



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Facultad de Químico Farmacobiología

Preparación del 6β -acetoxi-17-metilvouacapan-8(14),9(11)-dieno a partir del 6β -acetoxivouacapano.

Tesis

Que para obtener el título de:
Químico Farmacobiólogo

Presenta:
Martín Pineda Mercado

ASESORES

Doctora en Ciencias. Rosa Elva Norma del Río Torres

Químico Farmacobiólogo. Armado Talavera Alemán

Morelia, Michoacán.

Junio de 2014

Agradecimientos:

Dios.....siento que no hay palabras para expresar esta gratitud que te debo, pero gracias por este camino que has elegido para mí y por darme la fuerza necesaria para terminar este proyecto. Solo espero no decepcionarte he ir de la mano con mis hermanos compartiendo esta cuna llamada tierra.....

Institucionales

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

A la Coordinación Nacional de Becas de Educación Superior por la beca otorgada como apoyo económico.

Al M.C. Xavier Madrigal de la Facultad de Biología de la UMSNH por la identificación taxonómica.

A la M.C. Concepción Armenta y al Q.F.B. José Manuel Zaragoza Ríos por la obtención de los espectros de Resonancia Magnética Nuclear.

PERSONALES

A la D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres por darme la oportunidad de hacer este proyecto de tesis bajo su asesoría y por su valioso tiempo en su apretada agenda, muchas gracias....

Al Q.F.B. Armando Talavera Alemán por darme un poco de su tiempo asesorándome durante este proyecto. Muchas gracias....

A mis sinodales que revisaron y aprobaron este proyecto de tesis muchas gracias por su valioso tiempo.....

A mi mamá Marcela Mercado Martínez y mi papá Martín Pineda Roque, en cuyo hogar nadie pasa hambre y en cuyos corazones nadie es extraño. Gracias por todos los sacrificios que han hecho.....

A mis hermanos, especialmente a mi hermana Anasalina Pineda Mercado gracias por tus consejos cuando más los necesité.....

A Guillermo Moreno Ruiz por todos los consejos que me enseñaste muchas gracias y aunque no teníamos ningún parentesco familiar para mí siempre serás mi abuelo y Julio Palacios por los consejos que me han servido en estos días gracias. Que Dios los tenga en su más santa gloria.....

A mis amigos Jorge Dasilva, Manuel Vega Morales, Brenda Fiscal Castro, Esteban Liborio Martínez, Iroel García Pacheco gracias por todos sus consejos y por las horas de conversación.....

A mis compañeros y amigos de trinchera sección 11 generación 2008-2013 gracias por todos esos cinco años que para mí fue como una odisea a su lado. Si volviera al pasado y me dieran a escoger que sección entrar sin dudarlo sería la sección 11.

A mis amigos de laboratorio en el Instituto de Investigaciones Químico Biológicas por aquellos momentos que hacían mil veces más alegre el desarrollo de este proyecto y por sus enseñanzas, muchas gracias.

*“El hombre no puede crear nada sin sacrificar algo a cambio,
para crear algo del mismo valor debe perderse”*

El alquimista de acero

El presente trabajo se llevo 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 asesoría de la D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres y el Q.F.B. Armando Talavera Alemán.

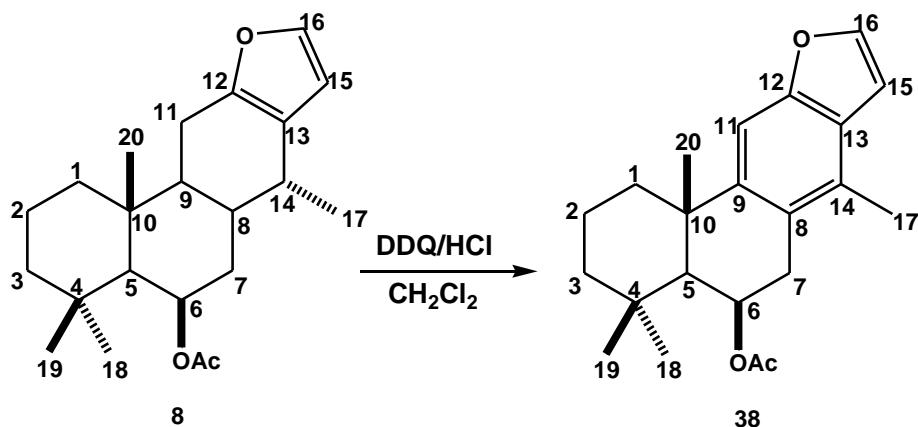
Con apoyo económico de la Coordinación de la Investigación Científica

ÍNDICE:

	Página
RESUMEN.....	1
ABSTRAC.....	2
I.- INTRODUCCIÓN.....	3
II.- ANTECEDENTES:.....	6
III.- JUSTIFICACIÓN.....	16
IV.- OBJETIVOS.....	17
V.- DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	18
VI.- CONCLUSIÓN.....	29
VII.- PARTE EXPERIMENTAL.....	30
VII.1.- PROCEDIMIENTOS GENERALES.....	30
VII.2.- MUESTRA VEGETAL.....	30
VII.3.- OBTENCIÓN DEL EXTRACTO.....	30
VII.4.- ANÁLISIS QUIMICOS.....	31
VII.5.- 6β -acetoxivouacapano (8).....	31
VII.6.- 6β -acetoxi-17-metilvouacapan-8(14),9(11)-dieno (38).....	32
VIII.- BIBLIOGRAFÍA.....	34

Resumen:

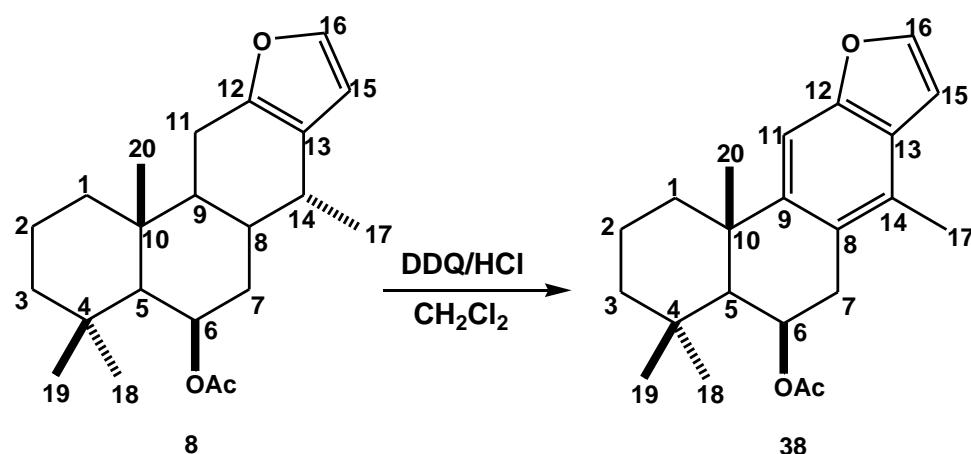
Las especies del género *Caesalpinia* que tienen usos en la medicina tradicional en sus estudios químicos revelan la presencia de diterpenos. De diversas especies se han aislado diterpenos que contienen en el anillo C una aromatización y en el D un furano, estos compuestos a su vez han presentado actividades biológicas como antibacterianos, antimaláricos, antihelmínticos y anticancerosos. En el presente trabajo se describe la preparación del diterpeno aromático, el vouacapano **38** a partir del 6β -acetoxivouacapano (**8**) aislado de las hojas de *Caesalpinia platyloba* como componente mayoritario, utilizando al DDQ como oxidante y HCl como catalizador.



Palabras claves: *Caesalpinia platyloba*, vouacapano, oxidación, DDQ.

ABSTRACT:

Species of the genus *Caesalpinia* that have uses in traditional medicine in their chemical studies reveals presence of diterpenes. Of various species have been isolated diterpene containing in the ring C an aromatization and D have a furane, this compound in turn have presented biological activity as antibacterial, antimalaric anthelmintic and anticancerous. In the present work, it described the preparation of aromatic vouacapane, from 6β -acetoxivouacapane (**8**) isolated from leaves of *Caesalpinia platyloba* as a major component, use DDQ as oxidant and HCl catalyst.



Key Word: *Caesalpinia platyloba*, vouacapane, oxidation, DDQ.

I.- INTRODUCCIÓN

Los compuestos naturales de origen vegetal, han sido investigados y utilizados para aliviar enfermedades desde los comienzos de la historia humana, en la creencia de que para cada enfermedad existe una cura. El origen de un buen número de medicamentos proviene de los productos naturales mediante un aprovechamiento directo en diferentes formas farmacéuticas. En otros casos, se utiliza los productos obtenidos después de someterlos a modificaciones químicas. La utilización de plantas se encuentra en todas las culturas extintas y existentes en nuestro planeta.^{1,2}

Se estima que alrededor del 85% de las personas que viven en países en desarrollo dependen de la medicina tradicional, la cual no solo es empleada en áreas rurales de los países en desarrollo sino también en los países desarrollados donde la medicina moderna es predominantemente explotada. Las plantas son el pilar en la medicina tradicional ya que contienen, compuestos que pueden ser utilizados para tratar enfermedades crónicas e infecciones, entre éstos se encuentran los terpenos, alcaloides y compuestos fenólicos.³

El género *Caesalpinia* perteneciente de la familia de las Fabaceae (Leguminosas), es un género Pantropical de árboles, arbustos, trepadoras y algunas espinosas que comprenden de alrededor de 150 especies distribuidas en todo el mundo. La mayoría de los miembros de *Caesalpinia* son plantas medicinales y agrícolamente importantes.⁴

Varias especies del género *Caesalpinia* tienen usos en la medicina tradicional para el tratamiento de una variedad de enfermedades, entre las que se incluyen problemas del hígado, fiebre, úlceras de boca y garganta. De este género se han aislado diterpenos y flavonas como componentes mayoritarios, con marcadas actividades biológicas como antioxidante, citotóxica, antiinflamatoria, antimalaria y antiviral.^{5,7}

De las partes aéreas de *Caesalpinia sappan* se aislaron los diterpenfurano **1** y **2** (Fig. 1), los cuales presentan estructuras muy complejas y funcionalizadas. El compuesto **2** mostró actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*.^{8,9}

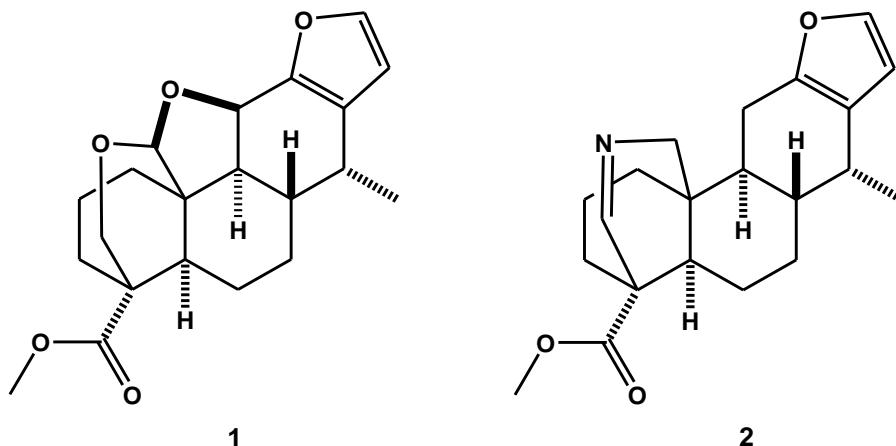


Figura 1. Compuestos aislados de *Caesalpinia sappan*.

