

CNEA - 300

REPUBLICA ARGENTINA
COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA

==

SINTESIS DEL ESTER METILICO DEL ACIDO
EICOSA - 8, 11 - DIENOICO - 1 - ¹⁴C

por

J. C. Castuma, C. P. Arciprete, R. R. Brenner y A. E. A. Mitta

==

BUENOS AIRES

1971

INIS CLASSIFICATION AND KEYWORDS

D 14

CARBON 14

ESTERS

LABELLED COMPOUNDS

CHEMICAL REACTIONS

HYDROGENATION

RADIOCHROMATOGRAPHY

GAS CHROMATOGRAPHY

THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY

METHYL RADICALS

METHYLENE RADICALS

PREPARATION

POLYETHYLENES

INFRARED SPECTRA

NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE

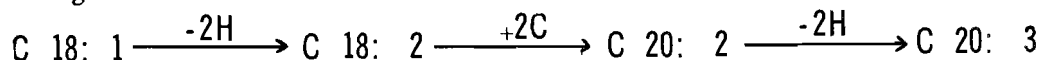
DIENES

SINTESIS DEL ESTER METILICO DEL ACIDO EICOSA-8, 11-DIENOICO-1-¹⁴C

J.C. Castuma**, C.P. Arciprete*, R.R. Brenner** y A.E.A. Mitta*

INTRODUCCION

Es sabido que en ratas carentes de ácidos grasos esenciales los contenidos de ácidos oléico y araquidónico disminuyen en su composición lipídica provocando un considerable incremento del ácido eicosa-5, 8, 11-trienoico (C 20:3)¹⁻³ el que es sintetizado a expensas del ácido oléico. Esta síntesis se realiza de la siguiente manera:



Con el objeto de dilucidar la última etapa de esta transformación, o sea, la conversión del ácido eicosadienoico en el eicosatrienoico, y estudiar la importancia que podría tener este último paso en la propia biosíntesis del ácido eicosa-8, 11-dienoico, se llevó a cabo la síntesis del éster metílico del ácido eicosa-8, 11-dienoico marcado con el carboxilo con carbono radiactivo.

Los métodos usados hasta hace algunos años para sintetizar ácidos grasos marcados con ¹⁴C de fórmula general:

$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_4 - (\text{CH} = \text{CH} - \text{CH}_2)_x - (\text{CH}_2)_y - \text{COOH}$, rinden compuestos impurificados con isómeros *trans*, el rendimiento radioquímico es por lo general muy bajo

* Comisión Nacional de Energía Atómica, República Argentina

** Facultad de Ciencias Médicas, La Plata, República Argentina

y son muchas las etapas radiactivas involucradas.

Por dichos motivos decidimos elegir un método en el cual el componente marcado se introduce en uno de los últimos pasos, obteniéndose así un rendimiento radioquímico mucho mayor.

Para el desarrollo de la síntesis se siguió el esquema experimental para este tipo de ácidos poliénicos propuesto por Stoffel⁴, que es el mismo anteriormente empleado por nosotros para la síntesis del ácido eicosa-11, 14-dienoico⁵. Como puede verse en la Figura 1, la secuencia de las etapas para la obtención del producto inactivo presenta algunas variantes con respecto al método original; éstas se hicieron con el objeto de adaptar el método general al éster particular objeto de la síntesis. El producto final XV, marcado con ¹⁴C en el carboxilo fue obtenido tratando con ¹⁴CNK (materia prima radiactiva) al producto XIII.

PARTE EXPERIMENTAL

Los puntos de ebullición de los distintos intermediarios no están corregidos. Los espectros fueron obtenidos con un espectrofotómetro Beckman modelo IR-5. Los análisis de pureza de los intermediarios I a XI fueron realizados en un cromatógrafo Aerograph (gas-líquido), con detector de conductividad térmica y utilizando columnas metálicas de SE-30 Gum Rubber en Chromosorb W 45-60; la cromatografía gaseosa de los productos finales y la determinación de pureza radioquímica se realizó en un aparato Pye con contador proporcional, usando columnas de dietilenglicol 12 % en Chromosorb W 80-100, con gas eluyente argón. Los valores de las constantes físicas de cada uno de los compuestos utilizados en la síntesis se encuentran en la Tabla 1.

