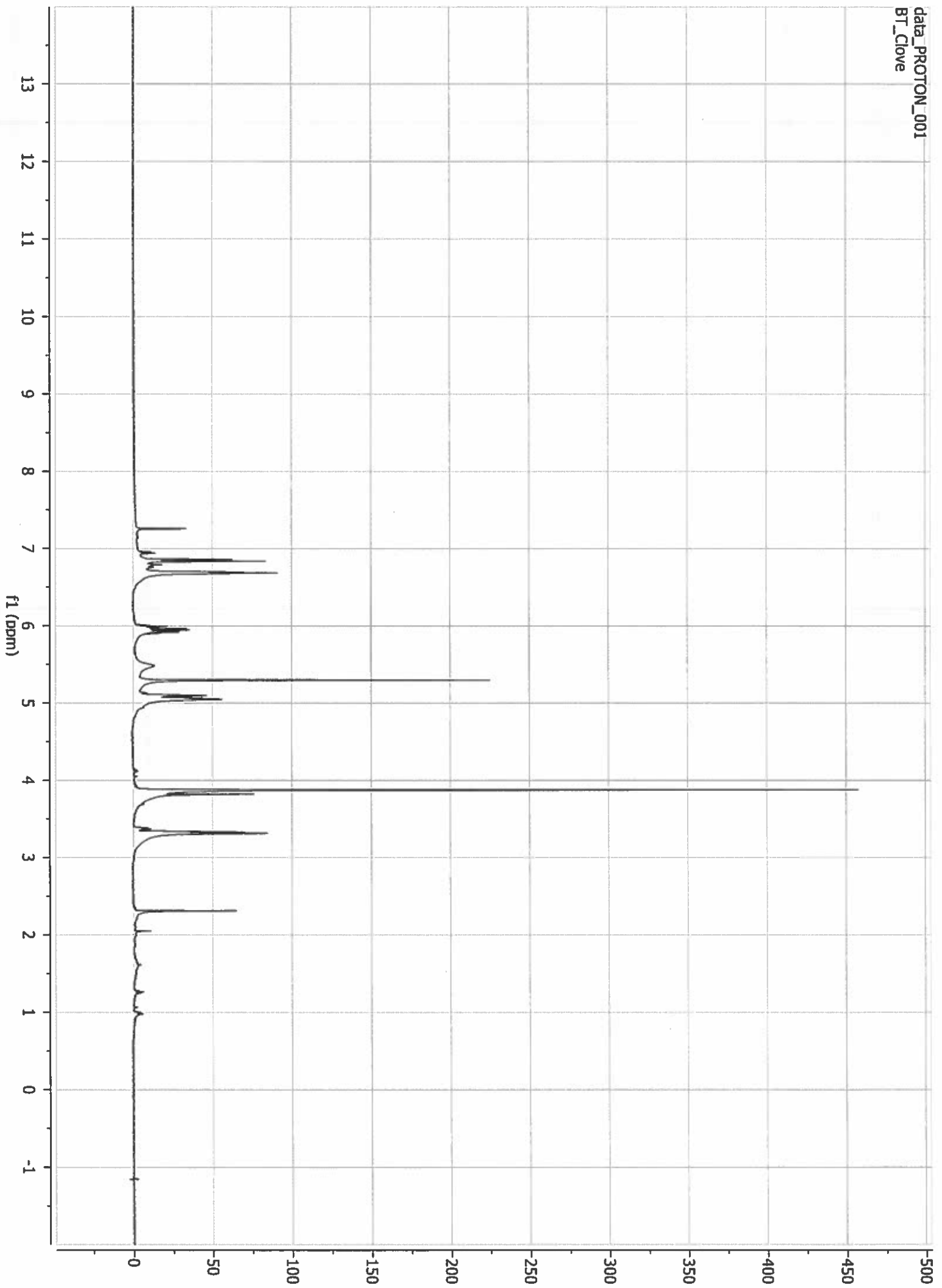
3.31 3.30 3.29 3.28 3.26 3.25 2.67 2.15 2.14 2.13 2.13 2.12 2.11 1.90 1.90 1.89 1.89 1.89 1.88 1.87 1.87 1.86 1.86 1.86 1.85 1.59 1.58 1.58 1.57 1.56 1.55 1.54 1.54 1.53 1.52 1.51 1.50 1.49 1.33 1.33 1.32 1.31 1.31 1.30 1.28 1.05 1.03 1.03 1.02 1.01 1.00 0.99 0.93 0.92 0.90 0.89 0.89 0.86 0.86 0.86 0.84 0.83 0.81 0.80 0.79 0.77 0.77 0.76 0.76 0.74 0.74 0.73 0.72 0.70

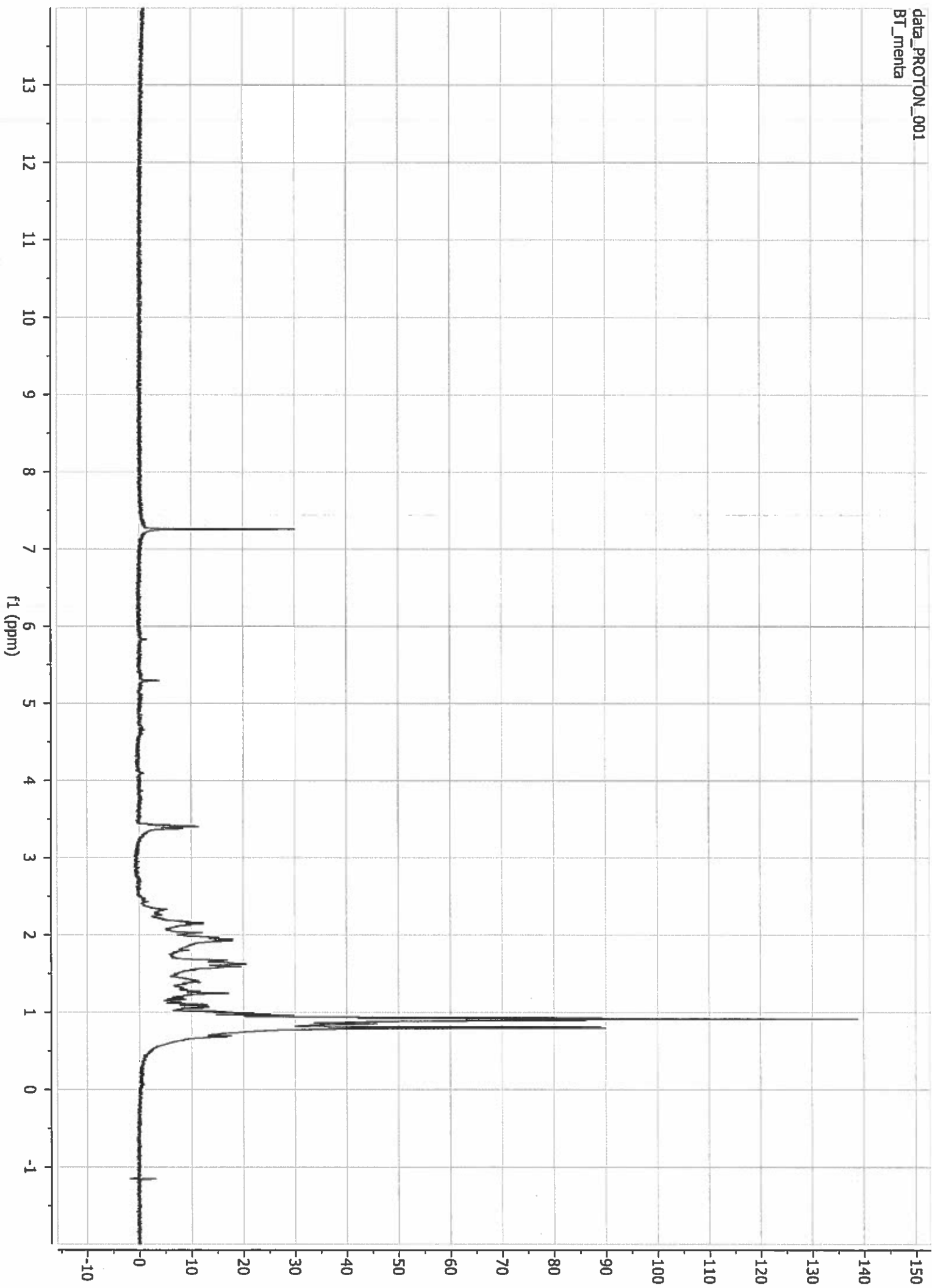
f1 (ppm)

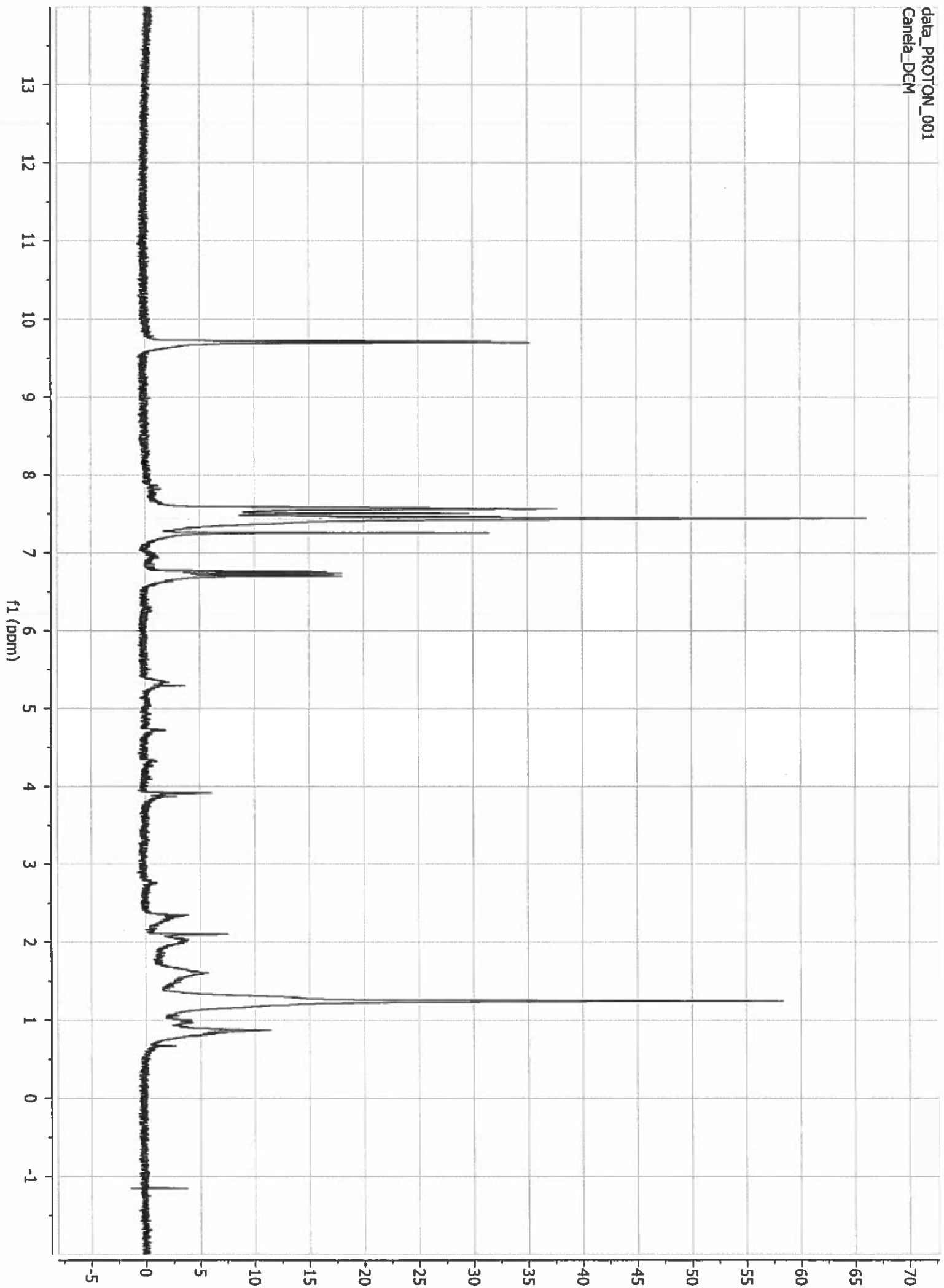








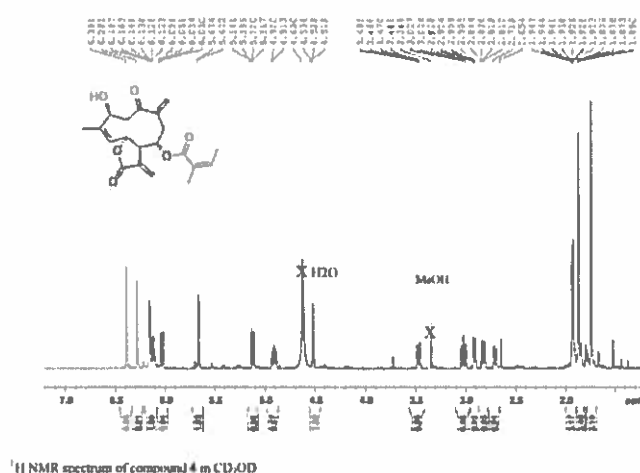




3					
9	1	1+0,4=1,4	dd / dd	2,33	3,04
	1	1+0,4=1,4	dd / br dd	2,08	2,70
13	1	4,5 – 8	d / dd	5,79	5,67
	1	4,5 – 8	d / br d	6,31	6,16
14	1	4,5 – 8	d / br s	6,11	6,28
	1	4,5 – 8	d / br s	6,25	6,39
15	3	1	s / d	1,82	1,75
18	1	5,25+0,45- 0,22+0,32=5,8	t / qq	6,03	6,13
19	2	1,7	dd / dq	2,05	1,93
20	3	1,7	s / quint	2,43	1,88

Comparación

4	
position	δ_{H} (mult. / in Hz)
1	
2	2.83 (dd, 12.7, 4.0) 3.49 (dd, 12.7, 4.5)
3	4.53 (dd, 4.5, 4.0)
4	
5	5.13 (dq, 10.7, 1.4)
6	6.04 (dd, 10.7, 2.1)
7	2.91 (ddd, 9.7, 2.1, 1.9, 1.9)
8	4.91 (ddd, 10.8, 9.7, 4.5)
9	3.04 (dd, 12.6, 10.8) 2.70 (br dd, 12.6, 4.5)
10	
11	
12	
13	5.67 (dd, 1.9, 0.8) 6.16 (br d, 1.9)
14	6.39 (br s) 6.28 (br s)
15	1.75 (d, 1.4)
16	
17	
18	6.13 (qq, 7.0, 1.5)
19	1.93 (dq 7.0, 1.5)
20	1.88 (quint, 1.5)



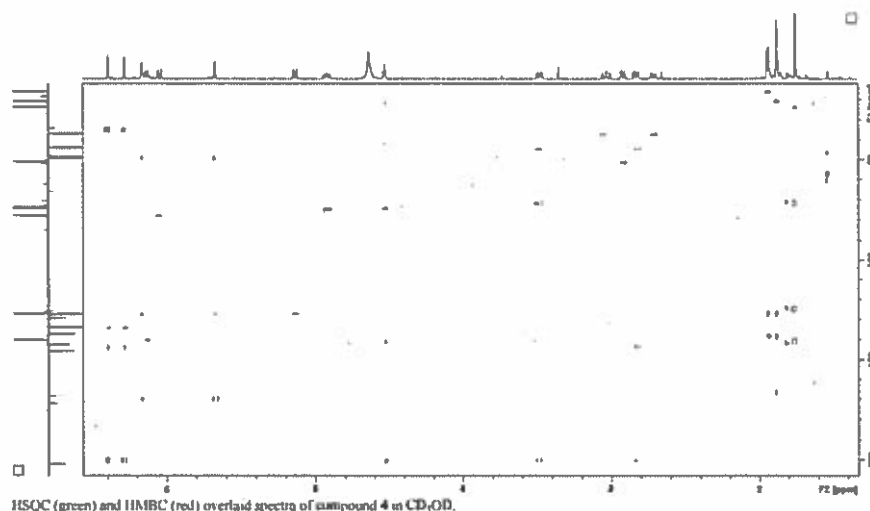
Para empezar, se observa que el número de señales estimado coincide tanto con los datos experimentales como con los de ChemDraw. Se confirman los casos en los que se había estimado que varios hidrógenos unidos al mismo carbono darían señales ligeramente distintas, a pesar de que en la estimación del desplazamiento no hice distinción porque era complicado predecir cuantitativamente esa diferencia. Al encontrarse los hidrógenos en posiciones distintas sin posibilidad de libre rotación, es lógico pensar que cada uno tenga cerca un entorno electrónico distinto y por tanto la señal sea diferente.

