

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Estudio químico y computacional del acetaminofén

Disertación previa a la obtención del título
Licenciada en Ciencias Químicas con mención en Química Analítica

SHIRLEY FERNANDA MOROCHO PANGUL

Quito, 2017

No digas que no tienes suficiente tiempo. Tienes exactamente el mismo número de horas que tuvieron Pasteur, Michelangelo, Helen Keller, Madre Teresa, Leonardo da Vinci, Thomas Jefferson y Albert Einstein.

-H. Jackson Brown Jr.

CERTIFICACIÓN

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas con mención en Química Analítica, de la candidata Shirley Fernanda Morocho Pangul, ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Fecha: Quito, 06 de Febrero del 2017

Dra. Lorena Meneses Olmedo
DIRECTORA DE LA DISERTACIÓN

AGRADECIMIENTOS

A Dios y a la Virgen María Auxiliadora por sus cuidados y su protección en cada momento de mi vida, tanto en los momentos difíciles como en los más alegres.

A mi mami, porque gracias a ella y a sus cuidados a lo largo de mi vida es que soy quien soy hoy en día. Mami, este título es tuyo, gracias por la compañía en cada noche de estudio, tus cuidados en épocas de exámenes, tu cariño y perseverancia en los momentos más difíciles, eres mi ejemplo a seguir. Te quiero mami, mi guerrera.

Agradezco de todo corazón a la Familia Suárez Ontaneda porque gracias a ustedes y a su apoyo he podido cumplir con esta meta. Sr. Marcelo Suárez y Sra. María Elena, gracias por el cariño demostrado a mi mami y a mí, por sus consejos y por tratarme como una hija más. A Diego, Maka, Ingeniero y Doctor, mil gracias por la confianza depositada en mí y por cada consejo dado a lo largo de mi vida, cada palabra la guardo en mi mente y siempre la tengo presente.

A mi padre, que en estos últimos años estuvo cerca dándome su apoyo en los momentos que me veía nerviosa y por esas palabras de confianza en mí, gracias papi.

A mi directora de tesis, Dra. Lorena Meneses, por permitirme trabajar con ella durante estos 2 años, por su disponibilidad, comprensión y enseñanza en este trabajo. A Sebastián Cuesta, gracias por ser un buen compañero de trabajo y por la disponibilidad para enseñarme a manejar cada programa.

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, por su ayuda en la entrega de recursos, materiales y equipos para la elaboración de este trabajo de investigación.

A cada uno de mis profesores por aportar con un granito en la enseñanza del maravilloso mundo de la Química.

A mis amigos, Tania y Nory, por estar siempre a mi lado; a Christian, Cinthy, Mabe, Alejandra, Dani y Jenny por ayudarme a estudiar en cada momento, soportar mis nervios, darme ánimos y enseñarme a tener un equilibrio entre los estudios y la diversión. A Andrés, gracias por escucharme y darme una palabra de aliento, la cual siempre me ayudó a seguir adelante y no darme por vencida en este camino.

TABLA DE CONTENIDO

CERTIFICACIÓN.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
TABLA DE CONTENIDO	v
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABLAS	xii
LISTA DE ANEXOS	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT	xvi
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I	4
1. MARCO TEÓRICO	4
1.1 PROCESO INFLAMATORIO.....	4
1.1.1 MECANISMO DEL PROCESO DE INFLAMACIÓN.....	5
1.1.2 MEDIADORES DE LA INFLAMACIÓN	7
1.2 PROCESO ANALGÉSICO.....	8
1.2.1 DOLOR	9
1.3 PROCESO ANTIPIRÉTICO.....	10
1.3.1 LA FIEBRE	11
1.4 ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS (AINES).....	11
1.4.1 CLASIFICACIÓN.....	12
1.4.2 MECANISMO DE ACCIÓN	12
1.4.3 CONTRAINDICACIONES Y EFECTOS SECUNDARIOS	15
1.5 ACETAMINOFÉN.....	16
1.5.1 IMPORTANCIA	17

1.5.2 CONTRAINDICACIONES Y EFECTOS ADVERSOS	18
1.5.3 POSOLOGÍA	19
1.5.4 FARMACOCINÉTICA.....	20
1.5.5 ACCIÓN FARMACOLÓGICA	21
1.5.6 MECANISMO DE ACCIÓN	22
1.6 ENZIMAS	23
1.6.1 SITIO ACTIVO.....	24
1.7 MÉTODOS EXPERIMENTALES.....	25
1.7.1 SÍNTESIS ORGÁNICA	25
1.7.2 MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS.....	28
A. ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA VISIBLE (UV/Vis)	28
B. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR).....	29
C. ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)	31
1.8 MÉTODOS COMPUTACIONALES	33
1.8.1 FUNCIONES BASE	35
1.8.2 GAUSSIAN 03	35
1.8.3 AUTODOCK.....	36
1.9 MODELAMIENTO DE FÁRMACOS	36
CAPÍTULO II	38
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
2.1 SÍNTESIS DE ACETAMINOFÉN	38
2.1.1 EQUIPOS	38
2.1.2 MATERIALES	39
2.1.3 REACTIVOS.....	39
2.1.4 PROCEDIMIENTO	40

2.2 EXTRACCIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO.....	43
2.2.1 MATERIALES.....	43
2.2.2 REACTIVOS.....	44
2.2.3 PROCEDIMIENTO	44
2.3 DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE FUSIÓN	44
2.3.1 MATERIALES.....	45
2.3.2 REACTIVOS.....	45
2.3.3 EQUIPO	46
2.3.4 PROCEDIMIENTO	46
2.4 ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO	46
2.4.1 ANÁLISIS POR ESPECTROSCOPIA UV/Vis	47
2.4.1.1. MATERIALES.....	48
2.4.1.2 EQUIPOS	49
2.4.1.3 REACTIVOS.....	49
2.4.1.4 PROCEDIMIENTO.....	49
2.4.2 ANÁLISIS POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	50
2.4.2.1 EQUIPOS	50
2.4.2.2 MATERIALES.....	50
2.4.2.3 REACTIVOS.....	51
2.4.2.4 PROCEDIMIENTO.....	51
2.5 ESTUDIO COMPUTACIONAL	52
2.5.1 PROCEDIMIENTOS	53
CAPÍTULO III	55
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	55

3.1 SÍNTESIS DE ACETAMINOFÉN	55
3.2 ESTUDIO ESPECTROSCÓPICO	65
3.2.1 ESPECTRO IR	65
3.2.2 ESPECTRO UV/Vis.....	78
3.2.3 ESPECTRO RMN COMPUTACIONAL	81
3.3 ESTUDIO TERMODINÁMICO COMPUTACIONAL.....	92
3.6 ESTUDIO BIOQUÍMICO.....	96
CAPÍTULO IV	106
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	106
4.1 CONCLUSIONES.....	106
4.2 RECOMENDACIONES	107
BIBLIOGRAFÍA	108
ANEXOS	116

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Estructura aproximada de las Isoformas de la COX-1 y de la COX-2.....	13
Figura 1.2 Estructura del acetaminofén.....	16
Figura 1.3 Síntesis del acetaminofén a partir de fenol	25
Figura 1.4 Mecanismo aceptado de la nitración	26
Figura 2.1 Equipo formado con balón, embudo y refrigerante	41
Figura 2.2 Equipo Stuart MPS30 para punto de fusión.....	45
Figura 2.3 Espectrofotómetro UV/Visible Agilent Technologies Cary 60	48
Figura 2.4 Espectrofotómetro de Infrarrojos con transformada de Fourier Perkin Elmer BX	50
Figura 3.1 Formación de cristales de 4-nitrofenol	55
Figura 3.2 Reacción de formación de 4-nitrofenol y 2-nitrofenol.....	56
Figura 3.3 Baño de hielo aplicado en la primera parte de la reacción durante 2 horas.....	57
Figura 3.4 Cristales obtenidos de 4-aminofenol.....	60
Figura 3.5 Reacción de reducción del grupo nitro en presencia de borohidruro de sodio.....	60
Figura 3.6 Cristales de acetaminofén obtenidos	63
Figura 3.7 Esquema general de la reacción de formación de acetaminofén	63
Figura 3.8 Espectros IR de las especies estudiadas	66
Figura 3.9 Frecuencias computacionales obtenidas para el acetaminofén	68
Figura 3.10 Espectros computacional, teórico y experimental del 4-nitrofenol.....	69
Figura 3.11 Espectros computacional, teórico y experimental del 2-nitrofenol.....	71

Figura 3.12 Espectros computacional, teórico y experimental del 4-aminofenol	73
Figura 3.13 Espectros computacional, teórico y experimental del acetaminofén	75
Figura 3.14 Espectros IR obtenidos de la extraccion con diclorometano y de la síntesis de acetaminofén	78
Figura 3.15 Espectros UV/Vis obtenidos computacionalmente de los principales productos de la síntesis	79
Figura 3.16 Espectro UV/Vis del acetaminofén obtenido en el laboratorio.....	80
Figura 3.17 Espectros ¹ H RMN obtenidos computacionalmente de los productos estudiados.....	82
Figura 3.18 Espectro experimental de ¹ H RMN del acetaminofén	84
Figura 3.19 Espectros ¹³ C RMN obtenidos computacionalmente de los productos estudiados	86
Figura 3.20 Espectro experimental de ¹³ C RMN del acetaminofén	87
Figura 3.21 Espectros ¹⁷ O RMN obtenidos computacionalmente.....	89
Figura 3.22 Espectros ¹⁵ N RMN obtenidos computacionalmente.....	91
Figura 3.23 Estructuras computacionales estudiadas	93
Figura 3.24 Estructura de la COX-1	97
Figura 3.25 Estructura de la COX-2.....	98
Figura 3.26 Espacio escogido de la enzima COX-1, para realizar el cálculo de acoplamiento	99
Figura 3.27 Conformaciones en el espacio de la COX-1	99
Figura 3.28 Conformación del acetaminofén con la COX-1.....	101
Figura 3.29 Selección del espacio de la enzima COX-2 para realizar el cálculo de acoplamiento	102
Figura 3.30 Conformación 3 del acetaminofén en el sitio activo de la	

COX-2	104
Figura 3.31 Conformación 4 del acetaminofén en el sitio activo de la	
COX-2	104
Figura 3.32 Conformaciones observadas con Pymol de los dos sitios activos	
más cercanos del acetaminofén	105

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1 Clasificación de los antiinflamatorios no esteroideos .	12
Tabla 1.2 Propiedades físicas y químicas del acetaminofén	17
Tabla 1.3 Propiedades farmacocinéticas del acetaminofén	20
Tabla 3.1 Puntos de fusión obtenidos para el 2-nitrofenol y el 4-nitrofenol	58
Tabla 3.2 Porcentajes de rendimiento obtenidos para el 2-nitrofenol y el 4-nitrofenol	59
Tabla 3.3 Puntos de fusión obtenidos de 4-aminofenol	61
Tabla 3.4 Porcentajes de rendimiento obtenidos para el 4-aminofenol	62
Tabla 3.5 Puntos de fusión obtenidos para el acetaminofén	64
Tabla 3.6 Porcentajes de rendimiento obtenidos para el acetaminofén	64
Tabla 3.7 Comparación de los valores de frecuencia del 4-nitrofenol	70
Tabla 3.8 Comparación de los valores de frecuencia del 2-nitrofenol	72
Tabla 3.9 Comparación de los valores de frecuencia obtenidos del 4-aminofenol	74
Tabla 3.10 Comparación de los valores de frecuencia obtenidos del acetaminofén	76
Tabla 3.11 Valores de las entalpías calculadas de las moléculas estudiadas	94
Tabla 3.12 Entalpías estándar de las reacciones estudiadas	96
Tabla 3.13 Valores de afinidad obtenidos para el acoplamiento molecular acetaminofén-Ciclooxigenasa 1 con Autodock Vina	100
Tabla 3.14 Valores de afinidad obtenidos para el acoplamiento molecular acetaminofén- Ciclooxigenasa 2 con Autodock VINA	103

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Tabla de correlación	118
Anexo 2. Espectros IR del acetaminofén obtenidos de la síntesis y de la extraccion	121
Anexo 3. Espectros IR de la síntesis experimental.....	125
Anexo 4. Espectros UV/Vis del acetaminofén obtenidos de la reacción	127
Anexo 5. Rendimiento de la reacción de la síntesis	129

RESUMEN

Se presenta un estudio teórico y experimental de la reacción de síntesis del acetaminofén, mediante la aplicación de conceptos espectroscópicos y termodinámicos. La metodología se desarrolló en tres etapas, durante la primera se realizó la síntesis experimental del acetaminofén, la extracción del principio activo del producto comercial y el análisis por espectroscopia de infrarrojos y UV/Vis. La segunda parte consistió en una modelación electrónico estructural; se obtuvieron las energías y las propiedades espectroscópicas computacionales del acetaminofén y los precursores de síntesis (espectro IR, espectro UV/Vis y espectro RMN). La tercera parte consistió de la interacción de acetaminofén con las enzimas Ciclooxygenasa 1 y Ciclooxygenasa 2 por medio de métodos de acoplamiento molecular utilizando el programa Autodock Vina y se comparó con resultados experimentales encontrados en la bibliografía. En la síntesis experimental se obtuvo un rendimiento de la reacción de 49,21%. Se aislaron todos los productos intermedios de la reacción de síntesis, y se obtuvieron los espectros IR y UV/Vis que fueron comparados con los espectros teóricos y computacionales. Las bandas obtenidas se encuentran dentro de los rangos para los grupos funcionales del acetaminofén y sus precursores. En el estudio termodinámico se encontró que en la reacción de síntesis del acetaminofén tiene etapas exotérmicas y endotérmicas. En el estudio de acoplamiento computacional se compararon los resultados calculados con resultados experimentales obtenidos mediante cristalografía de rayos X, comprobando la hipótesis de que la Ciclooxygenasa 1 no interacciona con el acetaminofén mientras que, la Ciclooxygenasa 2 tiene una interacción débil. Los métodos computacionales, así como la modelación electrónico estructural, son comparables con resultados obtenidos experimentalmente, demostrando ser bastante exactos.

Palabras claves: Acetaminofén, Autodock Vina, Ciclooxigenasa, Espectroscopía, Gaussian, Síntesis.

ABSTRACT

This research presents a theoretical and experimental study of the synthesis reaction of acetaminophen, through the application of spectroscopic and thermodynamic concepts. The methodology was developed in three steps; the first one was the experimental synthesis of acetaminophen, the extraction of the active principle of the commercial product, and the analysis by infrared and UV/Vis spectroscopy of the acetaminophen and its precursors. The second part consisted of a structural electronic modeling where the energies and spectroscopic properties were obtained computationally (IR spectrum, UV/Vis spectrum and NMR spectrum). The third part consisted in the interaction of acetaminophen with the Cyclooxygenase 1 and Cyclooxygenase 2 enzymes using docking methods on the program Autodock Vina, and comparing these results with experimental ones found in the literature. A reaction yield of 49,21% was obtained in the experimental synthesis. All intermediate products were isolated, and the IR and UV/Vis spectra obtained were compared with theoretical and computational ones. Spectra bands obtained are within the ranges reported for acetaminophen and its precursor's functional groups. The thermodynamic study showed that in the synthesis reaction of acetaminophen there are exothermic and endothermic stages. Docking results compared with experimental ones obtained through X-ray crystallography prove the hypothesis that Cyclooxygenase 1 does not interact with acetaminophen and Cyclooxygenase-2 has a weak interaction. Computational methods as well as the structural electronic modeling are fully comparable with the results obtained experimentally proving to be quite accurate.

Words key: Acetaminophen, Autodock Vina, Cyclooxygenase, Gaussian, Spectroscopy, Synthesis.

INTRODUCCIÓN

Los medicamentos son una de las herramientas terapéuticas más utilizadas en la actualidad. Su uso adecuado permite a la población obtener enormes beneficios en cuanto al alivio o prevención de enfermedades, mejorando el estado de salud de las personas enfermas, o modificando estados fisiológicos [1].

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el uso adecuado de los medicamentos implica que el paciente reciba cada medicamento para la indicación específica, en la dosis correcta, durante el tiempo establecido y al menor costo posible para él y para la sociedad [1].

El conocimiento de propiedades físicas, químicas y farmacológicas de principios activos, es de mucha utilidad industrial, ya que permiten conocer el comportamiento químico en el cuerpo y su mecanismo de acción. Con un estudio computacional completo de estas sustancias, se pueden crear procesos de síntesis más eficientes, menos costosos o más sencillos, además se puede sintetizar nuevos fármacos de acción rápida y que produzcan menos efectos secundarios [2].

La química computacional nace con la necesidad de comprender aspectos importantes que no se pueden resolver de forma práctica, como conocer estados intermediarios en reacciones que se efectúan rápidamente, comprender el comportamiento de un material a

temperatura altas que son muy difíciles de alcanzar en un laboratorio, o simplemente calcular propiedades en sistemas de alto costo. La química computacional es una aplicación de nuevas tecnologías electrónicas y las matemáticas para comprender un sistema [3].

Existen programas computacionales, que al introducir información estructural, se pueden crear modelos computacionales de enzimas muy similares a la realidad, donde se la puede girar o realizar acercamientos en partes específicas. Con este tipo de programas se pueden usar estructuras computarizadas como una referencia, para determinar el tipo de moléculas que podrían bloquear cierto tipo de enzima. Estas moléculas pueden ser obtenidas de un banco de moléculas, o modeladas en la computadora y luego sintetizadas en el laboratorio.

En esta investigación se propone un estudio teórico y experimental de la reacción de acetaminofén a partir de fenol. Este estudio permite caracterizar el comportamiento químico, termodinámico y el mecanismo de acción biológica del mismo, para entender la acción farmacológica. Se realizó la síntesis experimental del acetaminofén, se comparó la estructura obtenida del acetaminofén en el laboratorio con el producto comercial. Se utilizaron herramientas computacionales, GAUSSIAN 03 y Autodock Vina, que permiten analizar la espectroscopia, la termodinámica y el mecanismo de acoplamiento del acetaminofén con enzimas. Con los resultados obtenidos se intenta tener un mejor entendimiento del comportamiento químico de la acción farmacológica del acetaminofén. Se propone ver la aplicabilidad de estas técnicas en el desarrollo de nuevos fármacos.

A continuación, se muestra el contenido de esta investigación para un mejor entendimiento de la misma:

En el Capítulo I se encuentra una breve descripción del proceso inflamatorio y sus causas, cómo los antiinflamatorios ayudan a contrarrestar este efecto. También se encuentra una breve descripción del proceso analgésico y antipirético. Se describe información sobre los antiinflamatorios no esteroideos, el acetaminofén y las enzimas que actúan sobre el fármaco. Finalmente, se especifica el fundamento de las técnicas usadas, qué es la modelación computacional y el diseño de fármacos.

En el Capítulo II, se explica el procedimiento empleado en la investigación y los materiales, equipos y reactivos.

El Capítulo III se muestra todos los resultados obtenidos en la investigación, además de una discusión de cada uno de los resultados para su mejor entendimiento.

Finalmente, en el Capítulo IV se presentan las conclusiones y recomendaciones obtenidas en la investigación.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

En la sociedad en que vivimos, el consumo de medicamentos se ha vuelto cada vez más pronunciado. En el mercado, los medicamentos antiinflamatorios, analgésicos y antipiréticos son los más conocidos. El uso indebido y las sobredosis de algunos de ellos, pueden causar algunos efectos adversos en el organismo.

1.1 PROCESO INFLAMATORIO

La inflamación se define como una reacción compleja del tejido vascularizado (conjunto de los pequeños vasos sanguíneos), ocasionada por una lesión ubicada en este tejido, esta respuesta inflamatoria se encuentra muy ligada al proceso de reparación y dentro de sus funciones se encuentra la de destruir, atenuar o mantener ubicado al agente patógeno, así mismo, se inicia una cadena de eventos que en últimas instancias llevan a curación y reconstrucción del tejido lesionado [4]. Este proceso de reparación se inicia durante el proceso de inflamación, sin embargo, no termina mientras no haya cedido el estímulo lesivo y se caracteriza por la regeneración de células parenquimatosas nativas, por la proliferación de fibroblastos (cicatrización) o por la combinación de los dos.

Uno de los principales objetivos de la inflamación es mantener un efecto protector, básicamente para liberar al tejido de los agentes injuriantes, ya que sin este proceso,

difícilmente se podría realizar la curación, las infecciones se extenderían y los órganos lesionados presentarían lesiones supurativas permanentemente [4,5].

La reparación mediante fibrosis puede ocasionar dolor y cicatrices con desfiguración y hasta limitación para la movilización, esta es la razón para que se utilicen los medicamentos antiinflamatorios, cuya acción principal es la de inhibir los efectos saludables de la inflamación, ya que es un mecanismo que tiene nuestro organismo para curar la lesión, con los antiinflamatorios no se busca suprimirla sino modularla. Al modular evitamos que la zona se hinche, y por lo tanto evitamos la aparición del dolor y evitar las secuelas nocivas de ésta [5].

1.1.1 MECANISMO DEL PROCESO DE INFLAMACIÓN

La inflamación es un proceso constituido por una serie de eventos consecutivos que conducen a la eliminación del agente o del tejido dañado, mediante un mecanismo biológico básico que presentan los seres vivos: la fagocitosis. Una vez eliminado el agente y el tejido dañado mediante este proceso, se produce la reparación de la zona por regeneración y/o cicatrización. La cicatrización es un proceso de reparación o regeneración de un tejido alterado, resultando en un tejido cicatrizal o un tejido igual al original [6].

El conjunto de elementos que se ven involucrados en la inflamación son: los vasos de microcirculación que son las arteriolas, capilares y vénulas; la sangre con el plasma, el

tejido conjuntivo y células que se encuentran en prácticamente en todos los tejidos, asegurando que la respuesta inflamatoria sea posible en cualquier lugar del organismo [6].

Las células del tejido conjuntivo son las primeras en reaccionar al producirse daño en los tejidos por acción de un agente injuriente. Los agentes injuriantes son virus y bacterias, que liberan histamina, produciendo la vasodilatación y aumentando la permeabilidad. Esta vasodilatación trae una mayor afluencia de sangre, una disminución de la velocidad sanguínea y la apertura de los capilares que estaban cerrados. La zona enrojece y aumenta la temperatura [6].

Existen cinco etapas en la inflamación que son:

- Rubor: tonalidad rojiza en la zona afectada
- Tumor: Formación de un edema (hinchazón).
- Calor: Aumento de la temperatura principalmente en la zona afectada por una disminución de oxígeno.
- Dolor: En algunos casos suele ser el elemento fundamental, dolor a la palpación.
- Pérdida de función: Debido a las etapas anteriores mencionadas, en la zona afectada se produce una pérdida de la función [7].

1.1.2 MEDIADORES DE LA INFLAMACIÓN

Cuando un agente provoca una lesión, lo que hace es dañar un volumen más o menos importante de células. De las células destruidas salen al exterior proteínas, algunas grasas y en general sustancias químicas que normalmente no saldrían nunca de la célula. Por otro lado, otras células aunque no estén destruidas, son dañadas en la lesión y también vierten en el medio algunas de sus proteínas y sustancias intracelulares. Estas moléculas internas al entrar en contacto con células sanas, producen una reacción, y segregan también proteínas de alarma, amplificando así esta cascada de sustancias que primero se vierten en el tejido y luego pasan a la sangre [8].

Toda esta cascada, sobre todo de proteínas, desata cambios que llamamos inflamación aguda, que pone en marcha a los sistemas defensivos del cuerpo. Y a estas sustancias se las llama mediadores de la inflamación. Estas sustancias son importantes, debido a que se busca en los tejidos para demostrar que una lesión se ha producido en vida [8]. Los mediadores de la inflamación son de origen plasmático, celular o sintetizado por el hígado.

En la inflamación aguda que sigue a la aparición de un estímulo de magnitud suficiente en el seno de la agresión, se ponen en marcha numerosos mediadores, entre los que pueden citarse: la cascada de la coagulación y fibrinólisis; la descomposición de los coágulos sanguíneos; el sistema de cininas, que es un sistema poco definido de proteínas sanguíneas; el sistema renina-angiotensina; la serotonina e histamina; y una multitud de estímulos de origen neural que intentan, en el marco de una adecuada respuesta a la

situación de emergencia, brindar el escenario más propicio para que los hechos se desenvuelvan con un mínimo de daño tisular sin perder su efectividad [9].

Algunos mediadores químicos de la inflamación son:

- La histamina cuyo origen es en mastocitos y basófilos, su efecto es incrementar el flujo sanguíneo, hinchazón y picazón.
- La prostaglandinas PGE y PGF, su origen es en las plaquetas y su efecto es la hinchazón causada por la acumulación de líquidos en los tejidos y el dolor que se manifiesta [10].

1.2 PROCESO ANALGÉSICO

Los analgésicos son depresores selectivos del sistema nervioso central que se utilizan para suprimir el dolor sin alterar la conciencia. Actúan elevando el umbral del dolor. La palabra analgesia proviene del griego que significa “sin dolor” [11].

En base a su potencia analgésica y a su tolerancia, los analgésicos se han clasificado hasta hace poco en narcóticos o fuertes, y no narcóticos o débiles. Esta clasificación no se la utiliza. Aun así, la American Medical Association los divide en dos clases [11]:

- a) Analgésicos fuertes, subdivididos en narcóticos y no narcóticos: éstos se utilizan para aliviar dolores fuertes.

- b) Analgésicos débiles: éstos se utilizan para el tratamiento de dolores benignos o moderados.

La acción farmacológica de los analgésicos tiene lugar fundamentalmente en el cerebro y en la médula del sistema nervioso central. Sus principales objetivos son el músculo liso y las secreciones glandulares del tracto respiratorio y gastrointestinal. Aparentemente interfieren con los impulsos dolorosos en los alrededores del tálamo, por interacción con receptores específicos. Estos receptores probablemente no son estructuras estáticas y rígidas, sino entidades dinámicas que pueden inducir cambios conformacionales en las moléculas con las que interaccionan, sufriendo ellos simultáneamente una alteración similar [11].

1.2.1 DOLOR

El dolor se debe a una estimulación excesiva de los órganos sensoriales, cuyo origen puede ser la dilatación exagerada de un órgano, espasmos musculares prolongados, riesgo sanguíneo insuficiente o presencia de ciertas sustancias químicas en el tejido. La sensación de dolor es mediada por la liberación de sustancias que estimulan las terminaciones nerviosas, entre ellas la quinina y la histamina. Otras sustancias también involucradas para desencadenar la nocicepción son la serotonina, acetilcolina, potasio y las prostaglandinas [12].

Los receptores del dolor, o nociceptores, son terminaciones libres de las dendritas de las neuronas sensoriales y se localizan prácticamente en todo el organismo. Poseen un bajo umbral para la nocicepción y responden a cualquier estímulo dañino; por ejemplo: la presión, el calor, el frío o el tacto [12].

Existen varias vías de transmisión del dolor. Los impulsos sensoriales del dolor son recogidos por los nociceptores que, una vez activados, generan impulsos que se transmiten al sistema nervioso central por los nervios craneales y espinales. Posteriormente, las neuronas se encargan de la transmisión rápida, y de la transmisión de estímulos mecánicos térmicos o químicos. Las neuronas, también activan dos sistemas neuronales que son interpretados por el Sistema Nervioso Central como un dolor agudo bien localizado. El tiempo que transcurre entre la aparición del estímulo doloroso y su concienciación, depende de la distancia de separación entre el receptor y el encéfalo, o sea, que cuanto mayor sea la distancia entre el sitio, mayor será la diferencia temporal entre las dos señales [12].

1.3 PROCESO ANTIPIRÉTICO

La actividad antipirética de algunos antiinflamatorios no esteroideos es una consecuencia de la inhibición central de las prostaglandinas. La regulación de la temperatura es controlada por el hipotálamo, que fija el punto al cual ésta se debe mantener. En la fiebre, la temperatura se regula con la influencia de agentes biológicos, reacciones inmunes, fármacos, progesterona y prostaglandinas liberadas a partir del proceso inflamatorio.

El mecanismo de acción común para todos los antiinflamatorios no esteroideos consiste en la inhibición de la síntesis de prostaglandinas mediante el bloqueo de la enzima ciclooxigenasa [13].

1.3.1 LA FIEBRE

Se considera que hay fiebre cuando la temperatura corporal está 1° C o más por arriba de la desviación estándar promedio en el sitio de registro. Se produce una elevación controlada del punto de ajuste de la temperatura corporal en el centro termorregulador, el cual es el encargado de mantener el equilibrio entre la ganancia y pérdida de calor. Dicho centro termorregulador se encuentra en el hipotálamo, y actúa mediante las siguientes sustancias: pirógenos, exógenos y endógenos, que se liberan en respuesta a múltiples estímulos corporales, principalmente infecciosos [14].

Desde el punto de vista evolutivo, se plantea que la fiebre actúa como un mecanismo de defensa orgánico, que impone un gran gasto energético al individuo en su producción [15].

