



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO-BIOLÓGICAS

DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

PREPARACIÓN DE NUEVOS DERIVADOS OXIDADOS DEL
6BETA-ACETOXIVOUCAPANO

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS QUÍMICAS
PRESENTA

Maestro en Ciencias **ARMANDO TALAVERA ALEMÁN**

DIRECTORAS

Doctora en Ciencias **ROSA ELVA NORMA DEL RÍO TORRES**

Doctora en Ciencias. **CHRISTINE THOMASSIGNY**

Morelia, Michoacán

Febrero de 2018.

El presente trabajo se llevó a cabo en los laboratorios de Química de Productos Naturales del Instituto de investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y de Síntesis Orgánica del Institut Lavoisier de Versailles de la Université de Versailles Saint-Quentin-En-Yvelines, Francia, bajo la dirección de las D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres y Christine Thomassigny, con la beca de doctorado 398462 y beca de movilidad internacional con número de convocatoria 291062, otorgadas por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

Parte de los resultados de este trabajo de investigación generaron la siguiente publicación:

Talavera-Alemán A., Gómez-Hurtado M. A., del Río R. E., Marrot J., Thomassigny C., Greck C., Epoxy lactones by photooxidative rearrangement of 6 β -acetoxivouacapane. *Tetrahedron letters* (2017) 58, 2901-2903.

Además de ser presentados en los siguientes foros y congresos:

1. "Oxidación del 6 β -acetoxivouacapano (1)", Talavera-Alemán A., Pineda-Mercado M., Gómez-Hurtado M. A., Rodríguez-García G., Martínez-Pacheco M. M., Cerda-García-Rojas C. M., Joseph-Nathan P., Del Río R. E., presentado en 9o Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación y Tercer Encuentro de Jóvenes Investigadores del Estado de Michoacán. Celebrado en Morelia, Michoacán del 16-17 de Octubre de 2014.
2. "Preparación de nuevos derivados a partir del 6 β -acetoxivouacapano", Talavera-Alemán A., Gómez-Hurtado M. A., Thomassigny C., Cerda-García-Rojas C. M., Joseph-Nathan P., del Río R. E., presentado en 11a Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales, celebrada en Sonora, San Carlos, Sonora, México, del 20-22 de Mayo de 2015.
3. "Obtención de nuevos derivados mediante oxidación del 6 β -acetoxivouacapano con DDQ", Talavera-Alemán A., Barrientos-Martínez K. Z., Armenta-Salinas C., Rodríguez-García G., Gómez-Hurtado M. A., del Río R. E., presentado en 10o Congreso estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación y Cuarto encuentro de Jóvenes Investigadores del Estado de Michoacán. Celebrado en Morelia, Michoacán de 24-25 de septiembre de 2015.
4. "Obtención del 6 β -acetoxi-16-metilenacetoxi-vouacapandieno por reacción multicomponente", Lara-Hernández Y., Talavera-Alemán A., Rodríguez-García G., Gómez-Hurtado M. A., Cerda-García-Rojas C. M., Joseph-Nathan

P., del Río R. E., presentado en el 10o Congreso estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación y Cuarto encuentro de Jóvenes Investigadores del Estado de Michoacán. Celebrado en Morelia, Michoacán de 24-25 de septiembre de 2015.

5. “Nuevos derivados oxidados del 6β -acetoxivouacapano”, Talavera-Alemán A., Magallón Chávez O., Rodríguez García G., López Castro Y., Gómez-Hurtado M. A., Thomassigny C., del Río R. E., presentado en la Segunda Semana del Posgrado en Ciencias Químicas. Celebrado en Morelia, Michoacán el 11 de noviembre de 2015.
6. “Obtención de dos nuevos dinorcassanos isoméricos mediante oxidación del 6β -acetoxivouacapano”, Talavera-Alemán A., Gómez-Hurtado M. A., Rodríguez-García G., Cerda-García-Rojas C. M., Joseph-Nathan P., del Río R. E., presentado en 12a Reunión de Investigación en Productos Naturales. Celebrado en Xalapa, Veracruz, México del 18-20 de mayo de 2016.
7. “Acetoxivouacapane: isolation and oxidation”, Talavera-Alemán A., Gómez-Hurtado M. A., Cerda-García-Rojas C. M., Joseph-Nathan P., del Río R. E., Thomassigny C., presentado en el 24th Young Research Fellow Meeting of the French Medicinal Chemistry Society. Celebrado en Châtenay-Malabry, Francia, del 8-10 de febrero de 2017.
8. “Obtención de nuevas espirolactonas mediante oxidación del 6β -acetoxivouacapano”, Talavera-Alemán A., Gómez-Hurtado M. A., Thomassigny C., Greck C., Rodríguez-García G., Cerda-García-Rojas C. M., Joseph-Nathan P., del Río R. E., presentado en la 13ª Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales. Celebrada en Morelia, Michoacán, México, del 17-20 de mayo de 2017.
9. “Obtención de nuevas epoxilactonas mediante fotooxidación del 6β -acetoxivouacapano”, Talavera-Alemán A., Thomassigny C., Gómez-Hurtado M. A., Rodríguez-García G., Cerda-García-Rojas C. M., Joseph-Nathan P., del Río R. E., presentado en el 1er Foro del Posgrado en Ciencias Químicas del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. Celebrado en Morelia, Michoacán, México, del 31 de julio al 4 de agosto de 2017.

10. "Derivados benzofuránicos del 6 β -acetoxivouacapano", Magallón-Chávez O., Talavera-Alemán A., Gómez-Hurtado M. A., Rodríguez-García G., Cerda-García-Rojas C. M., Joseph-Nathan P., del Río R. E., presentado en el 1er Foro del Posgrado en Ciencias Químicas del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. Celebrado en Morelia, Michoacán, México, del 31 de julio al 4 de agosto de 2017.
11. "Reordenamientos moleculares fotooxidativos en diterpenos de tipo vouacapano", Talavera-Alemán A., Marrot J., Greck C., Rodríguez-García G., Gómez-Hurtado M. A., Thomassigny C., del Río R. E., presentado en el 12o Congreso Estatal de Ciencia Tecnología e Innovación y 6o Encuentro de Jóvenes Investigadores del Estado de Michoacán. Celebrado en Morelia, Michoacán, México, del 5-6 de Octubre de 2017.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	IV
ÍNDICE DE ESQUEMAS	VII
ÍNDICE DE TABLAS	IX
ÍNDICE DE GRÁFICOS	IX
SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS.....	IX
RESUMEN	XII
ABSTRACT	XIV
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	5
JUSTIFICACIÓN	15
OBJETIVOS	16
Objetivo general.....	16
Objetivos específicos.....	16
HIPÓTESIS	17
PARTE EXPERIMENTAL.....	18
Generalidades	18
Obtención del 6 β -acetoxivouacapano (5)	19
Tratamiento del 6 β -acetoxivouacapano (5) con DDQ en CH ₂ Cl ₂ o acetonitrilo..	20
Benzofurano 9	20
Dímero 46	21
Lactona 47	21
Tratamiento del 6 β -acetoxivouacapano (5) con DDQ en CH ₃ CN-H ₂ O	22
Aldehído 48	22
Tratamiento del 6 β -acetoxivouacapano (5) con DDQ en THF-H ₂ O	23
Tratamiento del aldehído 48 con DDQ en CH ₂ Cl ₂ -HCl	23
Tratamiento del 6 β -acetoxivouacapano (5) con AMCPB en tolueno	23
Acetilación de la lactona 49	24
Diacetato 50	25
Reactividad del 6 β -acetoxivouacapano (5) frente a CrO ₃	25
Dinorcassano 51	26

Dinorcassano 52	27
11-Oxoepirolactona 53	27
Epirolactona 6	28
Reactividad del 6 β -acetoxivouacapano (5) frente a K ₂ Cr ₂ O ₇ a temperatura ambiente.....	28
Reactividad del 6 β -acetoxivouacapano (5) frente a K ₂ Cr ₂ O ₇ a reflujo	29
Obtención de la 13- <i>epi</i> -11-Oxoepirolactona 54	29
11-Oxoepirolactona 54	29
Reacción general de fotooxidación de 5	30
Epoxi-epirolactona 55	30
Epoxi-epirolactona 56	31
Epoxilactona 57	32
Epoxilactona 58	32
Obtención del Hidroxibenzofurano 59	33
Hidroxibenzofurano 59	33
Oxidación del Hidroxibenzofurano 59	33
Cetona 60	34
Oxibenzoilación de la cetona 60	34
Cassano oxibenzoilado 61	35
Ensayo de viabilidad	35
PBS (Phosphate buffer saline)	35
Medio F12-Ham incompleto (Células MCF-7)	35
Medio F12-Ham completo (Células MCF-7).....	35
Ensayo en células Células MCF-7	36
Medio RPMI incompleto (Células HL-60)	36
Medio RPMI completo (Células HL-60).....	37
Ensayo en células Células HL-60	37
Protocolo para el ensayo de MTT	37
Solución de MTT:	37
Ensayo:	38
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	39

Obtención del vouacapano 5	39
Oxidación del 6 β -acetoxivouacapano (5) con DDQ	40
Tratamiento del 6 β -acetoxivouacapano (5) con AMCP	55
Reactividad del 6 β -acetoxivouacapano (5) frente a derivados de Cromo.....	61
Oxidación con CrO ₃	61
Oxidación de 5 con K ₂ Cr ₂ O ₇	72
Reacción de fotooxidación.....	78
Oxibenzoilación del benzofurano 9	93
Ensayos de viabilidad	99
Células MCF-7	99
Células HL-60	101
CONCLUSIONES.....	104
PERSPECTIVAS.....	106
BIBLIOGRAFÍA	107

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructuras del paclitaxel y su derivado DHA-paclitaxel.....	2
Figura 2. Diterpenfuranos aislados de <i>Caesalpinia sappan</i>	3
Figura 3. Estructura del 6 β -acetoxivouacapano (5) aislado de <i>C. platyloba</i>	3
Figura 4. Compuestos obtenidos mediante oxidación del 6 β -acetoxivouacapano (5).....	4
Figura 5. Alcaloides aislados de <i>Catharanthus roseus</i>	5
Figura 6. Camptotecina (12) aislada de <i>Camptotheca acuminata</i> , y sus derivados químicos.....	6
Figura 7. Cassanos aislados de <i>Bowdichia nitida</i>	9
Figura 8. Espectro de RMN de ^1H del 6 β -acetoxivouacapano (5) en CDCl_3 a 400 MHz.....	39
Figura 9. Espectro de RMN de ^1H del benzofurano 9 en CDCl_3 a 400 MHz.....	41
Figura 10. Espectro de RMN de ^1H del dímero 46 en CDCl_3 a 400 MHz.....	42
Figura 11. Espectro de RMN de ^{13}C del dímero 46 en CDCl_3 a 100 MHz.....	43
Figura 12. Estructura de rayos X del dímero 46.....	44
Figura 13. Espectro de RMN de ^1H de la lactona 47 en CDCl_3 a 400 MHz.....	45
Figura 14. Espectro de RMN de ^{13}C de la lactona 47 en CDCl_3 a 100 MHz.....	46
Figura 15. Espectro COSY de la lactona 47.....	47
Figura 16. Espectro de RMN de ^1H del aldehído 48 en CDCl_3 a 400 MHz.....	49

Figura 17.	Espectro de RMN de ^{13}C del aldehído 48 en CDCl_3 a 100 MHz.....	50
Figura 18.	Experimento COSY del aldehído 48	51
Figura 19.	Espectro de RMN de ^1H del crudo de la reacción de oxidación de 5 con DDQ en $\text{THF-H}_2\text{O}$ en CDCl_3 a 400 MHz.....	53
Figura 20.	Espectro de RMN del crudo del tratamiento del aldehído 48 con DDQ en $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-HCl}$ en CDCl_3 a 400 MHz.....	53
Figura 21.	Espectro de RMN de ^1H de la lactona 49 en CDCl_3 a 400MHz.....	56
Figura 22.	Espectro de RMN de ^{13}C de la lactona 49 en CDCl_3 a 100 MHz.....	57
Figura 23.	Espectro de RMN de ^1H del diacetato 50 en CDCl_3 a 400MHz.....	59
Figura 24.	Espectro de RMN de ^{13}C del diacetato 50 en CDCl_3 a 100 MHz.....	60
Figura 25.	Diagrama de rayos X del diacetato 50	60
Figura 26.	Espectro de RMN de ^1H del dinorcassano 51 en CDCl_3 a 300 MHz.....	62
Figura 27.	Espectro de RMN de ^{13}C del dinorcassano 51 en CDCl_3 a 75MHz.....	63
Figura 28.	Experimento COSY del dinorcassano 51	64
Figura 29.	Espectro de RMN de ^1H del dinorcassano 52 en CDCl_3 a 400MHz.....	65
Figura 30.	Espectro de RMN de ^{13}C del dinorcassano 52 en CDCl_3 a 100 MHz.....	66
Figura 31.	Experimento COSY del dinorcassano 52	67

Figura 32. Espectro de RMN de ^1H de la 11-oxoespirolactona 53 en CDCl_3 a 300 MHz.....	68
Figura 33. Espectro de RMN de ^{13}C de la 11-oxoespirolactona 53 en CDCl_3 a 75 MHz.....	69
Figura 34. Espectro de RMN de ^1H de la espirolactona 6 en CDCl_3 a 400 MHz.....	71
Figura 35. Espectro de RMN de ^1H de la mezcla de los epímeros 53 y 54 en CDCl_3 a 400 MHz.....	73
Figura 36. Espectro de RMN de ^1H de la 13- <i>epi</i> -11-oxoespirolactona 54 en CDCl_3 a 300 MHz.....	75
Figura 37. Espectro de RMN de ^{13}C de la 13- <i>epi</i> -11-oxoespirolactona 54 en CDCl_3 a 75 MHz.....	76
Figura 38. Experimento NOESY de la 13- <i>epi</i> -11-oxoespirolactona 54	77
Figura 39. Espectro de RMN de ^1H de la epoxi-espirolactona 55 a 300 MHz en CDCl_3	81
Figura 40. Espectro de RMN de ^{13}C de la epoxi-espirolactona 55 a 75 MHz en CDCl_3	82
Figura 41. Espectro NOESY de la epoxi-espirolactona 55	83
Figura 42. Diagrama de rayos X de la epoxi-espirolactona 55	84
Figura 43. Espectro de RMN de ^1H de la epoxi-espirolactona 56 a 300 MHz en CDCl_3	85
Figura 44. Espectro de RMN de ^{13}C a 75 MHz de la epoxi-espirolactona 56 en CDCl_3	86
Figura 45. Espectro de RMN de ^1H de la epoxilactona 57 a 300 MHz en CDCl_3	87
Figura 46. Espectro de RMN de ^{13}C de la epoxilactona 57 a 75 MHz en CDCl_3	88
Figura 47. Espectro de RMN de ^1H de la epoxilactona 58 a 300 MHz en CDCl_3	89

Figura 48. Espectro de RMN de ^{13}C de la epoxilactona 58 a 75 MHz en CDCl_3	90
Figura. 49. Diagrama de rayos X de la epoxilactona 58	91
Figura 50. Espectro de RMN de ^1H del hidroxibenzofurano 59 en CDCl_3 a 400 MHz.....	94
Figura 51. Espectro de RMN de ^1H de cetona 60 en CDCl_3 a 300 MHz.....	95
Figura 52. Espectro de RMN de ^{13}C de la cetona 60 en CDCl_3 a 75 MHz.....	96
Figura 53. Espectro de RMN de ^1H del benzoato 61 en CDCl_3 a 200 MHz.....	98
Figura 54. Cassanos citotóxicos.....	99
Figura 55. Actividad citotóxica de los compuestos A) 6β -acetoxivouacapano (5), B) espirolactona 6 y C) benzofurano 9 , a $25\ \mu\text{g/mL}$ en células MCF-7.....	101
Figura 56. Actividad citotóxica de los compuestos A) 6β -acetoxivouacapano (5), B) espirolactona 6 y C) benzofurano 9 , a $25\ \mu\text{g/mL}$ en células HL-60.....	103

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Derivados semisintéticos del ácido $6\alpha,7\beta$ -dihidroxivouacapan- 17β -oico (15).....	7
Esquema 2. Oxidación de los vouacapanos naturales 22 y 23	8
Esquema 3. Reacciones de oxidación del cassano 28 obtenido de <i>Bowdichia nitida</i>	9
Esquema 4. Obtención del (+)-Zerumin B (35) a partir de la (+)-esclareolida (34).....	10
Esquema 5. Reordenamientos de endoperóxidos en la fotooxidación de furanos.....	11

Esquema 6.	Modificaciones químicas del hardwickiato de metilo	3611
Esquema 7.	Aminoxilación asimétrica de aldehídos	12
Esquema 8.	Aminoxilación electrofílica de un β -hidroxialdehído	13
Esquema 9.	Obtención de 1,2-dioles	13
Esquema 10.	Reacción del 6β -acetoxivouacapano (5) con DDQ	40
Esquema 11.	Reacción del 6β -acetoxivouacapano (5) con DDQ en $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$	48
Esquema 12.	Reacción de 5 con DDQ en THF- H_2O	52
Esquema 13.	Transformación del vouacapano 5 a benzofurano 9	52
Esquema 14.	Reacción del 6β -acetoxivouacapano (5) con AMCPB en tolueno	55
Esquema 15.	Acetilación de la lactona 49	58
Esquema 16.	Oxidación del 6β -acetoxivouacapano (5) con CrO_3	61
Esquema 17.	Oxidación de 5 con $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a temperatura ambiente	72
Esquema 18.	Oxidación de 5 con $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a reflujo	72
Esquema 19.	Oxidación de la espirolactona 6	74
Esquema 20.	Reacción de Fotooxidación del 6β -acetoxivouacapano (5)	78
Esquema 21.	Mecanismo propuesto para la reacción de fotooxidación de 5	92
Esquema 22.	Hidrólisis del benzofurano 9	93

Esquema	23.	Oxidación	del
hidroxibenzofurano.....		94	
Esquema	24.	Reacción de oxibenzoilación de la cetona	
60		97	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	1.	Condiciones de fotooxidación de	
5		79	

Tabla 2.	Valores de IC ₅₀ obtenidos de los ensayos de viabilidad celular para las células MCF-7	
.....		101

Tabla 3.	Valores de IC ₅₀ obtenidos de los ensayos de viabilidad celular para las células HL-60	
.....		103

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1.	Efecto de los diferentes compuestos sobre la línea celular MCF-7	
.....		100

Gráfico 2.	Efecto de diferentes cassanos sobre línea celular HL-60	
.....		102

SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

°C	Grados Celsius
μL	Microlitros
μm	Micrometros
COLO201	Human Caucasian colon adenocarcinoma
COSY	Correlated spectroscopy
da	Doble ancha
DCV	Dicroísmo Circulas Vibracional

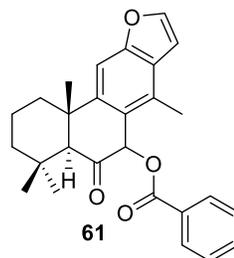
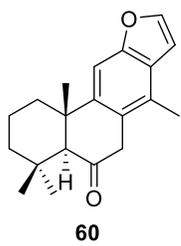
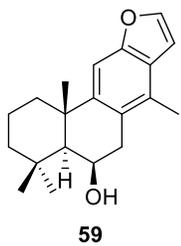
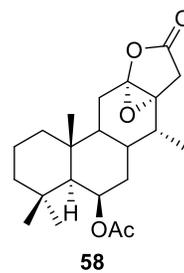
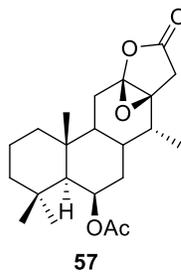
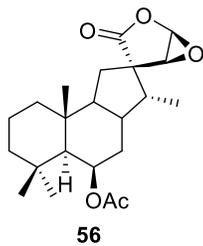
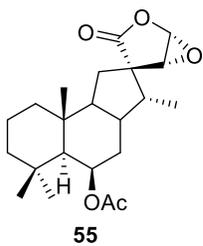
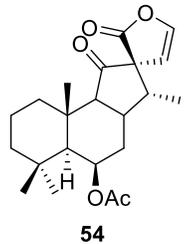
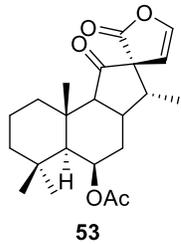
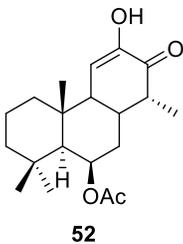
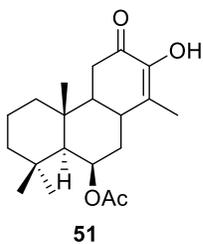
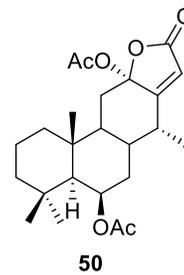
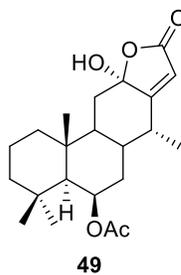
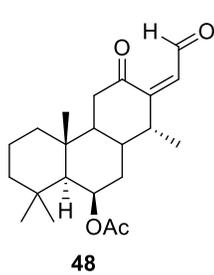
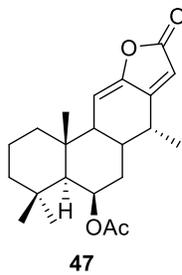
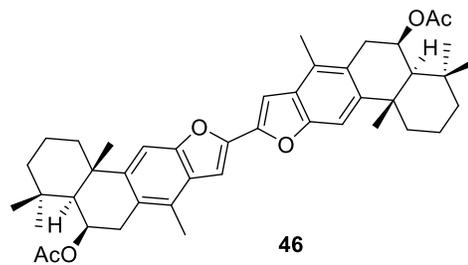
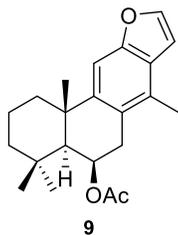
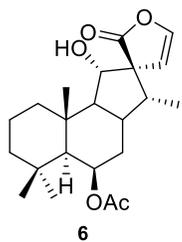
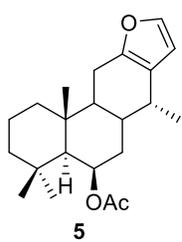
dd	Doble de dobles
ddd	Doble de doble de dobles
dt	Doble de triples
DU-145	Prostate carcinoma cell line
g	Gramos
h	Horas
HCT-8	Human ileocecal adenocarcinoma
HeLa	Human cervix epitheloid carcinoma
HepG-2	Human Caucasian hepatocyte carcinoma
HETCOR	Heteronuclear correlation
HL-60	Human Caucasian promyelocytic leukaemia
HMBC	Heteronuclear multiple bond correlation
HMQC	Heteronuclear multiple quantum coherence
HSQC	Heteronuclear single quantum coherence
Hz	Hertz
IR	Espectroscopia de infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
K562	Human Caucasian chronic myelogenous leukaemia
m	Múltiple
M	Molar
MCF-7	Human Caucasian breast adenocarcinoma
mg	Miligramos
MHz	Megahertz

min	Minutos
mL	Mililitros
MTT	3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide
nm	Nanómetros
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
PBS	Phosphate buffer saline
pf	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
rpm	Revoluciones por minuto
s	Simple
sa	Simple ancha
t.a.	Temperatura ambiente
TAACF Facility	Tuberculosis Antimicrobial Acquisition and Coordinating Facility
td	Triple de dobles
TMS	Tetrametilsilano
UV	Espectroscopia de ultravioleta
δ	Desplazamiento en ppm
$\mu\text{g/mL}$	Concentración en microgramos sobre mililitros

RESUMEN

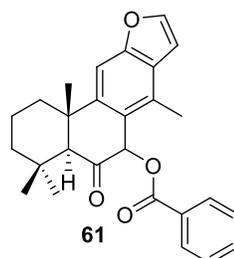
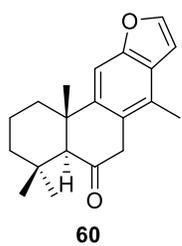
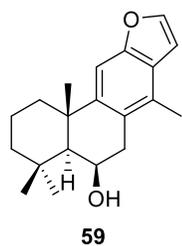
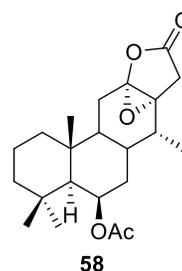
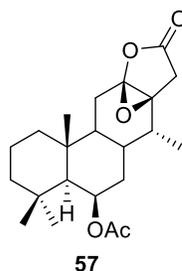
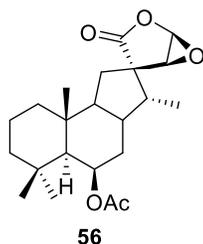
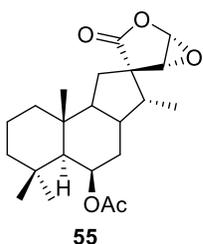
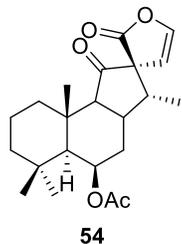
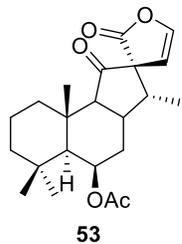
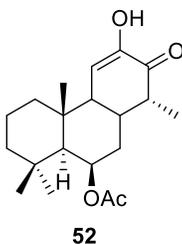
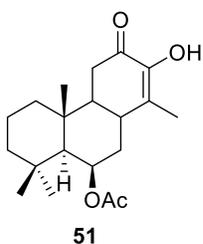
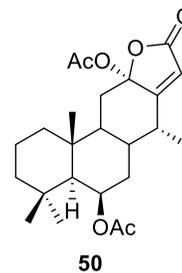
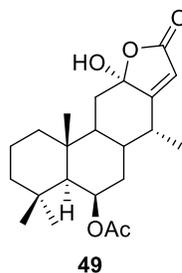
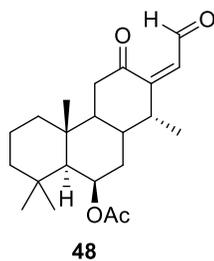
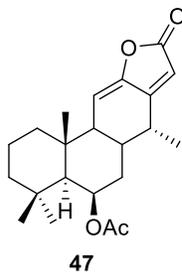
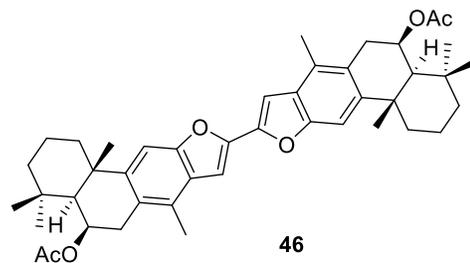
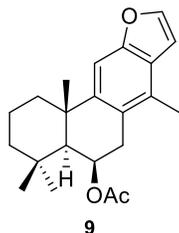
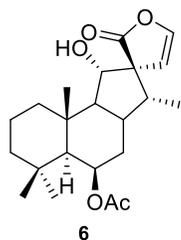
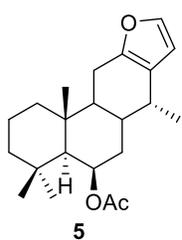
El tratamiento oxidativo del 6 β -acetoxivouacapano (**5**), aislado de *Caesalpinia platyloba*, con diferentes agentes oxidantes como DDQ, AMCPB, CrO₃, K₂Cr₂O₇ y fotooxidación, generó 12 nuevos derivados **6**, **46-48** y **51-58**, además de los compuestos **9**, **49** y **50** reportados previamente de *Caesalpinia bonduc*. Todas las estructuras fueron elucidadas con base en sus datos de RMN en una y dos dimensiones. La estereoquímica de los derivados se estableció con base en los experimentos NOESY, y mediante rayos X para los compuestos **46**, **50**, **55** y **58**. Los compuestos **5**, **6** y **9** fueron ensayados para su actividad citotóxica frente a las líneas celulares MCF-7 y HL-60, mostrando actividad moderada. Por otro lado, se obtuvo el hidroxibenzofurano **59** a partir de la hidrólisis de **9**. Posteriormente, **59** se oxidó a la cetona **60**, la cual se funcionalizó con BPO y *L*-prolina para obtener el derivado oxibenzoilado **61**. Todas las estructuras fueron establecidas con base en sus datos físicos y espectroscópicos de RMN en una y dos dimensiones.

Palabras clave: *Caesalpinia platyloba*, cassano, vouacapano, oxidación, fotooxidación.



ABSTRACT

Oxidative treatment of 6 β -acetoxivouacapane (**5**), isolated from *Caesalpinia platyloba*, with different oxidative agents as DDQ, *m*CPBA, CrO₃, K₂Cr₂O₇ and photooxidation reaction, yielded the new compounds **6**, **46-48** and **51-58**, as well as the known compounds **9**, **49** and **50**, previously isolated by *Caesalpinia bonduc*. All the structures were supported by its 1D and 2D NMR data. The stereochemistry was established on the basis of the NOESY NMR experiments, and X-ray diffraction measurement for **46**, **50**, **55** and **58**. Cytotoxic activities of compounds **5**, **6** and **9** were tested against MCF-7 and HL-60 cell lines, providing moderate activity. On the other hand, hydroxybenzofuran **59** was obtained by hydrolysis of **9**. Later **59** was oxidized to **60**, which was treated with BPO and *L*-proline to obtain the oxybenzoylated cassane derivative **61**. All the structures were supported by 1D and 2D NMR spectroscopy.



INTRODUCCIÓN

A lo largo de la historia los productos naturales obtenidos de las plantas se han constituido como la principal fuente de compuestos activos para el tratamiento de diferentes enfermedades.^{1,2} Por lo que con el surgimiento de las grandes civilizaciones, surgen también los primeros agentes terapéuticos, obtenidos principalmente de las plantas.³ Sin embargo, con los avances tecnológicos en el campo de la química orgánica, se desarrollan en la primera mitad del siglo XIX los primeros agentes terapéuticos obtenidos mediante la síntesis orgánica,^{4,5} con lo que disminuyó el interés en el estudio de las plantas como fuente de compuestos activos, bajo las siguientes razones:⁶ la obtención de extractos complejos, en los que se encuentran compuestos que pueden dar falsos positivos en pruebas *in vitro*. La reproducibilidad de los resultados en cuanto a la obtención de los compuestos, ya que su producción en las plantas depende del medio ambiente donde esta se desarrolla y puede variar de un lugar a otro. Los altos costos en la obtención de los productos naturales. El alto grado de dificultad para el aislamiento de los compuestos activos. El tiempo necesario para la obtención de extracto suficiente para aislar en buenas cantidades de los compuestos. Así como por la dificultad para la obtención de las especies vegetales. Sin embargo, en la actualidad los productos naturales se encuentran entre las principales fuentes de fármacos, junto con los compuestos obtenidos mediante modificaciones químicas de estos, así como la síntesis de productos naturales y aquellos obtenidos mediante diseño y síntesis orgánica total.⁷⁻⁹

Los productos naturales representan un grupo estructuralmente complejo que no puede ser reemplazado fácilmente mediante síntesis orgánica, ya que representa una variedad estructural con múltiples centros estereogénicos, que además contienen en dichas estructuras heteroátomos (principalmente oxígeno y nitrógeno),¹⁰ lo que permite que a partir de ellos se puedan hacer modificaciones químicas, obteniendo nuevos derivados, con lo que se puede mejorar la actividad biológica.¹¹ Un ejemplo claro es el **paclitaxel**, un diterpeno aislado de la corteza del árbol canadiense *Taxus brevifolia*, utilizado para el tratamiento de cáncer de mama y ovario. De este compuesto se obtuvo mediante modificaciones químicas

el **DHA-paclitaxel**, el cual es absorbido con mayor facilidad por las células cancerosas, lo que mejora el perfil farmacocinético y de toxicidad con respecto al compuesto de origen natural. Cabe resaltar que además de éste se han obtenido mediante modificaciones químicas otros derivados activos del **paclitaxel**.^{12,13}

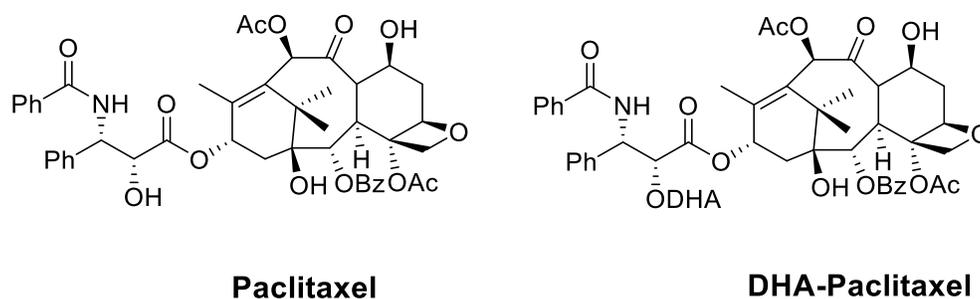


Figura 1. Estructuras del paclitaxel y su derivado DHA-paclitaxel.

Dentro de las plantas farmacológicamente interesantes se encuentran aquellas pertenecientes al género *Caesalpinia* ya que son ampliamente utilizadas en la medicina tradicional, entre estos usos destacan el tratamiento de la malaria,^{14,15} reumatismo,¹⁶ disentería,¹⁷ diarrea,¹⁸ entre otros. De estas plantas se han aislado diferentes tipos de compuestos, principalmente flavonoides, diterpenos y esteroides,¹⁹ destacando los compuestos diterpénicos de tipo cassano, que constituyen un amplio grupo de compuestos que presentan una gran variedad de funciones químicas²⁰ y que se ha demostrado que presentan actividades biológicas importantes como antitumoral, antiinflamatoria, antiviral, antimicrobiana y anti malaria;²⁰ por ejemplo de la fracción clorofórmica del extracto metanólico de las semillas de *Caesalpinia sappan* aislaron los diterpenfuranos **1-4**, de los cuales el compuesto **1** mostró actividad moderada frente a las líneas celulares HepG-2 ($8.9 \pm 1.1 \mu\text{M}$), MCF-7 ($13.7 \pm 1.3 \mu\text{M}$), HCT-8 ($10.2 \pm 1.9 \mu\text{M}$).²¹

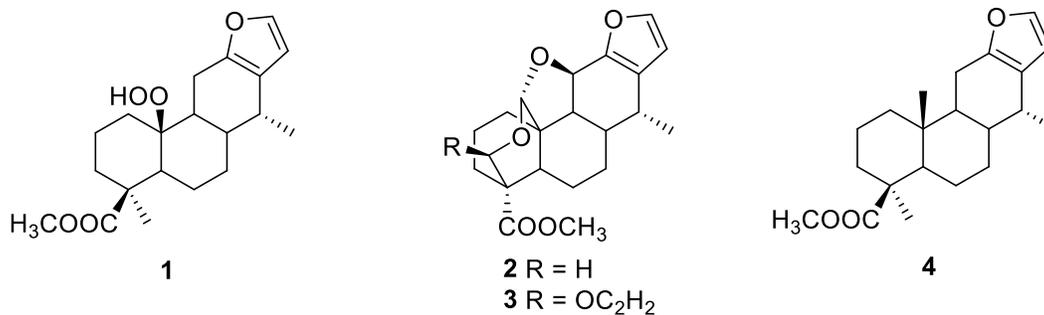


Figura 2. Diterpenfuranos aislados de *Caesalpinia sappan*.

En estudios previos de los extractos de hexano y diclorometano de diferentes partes de *Caesalpinia platyloba* y *C. coriaria* se aisló el 6 β -acetoxivouacapano (**5**) que mostró actividad citotóxica contra la línea inmortalizada de células de cáncer de próstata DU-145 sin respuesta a estrógenos.^{22,23} Recientemente, se estableció la configuración absoluta del cassano **5** (figura 3) mediante dicroísmo circular vibracional (DCV) y rayos X.^{23,24}

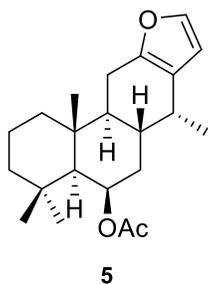


Figura 3. Estructura del 6 β -acetoxivouacapano (**5**) aislado de *C. platyloba*.

Posteriormente, se realizó un estudio sobre la reactividad del cassano **5** bajo condiciones de oxidación, lo que condujo al aislamiento y caracterización de **6-8** y un benzofurano **9** (figura 4), reportado previamente de *caesalpinia bonduc* en bajos rendimientos.²⁵

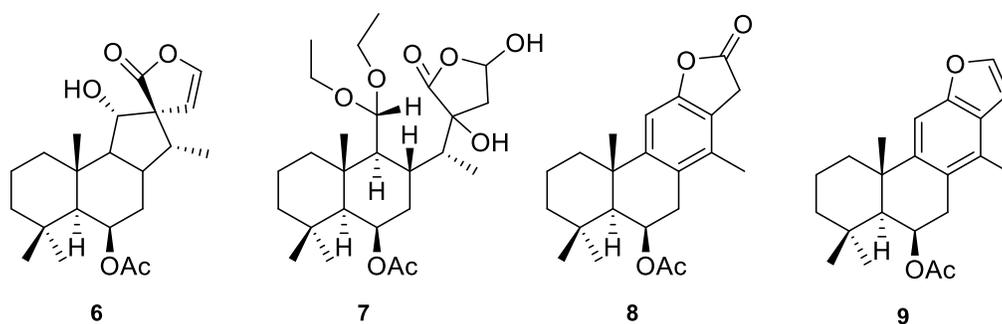


Figura 4. Compuestos obtenidos por oxidación del 6β-acetoxivouacapano (**5**).

Como se mencionó anteriormente, los compuestos de tipo cassano presentan actividades biológicas interesantes y generalmente presentan diferentes grados de oxidación,^{19,20} por lo que en este trabajo se reporta la obtención de nuevas estructuras a partir de modificaciones químicas oxidativas del vouacapano **5**, así como del compuesto benzofuránico **9**.

ANTECEDENTES

En la medicina tradicional se conoce el uso de las plantas para el tratamiento de diferentes enfermedades, por lo que los productos naturales han tomado gran importancia ya que mediante estudios químicos y biológicos se pueden aislar y caracterizar los compuestos responsables de diferentes actividades farmacológicas, obteniendo así principios bioactivos; por ejemplo estudios químicos y pruebas biológicas de la planta de la vinca (*Catharanthus roseus*), usada en varias culturas para el tratamiento de la diabetes, condujeron al aislamiento de los alcaloides vinblastina (**10**) y vincristina (**11**) (figura 5), los cuales son utilizados como agentes anticancerosos.^{8,26}

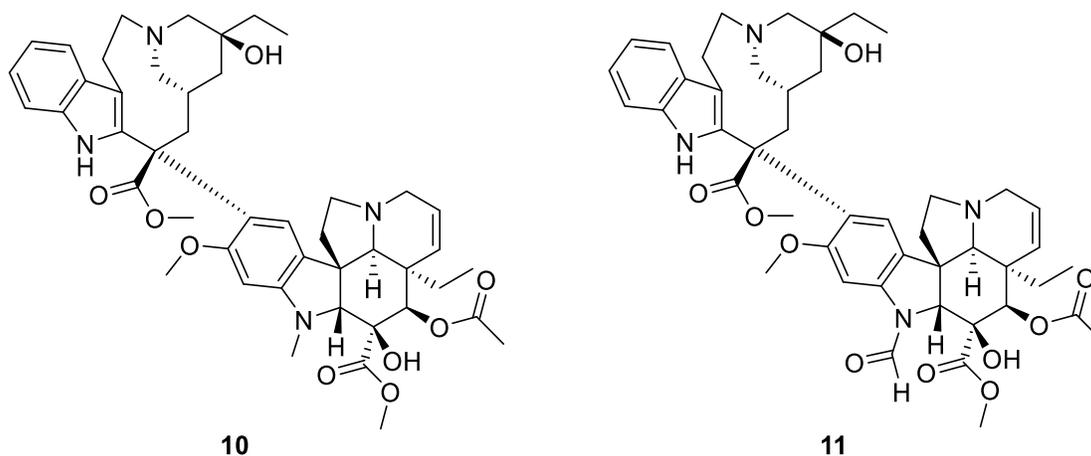


Figura 5. Alcaloides aislados de *Catharanthus roseus*.

Las modificaciones químicas de compuestos de origen natural activos son de gran importancia, ya que mediante éstas se pueden obtener nuevas estructuras con mejor actividad o una mejora en la toxicidad de dichos compuestos. Por ejemplo, de la planta china *Camptotheca acuminata* aislaron la camptotecina (**12**),²⁷ cuya sal sódica fue probada como agente anticanceroso; sin embargo, fue retirada durante los estudios químicos en la década de 1970 ya que causaba

toxicidad severa en la vejiga; pero la búsqueda de nuevas modificaciones condujo a la obtención de derivados más efectivos, el Topotecan (**13**) y el Irinotecan (**14**) (figura 6).²⁸ El Topotecan (**13**) es usado para el cáncer de ovario y de pulmón,²⁹ mientras que el Irinotecan (**14**) es utilizado para tratar el cáncer colorrectal.^{30,31}

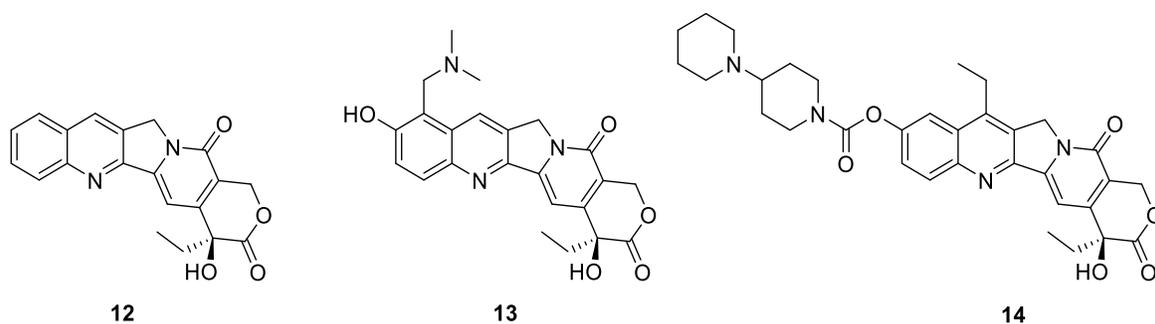
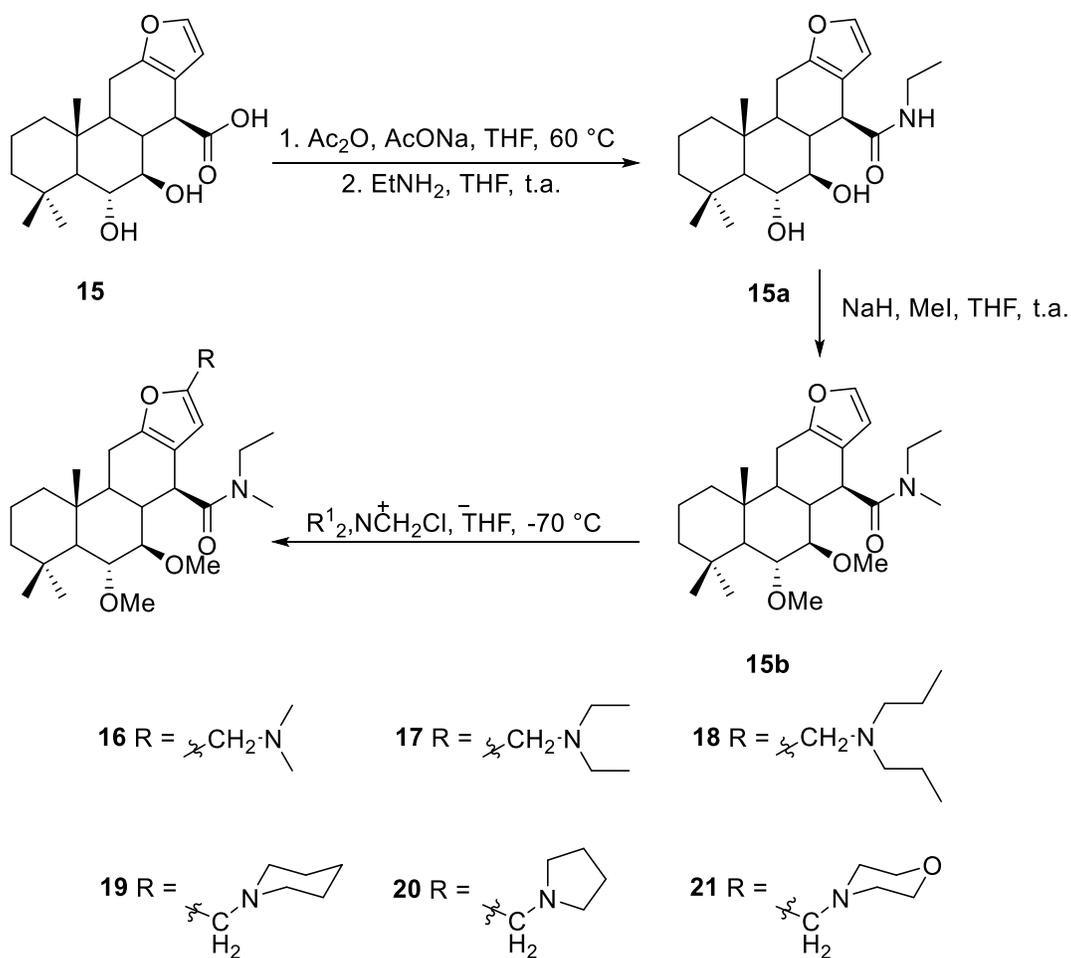


Figura 6. Camptotecina (**12**) aislada de *Camptotheca acuminata*, y sus derivados químicos.

