

## DESARROLLO DE REACCIONES MULTICOMPONENTES MEDIANTE PROCESOS AMIGABLES CON EL MEDIO AMBIENTE

**Simoneit, Araceli**

*Laboratorio de Química Aplicada. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (FBCB-UNL)*

*Director: Dr. Murguía, Marcelo César*

*Co-directora: Gutierrez, Carolina Guadalupe*

Área: Ciencias Exactas

Palabras claves: Reacciones multicomponentes, Química verde, Reacción de Mannich

### INTRODUCCIÓN

Los compuestos orgánicos nos proporcionan una diversidad muy amplia de nuevos materiales (plásticos, tinturas, perfumes, medicamentos, etc). Para la construcción de estas nuevas moléculas en el laboratorio generalmente se utilizan grandes cantidades de ácidos minerales, tiempos de reacción prolongados, altas temperaturas, dando como resultado depósitos de sustancias contaminantes y bajos rendimientos. En virtud de lo expuesto y de modo optimizar el uso de los recursos, minimizar los tiempos de reacción y el uso de disolventes nocivos, en el presente trabajo se sintetizaron estructuras  $\beta$ -aminocarbonílicas (Bases de Mannich) bioactivas mediante un sistema de reacción multicomponentes (RMC) empleando estrategias que se basan en los principios de la "Química Verde".

Las RMC son reacciones convergentes en las cuales los átomos de los reactivos de partida se combinan de forma tal de generar selectivamente un único producto. Este tipo de reacciones, permiten cumplir con el segundo principio de la química verde, también conocido como "Principio de Economía Atómica" el cual establece que las reacciones químicas deben ocurrir de forma tal de evitar productos secundarios. Este método nos permite obtener compuestos  $\beta$ -aminocarbonílicos con actividad antimicrobiana para ser utilizados como preservantes de superficies como papel, maderas y cueros.

### OBJETIVOS

- Optimizar las estrategias de síntesis para obtener compuestos  $\beta$ -aminocarbonílicos (Bases de Mannich) utilizando disolventes amigables con el ambiente y ácido tosilico (TsOH) como catalizador selectivo.
- Evaluar la actividad antimicrobiana (bactericida y fungicida), de los compuestos bioactivos obtenidos, mediante técnicas microbiológicas como la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM), frente a diferentes tipos de microorganismos (bacterias Gram +, Gram -, levaduras y hongos filamentosos).

Título del proyecto: Química Verde: Desarrollo de Nuevos Fosfolípidos Biodegradables para Usos y Aplicaciones como Agentes Coadyuvantes en el Sector Agrícola

Instrumento: Proyecto CAID+D 2020 (FBCB-UNL)

Año convocatoria: 2020

Organismo financiador: Universidad Nacional del Litoral (UNL)

