Mon
660.28448
A454
2009

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

Trabajo de Diploma para Optar al Título de

Ingeniero Químico

ESTUDIO DE ANTIOXIDANTES PRESENTES EN EL NONI COMO INHIBIDORES DE LA POLIMERIZACIÓN RADICAL EN CADENA DEL ESTIRENO

Presentado por:

Br. Juan Manuel Alonso Santos

Tutor:

Dr. Ramiro Guerrero Santos
Investigador Titular del Centro de Investigación en Química Aplicada – CIQA
Saltillo, Coah., México

Managua, Nicaragua, Abril de 2009

Dedicatoria

Este logro lo dedico:

A Dios, primeramente, por otorgarme la vida, salud y darme la sabiduría necesaria para culminar mi carrera.

A mis padres Inés Santos Jirón y Juan Alonso Sánchez, por educarme, por ser mi guía, mi motivación y mi ejemplo de superación; por todo su amor, apoyo y por los sacrificios que han hecho para culminar mi carrera.

A la memoria de mis queridos abuelos Cándida Jirón y Eudoro Santos.

A mi Familia por ser mi sustento y lo más valioso que poseo. A mi hermana María Caridad Alonso y mi tía Amalia Santos por su cariño y apoyo incondicional.

A todos mis amigos que me apoyaron constantemente a lo largo de estos años.

A mis maestros, quienes me han guiado en el camino del saber y quienes me han enseñado además de ciencias, letras y números, importantes lecciones para la vida.

A todas las personas que de una u otra manera me ayudaron a alcanzar esta meta que permite culminar hoy una importante etapa de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó gracias al convenio de colaboración entre la Universidad Nacional de Ingeniería (**UNI**) en Managua, Nicaragua y el Centro de Investigación en Química Aplicada (**CIQA**) en Saltillo, México.

La beca que permitió desarrollar esta tesis en México fue obtenida gracias al Dr. Ramiro Guerrero Santos mediante el proyecto P0819 de Resirene: "*Método para la preparación de copolímeros en bloques mediante polimerización radicálica empleando agentes de transferencia de cadena, y su empleo en poliestirenos diferenciados*".

Agradecimientos al **CONACYT** por el apoyo otorgado a través del proyecto C01−46033: "*Diseño y Síntesis de Nuevos agentes de transferencia de Cadena para polimerizaciones controladas*" Responsable: Dr. Ramiro Guerrero.

Deseo manifestar mi profundo agradecimiento a todas las personas en CIQA que colaboraron en la realización de este trabajo, en especial:

Al Dr. Ramiro Guerrero Santos por su gestión que permitió llevar a cabo esta investigación y por su valiosa ayuda como tutor y dirección en el desarrollo y culminación de esta tesis.

A Msc. Hortensia Maldonado Textle, por su guía, paciencia y buena voluntad para ayudarme siempre que lo necesité y cuya enseñanza me permitió desarrollar este trabajo.

A mis compañeros y amigos de laboratorio Carlos Espinoza, Lidia Verduzco, Judith Cabello, Javier Enríquez, Miguel Macías, Julia Medrano, Memo, Isabel y Omar por su amistad, por los buenos momentos que pasamos y por su constante ayuda y colaboración.

A mis amigos Lilliam Morales, Edmud Pérez, Márjoree Dávila, Mario Cano, Rosa Argentina, Gustavo Guzmán, por su ayuda y apoyo desinteresado, y a todos aquellos que me ofrecieron su amistad y apoyo durante mi estancia en México.

A la Facultad de Ingeniería Química de la UNI, especialmente a Msc. Luz Violeta Molina, Decano de la Facultad, que contribuyó para que esta tesis se desarrollara en el mejor centro investigativo de polímeros en México (CIQA).

A Lic. Marlene del Carmen López por el amable servicio y atención que me brindó durante mi carrera, facilitándome el material necesario en el CEDOC-FIQ.

Al Sr. Luis López quien me ha apoyado y brindado su ayuda incondicional siempre.

FACULTAD DE INGENIERIA QUIMICA

RESUMEN

Este trabajo consistió en la extracción de antioxidantes naturales del fruto y raíz de *Morinda citrifolia L.* (Noni) para probar su actividad inhibidora en la polimerización radical libre del estireno, en presencia de un iniciador. El procedimiento de extracción de los antioxidantes de la raíz se desarrolló en base al método de Singh, 2006 [(1)] donde se reporta la obtención de antraquinonas muy importantes como el damnacantal.

Se llevaron a cabo distintas polimerizaciones a tiempos de 15 min a 15 horas con los extractos de fruto y raíz de Noni, al igual que con hidroquinona (inhibidor), todos al 1% en peso, y polimerizaciones en ausencia de inhibidor (blanco).

La actividad inhibidora de los extractos y de la hidroquinona se midió principalmente mediante el análisis de la curva de distribución de pesos moleculares de los polímeros obtenidos por medio de la técnica de GPC y también se utilizó la conversión del polímero como criterio comparativo.

Se realizaron caracterizaciones en los extractos de raíz de Noni donde la actividad inhibidora fue evidente, confirmando la presencia de antraquinonas como los principales antioxidantes en el extracto clorofórmico de raíz. El análisis de RMN de protón indicó la presencia de múltiples compuestos en el extracto de fruto, por lo que no fue posible identificar compuestos de interés como se logró con el extracto de raíz.

La actividad inhibidora de los extractos de Noni fue notoria al comparar los gráficos de conversión vs tiempo de los extractos, hidroquinona y blanco. El más efectivo fue el extracto clorofórmico de raíz, OR-α, cuyo tiempo de inhibición fue de 15 min. El extracto de fruto, OR-1a, mostró un efecto inhibidor pero éste fue más débil. La hidroquinona produjo la menor conversión a tiempos mayores que 2 horas y polímeros con los menores pesos moleculares promedio, aunque con un tiempo de inhibición muy pequeño. Sin embargo, la eficiencia del extracto de raíz para disminuir el peso molecular del poliestireno fue muy cercana a la hidroquinona mostrando resultados muy favorables.

Esto demuestra que en los extractos de Noni existen compuestos con capacidad inhibidora. Se identificaron a las antraquinonas como los compuestos más efectivos en el Noni para inhibir la polimerización y reducir el peso molecular del polímero. Esta actividad inhibidora fue notable si se toma en cuenta que la concentración de inhibidores en los extractos fue baja y la proporción molar de iniciador fue mayor que la de inhibidores al polimerizar estireno con extractos de Noni.

Las antraquinonas son uno de los grupos de compuestos fitoquímicos más importantes en el Noni y se encuentran localizados principalmente en la raíz, indicando que ésta sería la fuente más prometedora para obtener inhibidores para la polimerización radical en cadena. Este trabajo definitivamente puede abrir un nuevo campo de investigación hasta ahora inexplorado, llevando al descubrimiento de inhibidores naturales con igual o mejor capacidad inhibidora que los inhibidores comerciales y posiblemente con un método de obtención más económico.

Palabras Clave: *Noni, Morinda citrifolia, antioxidantes, inhibición, estireno, polimerización radical en cadena, antraquinonas, hidroquinona, GPC, RMN, peso molecular promedio.*

ABSTRACT

This work consisted in the extraction of natural antioxidants from fruit and roots of *Morinda citrifolia L.* (Noni) in order to test its inhibitory activity in radical free polymerization of styrene. The extraction procedure of antioxidants located in roots was developed on the basis of Singh's method (2006) [(1)], where the obtaining of very important anthraquinones such as damnacanthal is reported.

Different polymerizations were carried out in times from 15 minutes to 15 hours with Noni´s fruit and roots extracts, as with hydroquinone (inhibitor), all to 1% weight; and polymerizations in absence of inhibitor (reference).

The inhibitory activity of Noni extracts and hydroquinone was measured principally through the analysis of polymer's molecular weight distribution obtained by means of GPC technique, using the conversion of polymer as well as a comparative judgment.

Characterizations of Noni root extracts were developed where the inhibitory activity was evident, confirming the presence of anthraquinones as the main antioxidants in the root chloroform extract. RMN's proton analysis indicated the presence of multiple compounds in fruit's extract, which is why it wasn't possible to identify interest compounds as it was achieved with root extract.

The inhibitory activity of Noni extracts was remarkable when comparing the conversion vs time plots of extracts, hydroquinone and reference. The most effective was chloroform root extract, OR-α, whose inhibition time was 15 min. Fruit extract, OR-1a, showed an inhibitory effect, but this was weaker. Hydroquinone caused the minor conversion in times higher than 2 hours and the lowest average molecular weight of polymers as well, but with a very small inhibition time. However, root extract efficiency was very close to hydroquinone, showing highly favorable results to decrease the molecular weight of polystyrene.

This proves that compounds with inhibitory capacity exist in Noni extracts. Anthraquinones were identified as the most effective compounds in Noni to inhibit polymerization and to reduce polymer molecular weight. This inhibitory activity was notable considering that the concentration of inhibitors in extracts was low and the rate of molar initiator was higher than inhibitors in the polymerization of styrene with Noni extracts.

Anthraquinones are one of the most important phytochemical compounds found in Noni and are mainly located in roots, showing that this would be the most promising source to obtain inhibitors for radical chain polymerization. This work can definitively open a new investigation field until now unexplored, leading to the discovery of natural inhibitors with equal or better inhibitory capacity than commercial inhibitors and possibly with a more economic method of obtaining.

Keywords: *Noni, Morinda citrifolia, antioxidants, inhibition, styrene, radical chain polymerization, anthraquinones, hydroquinone, GPC, RMN, average molecular weight.*

TABLA DE CONTENIDO

Dedicatoria i
Agradecimientos ii
Carta de Aprobación de Tesis iii
Carta del Investigador Guía iv
Resumen v
Abstract vi
1. INTRODUCCIÓN 1
2. ANTECEDENTES 2
2.1. El Noni: Interés Científico, Estudios y Patentes 2
2.2. Inhibidores de Polímeros: Desarrollo Comercial e Investigaciones 4
2.3. Estudios Similares Relacionados con este Tema 5
3. JUSTIFICACIÓN 6
4. OBJETIVOS 7
4.1. Objetivo General 7
4.2. Objetivos Específicos 7
5. REVISION DE LITERATURA 8
5.1. El Noni 8
5.1.1. Origen y Distribución 8
5.1.2. Descripción Botánica 8
5.1.2.1. Hojas 8
5.1.2.2. Flores 8
5.1.2.3. Frutos 9
5.1.2.4. Semillas 9
5.1.3. Clasificación Científica 9
5.1.4. Productividad 10
5.1.5. Preferencias Medioambientales y Tolerancia 10
5.1.6. Composición Química del Noni 11
5.1.7. Propiedades y Estudios realizados 12
5.1.7.1. Efectos Anti-microbianos 12
5.1.7.2. Actividad Anti-cáncer 15
5.1.7.3. Propiedades Anti-oxidantes 15
5.1.7.4. Actividad Anti-inflamatoria 16
5.1.7.5. Actividad Analgésica 16
5.1.7.6. Actividad Cardiovascular 16
5.1.8. Procesamiento y Comercialización del Noni 16

5.1.8.1. Principales Productos Comerciales del Noni 17
5.2. Polímeros 18
5.2.1. Tipos de Polímeros y Polimerizaciones 18
5.2.1.1. Polímeros según su estructura 18
5.2.1.2. Polímeros según mecanismo de polimerización 19
5.3. Estireno y Poliestireno 20
5.4. Polimerización Radical en Cadena 21
5.4.1. Cinética de la Polimerización Radical en Cadena 22
5.4.1.1. Expresión de la Ley de Velocidad 23
5.5. Inhibición y Retardación 25
5.5.1. Cinética de la Inhibición y Retardación 26
5.5.2. Tipos de Inhibidores y Retardantes 27
5.5.2.1. Radicales Estables 27
5.5.2.2. Oxígeno 27
5.5.2.3. Fenoles 28
5.5.2.4. Quinonas 29
5.5.2.5. Fenotiazina 30
5.5.2.6. Nitronas, Nitro- y Nitroso- Compuestos 30
5.5.2.7. Sales de Metales de Transición 30
5.6. Técnicas de caracterización de polímeros y compuestos orgánicos 31
5.6.1. IR 31
5.6.2. RMN 32
5.6.3. GPC 34
6. HIPÓTESIS 36
7. MATERIAL Y MÉTODO 37
7.1. Materiales 37
7.1.1. Reactivos, Solventes y Otros 37
7.1.1.1. Reactivos 37
7.1.1.2. Solventes 37
7.1.1.3. Auxiliares 37
7.1.2. Equipos 37
7.1.2.1. Cristalería y Material de Laboratorio 37
7.1.2.2. Equipos de Caracterización Físicoquímica 38
7.2. Métodos 39
7.2.1. Extracción de los compuestos antioxidantes del fruto y raíz de Noni 39

7.2.1.1. Extracción de Antioxidantes del Fruto 39
7.2.1.2. Extracción de Antioxidantes de la Raíz 39

7.2.2. Polimerizaciones de estireno en presencia de extractos antioxidantes 42
7.2.3. Purificación, Análisis y Caracterización de Polímeros Obtenidos 43
7.2.4. Aislamiento de Antraquinonas con propiedades anti-cancerígenas del Extracto de Raíz de Noni. 44
7.2.5. Caracterización de Compuestos Antioxidantes (RMN, GPC, IR, EM-CG) .. 46

7.2.5.1. Caracterización en RMN 46
7.2.5.2. Caracterización en IR 47
7.2.5.3. Caracterización en EM-CG 47
7.2.5.4. Caracterización en GPC 47

7.2.6. Descripción de los experimentos 48

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 51

8.1. Extracción de los antioxidantes 51
8.2. Caracterización de Compuestos Antioxidantes 51

8.2.1. Extracto de fruto 51
8.2.1. Aislamiento de Antraquinonas de la raíz: 51

8.2.1.1. Caracterización en RMN 51
8.2.1.2. Caracterización en IR 52
8.2.1.3. Caracterización en GPC 52

8.3. Polimerizaciones de Estireno y Antioxidantes 53

8.3.1. Gráficos de Conversión vs Tiempo para cada Experimento 53
8.3.1. Resultados en GPC de las polimerizaciones 56

8.3.1.1. Distribución de Pesos Moleculares 56
8.3.1.2. Análisis General de las Polimerizaciones en presencia de Antioxidantes 58
8.3.1.3. Análisis de Pesos Moleculares Promedio y Polidispersidad 59
8.3.1.4. Resultados de GPC para el experimento 5 62

9. CONCLUSIONES 65
10. RECOMENDACIONES 66
11. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES 67
12. BIBLIOGRAFÍA 68
ANEXOS 73
Apéndice A Nomenclatura 74
Apéndice B Glosario 75
Apéndice C Cálculos 78
C-1. Cálculos de Conversión 78

Apéndice D Fotos de Experimentos 80
Apéndice E Caracterización de Polímeros y Compuestos Extraídos del Noni 83
E-1. Espectros de RMN 83
E-3. Espectros de IR 96
Apéndice F Estructura Química de Algunos Compuestos del Noni 107
Apéndice G Artículos Científicos Relacionados 109

Índice de Tablas

Tabla 2-1. Patentes publicadas en América Latina relacionadas con el Noni 3
Tabla 5-1. Composición físico-química del jugo de Noni 9
Tabla 5-2. Clasificación Científica del Noni 10
Tabla 5-3. Ubicación de compuestos químicos en la planta de Noni 13
Tabla 5-4. Tipos de polimerizaciones en cadena de varios monómeros insaturados 21
Tabla 5-5. Constantes de inhibición de la polimerización del estireno a 60 °C 27
Tabla 5-6. Constantes de transferencia de cadena para retardación/inhibición en estireno a 60°C 31
Tabla 8-1. Comparación de conversión vs tiempo para las distintas polimerizaciones 55
Tabla 8-2. Pesos moleculares promedio de polímeros obtenidos a 5 horas 59
Tabla 8-3. Pesos moleculares promedio de polímeros obtenidos a 10 horas 60
Tabla 8-4. Pesos moleculares promedio de polímeros obtenidos a 15 horas 61
Tabla 11-1. Cronograma de Actividades para la realización del Protocolo y Tesis 67
Tabla C-1. Cálculo de conversión para la polimerización del blanco 78
Tabla C-2. Cálculo de conversión para la polimerización de estireno con extracto de fruto de Noni 78
Tabla C-3. Cálculo de conversión para la polimerización de estireno con extracto clorofórmico de raíz de Noni 78
Tabla C-4. Cálculo de conversión para la polimerización de estireno con extracto etanólico de raíz de Noni 79
Tabla C-5. Cálculo de conversión para la polimerización de estireno con hidroquinona 79
Tabla C-6. Cálculo de conversión para la polimerización de estireno con polímero formado en presencia de inhibidor OR-1a 79

Índice de Figuras

Figura 2-1. Artículos científicos publicados por año relacionados con el Noni 2
Figura 2-2. Patentes publicadas por año relacionadas con el Noni 3
Figura 2-3. Clasificación de patentes relacionadas con el Noni según el campo de aplicación 4
Figura 5-1. Clasificación básica de las polimerizaciones 19
Figura 5-2. Inhibición y Retardación en la polimerización térmica auto-iniciada del estireno a 100°C. 25

Figura 5-3 Radicales comunes que actúan como inhibidores de la polimerización radicálica 28
Figura 5-4. Mecanismo de adición del oxígeno en la polimerización radicálica 28
Figura 5-5. Inhibidores fenólicos más comunes 28
Figura 5-6. Esquema de reacción de los fenoles con los radicales libres en presencia de oxígeno 29
Figura 5-7. Mecanismo de reacción de un inhibidor fenólico con radicales libres 29
Figura 5-8 Mecanismo de inhibición de las quinonas con radicales libres 29
Figura 5-9 Mecanismo de reacción del nitrobenceno con radicales libres 30
Figura 5-10. Diagrama simplificado de varios grupos funcionales comunes con absorciones muy características en IR 32
Figura 5-11. Regiones generales de absorción para ^{1}H RMN 33
Figura 5-12. Regiones de absorción en RMN para compuestos que forman enlaces de hidrógeno 33
Figura 5-13. Distribución de pesos moleculares en una muestra típica de polímero 34
Figura 7-1. Esquema del sistema utilizado para las extracciones de la raíz de Noni 40
Figura 7-2. Procedimiento de extracción de antioxidantes de la raíz de Noni 41
Figura 7-3. Procedimiento para realizar la polimerización radical libre del estireno con los extractos antioxidantes de Noni 43
Figura 8-1. Gráfico conversión vs tiempo para el experimento 1. 53
Figura 8-2. Gráfico conversión vs tiempo para el experimento 2a. 53
Figura 8-3. Gráfico conversión vs tiempo para el experimento 2b. 54
Figura 8-4. Gráfico conversión vs tiempo para el experimento 3. 54
Figura 8-5. Gráfico conversión vs tiempo para el experimento 4. 55
Figura 8-6. Distribución de pesos moleculares de polimerizaciones a tiempos de 5 horas 56
Figura 8-7. Distribución de pesos moleculares de polimerizaciones a tiempos de 10 horas 57
Figura 8-8. Distribución de pesos moleculares de polimerizaciones a tiempos de 15 horas 58
Figura 8-9. Comparación de PM promedio de polímeros a 5h 60
Figura 8-10. Índice de polidispersidad de polímeros a 5h 60
Figura 8-11. Comparación de PM promedio de polímeros a 10h 61
Figura 8-12. Índice de polidispersidad de polímeros a 10h 61
Figura 8-13. Comparación de PM promedio de polímeros a 15h 62
Figura 8-14. Índice de polidispersidad de polímeros a 15h 62
Figura 8-15. Distribución de pesos moleculares para el experimento 5a, ... 62
Figura 8-16. Distribución de pesos moleculares para el experimento 5b 63
Figura 8-17. Distribución de pesos moleculares para el experimento 5c 63
Figura F-1. Estructuras químicas de moléculas presentes en el Noni 107

1. INTRODUCCIÓN

La ciencia de los polímeros ha avanzado mucho en los últimos años. Cada día encontramos novedosas aplicaciones en campos diversos como la medicina, óptica, electrónica, etc. Hoy en día existen, por ejemplo, polímeros tan diversos como los biodegradables y bio-conjugados, así como polímeros ultra-resistentes, copolímeros con propiedades de cristal líquido y, frecuentemente, se adicionan a esta breve lista nuevos productos con propiedades increíbles.

Ciertos aditivos son necesarios en el proceso de elaboración de polímeros, ya sea de los plásticos de ingeniería que se producen en pequeñas cantidades, o de los plásticos de comodidad (comunes) que se producen a gran escala.

Uno de los elementos que juegan un papel importante en la elaboración de prácticamente cualquier tipo de plástico son los inhibidores. Estos se utilizan frecuentemente en las polimerizaciones en cadena que operan por radicales libres. Los inhibidores son moléculas de bajo peso molecular que evitan que el monómero sufra reacciones de auto-polimerización durante su manufactura, transporte y almacenamiento.

Durante el proceso de polimerización tales inhibidores deben ser eliminados o consumidos por reacciones específicas antes de que el monómero polimerice. Industrialmente, la manera más viable desde el punto de vista económico es su transformación en especies no reactivas por la interacción con los propios radicales libres producidos por el iniciador.

En ausencia de estos compuestos los monómeros auto-polimerizan exotérmicamente poniendo en peligro los contenedores y las instalaciones. Para este motivo, se han desarrollado diversos inhibidores comerciales que detienen la formación de radicales libres, evitando la polimerización.

Así, la importancia comercial de los inhibidores es enorme pues tiene el rol de preservar la integridad de los monómeros vinílicos desde su producción hasta el momento en que estos lleguen al reactor de polimerización. Los inhibidores de origen sintético se usan desde hace muchos años en el proceso de fabricación de plásticos. Muchos de ellos, como la hidroquinona, han mostrado gran eficiencia.

Sin embargo estos inhibidores suelen ser costosos, por lo que resultaría beneficioso encontrar una fuente natural que provea inhibidores cuyo proceso de obtención sea más barato que el de los inhibidores sintéticos.

En el presente trabajo se ha extraído antioxidantes de la planta *Morinda citrifolia L.* (Noni) para determinar si estos compuestos pueden ser integrados a la lista de inhibidores de gran eficiencia, es decir, con la suficiente capacidad para poder detener la polimerización de forma similar a los inhibidores comerciales. Este es el primer estudio dirigido hacia encontrar usos alternativos a los antioxidantes contenidos en la planta Noni, distintos al uso en medicina alternativa.

El Noni es una de las fuentes naturales más adecuadas para utilizarse en este tipo de estudio, debido a que existen muchas fuentes científicas que respaldan la capacidad antioxidante y atrapadora de radicales de sus extractos [(2)]. Además, nuestro país posee las condiciones agrícolas y climáticas adecuadas para cultivar el Noni, de modo que este estudio podría originar una nueva aplicación comercial para diversificar el mercado de este producto.

2. ANTECEDENTES

2.1. El Noni: Interés Científico, Estudios y Patentes

La civilización moderna descubrió el Noni en el siglo XVIII cuando los franceses exploraron las islas de la Polinesia. Sin embargo fue hasta el año 1887 cuando el Noni aparece por primera vez en una publicación científica.

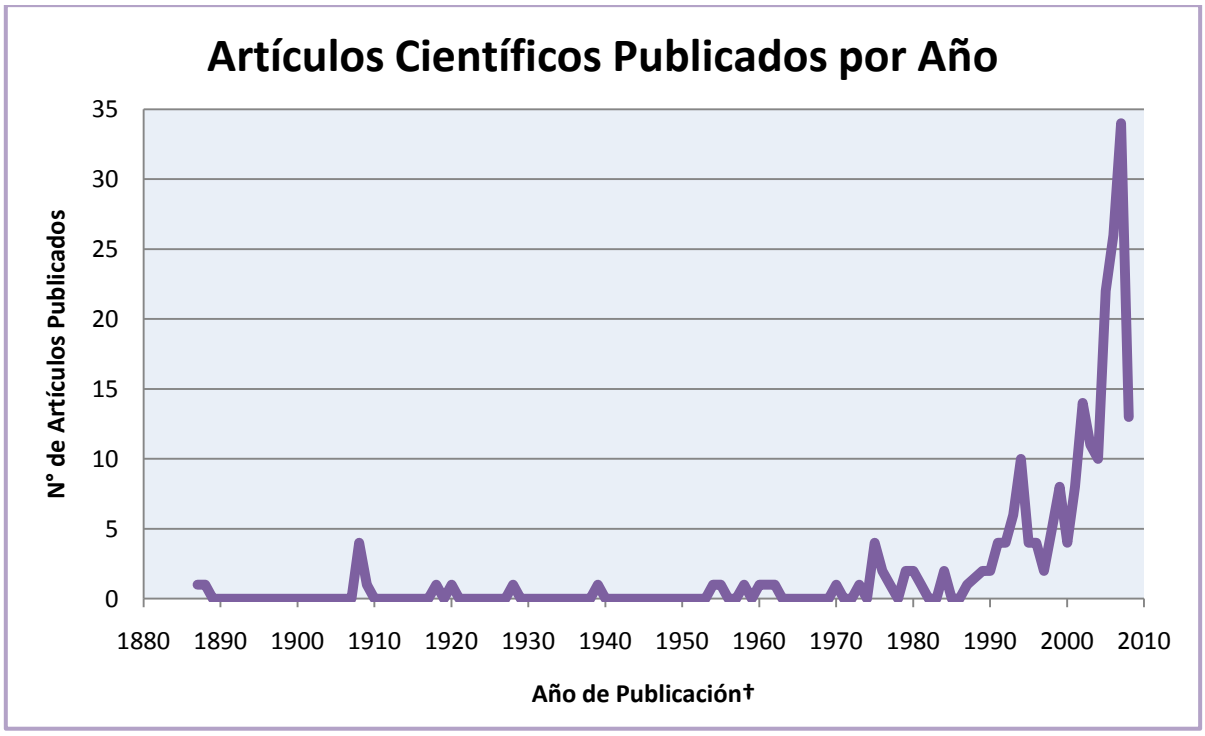
Los primeros trabajos científicos [3,4] donde se estudió el Noni consistían en la búsqueda de nuevos colorantes naturales para tintes en la industria textil, puesto que se extraen tintes de algunas especies de la familia botánica a la que pertenece el Noni (las *Rubiaceae*).

A inicios del siglo XX los estudios científicos se orientaron hacia la investigación de los constituyentes de la raíz, tallo y corteza del Noni [5-7]. Sin embargo no fue sino hasta la década de 1950 y 1960 que se estudian las propiedades medicinales del Noni con rigor científico [8,9].

A partir de esta fecha se observa un incremento significativo en el número de estudios relacionados con esta planta, debido a los resultados asombrosos de trabajos precursores que indicaban que el Noni poseía una capacidad para corregir alteraciones del organismo. Es entonces cuando se inicia una gran cantidad de estudios orientados a probar la capacidad del Noni para combatir una amplia gama de enfermedades que continúa en el presente.

En la Figura 2-1 se observa un gráfico que muestra el número de publicaciones relacionadas con el Noni por año, las cuales suman 227 hasta mayo del 2008.

Figura 2-1. Artículos científicos publicados por año relacionados con el Noni[1]



† El último valor de la curva corresponde a las publicaciones desde enero a mayo del 2008.

[1] Datos obtenidos con el SciFinder Scholar ©

Un caso muy similar ocurre con el número de patentes publicadas. La primera patente surgió en el año 1981 y desde entonces la cantidad de patentes que han sido publicadas ha tenido un crecimiento exponencial.

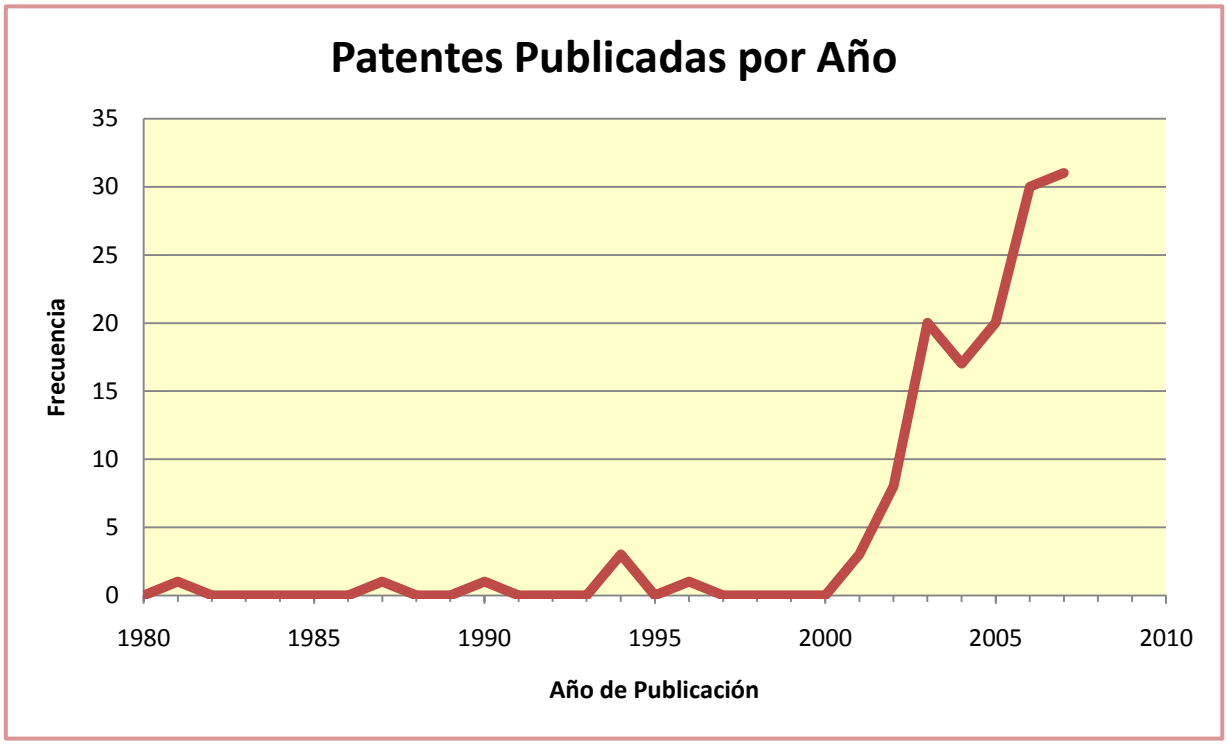
Hasta la fecha existen 146 patentes, de las cuales sólo 5 corresponden a América Latina (4 en México y 1 en Argentina). El 75% de las patentes se han publicado desde el año 2003, demostrando el creciente interés en el desarrollo de productos comerciales basados en el Noni. Este interés creció gracias a los resultados de trabajos científicos en el área de la medicina natural.

Tabla 2-1. Patentes publicadas en América Latina relacionadas con el Noni

Nº	Ref.	TITULO
1	MX2005PA03230	Uso de extractos activos para mejorar la apariencia de la piel, labios, cabello y/o uñas.
2	MX2002PA02144	Fibra dietética de Morinda citrifolia.
3	MX2002PA02145	Aceite de Morinda citrifolia.
4	AR2007P100251	Productos con Morinda citrifolia para su administración a animales
5	MX2006PA01651	Efectos preventivos de Morinda citrifolia en cáncer de pecho y mamario.

La Figura 2-2 muestra las patentes publicadas por año y la Figura 2-3 una clasificación de estas patentes según el uso del producto.

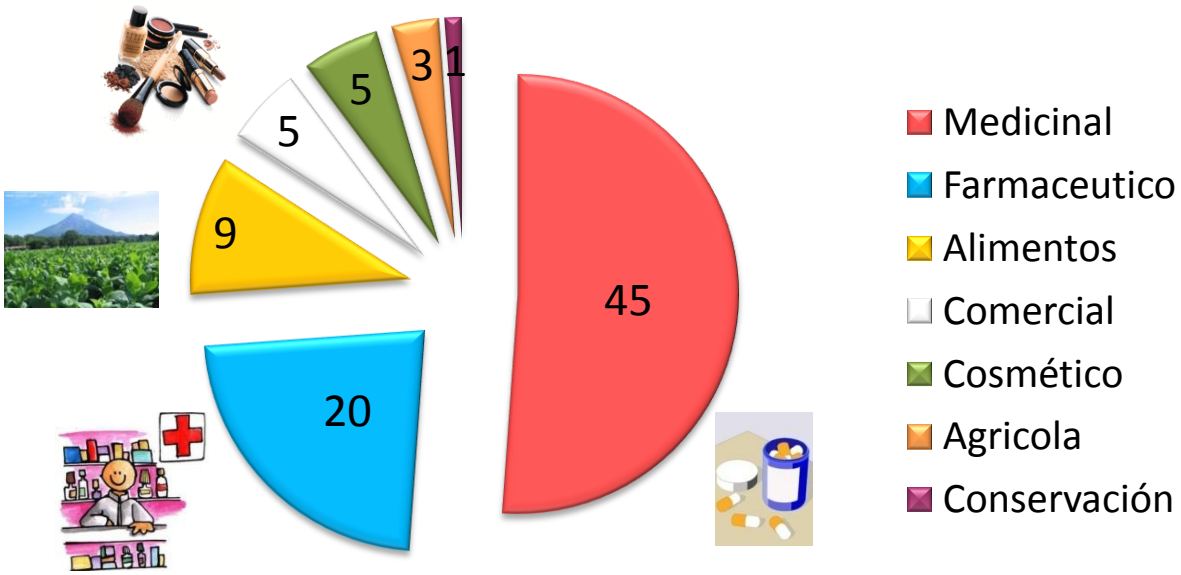
Figura 2-2. Patentes publicadas por año relacionadas con el Noni[2]



Un 52% de las patentes están relacionadas con el fruto, el 23% con las hojas, un 13% con las semillas, un 8% con la raíz y un 4% con el tallo de la planta Noni.