Los extractos de cloroformo y acetato de etilo de la corteza y raíz de *Caesalpinia volkensii*, mostraron actividad antinociceptiva, adicionalmente el extracto de acetato de etilo mostró actividad antimarialárica, los diterpenos **3**, **4** y **5** aislados de la misma especie vegetal (Fig. 2), presentaron actividad antinociceptiva demostrando el uso de ésta especie en la medicina tradicional como analgésico.¹⁰

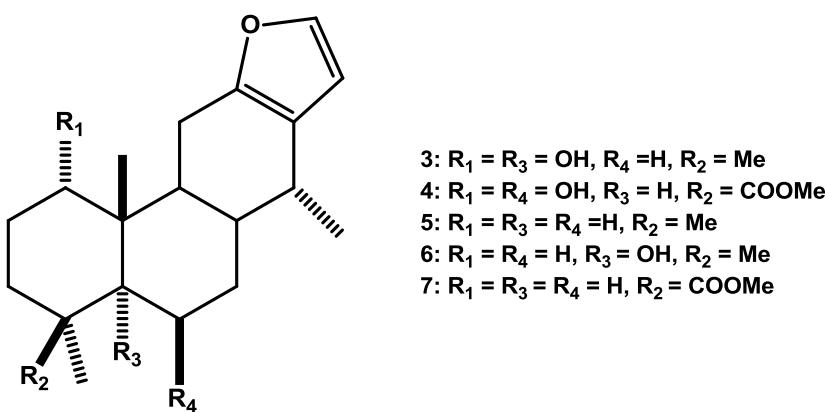


Figura 2.- Diterpenfuranos aislados de la raíz de *Caesalpinia volkensii*.

La selva baja caducifolia de la costa del Pacífico Mexicano en el Estado de Michoacán se caracteriza por su biodiversidad de especies vegetales por su clima marcadamente estacional, que incluyen algunas especies del género *Caesalpinia*. Entre las que se encuentran: *C. pulcherrima*, *C. coriaria*, *C. cacalaco*, *C. platyloba*, *C. eriostachys*, *C. decapetala*, *C. echinata*, *C. caladenia*, *C. velutina*, *C. hintonii* y *C. multiflora*.^{11,12}

En un estudio preliminar de las hojas de *C. platyloba* reportamos el aislamiento en buenos rendimientos y la configuración absoluta del 6 β -acetoxivouacapano (**8**).¹³ En el presente trabajo se describe la preparación del 6 β -acetoxi-17-metilvouacapa-8(14),9(11)-dieno (**38**) a partir de **8** (Fig. 3), mediante una reacción de oxidación.

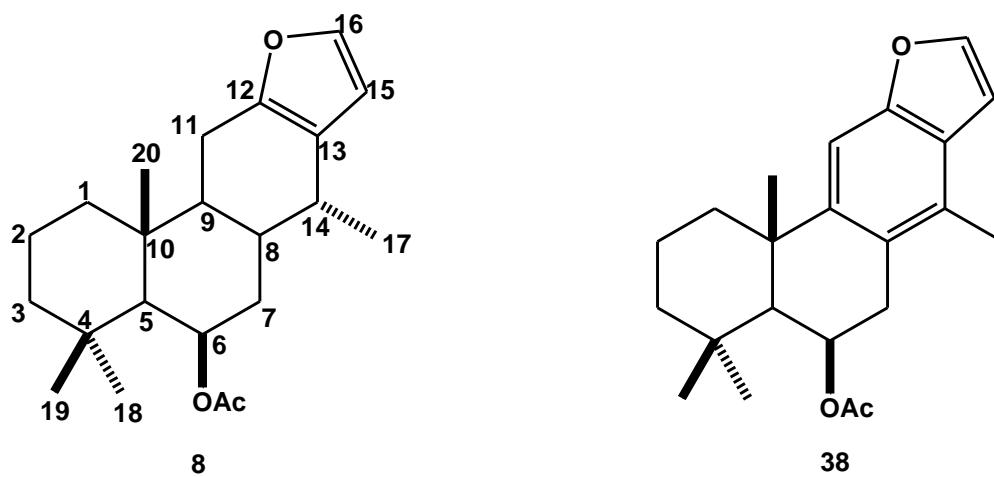


Figura 3. Estructuras del 6 β -acetoxivouacapano (**8**) y 6 β -acetoxi-17-metilvouacapa-8(14),9(11)-dieno (**38**).

II.- ANTECEDENTES

Las reacciones de oxidación son de gran utilidad en la química orgánica. La oxidación es una reacción química donde un elemento cede electrones, y por tanto aumenta su estado de oxidación, a la reacción química opuesta se conoce como reducción, o sea cuando una especie química acepta electrones. Estas dos reacciones siempre se llevan a cabo de manera conjunta, es decir, cuando una sustancia se oxida, siempre es por la acción de otra que se reduce. Por esta razón, se prefiere el término general de reacciones redox. Cada una de estas etapas se denomina semirreacción y explícitamente indica los electrones transferidos en la reacción. Antiguamente, los químicos usaban el término oxidación para expresar la combinación de elementos con el oxígeno. Sin embargo, actualmente tiene un significado más amplio, ya que se incluyen reacciones en las que no participa el oxígeno. Las reacciones de oxido-reducción forman parte importante del mundo que nos rodea.¹⁴

Una reacción específica es la obtención de epóxidos a partir de alquenos, en la cual ambos carbonos de un doble enlace comparten el mismo átomo de oxígeno, estos productos son llamados oxiranos o epóxidos. Un método importante es la reacción con peroxiácidos.

Los peróxidos son compuestos inestables y explosivos por lo que tanto en la industria como en el laboratorio generalmente se preparan en el seno de la reacción en que intervienen; sin embargo, el ácido *m*-cloroperbenzoico (AMCPB) (Fig. 4) y el peroxiáctico son utilizados, por su estabilidad, fácil manejo y economía.¹⁵

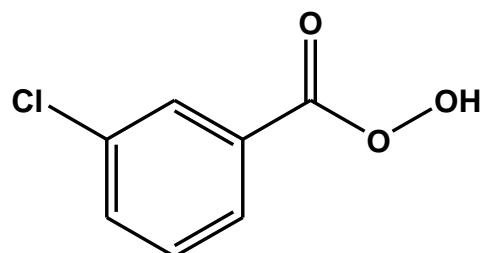
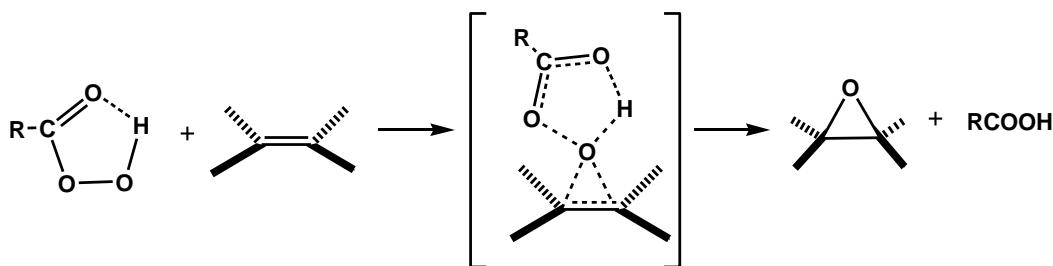


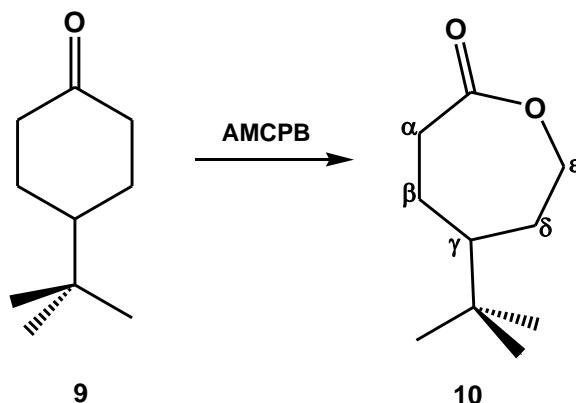
Figura 4. Ácido *m*-cloroperbenzoico.

La adición del oxígeno al doble enlace por parte del perácido ha sido aceptado que transcurre por un mecanismo concertado confirmado por efectos isotópicos (Esq. 1). Se sabe que los perácidos pobres en densidad electrónica y olefinas ricas en electrones, la velocidad de reacción aumenta, lo que confirma la existencia de un intermediario en el que el oxígeno transferido tiene carácter electrófilo.¹⁶⁻¹⁸



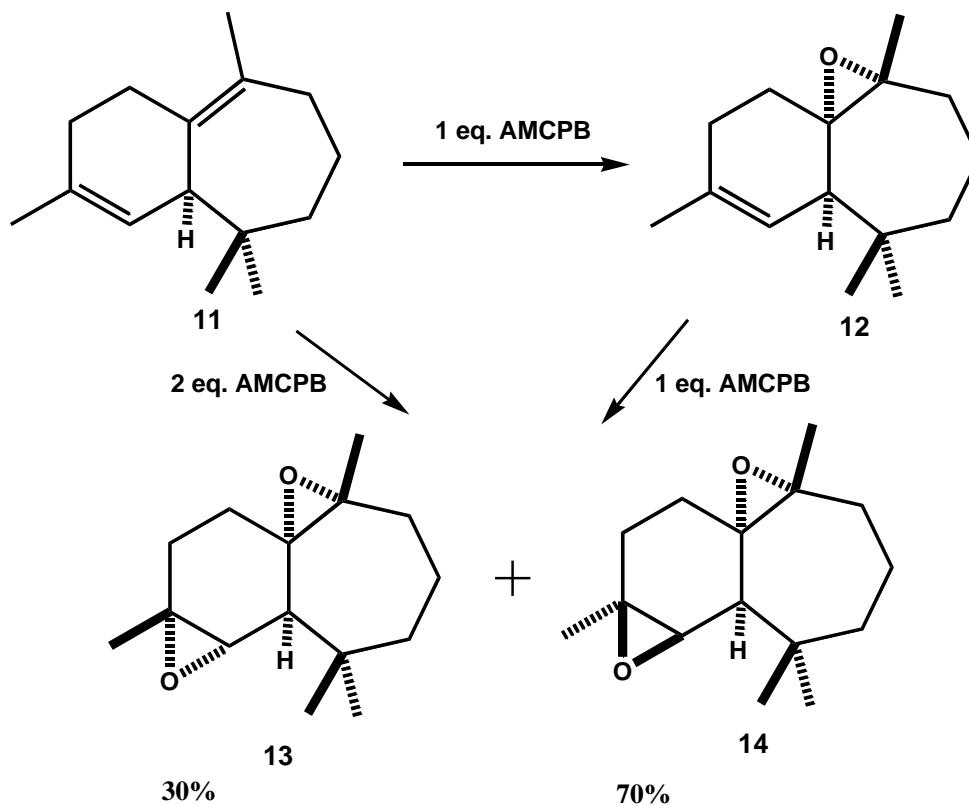
Esquema 1. Mecanismo propuesto para la transferencia de oxígeno.

Johon J. Esteb y col., reportaron una oxidación de Baeyer-Villiger con un 95% de rendimiento, libre de disolvente para reducir costos y tiempos en la evaporación del disolvente en los procesos de la reacción y proporcionar una introducción a la química verde, utilizando AMCPB en la oxidación de la 4-*tert*-butilciclohexanona (**9**).¹⁹



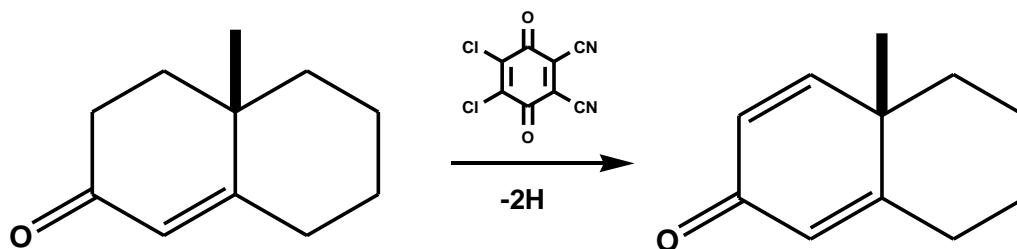
Esquema 2. Obtención de la γ -*t*-butil- ϵ -caprolactona (**10**).

