



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN  
NICOLÁS DE HIDALGO**



**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO BIOLÓGICAS  
MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS**

**ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO QUÍMICO DE DITERPENFURANOS  
NATURALES BAJO CONDICIONES DE TRANSFORMACIÓN OXIDATIVA**

## **TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICAS  
PRESENTA**

**Q.F.B. ARMANDO TALAVERA ALEMÁN  
ASESORES**

**Doctora en Ciencias Químicas**

**ROSA ELVA NORMA DEL RÍO TORRES:  
Doctor en Química**

**D.Q. MARIO ARMANDO GÓMEZ HURTADO:**

Morelia, Michoacán

Agosto 2014.

## *DEDICATORIA*

*A mi familia, Martín Talavera y Venancia Alemán; a Ramón, Angeles, Julio, Berenice, Jorge, Guadalupe, Ismael, Noemi, Maribel, Maricela, Martín y Sergio, gracias por aguantarme en el día a día y por apoyarme en todos mis planes, sin ustedes esto no sería posible... los quiero mucho.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Al IIQB-UMSNH por las instalaciones y material necesarios para la realización del trabajo experimental.

A mis sinodales D.C. Juan Diego Hernández Hernández, D.C. Hugo Alejandro García Gutiérrez y a la D.Q. Gabriela Rodríguez García por sus aportaciones a esta tesis.

A los doctores Pedro Joseph Nathan y Carlos Martín Cerda García Rojas del Departamento de Química del CINVESTAV-IPN por su ayuda en la realización de este trabajo.

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

A la D.C. Yliana López Castro y al M.C. Juan Pablo García Merinos, por la obtención de los espectros de IR.

Al M.C. Gerardo Morán López y al Q.F.B. Isaías Tapia Quintero por su ayuda en las técnicas de laboratorio.

A la Q.F.B. Verónica Reyes Olivares del departamento de química del CINVESTAV-IPN, por las determinación de rotación óptica.

A la Q.F.B. Nadia Azucena Pérez Rojas del departamento de química de CINVESTAV-IPN por la obtención de los espectros de masa.

A mis compañeros y amigos de la M.C.Q. Alejandro, Andrés, Josue, Julio y Lireni, gracias por su amistad, apoyo, y por los momentos compartidos durante estos años, que han sido una parte importante de mi formación.

A mis compañeros del laboratorio, Yunuen, Gabi, Lorena, Araceli, Lucero, Jessica, ceci, tere, Iroel, David, saúl, Martín, Hector, Julio, Angel un sincero agradecimiento por hacer más ameno el trabajo con esos ratos de desestrés...

A Fany y Edna, muchas gracias por su amistad y apoyo, y sobre todo gracias por esos momentos inolvidables.

A Anayeli y Naborina, gracias por hacerme parte de su familia, por apoyarme en todo...

Y a todas las personas que han formado parte importante en mi vida y en mi formación...

A mis asesores:

Al D.Q. Mario Armando Gómez Hurtado, por su enseñanza y ayuda en la realización de este trabajo, pero sobre todo gracias por la confianza brindada.

A la D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres, gracias por todas sus enseñanzas, tanto de trabajo como de la vida diaria, y gracias por todos los momentos vividos, que también fueron una parte importante para realizar este trabajo.

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Química de Productos Naturales de Instituto de Investigaciones Químico biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la dirección de la D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres y el D.Q. Mario Armando Gómez Hurtado, con una beca otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) con número de registro 279091. Con apoyo económico de los proyectos CECTI convocatoria 2014 de apoyo a proyectos de investigación y acciones para la consolidación de cuerpos académicos y formación de grupos colegiados, CIC-UMSNH y PROMEP UMSNH-PTC-332.

# ÍNDICE

|  |    |
|--|----|
| SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS.....                          | I  |
| RESUMEN .....  | IV |
| ABSTRACT .....   | V  |
| INTRODUCCIÓN .....   | 1  |
| ANTECEDENTES .....   | 3  |
| JUSTIFICACIÓN .....  | 13 |
| OBJETIVOS .....  | 14 |
| METODOLOGÍA.....   | 15 |
| DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....                                    | 17 |
| OBTENCIÓN DE MATERIAS PRIMAS .....                               | 17 |
| Obtención del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (1) .....             | 17 |
| Obtención del ácido hardwíckiico (2) .....                       | 19 |
| OXIDACIÓN DEL 6 $\beta$ -ACETOXIVOUACAPANO (1) CON AMCPB .....   | 21 |
| Método A .....   | 21 |
| Método B .....   | 40 |
| Método C .....   | 50 |
| OXIDACIÓN DEL 6 $\beta$ -ACETOXIVOUACAPANO (1) CON DDQ.....      | 58 |
| TRATAMIENTO OXIDATIVO DEL ÁCIDO HARDWICKIICO (2) CON AMCPB ....  | 59 |
| CONCLUSIONES.....  | 67 |
| PARTE EXPERIMENTAL.....  | 69 |
| Obtención del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (1) .....             | 69 |
| Obtención del ácido hardwíckiico (2) .....                       | 70 |
| Tratamiento del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (1) con AMCPB ..... | 71 |
| Método A.....  | 71 |
| Cromatografía de la reacción .....                               | 71 |
| Benzofurano <b>51</b> .....                                      | 72 |
| Espirolactona <b>52</b> .....                                    | 72 |
| Método B.....  | 74 |
| Cromatografía de la reacción .....                               | 74 |
| 11,12- <i>seco</i> -cassano <b>53</b> .....                      | 74 |
| Espirolactona <b>52</b> .....                                    | 75 |

|  |    |
|--|----|
| Método C.....  | 76 |
| Cromatografía de la reacción.....                                      | 76 |
| Benzofurano <b>51</b> .....  | 76 |
| Lactona <b>54</b> .....  | 76 |
| Espiro lactona <b>52</b> .....   | 77 |
| Tratamiento del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano ( <b>1</b> ) con DDQ..... | 77 |
| Cromatografía de la reacción.....                                      | 77 |
| Benzofurano <b>51</b> .....  | 77 |
| Tratamiento del Ácido hardwickiico ( <b>2</b> ) con AMCPB.....         | 78 |
| Cromatografía de la reacción.....                                      | 78 |
| Ácido patagónico ( <b>55</b> ).....                                    | 78 |
| BIBLIOGRAFÍA.....  | 79 |

## SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

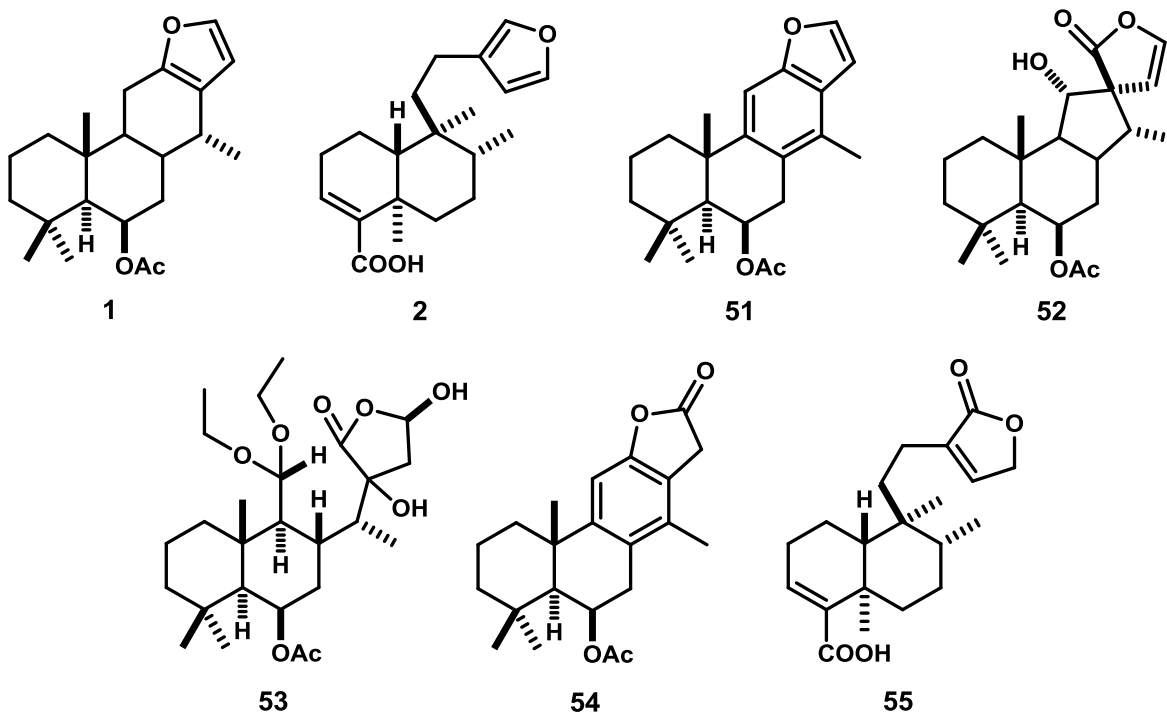
|                  |   |
|------------------|---|
| AcOEt            | Acetato de etilo                                    |
| AM               | Azul de metileno                                    |
| AMCPB            | Ácido <i>meta</i> -cloroperbenzoico                 |
| APT              | Attached Proton Test                                |
| °C               | Grados Celcius                                      |
| cm               | centímetro  |
| COLO20           | Colon adenocarcinoma cell line                      |
| COSY             | Correlation Spectroscopy                            |
| $\delta$         | Desplazamiento químico                              |
| d                | Doble   |
| da               | Doble ancha   |
| dc               | Doble de cuádruples                                 |
| dd               | Doble de dobles                                     |
| ddd              | Doble de dobles de dobles                           |
| dddd             | Doble de dobles de dobles de dobles                 |
| DDQ              | 2,3-Dicloro-5,6-diciano- <i>p</i> -benzoquinona     |
| DEPT             | Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer |
| DIPEA            | Diisopropiletilamina                                |
| DMF              | N,N-dimetilformamida                                |
| DPPH             | 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl                        |
| dt               | Doble de triples                                    |
| DU-145           | Human Prostate Carcinoma cell line                  |
| D <sub>2</sub> O | Agua deuterada                                      |
| Eq               | Equivalente químico                                 |
| EtOH             | Etanol  |
| g                | Gramo   |

|                  |  |
|------------------|--|
| h                | Hora   |
| HepG-2           | Human liver hepatocellular carcinoma cell line |
| HETCOR           | Heteronuclear Correlation Spectroscopy         |
| HMBC             | Heteronuclear Multiple Bond Correlation        |
| Hz               | Hertz  |
| IR               | Infrarrojo                                     |
| <i>J</i>         | Constante de acoplamiento                      |
| kg               | Kilogramo                                      |
| μM               | Micromolar                                     |
| m                | Múltiple                                       |
| MCF-7            | Human breast adenocarcinoma cell line          |
| <i>m</i> CPBA    | <i>meta</i> -cloroperbenzoic acid              |
| MeOH             | Metanol  |
| mg               | miligramo                                      |
| MHz              | Mega Hertz                                     |
| min              | Minutos  |
| mL               | Mililitro                                      |
| MPP <sup>+</sup> | catión 1-metil-4-fenilpiridinio                |
| N                | Concentración normal                           |
| NGF              | Nerve Growth Factor                            |
| NOESY            | Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy         |
| Py               | Piridina                                       |
| ppm              | Partes por millón                              |
| RMN              | Resonancia Magnética Nuclear                   |
| RB               | Rosa de Bengala                                |
| s                | Simple   |
| sa               | Simple ancha                                   |
| t                | Triple   |

|        |  |
|--------|--|
| $\tau$ | Tiempo de evolución  |
| TA     | Temperatura ambiente   |
| TAACF  | Tuberculosis Antimicrobial Acquisition and Coordinating Facility |
| td     | Triple de dobles   |
| THF    | Tetrahidrofurano   |
| TMS    | Tetrametilsilano   |
| UMSNH  | Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo                 |
| UV     | Ultravioleta   |

## RESUMEN

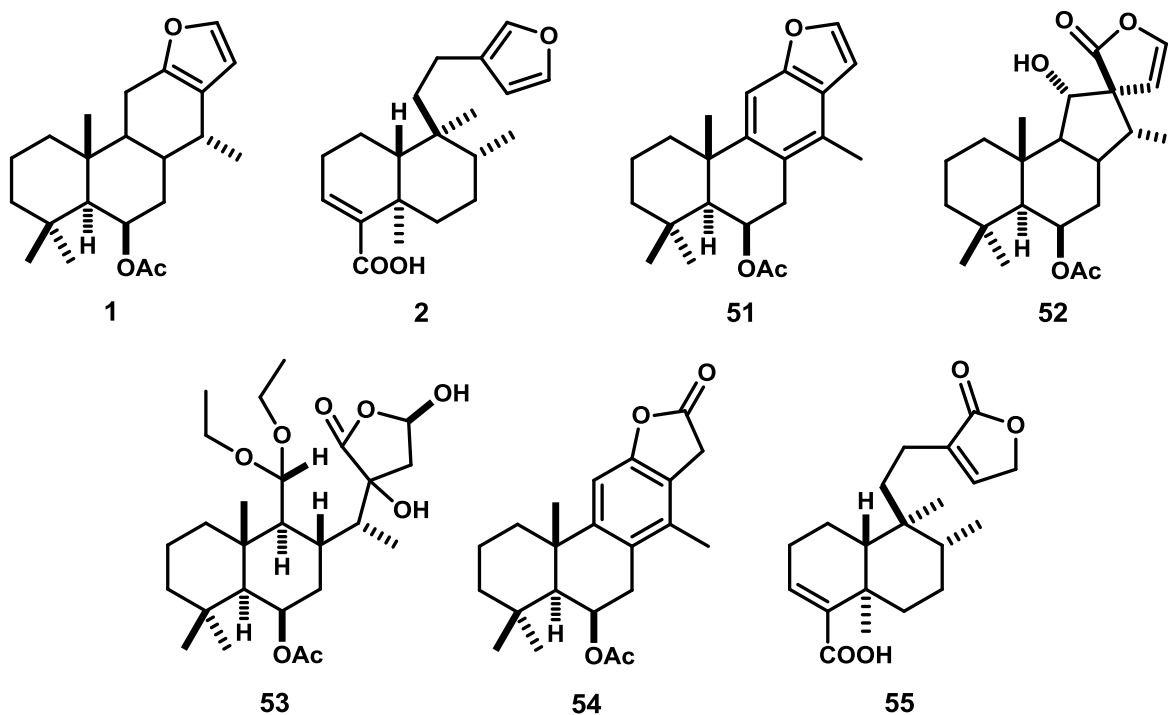
Los derivados oxidados de los diterpenofuranos de tipo clerodano y cassano obtenidos de fuentes naturales, presentan actividades biológicas interesantes, destacando actividad citotóxica, antiplasmódica, antiinflamatoria, analgésica, antiviral, antimicrobiana, actividad sobre el sistema nervioso central y antialimentaria en insectos. En estudios previos reportamos el aislamiento del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**), de *Caesalpinia platyloba*, así como del ácido hardwickiico (**2**), de *Chromolaena pulchella*. En el presente trabajo se describe el estudio de la reactividad de los diterpenofuranos **1** y **2**, bajo diferentes condiciones de oxidación, lo que condujo a la obtención de los derivados **51-54**, a partir del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**), y la lactona **55** del ácido hardwickiico (**2**). Los derivados **52-54** corresponden a estructuras nuevas. Todos los derivados obtenidos fueron caracterizados mediante sus datos de físicos y espectroscópicos.



**Palabras clave:** clerodano, cassano, diterpeno, furano, oxidación.

## ABSTRACT

The oxidized furanoditerpenes, clerodane and cassane derivatives isolated from natural sources exhibit interesting biological activities as cytotoxic, antiplasmodial, antiinflammatory, analgesic, antiviral, antimicrobial, activity on the central nervous system, and antifeedant. In previous studies we reported the isolation of 6 $\beta$ -acetoxivouacapane (**1**) from *Caesalpinia platyloba* and hardwickiic acid (**2**) from *Chromolaena pulchella*. The present work describes the chemical reactivity of furanoditerpenes **1** and **2** under different oxidizing conditions, which lead the obtention of **51-54** from 6 $\beta$ -acetoxivouacapane (**1**) and **55** from hardwickiic acid (**2**). The derivatives **52-54** correspond to new structures. The chemical structures were established by its physical and spectroscopical data.