[2] Idem

Figura 2-3. Clasificación de patentes relacionadas con el Noni según el campo de aplicación



Las publicaciones recientes (a partir de la década de 1970) han estado relacionadas en su mayoría con la investigación de las propiedades medicinales del Noni para curar o prevenir diversas enfermedades: cáncer, diabetes, hepatitis, artritis, inflamación, fatiga y sobrepeso entre otras.

Diversas investigaciones [2,10-12] aportaron evidencia de que el Noni posee muchos compuestos que actúan como "atrapadores de radicales" esto nos incitó a utilizarlos en el área de polímeros, animados por la presunción de que este estos compuestos puedan ser útiles como inhibidores y, más aún, que dicha inhibición fuera reversible, como ocurre en el caso de la inhibición de polimerizaciones radicálicas en presencia de radicales estables (REF).

En publicaciones recientes [1,10,13-14] se describen diversos procedimientos para obtener muchos de estos antioxidantes hasta ser finalmente caracterizados para asegurar su identidad química; lo que indica que se debe seguir un procedimiento similar en esta tesis para obtener estos compuestos con actividad biológica.

2.2. Inhibidores de Polímeros: Desarrollo Comercial e Investigaciones

El uso de inhibidores en las reacciones de polimerización inició desde que se desarrollaron los procesos industriales para producir plásticos. Este uso surge a partir de la necesidad de evitar que los monómeros producidos polimerizaran desde el período en que se almacenaban y transportaban hasta que se llevase a cabo la polimerización. Un ejemplo característico es el del estireno, el cual puede polimerizar sin necesidad de utilizar un iniciador (polimerización térmica auto-iniciada).

El interés en el estudio y desarrollo de inhibidores para las reacciones de polimerización despertó en los años 40[3]. Las primeras publicaciones científicas sobre el uso de inhibidores corresponden a Kimijima *et. al.* y Tamayo *et. al.* en 1943 [15]. En esa misma década también se publicaron otros trabajos orientados hacia el estudio de nuevos inhibidores [16].

[3] Datos obtenidos en el buscador SciFinder Scholar

2.3. Estudios Similares Relacionados con este Tema

Hasta la fecha existen muy pocas publicaciones relacionadas con el estudio de compuestos provenientes de fuentes naturales para su uso como novedosos inhibidores de polimerizaciones. Estos documentos corresponden a las publicaciones citadas en las referencias 17−19.

Sin embargo, estos trabajos no están orientados directamente hacia la caracterización de inhibidores naturales para detener la polimerización de monómeros industriales tales como el estireno. En el presente trabajo, no sólo se obtendrán antioxidantes naturales del Noni, también se evaluarán sus propiedades como inhibidores.

El trabajo de White, Pamela J. (1995) [17] consistió en la extracción de antioxidantes de la avena para inhibir la polimerización de aceites cuando se utilizan en frituras. Los extractos metanólicos de estos antioxidantes se probaron en aceites de algodón y de soya mantenidos a temperaturas de 30 y 60°C en condiciones de luz y oscuridad, respectivamente.

Los valores de peróxido (PV) de los aceites que contenían el extracto fueron significativamente menores que los aceites de control (sin extracto) y ligeramente menores que los que contenían TBHQ (*ter*-butil hidroquinona) durante el almacenamiento. La cromatografía por exclusión de tamaño de alto rendimiento de los aceites calentados a 180 °C indicó menores incrementos en el peso molecular en los aceites que tenían el extracto que los que contenían TBHQ y los de control.

El trabajo de Berger, J. (2006) [18] consistió en la investigación de 50 extractos de 25 especies de plantas de la región de Norteamérica como inhibidores de la polimerización de la β-hematina en condiciones fisiológicas. El objetivo fue la búsqueda de compuestos antimaláricos, puesto que se cree que la cloroquina y otras quinolinas poseen actividades antimaláricas gracias a la capacidad de inhibir la β-hemazoina, espectrométricamente idéntica a la β-hematina. Se encontraron 9 extractos que poseen capacidad inhibidora débil, en los cuales se identificaron el alfa-tocoferol y beta-caroteno.

En el trabajo de Levchuk, (2008) [19] se identificó un inhibidor potencial altamente efectivo de procesos de termopolimerización industrial, el compuesto polifenólico dihidroquercetine (DHQ) localizado en la madera conífera y obtenido por extracción selectiva. DHQ muestra una alta capacidad inhibidora en el proceso de pirólisis de hidrocarburos del petróleo y sus ventajas sobre los compuestos fenólicos residen en el procesamiento pirogénico de la madera.

En definitiva, este estudio explota un campo hasta ahora inexplorado en el área de polímeros, puesto que no se han desarrollado trabajos anteriores relacionados con la obtención de nuevos inhibidores de fuentes naturales como sustitutos de los inhibidores sintéticos para los procesos industriales de polimerización.

3. JUSTIFICACIÓN

La industria de los polímeros es sin duda una de las ramas más amplias y más interesantes de la ingeniería química. Los compuestos orgánicos de mayor producción a nivel mundial son monómeros como el etileno, destinados a la industria de los plásticos [(20)].

Cada año se producen millones de toneladas de polímeros en el mundo. La producción mundial de etileno en el 2005 fue de 107 millones de toneladas y se espera que para el 2009 alcance los 132 millones[4]. La demanda mundial de polietileno en el 2003 alcanzó las 50 millones de toneladas, pronosticando un aumento de más de 4% anual[5].

Las plantas químicas que producen los diversos plásticos deben adquirir grandes cantidades de materia prima de plantas ubicadas a cientos o miles de kilómetros donde producen el monómero. Esto representa un problema relevante en cuestión de calidad, ya que muchos monómeros, como el estireno, tienden a polimerizar espontáneamente aún a bajas temperaturas. A pesar de que el grado de polimerización en estas circunstancias es menor que el 1%, la planta debe utilizar el monómero en forma pura y la presencia de polímero en la materia prima afecta negativamente la cadena de producción.

Esta polimerización prematura es indeseable. Por ello, se agregan inhibidores a los monómeros para que no ocurra polimerización durante el almacenamiento o embarque.

Sin embargo, estos aditivos suelen ser costosos por su proceso de producción, por lo que resultaría beneficiosa la aplicación de nuevos aditivos extraídos de fuentes naturales.

El Noni es una planta que recientemente ha sido objeto de muchos estudios [(2)], revelando numerosas y sorprendentes propiedades, entre las que destacan la de poseer numerosos antioxidantes presentes en altas cantidades que no se encuentran de esta forma en otras plantas.

Muchos de estos antioxidantes pertenecen a la misma familia de compuestos que constituyen uno de los antioxidantes más efectivos, como son las quinonas; hecho que ubica al Noni como una fuente prometedora de posibles compuestos inhibidores especiales.

En Nicaragua, el Noni tiene gran potencial como nuevo producto agrícola. Además de que nuestro país posee condiciones excelentes para el cultivo de Noni, la planta ha adquirido un creciente interés comercial; lo que representa un campo relativamente nuevo y prometedor para ser explotado en el mercado.

Es por esto que resultó atractivo estudiar una novedosa aplicación de la planta de Noni en el área de polímeros. Aunque se demuestre que los antioxidantes del Noni no tienen la eficiencia suficiente para usarlos en polímeros, se habrá abierto un nuevo e interesante campo de investigación.

De obtener resultados positivos, se comprobaría lo versátil que resulta ser esta planta, demostrando que las aplicaciones del Noni son tan numerosas como interesantes.

[4] http://www.yarnsandfibers.com/textile-reports/ethylene.htm
[5] World polyethylene; http://www.mindbranch.com/listing/product/R154-171.html

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

- Determinar la efectividad de los antioxidantes extraídos de la raíz y del fruto de *Morinda citrifolia* (Noni) como inhibidores en la reacción de polimerización radical en cadena del estireno.

4.2. Objetivos Específicos

- Extraer los compuestos antioxidantes del fruto y raíz de Noni.
- Determinar el efecto de estos antioxidantes en la reacción de polimerización del estireno, por medio de caracterización en *GPC*, usando como criterios la conversión y distribución del peso molecular del polímero formado.
- Establecer qué extracto del Noni posee la mejor actividad inhibidora para la polimerización radical en cadena del estireno.
- Comparar la efectividad de los antioxidantes presentes en el Noni con un inhibidor común: la hidroquinona.

5. REVISION DE LITERATURA

5.1. El Noni

5.1.1. Origen y Distribución

Morinda citrifolia, conocida en muchas regiones como Noni, es una planta originaria de la región del sureste Asiático y Oceanía [(2)].

El Noni crece abundantemente y de forma silvestre en toda la región del Pacífico y es una de las fuentes más importantes de medicina para muchos pueblos alrededor de las islas de este océano. Los Polinesios lo han utilizado en su medicina tradicional desde hace más de 2000 años [(21)].

Este arbusto o árbol pequeño se encuentra actualmente distribuido en la región pantrópica del planeta. Su distribución actual comprende la Polinesia del Este (Hawaii, islas Line, Marquesas, islas Sociedad, Australes, Tuamotus, Pitcairn e islas Cook); Melanesia (Fiji, Vanuatu, Nueva Guinea, Nueva Caledonia y las islas Salomón); Polinesia del Oeste (Samoa, Tonga, Niue, ´Uvea/Futuna, Rotuma y Tuvalu), Micronesia (Pohnpei, Guam, Chuuk, Palau, islas Marshall y las Marianas del norte), Indonesia, Australia, India u el sureste de Asia.

Morinda citrifolia también se ha naturalizado en las costas de América Central y América del Sur (desde México hasta Panamá, Venezuela y Surinam) y en muchas islas de las Indias del Este, las Bahamas, Bermudas, los cabos de Florida y partes de África [(22)].

5.1.2. Descripción Botánica

El nombre botánico para el género (*Morinda*) se deriva de las dos palabras latinas *morus*: mora, e *indicus*: india en referencia a la similitud de la fruta con la mora de la india (*Morus alba*). El nombre de la especie, *citrifolia*, está indicado por su parecido al follaje de algunas especies de cítricos.

Es una planta cuya altura alcanza de los 3 a los 10 metros de alto en su estado de madurez. Posee ramas de color verde y sin tricomas; su corteza externa es lisa, con estipulas interpeciolares, redondeadas, de 6 a 20 mm de largo [(23)].

5.1.2.1. Hojas

Las hojas son simples y opuestas, de forma oblonga o elíptico-oblonga, de 12.5 a 28 cm de largo y de 7 a 16.5 cm de ancho, con el ápice corto-acumindado u obtuso y la base aguda o cuneada; su superficie es ondulada y glabra en ambas caras, con tricomas agrupados en las axilas de las nervaduras secundarias del envés; pecíolo de 1 a 2 cm de largo [(23)].

5.1.2.2. Flores

La planta Noni presenta floración durante todo el año, dichas flores son pequeñas, blancas y fragantes. Sus inflorescencias se desarrollan solitarias o de 2 a 3 por nudo axilar; agrupadas en las cabezuelas; poseen una corola blanca, tubular, hasta de 1.25 cm de largo [(23)].

5.1.2.3. Frutos

A partir de las cabezuelas de las flores, se desarrolla un fruto múltiple, sincárpico, compacto, jugoso, elíptico, blando, de 4 a 15 cm de diámetro [23]. El fruto (3−10 cm de largo, 3−6 cm de ancho) es ligeramente arrugado, semi-translúcido y el rango de color varía de verde-amarillo a blanco-porcelana en su momento de recolección. Está cubierto de pequeños capullos de color rojo-marrón, los cuales contienen las semillas. El fruto maduro exhala un olor fuerte desagradable [2].

Tabla 5-1 Composición físico-química del jugo de Noni [2]

Características	Chunhieng (2003)[a]	Shovic and Whistler (2001)[a]	European Commision (2002)[b]
Valor de pH	3.72	−	3.4-3.6
Materia seca	9.8±0.4%	−	10-11%
Total de sólidos solubles (°Brix)	8	−	−
Contenido proteínico	2.5%	0.4 g/100 g	0.2-0.5%
Lípidos	0.15%	0.30 g/100 g	0.1-0.2%
Glucosa	11.9±0.2 g/L	−	3.0-4.0 g/100 g
Fructosa	8.2±0.2 g/L	−	3.0-4.0 g/100 g
Potasio	3900 mg/L	188 mg/100 g	30-150 mg/100 g
Sodio	214 mg/L	21 mg/100 g	15-40 mg/100 g
Magnesio	14 mg/L	14.5 mg/100 g	3-12 mg/100 g
Calcio	28 mg/L	41.7 mg/100 g	20-25 mg/100 g
Vitamina C	−	155 mg/100 g	3-25 mg/100 g

[a] Fruto del Noni
[b] Jugo Comercial Tahitian Noni ™ (89% jugo de Noni y 11% concentrados de jugo de uva y arándano

5.1.2.4. Semillas

Las semillas poseen una cámara de aire distintiva, pueden mantener la viabilidad incluso después de flotar en agua por meses. [*2n* = 22, 44].

Un estudio realizado en Panamá demostró que las semillas frescas tienen un alto poder germinativo. El análisis estadístico mostró que las semillas frescas germinan en un 91%, descendiendo a un 75% a medida que pasa el tiempo de ser recolectadas y puestas a germinar. Al cabo de 15 días después de cosechadas la germinación se redujo a un 33% [23].

5.1.3. Clasificación Científica

El Noni, *Morinda citrifolia*, pertenece a la familia de las Rubiaceae, compuesta por aproximadamente 600 géneros. A esta familia también pertenece el café y otras plantas de las cuales se obtienen extractos medicinales y terapéuticos; tintes y pigmentos y otras aplicaciones. El género *Morinda* está constituido por aproximadamente 80 especies de plantas. Son árboles o arbustos naturales de las zonas tropicales.

Tabla 5-2. Clasificación Científica del Noni

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Gentianales
Familia	Rubiaceae
Subfamilia	Rubioideae
Tribu	Morindeae
Género	*Morinda*
Especie	*Morinda citrifolia*

5.1.4. Productividad

La producción empieza a partir de los 8 a 10 meses de su trasplante definitivo. La florescencia y producción de frutos es continua a lo largo del año, pero ésta se puede ver perturbada debido a efectos estacionales (temperatura, precipitación, intensidad solar y duración) [(24)].

Aunque se pueden cosechar los primeros frutos, éstos suelen ser pequeños y se obtienen productividades bajas por planta en el primer año. Algunos productores eligen no cosechar en el primer año y realizan podas para permitir que el árbol crezca más fuerte [(25)].

En Hawaii, los cultivos de Noni se cosechan dos o tres veces por mes, aunque la producción de frutos es menor en invierno. Con una densidad de 638 plantas por hectárea con un suelo fértil, drenaje, irrigación, control apropiado de pestes, enfermedades y malezas junto con un plan adecuado de fertilización, es posible obtener rendimientos desde 7 toneladas/ha/año en el segundo año después de plantar hasta 70 toneladas/ha/año después del quinto año [(25)].

Con una razón de extracción de jugo de aproximadamente 50% (p/p), una hectárea puede entonces producir alrededor de 35 toneladas de jugo. Sin embargo, muchos factores pueden afectar estos rendimientos, y la mayoría de los productores no obtienen tan buenos resultados debido a las enfermedades y prácticas agrícolas ineficientes. En Hawaii, se obtiene un rendimiento anual promedio de 50 toneladas de frutos/hectárea [(25)].

Otra fuente indica que el rendimiento esperado para plantas maduras y saludables es de 120 a 240 kg por planta por año. Sin embargo se pueden conseguir rendimientos mayores a los 240 kg anuales por planta mediante un buen manejo de los cultivos. También debe considerarse que el rendimiento anual de frutos varía según la variedad del Noni o genotipos y según el ambiente (suelo, agua), sistema de cultivo y/o ecosistema. [(22)].

Se recolectan los frutos maduros de coloración blanco porcelana a blanco hueso, de contextura firme. Sus frutos son perecederos, de 3 a 5 días después de su cosecha. Cuando los frutos alcanzan su madurez completa; se vuelven suaves y empiezan a descomponerse, por lo que deben aprovecharse antes de que se exceda este período de madurez [(2)].

5.1.5. Preferencias Medioambientales y Tolerancia

Son plantas abundantes, poseen una gran capacidad de adaptación a diversas condiciones de clima y suelo. Sin embargo las condiciones más adecuadas para su cultivo son altitudes de 0 a 500 metros sobre el nivel del mar, por lo que prospera en zonas costeras y de poca altitud [(24)].

Además se adapta a condiciones con alta incidencia solar, suelo arenoso, salino y volcánico, por lo que puede cultivarse en regiones marítimas y de litoral [24].

El nivel de precipitación óptimo está entre está entre 250 y 4000 mm anuales. El Noni puede tolerar un rango amplio de precipitaciones, incluyendo verano, invierno, bimodal y uniforme. También tolera distintos tipos de suelo, puede desarrollarse en suelos tanto ácidos como alcalinos y soporta distintas condiciones de drenaje, pero la preferencia es por suelos libres, bien drenados [24].

El rango óptimo de temperatura para su cultivo es de 20−35°C anual. La temperatura media máxima del mes más cálido deberá ser de 32−38°C y la temperatura media mínima del mes más frío deberá estar en el rango de 5−18°C. La temperatura mínima tolerada es de 12 °C [24].

Es por esto que las mejores condiciones para su cultivo las presentan las zonas tropicales; siendo éstas las regiones propicias para obtener los mejores rendimientos en el cultivo de Noni. En circunstancias favorables, la planta Noni tendrá un crecimiento adecuado, generalmente de 0.75–1.5 metros/año [24].

5.1.6. Composición Química del Noni

Alrededor de 160 compuestos fitoquímicos han sido identificados en la planta de Noni. Los mayores micronutrientes son compuestos fenólicos, ácidos orgánicos y ***alcaloides*** [26]. Dentro de los compuestos fenólicos, los más importantes reportados son las antraquinonas (***damnacantal***, morindone, morindin, etc.) y también aucubin, asperluside y scopoletin [26] (véase Apéndice F). Los ácidos orgánicos principales son el ácido capróico y el ácido caprílico [27], mientras que el principal alcaloide reportado es la xeronina [28].

Sin embargo, la composición química difiere ampliamente de acuerdo con la parte de la planta, como se muestra en la Tabla 5-3. La composición fisicoquímica completa del Noni no se ha reportado aún y sólo se encuentra disponible información parcial sobre la composición del jugo de Noni (Tabla 5-1). La fruta contiene 90% de agua y los principales componentes de la materia seca son sólidos solubles, fibra dietética y proteínas [29]. El contenido proteínico en el fruto es sorprendentemente alto, representando el 11.3% de la materia seca del jugo, y los principales aminoácidos son el ácido aspártico, ácido glutámico e isoleucina [29].

Los minerales representan 8.4% de la materia seca y son principalmente potasio, azufre, calcio y fósforo; trazas de selenio también se han reportado en el jugo [29].

También se han reportado vitaminas en el fruto, principalmente vitamina C (24-158 mg/100 g de materia seca) [30,31], y provitamina A [32].

Los compuestos fenólicos han sido identificados como el mayor grupo de micronutrientes funcionales en el jugo de Noni: damnacantal, scopoletin, morindone, alizarin, aucubin, nordamnacantal, rubiadin, rubiadin-1-metil éter y otros glicósidos de antraquinonas han sido identificados en el Noni [26, 27, 30, 32] (Fig. F-1).

El damnacantal es una antraquinona que ha sido recientemente caracterizada y tiene algunas propiedades funcionales importantes (principalmente anticancerígenas) [33].

El scopoletin es una ***cumarina*** que se aisló en 1993 en la Universidad de Hawaii y se descubrió que posee propiedades analgésicas al igual que una habilidad significante para controlar los niveles de ***serotonina*** en el cuerpo [34]. Otros investigadores han demostrado que scopoletin puede también tener efectos anti-microbianos y anti-hipertensivos [33].

Equipos hawaianos distintos (Heinicke, 1985 [28]; Solomon, 1999 [33]) reportaron la presencia de un componente novedoso: la proxeronina, en el Noni; que sería el precursor de la

xeronina, un alcaloide al cual se le atribuye la capacidad de combinarse con las proteínas humanas, mejorando su funcionalidad. Estos autores adjudican la mayoría de los beneficios del Noni a la xeronina. No obstante, ni la caracterización química de este alcaloide ni el método usado para evaluar su contenido se han publicado.

Se han identificado alrededor de 51 compuestos volátiles en el fruto maduro [35], incluyendo ácidos orgánicos (primordialmente ácido octanóico y hexanóico), alcoholes (3-metil-3-buten-1-ol), ésteres (metil octanoato, metil decanoato), cetonas (2-heptanona), y ***lactonas*** [(*E*)-6-dodeceno-γ-lactona] [36].

5.1.7. Propiedades y Estudios realizados

5.1.7.1. Efectos Anti-microbianos

El efecto anti-microbiano fue quizás la primera propiedad observada, de hecho, la fruta contiene relativamente grandes cantidades de azúcares que no se fermentan cuando la fruta se almacena en contenedores cerrados a temperatura ambiente. Esta propiedad es usada para transportar la fruta en barco desde las dispersas islas del Pacífico hasta las plantas de procesamiento sin necesidad de un tratamiento específico previo.

Se ha reportado que el Noni inhibe el crecimiento de ciertas bacterias: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus morgaii*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella* y *Shigella* [37]. El mismo autor indica que los efectos anti-microbianos observados pueden deberse a la presencia de compuestos fenólicos tales como: aucubin, L-asperluside, alizarin, scopoletin y otras antraquinonas. Otro estudio demostró que un extracto acetonitrílico del fruto seco inhibió el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis, Escherichia coli, y Streptococcus pyrogenee* [38].

También se encontró que los extractos de hexano y etanólicos del Noni tienen efecto antitubercular puesto que inhiben un 89-95% del crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis* [39]. Los principales componentes identificados en el extracto de *n*-hexano fueron: E-phytol, cycloartenol, stigmasterol, β-sitosterol, campesta-5,7,22-trien-3-β-ol y los cetoesteroides: stigmasta-4-en-3-one y stigmasta-4-22-dien-3-one.

Otros estudios han reportado un efecto anti-microbiano significante en diferentes cepas de *Salmonella*, *Shigella*, y *E. Coli* [27,40]. Es más, también mostraron que el efecto anti-microbiano depende mucho de la etapa de madurez y del procesamiento del fruto, siendo mayor cuando el fruto está maduro, sin secado.

Tabla 5-3. Ubicación de compuestos químicos en la planta de Noni †

Ubicación	Constituyentes químicos †	Referencias	Ubicación	Constituyentes químicos	Referencia
Flor	**2-methyl-4-hydroxy-5,7-dimethoxyanthraquinone** 4-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-α-L-rhamnopyranoside	(41)	Hojas	Quercetin 3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside	(41)
Flor	5,8-dimethyl-apigenin 4'-O-β-D-galactopyranoside	(41), (42)	Hojas	Serine	(27), (42)
Flor	**Aracetin** 7-*O*-β-D-glucopyranoside	(41), (42)	Hojas	Threonine	(27), (42)
Fruto	β-D-glucopyranose pentaacetate	(41), (42)	Hojas	Tryptophan	(27), (42)
Fruto	2,6-di-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-1-*O*-octanoyl-β-D-glucopyranose	(27)	Hojas	Tyrosine	(27), (42)
Fruto	6-*O*-(β- D-glucopyranosyl)-1-*O*-octanoyl-β-D-glucopyranose	(43)	Hojas	**Ursolic acid**	(41), (44), (42), (45)
Fruto	Ascorbic acid	(46)	Hojas	Valine	(27), (42)
Fruto	**Asperlusidic acid**	(30), (42), (45), (47)	Planta	**2-methyl-3,5,6-trihydroxyanthraquinone**	(44), (48)
Fruto	Asperluside tetraacetate	(43), (46), (44)	Planta	2-methyl-3,5,6-trihydroxyanthraquinone 6-O-β-D-xylopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside	(44), (48)
Fruto	Caproic acid	(27)	Planta	**3-hydroxymorindone**	(44), (48)
Fruto	Caprylic acid	(41), (27), (42), (45), (34)	Planta	3-hydroxymorindone 6-O-β- D-xylopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside	(44), (48)
Fruto	Ethyl caprylate	(33), (27), (44), (42), (45), (34)	Planta	5,6-dihydroxylucidin 3- O-β- D-xylopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside	(44), (48)
Fruto	Ethyl caproate	(27)	Planta	**5,6-dihydroxylucidin**	(44), (48)
Fruto	Hexanoic acid	(27)	Planta	**Aucubin**	(42), (45)
Fruto	Octanoic acid	(36), (41)	Planta	Linoleic acid	(45)
Fruto	Quercetin 3-*O*-α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside	(36), (41), (44), (26)	Planta	**Lucidin**	(44), (48), (49)
Duramen	**Physcion** 8-*O*-α-L-arabinopyranosyl-(1→3)-β-D-galactopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside	(26), (45)	Planta	Lucidin 3- O-β- D-xylopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside	(44), (48)
Hojas	Alanine	(41), (50), (44)	Planta	**Scopoletin**	(36), (45)

Ubicación	Constituyentes químicos	Referencias	Ubicación	Constituyentes químicos	Referencia
Hojas	Arginine	(27)	Raíz	**8-hydroxy-8-methoxy-2-methyl-anthraquinone**	(41), (33)
Hojas	Aspartic acid	(27)			
Hojas	β-sitosterol	(41), (29), (42), (45)	Raíz	Rubichloric acid	(42), (30)
Hojas	**Citrifolinoside B**	(41)	Raíz	**1,3-dihydroxy-6-methyl anthraquinone**	(30)
Hojas	Cysteine	(27), (42)	Raíz	**Morenone 1**	(33)
Hojas	Cystine	(27), (42)	Raíz	**Morenone 2**	(33)
Hojas	Glutamic acid	(27)	Raíz	**Ruberythric acid**	(44)
Hojas	Glycine	(27), (42)	Raíz	**Rubiadin**	(44), (42), (48), (49)
Hojas	Histidine	(27), (42)	Corteza‡	Chlororubin	(27), (42)
Hojas	Isoleucine	(27), (42)	Corteza	Hexose	(27)
Hojas	Kaempferol 3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside	(41)	Corteza	Morindadiol	(27)
Hojas	Kaempferol 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-α-L- rhamnopyranosyl-(1→6)-β-D-galactopyranoside	(41)	Corteza	**Morindanidrine**	(27)
Hojas	Leucine	(27), (42)	Corteza	**Morindine**	(44), (27), (42), (30)
Hojas	Methionine	(27), (42)	Corteza	Pentose	(27)
Hojas	Phenylalanine	(27), (42)	Corteza	**Physcion**	(33)
Hojas	Proline	(27), (42)	Corteza	**Rubiadin monomethyl ether**	(27)
Hojas	Quercetin 3-O-β-D-glucopyranoside	(41)	Corteza	**Soranjidiol**	(27), (42), (49)
Raíz, Duramen, Corteza‡	**Morindone**	(41), (48), (27), (49), (44), (45)	Corteza	Trioxymethylanthraquinone monoethyl ether	(27)
Raíz, Duramen, Semillas	**Damnacanthal**	(41), (44)	Raíz, Corteza, Fruto	**Alizarin**	(44), (27), (42), (49), (45)
Hojas	Quercetin 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-α-L- rhamnopyranosyl-(1→6)-β-D-galactopyranoside	(41)	Semillas	Ricinoleic acid	(33)

† Las moléculas en negrita se presentan en la Figura F-1 en el Apéndice F
‡ Se refiere siempre a la Corteza de la Raíz

5.1.7.2. Actividad Anti-cáncer

Las propiedades inmunomodulatorias (capacidad para reforzar el sistema inmune del organismo) del jugo de Noni han sido estudiadas recientemente por un equipo de investigación Japonés [51,52]. La fracción etanólica precipitable (ppt) del jugo de Noni, correspondiente a una substancia rica en polisacáridos compuesta de ácido glucurónico, galactosa, arabinosa y ramnosa, mostró poseer efectos inmunomodulatorios y anti-tumor contra el carcinoma pulmonar de Lewis (LLC, por sus siglas en inglés). En modelos celulares, el precipitado de Noni parece estimular la producción de células T, timocitos y macrófagos que producen ***citoquinas***, las cuales son mediadores importantes de la citostasis tumoral y de la citotoxicidad.

El precipitado de Noni también parece estimular la liberación de varios mediadores desde células que afectan a los roedores como las citoquinas, las cuales reducen el ciclo celular en los tumores, incrementando la respuesta de las células hacia otras células inmunizadas que luchan en contra del crecimiento de tumores, y tienen una potente acción activadora de macrófagos, la cual se sospecha que juega un rol importante en la muerte de tumores [51,52].

En la misma investigación, se inocularon ratones con LLC. Aquellos que ingirieron una dosis diaria de 15 mg de jugo de Noni tuvieron un incremento significante de la duración de su vida (119%). Nueve de 22 ratones con cáncer terminal sobrevivieron por más de 50 días. Además, la ingestión de la fracción precipitable de Noni, combinado con la quimioterapia convencional en el tratamiento de ratones con cáncer, demostró incrementar el tiempo de vida [53].

Otro equipo Japonés estudió más específicamente la influencia de damnacantal, una antraquinona extraída del extracto clorofórmico de las raíces de Noni. Sorprendentemente, los investigadores encontraron que el damnacantal inducía la morfología normal de un tipo particular de células encontradas en las ***neoplasias*** humanas (células K-ras-NKR) que se multiplican incontrolablemente y que son altamente malignas [54].

En otro estudio se determinó que el jugo comercial de Noni (Tahitian Noni® Juice) previene la formación de carcinógenos cuando ciertos químicos reaccionan con el ADN. En este estudio, ratas con cáncer inducido artificialmente en órganos específicos se alimentaron por una semana con 10% de jugo de Noni en su agua de bebida y en su alimento para ratas (rat chow), ***ad libitum***. Las ratas mostraron una reducción en la formación del ADN-anormal, dependiendo del sexo y órgano considerado. Las tasas de reducción fueron: en hembras, corazón 30%, hígado 42%, pulmones 41% y riñones 80%; en machos, corazón 60%, hígado 70%, pulmones 50% y riñones 90% [26].

5.1.7.3. Propiedades Anti-oxidantes

Las propiedades antioxidantes de los extractos de etanol y etil acetato del fruto de Noni se han evaluado usando el método de tiocianato férrico (FTC) y la prueba del ácido tiobarbitúrico (TBA). Los autores encontraron que el extracto de etil acetato exhibió una fuerte inhibición de la oxidación lipídica comparable a un mismo peso de α-tocoferol e hidroxitolueno butilado (BHT) [55].

La capacidad eliminadora de radicales también fue medida in vitro mediante la prueba de *tetrazolium nitroblue* (TNB) en un jugo comercial, mediante la evaluación de la capacidad potencial del jugo para proteger las células o lípidos de la alteración oxidativa promovida por los radicales aniónicos superóxidos (SAR). La actividad destructora de SAR del jugo de Noni mostró ser 2.8 veces más alta que la de la vitamina C, 1.4 veces que la del pycnogenol (PYC) y casi del mismo orden que el polvo de semillas de uva [26].

5.1.7.4. Actividad Anti-inflamatoria

La actividad antiinflamatoria del extracto acuoso del jugo de Noni se observó al inducir una respuesta local inflamatoria aguda, con la ayuda de un agente pro-inflamatorio (bradiquinina). Se demostró que la administración oral de un extracto de jugo de Noni (200 mg) inhibió muy rápido la formación de ***edema*** en las patas de las ratas. Este efecto puede haber resultado de la interferencia con el mecanismo receptor-mediador B2 por el cual la bradiquinina indujo el edema en las extremidades de los roedores [(56)].

Otro estudio mostró que el jugo comercial de Noni posee un efecto de inhibición selectiva en ciertas enzimas ciclo-oxygenasas (COX-1 y COX-2) involucradas en el cáncer de pecho, de colon y de pulmón y que también tiene una actividad anti-inflamatoria [(57)]. La inhibición de la actividad de estas enzimas por el jugo de Noni se comparó con drogas tradicionales comerciales no-esteroidales contra la inflamación, tales como: Aspirina, Indomethacin® y Celebrex®. El jugo de Noni mostró inhibición selectiva de la actividad de la enzima COX *in vitro* y un fuerte efecto anti-inflamatorio comparable al del Celebrex® y presumiblemente sin ningún efecto secundario.

5.1.7.5. Actividad Analgésica

Recientes investigaciones examinaron las propiedades analgésicas de un jugo comercial en ratas. Los resultados mostraron que las ratas que fueron alimentadas con 10% y 20% de jugo de Noni tuvieron una mayor tolerancia al dolor (162% y 212%, respectivamente) comparada con el grupo placebo [(45)]. Un equipo de investigación francés también estudió los efectos analgésicos y sedativos del Noni en ratones a través de las pruebas de contorsión y de plato caliente. Los extractos de raíz de Noni (1600 mg/kg) mostraron actividad analgésica significante en animales, similar al efecto de la morfina (75% y 81% de protección usando extracto de Noni y morfina, respectivamente), y también probaron ser no tóxicos [(58)].