Ahmed Chekroun y col., generaron la epoxidación regio y estereoselectiva del β -himachaleno (**11**), el componente más abundante del aceite de cedro, usando ácido *meta*-cloroperbenzoico en proporciones estequiométricas (Esq. 3), obteniendo los derivados mono y di-epóxidos **12**, **13** y **14**.²⁰



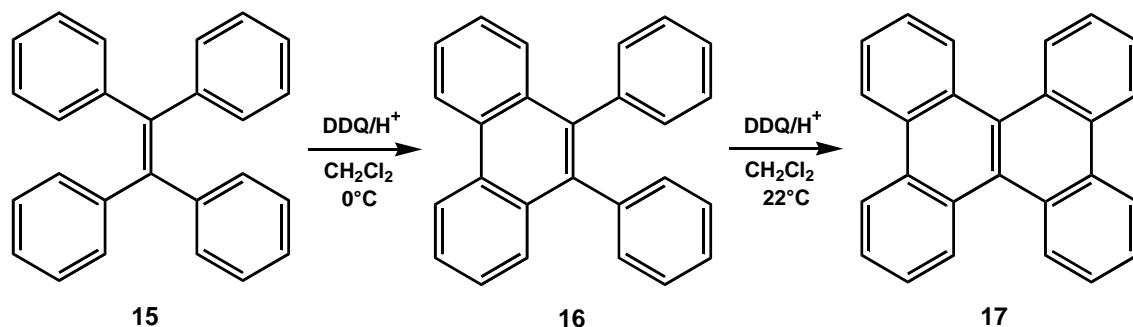
Esquema 3. Epoxidación regio y estereoselectiva del β -himachaleno (11).

Otro de los agentes oxidantes usados en síntesis orgánica es la 2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona (DDQ), la cual tiene un potencial oxidante mayor que cualquier otra quinona, ésta promueve la remoción de pares de átomos de hidrógeno en moléculas orgánicas (Esq. 4), por lo que es utilizado como aceptor de hidrógenos en muchos tipos de reacciones de acoplamientos, ciclación, aromatización y deshidrogenación.^{21,22}



Esquema 4. Reacción de deshidrogenación con DDQ.

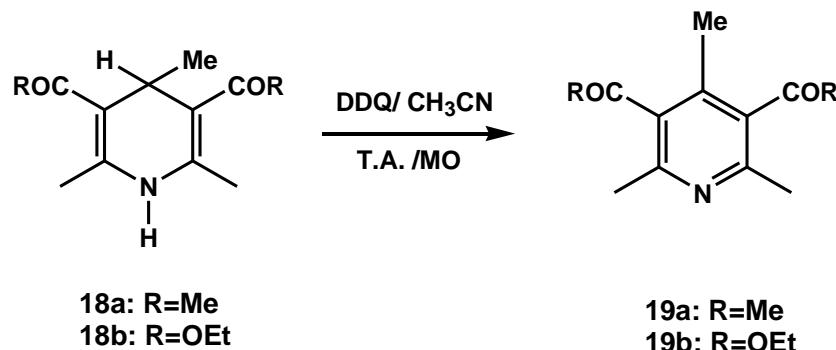
El tetraariletíleno (**15**) fue secuencialmente transformado mediante una reacción de ciclación a diarilfenantrenos **16** y **17** en buenos rendimientos, empleando 1 y 2 equivalentes de DDQ en CH_2Cl_2 utilizando ácido metansulfónico como catalizador y variando la temperatura. (Esq. 5).²³



Esquema 5. Reacción de ciclación usando DDQ.

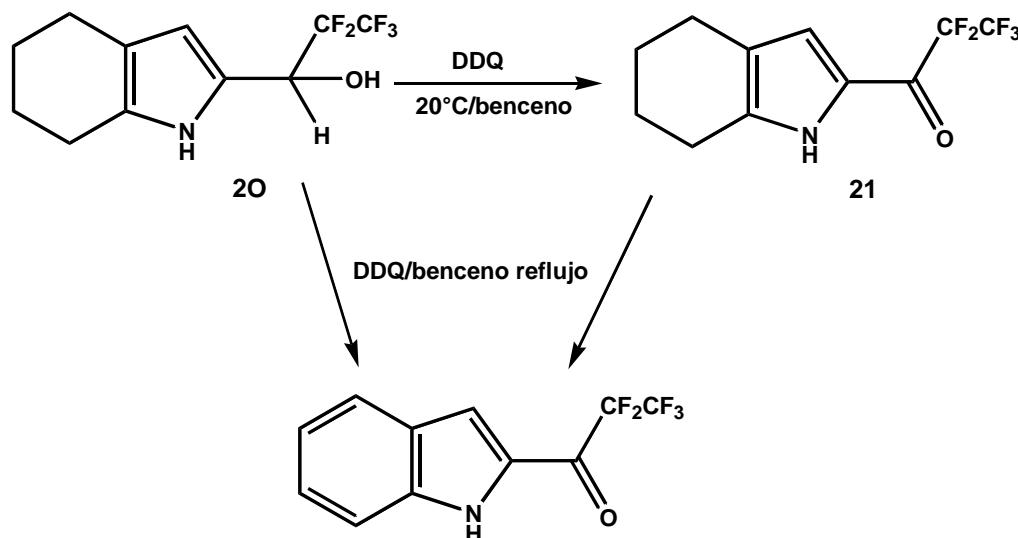
Hamid R. y col., reportaron una reacción de aromatización usando DDQ a temperatura ambiente y radiación por microondas (Esq. 6), para la oxidación de una serie 1,4-dihidropiridinas **18** mediante la cual obtuvieron las piridinas **19**, observaron que cuando el grupo R es un metilo aumenta la velocidad de la

reacción, por otro lado propusieron que el mecanismo de reacción era mediante transferencia de electrones favorecido por el disolvente y los sustituyentes de la molécula.²⁴



Esquema 6. Aromatización con DDQ asistida con microondas.

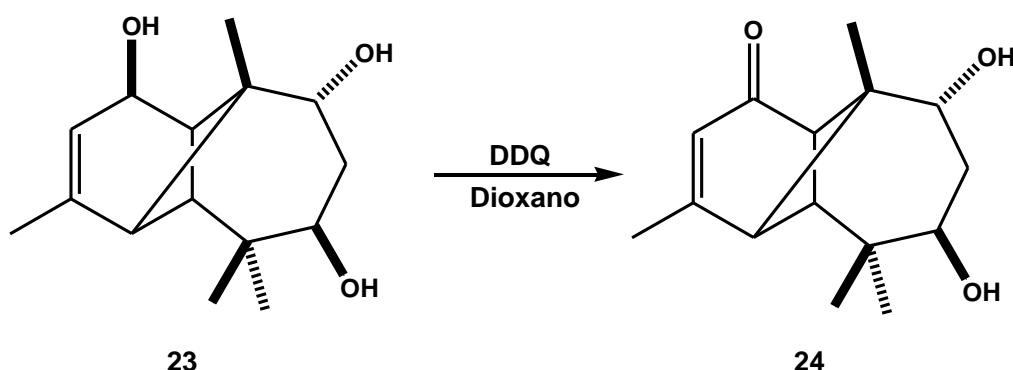
La hidroxialquilación regio selectiva del 4,5,6,7-tetrahidroindol (**20**) usando compuestos poli-fluorocarbonílicos altamente electrófilos, fue posible cuando se emplearon 2 equivalentes de DDQ en benceno a temperatura ambiente durante 8 horas, observándose la oxidación predominante bencílica para formar el 2-polifluoroacil-4,5,6,7-tetrahidroindol (**21**).



Esquema 7. Oxidación y aromatización usando DDQ.

Sin embargo, cuando la reacción se realizó a la temperatura de refluxo del benceno ocurre además de la oxidación bencílica, una aromatización generando el derivado indol **22**²⁵ (Esq. 7).

La DDQ también se ha utilizado para llevar a cabo oxidaciones alílicas (Esq. 8), un proceso práctico y simple para generar la oxidación regio selectiva del triol **23**, con DDQ en dioxano a temperatura ambiente, para dar la endiolona **24**.²⁶



Esquema 8. Oxidación alílica.

Cabe mencionar que derivados de cassanos también han sido modificados a través de métodos de oxidación; por ejemplo Yosuke Matsuno y col., aislaron del extracto metanólico de las semillas de *Bowdichia nitida* los cassanos **25** y **30**, las lactonas **26** y **27** (Fig. 5). De estos el cassano **25** fue tratado con AMCPB en benceno a temperatura ambiente y condujo a la lactona **26** (Esq. 9).

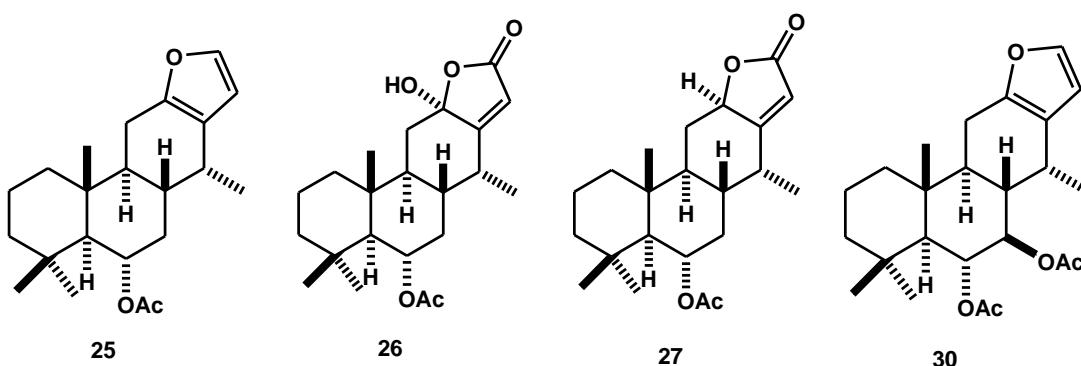
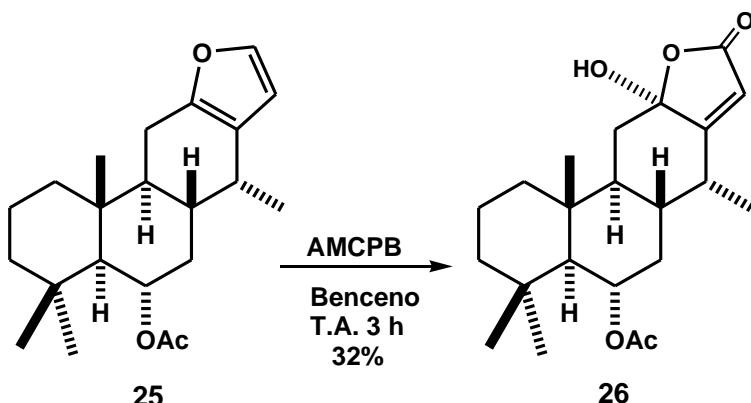
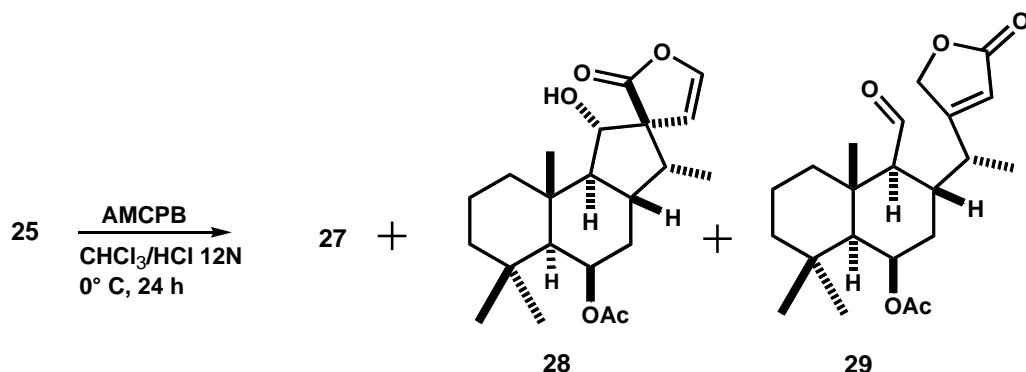


Figura 5. Cassanos aislados de *Bowdichia nitida*.



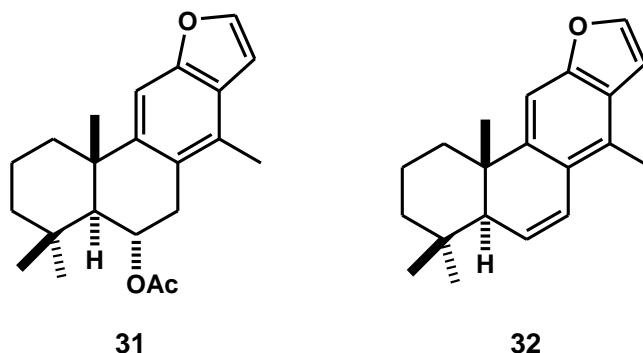
Esquema 9.- Oxidación del cassano **25**.

