



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

**FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA**

**“ESTUDIO Y ANÁLISIS DE LA MEDICARPINA OBTENIDA DE *Dalbergia congestiflora pittier*”**

**TESIS QUE PRESENTA:**

**P.Q.F.B. FREDY GEOVANNINI MORALES PALACIOS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

**ASESOR:**

**D.C. RAFAEL HERRERA BUCIO**

**INSTITUTO DE INVESTIGACION QUÍMICO-BIOLÓGICAS**

**MORELIA MICHOACÁN, JULIO DE 2012**

## Índice

	Pág.
1. Introducción	3
1.1 Grupos protectores	5
1.2 Química computacional	7
2. Parte teórica	10
2.1 Protección de alcoholes	10
2.2 Modelado molecular	14
3. Antecedentes	15
4. Objetivos	16
5. Resultados y discusión	17
5.1 Mecanismo de adición del grupo acilo a la medicarpina	18
5.1.1 Extracción y caracterización de 3-hidroxi-9-metoxipterocarpan	19
5.1.2 Preparación y caracterización de 3-acetil-9-metoxipterocarpan	24
5.2 Análisis conformacional mediante métodos computacionales	29
5.2.1 Análisis conformacional de la medicarpina	29
5.2.2 Análisis conformacional del acetil medicarpina	33
6 Conclusiones	37
7 Parte experimental	38
7.1 Instrumentación y equipo.	38
7.2 Generalidades.	39
8 Apéndice de espectros	41
9 Bibliografía	50

## 1. Introducción

Los alcoholes son compuestos orgánicos que contienen un grupo hidroxilo (-OH). Son compuestos muy frecuentes en la naturaleza y útiles en la industria y el hogar.

Los alcoholes se sintetizan mediante una gran variedad de métodos y el grupo hidroxilo se puede transformar en la mayoría del resto de grupos funcionales (Figura 1.1). Por esta razón, los alcoholes son intermediarios sintéticos versátiles.

$R-OH$		<i>tipo de reacción</i>	<i>Producto</i>
$R-OH$	deshidratación	alquenos	
$R-OH$	oxidación	cetonas, aldehídos, ácidos	
$R-OH$	sustitución	$R-X$ haluros	
$R-OH$	reducción	$R-H$ alcanos	
$R-OH$	esterificación		$R-O-\overset{\text{O}}{\parallel}{C}-R'$ ésteres
$R-OH$	tosilación		$R-OTs$ tosilatos (buen grupo saliente)
$R-OH$	(1) formación de alcóxido (2) $R'X$		$R-O-R'$ éteres

Figura 1.1 Reacciones de alcoholes

La oxidación de alcoholes da lugar a cetonas, aldehídos y ácidos carboxílicos, grupos que experimentan una gran variedad de reacciones de adición, por esta razón las oxidaciones de los alcoholes son unas de las reacciones orgánicas más frecuentes.

En química orgánica se puede concebir la oxidación como la consecuencia de la adición de un agente oxidante ( $O_2$ ,  $H_2O_2$ ,  $KMnO_4$ , etc.) y la reducción como la consecuencia de la adición de un agente reductor ( $H_2$ ,  $NaBH_4$ , etc.).

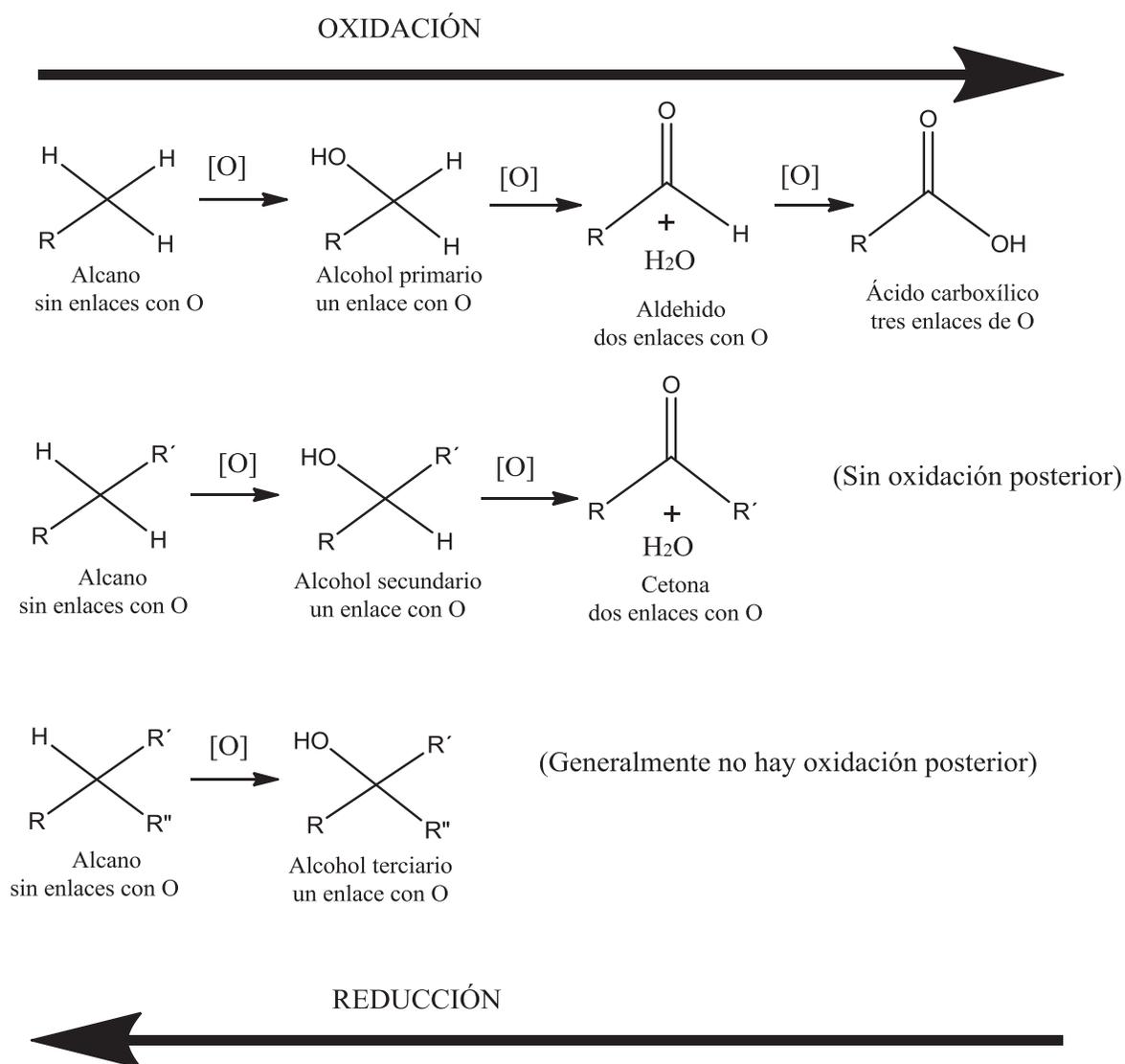


Figura 1.2 Óxido- Reducción de los alcoholes

Se puede decir que la oxidación o reducción de un alcohol se produce, respectivamente, aumentando o disminuyendo el número de enlaces C-O del átomo de carbono. Por ejemplo en un alcohol primario el átomo de carbono carbinol (C-OH) tiene un enlace con el oxígeno; en un aldehído, el carbono carbonílico tiene dos (más oxidado) y en un ácido tiene tres. La oxidación de un alcohol convierte los enlaces C-H en enlaces C-O. Si se transforma un alcohol en un alcano, el carbono carbinol pierde su enlace con el oxígeno y gana otro enlace con el hidrógeno.

En la figura 1.2 se comparan los estados de oxidación de alcoholes primarios, secundarios y terciarios con los que se obtienen por oxidación o reducción. El símbolo [O] indica un agente oxidante específico. Se puede observar que la oxidación de un alcohol primario o secundario forma un grupo carbonilo (C=O) debido a la eliminación de dos átomos de hidrógeno: uno del carbono carbinol y el otro del grupo hidroxilo. Un alcohol terciario se oxida con dificultad ya que no hay hidrógenos disponibles en el carbono carbinol.

## 1.1 Grupos protectores

La protección de grupos funcionales es una estrategia de síntesis que hay que aplicar cuando se desea efectuar una reacción de un grupo funcional en presencia de otro u otros grupos funcionales más selectivos. Para conseguir este tipo de transformaciones se procede a:

1. Proteger el grupo o los grupos funcionales más reactivos.
2. Efectuar la reacción sobre el grupo funcional libre.
3. Desproteger los grupos funcionales.

Una reacción de protección no es más que una reacción quimioselectiva en la que el grupo funcional se transforma en otro grupo funcional. Las condiciones que debe cumplir un grupo protector son:

1. Se debe poder instalar en el sistema poli-funcional de manera quimioselectiva
2. Debe ser estable a las condiciones de reacción que va a sufrir el grupo funcional libre.
3. Se debe poder eliminar en condiciones quimioselectivas.

A continuación se dan algunos de los grupos protectores más comunes, empleados en síntesis orgánica. También se indican los métodos empleados en la introducción y eliminación, así como los reactivos que atacan a los grupos protectores y las condiciones de reacción que resisten estos (Tabla 1.1.1).

Grupo	Forma de protección (GP)	Operación de síntesis	Eliminación	El GP resiste a:	El GP reacciona con:
Aldehído Cetona	Acetal $RCH(OR')_2$	$R'OH/H^+$	$H_2O, H^+$	Bases, nucleófilos Oxidantes, reductores	Electrófilo, ácidos
Ácidos (Ar) RCOOH	Ésteres (Ar)ROOMe <sup>+</sup> (Ar)RCOOEt (Ar)RCOOBn (Ar)RCOOt-Bu  Anión: (Ar)RCOO <sup>-</sup>	$CH_2N_2$ EtOH, H <sup>+</sup> BnOH, H <sup>+</sup> t-BuOH, H <sup>+</sup>  Base	$H_2O, OH^-$ $H_2$ o HBr H <sup>+</sup> H <sup>+</sup>  Ácido	Ácidos y bases débiles, Electrófilos   Nucleófilos	Bases fuertes, Nucleófilos, agentes reductores   Electrófilos
Alcohol  ROH	Acetales: THP	DHP, H <sup>+</sup>	$H_2O, H^+$	Nucleófilo, bases, agentes reductores	Electrófilos, ácidos
	Éteres ROBn ROTr	BnBr, NaH TrCl, base	$H_2O$ o HBr $H_2O, H^+$	Ácidos y bases, oxidantes, reductores, nucleófilos, Electrófilos débiles	HX(X= nucleófilo)  Ácidos
	Sililéteres: TES TBDMS TBDPS	TESCI TBDMSCI TBDPSCI	F, $H_2O, H^+$	Bases, oxidantes, Nucleófilos	Ácidos
	Ésteres: $R'COOR$	$R'COCl$ piridina	$H_2O, H^+$ o $H_2O, OH^-$	Electrófilos, agentes oxidantes	Ácidos, bases y nucleófilos
Dioles	Acetales			Bases, nucleófilos oxidantes, reductores	
Tioles	Tioésteres			Electrófilos	
Aminas (Ar)RNH <sub>2</sub>	Amidas: $R'CONHR$ Uretanos: $R'OCONHR$	$R'COCl$ , base  $R'OCOCl$ base	$H_2O, OH^-$ o $H_2O, H^+$  Si $R'=Bn$ : $H_2, cat$ o HBr Si $R'=t-Bu$ : $H_2O, H^+$	Electrófilos  Electrófilo, agentes oxidantes	Base, nucleófilo

\*GP= Grupo protector, cat= catalizador

Tabla 1.1.1 Grupos protectores

## 1.2 Química computacional

La química teórica tiene como objetivo explicar el comportamiento de las sustancias que observamos a nivel macroscópico, a partir de las interacciones fundamentales que ocurren entre los electrones y los núcleos. Estudiando los métodos teóricos aplicables a sistemas químicos, utilizando la mecánica cuántica, teoría introducida por Erwin Schrödinger, quien propuso la naturaleza ondulatoria del electrón con la solución de una ecuación la cual lleva su nombre, la cual al resolverse presenta no uno sino varias soluciones llamadas funciones de onda ( $\Psi$ ) las cuales representan diversos estados energéticos del electrón. La función de onda no tiene ningún significado físico; sin embargo Max Born propuso que el cuadrado de la función de onda ( $\Psi^2$ ) puede interpretar la probabilidad de encontrar un electrón dentro de una región. Gracias a estas teorías, se tiene una visión más clara de cómo están formadas las moléculas y ésta es la base de la química computacional.

La química computacional es el subcampo de la química teórica que implica el modelaje de aspectos químicos por computadora, que incluye métodos matemáticos y algoritmos computacionales combinados con las leyes fundamentales de la física para estudiar sistemas químicos de manera que puedan determinar sus propiedades y explicar los comportamientos observados experimentalmente, en consecuencia influye directamente sobre la química molecular, teniendo aplicaciones en múltiples ramas de la ciencia.

Los métodos computacionales son numéricos y por ello es necesario de interfaces gráficas que interpreten la solución de éstos al ser aplicados a un sistema químico. Los métodos gráficos permiten la visualización y manipulación de las moléculas que son objeto de estudio, siendo una herramienta esencial en la química computacional y que están comprendidos dentro del modelado molecular.

La química computacional nos puede ser de gran utilidad al predecir la estructura molecular, caracterizar a una molécula objetivamente de acuerdo a sus niveles de energía y propiedades electrónicas, verificar la estabilidad de sistemas químicos y estimar diferencias de energía en distintos estados para explicar avances de reacción y mecanismos a nivel atómico. Esto en base a dos principios físicos que rigen la aplicación de los métodos computacionales, uno es la mecánica molecular, basado en la mecánica clásica, en base a esto, los átomos se consideran como masas con energía según la ley de Coulomb. El segundo se basa en la química cuántica, la cual considera la estructura electrónica de los átomos y toma como base la ecuación de Schrödinger, para la que no existe solución, pero se pueden hacer aproximaciones de acuerdo a las necesidades del cálculo.

Con lo anterior se producen tres métodos principales de estructura electrónica como son los *ab-initio*, funcionales de la densidad y semi-empíricos.

Los métodos semi-empíricos, utilizan parámetros experimentales para simplificar el cálculo computacional. Estos métodos resuelven en forma aproximada la ecuación de Schrödinger que depende de parámetros apropiados al tipo de sistema químico.

Los métodos *ab-initio* (primeros principios), a diferencia de la mecánica molecular y métodos semi-empíricos, no utilizan parámetros experimentales en el cálculo, están basados únicamente en las leyes de la mecánica cuántica y valores de las constantes físicas fundamentales (velocidad de la luz, masas y cargas de electrones y núcleos, constante de Planck).

Los métodos semi-empíricos tienen un bajo costo computacional, y proveen una descripción cualitativa razonable, pero la exactitud en la predicción cuantitativa de la energía y las estructuras moleculares depende de que tan buenos sean los conjuntos de parámetros, el tamaño del sistema y tipo de átomos que lo conformen. Los métodos *ab-initio*, a diferencia de los semi-empíricos, predicen con mayor exactitud desde el punto de vista cuantitativo y cualitativo, pero el costo computacional aumenta sustancialmente.

El tipo más simple de cálculo de estructura electrónica *ab-initio* es el método de Hartree-Fock (RHF) en el cual sus ecuaciones se basan en la aproximación orbital. Esta aproximación supone a la función de onda para un sistema de N electrones un producto anti-simetrizado, de N orbitales mono-electrónicos es decir, para el electrón definido por un orbital, considera que se comporta como si hubiera una carga distribuida en el espacio pero con distinto componente de spin.

La teoría de funcionales de la densidad es una tercera clase de método de cálculo de estructura electrónica basada en el modelo molecular tomando en cuenta la correlación electrónica como un funcional (una función de una función) general de la densidad electrónica a diferencia de Hartree-Fock que toma la correlación electrónica como un campo medio. La teoría del funcional de la densidad (DFT) es similar a los métodos *ab-initio* en muchas formas; requiere fuentes similares de cálculo a la teoría Hartree-Fock, y tiene un costo computacional bastante cercano a los métodos *ab-initio*.

La DFT calcula la energía y otras propiedades moleculares a partir de la densidad electrónica del estado fundamental. El objetivo de esta es designar funcionales que relacionan la densidad electrónica con la energía, ésta puede dividirse en tres partes; energía cinética, atracción entre núcleo-electrón y repulsión electrón-electrón, mientras la repulsión núcleo-núcleo es una constante en la aproximación de Born-Oppenheimer.

Los orbitales moleculares se pueden representar como combinaciones lineales de un conjunto predefinido de funciones de un electrón, conocidas como funciones de base y se ubican generalmente en los núcleos atómicos, clasificándose como;

- a) Conjunto de base mínima: contienen el mínimo número de funciones de base requeridas para cada átomo, estos usan orbitales de tipo atómico de tamaño fijo, la base STO-3G es la mínima base posible.
- b) Conjunto de base de valencia dividida: la primera forma en que una base puede hacerse mayor es incrementando el número de funciones de base por átomos, los conjuntos tales como 3-21G y 6-31G tienen dos o más tamaños de funciones de base por cada orbital de valencia.
- c) Conjunto de base polarizados: los conjuntos de base dividida permiten cambiar el tamaño de los orbitales, pero no cambiar su forma; así los conjuntos de base polarizada remueven esta limitación al adicionar orbitales con momento angular más allá del que es requerido para la descripción del estado basal de cada átomo, el conjunto de base 6-31G\* agrega funciones *d* y el conjunto de base 6-31G\*\* agrega funciones *d* y *p*.
- d) Funciones difusas: son funciones tipo *s* o *p* que permiten a los orbitales ocupar una gran región en el espacio. Estos son importantes para sistemas cuyos electrones están lejos del núcleo: moléculas con pares libres, aniones, dímeros con enlace de hidrógeno, etc. Como son 6-31+G (d) y 6-31++G (d).

Con todo lo antes mencionado se puede diseñar y construir una molécula con un conjunto de programas de cómputo, tridimensionalmente para poder así manipular y visualizar el compuesto. A partir de este modelo tridimensional se generan una serie de coordenadas. Los cálculos matemáticos se realizan en función de la solución aproximada de la ecuación de Schrödinger (Figura 1.2.1), el cuadrado de la función de onda dependerá de las coordenadas de las partículas graficadas anteriormente y el resultado de estos métodos numéricos son unas nuevas coordenadas en las que se puede observar las características específicas del cálculo.

$$\left[ -\frac{\hbar^2}{2m} \frac{\partial^2}{\partial x^2} + V(x) \right] \Psi(x,t) = -\frac{\hbar}{i} \frac{\partial}{\partial t} \Psi(x,t)$$

Figura 1.2.1. Ecuación de Schrödinger

## 2. Parte teórica

### 2.1 Protección de alcoholes

El grupo hidroxilo se puede proteger regioselectivamente debido a su distinta reactividad que sigue la secuencia 1>2>3, ecuatoriales>axiales.

Las reacciones más importantes de este grupo son las debidas a su carácter nucleófilico y a su carácter ácido. La protección del grupo hidroxilo hace desaparecer esta última. El grupo hidroxilo se puede proteger en forma de éter o de éster (Figura 2.1).

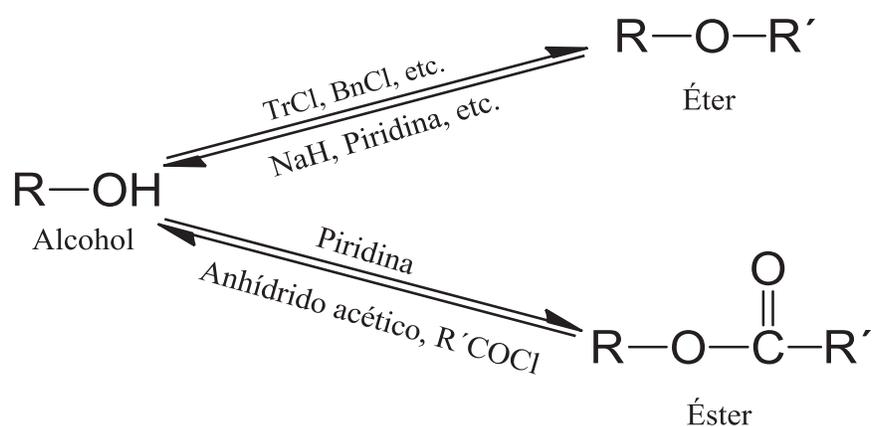
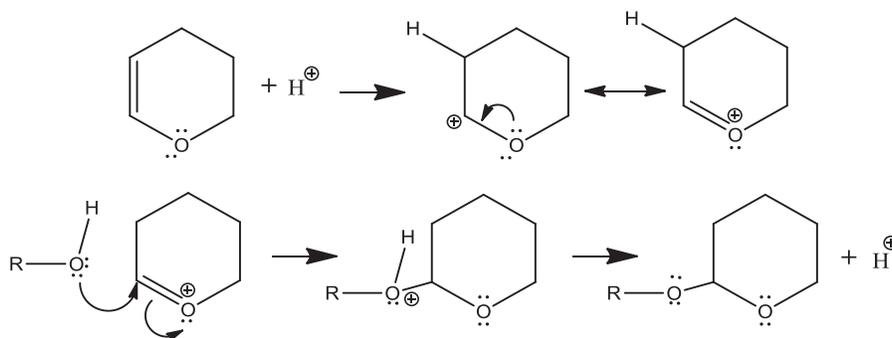


Figura 2.1 Protección de alcoholes en forma de éter y éster

La protección en forma de éter se usa para trabajar en condiciones básicas, con hidruros metálicos complejos, organometálicos o con nucleófilos en general. Para llevar a cabo la protección en forma de éter no se usan grupos alquilo sencillos debido a la dificultad de romper (desprotección) la unión éter. Hay que hacer uso de éteres que se puedan desproteger.