1.4 ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS (AINES)

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINES), son uno de los grupos terapéuticos más utilizados a nivel mundial, estimándose que su consumo diario es efectuado por más de 30 millones de personas [16].

1.4.1 CLASIFICACIÓN

Los AINES son un amplio grupo de compuestos químicos que tienen propiedades antipiréticas, analgésicas y antiinflamatorias en el organismo. Su clasificación se debe a la estructura química, como se observa en la Tabla 1.1. Dentro de los derivados del *p*-aminofenol, se encuentra el acetaminofén, el compuesto de interés para este estudio.

Tabla 1.1 Clasificación de los antiinflamatorios no esteroideos [16].

GRUPO	PRINCIPAL EJEMPLO	
Derivados del ácido salicílico	Aspirina	
Derivados de las pirazolonas	Metazimol	
Derivados del ácido propiónico	Ibuprofeno	
Derivados del ácido acético	Indolacéticos	Indometacina
	Pirrolacéticos	Tolmetina
	Fenilacéticos	Diclofenaco
	Nafticéticos	Nabumetona
Derivados del ácido enólico	Piroxicam	
Derivados del <i>p</i>-aminofenol	<u>Paracetamol o Acetaminofén</u>	
	Propacetamol	
	Fenazopiridina	

1.4.2 MECANISMO DE ACCIÓN

Los AINES bloquean el sitio de unión del ácido araquidónico en las isoformas de la ciclooxigenasa (COX), lo que evita su conversión en prostaglandinas (PG). Todos estos

fármacos bloquean la síntesis de PG al inhibir, con mayor o menor potencia y especificidad, las isoformas de la COX.

Se conocen dos isoformas de las ciclooxigenasas: la ciclooxigenasa 1 (COX-1) y la ciclooxigenasa 2 (COX-2), con alrededor de 600 aminoácidos cada una. Se conoce que la COX-1 y la COX-2 difieren en un solo aminoácido, aunque los sitios activos de las enzimas son idénticos. Para algunos autores existe una tercera isoforma, la ciclooxigenasa 3 (COX-3), radicada en el cerebro [16]. En la Figura 1.1 se aprecia una estructura aproximada de las isoformas de la COX-1 y la COX-2, en donde se ve el sitio activo para cada isoforma.

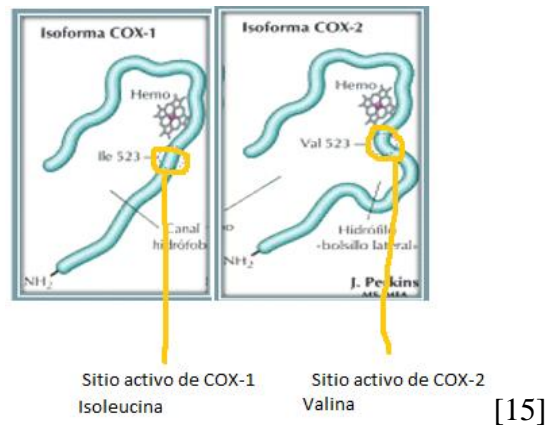


Figura 1.1 Estructura aproximada de las Isoformas de la COX-1 y de la COX-2

Existen tres modos de unión a la COX-1:

- a) Unión rápida y reversible

- b) Unión rápida de baja afinidad, reversible, seguida de una unión más lenta, es dependiente del tiempo y posee una gran afinidad.
- c) Unión rápida, reversible, seguida de una modificación irreversible, covalente (aspirina).

Sobre la COX-2, los agentes específicos producen una inhibición reversible dependiente del tiempo. La enzima tiene los siguientes dos sitios activos: ciclooxigenasa y peroxidasa, denominados conjuntamente prostaglandina endoperoxidosintetasa.

El grupo peroxidasa es necesario para que se activen los grupos hemos que participan en la reacción ciclooxigenasa. El complejo enzimático es un dímero, así que en total posee dos sitios ciclooxigenasa y dos sitios peroxidasa. Cada subunidad tiene un canal, que se une a membranas celulares externas o internas. El sitio activo está dentro del complejo, a modo de túnel, que actúa guiando al ácido araquidónico (AA), liberado por la fosfolipasa A₂ (PLA₂) tras estímulos diversos de los fosfolípidos de membrana. Tras su unión a dos moléculas de oxígeno (O₂), éstas penetran en el canal, se anclan a diversos aminoácidos (especialmente Arginina 120 y Tirosina 385) y liberan intermediarios inestables como los endoperóxidos PGG₂ y, posteriormente, el endoperóxido PGH₂ por acción de la peroxidasa. La endoperóxido PGH₂ se convierte, por acción de enzimas específicas de célula, en prostaglandinas estables que salen de la célula [16].

La COX-1 y la COX-2 tienen el mismo peso molecular y son muy similares. Ambas se encuentran en la membrana plasmática y cada una de ellas tienen un canal; la única

diferencia es que el canal es más ancho en la COX-2 que en la COX-1. Esto significa que casi todos los AINES inhibidores de la COX-1 también inhiben la COX-2, pero que muchos inhibidores de la COX-2 poseen escaso poder bloqueante de la COX-1, lo cual tiene interesantes aplicaciones [16].

1.4.3 CONTRAINDICACIONES Y EFECTOS SECUNDARIOS

Los AINES presentan algunos efectos entre ellos:

- 1) Riesgo gastrointestinal: la reacción adversa más habitual de los AINES, con excepción de los COX-2 selectivos, es la que se ha denominado gastropatía por AINES. Esta reacción adversa se produce debido a la inhibición de las prostaglandinas gastroprotectoras, en particular la prostaciclina (PGI₂) y la dinoprostona (PGE₂).

- 2) Riesgo cardiovascular: se ha propuesto que la inhibición selectiva de la COX-2 es la responsable de la mayoría de los efectos cardiovasculares de los AINES, en comparación con la inhibición selectiva de la COX-1 responsable de los efectos gastrointestinales. El riesgo cardiovascular de los AINES se manifiesta por un aumento del riesgo de infarto de miocardio e ictus y por una mayor incidencia de insuficiencia cardíaca e hipertensión.

El efecto de los AINES depende del grupo al que pertenecen. Los Para-aminofenoles pueden provocar hepatotoxicidad grave en caso de intoxicación [16].

1.5 ACETAMINOFÉN

El acetaminofén o paracetamol, es un medicamento ampliamente utilizado. Es un analgésico muy suave y reduce la temperatura de los pacientes con fiebre, posee una pequeña actividad antiinflamatoria. En la actualidad hay más de 90 productos comunes que contienen acetaminofén que están disponibles en el mostrador de las farmacias alrededor del mundo. Muchos de ellos se venden como tratamientos para el alivio del resfriado, gripe y pueden ser comprados en una serie de diferentes formulaciones [17].

El acetaminofén (nombre IUPAC N-(4-hidroxifenol) etanamida), cuya estructura química se observa en la Figura 1.2, se encuentra dentro de los antiinflamatorios no esteroideos debido a sus acciones analgésicas y antipiréticas, dentro del grupo de los derivados del *p*-aminofenol. El acetaminofén se sintetizó a finales de 1800 y fue reportada actividad analgésica por Von Mering en 1893. Sin embargo, no fue hasta la segunda mitad del siglo XX que llegó a ser ampliamente utilizado [17, 18]. Hoy en día en el mercado nacional, se puede encontrar una infinidad de nombres que dependen de la casa farmacéutica y del país. Algunos nombres son: Analgan Parabay, acetaminofén MK, Agudol, etc [19].

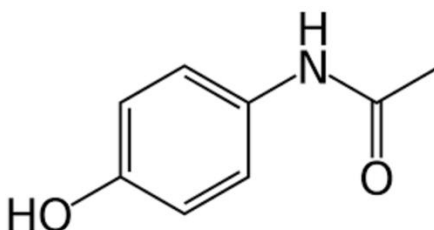


Figura 1.2 Estructura del acetaminofén

En la Tabla 1.2 podemos apreciar las propiedades físicas y químicas del acetaminofén.

Tabla 1.2 Propiedades físicas y químicas del acetaminofén [16]

Peso molecular	151,2 g/mol
Fórmula molecular	C ₈ H ₉ NO ₂
Estado de agregación	Polvo finamente cristalizado
Color	Blanco
Valor de pH	A 20 °C 5.3-6.5 en una solución saturada
Punto de Fusión	169-171 °C
Solubilidad	Poco soluble en agua a 20 °C 14 g/L, soluble en etanol, acetona.

1.5.1 IMPORTANCIA

El acetaminofén es mundialmente reconocido por su efectividad para combatir el dolor muscular y la cefalea (dolor de cabeza persistente), siendo ésta última una causa importante. Los usos principales del acetaminofén se aplican también para la fiebre y el dolor general y es efectivo en todas las condiciones médicas en las cuales se presentan estas patologías. Además, tiene un perfil de seguridad adecuado por sus propiedades, en comparación con otros fármacos [20].

El acetaminofén es un fármaco muy eficaz como analgésico y antipirético, pero no posee acción antiinflamatoria (es decir, en sentido estricto no es un AINE). Está considerado en el tratamiento de elección como antipirético y analgésico frente a otros AINES y en especial, frente a la aspirina, ya que no presenta muchos de los efectos adversos que éstos producen, como hemorragia digestiva alta [16].

1.5.2 CONTRAINDICACIONES Y EFECTOS ADVERSOS

En dosis terapéuticas, el acetaminofén es muy bien tolerado y quizás, sea el AINES más seguro de todos. A veces pueden aparecer alergias en forma de erupciones eritematosas y urticarias. La reacción adversa más importante es la intoxicación aguda con necrosis hepática grave y se explica por el metabolismo del fármaco.

La oxidación del acetaminofén produce la formación del metabolito altamente reactivo y tóxico, el N-acetil-*p*-benzoquinoneimida (NAPQUI). El NAPQUI se combina rápidamente con glutatión (GSH) y con otros compuestos que contienen tioles, formando conjugados no tóxicos, que son eliminados por la orina [16].

Cuando la formación del NAPQUI sobrepasa la concentración de GSH, el NAPQUI libre se une a las proteínas intracelulares del hepatocito y causa toxicidad. Si el paciente va rápidamente al doctor, se puede prevenir la lesión hepática administrando sustancias que

aumenten la formación de glutatión en el hígado, como la acetilcisteína por vía intravenosa [16].

Las sobredosis de acetaminofén o el uso continuo de este fármaco pueden ocasionar hepatotoxicidad y nefropatía, debidas a un metabolito oxidativo que se produce en el hígado y, en menor grado, en el riñón [16]. Acetaminofén tampoco se debe administrar por periodos prolongados ni en mujeres embarazadas.

Contraindicado en hipersensibilidad previa. Debe evitarse los productos que contienen aspartamo, sacarina, azúcar o tartrazina (colorante amarillo FDCN°5). La ingestión de 3 o más bebidas alcohólicas por períodos prolongados, puede aumentar el riesgo de daño hepático o sangrado del tubo digestivo asociado al uso del acetaminofén, por lo que se deben considerar estas condiciones al prescribir el medicamento [21].

1.5.3 POSOLOGÍA

El acetaminofén se lo puede encontrar en algunas especificaciones. Se lo vende en presentaciones de 500 mg en tabletas, en jarabes en presentaciones de 160 mg/5 mL. Los niños menores de 12 años no deben recibir menos de 5 dosis en las 24 horas. Para adultos y niños mayores a 12 años de 325 a 650 mg cada 4 a 6 horas. En neonatos la dosis es de 10 a 15 mg cada 6 a 8 horas o, según las necesidades que presenten [21].

1.5.4 FARMACOCINÉTICA

Las propiedades farmacocinéticas del acetaminofén se observan en la Tabla 1.3. El compuesto se absorbe rápidamente por el intestino delgado y la velocidad de absorción depende del vaciado gástrico. Se difunde bien por los tejidos y también atraviesa las barreras biológicas, está condicionado por las características fisicoquímicas de la sustancia, en particular, del peso molecular, grado de ionización y liposolubilidad [22]. Es metabolizado principalmente en el hígado [16].

Tabla 1.3 Propiedades farmacocinéticas del acetaminofén [17]

Parámetro	Valor
Biodisponibilidad	70-90 %
Unión a proteínas plasmáticas	<20 %
Tiempo de Vida Media ($T_{1/2}$)	1,5-3 h
Volumen de distribución	0,95 L/kg
Metabolismo	90-95 %
Aclaramiento	5 mL/kg/min

El acetaminofén se absorbe rápida y completamente por vía oral, y bastante bien por vía rectal, teniendo la ventaja de evitar el primer paso hepático. La biodisponibilidad es muy elevada como se observa en la Tabla 1.3 y se metaboliza principalmente en el hígado, donde la mayor parte se convierte en compuestos inactivos por formación de sulfatos y glucoronidos, y posteriormente es excretado por los riñones.

Solamente una pequeña proporción se metaboliza mediante el sistema enzimático del citocromo P-450 en el hígado [17].

1.5.5 ACCIÓN FARMACOLÓGICA

El acetaminofén ejerce solo una ligera actividad sobre la COX-1 y la COX-2 (se piensa, aunque esto no está demostrado, que actúa en la COX-3). Es el tratamiento de elección como analgésico y antipirético, en particular cuando la aspirina está contraindicada (ulcera, niños, alergia, etc.) [22].

Después de la administración oral, el acetaminofén se absorbe rápida y completamente por el tracto digestivo. El acetaminofén se une a las proteínas del plasma en un 25%. Aproximadamente una cuarta parte de la dosis experimenta en el hígado un metabolismo de primer paso. También es metabolizada en el hígado la mayor parte de la dosis terapéutica, produciéndose conjugados glucurónicos y sulfatos, que son posteriormente eliminados en la orina. Entre un 10-15 % de la dosis experimenta un metabolismo oxidativo mediante las isoenzimas de citocromo P450, siendo posteriormente conjugado con cisteína y ácido mercaptúrico.

Después de una sobredosis, en presencia de malnutrición o de alcoholismo, existe una depleción hepática de los glucurónidos y sulfatos, por lo que el acetaminofén experimenta el metabolismo oxidativo que es el más tóxico, a través del sistema enzimático citocromo P450 2E1 (CYP2E1) y el citocromo P450 1A2 (CYP1A2) [23]. Se puede producir este

metabolito cuando el acetaminofén se administra con fármacos que son inductores hepáticos, que son inhibidores enzimáticos que bloquean la actividad metabólica de una o varias enzimas P450 [23].

1.5.6 MECANISMO DE ACCIÓN

Durante mucho tiempo se ha creído que el mecanismo de acción del acetaminofén es similar al del ácido acetilsalicílico (AAS). Es decir, que actúa reduciendo la síntesis de prostaglandina, compuesto relacionado con los procesos febriles y el dolor, inhibiendo la ciclooxigenasa (COX).

Sin embargo, existen algunas diferencias importantes entre los efectos del ácido acetilsalicílico (AAS) y el acetaminofén. Las prostaglandinas participan en los procesos inflamatorios, pero el acetaminofén presenta poca actividad antiinflamatoria. Además, la COX también participa en la síntesis de tromboxanos, que favorecen la coagulación de la sangre; el ácido acetilsalicílico (AAS) tiene efectos anticoagulantes, pero el acetaminofén no. Finalmente, el AAS y otros AINES son perjudiciales para la mucosa gástrica, donde las prostaglandinas desempeñan un papel protector, en este caso el acetaminofén es seguro [22].

El AAS actúa como inhibidor irreversible de la COX, y también bloquea el centro activo de la enzima directamente, en cambio el acetaminofén bloquea indirectamente a la COX, y este bloqueo es inútil en presencia de peróxidos. Esto podría explicar por qué el

acetaminofén es eficaz en el sistema nervioso central y en células endoteliales, pero no en plaquetas y células del sistema inmunológico, que tienen niveles altos de peróxidos [22].

Se desconoce el mecanismo exacto de la acción del acetaminofén, aunque se sabe que actúa a nivel central. Se cree que el acetaminofén aumenta el umbral al dolor inhibiendo las ciclooxigenasas en el Sistema Nervioso Central, enzimas que participan en la síntesis de las prostaglandinas. El acetaminofén no inhibe las ciclooxigenasas en los tejidos periféricos, por lo que carece de actividad antiinflamatoria. El acetaminofén también parece inhibir la síntesis y los efectos de varios mediadores químicos que sensibilizan los receptores del dolor a los estímulos mecánicos o químicos [23].

Los efectos antipiréticos del acetaminofén tienen lugar bloqueando el pirógeno endógeno en el centro hipotalámico regulador de la temperatura, inhibiendo la síntesis de las prostaglandinas. El calor es disipado por vasodilatación, aumento del flujo sanguíneo periférico y sudoración [23].

1.6 ENZIMAS

La diversidad de grupos laterales (polares y no polares) que tienen los aminoácidos, permiten que las proteínas se unan con todo tipo de moléculas presentes en las células.

La interacción provoca cambios en la conformación de las proteínas, hecho que explica las múltiples funciones que realizan.

Las enzimas o catalizadores, que aumentan la velocidad de las reacciones del metabolismo, se acoplan con las moléculas sobre las que actúan, formando un complejo temporal denominado enzima-sustrato [24].

1.6.1 SITIO ACTIVO

La unión de las enzimas con su sustrato se hace en la región de la enzima denominada sitio activo, que es específico para cada tipo de molécula que debe interactuar con la enzima. El papel del sitio activo es el de orientar a el o a los sustratos, para romper un enlace químico o para formar uno; para adicionar un grupo químico, por ejemplo un nitro; o bien, para cambiar la disposición de sus enlaces. La orientación de los sustratos, permite el alineamiento de los grupos químicos que reaccionarán, lo que reduce la barrera energética que los reactantes tienen que superar para que la reacción se lleve a cabo. La interacción de la enzima con su o sus sustratos, se considera similar a la interacción de una llave con su cerradura [25].

Los sitios activos de la COX-1 y COX-2 son muy similares, pero se diferencian en la presencia de una cámara lateral en la COX-2 localizada por encima de la constricción Arginina-120/ Tirosina-355/ Ácido Glutámico-524 [25].

1.7 MÉTODOS EXPERIMENTALES

1.7.1 SÍNTESIS ORGÁNICA

En la Figura 1.3 se describe la síntesis del acetaminofén a partir de fenol.

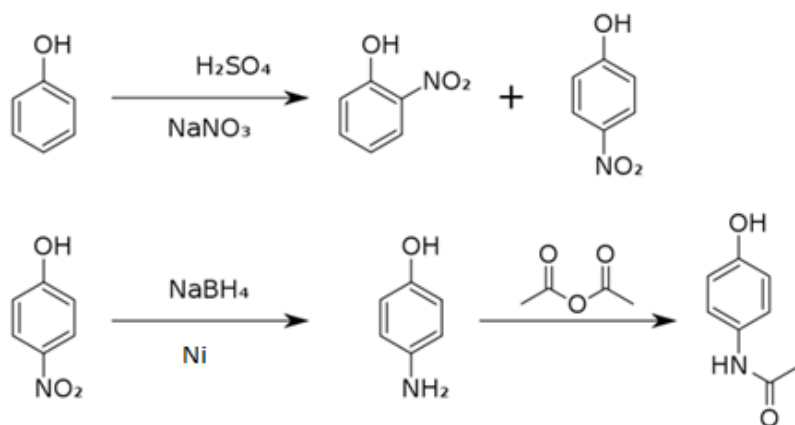
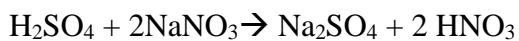


Figura 1. 3 Síntesis del acetaminofén a partir de fenol [17]

La síntesis del acetaminofén comprende tres etapas. En la primera etapa con una mezcla sulfónica, se añade lentamente el fenol para poder nitrarlo y obtener los isómeros 4-nitrofenol y 2-nitrofenol. Las reacciones características de esta mezcla sulfónica se observan a continuación:



El ion HSO_4^- actúa como base de Bronsted extrayendo el hidrógeno del anillo. En la Figura 1.4 se observa cómo es el mecanismo de la reacción para el fenol [26].

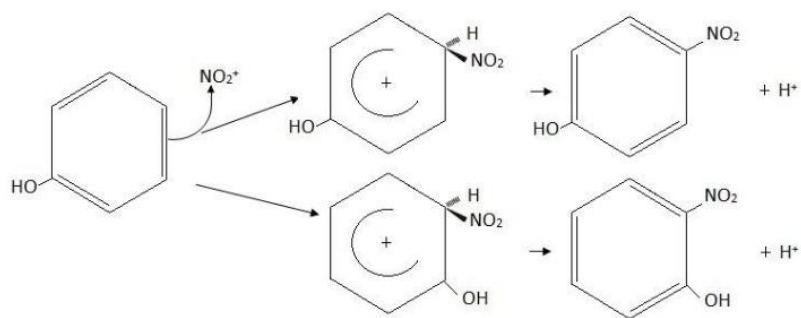


Figura 1.4 Mecanismo aceptado de la nitración

Una característica importante es la temperatura debido a que el proceso de nitración es altamente exotérmico [27]. Por este motivo se debe cuidar que la temperatura de la reacción no sobrepase los 20 °C.

Ciertos grupos unidos a un anillo aromático pueden donar electrones a sus orbitales moleculares deslocalizados. Un ejemplo muy particular es el que podemos observar en la reacción del ion nitrato con el fenol. La sustitución del benceno es mucho más rápida cuando está presente un sustituyente donante de electrones. Esto sucede debido a que un electrófilo es atraído a regiones de alta densidad electrónica. Por lo tanto, para dar cuenta de la rápida reacción del fenol, la densidad electrónica debe ser mayor en el anillo cuando está presente el sustituyente $-\text{OH}$ donante de electrones [26-27].

El sustituyente $-\text{OH}$ se un activante poderoso, y a la vez un dirigente *orto* y *para* en una sustitución electrofílica aromática, los productos obtenidos serán el 2-nitrofenol y el 4-nitrofenol.

La segunda parte de la síntesis consiste reducir el grupo nitro en presencia de borohidruro de sodio. Los nitrocompuestos pueden reducirse de dos maneras generales:

- a) Por hidrogenación catalítica
- b) Por reducción química vía la transferencia de hidrógeno proveniente de un donador adecuado [28].

Las reacciones de reducción ocurren si una molécula pierde oxígeno o si una molécula gana hidrógeno, en la reacción utilizada, la reducción química es por vía a la transferencia de hidrógeno proveniente de un donador adecuado, el borohidruro de sodio.

La reducción de un nitrocompuesto a amina procede suavemente cuando se agita una solución del nitrocompuesto con níquel o platino [26].

La tercera parte consiste en la acetilación de una amina, es una reacción de sustitución nucleofílica sobre carbono insaturado, siendo el nucleófilo la amina. El mecanismo de la acetilación consiste en un ataque de la amina al carbono del carbonilo del anhídrido acético, formando un intermediario tetraédrico, etapa determinante de la velocidad de reacción [29].

1.7.2 MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS

A. ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA VISIBLE (UV/Vis)

En las moléculas orgánicas, la longitud de onda que absorben depende de la fuerza de los enlaces. Los enlaces simples poseen electrones compartidos sujetos con tal firmeza, que su excitación requiere energías que corresponden a la longitud de onda de la región ultravioleta inferiores a 180 nm. Los dobles y triples enlaces de las moléculas orgánicas se excitan mediante radiación con más facilidad, debido a que se sujetan con menor fuerza [30].

Para muchas aplicaciones, los instrumentos más sencillos proporcionan información tan rápida y satisfactoria como la obtenida por los equipos más sofisticados. Los instrumentos para medir la absorción de radiación ultravioleta y visible están compuestos por los siguientes componentes: Fuentes, selectores de longitud de onda, recipientes para la muestra, detectores de radiación y procesadores de señal con su dispositivo de lectura.

Algunos de los componentes que están formando el equipo son:

La fuente, su trabajo es la generación de un haz de radiación con suficiente potencia de salida y estabilidad para que se detecte la muestra y se mida con facilidad. Las fuentes continuas no cambian bruscamente en un intervalo considerable de longitudes de onda, un ejemplo son las lámparas de deuterio e hidrógeno [30].

Los recipientes de la muestra son celdas o cubetas que contienen a la muestra y al disolvente, deben ser de un material que deje pasar la radiación de la región espectral de interés. Para la región ultravioleta visible se requiere celdas de cuarzo o sílice fundida. En la región visible se puede utilizar celdas de plástico [30].

B. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR)

Técnica para el análisis químico y la determinación estructural. Se basa en que las vibraciones moleculares se producen en la región del infrarrojo del espectro electromagnético, y los grupos funcionales tienen frecuencias características de absorción.

La región del infrarrojo abarca la radiación entre 12.800 y 10 cm^{-1} , por este motivo se divide al espectro infrarrojo en tres regiones denominadas infrarrojo cercano, medio y lejano. Las medidas en la región del infrarrojo cercano se realizan con fotómetros y espectrofotómetros similares [31].

En un espectrofotómetro de IR hay una fuente, que cubre el intervalo total de frecuencias, y que se divide en dos haces de igual intensidad. Un haz pasa a través de la muestra y el otro se usa como referencia para ser comparado con el primero. El espectro se obtiene como un diagrama que muestra los máximos de absorción, representados frente a la longitud de onda o la frecuencia. La muestra puede ser sólida, líquida o gaseosa [32].

La radiación infrarroja es la radiación electromagnética de longitudes de onda más altas, pero menores frecuencias que la de la luz roja; una longitud de onda de 1000 nm corresponde a una frecuencia de unos 3×10^{14} Hz, que es comparable a la energía con la cual las moléculas vibran. Por esa razón, las moléculas pueden absorber radiaciones infrarrojas y excitarse vibracionalmente [30].

Cualquier enlace entre dos átomos vibra a medida que los átomos se acercan y se alejan uno del otro. Este tipo de movimiento se llama modo “estiramiento”. La frecuencia a la cual las moléculas vibran depende de las masas de sus átomos y de la rigidez de sus enlaces, una molécula formada por átomos livianos unidos por enlaces rígidos tienen una frecuencia vibracional más alta que una formada por átomos pesados unidos por enlaces más flojos. La primera absorberá entonces radiación de frecuencia más alta que esta última. Los movimientos de plegado de las moléculas tienden a ser menos rígidos que los movimientos de estiramiento; por lo tanto, las vibraciones de plegado absorben típicamente radiación de frecuencias más bajas que las vibraciones de estiramiento [33].

La fuente de radiación infrarroja es un filamento caliente, y la longitud de onda se selecciona mediante la difracción de la radiación por una hendidura: la interferencia constructiva da como resultado una radiación intensa obtenida en una dirección para un ángulo dado de la hendidura y a medida que se modifica el ángulo, pasan a través de la muestra radiaciones de distintas longitudes de onda. El rayo se divide, una parte pasa a través de la muestra y la otra a través de un blanco, la intensidad de ambos rayos se compara en el detector y se monitorea la reducción de la intensidad. El resultado es un

espectro en el cual aparecen mínimos a las longitudes de onda de la radiación absorbida por la muestra [32].

Un espectro infrarrojo está compuesto: en la ordenada se representa una escala lineal de la transmitancia; en la abscisa se representa una escala lineal de número de onda en unidades de cm^{-1} [30].

C. ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

La RMN es una técnica que utiliza las propiedades magnéticas de ciertos núcleos, su aplicación más importante en química orgánica son la espectrometría RMN de ^1H y ^{13}C . Aunque es aplicable a cualquier núcleo que posea espín. El análisis de RMN unidimensional proporciona información sobre el número y tipo de entidades químicas en una molécula [34].

La RMN consiste en medir la absorción de radiación de radiofrecuencia que experimenta una muestra situada en un campo magnético fuerte. La radiación que se utiliza está en el intervalo de 100 MHz a casi 1 GHz.

Como en otras espectroscopías, la fracción de potencia absorbida es proporcional a la concentración de las especies absorbentes, mientras que la energía de la transición se determina a partir de las propiedades moleculares y atómicas [35].

Los núcleos más importantes de esta clase son ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P y ^{11}B . De entre ellos, es el protón el que ha sido objeto de mayor atención [36].

Los núcleos de muchos átomos poseen un momento magnético. En un campo magnético, un núcleo como ^1H o ^{13}C puede alinearse solo en dos direcciones relativas al campo y no en otra intermedia. El estado fundamental es el nivel de energía de los núcleos cuando el dipolo magnético está alineado en contra del campo magnético [36].

Los espectros de energías de radiofrecuencia se miden y se representan como picos estrechos que surgen de la línea base. La frecuencia a la que tiene lugar la absorción de energía en un experimento de RMN depende de dos factores:

-La identidad del núcleo

-La fuerza del campo magnético

La frecuencia es función de las propiedades internas de las moléculas, y la magnitud de la absorción de energías es función de la concentración. En RMN, las áreas situadas bajo los picos se miden por integración electrónica.

En espectroscopia de RMN, las áreas integradas bajo los picos son solo valores relativos que dependen del número de núcleos que contribuyen al pico. Este es uno de los puntos fuertes del método de RMN: *“Cada protón, cuando absorbe energía, contribuye en igual proporción a un espectro simple de absorción de RMN”* [34].