Por otro lado cuando el derivado **25**, fue tratado con ácido AMCPB empleando ahora cloroformo como disolvente a 0° C y ácido clorhídrico como catalizador, se obtuvieron las lactonas **27**, **28** y **29** (Esq. 10).²⁷

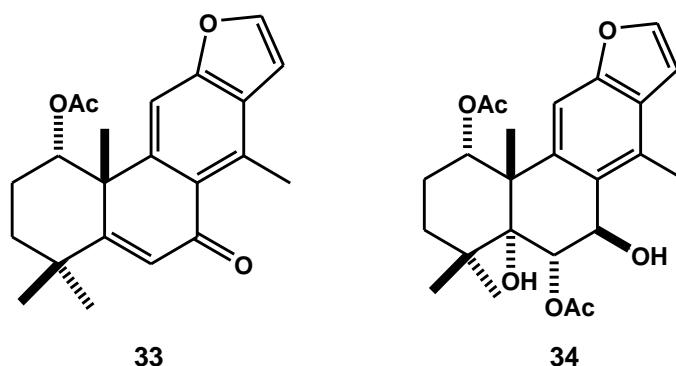


Esquema 10. Oxidación del cassano **25**.

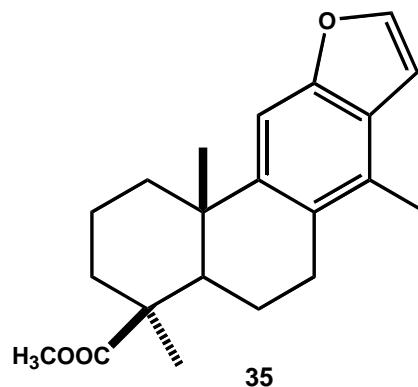
En un estudio posterior de la actividad citotóxica de *B. nitida* aislarón adicionalmente los derivados aromáticos **31** y **32** en pequeñas cantidades (Fíg. 6). Analizaron su citotoxicidad sobre el desarrollo de células cancerosas, encontrando que el compuesto **30** mostró moderada actividad contra las células adenocarcinoma de pulmón (HL-60) y cáncer de colon (HCT-116), los compuestos **26** y **27** presentaron citotoxicidad moderada contra células (HL-60), mientras que los derivados aromáticos **31** y **32**, fueron inactivos a la concentración de 50 μ M para las líneas celulares.²⁸

**Figura 6.** Vouacapanos aromáticos extraídos de *Bowdichia nitida*.

Guoxu Ma y col. aislaron los diterpenos tipo cassanos **33**, **34** del extracto acetato de etilo de las semillas de *Caesalpinia minax*, los cuales presentaron significativa bioactividad incluyendo antiproliferativa, antimalaria, antibacterial, antihelmíntico. Cabe resaltar que el compuesto **33** presentó actividad citotóxica selectiva contra células de cáncer de mama (MCF-7) (IC_{50} 7.9 μM) y de adenocarcinoma gástrico (AGS) (IC_{50} 6.5 μM).²⁹

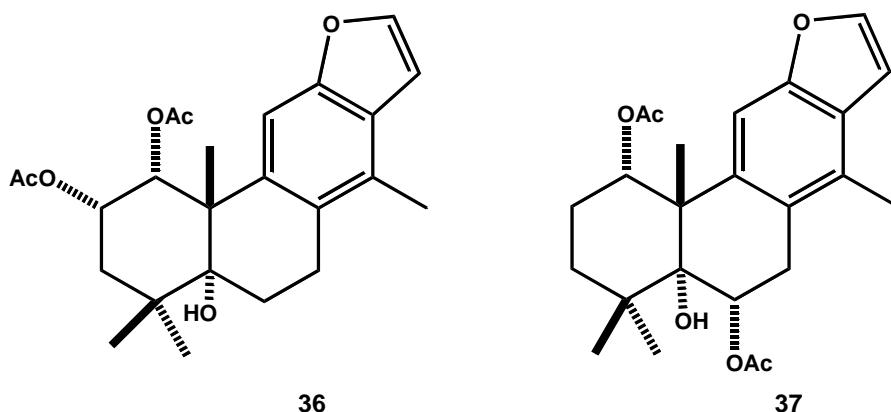
**Figura 7.** Cassanos aislados de *Caesalpinia minax*.

Del extracto con éter de petróleo de la corteza de la raíz de *Caesalpinia benthamiana* planta tropical de África, aislaron el diterpeno **35**, el cual mostró una actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* y *Micrococcus flavus*, actividad casi comparada con la tetraciclina.³⁰

**Figura 8.** Diterpeno aislado de *Caesalpinia benthamiana*.

Un estudio posterior de *C. benthamiana*, usada en Medicina tradicional principalmente para la disfunción erétil, como decocción acuosa de la raíz, mostró que el extracto acuoso presentó significativa actividad vasorelajante y antioxidante. Encontrando principalmente ácido gálico y resveratrol.³¹

En un estudio sobre la relación estructura actividad antimalárica de 44 cassanos y norcassanos, encontraron que el diterpeno **36** aislado de las semillas de *C. crista* (Fig. 8), mostró una actividad más potente que la cloroquina, usada clínicamente para combatir la malaria causada por *Plasmodium falciparum*, mientras que el derivado **37** fue menos activo, demostrando con ello que dos grupos acetoxi en el anillo A aumentan la actividad.^{32,33}

**Figura 9.** Diterpenos aislados de *Caesalpinia crista*.

Como se puede observar en estos últimos cassanos los diterpenos presentan en los anillos C y D un derivado benzofurano, indicando que derivados con ésta anillación presentan actividad biológica importante. Lo que abre la posibilidad de seguir buscando nuevos derivados diterpénicos del género *Caesalpinia* o bien buscar modificaciones químicas a través de agentes oxidantes que conduzcan a la obtención de derivados benzofuránicos.

III.- JUSTIFICACIÓN

Los diterpenos aromáticos tipo vouacapano extraídos de diversas plantas han presentado diferentes actividades biológicas como antimaláricos, antibacterial, antihelmíntico y antineoplásicos. Sin embargo, estos compuestos se han encontrado en pequeñas cantidades de manera natural. En el presente trabajo se propone el 6β -acetoxivouacapano (**8**) aislado como componente mayoritario de *Caesalpinia platyloba* como materia de partida, para la preparación de un diterpeno vouacapano aromático usando DDQ como oxidante en la reacción, lo que permitirá obtenerlo en mayores cantidades para explorar su reactividad y actividad biológica.

IV. OBJETIVOS

Objetivo general

Preparar el 6β -acetoxi-17-metilvouacapa-8(14),9(11)-dieno (**38**) a partir del 6β -acetoxivouacapano (**8**).

Objetivos particulares

Aislar el 6β -acetoxivouacapano (**8**), de las hojas de *Caesalpinia platyloba*.

Preparar el 6β -acetoxi-17-metilvouacapa-8(14),9(11)-dieno (**38**), mediante reacciones de oxidación con DDQ.

Caracterizar por métodos físicos y espectroscópicos al vouacapano **38**.

V.- DISCUSIÓN DE RESULTADOS

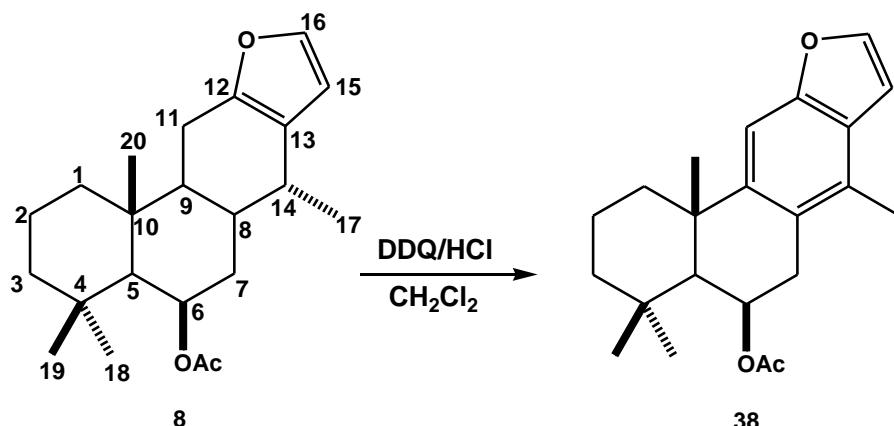
La obtención del 6 β -acetoxivouacapano (**8**), se llevó a cabo de la manera como se describe en la literatura,³⁴ un lote de 22 g de extracto de diclorometano de hojas se sometió a recromatografías sucesivas obteniéndose 2 g de unos cristales transparentes con punto de fusión 114-116°C.

En el espectro de RMN de ^1H (Fig. 9), se observa dos señales dobles con una $J = 1.9$ Hz en 7.23 y 6.19 ppm correspondientes a los hidrógenos aromáticos del furano H-15 y H-16. En 5.51 ppm se observa una señal simple ancha correspondiente a un hidrógeno base de éster, en 2.03 ppm se observa una señal simple que integra para 3 hidrógenos característica de grupos metilo de acetilo, en 1.20, 1.02 y 0.99 ppm se observaron 3 señal simples correspondientes a los metilos terciarios CH₃-20, CH₃-19 y CH₃-18, respectivamente. En 0.96 ppm se observa una señal doble con $J = 7.0$ Hz correspondiente al metilo secundario CH₃-17.

En el espectro de RMN ^{13}C (Fig. 10) se observa en 170.6 y 21.7 ppm las señales características del grupo acetato. Mientras que las señales del anillo del furano se observan en 149.6, 140.4, 121.8 y 109.4 ppm. Estos datos espectroscópicos fueron concordantes con los reportados en la literatura.¹³

Para conocer comportamiento químico del 6 β -acetoxivouacapano (**8**), se procedió a llevar acabó una reacción con DDQ/CH₂-Cl₂ en las condiciones descritas en la literatura lo que condujo a mezclas complejas de productos, razón por la cual se procedió a ensayar la reacción usando como catalizador el HCl.

Para lo cual se sometió un lote de 50 mg de 6 β -acetoxivouacapano (**8**), disueltos en 2 mL de diclorometano y una gota de HCl, a esta mezcla se le adicionaron 80 mg DDQ y se dejó reaccionar en agitación durante 20 min (Esq. 11).



Esquema 11. Reacción de oxidación del vouacapano **8**.

El análisis del crudo de reacción mostró principalmente la presencia de un compuesto mayoritario con pequeñas impurezas. La cromatografía del crudo de reacción condujo a la purificación del derivado 6β -acetoxi-17-metilvouacapano-8(14),9(11)-dieno (**38**). De las fracciones eluídas con una polaridad 9:1 hexano:acetato de etilo se obtuvo una miel incolora. Cuyo espectro de RMN de ^1H (Fig. 11) mostró en 7.54 ppm una señal doble con $J = 2.3$ Hz correspondiente al H-16, en 7.40 ppm se observa una nueva señal simple para un protón aromático, correspondiente al H-11. La señal del H-15 del anillo del furano se observa en 6.73 ppm con una señal doble de dobles con $J = 2.3, 0.9$ Hz. En 5.84 ppm se observa una señal doble de triples con $J = 5.3, 1.5$ Hz correspondiente al hidrógeno base de acetato en la posición 6. En 3.06 ppm se observa una señal doble de dobles con constantes de acoplamiento de 18.0 y 5.5 Hz correspondiente al H-7, en 2.98 se observa la señal del H-7' como una señal doble con $J = 18.0$ Hz, cabe mencionar que estos hidrógenos al corresponder ahora a hidrógenos bencílicos se desplazan a frecuencias más altas con respecto al 6β -acetoxivouacapano (**8**). En 2.34 ppm se observa la presencia de una señal simple que integra para 3 hidrógenos correspondiente al CH_3 -17 que ahora corresponde a un metilo aromático, se desplaza de aproximadamente de 0.95 a 2.34 ppm, la señal del metilo del acetilo se observa como una señal simple en 2.02 ppm. En 1.62, 1.10 y 1.07 se observan tres señales simples correspondientes a los metilos 20, 18 y 19 respectivamente.

