

Síntesis orgánica de la Warfarina racémica por adición de un α - β insaturado

Organic synthesis of racemic warfarin by addition of an α - β unsaturated

Clara S. Varón¹, Cristian C. Ramirez¹, Denise V. Quintero¹

Recibido: 12 de mayo de 2024
Aceptado: 13 de septiembre de 2024

Resumen

Objetivo. El objetivo de este trabajo es desarrollar una ruta sintética para la producción de warfarina (RS)-4-hidroxi-3-(1-fenil-3-oxo-butil)-cumarina, un compuesto químico con propiedades anticoagulantes y raticidas, mediante la reacción de adición de Michael entre la 4-hidroxicumarina y un α - β insaturado en medio básico. **Metodología.** Para la síntesis de warfarina, se emplea una reacción de adición de Michael entre la 4-hidroxicumarina y un α - β insaturado. Esta reacción se lleva a cabo en medio básico para facilitar la formación del intermediario reactivo. La warfarina, un derivado sintético de la cumarina, se encuentra en su forma racémica, compuesta por los enantiómeros (R) y (S), los cuales tienen diferencias significativas en cuanto a potencia, metabolismo e interacciones con otras sustancias. **Resultados.** La síntesis de warfarina se lleva a cabo con éxito utilizando la metodología de adición de Michael, obteniendo una mezcla racémica de los enantiómeros (R) y (S). La formación de los isómeros ópticos se confirma mediante técnicas analíticas como la espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) y cromatografía. Además, se observa que la warfarina sintetizada presenta propiedades anticoagulantes similares a las descritas en la literatura. **Conclusión.** El desarrollo de una ruta sintética mediante la adición de Michael ha demostrado ser una estrategia efectiva para la obtención de warfarina. La mezcla racémica obtenida cumple con las propiedades anticoagulantes y raticidas esperadas. Esta metodología puede ser optimizada para mejorar la

1. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá D.C.

Correspondencia: dvquintero@unicolmayor.edu.co

separación de los enantiómeros y la producción en mayor escala, con aplicaciones potenciales en la industria farmacéutica.

Palabras clave: Warfarina racémica, Anticoagulante, Aldehído, Cetona, Tautomerización , α - β insaturado.

Abstract

Objective. The goal of this work is to develop a synthetic route for the production of warfarin (RS)-4-hydroxy-3-(1-phenyl-3-oxo-butyl)-coumarin, a chemical compound with both anticoagulant and rodenticidal properties. This is achieved through a Michael addition reaction between 4-hydroxycoumarin and an α,β -unsaturated compound in a basic medium. **Methodology.** The synthesis of warfarin is carried out by employing a Michael addition reaction between 4-hydroxycoumarin and an α,β -unsaturated compound. The reaction is performed in a basic medium to facilitate the formation of a reactive intermediate. Warfarin, a synthetic derivative of coumarin, is obtained in its racemic form, consisting of the (R) and (S) enantiomers, which differ significantly in their potency, metabolism, and interactions with other substances. **Results.** The synthesis of warfarin is successfully achieved using the Michael addition method, resulting in a racemic mixture of the (R) and (S) enantiomers. The formation of optical isomers is confirmed through analytical techniques, such as nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy and chromatography. Additionally, the synthesized warfarin demonstrates anticoagulant properties that are consistent with those reported in the literature. **Conclusion.** The development of a synthetic route via the Michael addition reaction has proven to be an effective strategy for obtaining warfarin. The racemic mixture produced exhibits the expected anticoagulant and rodenticidal properties. This methodology can be further optimized to enhance enantiomer separation and scalability, holding significant potential for pharmaceutical applications.

Keywords: Racemic warfarin, Anticoagulant, Aldehyde, Ketone, Tautomerization , α - β unsaturated.

Introducción

El descubrimiento de la warfarina surge gracias a un desafortunado hecho en los años 20 del siglo XIX cuando en el norte de los Estados Unidos y Canadá el ganado presentaba alta tasa de mortalidad por hemorragias incontrolables al presentar lesiones leves e incluso hemorragias internas sin ningún precedente; Frank Schofield se vio atraído por el inexplicable caso, por lo que en 1921 dedujo que la causa de muerte del ganado se debía al consumo de heno húmedo mohoso de trébol de olor, pero desafortunadamente no pudo continuar con su investigación(11-3). Este suceso es debido a que el trébol de olor que consumía el ganado es una leguminosa que contiene cumarina, por lo tanto efecto anticoagulante(4). Hacia 1940 Karl Paul Link, y su equipo en la universidad de Wisconsin, lograron aislar el agente hemorrágico y posteriormente sintetizar un derivado del mismo establecido como 3,3'-metilenobis-(4-hidroxicumarina) que más tarde nombraron como dicumarol (5).

