



**UNIVERSIDAD MICHUACANA DE SAN  
NICOLÁS DE HIDALGO**

---



**FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA**

**Estudio de la reactividad de hidroxivouacapanos en  
condiciones ácidas**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**QUÍMICA FARMACOBIOLOGA**

**PRESENTA:**

**DALIA IBET DÍAZ ARELLANO**

**DIRECTORES**

**D.C. ROSA ELVA NORMA DEL RÍO TORRES**

**D.Q. MARIO ARMANDO GÓMEZ HURTADO**

## **DEDICATORIA**

A mis padres:

Ascencion y Lourdes por el gran apoyo y cariño que me han brindado, porque ustedes son mi soporte, mi orgullo y mi más grande ejemplo. Gracias por darme la vida y enseñarme que todo con sacrificio y dedicación se puede lograr, gracias por su confianza, pero sobre todo por su amor. Por ustedes soy lo que soy y por ustedes seguiré persiguiendo mis sueños...

A mi hermano José Alberto, porque con tu entusiasmo hermano me has ayudado a olvidarme del estrés y las preocupaciones. Siempre quiero ser un gran ejemplo para ti.

A mi abuelita Toña, por ser mi gran consejera, por apoyarme en cada momento y por su amor incondicional.

A mi asesora de tesis:

Doctora Rosa Elva Norma del Río Torres, por darme la oportunidad de integrarme en su grupo de trabajo, pero sobre todo por el gran apoyo que nos brinda a cada uno de sus alumnos, por la paciencia que tiene para guiarnos y explicarnos cuando no entendemos algo. Muchas gracias doctora por enseñarnos el gran amor y pasión que se puede llegar a sentir por la ciencia.

## AGRADECIMIENTOS

A mi coasesor: Doctor Mario Armando Gómez Hurtado, por su dedicación en este proyecto, por su paciencia para resolver mis dudas y su ayuda para la redacción de la tesis.

A mis sinodales: D.Q. Gabriela Rodríguez García, D.C. Yliana López Castro, D.C. Consuelo de Jesús Cortés Penagos, M.C. Viridiana Aguilera Sánchez y al D.C. Ernesto Ramírez Briones, por el tiempo dedicado para la revisión de la tesis y sus aportaciones para la corrección de la misma.

Al Dr. Pedro Joseph Nathan del Departamento de Química del CINVESTAV por su apoyo económico, de la beca de Ayudante de Investigador del SNI.

Al Q.F.B. José Manuel Zaragoza Ríos y a la M.C. Concepción Armenta Salinas por la determinación de los espectro de RMN.

A Brandon por ser mi compañero en todo momento, por su gran apoyo incondicional, por su amor y comprensión en mis días de estrés y desesperación, por siempre estar ahí para mí. Gracias por estar en mi vida y compartir momentos tan especiales para mí.

A mi prima Yunuén, que es como mi hermana, por estar conmigo en todo momento, por apoyarme y escucharme cuando lo necesito, por darme ánimos en los momentos difíciles. Gracias hermana.

A mis amigas Lupita, Karla, Arianna, Fany, por los días de risas y lágrimas, por su amistad y apoyo cuando lo necesito. Gracias por todos los momentos compartidos.

A mis compas Daniel y Gerardo por ser grandes compañeros de estudio.

A mis compañeros de laboratorio: Armando, Cheli, Ode, Gaby, Sinu, Eva, Moni, Rosalba, Dona, Esahú, Viri, Toño, Rosy, Héctor, Monse, por su amistad y apoyo,

pero más que nada por hacer del trabajo de laboratorio algo bonito. Gracias por todas las sonrisas compartidas.

A los niños de servicio: Irving, Luis Ángel, Giovanni, Monsesita, por la ayuda que nos brindan.

A Dios por darme la vida y la dicha de poder seguir cumpliendo mis sueños, por darme fortaleza y valentía cuando lo necesito.

Agradezco a toda mi familia, por el apoyo que me brindan y por compartir conmigo cada momento de mi vida.

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Química de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la dirección de la D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres y el D.Q. Mario Armando Gómez Hurtado con apoyo de los proyectos CIC-UMSNH.

# ÍNDICE DE CONTENIDO

|                                                                                                                                                                                             |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| SÍMBOLOS, ACRÓNIMOS Y ABREVIATURA.....                                                                                                                                                      | i         |
| RESUMEN.....                                                                                                                                                                                | iii       |
| ABSTRACT.....                                                                                                                                                                               | iv        |
| <b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>                                                                                                                                                                 | <b>1</b>  |
| 1.1 Terpenos.....                                                                                                                                                                           | 4         |
| <b>2. ANTECEDENTES.....</b>                                                                                                                                                                 | <b>8</b>  |
| 2.1 Alcoholes: clasificación y propiedades.....                                                                                                                                             | 8         |
| 2.2 Reacciones de eliminación.....                                                                                                                                                          | 9         |
| 2.2.1 Reacciones de eliminación E1.....                                                                                                                                                     | 10        |
| 2.2.2 Reacciones de eliminación E2.....                                                                                                                                                     | 12        |
| 2.3 Deshidratación de alcoholes.....                                                                                                                                                        | 13        |
| 2.3.1 Regioselectividad en la deshidratación de alcoholes: Regla de Zaitsev.....                                                                                                            | 15        |
| 2.4 Reacciones de reordenamiento.....                                                                                                                                                       | 15        |
| 2.4.1 Reordenamiento Wagner-Meerwein.....                                                                                                                                                   | 17        |
| 2.4.2 Reacciones de reordenamiento Westphalen-Lette.....                                                                                                                                    | 20        |
| 2.5 Género <i>Caesalpinia</i> .....                                                                                                                                                         | 21        |
| 2.5.1 <i>Caesalpinia pulcherrima</i> .....                                                                                                                                                  | 24        |
| <b>3. JUSTIFICACIÓN.....</b>                                                                                                                                                                | <b>26</b> |
| <b>4. OBJETIVOS.....</b>                                                                                                                                                                    | <b>27</b> |
| <b>5. PARTE EXPERIMENTAL.....</b>                                                                                                                                                           | <b>28</b> |
| 5.1 Datos de la planta.....                                                                                                                                                                 | 28        |
| 5.2 Ácidos utilizados.....                                                                                                                                                                  | 28        |
| 5.3 Preparación del nitrato de Plata (AgNO <sub>3</sub> ).....                                                                                                                              | 28        |
| 5.4 Obtención del extracto.....                                                                                                                                                             | 29        |
| 5.5 Aislamiento del 6 $\beta$ -benzoiloxi-5 $\alpha$ -hidroxivouacapano (26), 5 $\alpha$ -hidroxivouacapano (27) y 6 $\beta$ -benzoiloxi-5 $\alpha$ ,7 $\beta$ -hidroxivouacapano (28)..... | 29        |
| 5.5.1 Aislamiento del 6 $\beta$ -benzoiloxi-5 $\alpha$ -hidroxivouacapano (26).....                                                                                                         | 29        |
| 5.5.2 Aislamiento de 5 $\alpha$ -hidroxivouacapano (27).....                                                                                                                                | 30        |
| 5.5.3 Aislamiento de 6 $\beta$ -benzoiloxi-5 $\alpha$ ,7 $\beta$ -hidroxivouacapano (28).....                                                                                               | 31        |
| 5.6 Reacciones de deshidratación en medio ácido.....                                                                                                                                        | 32        |
| <b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>                                                                                                                                                       | <b>35</b> |
| <b>7. CONCLUSIONES.....</b>                                                                                                                                                                 | <b>60</b> |

|                      |    |
|----------------------|----|
| 8. BIBLIOGRAFÍA..... | 61 |
|----------------------|----|

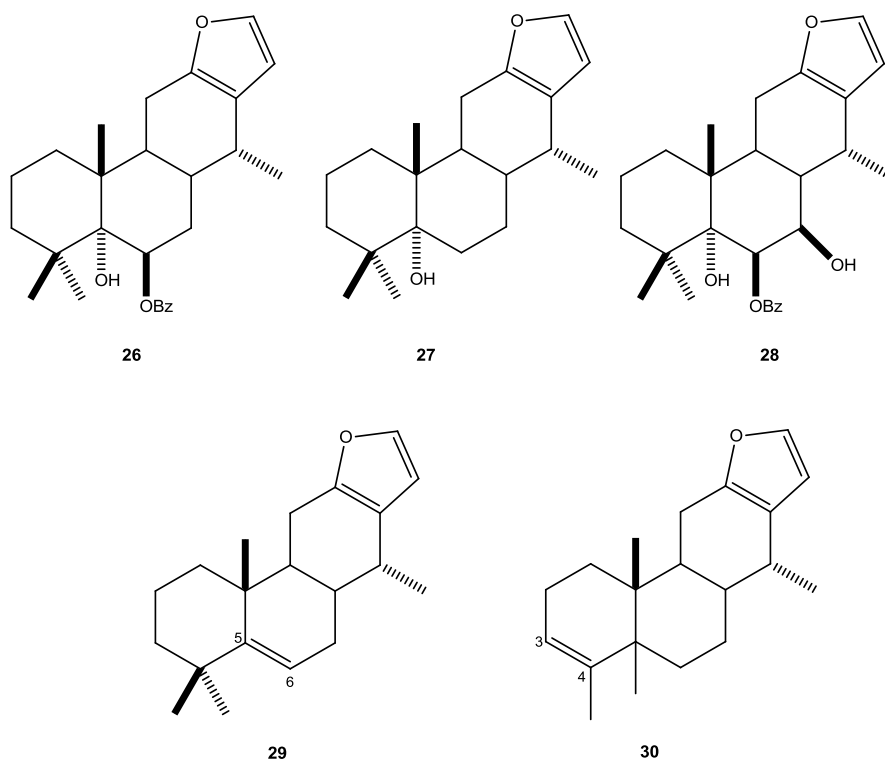
## SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

|          |                                            |
|----------|--------------------------------------------|
| AcOEt    | Acetato de etilo                           |
| cm       | Centímetros                                |
| COSY     | Correlation Spectroscopy                   |
| $\delta$ | Desplazamiento químico                     |
| d        | Doble                                      |
| E1       | Eliminación Unimolecular o de primer orden |
| E2       | Eliminación Bimolecular o de segundo orden |
| FDA      | Food and Drug Administration               |
| °C       | Grados Celsius                             |
| g        | Gramos                                     |
| Hz       | Hertz                                      |
| HETCOR   | Heteronuclear Correlation Spectroscopy     |
| h        | Horas                                      |
| Kg       | Kilogramo                                  |
| mg       | Miligramos                                 |
| mL       | Mililitro                                  |
| min      | Minutos                                    |
| m        | Múltiple                                   |
| MHz      | MegaHertz                                  |
| ppm      | Partes por millón                          |
| RMN      | Resonancia Magnética Nuclear               |
| s        | Simple                                     |

|                  |                                       |
|------------------|---------------------------------------|
| sa               | Simple ancha                          |
| S <sub>N</sub> 1 | Sustitución Nucleofílica unimolecular |
| S <sub>N</sub> 2 | Sustitución Nucleofílica Bimolecular  |
| t.a.             | Temperatura ambiente                  |
| TLC              | Thin Layer Chromatography             |
| TMS              | Tetrametilsilano                      |
| t                | Triple                                |

## RESUMEN

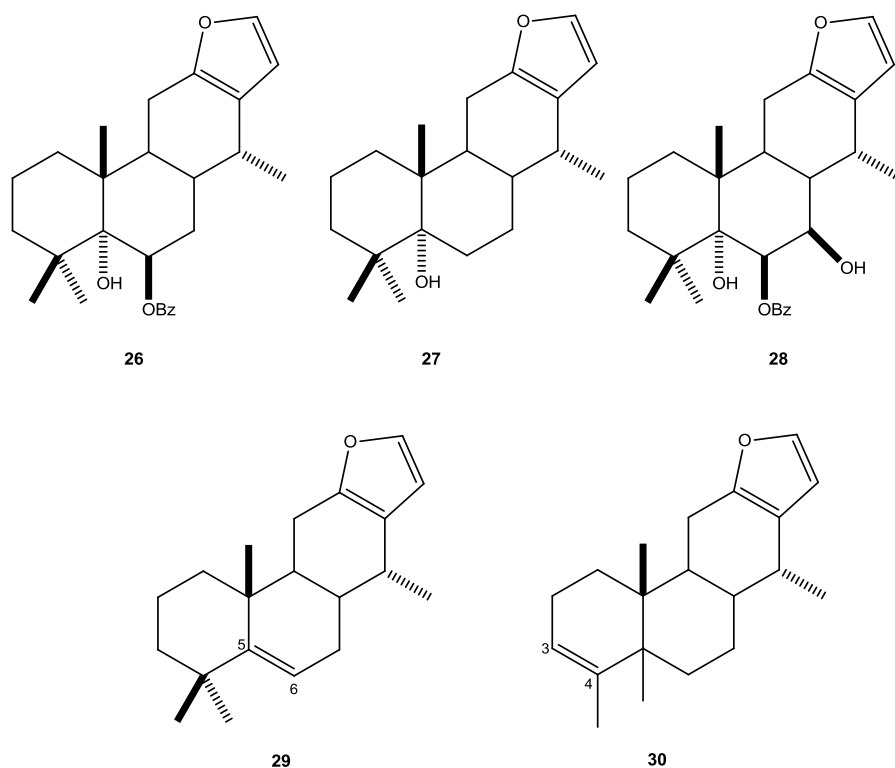
Del extracto metanólico de raíz de *Caesalpinia pulcherrima* se aislaron el 6 $\beta$ -benzoiloxi-5 $\alpha$ -hidroxivouacapano (**26**), 5 $\alpha$ -hidroxivouacapano (**27**) y 6 $\beta$ -benzoiloxi-5 $\alpha$ ,7 $\beta$ -hidroxivouacapano (**28**). Se realizaron tratamientos en diferentes condiciones ácidas. Los productos de reacción se purificaron por cromatografía en columna y cromatografía en placa preparativa impregnada con AgNO<sub>3</sub>. Al llevar a cabo la reacción de **27** con ácido perclórico en metanol, se obtuvo el derivado deshidratado **29**, de estructura novedosa. Cuando se llevó a cabo la reacción de **27** con ácido fórmico en tolueno se favoreció la formación del producto reordenado **30**. Las estructuras se determinaron mediante sus datos físicos y espectroscópicos.



**Palabras clave:** *Caesalpinia pulcherrima*, deshidratación, reordenamiento.

## ABSTRACT

From the methanol extract of *Caesalpinia pulcherrima*, 6 $\beta$ -benzoyloxy-5 $\alpha$ -hydroxyvouacapane (**26**), 5 $\alpha$ -hydroxyvouacapane (**27**), and 6 $\beta$ -benzoyloxy-5 $\alpha$ ,7 $\beta$ -hydroxyvouacapane (**28**) were isolated. Acid treatments of the above natural compounds were assayed under different conditions. The reaction products were purified by column chromatography and thin layer chromatography impregnated with silver nitrate. When reaction of compound **27** was assayed using perchloric acid in methanol, the novel dehydrated diterpene derivative **29** was obtained. By its part, the reaction of **27** using formic acid in toluene provided the rearranged compound **30**. All chemical structures were established by its physical and spectroscopic data.



**Keywords:** *Caesalpinia pulcherrima*, dehydration, rearrangement.

# 1. INTRODUCCIÓN

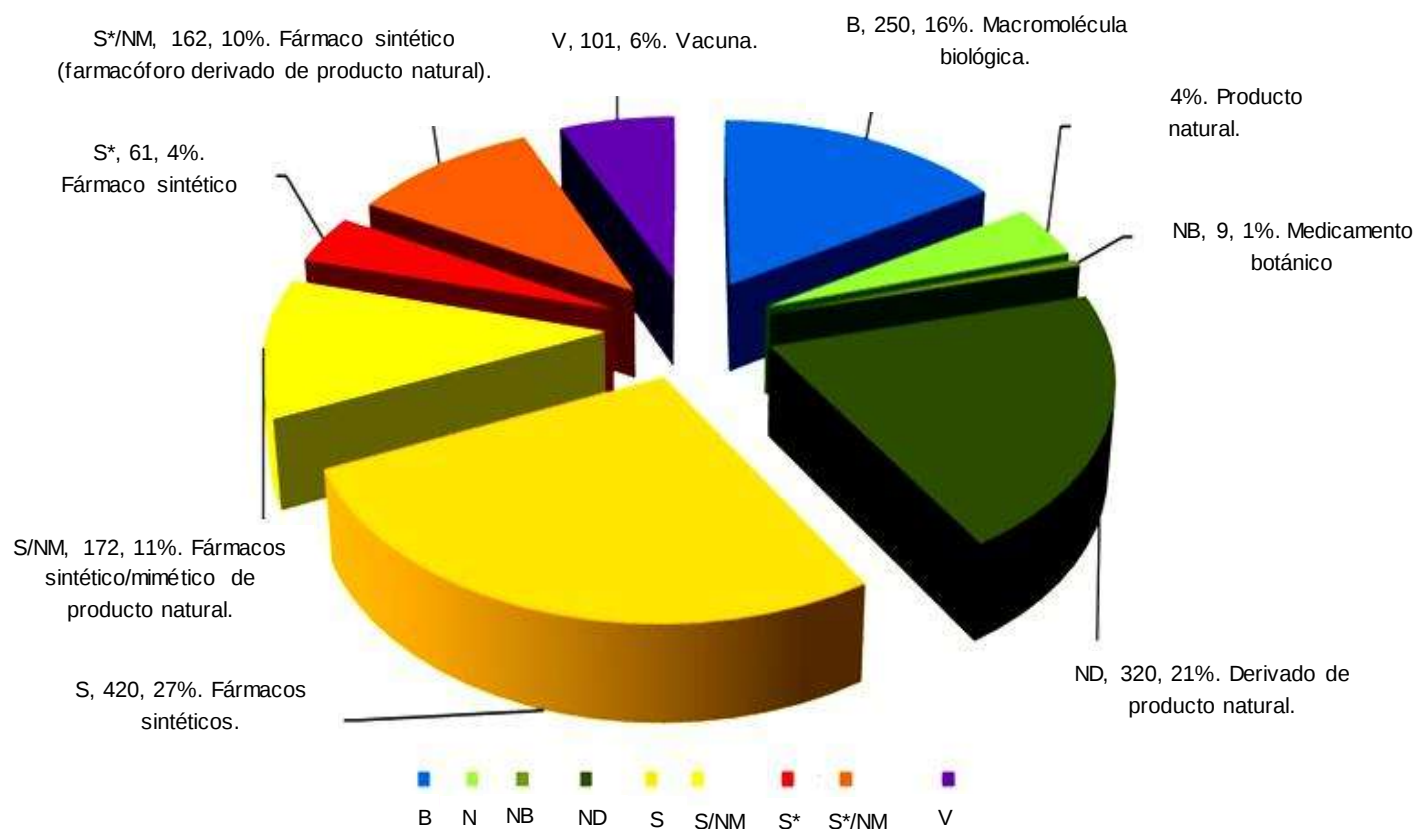
A lo largo de la historia de la humanidad, se ha demostrado la inmensa importancia de las plantas medicinales a través de una gran cantidad de descubrimientos alentados por la incertidumbre y curiosidad humana. Un claro ejemplo son los escritos, que han sido encontrados, donde se detalló el uso de las plantas, es por ello que su investigación es tan vasta, que aún falta mucho por descubrir.

Las plantas con atributos medicinales fueron las primeras medicinas utilizadas en forma empírica para la cura de enfermedades que padecía el hombre; dichos conocimientos se transmitieron oralmente por la carencia de escritura. Al desarrollarse la escritura y con la aparición del papiro como soporte de la misma se comenzó a recoger información, convirtiéndose en patrimonio inmaterial de unos pocos dentro de las diversas sociedades del mundo. Siendo así el papiro de Ebers (1500 a.C.), uno de los registros más antiguos, en el cual se documentan más de 700 medicamentos en su mayoría de origen vegetal. El Códice de la Cruz Badiano, es el primer tratado que describe las propiedades curativas de las plantas americanas empleadas por los mexicanos; siendo así el tesoro herbolario de los antiguos mexicanos.<sup>1, 2</sup>

Los productos naturales históricamente han sido empleados con el objetivo de mejorar los males que aquejan al hombre, como la fuente más importante de nuevos fármacos.<sup>3</sup> El descubrimiento de fármacos a partir de plantas medicinales, condujo al aislamiento de drogas tempranas como la cocaína, codeína, quinina, digitoxina y morfina. En los últimos tiempos, los productos naturales siguen siendo una fuente significativa de drogas, ya que aproximadamente el 60% de los compuestos contra el cáncer y el 75% de los medicamentos para enfermedades infecciosas son productos naturales o derivados de éstos.<sup>4, 5</sup>

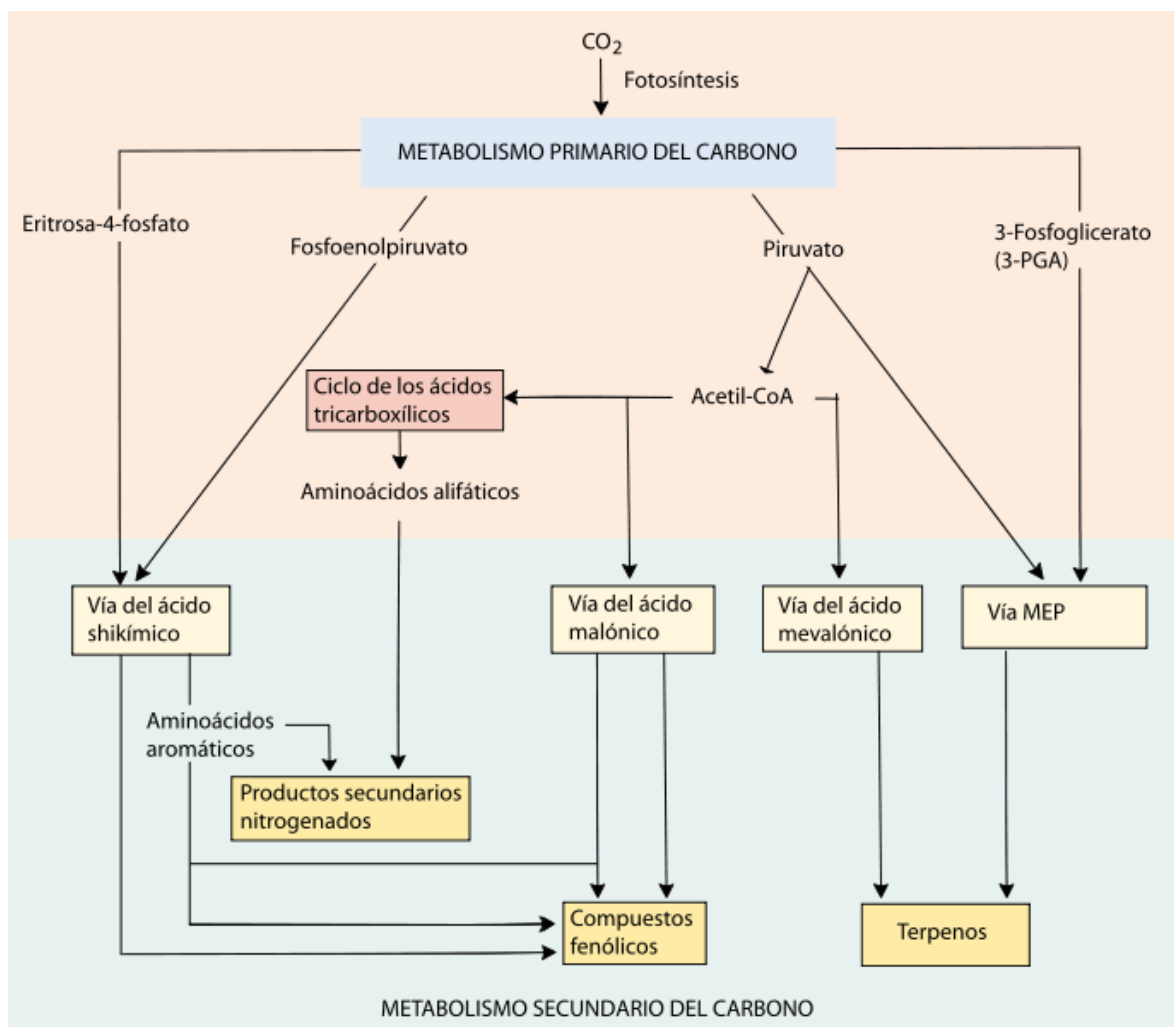
Las plantas producen una extensa y diversa variedad de compuestos orgánicos, de los cuáles la gran mayoría no parece participar directamente en el crecimiento y desarrollo de la planta, sino con diversas funciones ecológicas como protección, atracción o comunicación; estos compuestos son derivados del metabolismo secundario y son denominados productos naturales, los cuales se sintetizan en pequeñas cantidades. Es importante destacar que los metabolitos secundarios, presentan una distribución restringida en el reino vegetal (no se encuentran en todos los grupos de plantas), además de presentar interesantes propiedades biológicas y caracterizándose por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, colorantes, entre otros, teniendo así un importante valor económico.<sup>6, 7</sup>

Durante los últimos 33 años, la utilización de productos naturales, sigue siendo una de las principales fuentes utilizadas para el descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos de marcada actividad antitumoral y antiinfecciosa. En estudios recientes, el origen de nuevos fármacos aprobados por organismos internacionales como la FDA (Food and Drug Administration) (Figura 1) entre 1981 y 2014, corresponde a productos naturales o derivados de éstos en un 49%, aproximadamente.<sup>8</sup>



**Figura 1.** Nuevos medicamentos aprobados de 1981-2014. (Modificado de Newman).

Las principales rutas de biosíntesis de metabolitos secundarios derivan del metabolismo primario de carbono, como se puede ver en el esquema 1.