La magnitud de la absorción es independiente del desplazamiento químico cuando el experimento se lleva a cabo con cuidado [34].

1.8 MÉTODOS COMPUTACIONALES

La química computacional es un campo interdisciplinar que involucra Química, Física, Biología, Matemáticas e Informática, se desarrolló en la década de los años ochenta. El término química computacional se utiliza extensamente en la literatura científica pero no existe una definición bien establecida del mismo. Aunque la definición más aceptada es

la dada por Lipkowitz y Boyd, según la cual la química computacional es la modelación cuantitativa de fenómenos de interés químico usando técnicas computacionales [37,38].

Dos puntos destacan en esta definición. La modelación cuantitativa, es decir, la creación de modelos capaces de reproducir la realidad de forma precisa; y por otro lado, técnicas computacionales, es decir, la implementación eficiente de los modelos y su utilización a través de, y gracias a, la tecnología informática [38].

La química computacional ha ido creciendo a lo largo de los años, hasta convertirse en una sólida e importante disciplina de la química moderna, tanto desde el punto de vista industrial como académico. Los métodos computacionales se utilizan para resolver problemas químicos que serían intratables o muy complicados desde el punto de vista experimental. Además, estos “experimentos sobre ordenador” son más baratos y controlables que los reales. Todo esto es posible gracias a que los desarrollos teóricos y computacionales de las últimas décadas han sido tales, que los resultados obtenidos con las técnicas de química computacional pueden en la actualidad rivalizar con, o complementar a, las observaciones experimentales [39].

En este contexto, se utilizan distintos paradigmas de computación y se usan o desarrollan técnicas de visualización y representación de datos [40].

La mayoría de los tratamientos teóricos en Química Computacional están basados en el método auto consistente (SCF) de Hartree-Fock (HF) con una función de onda [41].

Existen funciones que pueden representar a los orbitales atómicos, por ejemplo los orbitales tipo Slater (STO, Slater type orbitals), o los de tipo gaussiano (GTO, gaussian type orbitals).

1.8.1 FUNCIONES BASE

Los orbitales moleculares se pueden representar como combinaciones lineales de un conjunto predefinido de funciones de un electrón, conocidas como funciones de base, y se ubican generalmente en los núcleos atómicos. Para formar las funciones de base conocidas como gaussianas contraídas, se emplean combinaciones lineales de gaussianas primitivas. La base más grande siempre es la más lenta, es la más precisa y por lo mismo aumenta el costo computacional de cálculos de energía, optimización, etc [38].

1.8.2 GAUSSIAN 03

GAUSSIAN es uno de los programas de estructura electrónica utilizado por los químicos, bioquímicos, físicos y otros científicos alrededor de todo el mundo. Establecido a partir de las leyes fundamentales de la mecánica cuántica, GAUSSIAN predice las energías, estructuras moleculares, frecuencias de vibración y las propiedades moleculares de las moléculas y reacciones en una amplia variedad de entornos químicos [42].

1.8.3 AUTODOCK

Es un conjunto de herramientas de conexión automatizados, diseñado para predecir moléculas pequeñas a través de un diseño informático, el cual se hace interactuar las macromoléculas con sustratos o candidatos a fármacos, o unirse a un receptor de estructura 3D conocida. Existen dos generaciones de software: AutoDock y AutoDock Vina. AutoDock Vina calcula las rejillas internamente, para los tipos de átomos que se necesitan y lo hace prácticamente al instante [43].

1.9 MODELAMIENTO DE FÁRMACOS

El sueño dorado de farmacoc químicos y farmacólogos ha sido el diseñar fármacos a medida con una acción definida y específica. Los años que siguieron a la II Guerra Mundial fueron testigos de un incremento de desarrollos científicos y tecnológicos que han ido creciendo exponencialmente cada década. La disponibilidad de instrumentos en técnicas de separación y caracterización, cromatografías, cromatografía líquida de alto rendimiento, espectrometrías de resonancia magnética nuclear, espectrometría de masas, condujo al desarrollo de aproximaciones sofisticadas y avanzadas en el diseño de fármacos [44].

El diseño de fármacos basados en el conocimiento de la estructura cristalina de la proteína diana o de una proteína de estructura parecida, permite establecer la estructura de un prototipo. Posteriormente, este prototipo se optimiza hasta tener un candidato firme para ensayos clínicos [45].

Los objetivos principales de una modelación molecular son tres: descubrir moléculas activas; optimizar moléculas activas ya conocidas; y seleccionar, de un grupo dado de estructuras a los candidatos que tengan mayor o menor probabilidad de convertirse en fármacos exitosos.

De esta manera, el uso de la computadora puede ayudar a descubrir y diseñar estructuras químicas que tengan propiedades adecuadas para entrar en el proceso de desarrollo de un fármaco [46].

CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 SÍNTESIS DE ACETAMINOFÉN

Para la síntesis del acetaminofén, se realizó la nitración del fenol en presencia de ácido sulfúrico con nitrato de sodio. El resultado fue la formación de 2-nitrofenol y 4-nitrofenol. La separación de estos isómeros se realizó mediante destilación y posterior reflujo por 5 min. Este paso se adicionó a la metodología utilizada [17]. El 4-nitrofenol se redujo a amina correspondiente, 4-aminofenol, en presencia de borohidruro de sodio usando como catalizador níquel. Luego se formó la amida, el acetaminofén, con anhídrido acético.

2.1.1 EQUIPOS

- Reverbero con agitador magnético Are, Velp
- Baño de hielo
- Campana de extracción, Labconco, serial 051145719w
- Estufa, Memmert, D191126
- pHmetro, Mettler Toledo, visión 320
- Balanza analítica, Mettler Toledo, A1204

2.1.2 MATERIALES

- Matraz redondo de 2 cuellos
- Embudo de separación
- Vasos de precipitación
- Embudo de vidrio
- Termómetro
- Espátula cuchara-paleta
- Agitador de vidrio
- Cronómetro
- Papel Filtro
- Refrigerante
- Erlenmeyer de 200 mL
- Tapón

2.1.3 REACTIVOS

- Nitrato de sodio, p.a, Merck
- Agua destilada
- Ácido sulfúrico concentrado, p.a, Merck
- Cristales de fenol sólido, H.M.
- Hidróxido de sodio, p.a, Merck
- Borohidruro de sodio, p.a , Aldrich
- Placa de níquel

- Anhídrido acético, GPR
- Ácido clorhídrico, p.a, Merck
- Bicarbonato de sodio, p.a, Sigma Aldrich.
- Hielo

2.1.4 PROCEDIMIENTO

➤ PARTE I

- Colocar el matraz redondo de 2 cuellos en un baño de hielo, con un termómetro en uno de los cuellos y con un agitador magnético.
- Añadir 15 g de nitrato de sodio.
- Agregar 40 mL de agua y agitar.
- Añadir 25 g de ácido sulfúrico, lentamente controlando que la temperatura no supere los 20 °C.
- Agregar fenol sólido, cuidadosamente, la mitad de la espátula cada 20 min.
- Agitar por 2 horas, controlando la temperatura entre 13-19 °C.
- Retirar el termómetro.
- Decantar el líquido sobrenadante y añadir agua al residuo.
- Colocar un embudo en uno de los cuellos y el refrigerante en el otro, como se observa en la Figura 2.1.



Figura 2. 1 Equipo formado con balón, embudo y refrigerante

- Calentar la mezcla, eliminando uno de los componentes en el vapor de destilación.
- Al mismo tiempo añadir agua desde el embudo a un ritmo similar al que se observa la destilación.
- Interrumpir la destilación una vez que todo el 2-nitrofenol ha sido destilado.
- Filtrar el destilado para obtener cristales del isómero 2-nitrofenol.
- El resto de la solución llevar a reflujo por aproximadamente unos cinco minutos hasta observar que las dos fases estén unidas.
- Filtrar en caliente y cristalizar en frío.
- Disolver y recrystalizar con HCl 0,5 M.
- Pesar y determinar el rendimiento de la reacción.

➤ PARTE II

- Colocar 10 mL NaOH 1M en un Erlenmeyer.
- Añadir 0,56 g de borohidruro de sodio.

- Añadir una placa de níquel.
- Enfriar hasta una temperatura de aproximadamente 13 °C, con un baño de agua fría con hielo.
- Añadir 1 g de 4-nitrofenol en el transcurso de 30 min, tomando en cuenta que la temperatura debe estar entre 13-17 °C.
- Agitar durante 15 min.
- Acidificar con ácido clorhídrico 0,02 M.
- Filtrar la mezcla para eliminar el catalizador.
- Ajustar el pH de 7-8, añadiendo bicarbonato de sodio o en algunos casos añadiendo ácido clorhídrico 0,02 M.
- Filtrar la solución obtenida para eliminar el bicarbonato de sodio.
- Lavar con agua fría para obtener 4-aminofenol.
- Secar, pesar y determinar el rendimiento.

➤ PARTE III

- En la caja petri donde se obtuvieron los cristales de 4-aminofenol, añadir 9 mL de agua destilada.
- Agitar a temperatura ambiente.
- En la campana de extracción añadir 1,1 mL de anhídrido acético.
- Agitar suavemente la mezcla, hasta la formación de un precipitado.
- Esperar 10 min hasta la formación del sólido.
- Lavar con un poco de agua y secar.
- Cristalizar el producto con agua destilada.
- Disolver el producto en agua destilada a 80 °C.

- Enfriar a temperatura ambiente.
- Secar el producto recristalizado.
- Pesar y determinar el rendimiento.

2.2 EXTRACCIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO

Existen varios medicamentos que poseen como principio activo el acetaminofén, para la extracción se utilizaron pastillas de la marca Tylenol de 500 mg.

La extracción es la técnica más empleada para separar productos orgánicos de una mezcla de reacción o para aislarlo de sus fuentes naturales. Puede definirse como la separación de un componente de una mezcla por medio de un disolvente. En la práctica, es muy utilizada para separar compuestos orgánicos de las disoluciones o suspensiones acuosas en las que se encuentran [47].

2.2.1 MATERIALES

- Embudo de separación
- Mortero y pistilo
- Capsula de porcelana
- Caja Petri
- Probeta de 50 mL
- Soporte universal
- Vaso de precipitación de 50 mL

2.2.2 REACTIVOS

- Agua destilada
- Diclorometano, p.a., Merck
- Pastillas de Tylenol de 500 mg

2.2.3 PROCEDIMIENTO

- Moler 2 pastillas de Tylenol.
- Colocar en el embudo de separación.
- Disolver con 50 mL de agua destilada.
- Realizar la extracción con 15 mL de diclorometano.
- Realizar por duplicado la extracción.
- Extraer el diclorometano y colocar en la caja Petri.
- Dejar evaporar el solvente.
- Recoger los cristales formados.

2.3 DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE FUSIÓN

Se determinó el punto de fusión de cada uno de los productos obtenidos. El punto de fusión normal de una sustancia es la temperatura a la que ésta pasa del estado sólido al estado líquido a 1 atm de presión. Este cambio de estado se produce debido a que el aumento de energía tiene lugar al elevarse la temperatura, hace que las moléculas del sólido venzan las fuerzas de atracción intermoleculares que las mantienen unidas, aumentando la movilidad de las mismas para pasar finalmente al estado líquido [48]. La

determinación del punto de fusión se realizó en el equipo Stuart, de la Figura 2.2. Para cada síntesis se determinó el punto de fusión por triplicado. Se comparó con los valores obtenidos de la bibliografía [49].



Figura 2.2 Equipo Stuart MPS30 para punto de fusión

2.3.1 MATERIALES

- Tubos capilares
- Vidrio reloj
- Espátula

2.3.2 REACTIVOS

- Cristales de 2-nitrofenol y 4-nitrofenol obtenidos de la síntesis
- Cristales de 4-aminofenol obtenidos de la síntesis.

- Cristales de acetaminofén obtenidos de la síntesis y de la extracción.

2.3.3 EQUIPO

- Equipo de punto de fusión Stuart MPS30

2.3.4 PROCEDIMIENTO

- En un tubo capilar, introducir los cristales de la muestra a analizar.
- Prender el equipo.
- Introducir el tubo capilar en el equipo.
- Determinar el punto de fusión.

2.4 ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO

Los métodos espectrofotométricos son un amplio grupo de métodos analíticos que se basan en la espectroscopía atómica y molecular. La espectroscopía es un término general para la ciencia que trata de las distintas interacciones de la radiación electromagnética y la materia.

Los métodos espectrométricos hacen referencia a la medida de la intensidad de la radiación mediante un detector fotoeléctrico o con otro tipo de dispositivo electrónico [30].

Los métodos espectrométricos más utilizados son los relacionados con la radiación electromagnética, que es un tipo de energía que toma varias formas, de las cuales las más reconocibles son la luz y el calor radiante [30].

Los métodos que utilizan no solo la radiación visible sino también la radiación ultravioleta e infrarroja se denomina con frecuencia métodos ópticos. Las bandas de absorción en el ultravioleta, visible e infrarrojo resultan de la absorción de radiación electromagnética por electrones o enlaces específicos. La energía a la cual absorben así como la intensidad que absorben está determinada por el ambiente químico de la molécula [30].

2.4.1 ANÁLISIS POR ESPECTROSCOPIA UV/Vis

La radiación UV/Vis comprende solo una pequeña parte del espectro electromagnético. El principio de la espectroscopía UV/Vis involucra la absorción de radiación UV/Vis por una molécula, causando la promoción de un electrón de un estado basal a un estado excitado, liberándose el exceso de energía en forma de calor. La longitud de onda comprende entre 190 y 800 nm [30].

La luz visible es absorbida por los electrones de valencia, éstos son promovidos a estados excitados. Al absorber radiación electromagnética de una frecuencia correcta, ocurre una transición desde uno de estos orbitales a un orbital vacío. Algunos enlaces, como los dobles, provocan coloración en las moléculas ya que absorben energía en el visible así como en el UV [30].

Las medidas de absorción de radiación ultravioleta y visible tienen una gran aplicación en la identificación y determinación de una enorme cantidad de especies inorgánicas y orgánicas [31].

En la Figura 2.3 se puede observar el espectrofotómetro Agilent Technologies Cary 60, utilizado para el análisis.



Figura 2.3 Espectrofotómetro UV/Vis Agilent Technologies Cary 60

2.4.1.1. MATERIALES

- Celda de cuarzo

- Vasos de precipitación
- Pipetas volumétricas de 1 mL
- Balones aforados de 10 mL

2.4.1.2 EQUIPOS

- Espectrofotómetro UV/Vis Agilent Technologies Cary 60.

2.4.1.3 REACTIVOS

- Solución de metanol con ácido clorhídrico 0,1 N 1:100.
- Muestras de acetaminofén obtenidas de la extracción.
- Muestras de acetaminofén obtenidas de la reacción de síntesis.

2.4.1.4 PROCEDIMIENTO

- En una celda, añadir el solvente preparado con ácido clorhídrico 0,1 N en metanol 1:100.
- En un balón aforado de 10 mL, añadir 0,5 µg de acetaminofén y diluir con el solvente hasta aforar.
- Colocar las soluciones del analito en la celda.
- Determinar los espectros de absorción de las muestras en el equipo utilizando el modo Scan máximo 470 nm.

2.4.2 ANÁLISIS POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

La región del infrarrojo abarca la radiación entre 12.800 y 10cm^{-1} , en la Figura 2.4 se observa el espectrofotómetro, Perkin Elmer BX con transformadas de Fourier, que se utilizó para realizar el análisis de cada uno de los productos obtenidos de la reacción.



Figura 2.4 Espectrofotómetro de Infrarrojos con transformada de Fourier Perkin Elmer BX

2.4.2.1 EQUIPOS

- Espectrofotómetro FTIR Perkin Elmer BX, ATR miracle.

2.4.2.2 MATERIALES

- Espátula
- Papel absorbente

2.4.2.3 REACTIVOS

- Acetona
- Muestras de acetaminofén obtenidas de la extracción de pastillas de Tylenol de 500 mg
- Muestras de acetaminofén obtenidas de la reacción de síntesis
- Isómeros obtenidos 2-nitrofenol y 4-nitrofenol obtenidos de la síntesis
- 4-aminofenol obtenido de la síntesis

2.4.2.4 PROCEDIMIENTO

- Limpiar el ATR con acetona y papel absorbente.
- Colocar en el ATR una cantidad mínima de la muestra con una espátula.
- Cerrar el ATR, se debe escuchar un sonido de clic para asegurar que esté bien cerrado.
- Abrir el programa Spectrum.
- Verificar el nivel de corriente.
- Obtener el espectro IR en el espectrofotómetro con las siguientes condiciones:
 - Rango entre: $4000.0-520\text{cm}^{-1}$
 - Número de exploraciones: 10
 - Resolución: 4.0 cm^{-1}
 - Intervalos: 2.0 cm^{-1}
 - Unidad: % Transmitancia
- Abrir el ATR y limpiarlo adecuadamente con acetona y papel absorbente.
- Repetir el procedimiento para todas las muestras.

2.5 ESTUDIO COMPUTACIONAL

La química computacional permite estudiar las propiedades químicas, los procesos de síntesis y la cinética de reacción de compuestos de interés. Con su amplia tecnología, proporciona al químico un análisis molecular teórico antes de sintetizar una molécula en el laboratorio [50].

El estudio computacional del acetaminofén comprende dos fases. En la primera fase, se realizó un estudio termodinámico y espectroscópico de la reacción experimental. Aquí se obtuvieron las estructuras optimizadas, las energías de cada compuesto y los espectros infrarrojos, UV/Vis y RMN. Esta primera fase se llevó a cabo con la ayuda del software Gauss View y GAUSSIAN 03.

La segunda fase comprendió modelar computacionalmente la interacción del acetaminofén con los sitios activos de las enzimas COX-1, COX-2. Esta fase se desarrolló con la ayuda del software Autodock VINA.

2.5.1 PROCEDIMIENTOS

➤ FASE 1

- Dibujar todas las estructuras que fueron estudiadas utilizando el programa Gauss View 4.1.
- Optimizar las estructuras con el método funcional derivado de la DFT: B3LYP, y la base 6-311 G (d,p). Adicionar FREQ para la obtención del espectro IR.
- Luego calcular la energía de las estructuras optimizadas con el método Hartree-Fock y el conjunto de base 6-31 G (d).
- Obtener los espectros UV usando el keyword TD, método B3LYP y el conjunto de base 6-311 G(d,p): #td rb3lyp/6-311g(d,p).
- Obtener los espectros de Resonancia Magnética Nuclear usando el siguiente conjunto de base: #NMR=all rb3lyp/6-311g(d,p).

➤ FASE 2

- Obtener las enzimas de un banco de datos de proteínas en formato PDB.
- Utilizar Chimera 1.7, para determinar todos los residuos que no pertenecen a la proteína.
- Abrir la enzima, ir a Residue y anotar todos los nonstandard, que serán los residuos que no pertenecen a la proteína.
- Abrir Autodock Tools, escoger la enzima, posteriormente realizar las siguientes instrucciones

Ir a select,

Select from string

Anotar en residue uno por uno cada residuo que se observa en Chimera.

- A continuación ir a: Edit,

Editar el átomo seleccionado

- Añadir los hidrógenos polares.
- Guardar la molécula en macromolécula y escoger la proteína que tenemos.
- Escoger como ligando al acetaminofén.
- Establecer los parámetros del acoplamiento

Ir a Grid box

Anotar estos parámetros.

- Realizar el cálculo de acoplamiento molecular utilizando Autodock.
- Con los datos obtenidos en Autodock Tools en Grid Box, crear un input para Autodock VINA.
- Realizar el cálculo usando Autodock VINA.
- Visualizar los resultados utilizando PyMol.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1 SÍNTESIS DE ACETAMINOFÉN

La síntesis de acetaminofén comprende tres etapas.

La Figura 3.1 corresponde a la primera etapa, la nitración del fenol, en la cual se utilizó una mezcla sulfónica y una temperatura entre 13-15 °C. Como se puede observar, los cristales presentaron forma de agujas bien definidas y un color café característico del 4-nitrofenol.



Figura 3.1 Formación de cristales de 4-nitrofenol

En la Figura 3.2 se puede observar la reacción química de la formación del 4-nitrofenol y su isómero, el 2-nitrofenol.

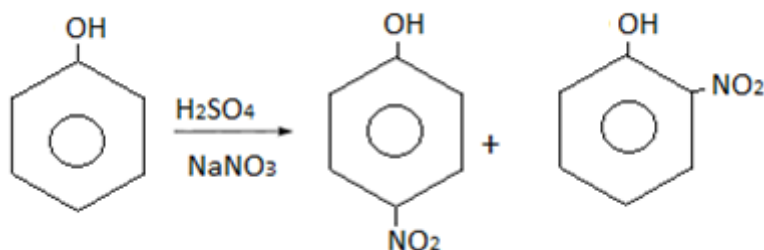


Figura 3.2 Reacción de formación de 4-nitrofenol y 2-nitrofenol

En esta parte de la síntesis intervienen algunos factores importantes: cantidad (el fenol debe añadirse lentamente y en cantidades pequeñas), agitación constante de la mezcla sulfónica; control de temperatura (la agitación permite que los reactivos entren en perfecto contacto, la temperatura es crucial, ya que la velocidad de la reacción se incrementa con la temperatura). Para controlar la temperatura se empleó baño de hielo, Figura 3.3. El tiempo de reacción para la formación de los isómeros *orto* y *para* fue de aproximadamente dos horas con agitación constante. El fenol al poseer un grupo hidroxilo, su densidad electrónica permite que fácilmente los grupos nitros ingresen dentro del anillo en las posiciones 2 y 4, es por esta razón la formación de los dos isómeros [26].

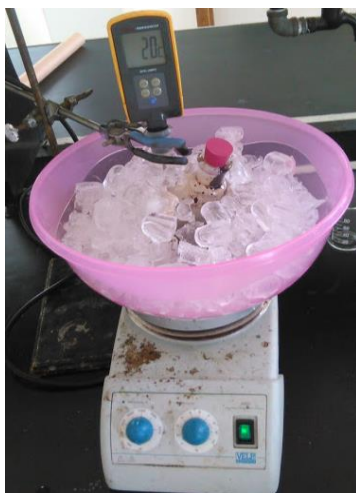


Figura 3.3 Baño de hielo aplicado en la primera parte de la reacción durante 2 horas

En la Tabla 3.1, se describen los puntos de fusión obtenidos para las dos especies sintetizadas en la primera parte de la reacción. Como se observa, los valores se encuentran dentro del rango esperado. Sin embargo, se debe acotar que no se realizó la cristalización del 2-nitrofenol, y por esta razón, el intervalo de temperatura entre el inicio y el final del proceso de fusión es ligeramente alto, lo cual demuestra la presencia de impurezas. Por el contrario, sí se llevó a cabo la recristalización del 4-nitrofenol, por lo que se puede observar claramente que el intervalo de temperatura entre el inicio y el final de la fusión de los cristales es menor.

Tabla 3.1 Puntos de fusión obtenidos para el 2-nitrofenol y el 4-nitrofenol

	Numero de repeticiones	Punto de fusión experimental °C	Promedio de punto de fusión °C	Punto de fusión teórico °C [49]
2-nitrofenol	1	43,8-45,7	43,9-45,9	44-45
	2	43,3-46,1		
	3	44,5-46,0		
	4	44,2-45,8		
4-nitrofenol	1	112,8-113,2	113,3-113,7	113-114
	2	113,9-114,6		
	3	113,3-113,9		
	4	113,1-113,3		

La Tabla 3.2 muestra los porcentajes de rendimiento en la obtención del 2-nitrofenol y el 4-nitrofenol, que fueron bajos en ambos casos. En la literatura se indica que el rendimiento para la obtención del 2-nitrofenol es del 25% y para el 4-nitrofenol es del 36% [17]. Al realizar el cálculo respectivo el error de la síntesis para el 2-nitrofenol es del 93% un error muy alto para una síntesis, sin embargo este producto solo se lo caracterizó para comprobar su presencia. El porcentaje de error para el 4-nitrofenol es del 82%, un porcentaje alto en una síntesis. Esto se debe a la pérdida del producto al momento de la decantación y, en algunos casos, al realizar la destilación del 2-nitrofenol, puesto que cierta cantidad del compuesto permaneció en el refrigerante. En el caso del 4-nitrofenol, se observó la presencia de una sustancia negra aceitosa junto al producto, luego de realizar el reflujo y la decantación.

El cálculo se realizó utilizando la ecuación:

$$\%R = \frac{\text{Cantidad de producto obtenido}}{\text{Cantidad Teórica}} \times 100\% \quad (1)$$

Donde:

%R= porcentaje de rendimiento

100%= Factor matemático para el cálculo.

Tabla 3. 2 Porcentajes de rendimiento obtenidos para el 2-nitrofenol y el 4-nitrofenol

	# Repeticiones	2-nitrofenol	4-nitrofenol
Peso obtenido (g)	1	0,1459	0,2043
	2	0,0571	0,2071
	3	0,2634	1,0137
	4	0,5605	2,2425
Peso Teórico (g)	1	14,064	
	2	13,899	
	3	13,931	
	4	13,951	
% rendimiento	1	1,0	1,5
	2	0,4	1,5
	3	1,9	7,0
	4	3,9	15,9
Promedio del % de rendimiento		1,8	6,5

La Figura 3.4 corresponde a la segunda fase de la síntesis. En ella, se pueden observar los cristales obtenidos en la reducción del nitrofenol, en presencia de borohidruro de sodio.

Los cristales fueron de color amarillo en forma de agujas, y se puede apreciar también cristales más pequeños de forma cubica y de color café.



Figura 3.4 Cristales obtenidos de 4-aminofenol

La reacción química para la formación del aminofenol se observa en la Figura 3.5

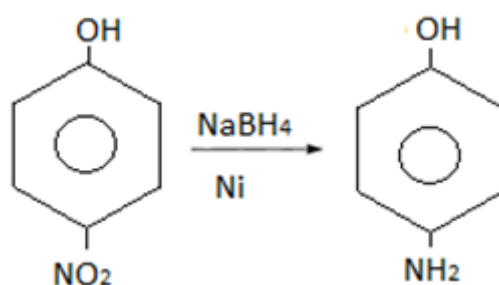


Figura 3.5 Reacción de reducción del grupo nitro en presencia de borohidruro de sodio

En esta parte de la reacción es imprescindible el uso del catalizador. Esto se debe a que la molécula del 4-nitrofenol, se une a la superficie del catalizador por fuerzas de atracción, que debilitan los enlaces covalentes del grupo nitro, que son vulnerables al ataque del hidrógeno. Los catalizadores adecuados son paladio y platino [51], pero en su lugar, se usó níquel; sin embargo, se obtuvieron resultados aceptables en la síntesis.

En la Tabla 3.3 se describen los puntos de fusión obtenidos para el 4-aminofenol. Los valores experimentales son similares al valor teórico, por lo que se puede decir que el 4-aminofenol obtenido presenta una pureza aceptable.

Tabla 3.3 Puntos de fusión obtenidos de 4-aminofenol

Número de repeticiones	Punto de fusión experimental	Promedio del punto de fusión	Punto de Fusión Teórico [49].
1	185,8-187,0	185,6-186,7	185-187
2	185,9-187,1		
3	185,9-186,7		
4	184,8-186,0		

En la Tabla 3.4 se observa el rendimiento de las reacciones. Se debe tomar en cuenta que en la primera repetición, se obtuvo poca cantidad del 4-nitrofenol, por lo cual en los siguientes pasos también se disminuyó la cantidad de reactivos, dando un porcentaje de rendimiento del 34%. En los siguientes casos, se procedió a realizar la síntesis en el mismo recipiente para evitar la pérdida de producto. El porcentaje de rendimiento teórico

para la síntesis realizada es del 74% [17]; sin embargo, el porcentaje de rendimiento obtenido fue del 60%. El error fue del 19%, lo cual indica que existió una pérdida de producto, pero no muy significativa.

Tabla 3.4 Porcentajes de rendimiento obtenidos para el 4-aminofenol

# repeticiones	Peso obtenido (g)	Peso Teórico (g)	% rendimiento	Promedio del % de rendimiento
1	0,0545	0,1602	34	60 %
2	1,0026	1,616	62	
3	1,1022	1.616	68	
4	1,2607	1.626	77	

La tercera fase de la síntesis corresponde a la acetilación del grupo amino. En la Figura 3.6, se observa los cristales de acetaminofén de forma cúbica de color amarillo, a causa de varias impurezas presentes. La cantidad obtenida de producto fue limitada, por lo cual se realizaron dos recristalizaciones.



Figura 3.6 Cristales de acetaminofén obtenidos

La reacción química para la formación de la amida se observa en la Figura 3.7.