La primera vez que se probó la warfarina en humanos fué en 1952, cuando un recluta de los Estados Unidos queriendo suicidarse consumió durante 5 días veneno para ratas que contenía dosis de warfarina, al ver que no logró suicidarse asistió a un centro médico en donde le realizaron una

transfusión de sangre y le suministraron grandes cantidades de vitamina K para revertir la hemorragia a lo que su organismo respondió con una rápida recuperación (6).

En el interior del cuerpo la warfarina inhibe los efectos de la vitamina K impidiendo la coagulación de la sangre, específicamente por la inhibición de la epóxido reductasa de la vitamina K, enzima que cataliza el paso de esta vitamina oxidada a su forma reducida, finalmente esta es metabolizada en el hígado y excretada con sus metabolitos con una vida media de eliminación de 20 a 89 horas para el enantiómero R y de 18 a 43 horas para el enantiómero S (7).

Metodología

Resumen experimental

El proceso de síntesis de la warfarina se puede realizar de manera sencilla en un laboratorio con un tiempo estimado de 30 minutos, este producto se puede aislar y describir por procesos como la cromatografía, espectroscopia IR, RMN, de masas y polarimetría.

Se inicia mezclando los reactivos principales 4-hidroxicumarina, Figura 1 y benzalacetona, Figura 2, en un vial, se emplea una solución de etóxido de

sodio, Figura 3, en etanol, Figura 4, que por la acción del etóxido de sodio es capaz de retirar el hidrógeno de la molécula de 4-hidroxycumarina y mientras que la solución se deja reposar a temperatura ambiente el etanol permitirá terminar de sintetizar el producto, posteriormente se elimina el disolvente por medio de cristalización y se realizan las respectivas prue-

bas para analizar el producto obtenido. Generalmente para esta síntesis se utilizan diversos catalizadores como lo son el tetrahidrofurano, ácido acético o el cloruro de trietilbencilammonio, catalizadores que en su mayoría no son nocivos para el medio ambiente y permiten un mayor rendimiento de la síntesis del producto (2).

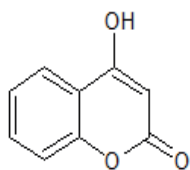


Figura 1. Estructura de la 4-hidroxycumarina.

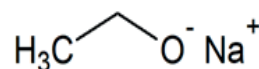


Figura 3. Estructura del Etóxido de sodio.

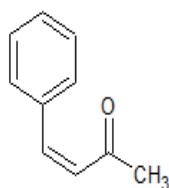


Figura 2. Estructura de la Benzalacetona - α-β instaurado.

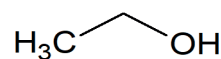


Figura 4. Estructura del Etanol.