En lo referente al desplazamiento, comentaré solo las diferencias que más notables me parecen (a partir de 0,7 ppm de diferencia aproximadamente).

- **Hidrógenos unidos a los carbonos 2, 5, 7 y 9:** en estos casos observamos un mayor desplazamiento que el estimado. Esto se debe a que todos ellos se encuentran cercanos

B) HMQC

Este espectro proporciona información sobre la relación entre los carbonos y los hidrógenos, de forma que podamos saber qué protón se une a qué carbono. Combinando esta información con la del COSY podemos dilucidar más fácilmente la estructura.



C) HBMC

Este espectro (incluido también en la anterior imagen) muestra la relación de los hidrógenos con carbonos que se encuentren a 2 ó 3 átomos de distancia. Proporciona información sobre la cercanía de los átomos.

7. Indica qué información espectroscópica es clave para la determinación de la estructura del compuesto.

Los espectros de RMN suelen ser lo más esencial para determinar las estructuras de un compuesto. En mi opinión el espectro de ¹³C-RMN es el más vital. Los bidimensionales también dan información valiosa. En el artículo no figuran datos de IR por lo que este no debe proporcionar demasiada información.

8. Busca el compuesto en NAPROC-13 utilizando la búsqueda por subestructuras (introduce fragmentos sin sustituyentes ni funciones). Indica a qué grupo estructural y/o biosintético pertenece el compuesto asignado si encuentras compuestos parecidos. En caso contrario indica a qué grupos pertenecen los compuestos que presentan esas estructuras. Considerando la información anterior, propón qué carbonos serían los más útiles para buscar estructuras similares al compuesto asignado, resumiendo los resultados obtenidos. Busca la numeración del compuesto base, indica la estructura de referencia para nombrarlo y sugiere un nombre semisistemático.

Como ejemplo para ilustrar el grupo estructural al que pertenece el compuesto, y gracias a la información obtenida del artículo en el que se basa este trabajo, en la búsqueda por subestructuras de NAPROC-13 podemos especificar:

- Familia: Terpenoides.
- Tipo: Sesquiterpenoides.
- Grupo: *Asteriscanes* (por ejemplo).

ASLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE ÁCIDO MIRCEOCOMÚNICO

1,4 kg de arcétidas secas de *Juniperus oxycedrus L.*, recolectadas en el mes de abril de 2016 en los alrededores de La Fregeneda (Salamanca), se trituran y se extraen con aproximadamente 10 L de hexano, en fracciones de 700 g, en un aparato Soxhlet durante 12 h.

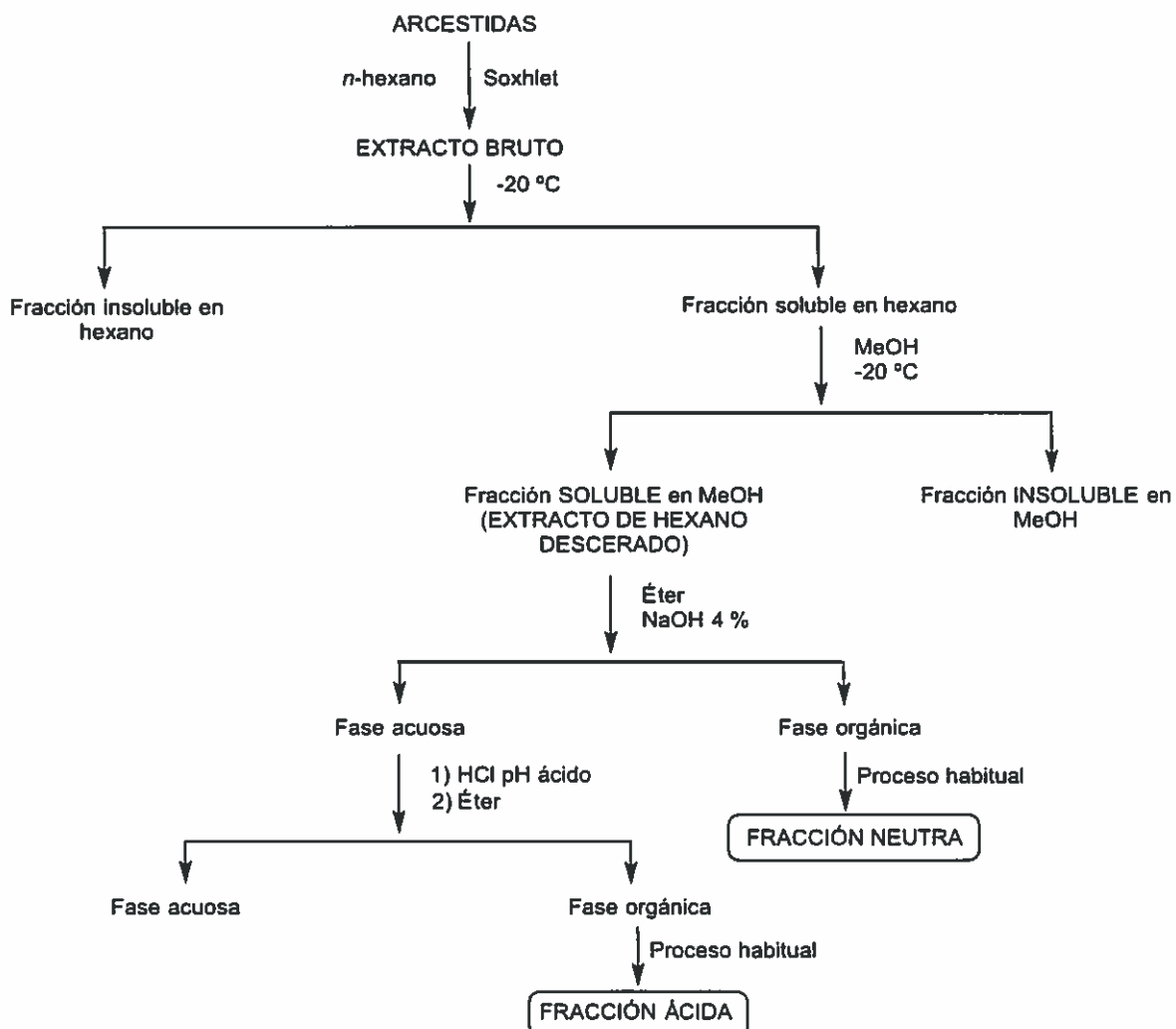
El extracto de hexano se mantiene a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 h, a continuación se filtra en un embudo buchner para eliminar la parte insoluble en hexano. Se evapora el disolvente, obteniéndose un residuo ($\approx 55\text{ g}$) que se disuelve en metanol en caliente y se mantiene de nuevo a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 h. A continuación se filtra en embudo buchner para eliminar la parte insoluble en metanol y obtener el extracto de hexano descerado.

El extracto de hexano descerado se disuelve en éter y se extrae repetidamente, con disolución acuosa de NaOH al 4 %.

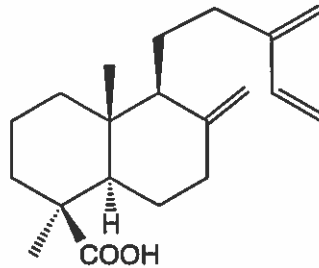
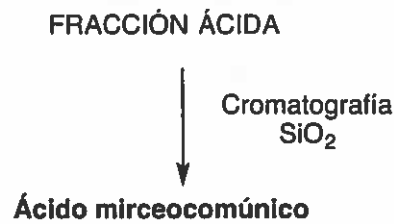
A fracción extraída con NaOH, se acidula a $\text{pH} = 5$ con HCl 2M y se extrae con éter, se lava con una disolución acuosa saturada de NaCl hasta neutralidad, se seca con Na_2SO_4 anhidro y se evapora el disolvente, obteniéndose la fracción ácida ($\approx 80\%$ en peso del extracto descerado).

La fracción neutra, se lava con una disolución acuosa saturada de NaCl hasta neutralidad, se seca con Na_2CO_3 sólido y se evapora el disolvente, obteniéndose la fracción neutra.

Calcular el % que representa el extracto de hexano descerado respecto del peso de arcétidas secas y el % que representan las fracciones ácida y neutra respecto del peso del extracto de hexano descerado.

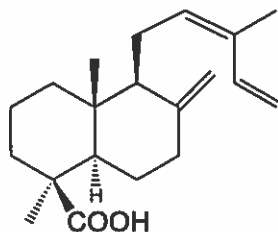


La fracción ácida se cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyéndose con una mezcla de Hex/AcOEt 9:1 el ácido mirceocomúnico.

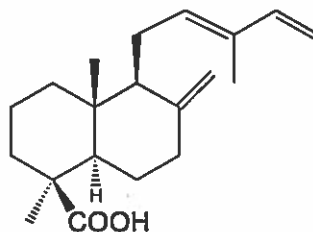


Sustancia cristalina de color blanco, p.f: 129-130 °C (MeOH)
Poder rotatorio: +53,6 ° (c, 2,03 CHCl₃)
Espectro IR: 3080, 1690, 1640, 1598, 1270, 995, 960 y 890 cm⁻¹
Espectro UV: máximo de absorción a 226 nm
Espectro de RMN de ¹H: Figura 1
Espectro de RMN de ¹³C: Figura 2

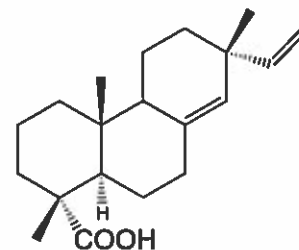
Otros ácidos de la fracción ácida son:



Ácido *cis*-comúnico

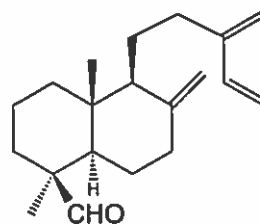


ácido *trans*-comúnico



ácido sandaracopimárico

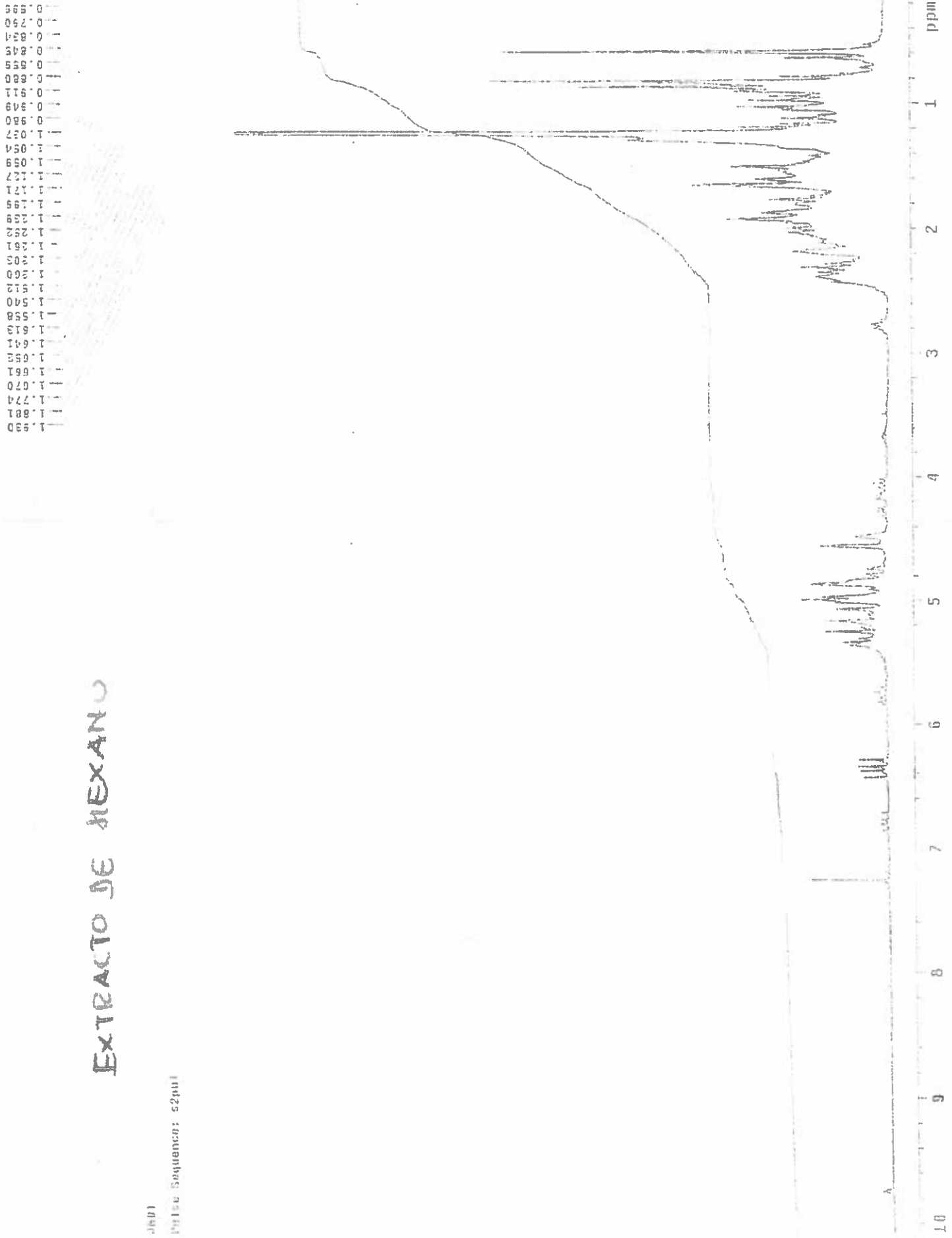
La fracción neutra, se cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyéndose con una mezcla de Hex/AcOEt 9:1 mirceocomunal