5.1.7.6. Actividad Cardiovascular

Recientes investigaciones han demostrado los efectos del fruto de Noni en la prevención de la arteriosclerosis, una enfermedad relacionada con la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL). Extractos de metanol y etil acetato mostraron con el método de sustancia reactiva de ácido tiobarbitúrico un 88 y 96% de inhibición, respectivamente, de la oxidación inducida por cobre de las LDL. Este efecto benéfico puede deberse a la presencia de ***lignanos***, dímeros de fenilpropanoides [(59)].

5.1.8. Procesamiento y Comercialización del Noni

Los principales productos comerciales del Noni incluyen bebidas (jugos y extractos), fruta y hojas en polvo (para elaborar bebidas reconstituidas, cápsulas, té, etc.), artículos de tocador (jabones, lociones, cosméticos, productos para el cuidado bucal) y aceite.

El mercado de los productos de Noni es global, con los mercados más grandes ubicados en Norteamérica, Asia y Australia. El mercado mundial para los productos de Noni se estimó en US$ 400 millones en el 2002 [(24)].

Aunque son muy diversos los productos de Noni que se elaboran y comercializan, el mayor mercado lo conforman indudablemente los jugos de Noni. En este aspecto, la empresa Tahitian Noni International domina la industria del Noni con el 90% del mercado con su marca líder Tahitian Noni Juice®.

Esta empresa fue la primera en producir los productos del Noni, en especial los jugos, a gran escala. Desde su inicio en 1996, incrementaron sus ingresos en ventas desde US$ 33,000 hasta US$ 1,000 millones en el 7° año con su presencia en más de 60 países.

5.1.8.1. Principales Productos Comerciales del Noni

Jugo fresco o extracto del fruto

El jugo se obtiene del prensado directo del fruto maduro usando un equipo mecánico y se embotella directamente en recipientes de vidrio o plástico sin permitir la fermentación. Estos productos pueden tanto pasteurizarse como refrigerarse para preservar su integridad.

Jugo fermentado del fruto

El fruto maduro se lava y a veces se despulpa antes de ubicarse en grandes contenedores de fermentación donde se le puede agregar agua opcionalmente. El jugo se separa eventualmente de la pulpa y se fermenta de forma natural a través de un proceso bacterial (acidificación). El tiempo mínimo de preferencia para la fermentación del jugo es de 60 días. Luego el jugo se drena del recipiente de fermentación y se envasa en contenedores de plástico o vidrio.

El jugo sin contaminación con un pH bajo (entre 3.5-4.0) puede almacenarse a temperatura ambiente sin pasteurización.

Bebidas del fruto de Noni

El jugo crudo se mezcla en varias proporciones con otros líquidos compatibles (otros jugos de frutas, leche de coco, etc.)

Concentrados del jugo de fruto

El jugo fermentado se somete a evaporación flash u otra tecnología de evaporación para producir un concentrado de jugo (se remueve un porcentaje de agua). El concentrado puede usarse para producir un rango de productos de jugos o cosméticos.

Polvos del fruto

Las frutas (enteras o sin semillas, verdes o maduras) se secan y muelen en polvos que se venden al por mayor para manufactureros de bebidas o cápsulas/tabletas.

Aceite de Noni

El aceite se deriva de las semillas prensadas del fruto de Noni.

Polvo de hojas de Noni

Las hojas se secan y se muelen en polvo y se usan para producir un rango de productos para consumo interno como infusiones o tés, o uso en cosméticos.

5.2. Polímeros

Los polímeros son macromoléculas formadas por muchas unidades pequeñas que se repiten, llamadas *monómeros*. Las reacciones por las cuales se combinan los monómeros se denominan *polimerizaciones*. Cuando se habla de polímeros, generalmente se refiere a moléculas cuyos pesos moleculares pueden alcanzar los cientos de miles o millones de ***u.m.a.*** Los *homopolímeros* son polímeros con un solo tipo de unidad que se repite, mientras que en los *copolímeros* se repiten varias unidades distintas [60].

5.2.1. Tipos de Polímeros y Polimerizaciones [60]

Existen básicamente dos tipos de clasificaciones para las reacciones de polimerización. Una clasificación está basada según la estructura del polímero y los divide en polímeros de condensación o adición. La otra está basada en el mecanismo de la polimerización y las divide en polimerizaciones por pasos o en cadena. Existe un poco de confusión porque los términos condensación y por pasos se usan como sinónimos, de la misma forma que adición y cadena. Aunque la mayoría de los polímeros por condensación se producen por polimerizaciones por pasos y la mayoría de los polímeros por adición se producen por polimerizaciones en cadena, este no es siempre el caso.

5.2.1.1. Polímeros según su estructura

Los Polímeros fueron clasificados originalmente por Carothers [1929] en polímeros de condensación o polímeros de adición basándose en la diferencia composicional entre los polímeros y los monómeros de los cuales fueron sintetizados. Los polímeros por condensación se forman a partir de ***monómeros polifuncionales*** por las distintas reacciones de condensación en química orgánica con la eliminación de una pequeña molécula como el agua. Un ejemplo de estos polímeros son las poliamidas formadas por las diaminas y diácidos con consecuente eliminación de agua:

$$n\mathrm{H_2N\text{-}R\text{-}NH_2} + n\mathrm{HO_2C\text{-}R'\text{-}CO_2H} \longrightarrow$$

$$\mathrm{H}\left(\mathrm{NH\text{-}R\text{-}NHCO\text{-}R'\text{-}CO}\right)\mathrm{OH} + (2n-1)\mathrm{H_2O} \qquad (5\text{-}1)$$

donde R y R´ son cadenas alifáticas o aromáticas. La unidad entre paréntesis es la fórmula de la poliamida que se repite muchas veces en la cadena del polímero y se llama *unidad repetitiva*. Otros ejemplos de polímeros por condensación son los policarbonatos, poliésteres, la celulosa y las proteínas.

Los polímeros por adición fueron también clasificados por Carothers como aquellos formados por monómeros sin la pérdida de una pequeña molécula. A diferencia de los polímeros por condensación, la unidad repetitiva de los polímeros por adición tiene la misma composición que el monómero.

El grupo más grande de polímeros por adición está constituido por los monómeros que contienen un doble enlace carbono – carbono. Estos monómeros se conocen como *vinílicos*, refiriéndose estrictamente al grupo CH_2=CH– adjunto a algún sustituyente. Los monómeros vinílicos pueden hacerse reaccionar entre sí para formar polímeros mediante la conversión de sus dobles enlaces en uniones saturadas, por ejemplo:

$$n\mathrm{CH_2{=}CHY} \longrightarrow \left(\mathrm{CH_2\text{-}CHY}\right)_n \qquad (5\text{-}2)$$

donde *Y* puede ser un grupo sustituyente tal como hidrógeno, alquilo, arilo, nitrilo, éster, ácido, cetónico, éter o halógeno. Ejemplos de estos polímeros son: polietileno, poli(cloruro de vinilo) y poliestireno.

5.2.1.2. Polímeros según mecanismo de polimerización [60]

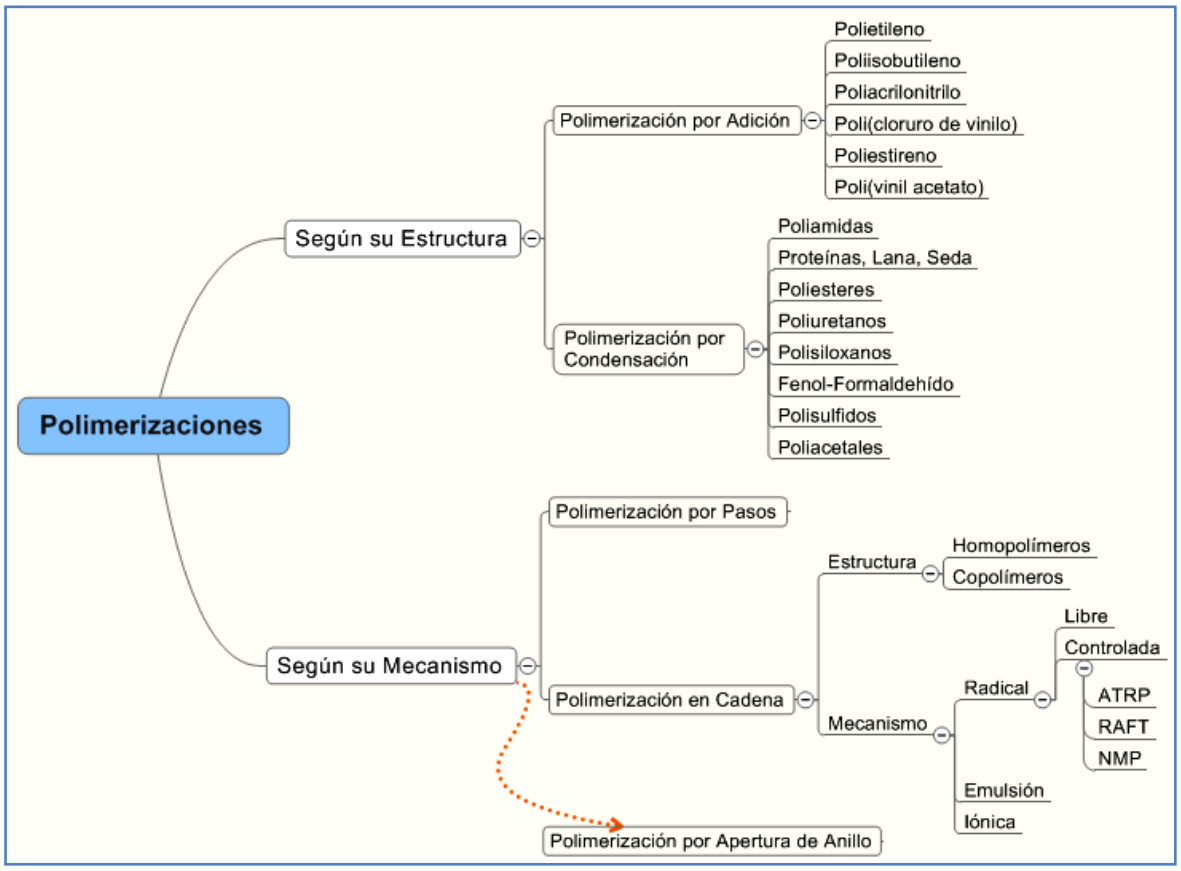
La característica de la polimerización por pasos que la distingue de la polimerización en cadena es que ocurre entre cualquiera de las especies de distintos tamaños presentes en la reacción.

Estas reacciones proceden paralelamente por pasos entre los grupos funcionales de los monómeros y oligómeros. El tamaño de las moléculas de polímero crece a un ritmo relativamente lento en tales polimerizaciones.

La situación es muy distinta en las polimerizaciones en cadena, donde un iniciador es usado para producir especies iniciadoras R^* con un centro reactivo. El centro reactivo puede ser un radical libre, catión o anión. La polimerización ocurre por la propagación del centro activo mediante las adiciones sucesivas de grandes números de moléculas de monómeros en una reacción en cadena. La característica distintiva de la polimerización en cadena es que el crecimiento del polímero tiene lugar mediante la reacción única del monómero con el sitio activo. El crecimiento del polímero cesa cuando el centro reactivo se destruye por una o más posibles reacciones de terminación.

Otra diferencia entre ambos tipos es que la polimerización en cadena exhibirá la presencia de polímeros de altos pesos moleculares en todos los porcentajes de conversión mientras en que la polimerización por pasos el peso molecular aumentará exponencialmente con la conversión.

Figura 5-1. Clasificación básica de las polimerizaciones



5.3. Estireno y Poliestireno [61]

El estireno, (fenileteno, vinilbenceno, feniletileno, estirol, cinameno), $C_6H_5CH{=}CH_2$ es el más simple y por mucho el miembro más importante de la serie de monómeros aromáticos [61].

El descubrimiento del estireno es acreditado a Newman [62] quien lo aisló mediante destilación al vapor del ámbar líquido, el cual contenía ácido cinámico, produciendo estireno vía descarboxilación. La primera polimerización fue descrita por Simon [62]. La polimerización comercial del estireno inició alrededor de 1925 [20]. El cracking de etilbenceno se convirtió en la principal ruta de manufactura del monómero. La primera comercialización se basó en la ***polimerización en masa*** usando el proceso batch [20].

La producción mundial de poliestireno creció en un porcentaje promedio de 2.8% anual durante los años 1985-1995, alcanzando 8.5 millones de toneladas métricas en 1995. La mayoría del poliestireno para propósito general es producido mediante polimerización en solución en un proceso continuo con la ayuda de peróxido como iniciador. La polimerización en suspensión se usa para productos en los cuales se desea obtener el polímero en forma de perlas esféricas de tamaño inferior a 1mm. La polimerización en emulsión es el método elegido para producir resinas ABS: Poli(estireno-co-acrilonitrilo-co-butadieno).

El poliestireno es un sólido con apariencia vítrea debajo de los 100 °C. Bajo esta temperatura muestra un considerable esfuerzo mecánico. El poliestireno es no-polar, químicamente inerte, resistente al agua y fácil de procesar. Es el material de elección para muchas aplicaciones en el área de empacado de alimentos, óptica, electrónica, medicina e industria automovilística. El esfuerzo de tensión puede incrementarse mediante la orientación controlada del estireno (tacticidad).

Iniciadores. La lista de iniciadores disponibles para la polimerización radical del estireno es muy larga, incluyendo azocompuestos, peróxidos, sistemas redox y muchos más. Un desarrollo interesante es la aplicación de iniciadores difuncionales como el siguiente:

Inhibidores. Durante el embarque y almacenamiento el estireno necesita un inhibidor. Los inhibidores más eficientes – quinonas, fenoles obstaculizados y aminas – requieren trazas de oxígeno para funcionar. El *t*-butil-catecol a 15 – 50 ppm es el inhibidor más común para el estireno comercial. También es posible usar nitrofenol, hidroxilamina y compuestos de óxido de nitrógeno. Los inhibidores se deben remover antes de la polimerización, para evitar el periodo de inducción.

Preparación. El poliestireno de radicales libres puede producirse con técnicas de polimerización en masa, solución, suspensión o emulsión. El proceso en masa requiere de estireno puro; es muy simple y produce polímeros con alta claridad. Debido a su control escaso, este proceso no se usa comercialmente. En la polimerización en solución, el estireno se diluye con solventes, los cuales hacen que el control de temperatura sea más fácil. Sin embargo, los solventes normalmente reducen el peso molecular y la velocidad de polimerización.

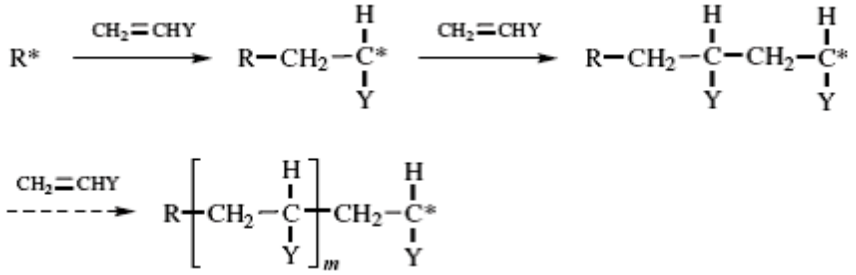
5.4. Polimerización Radical en Cadena

La polimerización en cadena es iniciada por las especies reactivas producidas de algún compuesto **I** conocido como un *iniciador*:

$$I \longrightarrow R^* \qquad (5\text{-}3)$$

Las especies reactivas, que pueden ser un radical libre, catión o anión, se añaden a una molécula de monómero mediante la apertura de un enlace π para formar un nuevo centro radical, catiónico o aniónico, según sea el caso.

El proceso se repite a la vez que más moléculas de monómero se añaden sucesivamente propagando continuamente el centro reactivo:



(5-4)

El crecimiento del polímero finaliza en algún punto mediante la destrucción del centro reactivo por parte de una reacción apropiada dependiendo del tipo de centro reactivo y de las condiciones particulares de reacción.

El grupo más importante de monómeros en las polimerizaciones en cadena son los del tipo vinílicos (CH_2=CH−R) por su abundancia. También encontramos monómeros con el grupo carbonilo (C=O), sin embargo éstos no pueden conllevar polimerizaciones radicálicas, sólo iónicas, como se observa en la siguiente tabla:

Tabla 5-4. Tipos de polimerizaciones en cadena de varios monómeros insaturados [60]

Monómeros	Tipo de Iniciación		
	Radical	Catiónica	Aniónica
Etileno	+	–	+
1-Alquil alquenos (α-olefinas)	–	–	+
1,1-Dialquil alquenos	–	+	–
1,3-Dienos	+	+	+
Estireno, α-metil estireno	+	+	+
Alquenos halogenados	+	–	–
Vinil ésteres (CH_2=CHOCOR)	+	–	–
Acrilatos, Metacrilatos	+	–	+
Acrilonitrilo, Metacrilonitrilo	+	–	+
Acrilamida, Metacrilamida	+	–	+
Vinil éteres	–	+	–
N-Vinil carbazol	+	+	–
N-Vinil pirrilidona	+	+	–
Aldehídos, Cetonas	–	+	+

5.4.1. Cinética de la Polimerización Radical en Cadena [60]

La Polimerización Radical en Cadena es una polimerización consistente en una secuencia de tres pasos – *iniciación, propagación,* y *terminación*. Se considera que el paso de iniciación está envuelto en dos reacciones. La primera es la producción de radicales libres por una de un número de reacciones. El caso típico es la disociación homolítica de una especie iniciadora **I** para formar un par de radicales R·:

$$\mathrm{I} \xrightarrow{k_d} 2\mathrm{R}\cdot \qquad (5\text{-}5)$$

donde k_d es la constante de velocidad para la disociación homolítica. La segunda parte de la iniciación involucra la adición de este radical (R·) a la primer molécula de monómero para producir el radical iniciador de la reacción en cadena M_1·

$$\mathrm{R}\cdot + \mathrm{M} \xrightarrow{k_i} \mathrm{M}_1\cdot \qquad (5\text{-}6)$$

donde M representa una molécula de monómero y k_i es la constante de velocidad para el paso iniciador (Ec. 5-6).

El radical R· se refiere a menudo como un *radical iniciador* o *radical primario* para distinguirlo de las especies iniciadoras de cadena (M_1·).

La propagación consiste en el crecimiento de M_1· por las adiciones sucesivas de grandes números (cientos y quizás miles) de moléculas de monómero de acuerdo a la ecuación 5-7. Cada adición crea un nuevo radical que tiene la misma identidad que el anterior, excepto que es más grande por una unidad de monómero.

Las adiciones sucesivas pueden representarse como:

$$\mathrm{M}_1\cdot + \mathrm{M} \xrightarrow{k_p} \mathrm{M}_2\cdot \qquad (5\text{-}7a)$$

$$\mathrm{M}_2\cdot + \mathrm{M} \xrightarrow{k_p} \mathrm{M}_3\cdot \qquad (5\text{-}7b)$$

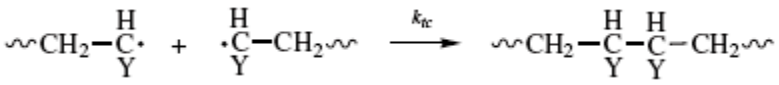
$$\mathrm{M}_3\cdot + \mathrm{M} \xrightarrow{k_p} \mathrm{M}_4\cdot \qquad (5\text{-}7c)$$

etc., etc.

o en términos generales

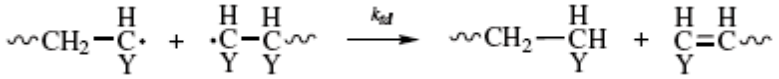
$$\mathrm{M}_n\cdot + \mathrm{M} \xrightarrow{k_p} \mathrm{M}_{n+1}\cdot \qquad (5\text{-}7d)$$

donde k_p es la constante de velocidad para la propagación. La propagación con el crecimiento de la cadena hacia proporciones de alto polímero toma lugar muy rápidamente. El valor de k_p para la mayoría de los monómeros está en el rango de 10^2–10^4 L mol^{-1} s^{-1}. Esta es una constante de velocidad grande – mucho más grande que aquellas encontradas en polimerizaciones por pasos. En algún punto, la cadena de polímero propagante detiene su crecimiento y termina. La terminación por la aniquilación de centros de radicales ocurre por reacción bimolecular entre radicales. Dos radicales reaccionan entre sí mediante *combinación*



(5-8a)

(*acoplamiento*), o más raramente, por *desproporción*, en el cual un radical hidrógeno que es *beta* a un centro radical es transferido a otro centro radical. Esto resulta en la formación de dos moléculas de polímero – una saturada y la otra insaturada:



(5-8b)

La terminación también puede ocurrir por una combinación de acoplamiento y desproporción. Los dos diferentes modos de terminación pueden representarse en términos generales por

$$\mathrm{M_n}\cdot + \mathrm{M_m}\cdot \xrightarrow{k_{tc}} \mathrm{M_{n+m}}\cdot \tag{5-9a}$$

$$\mathrm{M_n}\cdot + \mathrm{M_m}\cdot \xrightarrow{k_{tc}} \mathrm{M_n} + \mathrm{M_m} \tag{5-9b}$$

donde k_{tc} y k_{td} son las constantes de velocidad para la terminación por acoplamiento y desproporción, respectivamente. También puede expresarse el paso terminante mediante

$$\mathrm{M_n}\cdot + \mathrm{M_m}\cdot \xrightarrow{k_t} \text{polímero muerto} \tag{5-10}$$

donde no se especifica el modo de terminación y,

$$k_t = ak_{tc} + (1-a)k_{td} \tag{5-11}$$

con *a* y (1–*a*) como las fracciones de terminación por acoplamiento y desproporción, respectivamente.

El término *polímero muerto* significa el fin del crecimiento para el radical de propagación. La reacción de propagación procedería indefinidamente hasta que todo el monómero en el sistema reaccionante estuviese agotado si no fuera por la fuerte tendencia hacia la terminación.

Constantes típicas de terminación son del orden de 10^6–10^8 L mol^{-1} s^{-1} u órdenes de magnitud mayores que las constantes de velocidad de propagación. El valor mucho mayor de k_t (sea k_{tc} o k_{td}) comparado con k_p no evita la propagación porque las especies de radicales están presentes en concentraciones muy bajas y porque la velocidad de polimerización es dependiente en sólo la media potencia de k_t. Las polimerizaciones con pequeña o sin terminación ocurren bajo condiciones especiales.

5.4.1.1. Expresión de la Ley de Velocidad

Las ecuaciones 5-5 a 5-11 constituyen el mecanismo detallado de una polimerización en cadena iniciada con radicales libres. La naturaleza en cadena del proceso reside en la etapa de propagación (Ec. 5-7) en la cual cientos o miles de moléculas de monómeros se convierten a polímeros por cada radical iniciador que se produce en el primer paso (Ec. 5-6). Para obtener la expresión cinética de la velocidad de polimerización, es necesario asumir que k_p y k_t son independientes del tamaño del radical.

Esta suposición es inherente a la notación usada en las Ecs. 5-7 a 5-10. Es exactamente la misma suposición – la suposición de igual reactividad – que se emplea para deducir la cinética de la policondensación. Radicales muy pequeños son más reactivos que radicales en propagación, pero este efecto no es importante porque el efecto del tamaño se desvanece en el tamaño de dímero o trímero. Hay limitaciones para la suposición de igual reactividad con respecto los tamaños de radicales pero estas no se discuten aquí.

El monómero desaparece por la reacción de iniciación (Ec. 5-6) al igual que con las reacciones de propagación (Ec. 5-7). La velocidad de desaparición de monómero, lo que es sinónimo de la velocidad de polimerización, está dada por

$$\frac{-d[M]}{dt} = R_i + R_p \tag{5-12}$$

donde R_i y R_p son las velocidades de iniciación y propagación, respectivamente. Sin embargo, el numero de moléculas de monómero que reaccionan en el paso de iniciación es mucho menor que el numero en el paso de propagación para un proceso que produce alto polímero. Para una aproximación muy cercana, el paso iniciante puede despreciarse y la velocidad de polimerización está dada simplemente por la velocidad de propagación

$$\frac{-d[M]}{dt} = R_p \tag{5-13}$$

La velocidad de propagación y por tanto, la velocidad de polimerización, es la suma de muchos pasos individuales de propagación. Puesto que las constantes de velocidad para todas las etapas de propagación son las mismas, se puede expresar la velocidad de propagación mediante

$$R_p = k_p[\mathrm{M}\cdot][\mathrm{M}] \tag{5-14}$$

donde [M] es la concentración de monómero y [M•] es la concentración total de todos los radicales de cadena, es decir, todos los radicales de tamaño M_1• y mayores.

La ecuación 5-14 para la velocidad de polimerización no se puede usar directamente debido a que contiene un término para la concentración de radicales. Las concentraciones de radicales son difíciles de medir cuantitativamente, debido a que son muy bajas (~ 10^{-8} *M*), y es por tanto, deseable eliminar [M•] de la ecuación 5-14.

Para hacer esto, se hace la suposición de *estado estacionario* de modo que aunque la concentración de radicales se incrementa inicialmente, casi instantáneamente alcanza un valor constante, de estado estacionario. La velocidad de cambio de la concentración de radicales rápidamente se convierte y permanece en cero durante el curso de la polimerización. Esto es equivalente a establecer que las velocidades de iniciación R_i y terminación R_t de radicales son equivalentes o

$$R_i = R_t = 2k_t[\mathrm{M}\cdot]^2 \tag{5-15}$$

La suposición de estado estacionario no es única para la cinética de polimerización. Se usa a menudo para el desarrollo de cinéticas de muchas reacciones con pequeñas moléculas que involucran intermediarios altamente reactivos presentes en concentraciones muy bajas – condiciones que están presentes en las polimerizaciones radicales en cadena. Las polimerizaciones típicas alcanzan un valor de estado estacionario después de un periodo, el cual puede ser cuando mucho un minuto.

El lado derecho de la ecuación 5-15 representa la velocidad de terminación. No se especifica si la terminación es por acoplamiento o desproporción debido a que ambos siguen la misma expresión cinética. El uso del factor 2 en la ecuación de velocidad de terminación sigue la convención generalmente aceptada para reacciones donde se destruyen radicales por pares. También se usa para reacciones donde se crean radicales por pares.

El rearreglo de la ecuación 5-15 da

$$[\mathrm{M}\cdot] = \left(\frac{R_i}{2k_t}\right)^{1/2} \tag{5-16}$$

y la sustitución en la ecuación 5-14 resulta

$$R_p = k_p[\mathrm{M}]\left(\frac{R_i}{2k_t}\right)^{1/2} \tag{5-17}$$

para la velocidad de polimerización. Puede verse que la ecuación 5-17 establece la dependencia de la polimerización con la raíz cuadrada de la velocidad de iniciación. Duplicar la velocidad de iniciación no duplica la velocidad de polimerización; la velocidad de polimerización se incrementa sólo en un factor de $\sqrt{2}$. Este comportamiento es consecuencia de la reacción de terminación bimolecular entre radicales.

5.5. Inhibición y Retardación

La adición de ciertas sustancias suprime la polimerización de monómeros. Estas sustancias actúan al reaccionar con los radicales iniciadores y propagadores convirtiéndolos, ya sea, en especies no radicálicas o en radicales con reactividad muy baja y, por lo tanto, incapaces de continuar con la propagación. Tales supresores de la polimerización se clasifican de acuerdo a su efectividad.

Los inhibidores reaccionan con cada radical, y no existe consumo de monómero hasta que se consumen. Los *retardantes* son menos eficientes y detienen sólo una porción de los radicales. En este caso, la polimerización ocurre, pero a una baja velocidad, produciendo bajos pesos moleculares del polímero.

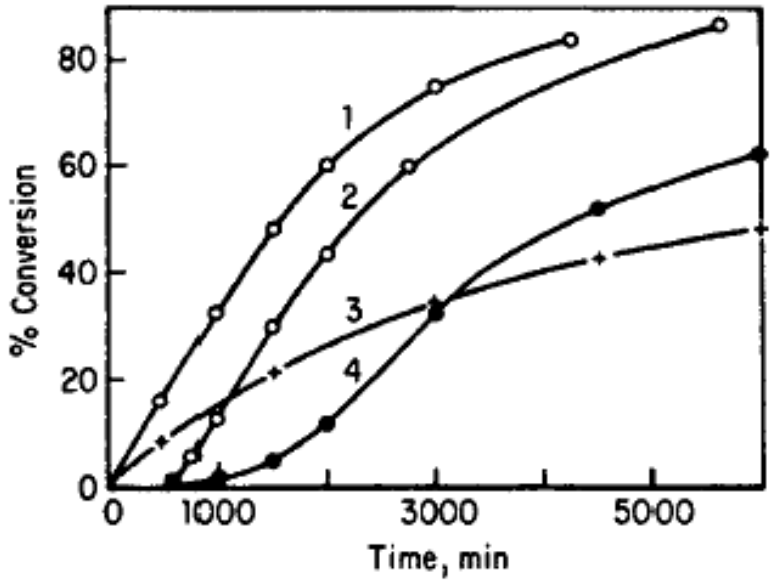


Figura 5-2. Inhibición y Retardación en la polimerización térmica auto-iniciada del estireno a 100°C. Curva 1: sin inhibidor; Curva 2: 0.1% benzoquinona; Curva 3: 0.5% nitrobenceno; Curva 4, 0.2% nitrosobenceno [60].

La Figura 5-2 muestra estos efectos en la polimerización térmica del estireno. La polimerización es completamente detenida por la benzoquinona, un típico inhibidor, durante un período de *inducción* o *período de inhibición* (Curva 2). Al final de este periodo, cuando se ha consumido la benzoquinona, la polimerización procede a la misma velocidad que en ausencia de un inhibidor (Curva 1).

El nitrobenceno, un retardante, disminuye la velocidad de polimerización sin un período de inhibición (Curva 3). El comportamiento del nitrosobenceno, Ph–NO, es más complejo (Curva

4). Es inicialmente un inhibidor, pero se convierte aparentemente en un producto que actúa como retardante después del periodo de inhibición. Este comportamiento posterior es frecuente. La inhibición y retardación son usualmente la causa de velocidades de polimerización irreproducibles observadas con monómeros insuficientemente purificados.

Las impurezas presentes en el monómero pueden actuar como inhibidores o retardadores. Por otra parte, los inhibidores se agregan a monómeros comerciales para prevenir polimerización térmica prematura durante el almacenamiento y embarque. Estos inhibidores se remueven comúnmente antes de la polimerización o, alternativamente, un exceso apropiado de iniciador se puede usar para compensar su presencia.

5.5.1. Cinética de la Inhibición y Retardación [60]

La cinética de la inhibición y retardación puede analizarse usando un esquema consistente de las usuales reacciones de iniciación (Ec. 5-7), propagación (Ec. 5-8) y terminación (Ecs. 5-9 y 5-10) en conjunto con la reacción de inhibición

$$M_n\bullet + Z \xrightarrow{k_z} M_n + Z\bullet \quad y/o \quad M_nZ\bullet \tag{5-18}$$

donde Z es el inhibidor o retardante. Z actúa agregándose al radical en propagación para formar $M_nZ\bullet$ o por transferencia de cadena de hidrógeno u otro radical para dar Z• y polímero. La cinética se simplifica si se asume que Z• y $M_nZ\bullet$ no reinician la polimerización y que además se terminan sin la regeneración de Z.

La suposición de estado estacionario para la concentración de radicales conduce a

$$\frac{d[M\bullet]}{dt} = R_i - 2k_t[M\bullet]^2 - k_z[Z][M\bullet] = 0 \tag{5-19}$$

la cual se puede combinar con la ecuación 5-14 para dar

$$\frac{2R_p^2 k_t}{k_p^2[M]^2} + \frac{R_p[Z]k_z}{k_p[M]} - R_i = 0 \tag{5-20}$$

La ecuación 5-20 se ha usado para correlacionar datos en polimerizaciones inhibidas. Una consideración de la ecuación 5-20 muestra que R_p es inversamente proporcional a la relación k_z/k_p de las constantes de velocidad para la inhibición y propagación. Esta razón se refiere comúnmente como la *constante de inhibición z*:

$$z = \frac{k_z}{k_p} \tag{5-21}$$

Se ve que R_p depende de R_i en una potencia entre ½ y la unidad, dependiendo de las magnitudes relativas de los primeros dos términos en la ecuación 5-20. Cuando el segundo término es despreciable con respecto al primero, la polimerización no es retardada y ecuación 5-20 se simplifica a la ecuación 5-17.

En el caso en que el efecto retardante es fuerte ($k_z/k_p \gg 1$), la terminación bimolecular normal es despreciable. Bajo estas condiciones, el primer término de la ecuación 5-20 es insignificante y se tiene

$$\frac{R_p[Z]k_z}{k_p[M]} - R_i = 0 \qquad \text{ó} \tag{5-22}$$

$$R_p = \frac{k_p[M]R_i}{k_z[Z]} = \frac{-d[M]}{dt} \tag{5-23}$$

La ecuación 5-23 muestra que la velocidad de polimerización, R_p, es inversamente proporcional a la concentración del inhibidor [Z]. El período de inducción observado para la polimerizacion inhibida depende directamente de la concentración del inhibidor.

