



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO

Instituto de Investigaciones Químico Biológicas
Maestría en Ciencias Químicas



Preparación de derivados del
 6β -acetoxivouacapano modificados en el anillo B

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS QUÍMICAS

P R E S E N T A:

ODESSA MAGALLÓN CHÁVEZ

DIRECTORA:

D.C. ROSA ELVA NORMA DEL RÍO TORRES

Morelia, Michoacán.

Agosto de 2018

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	iii
ÍNDICE DE ESQUEMAS	v
SÍMBOLOS, ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS	vi
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	5
-Derivatización de productos naturales	5
- Familia Fabaceae	7
- Género <i>Caesalpinia</i>	7
- Importancia farmacológica de diterpenos	8
- Modificaciones estructurales a diterpenos del género <i>Caesalpinia</i>	10
- <i>Caesalpinia platyloba</i>	11
JUSTIFICACIÓN	15
OBJETIVOS	16
-Objetivo general	16
-Objetivos específicos	16

PARTE EXPERIMENTAL	17
-Generalidades	17
-Materia vegetal	17
-6 β -acetoxivouacapano (29)	17
-6 β -acetoxivouacapan-8(14),9(11)-dieno (32)	18
-6 β -hidroxivouacapano (30)	19
-6 β -hidroxivouacapan-8(14),9(11)-dieno (39)	20
-6-oxovouacapano (31)	21
-6-oxovouacapan-8(14),9(11)-dieno (40)	21
-6 β -formilvouacapan-8(14),9(11)-dieno (41)	22
-6 β -formilvouacapano (42)	23
-Derivado vinílico 43	24
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	25
-Obtención del 6 β -acetoxivouacapano (29)	25
-Oxidación del 6 β -acetoxivouacapano (29)	28
-Hidrólisis de 29 y 32	32
-Oxidación de los compuestos 30 y 39	37
-Tratamiento ácido del 6 β -hidroxivouacapan-8(14),9(11)-dieno (39)	43
-Tratamiento ácido del 6 β -hidroxivouacapano (30)	48
-Tratamiento ácido del 6 β -hidroxivouacapano (30)	52
-Tratamiento ácido del 6 β -hidroxivouacapan-8(14),9(11)-dieno (39)	54
CONCLUSIONES	55
REFERENCIAS	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fármacos derivados de plantas.	2
Figura 2. Cocaína y anestésicos locales sintéticos.	3
Figura 3. Esqueleto de vouacapano.	4
Figura 4. Artemisinina (1) y sus derivados (2-3) usados en el tratamiento de la malaria.	6
Figura 5. Vouacapano aislado de <i>Pterodon polygalaeflorus</i> (4) y su lactona derivada.	6
Figura 6. Diferentes tipos de vainas de plantas pertenecientes a la familia <i>Fabaceae</i> .	7
Figura 7. Especies del género <i>Caesalpinia</i> .	8
Figura 8. Diterpenos aislados de <i>Caesalpinia sappan</i> .	8
Figura 9. Compuestos aislados de <i>Caesalpinia minax</i> .	8
Figura 10. Compuestos aislados de <i>Caesalpinia volkensii</i> H.	9
Figura 11. Diterpeno aislado de <i>Euphorbia lunulata</i> .	10
Figura 12. a) Árbol, b) Vainas y c) Flores de <i>Caesalpinia platyloba</i> .	12
Figura 13. Derivado aromático del 6 β -acetoxivouacapano (29).	13
Figura 14. Derivados del benzofurano 32.	14
Figura 15. Productos de la fotooxidación del 6 β -acetoxivouacapano (29).	14
Figura 16. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del 6 β -acetoxivouacapano (29).	26
Figura 17. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del 6 β -acetoxivouacapano (29) de <i>Caesalpinia platyloba</i> .	27
Figura 18. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del derivado benzofurano 32.	30
Figura 19. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del derivado benzofurano 32.	31
Figura 20. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del 6 β -hidroxivouacapano (30).	33

--

Figura 21. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del derivado benzofurano 39 .	35
Figura 22. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del derivado benzofurano 39 .	36
Figura 23. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del 6-oxovouacapano (31).	38
Figura 24. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del compuesto 40 .	40
Figura 25. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del compuesto 40 .	41
Figura 26. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del derivado benzofuránico 41 .	45
Figura 27. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del derivado benzofuránico 41 .	46
Figura 28. Experimento COSY del derivado benzofuránico 41 .	47
Figura 29. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del formiato 42 .	50
Figura 30. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del formiato 42 .	51
Figura 31. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del derivado 43 .	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamiento del compuesto 31 para la preparación de la oxima.	42
Tabla 2. Tratamiento del compuesto 40 para la preparación de la oxima.	42

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Oxidación de la lactona 5 .	7
Esquema 2. Modificaciones químicas de diterpenos aislados de <i>Caesalpinia pulcherrima</i> .	11
Esquema 3. Oxidación de los compuestos 23 y 27 aislados de <i>Caesalpinia pulcherrima</i> .	12
Esquema 4. Preparación de derivados a partir del 6 β -acetoxivouacapano (29).	13
Esquema 5. Oxidación del 6 β -acetoxivouacapano (29) con DDQ.	28
Esquema 6. Hidrólisis de los compuestos 29 y 32 .	32
Esquema 7. Oxidación de los alcoholes 30 y 39 con PCC.	37
Esquema 8. Tratamiento ácido del 6 β -hidroxivouacapan-8(14),9(11)-dieno (39).	43
Esquema 9. Tratamiento ácido del 6 β -hidroxivouacapano (30).	48
Esquema 10. Tratamiento ácido del 6 β -hidroxivouacapano (30).	52
Esquema 11. Tratamiento ácido del 6 β -hidroxivouacapan-8(14),9(11)-dieno (39).	54

SÍMBOLOS, ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

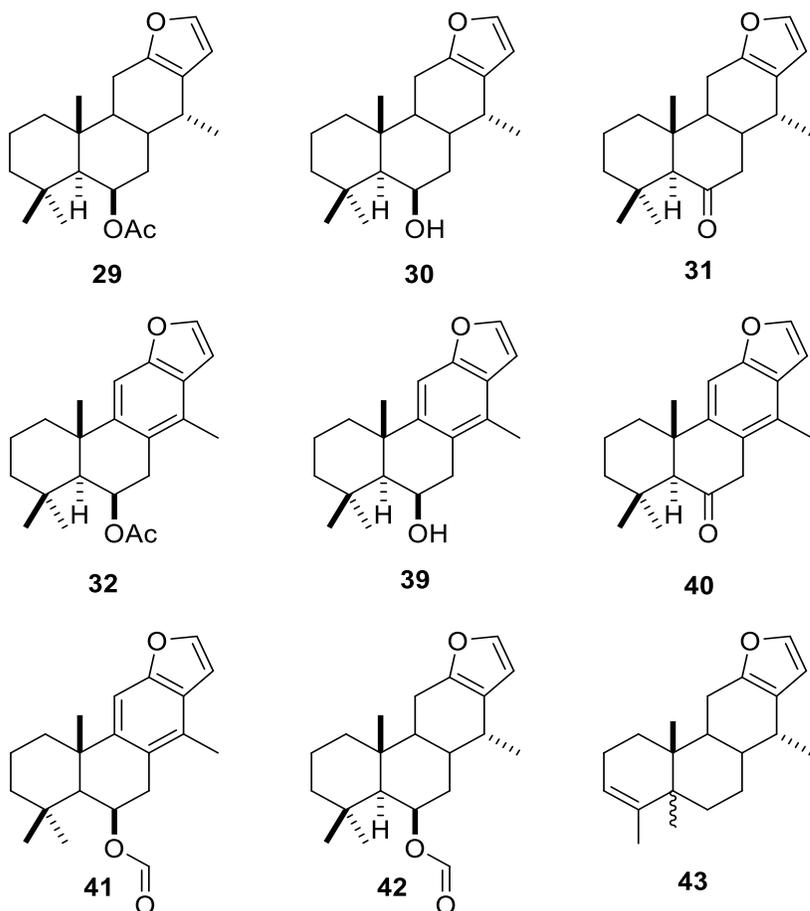
°C	Grados celsius
a.C.	Antes de cristo
AcOEt	Acetato de etilo
FDA	Food and Drug Administration
mg	Miligramos
kg	Kilogramos
IC ₅₀	Concentración inhibitoria 50
NCI H460	Non-Small Cell Lung
MCF-7	Michigan Cancer Foundation-7
μm	Micrómetro
DCM	Diclorometano
HeLa	Henrietta Lacks (Línea celular de cáncer cérvico-uterino)
PC-3	Prostate Cancer
PCC	Clorocromato de piridinio
t.a.	Temperatura ambiente
h	Horas
m	Metros
mm	Milímetros
MHz	Megahertz
TMS	Tetrametilsilano
g	Gramo
cm	Centímetro
ppm	Partes por millón
δ	Desplazamiento en ppm
d	Doble
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
s	Simple
m	Múltiple

RMN	Resonancia Magnética Nuclear
Hz	Hertz
DDQ	2,3-Dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona

RESUMEN

Las modificaciones químicas realizadas al 6β -acetoxivouacapano (**29**), aislado de *Caesalpinia platyloba*, mediante reacciones de oxidación, hidrólisis y deshidratación permitieron la obtención de ocho compuestos, de los cuales, los derivados **39-43** corresponden a estructuras nuevas, mientras que los diterpenos **30-32** fueron previamente reportados.

El tratamiento ácido de los derivados **30** y **39** demostró la diferencia en la reactividad de estos compuestos, posiblemente asociada a la aromatización del anillo C, ya que bajo iguales condiciones de reacción se comportaron de manera distinta.

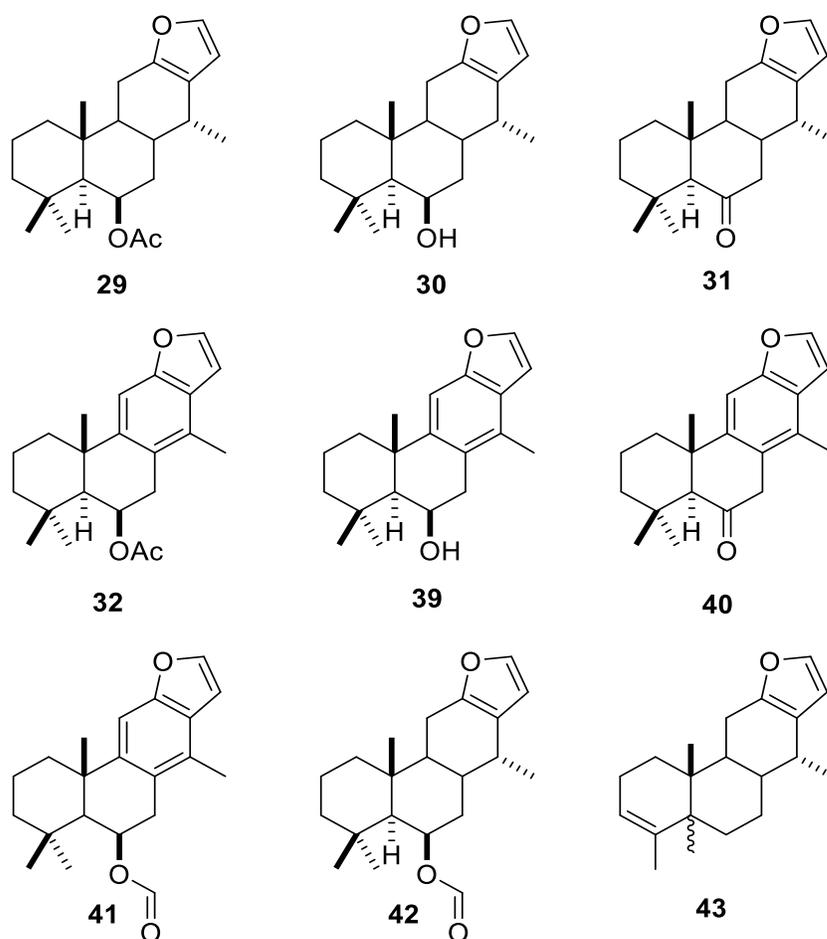


Palabras clave: *Caesalpinia platyloba*, vouacapano, cassano, diterpeno, reactividad.

ABSTRACT

The chemical modifications to 6 β -acetoxivouacapane (**29**), isolated from *Caesalpinia platyloba*, by oxidation, hydrolysis, and dehydration reactions allowed the five derivatives **39-43** as new structures, while the diterpenes **30-32** were previously reported.

Acid treatment of the derivatives **30** and **39** revealed the differences in the reactivity of these compounds, which was associated with the ring C aromatization, due to their different behavior in the same reaction conditions.



Keywords: *Caesalpinia platyloba*, vouacapane, cassane, diterpene, reactivity.

INTRODUCCIÓN

Todos los organismos necesitan transformar e interconvertir un gran número de compuestos químicos que les permita vivir, crecer y reproducirse.¹ El conjunto de estas reacciones químicas se denomina metabolismo, y se dividen en dos grandes grupos. El metabolismo primario a partir del cual se sintetizan las moléculas más importantes para el desarrollo y la supervivencia como son los ácidos nucleicos, carbohidratos, grasas y proteínas.²

En contraste con estas rutas metabólicas primarias, en las que se sintetizan, degradan y se transforman compuestos encontrados comúnmente en todos los seres vivos, también existe un metabolismo que corresponde a sustancias con una distribución limitada en la naturaleza, el metabolismo secundario, el cual es específico de cada organismo y es una expresión de la individualidad de las especies. Los metabolitos secundarios no son necesariamente producidos bajo cualquier situación y en la gran mayoría de los casos su función y beneficio para quien los produce no es bien conocido. Algunos son indudablemente producidos para cierto fin, por ejemplo, como sustancias tóxicas previendo defensa contra depredadores, como atrayentes volátiles hacia la misma o diferente especie, o como agentes coloridos. Las plantas, emplean métodos físicos (por ejemplo, espinas) o químicos (metabolitos secundarios) para defenderse y producen una interesante variedad de compuestos orgánicos denominados también productos naturales.³⁻⁴

El interés del ser humano hacia el estudio de las plantas no es algo nuevo, estas han constituido la base de los sistemas tradicionales de medicina que han existido por miles de años. Los primeros registros del uso medicinal de plantas fueron escritos en cientos de tablillas de arcilla en Mesopotamia y datan de alrededor de 2600 años a.C. Las sustancias derivadas de las plantas que utilizaron fueron los aceites de la especie *Cedrus* sp (Cedro), *Cupressus sempervirens* (ciprés), *Glycyrrhiza glabra* (regaliz), *Commiphora* sp (mirra) y *Papaver somniferum* (amapola), los cuales todavía se usan en la actualidad para el tratamiento de enfermedades que van desde tos y resfriados hasta infecciones parasitarias e inflamación.⁵

funcionales que no participen en la unión al blanco o bien agregando funcionalizaciones que puedan favorecer esta unión.⁷

Ejemplo de estas modificaciones químicas necesarias se llevaron a cabo en el conocido alcaloide cocaína, históricamente útil como anestésico tópico en cirugía ocular y nasal; sin embargo, las principales desventajas de este uso son la intensa actividad vasoconstrictora y el potencial de toxicidad cardiovascular que genera por lo que, desde entonces, se ha modificado y simplificado en gran medida para dar lugar a anestésicos locales sintéticos, como la procaína, la tetracaína y la lidocaína (Figura 2).⁸

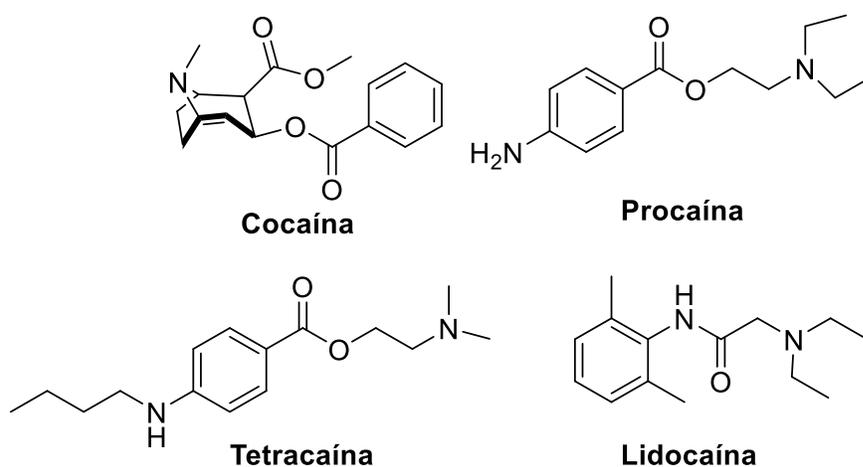


Figura 2. Cocaína y anestésicos locales sintéticos.

Los productos naturales se clasifican para su estudio en cuatro clases principales: Terpenos, compuestos fenólicos, glicósidos y alcaloides.

Los terpenos constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios y derivan de la unión de unidades de isopreno. Son sintetizados a partir de los metabolitos primarios por dos rutas: la del ácido mevalónico y la del metileritritol fosfato.⁹ Los terpenoides son utilizados por la industria alimentaria, química, farmacéutica y cosmética, debido a la variedad de moléculas que representan y a su amplia distribución en la naturaleza.¹⁰

Entre los diterpenos de interés químico y biológico se encuentran aquellos con esqueleto de vouacapano, que contiene un anillo de furano fusionado a un perhidrofentantreno funcionalizado (Figura 3). Las funcionalizaciones que presentan este tipo de estructuras permiten explorar su reactividad y de esta manera potencializar las posibles aplicaciones que presenten.

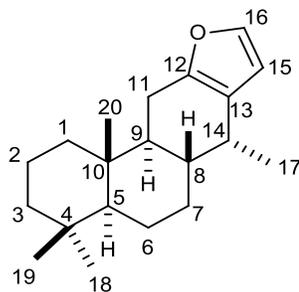


Figura 3. Esqueleto de vouacapano.

ANTECEDENTES

El interés por desarrollar nuevas fitomedicinas, materiales biocompatibles y biodegradables para su uso extensivo en distintas áreas de interés global se encuentra en tendencia, debido a la necesidad de combatir los efectos adversos y la toxicidad de drogas sintéticas.¹¹

Derivatización de productos naturales

La estructura química de los productos naturales es considerada privilegiada, debido a la complejidad de sus esqueletos, resultante de las múltiples reacciones químicas catalizadas por enzimas que se desarrollan durante el metabolismo secundario. Es por ello, que son utilizados para la preparación de derivados, con la finalidad de que estas transformaciones estructurales mejoren la actividad biológica que presenta el producto natural, ya sea, disminuyendo la toxicidad o incrementando la acción terapéutica; o bien, determinar el efecto estructura-actividad, en el caso de que la modificación química represente la ausencia de actividad biológica en el derivado obtenido.¹²

Como ejemplo se describe al producto natural artemisinina (**1**) aislado de la planta *Artemisia annua*, el cual es un sesquiterpeno funcionalizado utilizado en el tratamiento de la malaria. La relación estructura-actividad reveló que el grupo peroxi es una característica farmacofórica crítica; por lo que se redujo a un grupo éter, pero esto condujo a la pérdida de actividad. Sin embargo, la reducción de la lactona con NaBH₄ en condiciones de baja temperatura del hemiacetal proporcionó la dihidroartemisinina (**2**) (Figura 4), que ejerce actividades mejores que el producto natural **1**, lo que sugiere que las alteraciones en el resto lactona conservan o aumentan la actividad. La artemisinina (**1**) es insoluble en agua y poco soluble en lípidos, generando una deficiencia en las propiedades biofarmacéuticas y una baja biodisponibilidad que restringe su aplicación clínica, por lo que se sintetizaron cientos de derivados de dihidroartemisinina con dos tipos de grupos funcionales: éteres y ésteres. Sobresaliendo el éter metílico de la dihidroartemisinina (**3**) que mostró una actividad inhibidora fuerte en varios modelos animales infectados con plasmodios y fue aprobado por la FDA en 1987.⁸

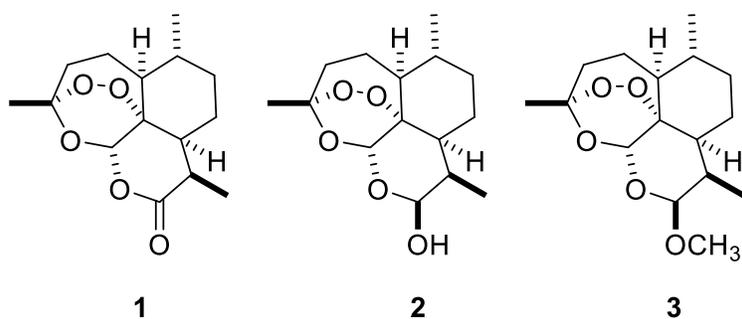


Figura 4. Artemisinina (**1**) y sus derivados **2-3** usados en el tratamiento de la malaria.