**Keywords:** clerodane, cassane, diterpene, furan, oxidation.

## INTRODUCCIÓN

La cura de las enfermedades ha sido siempre un reto para el hombre, por ello con las grandes civilizaciones surgieron también los primeros agentes terapéuticos, obtenidos principalmente de productos naturales, específicamente de las plantas.<sup>1,2</sup> Con los avances científicos, la humanidad adquirió nuevos conocimientos en la medicina y la química, introduciéndose los primeros productos de síntesis orgánica a principios del siglo XIX,<sup>3,4</sup> así, en la actualidad las principales fuentes de fármacos siguen siendo la síntesis y los productos naturales.<sup>5</sup> En el periodo de 1981-2010, se introdujeron al mercado 1035 fármacos nuevos, de los cuales el 63% eran productos naturales, derivados semisintéticos o miméticos de éstos.<sup>6</sup>

Una de las características de los productos naturales es su gran complejidad, ya que pueden presentar múltiples centros quirales, sustituyentes heterocíclicos y/o estructuras policíclicas, lo que es muy difícil conseguir mediante la síntesis orgánica de manera selectiva. En los compuestos naturales heterocíclicos destacan aquellos que tienen en su estructura al anillo de furano, así como derivados de éste, ya que se les han atribuido variadas propiedades biológicas. Un claro ejemplo de estos compuestos es el **cacalol** (figura 1), aislado de *Cacalia decomposita*, y *C. delphyniifolia*,<sup>7,8</sup> el cual presentó actividad antioxidante al tratar con la prueba de peroxidación lipídica en cerebro de rata.<sup>9</sup> Por otro lado, en estudios recientes se demostró que este compuesto presenta buena actividad antiproliferativa de células de cáncer de mama ya que induce la apoptosis.<sup>10</sup> Posteriormente, se probó su actividad antioxidante a escala de laboratorio, al reaccionar frente al 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), obteniéndose un derivado heterodímero conocido como **adenostina A**.<sup>11</sup> Además de los sesquiterpenofuranos también se han aislado de forma natural furanos diterpénicos como el **(+)-zerumin B** (figura 1) un diterpeno de tipo labdano, aislado de la fracción clorofórmica del extracto de metanol de las semillas de *Alpinia zerumbet*, cabe resaltar que este compuesto presentó una potente actividad citotóxica contra células de cáncer de mama (MCF-7).<sup>12,13</sup>

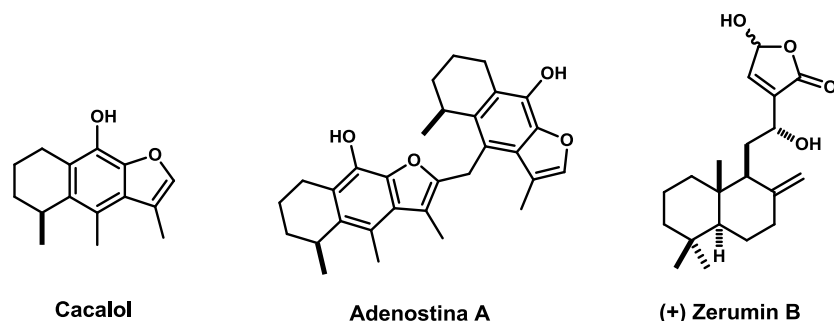


Figura 1. Derivados del furano aislados de fuentes naturales.

Dentro de los derivados del furano producidos por las plantas, se encuentran los diterpenos de tipo clerodano y los cassanos. En un estudio químico previo, del extracto hexánico de las flores de *Chromolaena pulchella* se aisló el ácido hardwickiico (**2**),<sup>14</sup> (figura 2) ensayos *in vivo* de este extracto arrojaron resultados significativos de actividad antiinflamatoria y de prevención de daño de colon frente a cuadros de colitis aguda.<sup>15</sup> Es de interés resaltar que a mediados de la primera década del siglo XXI fue expuesta la estrecha relación entre las sustancias antiinflamatorias y anticancerosas.<sup>16,17</sup> Por otro lado, del extracto hexánico de diferentes partes de *Caesalpinia platyloba* y *C. coriaria* se aisló el 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**) (figura 2) que mostró actividad citotóxica contra la línea inmortalizada de células de cáncer de próstata DU-145 sin respuesta a estrógenos.<sup>18</sup> Recientemente se estableció la configuración absoluta del cassano **1** mediante correlación química, Dicroísmo Circular Vibracional y rayos X.<sup>19,20</sup> Por lo que, en el presente trabajo se estudió la reactividad de los diterpenofuranos naturales **1** y **2**, frente a agentes oxidantes.

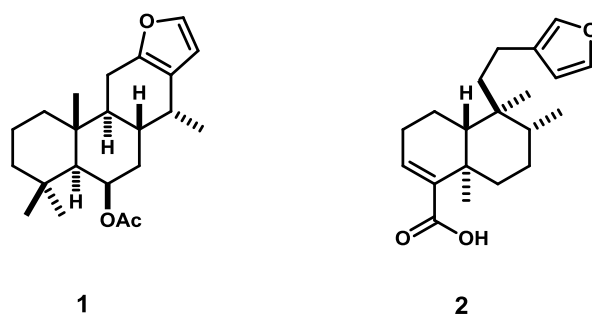


Figura 2. Diterpenofuranos: 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**) y ácido hardwickiico (**2**).

## 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 de actividad biológica se pueden aislar y caracterizar los compuestos responsables de diferentes actividades farmacológicas, obteniendo así principios bioactivos.<sup>21</sup> Dentro de los compuestos aislados de fuentes naturales destacan los derivados furánicos entre los que se encuentran las lactonas producidas por la fotooxidación del anillo de furano, por ejemplo del extracto metanólico de de *Ajuga ciliata*, usada en China para el tratamiento de la inflamación, aislaron los derivados **3-9** (figura 3), los cuales mostraron efectos neuroprotectores contra el catión 1-metil-4-fenilpiridinio (MPP<sup>+</sup>), un inductor de muerte celular de neuronas dopaminérgicas en el neuroblastoma humano SH-SY5Y.<sup>22</sup>

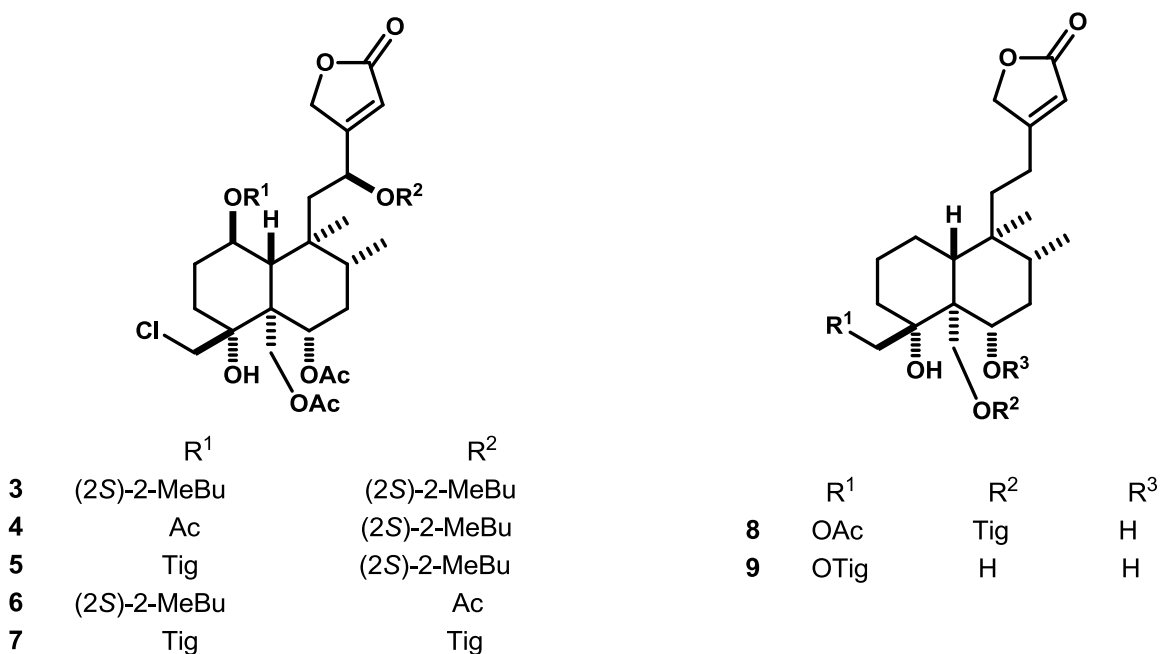


Figura 3. Compuestos aislados de *Ajuga ciliata*.

Los extractos acuosos de *Tinospora rumphii* se utilizan en Filipinas para el tratamiento de indigestión, diarrea, úlceras estomacales; mientras que las hojas son usadas para el tratamiento de la fiebre. Del extracto de cloroformo de las hojas de esta planta se aislaron los clerodanos **10** y **11** (figura 4), los cuales

presentan alto grado de oxidación; además, el compuesto **11** presenta una lactona posiblemente por oxidación del anillo de furano.<sup>23</sup>

Los diterpenos de tipo clerodano han mostrado actividades biológicas como la citotóxica,<sup>24-26</sup> sobre el sistema nervioso central,<sup>27,28</sup> sobre el factor de crecimiento nervioso (NGF),<sup>29</sup> así como antialimentaria en insectos.<sup>30</sup>

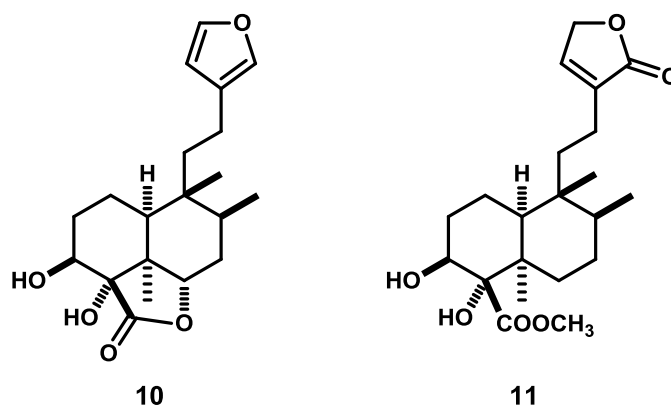


Figura 4. Diterpenofuranos aislados de *Tinospora rumphii*.

Por su parte, los diterpenos de tipo cassano han sido aislados principalmente de plantas de la familia Fabaceae, especialmente del género *Caesalpinia*.<sup>31</sup> Compuestos de este tipo han mostrado actividades biológicas interesantes como anticancerosa,<sup>32,33</sup> antiplasmódica,<sup>34</sup> antiinflamatoria,<sup>35</sup> analgésica,<sup>36</sup> antiviral<sup>37</sup> y antimicrobiana.<sup>35</sup> Algunas plantas pertenecientes a este género son de particular importancia en la medicina tradicional, por ejemplo diferentes partes de *Caesalpinia bonduc* son utilizadas en India para el tratamiento de asma, fiebre crónica, tos y dolor de cabeza. Estudios científicos sobre el extracto etanólico de esta especie permitieron aislar e identificar los derivados **12-16** (figura 5), demostrando que los compuestos **12** y **13** presentaron actividad inhibitoria de células de carcinoma de mama MCF-7, con valores de IC<sub>50</sub> (μM) de 12.8 y 6.1, respectivamente.<sup>38,39</sup>

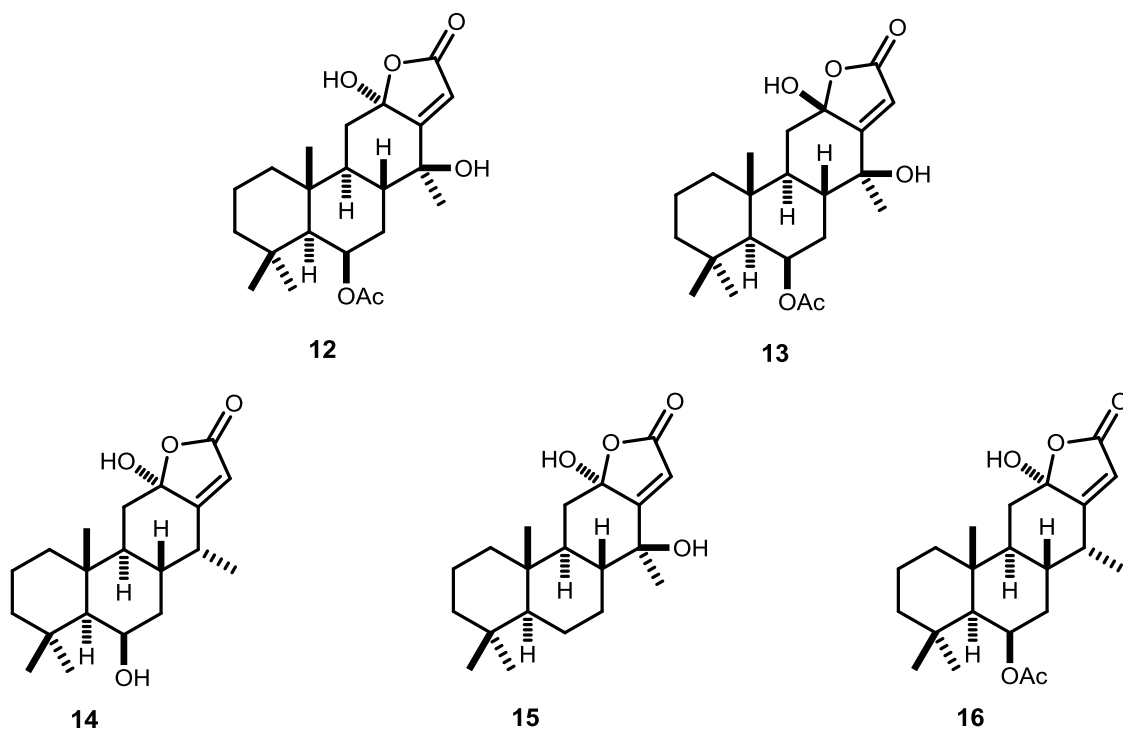


Figura 5. Lactonas aisladas de *Caesalpinia bonduc*.

Las semillas de *Caesalpinia minax* se utilizan en la medicina tradicional china para el tratamiento de influenza, fiebre, reumatismo y disentería.<sup>40</sup> Del extracto metanólico de las semillas de esta planta reportaron las lactonas diterpénicas **17-21** del tipo cassano esterificadas principalmente con grupos acetato y un oxidrilo libre en la posición 5 a las que nombraron neocaesalpinas J-N, respectivamente (figura 6).<sup>41</sup> Cabe resaltar que pruebas biológicas posteriores demostraron que las lactonas aisladas de esta planta presentaron actividad antiproliferativa *in vitro* contra células de cáncer de mama MCF-7 y cáncer de hígado HepG-2.<sup>42</sup>

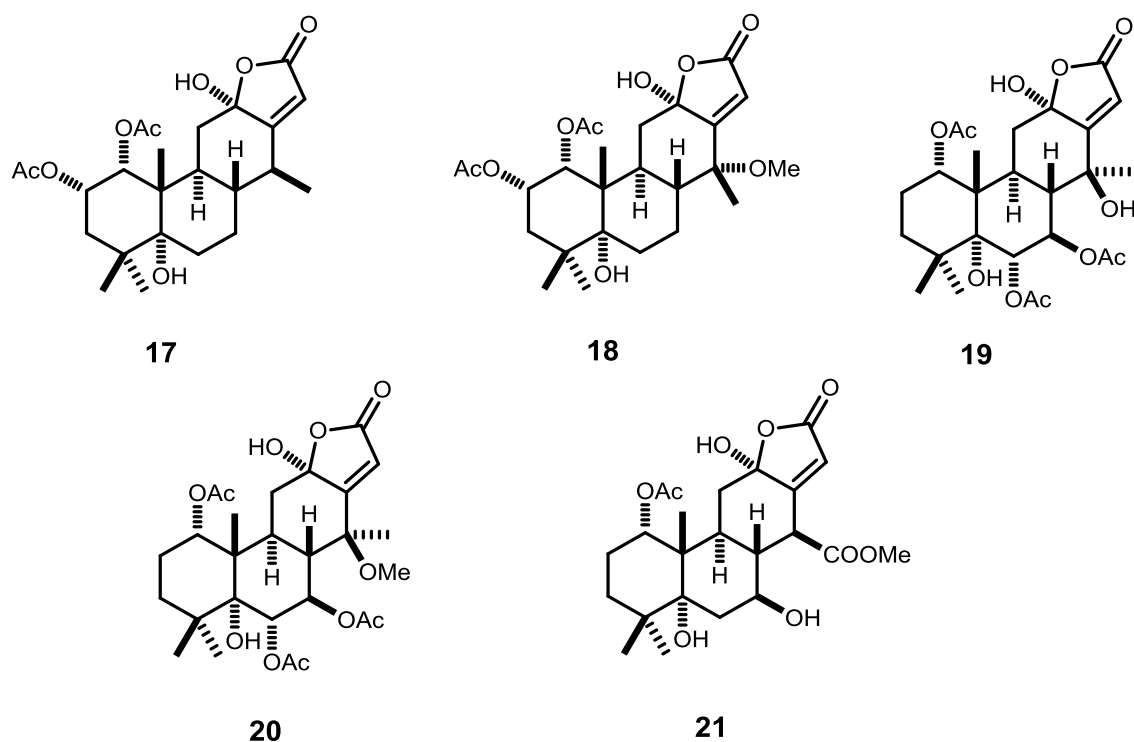
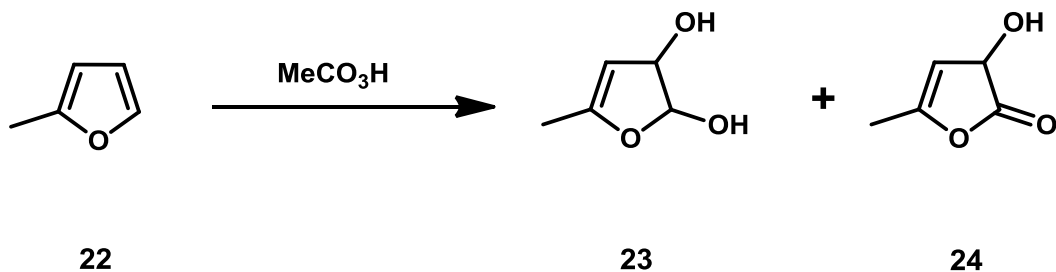


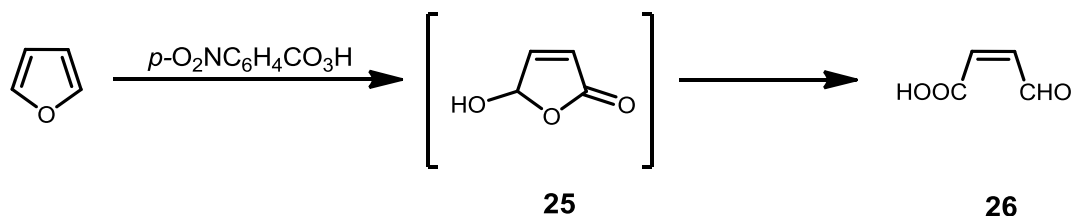
Figura 6. Lactonas aisladas de *Caesalpinia minax*.