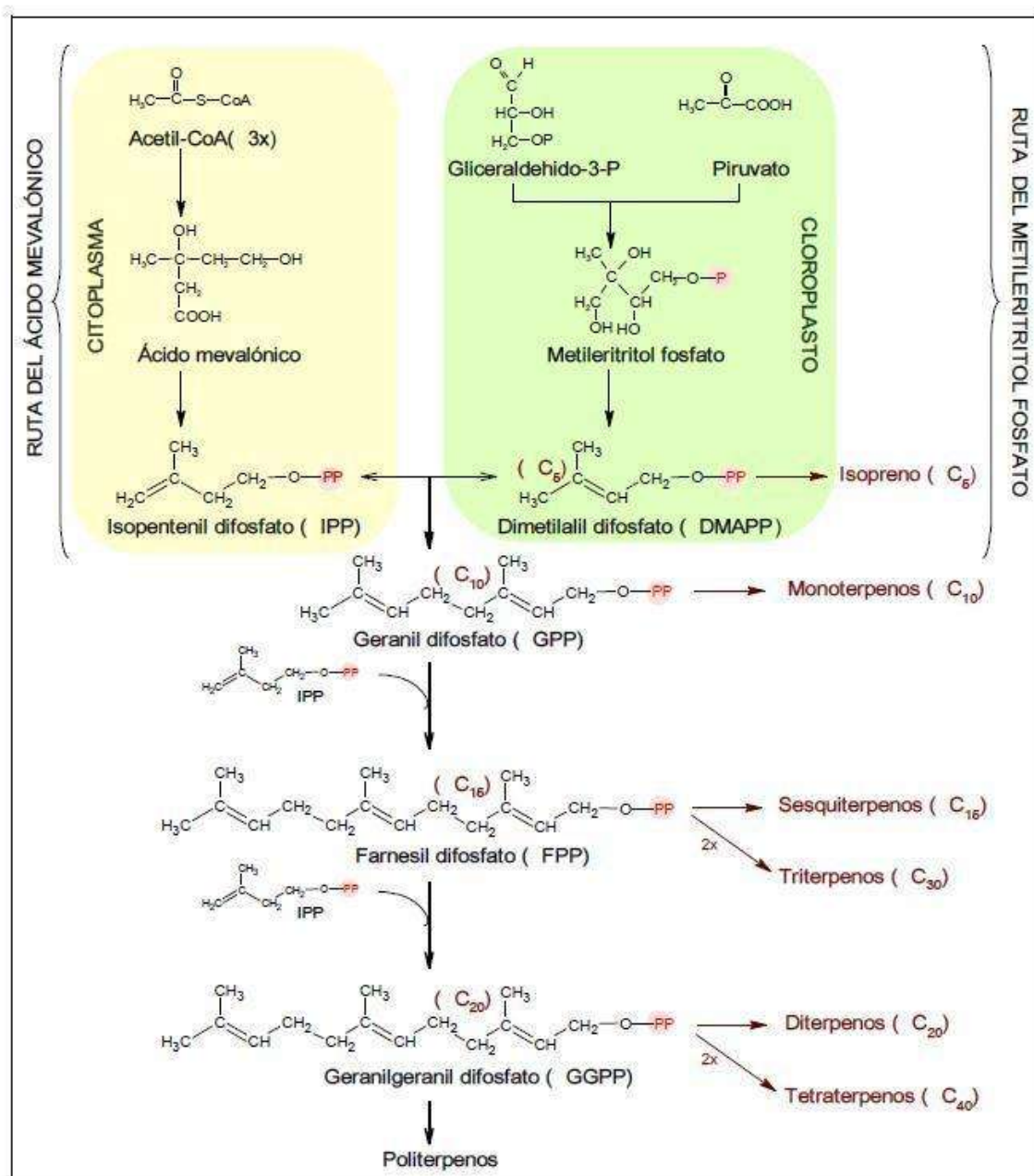
**Esquema 1.** Síntesis de metabolitos secundarios (Modificado de Taiz).

Los productos naturales se agrupan en cuatro clases principales: terpenos, compuestos fenólicos, glicósidos y alcaloides.<sup>7</sup>

### 1.1 Terpenos

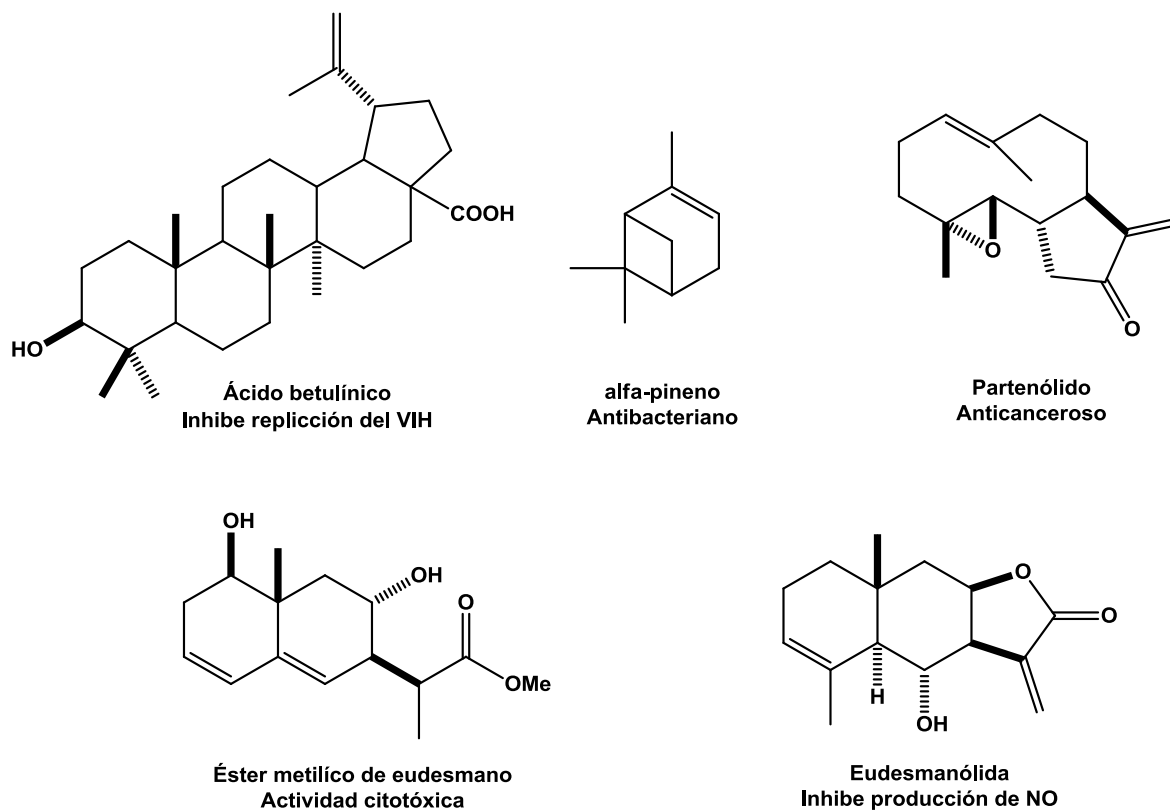
Los terpenos, también llamados terpenoides o isoprenoides, constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios; éstos compuestos tienen como unidad estructural fundamental al isopentenil pirofosfato (compuesto de cinco átomos de carbono).<sup>9, 10</sup>

De acuerdo al número de unidades de isopreno se clasifican en monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos y politerpenos, éstos pueden estar funcionalizados con grupos ácido carboxílico, hidroxilo, cetona, aldehído, ésteres, entre otros (Esquema 2).<sup>11,12</sup>



**Esquema 2.** Biosíntesis de terpenos y su clasificación.<sup>11</sup>

Los compuestos terpenoides son de gran importancia en muchas áreas industriales, dentro de las cuales destaca la farmacéutica por la gran gama de compuestos que han llevado a la síntesis de numerosos fármacos con actividades farmacológicas interesantes, como anti-VIH, antibacterianos, anticancerosos, entre otras (Figura 2).<sup>13-15</sup>



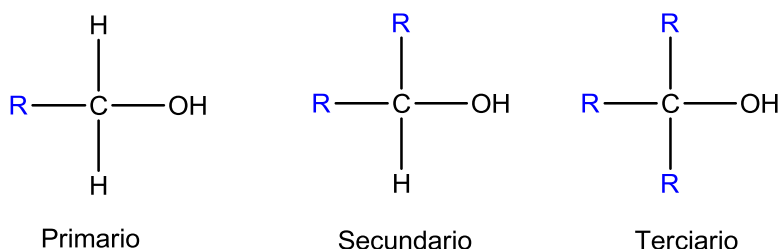
**Figura 2.** Estructuras de compuestos terpenoides con actividad farmacológica.<sup>13-15</sup>

Dentro del grupo de los terpenos, se encuentran los diterpenos con esqueleto de vouacapano, los cuales se caracterizan por un esqueleto molecular construido de tres anillos de ciclohexano fusionados a un anillo de furano; éstos resultan de importancia debido a su amplio rango de actividades, entre ellas actividades biológicas como antinociceptivos, analgésicos, anticancerosos, antihipertensivos, larvicidas, antibióticos, antivirales, antiinflamatorios, antimicrobianos,<sup>16-18</sup> por lo que éste tipo de compuestos resultan de interés en la exploración química, para la obtención de derivados novedosos, así como para llegar a comprender su reactividad. En el presente proyecto se realizaron reacciones en medios ácidos de diterpenos aislados de *Caesalpinia pulcherrima* para la obtención de nuevos derivados.

## 2. ANTECEDENTES

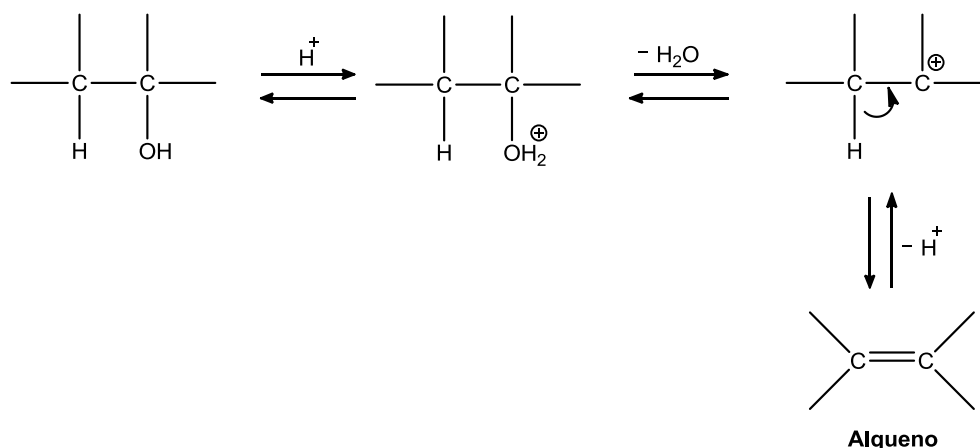
### 2.1 Alcoholes: clasificación y propiedades.

Los alcoholes son compuestos de fórmula general ROH, donde R es cualquier grupo alquilo, incluso sustituido; el grupo puede ser primario, secundario o terciario, de cadena abierta o cíclico. Un alcohol se clasifica de acuerdo al número de sustituyentes que contiene el átomo de carbono que sea portador del grupo OH (Esquema 3). Los alcoholes son útiles en especial porque son materias primas versátiles para preparar otros numerosos grupos de familias. Estos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza y tienen múltiples aplicaciones industriales y farmacéuticas.<sup>19-21</sup>



**Esquema 3.** Clasificación de alcoholes.

Las propiedades químicas de un alcohol están determinadas por su grupo funcional, el grupo hidroxilo,  $\text{-OH}$ . Las reacciones de un alcohol pueden involucrar la ruptura de uno de los dos enlaces: el enlace  $\text{C-OH}$  con eliminación del grupo OH, o el enlace  $\text{O-H}$  con eliminación de  $\text{-H}$ . Los dos tipos de reacción pueden implicar sustitución, en la que un grupo reemplaza el  $\text{-OH}$  o el  $\text{-H}$ , o eliminación, en la que se genera un doble enlace (Esquema 4).<sup>22</sup>

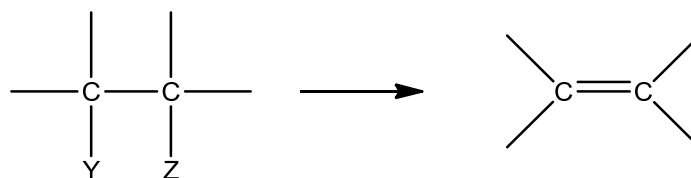


**Esquema 4.** Reacción de un alcohol con eliminación del OH.

## 2.2 Reacciones de Eliminación.

Una reacción química consiste en la ruptura de enlaces en los reactivos y la formación de nuevos enlaces generando productos, en donde el sustrato (compuesto orgánico) es atacado por el reactivo, mediante un conjunto de etapas elementales (mecanismo de reacción).<sup>23</sup>

Las reacciones de eliminación (Esquema 5) pueden utilizarse para introducir dobles enlaces carbono-carbono en moléculas orgánicas. Una eliminación involucra la pérdida de dos átomos o grupos del sustrato, generalmente con la formación de un enlace pi. De acuerdo con los reactivos y las condiciones involucradas, una eliminación podría ser un proceso de primer orden, E1, o de segundo, E2.<sup>19,23</sup>

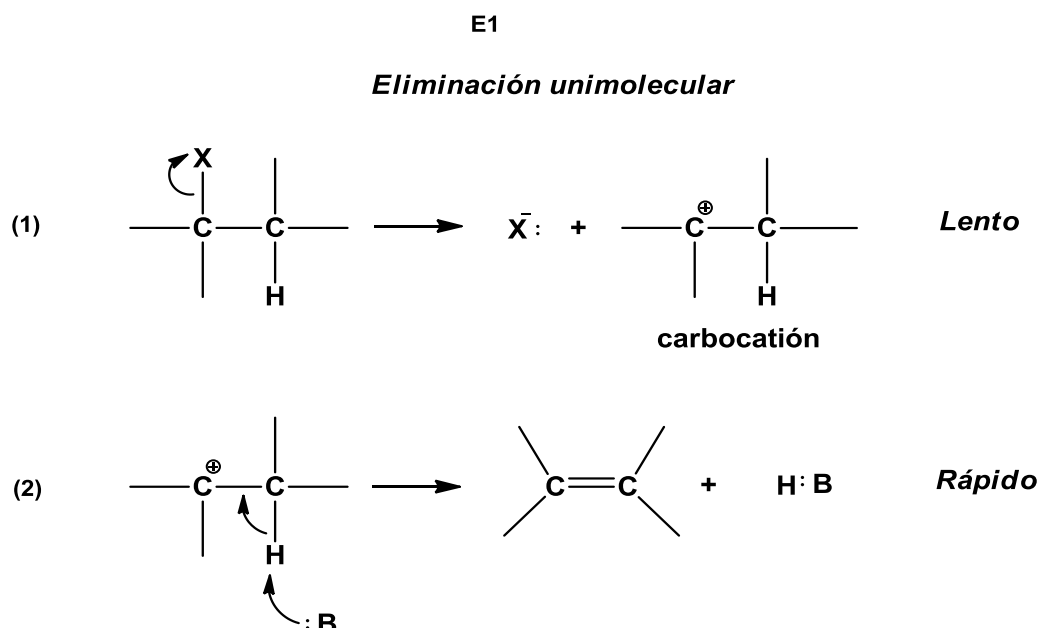


**Esquema 5.** Reacción de eliminación.

### 2.2.1 Reacciones de eliminación E1.

La reacción de primer orden E1, es conocida como eliminación unimolecular, debido a que el estado de transición involucra a una sola molécula, en lugar de una colisión entre dos moléculas. En el mecanismo E1 (Esquema 6), los cambios electrónicos suceden en dos pasos de reacción:

- Paso 1. El sustrato sufre una heterólisis lenta para formar un anión y un carbocatión.
- Paso 2. La pérdida de un protón vecino en un paso rápido produce un alqueno neutro como producto.<sup>30</sup>



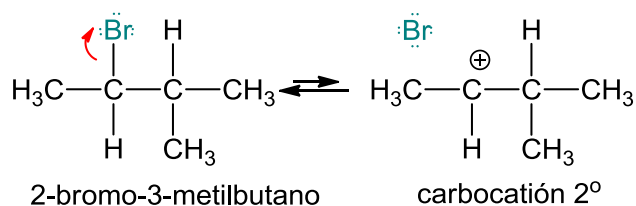
**Esquema 6.** Mecanismo de Reacción de eliminación E1.

La reactividad en E1, se determina por la velocidad de la formación del carbocatión; y esto depende de la estabilidad del mismo y del medio de reacción.

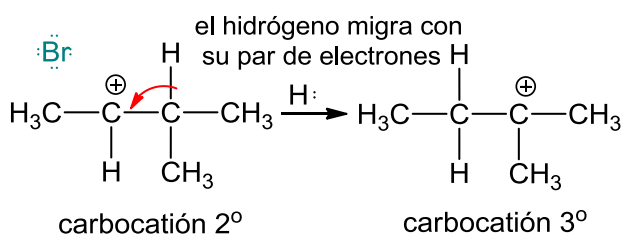
Donde la estructura lo permite, estas eliminaciones de primer orden van acompañadas de reordenamientos (Esquema 7).<sup>24</sup> La eliminación por E1 muestra una fuerte orientación Zaitsev (Esquema 8); esto es, cuando puede generarse más

de un alqueno, el producto preferido es el más sustituido o ramificado (el más estable).

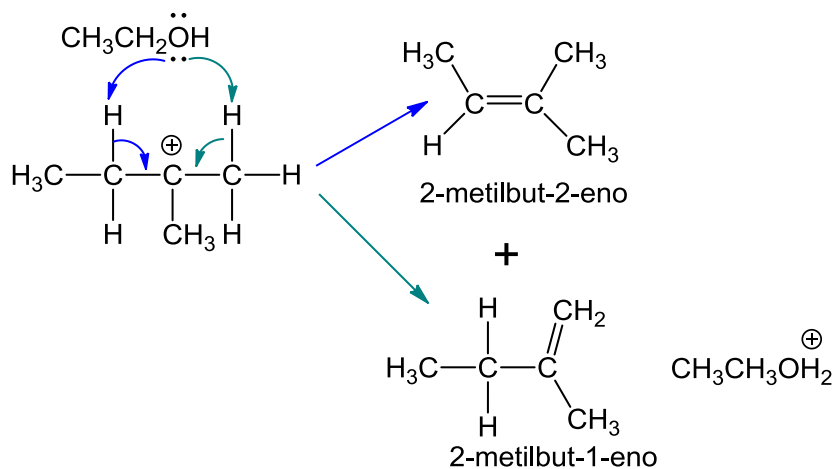
**Paso 1:** ionización para formar un carbocatión. (Lento).



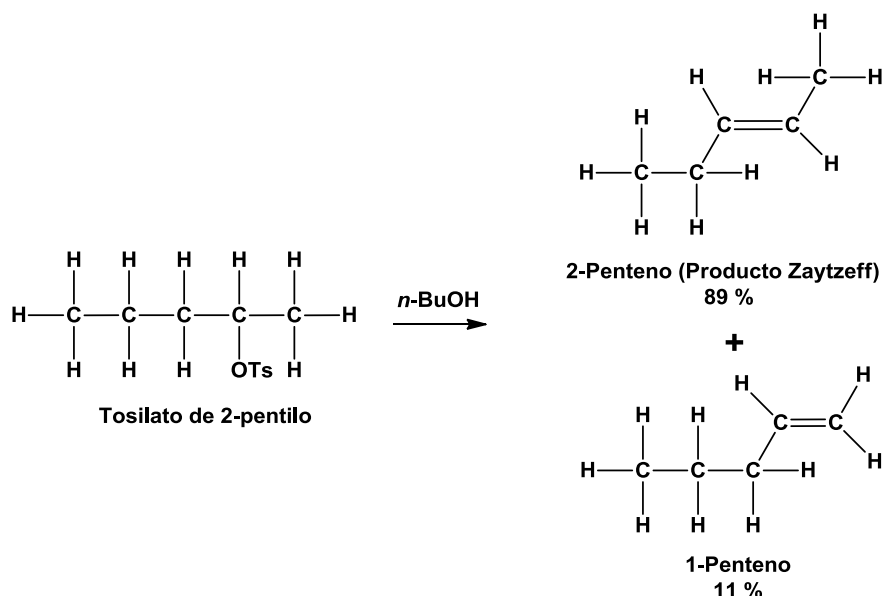
**Paso 2:** un desplazamiento de hidruro forma un carbocatión más estable. (Rápido).