La literatura describe al ácido $6\alpha,7\beta$ -dihidroxivouacapan- 17β -oico (**4**), aislado de los frutos de *Pterodon polygalaeiflorus*, a partir del cual se preparó la lactona **5** (Figura 5). La comparación del potencial anticanceroso entre el producto natural y el derivatizado evidenció una mejoría en la actividad cuando el grupo lactona estaba presente.¹³

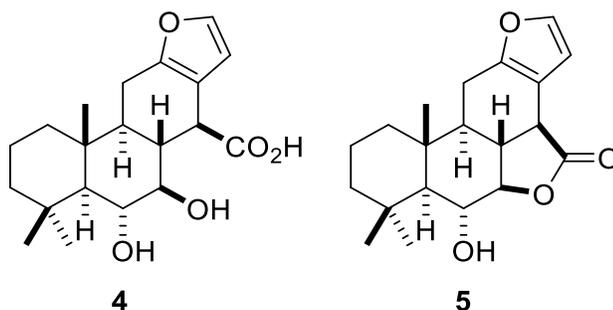
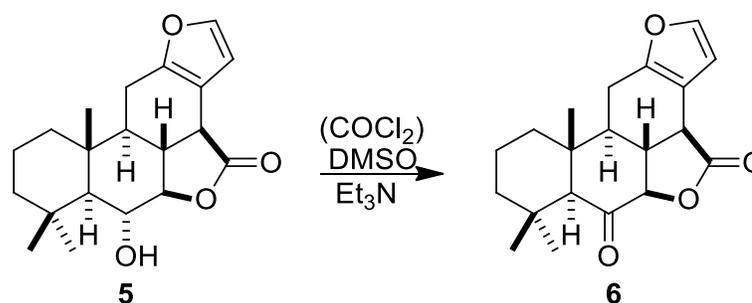


Figura 5. Vouacapano aislado de *Pterodon polygalaeiflorus* (**4**) y su derivado lactona.

Así mismo, Spindola y colaboradores (2017), a partir del compuesto **5** y mediante condiciones oxidativas obtuvieron el derivado 6-oxovouacapan- 7β - 17β -lactona (**6**) que presentó actividad antinociceptiva (Esquema 1).¹⁴



Esquema 1. Oxidación de la lactona **5**.

Familia Fabaceae

La familia Fabaceae es uno de los mayores grupos de plantas con flores (Angiospermas) en el mundo. Reúne árboles, arbustos y hierbas perennes o anuales, fácilmente reconocibles por su fruto tipo legumbre (Figura 6) y sus hojas compuestas y estipuladas. Es una familia de distribución cosmopolita con más de 700 géneros y unas 19,400 especies, distribuidas en todo el mundo, aunque son más frecuentes en las regiones tropicales y subtropicales.¹⁵



Figura 6. Diferentes tipos de vainas de plantas pertenecientes a la familia Fabaceae.

Género *Caesalpinia*

Dentro de esta familia encontramos al género *Caesalpinia* (Caesalpinaceae), escasamente estudiado desde el punto de vista químico y biológico, constituye una fuente potencial de metabolitos bioactivos, por sus más de 200 especies distribuidas en todo el mundo. Son cultivadas como ornamentales por su floración, como plantas forrajeras, por sus semillas o legumbres comestibles.¹⁵ Cabe resaltar, que varias de estas especies son endémicas y existen diversos estudios sobre su potencial biológico.



Figura 7. Especies del género *Caesalpinia*.

Importancia farmacológica de diterpenos

Entre los estudios descritos sobre la actividad de los metabolitos aislados del género *Caesalpinia* destaca la actividad antimalárica de los diterpenos **7** y **8**; y antiproliferativa del diterpeno **9** aislados del extracto metanólico de semillas de *C. sappan*.¹⁶

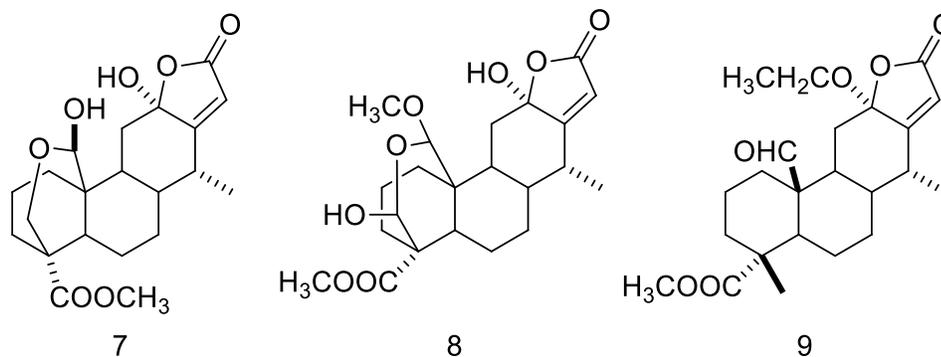


Figura 8. Diterpenos aislados de *Caesalpinia sappan*.

Los compuestos **10-13** fueron aislados de las semillas de *Caesalpinia minax*, y mostraron un efecto inhibitorio moderado sobre la enzima neuraminidasa del virus de la influenza.¹⁷

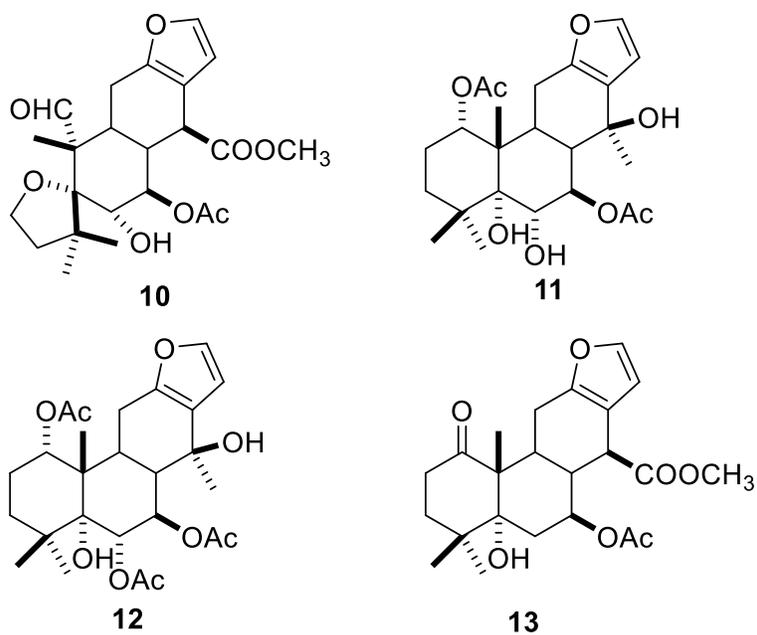


Figura 9. Compuestos aislados de *Caesalpinia minax*.

El extracto de cloroformo de *Caesalpinia volkensii* H. presentó actividad antinociceptiva significativa, del cual se aislaron a los compuestos **14-17** y fueron administrados (100 mg/kg) causando un aumento significativo del umbral del dolor por lo que el efecto del extracto se puede atribuir a estos componentes mayoritarios. En algunas ocasiones se produce un efecto sinérgico y la actividad no es responsabilidad de un solo compuesto, esto fue manifiesto con el extracto de acetato de etilo de *Caesalpinia volkensii* H. el cual mostró actividad antiplasmódica. Sin embargo, los compuestos aislados indicaron una actividad antiplasmódica relativamente baja.¹⁸

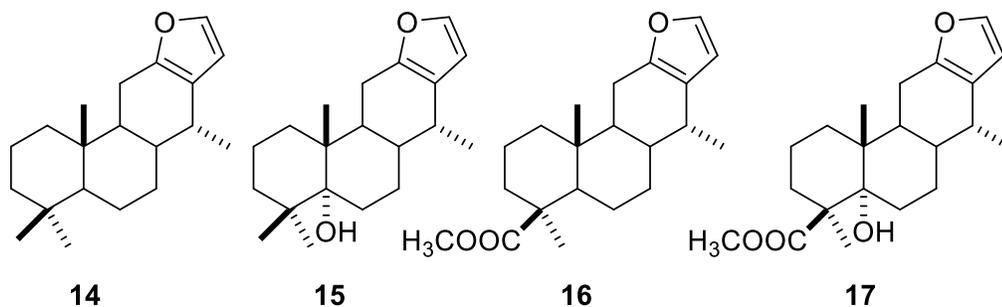


Figura 10. Compuestos aislados de *Caesalpinia volkensii* H.

Un estudio de la actividad antiproliferativa de diterpenos aislados de *Euphorbia lunulata* mostró que el formiato diterpénico **18** (Figura 11) con esqueleto de *ent*-abietano, presentó actividad marcada contra dos líneas celulares con los valores IC₅₀ de 19.5 (NCI H460) y 18.6 (MCF-7) μ M.¹⁹

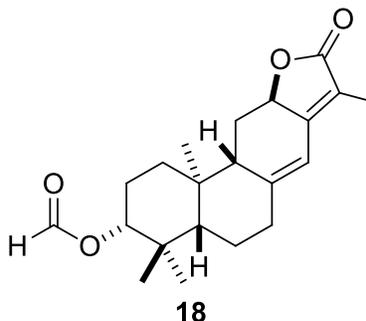
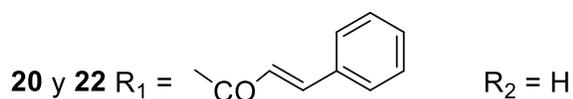
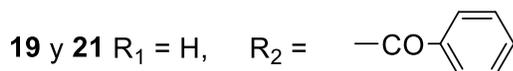
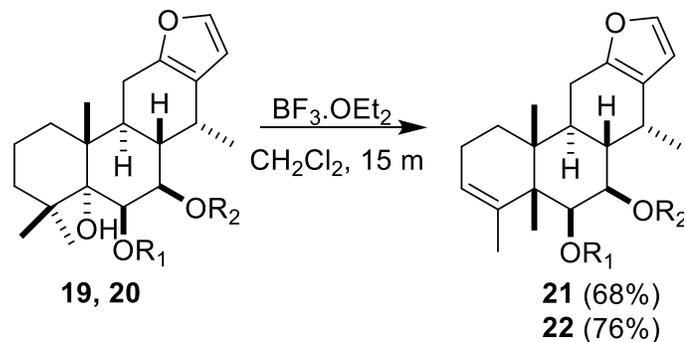


Figura 11. Diterpeno aislado de *Euphorbia lunulata*.

Modificaciones estructurales a diterpenos del género *Caesalpinia*

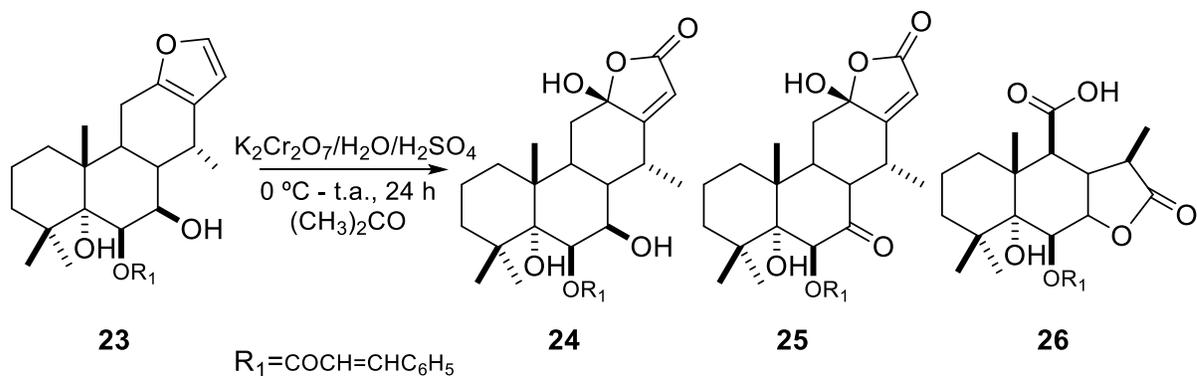
Debido a la importancia que representan este tipo de moléculas terpénicas, se han realizado investigaciones sobre su reactividad con el fin de comprender su comportamiento químico.

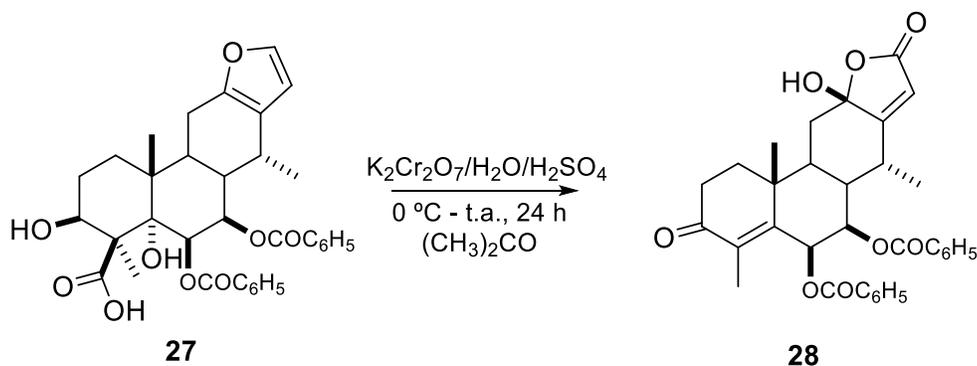
Sudhakar y colaboradores (2012) aislaron de *Caesalpinia pulcherrima* los diterpenos **19** y **20**, que fueron tratados con BF₃•OEt₂ en diclorometano (Esquema 2), favoreciendo la deshidratación del OH-5 y un reordenamiento de grupo metilo, obteniéndose los productos **21** y **22**.²⁰



Esquema 2. Modificaciones químicas de diterpenos aislados de *Caesalpinia pulcherrima*.

La oxidación de los diterpenoides 6β -cinamoil- 7α -hidroxivouacapen- 5α -ol (**23**) y pulcherrimina A (**27**), aislados de las raíces de *Caesalpinia pulcherrima* originó cuatro nuevos derivados **24-26** y **28** (Esquema 3) que se analizaron para determinar su actividad citotóxica frente a tres líneas celulares (MCF-7, HeLa y PC-3) y su actividad leishmanicida. El compuesto **25** mostró actividad citotóxica en las tres líneas celulares y fue de dos a tres veces más activo que el compuesto original **23**. El compuesto **28** presentó una actividad leishmanicida, mientras que el compuesto original **27** fue inactivo.²¹





Esquema 3. Oxidación de los compuestos **23** y **27** aislados de *Caesalpinia pulcherrima*.

Caesalpinia platyloba

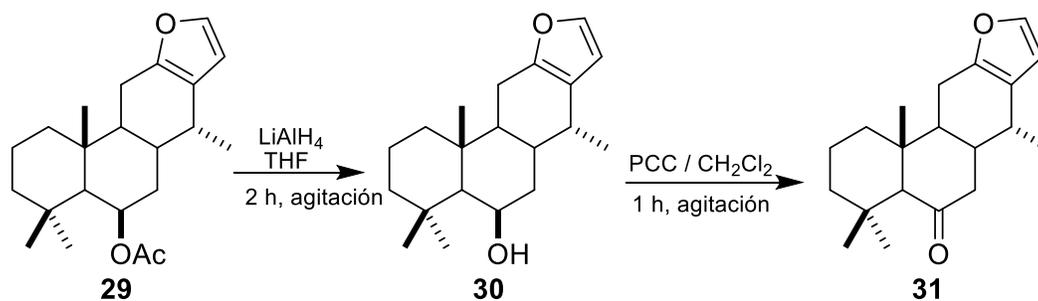
Es un árbol de 5 a 15 m de altura se conoce comúnmente como frijolillo o palo colorado tiene flores amarillas que van de 7 a 9 mm de largo, contiene frutos tipo legumbres aplanadas. Su crecimiento se favorece en época de lluvias; es considerada una especie de rápido crecimiento, es usado como cercas vivas en algunos cultivos para protegerlos de las termitas, sus vainas y hojas se usan como alimento del ganado en períodos de sequía. Debido a su plasticidad en ambientes contrastantes de luz es usada como sombra en cultivos de café.²²



Figura 12. a) Árbol, b) Vainas y c) Flores de *Caesalpinia platyloba*.

En 2013, nuestro grupo de trabajo aisló en buenos rendimientos al 6 β -acetoxivouacapano (**29**), a partir del extracto de diclorometano de hojas de *Caesalpinia*

platyloba, se determinó su configuración absoluta y se prepararon los derivados **30** y **31** para su correlación química con vouacapanos de *Dipteryx lacunifera*.²³



Esquema 4. Preparación de derivados **30** y **31** a partir del 6β-acetoxivouacapano (**29**).

Estudios sobre la reactividad de **29** se han centrado en las modificaciones de los anillos C y D. El empleo de DDQ en medio ácido permitió la aromatización de **29** (Figura 13) en el anillo C dando como único producto el compuesto **32**.²⁴

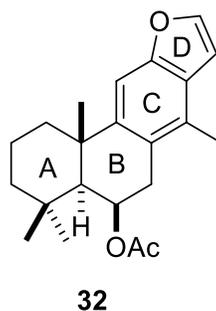


Figura 13. Derivado aromático del 6β-acetoxivouacapano (**29**).

Posteriormente, el compuesto **32** fue tratado con paraformaldehído en medio ácido, permitiendo la formación de los derivados 6β-acetoxi-16-clorometilenvouacapan-8(14),9(11)-dieno (**33**) y 6β-acetoxi-16-metilenacetoxivouacapan-8(14),9(11)-dieno (**34**)(Figura 14).²⁵

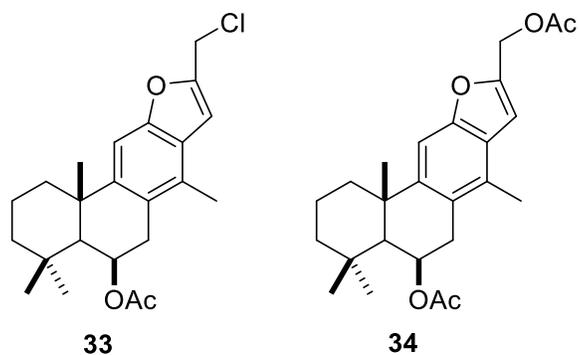


Figura 14. Derivados del benzofurano **32**.