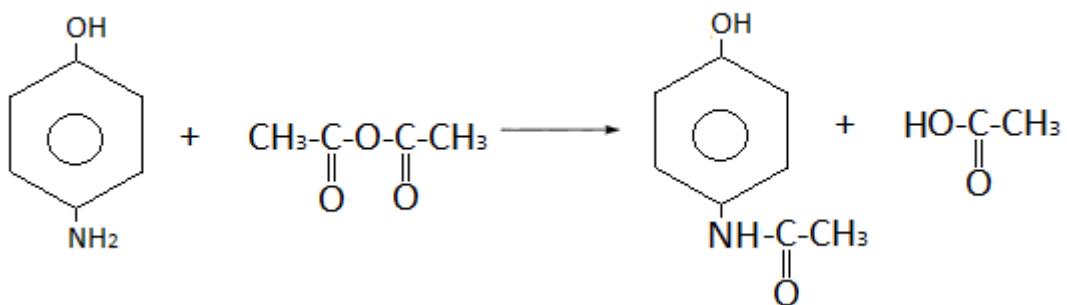


Figura 3.7 Esquema general de la reacción de formación de acetaminofén

En la Tabla 3.5 se aprecian los puntos de fusión obtenidos para el acetaminofén, que se encuentran cercanos al rango teórico.

Tabla 3.5 Puntos de fusión obtenidos para el acetaminofén

Número de repeticiones	Punto de fusión experimental	Promedio del punto de fusión	Punto de Fusión Teórico [49].
1	168,5-169,3	168,7-169,4	169-170
2	168,7-169,5		
3	168,9-169,0		
4	168,5-169,7		

En la Tabla 3.6 se detallan los porcentajes de rendimiento obtenidos en la síntesis del acetaminofén. Se puede observar que el porcentaje es bajo; sin embargo, se realizaron dos recristalizaciones para asegurar la pureza del producto.

Tabla 3.6 Porcentajes de rendimiento obtenidos para el acetaminofén

# repeticiones	Peso obtenido (g)	Peso Teórico (g)	% rendimiento	Promedio del % de rendimiento	% rendimiento bibliográfico [52].	% Error
1	1,0323	1,7	56%	63 %	78 %	23%
2	1,4256	1,8	77%			
3	1,0330	1,8	56%			

La primera vez que se realizó la síntesis se obtuvo un porcentaje del 8% de acetaminofén, un valor muy bajo en relación a los obtenidos más adelante, esto se debe a que la cantidad obtenida del 4-nitrofenol fue muy poca, y por esta razón, se disminuyó la cantidad de reactivo en las siguientes etapas, mientras que en el segundo caso, el porcentaje de rendimiento es alto, lo que determina que se obtuvo una mayor cantidad de acetaminofén, esto es debido a que mantuvieron las condiciones experimentales iniciales. Al comparar con lo establecido en la bibliografía, se observa que existe un error del 23 %, el cual se debió a la pérdida de producto y a varias impurezas presentes en las diferentes etapas para la obtención del acetaminofén.

3.2 ESTUDIO ESPECTROSCÓPICO

Dentro de este estudio, se llevó a cabo el análisis de 3 espectros los cuales son:

- Espectro Infrarrojo (IR)
- Espectro ultravioleta visible
- Espectro RMN

3.2.1 ESPECTRO IR

Una vez optimizadas las geometrías del acetaminofén y sus precursores de síntesis, con el programa GAUSS VIEW, se procedió a obtener el espectro IR computacionalmente

para lo cual, se abrió el archivo out, se dió clic en Results y luego en Vibration. Automáticamente el software obtiene las frecuencias de vibración que son las necesarias para crear el espectro IR. En la Figura 3.8 se observa los espectros obtenidos computacionalmente, para las especies estudiadas.

Los espectros computacionales presentan picos característicos como por ejemplo, para el grupo OH cerca de los 3500 cm^{-1} en los isómeros 2-nitrofenol y 4-nitrofenol, sin los anchos de banda de los espectros experimentales o teóricos. Esto se debe a que las moléculas se encuentran en estado gaseoso para el análisis computacional.

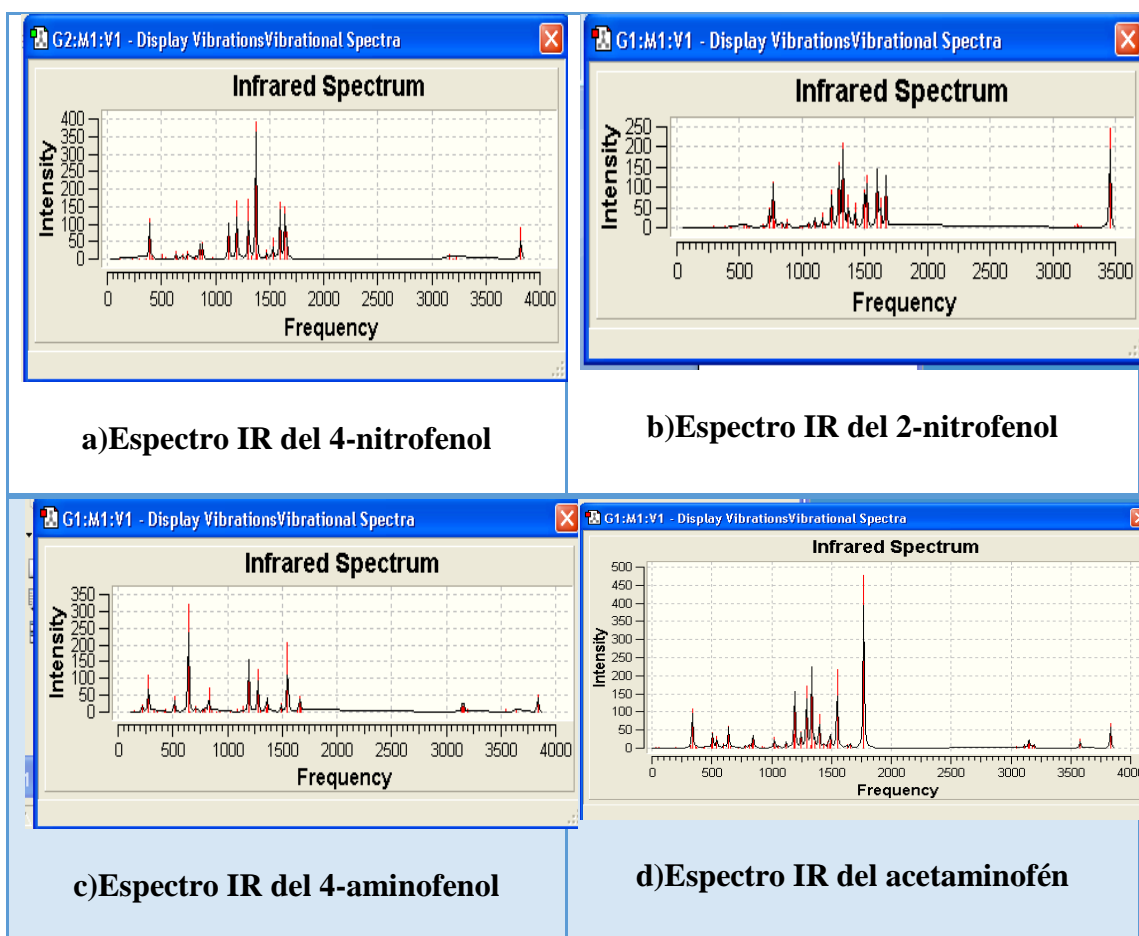
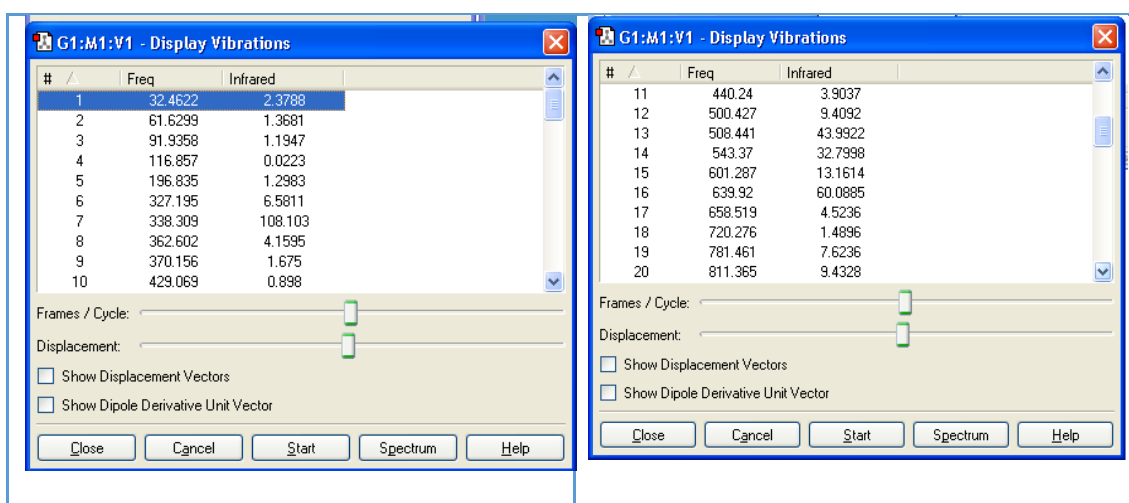


Figura 3.8 Espectros IR de las especies estudiadas

El programa da a conocer una tabla de frecuencias en las que existen movimientos de estiramiento simétrico, estiramiento asimétrico, tijereteo, entre otros. Al dar click en frecuencia el programa simula el movimiento que realizan las moléculas al absorber la radiación en esa longitud de onda. En la Figura 3.9 se ven las frecuencias del acetaminofén. En el estudio del acetaminofén la frecuencia número 54 corresponde a una vibración de tensión entre el hidrógeno y el oxígeno correspondiente al grupo hidroxilo. La frecuencia número 53 una vibración de tensión entre el nitrógeno con el hidrógeno correspondiente al grupo amino. La frecuencia número 45 una tensión entre el carbono y el oxígeno correspondiente al grupo acetilo del acetaminofén. La cantidad de frecuencias vibracionales obtenidas, corresponden a los núcleos de una molécula que vibran en torno a sus posiciones de equilibrio y todos sus posibles movimientos. La energía vibracional de una molécula de N-átomos es la suma de las energías vibracionales de los $3N-6$ modos normales [53]. Aplicando la ecuación tenemos que la cantidad de frecuencias obtenidas 54, son correctas.



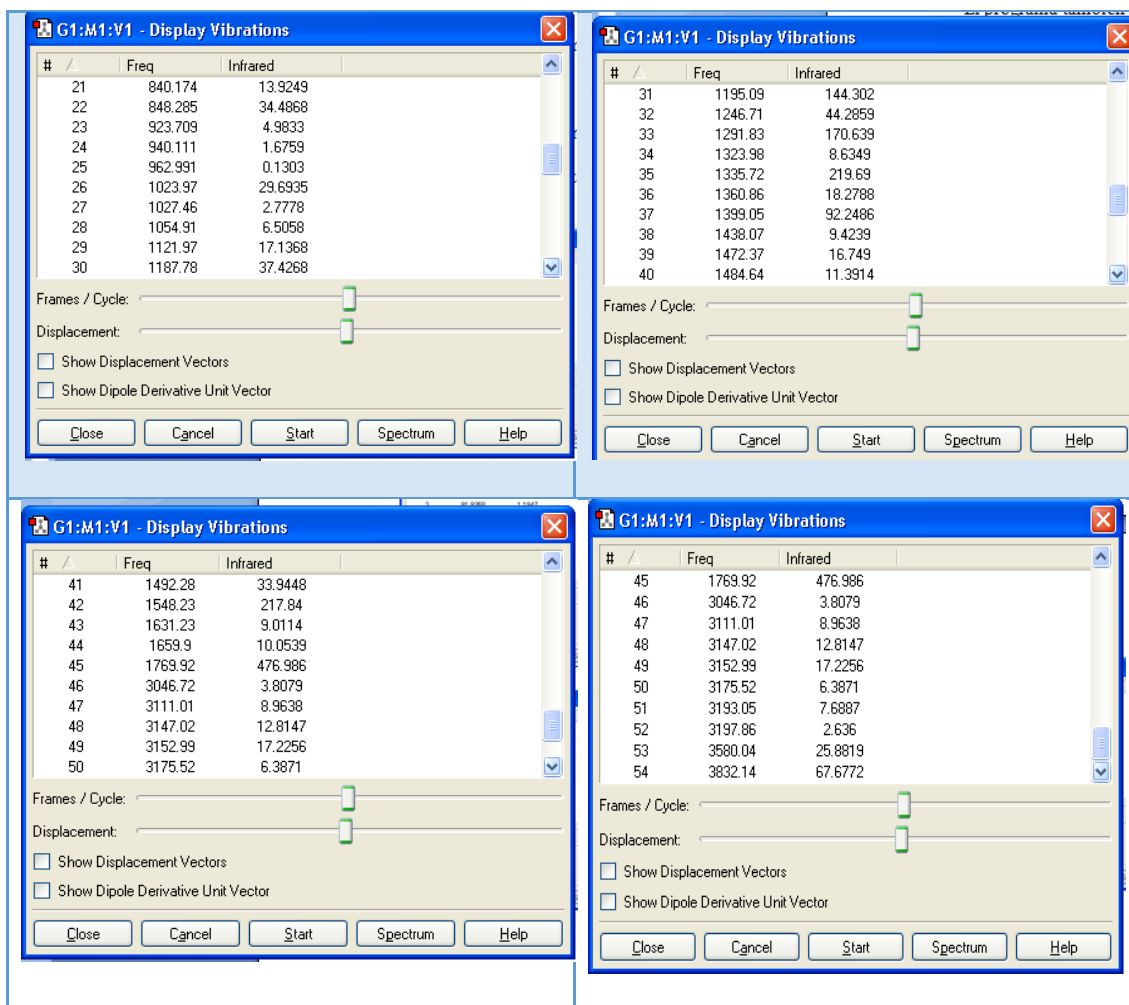


Figura 3.9 Frecuencias computacionales obtenidas para el acetaminofén

En la Figura 3.10 se observa una comparación entre los espectros obtenidos experimentalmente, teórico y computacionalmente del 4-nitrofenol. Los espectros experimental y teórico presentan similitud, aunque el espectro experimental tiene más interferencias. Sin embargo, se pueden apreciar los picos característicos del grupo nitro.

Los valores de las bandas de absorción se compararon con los valores obtenidos en la bibliografía, que se encuentran en el Anexo 1. En el espectro experimental se puede

observar un pico a los $3354,05\text{ cm}^{-1}$ correspondiente al estiramiento del enlace entre O-H del fenol, superpuesto con la tensión C-H, del areno a los $3119,39$ y a los $1611,47\text{ cm}^{-1}$ aparece un pico correspondiente a la tensión C=C de los enlaces del anillo bencénico. A los $1487,39$ un pico correspondiente a la tensión N=O del grupo nitro añadido por nitración del fenol.

En los espectros se observa con claridad el pico correspondiente al grupo hidroxilo y el pico correspondiente al grupo nitro, estos grupos funcionales nos dan a conocer que la reacción de nitración se realizó de manera exitosa.

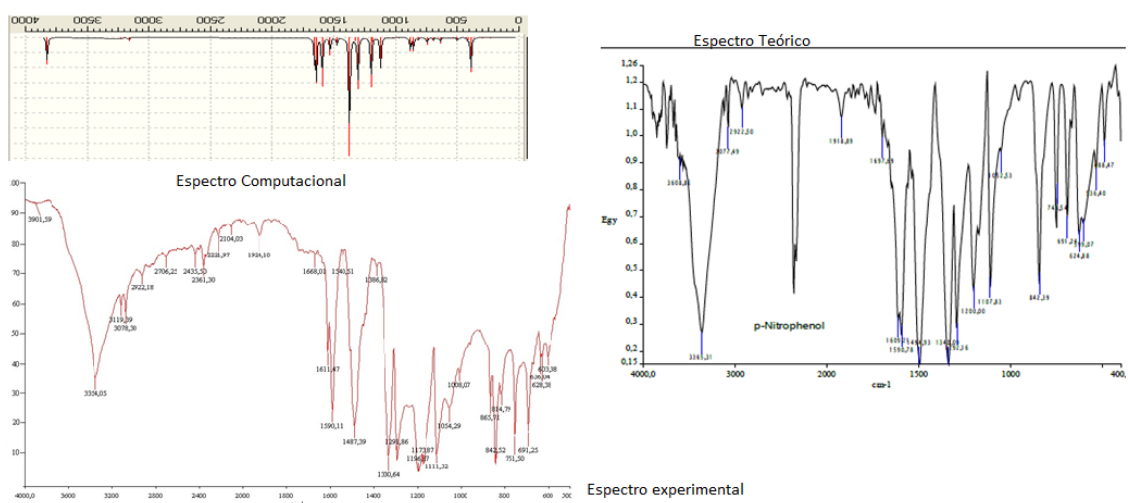
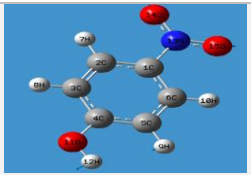
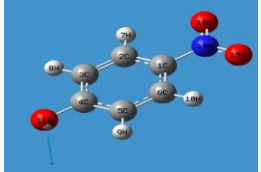
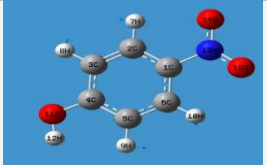
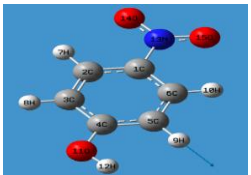


Figura 3.10 Espectros computacional, teórico y experimental del 4-nitrofenol [52]

En la Tabla 3.7 se presentan los valores de frecuencia para cada uno de los grupos más representativos del 4-nitrofenol, los cuales son el grupo N-O del grupo nitro, el grupo O-H del fenol, los grupos C=C y C-H del anillo bencénico. Se comparan los valores de frecuencia de los espectros IR obtenidos de forma experimental, computacional y teórica, estos valores se encuentran dentro del rango de cada frecuencia permitiendo caracterizar el 4-nitrofenol.

Tabla 3. 7 Comparación de los valores de frecuencia del 4-nitrofenol

Tipo de vibración	Frecuencia teórica (cm⁻¹)	Frecuencia computacional (cm⁻¹)	Frecuencia experimental (cm⁻¹)	Vectores
N-O	1550-1350	1374,32	1487,39	
O-H	3500-3200	3190,64	3354,05	
C=C	1600-1745	1634,72	1611,47	
C-H	3150-3050	3168,17	3119,39	

En la Figura 3.11 se presenta una comparación entre los espectros obtenidos experimentalmente, teórico y computacionalmente del 2-nitrofenol. En el espectro computacional, el estado de agregación del cálculo es gaseoso. Los espectros experimental y teórico presentan una similitud, aunque el espectro experimental tiene más interferencias, debido a que no se realizó una recrystalización del producto de destilación. Sin embargo, se puede apreciar los picos característicos del grupo nitro y del grupo hidroxilo.

Al analizar el espectro experimental del 2-nitrofenol, se observa a los $1492,04\text{ cm}^{-1}$ un pico correspondiente a la tensión N-O. A los $3354,04\text{ cm}^{-1}$ un pico correspondiente a la tensión O-H. A los $1611,47\text{ cm}^{-1}$ un pico correspondiente a la tensión C=C del anillo bencénico, y un pico a los $3119,39\text{ cm}^{-1}$ correspondiente a la tensión C-H.

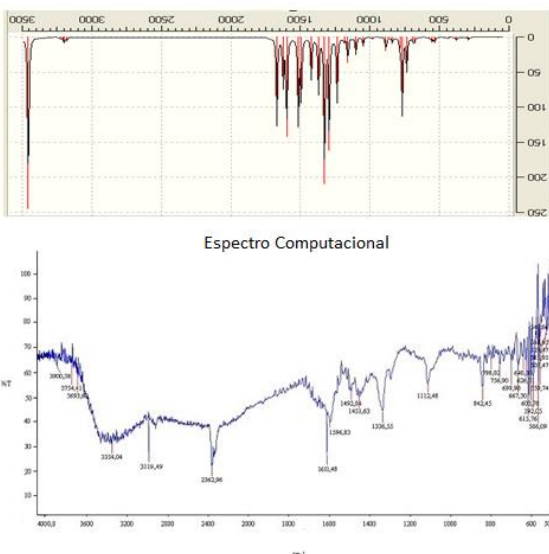
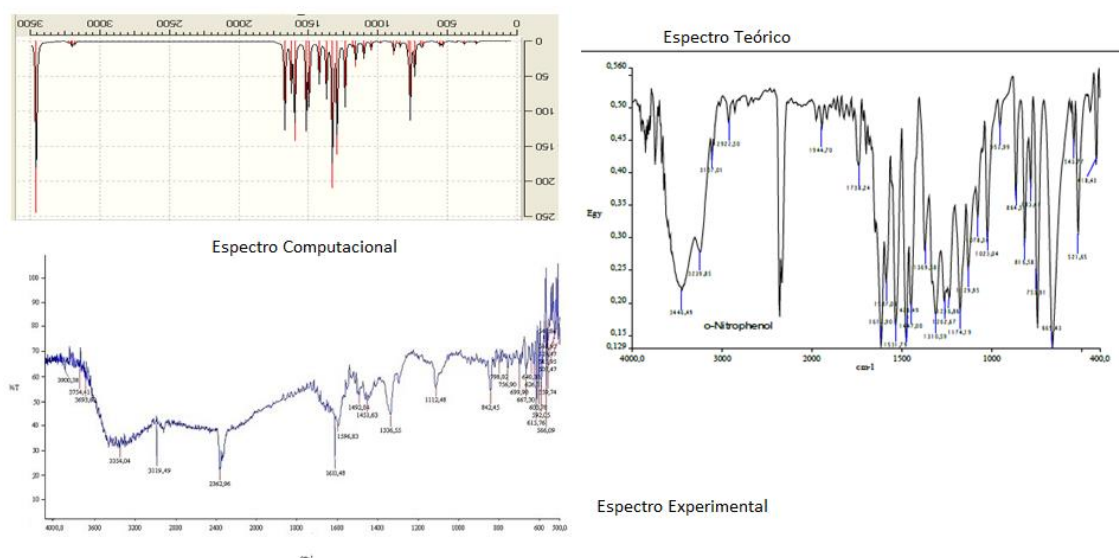
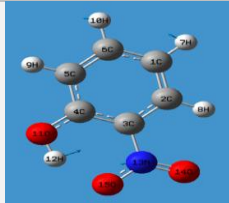
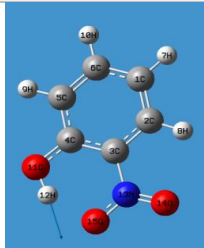
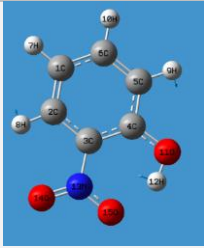
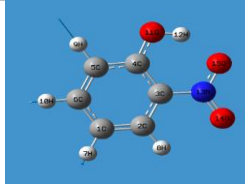


Figura 3.11 Espectros computacional, experimental y teórico del 2-nitrofenol [54]

En la Tabla 3.8 se presentan los valores de frecuencia de los grupos más representativos del 2-nitrofenol, los cuales son el grupo N-O, el grupo O-H del fenol, el grupo C=C del anillo bencénico, y el grupo C-H del grupo aromático, las intensidades de las frecuencias coinciden entre el espectro computacional, experimental y teórico siendo comparables, permitiendo caracterizar el 2-nitrofenol.

Tabla 3.8 Comparación de los valores de frecuencia del 2-nitrofenol

Tipo de vibración	Frecuencia teórica (cm ⁻¹)	Frecuencia computacional (cm ⁻¹)	Frecuencia experimental (cm ⁻¹)	Vectores
N-O	1550-1350	1373,52	1492,04	
O-H	3500-3200	3450,35	3354,04	
C=C	1600-1745	1663,12	1611,47	
C-H	3150-3050	3210,4	3119,39	

En la Figura 3.12 se aprecia una comparación entre los espectros obtenidos experimentalmente, teórico y computacionalmente del 4-aminofenol. El estado de agregación del espectro computacional es gaseoso. En el espectro experimental se aprecian interferencias, sin embargo los picos característicos corresponden a los de 4-aminofenol.

El espectro obtenido experimentalmente presenta un pico a $3470,38\text{ cm}^{-1}$ que corresponde al estiramiento de N-H, a $1563,50\text{ cm}^{-1}$ que corresponde a la flexión de N-H, a $1270,81\text{ cm}^{-1}$ que corresponde a la tensión C-N. El espectro teórico y el experimental no presentan visualmente una similitud entre ellos esto se debe a que el espectro teórico se midió en instrumentos dispersivos, en disolventes cuidadosamente seleccionados que difiere en detalles con los instrumentos FTIR [55].

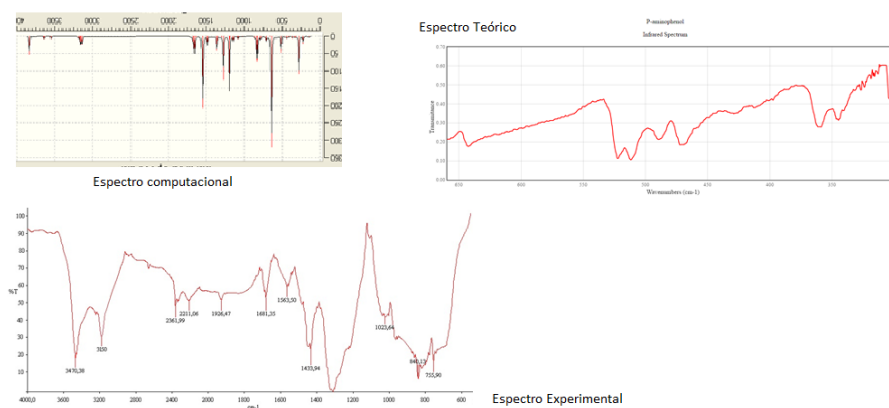
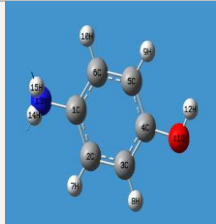
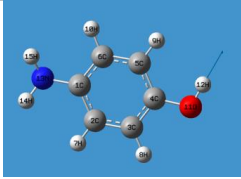
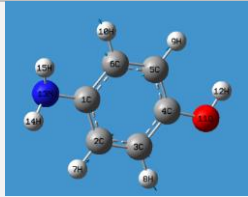
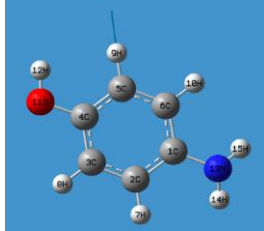


Figura 3. 12 Espectros computacional, teórico y experimental para el 4-aminofenol [55].

En la Tabla 3.9 se presentan los valores de frecuencia para cada uno de los grupos más representativos del 4-aminofenol los cuales, son el grupo N-H, el grupo O-H, el grupo

C=C del anillo aromático, y el grupo C-H. Los valores de frecuencia comparados de los espectros experimental, computacional y teórico se encuentran dentro del rango, dando a conocer que el producto obtenido es el 4-aminofenol.

Tabla 3.9 Comparación de los valores de frecuencia obtenidos del 4-aminofenol

Tipo de vibración	Frecuencia teórica (cm ⁻¹)	Frecuencia computacional (cm ⁻¹)	Frecuencia experimental (cm ⁻¹)	Vectores
N-H (Estiramiento)	3500-3100	3115,25	3470,38	
ento-flexión)	1640-1550	1580,75	1563,50	
O-H	3500-3200	3227,51	3470,38	
C=C	1600-1745	1629,63	1681,35	
C-H	3150-3050	3153,44	3150	

En la Figura 3.13 se tiene una comparación entre los espectros obtenidos experimentalmente, teórico y computacionalmente del acetaminofén. Al observar los dos espectros experimental y teórico, se pueden notar similitudes entre los dos, por lo que se acepta que el espectro corresponde al acetaminofén. En cada espectro se observan los picos característicos del acetaminofén, como el grupo OH, el grupo amida, el grupo metilo.

En el espectro del acetaminofén obtenido experimentalmente, se puede observar un pico a $3693,48 \text{ cm}^{-1}$ correspondiente al enlace N-H; $3320,16 \text{ cm}^{-1}$ correspondiente al enlace O-H; $3110,05 \text{ cm}^{-1}$ correspondiente al enlace C-H aromático; a los $1650,26 \text{ cm}^{-1}$ correspondiente al enlace C=O.

