



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS
DE HIDALGO



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO BIOLÓGICAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS

“ESTEREOQUÍMICA Y CONFIGURACIÓN ABSOLUTA DE
DITERPENOS DEL GÉNERO *CAESALPINIA*”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS QUÍMICAS

PRESENTA: Q.F.B. FANY ELISA ÁLVAREZ ESQUIVEL

DIRECTORA DE TESIS: D.C. ROSA ELVA NORMA DEL RÍO TORRES

MORELIA, MICH., OCTUBRE DEL 2012

DEDICATORIAS

A Dios por todo lo que me da y por brindarme la fuerza para seguir adelante poniendo en mi camino gente maravillosa que me recuerdan lo grande de su amor.

A mi padre Raúl Álvarez Mejía[†] por el gran amor que siempre nos dio a su familia, por sus enseñanzas que siempre me acompañan y porque siempre será parte de mi energía de activación para llevar a cabo las reacciones de mi vida, por que la energía no se crea ni se destruye, solo se transforma, TE AMARÉ POR SIEMPRE.

A mi madre Elisa Esquivel Ramos por todo el amor que sólo una madre puede dar, por su apoyo, consejos y cuidados, por ser uno de mis ejemplos a seguir por su gran calidad humana TEAMO MAMA.

A mis hermanos Sonia, Ulises y Osvaldo con los que he compartido tantas alegrías y aún una de las tristezas más grandes, por que la vida me ha enseñado a valorarlos hoy más que nunca, gracias los AMO.

A mis sobrinos Itzen, Aldahir, Ximena y los que están por venir que iluminan mi vida con sus sonrisas.

A mi asesora de tesis D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres, por hacer de mi maratón un gran viaje lleno de gratos momentos y sobre todo lleno de experiencias, gracias por su forma de ser que inspira a ser mejor persona y siempre dar el máximo con la mejor actitud, Dios la bendiga siempre.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por haberme brindado la oportunidad de formarme académicamente y los medios necesarios para llevar a cabo este trabajo.

Al Instituto de Investigaciones Químico Biológicas por la oportunidad de formar parte de la Maestría en Ciencias Químicas.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada 264372, para la realización de esta Tesis.

A mis sinodales D.C. Judit Araceli Aviña Verduzco, D.C. Juan Diego Hernández Hernández y al D.C. Mauro Manuel Martínez Pacheco por sus valiosas aportaciones para el mejoramiento de esta tesis.

A los Doctores Pedro Joseph Nathan y Carlos M. Cerda García Rojas del Departamento de Química del CINVESTAV, por su invaluable ayuda en la realización de este trabajo.

A los Doctores Mario Armando Gómez Hurtado y Hugo Alejandro García Gutiérrez por su apoyo y aportaciones en este trabajo.

Al D.C. Rafael Herrera Bucio por permitirme llevar a cabo los cálculos necesarios para la obtención de los espectros teóricos de DCV.

A la D.C. Judith A. Aviña Verduzco por compartir sus conocimientos y proporcionar el reactor de microondas.

Al M.C. Juan Pablo García Merinos y al Q.F.B José Manuel Zaragoza Ríos por la obtención de los espectros de Resonancia Magnética Nuclear.

Al M.C. José Luis Salvador Hernández por su ayuda en la espectrometría de masa.

A los Q.F.B. Ramón Guzmán Mejía, Gerardo Morán López e Isaías Tapia Quintero por su amistad y sus enseñanzas en las técnicas de laboratorio.

A las auxiliares de investigación del Laboratorio de los Doctores Pedro Joseph-Nathan y Carlos M. Cerda García Rojas, del Departamento de Química del CINVESTAV, México D.F., Q.F.B. Verónica Reyes Olivares por la determinación de los espectros de UV, IR y la rotación óptica, Q.F.B. Angelina Hernández Barragán por la difracción de Rayos X, M.C. Alvina Bucio Vázquez por la determinación de los espectros experimentales de DCV, Q.F.B. Yolanda Mora Pérez y Q.F.B. Elvia Celina Álvarez Cisneros por la determinación de los espectros de RMN a 300 MHz, Q.F.B. Nadia Azucena Pérez Rojas por la determinación de los espectros de masas.

A Rosalía y Juanita por las alegrías, angustias, ilusiones y tantas emociones que compartimos juntas y cristalizaron en una hermosa amistad, las quiero mucho.

A mis queridos amigos del laboratorio Edna, Armando, Anayeli, Eric, Yunuen, Alejandro, Iroel, David, Lore y Cely por hacer que aún en los días nublados brillará un arco iris.

A Ana Ixchel, Luz María y Rosy por su apoyo y amistad capaz de traspasar el tiempo y la distancia.

A Benjamín Silva Sánchez por su amistad, por los gratos momentos y por sacarme siempre de apuros.

A Vicky por su amistad y por brindarme siempre una sonrisa.

A todas aquellas personas que han formado parte de mi vida y me han ayudado a seguir mi destino.

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Química de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la dirección de la Doctora en Ciencias Rosa Elva Norma del Río Torres, con apoyo económico de los Proyecto 118827 (CONACYT) y CIC-UMSNH.

ÍNDICE

SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	i
RESUMEN	iv
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
3. OBJETIVO GENERAL	23
3.1 Objetivos Específicos	23
4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	25
5. CONCLUSIONES	73
6. PARTE EXPERIMENTAL	75
7. BIBLIOGRAFÍA	82

SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

δ	Desplazamiento Químico
Ac ₂ O	Anhídrido acético
Et ₂ O	Éter etílico
B3LYP	Funcional híbrido de energía de intercambio de Becke, con tres parámetros semiempíricos ajustados a datos experimentales, y energía de correlación de Lee, Yang y Parr
<i>c</i>	Concentración
°C	Grados centígrados
<i>C.</i>	<i>Caesalpinia</i>
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CH ₂ Cl ₂	Cloruro de metileno
CHCl ₃	Cloroformo
cm	Centímetros
COSY	Correlation Spectroscopy
d	Señal doble
da	Señal doble ancha
DC	Dicroísmo Circular
DCV	Dicroísmo Circular Vibracional
dd	Señal doble de dobles

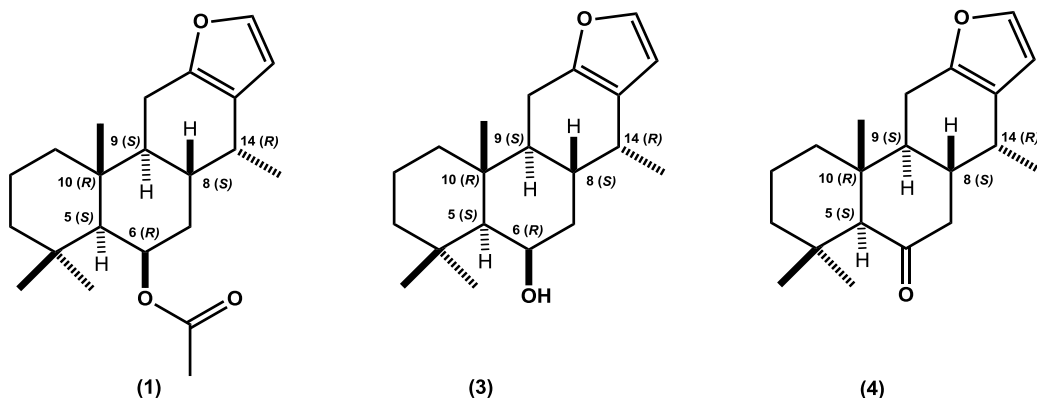
dddd	Señal Doble de doble de doble de dobles
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DFT	Density Funcional Theory
DGDZVP	Double Gauss Double-Zeta Valence Polarization
dt	Señal doble de triples
EMIE	Espectro de Masa por Impacto Electrónico
eq.	Equivalente químico
EtOH	Etanol
eV	Electrón Volt
g	Gramos
h	Horas
HCl	Ácido clorhídrico
HETCOR	Heteronuclear Correlation Spectroscopy
gHMBC	Gradient Heteronuclear Multiple Bond Correlation
gHSQC	Gradient Heteronuclear Single Quantum Coherence
Hz	Hertz
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
LiAlH ₄	Hidruro de litio y aluminio
m	Señal múltiple
<i>m/z</i>	Relación masa/carga

mg	Miligramos
MHz	Mega Hertz
mL	Mililitros
MMFF	Merck Molecular Force Field
MSHR	Mass Spectrum High Resolution
mw	Microondas
Na ₂ SO ₄	Sulfato de Sodio
NaBH ₄	Borohidruo de Sodio
NaHCO ₃	Bicarbonato de Sodio
nm	Nanómetros
ODS	Octadesilsililo
PCC	Clorocromato de piridinio
ppm	Partes por millón
Py	Piridina
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s	Señal simple
sa	Señal simple ancha
THF	Tetrahidrofurano
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta

RESUMEN

La separación cromatográfica del extracto de cloruro de metileno de las hojas de *C. platyloba* permitió el aislamiento del producto natural **1**, el cuál es un nuevo compuesto y fue caracterizado por espectroscopia de RMN de ^{13}C y de ^1H , su configuración absoluta se determinó por Dicroísmo Circular Vibracional, difracción de rayos X y correlación química. A partir del 6 β -acetoxivoucapano (**1**) se obtuvieron los derivados **3** y **4**, fueron caracterizados por sus datos espectroscópicos y su configuración absoluta se estableció por DCV. El género *Caesalpinia* es una fuente rica en cassanos tipo diterpenofuranos y existen varios reportes sobre sus propiedades biológicas como antimalaria, antiviral y anticancerígenos entre otras. Pamatz y col. aislaron por primera vez **1** de *C. platyloba* y *C. coriaria* y midieron su actividad citotóxica pero no establecieron su configuración absoluta, por lo que en el presente trabajo se estableció su estructura molecular inequívoca por los métodos ya mencionados.

Para los cálculos de DCV se llevo a cabo un estudio conformacional en Spartan¹⁰ usando mecánica molecular, después se optimizó con Gaussian⁰³ usando teoría de funcionales de la densidad DFT con B3LYP631G** y DGDZVP. Los espectros de DCV experimental y teórico tuvieron buen nivel de similitud por lo que se estableció la configuración absoluta del (5*S*, 6*R*, 8*S*, 9*S*, 10*R*, 14*R*)-6-acetoxivoucapano (**1**), (5*S*, 6*R*, 8*S*, 9*S*, 10*R*, 14*R*)-6-hidroxivoucapano (**3**) y (5*S*, 8*S*, 9*S*, 10*R*, 14*R*)-6-oxovoucapano (**4**).



1. INTRODUCCIÓN

La necesidad de curar las enfermedades es tan antigua como la humanidad. Al surgir las grandes civilizaciones aparecieron también los primeros agentes terapéuticos, principalmente de origen natural. Con el paso del tiempo y conforme la humanidad comenzó a adquirir nuevos conocimientos en medicina y química se introdujeron los primeros productos de síntesis orgánica durante la primera mitad del siglo XIX; en la actualidad siguen siendo los productos naturales y la síntesis orgánica las principales fuentes de nuevos fármacos¹. Los productos naturales ofrecen características complementarias a los compuestos sintéticos en cuanto a composición, peso, tamaño, grupos funcionales, complejidad molecular y estereoquímica². En el periodo de 1981 al 2002 fueron introducidos en todo el mundo 877 compuestos orgánicos como fármacos, de los cuales el 61% eran derivados de productos naturales³.

Una de las propiedades importantes que poseen algunos de los productos naturales es la presencia de centros estereogénicos, es decir, son quirales. Sin embargo, la naturaleza es estereoselectiva y en la mayoría de los casos solo biosintetiza uno de los enantiómeros. Se sabe que los enantiómeros tienen iguales propiedades físicas y químicas pero difieren en dos aspectos, en el plano de rotación de la luz polarizada y en la reactividad frente a otras moléculas quirales, incluyendo su interacción en los sistemas biológicos⁴; por ejemplo la *S*-(-)-penicilamina es un antiartrítico mientras que su enantiómero *R* es sumamente tóxico⁵ (Fig.1a).

Un ejemplo histórico que enseñó a la humanidad la importancia de la estereoquímica fue el caso de la Talidomida, un fármaco con propiedades sedantes, prescrito a mujeres embarazadas que se comercializó entre 1957 y 1960 en forma racémica. Se observó que el enantiómero *R* producía las propiedades sedantes mientras que el *S* resultaba severamente tóxico produciendo efectos teratogénicos⁶ (Fig. 1b).

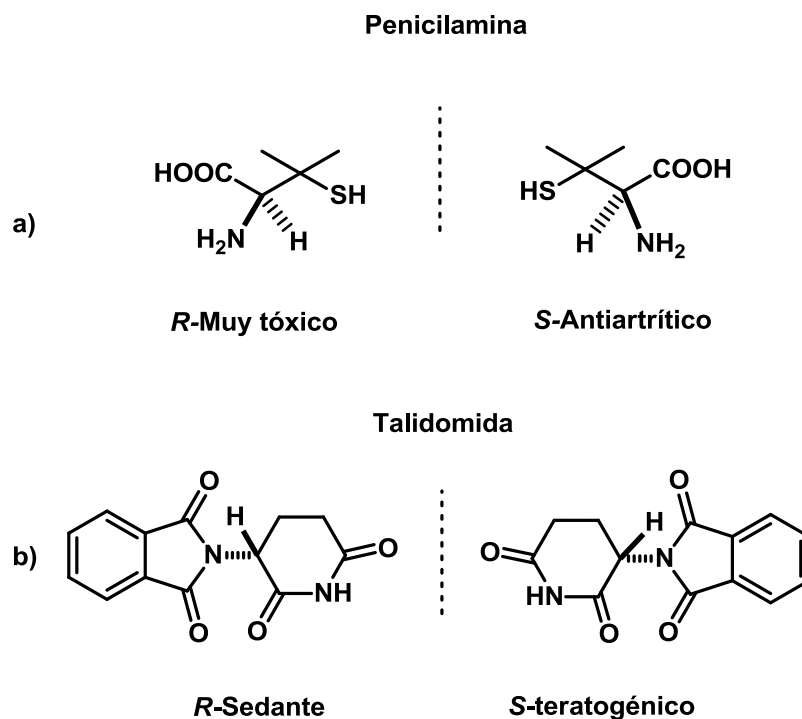


Figura 1. Propiedades de enantiómeros (Modificado de Álvarez-García)⁵.

Por estas razones es de suma importancia establecer la configuración absoluta en moléculas quirales que presenten actividad biológica, independientemente si son obtenidas de fuente natural o sintética.

En un estudio previo realizado para determinar la actividad citotóxica de *Caesalpinia platyloba* y *C. coriaria* plantas nativas de Michoacán, se aisló del extracto hexánico de hojas de *C. platyloba* y del extracto hexánico de vaina y hojas de *C. coriaria* una molécula que mostró tener actividad contra la línea inmortalizada de células de cáncer de próstata DU-145 sin respuesta a estrógenos; este compuesto se caracterizó mediante RMN como el diterpenfurano **1**⁷ y al realizar una búsqueda bibliográfica de la estructura, se encontró una molécula similar **2**⁸ que difiere en los desplazamientos químicos en los espectros de RMN de ¹³C y ¹H sobre todo en las señales referentes al centro estereogénico del carbono 6 (C-6), lo que sugiere una estereoquímica contraria en dicho centro. Debido a la ambigüedad sobre la estereoquímica de **1** en el presente trabajo se

determinó la configuración absoluta de dicha molécula llevando a cabo una correlación química en la que se prepararon los derivados **3** y **4**, a las tres moléculas se les determinó la configuración absoluta por Dicroísmo Circular Vibracional (DCV).

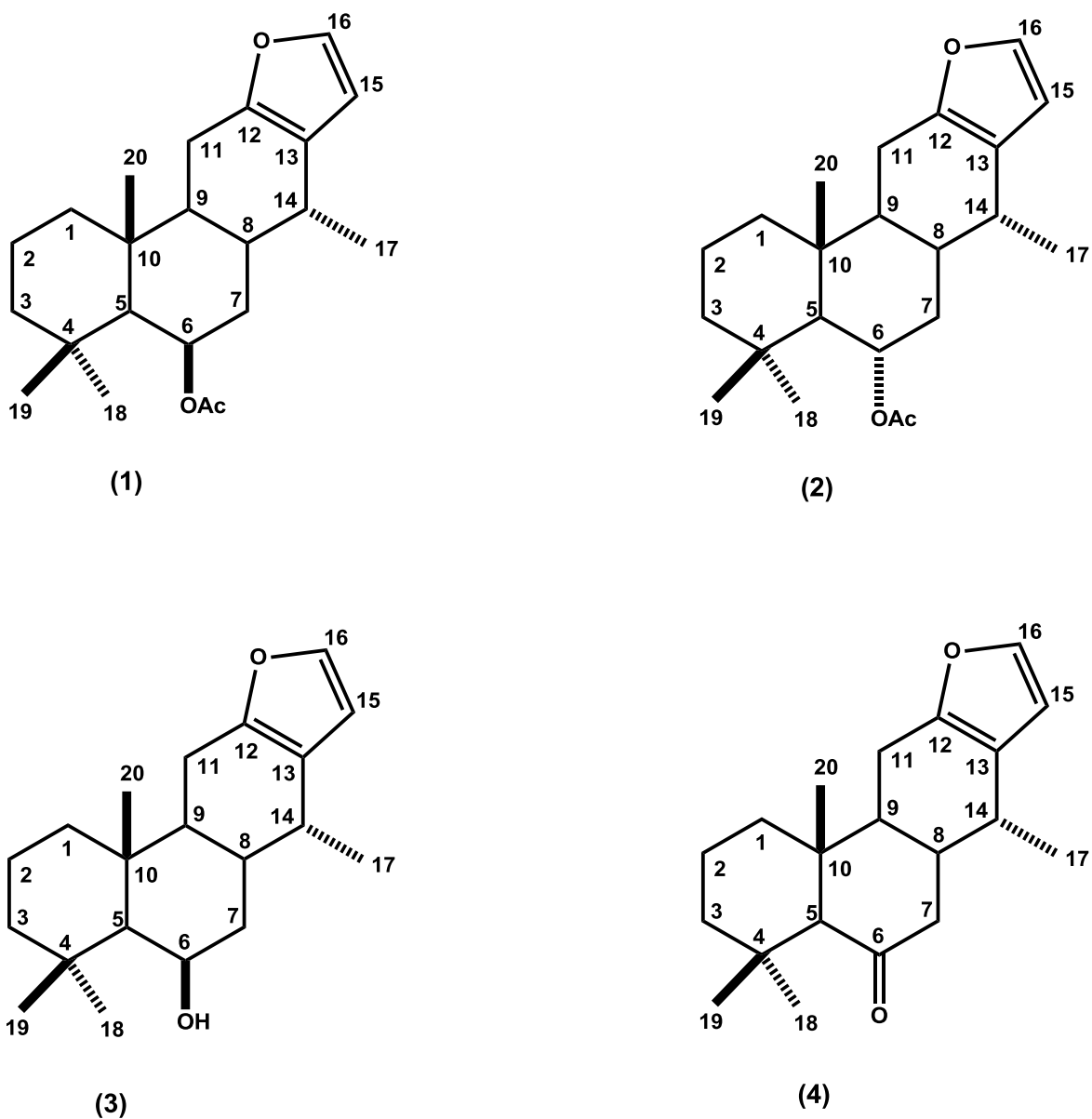
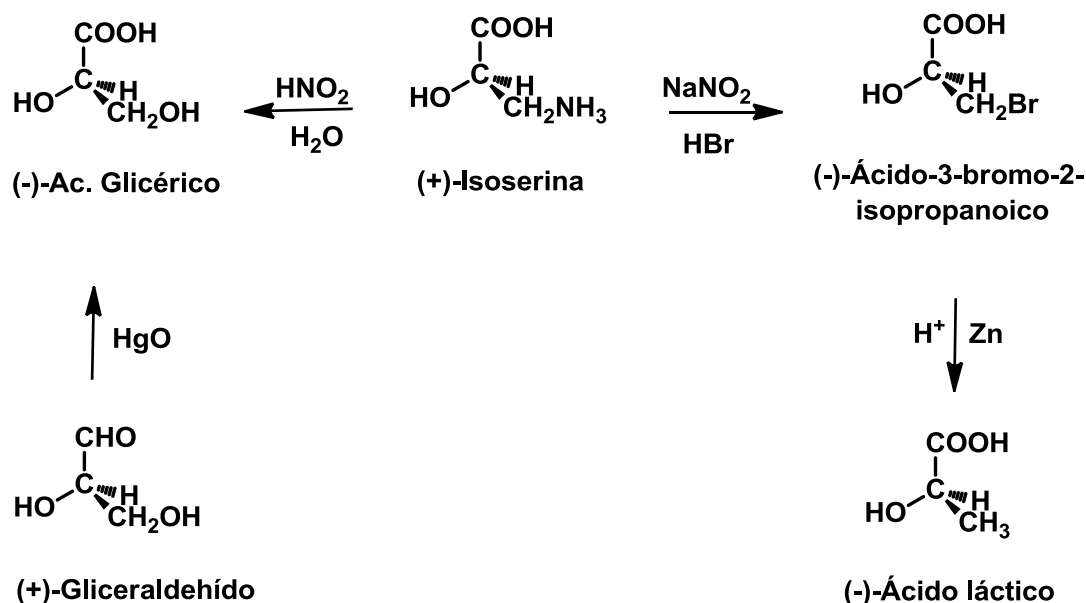


Figura 2. 6 β -acetoxivoucapano (**1**), 6 α -acetoxivoucapano (**2**),
6 β -hidroxivoucapano (**3**), 6-oxovoucapano (**4**).

2. ANTECEDENTES

Determinar la configuración absoluta ha sido desde hace mucho tiempo un problema científico significativo, por lo que se han desarrollado diversos métodos que han ido evolucionando a lo largo de la historia. Desde 1815, cuando Jean Baptiste Biot descubrió que algunos compuestos orgánicos naturales giraban el plano de la luz polarizada⁹ se marcó la pauta que trazaría la importancia de la estereoquímica de las moléculas orgánicas, años más tarde en 1848 Louis Pasteur observó que el tartrato de sodio y amonio existía como una mezcla de dos clases diferentes de cristales que se orientaban hacia lados opuestos, unos hacía la derecha y otros hacía la izquierda, separó los dos tipos de cristales cuidadosamente con pinzas y encontró que los cristales orientados a la derecha rotaban la luz polarizada en sentido de las manecillas del reloj, mientras que los orientados hacia la izquierda rotaban la luz polarizada hacia el lado contrario. Este descubrimiento lo llevó a sentar las bases de la estereoquímica; planteó que al igual que los dos tipos de cristales, las moléculas que los conformaban eran imágenes especulares entre sí, es decir, había descubierto los enantiómeros. Los trabajos de Pasteur condujeron en 1874 a Van't Hoff y Le Bel a proponer que el carbono con cuatro sustituyentes se encuentra con una geometría de un tetraedro, lo que confería a las moléculas orgánicas tridimensionalidad y catorce años después Emil Fisher estableció arbitrariamente la configuración del *D*-gliceraldehído¹⁰. A partir de entonces se estableció la estereoquímica de muchos compuestos orgánicos mediante correlación química con el *D*-gliceraldehído como se muestra en el esquema 1. Sin embargo, estas configuraciones eran relativas a la suposición de la configuración *D* del gliceraldehído. No fue hasta 1951 que los químicos holandeses J. M. Bijvoet, A. F. Peerdeman, y A. J. Van Bommel desarrollaron la técnica de difracción de rayos X de dispersión anómala con la que se estableció que la configuración absoluta del *D*-gliceraldehído coincidía con la configuración asignada arbitrariamente, así mismo la configuración que había sido obtenida por correlación química con el *D*-gliceraldehído era correcta para todas las moléculas¹¹.



Esquema 1. Correlación química del (–)-ácido láctico al (+)-gliceraldehído (Modificado de Yurkanis Bruice)¹¹.

Los rápidos avances de la difracción de rayos X, han permitido establecer la configuración absoluta de manera rutinaria mediante el uso de métodos como el de Bijvoet, debido a la dispersión anómala que se produce por la presencia de átomos pesados¹². Sin embargo, este método requiere la obtención de un mono cristal adecuado en tamaño, celdas unitarias idénticas, orden interno, caras bien definidas, transparentes, bordes regulares sin grietas, condiciones que a veces son difíciles de obtener en algunas moléculas¹³. La configuración absoluta también se puede obtener al determinar la configuración relativa de la posición de interés respecto a un sustituyente o compuesto de referencia del cual se conozca su configuración absoluta. En este método empírico se pueden preparar derivados con auxiliares quirales que además pueden ayudar a la cristalización de la molécula y no es necesaria la presencia de átomos pesados¹⁴.

La espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) es uno de los métodos utilizados para el análisis estructural de compuestos orgánicos en disolución y es una herramienta útil para la determinación de la configuración absoluta¹⁵. Dado que los enantiómeros de un compuesto presentan espectros de RMN idénticos en disolventes aquirales, se usa un reactivo auxiliar quiral de configuración conocida que se acople a los enantiómeros formando un complejo o un enlace covalente; esto hace que se formen dos nuevas especies diastereoméricas que presentarán espectros de RMN diferentes y mediante la interpretación de parámetros de la diferencia de desplazamientos químicos ($\Delta\delta$) obtenidos por la comparación de los espectros de RMN permiten inferir la configuración^{16,17}. Desde 1973 cuando Mosher implementó el método que lleva su nombre, usando como auxiliar quiral al ácido metoxitri fluorofenil acético se han desarrollado numerosos agentes auxiliares quirales, los cuales deben tener en su estructura un grupo polar o voluminoso que induzca a la molécula a una cierta conformación, un grupo funcional donde se lleve a cabo el acoplamiento covalente con la muestra y un grupo capaz de producir efectos anisotrópicos en los sustituyentes de la muestra¹⁸.

Los métodos empleados de RMN para obtener la configuración absoluta se dividen en dos grupos, 1) Derivatización doble (Fig.3a) en el cual la molécula de configuración desconocida se acopla por separado a ambos enantiómeros (*R*, *S*) del auxiliar quiral y posteriormente se comparan los desplazamientos de los sustituyentes (L_1/L_2) en los espectros de RMN de ambos derivados. 2) Derivatización simple en el que la molécula de configuración desconocida solo se acopla a uno de los enantiómeros del auxiliar quiral y se analizan los espectros de RMN de dicha molécula con y sin auxiliar quiral (Fig. 3b). Se deben tener en cuenta las conformaciones que el complejo molécula problema-auxiliar quiral puedan tomar porque pueden llevar a errores de interpretación, por lo que algunas veces es necesario inducir a una conformación estable, ya sea modificando la temperatura o con la adición de metales que formen un complejo. El uso de este método se limita a moléculas capaces de acoplarse a los auxiliares quirales¹⁹.

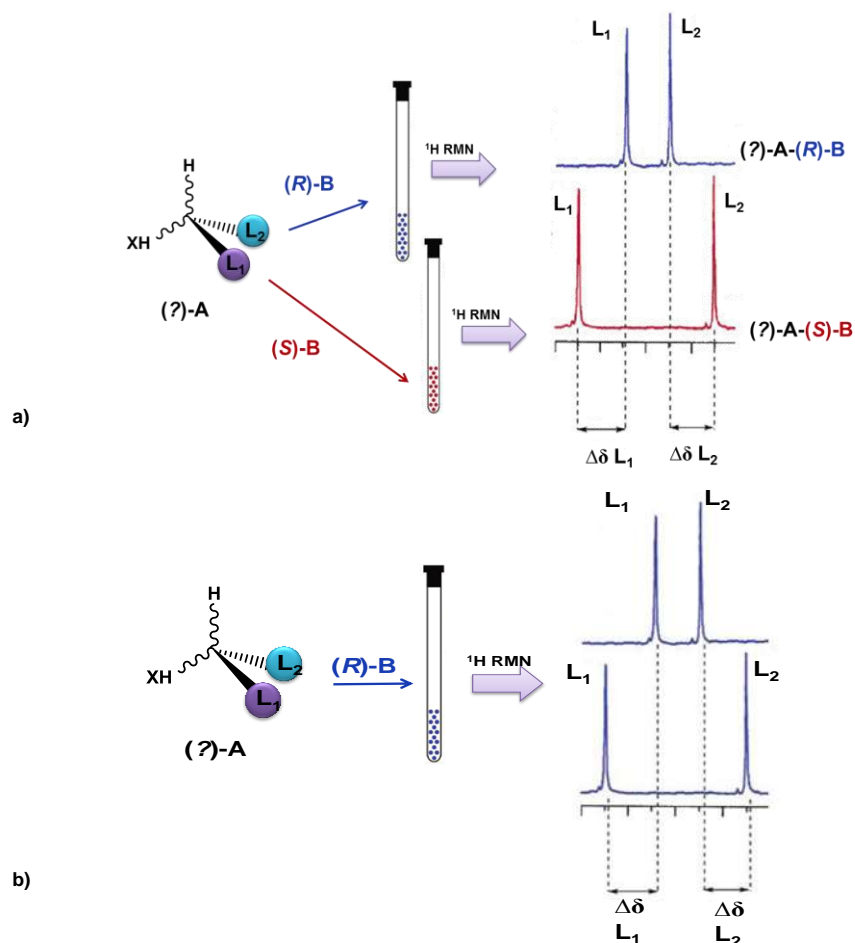


Figura 3. Derivatización a) doble y b) simple (Modificado de Seco y col)¹⁹.

Otra herramienta útil para la determinación de la configuración absoluta es la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en la que se usan fases estacionarias quirales o reactivos de derivación para producir aductos diastereoméricos, posteriormente un análisis de la rotación del aducto y la aplicación de reglas simples de la correlación del tiempo de retención y el orden de elucidación permiten establecer la configuración absoluta para varios compuestos²⁰. Por ejemplo, determinar la configuración absoluta de alcoholes secundarios acíclicos con HPLC, requiere llevar a cabo una derivatización con 1,5-difluoro-2,4-dinitro-benceno y posteriormente con *L* o *D*-leucinamida para producir

los respectivos diastereómeros del alcohol 2,4-dinitrofenil-5-leucinamida (DLA) y fijar una conformación rígida, en la separación por HPLC se usa gel de sílice ODS (octadesilsililo) que es un medio hidrofílico. Dado que los diastereómeros *cis* presentan los grupos hidrófobos del alcohol y la leucinamida en el mismo plano del dinitrobenceno interactúan fuertemente con el gel de sílice ODS que los diastereómeros *trans*, por lo que tienen un mayor tiempo de retención. Para los 2-hidroxicarbonos los diastereómeros *S* presentan una disposición *cis* y los *R* una disposición *trans* y en base a lo anterior se puede definir la configuración absoluta de varios alcoholes secundarios²¹.

