

SÍNTESIS DE COMPUESTOS ORGÁNICOS CON PROPIEDADES CATIÓNICAS E IMPLEMENTACIÓN DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS COMO MÉTODO DE ELUCIDACIÓN ESTRUCTURAL

TECNOCENCIA

SYNTHESIS OF ORGANIC COMPOUNDS WITH CATIONIC PROPERTIES AND IMPLEMENTATION OF MASS SPECTROMETRY AS STRUCTURAL ELUCIDATION TECHNIQUE

 **Carlos H. Ríos Martínez**
Universidad de Panamá, Panamá
carlos.rios-m@up.ac.pa

 **María Bocanegra**
Universidad de Panamá, Panamá
maryesther1318@gmail.com

 **Rugyel Reyes**
Universidad de Panamá, Panamá
reyes.rugyel@outlook.com

Tecnociencia

vol. 26, núm. 1, p. 250 - 271, 2024
Universidad de Panamá, Panamá
ISSN: 1609-8102
ISSN-E: 2415-0940
Periodicidad: Semestral
Luis.rodriguez@up.ac.pa

Recepción: 01 Agosto 2023
Aprobación: 17 Noviembre 2023

DOI: <https://doi.org/10.48204/j.tecno.v26n1.a4668>

URL: <https://portal.amelica.org/ameli/journal/224/2244880014/>

Resumen: Este trabajo de investigación utilizó la Espectrometría de Masas como técnica principal para la elucidación de las estructuras de compuestos orgánicos con propiedades catiónicas sintetizados en nuestro grupo de investigación. Nuestro principal objetivo fue la optimización de la síntesis de dos compuestos catiónicos amidínicos libres y dos -sustituidos y la síntesis de una sal de fosfonio como posibles compuestos antiparasitarios. Para la síntesis de los compuestos amidínicos se utilizaron diferentes tipos de nitrilos comercialmente disponibles que, mediante un acoplamiento con compuestos

nitrogenados, en nuestro caso, cloruro de amonio y -metoxianilina, dieron como resultado la obtención de las amidinas deseadas. En el caso de la sal de fosfonio, la reacción se realizó por un ataque nucleofílico a al 2-bromoetanol dando como resultado la obtención del producto deseado. Para la elucidación estructural se utilizó la técnica de Espectrometría de Masas de Masas utilizando la ionización por electrospray en modo positivo y se realizó un barrido de la energía de fragmentación desde 15 V hasta 30 V realizando un aumento gradual de cada 5V, dando como resultado, la confirmación de las estructuras de los compuestos sintetizados.

Palabras clave: Políticas públicas, energía limpia, transición energética, sostenibilidad, impacto socioeconómico.

Abstract: This investigation used Mass Spectrometry as the main technique for the elucidation of organic compounds structures with cationic properties synthesized in our research group. Our main objective was the optimization of the synthesis of two free amidine cationic compounds and two N-substituted and the synthesis of one phosphonium salt as possible antiparasitic compounds. For the synthesis of amidine compounds, different types of commercially available nitriles

were used, which by coupling with nitrogen compounds, in our case ammonium chloride and .-methoxyaniline, resulted in the desired amidines. In the case of phosphonium salt, the reaction was performed by a nucleophilic attack to 2-bromoethanol resulting in the desired product. Structural elucidation of the synthesized compounds was performed using ionization by electrospray in positive mode. We used a gradient in the fragmentation energy from 15 V to 30 V, making a gradual increase of every 5V, resulting in the confirmation of the structures of the synthesized compounds.

Keywords: Amidines, phosphonium salts, Mass Spectrometry, Liquid Chromatography, Organic Synthesis.

INTRODUCCIÓN

Es bien conocido que la espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear es actualmente la técnica de elucidación estructural por excelencia en Química Orgánica. Ofrece grandes ventajas en comparación con otras técnicas de elucidación estructural. Algunas de estas ventajas son; ser una técnica no destructiva de la muestra, lo que permite la recuperación de manera intacta de las moléculas a ser analizadas. Su alta sensibilidad permite la elucidación de estructuras utilizando muy poca cantidad de muestra y la diversidad de experimentos de resonancia nuclear, permite incluso, estudiar la estructura de las moléculas en su tridimensionalidad, en algunas ocasiones.

Esta ventaja ofrecida en este instrumento, no lo podemos encontrar en la República de Panamá ya que actualmente no se encuentra disponible un espectrómetro de RMN, lo que nos obliga a realizar la elucidación de las estructuras utilizando otras metodologías. La Vicerrectoría de Investigación y Postgrado de la Universidad de Panamá adquiere un Cromatógrafo Líquido de Ultra Resolución acoplado a un Espectrómetro de Masas (UPLC-EM). Es aquí que nuestro grupo de investigación decidió utilizar esta técnica como reemplazo a la Resonancia Magnética Nuclear, utilizando la Espectrometría de Masas de Masas.

La espectrometría de masas en tándem, también conocida como Espectrometría de Masas de Masas (EM/EM), es la técnica más utilizada como herramienta analítica para identificar y cuantificar compuestos en mezclas complejas. Dicha técnica se basa en el acoplamiento de dos etapas de análisis de masas en el tiempo o en el espacio. El espectrómetro de masas ubicado en los laboratorios de la VIP, utiliza la ionización por electrospray (ESI), la cual proporciona abundante información estructural (Yost and Fetterolf, 1983), (De Hoffmann, 1996), (Xiao et al., 2021), (Fang et al., 2021). La adquisición en tándem es un proceso en el que un ion formado en una fuente de iones es seleccionado en la primera etapa de análisis (analizador de masas 1) y fragmentado por la colisión entre el ion que ha sido seleccionado (ion molecular) con moléculas de un gas inerte (gas argón), recibiendo el nombre de disociación inducida por colisión (CID). La CID se suele dividir en dos etapas; en la primera, la energía traslacional del ion molecular se convierte en energía interna tras colisionar con la molécula de gas inerte. En la segunda etapa, esta energía interna se transforma en energía de fragmentación, en donde el ion molecular se divide en distintos fragmentos y luego estos fragmentos con carga positiva o negativa, se analizan en la segunda etapa de análisis: analizador de masas 2 (Glish & Burinsky, 2008). Este tipo de análisis ofrece una gran selectividad ya que permite la posibilidad de aislar nuestro ion molecular en la celda de colisión, eliminando así, otros iones o fragmentos que puedan interferir.

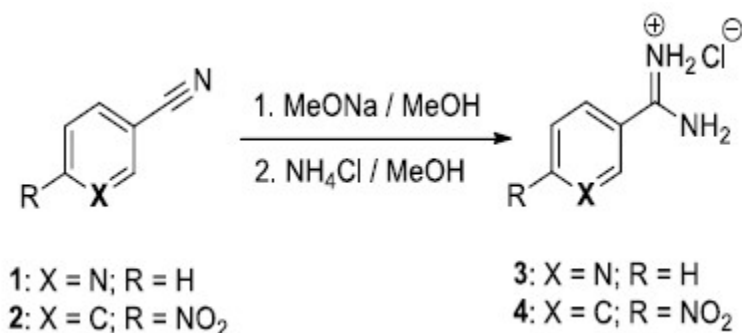
Tradicionalmente la EM/EM se ha desarrollado con analizadores de tipo triple cuadrupolo (TQ), donde dos cuadrupolos (Q) están acoplados a través de un cuadrupolo intermedio que se usa como celda de colisión (q). En el primer cuadrupolo (Q1), se selecciona la relación m/z de interés, que se suele denominar ion precursor. Este pasa a través de la celda de colisión (q) donde se fragmenta y los iones producto son separados por el segundo cuadrupolo. Aunque se denomine triple cuadrupolo, actualmente la celda de colisión suele ser un hexapolo u octapolo, ya que su diseño va dirigido a potenciar la eficiencia de la transmisión de los iones desde la celda de colisión hasta el Q2, además, este presenta un espacio adecuado para la fragmentación.