EXTRACTO DE HEXANO

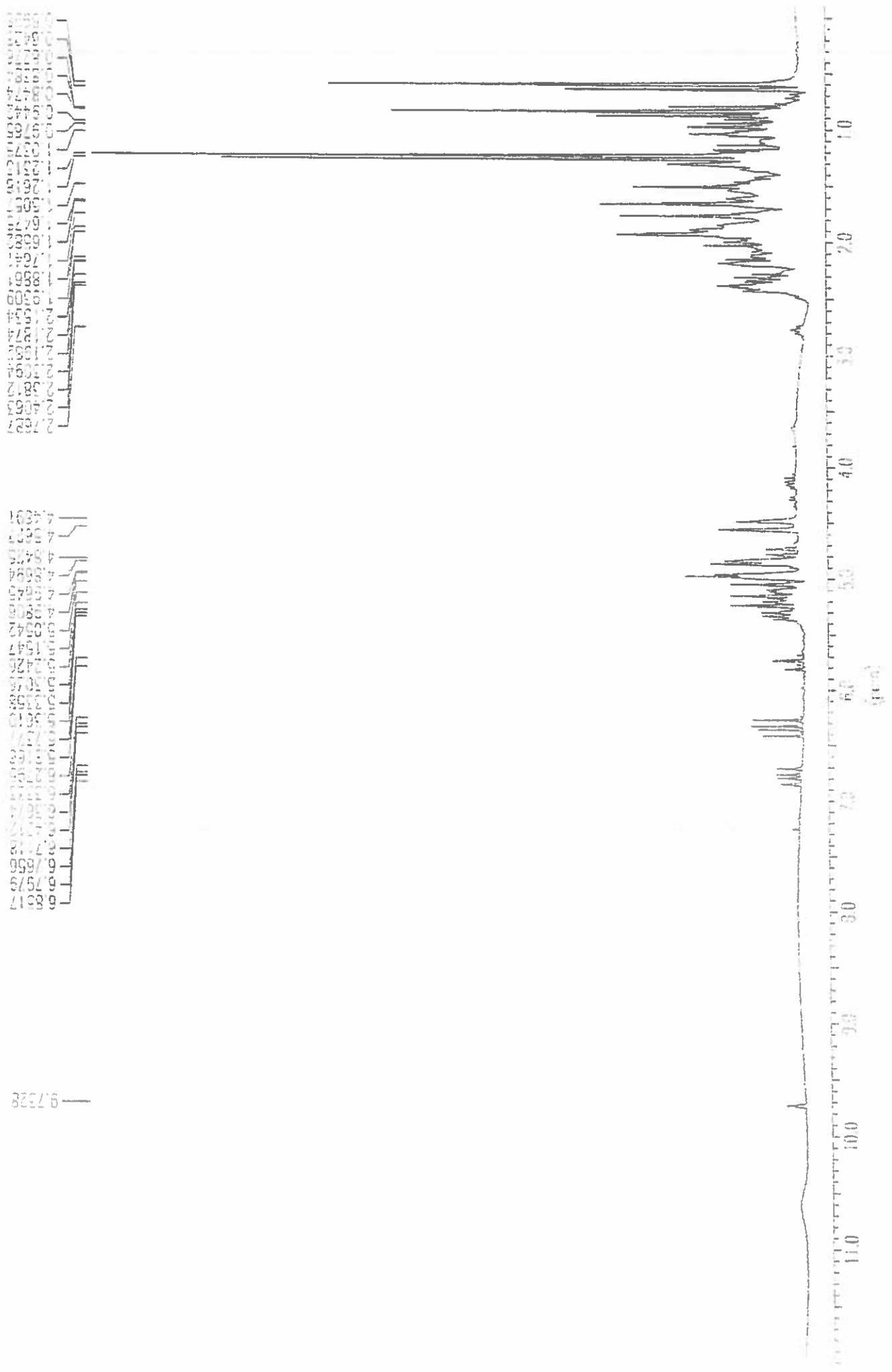
JH01

Pulse Sequence: s2pu1



FRACCIÓN SOLUBLE EN HEXANO

ANEXO JM.1

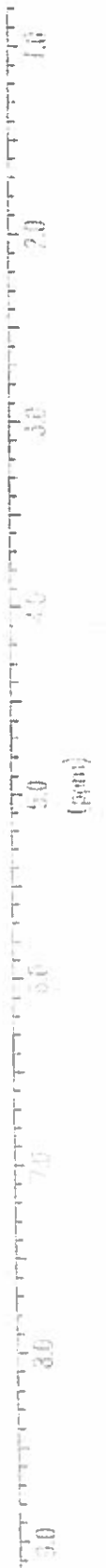


Espectro de RMN de ¹H del extracto de hexano descerado

FRACCIÓN ISOLUÍBLE
EN HEXANO

MUESTRA 4: insoluble en Hexano

- 3.2426
- 3.1547
- 3.0578
- 4.9527
- 4.9627
- 4.9551
- 4.6483
- 4.4730
- 4.0424
- 2.2759
- 1.6005
- 1.5635
- 1.2438
- 0.5589
- 0.5584



Collection time: Mon May 14 19:04:02 2012

Mon May 14 19:05:08 2012

FIND PEAKS:

Spectrum: Acido nitroacuminico **AS-15**

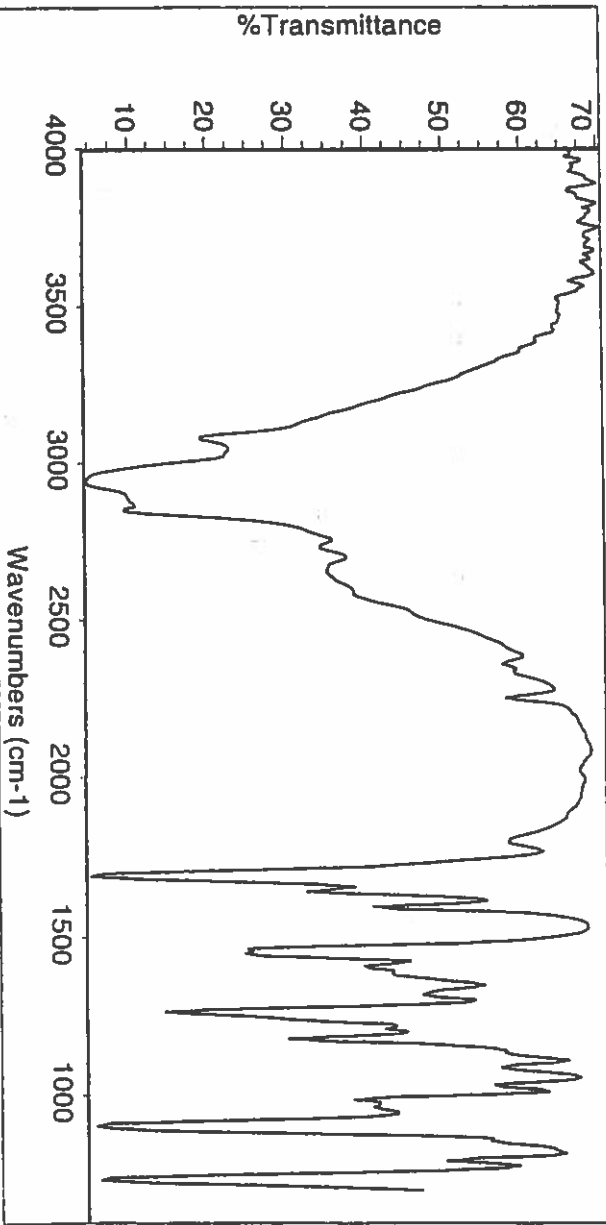
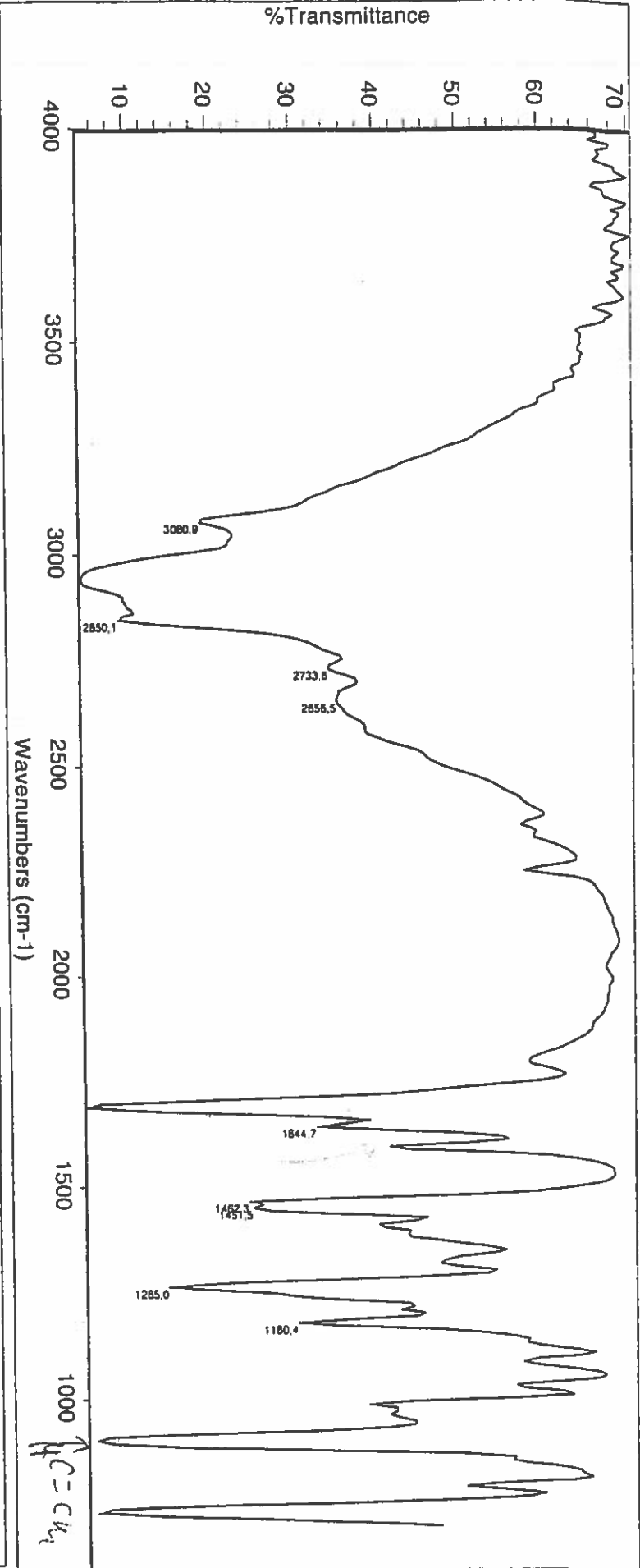
Region: 4000,0 600,0 *ácido oxálico*

Absolute threshold: 36,608

Sensitivity: 50

Peak list:

Position:	Intensity:
2942,0	4,550
1691,7	4,360
903,2	5,329
735,7	5,365
2850,1	8,889
1265,0	14,046
3080,9	18,747
1451,5	24,215
1462,3	23,749
1180,4	29,383
1644,7	31,840
2733,6	34,000
2656,5	34,966