Mecanismo de reacción

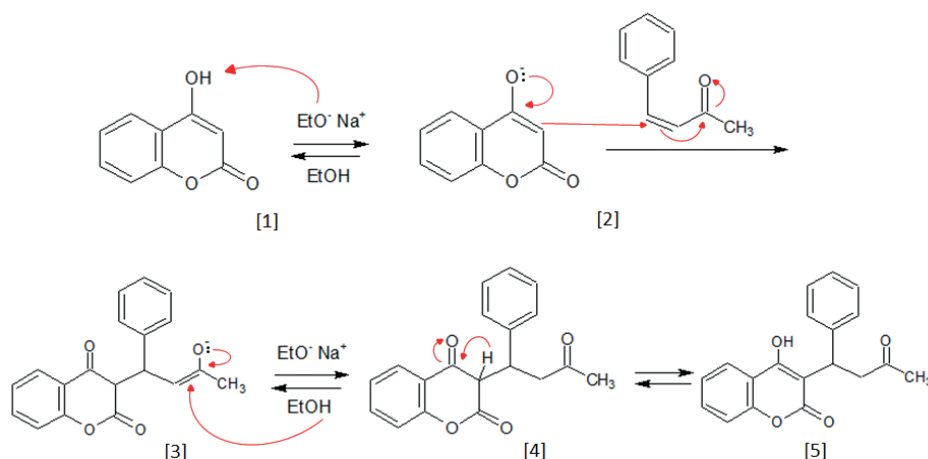


Figura 5. Mecanismo de reacción de la Warfarina racémica

Síntesis

El primer proceso que se lleva a cabo es la desprotonación de la 4-hidroxycumarina, Figura 5 (1), donde el hidrógeno de la posición α al grupo carbonilo es un hidrógeno ácido. Esta es una propiedad que poseen los compuestos carbonílicos, pues estos $H\alpha$ poseen un pK_a que se encuentra entre 18 y 21 (8), por ende son fácilmente accesibles al momento de realizar una desprotonación. En este caso se utiliza el etóxido sódico en etanol que actúa como una base muy fuerte (pH aproximado: 11) y por lo tanto es capaz de desprotonar al hidroxilo del enol, que es la 4-hidroxycumarina la cual le va a ceder su catión hidrógeno (H^+) y como producto de este proceso se va a obtener un anión enolato. La carga negativa resultante sobre el $C\alpha$ (carbanión) es estabilizada por resonancia del doble enlace $C=C$.

El siguiente proceso a desarrollar se denomina adición de Michael, Figura 5, (2) una adición conjugada de carbaniones estabilizados (nucleófilos) al carbono β (electrófilo) de aldehídos y cetonas α - β insaturados con formación de un enlace $C-C$ (9).

De la desprotonación de la 4-hidroxycumarina se obtiene un enolato; en el cual se produce la cesión del par libre del oxígeno formándose un do-

ble enlace $C=O$, que va a realizar un ataque nucleófilo al electrófilo (carbono β del α - β insaturado) pasando la carga hacia el oxígeno para que de esta manera se forme el enlace entre la posición 3 de la 4-hidroxycumarina y el carbono β del α - β insaturado (10).

De la reacción anterior se forma un enolato que va ceder el par libre de electrones de su oxígeno al carbono, Figura 5, (3) para formar un doble enlace y posteriormente se va a desarrollar una tautomerización en la cetona a su forma enol que es un tipo de isomerismo donde existe un equilibrio químico entre dos isómeros, uno en la forma ceto; es decir un isómero con un grupo carbonilo (cetona o aldehído) y otro en la forma enol (grupo hidroxilo unido a uno de los átomos de carbono de un doble enlace) este equilibrio de ambas formas implica la protonación o desprotonación del oxígeno del grupo carbonilo por la migración de un hidrógeno α , es decir un hidrógeno de un carbono en la posición alfa al grupo carbonilo y la reorganización de los electrones del enlace. Para este proceso es necesario de un medio ácido el cual lo va a brindar el etanol, un hidrógeno del etanol protona a la cetona, Figura 5, (4) la cual se tautomeriza a su forma enolato dando lugar finalmente a la molécula de la Warfarina, Figura 5, (5).

Espectroscopía

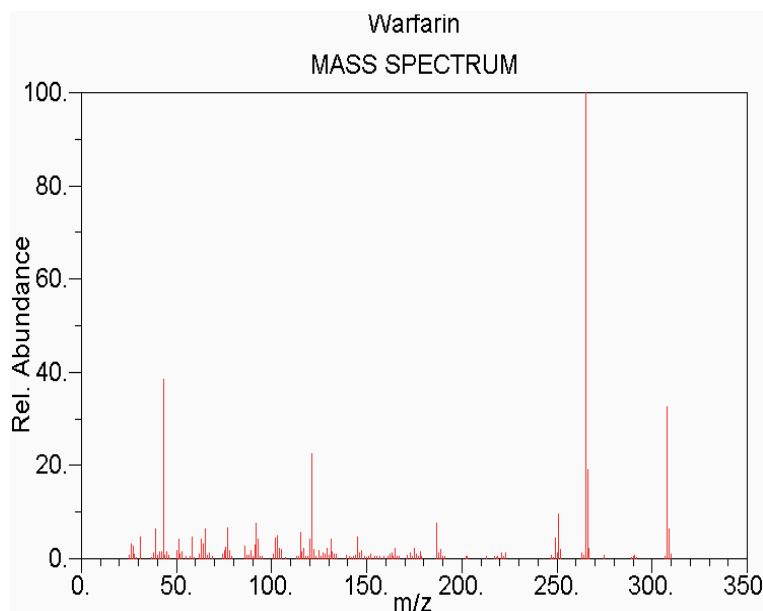


Figura 6. Espectro de masas de la Warfarina (11).

Espectrometría de masas.