La adquisición mediante un triple cuadrupolo ofrece una gran versatilidad, dependiendo del modo en que opera cada uno de los dos cuadrupolos (Q1 y Q2). Cada uno de estos modos de adquisición presenta unas características que lo hacen idóneo para un objetivo concreto. Los modos de adquisición que se pueden aplicar son: barrido de todos los iones, Adquisición de un ion seleccionado (SIM), Monitoreo de reacción seleccionada (SRM), barridos de iones producto, de iones precursor o pérdidas neutras. De todos estos, el barrido de todos los iones es el modo utilizado para el análisis de las moléculas caracterizadas durante la realización de esta investigación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo del trabajo se utilizaron los siguientes equipos y materiales: Los espectros de fragmentación de masas de masas (EM/EM), se registraron en modo positivo mediante la técnica de ionización por electroespray (ESI+) a diferentes energías de colisión (15, 20, 25 y 30) voltios, con un aparato MS Xevo® TQD. Los espectros de masas se obtuvieron por infusión directa en un aparato MS Xevo® TQD o en un Cromatógrafo líquido de ultra resolución (UPLC) Acquity clase H, Waters con un detector de arreglo de diodos (PDA) acoplado a un espectrómetro de masas MS Xevo® TQD, utilizando mayormente de dos a tres voltajes de cono diferentes (20, 25 y 30V). La detección fue tanto en modo positivo (ESI+) y/o negativo (ESI-) de acuerdo con el tipo de molécula. La columna utilizada fue en fase reversa marca ACQUITY UPLC®BEH C18-1.7 μm de dimensiones 2.1 mm x 50 mm y ACQUITY UPLC®BEH C18-1.7 μm de dimensiones 2.1mm x 100 mm. Los filtros de jeringa utilizados fueron de 13 mm de diámetro con una membrana hidrofílica PTFE, un tamaño de poro de 0.22 μm de la marca NEWSTAR. Las muestras se analizaron utilizando como fase móvil mezclas de A: MeCN, B: H₂O / CH₃COOH (0.1%). Se utilizaron los siguientes gradientes; Un primer gradiente que inició con una mezcla A/B (15:85) hasta llegar a una mezcla de A/B (95:5) y un segundo gradiente iniciando con una mezcla A/B (70:30) hasta llegar a A/B (100:0). El flujo utilizado fue de 0.2 mL/min. La detección por absorbancia en Ultravioleta (UV) se realizó entre 190 a 400 nm. Las cromatografías de capa fina (CCF) fueron realizadas en cromatofolios en láminas de aluminio revestidos de gel de sílice con indicador fluorescente a 254 nm, marca Sigma-Aldrich. Los rotaevaporadores utilizados fueron de la marca Buchi serie R-124 y serie R-215. Los reactivos usados fueron de origen comercial de la marca Sigma-Aldrich®, los disolventes utilizados fueron de grado ACS y grado HPLC

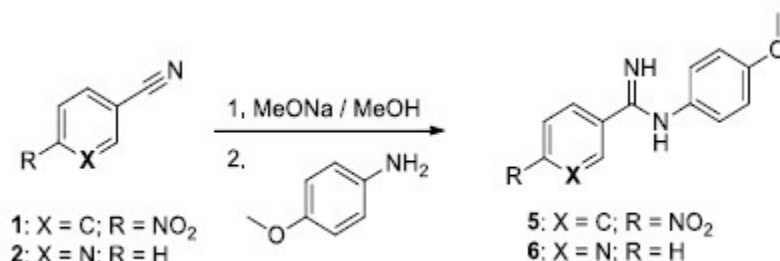
Metodología general para la síntesis de amidinas aromáticas libres 3 y 4.



A una disolución en agitación de 1 equivalente de derivados de nitrilo en MeOH, se le añade 2.0 equivalentes de NaOMe. La temperatura y el tiempo de reacción se describirá en cada experimento. La reacción es monitoreada por CCF hasta observar la formación del compuesto intermedio. Una vez se observa la formación del intermedio, se añade

1.1 equivalentes de cloruro de amonio (NH_4Cl) a la mezcla de reacción en agitación. La reacción se deja en agitación continua por el tiempo descrito en cada reacción. La reacción es monitoreada por CCF hasta observar que se haya consumido todo el compuesto intermedio o que ya no se observe avance de esta. Terminada la reacción, se filtra la mezcla de reacción y se evapora el MeOH a presión reducida, obteniéndose así el crudo de reacción (Patai, 2010)(Schaefer and Peters, 1961).

Metodología general para la síntesis de amidinas N-sustituidas 7 y 8.



A una disolución en agitación de los derivados de nitrilo en MeOH se le añade 2.0 equivalentes de NaOMe. La reacción se deja en agitación a temperatura ambiente por el tiempo descrito en cada reacción. La reacción es monitoreada por CCF hasta observar la formación del compuesto intermedio como se indicará para cada reacción.

Una vez se observa la formación del intermedio, se añade 1.1 equivalentes de p- metoxianilina a la mezcla de reacción en agitación. La reacción se deja en agitación continua por el tiempo descrito en cada reacción. La reacción es monitoreada por CCF hasta observar que se haya consumido todo el compuesto intermedio o que ya no se observe avance de esta. Terminada la reacción, se filtra la mezcla de reacción y se evapora el MeOH a presión reducida utilizando los rotaevaporadores, obteniéndose un crudo de reacción.

Metodología general para la purificación amidinas N-sustituidas.Método A:

Se utilizó la técnica de cromatografía en columna (CC) en fase normal (gel de sílice grado técnico, tamaño de poro 60 Å, con un tamaño de partícula de 230-400 mesh, 40- 63 μm). La búsqueda de condiciones para la purificación de los productos deseados se realizó por CCF. De esta manera se escogió la altura de cada columna. El diámetro de la columna utilizado fue de 2.4 cm y el método de empacado de la columna fue en seco. Para el empacado en seco, se pesó el gel de sílice y se agregó a una columna con fita hasta obtener la altura deseada. Para preparar la cabeza de columna, se pesó 2 gramos del gel de sílice en un vaso químico. El crudo de reacción se redisolvió en acetona, seguidamente se agregó gota a gota al gel de sílice en el vaso químico removiendo el gel de sílice con cuidado con una espátula hasta observar que todo el crudo de reacción se adsorbiera. Luego, el gel de sílice con la muestra absorbida se traspasó a un balón y se secó la acetona en un rotaevaporador. La muestra absorbida en el gel de sílice se colocó en la columna empacada, luego, se agregó aproximadamente 2 gramos de gel de sílice encima de la cabeza de columna y por último se colocó un pedazo de algodón. Como eluyentes se utilizaron mezclas de hexano (Hx) y acetato de etilo (AcOEt) en los gradientes que se indicarán para cada caso: Hx/AcOEt (1:1) hasta AcOEt 100% y Hx 100% hasta AcOEt 100%. La elución de la columna se realizó a presión. Cada fracción recolectada en erlenmeyer o tubo de ensayo, se concentró y se analizó por CCF, observando los cromatofolios bajo luz visible y luz

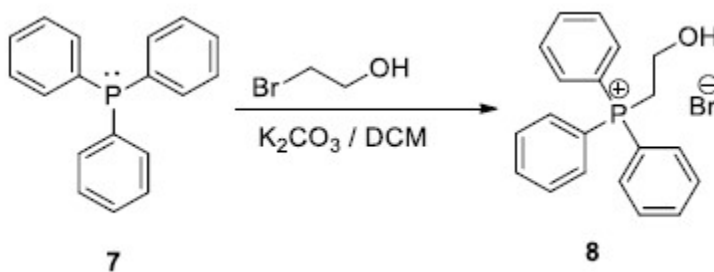
ultravioleta a 254 nm. Se utilizó ácido fosfomolibdico (PMA) como reactivo revelador. Se reunieron las fracciones que tenían los mismos R_f según lo analizado por CCF. Los disolventes fueron evaporados a presión reducida. Las fracciones reunidas se guardaron en viales y se pesaron. Se controló la pureza del producto por CCF. Todos los productos fueron caracterizados por UPLC-MS y EM/EM.