TABLA I

CONSTANTES FISICAS DE LOS INTERMEDIARIOS EN LA SINTESIS DEL
ESTER METILICO DEL EICOSA-8, 11-DIENOICO-1 ¹⁴C.

<i>Compuesto</i>	<i>Punto de Ebullición</i>	<i>Rend. %</i>	<i>Indice de Refracción</i>	<i>Bandas de absorción en infrarrojo cm⁻¹</i>
1-bromo-octano (II)	93° C/ 22 mm Hg	90	1,4510	630 (-CH ₂ -Br)
Dec-1-ino (III)	82° C/ 32 mm Hg	42	1,4265	2225, 3500 (-C≡C-)
Undec-2-ino-1-ol (V)	100° C/ 0,25 mm Hg	50	1,4660	2225 (-C≡C-) 3300, 1020 (-CH ₂ -OH)
Undec-2-ino-1-bromo (VI)	82° C/ 0,20 mm Hg	68	1,4915	2225, 3500 (-C≡C-) 630 (-CH ₂ -Br)
1,6-dicloro hexano (VIII)	94° C/ 22 mm Hg	85	1,4570	650 (-CH ₂ -Cl)
1-cloro, 6-iodo hexano (IX)	96° C/ 6 mm Hg	40	1,5218	1180, 1220 (-CH ₂ -I)
1-cloro-oct-1-ino (X)	89° C/ 22 mm Hg	35	1,4410	650, 725 (-CH ₂ -Cl) 2225, 3500 (-C≡C-)
1-cloro-nonadeca-7, 10-diino	115-118° C/ 0,003 mm Hg	32	-	650, 725 (-CH ₂ -Cl) 2225, 3500 (-C≡C-)
1-cloro-nonadeca-7, 10-dieno	110-115° C/ 0,002 mm Hg	92	-	650, 725 (-CH ₂ -Cl) 1650, 1180 (-CH=CH-) <i>cis</i>
1-ciano-nonadeca 7, 10-dieno-1 ¹⁴ C	-	94	-	2250 (-CH ₂ -CN) 1650, 1180 (-CH=CH-) <i>cis</i>
Ester metílico del ácido eicosa-8, 11-dienoico-1 ¹⁴ C (XV)	100-105° C/ 0,002 mm Hg	14 (radioquímico)		1650, 1180 (-CH=CH-) <i>cis</i> 1700, 1750 (-C-O-C.H ₃)

1-bromo-octano (II):

Fue preparado a partir del alcohol octílico según la técnica usual⁶⁻⁷.

Dec-1-ino (III):

Se preparó tratando el compuesto II con acetiluro de sodio⁸ recientemente preparado, de acuerdo con las técnicas descriptas⁹⁻¹¹.

Undec-2-ino-1-ol (V):

Fue preparado de acuerdo al método de Taylor y Strong¹² a partir del dec-1-ino, con bromuro de etil magnesio y posterior tratamiento con formaldehído.

Undec-2-ino-1-bromo (VI):

Fue sintetizado a partir del compuesto V, de acuerdo a la técnica descripta por Taylor y Strong¹².

1, 6-dicloro hexano (VIII):

Se preparó a partir del 1, 6-hexanodiol de acuerdo al procedimiento de Raphael¹³.

1-cloro-6-iodo-hexano (IX):

Se preparó a partir del compuesto VIII según la técnica descripta por Kamaludin¹⁴.

1-clor-oct-8-ino (X):

Se preparó a partir del compuesto IX, el cual fue tratado con acetiluro de sodio, de acuerdo a la técnica de Strong y col¹⁵.

1-cloro-nonadeca-7, 10-diino (XII):

Fue sintetizado de acuerdo al método de Stoffel⁴. En un balón de capacidad adecuada y de 3 bocas se preparó bromuro de etil magnesio en tetrahidrofurano seco (destilado sobre LiAlH_4). Se agregaron en el curso de 1 h, 50 mM de 1-cloro-oct-*W*-ino (X) disueltos en tetrahidrofurano seco y se agitó durante 4 h. Se agregó a continuación cianuro cuproso seco y se agitó durante 15 min. Siempre agitando se agregan luego 50 mM de undec-2-ino-1-bromo (VI) disueltos en tetrahidrofurano seco y se reflujo durante 12 h en ambiente de N_2 y al abrigo de la luz. El contenido del balón se vertió sobre agua helada y se agregó suficiente cantidad de SO_3H_2 2N para descomponer el exceso de reactivo. El producto de reacción se extrajo con éter libre de peróxidos, se lavó el extracto con CO_2 Na_2 1N, con agua y finalmente se secó con SO_3Na_2 anhidro. El producto se purificó por destilación a 110-120°C a 0,003 mm.