**Paso 3:** el disolvente poco básico elimina cualquier protón adyacente. (Rápido).



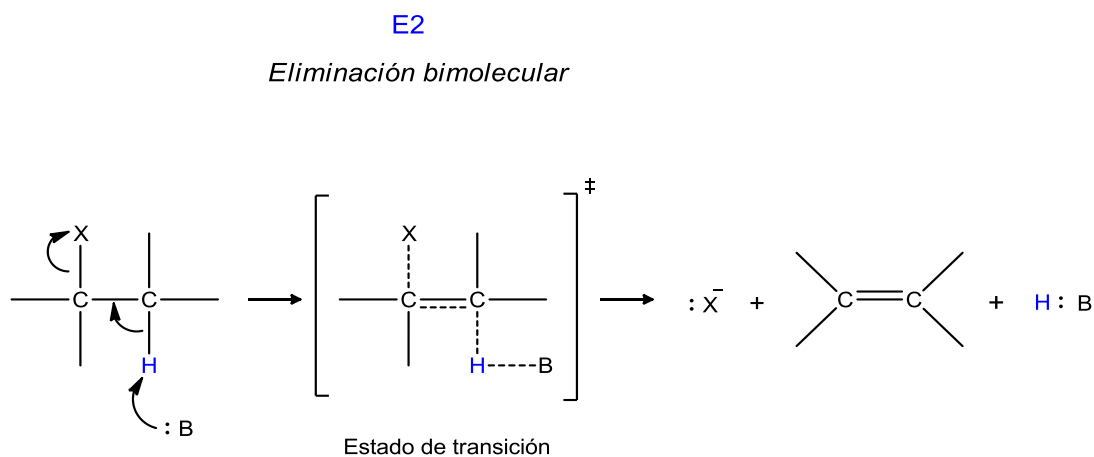
**Esquema 7.** Reordenamiento en una reacción E1.<sup>23</sup>



**Esquema 8.** Producto Zaitsev como mayoritario.

### 2.2.2 Reacciones de eliminación E2.

Una eliminación puede ocurrir mediante una cinética de segundo orden, la reacción implica un solo estado de transición, donde una base de Bronsted abstrae un protón del carbono adyacente al que soporta al grupo saliente y de modo simultáneo se elimina el ion saliente, formándose el doble enlace (Esquema 9).<sup>26</sup>



**Esquema 9.** Mecanismo E2. (Modificado de Morrison).

En la tabla 1 se describen las características generales de las reacciones de eliminación.

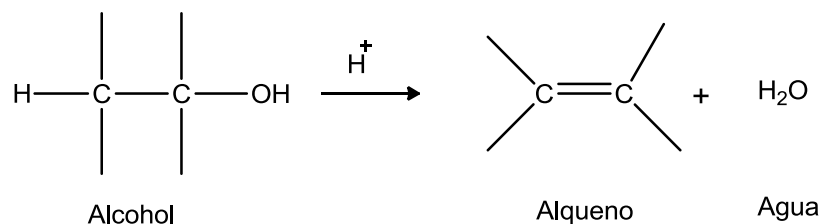
**Tabla 1.** Resumen de las reacciones de eliminación.<sup>25</sup>

|                                    | <b>E1</b>                   | <b>E2</b>                                                     |
|------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------------------------------|
| <i>Características.</i>            |                             |                                                               |
| Cinética                           | Primer orden                | Segundo orden                                                 |
| Reordenamientos                    | Comunes                     | No son posibles                                               |
| Estereoquímica                     | Sin geometría especial      | Se necesita estado de transición coplanar (generalmente anti) |
| <i>Factores que los promueven.</i> |                             |                                                               |
| Substrato                          | 3° > 2°                     | 3° > 2° > 1°                                                  |
| Grupo saliente                     | Ácido de Lewis              | Bases de Bronsted                                             |
| Base                               | Funcionan las bases débiles | Necesita base fuerte                                          |
| Disolvente                         | Buen disolvente ionizante   | Disolventes apróticos                                         |

## 2.3 Deshidratación de alcoholes

Los métodos principales por los que se preparan los alquenos en el laboratorio es la deshidrohalogenación de halogenuros de alquilo y la deshidratación de alcoholes. La deshidratación de alcoholes es un método ampliamente utilizado para obtener otros compuestos, como alquenos. La reacción requiere generalmente de un medio ácido y temperaturas elevadas.<sup>20, 27</sup>

En la deshidratación de alcoholes, el H y el OH se pierden de carbonos adyacentes (Esquema 10).

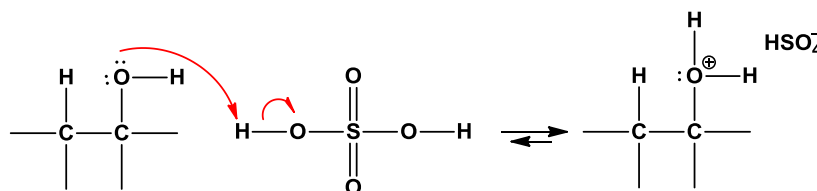


**Esquema 10.** Deshidratación de alcoholes.

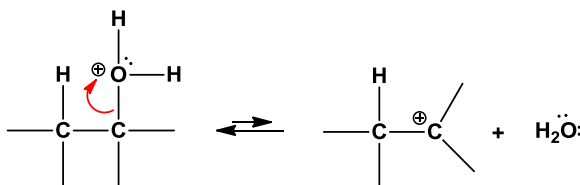
Se trata de una reacción de eliminación y puede tener lugar a través de un mecanismo E1 o un mecanismo E2 en función del medio de reacción. El mecanismo general de la deshidratación de un alcohol involucra la eliminación E1; en donde la protonación del grupo hidroxilo mediante el catalizador ácido lo convierte en un buen grupo saliente, generándose la pérdida de agua y por consiguiente un carbocatión; este es un ácido muy fuerte, por lo tanto cualquier base débil puede abstraer el protón en el último paso para generar el alqueno (Esquema 11).<sup>23</sup>

**Mecanismo de deshidratación de un alcohol catalizada por un ácido.**

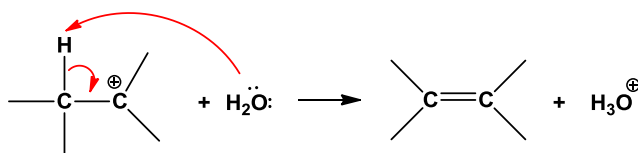
**Paso 1:** protonación del grupo hidroxilo (equilibrio rápido).



**Paso 2:** ionización para formar un carbocatión (lenta; limitante de la rapidez).



**Paso 3:** desprotonación para generar el alqueno (rápida).



**Esquema 11.** Mecanismo de la deshidratación de un alcohol vía E1.

Para la deshidratación de alcoholes se emplean diversos reactivos, según el caso. Los ácidos que se utilizan más frecuentemente son el ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), el ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) y el anhídrido de ácido fosfórico ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ). Otros

agentes deshidratantes son el cloruro de tionilo ( $\text{SOCl}_2$ ), el fosgeno ( $\text{COCl}_2$ ) y la alúmina o el gel de sílice a elevada temperatura.<sup>28</sup>

La deshidratación de alcoholes sigue un orden de reactividad que refleja la estabilidad del carbocatión: los alcoholes terciarios reaccionan de una manera más rápida que los alcoholes secundarios, mientras los primarios no son reactivos o promueven reordenamientos. Este último fenómeno es común durante la deshidratación de alcoholes.<sup>27</sup>

### **2.3.1 Regioselectividad en la deshidratación de los alcoholes: Regla de Zaitsev.**

La regioselectividad es entendida como la preferencia que tiene una reacción para romper o crear un enlace en particular por encima de todos los demás posibles, es decir, que una reacción es regioselectiva cuando entre varios productos posibles se obtiene preferentemente uno de ellos.<sup>30</sup>

Es común que la deshidratación de alcoholes ocurra en dos direcciones diferentes para formar alquenos que son isómeros constitucionales, es por ello que en 1875, Alexander M. Zaitzev enunció una descripción general de la regioselectividad de las eliminaciones  $\beta$ , estableciendo la regla de Zaitzev<sup>20</sup>, la cual se aplica a la deshidratación de alcoholes catalizada por ácidos y se expresa con frecuencia de la siguiente manera: las reacciones de eliminación de los alcoholes producen el alqueno más sustituido como el producto principal, es decir el alqueno más estable.<sup>35</sup>

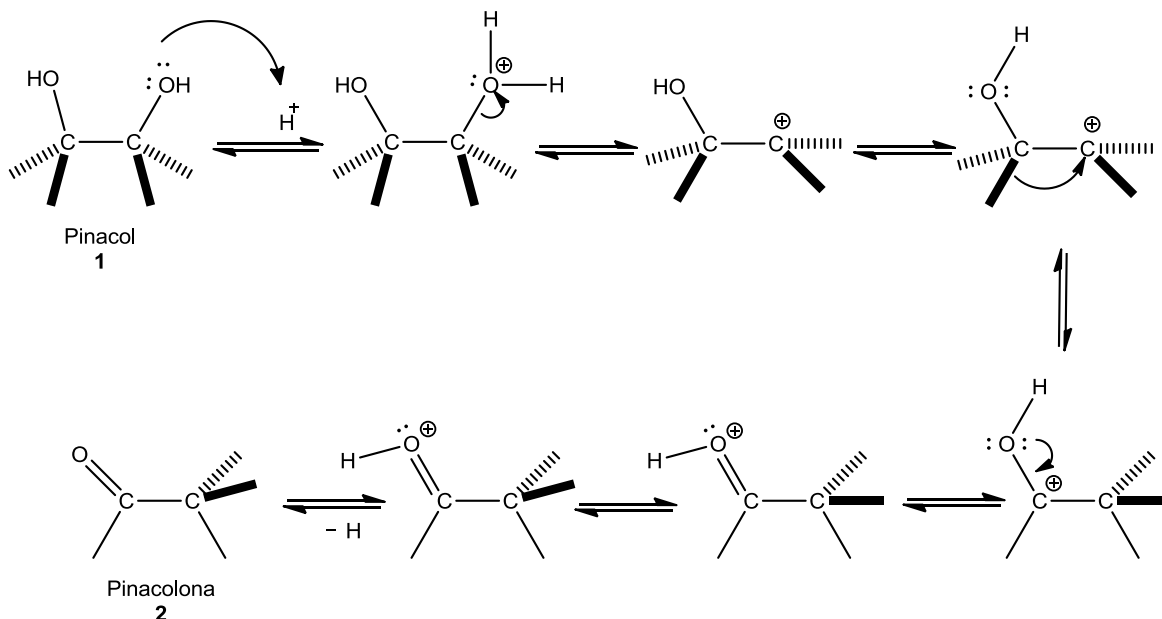
## **2.4 Reacciones de Reordenamiento**

Una reacción de reordenamiento es aquella donde un grupo se desplaza de un átomo a otro en la misma molécula (Esquema 12); por lo tanto la molécula sufre un reordenamiento para producir un isómero estructural de la molécula original.<sup>31-33</sup>



**Esquema 12.** Ecuación general de Reordenamientos.

Rudolph Fittig, en 1860, describió uno de los primeros reordenamientos en la química orgánica, denominado reordenamiento pinacólico. Consistía en la transformación de pinacol (**1**) a pinacolona (**2**) bajo tratamiento ácido.<sup>34</sup> Esta reacción ocurre totalmente con una variedad de 1,2-dioles, y puede entenderse que se involucra la formación de un carbocatión intermediario, que a su vez sufre un reordenamiento. El primer intermediario generado, es un ión  $\alpha$ -hidroxicarbocatión, y se reordena a través de una migración 1,2 de un grupo alquilo para producir el compuesto carbonílico (Esquema 13).<sup>36</sup>



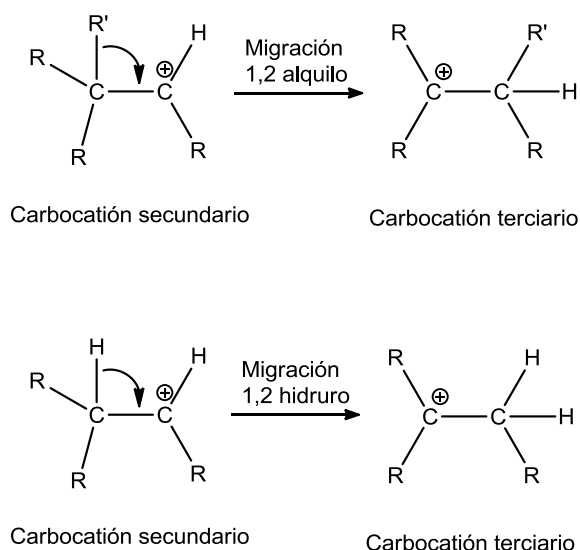
**Esquema 13.** Mecanismo de rearreglo pinacol-pinacolona.

Las reacciones de reordenamiento pueden propiciarse a través de iones carbonio o mediante procesos concertados.<sup>37</sup>

La investigación de las reacciones que involucran especies catiónicas, ha contribuido en gran medida al conocimiento general del mecanismo de reacción.<sup>35</sup> Es por ello que estudios de las estructuras y estereoquímica de los productos de reordenamiento, han atraído el interés en la química de productos naturales, ya que a partir de éstos se puede realizar reacciones que pueden llevar a un intermediario en común que puede ser la pauta para entender los mecanismos de formación de estructuras moleculares novedosas.

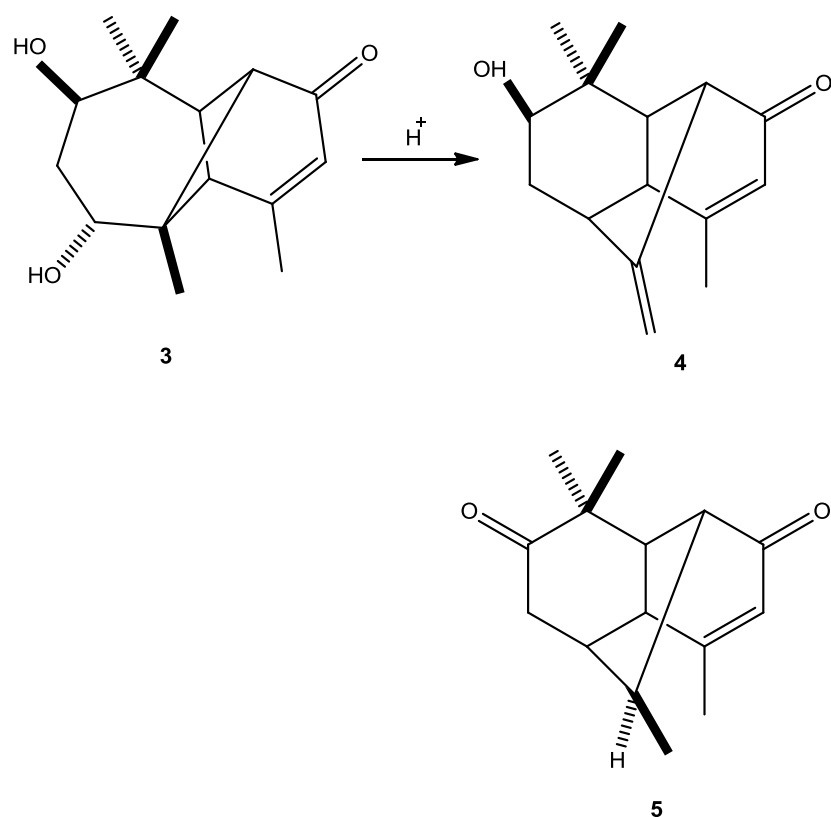
#### 2.4.1 Reordenamiento Wagner-Meerwein.

Para las modificaciones químicas en moléculas terpénicas, el reordenamiento Wagner-Meerwein es el mejor ejemplo. Este reordenamiento siempre se lleva a cabo con la participación de intermediarios de carbocatión, los cuales están involucrados en reacciones  $S_N1$  y  $E1$ . Dicho carbocatión puede promover migraciones tipo 1,2 de grupos hidruro, metilos o alquilo (Esquema 14); también se pueden generar migraciones 1,3 o mayores; estas siempre proceden por el plano en el que se encuentra el grupo que migra.<sup>40, 41</sup>



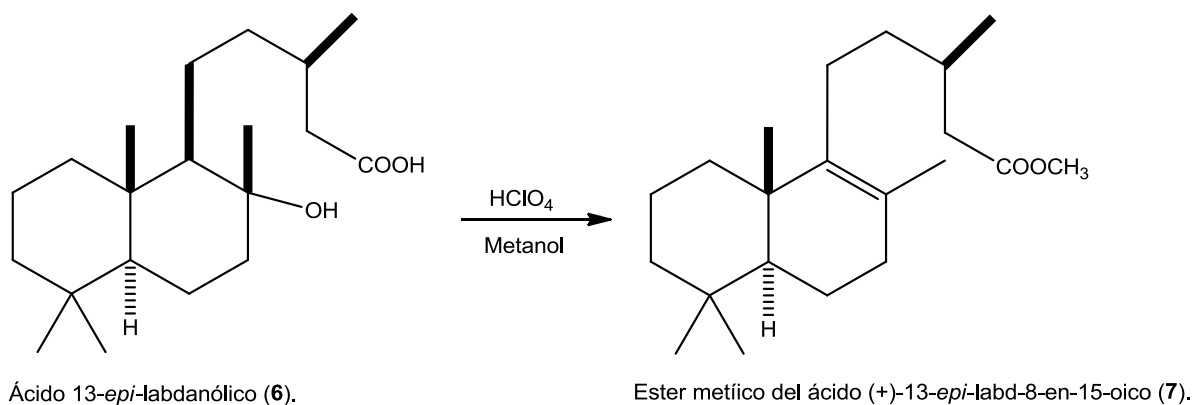
**Esquema 14.** Reordenamientos Wagner-Meerwein.

Un ejemplo de un reordenamiento tipo Wagner-Meerwein fue el promovido en el longipineno **3** con tratamiento ácido para generar los derivados **4** y **5** de morelieno (Esquema 15), el primero por transposición Wagner-Meerwein y el segundo por la migración de hidruro transanular.<sup>42</sup>

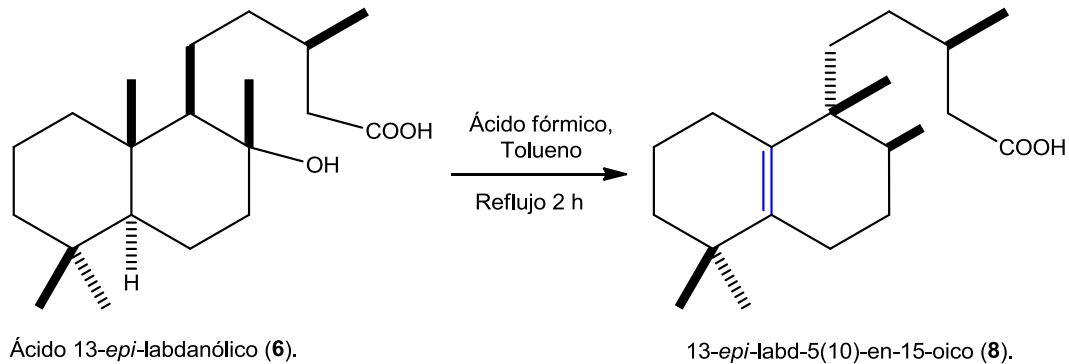


**Esquema 15.** Reordenamiento del longipineno (**3**) a los derivados de morelieno (**4** y **5**).

En un estudio de la reactividad del diterpeno **6** en medios ácidos, se generó el producto de deshidratación **7**, utilizando concentraciones catalíticas de  $\text{HClO}_4$  en metanol (Esquema 16); al cambiar las condiciones de reacción en estudios posteriores del mismo labdano **6**, lograron la obtención del derivado reordenado **8** (Esquema 17).<sup>43, 44</sup>



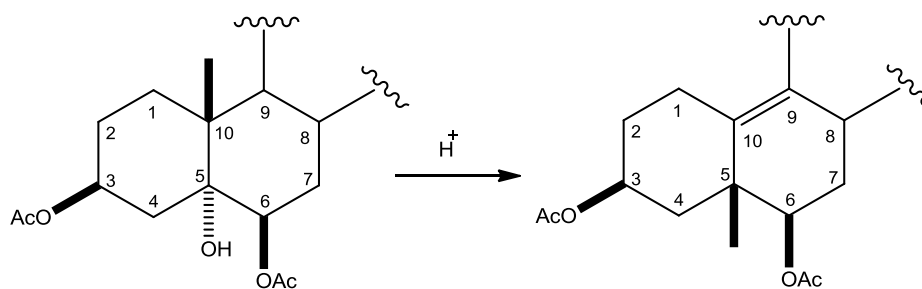
**Esquema 16.** Producto de deshidratación en medio ácido.



**Esquema 17.** Producto de reordenamiento en medio ácido.

## 2.4.2 Reacción de reordenamiento Westphalen-Lettre.

La reacción de reordenamiento Westphalen-Lettre, es una reorganización Wagner-Meerwein promovida por ácido a partir de derivados de 5-hidroxicolesterol con un sustituyente en C-6 en configuración  $\beta$ , de la cual se elimina el hidroxilo en posición 5 por deshidratación ácida acompañada de la migración del grupo metilo angular en C-10 a C-5 y la formación del doble enlace entre C-9 y C-10. Un ejemplo de ello es el tratamiento de **9** con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y anhídrido acético, que genera el compuesto reordenado **10** denominado como diacetato de diol de Westphalen (Esquema 18); este tipo de reordenamiento es bastante frecuente en esteroides para generar derivados con importantes actividades farmacológicas.<sup>38, 39</sup>



3,6-diacetato de colestano-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ -triol (**9**).

Diacetato **10** de diol de Westphalen.

### Esquema 18. Reordenamiento Westphalen-Lettre.

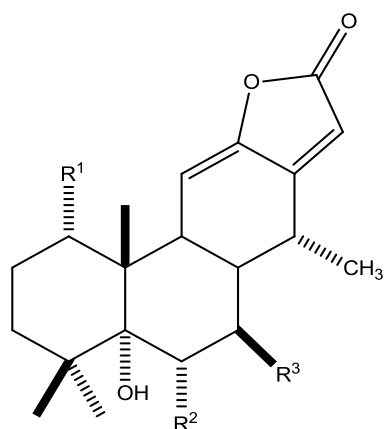
Los derivados reordenados han tenido un auge importante en la química de productos naturales, debido al interés de entender los mecanismos de reacción, por los cuáles la molécula decide realizar éste tipo de modificaciones estructurales generando compuestos de importancia química y farmacológica. Es por ello que el estudio del género *Caesalpinia* se ha tornado relevante en los últimos años, ya que este género cuenta con numerosos compuestos terpenoides funcionalizados, que dan la pauta para realizar estudios de reactividad que generen nuevos esqueletos.