Método B:

Se utilizó la técnica de purificación por solubilidad, para esto se redisolvió el crudo de reacción con MeCN. Se observó la formación de precipitado, este se filtró por succión

en un embudo con fita, se realizaron tres lavados del precipitado con más MeCN. Se obtuvieron un precipitado y un filtrado. Se siguió trabajando con el filtrado ya que, según la CCF, es allí donde se encontraba el producto. Se evaporó el acetonitrilo obteniéndose un crudo de reacción nuevamente. Se redissuelve el crudo en DCM y se realizaron tres lavados del crudo en H₂O, se seca el disolvente de la fase orgánica en un rotavapor, se traspasó a un vial debidamente pesado, fue dejado en una cámara de vacío por 6 horas y por último se pesó el vial. Se realizó una CCF del producto. Se observó en una cámara UV a una longitud de onda de 254 nm. Se observó una sola mancha. Se reveló con PMA, observándose una sola mancha con el mismo R_f observado en la cámara UV. Se controla la pureza del producto por CCF. Todos los productos fueron caracterizados por FTIR-ATR, UPLC-MS y EM/EM.

METODOLOGÍA GENERAL PARA LA SÍNTESIS DE SALES DE FOSFONIO.



A una disolución en agitación de 4 equivalentes de trifetilfosfina (PPh₃) en dimetilformamida (DMF) se le añade 1 equivalente de 2-bromoetanol. La reacción se deja en agitación a una temperatura de 50 °C en un tubo de reacción a presión por 4 horas. Terminada la reacción, se deja la mezcla de reacción en frío durante 24 horas para precipitar la PPh₃, transcurrido este tiempo, se decanta el líquido sobrenadante, y se agrega más DMF al precipitado y nuevamente se deja en frío por otras 24 horas para garantizar que se ha extraído la mayor cantidad del producto. Este procedimiento se repite al menos tres veces. Se unifican todos los sobrenadantes obtenidos durante los decantados y lavados realizados. Se evapora la DMF a presión reducida, obteniéndose el crudo de reacción.

Metodología general para la purificación de sales de fosfonio.

Para la purificación de la sal de fosfonio se utilizó la técnica de cromatografía líquida al vacío (CLV) en fase normal (gel de sílice grado técnico, tamaño de poro 60 Å, con un tamaño de partícula de 230-400 mesh, 40-63 µm). La búsqueda de condiciones para

la purificación de los productos deseados se realizó por CCF. De esta manera se escogió la altura de la columna. El diámetro de la columna utilizado fue de 3.3 cm y una longitud de 6 cm. Para el empacado, se pesó el gel de sílice y se agregó a una columna de CLV hasta obtener la altura deseada. Para preparar la cabeza de columna, se pesó 4 gramos del gel de sílice en un vaso químico, el crudo de reacción se redisolvió en acetona, seguidamente se agregó gota a gota al gel de sílice en el vaso químico removiendo el gel de sílice con cuidado con una espátula hasta observar que todo el crudo de reacción se adsorbiera. Luego, el gel de sílice con la muestra absorbida se traspasó a un balón y se secó la acetona en un rotaevaporador. La muestra absorbida en el gel de sílice se colocó en la columna empacada, luego, se agregó 4 gramos de gel de sílice encima de la cabeza de columna y por último se colocó un pedazo de algodón. Como eluyentes se utilizaron Hx 100% y AcOEt 100%. Se recogieron las fracciones en matraces. Cada fracción recolectada en erlenmeyer se concentró y se analizó por CCF que luego fueron observados bajo luz ultravioleta a 254 nm. Se utilizó PMA como reactivo revelador. Se reunieron las fracciones que tenían los mismos componentes por CCF. Se secaron los disolventes a presión reducida. Las fracciones reunidas se guardaron en viales y se pesaron. Se centró la pureza del producto por CCF. Todos los productos fueron caracterizados por UPLC-MS y EM/EM.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La elucidación de las estructuras de los compuestos cuya síntesis se ha descrito en puntos anteriores, fue realizada por Espectrometría de Masas y Masas de Masas en un instrumento de UPLC-EM ubicado en los laboratorios de los Edificios Los Gemelos bajo la jurisdicción de la Vicerrectoría de Investigación y Postgrado (VIP) de la Universidad de Panamá, el cual está ubicado en el Laboratorio de Bioorgánica Tropical del Dr. Luis Cubilla Ríos.

Síntesis y caracterización estructural del cloruro de amino(piridin-3-il) metaniminio (3).

Para la obtención del compuesto 3, se hizo reaccionar 764.7mg (7.3 mmol) del 3- pirincarbonitrilo comercial 1 con 793.9 mg (14.7 mmol) de MeONa a 50°C. Transcurrido 2 horas de reacción, se observó por CCF la formación del producto intermedio. Luego se añadió 232.2 mg (8.0 mmol) de NH₄Cl. La reacción se dejó en agitación continua por 40 horas a 50 °C. Pasado este tiempo, se tomó una muestra. Luego, se realizó un experimento de espectrometría de masas por inyección directa utilizando una ionización por electrospray (ESI) en modo positivo. En este experimento se logró observar el ion molecular con un $m/z = 122$ correspondiente al

(M+H) del compuesto 3. De igual manera, se logró observar los aductos como el ion $m/z = 144$ correspondiente al (M + Na) y el aducto con $m/z = 243$ correspondiente al dímero del producto protonado (2M+H) (Figura 1). Terminada la reacción, el producto fue purificado por precipitación en MeCN obteniéndose 868.7mg de producto como un sólido blanco y un rendimiento de 98%.

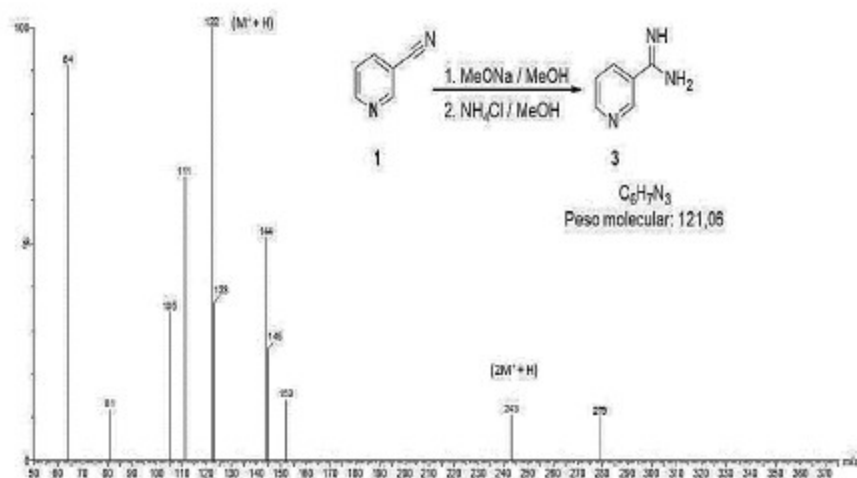


Figura 1.

Espectro de Masas por ionización ESI+ del compuesto 3 obtenido por inyección directa.

Obtenido el compuesto puro, se procedió a realizar un experimento de Masas de Masas utilizando el ion molecular del compuesto 3, $m/z = 122$, como ion precursor para el análisis de fragmentación. Dicho análisis se realizó por inyección directa al espectrómetro y la fragmentación se realizó por ionización ESI+ utilizando una energía para la fragmentación de 25 V. En dicho análisis se observó nuevamente la aparición del ion molecular con $m/z = 122$ correspondiente al (M+H) del compuesto 3. A partir del ion precursor ion $m/z = 122$, por pérdida de masa de 17 u, se observó la formación del ion $m/z = 105$. La aparición de este ion se explica por la pérdida de una molécula de amoníaco (NH₃), siendo esta, una pérdida característica del grupo amidina tal y como se muestra en la figura 2.