#### a) Protección de alcoholes como acetales

EL DHP (dihidropirano) se emplea para la conversión de alcoholes en acetales mixtos. Como el alcohol se convierte en acetal, la desprotección se efectúa mediante hidrólisis ácida (Esquema 2.2).



Esquema 2.2 Conversión de alcohol en acetal

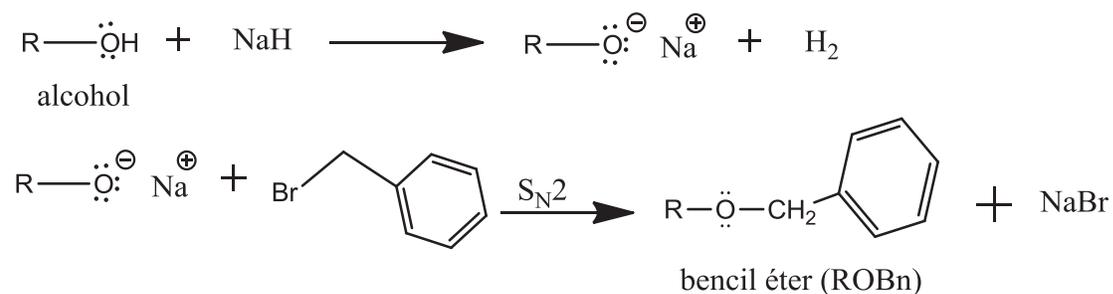
El mecanismo de la formación de los tetrahidropiranyl éteres se inicia con la propagación regioselectiva del doble enlace del anillo de dihidropirano. Esta reacción genera una especie carbocatiónica que deslocaliza la carga positiva sobre el átomo de oxígeno. La reacción de este intermediario catiónico con el alcohol (ROH) conduce al alcohol protegido (ROTHP) y a la regeneración del catalizador ácido.

b) Como éteres de bencilo

Puesto que los éteres son uno de los grupos funcionales menos reactivos, muchos de ellos se emplean como grupos protectores. Sin embargo, la poca reacción química de los éteres es un inconveniente a la hora de utilizarlos como grupos protectores porque la etapa de desprotección obliga, en muchos casos, a la utilización de condiciones de reacción muy drásticas.

Es por esto que en la práctica, el número de tipos de éter que se emplean como protectores de alcoholes se ve notablemente reducido. Uno de los éteres más empleados en el proceso de protección de alcoholes es el bencil éter (ROBn).

La etapa de protección se consigue por ionización previa del alcohol, por ejemplo con NaH, seguida de ataque  $S_N2$  del alcóxido generado sobre bromuro o cloruro de bencilo (Esquema 2.3).



Esquema 2.3 Conversión de alcohol a bencil éter.

Los bencil éteres son muy útiles en la síntesis orgánica por que conjugan una gran facilidad de introducción, una gran inercia química, y una gran quimioselectividad en la etapa de desprotección. La desprotección se efectúa en condiciones neutras y a temperatura ambiente, mediante una reacción de hidrogenólisis.

### c) Como tritil éteres

Los tritil éteres o éteres de trifenil metano, se emplean para la protección quimioselectiva de hidroxilos primarios. Los grupos hidroxilo secundario y terciarios, al estar estéricamente más impedidos que los primarios, no forman éteres de tritilo porque el cloruro de trifenilmetilo (cloruro de tritilo) es un reactivo muy voluminoso. Los éteres de tritilo se obtienen mediante la reacción de alcoholes primarios con el cloruro de tritilo en presencia de una base nitrogenada no nucleofílica, como la piridina. La misión de la base es neutralizar el HCl que se genera en la reacción (Esquema 2.4).

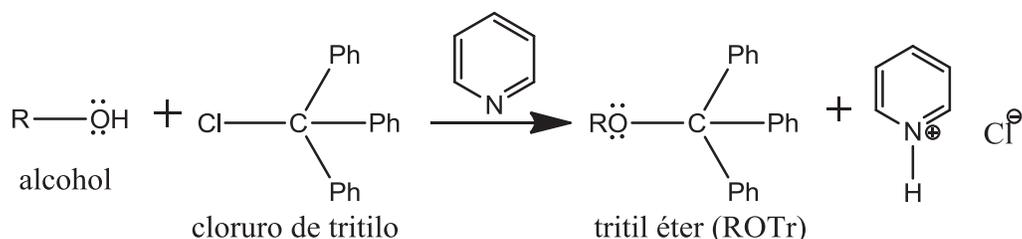
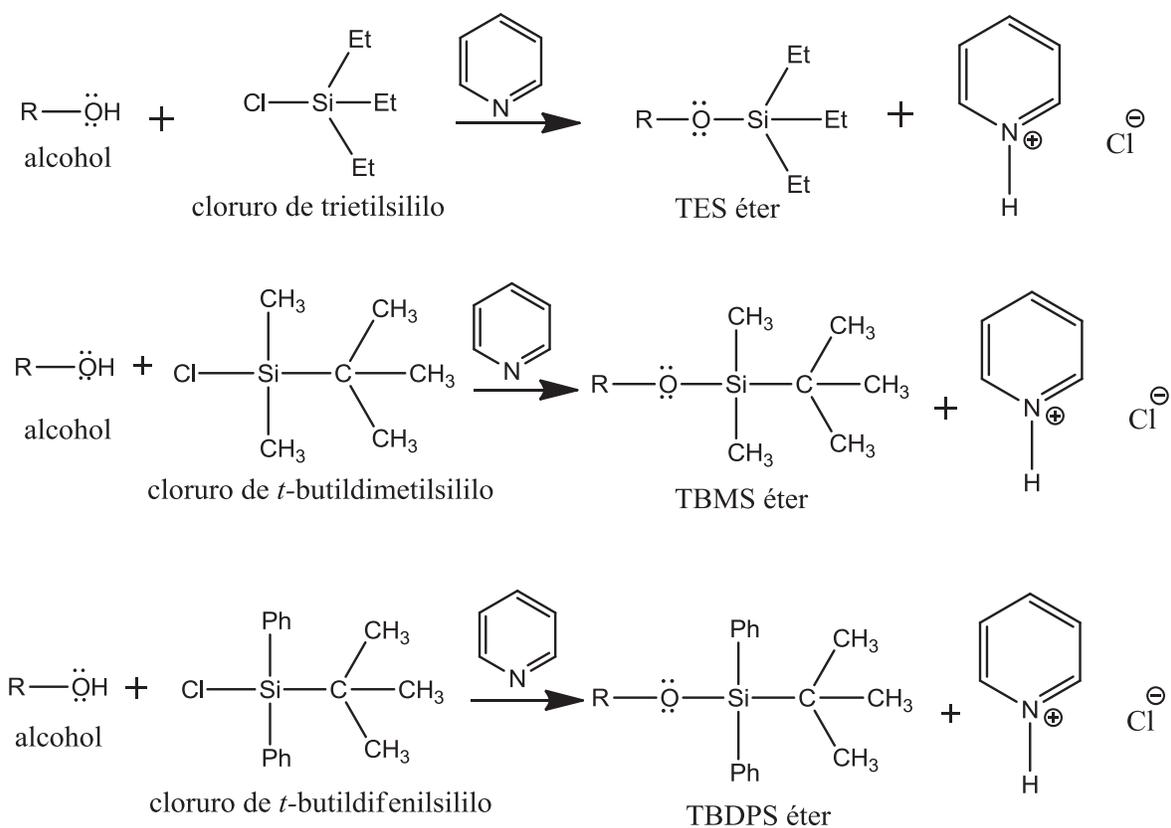


Figura 2.4 Conversión de alcohol a tritil éter

La desprotección de este tipo de éteres se consigue mediante una hidrólisis ácida suave. La gran estabilidad del carbocatión trifenilmetilo y por lo tanto su facilidad de formación se explica por la elevada deslocalización de la carga positiva mediante resonancia en cada uno de los grupos fenilo.

### d) COMO SILIL ÉTERES

Los silil éteres se obtiene por reacción de los alcoholes con cloruros de sililo, como el cloruro de trietilsililo ( $\text{Et}_3\text{SiCl}$ ), el cloruro de *t*-butildimetilsililo ( $t\text{-BuMe}_2\text{SiCl}$ ) o el cloruro de *t*-butildifenilsililo ( $t\text{-BuPh}_2\text{SiCl}$ ). La síntesis de estos éteres se efectúa en presencia de una base no nucleofílica para neutralizar el HCl que genera la reacción (Esquema 2.5).

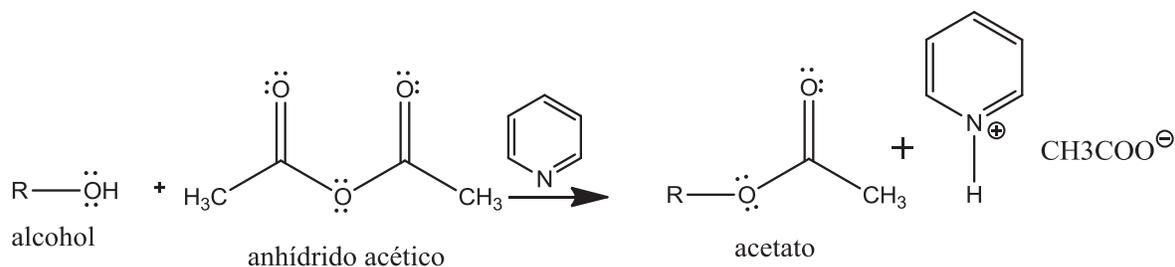


Esquema 2.5 Conversión de alcohol a silil éteres

Los silil éteres se pueden desproteger de forma altamente quimioselectiva mediante la reacción con sales que contengan el anión fluoruro. Esta desprotección se basa en la fortaleza del enlace Si-F, uno de los enlaces covalentes más fuertes que existen, que impulsa la reacción hacia la formación del correspondiente fluorosilano. El otro producto de esta reacción es una sal del anión alcóxido ( $\text{RO}^-\text{M}^+$ ). Para obtener el alcohol se procede a efectuar una etapa de hidrólisis para provocar la protonación del anión alcóxido.

#### e) COMO ÉSTERES

Los alcoholes también se pueden proteger mediante su conversión en ésteres. Uno de los ésteres más comunes en la estrategia de protección-desprotección es el éster de ácido acético (acetatos) (esquema 2.6).



Esquema 2.6 Conversión de alcohol en éster

## 2.2 Modelado Molecular

El modelado molecular engloba métodos teóricos y técnicas computacionales para modelar o imitar el comportamiento de las moléculas, basado en un conjunto de programas computacionales que permitan cumplir con algunas características como son los cálculos de energía molecular y propiedades de ellas, así como la visualización y la realización de cálculos sobre estructuras tridimensionales de las moléculas o sistemas moleculares, para un análisis cuantitativo de los resultados y poder ser aplicados a problemas reales.

De acuerdo a lo anterior el modelado molecular se basa principalmente en dos partes fundamentales como son los métodos de cálculo, basados en ecuaciones matemáticas y la visualización de éstas con métodos gráficos que permitan la interpretación las propiedades moleculares.

Los métodos gráficos están basados en el uso de coordenadas para poder observar tridimensionalmente los sistemas moleculares, estas coordenadas no son cartesianas ya que no son útiles para este fin debido a su redundancia, por lo cual se utilizan unas coordenadas que nos permiten visualizar de una manera tridimensional, denominada matriz Z que tiene la característica de ser coordenadas sencillas ya que involucran distancias de enlace y ángulos a tres y cuatro átomos (enlace dihedro) así como una descripción de la conectividad de los átomos dentro del sistema molecular.

A su vez los métodos de cálculo, están basados en la solución de la ecuación de Schrödinger basada en la función de onda y esta aplicada sobre las coordenadas del sistema químico. Ya que la ecuación de Schrödinger no tiene una solución por su complejidad es posible hacer aproximaciones para obtener parámetros matemáticos según lo deseado sobre el sistema.

### 3. Antecedentes

Los pterocarpanos son derivados de isoflavonoides que se encuentran en la familia de las leguminosas. Es un grupo de compuestos que pueden ser descritos por su esqueleto como benzo-pirano-furano-bencenos (6 H - [1] benzofuro [3,2-c] cromeno) figura 3.1.

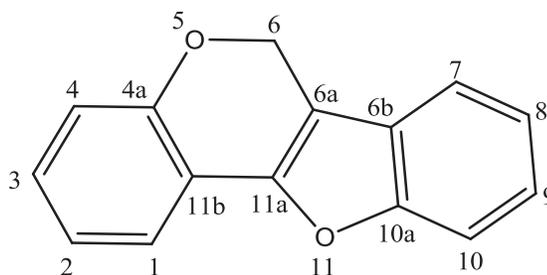


Figura 3.1 Esqueleto de los pterocarpanos

Los isoflavonoides consisten en compuestos de gran variedad estructural como lo son las isoflavonas, pterocarpanos y cumestanos. Más del 95% de los isoflavonoides han sido encontrados en las leguminosas (Fabáceas), las cuales han mostrado actividad antifúngica.<sup>9</sup>

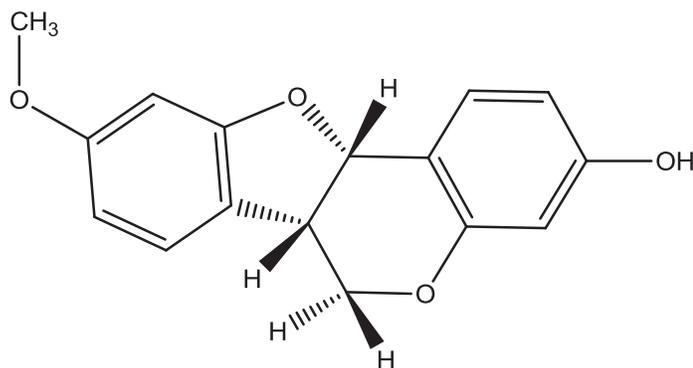
Las fitoalexinas de los pterocarpanos, son compuestos antimicrobiales de las leguminosas. Esta biosíntesis de los pterocarpanos en la alfalfa (*Medicago sativa L.*), para la conversión de medicarpina a partir de la vestinona, se ha correlacionado como un mecanismo de defensa contra ataques fúngicos.<sup>10</sup>

La medicarpina ha sido identificada como una fitoalexina, esta ha sido extraída y purificada de la madera de la *Dalbergia oliveri*, de la cual se pudo obtener el diagrama de su estructura mediante rayos "X", utilizada como referencia en el presente trabajo.<sup>11</sup>

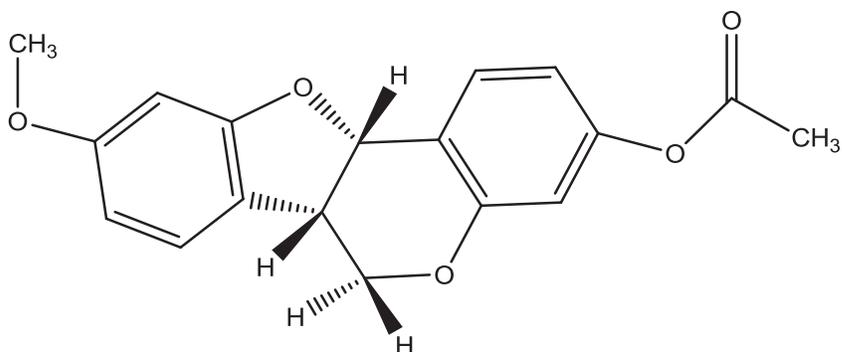
Del árbol de *D. congestiflora pittier* se ha extraído la medicarpina, y se ha evaluado la actividad antifúngica, sobre el hongo *Trametes versicolor*.<sup>12</sup>

## 4. OBJETIVOS

1. Extraer a partir de la harina del duramen de *Dalbergia congestiflora pittier* mediante reflujo la medicarpina.



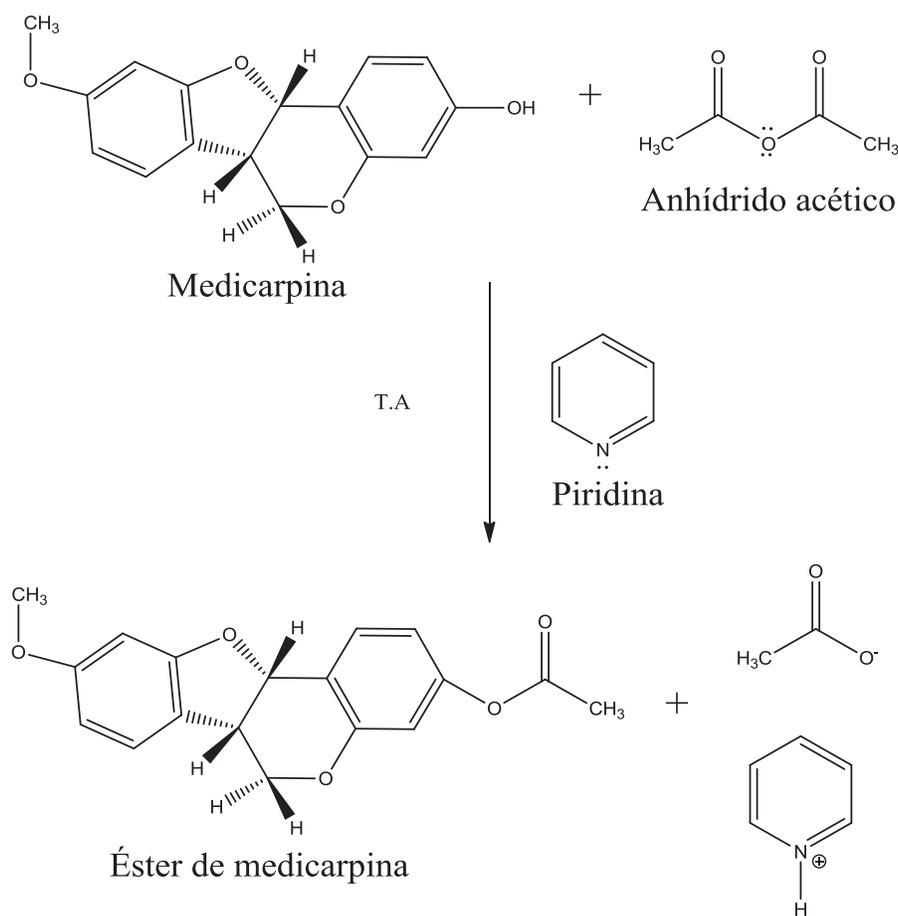
2. Preparar y purificar, mediante cromatografía en columna, el derivado acetilado de la medicarpina.