1-cloro-nonadeca-7, 10-dieno (XIII):

Inmediatamente después de destilado el producto (XII) se lo disolvió en heptano y se agregó quinolina recientemente destilada y catalizador de Lindlar¹⁶ fresco. La mezcla se hidrogenó a presión y temperatura ambiente con agitación constante; la absorción de hidrógeno se interrumpió cuando se alcanzó el valor teórico (entre 30 y 45 min). Se procedió luego a extraer el producto y a eliminar la quinolina y se purificó el producto por destilación en vacío. La cromatografía gas-líquido del producto obtenido indicó una pureza mayor del 95%. El espectro I.R. mostró una muy pequeña cantidad de isómero *trans*, detectables en la zona de 950 cm^{-1} (ver Figura 2).

1-ciano-nonadeca-7, 10-dieno (XIV):

Se mezclaron 231,5 mg de KCN inactivo, con 30 mg de K^{14}CN (12 mCi/mM) y la mezcla se disolvió en 20 ml de dimetilsulfóxido seco. Se agregaron luego 6 mM del producto XIII disueltos en 10 ml de dimetilsulfóxido y la mezcla se calentó durante 3 h a 120° en atmósfera de N_2 . La mezcla de reacción fue vertida sobre agua helada y el producto se extrajo con éter de petróleo (30-60). Por evaporación del solvente se obtuvo el producto XIV cuyo I.R. estaba de acuerdo con su estructura. Se lavó con agua y se secó con sulfato de sodio anhidro.

Ester metílico del ácido eicosa-8, 11-dienoico-1-¹⁴C (XV):

El compuesto anterior se trató con metanol-ácido clorhídrico al 2%, en presencia de un equivalente de agua; se agitó durante 2 h a 0° y 12 h a temperatura ambiente y en atmósfera de N₂; el producto se extrajo con éter de petróleo y se secó con sulfato de sodio anhidro. El éster fue saponificado con 30 veces su volumen con HOK en metanol al 2% calentando 2 h a reflujo; la fracción no saponificable se extrajo con éter de petróleo y se descartó. Se acidificó luego la solución acuosa y el ácido poliénico liberado se tomó en éter de petróleo, se evaporó el disolvente y el ácido se esterificó con MeOH-HCl al 2%.

Purificación y ensayos de pureza del éster metílico del ácido eicosa-8, 11-dienoico-1-¹⁴C.

El éster metílico XV fue purificado por cromatografía gas-líquido obteniéndose química y radioquímicamente con una pureza del 97%. Presentó una actividad específica de 0,201 mCi/mM (ver Figura 3).

El éster metílico del ácido eicosa-8, 11-dienoico fue hidrogenado en presencia de PtO₂. El producto hidrogenado fue identificado por cromatografía gas-líquido como un ácido saturado de 20 átomos de carbono. La absorción de hidrógeno en el aparato de microhidrogenación por el método de Clausson-Kass¹⁷ está de acuerdo con la cantidad calculada para el éster metílico del ácido sintetizado. La cantidad de hidrógeno calculada por 18 mg de muestra es 2,52 ml y la cantidad absorbida es 2,56 ml.

Conclusiones

Fueron sintetizados el ácido eicosa-8, 11-dienoico, inactivo y el marcado con ¹⁴C en el carboxilo. Se determinaron las constantes físicas características del éster metílico de dicho ácido y de los intermediarios obtenidos durante su síntesis. La pureza de los productos finales fue demostrada por cromatografía en capa delgada, cromatografía gas-líquido, radiocromatografía gas-líquido; además de hidrogenar el éster metílico se obtuvo el correspondiente ácido graso saturado de 20 átomos de carbono (eicosanoico). Las bandas características en el espectro infrarrojo correspondían a un éster no saturado de estructura *cis*.