La siguiente tabla muestra las constantes de inhibición de algunos compuestos con el estireno como monómero:

Tabla 5-5. Constantes de inhibición de la polimerización del estireno a 60 °C†

Inhibidor	$z = k_z/k_p$
Nitrobenceno	0.326
1,3,5-Trinitrobenceno	64.2
p-Benzoquinona	518
Cloranil	2,040
$FeCl_3$	536
$CuCl_2$	~11,000
Oxígeno	14,600

†Tomado de la tabla 3-8, pág. 259 de Odian, 2004 [60]

5.5.2. Tipos de Inhibidores y Retardantes

5.5.2.1. Radicales Estables

Algunos radicales que poseen una alta estabilidad pueden actuar como inhibidores/retardantes. Sin embargo éstos deben cumplir con las siguientes características:

a) No reaccionar con el monómero o solvente.

b) No sufrir reacción auto-iniciada ni descomposición unimolecular.

c) Deben reaccionar rápidamente con los radicales iniciadores o propagantes para finalizar las cadenas de polímeros.

Ejemplos de estos radicales que cumplen con este criterio son difenilpicrilhidrazil (DPPH), nitróxidos, TEMPO, radical de Koelsch, sal de Fremy, trifenilmetil, galvinoxil y trifenilverdazil (ver Figura 5-3).

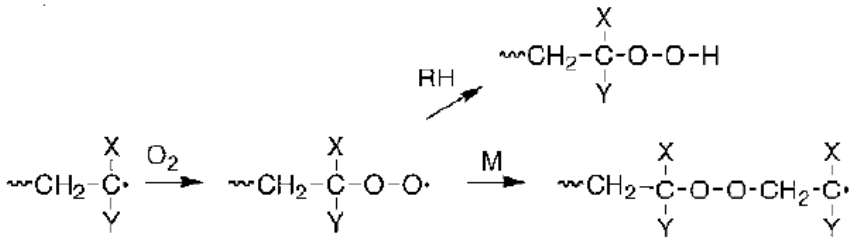
5.5.2.2. Oxígeno

El oxígeno puede actuar como un inhibidor o retardador de la polimerización, y/o facilitar la transferencia de cadena (por ejemplo, en la polimerización de vinil acetato) o coadyuvar en la inhibición producida por otras especies (por ejemplo, fenoles).

En efecto, el oxigeno molecular es uno de los agentes más efectivos de inhibición de la polimerización radical. Bajo ciertas circunstancias puede también adicionarse a la cadena en crecimiento formando un puente peróxido (ver Figura 5-4). Esto puede complicar la polimerización e impartir malas propiedades al polímero final. Por esta razón, es necesario extraer todo el oxígeno presente antes de llevar a cabo la polimerización.

Figura 5-3 Radicales comunes que actúan como inhibidores de la polimerización radicálica

Figura 5-4. Mecanismo de adición del oxígeno en la polimerización radicálica



5.5.2.3. Fenoles

Los inhibidores fenólicos tales como hidroquinona, *p*-metoxifenol y 3,5-di-*t*-butilcatecol se añaden a muchos monómeros comerciales para prevenir la polimerización durante el transporte y almacenamiento.

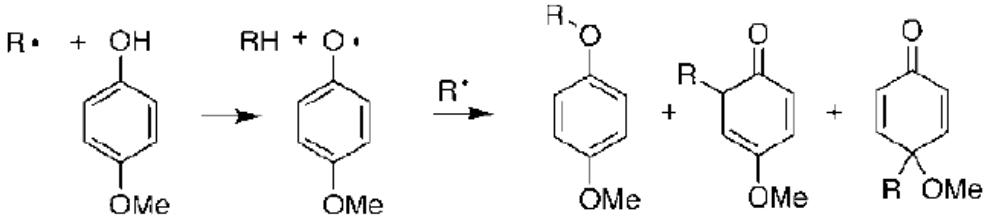
Figura 5-5. Inhibidores fenólicos más comunes

Sin embargo, los compuestos fenólicos son pobres inhibidores por sí solos. Su efectividad aumenta considerablemente en la presencia de oxígeno. El mecanismo de inhibición se muestra en el esquema siguiente. La reacción de radicales centrados en el carbono

(incluyendo radicales iniciadores y propagadores) con el oxígeno es muy rápida en relación con la propagación. Los fenoles son excelentes neutralizadores de los radicales hidroperóxidos.

Figura 5-6. Esquema de reacción de los fenoles con los radicales libres en presencia de oxígeno

Figura 5-7. Mecanismo de reacción de un inhibidor fenólico con radicales libres

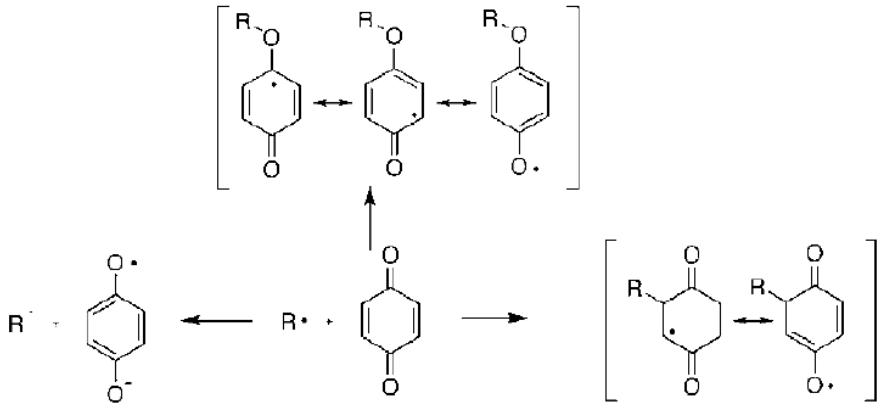


5.5.2.4. Quinonas

Las quinonas reaccionan con los radicales centrados en carbonos mediante la adición en el oxígeno o carbono, o por transferencia de electrones. Las constantes de velocidad para atacar estos centros reactivos en la *p*-benzoquinona y otras quinonas se han determinado en el rango de 10^7–10^8 M^{-1} s^{-1} [63].

El siguiente esquema muestra el mecanismo de inhibición de las quinonas:

Figura 5-8 Mecanismo de inhibición de las quinonas con radicales libres



5.5.2.5. Fenotiazina

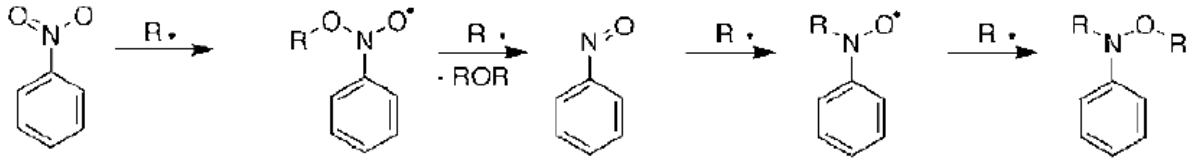
En contraste con los fenoles, la fenotiazina se reporta como un excelente neutralizador tanto de radicales centrados en carbono como en radicales centrados en oxígeno, mediante la transferencia de hidrógeno atómico y se usa también para estabilizar los monómeros en almacenamiento [63].

5.5.2.6. Nitronas, Nitro- y Nitroso- Compuestos

Muchos compuestos nitronas y nitroso se han utilizado para elucidar mecanismos de reacción radicálicos por espectroscopía EPR (o ESR).

Compuestos nitro aromáticos también se han usado como inhibidores de polimerizaciones y como aditivos en reacciones radicálicas. Las reacciones de estos compuestos con radicales son muy complejas y pueden involucrar nitroso-compuestos e intermediarios nitróxidos. El mecanismo general en el caso de nitrobenceno se muestra a continuación [63]:

Figura 5-9 Mecanismo de reacción del nitrobenceno con radicales libres



5.5.2.7. Sales de Metales de Transición

Las sales de metales de transición atrapan radicales centrados en el carbono mediante la transferencia de electrones o la transferencia de ligando. Estos reactantes muestran a menudo una alta especificidad para reaccionar con radicales específicos y las velocidades de captura pueden relacionarse con la nucleofilidad del radical [63].

Bajo ciertas condiciones, la transferencia de ligando puede ser reversible bajo las condiciones de polimerización. Esta química forma la base del ATRP.

Luego de analizar los distintos tipos de inhibidores más comunes que se utilizan en la polimerización radicálica, se presentará a continuación una tabla comparativa de las constantes de transferencia de algunos compuestos para la retardación/inhibición del estireno. Para efectos comparativos, estas constantes pueden utilizarse en lugar del factor de inhibición, *z*, ya que éste último es difícil de estimar en la mayoría de los casos debido a la complejidad de algunos mecanismos de inhibición.

Tabla 5-6. Constantes de transferencia de cadena para retardación/inhibición en estireno a 60°C†

Compuesto	$Cz \times 10^4$
Anilina	20
p-Benzoquinona	23×10^5
Hidroquinona	3.6
Fenol	14
2,4,6-Trinitrofenol	2.1×10^5
Pirogalol	370
4-*t*-Butil catecol	36×10^2

†Tomado de la tabla 3-9, pág. 260 de Odian, 2004 [60]

5.6. Técnicas de caracterización de polímeros y compuestos orgánicos [64]

5.6.1. IR

La radiación Infrarroja (IR) se ubica en el espectro entre las regiones visible y de microondas y su longitud de onda (λ) se extiende de 10^{-6} a 10^{-3} metros ($\bar{\nu}$ entre 4000 y 400 cm^{-1}).

En espectroscopia infrarroja una molécula muy simple puede dar un espectro muy complejo. Los químicos toman ventaja de esta complejidad al relacionar los picos de una muestra desconocida con el espectro de una muestra patrón o conocida. No hay dos compuestos, a excepción de enantiómeros, que puedan dar exactamente el mismo espectro IR.

Los espectros IR son muy útil para identificar grupos funcionales dentro de una molécula desconocida. Estos grupos de átomos se excitan a la misma frecuencia o muy cercana, sin importar la estructura del resto de la molécula.

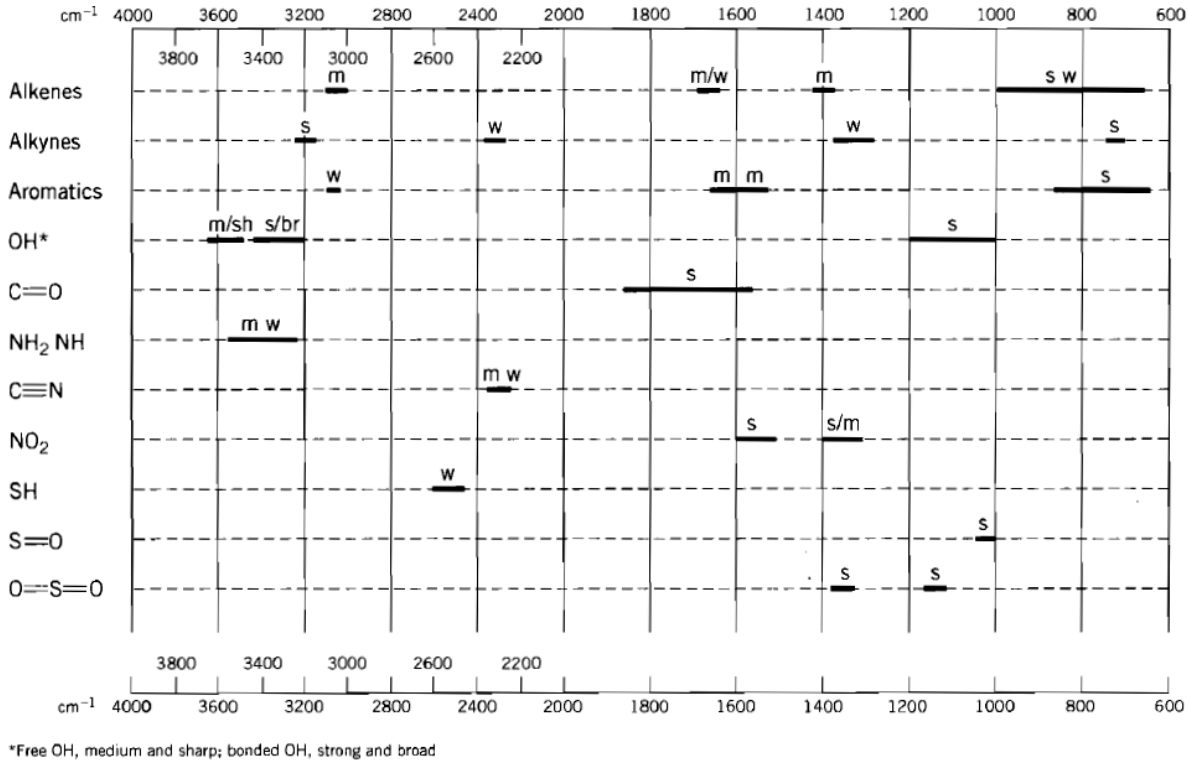
Estas bandas de absorción le permiten al químico obtener información estructural muy útil mediante la inspección y referencia a tablas y diagramas de frecuencias de absorción de grupos funcionales característicos.

Puesto que no se depende únicamente del espectro IR para la identificación, no se requiere un análisis detallado del espectro. Usualmente, el químico complementa la técnica de IR con otra como EM o RMN para elucidar la estructura de un compuesto desconocido.

Las posiciones de las bandas en IR se presentan más comúnmente en números de onda ($\bar{\nu}$) cuya unidad es cm^{-1}, la cual es proporcional a la energía de vibración y los instrumentos modernos vienen calibrados en esta escala. A veces a ésta unidad se le denomina frecuencia, lo cual es incorrecto y no debe confundirse con $v = c/\lambda$, cuya unidad es Hz (*Hertz*) y donde *c* es la velocidad de la luz.

Las intensidades de absorción suelen expresarse tanto en transmitancia (*T*) como en absorbancia (*A*). Sin embargo, muchas de las tablas y esquemas reportan los picos de absorción en unidades de transmitancia.

Figura 5-10. Diagrama simplificado de varios grupos funcionales comunes con absorciones muy características en IR†



s = fuerte, **m** = media, **w** = débil, **sh** = estrecho, **br** = ancho
†Tomado de la Figura 2.7, pág. 82; Silverstein, 2005 (64)

5.6.2. RMN

La Resonancia Magnética Nuclear (RMN) es básicamente otra forma de absorción espectrométrica, semejante a la espectrometría IR o UV. Bajo condiciones apropiadas en un campo magnético, una muestra puede absorber radiación electromagnética en la región de las radiofrecuencias (*rf*), a frecuencias gobernadas por las características de la muestra.

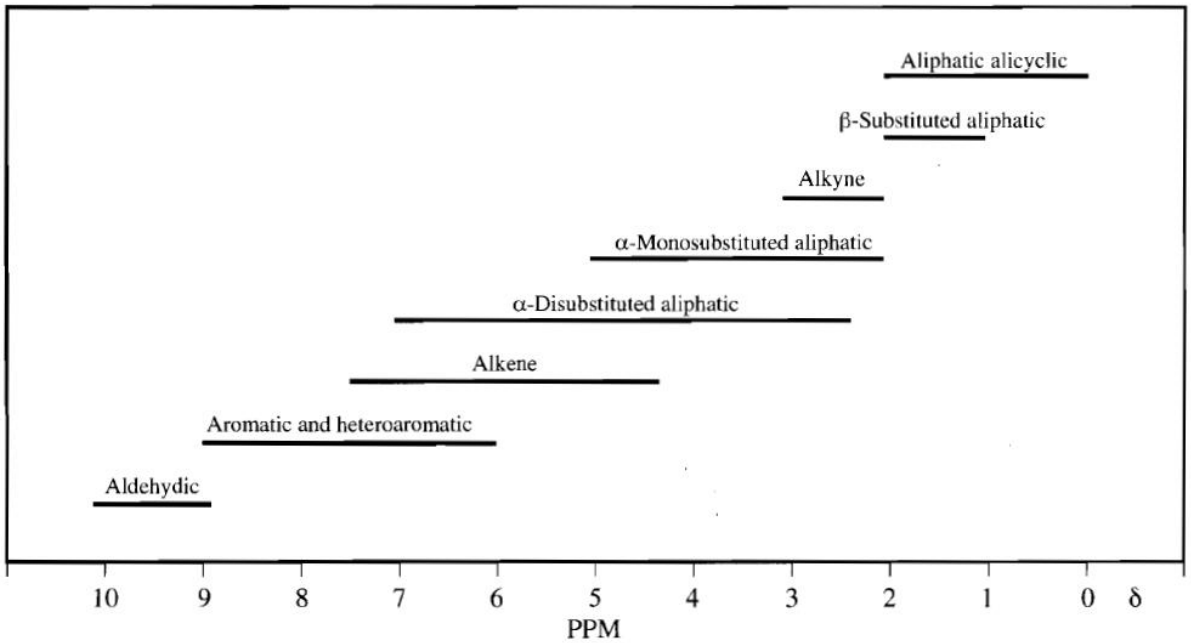
Un gráfico de las frecuencias de absorción de los picos versus la intensidad de los picos constituye un espectro de RMN. Existen distintos tipos de espectrometría RMN de acuerdo al número de spin nuclear, *I*, de una especie atómica en particular.

Los análisis de RMN más comunes y más útiles para identificar una muestra orgánica son espectrometría RMN de protón (^{1}H RMN) y espectrometría RMN de carbono-13 (^{13}C RMN).

La escala que se utiliza en RMN es una escala arbitraria adimensional denotada como δ ó ppm. La utilidad de esta escala radica en que es independiente de la frecuencia utilizada por el espectrómetro en cuestión. Se logra dividiendo el cambio químico (*chemical shift*) de un pico en Hz entre la frecuencia del espectrómetro en MHz. Así, un pico de protón en 1200 Hz en un espectrómetro de 300 MHz aparecerá en $\frac{1200\ Hz}{300\ Mhz}$ = δ 4 o 4 ppm. Si el equipo trabajara a 600 MHz, la misma señal se observará a 2400 Hz, de modo que el protón del ejemplo siempre dará un pico a 4 ppm.

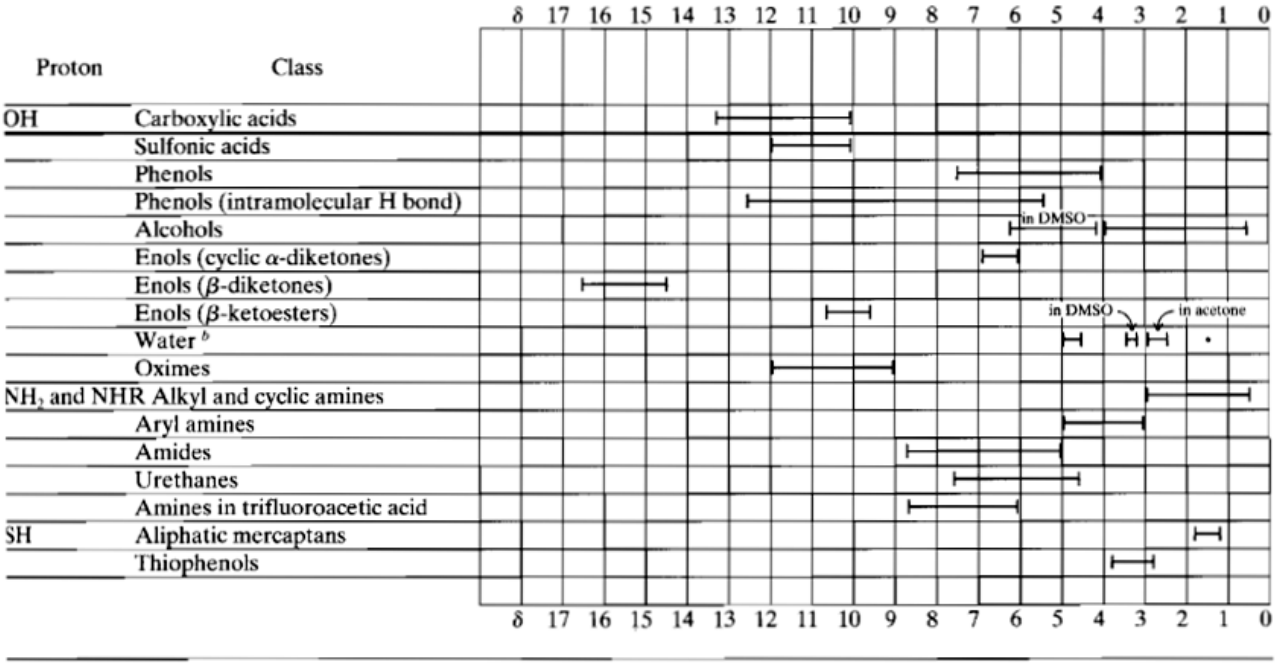
Mientras más fuerte sea la señal usada en el equipo, mayor resolución se obtendrá en el espectro. Los equipos modernos comunes poseen campos magnéticos de 300 a 600 MHz.

Figura 5-11. Regiones generales de absorción para ^{1}H RMN



†Varios aldehídos, enoles y la mayoría de los ácidos carboxílicos absorben en frecuencias mayores a δ 10

Figura 5-12. Regiones de absorción en RMN para compuestos que forman enlaces de hidrógeno†



†Varios $CHCl_3$ como solvente. Rangos de absorción en función de la concentración.
Tomado del Apéndice E del capítulo 4 de Silverstein, (2005) [64]

La espectrometría de RMN es una de las técnicas más útiles para identificar compuestos orgánicos porque permite distinguir entre elementos que se encuentren rodeados por un ***ambiente químico*** distinto. Por ejemplo, en un espectro de ^{1}H RMN, los protones del grupo metilo (CH_3) de la acetona: CH_3–CO–CH_3 y los del grupo metilo del éter dimetílico: CH_3–O–CH_3 tendrán distinta frecuencia de absorción.

5.6.3. GPC

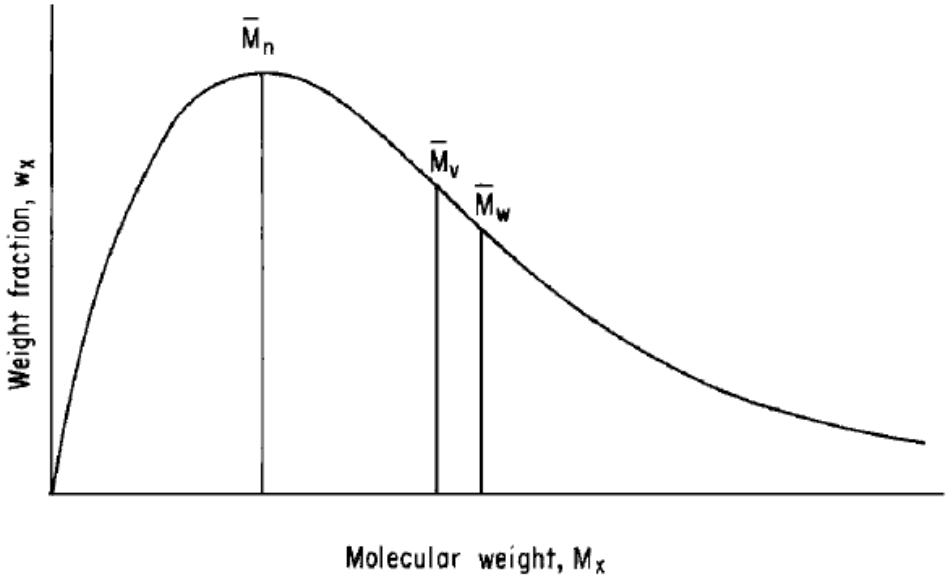
La Cromatografía de Permeación en Gel (*Gel Permeation Chromatography- GPC*) también conocida como Cromatografía por Exclusión de Tamaño (*Size Exclusion Cromatography-SEC)* es una técnica que se utiliza para determinar la distribución de pesos moleculares de un polímero.

El GPC separa las moléculas contenidas en un polímero según su tamaño, pero técnicamente las separa por variación de su volumen hidrodinámico.

Esta técnica involucra la permeación de un polímero en solución a través de una columna empacada con partículas microporosas de poliestireno entrelazado. Las moléculas pequeñas penetran los microporos, mientras que las más grandes rodean las partículas que forman el empaque, de modo que las moléculas de menor tamaño tardan más en atravesar la columna que las moléculas más grandes. Esto se debe a que el transporte a través del volumen intersticial es más rápido que a través de los poros.

El uso de un detector apropiado (índice de refracción, viscosidad, dispersión de luz) mide la cantidad de polímero que atraviesa la columna en función del tiempo. Esta información junto con la calibración de la columna con muestras estándar de polímeros de peso molecular conocido permite obtener la distribución de pesos moleculares de una muestra en forma de un gráfico.

Figura 5-13. Distribución de pesos moleculares en una muestra típica de polímero



Los métodos por los cuales se preparan los polímeros siempre producen una mezcla de pesos moleculares cuyas propiedades dependen del peso promedio de las moléculas presentes [65].

Estos pesos moleculares promedio son muy útiles para el análisis de la distribución que proporciona el GPC.

El más simple es la media aritmética, llamada usualmente $\bar{M}_n$ (*peso molecular promedio numérico*). Se define como el peso total, *w*, de todas las moléculas en una muestra de polímero dividida por el número total de moles presentes.

$$\bar{M}_n = \frac{w}{\sum N_x} = \frac{\sum N_x M_x}{\sum N_x} \tag{5-23}$$

donde las sumatorias son sobre todos los diferentes tamaños de polímeros, desde x=1 hasta x=n y N_x es el número de moles cuyo peso es M_x.

La ecuación 5-22 también puede escribirse como

$$\bar{M}_n = \sum \underline{N}_x M_x \tag{5-24}$$

donde $\underline{N}_x$ es la fracción molar (o fracción numérica) de las moléculas con tamaño M_x.

Otro parámetro, $\bar{M}_w$ (*peso molecular promedio másico*) se define como:

$$\bar{M}_w = \sum w_x M_x \tag{5-25}$$

donde w_x es la fracción en peso de las moléculas cuyo peso molecular es M_x. $\bar{M}_w$ también puede definirse como

$$\bar{M}_{\mathrm{w}} = \frac{\sum c_x M_x}{\sum c_x} = \frac{\sum c_x M_x}{c} = \frac{\sum N_x M_x^2}{\sum N_x M_x} \tag{5-26}$$

donde c_x es la concentración en peso de M_x moléculas, *c* es la concentración total en peso de todas las moléculas de polímero.

Para polímeros cuya totalidad de moléculas poseen la misma masa molar $M_n = M_w$, pero en todos los demás casos, M_w es mayor que M_n. La razón de M_w a M_n se usa para indicar la dispersidad de pesos moleculares en una muestra particular de polímero. Esta razón se llama *índice de polidispersidad* del polímero; cuando M_w/M_n = 1 se tiene un polímero monodisperso. En la práctica, el índice de polidispersidad es siempre mayor a 1.

Otra medida útil, aunque menos usada, es el *peso molecular promedio-z,* M_z, definido como:

$$\bar{M}_{\mathrm{z}} = \frac{\sum N_x M_x^3}{\sum N_x M_x^2} \tag{5-27}$$

El equipo de GPC obtiene la curva de distribución de pesos moleculares y a la vez mide $\bar{M}_n$, $\bar{M}_w$, $\bar{M}_z$ y el *índice de polidispersidad*.

Los parámetros anteriores pueden caracterizar una distribución de pesos moleculares de la misma forma que la media ($\bar{x}$), mediana (*Me*) y desviación estándar (*s*) pueden definir una curva de distribución normal.

En una reacción de polimerización, estos parámetros son muy útiles para comparar el efecto de distintos agentes de transferencia, solventes, inhibidores y otros compuestos que entran en juego en la polimerización. En el caso de inhibidores, mayor reducción de pesos moleculares promedios y menor índice de polidispersidad indicarán generalmente mejor capacidad inhibidora.

6. HIPÓTESIS

- 1. Los antioxidantes obtenidos del extracto del fruto y del extracto de la raíz de *Morinda citrifolia* L. (Noni), actúan como inhibidores y/o retardantes de la reacción de polimerización radical del estireno.
- 2. Los compuestos antioxidantes extraídos de la raíz de Noni son más efectivos que los extraídos a partir del fruto en la inhibición de la polimerización radical en cadena del estireno.
- 3. Los extractos de Noni poseen una efectividad de inhibición comparable o cercana que la del inhibidor comercial hidroquinona.

7. MATERIAL Y MÉTODO

7.1. Materiales

7.1.1. Reactivos, Solventes y Otros

7.1.1.1. Reactivos

- Estireno, $C_6H_5CH{=}CH_2$, destilado (>99.9%). Líquido. *Aldrich Chemical Company*.
- AIBN, $(NC\text{-}C(CH_3)_2N)_2$, re-cristalizado (>99.9%). Sólido. *Aldrich Chemical Company*.
- Extracto de Fruto de Noni (*M. citrifolia)*.
- Raíz de Noni (*M. citrifolia*).
- Hidroquinona, $C_6H_6O_2$, cristales sólidos, (>99%). *Sigma Aldrich*

7.1.1.2. Solventes

- Cloroformo, $CHCl_3$, grado HPLC (>99.9%). Líquido. *Sigma Aldrich*
- Cloroformo Deuterado, $CDCl_3$, grado analítico, (>99.9% átomo de D). Líquido. *S. Aldrich*
- Tetrahidrofurano (THF), C_4H_8O, grado analítico. Líquido. *Sigma Aldrich*
- Metanol, CH_3OH, grado reactivo. Líquido.
- Cloroformo, $CHCl_3$, grado reactivo
- Acetona,CH_3COCH_3 grado reactivo
- Agua, H_2O, destilada, grado reactivo
- Etanol, CH_3CH_2OH, absoluto (>99.9%). Líquido. *Sigma Aldrich*
- n-Hexano, $CH_3(CH_2)_4CH_3$, grado analítico. Líquido. *Sigma Aldrich*
- Éter de petróleo, (mezcla), grado analítico. Líquido. *Sigma Aldrich*
- Éter dietílico, $(CH_3CH_2)_2O$, grado reactivo. Líquido. *Sigma Aldrich*
- Cloruro de Metileno, CH_2Cl_2, grado reactivo. Líquido. *Sigma Aldrich*

7.1.1.3. Auxiliares

- Algodón
- CO_2 sólido (hielo seco) como refrigerante.
- Grasa, aplicada en uniones de cristalería.
- KBr, sólido, para formación de pastillas para análisis en IR.
- Nitrógeno líquido, N_2 (-79 °C) como refrigerante/congelante.
- Papel Aluminio.
- Sílica gel, como material de relleno de la columna para cromatografía líquida.

7.1.2. Equipos

7.1.2.1. Cristalería y Material de Laboratorio

- Agitador mecánico, marca *Maxi-Mix*
- Agitadores magnéticos
- Balanza analítica, precisión: ± 0.0001 gramo
- Balanza analítica, precisión: ± 0.01 gramo
- Baño de aceite
- Beakers de 250 ml y 400 ml
- Beakers de Plástico de 1000 y 1500 ml
- Bomba de vacío
- Calentador/Agitador Magnético

- Columna para cromatografía
- Condensador
- Embudo de separación de 250 ml, 24/40
- Espátula
- Filtros de vidrio sinterizado, 24/40 y 14/20
- Gotero
- Horno secador al vacío
- Matraz balón de 100, 250 y 1000 ml, 24/40
- Matraz Erlenmeyer de 100, 125, 500 y 1000 ml, 24/40
- Papel filtro Whatman ® Cat. No. 1001 150
- Pinza
- Pipetas de 10 ml, 25 ml y 50 ml
- Pipetas Pasteur
- Placa preparatoria de sílica gel
- Placas finas de sílica gel
- Recipiente metálico
- Rotavapor
- Septums
- Sujetadores de 24/40 y 14/20
- Trampa para Condensador
- Tubos de cuarzo para análisis de RMN
- Tubos de Ensayo Pyrex para polimerizaciones
- Viales

7.1.2.2. Equipos de Caracterización Fisicoquímica[6]

- Equipo GPC *Hewlett Packard* Serie 1100, con detectores de luz UV e índice de refracción y THF grado HPLC como eluyente.
- Interfase para GC-IR Sistema Magna de *NICOLET*
- Espectrómetro de RMN de 7.05 [T], marca *Jeol*, modelo *Eclipse*$^{+}$ de 300 MHz NM 13404496.
- Cromatógrafo de Gases acoplado a Espectrómetro de Masas, CG-EM, *Finnigan*, Mod. TRACE 2000.
- Lámpara de luz UV, marca UVEX

[6] Ver Apéndice D donde se muestran fotos de los equipos de caracterización utilizados

7.2. Métodos

7.2.1. Extracción de los compuestos antioxidantes del fruto y raíz de Noni

7.2.1.1. Extracción de Antioxidantes del Fruto

El primer paso consistió en la extracción de los compuestos antioxidantes a partir del fruto de Noni. Se utilizó extracto de fruto de Noni nicaragüense como materia prima (190.41 gr). La extracción se llevó a cabo en un embudo de separación.

Según la revisión de literatura los solventes más adecuados para extraer antioxidantes del Noni son etanol, butanol, cloroformo y metanol, entre los principales [55, 59, 66]. Sin embargo, sólo el cloroformo permite realizar la extracción selectiva de los compuestos del extracto de fruto del Noni [67], puesto que otros, como el etanol, no permitirían la separación en dos fases.

Se realizaron 3 extracciones sucesivas con 50 ml de $CHCl_3$ cada una. Se utilizó cloroformo grado HPLC (99.9%). Las tres alícuotas de $CHCl_3$ (fase más densa) se recolectaron en un Beaker obteniéndose 160 ml.