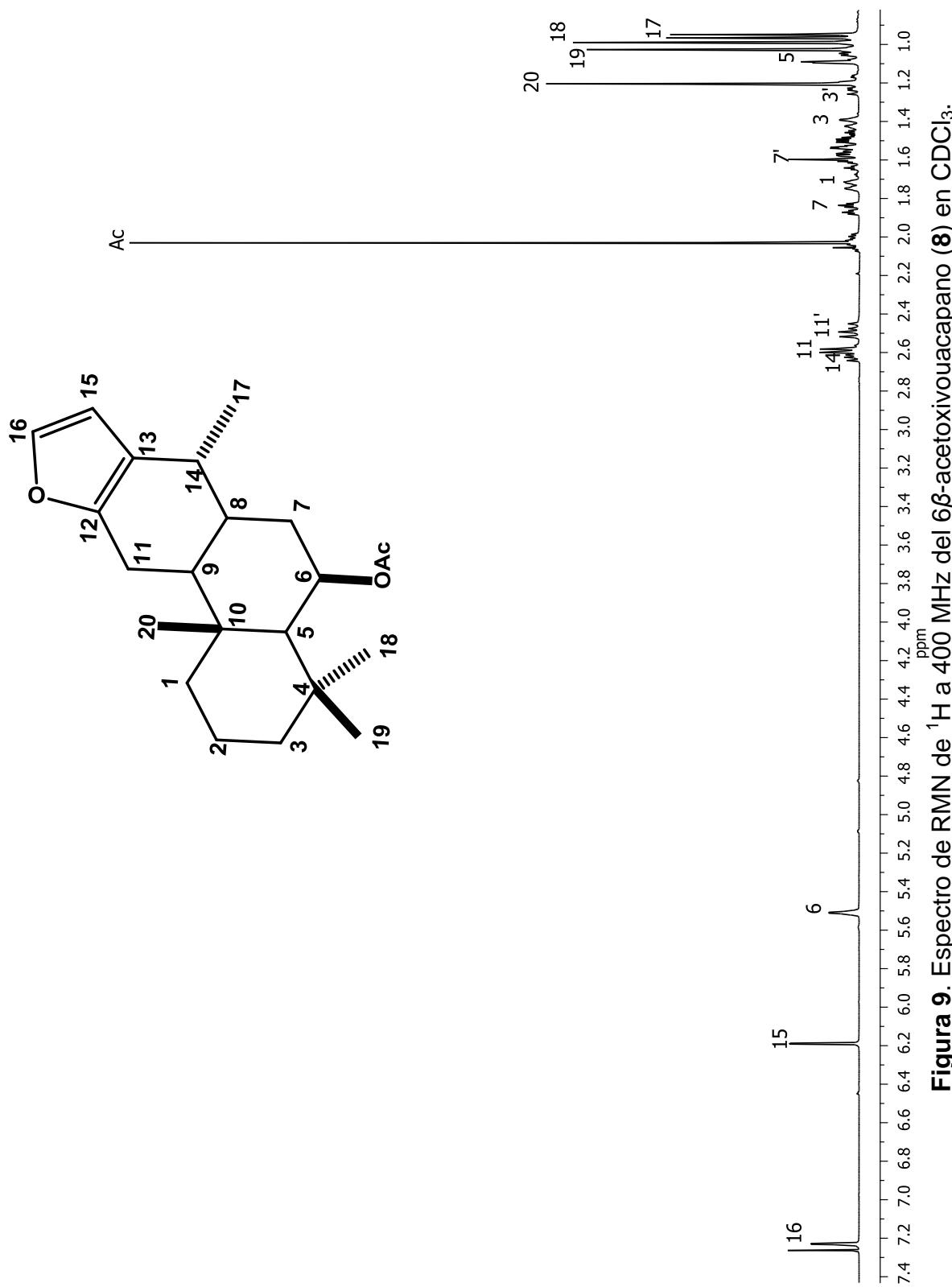


Figura 9. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del 6β -acetoxivouacapano (**8**) en CDCl_3 .

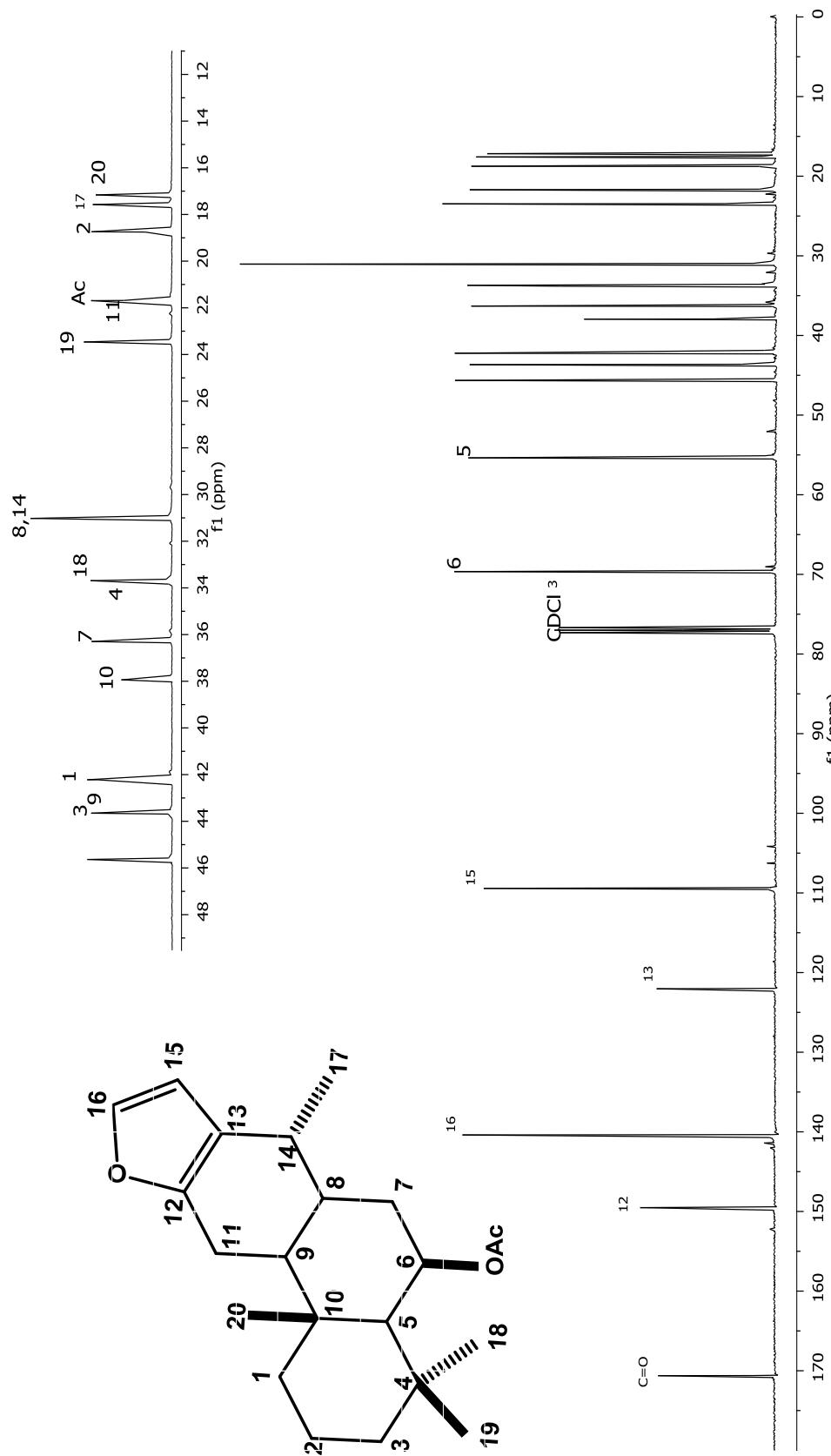


Figura 10. Espectro de RMN de ^{13}C del 6β -acetoxivouacapano (**8**) en CDCl_3 .

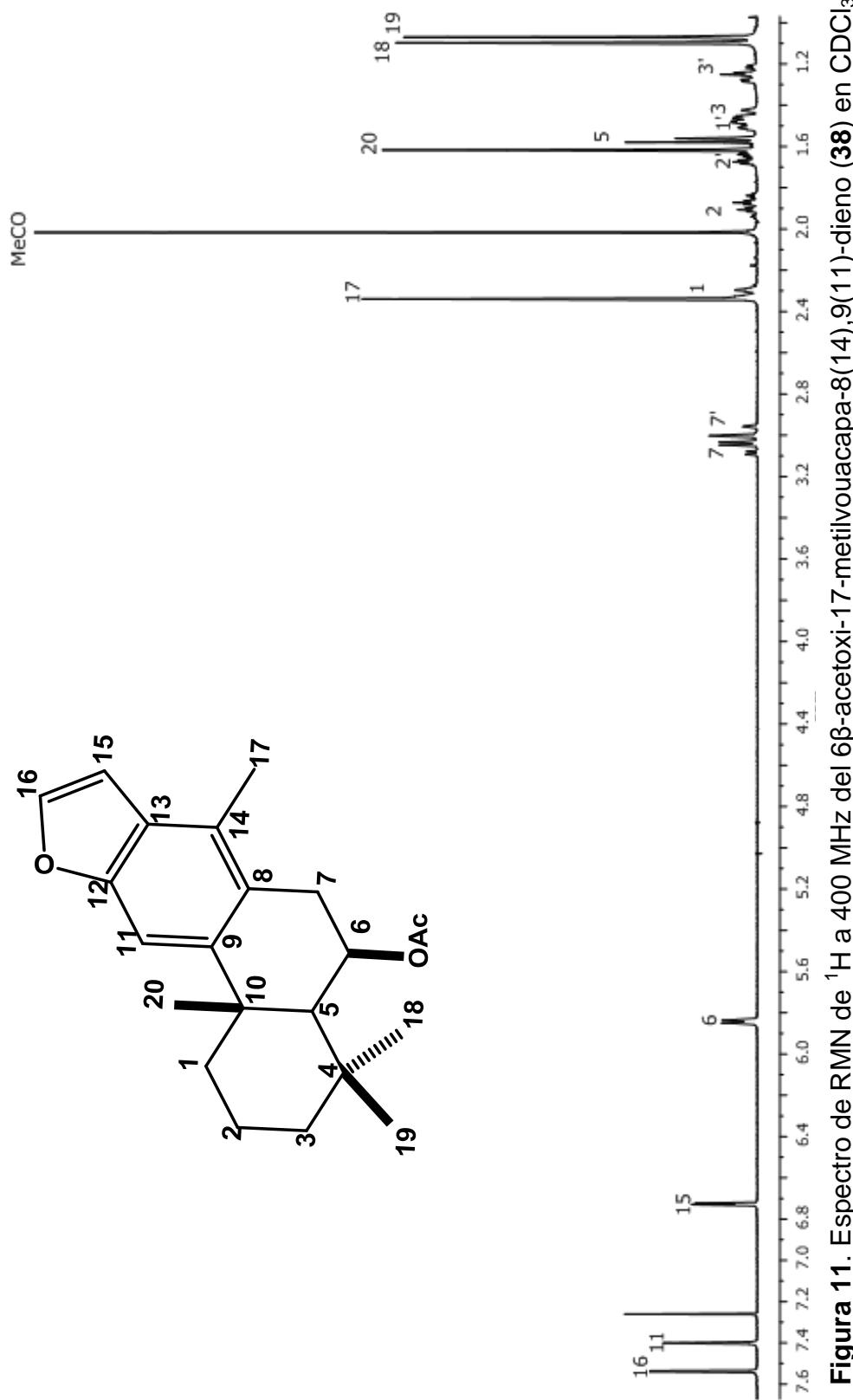


Figura 11. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del 6β -acetoxi-17-metilvouacapa-8(14),9(11)-dieno (38) en CDCl_3 .