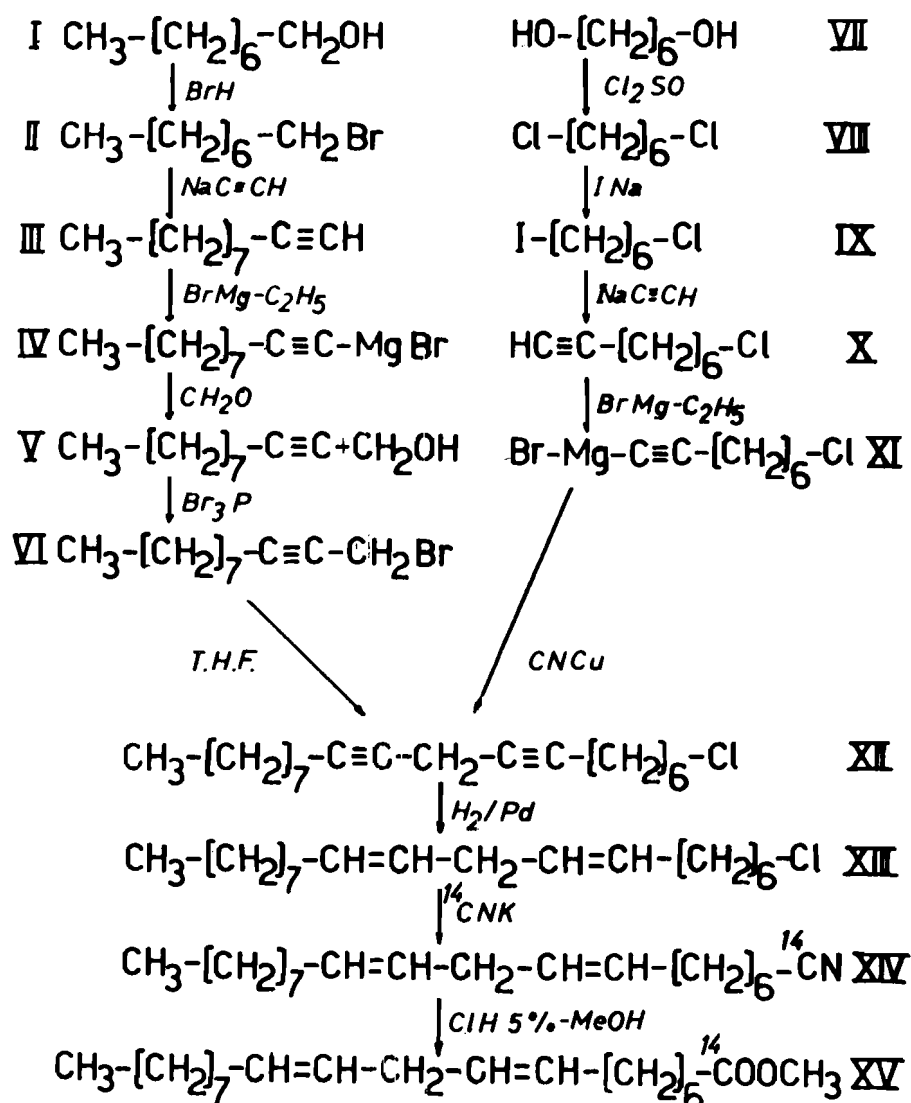


Figura 1
Esquema de reacción para la síntesis del
ácido [1 ^{14}C] 8, 11-eicosa dienoico (éster metílico)