De los frutos de *Ptedoron polygalaeflorus* aislaron el ácido 6 α ,7 β -dihidroxiouacapan-17 β -oico (**15**), el cual presentó buena actividad antiinflamatoria y analgésica; a partir de este compuesto realizaron diferentes derivatizaciones, esperando obtener compuestos con mejor actividad sin que éstos logran mostrar mejores resultados a los reportados para el compuesto natural.³²⁻³⁴ Sin embargo, Belinelo y col., obtuvieron los derivados **16-21** (esquema 1), sustituidos en el anillo de furano con grupos alquilamino, mediante la reacción de Mannich. Estos derivados mostraron mejor actividad que la presentada por el compuesto natural.³⁵

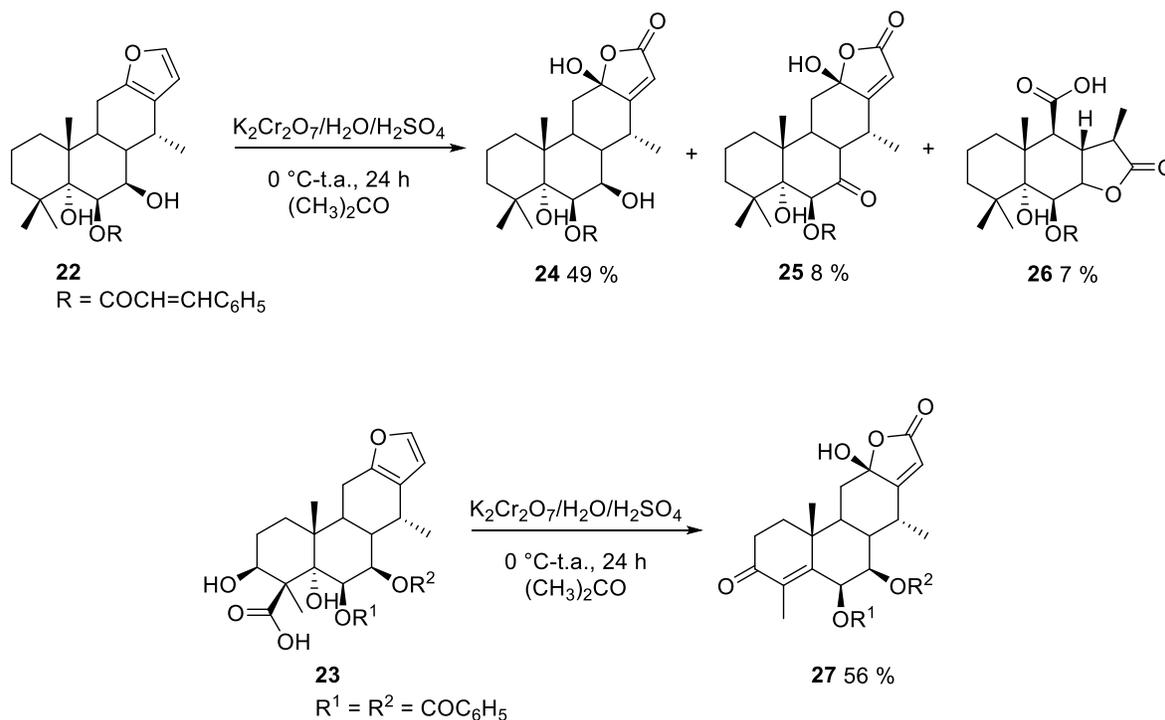


Esquema 1. Derivados semisintéticos del ácido

6 α ,7 β -dihidroxivouacapan-17 β -oico (15).

Los compuestos **22** y **23**, aislados de las raíces de *Caesalpinia pulcherrima*, fueron modificados químicamente con la finalidad de incrementar la bioactividad natural de dichos compuestos, para ello, los autores del trabajo realizaron la oxidación de Jones en un intento por obtener la cetona en el C-7 de ambos compuestos (esquema 2); sin embargo, obtuvieron los derivados **24-27**, modificados en el anillo del furano de la estructura, siendo éste el primer reporte de oxidación del furano en compuestos de tipo cassano en las condiciones mencionadas. Cabe resaltar que en el compuesto **23** además de la oxidación del furano, ocurrió también la conversión del alcohol secundario en C-3 a la

correspondiente cetona, adicionalmente se llevó a cabo la deshidratación oxidativa del alcohol terciario en C-5, y la subsecuente descarboxilación, para obtener el derivado **27**.³⁶



Esquema 2. Oxidación de los vouacapanos naturales **22** y **23**.

Otro objetivo de las modificaciones químicas de productos naturales es demostrar algunas funciones presentes en la estructura aislada. Por ejemplo de la fracción de acetato de etilo del extracto metanólico de las semillas de *Bowditchia nitida* aislaron los cassanos **28-31** (figura 7), para confirmar la estructura propuesta para el compuesto **31**, realizaron la oxidación del cassano **28** con AMCPB en cloroformo y ácido clorhídrico como catalizador, logrando obtener a la lactona **31**, junto con dos subproductos **32** y **33**. Por otro lado la reacción de **28** con el mismo oxidante en benceno condujo al aislamiento del derivado natural **30** (esquema 3). Los compuestos **28** y **30** mostraron citotoxicidad moderada contra células de adenocarcinoma de colon COLO201, mientras que el derivado **30**

mostró promisoría actividad antiplasmódica *in vitro* (IC₅₀ 0.39 µg/mL) contra *Plasmodium falciparum* 3D7.³⁷

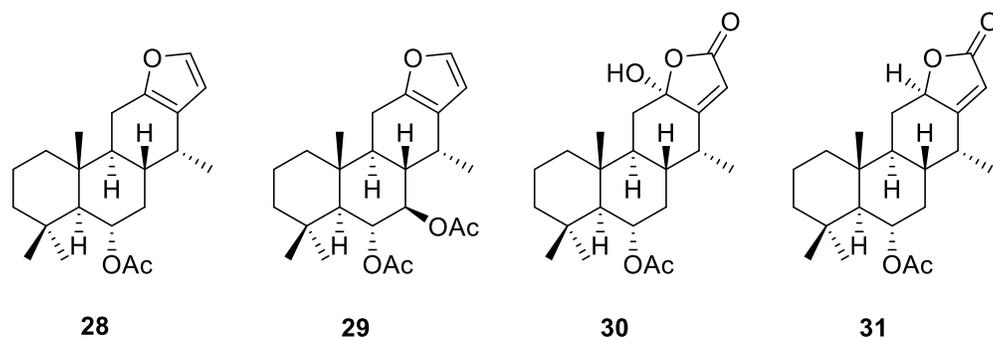
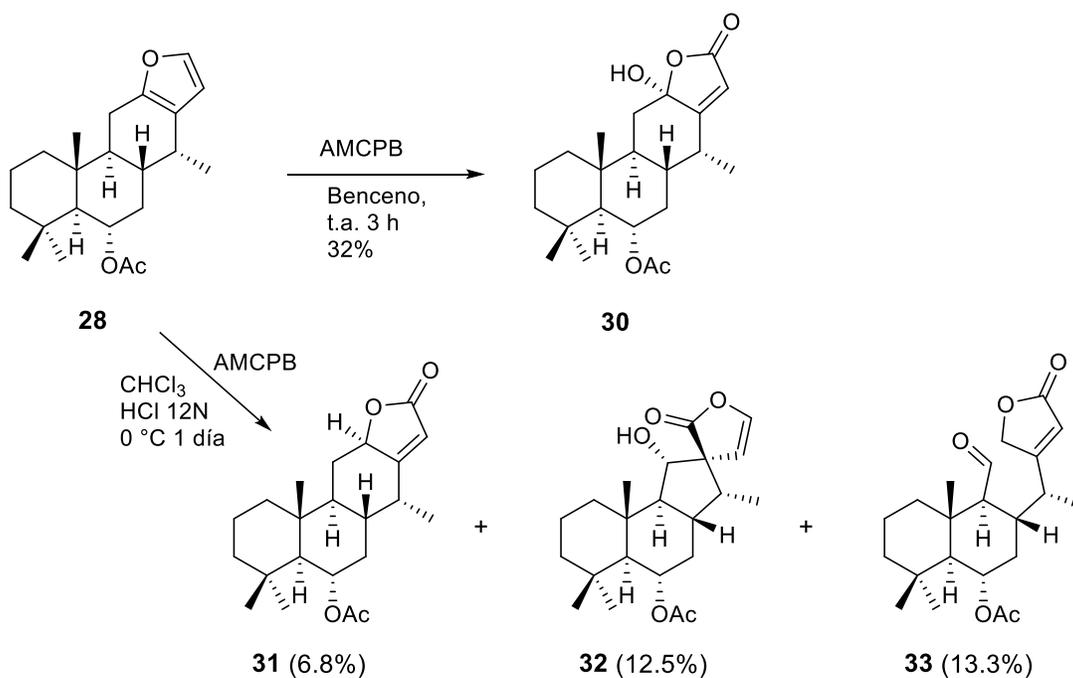
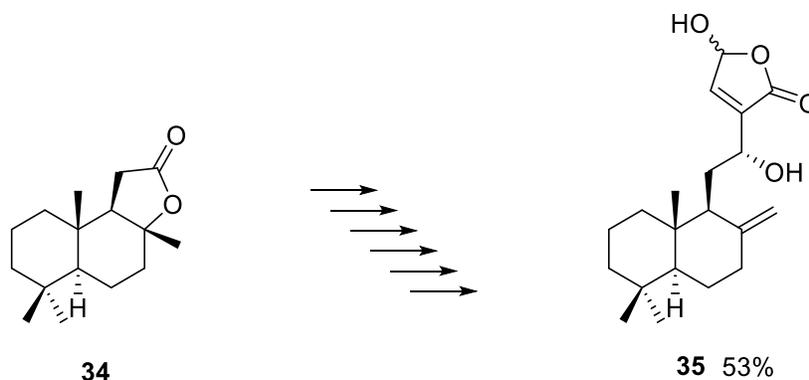


Figura 7. Cassanos aislados de *Bowdicchia nitida*.



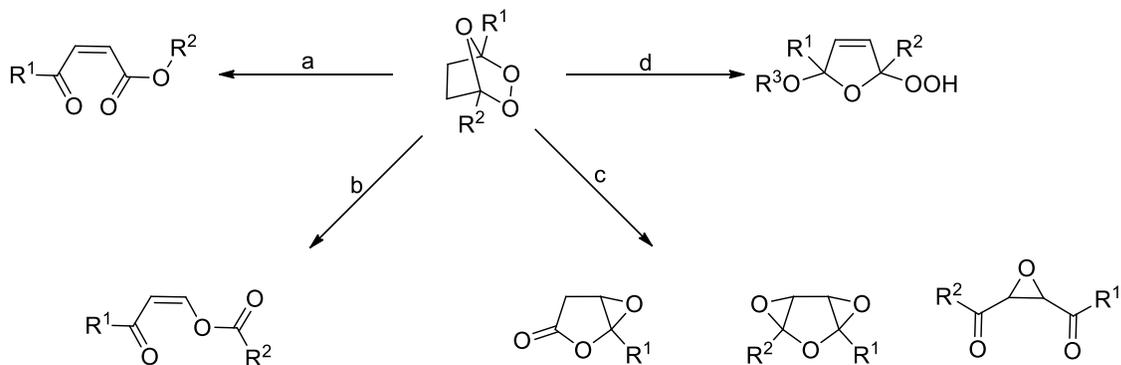
Esquema 3. Reacciones de oxidación del cassano **28** obtenido de *Bowdichia nitida*.

Por otro lado, los productos naturales pueden ser modificados químicamente para obtener moléculas activas, por ejemplo a partir de la (+)-esclareolida (**34**) en seis etapas y con buen rendimiento global obtuvieron el Zerumin B (**35**) (esquema 4), un diterpeno aislado de *Alpinia zerumbet*, el cual presentó buena toxicidad contra células de adenocarcinoma de mama MCF-7 ($IC_{50} = 0.59 \mu M$).³⁸



Esquema 4. Obtención del (+)-Zerumin B (**35**) a partir de la (+)-esclareolida (**34**).

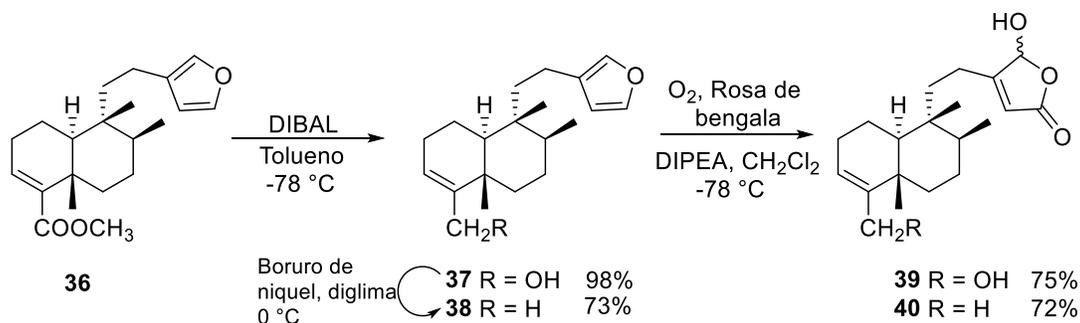
Por otro lado, las reacciones de fotooxidación en anillos de furano son de importancia en la modificación y síntesis de productos naturales bioactivos,³⁹ así como para la obtención de precursores en síntesis orgánica.⁴⁰ Estas reacciones ocurren mediante una adición [4+2] del oxígeno sobre al anillo de furano, para obtener el correspondiente endoperóxido, el cual se ha reportado que puede dar origen a diferentes compuestos, dependiendo de las condiciones de reacción y del tipo de furano que se oxida como se muestra en el esquema 5.^{41,42}



- a. Reordenamiento hacia ésteres 4-oxo-2,3-insaturados con la inserción de un oxígeno en el enlace C-R²
 b. Reordenamiento hacia enol ésteres con inserción de oxígeno entre el carbono-vinilo
 c. Reordenamiento a epóxidos
 d. Formación de hidroperóxidos vía la adición de un alcohol (R³OH)

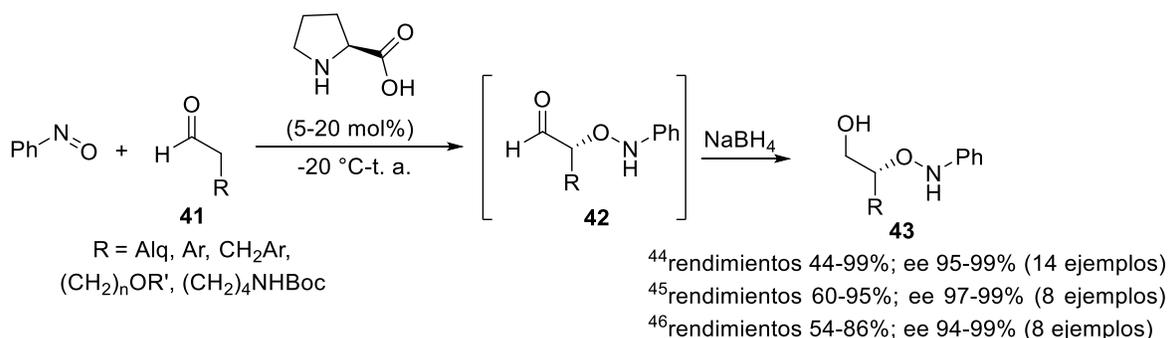
Esquema 5. Reordenamientos de endoperoxidos en la fotooxidación de furanos.

Imamura y col, obtuvieron los hidroxibutenólidos **39** y **40** a partir del hardwickiato de metilo (**36**) (esquema 6) obtenido de fuentes naturales, para lo cual realizaron primero la reducción del grupo carbonilo, generando el derivado **37**, seguida por la fotooxidación de éste compuesto para la obtención del hidroxibutenólido **39**; por otro lado, la eliminación reductiva del hidroxilo en **37** condujo al compuesto **38**, cuya fotooxidación favoreció la formación de **40**. Cabe resaltar que el compuesto **39** mostró actividad antituberculosa significativa según el protocolo TAACF (12.5 μ /mL) con un 85% de inhibición de *Mycobacterium tuberculosis*.⁴³



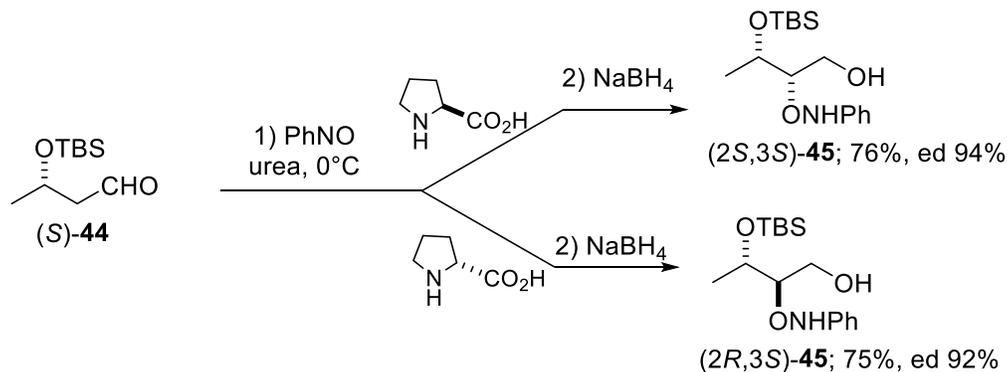
Esquema 6. Modificaciones químicas del hardwickiato de metilo **36**.

Adicionalmente, las oxidaciones en posición alfa a un grupo carbonilo, son de gran importancia en la síntesis orgánica de productos naturales o compuestos bioactivos. Dentro de estas reacciones se encuentran la α -hidroxilación y α -aminoxidación, las cuales pueden llevarse a cabo utilizando un organocatalizador quiral, con lo que se puede controlar tanto la regio como la estereoselectividad. En el 2003, surgieron los primeros reportes de aminoxidación de aldehídos **41** utilizando *L*-prolina como catalizador y nitrosobenceno como oxidante, en diferentes condiciones de reacción, para obtener los derivados **42**, los cuales se redujeron *in situ* para generar los alcoholes correspondientes **43**, con rendimientos y excesos enantioméricos buenos (esquema 7).⁴⁴⁻⁴⁶



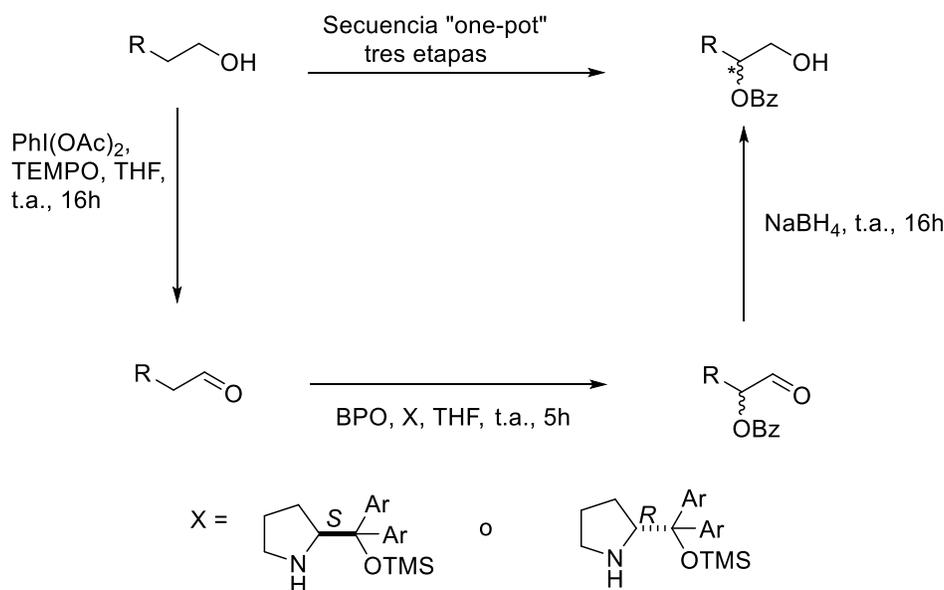
Esquema 7: Aminoxidación asimétrica de aldehídos.

Moléculas orgánicas pequeñas, primordialmente compuestos nitrogenados, se han utilizado como catalizadores para un gran número de reacciones químicas, en las que se aprovecha la presencia de un grupo funcional en la molécula de partida, principalmente los grupos carbonilo,⁴⁷⁻⁴⁹ promoviendo de esta manera la química verde.⁵⁰ En el 2012 fue descrita la síntesis asimétrica de trioles protegidos **45** a partir de un β -hidroxialdehído sililado **44**, mediante la reacción de aminoxidación utilizando como catalizadores la *L*- o *D*-prolina y una urea, en presencia de nitrosobenceno. Cuando realizaron la reacción con los enantiómeros de **44** (*R* o *S*), y prolina como catalizador, seguida de una reducción, aislaron los cuatro posibles diastereómeros con buenos rendimientos y excelentes excesos diastereoméricos (esquema 8).⁵¹



Esquema 8. Aminoxilación electrofílica de un β -hidroxialdehído.

Un año después, el mismo grupo de trabajo reportó la hidroxilación enantiomérica “one-pot” de alcoholes primarios para la obtención de 1,2-dioles (esquema 9). La secuencia de dicha reacción consistió en la oxidación del alcohol primario al aldehído, la hidroxilación organocatalizada y la reducción del carbonilo, para obtener el respectivo diol monoprottegido con benzoato, evitando con esto la purificación del aldehído.⁵²



Esquema 9. Obtención de 1,2-dioles.

Existen productos naturales que presentan grupos carbonilos en su estructura de manera natural o que pueden ser preparados a partir de un intermediario, lo que puede ser útil para llevar a cabo las reacciones mencionadas anteriormente, para así poder obtener nuevos derivados con posible actividad biológica.

En el presente trabajo se reporta la obtención de nuevos derivados oxidados del 6 β -acetoxivouacapano (**5**) en el anillo de furano, así como la obtención de compuestos modificados en el anillo B del benzofurano **9**.

JUSTIFICACIÓN

El uso de las plantas en la medicina tradicional para el tratamiento de diversas enfermedades, las ha hecho una importante fuente de moléculas bioactivas, algunas de las cuales han presentado actividades biológicas interesantes. Una característica de los productos naturales es su complejidad, ya que pueden presentar múltiples centros estereogénicos, sustituyentes con heteroátomos y/o estructuras policíclicas, lo que permite que a partir de ellos se puedan hacer modificaciones químicas, obteniendo nuevos derivados, con lo que se puede modificar la actividad biológica.

Por otro lado, el uso de organocatalizadores ha sido de gran utilidad, ya que mediante éstos se ha logrado la síntesis de moléculas activas de manera enantioselectiva. Por lo que considerando que algunos productos naturales activos se han aislado en pequeñas cantidades y que han servido como modelo para la síntesis de compuestos que se utilizan como fármacos; el aislamiento del diterpenofurano 6β -acetoxivouacapano (**5**) en buenos rendimientos, abre la posibilidad desarrollar o implementar reacciones químicas de oxidación para generar nuevas moléculas activas o precursores de éstas.

OBJETIVOS

Objetivo general

Obtener nuevos compuestos oxidados a partir del 6 β -acetoxivouacapano (5).

Objetivos específicos

1. Aislar e identificar el 6 β -acetoxivouacapano (5).
2. Realizar los tratamientos oxidativos de 5.
3. Aislar y caracterizar los compuestos obtenidos.
4. Determinar la actividad citotóxica de los productos de oxidación.
5. Preparar los intermediarios para la obtención de α -cetohidroxi derivados.
6. Llevar a cabo las α -cetohidroxilaciones del derivado natural 5, así como del benzofurano 9.
7. Aislar y caracterizar los productos de reacción.

HIPÓTESIS

La oxidación química del anillo de furano presente en el 6 β -acetoxivouacapano, generará estructuras novedosas, las cuales pueden presentar actividades biológicas interesantes.

PARTE EXPERIMENTAL

Generalidades

Las purificaciones se realizaron mediante cromatografía en columna, empleando columnas de vidrio, gel de sílice 230-400 mallas de la marca MERCK, o placas preparativas PLC Silica gel 60 F₂₅₄, de 5 mm de espesor, de la marca MERCK de 10 cm de alto por 20 cm de largo, y mezclas de disolventes como fase móvil.

Los espectros de RMN de 1D y 2D se determinaron en los espectrómetros Varian Mercury Plus 400 y BRUKER 300 utilizando CDCl₃ como disolvente y TMS como referencia interna. Los espectros fueron procesados en el programa MestReNova.

Los espectros de IR se determinaron en un Thermo Scientific Nicolet iS10 FT IR Spectrometer con accesorio ATR, cristal de ZnSe y región de 4000 a 650 cm⁻¹. Los datos se expresan en números de onda ν (cm⁻¹) para los máximos principales de absorción.

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

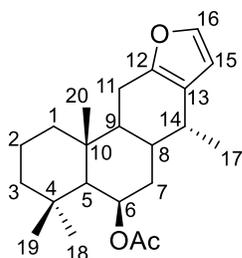
Las mediciones de UV se llevaron a cabo usando un espectrofotómetro marca Perkin Elmer Lambda 12, empleando celdas de cuarzo de 1 cm de longitud y soluciones etanólicas.

Los espectros de masa de baja resolución se midieron en un equipo Varian Saturn 2000 mediante impacto electrónico.

Obtención del 6 β -acetoxivouacapano (**5**)

Las hojas de *Caesalpinia platyloba*, se colectaron en Los Charcos municipio de Buenavista, Michoacán, se secaron a la sombra y se obtuvieron los extractos de hexano y CH₂Cl₂, por el método de maceración a temperatura ambiente, obteniendo 60 g de extracto de CH₂Cl₂, a partir de 1 kg de hojas secas, lo que representa aproximadamente el 6% de rendimiento.

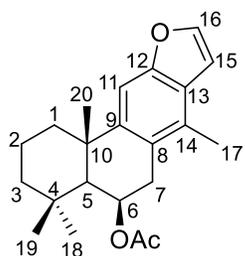
Un lote de 41 g de extracto de diclorometano se fraccionó mediante cromatografía en columna, utilizando una columna de vidrio de 4 cm de diámetro exterior, empacada con gel de sílice a una altura de 12 cm, como fase estacionaria y como eluente se utilizaron mezclas de hexanos- CH₂Cl₂, en las fracciones eluidas en la polaridad de Hexanos-CH₂Cl₂ (49:1) se obtuvieron 1.1 g de cristales con un punto de fusión de 114-116 °C cuyos datos de RMN coincidieron con los reportados para el 6 β -acetoxivouacapano (**5**).^{23,24}



RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 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 Hz, H-7), 1.73 (1H, da, J = 12.7 Hz, H-1) 1.63 (1H, dt, J = 13.6, 3.2 Hz, H-2), 1.54 (1H, m, H-9), 1.53 (1H, m, H-7'), 1.48 (1H, m, H-2'), 1.41 (1H, da, J = 13.1 Hz, H-3), 1.20 (3H, s, CH₃-20), 1.19 (1H, m, H-3'), 1.09 (1H, s, H-5), 1.02 (3H, s, CH₃-19), 0.99 (3H, s, CH₃-18), 0.96 (3H, d, J = 7.0 Hz, CH₃-17)

Tratamiento del 6 β -acetoxivouacapano (**5**) con DDQ en CH₂Cl₂ o acetonitrilo

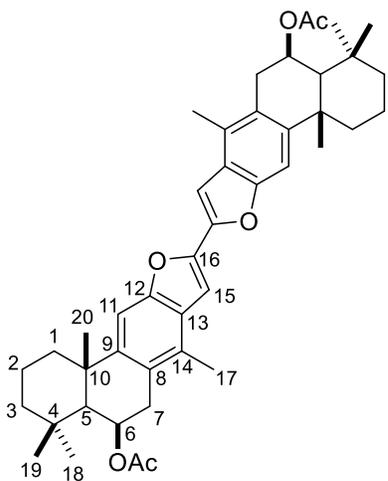
Una disolución de 0.104 g del 6 β -acetoxivouacapano (**5**) en 5 mL de CH₂Cl₂ o CH₃CN se adicionó a una suspensión de 0.207 g de DDQ en 5 mL de CH₂Cl₂, esta mezcla se dejó reaccionar durante 20 minutos en agitación a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción se extrajo con CH₂Cl₂, se lavó tres veces con agua, tres veces con solución saturada de NaHSO₃ y tres veces con agua. Se secó Na₂SO₄ anhidro y se evaporó el disolvente en rotavapor. El crudo de la reacción se purificó mediante cromatografía en columna, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y mezclas de hexanos-AcOEt en orden creciente de polaridad como fase móvil. En las fracciones eluidas en polaridad de hexanos-AcOEt (24:1) se obtuvieron 15 mg (15%) del benzofurano **9**. La segunda fracción, eluída con la polaridad de hexanos-AcOEt (9:1) se obtuvieron 15.2 mg (15%) de cristales blancos correspondientes al dímero **46**. Mientras que la tercera fracción, eluída en polaridad de hexanos-AcOEt (4:1) se obtuvieron 30 mg (28%) de la lactona **47**.



Benzofurano **9**

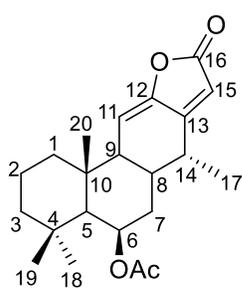
Miel incolora; RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7.54 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-16), 7.40 (1H, s, H-11), 6.73 (dd, J = 2.3, 0.9 Hz, H-15), 5.84 (1H, dt, J = 5.4, 1.5 Hz, H-6), 3.06 (1H, dd, J = 18.0, 5.4 Hz, H-7), 2.98 (1H, d, J = 18.0 Hz, H-7'), 2.34 (3H, s, CH₃-17), 2.32 (1H, da, J = 16.8 Hz, H-1), 2.02 (3H, s, OAc), 1.88 (1H, ct, J = 13.8, 3.6 Hz, H-2), 1.65 (1H, dt, J = 13.8, 3.6 Hz, H-2'), 1.62 (3H, s, CH₃-20), 1.58 (1H, s, H-5), 1.49 (1H, m, H-1'), 1.44 (1H, m, H-3), 1.25 (1H, td, J = 13.5, 3.6 Hz, H-3'), 1.10 (3H, s, CH₃-19), 1.07 (3H, s, CH₃-18). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 171.0 (CO, OAc), 153.7 (C, C-12), 146.0 (C, C-9), 144.4 (CH, C-16), 128.4 (C, C-14), 125.6 (C, C-13), 123.7 (C, C-8), 105.1 (CH, C-11), 104.9 (CH, C-15), 67.6 (CH, C-6), 51.5 (CH, C-5), 43.0 (CH₂, C-3), 43.0 (CH₂, C-1), 38.4 (C, C-10), 35.1 (CH₂, C-7), 34.1 (C, C-4), 33.5 (CH₃, C-18), 27.5 (CH₃, C-20), 23.1 (CH₃, C-19), 21.8 (CH₃, OAc), 19.7 (CH₂, C-2), 16.0 (CH₃, C-17).

Dímero 46



Cristales blancos con $pf = 245-248\text{ }^{\circ}\text{C}$. $[\alpha]_{589} -41.5$ $[\alpha]_{578} -43.3$ $[\alpha]_{546} -49$. (c 2.14, CHCl_3); UV (1,4-Dioxano) λ_{max} ($\log \epsilon$) nm: 215 (4.48), 248 (4.04), 256 (4.01), 314 (4.16), 323 (4.37), 338 (4.60), 357 (4.59); IR (CHCl_3) ν_{max} 2928, 2863, 1724, 1459, 1382; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7.42 (1H, s, H-11), 7.10 (1H, s, H-15), 5.85 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, H-6), 3.07 (1H, dd, $J = 18.1, 5.1$ Hz, H-7), 2.99 (1H, d, $J = 18.1$ Hz, H-7'), 2.38 (3H, s, CH_3 -17), 2.32 (1H, d, $J = 12.9$ Hz, H-1), 2.03 (3H, s, OAc), 1.90 (1H, m, H-2), 1.67 (1H, m, H-2'), 1.63 (3H, s, CH_3 -20), 1.57 (1H, s, H-5), 1.50 (1H, m, H-1'), 1.47 (1H, m, H-3), 1.27 (1H, td, $J = 13.3, 6.7$ Hz, H-3'), 1.11 (3H, s, CH_3 -19), 1.08 (3H, s, CH_3 -18). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 171.0 (CO, OAc), 153.9 (C, C-12), 147.4 (C, C-16), 147.0 (C, C-9), 128.7 (C, C-14), 126.8 (C, C-15), 124.4 (C, C-8), 105.0 (CH, C-11), 101.8 (CH, C-15), 67.6 (CH, C-6), 51.5 (CH, C-5), 43.0 (CH_2 , C-3), 43.0 (CH_2 , C-1) 38.6 (C, C-10), 35.2 (CH_2 , C-7), 34.1 (C, C-4), 33.5 (CH_3 , C-18), 27.4 (CH_3 , C-20), 23.1 (CH_3 , C-19), 21.8 (CH_3 , OAc), 19.7 (CH_2 , C-2), 16.0 (CH_3 , C-17). HR TOFMS ES+ m/z 679.3981 $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculada para $\text{C}_{44}\text{H}_{54}\text{O}_6+\text{H}^+$ 679.3998.

Lactona 47



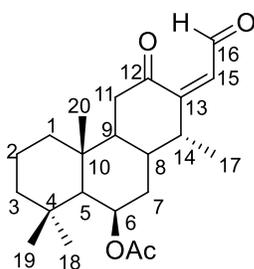
Cristales incoloros con $pf = 236-239\text{ }^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{589} -26.4$ $[\alpha]_{578} -27.6$ $[\alpha]_{546} -30.9$ $[\alpha]_{436} -37.1$ (c 0.42, CHCl_3); UV λ_{max} (EtOH) 218, 277; IR (CHCl_3) ν_{max} 2935, 2872, 1753, 1729, 1459, 1366; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 5.85 (1H, s, H-11), 5.78 (1H, s, H-15), 5.53 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-6), 2.84 (1H, qd, $J = 7.2, 4.5$ Hz, H-14), 2.18 (1H, m, H-8), 2.05 (3H, s, OAc), 2.03 (1H, da, $J = 11.4$ Hz, H-9), 1.89 (1H, d, $J = 11.3$ Hz, H-1), 1.73 (tt, $J = 13.2, 3.4$ Hz, H-7), 1.65 (1H, m, H-2), 1.59 (1H, m, H-7'), 1.54 (1H, m, H-2'), 1.43 (1H, d, $J = 13.3$ Hz, H-3), 1.22 (1H, m, H-3'), 1.17 (3H, s, CH_3 -20), 1.12 (1H, s, H-5), 1.10 (1H, m, H-1'), 1.06 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, CH_3 -17), 1.00 (3H, s, CH_3 -18), 0.98 (3H, s, CH_3 -19). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 170.4 (CO, OAc), 170.2 (CO, C-16), 161.2 (C, C-13),

150.2 (C, C-12), 111.0 (CH, C-11), 110.2 (CH, C-15), 69.1 (CH, C-6), 55.1 (CH, C-5), 48.7 (CH, C-9), 43.8 (CH₂, C-3), 40.6 (CH₂, C-1), 38.2 (C, C-10), 35.2 (CH₂, C-7), 34.0 (C, C-4), 33.1 (CH, C-8), 33.1 (CH₃, C-18), 33.0 (CH, C-14), 23.0 (CH₃, C-19), 21.8 (CH₃, OAc), 18.6 (CH₂, C-2), 17.6 (CH₃, C-20), 14.6 (CH₃, C-17). EMIE 70 eV *m/z* (Int. Rel.) 358(2)[M]⁺, 283(5), 255(7), 214(5), 174 (21), 160(100), 148(16), 43(18). HRMS *m/z* 358.4712 [M]⁺ calculada para C₂₂H₃₀O₄⁺.

Tratamiento del 6β-acetoxivouacapano (**5**) con DDQ en CH₃CN-H₂O

Una solución de 0.062 g del 6β-acetoxivouacapano (**5**) en 3 mL de CH₃CN se adicionó a una solución de 0.123 g de DDQ disuelta en 3 mL de CH₃CN y 0.6 mL de H₂O, esta mezcla se dejó reaccionar durante 30 minutos en agitación a temperatura ambiente. La mezcla de la reacción se extrajo con AcOEt, se lavó tres veces con agua, tres veces con solución saturada de NaHSO₃ y tres veces con agua. Se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó el disolvente en rotavapor. Se obtuvieron 0.095 g de una miel café, la cual se separó mediante cromatografía en capa fina, utilizando una placa de 20 cm de largo por 10 cm de alto y 0.5 mm de espesor como fase estacionaria, eluída cuatro veces con CH₂Cl₂. De esta cromatografía se obtuvieron dos fracciones (A y B). De la fracción A (R_f = 0.7) se obtuvo en forma de miel incolora la lactona **47**. En la fracción B (R_f = 0.43) se obtuvo el aldehído **48** como una miel incolora.

Aldehído **48**



RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 9.73 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-16), 5.87 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-15), 5.54 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-6), 2.70 (1H, dd, *J* = 15.0, 4.8 Hz, H-11), 2.68 (1H, m, H-14), 2.35 (1H, dd, *J* = 15.0, 12.2 Hz, H-11'), 2.27 (1H, ddd, *J* = 12.4, 12.4, 3.9 Hz, H-8), 2.08 (3H, s, AcO), 2.04 (1H, m, H-1), 1.82 (1H, dt, *J* = 14.3, 3.4 Hz, H-7), 1.66 (1H, m, H-9), 1.50 (1H, m, H-7'), 1.21 (3H, s, CH₃-20), 1.03 (1H, s, H-5), 1.02 (3H, s, CH₃-19), 1.01 (3H, d, *J* = 7.3 Hz, CH₃-17), 0.99 (3H, s, CH₃-18). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 204.3 (CO, C-12), 192.0 (CO, C-16), 170.4 (CO, AcO), 163.8 (C, C-13), 128.0 (CH,

C-15), 69.0 (CH, C-6), 54.9 (CH, C-5), 48.1 (CH, C-9), 44.5 (CH₂, C-11), 43.6 (CH₂, C-3), 42.8 (CH₂, C-1), 41.6 (CH, C-14), 38.0 (C, C-10), 35.4 (CH₂, C-7), 34.4 (CH₃, C-18), 33.8 (C, C-4), 33.5 (CH, C-8), 23.3 (CH₃, C-19), 21.8 (CH₃, AcO), 18.6 (CH₂, C-2), 16.6 (CH₃, C-20), 13.6 (CH₃, C-17).

Tratamiento del 6 β -acetoxivouacapano (**5**) con DDQ en THF-H₂O

A una solución de 0.085 g de **5** en 4 mL de THF se le adicionó una mezcla de 0.170 g de DDQ en 4 mL de THF y 0.8 mL de H₂O, la mezcla se dejó reaccionar en agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos. La reacción se extrajo con CH₂Cl₂, se lavó tres veces con agua, tres veces con solución saturada de NaHCO₃, tres veces con solución de NaHSO₃ y tres veces con agua, se secó sobre Na₂SO₄, y el disolvente se evaporó en rotavapor, obteniendo 0.1 g de una miel de color café. El crudo de la reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando gel de sílice y una mezcla de hexanos-AcOEt (8:2) como eluyente, para obtener 62 mg (72%) del aldehído **48**.

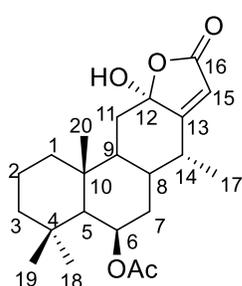
Tratamiento del aldehído **48** con DDQ en CH₂Cl₂-HCl

Un lote de 0.50 g de **5** se trataron siguiendo la metodología de reacción con DDQ en THF-H₂O, el crudo de esta reacción se disolvió en 2 mL de CH₂Cl₂ y se adicionó a una suspensión de 0.1 g de DDQ en 3 mL de CH₂Cl₂ y 0.5 mL HCl, esta mezcla se dejó reaccionar durante 10 minutos. La mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂, se lavó tres veces con agua, tres veces con solución saturada de NaHCO₃, tres veces con solución de NaHSO₃ y tres veces con agua, se secó sobre Na₂SO₄, y el disolvente se evaporó en rotavapor. Obteniendo 0.60 g de una miel de color café. La cual fue analizada mediante RMN de ¹H, comprobando la presencia del benzofurano **9** como producto principal de la reacción.

Tratamiento del 6 β -acetoxivouacapano (**5**) con AMCPB en tolueno

A una solución de 0.085 g de **5** en 4 mL de tolueno se le adicionó una suspensión de 0.1 g de AMCPB en 4 mL de tolueno, esta mezcla se dejó reaccionar en agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se extrajo con AcOEt, se lavó cinco veces con solución saturada de NaHCO₃ y tres veces con agua, se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se evaporó en rotavapor, el crudo

de la reacción se lavó con AcOEt, obteniendo 0.069 g (75%) de un sólido blanco con $pf = 116-120\text{ }^{\circ}\text{C}$, cuyos datos de RMN fueron idénticos a los reportados para la lactona **49**.

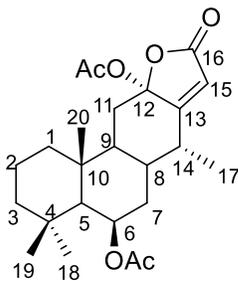


RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 5.71 (1H, s, H-15), 5.51 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-6), 2.92 (1H, dc, $J = 7.4, 7.4$ Hz, H-14), 2.45 (1H, dd, $J = 13.0, 3.0$ Hz, H-11), 2.04 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-AcO}$), 1.88 (ddd, $J = 12.7, 10.5, 4.4$ Hz, H-8), 1.76 (1H, m, H-7), 1.76 (1H, m, H-1), 1.66 (1H, m, H-2), 1.64 (1H, m, H-7'), 1.59 (1H, m, H-9), 1.49 (1H, m, H-3), 1.42 (1H, t, $J = 13.0$ Hz, H-11'), 1.23 (1H, m, H-3'), 1.17 (3H, d, $J = 7.4$ Hz, $\text{CH}_3\text{-17}$), 1.10 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-20}$), 1.07 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-5), 1.00 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-18}$), 0.98 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-19}$). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 172.7 (C, C-13), 170.7 (CO, AcO), 170.6 (CO, C-16), 113.4 (CH, C-15), 105.8 (C, C-12), 69.3 (CH, C-6), 55.1 (CH, C-5), 45.0 (CH, C-9), 43.7 (CH_2 , C-3), 41.9 (CH_2 , C-1), 37.8 (C, C-10), 37.7 (CH_2 , C-11), 36.0 (CH, C-14), 35.9 (CH, C-8), 35.4 (CH_2 , C-7), 33.9 (C, C-4), 33.7 (CH_3 , C-18), 23.3 (CH_3 , C-19), 21.8 (CH_3 , AcO), 18.8 (CH_2 , C-2), 17.1 (CH_3 , C-20), 12.8 (CH_3 , C-17).⁵²

Acetilación de la lactona **49**

A una solución de 0.03 g de **49** en 0.5 mL de piridina se le adicionaron 0.5 mL de anhídrido acético. Esta mezcla se colocó en baño de vapor durante noventa minutos. La reacción se extrajo con AcOEt, se lavó tres veces con agua, 3 veces con HCl al 10%, 3 veces con solución de NaHCO_3 y tres veces con agua. El disolvente se evaporó en rotavapor, obteniendo 0.032 g de una miel ligeramente amarilla. La cual se purificó mediante cromatografía en columna con gel de sílice como fase estacionaria y mezclas de hexanos-AcOEt en polaridades ascendentes, de la cual se obtuvieron dos fracciones principales (A y B), en la fracción A eluída en la polaridad de hexanos-AcOEt (9:1) se obtuvieron 4.2 mg (15 %) un sólido blanco con $pf = 227-231\text{ }^{\circ}\text{C}$, para la lactona **47**. En la fracción B eluída con polaridad de hexanos-AcOEt (4:1) se obtuvieron 12.5 mg (36 %) de un sólido blanco para el diacetato **50**.