Se filtró la fase clorofórmica en papel filtro para separar residuos proteínicos. La fase filtrada se secó en un rotavapor en un matraz balón de 250 ml para evaporar el solvente (cloroformo). El residuo sólido remanente se secó directamente por medio de una bomba al vacío para eliminar el contenido de humedad.

Se obtuvieron 109 mg de cristales de forma acicular (agujas) de color anaranjado. Se tomó una muestra de estos compuestos para obtener un espectro RMN de protón. El extracto de fruto se rotuló como **OR-1a**.

7.2.1.2. Extracción de Antioxidantes de la Raíz

La revisión bibliográfica aportó evidencia de que la raíz de Noni es la mejor fuente de antioxidantes en la planta. Se tomó como referencia la metodología que se desarrolló en la publicación de Singh *et al.* (2006) [1] y se realizó un procedimiento similar para obtener estos antioxidantes de la raíz de Noni. Esta publicación se eligió por presentar un método de extracción favorable para las condiciones de laboratorio y porque reportan aislar la antraquinona más importante del Noni (damnacantal).

Raíces de Noni nicaragüense se recolectaron y lavaron con agua para eliminar la tierra e impurezas. Estas raíces se cortaron de forma laminar en porciones pequeñas para favorecer el secado. Luego se secaron directamente al sol por 10 horas al día durante 3 días. Los trozos de raíz seca se molieron para reducir el tamaño hasta obtener aproximadamente 1.2 kg de un polvo fino. Este procedimiento se realizó en Nicaragua de forma artesanal[7]. Las raíces molidas y secas se enviaron a México para realizar la extracción de los compuestos antioxidantes.

Una muestra de 100 gr de raíz de Noni seca molida se introdujo en el sistema de extracción que se muestra en la Figura 7-1 conformado por un calentador y agitador magnético, baño de aceite, matraz redondo, condensador y trampa de vapor. Se introdujo un flujo constante de agua de enfriamiento en el condensador. Este sistema opera de forma similar a la extracción Soxleth, permitiendo que el etanol extraiga constantemente los antioxidantes de la raíz en constante evaporación/condensación.

[7] en el Apéndice D se muestran algunas fotos.

Se añadieron 500 ml de etanol absoluto para realizar una primera extracción. El sistema se dejó en funcionamiento durante 16 horas a 80°C.

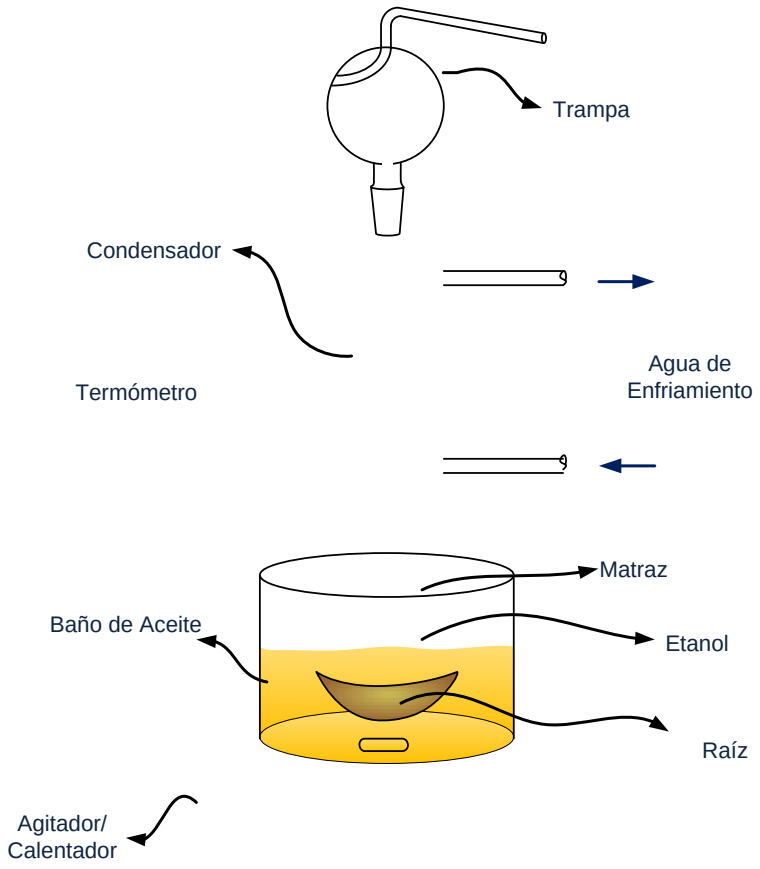
La fase etanólica se extrajo del sistema mediante decantación y filtración, luego se montó de nuevo el sistema retornando la raíz al matraz, agregando 250 ml de etanol fresco, manteniendo la extracción por 16 horas a 80 °C en una segunda etapa.

Se realizó una tercera extracción con 250 ml de etanol a las mismas condiciones durante 24 horas. El etanol extraído de estas 3 etapas se recolectó en un matraz de 1000 ml.

Finalmente, se añadieron 200 ml de etanol al residuo de la raíz que quedó en el matraz para hacer un lavado final y agotar una mayor cantidad de soluto de la raíz.

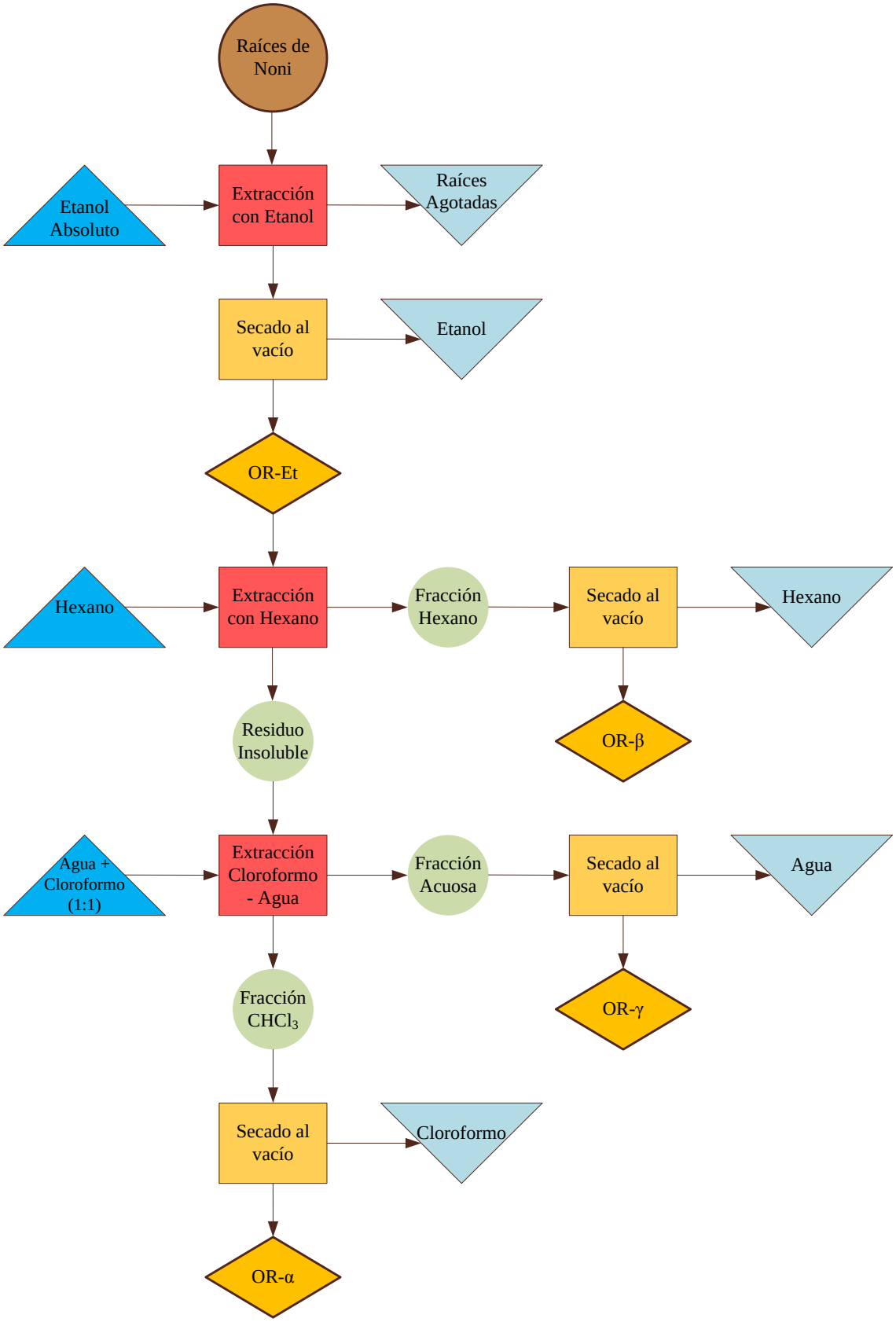
Los extractos recolectados se secaron en rotavapor para eliminar el disolvente (etanol). Después se secó el residuo sólido directamente con la ayuda de una bomba de vacío para eliminar residuos de humedad en el extracto. Se obtuvieron 5.6786 gramos de extracto de raíz, el cual se rotuló como **OR-Et**.

Figura 7-1. Esquema del sistema utilizado para las extracciones de la raíz de Noni



Puesto que el primer extracto (OR-Et) contiene varias familias de compuestos, se desean aislar algunos antioxidantes de este extracto para realizar pruebas de inhibición en estireno. La Figura 7-2 es un esquema que muestra la metodología que se utilizó en esta tesis para extraer y aislar estos antioxidantes.

Figura 7-2. Procedimiento de extracción de antioxidantes de la raíz de Noni



Se tomó una porción de OR-Et (4.0923 gr.) para las extracciones sucesivas.

El extracto primario de la raíz: OR-Et se maceró con 100 ml de n-hexano grado reactivo. La mezcla se agitó y se dejó reposando por varias horas. Luego se filtró en un filtro de vidrio sinterizado para separar el sólido insoluble en hexano de la fracción soluble.

La fracción de n-hexano se secó en rotavapor obteniéndose un sólido marrón pastoso (**OR−β**).

El sólido no soluble en hexano se secó en un horno a 60°C para eliminar el hexano y pasar a la siguiente extracción con cloroformo y agua.

Se preparó una mezcla 1:1 con 100 ml de cloroformo y 100 ml de agua destilada, ambos de grado reactivo. El residuo no soluble en hexano se disolvió en esta mezcla en un Beaker hasta formar un sistema de dos fases. Luego se agregó la mezcla en un embudo de separación, dejando la mezcla en reposo por varias horas hasta que las dos fases se separaron completamente.

La fase clorofórmica (más densa) se separó de la acuosa por decantación, recolectándose aproximadamente 130 ml en un beaker. Se tomó una alícuota de 70 ml de esta fracción para posteriormente aislar las antraquinonas presentes en este extracto mediante separación en columna cromatográfica. La alícuota se secó en rotavapor y finalmente se obtuvieron 560 mg de extracto (**OR−α**).

La fracción acuosa se recolectó en un beaker obteniéndose 90 ml. Luego se secó la solución en rotavapor para eliminar el agua y obtener un extracto hidrofílico **OR−γ**.

La publicación con la cual se basó la metodología de extracción de antioxidantes de la raíz [(1)] reporta que la actividad ***fungicida*** se encontró sólo en la fracción clorofórmica de la raíz, OR− α, en la cual se aislaron y caracterizaron las antraquinonas (antioxidantes), las cuales son el objeto de interés en la presente tesis para probar si son o no inhibidores de la polimerización radical del estireno.

Por esta razón, de los tres extractos separados de la raíz, se utilizó OR-α en la serie de polimerizaciones con estireno.

7.2.2. Polimerizaciones de estireno en presencia de extractos antioxidantes[8]

Se realizaron polimerizaciones de estireno con extractos del fruto y raíz de Noni, también se llevaron a cabo polimerizaciones en ausencia de extracto (blancos) y en presencia del inhibidor comercial hidroquinona.

El proceso para la polimerización se describe en la Figura 7-3.

Se realizaron distintas series de polimerizaciones con cada uno de los siguientes extractos

PS-B: Polimerizaciones de estireno + AIBN (Blanco)

PS-OR-1a: Polimerizaciones de estireno + AIBN + OR-1a (Extracto del fruto)

PS-OR-Et: Polimerizaciones de estireno + AIBN + OR-Et (Extracto etanólico de la raíz)

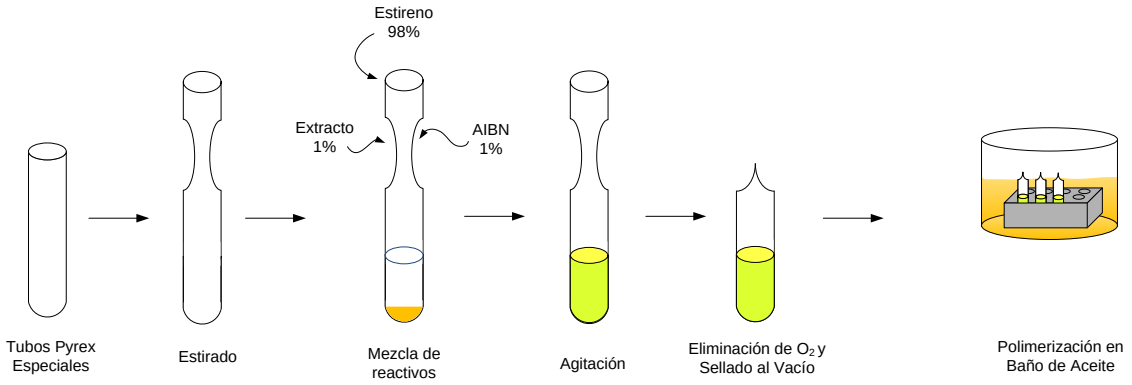
PS-OR-α: Polimerizaciones de estireno + AIBN + OR-α (Extracto clorofórmico la raíz)

PS-HQ: Polimerizaciones de estireno + AIBN + Hidroquinona (Inhibidor)

[8] Para ver una descripción completa de las polimerizaciones que se llevaron a cabo, véase la sección 7.2.6 Descripción de los Experimentos.

Todas las polimerizaciones se realizaron a una temperatura de 60 °C y a tiempos variables (0.25, 0.5, 1, 2, 5, 10 y 15 horas).

Figura 7-3. Procedimiento para realizar la polimerización radical libre del estireno con los extractos antioxidantes de Noni



También se realizaron las siguientes polimerizaciones:

Polimerización de estireno + PS-OR-1a + AIBN (60 °C)

Polimerización de estireno + PS-OR-1a (110 °C)

Polimerización de estireno (110 °C) (Blanco)

El objetivo de esta polimerización fue determinar, una vez obtenido poliestireno, si el extracto de fruto puede actuar como un controlador del peso molecular de la polimerización del estireno.

Polimerización de estireno + AIBN + OR-β (60°C)

Polimerización de estireno + AIBN + OR-γ (60 °C)

Se realizaron estas polimerizaciones para compararlas con la del extracto OR-α (donde se encuentra la mayor cantidad de antraquinonas) y tener una idea de qué tan efectivos son los diversos compuestos separados de la raíz.

7.2.3. Purificación, Análisis y Caracterización de Polímeros Obtenidos

Una vez formado el polímero dentro del reactor, éste se encuentra formando una mezcla junto con el monómero residual (estireno), iniciador no consumido (AIBN) y el extracto de Noni que no haya reaccionado.

Para analizar el polímero obtenido, se debe primeramente detener la reacción de polimerización retirando del baño el tubo donde se está llevando a cabo ésta. Luego se debe separar el polímero de los demás compuestos mediante una técnica de purificación.

La técnica para purificar el polímero obtenido empleada en esta tesis es la precipitación en metanol, en la cual se disuelve primeramente la mezcla de reacción con una pequeña cantidad de THF (Tetrahidrofurano) y luego se gotea sobre una cantidad mayor de metanol (10 veces la cantidad de THF utilizado, aproximadamente).

Cuando estas gotas entran en contacto con el metanol, las cadenas se liberan de la solución precipitando en la mezcla de THF, estireno, metanol, en donde este último es quien está en

mayor proporción. El polímero precipita formando fibras que se aglomeran debido a la agitación continua dentro del recipiente (beaker).

Es importante que la velocidad de goteo sea lo suficientemente adecuada como para permitir que cada gota se expanda completamente dentro del solvente y que el polímero no atrape compuestos y forme glóbulos que conllevan posteriormente a mediciones inexactas de peso.

Una vez precipitado el polímero, éste se filtró en un filtro de vidrio sinterizado, el cual contiene microporos que permiten el paso de moléculas de tamaños muy pequeños (solventes y reactivos), pero retiene las moléculas más grandes de polímero.

Posteriormente los polímeros obtenidos se secaron en un horno al vacío (-80 kPa) a 40°C para eliminar completamente el metanol.

Luego de secar los polímeros éstos se pesaron en una balanza analítica con precisión de ± 0.0001 gramos para determinar la conversión global del estireno a poliestireno, la cual se calculó mediante la ecuación:

$$\pi = \frac{m_P}{m_M}$$

donde, π es la conversión de estireno a poliestireno

m_P es la masa de polímero obtenido, y

m_M es la masa de monómero agregado inicialmente al reactor.

La conversión es un parámetro que aporta importante información sobre la cinética de polimerización. La comparación de curvas de conversión vs tiempo permite juzgar la eficiencia del hipotético inhibidor, parámetro que junto con las técnicas de caracterización de polímeros conforman el fundamento que permitirá concluir si los antioxidantes presentes en el Noni son o no buenos inhibidores de la polimerización radical libre del estireno.

Se le practicó un análisis de GPC a todos los polímeros de 5, 10 y 15 horas después de su secado obteniendo la curva de distribución del peso molecular de los polímeros, así como los parámetros de polidispersidad y pesos moleculares promedios.

Asimismo, los polímeros obtenidos de la reacción de estireno con el extracto del fruto a tiempos de 5, 10 y 15 horas, se analizaron en RMN de protón para observar principalmente la estructura general del polímero formado. También se obtuvo un espectro de ^{1}H RMN del polímero de referencia (blanco) a 10 horas para realizar una comparación con los espectros anteriores.

7.2.4. Aislamiento de Antraquinonas con propiedades anti-cancerígenas del Extracto de Raíz de Noni.

El interés principal de esta tesis es probar la capacidad de los antioxidantes del Noni para inhibir la polimerización radical del estireno.

Para obtener los antioxidantes del fruto se realizó una sola extracción ya que se contaba con el extracto del fruto. Sin embargo, para obtener los antioxidantes de la raíz de Noni se partió de la misma como materia prima y se utilizó un procedimiento más extenso para separar los extractos.

Comparada con el fruto, la raíz de Noni contiene una mayor cantidad de antioxidantes [(2)] – entre ellos las antraquinonas – los cuales son compuestos con una capacidad extraordinaria para atrapar radicales libres, la cual ha sido probada tanto con compuestos oxidantes [(55)] como dentro de organismos vivos [(26)].

Por esta razón se eligió un método capaz de extraer los antioxidantes más importantes de la raíz [(1)] y que a la vez permite aislar los compuestos más importantes (damnacantal, alizarin, scopoletin, etc.) que desempeñan un papel novedoso en la detención, reducción y/o eliminación de enfermedades como cáncer, diabetes, gastritis, artritis, hepatitis, etc [(2)].

Para aislar las antraquinonas, se continuó el procedimiento anterior donde se obtuvieron finalmente tres extractos de la raíz: OR-α, OR-β y OR-γ. De ellos, OR-α es el que contiene las antraquinonas, las cuales deberán purificarse.

Para realizar esta separación, se preparó una ***cromatografía en columna*** de sílica gel con el extracto OR-α (≈560 mg). Esta técnica es muy favorable en este caso porque los compuestos extraídos son muy coloridos y presentan un rango amplio de tinción, desde amarillo claro a naranja, rojizo y marrón oscuro, lo que permite distinguir visualmente con mayor facilidad las interfases (cambios de color) que indican la separación entre distintos compuestos.

Se realizaron pruebas preliminares en cromatografía de placa fina para seleccionar el mejor solvente o mezcla de solventes que se utilizará en la columna. Según la revisión bibliográfica, se han realizado cromatografías con mezclas de eluyentes como éter de petróleo – cloroformo [(68)], hexano – acetona y benceno – metanol [(1)].

Las pruebas con éter de petróleo y cloroformo en distintas proporciones demostraron que la mejor separación se logó usando únicamente cloroformo como eluyente; por lo tanto, el solvente elegido fue cloroformo.

Se recolectaron 27 fracciones (**D-1** a **D-27**) en viales las cuales corresponden a distintas tonalidades de colores e interfases. El resto de compuestos que tardó mucho más en eluir o que no se separó en la sílica gel completamente (***Rd*** muy pequeño) se descartó puesto que se ha determinado en trabajos anteriores que las antraquinonas con la mayor actividad antioxidante (damnacantal, nordamnacantal, alizarin, etc.) se separaron de las primeras fracciones de cromatografía en columna de sílica gel [(68)].

Las muestras recolectadas[9] se secaron en una campana de extracción a temperatura de 20°C para eliminar el cloroformo. En cada fracción se obtuvieron cristales aciculares de color amarillo y naranja.

Para caracterizar los compuestos separados en las distintas fracciones, se realizaron pruebas en placa fina con cada una; en la que cada mancha en la placa indica un compuesto distinto.

Las fracciones con menos impurezas se purificaron mediante recristalización para obtener señales más limpias en el espectro RMN de protón. Estas fueron D-7 y D-16

Las muestras (fracciones recolectadas) se encontraban en solución con cloroformo. El procedimiento de recristalización consistió en:

1. Filtración de la solución en pipeta *Pasteur* y algodón
2. Concentración de la muestra mediante evaporación al vacío
3. Enfriamiento (formación de cristales)
4. Separación de cristales (filtración)
5. Lavado de cristales con agua destilada y secado en horno a 110°C
6. Dilución de cristales con cloroformo
7. Secado a 100°C y vacío para obtener cristales limpios.

[9] En el apéndice D se muestran fotos de estos experimentos

De la fracción D-7 se obtuvieron cristales limpios los cuales se rotularon como **D-7 p1**. Los primeros cristales formados de la fracción D-16 se denominaron **D-16 crist**.

Cuando la solución remanente se secó al vacío a una velocidad lenta, se formaron 3 capas de cristales de distintos colores, amarillo claro, naranja y café.

D-16 pr 1: Sólidos de color amarillo claro

D-16 pr 2: Sólidos de color naranja y marrón.

Luego de practicar diversas técnicas de caracterización en las fracciones y determinar que efectivamente se habían aislado las antraquinonas del Noni[10], se decidió llevar a cabo una cromatografía en placa preparatoria para tratar de aislar el compuesto damnacantal de las fracciones que indicaban la presencia de éste.

Se realizaron pruebas de mezclas de solventes para encontrar el mejor eluyente con la ayuda de las pruebas en placa fina.

Luego de probar con distintas concentraciones de Éter de Petróleo (40-60%), Cloroformo (30-50%) y Etanol (0-10%) se determinó que la mejor separación se logró con una mezcla de 60% éter de petróleo, 38% cloroformo y 2% etanol.

Se mezclaron las fracciones (D-12 a D-26) para las pruebas en placa fina y para la cromatografía en placa preparatoria. No se agregaron las fracciones D-1 a D-11 ya que los análisis de espectros de RMN de protón mostraron que en éstas no se encuentran presentes los grupos metoxi ($-OCH_3$) ni hidroxi (-OH) existentes en la molécula de damnacantal.

Una vez finalizada la cromatografía en placa preparatoria, se raspó una franja de sílica donde estaban localizados los compuestos que deseaban purificar. Los compuestos se separaron de la sílica mediante dilución en cloroformo y luego filtrado. La solución clorofórmica se secó al vacío para obtener cristales (antraquinonas) que se analizaron en RMN de protón para identificar si se había aislado la antraquinona damnacantal del resto de compuestos.

El primer raspado de la sílica disuelto en cloroformo que se purificó se rotuló como **Placa D−1**. Un segundo raspado de la placa que se realizó a mayor profundidad se rotuló como **Placa D−2**.

Ambas muestras se analizaron en RMN para obtener un espectro de ^1H de cada una.

7.2.5. Caracterización de Compuestos Antioxidantes (RMN, GPC, IR, EM-CG)

7.2.5.1. Caracterización en RMN

Extracto de fruto: Se realizó una resonancia de protón, ^1H RMN al extracto del fruto de Noni obtenido de la fase clorofórmica: OR-1a.

Extracto de raíz: Se le practicó resonancia a las principales fracciones que se recolectaron de la cromatografía en columna de sílica gel.

Caracterización	Fracciones
^1H RMN	6, 7, 9, 10, 16, 25 y D-7 p1
^{13}C RMN	D−7

[10] Ver Apéndice E donde se muestran los espectros de RMN de las fracciones mencionadas

También se realizó una resonancia de protón a las fracciones purificadas por recristalización: D−7 p1, D−16 crist, D−16 pr 1 y D−16 pr 2.

Finalmente, las muestras recolectadas en la placa preparatoria: Placa D−1 y Placa D−2 se analizaron también en ^{1}H RMN para identificar la presencia de damnacantal u otras antraquinonas.

7.2.5.2. Caracterización en IR

Las principales fracciones obtenidas de la cromatografía en columna se analizaron en IR para corroborar la presencia de grupos funcionales observados en RMN.

Estas muestras fueron las fracciones D−7, D−8, D−10, D−16, D−25 y D−26.

7.2.5.3. Caracterización en EM-CG

Las fracciones #7 y #26 recolectadas de la cromatografía en sílica gel, se analizaron en un espectrómetro de masas acoplado a un cromatógrafo de gases (EM-GC). Sin embargo no se obtuvo un espectro adecuado, porque la muestra – que contiene principalmente antraquinonas – no se pudo sublimar, ya que la columna del equipo alcanza un máximo de 300 °C y los compuestos a analizar tienen un punto de ebullición 380 a 450°C.

Por esta razón, la muestra no alcanzó a ser detectada por el equipo y se decidió utilizar otra técnica, el GPC, para medir los pesos moleculares de los compuestos purificados de la raíz.

7.2.5.4. Caracterización en GPC

Se llevó a cabo un análisis de la muestra D-7 en GPC para analizar los pesos moleculares de los compuestos obtenidos de la raíz. Este análisis, en conjunto con las otras técnicas de caracterización empleadas permitirá definir si los extractos de la raíz de Noni contenían efectivamente los principales antioxidantes reportados en el Noni.

Estas 3 técnicas (GPC, IR y RMN) proporcionaron información clave sobre el peso molecular, grupos funcionales y estructura química y constituyen el punto de referencia para confirmar el cumplimiento de los objetivos y comprobación de las hipótesis.

7.2.6. Descripción de los experimentos

EXPERIMENTO 1

Objetivo: Verificar la capacidad inhibidora del extracto clorofórmico del fruto de Noni en la reacción de polimerización radical en cadena del estireno con AIBN como iniciador.

Fundamento: Polimerización radical libre de estireno, en presencia tanto de un iniciador como de un hipotético inhibidor.

Criterio: Si en presencia de un generador de radicales libres (AIBN) la polimerización con estireno muestra una cinética (conversión vs tiempo) distinta que el caso donde el extracto está ausente, se confirmará que éste es capaz de inhibir/retardar la reacción.

Preparación de Muestras

- Estireno (99%) + AIBN (1%) [Blanco] – B
- Estireno (98%) + AIBN (1%) + Extracto del Fruto de Noni – (OR-1a) (1%)

Polimerizaciones llevadas a cabo a ¼, ½, 1, 2, 5, 10 y 15 horas.

Temperatura: 60 °C

Total: 14 muestras

EXPERIMENTO 2

Objetivo: Determinar qué extracto resulta más efectivo para la inhibición de la polimerización del estireno, si el obtenido de la raíz o del fruto de Noni.

Fundamento: Se llevarán a cabo polimerizaciones en las mismas condiciones que en el experimento 1, pero en este caso se usarán extractos de la raíz de Noni.

Criterio: La comparación entre el comportamiento cinético de los experimentos en los que se utiliza extracto de raíz con los que se utiliza extracto de fruto permitirá determinar cuál es más eficiente en la inhibición de la polimerización del estireno.

Preparación de Muestras

- Estireno (98%) + AIBN (1%) + Extracto de Raíz de Noni (1%) – OR-Et
- Estireno (98%) + AIBN (1%) + Extracto de Raíz de Noni (1%) – OR-α

OR-Et: Fracción soluble en Etanol de la raíz de Noni. (*Experimento 2a*)

OR-α: Fracción soluble en Cloroformo de la raíz de Noni. (*Experimento 2b*)

Polimerizaciones a tiempos de ¼, ½, 1, 2, 5, 10 y 15 horas

Temperatura: 60 °C

Total: 14 muestras

EXPERIMENTO 3

Objetivo: Determinar qué extracto de la raíz de Noni es más efectivo para la inhibición de la polimerización del estireno.

Fundamento: Se llevarán a cabo una polimerización a un tiempo de 5 horas para comparar el efecto inhibidor de las distintas fracciones obtenidas del extracto de la raíz de Noni.

Criterio: El extracto que posea la mayor efectividad inhibidora, deberá mostrar la menor conversión de monómero a un tiempo determinado.

Preparación de Muestras

OR-α: Fracción soluble en Cloroformo de la raíz de Noni.

OR-β: Fracción soluble en *n*-Hexano de la raíz de Noni.

OR-γ: Fracción soluble en Agua de la raíz de Noni.

- Estireno (98%) + AIBN (1%) + OR-α (1%)
- Estireno (98%) + AIBN (1%) + OR-β (1%)
- Estireno (98%) + AIBN (1%) + OR-γ (1%)

Tiempo de polimerización: 5 horas

Temperatura: 60 °C

Total: 3 muestras

EXPERIMENTO 4

Objetivo: Comparar la efectividad de inhibición de los distintos extractos de Noni con la de un inhibidor comercial: la hidroquinona.

Fundamento: Se llevarán a cabo polimerizaciones en las mismas condiciones que se emplearon con los extractos de Noni, pero en este caso se usará hidroquinona como inhibidor.

Criterio: El desarrollo de polimerizaciones en las que se utilice un efectivo inhibidor, como es la hidroquinona, servirá como punto de referencia para comparar la efectividad de los extractos de Noni.

Preparación de Muestras

- Estireno (98%) + AIBN (1%) + Hidroquinona (1%) − HQ

Polimerizaciones a tiempos de ¼, ½, 1, 2, 5, 10 y 15 horas

Temperatura: 60 °C

Total: 7 muestras

EXPERIMENTO 5

Objetivo: Determinar si los compuestos presentes en el extracto del fruto de Noni actúan como ***agentes de transferencia*** de cadena, posterior a la reacción de polimerización llevada a cabo en el experimento 1.

Fundamento: Polimerización con estireno en presencia del polímero obtenido a 10 horas (OR-1a) en el experimento anterior.

Criterio: La adición de nuevo monómero (estireno) en la cadena de poliestireno formada (aumento del peso molecular del polímero OR-1a) indica que los derivados del fruto de Noni pueden actuar como ***controladores*** del peso molecular en una reacción posterior.

Preparación de Muestras

- Poliestireno OR-1a 10h (15%) + Estireno (84%) y AIBN (1%) a 60 °C – 5a
- Poliestireno OR-1a 10h (15%) + Estireno (85%) a 110 °C – 5b
- Estireno (100%) a 110 °C [Blanco] – 5c

Polimerizaciones llevadas a cabo a 5 y 10 horas

Total: 6 muestras

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Extracción de los antioxidantes

Las caracterizaciones realizadas en algunas fracciones purificadas de la raíz de Noni demostraron que los extractos contenían los antioxidantes que se deseaban aislar: las antraquinonas, por lo que el método de extracción basado en el trabajo de Singh *et al*. (2006) [(1)] fue exitoso.

8.2. Caracterización de Compuestos Antioxidantes

8.2.1. Extracto de fruto

El análisis en RMN del extracto de fruto indicó la presencia de una gran cantidad de compuestos de modo que no fue posible identificar grupos distintos por la presencia de múltiples señales en el espectro.

8.2.2. Aislamiento de Antraquinonas de la raíz:

8.2.2.1. Caracterización en RMN

Las pruebas de placa fina indicaron que las fracciones que contenían muestras relativamente puras fueron las fracciones D−7, D−10 y D−16.

Los espectros de resonancia de protón de las principales fracciones recolectadas de la cromatografía en columna (ver apéndice E-1) indicaron tripletes característicos de pares de grupos CH vecinales, a 8.3, 7.8 ppm, indicando claramente que los compuestos presentes tienen una estructura aromática de anillos bencénicos fusionados.

La presencia de grupos sustituidos en el anillo es notable por la aparición en los espectros de señales inusuales a 10.5, 12.7 e incluso hasta 14 ppm que corresponden a protones de ácidos carboxílicos, ***enoles*** o aldehídos con posibles puentes de hidrógeno ***intramoleculares***.

En el espectro RMN de carbono, la presencia de señales en 187 y 194 ppm indica la naturaleza del grupo carbonilo en el anillo fusionado, lo cual caracteriza las antraquinonas.

Las múltiples señales observadas en los espectros de ^{1}H y ^{13}C de resonancia sugieren que las muestras analizadas contienen más de un compuesto, en este caso, varias antraquinonas. Es muy probable que se encuentren otros compuestos además de antraquinonas en los extractos, pero la intensidad relativa de las señales que identifican a las antraquinonas son más fuertes.