Director: Murguía, Marcelo César

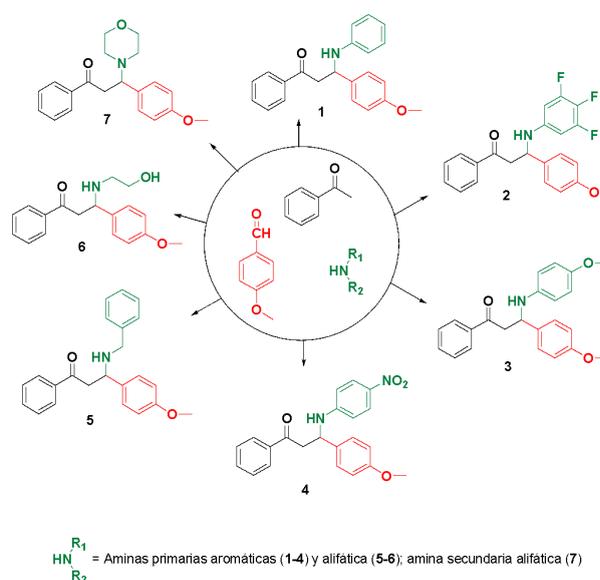
## METODOLOGÍA

Para alcanzar los objetivos planteados se emplearon catalizadores selectivos que aumentan la velocidad de la reacción, el rendimiento y la especificidad hacia el producto deseado, cumpliendo así el principio de "Catálisis". En el presente trabajo se utilizó como catalizador ácido tosílico (ácido de Lewis), un material económico, fácilmente recuperable y reutilizable. Hasta la redacción del presente trabajo, se han optimizado las estrategias de síntesis y se han caracterizado siete compuestos  $\beta$ -aminocarbonílicos (Bases de Mannich) haciendo uso de la RMC, quedando pendiente la evaluación de la actividad antimicrobiana frente a distintas clases de microorganismos.

### Síntesis química de los compuestos $\beta$ -aminocarbonílicos

Para obtener los compuestos  $\beta$ -aminocarbonílicos, se utilizaron como materiales de partida acetofenona, *p*-anisaldehído (estructuras fijas) y una amina primaria o secundaria (estructuras variables). Para ello, en un balón de vidrio con agitación constante se adicionaron los tres reactivos de partida, dejándolos reaccionar durante tres horas a temperatura ambiente ( $25 \pm 1$  °C). Como estructuras moleculares variables se emplearon siete aminas diferentes (aromáticas y alifáticas): Anilina (1), 3-fluoroanilina (2), *p*-anisidina (3), *p*-nitroanilina (4), bencilamina (5), monoetanolamina (6) y morfolina (7) (ver **Figura 1**).

El avance de la reacción se siguió mediante cromatografía en capa delgada (CCD), utilizando luz UV y/o vainillina como reveladores.



**Figura 1.** Reactivos y productos para la síntesis química de los compuestos  $\beta$ -aminocarbonílicos.

### Caracterización química de los compuestos sintetizados

Los productos orgánicos sintetizados (1-7) se obtuvieron como cristales sólidos amarillentos o como compuestos oleosos de tonalidades naranjas. Los cristales se purificaron mediante recristalización, utilizando como disolventes hexano y acetato de etilo. Una vez obtenidos fueron filtrados y posteriormente secados al vacío.

Para purificar los productos oleosos se realizó una cromatografía en columna (CC), utilizando polaridades decrecientes de mezclas de hexano/acetato de etilo para la elución de los productos. La caracterización de las moléculas finales fue realizada mediante espectrometría de resonancia magnética nuclear (RMN), espectrometría de masas (EM), espectrometría infrarroja (IR) y cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas (GS-MS).

## Pruebas biológicas

Las pruebas biológicas serán realizadas en la cátedra de Microbiología General, que cuenta con la infraestructura adecuada y las cepas de referencias requeridas para tal fin. Se realizarán pruebas de dilución en caldo y se determinarán las concentraciones inhibitorias mínimas (CIMs) según la técnica propuesta por la NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*) para los siete productos obtenidos con los siguientes microorganismos: Bacterias Gram (+): (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* ATCC 4698); Bacterias Gram (-): (*Chromobacterium* sp. ATCC 53434, *Escherichia coli* ATCC 11775); levaduras (*Candida utilis* ATCC 9950, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763), y hongos filamentosos (*Penicillium roqueforti* ATCC 10110, *Aspergillus niger* ATCC 1015). Con las bacterias Gram (+) se empleará el medio McConkey, mientras que con las Gram (-) se usará el medio Lactosa Rojo Fenol. La actividad antifúngica será evaluada con el medio de cultivo Sabouraud Glucosado.

## RESULTADOS

Los rendimientos obtenidos, utilizando la estrategia de síntesis planteada, fueron del orden del 80 al 90 %. Sobre la base de estos rendimientos, falta determinar si los compuestos obtenidos son mezclas racémicas debido a la presencia de un carbono quiral en la estructura de todos los productos sintetizados. Para confirmar si son estereoquímicamente puros o mezclas, serán analizados por técnicas cromatográficas como HPLC y GC.