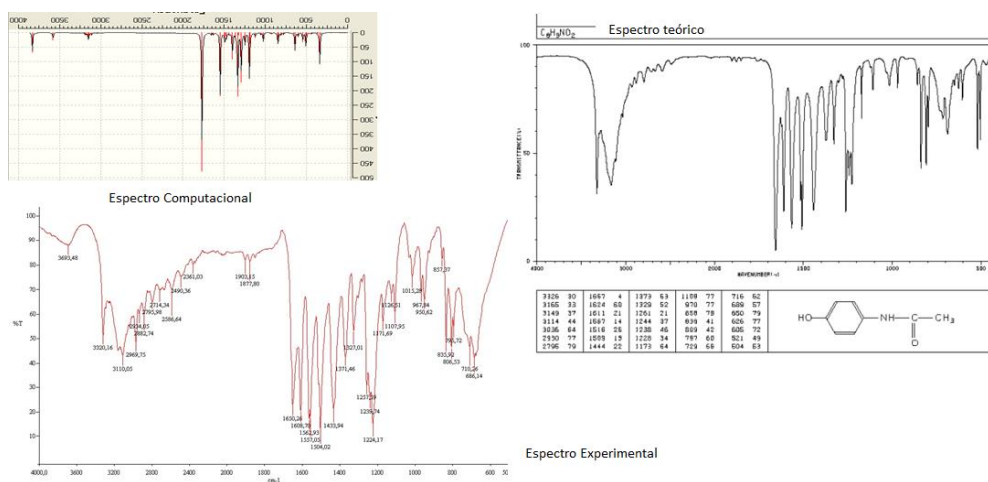

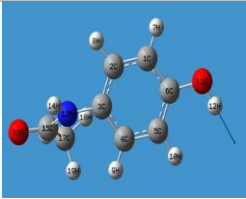
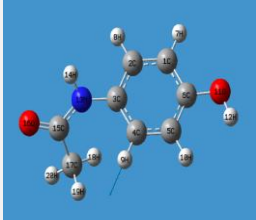
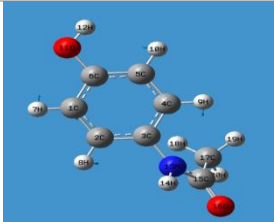


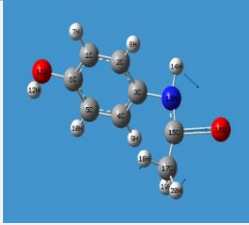
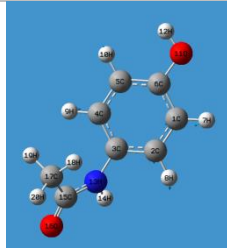
Figura 3. 13 Espectros computacional, teórico y experimental para el acetaminofén [56]

En la Tabla 3.10 se presenta una comparación de los valores de frecuencia para cada uno de los grupos más representativos del acetaminofén, en los espectros teórico, computacional y experimental, los cuales son el grupo N-H de la amina, el grupo O-H del

fenol, el grupo C=C y el grupo C-H del anillo aromático, el grupo =C-H del grupo acetil unido a la amida, y el grupo C=O del grupo acetil. Estos valores se encuentran dentro del rango de cada frecuencia, indicando que el producto obtenido es el acetaminofén.

Tabla 3.10 Comparación de los valores de frecuencia obtenidos del acetaminofén

Tipo de vibración	Frecuencia teórica (cm ⁻¹)	Frecuencia computacional (cm ⁻¹)	Frecuencia experimental (cm ⁻¹)	Vectores
N-H	3500-3100	3155,36	3693,48	
O-H	3500-3200	333,33	3320,16	
C-H	3150-3100	3238,81	3110,05	
=C-H	~1800	1793,58	1877,80	

C=O	1670-1640	1657,14	1650,26	
C=C	1600-1745	1665,78	1608,70	

La comparación se llevó a cabo tomando en cuenta los picos de las frecuencias vibracionales más representativas de cada compuesto, visualmente se puede determinar que los espectros teórico y experimental son bastante similares, lo que comprueba que los compuestos intermedios son los esperados. La reacción en cada paso se realizó de manera exitosa.

Se realizó la comparación del espectro obtenido de la síntesis con el espectro obtenido de la extracción del acetaminofén. En la Figura 3.14 se puede apreciar los dos espectros. El espectro de la extracción con diclorometano posee las siguientes bandas características a los $3659,81\text{ cm}^{-1}$ una banda correspondiente al enlace N-H; $3321,73\text{ cm}^{-1}$ un pico correspondiente al enlace O-H; $3108,83\text{ cm}^{-1}$ una banda correspondiente al enlace C-H; a los $1650,50\text{ cm}^{-1}$ una banda correspondiente al enlace C=O.

Al comparar el espectro obtenido en la síntesis con el espectro obtenido de la extracción, tienen una forma similar con lo cual se puede decir que el producto obtenido si es el esperado.

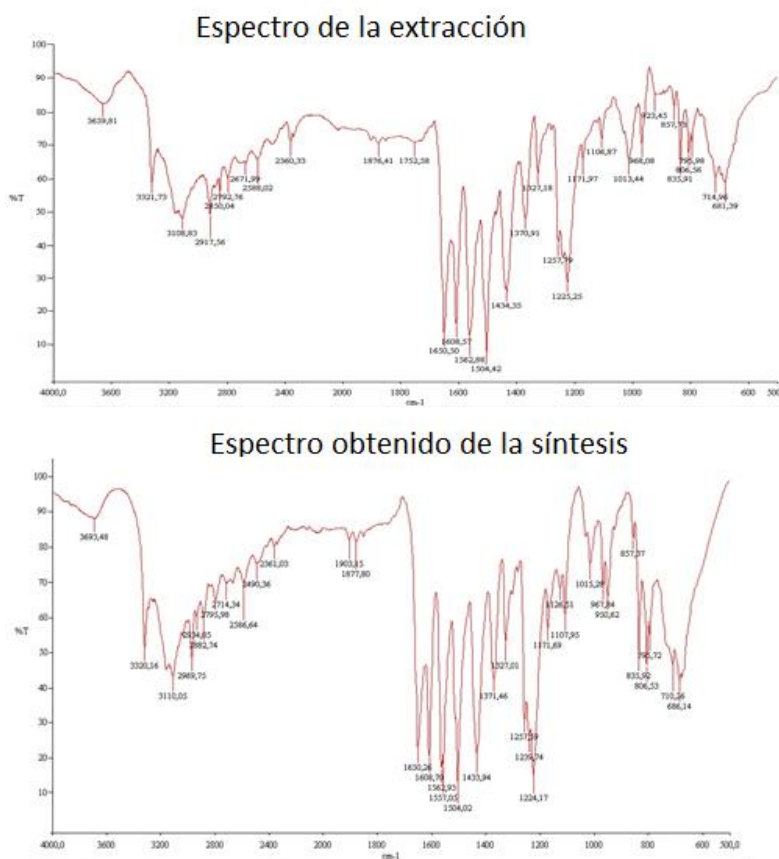


Figura 3.14 Espectros IR obtenidos de la extracción con diclorometano y de la síntesis de acetaminofén

3.2.2 ESPECTRO UV/Vis

Se realizó el estudio computacional con los productos de cada parte de la reacción experimental de la síntesis. En la Figura 3.15 se aprecian los espectros UV/Vis obtenidos

computacionalmente. El espectro del acetaminofén fue comparado con el espectro obtenido en el laboratorio que se observa en la Figura 3.16.

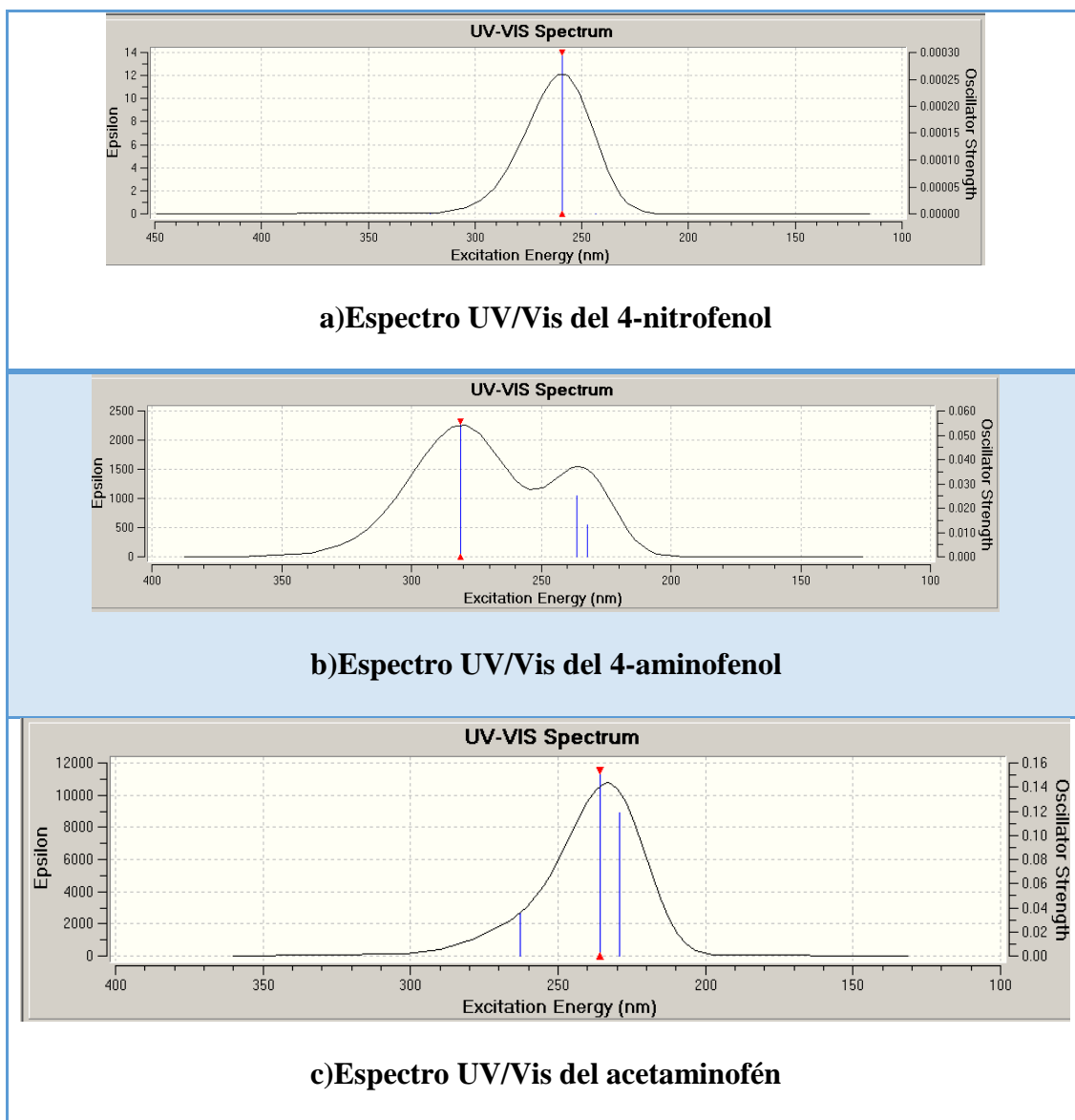


Figura 3.15 Espectros UV/Vis obtenidos computacionalmente de los principales productos de la síntesis

Como se aprecia en la Figura 3.15, la frecuencia de mayor absorción para el 4-nitrofenol es a los 259,227 nm computacionalmente, en la literatura se encuentra que la absorción del grupo nitro es a lo 252nm [57]. Para el 4-aminofenol es a los 281,13 nm la máxima

absorción, en la bibliografía, la absorción del grupo amino es a los 280 nm [57]. Estos valores de longitud de onda dan a conocer que existe la absorción de los enlaces que están presentes en las moléculas. La diferencia entre los datos obtenidos es mínima, dando a conocer que los espectros obtenidos son los esperados.

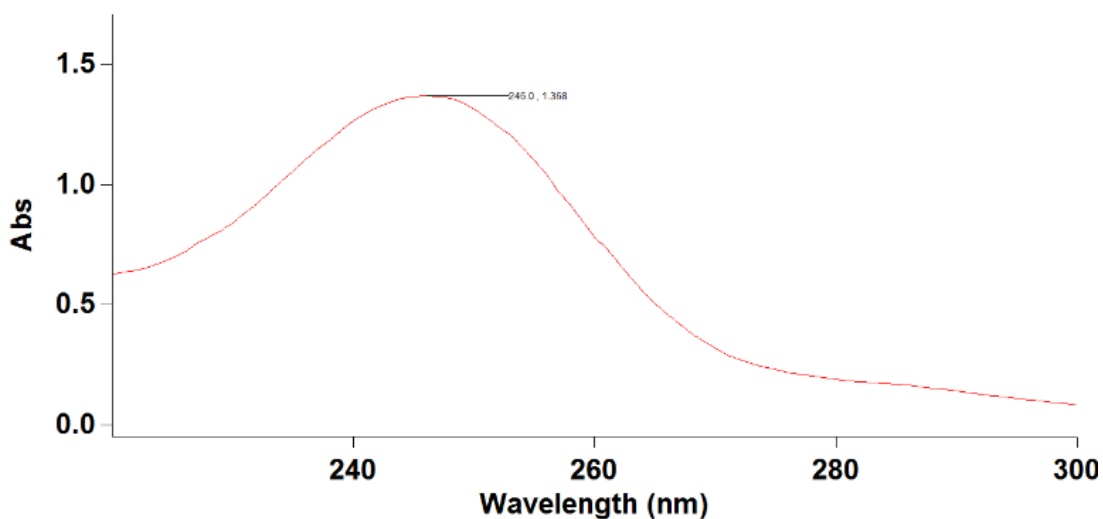


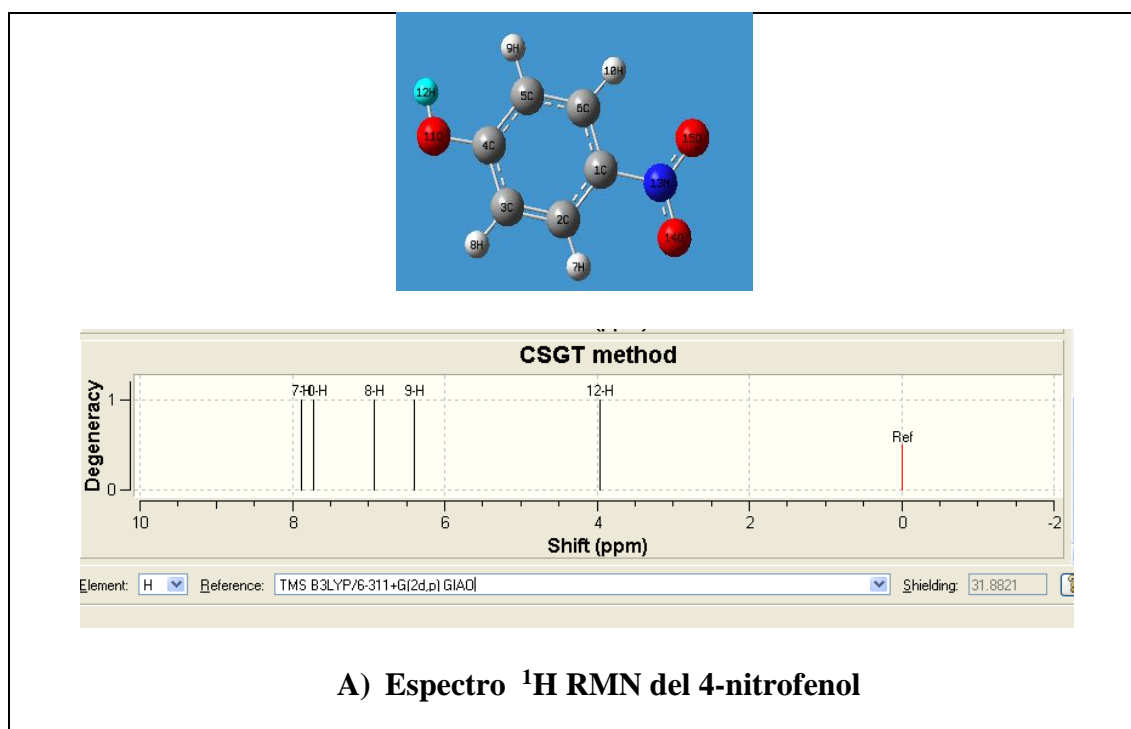
Figura 3.16 Espectro UV/Vis del acetaminofén obtenido en el laboratorio

Para el acetaminofén, se observa que en el espectro computacional aparece un pico a los 235,88 nm. Este espectro se comparó con el obtenido experimentalmente en la Figura 3.16, en el cual se obtiene una absorción máxima a los 246 nm. La diferencia entre los datos experimentales y computacionales se debe a las distintas condiciones en las cuales fueron desarrollados los análisis. El análisis experimental fue realizado en solución, mientras que el computacional en fase gaseosa.

Para el control de calidad del acetaminofén en la Farmacopea, el análisis en UV/Vis es importante para determinar el acetaminofén y la absorción máxima que se puede observar es a los 249 nm [58]. El uso de disolvente en la espectroscopia UV/Vis tiende a disminuir o eliminar la estructura fina de los picos agudos [30].

3.2.3 ESPECTRO RMN COMPUTACIONAL

La obtención del espectro de resonancia magnética nuclear se realizó para las especies principales de la reacción, que son el 4-nitrofenol, 4-aminofenol y el acetaminofén como producto final. Se aprecia los espectros ^1H RMN en la Figura 3.17, en la Figura 3.19 los espectros ^{13}C RMN, en la Figura 3.21 los espectros ^{17}O RMN, en la Figura 3.22 los espectros ^{15}N RMN.



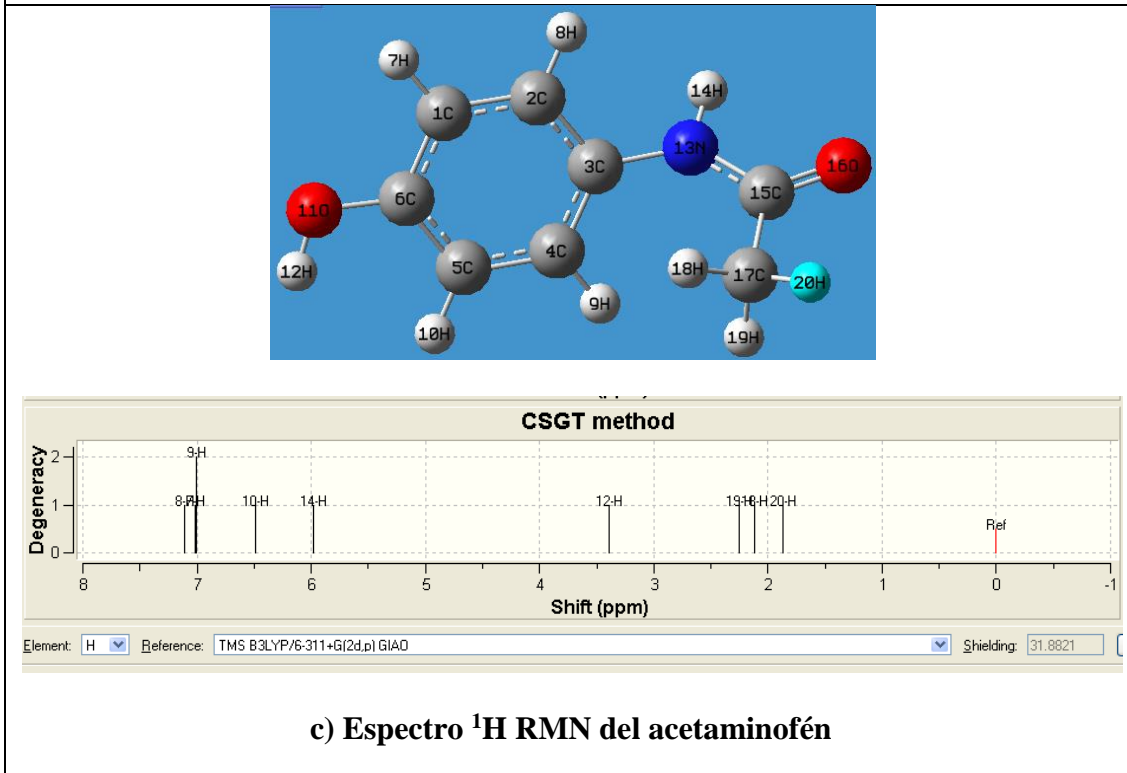
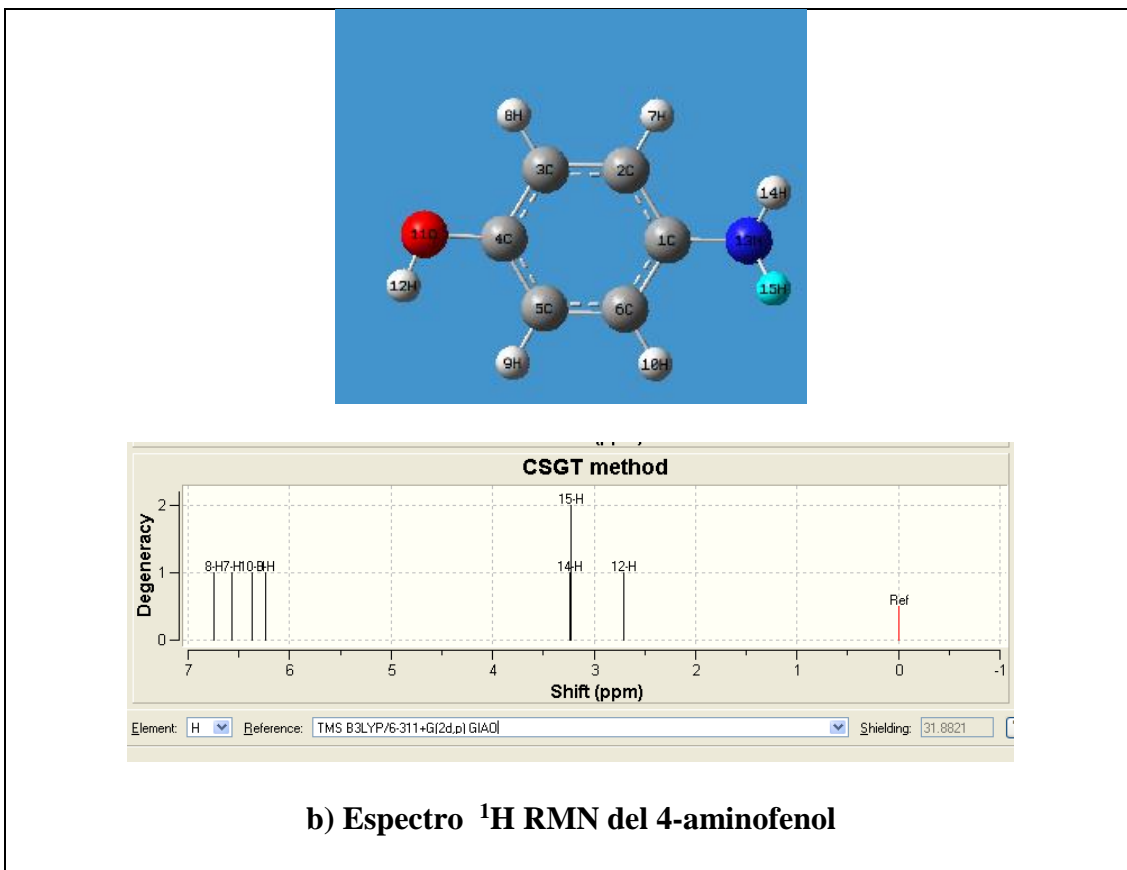


Figura 3. 17 Espectros ^1H RMN obtenidos computacionalmente de los productos estudiados

El espectro de resonancia magnética nuclear permite la obtención apreciable de información sobre la estructura de un compuesto orgánico [59].

El número de señales presentes corresponde con el número de hidrógenos distintos existentes en la molécula. En los espectros representados en la Figura 3.17 cada tipo de hidrógeno aparece con una señal. El acetaminofén presenta 9 hidrógenos en su molécula los cuales apreciamos en el espectro. Las señales pueden ser singletes, es decir señales compuestas de un único pico como las observadas para el hidrógeno 10,14 y 12.

Sin embargo, es frecuente encontrar un espectro con señales múltiples conteniendo varios picos con una proporción definida, lo que se conoce como acoplamiento spin-spin, esto apreciamos en los hidrógenos 9 y 7 correspondientes al anillo bencénico, y los hidrógenos 18 y 17 correspondientes al -CH₃ grupo acetilo. El efecto de acoplamiento spin-spin solo se aprecia entre hidrógenos de carbonos vecinos [59].

Se procede a comparar el espectro de ¹H RMN obtenido computacionalmente con un espectro experimental. En la Figura 3.18 se tiene el espectro de ¹H RMN del acetaminofén obtenido en la bibliografía.

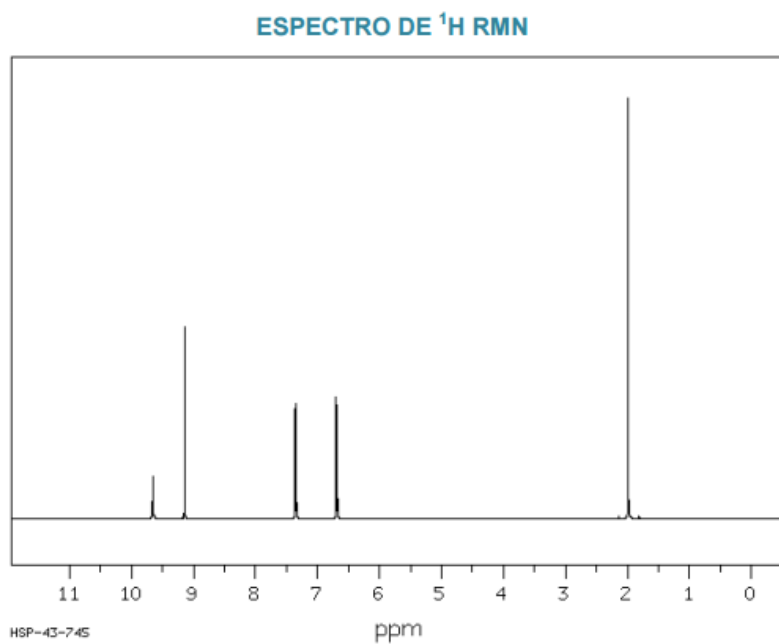
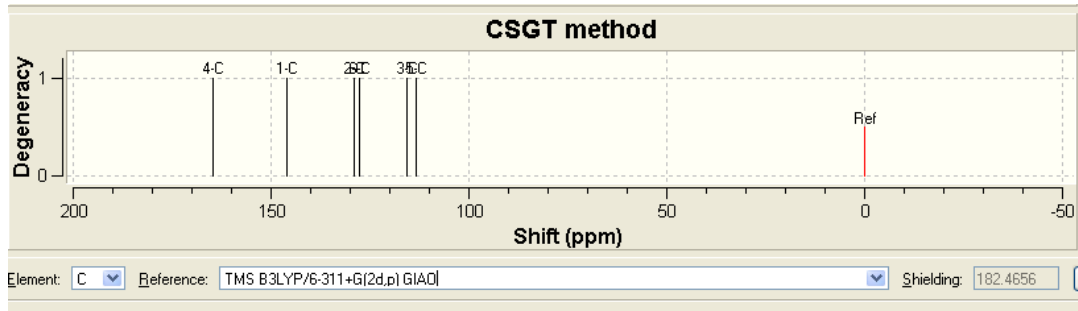
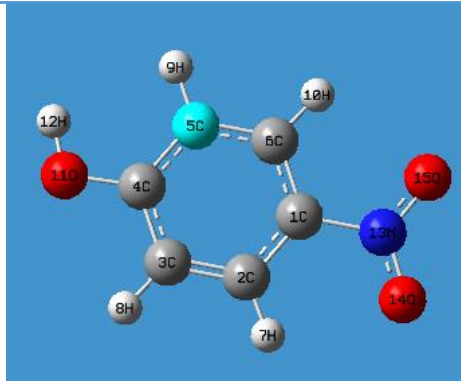


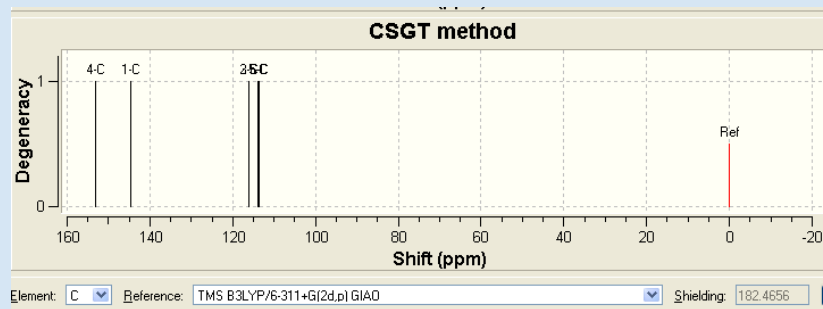
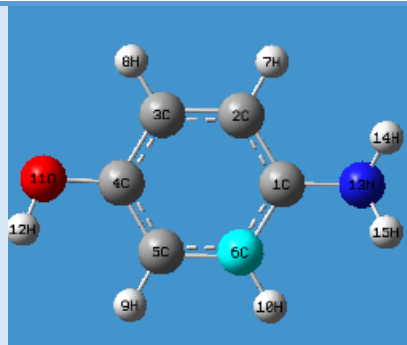
Figura 3.18 Espectro experimental de ¹H RMN del acetaminofén [56]

Al observar los dos espectros podemos encontrar algunas diferencias, el espectro obtenido teóricamente para el acetaminofén, presenta cinco picos, mientras que el obtenido computacionalmente presenta ocho picos, sin embargo se puede evidenciar que el pico obtenido a los 2 ppm contiene una señal múltiple, lo mismo que el pico a los 6,5 ppm y el pico de los 7,5 ppm, estas dobles señales corresponden a los hidrógenos del anillo bencénico y del grupo metil, que se aprecian en el espectro computacional.