Recientemente, se reportó la primera fotooxidación del 6 β -acetoxivouacapano (**29**), a partir de la cual se obtuvieron cuatro nuevas epoxi lactonas (Figura 14).²⁶

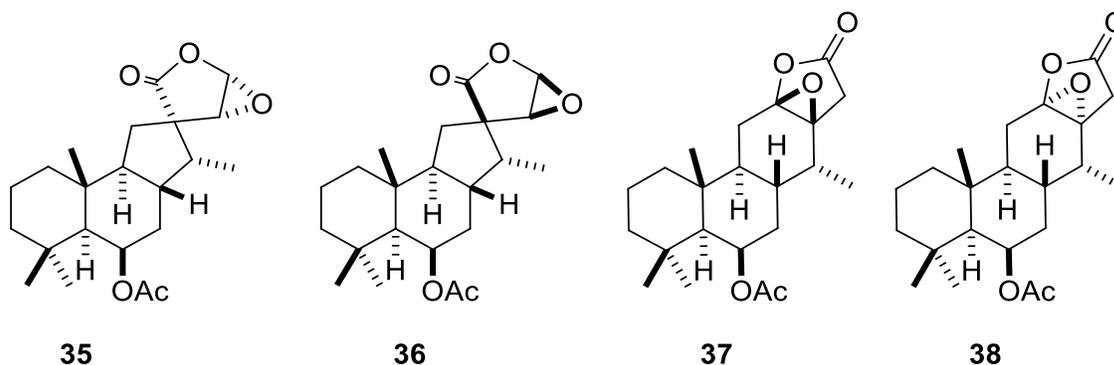


Figura 15. Productos de la fotooxidación del 6 β -acetoxivouacapano (**29**).

Dada la versatilidad en la estructura molecular de **29**, se continúan con las investigaciones sobre su reactividad química. Por lo que en el presente trabajo se orienta hacia la obtención de nuevos derivados modificados en el anillo B.

JUSTIFICACIÓN

Con base en lo descrito, surge el interés de continuar el estudio de la reactividad del 6β -acetoxivouacapano (**29**) para la obtención de compuestos novedosos que permitan modificaciones en el anillo B de dicha molécula. Los resultados obtenidos en este proyecto enriquecerán el conocimiento de la reactividad de este tipo de diterpenos.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Llevar a cabo la preparación de derivados del 6β -acetoxivouacapano modificados en el anillo B.

Objetivos específicos:

- Obtener los extractos hexánicos y clorometilénicos de las hojas de *Caesalpinia platyloba*.
- Obtener el 6β -acetoxivouacapano (**29**) mediante separaciones cromatográficas a partir del extracto de CH_2Cl_2 .
- Preparar el 6β -acetoxivouacapan-8(14),9(11)-dieno (**32**) a partir de 6β -acetoxivouacapano (**29**).
- Obtener nuevos derivados modificados en el anillo B de **29** y **32**.

PARTE EXPERIMENTAL

Generalidades

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H a 400 MHz, de ^{13}C a 100 MHz y los espectros bidimensionales se determinaron en el espectrómetro Varian Mercury Plus 400, utilizando como disolvente cloroformo deuterado (CDCl_3) y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los espectros fueron procesados en el programa MestReNova.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Scientific y no están corregidos.

El proceso de purificación de los compuestos se realizó mediante cromatografía en columna, empleando gel de sílice 230-400 mallas de la marca MERCK y mezclas hexanos-AcOEt como fase móvil.

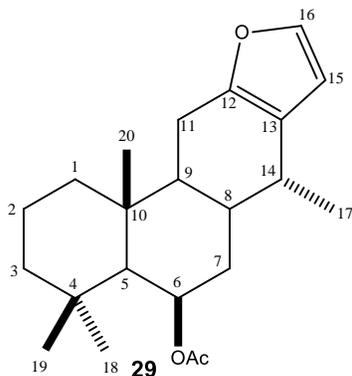
Materia vegetal

La planta *Caesalpinia platyloba*, se colectó en Los Charcos, municipio de Buenavista, Michoacán en agosto de 2016, así como en febrero, mayo y diciembre de 2017. Las hojas de la planta se dejaron secar a la sombra, para su posterior tratamiento.

6 β -acetoxivouacapano (29)

Un lote de 2 kg de hojas se maceró durante 3 días a temperatura ambiente empleando hexanos como disolvente. Transcurrido el tiempo la maceración se filtró y concentró en rotavapor, posteriormente, el proceso se repitió en tres ocasiones utilizando diclorometano como disolvente, obteniendo los extractos correspondientes.

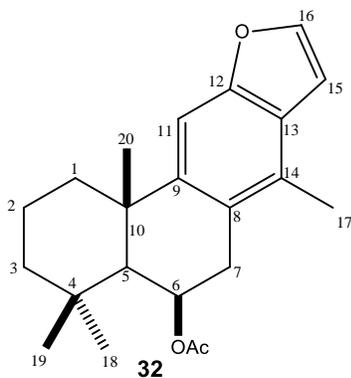
Un lote de 30 g de extracto de CH_2Cl_2 se fraccionó mediante cromatografías en columna sucesivas a una altura de 11 cm, utilizando como fase móvil mezclas de hexanos-AcOEt. De las fracciones obtenidas en la polaridad 49:1 se obtuvieron 988 mg de cristales amarillos con un punto de fusión de 114-116 °C.



RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7.23 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-16), 6.19 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-15), 5.51 (1H, s, H-6), 2.60 (1H, m, H-14), 2.60 (1H, dd, $J = 16.9, 7.1$ Hz, H-11), 2.48 (1H, dd, $J = 16.9, 10.0$ Hz, H-11'), 2.03 (1H, m, H-8), 2.03 (3H, s, OAc), 1.85 (1H, dt, $J = 14.3, 3.5$ Hz, H-7), 1.73 (1H, d, $J = 12.7$ Hz, H-1), 1.05 (1H, m, H-1') 1.63 (1H, dt, $J = 13.6, 3.2$ Hz, H-2), 1.54 (1H, m, H-9), 1.53 (1H, m, H-7'), 1.48 (1H, m, H-2'), 1.41 (1H, d, $J = 13.6$, H-3), 1.20 (3H, s, CH_3 -20), 1.19 (1H, m, H-3'), 1.09 (1H, s, H-5), 1.02 (3H, s, CH_3 -19), 0.99 (3H, s, CH_3 -18), 0.96 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, CH_3 -17).

6 β -acetoxivouacapan-8(14),9(11)-dieno (32)

Una solución de 200 mg de 6 β -acetoxivouacapano (**29**) en 3 mL de CH_2Cl_2 acidificado con HCl se adicionó a una suspensión de 329.9 mg (2.5 Eq) de DDQ en 2 mL de CH_2Cl_2 , se dejó reaccionar durante 20 minutos en agitación a temperatura ambiente. Terminada la reacción se extrajo con 100 mL de CH_2Cl_2 , se lavó 5 veces con agua, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se evaporó en rotavapor. El crudo de reacción se separó mediante cromatografía en columna, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y mezcla hexanos-AcOEt polaridad 49:1 como fase móvil. Obteniendo 68.3 mg del compuesto **32** como una miel de color café.



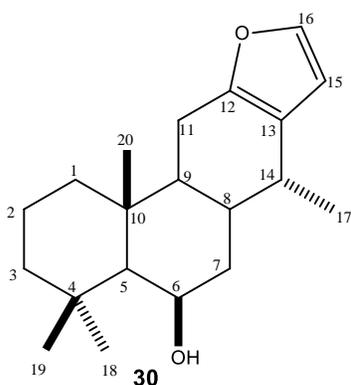
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7.54 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-16), 7.40 (1H, s, H-11), 6.73 (dd, $J = 2.3, 0.9$ Hz, H-15), 5.84 (1H, dt, $J = 5.4, 1.5$ Hz, H-6), 3.06 (1H, dd, $J = 18.0, 5.4$ Hz, H-7), 2.98 (1H, d, $J = 18.0$ Hz, H-7'), 2.34 (3H, s, H-17), 2.32 (1H, da, $J = 16.8$ Hz, H-1), 2.02 (3H, s, OAc), 1.88 (1H, qt, $J = 13.8, 3.6$ Hz, H-2), 1.65 (1H, dt, $J = 13.8, 3.6$ Hz, H-2'), 1.62 (3H, s, CH_3 -20), 1.58 (1H, s, H-5), 1.49 (1H, m, H-

1'), 1.44 (1H, m, H-3), 1.25 (1H, td, $J = 13.5, 3.6$ Hz, H-3'), 1.10 (3H, s, CH₃-19), 1.07 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 171.0 (CO, OAc), 153.7 (C, C-12), 146.0 (C, C-9), 144.4 (CH, C-16), 128.4 (C, C-14), 125.6 (C, C-13), 123.7 (C, C-8), 105.1 (CH, C-11), 104.9 (CH, C-15), 67.6 (CH, C-6), 51.5 (CH, C-5), 43.0 (CH₂, C-3), 43.0 (CH₂, C-1), 38.4 (C, C-10), 35.1 (CH₂, C-7), 34.1 (C, C-4), 33.5 (CH₃, C-18), 27.5 (CH₃, C-20), 23.1 (CH₃, C-19), 21.8 (CH₃, OAc), 19.7 (CH₂, C-2), 16.0 (CH₃, C-17).

6 β -hidroxivouacapano (30)

Una solución de 100 mg de 6 β -acetoxivouacapano (29) en 2 mL de THF anhidro se adicionó a una suspensión de 22 mg (2 Eq) de LiAlH₄ en 1 mL de THF anhidro. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas bajo atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. Terminada la reacción fue neutralizada con una solución de HCl al 10% adicionada gota a gota en agitación. La reacción se extrajo con AcOEt, se lavó con agua y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, el disolvente se evaporó en rotavapor, obteniendo 81 mg de una miel incolora correspondiente al compuesto 30.

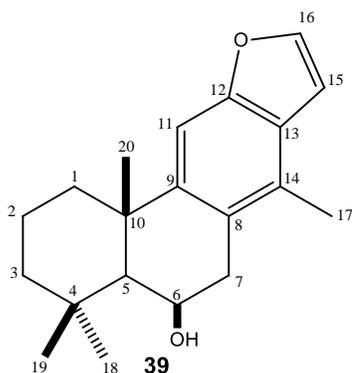


RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.22 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-16), 6.19 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-15), 4.48 (1H, sa, H-6), 2.59 (1H, dd, $J = 16.8, 7.1$ Hz, H-11), 2.63 (1H, m, H-14), 2.45 (1H, dd, $J = 16.8, 10.0$ Hz, H-11'), 2.15 (1H, tt, $J = 12.5, 4.6$ Hz, H-8), 1.73 (1H, dt, $J = 13.9, 3.7$ Hz, H-7), 1.69 (1H, da, $J = 12.5$ Hz, H-1), 1.60 (1H, m, H-9), 1.48 (2H, m, H-2 y H-2'), 1.41 (1H, da, $J = 13$ Hz, H-3), 1.29 (3H, s, CH₃-19), 1.24 (3H, s, CH₃-20), 1.23 (1H, m, H-3'), 1.03 (1H, m, H-1'), 1.01 (3H, s, CH₃-18), 0.98 (1H, s, H-5), 0.96 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, CH₃-17).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 149.8 (C, C-12), 140.3 (CH, C-16), 122.4 (C, C-13), 109.4 (CH, C-15), 67.7 (CH, C-6), 56.3 (CH, C-5), 45.7 (CH, C-9), 43.6 (CH_2 , C-3), 42.5 (CH_2 , C-7), 40.3 (CH_2 , C-1), 37.8 (C, C-10), 34.0 (C, C-4) 33.8 (CH_3 , C-18), 31.1 (CH, C-14), 30.7 (CH, C-8), 24.6 (CH_3 , C-19), 21.5 (CH_2 , C-11), 18.7 (CH_2 , C-2), 17.7 (CH_3 , C-20), 17.7 (CH_3 , C-17).

6 β -hidroxivouacapan-8(14),9(11)-dieno (**39**)

Una solución de 115 mg del benzofurano **32** en 2 mL de THF anhidro fueron adicionados a una solución de 26 mg (2 Eq) de LiAlH_4 en 1 mL de THF anhidro, la mezcla se dejó reaccionar durante dos horas bajo atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. Posteriormente, la reacción se neutralizó con una solución de HCl al 10% adicionada gota a gota en agitación, se extrajo con AcOEt, se lavó con agua y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, el disolvente se evaporó en rotavapor, obteniendo 108.7 mg del compuesto **39** como una miel amarilla con un rendimiento del 93%.



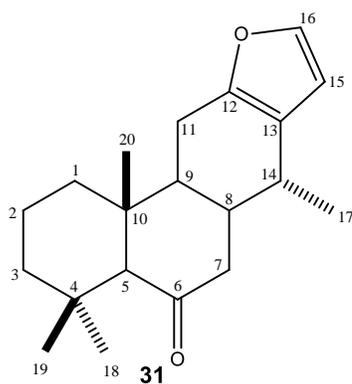
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7.54 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-16), 7.40 (1H, s, H-11), 6.74 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-15), 4.81 (1H, d, $J = 4.1$ Hz, H-6), 3.04 (1H, d, $J = 7.1$ Hz, H-7), 2.97 (1H, d, $J = 7.1$ Hz, H-7'), 2.37 (3H, s, CH_3 -17) 2.25 (1H, d, $J = 12.2$ Hz, H-1), 1.94 (1H, dd, $J = 7.8, 4.6$ Hz, H-2), 1.64 (1H, m, H-2'), 1.64 (3H, s, CH_3 -20), 1.49 (1H, m, H-1'), 1.46 (1H, s, H-5), 1.45 (1H, m, H-3), 1.31 (3H, s, CH_3 -19), 1.23 (1H, m, H-3'), 1.10 (3H,

s, CH_3 -18).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 153.8 (C, C-12), 146.4 (C, C-9), 144.2 (CH, C-16), 128.5 (C, C-14), 125.5 (C, C-13), 124.1 (C, C-8), 105.2 (CH, C-11), 104.9 (CH, C-15), 65.7 (CH, C-6), 52.8 (CH, C-5), 43.3 (CH_2 , C-1), 43.1 (CH_2 , C-3), 39.0 (CH_2 , C-7), 38.2 (C, C-10), 34.2 (C, C-4), 33.8 (CH_3 , C-18), 28.8 (CH_3 , C-19), 27.7 (CH_3 , C-20), 19.8 (CH_2 , C-2), 16.1 (CH_3 , C-17).

6-oxovouacapano (31)

A una solución de 100 mg de 6 β -hidroxivouacapano (30) en 0.5 mL de CH₂Cl₂ se adicionaron a 178.4 mg (2.5 Eq) de PCC disueltos en 1 mL de diclorometano se dejó en agitación a temperatura ambiente durante dos horas. El crudo de reacción se sometió directamente a columna cromatográfica utilizando gel de sílice como fase estacionaria y mezcla hexanos-AcOEt como fase móvil, en la polaridad 48:2 se obtuvo una miel amarilla correspondiente al compuesto 31.

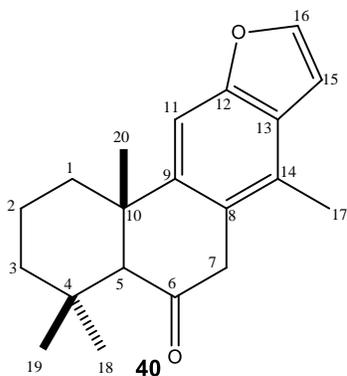


RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.24 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-16), 6.18 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-15), 2.69 (1H, dd, J = 16.8, 7.1 Hz, H-11), 2.62 (1H, m, H-14), 2.40 (1H, dd, J = 16.8, 10.0 Hz, H-11'), 2.32 (1H, m, H-7), 2.24 (1H, m, H-7'), 2.22 (1H, m, H-8), 2.13 (1H, s, H-5), 1.97 (1H, m, H-9), 1.76 (1H, d, J = 12.9 Hz, H-1), 1.56 (2H, m, H-2 y H-2'), 1.35 (1H, d, J = 13.0 Hz, H-3) 1.28 (3H, s, CH₃-19), 1.22 (1H, m, H-1'), 1.09 (1H, m, H-3'), 1.06 (3H, d, J = 7.0 Hz, CH₃-17), 0.99 (3H, s, CH₃-18), 0.88 (3H, s, CH₃-20).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 211.9 (C, C-6), 148.8 (C, C-12), 140.8 (CH, C-16), 121.9 (C, C-13), 109.4 (CH, C-15), 65.1 (CH, C-5), 46.8 (CH₂, C-7), 45.4 (CH, C-9), 42.5 (CH₂, C-3), 41.8 (C, C-10), 38.8 (CH₂, C-1), 38.4 (CH, C-8) 32.8 (CH₃, C-18), 32 (C, C-4), 30.7 (CH, C-14), 22.6 (CH₂, C-11), 21.9 (CH₃, C-19), 18.3 (CH₂, C-2), 17.3 (CH₃, C-17), 14.9 (CH₃, C-20).

6-oxovouacapan-8(14),9(11)-dieno (40)

A una solución de 126.5 mg (2.5 Eq) de PCC en 1 mL de CH₂Cl₂ se adicionaron 70 mg del compuesto 39 disuelto en 0.5 mL de CH₂Cl₂ a temperatura ambiente con agitación durante dos horas. Posteriormente, el crudo de reacción se sometió directamente a columna cromatográfica utilizando gel de sílice como fase estacionaria y mezcla hexanos-AcOEt con polaridad 48:2 como fase móvil, obteniendo en las fracciones 4 y 5 el compuesto 40 (35.2 mg).

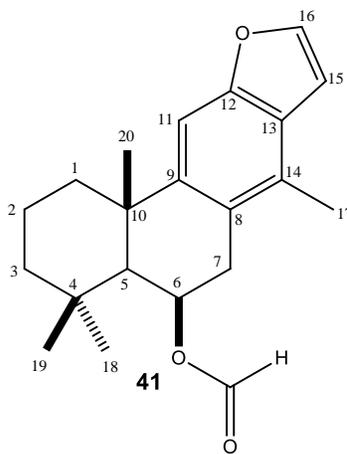


RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7.63 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-16), 7.43 (1H, s, H-11), 6.80 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-15), 3.72 (2H, d, $J = 21.6$ Hz, H-7), 3.53 (2H, d, $J = 21.6$ Hz, H-7'), 2.51 (1H, s, H-5), 2.43 (2H, m, H-1), 2.42 (3H d, $J = 5.8$ Hz, CH_3 -17), 1.85 (2H, m, H-2), 1.71 (2H, m, H-2'), 1.46 (2H, s, H-3), 1.40 (3H, s, CH_3 -20), 1.25 (3H, m, CH_3 -19), 1.21 (2H, m, H-3'), 1.12 (3H, s, CH_3 -18).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 209.7 (CO, C-6), 154.0 (C, C-12), 146.3 (C, C-9), 144.8 (CH, C-16), 128.0 (C, C-14), 125.9 (C, C-13), 125.0 (C, C-8), 105.0 (CH, C-15), 104.1 (CH, C-11), 62.2 (CH, C-5), 43.2 (CH_2 , C-7), 42.8 (CH_2 , C-3), 40.8 (C, C-10), 39.3 (CH_2 , C-1), 32.9 (CH_3 , C-18), 32.7 (C, C-4), 25.1 (CH_3 , C-19), 21.7 (CH_3 , C-20), 18.8 (CH_2 , C-2), 15.9 (CH_3 , C-17).

6 β -formilvouacapan-8(14),9(11)-dieno (41)

A una solución de 100 mg del benzofurano **39** en 3 mL de CH_2Cl_2 se adicionó 1 mL de ácido fórmico, la solución se dejó bajo reflujo durante 1 hora. Transcurrido el tiempo la reacción se extrajo con diclorometano, se lavó con solución saturada de NaHCO_3 y agua, se secó con Na_2SO_4 anhidro, el disolvente fue evaporado en rotavapor. El crudo de la reacción se separó mediante cromatografía en columna, utilizando mezclas hexanos-AcOEt polaridad 49:1 como fase móvil, obteniendo 20 mg del compuesto **41** como un sólido blanco.