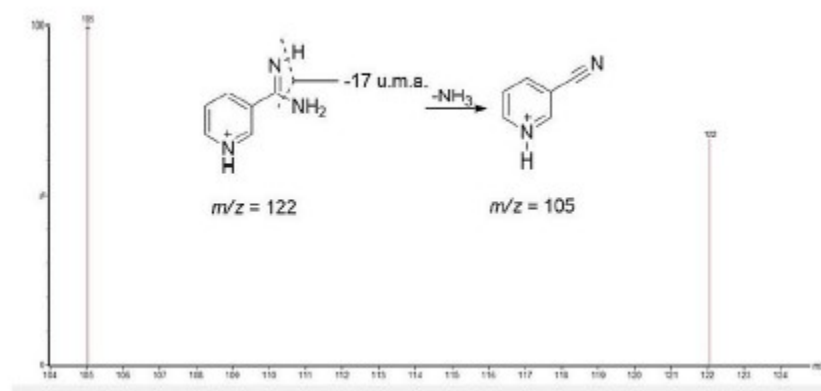


Figura 2.

Fragmentación del ion precursor $m/z = 122$ para obtener el ion $m/z = 105$.

El ion m/z 105 es a su vez fragmentado y sufre una pérdida de masa de 27 u obteniéndose un ion con una $m/z = 78$. Esta es una pérdida característica de compuestos con el grupo ciano (-CN). De igual forma, el fragmento $m/z = 78$ sufre un rearrreglo y fragmentación con pérdida de masa de 27 u. Dicha fragmentación es característica y única de los anillos de piridina, comprobándose así la estructura del compuesto 3 (Figura 3).

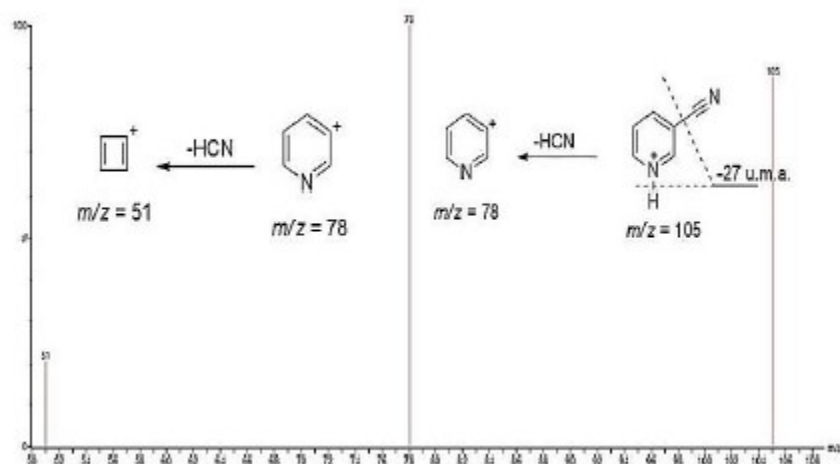


Figura 3.

Fragmentación del ion m/z 105 por pérdida de 27 u y rearrreglo del ion m/z 78 por pérdida de 27 u.

Síntesis y caracterización estructural del cloruro de amino(4-nitrofenil) metaniminio (4).

Para la obtención del compuesto 4, se hizo reaccionar 730.1 mg (4.9 mmol) del 4- nitrobenzonitrilo comercial 2 con 532.8 mg (9.9 mmol) de MeONa. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente. Transcurrido 24 horas de reacción se observó la formación del producto intermedio por lo que se procedió a añadir 292.5 mg (5.4 mmol) de NH_4Cl . La reacción se dejó en agitación continua a temperatura ambiente por otras 24 horas. Luego, se realizó un experimento de espectrometría de masas por inyección directa utilizando una ionización por electroespray (ESI) en modo positivo. En este experimento se logró observar el ion molecular con $m/z = 166$ correspondiente al $(M+H)$ del compuesto 4. De igual manera, se logró observar los aduptos $m/z = 188$ correspondiente al $(M + \text{Na})$ del compuesto 4 (Figura 4).

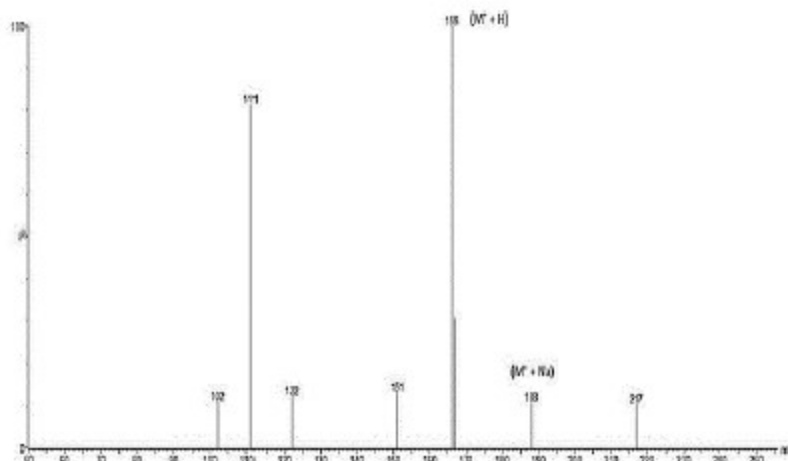


Figura 4.

Espectro de Masas por ionización ESI+ del compuesto 4 obtenido por inyección directa.

Terminada la reacción, el producto fue purificado por precipitación en MeCN obteniéndose 526.8 mg (53%) como un sólido color amarillo pálido. Para su elucidación estructural, el compuesto 4 fue sometido a un experimento de Masas de Masas utilizando el ion molecular del compuesto $m/z = 166$ como ion precursor para el análisis de fragmentación. Dicho análisis se realizó por inyección directa al espectrómetro y la fragmentación se realizó por ionización ESI+ utilizando una energía

para la fragmentación de 15 y 25 V. Distintas fragmentaciones se observaron cuando se varió la energía de ionización, lo que nos permitió una mejor caracterización de iones formados por la fragmentación del compuesto 4.

Para el análisis de fragmentación utilizando 15 V de energía, se logró observar el ion molecular con $m/z = 166$ correspondiente al $(M^+ + H)$ de compuesto 4. Este ion sufrió una pérdida de masas de 46 u correspondiente a la pérdida de un grupo nitro ($M^+ - NO_2$), observándose así el ion $m/z = 120$ (Figura 5). Un aumento de la energía de impacto a 20 V provocó la fragmentación del ion $m/z 120$ con pérdida de 17 u y se obtuvo el ion $m/z 103$ ($M^+ - NH_3$) correspondiente a la pérdida de una molécula de amoníaco (Figura 6). Otra forma de fragmentación que se observó fue la pérdida de masas de 17 u a partir del ion precursor $m/z 166$, observándose así el ion $m/z = 149$ ($M^+ - NH_3$) correspondiente a la pérdida de una molécula de amoníaco (Figura 7).

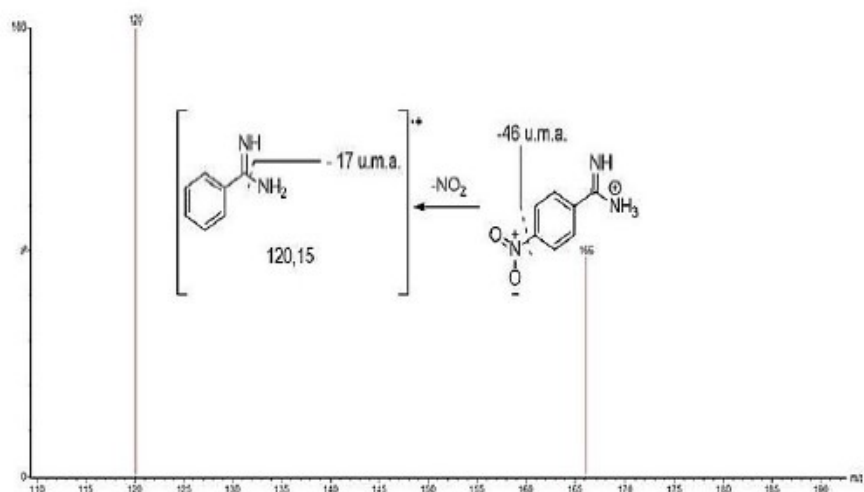


Figura 5.
Espectro de masas de masas para la fragmentación del compuesto 4 a 15 V.