El espectro de masas, Figura 6, arroja datos interesantes acerca de la composición de la molécula de warfarina pues muestra un pico mayor m/z correspondiente a 308 que equivale al peso de la molécula y se denota como ión molecular; otro dato que provee este espectro corresponde al pico base que es el ión con mayor abundancia relativa y se ubica en el espectro con una relación m/z de 265, es decir que se determina por la pérdida de un fragmento con relación m/z de 45 que también se halló con mayor abundancia, esto corresponde a

un fragmento que realiza una ciclación con un oxígeno inestable; otro pico con una abundancia relativa alta presente en la parte intermedia del espectro con una relación m/z correspondiente a 121, es un fragmento que presenta un triple enlace con un oxígeno inestable; finalmente se encuentra un pico con gran abundancia relativa que no presenta una relación m/z de 43 que es atribuida a un fragmento cuya composición está dada por un carbono, oxígeno y un CH_3 , en la Figura 7, se pueden observar las estructuras que se encuentran relacionadas a algunos fragmentos encontrados en el espectro.

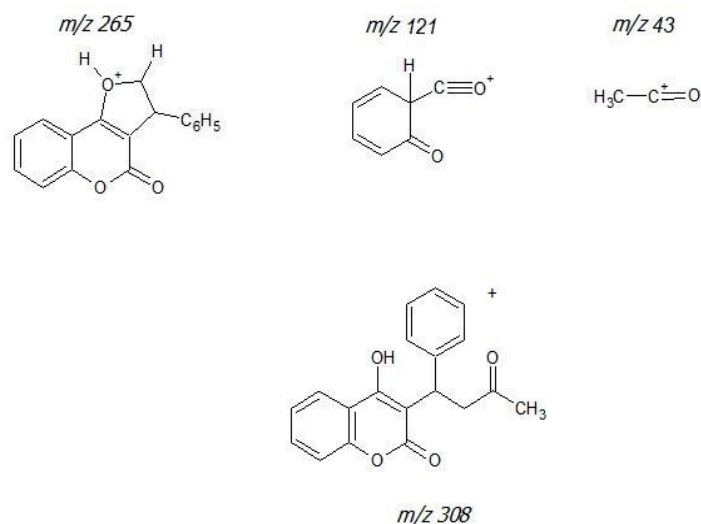


Figura 7. Estructuras asociadas a fragmentos presentes en el espectro de masas de la Warfarina (11).

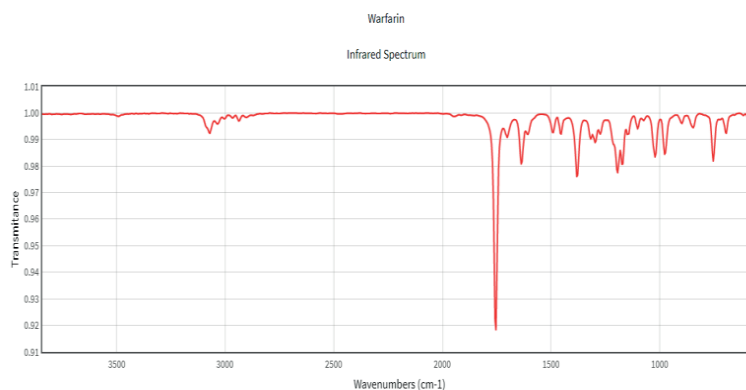


Figura 8. Espectro IR de la warfarina.

Espectroscopía IR

El espectro IR de la warfarina permite identificar las tensiones entre enlaces, el cual es obtenido al pasar radiación a través de una muestra y determinar qué fracción de esta radiación incidente ha sido absorbida.¹² Como se observa en la Figura 8, es posible interpretar que entre 3000 y 3100 cm^{-1} hay presencia de bandas

C-H de tipo aromáticos; en la región de 1800 cm^{-1} se evidencian bandas C=O de tipo alqueno; la región comprendida entre 1700 hasta 500 o 600 cm^{-1} compone la región conocida como huella digital donde todos los compuestos contienen partes distintas con grupos carbonilo con bandas C=O de tipo aromáticos.