Diacetato **50**



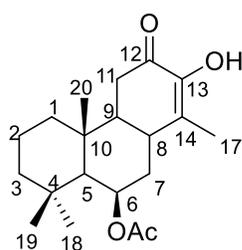
Sólido blanco que sublima a 190 °C. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 5.87 (1H, s, H-15), 5.51 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-6), 2.98 (1H, dc, $J = 7.4, 7.4$ Hz, H-14), 2.69 (1H, dd, $J = 13.1, 3.0$ Hz, H-11), 2.04 (6H, s, $\text{CH}_3\text{-AcO}$), 1.89 (1H, m, H-8), 1.76 (1H, m, H-7), 1.76 (1H, m, H-1), 1.61 (1H, m, H-2), 1.53 (1H, m, H-7'), 1.44 (1H, m, H-9), 1.31 (1H, t, $J = 13.1$ Hz, H-11'), 1.21 (1H, m, H-3), 1.10 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-20}$), 1.07 (1H, sa, H-5), 1.03 (3H, d, $J = 7.4$ Hz, $\text{CH}_3\text{-17}$), 1.00 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-18}$), 0.98 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-19}$). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 170.4 (CO, AcO-6), 169.7 (C, C-13), 169.5 (CO, C-16), 168.6 (CO, AcO-12), 115.3 (CH, C-15), 105.0 (C, C-12), 69.1 (CH, C-6), 55.2 (CH, C-5), 44.6 (CH, C-9), 43.7 (CH_2 , C-3), 42.0 (CH_2 , C-1), 37.7 (C, C-10) 37.7 (CH, C-11), 36.0 (CH, C-8), 35.8 (CH, C-14), 35.3 (CH_2 , C-7), 33.9 (C, C-4), 33.7 (CH_3 , C-18), 23.3 (CH_3 , C-19), 21.78 (CH_3 , AcO), 21.74 (CH_3 , AcO), 18.7 (CH_2 , C-2), 17.1 (CH_3 , C-20), 11.6 (CH_3 , C-17).⁵²

Reactividad del 6 β -acetoxivouacapano (**5**) frente a CrO_3

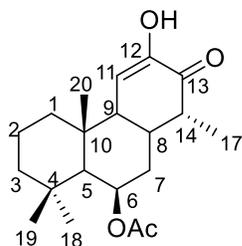
A una solución de 0.10 g de **5** en 2 mL de AcOH, se le adicionó una solución de 0.087 g de CrO_3 en 2 mL de AcOH y 0.2 mL de H_2O , esta mezcla se dejó reaccionar en agitación a temperatura ambiente durante una hora. La mezcla de reacción se extrajo con AcOEt, se lavó tres veces con agua, tres veces con solución saturada de NaHCO_3 y tres veces con agua, se secó sobre Na_2SO_4 y se evaporó el disolvente en rotavapor. El crudo de la reacción se separó mediante cromatografía en columna, empleando gel de sílice como soporte y mezclas de hexanos-AcOEt como fase móvil. De esta cromatografía se obtuvieron seis fracciones principales, (A-F). En la fracción A (eluída en la polaridad de hexanos-AcOEt (9:1)) se obtuvieron 12 mg (12%) de una miel incolora correspondiente al dinorcassano **51**. La fracción B correspondiente a las últimas fracciones eluídas en la polaridad de hexanos-AcOEt (9:1) se obtuvieron 19 mg de una mezcla de compuestos, la cual se separó mediante cromatografía en placa fina, utilizando una placa de 10 cm de alto por 20 cm y 0.5 mm de espesor. La cromatografía se

eluyó con una mezcla de hexanos-AcOEt (8:2). En esta placa cromatográfica se extrajo la banda con $R_f = 0.56$ con CH_2Cl_2 , de la cual se obtuvieron 6.9 mg (7%) de una miel ligeramente amarilla identificada como el dinorcassano **52**, de la fracción C (eluída con polaridad de hexanos-AcOEt (17:5)) se obtuvieron 16 mg del compuesto **53**. En la fracción D (hexanos-AcOEt (4:1)) se obtuvieron 11 mg (10%) de la lactona **47**. En la fracción E (hexanos-AcOEt (4:1)) se obtuvo la espirolactona **6**, 11 mg (10%). Mientras que en la fracción F (hexanos-AcOEt (4:1)) se identificó mediante RMN un producto mayoritario, esta mezcla se purificó en cromatografía, utilizando una columna de 0.5 cm de diámetro exterior empacada con 5 cm de gel sílice como fase estacionaria y se eluyó con una mezcla de hexanos-AcOEt (7:3), obteniendo 24 mg (22%) sólido de color blanco que concordó con los datos de la lactona **49**.

Dinorcassano **51**



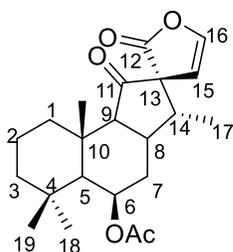
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 5.56 (1H, dd, $J = 5.3, 2.9$ Hz, H-6), 2.68 (1H, m, H-8), 2.59 (1 H, dd, $J = 16.5, 3.7$ Hz, H-11), 2.30 (1H, m, H-7), 2.26 (1H, m, H-11'), 2.09 (3H, s, AcO), 1.82 (3H, d, $J = 1.7$ Hz, CH_3 -17), 1.68 (1H, m, H-2), 1.64 (1H, m, H-3), 1.57 (1H, m, H-9), 1.50 (1H, m, H-2'), 1.42 (1H, m, H-1), 1.32 (1H, m, H-7'), 1.21 (3H, s, CH_3 -20), 1.16 (1H, m, H-1'), 1.07 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-5), 1.02 (3H, s, CH_3 -19), 0.96 (3H, s, CH_3 -18), 0.90 (1H, m, H-3). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 194.4 (CO, C-12), 170.4 (CO, AcO), 143.7 (C, C-13), 132.2 (C, C-14), 69.1 (CH, C-6), 55.5 (CH, C-5), 52.7 (CH, C-9), 43.8 (CH_2 , C-1), 40.6 (CH_2 , C-3), 37.1 (C, C-10), 36.3 (CH_2 , C-7), 35.0 (CH_2 , C-11), 34.3 (CH, C-8), 33.8 (C, C-4), 33.2 (CH_3 , C-18), 23.3 (CH_3 , C-19), 21.8 (CH_3 , AcO), 18.7 (CH_2 , C-2), 17.0 (CH_3 , C-20), 13.5 (CH_3 , C-17).



Dinorcassano **52**

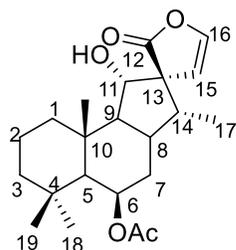
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 6.11 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-11), 5.53 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 2.43 (1H, m, H-14), 2.40 (1H, m, H-8), 2.09 (1H, m, H-9), 2.05 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-AcO}$), 1.88 (1H, da, $J = 12.6$ Hz, H-1), 1.70 (1H, m, H-2), 1.64 (2H, m, H-7), 1.54 (1H, m, H-3), 1.43 (1H, da, $J = 11.8$ Hz, H-3'), 1.23 (1H, m, H-2'), 1.19 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-20}$), 1.11 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-5), 1.06 (3H, d, $J = 7.3$ Hz, $\text{CH}_3\text{-17}$), 1.00 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-18}$), 0.98 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-19}$). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 199.2 (CO, C-13), 170.4 (CO, AcO), 146.2 (C, C-12), 118.1 (CH, C-11), 69.1 (CH, C-6), 55.1 (CH, C-5), 48.7 (CH, C-9), 43.9 (CH_2 , C-3), 43.4 (CH, C-14), 40.6 (CH_2 , C-1), 37.9 (C, C-10), 34.7 (CH_2 , C-7), 34.0 (C, C-4), 33.1 (CH, C-8), 33.1 (CH_3 , C-18), 23.0 (CH_3 , C-19), 21.8 (CH_3 , AcO), 18.6 (CH_2 , C-2), 17.6 (CH_3 , C-20), 10.8 (CH_3 , C-17).

11-Oxo Spirolactona **53**



$[\alpha]_{589} -230.6$ $[\alpha]_{578} -243.5$ $[\alpha]_{546} -285.0$ $[\alpha]_{436} -588.8$ (c 0.88, CHCl_3); IR (CHCl_3) ν_{max} 2972, 2924, 2844, 1978, 1734, 1462, 1392; RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 6.96 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-16), 5.57 (1H, m, H-6), 5.56 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-15), 2.52 (1H, m, H-14), 2.49 (1H, m, H-8), 2.38 (1H, ddd, $J = 12.9, 4.7, 2.9$ Hz, H-1), 2.09 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-AcO}$), 2.02 (1H, m, H-7), 1.97 (1H, d, $J = 14.1$ Hz, H-9), 1.63 (1H, m, H-2), 1.52 (1H, m, H-7'), 1.46 (1H, m, H-3), 1.40 (1H, m, H-2), 1.23 (1H, m, H-3), 1.22 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-20}$), 1.15 (1H, m, H-1'), 1.12 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, $\text{CH}_3\text{-17}$), 1.01 (1H, d, $J = 1.0$ Hz, H-5), 0.99 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-19}$), 0.97 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-18}$). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 208.2 (CO, C-11), 173.7 (CO, C-12), 170.1 (CO, AcO), 143.7 (CH, C-16), 110.8 (CH, C-15), 69.3 (CH, C-6), 66.6 (C, C-13), 61.8 (CH, C-9), 56.4 (CH, C-5), 44.0 (CH_2 , C-3), 40.1 (CH_2 , C-1), 39.7 (CH, C-14), 38.4 (C, C-10), 34.3 (CH_2 , C-7), 33.8 (C, C-4), 33.4 (CH_3 , C-18), 33.3 (CH, C-8), 22.9 (CH_3 , C-19), 21.7 (CH_3 , AcO), 18.3 (CH_2 , C-2), 17.1 (CH_3 , C-20), 10.2 (CH_3 , C-17).

Espirolactona **6**



$[\alpha]_{589} -7.5$ $[\alpha]_{578} -7.7$ $[\alpha]_{546} -8.3$ $[\alpha]_{436} -9.9$ $[\alpha]_{365} 6.3$ (c 10.2, CHCl_3); IR (CHCl_3) ν_{max} 3592, 3489, 2933, 2863, 2845, 1783, 1717, 1615; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 6.85 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-16), 5.61 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-15), 5.50 (1H, sa, H-6), 4.26 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-11), 2.55 (1H, dddd, $J = 13.1, 13.1, 7.8, 3.6$ Hz, H-8), 2.31 (1H, q, $J = 7.8$ Hz, H-14), 2.07 (3H, s, OAc), 1.87 (1H, dt, $J = 13.6, 3.6$ Hz, H-7), 1.79 (1H, ddd, $J = 13.4, 4.6, 3.0$ Hz, H-1), 1.70 (1H, dt, $J = 13.4, 3.1$ Hz, H-1'), 1.47 (1H, dd, $J = 13.1, 8.6$ Hz, H-9), 1.45 (2H, m, H-2), 1.41 (1H, da, $J = 13.6$ Hz, H-7'), 1.30 (3H, s, CH_3 -20) 1.18 (2H, m, H-3), 1.02 (3H, s, CH_3 -19), 1.00 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-5), 0.96 (3H, s, CH_3 -18), 0.92 (3H, d, $J = 7.8$ Hz, H-17). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 182.7 (CO, C-12), 170.6 (CO, OAc), 142.1 (CH, C-16), 110.1 (CH, C-15), 78.6 (CH, C-11), 69.7 (CH, C-6), 62.0 (CH, C-9), 60.6 (C, C-13), 56.2 (CH, C-5), 44.2 (CH_2 , C-3), 42.7 (CH, C-14), 42.4 (CH_2 , C-1), 37.9 (C, C-10), 33.8 (CH_2 , C-7), 33.7 (CH_3 , C-18), 33.7 (C, C-4) 33.0 (CH, C-8), 23.2 (CH_3 , C-19), 21.9 (CH_3 , OAc), 18.6 (CH_2 , C-2), 16.6 (CH_3 , C-20), 13.2 (CH_3 , C-17). EMIE 70 eV m/z (Int. Rel.) 317(2)[M-AcO] $^+$, 316(3), 298 (2), 273(6), 272(13), 206(4), 205(11), 191(5), 188(7), 187(9), 178(15), 177(100), 161(8), 121(27), 107(19), 95(33), 93(20); HR TOFMS ES $^+$ m/z 377.2327 [M+H] $^+$ calculada para $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_5 + \text{H}^+$ 377.2328.

Reactividad del 6β -acetoxivouacapano (**5**) frente a $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a temperatura ambiente

A una disolución de 0.1 g de **5** en 4 mL de AcOH se le adicionaron 0.17 g de dicromato de potasio en 1 mL de agua, la mezcla se dejó en reacción en agitación a temperatura ambiente durante una hora. Una vez terminada la reacción, se extrajo con AcOEt, se lavó tres veces con agua, tres veces con solución de NaHCO_3 y tres veces más con agua; la fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , y el disolvente se evaporó en rotavapor. El crudo de la reacción se purificó mediante cromatografía en columna, utilizando gel de sílice y mezclas de hexanos-AcOEt, para obtener tres compuestos puros. En las fracciones eluidas en la polaridad

(9:1) de hexanos-AcOEt se obtuvo el primer compuesto, el cual corresponde a la 11-Oxo-espirolactona **53**, con un rendimiento del 25% (28 mg). En las siguientes fracciones (hexanos-AcOEt (4:1)), se obtuvieron 22 mg (20%) de la espirolactona **6**. Mientras que en las fracciones que se eluyeron en polaridad de hexanos-AcOEt (7:3), se obtuvieron 11 mg (10%) de la lactona **49**.

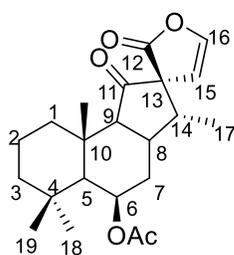
Reactividad del 6 β -acetoxivouacapano (**5**) frente a K₂Cr₂O₇ a reflujo

A una disolución de 0.11 g del cassano **5** en 4 mL de AcOH se le adicionaron 0.18 g de K₂Cr₂O₇ en 1 mL de agua, la mezcla se dejó reaccionar en agitación a reflujo durante 30 minutos. Terminada la reacción, se extrajo con AcOEt, la fase orgánica se lavó con agua, solución de Na₂HCO₃ y agua, se secó sobre Na₂SO₄ y el disolvente se evaporó en rotavapor. El crudo de la reacción se purificó mediante cromatografía en columna, empleando gel de sílice y mezclas de hexanos-AcOEt como eluyente. De esta cromatografía se obtuvo una fracción principal (70 mg (58%)) correspondiente a la mezcla de los epímeros en C-13 de las 11-Oxo-espirolactonas **53** y **54**, las cuales no fue posible separar.

Obtención de la 13-*epi*-11-Oxo-espirolactona **54**

La espirolactona **6** se obtuvo mediante oxidación de **5** con AMCPB, de acuerdo a la metodología descrita.²⁵ Posteriormente 0.021 g de **6** disueltos en 2 mL de CH₂Cl₂ se adicionaron a una suspensión de 0.05 g de PCC, la mezcla se dejó reaccionar en agitación a temperatura ambiente durante 2 horas. El crudo de la reacción se purificó mediante cromatografía en columna utilizando gel de sílice y una mezcla de hexanos-acetona como fase móvil, para obtener 18 mg (86%) de la 11-Oxo-espirolactona **54**.

11-Oxo-espirolactona **54**



[α]₅₈₉ +27.5 [α]₅₇₈ +29.0 [α]₅₄₆ +33.5 [α]₄₃₆ +61.0 [α]₃₆₅ +34.6 (*c* 0.48, CHCl₃); IR (CHCl₃) ν_{\max} 2923, 2845, 2723, 1789, 1735, 1613, 1507, 1462; RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 6.98 (1H, d, *J* = 3.8 Hz, H-16), 5.55 (1H, dd, *J* = 5.3, 2.9 Hz, H-5), 5.43 (1H, d, *J* = 3.8 Hz, H-15), 3,17 (1H, m, H-8), 2.64 (1H, q, *J* = 7.5 Hz, H-14), 2.42 (1H, m, H-1), 2.10 (3H, s, CH₃-AcO), 2.07 (1H, m, H-7), 1.78 (1H, d, *J*

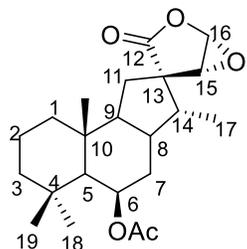
= 14.6 Hz, H-9), 1.68 (1H, m, H-2), 1.53 (1H, m, H-7'), 1.47 (1H, m, H-2'), 1.41 (1H, m, H-3), 1.27 (3H, s, CH₃-20), 1.22 (1H, m, H-3), 1.10 (1H, m, H-1'), 1.01 (3H, s, CH₃-19), 0.98 (1H, s, H-5), 0.98 (3H, d, *J* = 7.5, CH₃-17), 0.96 (3H, s, CH₃-18). RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 207.2 (CO, C-11), 174.7 (CO, C-12), 170.5 (CO, AcO), 144.8 (CH, C-16), 109.1 (CH, C-15), 69.2 (CH, C-6), 66.8 (C, C-13), 62.0 (CH, C-9), 56.7 (CH, C-5), 44.2 (CH₂, C-3), 40.4 (CH₂, C-1), 39.5 (CH, C-14), 38.6 (C, C-10), 34.6 (CH₂, C-7), 33.9 (C, C-4), 33.6 (CH₃, C-18), 32.2 (CH, C-8), 23.0 (CH₃, C-19), 21.8 (CH₃, AcO), 18.4 (CH₂, C-2), 17.2 (CH₃, C-20), 11.9 (CH₃, C-17). EMIE 70 eV *m/z* (Int. Rel.) 315(2)[M-AcO]⁺, 314(7), 299 (2), 286(3), 271(4), 203(4), 193(3), 190 (5), 177(14), 176(100), 175(26), 162(12), 161(86), 120 (17), 119 (16), 111(27), 107(15), 106(23), 105 (41), 95(10).

Reacción general de fotooxidación de **5**

Una mezcla de 50 mg de 6β-acetoxivouacapano (**5**) y catalizador (3% mol) en 2 mL de disolvente en agitación, fueron irradiados con luz blanca (Sylvania Mini-Lynx T 20W) bajo atmósfera de oxígeno o aire. Al finalizar la reacción (monitoreada por TLC), el disolvente se evaporó en rotavapor, y el crudo de reacción se separó mediante cromatografía en columna, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y mezclas de éter de petróleo-AcOEt como eluyente, de la cual se obtuvieron dos fracciones (A y B). De la fracción A (éter de petróleo-AcOEt (9:1)) se obtuvo la mezcla de los compuestos **55** y **56**. En la fracción B (éter de petróleo-AcOEt (8:2)) se obtuvo la mezcla de diastereómeros **57** y **58**. La fracción A se purificó mediante cromatografía flash, utilizando una mezcla de éter de petróleo-CH₂Cl₂ (1:2) como eluyente, obteniendo puros los compuestos **55** y **56**. La fracción B se purificó mediante cromatografía flash utilizando una mezcla de éter de petróleo-éter dietílico (7:3) para obtener los compuestos **57** y **58** de forma pura.

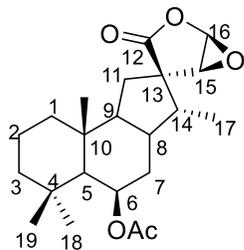
Epoxi-espirolactona **55**

[α]_D +32 (c 0.94 CHCl₃); IR *v*_{max} cm⁻¹ 1779, 1720, 1242, 1073, 1012, 855; RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5.55 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-16), 5.52 (1H, m, H-6), 3.61 (1H,



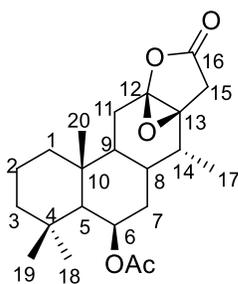
d, $J = 2.3$ Hz, H-15), 2.63 (1H, q, $J = 7.5$ Hz, H-14), 2.20 (1H, m, H-8), 2.06 (3H, s, CH₃-OAc), 1.96 (1H, dd, $J = 13.1, 8.1$ Hz, H-11), 1.88 (1H, m, H-7), 1.76 (1H, m, H-9), 1.64 (1H, m, H-2), 1.55 (1H, dd, $J = 13.1, 10.3$ Hz, H-11'), 1.47-1.37 (4H, m, H-1, H-3, H-7, H-2), 1.24 (1H, m, H-3'), 1.17 (3H, s, CH₃-20), 1.12 (1H, m, H-1'), 1.02 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-5), 1.00 (3H, s, CH₃-19), 0.96 (3H, s, CH₃-18), 0.92 (3H, d, $J = 7.5$ Hz, CH₃-17). RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 178.2 (CO, C-12), 170.3 (CO, AcO), 78.0 (CH, C-16), 70.1 (CH, C-6), 59.8 (CH, C-15), 56.3 (CH, C-5), 55.3 (CH, C-9), 54.6 (C, C-13), 44.2 (CH₂, C-3), 42.1 (CH₂, C-1), 42.0 (CH, C-14), 37.5 (CH, C-8), 37.5 (C, C-10) 33.7 (CH₂, C-7), 33.6 (C, C-4), 33.5 (CH₃, C-18), 32.6 (CH₂, C11), 23.2 (CH₂, C-19), 21.8 (CH₃, AcO), 18.6 (CH₂, C-2), 15.6 (CH₃, C-20), 12.3 (CH₃, C-17). HR-ESI-FTMS m/z 375.2181 [M-H]⁻ (calculado para C₂₂H₃₁O₅⁻ 375.2177).

Epoxi-espirolactona 56



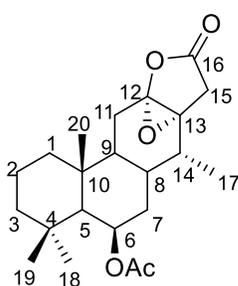
$[\alpha]_D -84$ (c 1.05 CHCl₃); IR ν_{max} cm⁻¹ 1788, 1723, 1241, 1068, 1021, 852; RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5.56 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-16), 5.51 (1H, m, H-6), 3.53 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-15), 2.48 (1H, m, H-8), 2.35 (1H, q, $J = 7.4$ Hz, H-14), 2.05 (3H, s, CH₃-AcO), 1.89 (1H, m, H-7), 1.84 (1H, dd, $J = 13.5, 11.4$ Hz, H-11), 1.72 (1H, dd, $J = 13.5, 7.8$ Hz, H-11'), 1.64 (1H, m, H-2), 1.55 (1H, m, H-9), 1.51-1.39 (4H, m, H-1, H-2', H-3, H-7'), 1.18 (1H, m, H-3), 1.17 (3H, s, CH₃-20), 1.05 (1H, m, H-1'), 1.05 (3H, d, $J = 7.4$ Hz, CH₃-17), 1.01 (3H, s, CH₃-19), 0.97 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-5), 0.96 (3H, s, CH₃-18). RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 180.7 (CO, C-12), 170.6 (CO, AcO), 77.7 (CH, C-16), 69.8 (CH, C-6), 57.4 (CH, C-15), 56.4 (CH, C-5), 55.4 (C, C-13), 55.2 (CH, C-9), 44.3 (CH₂, C-3), 42.7 (CH₂, C-1), 41.6 (CH, C-14), 37.6 (CH, C-8), 37.6 (C, C-10), 33.7 (CH₃, C-18), 33.7 (C, C-4), 33.6 (CH₂, C-7), 33.2 (CH₂, C-11), 23.2 (CH₃, C-19), 21.9 (CH₃, AcO), 18.7 (CH₂, C-2), 15.6 (CH₃, C-20), 12.0 (CH₃, C-17). HR-ESI-FTMS m/z 399.2135 [M+Na]⁺ (calculado para C₂₂H₃₂O₅ + Na⁺ 399.2142).

Epoxilactona **57**



$[\alpha]_D -13.3$ (*c* 0.54, CHCl_3); IR ν_{max} cm^{-1} 1799, 1724, 1249, 1028, 944, 853; RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 5.44 (1H, m, H-6), 2.90 (1H, d, $J = 18.9$ Hz, H-15), 2.78 (1H, d, $J = 18.9$ Hz, H-15'), 2.31 (1H, dd, $J = 15.8, 8.3$ Hz, H-11), 2.17 (1H, m, H-14), 2.17 (1H, dd, $J = 15.8, 9.3$ Hz, H-11'), 2.06 (1H, m, H-8), 2.03 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-OAc}$), 1.67 (1H, m, H-7), 1.60 (1H, m, H-1), 1.57 (1H, m, H-2), 1.46 (1H, m, H-2'), 1.40 (1H, m, H-7'), 1.37 (1H, m, H-3), 1.27 (1H, m, H-9), 1.18 (1H, m, H-3'), 1.16 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-20}$), 0.99 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-19}$), 0.97 (1H, s, H-5), 0.96 (3H, d, $J = 7.3$ Hz, $\text{CH}_3\text{-17}$), 0.95 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-18}$), 0.91 (1H, m, H-1'). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 173.4 (CO, C-16), 170.5 (CO, OAc), 89.3 (C, C-12), 69.3 (CH, C-6), 65.1 (C, C-13), 55.8 (CH, C-5), 43.7 (CH_2 , C-3), 42.8 (CH, C-9), 41.3 (CH_2 , C-1), 38.2 (C, C-10), 36.3 (CH_2 , C-7), 34.3 (CH_2 , C-15), 33.9 (C, C-4), 33.5 (CH_3 , C-18), 32.0 (CH, C-14), 27.1 (CH, C-8), 23.3 (CH_3 , C-19), 21.8 (CH_3 , OAc), 21.0 (CH_2 , C-11), 18.5 (CH_2 , C-2), 16.0 (CH_3 , C-20), 10.9 (CH_3 , C-17). HR-ESI-FTMS m/z 399.2139 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_5 + \text{Na}^+$ 399.2142).

Epoxilactona **58**

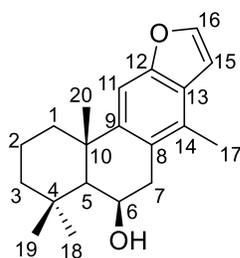


$[\alpha]_D -10.7$ (*c* 0.58 CHCl_3); IR ν_{max} cm^{-1} 1800, 1722, 1249, 1025, 954; RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 5.47 (1H, sa, H-6), 3.04 (1H, d, $J = 18.9$ Hz, H-15), 2.69 (1H, d, $J = 18.9$ Hz, H-15'), 2.52 (1H, dd, $J = 14.4, 4.7$ Hz, H-11), 2.27 (1H, q, $J = 7.2$ Hz, H-14), 2.07 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-OAc}$), 2.01 (1H, dd, $J = 14.4, 11.5$ Hz, H-11'), 1.89 (1H, m, H-8), 1.79 (1H, m, H-1), 1.75 (1H, m, H-7), 1.62 (1H, m, H-2), 1.52 (1H, m, H-2'), 1.45 (1H, m, H-3), 1.72 (1H, m, H-7'), 1.27 (1H, m, H-9), 1.21 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-20}$), 1.16 (1H, m, H-3'), 1.06 (1H, m, H-1'), 1.03 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-19}$), 1.02 (1H, m, H-5), 1.00 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-18}$), 0.98 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, $\text{CH}_3\text{-17}$). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 173.4 (CO, C-16), 170.5 (CO, OAc), 90.8 (C, C-12), 68.8 (CH, C-6), 64.7 (C, C-13), 54.7 (CH, C-5), 43.8 (CH, C-9), 43.4 (CH_2 , C-3), 42.3 (CH_2 , C-1), 37.6 (CH_2 , C-15), 37.5 (C, C-10), 34.6 (CH_2 , C-7), 33.83 (C, C-

4), 33.77 (CH₃, C-18), 31.7 (CH, C-14), 30.2 (CH, C-8), 23.5 (CH₃, C-19), 22.7 (CH₂, C-11), 21.8 (CH₃, OAc), 18.7 (CH₂, C-2), 18.1 (CH₂, C-20), 10.8 (CH₂, C-17). HR-ESI-FTMS *m/z* 399.2139 [M+Na]⁺ (calculado para C₂₂H₃₂O₅Na⁺ 399. 2142).

Obtención del Hidroxibenzofurano **59**

El benzofurano **9** se obtuvo mediante la metodología descrita.²⁵ Posteriormente 86 mg de **9** disueltos en 3 mL de THF anhidro se adicionaron a una suspensión de 19 mg LiAlH₄ en 3 mL de THF anhidro, la mezcla se dejó reaccionar en agitación a temperatura ambiente en atmósfera de argón durante 30 minutos. Terminada la reacción se neutralizó con HCl 1M y se extrajo tres veces con 10 mL de AcOEt, se secó sobre MgSO₄ y el disolvente se evaporó en rotavapor. Se obtuvo como único producto el hidroxibenzofurano **59**.



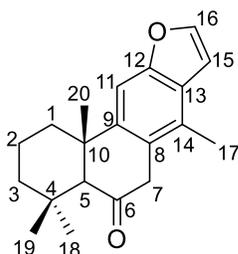
Hidroxibenzofurano **59**

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7.52 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-16), 7.38 (1H, s, H-11), 6,72 (1H, dd, *J* = 2.2 Hz, H-15), 4.80 (1H, d, *J* = 4.1 Hz, H-6), 3.04 (1H, dd, *J* = 17.4, 5.0 Hz, H-7), 2.97 (1H, d, *J* = 17.4, H-7), 2.37 (3H, s, CH₃-17), 2.25 (1H, da, *J* = 12.2 Hz, H-1), 1.89 (1H, qt, *J* = 13.7, 3.5 Hz, H-2), 1.64 (1H, m, H-2'), 1.64 (3H, s, CH₃-20), 1.49 (1H, m, H-1'), 1.46 (1H, s, H-5), 1.44 (1H, m, H-3), 1.31 (3H, s, CH₃-19), 1.24 (1H, m, H-3'), 1.08 (3H, s, CH₃-18). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 153.8 (C, C-12), 146.4 (C, C-9), 144.2 (CH, C-16), 128.5 (C, C-14), 125.5 (C, C-13), 124.1 (C, C-8), 105.2 (CH, C-11), 104.9 (CH, C-15), 65.7 (CH, C-6), 52.8 (CH, C-5), 43.3 (CH₂, C-1), 43.0 (CH₂, C-3), 39.0 (CH₂, C-7), 38.2 (C, C-10), 34.2 (C, C-4), 33.7 (CH₃, C-18), 27.7 (CH₃, C-20), 23.9 (CH₃, C-19), 19.8 (CH₂, C-2), 16.1 (CH₃, C-17).

Oxidación del Hidroxibenzofurano **59**

A una suspensión de 0.1 g de PCC en 2 mL de CH₂Cl₂ se le agregó una disolución de 0.085 g de **59** en 2 mL de CH₂Cl₂, la mezcla se dejó reaccionar en agitación a temperatura ambiente durante una hora. Terminada la reacción se evaporó el disolvente en rotavapor y el crudo de la reacción se purificó mediante

cromatografía en columna, empleando gel de sílice como fase estacionaria y una mezcla de éter de petróleo-AcOEt (24:1) para obtener 60 mg (70%) de la cetona **60**.



Cetona **60**

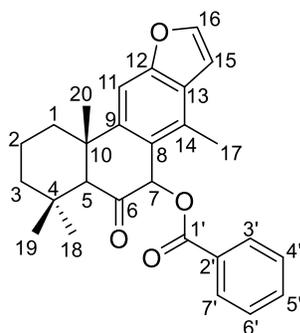
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7.60 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-16), 7.40 (1H, s, H-11), 6.77 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-15), 3.69 (1H, d, $J = 21.6$ Hz, H-7), 3.50 (1H, d, $J = 21.6$ Hz, H-7'), 2.48 (1H, s, H-5), 2.41 (3H, s, CH_3 -17), 2.40 (1H, m, H-1), 1.81 (1H, m, H-2), 1.71 (1H, m, H-1'), 1.70 (1H, m, H-2'), 1.46 (1H, m, H-3), 1.37 (3H, s, CH_3 -20), 1.20 (3H, s, CH_3 -19), 1.18 (1H, m, H-3'), 1.11 (3H, CH_3 -18). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 209.7 (CO, C-6), 154.0 (C, C-12), 146.3 (C, C-9), 144.8 (CH, C-16), 128.0 (C, C-8), 125.9 (C, C-13), 125.0 (C, C-14), 105.0 (CH, C-11), 104.1 (CH, C-15), 62.2 (CH, C-5), 43.2 (CH_2 , C-7), 42.8 (CH_2 , C-3), 40.8 (C, C-10), 39.3 (CH_2 , C-1), 32.9 (CH_3 , C-18), 32.7 (C, C-4), 25.1 (CH_3 , C-19), 21.7 (CH_3 , C-20), 18.8 (CH_2 , C-2), 15.9 (CH_3 , C-17). HR TOFMS ES+ m/z 297.1852 $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculada para $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_2+\text{H}$ 297.1855.

Oxibenzoilación de la cetona **60**

En un matraz de reacción se disolvieron 31 mg de **60**, 2.4 mg (20%) de *L*-prolina como catalizador y 4.3 mg (20%) de 1-(2-(dimetilamino)etil)-3-fenilurea como cocatalizador en 1 mL de acetonitrilo, esta mezcla se dejó en agitación durante 5 minutos, posteriormente se adicionaron 25.1 mg de peróxido de benzoilo. La mezcla se dejó reaccionar en agitación a temperatura ambiente durante una semana. Terminado el tiempo de reacción, se diluyó con 2 mL de AcOEt y se le adicionó solución saturada de NaHCO_3 , se extrajo tres veces con AcOEt, la fase orgánica total se lavó con solución de NaCl y agua, se secó sobre MgSO_4 y el disolvente se evaporó en rotavapor. El crudo de la reacción se separó mediante cromatografía en columna utilizando gel de sílice como soporte y mezclas de éter de petróleo-AcOEt como eluyente. De esta cromatografía se recuperaron dos fracciones principales A y B. En la fracción A (éter de petróleo-AcOEt (43:7)) se

recuperó la cetona **60**. En la segunda fracción (éter de petróleo-AcOEt (9:1)) se obtuvieron 5 mg (11%) del producto oxibenzoilado en posición C-7 **61**.

Cassano oxibenzoilado **61**



Miel incolora, RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ 8.04 (2H, d, $J = 7.3$ Hz, H-3', H-7'), 7.62 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-16), 7.57 (1H, t, $J = 7.3$ Hz, H-5'), 7.45 (1H, s, H-11), 7.42 (2H, t, $J = 7.3$ Hz, H-4', H-6'), 6.78 (1H, da, $J = 2.2$ Hz, H-15), 6.29 (1H, s, H-7), 3.24 (1H, s, H-5), 2.45 (1H, m, H-1a), 2.42 (3H, s, CH_3 -17), 1.38-1.18 (5H, m, CH_2 -2, CH_2 -3, H-1b), 1.43 (3H, CH_3 -20), 1.27 (3H, s, CH_3 -19), 0.89 (3H, s, CH_3 -

18).

Ensayo de viabilidad

PBS (Phosphate buffer saline)

- 8 g de NaCl.
- 0.2 g de KCl.
- 1.44 g de Na_2HPO_4 .
- 0.24 g de KH_2PO_4 .
- Disolver las sales en 1 L de agua desionizada estéril.
- Ajustar pH a 7.4.
- Esterilizar por filtración en filtro de $22 \mu\text{m}$.

Medio F12-Ham incompleto (Células MCF-7)

- Esterilizar un litro de agua desionizada. Atemperar.
- Adicionar medio F12-Ham.
- Pesar 1.5 g de NaHCO_3 y adicionarlos al medio.
- Ajustar pH a 7.4 (KOH o HCl).
- Esterilizar por filtración en filtro de $22 \mu\text{m}$.

Medio F12-Ham completo (Células MCF-7)

- 25 mL de Suero Fetal Bovino.

- 25 mL de suero de ternera.
- 250 μL de anfotericina.
- 5 mL de penicilina-estreptomicina.
- Aforar a 500 mL con medio F12-Ham incompleto.
- Esterilizar por filtración en filtro de 22 μm .

Ensayo en células Células MCF-7

1. Lavar el cultivo celular. Retirar el medio de la caja petri y adicionar 4 mL de PBS. Remover suavemente y retirar PBS (repetir dos veces).
2. Adicionar 4 mL de tripsina e incubar a 37°C, 5% CO₂ durante 5 min.
3. Adicionar 4 mL de medio F12-Ham para inactivar la tripsina.
4. Colocar la suspensión celular en un tubo falcon y centrifugar a 1500 rpm durante 10 minutos.
5. Decantar el sobrenadante y resuspender la pastilla con medio F12-Ham completo.
6. Contar la suspensión celular con la cámara de Neubauer o el contador celular automatizado.
7. Sembrar 10000 células por pozo en la placa de cultivo celular, de 96 pocillos, con 100 μL de medio F12-Ham completo, incubar durante 24 horas a 37° C, 5% de CO₂.
8. Cambiar el medio por medio F12-Ham incompleto, incubar durante 24 horas a 37° C, 5% de CO₂.
9. Reemplazar el medio por medio F12-Ham incompleto (90 μL), y adicionar los tratamientos (compuestos) (10 μL), incubar durante 24 horas.
10. Realizar el ensayo de MTT.

Medio RPMI incompleto (Células HL-60)

- Esterilizar un litro de agua desionizada. Dejar enfriar.
- Adicionar medio RPMI.
- Pesar 4 g de NaHCO₃ y adicionarlos al medio.
- Ajustar pH a 7.4 (KOH o HCl).
- Esterilizar por filtración en filtro de 22 μm .

Medio RPMI completo (Células HL-60)

- 50 mL de Suero Fetal Bovino.
- 250 μL de anfotericina.
- 5 mL de penicilina-estreptomicina.
- Aforar a 500 mL con medio RPMI incompleto.
- Esterilizar por filtración en filtro de 22 μm .

Ensayo en células Células HL-60

1. Colocar la suspensión celular en un tubo falcon y centrifugar a 1000 rpm durante 10 minutos.
2. Decantar el sobrenadante y resuspender la pastilla con medio RPMI incompleto.
3. Colocar en frasco de cultivo con medio RPMI incompleto e incubar durante 24 horas, a 37° C, 5% de CO₂.
4. Colocar la suspensión celular en un tubo falcon y centrifugar a 1000 rpm durante 10 minutos.
5. Decantar el sobrenadante y resuspender la pastilla con medio RPMI incompleto, enriquecido con 2% de suero fetal bovino.
6. Contar la suspensión celular con la cámara de Neubauer o el contador celular automatizado.
7. Sembrar 20000 células por pozo en la placa de cultivo celular de 96 pocillos, con 90 μL de medio RPMI incompleto, agregar los tratamientos de los compuestos e incubar durante 24 horas, a 37° C, 5% de CO₂.
8. Realizar el ensayo de MTT.

Protocolo para el ensayo de MTT

Solución de MTT:

1. Disolver MTT en PBS (5 mg/mL).
2. Filtrar a través de un filtro de 22 μm .
3. Almacenar protegido de la luz a 4 °C.

Ensayo:

1. Cambiar medio de los pozos por medio fresco.
2. Adicionar 10 μL de la solución de MTT por pozo. Concentración final de 0.45 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Resuspender.
3. Incubar de 1 a 4 horas a 37 °C.
4. Adicionar 100 μL de isopropanol-HCl (1M) (19:1) y resuspender.
5. Mantener a temperatura ambiente durante 30 minutos.
6. Realizar lectura de las absorbencias a 595 nm.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Obtención del vouacapano **5**

Las hojas de *Caesalpinia platyloba*, se colectaron en Los Charcos municipio de Buenavista, Michoacán y se procesaron de acuerdo a la metodología descrita para obtener el extracto de diclorometano, el cual se fraccionó mediante cromatografía en columna para aislar el 6 β -acetoxivouacapano (**5**), que fue identificado mediante sus datos de RMN de ^1H (figura 8), y su punto de fusión de 114-116 °C, los cuales coincidieron con los reportados.^{23,24}

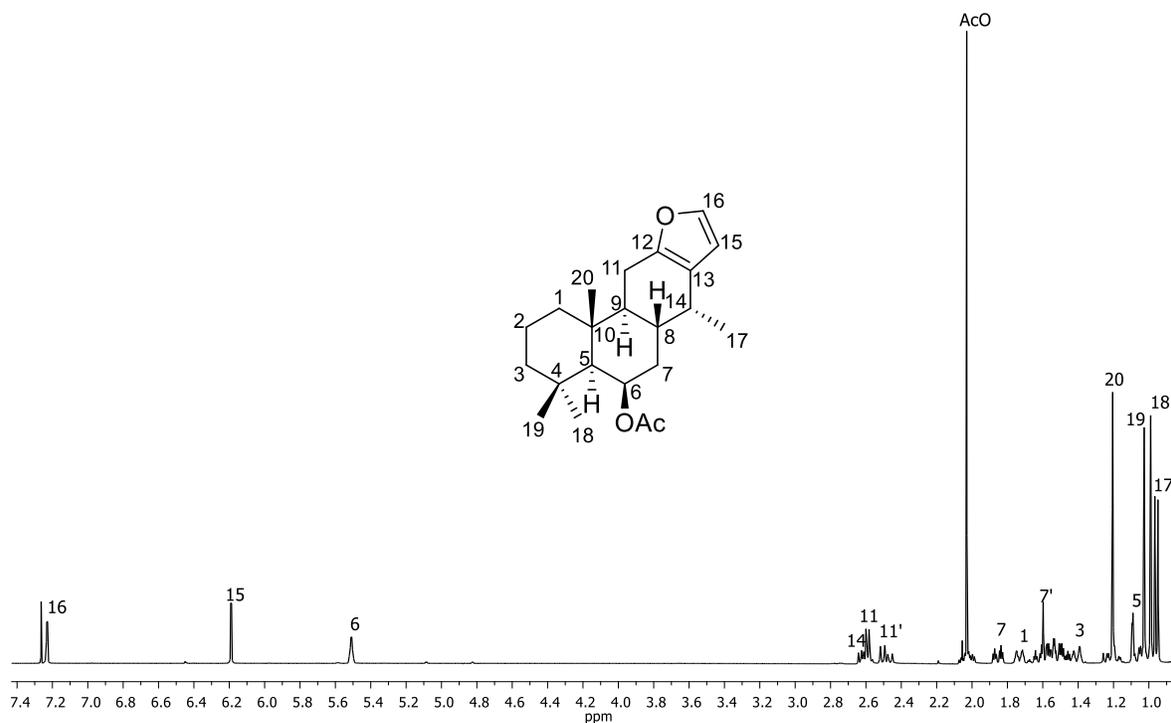
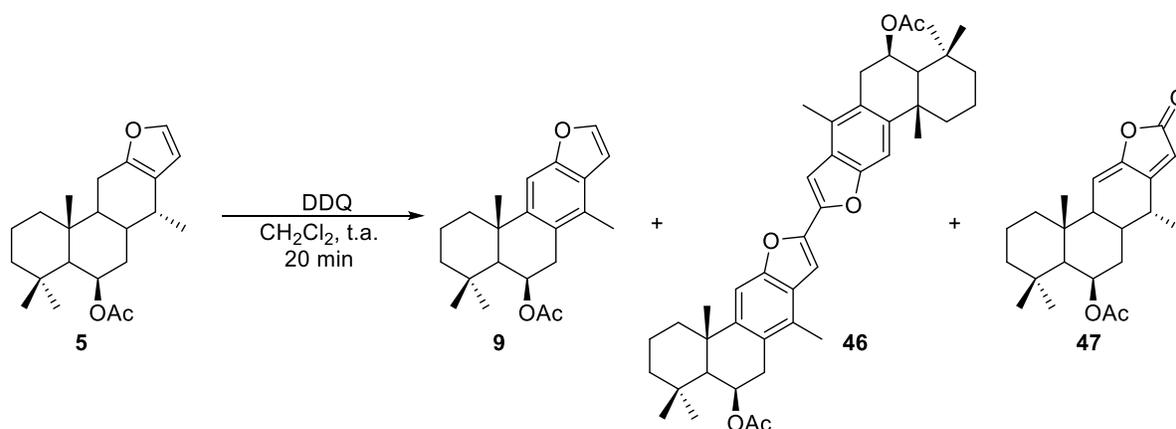


Figura 8. Espectro de RMN de ^1H del 6 β -acetoxivouacapano (**5**) en CDCl_3 a 400 MHz.