3. Caracterizar la medicarpina y su derivado acetilado mediante espectroscopia de infrarrojo y RMN de  $^1\text{H}$ , DEPT,  $^{13}\text{C}$  y experimentos de dos dimensiones: COSY, NOESY y HETCOR.
4. Realizar un análisis conformacional de la medicarpina y su derivado acetilado mediante métodos computacionales *ab initio* y teoría de la densidad, con el conjunto de bases 6-31G\*\* y 6-311G\*\*

## 5. Resultados y discusión

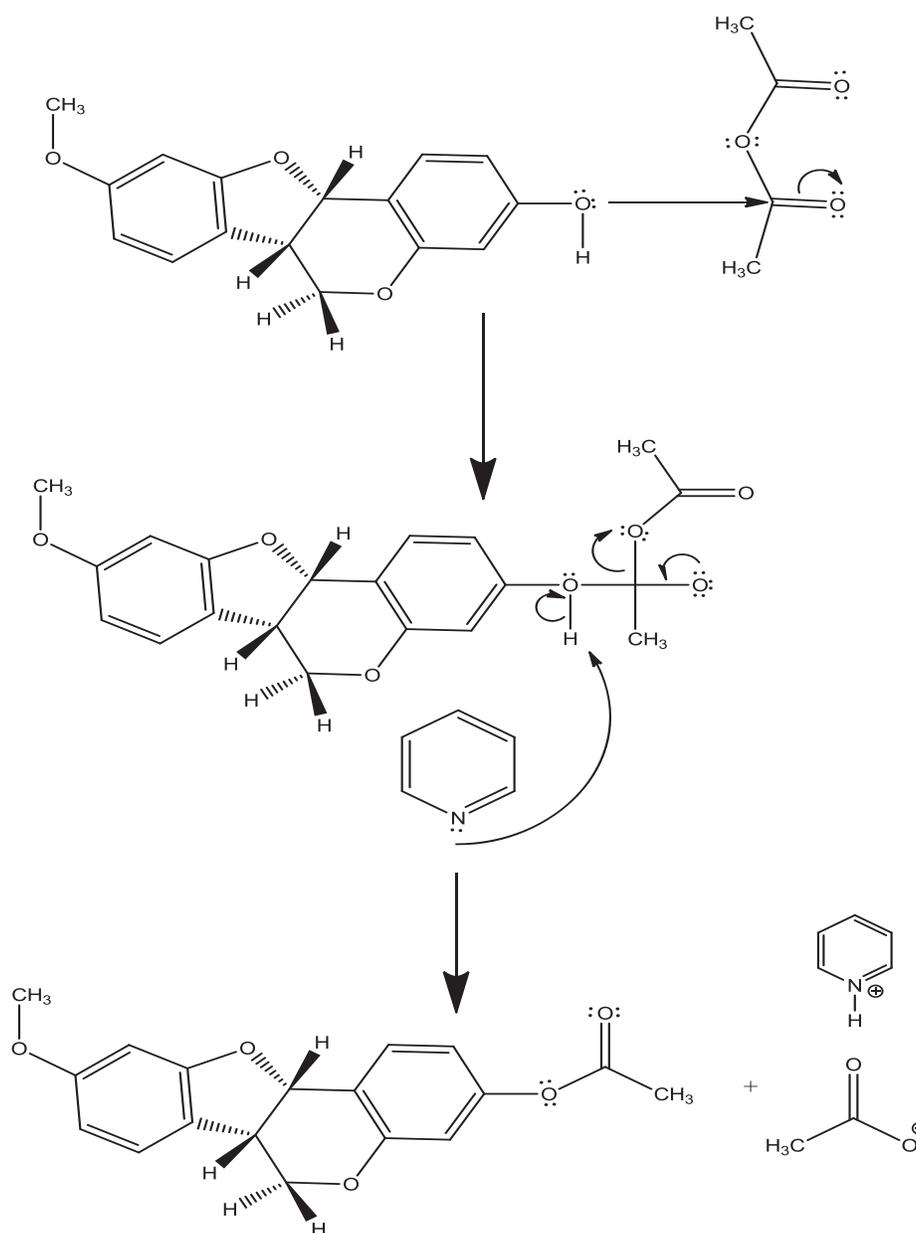
En este punto es necesario revisar la materia prima, la cual fue el duramen de *D. congestiflora pittier* molido el cual generó una harina muy fina de un color morado oscuro e inodora. Ésta harina fue colocada en un dedal para realizar reflujos en un equipo soxhletl con hexano y posteriormente con acetato de etilo. Los reflujos con hexano generaron cristales en forma circular de color amarillo (medicarpina) con punto de fusión de 115-116°C y los reflujos de acetato de etilo generaron un aceite denso de color violeta oscuro, con el cual se realizó la acetilación (Esquema 5.1) y posteriormente su purificación mediante cromatografía en columna, obteniéndose cristales blancos en forma de agujas con punto de fusión de 105-106°C.



Esquema 5.1 Adición del grupo acilo a la medicarpina

## 5.1 Mecanismo de adición del grupo acilo a la medicarpina

Las reacciones de un alcohol pueden involucrar la ruptura de uno de dos enlaces; el enlace C-OH con eliminación del grupo -OH o el enlace O-H con la eliminación de -H, y estos dos tipos de reacción pueden implicar sustitución o eliminación en la que un grupo pueda reemplazarlos. Para la protección del grupo -OH de la medicarpina, las condiciones de reacción a temperatura ambiente y el uso de piridina, nos produjo la eliminación del -H del grupo -OH y al reaccionar con el anhídrido acético se produjo la adición de un grupo acilo, formando un éster (acetil medicarpina) (Esquema 5.1.1).



Esquema 5.1.1 Mecanismo de reacción para la formación del acetil medicarpina

### 5.1.1 Extracción y caracterización de 3-hidroxi-9-metoxipterocarpan

La 3-hidroxi-9-metoxipterocarpan fue extraída del duramen de *D. congestiflora pittier*, mediante reflujos de hexano con un equipo soxhletl y posteriormente se colocó en reposo para la formación pequeños cristales de color amarillo en forma circular con un punto de fusión de 115-116°C soluble en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se caracterizó por RMN-<sup>1</sup>H a 400 MHz (Figura 5.1.1.1). En el espectro siguiente se asignó una señal simple en 3.77 ppm que integra para tres hidrógenos correspondientes al grupo metilo (MeO) y una señal ancha en 5.27 ppm que integra para un hidrógeno que forma parte del grupo hidroxilo (OH), para continuar con la asignación de los hidrógenos a las señales correspondientes fue requerido el uso y análisis de los espectros bidimensionales de COSY, NOESY y HETCOR.

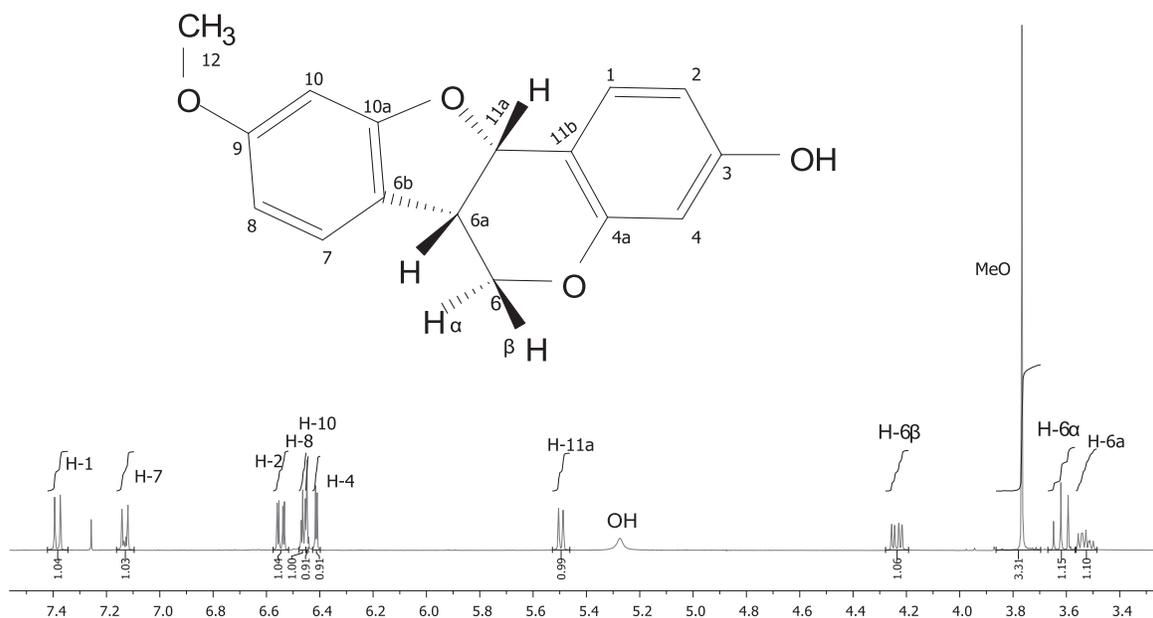


Figura 5.1.1.1 Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de Medicarpina (1) a 400 MHz en CDCl<sub>3</sub>

Para poder asignar las señales restantes, el COSY (Figura 5.1.1.2) fue de gran apoyo al mostrar la correlación entre las señales de los hidrógenos, H-6 $\alpha$  a 3.62 ppm comprendida por una señal triple que integra para un hidrógeno ( $J= 11.0$  Hz) y el H-6 $\beta$  a 4.24 ppm con una señal doble de dobles que integra para un hidrógeno ( $J= 11.0, 5.0$  Hz), de igual manera se observó una correlación de los hidrógenos H-6 $\alpha$  e H-11 $\alpha$ , asignándose al primero una señal doble de doble de dobles a 3.53 ppm que integra para un hidrogeno ( $J=11.0, 6.7, 5.0$  Hz) y la segunda a 5.50 ppm una señal doble que integra para un hidrogeno ( $J=6.7$  Hz).

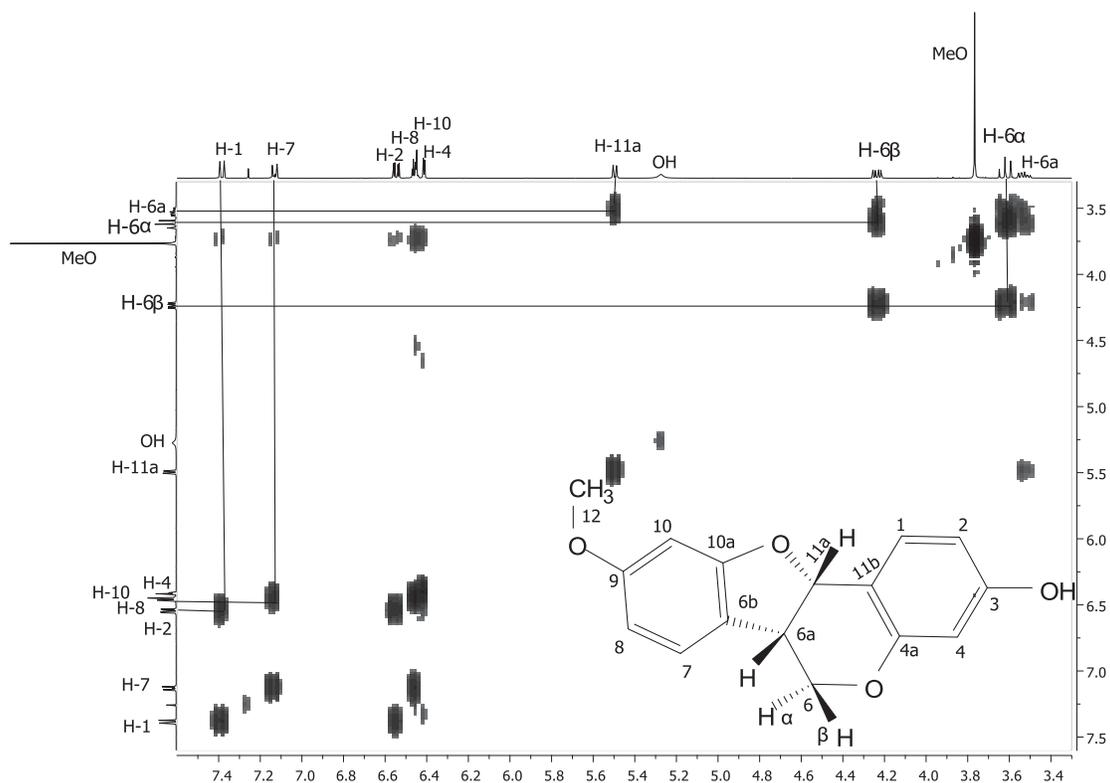


Figura 5.1.1.2 Espectro COSY de (1)

Para completar la asignación de señales se utilizó el espectro NOESY (Figura 5.1.1.3) donde se puede observar la correlación del hidrógeno H-6 $\beta$  con los hidrógenos H-6 $\alpha$  e H-11a, mostrando así un efecto NOE entre el hidrógeno H-6 $\beta$  y el H-11a antes descritos, ya que se encuentran a una distancia de 3.12 Å y de igual manera entre los hidrógenos H-6 $\alpha$  y el H-11a que se encuentran a 2.37 Å. De igual manera se puede comprobar la correlación existente entre los hidrógenos de los anillos aromáticos como el H-1 e H-2, siendo el primero una señal doble que integra para un hidrógeno ( $J= 8.5$  Hz) a 7.37 ppm y la segunda a 6.55 ppm asignada a una señal doble de dobles que integra para un hidrógeno ( $J= 8.4, 2.5$  Hz), de la misma manera se correlacionaron las señales, del H-7 asignándose una señal doble que integra para un hidrógeno ( $J= 8.8$  Hz) a 7.13 ppm y la asignada al H-8 a 6.46 ppm siendo una doble de dobles ( $J=5.8, 2.2$  Hz) que integra para un hidrógeno. Con los dos espectros mencionados anteriormente se puede observar la correlación existente entre el hidrógeno H-10 a 6.45 ppm asignada a una señal simple que integra para un hidrógeno y la señal simple a 3.77 ppm correspondiente al grupo metilo (MeO), comprobando que la posición del grupo metoxi corresponde a la estructura mostrada en los espectros, ya que el H-10 está a una distancia de 2.34 Å de los H's del grupo Metilo.



156.5 ppm el C-10a, así como el C-9 a 157.0 ppm y asignándose las señales a 160.5 ppm y 161.0 ppm a los carbonos cuaternarios C-4a y al C-3 respectivamente.

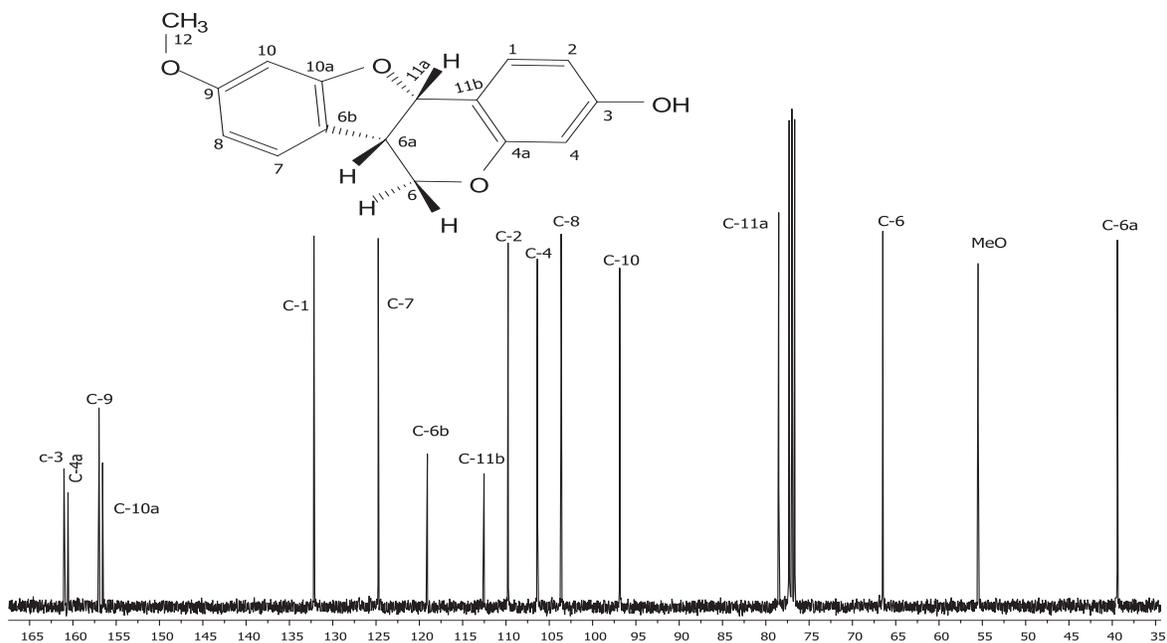


Figura 5.1.1.4 Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de (1) a 100 MHz en CDCl<sub>3</sub>

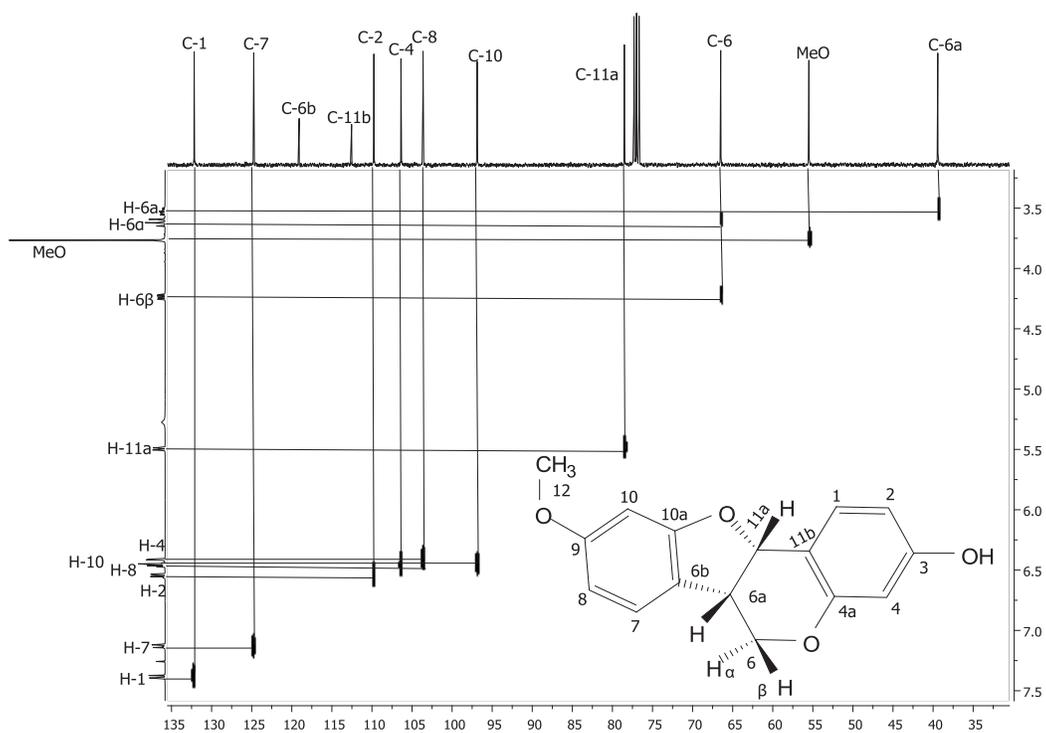
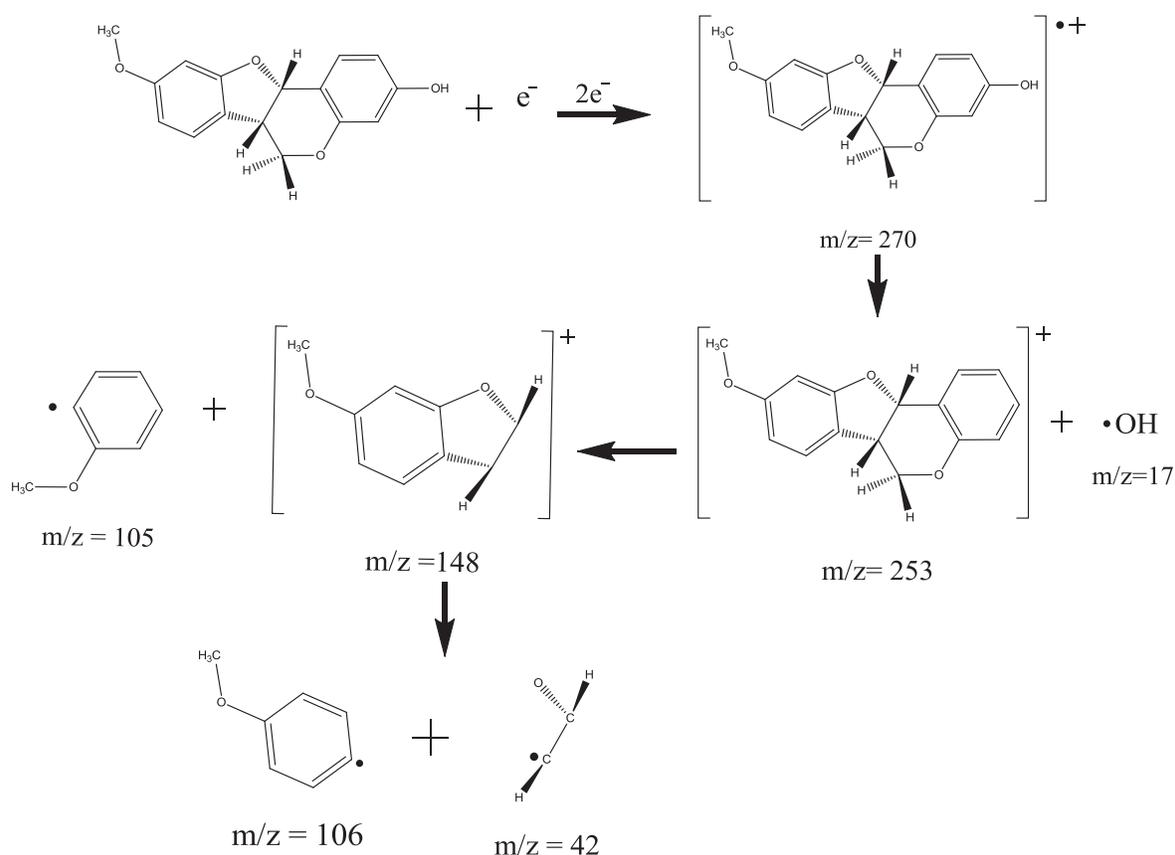


Figura 5.1.1.5 Espectro HETCOR de (1)

Otro análisis que nos fue de ayuda para la caracterización de la medicarpina fue la espectrometría de masas, la cual nos ayuda a determinar la masa molecular de una molécula y en la cual la muestra es ionizada, lo que permite que la molécula pierda algunos electrones y se fragmente dando diferentes iones, radicales y moléculas neutras. A continuación se describe la fragmentación de la medicarpina (Esquema 5.1.1.6), con la ayuda del espectro de masas del apéndice A7 de la medicarpina.