Del análisis del espectro de RMN de ^1H podemos decir que la reacción de aromatización en el anillo C, se llevó a cabo, ya que se observa la presencia de una nueva señal en la región de los hidrógenos aromáticos (7.40 ppm, correspondiente al H-11), por otro lado se observa la desaparición de la señal doble del metilo 17, que en la materia prima corresponde a un metilo secundario, pero que al ocurrir la aromatización se convierte en una señal simple y se desplaza hacia 2.34 ppm, $\text{CH}_3\text{-}17$.

El espectro de RMN de ^{13}C (Fig. 12), confirmó la obtención del derivado vouacapano aromático ya que en la región de los carbonos sp^2 se observaron cuatro señales adicionales con respecto al 6 β -acetoxivouacapano (**8**). En 171.0 ppm se observa la señal del carbonilo del acetilo, en 153.7, 146.0, 144.4, 128.4, 125.6, 123.7, 105.1 y 104.9 ppm se observan las señales del anillo del benzofurano. El resto de las señales fueron asignadas con la ayuda de los experimentos en dos dimensiones.

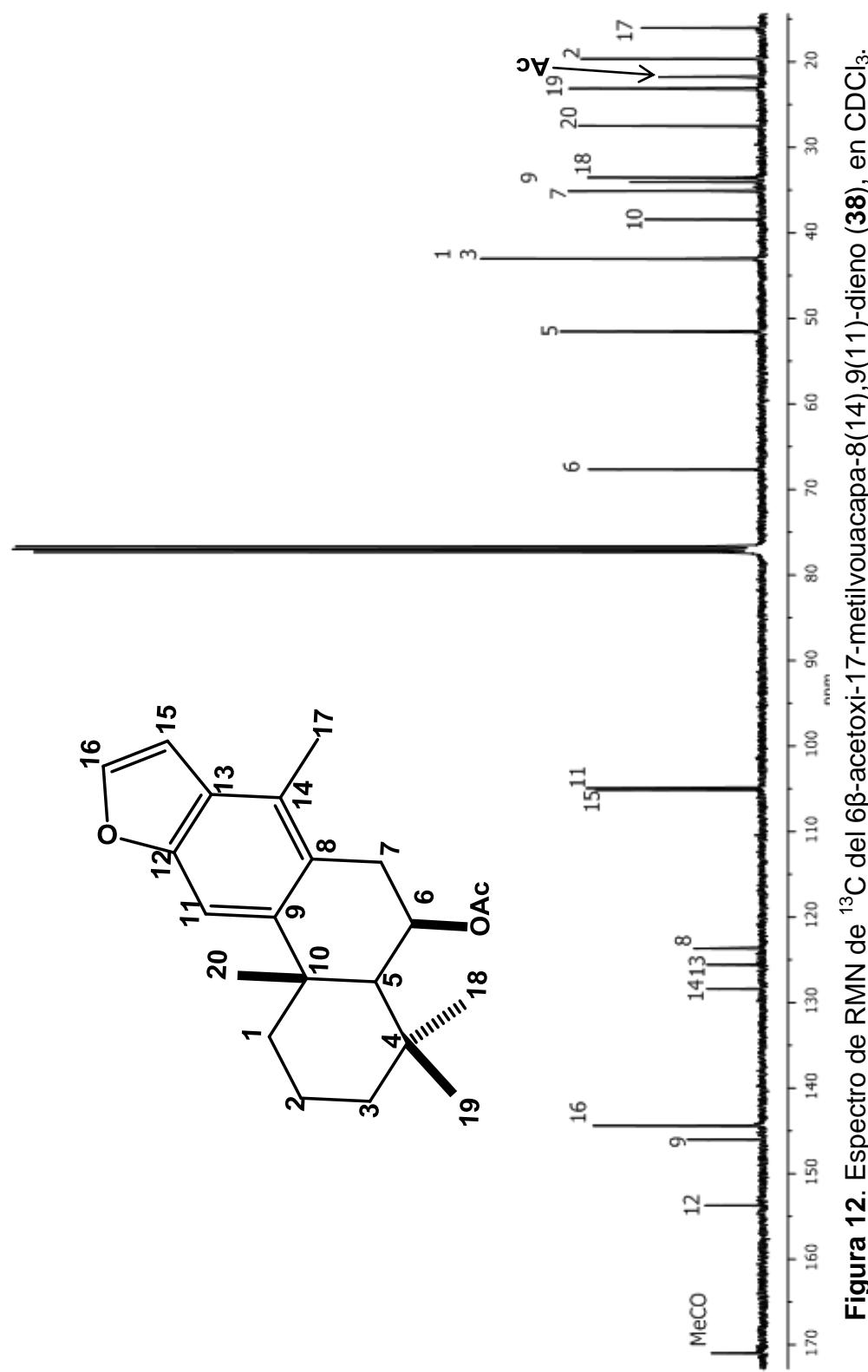


Figura 12. Espectro de RMN de ^{13}C del 6β -acetoxi-17-metilvouacapa-8(14),9(11)-dieno (**38**), en CDCl_3 .

El espectro homonuclear COSY de **38** (Fig. 13) permitió ver la correlación del H-6 base de acetilo en 5.75 ppm el cual es fácilmente identificado, con las señales en 3.06 ppm y 2.98 ppm asignadas para los hidrógenos del metíleno en la posición 7. Se puede observar también la correlación de H-6 con la señal 1.58 ppm del H-5.

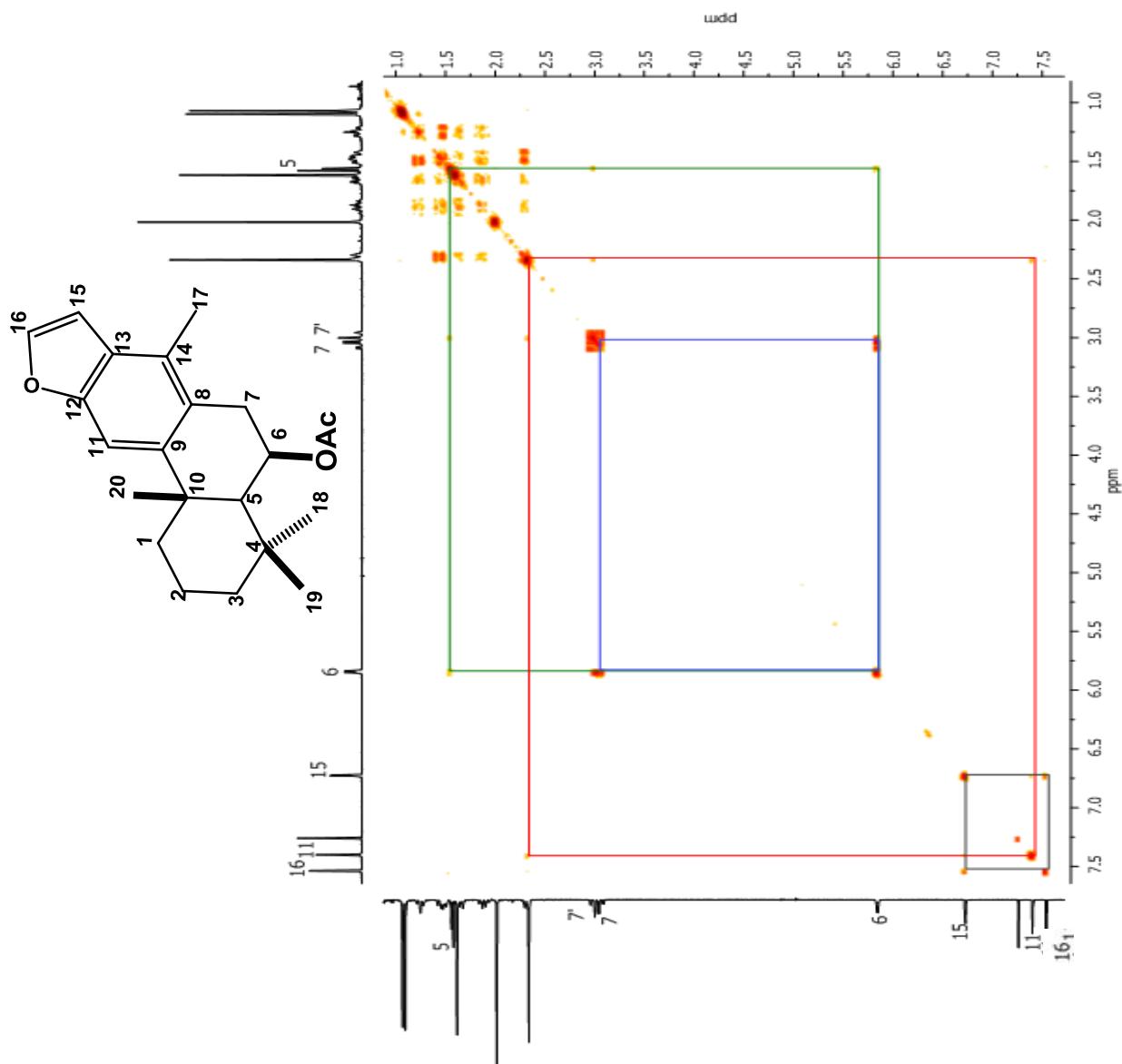


Figura 13. Espectro COSY del 6β -acetoxi-17-metilvouacapa-8(14),9(11)-dieno (**38**)

El experimento COSY también nos permitió ver la correlaciones de los hidrógenos del anillo del furano, observándose la correlación de la señal en 7.54 ppm con la señal en 6.73 ppm de H-16 y H-16 respectivamente.

En el experimento bidimensional HETCOR (Fig. 14) se observó la correlación de la señal doble centrada en 7.54 ppm con la señal ubicada en 144.4 ppm, la señal doble en 6.73 ppm correlacionó con la señal de carbono ubicada en 105.1 ppm, por lo que estas señales fueron asignadas como C-16 y C-15, respectivamente. Se comprobó la asignación de la señal del protón H-5 en 1.58 ppm, ya que ésta mostró una correlación con la señal ubicada en 51.5 ppm característica para este carbono. La señal ubicada en 35.1 ppm fue asignada al carbono C-7, ya que correlacionó con las señales de protón en 3.06 y 2.98 ppm que fueron asignadas al metíleno CH_2 -7 mediante el COSY.

