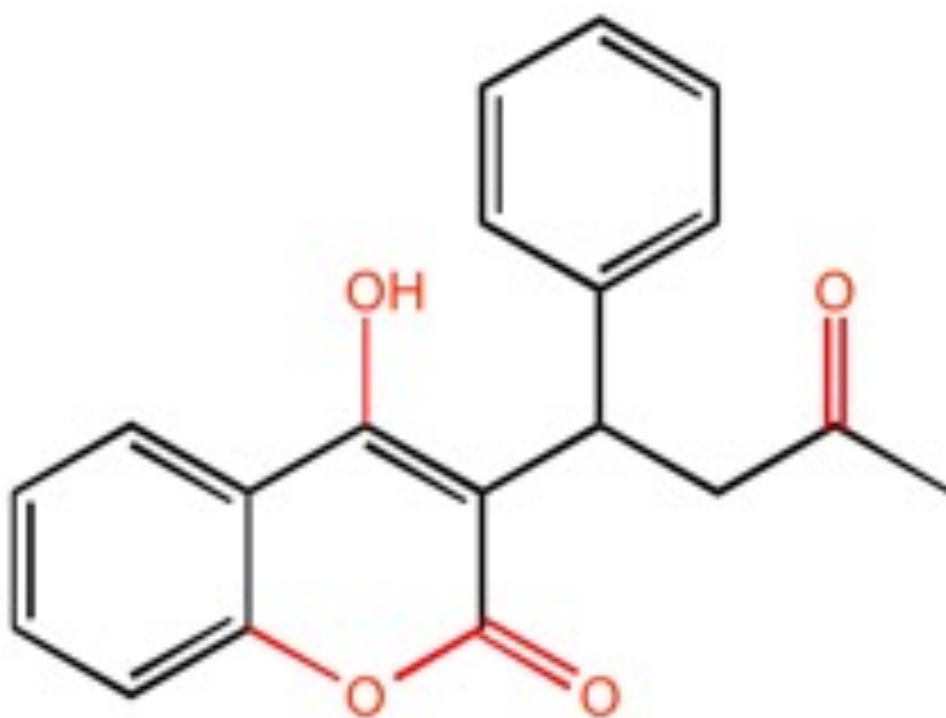


LA SANG I ELS ANTICOAGULANTS: SÍNTESI I ANÀLISI DE LA WARFARINA



AGRAÏMENTS

Vull deixar constància del meu agraïment a les següents persones que han col·laborat en l'elaboració d'aquest treball i són part indiscutible del projecte.

En primer lloc, a la meva tutora del treball que s'ha preocupat del seguiment i he pogut comptar amb ella, en temps i suport, durant tots aquests mesos.

A la Doctora Marta Figueredo, catedràtica de Química Orgànica del Departament de Química de la UAB, que em va suggerir aquesta línia de recerca i em va facilitar els materials necessaris per a la pràctica de la investigació. Sense dubte ha esdevingut una peça clau durant tot el procés, tant en l'aspecte més purament teòric com en la realització de tècniques que requerien la infraestructura universitària.

A l'Institut Vilamajor per obrir-me les portes del laboratori quan ho he necessitat.

I, finalment, als meus pares per facilitar-me la feina tant com els ha estat possible.

A tots, moltes gràcies.

ÍNDIX

ÍNDIX DE FIGURES I TAULES.....	4
1. INTRODUCCIÓ.....	6
2. MARC TEÒRIC.....	7
2.1. La Sang.....	8
2.1.1. Funcions de la sang.....	8
2.1.2. Sistema circulatori.....	9
2.1.3. Composició sanguínia.....	12
2.1.3.1. Característiques i funcions dels components sanguinis.....	12
2.1.3.2. Formació de cèl·lules sanguínies.....	14
2.2. Coagulació sanguínia.....	17
2.2.1. Procés i factors de coagulació.....	18
2.3. Què són els anticoagulants.....	23
2.3.1. Funcionament dels anticoagulants.....	23
2.3.2. Aplicació dels anticoagulants.....	24
2.4. Tipus d'anticoagulants i us mèdic.....	24
2.5. Warfarina.....	28
2.5.1. Propietats i característiques.....	29
2.5.1.1. Quiralitat.....	31
2.5.1.2. Relació entre quiralitat i activitat biològica.....	33
3. MARC EXPERIMENTAL.....	36
3.1. Síntesi i anàlisi de la (S)-warfarina.....	37
3.1.1. Objectiu.....	37
3.1.2. Característiques de l'enllaç i de la reacció.....	37
3.1.3. Material.....	38
3.1.4. Procediment.....	39
3.1.5. Resultats i conclusions de la pràctica.....	49
4. CONCLUSIONS.....	52
5. FONTS.....	53
6. ANNEXOS.....	57
6.1. Diagrama de flux de la síntesi de la warfarina.....	58
6.2. Cromatografia de capa fina.....	59
6.3. RMN.....	63
6.4. Llibreta de laboratori.....	63
7. GLOSSARI.....	65

ÍNDIX DE FIGURES, TAULES I ESQUEMES

FIGURES

Figura 1: Vasos sanguinis

Figura 2: Cavitats del cor

Figura 3: Sistema de circulació

Figura 4: Components de la sang

Figura 5: Medul·la òssia

Figura 6: Esquema coagulació

Figura 7: Estructura del fibrinogen

Figura 8: Estructura del factor von Willebrand

Figura 9: Estructura del factor Stuart-Prower

Figura 10: Vitamina K

Figura 11: Mecanisme d'acció de la HNF

Figura 12: Mecanisme d'acció de la HBPM

Figura 13: Mecanisme d'acció dels ACO

Figura 14: Estructures de la cumarina i la warfarina

Figura 15: Quiralitat

Figura 16: Especificitat I

Figura 17: Especificitat II

Figura 18: Enantiòmers de la warfarina

Figura 19: Vial D amb la mescla.

Figura 20: Vials amb les mostres

Figura 21: Cromatografia de patrons

Figura 22: Control reacció #1

Figura 23: Control reacció #2

Figura 24: Control reacció #3

Figura 25: Cristalls obtinguts al mateix vial

Figura 26: Cristalls obtinguts al cristal·litzador

Figura 27: Muntatge amb buretes per escalfar l'acetona
i dissoldre els cristalls.

Figura 28: Vial amb els cristalls dissolts.

Figura 29: Mescla tèrbola.

Figura 30: Escalfem la mescla.

Figura 31: Bany de gel.

Figura 32: Filtració amb embut de Büchner.

Figura 33: Muntatge fet al laboratori per filtrar.

Figura 34: Cristalls mullats.

Figura 35: Cristalls secs.

Figura 36: Cromatografia per comprovar els resultats

Figura 37: Espectre de RMN de la warfarina.

Figura 38: Espectre de RMN del producte obtingut en el segon experiment.

Figura 39: Estructura fase estacionària

Figura 40: Material per fer una TLC

Figura 41: Mides de la capa fina

Figura 42: Aplicació de la mostra sobre la capa fina mitjançant un capil·lar.

Figura 43: Cambra d'elució amb una capa fina.

Figura 44: Procés d'asseccament de la capa fina.

Figura 45: Model de placa

Figura 46: Funcionament del RMN.

TAULES

Taula 1: Funcions de la sang

Taula 2: Components sanguinis

ESQUEMES

Esquema 1: Procés d'hematopoesi

Esquema 2: Cascada de coagulació

Esquema 3: Mecanisme d'acció de la warfarina

Esquema 4: Formació de la warfarina

Esquema 5: En funció de l'enantiòmer utilitzat com a catalitzador s'obindrà un enantiòmer de la warfarina o l'altre.

Esquema 6: Equilibri warfarina hemiacetals

Esquema 7: Tècnica RMN

1. INTRODUCCIÓ

L'objectiu de la meua recerca consisteix en conèixer millor el funcionament i la manera de treballar en un laboratori a l'hora de dur a terme un procediment experimental, relacionant-ho al mateix temps amb un tema d'interès personal com és el cos humà. Es tracta, doncs, d'un treball sobre química farmacològica.

Des d'un primer moment sabia que volia fer un treball que constés d'una part experimental i, per tant, el primer pas per començar a desenvolupar-lo era trobar un procediment pràctic que complís els requisits. Després d'estudiar varies opcions, vaig optar per dur a terme l'obtenció de la warfarina, un compost anticoagulant la síntesi del qual em va semblar interessant i possible de realitzar al laboratori de l'institut.

Per tirar endavant el treball ha estat necessari enfrontar-se a les dificultats conceptuals que presenta; sobretot pel que fa a l'assimilació de coneixements avançats i que resultaven essencials per a l'execució d'ambdues parts, el marc teòric i la realització de la pràctica final.

Ha estat imprescindible fer un estudi previ de la bioquímica de la sang, és a dir, explicar les seves funcions i components. Estudiant aquests conceptes, he entrat en contacte amb els processos que hi tenen lloc, amb l'objectiu d'entendre els anticoagulants i els seus mecanismes d'acció. A partir d'aquí, he aprofundit en la warfarina: les propietats i característiques. En destaca la seva quiralitat i les conseqüències que comporta. Tota aquesta informació es troba recollida al marc teòric del treball. Per altra banda, al marc experimental s'exposa la feina feta al laboratori per sintetitzar el compost. Durant el procés, he realitzat una llibreta de laboratori en la que s'hi detallen els problemes i els resultats obtinguts dia a dia. Aquesta s'adjuntarà en concepte d'annex.

Finalment, s'ha pogut comprovar de dues maneres diferents que el compost obtingut era l'esperat. La primera mitjançant una cromatografia de capa fina, un mètode força simple. La segona, més complexa de realitzar, ha estat possible gràcies a la col·laboració del Departament de Química Orgànica de la UAB, que ha facilitat que es pogués fer un espectre de Ressonància Magnètica de protó. Totes dues tècniques es troben detallades als annexos del treball.

El treball també inclou un glossari on s'expliquen els conceptes més específics.

2. MARC TEÒRIC

2.1 La sang

La sang és un fluid corporal que tenim els animals i que forma part del medi intern del cos. Conté un gran nombre de cèl·lules i proteïnes que fan que sigui líquida i espessa. El cos humà conté aproximadament uns cinc litres de sang, que representa aproximadament un 8% del pes d'una persona.

La sang és impulsada pel cor a través de les venes, les artèries i els capil·lars fins als teixits, on aporta diverses substàncies necessàries com nutrients i oxigen a les cèl·lules. També transporta residus que han estat metabolitzats a les mateixes cèl·lules lluny d'aquestes. És l'aparell circulatori l'encarregat de fer que la sang circuli i per tant que aquest transport de substàncies es porti a terme.

2.1.1 Funcions de la sang

Tal i com s'explica a la Taula 1, la sang té tres funcions essencials: transport, protecció i regulació. Totes tres són importants, però cal destacar la funció de protecció, què es relaciona directament amb el sistema immunitari.

- Sistema immunitari:

El sistema immunitari és el conjunt d'òrgans i cèl·lules que intervenen en la defensa de l'organisme davant de les infeccions microbianes. Les seves funcions són reconèixer les molècules potencialment perilloses alienes a l'organisme (antígens), així com desordres cel·lulars patològics (tumors). Els antígens cal neutralitzar-los i destruir-los. A més, el sistema immunitari genera una memòria que permet respondre amb més efectivitat davant del contagi d'un mateix agent infecciós.

Hi ha dos tipus d'immunitat: la inespecífica i l'específica:

- La **inespecífica** dona respostes ràpides i més generals davant d'un gran nombre de microorganismes. Aquest tipus de resposta la generen la pell, les mucoses i secrecions varies a nivell de defensa externa, i els mastòcits, les cèl·lules NK (lluita contra tumors) i els macròfags a nivell de defensa interna.
- La immunitat **específica**, en canvi, genera una resposta més lenta però més intensa. Aquest tipus de resposta s'atribueix a anticossos,² limfòcits i macròfags.

Taula 1: Funcions de la sang

FUNCIONS DE LA SANG	
TRANSPORT	<ul style="list-style-type: none"> - Transporta gasos (O_2 i CO_2) entre els pulmons i la resta de l'organisme i nutrients des de l'aparell digestiu fins als diferents òrgans. - Fa circular les substàncies de rebuig fins als ronyons i el fetge què o bé les desintoxicaran o les expulsaran fora del cos. - Transporta les hormones des de les glàndules que les han secretat fins a les cèl·lules diana.⁶ - Ajuda a regular la temperatura corporal portant la calor cap a la pell.
PROTECCIÓ	<ul style="list-style-type: none"> - Els glòbuls blancs s'encarreguen d'eliminar els microorganismes invasors. - Els anticossos juntament amb altres proteïnes destrueixen les substàncies patògenes. - Les plaquetes inicien el procés de coagulació per tal que el cos perdi el mínim de sang possible.
REGULACIÓ	<ul style="list-style-type: none"> - La sang ajuda a regular el pH fent interaccionar àcids i bases.

2.1.2 Sistema circulatori

L'aparell circulatori s'encarrega de portar la sang per tot el cos. Està compost pel cor i els vasos sanguinis. En aquest sistema el cor té la funció d'impulsar la sang pels vasos sanguinis, que són uns conductes de parets elàstiques (Figura 1). En distingim tres tipus:

- **Artèries:** transporten la sang des del cor fins a la resta del cos. Tenen les parets gruixudes i les podem diferenciar en tres tipus segons la quantitat variable de múscul llis²⁸ i fibres elàstiques, el seu gruix i la seva funció. Diferenciem les artèries elàstiques grans, les artèries musculars mitjanes i les artèries petites o arterioles.

- **Venes:** transporten la sang des de les diferents parts del cos fins al cor. Tenen les parets primes i també en podem diferenciar tres tipus seguint els mateixos criteris de classificació que en les artèries. Diferenciem entre les venes grans, les mitjanes o petites i les vèdules.

- **Capil·lars:** són vasos molt fins que comuniquen les artèries amb les venes. És en els capil·lars on es produeix l'intercanvi de substàncies entre la sang i les cèl·lules.

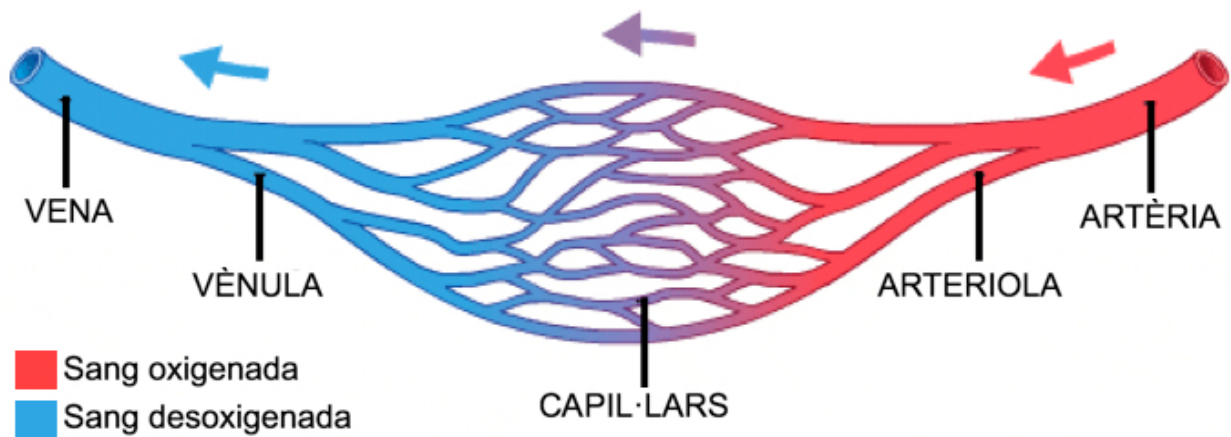


Figura 1: Vasos sanguinis

El **cor** és un múscul de la mida del puny situat entre els pulmons (Figura 2). Gràcies al seu moviment de contracció i dilatació fa circular la sang pels vasos sanguinis i permet portar O_2 i nutrients a les cèl·lules i drenar el CO_2 i altres substàncies residuals. Té quatre cavitats: les dues superiors que s'anomenen aurícules i les dues inferiors que s'anomenen ventricles.

Les aurícules reben la sang que arriba al cor, mentre que els ventricles la bombegen fora d'aquest. L'anatomia interna de cada una de les diferents càmeres depèn estrictament de la seva funció.

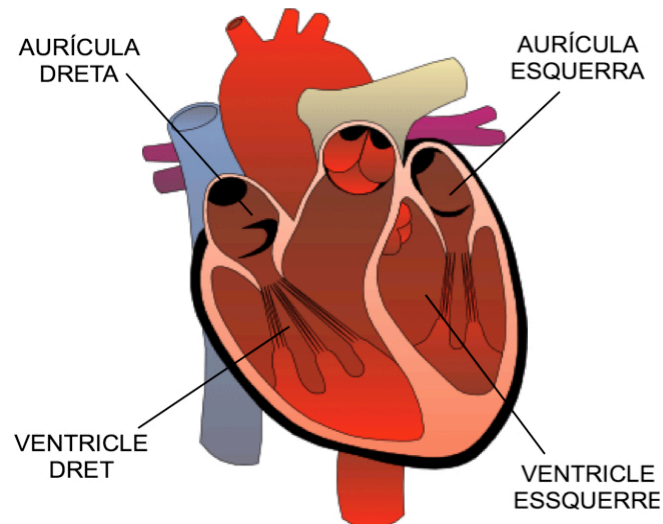


Figura 2: Cavitats del cor

Funcionalment el cor està dividit en dues bombes separades per un envà, que donen lloc a dos circuits diferents (Figura 3).

Una de les bombes rep la sang desoxigenada del cos des de les venes cava inferior i superior i l'envia als pulmons per les artèries pulmonars. Els pulmons la retornen al cor per les venes pulmonars. Es coneix com a circuit pulmonar, ja que als pulmons la sang expulsa el CO_2 i absorbeix l' O_2 de l'aire.

L'altre bomba rep la sang oxigenada dels pulmons des de les venes pulmonars i l'envia a la resta del cos per l'aorta, mitjançant el circuit general. Cada bomba està formada per una aurícula i un ventricle separats per una vàlvula.

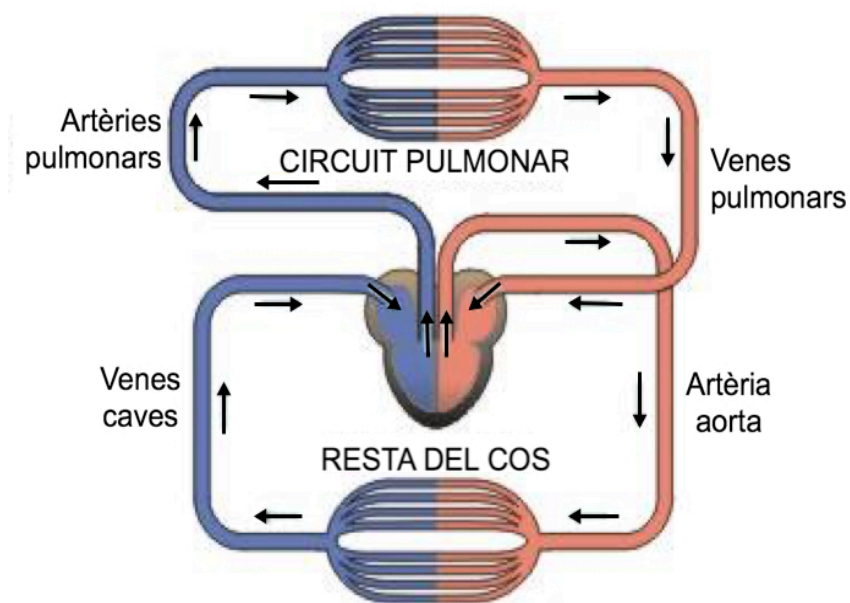


Figura 3: Sistema de circulació

2.1.3 Composició sanguínia

Les cèl·lules de la sang es divideixen en dos grans grups: mieloides i limfoides. Les primeres comprenen els eritròcits, els monòcits, els granulòcits i els trombòcits, mentre que les segones comprenen els limfòcits. Les característiques de les diferents cèl·lules sanguínies estan explicades més endavant.