El espectro (ver apéndice A7) nos muestra que la masa molecular de la medicarpina es de  $m/z=270$ , siendo este el primer ion molecular después de ser ionizada la molécula en una intensidad relativa del 100 %, y la fragmentación del grupo hidroxilo con una  $m/z=17$  produce un ion molecular con una  $m/z=253$ , este ion a su vez se fragmenta, con la eliminación del anisol con una  $m/z=105$  y quedando un ion molecular con una  $m/z=148$ , y este ion a su vez termina de fragmentarse en un etoxi con una masa  $m/z=42$  y un anisol de masa  $m/z=106$ .



Esquema 5.1.1.6 Fragmentación de la medicarpina en base al espectro de masas.

### 5.1.2 Preparación y caracterización de 3-acetil-9-metoxipterocarpan

El 3-acetil-9-metoxipterocarpan se preparó mediante la reacción de la medicarpina con anhídrido acético, utilizando piridina a temperatura ambiente por un periodo de 24 horas, al terminar este tiempo se le realizaron lavados con HCl, NaHCO<sub>3</sub> y NaCl, para posteriormente concentrar. Después el aceite se purificó mediante cromatografía en columna usando una mezcla de hexano: acetato de etilo (9:1) como eluyente, obteniendo cristales en forma de agujas blancas (p.f.: 105-106°) soluble en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> que se caracterizó por RMN-<sup>1</sup>H a 400 MHz (Figura 5.1.2.1). En este espectro se asignó, en 2.30 ppm una señal simple que integra para tres hidrógenos correspondientes al metilo del grupo acetilo (OAc), en 3.77 ppm se observó una señal simple que integra para tres hidrógenos del grupo metoxi (MeO), para asignar las señales de sus respectivos hidrógenos fue necesario analizar los experimentos bidimensionales de COSY y NOESY.

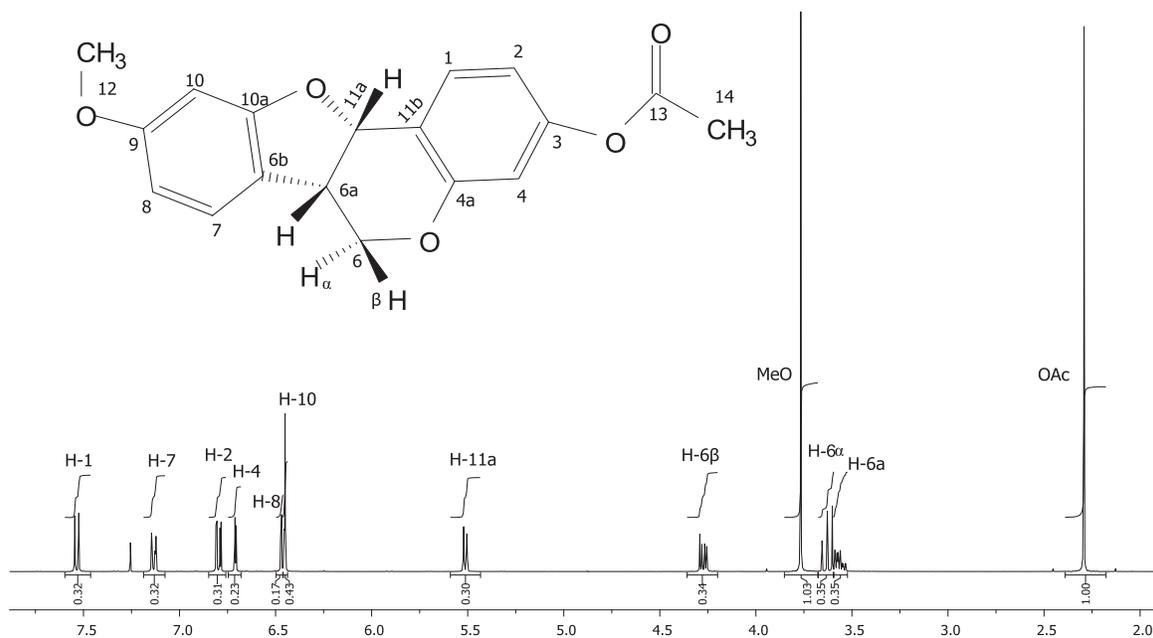


Figura 5.1.2.1 Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del Acetil medicarpina (2) a 400 MHz en CDCl<sub>3</sub>

En COSY (Figura 5.1.2.2) se observó la correlación de los hidrógenos H-6 $\alpha$  y H-6 $\beta$  a 3.63 ppm asignándose la señal triple que integra para un hidrógeno ( $J=9.2$  Hz) y a 4.27 ppm asignada a una señal doble de dobles que integra para un hidrógeno ( $J=10.7, 4.8$  Hz) respectivamente, así también se mostro la correlación de las señales entre el hidrógeno H-6 $\alpha$  a 3.56 ppm comprendida por una señal doble de doble de dobles que integra para un hidrógeno ( $J= 10.2, 7.2, 3.8$  Hz) y la señal del H-11a asignada a una señal doble que integra para un hidrógeno ( $J=6.6$  Hz) a 5.52 ppm, de igual manera se correlacionan las señales de los hidrógenos H-6 $\alpha$  y la del hidrógeno H-6 $\beta$ .

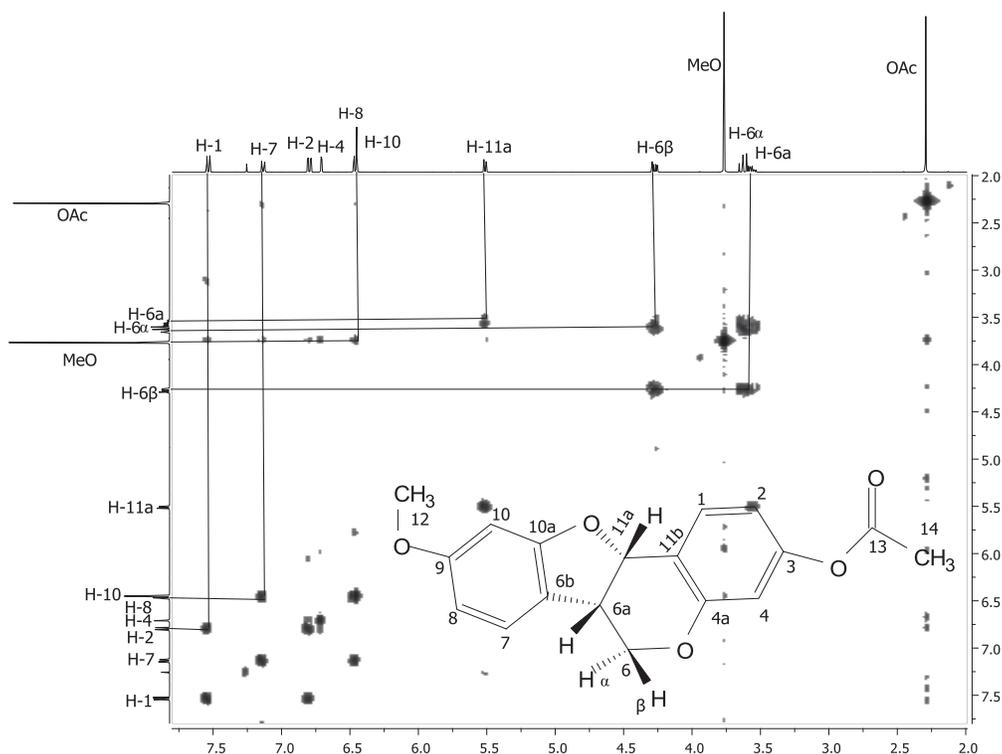


Figura 5.1.2.2 Espectro COSY de (2)

De acuerdo a NOESY (Figura 5.1.2.3), existe correlación de conectividad entre las señales de los hidrógenos H-6 $\alpha$ , H-6 $\beta$  e H-11a, mostrando así un efecto NOE entre los dos últimos hidrógenos antes mencionados, con una distancia de 3.04 Å y de igual manera entre los hidrógenos H-6 $\alpha$  y el H-11a que se encuentran a 2.37 Å, como ya se había mencionado en la medicarpina. De igual manera se puede comprobar la correlación existente entre los hidrógenos del los anillos aromáticos como el H-1 siendo una señal doble que integra para un hidrógeno ( $J=8.6$ ) a 7.54 ppm y la asignada al H-2 a 6.80 ppm siendo una señal doble de dobles que integra para un hidrógeno ( $J= 8.4, 2.4$  Hz), de la misma manera se correlacionaron las señales, del H-7 e H-8 asignándose a la primera una señal doble de dobles que integra para un hidrógeno ( $J= 8.6, 0.7$  Hz) a 7.13 ppm y la segunda asignada a

una señal doble que integra para un hidrógeno ( $J=2.3$  Hz) a 6.47 ppm. Con los dos espectros mencionados anteriormente se puede observar la correlación existente entre el hidrógeno H-10 a 6.45 ppm asignada a una señal simple que integra para un hidrógeno y la señal simple a 3.77 ppm correspondiente al grupo metilo (MeO), comprobando que la posición del grupo metoxi corresponde a la estructura mostrada en los espectros, ya que el H-10 se encuentra a una distancia de 2.35 Å de los H's del grupo Metilo.

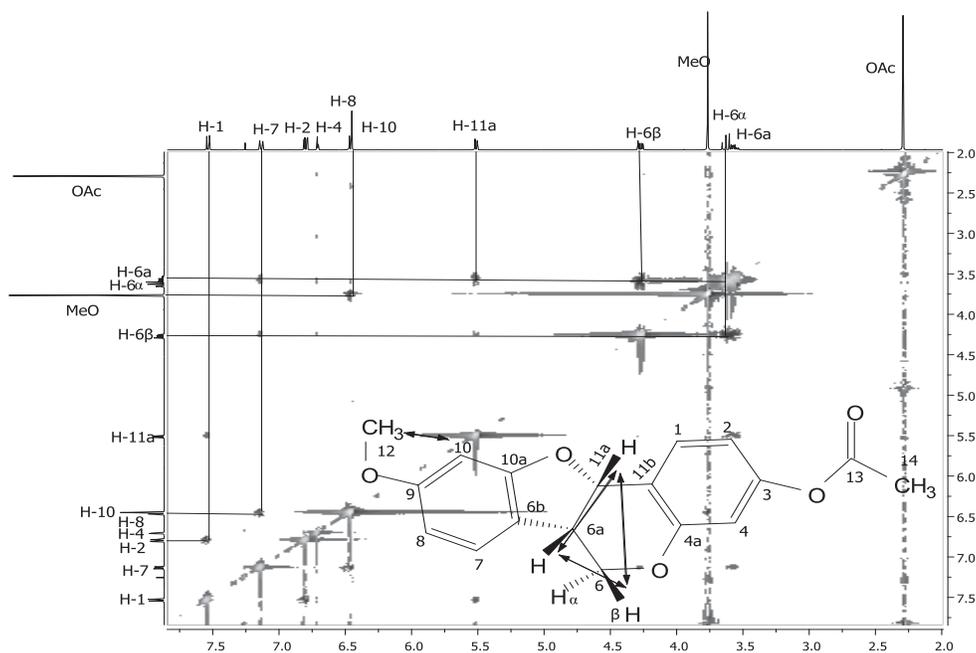


Figura 5.1.2.3 Espectro NOESY de (2), con flechas se indica los NOE de los H-11a con H-6α y MeO con H-10

Para el espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  (Figura 5.1.2.4) se asignaron las señales en base al espectro HETCOR (Figura 5.1.2.5), en 21.0 ppm se observó una señal que se asignó al metil del acilo C-14 (Me) correlacionado con la señal simple del espectro de RMN- $^1\text{H}$ , así también se muestra la correlación a 39.4 ppm asignada al C-6a con su respectivo hidrógeno, en 55.4 ppm se encuentra la señal del C-12 perteneciente al metoxi (MeO) correlacionado con la señal simple de sus hidrógenos, de igual manera el C-6 a 66.5 ppm mostro una correlación con los hidrógenos H-6α e H-6β y en 78.0 ppm se mostro la señal correspondiente a C-11a. En cuanto a los carbonos de los anillo aromático se asigno en 96.8 ppm el C-10 y la asignada al C-8 en 106.5 ppm con sus respectivas correlaciones de sus hidrógenos, de igual manera se asignó en 110.7 ppm al C-4 y en 115.2 ppm al C-2 pertenecientes a un anillo aromático. Para los carbonos del anillo aromático se observó en 117.7 ppm la señal asignada al C-11b sin correlación ya que no cuenta con hidrógenos y la señal en 124.7 correspondiente al C-7, así en 118.7 ppm la señal observada se asignó al C-6b sin

correlación alguna y en 131.7 ppm correspondiente al C-1 con su respectivo hidrógeno. Para completar los sistemas aromáticos se asignaron los carbonos cuaternarios, los cuales fueron C-10a y C-9 asignados a las señales en 151.5 ppm y 156.1 ppm respectivamente, así como los C-4a y C-3 se asignó a las señales 160.5 ppm y 161.1 ppm respectivamente y por ultimo en 169.1 ppm se encuentra el C-13 correspondiente al carbono del carbonilo (C=O).

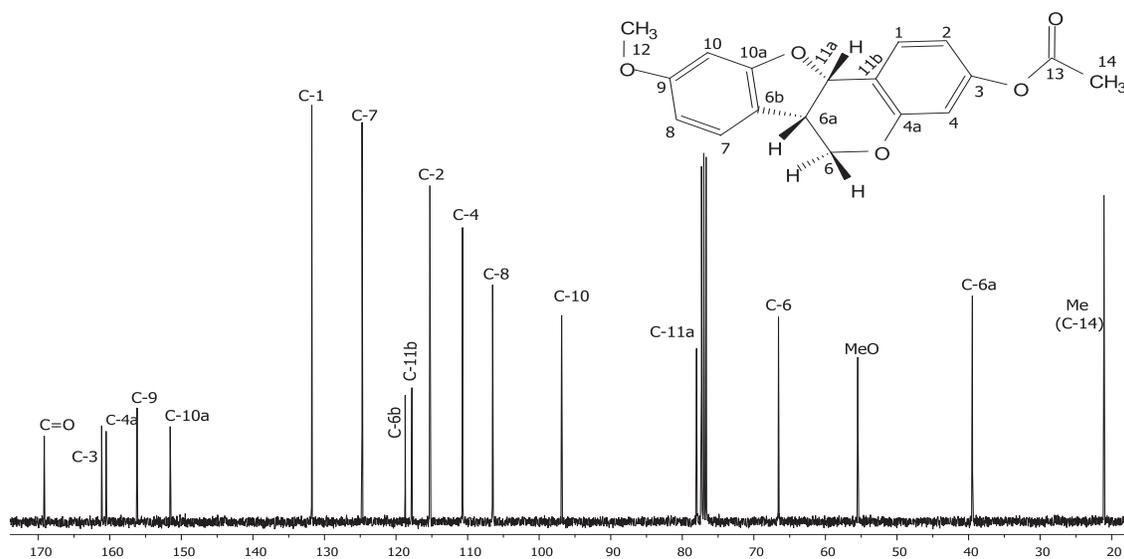


Figura 5.1.2.4 Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de (2) a 100 MHz en CDCl<sub>3</sub>

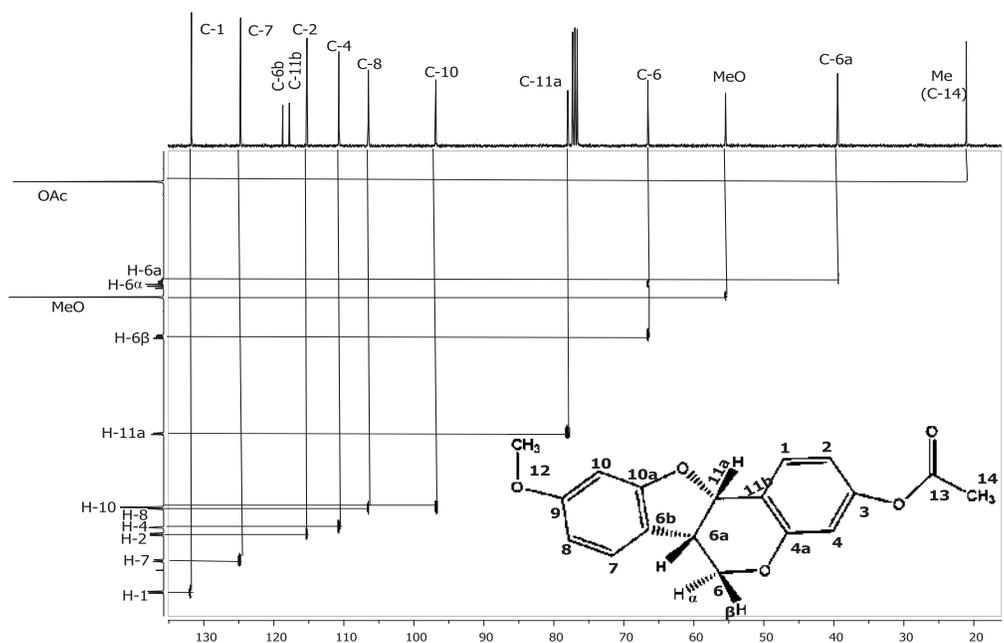
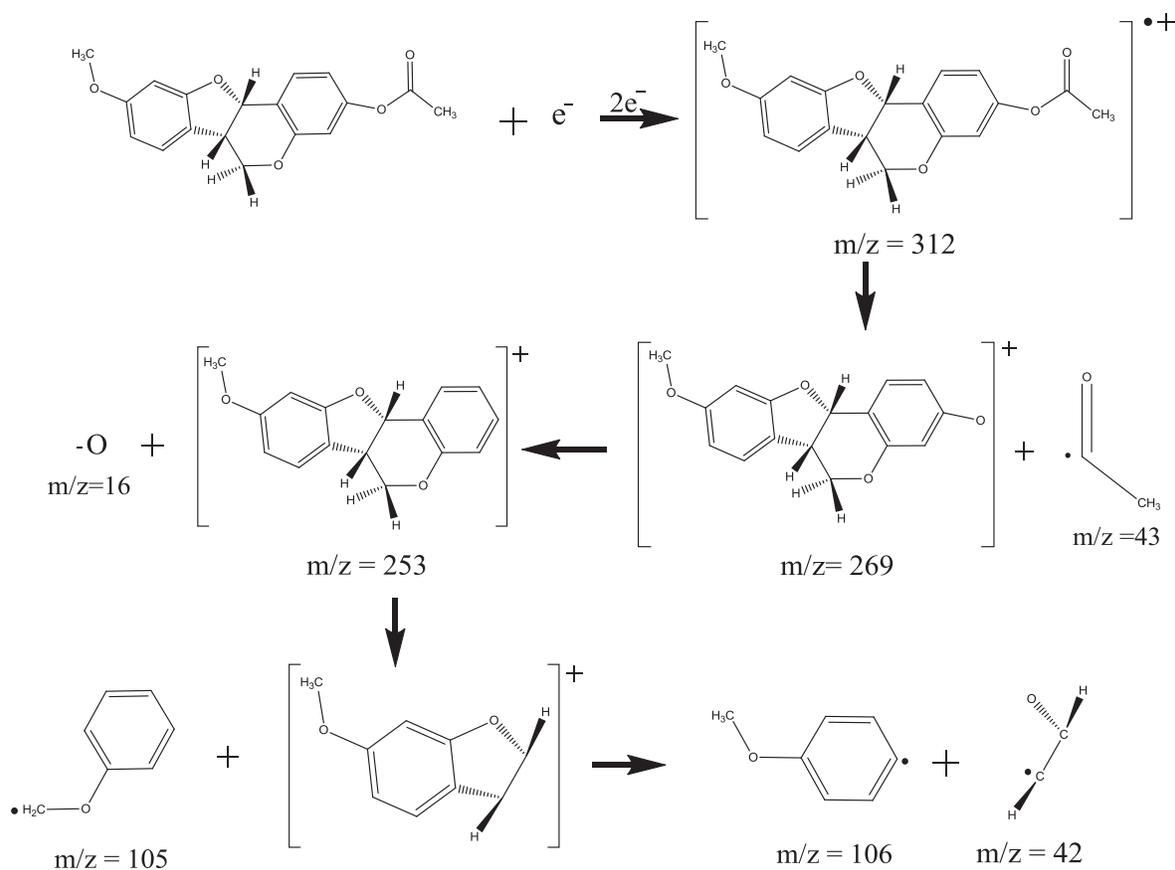


Figura 5.1.2.5 Espectro HETCOR de (2)

Para la caracterización del acetil medicarpina se realizó el análisis del espectro de masas que nos fue de ayuda, para determinar la masa molecular de acetil y la cual es ionizada, lo que permite que la molécula pierda algunos electrones y se fragmente dando diferentes iones, radicales y moléculas neutras. A continuación se describe la fragmentación del acetil de medicarpina (Esquema 5.1.2.6), con la ayuda del espectro de masas del apéndice A15 del acetil de medicarpina.