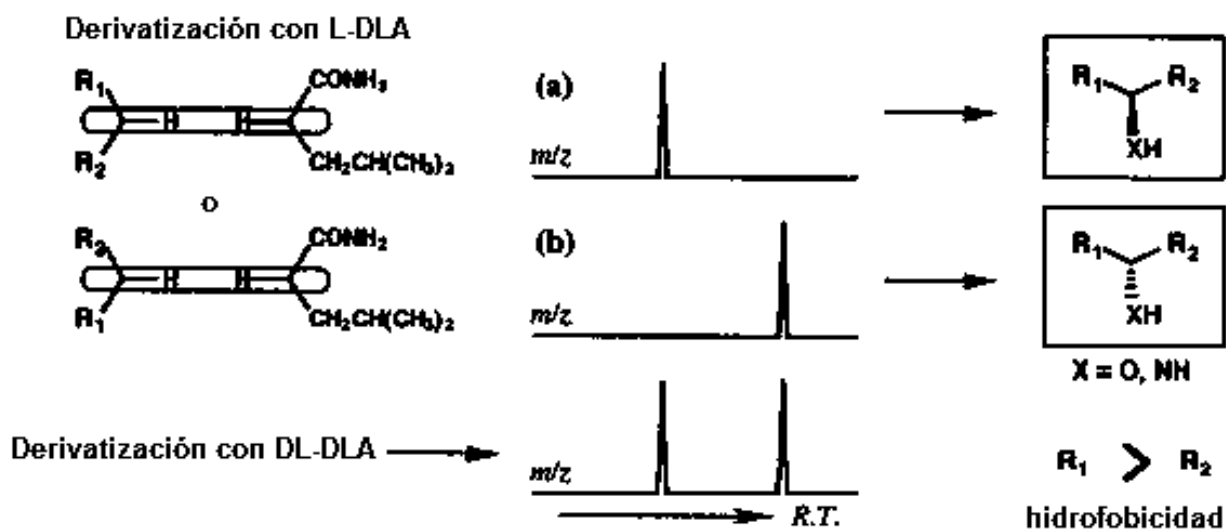


Figura 4. Determinación de la configuración absoluta por HPLC (Modificado de Harada y col.)²¹.

Los métodos ópticos se han convertido en técnicas ampliamente aplicadas al estudio de moléculas quirales. Como se mencionó anteriormente los compuestos quirales son ópticamente activos, es decir, rotan el plano de la luz polarizada en determinada magnitud ya sea a la derecha que se indica con el signo (+) o a la izquierda que se indica con el signo (−).

Estos datos nos permiten obtener la rotación específica que es una propiedad característica de cada compuesto. Los enantiómeros presentan iguales magnitudes en el valor de las rotaciones específicas pero con signo contrario, lo que nos permite distinguir entre uno u otro enantiómero. En productos naturales la rotación específica es de gran ayuda para determinar la configuración absoluta puesto que la naturaleza es una fábrica perfecta de moléculas orgánicas que solo elabora la mayoría de la veces un único enantiómero de cada molécula, sin importar el número de centros estereogénicos que pueda tener, por lo que la configuración absoluta de algunas familias de compuestos se puede establecer a partir de su biogénesis. Así que cuando se aísla un compuesto y si se conocen los datos físicos de ambos enantiómeros la medición de la rotación específica puede ser suficiente para discriminar uno del otro²².

El dicroísmo circular (DC) es otro método utilizado para determinar la configuración absoluta, en el que se puede considerar una onda polarizada en el plano como la superposición de una onda polarizada circular derecha (E_D) y una onda polarizada circular izquierda (E_I); ambas de la misma frecuencia. Sin embargo, si las ondas asociadas a E_D y E_I se desplazan con diferentes velocidades, la resultante E es además polarizada en un plano, pero el vector eléctrico y por lo tanto su plano de polarización, llevan a cabo una rotación, como se observa en la figura 5a. Las moléculas quirales pueden absorber un rayo circularmente polarizado a la derecha de una manera distinta de la del rayo circularmente polarizado a la izquierda. Esta diferencia de absorción produce que la longitud del vector E_I no sea igual a la de E_D y su resultante E no describe una circunferencia sino una elipse, como se muestra en la figura 5b.

La rotación α mide la desviación entre el plano de la luz incidente linealmente polarizada y el eje mayor de la luz emergente elípticamente polarizada. Se admite que el poder rotatorio se puede interpretar por la teoría de los pares oscilatorios y por la teoría de la polaridad, según las cuales el momento eléctrico y el momento magnético están asociados a la actividad óptica resultante de vibraciones electrónicas no paralelas en los diferentes agrupamientos de una molécula²³.

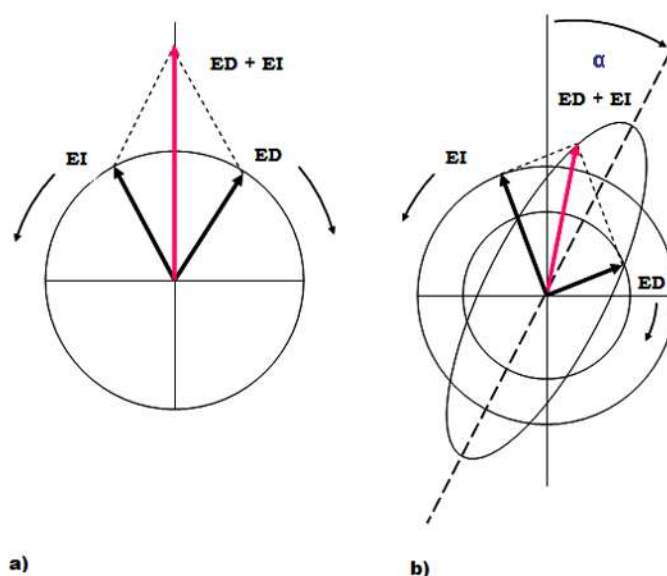


Figura 5. Luz polarizada circularmente (Modificado de Crabbé)²³.

Así, el dicroísmo circular es la diferencia de absorción entre la luz polarizada izquierda y derecha dando lugar a un espectro en el cual la curva obtenida a mayor longitud de onda se denomina efecto Cotton y para dos enantiómeros es igual en magnitud pero con signo contrario²⁴.

Por lo que el DC ha sido empleado desde su descubrimiento por Cotton para determinar la configuración absoluta de moléculas quirales. La utilización de esta técnica por los químicos orgánicos creció ampliamente por el desarrollo de la regla del octante que permite predecir el DC del estado electrónico de excitación $n-\pi^*$ de cetonas cíclicas de cinco, seis o siete miembros. Esta regla establece que, el efecto Cotton está correlacionado con los sustituyentes de estas moléculas, por lo que la estructura de la molécula se dibuja de tal forma que tres planos (Fig. 6. **A**, **B** y **C**) dividen a la cetona en octantes, el plano **A** bisecta el grupo carbonilo, el plano **B** es perpendicular a **A** y en él reside el oxígeno del carbonilo y el plano **C** es perpendicular a **A** y **B**. Si se observa desde el lado del carbonilo, los cuatro cuadrantes detrás del plano **C** son los cuadrantes posteriores, y los cuatro cuadrantes enfrente del plano **C** son los llamados cuadrantes delanteros, aunque raramente los sustituyentes de cetonas cíclicas se posicionan en los cuadrantes delanteros. Los sustituyentes posicionados en el lado inferior izquierdo y en el lado superior derecho de los cuadrantes posteriores contribuirán a un efecto Cotton negativo, mientras que los posicionados en el lado superior izquierdo e inferior derecho presentarán un efecto Cotton positivo, si la molécula presenta varios sustituyentes el signo del efecto Cotton corresponde a la suma de la contribución de los sustituyentes en los ocho cuadrantes²⁵. El signo correspondiente de cada cuadrante se estableció extrapolando un gran número de datos experimentales y es soportado por consideraciones teóricas, por lo que es considerado un método semiempírico. Sin embargo, actualmente esta regla es poco usada porque es imprecisa al no considerar que los átomos o los grupos alrededor del cromóforo pueden moverse debido a la libertad conformacional y cambiar la naturaleza (magnitud y signo) de las perturbaciones que ejercen sobre el estado de transición electrónica de la molécula²⁶.

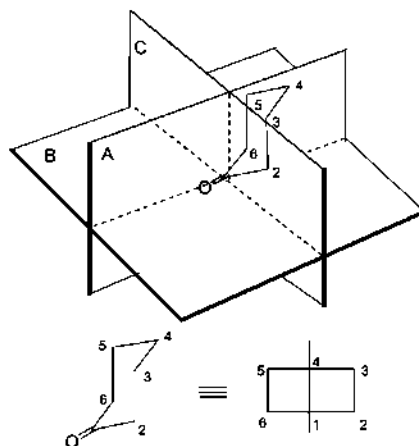


Figura 6. Regla del octante (Tomado de Guo-Quiang)²⁵.

En sistemas que tienen dos o más grupos cromóforos que se encuentran cercanos en el espacio y que presentan una apropiada orientación mutua, las interacciones entre sus dipolos de transición son responsables de una gran fuerza rotacional, superando las transiciones que cada cromóforo ejerce sobre el centro quiral. Cuando los cromóforos (que pueden ser iguales o distintos) presentan un fuerte dipolo eléctrico que permite la transición acoplada entre uno y otro, se conoce como acoplamiento del excitón, en el cual la intensidad y el signo del acoplamiento (definido por el signo del efecto Cotton) están relacionados con la orientación de los grupos cromóforos, que depende de la conformación y configuración molecular. De acuerdo a esto, el espectro de DC es interpretado de la siguiente manera: cuando se presenta un efecto Cotton positivo se dice que los grupos cromóforos están orientados en sentido de las manecillas del reloj (Fig. 7a), si el efecto Cotton es negativo se dice que están orientados en sentido contrario de las manecillas del reloj (Fig. 7b)²⁷. En moléculas que presentan una gran flexibilidad conformacional, algunos conformeros pueden mostrar diferentes valores de DC simultáneamente dando lugar a un valor promediado que es pequeño. Esto puede constituir un obstáculo para la determinación de la configuración absoluta por este método; sin embargo, se pueden adicionar a la molécula mediante derivatización química cromóforos capaces de restringir dicha

flexibilidad²⁸, en la figura 7 se muestran dos ejemplos de la aplicación de este método.

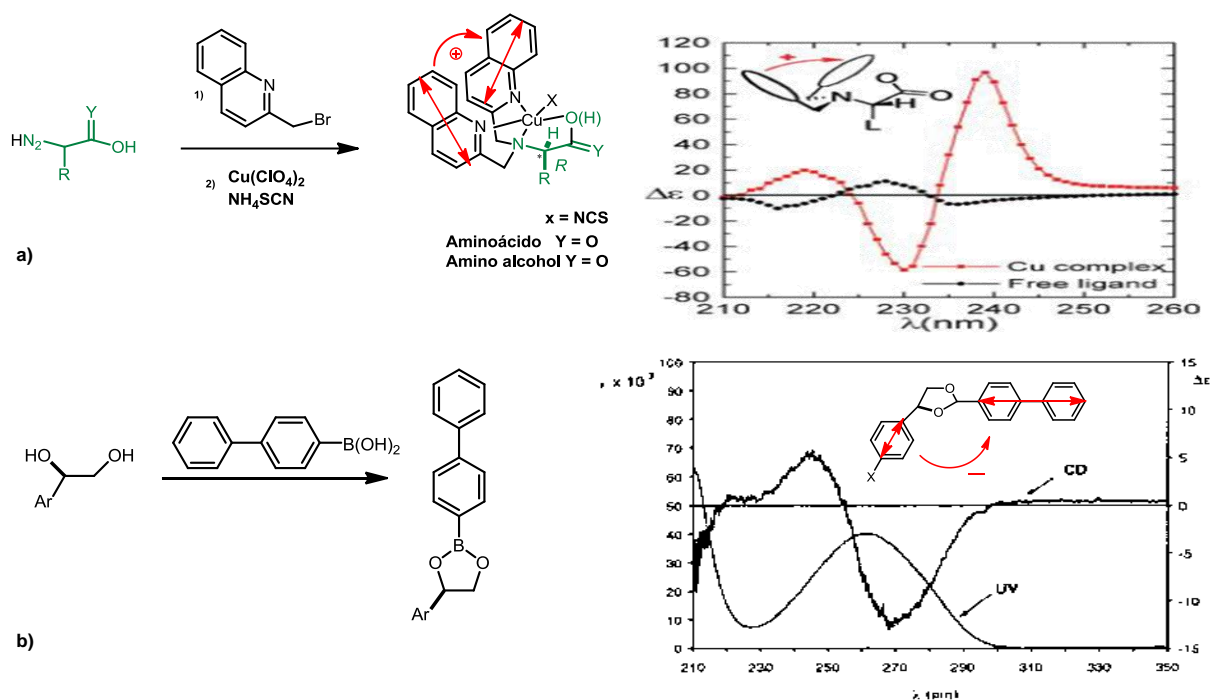


Figura 7. Efecto Cotton a) positivo (Modificado de Zahn y col.)²⁹
b) negativo (Modificado de Superchi y col.)²⁷.

Sin embargo, el DC se encuentra restringido para moléculas que presenten grupos cromóforos o que sean susceptibles a una derivatización química que permita la introducción de dichos cromóforos, además sus métodos pueden estar sujetos a errores de interpretación.

En la década de 1970 el desarrollo del modulador fotoelástico de cuarzo con selenuro de zinc permitió hacer mediciones en la región del espectro de infrarrojo (IR), logrando con esto la medición del Dicroísmo Circular Vibracional, (DCV), a la par el desarrollo de métodos computacionales capaces de predecir el espectro teórico de DCV hizo posible comparar un espectro obtenido experimentalmente con un espectro teórico para determinar la configuración absoluta³⁰.

Los cálculos del espectro de DCV comienzan con la selección de la configuración absoluta específica para la estructura molecular, frecuentemente las moléculas orgánicas son conformacionalmente flexibles a temperatura ambiente y dado que a esta temperatura se mide el espectro experimental del DCV, se pueden presentar múltiples conformaciones en el equilibrio por lo que el segundo paso es el análisis para evaluar la flexibilidad conformacional de la molécula y determinar los conformeros, sus energías relativas y la población de estos en el equilibrio³¹. La búsqueda conformacional se realiza usando mecánica molecular o métodos semiempíricos en software como Spartan, HyperChem, MacroModel o PC Model³². Posteriormente a los conformeros con mínima energía (dentro de un intervalo de 5 Kcal/mol con respecto al enantiómero de menor energía) se les optimiza su geometría, se obtienen sus frecuencias y por lo tanto sus espectros de IR y DCV, usando Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT) en programas como Gaussian, generalmente se usa como método B3LYP con un nivel de teoría 631G ** con dos polarizaciones o con DGDZVP los cuales han mostrado tener buen balance entre la precisión y el tiempo computacional. Las frecuencias calculadas en modo normal son escaladas por un factor denominado factor de anarmonicidad en el intervalo de 0.97-0.98 para compensar el hecho de que las frecuencias son calculadas sobre la base de un campo de fuerza armónico mientras que las frecuencias observadas presentan un campo de fuerza anarmónico, además los efectos del disolvente pueden aumentar las diferencias entre el espectro calculado y el espectro experimental. Una vez que se han calculado los espectros de IR y DCV de los conformeros más contribuyentes sus frecuencias son ponderadas por su fracción de la población de Boltzmann y sumadas para obtener el espectro calculado final de DCV e IR. Este es comparado con el espectro experimental mediante un algoritmo desarrollado por Biotools y disponible comercialmente como un programa de software llamado Compare VOA³³.

Todas las moléculas orgánicas absorben radiación IR por lo que las moléculas quirales generan espectros de IR_{DCV} y DCV el cual es estereoespecífico, puesto que los pares de enantiómeros tienen el mismo espectro de IR pero sus espectros de DCV son opuestos, es decir, con signos contrarios. La magnitud de las bandas en un espectro de DCV es aproximadamente 10,000 veces más pequeña que la de IR, cada banda de absorción en el espectro de IR tiene una correspondiente banda de DCV³⁴. Esta técnica ha sido recientemente utilizada para determinar la configuración absoluta tanto de moléculas sintéticas como de productos naturales^{35, 36, 37}.

Los productos naturales han retomado importancia debido a las múltiples aplicaciones que se les han encontrado, entre ellas la de principios activos, que a través de la medicina tradicional se ha conocido su utilidad sobre todo de plantas y los estudios químicos y biológicos de estas y de sus componentes han permitido confirmar su utilidad en la medicina; por ejemplo, el árbol de ginkgo mencionado en los libros de medicina china que datan del 2800 A.C. y del cual se utilizan preparados como antihistamínico y antitusivo produce ginkgólidos, inusuales diterpenlactonas que son antagonistas del factor de agregación plaquetaria³⁸; otro ejemplo es el agente antihipertensivo Forskolin aislado de *Coleus forskohlii* Brip. (Labiatae), una planta que se describe en un antiguo texto Hindú³⁹.

En México se conoce una gran cantidad de especies vegetales con aplicaciones medicinales, esto ha sido plasmado en documentos de importancia mundial como el Códice Badiano o Florentino⁴⁰. Entre los Estados más ricos en biodiversidad se encuentra Michoacán que cuenta con una vasta riqueza vegetal, ocupa el cuarto lugar en riqueza florística y presenta 4,672 especies nativas, de las cuales el segundo lugar lo ocupa la familia Fabaceae con 1800⁴¹. Dentro de esta familia se encuentra el género *Caesalpinia*, subfamilia Caesalpinioideae, que contiene más de 500 especies, encontradas en su mayoría en regiones tropicales y subtropicales de las cuales se han estudiado menos de 30 especies respecto a sus propiedades fitoquímicas y farmacológicas⁴². Especies pertenecientes a este género tienen uso en medicina tradicional, por ejemplo la decocción de hojas,

corteza y raíces de *C. pulcherrima* es usada para aliviar la infección por hongos y para reducir la fiebre⁴³, se ha reportado que presenta actividad citotóxica, antituberculosa, antibacteriana y antifúngica⁴⁴. En la figura 8 se muestran distintos diterpenofuranos aislados de *C. pulcherrima* a los que se les evaluaron sus actividades farmacológicas, por ejemplo los diterpenofuranos **5** y **6**, presentaron actividad antituberculosa⁴⁵, de un estudio sobre la actividad antiinflamatoria en el que se evaluaron 23 diterpenofuranos aislados de la raíz de *C. pulcherrima*, pulcherrin Q (**7**) mostró la mejor actividad como inhibidor de la producción del óxido nítrico en la línea celular de macrófagos RAW 264.7 estimulados con lipopolisacárido⁴⁶, mientras que otros autores reportaron la actividad antibacteriana de cuatro diterpenofuranos aislados de las hojas de *C. pulcherrima*, en el que el diterpeno **8** tuvo buen potencial contra *Bacillus subtilis*⁴⁷.

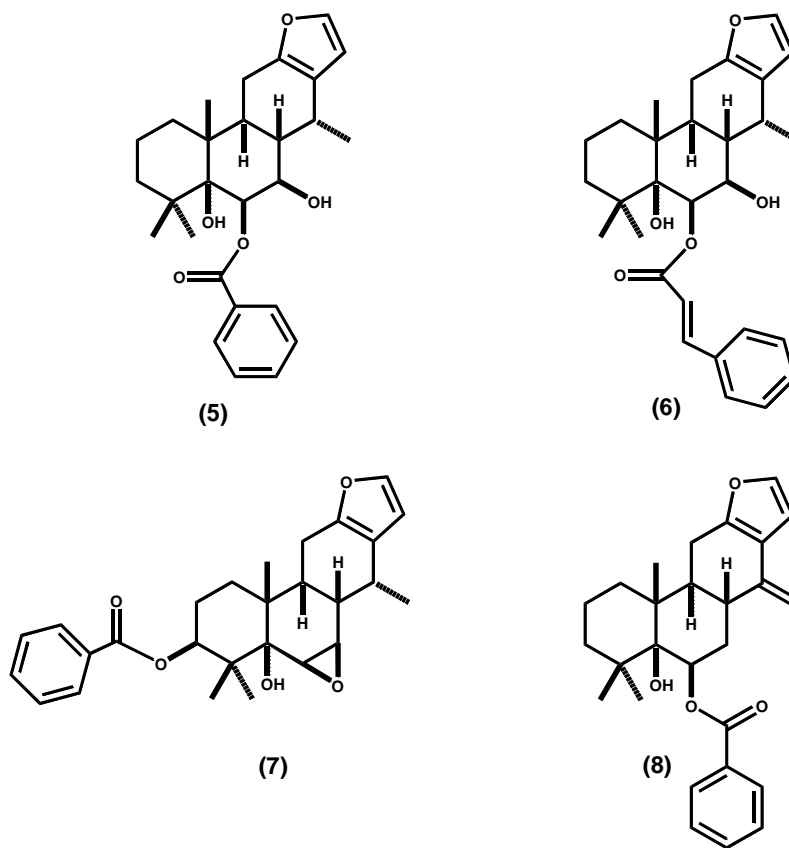


Figura 8. Diterpenofuranos aislados de *C. pulcherrima*.

Diferentes órganos de la planta de *C. bonduc* se usan para el tratamiento de asma, fiebre crónica, tos, dolor de cabeza y malestar estomacal⁴⁸. Por lo que se le han realizado varios estudios químicos encontrándose numerosos cassanos⁴⁹, a los cuales se les han reportado diferentes actividades farmacológicas como la actividad antiproliferativa moderada contra células de adenocarcinoma de mama y carcinoma cervical para el diterpenofurano **9**⁵⁰. También, se ha reportado la actividad antimalaria y citotóxica de 16 diterpenofuranos aislados de las semillas de *C. bonduc* encontrando que bonducellpina E (**10**), bonducellpina F (**11**) y bonducellpina G (**12**) presentaron una significativa actividad antimalaria⁵¹.

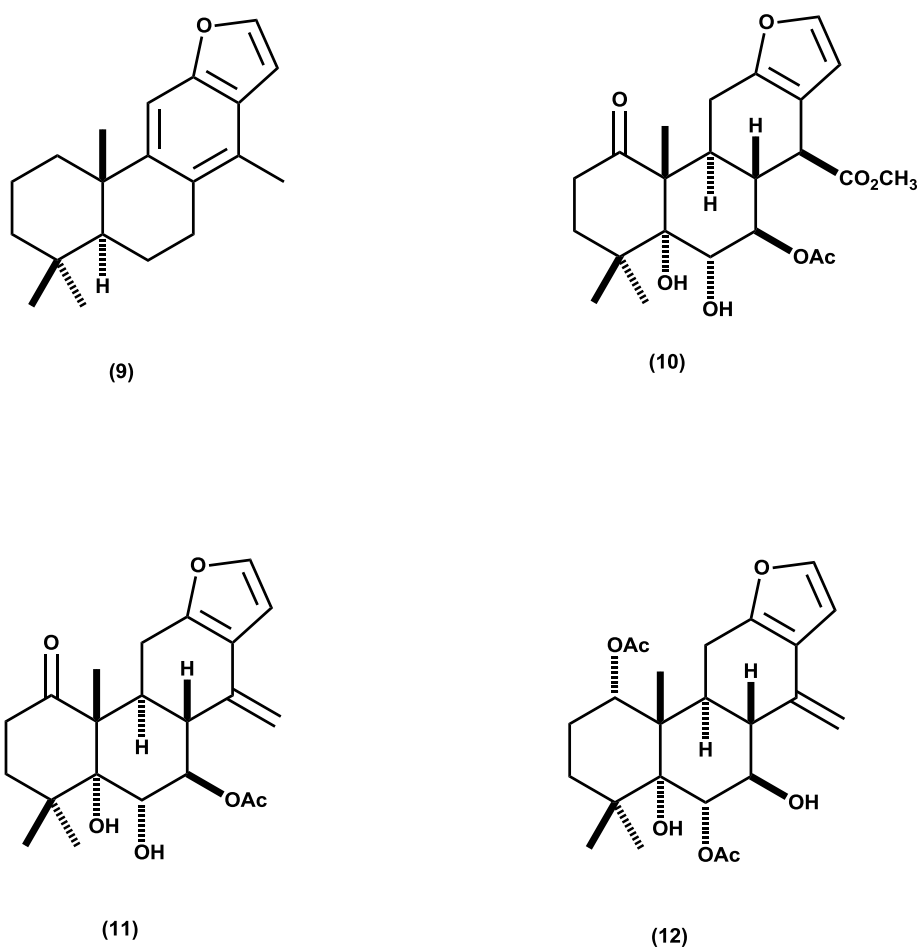


Figura 9. Diterpenofuranos aislados de *C. bonduc*.

C. crista Linn es otra de las especies de este género utilizada en medicina tradicional; se distribuye en las regiones tropicales y subtropicales del sureste de Asia, en Indonesia es comúnmente llamada "Bagore" y la decocción de la raíz es usada en el tratamiento de reumatismo, dolor de espalda y como un tónico⁵². Las semillas presentan una actividad antimalaria interesante^{53, 54}, al ser evaluada la actividad inhibitoria del crecimiento del parásito de la malaria *Plasmodium falciparum* FCR-3/A2 clon, de 44 cassanos y norcassanos aislados de esta planta se encontró que los diterpenos **13** al **18** presentan una actividad antimalaria más potente que la Cloroquinona que es la droga utilizada comercialmente⁵⁵.

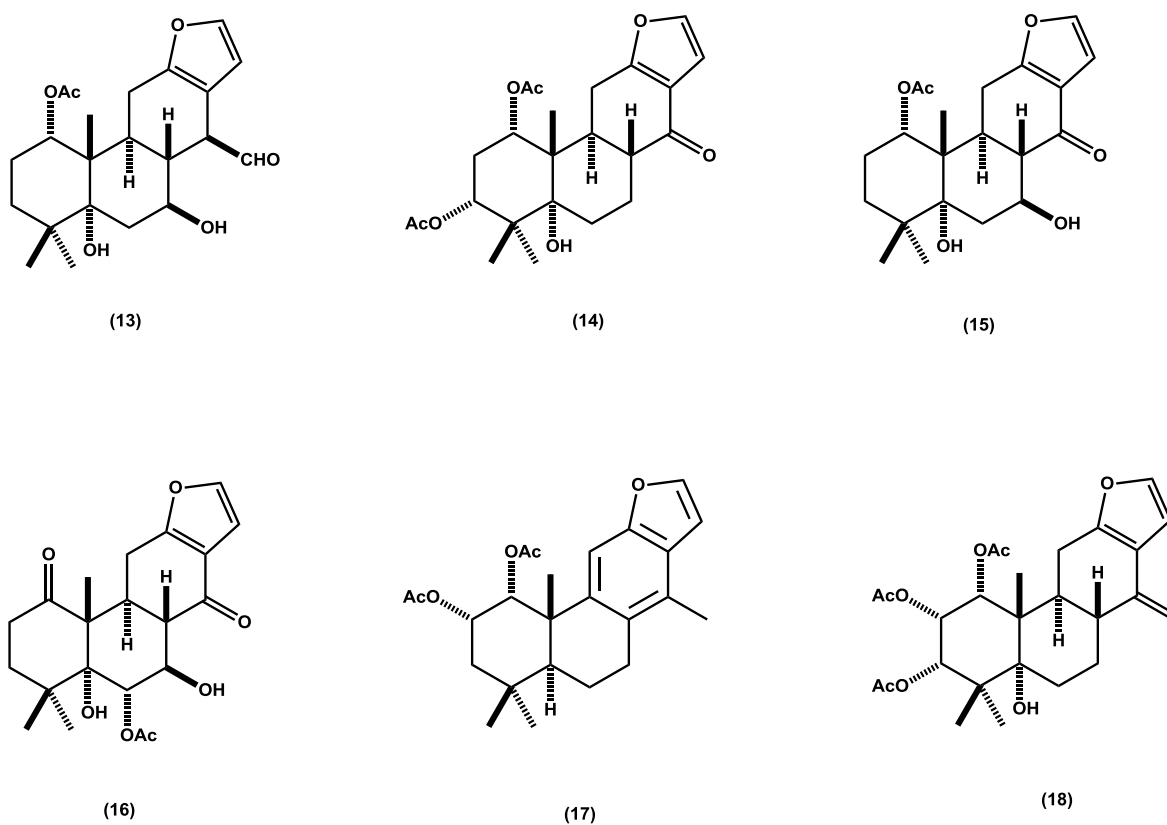


Figura 10. Diterpenofuranos aislados de *C. crista*.

Las semillas de *C. minax* son utilizadas para el tratamiento de influenza, disentería, refriado común, fiebre y reumatismo^{56,57}, en un estudio sobre su actividad antiviral se demostró que los diterpenofuranos **19-22** que se muestran en la figura 11, tienen una actividad significativa contra el virus Parainfluenza tipo 3⁵⁸.

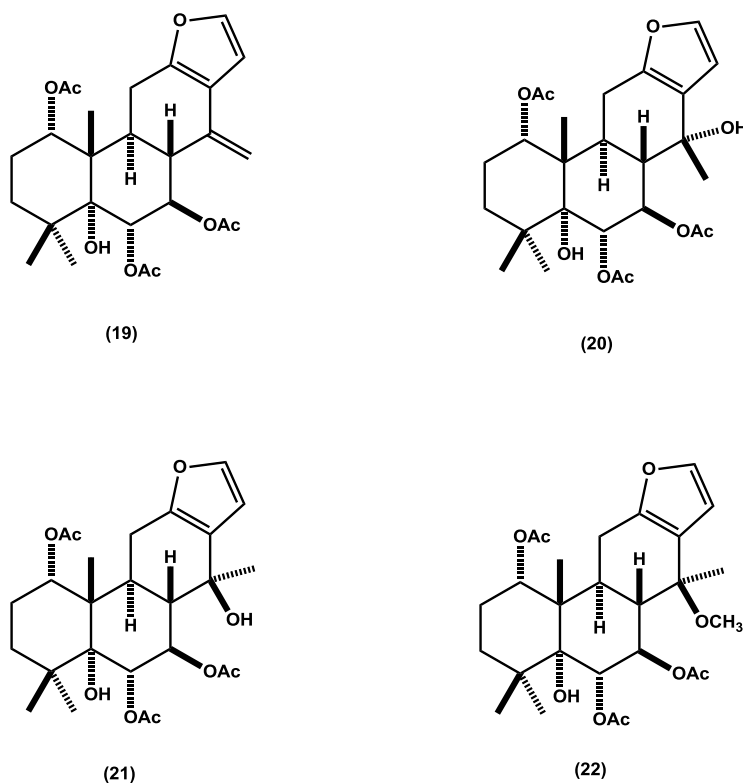


Figura 11. Diterpenofuranos aislados de *C. minax*.