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

Una vez aislado e identificado el cassano **5**, se procedió a realizar los ensayos de oxidación química, para lo cual se decidió retomar los estudios realizados previamente²⁵ y continuar con la oxidación de **5** con DDQ, lo que generó 3 compuestos principales (esquema 10), el benzofurano **9** con rendimiento del 15%, el dímero **46** (15%), análogo del benzofurano **9**, y como producto mayoritario la lactona **47** con un rendimiento del (28%).



Esquema 10. Reacción del 6 β -acetoxivouacapano (**5**) con DDQ.

El benzofurano **9** se aisló en forma de miel incolora, y se identificó mediante RMN de ¹H (figura 9), donde se observaron en 7.54 y 6.73 ppm las señales correspondientes a los hidrógenos del anillo de furano disustituido H-16 y H-15, respectivamente. En 7.40 ppm se asignó la señal simple del protón aromático H-11. En 3.06 y 2.98 ppm se observaron las señales de los hidrógenos bencílicos H-7 y H-7', respectivamente. Esto asociado al corrimiento de la señal del metilo CH₃-17 ahora en 2.34 ppm como una señal simple, confirma la aromatización del anillo C del vouacapano **5**. Estos datos fueron idénticos a los reportados previamente para **9**.^{25,53}

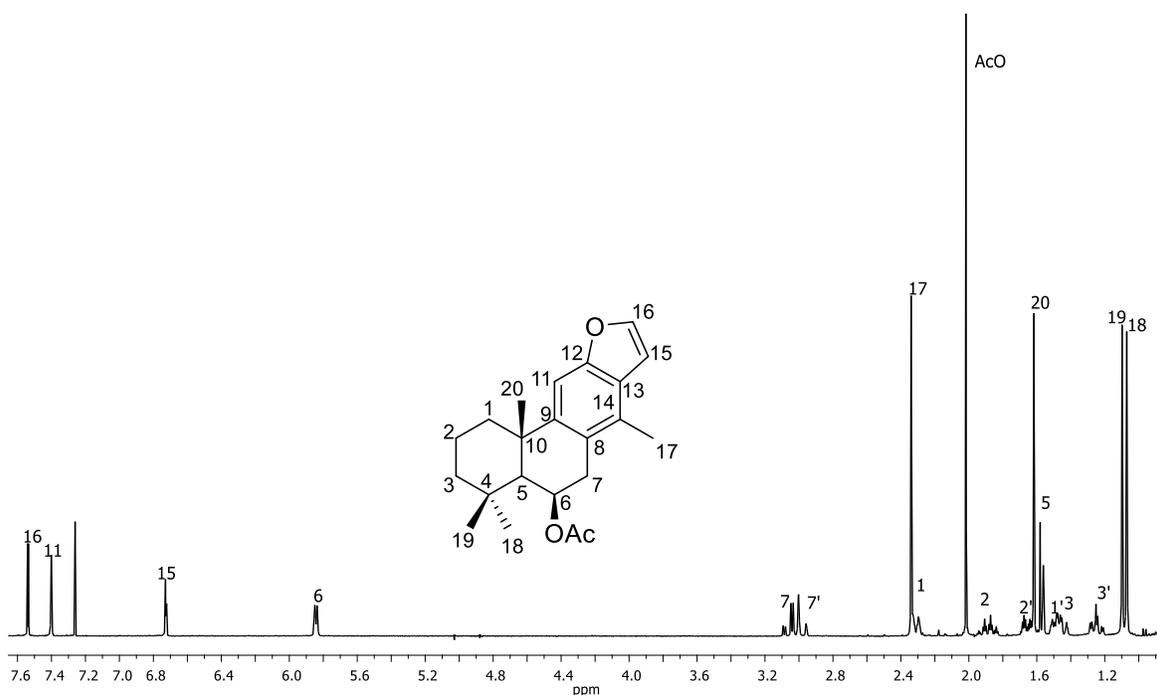


Figura 9. Espectro de RMN de ¹H del benzofurano **9** en CDCl₃ a 400 MHz.

El dímero del benzofurano **46** se obtuvo en forma de cristales blancos con punto de fusión de 245-248 °C, y mostró un ion molecular [M+H]⁺ de 679.3981 *m/z* calculado para C₄₄H₅₄O₆+H⁺ de 679.3998 (HR TOFMS ES+). Este compuesto mostró un espectro de RMN de ¹H similar al del benzofurano **9** (figura 10), donde se observaron en 7.42 y 7.10 ppm sólo dos señales simples de hidrógenos aromáticos H-11 y H-15, respectivamente. En 5.85 ppm se observó la señal correspondiente al hidrógeno H-6 base de acetato. En 3.07 y 2.99 ppm se observaron al igual que en compuesto anterior las señales de los hidrógenos bencílicos H-7 y H-7', respectivamente. La señal en 2.38 ppm del metilo aromático CH₃-17, se observó también sin cambios aparentes con respecto al compuesto **9**. Las señales correspondientes al resto de los metilos se asignaron en 1.63, 1.11 y 1.08 ppm (CH₃-20, CH₃-19 y CH₃-18), respectivamente. La presencia de una sola de las señales correspondientes al anillo del furano, indicó la funcionalización en la posición C-16 del compuesto.

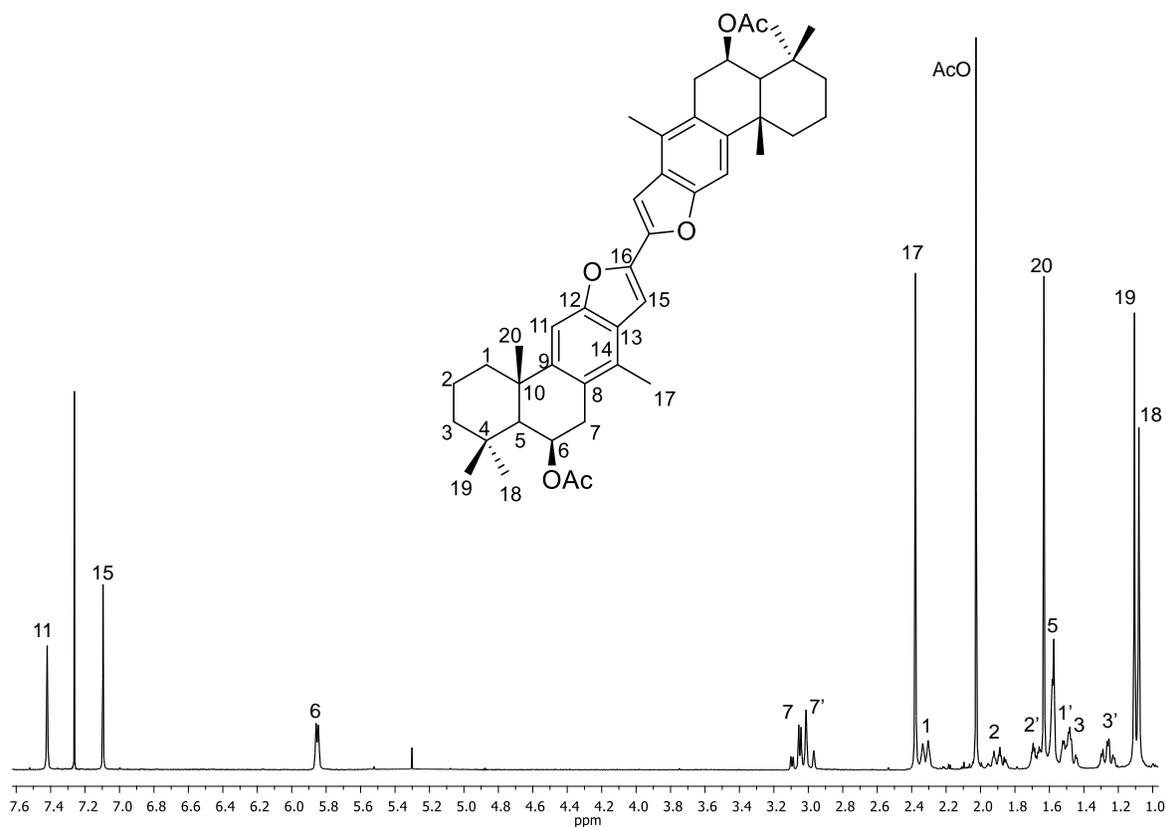


Figura 10. Espectro de RMN de ^1H del dímero **46** en CDCl_3 a 400 MHz.

En su espectro de RMN de ^{13}C (figura 11) se observaron 22 señales, de las cuales en 171.0 ppm se ubicó la señal del carbonilo del acetato. Entre 153.9 y 124.4 ppm se observaron 6 señales de carbonos aromáticos. En 105.0 y 101.8 ppm se asignaron dos señales de metinos aromáticos, correspondientes a C-11 y C-15, respectivamente. En 67.6 ppm se observó la señal correspondiente al carbono C-6 base de acetato. En 51.5 ppm se ubicó la señal del carbono C-5, característica para compuestos de tipo cassano. Entre 43.0 y 16.0 ppm se observaron 10 señales, las cuales fueron asignadas mediante el experimento HETCOR y por comparación con la materia de partida así como con los datos del compuesto **9**. La asignación total de los datos de RMN de ^1H y ^{13}C se realizó en base a los análisis en dos dimensiones, COSY, HETCOR, HMBC.

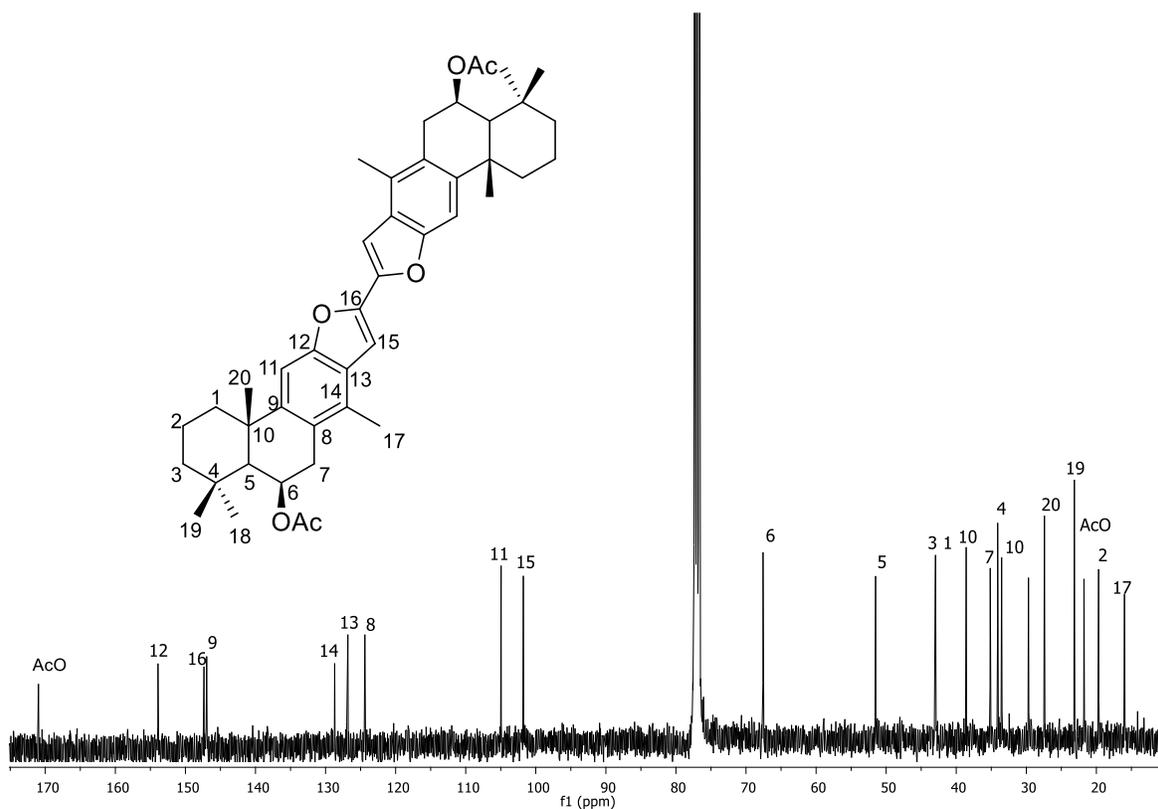


Figura 11. Espectro de RMN de ^{13}C del dímero **46** en CDCl_3 a 100 MHz.

Mediante el análisis de RMN, fue posible solo proponer una estructura parcial, la cual presenta un benzofurano formado por la aromatización del anillo C del 6β -acetoxivouacapano (**5**), sin embargo, la ausencia del hidrógeno de la posición 16, sugirió la funcionalización de este carbono, por lo que se prepararon cristales adecuados para su difracción por rayos X (figura 12). Con este análisis se determinó que este compuesto se trataba de un dímero, el cual cocrystalizó con dos moléculas de CH_2Cl_2 . Al realizar una búsqueda en la literatura no se encontraron datos para esta estructura, por lo que el dímero **46**, corresponde a un nuevo derivado. Sin embargo, se encontró un reporte de un dímero de un vouacapano, obtenido por Kitagawa y colaboradores, mediante el tratamiento con NBS, el cual les permitió la determinación de la configuración absoluta de la

materia de partida.⁵⁴ Cabe resaltar que naturalmente solo se ha reportado el aislamiento de heterodímeros derivados de cassanos.⁵⁵

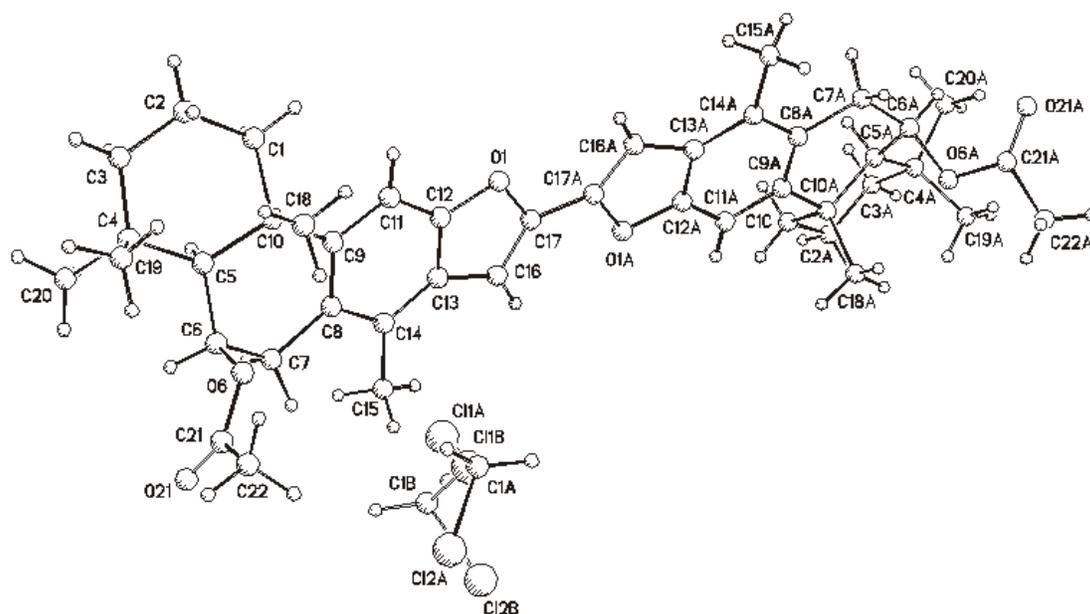


Figura 12. Estructura de rayos X del dímero **46**.

La lactona **47** se obtuvo en forma cristales incoloros con punto de fusión de 236-239 °C. En su espectro EIMS se observó el ion $[M]^+$ de 358 m/z . En su espectro de RMN de 1H (figura 13) se observaron dos señales de protones vinílicos en 5.85 y 5.78 ppm, las cuales se asignaron a H-11 y H-15, respectivamente. En 5.53 ppm se ubicó la señal correspondiente al hidrógeno base de acetato H-6. En 2.84 ppm se apreció la señal correspondiente a H-14 como una señal cuádruple de dobles, con $J = 7.2, 4.5$ Hz. En 2.05 ppm se apreció la señal simple característica del metilo del acetato. En 1.17, 1.00, 0.98 y 1.06 ppm, se observaron tres señales simples y una doble, correspondientes a los metilos terciarios CH_3 -20, CH_3 -18 y CH_3 -19, así como al metilo secundario CH_3 -17.

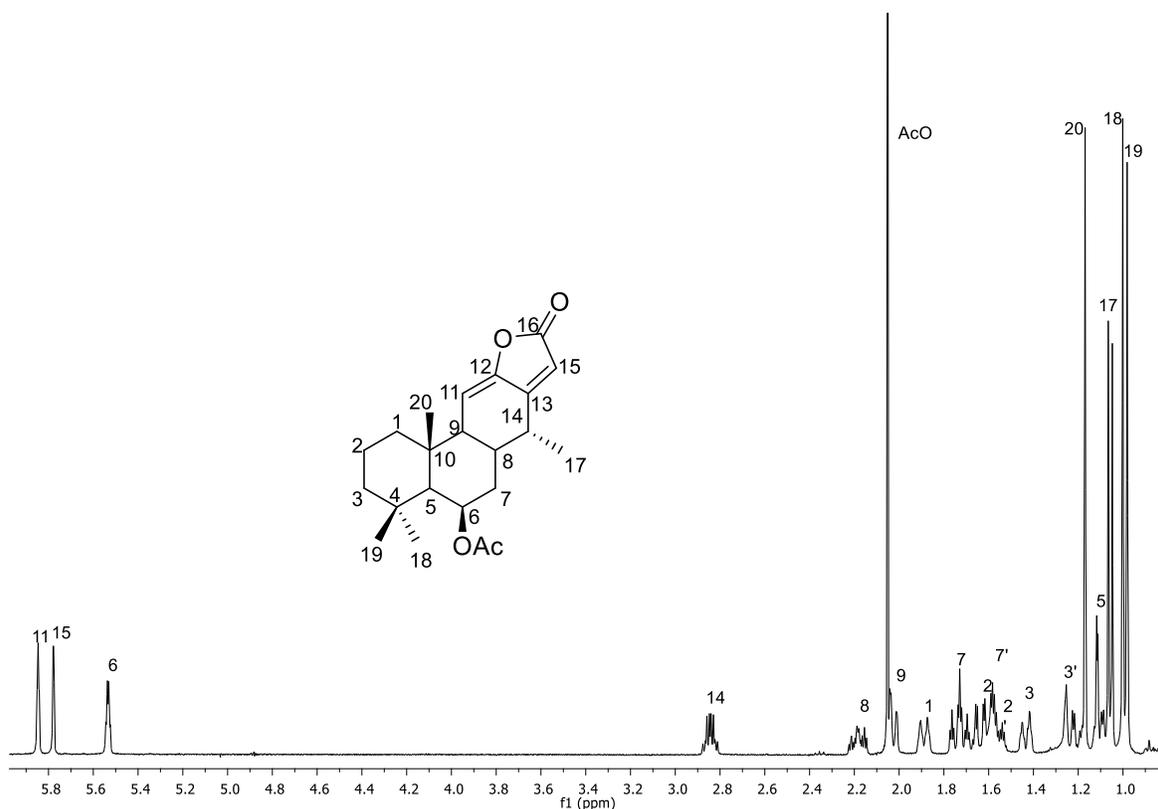


Figura 13. Espectro de RMN de ^1H de la lactona **47** en CDCl_3 a 400 MHz.

En su espectro de RMN de ^{13}C (figura 14) se observaron dos señales para carbonos de carbonilo, una en 170.4 y 170.2 ppm, que se asignaron al carbonilo de acetato y al de la lactona C-16, respectivamente. En 161.2, 150.2, 111.0 y 110.2 ppm se observaron cuatro señales de carbono de doble enlace, las cuales fueron asignadas a los carbonos C-13, C-12, C-11 y C-15, respectivamente. En 69.1 ppm se ubicó la señal correspondiente al carbono C-6 base del acetato. En 55.1 ppm se apreció la señal característica del carbono metínico C-5. Entre 48.7 y 14.6 ppm se observó el resto de las señales carbonadas de la estructura, las cuales fueron asignadas mediante los experimentos HETCOR, HMBC y por comparación con la materia de partida.

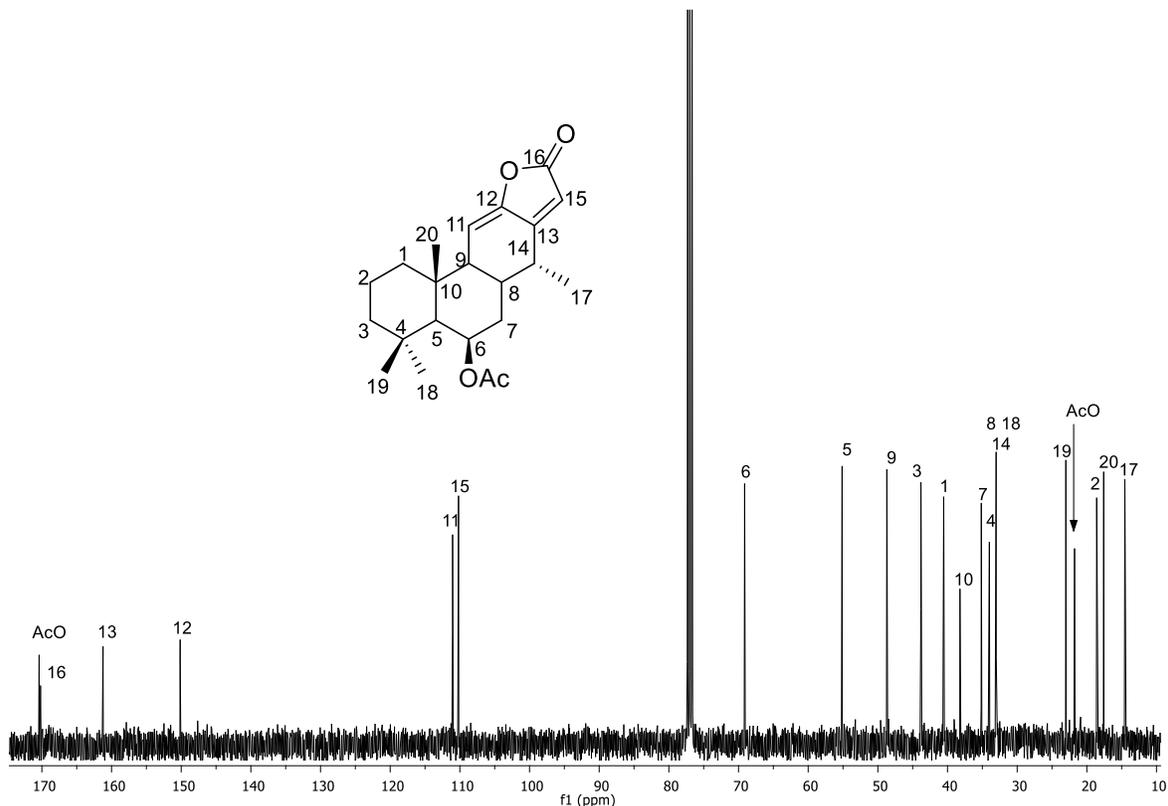


Figura 14. Espectro de RMN de ^{13}C de la lactona **47** en CDCl_3 a 100 MHz.

Mediante el experimento COSY (figura 15) se asignó de manera inequívoca la señal del hidrógeno H-14 en 2.84 ppm, ya que mostró una correlación con la señal del metilo secundario CH_3 -17. La señal de H-14 mostró a su vez una correlación con la señal múltiple observada en 2.18 ppm, lo que permitió la asignación de H-8; ésta a su vez mostró tres correlaciones, la primera con una señal ubicada en 2.03 ppm, que se asignó a H-9, las otras dos correlaciones fueron con las señales ubicadas en 1.73 y 1.59 ppm, que se asignaron a los hidrógenos H-7 y H-7'. La señal asignada anteriormente a H-9 mostró una correlación con la señal de hidrógeno vinílico ubicada en 5.85 ppm, asignando de esta forma al hidrógeno a H-11. La señal del H-6 en 5.53 ppm mostró tres correlaciones, las primeras dos con las señales ubicadas en 1.73 y 1.59 ppm, corroborando de esta forma la asignación de H-7 y H-7'; y la otra correlación fue con la señal ubicada en 1.12 ppm, por lo que ésta se asignó al H-5. Llevando a

cabo de esta manera la asignación de los hidrógenos de los anillos B y C de la estructura.

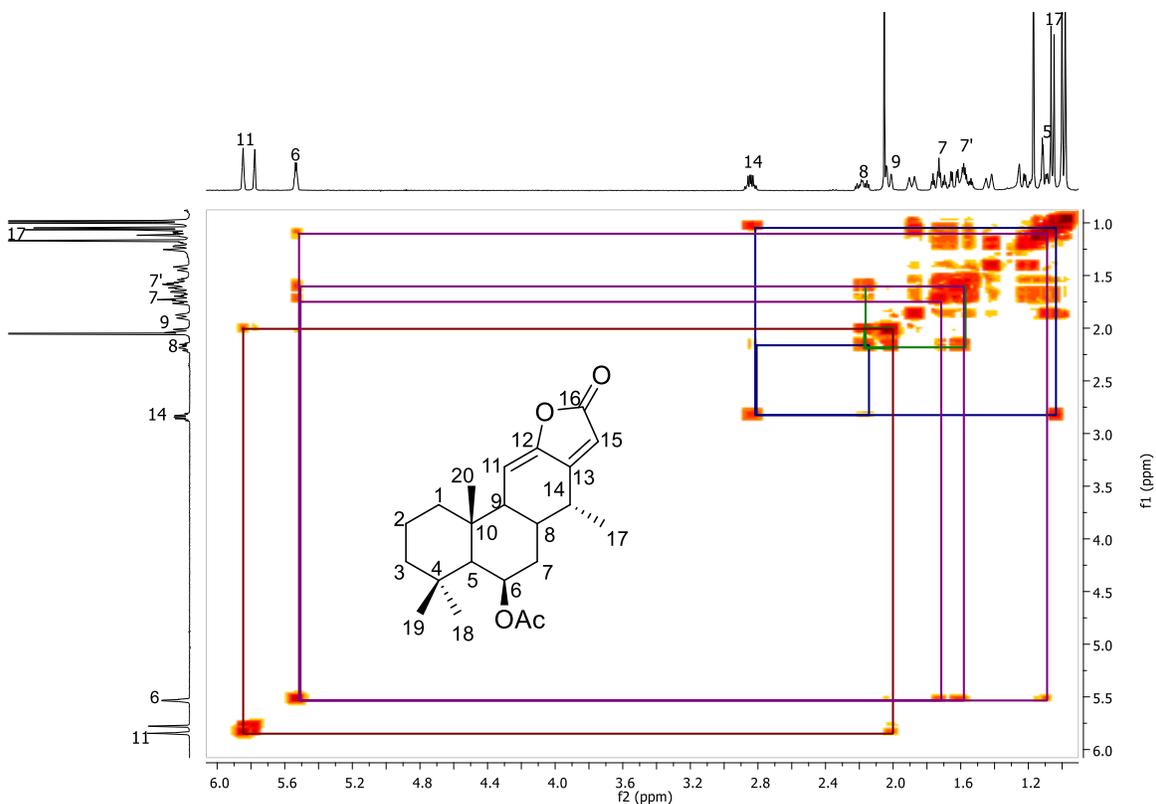
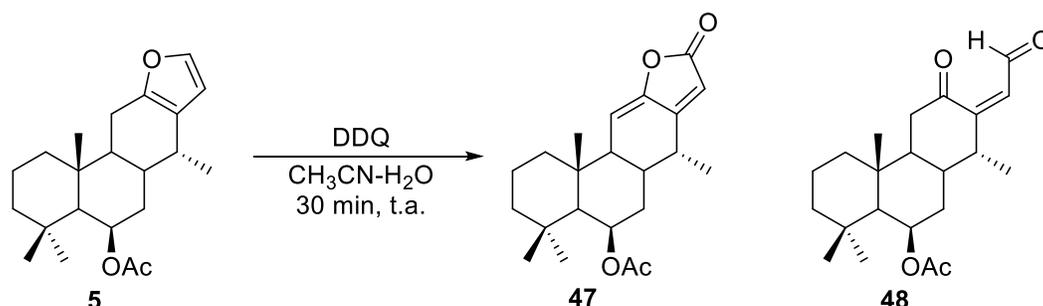


Figura 15. Espectro COSY de la lactona **47**.

En base a los datos obtenidos, se propuso una estructura en la que el anillo de furano se oxidó a una lactona, la cual además presenta dos insaturaciones en las posiciones C11-C12 y C13-C15. No se encontraron reportes en la literatura para esta estructura, por lo que la lactona **47** corresponde a un nuevo compuesto. Cabe resaltar que este tipo de butenólidos α,β -insaturados, que presentan una insaturación conjugada como **47**, son compuestos raros en la naturaleza, encontrando reportes de su aislamiento de plantas como *Caesalpinia crista*,⁵⁶ *Caesalpinia pulcherrima*,⁵⁷ *Caesalpinia bonduc*,⁵⁸ y *Caesalpinia magnifoliata*.⁵⁹

Con la finalidad de favorecer las interacciones iónicas, se decidió llevar a cabo el mismo tratamiento pero adicionando medio acuoso. Por lo que un lote de 0.062 g del vouacapano **5** se sometió bajo condiciones de oxidación con 0.123 g de DDQ en 6 mL de una mezcla de CH₃CN-H₂O (10:1) en agitación a temperatura ambiente. De esta reacción se obtuvo una mezcla de dos compuestos, la lactona **47** y el aldehído **48** (esquema11).



Esquema 11. Reacción del 6 β -acetoxivouacapano (**5**) con DDQ en CH₃CN-H₂O.

La mezcla de reacción se separó mediante cromatografía en placa preparativa, la cual se eluyó cuatro veces con CH₂Cl₂, observando dos bandas principales, las cuales fueron separadas y extraídas con CH₂Cl₂. De la banda A con un R_f = 0.7 se obtuvo una miel incolora, cuyos datos de RMN correspondieron con los de la lactona **47**, descrita previamente. Mientras que de la banda B con R_f = 0.43 se obtuvo el aldehído **48** como una miel incolora. Su espectro de RMN de ¹H (figura 16) mostró en 9.73 y 5.87 ppm dos señales dobles (*J* = 7.9 Hz), correspondientes a los protones del aldehído H-16 y al hidrógeno vinílico H-5, respectivamente. En 5.54 ppm se ubicó una señal doble con *J* = 1.9 Hz, la cual se asignó al hidrógeno H-6 base de acetato. En 2.70 ppm se encontró una señal doble de dobles con *J* = 15.0 y 4.8 Hz, que se asignó al hidrógeno α -carbonilo H-11. En 2.68 ppm se observó una señal múltiple que se asignó al protón H-14. En 2.35 ppm se ubicó la señal correspondiente a H-11' como una señal doble de dobles con constantes de acoplamiento de 15.0 y 12.2 Hz. En 2.27 ppm se

encontró una señal doble de doble de dobles con constantes de acoplamiento de 12.4, 12.4 y 3.9 Hz, correspondiente al H-8. En 2.08 ppm se observó la señal simple intensa característica del metilo del acetato. En 1.21, 1.02 y 0.99 ppm se ubicaron las señales simples correspondientes a los metilos terciarios CH₃-20, CH₃-19 y CH₃-18, respectivamente. Por último en 1.01 ppm se observó la señal doble correspondiente al metilo secundario CH₃-17.

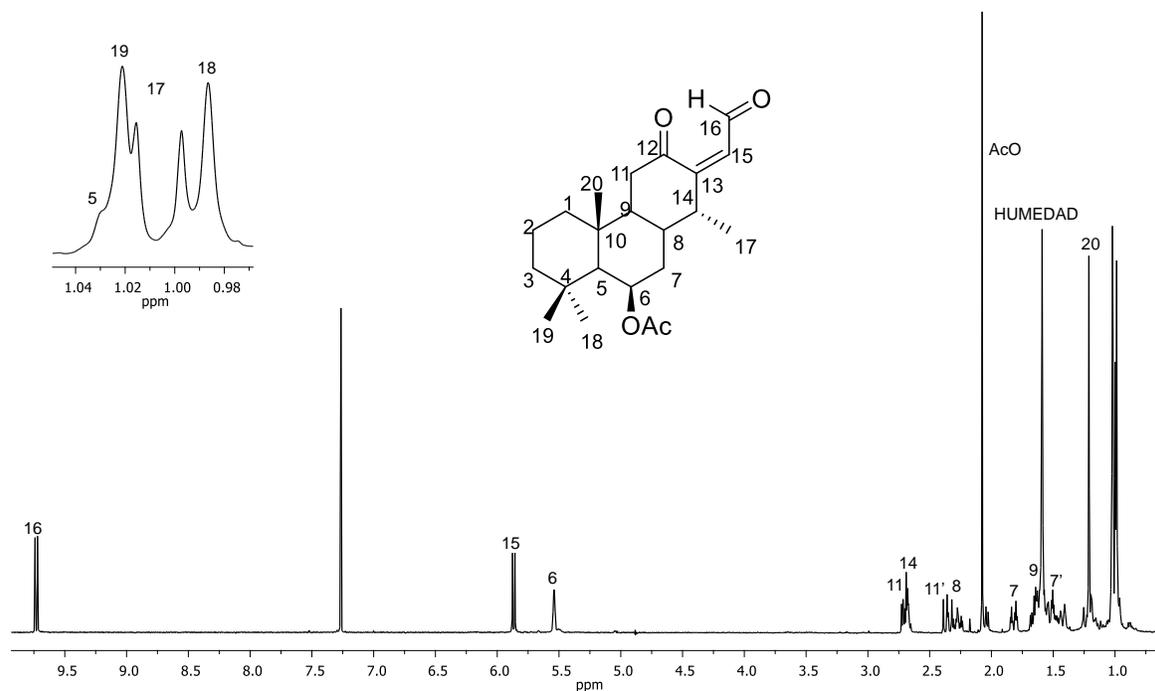


Figura 16. Espectro de RMN de ¹H del aldehído **48** en CDCl₃ a 400 MHz.

En el espectro de RMN de ¹³C (figura 17) se observaron tres señales para carbonos carbonílicos, en 204.3, 192.0 y 170.4 ppm, correspondientes al carbonilo de cetona C-12, carbonilo de aldehído C-16 y al carbonilo del acetato de la estructura. En 163.8 y 128.0 ppm se ubicaron dos señales de carbono de doble enlace, las cuales se asignaron a C-13 y C-15, respectivamente. En 69.0 ppm se ubicó la señal del carbono C-6 base del acetato. En 54.9 ppm se observó la señal característica del carbono C-5. El resto de las señales se encontraron entre 48.1 y 13.6 ppm. Aunque solo se presenta su asignación tentativa por comparación con la materia de partida.

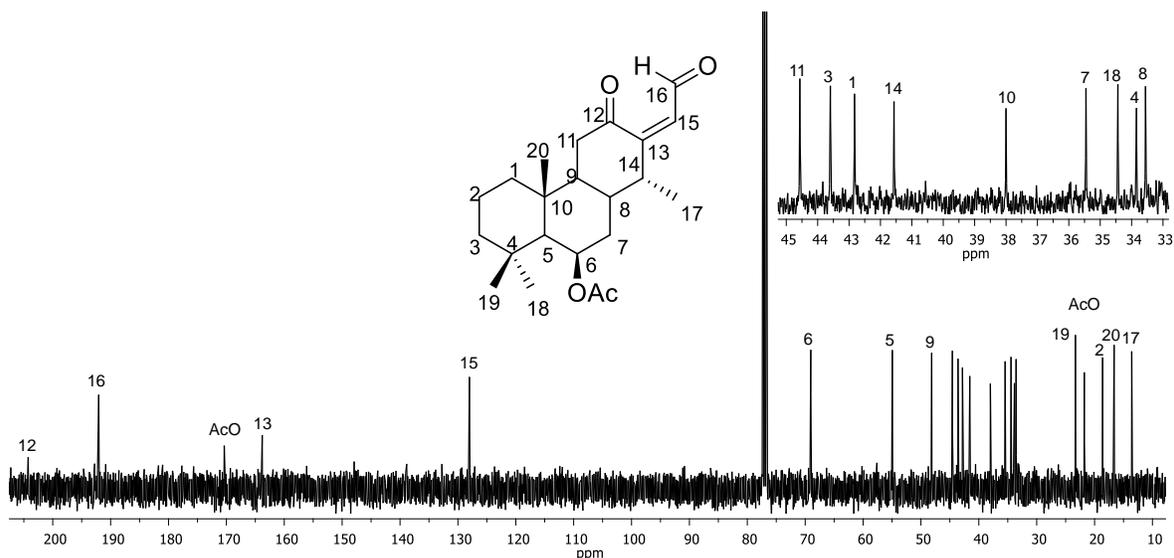


Figura 17. Espectro de RMN de ^{13}C del aldehído **48** en CDCl_3 a 100 MHz.

En el experimento COSY (figura 18) se observó la correlación de la señal doble ubicada en 9.73 ppm, que fue asignada para el protón del aldehído H-16, con la señal doble encontrada en 5.87 ppm, por lo que ésta fue asignada al hidrógeno vinílico H-15. La señal asignada al metilo secundario 17 observada en 1.01 ppm correlacionó con una señal múltiple ubicada en 2.68, asignando de esta forma el hidrógeno metínico H-14. La señal del H-14 mostró una correlación con la señal centrada en 2.27 ppm, por lo que esta última se asignó al H-8, que mostró tres correlaciones, una de ellas con la señal ubicada en 1.66 ppm que se asignó al H-9, las otras dos correlaciones se observaron con las señales en 1.82 y 1.50 ppm, y que fueron asignadas a los hidrógenos del metileno CH_2 -7. La señal que fue asignada al H-9 correlacionó con dos señales más ubicadas en 2.70 y 2.35 ppm por lo que fueron asignadas a los protones del metileno CH_2 -11. Por otro lado, la señal ubicada en 5.54 ppm y que se asignó al H-6 base del acetato correlacionó con tres señales, las dos primeras ubicadas en 1.82 y 1.50 ppm, confirmando así la correcta asignación de las señales del metileno CH_2 -7, la correlación de H-6 se observó con la señal que se encontró en 1.03 ppm, la cual

se asignó al H-5. En base al análisis de los datos de RMN se propuso la estructura del aldehído **48**, que se forma por la apertura oxidativa del anillo de furano de **5**. Al realizar una búsqueda en la literatura se encontró un reporte de un aldehído, obtenido mediante oxidación del caesaldecarin b con AMCPB en la ruta de síntesis para la obtención de ésteres para determinar su configuración absoluta mediante RMN.⁵⁴ Sin embargo, dicho aldehído presenta diferentes sustituyentes, por lo que el aldehído **48** corresponde a un compuesto nuevo.

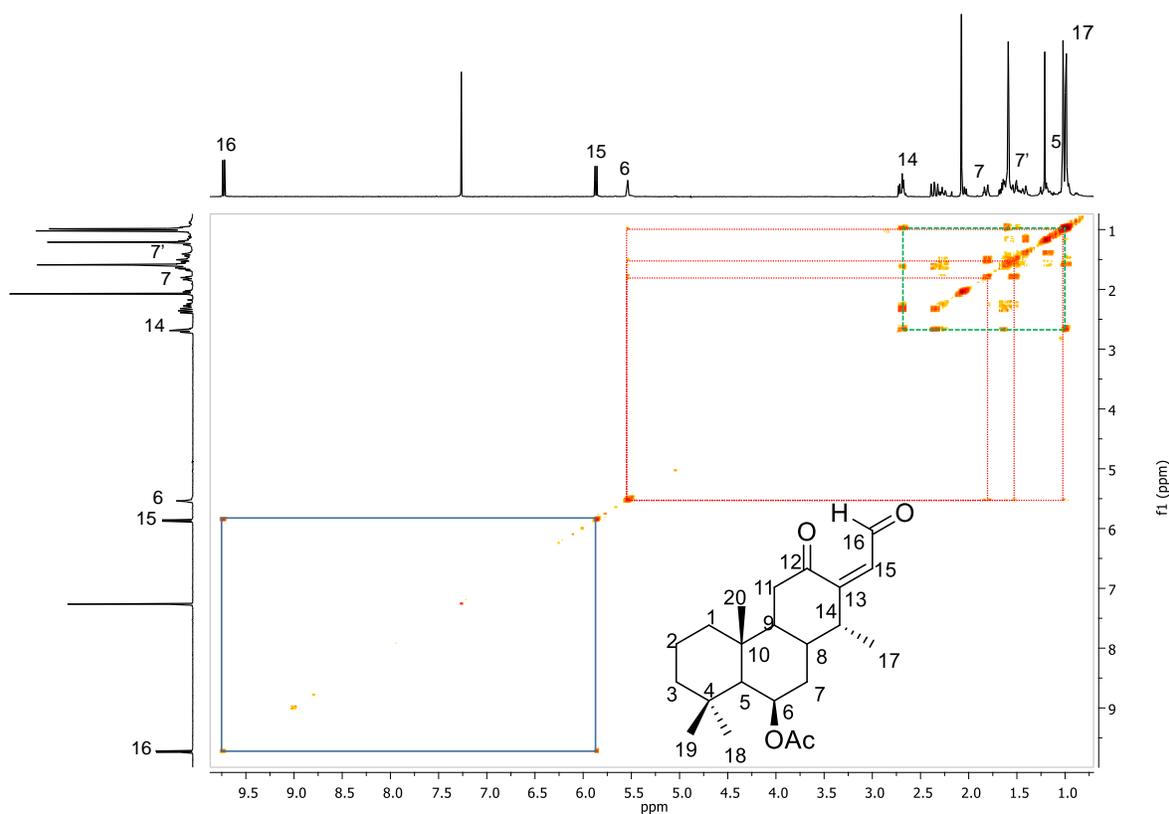
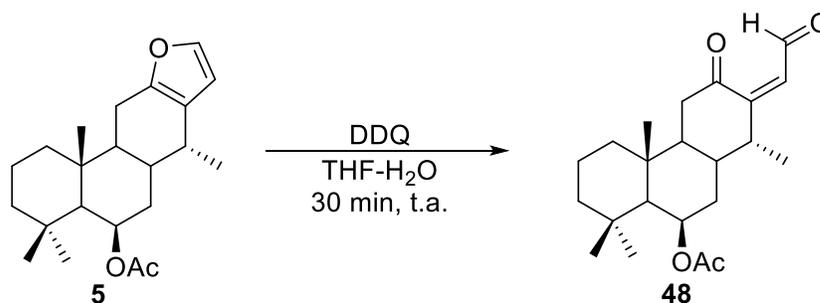


Figura 18. Experimento COSY del aldehído **48**.

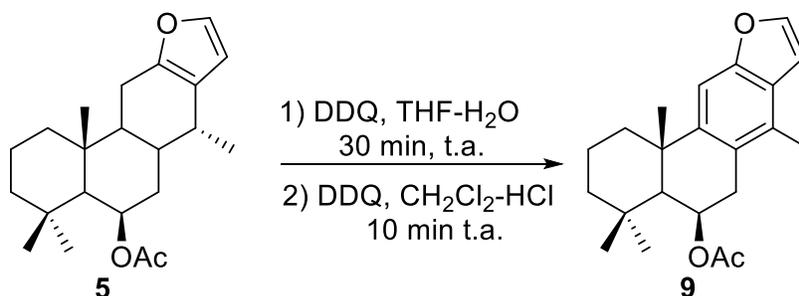
Teniendo en cuenta los resultados obtenidos utilizando una mezcla de $\text{CH}_3\text{CN-H}_2\text{O}$ como disolvente, se decidió realizar la reacción cambiando el disolvente por $\text{THF-H}_2\text{O}$, para ello un lote de 0.085 g de **5** se hicieron reaccionar con 0.170 g de DDQ en 0.8 mL de mezcla $\text{THF-H}_2\text{O}$ (10:1), en agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos. De esta mezcla se obtuvo como único

producto el aldehído **48**, el cual se purificó mediante cromatografía en columna para obtener **48** puro con 72% de rendimiento (esquema 12).



Esquema 12. Reacción de **5** con DDQ en THF-H₂O.

Durante el análisis de RMN de este compuesto se observó que se descomponía rápidamente, generando principalmente el benzofurano **9**, por lo que un lote de 0.050 g de **5** se trataron siguiendo la metodología de reacción con DDQ en THF/H₂O, una vez identificado el aldehído **48** como producto principal de la reacción (figura 19), el crudo de la reacción se adicionó a 0.1 g de DDQ en CH₂Cl₂-HCl (10:1), esta mezcla se dejó reaccionar durante 10 minutos (esquema 13), obteniendo 0.060 g de una miel de color café. El análisis de RMN del crudo de la reacción mostró como producto principal el benzofurano **9** (figura 20), con lo que se demostró que el aldehído **48** puede ser un intermediario en la obtención del compuesto **5**.



Esquema 13. Transformación del vouacapano **5** a benzofurano **9**.