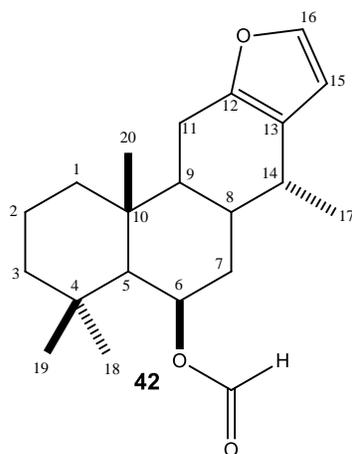


RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 8.10 (1H, s, H-formiato), 7.53 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-16), 7.40 (1H, s, H-11), 6.72 (1H, dd, $J = 2.2, 0.8$ Hz, H-15), 6.00 (1H, d, $J = 4.9$ Hz, H-6), 3.11 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-7), 3.07 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-7'), 2.34 (3H, s, CH_3 -17) 2.32 (1H, d, $J = 16.1$ Hz, H-1), 1.89 (1H, qt, $J = 13.9, 3.5$ Hz, H-2), 1.66 (1H, ddd, $J = 13.9, 7.1, 3.5$ Hz, H-2'), 1.62 (3H, s, CH_3 -20), 1.59 (1H, s, H-5), 1.48 (1H, m, H-3), 1.25 (1H, m, H-3'), 1.12 (3H, s, CH_3 -19), 1.08 (3H, s, CH_3 -18).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 161.2 (C, OCOH), 153.8 (C, C-12), 145.9 (C, C-9), 144.4 (CH, C-16), 128.3 (C, C-14), 125.5 (C, C-13), 123.2 (C, C-8), 105.3 (CH, C-11), 104.9 (CH, C-15), 67.6 (CH, C-6), 51.5 (CH, C-5), 43.1 (CH_2 , C-1), 43.0 (CH_2 , C-3), 35.2 (CH_2 , C-7), 38.3 (C, C-10), 34.2 (C, C-4), 33.5 (CH_3 , C-18), 27.4 (CH_3 , C-20), 23.2 (CH_3 , C-19), 19.6 (CH_2 , C-2), 16.0 (CH_3 , C-17).

6 β -formilvouacapano (**42**)

A una solución de 80 mg de 6 β -hidroxivouacapano (**30**) en 3 mL de CH_2Cl_2 se le adicionó 0.8 mL de ácido fórmico y se dejó bajo reflujo durante tres horas. El crudo de reacción se extrajo y se lavó con solución saturada de NaHCO_3 y agua, se secó con Na_2SO_4 anhidro, el disolvente fue evaporado en rotavapor. El crudo de la reacción se separó mediante cromatografía, en las fracciones 12-15 con polaridad 48:2 hexanos-AcOEt se obtuvieron 35 mg del formiato **42**.

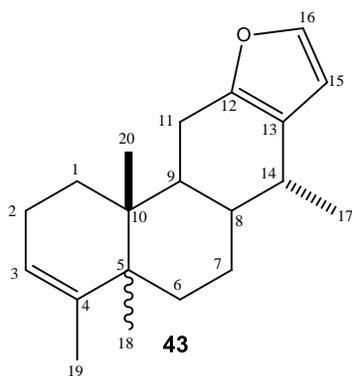


RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 8.09 (1H, s, H-formiato), 7.23 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-16), 6.19 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-15), 5.68 (1H, s, H-6), 2.64 (1H, m, H-14), 2.61 (1H, dd, $J = 10.4, 6.6$ Hz, H-11), 2.49 (1H, dd, $J = 16.9, 10.4$ Hz, H-11'), 2.05 (1H, ddd, $J = 12.6, 8.6, 4.5$ Hz, H-8), 1.88 (1H, dt, $J = 14.4, 7$ Hz, H-7), 1.73 (1H, d, $J = 12.6$ Hz, H-1), 1.63 (1H, dt, $J = 13.4, 3.2$ Hz, H-2), 1.56 (1H, m, H-9), 1.54 (1H, m, H-7'), 1.48 (1H, m, H-2'), 1.41 (1H, d, $J = 13.4$ Hz, H-3), 1.24 (1H, m, H-3'), 1.21 (3H, s, CH_3 -20), 1.13 (1H, s, H-5), 1.05 (3H, s, CH_3 -19), 1.00 (3H, s, CH_3 -18), 0.96 (3H, s, CH_3 -17).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 161.0 (C, OCOH), 149.4 (C, C-12), 140.3 (CH, C-16), 121.9 (C, C-13), 109.4 (CH, C-15), 69.6 (CH, C-6), 55.3 (CH, C-5), 45.7 (CH, C-9), 43.7 (CH_2 , C-3), 42.7 (CH_2 , C-1), 37.8 (C, C-10), 36.4 (CH_2 , C-7), 33.9 (C, C-4), 33.6 (CH_3 , C-18), 31.0 (CH, C-14), 30.9 (CH, C-8), 23.5 (CH_3 , C-19), 21.7 (CH_2 , C-11), 18.7 (CH_2 , C-2), 17.6 (CH_3 , C-17), 17.1 (CH_3 , C-20).

Derivado vinílico 43

Se hicieron reaccionar 100 mg de 6 β -hidroxivuacapano (**30**) con 4 mL de ácido fórmico durante 6 h bajo reflujo. Transcurrido el tiempo la reacción se extrajo y se lavó con solución saturada de NaHCO₃ y agua, se secó con Na₂SO₄ anhidro, el disolvente fue evaporado en rotavapor. El crudo de la reacción se purificó mediante cromatografía en columna, obteniendo en la fracción 5 con polaridad 99:1 hexanos-AcOEt un sólido blanco con p.f. 171-173 °C correspondiente al compuesto **43** (4 mg).



RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.23 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-16), 6.19 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-15), 5.38 (1H, s, H-3), 2.62 (1H, m, H-14), 2.16 (2H, dt, $J = 11.6, 8.6$ Hz, H-6), 1.67 (3H, s, CH₃-19), 1.56 (3H, s, CH₃-18), 0.97 (3H, s, H-20), 0.91 (3H, d, H-17).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 161.0 (C, OCOH), 149.6 (C, C-12), 140.2 (CH, C-16), 140.2 (C, C-4), 123.0 (CH, C-3), 122.2 (C, C-13), 109.5 (CH, C-15), 41.4 (C, C-5), 39.0 (C, C-10), 35.2 (CH₂, C-6), 32.0 (CH₂, C-7), 31.7 (CH, C-14), 31.1 (CH, C-9), 28.1 (CH₂, C-1), 27.3 (CH, C-8), 24.8 (CH₂, C-11), 23.2 (CH₃-vinílico), 22.3 (CH₂, C-2), 19.3 (CH₃, C₄→C₅), 17.5 (CH₃, C-20), 17.2 (CH₃, C-17).

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Obtención del 6 β -acetoxivouacapano (29)

El 6 β -acetoxivouacapano (29) se obtuvo del extracto de CH₂Cl₂ de las hojas de *Caesalpinia platyloba* como cristales amarillos, los cuales fueron analizados por espectroscopia de RMN.

En el espectro de RMN de ¹H (Figura 15) se observan en 7.23 y 6.19 ppm dos señales dobles con $J = 1.9$ Hz, correspondientes a los protones del furano H-16 y H-15, respectivamente; en 5.51 ppm se observa una señal simple ancha correspondiente a un hidrógeno base de éster, en 2.03 ppm se encuentra una señal simple que integra para 3 hidrógenos característica de grupos metilo de acetilo, en 1.20, 1.02 y 0.99 ppm se aprecian tres señales simples correspondientes a los metilos terciarios CH₃-20, CH₃-19 y CH₃-18, respectivamente. En 0.96 ppm aparece una señal doble con $J = 7.0$ Hz, correspondiente al metilo secundario CH₃-17.

En el espectro de RMN de ¹³C (Figura 16) se observan 21 señales que indican la presencia de un diterpeno funcionalizado, en 170.6 ppm se observa una señal correspondiente al carbonilo de éster. En 149.6, 140.4, 121.8 y 109.4 ppm se aprecian las señales que corresponden al anillo del furano. Estos datos espectroscópicos fueron iguales a los descritos para el 6 β -acetoxivouacapano (29).²³

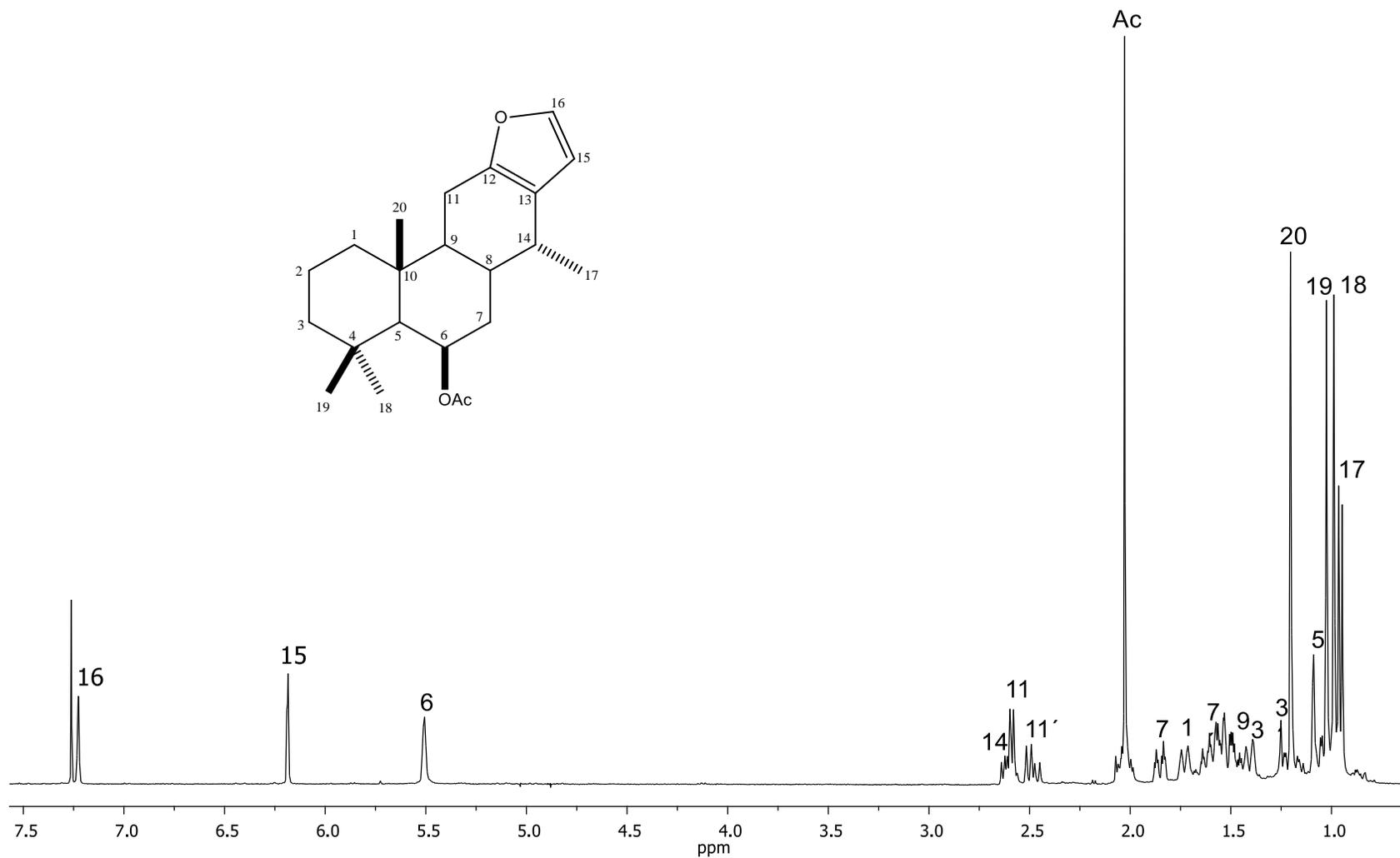


Figura 16. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del 6β-acetoxivouacapano (**29**).

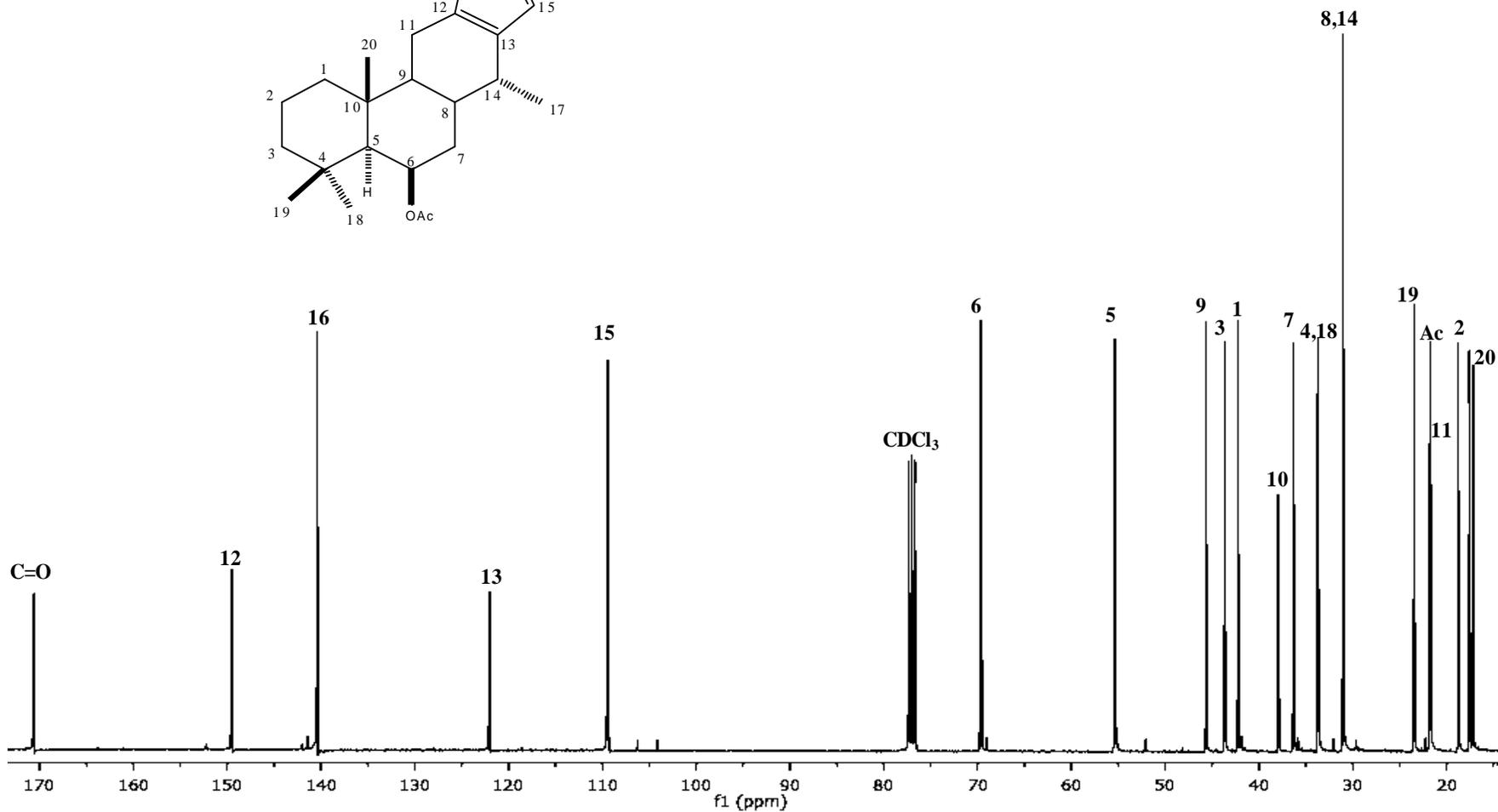
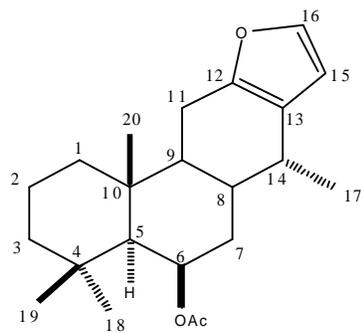
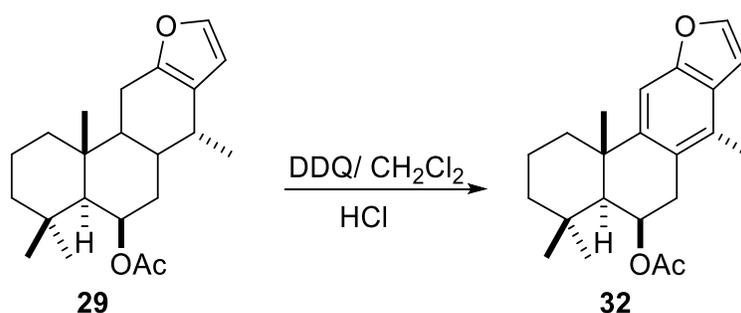


Figura 17. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del 6β -acetoxivouacapano (**29**)

Oxidación del 6 β -acetoxivouacapano (**29**)

El 6 β -acetoxivouacapano (**29**) fue tratado con DDQ y HCl concentrado, en agitación a temperatura ambiente, utilizando CH₂Cl₂ como disolvente, durante 20 minutos;²⁴ obteniendo una miel color café, la cual fue analizada por RMN de ¹H y ¹³C, observándose como único producto 6 β -acetoxivouacapan-8(14),9(11)-dieno (**32**).



Esquema 5. Oxidación del 6 β -acetoxivouacapano (**29**) con DDQ.

En el espectro de RMN de ¹H (Figura 17) se observa en 7.54 ppm una señal doble con $J = 2.3$ Hz, y en 6.73 ppm una señal doble de dobles con $J = 2.3, 0.9$ Hz, correspondientes a los hidrógenos del anillo de furano H-16 y H-15, respectivamente. En 7.40 ppm se encuentra una señal simple para un protón aromático, la cual se asigna al H-11. En 5.84 ppm se muestra una señal doble de triples con $J = 5.4, 1.5$ Hz, correspondiente al hidrógeno base de acetilo H-6. En 2.34 ppm se aprecia una señal simple característica de metilo aromático, asignada al CH₃-17. En 2.02 ppm aparece una señal simple intensa característica del metilo del acetilo. Así mismo, se observan tres señales de metilos terciarios en 1.62, 1.10 y 1.07 ppm correspondientes a los metilos CH₃-20, CH₃-19 y CH₃-18, respectivamente.

En el espectro de RMN de ¹³C (Figura 18) se observan 21 señales, indicando un traslape de señales. En 171.0 ppm se aprecia una señal de carbonilo de éster. Entre 153.7-104.9 ppm se observan 8 señales de carbonos sp^2 , lo que indica la presencia de un sistema

benzofuránico. En 67.6 ppm aparece una señal para el carbono base del acetilo C-6. En 51.5 ppm se encuentra la señal característica del carbono cabeza de puente C-5. Entre 43.0 y 16.0 ppm se apreciaron 10 señales correspondientes al resto de los carbonos presentes en la estructura.