Les cèl·lules mieloides es produeixen a través d'un procés conegut com a mielopoesi i les limfoides són resultat de la limfopoesi.

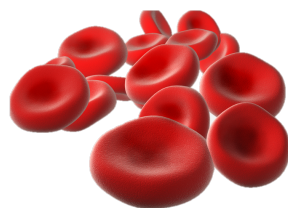
2.1.3.1 Característiques i funcions

La sang està formada per una matriu extracel·lular líquida anomenada plasma i diverses cèl·lules sanguínies:

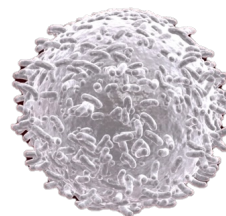
- El plasma és la part líquida de la sang i en compren aproximadament un 55%. Està format en un 92% d'aigua i conté, en dissolució, glúcids, lípids, proteïnes, ions i hormones entre d'altres. Aquestes substàncies són necessàries per que la sang pugui dur a terme les diferents funcions, entre elles la coagulació.

El plasma té diverses funcions:

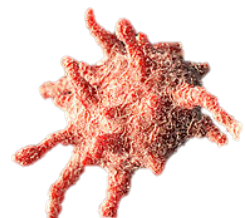
- Mantenir correcta la pressió i el volum sanguini.³⁹
 - Suplir les proteïnes necessàries per la coagulació i immunització.
 - És un medi d'intercanvi de minerals vitals (Na, K...).
 - Manté el pH del cos per tal que les funcions cel·lulars puguin dur-se a terme. El pH plasmàtic normal és aproximadament de 7,4.
- Les cèl·lules sanguínies constitueixen l'altre meitat del volum sanguini. En distingim tres tipus: els glòbuls vermells, els glòbuls blancs i les plaquetes (Figura 4).



Glòbuls vermells



Glòbuls blancs



Plaquetes

Figura 4: Components de la sang

A la Taula 2 es resumeixen les característiques, l'estructura i les funcions de cada tipus de cèl·lula sanguínia.

Taula 2: Components sanguinis: característiques, estructura i funció

	CARACTERÍSTIQUES	ESTRUCTURA I TIPUS	FUNCIONS
Glòbuls vermells (eritròcits)	<ul style="list-style-type: none"> - Són les cèl·lules més nombroses de la sang. - No tenen nucli - Determinen el grup sanguini de cada persona. - Contenen l'hemoglobina²³, que li dona el color vermell a la sang. 	<ul style="list-style-type: none"> - Forma de disc, amb una membrana gruixuda i una lleu curvatura a cada banda. - Contenen glicolípids²⁰ i glicoproteïnes²¹ a la membrana. - Tenen flexibilitat per circular pels vasos sanguinis. 	<ul style="list-style-type: none"> - Transporten l'oxigen des dels pulmons fins a la resta de teixits - Transporten el CO₂ des dels teixits fins als pulmons.
	<div>Agranulòcits</div> <div>Glòbuls blancs (leucòcits)</div>	<div>Monòcits: macròfags (als teixits)</div> <div> <div>Limfòcits</div> <div> <div>Limfòcit B: fabricat a la medulla òssia.</div> <div>Limfòcit T: fabricat al tim³⁶.</div> </div> </div> <div>Eosinòfils</div> <div>Neutròfils</div> <div>Basòfils</div>	<ul style="list-style-type: none"> - Fagociten¹⁶ bacteris i actuen com a cèl·lula presentadora de l'antigen³. - Majoritàriament destrueixen cèl·lules cancerigens i infectades per virus. Intervenen les cèl·lules NK. - Destruïxen al·lèrgens i inhabiliten paràsits. - Participen en la destrucció de bacteris. - Secreten histamina²⁴ i heparina.
Plaquetes (trombòcits)	<ul style="list-style-type: none"> - Petits fragments de cèl·lules de la medulla òssia. - No se les considera cèl·lules en si. 	<ul style="list-style-type: none"> - Tenen forma de disc biconvex. 	<ul style="list-style-type: none"> - Secreten vasoconstrictors³⁸ i procoagulants que ajuden a la cicatrització de les ferides. - Dissolten coàguls quan no són necessaris. - Necessàries per destruir bacteris.

2.1.3.2 Formació de cèl·lules sanguínies

Com s'ha dit abans, les cèl·lules de la sang es divideixen en dos grans grups: mieloides i limfoides.

Totes les cèl·lules es produeixen a la medul·la òssia, i aquesta la podem diferenciar en dos tipus: la medul·la òssia vermella i la groga (Figura 5).

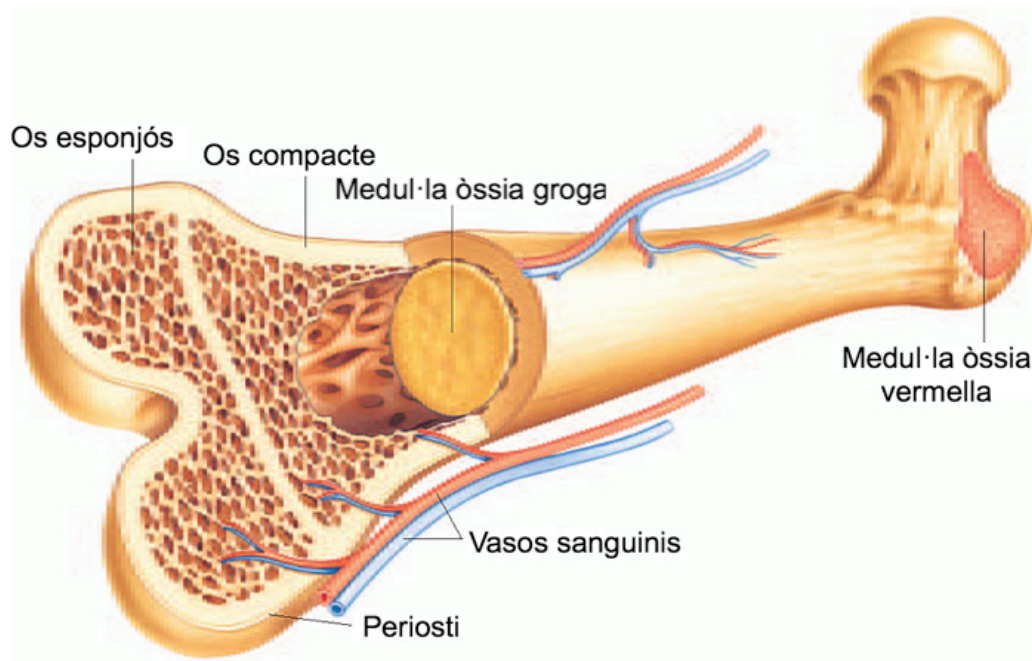


Figura 5: Medul·la òssia

La **medul·la òssia vermella**, també anomenada mieloide, la localitzem al teixit esponjós dels ossos plans com l'espina dorsal, l'estèrnum, les costelles, la pelvis i petites parts del braç i de la cama en adults. Quan naixem la major part de la medul·la òssia és vermella, però a mesura que creixem aquesta capacitat va disminuint, fins a reduir-se als ossos nombrats anteriorment. Aquest procés de formació de cèl·lules s'anomena hematopoesi. Les cèl·lules sanguínies són degradades per la melsa²⁷ i els macròfags del fetge.

La part de la medul·la que ja no produeix cèl·lules sanguínies s'anomena **medul·la òssia groga** i es troba als canals medul·lars dels ossos llargs.

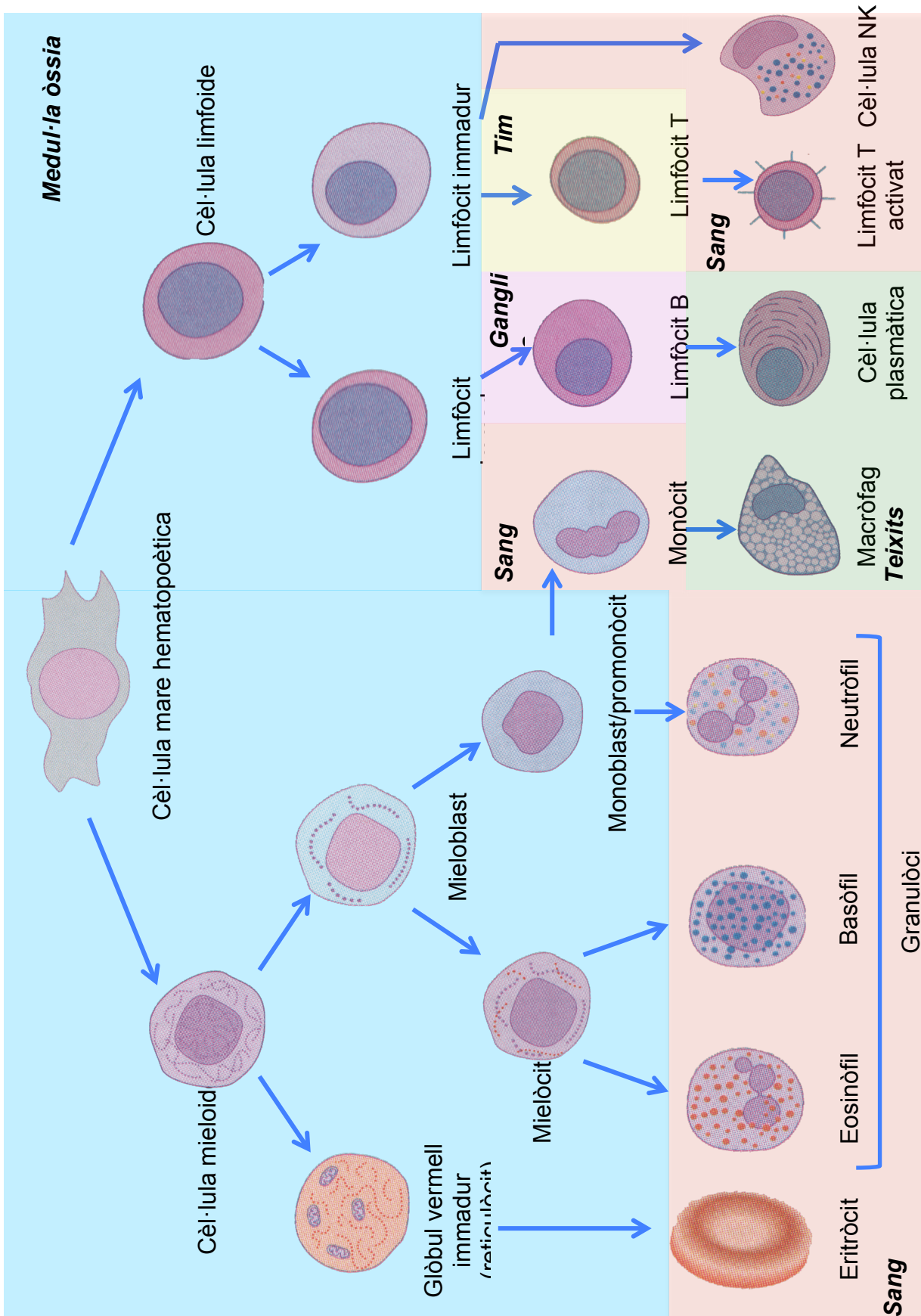
- HEMATOPOESI:

És un procés extraordinàriament complex a través del qual les cèl·lules mare⁷ hematopoètiques proliferen i es diferencien, formant els diferents tipus de cèl·lules madures circulants (eritròcits, granulòcits, limfòcits, monòcits i plaquetes). L'hematopoesi té lloc a la medul·la òssia, hi intervenen una gran varietat de tipus cel·lulars i està regulat per diversos factors.

Les cèl·lules sanguínies es formen a partir d'un precursor cel·lular comú i indiferenciat: les cèl·lules mare hematopoètiques pluripotents, que són una unitat formadora d'hemocitoblasts. Els hemocitoblasts formaran tipus específics de cèl·lules sanguínies seguint un procés.

El procés consta de quatre fases segons el grau de maduresa de les cèl·lules que el formen i dels diferents llinatges cel·lulars que es generen (Esquema 1). La primera fase correspon a les cèl·lules més primitives, els hemocitoblasts (CTH) que són capaços d'auto-renovar-se i són multipotents, és a dir, poden originar diferents tipus de cèl·lula. Aquestes donaran lloc a les cèl·lules progenitores hematopoètiques (CPH), que ja no tenen capacitat d'auto-renovació que formaran part de la segona fase. Les CPH originaran les cèl·lules precursoras, que ja es poden reconèixer per la seva morfologia, tot i que encara són cèl·lules immadures. Se'n poden formar de dos tipus diferents: les cèl·lules mare mieloides i les limfoides. Són aquestes les que formen la tercera fase, i les que originaran les cèl·lules sanguínies pròpiament i per tant la quarta fase. A partir de les cèl·lules mieloides es desenvoluparan a la medul·la òssia una sèrie de cèl·lules intermèdies que finalment donaran lloc als eritròcits i als granulòcits (quarta fase) ja a la sang. Del precursor dels granulòcits també en sorgiran els monòcits, que quan passin als teixits s'anomenaran macròfags.

Per altra banda, de les cèl·lules limfoides se n'originaran els limfòcits immadurs que donaran lloc als limfòcits B als ganglis i als limfòcits T al tim. Quan aquests limfòcits B passin als teixits passaran a ser cèl·lules plasmàtiques. A diferència dels limfòcits B, quan els limfòcits T passin a del tim a la sang passaran a ser limfòcits T activats. El resultat del desenvolupament dels limfòcits immadurs directament a la sang són les cèl·lules NK.



Esquema 1: Procés d'hematopoesi

2.2 Coagulació de la sang

Els organismes disposen d'un sistema de seguretat que permet aturar les pèrdues de sang. El mecanisme que el cos utilitza per tal d'aturar aquest procés s'anomena coagulació i ho fa mitjançant la cascada de coagulació.

Quan els vasos sanguinis es tallen o pateixen algun tipus de lesió hi ha una pèrdua de sang. Quan passa això, les parets del vas danyat es contrauen per tal de reduir el flux de sang a l'àrea afectada. En aquest moment les plaquetes s'adhereixen al punt on hi ha la lesió i es distribueixen al llarg de la superfície del vas (Figura 6). Aquesta pèrdua del sistema ha d'aturar-se abans de que es pugui produir un *shock* i la possible mort. És per això que uns petits sacs que es troben a l'interior de les plaquetes alliberen senyals químiques per atraure altres cèl·lules a la zona i fer que s'aglutinin per formar un tap plaquetari.

Una vegada s'ha tallat l'hemorràgia s'han d'eliminar els coàguls,⁸ ja que quan ja han fet la seva funció no serveixen més. Aquest procés d'eliminació s'anomena fibrinòlisi.

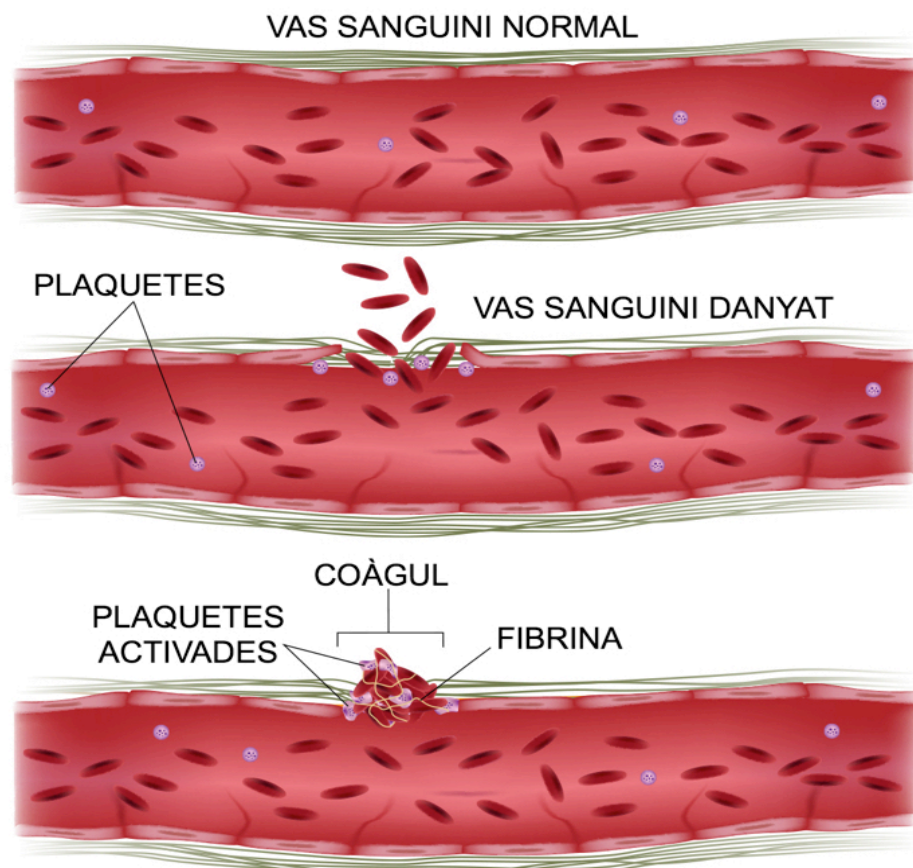


Figura 6: Esquema coagulació

A la superfície d'aquestes plaquetes activades molts factors de coagulació diferents treballen per formar un coàgul que funcionarà com una ret per aturar l'hemorràgia.

2.2.1 Procés i factors de coagulació

El procés de coagulació és un conjunt de reaccions en cascada formades per una via intrínseca i una d'extrínseca, que s'uneixen en una de comú per acabar formant el coàgul de sang o trombo. Per que aquest procés sigui possible és necessària l'acció de les plaquetes i de la fibrina.¹⁷

Els factors de coagulació són proteïnes de la sang que controlen l'hemorràgia i formen part del coàgul sanguini. Aquests factors són essencials per que es produeixi la coagulació i si no hi són poden donar lloc a trastorns hemorràgics greus, com per exemple l'hemofília.

Hi ha tretze factors de coagulació, que necessiten cofactors d'activació com ara el calci (Ca^{2+}) o els fosfolípids.¹⁹

- **Factor I: fibrinogen**

És una proteïna precursora de la fibrina (Figura 7), que als seus extrems té una càrrega negativa molt forta, de manera que repèl altres molècules, prevenint d'aquesta manera l'agregació. Quan hi ha una ferida, el fibrinogen es transforma en fibrina, que va a cobrir el lloc de l'hemorràgia, taponant-la.

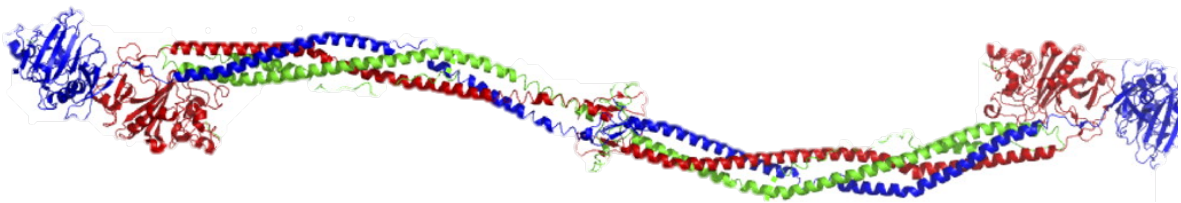


Figura 7: Estructura del fibrinogen

- **Factor II: protrombina³²**

És una proteïna del plasma sanguini que quan entra en contacte amb la tromboplastina forma la trombina, que reacciona amb el fibrinogen (factor I), donant lloc a la fibrina. S'ha vist que hi ha persones que tenen una mutació en el gen de la protrombina, fet que els fa ser més propensos a patir una trombosi.³⁷

- **Factor III: factor tissular (tromboplastina)**

Aquest factor és una substància complexa que inicia el procés de coagulació transformant protrombina en trombina en presència d'ions calci.