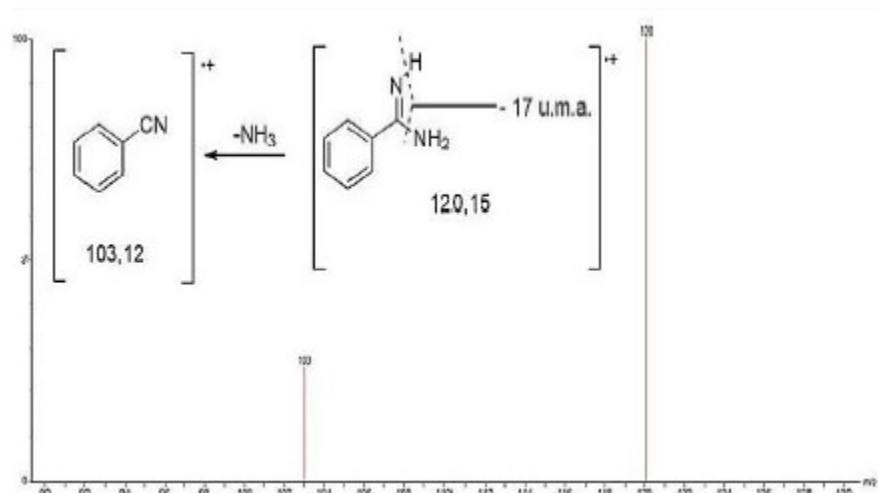


Figura 6.
Espectro de masas de masas para la fragmentación del compuesto 4 a 20 V.

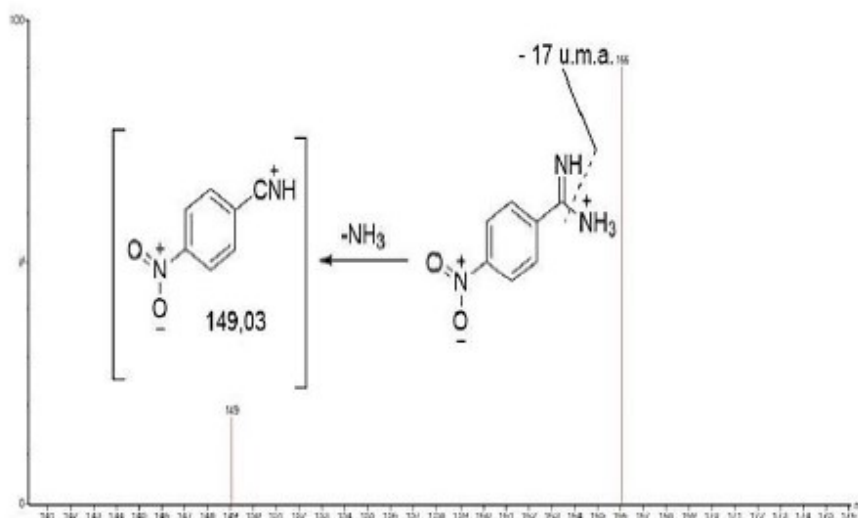


Figura 7.

Espectro de masas de masas para la fragmentación del compuesto 4 a 20 V.

Los compuestos aromáticos nitrados poseen una fragmentación muy característica de la presencia del grupo nitro. A energías de impactos altas, el grupo nitro sufre un reagrupamiento de sus electrones enlazantes, seguido de una fragmentación con pérdida de masa de 30 u ($M^+ - NO$) característico de la salida de monóxido de nitrógeno (NO) que se observó por la aparición el ion con $m/z = 136$. El producto de esta fragmentación es un compuesto derivado de fenol, el cual, sufre una fragmentación con pérdida masa de 28 u correspondiente con la pérdida de una molécula de monóxido de carbono (CO) característico de compuesto fenólicos. Esta fragmentación se logró observar por la aparición del ion $m/z = 108$ (- CO) como se observa en la figura 8.

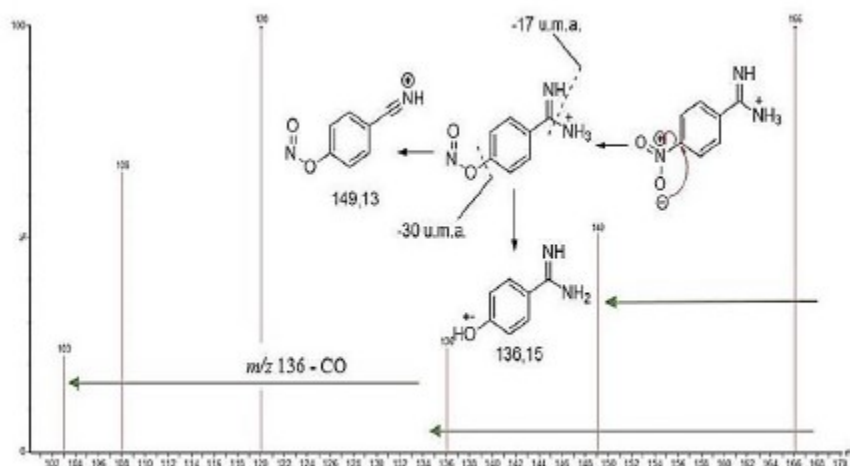


Figura 8.

Espectro de masas de masas para la fragmentación del compuesto 4 a 20 V.

Síntesis y caracterización estructural de N-(4-metoxifenil)-4-nitrobencimidamida (5).

Para la obtención del compuesto 5, se hizo reaccionar 109.7mg (7.4 mmol) del 4- nitrobenzonitrilo comercial con 78.0 mg (1.5 mmol) de NaOMe. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente. Transcurrido 3 horas de reacción se observó la formación del producto intermediario. Luego se añadió 99.6 mg (1.1 mmol) de p- metoxianilina. La reacción se dejó en agitación continua a temperatura ambiente por otras 72 horas. Terminada la reacción, el producto fue purificado por CC como se describe en la metodología de purificación A, utilizando un gradiente de Hx 100% hasta AcOEt 100%, obteniéndose así 84.9 mg (42.5%) como un sólido amarillo. En un

segundo experimento y utilizando la metodología descrita en la parte experimental, se hizo reaccionar 109.7mg (7.4 mmol) del 4-nitrobenzonitrilo comercial con 78.0 mg (1.5mmol) de NaOMe. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente. Transcurrido 48 horas de reacción se observó la formación del producto intermedio. Luego se añadió 99.6 mg (1.1 mmol) de p-metoxianilina. La reacción se dejó en agitación continua a temperatura ambiente por 14 días. Se agregó 78.4mg (0.74 mmol) de carbonato de sodio. Se dejó en agitación continua por 7 días. Se agregó

20 mg (0.37mmol) de NaOMe y 45.5mg (0.37mmol) de p-metoxianilina. La reacción se dejó en agitación continua por 7 días. Luego, se realizó un experimento de espectrometría de masas por inyección directa utilizando una ionización por electrospray (ESI) en modo positivo. En este experimento se logró observar el ion molecular con un $m/z = 272$ correspondiente al ($M^+ + H$) del compuesto 5. De igual manera, se logró observar los aduptos $m/z = 294$ correspondiente al ($M^+ + Na$) y $m/z = 565$ correspondiente a la ($2M^+ + Na$) del compuesto 5 (Figura 9).