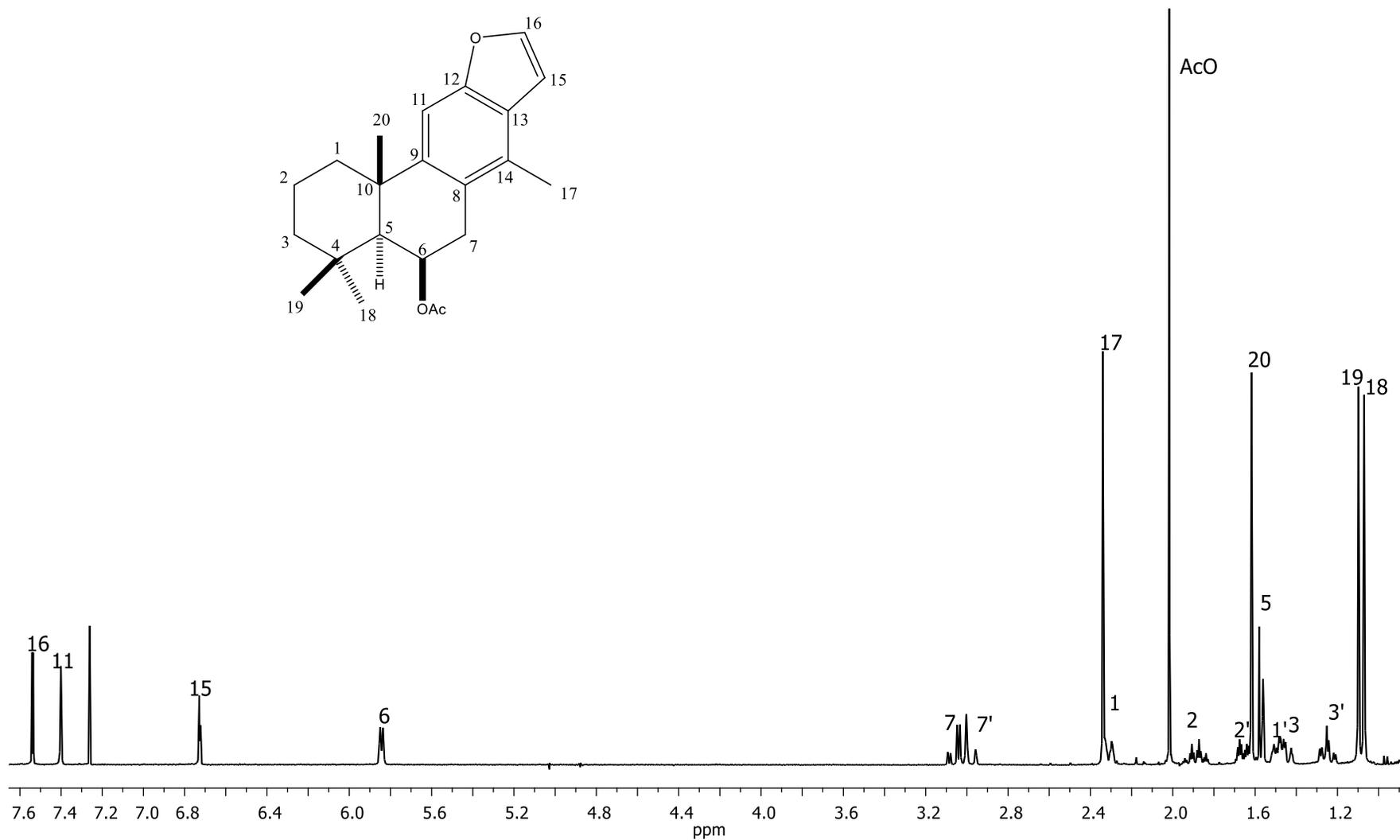


Figura 18. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del derivado benzofurano **32**.

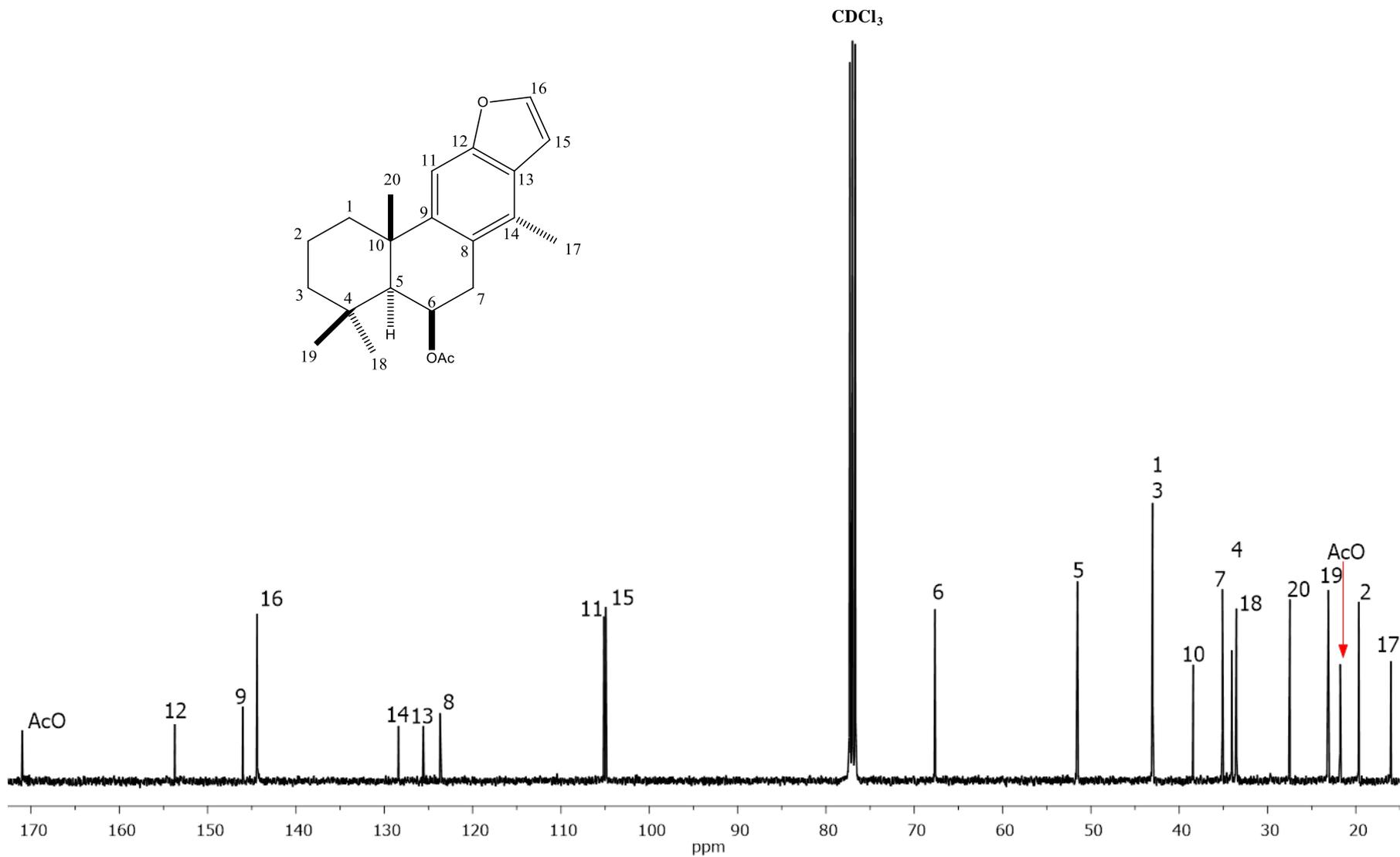
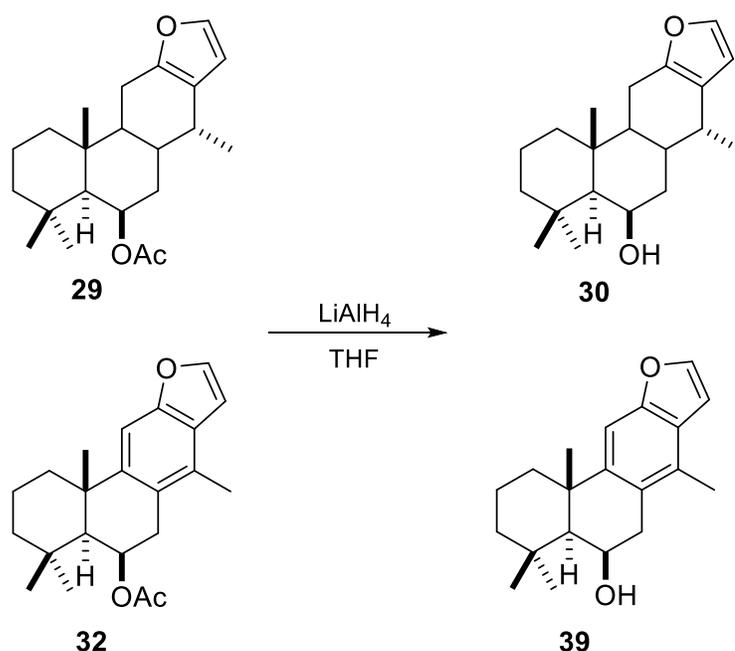


Figura 19. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del derivado benzofurano 32.

Hidrólisis de **29** y **32**

Una vez que se obtuvieron los compuestos de interés; el 6 β -acetoxivouacapano (**29**) y el derivado **32**, se procedió a realizar la remoción del grupo acetato de ambos compuestos con LiAlH₄, utilizando las condiciones de reacción reportadas por Gómez-Hurtado y colaboradores,²³ para obtener los alcoholes **30** y **39** los cuales nos permiten realizar gran variedad de modificaciones químicas.



Esquema 6. Hidrólisis de los compuestos **29** y **32**.

A partir de **29**, se obtuvo una miel incolora, en cuyo espectro de RMN de ¹H (Figura 19) se puede observar que la señal del H-6 se desplazó a 4.48 ppm, región de hidrógenos base de alcohol, adicionalmente, la señal característica del metilo de acetato en 2.01 ppm de **29** desaparece. Los desplazamientos químicos de RMN de ¹H y ¹³C se compararon con los descritos²³ confirmando la presencia del 6 β -hidroxivouacapano (**30**)

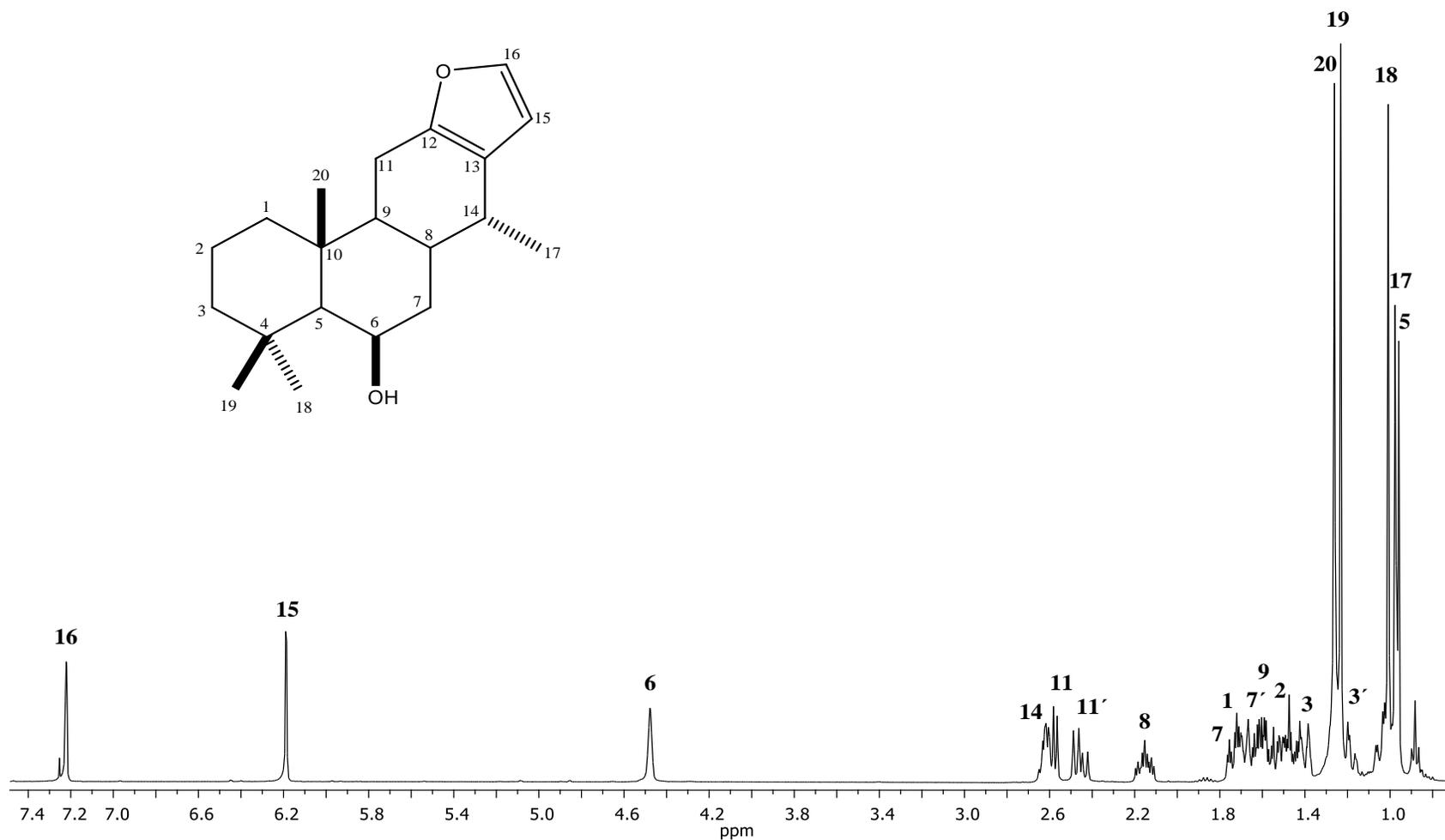


Figura 20. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del 6β-hidroxivouacapano (30)

Por su parte, de la reacción del benzofurano **32** con LiAlH_4 , se obtuvo con un rendimiento del 93% una miel amarilla como único producto, la cual fue analizada por RMN.

En el espectro de RMN de ^1H (Figura 20) se aprecian dos señales dobles en 7.54 y 6.74 ppm con una $J = 2.2$ Hz correspondientes a los hidrógenos del furano H-16 y H-15, respectivamente. El hidrógeno aromático H-11 se observa en 7.40 ppm, en 4.81 ppm se encuentra una señal para el hidrógeno base de alcohol H-6, entre 3.04 y 2.97 ppm se observa un sistema AB asignado a los hidrógenos H-7 y H-7' con una $J = 7.1$ Hz, el hidrógeno correspondiente al CH-5 se observa en 1.46 ppm, en 2.25 ppm se encuentra una señal simple que integra para dos hidrógenos asignada al metileno CH_2 -1, los metilos CH_3 -17, CH_3 -20, CH_3 -19 y CH_3 -18 presentan señales simples que integran para tres hidrógenos en 2.37, 1.64, 1.31 y 1.10 ppm, respectivamente.

En el espectro de RMN de ^{13}C (Figura 21) se observan 20 señales. Entre 153.8 y 104.9 ppm se encuentran las señales de los carbonos del sistema benzofuránico C-12, C-9, CH-16, C-14, C-13, C-8, CH-11 y CH-15. En 65.7 ppm se aprecia la señal del CH-6 base de hidroxilo, las señales de los metilos CH_3 -18, CH_3 -19, CH_3 -20, y CH_3 -17 se encuentran en 33.8, 28.8, 27.7 y 16.1, respectivamente, así como el resto de las señales que sugirieron la presencia del 6β -hidroxibenzofurano (**39**) del cual no se encuentran reportes.

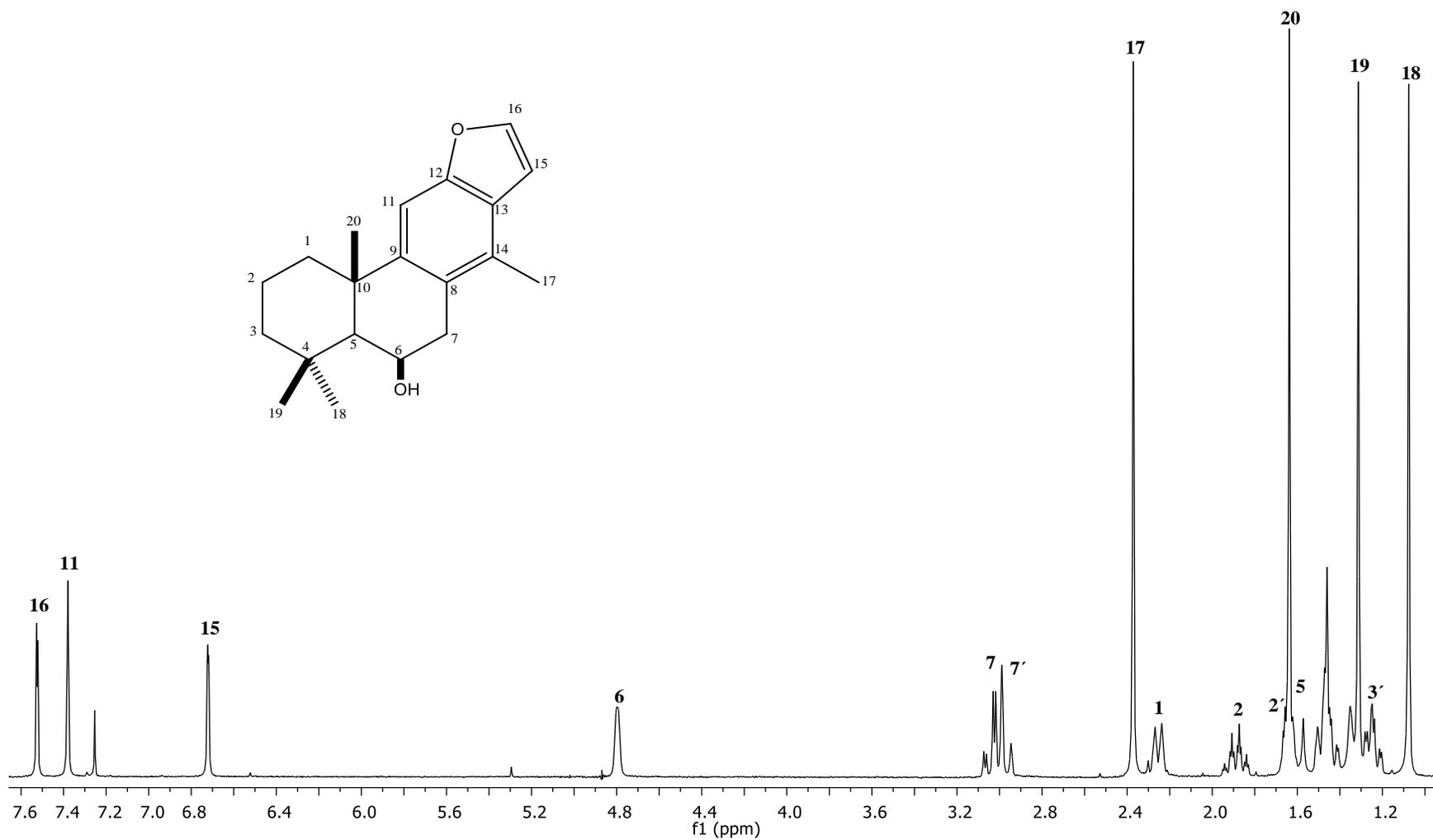


Figura 21. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del derivado benzofurano **39**.