Dado que los productos naturales derivados de fotooxidaciones del furano presentan importantes actividades biológicas, las reacciones químicas de oxidación de este anillo son de suma importancia, ya que se pueden obtener derivados activos o precursores químicos de éstos. Dentro de los estudios de oxidación del anillo de furano, se ha reportado el tratamiento con perácidos, fotooxidaciones y tratamiento con peróxidos. Por ejemplo el tratamiento del 2-metilfurano (**22**) con ácido peracético al 70% condujo a la obtención de los compuestos **23** y **24** correspondiendo este último a una lactona (esquema 1).<sup>43</sup>



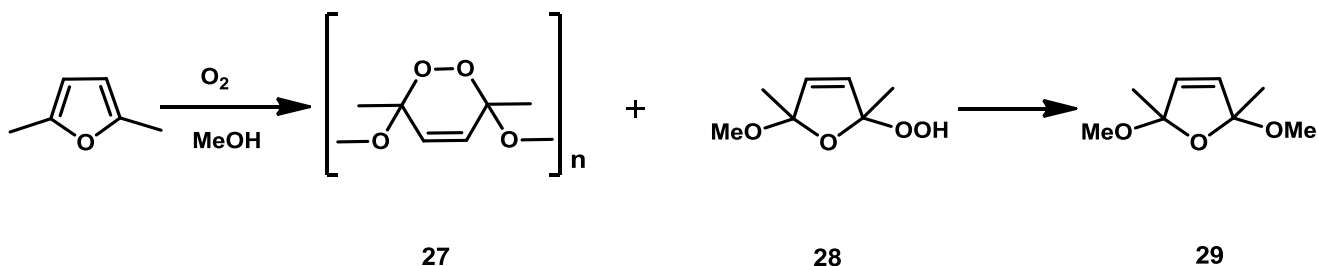
Esquema 1. Oxidación del 2-metilfurano.

Otro ejemplo de tratamiento con perácidos es la oxidación del furano con ácido *p*-nitroperbenzoico en éter anhidro (esquema 2), de la cual reportaron la obtención del compuesto **26**, producto de la ruptura del anillo furano; para la formación de éste propusieron como intermediario a la lactona **25**.<sup>43</sup>



Esquema 2. Tratamiento del furano con ácido *p*-nitroperbenzoico.

Schenk estudió la fotooxidación del 2,5-dimetilfurano en metanol absoluto, con radiación UV durante varios días, de esta reacción obtuvieron como productos el polímero **27** y el hidropéroxido **28**, que posteriormente se transformó al 2,5-dihidrofurano **29** (esquema 3).<sup>43</sup> Estos derivados son de gran importancia, ya que se han utilizado como precursores en la síntesis de productos naturales.<sup>44</sup>

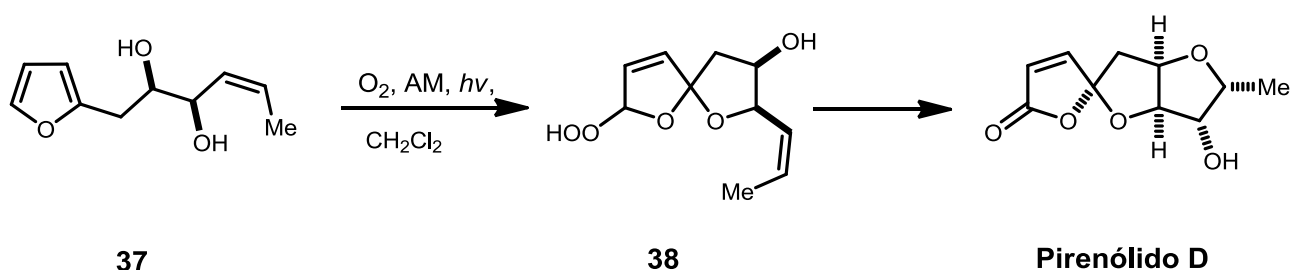


Esquema 3. Fotooxidación del 2,5-dimetilfurano.

Poskonin y colaboradores realizaron estudios de la reactividad del furano frente al peróxido de hidrógeno utilizando catalizadores de vanadio, con lo que obtuvieron los compuestos **30** y **31** (esquema 4), los cuales son importantes precursores en síntesis, ya que pueden utilizarse para la obtención de furanos sustituidos en la posición 2.<sup>43,45</sup>

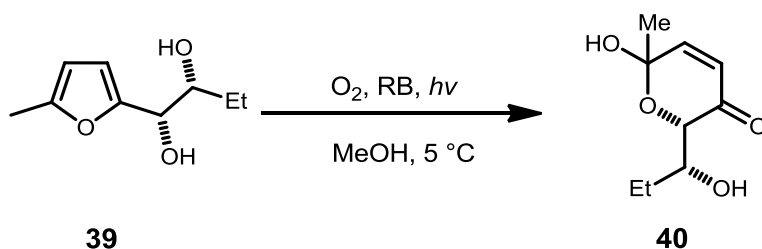


esta manera una nueva ruta de síntesis para estos compuestos tipo espiro (esquema 6).<sup>47</sup>



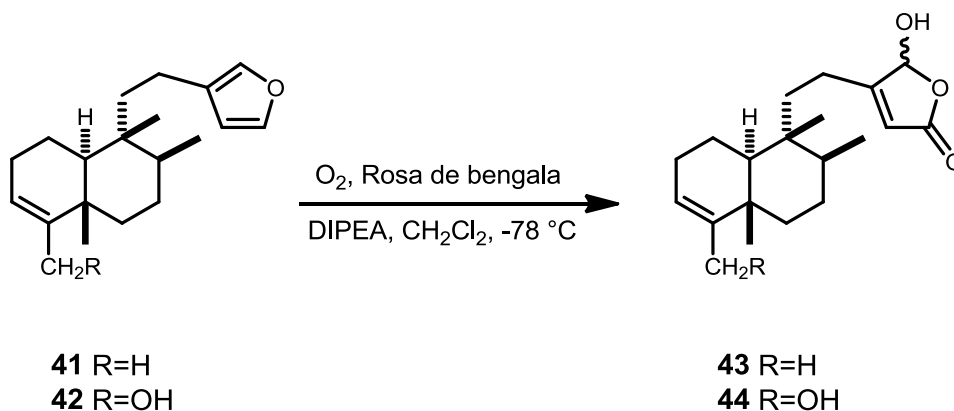
Esquema 6. Oxidación del derivado 2-dihidroxiálquifurano.

Mediante la fotooxidación del 2- $\alpha,\beta$ -dihidroxi-butilfuranos **39**, pero ahora utilizando rosa de bengala, se ha descrito la obtención de la pirona **40** (esquema 7).<sup>48</sup>



Esquema 7. Fotooxidación de 2- $\alpha,\beta$ -dihidroxi-butilfuranos.

Así mismo, la oxidación de productos de origen natural puede llevar a la obtención de compuestos con actividad biológica importante,<sup>13</sup> por ejemplo la fotooxidación con rosa de bengala de los derivados del (+)-ácido hardwickiico **41** y **42**, condujo a la obtención de los hidroxibutenólidos correspondientes **43** y **44** (esquema 8), este último mostró actividad antituberculosa significativa según el protocolo TAACF (12.5 $\mu$ g/mL) con un 85% de inhibición de *Mycobacterium tuberculosis*.<sup>49</sup>



Esquema 8. Oxidación de derivados del (+)-ácido hardwickiico.

Por otro lado, del extracto metanólico de las semillas de *Bowdichia nitida* aislaron los cassanos **45** y **46**, así como las lactonas **47** y **48** (figura 7); cabe resaltar que los compuestos **45** y **47** presentaron citotoxicidad moderada contra células de carcinoma de colon humano COLO20. Cuando el compuesto **45** fue tratado con AMCPB en benceno, reportaron como único producto la lactona **47**, mientras que de la misma oxidación empleando cloroformo como disolvente y ácido clorhídrico, obtuvieron los derivados **48-50** (esquema 9).<sup>50</sup>

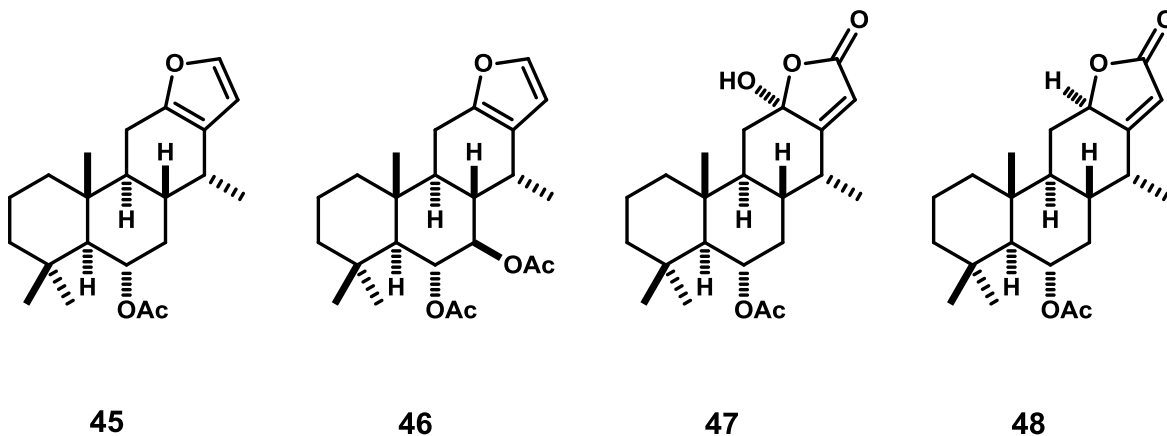
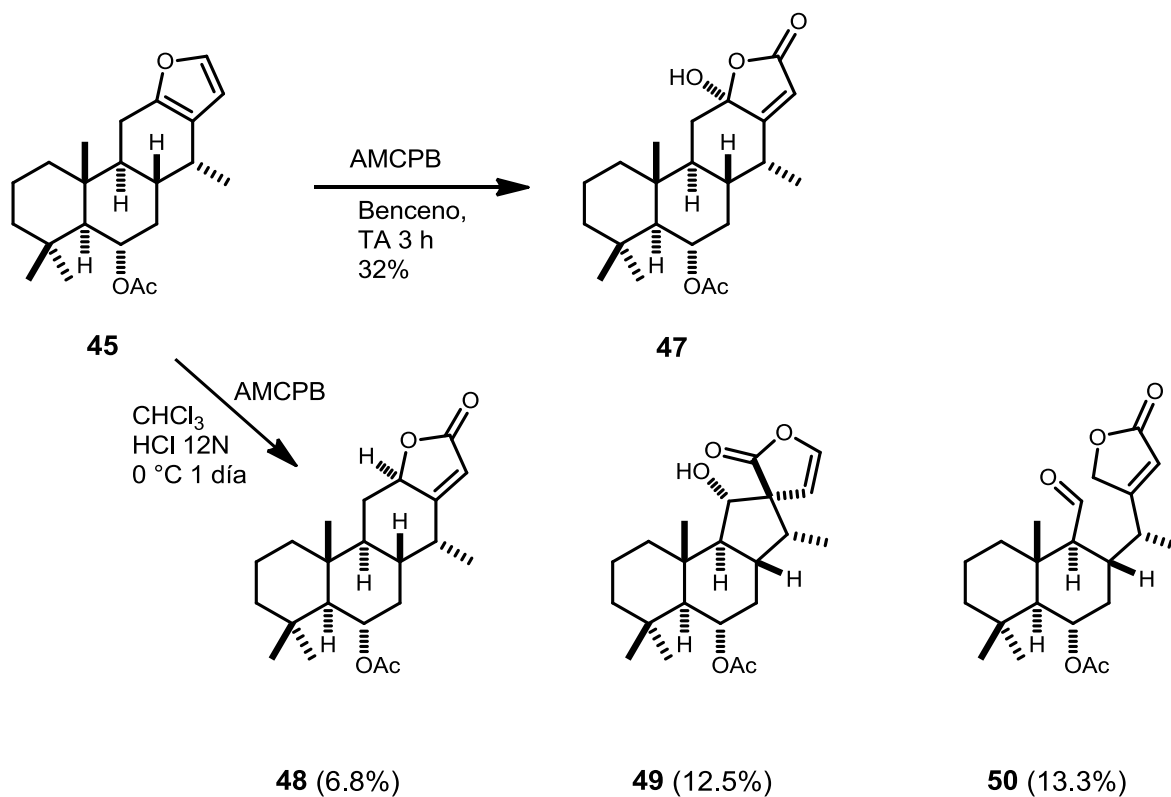
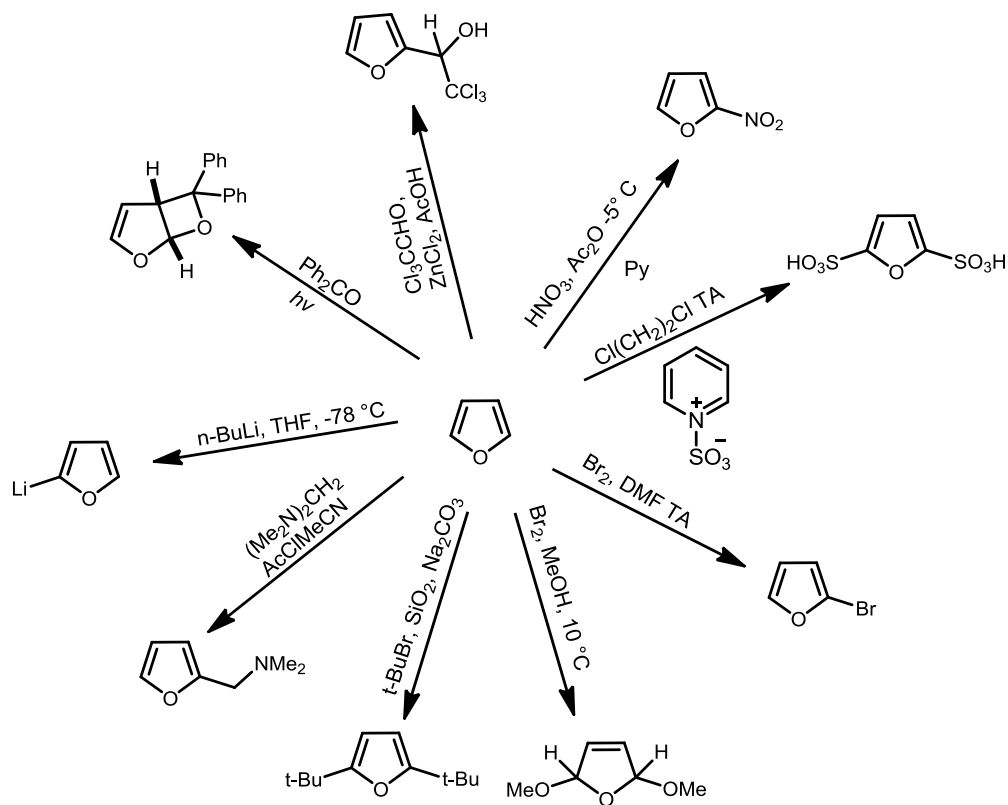


Figura 7. Compuestos obtenidos de *Bowdichia nitida*.