Mon May 14 19:05:17 2012

Figura 1 Espectro de IR del ácido nitroacuminico

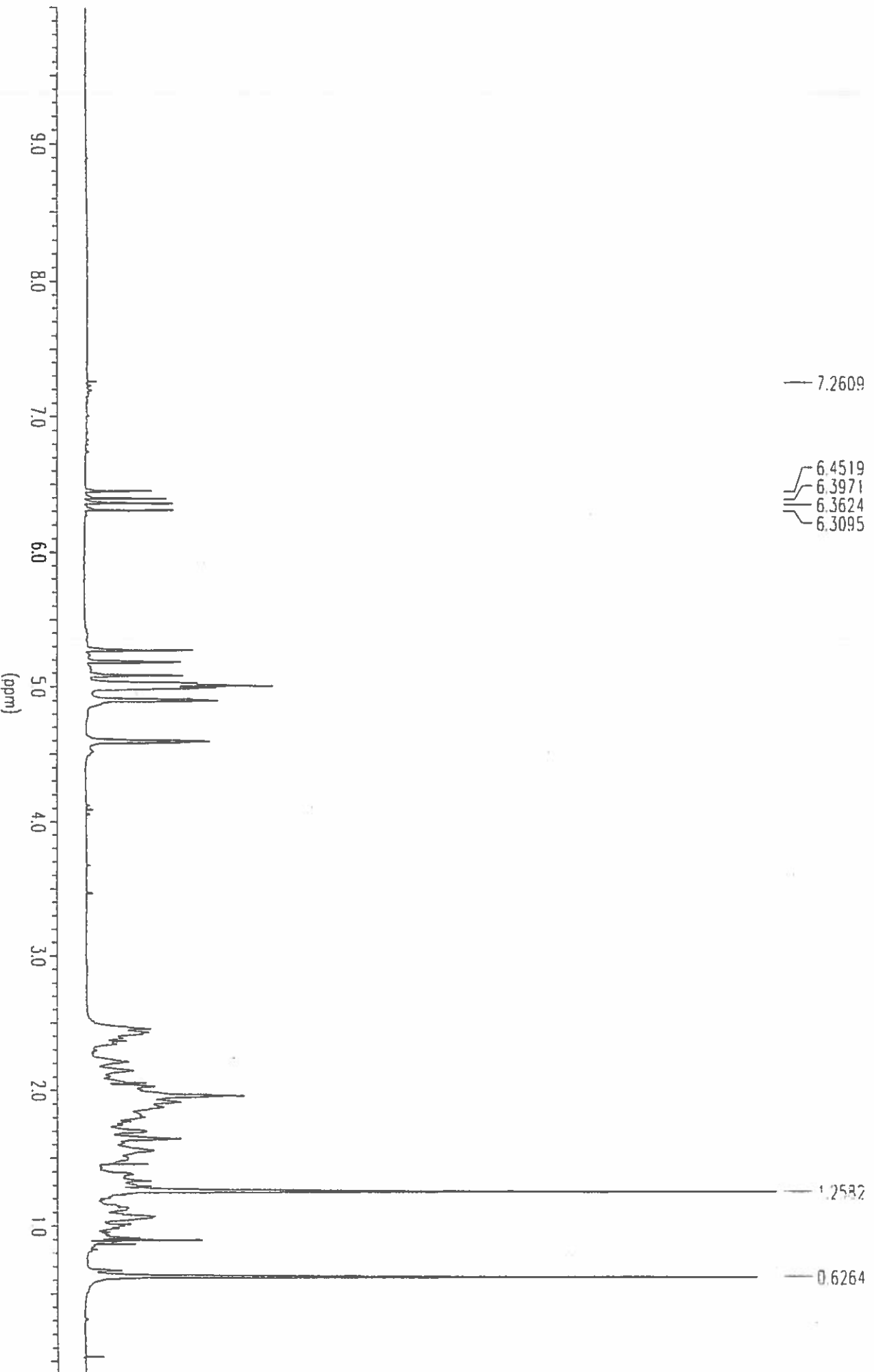


Figura 2. espectro de RMN de 1H del ácido mirreocomunicico

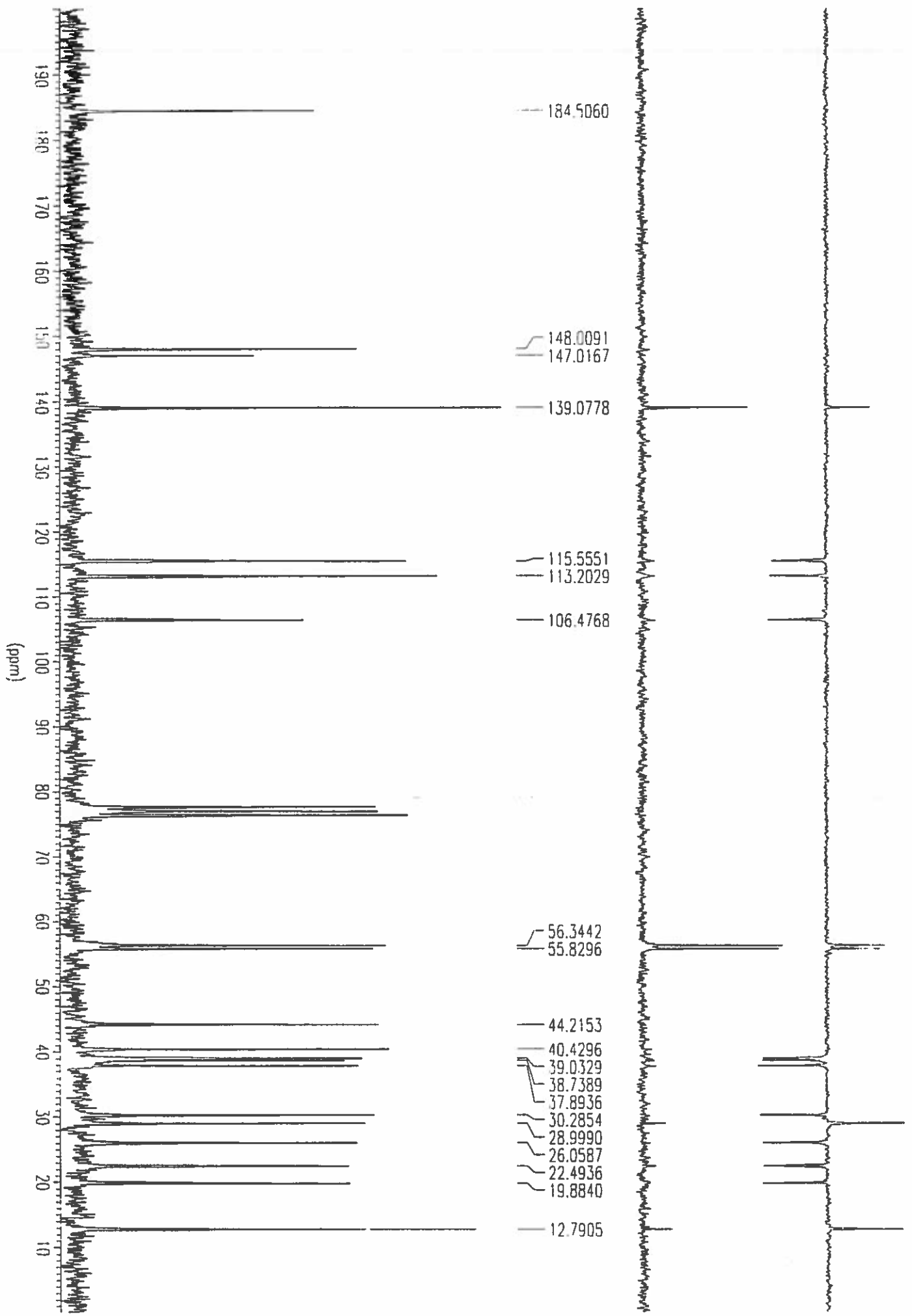


Figura 3. Espectro de RMN de ^{13}C del ácido mirceocomunicó

**MÉTODOS DE CONTROL
FISICOQUÍMICO II**

Espectros de RMN (^1H y ^{13}C)