## 2.5 Género *Caesalpinia*

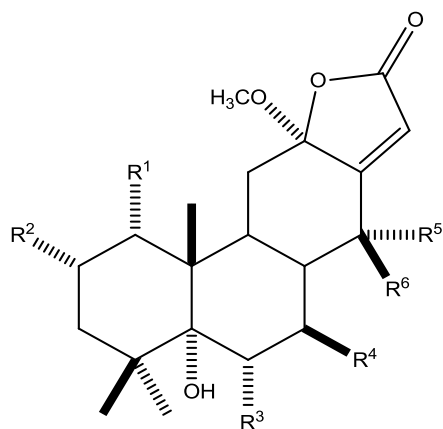
Michoacán destaca por ser uno de los estados con mayor diversidad de flora arbórea, como la familia Fabaceae que cuenta con el mayor número de especies. Dentro de esta familia se encuentra el género *Caesalpinia*, con más de 200 especies, las cuales han sido objeto de investigaciones, debido a la clase de compuestos químicos que se han aislado de diversas especies, principalmente flavonoides, diterpenos y esteroides. En la medicina tradicional las especies de este género han sido de gran utilidad para el tratamiento del reumatismo, enfermedades inflamatorias, para aliviar infecciones por hongos y bacterias, para reducir la fiebre, trastornos hepáticos, para combatir el estrés oxidativo entre otros muchos usos.<sup>45, 46</sup>

La química de *Caesalpinia* se caracteriza por poseer compuestos de tipo diterpenoide y de especies como *C. sappan*, *C. bonduc*, *C. platyloba* y *C. pulcherrima* se han aislado compuestos con esqueleto de cassano con actividades farmacológicas relevantes como anticancerosa, antiinflamatoria, antimicrobiano y citotóxicas.<sup>47, 48</sup>

De *C. minax* aislaron varios diterpenos de tipo cassano (Figura 3), los cuales mostraron una actividad antineoplásica en las células AtT-20 (células tumorales de la hipófisis anterior), siendo el compuesto **17**, el que mostró mayor citotoxicidad.<sup>49</sup>



11.  $R^1=R^2=R^3=OAc$

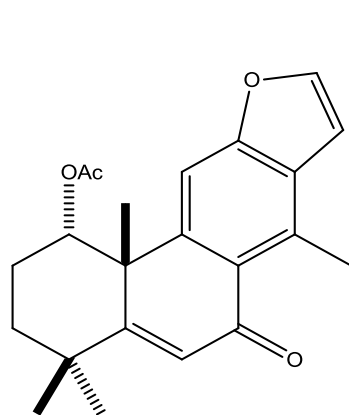


12.  $R^1=R^2=OAc$ ,  $R^3=R^4=H$ ,  $R^5=CH_3$ ,  $R^6=OH$

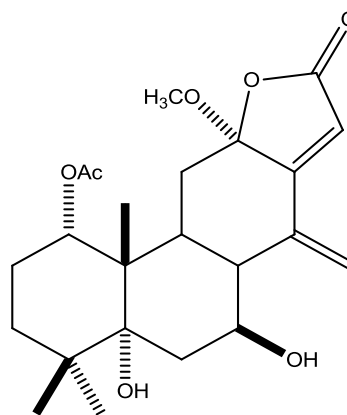
13.  $R^1=R^3=R^4=OAc$ ,  $R^2=H$ ,  $R^5=CH_3$ ,  $R^6=OH$

14.  $R^1=OAc$ ,  $R^2=R^3=R^5=H$ ,  $R^4=OH$ ,  $R^6=COOCH_3$

16.  $R^1=R^2=OAc$ ,  $R^3=R^4=R^6=H$ ,  $R^5=CH_3$



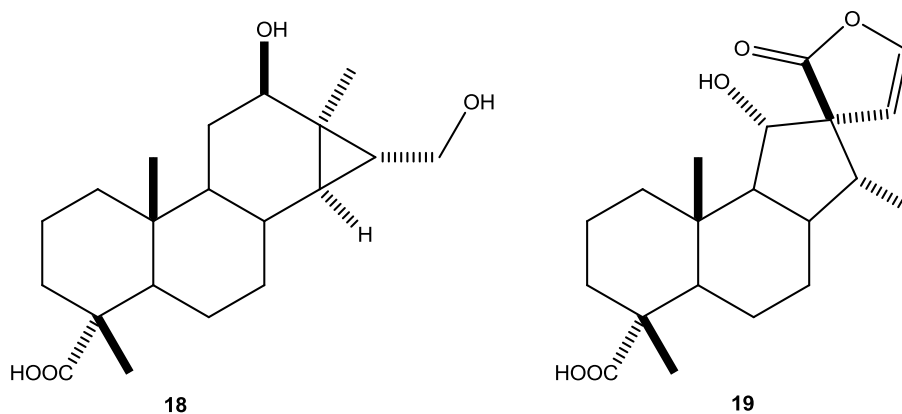
15



17

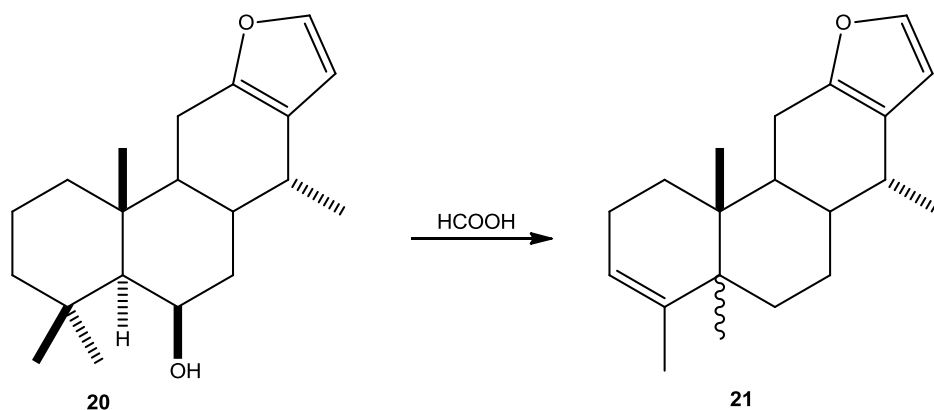
**Figura 3.** Compuestos aislados de *C. minax*.

De las semillas de *C. sappan*, Xiao F. y colaboradores aislaron dos diterpenoides reordenados, el tomocinol C (**18**) y la espirocaesalmina C (**19**) (Figura 4), proponen que el compuesto **18** se reordenó a partir de un diterpenoide pimarano, mientras que **19** posiblemente es un producto reorganizado de un diterpeno de tipo cassano.<sup>50</sup>



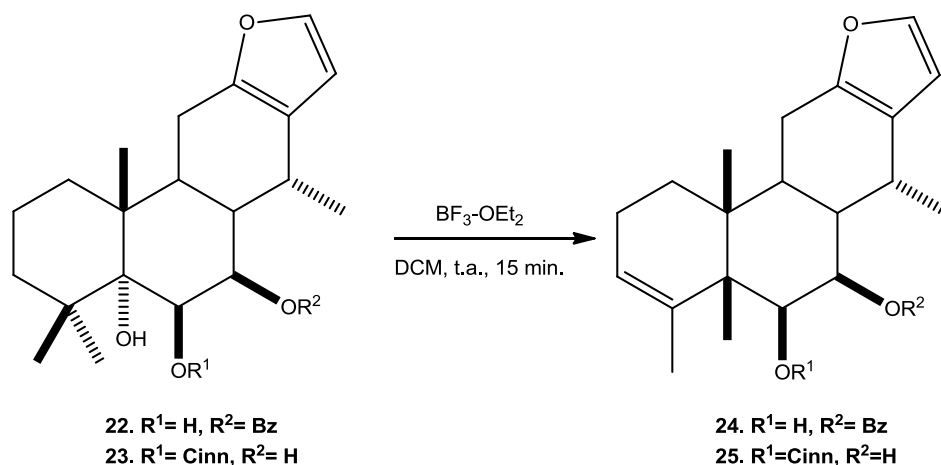
**Figura 4.** Compuestos aislados de *C. sappan*.

De *C. platylobba* se aislaron diterpenos con esqueleto de vouacapano de interés químico y farmacológico, uno de ellos es el 6 $\beta$ -acetoxivouacapano, a partir del cual se han realizado estudios de su reactividad, que han llevado a la obtención de derivados oxidados, deshidratados, formilados e incluso reordenados. En la investigación llevada por Magallón-Chávez, al tratar el derivado hidroxilado **20** en medios ácidos, obtuvo el producto reordenado **21** (Esquema 19).<sup>51</sup>



**Esquema 19.** Reordenamiento del 6 $\beta$ -hidroxivouacapano.

Sudhakar C. y colaboradores trataron los compuestos naturales **22** y **23** con  $\text{BF}_3\text{-OEt}_2$ , aislados de *C. pulcherrima*, obteniendo los compuestos reordenados **24** y **25** (Esquema 20), los cuales mostraron importantes actividades citotóxicas y antimicrobianas.<sup>52</sup>



**Esquema 20.** Reordenamientos de diterpenos cassanos.

### 2.5.1 *Caesalpinia pulcherrima*

*C. pulcherrima* (Figura 5) es un arbusto o pequeño árbol ampliamente distribuido tanto en regiones tropicales como subtropicales; muy apreciado por la belleza de sus flores, utilizado como cerco vivo. Se conoce comúnmente como ponciana enana, San Agustín, hoja de sen; presenta corteza delgada, hojas bipinnadas, alternas, de 3-9 pares de pina por hoja, sus flores se presentan como inflorescencias terminales de gran colorido variando desde amarillo hasta rojo, produce frutos tipo vaina dehiscentes al madurar.<sup>53</sup>



**Figura 5.** *Caesalpinia pulcherrima*.

Su importancia radica principalmente por el uso medicinal, en el tratamiento de la bronquitis y el asma, disminución de la fiebre y desinflamación del hígado, destacando también su actividad antimicrobiana, antiulcerosa, anticancerosa, citotóxica.<sup>54, 55</sup>

En *C. pulcherrima* se han aislado compuestos de esqueleto tipo vouacapano, dentro de los cuales encontramos diterpenos funcionalizados con grupos hidroxilos, que han sido objeto de estudios de reactividad química para la obtención de nuevos derivados con potencial farmacológico y biológico.

En el presente proyecto se analizó la reactividad de diterpenos aislados de *C. pulcherrima* funcionalizados con grupos hidroxilo frente a diferentes medios ácidos para la obtención de nuevas moléculas modificadas de origen natural.

### 3. JUSTIFICACIÓN.

Los vouacapanos mayoritarios de *C. pulcherrima* permiten realizar estudios de reactividad química para la generación de nuevos derivados mediante reacciones en medios ácidos que pueden llevar a promover reordenamientos moleculares, por lo que surge el interés de llevar a cabo la exploración de la reactividad de este tipo de compuestos, que permitan ampliar el conocimiento sobre su comportamiento químico, y de esta manera generar nuevos derivados que puedan tener utilidad farmacológica.

## 4. OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Realizar un estudio de la reactividad de hidroxivouacapanos aislados de *C. pulcherrima* en diferentes condiciones ácidas.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar la colecta de la especie vegetal *C. pulcherrima*.
- Obtener extracto metanólico de raíz.
- Aislar los hidroxivouacapanos.
- Llevar a cabo las reacciones en diferentes condiciones ácidas.
- Caracterizar los productos de reacción mediante métodos físicos y espectroscópicos.

## 5. PARTE EXPERIMENTAL

Los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz y de  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz, así como los diagramas bidimensionales de correlación de  $^1\text{H}/^1\text{H}$  (COSY),  $^1\text{H}/^{13}\text{C}$  (HETCOR), se determinaron en un aparato Varian Mercury Plus-400. En todas las determinaciones se utilizó como disolvente deuterocloroformo ( $\text{CDCl}_3$ ) y como referencia interna tetrametil silano (TMS). Los espectros fueron procesados mediante el programa MestReNova.

Las separaciones cromatográficas en columna se realizaron usando sílica gel 230-400 mallas marca Merck.

El punto de fusión no corregido se determinó en un aparato Fisher-Scientific.

### 5.1 Datos de la planta

*C. pulcherrima* se colectó en el Rancho el Bonete municipio de la Huacana, Michoacán, en el mes de Agosto de 2017. Fue identificada por el M.C. Xavier Madrigal, de la Facultad de Biología de la UMSNH.

### 5.2 Ácidos utilizados

Ácido fórmico utilizado Merck 98-100% de pureza.

Ácido perclórico ( $\text{HClO}_4$ ) J.T. Baker 70-72% de pureza.

$\text{BF}_3\text{-OEt}_2$  Aldrich.

### 5.3 Preparación del Nitrato de Plata ( $\text{AgNO}_3$ )

La solución de  $\text{AgNO}_3$  se preparó disolviendo 1.7 g de  $\text{AgNO}_3$  en 12 mL de  $\text{CH}_3\text{CN}$ , conservando la solución en frasco ámbar cerrado.

## 5.4 Obtención del extracto

La planta se secó a la sombra, para su posterior separación en sus diferentes partes (tallo, hojas, flor, raíz). Un lote de 2.5 Kg de raíz de *C. pulcherrima*, se sometieron a maceración con metanol a temperatura ambiente durante tres días, transcurrido este tiempo se filtró y evaporó el disolvente en rotavapor, obteniéndose 70 g de extracto total metanólico.

### 5.5 Aislamiento del 6 $\beta$ -benzoiloxi-5 $\alpha$ -hidroxivouacapano (26), 5 $\alpha$ -hidroxivouacapano (27) y 6 $\beta$ -benzoiloxi-5 $\alpha$ ,7 $\beta$ -hidroxivouacapano (28).

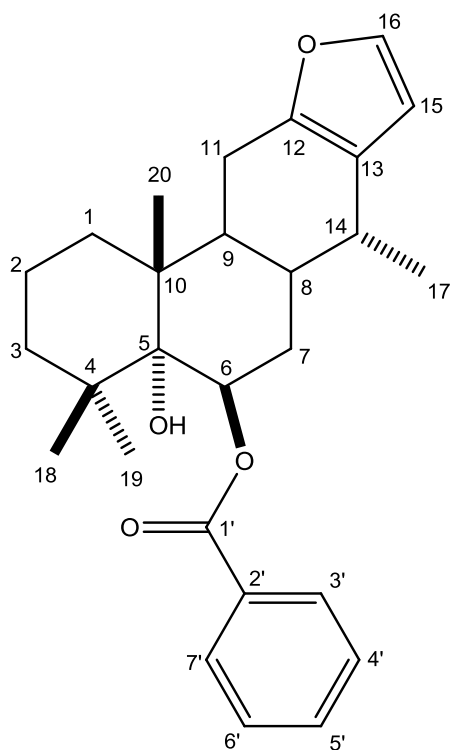
El extracto metanólico de raíz fue llevado a cromatografía en columna usando mezclas de Hexanos-AcOEt en polaridad ascendente, utilizando una columna de vidrio de 6 cm de diámetro, 12 cm de altura de gel de sílice malla 230-400 como fase estacionaria y como fase móvil hexanos. Se colectaron fracciones de 25 mL aproximadamente.

De la fracción 21-36 colectadas de las polaridades Hexanos-AcOEt (4:1 a 7:3) se obtuvo una miel color amarillo, en la cual se identificaron señales correspondientes a una mezcla de diterpenos, de acuerdo con espectros de RMN de  $^1\text{H}$ .

El procedimiento se repitió con 2.5 g de la mezcla de diterpenos en una columna de vidrio de 2 cm de diámetro por 12 cm de altura con gel de sílice empaquetada con hexanos, como fase estacionaria y como fase móvil se utilizó polaridad 95:5 Hexanos-AcOEt, colectando fracciones de 15 mL aproximadamente.

#### 5.5.1 Aislamiento del 6 $\beta$ -benzoiloxi-5 $\alpha$ -hidroxivouacapano (26).

En la fracción 31-36 se obtuvieron cristales incoloros en forma de agujas, los cuales se analizaron por RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , determinando que correspondía al compuesto **26**, comparando con los datos reportados.



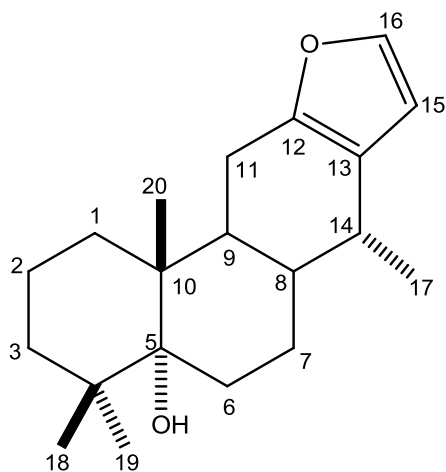
**6β-benzoiloxi-5α-hidroxivouacapano (26).**

Cristales en forma de aguja incoloros. p. f. 155-157 °C. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.04 (m, 2H, H-3', H-7'), 7.57 (m, 1H, H-5'), 7.45 (m, 2H, H-4', H-6'), 7.22 (d,  $J= 1.8$  Hz, 1H, H-16), 6.17 (d,  $J= 1.8$  Hz, 1H, H-15), 5.54 (t,  $J= 3.0$  Hz, 1H, H-6), 2.56 (m, 2H, H-11), 2.51 (m, 1H, H-7 $\beta$ ), 2.43 (m, 1H, H-9), 2.28 (m, 1H, H-14), 2.08 (m, 1H, H-8), 1.75 (m, 2H, H-2), 1.62 (m, 1H, H-7 $\alpha$ ), 1.57 (s, 3H, H-20), 1.52 (m, 2H, H-1), 1.48 (m, 1H, H-3 $\beta$ ), 1.24 (s, 3H, H-19), 1.15 (m, 1H, H-3 $\alpha$ ), 1.04 (s, 3H, H-18), 1.01 (d,  $J= 7.0$  Hz, 3H, H-17); RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 165.8 (C, C-1'), 149.5 (C, C-12), 140.4 (CH, C-16),

133.0 (CH, C-5'), 130.5 (CH, C-2'), 129.6 (CH, C-3', C-7'), 128.5 (CH, C-4', C-6'), 122.3 (C, C-13), 109.5 (CH, C-15), 76.44 (C, C-5), 72.7 (CH, C-6), 41.3 (C, C-10), 39.0 (C, C-4), 38.0 ( $\text{CH}_2$ , C-3), 38.0 (CH, C-9), 34.9 ( $\text{CH}_2$ , C-1), 31.5 ( $\text{CH}_2$ , C-7), 31.1 (CH, C-14), 30.6 (CH, C-8), 27.7 ( $\text{CH}_3$ , C-18), 25.9 ( $\text{CH}_3$ , C-19), 21.8 ( $\text{CH}_2$ , C-11), 18.2 ( $\text{CH}_2$ , C-2), 17.6 ( $\text{CH}_3$ , C-17).

**5.5.2 Aislamiento del 5α-hidroxivouacapano (27).**

En las fracciones 38-40 se observaron cristales incoloros en forma de cilindros, éstos se analizaron mediante RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , identificándose señales correspondientes al vouacapano **27**.

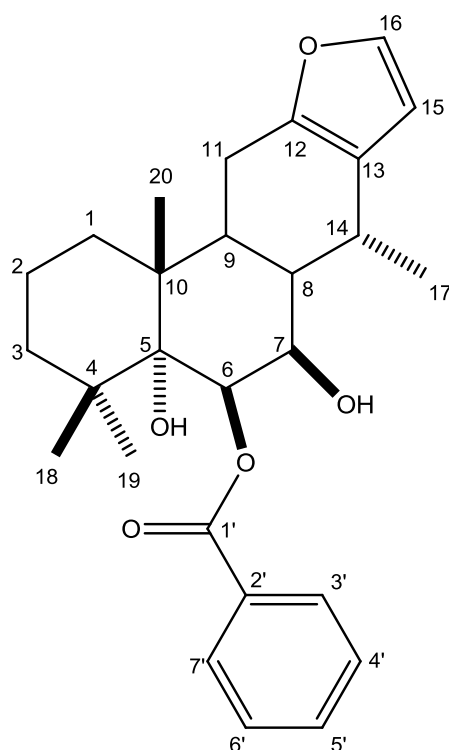


**5α-hidroxivouacapano (27).** Cristales en forma de cilindros incoloros. p. f. 98-100 °C. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.22 (d,  $J=1.8$  Hz, 1H, H-16), 6.18 (d,  $J=1.8$  Hz, 1H, H-15), 2.58 (m, 1H, H-14), 2.46 (m, 1H, H-11), 2.36 (m, 1H, H-9), 1.83 (m, 1H, H-7), 1.81 (s, 1H, H-8), 1.80 (m, 1H, H-6), 1.66 (m, 1H, H-3), 1.60 (m, 1H, H-6), 1.57 (m, 1H, H-1), 1.18 (m, 1H, H-3), 1.08 (s, 3H, H-19), 1.06 (s, 3H, H-20), 1.02 (d,  $J=7.0$  Hz, 3H, H-17), 0.95 (s, 3H, H-18);

RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 149.8 (C, C-12), 140.2 (CH, C-16), 122.5 (C, C-13), 109.6 (CH, C-15), 76.8 (C, C-5), 41.2 (C, C-10), 38.4 (C, C-4), 37.6 (CH, C-9), 36.3 ( $\text{CH}_2$ , C-3), 34.5 (CH, C-8), 32.5 ( $\text{CH}_2$ , C-1), 31.5 (CH, C-14), 28.0 ( $\text{CH}_3$ , C-18), 25.6 ( $\text{CH}_2$ , C-6), 24.4 ( $\text{CH}_2$ , C-7), 24.1 ( $\text{CH}_3$ , C-19), 22.3 ( $\text{CH}_2$ , C-11), 18.3 ( $\text{CH}_2$ , C-2), 17.5 ( $\text{CH}_3$ , C-17), 17.1 ( $\text{CH}_3$ , C-20).

### 5.5.3 Aislamiento del compuesto 28.

De las fracciones 41-45 se obtuvieron cristales amorfos de color amarillo claro. Éstos se analizaron mediante datos espectroscópicos, determinando que correspondían **28**.



### **6β-benzoiloxi-5α,7β-hidroxiouacapano(28).**

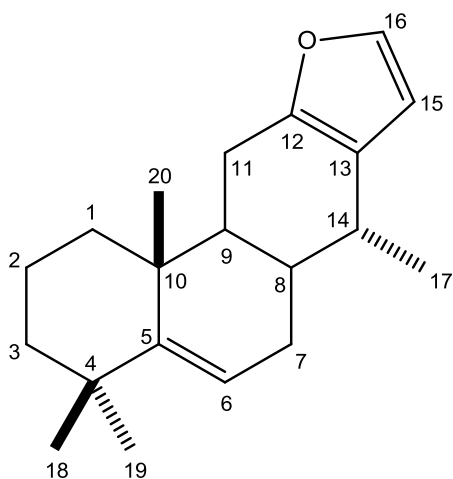
Cristales amorfos de color amarillo claro. p. f. 115-117 °C. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.05 (m, 2H, H-3', H-7'), 7.57 (m, 1H, H-5'), 7.45 (m, 2H, H-4', H-6'), 7.24 (d,  $J=1.8$  Hz, 1H, H-16), 6.20 (d,  $J=1.8$  Hz, 1H, H-15), 5.81 (d,  $J=4.2$  Hz, 1H, H-6), 4.42 (m, 1H, H-7), 3.03 (m, 1H, H-14), 2.58 (s, 2H, H-11), 2.44 (m, 1H, H-9), 2.02 (m, 1H, H-8), 1.76 (s, 1H, H-2), 1.66 (m, 2H, H-1), 1.58 (s, 1H, H-2), 1.53 (s, 3H, H-19), 1.18 (s, 3H, H-20), 1.11 (s, 3H, H-18), 1.09 (d,  $J=7.0$  Hz, 3H, H-17); RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 167.3 (C, C-1'), 149.2 (C, C-12), 140.5 (CH, C-16), 133.0 (CH, C-5'), 130.0 (CH, C-2'), 129.9 (CH, C-3', C-7'), 128.5 (CH, C-4', C-6'), 121.9 (C, C-13), 109.7 (CH, C-15), 77.8 (C, C-5), 74.0 (CH, C-6), 69.1 ( $\text{CH}_2$ , C-7), 40.1 (C, C-10), 39.2 (C, C-4), 37.9 (CH, C-8), 37.7 ( $\text{CH}_2$ , C-3), 37.1 (CH, C-9), 27.7 (CH, C-14), 27.3 ( $\text{CH}_3$ , C-20), 25.5 ( $\text{CH}_3$ , C-19), 21.7 ( $\text{CH}_2$ , C-11), 17.6 ( $\text{CH}_3$ , C-18), 18.1 ( $\text{CH}_2$ , C-2), 17.1 ( $\text{CH}_3$ , C-17).