También se observa los espectros correspondientes al ¹³C-RMN, como se observa en la Figura 3.19.



a) Espectro ^{13}C RMN para el 4-nitrofenol



b) Espectro ^{13}C RMN del 4-aminofenol

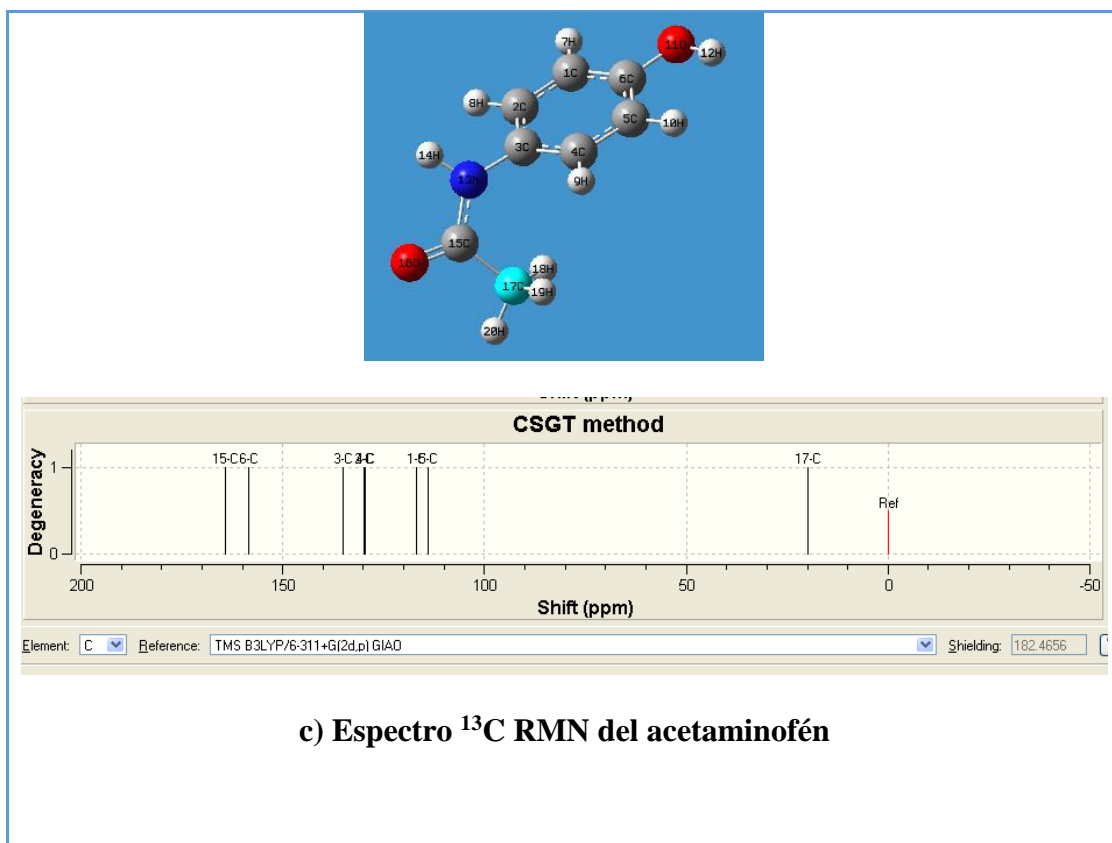


Figura 3.19 Espectros ^{13}C RMN obtenidos computacionalmente de los productos estudiados

El número de señales corresponde al número de carbonos distintos existentes en la molécula. En los espectros representados en la Figura 3.19 cada tipo de carbono aparece con una señal. El acetaminofén presenta 8 carbonos en su molécula los cuales apreciamos en el espectro. Las señales pueden ser singletes, es decir señales compuestas de un único pico como las observadas para el carbono 17, 15, 3 y 6. Sin embargo, es frecuente encontrar un espectro con señales múltiples conteniendo varios picos con una proporción definida, lo que se conoce como acoplamiento spin-spin, esto apreciamos en los carbonos 2-4 y 5-6 correspondientes al anillo bencénico.

En la Figura 3.20 se observa el espectro experimental de ^{13}C RMN obtenido en la bibliografía [56].

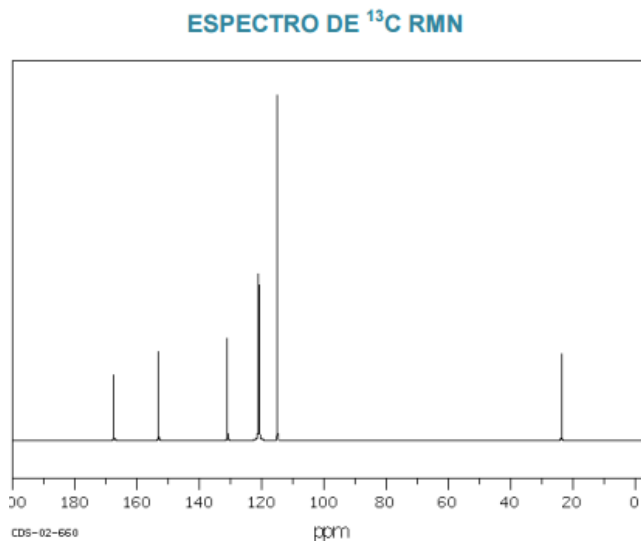
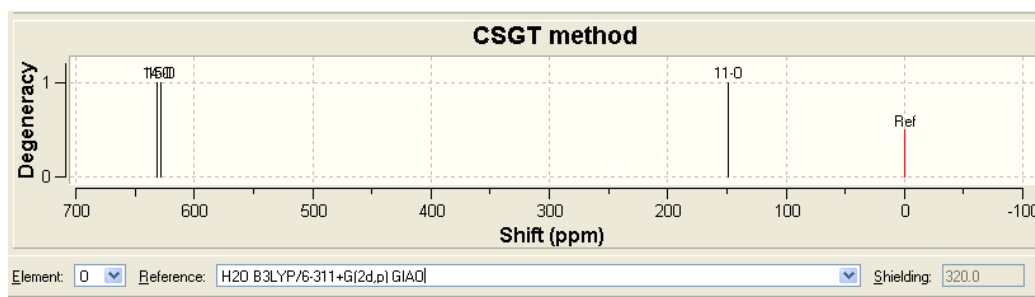
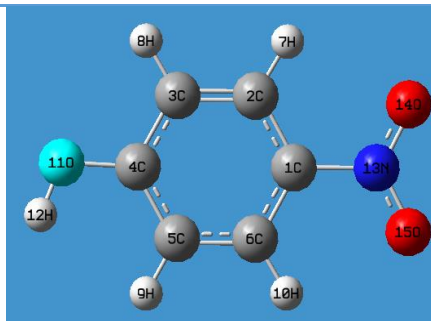


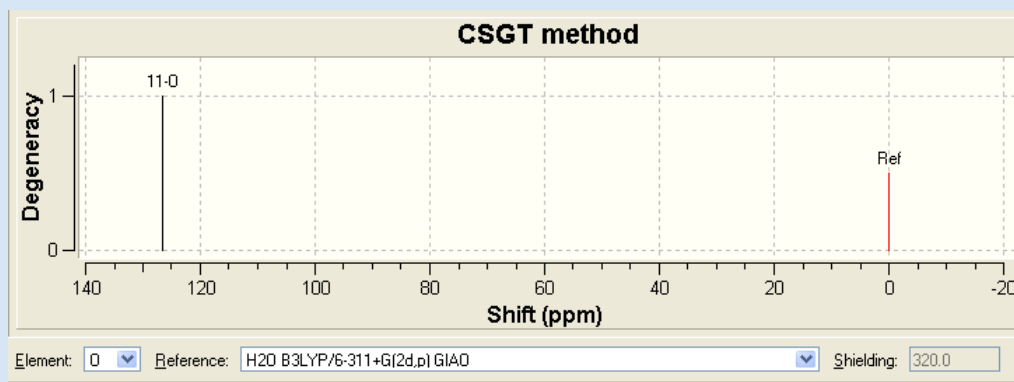
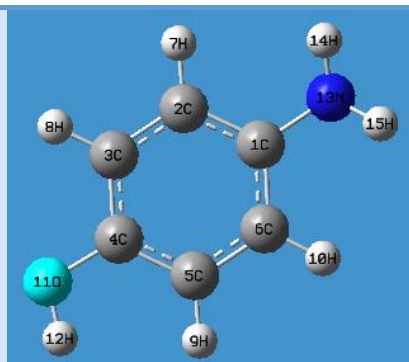
Figura 3. 20 Espectro experimental de ^{13}C RMN del acetaminofén

En el espectro teórico se puede apreciar seis señales, mientras que en el espectro computacional aparecen siete picos, esto se debe a que el estado de agregación del cálculo computacional es gaseoso. Sin embargo, a los 120 ppm aparece una múltiple señal en el espectro teórico y en el computacional aparece a los 130 ppm, correspondientes a los carbonos del anillo bencénico. Los primeros picos en los espectros aparecen a los 20 ppm correspondiente al carbono 17 del grupo metil.

El programa da la opción de obtener el espectro del ^{17}O , en la Figura 3.21 se aprecian estos espectros de resonancia magnética nuclear.



a) Espectro de ^{17}O RMN del 4-nitrofenol



b) Espectro de ^{17}O RMN del 4-aminofenol

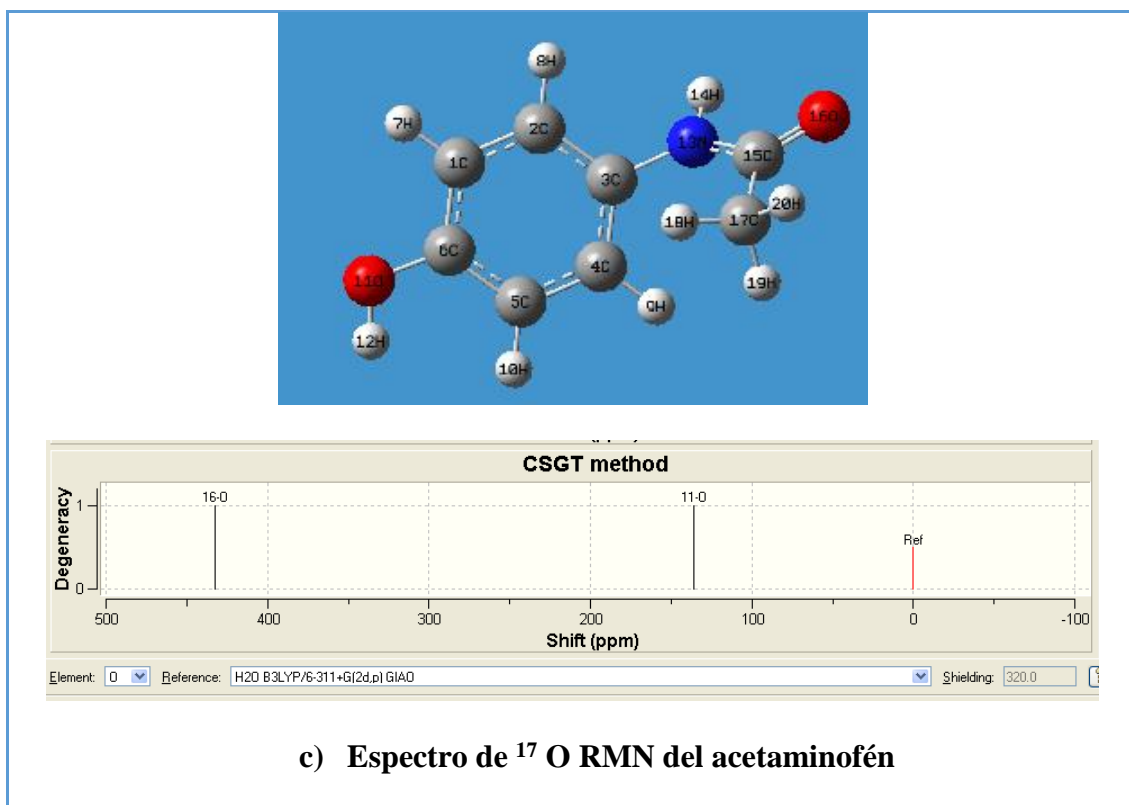
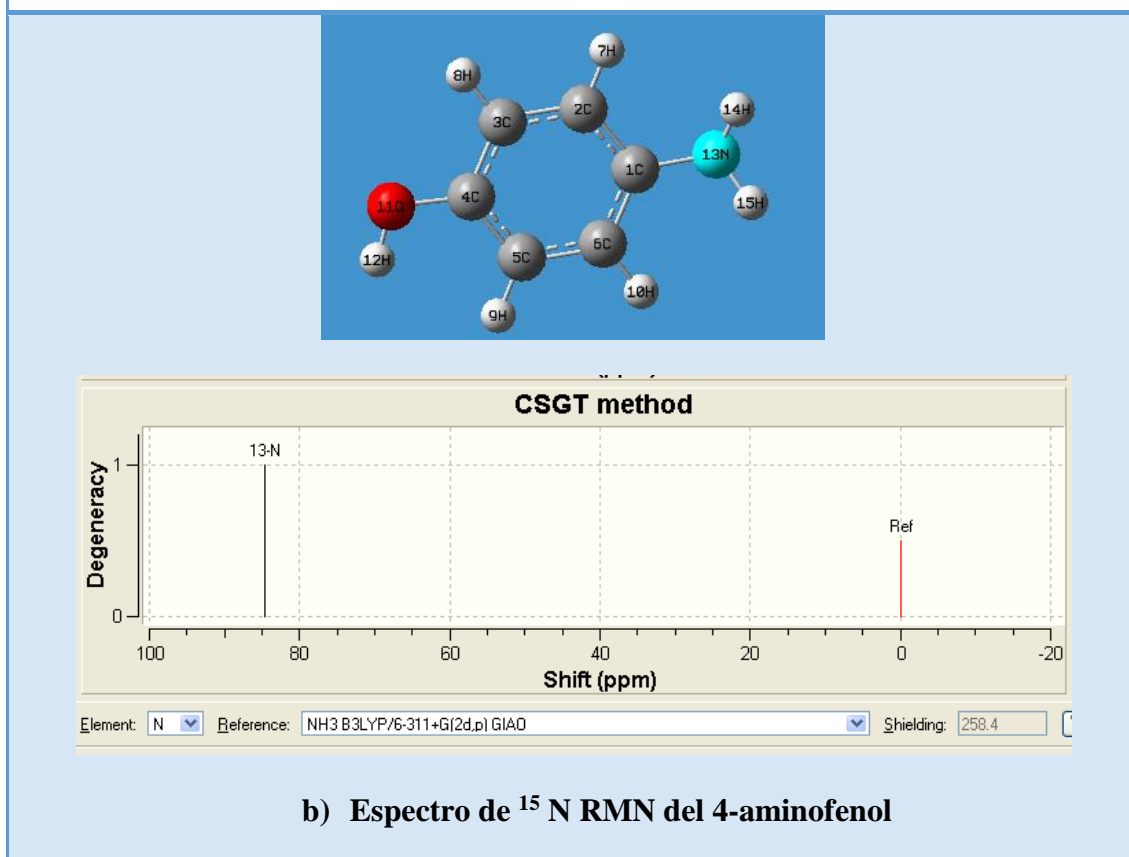
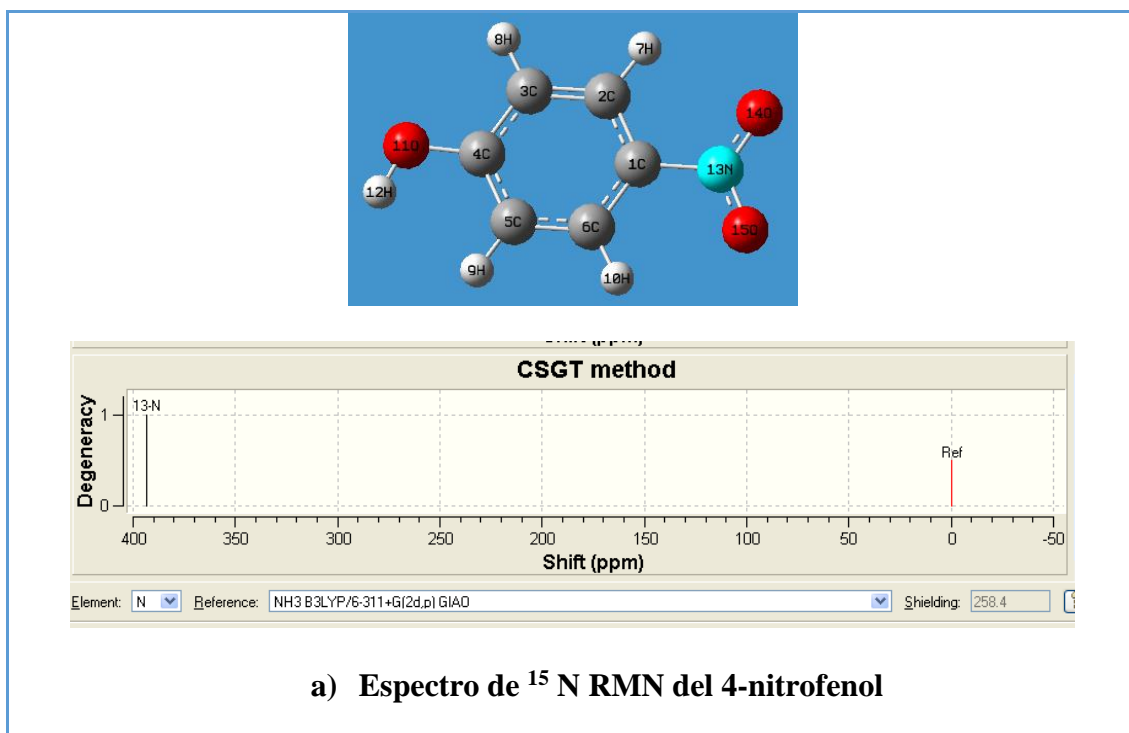


Figura 3.21 Espectros ^{17}O RMN obtenidos computacionalmente

El número de señales corresponde a las distintas posiciones de los oxígenos existentes en la molécula. En los espectros representados en la Figura 3.21 cada tipo de oxígeno aparece con una señal. El acetaminofén presenta 2 oxígenos en su molécula los cuales apreciamos en el espectro, son singletes pertenecientes al oxígeno del fenol y al oxígeno del grupo acetil.

Los oxígenos de los grupos hidroxilos en los anillos bencénicos en la posición para aparecen en el rango 126-146 ppm [60], en el espectro computacional del ^{17}O RMN del 4-aminofenol y del acetaminofén, estos oxígenos aparecen entre 125-140 ppm dando a conocer que los espectros son comparables.

El programa también da la opción de conocer los espectros de ^{15}N en Figura 3.22 podemos observar los espectros correspondientes.



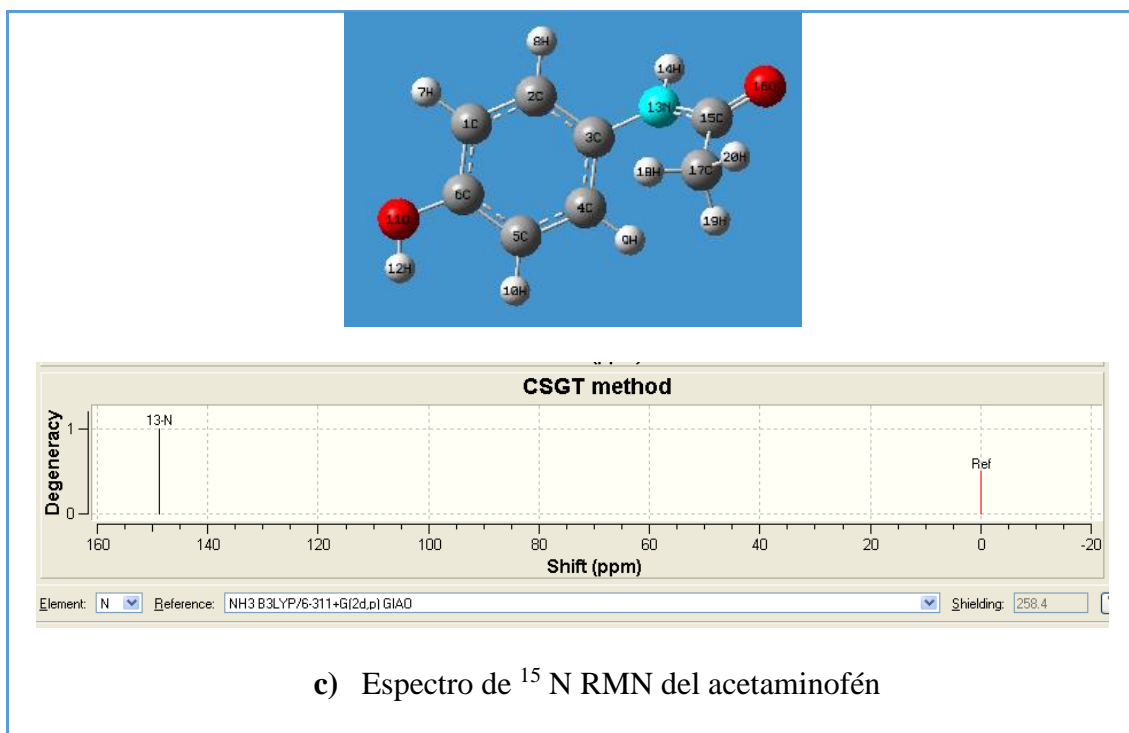


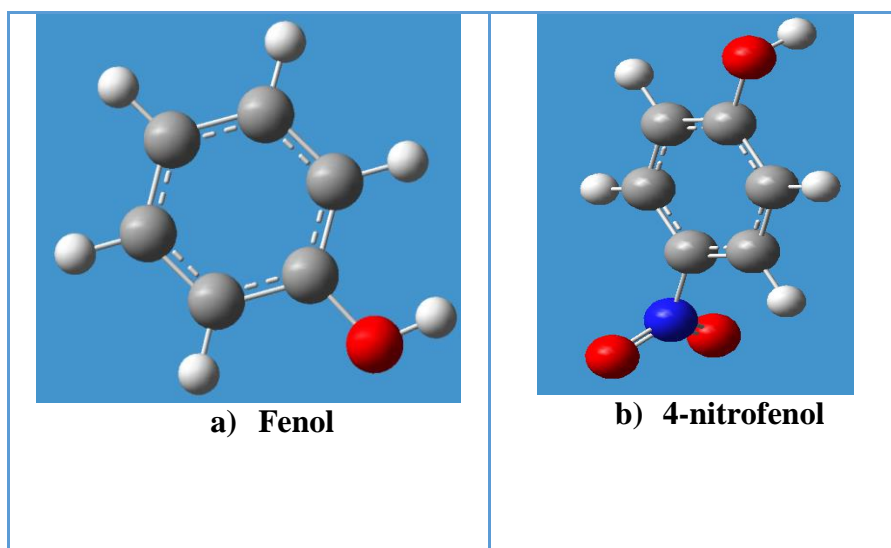
Figura 3.22 Espectros ^{15}N RMN obtenidos computacionalmente

El número de señales corresponde con el número de nitrógenos distintos existentes en la molécula. En los espectros representados en la Figura 3.22 tenemos un singlete del grupo NO_2 , 4-nitrofenol, otro del NH_2 , 4-aminofenol, y otro $\text{N}=\text{C}$ en el acetaminofén.

En la bibliografía encontramos que el rango para la señal del grupo amina es entre 90-40 ppm, en el espectro computacional obtenido para el aminofenol, la señal se observa a 85 ppm dando a conocer que se encuentra dentro del rango estimado. Para el nitrógeno unido con el grupo acetil nos dice que el rango debe estar entre 150-170 ppm, en el espectro computacional obtenido tenemos una señal a los 150 ppm [60]. En el grupo nitro, el nitrógeno debe estar en los 355-395 ppm [61], en el espectro computacional obtuvimos una señal a los 395 ppm.

3.3 ESTUDIO TERMODINÁMICO COMPUTACIONAL

La Figura 3.23 se aprecia las estructuras de las moléculas estudiadas computacionalmente. Los átomos de carbono se muestran de color gris, mientras que los hidrógenos se ven de color blanco. Los átomos de oxígeno se perciben de color rojo, los átomos de nitrógeno de color azul, el átomo de azufre de color amarillo, el átomo de sodio de color morado y el átomo de boro de color rosado. El benceno posee una resonancia dentro del anillo, se aprecia con un enlace sólido y un enlace entrecortado. El nitrógeno presenta un enlace sólido y un enlace entrecortado. Estas son las estructuras principales y los productos que participan en la reacción.



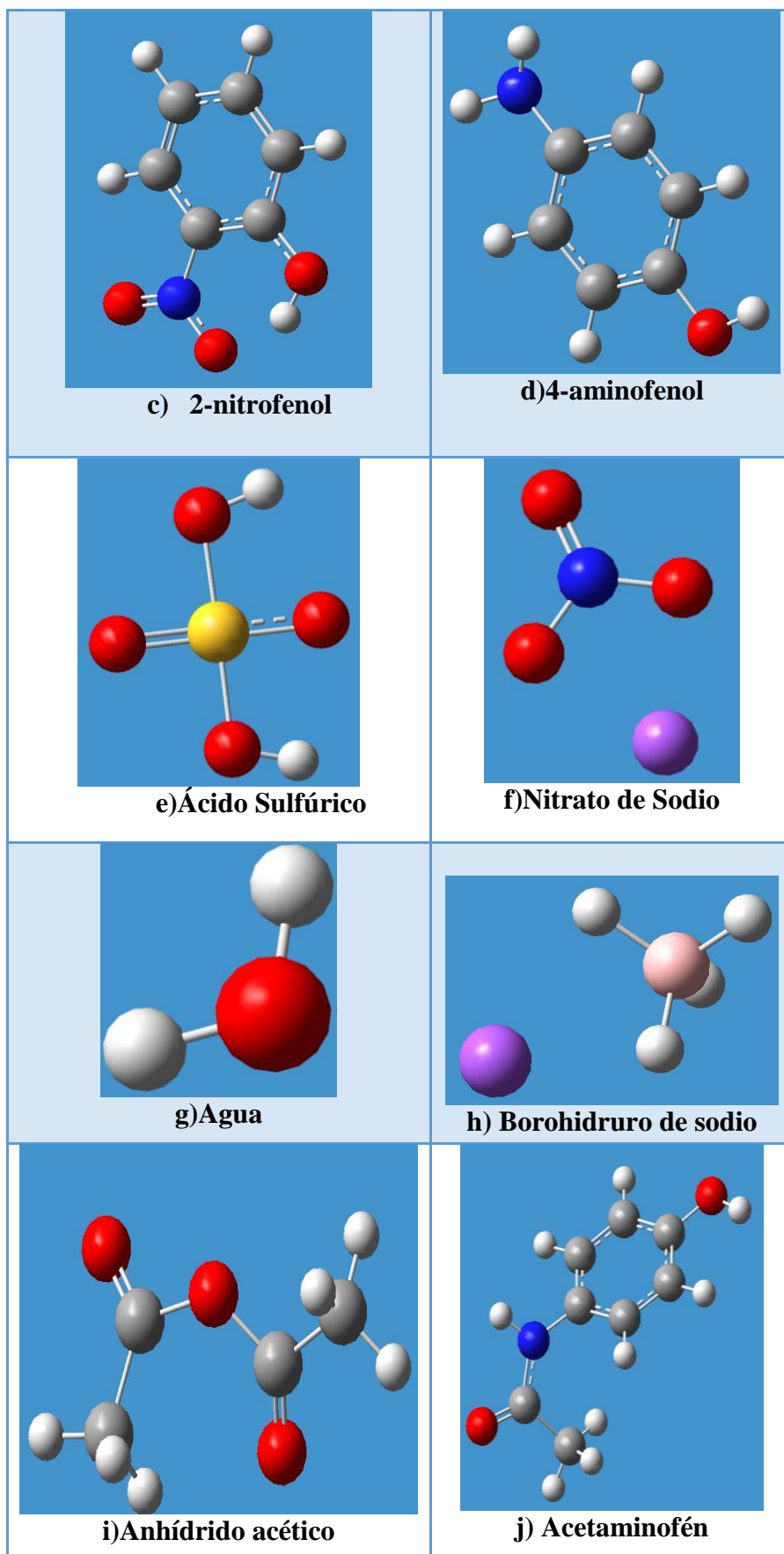


Figura 3.23 Estructuras computacionales estudiadas

El estudio termodinámico realizado consta de la optimización de las estructuras y el cálculo de las energías potenciales. Se utilizó dos niveles distintos de teoría ya que el HF nos da los valores de energía, mientras que el nivel B3LYP nos ofrece estructuras más precisas. En la Tabla 3.11 se observan los valores de energía obtenidos del cálculo Single Point Energy de los reactivos y de los productos.