100 MHz

9.700

9.696

7.260

6.741

6.721

6.655

6.651

6.621

6.617

6.601

6.597

5.930

3.019

3.005

2.985

2.971

2.640

2.622

2.619

2.604

2.591

2.587

2.559

2.538

2.524

2.505

1.088

1.077

1.072

ppm

1

2

3

4

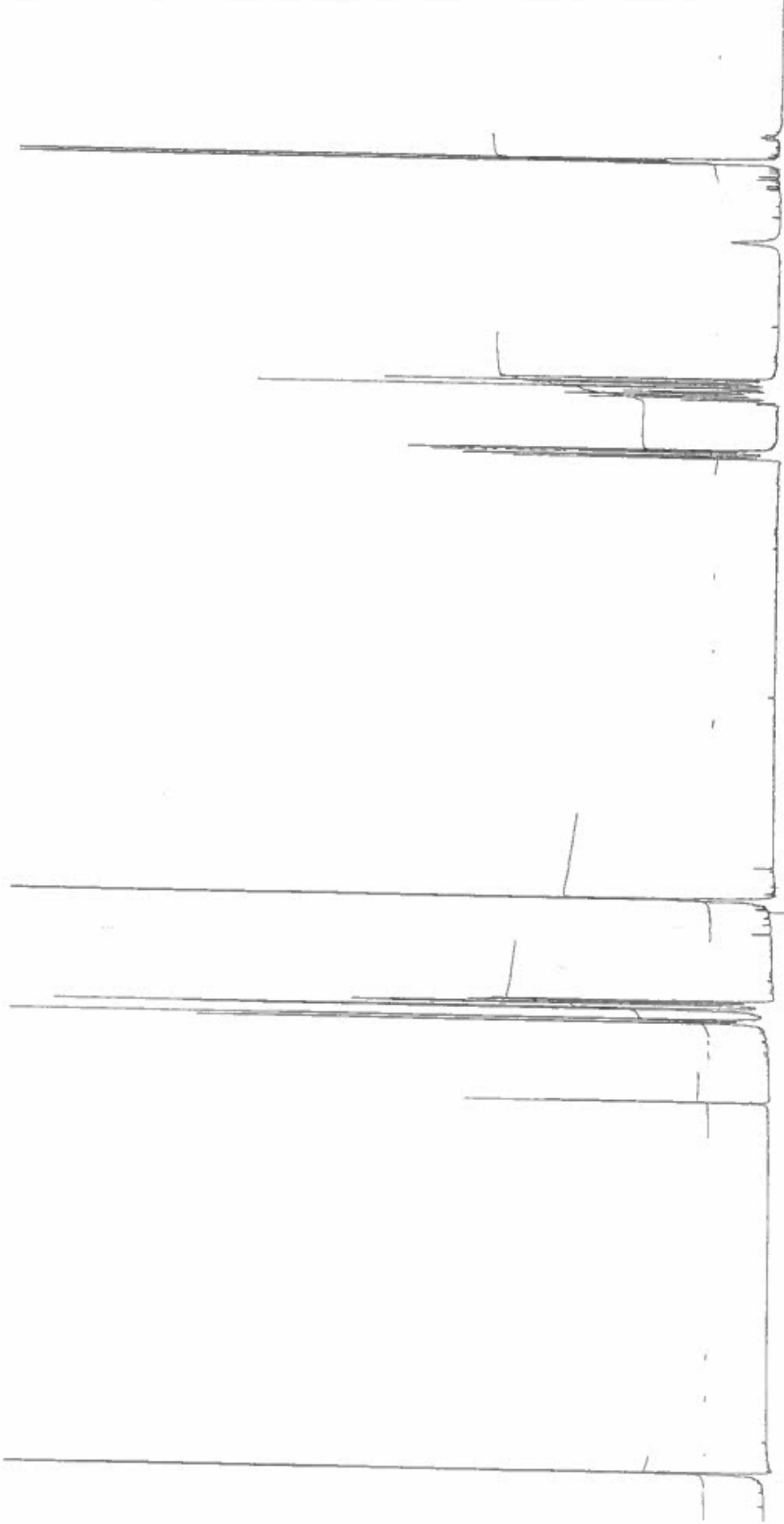
5

6

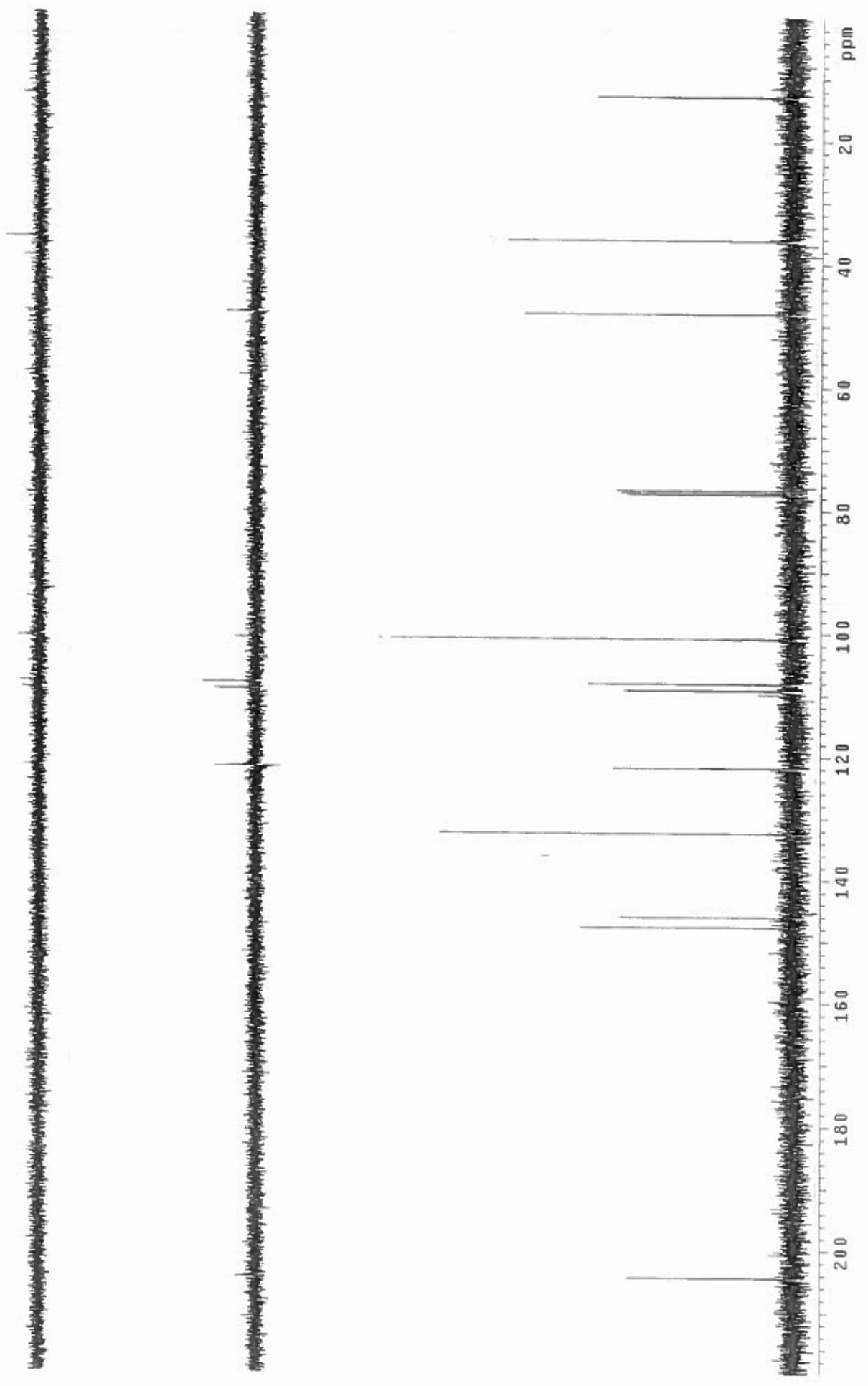
7

8

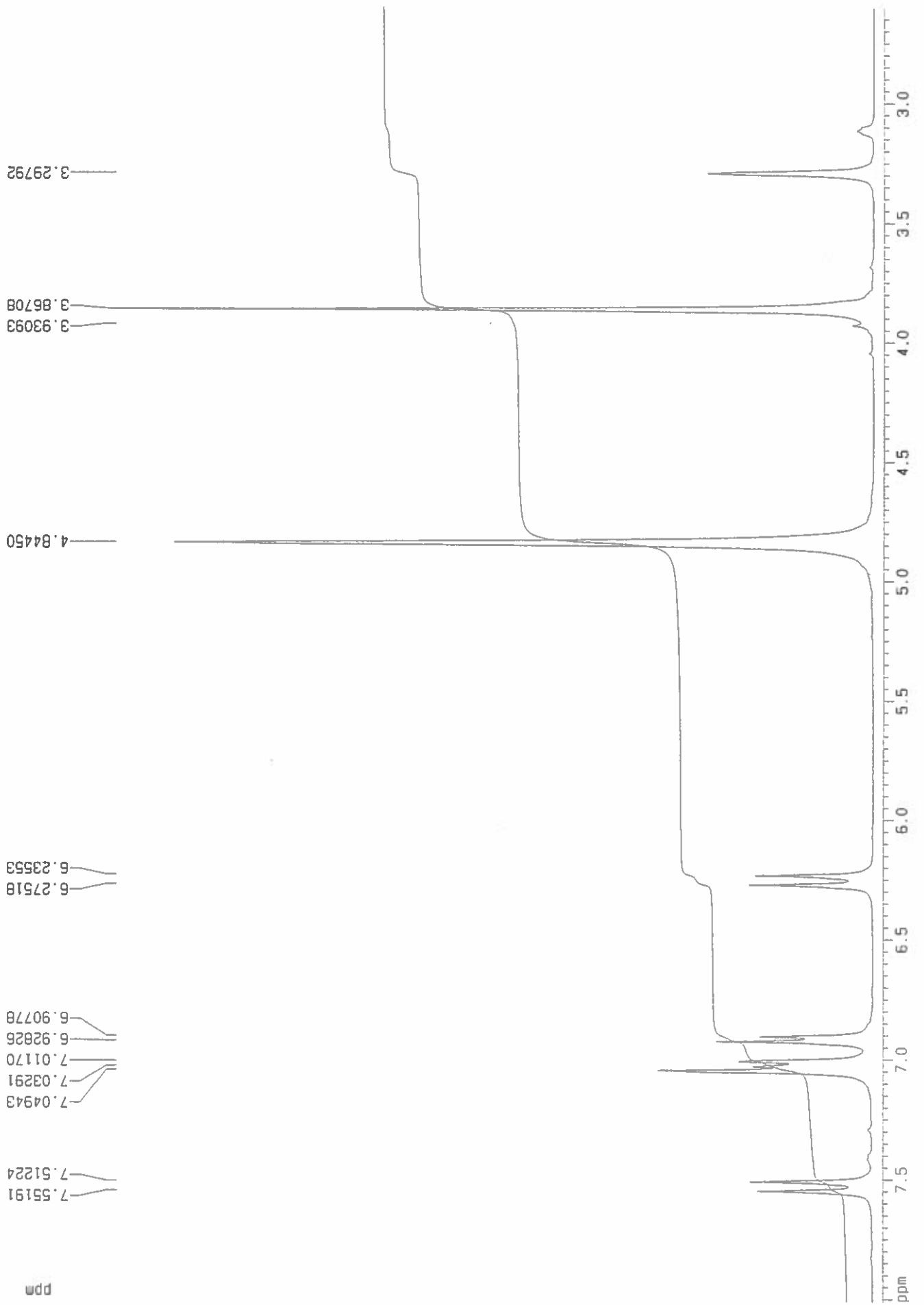
9



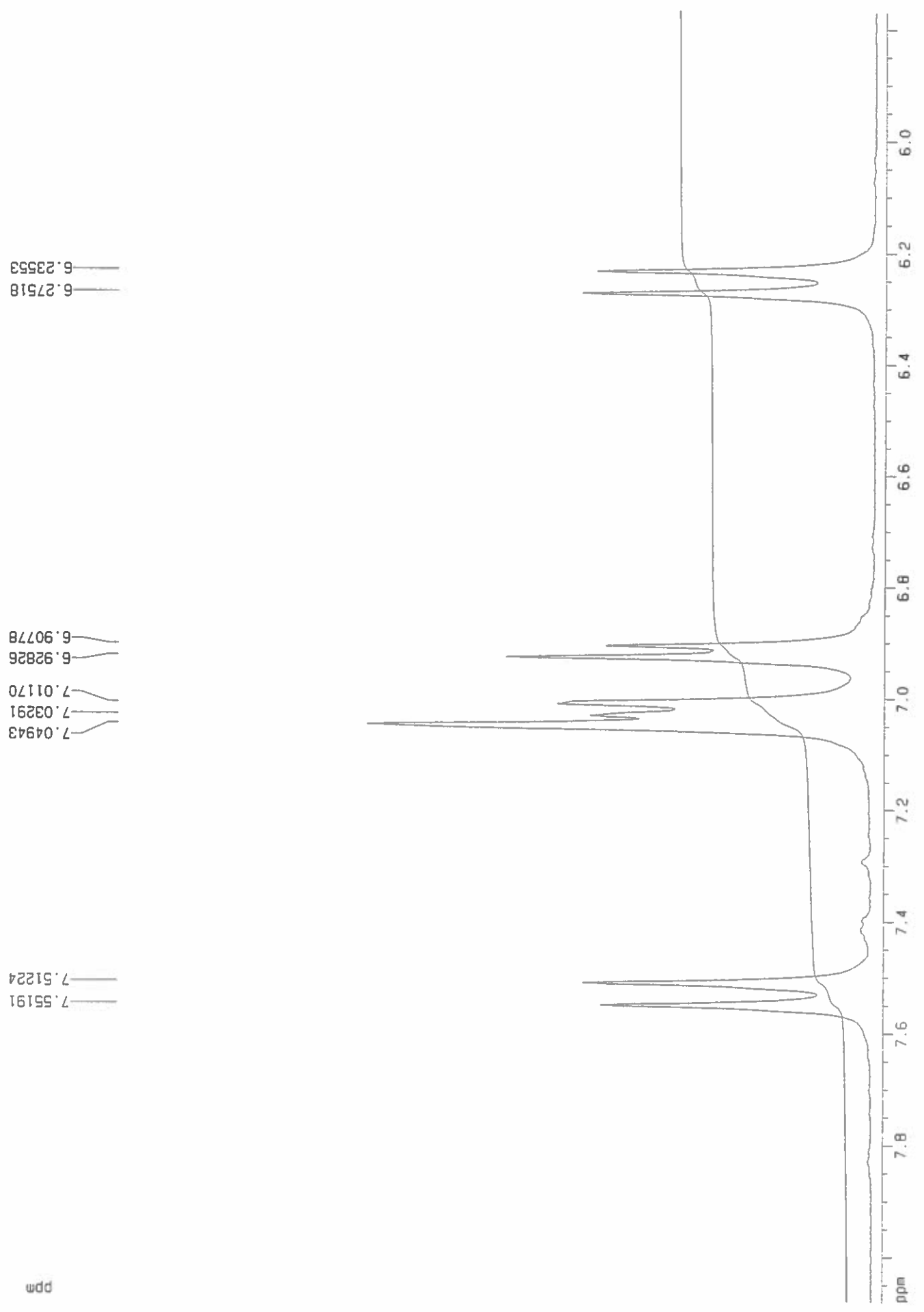
204.432
 204.409
 147.703
 146.076
 132.495
 121.962
 121.931
 110.000
 109.320
 109.236
 108.213
 100.903
 77.438
 77.125
 76.804
 48.191
 36.336
 13.139