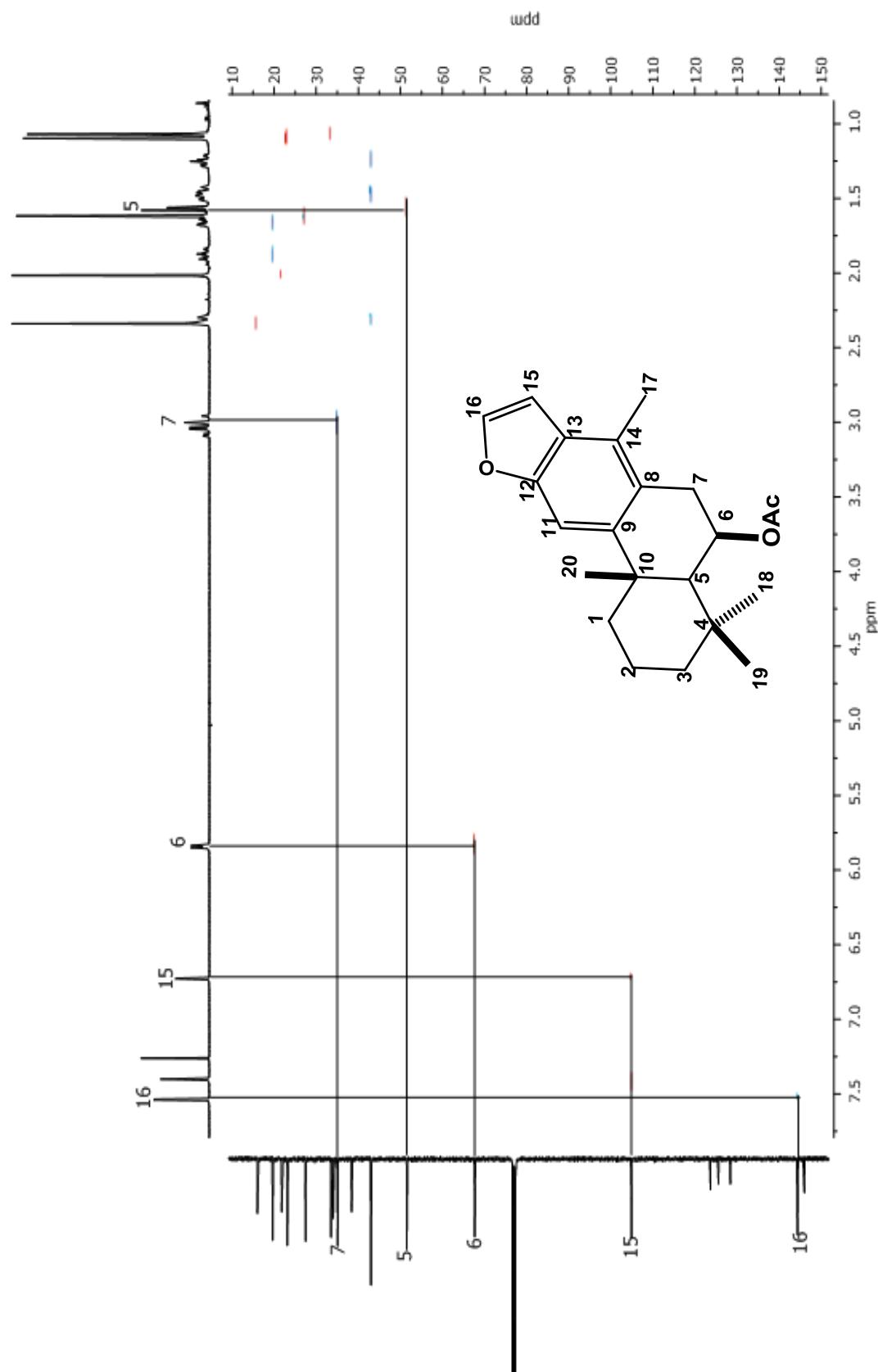


Figura 14. Espectro HETCOR del 6β -acetoxi-17-metilvouacapa-8(14),9(11)-dieno (38)

Al realizar una búsqueda en la literatura con respecto al derivado **38**, se encontraron dos compuestos epiméricos (Fig. 15). El derivado **31** aislado de *Bowdichia nitida*²⁸ y el derivado **38** aislado de *C. bonduc*³⁵ en pequeñas cantidades, 4 mg el 6β -acetoxi-17-metilvouacapa-8(14),9(11)-dieno (**38**), a partir de 4 kg de partes aéreas de planta, colectada en la zona sur de las islas Andaman en la India. En la medicina tradicional diferentes partes de esta planta han sido usadas para el tratamiento del asma, fiebre crónica, tos, dolor de cabeza y estómago.

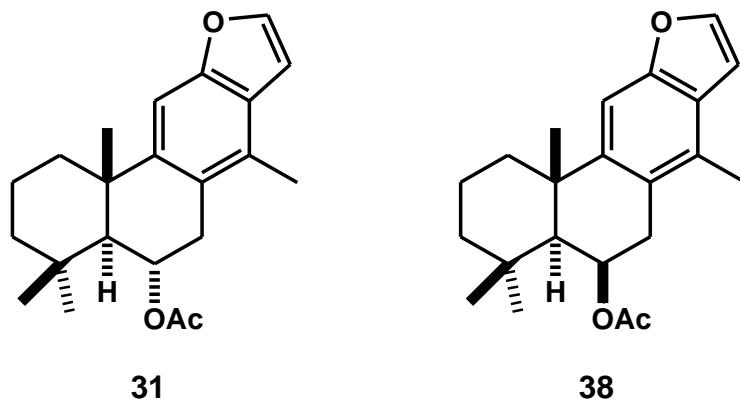


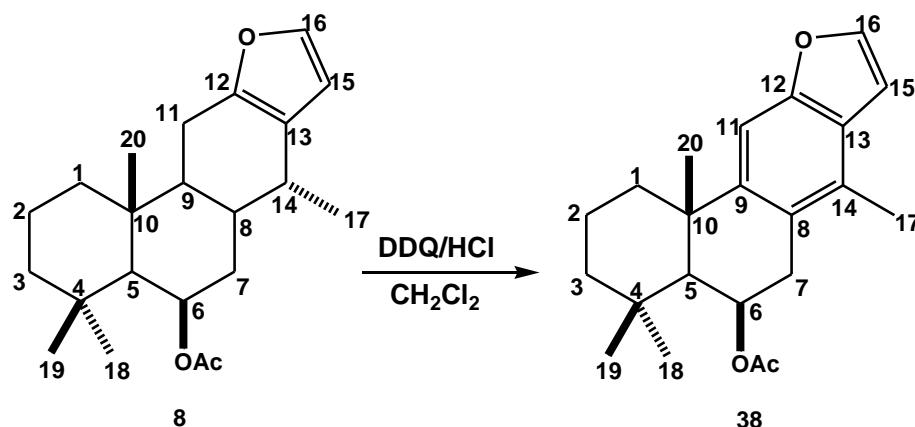
Figura 15. 6-*epi*-vouacapanos.

Los datos espectroscópicos del vouacapano **38** obtenido por oxidación con DDQ del vouacapano **8**, fueron idénticos con los reportados al vouacapano **38** aislado de *C. bonduc*.³⁵

Como se mencionó en la sección de antecedentes, estos derivados vouacapanos aromáticos son potentes inhibidores del desarrollo del *Plasmodium falciparum* causante de la malaria.

VI.-CONCLUSIÓN

A partir del vouacapano **8**, se logró obtener el 6β -acetoxi-17-metilvouacapa-8(14),9(11)-dieno (**38**), con un rendimiento del 48%, mediante una reacción de aromatización por el tratamiento con DDQ en cloruro de metileno y HCl como catalizador. Lo que permitirá obtener del derivado **38** en mayores cantidades y explorar su actividad biológica y reactividad química



VII.-PARTE EXPERIMENTAL

VII.1.- PROCEDIMIENTOS GENERALES:

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H a 400 MHz y de ^{13}C a 100 MHz, así como los diagramas bidimensionales de correlación $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ (HETCOR) y $^1\text{H}/^1\text{H}$ (COSY) se midieron en un espectrómetro Varian Mercury Plus 400; en todas las determinaciones se utilizó como disolvente cloroformo deuterado (CDCl_3) y como referencia interna se utilizó tetrametilsilano (TMS). Los espectros fueron procesados mediante el programa MestRe Nova 8.

Para la separación cromatográfica se utilizó silica gel Merck 230-400 mallas.

Los espectros de IR se midieron usando un espectrofotómetro marca Buck 500, las muestras se disolvieron en cloroformo en celdas de cloruro de sodio.

La rotación óptica se midió en un polarímetro Perkin Elmer modelo 341 y empleando soluciones clorofórmicas.

Las mediciones de UV se llevaron a cabo usando un espectrofotómetro marca Perkin Elmer Lambda 12, empleando celdas de cuarzo de 1 cm de longitud y etanol como disolvente.

VII.2.- MUESTRA VEGETAL:

Caesalpinia platyloba se colectó el 25 de agosto del 2013 en la comunidad de los Charcos, municipio de Buenavista, en el Estado de Michoacán. La identificación taxonómica fue realizada por el M.C Xavier Madrigal, de la Facultad de Biología de la UMSNH con número de Voucher 20401.

VII.3.- OBTENCIÓN DEL EXTRACTO.

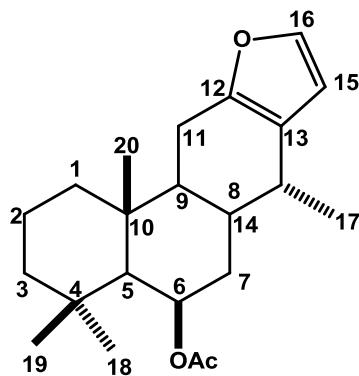
Las hojas se separaron de las ramas y las vainas. Una vez separadas se dejaron secar a la sombra, rotándolas para facilitar su secado. Al finalizar el secado se molieron 775 g de hoja, estas se maceraron con CH_2Cl_2 tres veces y se

concentraron en rotavapor. Obteniéndose un total de 63 g de los tres extractos de cloruro de metileno (8%).

VII.4.- ANÁLISIS QUÍMICOS.

Se utilizó el primer extracto de CH_2Cl_2 ya que este contenía mayor cantidad de muestra, con 22 g, se procedió a realizar una columna cromatográfica de 4 cm de diámetro con sílica de 12 cm de altura. Se impregnó el extracto con 25 g de sílice y se llevó a sequedad. La elución de la columna se inició con un litro de hexano:acetona de (19:1) recolectando fracciones de 100 mL en un matraz de 250 mL para concentrar en rotavapor. La cromatografía se monitoreó por cromatografía en placa fina, en las primeras cuatro fracciones se observó el compuesto conocido como 6β -acetoxivoucapano (**8**) impuro, por lo que se procedió a hacer recromatografías de estas 4 fracciones para purificar el compuesto.

VII.5.- 6β -acetoxivoucapano (**8**).

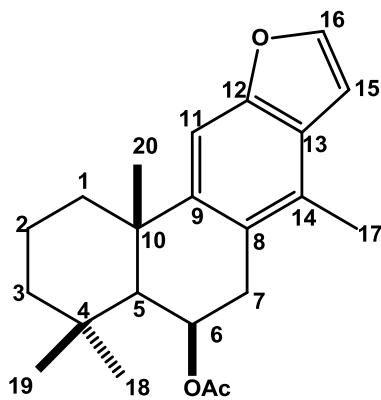


5 g de muestra de las 4 fracciones antes obtenidas, se impregnaron con 4 g de sílice en una columna de 2.5 de diámetro, para realizar la separación, mediante una polaridad inicial de (99.5:0.5) mL hexano: acetona 100 mL, subsecuentemente con esta polaridad hasta terminar de hacer la separación y obtener el compuesto puro. Se obtuvieron cristales incoloros con una cantidad de 2.5 g con un 9% de rendimiento.

Cristales incoloros de p.f 114-116 °; $[\alpha]_D = -18.3$ (c 3.8, CHCl₃) UV λ_{max} (EtOH) 210, 252 nm. ; (CHCl₃) ν_{max} 2931, 2866, 1724, 1442, 1374, 1250 cm⁻¹; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.23 (1H, da, $J = 1.9$ Hz, H-16), 6.19 (1H, da, $J = 1.9$ Hz, H-15), 5.51 (1H, sa, 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, AcO), 1.85 (1H, dt, $J = 14.3, 3.5, 3.5$ Hz H-7), 1.73 (1H, da, $J = 12.7$ Hz, H-1) 1.63 (1H, dt, $J = 13.6, 3.2, 3.2$ Hz, H-2), 1.54 (1H, m, H-9), 1.53 (1H, m, H-7), 1.48 (1H, m, H-2'), 1.41 (1H, da, $J = 13.1$, H-3) 1.20 (3H, s, CH₃-20), 1.19 (1H, m, H-3') 1.09 (1H, s, H-5), 1.02 (3H, s, CH₃-19), 0.99 (3H, s, CH₃-18), 0.96 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, CH₃-17).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 170.6 (C, MeCO), 149.6 (C, C-12), 140.4 (CH, C-16), 122.00 (C, C-13), 109.4 (CH, C-15), 69.6 (CH, C-6), 55.4 (CH, C-5), 45.6 (CH, C-9), 43.9 (CH₂, C-3), 42.2 (CH₂, C-1), 37.9 (C, C-10), 36.3 (CH₂, C-7), 33.8 (C, C-4), 33.7 (CH₃, C-18), 31.0 (CH, C-8), 31.0 (CH, C-14), 23.5 (CH₃, C-19), 21.8 (CH₂, C-11), 21.7 (CH₃, MeCO), 18.7 (CH₂, C-2), 17.6 (CH₃, C-17), 17.2 (CH₃, C-20).

VII.6.- 6β -acetoxi-17-metilvouacapan-8(14),9(11)-dieno (38).