Esquema 9. Oxidación del cassano **45**, obtenido de *B. nitida*.

Además de las reacciones oxidativas, el anillo de furano puede experimentar otras reacciones importantes como halogenación,<sup>51,52</sup> sulfonación,<sup>53</sup> y nitración,<sup>54</sup> entre otras, como se muestra en el esquema 10.<sup>55</sup>



Esquema 10. Reacciones sobre el anillo de furano.

La extensa gama de reactividad que ofrece el anillo de furano abre la posibilidad de generar novedosas estructuras a partir del  $6\beta$ -acetoxivouacapano (**1**) y del ácido hardwickiico (**2**); por lo que, en el presente trabajo se realizó el estudio de la reactividad oxidativa de los diterpenos naturales **1** y **2** (figura 8), aislados en buenos rendimientos de *Caesalpinia platyloba* y *Chromolaena pulchella*, respectivamente.

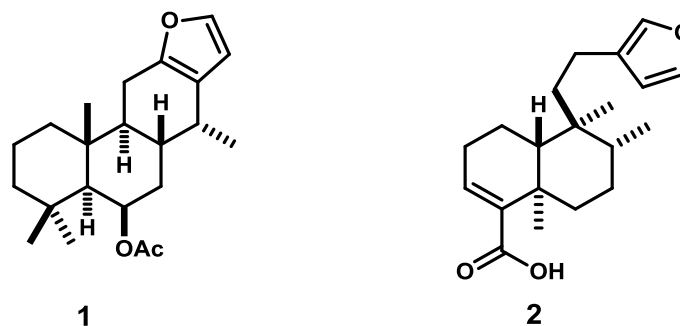


Figura 8.  $6\beta$ -acetoxivouacapano (**1**) y ácido hardwickiico (**2**).

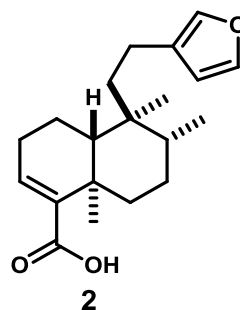
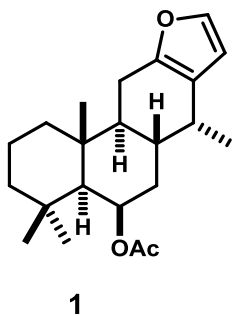
## JUSTIFICACIÓN

El uso de las plantas en la medicina tradicional para el tratamiento de diversas enfermedades las ha hecho una importante fuente de moléculas activas. Entre los compuestos activos aislados de las plantas se encuentran los derivados del furano, destacando los derivados oxidados en dicho anillo. Considerando que algunos de estos compuestos se han aislado en pequeñas cantidades y que algunos productos naturales han servido como modelo para la síntesis de compuestos que se utilizan como fármacos. El aislamiento de diterpenofuranos como el el 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**) y el ácido hardwickiico (**2**) en buenos rendimientos, aunado a la reactividad que presenta el anillo de furano, abre la posibilidad de desarrollar o implementar métodos oxidativos para generar nuevas moléculas activas o sus precursores.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

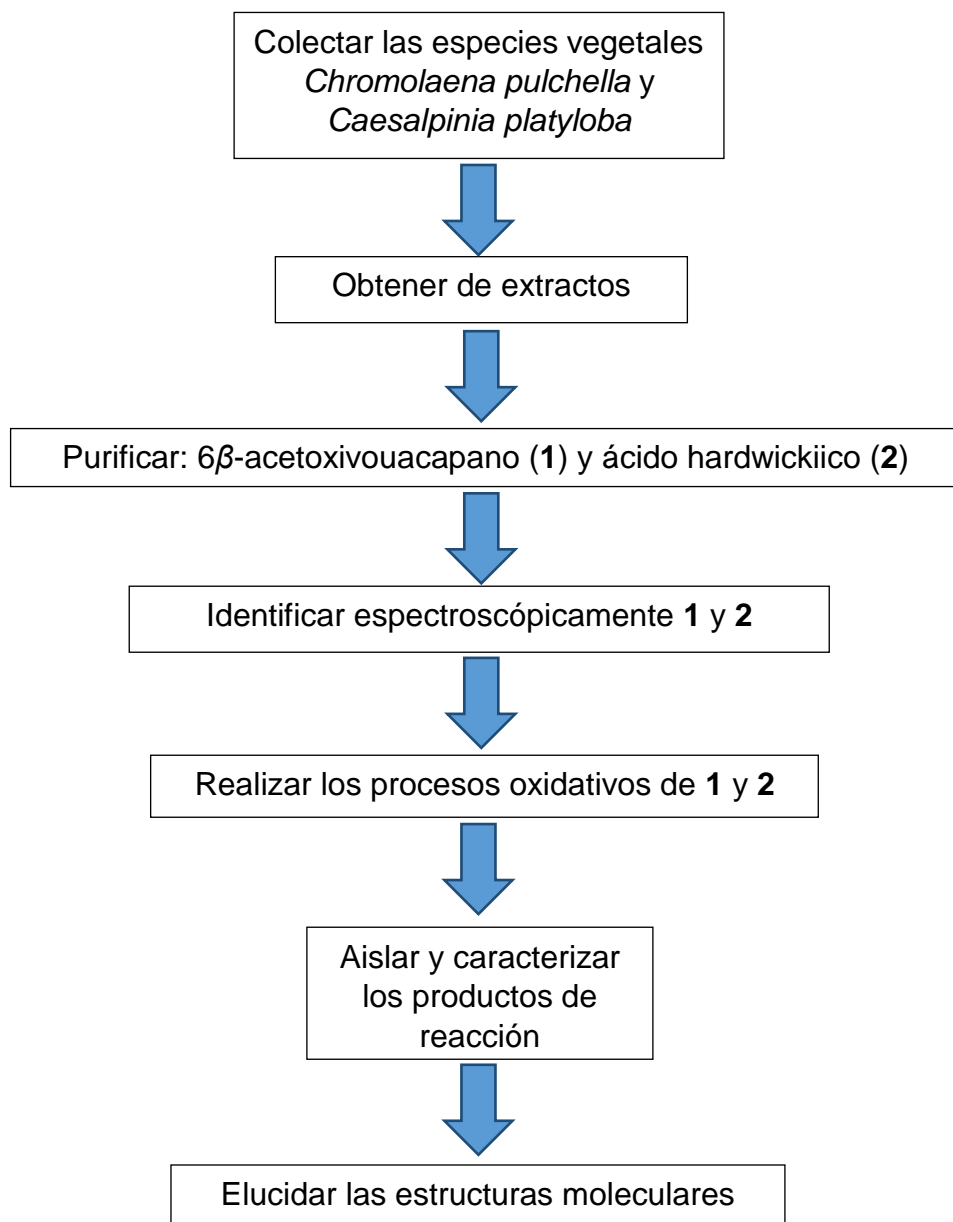
Realizar un estudio de la reactividad de los diterpenofuranos **1** y **2**, bajo diferentes condiciones de oxidación.



### Objetivos específicos

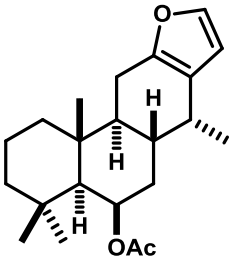
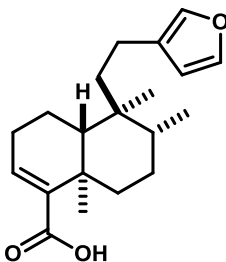
1. Aislar e identificar los diterpenofuranos **1** y **2**.
2. Realizar reacciones de oxidación de **1** y **2** modificando los parámetros de temperatura, disolvente y tiempos de reacción.
3. Aislar y caracterizar los productos de reacción.

## METODOLOGÍA



En la tabla 1 se muestran los parámetros generales que fueron modificados en los diferentes ensayos de oxidación.

Tabla 1. Parámetros generales de reacción

| Materia prima  | Agente oxidante                                  | Variables  |
|--|--|--|
| <p data-bbox="250 449 591 485">6<math>\beta</math>-acetoxivouacapano (1)</p>  | <p data-bbox="753 709 867 779">AMCPB<br/>DDQ</p> | <p data-bbox="1062 695 1338 800">Temperatura<br/>Disolvente<br/>Tiempo de reacción</p> |
| <p data-bbox="277 743 563 779">Ácido hardwickiico (2)</p>                    |  |  |

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### OBTENCIÓN DE MATERIAS PRIMAS

#### Obtención del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (1)

Un lote de 1.6 kg de hojas de *Caesalpinia platyloba*, secadas a la sombra se maceraron con hexano durante tres días, transcurrido este tiempo se concentró en el rotavapor para obtener el extracto hexánico. Posteriormente las hojas se maceraron con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> durante tres días, se evaporó el disolvente en rotavapor, obteniendo 159 g de este extracto, lo que representa aproximadamente el 10 % de rendimiento.

Un lote de 51 g de extracto de diclorometano se fraccionó mediante cromatografía en columna, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y mezclas hexano-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> en orden creciente de polaridad como eluente; en las fracciones eluidas en la polaridad de hexano-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (49:1) se obtuvieron 2.2 g de cristales incoloros con un punto de fusión de 114-116 °C. En su espectro de RMN de <sup>1</sup>H (figura 9) se observaron dos señales dobles con una  $J = 1.9$  Hz en 7.23 y 6.19 ppm correspondientes a los hidrógenos de un furano disustituido H-16 y H-15, respectivamente. En 5.51 ppm se observó una señal simple ancha correspondiente al hidrógeno base del acetilo H-6. En 2.03 ppm se observó una señal simple que integró para 3 hidrógenos característica del metilo de acetilo. En 1.20, 1.02 y 0.99 ppm se observaron tres señales simples que integraron para tres hidrógenos cada una, correspondientes a los metilos terciarios CH<sub>3</sub>-20, CH<sub>3</sub>-19 y CH<sub>3</sub>-18, respectivamente. En 0.96 ppm se observó una señal doble con  $J = 7.0$  Hz correspondiente al metilo secundario CH<sub>3</sub>-17. Estos datos fueron comparados con los reportados,<sup>19</sup> comprobando que se trataba del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (1). Además en esta polaridad se obtuvieron 1.9 g de una miel ligeramente amarilla que mostró el mismo espectro de RMN de <sup>1</sup>H que los cristales descritos, por lo que se obtuvo un rendimiento para este lote del 8 %.

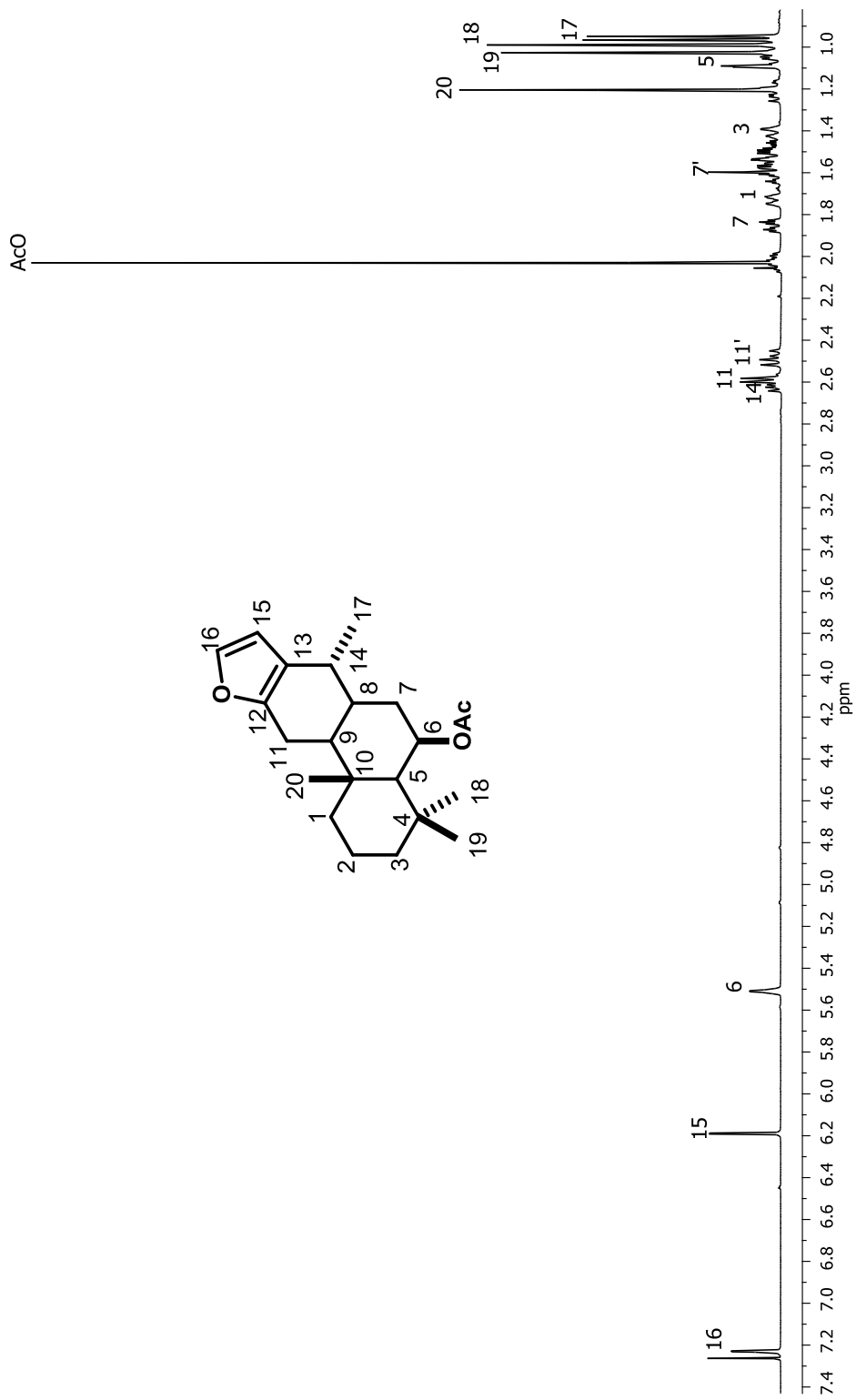


Figura 9. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (1) en  $\text{CDCl}_3$ .

### Obtención del ácido hardwíckiico (2)

Un lote de 230 g de flores de *Chromolaena pulchella*, secadas a la sombra, se maceraron con hexano durante tres días a temperatura ambiente, transcurrido este tiempo se filtró y evaporó el disolvente en rotavapor, obteniendo 16 g de extracto, lo que corresponde al 7 % de rendimiento.