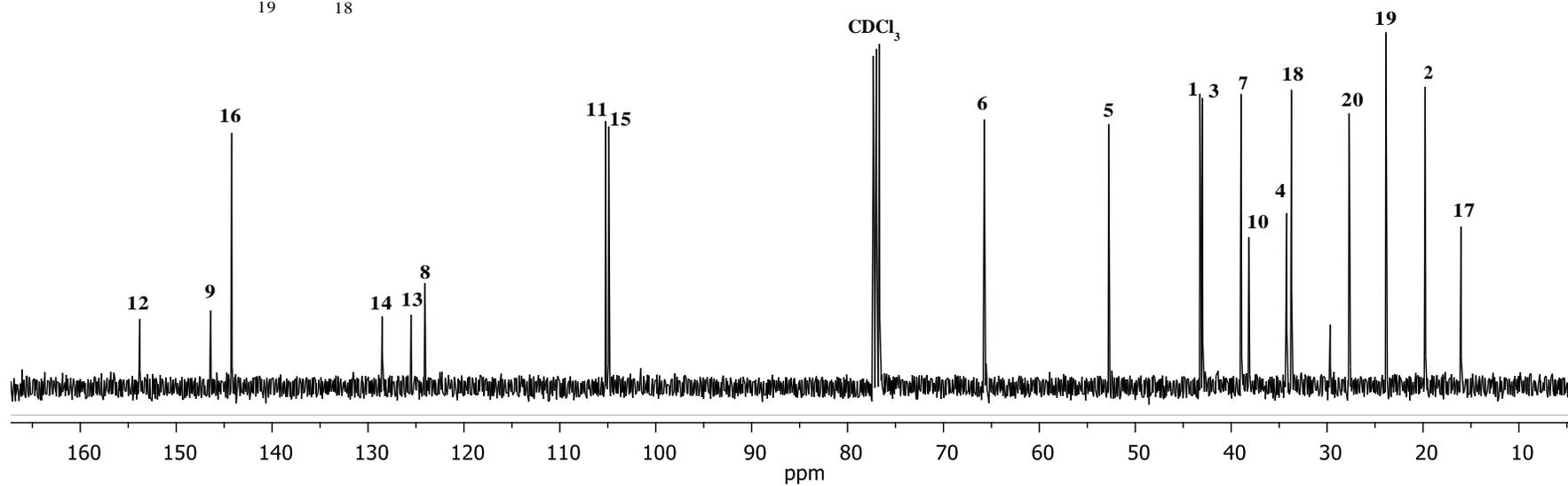
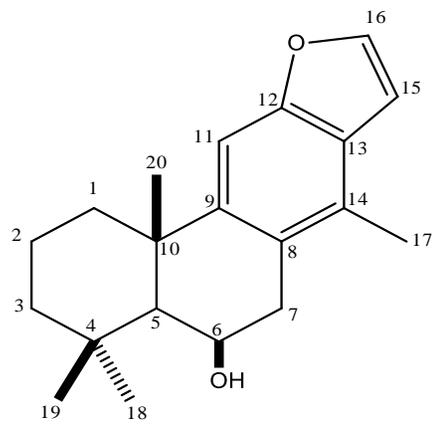
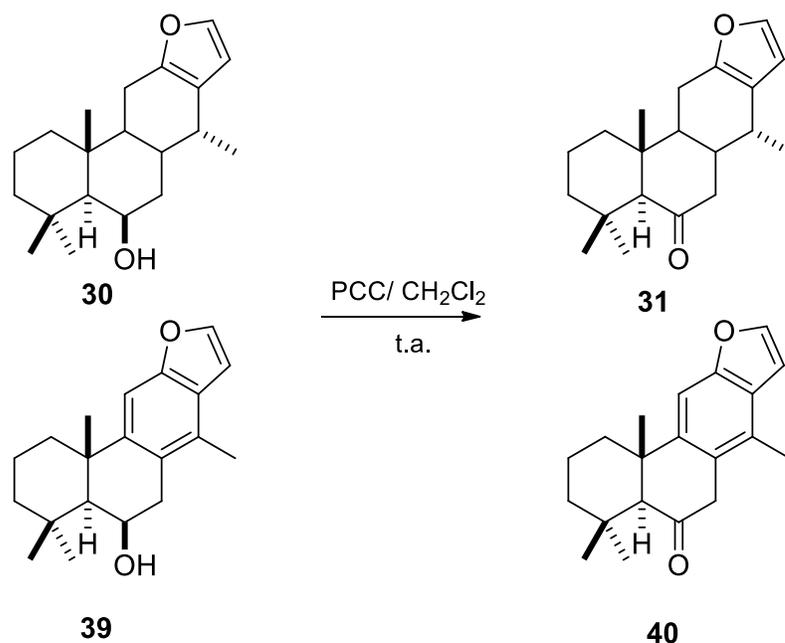


Figura 22. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del derivado benzofurano **39**.

Oxidación de los compuestos **30** y **39**

Una vez generados los derivados hidroxilados **30** y **39**, se llevó a cabo la oxidación del hidroxilo del anillo B, utilizando PCC como agente oxidante y diclorometano como medio de reacción.



Esquema 7. Oxidación de los alcoholes **30** y **39** con PCC.

Al tratar a **30** bajo estas condiciones de reacción se generó una miel amarilla. En el espectro de RMN de ¹H (Figura 22) se observa en 7.24 y 6.18 ppm las señales características del furano, la señal del H-5 se desplazó de 0.98 ppm a 2.13 ppm debido a la posición α al carbonilo en la cual se encuentra. Los hidrógenos del metileno 7 se encuentran en 2.24 y 2.32 ppm como señales múltiples, mientras que las señales de los metilos CH₃-17, CH₃-18 y CH₃-20 se desplazaron a 1.06, 0.99 y 0.88 ppm respectivamente. Estos datos fueron iguales a los descritos para el 6-oxovouacapano (**31**).²³

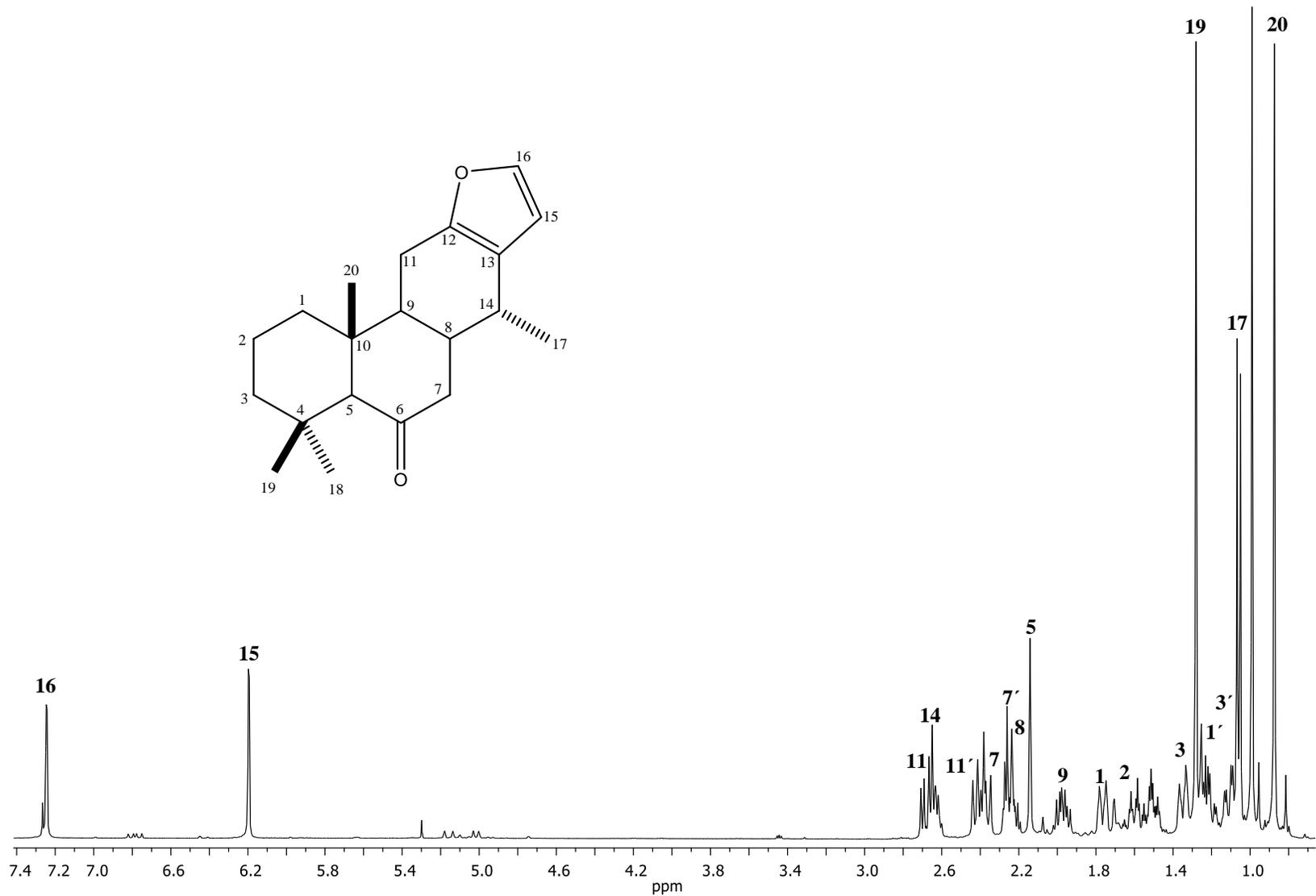


Figura 23. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del 6-oxovouacapano (31).

El producto de oxidación del benzofurano **39** muestra en su espectro de RMN de ^1H (Figura 23) dos señales dobles en 7.63 ppm y 6.80 ppm con una $J = 1.8$ Hz, correspondientes a los protones H-15 y H-16 del anillo del furano, en 7.43 ppm se observa una señal simple asignada al H-11, los protones H-7 y H-7' presentan señales dobles en 3.72 y 3.53 ppm, respectivamente como un sistema AB; en 2.51 ppm se encuentra una señal simple que integra para un hidrógeno asignada al H-5, las señales de los grupos metilo se observan en 2.42 (CH_3 -17), 1.40 (CH_3 -20), 1.25 (CH_3 -19) y 1.12 ppm (CH_3 -18).

En el espectro de RMN de ^{13}C (Figura 24) se observan las 20 señales esperadas, la señal en 209.7 ppm correspondiente al C-6 carbonilo sugiere la obtención del grupo cetona, en 154.0, 144.8, 125.9 y 105.0 ppm se observan las señales del furano, las señales de los carbonos aromáticos C-9, C-14, C-8 y CH-11 se encuentran en 146.3, 128.0, 125.0 y 104.1 ppm, respectivamente. Estos datos espectroscópicos pertenecen al 6-oxovouacapan-8(14),9(11)-dieno (**40**), el cual corresponde a una estructura novedosa.

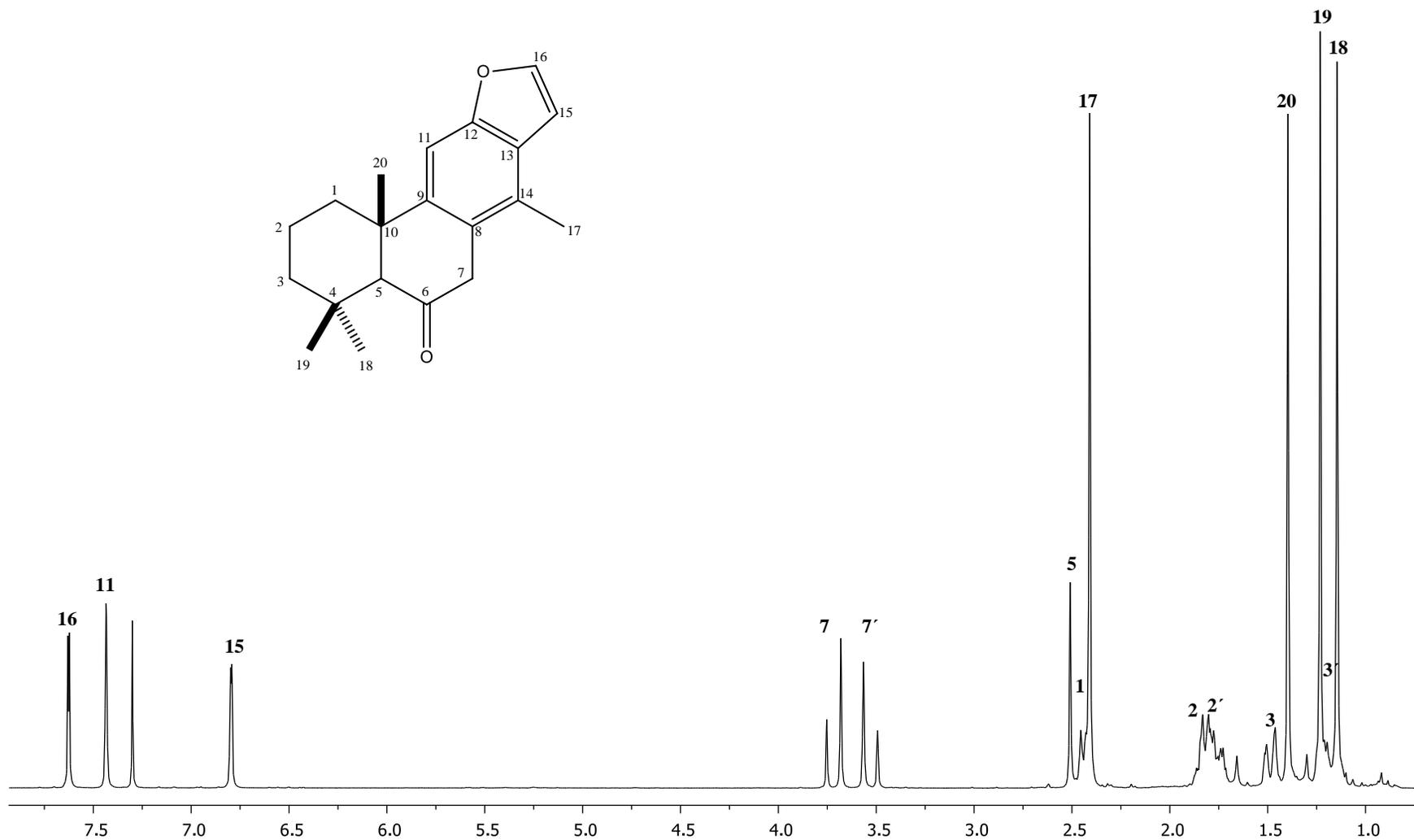


Figura 24. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del compuesto **40**.

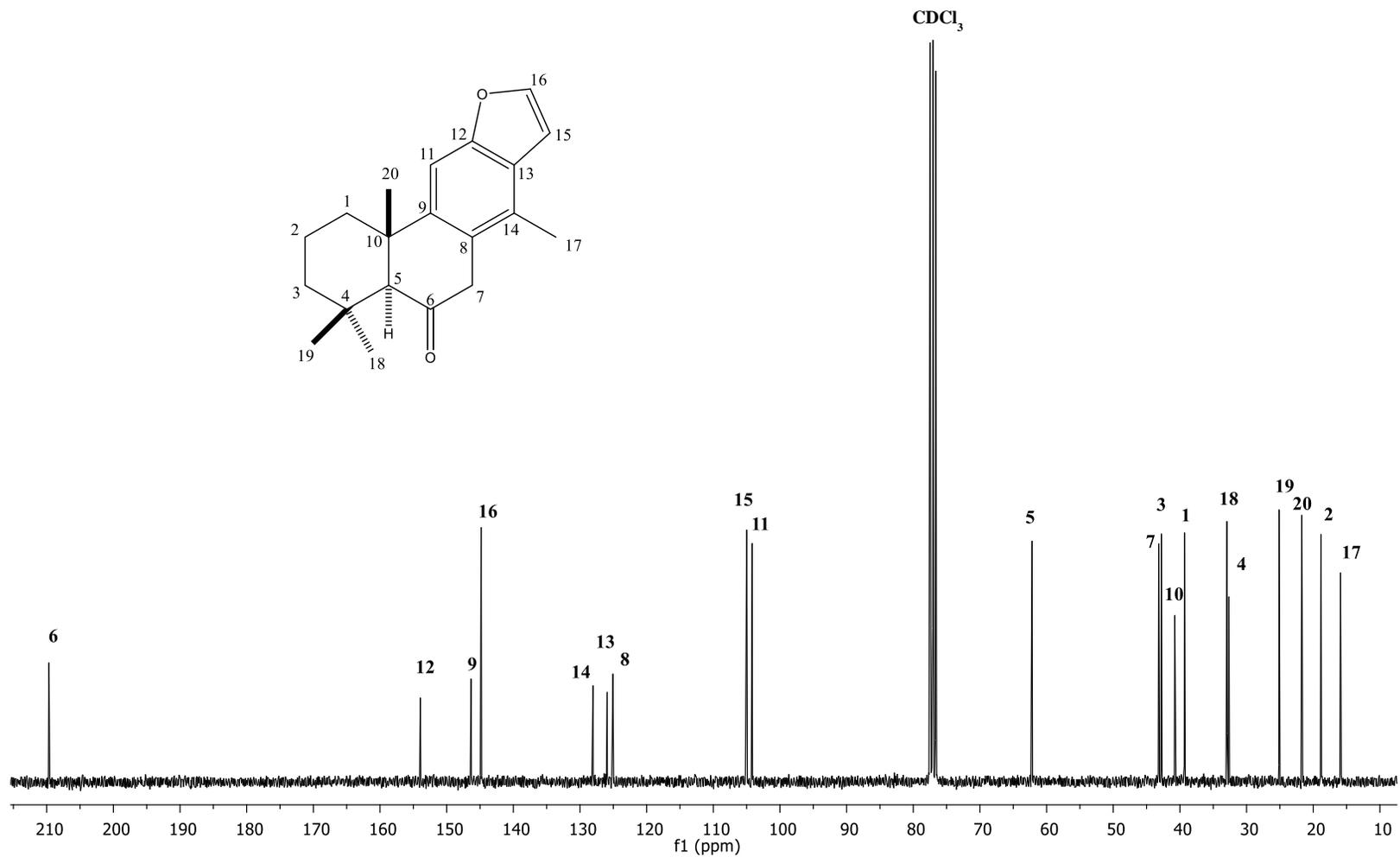


Figura 25. Espectro de RMN ^{13}C a 100 MHz del compuesto **40**.

Para iniciar las modificaciones del anillo B se prepararon las cetonas **31** y **40**, que son importantes ya que a partir de estas se pueden preparar una serie de derivados con estructura novedosa.

La cetona **31** se hizo reaccionar con clorhidrato de hidroxilamina en piridina, siguiendo la metodología descrita (Tabla 1).²⁷ Sin embargo, después de varios ensayos en diferentes tiempos de reacción, hasta llegar a las 24 h, no se observó la formación de la oxima deseada.

Tabla 1. Tratamiento del compuesto **31** para la preparación de la oxima.

Materia prima	Reactivos	Condiciones	Tiempo	Producto
Compuesto 31	NH ₂ OH*HCl/Piridina	Baño de vapor	24 h	Materia prima

El compuesto **40** fue tratado con las mismas condiciones de reacción que **31** ya que se esperaba que la formación de esta oxima se favoreciera por la aromaticidad del anillo C. La reacción fue monitoreada mediante cromatografía en capa fina, después de 24 horas se decidió detener la reacción, el análisis del crudo de reacción por RMN mostró únicamente materia prima.

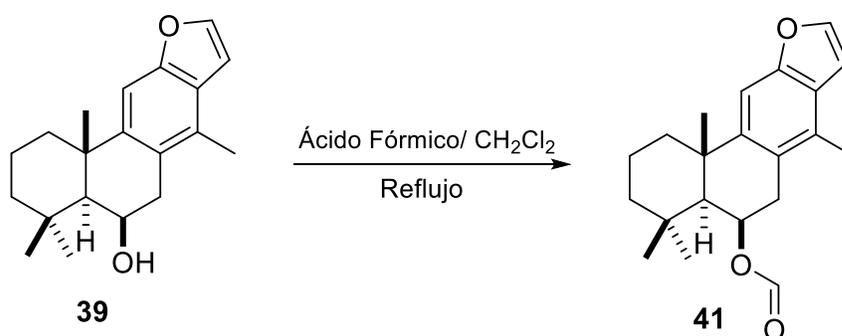
Tabla 2. Tratamiento del compuesto **40** para la preparación de la oxima.

Materia prima	Reactivos	Condiciones	Tiempo	Producto
Compuesto 40	NH ₂ OH*HCl/Piridina	Baño de vapor	24 h	Materia prima

Debido a que no fue posible obtener las oximas deseadas bajo las condiciones de reacción descritas, se retomó el estudio de la reactividad del alcohol benzofuránico **39**, ya que este permitía dar continuidad a las modificaciones del anillo B.

Tratamiento ácido del alcohol benzofuránico 39

El alcohol benzofuránico **39** se hizo reaccionar con ácido fórmico²⁷ para la obtención del derivado vinílico. La reacción se monitoreó mediante cromatografía en capa fina, después de una hora se observó materia prima y la formación de un producto. Sin embargo, transcurridas dos horas, no se observó avance en la reacción, por lo que se decidió extraer y separar por cromatografía en columna el crudo de reacción, obteniendo un sólido incoloro el cual fue analizado por RMN.