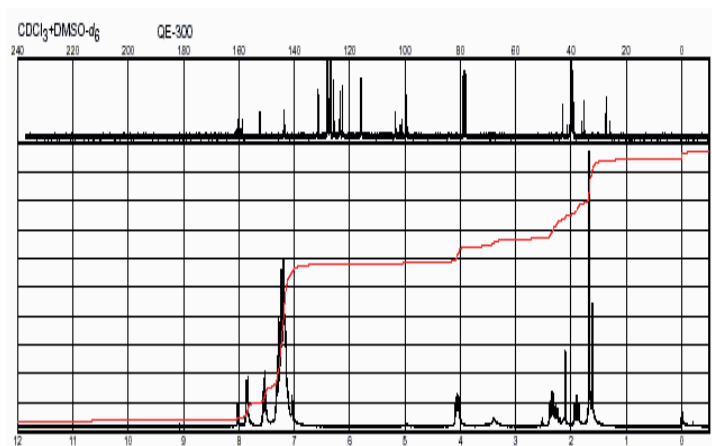


Figura 9. Espectro RMN de la Warfarina.¹¹

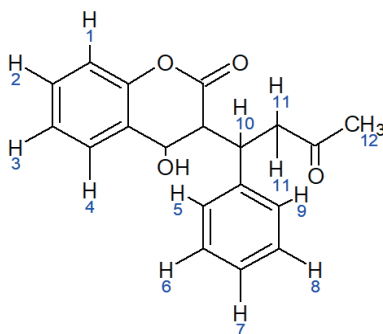


Figura 10. Núcleos ^1H presentes en la estructura de la warfarina.¹¹

Protón	Desplazamiento (ppm)	Multiplicidad
1	7,32	re
2	7,61	ddd
3	7,38	t
4	7,92	dd
5	7,15-7,25	m
6	7,27	t
7	7,15-7,25	m
8	7,27	t
9	7,15-7,25	m
10	4,10	dd
11	2,00	dd
	2,40	dd
12	1,71	s

Figura 11. Desplazamientos del espectro RMN de la warfarina. ddd: Doble doble doblete; t: Triplete; m: Multiplete; dd: Doble doblete; s: Singulete ¹¹

Espectroscopía RMN

La espectroscopia de RMN permite observar los núcleos atómicos con un número impar de protones o neutrones (o de ambos), el espectro de la Warfarina, Figura 9, permite observar los átomos ^1H presentes en la estructura, Figura 10. Este tipo de núcleos son magnéticamente activos, es decir que poseen espín igual que los electrones, ya que los núcleos tienen carga positiva y poseen un movimiento de rotación sobre un eje que hace que se comporten como si fueran pequeños imanes (13). Cada núcleo emite una diferente frecuencia por el efecto de apantallamiento de cada uno, es decir el movimiento de los electrones que los rodean en el campo magnético que genera un campo magnético inducido que se opone al campo externo, en el espectro, Figura 9. es posible observar en la Figura 11 que los protones aromáticos absorben a valores bajos del campo magnético (7,15 – 7,92 ppm) debido a que tienen menor efecto de apantallamiento, por el contrario protones como el metilo absorben a valores más altos por poseer mayor efecto de apantallamiento de sus electrones (1,71 ppm).

Conclusión

Posterior al análisis de la síntesis orgánica de la warfarina racémica es

posible concluir que en ella participan diversas reacciones comunes entre aldehídos y cetonas tales como la adición de Michael que se fundamenta en la adición de un α - β insaturado y la tautomerización que permite la observación de los diferentes tautómeros que se pueden presentar en una molécula. También se puede concluir que en esta síntesis el uso de diversas técnicas espectroscópicas tiene un papel muy importante a la hora de confirmar la obtención del compuesto deseado que en este caso es la warfarina, debido a que las técnicas que fueron empleadas (espectrometría de masas, espectroscopía IR y espectroscopía RMN) son herramientas que permitieron el estudio de la sustancia mediante: la determinación del peso atómico de la molécula o fragmentos de la misma que provee información sobre su composición, la identificación de grupos funcionales según la presencia de bandas características que permitan identificarlos y la determinación de su estructura molecular con respecto a los desplazamientos químicos producidos.

Agradecimientos

Como equipo de trabajo agradecemos a Dios por habernos permitido llevar este proceso en perfecta sincronía y compromiso ante cada reto presentado en este camino; agradecemos asimismo de manera especial

a nuestros docentes Ramiro Alfonso Rada Perdigón y Fabio Andrés Castellanos Castillo, docentes de las áreas de Química orgánica y Análisis instrumental respectivamente de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca por brindarnos sus conocimientos, apoyo, tiempo, paciencia, esmero y dedicación para hacer de este proceso un espacio ameno y colaborativo para de esta manera obtener los resultados esperados.

Abreviaturas

IUPAC, Unión Internacional de Química Pura y Aplicada; RMN, Resonancia magnética nuclear; IR, Infrarrojo.