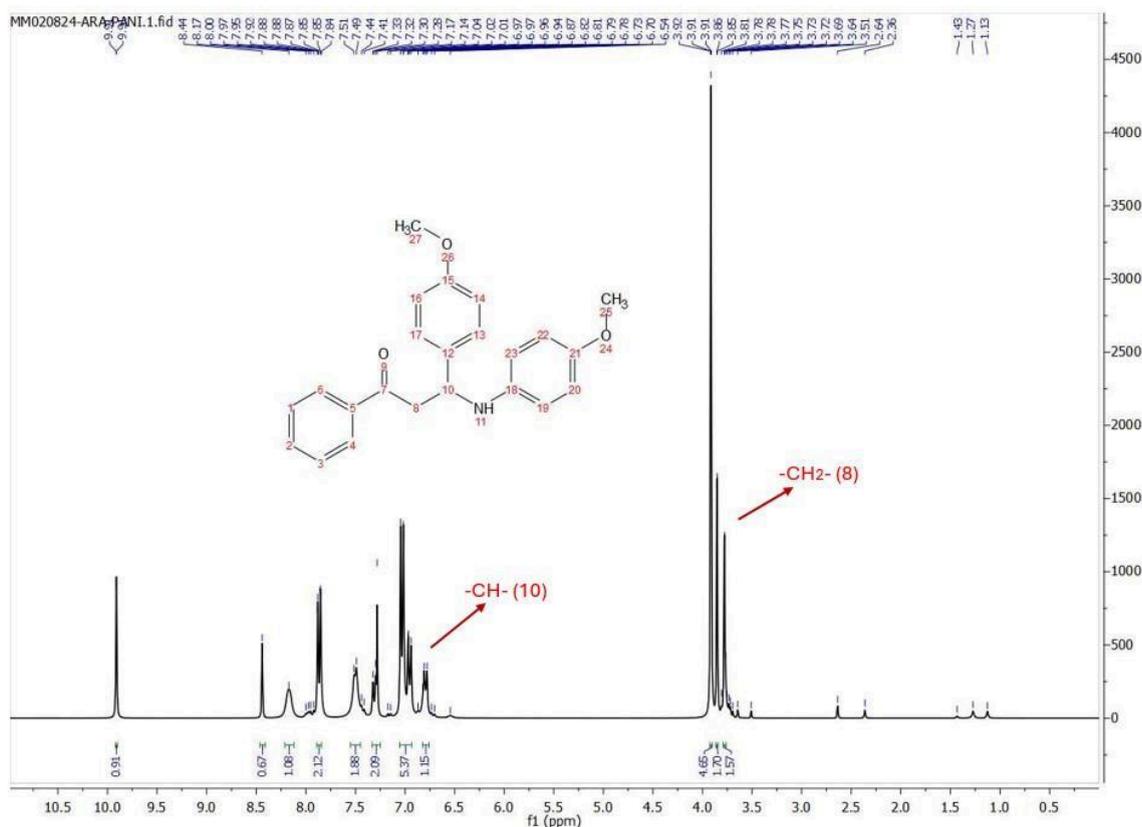


Figura 2. Espectro de <sup>1</sup>H-RMN realizado para la molécula (3).

Los compuestos se caracterizaron por espectroscopía de RMN (<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C), utilizando como disolvente Cloroformo deuterado (CDCl<sub>3</sub>) y tetrametilsilano (TMS) como referencia. Los desplazamientos químicos se encuentran expresados en delta ( $\delta$ ) partes por millón (ppm).