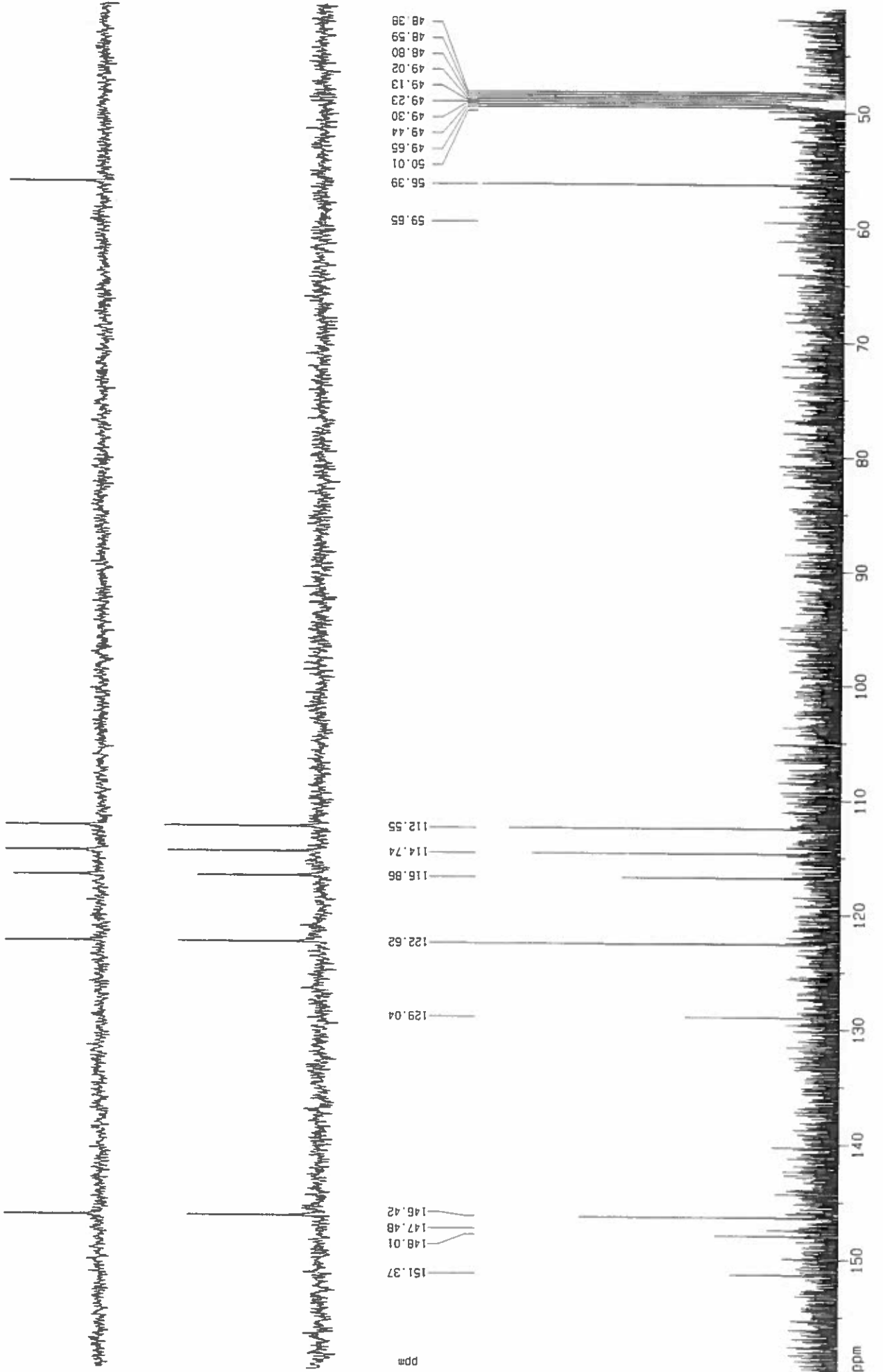
127mm-0119 CPM A
1H MeOH-d4

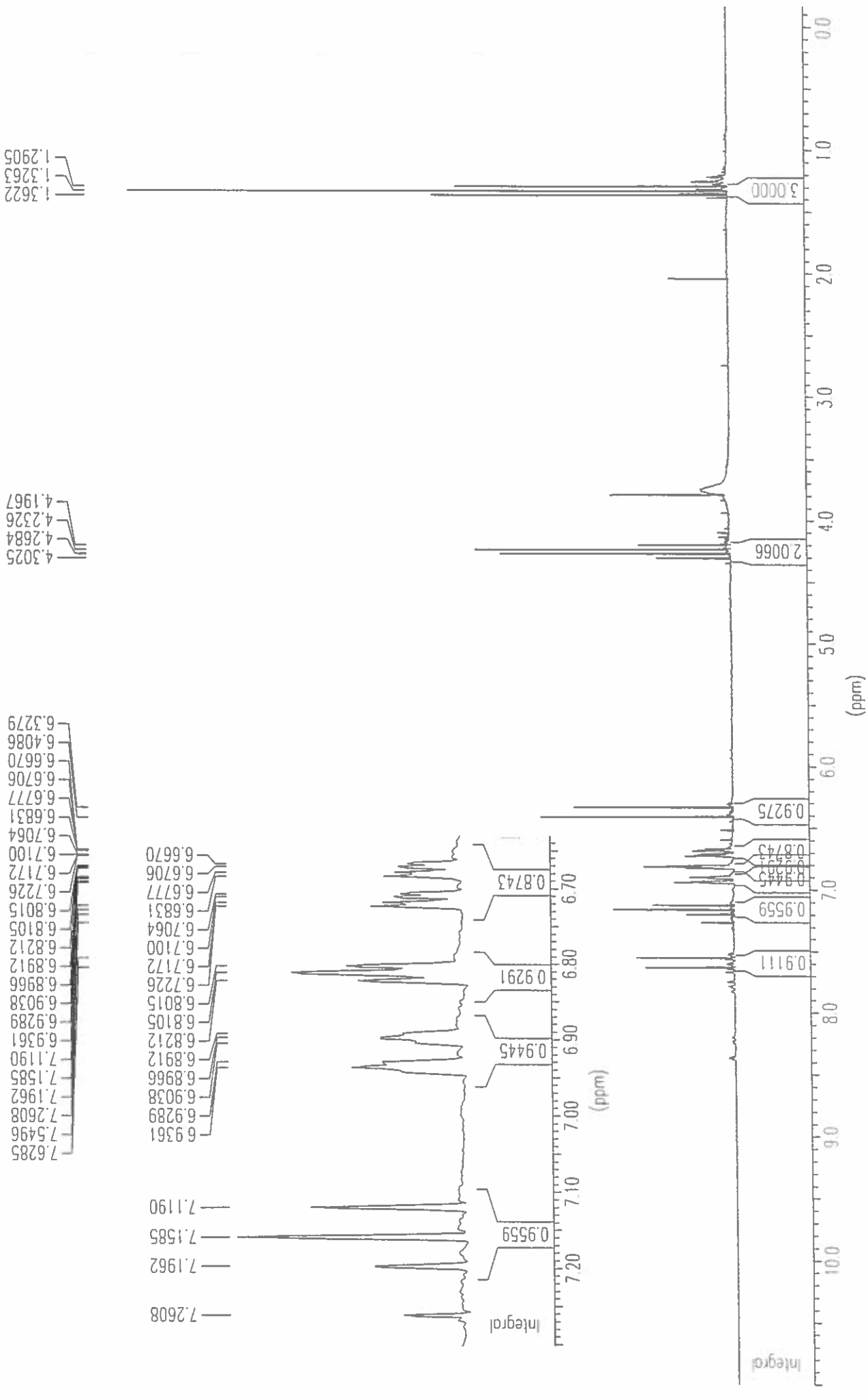


127mm-0119 CPM A
1H MeOH-d4

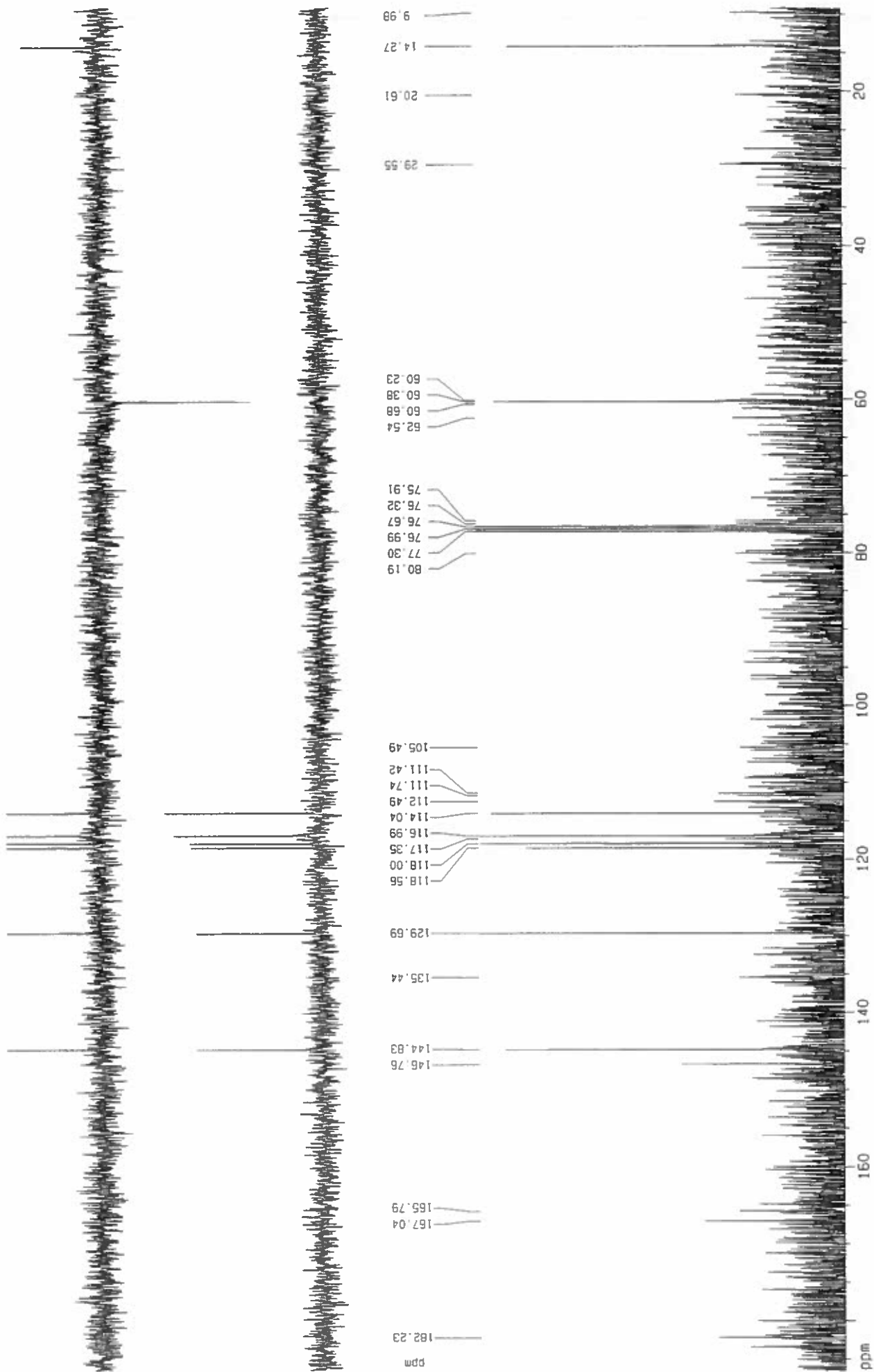


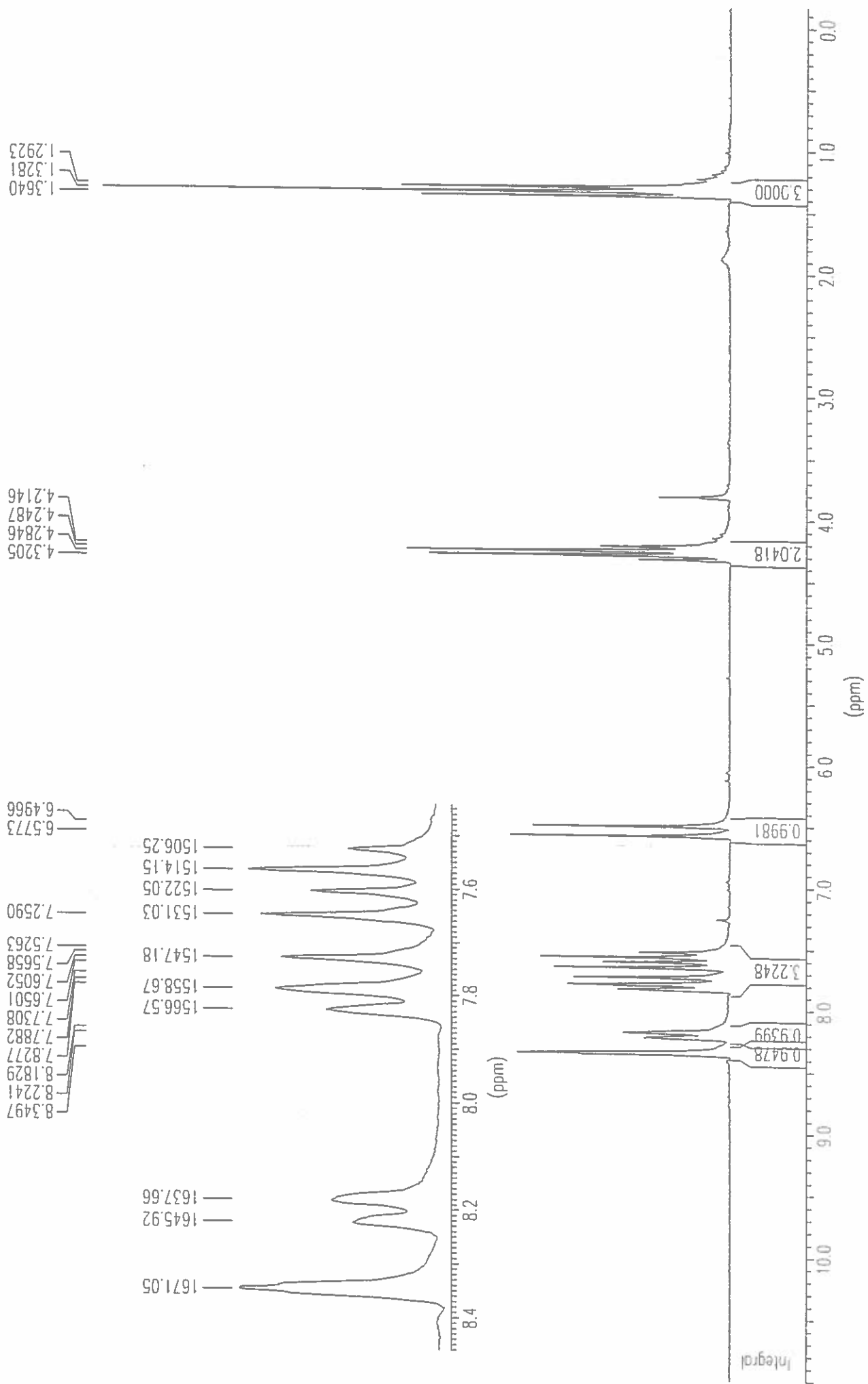
12rmn-0119 CPM A
13C MeOH-d4

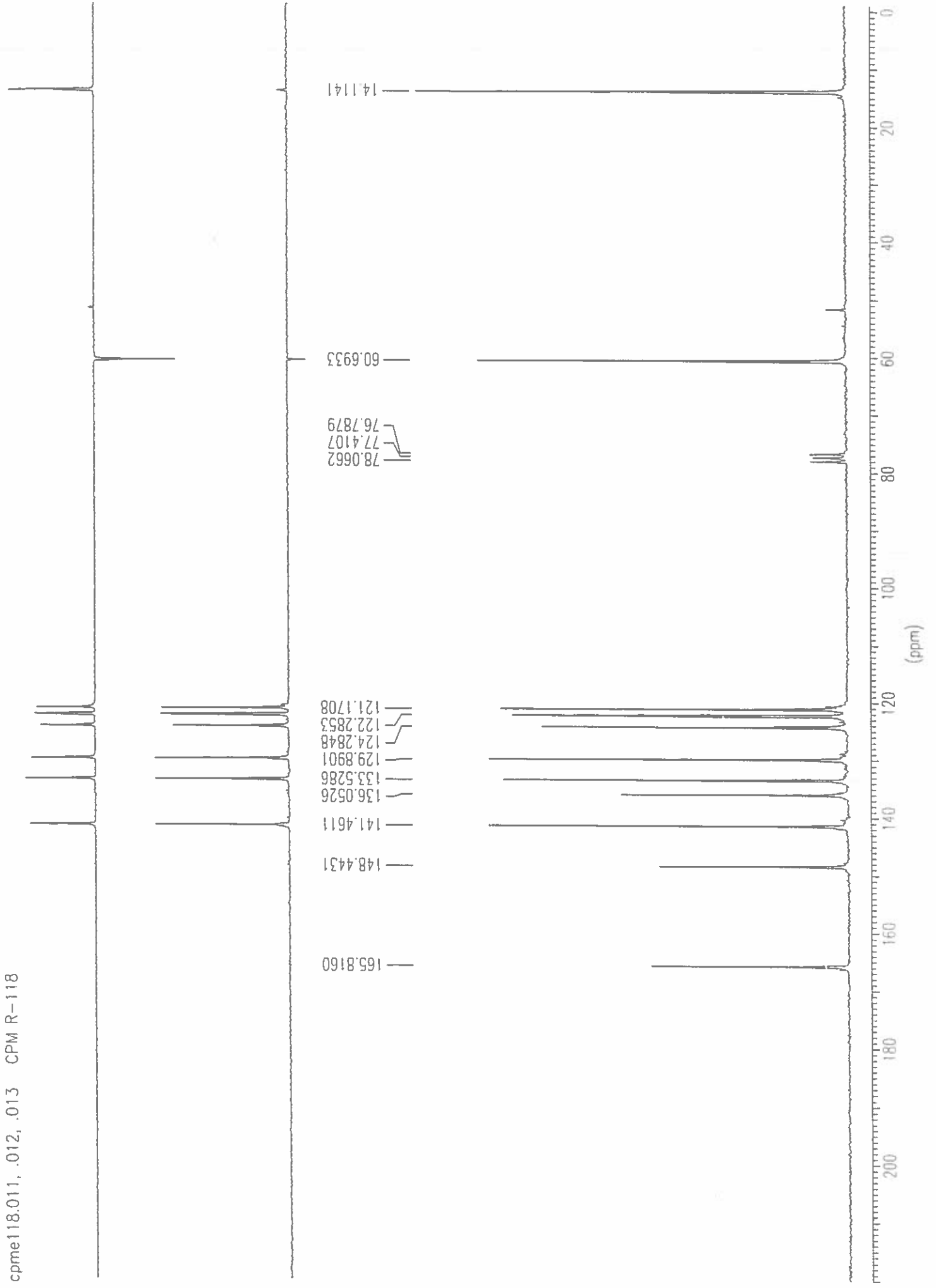




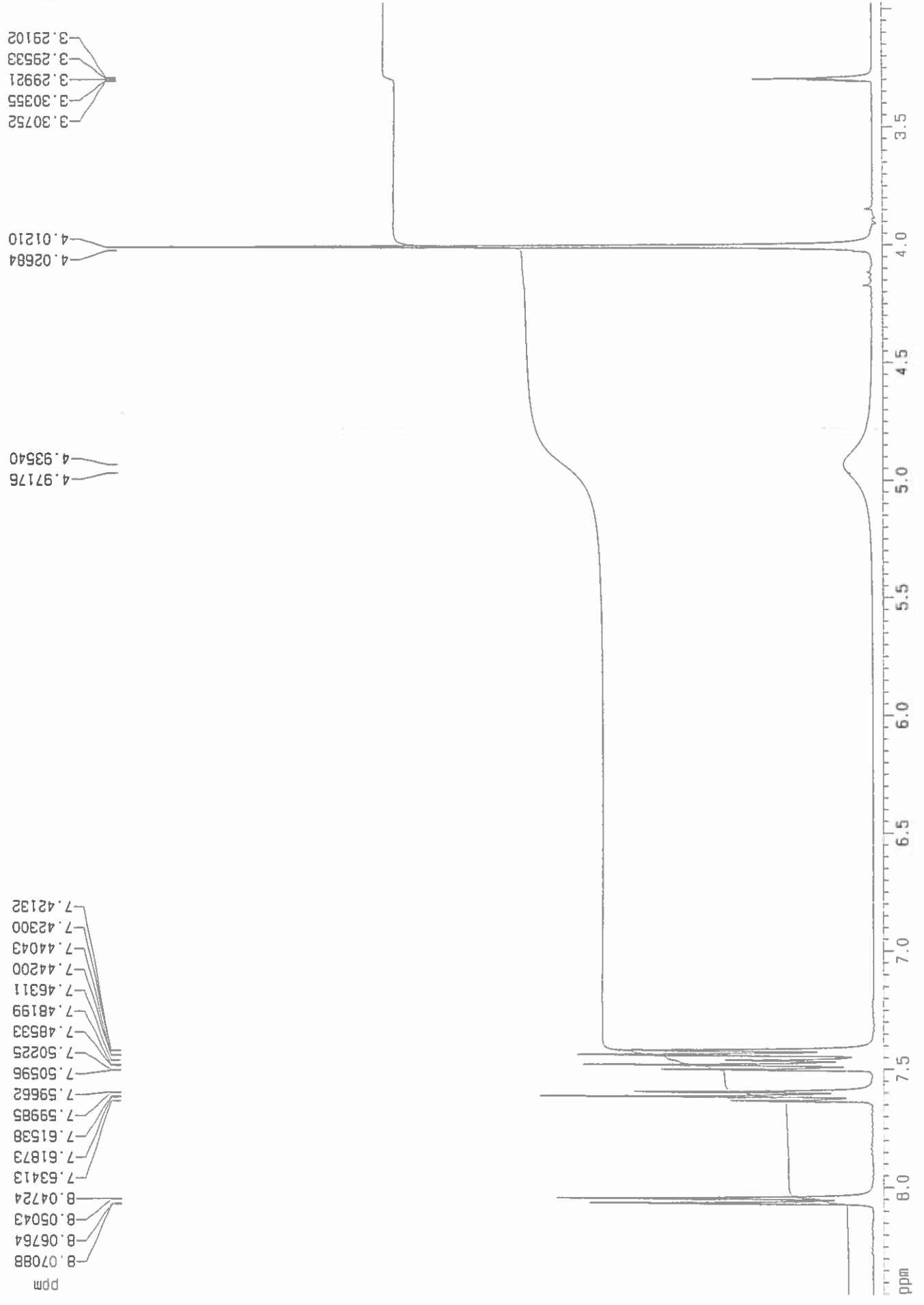
12mm-0118 CPM-AW 2-4
13C CDC13







12rm-0121 CPM C
1H MeOH-d4



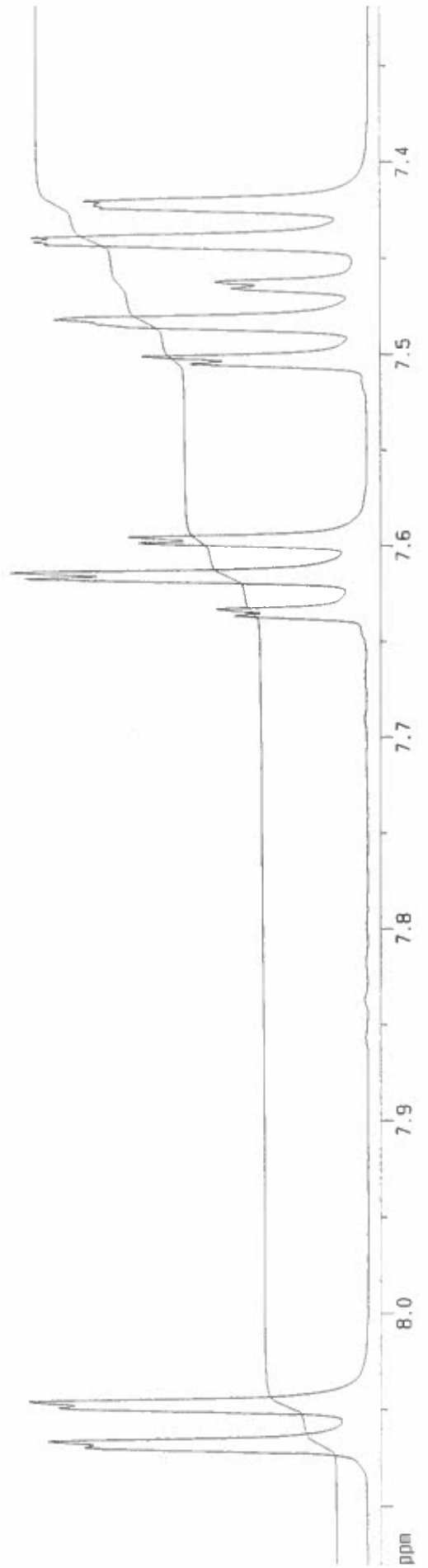
12rnn-0121 CPM C
1H MeOH-d4

7.50536
7.50180
7.48242
7.46604
7.46267
7.44345
7.44217
7.44017
7.42443
7.42302
7.42111

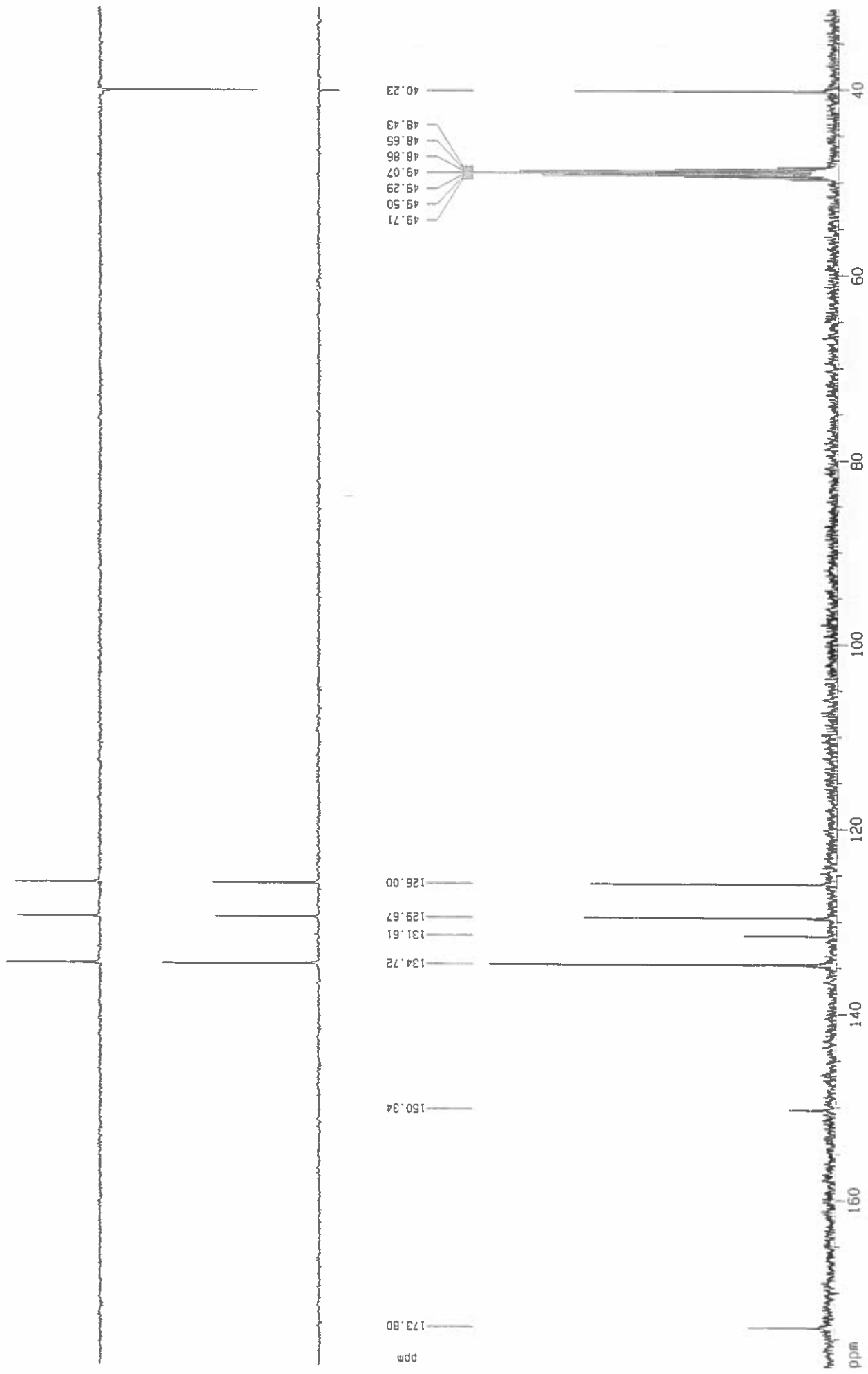
7.63695
7.63363
7.61809
7.61499
7.59919
7.59615

8.07008
8.06735
8.04975
8.04689

ppm



12rmn-0121 CPM C
13C MeOH-d4



**Máster oficial y doctorado de
DISEÑO, OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE FÁRMACOS**

MÓDULO 3: Obtención de fármacos

**CURSO: La síntesis orgánica en la búsqueda y
obtención de fármacos**

Prácticas de laboratorio

Durante la realización de las prácticas de laboratorio se llevarán a cabo varias transformaciones representativas de las que se emplean en la síntesis de fármacos, que permitirán completar la síntesis de lidocaína

En el guión se detalla la información necesaria para la realización de las distintas operaciones implicadas en dichas transformaciones.

Al finalizar las prácticas, los alumnos entregarán un "informe de prácticas", en el que deberán explicar detalladamente algunos aspectos teóricos y cuestiones prácticas, así como una descripción de las observaciones efectuadas durante la realización de los experimentos. Los aspectos a incluir en el informe se han indicado a lo largo de los guiones mediante el epígrafe

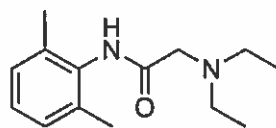
A completar por el alumno

con algunas breves indicaciones para alguno de ellos.

La realización de los informes de prácticas conlleva el trabajo no presencial del alumno, durante el cual deben consultarse la bibliografía (libros, revistas), bases de datos y fuentes de información adecuadas a cada epígrafe.

1.- SINTESIS DE LIDOCAÍNA

INTRODUCCIÓN



La Lidocaína, comercializada con el nombre de Xilocaina, es uno de los anestésicos locales más utilizados en odontología. También tiene efecto antiarrítmico, estando indicada por vía intravenosa o transtraqueal en pacientes con arritmias ventriculares malignas, como la taquicardia ventricular o la fibrilación ventricular.

Los AL impiden la propagación del impulso nervioso disminuyendo la permeabilidad del canal de sodio, bloqueando la fase inicial del potencial de acción. Para ello los anestésicos locales deben atravesar la membrana nerviosa, puesto que su acción farmacológica fundamental la lleva a cabo uniéndose al receptor desde el lado citoplasmático de la misma. Esta acción se verá influenciada por: 1) el tamaño de la fibra sobre la que actúa (fibras de motricidad y tacto, menos afectadas que las de temperatura y dolor); 2) la cantidad de anestésico local disponible en el lugar de acción; 3) las características farmacológicas del producto.