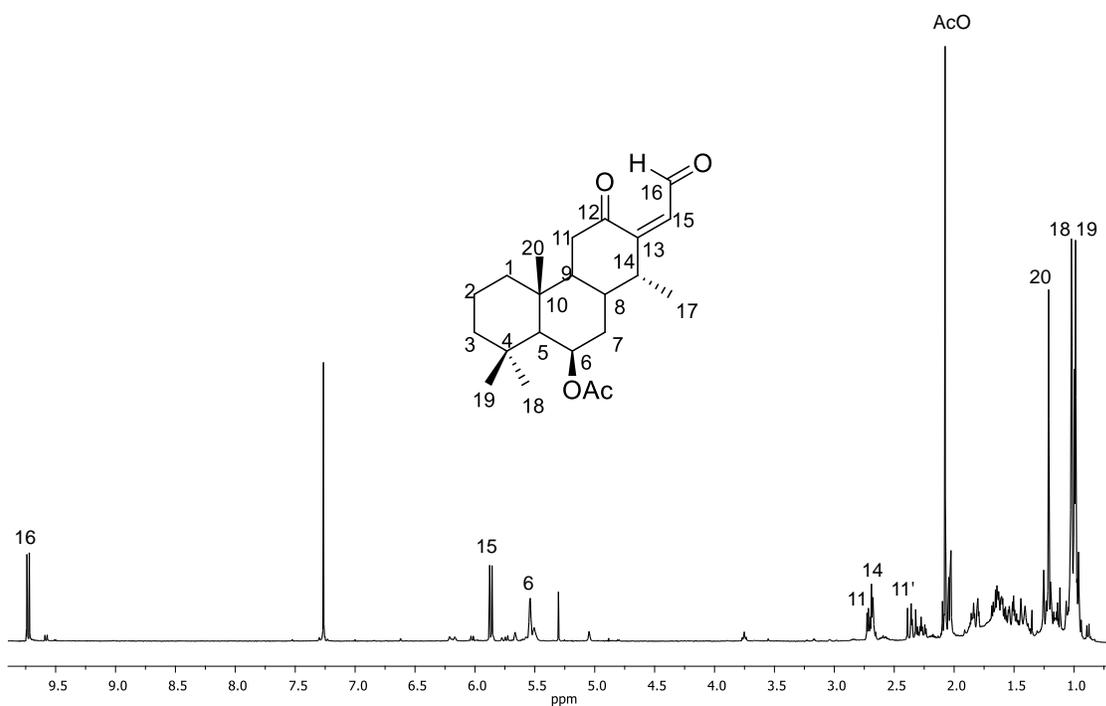


Figura 19. Espectro de RMN de ¹H del crudo de la reacción de oxidación de **5** con DDQ en THF-H₂O en CDCl₃ a 400 MHz.

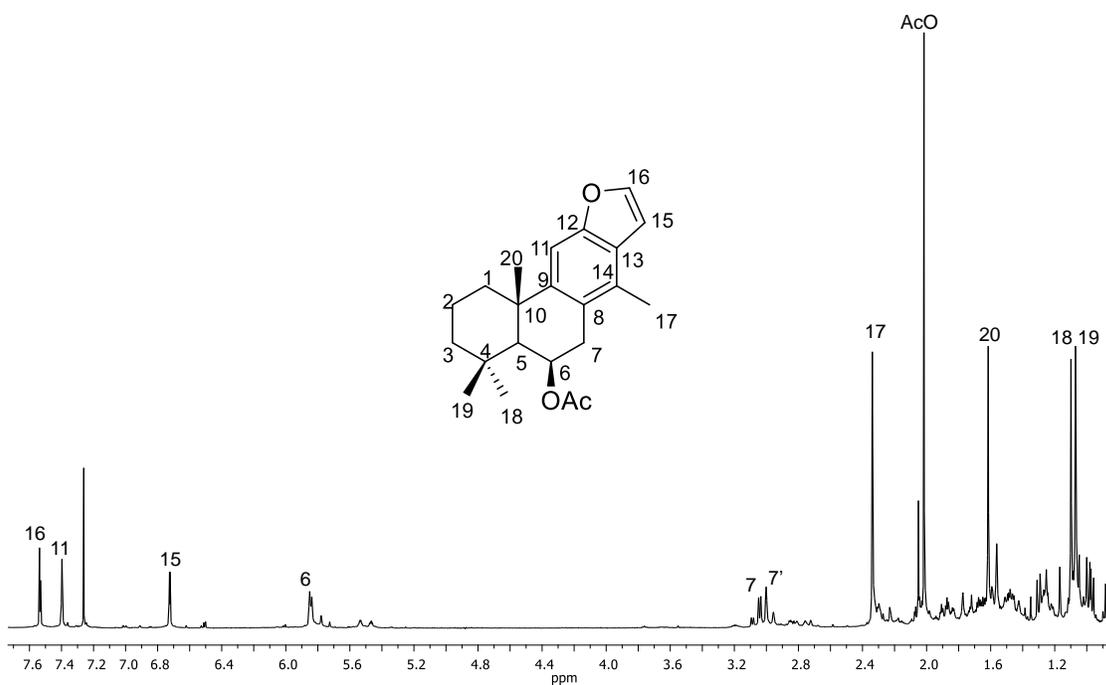
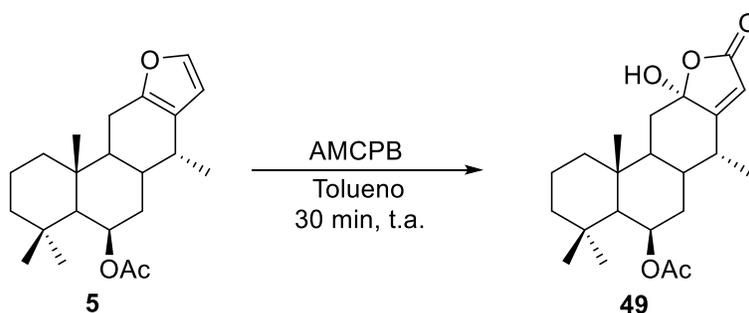


Figura 20. Espectro de RMN del crudo del tratamiento del aldehído **48** con DDQ en CH₂Cl₂-HCl en CDCl₃ a 400 MHz.

Al hacer un análisis de los resultados obtenidos con los diferentes tratamientos con DDQ se puede observar que cuando la reacción se lleva a cabo utilizando CH_2Cl_2 como disolvente, la reacción ocurre mediante radicales libres (obtención del dímero **46**), así como por interacciones iónicas (obtención del benzofurano **9** y la lactona **47**). Lo cual se confirma al adicionar medio ácido a la reacción, ya que se obtiene como único producto el derivado benzofuránico **9**.²⁵ Por otro lado, al llevar a cabo la reacción en medio acuoso se promueve la adición de agua en el carbono C-16 o en C-12, y cuya oxidación promueve la obtención de la lactona **47** y del aldehído **48**.

Tratamiento del 6 β -acetoxivouacapano (**5**) con AMCP

Una vez que se llevaron a cabo los tratamientos de **5** con DDQ, se retomó el estudio de la reactividad del cassano **5** con AMCPB.²⁵ Para ello un lote de 0.085 g de **5** se colocaron bajo condiciones de oxidación con 0.1 g de AMCPB en tolueno, en agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos (esquema 14). El crudo de la reacción se purificó mediante lavados con AcOEt para obtener puro el derivado **49** con un rendimiento del 75%.



Esquema 14. Reacción del 6 β -acetoxivouacapano (**5**) con AMCPB en tolueno.

La lactona **49** se aisló como un sólido blanco con $pf = 116-120$ °C. En su espectro de RMN de 1H (figura 21) se observó una sola señal de hidrógeno vinílico en 5.71 ppm que se asignó a H-15. En 5.51 ppm se identificó la señal del hidrógeno H-6 base del acetato, que conserva el mismo desplazamiento con respecto a la materia de partida. En 2.92 ppm se ubicó una señal doble de dobles con una $J = 10.5, 7.4$ Hz, asignada al protón H-14. En 2.45 ppm se observó una señal doble de dobles con constantes de acoplamiento de 13.0, 3.0 Hz, la cual se asignó al hidrógeno vinílico H-11. En 2.04 ppm se encontró la señal simple intensa característica del metilo del acetato. En 1.88 ppm se ubicó la señal doble de doble de dobles con $J = 12.7, 10.5, 4.4$ Hz correspondiente al hidrógeno H-8. En 1.42 ppm se encontró una señal triple con una constante de acoplamiento igual a 13.0 Hz, y se asignó a H-11'. En 1.17 ppm se observó la señal doble correspondiente al metilo secundario CH₃-17. En 1.10, 1.00 y 0.98 ppm se encontraron las señales

correspondientes a los metilos cuaternarios CH₃-20, CH₃-18 y CH₃-19, respectivamente. La desaparición de la señal del hidrógeno H-16 del furano, así como el desplazamiento de la señal de H-15, sugieren que en esta reacción se llevó a cabo la oxidación del anillo de furano.

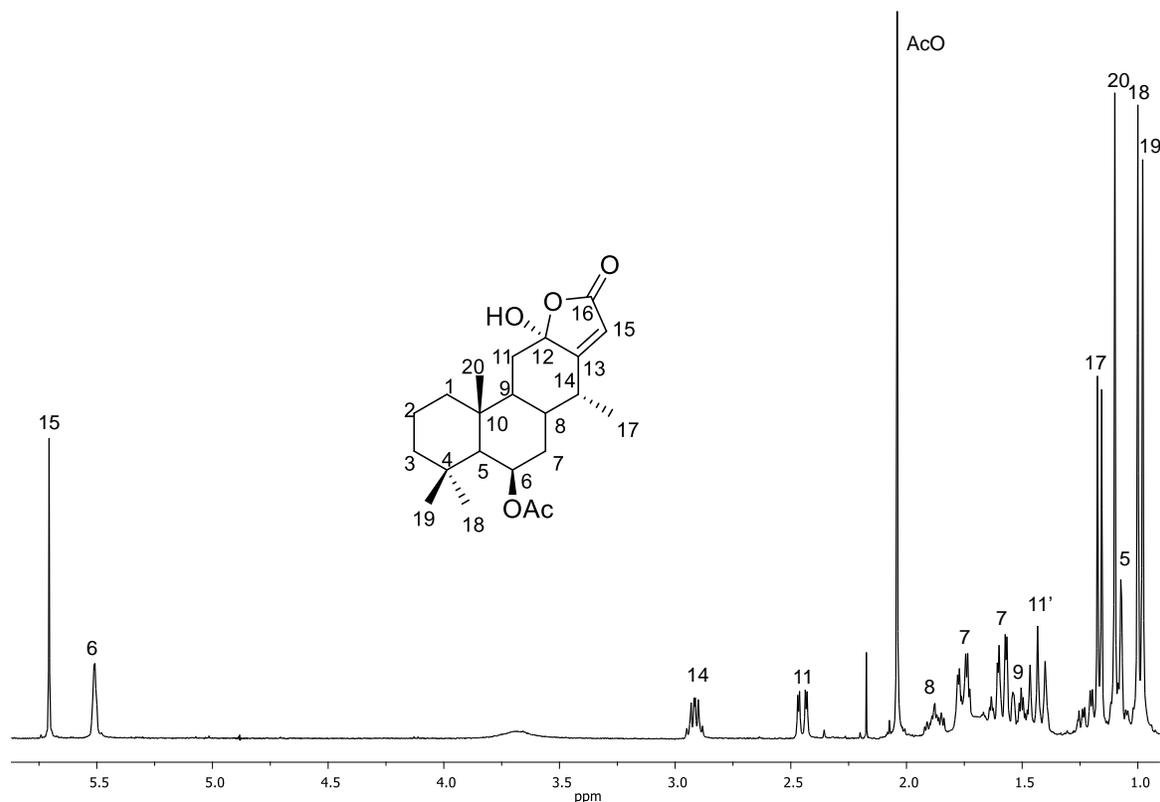


Figura 21. Espectro de RMN de ¹H de la lactona **49** en CDCl₃ a 400 MHz.

En su espectro de RMN de ¹³C (figura 22) se observaron las 22 señales esperadas. En 172.7 y 113.4 ppm se ubicaron las señales correspondientes a los carbonos del doble enlace C-13 y C15, respectivamente. En 170.7 y 170.6 se encontraron las dos señales de los carbonilos, correspondientes al carbonilo del acetato y a C-16, respectivamente. En 105.8 ppm se ubicó la señal de carbono hemiacetal C-12. En 69.3 ppm se encontró la señal del carbono base de acetato C-6. En 55.1 ppm se ubicó la señal característica del carbono metínico C-5. Entre 45.0 y 12.8 ppm se encontraron el resto de las señales de la estructura. Las

señales de carbono fueron asignadas en base a experimentos en dos dimensiones y por comparación con la materia prima.

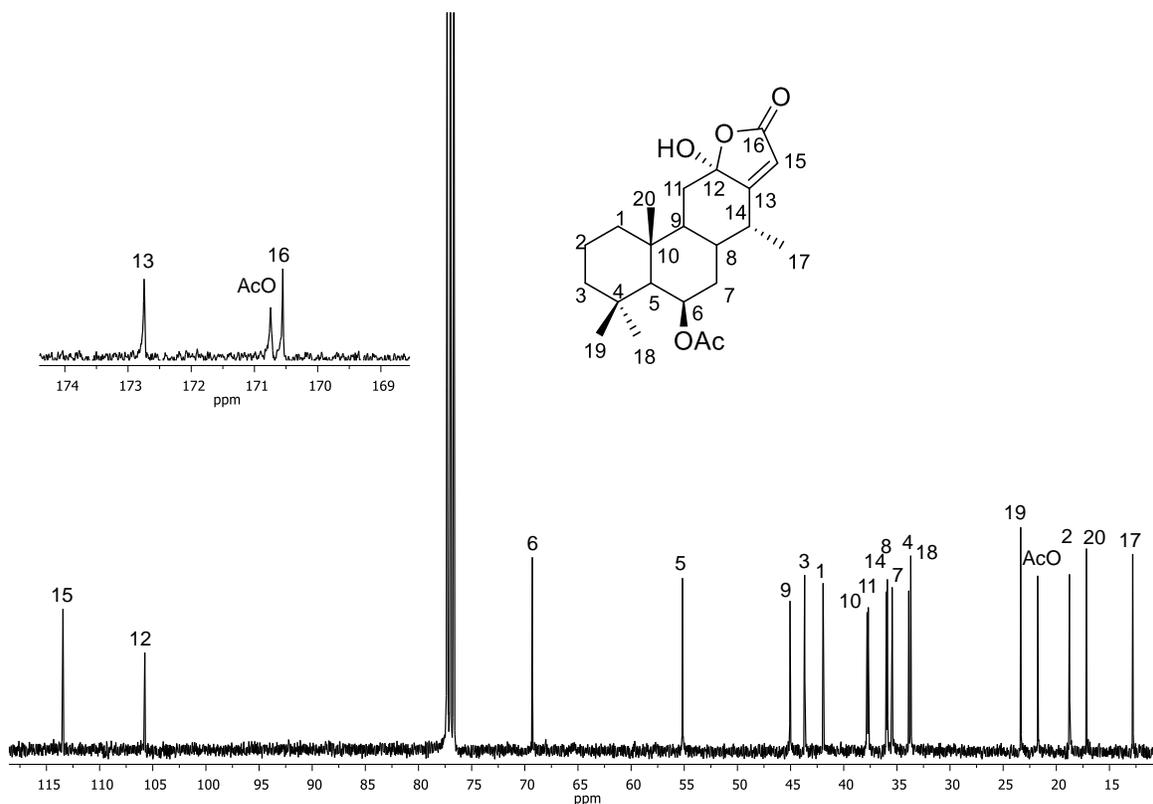
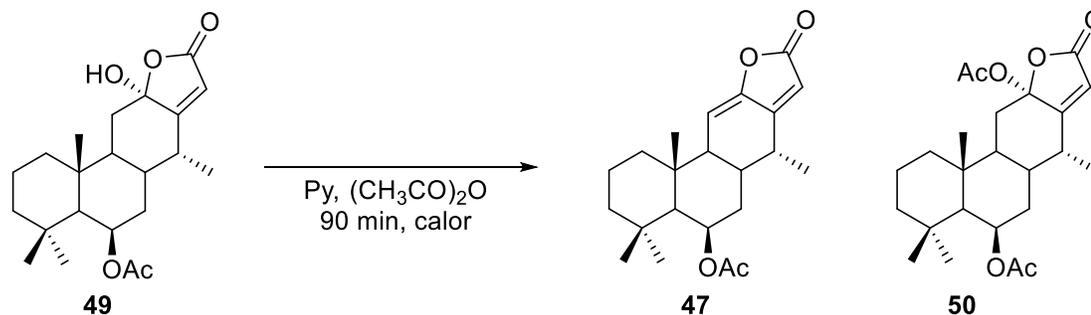


Figura 22. Espectro de RMN de ¹³C de la lactona **49** en CDCl₃ a 100 MHz.

Una vez analizados los datos de RMN, se propuso la estructura **49**, correspondiente a una γ -lactona α/β insaturada, y que además se encuentra hidroxilada en la posición 12. Al realizar una búsqueda en la literatura se encontró un reporte para este compuesto, el cual fue aislado de la fracción hexánica del extracto etanólico de *Caesalpinia bonduc* en bajos rendimientos y presentó baja actividad frente a tres líneas celulares.⁵³

Para comprobar la presencia del grupo hidroxilo en la posición C-12 y poder establecer la estereoquímica de dicho centro, se llevó a cabo la acetilación de la lactona **49**. Para lo cual 0.03 g de **49** se hicieron reaccionar en 0.5 mL de piridina y 0.5 mL de anhídrido acético en baño de vapor durante noventa minutos (esquema

15). El crudo de la reacción se separó mediante cromatografía en columna, de la cual se aislaron dos compuestos, la lactona **47** con un rendimiento del 15% y el compuesto acetilado **50** con 36% de rendimiento.



Esquema 15. Acetilación de la lactona **49**.

El diacetato **50** se obtuvo como sólido blanco que sublimó a 190 °C. En su espectro de RMN de ¹H (figura 23) no se observaron cambios significativos en el desplazamiento de las señales con respecto a **49**. En 5.87 ppm la señal simple correspondiente al hidrógeno vinílico H-15. En 5.51 ppm se ubicó la señal del hidrógeno H-6 base del acetato. En 2.98 ppm se encontró la señal correspondiente a H-14, ligeramente desplazada a frecuencias mayores. La señal correspondiente al hidrógeno H-11 se encontró también a frecuencias mayores en 2.69 ppm. Mientras que la señal simple intensa en 2.04 ppm integró para 6 hidrógenos, lo que indica que se encuentran traslapadas las señales de los metilos de los acetatos de la estructura. Por otro lado, la señal correspondiente al metilo CH₃-17 se desplazó a frecuencia baja, encontrándose ahora en 1.03 ppm.

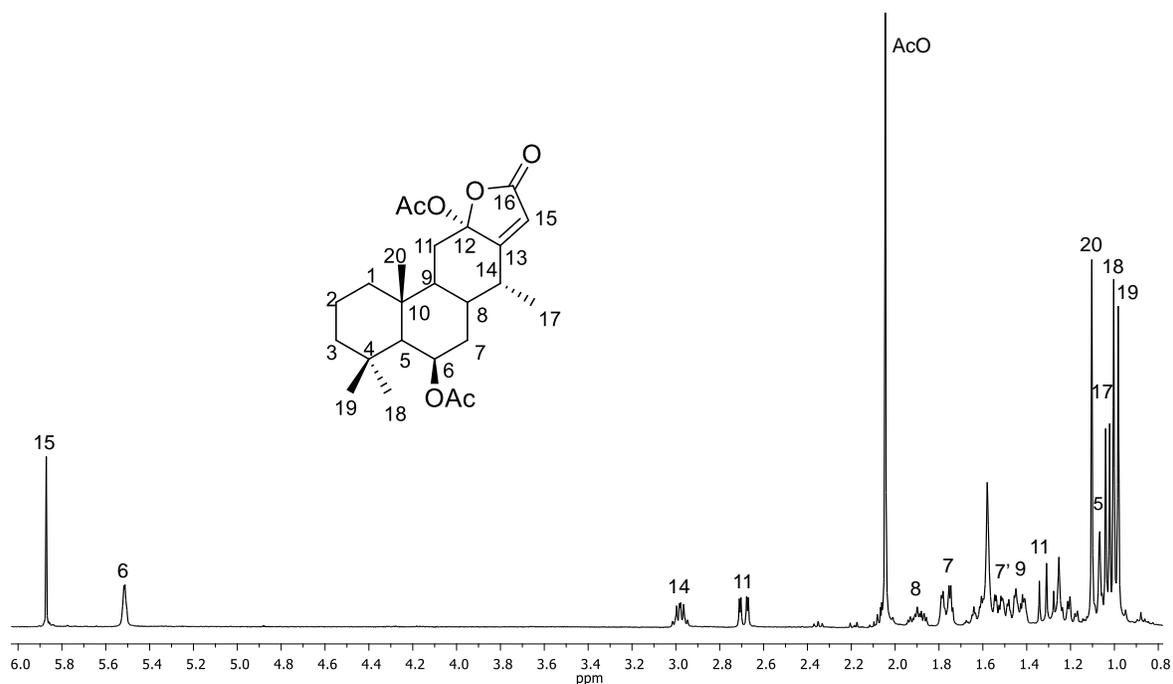


Figura 23. Espectro de RMN de ¹H del diacetato **50** en CDCl₃ a 400MHz.

En su espectro de RMN de ¹³C (figura 24) se observaron ahora tres señales de carbonos carbonílicos en 170.4, 169.5 y 168.6, correspondientes a los carbonos AcO-6, C-16 y AcO-12, respectivamente, adicionalmente se observó la aparición de dos señales de metilos de acetato en 21.78 y 21.74 ppm, lo que indica que se obtuvo el diacetato **50**. Los datos de RMN de ¹³C de este compuesto fueron comparados con los de un compuesto obtenido mediante acetilación de la lactona obtenida de *C. bonduc* y fueron idénticos.⁵³

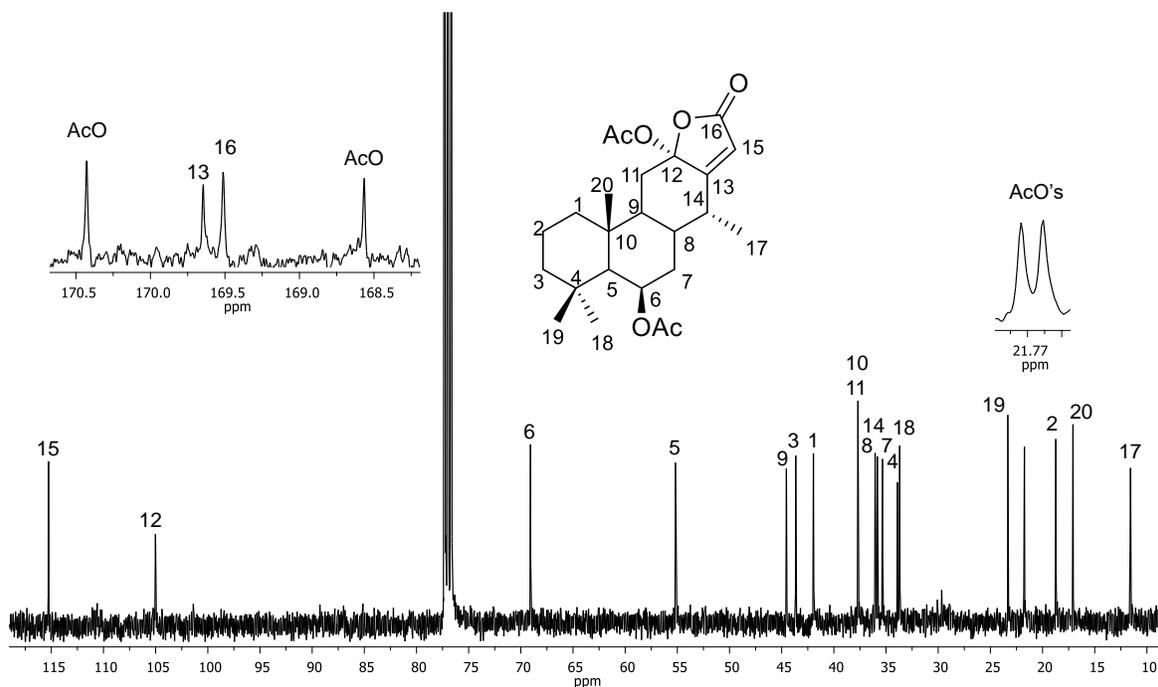


Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C del diacetato **50** en CDCl_3 a 100 MHz.

De este compuesto se obtuvieron cristales adecuados para difracción de rayos X, con lo cual se determinó de manera inequívoca la configuración absoluta del carbono C-12, ya que el acetato de la posición C-12 se encuentra orientado en posición α al igual que el metilo CH_3 -17 (figura 25).

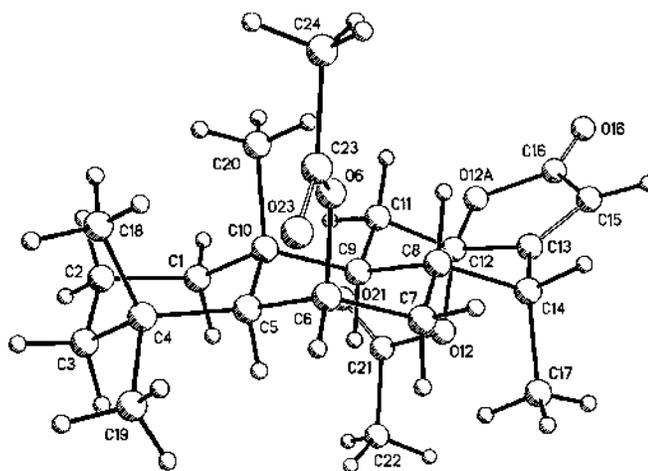
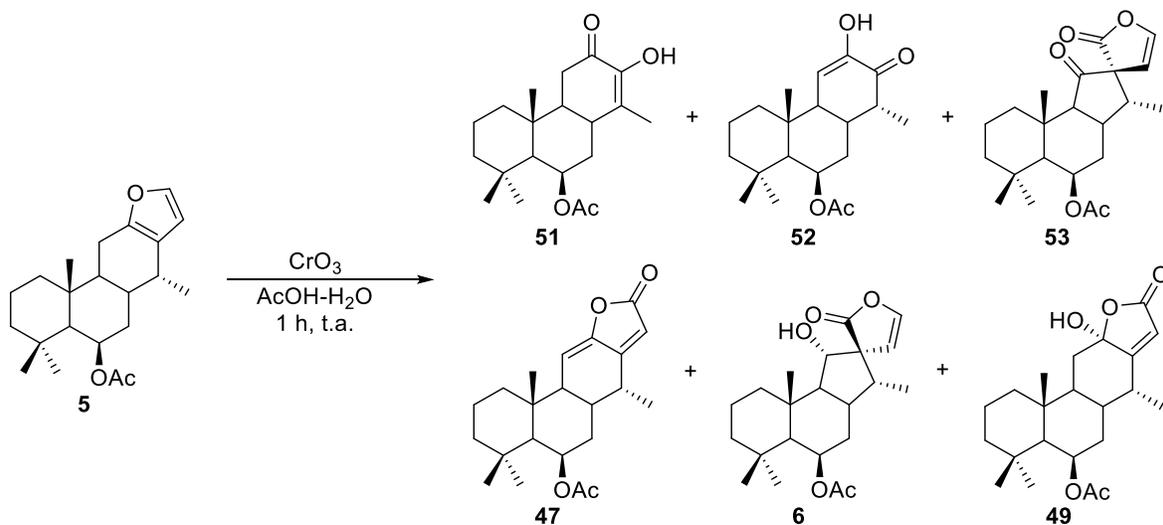


Figura 25. Diagrama de rayos X del diacetato **50**.

Reactividad del 6 β -acetoxivouacapano (**5**) frente a derivados de Cromo

Oxidación con CrO₃

Una vez ensayados los agentes oxidantes descritos anteriormente, se decidió estudiar la oxidación de **5** frente a agentes oxidantes más fuertes, como el trióxido de cromo, por lo que un lote 0.10 g de **5** sometió a oxidación con 0.087 g de CrO₃ en AcOH-H₂O (esquema 16).



Esquema 16. Oxidación del 6 β -acetoxivouacapano (**5**) con CrO₃.

El crudo de la reacción se purificó mediante cromatografía en columna, en la cual se obtuvieron 6 compuestos: el dinorcassano **51** con un 12% de rendimiento, el dinorcassano **52** con un rendimiento del 7%, la 11-oxoespirolactona **53** con 15% de rendimiento, la lactona **47** con un rendimiento del 10%, la espirolactona **6** con 10% de rendimiento y la lactona **49** con el 22% de rendimiento.

El dinorcassano **51** se obtuvo como una miel incolora. En su espectro de RMN de ¹H (figura 26) se observó en 5.56 ppm una señal doble de dobles con constantes de acoplamiento de 5.3 y 2.9 Hz, la cual se asignó al H-6. En 2.68 ppm se encontró una señal múltiple que fue asignada a H-8. En 2.59 ppm se ubicó una señal doble de dobles con $J = 16.5$ y 3.7 Hz, y que fue asignada al hidrógeno H-11. En 2.30 ppm se observó la señal múltiple asignada al protón H-7. En 2.26 ppm

se ubicó una señal múltiple, que se asignó a H-11'. En 2.09 ppm se observó una señal simple intensa característica del metilo del acetato. En 1.82 ppm se encontró una señal doble con $J = 1.7$ Hz, la cual se asignó al metilo vinílico CH₃-17. En 1.21, 1.02 y 0.96 se apreciaron las señales simples de los metilos terciarios CH₃-20, CH₃-19 y CH₃-18, respectivamente. El desplazamiento de la señal del CH₃-17 a frecuencia alta, correspondiente ahora a un metilo vinílico, llevó a proponer un doble enlace entre los carbonos C-13-C-14.

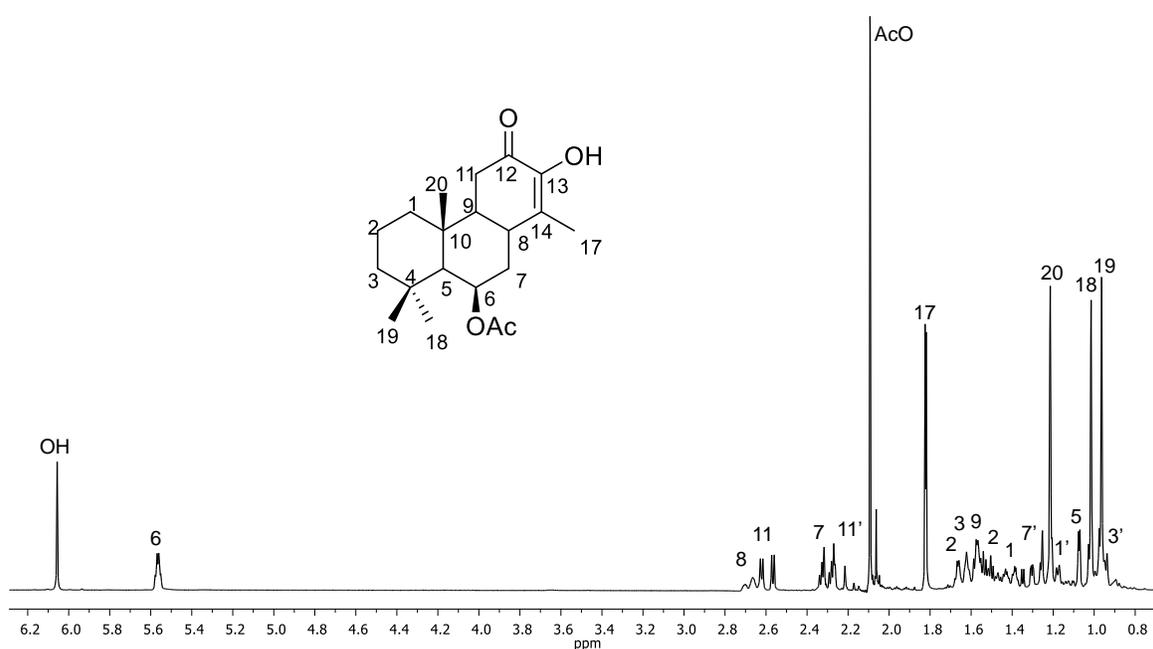


Figura 26. Espectro de RMN de ¹H del dinorcassano **51** en CDCl₃ a 300 MHz.

En el espectro de RMN de ¹³C (figura 27) se observaron 20 señales de las 22 esperadas. Se ubicaron dos señales de carbono de carbonilo, en 194.4 y 170.4 ppm, asignadas al carbonilo de cetona C-12 y al carbonilo del acetato, respectivamente. En 143.7 y 132.2 ppm se apreciaron dos señales de carbonos de un doble enlace, y fueron asignadas a C-13 y C-14, respectivamente. En 69.1 ppm se observó la señal del carbono C-6 base del acetato. En 55.5 ppm se ubicó la señal característica del carbono C-5. Entre 52.7 y 13.5 ppm se observaron las 14

señales restantes, las cuales fueron asignadas en base a los experimentos bidimensionales HSQC y HMBC. Mediante el análisis de estos experimentos no se encontró ningún traslape de señales, lo que indica la pérdida de dos carbonos de la estructura de partida. Los desplazamientos del sistema α -hidroxicetona (C-12, C-13) fueron corroborados por comparación con los reportados para sistemas similares.^{60,61}

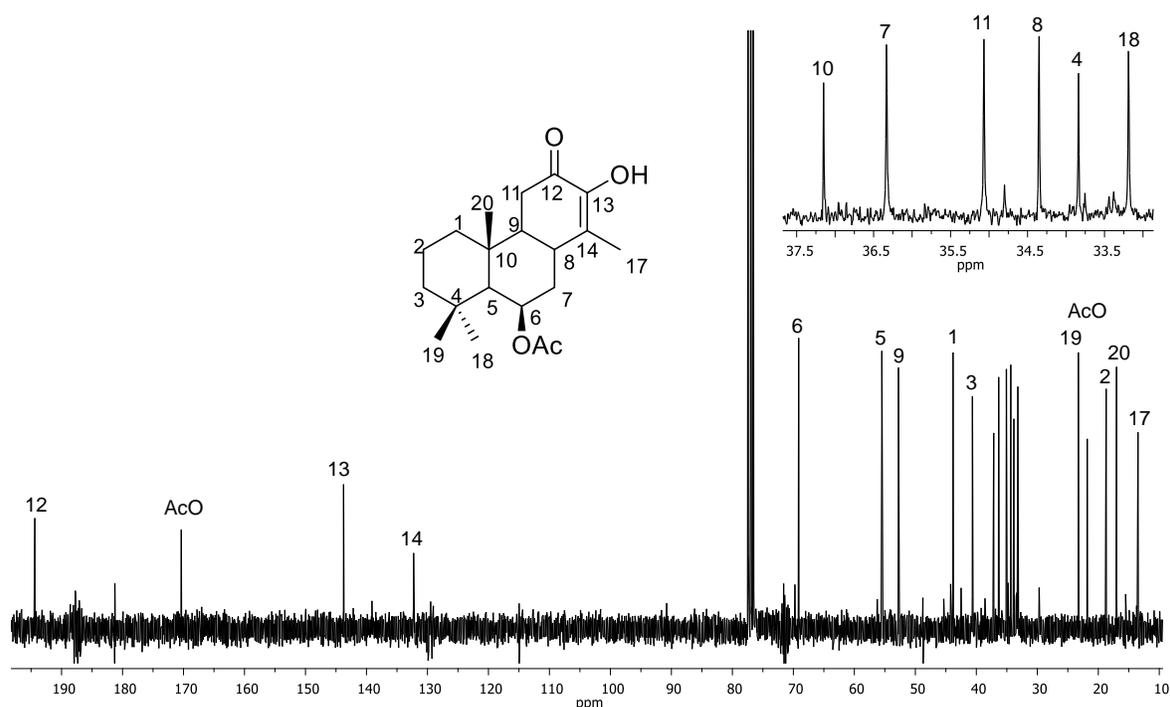


Figura 27. Espectro de RMN de ^{13}C del dinorcassano **51** en CDCl_3 a 75MHz.

Con ayuda del experimento COSY (figura 28) se asignaron algunas de las señales de hidrógeno de la estructura. La señal ubicada en 5.56 ppm, asignada al hidrógeno H-6 base del acetato mostró tres correlaciones, las dos primeras con las señales encontradas en 2.30 y 1.32 ppm, las cuales se asignaron a los hidrógenos del metileno CH_2 -7; la otra correlación de H-6 se observó con la señal ubicada en 1.07 ppm, por lo que ésta se asignó como H-5. Las señales asignadas anteriormente al CH_2 -7 correlacionaron con una señal ubicada en 2.68 ppm, la

cual fue asignada como H-8. La señal de H-8 mostró una correlación con la señal múltiple encontrada en 1.57 ppm y que se asignó como H-9, esta señal correlacionó a su vez con dos señales más ubicadas en 2.59 y 2.26 ppm, por lo que éstas fueron asignadas a los protones del metileno CH₂-11.

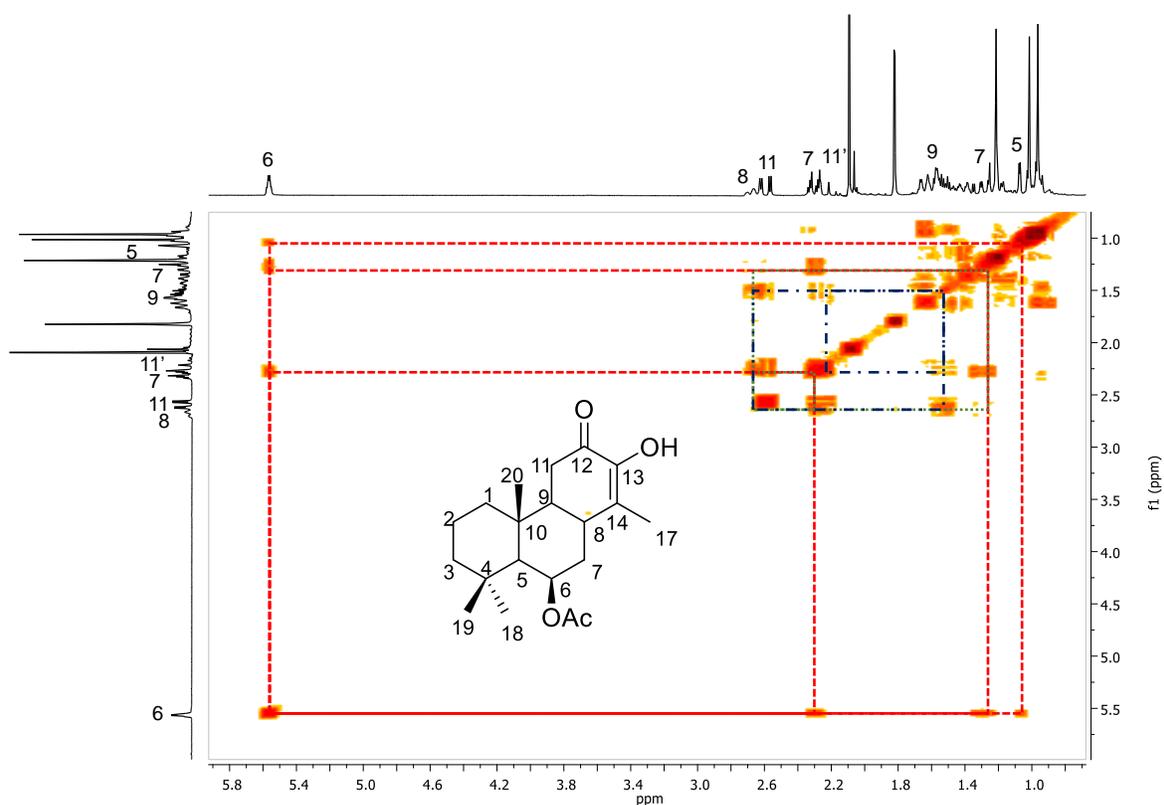


Figura 28. Experimento COSY del dinorcassano **51**.

El resto de las señales se asignaron en base a los experimentos bidimensionales HSQC y HMBC. En base a los datos obtenidos, se propuso la estructura del dinorcassano **51**, el cual se forma por la ruptura oxidativa del enlace C13-C15, y la formación del doble enlace C13-C14. La cual además presenta un carbonilo en posición C-12. No se encontraron reportes para esta estructura, por lo que el dinorcassano **51** corresponde a un nuevo compuesto.

El dinorcassano **52** se obtuvo como una miel ligeramente amarilla. En su espectro de RMN de ^1H (figura 29) se observó en 6.11 ppm una señal doble con $J = 2.3$ Hz, y que integró para un hidrógeno, la cual se asignó al hidrógeno vinílico H-11. En 5.94 ppm se encontró la un señal simple ancha para el hidroxilo de la estructura. En 5.53 ppm se ubicó la señal doble con una constante de acoplamiento de 2.1 Hz, correspondiente al hidrógeno H-6 base del acetato. En 2.43 y 2.40 ppm se ubicaron dos señales múltiples asignadas a los protones H-14 y H-8, respectivamente. En 2.09 ppm se localizó una señal múltiple, que se asignó al hidrógeno alílico H-9. En 2.05 ppm se encontró la señal simple intensa característica del metilo del acetato. En 1.19, 1.00 y 0.98 ppm se localizaron las 3 señales de los metilos terciarios, CH_3 -20, CH_3 -18, y CH_3 -19, respectivamente. Mientras que la señal doble correspondiente al metilo secundario CH_3 -17 se ubicó en 1.06 ppm. La presencia de una señal de hidrógeno vinílico, adicional a la desaparición de las señales correspondientes al metileno CH_2 -11, así como el desplazamiento de la señal correspondiente al hidrógeno H-9 a frecuencias mayores, sugirieron que el doble enlace se encuentra C-11 y C-12.

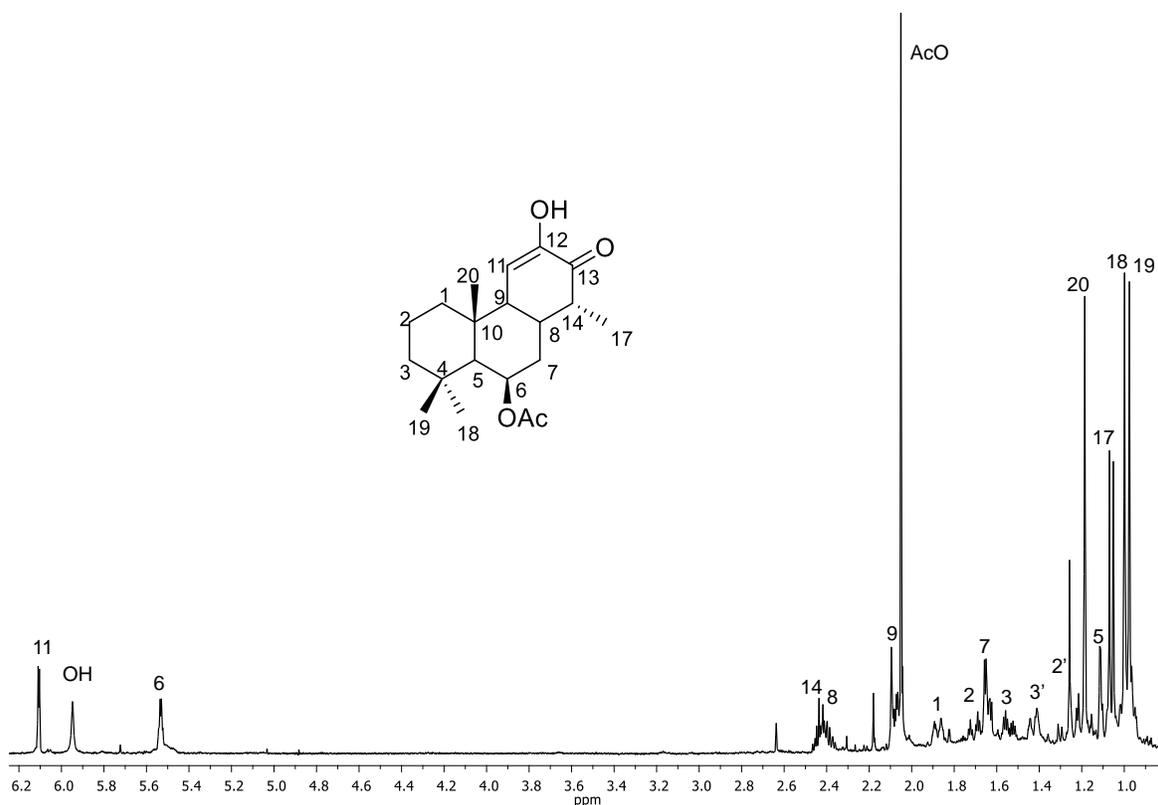


Figura 29. Espectro de RMN de ^1H del dinorcassano **52** en CDCl_3 a 400 MHz.