Esquema 8. Tratamiento ácido del alcohol benzofuránico **39**.

En el espectro de RMN de ¹H (Figura 25) se encuentra una señal simple en 8.10 ppm característica de hidrógenos de formiato, en 7.53 y 6.72 ppm se observan las señales características de los protones furánicos H-16 y H-15 con una $J = 2.2$ Hz, en 7.40 ppm se localiza una señal simple correspondiente al protón aromático H-11 y en 6.00 ppm la señal del hidrógeno base del formiato H-6.

En el espectro de RMN de ¹³C (Figura 26) se observan 21 señales, lo cual indica la presencia de un diterpenfurano funcionalizado; en 161.2 ppm presenta la señal de un carbonilo de formiato, entre 153.8 y 104.9 ppm observamos las señales esperadas del sistema benzofuránico, en 67.6 ppm localizamos la señal del carbono base del formiato CH-6, así como las señales de los carbonos del anillo A y B entre 51.5 y 16.0 ppm.

En el experimento COSY (Figura 27) se puede observar la correlación entre el hidrógeno del éster de formiato y el H-6 base de este grupo. La asignación de las señales de RMN de ^{13}C se confirmó con ayuda del experimento HETCOR.

Es importante destacar que los datos espectroscópicos corresponden al 6β -formilvouacapan-8(14),9(11)-dieno (**41**), el cual es una estructura novedosa.

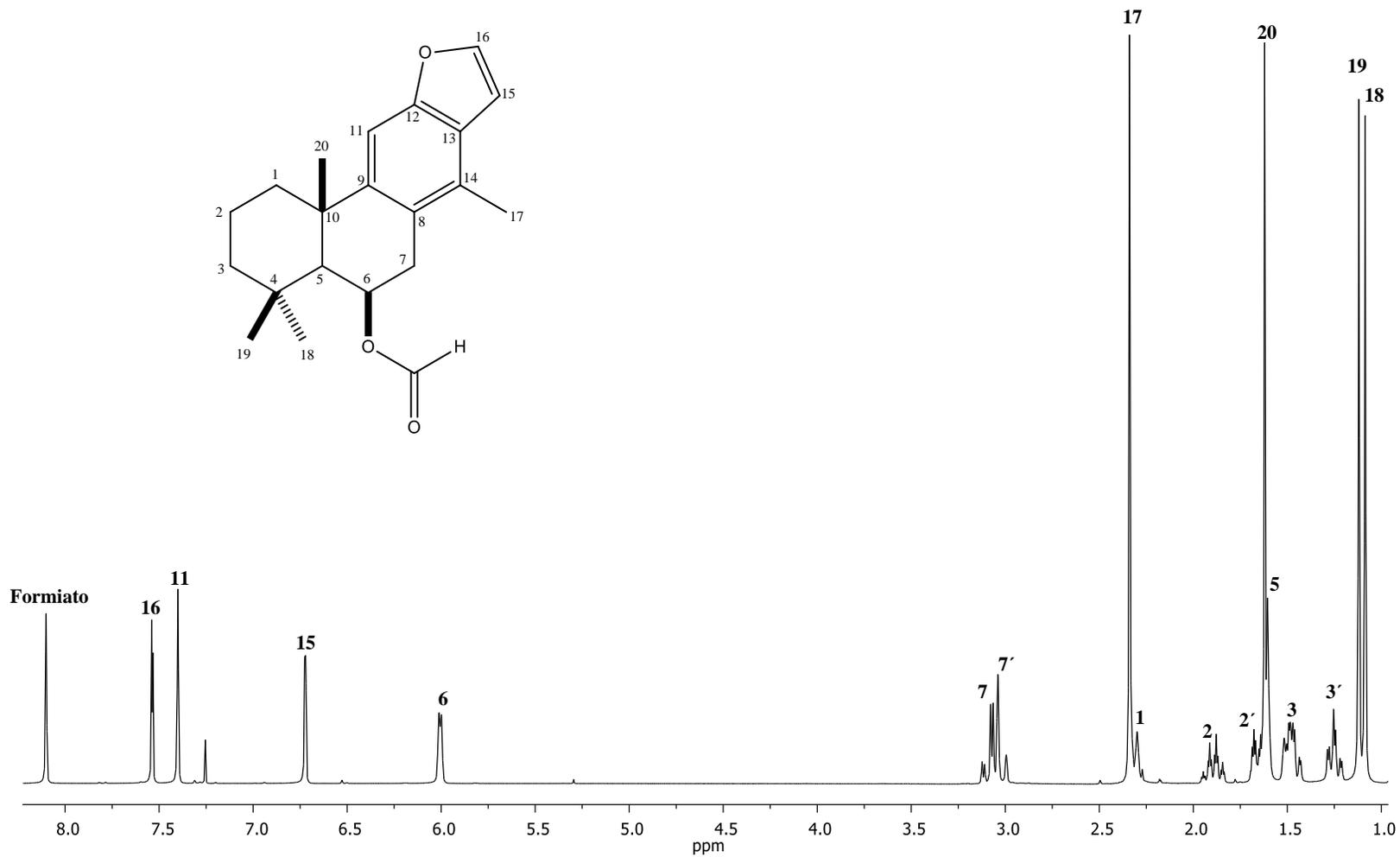


Figura 26. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del 6 β -formilvouacapan-8(14),9(11)-dieno (41).

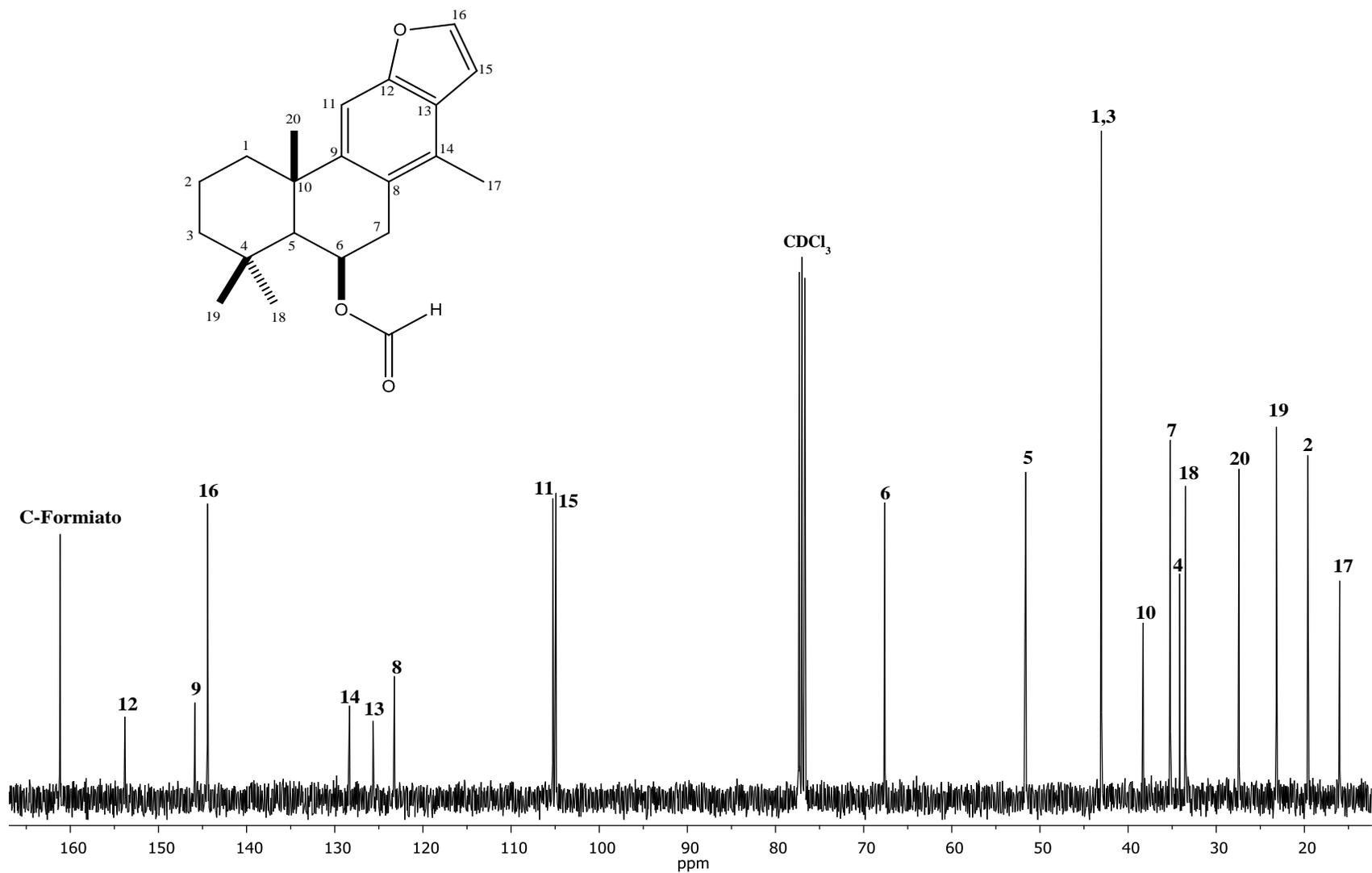


Figura 27. Espectro de RMN de ¹³C a 100 MHz del 6β-formilvouacapan-8(14),9(11)-dieno (41).

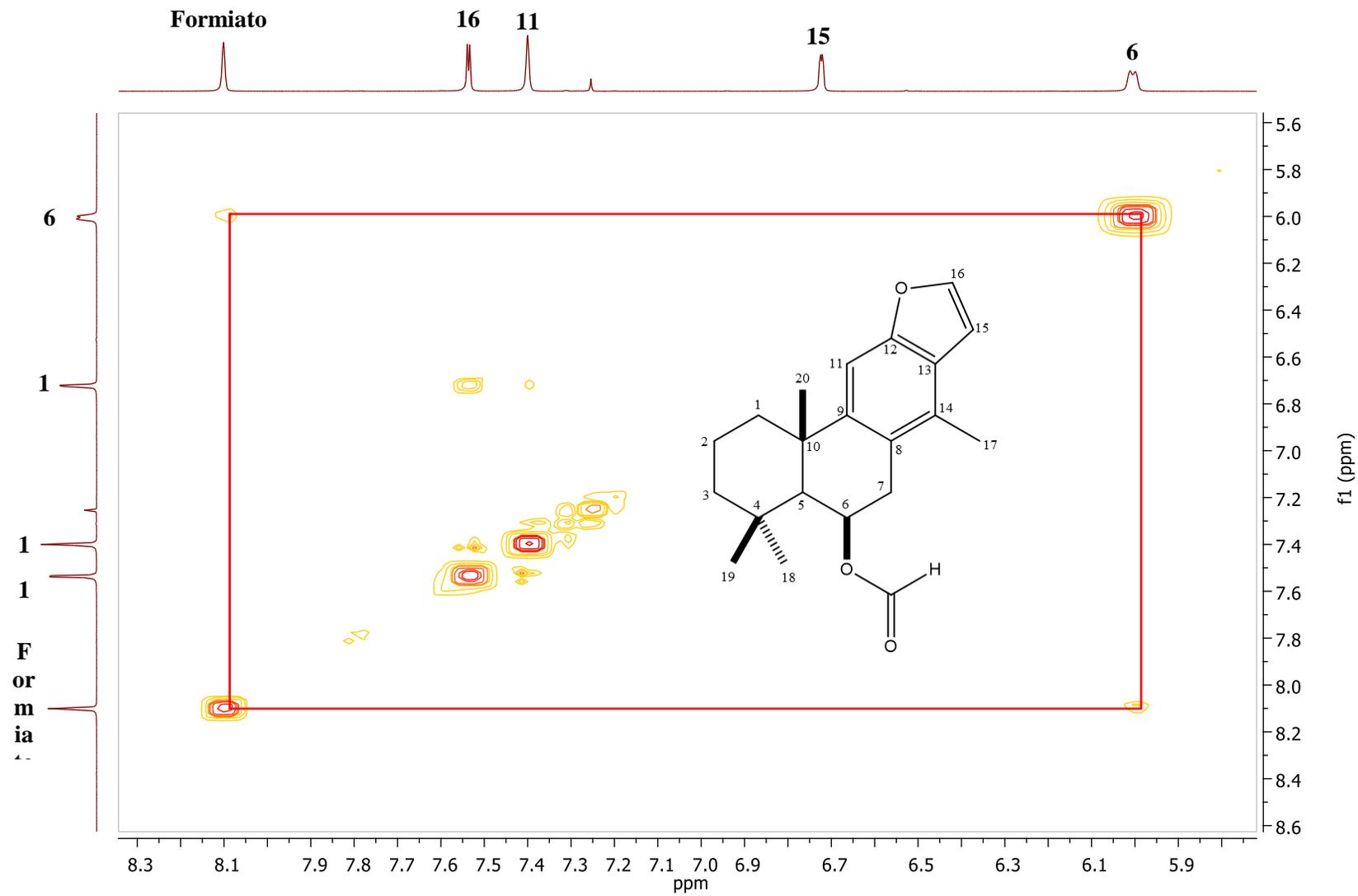
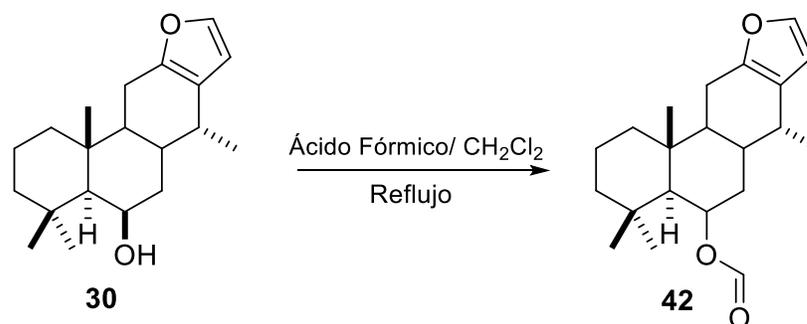


Figura 28. Experimento COSY del 6 β -formilvouacapan-8(14),9(11)-dieno (**41**).

Tratamiento ácido del 6 β -hidroxivouacapano (30)

La obtención del formiato **41** resultó interesante debido a que se esperaba que el ácido fórmico actuara como ácido de Bronsted para la obtención del derivado deshidratado, sin embargo, ocurrió una sustitución nucleofílica dando lugar a la formación del éster de formiato.

Con el objetivo de comparar la reactividad del alcohol benzofuránico **39** y el 6 β -hidroxivouacapano **30**, este último también se hizo reaccionar con ácido fórmico. La reacción se dejó 3 horas bajo reflujo, observándose la formación de un sólo producto, el cual fue purificado por cromatografía en columna, obteniendo un sólido blanco el cual fue analizado por RMN.



Esquema 9. Tratamiento ácido del 6 β -hidroxivouacapano.

En el espectro de RMN de ^1H (Figura 28) se observa en 8.09 ppm una señal simple correspondiente al hidrógeno del formiato, entre 7.23 y 6.19 ppm se muestran las señales del sistema furánico H-16 y H-15, en 5.68 ppm se encuentra la señal del H-6 base de formiato y entre 2.64 y 0.96 ppm el resto de las señales de la estructura.

En el espectro de RMN de ^{13}C (Figura 29) se observan 21 señales, en 161.0 ppm se encuentra la señal del carbonilo del formiato, entre 149.4 y 109.4 ppm se aprecian las señales del sistema furánico C-12, CH-16, C-13 y CH-15, entre 69.6 y 17.1 ppm se

observan el resto de las señales del esqueleto correspondiente al 6β -formilvouacapano (**42**) del cual no se encuentran reportes.

Estos resultados evidencian la diferencia de reactividad entre los compuestos **39** y **30**, ya que, si bien en ambos casos se obtuvieron los formiatos derivados, el alcohol benzofuránico **39** dio la formación de este producto en un tiempo de reacción significativamente menor comparado con el 6β -hidroxivouacapano **30**.

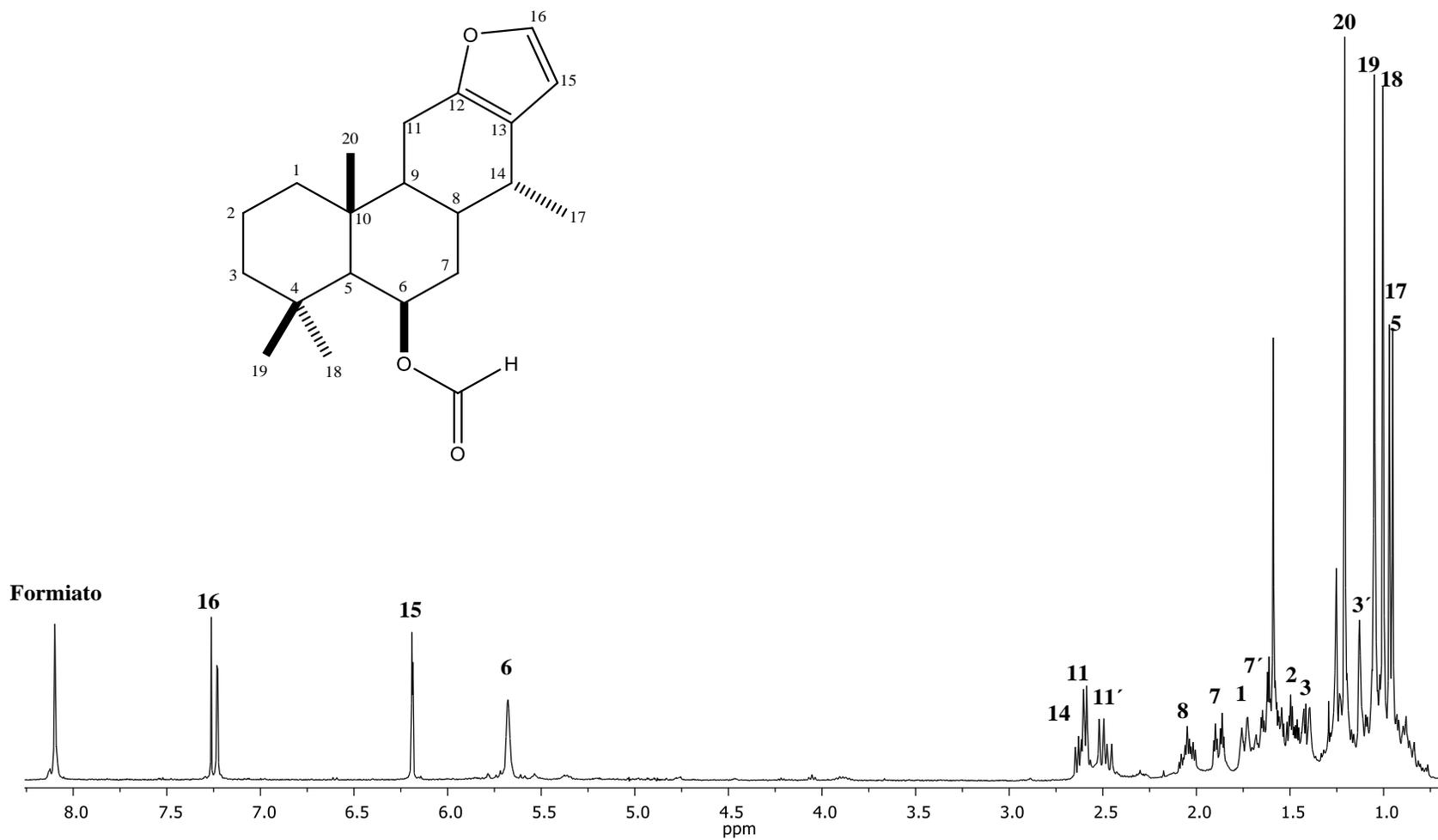
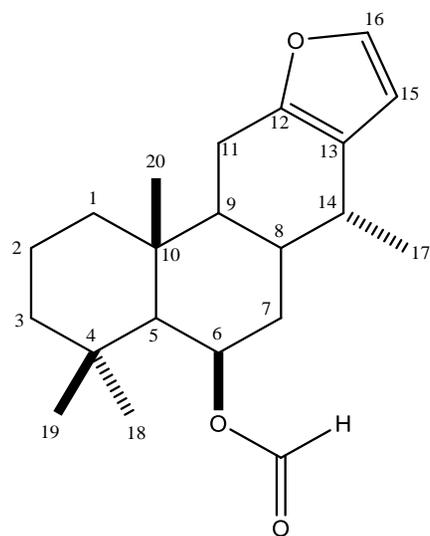


Figura 29. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del 6β -formilvouacapano (**42**).