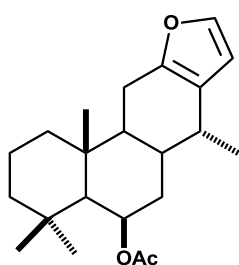
C. coriaria y *C. platyloba* son árboles multiusos nativos de Michoacán, *C. coriaria* tiene varios usos en medicina tradicional, por ejemplo, para tratar la diarrea se usa la cocción de tallos jóvenes, la cocción del fruto se usa en gárgaras para infecciones de garganta, la semilla seca y molida se toma para la fiebre y la cocción de hojas se usa para el dolor de estómago, las raíces han sido utilizadas como desinfectante en casos de gangrena. En Centroamérica es considerado un árbol de importancia comercial debido a que el polvo amarillo que rodea a las

semillas dentro de las vainas es utilizado para curtir el cuero por su alto contenido de taninos (50%)⁵⁹. Por su parte *C. platyloba* es usado como cercas vivas en algunos cultivos para protegerlos de las termitas⁶⁰, sus vainas y hojas se usan para alimento del ganado en época de sequía⁶¹.

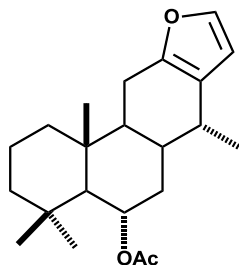


Figura 13. Partes de *C. platyloba*.

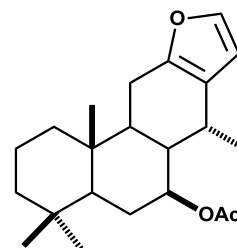
En nuestro grupo de investigación se han reportado los componentes de los aceites esenciales obtenidos por arrastre de vapor de ambas especies los cuales presentaron diversas actividades como antitermita, antialimentario e insecticida⁶². De igual manera se realizó un escrutinio del efecto antifúngico sobre patógenos que causan pudrición de pedúnculo en el fruto de aguacate, encontrando que presentan actividad sobre *Colletotrichum acutatum* y *Phomopsis viticola* agentes causantes de esta pudrición⁶³. Además como ya se mencionó anteriormente del extracto hexánico de hojas de *C. platyloba* y del extracto hexánico de vaina y hojas de *C. coriaria* se aisló el diterpenofurano **1** que presentó actividad citotóxica⁷ y que al realizar la búsqueda de este compuesto en la literatura se encontraron dos compuestos de estructuras similares, el 6 α -acetoxivoucapano (**2**)⁸ y el 7 β -acetoxivoucapano (**23**)⁶⁴, los cuales fueron aislados de *Dipterys lacunifera* y *Pterodon pubescens*, respetivamente (Fig. 13).



6β-acetoxivoucapano (1)



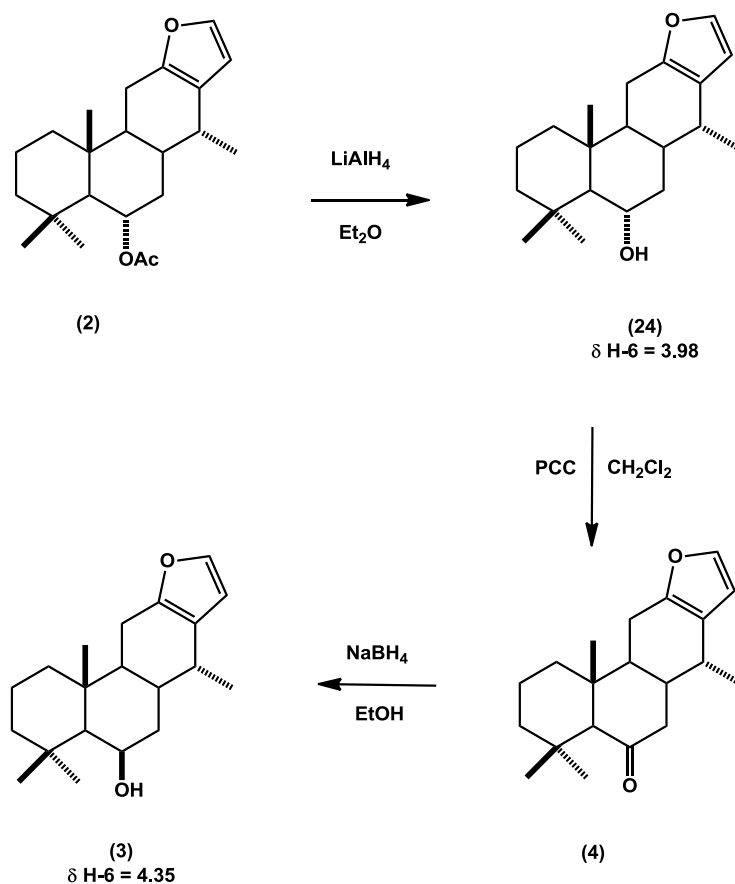
6α-acetoxivoucapano (2)



7β-acetoxivoucapano (23)

Figura 13.- Monoacetoxi-voucapanos.

La estereoquímica del 7β-acetoxivoucapano (**23**) fue establecida por los autores por comparación con la literatura; mientras que para el 6α-acetoxivoucapano (**2**) llevaron a cabo una correlación química mediante una serie de reacciones que se muestran en el esquema 2; en donde compararon los desplazamientos químicos en el espectro de RMN de protón de la señal base de alcohol H-6 del hidroxivoucapano **24** que aparece a 3.98 ppm con la señal de H-6 del hidroxivoucapano **3** en el cual esta señal aparece en 4.35 ppm, este desplazamiento a campo bajo coincide con un hidrógeno orientado en *alfa* por lo tanto para el derivado **3** el grupo hidroxilo se encuentra *beta*, mientras que en **24** el hidrógeno se encuentra *beta* y el grupo hidroxilo se encuentra *alfa*, con lo que indirectamente determinan la estereoquímica del producto natural **2**, dado que el hidroxivoucapano **24** se obtiene de la hidrólisis del acetoxivoucapano **2** manteniéndose la estereoquímica del centro quiral, por lo que establecen que el derivado **2** presenta el grupo acetato orientado en *alfa*.



Esquema 2. Secuencia de la correlación química (Tomado de Mendes y col.)⁸.

Cabe destacar que al comparar los desplazamientos químicos de los espectros de RMN tanto de ^{13}C como de ^1H de **1** y el compuesto **2** presentaron diferencias significativas.

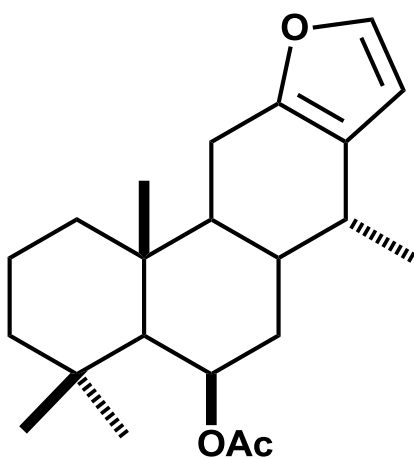
Dado el potencial farmacológico del 6 β -acetoxivoucapano (**1**) y las diferencias en los datos espectroscópicos entre los acetoxivoucapanos encontrados en la literatura, surge la pregunta sobre cuál es la estructura y la configuración absoluta del diterpenfurano **1** y sí se trata de un nuevo compuesto, por lo que, en el presente trabajo se realizó una correlación química empleando la metodología descrita⁸ y se usó la técnica de DCV para poder establecer la configuración absoluta de dicha molécula y de los derivados obtenidos en la correlación química.

3. OBJETIVO GENERAL

Establecer la configuración absoluta del 6 β -acetoxivoucapano (**1**) aislado del género *Caesalpinia*, mediante correlación química y estudios de Dicroísmo Circular Vibracional (DCV).

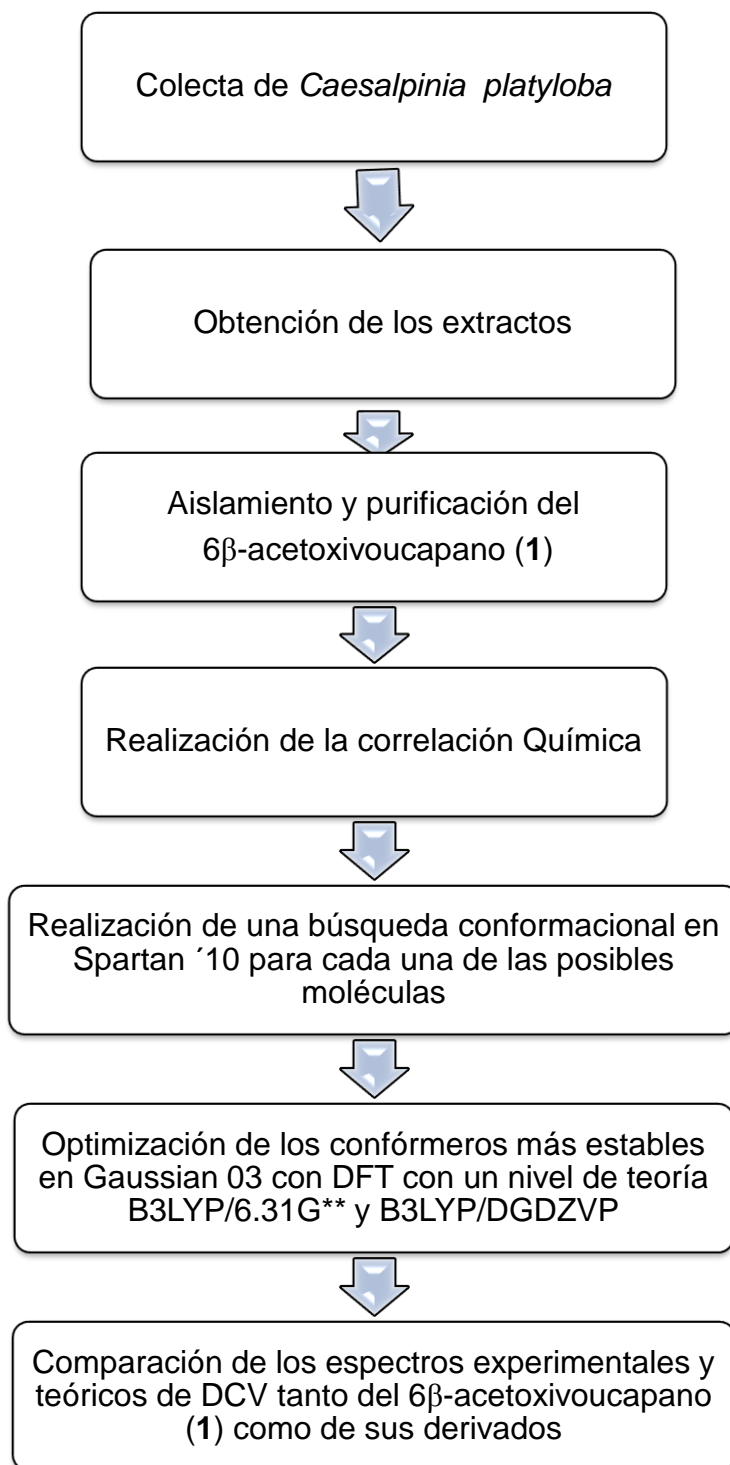
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Aislar y caracterizar el 6 β -acetoxivoucapano (**1**).
- Determinar la Configuración absoluta de **1** mediante correlación química.
- Caracterizar espectroscópicamente los derivados de la correlación química.
- Obtener la configuración absoluta de **1** y de los derivados de la correlación química mediante DCV.
- Obtener al menos un derivado cristalino para su análisis de difracción de rayos X.



6 β -acetoxivoucapano (**1**)

Para cumplir con los objetivos se diseñó la siguiente estrategia experimental:



4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se colectaron hojas de *C. platyloba* por ser la especie vegetal de donde se obtuvo el mejor rendimiento⁷ del 6 β -acetoxivoucapano (**1**), se dejaron secar a la sombra y se pusieron a macerar a temperatura ambiente durante tres días usando como disolvente hexano, posteriormente se concentró en un rotavapor repitiendo ésta etapa tres veces; obteniendo el extracto hexánico. A continuación se realizó la maceración utilizando cloruro de metileno como disolvente, repitiendo el procedimiento anteriormente descrito hasta la obtención del extracto.

Con el fin de aislar el 6 β -acetoxivoucapano (**1**), se realizaron cromatografías sucesivas utilizando como fase móvil mezclas de hexano-cloruro de metileno, iniciando con hexano y aumentando en orden creciente la polaridad, obteniendo el diterpenfurano **1** en las fracciones eluidas a una polaridad 99:1 hasta 95:5 y como fase estacionaria gel de sílice.

En el espectro de RMN de ¹H (Fig. 14) se observan 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 2.60 ppm se observa una señal múltiple correspondiente al H-14 traslapada con una señal doble de dobles con $J = 16.9$ y 7.1 Hz correspondiente a uno de los hidrógenos del metileno CH₂-11, en 2.48 ppm se encuentra otra señal doble de dobles con $J = 16.9$ y 10.0 Hz identificada como el hidrógeno H-11'. En 2.03 ppm se observa una señal simple que integra para 3 hidrógenos característica de grupos metilo de acetilo, en 1.85 ppm se observa una señal doble de triples con constantes de acoplamiento de $J = 14.3$ y 3.5 Hz identificada para uno de los hidrógenos del metileno H-7, el H-7' se observa en 1.53 ppm como una señal múltiple. En 1.20, 1.02 y 0.99 ppm se observaron 3 señales 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.

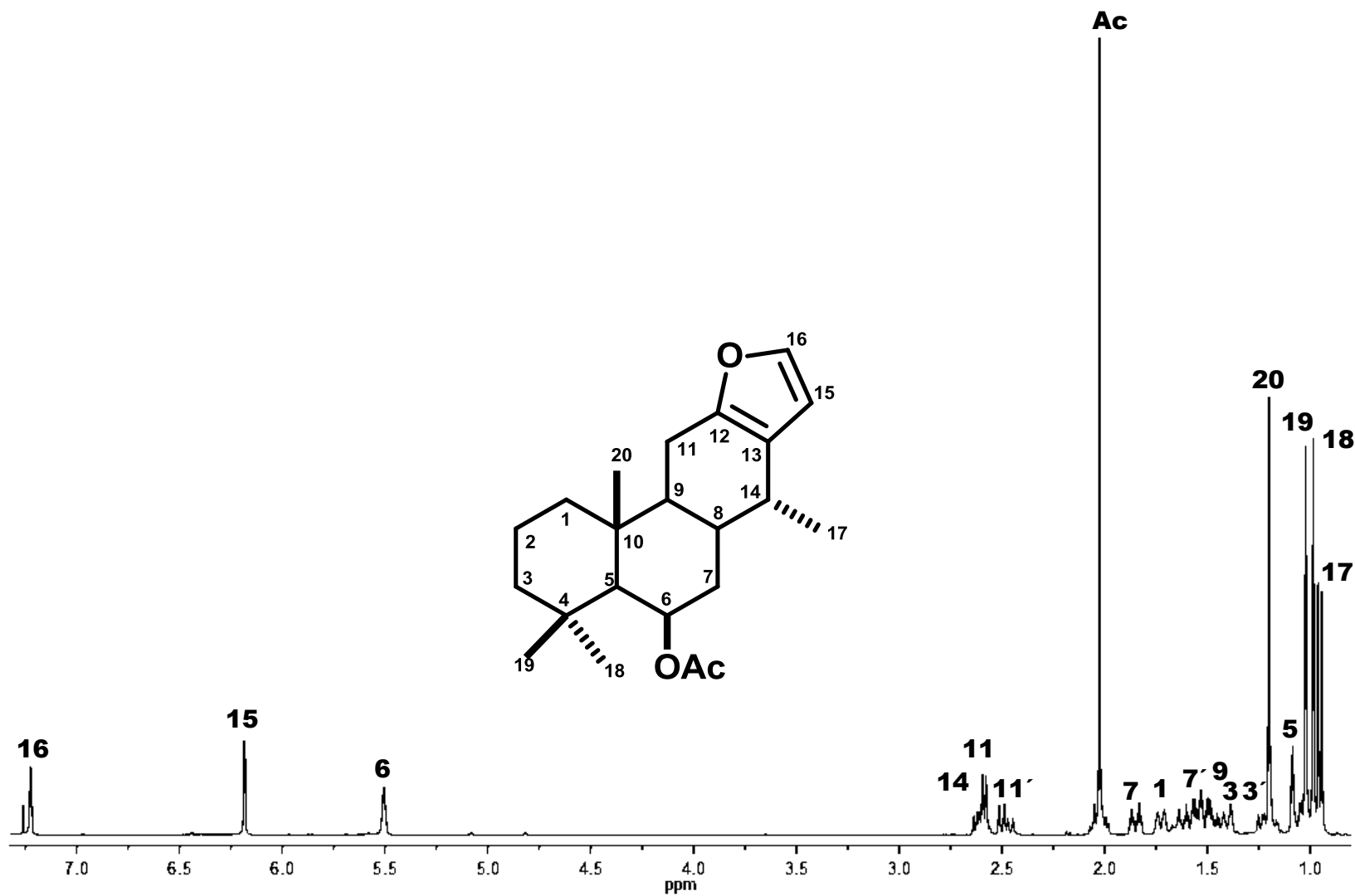


Figura 14. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del 6β-acetoxivoucapano (1) en CDCl₃.

En el espectro de RMN de ^{13}C (figura 15) se observan 21 señales que indican la presencia de un diterpeno; se observa una señal en 170.6 ppm correspondiente al carbonilo del éster. Las señales ubicadas en 149.6, 140.4, 122.0 y 109.4 ppm son propias de un anillo de furano. En 69.6 ppm se observa una señal de un carbono base de éster. En 55.4 ppm se observa la señal correspondiente al carbono C-5 cuyo desplazamiento es típico de esqueletos de diterpenos. En la tabla 1 se presenta la comparación de los desplazamientos químicos de los espectros de RMN de ^{13}C entre **1** con los reportados para el acetoxivoucapano **2**⁸. Es preciso aclarar que el espectro de la literatura fue adquirido en CDCl_3 a 15 MHz. Se observan diferencias significativas en los carbonos 1, 5, 6, 8, 14, 18 y 20.

Tabla 1. RMN de ^{13}C del 6 β -acetoxivoucapano (**1**) y el 6 α -acetoxivoucapano (**2**).

No. de C	1 Exp	2 Lit ⁸
1	42.2	39.7
2	18.7	18.4
3	43.9	43.6
4	33.8	33.1
5	55.4	57.5
6	69.6	72.6
7	36.3	37.4
8	31.0	36.6
9	45.6	44.7
10	37.9	38.8
11	21.8	22.6
12	149.6	149.2
13	122.0	122.2
14	31.0	35.0
15	109.4	109.4
16	140.4	140.6
17	17.6	17.3
18	33.7	30.9
19	23.5	22.5
20	17.2	15.3
MeCO	170.6	170.2
MeCO	21.7	21.9

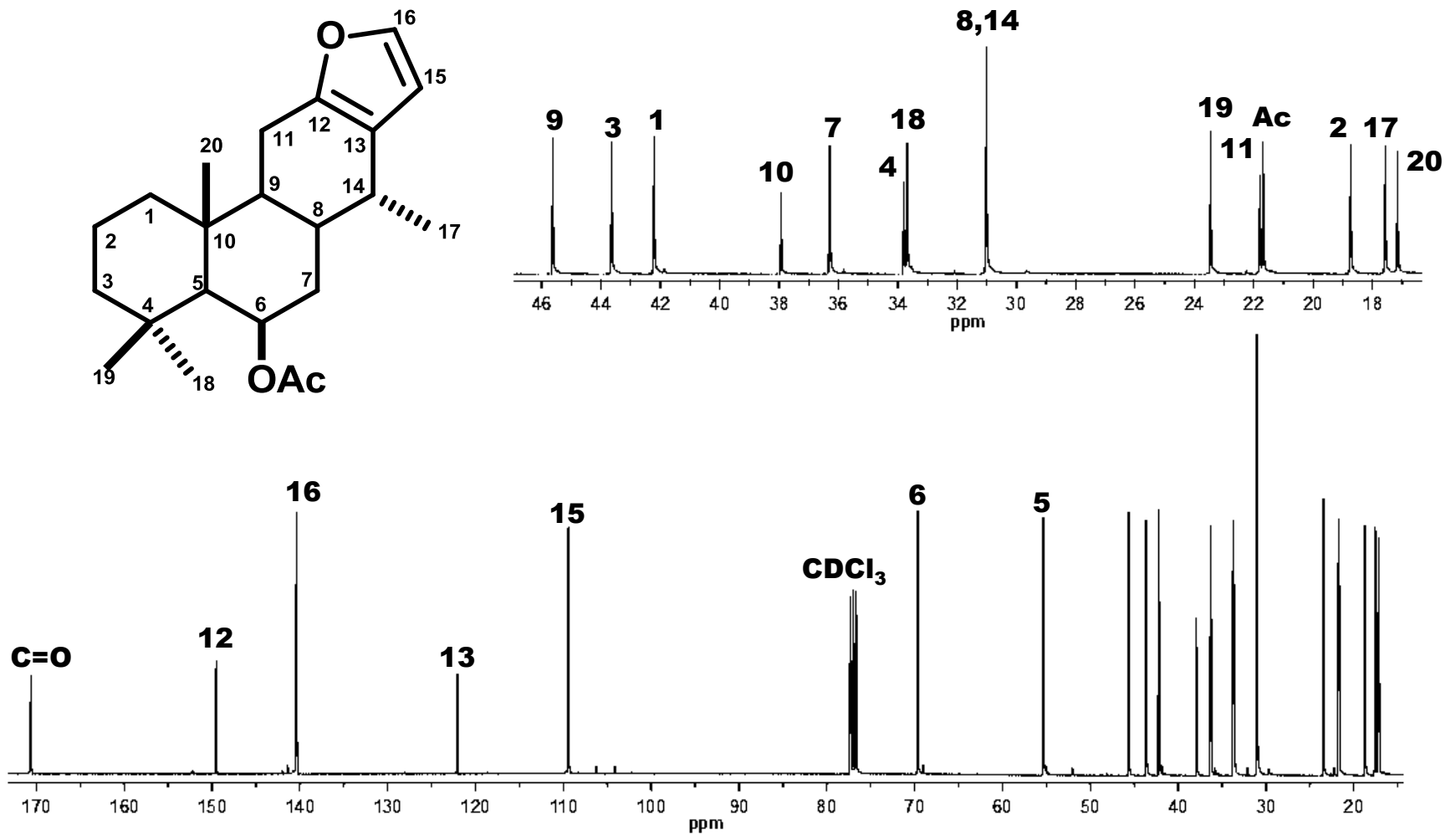


Figura 15. Espectro de RMN de ¹³C a 100 MHz del 6β-acetoxivoucapano (1) en CDCl₃.

Para confirmar la asignación del espectro de RMN de protón se llevó a cabo el experimento COSY (Fig. 16). Se puede observar que el hidrógeno base de éster correlaciona con las señales en 1.85 y 1.53 ppm correspondientes a los hidrógenos del metileno CH₂-7, así como con una señal en 1.09 ppm del H-5, lo que indica que el éster se encuentra en la posición 6. También se puede observar la correlación entre el metilo secundario CH₃- 17 y su vecino el hidrógeno H-14.

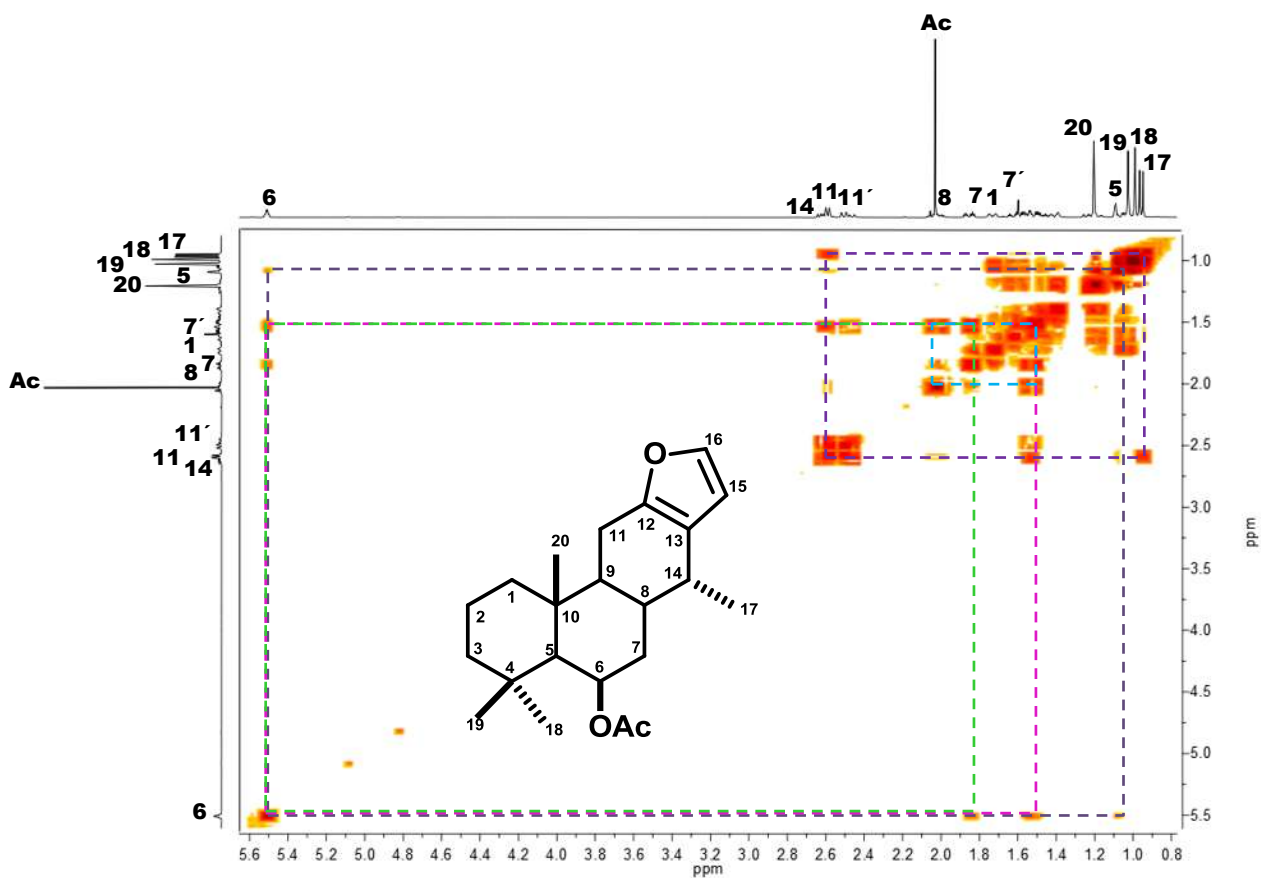


Figura 16. Expansión del espectro COSY del 6β-acetoxivoucapano (1).

La expansión del espectro HETCOR (Fig. 17) fue de gran utilidad pues permitió corroborar la ubicación de la señal del hidrógeno H-5, dado que se conocía el desplazamiento del C-5 en 55.4 ppm y se puede observar que correlaciona con la señal en 1.09 ppm, así como la asignación de los hidrógenos del metileno CH₂-7 cuya señal en 36.3 ppm correlaciona con la señal doble de triples en 1.85 y una señal múltiple en 1.55 ppm, de sus respectivos hidrógenos. Además, se puede confirmar la sobreposición de los metinos CH-14 y CH-8 ya que se observa que la señal que se encuentra en 31.0 ppm presenta una correlación con 2 señales en la escala de hidrógeno, una con una señal múltiple en 2.60 ppm identificada como H-14 y otra con una señal múltiple en 2.03 ppm correspondiente a H-8, la señal en 21.7 ppm correlaciona con la señal simple en 2.03 ppm característica del metilo de acetato. De igual manera, se logró asignar la posición de los hidrógenos de los metilenos y metilos presentes en la molécula.

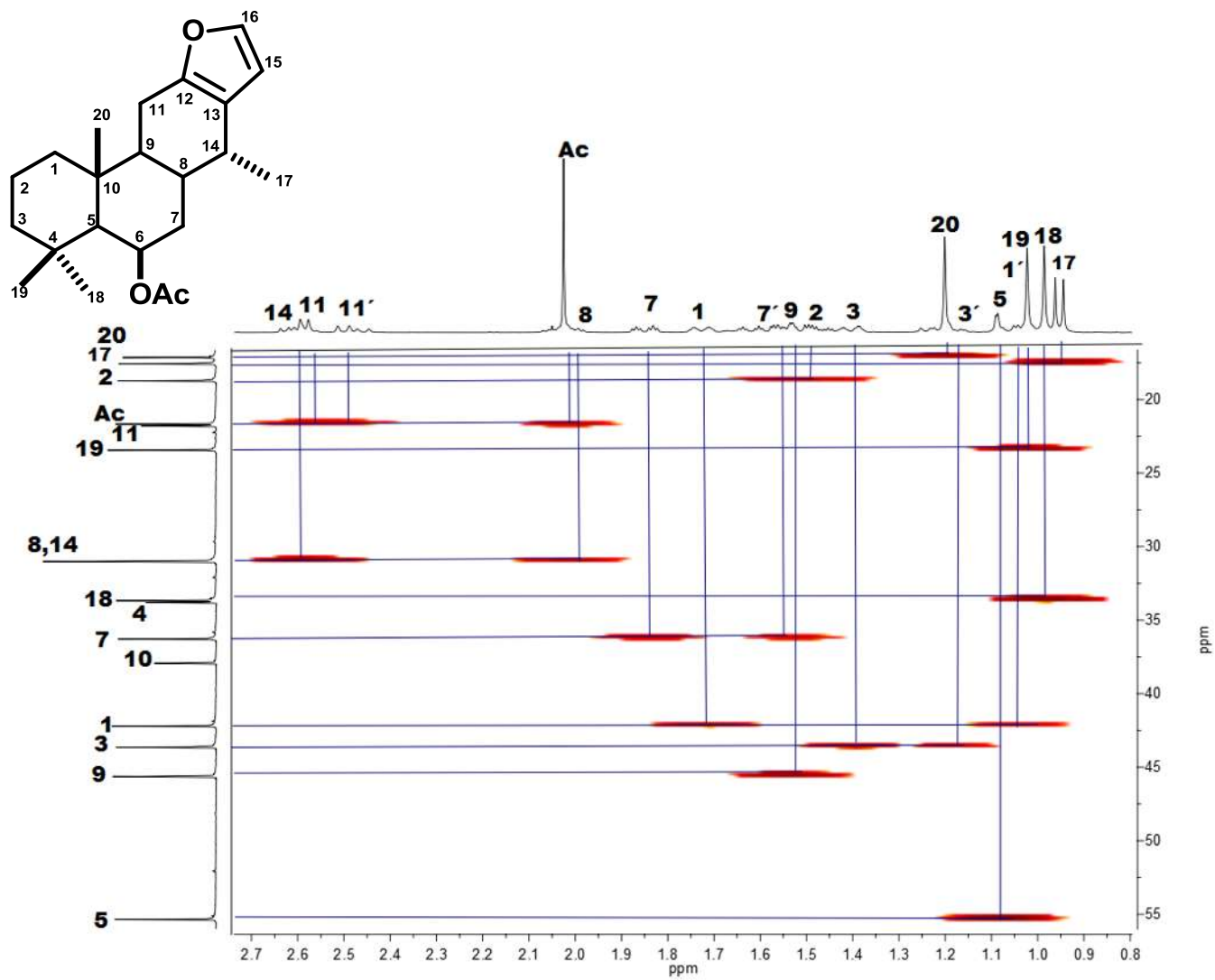
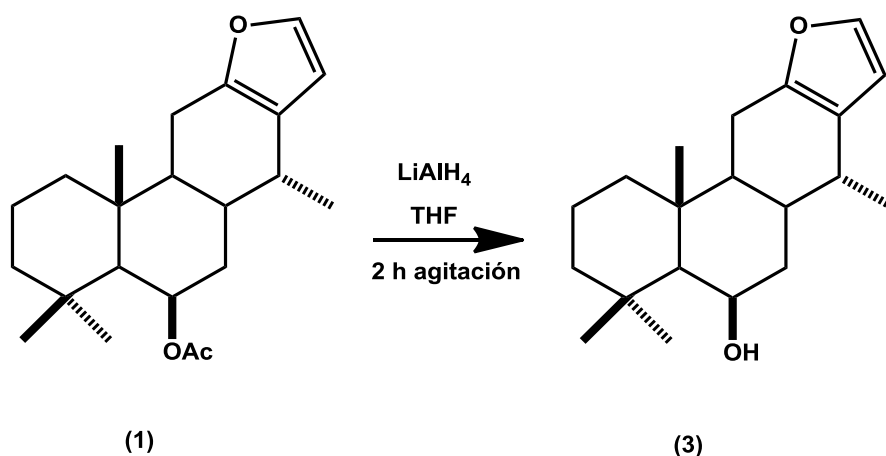


Figura 17. Expansión del espectro HETCOR del 6 β -acetoxivoucapano (1).