## **5.6 Reacciones de deshidratación en medio ácido.**

### **Preparación del derivado 29.**

A una solución de 157 mg del 5α-hidroxiouacapano (27) en 6 mL de metanol, se le adicionaron 0.3 mL de  $\text{HClO}_4$ . La mezcla de reacción se dejó a reflujo, durante veintiséis minutos, transcurrido este tiempo la mezcla de reacción se vertió a un embudo de separación que contenía hielo y se extrajo con  $\text{AcOEt}$ , la fase orgánica se lavó con agua y solución saturada de bicarbonato de sodio. Se secó utilizando  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y concentró para posteriormente determinar RMN de  $^1\text{H}$ . El crudo de reacción fue purificado mediante

cromatografía en columna y cromatografía en placa preparativa impregnada con  $\text{AgNO}_3$ .



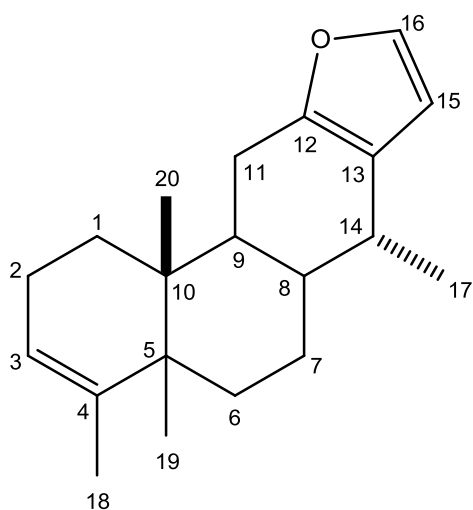
Derivado **29**. Miel incolora (6.22 % rendimiento).

RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.23 (d,  $J= 1.8$  Hz, 1H, H-16), 6.20 (d,  $J= 1.8$  Hz, 1H, H-15), 5.55 (t,  $J= 4.0$  Hz, 1H, H-6), 2.65 (m, 1H, H-14), 2.57 (m, H-8), 2.41 (m, 1H, H-9), 2.17 (m, 2H, H-7), 1.72 (m, 2H, H-11), 1.30 (m, 2H, H-3), 1.13 (s, 3H, H-19), 1.10 (s, 3H, H-20), 1.05 (s, 3H, H-18), 1.00 (d,  $J= 7.0$  Hz, 3H, H-17). RMN de  $^{13}\text{C}$

(100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 150.67 (C, C-5), 149.6 (C, C-12), 140.1 (CH, C-16), 122.9 (C, C-13), 118.3 (CH, C-6), 109.6 (CH, C-15), 42.0 (CH, C-14), 40.7 (C, C-10), 38.0 (C, C-4), 37.1 (CH, C-9), 34.9 ( $\text{CH}_2$ , C-3), 32.9 (CH, C-8), 32.2 ( $\text{CH}_3$ , C-18), 31.6 ( $\text{CH}_2$ , C-7), 31.1 ( $\text{CH}_3$ , C-20), 29.6 ( $\text{CH}_2$ , C-1), 27.3 ( $\text{CH}_2$ , C-11), 22.9 ( $\text{CH}_3$ , C-19), 20.2 ( $\text{CH}_2$ , C-2), 18.2 ( $\text{CH}_3$ , C-17).

Preparación del derivado **30**.

A una solución de 335 mg de **27** en 10 mL de tolueno, se le adicionaron 6.6 mL de ácido fórmico. La mezcla de reacción se dejó a reflujo durante tres horas, transcurrido este tiempo la mezcla de reacción se vertió a un embudo de separación que contenía hielo y se extrajo con  $\text{AcOEt}$ , la fase orgánica se lavó con agua y solución saturada de bicarbonato de sodio. Se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y concentró el disolvente en rotavapor, para posteriormente determinar RMN de  $^1\text{H}$ . El crudo de reacción fue purificado mediante cromatografía en columna.



Derivado reordenado **30**. Cristales amorfos incoloros. p. f. 55-60 °C (6.56% rendimiento).

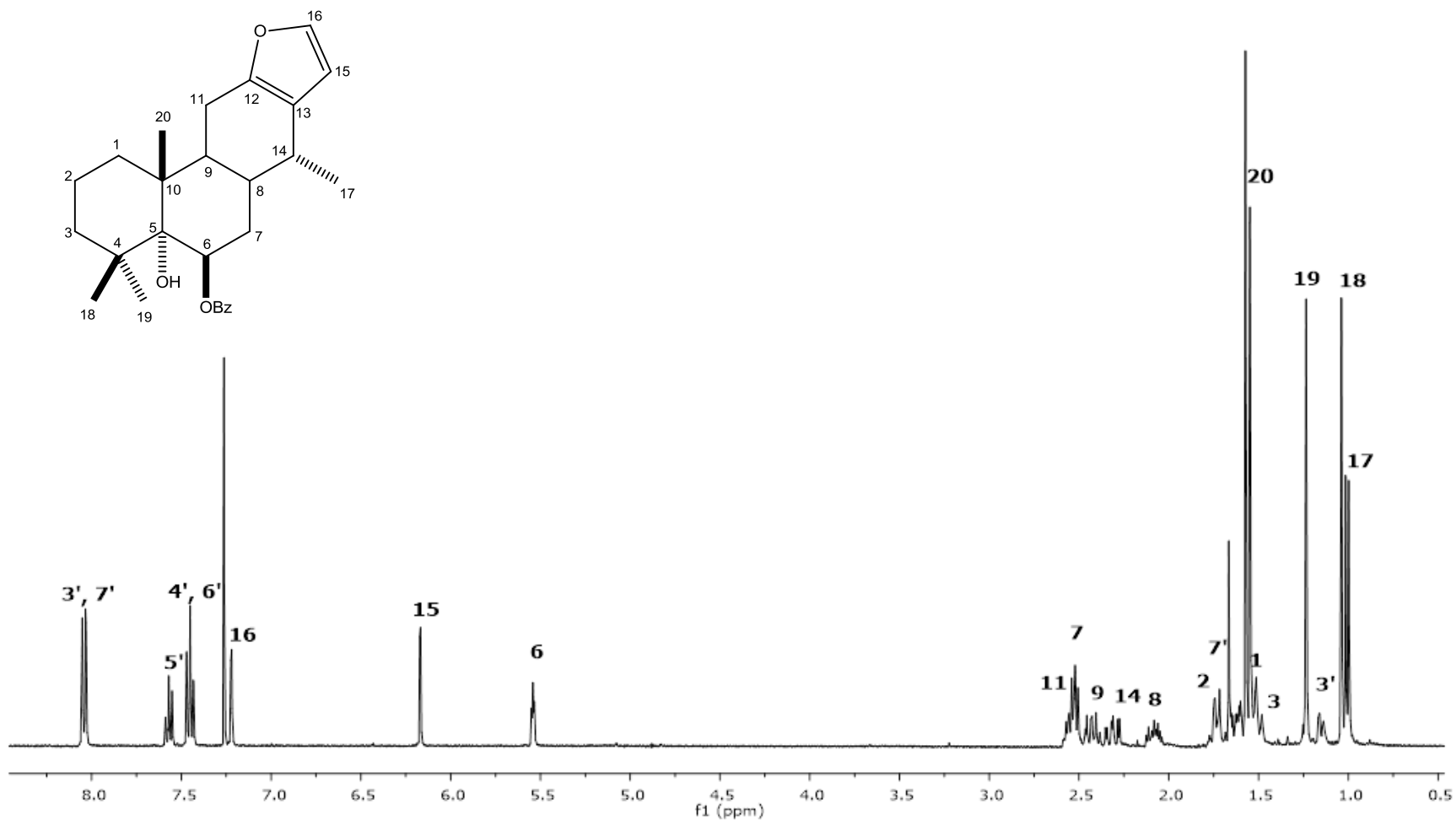
RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.22 (d,  $J=1.8$  Hz, 1H, H-16), 6.18 (d,  $J=1.8$  Hz, 1H, H-15), 5.38 (sa, 1H, H-3), 2.62 (m, 1H, H-14), 2.53 (m, 2H, H-11), 2.16 (m, 1H, H-9), 2.00 (m, 2H, H-2), 1.74 (m, 2H, H-1), 1.66 (s, 3H, H-18), 1.63 (s, 1H, H-8), 1.56 (s, 2H, H-6), 1.42 (m, 2H, H-1), 0.97 (s, 3H, H-19), 0.93 (d,  $J=7.0$  Hz,

3H, H-17), 0.91 (s, 3H, H-20). RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 150.1 (CH, C-12), 140.4 (CH, C-16), 138.9 (C, C-4), 123.5 (CH, C-3), 122.4 (C, C-13), 109.8 (CH, C-15), 41.7 (C, C-5), 38.2 (C, C-10), 35.4 (CH, C-8), 32.2 (CH, C-9), 31.3 (CH, C-14), 31.7 ( $\text{CH}_2$ , C-7), 28.2 ( $\text{CH}_2$ , C-1), 27.7 ( $\text{CH}_2$ , C-6), 25.0 ( $\text{CH}_3$ , C-19), 23.5 ( $\text{CH}_2$ , C-11), 22.5 ( $\text{CH}_2$ , C-2), 19.4 ( $\text{CH}_3$ , C-18), 17.8 ( $\text{CH}_3$ , C-17), 17.4 ( $\text{CH}_3$ , C-20).

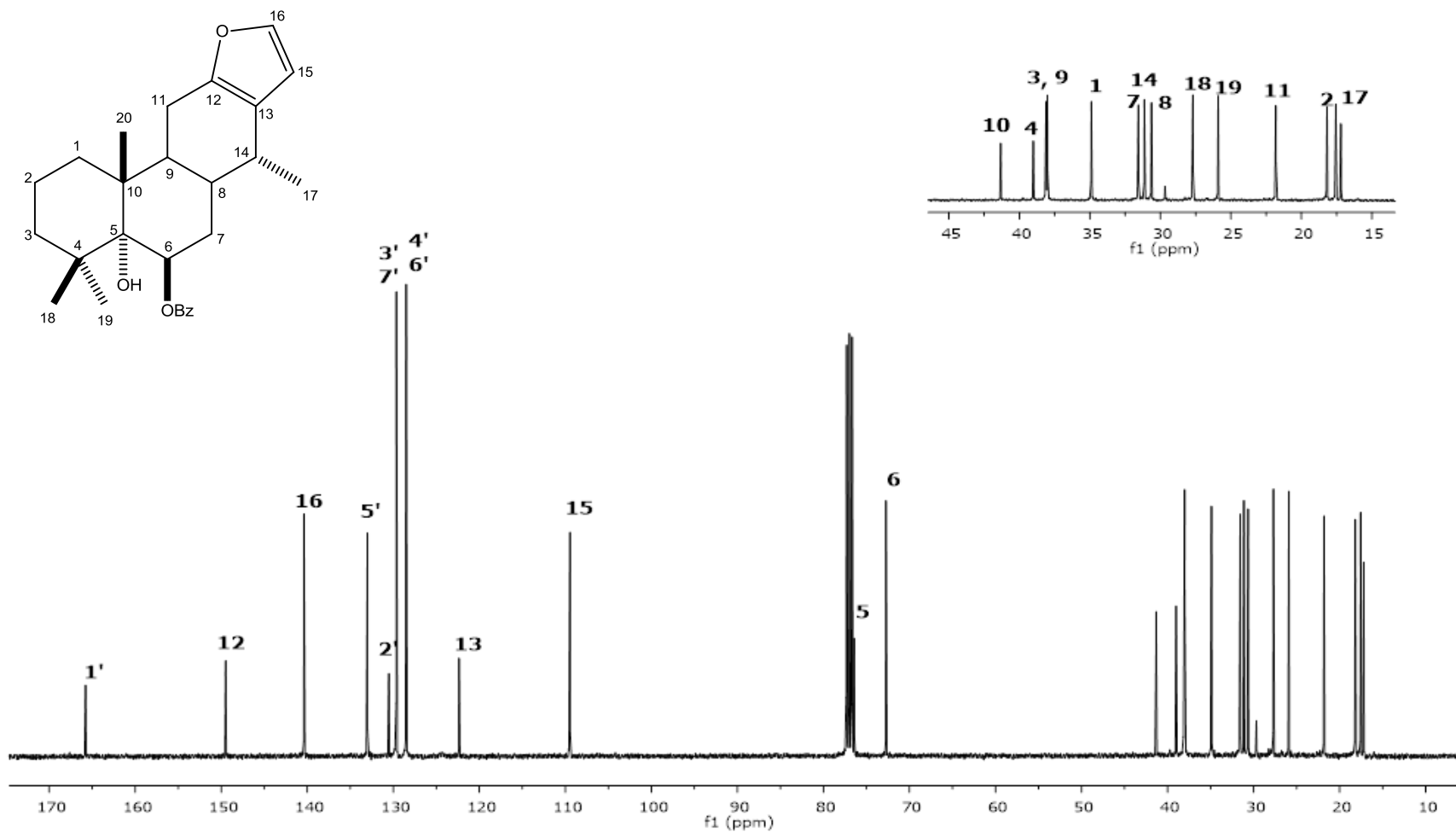
## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La raíz de *C. pulcherrima* se colocó en maceración durante tres días para la obtención del respectivo extracto.

Un total de 70 g del extracto metanólico crudo fue purificado por cromatografía en columna, utilizando como eluyente mezclas de Hexanos-AcOEt en polaridad ascendente. El anterior proceso se repitió hasta la obtención de cristales incoloros en forma de aguja con punto de fusión de 155-157 °C en las fracciones eluidas con Hexanos-AcOEt (95:5). En su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 6) se observa en 8.04, 7.57 y 7.45 ppm señales múltiples correspondientes a los hidrógenos del grupo benzoato H-3', H-7', H-5' y H-4', H-6' respectivamente, en 7.22 y 6.17 ppm se encuentran dos señales dobles con  $J= 1.8$  Hz correspondientes a los protones H-16 y H-15, en 5.54 ppm se aprecia una señal triple con  $J= 3.0$  Hz correspondiente al protón base de benzoato H-6, en 1.57, 1.24 y 1.04 ppm se observan 3 señales simples correspondientes a los metilos terciarios CH<sub>3</sub>-20, CH<sub>3</sub>-19 y CH<sub>3</sub>-18 respectivamente, en 1.01 ppm se encuentra una señal doble con  $J= 7.0$  Hz correspondiente al metilo CH<sub>3</sub>-17. En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 7), se aprecian 20 señales, características de un diterpeno. En 165.8 ppm se localiza una señal correspondiente al carbonilo del grupo benzoato C-1', en 140.4 y 109.5 ppm se localizan dos señales correspondientes a los carbonos aromáticos del anillo de furano C-16 y C-15 respectivamente, en 76.4 ppm se aprecia una señal correspondiente al carbono cuaternario base de oxígeno C-5, en 72.7 ppm se observa una señal correspondiente al carbono base de benzoato C-6. El resto de las señales se observan entre 41.3-17.6 ppm. Estos datos son correspondientes para el 6 $\beta$ -benzoiloxi-5 $\alpha$ -hidroxivouacapano (**26**).

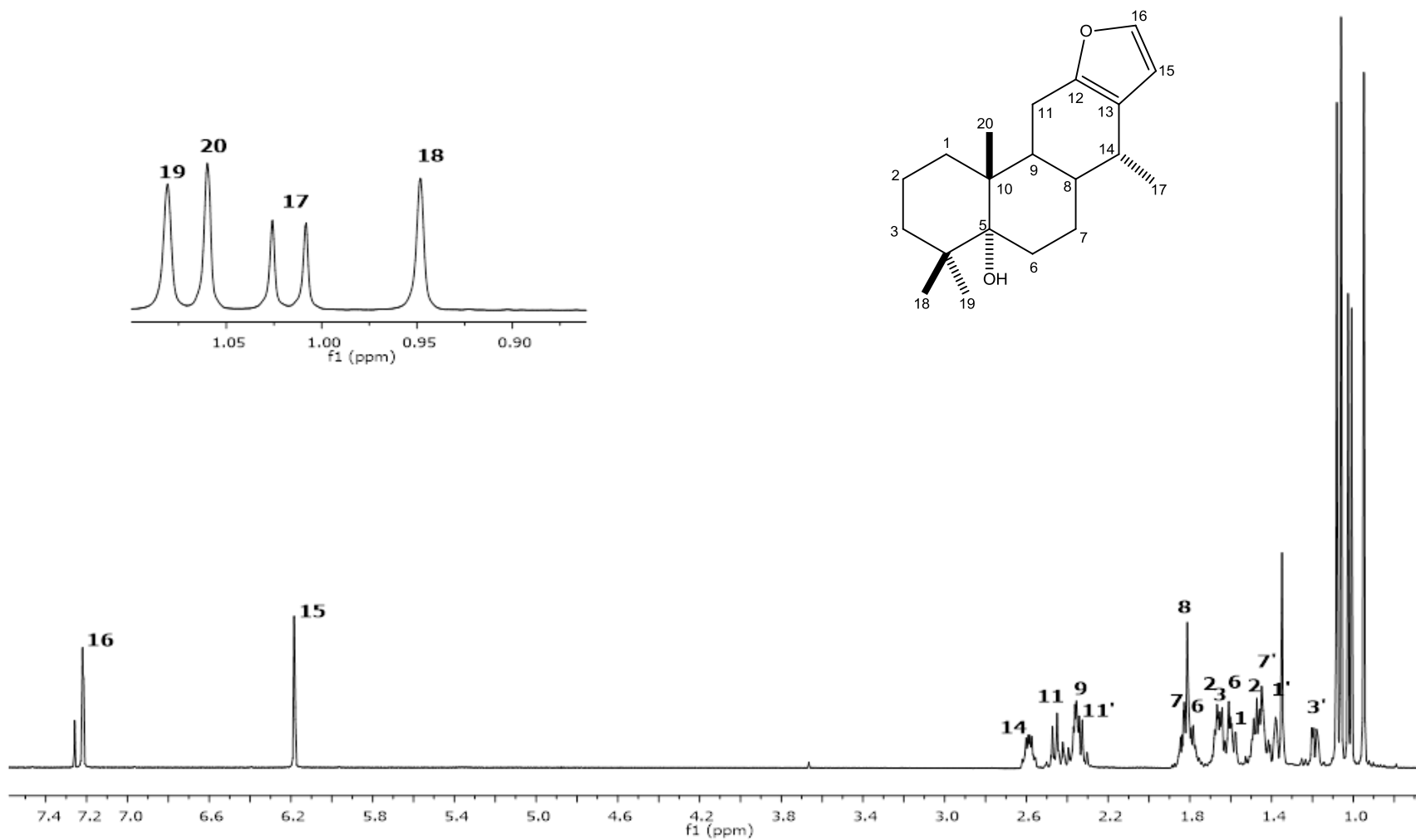


**Figura 6.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H a 400 MHz del 6β-benzoiloxi-5α-hidroxivuacapano (26).

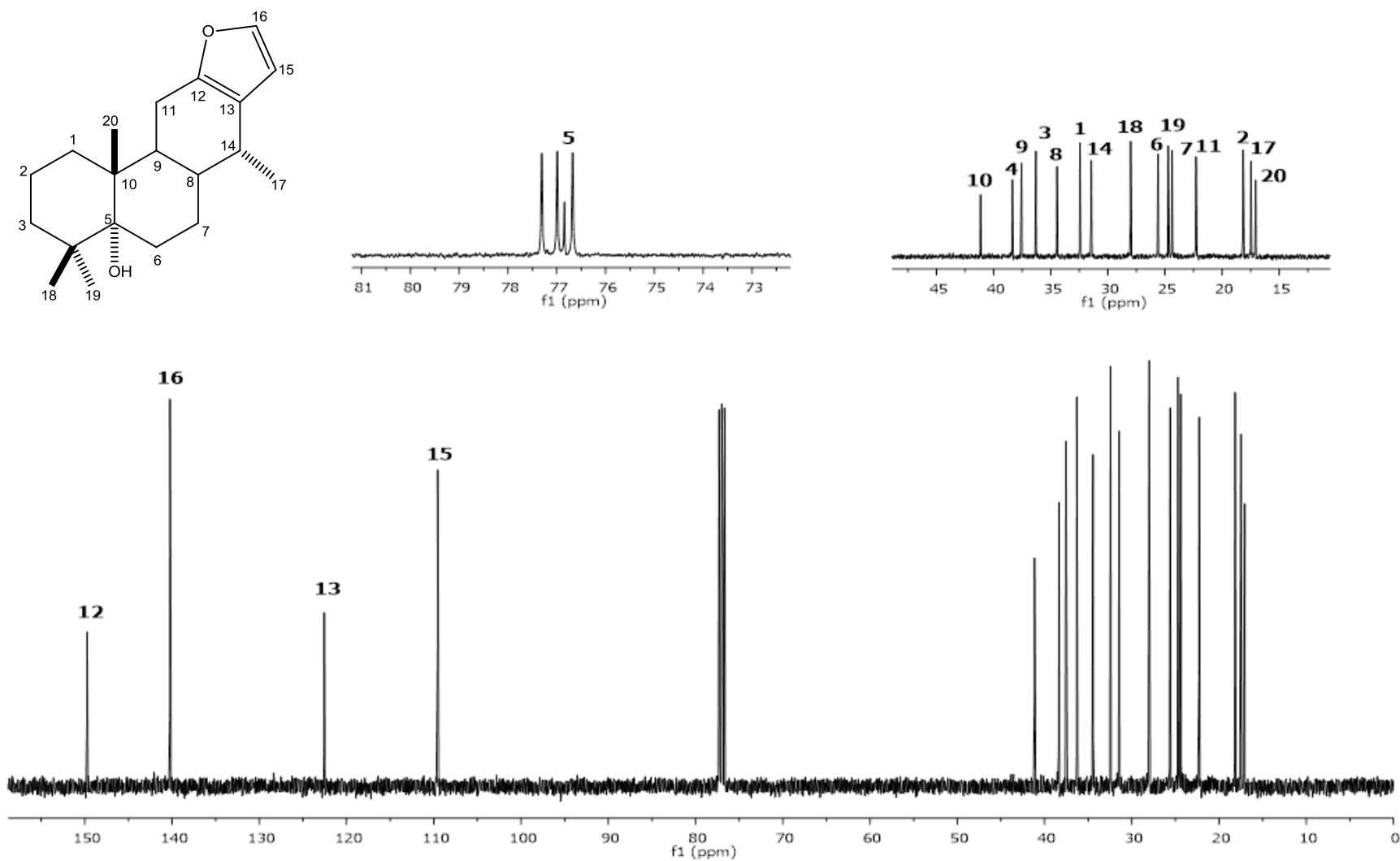


**Figura 7.** Espectro de RMN de <sup>13</sup>C a 100 MHz del 6β-benzoiloxi-5α-hidroxivuacapano (26).

De las fracciones 38-40 eluidas con polaridad 95:5 Hexanos-AcOEt, se obtuvieron cristales incoloros en forma de cilindros con punto de fusión de 98-100 °C. En su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 8) se observa dos señales dobles en 7.22 y 6.18 ppm con  $J = 1.8$  Hz, asignadas a los hidrógenos 16 y 15 del anillo de furano. En 1.08 ppm se encuentra una señal simple correspondiente al metilo  $\text{CH}_3$ -19, en 1.06 ppm se localiza una señal simple que corresponde al metilo  $\text{CH}_3$ -20, en 1.02 ppm se encuentra una señal doble con constante de acoplamiento de  $J = 7.0$  Hz correspondiente al metilo secundario 17, en 0.95 ppm se localiza una señal simple correspondiente al metilo 18. En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz (Figura 9), se observan 20 señales características de un compuesto diterpénico. En 149.8 ppm se observa una señal correspondiente del carbono cuaternario C-12, en 140.2 ppm se aprecia una señal correspondiente al carbono aromático del anillo de furano C-16, en 122.5 ppm aparece una señal correspondiente al carbono cuaternario C-13, en 109.6 ppm se observa una señal correspondiente al carbono aromático C-15, en 76.8 ppm se localiza una señal que corresponde al carbono base de oxígeno C-5. De 41.2-17.1 ppm se ubican el resto de las señales. Los datos presentados son correspondientes para el 5 $\alpha$ -hidroxivouacapano (**27**).