También es notable la presencia de agua como impureza en varios espectros de protón. Esto se debe a que los extractos de Noni absorben rápidamente la humedad del ambiente.

El agua disuelta absorbe a 1.55 ppm y aparece como señal intensa en la mayoría de las fracciones obtenidas de la columna.

Dentro de las antraquinonas que se deseaban aislar, se tuvo especial interés en caracterizar el compuesto químico damnacantal, por su actividad anti-cancerígena.

Se compararon los distintos espectros de antraquinonas con las señales reportadas en Faltynek, (1995) [(52)] del damnacantal. Finalmente, este compuesto se identificó con un alto grado de pureza en la fracción **D-16 pr1**, encontrando todas las señales reportadas para el

damnacantal y agua como única impureza. Los tipos de señales y las integrales del espectro también confirman la estructura molecular del damnacantal.

8.2.2.2. Caracterización en IR

Las muestras analizadas en IR fueron las fracciones D-7, D-8, D-10, D-16, D-25 y D-26 recolectadas de la cromatografía en columna.

No se pueden obtener muchas conclusiones de los espectros de IR para las fracciones D- obtenidas de la cromatografía en columna, puesto que no consisten de un solo compuesto puro sino una mezcla de varios compuestos, lo que origina espectros complejos.

La presencia de sobretonos en la región de 1700 a 2000 cm^{-1} en la mayoría de los espectros de IR de las fracciones indica que los compuestos analizados poseen una estructura aromática, hecho que se había confirmado en los espectros de RMN de estas fracciones.

Se observó la existencia de un pico intenso en todos los espectros entre 1670 y 1630 cm^{-1}, indicando claramente que los compuestos poseen grupos carbonilos (C=O) en el rango de absorción de las quinonas. Cetonas alifáticas absorben típicamente a 1715 cm^{-1}, pero si el grupo carbonilo se encuentra en un anillo aromático la absorción se traslada a frecuencias más bajas en el rango de 1670 a 1630 cm^{-1} [(64)].

También se observa señal en los espectros de las muestras D-7, D-8 y D-9 a 1730 cm^{-1}, lo que indica la presencia de otros compuestos cetónicos además de las quinonas. Esta señal desaparece a partir de la fracción D-10 en adelante.

Igual que en el caso del análisis en RMN, se confirmó la presencia de agua en las fracciones analizadas como una absorción ancha en forma de campana en la región de 3300 a 3700 cm^{-1}. Se identificó en la muestra D-16 la presencia del OH fenólico del damnacantal debido a un pico intenso y agudo cercano a la señal del OH del agua a 3735 cm^{-1}. También fueron evidentes las señales del aldehído aromático del damnacantal que aparecieron en el espectro a 1737 cm^{-1} debido al estrechamiento C=O y a 2854 y 2924 cm^{-1} debido al estrechamiento C-H del aldehído.

8.2.2.3. Caracterización en GPC

El peso molecular promedio molar, Mn = 289 gr/mol, calculado por GPC se encuentra en el rango de las antraquinonas, muy cercano al peso molecular del damnacantal, 282 gr/mol. El hecho de que estas muestras presenten pesos moleculares entre 268 y 353 gr/mol junto con los resultados de IR y RMN, indica que efectivamente están presentes los antioxidantes más importantes en los extractos de la raíz de Noni: las antraquinonas.

8.3. Polimerizaciones de Estireno y Antioxidantes

8.3.1. Gráficos de Conversión vs Tiempo para cada Experimento

Figura 8-1. Gráfico conversión vs tiempo para el experimento 1. Temp.= 60 °C, *Curva roja*: [Estireno]=98%, [OR−1a]=1%, [AIBN]=1%; *Curva azul*: [Estireno]=99%, [AIBN]=1%

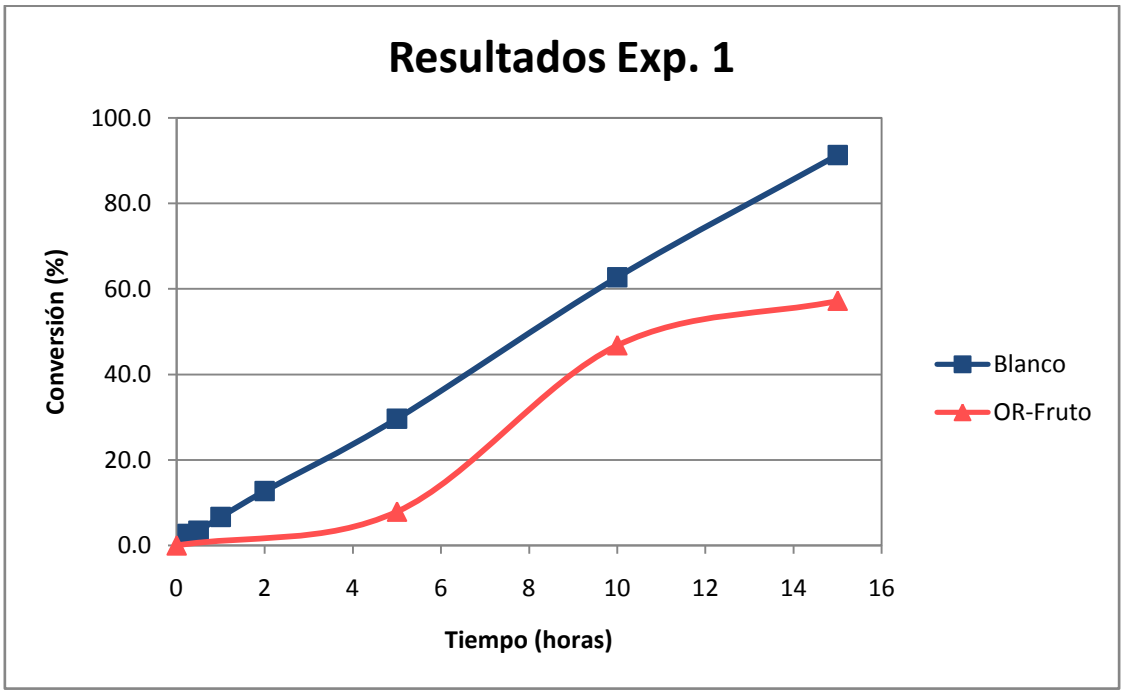


Figura 8-2. Gráfico conversión vs tiempo para el experimento 2a. Temp.= 60 °C, *Curva verde*: [Estireno]=98%, [OR−α]=1%, [AIBN]=1%; *Curva azul*: [Estireno]=99%, [AIBN]=1%

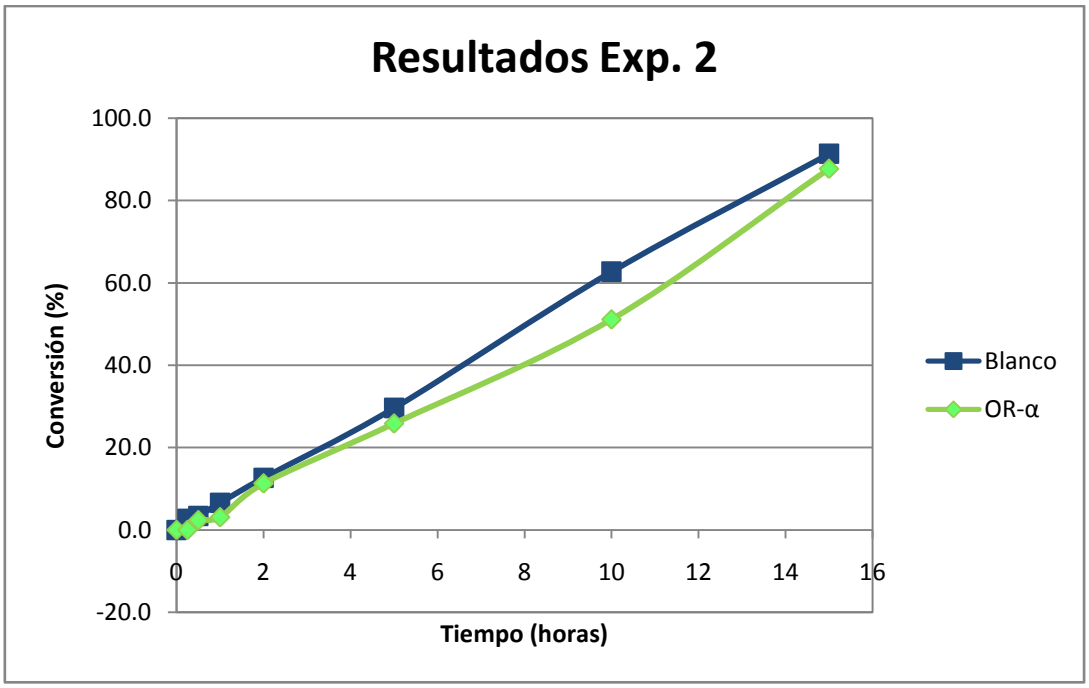


Figura 8-3. Gráfico conversión vs tiempo para el experimento 2b. Temp.= 60 °C, *Curva amarilla*: [Estireno]=98%, [OR−Et]=1%, [AIBN]=1%; *Curva azul*: [Estireno]=99%, [AIBN]=1%

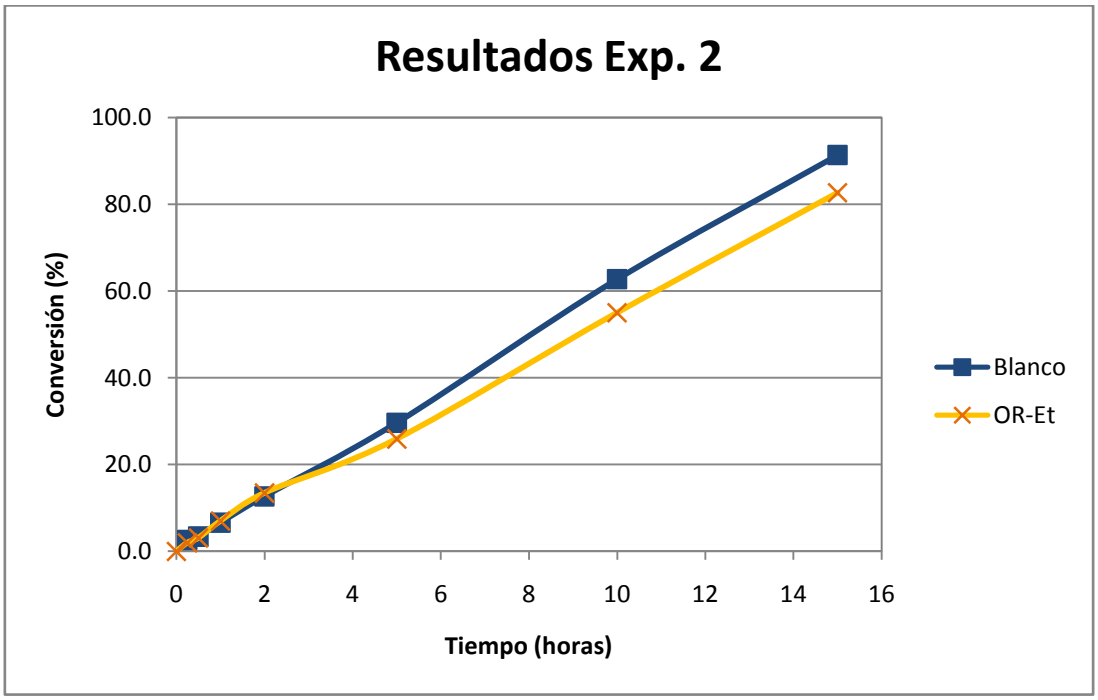


Figura 8-4. Gráfico conversión vs tiempo para el experimento 3. Temp.= 60 °C, [OR−α]=1%, [OR−β]=1%, [OR−γ]=1%; *Blanco*: [Estireno]=99%, [AIBN]=1%

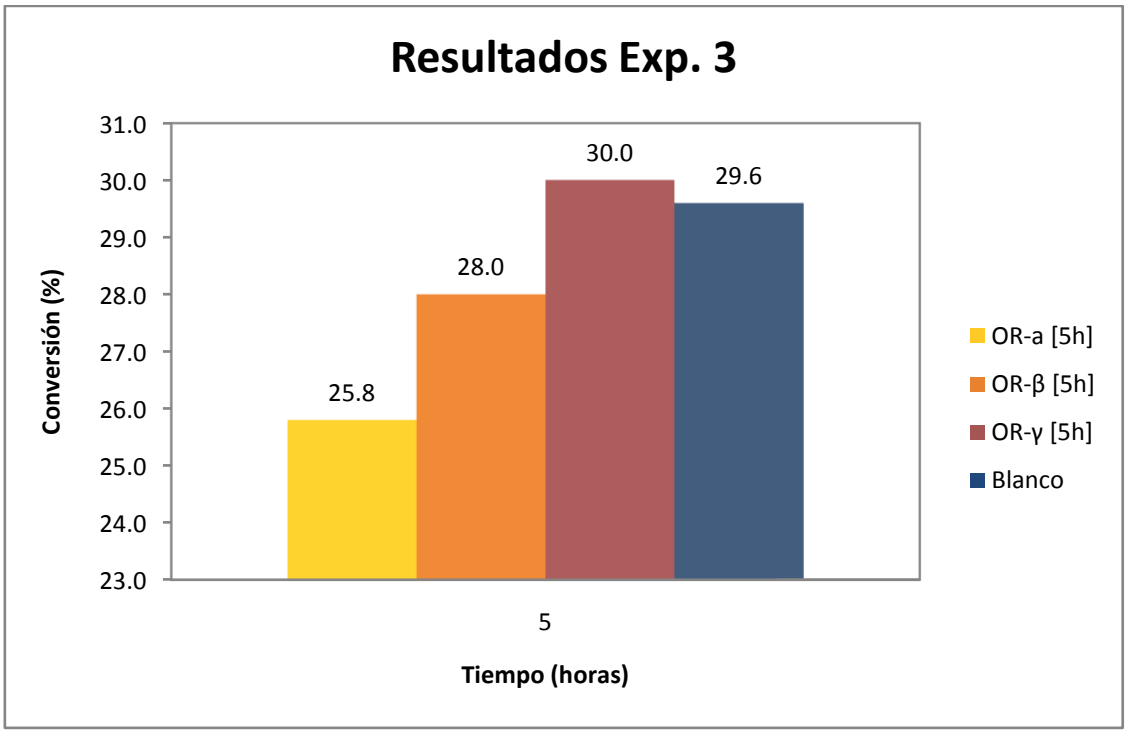


Figura 8-5. Gráfico conversión vs tiempo para el experimento 4. Temp.= 60 °C, *Curva celeste*: [Estireno]=98%, [Hidroquinona]=1%, [AIBN]=1%; *Curva azul*: [Estireno]=99%, [AIBN]=1%

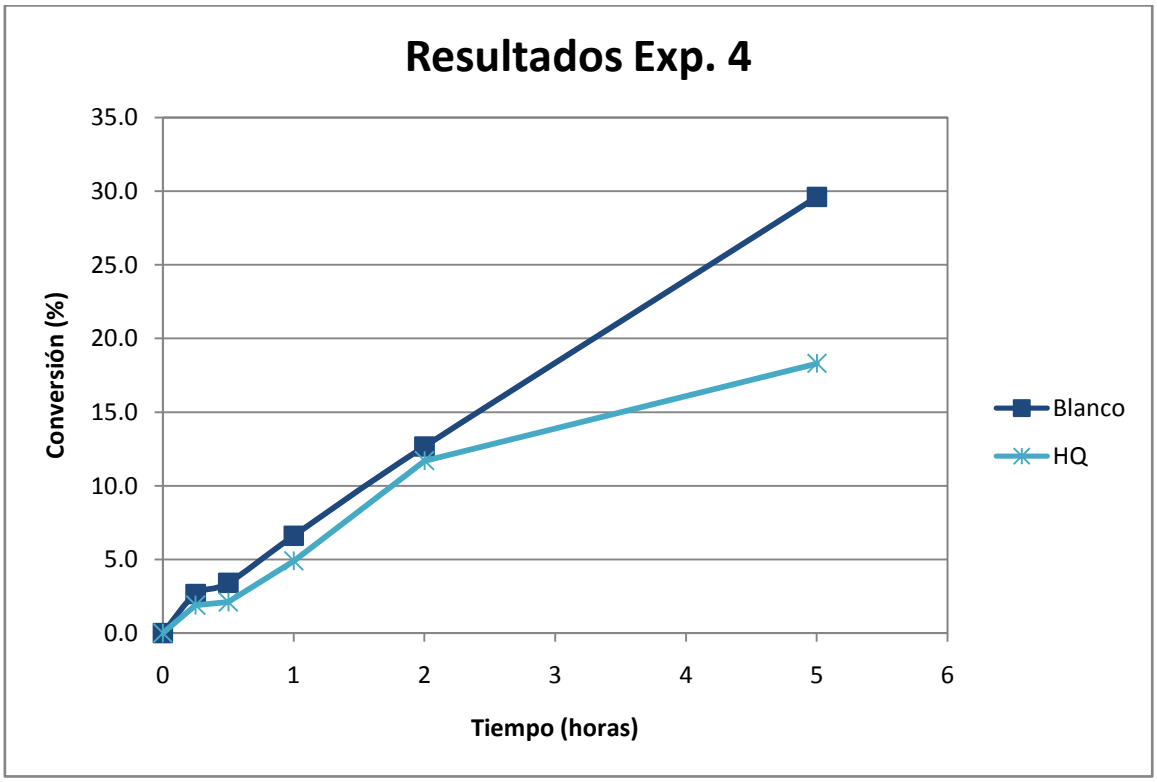


Tabla 8-1. Comparación de conversión vs tiempo para las distintas polimerizaciones

Tiempo (h)	Conversión				
	Blanco	***OR-1a***	***OR-α***	***OR-Et***	***HQ***
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.25	2.7	–	0.0	2.0	2.1
0.5	3.4	3.0	2.4	3.1	2.9
1	6.6	7.2	3.1	7.0	4.9
2	12.7	–	11.3	13.4	11.7
5	29.6	7.9	25.8	25.9	18.3
10	62.7	46.8	51.1	55.0	–
15	91.3	57.2	87.7	82.6	–

Los resultados de conversión de estireno en función del tiempo demuestran que para tiempos cortos, el inhibidor más efectivo fue el extracto clorofórmico de la raíz de Noni, *OR−α,* con un período de inhibición de por lo menos 15 minutos (Tabla 8-1). Los demás extractos e incluso la hidroquinona, no mostraron un tiempo de inhibición o éste fue muy pequeño (<15 min), según las condiciones de reacción.

La efectividad inhibidora del extracto *OR−α,* compuesto en su mayoría por antraquinonas fue superior que la hidroquinona.

El extracto OR-α produjo menores conversiones de estireno que la hidroquinona hasta un tiempo de 2 horas, lo cual demuestra que la efectividad como inhibidores de los compuestos contenidos en el extracto (antraquinonas) es comparable e incluso mejor que la de la hidroquinona para tiempos menores que 2 horas.

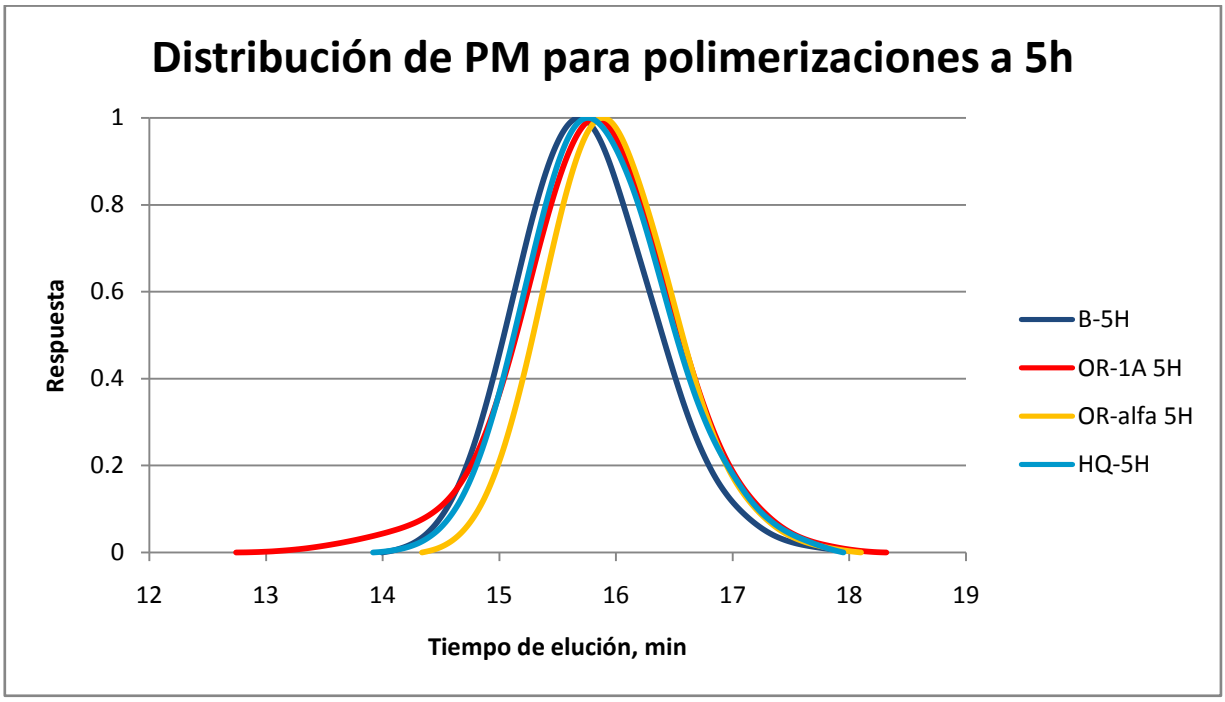
A tiempos mayores el extracto del fruto de Noni fue el que logró una menor conversión que el extracto de raíz. La comparación de las características de las distintas curvas de conversión vs tiempo muestra que el extracto de fruto, OR-1a tiene un comportamiento típico de un inhibidor/retardante (ver Figura 5-2) pero no mostró un período de inhibición. El comportamiento de la curva de los extractos de raíz: OR-α y OR-Et es de un típico inhibidor. No obstante, la polimerización en la que se utilizó como inhibidor hidroquinona fue la que produjo la menor conversión para tiempos mayores.

Los resultados del experimento 3 indican que de los tres extractos obtenidos de la raíz de Noni mediante el procedimiento usado para aislar las antraquinonas, sólo el extracto OR-α mostró una actividad inhibidora definida puesto que la conversión de los otros dos extractos fue muy cercana a la del blanco. Esto significa que la actividad inhibidora está localizada en la fracción clorofórmica de la raíz y que en las demás fracciones no hay presentes cantidades significativas de inhibidores.

8.3.2. Resultados en GPC de las polimerizaciones

8.3.2.1. Distribución de Pesos Moleculares

Figura 8-6. Distribución de pesos moleculares de polimerizaciones a tiempos de 5 horas. T= 60 °C

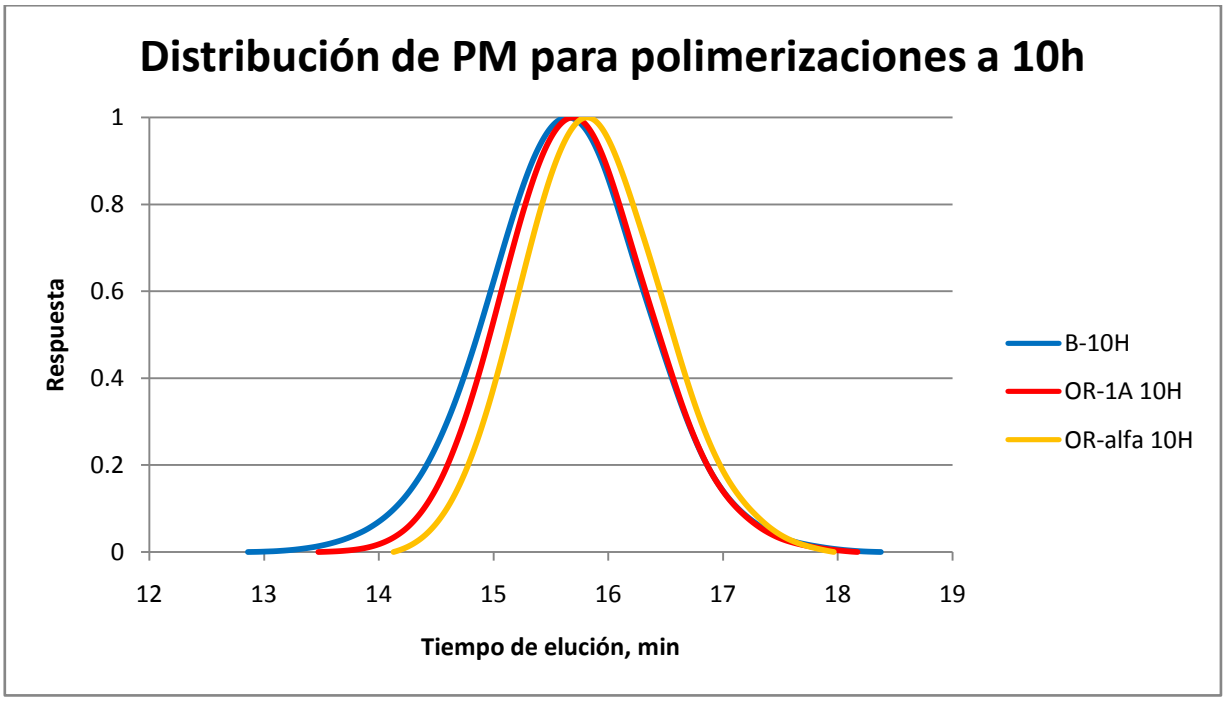


En el gráfico anterior se observa que el extracto de raíz de Noni, OR-α produjo un polímero con una distribución de pesos moleculares más bajos que en el caso de la hidroquinona y el extracto de fruto de Noni. A pesar de que a tiempos de elución de entre 16 y 18 minutos (pesos moleculares bajos) las curvas se superponen, se puede comprobar que el máximo de la distribución del extracto de raíz está a la derecha del máximo de la hidroquinona.

Sin embargo, el hecho más significativo que permite verificar que el extracto de raíz fue más efectivo para reducir el aumento del peso molecular (y por tanto, la velocidad de reacción) a un tiempo de polimerización de 5 horas es que la distribución de pesos moleculares de éste (curva amarilla) se encuentra desplazada significativamente a la derecha de la curva de la hidroquinona (celeste) y del extracto de fruto (roja) en la región donde se encuentran los pesos moleculares más altos (tiempos de elución de 13 – 16 min).

Los resultados indicaron que el extracto OR-α redujo en un 21.6% el peso molecular promedio molar mientras que el extracto de fruto logró un 15.4% y la hidroquinona un 26.8% para un tiempo de 5 horas; lo que indica que la hidroquinona fue un 42.5% y 19.4% más efectivo que el extracto de fruto y el extracto de raíz, respectivamente.

Figura 8-7. Distribución de pesos moleculares de polimerizaciones a tiempos de 10 horas. T= 60 °C

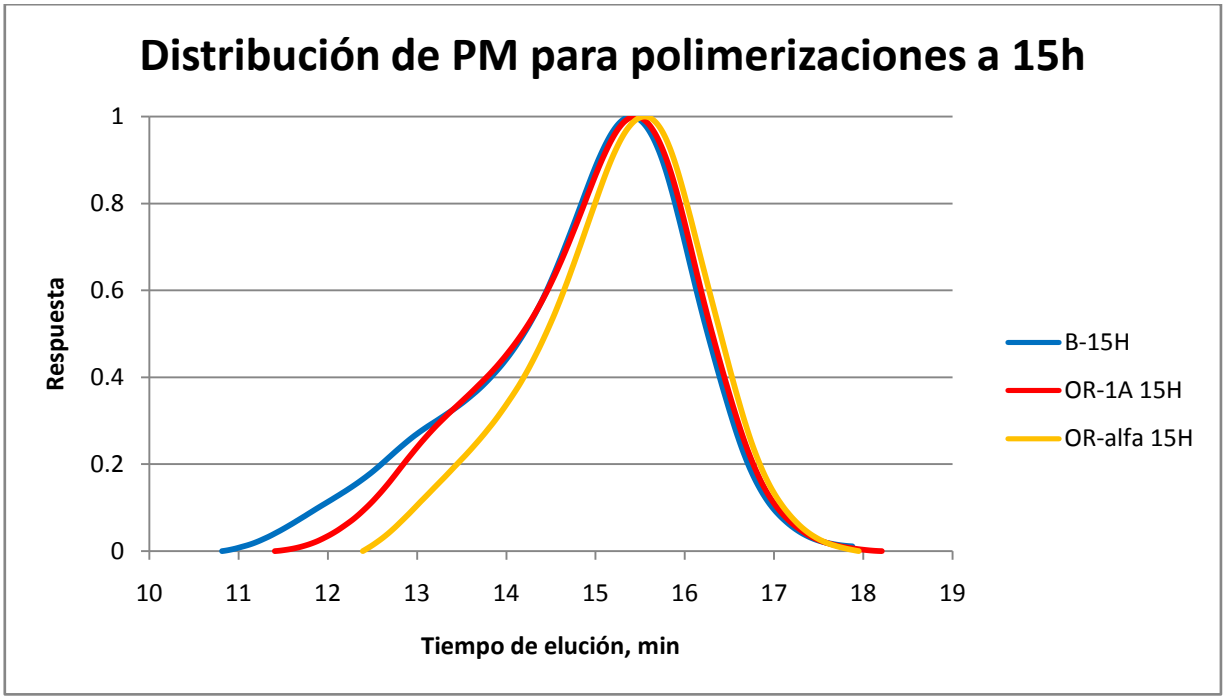


En este caso se puede observar que para un tiempo de polimerización de 10 horas, el extracto de raíz de Noni fue más efectivo que el extracto de fruto. Aunque ambos extractos presentaron una disminución de la distribución del peso molecular comparado con el blanco, el extracto de raíz produjo polímeros con pesos menores en la región de altos pesos moleculares.

En términos cuantitativos, el extracto de raíz disminuyó en un 26.0% el peso molecular del blanco mientras que el extracto de fruto sólo alcanzó un 12.7% de disminución, de modo que el extracto de raíz fue un 51.2% más efectivo que el de fruto.

Puesto que la escala horizontal (tiempo) está relacionada logarítmicamente con el peso molecular, un desplazamiento del peso molecular de 13 a 14 en la escala horizontal tiene un orden superior que uno de 14 a 15. Esto quiere decir que el desplazamiento observado a la izquierda para el caso de la curva amarilla (extracto de raíz) indica que el poliestireno polimerizado en presencia de este extracto produjo pesos moleculares significativamente más bajos que el caso del blanco.

Figura 8-8. Distribución de pesos moleculares de polimerizaciones a tiempos de 15 horas. T= 60 °C



Para un tiempo de 15 horas, los resultados indican que el extracto de raíz disminuyó el peso molecular a un 44.7% del obtenido con el blanco y el extracto de fruto sólo lo hizo a un 25.1%. Por lo tanto en este caso, el extracto de raíz fue un 43.9% más efectivo que el fruto.

Como ocurre también para 5 y 10 horas, el extracto de raíz muestra una distribución más estrecha (polidispersidad más baja) que para el extracto de fruto y el blanco. La distribución de pesos moleculares del extracto de fruto es la misma que la del blanco hasta en un tiempo de elución cercano a 13.5 min y solamente a partir de aquí se observa una disminución de pesos moleculares comparada con el blanco.

Esto indica que el extracto de fruto no es muy efectivo en la reducción del peso molecular del polímero para tiempos largos de reacción.

Por otro lado, el extracto de raíz produjo una distribución de pesos moleculares significativamente menor comparada con el blanco, ya que la curva amarilla se desvía considerablemente a la derecha en la región de altos pesos moleculares.

8.3.2.2. Análisis General de las Polimerizaciones en presencia de Antioxidantes

El análisis descrito para los resultados de GPC de las polimerizaciones de estireno en presencia de los extractos de Noni, hidroquinona y ausencia de inhibidor (blanco), revela que para todos los tiempos de polimerización en general, el extracto de raíz (*OR-α*) fue más efectivo que el extracto de fruto (OR-1a) para reducir el crecimiento de la cadena de polímero (peso molecular), y por tanto para reducir la reacción de propagación. Esto equivale a decir que el extracto de raíz es un inhibidor más efectivo que el extracto de fruto.

Comparado con el blanco, el extracto de fruto demostró poseer un efecto inhibidor perceptible, pero no lo suficientemente significativo para considerarlo como un buen inhibidor. En cambio, el extracto de raíz disminuyó considerablemente el peso molecular de las moléculas de poliestireno en comparación con el blanco.

El extracto de raíz incluso produjo moléculas con una distribución de pesos moleculares más baja que la hidroquinona – un conocido inhibidor – lo que demuestra que las antraquinonas extraídas de la raíz de Noni son capaces de inhibir la reacción de polimerización radical del estireno a un nivel semejante o superior que los inhibidores comunes como la hidroquinona.

Sin embargo, actualmente se utilizan inhibidores más eficientes que la hidroquinona para evitar la polimerización prematura del estireno, por lo que sería interesante comparar el desempeño de estos inhibidores con el del extracto de raíz de Noni.