Cabe destacar que **1** y **2** también presentaron diferentes valores en la rotación específica, mientras que para **1** fue de $[\alpha]_D^{20} = -18.3$ (*c* 3.8, CHCl₃), Mendes y col. reportan una rotación específica para el 6 α -acetoxivoucapano (**2**) de $[\alpha]_D^{20} = +44.5$ (*c* 17.1, CHCl₃), este dato sustenta que **1** y **2** son moléculas distintas.

Una vez aislado y caracterizado el 6 β -acetoxivoucapano (**1**) se procedió a iniciar la correlación química, para lo cual se llevó a cabo la hidrólisis de **1** usando las condiciones de reacción reportadas⁸, con hidruro de litio y aluminio (LiAlH₄) en THF, mediante agitación a temperatura ambiente y condiciones anhidras. (Esquema 3), el crudo de reacción se purificó en columna cromatográfica, encontrándose en las fracciones 10-12 eluidas con hexano una miel transparente que presentó el espectro de hidrógeno que se muestra en la figura 18, en el cual se puede observar que la señal del hidrógeno 6 que era el base de acetato en **1** se desplazó de 5.51 a 4.48 ppm región característica de hidrógenos base de alcohol además de la ausencia de la señal en 2.01 ppm del metilo del acetato, ahora se observa bien definida la señal correspondiente al H-8 como una dddd con *J* = 12.5, 12.5, 4.7 y 4.7 Hz, la señal del H-5 se desplaza a campo alto en 0.98 ppm, así mismo los metilos 20, 19 y 18 presentaron un ligero desplazamiento a campo bajo. Estos cambios en el espectro de RMN-¹H indican la formación del 6 β -hidroxivoucapano (**3**).



Esquema 3. Reacción de hidrólisis del 6 β -acetoxivoucapano (**1**).

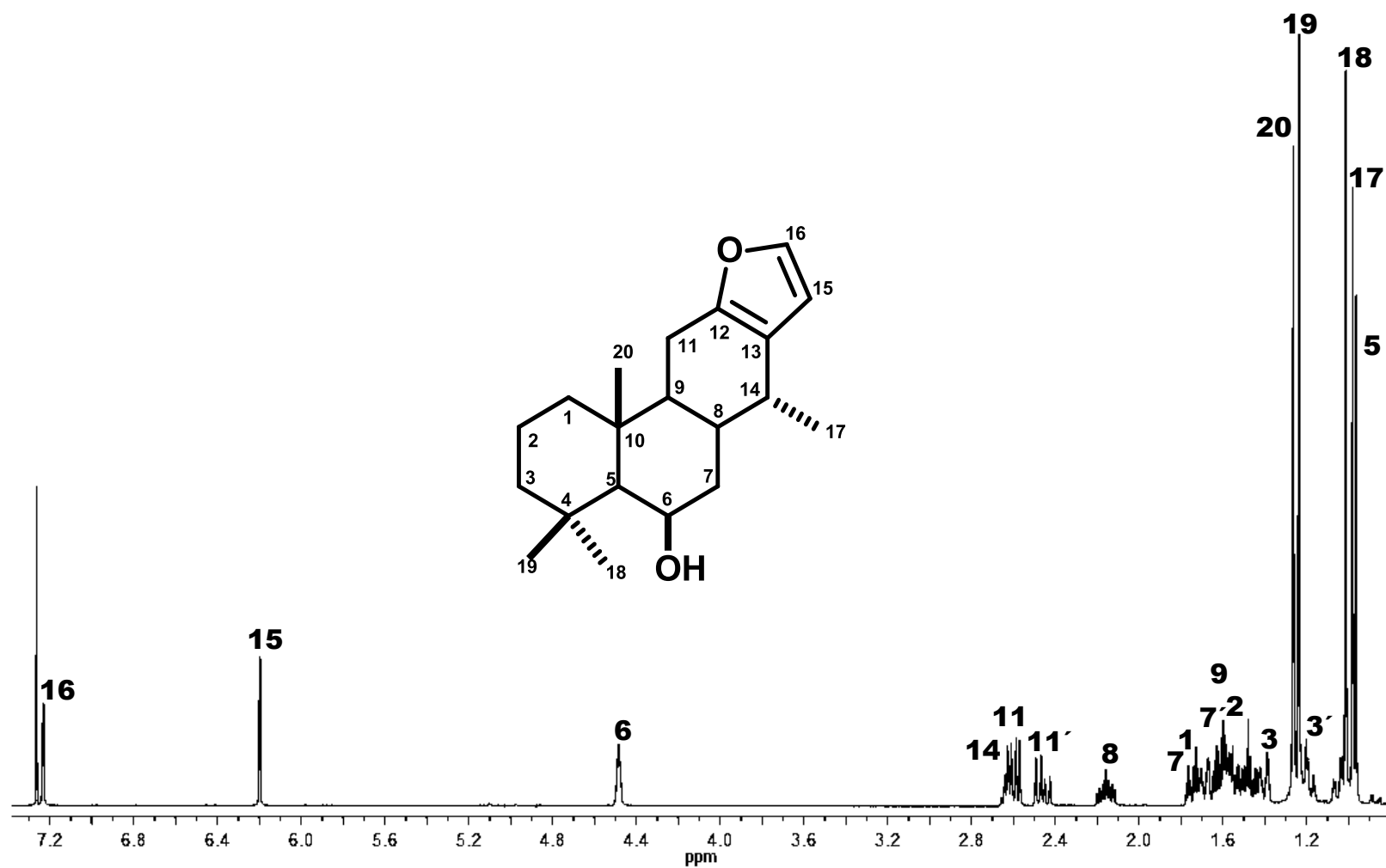


Figura 18. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del 6β-hidroxivoucapano (3) en CDCl₃.

En el espectro de RMN de ^{13}C (Fig. 19) se observan 19 señales de las 20 esperadas para el hidroxivoucapano **3**, lo que indica que dos señales se encuentran sobrepuestas. Se observa el desplazamiento a campo alto del carbono C-6 a 67.7 ppm que corresponde ahora a base de alcohol, el C-5 por su parte presenta un ligero desplazamiento a campo bajo a 56.3 ppm. Otro cambio significativo lo presenta el C-7 que se observa a 42.3 ppm, como se puede apreciar aquellos carbonos vecinos al C-6 en donde se realizó la modificación química, son los que presentan cambios en sus desplazamientos químicos.

En el experimento COSY se observan las correlaciones del hidrógeno base de hidroxilo H-6 que se encuentra en 4.48 ppm correlacionando con una señal en 0.98 ppm correspondiente al H-5 y adicionalmente con las señales múltiples de los hidrógenos del metileno H-7 en 1.75 ppm y 1.58 ppm, a su vez estos últimos correlacionan con una señal dddd en 2.15 ppm identificada como el hidrógeno H-8, el cual correlaciona con una señal múltiple en 2.63 ppm identificada como H-14, y con otra señal múltiple en 1.60 ppm identificada como el hidrógeno H-9, esta última señal correlaciona además con una señal doble de dobles con $J = 16.9$ y 7.1 Hz en 2.59 ppm identificada como H-11 así como con la señal doble de dobles con $J = 16.9$ y 10.0 Hz en 2.46 ppm correspondiente al otro hidrógeno H-11'. La señal del H-14 también correlaciona con una señal doble en 0.96 ppm identificada como el metilo CH_3 -17.

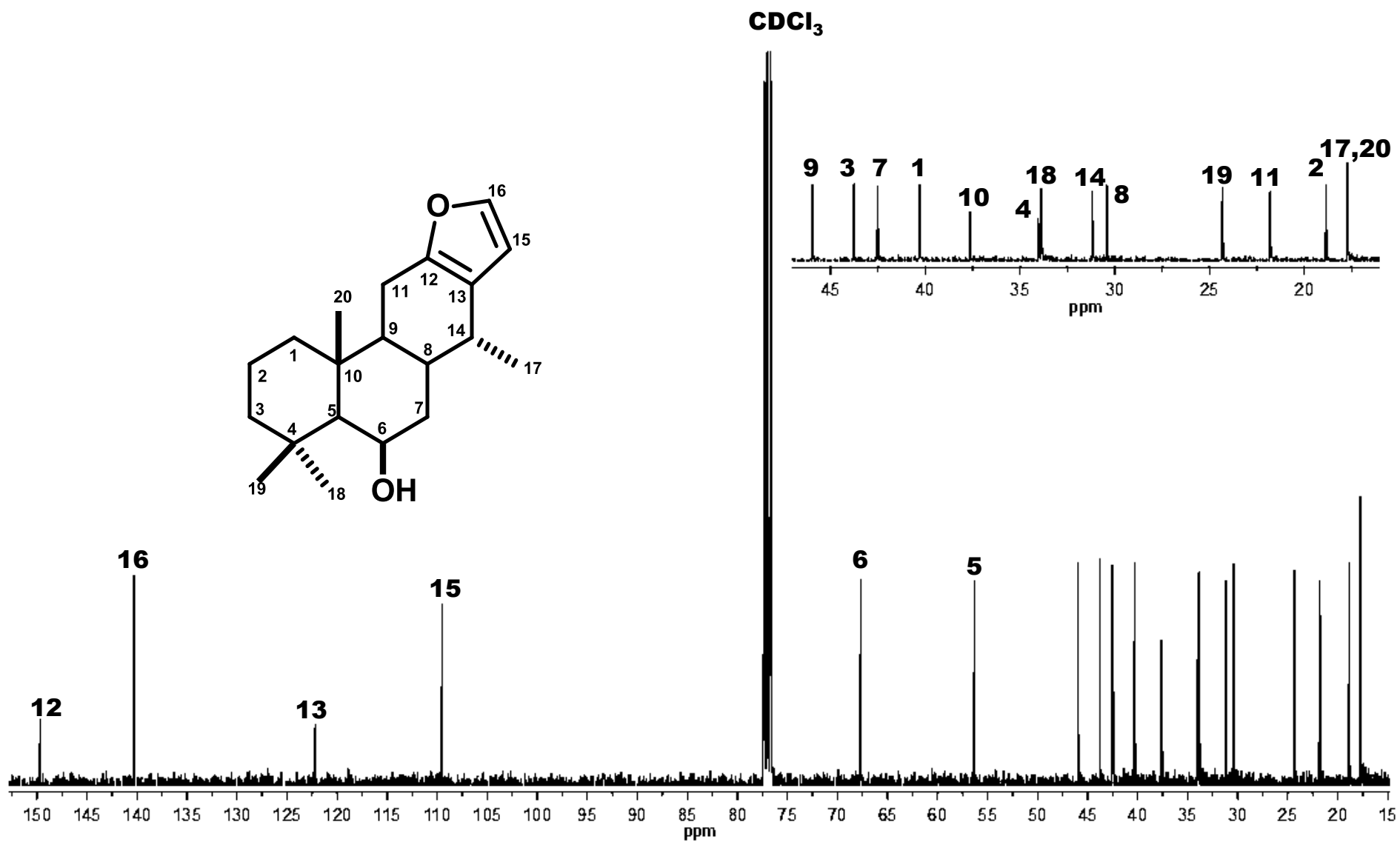


Figura 19. Espectro de RMN de ¹³C a 100 MHz del 6β-hidroxivoucapano (**3**) en CDCl₃.

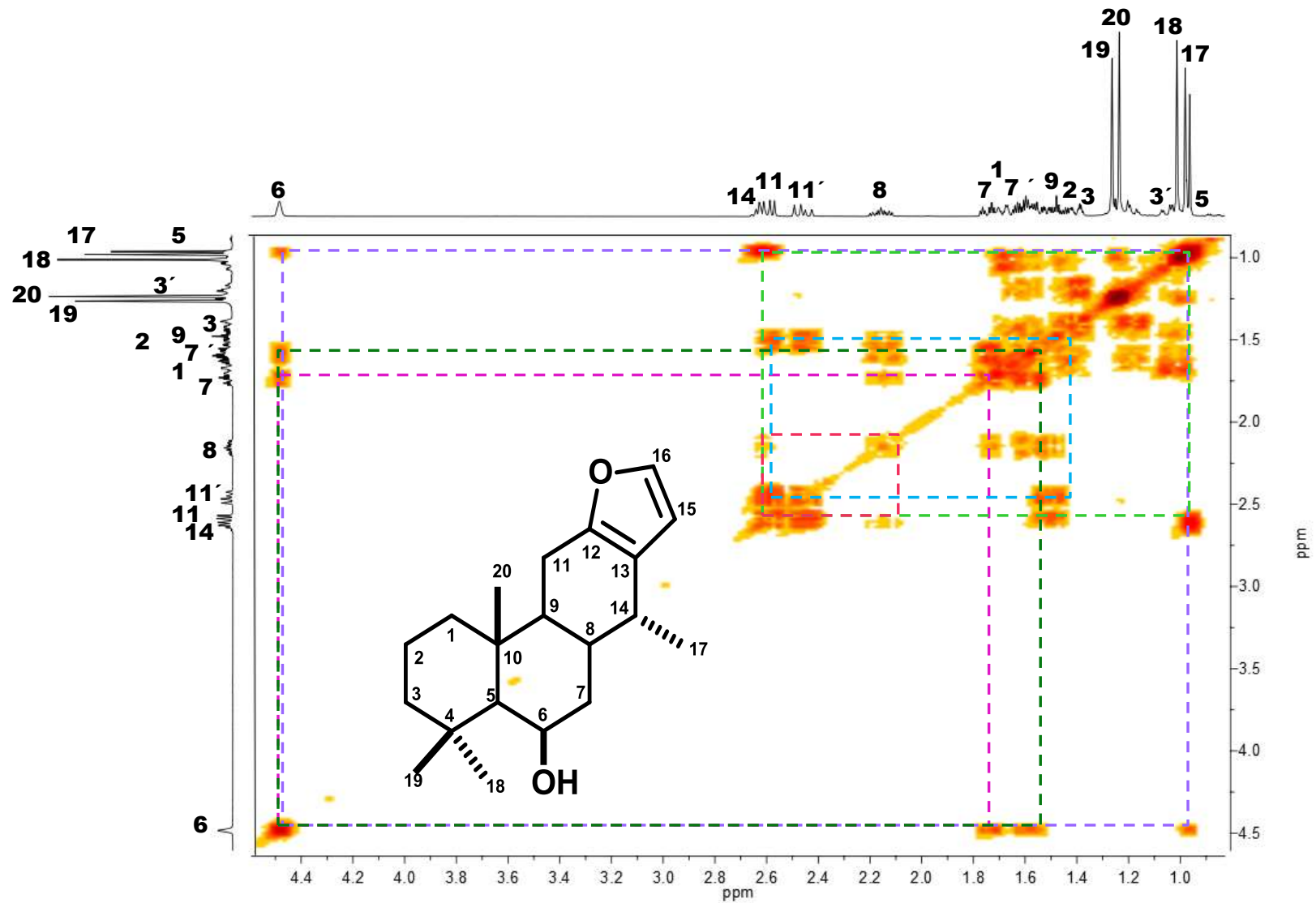


Figura 20. Expansión del espectro COSY del 6β-hidroxivoucapano (3).

Al comparar los desplazamientos químicos de RMN de ^{13}C del 6 β -hidroxivoucapano (**3**) obtenido experimentalmente de la hidrólisis del 6 β -acetoxivoucapano (**1**) con los reportados en la literatura del 6 α -hidroxivoucapano (**24**) y 6 β -hidroxivoucapano (**3**)⁸ esperaríamos que fuera idéntico con alguno de ellos. Se observa que nuestro derivado concuerda más con el 6 β -hidroxivoucapano (**3**) sobre todo en los desplazamientos de los carbonos C-6 y C-5, aunque se observan algunas diferencias entre ellos, no obstante, se debe tomar en cuenta que en la literatura⁸ determinaron sus espectros de RMN de ^{13}C a 15 MHz en CDCl_3 , lo que probablemente derivó en errores de asignación, por lo que en la tabla 2 se presenta una columna de los desplazamientos de ^{13}C con las asignaciones corregidas de **3** de la literatura, en la que se puede ver que el desplazamiento que asignan a CH_3 -20 de 24.2 ppm realmente corresponde al metilo CH_3 -19 que experimentalmente se encuentra en 24.3 ppm, y que el desplazamiento que le asignan a C-19 de 30.6 ppm corresponde con el desplazamiento experimental de CH-8 en 30.4 ppm, mientras que el valor que le asignaron a C-8 de 37.7 ppm concuerda con el desplazamiento del C-10 experimental. Puede observarse que ellos reportan 18 señales pues presentan dos sobreposiciones entre C-10 y C-1 y otra entre C-14 y C-18, en base a nuestros resultados podemos sugerir que Mendes y col.⁸ presentan realmente una sobreposición en C-4 y C-18 ya que en nuestro espectro experimental a 100 MHz estas señales aparecen en 34.1 y 33.9 ppm y la otra señal sobrepuesta realmente es la correspondiente a los metilos CH_3 -17 y CH_3 -20. Al realizar estas correcciones se observa que **3** experimental y **3** de la literatura corresponden a la misma molécula.

Tabla 2. Comparación de δ de RMN- ^{13}C de hidroxivoucapanos de la literatura y experimental.

No. de C	24 α -OH Lit.	3 β -OH Lit.	3 β -OH Exp.	3 Lit. Corregido
1	39.9	40.5	40.3	40.5
2	18.5	18.9	18.8	18.9
3	43.8	43.9	43.8	43.9
4	33.5	33.8	34.1	33.8
5	60.2	56.5	56.3	56.5
6	70.2	67.6	67.6	67.6
7	42.4	42.5	42.5	42.5
8	35.5	37.7	30.4	30.6
9	44.7	46.2	46.0	46.2
10	38.7	40.5	37.7	37.7
11	22.5	21.8	21.8	21.8
12	149.2	149.6	149.7	149.6
13	122.3	122.1	122.2	122.1
14	31.1	31.3	31.2	31.3
15	109.5	109.3	109.5	109.3
16	140.5	140.2	140.3	140.2
17	17.3	17.6	17.7	17.6
18	37.1	31.3	33.9	33.8
19	22.7	30.6	24.3	24.2
20	15.5	24.2	17.7	17.6

El experimento DEPT fue de gran utilidad para la asignación inequívoca del espectro de RMN de ^{13}C . Así, se asignaron las señales que corresponden a los carbonos cuaternarios C-12, C-13, C-10 y C-4, como las señales que corresponden a los 7 metinos de la molécula, las 5 señales correspondientes a los metilenos y se corrobora que para los metilos solo se observan tres señales por lo que se confirma la existencia del traslape de dos metilos, ya que deberían observarse cuatro señales.

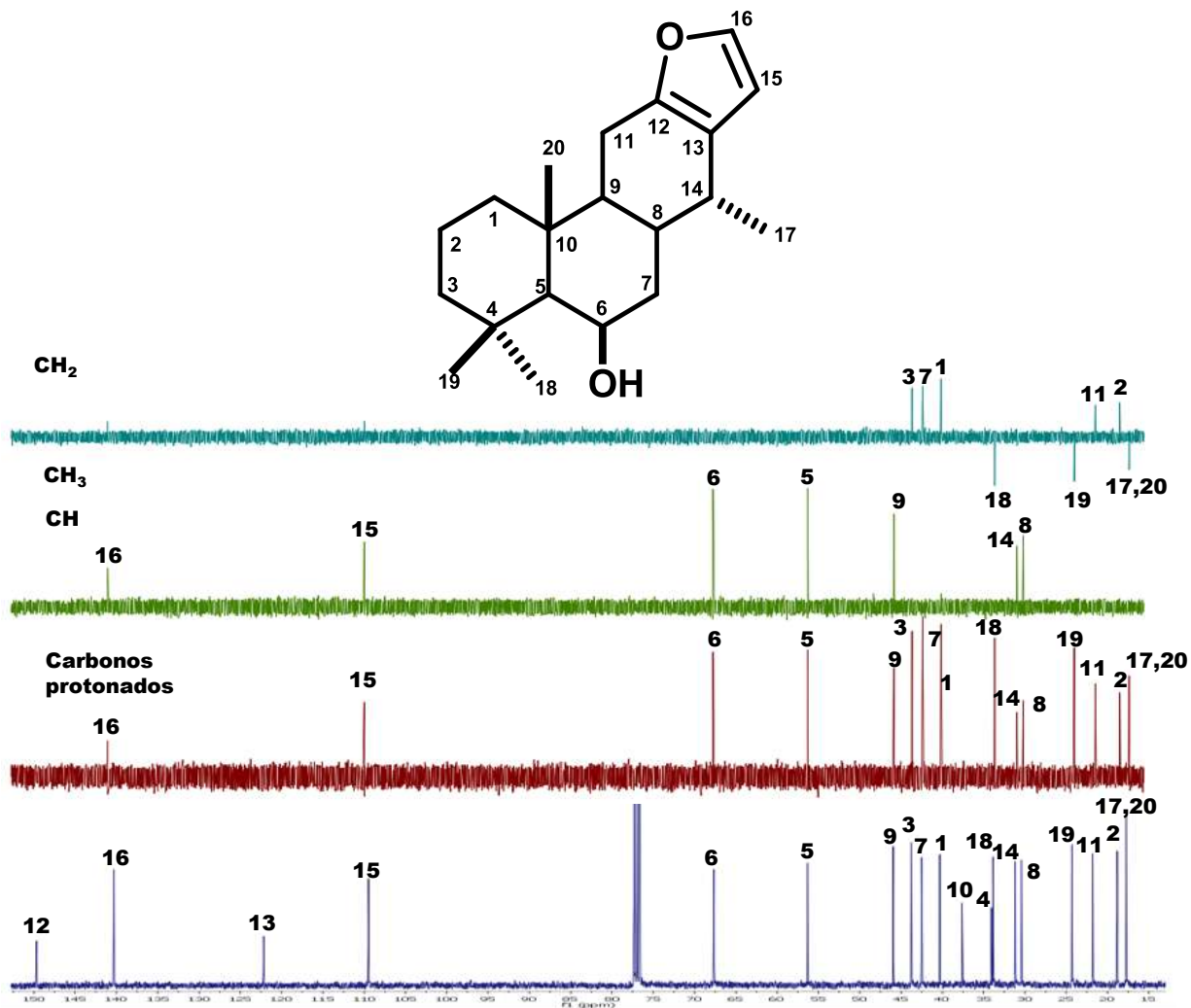


Figura 21. Experimento DEPT del 6β-hidroxivoucapano (3).

Con el experimento HETCOR (Fig. 22) además de asignar los metinos y metilenos de la molécula se logró confirmar que la señal que se encuentra en 17.7 ppm en la escala de carbono-13 correlaciona con dos señales en la escala de hidrógeno una en 1.24 ppm correspondiente al CH₃-20 y otra en 0.96 ppm del CH₃-17 con lo que nuevamente se corrobora que estos dos metilos se encuentran traslapados en el espectro de ¹³C.

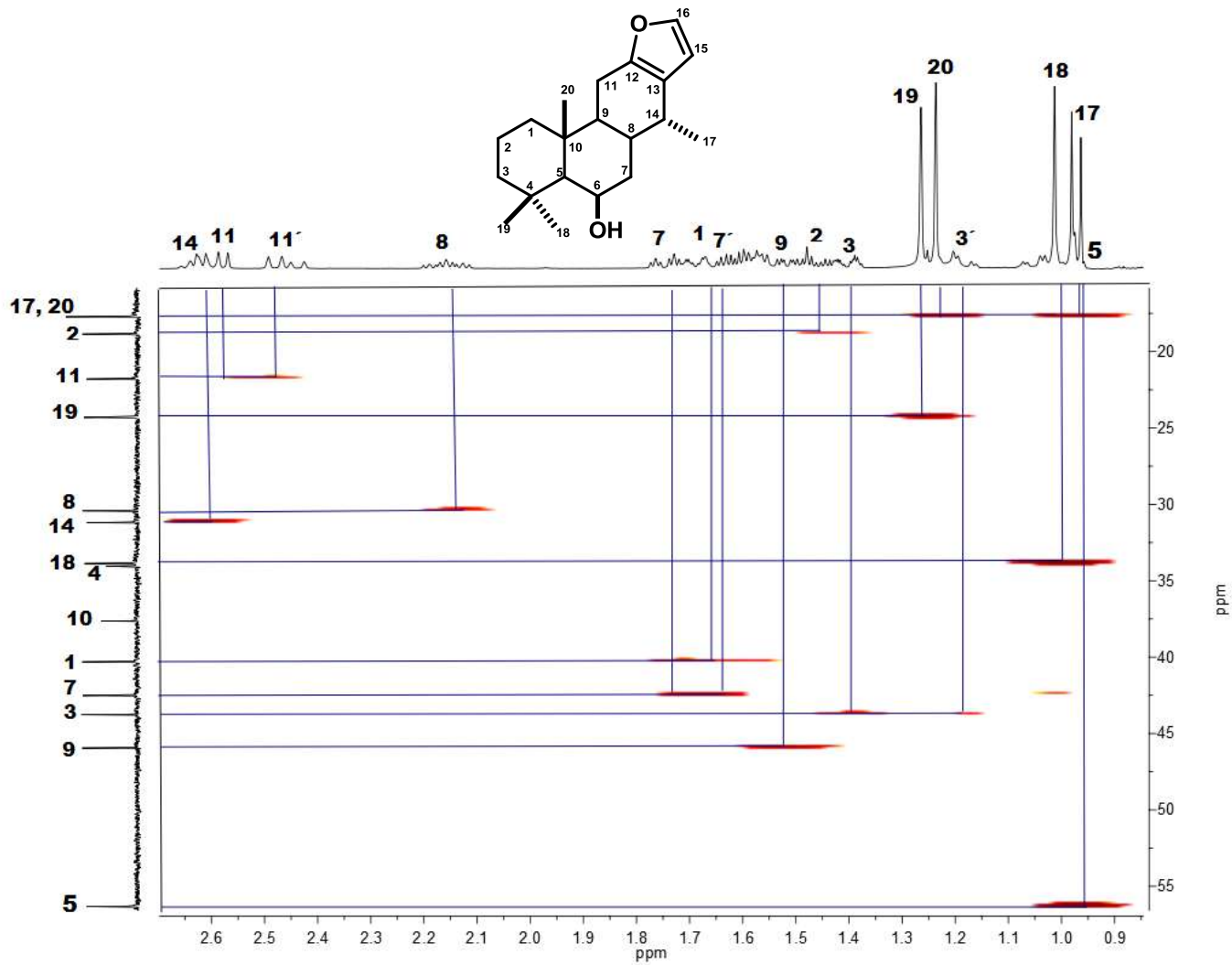
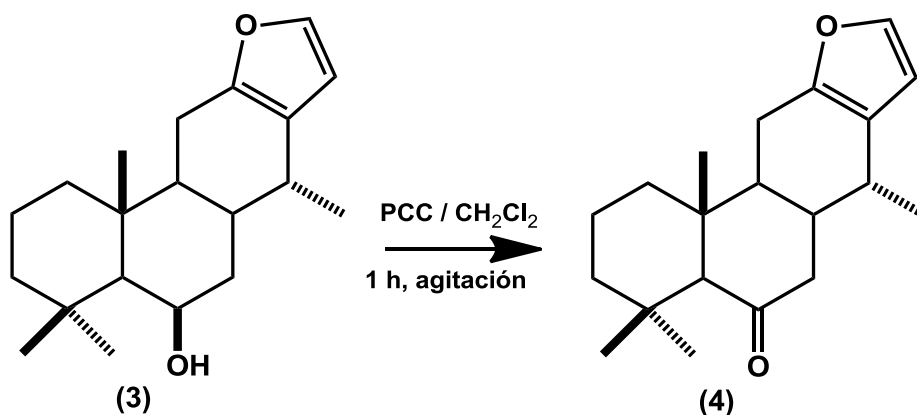


Figura 22. Expansión del espectro HETCOR del 6β-hidroxivoucapano (3) en CDCl₃

La rotación específica obtenida para el 6 β -hidroxivoucapano (**3**) fue de $[\alpha]_D^{20} = -8.4$ (*c* 0.75, CHCl₃), mientras que para el 6 α -hidroxivoucapano (**24**) lo reportan de $[\alpha]_D^{20} = +102.0$ (*c* 1.3, CHCl₃), en la literatura no se describe la rotación específica del 6 β -hidroxivoucapano que obtienen de la reducción de la cetona⁸.