Un lote de 2 g del extracto hexánico se sometió a purificación mediante cromatografía en columna, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y mezclas hexano-acetona en orden ascendente de polaridad como eluente, de las fracciones eluidas en polaridades hexano-acetona (19:1 y 9:1) se obtuvo mezcla de compuestos, en la cual se observó mayoritariamente al ácido hardwíckiico (2), esta mezcla se sometió a recromatografía en columna, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y una mezcla hexano-acetona (9:1) como eluente, aislando en las fracciones 5-8 una miel incolora. En su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 10) se observaron las señales características de un furano monosustituido, en 7.34 ppm una señal triple con  $J = 1.6$  Hz, en 7.20 ppm una señal doble de dobles con  $J = 1.6, 1.0$  Hz; y en 6.25 ppm una señal doble de dobles con  $J = 1.6, 1.0$  Hz correspondientes a los hidrógenos H-15, H-16 y H-14, respectivamente. En 6.84 ppm se ubicó una señal doble de dobles con  $J = 4.0, 3.0$  Hz característica del hidrógeno vinílico H-3. En 1.25 y 0.76 ppm se apreciaron las señales para los metilos terciarios  $\text{CH}_3$ -19 y  $\text{CH}_3$ -20, respectivamente. En 0.83 ppm se observó una señal doble con  $J = 6.6$  Hz, que integró para tres hidrógenos, perteneciente al metilo secundario  $\text{CH}_3$ -17. Estos datos fueron comparados con los reportados previamente, comprobando que se trataba del ácido hardwíckiico (2).<sup>15</sup>

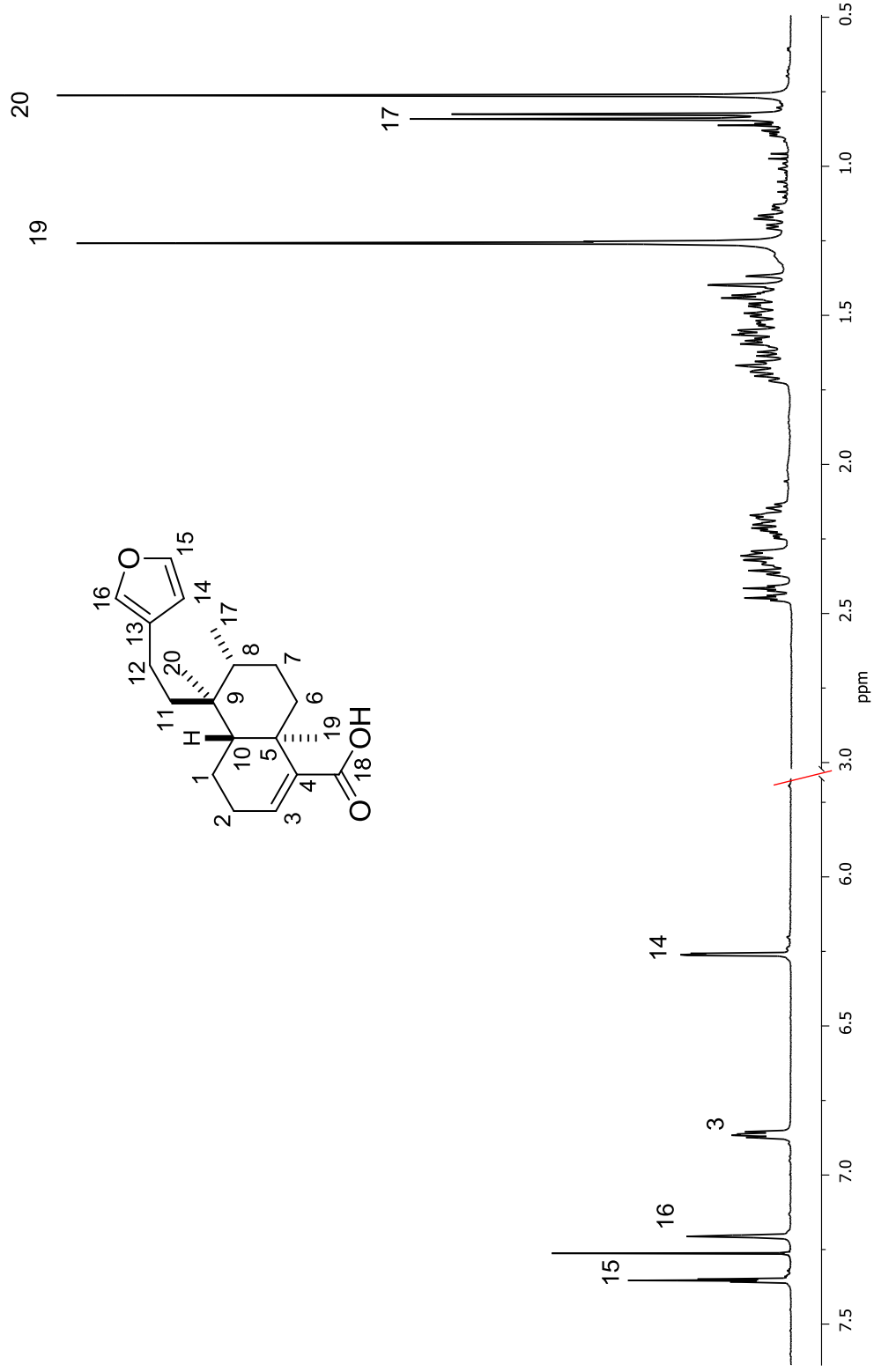
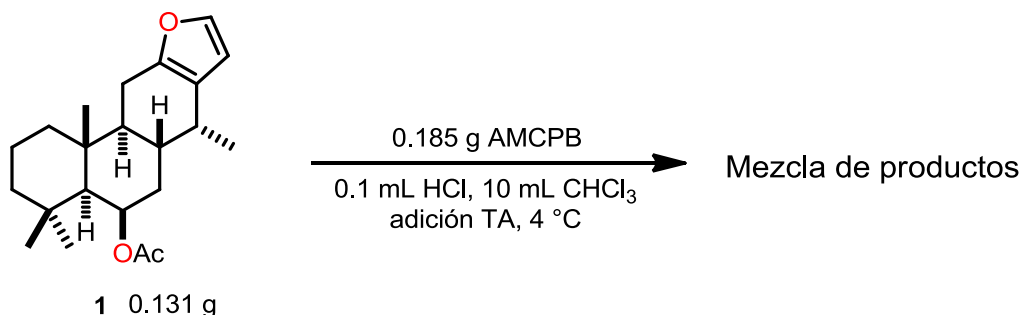


Figura 10. Ampliaciones del espectro de RMN de <sup>1</sup>H a 400 MHz del ácido hardwickiico (**2**) en CDCl<sub>3</sub>.

## OXIDACIÓN DEL 6 $\beta$ -ACETOXIVOUCAPANO (1) CON AMCPB

### Método A

El estudio se inició considerando las condiciones previamente reportadas para *Bowdichia nítida*<sup>50</sup> que se muestran en el esquema 11.



Esquema 11. Oxidación del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (1) con AMCPB.

A una solución de 0.131 g del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (1) disueltos en 5 mL de cloroformo y acidificada con 0.1 mL de HCl concentrado, se le adicionó una solución de 0.185 g de AMCPB disueltos en 5 mL de cloroformo, posteriormente la mezcla de reacción se dejó en reposo a 4 °C durante 48 horas (esquema 11), obteniéndose una miel de color amarillo, la cual en su espectro de RMN de <sup>1</sup>H (figura 15) se observó como una mezcla de varios compuestos; detectándose señales características de furano como componentes mayoritarios, las cuales difieren en su desplazamiento químico de las señales correspondientes a la materia prima. Se ubicaron señales para hidrógenos aromáticos entre 7.60 y 7.00 ppm; se ubicaron dos señales dobles de protones vinílicos entre 6.90 y 5.70 ppm. Entre 5.85 y 5.47 ppm se observaron señales para hidrógenos base de éster. Se encontró una señal de protón base de hidroxilo en aproximadamente 4.30 ppm. Se apreció la señal de un metilo aromático en 2.34 ppm. Se ubicaron entre 2.10 y 2.00 ppm señales características de metilos de acetilo. A frecuencias bajas se conserva el patrón de señales alifáticas del esqueleto de vouacapano 1.

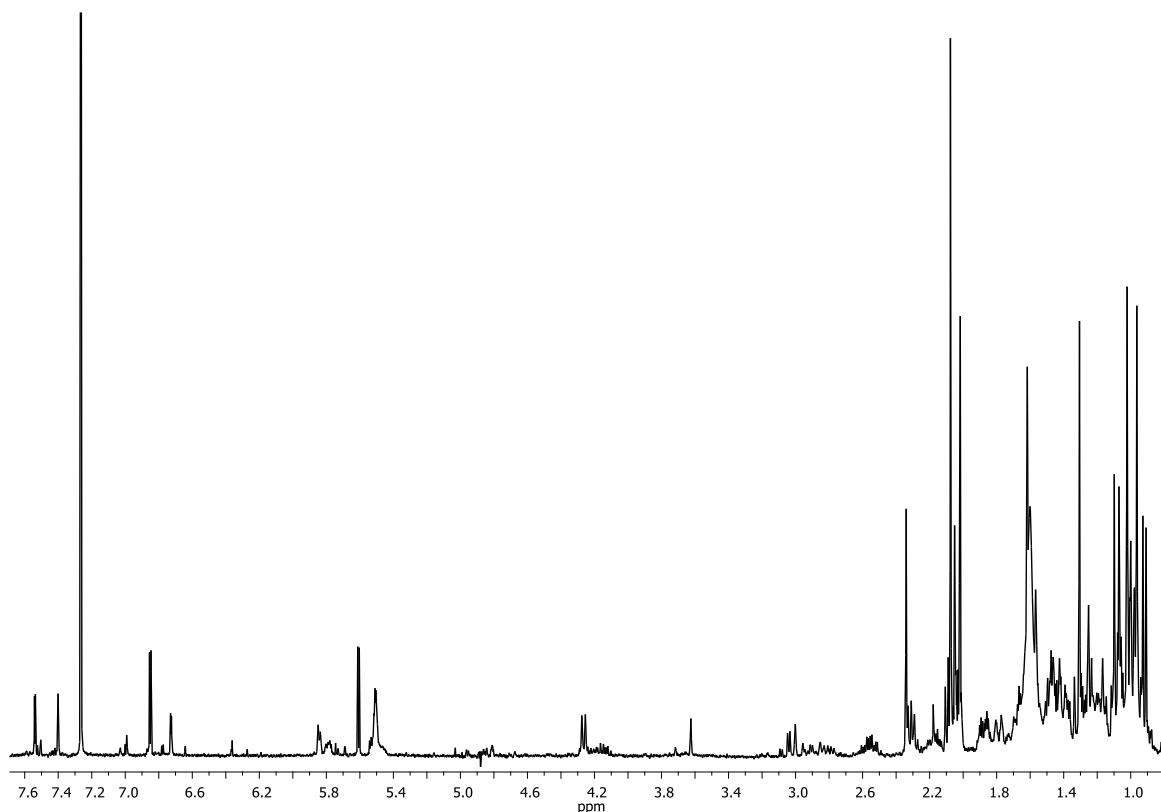


Figura 11. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz del crudo de reacción del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (1) con AMCPB, en  $\text{CDCl}_3$ .

La mezcla de la reacción se purificó mediante cromatografía en columna, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y mezclas de hexano-AcOEt en orden creciente de polaridad como eluente. En las fracciones eluidas con hexano-AcOEt (49:1) se obtuvieron 20 mg de una miel incolora. En su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 12) se observaron en 7.54 ppm una señal doble con  $J = 2.3$  Hz y en 6.73 ppm una señal doble de dobles  $J = 2.3, 0.9$  Hz correspondientes a los hidrógenos del anillo de furano disustituido H-16 y H-15, respectivamente. En 7.40 ppm se encontró una señal simple para un protón aromático, la cual fue asignada al hidrógeno H-11. En 5.84 ppm se observó una señal doble de triples con  $J = 5.4, 1.5$  Hz, correspondiente al hidrógeno base de acetilo H-6. En 2.34 ppm se apreció una señal simple que integró para 3 hidrógenos, característica de metilo aromático, asignada al  $\text{CH}_3$ -17. En 2.02 ppm se ubicó una señal simple intensa característica del metilo del acetilo. Se observaron además tres señales de metilos

terciarios en 1.62, 1.10 y 1.07 ppm correspondientes a los metilos CH<sub>3</sub>-20, CH<sub>3</sub>-19 y CH<sub>3</sub>-18 respectivamente. No se observó la señal del metilo secundario CH<sub>3</sub>-17 de la materia prima y debido a la aparición un metilo aromático, se propuso la aromatización del anillo C del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**).

En el espectro de RMN de <sup>13</sup>C (figura 13), se observaron 21 señales de las 22 esperadas, lo que sugirió el traslape de dos carbonos. En 171.0 ppm se observó una señal de carbonilo de éster. Entre 153.7 y 104.9 ppm se observaron 8 señales de carbonos aromáticos, lo que indicó la presencia de un sistema benzofurano. En 67.6 ppm se ubicó una señal para el carbono base del acetilo C-6. En 51.5 ppm se observó la señal característica del carbono cabeza de puente C-5. Entre 43.0 y 16.0 ppm se apreciaron 10 señales correspondientes al resto de los carbonos de la estructura, las cuales fueron asignadas totalmente con ayuda del HETCOR y por comparación con la materia prima.

En el experimento homonuclear COSY (figura 14) se observó la correlación de la señal base de acetilo H-6 con una señal doble de dobles con  $J = 18.0, 5.4$  Hz ubicada en 3.06 ppm, y con otra señal doble con  $J = 18.0$  Hz en 2.98 ppm, por lo que dichas señales fueron asignadas a los protones H-7 y H-7', respectivamente. Se observó también la correlación de la señal correspondiente al H-6 con una señal simple en 1.58 ppm que fue asignada para H-5.

En el experimento bidimensional HETCOR (figura 15) se observó la correlación de la señal doble del hidrógeno H-16 encontrada en 7.54 ppm con la señal ubicada en 144.4 ppm, la señal doble del protón H-15 encontrada en 6.73 ppm correlacionó con la señal de carbono ubicada en 105.1 ppm, por lo que estas señales fueron asignadas como C-16 y C-15, respectivamente. Se confirmó la asignación de la señal del protón H-5 en 1.58 ppm, ya que ésta mostró una correlación con la señal ubicada en 51.5 ppm, característica para este carbono. La señal de carbono observada en 43.0 ppm mostró correlación con las señales de hidrógeno ubicadas en 2.32, 1.49, 1.44 y 1.25 ppm, lo que confirmó que en esta señal se encontraban traslapados los carbonos C-1 y C-3. La señal ubicada en 35.1 ppm fue asignada al carbono C-7, ya que correlacionó con las señales de

protón en 3.06 y 2.98 ppm pertenecientes al metileno CH<sub>2</sub>-7. La asignación completa de este compuesto se muestra en la tabla 2.

Con base en los datos anteriores se propuso la estructura **51**, la cual presenta un benzofurano formado debido a la aromatización del anillo C del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**). Al realizar una búsqueda bibliográfica de esta estructura, se encontraron dos derivados epiméricos, el derivado **56** aislado de *Bowdichia nitida*<sup>56</sup> y el derivado **51** aislado de *C. bonduc*<sup>39</sup> de la fracción hexánica del extracto metanólico de la parte aérea fue caracterizado como el 6 $\beta$ -acetoxi-17-metilvouacapan-8(14),9(11)-dieno (**51**) (figura 16); sin embargo, tomando en cuenta que la estereoquímica de la materia de partida en el carbono C-6 es  $\beta$  y que ésta no se modificó durante la reacción, el compuesto obtenido corresponde a **51**. Cabe resaltar que el compuesto **51** lo aislaron en bajos rendimientos, ya que obtuvieron 4 mg a partir de 4 kg de planta, por lo que la preparación de este compuesto en un solo paso y en mejores rendimientos abre la posibilidad de obtenerlo en cantidades suficientes para realizar pruebas de actividad biológica, así como explorar su reactividad química.

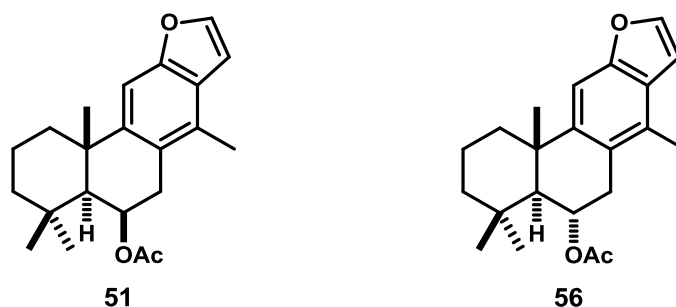


Figura 16. Derivados 6-*epi*-benzofuránicos.