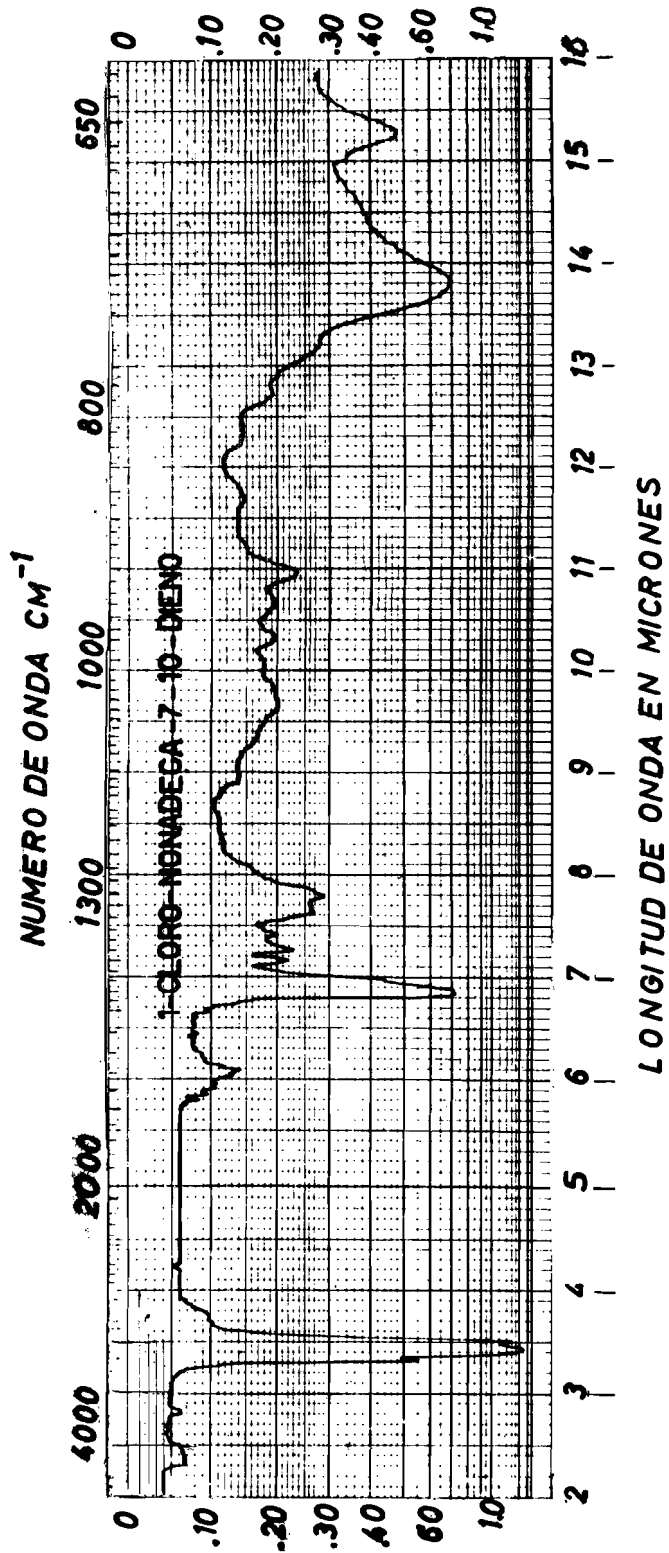


Figura 2. Espectro infrarrojo del 1-cloro-7,10-dieno.