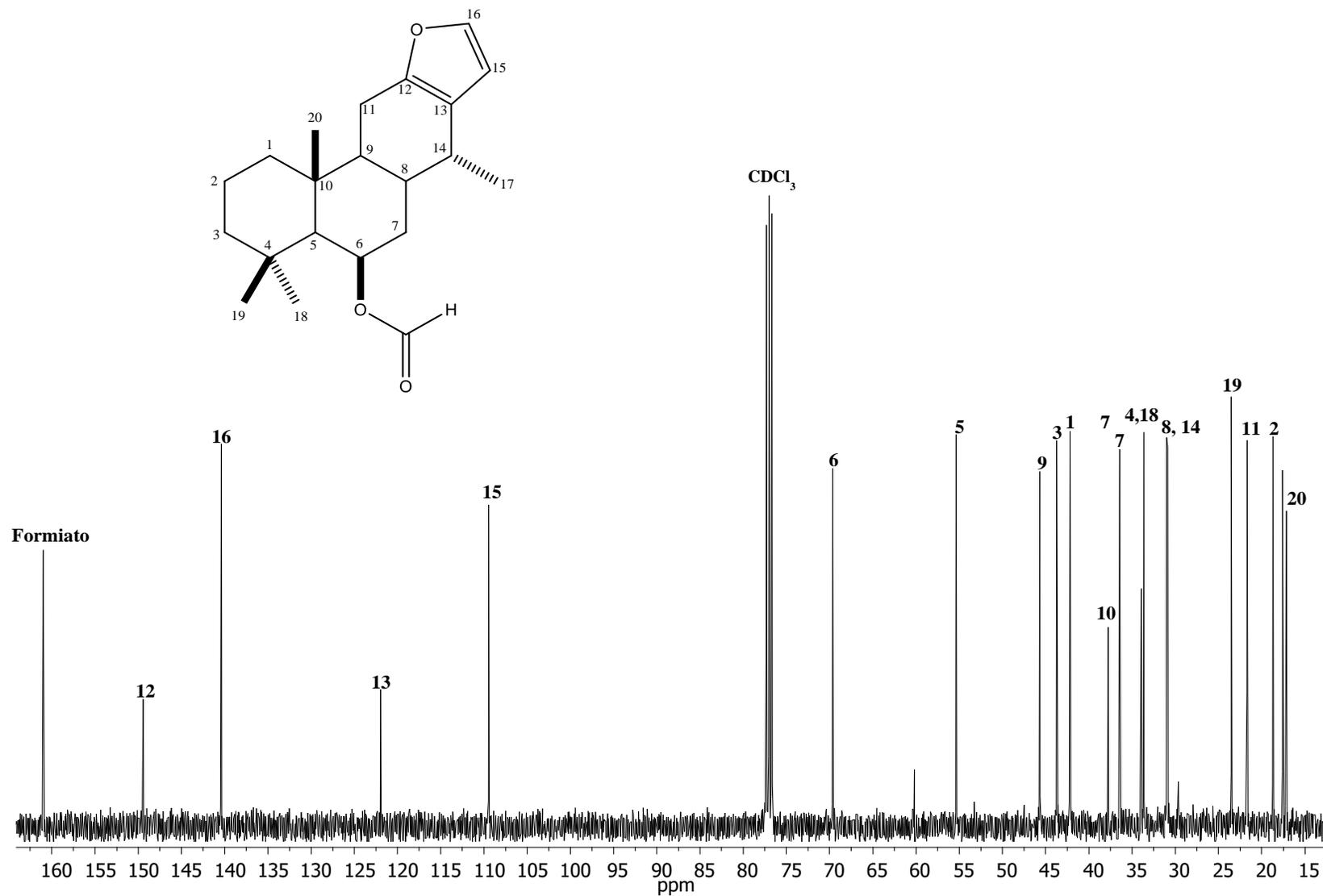
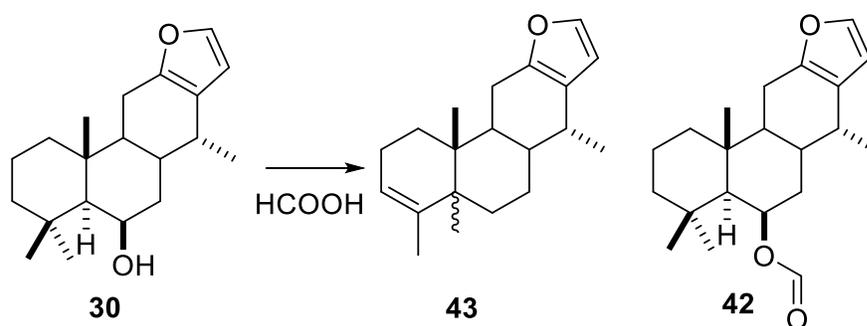


Figura 30. Espectro de RMN de ¹³C a 100 MHz del 6β-formilvouacapano (42).

Tratamiento ácido del 6 β -hidroxivouacapano (**30**)

Con base en los resultados obtenidos, se decidió llevar a cabo el tratamiento de **30** con una mayor proporción de equivalentes de ácido fórmico y un tiempo de reacción mayor, con la finalidad de favorecer la deshidratación. La reacción fue monitoreada por CCF. Después de 6 horas de reacción se obtuvo una mezcla de 6 β -formilvouacapano (**42**) y un producto mayoritario de R_f mayor. La mezcla de productos se separó por cromatografía en columna. El producto mayoritario se analizó por RMN.



Esquema 10. Tratamiento ácido del 6 β -hidroxivouacapano (**30**).

En el espectro de RMN de ^1H (Figura 30) del producto mayoritario se encuentran en 7.22 y 6.18 ppm las señales de los protones H-16 y H-15 del anillo del furano, en 5.38 ppm se observa una señal de un protón vinílico H-3, en 1.63 ppm se presenta una señal simple que integra para tres hidrógenos correspondiente a un metilo vinílico. Esta última señal sugiere la migración en medio ácido de uno de los metilos de la posición C-4 del esqueleto de vouacapano, se observan el resto de las señales correspondientes al esqueleto base por lo se propone el derivado deshidratado **43**, del cual no se tiene aún definida la estereoquímica del grupo que migró a la posición 5.

Cabe destacar que este tipo de migraciones ya han sido descritas a partir de vouacapanos, sin embargo, aún no se han propuesto rutas mecanísticas.²⁰ La caracterización espectroscópica completa del compuesto permitirá validar la estructura propuesta. El derivado propuesto **43** corresponde a una estructura novedosa.

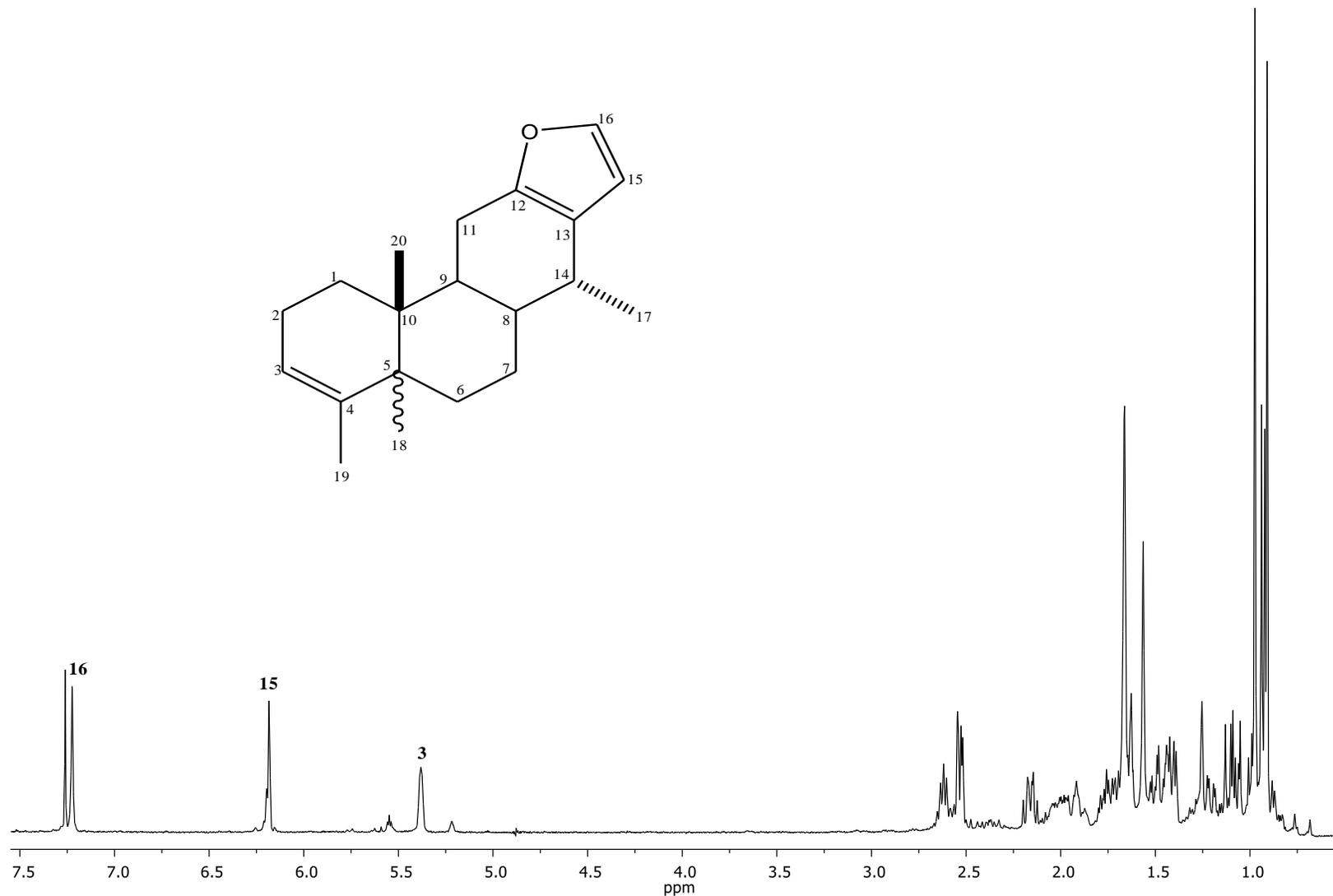
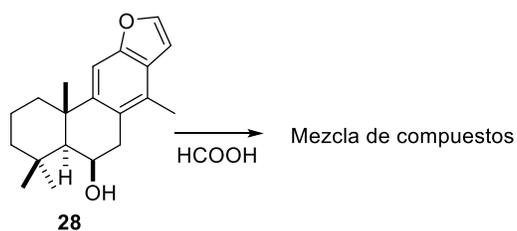


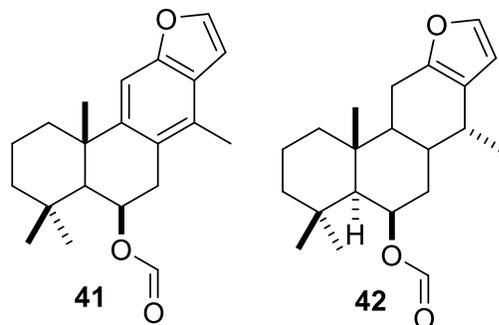
Figura 31. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del derivado **43**.

Tratamiento ácido del alcohol benzofuránico 39

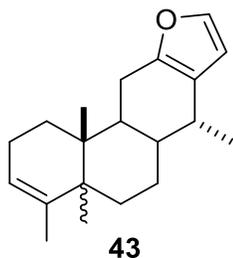
Por su parte, el benzofurano **39** fue tratado con más equivalentes de ácido fórmico con la intención de obtener el derivado deshidratado, esperando que la aromatización favoreciera la obtención de este tipo de compuestos. La reacción fue monitoreada por cromatografía en capa fina, observándose a los 20 minutos de reacción una mezcla compleja de productos, lo que indica una elevada reactividad de este compuesto. La búsqueda sistemática de las condiciones de reacción para favorecer productos deshidratados mayoritarios a partir de **39** podrá ser realizada en estudios posteriores.



Esquema 11. Tratamiento ácido del alcohol **39**.



El incremento de la concentración de ácido fórmico para la derivatización del vouacapanol **30** promovió la migración de uno de los metilos del anillo A hacia el C-5, dando lugar al producto reordenado **43**, como ha sido descrita para otros esqueletos de vouacapano; sin embargo, no fue posible establecer la estereoquímica del metilo del C-5, ya que en la posición C-4 se encuentran dos metilos. Por su parte, el derivado **39** generó una mezcla compleja de productos, por lo que resulta pertinente desarrollar un estudio sistemático para favorecer productos deshidratados mayoritarios, el cual podrá ser realizado en estudios posteriores. Así como continuar con la búsqueda de condiciones que favorezcan la formación de las oximas.



REFERENCIAS

1. Pérez-Urria Carril, E.; García, A., Metabolismo secundario de plantas. *REDUCA (Biología)* **2011**.
2. Schwachtje, J.; Fischer, A.; Erban, A.; Kopka, J., Primed primary metabolism in systemic leaves: a functional systems analysis. *Scientific Reports* **2018**, 8 (1), 216.
3. Gershenzon, J.; Dudareva, N., The function of terpene natural products in the natural world. *Nat Chem Biol.* **2007**, 3 (7), 408-14.
4. Wurtzel, E. T.; Kutchan, T. M., Plant metabolism, the diverse chemistry set of the future. *Science* **2016**, 353 (6305), 1232-1236.
5. Newman, D. J.; Cragg, G. M.; Snader, K. M., The influence of natural products upon drug discovery. *Natural Product Reports* **2000**, 17 (3), 215-234.
6. Banerjee, P.; Erehman, J.; Gohlke, B.-O.; Wilhelm, T.; Preissner, R.; Dunkel, M., Super Natural II a database of natural products. *Nucleic Acids Research* **2015**, 43, D935-D939.
7. Welsch, M. E.; Snyder, S. A.; Stockwell, B. R., Privileged scaffolds for library design and drug discovery. *Current opinion in chemical biology* **2010**, 14 (3), 347-361.
8. Guo, Z., The modification of natural products for medical use. *Acta Pharmaceutica Sinica B* **2017**, 7 (2), 119-136.
9. Adolfo Avalos García, E. P. U. C., Metabolismo secundario de las plantas. *Reduca (Biología). Serie fisiología vegetal* **2009**, 2 (3), 119-145.
10. Singh, B.; Sharma, R. A., Plant terpenes: defense responses, phylogenetic analysis, regulation and clinical applications. *3 Biotech* **2015**, 5 (2), 129-151.
11. Khan, R. A., Natural products chemistry: The emerging trends and prospective goals. *Saudi Pharmaceutical Journal* **2018**, 26 (5), 739-753.
12. Dias, D. A.; Urban, S.; Roessner, U., A Historical overview of natural products in drug discovery. *Metabolites* **2012**, 2 (2), 303-336.
13. Euzébio, F. P. G.; Santos, F. J. L. d.; Piló-Veloso, D.; Alcântara, A. F. C.; Ruiz, A. L. T. G.; Carvalho, J. E. d.; Foglio, M. A.; Ferreira-Alves, D. L.; Fátima, A. d., Synthesis, antiproliferative activity in cancer cells and theoretical studies of novel $6\alpha,7\beta$ -

dihydroxyvouacapan-17 β -oic acid Mannich base derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry* **2010**, *18* (23), 8172-8177.

14. Spindola, H. M.; Grando, R.; Figueiredo, M. C.; Basting, R.; Queiroz, N. C. A.; de Fátima, Â.; de Carvalho, J. E.; Wang, Z. J.; Foglio, M. A., Derivatives of furanditerpenes from *Pterodon* genus: Pharmacological studies disclose their potential as chronic pain relief in mice. *European journal of pharmacology* **2017**, *804*, 68-77.

15. Castroviejo, S., *Flora iberica: Plantas vasculares de la península Iberica e Islas Baleares*. 3 ed.; Real Jardín Botánico: Madrid, 1997.

16. Ma, G.; Wu, H.; Chen, D.; Zhu, N.; Zhu, Y.; Sun, Z.; Li, P.; Yang, J.; Yuan, J.; Xu, X., Antimalarial and antiproliferative Cassane Diterpenes of *Caesalpinia sappan*. *Journal of natural products* **2015**, *78* (10), 2364-2371.

17. Wu, J.; Chen, G.; Xu, X.; Huo, X.; Wu, S.; Wu, Z.; Gao, H., Seven new cassane furanoditerpenes from the seeds of *Caesalpinia minax*. *Fitoterapia* **2014**, *92*, 168-176.

18. Ochieng', C. O.; Owuor, P. O.; Mang'uro, L. A. O.; Akala, H.; Ishola, I. O., Antinociceptive and antiplasmodial activities of cassane furanoditerpenes from *Caesalpinia volkensii* H. root bark. *Fitoterapia* **2012**, *83* (1), 74-80.

19. Liu, C.; Liao, Z.-x.; Liu, S.-j.; Qu, Y.-b.; Wang, H.-s., Two new diterpene derivatives from *Euphorbia lunulata* Bge and their anti-proliferative activities. *Fitoterapia* **2014**, *96*, 33-38.

20. Sudhakar, C.; Reddy, P. R.; Raju, T. V.; Das, B., Interesting transformations of naturally occurring cassane diterpenoids and bioevaluation of the products. *Tetrahedron Letters* **2012**, *53* (30), 3850-3852.

21. Erharuyi, O.; Adhikari, A.; Falodun, A.; Imad, R.; Choudhary, M. I., Derivatization of cassane diterpenoids from *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw. and evaluation of their cytotoxic and leishmanicidal activities. *Tetrahedron Letters* **2016**, *57* (20), 2201-2206.

22. Gustavo, N. D. Factibilidad Técnica y Económica Mediante Modelos de Predicción de la Plantación Extensiva de Palo Colorado (*Caesalpinia Platyloba*). . Instituto Politécnico Nacional, Sinaloa, 2011.

23. Gomez-Hurtado, M. A.; Alvarez-Esquivel, F. E.; Rodriguez-Garcia, G.; Martinez-Pacheco, M. M.; Espinoza-Madrigal, R. M.; Pamatz-Bolanos, T.; Salvador-Hernandez, J.

- L.; Garcia-Gutierrez, H. A.; Cerda-Garcia-Rojas, C. M.; Joseph-Nathan, P.; del Rio, R. E., Cassane diterpenes from *Caesalpinia platyloba*. *Phytochemistry* **2013**, *96*, 397-403.
24. Talavera-Alemán, A. Estudio del comportamiento químico de diterpenfuranos naturales bajo condiciones de transformación oxidativa. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 2014.
25. Yunuen, L. H. Preparación de nuevos derivados a partir del 6β -acetoxivouacapano. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 2016.
26. Talavera-Alemán, A.; Gómez-Hurtado, M. A.; Río, R. E. d.; Marrot, J.; Thomassigny, C.; Greck, C., Epoxy lactones by photooxidative rearrangement of 6β -acetoxivouacapane. *Tetrahedron Letters* **2017**, *58* (30), 2901-2903.
27. Araceli, Á. R. Reordenamientos moleculares de diterpenos del género *Ageratina*. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 2017.