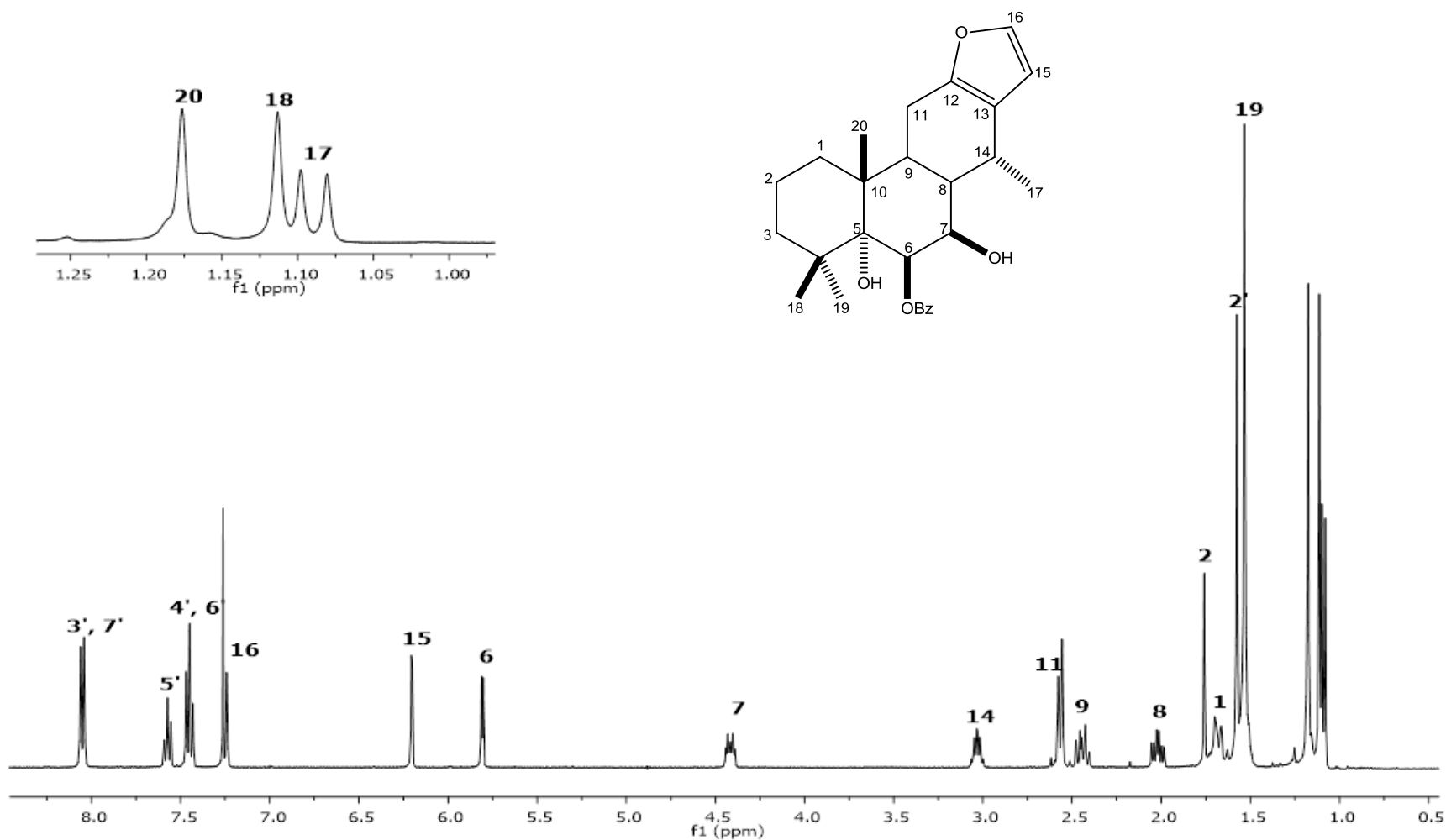


**Figura 8.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H a 400 MHz del 5α-hidroxivouacapano (27).

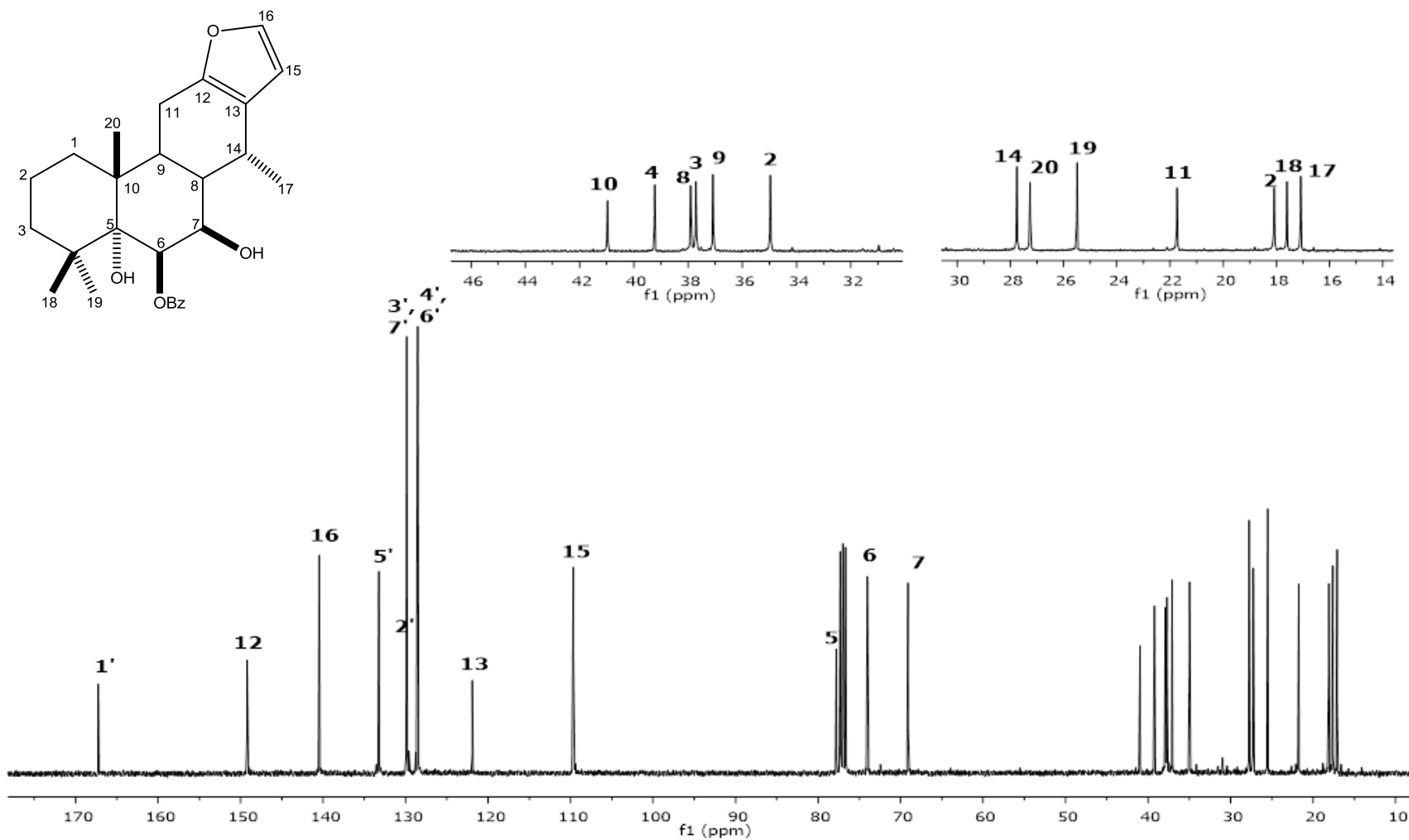


**Figura 9.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz del 5 $\alpha$ -hidroxivuacapano (27).

En las fracciones 41-45 eluídas con Hexanos-AcOEt (95:5), se obtuvieron cristales amorfos de color amarillo claro con punto de fusión de 115-117 °C. En su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 10) se observan tres señales múltiples en 8.05, 7.57 y 7.45 ppm correspondientes a los hidrógenos aromáticos H-3', H-7', H-5' y H-4', H-6', en 7.24 y 6.20 ppm, aparecen dos señales dobles con  $J= 1.8$  Hz correspondientes a los hidrógenos aromáticos del furano H-16 y H-15 respectivamente, en 5.81 ppm se observa una señal doble con una  $J= 4.2$  Hz que corresponde al hidrógeno H-6 base de benzoato, en 4.42 ppm aparece una señal múltiple correspondiente al hidrógeno H-7 base de hidroxilo, en 1.53, 1.18 y 1.11 ppm se encuentran 3 señales simples correspondientes a los metilos  $\text{CH}_3$ -19,  $\text{CH}_3$ -20,  $\text{CH}_3$ -18, respectivamente, en 1.09 ppm se observa una señal doble con  $J= 7.0$  Hz correspondiente al metilo secundario  $\text{CH}_3$ -17. En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz (Figura 11), se observan 20 señales características de un compuesto diterpénico. En 167.3 ppm aparece una señal correspondiente al carbono de carbonilo C-1', en 129.9 y 128.5 ppm se observan 2 señales correspondientes a los carbonos aromáticos, C-3', C-7' y C-4', C-6' respectivamente, en 77.8 ppm se aprecia una señal correspondiente al carbono C-5, en 74.0 ppm se observa una señal que corresponde al carbono base de benzoato C-6, en 69.1 ppm aparece una señal correspondiente al carbono C-7, base de oxígeno. Entre 40.1-17.1 ppm se localizan el resto de las señales. Estos datos con correspondientes para el compuesto  $6\beta$ -benzoiloxi- $5\alpha,7\beta$ -hidroxivouacapano (**28**).



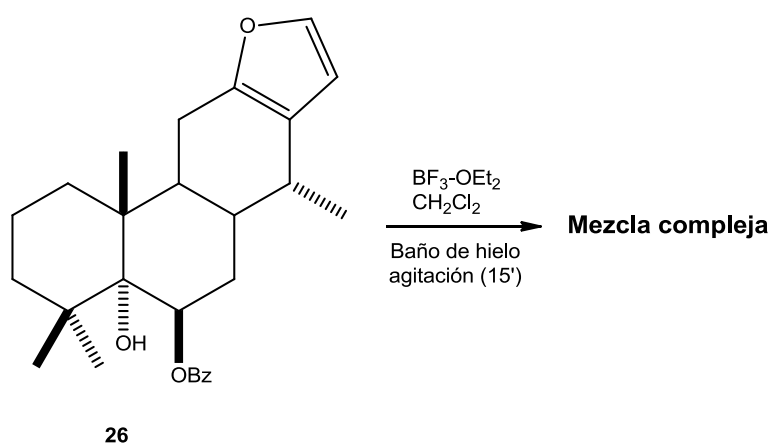
**Figura 10.** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H a 400 MHz del 6β-benzoil-5α, 7β- hidroxivuacapano (28).



**Figura 11.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz del 6 $\beta$ -benzoiloxi-5 $\alpha$ ,7 $\beta$ -hidroxiyouacapano (28)

Aislados e identificados los hidroxivouacapanos **26**, **27** y **28**, se procedió a evaluar su reactividad química, debido a que éstos compuestos son susceptibles a presentar reacciones de eliminación generando derivados novedosos. Se decidió iniciar los ensayos con **26** y **28**, debido a la similitud con los compuestos ensayados por Sudhakar C. y colaboradores.<sup>52</sup>

El diterpeno **26** se hizo reaccionar con  $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$  en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , siguiendo la metodología descrita (Esquema 21)<sup>52</sup>, disminuyendo la temperatura. Sin embargo, no se logró obtener el producto reordenado esperado.



**Esquema 21.** Tratamiento del compuesto **26**.

Debido a que no se obtuvieron los resultados esperados, se decidió modificar las condiciones de reacción, usando un ácido más débil.

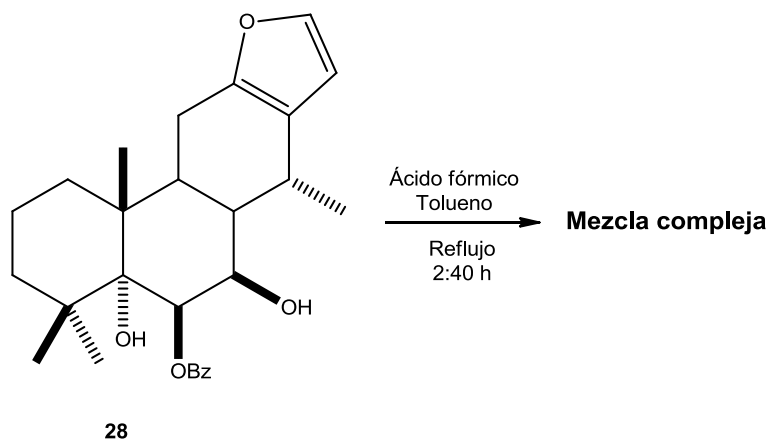
El compuesto **26** fue tratado con ácido fórmico en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a reflujo, monitoreando la reacción mediante cromatografía en capa fina. El análisis del crudo de reacción por RMN de  $^1\text{H}$  mostró únicamente materia prima. Debido a que se recuperó la materia prima, se decidió utilizar ácido perclórico en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  observando mediante TLC presencia sólo de materia prima (Tabla 2).

**Tabla 2.** Tratamiento del compuesto **26** con ácido fórmico.

| Materia prima       | Reactivos                                        | Condiciones | Tiempo | Producto      |
|---------------------|--------------------------------------------------|-------------|--------|---------------|
| Compuesto <b>26</b> | Ácido fórmico/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>    | Reflujo     | 4:20 h | Materia prima |
| Compuesto <b>26</b> | Ácido perclórico/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | 0 °C        | 24 h   | Materia prima |

Al no observar buenos resultados de reactividad del compuesto **26**, se decidió tratar el vouacapano **28**, el cuál se encuentra más funcionalizado.

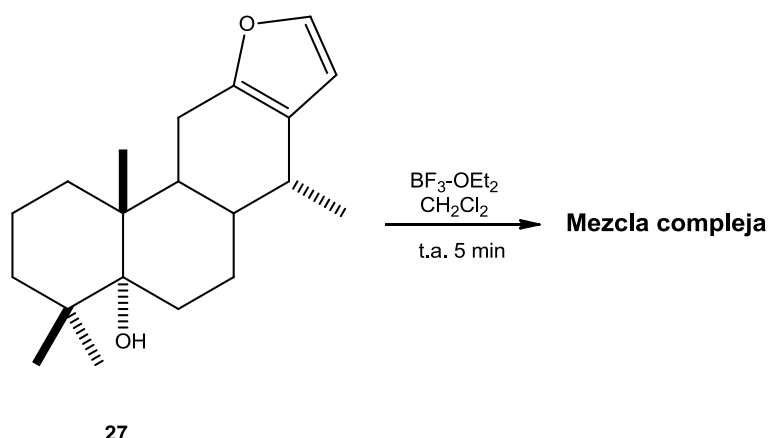
Se hicieron reaccionar 68 mg de **28** con ácido fórmico en tolueno a reflujo (Esquema 22). La reacción se monitoreo mediante cromatografía en capa fina cada 30 min, observado después de 2:40 h la formación de una mezcla compleja de productos.



**Esquema 22.** Tratamiento del compuesto **28**.

Debido a que el compuesto **28** se obtuvo de manera minoritaria y que la mezcla obtenida de la reacción no fue posible separarla mediante cromatografía en columna, se decidió evaluar la reactividad del compuesto **27**, el cual presenta solo un grupo OH en posición 5- $\alpha$ .

El hidroxivouacapano **27** se hizo reaccionar con  $\text{BF}_3\text{-OEt}_2$  en diclorometano (Esquema 23)<sup>52</sup>, sin embargo se obtuvo una mezcla compleja de productos.



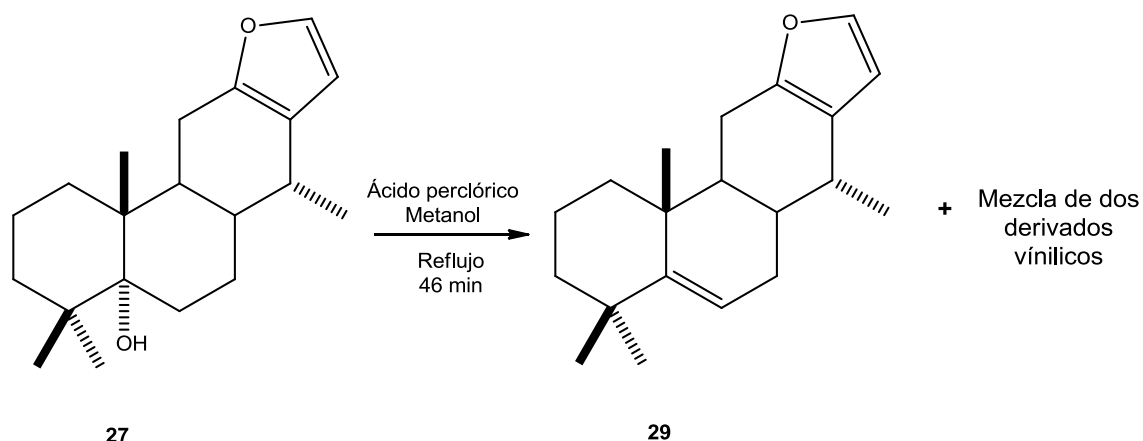
**Esquema 23.** Tratamiento de **27**.

Con base en los resultados obtenidos, se decidió llevar a cabo el tratamiento de **27** con un ácido más débil. 100 mg de **27** se hizo reaccionar con ácido fórmico<sup>51</sup> para la obtención del derivado vinílico. La reacción se monitoreó mediante TLC, después de dos horas se observó sólo materia prima. Por lo cual se decidió aumentar la proporción de equivalentes de ácido fórmico, así como también el tiempo de reacción, con la finalidad de favorecer la deshidratación (Tabla 3). 66 mg del compuesto **27** se hicieron reaccionar con 1.2 mL de ácido fórmico en diclorometano, monitoreando la reacción mediante cromatografía en placa fina, después de 2:40 h se observó la formación de un producto. Al ser analizado el crudo de reacción mediante RMN se apreciaron señales de la mezcla del compuesto reordenado **30** con dos productos más, los cuales presentaron el mismo  $R_f$ .

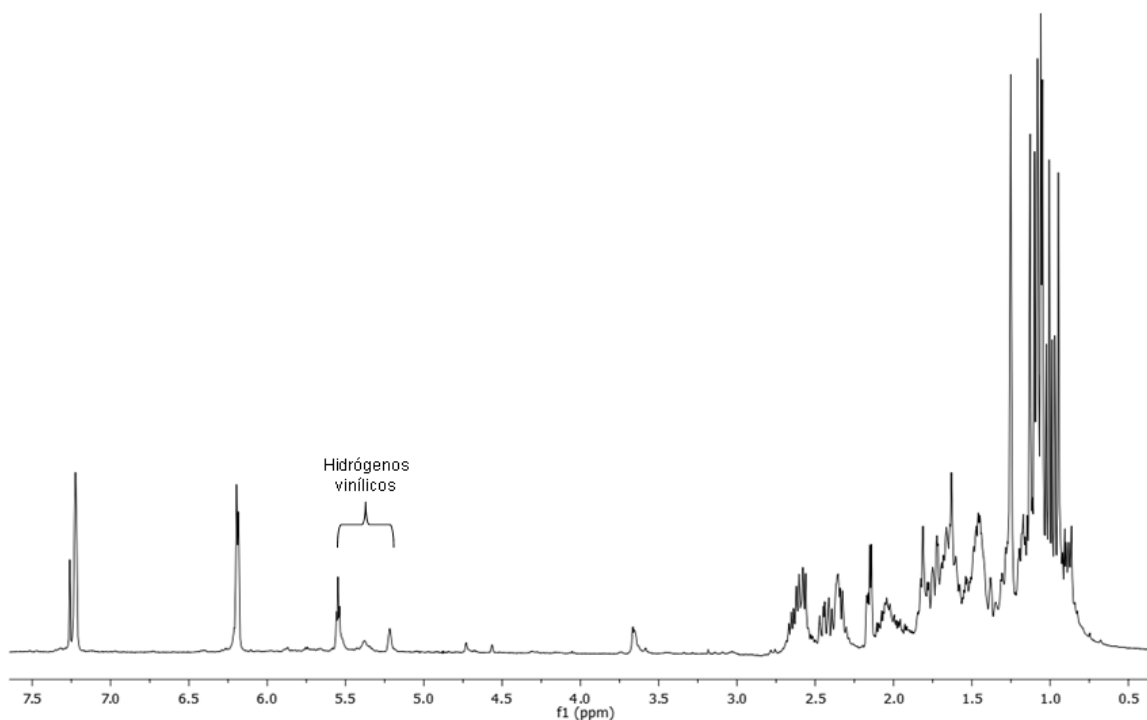
**Tabla 3.** Tratamiento de **27** a diferentes condiciones.

| Materia prima       | Reactivos                                                 | Condiciones | Tiempo | Producto                                                         |
|---------------------|-----------------------------------------------------------|-------------|--------|------------------------------------------------------------------|
| Compuesto <b>27</b> | Ácido fórmico<br>(0.2 mL)/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | Reflujo     | 2 h    | Materia prima                                                    |
| Compuesto <b>27</b> | Ácido fórmico<br>(1.2 mL)/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | Reflujo     | 2:40 h | Derivado <b>30</b><br>en mezcla con<br>2 derivados<br>vinílicos. |

Con la intención de favorecer la formación selectiva de uno de los derivados vinílicos se cambió el disolvente por uno de mayor polaridad y con un punto de ebullición más alto, así como también se utilizó un ácido más fuerte. 50 mg de **27** se trataron con ácido perclórico en metanol a reflujo (Esquema 24), monitoreando reacción mediante TLC, a los trece minutos se observó materia prima y formación de un producto. Transcurridos 33 minutos más, no se observó avance de la reacción, por lo que se decidió extraer y analizar el crudo de reacción mediante RMN de <sup>1</sup>H, donde se pueden apreciar señales de tres derivados vinílicos (Figura 12), siendo mayoritario el derivado **29**.