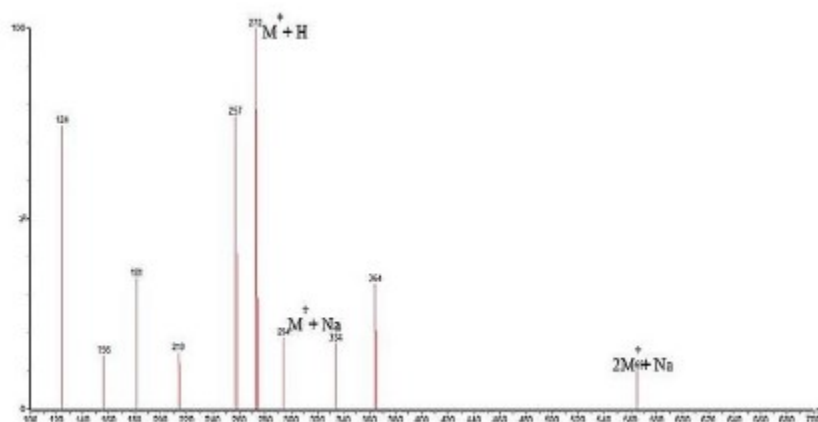


Figura 9.

Espectro de Masas por ionización ESI+ del compuesto 5 obtenido por inyección directa.

Verificado con el espectro de masas la formación del producto, este se purificó por CC, utilizando un gradiente de Hx/AcOEt (1:1) hasta AcOEt 100%, obteniéndose 93.3 mg (46.7%) como un sólido amarillo. El compuesto 5 fue sometido a un experimento de Masas de Masas utilizando el ion molecular $m/z = 272$ como ion precursor para el análisis de fragmentación. Dicho análisis se realizó por inyección directa al espectrómetro y la fragmentación se realizó por ionización ESI+ utilizando tres distintas energías para la

fragmentación (15, 20 y 25 V). Tomando en cuenta lo observado en las fragmentaciones de los compuestos 3 y 4 los cuales son de estructuras similares, se realizó un análisis de los fragmentos obtenidos por espectrometría de masas para el compuesto 5. De esta manera, logramos caracterizar de la siguiente manera. La energía de fragmentación que mejor información estructural proporcionó fue de 25 V. Cuando se impactó la molécula con 25 V, se observó ion molecular de 5 con $m/z = 272$ (estructura b, Figura 10). A esta energía de ionización, este ion, el compuesto 5 sufre un rearrreglo electrónico del grupo nitro, provocando la formación de un segundo ion m/z

$= 272$ (estructura b, Fig. 10). A partir de ion $m/z = 272$, se obtiene el ion $m/z = 255$ correspondiente a la pérdida de una molécula de NH_3 (-17 u), siendo esta pérdida característica del grupo amidina. A partir de este ion ($m/z = 255$), por pérdida de NO (-30 u) se observó la aparición del ion $m/z = 225$. Se observó una segunda ruta de fragmentación para el compuesto 5, donde el ion molecular $m/z = 272$ por pérdida de un grupo NO_2 (-46 u) genera el ion $m/z = 226$. El ion $m/z = 226$ sufrió una fragmentación con pérdida de NH_3 (-17 u), una fragmentación característica del grupo amidina, dando así la formación del ion $m/z = 209$. Una tercera ruta de fragmentación del compuesto 5 fue observada nuevamente a partir del ion molecular $m/z = 272$. En esta fragmentación, el ion molecular sufrió un rearrreglo electrónico, seguido de una pérdida de NO (-30 u), seguidamente un segundo rearrreglo electrónico provocando la pérdida de CO (-28 u) y un protón, dando lugar a la aparición del ion $m/z = 213$ (Fig. 10).

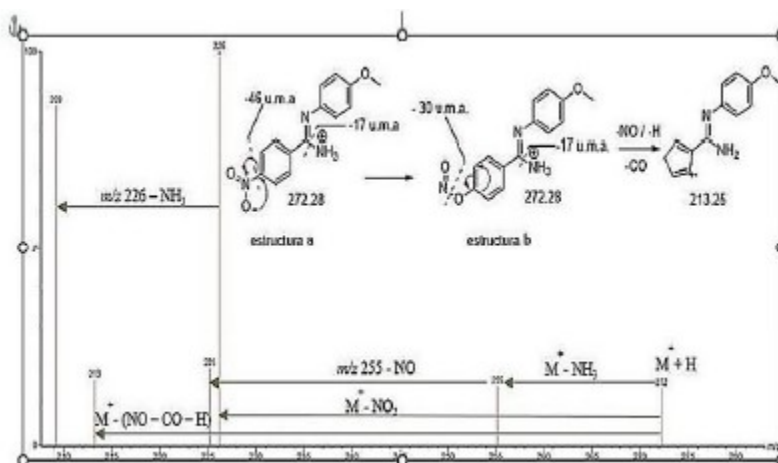


Figura 10.

Espectro de masas de masas para la fragmentación del compuesto 5

A una disolución en agitación de 4 equivalentes de trifenilfosfina (PPh_3) en dimetilformamida (DMF), se le añadió 1 equivalente de 2-bromoetanol. La reacción se dejó en agitación a una temperatura de 50°C en un tubo de reacción a presión por 4 horas. Terminada la reacción, se dejó enfriar la reacción y esta se almacenó a 4°C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo se observó la precipitación de la PPh_3 , por lo que, se decanta el disolvente, se añadió más DMF al precipitado y nuevamente se deja en frío por otras 24 horas hasta observar que no se formara más precipitado. Se unieron todos los sobrenadantes obtenidos durante los decantados y lavados realizados. Se evaporó la DMF a presión reducida, obteniéndose el crudo de reacción. El compuesto 8 fue entonces purificado por cromatografía líquida al vacío utilizando como eluyentes hexano y AcOEt , obteniéndose así, 96.8 mg del producto 8 como un líquido aceitoso de color amarillo. Luego, se realizó un experimento de espectrometría de masas por inyección directa utilizando una ionización por electrospray (ESI) en modo positivo. En este experimento se logró observar el ion molecular con un $m/z = 371$ correspondiente directamente al peso molecular del compuesto 8 debido a su característica catiónica (Figura 11).

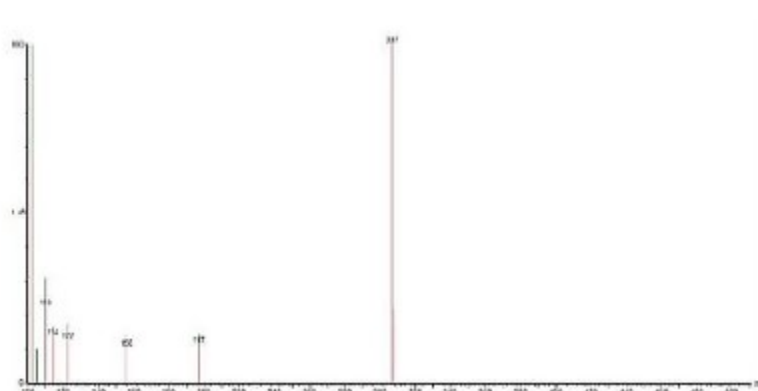


Figura 11.

Espectro de masas de la reacción para la obtención del compuesto 8.

Una vez purificado el compuesto 8, se procedió a realizar un experimento de espectrometría de masas de masas para caracterizar la estructura del compuesto. Dicho análisis se realizó por inyección directa al espectrómetro y la fragmentación se realizó por ionización ESI^+ utilizando cuatro distintas energías para la fragmentación de 15, 20, 25 y 30 V. De esta manera, comprobamos que para el compuesto 8, la energía de fragmentación que mejor información estructural proporciona fue de 30 V. En el

espectro de fragmentación del compuesto 8, podemos observar dos tipos de fragmentación. La primera de ellas es la fragmentación por pérdida de iones oxonio, característicos de los alcoholes alifáticos. A partir del ion molecular $m/z = 307$ (esquema 1), por pérdida de 31 u correspondiente a la pérdida del ion metileno oxonio (CH_3O^+) y ganancia de un protón, se observa la aparición del ion $m/z = 277$. También, se observó la aparición del ion $m/z = 262$ el cual representa una pérdida de 45 u a partir del ion molecular $m/z = 307$, lo que corresponde a la formación del ion etileno oxonio ($\text{C}_2\text{H}_5\text{O}^+$). También se observa esta misma fragmentación con ganancia de un protón dando la aparición del ion $m/z = 263$, tal como se muestra en las figuras 12 y 13.