Continuando con la correlación química se procedió a realizar la oxidación del 6 β -hidroxivoucapano (**3**) para la obtención del 6-oxovoucapano (**4**) (Esquema 4), cabe destacar que en éste punto ambas correlaciones deben coincidir al perderse el centro estereogénico del carbono 6, por lo que se espera que los datos espectroscópicos experimentales sean iguales con los reportados⁸. La oxidación se llevó a cabo con clorocromato de piridinio (PCC) en cloruro de metileno en agitación a temperatura ambiente, el crudo de reacción se purificó por medio de una columna cromatográfica, encontrándose en las fracciones 28-32 eluidas con hexano una miel ligeramente amarilla cuyo espectro de RMN de hidrógeno se observa en la figura 23 y en el cual además de las señales típicas de los hidrógenos del furano resalta la ausencia del hidrógeno base de alcohol que se encontraba en 4.48 ppm para el derivado **3** y el desplazamiento a 2.14 ppm del hidrógeno H-5 que aparecía en 0.98 ppm y que ahora se encuentra en posición α al carbonilo formado, así como a los hidrógenos del metileno CH₂-7 que ahora aparecen como señales múltiples en 2.38 y 2.24 ppm, mientras que el metilo CH₃-17 se desplazó a 1.06 ppm, los metilos CH₃-18 y CH₃-20 ahora aparecen en 0.99 y 0.87 ppm respectivamente,



Esquema 4. Reacción de oxidación del 6 β -hidroxivoucapano (**3**).

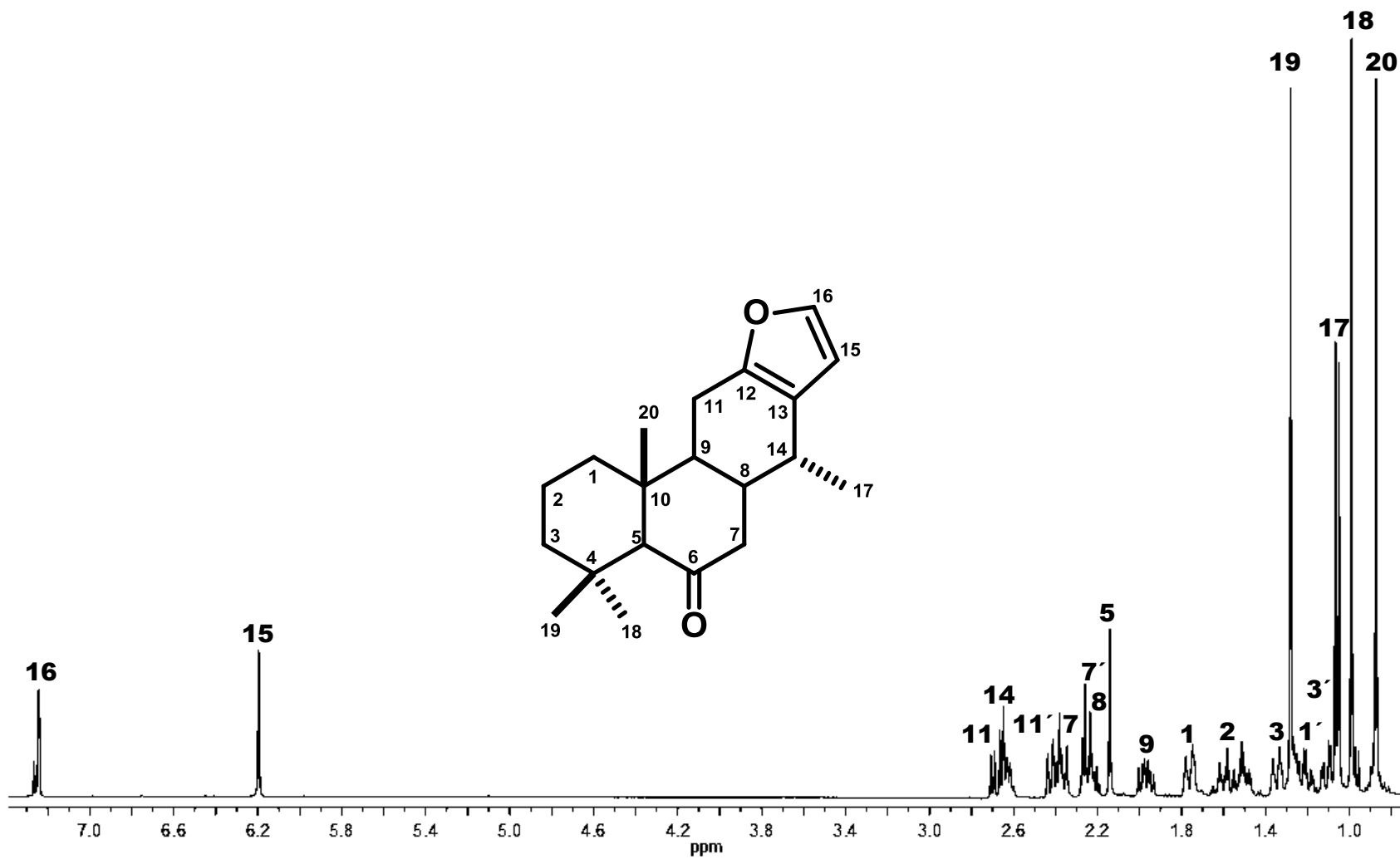


Figura 23. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del 6-oxovoucapano (4) en CDCl_3 .

En el espectro de RMN de ^{13}C (Fig. 24) se observan las 20 señales esperadas para el 6-oxovoucapano (**4**), una señal en 211.9 ppm correspondiente al carbono C-6 carbonilo de la cetona, en 148.8, 140.8, 121.9 y 109.4 ppm se observan las señales típicas de los carbonos del furano, el carbono C-5 se desplazó a campo bajo casi 9 ppm al pasar de 56.3 a 65.1 ppm, otro carbono que presenta un cambio significativo es C-7 que de 42.3 ppm se desplaza a 46.8 ppm, ambos carbonos ahora se encuentran en posición α al carbonilo. El carbono C-10 también presenta un cambio significativo y ahora aparece en 41.8 ppm al igual que el C-8 que se observa en 38.4 ppm. Los metilos C-18, C-19 y C-17 aparecen en 32.8, 21.9 y 17.3 ppm respectivamente, mientras que el metilo C-20 se desplaza hasta 14.9 ppm. Las señales correspondientes al esqueleto carbonado fueron asignadas con la ayuda del experimento DEPT, HETCOR y gHSQC y gHMBC.

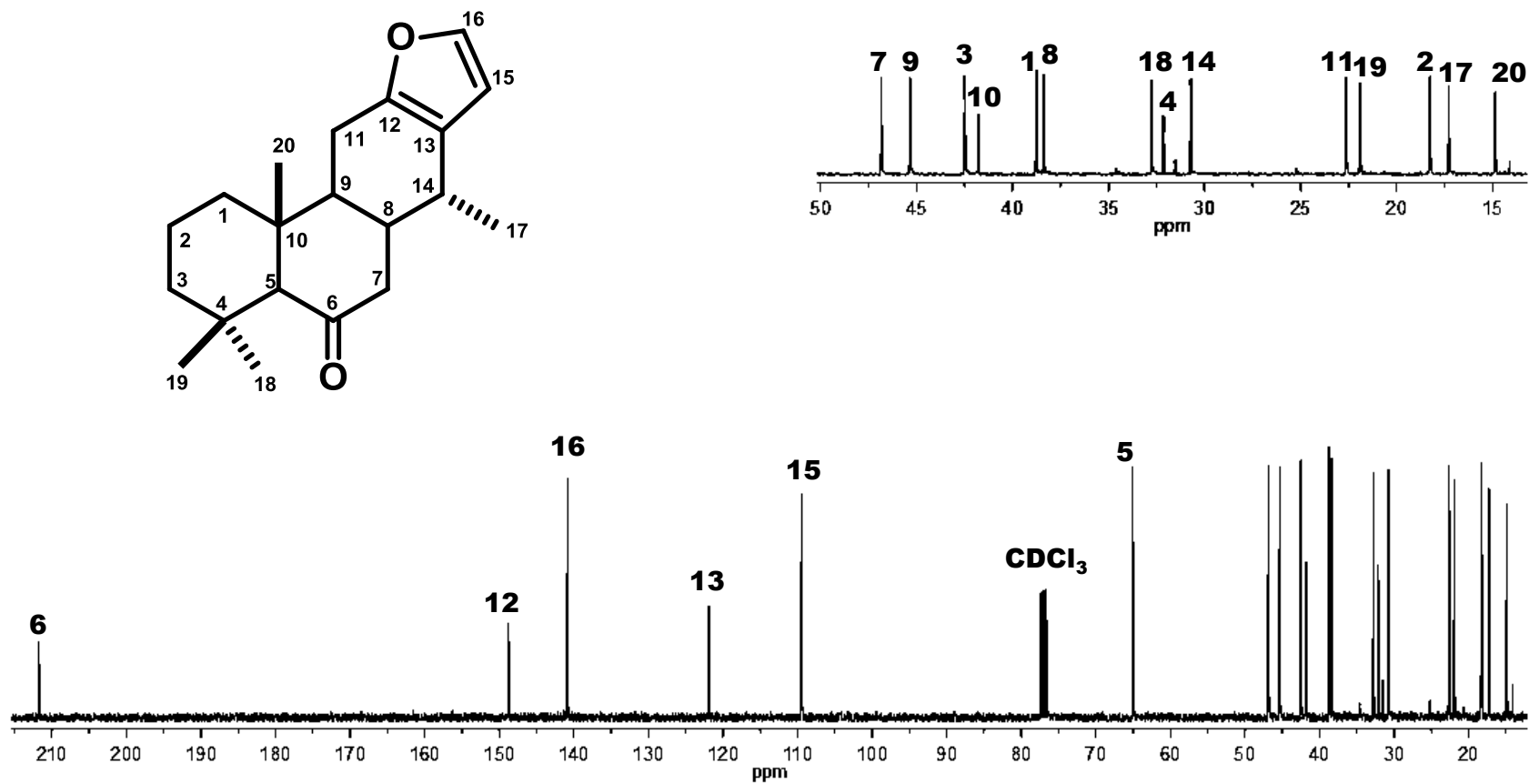


Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del 6-oxovoucapano (4) en CDCl_3 .

Al comparar los desplazamientos químicos de RMN de ^{13}C experimentales de **4** con los reportados en la literatura⁸ la única diferencia significativa la presentan los carbonos 14 ($32.9 \delta_{\text{lit.}}$, $30.7 \delta_{\text{exp.}}$) y 18 ($31.1 \delta_{\text{lit.}}$, $32.8 \delta_{\text{exp.}}$), sin embargo, estas señales pueden estar intercambiadas, ya que si se invierten los desplazamientos (como se muestra en la tabla 3) estos coinciden con la asignación experimental.

Tabla 3. Comparación de los δ de RMN de ^{13}C del 6-oxovoucapano (**4**).

No. C	4 Lit.	4 Exp.	4 Lit. corregido
1	39.1	38.8	39.1
2	18.5	18.3	18.5
3	42.8	42.5	42.8
4	32.4	32.0	32.4
5	65.4	65.1	65.4
6	211.4	211.9	211.4
7	47.0	46.8	47.0
8	38.7	38.4	38.7
9	45.7	45.4	45.7
10	41.9	41.8	41.9
11	22.9	22.6	22.9
12	149.0	148.8	149.0
13	122.1	121.9	122.1
14	32.9	30.7	31.1
15	109.5	109.4	109.5
16	141.0	140.8	141.0
17	17.3	17.3	17.3
18	31.1	32.8	32.9
19	22.1	21.9	22.1
20	15.0	14.9	15.0

En el experimento COSY se puede observar la correlación de la señal en 2.68 ppm doble de dobles con $J = 16.9$ y 7.0 Hz identificada como uno de los hidrógenos del metileno H-11 con una señal doble de dobles en 2.40 ppm con $J = 16.9$ y 10.0 Hz identificada como el hidrógeno H-11', ambas señales correlacionan a su vez con una señal múltiple en 1.97 ppm correspondiente a H-9, este además correlaciona con la señal en 2.22 ppm identificada como H-8 el cual también correlaciona con las señales múltiples en 2.38 y 2.24 ppm correspondientes a los hidrógenos del metileno CH₂-7. En 2.62 ppm se observa la señal del hidrógeno H-14 que correlaciona con la señal doble en 1.06 ppm con $J = 7.0$ Hz del metilo secundario CH₃-17.

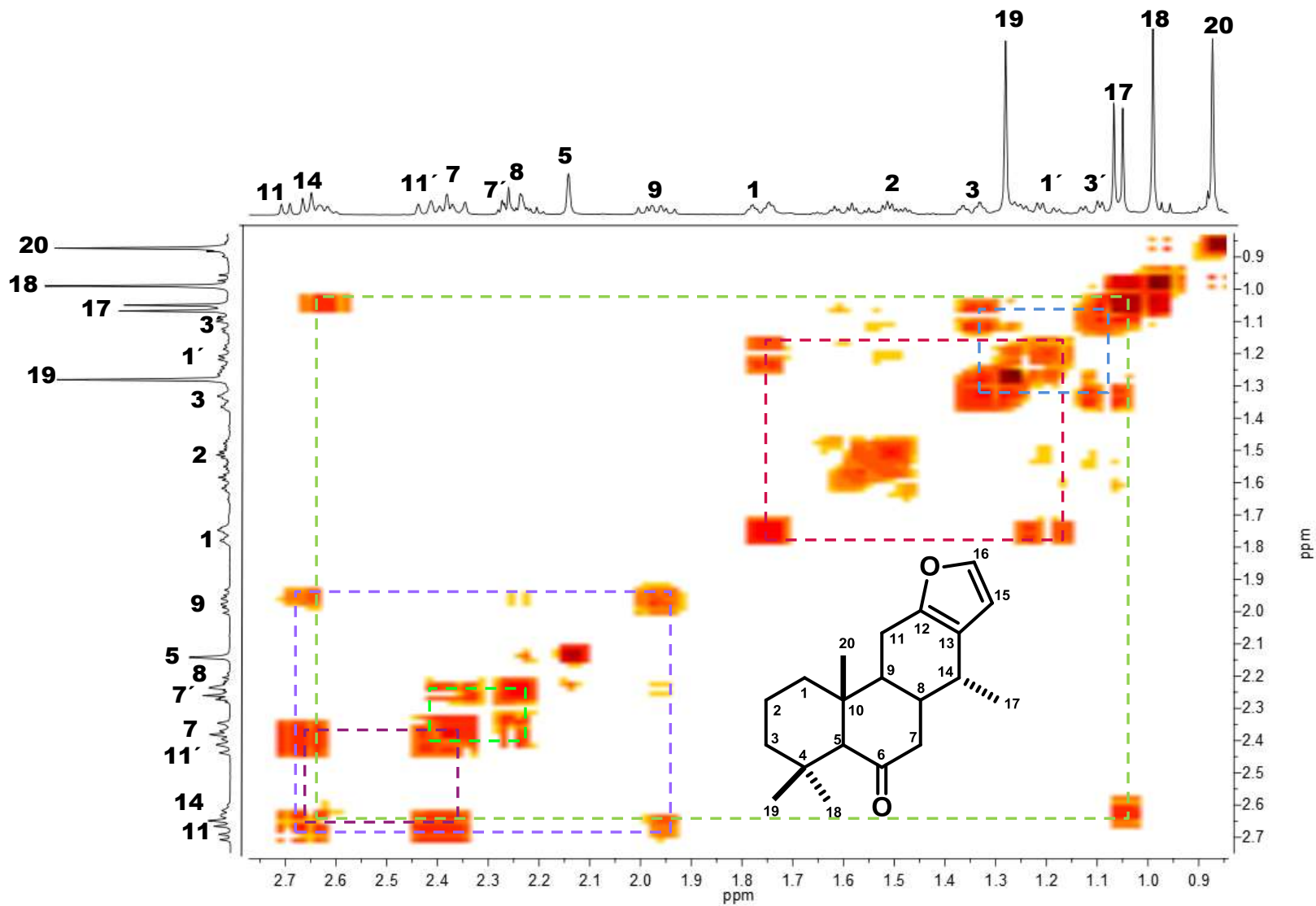


Figura 25. Expansión del espectro COSY del 6-oxovoucapano (4).

Para tener la certeza de la correcta asignación del espectro de carbono se llevo a cabo el experimento de correlación heteronuclear (HETCOR) en el que se observa la correlación entre el carbono C-5 en 65.1 ppm con la señal correspondiente al hidrógeno H-5 en 2.14 ppm. Se puede observar claramente como la señal en 32.8 correlaciona con la señal en 0.99 ppm correspondiente al metilo CH₃-18, la señal en 30.7 ppm correlaciona con la señal en 2.62 ppm asignada mediante el experimento COSY como el CH-14, esto demuestra que la asignación propuesta en el presente trabajo para CH₃-18 y CH-14 es correcta. Por lo tanto si ambos 6-oxovoucapanos corresponden al mismo compuesto, entonces la asignación de las señales para C-18 y C-14 están intercambiadas en la literatura⁸.

El experimento HETCOR nos ayudó a establecer la correcta asignación de los metilenos, CH₂-1, CH₂-2, CH₂-3, CH₂-7 y CH₂-11 en el espectro de hidrógeno y se confirmó la asignación de los metilos CH₃-19 y CH₃-20.

En la tabla 4 se muestran los datos de desplazamientos químicos de carbono-13, las correlaciones obtenidas mediante gHSQC y en la columna del gHMBC se muestra solo las correlaciones de los protones con los carbonos vecinos para el 6-oxovoucapano (**4**).

La rotación específica obtenida experimentalmente para el 6-oxovoucapano (**4**) fue de $[\alpha]_D^{20} = +80.7$ (c 0.75, CHCl₃) y coincide con la reportada⁸ de $[\alpha]_D^{20} = +74.9$ (c 2.0, CHCl₃) esto nos confirma que en esta etapa de la correlación química se tiene el mismo compuesto 6-oxovoucapano (**4**).

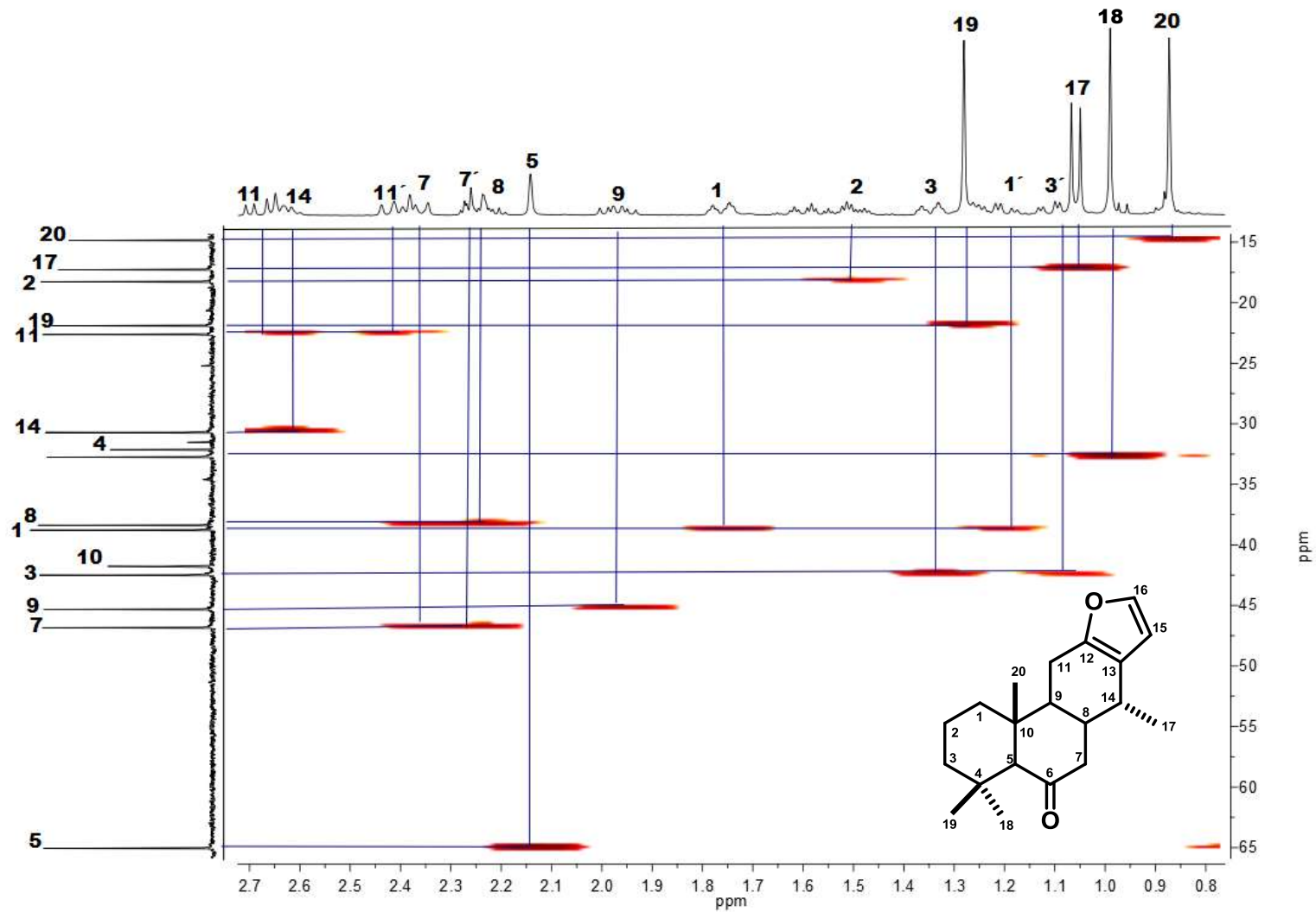
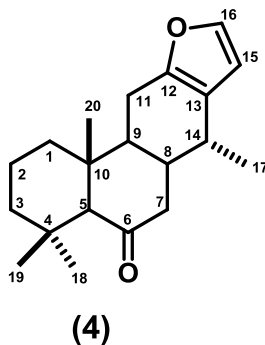


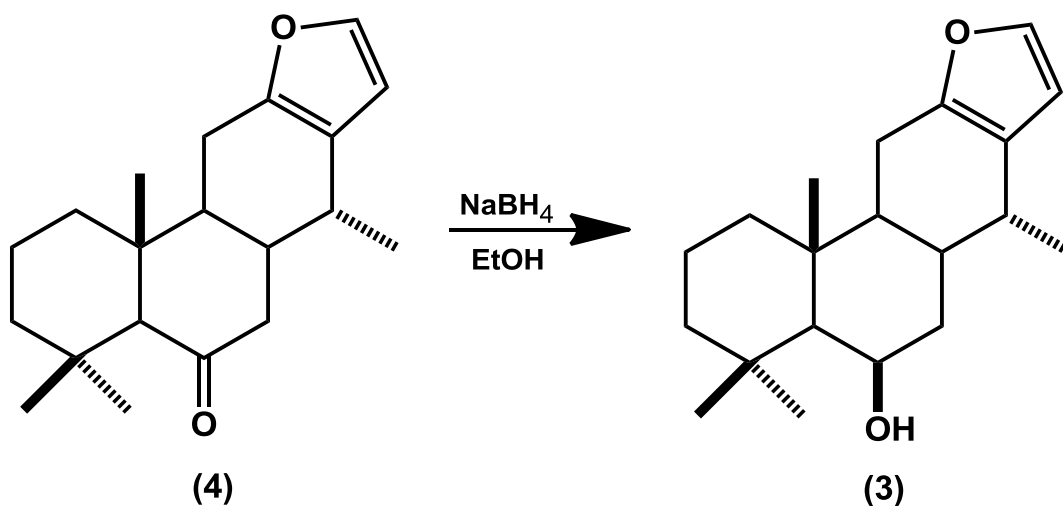
Figura 26. Expansión del espectro HETCOR del 6-oxovoucapano (4).

Tabla 4. Datos de ^1H y ^{13}C , gHSQC y gHMBC del 6-oxovoucapano (**4**).



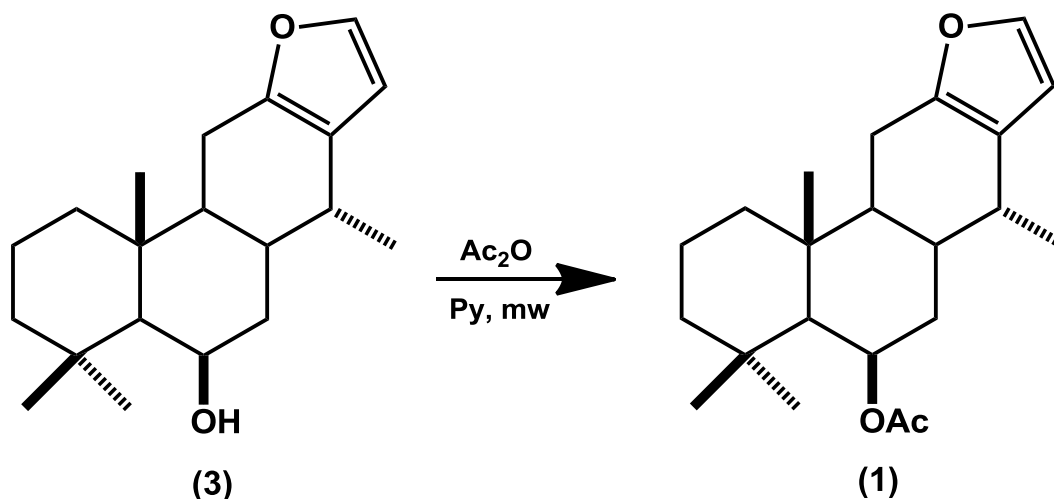
Posición	DEPT	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	gHMBC
1	CH ₂	38.8	1.76, 1.18	C-20, C-2, C-9, C-5
2	CH ₂	18.3	1.51	
3	CH ₂	42.5	1.35, 1.08	C-19
4	C	32.0		
5	CH	65.1	2.10	C-20, C-19, C-4, C-18, C-10, C-9, C-6
6	C	211.9		
7	CH ₂	46.8	2.35, 2.24	C-14, C-8, C-9, C-5, C-6
8	CH	38.4	2.22	C-17, C-9, C-7, C-6
9	CH	45.4	1.95	C-20, C-11, C-1, C-10, C-5
10	C	41.8		
11	CH ₂	22.6	2.67, 2.38	C-8, C-9, C-13, C-12
12	C	148.8		
13	C	121.9		
14	CH	30.7	2.62	C-17, C-13
15	CH	109.4	6.20	C-13, C-16, C-12
16	CH	140.8	7.24	C-15, C-13, C-12
17	CH ₃	17.3	1.05	C-14, C-8, C-13
18	CH ₃	32.8	0.96	C-19, C-4, C-3, C-5
19	CH ₃	21.9	1.25	C-18, C-4, C-3, C-5
20	CH ₃	14.9	0.87	C-1, C-10, C-9, C-5

Una vez obtenido y caracterizado el 6-oxovoucapano (**4**) y continuando con la correlación química reportada⁸, se llevó a cabo la reacción de reducción del grupo carbonilo usando borohidruro de sodio (NaBH_4) como agente reductor y etanol absoluto como disolvente (Esquema 5). Encontrándose por RMN de ^1H un solo compuesto que presentó las mismas señales que el 6 β -hidroxivoucapano (**3**) obtenido de la hidrólisis del 6 β -acetoxivoucapano (**1**). Este resultado concuerda con lo observado por Méndes⁸, ya que ellos reportan que solo se obtiene como único producto de la reducción de la cetona el alcohol orientado en *beta*, lo cual puede deberse al impedimento estérico que presenta la cara *Re* al encontrarse los metilos 19 y 20 en posición 1-3 diaxial impidiendo que el borohidruro reaccione por esta cara dando como única posibilidad el ataque por la cara *Si* que da lugar a la formación del 6 β -hidroxivoucapano (**3**), que al ser igual al obtenido de la hidrólisis de **1** y dado que en esta reacción se mantiene la estereoquímica, se confirmó que la configuración relativa del 6 β -acetoxivoucapano (**1**) en el centro estereogénico 6 corresponde al grupo acetoxi en posición *beta*.



Esquema 5. Reacción de reducción del 6-oxovoucapano (**4**).

Para completar la correlación química se decidió preparar el derivado acetilado del hidroxivoucapano **3** del mismo que después de probar en distintas condiciones de reacción se llevó a cabo con anhídrido acético y piridina en microondas obteniéndose como único producto el 6 β -acetoxivoucapano (**1**) (Esquema 6), cuyos datos espectroscópicos fueron idénticos al producto natural obtenido de las hojas de *C. platyloba*.



Esquema (6). Acetilación del 6 β -hidroxivoucapano (**3**).

Una vez concluida la correlación química en la que se obtuvieron los compuestos **1**, **3** y **4** se procedió a llevar a cabo la determinación de la configuración absoluta por Dicroísmo Circular Vibracional, para lo cual se determinaron los espectros experimentales y se calcularon los espectros teóricos de DCV, tomando en cuenta las siguientes consideraciones. La configuración de los otros centros estereogénicos de la molécula (5C, 8C, 9C, 10C, 14C) no fueron alterados durante la correlación química, por lo que inicialmente se establecieron en base a su ruta de biosíntesis.

La biosíntesis de los diterpenos procede del geranil geranil pirofosfato (GGPP **29**) (Esquema 7) y como se sabe el GGPP **29** se forma por la adición de una molécula de isopentenil pirofosfato (**26**) al farnesil pirofosfato (**28**)⁶⁵, una vez formado el GGPP, en este paso se comienza a establecer la estereoquímica, dado que dependiendo de las enzimas que participen en la ciclación se puede obtener el copalil pirofosfato (**30**) que es el precursor de la serie normal de los diterpenos como los abietanos, labdanos, pimaranos, kaurenos, taxadienos, ácido giberólico, cembrenos casbenos y cassanos o se puede formar su enantiómero el *ent*-copalil pirofosfato (**31**) del cual se derivan los diterpenos de la serie *ent* como los *ent*-kaurenos, *ent*-beyerenos, *ent*-atiserenos o *ent*-cassanos entre otros⁶⁶. Existe poca información sobre los *ent*-cassanos, los cuales han sido reportados que se forman como metabolitos secundarios cuando las plantas de arroz son infectadas por un microorganismo patógeno como agentes antifúngicos^{67,68}, cuya configuración absoluta fue determinada por síntesis total y dicroísmo circular (Fig. 27)⁶⁹.