Referencias

1. Gorvett, Z. El peligro que esconde "el ingrediente más delicioso conocido": las tóxicas semillas de los frijoles tonka. *BBC News Mundo* [en línea], 3 de Julio de 2017. BBC News Mundo. <https://www.bbc.com/mundo/noticias-37034871> (consultado 7 de Agosto de 2020)
2. Terrence C. Wong; Camille M. Sultana; David A. Vosburg. A Green, Enantioselective Synthesis of Warfarin for the Undergraduate Organic Laboratory. *J. Chem. Educ.* [en línea], 12 de Enero de 2010, 2, <https://doi.org/10.1021/ed800040m>. ResearchGate. https://www.researchgate.net/profile/David_Vosburg/publication/231269130_A_Green_Enantioselective_Synthesis_of_Warfarin_for_the_Undergraduate_Organic_Laboratory/links/5c990b37299bf1116947abd0/A-Green-Enantioselective-Synthesis-of-Warfarin-for-the-Undergraduate-Organic-Laboratory.pdf (consultado 7 de Agosto de 2020)
3. BBC Mundo. Cómo se descubrió el anticoagulante warfarina, el veneno de ratas que te recetan los médicos. *BBC News Mundo* [en línea], 20 de Agosto de 2016. <https://www.bbc.com/mundo/noticias-37034871> (consultado 7 de Agosto de 2020)
4. López, C; Odorizzi, A; Basigalup, D; Arolfo, V; Martínez, M.J. El trébol de olor blanco y su uso en la provincia de Córdoba. *Ediciones INTA*. [en línea], Octubre 2016, 6, ISBN: ISBN 978-987-521-716-4. ResearchGate. https://www.researchgate.net/publication/308903660_EnteEl_trebol_de_olor_blanco_y_su_uso_en_la_provincia_de_Cordoba_Octubre_2016_pp_30_Ediciones_INTA (consultado 7 de Agosto de 2020)
5. Pérez, G. Historia de la Warfarina. https://www.warfarina.com/historia_de_la_warfarina (consultado 8 de Agosto de 2020)
6. BBC Mundo. ¿Cómo se descubrió el anticoagulante warfarina?. *El Comercio* [en línea], 23 de Agosto de 2016. <https://www.bbc.com/mundo/noticias-37034871> (consultado 7 de Agosto de 2020)
7. Rodríguez, R. *Vademécum Académico de Medicamentos* [en línea]; McGraw-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V: Universidad Nacional Autónoma de México D.F (México), 2013; Sexta edición, ISBN 978-607-02-4172-7. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1552§ionid=90376354> (consultado 7 de Agosto de 2020)
8. Fernández, G. Formación de enolatos. [https://www.quimicaorganica.org/enolatos-y-enoles/239-formacion-de-enolatos.html#:~:text=Los%20aldeh%C3%ADdos%20y%20cetonas%20presentan,conjugada%20\(enolato\)%20por%20resonancia.](https://www.quimicaorganica.org/enolatos-y-enoles/239-formacion-de-enolatos.html#:~:text=Los%20aldeh%C3%ADdos%20y%20cetonas%20presentan,conjugada%20(enolato)%20por%20resonancia.) (consultado 8 de Agosto de 2020)

9. Cabildo, M; García, A; Lopez, C; Santa María, M. *Química Orgánica* [en línea]; Universidad Nacional de Educación a Distancia: Madrid, 2011; ISBN 978-84-362-6305-3. <https://books.google.com.co/books?id=1hKsm1uqOOM-C&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false> (consultado 7 de Agosto de 2020)
10. Síntesis de warfarina racémica. <https://www.ch.ic.ac.uk/local/projects/McIntosh/Synthesis.html#:~:text=Racemic%20Warfarin%20Synthesis%3A,which%20gives%20a%20saturated%20yield.> (consultado 7 de Agosto 2020)
11. Bhonoah, Y. Warfarin. [Figura]. <https://www.ch.ic.ac.uk/local/projects/bhonoah/characterisation.html> (consultado 27 de Agosto de 2020)
12. José Luis Serrano Martínez. Espectroscopia Infrarroja 1-Fundamentos. Máster universitario, Universidad Politécnica de Cartagena, Cartagena, (España). https://www.upct.es/~minaees/espectroscopia_infrarroja.pdf (consultado 28 de Agosto de 2020)
13. Castell, J. *Espectroscopía de resonancia magnética nuclear*. [en línea]; Universitat de València: Valencia, Madrid. 2-8. <https://www.uv.es/jcastell/Espectroscopia.pdf> (consultado 28 de Agosto de 2020).