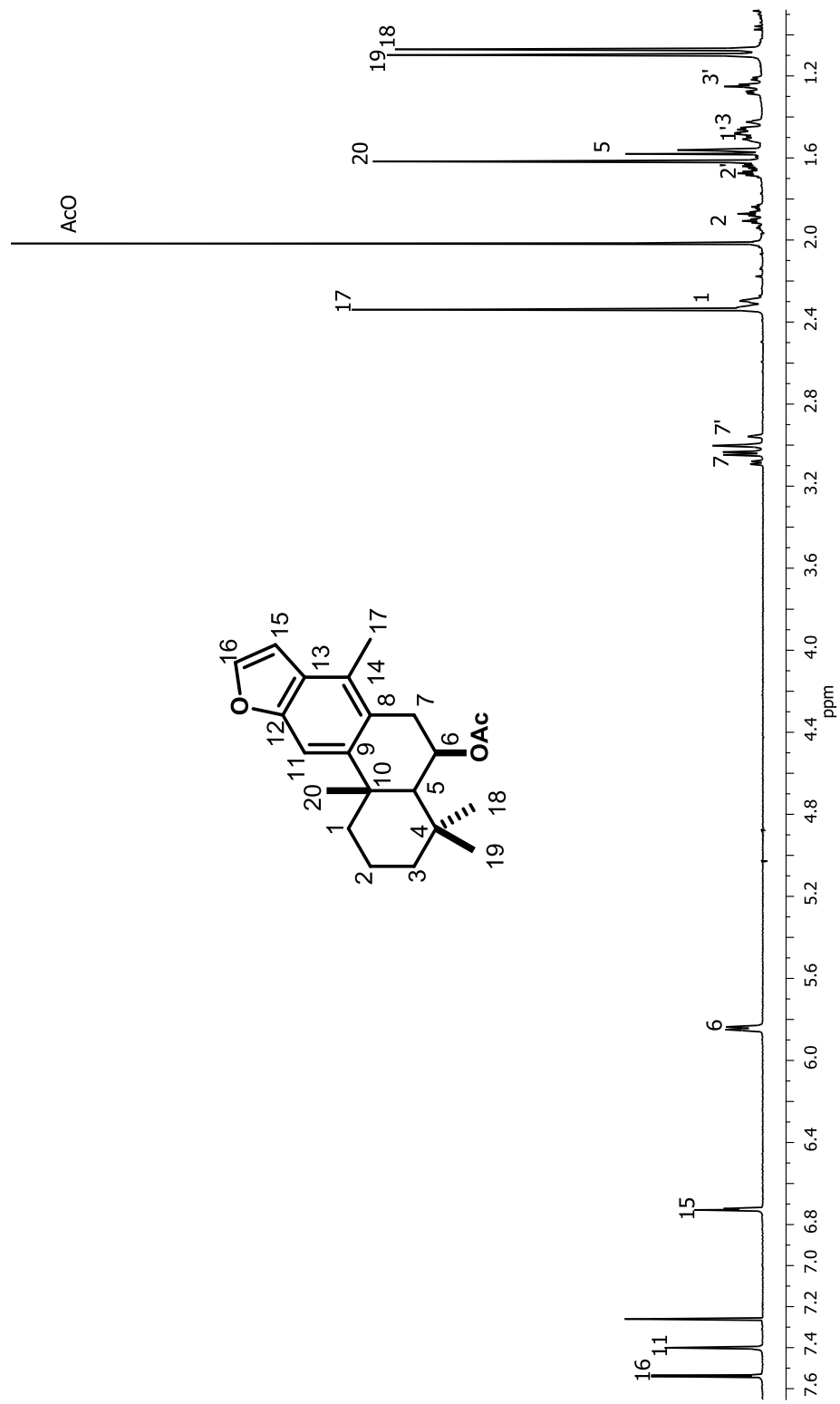


Figura 12. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H a 400 MHz del benzofurano **51** en CDCl<sub>3</sub>.



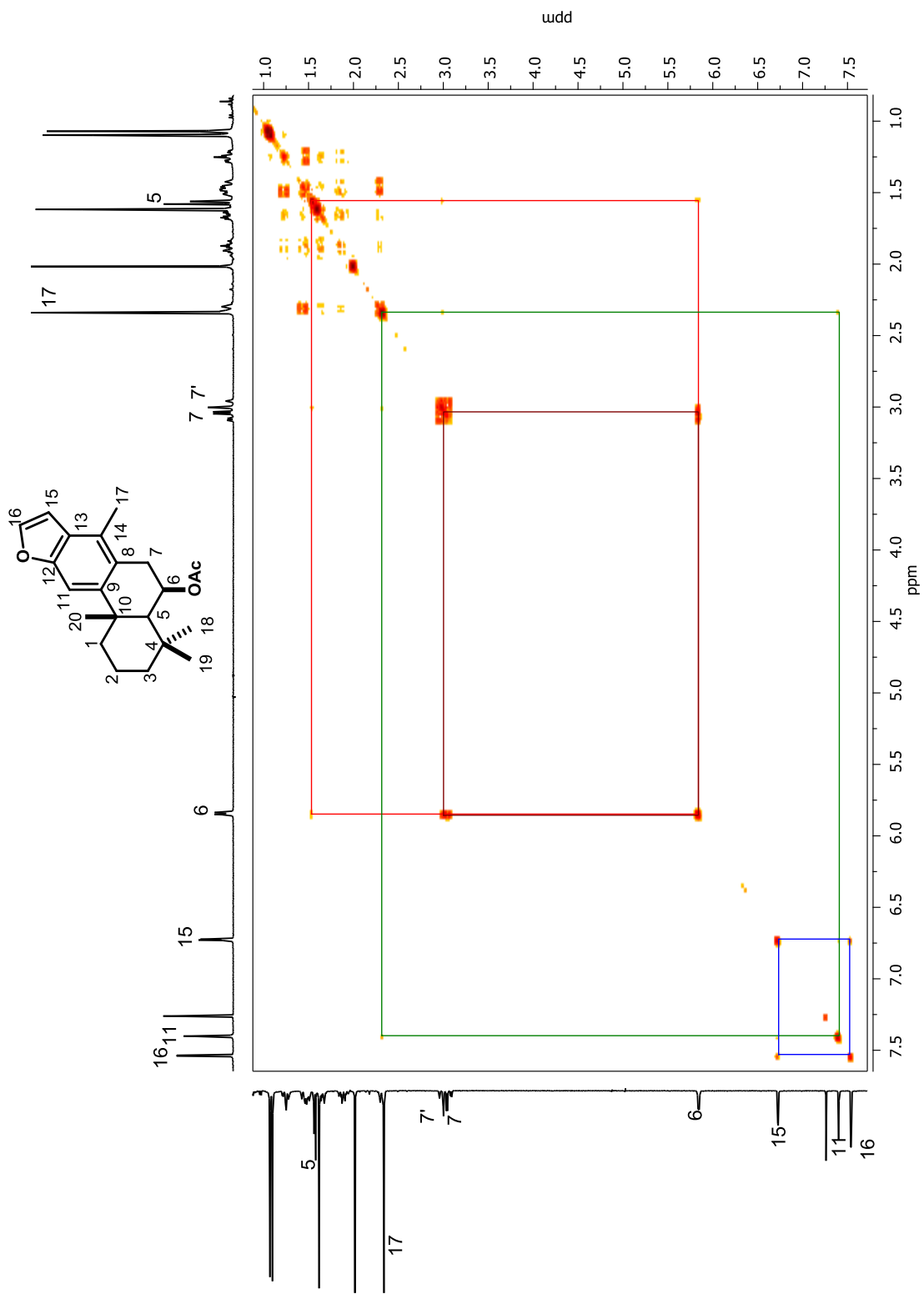


Figura 14. Espectro COSY del benzofurano 51.

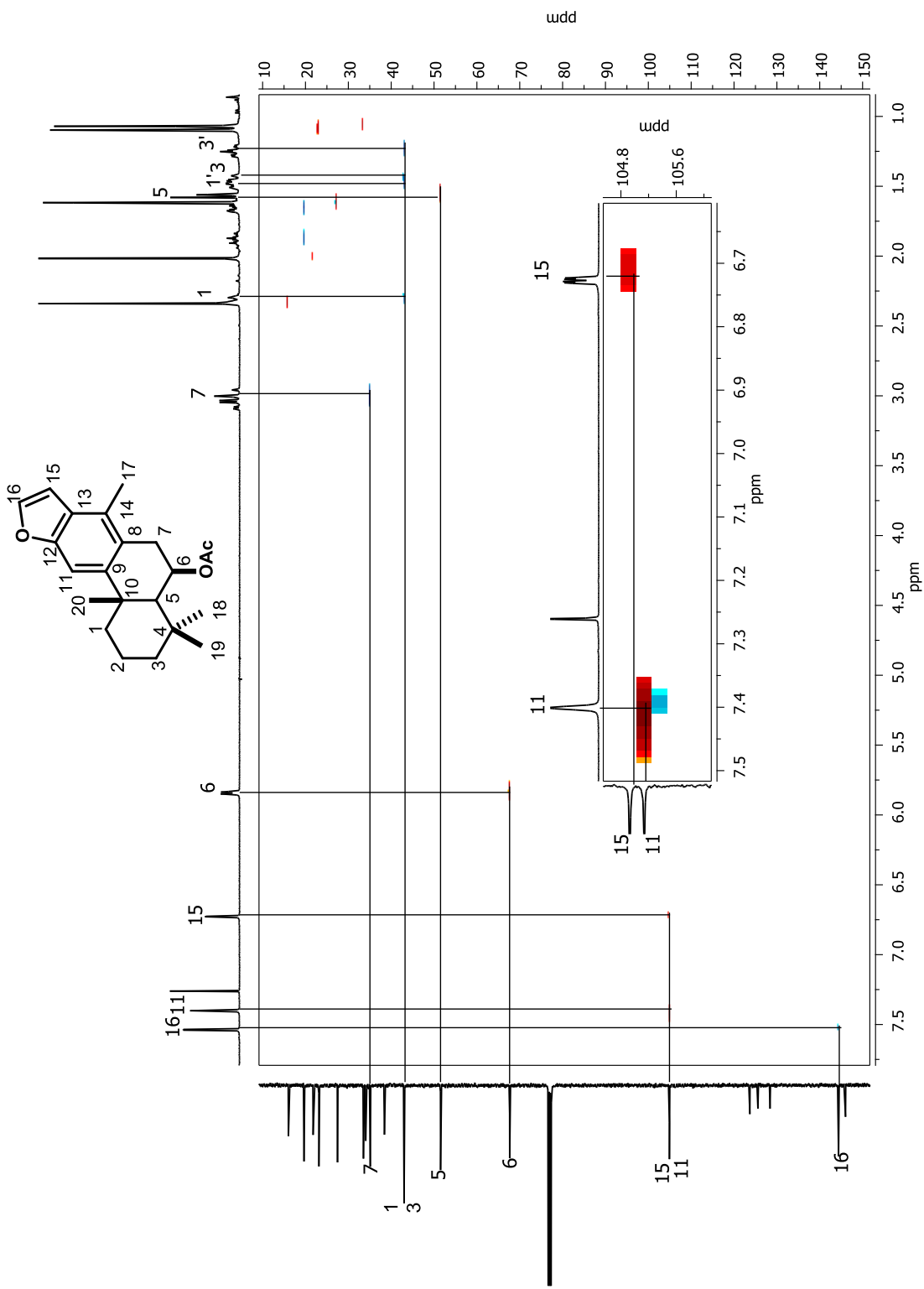
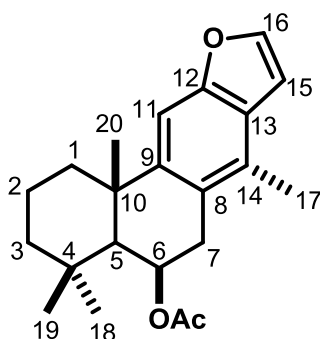


Figura 15. Espectro HETCOR del benzofurano 51.

Tabla 2. Datos de RMN de  $^{13}\text{C}$  y  $^1\text{H}$  del benzofurano **51**.



| Posición           | $\delta$ carbono | DEPT            | $\delta$ H (multiplicidad, <i>J</i> en Hz)   |
|--------------------|------------------|-----------------|--|
| 1                  | 43.0             | CH <sub>2</sub> | 2.32 (da, 16.8)<br>1.49 (m)                  |
| 2                  | 19.7             | CH <sub>2</sub> | 1.88 (qt, 13.8, 3.6)<br>1.65 (dt, 13.8, 3.6) |
| 3                  | 43.0             | CH <sub>2</sub> | 1.44 (m)<br>1.25 (td, 13.5, 3.6)             |
| 4                  | 34.1             | C               |  |
| 5                  | 51.5             | CH              | 1.58 (s)                                     |
| 6                  | 67.6             | CH              | 5.84 (dt, 5.4, 1.5)                          |
| 7                  | 35.1             | CH <sub>2</sub> | 3.06 (dd, 18.0, 5.4)<br>2.98 (d, 18.0)       |
| 8                  | 123.7            | C               |  |
| 9                  | 146.0            | C               |  |
| 10                 | 38.4             | C               |  |
| 11                 | 105.1            | CH              | 7.40 (s)                                     |
| 12                 | 153.7            | C               |  |
| 13                 | 125.6            | C               |  |
| 14                 | 128.4            | C               |  |
| 15                 | 104.9            | CH              | 6.73 (dd, 2.3, 0.9)                          |
| 16                 | 144.4            | CH              | 7.54 (d, 2.3)                                |
| 17                 | 16.0             | CH <sub>3</sub> | 2.34 (s)                                     |
| 18                 | 33.5             | CH <sub>3</sub> | 1.07 (s)                                     |
| 19                 | 23.1             | CH <sub>3</sub> | 1.10 (s)                                     |
| 20                 | 27.5             | CH <sub>3</sub> | 1.62 (s)                                     |
| CH <sub>3</sub> CO | 171.0            | C               |  |
| CH <sub>3</sub> CO | 21.8             | CH <sub>3</sub> | 2.02 (s)                                     |

Continuando con la separación cromatográfica, en la polaridad de hexano-AcOEt (9:1) se obtuvo una mezcla de compuestos, en la que se observó por RMN de  $^1\text{H}$  un compuesto mayoritario, esta mezcla se purificó mediante recromatografía en columna, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y una mezcla de hexano-acetona (9:1) como fase móvil, en las fracciones 23-27 se obtuvieron 11 mg de una miel incolora. En su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 17) 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  $\text{CH}_3$ -20,  $\text{CH}_3$ -19 y  $\text{CH}_3$ -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  $\text{CH}_3$ -17. Posteriormente se realizó el intercambio con agua deuterada ( $\text{D}_2\text{O}$ ), obteniendo su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 16, 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.

En el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (figura 18) nuevamente se observaron 21 señales, lo que indicó que dos de las señales se encontraban traslapadas. Se observaron dos señales para carbonos de carbonilo, en 182.7 ppm se apreció la señal asignada al carbonilo de la espirolactona C-12, y 170.6 ppm se observó la señal del carbonilo del acetilo. En 142.1 y 110.1 ppm se ubicaron dos señales para carbonos de doble enlace, las cuales fueron asignadas a C-16 y C-15, respectivamente. En 78.6 ppm se apreció una nueva señal base de oxígeno, que fue asignada al carbono C-11. En 69.7 ppm se observó la señal del carbono C-6 base de acetato. En 60.6 ppm se observó la señal de un carbono cuaternario, que

se asignó al carbono C-13. En 56.2 ppm se asignó la señal característica del carbono cabeza de puente C-5. Entre 44.2 y 13.2 ppm se observaron 12 señales, correspondientes al resto de la estructura.

En el espectro COSY (figura 19) se observó la correlación entre las señales dobles en 6.85 y 5.61 ppm, lo que confirma el doble enlace de la espirolactona, H-15/H-16. La señal que se ubicó en 5.50 ppm correspondiente al H-6 correlacionó con una señal doble de triples con  $J = 13.6, 3.6$  Hz ubicada en 1.87 ppm y con una señal doble ancha  $J = 13.6$  Hz ubicada en 1.41 ppm, que fueron asignadas como H-7 y H-7', respectivamente. La señal del protón H-6 base de acetilo mostró también una correlación con una señal doble con  $J = 1.8$  Hz observada en 1.00 ppm, la cual fue asignada al hidrógeno H-5. La señal doble de dobles con  $J = 8.6, 5.4$  Hz que se observó en 4.26 ppm, asignada a H-11, mostró una correlación con la señal doble de dobles con  $J = 13.1, 8.6$  Hz ubicada en 1.47 ppm asignada al hidrógeno H-9. Además la señal del hidrógeno H-11 mostró una correlación con una señal doble con  $J = 5.4$  Hz en 1.70 ppm, que se asignó al OH de la estructura. La señal doble de cuádruples con  $J = 7.8, 7.8$  Hz ubicada en 2.31 ppm correlacionó con la señal del metilo secundario CH<sub>3</sub>-17 en 0.92 ppm por lo que fue asignada al metino CH-14.

En el experimento HETCOR (figura 20) se observó la correlación de la señal en 6.85 ppm asignada al hidrógeno H-16 con la señal en 142.1 ppm, que fue asignada al carbono C-16. La señal ubicada en 110.1 ppm fue asignada al carbono C-15, ya que mostró una correlación con la señal de hidrógeno en 5.61 ppm correspondiente al H-15. La señal de 78.6 ppm base de oxígeno mostró correlación con la señal ubicada en 4.26 ppm (H-11), por lo tanto se asignó al carbono C-11. La señal de hidrógeno desplazada en 5.50 ppm asignada al hidrógeno H-6 correlacionó con la señal del carbono base de oxígeno en 69.7 ppm, asignando esta última al carbono C-6. Se confirmó la asignación del H-5, ya que se observó la correlación de la señal de hidrógeno ubicada en 1.00 ppm con la señal característica para el carbono C-5 en 56.2 ppm. El resto de las señales de

carbono se asignaron mediante comparación con el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  del  $6\beta$ -acetoxivouacapano (**1**).

Al realizar la asignación de RMN de  $^{13}\text{C}$ , se observó que una de las señales traslapadas correspondía a un carbono cuaternario, por lo que se realizó el experimento APT (figura 21) modificando el valor de  $\tau$  para la detección de carbonos cuaternarios, en el cual se observó que en la señal ubicada en 33.7 ppm se encontraban traslapadas la señal del metilo terciario C-18 con la señal del carbono cuaternario C-4, la cual fue asignada por comparación con la materia prima.