Tabla 3.11 Valores de las entalpias calculadas de las moléculas estudiadas

Especie química	Energía (kJ/mol)
Fenol	$-8.0195 * 10^{+14}$
Nitrato de sodio	$-1.1572 * 10^{+15}$
Ácido sulfúrico	$-1.8315 * 10^{+15}$
4-nitro fenol	$-1.3359 * 10^{+15}$
2-nitro fenol	$-1.3360 * 10^{+15}$
Borohidruro de sodio	$-4.9559 * 10^{+14}$
4-amino fenol	$-9.4637 * 10^{+14}$
Anhídrido acético	$-9.9623 * 10^{+14}$
Agua	$-1.9949 * 10^{+15}$
Acetaminofén	$-1.3447 * 10^{+15}$
Hidróxido de sodio	$-6.1902 * 10^{+14}$
Ácido clorhídrico	$-1.2075 * 10^{+15}$

El objetivo principal de la optimización es encontrar la estructura que tiene la menor energía, por lo que el resultado del cálculo es la conformación más estable, que encontramos en la naturaleza. Con estas energías se obtienen las entalpías estándar de reacción (ΔH_r) de las reacciones estudiadas.

En forma simplificada, la ΔH_r es la cantidad de energía o calor absorbido en una reacción química a presión constante y según las cantidades de reactivos y productos. Si la energía es requerida, el ΔH_r es positivo, pero si la energía es liberada, el ΔH_r es negativo. La ecuación 2 explica cómo se obtiene la entalpia estándar de reacción de cualquier reacción química:

$$\Delta H_r = \sum \Delta H (\text{productos}) - \sum \Delta H (\text{reactivos}) \quad (2)$$

En la Tabla 3.12 se muestra cada reacción estequiométricamente igualada con sus entalpías estándar de reacción. Se observa que en los dos primeros casos la entalpia es negativa, lo cual se pudo evidenciar en la parte experimental por el desprendimiento de calor que se observó, por lo cual se necesitó un baño de hielo para realizar la síntesis en la primera parte y para la segunda parte un baño de agua fría. La tercera parte de la reacción, la entalpia es positiva, por lo tanto, no existe un desprendimiento de calor su reacción es endotérmica.

Tabla 3.12 Entalpías estándar de las reacciones estudiadas

Síntesis parte 1
$2\text{C}_6\text{H}_5\text{OH} + \text{H}_2\text{SO}_4 + 2\text{NaNO}_3 \rightarrow 2\text{C}_6\text{H}_4\text{OHNO}_2 + \text{Na}_2\text{SO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$
$\Delta H_r = -398,979 \text{ kJ/mol}$
Síntesis parte 2
$\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OH} + \text{NaBH}_4 + \text{NaOH} + \text{HCl} \rightarrow \text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OH} + \text{NaH}_2\text{BO}_3 + \text{NaCl} + \text{H}_2(\text{g})$
$\Delta H_r = -159,628 \text{ kJ/mol}$
Síntesis parte 3
$\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OH} + \text{CH}_3\text{CO}_3\text{CCH}_3 \rightarrow \text{OHC}_6\text{H}_4\text{NHCOCH}_3 + \text{CH}_3\text{COOH}$
$\Delta H_r = 996,230 \text{ kJ/mol}$

3.6 ESTUDIO BIOQUÍMICO

En esta parte del estudio se hizo una interacción del medicamento con el cuerpo humano. Se realizó la interpretación del acetaminofén con las dos enzimas COX-1 y COX-2 para observar su acción. Se escogió estas dos enzimas debido a que existen algunos artículos que nos dicen: “*El paracetamol es un inhibidor débil de la síntesis de PG de la COX-1 y COX-2 en sistemas de células rotas*” ... “*Cuando los niveles de ácido araquidónico son bajos, PGs se sintetizan en gran medida por la COX-2 en las células que contienen tanto la COX-1 y COX-2. Por lo tanto, la selectividad aparente de paracetamol puede ser debido a la inhibición de las vías de la COX-2-dependiente que están avanzando a tasas bajas.*” ... “*La acción del paracetamol en un nivel molecular está clara, pero puede estar relacionado con la producción de metabolitos reactivos de la función de la peroxidasa*

de la COX-2, que podría agotar el glutatión, un cofactor de enzimas como la PGE sintetizada” [62]. “Este efecto hipotérmico de paracetamol se redujo en COX-1, pero no en la COX-2 en ratones con genes eliminados” [63].

En las Figuras 3.24 y 3.25 se encuentran las estructuras tridimensionales de la COX-1, COX-2. Las enzimas fueron obtenidas experimentalmente mediante la técnica de rayos X, las cuales se encuentra en un banco de proteínas a disposición del público, para poder descargarlas [64].

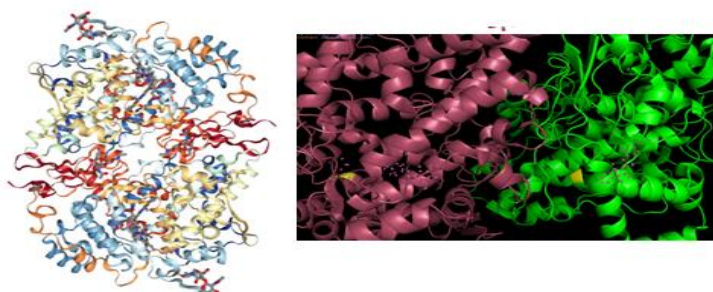


Figura 3. 24 Estructura de la COX-1

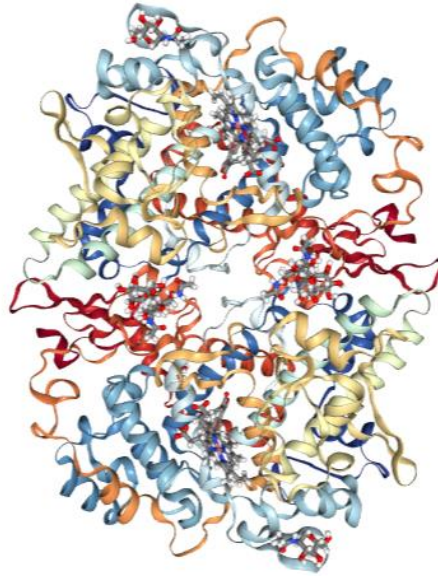


Figura 3. 25 Estructura de la COX-2

Esta parte consistió en hacer interaccionar al ligando, en este caso el acetaminofén, con la macromolécula, en este caso la enzima. Así se determinaron los posibles sitios activos de la enzima, que son aquellos que tienen la mayor afinidad. El programa Autodock, permite seleccionar cualquier zona de la enzima para realizar el cálculo de acoplamiento molecular. En los dos casos se seleccionó toda la enzima como se ve en la Figura 3.26.

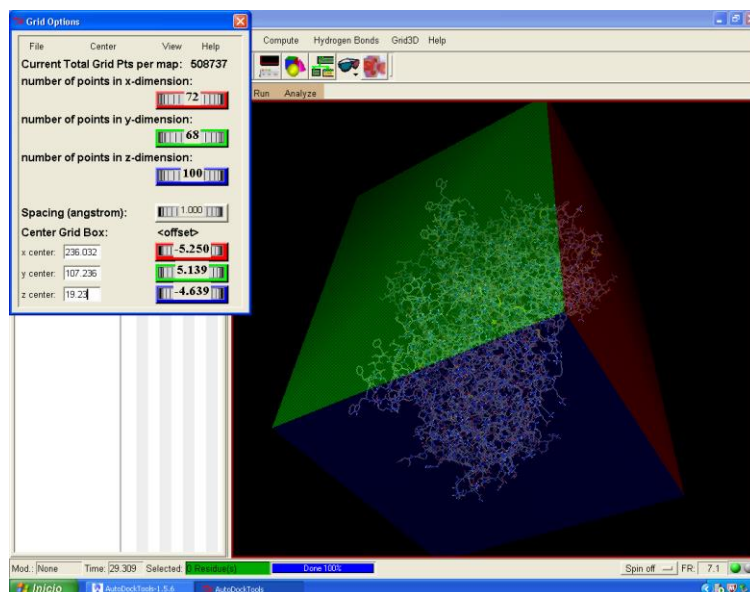


Figura 3. 26 Espacio escogido de la enzima COX-1, para realizar el cálculo de acoplamiento

En la Figura 3.27 se observan la conformación en el espacio de la COX-1. La enzima posee dos hélices, la primera en celeste y la segunda en rosado, con sus respectivos sitios activos representados con el color verde y amarillo. Las dos conformaciones se encuentran en dos lugares diferentes. Esto comprueba que la enzima tiene dos sitios activos.

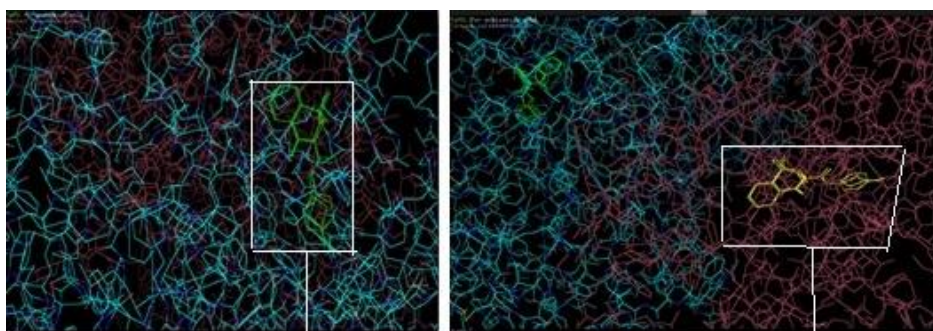


Figura 3. 27 Conformaciones en el espacio de la COX-1

Al realizar el cálculo, el programa Autodock proporciona nueve resultados diferentes. Cada resultado presenta al ligando en una posición espacial diferente. En cada posición se obtiene la afinidad entre la macromolécula y el ligando. En la Tabla 3.13 se presentan las afinidades de las nueve conformaciones del acoplamiento del acetaminofén con la COX-1.

Tabla 3.13 Valores de afinidad obtenidos para el acoplamiento molecular acetaminofén- Ciclooxygenasa 1 con Autodock Vina

NÚMERO DE CONFORMACIÓN	AFINIDAD (kcal/mol)
1	-6.1
2	-6.0
3	-6.0
4	-5.8
5	-5.8
6	-5.8
7	-5.8
8	-5.8
9	-5.8

La conformación 1 es la que tiene, mayor afinidad, menor energía de enlace, por lo que es la conformación más probable para la interacción. En Pymol se abre el archivo de los resultados de las conformaciones y la ciclooxigenasa con el sitio activo de la enzima. Se

observa que no se encuentran superpuestos el ligando del acetaminofén y la conformación 1 de menor energía. Esto indica que la enzima ciclooxigenasa 1 no interacciona con el acetaminofén. Se realizó la comprobación con todas las conformaciones demostrando que ninguna interacciona. En la Figura 3.28 se observan la conformación del acetaminofén con la COX-1. La molécula en rosado representa el ligado obtenido computacionalmente, mientras que la molécula experimental se muestra en color verde.

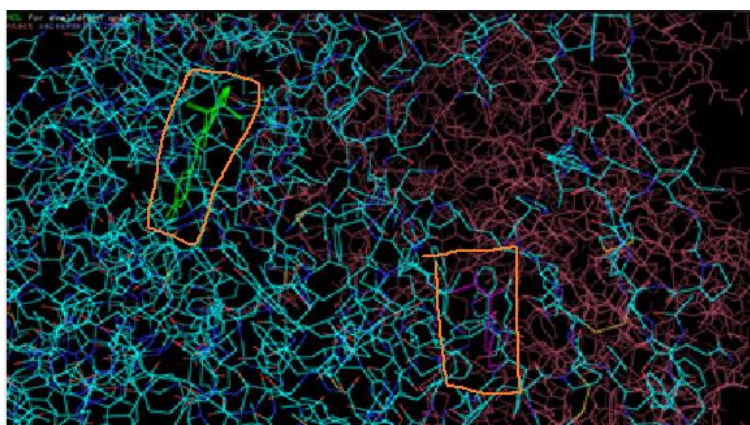


Figura 3.28 Conformación del acetaminofén con la COX-1

Con la Ciclooxigenasa 2, se descargó la enzima del banco de proteínas, y se procedió a analizar con el programa Autodock Vina, debido a que existen algunos estudios que nos dicen: *“Aunque diversos estudios bioquímicos apuntan a la inhibición de la central de la actividad de COX-2, la existencia de una actividad de la COX que es selectivamente susceptibles a paracetamol”* [63].

Por este motivo se procedió a realizar el análisis con toda la enzima y así poder ver en qué sitio activo existe mejor afinidad en la unión. En la Figura 3.29 se observa que se seleccionó toda la enzima.

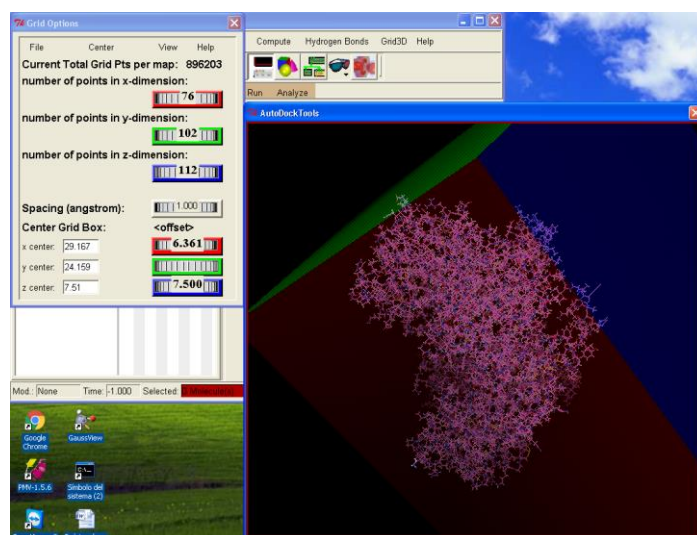


Figura 3.29 Selección del espacio de la enzima COX-2, para la realizar el cálculo de acoplamiento

En la Tabla 3.14 se observan las afinidades de las conformaciones obtenidas del acetaminofén con la COX-2.

Tabla 3.14 Valores de afinidad obtenidos para el acoplamiento molecular acetaminofén- Ciclooxigenasa 2 con Autodock VINA

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-6.2
2	-6.1
3	-6.0
4	-5.9
5	-5.8
6	-5.4
7	-5.3
8	-5.3
9	-5.3

Las primeras conformaciones son las de menor energía. Utilizando el programa Pymol, se ve que las conformaciones 1 y 2 no se encuentran cerca del sitio activo de la Ciclooxigenasa 2, por lo que se realizó el acoplamiento de las conformaciones 3 y 4 con la enzima y se observó que se encuentran cerca del sitio activo de la enzima. En la Figura 3.30 se muestra la conformación 3 de color tomate en la ciclooxigenasa 2 y en la Figura 3.31 se observa la conformación 4 de color amarillo con la ciclooxigenasa 2. En ambos casos se observa un cuadro pequeño que nos dice qué conformación estamos analizando.

Un estudio realizado en la India, con el mismo programa, Autodock Vina, muestra que las energías obtenidas en ambos trabajos son similares. La energía obtenida en la

investigación de la India es de -6,5 kcal/mol [65], mientras que en el presente trabajo, la energía utilizada con las interacciones es de -6,0 kcal/mol. Esto demuestra que los resultados obtenidos no son 100% iguales, pero si lo suficientemente cercanos demostrando la aplicabilidad de los métodos computacionales.

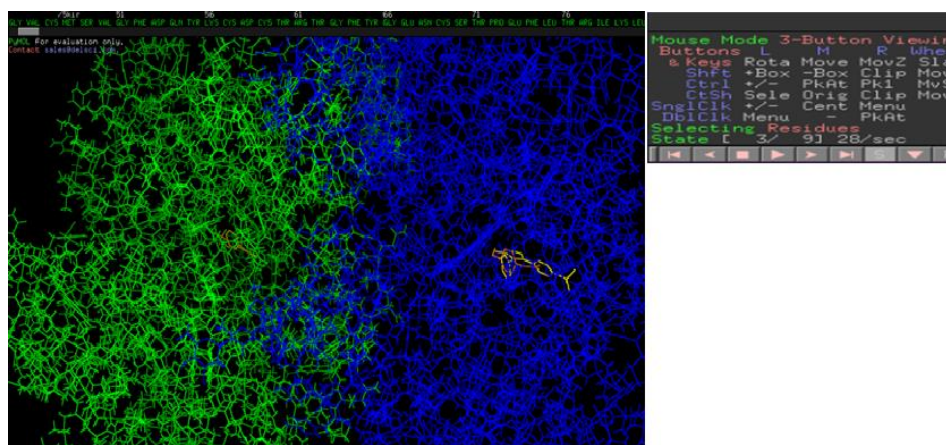


Figura 3.30 Conformación 3 del acetaminofén en el sitio activo de la COX-2

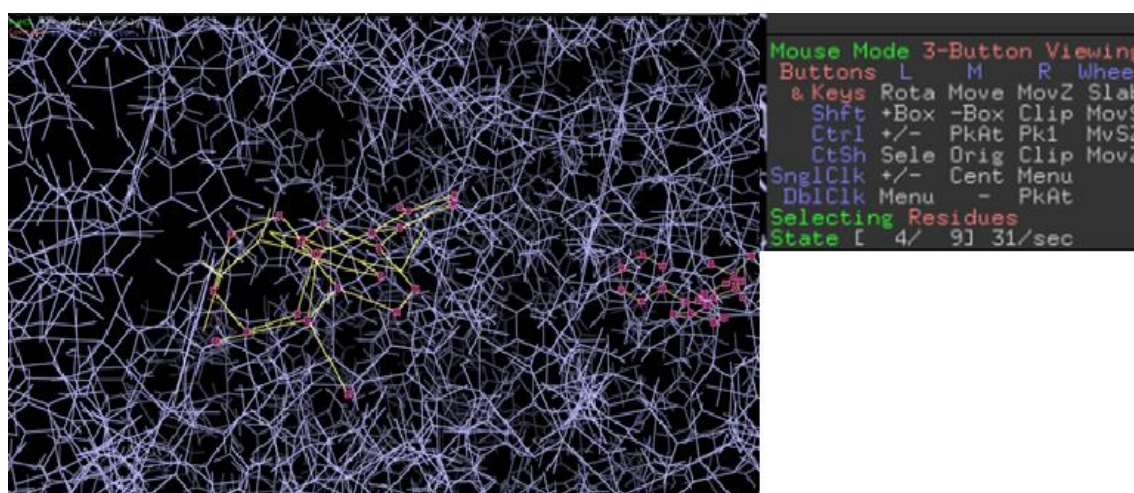


Figura 3.31 Conformación 4 del acetaminofén en el sitio activo de la COX-2

En la conformación 3, las moléculas están casi superpuestas, variando ligeramente en la posición; mientras que en la conformación 4, las moléculas están ligeramente separadas, conociendo, que la interacción con la ciclooxigenasa 2 es débil pero si existe interacción. En comparación son estudios similares, se determina que la COX2 si interactúa con el acetaminofén [66].

En la Figura 3.32 se observa en el programa Pymol las dos conformaciones con sus sitios activos, en esta figura se aprecia mejor las conformaciones obtenida con el acetaminofén indicando, que la interacción con la ciclooxigenasa 2 es débil, pero si existe interacción.

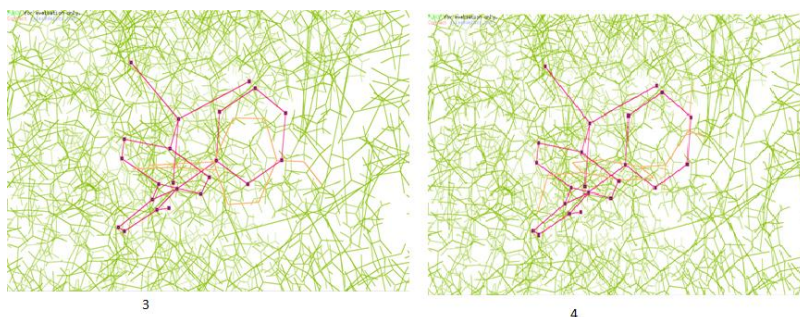


Figura 3.32 Conformaciones observadas con Pymol de los dos sitios activos más cercanos al acetaminofén

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

- El porcentaje de rendimiento en la síntesis de acetaminofén fue del 49,21%; donde los rendimientos para los primeros productos fueron de 6,52% para el 4-nitrofenol y 1,82% para el 2-nitrofenol, mientras que para el segundo producto, 4-aminofenol fue de 60,44%.
- Se comprobó que el uso de níquel como catalizador, no genera un comportamiento diferente en la reducción del grupo nitro a amina en comparación al platino y paladio
- Mediante métodos espectroscópicos se determinó que el producto obtenido de la reacción fue el acetaminofén; donde los espectros IR obtenidos computacionalmente son perfectamente comparables con los obtenidos de la síntesis; y los espectros IR obtenidos experimentalmente fueron similares a los espectros teóricos comparados, concluyendo que en cada paso de la síntesis se obtuvo el producto esperado.

- Gracias al estudio de modelación molecular del acetaminofén, se pudo concluir que el acetaminofén no interacciona con la ciclooxigenasa 1, pero es un inhibidor débil de la ciclooxigenasa 2.
- Los espectros UV/Vis obtenidos experimentalmente del acetaminofén, al compararlos con los computacionales, poseen pequeñas diferencias causadas por el estado de agregación del cálculo computacional.

4.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar la síntesis del acetaminofén con nitrobenzeno, para observar los resultados de la síntesis y también comparar los porcentajes de rendimientos obtenidos en este trabajo.
- Se recomienda seguir con la metodología empleada en este trabajo como base para la localización de sitios activos en diferentes proteínas así como para localizar la posición del ligando con el sitio activo de la enzima.
- Se recomienda continuar el estudio del acoplamiento molecular del citocromo CYP2E1, CYP1A2 y CYP3A con el acetaminofén para apreciar el metabolismo que presentan.

BIBLIOGRAFÍA

1. Anónimo., (2015), *Uso correcto de medicamentos*, <https://www.cinfasalud.com/areas-de-salud/medicamentos/uso-correcto-de-medicamentos/>, Consultada en Enero 2017.
2. Meneses, L., Cuesta, S.,(2015), *Estudio Espectroscópico Experimental y Computacional de Ibuprofeno y sus Precursores de Síntesis*, La Granja, Revista de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana, Vol. 21, pp 1-16, Consultada en Enero 2017.
3. Sánchez, V.A, Rosales, L., Serrato, L., (2011), *Métodos y Usos de la Química Computacional*, Universidad Autónoma de Coahuila, México, pp.16-21.
4. Castro,G. (2014), *Conceptos sobre inflamación y reparación de tejidos*, <http://drgustavocastro.co/conceptos-sobre-inflamacion-y-reparacion-de-tejidos/>, Consultada en Abril 2016.
5. Robins, S. Ramzi, S. Cotran, M. (2003), *Patología Estructural y Funcional*, 6^{ta} edición, McGraw-Hill. Interamericana. México, pp. 10-12.
6. Bahr, B. Mehlum. (2004), *Lesiones deportivas: Diagnóstico, tratamiento y rehabilitación*, 3^{ra} edición, Médica Panamerica S.A., Madrid, España, pp. 8-11.
7. Fernández, F. (2004) *Inflamación*, http://www.polidist.com/web/index.php/component/docman/doc_view/91-proceso-inflamatorio, Consultada en Abril 2016.
8. Crespo, S. Tortosa, JM. (2011), *Conceptos básicos de patología forense*, Palibrio. Estados Unidos, pp. 119- 128.
9. Pusajo, J.F. Doglio, G.R. Hernández, M.S. *Fisiopatología General de los Estados Críticos*, Hernandez, Buenos Aires, Argentina, pp. 234-235.
10. Stanier, R., Ingraham J., Wheelis, M., Painter P., (1992) *Microbiología* , 2^{da} , Reverte S.A. Barcelona, pp 635.

11. Korolkovas, A. Burckhalter, J.H, (1983), *Compendio esencial de Química Farmacéutica*, Reverte, España, Capítulo 7, pp. 160-165.
12. Salas, I., Chan, K., Wu, W., *Manejo del dolor en el Cáncer*, Universidad de Costa Rica, pp. 21-27.
13. Vanegas, A., (2008), *Anestesia Intravenosa*, 2^{da} Edición, Médica Internacional, Bogotá, pp. 394
14. Marín, A., Gómez, R., Jaramillo, J., (2007), *Manual de pediatría ambulatoria*, 21 edición, Médica Internacional, Bogotá, pp. 556-558.
15. Álamo, C., (2005), *Guía Farmacológica de analgésicos*, 1^{ra} edición, Aran, España, pp. 99-102.
16. Velázquez, L., *Manual de farmacología básica y clínica* Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, Capítulo 26, pp.300-330.
17. Ellis, F., (2002), *Paracetamol- a curriculum resource*, Royal Society of Chemistry, British library, London, pp. 1-26.
18. Kaplowitz, N., Deleve, L., (2013), *Drug induce liver disease*, 3^{ra} edición, Elsevier, New York, Capítulo 19-20, pp. 305-339.
19. PLM,(2011), *Farmaprecios guía de precios sugeridos al público, promedio del mercado de y para farmacias independientes* , Número 51, Farma, Ecuador, pp. 18-26.
20. Anónimo, (2015), *Conozca más sobre el acetaminofén*, <http://www.elcolombiano.com/colombia/salud/conozca-mas-sobre-el-acetaminofen-DX2572410>, Consultada en Mayo 2016.
21. Hopfer J., *Guía farmacológica para profesionales de enfermería*, Décima edición, Mc Graw Hill, España, pp. 35-37; 865-867.
22. Linder, M., Fleita, B., (2010), *Segundo seminario Taller*, Instituto Superior Tecnológico de Buceo, México, pp. 92.

23. Baranco, F., Carrazco, J., *Principios de urgencia, emergencia y cuidados críticos*, Capítulo 10. Disponible <http://tratado.uninet.edu/c100201.html>, Consultada en Mayo 2016.
24. Jiménez, L. (2006), *Conocimientos fundamentales de biología*, 1^{ra} edición, Universidad Autónoma de México, México D.F. pp. 69-70.
25. Blobaum, A., Marnett, L. (2007). *Structural and Functional Basis of Cyclooxygenase Inhibition*, *Journal of Medicinal Chemistry*, 50, 7, pp. 1425-1441
26. Morrison, R., Boyd, R., (1998), *Química Orgánica*, 5^{ta} edición, Pearson Addison Wesley, México, pp. 921-927.
27. Atkins, P., Jones, L., (2005), *Principios de química: los caminos del descubrimiento*, 3^{ra} edición, Editorial Médica Panamericana S.A. Madrid-España, pp. 692-970.
28. Textos científicos, (2014), *Nitración*, <http://www.textoscientificos.com/quimica/nitracion>, Consultada en Noviembre 2016.
29. Macaño, H., Caglieri, S., (2016), *Acetilación de aminas alifáticas y aromáticas. Estudio teórico*, Centro de investigación y transferencia en Ingeniería Química Ambiental, Universidad Tecnológica Nacional, Córdoba-Argentina, pp. 1-6.
30. Skoog, D., (2008) *Principios de Análisis Instrumental*, 6^{ta} edición, Edamsa Impresiones, México D.F, pp. 353-378, 409-457.
31. Inmaculada, J., Martínez, S., (1999), *Diccionario de Química*, 1^{ra} edición, Complutense editorial, España, pp. 252-255.
32. Vásquez, D., Ibarra, A., (2004) *Diccionario de Ciencias*, 1^{ra} edición, Complutense editorial, España, pp. 397-399.
33. Anónimo, *Espectrometría Infrarroja*, http://www.espectrometria.com/espectrometra_infrarroja. Consultada en Agosto 2016.

34. Rubison, K., Rubison, J., (2001), *Análisis Instrumental*, 1^{ra} edición, Pearson Education, Madrid, pp. 484-500.
35. Pickerting, R., (1980), *Química Analítica Moderna*, Editorial Reverte, Barcelona, pp. 212-215.
36. Anónimo, *Espectrometría resonancia Magnética Nuclear*, http://www.espectrometria.com/espectrometra_de_resonancia_magntica_nuclear, Consultada en Agosto 2016.
37. Moncada, J., Salgado, G., (2007) *Caracterización de la reactividad intrínseca de los halobencenos en el modelo computacional de la teoría de funcionales de la densidad*, Real Sociedad Española de Química, España. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422008000500057. Consultada en Agosto 2016.
38. Bort, J., (2000), *Química Teórica y Computacional*, Publicaciones Univesitat Jaume, Brasil, pp. 244-250.
39. Anónimo, *Conceptos básicos de la química computacional*, <http://www.fis.unam.mx/~ramon/CursoDF/Material%20Didactico/Varios/Principios%20Quimica%20Computacional%203%20Edicion.pdf> Consultada en Agosto 2016.
40. Muñoz, C., Niño, A., *Química Computacional*, Ediciones de la Universidad de Castilla-La Mancha, pp. 80-95.
41. Vásquez, M., Chiñas, E., Castro, F., Miranda, R., (2006), *Algunos aspectos Básicos de la Química Computacional*, Universidad Autónoma de México, México D.F., pp 30-49.
42. Gaussian Inc. (2016). Gaussian 09: Expanding the limits of computational chemistry, http://www.gaussian.com/g_prod/g09b.htm , Consultada en Agosto 2016.
43. The Scripps Research Institute, (2016). Autodock, <http://autodock.scripps.edu/>, Consultada en Agosto 2016.