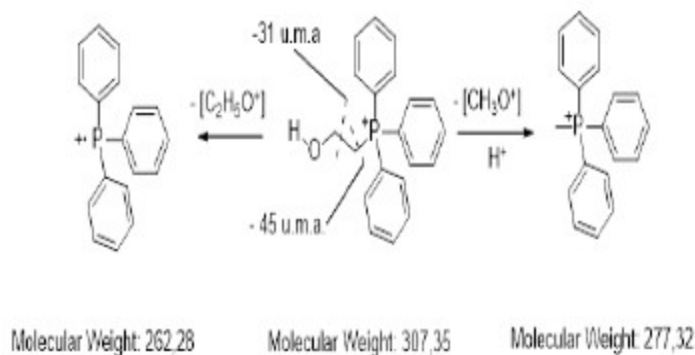


Figura 12.
Fragmentación del compuesto 8 con formación de iones oxonios.

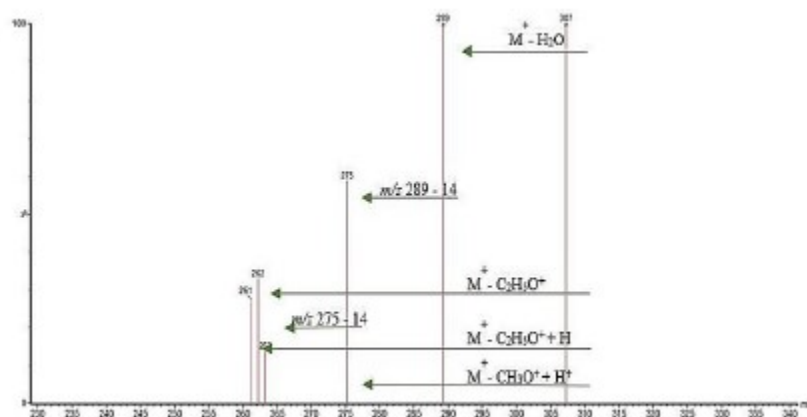


Figura 13.
Espectros de masas de masas del compuesto 8. Fragmentación heterolítica de la serie del oxígeno para alcoholes primarios.

Un segundo tipo de fragmentación característicos de los alcoholes primarios es la ruptura heterolítica de la serie del oxígeno. Esta fragmentación inicia con la pérdida de una molécula de H_2O que se observa con la aparición del ion $m/z = 289$. Seguido a la pérdida de una molécula de H_2O , se dan sucesivas pérdidas de 14 u correspondientes a los metilenos ($-\text{CH}_2-$) presentes en el alcohol primario, tal y como se muestra en la figura 14.

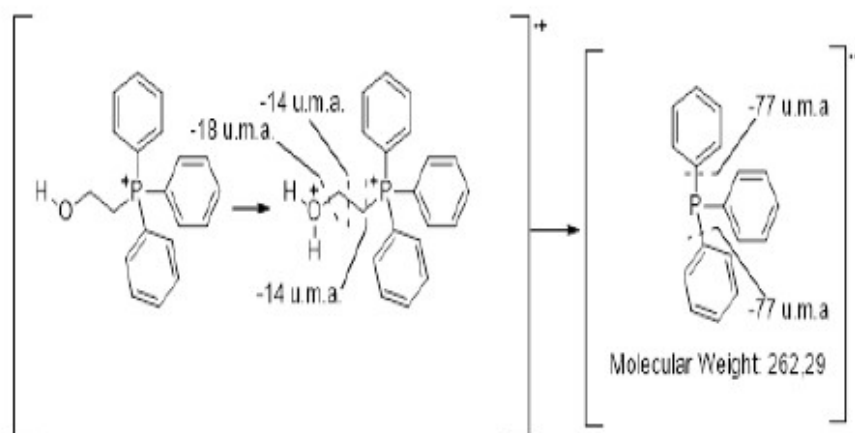


Figura 14.

Fragmentación por ruptura heterolítica de la serie del oxígeno.

Esta fragmentación da como resultado la aparición del ion $m/z = 275$ para la pérdida del primer metileno y luego la aparición del ion $m/z = 261$ por pérdida del segundo metileno y formación de PPh_3 . También fue posible observar la pérdida de un grupo fenilo (-77 u) a partir del ion $m/z 262$ generando el ion $m/z 185$ que, a su vez, por pérdida de un segundo grupo fenilo generó el ion $m/z 108$, tal como se muestra en la figura 15.

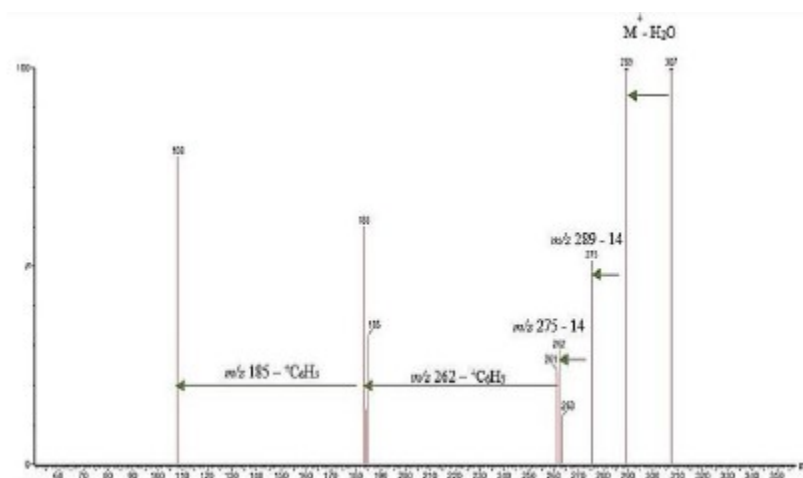
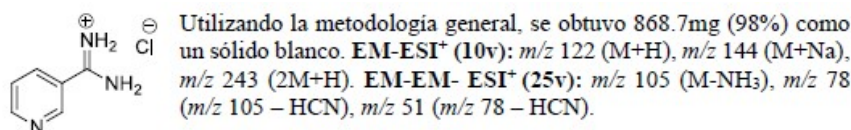


Figura 15.

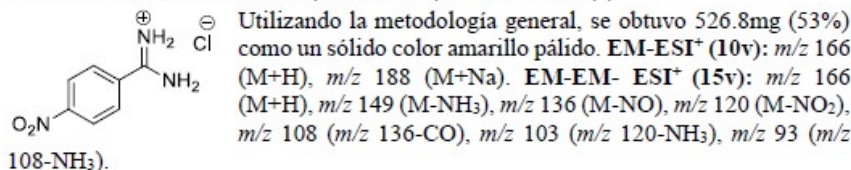
Espectros de masas de masas del compuesto 8. Rupturas heterolíticas de la serie del oxígeno para alcoholes primarios.

DATOS EXPERIMENTALES DE LOS COMPUESTOS.