Esto explica el "bloqueo diferencial" (bloqueo de fibras sensitivas de dolor y temperatura sin bloqueo de fibras motoras), y también nos determinará la llamada "concentración mínima inhibitoria".

Todos los anestésicos locales responden a una estructura química superponible, que se puede dividir en cuatro subunidades :1: núcleo aromático, que es el principal responsable de la liposolubilidad de la molécula; 2: unión éster o amida, que determinará el tipo de degradación que sufrirá la molécula; 3: cadena hidrocarbonada, que generalmente posee dos átomos de carbono e influye en la liposolubilidad, la duración de acción y la toxicidad; y 4: grupo amina, que es la que determina la hidrosolubilidad de la molécula y su unión a proteínas plasmáticas.

MECANISMO DE LAS REACCIONES A EMPLEAR

A completar por el alumno

REALIZACIÓN

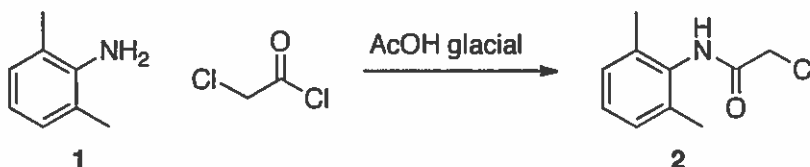
MATERIALES Y REACTIVOS

Material	Reactivos
Paso 1 Balón Agitador grande Placa agitadora Baño y termómetro Probetas Kitasato Büchner Vidrio de reloj	Paso 1 2,6-dimetilanilina (1) AcOH glacial Cloruro de cloroacetilo NaOAc 5%
Paso 2 Balón esmerilado Refrigerante esmerilado Agitador Placa calefactora Baño Probetas Kitasato Buchner Embudo decantación Cubeta y placa TLC Erlenmeyer Vaso para dejar evaporar-cristalizar	Paso 2 2-cloro-2',6'-dimetilacetanilida (2) Tolueno Dietilamina HCl 2M KOH 6M Hexano K ₂ CO ₃ anhidro I ₂ (revelador)

Paso 3	Paso 3
Balón de cristalización	2-dietilamino-2',6'-dimetilacetanilida (Lidocaína, 3)
Kitasato	Éter dietílico
Büchner	Etanol
Vidrio de reloj	Acetona
	H ₂ SO ₄ concentrado

DESCRIPCIÓN DETALLADA

1.- Síntesis de 2-cloro-2',6'-dimetilacetanilida (2)



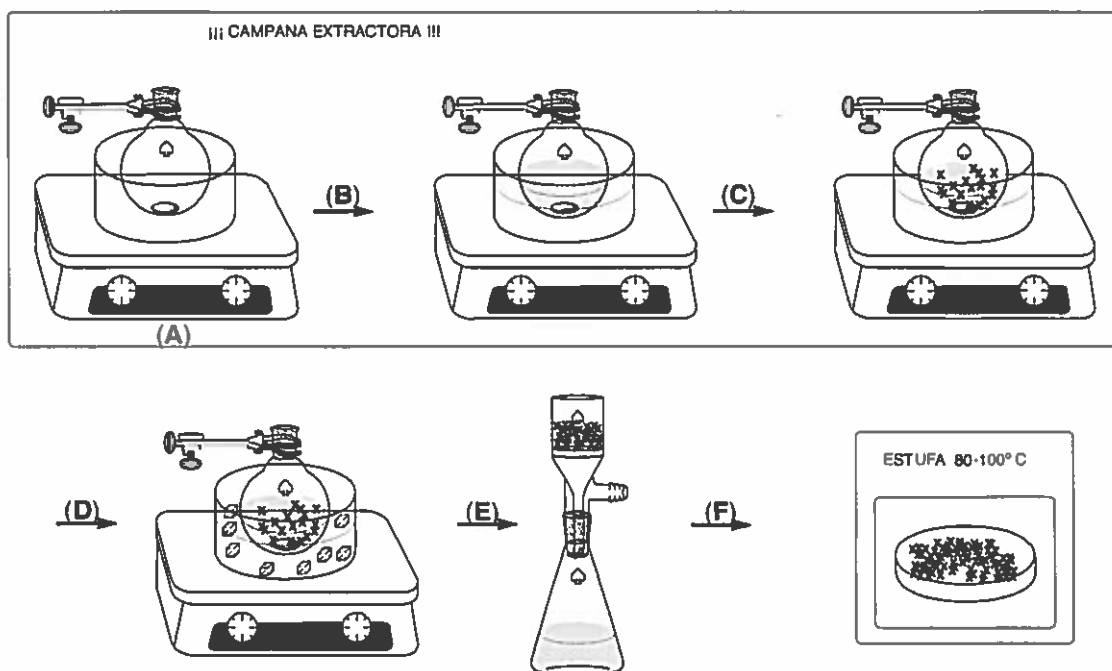
En un balón de 250 mL seco, provisto de agitador magnético y colocado en la campana extractora, dentro de un baño vacío (paso A), se adicionan a temperatura ambiente 5 mL de 2,6-dimetilanilina (1). A continuación se añaden sucesivamente 2 mL de ácido acético glacial y 3 mL de cloruro de cloroacetilo, lentamente y sin dejar de agitar continuamente (paso B).

Durante el proceso se forma un precipitado compacto (paso C).

Una vez finalizada la adición, se pone agua en el baño, se calienta hasta alcanzar una temperatura de 45° C (60° C del baño) y sobre el precipitado se añaden 100 mL de disolución de acetato sódico al 5% y se mantiene a 45°C durante 50 minutos (aprox.). El producto resultante se enfría hasta 10° C (paso D) y se recoge el producto resultante mediante filtración a vacío (paso E).

Para recuperar la mayor parte del precipitado que queda depositado en las paredes del matraz de reacción, se utiliza agua fría, que también sirve como agua de lavado del precipitado depositado en el Büchner. Después de repetir el proceso, se puede conseguir recuperar totalmente el producto y lavar completamente todo el ácido acético del producto de reacción.

El producto final, 2-cloro-2',6'-dimetilacetanilida (2), se seca en la estufa entre 80 y 100° C (paso F), obteniéndose aproximadamente 4,8 g.