- **Factor IV: calci**

Mineral molt abundant en l'organisme que participa en múltiples processos.

- **Factor V: proaccelerina (factor làbil)**

És una proteïna plasmàtica que accelera la conversió de protrombina en trombina. Això ho fa formant un complex amb el factor X, fosfolípids i calci. La deficiència d'aquest factor dóna lloc a la malaltia d'Oweren o parahemofília.²⁹ És una prolongació del temps de protrombina i de coagulació.

- **Factor VI: factor inactiu o cimògen**

Aquest factor s'ha vist que, en realitat, és un producte intermedi, i no un vertader factor de coagulació.

- **Factor VII: proconvertina (factor estable)**

Factor que, juntament amb el tissular, activa el factor X. Aquesta activació forma part de la via extrínseca de la coagulació.

- **Factor VIII: factor antihemofílic A (factor von Willenbrand)**

Aquest factor (Figura 8) ajuda a les plaquetes a apilonar-se i adherir-se a les parets dels vasos sanguinis, cosa necessària per la coagulació de la sang.

És una glucoproteïna continguda en el plasma sanguini que actua com un dels cofactors de la cascada de la coagulació. La deficiència del Factor VIII causa unes malalties hereditàries hemorràgiques conegudes com a Hemofília A i malaltia de von Willenbrand.

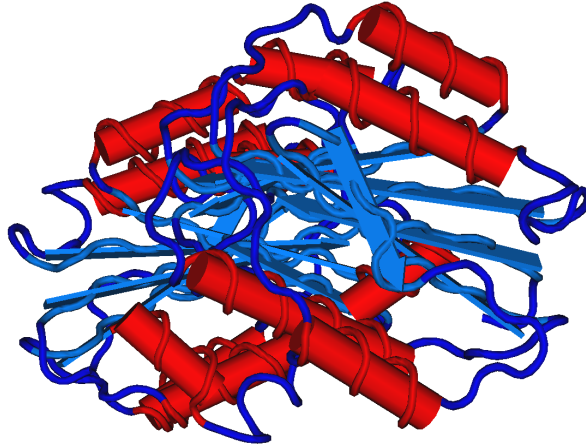


Figura 8: Estructura del factor von Willebrand

- **Factor IX: factor antihemofílic B (factor de Christmas)**

La falta d'aquest factor de coagulació dóna lloc a la malaltia de Christmas o hemofília B, que també és una malaltia hereditària lligada al cromosoma X.

- **Factor X: factor de Stuart-Prower**

Aquesta proteïna (Figura 9) és un dels factors desencadenants de l'inici de la via comú de la coagulació.

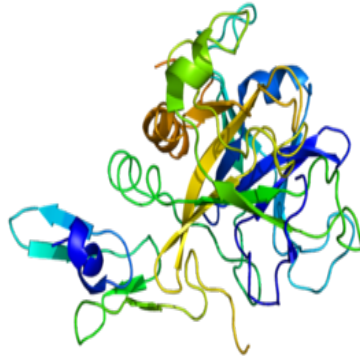


Figura 9: Estructura del factor Stuart-Prower

- **Factor XI: factor antihemofílic C**

La falta d'aquest factor provoca hemofília C, que és la menys freqüent. A diferència de les altres hemofílies no està lligada al cromosoma X.

- **Factor XII: factor Hageman**

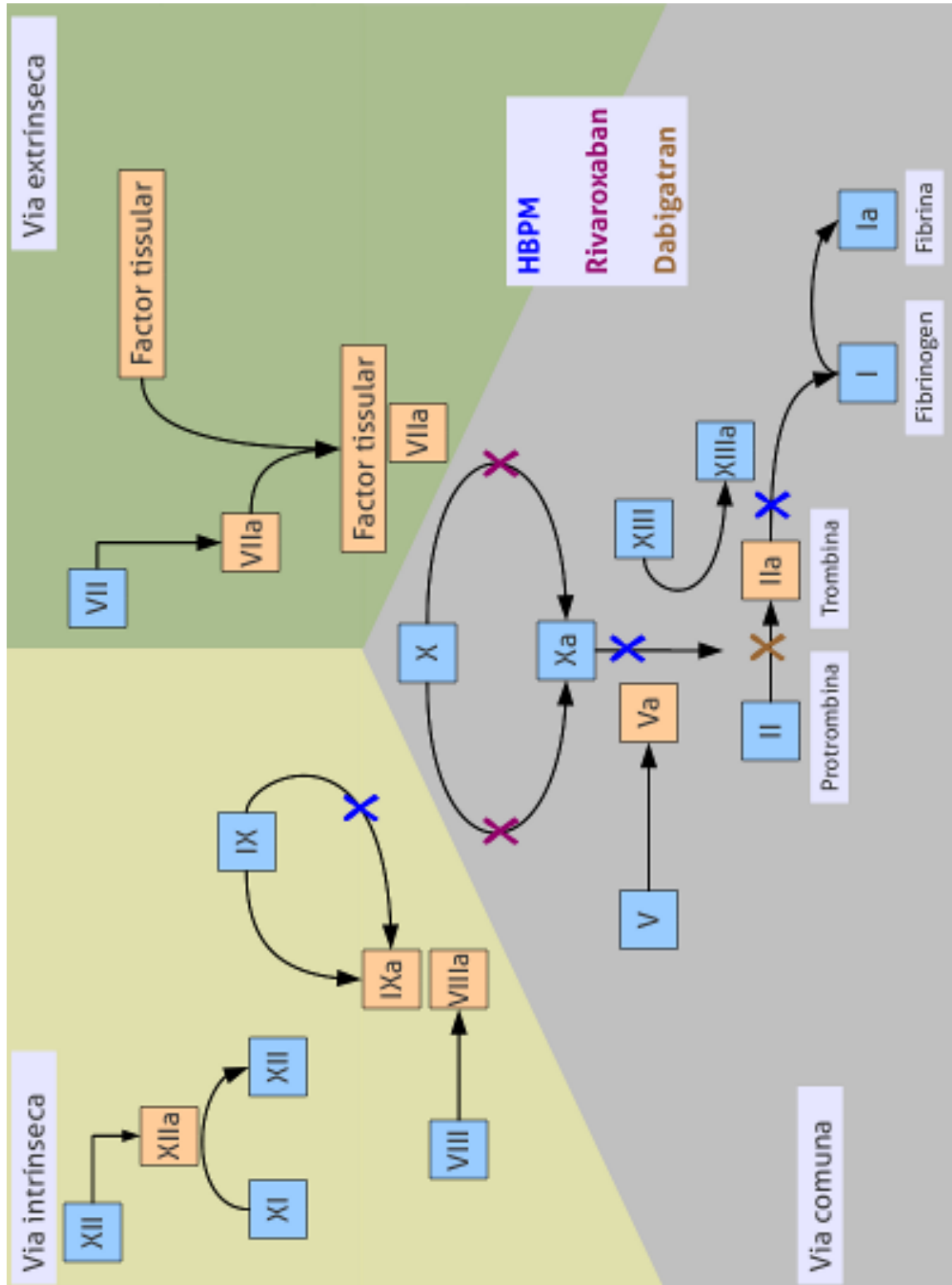
Aquest factor és un enzim¹² que activa el factor XI i la precalicreïna.

- **Factor XIII: factor estabilitzant de la fibrina**

Factor present en el plasma normal que actua juntament amb el calci per produir el coàgul de fibrina insoluble.

A l'Esquema 2 es representa la cascada de coagulació. Per estudiar-la es divideix en tres vies: la intrínseca, l'extrínseca i la comú. La via intrínseca i la extrínseca són les vies d'iniciació de la cascada, mentre que la via comú és on s'ajunten les anteriors, culminant amb la conversió del fibrinogen a fibrina. Cada reacció d'aquestes vies ve donada per un enzim (factor de coagulació activat), un substrat³⁵ i un cofactor que actua fent possible la reacció.

Cal dir que la "a" com a subíndex indica que el factor està activat.



Esquema 2: Cascada de coagulació

2.3 Què són els anticoagulants

Els anticoagulants són un tipus de substància que redueixen la capacitat del cos per formar coàguls innecessaris a les artèries, venes o al cor. Són necessaris si la sang coagula massa, ja que els coàguls poden bloquejar els vasos sanguinis. Aquest bloqueig pot causar, tot i que no necessàriament, atacs de cor, embòlies o vessaments cerebrals entre d'altres.

Els medicaments anticoagulants influeixen en el procés de coagulació i impliquen un cert risc d'hemorràgia per les persones que en prenen.

2.3.1 Funcionament dels anticoagulants

Els medicaments anticoagulants interrompen una part del procés de la formació de coàguls. Ho fan regulant la producció de vitamina K (Figura 10) al fetge.

La vitamina K controla la creació dels factors que intervenen i que són necessaris pel procés de coagulació. Per aquest motiu, la falta d'aquesta vitamina fa que el temps necessari per formar un coàgul es redueixi.

El que els anticoagulants aconsegueixen és reduir la formació de coàguls quan no són necessaris, sense impedir que es puguin formar quan sí que ho són. No dissolen masses que ja han estat formades, tot i que ajuden a que els coàguls ja existents no creixin.

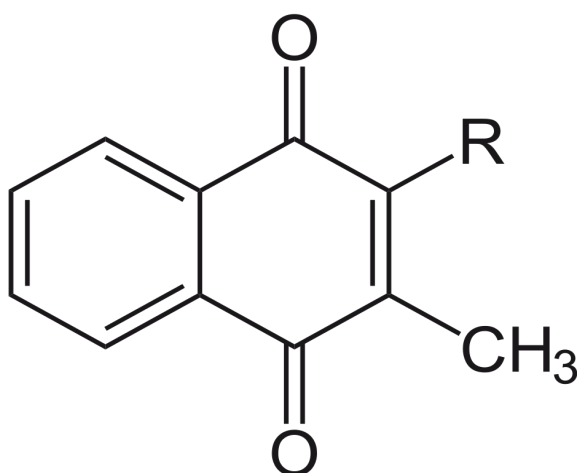


Figura 10: Vitamina K

2.3.2 Aplicació dels anticoagulants

Hi ha diversos diagnòstics pels quals es poden receptar els anticoagulants. Alguns d'aquests diagnòstics són:

- Fibril·lació arterial: el batec cardíac és anormal; el ritme és ràpid i irregular.
- Implant d'una vàlvula cardíaca
- Trombosi venosa profunda: és la formació d'un coàgul sanguini en una vena. Afecta principalment a les venes grans de la part inferior de la cama i la cuixa.
- Embolisme pulmonar: és un bloqueig sobtat d'una artèria pulmonar. Sol ser causada per un coàgul a la cama (trombosis venosa profunda) que es desprèn i viatja pel torrent sanguini fins al pulmó.
- Prevenció de coàguls sanguinis, per exemple desordres de coagulació genètics.
- Accident vascular cerebral: succeeix quan el flux de sang a una part del cervell s'atura. Si el flux s'atura per més de pocs segons, el cervell pot no rebre nutrients i oxigen. A conseqüència les cèl·lules cerebrals poden morir i causar un dany permanent.
- Atac de cor

2.4 Tipus d'anticoagulants i ús mèdic

Els anticoagulants són un grup de substàncies de diferent naturalesa química relacionats pel seu efecte biològic. Es poden dividir en:

Anticoagulants d'acció directa: Aquells que per si sols són capaços d'inhibir la cascada de coagulació. Un exemple en són els inhibidors directes de la trombina (hirudina, argatroban).

Anticoagulants d'acció indirecta: Aquells que mitjançant la interacció amb altres proteïnes o actuant en altres vies metabòliques alteren el funcionament de la cascada de coagulació. Alguns exemples són: les heparines (heparina no fraccionada i heparines de baix pes molecular), danaparoide sòdic i inhibidors de la síntesi de factors de coagulació (derivats del dicumarol: cumarines).

A continuació s'expliquen les característiques i el mecanisme d'acció d'alguns dels anticoagulants més representatius.

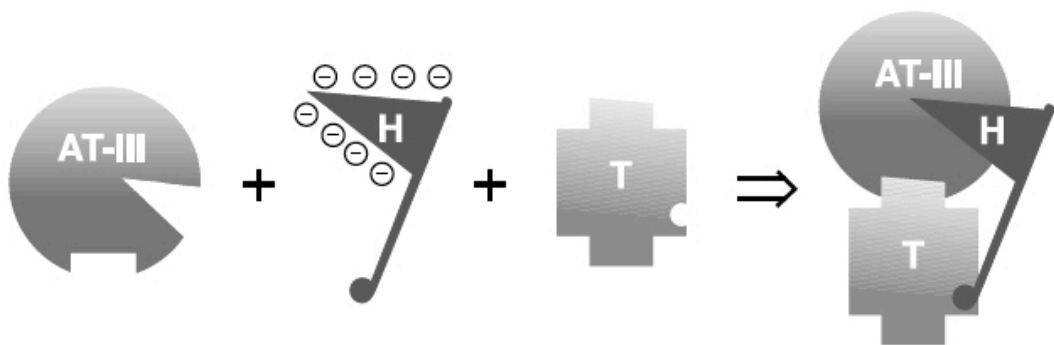
- **HEPARINA NO FRACCIONADA (HNF)**

És una mescla de glicosaminoglicans²² extreta del porc i d'animals bovins, amb un gran nombre variable de residus que els hi donen càrregues negatives.

Mecanisme d'acció (Figura 11):

L'HNF s'uneix a l'antitrombina III (AT-III), produint un canvi conformacional, és a dir canviant la manera en la que es col·loquen els àtoms, que augmenta la capacitat inhibidora d'aquest enzim sobre els factors de coagulació: trombina, Xa i IXa. Per tal que la inactivació de la trombina sigui accelerada és necessària la formació d'un complex terciari d' AT-III + heparina + trombina. El factor Xa només requereix el canvi conformacional.

1. Efecte de l'HNF sobre la Trombina



2. Efecte de l'HNF sobre el factor Xa

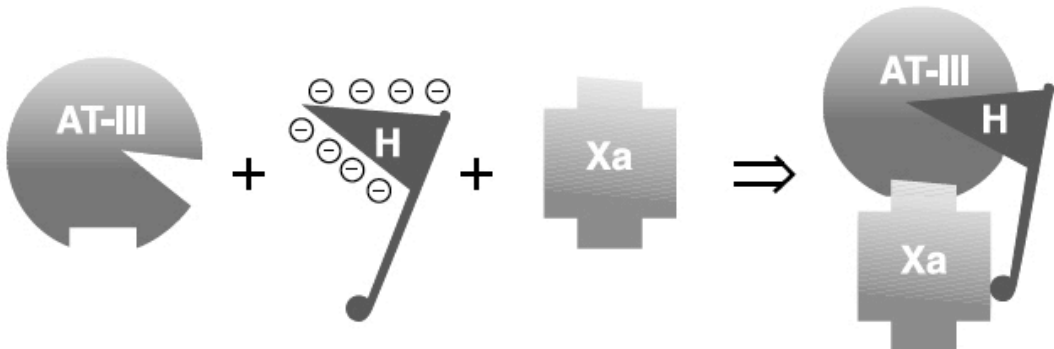


Figura 11: Mecanisme d'acció de la HNF

La limitació biològica de la reacció està determinada per la incapacitat del complex AT-III + heparina d'inhibir al factor Xa i a la trombina que ja estan units al coàgul.

Es pot utilitzar per prevenir o tractar quadres trombòtics o bé per tractar malalties tromboembòliques.²⁶ Depenent de cada cas es recomanarà una dosi concreta i un via d'administració determinada.

- **HEPARINA DE BAIX PES MOLECULAR (HBPM)**

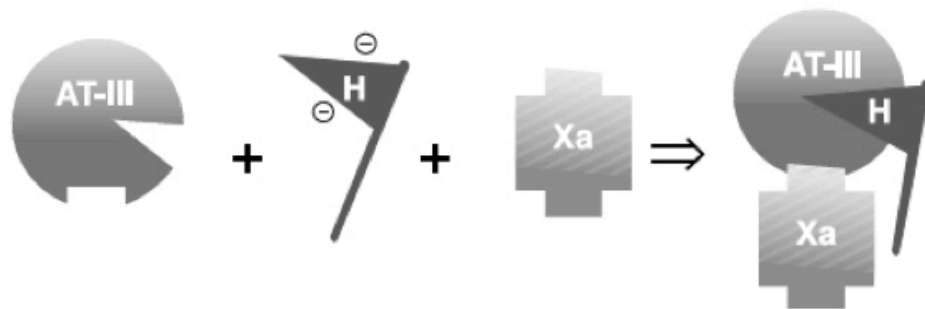
Le despolimerització¹⁰ química o enzimàtica de l'heparina no fraccionada produeix molècules més petites amb pesos moleculars d'entre 1 i 10 kd (quilodaltons),³³ anomenades heparines de baix pes molecular. En funció de la tècnica de despolimerització utilitzada s'obtenen diferents tipus de HBPM i les propietats farmacocinètiques varien.

Mecanisme d'acció (Figura 12):

Igual que la HNF, acceleren la inhibició del factor Xa i la trombina per AT-III formant un complex. La diferència és que les HBPM tenen tendència a inhibir més al factor Xa que no a la trombina.

Tenen la mateixa limitació biològica que el complex HNF+AT-III, és a dir el complex HBPM+AT-III no pot inhibir al factor Xa perquè està unit a un coàgul.

1. Efecte de l'HBPM sobre el factor Xa



2. Efecte de l'HBPM sobre la Trombina

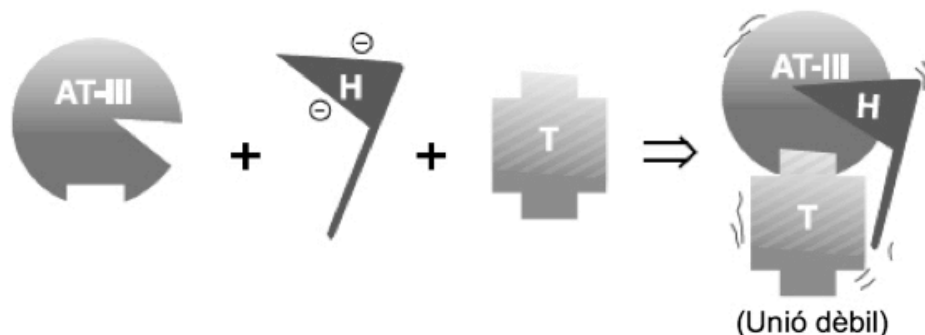


Figura 12: Mecanisme d'acció de la HBPM

Igual que les HNF s'utilitzen per prevenir o tractar les malalties tromboembòliques. La dosi i la via d'administració també dependrà de cada cas, però cal dir que el seu efecte anticoagulant a dosis terapèutiques és immediat.

• ANTICOAGULANTS ORALS (ACO)

Són un grup de medicaments anticoagulants que deuen el seu nom a la biodisponibilitat que tenen quan s'administren per via oral. Els més utilitzats són la warfarina i l'acenocumarol (Sintrom), tots dos derivats del dicumarol (cumarines).

Mecanisme d'acció (Figura 13):

Inhibeixen el cicle d'interconversió de la vitamina K des de la seva forma oxidada a la reduïda. La vitamina K (vit K) reduïda és el cofactor essencial per la síntesi hepàtica de les anomenades *proteïnes vitamina-K dependents*. Aquestes inclouen a factors de coagulació (protrombina, VII, IX, X) i també a proteïnes anticoagulants (proteïna C, proteïna S i AT-III). Els anticoagulants orals provoquen la síntesi defectuosa de totes les proteïnes vit K dependents. Tot i això, s'ha demostrat que el seu efecte anticoagulant és principalment a causa de la disminució dels nivells plasmàtics de protrombina funcional.