El espectro (ver apéndice A15) nos muestra que la masa molecular del acetil medicarpina es de  $m/z=312$  siendo este el primer ion molecular en una intensidad relativa de 23 %, y al fragmentarse, se desprendió el grupo acilo con una  $m/z=43$  y una intensidad relativa del 100 % y dejando a la medicarpina como un ion molecular con una masa  $m/z=269$ , y de esta fragmentándose el oxígeno con una  $m/z=16$  y un ion molecular de  $m/z=253$ , este ion a su vez se fragmento, desprendiéndose de él un anisol con una  $m/z=105$  y quedando un ion molecular de una  $m/z=148$ , y este ion a su vez termina de fragmentarse en un etoxi con una  $m/z=42$  y un anisol de  $m/z=106$ .



Esquema 5.1.2.6 Fragmentación del Acetil medicarpina en base al espectro de masas.

## 5.2 Análisis conformacional mediante métodos computacionales.

A continuación se presentan los datos obtenidos al aplicar los métodos de cálculo *ab initio* y funcionales de la densidad empleando el funcional híbrido B3LYP con el conjunto de funciones de base 6-31G\*\* y 6-311G\*\*. Este análisis estructural se basó principalmente con el diagrama de rayos "X" reportada para la medicarpina<sup>11</sup>. Para que el análisis sea más específico se separaron los cálculos de la medicarpina y el acetilado.

### 5.2.1 Análisis conformacional de la medicarpina

Para iniciar la revisión de los cálculos aplicados a la medicarpina, es necesario revisar los conformeros que se analizaron, estos se basan principalmente en dividirlos según la posición "cis" o "trans" del metilo del grupo metoxi y del hidrógeno del grupo hidroxilo de la molécula, lo anterior se debió a que el estudio conformacional nos mostro que la molécula permanece estable y solo se observo la rotación de los enlaces antes mencionados, por lo tanto este análisis mostro que la molécula presenta isomería de rotámeros al solo modificarse estos enlaces. En la tabla 5.2.1.1 se muestran los valores obtenidos de cada uno de los métodos de cálculo aplicados a los conformeros de este compuesto.

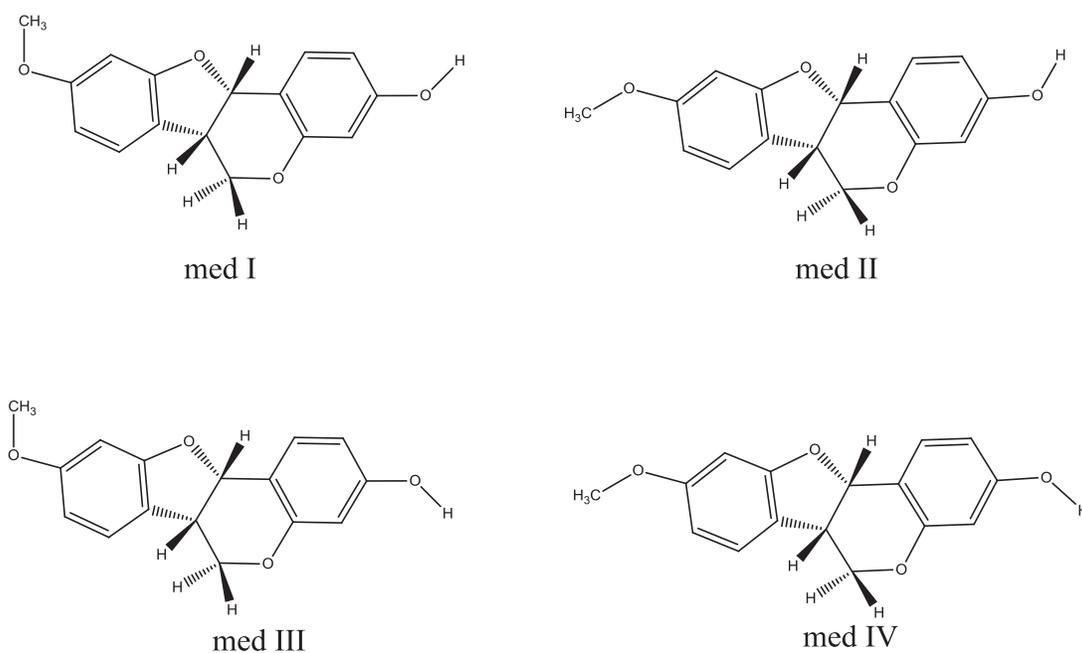


Figura 5.2.1.1 Conformeros de medicarpina (1)

Tabla 5.2.1.1 Valores de los métodos de cálculo aplicados a la medicarpina

Confórmeros de medicarpina	Valores energeticos			Diferencia energética en Kcal/mol		
	RHF 6-31G**	B3LYP 6-31G**	B3LYP 6-311G**	RHF 6-31G** Kcal/mol	B3LYP 6-31G** Kcal/mol	B3LYP 6-311G** Kcal/mol
Med I	-913.5006494	-919.0238428	-919.2339478	0.397	0.264	0.275
Med II	-913.5004844	-919.0236134	-919.233707	0.500	0.408	0.4267
Med III	<b>-913.5012817</b>	<b>-919.0242642</b>	<b>-919.2343871</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>
Med IV	-913.5009836	-919.0239089	-919.2340119	0.187	0.222	0.2354

\*En negritas se muestran los valores de mayor estabilidad relativa.

Como se puede observar, en cada uno de los métodos varían los valores para determinar el confórmero de mayor estabilidad relativa, sin embargo, los valores que mejor referencia matemática nos dan son los que usan el conjunto de función de base 6-311G\*\* con B3LYP, esto debido a que es un parámetro que involucra un mayor número de características en la molécula. Pero era necesario realizar los cálculos con el conjunto funciones de base 6-31G\*\* para que este sea un análisis conformacional más completo y relevante.

Usando el conjunto de funciones de base 6-31G\*\*, el comportamiento energético nos demuestra que el conformero “*trans*” con el grupo metoxi hacia arriba y el hidrógeno hacia abajo (Med III) es el de menor energía relativa por lo tanto el más estable, tanto en el cálculo con RHF como para los calculados con B3LYP.

Con el conjunto de funciones de base 6-311G\*\* se llegó a un confórmero de mayor estabilidad relativa ya que es la base más grande y nos da una referencia más confiable sobre el mínimo global. Como en los dos casos anteriores coincidió en señalar a un solo confórmero como el de mayor estabilidad, que es el Med III (figura 5.2.1.2). Para hacer más clara la diferencia entre los confórmeros se agregó en la tabla las columnas con las diferencias energéticas en Kcal/mol. Si bien se muestra en la tabla 5.2.1.1 la diferencia de energías de los confórmeros, también se observó que no es muy grande la diferencia que existe entre ellos ya que no sobre pasa las 0.5 Kcal/mol, pero es notable que el confórmero con la menor energía se diferencia de los demás.

En este caso el confórmero de mayor estabilidad es diferente al que se muestra en el diagrama de rayos “X” en el cual se basó este análisis, esta es muy similar al confórmero nombrado “med I”, y el confórmero con menor energía por métodos computacionales fue el “med III”, esto se puede deber a que el modelado se realizó al vacío y no se tomó en cuenta a la molécula en una solución, así también recordar que los métodos computacionales son métodos teóricos y aproximaciones a un sistema estable.

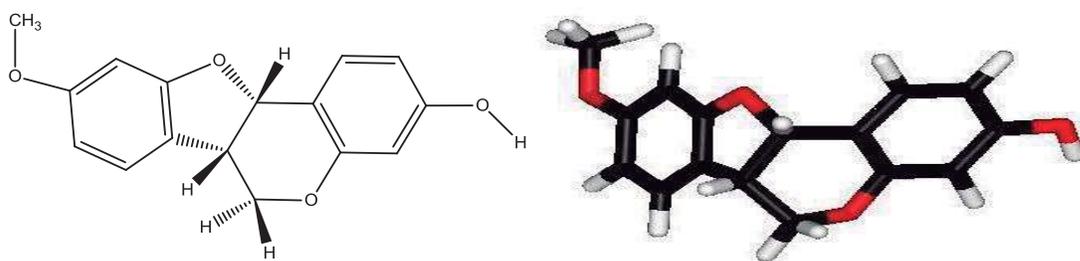


Figura 5.2.1.2. Confórmero de mayor estabilidad relativa por métodos computacionales de la medicarpina.

Como se ha mencionado el estudio por métodos computacionales nos proporciona gran información acerca de las moléculas, como en este caso, se agregó un análisis de espectro infrarrojo con el confórmero de mayor estabilidad obtenido de los cálculos antes realizados (med III), el cual se comparó con el ya obtenido de los cristales de medicarpina (ver apéndice A8). En la tabla 5.2.1.2 se muestran los datos obtenidos por métodos computacionales y los datos obtenidos de un espectro de los cristales de medicarpina.

Tabla 5.2.1.2. Valores obtenidos de espectros infrarrojos por métodos computacionales y obtenidos de cristales de medicarpina.

Espectro con cristales de medicarpina $\text{cm}^{-1}$			Espectro por métodos computacionales $\text{cm}^{-1}$		
$\text{cm}^{-1}$	Grupo	Banda	$\text{cm}^{-1}$	Grupo	Tipo de movimiento
3396	O-H	Banda ancha de intensidad media	3830	O-H	Estiramiento simétrico
3063	C-H Aromáticos	Región de picos débiles	3171	C-H's (1 y 4)	Estiramiento Asimétrico
3011			C-H's (7 y 8)		
2958	C-H Metilo	Región de picos débiles	3059	C-H Metilo	Asimétrico Simétrico
2881			3001		
1620	C=C Aromáticos	Picos intensos (característicos en aromáticos)	1658	C=C Aromáticos	Estiramiento simétrico
1495			1530		
1472			1480		
1453	H-C-H (CH <sub>2</sub> )	Pico intenso	1421	C-H's ( $\alpha$ y $\beta$ )	Fuera del plano
1388	O-H	Pico de intensidad media	1348	O-H	Fuera del plano
1289	C-O-C	Picos de intensidad media	1064	C-O-C	Estiramiento simétrico
1016					
1270	C-OH	Pico intenso	1192	C-OH	Estiramiento simétrico
823	C-H Aromáticos	Pico muy intenso	842	C-H <sub>10</sub>	Fuera del plano
			832	C-H <sub>4</sub>	
			826	C-H's (1 y 2)	

Como se muestra en la tabla 5.2.1.2, existe una diferencia entre los datos obtenidos por los dos espectros. Los datos obtenidos en el espectro de los cristales, son en base a datos teóricos y espectros tomados de diferentes bibliografías con características de grupos funcionales y el conjunto de estos. Los métodos computacionales tienen la ventaja de proporcionarnos datos más específicos, al poder visualizar el movimiento y el tipo del modo vibracional, sin embargo hay que recordar que son datos teóricos, que son comparados con los datos ya obtenidos de los cristales de medicarpina.

En el caso del espectro con cristales (ver apéndice A8), se muestra en  $3396\text{ cm}^{-1}$  una banda ancha de intensidad media característica del grupo  $\text{-OH}$ , así también se muestra de  $3063$  a  $3011\text{ cm}^{-1}$  pequeños picos que dan lugar a los  $\text{C-H}$  de los anillos aromáticos, además de los picos a  $1620$ ,  $1495$  y  $1472\text{ cm}^{-1}$  de los enlaces  $\text{C=C}$  de los aromáticos, a su vez aparecen de  $2958$  a  $2881\text{ cm}^{-1}$  pequeños picos de los  $\text{C-H}$ 's del metilo, también se muestran picos de intensidad media a  $1289$  y  $1270\text{ cm}^{-1}$  del estiramiento del  $\text{C-O}$  del grupo metoxi y por ultimo en  $823\text{ cm}^{-1}$  se observa un pico intenso para los  $\text{C-H}$  de los aromáticos, en el espectro infrarrojo es característico que un grupo funcional genere más de una pico en diferentes regiones, ya sea por el tipo de vibración o de las características del grupo funcional.

Por el método computacional se observó datos más específicos y en este caso solo se colocaron los más relevantes de la molécula ya que el cálculo nos brinda una gran lista de ellos, así tenemos que en  $3830\text{ cm}^{-1}$  aparece el grupo  $\text{O-H}$  con un estiramiento simétrico, en este caso aparece lejana la señal de los datos teóricos de las bibliografías revisadas, para los aromáticos tenemos en  $3171\text{ cm}^{-1}$  un estiramiento asimétrico de los  $\text{H}'\text{s } 1$  y  $4$  y de igual manera para los  $\text{H}'\text{s } 7$  y  $8$  en  $3164\text{ cm}^{-1}$ , de igual manera tenemos que a  $3059\text{ cm}^{-1}$  un estiramiento asimétrico de los  $\text{H}'\text{s}$  del metilo y en  $3001\text{ cm}^{-1}$  tenemos un estiramiento simétrico de los  $\text{H}'\text{s}$  del metilo, también se observó a  $1658$ ,  $1530$  y  $1480\text{ cm}^{-1}$  un estiramiento simétrico de los enlaces  $\text{C=C}$  de los anillos aromáticos, y observándose a  $1421\text{ cm}^{-1}$  un movimiento fuera del plano de los  $\text{H}'\text{s } 6\alpha$  y  $6\beta$ , a su vez a  $1064\text{ cm}^{-1}$  se presenta un estiramiento simétrico del enlace  $\text{C-O-C}$  y en  $1192\text{ cm}^{-1}$  un estiramiento simétrico del enlaces  $\text{C-OH}$ , y a su vez se observó a  $842$ ,  $832$  y  $826\text{ cm}^{-1}$  movimientos fuera del plano de los  $\text{H}'\text{s } 10,4$ ,  $1$  y  $2$  respectivamente de los anillos aromáticos.

## 5.2.2 Análisis conformacional del acetil medicarpina

A continuación se comparara de manera muy similar al procedimiento anterior, el análisis conformacional realizado al acetil medicarpina sometiendo a los confórmeros a los cálculos antes mencionados, por lo que principalmente se establecerá los confórmeros analizados de esta molécula. Estos se dividieron en los "cis" y "trans" de los grupos metoxi y acilo así como los planares y no planares respecto al grupo acilo (Figura 5.2.2.1), lo anterior es debido a que el análisis conformacional mostro que la molécula presento un isomerismo de rotámeros al solo modificarse los enlaces antes mencionados, como en el caso de la medicarpina.

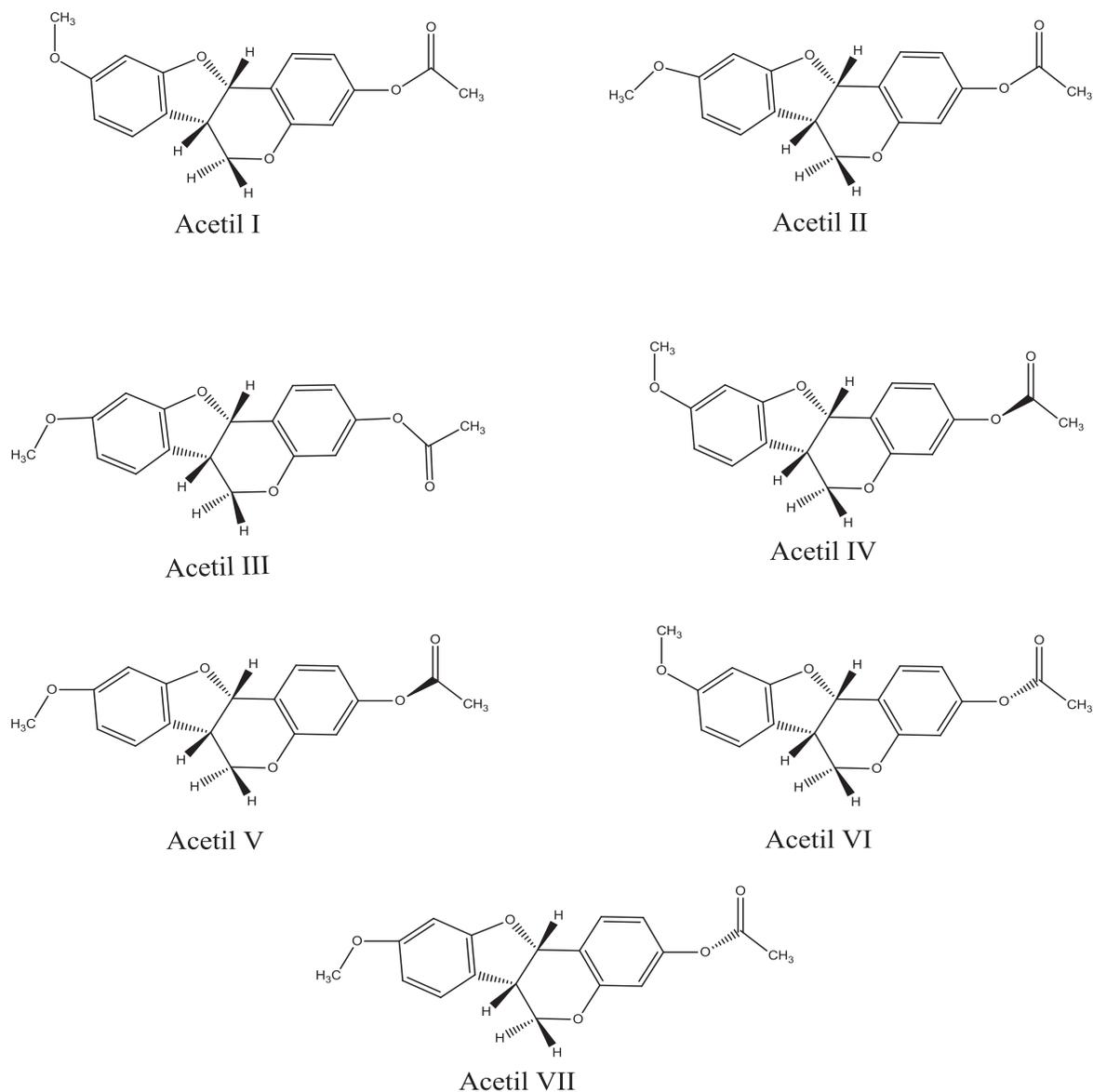


Figura 5.2.2.1 Confórmeros del acetil medicarpina (2)

Para este compuesto los confórmers aumentaron por la posición del grupo acilo y los métodos usados se comportaron de una manera muy similar como en los realizados en la medicarpina, mostrando a un confórmero de mayor estabilidad relativa, como se puede mostrar en la tabla 5.2.2.1.

Tabla 5.2.2.1 Valores de los cálculos aplicados al acetilado (2)

Confórmers Acetilado	Valores energéticos			Diferencia energética en Kcal/mol		
	RHF 6-31G**	B3LYP 6-31G**	B3LYP 6-311G**	RHF 6-31G** Kcal/mol	B3LYP 6-31G** Kcal/mol	B3LYP 6-311G** Kcal/mol
Acetil I	-1065.286844	-1071.6822734	-1071.9286603	$6.2 \times 10^{-5}$	0.123	0.111
Acetil II	-1065.2866198	-1071.6822718	-1071.928522	0.140	0.124	0.198
Acetil III	-1065.2866197	-1071.6821823	-1071.928486	0.14	0.18	0.221
Acetil IV	<b>-1065.2868441</b>	<b>-1071.6824704</b>	<b>-1071.9288381</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>	<b>0.0</b>
Acetil V	-1065.2866198	-1071.6817565	-1071.9284865	0.14	0.44	0.220
Acetil VI	-1065.2864723	-1071.6824183	-1071.9287129	0.233	0.03	0.078
Acetil VII	-1065.2860615	-1071.6811871	-1071.927582	0.491	0.805	0.788

\*Los valores en negritas corresponden a los valores de mayor estabilidad relativa.

Con el conjunto de funciones de base 6-31G\*\* en el método RHF, el confórmero de menor energía, por lo tanto el de mayor estabilidad relativa es el denominado “Acetil IV” con el grupo metoxi hacia arriba y el acilo fuera del plano, sin embargo se puede observar que el confórmero “Acetil I” genero una energía muy similar al más estable, como se puede observar en la tabla anterior.

Con el método B3LYP y el conjunto de funciones de base 6-31G\*\* el confórmero de menor energía es el “Acetil IV”, y como se puede observar la diferencia de energías entre los confórmers es más evidente que con el método RHF.

Como ya se ha mencionado el confórmero de mayor estabilidad relativa será dado por el método B3LYP y el conjunto de función de base 6-311G\*\* ya que es la base más grande y nos da una referencia más confiable sobre el mínimo global. En este caso el de menor energía fue el confórmero nombrado “Acetil IV” el cual tiene el grupo metoxi hacia arriba y el grupo acilo hacia enfrente fuera del plano (figura 5.2.2.2).