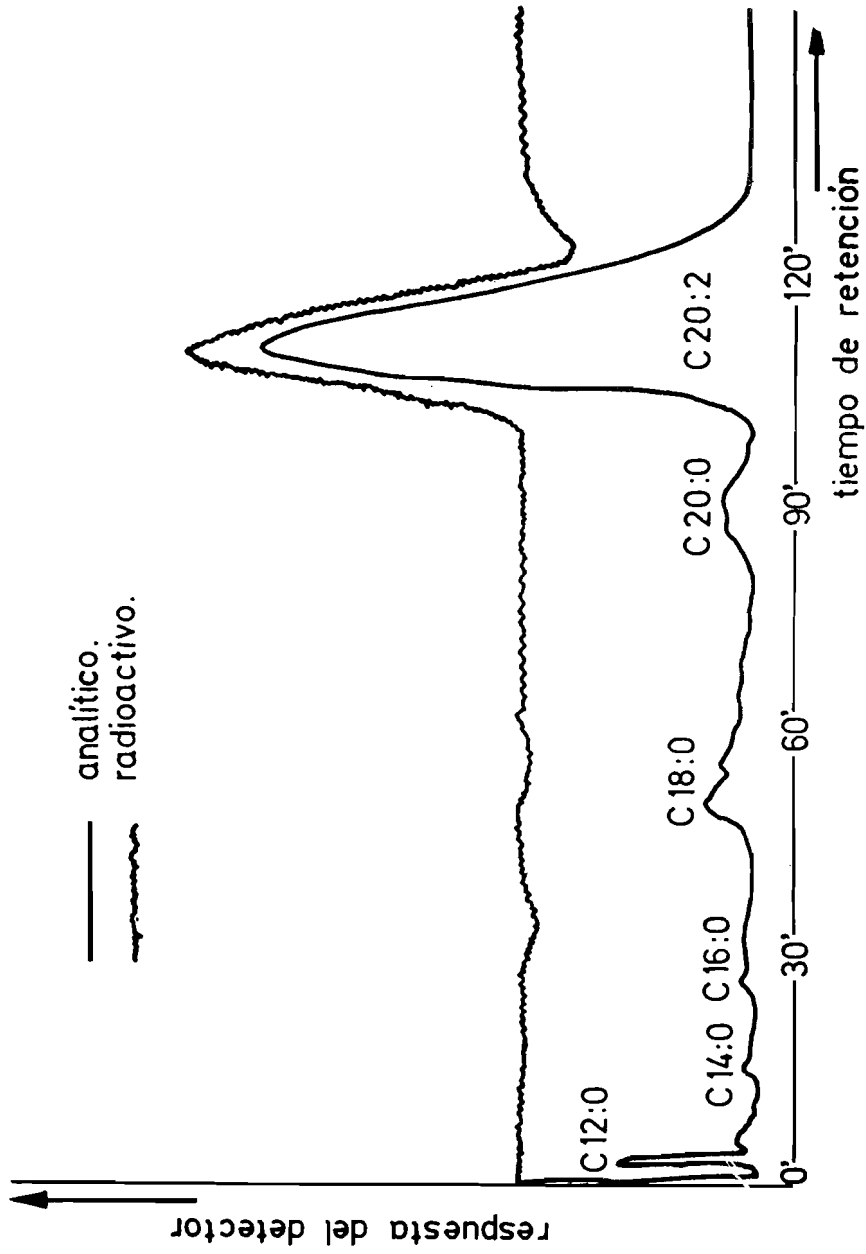


Figura 3
Cromatograma analítico y radiocromatograma simultáneos del
ácido 8, 11-eicosadienoico (éster metílico).

BIBLIOGRAFIA

1. W. STOFFEL y K. L. ACH. Z. Physiol Chem. 337, 123 (1964).
2. R. R. BRENNER y R. O. PELUFFO, J. Biol. Chem. 241, 5213 (1966).
3. J. F. MEAD, G. STEINBERG y D. R. HOUTON, J. Biol. Chem. 205, 683 (1953).
4. W. STOFFEL. Liebigs Ann. Chem. 673, 26 (1964).
5. A. CATALA, C. A. ARCIPRETE, R. R. BRENNER y A. E. A. MITTA, Anales Asoc. Quim. Argentina, 58, 47 (1970).
6. A. I. VOGEL, "A text book of Practical Organic Chemistry", Longmans, Green and Co. 2nd. Edition, pág. 183 (1951).
7. Organic Synthesis Coll. vol I, pág. 30 (1950) John Wiley & Sons Inc. New York.
8. R. A. RAPHAEL, "Acetylenic Comp. in Org. Chem." 1955.
9. T. H. VAUGHN, G. F. HENNION, R. R. VOGT and J. A. NIEELAND, J. Org. Chem. 2, 1 (1937).
10. Organic Synthesis Vol. IV pág. 115, Editor W. Rabjohn. John Wiley & Sons Inc. London (1963).
11. Cita 6, pág. 999.
12. W. R. TAYLOR y F. M. STRONG, J. Am. Chem. Soc. 72, 4263 (1950).
13. R. A. RAPHAEL, J. Chem. Soc. 2100 (1950).
14. J. KAMADULIN, J. Am. Chem. Soc. 70, 3391 (1948).
15. K. AHMAD, F. M. BUMPUS y F. M. STRONG, J. Am. Chem. Soc. 70, 1698 (1948).
16. H. LINDLAR, Helv. Chem. Acta, 35, 446 (1953).
17. N. CLAUSSEON-KASS y A. FLIMBURG, Acta Chem. Scand. 1, 884 (1967).