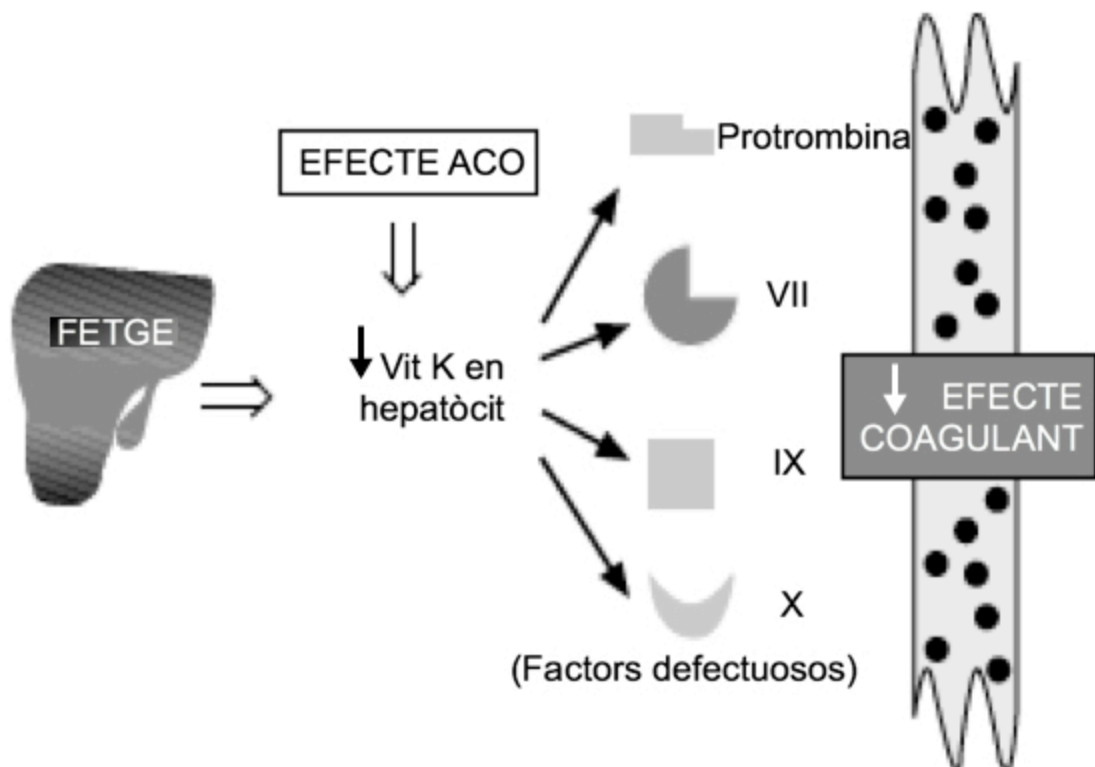


Figura 13: Mecanisme d'acció dels ACO

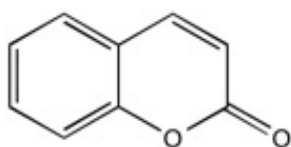
Es poden utilitzar en prevenció secundària o en el tractament de la trombosi venosa profunda (TVP) i de l'embòlia pulmonar. En pacients amb arítmies cardíques o amb vàlvules cardíques mecàniques s'utilitzen per prevenir l'embolització sistèmica. La dosi també dependrà de cada cas, i obtenir el benefici de la teràpia dependrà de l'estricta seguiment de la pauta de dosificació senyalada per l'especialista.

La indicació del tractament anticoagulant és un repte pel metge. Utilitzat oportunament i amb precaució pot aportar grans beneficis pel pacient, i en els casos més complexos influirà en la vida del malalt.

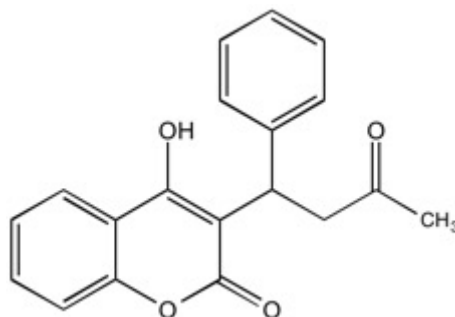
2.5 Warfarina

La warfarina (Figura 14) és un anticoagulant comercial i un raticida al qual s'hi va fer referència per primera vegada al 1944. Forma part del grup de les cumarines i normalment es ven en forma racèmica (mescla equimolecular dels dos isòmers òptics R i S), tot i que els enantiòmers R i S difereixen en activitat, metabolisme i interacció amb altres fàrmacs.¹

La part pràctica d'aquest treball consisteix en la síntesi d'aquest compost.



Cumarina; figura bàsica que dona nom a una família d'anticoagulants



Warfarina; anticoagulant que s'ha preparat en el present treball.

Figura 14: Estructures de la cumarina i la warfarina

¹ En l'apartat 2.5.1.1 s'explica el concepte d'enantioisomeria i la seva repercussió en l'activitat farmacològica.

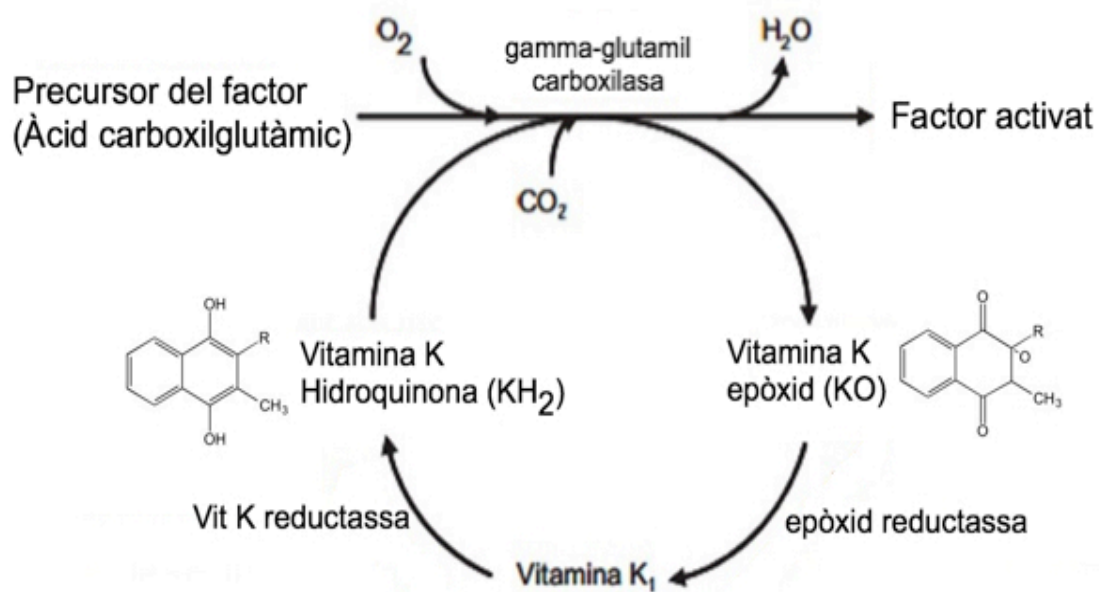
2.5.1 Propietats i característiques

La warfarina actua més lentament que l'heparina, tot i que té una sèrie d'avantatges. L'heparina s'ha d'administrar mitjançant injeccions, mentre que la warfarina està disponible per via oral i només s'ha d'administrar una vegada al dia. L'heparina pot causar un estat protrombòtic, és a dir una disminució dels nivells de plaquetes a causa dels anticossos i de l'heparina, fet que fa augmentar el risc de trombosis. La warfarina té una vida llarga mitja, de manera que l'efecte terapèutic dura varis dies. A més, és necessari prendre'l amb un anticoagulant de cobertura, ja que sinó augmenta el risc de trombosis. Per aquest motiu els pacients hospitalitzats acostumen a tractar-se en primer lloc amb heparina i posteriorment se'ls hi recepta warfarina.

- **MECANISME D'ACCIÓ**

La warfarina inhibeix la síntesis de formes biològicament actives de Ca dependents de la vitamina K (factors de coagulació II, VII, IX i X), així com els factors reguladors de la proteïna C, la S i la Z. També es veuen afectades altres proteïnes que no participen en la coagulació de la sang, com per exemple la osteocalcina.

Els precursors d'aquests factors requereixen la carboxilació⁵ dels seus residus d'àcid glutàmic per permetre als altres factors de coagulació que s'uneixin a les superfícies fosfolipídiques dins dels vasos sanguinis. L'enzim que du a terme la carboxilació de l'àcid glutàmic és el gamma-glutamil carboxilasa (Esquema 3). La reacció de carboxilació només es produirà si l'enzim carboxilasa és capaç de convertir al mateix temps una forma reduïda de la vit K a epòxid¹³ de vit K. L'epòxid de vit K es torna a reciclar produint a la vegada vit K i vit K reduïda. La warfarina inhibeix a l'epòxid reductasa, fent que disminueixi la vitamina K i la vitamina K reduïda als teixits, fet que inhibeix l'activitat de carboxilació de la glutamil carboxilasa.



Esquema 3: Mecanisme d'acció de la warfarina

Quan això passa, els factors de coagulació ja no són carboxilats de nou, i són incapaços d'adherir-se a la superfície dels vasos sanguinis, i per tant són biològicament inactius. L'efecte anticoagulant no es farà evident fins que s'acabin les reserves de factors actius produïts durant els dies previs, i es substitueixin pels factors inactivats.

Per tant, els factors de coagulació es produeixen, però tenen una funcionalitat reduïda a causa de la subcarboxilació. Aquests factors subcarboxilats s'anomenen PIVKAs (proteïnes induïdes per absència/antagonisme de vitamina K), i els factors de coagulació PIVKA-x. Per tant, l'objectiu final és disminuir la coagulació de la sang del pacient.

L'efecte inicial de l'administració de warfarina provoca breument la formació de coàguls, ja que la proteïna S també depèn de l'activitat de la vitamina K. Els nivells baixos de proteïna S tenen com a conseqüència una reducció de l'activitat de la proteïna C (de la que n'és cofactor) i, per tant, es retarda la degradació del factor Va i del factor VIIIa. Això fa que el sistema d'hemostàsia³⁴ formi temporalment coàguls, fet que condueix a un estat protrombòtic. És per aquest motiu que és necessari administrar heparina abans de la warfarina.

Com s'ha comentat abans, la warfarina comercial està formada per una mescla dels dos isòmers, essent l'activitat de cadascun diferent. El fet de que existeixin dos isòmers es deu a una propietat anomenada quiralitat.

2.5.1.1 Quiralitat

La quiralitat és l'absència de simetria de reflexió. Provoca que l'original i la seva imatge en el mirall no es puguin superposar. Un objecte quiral i la seva imatge no són idèntics. Un exemple és el que passa amb la mà dreta respecte de l'esquerra². De la mateixa manera, una molècula quiral i la seva imatge no són idèntiques. Per contra, un objecte aquiral i la seva imatge són idèntics. Un martell corrent és idèntic a la seva imatge.

A continuació una representació gràfica de la quiralitat.

² La paraula quiralitat ve de “chiro” que en grec significa mà.
La sang i els anticoagulants: síntesi i anàlisi de la warfarina

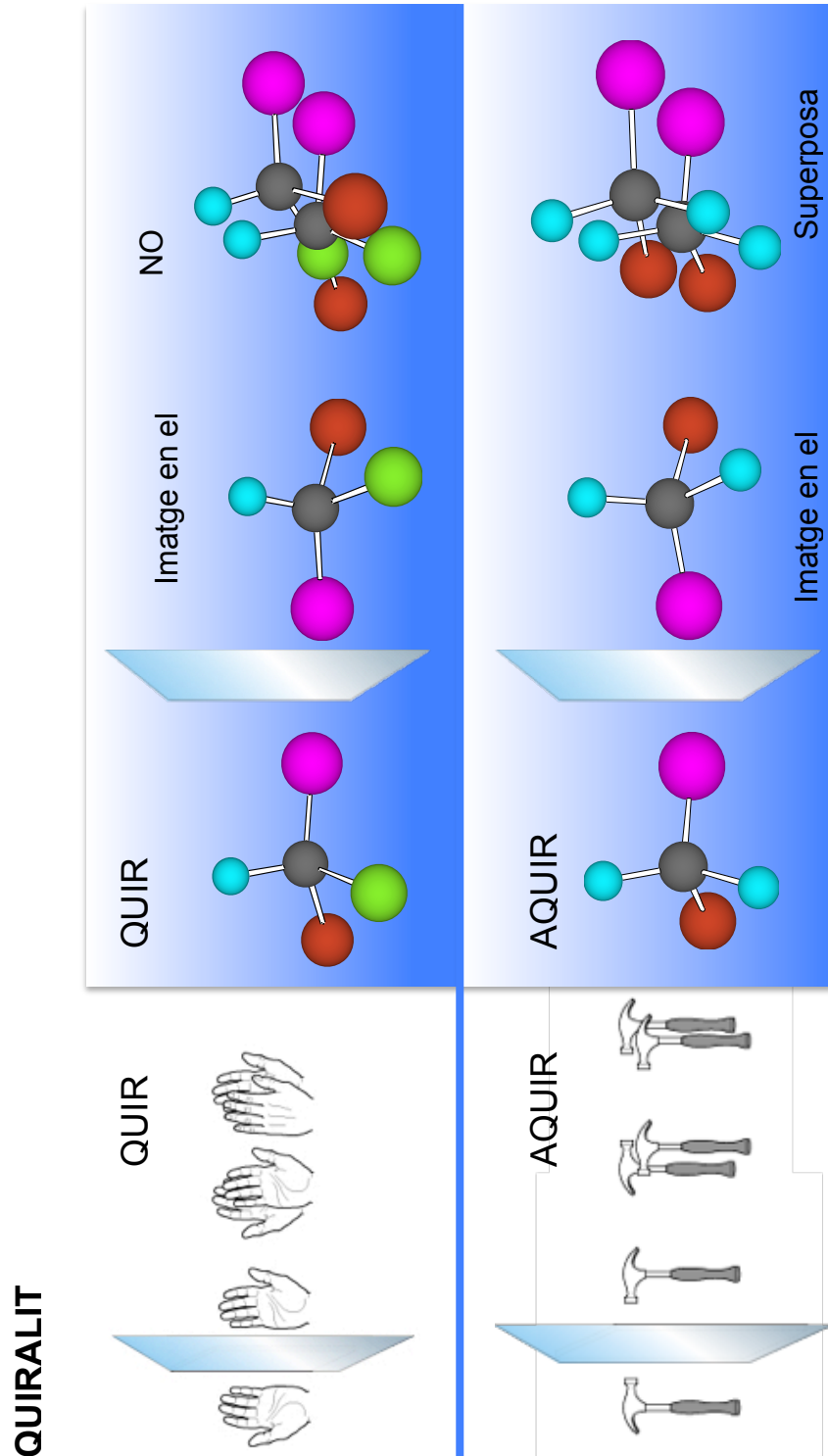


Figura 15:
Quiralitat

La quiralitat origina un tipus especial d'isomeria²⁵ que s'anomena enantioisomeria. Els enantiòmers són isòmers que guarden una relació d'imatge en el mirall, només difereixen en la disposició dels àtoms a l'espai. Totes les seves propietats són idèntiques, excepte que desvien el pla de la llum polaritzada en sentits oposats.

La quiralitat de les molècules orgàniques generalment va lligada a la presència d'un àtom de carboni enllaçat a quatre substituents diferents. Aquest àtom de carboni s'anomena centre esterogènic, perquè genera estereoisomeria¹⁵. Per diferenciar els dos enantiòmers s'utilitza la nomenclatura R/S que es dedueix seguint unes normes establertes i que permet designar la geometria de cada enantiòmer de forma inequívoca. A la Figura 18 es representen els dos enantiòmers de la warfarina.

Un objecte aquiral pot interaccionar indistintament amb cadascun dels enantiòmers d'un objecte quiral (martell – mà), però un objecte quiral interaccionarà diferentment amb cadascun dels enantiòmers (gant-mà) (Figura 16). Aquesta propietat s'anomena especificitat. És a dir, la interacció entre una molècula quiral i un enantiòmer és específica.

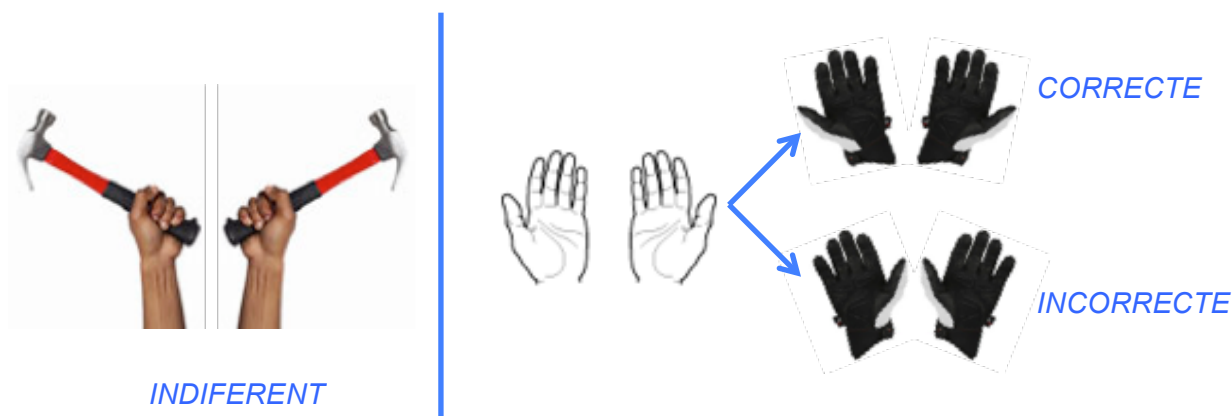


Figura 16: Especificitat I

2.5.1.2 Relació entre quiralitat i activitat biològica

La major part de les biomolècules són quirals. Això fa possible que es produeixin interaccions moleculars molt específiques amb els receptors biològics (Figura 17). Per exemple, els aminoàcids que constitueixen les proteïnes són quirals i els éssers vius sintetitzen només un

dels enantiòmers. En conseqüència es donen reaccions catalitzades per enzims molt específiques.