8.3.2.3. Análisis de Pesos Moleculares Promedio y Polidispersidad

Análisis de PM y Polidispersidad a un tiempo de 5 horas

Figura 8-9. Comparación de PM promedio de polímeros a 5h

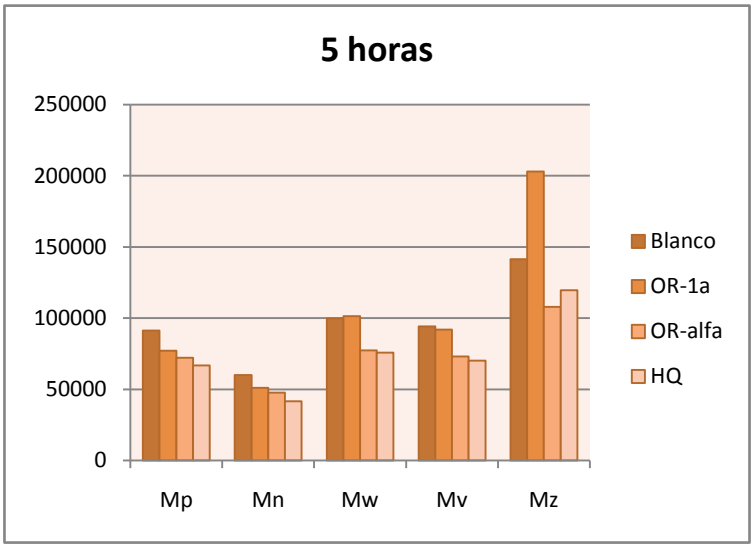


Figura 8-10. Índice de polidispersidad de polímeros a 5h

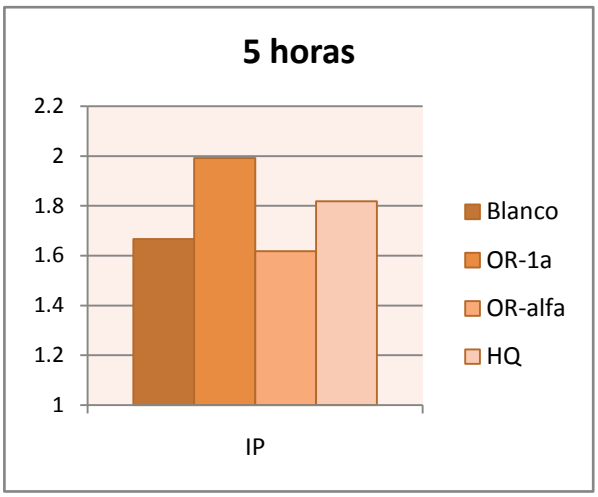


Tabla 8-2. Pesos moleculares promedio de polímeros obtenidos a 5 horas

Muestra	Blanco	OR-1a	OR-α	HQ
Mp	91,216	77,195	72,115	66,751
Mn	59,924	50,924	47,749	41,616
Mw	99,897	101,421	77,281	75,680
Mv	94,107	91,928	72,978	70,065
Mz	141,397	202,954	107,833	119,539
IP	1.667	1.992	1.618	1.819

Estos resultados muestran que para un tiempo de 5 horas, los pesos moleculares promedio más bajos los tuvo el poliestireno que reaccionó en presencia de hidroquinona. Sin embargo, el extracto de raíz produjo pesos moleculares muy cercanos a los de la hidroquinona. Para el caso del peso molecular *Mz* que relaciona el tamaño medio de las moléculas más grandes, el peso molecular fue superior con la hidroquinona que con el extracto de raíz.

En el caso del extracto de fruto, el peso molecular promedio máximo y numérico, Mp y Mn respectivamente, fueron más bajos que el blanco pero mayores que el extracto de raíz e hidroquinona.

Los pesos moleculares másico (Mw) y por viscosidad (Mv) del extracto de fruto fueron muy similares que los obtenidos con el blanco. Esto indica que este extracto no fue tan efectivo como el extracto de raíz.

El índice de polidispersidad más bajo lo obtuvo el extracto de raíz, *OR-α*, que fue menor que la hidroquinona, el blanco y el extracto de fruto. No obstante, tanto la hidroquinona como el extracto de fruto produjeron un índice de polidispersidad más alto que el blanco, lo que indica que produjeron moléculas de polímero con un rango más amplio de pesos moleculares.

En conclusión, el extracto de raíz produjo buenos resultados para reducir el peso molecular comparable con la hidroquinona para un tiempo de polimerización de 5 horas.

Análisis de PM y Polidispersidad a un tiempo de 10 horas

Figura 8-11. Comparación de PM promedio de polímeros a 10h

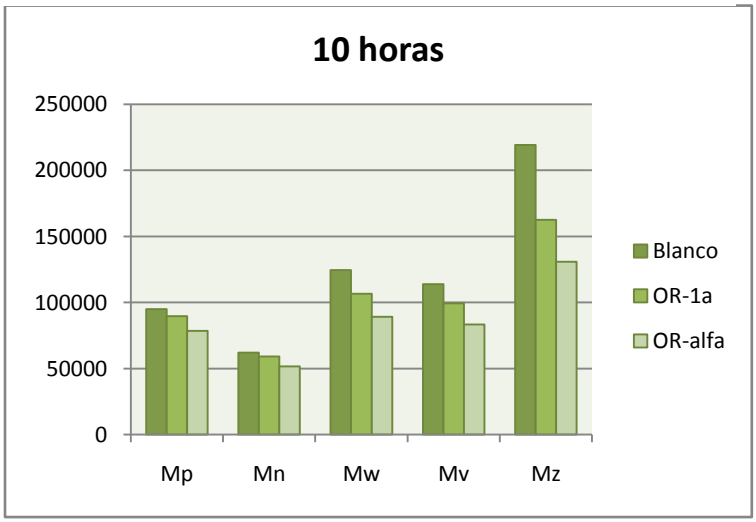


Figura 8-12. Índice de polidispersidad de polímeros a 10h

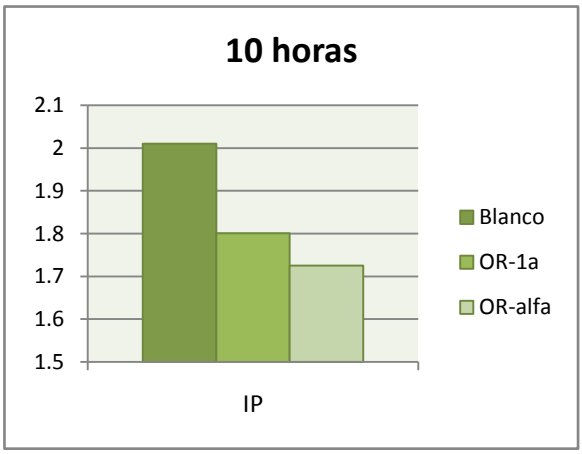


Tabla 8-3. Pesos moleculares promedio de polímeros obtenidos a 10 horas

Muestra	Blanco	OR-1a	OR-α
Mp	95,035	89,725	78,511
Mn	61,982	59,166	51,620
Mw	124,601	106,545	89,041
Mv	113,947	99,227	83,323
Mz	219,145	162,626	130,765
IP	2.01	1.801	1.725

Para un tiempo de 10 horas, es notorio que el extracto de raíz produjo un polímero con los pesos moleculares promedio más bajos que el caso del extracto de fruto y que el blanco. Los pesos moleculares promedio del poliestireno en presencia del extracto de raíz son notoriamente menores que el blanco, lo que significa que este extracto produjo una reducción efectiva del peso molecular del poliestireno.

El extracto de fruto, OR-1a, también causó una disminución del peso molecular promedio lo suficientemente significativa para considerarlo como un inhibidor. Sin embargo, su eficiencia es menor que el extracto de raíz, como ocurrió con el poliestireno que polimerizó a 5 horas.

El índice de polidispersidad del poliestireno en presencia de ambos extractos fue menor que el blanco, pero también en este aspecto el extracto de raíz fue superior ya que su IP fue menor que el extracto de fruto.

Análisis de PM y Polidispersidad a un tiempo de 15 horas

Figura 8-13. Comparación de PM promedio de polímeros a 15h

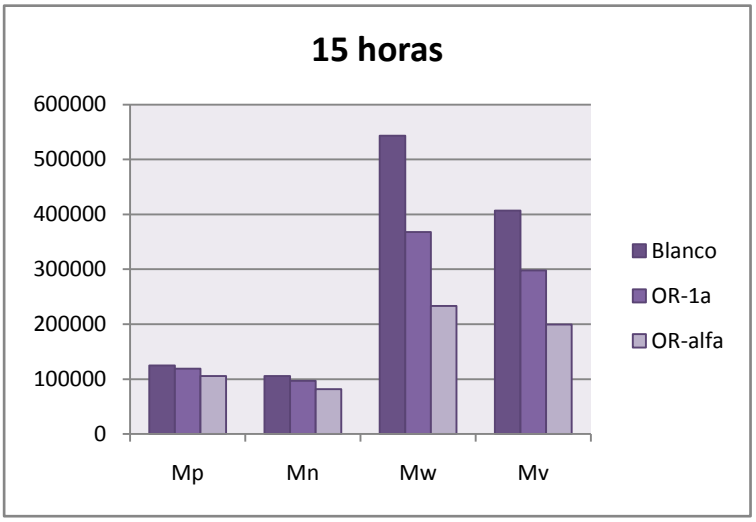


Figura 8-14. Índice de polidispersidad de polímeros a 15h

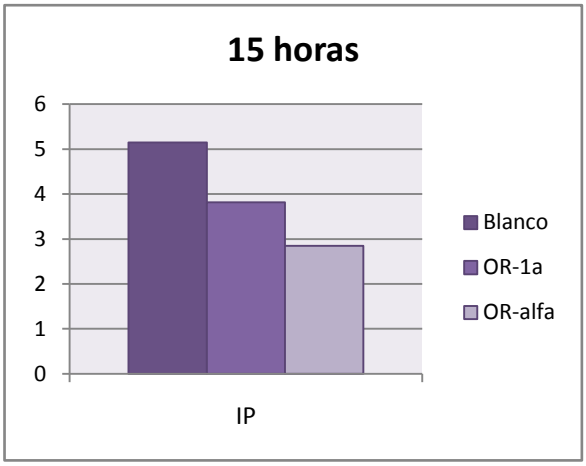


Tabla 8-4. Pesos moleculares promedio de polímeros obtenidos a 15 horas

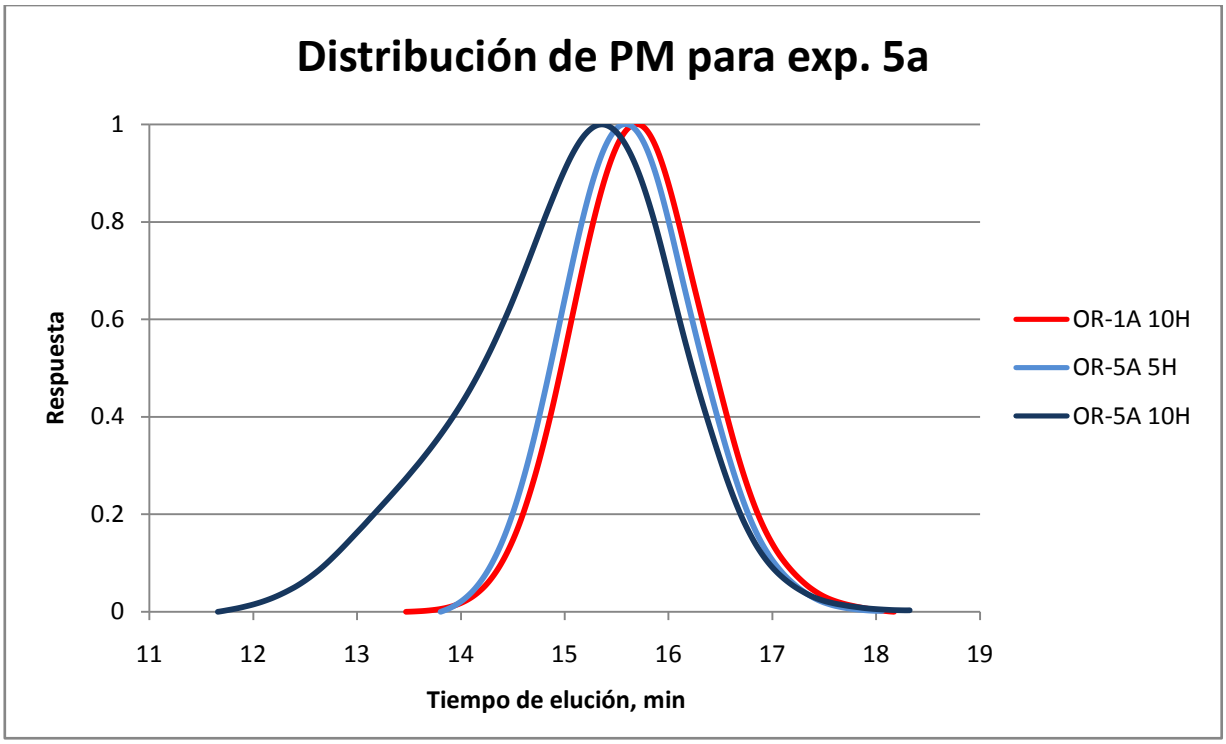
Muestra	Blanco	OR-1a	OR-α
Mp	124,742	118,995	105,598
Mn	105,618	96,547	81,902
Mw	543,341	368,140	233,206
Mv	407,001	297,976	199,194
Mz	2,657,192	1,242,933	593,555
IP	5.144	3.813	2.847

Para un tiempo de polimerización de 15 horas, se observa que ambos extractos disminuyeron el peso molecular del poliestireno. No obstante, a pesar de que el extracto de fruto produjo una clara disminución del peso molecular del polímero obtenido (hecho que está relacionado con la capacidad de inhibición), el extracto de raíz fue aproximadamente el doble de efectivo.

El índice de polidispersidad también favorece estos resultados, puesto que el extracto de raíz produjo una distribución con un índice de polidispersidad mucho menor que el extracto de fruto y éste a su vez, que el blanco. Para un tiempo de polimerización de 15 horas – el cual es un tiempo largo para la polimerización radical libre con presencia de iniciador – el blanco obtuvo un índice de polidispersidad alto de 5.14, el extracto de fruto obtuvo una reducción notable a 3.81 y el extracto de raíz una aún más eficiente a 2.84 en el índice de polidispersidad.

8.3.2.4. Resultados de GPC para el experimento 5

Figura 8-15. Distribución de pesos moleculares para el experimento 5a



Los resultados de los gráficos de GPC indican en el caso del experimento 5a, que se obtiene una distribución de pesos moleculares muy cercana al polímero inicial cuando se polimeriza estireno a un tiempo de 5 horas con 15% de la muestra PS-OR-1a. La conversión de monómero fue del 20% a 5 horas y de 64.2% a 10 horas, sin considerar el polímero agregado.

El hecho que esta curva no tenga hombros en su parte izquierda puede significar que la cadena de polímero formado previamente siguió creciendo. Sin embargo, es evidente que se necesita de mayor experimentación para develar esta afirmación de manera categórica.

La curva de color azul muestra para el polímero de 10 h una distribución más ancha que las dos curvas roja y celeste; sin embargo esto se debe a que el tiempo de polimerización ha sido muy largo y se han obtenido cadenas muy largas de polímero junto con cadenas cortas.

Figura 8-16. Distribución de pesos moleculares para el experimento 5b

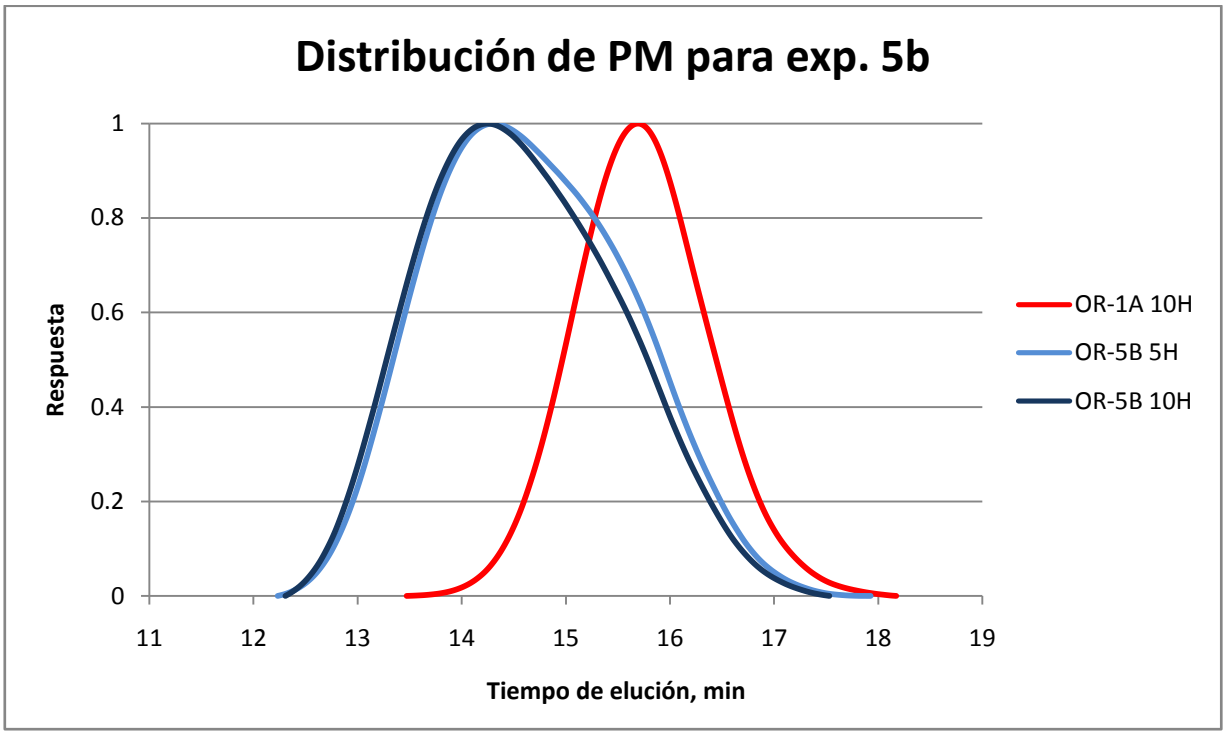
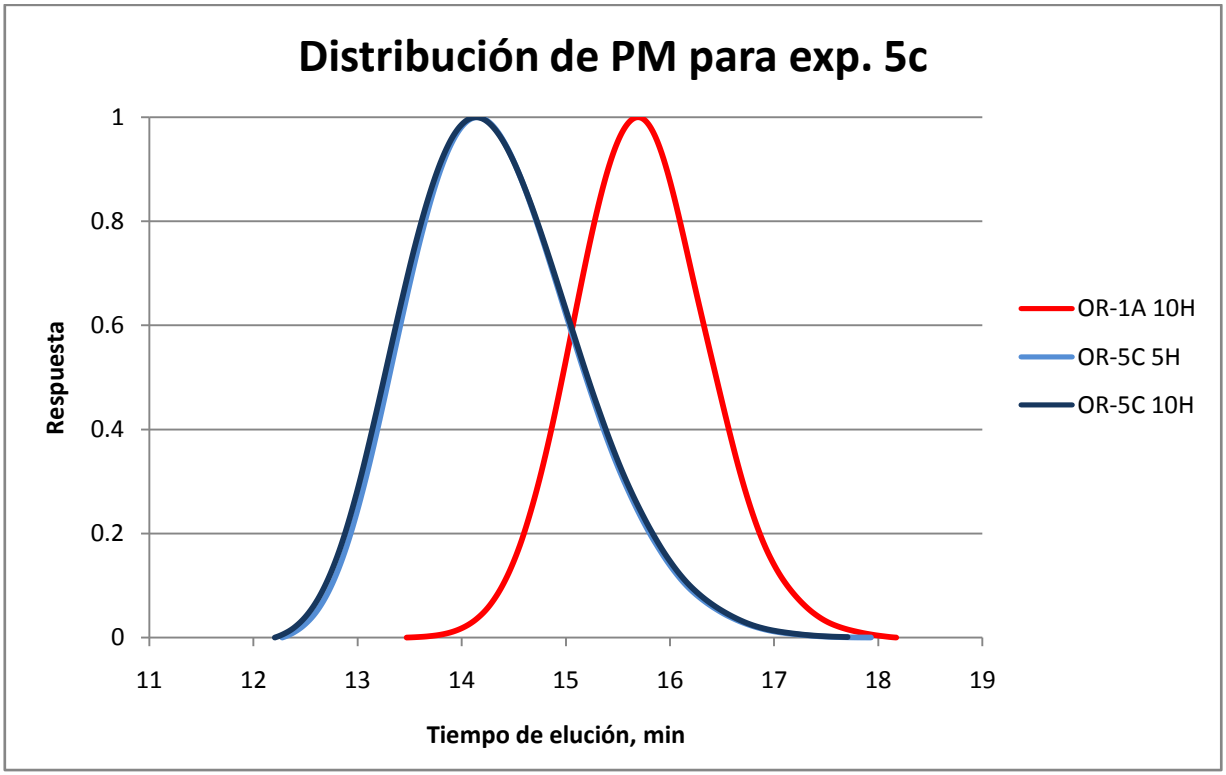


Figura 8-17. Distribución de pesos moleculares para el experimento 5c



El gráfico del experimento 5c (Figura 8-17) que representa el blanco (sólo estireno) demuestra que se obtiene una distribución de pesos moleculares completamente desplazada hacia la izquierda (pesos moleculares mayores) con la polimerización térmica auto-iniciada del estireno. La conversión del monómero en este experimento fue del 53.1% a 5 horas y 77.5% a 10 horas, descontando el polímero inicial agregado.

También se observa que tanto el polímero formado a 5 horas como el de 10 horas tienen prácticamente la misma distribución de peso molecular cuando sólo se polimeriza el estireno. Lo anterior es la huella de la polimerización radical convencional en la que el peso molecular no es función de la conversión.

Dada la alta conversión obtenida en los dos experimentos no se observa en las curvas azules la contribución de la muestra de poliestireno inicial.

Si usamos este hecho para analizar el experimento 5b veremos que sucede casi lo mismo con el poliestireno formado a 5 y 10 horas. El pequeño cambio de la distribución de pesos moleculares entre las curvas celeste y azul (polimerización a 5 y 10 horas respectivamente) se debe probablemente a la presencia del 15 % de poliestireno OR-1a. Esto muestra que la polimerización fue afectada por el polímero presente. Sin embargo, para aclarar la exacta relación entre el poliestireno OR-1a y las cadenas en crecimiento creadas durante la reacción, se necesita mayor experimentación.

Si se comparan las curvas de este experimento con su respectivo blanco (experimento 5c) podemos observar que los polímeros obtenidos en el experimento 5b tienen una distribución de peso molecular ligeramente diferente pero muy cercana entre sí. Además la diferencia entre ambas curvas en su parte derecha se debe muy probablemente a que en el exp. 5b se añadió polímero y en el 5c no.

La conversión de monómero del experimento 5b fue de 55.5% para 5 horas y 76.5% para 10 horas, muy cercana a la que presentó el blanco a esos mismos tiempos.

A la luz de estos resultados podemos sugerir que la polimerización de estireno con los extractos antioxidantes del fruto de Noni sufrió una reacción de terminación no reversible, de modo que estos antioxidantes no actúan como controladores del peso molecular o agentes de transferencia de cadena de manera evidente. El papel de los extractos del Noni fue meramente inhibidor, lo que cinéticamente implica que la reacción de inhibición

$$M_n\bullet + Z \xrightarrow{k_z} M_n + Z\bullet \quad y/o \quad M_nZ\bullet \tag{5-18}$$

no es reversible, $Z\bullet$ es un radical inactivo que no promueve la reacción de propagación y no puede agregarse más monómero al polímero $M_nZ\bullet$

9. CONCLUSIONES

La metodología de extracción de los antioxidantes de la raíz de Noni basada en el trabajo de Singh et al, (2006) [1] fue efectiva ya que los espectros de resonancia de protón, la distribución de pesos moleculares por GPC y los espectros de IR indicaron que estaban presentes las antraquinonas en los extractos de raíz.

Se consiguió aislar el compuesto damnacantal de la raíz de Noni con un aceptable grado de pureza. La presencia de este compuesto y de otras antraquinonas en fracciones purificadas por cromatografía en columna, recristalización y cromatografía en placa preparatoria fue evidente (muestras D-16, D-25). Los espectros de RMN de estas fracciones indicaron señales bien definidas de la estructura química del damnacantal, en correspondencia con las reportadas en Faltynek, (1995) [52] pero también se encontró presente agua en las muestras analizadas.

Se estudió el efecto de los distintos extractos del Noni en la polimerización de estireno. A concentraciones de 1% en peso el extracto de fruto de Noni mostró un comportamiento de conversión vs tiempo con características de un inhibidor/retardante sin presentar un periodo de inhibición. El extracto de raíz tuvo un comportamiento de un típico inhibidor con un periodo de inhibición entre 15 y 30 minutos y fue el más efectivo a tiempos menores (0−1 h).

La hidroquinona también exhibió un comportamiento inhibidor pero su periodo de inhibición fue menor de 15 minutos, aunque produjo la menor conversión a un tiempo alto (5 horas), debido a su mayor concentración molar que los extractos de Noni.

El extracto de Noni que tuvo un mayor potencial como inhibidor según los resultados fue el extracto de raíz, ***OR−α***, el cual para un tiempo de 5 horas fue un inhibidor superior que la hidroquinona (por su tiempo de inhibición), con una eficiencia muy cercana para reducir el peso molecular promedio y fue claramente superior que el extracto de fruto para todos los tiempos de polimerización. Sin embargo, para conocer la verdadera potencialidad de este extracto en reacciones de polimerización con el estireno y otros monómeros, deberá ampliarse el presente estudio.

La interpretación de resultados (GPC) en las reacciones de extensión de cadena de los polímeros preparados con los extractos del Noni sugieren que la inhibición no es reversible, sin embargo, algunos resultados nos dejan en un estado de indecisión respecto a ese punto, por lo que no se pudo obtener una resolución definitiva según el alcance de esta investigación.

10. RECOMENDACIONES

Aislar los antioxidantes más importantes contenidos en el extracto de Noni más efectivo – el extracto de raíz – y probar su capacidad de inhibición en la polimerización del estireno. Esto permitirá identificar cuáles son los compuestos contenidos en los extractos que poseían la actividad inhibidora.

Realizar polimerizaciones de estireno con los antioxidantes purificados del Noni que demuestren poseer la mejor capacidad inhibidora.

Desarrollar nuevas polimerizaciones utilizando inhibidores comerciales que comúnmente se usan en el proceso industrial del estireno (*t*-butil catecol, nitrofenol, hidroxilamina, etc.). Esto con el objetivo de comparar la efectividad de inhibición de estos compuestos con los antioxidantes más efectivos presentes en el Noni.

En caso de verificar que el Noni posee compuestos con igual o mejor capacidad inhibidora que los inhibidores comerciales del estireno, desarrollar un estudio donde se evalúe la rentabilidad económica para instalar una planta de extracción de antioxidantes del Noni como sustitutos alternativos de los inhibidores comerciales usados actualmente.

Llevar a cabo nuevas reacciones de extensión de cadena con polímeros preparados con extractos de Noni que permitan concluir si los extractos actúan como controladores del tamaño de la cadena del polímero en cuestión.

Realizar un estudio de prefactibilidad para instalar una planta de aprovechamiento del Noni en nuestro país donde se obtengan productos principales de medicina natural como jugos o extractos; inhibidores, cápsulas, etc, y productos secundarios como alimentos para animales, harina de Noni o aceite de semilla de Noni entre otros.

11. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Tabla 11-1. Cronograma de Actividades para la realización del Protocolo y Tesis

N°	Actividad	Fecha de Cumplimiento en Semanas																																											
		Junio				Julio				Agosto				Septiembre				Octubre				Noviembre				Diciembre				Enero				Febrero				Marzo			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
1	Fase Explorativa																																								
2	Investigación Bibliográfica																																								
3	Desarrollo Experimental																																								
4	Redacción del Protocolo																																								
5	Obtención de Información																																								
6	Procesamiento y Análisis																																								
7	Caracterización Fisicoquímica																																								
8	Revisión del Protocolo																																								
9	Discusión de los Resultados																																								
10	Redacción del Informe Final																																								
11	Entrega de la Tesis																																								
12	Revisión de la Tesis																																								
13	Defensa del Trabajo																																								
14	Entrega Final de la Tesis																																								

12. BIBLIOGRAFÍA

1. *Antifungal anthraquinones from Saprosma fragans.* **Singh, D. N., y otros.** 16, 2006, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, págs. 4512-4514.

2. *The noni fruit (Morinda citrifolia L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties.* **Chan-Blanco, Yanine.** 2006, Journal of Food Composition and Analysis, pp. 645-654.

3. *On morindin and morindon.* **Thorpe, T.E.** 1887.

4. *On the Constituents of the Root Bark of morinda citrifolia.* **Oesterle, O. A.** 1908.

5. *On a Constituent of the Wood of Morinda citrifolia, L.* **Oesterle, O. A.** 1908.

6. *Constituents of Morinda citrifolia.* **Simonsen, John L.** 1920.

7. *The root bark of the Morinda trees.* **Mell, C. D.** 1928.

8. *Treatment and prevention of hypertension and its cerebral complications by total root extracts of Morinda citrifolia.* **Dang, Van-Ho.** 1955.

9. *Studies on Morinda citrifolia L.* **Youngken, H. W.** 1960.

10. *Extraction of anthraquinones from roots of Morinda citrifolia by pressurized hot water: Antioxidant activity of extracts.* **Pongnaravane, Boonchai.** 2006, Journal of Supercritical Fluids, págs. 390-396.

11. *Anthraquinones with quinone reductase-inducing activity and benzophenones from Morinda citrifolia (noni) roots.* **Deng, Ye.** 2007, Journal of Natural Products, págs. 2049-2052.

12. *Free-radical-scavenging activity and total phenols of noni (Morinda citrifolia L.) juice and powder in processing and storage.* **Yang, J.** 2007, Food Chemistry, págs. 302-308.

13. *Chemistry and antifungal activity of Xiris species (Xyridaceae): a new anthraquinone from Xyris pilosa.* **Barros Cota, Betânia.** 2004, Biochemical Systematics and Ecology, págs. 391-397.

14. *Extraction of anti-cancer damnacanthal from roots of Morinda citrifolia by subcritical water.* **Anekpankul, Thitiporn.** 2007, Separation and Purification Technology, págs. 343-349.

15. *Studies on the polymerization of chloroprene and copolymers. IV. Inhibitors for polymerization of chloroprene.* **Kimijama, Takeo, Miyagawa, Ichiro y Tsukamoto, Eitaro.** 1943.

16. *A new class of inhibitors. Polymerization retarders.* **Daletskii, G.** U.S.S.R. : s.n., 1947, J. Phys. Chem.

17. *Novel natural antioxidants and polymerization inhibitors in oats.* **White, Pamela J.** 1995, Natural Protectants and Natural Toxicants in Food.

18. *(beta)-hematin polymerization inhibition of plant extracts.* **Berger, John M. et al.** 2006, Journal of Undergraduate Chemistry Research.

19. *Plant phenols as alternative to technogenic phenols for produce thermopolymerization inhibitors at processing liquid products of pyrolisis of oil hydrocarbons.* **Levchuk, A. et al.** Moscú : s.n., 2008, Khimiya Rastitel´nogo Syrýa.

20. **Kricheldorf, Hans R., Nuyken, Oskar y Swift, Graham.** *Handbook of Polymer Synthesis.* Nueva York : Marcel Dekker, 2005.

21. **Earle, J.E.** *Plantas Medicinales en el trópico Húmedo.* San José : Editorial Guayacán, 2001.

22. **Scot C, Nelson.** Noni cultivation in Hawaii. *University of Hawaii at Manoa.* [En línea] marzo de 2001. [Citado el: 2 de septiembre de 2008.] http://www2.ctahr.hawaii.edu.

23. **Jiménez Hidalgo, Vivian.** Elaboración de cuatro productos naturales a partir de noni (Morinda citrifolia L). *Tesis de Licenciatura.* Guácimo, Costa Rica : Universidad Earth, 2003.

24. **Scot C., Nelson.** Morinda citrifolia L. *http://www.agroforestry.net.* [En línea] 8 de octubre de 2003. [Citado el: 02 de septiembre de 2008.] http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/.

25. *Noni Cultivatiuon and Production in Hawaii.* **Nelson, S.C.** Hawaii : University of Hawaii at Nanoa. College of Tropical Agriculture and Human Resources, 2003. Proceedings of the 2002 Hawaii Noni Conference.

26. *Cancer preventive effect of Morinda citrifolia (Noni).* **Wang, M. Y. et al.** 952, s.l. : Annals of the New York Academy of Sciences, 2001, págs. 161-168.

27. *Morinda citrifolia L. - Use in indigenous Samoan medicine.* **Dittmar, A.** 1993, Journal of Herbs, Spices and Medicine Plants, Vol. 1, págs. 77-92.

28. *The pharmacologically active ingredient of Noni.* **Heinicke, R.M.** 15, 1985, Bulletin of the National Tropical Botanical Garden, págs. 10-14.

29. *Développement de nouveaux aliments santé tropicale: application á la noix du Brésil Bertholettia excelsa et au fruit de Cambodge Morinda citrifolia.* **Chungieng, M. T.** Francia : Ph.D. thesis, INPL, 2003.