Una vez conocida la estructura del compuesto, se decidió realizar un experimento NOESY para establecer la estereoquímica de los nuevos centros estereogénicos formados (figura 22). La señal del hidrógeno H-11 mostró una correlación con los hidrógenos del metilo  $\text{CH}_3$ -20, lo que indicó que el grupo hidroxilo se encontraba en orientación  $\alpha$ . También fue determinada la estereoquímica del carbono espiro, ya que la señal doble asignada como H-15 mostró una correlación a través del espacio con la señal del metilo  $\text{CH}_3$ -17 que presenta una orientación  $\alpha$ , esto indica que el carbono C-15 está orientado en el mismo plano. La asignación completa para este compuesto se muestra en la tabla 3.

Mediante estos datos se propuso una estructura en la que permanecen los anillos A y B del vouacapano, pero el anillo C se contrae a un anillo de 5 miembros, presentando una fusión tipo espiro, con el anillo que formaba el furano y que ahora se encuentra como butenólido. Al realizar una búsqueda para este tipo de esqueletos se encontró que Yosuke y colaboradores<sup>50</sup> reportaron una estructura similar, pero con diferente estereoquímica en el carbono C-6, por lo que la espirolactona **52** obtenida de esta reacción corresponde a un nuevo derivado.

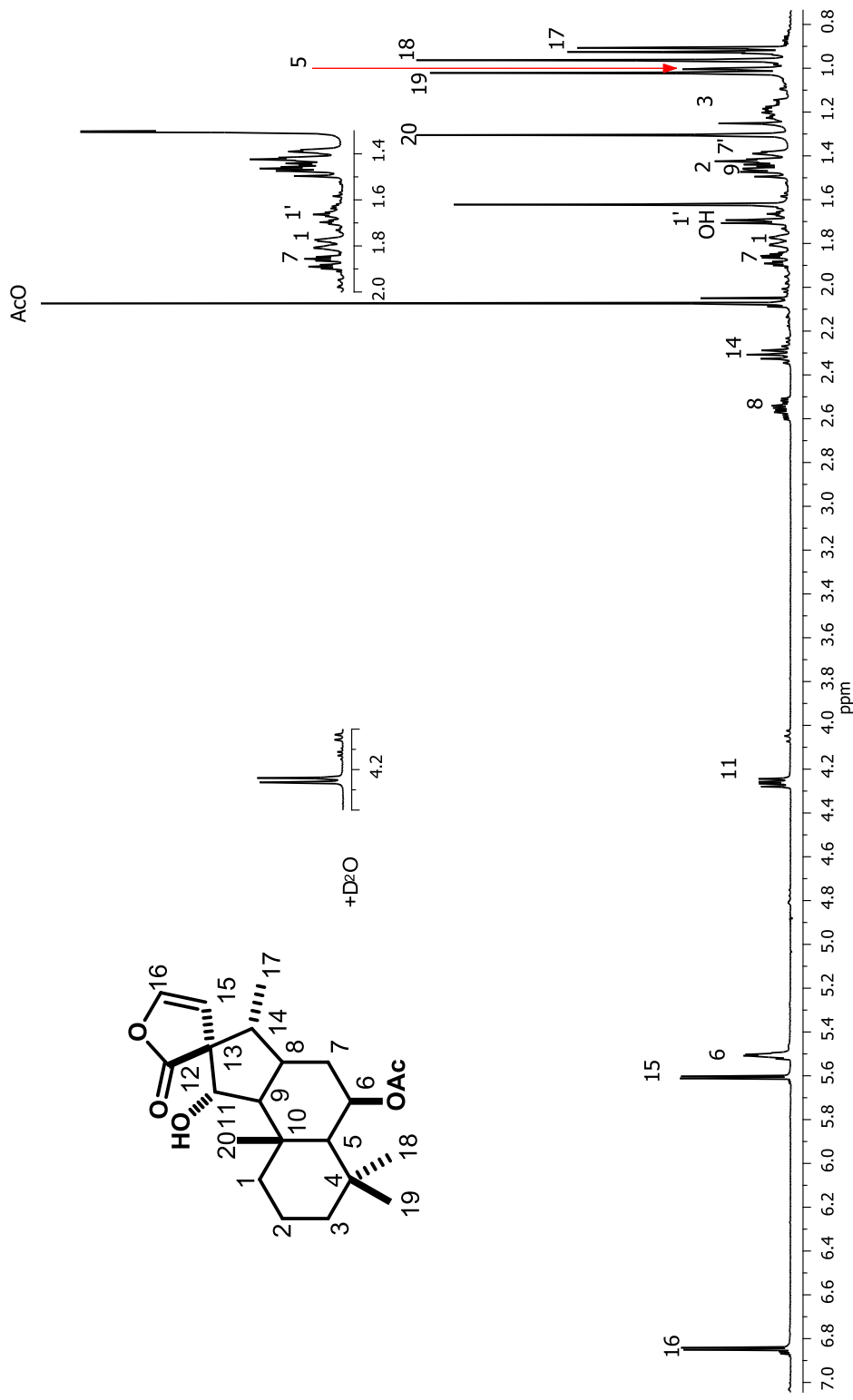


Figura 17. Espectro de RMN de <sup>1</sup>H a 400 MHz de la espirolactona **52** en CDCl<sub>3</sub>.

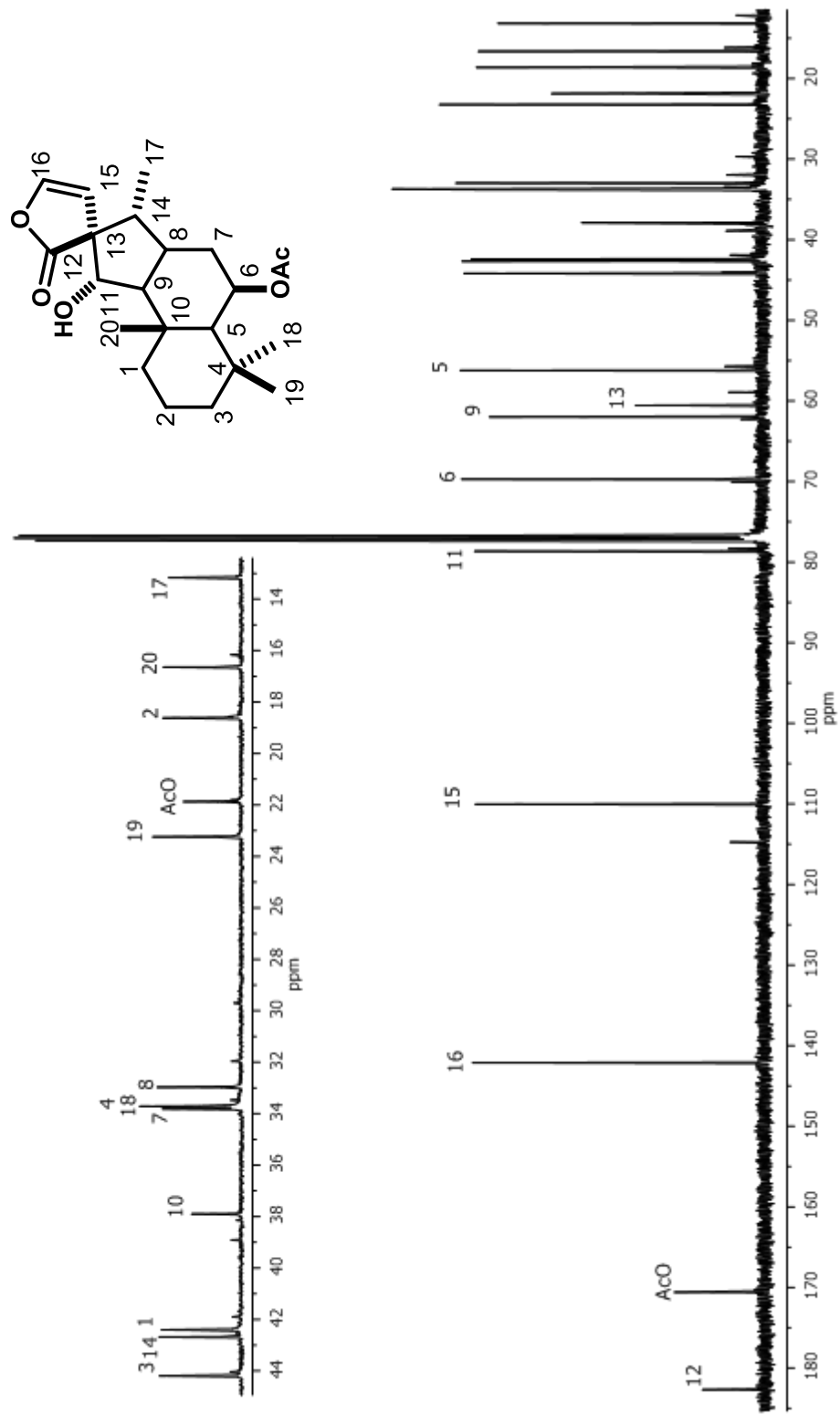


Figura 18. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz de la espiriolactona **52** en  $\text{CDCl}_3$ .

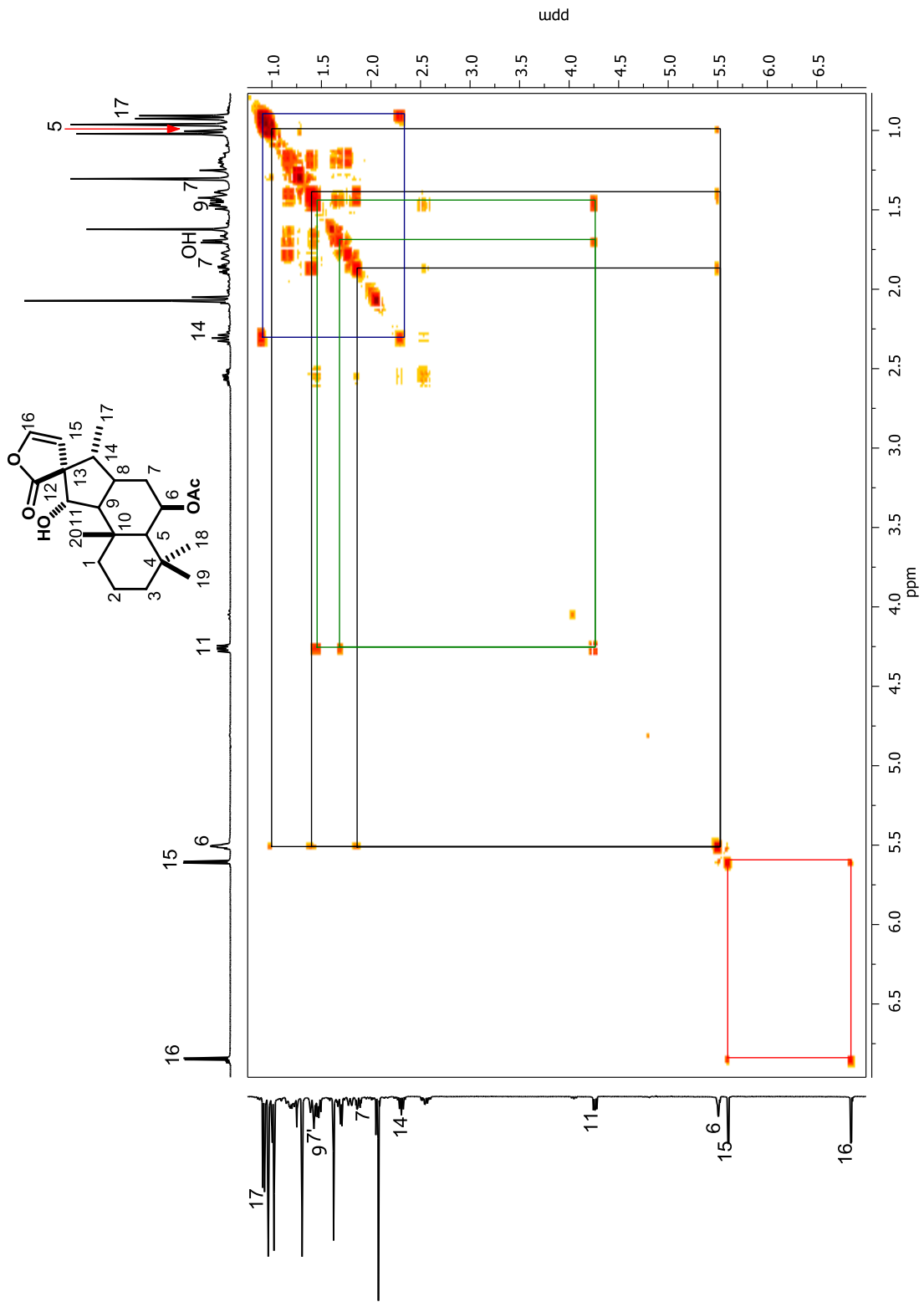


Figura 19. Espectro COSY de la espiriolactona 52.

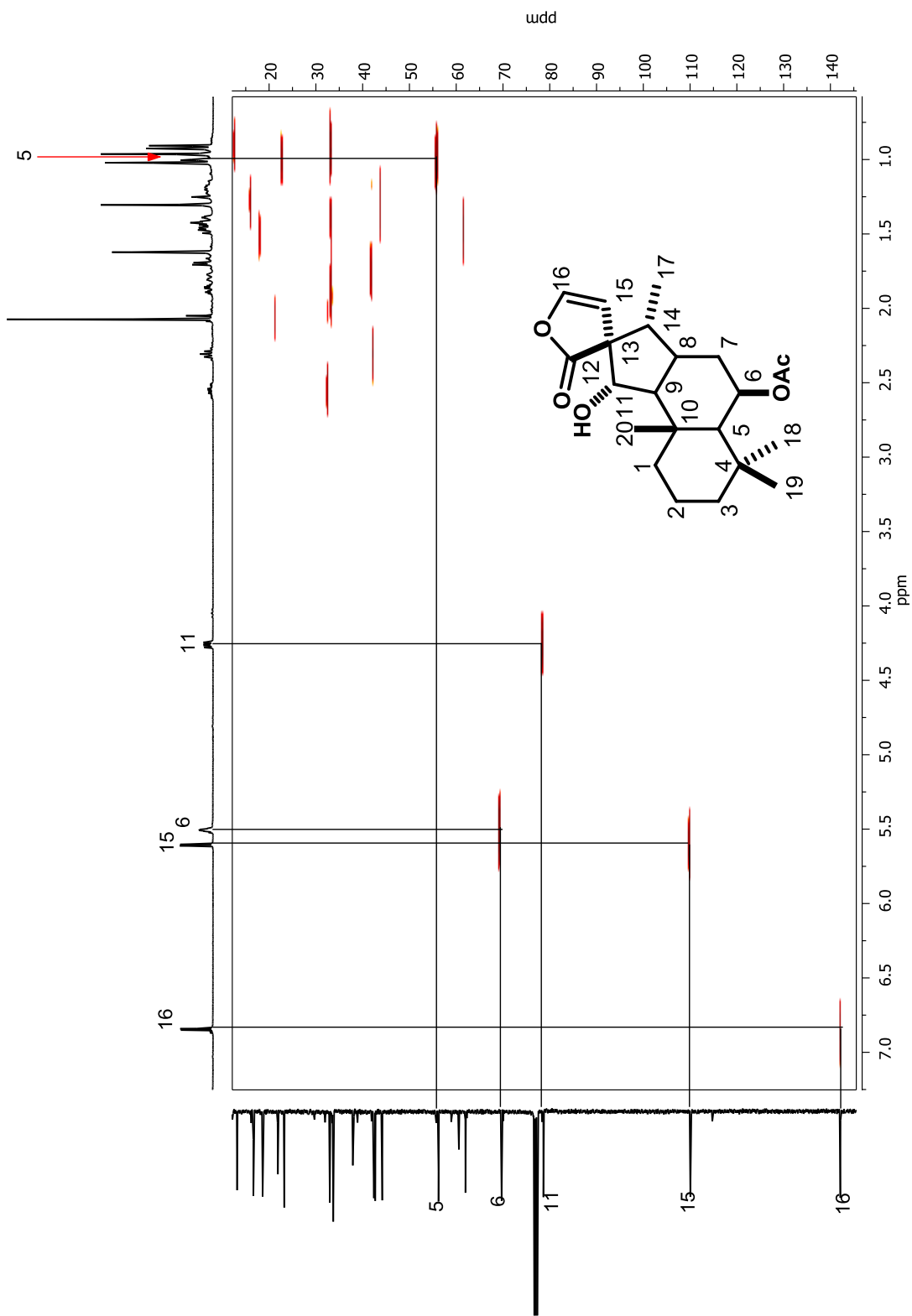


Figura 20. Espectro HETCOR de la espirolactona 52.