44. Raviña, E., (2008), *MEDICAMENTOS Un viaje a lo largo de la evolución histórica del descubrimiento de fármacos*, Universidad de Santiago de Compostela, España, pp. 43-47.
45. Medina, F., Vallejo, F., *Diseño de Fármacos asistido por computadora*, <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:Tqh1mtQzx58J:www.educacionquimica.info/include/downloadfile.php%3Fpdf%3Dpdf949.pdf+&cd=2&hl=es-419&ct=clnk&gl=ec>, Consultada en Noviembre 2016.
46. Lamarque, A., Maestri, D., (2008), *Fundamentos teórico-prácticos de química orgánica*, 1^{ra} edición, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, pp. 38.
47. Buendía, M., Gómez, L., (1991), *Prácticas de química orgánica*, Universidad de Murcia, España, pp 30-31.
48. Lamarque, A., (2008), *Fundamentos teórico-prácticos de química orgánica*, 1^{ra} edición, Encuentro, Córdoba, Argentina, pp. 19-20.
49. Lide, D., (2004), *Handbook of Chemistry and Physics*, 84th edition, Disponible en: http://www.znu.ac.ir/data/members/rasoulifard_mohammad/crc.pdf, Consultada en Julio 2016.
50. Alemán, C., Muñoz, S., (2003), *Aplicaciones de los Métodos Computacionales al Estudio de la Estructura y Propiedades de Polímeros*, *Polímeros: Ciencia y Tecnología*, 13, pp 250 – 264.
51. Mendoza, M., Sánchez, A., Manrique, C., (2013), *Reducción de nitrocompuestos utilizando el sistema Pd/H₂N-NH₂/Mw*, <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0187893X13724856?via=sd>, Universidad Autónoma de México, México, Consultada en Agosto 2016.
52. Santos, E., Suarez, S., Reyes, M., (2011), *Enseñanza experimental y química combinatoria: Obtención de esteres y amidas, utilizando dos Fuentes de energía térmica*,

Universidad Nacional Autónoma de México,
<http://www.scielo.cl/pdf/formuniv/v4n1/art02.pdf>, Consultada en Enero 2017.

53. Levine, N., (2005), *Química Cuántica*, 5^{ta} edición, Pearson, Madrid, pp. 528-529.
54. Nop, (2006), *Nitración de fenol a 2-nitrofenol a 4-nitrofenol*, <http://www.oc-praktikum.de>, Consultada en Junio 2016.
55. National Institute of Standards and Technology, (2016), *Phenol, 4-amino*, <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C123308&Units=CAL&Type=IR-SPEC&Index=1#IR-SPEC> , Consultada en Julio 2016.
56. Universidad Nacional de Colombia, *Espectroscopia del Acetaminofén*, http://168.176.60.11/cursos/ciencias/2015657/u6/pdf/anexo_4.pdf, Consultada en Enero 2016
57. Rios, Y., (2007), *Espectros UV-Visible*, <http://www.yolanda-rios.net/materiales/UVTeoria.pdf>, Consultada en Enero 2017.
58. Farmacopea, *Acetaminofén*, http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/flip_pages/Farmacopea_Vol_III/files/assets/basic-html/page326.html, Consultada en Junio 2016.
59. Palop, J., (2009), *Tutorial para la interpretación de espectros de resonancia magnética nuclear del protón*, http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:iyLLgNFO0h4J:www.unav.es/ocw/avanzada_q/TUTOR_RMN.pdf+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=ec, Consultada en Diciembre 2016.
60. Prestch, E., Badertscher, M., (2009), *Structure Determination of Organic Compounds*, 4th edition, Springer, Switzerland, pp. 7-12, 59-68.

61. Instituto de Química, (2016), <http://chem.ch.huji.ac.il/nmr/techniques/1d/row2/o.html#top> , Consultada en Enero 2017.
62. Scott, K.F., Graham, g., (2005), *Mechanism of action of paracetamol*, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15662292>, Consultada en Diciembre 2016.
63. PLEFA, (2005), *COX-3 and the mechanism of action of paracetamol*, Experimental Pathology Group, London, UK. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15662292>. Consultada en Diciembre 2016.
64. Protein Data Bank, (2016), <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>, Consultada en Diciembre 2016.
65. Chinnathambi, V., Ezhilarasan, V., (2012), *Virtual screening and molecular docking analysis for predicting the potential cyclooxygenase-2 inhibiting drugs in the treatment of cancer*, Molecular biology and Bioinformatics division, India, Chennai, <http://www.armatsbioteklab.in/publications/17.pdf>, Consultada en Enero 2017.
66. Qureshi, M., Junaid, T., (2011), *Molecular docking helps in understanding the action of paracetamol (acetaminophen): an approach towards finding a better COX2 inhibitor*. University of Health Sciences and University of Karachi, Pakistan. https://www.researchgate.net/publication/278241411_Molecular_Docking_helps_in_understanding_the_action_of_Paracetamol_acetaminophen_an_approach_towards_finding_a_better_COX2_inhibitor, Consultada en Enero 2017
67. Department of Chemistry of the University of Wisconsin-Madison, (2012). *Simplified Infrared Correlation Chart*, <https://www.chem.wisc.edu/deptfiles/OrgLab/handouts/Simplified%20IR%20Correlation%20Chart.pdf>. Consultada en Junio 2016.

68. Quiored,(2003), *Espectroscopia Infrarroja, Absorción IR para grupos funcionales representativos*, <http://www.ugr.es/~quiorred/doc/IR.pdf>, Consultada en Junio 2016.

ANEXOS

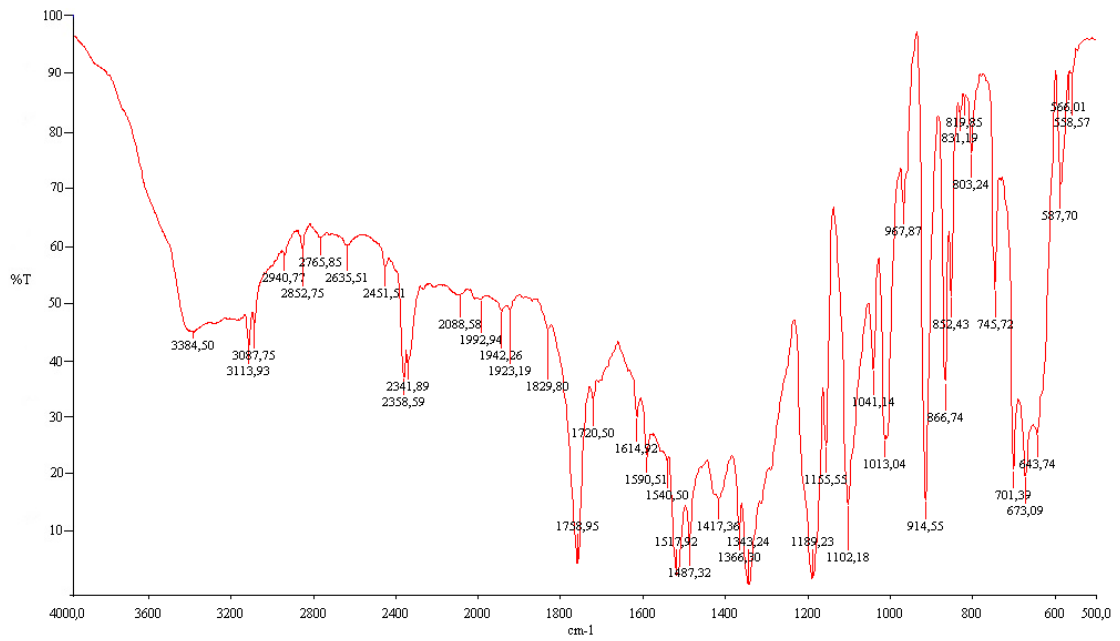
ANEXO 1 TABLA DE CORRELACIÓN

Tabla A.1 Tabla de frecuencias de Absorción Infrarroja [67-68].

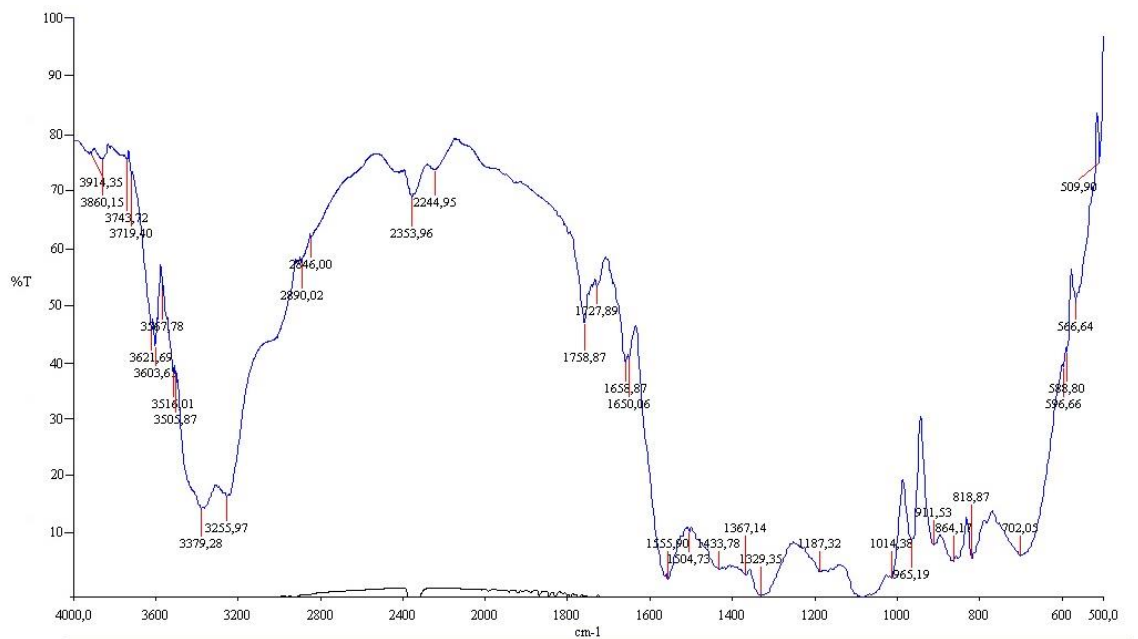
	Tipo de vibración	Frecuencia (cm⁻¹)
C-H	Alcano (estiramiento)	3000-2850
	-CH ₃ (Flexión)	1450 and 1375
	-CH ₂ (Flexión)	1465
	Alquenos (estiramiento)	3100-3000
	Flexión fuera del plano	1000-650
	Aromáticos (estiramiento)	3150-3050
	Flexión fuera del plano	900-690
	Alquinos (estiramiento)	~3300
	Aldehído	2900-2800
C=C	Alqueno	1680-1600
	Aromático	1600 and 1475
C=O	Alquino	2250-2100
	Aldehído	1740-1720
	Cetona	1725-1705
	Ácido Carboxílico	1725-1700
	Ester	1750-1730
	Amida	1670-1640
	Anhídrido	1810 and 1760
	Cloruro de ácido	1800
C-O	Alcoholes, éteres, esteres, ácidos carboxílicos, anhídridos	1300-1000
O-H	Alcoholes, Fenoles	

	Libre	3650-3600
	Unido a H	3500-3200
	Ácido carboxílico	3400-2400
N-H	Aminas y Amidas primarias y secundarias	
	(estiramiento)	3500-3100
	(Flexión)	1640-1550
C-N	Aminas	1350-1000
N=O	Nitro	1550 and 1350

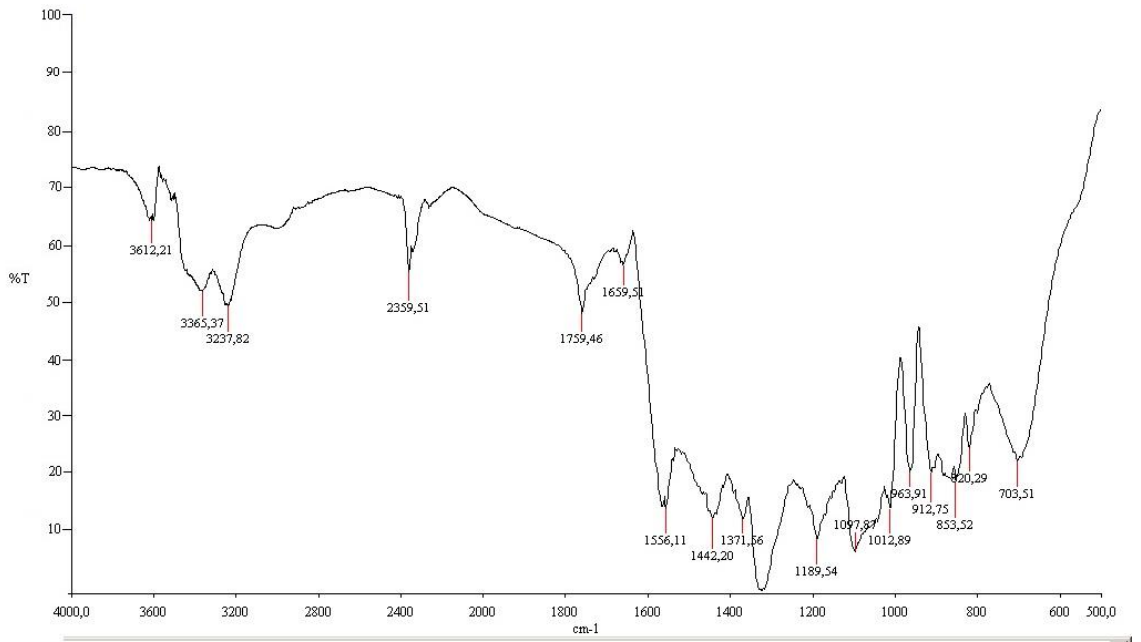
**ANEXO 2 ESPECTROS IR DEL ACETAMINOFÉN OBTENIDOS DE LA
SINTESIS Y DE LA EXTRACCIÓN**



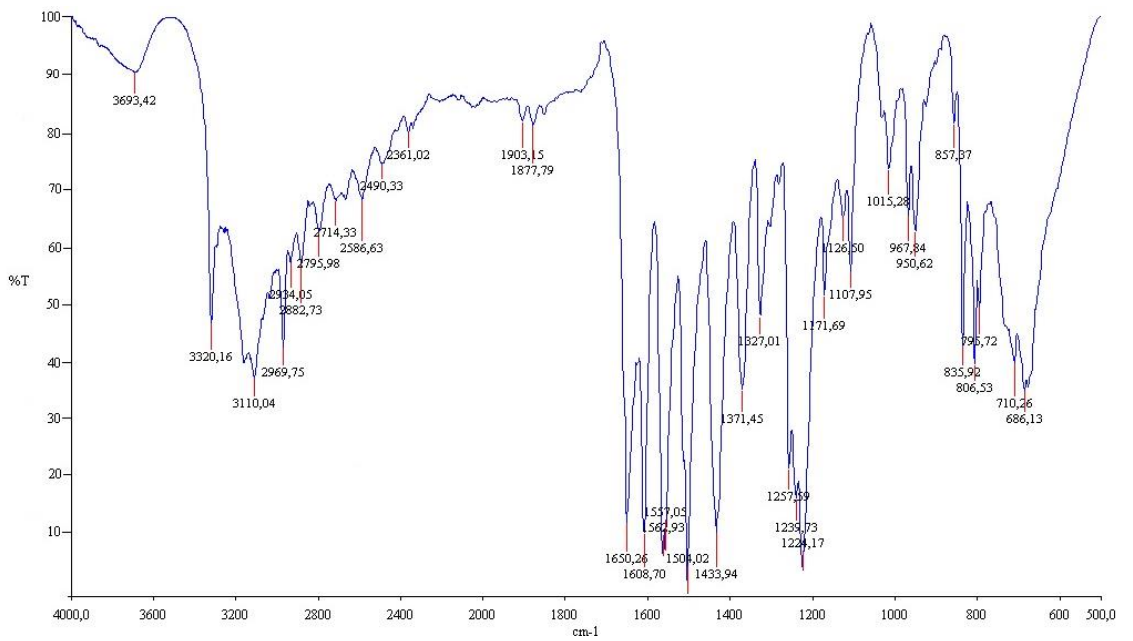
a) Espectro del acetaminofén obtenido de la primera síntesis



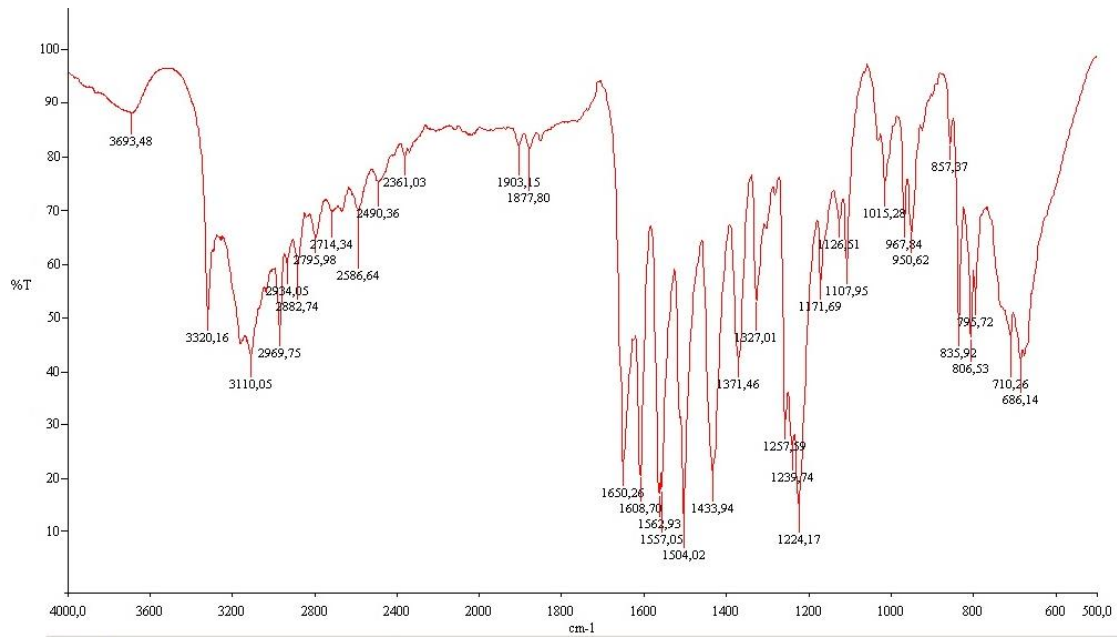
b) Espectro del acetaminofén obtenido de la segunda síntesis



c) Espectro del acetaminofén obtenido de la tercera síntesis

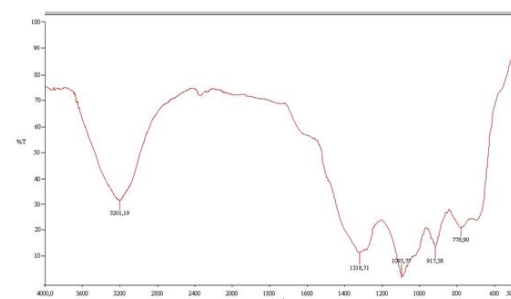
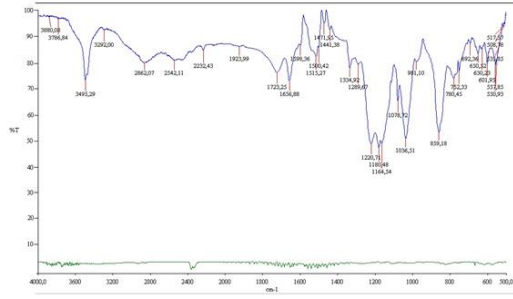
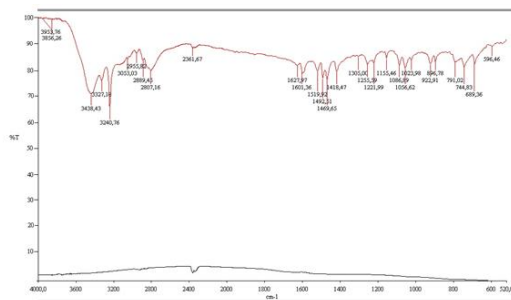
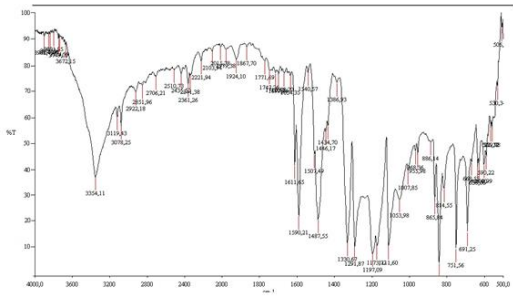


d) Espectro del acetaminofén obtenido de la cuarta síntesis

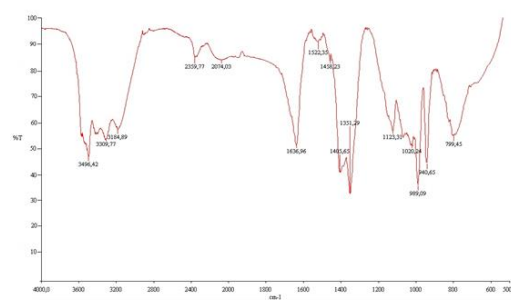
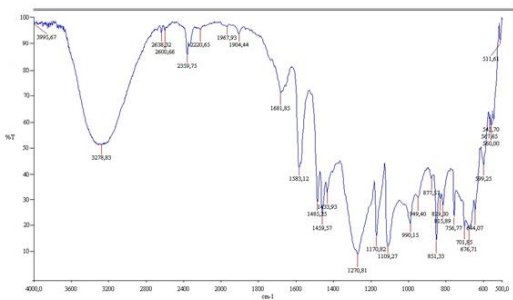
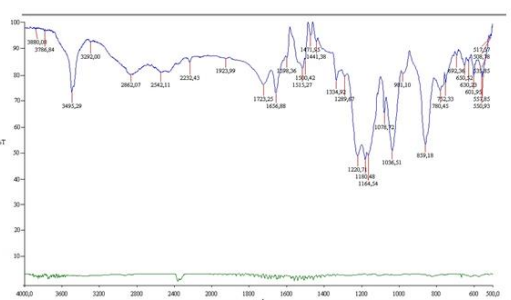
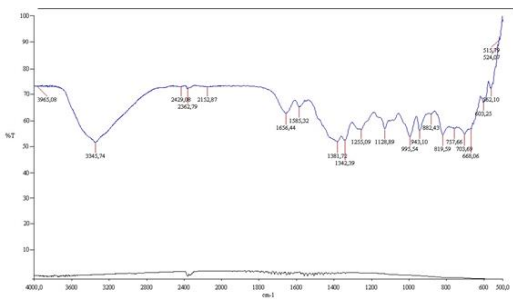


e) Espectro del acetaminofén obtenido de la extracción con diclorometano

ANEXO 3 ESPECTROS IR DE LA SINTESIS EXPERIMENTAL

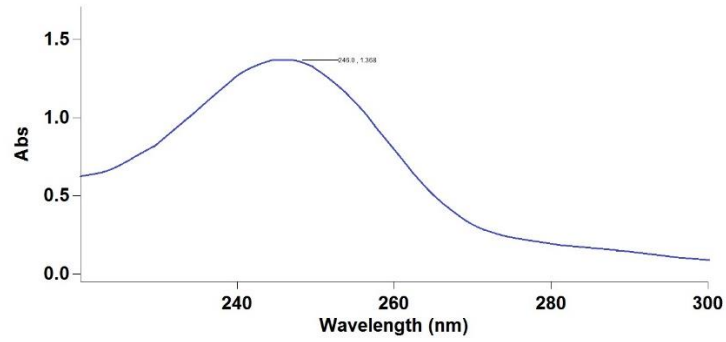


a) Espectros IR de la síntesis experimental del 4-nitrofenol

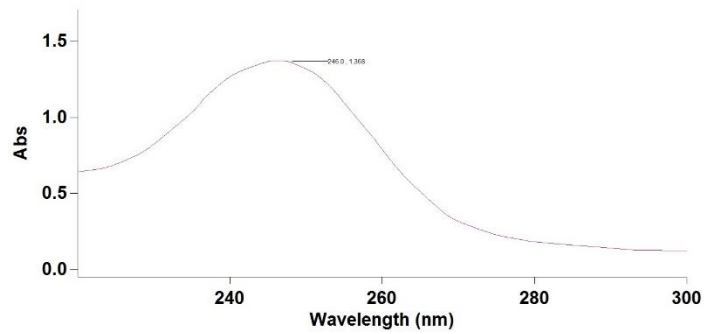


b) Espectros IR de la síntesis experimental del 4-aminofenol

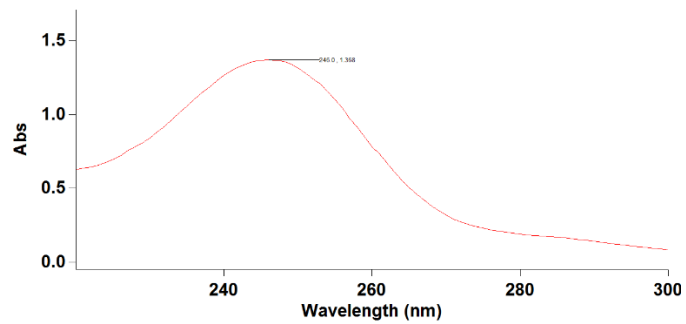
**ANEXO 4 ESPECTROS UV/Vis OBTENIDOS DE LA SINTESIS DEL
ACETAMINOFÉN**



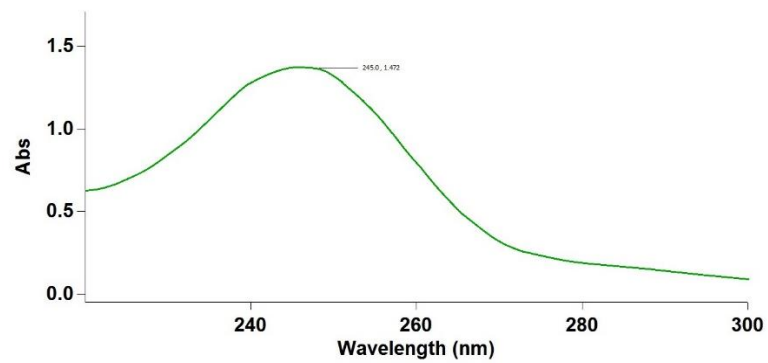
a) Espectro UV/Vis del acetaminofén primera síntesis



b) Espectro UV/Vis del acetaminofén segunda síntesis



c) Espectro UV/Vis del acetaminofén tercera síntesis



d) Espectro del acetaminofén cuarta síntesis

ANEXO 5 RENDIMIENTO DE LA REACCIÓN DE LA SÍNTESIS

Tabla A2 Valores utilizados y obtenidos de la reacción de obtención de 4-nitrofenol y 2-nitrofenol

	1	2	3	4
Peso Fenol	9,5114 g	9,3998 g	9,4230 g	9,4349 g
Peso Nitrato de sodio	15.3058 g	15,3642 g	16,3013 g	15,1738 g
Peso Ácido Sulfúrico	18.8830 g	24,9456 g	25,2210 g	28,0676 g
Peso de 2-nitrofenol	0,1459 g	0,0571 g	0,2634 g	0,5605 g
Peso de 4-nitrofenol	0,2043 g	0,2071 g	1,0137 g	2,2425 g

Tabla A3 Valores utilizados y obtenidos de la reacción de obtención de 4-aminofenol.

	1	2	3	4
Volumen del hidróxido de sodio	10 mL	2 mL	10 mL	10 mL
Peso del borohidruro de sodio	0,5605 g	0,1104 g	0,5603 g	0,5640 g
Peso del 4-aminofenol	0,0545	1,0026	1,1022 g	1,2607 g

Tabla A4 Valores utilizados y obtenidos de la reacción de obtención de acetaminofén.

	1	2	3	4
Volumen de anhídrido acético	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL
Peso del acetaminofén	1,0323 g	0,1428 g	1,4256 g	1,0330 g

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Shirley Fernanda Morocho Pangul, con CC. 1722653365, autora del trabajo de graduación titulado: “Estudio químico y computacional del acetaminofén.”, previa la obtención del grado académico de **LICENCIADA EN CIENCIAS QUÍMICAS CON MENCIÓN EN QUÍMICA ANALÍTICA** en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENECYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.
2. Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

Quito, 06 de Febrero de 2017.

Srta. Shirley Fernanda Morocho Pangul
1722653365