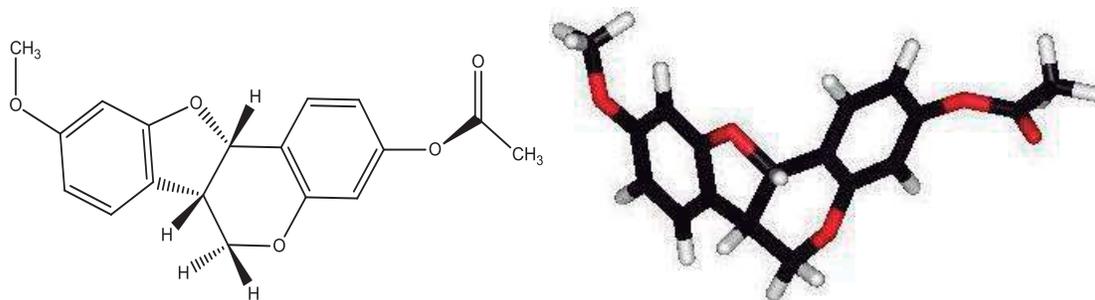


Figura 5.2.2.2. Confórmero de mayor estabilidad relativa por métodos computacionales del acetilado de medicarpina.

Para hacer más clara la diferencia entre los confórmeros se agregó en la tabla la columna con diferencias energéticas en Kcal/mol. Las energías son muy similares con la función de base 6-31G\*\* para RHF la mayor diferencia no sobrepasa los 0.5 Kcal/mol y las diferencias de energía entre los confórmeros no son muy grandes, así también con el método B3LYP no sobrepasa los 0.8 Kcal/mol de la menor energía y las diferencias entre los confórmeros son más notables que las anteriores, así también para el método B3LYP con la función de base 6-311G\*\* se observa un poco mayor la diferencia de energías con respecto al de más baja.

Tabla 5.2.2.2. Valores obtenidos de espectros infrarrojos por métodos computacionales y obtenidos de cristales del acetilado.

Espectro con cristales del acetil medicarpina			Espectro por métodos computacionales		
cm <sup>-1</sup>	Grupo	Banda	cm <sup>-1</sup>	Grupo	Tipo de movimiento
3070	C-H Aromáticos	Pico débil	3175 3165	C-H's (1 y 2) C-H's (7 y 8)	Estiramiento simétrico
2969 2856	C-H Metilo	Picos débiles (Tanto del grupo metoxi como del acilo)	3051 3001	C-H's Acilo C-H's Metilo	Estiramiento Asimétrico Estiramiento Simétrico
1743	C=O Acilo	Pico intenso	1836	C=O Acilo	Estiramiento simétrico
1617 1492 1429	C=C Aromáticos	Picos intensos	1660 1531 1463	C=C Aromáticos	Estiramiento simétrico
1373	H-C-H (CH <sub>2</sub> )	Pico intenso	1418	C-H's (α y β)	Fuera del plano
1235 1194	O=C-O Acilo	Picos de intensidad mediana	1222 1213	O=C-O Acilo	Estiramiento simétrico
1143 1021	C-O-C Metoxi	Picos intensos	1052 981	C-O-C Metoxi	Estiramiento simétrico
822	C-H Aromáticos	Pico intenso	842 826	C-H (10) C-H's (1,2 y 7,8)	Fuera del plano

Como en el análisis anterior, se agregó un análisis de espectro infrarrojo con el conformero de mayor estabilidad obtenido de los cálculos antes realizados sobre el acetil medicarpina (Acetil IV), el cual se comparó con el espectro obtenido de los cristales del acetil medicarpina (ver apéndice A16). En la tabla 5.2.2.2 se muestran los datos obtenidos por métodos computacionales y los datos obtenidos de un espectro de los cristales del acetilado.

Los datos obtenidos en el espectro de los cristales del acetilado (ver apéndice A16), son en base a datos teóricos y bibliográficos.

Para el caso de los cristales aparece en  $3070\text{ cm}^{-1}$  un pico pequeño asignado a C-H de los aromáticos, a su vez en  $1617$ ,  $1492$  y  $1429\text{ cm}^{-1}$  aparecen picos de intensidad media de los enlaces C=C de los anillos aromáticos, así de  $2969$  a  $2856\text{ cm}^{-1}$  existen pequeños picos de los enlaces C-H's de los metilos del grupo metoxi y del acilo, en este caso no se pudo especificar la pertenencia de las señales (picos) ya que el grupo funcional es el mismo, a su vez en  $1743\text{ cm}^{-1}$  encontramos un pico de intensidad media característico del C=O del acilo, así como en  $1235$  y  $1194\text{ cm}^{-1}$  encontramos picos de intensidad media del enlace O=C-O del acilo y en  $1143$  y  $1021\text{ cm}^{-1}$  picos fuertes pertenecientes al C-O-C del grupo metoxi, y los picos, en este caso intensos característicos de los grupos aromáticos a  $822\text{ cm}^{-1}$ , como se muestra en estos datos existen grupos que generan más de una señal ya sea por el movimiento generado o por las características del grupo funcional.

En el caso del espectro por métodos computacionales nos es más fácil identificar el movimiento de cada átomo dentro de la molécula y el tipo de este, ya que se puede visualizar, así tenemos que en  $3175\text{ cm}^{-1}$  se observó un estiramiento simétrico de los enlaces H's 1 y 2, y en  $3165\text{ cm}^{-1}$  un estiramiento simétrico de los H's 7 y 8, de igual manera tenemos que a  $3051\text{ cm}^{-1}$  existe un estiramiento asimétrico de los H's del enlace C-H del metilo perteneciente al acilo y en  $3001\text{ cm}^{-1}$  se observó un estiramiento simétrico de los H's del metilo perteneciente al metoxi, así también observándose a  $1836\text{ cm}^{-1}$  un estiramiento simétrico del enlace C=O del acilo, así como en  $1660$ ,  $1531$  y  $1463\text{ cm}^{-1}$  se observó un estiramiento simétrico de los enlaces C=C de los aromáticos, también se observó un movimiento fuera del plano de los H's  $\alpha$  y  $\beta$  a  $1418\text{ cm}^{-1}$ , de igual manera se observó a  $1222$  y  $1213\text{ cm}^{-1}$  un estiramiento simétrico del enlace O=C-O del acilo y a su vez en  $1052$  y  $981\text{ cm}^{-1}$  se observó un estiramiento simétrico del enlace C-O-C perteneciente al grupo metoxi, así también se observó un movimiento fuera del plano para los H's 1,2,7 y 8 a  $826\text{ cm}^{-1}$  y de igual manera se observó el mismo movimiento para el H-10 a  $842\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a los anillos aromáticos.

## 6. Conclusiones

Los alcoholes son compuestos extremadamente versátiles con los cuales se puede llegar a sintetizar una gran variedad de compuestos de diversas características. En el caso de la medicarpina y su acetilado reportados en este trabajo, ambos con propiedades biológicas reportados en trabajos previos como fungicidas.

La medicarpina y su acetilado fueron caracterizados por RMN- $^1\text{H}$ , DEPT, RMN- $^{13}\text{C}$ , IR y EM, se complementó la asignación de señales usando los experimentos bidimensionales COSY, NOESY y HETCOR. De manera adicional a este trabajo de síntesis se aplicaron métodos computacionales para hacer un análisis conformacional de estos compuestos y un comparativo del espectro de IR tanto de la medicarpina como del derivado acetilado.

De acuerdo a la asignación de las señales y su correlación, se observó un efecto NOE dentro de la molécula entre los hidrógenos H-6 $\alpha$ , H-6 $\beta$  y el H-11a en el espectro NOESY tanto para la medicarpina como para el acetil medicarpina, este efecto se pudo cuantificar con datos obtenidos del modelado molecular y visualizar la posición de los hidrógenos en la molécula en tercera dimensión (Figura 6.1). En los estudios conformacionales se demostró que el confórmero rotámero “med III” (tabla 5.2.1.1) es el de mayor estabilidad relativa a B3LYP/6-311G\*\* para la medicarpina, y que difiere en la posición del hidrógeno del grupo hidroxilo de la imagen de rayos “X” con que se contaba.

En relación con el derivado acetilado, se muestra satisfactoria la formación de cristales y comprobándose por RMN y otros estudios la adición del grupo acilo a la medicarpina, a su vez el estudio conformacional nos señala como de mayor estabilidad el confórmero rotámero “Acetil IV” (tabla 5.2.2.1) el cual muestra al grupo acilo fuera del plano.

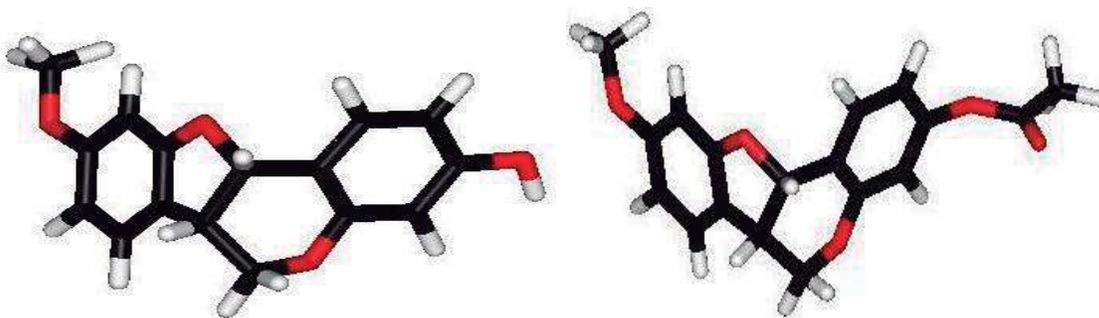


Figura 6.1 Confórmeros de medicarpina (izquierda) y acetilado (derecha) de mayor estabilidad relativa.

## 7. PARTE EXPERIMENTAL

### 7.1 Instrumentación y equipo

Todos los disolventes utilizados fueron destilados en el laboratorio.

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato EVEL modelo 1237.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  (RMN  $^1\text{H}$ ) así como los espectros de  $^{13}\text{C}$  (RMN  $^{13}\text{C}$ ) fueron obtenidos en el Instituto de Investigaciones de Químico-Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en un espectrómetro Varian Mercury plus a 400 MHz y un espectrómetro Varian Mercury plus a 100 MHz. En este espectrómetro también se realizaron las determinaciones de los diagramas de correlación heteronuclear  $^{13}\text{C}/^1\text{H}$  (HECTOR) y de correlación homonuclear  $^1\text{H}/^1\text{H}$  (COSY). Las determinaciones se realizaron en  $\text{CDCl}_3$  (deuterocloroformo) como disolvente y TMS (tetrametilsilano) como referencia interna.

Los espectros de masas se determinaron en un equipo Hewlett Packard modelo 5989B, acoplado a un cromatógrafo de gases Hewlett Packard modelo 5890-serie 2 Plus.

Para las cromatografías en columna se usó gel de sílice malla 70-230 ASTM (Whatman) y utilizando como fase móvil mezclas de Hexano: acetato de etilo.

## 7.2 Generalidades

### a) 3-hidroxi-9-metoxipterocarpan

De 15 a 20 gr de duramen de *D. congestiflora* molido se colocaron en un dedal para llevar a reflujo con 200 ml de Hexano en un equipo soxhletl durante 4 horas. Transcurrido este tiempo se dejó reposar por un día el extracto de hexano en un matraz balón para obtener cristales de medicarpina de un color amarillento en forma circular con un punto de fusión de 115-116°C y por re-cristalización sucesiva hasta punto de fusión constante dieron 117-118°C (art. cit. 132-133.5°C)<sup>11</sup>; **<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ** 3.53 (ddd, *J*= 11.0, 6.7, 5.0 Hz, 1H, H-6a), 3.62 (t, *J*= 11.0 Hz, 1H, H-6 β), 3.77 (s, 3H, OMe), 4.24 (dd, *J*= 11.0, 5.0, 1H, H-6α), 5.27 (a, 1H, OH), 5.50 (d, *J*= 6.7 Hz, 1H, H-11 a), 6.41 (d, *J*=2.5 Hz, 1H, H-4), 6.45 (s, 1H, H-10), 6.46 (dd, *J*= 5.8, 2.2 Hz, 1H, H-8), 6.55 (dd, *J*= 8.4, 2.5 Hz, 1H, H-2), 7.13 (d, *J*= 8.8 Hz, 1H, H-7), 7.37 (d, *J*= 8.5 Hz, 1H, H-1). **<sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ** 39.4 (C-6a), 55.4 (MeO), 66.4 (C-6), 78.5 (C-11a), 96.8 (C-10), 103.6 (C-4), 106.3 (C-8), 109.7 (C-2), 112.5 (C-11b), 119.1 (C-6b), 124.7 (C-7), 132.1 (C-1), 156.5 (C-10a), 157.0 (C-9), 160.5 (C-4a), 161.0 (C-3). **C [α]<sup>20</sup><sub>D</sub>**= +216.86 (c=0.064, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) (art. cit. **C [α]<sup>20</sup><sub>D</sub>**= +223.1 (c=0.16 en acetona))<sup>11</sup>, **Rf**: 0.32 (Hexano: Acetato de etilo; 8:2), **IR** Vmax 3393 cm<sup>-1</sup> (O-H Amplio y fuerte), 3063 a 3012 (C-H del Aromático), 2958 a 2881 (C-H del Metilo), 1620, 1495 y 1472 (C=C estiramiento Aromático), **EM** (20 ev): m/z (int. Rel.): 270 [M<sup>+</sup>] 106 (3), 148 (20), 253 (30), [M<sup>+</sup>] para calc. C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>; 270

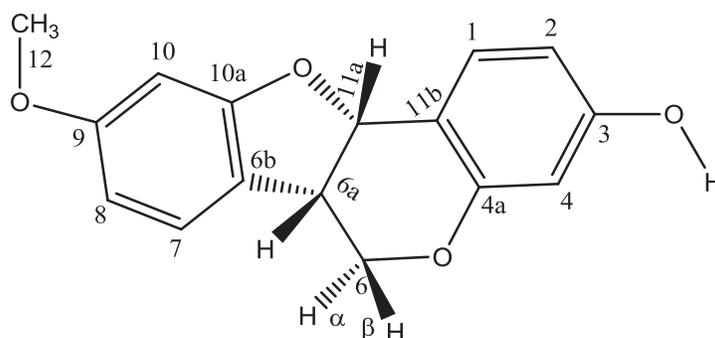


Figura 7.1. 3-hidroxi-9-metoxipterocarpan (medicarpina).

## b) 3-acetil-9-metoxipterocarpan

Del molido antes mencionado, se le realizó el mismo procedimiento con acetato de etilo obteniéndose un aceite de un color morado oscuro de una textura chiclosa. De 1 gr de aceite del extracto de acetato de etilo se le agrego 4 ml de piridina (49.60 mmol) y 4 ml (42.31 mmol) de anhídrido acético, el cual se dejo reposar por 24 horas a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se le agregó 5 ml de agua y se trato de la siguiente forma la fase orgánica; se lavo dos veces con acetato de etilo 30 ml, dos lavados con 50 ml de acido clorhídrico al 10%, dos lavados con 30 ml bicarbonato de sodio saturado, dos lavados con 30 ml de cloruro de sodio saturado y se secó con sulfato de sodio anhidro y se filtro, para posteriormente evaporar en rota-vapor obteniendo un aceite denso de color café oscuro. Para la purificación el producto anterior se pasó a través de una cromatografía en columna utilizando 10 gr de gel de sílice (malla 70-230 ASTM) eluyendo con una mezcla de hexano: acetato de etilo 9:1 en fracciones de 10 ml. En las fracciones 20-23 se observó la formación de cristales blancos en forma de agujas con un punto de fusión de 105-106°C correspondientes al éster de medicarpina. **<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$  2.30 (s, 3H, OAc), 3.56 (ddd,  $J = 10.2, 7.2, 3.8$  Hz, 1H, H-6a), 3.63 (t,  $J = 9.2$  Hz, 1H, H-6 $\beta$ ), 3.77 (s, 3H, OMe), 4.27 (dd,  $J = 10.7, 4.8$  Hz, 1H, H-6 $\alpha$ ), 5.52 (d,  $J = 6.6$  Hz, 1H, H-11a), 6.45 (s, 1H, H10), 6.47 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H, H-8), 6.71 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H, H-4), 6.80 (dd,  $J = 8.4, 2.3$  Hz, 1H, H-2), 7.13 (dd,  $J = 8.6, 0.7$  Hz, 1H, H-7), 7.54 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1H, H-1). **<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$  21.0 (Me), 39.4 (C-6a), 55.4 (MeO), 66.5 (C-6), 78.0 (C-11a), 96.8 (C-10), 106.5 (C-8), 110.7 (C-4), 115.2 (C-2), 117.7 (C-11b), 118.7 (C-6b), 124.7 (C-7), 131.7 (C-1), 151.5 (C-10a), 156.1 (C-9), 160.5 (C-4a), 161.1 (C-3), 169.1 (C=O), **C. [ $\alpha$ ]<sup>20</sup><sub>D</sub> = +310.84** (c=0.048, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), **Rf:** 0.39 (Hexano: acetato de etilo, 8:2), **IR**  $\nu_{max}$  3070 cm<sup>-1</sup> (C-H del aromático), 2969-2856 (C-H del metilo tanto del acilo como del metoxi), 1743 (C=O del acetilo), 1617, 1492 y 1429 (C=C estiramiento aromático), 1194 (O=C-O del acetilo), **EM** (20 eV) m/z; [M<sup>+</sup>] 312, 43 (100), 148 (8), 253 (12), 270 (48), [M<sup>+</sup>] calculada para C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>; 312.

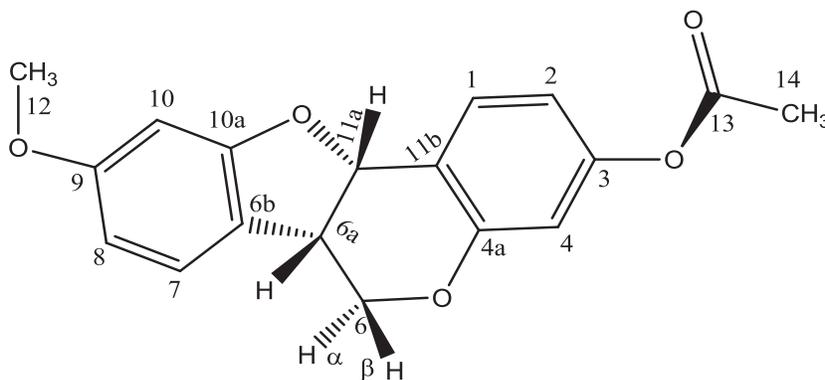
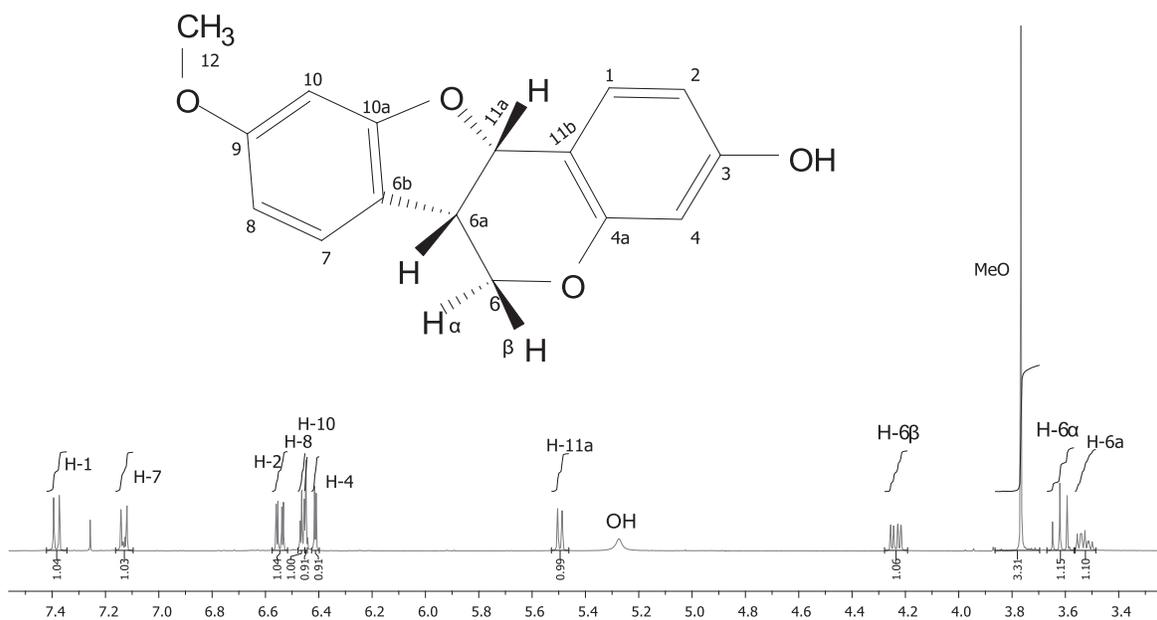
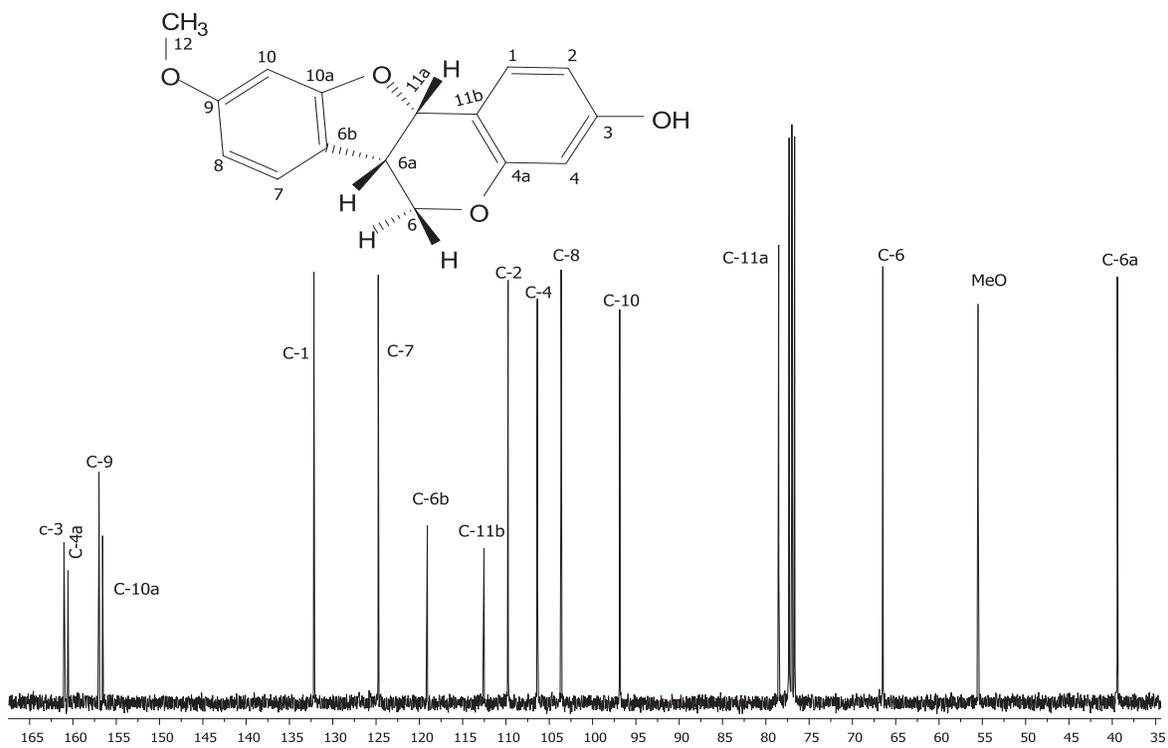


Figura 7.2. 3-acetil-9-metoxipterocarpan (Acetil Medicarpina).