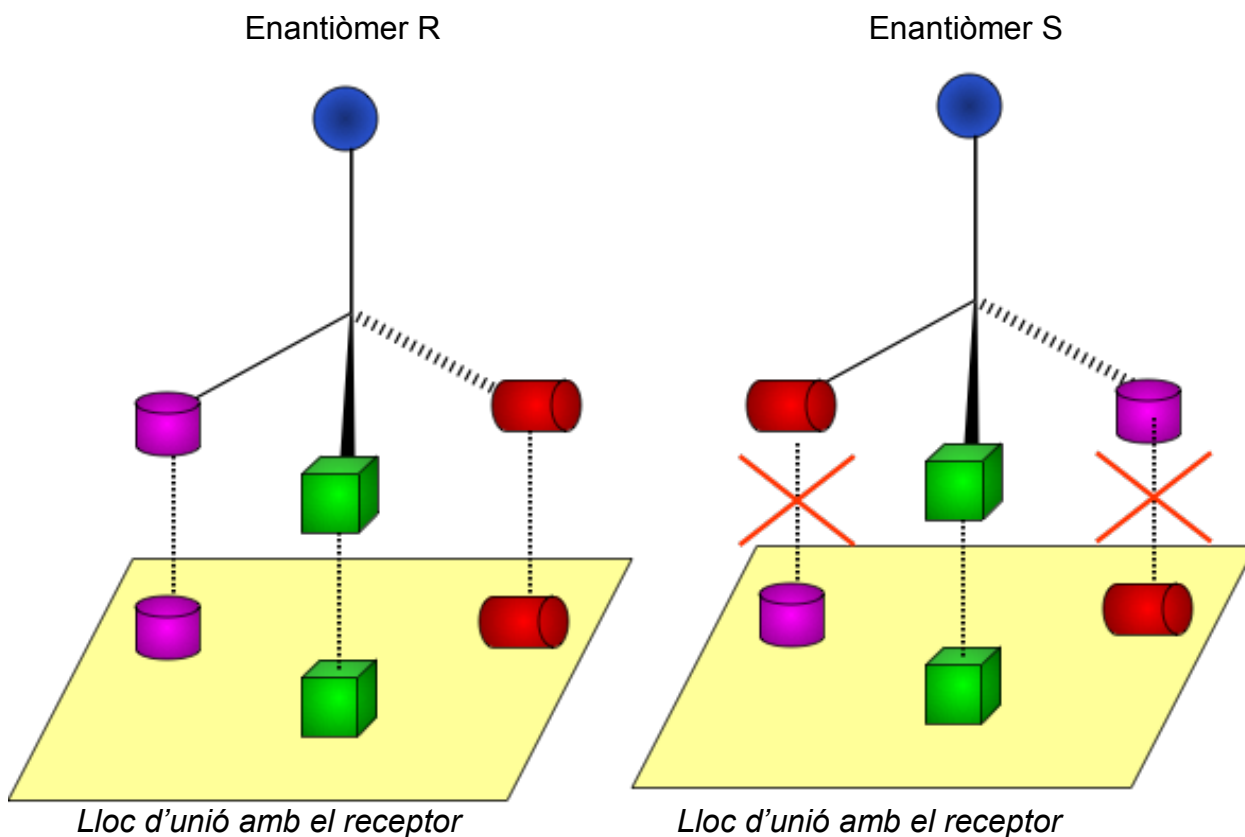
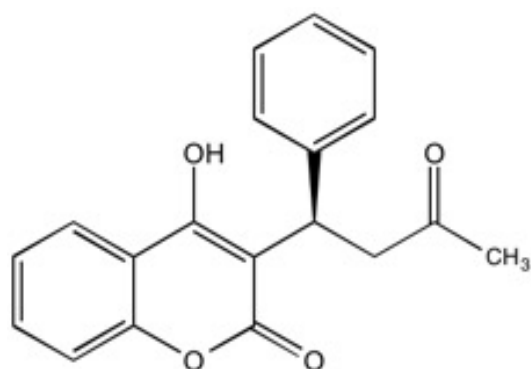


Figura 17: Especificitat II

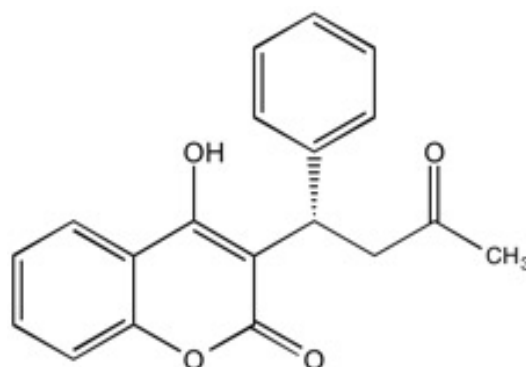
Generalment, quan una molècula quiral presenta una determinada activitat biològica només un dels enantiòmers (l'eutòmer) n'és el responsable, mentre que l'altre (el distòmer) és una càrrega innecessària que pot presentar toxicitat o algun altre efecte no desitjat. És a dir, només un dels dos enantiòmers és responsable de la seva activitat.

Mitjançant algunes tècniques, de vegades es pot aconseguir separar els enantiòmers d'una mescla racèmica, fet que pot aconseguir pal·liar els problemes causats a conseqüència de l'administració del distòmer. Tot i que la natura disposa de mecanismes per fabricar compostos quirals en forma d'un dels dos enantiòmers (síntesi enantioselectiva), a vegades les quantitats produïdes no en són suficients i d'altres el compost objectiu no es d'origen natural. Per tant, és interessant aconseguir sintetitzar molècules enantiomèricament pures.

En el cas de la warfarina l'activitat de l'enantiòmer S és entre 5 i 8 vegades superior que la de l'enantiòmer R. A més, els dos enantiòmers són metabolitzats de diferent manera, fet que es reflecteix amb el diferent temps de vida mitja dins al cos humà: entre 21 i 43h i entre 37 i 89h per S i R respectivament. Donada aquesta diferència, un dels majors problemes de la warfarina racèmica és trobar una dosi estable. Cal tenir en compte que dosis molt altes poden originar hemorràgies internes als pacients. El problema de la dosi es complica més pel fet que l'efecte farmacològic màxim d'una sola dosi no s'aconsegueix fins a aproximadament 48h, i aquest mateix efecte dura entre 4 i 5 dies. Com que els pacients responen de manera diferent, s'espera que el tractament amb warfarina enantiomèricament pura milloraria el problema de dosatge. Una altra avantatge de l'ús de la warfarina no racèmica seria que als pacients més dèbils incapaços de tolerar la warfarina racèmica o la S (que són més fortes) se'ls hi podria administrar l'enantiòmer R. Tot i això, l'avantatge més important d'administrar warfarina enantiomèricament pura és la possibilitat d'inhibir l'efecte d'altres medicaments que representa un greu problema amb la warfarina racèmica, ja que els enzims que són responsables del metabolisme de la warfarina també metabolitzen altres medicaments.



(R)-warfarina



(S)-warfarina

Figura 18: Enantiòmers de la warfarina

3. MARC EXPERIMENTAL

3.1 Síntesi i anàlisi de la (S)-warfarina

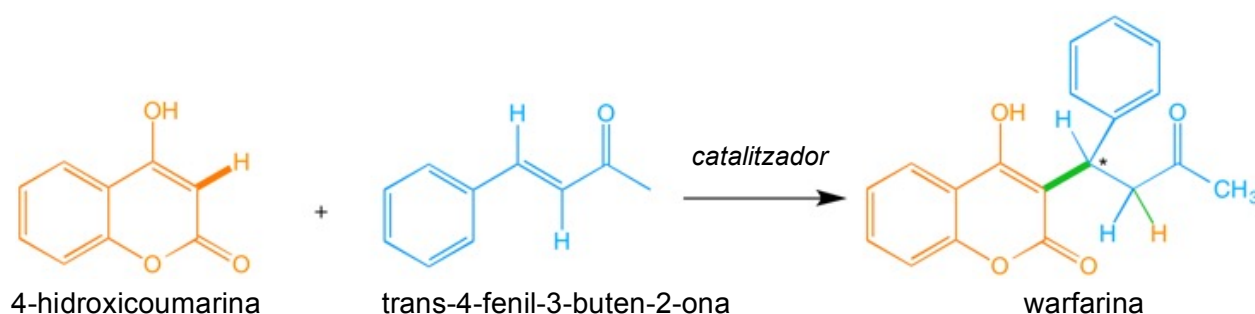
3.1.1 Objectiu

Sintetitzar la molècula de la (S)-warfarina al laboratori.

3.1.2 Característiques de la reacció

En aquest experiment es prepara la warfarina en una única etapa de síntesi a partir de dos precursors: la 4-hidroxycumarina (**1**) i la *trans*-4-fenil-3-buten-2-ona (**2**) (Esquema 4). En aquesta reacció es forma un nou enllaç carboni-carboni i un nou enllaç carboni-hidrogen (indicats en verd) i ho fan a conseqüència del trencament de l'enllaç carboni-hidrogen de la 4-hidroxycumarina i l'enllaç doble carboni-carboni de la *trans*-4-fenil-3-buten-2-ona. Aquest tipus de reacció s'anomena d'addició.³

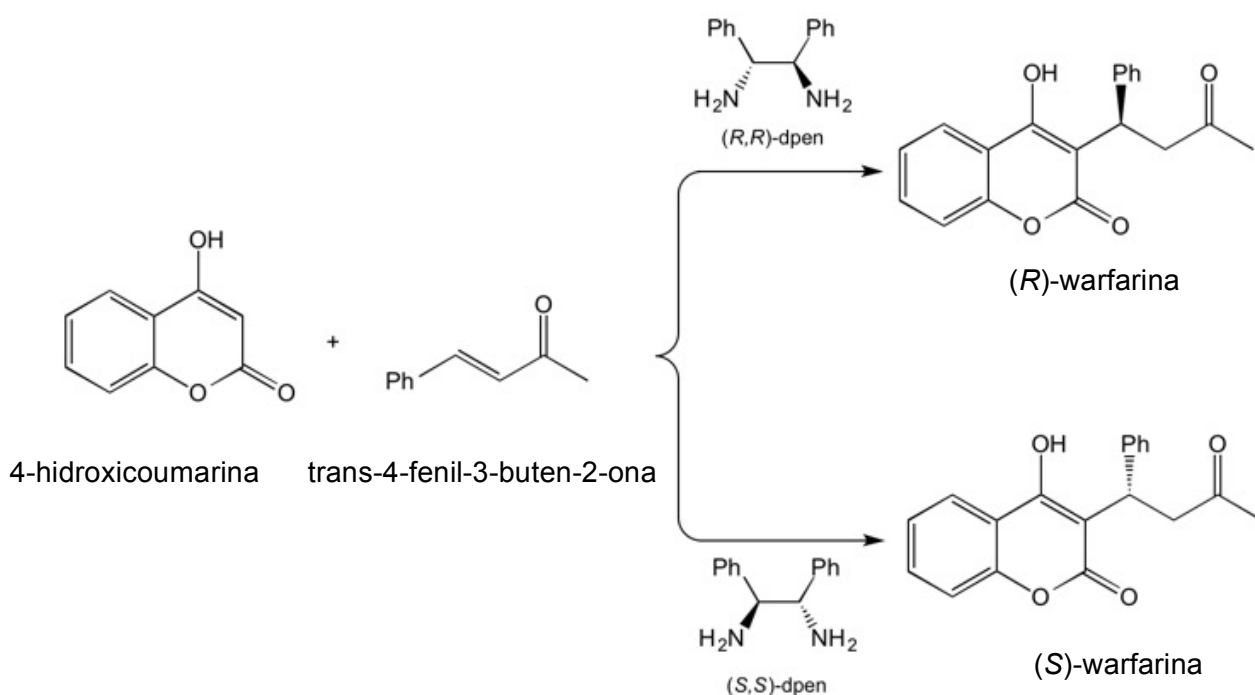
Perquè la reacció tingui lloc cal la presència d'un catalitzador que en aquest cas és una diamina.¹¹



Esquema 4: Formació de la warfarina

Cap dels reactius 1 i 2 són quirals, però la formació del nou enllaç genera un centre estereogènic (marcat amb l'asterisc) i per tant, en principi, s'obtindrien dos enantiòmers. Ara bé, si com a catalitzador s'utilitza la 1,2-difeniletildiamina, que és una molècula quiral, en funció de quin enantiòmer del catalitzador s'empri es pot aconseguir obtenir majoritàriament un dels enantiòmers de la warfarina. (Esquema 5).

³ Una reacció és com una equació matemàtica, per tant el còmput global d'àtoms s'ha de mantenir.



Esquema 5: En funció de l'enantiòmer utilitzat com a catalitzador s'obindrà un enantiòmer de la warfarina o l'altre.

En aquest treball s'ha fet la reacció utilitzant com a catalitzador la (S,S)-1,2-difeniletildiamina i, per tant, s'ha obtingut majoritàriament la (S)-warfarina que és l'enantiòmer farmacològicament més actiu.

3.1.3 Material

Per poder realitzar aquesta pràctica és necessari:

- MATERIAL:



Vials



Pipetes pasteur



Placa calefactora



Balança



Embut de Büchner



Matràs Kitasato



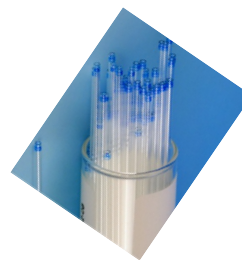
Paper de filtre



Plaques de sílica
gel 60 F₂₅₄ en
alumini



Cambra d'elució



Capil·lars



Bureta

- REACTIUS:
4-hidroxycumarina
trans-4-fenil-3-buten-2-ona
(S,S)-1,2-difeniletildiamina (dpn) → Catalitzador
Tetrahidrofuran (THF)
Àcid acètic
Clorur de metilè (CH₂Cl₂)
Anisaldehyd
Acetona

3.1.4 Procediment

Aquest és el procés a seguir per tal d'assolir els objectius:



El procediment que explicaré a continuació de la síntesi de la warfarina s'ha dut a terme dues vegades: una primera a l'estiu (1) i una segona a l'inici del curs fent unes lleugeres modificacions per tal de millorar-ne el resultat (2). Per no fer repetitiva l'explicació només s'adjuntaran imatges dels dos experiments en el cas de que els resultats siguin diferents.

a) Preparació dels reactius:

Primerament cal fer una mescla dels components necessaris per tal que la reacció tingui lloc. Els reactius són la 4-hidroxycumarina i la *trans*-4-fenil-3-buten-2-ona, com a dissolvent són necessaris l'àcid acètic i el THF. També cal afegir-hi el catalitzador, que farà que la reacció es produeixi més ràpidament.

En primer lloc s'ha de pesar la quantitat indicada de cada component amb una balança:

COMPOST	QUANTITAT	
4-hidroxycumarina	0,325 g	2.0 mmol
Trans-4-fenil-3-buten-2-ona	0,307 g	2.1 mmol
Àcid acètic	4,0 mL	20 mmol
THF	1,14 mL	
Catalitzador	0,042 g	0.20 mmol

Donat que les balances de les quals disposa l'institut tenen una precisió de dos decimals ($\pm 0,01$ g), s'han hagut d'aproximar les quantitats a les centèsimes de gram.

A mesura que s'han anat pesant les quantitats indicades anteriorment, s'han hagut d'anar afegint a un vial (D). Serà en aquest vial D on tindrà lloc la reacció.

Una vegada els 5 components s'han afegit al vial, s'ha tapat i agitat fins que els reactius s'han dissolt i la mescla ha adquirit un color ataronjat o rosat (Figura 19).

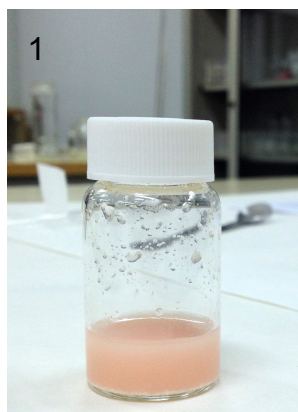


Figura 19: Vial D amb la mescla.

Quan la mescla ja és del color esperat, és necessari fer una cromatografia de capa fina amb els patrons i la mescla de reacció en el primer moment. El procediment està explicat als annexos.

Quan parlem de patrons ens referim a fer una dissolució amb cada un dels reactius individualment i afegir-los com a referència a la cromatografia, de manera que quan apareix la taca de la reacció es pot comprovar a què correspon cadascun dels altres punts que apareixen. Cadascuna d'aquestes dissolucions tindrà un nom per tal de poder interpretar els resultats de les cromatografies.

La manera de fer les cromatografies de control de la pràctica que he realitzat venen concretades a l'article⁴ d'on he extret la informació. D'aquesta manera, el dissolvent utilitzat per la cambra d'elució va ser CH_2Cl_2 . Les mostres utilitzades es varen anomenar per lletres, de manera que:

- A: 4-hidroxycumarina
- B: trans-4-fenil-3-buten-2-ona
- C: catalitzador
- D: reacció (warfarina)

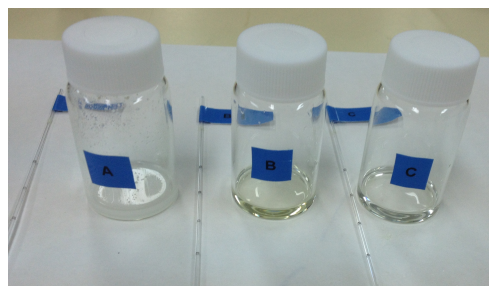


Figura 20: Vials amb les mostres

A l'article també s'especifica el color de cada taca i el R_f ⁵ de cada substància:

SUBSTÀNCIA	R_f (en mescla)	COLOR DE LA TACA
4-hidroxycumarina	0.00	Blanc
Trans-4-fenil-3-buten-2-ona	0.72	Vermell
Catalitzador	0.00	Blanc
Reacció; warfarina	0.34	Lila

⁴ Terence C. Wong, Camille M. Sultana, and David A. Vosburg. Department of Chemistry, Harvey Mudd College, 301 Platt Blvd, Claremont, CA 91711: A Green, Enantioselective Synthesis of Warfarin for the Undergraduate Organic Laboratory – Supporting Information

⁵ El R_f està explicat als annexos; forma part de l'explicació de la cromatografia de capa fina.

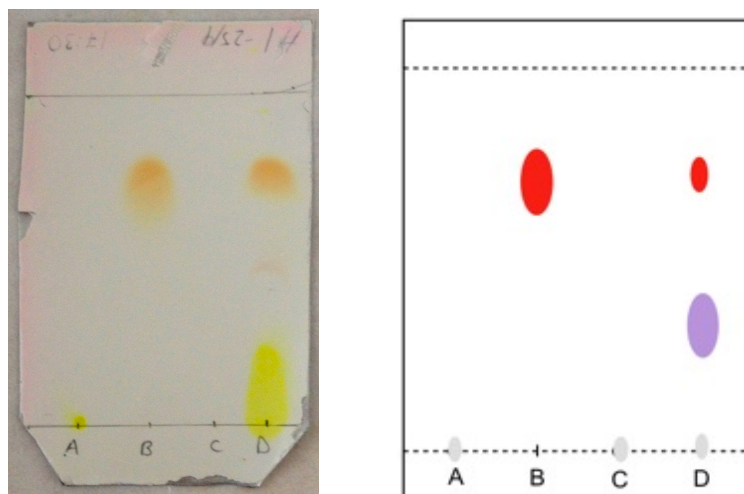


Figura 21: Cromatografia de patrons

La taca D correspon a la mescla de reacció, i per tant serà la taca que ens indicarà l'estat de la reacció.

Veurem amb les cromatografies posteriors com les taques varien lleugerament en funció del temps de reacció.

b) Repòs de la mescla:

S'ha de deixar reposar la mescla a temperatura ambient durant aproximadament una setmana, que serà el temps durant el qual tindrà lloc la reacció.

Mentre la reacció es produeix és necessari anar-li fent controls per TLC, de manera que es pot fer el seu seguiment. La mostra anirà canviant de color durant el transcurs d'aquesta.

Finalment s'haurà de fer una última cromatografia de control per comprovar que la reacció ja ha acabat. Si la reacció s'ha produït correctament s'han d'obtenir uns primers cristalls.

Aquests (Figura 22, Figura 23 i Figura 24) són els resultats de les cromatografies:

Es pot observar que la mescla de reacció ja ha començat a canviar de color, ha passat de ser de color rosat a ser de color taronja. Això indica que s'està produint la reacció. Respecte a la cromatografia, podem veure com la taca de la warfarina (D) és més intensa que la de la cromatografia de patrons vista anteriorment.