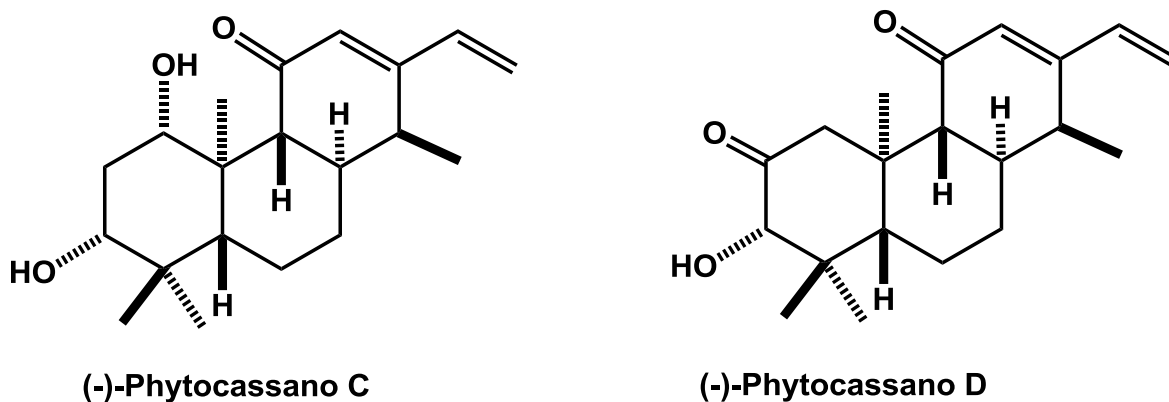
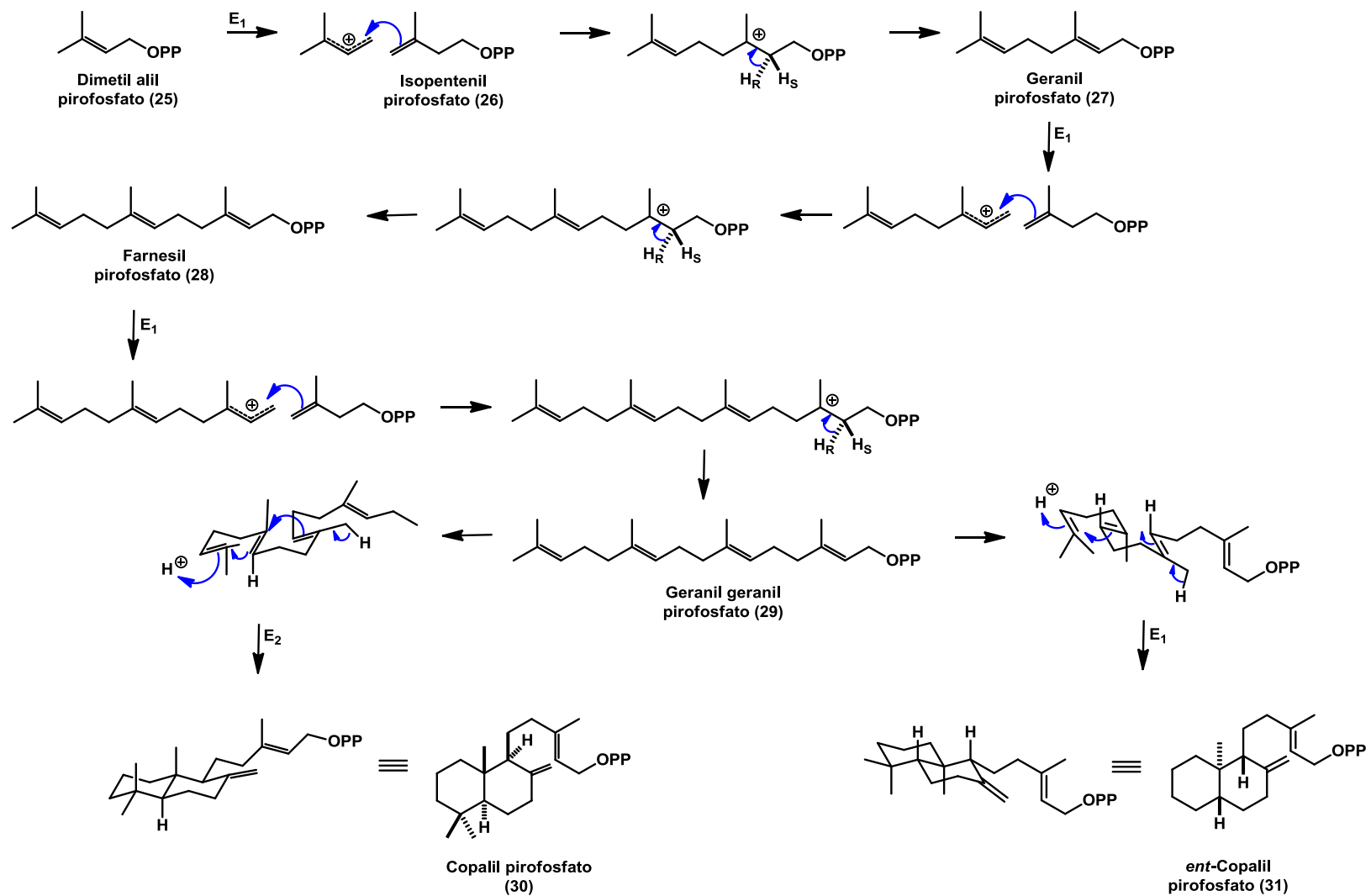
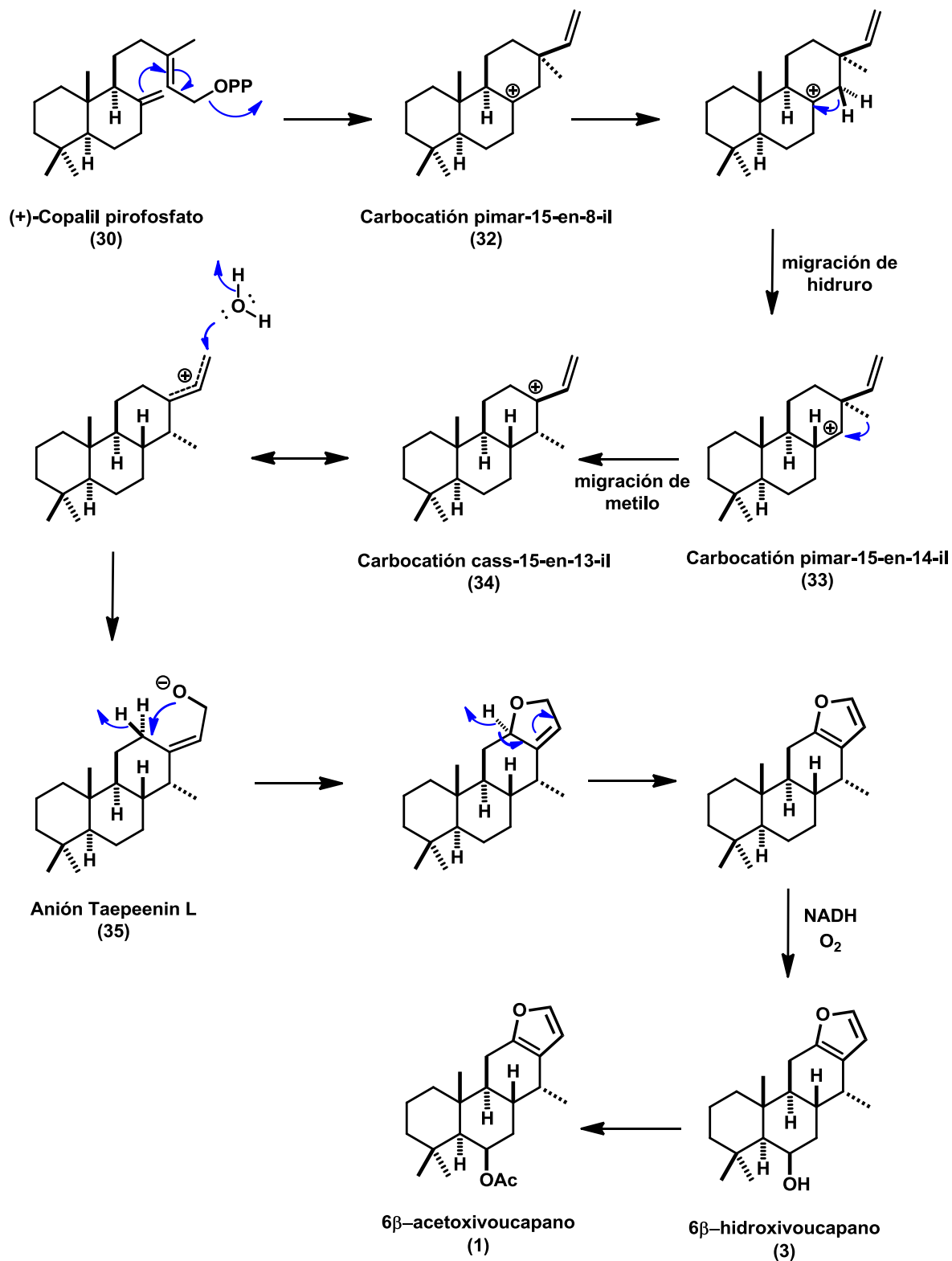


Figura 27. Estructura de los *ent*-cassano.



Esquema 7. Biosíntesis del Copalil pirofosfato (30) y el *ent*-Copalil pirofosfato (31) (Modificado de Dewick)⁵⁹.

La estructura base reportada para los cassanos tipo diterpenfurano presenta un diterpeno tricíclico, que podría derivar del intermediario carbocatiónico pimar-15-en-8-il (**32**) (Esquema 8) generado por la ciclación del copalil pirofosfato (**30**), la migración de hidruro de C-14 a C-8 en **32** forma el carbocatión pimar-15-en-14-il (**33**) seguido por una migración del metilo CH₃-13 a C-14 dando lugar al carbocatión cass-15-en-13-il (**34**) que genera una unión *trans/anti/trans* en los anillos de ciclohexano⁷⁰, para la formación del anillo furánico se propone que su biosíntesis se lleva a cabo cuando el carbocatión cass-15-en-13-il (**34**) es atacado nucleofílicamente por una molécula de agua adicionándose el oxígeno en C-16, formándose **35**, cuya existencia puede sustentarse por la obtención de Taepeenina L de *C. crista*⁷¹. El derivado **35** reacciona de manera intramolecular con el metileno CH₂-12 perdiéndose un protón, después esa parte de la molécula se aromatiza al perder el segundo protón del carbono C-12 para así formar el anillo de furano, posteriormente se adiciona un hidroxilo en la posición C-6 que puede ser acetilado para generar el 6-acetoxivoucapano.



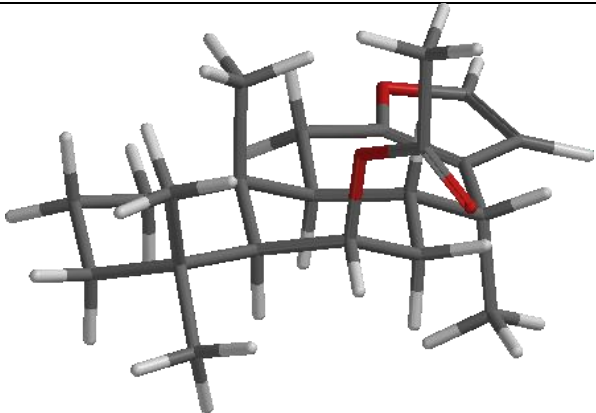
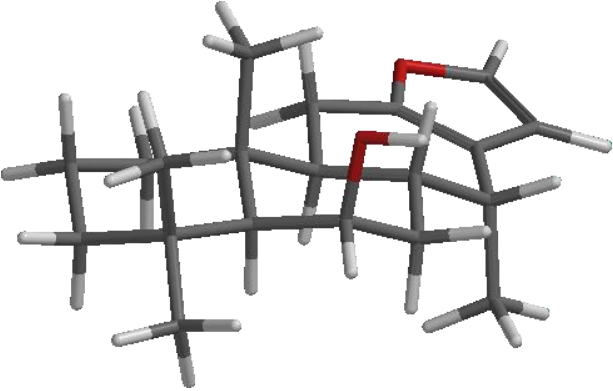
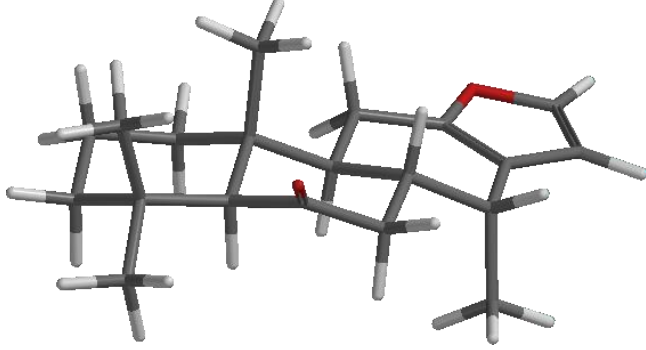
Esquema 8. Biosíntesis propuesta del 6β-acetoxivoucapano (1).

Por lo tanto, para obtener los espectros teóricos de DCV la configuración propuesta para diseñar las estructuras químicas de **1**, **3** y **4** se hizo en base a los datos espectroscópicos, literatura y la ruta biosintética de los diterpenofuranos tipo cassanos quedando como (5*S*, 8*S*, 9*S*, 10*R* y 14*R*). Para el centro estereogénico 6 la estereoquímica establecida fue *R* tanto para el 6β-acetoxivoucapano (**1**) como para el 6β-hidroxivoucapano (**3**) puesto que se usó como referencia la configuración relativa obtenida en la correlación química.

La búsqueda de los conformeros para el 6β-acetoxivoucapano (**1**), 6β-hidroxivoucapano (**3**) y para el 6-oxovoucapano (**4**) se realizó mediante el programa Spartan '10, con mecánica molecular por el método MMFF.

En la tabla 5 se presentan los conformeros más estables obtenidos de la búsqueda de conformeros, así como su energía y distribución de Boltzmann. Cabe destacar que las tres moléculas solo presentaron un conformero de mínima energía cuya distribución de Boltzmann fue del 100% se debe a la unión de los tres anillos de los ciclohexanos con el furano que le confieren rigidez restringiendo el movimiento de la molécula.

Tabla 5. Confórmeros de mínima energía obtenidos con Spartan'10 con mecánica molecular (MMFF).

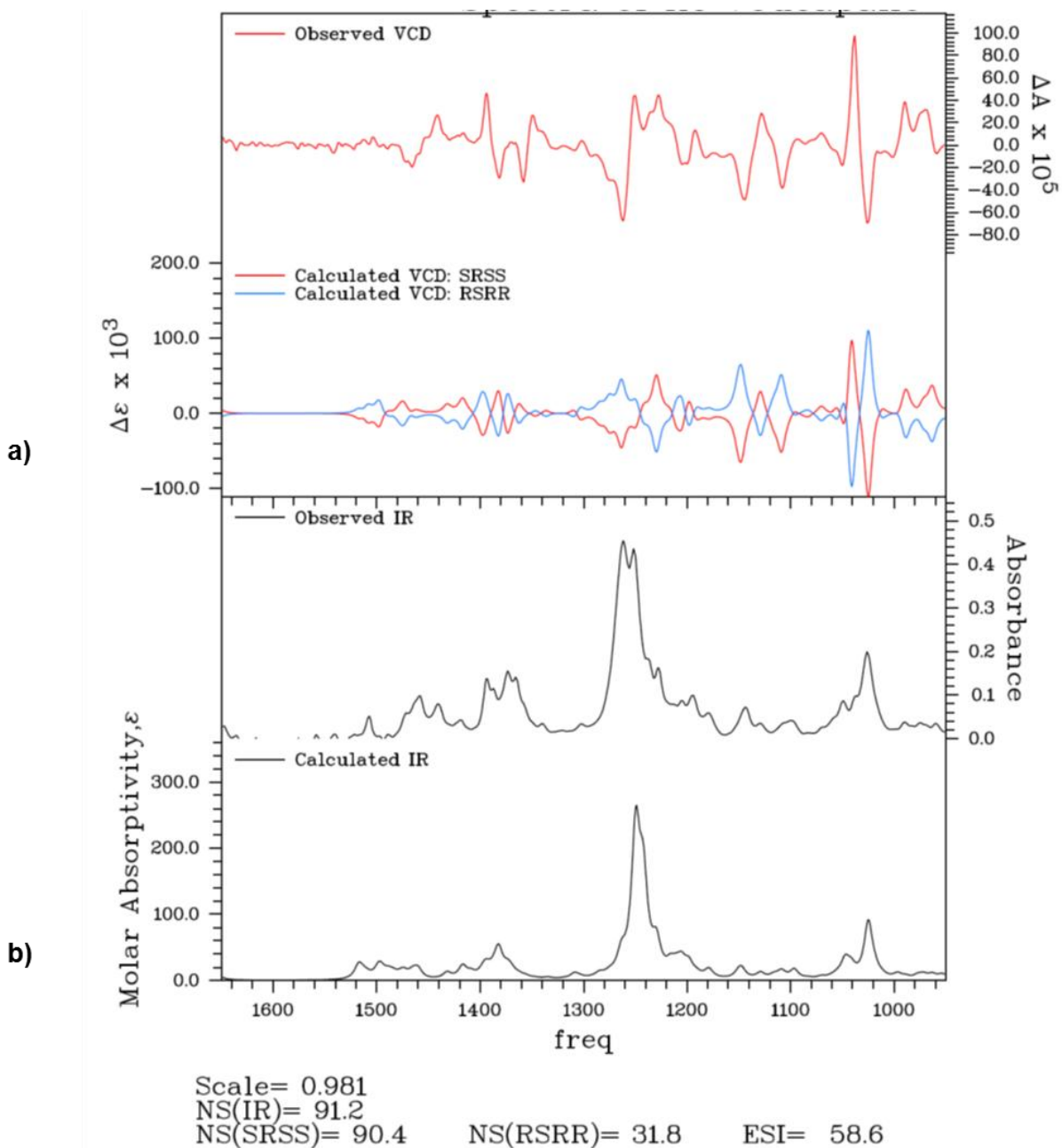
Molécula	Confórmero
6 β -acetoxivoucapano (1)	 <p>-68.5 Kcal/mol, 100%</p>
6 β -hidroxivoucapano (3)	 <p>-77.93 Kcal/mol, 100%</p>
6-oxovoucapano (4)	 <p>-69.45 Kcal/mol, 100%</p>

Continuando con el protocolo del DCV para la obtención del espectro teórico la optimización y la obtención de las frecuencias de DCV e IR se llevaron a cabo en el programa Gaussian '03 usando teoría de funcionales de la densidad (DFT) con el método B3LYP y un nivel de teoría 6-31G con dos polarizaciones, posteriormente se optimizó nuevamente el cálculo para mejorar el nivel de concordancia entre el espectro teórico y el experimental aplicando un nivel de teoría DGDZVP para cada uno de los conformeros más estables.

Una vez obtenidos los espectros de DCV experimentales del 6 β -acetoxivoucapano (**1**) y sus derivados **3** y **4** obtenidos mediante la correlación química, se procedió a hacer la comparación entre estos y sus análogos teóricos.

Los datos de las frecuencias obtenidos de los cálculos computacionales con un nivel de teoría B3LYP/DGDZVP fueron procesados a un formato compatible con el software llamado Compare VOA desarrollado por Biotools. Este programa nos permitió cuantificar el nivel de concordancia entre los espectros experimentales y calculados de los tres voucapanos.

En la figura 28 (a) se muestra el archivo de salida que nos proporciona el programa Compare VOA de la comparación del espectro experimental y calculado (B3LYP/DGDZVP) del 6 β -acetoxivoucapano (**1**), el cual proporcionó el factor de anarmonicidad ($anH = 0.981$), y la similitud espectral de DCV para el enantiómero correcto de 90.4% (rojo) e incorrecto de 31.8% (azul), así como el nivel de similitud entre los espectros de IR (b) de 91.2 % con un nivel de confianza para la determinación de la configuración absoluta del 100%.



The absolute configuration of the measured sample is SRSS
 The Confidence level is 100%

Figura 28. Comparación de espectros de DCV del 6β-acetoxivoucapano (1) calculado y experimental que se obtiene del programa Compare VOA.

En la figura 29 se muestran las gráficas de los datos procesados de los espectros calculados y corregidos con el factor de anarmonicidad (a-B3LYP/6-31G** y b-B3LYP/DGDZVP respectivamente) y el espectro experimental (c) del 6 β -acetoxivoucapano (**1**)

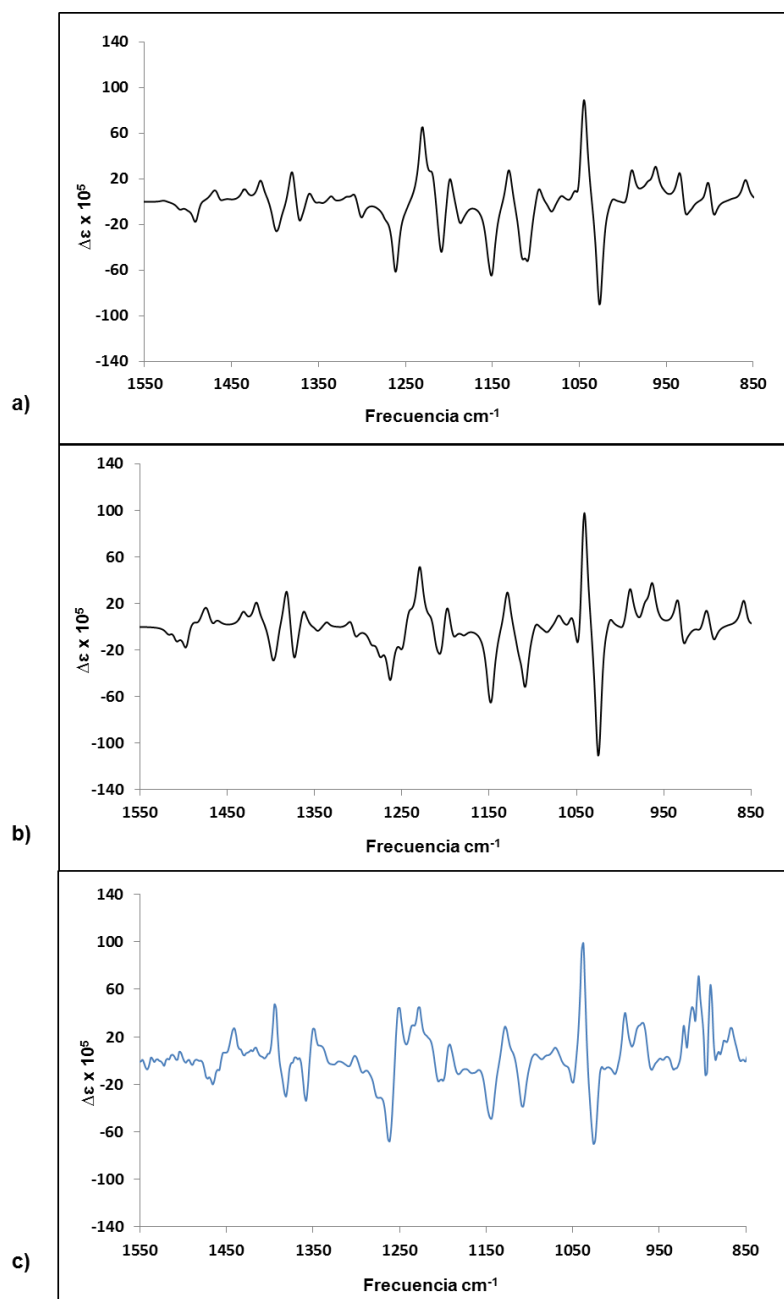


Figura 29. Espectros (a) teórico (B3LYP/631G**, DFT), (b) teórico (B3LYP/DGDZVP, DFT), (c) experimental de DCV del 6 β -acetoxivoucapano (**1**).

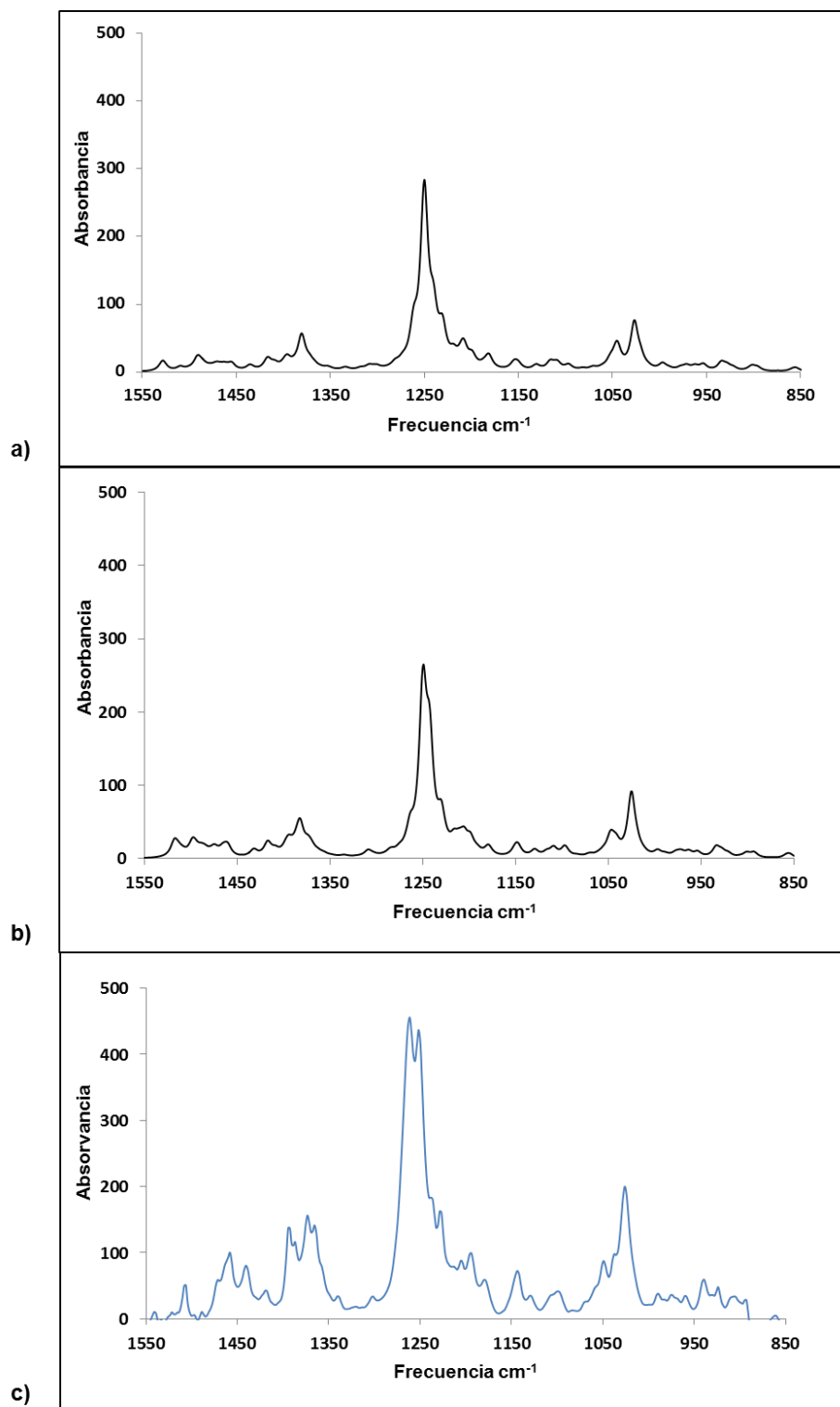


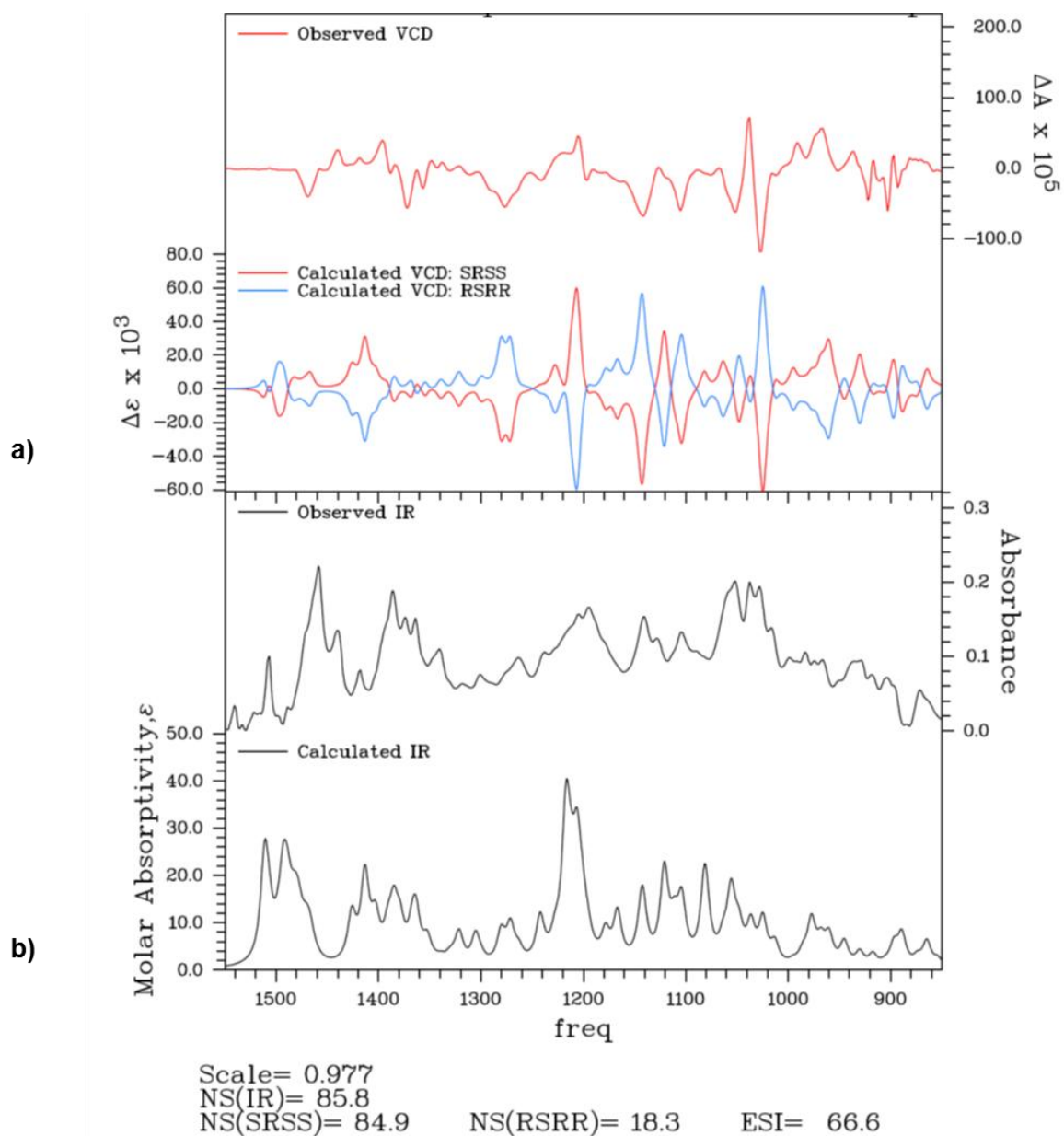
Figura 30. Espectros (a) teórico (B3LYP/6-31G**), (b) teórico (B3LYP/DGDZVP DFT), (c) experimental de IR del 6 β -acetoxivoucapano (**1**).