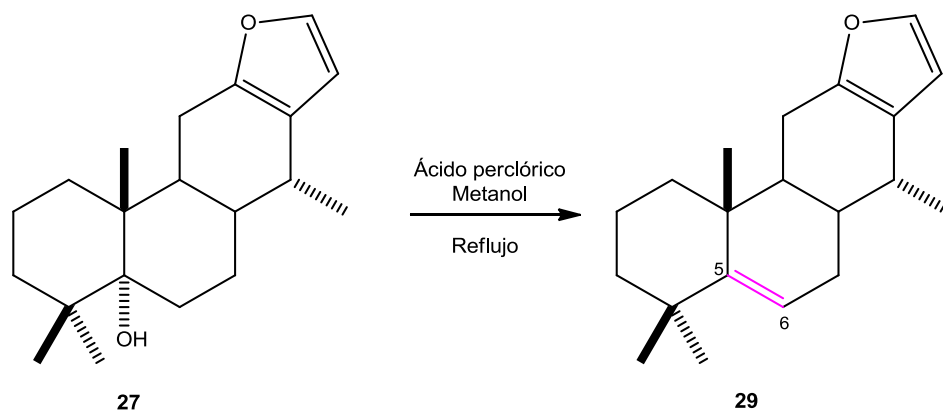


**Esquema 24.** Tratamiento de **27** para la obtención del derivado **29**.



**Figura 12.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz del crudo de reacción de **27** con ácido perclórico en metanol.

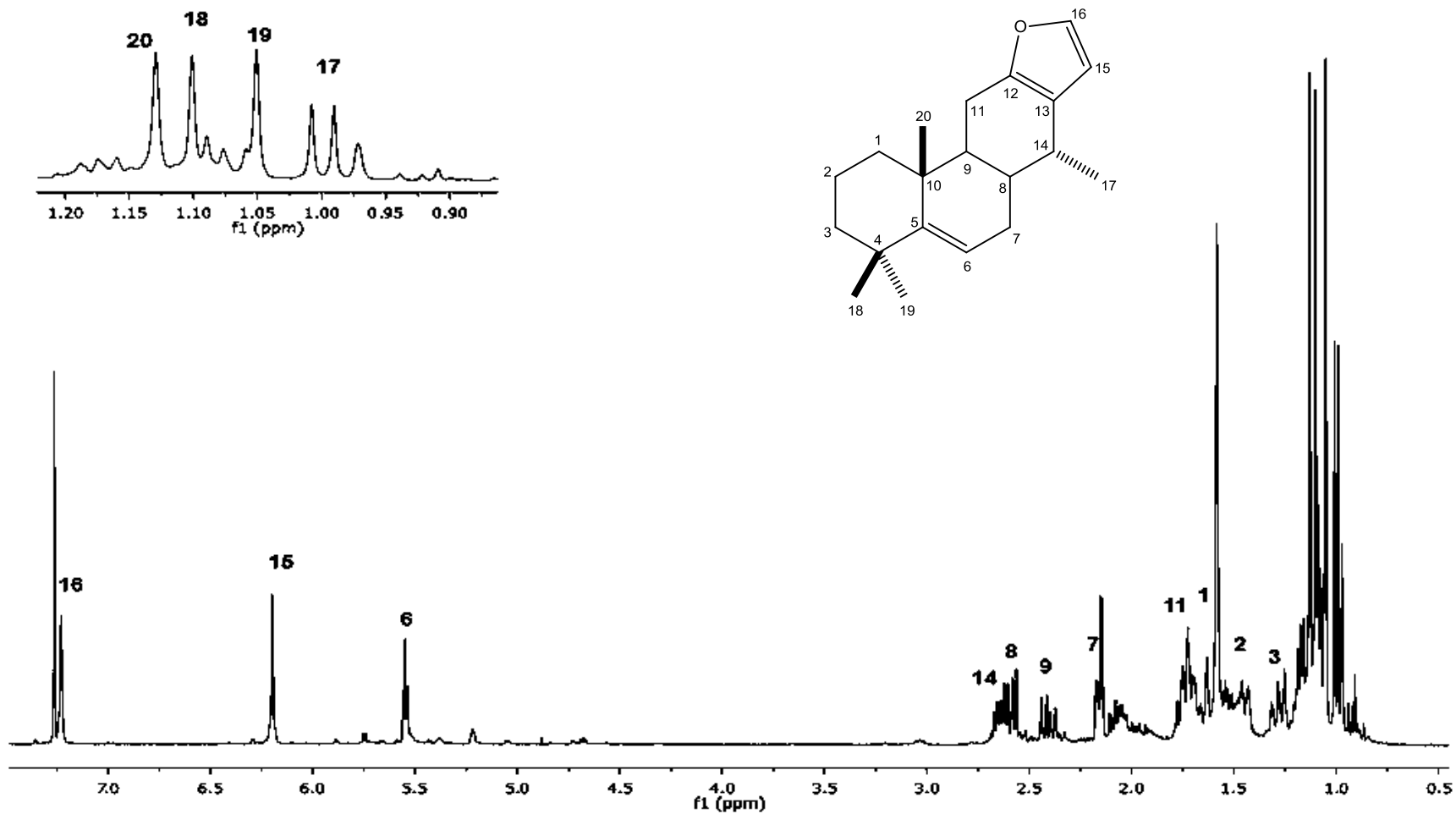
El crudo de reacción se intentó purificar en placa preparativa, impregnada con  $\text{AgNO}_3$ , utilizando como eluyente mezcla de Hexanos- $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (98:2) obteniendo una miel color amarillo, la cual se analizó mediante RMN de  $^1\text{H}$ , observando al derivado **29** aún en mezcla, por lo que se procedió a realizar cromatografía en columna, utilizando como eluyente hexanos, lo que condujo a la obtención de una miel incolora, que al ser analizada mediante RMN de 1D y 2D se propone que corresponde al derivado deshidratado **29** (Esquema 25).



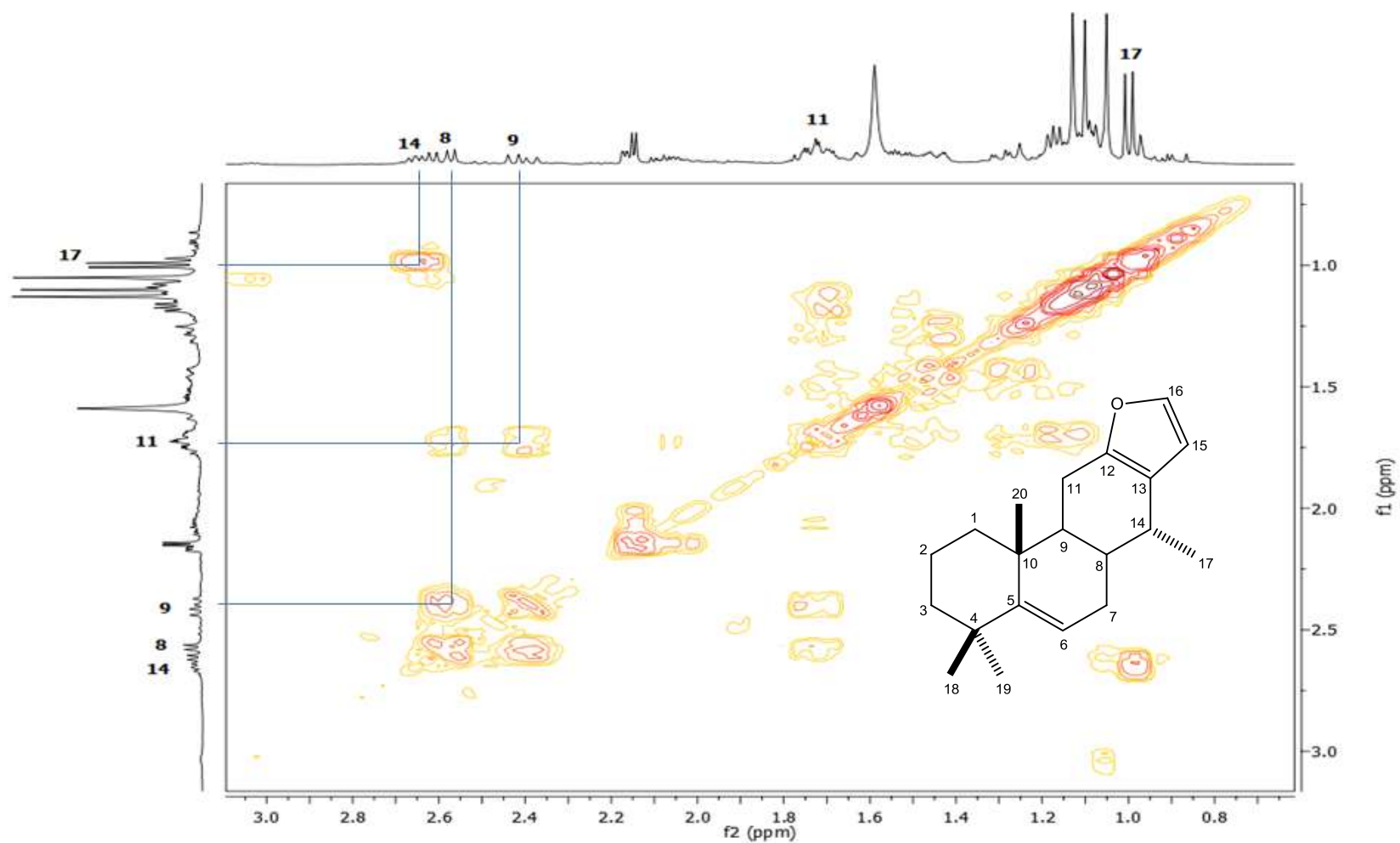
**Esquema 25.** Producto de deshidratación en medio ácido.

En su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 13) se observan dos señales dobles en 7.23 y 6.20 ppm ( $J = 1.8$  Hz), correspondientes a los hidrógenos del anillo de furano. En 5.55 ppm se aprecia una señal triple con  $J = 4.0$  Hz correspondiente al hidrógeno vinílico H-6, en 2.17 y 2.15 ppm se encuentra una señal múltiple asignada a los hidrógenos alílicos H-7, en 1.13 ppm se observa una señal simple que integra para tres hidrógenos que corresponde al metilo  $\text{CH}_3$ -20, en 1.10 ppm se encuentra una señal simple que integra para tres hidrógenos asignada al metilo  $\text{CH}_3$ -18, en 1.05 ppm se observa una señal simple asignada al metilo  $\text{CH}_3$ -19, en 1.00 ppm se aprecia una señal doble con  $J = 7.0$  Hz del metilo secundario  $\text{CH}_3$ -17. En el experimento COSY (Figura 14) se puede apreciar una correlación de la señal múltiple en 2.65 ppm asignada al hidrógeno H-14 con la señal doble en 1.00 ppm que corresponde al metilo secundario  $\text{CH}_3$ -17, así como también se aprecia una correlación del hidrógeno H-9 en 2.41 ppm, con la señal múltiple en 1.72 ppm asignada al hidrógeno H-11 y una posible correlación del hidrógeno H-8 con la señal múltiple en 2.41 ppm correspondiente al hidrógeno H-9, se observa la correlación de la señal triple en 5.55 ppm asignada al hidrógeno vinílico H-6 con la señal múltiple en 2.17 ppm perteneciente a los hidrógenos alílicos H-7, lo que nos sugiere que se llevó a cabo la eliminación del hidrógeno del carbono C-6, formándose así el doble enlace en posición C5-C6. En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 15) en 150.6 y 118.3 ppm se observan las señales características de los carbonos vinílicos C-5 y C-6, respectivamente, en 42.0 ppm se aprecia la señal del

C-14 base de metilo secundario, en 38.0 ppm se encuentra la señal del C-4 que corresponde a un carbono cuaternario. Las señales de RMN de  $^{13}\text{C}$  se asignaron con ayuda del experimento HETCOR y DEPT. Estos resultados permiten definir la formación del derivado **29**, del cual se realizó una búsqueda en la literatura sin encontrar reportes para este compuesto, por lo que resulta novedoso.



**Figura 13.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz del derivado **29**.



**Figura 14.** Experimento COSY del derivado **29**.

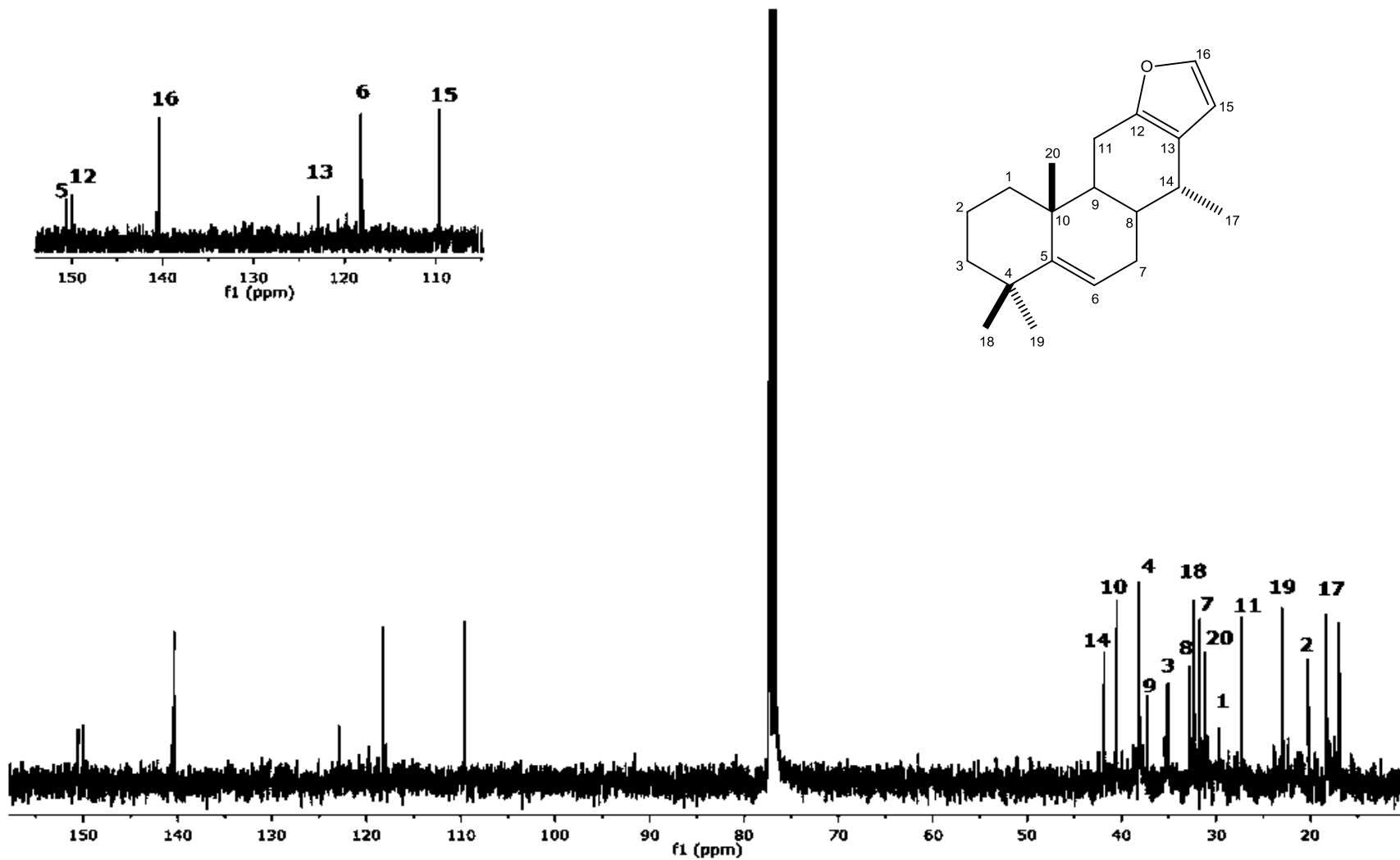
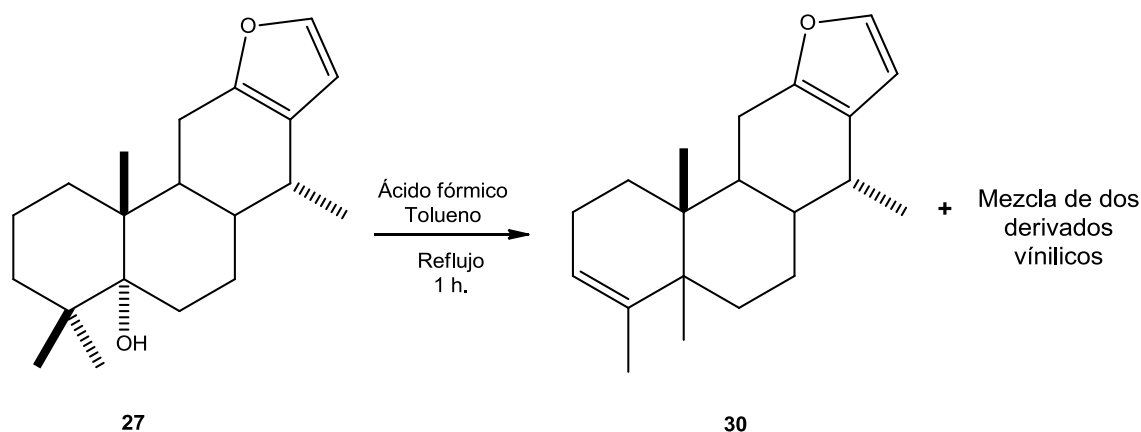


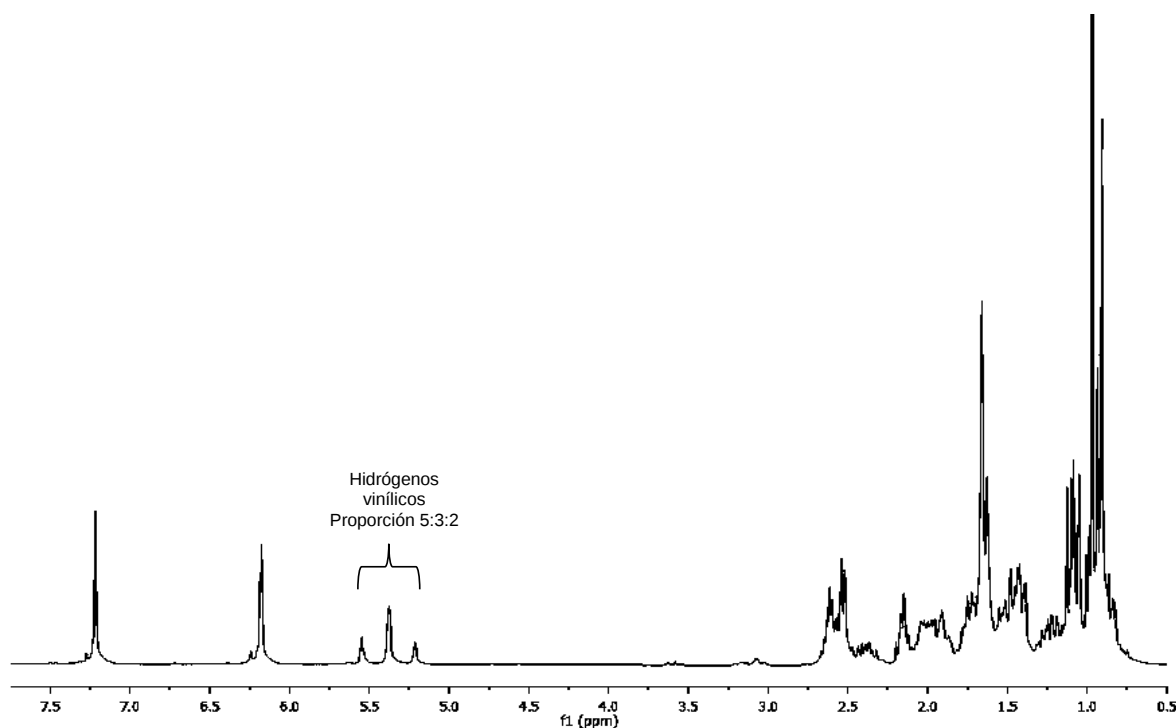
Figura 15. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz del derivado **29**.

Se continuó el estudio con el compuesto **27**, cambiando las condiciones utilizando ácido fórmico y un disolvente menos polar con punto de ebullición mayor para favorecer la formación del compuesto reordenado **30** (Esquema 26). 100 mg del vouacapano **27** se trataron con ácido fórmico en tolueno a reflujo, monitoreando la reacción mediante cromatografía en placa fina, observando después de 15 minutos formación de un producto mayoritario, transcurridos treinta minutos más, no se observó cambios en la reacción, por lo que se decidió extraer y analizar el crudo de reacción mediante RMN de  $^1\text{H}$ , en el cual se identificaron las señales características de compuestos vinílicos.



**Esquema 26.** Condiciones de reacción para obtener derivado **30**.

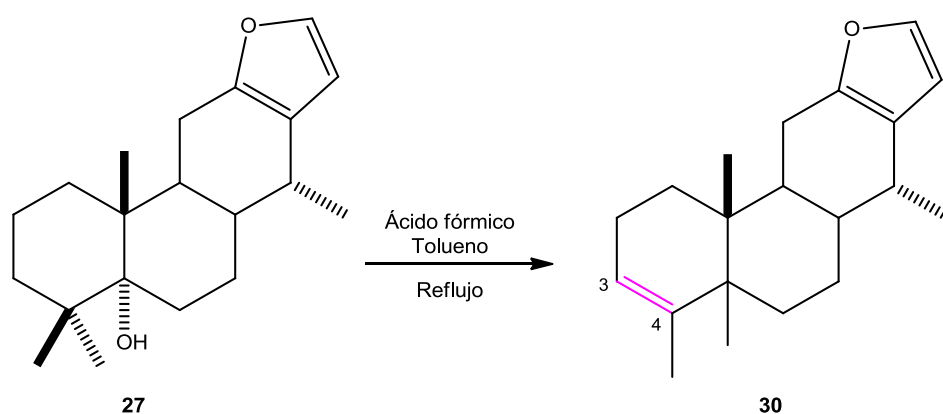
Al obtener estos resultados se decidió someter un lote mayor del compuesto **27**. 355 mg del 5 $\alpha$ -hidroxivouacapano (**27**) se trataron con 6.6 mL de ácido fórmico en 10 mL de tolueno a reflujo por 3 h, obteniendo 304 mg del crudo de reacción (miel amarilla), el cual fue sometido a cromatografía en columna usando como eluyente hexanos, de las fracciones 18-25 se obtuvieron 74 mg de una miel incolora, la cual fue analizada mediante RMN de  $^1\text{H}$ , en donde se observó el compuesto **30** en mezcla con otros dos derivados en proporción 5:3:2 (Figura 16).