30. *The ocean-going Noni, or Indian mulberry (Morinda citrifolia, Rubiaceae) and some of it's "colorful" relatives.* **Morton, J.F.** 46, 1992, Ecological Botony, págs. 241-256.

31. *Food sources o provitamin A and vitamin C in the American Pacific.* **Shovic, A.C., Whistler, W.A.** 41, 2001, Tropical Science, págs. 199-202.

32. *Ferment this: the transformation of Noni, a traditional Polynesian medicine (Morinda citrifolia, Rubiaceae).* **Dixon, A.R. et al.** 53, 1999, Ecological Botony, págs. 51-68.

33. **Solomon, N.** The Noni Phenomenon. Utah : Direct Source Publishing, 1999.

34. *Some chemical constituents of Morinda citrifolia.* **Levand, O., Larson, H.O.** 36, 1979, Planta Medica, págs. 186-187.

35. *Flavonol glycosides and novel iridoid glycoside from the leaves of morinda citrifolia.* **Sang, S. et al.** 49, 2001, Journal of Agriculture and Food Chemistry, págs. 4478-4481.

36. *Volatile components of ripe fruits of Morinda citrifolia and their effects on Drosophila.* **Farine, J. P. et al.** 41, 1996, Phytochemistry, págs. 433-438.

37. *Antibacterial substances from flowering plants. 3. Antibacterial activity of dried Australian plants by rapid direct plate test.* **Atkinson, N.** 34, 1956, Australian Journal of Experimental Biology, págs. 17-26.

38. *Anti-microbial activity and anti-complement activity of extracts obtained from selected Hawaiian medicinal plants.* **Locher, C.P. et al.** 49, 1995, Journal of Ethnopharmacology, págs. 23-32.

39. *Antitubercular constituents from the hexane fraction of Morinda citrifolia L. (Rubiaceae).* **Saludes, J.P., y otros.** 16, 2002, Phytotherapic Research, págs. 683-685.

40. *The antibacterial properties of some plants found in Hawaii.* **Bushnell, O.A., Fukuda, M. y Makinodian, T.** 4, 1950, Pacific Science, págs. 167-183.

41. *Chemical components in Noni fruits and leaves (Morinda citrifolia L.).* **Sang, S. et al.** Washington, DC : ASC symposium Series 803, American Chemistry Society, 2002, págs. 134-150.

42. **Elkins, R.** Hawaiian Noni (Morinda citrifolia) Prize Herb of Hawaii and the South Pacific. Utah : Woodland Publishing, 1998.

43. *Novel trisaccharide fatty acid ester identified from the fruits of Morinda citrifolia (Noni).* **Wang, M. et al.** 47, 1999, Journal of Agriculture and Food Chemistry, págs. 4880-4882.

44. **Cardon, D.** Le Monde des Teintures Naturelles. Belin, Paris : s.n., 2003.

45. *Morinda citrifolia (Noni): a literature review and recent advances in Noni research.* **Wang, M. Y. et al.** 23, 2002, Acta Pharmacologica Sinica, págs. 1127-1141 .

46. *Two novel glycosides from the fruits of Morinda citrifolia (Noni) inhibit AP-1 transactivation and cell transformation in the mouse epidermal JB6 cell line.* **Liu, G. et al.** 61, 2001, Cancer Resarch, págs. 5749-5756.

47. *From Polynesian healers to health food stores: changing perspectives of Morinda citrifolia (Rubiaceae).* **McClatchey, W.** 1, 2002, Integral Cancer Therapy, págs. 110-120.

48. *Anthraquinones in cell suspension culture of Morinda citrifolia.* **Inoue, K. et al.** 70, 1981, Phytochemistry, págs. 1693-1700.

49. **Ross, I.A.** *Medical Plants of the World. Chemical Constituents, Traditional and Modern Medical Uses.* New Jersey : Humana Press, 2001.

50. *A new anthraquinone glycoside from Morinda citrifolia.* **Srivastava, M. y Singh, J.** 31, 1993, Journal of Pharmacology, págs. 182-184.

51. *Inmunomodulation contributes to the anticancer activity of Morinda citrifolia (Noni) fruit juice.* **Hirazumi, A., y otros.** 39, 1996, Proceedings of the Western Pharmacological Society, págs. 7-9.

52. *An immunomodulatory polysaccharide-rich substance from the fruit juice of Morinda citrifolia (Noni) with antitumor activity.* **Hirazumi, A. y Furusawa, E.** 13, 1999, Phytotherapic Research, págs. 380-387.

53. *Anti cancer activity of morinda citrifolia on intraperitoneally implanted Lewis lung carcinoma in syngenic mice.* **Hirazumi, A, Furusawa, E.: Chou, S.C. y Hokama, Y.** 39, 1994, Proceedings of the Western Pharmacological Society, págs. 7-9.

54. *Induction of normal phenotypes in ras-transformed cells by damnacanthal from Morinda citrifolia.* **Hiramatsu, T., y otros.** 73, 1993, Cancer Letters, págs. 161-166.

55. *Isolation and identification of antioxidative compound from fruit of mengkudu (Morinda citrifolia L.).* **Mohd Zin, Z.** 2007, International Journal of Food Properties, págs. 363-373.

56. *Preliminary investigation of the anti-inflammatory properties of an aqueous extract from Morinda citrifolia (Noni).* **McKoy, M.L.G., Thomas, E.A. y Simon, O.R.** 45, 2002, Pharmacological Society, págs. 76-78.

57. *Selective COX-2 inhibition of Morinda citrifolia (Noni) in vitro.* **Su, C., y otros.** Loews Vanderbilt Plaza, Nashville, Tennessee, USA : s.n., 2001. The Proceedings of the Eicosanoids and other Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation and Related Disease. págs. 14-17. Octubre.

58. *Analgesic and behavioral effects of Morinda citrifolia.* **Younos, C., y otros.** 56, 1990, Planta Medicine, págs. 430-434.

59. *New anthraquinone and iridoid from the fruits of Morinda citrifolia.* **Kamiya, Kohei.** 2005, Chemical & Pharmaceutical Bulletin, págs. 1597-1599.

60. **Odian, George.** *Principles of Polymerization.* Cuarta Edición. New Jersey : John Wiley & Sons, Inc., 2004.

61. **Kirk-Othmer.** *Encyclopedia of Chemical Technology.* s.l. : John Wiley & Sons, 2001.

62. **Warner, A. J.** *Styrene: Its Polymers, Copolymers and Derivatives.* New York : Bounty, R. H. & Boyer, R. F. eds., 1952. pág. p. 3.

63. **Moad, G. and Solomon, D.H.** *The chemistry of Radical Polymerization.* Segunda edición. s.l. : Elsevier, 2006.

64. **Silverstein, Robert M., Webster, F.X. and Kiemle, D.J.** *Spectrometric Identification of Organic Compounds.* 7th. New York : John Wiley & Sons, 2005.

65. **Nicholson, John W.** *The Chemistry of Polymers.* 3ra. Reino Unido : RSC Publishing, 2006.

66. *Lipoxygenase inhibitory constituents of the fruits of Noni (Morinda citrifolia) collected in Tahiti.* **Deng, Shixin.** 2007, Journal of Natural Products, págs. 859-862.

67. *New Constituents from Noni (Morinda citrifolia) Fruit juice.* **Samoylenko, Volodymyr.** 2006, Journal of Agricultural and Food Chemistry, págs. 6398-6402.

68. *1,3-Dihydroxy-9,10-dioxo-9,10-dihydroanthracene-2-carbaldehyde.* **Awang, Khalijah, y otros.** o597, Kuala Lumpur, Malaysia : s.n., 2008, Acta Crystallographica, Vol. E64. ISSN 1600-5368.

69. *Enciclopedia Encarta Microsoft® Student 2009.* [DVD] s.l. : Microsoft Corporation, 2008.

70. *Syntheses of Damnacanthal, Damnacanthol, Norjuzunal, and Norjuzunol, the coloring Matters of Damnacanthus Spp.* **Hirose, Yoshio.** [ed.] University of Kumamoto Pharmaceutical Faculty. 5, s.l. : Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1960, Vol. 8, págs. 417-426.

71. **Wade, L.G. Jr.** *Química Orgánica.* 5ta Edición. Madrid : Pearson Education, 2004.

72. *Cell-based chemical genetic screen identifies damnacanthal as an inhibitor of HIV-1 Vpr induced cell death.* **Kamata, Masakazu.** 2006, Biochemical and Biophysical Research Communications, págs. 1101-1106.

73. **Koho, Kokai Tokkyo.** *Helicobacter pylori inhibitors containing nordamnacanthal or damnacanthal. JP08208461* Japón, 1996.

74. *Damnacanthal is a highly potent, selective inhibitor of p56lck tyrosine kinase activity.* **Faltynek, C.R.** 1995, Biochemistry, págs. 12404-12410.

75. *Induction of normal phenotypes in ras-transformed cells by damnacanthal from Morinda citrifolia.* **Hiramatsu, Tomnori.** 1993, Cancer Letters, págs. 161-166.

ANEXOS

Apéndice A Nomenclatura.....74

Apéndice B Glosario de Términos.....75

Apéndice C Cálculos.....78

Apéndice D Fotos de Experimentos 80

Apéndice E Caracterización de Polímeros y Compuestos Extraídos del Noni.....83

E-1 Espectros de RMN 83

E-2 Curvas de distribución de GPC 102

E-3 Espectros de IR 113

Apéndice F Estructura Química de Algunos Compuestos del Noni.....107

Apéndice G Artículos Científicos Relacionados 109

Apéndice A Nomenclatura

ATRP	*Atom Transfer Radical Polymerization*: Polimerización Radical de Transferencia de Átomos
COX	*Ciclo-oxigenase*: Ciclooxigenasa (enzima)
Cz	Constante de transferencia para retardación/inhibición
EM	Espectrometría de Masas
GPC	Gel Permeation Cromatography: Cromatografía de Permeación en Gel
Ha	Hectárea
Hz	Hertz, unidad de frecuencia [ciclos/unidad de tiempo, s^{-1}]; MHz equivale a 10^6 Hz.
HQ	Hidroquinona
IP	Índice de Polidispersidad
IR	Infrarrojo
kPa	Unidad de presión que equivale a 1000 Pascales. 1 Pa = 1 N/m^2
L	Litro, unidad de volumen del S.I.
LDL	*Low Density Lipoproteins*: Lipoproteínas de Baja Densidad
LLC	*Lewis Lung Carcinoma*: Carcinoma Pulmonar de Lewis
M	Monómero
Mn	Peso molecular promedio numérico o molar
Mp	Peso molecular promedio p
Mv	Peso molecular promedio viscoso
Mw	Peso molecular promedio másico
Mz	Peso molecular promedio z
Mol	Mol, unidad fundamental para cantidad de sustancia del S.I.
NMP	*Nitroxide-Mediated Polymerization:* Polimerización Mediada por Nitróxidos
OR-1a	Extracto clorofórmico del fruto de Noni
OR- Et	Extracto Etanólico de la raíz de Noni
OR- α	Extracto Clorofórmico de la raíz de Noni
(p/p)	Relación peso/peso
Ph-	Abreviatura del grupo fenilo, C_6H_5.
PS	Poliestireno
S	Estireno
R	Radical alquilo
R·	Radical activo
RAFT	*Reversible Addition-Fragmentation chain Transfer*: Transferencia de cadena de Adición-Fragmentación Reversible
Rd	En cromatografía, indica la proporción entre la distancia avanzada por la muestra y la distancia avanzada por el solvente.
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s	Segundo, unidad fundamental de tiempo del S.I.
SAR	*Superoxide Anion Radicals*: Radicales Anión Superóxidos
T	Tesla, unidad de campo magnético del S.I.
u.m.a.	unidad de masa atómica
z	Constante de Inhibición

Apéndice B Glosario

***Ad libitum**: (locución latina)*: a su gusto, a su voluntad.

Agente de transferencia de cadena: especie química que participa en una reacción de polimerización la cual se añade específicamente para controlar el tamaño final y distribución de pesos moleculares del polímero a producir.

AIBN: ***2,2-Azo-bis-isobutironitrilo***, es el miembro más importante de los azo-compuestos usados como iniciadores en las reacciones de polimerización[11]. Cuando aumenta la temperatura, el iniciador se descompone produciendo dos radicales terciarios (muy estables) y una molécula de nitrógeno:

Alcaloide: grupo de compuestos débilmente alcalinos que contienen nitrógeno, y son en su mayoría de origen vegetal; poseen una complejidad molecular moderada que produce varios efectos fisiológicos en el cuerpo. En la Figura se muestra la quinina, un alcaloide que se usa como remedio específico contra la malaria [(69)].

Ambiente químico: átomos o grupos de átomos más cercanos que rodean a una unidad submolecular de interés en una molécula.

Antioxidante: Molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Las reacciones de oxidación pueden producir radicales libres que comienzan reacciones en cadena que dañan las células. Los antioxidantes terminan estas reacciones quitando intermedios del radical libre e inhiben otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos. Debido a esto es que los antioxidantes son a menudo agentes reductores tales como tioles o polifenoles [(69)].

a) b)

a. BHT (butil-hidroxitolueno), un antioxidante sintético usado comúnmente en alimentos.
b. Vitamina C, un antioxidante natural importante en varias funciones biológicas.

Bioconjugación: unión química de un polímero natural con uno artificial, por ejemplo, una enzima biológica con una matriz de polímero sintético.

Citoquinas: grupo importante de proteínas que actúan como mediadores de la comunicación entre células vivas. Pueden ejercer una comunicación paracrina (entre células próximas dentro de un mismo tejido), o una comunicación endocrina (entre células situadas en tejidos distintos, como el hígado o el cerebro) [(69)].

[11] Tomado del libro: Principles of Polymerization, G. Odian (2004), pág. 211.

Copolímero: Polímero formado por la unión de dos o más unidades repetitivas distintas. Por ejemplo: poli(estireno-ácido acrílico) *ver Figura:*

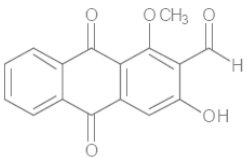
Reacción en la que copolimeriza ácido acrílico y estireno con AIBN como iniciador

Controlador: Especie química en una reacción de polimerización que se añade al final de la cadena de polímero en crecimiento estableciendo un equilibrio de terminación/propagación en la cadena, controlando de esta manera el peso molecular del polímero.

Cristal Líquido: sustancia que se comporta al mismo tiempo como un líquido y como un sólido. Las moléculas de un cristal líquido pueden desplazarse unas respecto a otras con bastante facilidad, de forma semejante a las de un líquido. Sin embargo, todas las moléculas de un cristal líquido tienden a estar orientadas del mismo modo, algo similar a la estructura molecular de un cristal sólido. Los cristales líquidos sólo mantienen su doble naturaleza sólida y líquida en un determinado rango de temperaturas y presiones [(69)].

Cromatografía: técnica de análisis químico utilizada para separar sustancias puras de mezclas complejas. Esta técnica depende del principio de adsorción selectiva (no confundir con absorción). La cromatografía en columna utiliza un amplio espectro de adsorbentes sólidos, incluidas la sílice, la alúmina y la sílice gelatinosa. La cromatografía de capas finas es otra forma de cromatografía en columna en la cual el material adsorbente reposa en un cristal o en una película de plástico.

Cumarina: tinte natural y compuesto químico fragante usado en perfumería para aromatizar tabaco y como sucedáneo de la vainilla, por lo que también se le conoce como vainilla de frijol [(69)].



Damnacantal: $C_6H_{10}O_5$, antraquinona presente en el noni, aislada e identificada por primera vez en las especies *Damnacanthus major* y *Damnacanthus indicus*, de donde se deriva su nombre [(70)]. Damnacantal es el más potente y selectivo inhibidor de la $p56^{1ck}$ tirosina quinasa descrito hasta la fecha. Se ha demostrado que posee propiedades antimaláricas y que es capaz de revertir el fenotipo de células *ras* transformadas (presentes en muchos tipos de cáncer).

Edema: término que describe la acumulación de fluido en cualquier tejido, cavidad u órgano corporal, excepto el hueso [(69)].

Enol: alcohol no saturado de la serie etilénica, que contiene un hidroxilo contiguo a un doble enlace.

Fungicida: agente que destruye hongos [69].

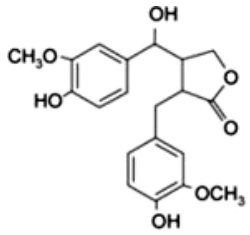
Hidroquinona: 1,4-dihidroxibenceno, es un químico usado en un amplio rango de aplicaciones, tales como fotografía, inhibidores de polimerización, antioxidantes para gomas, antioxidantes para alimentos, intermediarios de síntesis y tratamiento de agua. La demanda mundial de hidroquinona fue de 40,000 ton/año en 1992. El costo depende de la aplicación siendo de 4.20 $/kg para fotografía y de 3.80 $/kg para aplicaciones técnicas [61]. *Fuente: Kirk-Othmer (2001)*.

Intramolecular: dentro de la misma molécula.

Intermolecular: entre moléculas cercanas.

Lactona: Éster cíclico. Una lactona se forma a partir de un hidroxiácido de cadena abierta en el que el grupo hidroxilo reacciona con el grupo ácido para formar un éster [71].

γ-butirolactona



7-hidroximatairesinol

Lignanos: son metabolitos secundarios de las plantas encontrados en una gran variedad de éstas que incluyen semillas de lino, ajonjolí, centeno, soya, frijoles y algunas bayas. Químicamente son sustancias polifenólicas, relacionadas con el metabolismo de la fenilalanina. Los lignanos son uno de los dos grupos principales de fitoestrógenos, que son antioxidantes; la otra clase son las isoflavonas. Se atribuyen a los lignanos efectos antioxidantes que ayudan a combatir los efectos de los dañinos radicales libres. Fuente: http://es.wikipedia.org/wiki/Lignano

Monómero Polifuncional: Es aquel que posee 2 o más grupos funcionales en su estructura que pueden reaccionar entre sí con otros grupos funcionales de otro monómero en una reacción de polimerización por condensación.

Neoplasia: Multiplicación o crecimiento anormal de células en un tejido del organismo. Tumor así formado [69].

Polimerización en Masa: La técnica más simple de polimerización, requiere solamente monómero e iniciador soluble en monómero. Tiene como ventajas un alto rendimiento de polímero por volumen de reacción y fácil recuperación del polímero. Sus desventajas son la dificultad para remover monómero sin reaccionar y escaso control de la temperatura. Ejemplos de polímeros producidos por polimerización en masa incluyen poli(metil metacrilato), poliestireno y polietileno de baja densidad.

Serotonina: neurotransmisor, molécula que interviene en la transmisión de mensajes a través de las sinapsis o uniones entre células nerviosas adyacentes. Actúa como vasoconstrictor, inhibe la producción de ácido clorhídrico en el tracto digestivo y estimula la contracción de la pared intestinal. Su función en el sistema nervioso central y sus efectos en los cambios de comportamiento están siendo objeto de distintos estudios de investigación [69].

Apéndice C Cálculos

12.1. C.1. Cálculos de Conversión

Tabla C-1. Cálculo de conversión para la polimerización del blanco

Muestra	Estireno agregado (gr)	Peso Filtro + Polímero	Peso Filtro	Peso Polímero	Conversión (%)
Blanco [¼ h]	1.4850	94.8028	94.7634	0.0394	2.7
Blanco [½ h]	1.7500	67.6521	67.5932	0.0589	3.4
Blanco [1h]	1.7500	67.7116	67.5957	0.1159	6.6
Blanco [2h]	1.4850	80.9901	80.802	0.1881	12.7
Blanco [5h]	3.0000	85.4755	84.5868	0.8887	29.6
Blanco [10h]	3.1916	82.7927	80.792	2.0007	62.7
Blanco [15h]	3.0000	175.24	172.5	2.74	91.3

Tabla C-2. Cálculo de conversión para la polimerización de estireno con extracto de fruto de Noni

Muestra	Estireno agregado (gr)	Peso Filtro + Polímero	Peso Filtro	Peso Polímero	Conversión (%)
OR-1a [½ h]	1.7500	67.6444	67.5915	0.0529	3.0
OR-1a [1h]	1.7500	67.7166	67.5908	0.1258	7.2
OR-1a [5h]	1.8872	84.8064	84.6576	0.1488	7.9
OR-1a [10h]	3.1947	41.4453	39.9496	1.4957	46.8
OR-1a [15h]	1.8872	173.58	172.5	1.08	57.2

Tabla C-3. Cálculo de conversión para la polimerización de estireno con extracto clorofórmico de raíz de Noni

Muestra	Estireno agregado (gr)	Peso Filtro + Polímero	Peso Filtro	Peso Polímero	Conversión (%)
OR-α [¼ h]	1.4700	94.7564	94.7565	0.0000	0.0
OR-α [½ h]	1.4700	79.2694	79.2346	0.0348	2.4
OR-α [1h]	1.4700	54.7212	54.6758	0.0454	3.1
OR-α [2h]	1.4700	77.6644	77.4982	0.1662	11.3
OR-α [5h]	1.4780	93.0433	92.6613	0.382	25.8
OR-α [10h]	1.4700	79.3243	78.5728	0.7515	51.1
OR-α [15h]	1.4700	94.5231	93.234	1.2891	87.7

Tabla C-4. Cálculo de conversión para la polimerización de estireno con extracto etanólico de raíz de Noni

Muestra	Estireno agregado (gr)	Peso Filtro + Polímero	Peso Filtro	Peso Polímero	Conversión (%)
OR-Et [¼ h]	1.4700	78.5884	78.5593	0.0291	2.0
OR-Et [½ h]	1.4700	67.6458	67.6006	0.0452	3.1
OR-Et [1h]	1.4700	85.0478	84.9451	0.1027	7.0
OR-Et [2h]	1.4700	87.7725	87.5748	0.1977	13.4
OR-Et [5h]	1.4700	79.6331	79.2523	0.3808	25.9
OR-Et [10h]	1.4700	79.5737	78.7654	0.8083	55.0
OR-Et [15h]	1.4700	83.6633	82.4487	1.2146	82.6

Tabla C-5. Cálculo de conversión para la polimerización de estireno con hidroquinona

Muestra	Estireno agregado (gr)	Peso Filtro + Polímero	Peso Filtro	Peso Polímero	Conversión (%)
HQ [¼ h]	1.4700	67.6848	67.6571	0.0277	1.9
HQ [½ h]	1.4700	80.8324	80.8014	0.0310	2.1
HQ [1h]	1.4700	85.3222	85.2502	0.0720	4.9
HQ [2h]	1.4700	77.9410	77.7690	0.1720	11.7
HQ [5h]	1.4700	79.4938	79.2244	0.2694	18.3

Tabla C-6. Cálculo de conversión para la polimerización de estireno con polímero formado en presencia de inhibidor OR-1a

Muestra	Peso (gr)	Peso estireno (gr)	Peso Filtro + Polímero	Peso Filtro	Peso estireno polimerizado	Conversión estireno (%)
OR-2a [5h]	1.0000	0.8415	55.9112	55.584	0.1687	20.0
OR-2b [5h]	1.0000	0.8500	99.7332	99.1117	0.4715	55.5
OR-2c [5h]	2.0000	2.0000	93.7278	92.6651	1.0627	53.1
OR-2a [10h]	1.0000	0.8415	83.2177	82.5193	0.5399	64.2
OR-2b [10h]	1.0000	0.8500	173.3	172.5	0.6500	76.5
OR-2c [10h]	2.0000	2.0000	174.05	172.50	1.5500	77.5

Apéndice D Fotos de Experimentos

Foto D-1. Muestra de Raíz de Noni

Foto D-2. Raíces molidas de noni de diferente granulometría

Foto D-3. Raíces de noni reducidas de tamaño para su molienda

Foto D-4. Molienda de raíces

Foto D-5. Raíces molidas listas para el secado

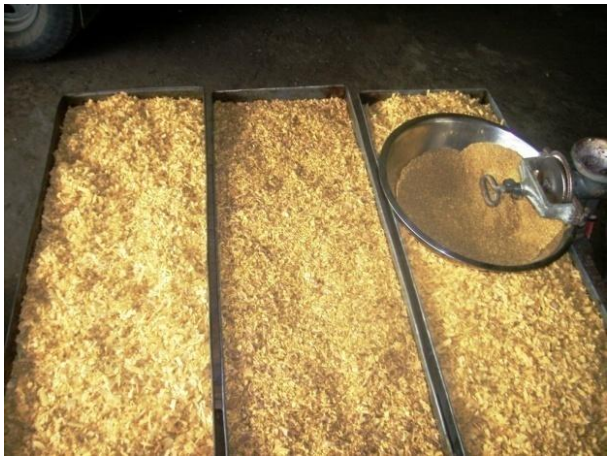


Foto D-6. Equipo GPC *Hewlett Packard* Serie 1100

Foto D-7. Interfase para GC-IR Sistema Magna de *NICOLET*

Foto D-8. Espectrómetro de RMN *Jeol* modelo *Eclipse* de 300 MHz

Foto D-9. Inicio de Cromatografía en Placa Preparatoria

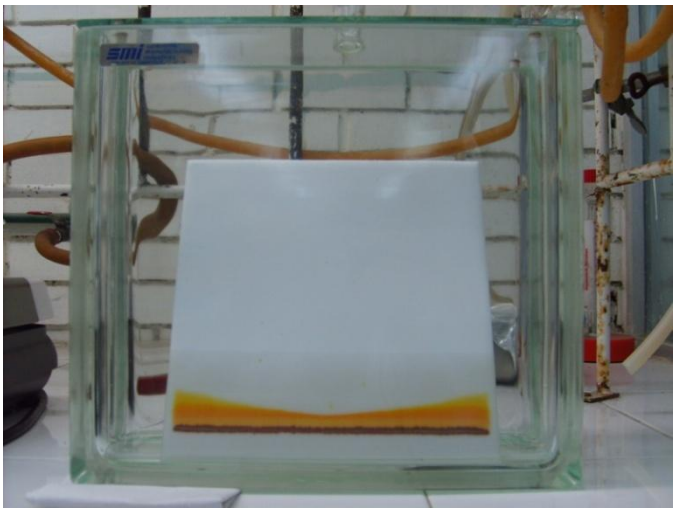


Foto D-10. Separación de componentes en Cromatografía de Placa

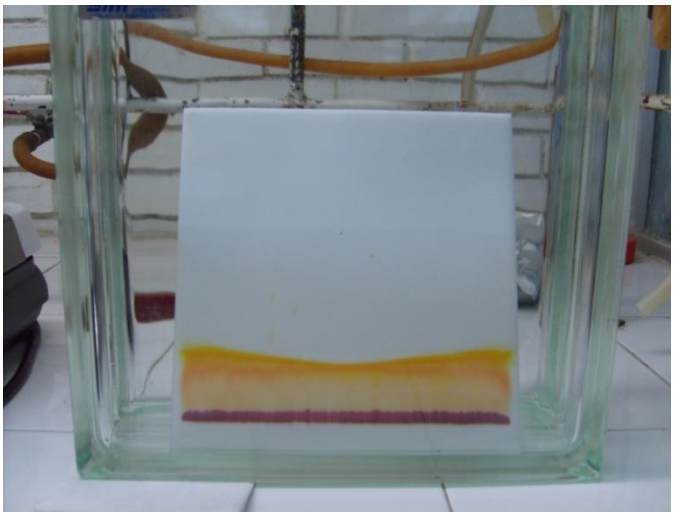


Foto D-11. Separación de Componentes en Cromatografía en Columna de Sílica Gel

Foto D-12. Recolección y Numeración de las distintas Fracciones Clorofórmicas en Viales, obtenidas de la Columna de Sílica Gel

Apéndice E Caracterización de Polímeros y Compuestos Extraídos del Noni

E-1. Espectros de RMN

Espectros de protón de extractos y fracciones de cromatografía en columna

^{1}H RMN del extracto de fruto (OR-1a) 84
^{1}H RMN de la fracción D-6 de cromatografía en columna 85
^{1}H RMN de la fracción D-7 purificada 86
^{1}H RMN de la fracción D-9 87
^{1}H RMN de la fracción D-10 88
^{1}H RMN de la fracción D-16 89
^{1}H RMN de la fracción D-16 purificada [pr 1] 90
^{1}H RMN de la fracción D-16 purificada [pr 2] 91
^{1}H RMN de la fracción D-16 cristalizada 92
^{1}H RMN de la fracción D-25 93

Espectros de carbono

^{13}C RMN de la fracción D-7 de cromatografía en columna 94
^{13}C RMN Simulado del compuesto damnacantal 95

E-2. Espectros de IR

IR de la fracción D-7 de la cromatografía en columna 97
IR de la fracción D-8 de la cromatografía en columna 98
IR de la fracción D-10 de la cromatografía en columna 99
IR de la fracción D-16 de la cromatografía en columna 100
IR de la fracción D-25 de la cromatografía en columna 101
IR de la fracción D-26 de la cromatografía en columna 102

Tabla de Frecuencias de Absorción en IR 103

Apéndice F Estructura Química de Algunos Compuestos del Noni

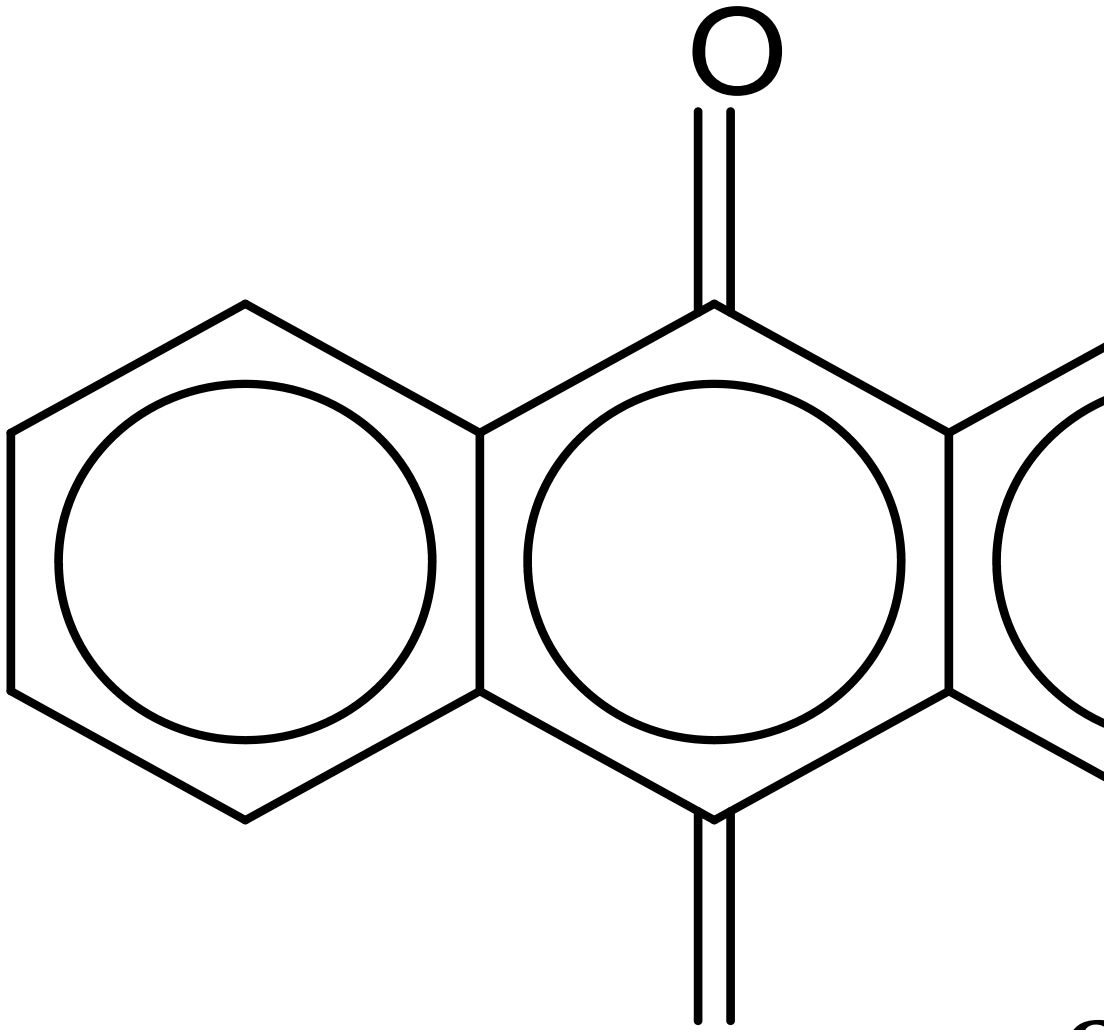


Figura F-1. Estructuras químicas de moléculas presentes en el Noni

Figura F-1 (*Continuación*)

Apéndice G Artículos Científicos Relacionados

- Singh, D.N. *et al* (2006) **Antifungal anthraquinones from *Saprosma fragans*.** Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, N° 16, págs. 4512−4514. 110
- Faltynek, C. R. *et al* (1995) **Damnacanthal is a Highly Potent, Selective Inhibitor of p56^{lck} tyrosine Kinase Activity**. Biochemistry, N° 34, págs. 12404–12410. 113
- Kanokmedhakul, Kwanjai *et al* (2005). **Biological activity of Anthraquinones and Triterpenoids from *Prismatomeris fragans***. Journal of Ethnopharmacology, N° 100, págs. 284-288. 120