SÍNTESIS DE CLORURO DE AMINO(PIRIDIN-3-IL) METANIMINIO (3):



Síntesis del cloruro de amino(4-nitrofenil) metaniminio (4):



Síntesis de N-(4-metoxifenil)-4-nitrobencimidamida (5): Utilizando la metodología general, se obtuvo 93.3 mg (46.7%) como un sólido amarillo. EM-ESI⁺ (10v): *m/z* 272 (M+H), *m/z* 294 (M+Na), *m/z* 565 (2M+Na). EM-EM-ESI⁺ (25v): *m/z* 272 (M+H),

m/z 257 (M-CH₃), *m/z* 255 (M-NH₃), *m/z* 242 (M-NO), *m/z* 240 (*m/z* 257-NH₃), *m/z* 226 (M-NO₂), *m/z* 225 (*m/z* 255-NO), *m/z* 214 (*m/z* 242-CO), *m/z* 213 (M-NO-CO-H), *m/z* 211 (*m/z* 242-CH₃O), *m/z* 210 (*m/z* 240-NO), *m/z* 208 (*m/z* 255-OH). EM-EM-ESI⁺ (30v): *m/z* 199 (*m/z* 214-CH₃), *m/z* 198 (*m/z* 213-CH₃), *m/z* 197 (*m/z* 214-NH₃), *m/z* 196 (*m/z* 213-NH₃), *m/z* 183 (*m/z* 214-CH₃O), *m/z* 182 (*m/z* 213-CH₃O), *m/z* 178 (*m/z* 209-CH₃O), *m/z* 149 (*m/z* 226-+C₆H₅), *m/z* 124 (M-+C₇H₉NO), *m/z* 109 (*m/z* 124-CH₃), *m/z* 93 (*m/z* 124-CH₃O), *m/z* 77 (+C₆H₅).

Síntesis de N-(4-metoxifenil) nicotinimidamida (6): Utilizando la metodología general, se obtuvo 689 mg (40.2%) como un aceite color marrón oscuro. EM-ESI⁺ (10v): *m/z* 228 (M+H), *m/z* 250 (M+Na), *m/z* 477 (2M+Na). EM-ESI⁻ (10v): *m/z* 226 (M-H). EM-EM-ESI⁺ (25v): *m/z* 228 (M+H), *m/z* 213 (M-CH₃), *m/z* 211 (M-NH₃), *m/z* 196 (*m/z* 211-CH₃), *m/z* 124 (M-+C₇H₉NO), *m/z* 109 (*m/z* 124-CH₃), *m/z* 107 (*m/z* 124-NH₃), *m/z* 93 (*m/z* 124-CH₃O), *m/z* 77 (+C₆H₅).

Síntesis de Bromuro de (2-hidroxietil) trifenilfosfonio (8). Utilizando la metodología general, se obtuvo 96.8mg (9.7%) como un aceite color amarillo. EM-ESI⁺ (10v): *m/z* 307 (M+). EM-EM-ESI⁺ (25v): *m/z* 307 (M+), *m/z* 289 (M-H₂O), *m/z* 277 (M+H-CH₃O+), *m/z* 275 (*m/z* 289-CH₂), *m/z* 263 (M+H-C₂H₅O+), *m/z* 262 (M-C₂H₅O+), *m/z* 261 (*m/z* 275-CH₂), *m/z* 185 (*m/z* 262-+C₆H₅), *m/z* 108 (*m/z* 185-+C₆H₅).

CONCLUSIONES

En este trabajo de investigación, se logró la síntesis de 5 compuestos con propiedades catiónicas, dos compuestos derivados de amidinas no sustituidas (3 y 4), dos compuestos derivados de amidinas N-sustituidas (5 y 6) y un compuesto derivado de sales de fosfonio (8). Todos los compuestos sintetizados en nuestro laboratorio fueron purificados con éxito utilizando técnicas de precipitación o por cromatografía en columnas, obteniéndose rendimientos de reacción desde moderados hasta buenos. En ausencia de un espectrómetro de RMN en Panamá, hemos realizado la total elucidación de las estructuras de todos productos obtenidos utilizando la técnica de Espectrometría de Masas de Masas, adicional a esto, la espectrometría de masas nos permitió analizar los mecanismos de fragmentación característicos de los compuestos sintetizados en nuestro laboratorio.

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría Nacional de Ciencias, Tecnología e Innovación (SENACYT) y al Sistema Nacional de Investigaciones (SNI) por la financiación de este proyecto. A la Dra. Noelle Beckmann de la Universidad Estatal de Utah, por la beca proporcionada a

la estudiante de tesis, María Bocanegra. A la Vicerrectoría de Investigación y Postgrado (VIP) de la Universidad de Panamá, por el espacio de los laboratorios y por la utilización del UPLC-EM localizado en el Laboratorio de Bioorgánica Tropical. Especial agradecimiento Dr. Luis Cubilla y al Profesor Daniel Torres por la ayuda proporcionada para la elaboración de este proyecto.

REFERENCIAS

- Fang, X., Xie, J., Chu, S., Jiang, Y., An, Y., Li, C., Gong, X., Zhai, R., Huang, Z., Qiu, C. & Dai, X. (2021) 'Quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry system for clinical biomarker analysis', *Engineering*, Chinese Academy of Engineering, doi: 10.1016/j.eng.2020.10.021.
- Glish, G. L. & Burinsky, D. J. (2008) 'Hybrid Mass Spectrometers for Tandem Mass Spectrometry', *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 19(2), pp. 161–172. doi: 10.1016/j.jasms.2007.11.013.
- De Hoffmann, E. (1996) 'Tandem mass spectrometry: A primer', *Journal of Mass Spectrometry*, 31(2), pp. 129–137. doi: 10.1002/(SICI)1096-9888(199602)31:2<129::AID-JMS305>3.0.CO;2-T.
- Patai, S. (2010) *The chemistry of amidines and imidates, The Chemistry of Amidines and Imidates*. Edited by S. Patai. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. doi: 10.1002/9780470771495.
- Schaefer, F. C. & Peters, G. A. (1961) 'Base-Catalyzed Reaction of Nitriles with Alcohols. A Convenient Route to Imidates and Amidine Salts', *The Journal of Organic Chemistry*. American Chemical Society, 26(2), pp. 412–418. doi: 10.1021/jo01061a034.
- Xiao, H. M., Yang, X., Zheng, F., Tshepelevitsh, S., Wang, X., Yao, X. J., Leito, I. & Feng, Y. Q. (2021) 'Quantitative analysis of the relationship of derivatization reagents and detection sensitivity of electrospray ionization-triple quadrupole tandem mass spectrometry: Hydrazines as prototypes', *Analytica Chimica Acta*. Elsevier Ltd, 1158, p. 338402. doi: 10.1016/j.aca.2021.338402.
- Yost, R. A. & Fetterolf, D. D. (1983) 'Tandem mass spectrometry (MS/MS) instrumentation', *Mass Spectrometry Reviews*, 2(1), 1–45. doi: 10.1002/mas.1280020102.



Disponible en:

<https://portal.amelica.org/ameli/ameli/journal/224/2244880014/2244880014.pdf>

Cómo citar el artículo

Número completo

Más información del artículo

Página de la revista en redalyc.org

Sistema de Información Científica Redalyc
Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe,
España y Portugal
Modelo de publicación sin fines de lucro para conservar la
naturaleza académica y abierta de la comunicación científica

Carlos H. Ríos Martínez, María Bocanegra, Rugyel Reyes
**SÍNTESIS DE COMPUESTOS ORGÁNICOS CON
PROPIEDADES CATIÓNICAS E IMPLEMENTACIÓN DE LA
ESPECTROMETRÍA DE MASAS COMO MÉTODO DE
ELUCIDACIÓN ESTRUCTURAL**

SYNTHESIS OF ORGANIC COMPOUNDS WITH CATIONIC
PROPERTIES AND IMPLEMENTATION OF MASS
SPECTROMETRY AS STRUCTURAL ELUCIDATION TECHNIQUE

Tecnociencia

vol. 26, núm. 1, p. 250 - 271, 2024

Universidad de Panamá, Panamá

Luis.rodriguez@up.ac.pa

ISSN: 1609-8102

ISSN-E: 2415-0940

DOI: <https://doi.org/10.48204/j.tecnociencia.v26n1.a4668>



CC BY-NC-SA 4.0 LEGAL CODE

**Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-
CompartirIgual 4.0 Internacional.**