En la figura 30 se observan las gráficas de los espectros de IR teóricos a), b) y el experimental c), se puede observar que tanto los espectros teóricos como el experimental presentan las mismas bandas significativas en 1450,1370, 1250 y 1050 cm^{-1} .

En la figura 3a se muestran los datos obtenidos del programa Compare VOA del espectro calculado (B3LYP/DGDZVP) y el espectro experimental del 6 β -hidroxivoucapano (**3**). Se obtuvo un factor de anarmonicidad de 0.977 y una similitud espectral de DCV para el enantiómero correcto 84.9% y para el incorrecto 18.3% con un nivel de confianza para la determinación de la configuración absoluta del 100%. También se muestra la comparación de los espectros de IR calculado y experimental (Fig. 38b).

En la figura 32 se observa la comparación entre los espectros teóricos de DCV con DFT/B3LYP (6-31G (a) y DGDZVP (b)) corregidos con el factor de anarmonicidad y el espectro experimental (c) del 6 β -hidroxivoucapano (**3**).

En la figura 33 se muestra la comparación de los espectros de IR del 6 β -hidroxivoucapano (**3**) calculados y el espectro teórico (c), se observa que los tres espectros presentan las mismas bandas significativas en 1510, 1450,1370, 1250 y 1130 cm^{-1} .



The absolute configuration of the measured sample is SRSS
 The Confidence level is 100%

Figura 31. Comparación de espectros de DCV del 6β-hidroxivoucapano (**3**) calculado y experimental que se obtiene del programa Compare VOA.

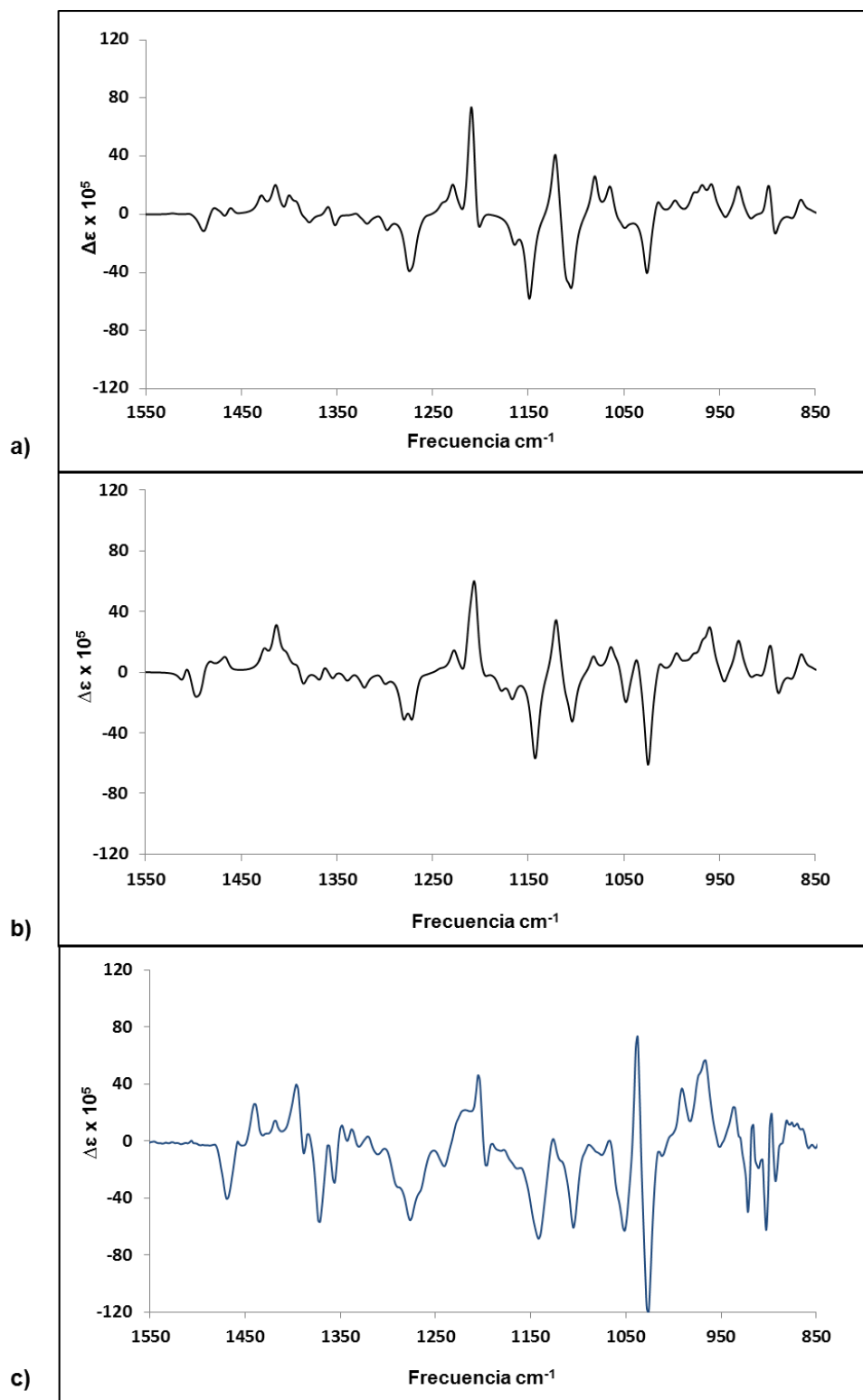


Figura 32. Espectros (a) teórico (B3LYP/631G**), (b) teórico (B3LYP/DGDZVP DFT), (c) experimental de DCV del 6 β -hidroxivoucapano (**3**).

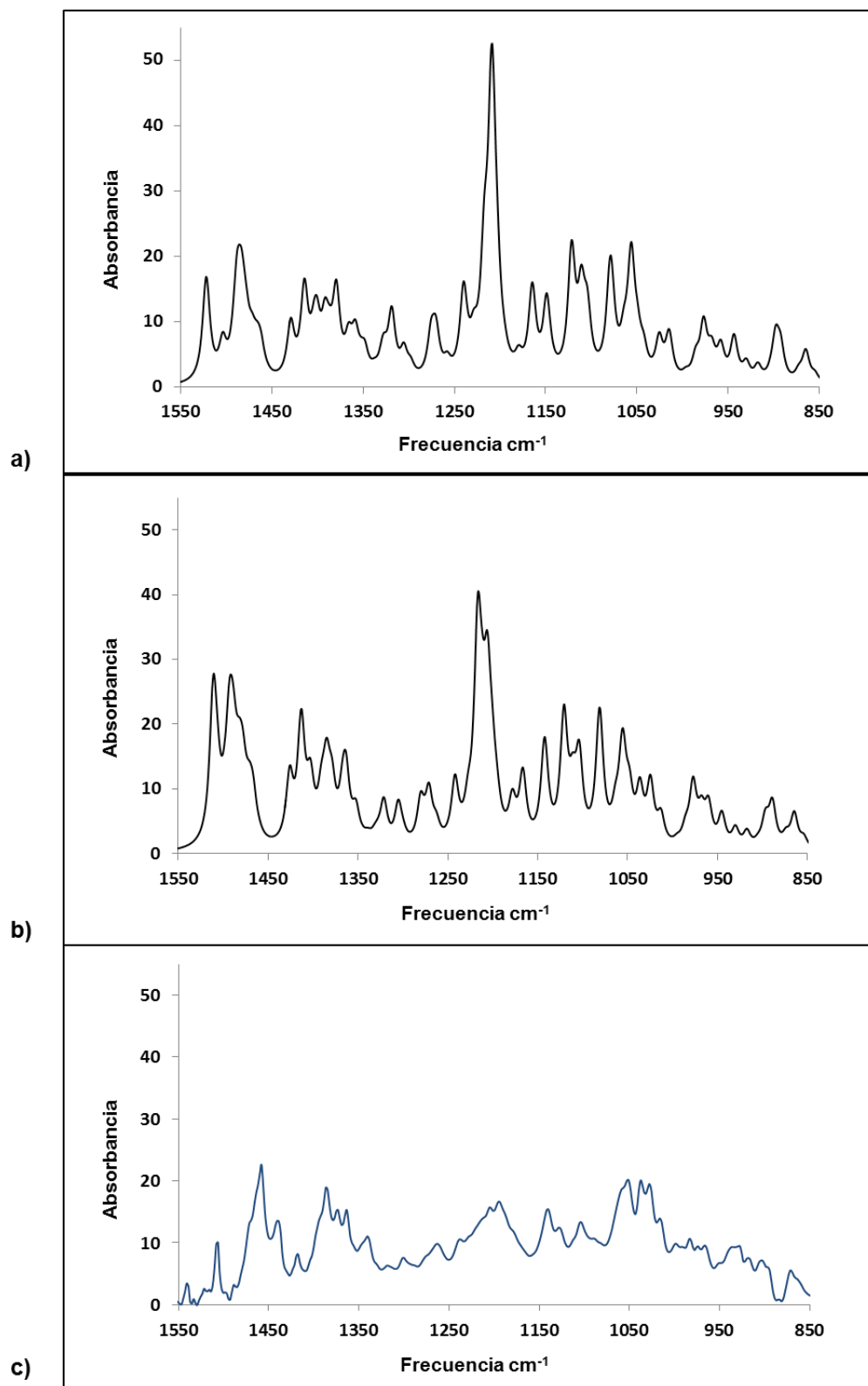
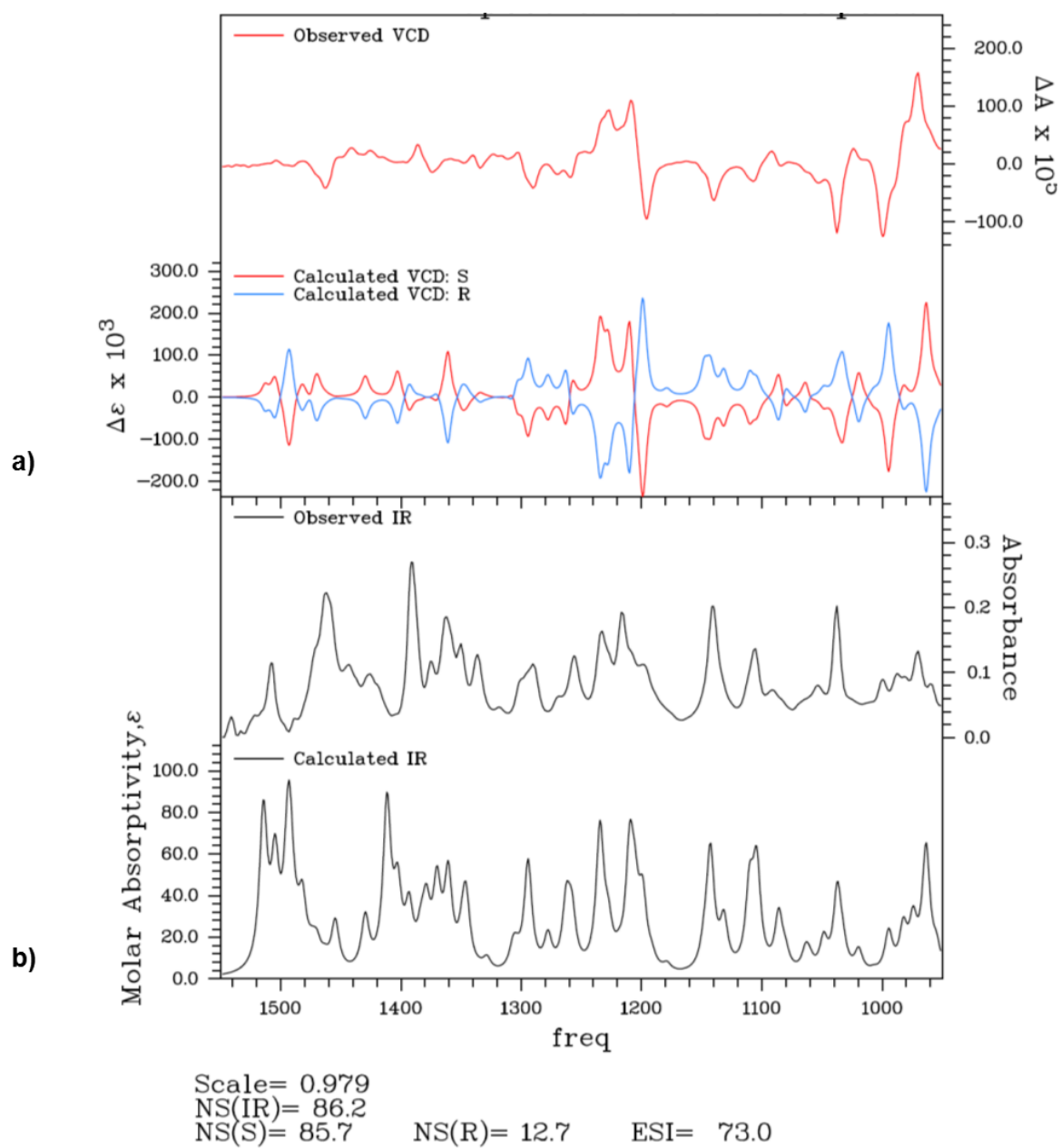


Figura 33. Espectros (a) teórico (B3LYP/6-31G**), (b) teórico (B3LYP/DGDZVP DFT), (c) experimental de IR del 6 β -hidroxivoucapano (**3**).

Los datos obtenidos de la comparación del espectro experimental de DCV con el teórico (B3LYP/DGDZVP) del 6-oxovoucapano (**4**) en el programa Compare VOA se muestran en la figura 34. Se obtuvo un factor de anarmonicidad de 0.979, y una similitud espectral de DCV para el enantiómero correcto de 85.7% y para el incorrecto de 12.7% con un nivel de confianza para la determinación de la configuración absoluta del 100%.

En la figura 35 se observa la comparación entre los espectros teóricos de DCV con un nivel de teoría B3LYP (6-31G** a) y DGDZVP b) corregidos con el factor de anarmonicidad y el espectro experimental c) del 6-oxovoucapano (**4**).

En la comparación de los espectros de IR se observan las mismas bandas significativas para los espectros teóricos y el experimental.



The absolute configuration of the measured sample is S
 The Confidence level is 100%

Figura 34. Comparación de espectros de DCV del 6-oxovoucapano (4) calculado y experimental que se obtiene del programa Compare VOA.

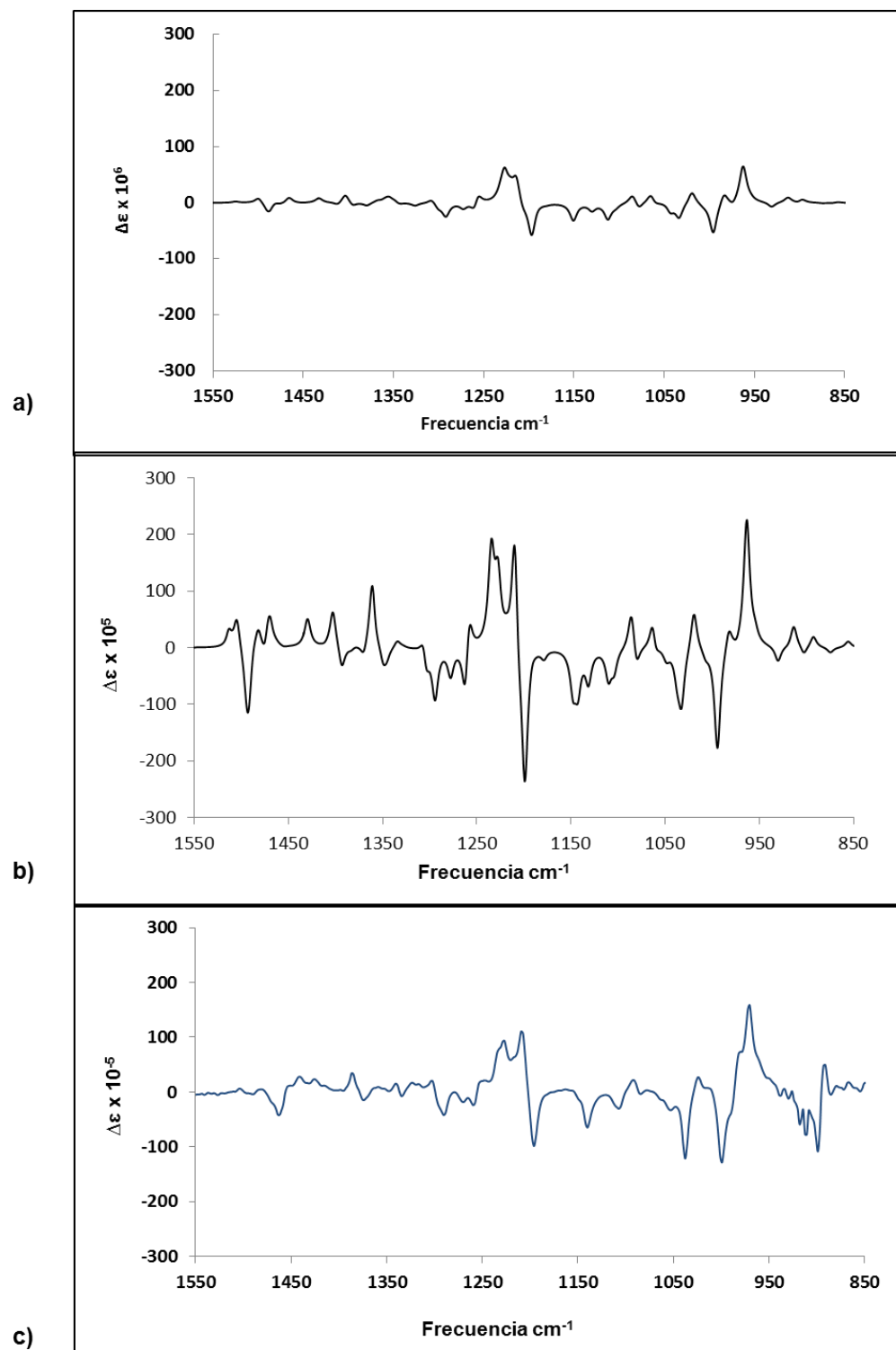


Figura 35. Espectros (a) teórico (B3LYP/631G**), (b) teórico (B3LYP/DGDZVP DFT), (c) experimental de DCV del 6-oxovoucapano (4).

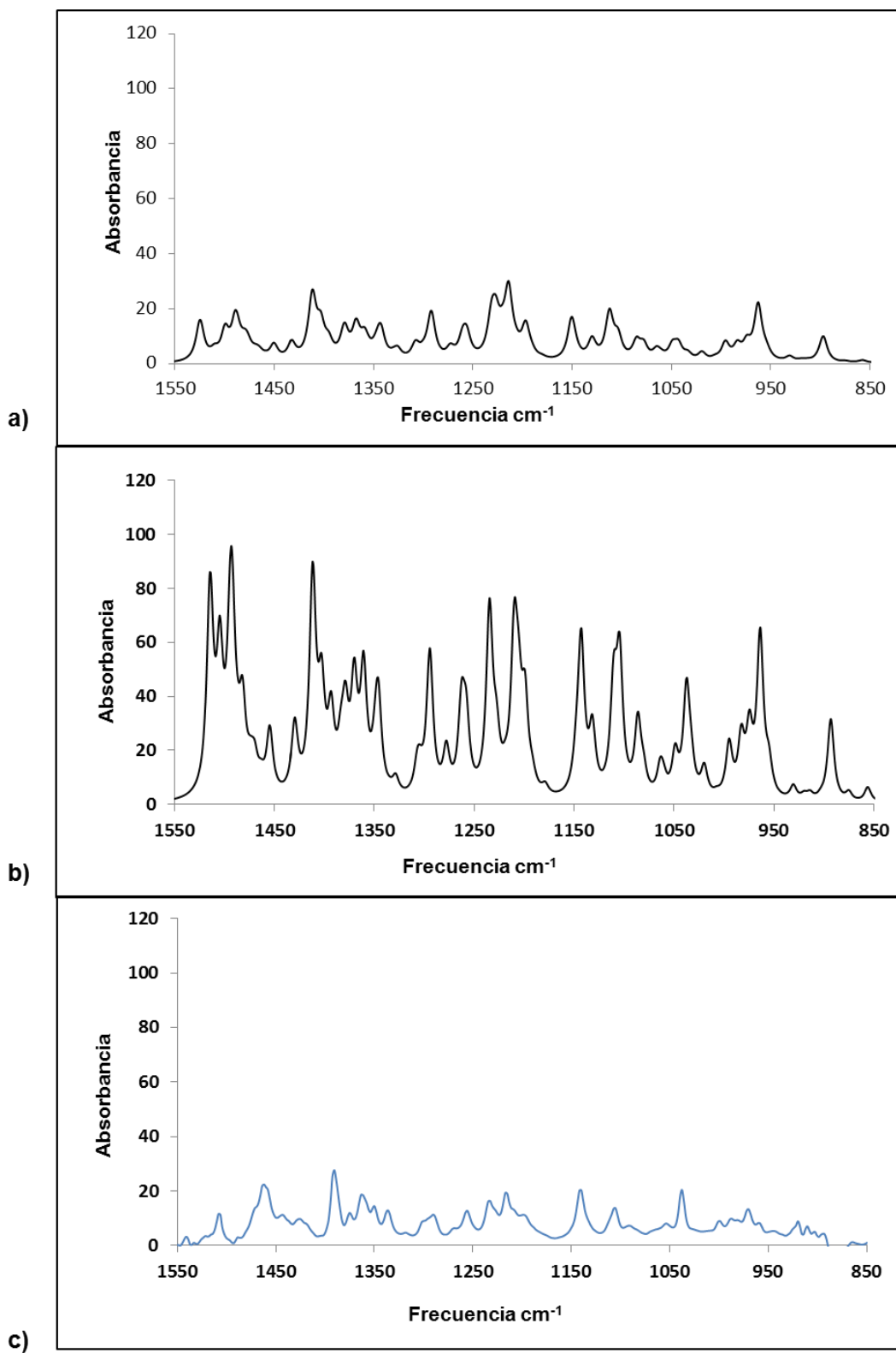


Figura 36. Espectros (a) teórico (B3LYP/6-31G**), (b) teórico (B3LYP/DGDZVP DFT), (c) experimental de IR del 6-oxovoucapano (**4**).

Por lo tanto mediante Dicroísmo Circular Vibracional quedó establecida la configuración absoluta del 6 β -acetoxivoucapano (**1**), 6 β -hidroxivoucapano (**3**) y el 6-oxovoucapano (**4**) como se muestra en la figura 37.

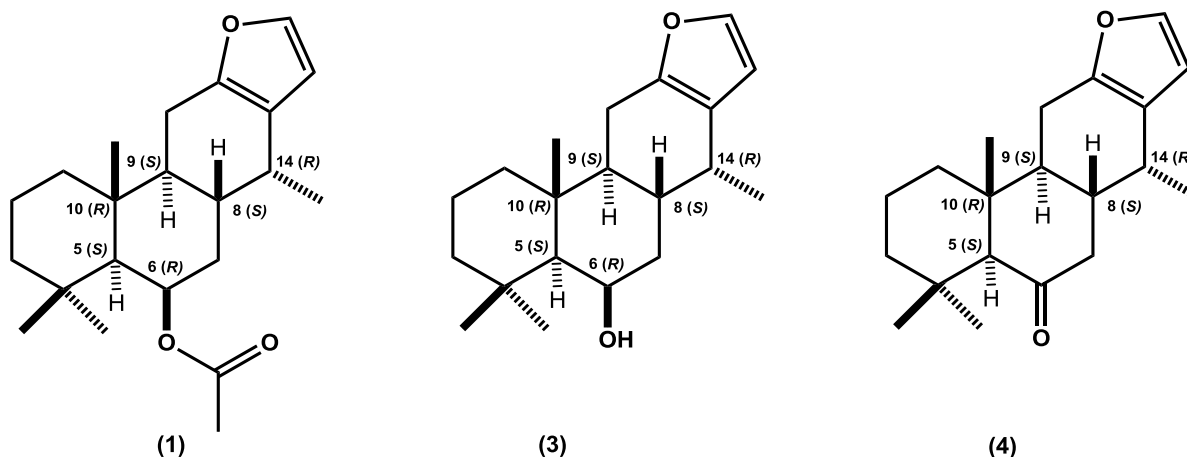


Figura 37. Configuración absoluta del 6 β -acetoxivoucapano (**1**), 6 β -hidroxivoucapano (**3**) y 6-oxovoucapano (**4**)

Adicionalmente se logró obtener un monocristal del 6 β -acetoxivoucapano (**1**) adecuado para su análisis por difracción de rayos X, la estructura obtenida se muestra en la figura 38, en la cual se aprecia que los anillos A y B presentan una conformación de silla con una fusión *trans*, el anillo C debido al doble enlace que comparte con el anillo de furano presenta una conformación de bote y una fusión *trans* con el anillo B, también se puede observar la orientación *beta* del acetato y de los metilos 20 y 19 que presentan una interacción 1-3 diaxial, mientras que 18 y 17 se encuentran en posición *alfa*. Se puede observar claramente la orientación *beta* del grupo acetato.

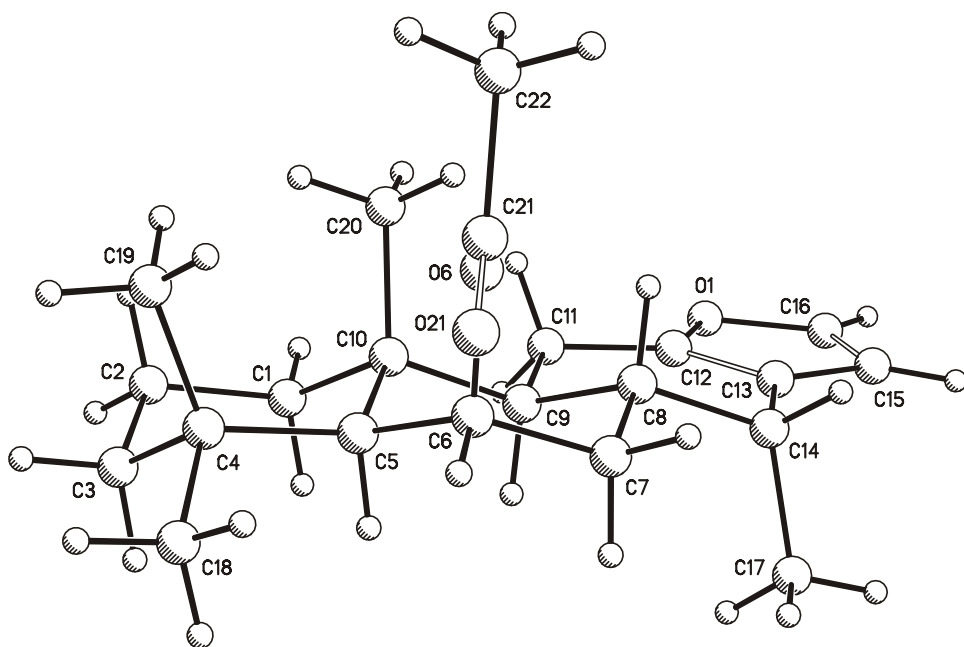
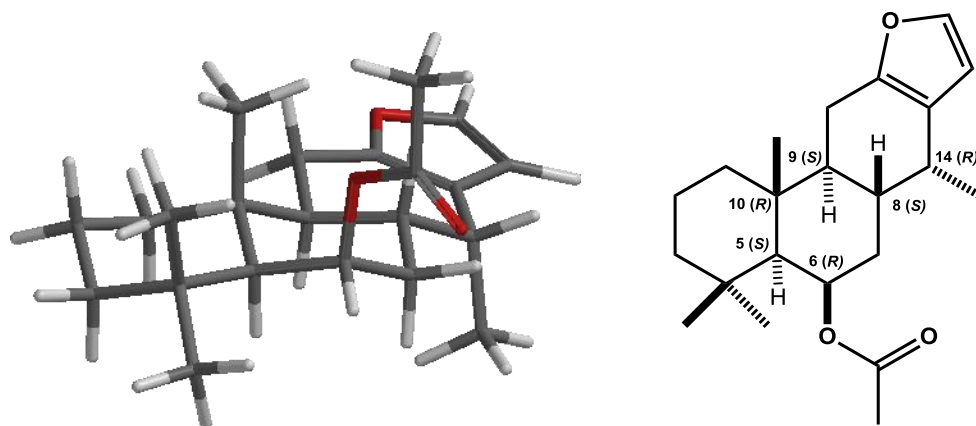


Figura 38. Estructura molecular de 1 obtenida por difracción de rayos X.

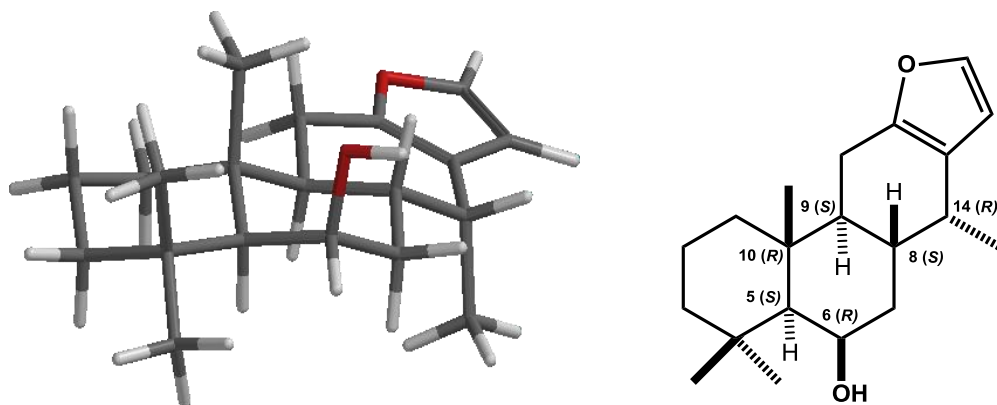
5. CONCLUSIONES:

- Se estableció la configuración absoluta mediante correlación química, DCV y difracción de rayos X del 6 β -acetoxivoucapano (**1**) aislado de *C. platyloba* como (5*S*, 6*R*, 8*S*, 9*S*, 10*R*, 14*R*), el cual también ha sido aislado de *C. coriaria*⁷ y no ha sido reportado en la literatura, por lo tanto corresponde a un compuesto nuevo.