En su espectro de RMN de ^{13}C (figura 30) se observaron 19 señales de las 22 esperadas; en 199.2 y 170.4 ppm se ubicaron las señales de los carbonilos C-13 y el del acetato de la estructura. En 146.2 y 118.1 ppm se observaron dos señales para carbonos de doble enlace, estas se asignaron a los carbonos C-12 y C-11, respectivamente. El resto de las señales se ubicaron entre 69.1 y 10.8 ppm, las cuales fueron asignadas con base al experimento HETCOR y por comparación con los datos de la materia de partida, así como con los del dinorcassano **51**. Mediante el análisis de los experimentos HETCOR y DEPT se ubicó un traslape de dos señales, lo que indica que esta estructura tiene solo 20 carbonos, confirmando la pérdida de C-15 y C-16.

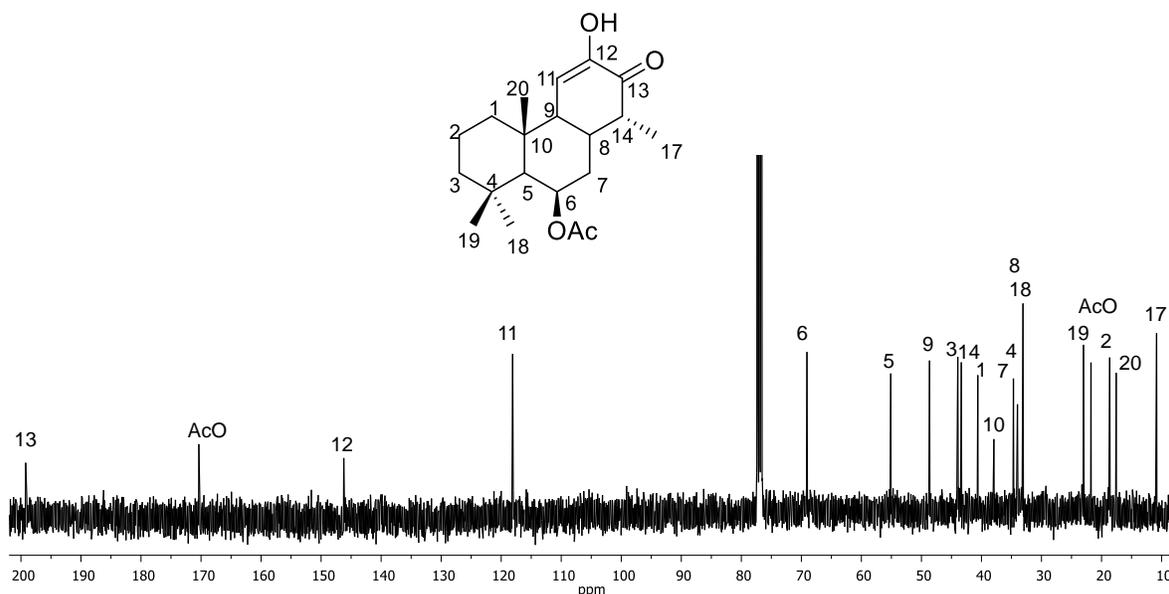


Figura 30. Espectro de RMN de ^{13}C del dinorcassano **52** en CDCl_3 a 100 MHz.

Mediante el experimento bidimensional COSY (figura 31) se asignaron algunas de las señales de hidrógeno de la estructura. La señal en 5.53 ppm mostró dos correlaciones, una con la señal ubicada en 1.64 ppm y que se asignó al metileno CH_2 -7; la otra correlación fue con la señal encontrada en 1.11 ppm, por

lo que se asignó al hidrógeno H-5. La señal del metileno CH₂-7 mostró a su vez otra correlación con la señal múltiple ubicada en 2.40 ppm, la cual se asignó al hidrogeno H-8. La señal de H-8 correlacionó con la señal encontrada en 2.09 ppm, por lo que se asignó como H-9 y ésta a su vez mostró una correlación con la señal que se encontró en 6.11 ppm, asignando de esta forma el hidrógeno vinílico como H-11. Por otro lado, la señal múltiple que se ubicó en 2.43 ppm correlacionó con la señal doble correspondiente al metilo CH₃-17, con lo que se asignó el hidrógeno H-14.

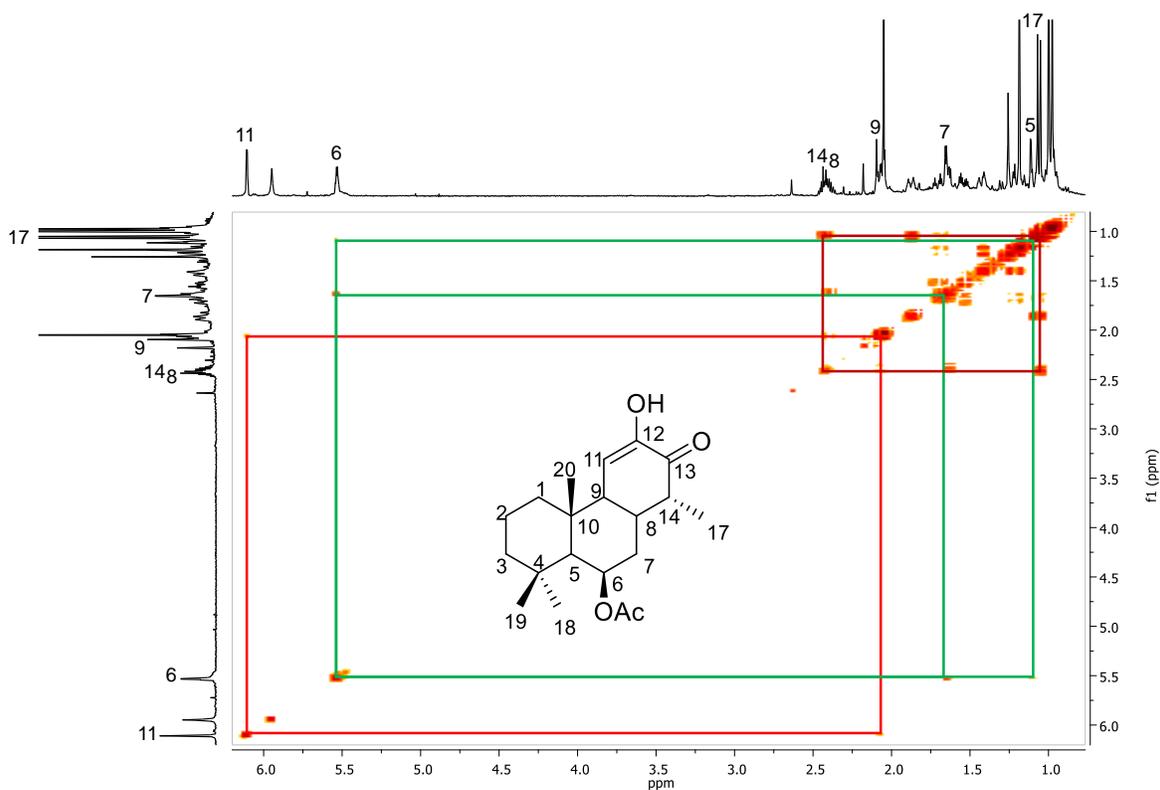


Figura 31. Experimento COSY del dinorcassano **52**.

En base al análisis de los datos de RMN se propuso la estructura del dinorcassano **52**, el cual se forma por la pérdida de los carbonos C-15 y C-16 de la estructura del vouacapano **5**, además presenta un doble enlace entre las posiciones C-11 y C-12 así como un carbonilo de cetona en la posición C-13 y que sería un isómero del dinorcassano **51**. Al realizar una búsqueda bibliográfica de

esta estructura no se encontraron reportes, por lo que se trata de un nuevo derivado.

La 11-oxoespirolactona **53** se obtuvo en forma de solido blanco. En su espectro de RMN de ^1H (figura 32) se observaron dos señales dobles ($J = 3.5$ Hz) en 6.96 y 5.56 ppm, las cuales se asignaron a los hidrógenos del doble enlace H-16 y H-15, respectivamente. En 5.57 ppm se ubicó la señal correspondiente al hidrógeno H-6 base del acetato. En 2.52 y 2.49 ppm se encontraron las señales múltiples de los protones H-14 y H-8, respectivamente. En 2.38 ppm se asignó la señal de H-1 como una doble de dobles de dobles ($J = 12.9, 4.7, 2.9$ Hz). En 2.09 ppm se encontró una señal simple que integró para 3 hidrógenos, y se asignó al metilo del acetato. Las señales de los metilos CH_3 -20, CH_3 -17 (d, $J = 7.03$ Hz), CH_3 -19 y CH_3 -18 se ubicaron en 1.22, 1.12, 0.99 y 0.97 ppm, respectivamente. El desplazamiento de las señales dobles de los hidrógenos H-16 y H-15 sugirió que la reacción se llevó a cabo en el anillo de furano de **5**.

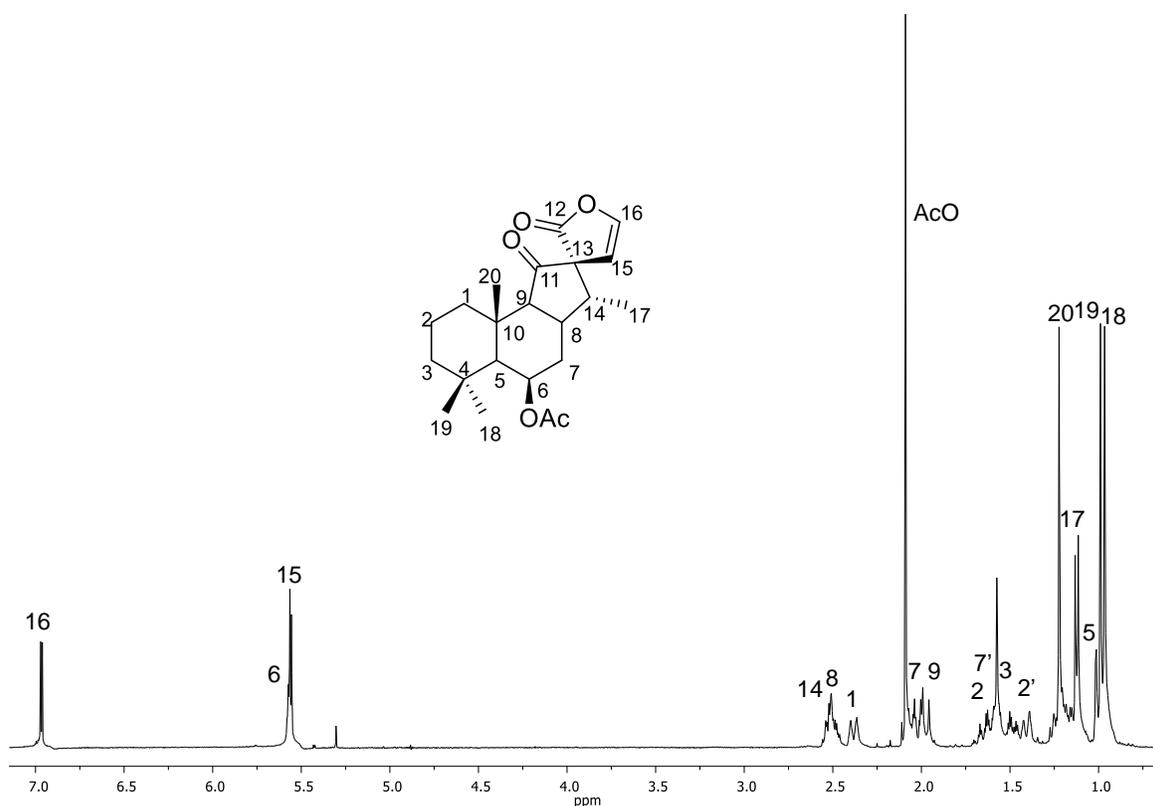


Figura 32. Espectro de RMN de ^1H de la 11-oxoespirolactona **53** en CDCl_3 a 300 MHz.

En su espectro de RMN de ^{13}C (figura 33) se observaron tres señales de carbonilos en 208.2, 173.7 y 170.1 ppm que se asignaron a los carbonos C-11, C-12 y al carbonilo del acetato, respectivamente. En 143.7 y 110.8 ppm se ubicaron las señales de los carbonos del doble enlace C-16 y C-15, respectivamente. En 69.3 ppm se ubicó la señal del carbono C-6 base del acetato. En 66.6 ppm se encontró la señal del carbono cuaternario de la espirolactona C-13. En 61.8 ppm se ubicó la señal del carbono C-9. Entre 56.4 y 10.2 ppm se observó el resto de las señales de la estructura. Todas las señales de RMN, tanto de ^1H como de ^{13}C fueron asignadas con base en los experimentos bidimensionales COSY, HSQC y HMBC. En base a los resultados obtenidos se propuso la estructura de la espirolactona **53**, obtenida mediante el reordenamiento oxidativo del vouacapano **5**. Y que presenta una fusión de tipo espiro entre los anillos C y D, el anillo D corresponde a una γ -lactona y además la posición C-11 se encuentra oxidada a una cetona. No se observó correlación entre el protón H-15 con el metilo CH_3 -17, por lo que se propuso que el enlace C13-C12 se encuentra α -orientado.

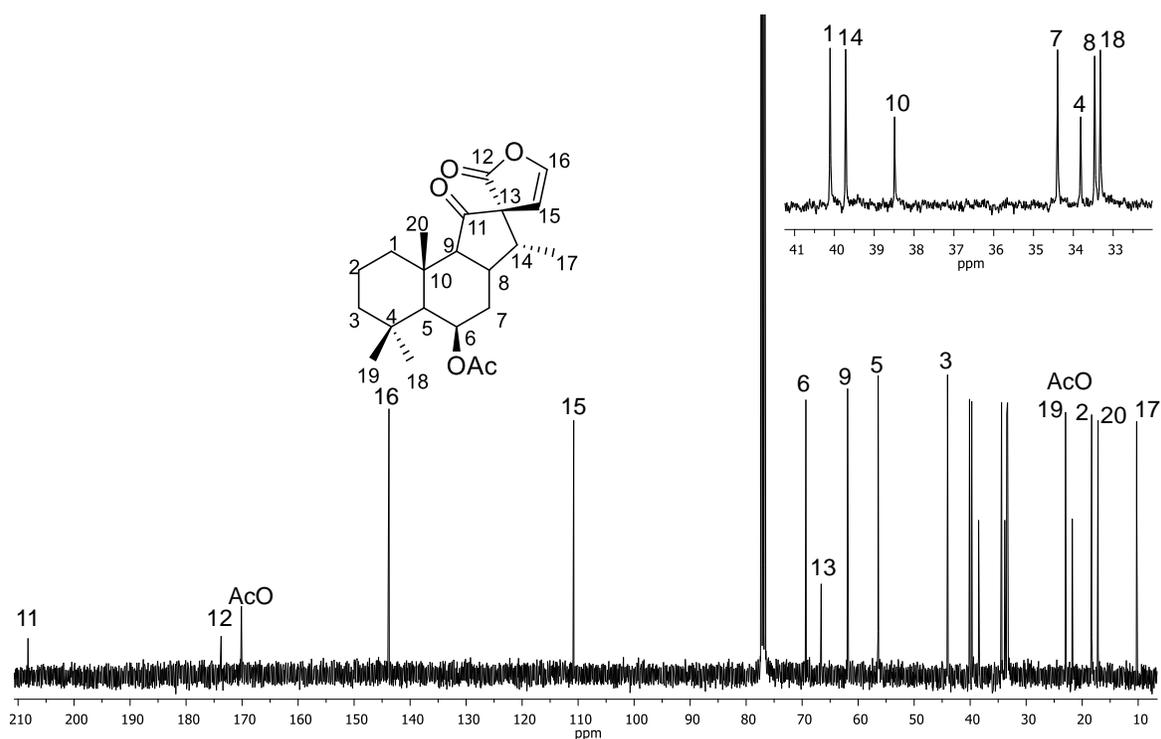


Figura 33. Espectro de RMN de ^{13}C de la 11-oxoespirolactona **53** en CDCl_3 a 75 MHz.

La espirolactona **6** se obtuvo en forma de sólido blanco. En su espectro de RMN de ^1H (figura 34) se observaron en 6.85 y 5.61 ppm dos señales dobles con $J = 3.6$ Hz, correspondientes a los protones vinílicos H-16 y H-15, respectivamente. En 5.50 ppm se ubicó una señal simple ancha base de acetilo, la cual por comparación con la materia prima fue asignada al hidrógeno H-6. En 4.26 ppm se observó una señal doble de dobles con $J = 8.6, 5.4$ Hz, correspondiente a un protón base de oxígeno, la cual fue asignada al hidrógeno H-11. En 2.07 ppm se ubicó una señal simple característica del metilo de acetilo. En 1.70 ppm se observó una señal doble con $J = 5.4$ Hz, que fue asignada al protón del OH. Se observaron tres señales para metilos terciarios en 1.30, 1.02 y 0.96 ppm correspondientes a CH_3 -20, CH_3 -19 y CH_3 -18, respectivamente. Por último, se localizó en 0.92 ppm una señal doble con $J = 7.8$ Hz, que integró para 3 hidrógenos, correspondiente al metilo secundario CH_3 -17. Posteriormente se realizó el intercambio con agua deuterada (D_2O), obteniendo su espectro de RMN de ^1H (figura 34, trazo superior), en el cual se observó la simplificación de la señal ubicada en 4.26 ppm, que aparece ahora como una doble con $J = 8.6$ Hz. La señal doble que se encontraba en 1.70 ppm se intercambió, por lo que se confirma su asignación al grupo hidroxilo. Estos datos fueron corroborados con los reportados previamente.²⁵

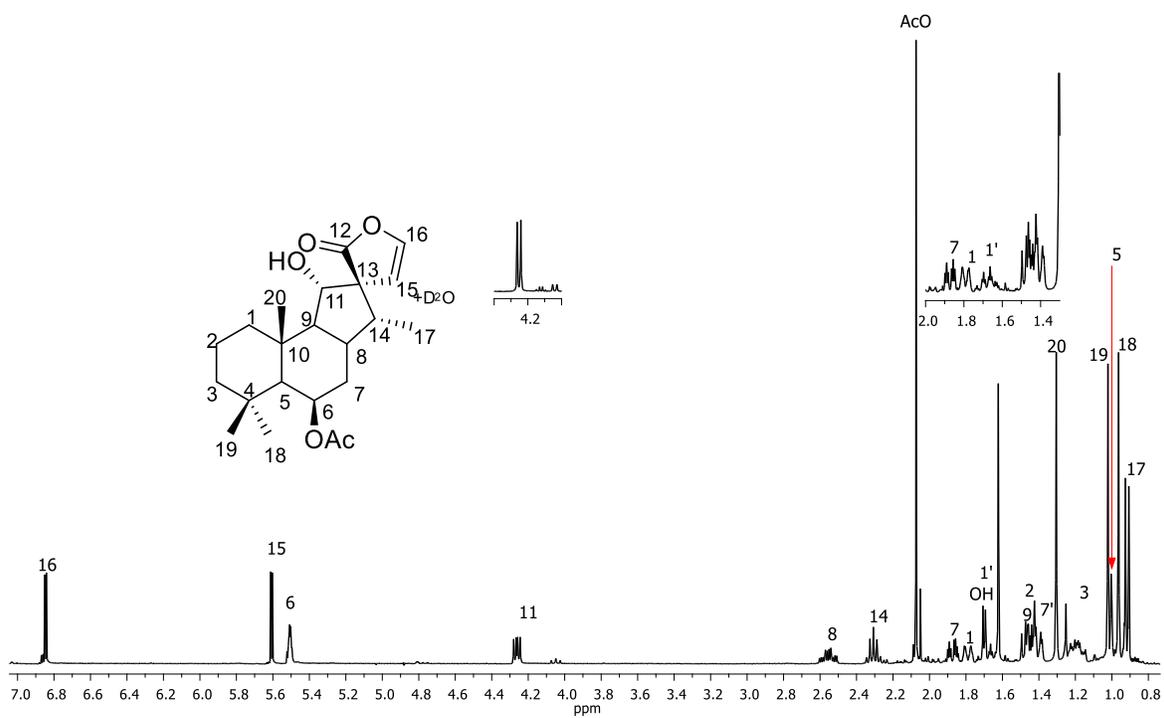
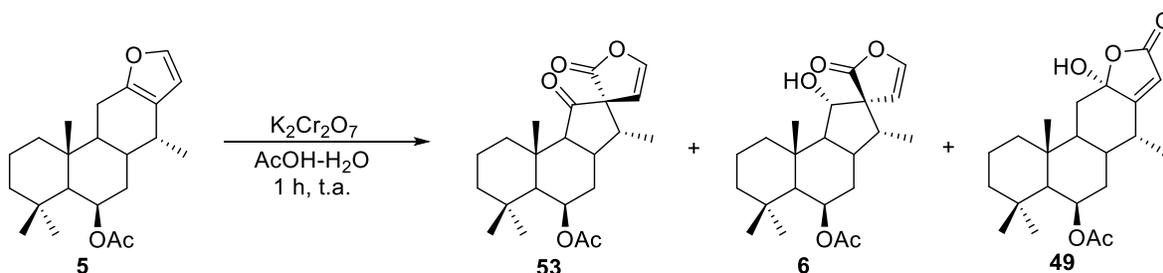


Figura 34. Espectro de RMN de ^1H de la espirolactona **6** en CDCl_3 a 400 MHz.

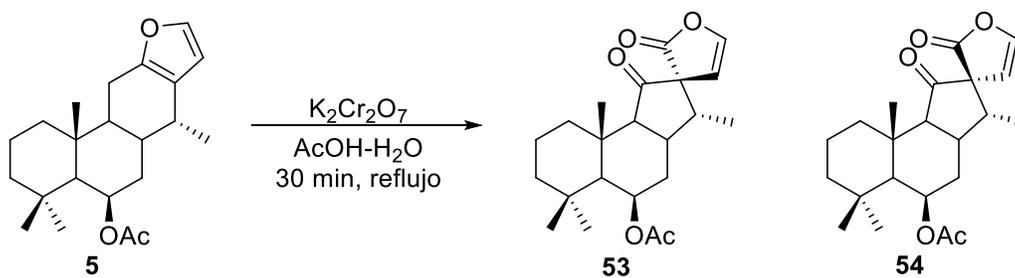
Oxidación de **5** con $K_2Cr_2O_7$

Continuando con el estudio de la oxidación de **5** con derivados de cromo se decidió llevar a cabo la reacción con dicromato de potasio, para lo cual 0.1 g de **5** se puso a reaccionar con 0.17 g de dicromato de potasio en AcOH-H₂O. El crudo de la reacción se purificó mediante cromatografía en columna, obteniendo puros los compuestos **53** (25%), **6** (20%) y **49** (10%) (esquema 17).



Esquema 17. Oxidación de **5** con $K_2Cr_2O_7$ a temperatura ambiente.

Por otro lado, la reacción se llevó a cabo con 0.11 g del vouacapano **5** y 0.18 g de $K_2Cr_2O_7$ en AcOH-H₂O en reflujo durante 30 minutos (esquema 18). El crudo de la reacción se separó mediante cromatografía en columna, obteniendo una fracción principal en la cual se determinó mediante RMN de ¹H que se encontraban en mezcla las 11-oxoespirolactonas epiméricas **53** y **54** (figura 35).



Esquema 18. Oxidación de **5** con $K_2Cr_2O_7$ a reflujo.

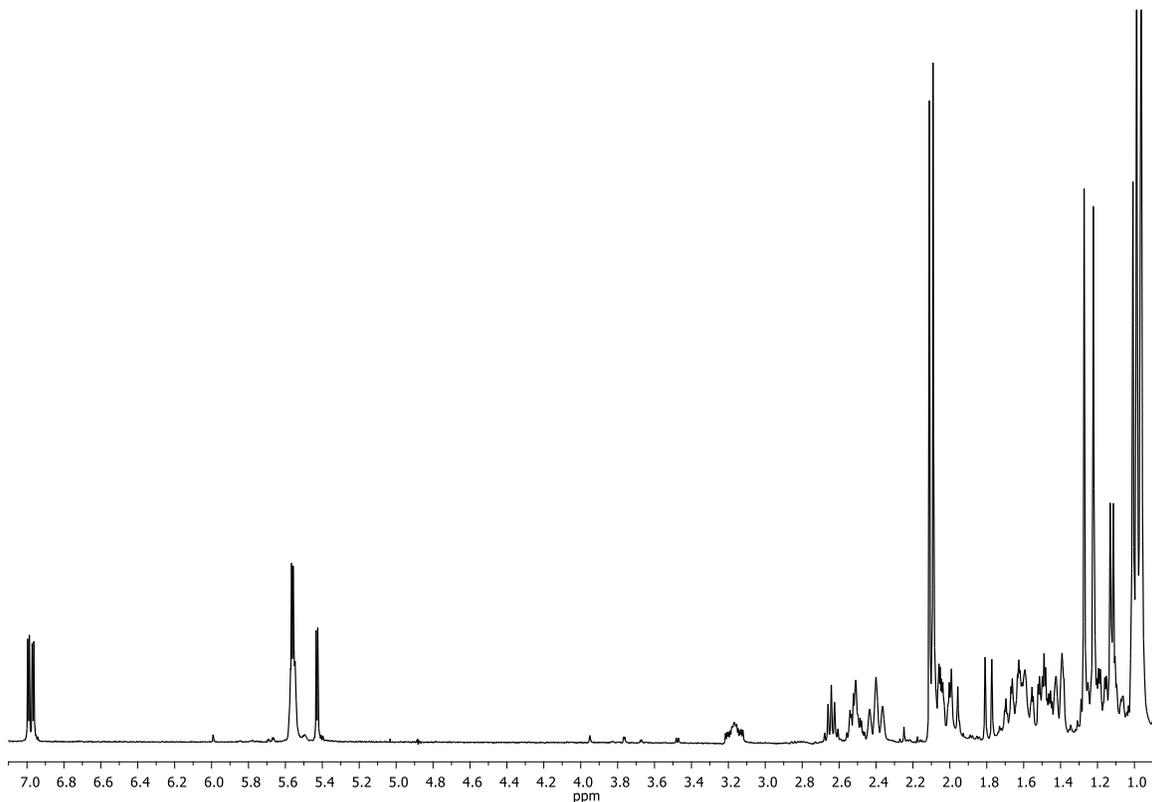
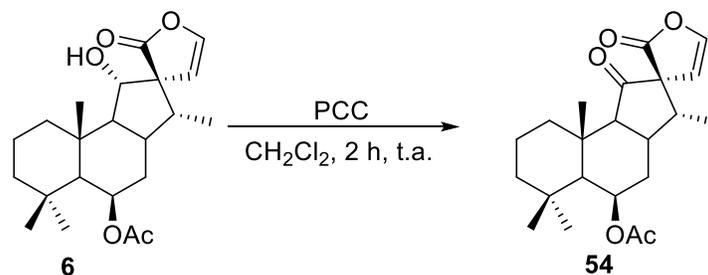


Figura 35. Espectro de RMN de ^1H de la mezcla de los epímeros **53** y **54** en CDCl_3 a 400 MHz.

No fue posible separar la mezcla de los epímeros **53** y **54** mediante cromatografía en columna, por lo que para corroborar la estructura de **54** se llevó a cabo la obtención de este compuesto a partir de la espirolactona **6**. Para ello se obtuvo **6** mediante la metodología descrita.²⁵ Una vez identificado **6** se procedió a llevar a cabo la oxidación del hidroxilo en la posición C-11. Posteriormente, la espirolactona **6** se oxidó con PCC en CH_2Cl_2 a temperatura ambiente (esquema 19). El crudo de la reacción se purificó mediante cromatografía en columna, para obtener la 11-Oxo-espirolactona **54** con un rendimiento del 86%.



Esquema 19. Oxidación de la espirolactona **6**.

La 11-oxoespirolactona **54** se obtuvo en forma de sólido blanco, es su espectro EIMS mostró un ion molecular $[M-AcO]^+$ de 315 m/z . En su espectro de RMN (figura 36), se observaron ligeros cambios en los desplazamientos de las señales de los protones H-16 y H-15 (d, $J = 3.8$ Hz), encontrándose ahora en 6.98 y 5.43 ppm, respectivamente, encontrados en **53** en 6.96 y 5.56 ppm. La señal del hidrógeno base del acetato H-6, permaneció sin cambios en 5.55 ppm. Los otros cambios significativos se registraron en las señales de los hidrógenos H-8 y H-14 (2.49 y 2.52 ppm, respectivamente en **53**), encontrados ahora en 3.17 y 2.64 ppm. También la señal de H-9 mostró un cambio en el desplazamiento (1.97 ppm para **53**), encontrándose para este compuesto en 1.78 ppm. La señal del metilo CH₃-17, sufrió un ligero desplazamiento a frecuencias menores, ya que se ubicó en 0.98 ppm (1.12 ppm en el epímero **53**).

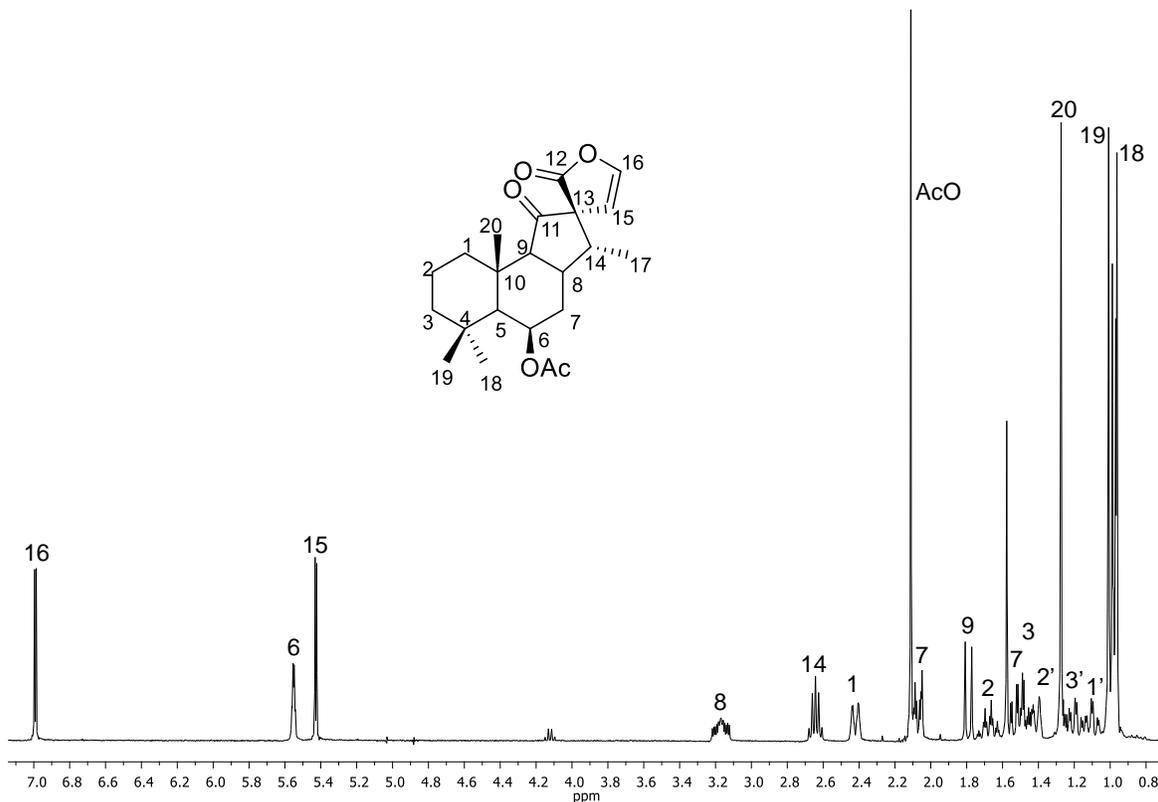


Figura 36. Espectro de RMN de ^1H de la 13-*epi*-11-oxoespirolactona **54** en CDCl_3 a 300 MHz.

En el espectro de RMN de ^{13}C (figura 37) también se observaron cambios significativos en los desplazamientos de algunos carbonos, las señales de los carbonilos de la cetona C-11 y de la lactona C-12 se apreciaron en 207.2 y 174.7 ppm, respectivamente, (mientras que en el epímero **53** fueron asignadas en 208.2 y 173.7 ppm). Los carbonos del doble enlace (143.7 y 110.8 ppm, respectivamente, en **53**) aparecieron ahora en 144.8 y 109.1 ppm, respectivamente. La señal del metilo CH_3 , C-17 se desplazó a frecuencias altas, ya que se ubicó en 11.9 ppm (10.2 para **53**).

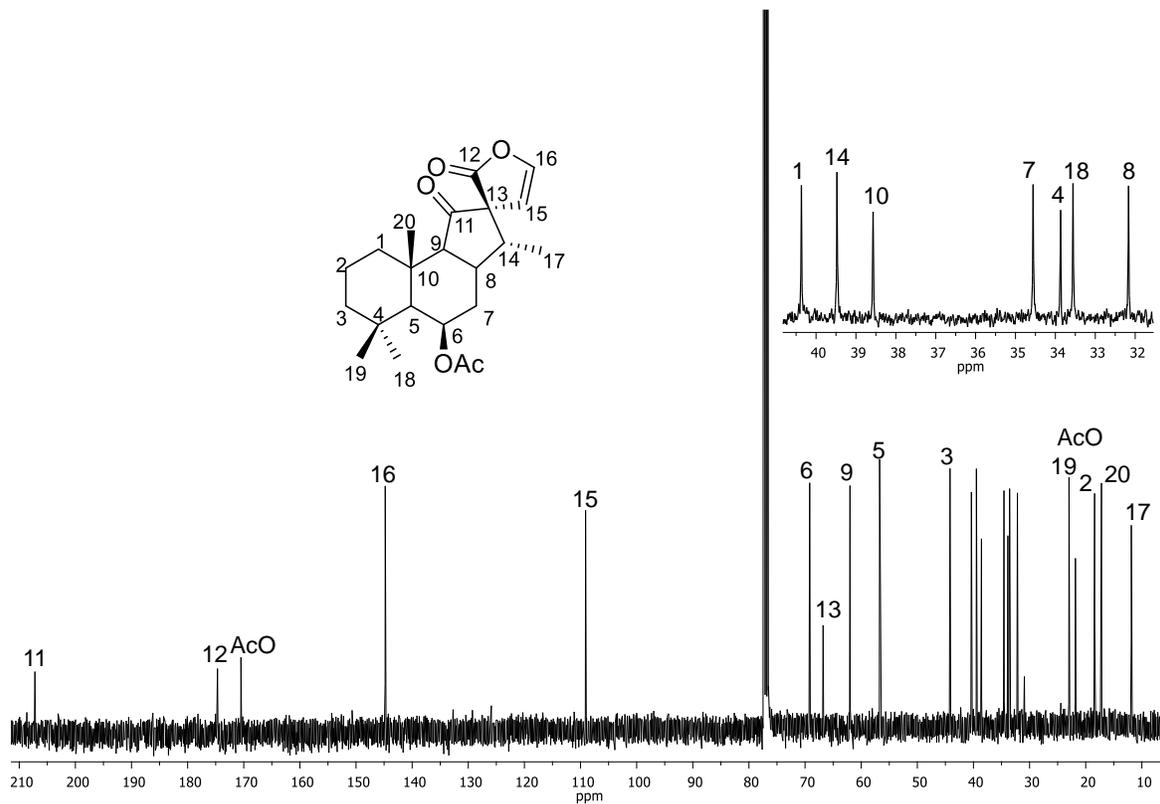


Figura 37. Espectro de RMN de ^{13}C de la 13-*epi*-11-oxoespirolactona **54** en CDCl_3 a 75 MHz.

La estereoquímica relativa del compuesto **54** se estableció en base al experimento NOESY (figura 38), en el cual se observó la correlación de la señal de la señal doble del protón H-15 con la señal doble del metilo CH_3 -17, por lo que se propuso que el enlace C13-C-15 se encuentra orientado en posición α . Además fue posible proponer la estereoquímica de **53** como un epímero en C-13 de **54**, ya que ambos muestran espectros similares, con cambios en los desplazamientos de los protones y carbonos cercano a este centro quiral.

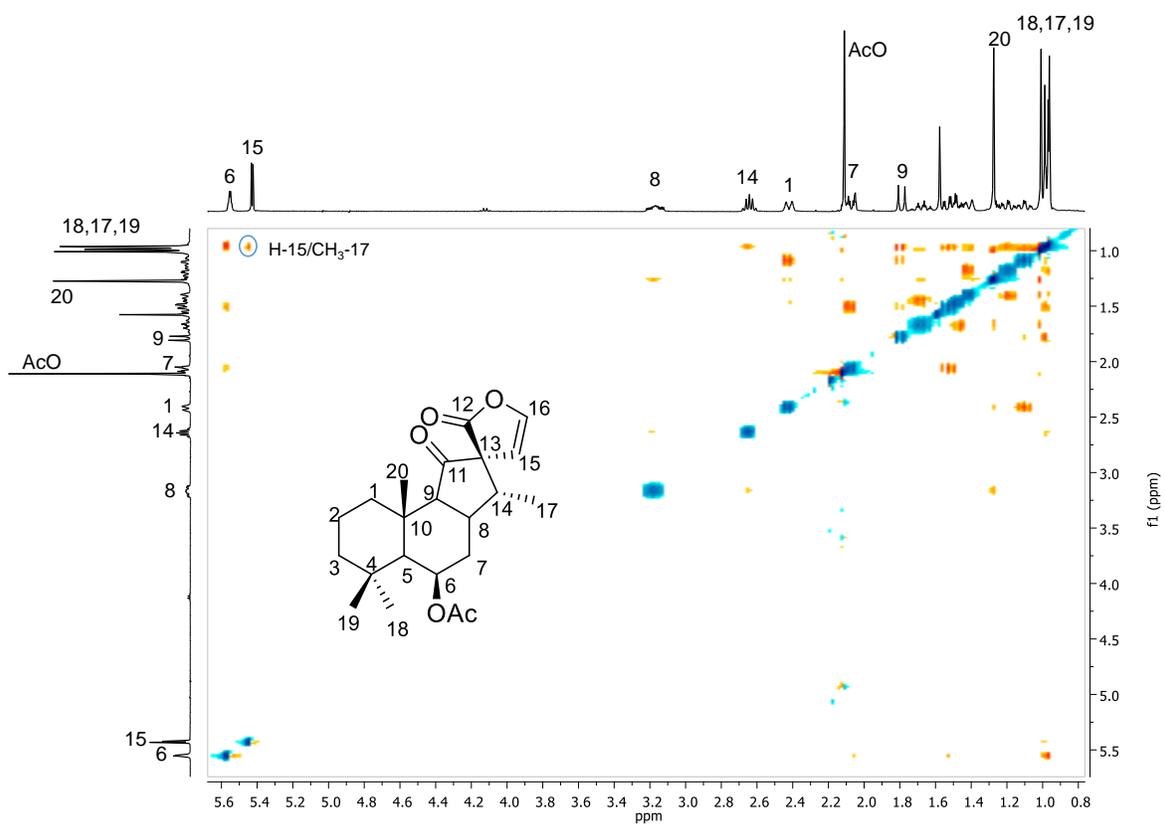
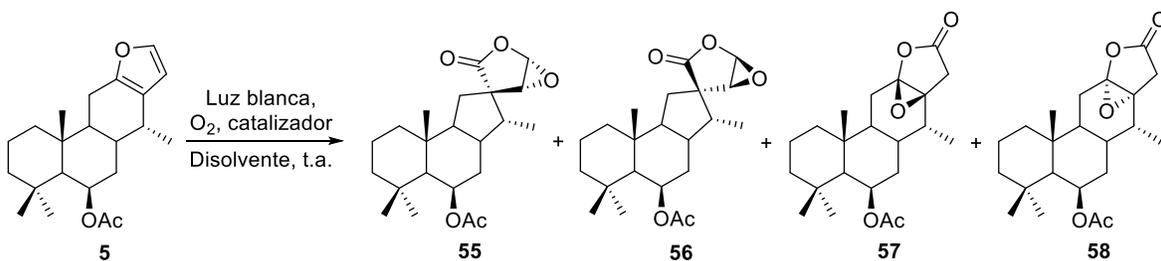


Figura 38. Experimento NOESY de la 13-*epi*-11-oxoespirolactona **54**.

Reacción de fotooxidación

Como se mencionó, las reacciones de fotooxidación de los anillos de furano cumplen un rol importante en la obtención de moléculas activas o precursores de éstas. Además cabe mencionar que no existía ningún reporte de este tipo de reacciones en compuestos de tipo vouacapano, por lo que se llevó a cabo este estudio, utilizando el vouacapano **5** como materia de partida. Las condiciones generales de fotooxidación incluyeron lotes 50 mg de **5** y 3% mol de fotocatalizador ($\text{Ru}(\text{bpy})_3(\text{PF}_6)_2$, Azul de metileno o Eosina), irradiaciones con luz blanca, bajo atmósfera de oxígeno o aire, empleando como medios de reacción CH_3CN , CH_2Cl_2 , acetona, tolueno o THF (esquema 20). En todos los casos se obtuvieron los mismos productos, a excepción de aquellas reacciones en las que se empleó THF o tolueno, en las que no hubo conversión de la materia de partida. Las reacciones se monitorearon mediante cromatografía en capa fina. Los crudos de reacción se separaron mediante cromatografía en columna, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y mezclas de éter de petróleo-AcOEt como fase móvil en orden creciente de polaridad.



Esquema 20. Reacción de Fotooxidación del 6 β -acetoxivouacapano (**5**).

En la tabla 1 se resumen las condiciones de reacción específicas probadas. Los primeros ensayos se realizaron utilizando eosina como catalizador y aire u oxígeno como oxidante, después de dos horas de reacción se observó mediante TLC la desaparición completa de la materia de partida **5**; utilizando aire como oxidante se observó una relación 57:43 entre las mezclas de diastereómeros (**55+56**):(**57+58**) en el espectro de RMN de ¹H del crudo de la reacción; sin embargo, una vez realizada la purificación se obtuvieron bajos rendimientos

(entrada 1). Un cambio en el oxidante por oxígeno (entrada 2), se obtuvieron mejores rendimientos, sin observar cambios en la proporción de las mezclas. Al cambiar el fotocatalizador por Azul de metileno se obtuvieron mejores resultados en el rendimiento de la mezcla de diastereómeros **55+56**, obteniendo resultados similares en el uso de oxígeno o aire como oxidante (entradas 3 y 4). Sin embargo, se puede observar que los mejores rendimientos en ambas mezclas de diastereómeros se obtuvieron utilizando Ru(bpy)₃(PF₆)₂ como catalizador, y al igual que en el caso anterior no se observó diferencia en el uso de aire u oxígeno (entradas 5 y 6). La reacción se ensayó utilizando también CH₂Cl₂ y acetona como disolvente (entradas 7 y 8), en las cuales no se observaron cambios entre las proporciones de las mezclas de diastereómeros (**55+56**):(**57+58**) en los crudos de reacción. La reacción en tolueno (entrada 9) y THF (entrada 10), no procedió, por lo que se recuperó solo la materia prima **5**.

Tabla 1. Condiciones de fotooxidación de **5**.