2.- Síntesis de 2-dietilamino-2',6'-dimetilacetanilida (Lidocaína) (3)

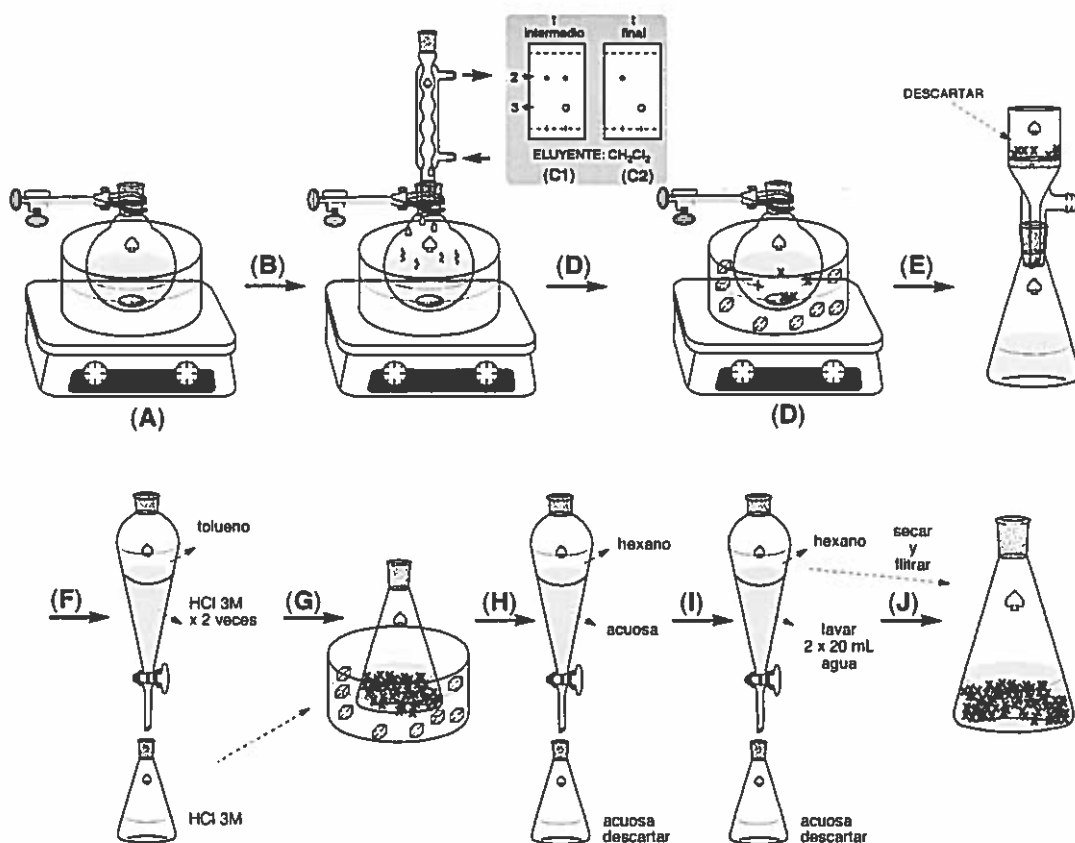


En un matraz esmerilado de 250 mL se ponen 4,8 g de la 2-cloro-2',6'-dimetilacetanilida (2) en 50 mL tolueno. A continuación se añaden 10 mL de dietilamina (paso A) y la mezcla se calienta a ebullición durante 1,5 horas en baño de arena (paso B). El progreso de la reacción se puede controlar mediante CCF (cromatografía de capa fina), utilizando Hexano/EtOAc 6:4 como eluyente y 2-cloro-2',6'-dimetilacetanilida (2) como referencia (imagen C1).

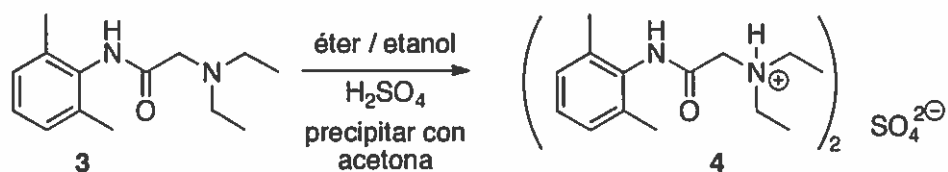
Una vez que haya desaparecido completamente el material de partida (1,5 h aprox.; imagen C2), se detiene el calentamiento y se enfría en un baño de hielo (paso D). La lidocaína no precipita y se mantiene en disolución, por lo que se procede a filtrar la disolución, descartando el precipitado (paso E).

Para recuperar el producto final, se trasvasa la disolución del producto bruto de reacción en tolueno a un embudo de decantación de 250 mL y se extrae dos veces con porciones de 30 mL de HCl 3M (paso F). Las dos fracciones acuosas se reúnen en un Erlenmeyer, se enfrían exteriormente en un baño de hielo y se añaden lentamente 30 mL de KOH 6 M en pequeñas porciones, hasta que se produce la precipitación del producto, finalmente, se añaden otros 10 mL adicionales de KOH 6 M (paso G). El precipitado de lidocaína se filtra en un embudo Büchner.

En caso de que se obtenga muy poca cantidad de precipitado, a las aguas del filtrado se adicionan 25 mL de hexano y se pasa toda la mezcla a un embudo de decantación de 250 mL. Se recupera el resto del producto lavando el Erlenmeyer con 10 mL de hexano, que se añade al contenido del embudo de decantación (paso H). Una vez extraído el producto, la fase orgánica se lava con dos porciones de 20 mL de agua (paso I), se pasa a un Erlenmeyer seco, se seca con Na_2SO_4 anhidro y se filtra. Aunque por evaporación rápida del disolvente se obtiene la lidocaína en forma sólida o de un producto aceitoso que solidifica paulatinamente, si se deja evaporar lentamente el disolvente en un vaso de precipitado (o un erlenmeyer) a lo largo de la noche, se obtiene la lidocaína (3) en forma cristalina (paso J).

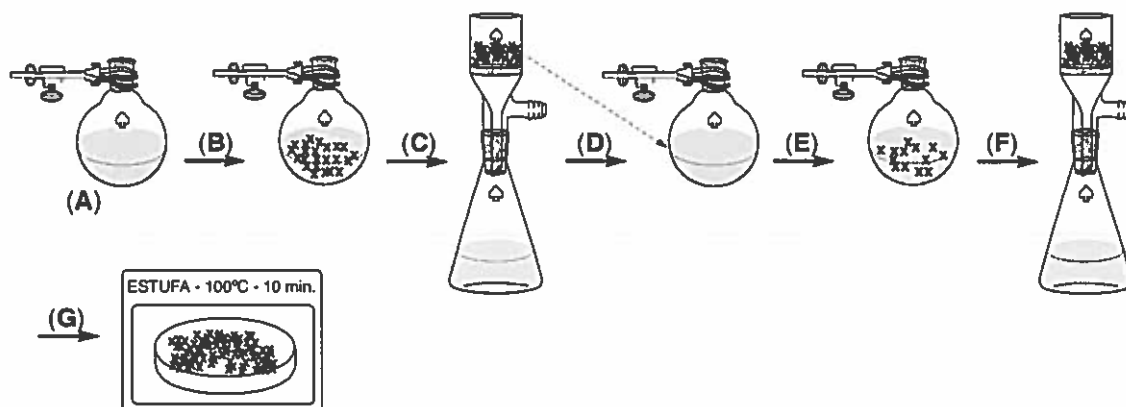


3.- Obtención del sulfato de lidocaína



Disolver la lidocaína (2,0 g) en 2 mL de éter dietílico y añadir 2 mL de etanol y diez gotas de ácido sulfúrico concentrado, mezclando bien toda la disolución (paso A). Añadir acetona hasta la aparición del precipitado de sulfato de lidocaína (4) y agregar 5 mL más de acetona (paso B).

El producto sólido se recoge en el Büchner y se lava con 10 mL de acetona (paso C). El sulfato de lidocaína (4) así obtenido se recrystaliza disolviéndolo en 1 mL de agua (paso D) y añadiendo aproximadamente 30 mL de acetona, dejándolo cristalizar durante algunos minutos (paso E). Los cristales se recogen en el Büchner, se lavan con unos mL de acetona (paso F) y se secan en la estufa a 100° C durante 10 minutos (paso G).



PRESUPUESTO

Reactivo	Precio	Cantidad a utilizar	Total

A completar por el alumno (consultar catálogos y listas de precios actuales)

PRECAUCIONES Y SEGURIDAD

A completar por el alumno

REALIZACIÓN EXPERIMENTAL

Descripción detallada de la realización experimental, incluyendo cantidades utilizadas, hechos observados, cálculo de rendimientos, etc...

A completar por el alumno

CARACTERIZACIÓN

P.f.

2',6'-dimetilacetanilida (2). P.f.=145-146°C

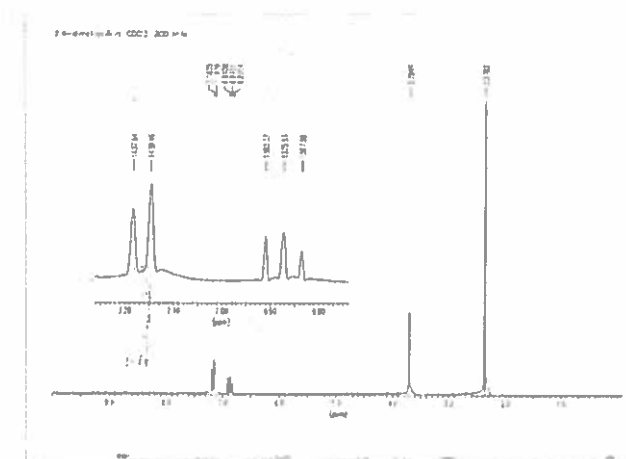
Lidocaína (3). P.f.=68-69°C

Sulfato de lidocaína (4). P.f.=210-212°C

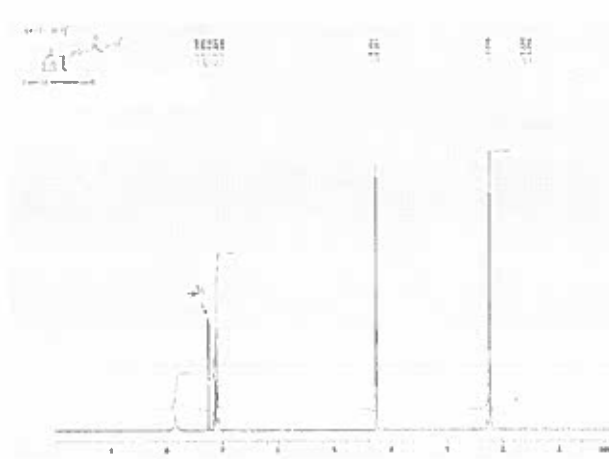
IR

RMN-¹H

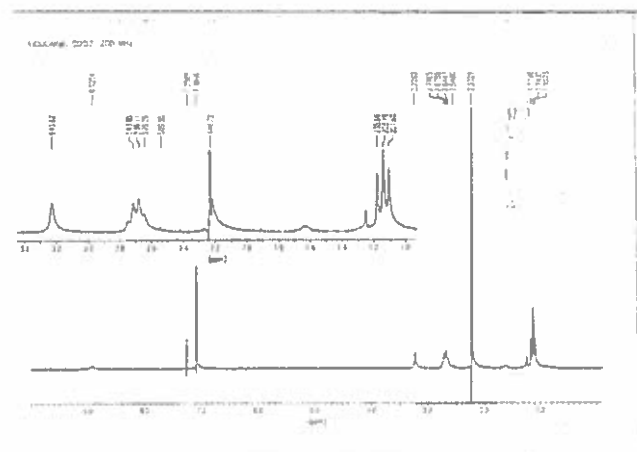
2,6-dimetilanilina (1)



2-cloro-2',6'-dimetilacetanilida (2)

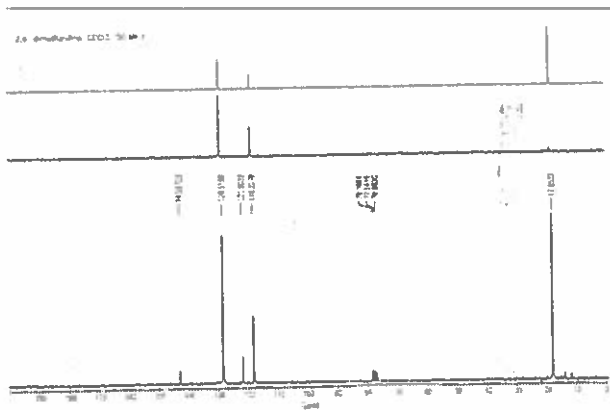


lidocaína (3)

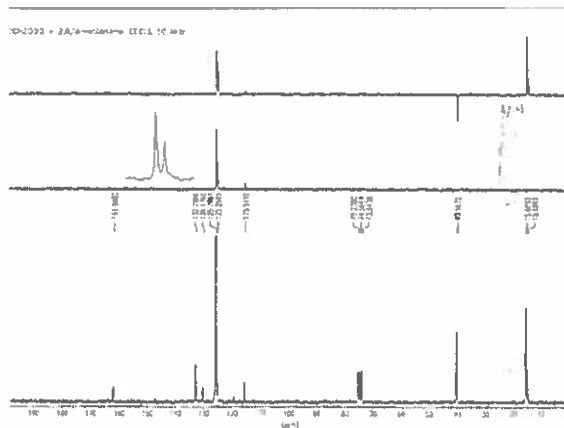


RMN-¹³C

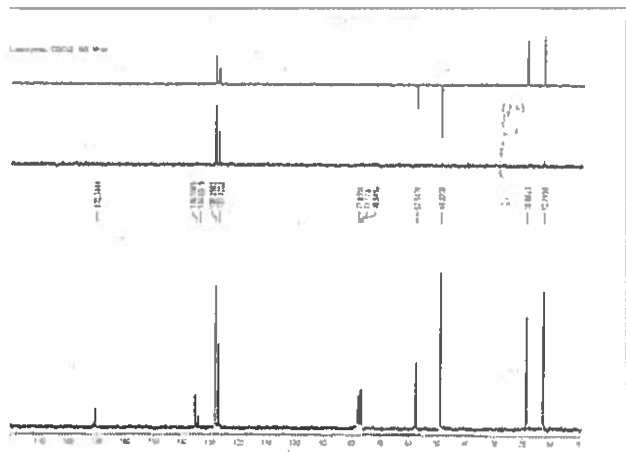
2,6-dimetilanilina (1)



2-cloro-2',6'-dimetilacetanilida (2)



lidocaína (3)



A completar por el alumno

- Comparar los resultados obtenidos experimentalmente con los de referencia incluidos en este apartado
- Interpretar los datos espectroscópicos