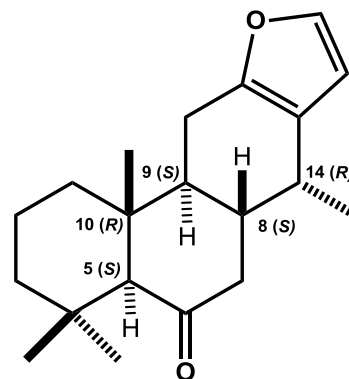
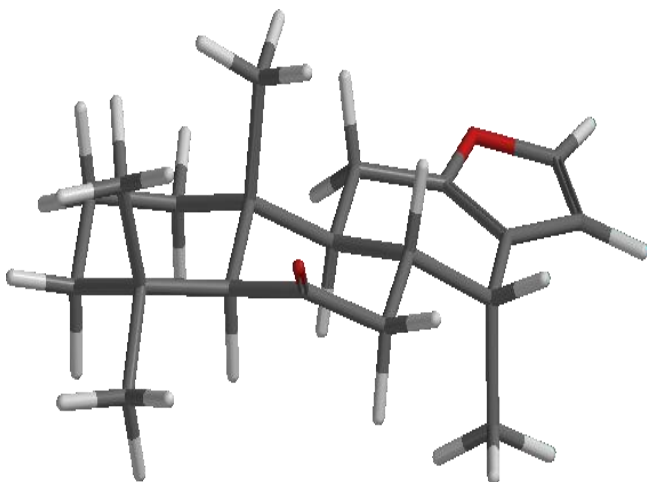


(5*S*, 6*R*, 8*S*, 9*S*, 10*R*, 14*R*)- 6-acetoxivoucapano (**1**)

- Adicionalmente se estableció la configuración absoluta de los productos de correlación química, para el 6 β -hidroxivoucapano (**3**) como (5*S*, 6*R*, 8*S*, 9*S*, 10*R*, 14*R*) y para el 6-oxovoucapano (**4**) como (5*S*, 8*S*, 9*S*, 10*R*, 14*R*) mediante correlación química y DCV.



(5*S*, 6*R*, 8*S*, 9*S*, 10*R*, 14*R*)- 6-hidroxivoucapano (**3**)



(5*S*, 8*S*, 9*S*, 10*R*, 14*R*)-6-oxovoucapano (**4**).

- Se sugirió una ruta biosintética para la formación de los diterpenfuranos tipo voucapanos.
- Debido a los puntos de coincidencia en la correlación química se puede inferir la configuración absoluta del diterpenfurano aislado de *P. lacunifera* por Mendes y col⁸. (5*S*, 6*S*, 8*S*, 9*S*, 10*R*, 14*R*) del 6-acetoxivoucapano.

6. PARTE EXPERIMENTAL

Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H a 400 MHz y de ^{13}C a 100 MHz, así como los diagramas bi-dimensionales de correlación ^{13}C - ^1H (HETCOR) y ^1H - ^1H (COSY) se determinaron en un espectrómetro Varian Mercury Plus-400. En todas las determinaciones se utilizó como disolvente cloroformo deuterado (CDCl_3) y como referencia se utilizó tetrametilsilano (TMS). Los experimentos gHSQC y gHMBC se determinaron en un aparato VARIAN Mercury 300. Los espectros fueron procesados mediante el programa Mestre Nova.

Para las separaciones cromatográficas se utilizó gel de sílice Aldrich 70-230 mallas.

La búsqueda de conformeros se realizó mediante el programa Spartan '10, con mecánica molecular por el método MMFF.

Para la optimización y la obtención del espectro de DCV del 6 β -acetoxivoucapano (**1**) y sus derivados se usó el programa Gaussian' 03, con teoría de funcionales de la densidad (DFT) mediante el método B3LYP usando un nivel de cálculo 6-31G con dos polarizaciones y posteriormente se elevó el nivel de cálculo a DGDZVP.

La obtención de los espectros de IR y DCV se realizaron en un espectrofotómetro BioTools, Inc. (Jupiter, FL) PEMdual Chiral IR FT-VCD empleando como disolvente CDCl_3 .

El análisis de difracción de rayos X se llevó a cabo en un difractómetro Bruker-Nonius CAD4 con radiación de Cu K_α .

Los espectros de IR se obtuvieron usando un espectrofotómetro marca Buck 500 y se dan sólo las lecturas de las bandas más importantes. Las muestras para las determinaciones se prepararon en solución de cloroformo y se colocaron en celdas con ventanas de cloruro de sodio.

La rotación óptica se determinó utilizando un polarímetro Perkin Elmer modelo 341 y empleando soluciones clorofórmicas filtradas.

El punto de fusión se determinó en un aparato Fisher Scientific y no están corregidos.

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 soluciones etanólicas.

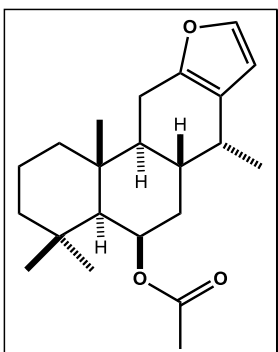
Los espectros de masa de baja resolución se midieron en un equipo Varian Saturn 2000 mediante impacto electrónico y el espectro de masa de alta resolución se determinó en un espectrómetro Agilent LCTOF en los laboratorios de espectrometría de masa de la Universidad de California, Riverside.

Las plantas fueron autenticadas taxonómicamente por el M. C. Xavier Madrigal, de la Facultad de Biología de la UMSNH con número de voucher (20400) para *C. coriaria* y (20401) para *C. platyloba*, conservándose un ejemplar en el Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

6 β -acetoxivoucapano (1)

Se colectaron hojas del árbol identificado como *Caesalpinia platyloba*. Del lote colectado el 27 de septiembre del 2011 en Los Charcos, Municipio de Apatzingán, se dejaron secar a la sombra y se pusieron a macerar 90 g de hojas a temperatura ambiente con cantidad suficiente de hexano durante 3 días, la maceración se filtró y concentró en un rotavapor, repitiendo el procedimiento 3 veces, se obtuvieron 2.3 g (2.6% de rendimiento) de extracto. Se llevó a cabo el mismo procedimiento para la obtención del extracto en CH₂Cl₂ obteniéndose 8.9 g de un extracto verde oscuro (9.9% de rendimiento) este extracto se dividió en dos partes y se realizaron 2 columnas cromatográficas con 4.2 g y 4.6 g respectivamente, de 3 cm de diámetro y 20 cm de altura, utilizando gel de sílice 70-230 mallas, los extractos se disolvieron en CH₂Cl₂, se les agregó sílice y se llevaron a sequedad, como fase móvil se usaron mezclas hexano: cloruro de metileno en orden ascendente de polaridad iniciando con hexano, colectando

fracciones de 40 mL. En la primera columna se obtuvieron 0.190 g de (1) (4.5% de rendimiento) en las fracciones 59-62 eluidas a 49:1 de hexano-cloruro de metileno, en la columna 2 se obtuvo 0.160 g (3.47%) en la fracción 52, cabe destacar que en las fracciones 53-54 se encontraba impuro (1), el rendimiento total del extracto fue de aproximadamente un 4%. Este procedimiento se repitió hasta obtener 1g.



Cristales incoloros de, p.f 114-116 °C.

$[\alpha]_D^{20} = -18.3$ (c 3.8, CHCl_3).

UV, λ_{max} (EtOH) 210, 252.

IR (CHCl_3) ν_{max} 2931, 2866, 1724, 1442, 1374, 1250 cm^{-1} .

RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) 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, 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).

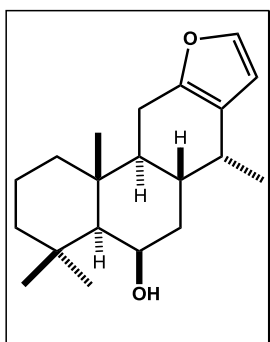
RMN - ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm 170.6 (C, MeCO), 149.6 (C, C-12), 140.4 (CH, C-16), 122.0 (C, C-13), 109.4 (CH, C-15), 69.6 (CH, C-6), 55.4 (CH, C-5), 45.6 (CH, C-9), 43.9 (CH_2 , C-3), 42.2 (CH_2 , C-1), 37.9 (C, C-10), 36.3 (CH_2 , C-7), 33.8 (C, C-4), 33.7 (CH_3 , C-18), 31.0 (CH, C-8), 31.0 (CH, C-14), 23.5 (CH_3 , C-19), 21.8 (CH_2 , C-11), 21.7 (CH_3 , MeCO), 18.7 (CH_2 , C-2), 17.6 (CH_3 , C-17), 17.2 (CH_3 , C-20).

EMIE 70 eV m/z (Int. Rel.) 342 (9), 282 (56), 197 (100).

MSHR: Masa cal. 344.2351, Encontrada: m/z 344.2351 (100%).

6β-Hidroxivoucapano (3)

A una suspensión de 0.550 g (10 eq) de LiAlH₄ en 15 mL de THF anhidro se la adicionó una solución de 0.497 g de 6β-acetoxivoucapano (1) en 10 mL de THF anhidro. La mezcla de reacción se agitó durante 2 h a temperatura ambiente en condiciones anhidras. Transcurrido este tiempo la reacción se neutralizó con HCl al 10% gota a gota y se extrajo con acetato de etilo, se lavó con agua, se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró en un rotavapor. Se obtuvieron 0.410 g (94 %) de una miel ligeramente amarilla.



$[\alpha]_D^{20} = -8.4$, (*c* 0.75, CHCl₃).

UV λ_{\max} (CHCl₃) 215.02, 255.66.

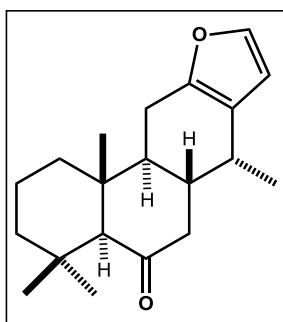
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.23 (1H, da, *J* = 1.9 Hz, H-16), 6.19 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-15), 4.48 (1H, sa, H-6), 2.59 (1H, dd, *J* = 16.9, 7.1 Hz, H-11), 2.63 (1H, m, H-14) 2.46 (1H, dd, *J* = 16.9, 10.0 Hz, H-11'), 2.15 (1H, dddd, *J* = 12.5, 12.5, 4.7, 4.7 Hz, H-8), 1.75 (1H, dt, *J* = 13.9, 3.7, H-7), 1.69 (1H, da, *J* = 12.3, 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), 1.26 (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, CH₃-17).

RMN -¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm 149.7 (C, C-12), 140.3 (CH, C-16), 122.2 (C, C-13), 109.5 (CH, C-15), 67.7 (CH, C-6), 56.3 (CH, C-5), 45.6 (CH, C-9), 43.6 (CH₂, C-3), 42.3 (CH₂, C-7), 40.3 (CH₂, C-1), 37.5 (C, C-10), 34.0 (C, C-4), 33.8 (CH₃, C-18), 31.1 (CH, C-14), 30.4 (CH, C-8), 24.8 (CH₃, C-19), 21.5 (CH₂, C-11), 18.8 (CH₂, C-2), 17.7 (CH₃, C-20), 17.7 (CH₃, C-17).

EMIE 70 eV *m/z* (Intensidad relativa) 302, (100), 145 (26), 133 (32), 132 (14), 131 (34), 199 (9), 109 (34), 108 (75), 105 (18), 95 (5), 91 (20), 79 (26), 55 (14).

6-oxouvoucapano (4)

A una disolución de 0.410 g del 6 β -hidroxivoucapano (**3**) en 10 mL de CH₂Cl₂, se le adicionaron 0.615 g (2 eq.) de clorocromato de piridinio (PCC preparado recientemente)⁷² disueltos en 45 mL de CH₂Cl₂, la mezcla de reacción se dejó a agitación durante 1h a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se le adicionaron 45 mL de éter etílico, se filtró y concentró en un rotavapor, se purificó mediante una columna cromatográfica utilizando gel de sílice de malla 70-230, encontrándose en las fracciones 28-32 eluidas con hexano 0.155 g (38%) de una miel amarilla la cual presentó los siguientes datos espectroscópicos:



$[\alpha]_D^{20} = + 80.7$, (c 0.75, CHCl₃).

UV λ_{\max} (EtOH) 217.76.

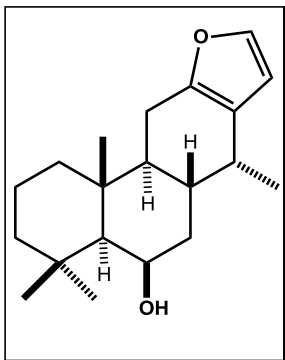
IR (CHCl₃) ν_{\max} 2929, 2871, 2846, 1709, 1508, 1463, 1392, 900 cm⁻¹.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.24 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-16), 6.19 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-15), 2.68 (1H, dd, $J = 16.9, 7.0$ Hz, H-11), 2.62 (1H, m, H-14), 2.40 (1H, dd, $J = 16.9, 10.1$ Hz, H-11'), 2.38 (1H, m, H-7), 2.24 (1H, m, H-7'), 2.22 (1H, m, H-8), 2.14 (1H, s, H-5), 1.97 (1H, m, H-9), 1.76 (1H, da, $J = 12.9$, H-1), 1.56 (2H, m, H-2 y H-2'), 1.35 (1H, da, $J = 13.1$ 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), 0.87 (3H, s, CH₃-20).

RMN-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), 32.0 (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).

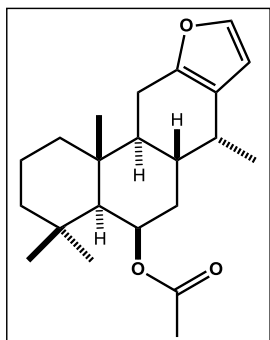
EMIE 70 eV m/z (Int. Rel.) 300 (76), 282 (1), 267 (4), 229 (5), 217 (5), 159 (9), 147 (12), 133 (67), 108 (100), 91 (11), 81 (12).

6 β -Hidrovoucapano (3)



A una disolución de 0.045 g de 6-oxovoucapano (4) en 10 mL de etanol absoluto, se le adicionaron 0.150 g (27 eq.) de borohidruro de sodio (NaBH₄). La mezcla de reacción se mantuvo en agitación durante 24 h. Transcurrido este tiempo se recuperó con acetato de etilo y se lavó con agua, se secó con Na₂SO₄ anhidro. Para purificar se realizó una columna cromatográfica eluída con mezclas hexano-acetato de etilo en orden creciente de polaridad, iniciando con hexano hasta 9:1 hexano-acetato de etilo, encontrándose en las fracciones 39-45 0.0131g (29%) de una miel ligeramente amarilla. Por comparación de sus datos espectroscópicos se observó que se correspondía del 6 β -hidroxivoucapano (3) obtenido mediante la hidrólisis del 6 β -acetoxivoucapano (1).

6 β -acetoxivoucapano (1)



Una disolución de 50 mg de (3) obtenido por reducción del 6-oxovoucapano (4), 1.5 mL de piridina y 3 mL de anhídrido acético, se dejó reaccionar en microondas durante 15 minutos, 80°C, 100 Watts, posteriormente se extrajo con acetato de etilo, se realizaron tres lavados con HCl al 10 %, dos con agua, tres con solución saturada de NaHCO₃ y tres con agua, se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró en el rotavapor. Por comparación con los datos espectroscópicos se observó que correspondía al 6 β -acetoxivoucapano (1) obtenido de del extracto hexánico de hojas de *C. platyloba*.

Desplazamientos de RMN de ^{13}C para el 6 β -acetoxivoucapano (1),
6 β -hidroxivoucapano (3) y 6-oxovoucapano (4).

No. C	(1)	(3)	(4)
1	42.2	40.3	38.8
2	18.7	18.8	18.3
3	43.9	43.6	42.5
4	33.8	34.0	32.0
5	55.4	56.3	65.1
6	69.6	67.7	211.9
7	36.3	42.5	46.8
8	31.0	30.4	38.4
9	45.6	45.6	45.4
10	37.9	37.5	41.8
11	21.8	21.5	22.6
12	149.6	149.7	148.8
13	122.0	122.2	121.9
14	31.0	31.1	30.7
15	109.4	109.5	109.4
16	140.4	140.3	140.8
17	17.6	17.7	17.3
18	33.7	33.8	32.8
19	23.5	24.8	21.9
20	17.2	17.7	14.9
Me	170.6		
Me	21.7		

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Bladé-Font, A.; Ordorica-Vargas, J. G.; Ordorica-Vargas, M. A.; Yañes-Avila, R. Apuntes sobre Mecanismos de Acción de Fármacos, Instituto Politécnico Nacional, México D.F., primera edición, **1999**, 1 – 7.
- ² Feher, M.; Schmidt, J.M. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, **2003**, 43, 218 – 227.
- ³ Newman, D. J.; Cragg, G. M.; Snader, K. M. *Journal of Natural Products*, **2003**, 66, 1022 – 1037.
- ⁴ Colegate, S. M.; Molyneux, J. R. *Bioactive Natural Products*, CRC Press, New York, U.S.A., second edition, **2008**, 191 – 195.
- ⁵ Álvarez-García, A. M. Síntesis Estereoselectiva y Aplicaciones de Nuevos Tioderivados con Esqueleto Norbornánico, Memoria para optar al grado de doctor en la Universidad Complutense de Madrid, **2008**, consultado en línea 26/07/2012: <http://eprints.ucm.es/8558/1/T30788.pdf>
- ⁶ Eriksson, T.; Björkman, S.; Höglund, P. *European Journal of Clinical Pharmacology*, **2001**, 57, 365 – 376.
- ⁷ Pamatz-Bolaños, T. Actividad Citotóxica de *Caesalpinia coriaria* (Jacq) Will y *C. platyloba* S. Watson, Tesis de Maestría en Ciencias en Biología Experimental, presentada en el Instituto de investigaciones Químico-Biológicas, UMSNH, **2010**.
- ⁸ Mendes, P.; Silveira, R. E.; *Phytochemistry*, **1994**, 35 (6), 1499 – 1503.
- ⁹ Green, M. M.; Nolte, R. J. M.; Meijer E. W. *Topics in stereochemistry: Materials-Chirality*, Volumen 24, Wiley, **2003**.
- ¹⁰ Juaristi E., Introducción a la Estereoquímica y al Análisis Conformacional, El Colegio Nacional, México D.F., **2007**, 2 – 10.
- ¹¹ Yurkanis Bruce P., *Organic Chemistry*, Prentice Hall, fourth edition, **2003**, 210 – 212.
- ¹² Flack, H. D.; Bernardinelli, G. *Chirality*, **2008**, 20, 681 – 690.
- ¹³ Sands, D. E. Introducción a la Cristalografía, Reverté, S.A., Traducido en España, **1993**, 86 – 90.
- ¹⁴ Harada, N.; Soutome, T.; Nehira, T.; Uda, H.; Oi, S.; Okamura, A.; Miyano, S. *Journal of the American Chemical Society*, **1993**, 115, 7547 – 7548.

-
- ¹⁵ Fukui, H.; Fukushi, Y. *Organic Letters*, **2010**, *12*, 2856 – 2859.
- ¹⁶ Leiro, V.; Seco, J. M.; Quiñoá, E.; Riguera, R. *Organic Letters*, **2008**, *10*, 2733 – 2736.
- ¹⁷ Porto, S.; Seco, J. M.; Ortiz, A.; Quiñoá, E.; Riguera, R. *Organic Letters*, **2007**, *24*, 5015 – 5018.
- ¹⁸ Seco, J. M.; Quiñoá, E.; Riguera, R. *Tetrahedron Asymmetry* **2001**, *12*, 2915 – 2925.
- ¹⁹ Seco, J. M.; Quiñoá, E.; Riguera, R. *Chemical Reviews*, **2004**, *104*, 17–117.
- ²⁰ Husain, A. P.; Debnath, J.; May, S. W. *Analytical Chemistry*, **1993**, *65* (10), 1456 – 1461.
- ²¹ Harada, K.; Shimizu, Y.; Kawakami, A.; Norimoto, M.; Fujii, K. *Analytical Chemistry*, **2000**, *72*, 4142 – 4147.
- ²² Cedrón J. C., *Revista Química de la Pontificia Universidad Católica del Perú*, **2008**, *XXII*, 19 – 27.
- ²³ Crabbé P., Actividad Óptica, Dispersión Rotatoria Óptica y Dicroísmo Circular en Química Orgánica, Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, 3 – 17.
- ²⁴ Eyring, H.; Han-Chung, L.; Caldwell, D.; *Chemical Reviews*, **1968**, *68* (5), 525 – 540.
- ²⁵ Guo-Qiang, L.; Yue-Ming, L.; Chan, S. C. A. *Principles and Applications of Asymmetric Synthesis*, John Wiley & Sons, Inc., New York, U.S.A., **2001**, 1 – 5.
- ²⁶ Berova, N.; Di Bari, L.; Pescitelli, G. *Chemical Society Reviews*, **2007**, *36*, 914 – 931.
- ²⁷ Superchi, S.; Donnoli, M. I.; Rosini, C. *Organic Letters*, **1999**, *1* (13), 2093–2096.
- ²⁸ Sabina, T.; Pace, F.; Scafato, P.; Rosini, C. *Organic Letters*, **2008**, *10* (16), 3421 – 3424.
- ²⁹ Zanh, S.; Canary, J. W.; *Organic Letters*, **1999**, *1* (6), 861 – 864.
- ³⁰ Stephens, P. J.; Devlin, F. J; *Properties and Spectroscopies*, Wiley/CSMP, **2007**, 180 – 181.
- ³¹ Sthephens, P. J.; Devlin, J. F.; Jiang-Jung P. *Chirality*, **2007**, 1 – 21.

-
- ³² Freedman, T.B; Cao, X; Dukor, R. K; Nafie, L. A. *Chirality*, **2003**, *15*, 743 – 758.
- ³³ Yanan, H.; Bo, W.; Dukor, R. K.; Nafie, L. A; *Applied Spectroscopy*, **2011**, *65* (7), 699 – 723.
- ³⁴ Nafie, L. A; New Approaches to the Determination of Absolute Configuration for Chiral Pharmaceuticals, *Business Briefing: Pharma Outsourcing*, **2004**, 38 – 43.
- ³⁵ Cerda-García-Rojas, C. M; García-Gutiérrez, H. A; Hernández-Hernández, J.D; Román-Marín, L.U; Joseph-Nathan, P. *Journal Natural Products*, **2007**, *70*, 1167 – 1172.
- ³⁶ Areche, C.; San-Martín, A.; Roviroso, J.; Muñoz, M. A.; Hernández-Barragán, A.; Bucio, M. A; Joseph-Nathan, P. *Journal Natural Products*, **2010**, *73*, 79–82.
- ³⁷ Muñoz, M. A.; Chamy, C.; Carrasco, A.; Roviroso, J.; San Martín, A.; Joseph-Nathan, P. *Chirality*, **2009**, *21*, E208 – E214.
- ³⁸ Nakanishi, K. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2005**, *13*, 4987 – 5000.
- ³⁹ Wright, C.W. *Journal Ethnopharmacol*, **2005**, *100*, 67 – 71.
- ⁴⁰ De la Cruz, M. *Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis*, Fondo de Cultura Económica, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F., **1991**.
- ⁴¹ Villaseñor, J. L; Espinoza, G.F.J. The alien flowering plants of México. *Diversity and Distribution*, **2004**. *10*, 113 – 123.
- ⁴² Baldim-Zanin, J. L.; de Carvalho, A. B.; Salles-Martineli, P.; dos Santos, M. H.; G. Lago, J. H.; Sartorelli, P.; Viegas, Jr. C.; Soares, G. M. *Molecules*, **2012**, *17*, 7887 - 7902.
- ⁴³ Ragasa, C. Y.; Ganzon, J.; Hofileña, J.; Tamboong, B.; Rideout, J. A. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **2003**, *51*(10), 1208 – 1210.
- ⁴⁴ Pranithanchai, W.; Karalai, C.; Ponglimanont, C.; Subhadhirasakul, S.; Chantrapromma, K.; *Phytochemistry*, **2009**, *70*, 300 – 304.
- ⁴⁵ Promsawan, N.; Kittakoop, P.; Boonphong, S.; Nongkunsarn, P. *Letter Planta Medical*, **2003**, *69*, 776 – 777.
- ⁴⁶ Orapun, Y.; Chatchanok, K.; Ponglimanont, C.; Tewtrakul, S.; Chantrapromma, S. *Tetrahedron*, **2011**, *67*, 6838 – 6846.

-
- ⁴⁷ Ragasa, C. Y.; Ganzon, J.; Hofileña, J.; Rideout, J. A. *Journal Natural Products*, **2002**, *65*, 1107 – 1110.
- ⁴⁸ Yadav, P. P.; Arora, A.; Bid, H. K.; Konwar, R. R.; Kanojiya, S. *Tetrahedron Letters*, **2007**, *48*, 7194 – 7198.
- ⁴⁹ Peter, R. S.; Tinto, W. F. *Journal Natural Products*, **1997**, *60*, 1219 – 1221.
- ⁵⁰ Yadav, P. P.; Maurya, R.; Sarkar, J.; Arora, A.; Kanojiya, S.; Sinha, S.; Srivastava, M.N.; Raghubir, R. *Phytochemistry*, **2009**, *70*, 256 – 261.
- ⁵¹ Pudhom K.; Sommit, D.; Suwankitti N.; Petsom, A. *Journal Natural Products*, **2007**, *70*, 1542 – 1544.
- ⁵² Awale, S.; Linn, T. Z.; Tezuka, Y.; Kalaunil, S. K.; Banskota, A. H.; Attamimi, F.; Ueda, J.; Kadota, S. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, **2006**, *54*, 213 – 218.
- ⁵³ Cheenpracha, S.; Srisuwan, R.; Karalai, C.; Ponglimanont, C.; Chantrapromma, S.; Chantrapromma, K.; Hoong-Kun, F.; Anjum, S.; Atta-ur-Rahman. *Tetrahedron*, **2005**, *61*, 8656 – 8662.
- ⁵⁴ Linn, T. Z.; Awale, S.; Tezuka, Y.; Banskota, A. H.; Kalauni, S. K.; Attamimi, F.; Ueda, J.; Setia-Asih, P. B.; Syafruddin, D.; Tanaka, K.; Kadota, S. *Journal Natural Products*, **2005**, *68*, 706 – 710.
- ⁵⁵ Kalauni, S. K.; Awale, S.; Tesuka, Y.; Banskota, A. H.; Linn, T. Z.; Setia-Asih, P. B.; Syafruddin, D.; Kadota, S. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* **2006**, *29*, 1050 – 1052.
- ⁵⁶ Cheng, Y.; Ma-Li, Y.; Hua-Miao, J.; Xu-Dong, X.; Quan-Yuan J.; Shan-Yang J.; *Chinese Chemical Letters* **2009**, *20*, 444 – 446.
- ⁵⁷ Jiang, Ren-Wang; Pui-Hay, P.; Shuang-Cheng, B.; Wen-Cai, Ye Ma.; Siu-Pang Chan, C. W. Mak, T. *Tetrahedron Letters*, **2002**, *43*, 2415 – 2418.
- ⁵⁸ Jiang, Ren-Wang; Shuang-Cheng, Ma; Pui-Hay, P.; But, T. C. W. Mak, *Journal Natural Products*, **2001**, *64*, 1266 – 1272.
- ⁵⁹ Cordero, J.; Boshier, D.; Barrance, A.; Árboles de Centroamérica: un manual para extensionistas, **2003**, Edit. Instituto Forestal de Oxford Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), El Salvador.
- ⁶⁰ Torres, R. J. A.; Castro, F. R.; y Grande, C. D.; *Zootecnia Tropical*, **2008**, *26*, 279 - 283.

-
- ⁶¹ Gonzáles-Gómez; Madrigal-Sánchez, X.; Ayala-Burgos, A.; Juárez-Caratachea, A.; Gutiérrez-Vázquez, E. *Livestock Research for Rural Development*, **2006**, 18 (8).
- ⁶² Salvador-Hernández, J. L.; Estudio Químico de Aceites Esenciales de dos Especies de *Caesalpinia*, Tesis de Maestría en Ciencias en Tecnología de la Madera, presentada en la Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera de la UMSNH, **2010**.
- ⁶³ Espinoza-Madrigal, R. M.; Escrutinio del Efecto Antifúngico de *Caesalpinia coriaria* (Jacq) Will y *C. platyloba* S. Watson sobre Patógenos que Causan Pudrición de Pedúnculo en el Fruto de Aguacate. Tesis de Maestría en Ciencias en Biología Experimental, presentada en el Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la UMSNH, **2010**.
- ⁶⁴ Spindola, H. M.; de Carvalho, J. E.; Ruiz, A. L. T. G.; Rodríguez, R. A. F.; Denny, C.; de Oliveira-Sousa I. M.; Tamashiro, J. Y.; Foglio, M. A. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **2009**, 20, 569 – 575.
- ⁶⁵ Dewick P. M., *Medicinal Natural Products A Biosynthetic Approach*, John Wiley & Sons, **1997**, 184 – 189.
- ⁶⁶ Hong, Y. J.; Tantillo, D. J. *Journal of the American Chemical Society*, **2010**, 132, 5375 – 5386
- ⁶⁷ Yajima, A.; Mori, K.; Yabuta, G. *Tetrahedron Letters*, **2004**, 45, 167 – 169
- ⁶⁸ Yajima, A.; Toda, K.; Okada, K.; Yamane, H.; Yamamoto, M.; Hasegawam, M.; Katsuta, R.; Nukada, T. *Tetrahedron Letters*, **2011**, 52, 3212 - 3215.
- ⁶⁹ Yajima, A.; Mori, K. *European Journal Organic Chemistry*, **2000**, 4079 – 409.1
- ⁷⁰ Orapun, Y.; Karalai, C.; Ponglimanont, C.; Tewtrakul, S.; Chantrapromma, S. *Phytochemistry*, **2010**, 71, 1756 – 1764.
- ⁷¹ Cheenpracha, S.; Chatchanok, Karalai; Ponglimanont, C.; Chantrapromma, K.; Laphookhieo, S. *Helvetica Chimica Acta*, **2006**, 89, 1062 – 1066.
- ⁷² Agarwal, S.; Tigari, H. P.; Sharma, J. P. *Tetrahedron*, **1990**, 46, 4417 – 4420.