Entrada	Condiciones	Rendimiento ^a (%) (55+56):(57+58)	Relación ^b (55+56):(57+58)
1	Aire, Eosina, CH ₃ CN, 2h	20:12	57:43
2	O ₂ , Eosina, CH ₃ CN, 2h	32:17	55:45
3	Aire, Azul de Metileno, CH ₃ CN, 2h	33:17	56:44
4	O ₂ , Azul de Metileno, CH ₃ CN, 2h	30:13	60:40
5	Aire, Ru(bpy) ₃ (PF ₆) ₂ , CH ₃ CN, 2h	34:22	60:40
6	O ₂ , Ru(bpy) ₃ (PF ₆) ₂ , CH ₃ CN, 1h	32:22	59:41
7	O ₂ , Ru(bpy) ₃ (PF ₆) ₂ , CH ₂ Cl ₂ , 18h	n.d.	56:44
8	O ₂ , Ru(bpy) ₃ (PF ₆) ₂ , Acetona, 2h	n.d.	50:50
9	Aire, Ru(bpy) ₃ (PF ₆) ₂ , Tolueno, 18h	-	-
10	Aire, Ru(bpy) ₃ (PF ₆) ₂ , THF, 18h	-	-

^aRendimiento determinado en mezcla después de la separación cromatográfica. ^bDeterminada en el crudo de reacción. n.d. = no determinado

De las cromatografías se obtuvieron dos fracciones principales, la fracción A, obtenida en la polaridad de éter de petróleo-AcOEt (9:1) cuyo análisis de RMN de ^1H mostró la presencia de dos compuestos, mientras que en la polaridad de éter de petróleo-AcOEt (4:1) se obtuvo la fracción B que mostró una mezcla de isómeros en el mismo análisis. La fracción A se purificó mediante cromatografía flash, utilizando una mezcla de éter de petróleo- CH_2Cl_2 (1:2) como eluyente, en las fracciones 23-32 se obtuvo un sólido blanco que mostró un ion molecular $[\text{M-H}]^-$ de 375.2181 m/z (calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{O}_5^-$ 375.2177), por el método HR-ESI-FTMS. En su espectro de RMN de ^1H (figura 39), se observó la desaparición de las señales del furano de **5**, por lo que se confirmó que la reacción se llevó a cabo en este anillo. Se observó en 5.55 ppm una señal doble con $J = 2.3$ Hz, la cual se asignó al hidrógeno del epóxido H-16. En 5.52 ppm se ubicó la señal correspondiente al hidrógeno base del acetato H-6. En 3.61 ppm se encontró la señal doble con $J = 2.3$ Hz correspondiente al hidrógeno del epóxido, H-15. La señal del metino H-14 se asignó en 2.63 ppm como una señal quintuple con constante de acoplamiento de 7.5 Hz. En 2.20 ppm fue asignada la señal del metino H-8 como una señal múltiple. Las señales de los hidrógenos H-11 y H-11' se ubicaron en 1.96 y 1.55 ppm, respectivamente. Mientras que 2.06, 1.17, 1.00, 0.96 y 0.92 ppm se ubicaron las señales correspondientes a los metilos de la estructura, $\text{CH}_3\text{-OAc}$, $\text{CH}_3\text{-20}$, $\text{CH}_3\text{-19}$, $\text{CH}_3\text{-18}$ y $\text{CH}_3\text{-17}$, respectivamente.

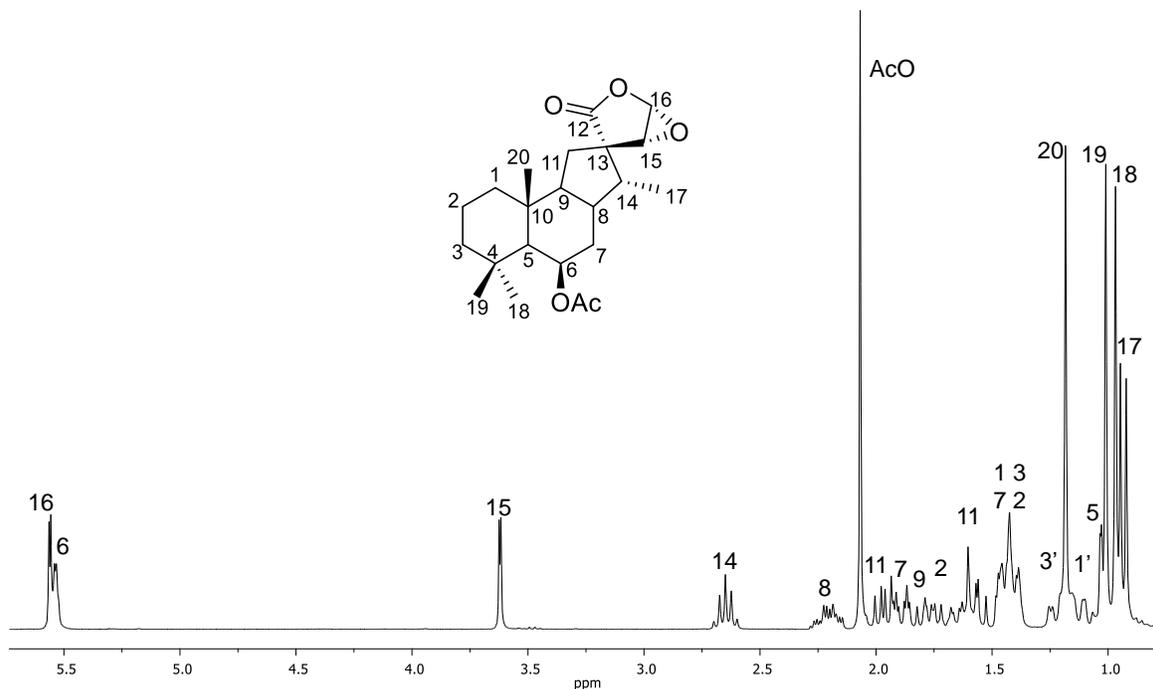


Figura 39. Espectro de RMN de ^1H de la epoxi-espirolactona **55** a 300 MHz en CDCl_3 .

En su espectro de RMN de ^{13}C (figura 40) se observaron 21 señales, en 178.2 y 170.3 ppm dos señales de carbonos carbonílicos, que se asignaron al carbonilo de la lactona C-12 y al carbonilo del acetato, respectivamente. En 78.0 ppm se observó la señal correspondiente al carbono del epóxido C-16. En 70.1 ppm se asignó la señal correspondiente al carbono base del acetato C-6. En 59.8 ppm apareció una nueva señal de carbono base de oxígeno que fue asignada al carbono del epóxido C-15. La señal característica del carbono C-5 se encontró en 56.3 ppm. En 55.3 ppm se encontró ahora la señal correspondiente a C-9. En 54.6 ppm se observó la presencia de un carbono cuaternario asignado a C-13. El resto de las señales de carbono se ubicaron entre 44.2 y 12.3 ppm, encontrándose las señales de C-8 y C-10 traslapadas en 37.5 ppm. La asignación total de los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C se llevó a cabo mediante los experimentos en dos dimensiones COSY, HMQC y HMBC.

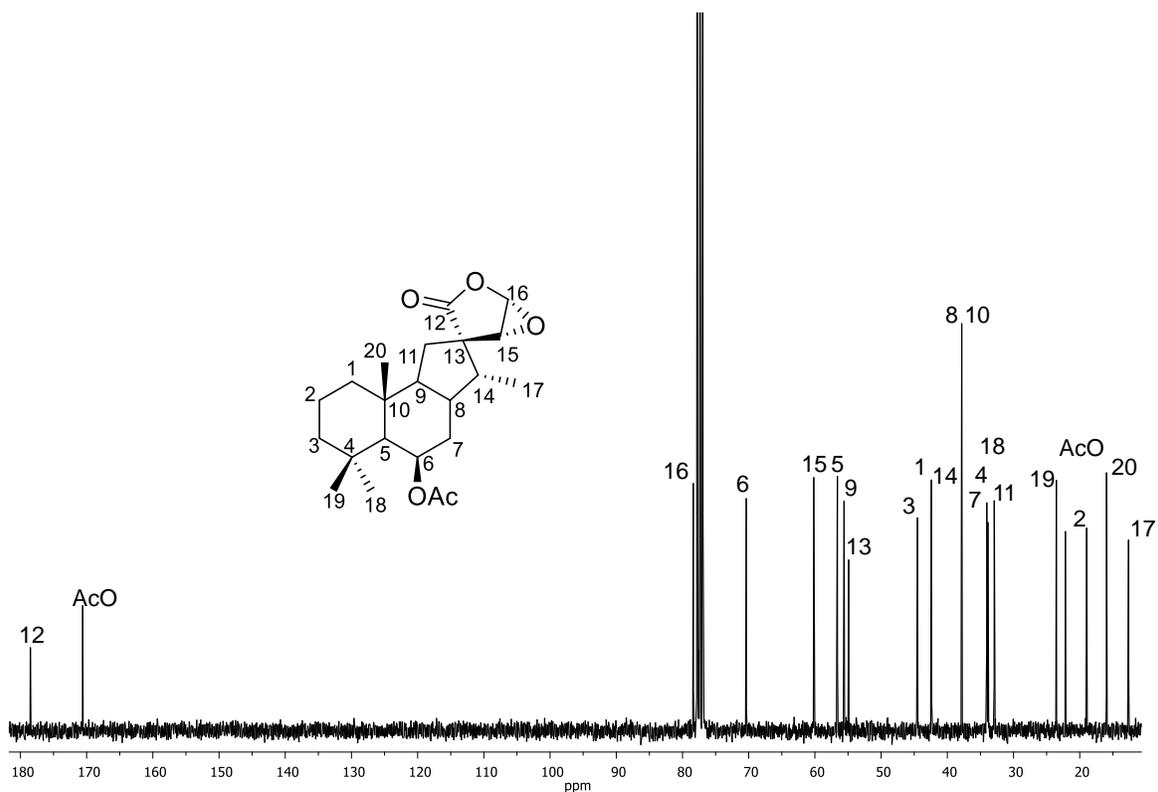


Figura 40. Espectro de RMN de ¹³C de la epoxi-epirolactona **55** a 75 MHz en CDCl₃.

La ausencia de las señales del furano, asociado con la aparición de las señales correspondientes a los protones y carbonos del epóxido, así como la presencia de una señal de carbono cuaternario en 54.6 ppm indicaron la epoxidación y epirolactonización del vouacapano **5** para obtener la estructura de la epoxi-epirolactona **55**.

La estereoquímica relativa de este compuesto se propuso en base al experimento bidimensional NOESY (figura 41), en el cual se observó la correlación espacial del hidrógeno H-15 con los hidrógenos del metilo CH₃-20, H-8, así como uno de los hidrógenos del metileno CH₂-11, lo que indicó que el enlace C-13/C-15 presenta estereoquímica β.

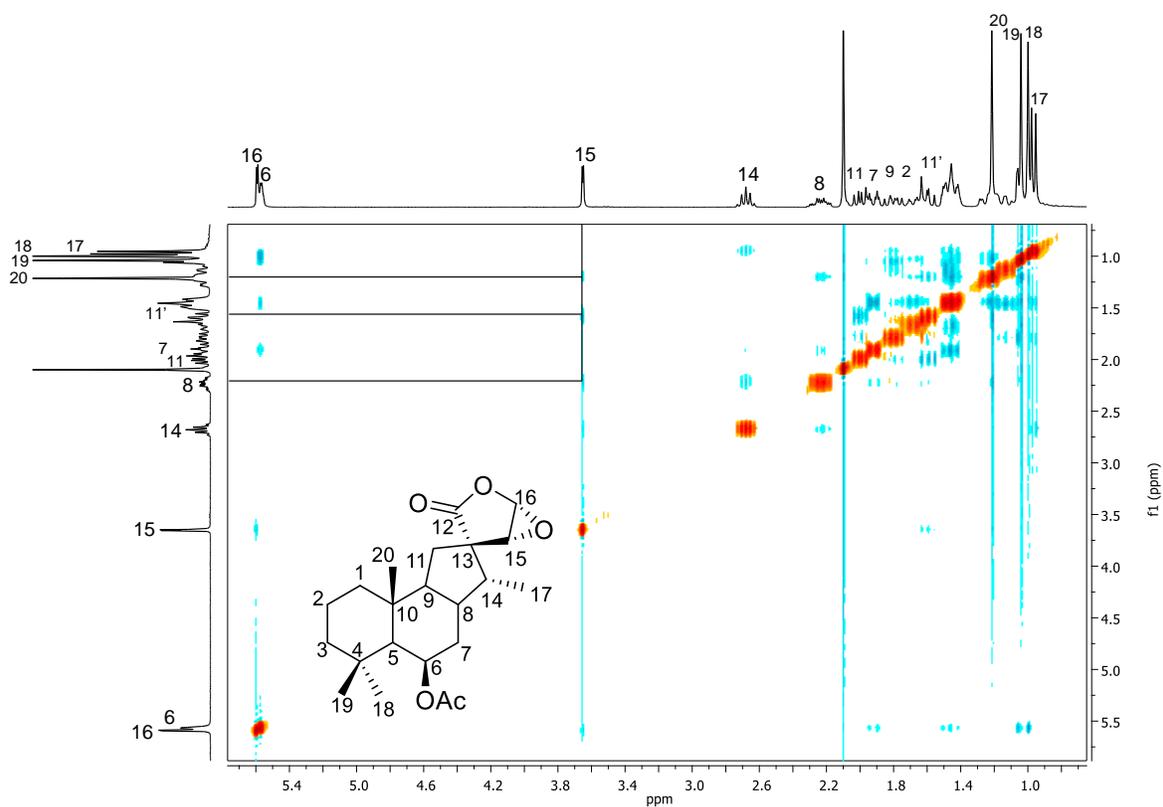


Figura 41. Espectro NOESY de la epoxi-epilactona **55**.

La estructura del compuesto **55**, así como la estereoquímica absoluta se estableció mediante difracción de rayos X (figura 42), en la cual se pudo observar la orientación α del enlace C-13/C-12, β para el enlace C-13/C-15, así como una orientación espacial α para el oxígeno del epóxido.



Figura 42. Diagrama de rayos X de la epoxi-espirolactona **55**.

continuyendo con la cromatografía de la fracción A, en la fracciones 37-45 se obtuvo el segundo compuesto, en forma de sólido blanco, el cual mostró un ion molecular de $399.2135 \text{ } m/z$ $[M+Na]^+$, calculado para una fórmula molecular $C_{22}H_{32}O_5 + Na^+$ de 399.2142 . Este compuesto mostró un espectro de RMN de 1H similar al del compuesto **55** (figura 43). Las señales correspondientes a los hidrógenos del epóxido H-16 y H-15 se observaron en 5.56 y 3.53 ppm, respectivamente. En 5.51 ppm se asignó la señal del hidrógeno base de acetato H-6. La señal del hidrógeno metínico H-8 se desplazó a frecuencia alta, encontrándose ahora en 2.48 ppm, mientras que la señal de H-14 se desplazó a frecuencia baja ubicándose en 2.35 ppm. Los otros cambios fueron observados en el desplazamiento de las señales correspondientes a los hidrógenos H-11 y H-11' que ahora se ubicaron en 1.84 y 1.72 ppm, respectivamente, así como en el desplazamiento del metilo CH_3 -17, que se asignó para este compuesto en 1.05 ppm. El resto de las señales permanecieron sin cambios significativos.

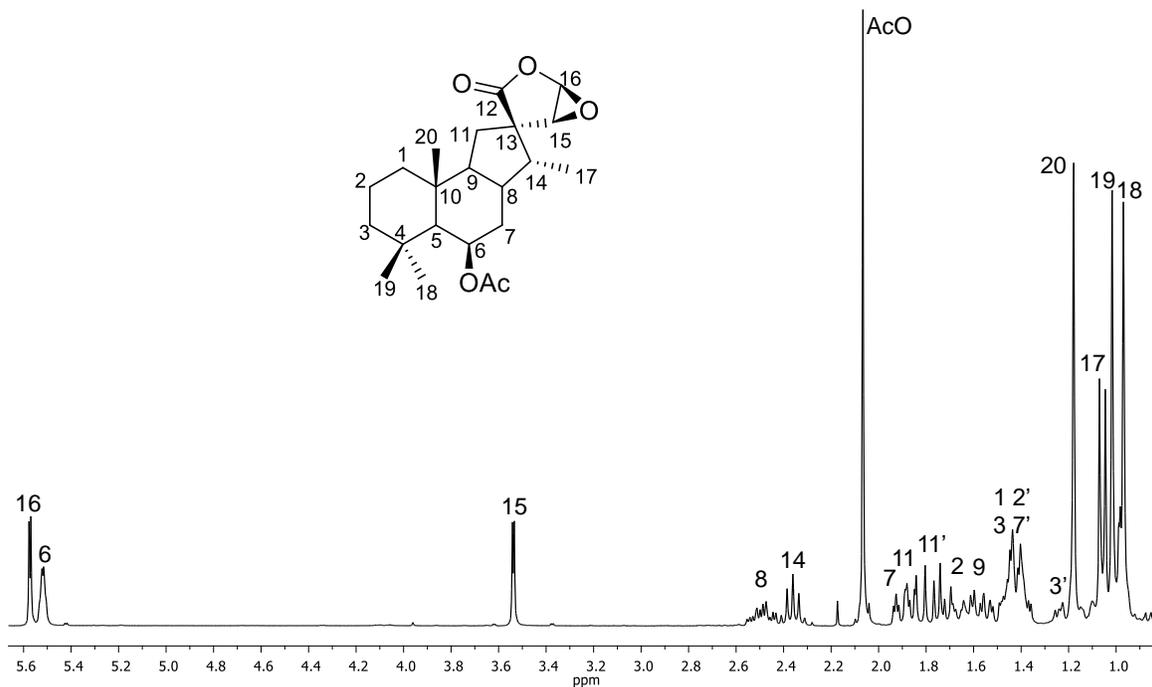


Figura 43. Espectro de RMN de ^1H de la epoxi-espirolactona **56** a 300 MHz en CDCl_3 .

En el espectro de RMN de ^{13}C (figura 44) también se observaron cambios en los desplazamientos de algunas señales en comparación con el compuesto **55**, el carbonilo de la lactona C-12 se desplazó a frecuencia alta observándose en 180.7 ppm. El carbono del epóxido C-15 se encontró para este compuesto en 57.4 ppm. La señal del carbono cuaternario de tipo espiro C-13 se desplazó a frecuencia alta, ubicado en 55.4 ppm; el resto de las señales de la estructura no mostraron cambios significativos, por lo que se propuso la estructura del compuesto **56**, que es un diastereómero del compuesto **55**.

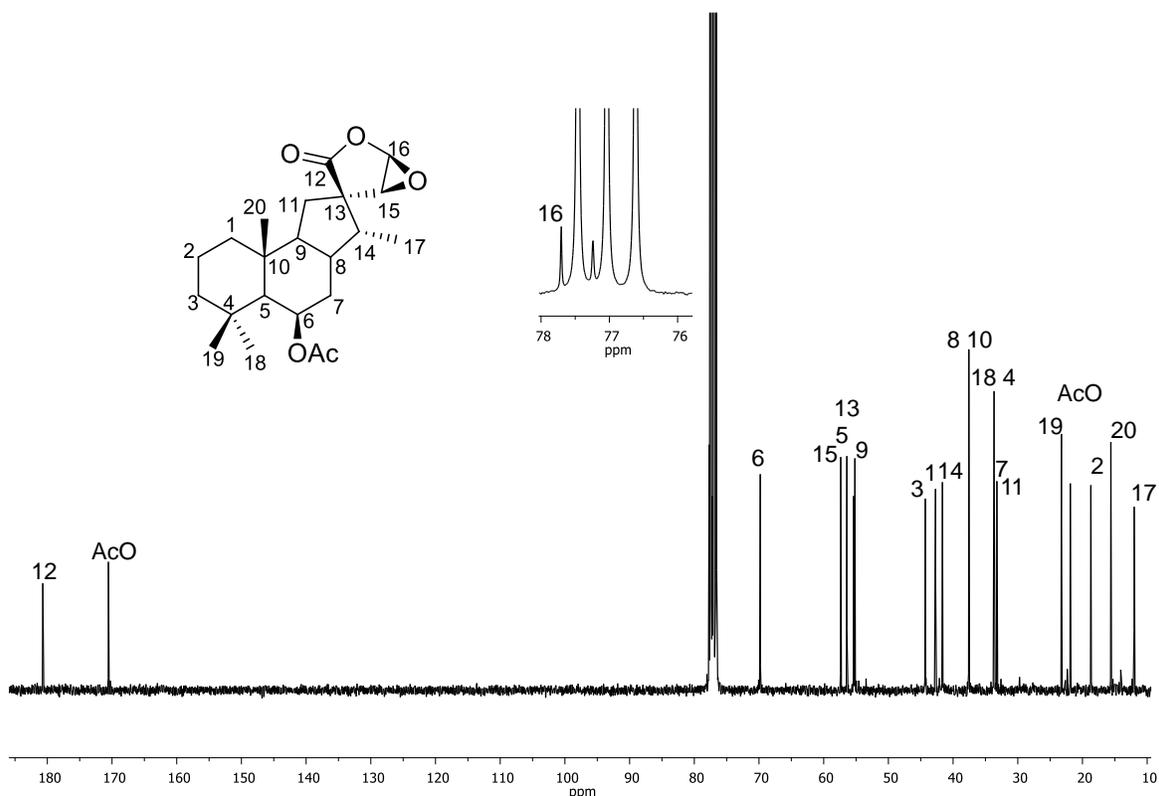


Figura 44. Espectro de RMN de ^{13}C a 75 MHz de la epoxi-espirolactona **56** en CDCl_3 .

La estereoquímica de este compuesto se asignó como β para el enlace C-13/C-12, así como para el oxígeno del epóxido; mientras que el enlace C-13/C-15 se asignó en posición α , dada su correlación con el compuesto **55**. Cabe resaltar que compuestos con este esqueleto han sido reportados de fuentes naturales,⁶²⁻⁶⁴ así como mediante oxidación química del esqueleto de vouacapano con AMCPB,³⁷ sin embargo las estructuras diastereoméricas **55** y **56** corresponden a nuevos compuestos.

Por otro lado, la fracción B se purificó mediante cromatografía flash, utilizando una mezcla de éter de petróleo-éter dietílico (7:3) como fase móvil. En las fracciones 28-33 se obtuvo una miel incolora que mostró un ion molecular de 399.2139 m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ correspondiente con la fórmula molecular $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_5 + \text{Na}^+$

(calculado 399.2142). En su espectro de RMN de ^1H (figura 45) se observó en 5.44 ppm la señal múltiple del hidrógeno base del acetato H-6. En 2.84 se observaron las señales del sistema AB ($J = 18.9$ Hz) del metileno CH_2 -15. En 2.31 ppm se encontró una señal doble de dobles con $J = 15.8, 8.3$ Hz, asignada a H-11. En 2.17 ppm se encontraron traslapadas las señales de los hidrógenos H-14 y H-11'. En 2.06 ppm se ubicó una señal múltiple para el hidrógeno H-8. Mientras que las señales de los metilos se apreciaron en 2.03 (3H, s, CH_3 -OAc), 1.16 (3H, s, CH_3 -20), 0.99 (3H, s, CH_3 -19), 0.96 (3H, d, $J = 7.3$ Hz, CH_3 -17), 0.95 (3H, s, CH_3 -18).

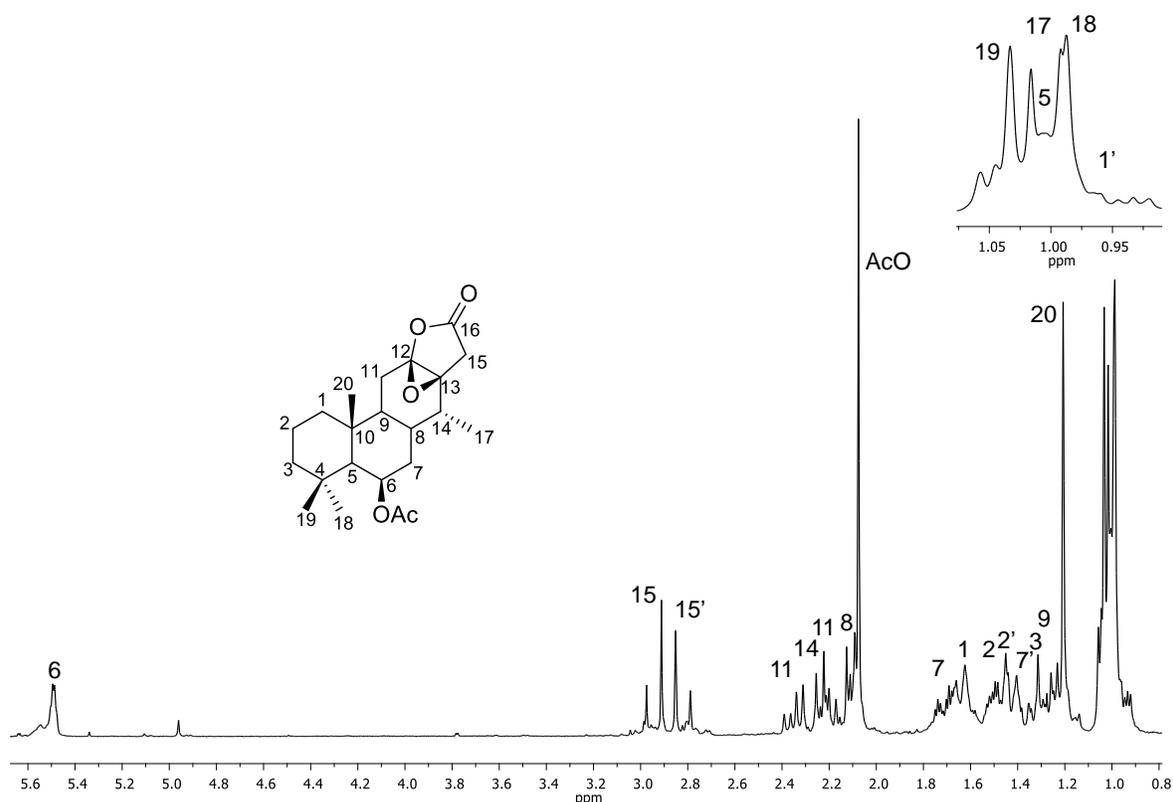


Figura 45. Espectro de RMN de ^1H de la epoxilactona **57** a 300 MHz en CDCl_3 .

En su espectro de RMN de ^{13}C (figura 46) se observaron en 173.4 y 170.5 ppm dos señales para carbonilos, las cuales se asignaron al carbonilo de la lactona C-16 y al carbonilo del acetato, respectivamente. En 89.3 ppm se ubicó una señal de carbono cuaternario base de oxígeno que se asignó al C-12. En 69.3

ppm se encontró la señal del carbono base del acetato C-6. En 65.1 ppm se observó otra señal de un carbono cuaternario base de oxígeno, establecida como C-13. El resto de las señales se encontraron entre 55.8 y 10.9 ppm. Tanto las señales de carbono como de protón fueron asignadas en base a los espectros de RMN en dos dimensiones COSY, HMQC y HMBC.

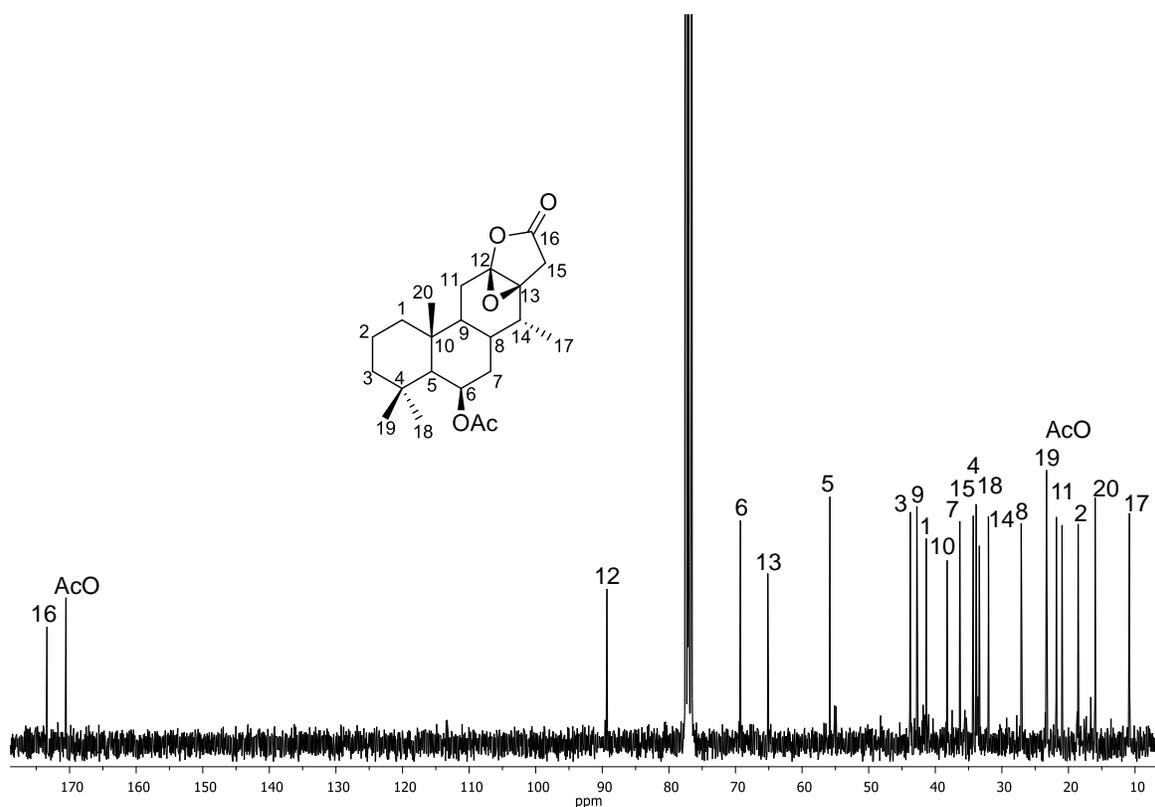


Figura 46. Espectro de RMN de ^{13}C de la epoxilactona **57** a 75 MHz en CDCl_3 .

Con base en los datos de RMN se propuso la estructura de la epoxilactona **57**, la cual presenta un carbonilo en posición C-16, así como una función epóxido en las posiciones C-12/C-13. No se encontraron datos reportados para este compuesto, por lo que se trata de una nueva estructura.

Continuando con la cromatografía de la fracción B, en las fracciones 37-45 se obtuvo el segundo compuesto en forma de sólido blanco que mostró un ion molecular de 399.2139 m/z $[M+Na]^+$, correspondiente con la fórmula $C_{22}H_{32}O_5Na^+$ (calculado 399.2142). En su espectro de RMN de 1H (figura 47) se observó en 5.47 ppm una señal simple ancha correspondiente al hidrógeno H-6 base de acetato. En 3.04 y 2.69 ppm se encontraron las señales dobles del sistema AB del metileno CH_2 -15. En 2.52 ppm se apreció una señal doble de dobles correspondiente al hidrógeno H-11. En 2.27 ppm se observó la señal quintuple del H-14. Los metilos de la estructura se localizaron en 2.07 (3H, s, CH_3 -OAc), 1.21 (3H, s, CH_3 -20), 1.03 (3H, s, CH_3 -19), 1.00 (3H, s, CH_3 -18), 0.98 (3H, d, $J = 7.2$

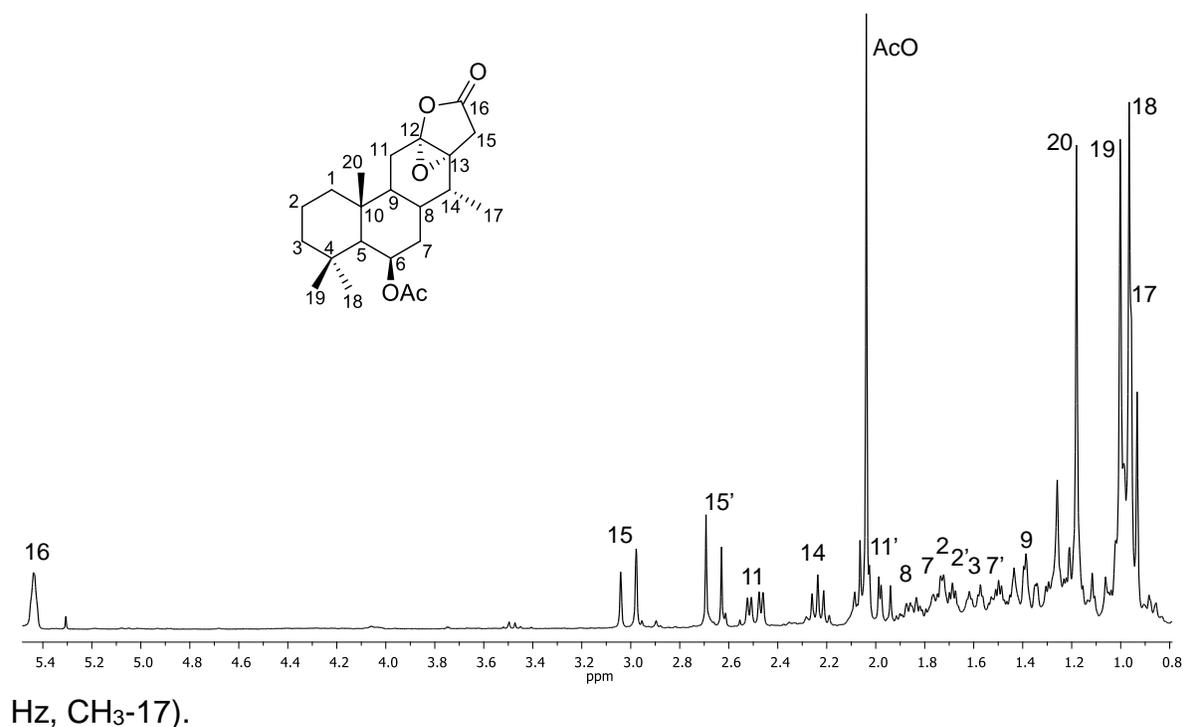


Figura 47. Espectro de RMN de 1H de la epoxilactona **58** a 300 MHz en $CDCl_3$.

En su espectro de RMN de ^{13}C (figura 48) se ubicaron en 173.4 y 170.5 ppm las señales de los carbonilos de la estructura C-16 y AcO, respectivamente. En 90.8 y 64.7 ppm se observaron las señales de los carbonos cuaternarios del epóxido C-12 y C-13, respectivamente. El resto de las señales se encontraron entre 54.7 y 10.8 ppm. Tanto las señales de carbono como de protón fueron asignadas en base a los datos de RMN en dos dimensiones.

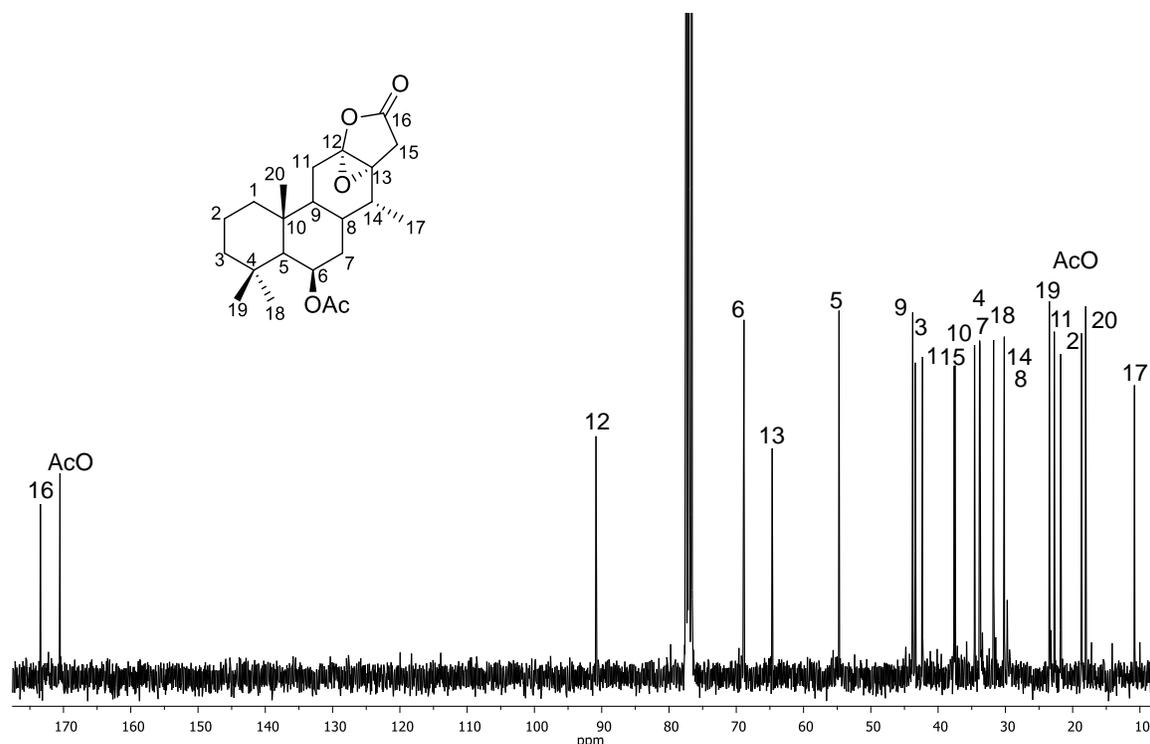


Figura 48. Espectro de RMN de ^{13}C de la epoxilactona **58** a 75 MHz en CDCl_3 .

Con base en los datos de RMN se propuso que la estructura **58**, el cual es un diastereómero de **57**. Esta estructura así como su estereoquímica se confirmó mediante difracción de rayos X (figura 49) en la que se observó la orientación α del oxígeno del epóxido, y en base a estos datos se determinó también la estereoquímica de **57**. No se encontraron reportes en la literatura de **58** por lo que este compuesto también es novedoso.

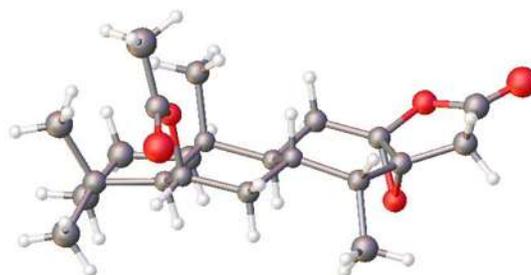
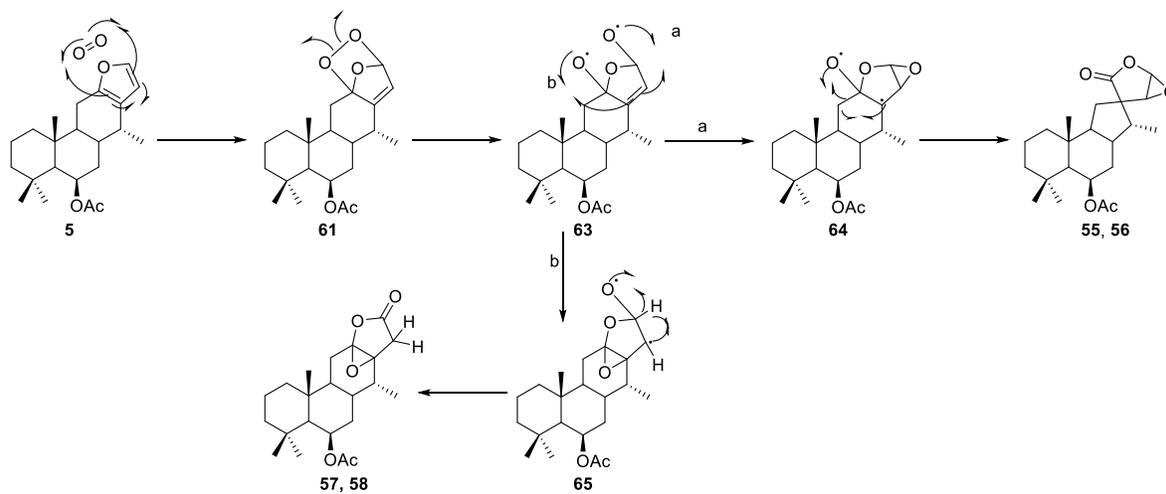


Figura. 49. Diagrama de rayos X de la epoxilactona **58**.

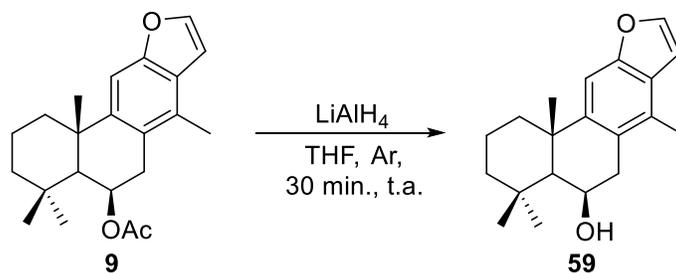
En el mecanismo de reacción propuesto (esquema 21), la primera etapa consiste en la adición [4+2] del oxígeno sobre el anillo de furano, para obtener los correspondientes endoperóxidos **62** (adición por ambas caras del furano), seguida de la ruptura homolítica del enlace O-O para formar el dirradical **63**, el cual puede reaccionar de dos formas. Si se sigue la reacción por la vía a, el doble enlace C-13/C-15 se rompe homolíticamente reaccionando con el radical oxígeno de la posición C-16 para generar el epóxido en C-15/C-16, y generando la estructura dirradicalaria **64** en la cual el enlace C-11/C-12 sufre una ruptura homolítica, reaccionando uno de los electrones con el oxígeno radical para formar el carbonilo, y el otro electrón interacciona con el radical en C-13 para formar el nuevo enlace C-12/C-13; obteniendo de esta manera los compuestos de tipo espiro **55** y **56**. Por otro lado, si la reacción sigue la vía b, el doble enlace se rompe de manera homolítica, reaccionando con el radical oxígeno en C-12 para formar el epóxido C-12/C-13, y un el carbono radical C-15 **65**. En este caso el hidrógeno de la posición C-16 migra como radical hacia C-15 y el radical oxígeno reacciona con el otro electrón del enlace C-H para formar el carbonilo, con lo que se obtienen los diastereómeros **57** y **58**.



Esquema 21. Mecanismo propuesto para la reacción de fotooxidación de **5**.

Oxibenzoilación del benzofurano **9**

Cassanos de tipo vouacapano funcionalizados en las posiciones C-6 y C-7 presentan actividades biológicas interesantes,^{37,65} por lo que se decidió llevar a cabo la funcionalización del benzofurano **9**, aprovechando la funcionalización que presenta naturalmente el vouacapano en la posición C-6 y utilizando organocatalizadores en la reacción. En este caso la primera etapa consistió en la obtención del benzofurano **9** de acuerdo a la metodología descrita.²⁵ Una vez obtenido el compuesto **9** se llevó a cabo la hidrólisis del grupo acetato de la estructura. Para lo cual el benzofurano **9** se trató bajo condiciones de hidrólisis con hidruro de litio y aluminio en THF anhidro, en agitación, bajo atmósfera de argón durante 30 minutos (esquema 22).



Esquema 22. Hidrólisis del benzofurano **9**.

La presencia del 6-hidroxibenzofurano **59** se confirmó mediante el análisis de RMN de ¹H del crudo de la reacción (figura 50) en el cual se observó el desplazamiento del hidrógeno H-6 a frecuencias bajas, encontrándose ahora en 4.80 ppm, siendo en este caso base de hidroxilo.

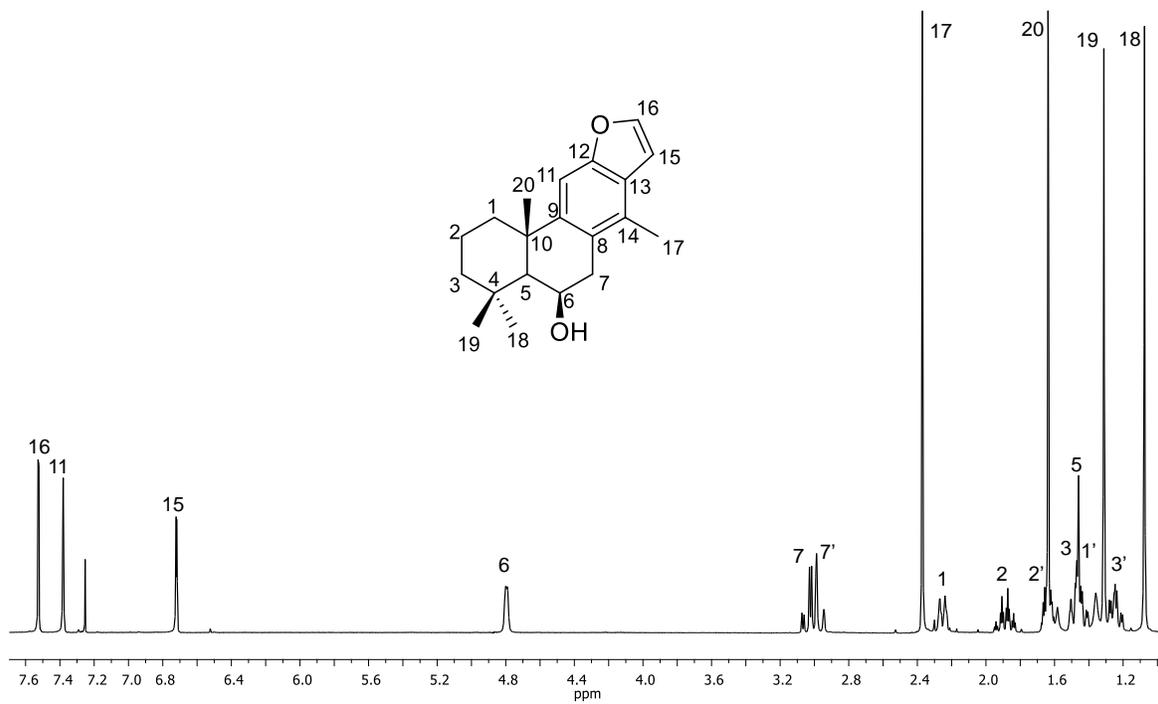
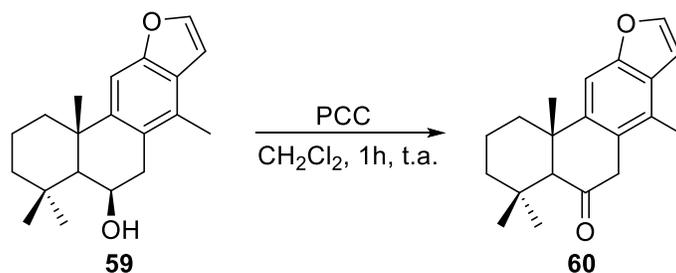


Figura 50. Espectro de RMN de ^1H del hidroxibenzofurano **59** en CDCl_3 a 400 MHz.