A modo de ejemplo, se analizará el espectro del compuesto (3), obtenido a partir de la *p*-anisidina. La misma es una amina aromática que cuenta con un grupo funcional metoxilo en la posición *para* del anillo aromático, el cual cumple su función como dador de electrones. En estas reacciones la naturaleza electrónica y la estereoquímica de las aminas es muy importante para que ocurran con eficiencia las RMC. Para analizar los resultados de <sup>1</sup>H-RMN se utilizó el programa MestReNova que arroja el espectro RMN de la molécula estudiada. Se realizó un análisis de esta teniendo en cuenta la estructura final del compuesto (3), y de esta manera se reconocieron los desplazamientos químicos de los protones presentes. En la **Figura 2**, se observa el pico característico del grupo metileno (-CH<sub>2</sub>-) en la posición 8 de la estructura planteada y el grupo metino (-CH-) en la posición 10 de la molécula (3), con un  $\delta$  de 3,78 ppm y 6,81 ppm, respectivamente (marcados en rojo). La presencia de ambas señales asegura que la molécula (3) se sintetizó correctamente y con elevada pureza. El área de un pico es proporcional al número de hidrógenos que contribuyen a esa señal, por ello podemos ver que los picos correspondientes a los grupos metoxilos ( $\delta$  3,91-3,86 ppm) es mayor porque integra para 6 hidrógenos, mientras que la señal del metileno a 3,78 ppm es menor porque integra para 2 hidrógenos. Los protones aromáticos se consideran dentro del mismo entorno químico, por ende, se localizan en la misma región de desplazamiento. Estas últimas, debido a la deslocalización de sus electrones, son visibles en un  $\delta$  de entre 7,00 ppm y 9,91 ppm.

**Caracterización por <sup>1</sup>H-RMN de la molécula (3):** <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  H : 9,91 (s, 1H, -CH- Aromático), 8,44 (s, 1H, -CH- Aromático), 8,17 (s, 1H, -CH- Aromático), 7,88 (m, 2H, -CH- Aromático), 7,50 (m, 2H, -CH- Aromático), 7,30 (m, 2H, -CH- Aromático), 7,00 (m, 5H, -CH- Aromático), 6,81 (dd, 1H, -CH- metino), 3,91-3,86 (m, 6H, -O-CH<sub>3</sub>), 3,78 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>- metileno).

## CONCLUSIONES

El presente trabajo se realizó con el fin de obtener nuevas alternativas para las reacciones multicomponentes convencionales, haciendo uso de la química verde. El panorama es alentador ya que se obtuvieron las estructuras moleculares deseadas, optimizando los recursos disponibles ya que las síntesis se realizaron a temperatura ambiente y el tiempo de reacción requerido fue menor debido al empleo de un catalizador económico y de fácil recuperación. Los rendimientos reportados fueron del orden del 80 al 90% y la caracterización utilizando espectrometría de RMN arrojó las señales pertinentes que permitieron reconocer la correcta formación de los productos finales (1-7).

Para continuar por el camino de la Química Verde debemos redireccionar las prácticas utilizadas hasta el momento, que no solo son nocivas para el medio ambiente sino también para quienes manipulan compuestos químicos en un laboratorio de síntesis, por el uso de estas prácticas que están instauradas en las ciencias duras desde tiempos inmemorables. Mediante la implementación de los principios de la Química Verde se pueden obtener productos orgánicos de mayor valor agregado, optimizar los recursos disponibles y lograr entornos de trabajo más seguros.

## BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

**Deligeorgiev T., Gadjev N., Vasilev A., Kaloyanova S., Vaquero J. J., Alvarez-Builla J.** 2010. Green chemistry in organic synthesis. Mini-Rev. Org. Chem., 7, 44-53.

**Azizi N., Torkiyan L., Saidi M. R.** 2006. Highly efficient one-pot three-component Mannich reaction in water catalyzed by heteropoly acids. Org. Lett., 8, 2079-2082.

**Gutierrez C.G., Machuca LM., Acuña Ojeda MF., Alfaro E., Spagnolo LC. and Murguía MC.** 2023. New antifungal agents: synthesis, characterization and biological activity of some Mannich bases derived from 2-mercaptobenzothiazole". Asian J Microbiol. Biotechnol. Environ. Sci. 25, 1-8.