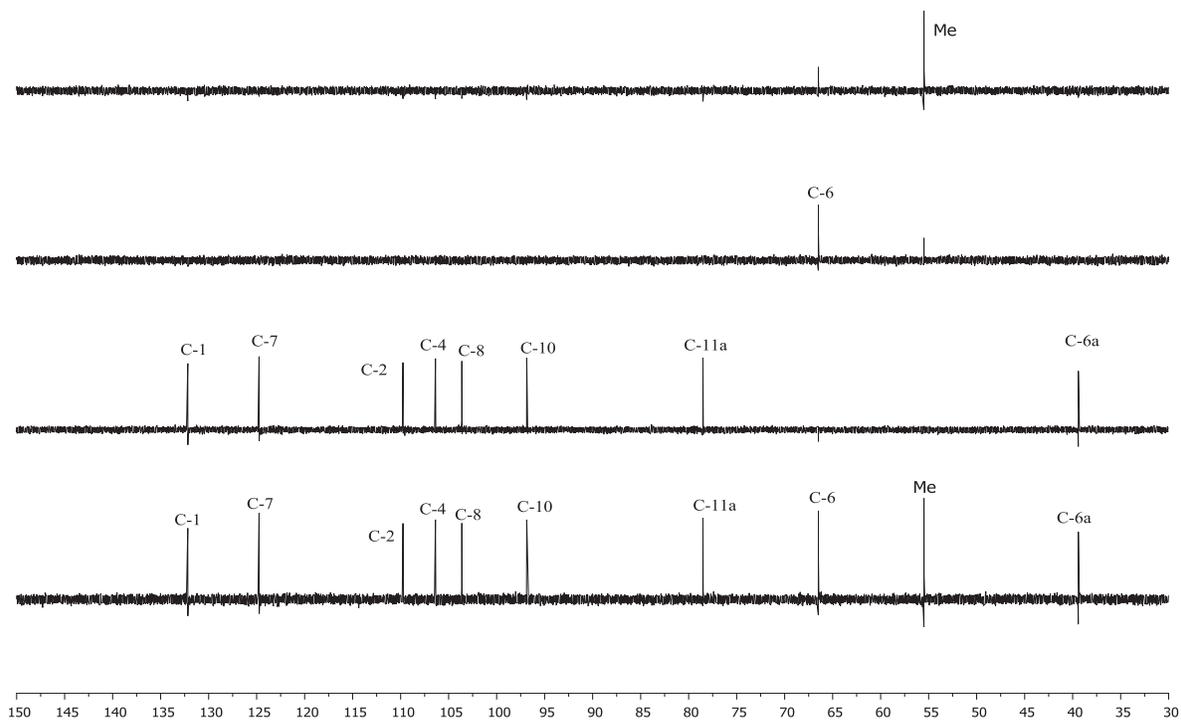
## **8. Apéndice de espectros**



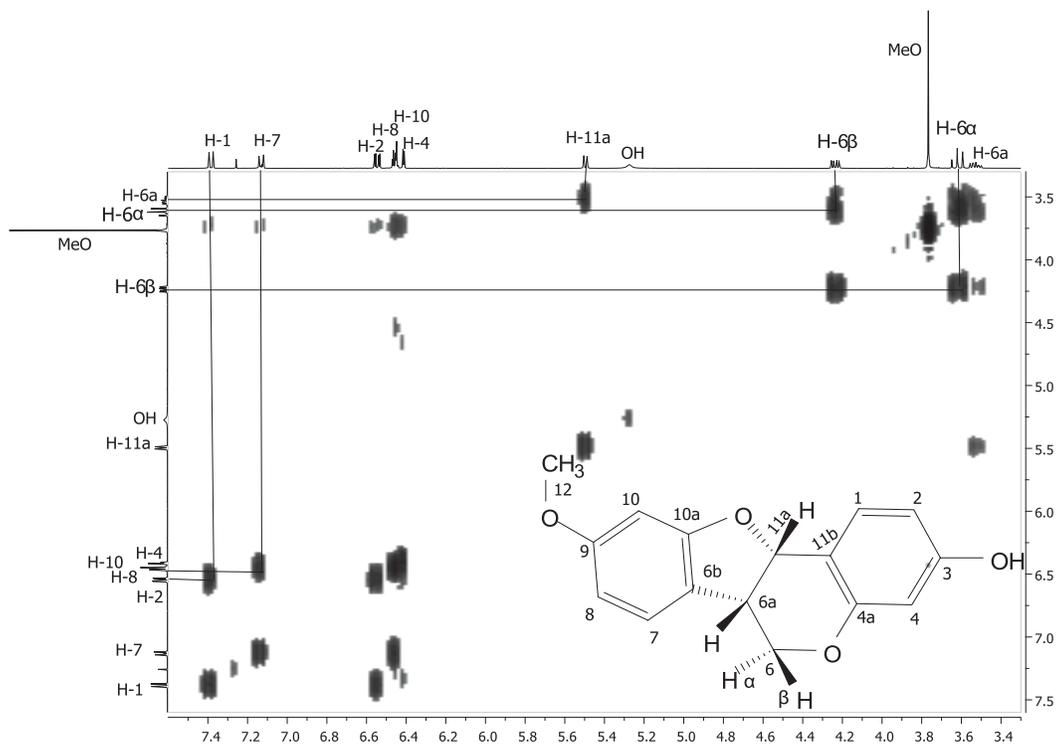
A1. Espectro de RMN- $^1\text{H}$  de medicarpina (1) a 400 MHz en  $\text{CDCl}_3$



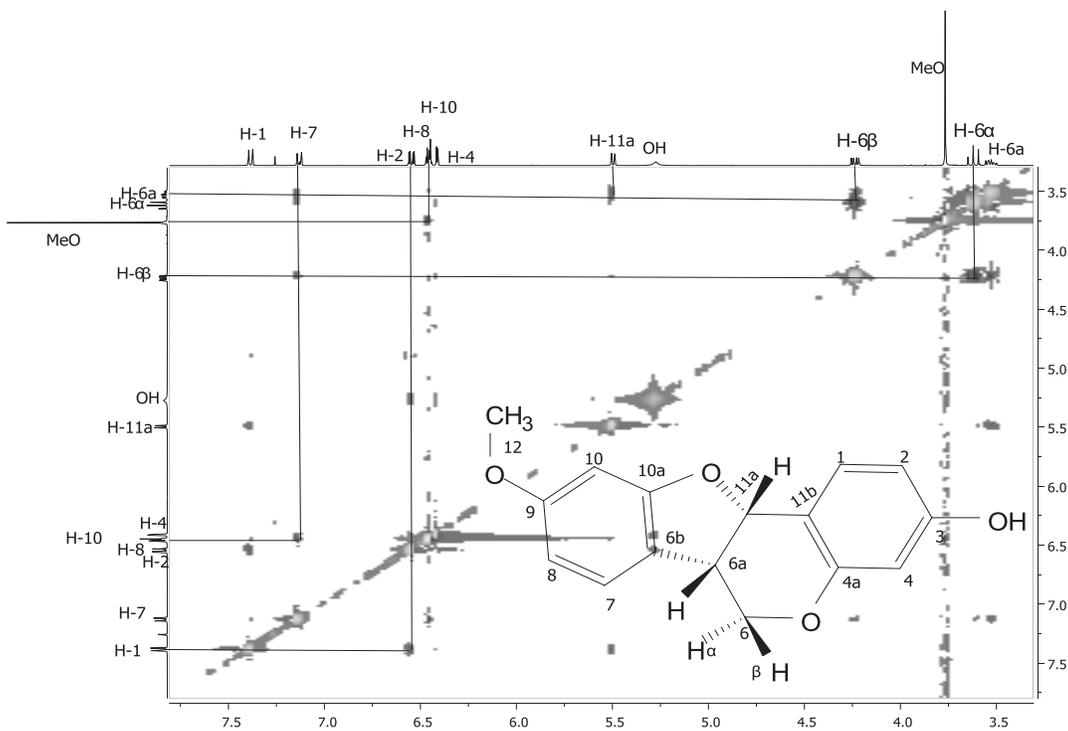
A2. Espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  de medicarpina (1) a 100 MHz en  $\text{CDCl}_3$



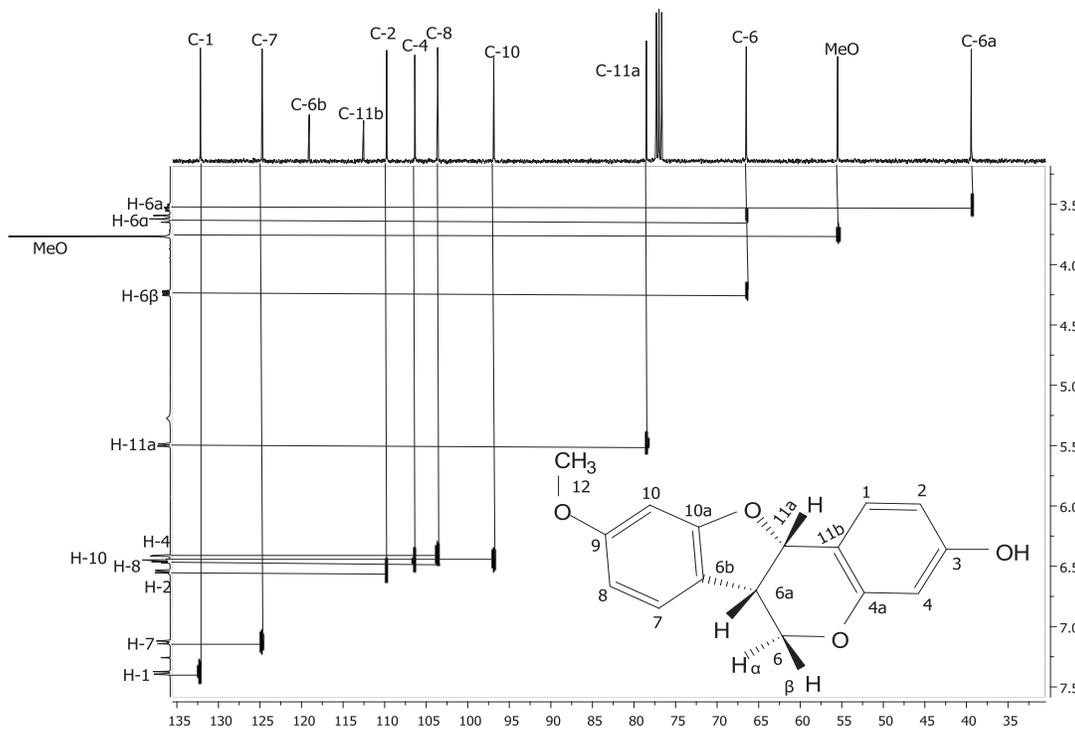
A3. Espectro DEPT de medicarpina (1)



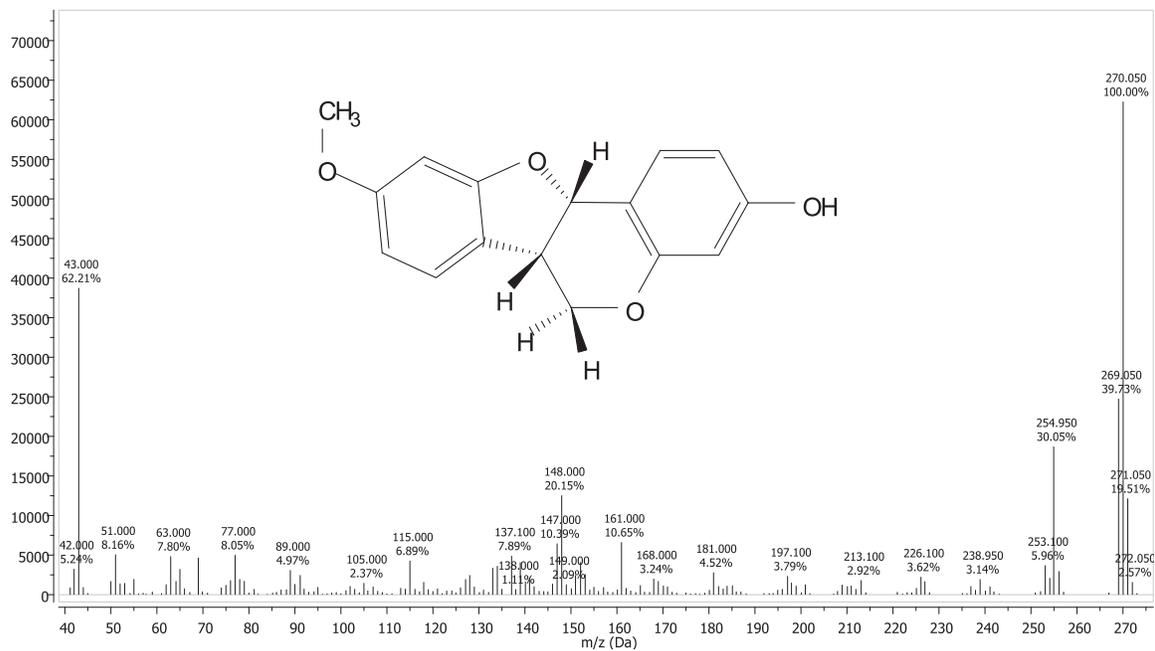
A4. Espectro COSY de medicarpina (1)



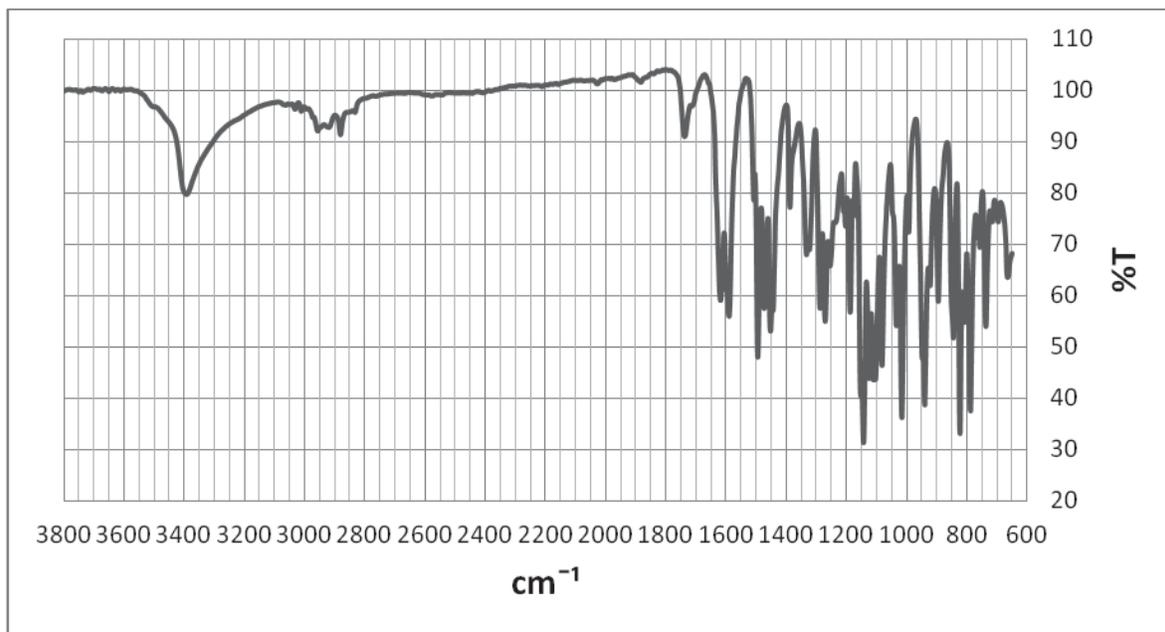
A5. Espectro NOESY de medicarpina (1)



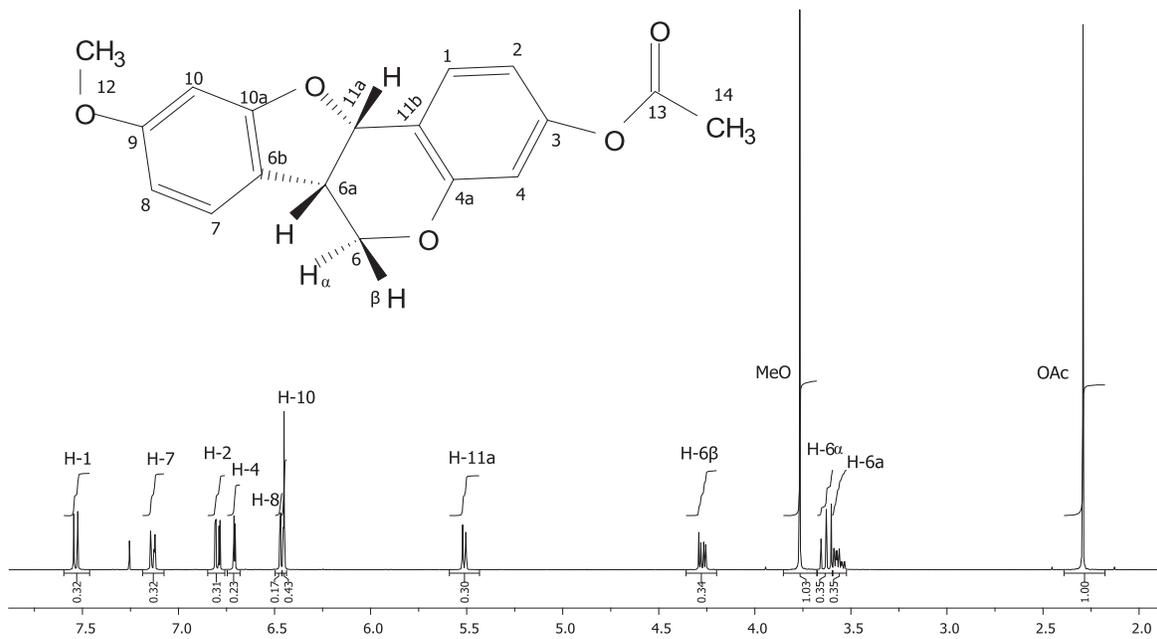
A6. Espectro HETCOR de medicarpina (1)