La siguiente etapa de reacción consistió en la oxidación de **59** con PCC en CH_2Cl_2 (esquema 23) en agitación a temperatura ambiente durante una hora. El crudo de la reacción se purificó mediante cromatografía en columna, para obtener la cetona **60**.



Esquema 23. Oxidación del hidroxibenzofurano.

La cetona **60** mostró un ion molecular $[M+H]^+$ de 297.1852 m/z , calculado para $C_{20}H_{24}O_2+H$ de 297.1855 por el método. En su espectro de RMN de 1H (figura 51) se observaron las señales de los protones aromáticos en 7.60, 7.40 y 6.77 ppm para H-16, H-11 y H-15, respectivamente. En 3.69 y 3.50 ppm se ubicaron las señales dobles ($J = 21.6$ Hz) del metileno CH_2-7 . En 2.48 ppm se ubicó una señal simple que se asignó el protón H-5, el desplazamiento de esta señal, junto con las del metileno CH_2-7 , así como la ausencia de la base del hidroxilo sugirieron la obtención del producto **60** oxidado en C-6.

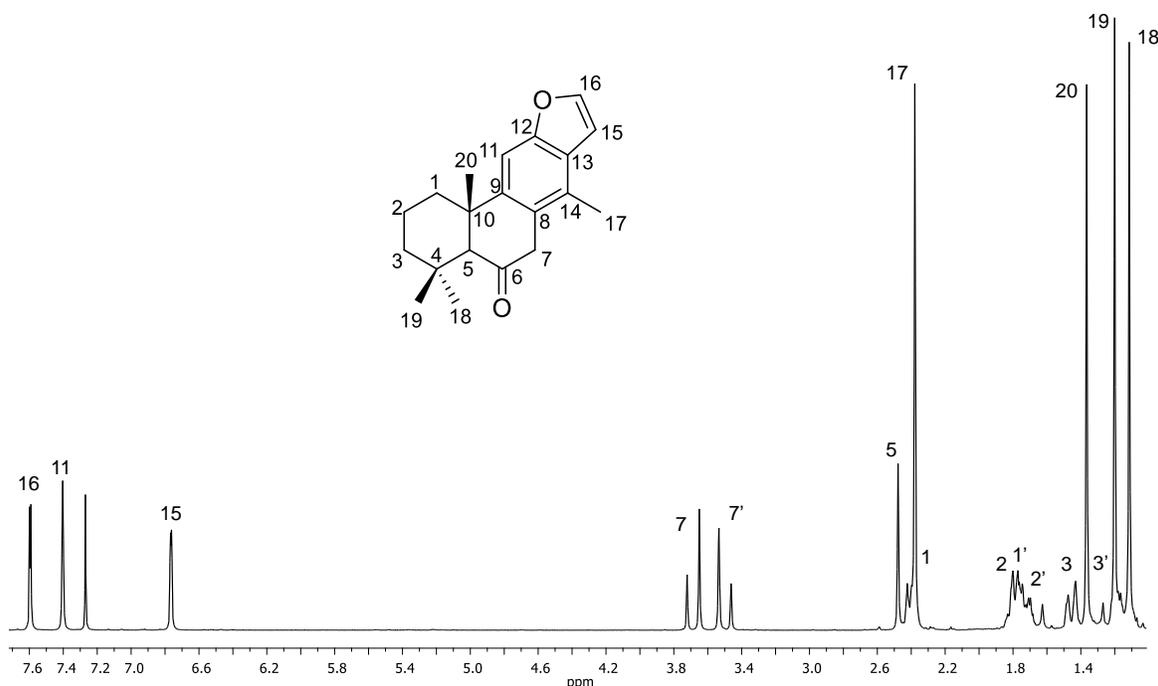


Figura 51. Espectro de RMN de 1H de cetona **60** en $CDCl_3$ a 300 MHz.

Mediante su espectro de RMN de ^{13}C (figura 52) se confirmó la oxidación del hidroxilo en posición 6, ya que se observó una señal para carbonilo de cetona

en 209.7 ppm, que se asignó a C-6. Además se observó el desplazamiento a frecuencia alta de los carbonos C-5 y C-7, que se encontraron en 62.2 y 43.2 ppm, respectivamente.

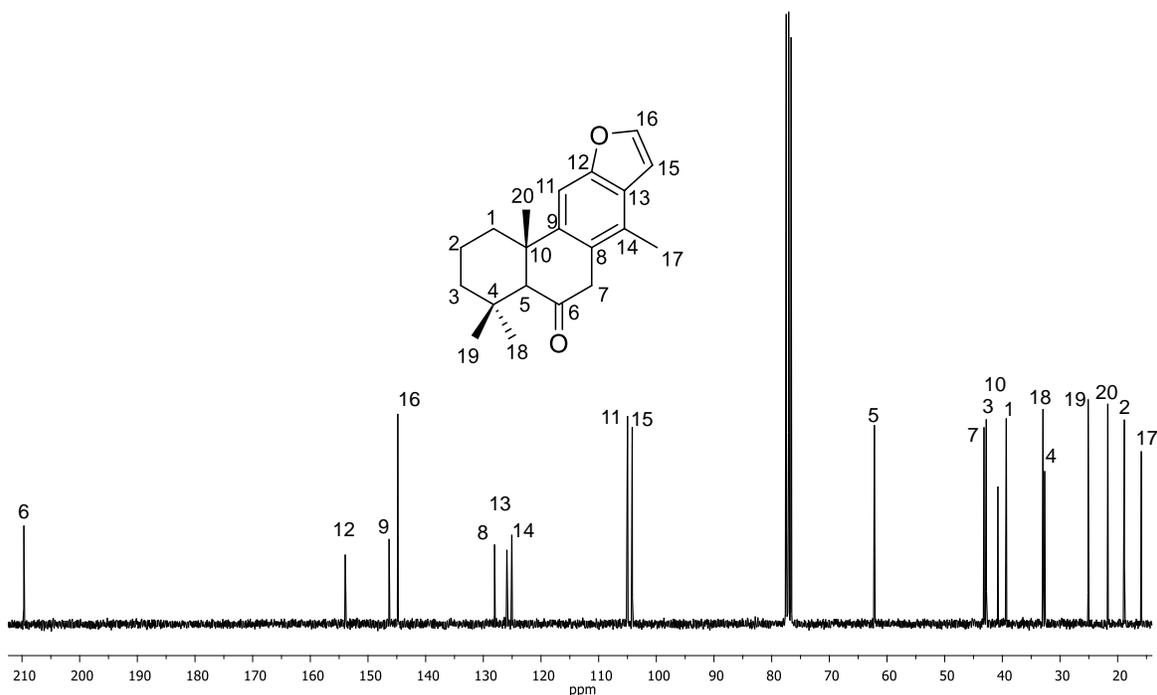
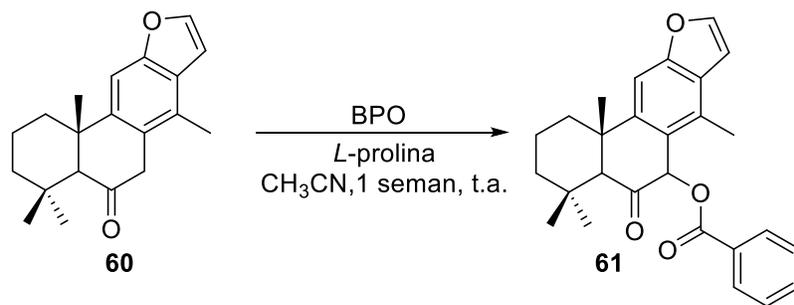


Figura 52. Espectro de RMN de ^{13}C de la cetona **60** en CDCl_3 a 75 MHz.

Una vez confirmada la obtención del compuesto **60**, se llevó a cabo la oxibenzoilación de este compuesto, para lo cual se trató con peróxido de benzoilo, utilizando *L*-prolina como catalizador y 1-(2-(dimetilamino)etil)-3-fenilurea como cocatalizador, en acetonitrilo en agitación a temperatura ambiente (esquema 24). Después de una semana se observó poca reacción y que ya no había avance en ésta, por lo que se extrajo y el crudo se purificó mediante cromatografía en columna, de la cual se recuperó la materia prima **60**, así como el derivado oxibenzoilado **61** en bajo rendimiento.



Esquema 24. Reacción de oxibenzoilación de la cetona **60**.

El compuesto oxibenzoilado en posición C-7 **61** se obtuvo en forma de miel incolora y se confirmó su obtención mediante su espectro de RMN de ^1H (figura 53), en el cual se observaron en 8.04, 7.57 y 7.42 ppm las señales correspondientes a los protones del benzoato. Mientras que las señales aromáticas del vouacapano H-16, H-11 y H-15, se encontraron en 7.62, 7.45 y 6.78 ppm, respectivamente. En 6.29 ppm se ubicó la nueva señal de hidrógeno base de benzoato, asignada al hidrógeno H-7. En 3.24 se encontró la señal del hidrógeno H-5. Los metilos de la estructura se observaron en 2.42, 1.43, 1.27 y 0.89 ppm, CH₃-17, CH₃-20, CH₃-19 y CH₃-18, respectivamente.

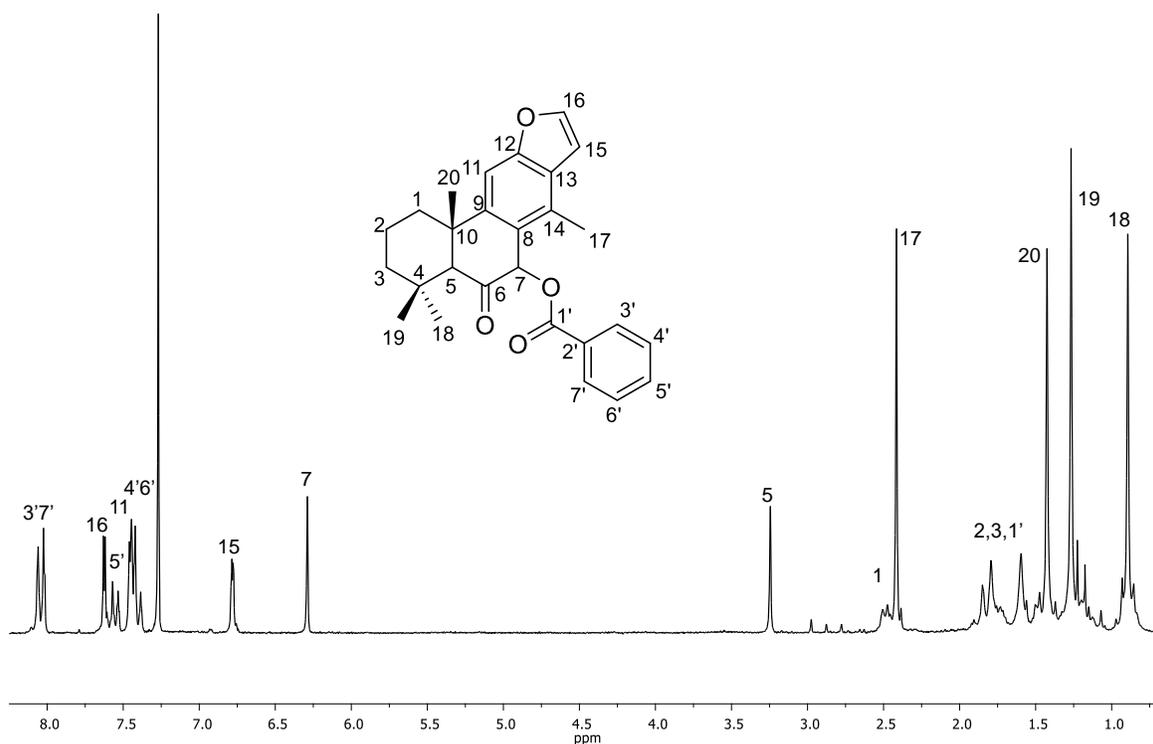


Figura 53. Espectro de RMN de ^1H del benzoato **61** en CDCl_3 a 200 MHz.

Debido al bajo rendimiento obtenido, no fue posible determinar los espectros de RMN de ^{13}C , así como los bidimensionales. Por lo que la estructura se elucidó en base al espectro de RMN de ^1H , mediante el análisis de los desplazamientos químicos y en base también a las integrales de las señales obtenidas. Cabe resaltar que es necesario continuar con este estudio, realizando pruebas de oxidación en la posición C-7 α al carbonilo, utilizando otros agentes oxidantes, así como obtener suficiente cantidad del compuesto **61** para realizar la caracterización espectroscópica completa, así como determinar la configuración del nuevo centro estereogénico generado.

Ensayos de viabilidad

Los diterpenos de tipo cassano han mostrado diversas actividades biológicas destacando la actividad anticancerosa.^{66,67} de las semillas de *Caesalpinia minax* se aislaron 14 diterpenos de tipo cassano, de los cuales los compuestos **66** y **67** mostraron moderada actividad citotóxica en las líneas celulares HepG-2, K562, HeLa, y DU-145,⁶⁴ mientras que los compuestos **68** y **69** presentaron buena actividad citotóxica frente a diferentes líneas celulares.^{68,69}

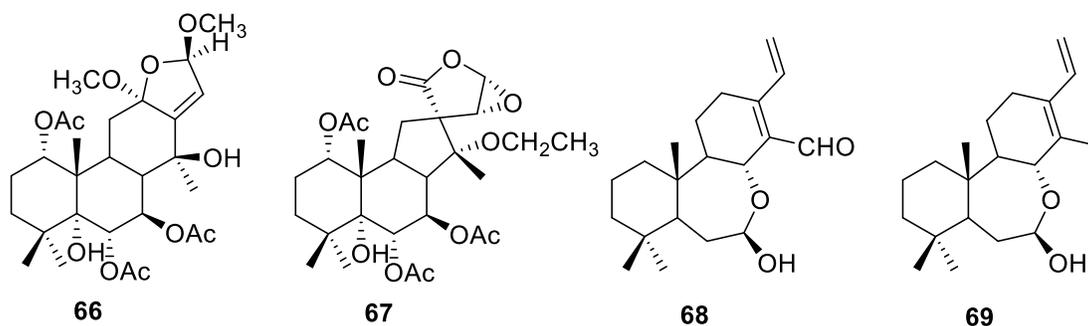


Figura 54. Cassanos citotóxicos.

En base a lo anterior se realizaron pruebas de viabilidad celular del 6 β -acetoxivouacapano (**5**), así como de los derivados semisintéticos **6** y **9**, se utilizó como control positivo una mezcla de los compuestos **68** y **69**, y como controles negativos se utilizaron células tratadas con DMSO al 1% y células sin tratamientos. Las concentraciones utilizadas de los compuestos fueron: 1.5625 μ g/mL, 3.125 μ g/mL, 6.25 μ g/mL, 12.5 μ g/mL, 25 μ g/mL, 50 μ g/mL y 100 μ g/mL.

Células MCF-7

Las células MCF-7 se cultivaron en medio F12-Ham adicionado con 5% de Suero Fetal Bovino y 5% de Suero de Ternera, a 37 °C, en atmósfera de 5% de CO₂, cambiando el medio regularmente para mantener viables las células hasta obtener una confluencia del 80%. Una vez alcanzada la confluencia del 80%, se sembraron en promedio 10000 células por pozo en placa de 96 pozos. Las células

se mantuvieron 24 horas con medio completo para su estabilización, posteriormente se le cambió el medio, adicionando 100 μL de medio incompleto. Después de 24 horas se cambió nuevamente el medio, adicionando en este caso 90 μL de medio y 10 μL de los tratamientos correspondientes. Las células se incubaron por 24 horas a 37 °C, en una atmósfera de 5% de CO_2 . Pasadas las 24 horas de tratamiento, se cambió nuevamente el medio, se adicionaron 10 μL de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT), se incubaron nuevamente a 37 °C durante 4 horas, posteriormente se adicionaron 100 μL de mezcla de isopropanol-HCl 1M (19:1), se dejaron las placas en reposo por 30 minutos y posteriormente se realizó la medida de las absorbencias.

En cuanto a los resultados obtenidos, se determinó que estos los compuestos **5**, **6** y **9** presentaron valores de IC_{50} entre 6 y 14.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$, siendo el más activo el producto natural **5** (grafico 1, tabla 2).

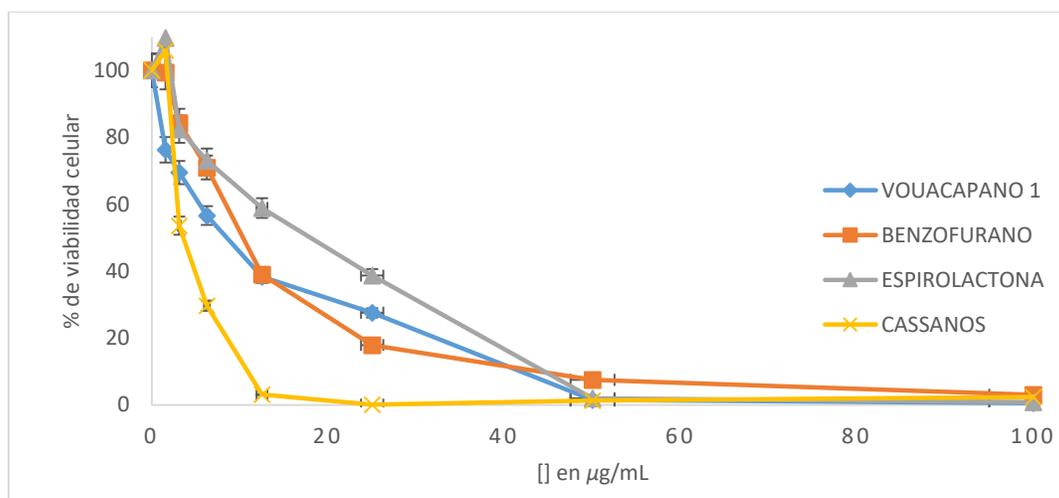


Gráfico 1. Efecto de los diferentes compuestos sobre la línea celular MCF-7.

Tabla 2. Valores de IC₅₀ obtenidos de los ensayos de viabilidad celular para las células MCF-7.

Compuesto	IC ₅₀ en $\mu\text{g/mL}$
6 β -acetoxivouacapano (5)	6.01 \pm 0.45
Espirolactona 6	14.94 \pm 0.49
Benzofurano 9	9.17 \pm 0.89
Mezcla de cassanos 68 y 69	3.27 \pm 0.78

En la figura 55 se pueden observar imágenes de la actividad que presentan estos compuestos en las células a 25 $\mu\text{g/mL}$. Donde para el vouacapano **5** se puede observar la mayoría de las células muertas (figura 55, imagen A), mientras que para la espirolactona (imagen B) y el benzofurano (imagen C) se pueden apreciar todavía células viables.



Figura 55. Actividad citotóxica de los compuestos A) 6 β -acetoxivouacapano (**5**), B) espirolactona **6** y C) benzofurano **9**, a 25 $\mu\text{g/mL}$ en células MCF-7.

Células HL-60

Las células HL-60 se cultivaron en medio RPMI adicionado con 10% de Suero Fetal Bovino, a 37 °C, en atmósfera de 5% de CO₂, cambiando el medio regularmente para mantener viables las células hasta obtener una confluencia del 80 %. Una vez alcanzada la confluencia del 80%, se cambió el medio a las células por RPMI incompleto y se incubaron por 24 horas, posteriormente se sembraron

en promedio 20000 células por pozo en placa de 96 pozos, con 90 μL de medio incompleto fresco y 10 μL de cada tratamiento de los compuestos ensayados. Las células se incubaron por 24 horas a 37 °C, en una atmósfera de 5% de CO_2 . Pasadas las 24 horas de tratamiento, se adicionaron 10 μL de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT), se incubaron nuevamente a 37 °C durante 4 horas, posteriormente se adicionaron 100 μL de mezcla de isopropanol-HCl 1M (19:1), se dejaron las placas en reposo por 30 minutos y posteriormente se realizó la medida de las absorbencias.

De acuerdo a los resultados obtenidos, los valores de IC_{50} se encontraron entre 4 y 18.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (grafico 2, tabla 3), siendo más activo el compuesto natural **5**, el cual además presentó mayor selectividad por las células HL-60. Por otro lado se pudo apreciar que el benzofurano **9** no mostró selectividad por alguna de las líneas celulares ensayadas, mientras que en el caso de la espirolactona **6** mostró selectividad por las células MCF-7.

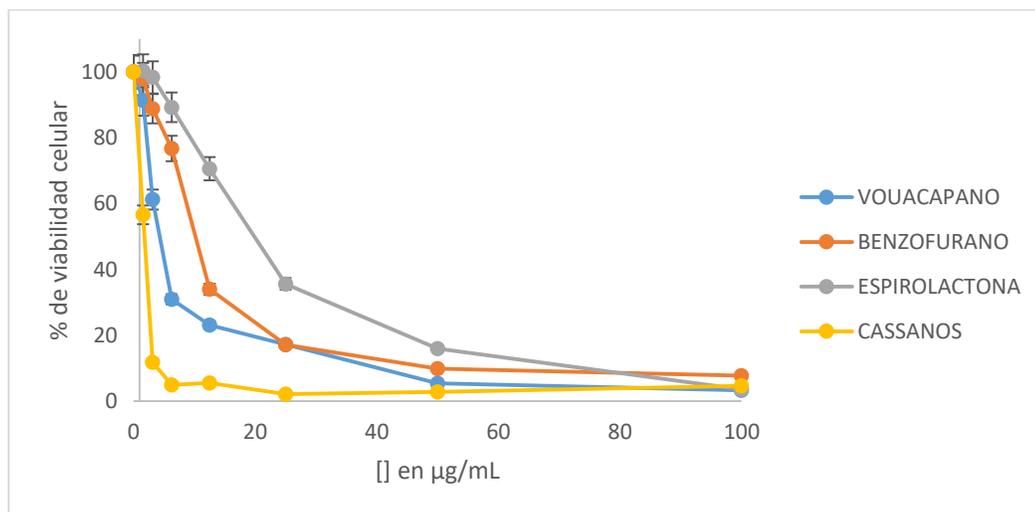


Gráfico 2. Efecto de diferentes cassanos sobre línea celular HL-60.

Tabla 3. Valores de IC₅₀ obtenidos de los ensayos de viabilidad celular para las células HL-60.

Compuesto	IC ₅₀ en $\mu\text{g/mL}$
6 β -acetoxivouacapano (5)	4.04 \pm 0.01
Espirolactona 6	9.67 \pm 0.32
Benzofurano 9	18.79 \pm 0.35
Mezcla de cassanos 68 y 96	1.71 \pm 0.25

En la figura 56 se pueden observar imágenes de la actividad que presentan estos compuestos en las células HL-60 a 25 $\mu\text{g/mL}$. Donde para el vouacapano **5** (figura 56 A) se puede observar restos, mientras que para la espirolactona **6** (figura 56 B) y el benzofurano **9** (figura 56 C) se pueden apreciar todavía células viables.



Figura 56. Actividad citotóxica de los compuestos A) 6 β -acetoxivouacapano (**5**), B) espirolactona **6** y C) benzofurano **9**, a 25 $\mu\text{g/mL}$ en células HL-60.

CONCLUSIONES

Mediante el tratamiento oxidativo del 6 β -acetoxivouacapano (**5**) con DDQ en CH₂Cl₂ o CH₃CN se obtuvieron tres productos, el benzofurano **9** reportado previamente, así como dos nuevos derivados, el dímero **46**, y la lactona **47**.

La adición de agua en la reacción de oxidación del derivado natural **5** con DDQ, lleva a la formación de la lactona **47**, así como un nuevo aldehído **48**.

El tratamiento del 6 β -acetoxivouacapano (**5**) con DDQ en THF/H₂O generó el aldehído **48** como único producto.

Del tratamiento del aldehído **48** con DDQ en CH₂Cl₂/HCl se obtuvo como producto mayoritario el benzofurano **9**, por lo que se propone que **48** es un intermediario en esta reacción.

Los mejores rendimientos en la oxidación con DDQ se obtuvieron utilizando CH₂Cl₂-HCl y THF-H₂O como disolventes de reacción, ya que conducen a la formación de un único derivado en cada una de ellas.

En la reacción de oxidación de **5** con AMCPB se aisló como único producto la lactona **49**.

La reacción de acetilación de la lactona **49**, produjo dos productos principales, el derivado diacetilado **50**, así como la lactona **47**, formada por la deshidratación de **49**.

De la reacción de **5** con CrO₃ se obtuvieron seis compuestos, los dinorcassanos **51** y **52**, la oxoespirolactona **53**, la lactona **47**, la espirolactona **6**, así como la lactona **49**.

En la reacción del vouacapano **5** con K₂Cr₂O₇ a temperatura ambiente, se aislaron tres productos principales, la oxoespirolactona **53**, la espirolactona **6** y la lactona **49**; mientras que con el mismo agente oxidante a temperatura de reflujo se obtuvo la mezcla de las oxoespirolactonas **53** y **54**.

La determinación de la estructura, así como de la configuración relativa del compuesto **54** se realizó llevando a cabo la oxidación de la espirolactona **6** con PCC, la cual produjo como único producto a **54**.

Mediante la fotooxidación del 6β -acetoxivouacapano **5** se obtuvieron cuatro nuevas epoxilactonas **55-58**.

Los mejores rendimientos en la reacción fueron obtenidos utilizando $\text{Ru}(\text{bpy})_3(\text{PF}_6)_2$, en los cuales no hubo variación en cuanto al cambio de agente oxidante.

Este es el primer reporte de fotooxidación en el anillo de furano de un vouacapano.

Las estructuras así como la configuración absoluta de los compuestos **46**, **50**, **55** y **58** se confirmaron mediante difracción de rayos X.

El mayor grado de oxidación en **5** se obtuvo en la reacción con CrO_3 , ya que es en la que se genera el mayor número de productos, y además en esta reacción se llevó a cabo la pérdida de carbonos en la estructura natural **5**.

La funcionalización del benzofurano **9** en la posición C-7 se realizó en cuatro etapas, en las cuales se obtuvieron los nuevos derivados **59** y **60**. Posteriormente, la reacción de oxibenzoilación de la cetona **60** condujo al producto **61**, el cual presenta un benzoato en posición C-7, este compuesto se obtuvo en bajo rendimiento y mucho tiempo de reacción.

Los compuestos **5**, **6** y **9** presentaron moderada actividad frente a células MCF-7 y HL-60, siendo más activo el vouacapano natural **5**.

PERSPECTIVAS

Continuar con los estudios de oxibenzoilación del benzofurano **9**, para obtener cantidad suficiente del derivado **61**, para determinar su configuración absoluta. Realizar las reacciones de oxibenzoilación y aminoxilación del vouacapano **5**.

Determinar la actividad citotóxica de los productos obtenidos en este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Newman, D. J.; Cragg, G. M.; Snader K. M. The influence of natural products upon drug discovery. *Nat. Prod. Rep.*, **2000**, *17*, 215-234.
2. Schmidt, B.; Ribnicky, D. M.; Poulev, A.; Logendra, S.; Cefalu, W. T.; Raskin, I. A natural history of botanical therapeutics. *Metabolism: Clinical and Experimental*. **2008**, *57* (Suppl 1) S3-S9.
3. Sneader W., "Drug Discovery A History" 1ª Edición, Ed. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, Inglaterra, **2005**, pp 12-18.
4. Navarro M. M. C. Los productos naturales en la innovación farmacológica. *Revista de Fitoterapia*, **2005**, *5*, 41-53.
5. Schreiber, S. L. Target-oriented and diversity-oriented organic synthesis in drug discovery. *Science* **2000**, *287*, 1964-1969.
6. Raskin, I.; Ripoll C. Can an apple a day keep the doctor away?. *Curr. Pharm. Design*. **2004**, *10*, 3419-3429.
7. Newman, D. J.; Cragg, G. M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.*, **2012**, *75*, 311-335.
8. Cragg, G. M.; Newman, D. J. Plants as a source of anti-cancer agents. *J. Ethnopharmacol*. **2005**, *100*, 72-79.
9. Butler, M. S.; Robertson A. A. B.; Cooper, M. A. Natural product and natural product derived drugs in clinical trials. *Nat. Prod. Rep*. **2014**, *31*, 1612-1661.
10. Henkel, T.; Brunne, R. M.; Müller, H.; Reichel, F. Statistical investigation into the structural complementarity of natural products and synthetic compounds. *Angew. Chem. Int. Ed*. **1999**, *38*, 643-647.
11. Butler, M. S. Natural products to drugs: natural product-derived compounds in clinical trials. *Nat. Prod. Rep.*, **2008**, *25*, 475-516.
12. Ferlini, C.; Distefano, M.; Pignatelli, F.; Lin, S.; Riva, A.; Bombardelli, E.; Mancuso, S.; Ojima, I.; Scambia, G. Antitumour activity of novel taxanes that act at the same time as cytotoxic agents and P-glycoprotein inhibitors. *Brit. J. Cancer* **2000**, *83*, 1762–1768.
13. Sparreboom, A.; Wolff, A. C.; Verweij, J.; Zabelina, Y.; van Zomeren, D. M.; McIntire, G. L.; Swindell, C. S.; Donehower, R. C.; Baker, S. D. Disposition

- of docosahexaenoic acid-paclitaxel, a novel taxane, in blood: *In vitro* and clinical pharmacokinetic studies. *Clin. Cancer Res.* **2003**, *9*, 151–159.
14. Kuria, K. A. M.; de Coster, S.; Muriuki, G.; Masengo, W.; Kibwage, I.; Hoogmartens, J.; Laekeman, G. M. Antimalarial activity of *Ajuga remota* Benth (Labiateae) and *Caesalpinia volkensii* Harms (Caesalpiniaceae): in vitro confirmation of ethnopharmacological use. *J. Ethnopharmacol.* **2001**, *74*, 141-148.
 15. Ochieng, O. C.; Manguro, A. O. L.; Owuor, O. P.; Akala, H. Voulkensis C–E, new 11-oxocassane-type diterpenoids and a steroid glycoside from *Caesalpinia volkensii* stem bark and their antiplasmodial activities. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 3088-3095.
 16. Ma, G.-X.; Yuan, J.-Q.; Cao, L.; Yang, J.-S.; Xu, X.-D. The new cassane-type diterpenes from *Caesalpinia minax*. *Chem. Pharm. Bull.* **2012**, *60*, 759-763.
 17. Wu, L.; Luo, J.; Zhang, Y.; Wang, X.; Yang, L.; Kong, L. Cassane-type diterpenoids from the seed kernels of *Caesalpinia bonduc*. *Fitoterapia* **2014**, *93*, 201-208.
 18. Kamikawa, S.; Ohta, E.; Ohta, S. Caesaljaponins A and B: New Cassane-Type Furanoditerpenoids from the Seeds of *Caesalpinia decapetala* var. *japonica*. *Helv. Chim. Acta* **2015**, *98*, 336-342.
 19. Zanin J. L. B.; de Carvalho, B. A.; Salles, M. P.; dos Santos, M. H.; Lago, J. H. G.; Sartorelli, P.; Viegas, C.; Soares, M. G. The genus *Caesalpinia* L. (Caesalpiniaceae): Phytochemical and pharmacological characteristics. *Molecules* **2012**, *17*, 7887-7902.
 20. Maurya, R.; Ravi, M.; Singh. S.; Yadav, P. P. A review on cassane and norcassane diterpenes and their pharmacological studies. *Fitoterapia* **2012**, *83*, 272-280.
 21. Wu, H. F.; Zhu, Y. D.; Sun, Z. H.; Yuan, J. Q.; Wei, H.; Zhang, X. P.; Tian, Y.; Yang, J. S.; Ma, G. X.; Xu, X. D. Norcassane- and cassane-type furanoditerpenoids from the seeds of *Caesalpinia sappan*. *Fitoterapia* **2014**, *98*, 22-26.

22. 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**.
23. Álvarez Esquivel. F. E. Estereoquímica y configuración absoluta de diterpenos de género *Caesalpinia*, Tesis de Maestría en Ciencias Químicas presentada en el Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, UMSNH, **2012**.
24. Gómez-Hurtado, M. A.; Álvarez-Esquivel, F. E.; Rodríguez-García, G.; Martínez-Pacheco, M. M.; Espinoza-Madriral, R. M.; Pamatz-Bolaños, T.; Salvador-Hernández, J. L.; García-Gutiérrez, H. A.; Cerda-García-Rojas, C. M., Joseph-Nathan, P.; del Río R. E. Cassane diterpenes from *Caesalpinia platyloba*. *Phytochemistry*, **2013**, *96*, 397-403.
25. Talavera-Alemán A. Estudio del comportamiento químico de diterpenofuranos naturales bajo condiciones de transformación oxidativa, Tesis de Maestría en Ciencias Químicas, presentada en el Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, UMSNH, **2014**.
26. Saba, H.; Haque, I. U. Vinblastine a review. *J. Chem. Soc. Pak.* **2010**, *32*, 245-258.
27. Wall, M. E.; Wani, M. C.; Cook, C. E.; Palmer, K. H.; McPhail, A. T.; Sim, G. A. Plant Antitumor Agents. I. The isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukemia and tumor inhibitor from *Camptotheca acuminata*. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 3888-3890.
28. Sriram, D.; Yogeewari, P.; Thirumurugan, R.; Ratan, T. B. Camptothecin and its analogues: a review on their chemotherapeutic potential *Nat. Prod. Res.*, **2005**, *19*, 393-412.
29. Clements, M. K.; Jones, C. B.; Cumming, M.; Daoud S. S. Antiangiogenic potential of camptothecin and topotecan. *Cancer Chemother Pharmacol.* **1999**, *44*, 411-416.
30. Masuda, N.; Fukuoka, M.; Kusunoki, Y.; Matsui, K.; Takifuji, N.; Kudoh, S.; Negoro, S.; Nishioka, M.; Nakagawa, K.; Takada, M. CPT-11: a new

- derivative of camptothecin for the treatment of refractory or relapsed small-cell lung cancer *J. Clin. Oncol.* **1992**, *10*, 1225-1229.
31. Bleiberg, H.; CPT-11 in gastrointestinal cancer. *Eur. J. Cancer.* **1999**, *35*, 371-379.
32. Rubinger, M. M. M.; Veloso D. P.; Stefani G. M.; Synthesis of 6 α ,7 β -dihydroxyvouacapan-17 β -oic acid derivatives. Parte I: Hydroxamic acid and amide derivatives. *J. Braz. Chem. Soc.*, **1991**, *2*, 124-128.
33. Maltha, C. R. A.; Stefani, G. M.; Piló-Veloso, D. The synthesis of 6 α ,7 β -dihydroxyvouacapan-17 β -oic acid derivatives. Part II: Carbamate and amine derivatives. *J. Braz. Chem. Soc.*, **1995**, *6*, 357-360.
34. Maltha, C. R. A.; Stefani, G. M.; Piló-Veloso, D.; Ferreira-Alves, D. L. Synthesis of 6 α ,7 β -dihydroxyvouacapan-17 β -oic acid derivatives. Part III: Synthesis, ¹H- and ¹³C-nmr of amide derivatives. *J. Braz. Chem. Soc.*, **1997**, *8*, 203-209.
35. Belinelo, V. J.; Reis, G. T.; Stefani, G. M.; Ferreira-Alves, D. L.; Piló-Veloso, D. Synthesis of 6 α ,7 β -dihydroxyvouacapan-17 β -oic acid derivatives. Part IV: Mannich base derivatives and its activities on the electrically stimulated Guinea-pig ileum preparation *J. Braz. Chem. Soc.*, **2002**, *13*, 830-837.
36. Erharuyi, O.; Adhikari, A.; Falodun, A.; Imad R.; Choudhary, M. I.; Derivatization of cassane diterpenoids from *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw. and evaluation of their cytotoxic and leishmanicidal activities. *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 2201-2206.
37. Matsuno, Y.; Deguchi, J.; Hirasawa, Y.; Ohyama, K.; Toyoda, H.; Hirobe, C.; Ekasari, W.; Widyawaruyanti, A.; Cholies, Z. N.; Morita, H. Sucutiniranes A and B, new cassane-type diterpenes from *Bowdichia nitida*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, *18*, 3774-3777.
38. Margaros, I.; Vassilikogiannakis, G. Synthesis of (+)-Zerumin B using a regioselective singlet oxygen furan oxidation. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 2021-2023.

39. Montagnon, T.; Tofi, M.; Vassilikogiannakis, G. Using singlet oxygen to synthesize polyoxygenated natural products from furans. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1001-1011.
40. Noutsias, D.; Kouridaki, A.; Vassilikogiannakis, G. Scope and limitations of the photooxidations of 2-(α -hydroxyalkyl)furans: synthesis of 2-hydroxy-exo-brevicomine. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 1166-1169.
41. Badovskaya, L. A.; Povarova, L. V. Oxidation of furans (review). *Chem. Heterocycl. Comp.* **2009**, *45*, 1023-1034.
42. Feringa, B. L. Photo-oxidation of furans *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, **1987**, *106*, 469-488.
43. Imamura, P. M.; Costa, M. Synthesis of 16,18-dihydroxycyclohexa-3,13Z-dien-16,15-olide, (+)-16-hydroxycyclohexa-3,13Z-dien-16,15-olide, and (-)-hydroxyhalima-5(10),13-dien-16,15-olide from (+)-hardwickiic acid. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 1623-1625.
44. Hayashi, Y.; Yamaguchi, J.; Hibino, K.; Shoji, M. Direct proline catalyzed asymmetric α -aminoxylation of aldehydes. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 8293-8296.
45. Brown, S. P.; Brochu, M. P.; Sinz, C. J.; MacMillan, D. W. C. The direct and enantioselective organocatalytic α -oxidation of aldehydes. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 10808-10809.
46. Zhong, G. A facile and rapid route to highly enantiopure 1,2-diols by novel catalytic asymmetric α -aminoxylation of aldehydes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4247-4250.
47. Ahrendt, K. A.; Borths, C. J.; MacMillan, D. W. C. New strategies for organic catalysis: The first highly enantioselective organocatalytic Diels-Alder reaction. *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 4243-4244.
48. Chowdari, N. S.; Barbas, C. F. Total synthesis of LFA-1 antagonist BIRT-377 via organocatalytic asymmetric construction of a quaternary stereocenter. *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 867-870.

49. Suri, J. T.; Steiner, D. D.; Barbas, C. F. Organocatalytic enantioselective synthesis of metabotropic glutamate receptor ligands. *Org. Lett.*, **2005**, *7*, 3885-3888.
50. Mukherjee, S.; Yang, J. W.; Hoffmann, S.; List, B. Asymmetric enamine catalysis. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5471-5569.
51. Colin, O.; Hermange, P.; Thomassigny, C.; Greck, C. Synthesis of chiral 1,2,3-triols via organocatalyzed α -hydroxylation of protected β -hydroxyaldehydes. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 1085-1088.
52. Hermange, P.; Portalier, F.; Thomassigny, C.; Greck, C. Practical one-pot sequence for the asymmetric synthesis of 1,2 diols from primary alcohols. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 1052-1055.
53. Yadav, P. P.; Maurya, R.; Sarkar, J.; Arora, A.; Kanojiya, S.; Sinha, S.; Srivastava, M. N.; Raghur, R. Cassane diterpenes from *Caesalpinia bonduc*. *Phytochemistry* **2009**, *70*, 256-261.
54. Kitagawa, I.; Simanjuntak, P.; Watano, T.; Shibuya, H.; Fujii, S.; Yamagata, Y.; Kobayashi, M. Indonesian medicinal plants. XI. Chemical structures of caesaldekarins a and b, two new cassane-type furanoditerpenes from the roots of *Caesalpinia major* (Fabaceae). *Chem. Pharm. Bull.* **1994**, *42*, 1798-1802.
55. Cheenpracha, S.; Karalai, C.; Ponglimanont, C.; Chantrapomma, K.; Laphookhieo, S. Cassane-type diterpenes from the seeds of *Caesalpinia crista*. *Helv. Chim. Acta* **2006**, *89*, 1062-1066.
56. Kinoshita, T.; Haga, Y.; Narimatsu, S.; Shimada, M.; Goda, Y. The isolation and structure elucidation of new cassane diterpene-acids from *Caesalpinia crista* L. (Fabaceae), and review on the nomenclature of some *Caesalpinia* Species. *Chem. Pharm. Bull.* **2005**, *53*, 717-720.
57. Pranithanchai, W.; Karalai, C.; Ponglimanont, C.; Subhadhirasakul, S.; Chantrapomma, K. Cassane diterpenoids from the stem of *Caesalpinia pulcherrima*. *Phytochemistry*, **2009**, *70*, 300-304.

58. Kinoshita, T. Chemical studies on the philippine crude drug calumbibit (seeds of *Caesalpinia bonduca*): the isolation of new cassane diterpenes fused with α,β -butenolide. *Chem. Pharm. Bull.* **2000**, *48*, 1375-1377.
59. Yin, Y.; Ma, L.; Hu, L.-H. Cassane-type diterpenoids from the seeds of *Caesalpinia magnifoliolata*. *Helv. Chim. Acta* **2008**, *91*, 972-977.
60. Joseph-Nathan, P; Gutiérrez, A; Hernández, J. D.; Román, L. U.; Santillan, R. L. ^{13}C -nmr Studies of cedranolides. *J. Nat. Prod.* **1986**, *49*, 79-89.
61. Seger, C; Sturm, S; Mair, M. E.; Ellmerer, E. P.; Stuppner, H.) ^1H and ^{13}C NMR signal assignment of cucurbitacin derivatives from *Citrullus colocynthis* (L.) Schrader and *Ecballium elaterium* L. (Cucurbitaceae). *Magn. Reson. Chem.* **2005**, *43*, 489-491.
62. Jiang, R.-W.; Ma, S.-C.; But, P. P. H.; Mak, T. C. W. Isolation and characterization of spirocaesalmin, a novel rearranged vouacapane diterpenoid from *Caesalpinia minax* Hance. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2001**, 2920-2923.
63. Mitsui, T.; Ishihara, R.; Hayashi, K.; Matsuura, N.; Akashi, H.; Nozaki, H. Cassane-type diterpenoids from *Caesalpinia echinata* (Leguminosae) and their NF- κ B signaling inhibition activities. *Phytochemistry* **2015**, *116*, 349-358.
64. Zheng, Y.; Zhang, S.-W.; Cong, H.-J.; Huang, Y.-J.; Xuan J.-L. Caesalminaxins A-L, cassane diterpenoids from the seeds of *Caesalpinia minax*. *J. Nat. Prod.* **2013**, *76*, 2210-2218.
65. Deguchi, J.; Horiguchi, K.; Wong, C. P.; Hosoya, T.; Iihoshi, A.; Kaneda, T.; Morita, H. Sucutinirane-diterpene derivatives induce apoptosis via oxidative stress in HL-60 cells. *J. Nat. Med.* **2014**, *68*, 723-729.
66. Tian, Q.-J.; Ou, Y.-H.; He, X.-B.; He, B.-L.; Jiang, Y.-D. One new antitumour cassane-type diterpene from *Caesalpinia crista*. *Nat. Prod. Res.*, **2013**, *27*, 537-540.
67. Ma, G.-X.; Yuan, J.-Q.; Cao, L.; Yang, J.-S.; Xu, X.-D. Two new diterpenes from *Caesalpinia minax* Hance. *Nat. Prod. Res.*, **2013**, *27*, 818-823.

68. Manríquez-Torres, J. J.; Torres-Valencia, J. M.; Gómez-Hurtado, M. A.; Motilva, V.; García-Mauriño, S.; Ávila, J.; Talero, E.; Cerda-García-Rojas, C. M.; Joseph-Nathan, P. Absolute configuration of 7,8- seco-7,8-oxacassane diterpenoids from *Acacia schaffneri*. *J. Nat. Prod.* **2011**, *74*, 1946-1951.
69. Torres-Valencia, J. M.; Motilva, V.; Manríquez-Torres, J. J.; García-Mauriño, S.; López-Lázaro, M.; Zbakh, H.; Calderón-Montaña, J. M.; Gómez-Hurtado, M. A.; Gayosso-De-Lucio, J. A.; Cerda-García-Rojas, C. M.; Joseph-Nathan, P. Antiproliferative activity of seco-oxacassanes from *Acacia schaffneri*. *Nat. Prod. Commun.* **2015**, *10*, 853-856.