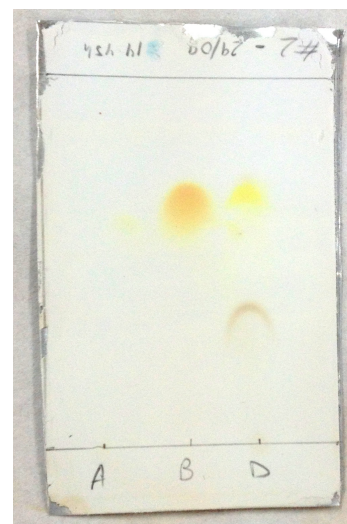
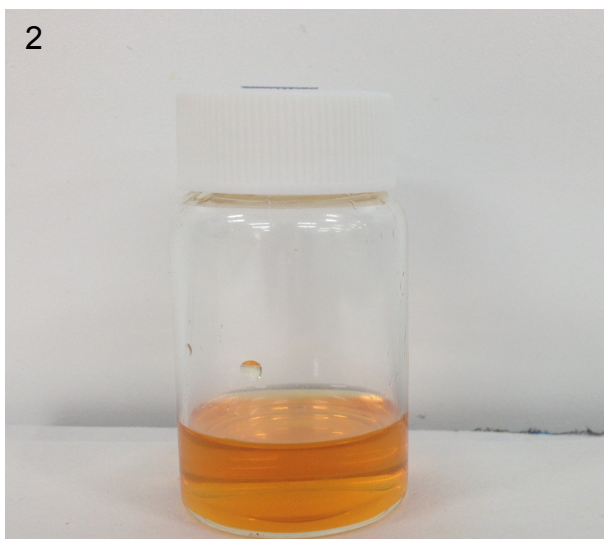


Figura 22: Control reacció #1
 ≈ 4 dies després de l'inici de la reacció.

Podem observar que el color de la mescla no ha variat gaire entre els 4 i 7 dies després de l'inici de la reacció, però sí que podem observar canvis en la cromatografia. En el segon control els reactius s'han desplaçat més que en el primer exceptuant la taca corresponent a la warfarina. Tal i com pot comprovar-se a la cromatografia de patrons de la Figura 21, la taca lila corresponent a la mescla de reacció coincideix amb la taca de la warfarina que es pot veure a continuació.

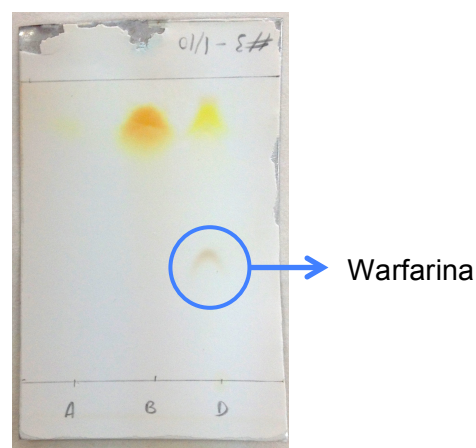
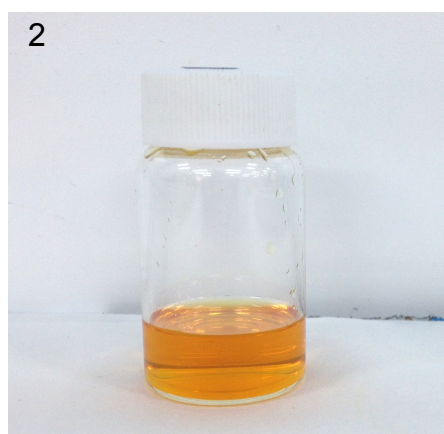


Figura 23: Control reacció #2
 ≈ 7 dies després de l'inici de la reacció.

Finalment, després de aproximadament 22 dies després de que tingués inici la reacció podem observar com la mostra ha canviat de color, de manera que ha passat de taronja clar a taronja fosc. A la cromatografia podem veure que la taca B que correspon al reactiu *trans*-4-fenil-3-

buten-2-ona és menys intensa, fet que indica que la quantitat d'aquest reactiu en la mescla és menor. Per aquests motius podem deduir que la reacció ha finalitzat.

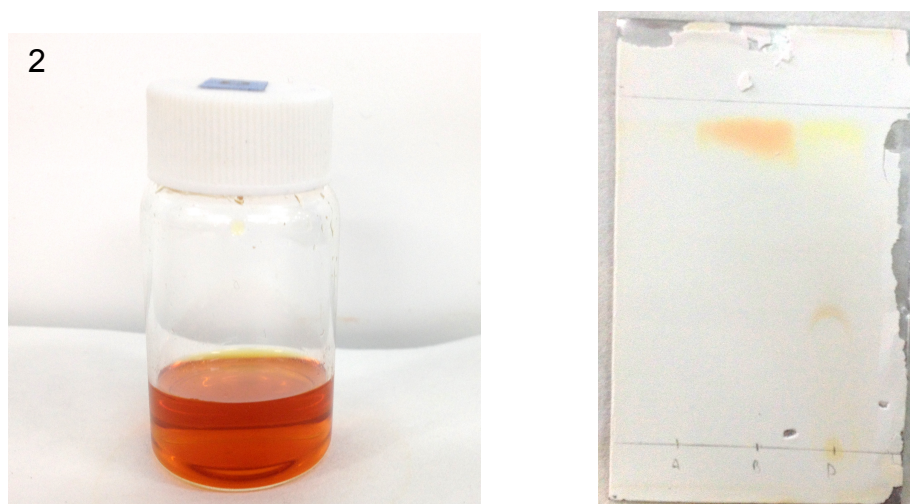


Figura 24: Control reacció #3
≈ 22 dies després de l'inici de la reacció.

c) Cristal·lització:⁹

Quan ja ha finalitzat la reacció s'ha de destapar el vial i deixar evaporar els dissolvents. Quan s'hagin evaporat els dissolvents per complet quedaran com a residu uns primers cristalls.

En el primer experiment es va deixar evaporar la mescla des del mateix vial, de manera que els cristalls van quedar al fons d'aquest. Per contra, en el segon experiment, es va avocar la mescla en un cristal·litzador abans de l'evaporació dels dissolvents i, per tant, els cristalls finals van formar-se al cristal·litzador.

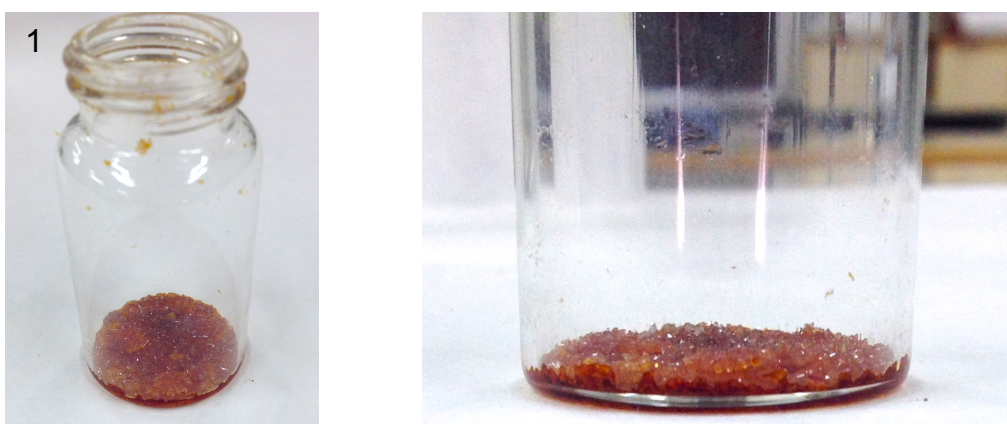


Figura 25: Cristalls obtinguts al mateix vial



Figura 26: Cristalls obtinguts al cristal·litzador

Una vegada ja s'han obtingut aquests cristalls s'inicia una recrystal·lització. Per dur-la a terme cal seguir el següent protocol:

- 1) Dissoldre'ls amb la mínima quantitat d'acetona bullint. Per fer-ho cal escalfar l'acetona (punt d'ebullició de 56°C) al bany maria i amb un nucli d'ebullició, en aquest cas un tros de porcellana. Cal escalfar al bany maria perquè l'acetona és inflamable. Quan ja tenim l'acetona bullint l'afegim amb una bureta als cristalls i es van remenant fins que es dissolen.

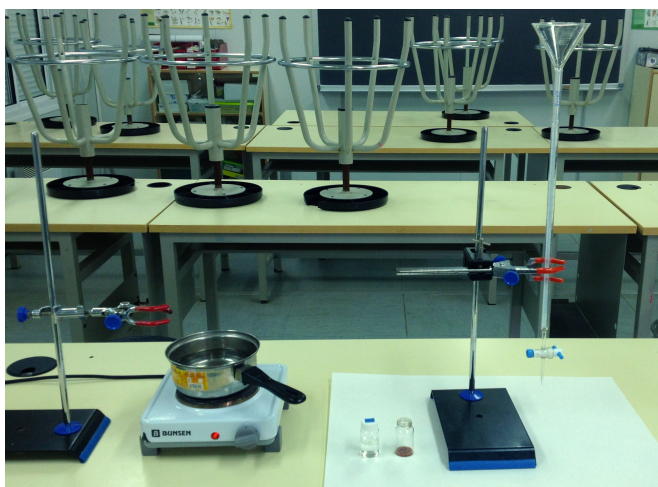


Figura 27: Muntatge amb buretes per escalfar l'acetona

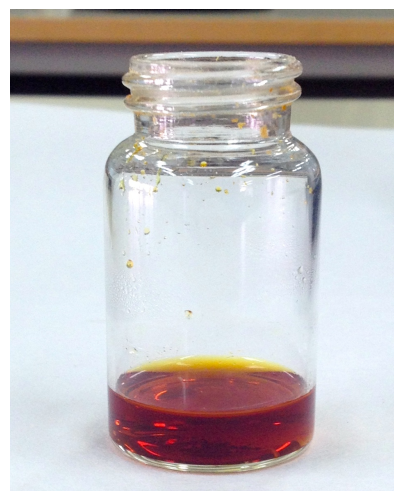


Figura 28: Vial amb els cristalls dissolts.

- 2) Una vegada els cristalls s'han dissolt, s'ha d'afegir a la solució aigua bullint gota a gota fins que quedi tèrbola. També afegirem l'aigua amb una bureta.

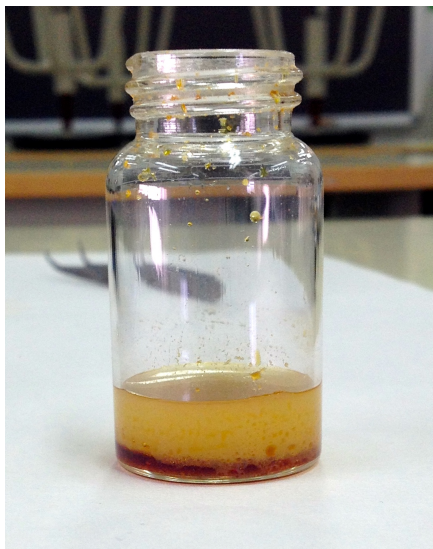


Figura 29: Mescla tèrbola.

- 3) Quan la mescla ja està tèrbola s'ha d'escalfar al bany maria fins que es tornin a dissoldre els cristalls. Si és necessari poden afegir-se unes gotes d'acetona bullint per tal d'afavorir la dissolució.



Figura 30: Escalfem la mescla.

- 4) A continuació, quan els nous cristalls ja estan dissolts, es deixa refredar la mescla a temperatura ambient.
- 5) Quan la mescla ja no està calenta s'ha de fer un bany de gel, de manera que apareixeran els cristalls definitius. Per fer un bany de gel he utilitzat un

crystal·litzador com a recipient i hi he posat el vial amb la mescla envoltat de gel una mica picat.



Figura 31: Bany de gel.

d) Filtració:¹⁸

S'han de recol·lectar els cristalls fent una filtració, amb l'objectiu de separar la solució líquida dels cristalls. Per fer-ho cal fer un filtrat al buit mitjançant una trompa de buit i un embut de Büchner. Per fer la filtració s'ha d'avocar la solució a l'embut de Büchner, de manera que quedarà a la part superior, sobre del paper de filtre, els cristalls i a l'erenmeyer la solució líquida.

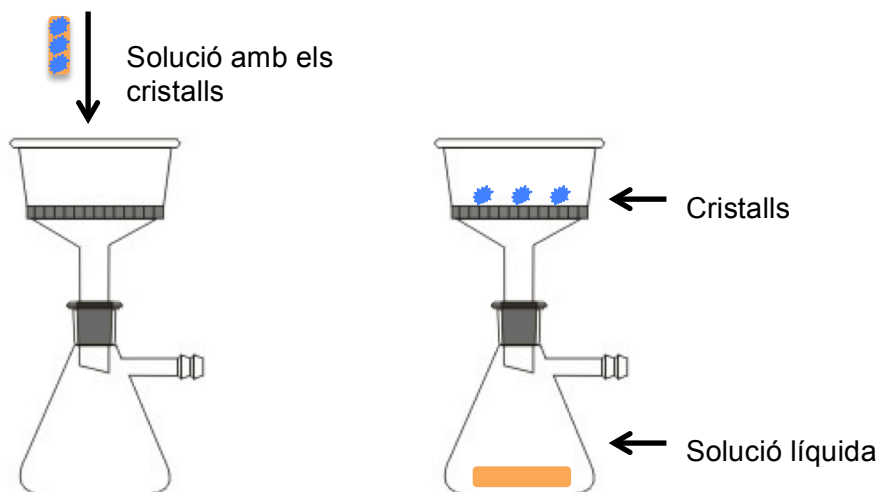


Figura 32: Filtració amb embut de Büchner.

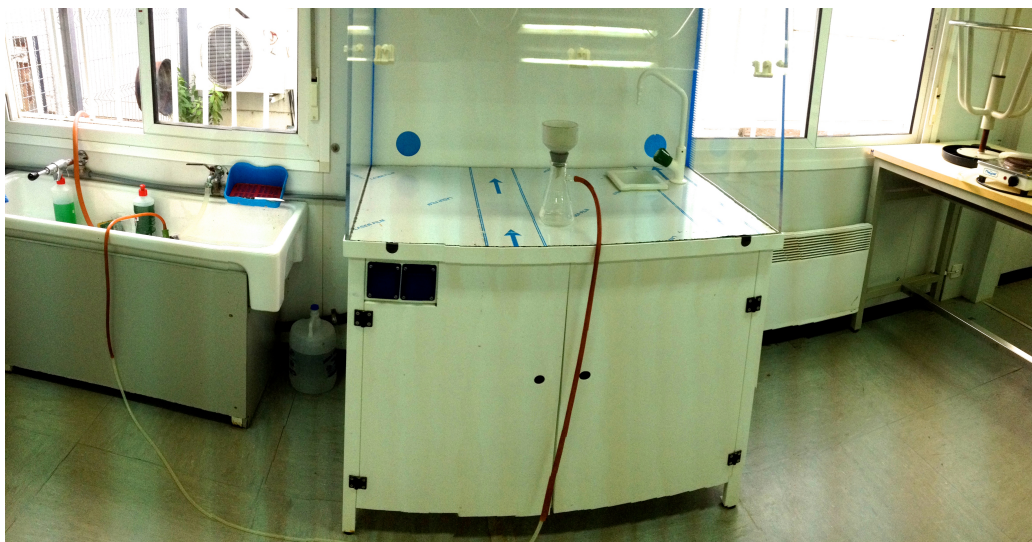


Figura 33: Muntatge fet al laboratori per filtrar.

Una vegada ja es tenen els cristalls separats es pot preparar una dissolució 4:1 acetona/aigua per netejar-los. En aquest cas vaig preparar una solució de 18 mL d'acetona per cada 6 mL d'aigua.

Quan ja s'han rentat els cristalls el resultat obtingut són uns cristalls mullats que s'han de deixar assecar durant un temps.



Figura 34: Cristalls mullats.



Figura 35: Cristalls secs.

Els cristalls secs ja corresponen al producte sintetitzat que és la warfarina.

3.1.5 Resultats i conclusions de la pràctica

Per poder comprovar si he assolit l'objectiu d'aquesta pràctica, que era sintetitzar la molècula de la warfarina, ho he fet de dues maneres:

- a) Realitzant una cromatografia de capa fina on els analits¹ eren les substàncies obtingudes en el primer i segon experiment i com a patró una mostra de warfarina comercial comprada a una farmàcia.

En aquesta cromatografia es poden observar tres taques que s'han desplaçat la mateixa distància i que per tant tenen el mateix R_f . Això indica que els tres analits són la mateixa substància i que els productes obtinguts són warfarina perquè les taques A i B corresponen amb la taca C.



A: cristalls obtinguts en el primer experiment

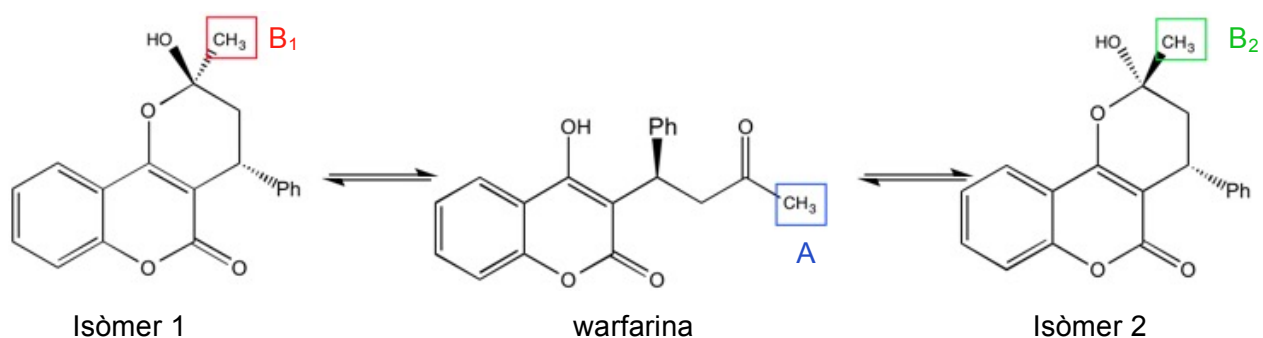
B: cristalls obtinguts en el segon experiment

C: warfarina comercial

Figura 36: Cromatografia per comprovar els resultats

- b) Amb la col·laboració de la UAB he tingut l'oportunitat de realitzar un espectre de RMN de protó del producte obtingut en el segon experiment. Aquesta tècnica està explicada als annexos.

Donat que la warfarina presenta un grup hidroxil (OH) i un grup carbonil (C=O) a una distància adequada, quan està en dissolució, tal com passa amb els sucres, es pot presentar en forma cíclica (Esquema 6). En ciclar-se es genera un nou centre estereogènic i per tant a la solució tenim tres compostos: la warfarina i dos isòmers cíclics que estan en equilibri.



Esquema 6: Equilibri warfarina hemiacetals.

Si l'espectre es registra a una temperatura prou baixa, aquest equilibri és lent i a l'espectre podem veure els senyals dels tres productes. A la revista "Journal of Chemical Education", d'on he extret la informació per dur a terme la síntesis de la warfarina, apareix un fragment significatiu de l'espectre realitzat a baixa temperatura (Figura 37), on es poden distingir els senyals dels grups metil (CH_3) per la warfarina i cadascuna de les formes cícliques.