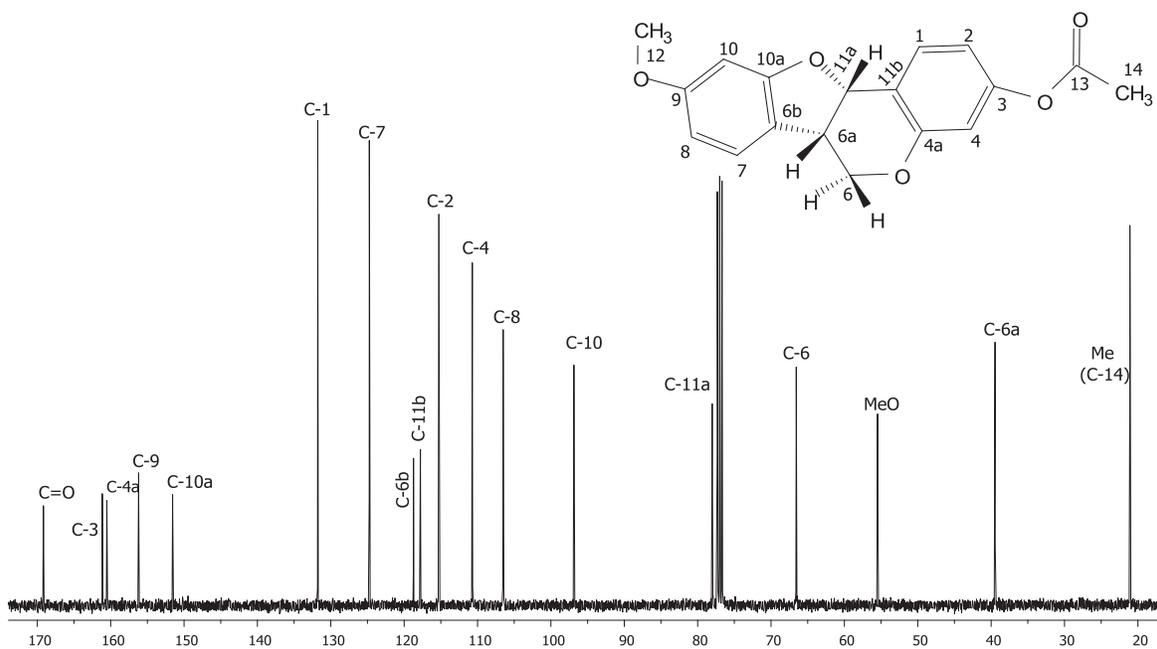
A7. Espectro de masas de medicarpina (1)



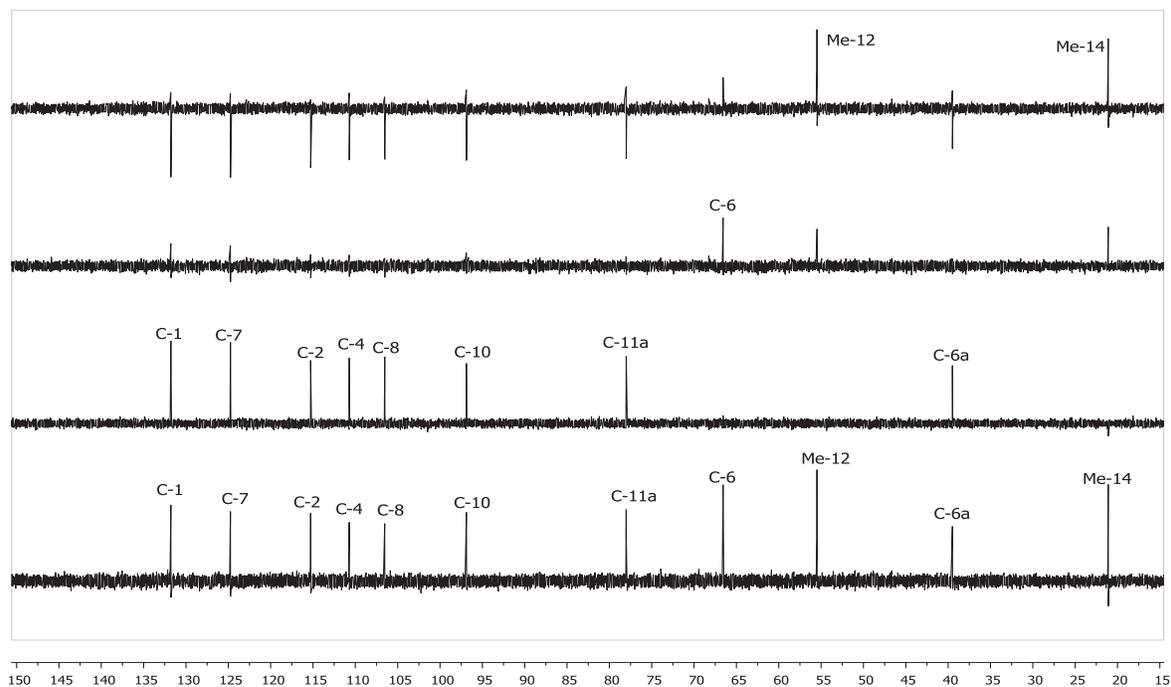
A8. Espectro infrarrojo de medicarpina (1)



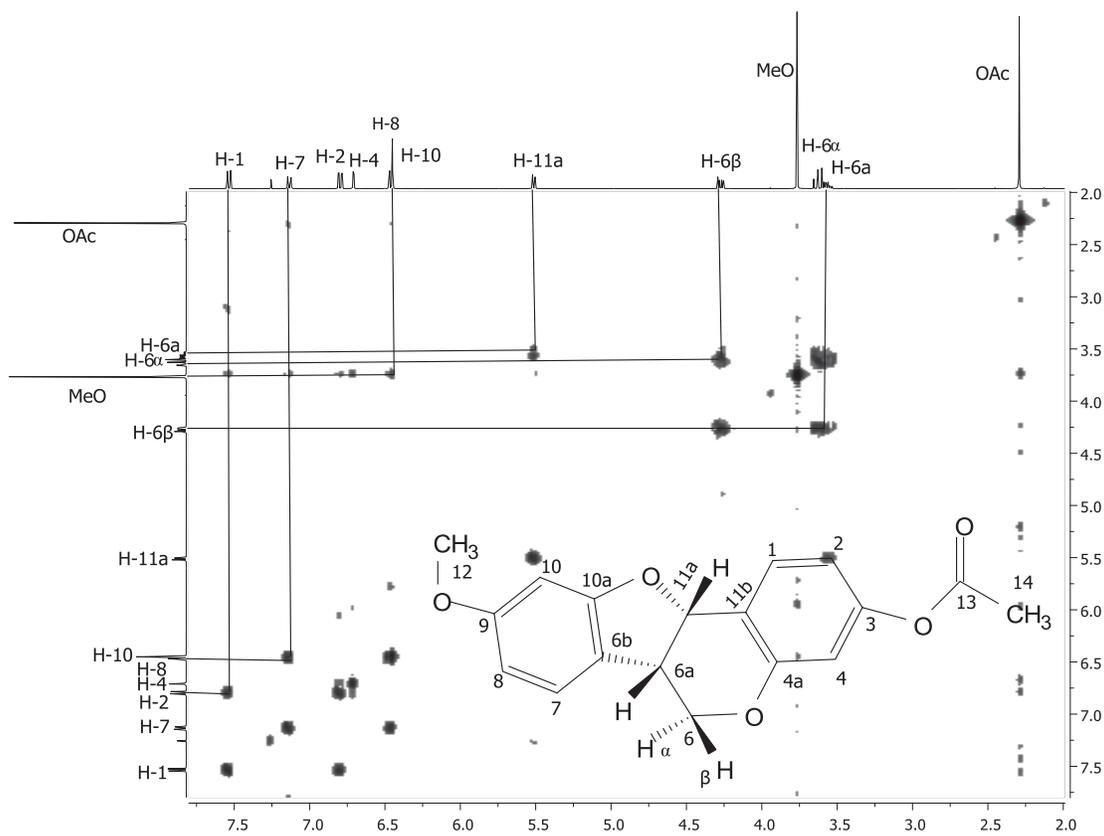
A9. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del Acetil medicarpina (2) a 400 MHz en CDCl<sub>3</sub>



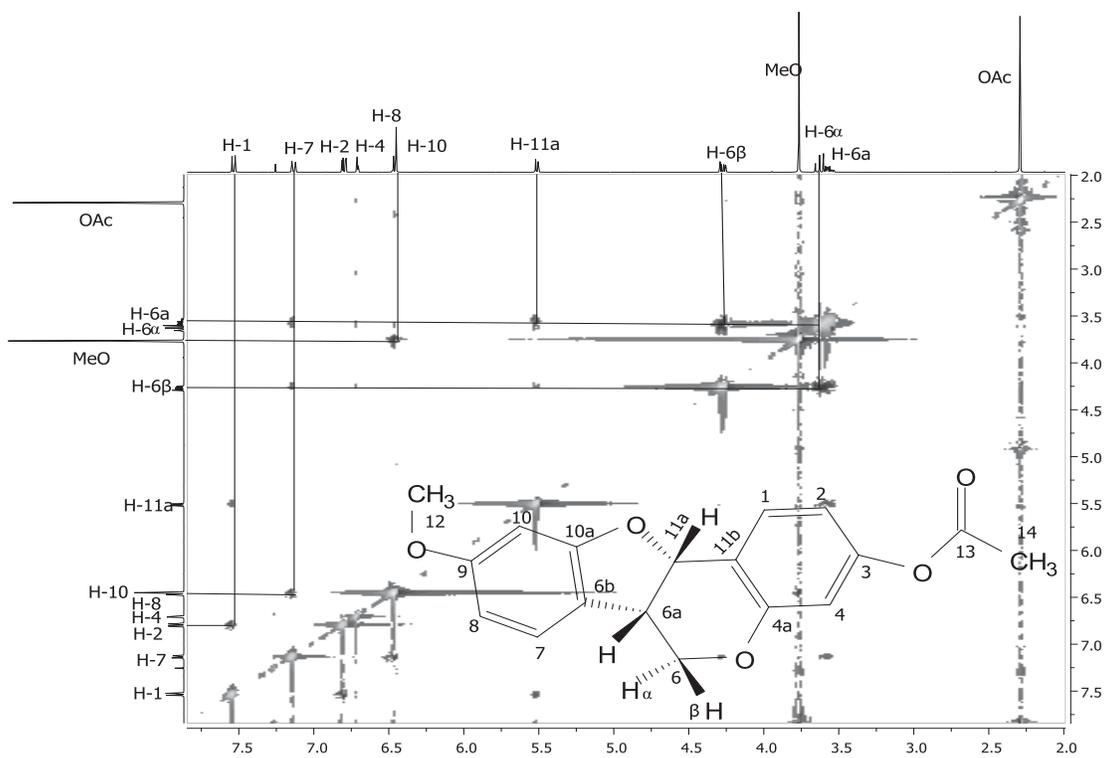
A10. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del Acetil medicarpina (2) a 100 MHz en CDCl<sub>3</sub>



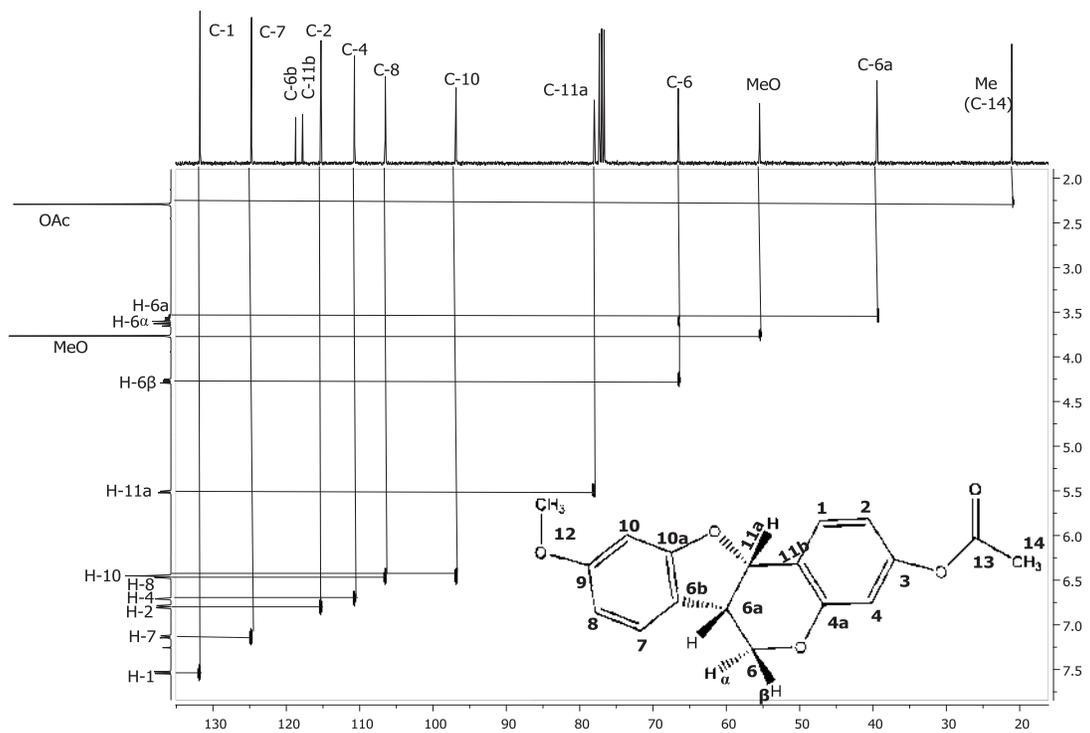
A11. Espectro DEPT del Acetil medicarpina (2)



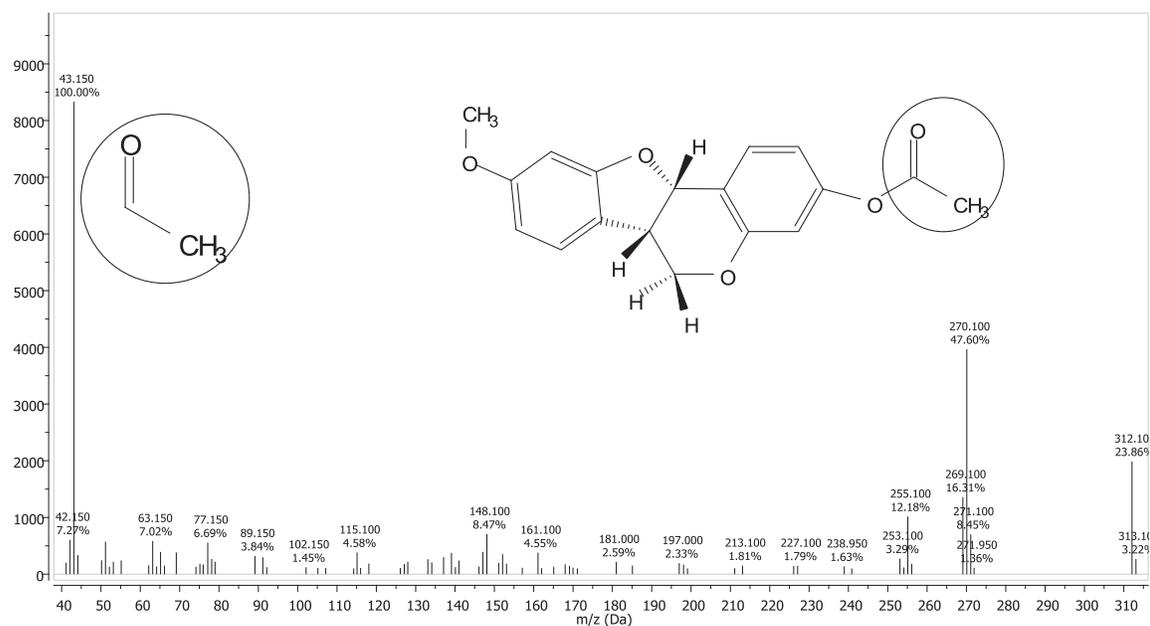
A12. Espectro COSY del Acetil medicarpina (2)



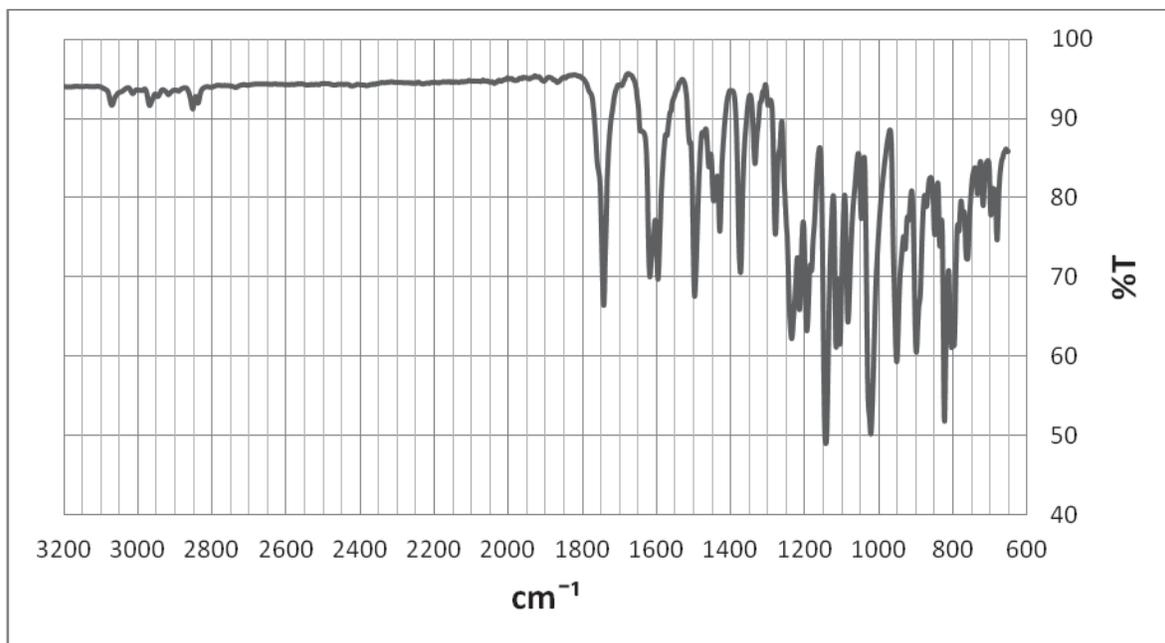
A13. Espectro NOESY del Acetil medicarpina (2)



A14. Espectro HETCOR del Acetil medicarpina (2)



A15. Espectro de masas del Acetil medicarpina (2)



A16. Espectro infrarrojo del Acetil medicarpina (2)

## 8. Bibliografía

1. Wade Jr. L. G., "Química orgánica", Quinta edición (2004), edit. Pearson Prentice Hall.
2. John McMurry "Organic Chemistry" Quinta edición (2000), edit. Thomson Learning.
3. Robert T. Morrison, Robert N. Boyd. "Química orgánica", Quinta edición (1998), edit. Pearson Addison Wesley.
4. María I. Nicolás V., Eric Marín C., Francisco M. Castro, René Miranda. "Algunos aspectos básicos de la química computacional", Primera edición (2006), edit. UNAM Cuautlitán
5. Alan Hinchliffe, "Molecular Modeling for beginners", Primera edición (2003), Edit. Wiley
6. Irán N. Levine, "Quantum chemistry", Cuarta edición (1991), edit Pearson Prentice Hall
7. Robert M. Silverstein, Francis X. Webster, David J. Kiemle, "Spectrometric identification of organic compounds", Septima edición (2005), edit John Wiley.
8. Donal L. Pavía, Gary M. Lampman, George S. Kriz., "Introduction to spectroscopy", Tercera edición (2001), Ed. Thomson Learning.
9. Toshio Aoki, Tomoyoshi Akashi, Shin-ichi Ayabe "Flavonoids of Leguminous Plants: structure, biological activity and biosynthesis", Journal of plants Res. 113: 475-488 (2000)
10. Lining Gou, Richard A. Dixon, Nancy L. Paiva, "Conversion of Vestitone to Medicarpin in alfalfa (*Medicago Sativa* L.) Is catalized by two independent enzymes" The journal of biological chemistry vol. 269: 22372-22378 (1994)
11. S. Deesamer, W. Chavasiri, N. Chaichit, N. Muangsin and U. Kokpol, "9-Methoxy-6a,11a-dimethyl-6a,11a-dihydro-6H-1-benzofuro[3,2-c]chromen-3-ol from *Dalbergia oliveri*", Acta Crystallographic (2009). E65, o2387
12. Carmen Martinez S., Pablo López A., José Cruz de León, Teresa Garcia M., José G. Rutiaga., Gerardo Vázquez M., Joaquín Tamariz M., Rafael Herrera B., "Medicarpin, an antifungal compound identified in hexane extract of *Dalbergia congestiflora pittier* heartwood", International Biodeterioration & Biodegradation 69 (2012) 38-40
13. Lirenny Q. Tinoco, "Evaluación de la actividad antifúngica de la acetil medicarpina", Tesis de Licenciatura (2012)
14. [http://www.ua.es/cuantica/docencia/qc\\_av/qc\\_av\\_b/node1.html](http://www.ua.es/cuantica/docencia/qc_av/qc_av_b/node1.html)
15. [http://www.izt.uam.mx/cosmosecm/QUIMICA\\_TEORICA.html](http://www.izt.uam.mx/cosmosecm/QUIMICA_TEORICA.html)