**Figura 16.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz de fracción enriquecida con derivado **30**.

Esta miel permaneció en reposo con  $\text{CDCl}_3$ , observando después de un día la formación de cristales amorfos de color amarillo, los cuales se lavaron con hexano frío, eliminando así el color presente. En su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 17) se observa una señal simple ancha en 5.38 ppm asignada al hidrógeno vinílico H-3 y en 1.66 ppm se aprecia una señal simple correspondiente metilo  $\text{CH}_3$ -18. Estos desplazamientos nos indican que se llevó a cabo el reordenamiento del vouacapano **27**. En el experimento de correlación homonuclear COSY, se confirman las correlaciones de la señal simple en 5.38 ppm correspondiente al H-3 con la señal simple en 1.66 ppm asignada al metilo  $\text{CH}_3$ -18 (Figura 18). En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 19) se aprecia el cambio de desplazamiento de los carbonos C-4 y C-3 en 138.9 y 123.5 ppm respectivamente, señales que son características de carbonos vinílicos. En 41.7 ppm aparece la señal del carbono C-5 antes base de hidroxilo, ahora base del metilo  $\text{CH}_3$ -19, en 19.4 ppm se observa la señal correspondiente al metilo vinílico  $\text{CH}_3$ -18. La asignación de las señales de

RMN de  $^{13}\text{C}$  se confirmó con los experimentos HETCOR y DEPT. Estos datos nos ayudan a proponer que el compuesto obtenido, corresponde al derivado **30** (Esquema 27). Realizando una búsqueda en la literatura se encontró que este compuesto se obtuvo por Magallón-Chávez O., como derivado a partir del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano aislado de *C. platyloba*.<sup>48</sup>



**Esquema 27.** Reacción de reordenamiento del 5 $\alpha$ -hidroxivouacapano (**27**).

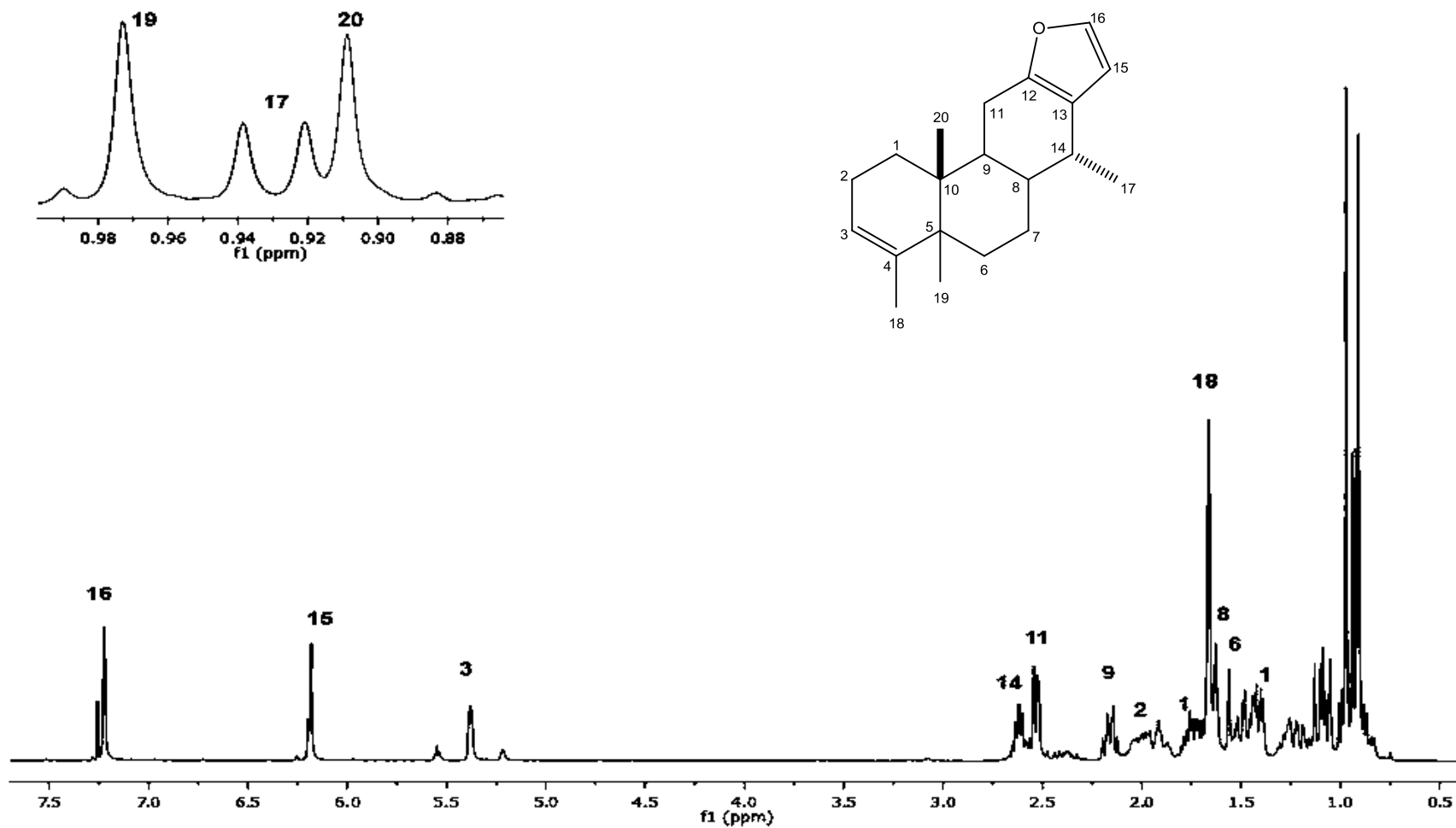
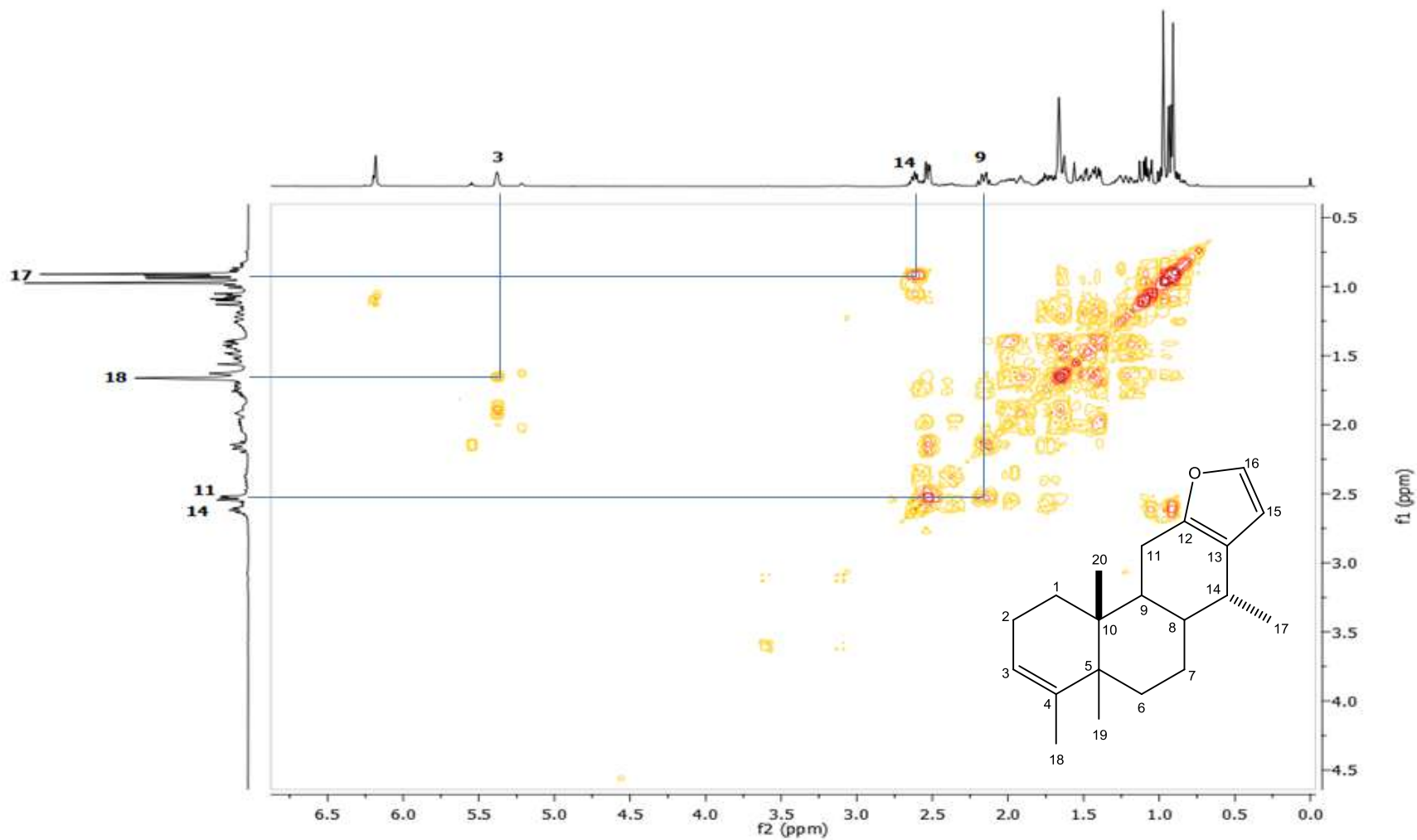
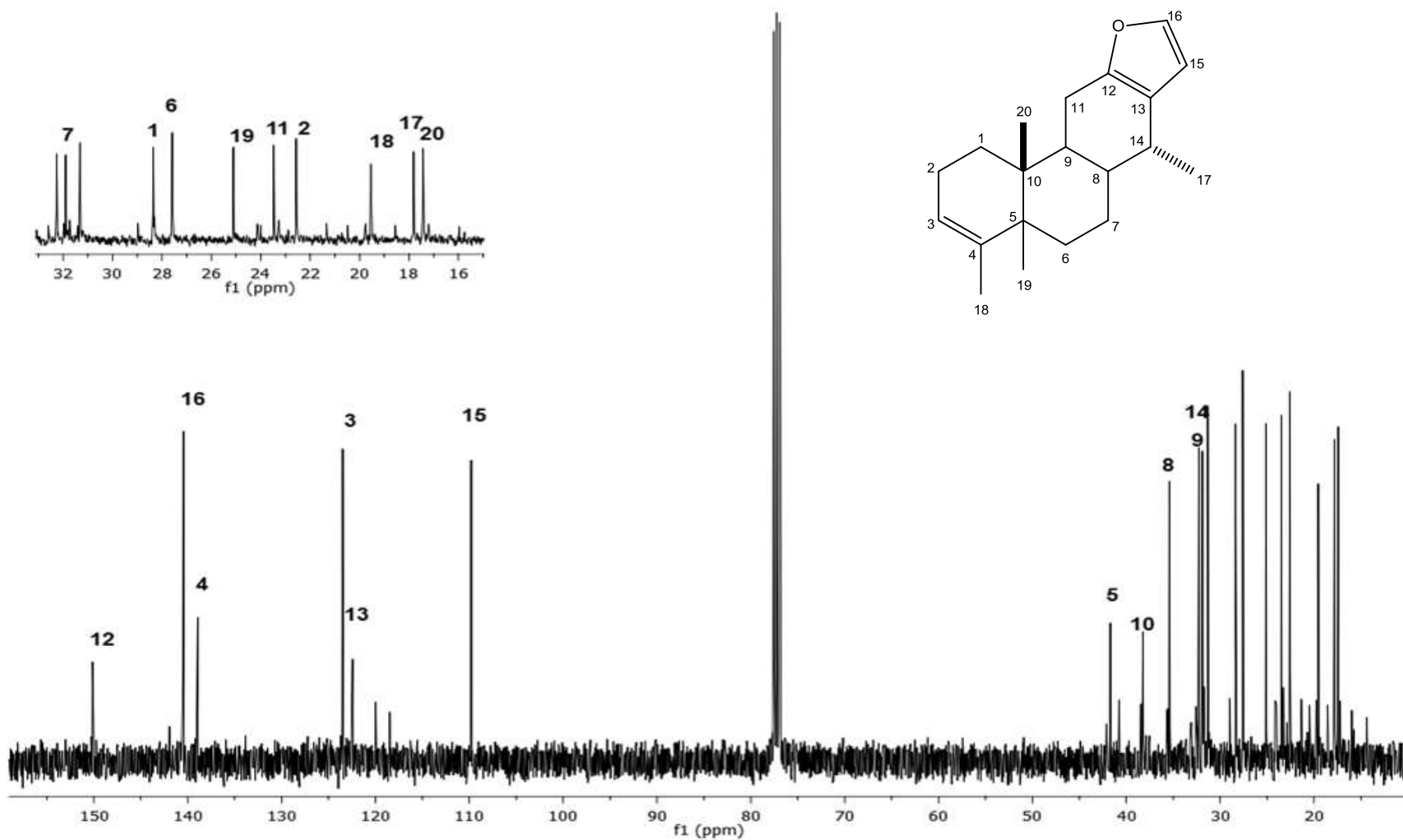


Figura 17. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz del derivado reordenado 30.



**Figura 18.** Experimento COSY del derivado reordenado **30**.

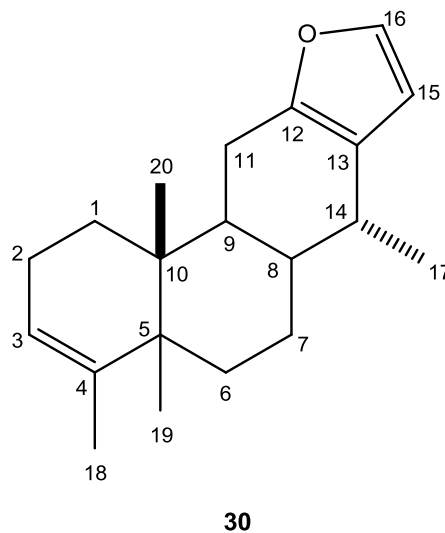
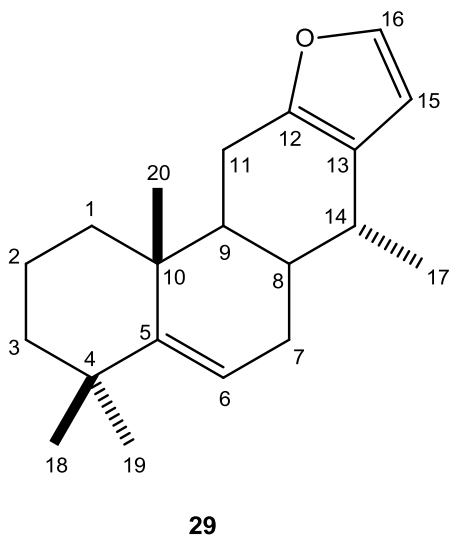


**Figura 19.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz del derivado reordenado **30**.

## 7. CONCLUSIONES

Los ensayos con ácido perclórico en metanol favorecieron la eliminación del hidrógeno del carbono C-6, llevándose a cabo la deshidratación de **27** generando como producto mayoritario a **29**, del cual no se encontraron reportes.

La reacción del vouacapano **27** en ácido fórmico con tolueno favoreció la migración del metilo  $\text{CH}_3$ -19 del carbono C-4 al carbono C-5, generándose como producto mayoritario el derivado reordenado **30**. Cabe mencionar que todos los ensayos de reacción realizados, nos permiten sugerir que la temperatura y concentración del ácido utilizado son variables que afectan en la proporción de productos que se obtienen, esto de acuerdo a lo observado en los crudos de reacción.



## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Marinoff A. M., "Las plantas medicinales desde la biblia a la actualidad". Universidad Nacional del Nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas **2006**. En línea [<http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt2006/08-Exactas/2006-E-053.pdf>] citado: 10/11/2018.
2. Cragg G. M., Grothaus P. G. Newman D. J., *Chem. Rev*, **2009**,109, 3012-3043.
3. Díaz O. J., Rodríguez L. I., *RESUMED*, **1999**,12, 39-46.
4. Balunas J. M., Kinghorn A. D., *Life Sciences*, **2005**, 78, 431-441.
5. McChesney J. D., Venkataraman S. K., Henri J. T., *Phytochemistry*, **2007**, 68, 2015-2022.
6. Croteau R., Kutchan M. T., Lewis G. N. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, Eds.© **2000**, American Society of Plant Physiologists, Chapter 24 *Natural Products (Secondary Metabolites)*, pp. 1251-1280.
7. Ávalos G. A., Pérez-Urria C. E., Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. **2009**, 2, 119-145.
8. Newman J. D., Cragg M. G., *Journal of Natural Products*, **2016**, 79, 629-661.
9. Taiz, Lincoln, Zeiger. "Secondary Metabolites and Plant Defense". In: *Plant Physiology, Fourth Edition*. Sinauer Associates, Inc. 2006. Chapter 13. **2007**
10. Dudareva N., Pchersky J. E., Gershenzon J., *Plant Physiology*, **2004**, 135, 1893-1902.
11. Dewick M. P., *Medicinal Natural Products Biosynthetic Approach*, Wiley; Tercera edición, **2009**.
12. Tinoco L. D. E., "Aislamiento, caracterización y actividad biológica de los extractos totales y metabolitos secundarios de *Hedyosmum racemosum* de Zamora, Ecuador." Tesis de Licenciatura, Universidad Técnica Particular de Loja-Ecuador, **2013**.
13. Macías V. V. E., Álvarez C. J. M., Suárez G. H., *DUAZARY*, **2010**, 7, 257-273.

14. Rincón M. C. A., Castaño O. J. C., Ríos V. E., *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, **2012**, 17, 160-171.
15. Ruiz-Reyes E., Suarez M., *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, **2015**, 46, 9-24.
16. Hanson J. R., *Nat. Prod. Rep*, **1992**, 9, 139-151.
17. Castañeda G. L., "Síntesis de la espirolabdanólida leopersin D y otros labdanos di, tri y tetraoxigenados en el anillo B"; Tesis de doctorado, Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Salamanca, **2009**.
18. Pimienta T. A. A., Gilvandete M. P. S., Arriaga M. C. A., Menezes H. A. G., Bezerra B. S., *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, **2006**, 16, 501-505.
19. Morrison T. R., Boyd N. R., Química Orgánica, 5ª ed, Ed. PEARSON Education, México, **1998**, pp.622- 657.
20. Carey A. F., Química Orgánica, 6ª ed, Ed. Mc Graw Hill, México, **2006**, pp. 144- 212.
21. Ávila-Zárraga J. G., Cano S., Gavilán-García I. Obtención de alquenos aplicando los principios de la química verde. Educación Química, **2010**, 21, 183-189.
22. Groutas C. W., Mecanismos de Reacción en Química Orgánica, 1ª ed, Ed. Mc Graw Hill, España, **2007**, pp. 217- 220.
23. Wade, Jr. L. G., Química Orgánica, Volumen 1, 7ª ed, Ed. Pearson, México, **2012**, pp. 255- 315.
24. Cabildo M. Mª. del Pilar, et al. Química Orgánica. Universidad Nacional de Educación a distancia Madrid, **2011**. Tema 6. Halogenuros de alquilo: reacciones de eliminación.
25. Breslow R. Mecanismos de Reacciones Orgánicas. Ed. Reverté, S.A. España, **2003**, pp. 112-114.
26. Smith Jr, L.O. y Cristol S.J. Química Orgánica. Ed. Reverté S.A. España. **1970**, pp. 308-309.
27. Nava O. C. A. "Comparación de los mecanismos E1 y E2". En línea: <http://depa.fquim.unam.mx/~fercor/COMPARACION2.pdf>, citado: 20/12/2018.

28. Hart H., Craine E. L., Hart J. D., Hadad M. C., Química Orgánica, 12<sup>a</sup> ed, Ed. Mc Graw Hill, España, **2007** pp. 217-218.
29. Griffin Jr. W. R. Modern Organic Chemistry, Ed. Reverté, Barcelona, **1981**, pp. 215-216.
30. McMurry J., Química Orgánica, 7<sup>a</sup> ed, Ed. CENGAGE Learning, México, **2008**, pp. 619-621.
31. Dupont D. H., Gokel W. G., Química Orgánica Experimental, 1<sup>a</sup> ed, Ed. Reverté, España, **2007**, pp. 178.
32. Brown H. W., Introducción a la Química Orgánica, 1<sup>a</sup> ed, Ed. Patria, México, **2007**, pp. 180-204.
33. March J., Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure, 2<sup>a</sup> ed, Ed. Mc Graw Hill, United States of America, **2007**, pp. 1559.
34. Rojas C. M., Molecular rearrangements in organic synthesis, Ed. Wiley, **2016**, pp. 3-7.
35. Carey A. F., and Sundberg J.R., Advanced Organic Chemistry, Part b: Reaction san synthesis. 6<sup>th</sup> Edition, Ed. Plenum publishers, United States of America. **2001**, pp. 602- 609.
36. Wagner G. J., *Russ. Phys. Chem. Soc*, **1899**, 31, 690.
37. Atta-ur-Rahman, Studies in Natural Products Chemistry, Structure and Chemistry (Part E), Elsevier, **1997**, 389-404.
38. Wang Zerong, *Comprehensive Organic Name Reaction and Reagents*, Copyright © **2010**, John Wiley & Sons, Inc.
39. Pinto R. M. A., Salvador J. A. R., Le Roux C., Carvalho A. R., Silva R. M., Beja M. A., Paixão A. J., *Steroids*, **2008**, 73, 549-561.
40. Geissman T. A., Principios de Química Orgánica, 2<sup>a</sup> ed, Ed. Reverté, S.A., España, **1974**, pp. 763-765.
41. Birladeanu L., *J. Chem. Ed*, **2000**, 77, 858-863.
42. Román L. U., Hernández J. D., Cerda-García-Rojas C. M., Domínguez-López R. M., Joseph-Nathan P., *Journal of Natural Products*, **1992**, 55, 577-588.

43. Álvarez-Ruiz A., "Reactividad del ácido (+)-13-*epi*-labdanólico en medios ácidos", Tesis de Licenciatura, Facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH, **2014**.
44. Álvarez-Ruiz A., "Reordenamientos moleculares de diterpenos del género *Ageratina*", Tesis de Maestría, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la UMSNH, **2017**.
45. Patel S. S., Verma N. K., Chatterjee C., Gauthanman K. *Inter J App Res Nat Pro*, **2010**, 3, 1-5.
46. Padma, P. R., Samathi, S., Aparna, S. *J. Med. Aromat. Plant Sci*, **2001**, 22/4A-23/1A, 78-83.
47. Zanin B. L. J., de Carvalho A. B., Martineli S. P., dos Santos H. M., Lago G. J. H., Sartorelli P., Soares G. M., *Molecules*, **2012**, 17, 7887-7902.
48. Wu M., Wang Yu-Fang., Zang Man-Li., Huo Chang-Hong., Dong M., Shi Qing-Wen., Kiyota H., *Chemistry & Biodiversity*, **2011**, 8, 1370-1399.
49. Zong-Yang L., Qing-Zhong L., Guo-Xu M., Chen L., Zhang C., Bao-dong C., Jun-Shan Y., Wei-Ping L. *Journal of Asian Natural Products Research*. **2017**, 19, 423-435.
50. Xiao F., Chun-Ping T., Chang-Qiang K., Yao S., Ye Y., *Chinese Chemical Letters*. **2016**, 27, 1751-1754.
51. Magallón-Chávez O., "Preparación de derivados del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano modificados en el anillo B", Tesis de Maestría, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la UMSNH, **2018**.
52. Sudhakar C., Reddy R. P., Raju V. T., Das B., *Tetrahedron Letters*, **2012**, 53, 3850-3852.
53. Castro-Muñoz R., Castro-Cepero V., Ceroni-Stuva A., *Ecología Aplicada*, **2015**, 14.
54. Ragasa Y., Ganzon J., Hofileña J., Tamboong B., Rideout A. J., *Chem. Pharm. Bull*, **2003**, 51, 1208-1210.
55. Roach S. J., McLean S., Reynolds F. W., Tinto F. W., *J. Nat. Prod*, **2003**, 66, 1378- 1381.