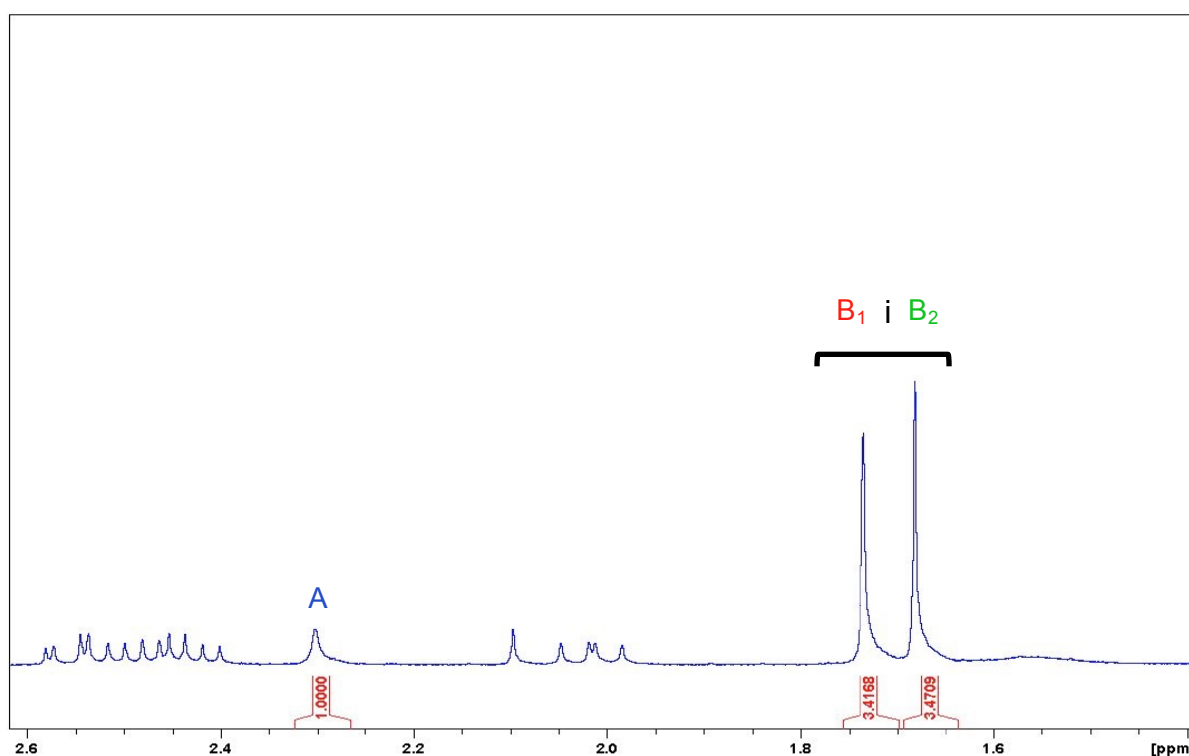


Figura 37: Espectre de RMN de la warfarina.

En canvi, si l'espectre es registra a una temperatura en que l'equilibri és ràpid el que s'obté és un espectre de la mitjana ponderada, on els senyals de cadascun dels grups metil han col·lapsat. Aquest és el cas de l'espectre realitzat amb la nostra mostra (Figura 38).

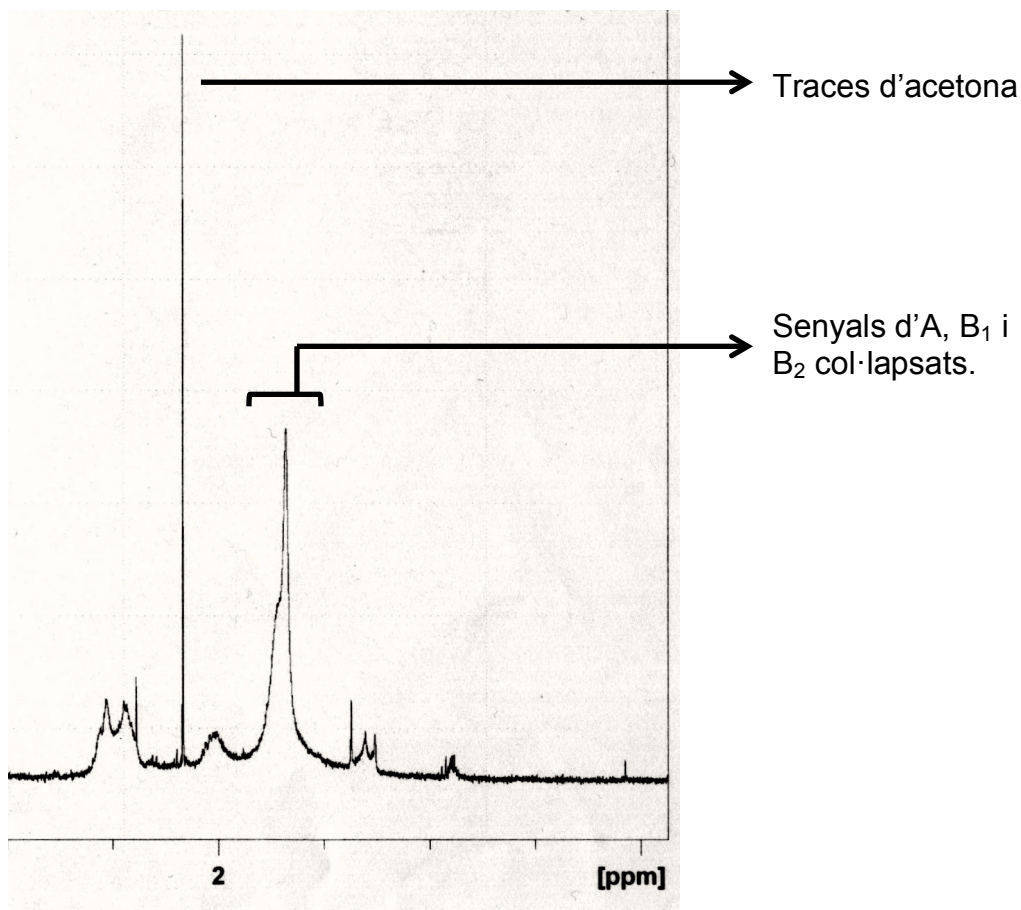


Figura 38: Espectre de RMN del producte obtingut en el segon experiment.

4. CONCLUSIONS

Una vegada realitzat el treball cal preguntar-se si s'han assolit els objectius que s'havien plantejat a la introducció.

El marc teòric m'ha permès relacionar la biologia humana amb la química, tal i com m'havia proposat en la meua recerca. Tot i que en un principi no esperava endinsar-me en el cos humà i la seva fisiologia, he vist que era necessari per tal de fer més entenedor el treball.

Respecte a la part pràctica puc dir que he assolit l'objectiu que era obtenir la **warfarina**. Tal i com s'ha explicat en el marc experimental s'ha pogut comprovar el resultat de dues maneres diferents: mitjançant una cromatografia de capa fina i mitjançant un espectre de RMN. Tot i això, només s'ha pogut saber amb certesa que el compost final era realment warfarina mitjançant la primera tècnica. Donat que és un mètode més simple, no requereix unes condicions tant concretes per tal d'obtenir un resultat més o menys fiable, a diferència de l'espectre de RMN, que necessita una temperatura concreta, etc. Per aquest motiu a l'espectre obtingut no es veuen amb claredat els pics que s'haurien de veure per poder afirmar que s'ha obtingut warfarina. No obstant això, es pot deduir que la substància analitzada és l'esperada.

Si aquest mateix experiment s'hagués portat a terme en unes millors condicions, tant d'infraestructura com de disponibilitat (tenint en compte el temps que requereix fer una pràctica al laboratori), segurament s'hauria obtingut un compost amb més puresa, de manera que l'espectre es podria interpretar amb claredat.

Finalment aquest treball m'ha permès veure que tot i no disposar de condicions òptimes, utilitzant tècniques bàsiques de laboratori, es pot sintetitzar el principi actiu de compostos que es fabriquen i comercialitzen industrialment.

Personalment la realització del present treball m'ha permès conèixer millor àmbits com la química i la biologia humana. Per altra banda he pogut confirmar que en un futur m'agradaria estudiar medicina, ja que estudiar els conceptes relacionats amb el cos humà és el que més m'ha interessat. Tot i això, arrel de fer el treball, m'he començat a plantejar la possibilitat de dedicar-me en un futur a fer investigació en el camp mèdic.

5. FONTS

2. MARC TEÒRIC

2.1 La Sang

2.1.1 Funcions de la sang

<http://www.myvmc.com/anatomy/blood-function-and-composition/#C1>

<http://www.webmd.com/heart/anatomy-picture-of-blood>

2.1.2 Sistema circulatori

Gray: Anatomía para estudiantes

2.1.3 Composició sanguínia

2.1.3.1 Característiques i funcions dels components sanguinis

<http://www.donasang.org/que-es-la-sang/els-components.html>

<http://www.myvmc.com/anatomy/blood-function-and-composition/#C1>

<http://www.redcrossblood.org/learn-about-blood/blood-components/plasma>

HowStuffWorks "Red Blood Cells".pdf

2.1.3.2 Formació de cèl·lules sanguínies

<http://www.incan.org.mx/revistaincan/elementos/documentosPortada/1193426538.pdf>

2.2 Coagulació sanguínia

2.2.1 Procés i factors de coagulació

<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/C/Clotting.html>

<http://www.wfh.org/es/page.aspx?pid=1314>

<http://www.ufp.pt> (Blood and blood cells - Physiological Chemistry /PDF)

https://www.coflleida.cat/arxius/Document_cat_4704.pdf

2.3 Què són els anticoagulants

2.3.1 Funcionament dels anticoagulants

<http://www.nhs.uk/Conditions/Anticoagulant-medicines/Pages/How-does-it-work.aspx>

7.1.1. Aplicació dels anticoagulants

<http://www.nhs.uk/conditions/anticoagulant-medicines/Pages/Introduction.aspx>

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000156.htm>

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000184.htm>

<http://www.anticoagulationeurope.org/conditions/anticoagulation-therapy>

2.4 Tipus d'anticoagulants i us mèdic

<http://jrds.arredemo.org/Farmacodinamia/coagulacion.htm>

<http://www.people.vcu.edu/~urdesai/atc.htm#Types%20of%20Anticoagulants>

2.5 Warfarina

2.5.1 Propietats i característiques

<http://www.warfarina.com>

http://www.warfarina.com/farmacologia_de_la_warfarina

Article científic:

Terence C. Wong, Camille M. Sultana, and David A. Vosburg*. Department of Chemistry, Harvey Mudd College, Claremont, California 91711: A Green, Enantioselective Synthesis of Warfarin for the Undergraduate Organic Laboratory

2.5.1.1 Quiralitat

Departament de Química Orgànica de la UAB

2.5.1.2 Relació entre quiralitat i activitat biològica

Article científic:

Nis Halland, Tore Hansen, and Karl Anker Jørgensen*: Organocatalytic Asymmetric Michael Reaction of Cyclic 1,3-Dicarbonyl Compounds and α,β -Unsaturated Ketones—A Highly Atom-Economic Catalytic One-Step Formation of Optically Active Warfarin Anticoagulant**

3. MARC EXPERIMENTAL

3.1 Síntesi i anàlisi de la (S)-warfarina

3.1.2 Característiques de l'enllaç i de la reacció

Departament de Química Orgànica de la UAB

3.1.3 Material

Article científic:

Terence C. Wong, Camille M. Sultana, and David A. Vosburg. Department of Chemistry, Harvey Mudd College, 301 Platt Blvd, Claremont, CA 91711: A Green, Enantioselective Synthesis of Warfarin for the Undergraduate Organic Laboratory – Supporting Information

3.1.4 Procediment

Article científic:

Terence C. Wong, Camille M. Sultana, and David A. Vosburg. Department of Chemistry, Harvey Mudd College, 301 Platt Blvd, Claremont, CA 91711: A Green, Enantioselective Synthesis of Warfarin for the Undergraduate Organic Laboratory – Supporting Information

6. ANNEXOS

6.2 Cromatografia de capa fina

Departament de Química Orgànica de la UAB

6.3 RMN

Blog del professor Lorenzo Ramírez: <http://experimentaciolliure.wordpress.com/>

7. GLOSSARI

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Analit>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Anticòs>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Carboxilació>

http://es.wikipedia.org/wiki/Célula_diana

http://ca.wikipedia.org/wiki/Cèl·lula_mare

http://ca.wikipedia.org/wiki/Coàgul_sanguini

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Cristal·lització>

<http://www.diccionari.cat/lexicx.jsp?GECART=0043817>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Enzim>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Epòxid>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Fagocitosi>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Fibrina>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Filtració>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Fosfol%C3%ADpid>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Glicol%C3%ADpid>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Glicoproteïna>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Glicosaminoglicà>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Hemoglobina>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Histamina>

http://ca.wikipedia.org/wiki/Embòlia_pulmonar

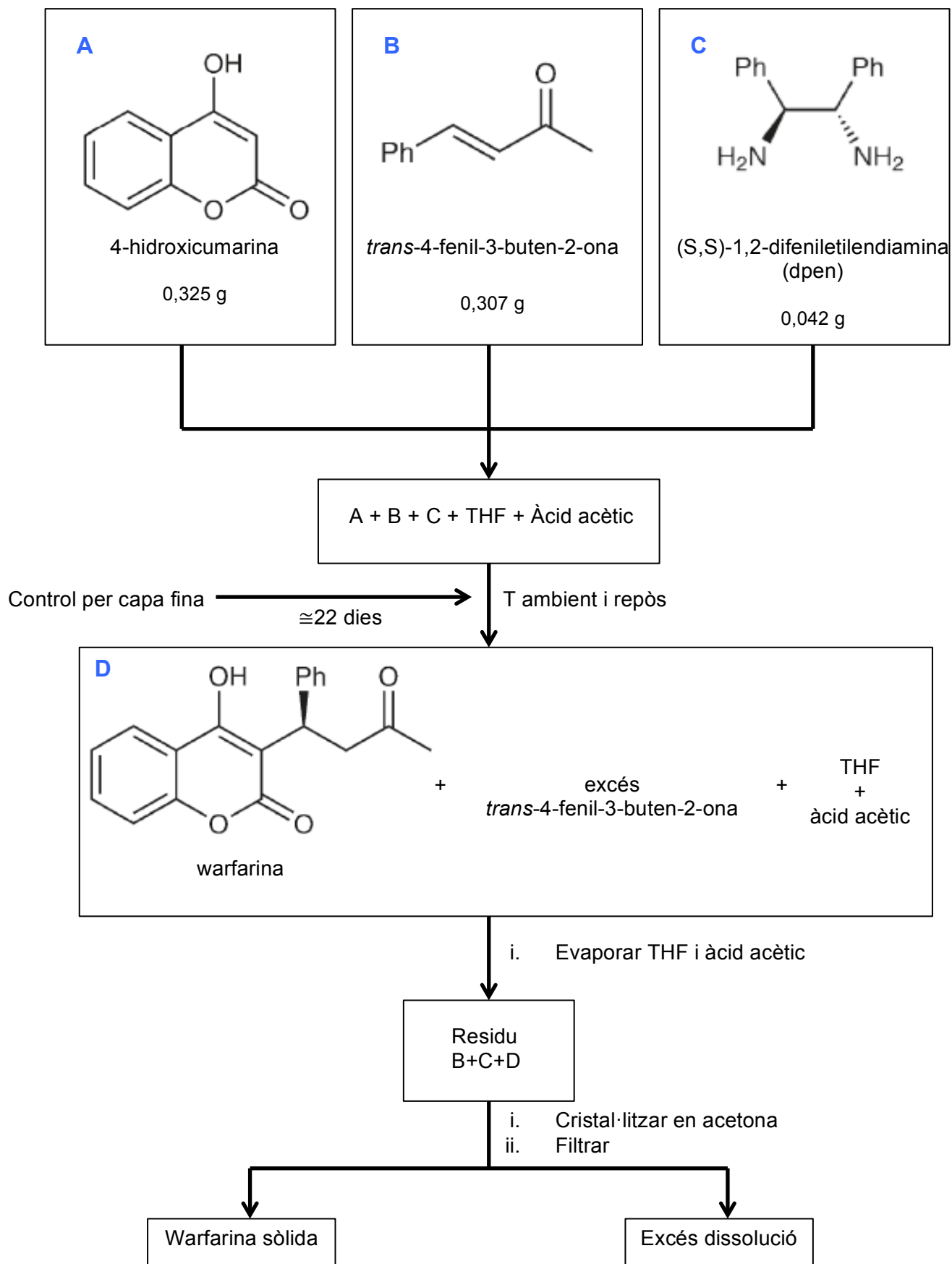
<http://ca.wikipedia.org/wiki/Melsa>

http://ca.wikipedia.org/wiki/Múscul_llis

<http://www.diccionari.cat/lexicx.jsp?GECART=0099646>
<http://ca.wikipedia.org/wiki/Protrombina>
<http://ca.wikipedia.org/wiki/Dalton>
<http://ca.wikipedia.org/wiki/Hemostàsia>
[http://ca.wikipedia.org/wiki/Substrat_\(bioqu%C3%ADmica\)](http://ca.wikipedia.org/wiki/Substrat_(bioqu%C3%ADmica))
<http://ca.wikipedia.org/wiki/Tim>
<http://ca.wikipedia.org/wiki/Trombosi>
<http://ca.wikipedia.org/wiki/Vasoconstricció>
http://ca.wikipedia.org/wiki/Volèmia_sangu%C3%ADnia
<http://ca.wikipedia.org/wiki/Esp%C3%ADn>
<http://ca.wikipedia.org/wiki/Estereoisòmer>
<http://ca.wikipedia.org/wiki/Isòmer>
http://ca.wikipedia.org/wiki/Polaritat_qu%C3%ADmica
<http://ca.wikipedia.org/wiki/Protó>
http://ca.wikipedia.org/wiki/Camp_magnètic
<http://ca.wikipedia.org/wiki/Diamina>

6. ANNEXOS

6.1 Diagrama de flux de la síntesi de la warfarina



6.2 Cromatografia de capa fina (TLC)

La cromatografia de capa fina és un mètode d'anàlisi qualitatiu de components d'una mescla. Es basa en que tots els compostos orgànics, en funció dels seus grups funcionals presenten una capacitat d'interacció diferent amb superfícies polars,³⁰ és a dir, segons els grups funcionals presents a l'estructura, els compostos poden presentar polaritats diferenciades, etc. Per tant, si aquests productes estiguessin en contacte amb una superfície d'una certa polaritat, interaccionarien de manera diferent: els més polars es veurien més adsorbits que els menys polars

Per aconseguir aquesta superfície, al laboratori utilitzem unes plaques de menys d'1mm d'alumini que estan recobertes de gel de sílice. És a dir, formalment tenim una superfície de grups hidroxil que s'anomena fase estacionària.

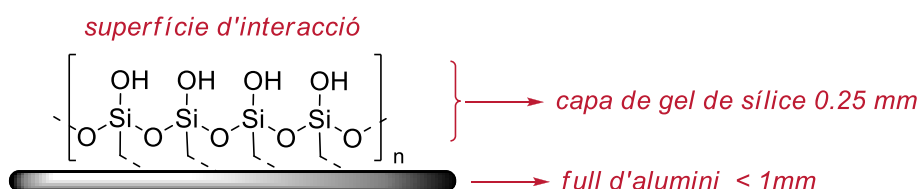


Figura 39: Estructura fase estacionària

Com fer una TLC:

El material necessari per fer una TLC és:

- Una cambra d'elució, es a dir: un pot de vidre amb una tapa
- Capil·lars de vidre
- Paper de filtre
- Placa de TLC

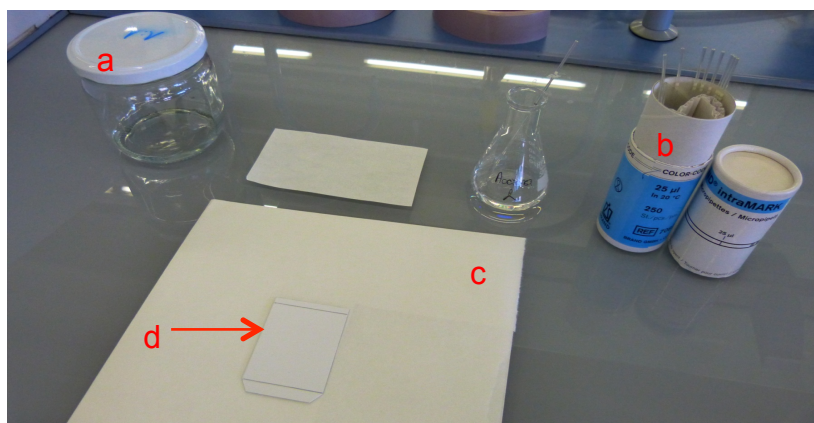


Figura 40: Material per fer una TLC

El procediment a seguir per dur-la a terme és el següent:



1) Preparar la capa fina:

El primer que s'ha de fer és marcar la capa fina amb les mides adequades. S'ha de fer amb un llapis, ja que si ho marquéssim amb tinta els diferents components d'aquesta eluirien juntament amb la mostra.