A una solución de 50 mg de 6β -acetoxivouacapano (**8**) en 2 mL de CH₂Cl₂, y una gota de HCl concentrado, se le adicionaron 80 mg DDQ previamente disuelto en 8 ml de CH₂Cl₂. La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 20 min a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se le adicionó agua, la

muestra se pasó a un embudo de separación y se extrajo con 30 mL de CH_2Cl_2 , la fase orgánica se lavó con agua, dos veces con una solución saturada de NaHCO_3 y tres lavados con agua. La muestra se secó con Na_2SO_4 anhidro y se filtró, se concentró en rotavapor. Se obtuvieron 50.9 mg de una miel café. Se purificó mediante una columna cromatográfica utilizando 4 g de gel de sílice encontrándose en las fracciones 6-12 eluídas con hexano 24.4 mg (48%) de una miel incolora correspondiente al 6β -acetoxi-17-metilvouacapan-8(14),9(11)-dieno (**38**), la cual presentó los siguientes datos espectroscópicos.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 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 = 5.3, 1.5 Hz, H-6), 3.06 (1H, dd, J = 18.0, 5.5 Hz, H-7), 2.98 (1H, d, J = 18.0 Hz, H-7'), 2.34 (3H, s, CH_3 -17), 2.32 (1H, da, J = 16.8 Hz, H-1), 2.02 (3H, s, MeCO), 1.88 (1H, qt, J = 13.8, 3.5 Hz, H-2), 1.65 (1H, dt, J = 13.8, 3.6 Hz, H), 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, 3.9 Hz, H-3'), 1.10 (3H, s, CH_3 -18), 1.07 (3H, s, CH_3 -19).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 171.0 (CO, MeCO), 153.7 (C, C-12), 146.0 (C, C-9), 144.4 (CH, C-16), 128.4 (C, C-14), 125.6 (C, C13), 123.7 (C, C-8), 105.1(CH, C-15), 104.9 (CH, C-11), 67.6 (CH, C-6), 51.5 (CH, C-5), 43.0 (CH_2 , C-3), 43.0 (CH_2 , C-1), 38.4 (C, C-10), 35.1 (CH_2 , C-7), 34.1 (C, C-4), 33.5 (CH_3 , C-18), 27.5 (CH_3 , C-20), 23.1 (CH_3 , C-19), 21.8 (CH_3 , MeCO), 19.7 (CH_2 , C-2), 16.0 (CH_3 , C-17).

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. McChesney J.D, Venkataraman S.K, Henri J.T. Henri. Plant natural products: Back to the future or into extinction?. *Phytochemistry*. **2007**, 68, 2015–2022.
2. A. Monge. El Descubrimiento de Fármacos a partir de plantas medicinales. *Ciencia e Investigación*. **2003**, 6, 36–39.
3. João L. Baldim Zanin, Bianca A. de Carvalho, Paloma Salles Martineli, Marcelo Henrique dos Santos, João Henrique G. Lago, Patrícia Sartorelli, Cláudio Viegas, Jr., y Marisi G. Soares. The Genus *Caesalpinia* L. (Caesalpiniaceae): Phytochemical and Pharmacological Characteristics, *Molecules*. **2012**, 17, 7887–7902.
4. B.M Rezia Khatun, Mohammad Oliur Rahman. Taxonomic Revision of the genus *Caesalpinia* L. (Ceasalpiniaceae) for Bangladesh. *Bangladesh J. Plant Taxon*. **2006**, 13, 93–109.
5. R. A. Dickson, P. J. Houghton and P. J. Hylands. Antibacterial and antioxidant cassanediterpenoids from *Caesalpinia benthamiana*. *Phytochemistry*. **2006**, 68, 1436–1441.
6. R. W. Jiang, S. C. Ma and P. P. But. New antiviral cassane furanoditerpenes from *Caesalpinia minax*. *J. Nat. Prod.* **2001**, 64, 1266–1272.
7. T. Z. Linn, S. Awale, Y. B. Tezuka, A. H. Anskota, S. K. Kalauni, F. Attamimi, J. Y. Ueda, P.B. Asih, D. Syafruddin, K. Tanaka and S. Kadota. Cassane- and norcassane-type diterpenes from *Caesalpinia crista* of Indonesia and their antimalarial activity against the growth of *Plasmodium falciparum*. *J. Nat. Prod.* **2005**, 68, 706–710.
8. Yong-Jiang, Jianbing Zhang, chun-Ping Tang y Yang Ye. A new Diterpenoid from the seeds Of *Caesalpinia sappan* Linn. *Rec. Nat. Prod.* **2013**, 7, 124–128.
9. Jingyu Zhang, Wael M. Abdel-Mageed, Miaomiao Liu, Pei Huang, Wenni He, Li Li,z Fuhang Song, Huanqin Dai, Xuetong Liu, Jingyu Liang, and Lixin

- Zhang, Caesanines A.D. New Cassane Diterpenes with Unprecedented N Bridge from *Caesalpinia sappan*. *Org. Lett.* **2013**, 15, 4726–4729.
10. Charles O. Ochieng, P. Okinda Owuor, Lawrence A.O. Mang'uro, Hosea Akala, Ismail O. Ishola. Antinoceptive and antiplasmodial activities of cassane furanoditerpenes from *Caesalpinia volkensii* H. root bark. *Fitoterapia*. **2012**, 83, 74–80.
11. Fernández-Nava R., Rodríguez-Jiménez C., Arreguín-Sánchez M.L, Rodríguez-Jiménez A. Listado florístico de la Cuenca del Río Balsas, México. *Polibotánica*. **1998**, 9, 1–151.
12. Emmanuel Rincón, Pilar Huante, Mariana Álvares Añorve. Análisis de Crecimiento de tres Especies de *Caesalpinia* (Leguminosae) de la Selva Baja Caducifolia Chamela, Jalisco. *Bol. Soc. Bot. Méx.* **2000**, 66, 5–13.
13. Gómez-Hurtado M.A, Álvarez-Ezquivel F.E, Rodríguez-García G, Martínez-Pacheco M.M, Espinoza-Madrigal R. M, Pamatz-Bolaños T, Salvador-Hernández J.L, García-Gutiérrez H.A, Cerda-García-Rojas C.M, Joseph-Nathan P, del Río R.E. Cassane diterpenes from *Cesalpinia platyloba*. *Phytochemistry*. **2013**, 96, 397 – 403.
14. Chang R., Química, Novena ed., Ed. McGraw-Hill Interamericana, **2007**, México, D.F. pp 702–704.
15. Campos García P., Vázquez-Cruz S., Escolano Mirón C. Fundamentos de síntesis de fármacos. Publicacions i edicions de la Universitat de Barcelona, **2005**, p 41.
16. Yiannis S. Angelis y Michael Orfanopoulos. A Reinvestigation of the Structure of the Transition State in Peracid Epoxidations. α - and β - Secondary Isotope Effects. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 6083–6085.
17. Daniel A. Singleton, Steven R. Merrigan, Jian Liu y K. N. Houk. Experimental Geometry of the Epoxidation Transition State. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 3385–3386.
18. Robert D. Bach, Carlo Canepa, Julia E. Winter y Paul E. Blanchette. Mechanism of Acid-Catalyzed Epoxidation of Alkenes with Peroxy Acids. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 5191–5197.

19. Jhon J. Esteb, J. Nathan Hohman, Diana E. Schlamandinger, Anne M. Wilson. A solvent-Free Baeyer-Villiger Lactonization for the undergraduate organic laboratory: synthesis of γ -t-butyl- ϵ -caprolactone. *J. Chemical Edu.* **2005**, 1837–1838.
20. Ahmed Chekroun, Abdellah Jarid, Ahmed Benharref, Abderrahim Boutalib. Regio and stereoselectivity of β -Himachalene epoxidation by *m*-CPBA. A theoretical study. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 4431–4434.
21. Derek W. y Thomas D. Waugh. 2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone (DDQ). A new preparation. *J. Org. Chem.* **1965**, 30, 3240–3240.
22. Turner, A. B.; Ringold, H. J. Applications of High-potential Quinones. Part I. The Mechanism of Dehydrogenation of Steroidal Ketones by 2,3-Dichloro-5,6-Dicyanobenzoquinone. *J. Chem. Soc. C: Organic.* **1967**, 1720–1730.
23. Tushar S. Navale, Khushabu Thakur y Rajendra Rathore. Sequential Oxidative Transformation of tetraarylethylenes to 9,10-diaryl-phenanthrenes and dibenzo[g,p]-cheysenes using DDQ as an oxidant. *Org. Lett.* **2011**, 13, 1634–1637.
24. Hamid R. Memarian, Marieh Ghazaie, Somayeh Kakhki Mehneh. Electron Transfer-induced Aromatization of 1, 4-Dihydropyridines. *Z. Naturforsh.* **2009**, 64b, 1187–1192.
25. Andrei I. Sigan, Dmitrii V. Gusev, Nikilai D. Chkanikov, Elena Yu. Shmidt, Andrei V. Ivanov, Albina I. Mihaleva. Hydroxyalkilation of 4,5,6,7-tetrahydroindoles with polyfluorocarbonyl compounds as a route of 2-substituted índoles. *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 5025–5028.
26. Luisa U. Roman, Rosa E. del Rio, Juan D. Hernandez, Carlos M. Cerda, Daniel Cervantes, Raul Castañeda, Pedro Joseph-Nathan, Structural and stereochemical studies of naturally occurring longipinene derivatives. *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 3965–3972.
27. Yosuke Matsuno, Jun Deguchi, Yusuke Hirasawa, Kunio Ohyama, Hiroo Toyoda, Chieko Hirobe, Wiwied Ekasari, Aty Widyawaruyanti, Noor Cholies Zaini y Hiroshi Morita. Sucutiniranes A and B, new cassane-type diterpenes

- from *Bowdichia nitida*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **2008**, 18, 3774–3777.
28. Yosuke Matsuno, Jun Deguchi, Takahiro Hosoya, Yusuke Hirasawa, Chieko Hirobe, Motoo Shiro y Hiroshi Morita, Sucutiniranes C.F. Cassane-type diterpenes from *Bowdichia nitida*. *J. Nat. Prod.* **2009**, 72, 976–979.
29. Guoxu Ma, Jingquan Yuan, Haifeng Wu, Li Cao, Xiaopo Zhang, Lijia Xu, Hua Wei, Lizhen Wu, Qingxia Zheng, Liyong Li, Lijing Zhang, Junshan Yang, y Xudong Xu, Caesalpins A.H. Bioactive Cassane-Type Diterpenes from the Seeds of *Caesalpinia minax*. *J. Nat. Prod.* **2013**, 76, 1025–1031.
30. Dickson, R.A.; Houghton, P.J.; Hylands, P.J. Antibacterial and antioxidant cassane diterpenoids from *Caesalpinia benthamiana*. *Phytochemistry*. **2007**, 68, 1436–1441.
31. Zamblé, A.; Martin-Nizard, F.; Sahpaz, S.; Hennebelle, T.; Staels, B., Bordet, R.; Duriez, P.; Brunet, C. Bailleul, F. Vasoactivity, antioxidant and aphrodisiac properties of *Caesalpinia benthamiana* roots. *J. Ethnopharmacol.* **2008**, 116, 112–119.
32. Surya Kant K., Suresh A., Yasuhiro T., Arjun Hari B., Thein Zaw L., Puji Budi S. A., Din S., and Shigetoshi K., Antimalarial Activity of Cassane- and Norcassane-Type Diterpenes from *Caesalpinia crista* and Their Structure–Activity Relationship, *Biol. Pharm. Bull.* **2006**, 29, 1050—1052
33. A. N. Jadhav, N. Kaur, K. K. Bhutani. A new furanoditerpenoid marker for the distinction between the seeds of two species of *Caesalpinia*. *Phytochem. Anal.* **2003**, 14, 315 — 318.
34. Álvarez-Esquivel F.E. Estereoquímica y configuración absoluta de diterpenos del género *Caesalpinia*, Tesis de Maestría en Ciencias Químicas, presentada en el Instituto de investigaciones Químico-Biológicas, UMSNH, **2012**.
35. Prem O. Yadav, Ranjani Maurya, Jayanta Sarkar, Aishish Arora, Sanjeev Kanojiya, Sudhir Sinha, M.N. Srivastava, Ram Raghbir. Cassane diterpenes from *Caesalpinia bonduc*, *Phytochemistry*, **2009**, 70, 356–361.