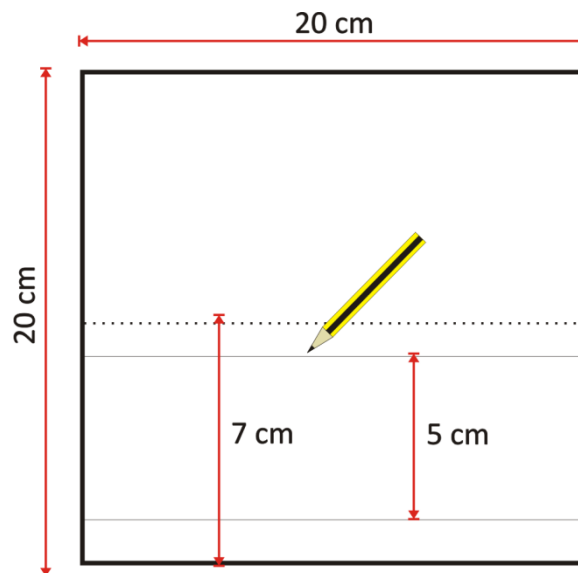


Figura 41: Mides de la capa fina

Quan ja tenim les marques fetes s'ha de tallar cada placa. És recomanable fer-ho amb un cúter i l'ajut d'un regle.

Una vegada la placa ja està tallada, s'ha de deixar 1cm de marge a dalt i a baix. Al marge de baix serà on indicarem què és cada mostra, i el marge de dalt delimitarà fins on ha de pujar el dissolvent.

2) Disposar les mostres sobre la capa fina:

Abans de punxar qualsevol mostra ens hem d'assegurar de que el capil·lar està ben net. Per fer-ho prepararem uns mL d'acetona en un erlenmeyer i agafarem el volum que es pugui per capil·laritat. Per eixugar-lo punxarem sobre el paper de filtre. Caldrà repetir l'operació 2 o 3 vegades abans de punxar la mostra. Amb el capil·lar agafem el volum

de mostra necessari, i el dipositem sobre la capa. Per fer-ho s'ha de posar el capil·lar recte sobre del punt que hem marcat anteriorment. Aquest mateix procediment s'haurà de repetir tantes vegades com mostres hi hagi.

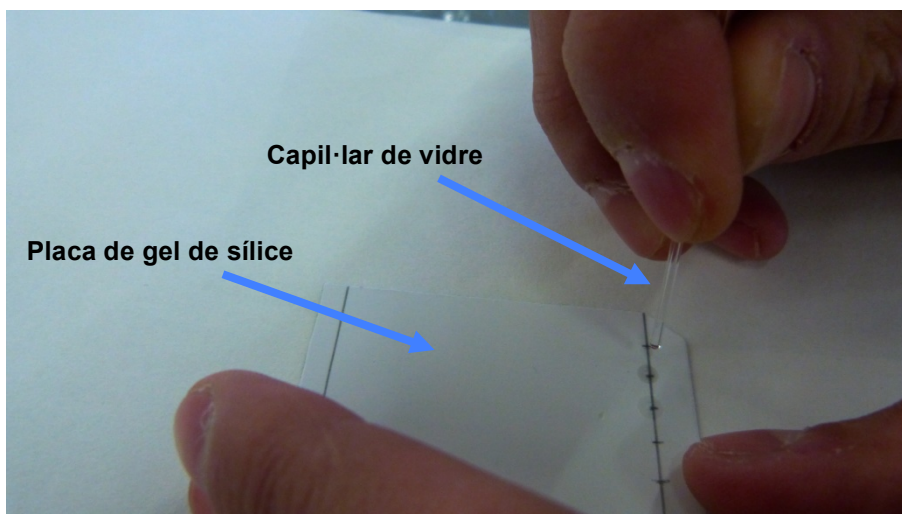


Figura 42: Aplicació de la mostra sobre la capa fina mitjançant un capil·lar.

En evaporar-se el dissolvent la petita quantitat de la mescla quedarà perfectament dipositada sobre el gel de sílice. L'objectiu és que les "taques" de cada mostra siguin el més concretes possibles, per això és millor punxar moltes vegades deixant anar poca mostra.

3) Col·locar la capa fina a la cambra d'elució:

Hem d'omplir la cambra d'elució amb la quantitat suficient de dissolvent per que quedi el fons ben cobert (uns pocs mm) (és important que el nivell de dissolvent mai sobrepassi la línia on s'han punxat les mostres, ja que si això passa l'analit es dissoldrà en l'eluent i la cromatografia no servirà). A continuació introduïm la capa fina amb compte i tapem la cambra.

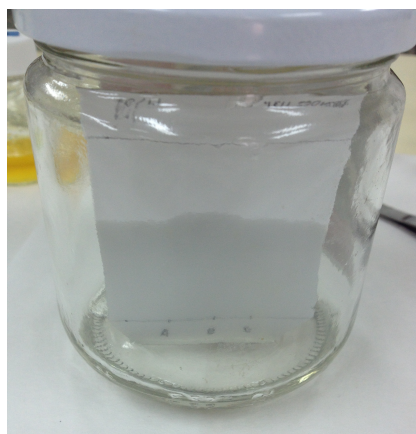


Figura 43: Cambra d'elució amb una capa fina.

4) Deixar assecar i revelar la capa fina:

Un cop el dissolvent ja ha arribat al nivell que havíem marcat, amb molt de compte traiem la capa fina de la cambra. La deixem assecar, o l'assequem amb l'ajut d'un assecador.

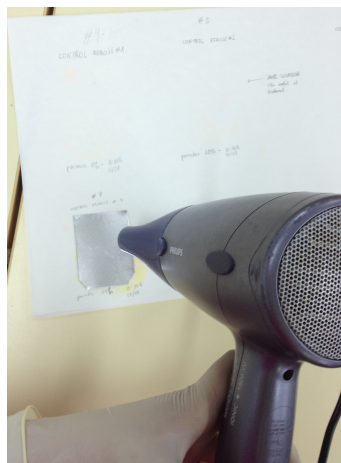


Figura 44: Procés d'assecamment de la capa fina.

El següent pas es revelar la capa fina, i es pot fer de dues maneres: amb una làmpada UV o amb un anisaldehyd. Una vegada la placa ja s'hagi revelat es podran veure les taques de cada mostra.

D'aquesta manera, observarem que les substàncies han pogut recórrer diferents distàncies:

Les **més polars interaccionaran més** amb el gel i per tant hauran **recorregut menys**

Les **menys polars interaccionaran menys** amb el gel i per tant hauran **recorregut més**

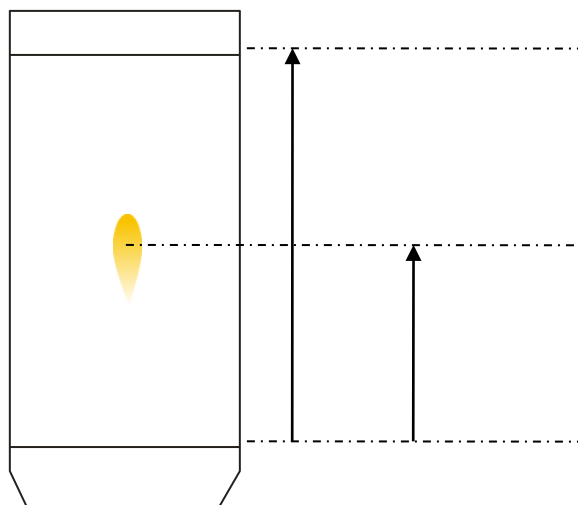
Quantificació del recorregut:

Per quantificar “el camí recorregut” utilitzem una magnitud coneguda com **R_f** d'una substància (retardation factor).

El R_f es defineix com:

$$R_f = \frac{X_B}{X_t}$$

Tenint en compte que:



D'aquesta manera, si ens diuen que una substància té un $R_f \sim 1$, voldrà dir que ha recorregut gaire bé tota la distància possible (t). Si pel contrari $R_f \sim 0$ no haurà recorregut gaire bé res.

Les mostres **més polars** interaccionaran més amb el gel i per tant tindran un **R_f petit**

Les mostres **menys polars** interaccionaran menys amb el gel i per tant tindran un **R_f gran**

Figura 45: Model de placa

6.3 Ressonància magnètica nuclear (RMN)

La RMN és un fenomen físic descrit originalment el 1946 per Felix Bloch i Edward Mills Purcell. Aquesta tècnica es basa en la interacció entre nuclis atòmics sota la influència d'un camp magnètic⁴ extern i un camp electromagnètic d'una freqüència determinada (ones de ràdio). Avui en dia la RMN s'utilitza rutinàriament en tècniques avançades d'obtenció d'imatges mèdiques, com en la Imatge per Ressonància Magnètica, i també com a eina espectroscòpica per obtenir dades físiques i químiques de compostos químics. Així, els espectres de ressonància magnètica nuclear de protó³¹ ens informaran del número, la naturalesa i l'ambient que rodeja als hidrògens d'una molècula.

Tots els nuclis dels elements tenen càrrega i massa (protons i neutrons) i els que posseeixen un nombre atòmic imparell i/o un número màssic imparell també tenen espín,¹⁴ de forma similar a l'espín dels electrons.

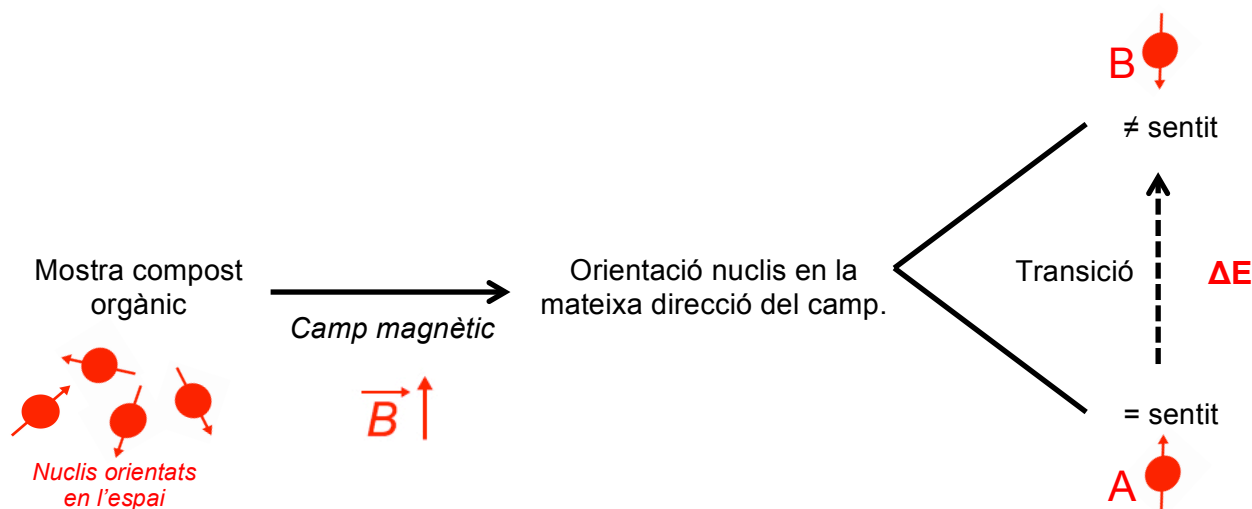
Nuclis amb espín: ^1_1H , $^{13}_6\text{C}$, $^{14}_7\text{N}$...

Nuclis sense espín: $^{12}_6\text{C}$, $^{16}_8\text{O}$...

Qualsevol nucli que tingui espín es pot estudiar per RMN.

Un protó (^1H) té un número d'espín d' $1/2$ i pot considerar-se com un imant petit. En absència d'un camp magnètic, tots els hidrògens estan orientats a l'atzar en totes direccions.

En presència d'un camp magnètic l'espín del protó adopta dues possibles orientacions, una en la direcció i sentit del camp extern, de menor energia, i una altra en sentit contrari al camp, de major energia.



Esquema 7: Tècnica RMN

La diferència d'energia d'aquestes dues orientacions és proporcional a la intensitat del camp magnètic extern segons l'equació $\Delta E = k \cdot B_0$ on k depèn del nucli que es consideri (en aquest cas ^1H).

Per altra banda, el canvi d'orientació dels nuclis d'hidrogen en el si del camp magnètic pot fer-se mitjançant l'absorció d'un quàntum sempre que la radiació electromagnètica sigui adequada:

$$\Delta E = h \cdot \nu$$

Si es combinen les dues equacions anteriors trobem que la freqüència de la radiació necessària per canviar l'orientació dels nuclis és directament proporcional al camp magnètic aplicat: $\nu = k \cdot B_0 / h$

En el cas de l'espectroscòpia de RMN d'hidrogen l'energia necessària, és a dir, la freqüència per aconseguir el canvi d'orientació del spin nuclear es troba en la zona de radiofreqüència de l'espectre electromagnètic (300-600 MHz) i els camps magnètics aplicats en valors entre 7 i 14 T (Tesla), respectivament, encara que ja hi ha espectròmetres de 1 GHz.

6.4 Llibreta de laboratori

La llibreta s'adjunta a banda del treball.

7. GLOSSARI

1. **Analits:** component (element, compost o ió) d'interès analític d'una mostra.
2. **Anticossos:** glicoproteïnes del tipus gamma globulina. Actua com receptor dels limfòcits B i són utilitzats pel sistema immunitari per identificar i neutralitzar elements estranys al cos, com ara bacteris, virus o paràsits.
3. **Antigen:** Substància capaç d'induir la formació d'anticossos, els quals tenen capacitat de reacció específica amb ella.
4. **Camp magnètic:** entitat física generada per la presència de càrregues elèctriques en moviment (com ara els corrents elèctrics), o bé per la presència de partícules quàntiques amb espín, i que exerceixen una força sobre les altres càrregues que es mouen sota la seva influència.
5. **Carboxilació:** reacció química en la qual el grup àcid carboxílic s'introdueix en un substrat químic.
6. **Cèl·lules diana:** Cèl·lula que rep una substància.
7. **Cèl·lules mare:** cèl·lules primordials no diferenciades que conserven l'habilitat de diferenciar-se en altres tipus cel·lulars.
8. **Coàguls:** masses resultants de la coagulació de la sang.
9. **Cristal·lització:** procés de formació de cristalls sòlids que precipiten des d'una solució, una substància fosa o més rarament dipositada directament des d'un gas.
10. **Despolimerització:** Trencament progressiu de les unitats monomèriques que integren les molècules d'un polímer, per l'acció de la calor, la radiació ultraviolada, l'oxigen o un altre agent extern.
11. **Diamina:** substància orgànica a les molècules de la qual hi ha dos grups de $-NH_2$ units a un o dos carbonis de radicals d'hidrocarburs.
12. **Enzim:** biomolècules que catalitzen les reaccions químiques, és a dir, n'augmenten la velocitat de reacció. Gairebé tots els enzims són proteïnes.
13. **Epòxid:** èter cíclic format per un anell de tres àtoms. Aquest anell té, aproximadament, la forma d'un triangle equilàter. És més reactiu que altres èters.
14. **Espín:** moment angular intrínsec associat amb partícules microscòpiques. És un fenomen que pertany a la mecànica quàntica, sense cap analogia en la mecànica clàssica.
15. **Estereoisomeria:** Els estereoisòmers són isòmers que tenen la mateixa seqüència d'àtoms units entre ells, però que tenen diferències *només* en les orientacions tridimensionals dels àtoms a l'espai.

- 16. Fagocitosi:** tipus especial d'endocitosi per la qual algunes cèl·lules (neutròfils i macròfags) envolten a un antigen amb la seva membrana citoplasmàtica i l'introdueixen a l'interior de la cèl·lula.
- 17. Fibrina:** proteïna, la qual apareix a partir del fibrinogen gràcies a l'acció de la trombina durant la coagulació sanguínia. És una molècula protagonista en la coagulació sanguínia perquè intervé en la transmissió de senyals, en l'activació de les plaquetes i en la formació de xarxes tridimensionals per polimerització. Aquestes estructures tridimensionals suposaran la base dels coàguls.
- 18. Filtració:** Tècnica de separació que permet separar mesclures heterogènies (sòlid-líquid) mitjançant filtres basant-se en la mida diferent de les partícules.
- 19. Fosfolípids:** tipus de lípid iònic, compost per l'esterificació de glicerol o l'esfingosina, amb dos àcids grassos i un grup fosfat. És un component estructural de la membrana cel·lular.
- 20. Glicolípid:** esfingolípid compostos per una ceramida (esfingosina + àcid gras) i un glúcid de cadena curta; manquen de grup fosfat. Els glicolípid formen part de la bicapa lipídica de la membrana cel·lular.
- 21. Glicoproteïnes:** biomolècula formada per una proteïna i un carbohidrat.
- 22. Glicosaminoglicans (GAGs):** polímers lineals de polisacàrids d'una formats per subunitats de disacàrids constants. Els GAGs formen un component important del teixit connectiu.
- 23. Hemoglobina:** proteïna que transporta l'oxigen i conté ferro. Es troba als glòbuls vermells dels vertebrats, i als teixits d'alguns invertebrats.
- 24. Histamina:** amina biològica involucrada en respostes immunes locals; també regula funcions fisiològiques a l'estómac i actua com a neurotransmissor.
- 25. Isomeria:** propietat de certs composts químics que amb la mateixa fórmula empírica, és a dir, iguals proporcions relatives dels àtoms que conformen la seva molècula, presenten estructures moleculars diferents.
- 26. Malalties tromboembòliques:** obstrucció de l'artèria principal del pulmó o una de les seves branques per una substància que ha viatjat des d'altres parts del cos a través del torrent sanguini.
- 27. Melsa:** òrgan de l'abdomen, la funció del qual és la destrucció d'eritròcits vells i servir de reservori de sang. És un centre d'activitat del sistema reticuloendotelial, part del sistema immunitari. La seva absència predisposa a determinades infeccions.
- 28. Múscul llis:** compost de cèl·lules en forma de fus. Manquen d'estries transversals encara que mostren lleugerament estries longitudinals. El múscul llis es troba als aparells reproductor i excretor, en els vasos sanguinis, en la pell i en òrgans interns.

- 29. Parahemofília:** Malaltia caracteritzada per hemorràgies degudes a un dèficit congènit del factor V de la coagulació.
- 30. Polars:** La polaritat en química es refereix a la separació de la càrrega elèctrica que porta una molècula o els seus grups químics a tenir uns moments elèctrics dipol o multipol.
- 31. Protó:** partícula subatòmica amb càrrega elèctrica positiva d'1 e (1.6×10^{-19} C).
- 32. Protrombina:** proteïna sanguínia que s'activa donant lloc a la trombina una seriproteasa que catalitza el pas final de la cascada de reaccions del procés de coagulació de la sang.
- 33. Quilodaltons:** un dalton (Da) equival a una unitat de massa atòmica.
- 34. Sistema d'hemostàsia:** L'hemostàsia és el procés que realitza l'organisme per aturar l'hemorràgia que pot generar una lesió.
- 35. Substrat:** espècie química que es considera, de forma explícita, objecte de l'acció d'altres reactius. Per exemple, un compost químic la transformació del qual és intervinguda per un catalitzador.
- 36. Tim:** òrgan limfoide que consta de dos lòbuls i es localitza al mediastí, darrere de l'estèrnum. La principal funció del tim és oferir un espai per a la maduració de les cèl·lules T, i és vital en la protecció contra l'autoimmunitat.
- 37. Trombosi:** formació d'un coàgul sanguini a l'interior d'un vas sanguini i que creix a la paret d'aquest vas.
- 38. Vasoconstrictors:** Substàncies que afavoreixen la constricció o estrenyiment d'un vas sanguini manifestant-se com una disminució del seu volum.
- 39. Volum sanguini:** volum total de sang d'un individu.