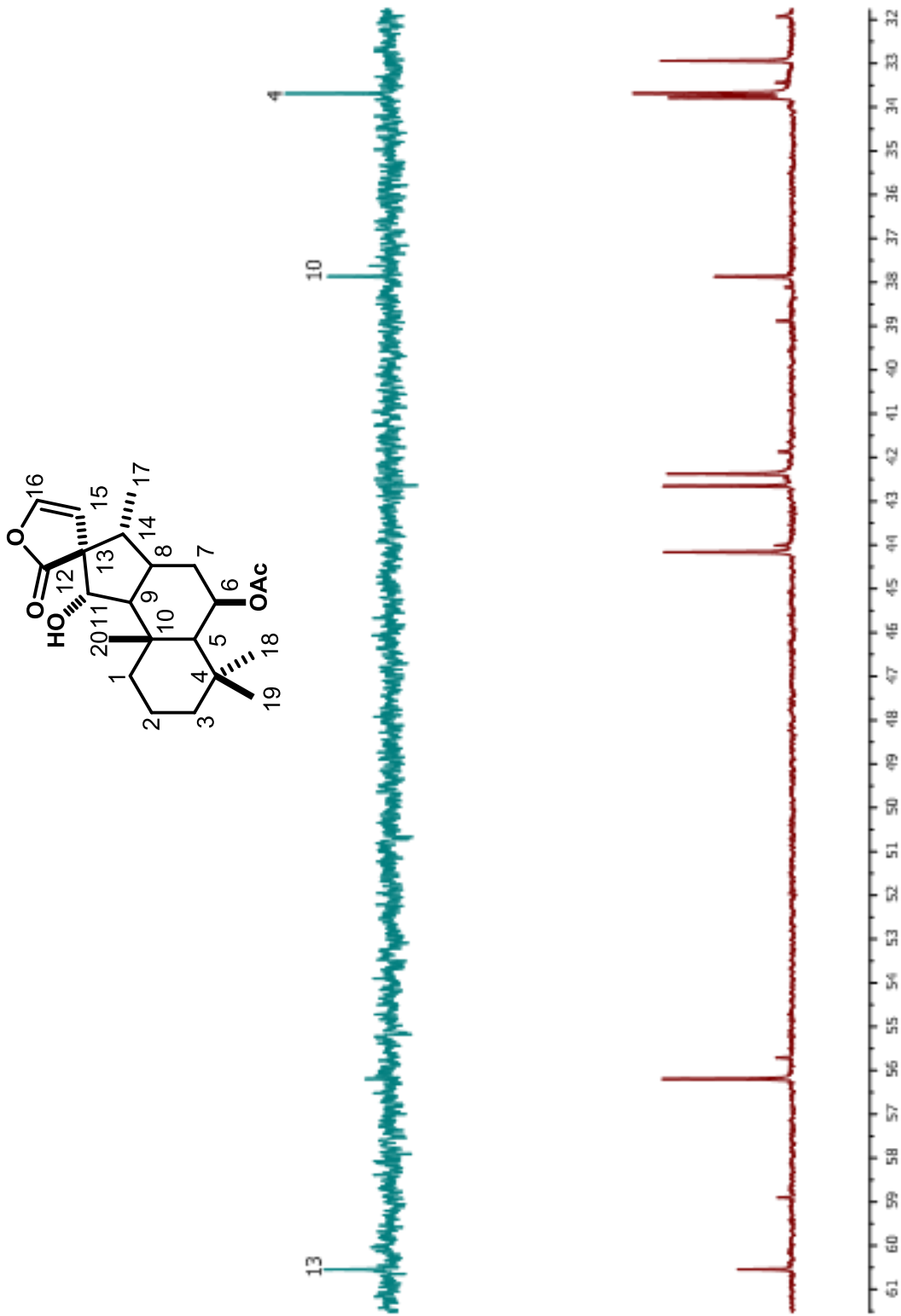


Figura 21. Ampliación del experimento APT de la espirolactona 52.

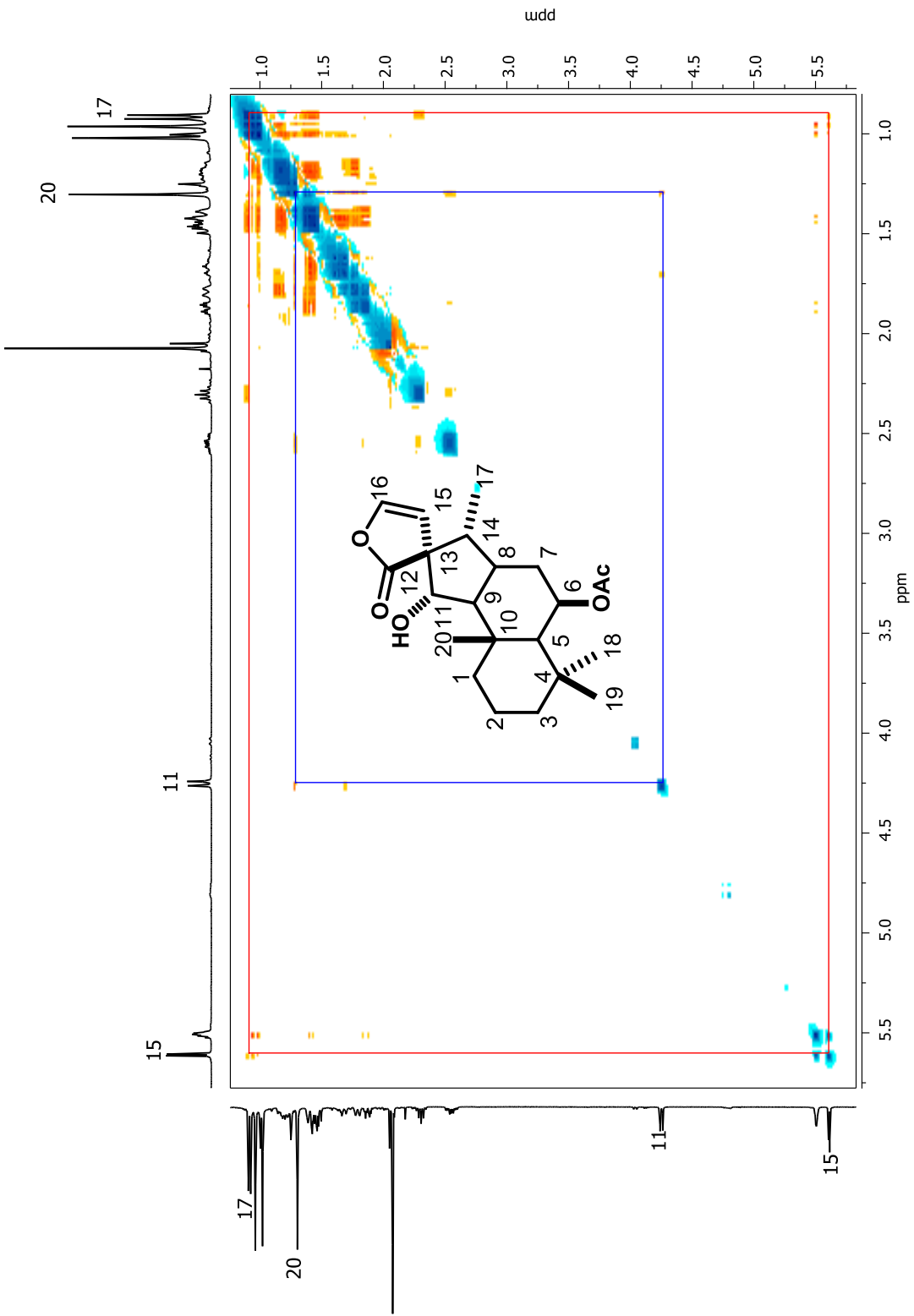
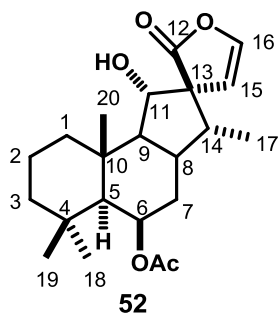


Figura 22. Espectro NOESY de la espirolactona 52.

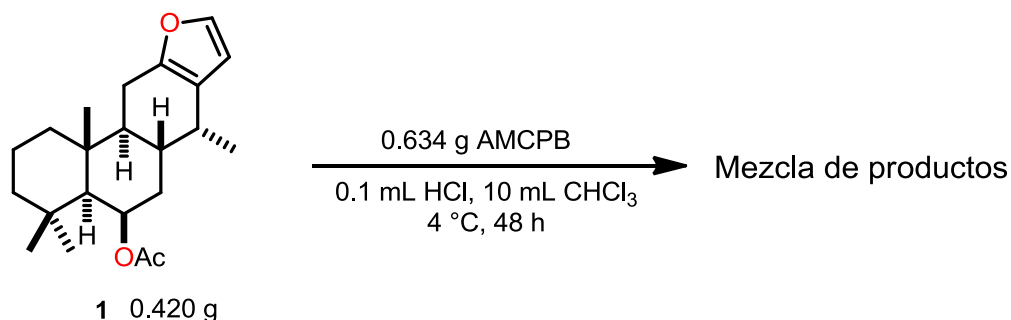
Tabla 3. Datos de RMN de  $^{13}\text{C}$  y  $^1\text{H}$  de la espirolactona **52**.



| Posición           | $\delta$ C | DEPT/APT        | $\delta$ H (multiplicidad, <i>J</i> en Hz)         |
|--------------------|------------|-----------------|--|
| 1                  | 42.4       | CH <sub>2</sub> | 1.79 (ddd, 13.4, 4.6, 3.0)<br>1.70 (dt, 13.4, 3.1) |
| 2                  | 18.6       | CH <sub>2</sub> | 1.45 (m)   |
| 3                  | 44.2       | CH <sub>2</sub> | 1.18 (m)   |
| 4                  | 33.7       | C               |  |
| 5                  | 56.2       | CH              | 1.00 (d, 1.8)                                      |
| 6                  | 69.7       | CH              | 5.50 (sa)  |
| 7                  | 33.8       | CH <sub>2</sub> | 1.87 (dt, 13.6, 3.6)<br>1.41 (da, 13.6)            |
| 8                  | 33.0       | CH              | 2.55 (dddd, 13.1, 13.1, 7.8, 3.8)                  |
| 9                  | 62.0       | CH              | 1.47 (dd, 13.1, 8.6)                               |
| 10                 | 37.9       | C               |  |
| 11                 | 78.6       | CH              | 4.26 (d, 8.6)                                      |
| 12                 | 182.7      | C               |  |
| 13                 | 60.6       | C               |  |
| 14                 | 42.7       | CH              | 2.31 (dc, 7.8, 7.8)                                |
| 15                 | 110.1      | CH              | 5.61 (d, 3.6)                                      |
| 16                 | 142.1      | CH              | 6.85 (d, 3.6)                                      |
| 17                 | 13.2       | CH <sub>3</sub> | 0.92 (d, 7.8).                                     |
| 18                 | 33.7       | CH <sub>3</sub> | 0.96 (s)   |
| 19                 | 23.2       | CH <sub>3</sub> | 1.02 (s)   |
| 20                 | 16.6       | CH <sub>3</sub> | 1.30 (s)   |
| CH <sub>3</sub> CO | 21.9       | CH <sub>3</sub> | 2.07 (s)   |
| CH <sub>3</sub> CO | 170.6      | C               |  |

## Método B

Con la finalidad de observar los cambios en la reacción dados por una modificación en la temperatura, a una solución de 0.420 g de **1** disueltos en 5 mL de  $\text{CHCl}_3$  frío y acidificada con 0.1 mL de HCl, se la adicionó una solución de 0.634 g de AMCPB disueltos en  $\text{CHCl}_3$  frío, la mezcla de reacción se dejó en reposo a 4 °C durante 48 horas (esquema 12).



Esquema 12. Oxidación del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**) con AMCPB.

De esta reacción se obtuvo una miel de color amarillo, la cual fue analizada por RMN de  $^1\text{H}$ , observando como componente mayoritario la espirolactona **52**. Esta mezcla de reacción se separó mediante cromatografía en columna, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y mezclas de hexano-AcOEt en orden creciente de polaridad como fase móvil. En las fracciones 7-11 obtenidas con la polaridad de hexano-AcOEt (9:1) se obtuvo nuevamente una mezcla en la que se observó un compuesto mayoritario mediante RMN, esta se separó mediante recromatografía en columna, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y una mezcla de hexano-acetona (19:1) como fase móvil, en las fracciones 21-26 se obtuvieron 17.8 mg (3%) de una miel incolora. En su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz (figura 23) se observó en 5.46 ppm una señal doble de dobles con  $J = 5.2$  y 2.8 Hz correspondiente al hidrógeno base del acetilo H-6. En 5.17 ppm se ubicó una nueva señal doble base de oxígeno con  $J = 4.4$  Hz, la cual fue asignada al hidrógeno H-16. En 4.85 ppm se observó otra señal doble base de oxígeno con  $J = 7.6$  Hz, asignada al protón H-11. En 4.18, 4.17, 3.62, y 3.37 ppm se ubicaron cuatro señales dobles de cuádruples, todas con  $J = 9.7$  y 7.2 Hz, correspondientes

a los protones H-1'a, H-1'b, H-1''a y H1''b, respectivamente de los metilenos base de oxígeno. En 2.04 ppm se observó una señal simple intensa con integral para tres hidrógenos, correspondiente al metilo del acetilo. En 1.27 y 1.14 ppm se ubicaron dos señales triples con integral para 3 hidrógenos cada una, las cuales fueron asignadas a los metilos de los etoxilos. En 1.29, 1.01 y 0.94 ppm se observaron las señales simples de los metilos terciarios CH<sub>3</sub>-20, CH<sub>3</sub>-19 y CH<sub>3</sub>-18. En 0.86 ppm se observó la señal doble con  $J = 7.6$  Hz correspondiente al metilo secundario CH<sub>3</sub>-17.

En el espectro de RMN de <sup>13</sup>C a 100 MHz (figura 24) se observaron 26 señales. En 176.9 ppm se ubicó la señal del carbonilo de la lactona C-12. En 170.5 ppm se observó la señal del carbonilo del acetato. En 106.0 ppm se observó una señal base de oxígeno, que se asignó al carbono C-16. En 85.2 ppm se apreció una nueva señal base de oxígeno que fue asignada al carbono C-11. En 69.9 ppm se observó la señal del carbono C-6 base del acetilo. En 61.9 se observó la señal del carbono cuaternario C-13. En 61.8 y 60.8 ppm se observaron dos señales base de oxígeno, las cuales fueron asignadas a los metilenos de los etoxilos CH<sub>2</sub>-1'' y CH<sub>2</sub>-1', respectivamente. En 56.2 ppm se observó la señal característica del carbono C-5. Entre 60.2 y 12.8 ppm se ubicó el resto de las señales correspondientes a la parte alifática de la estructura.

En el experimento de correlación homonuclear COSY (figura 25) se observó la correlación de la señal correspondiente al hidrógeno H-6 base del acetilo con las señales ubicadas en 1.80 y 1.39 ppm, las cuales fueron asignadas a las hidrógenos H-7 y H-7', respectivamente. Se observó la correlación del hidrógeno H-6 base del acetilo con la señal ubicada en 0.94 ppm, asignándose ésta al hidrógeno H-5. La señal correspondiente al metilo secundario CH<sub>3</sub>-17 ubicada en 0.86 ppm mostró una correlación con la señal doble de cuádruples con  $J = 7.6, 7.6$  Hz observada en 2.18 ppm, por lo que ésta se asignó al hidrógeno H-14. La señal del protón H-14 correlacionó además con la señal ubicada en 2.38 ppm por lo que se asignó al hidrógeno H-8. La señal del hidrógeno H-8 en 2.38 ppm correlacionó con las señales ubicadas en 1.80 y 1.39 ppm las cuales también correlacionaron

con el hidrógeno H-6, con lo que se corroboró la asignación para los hidrógenos H-7 y H-7', respectivamente. La señal de H-8 mostró además otra correlación con la señal doble de dobles con  $J = 13.1, 7.6$  Hz observada en 1.34 ppm, por lo que ésta se asignó al hidrógeno H-9, esta señal mostró a su vez una correlación con la señal doble con  $J = 7.6$  Hz ubicada en 4.85 ppm, la cual se asignó a la posición H-11 de la estructura.

Mediante el experimento HETCOR (figura 26) se asignó la señal correspondiente al carbono C-6 en 69.9 ppm, ya que ésta mostró una correlación con el protón base del acetilo H-6 ubicada en 5.46 ppm. La señal del hidrógeno ubicada en 0.94 ppm mostró una correlación con la señal de carbono observada en 33.5 ppm, asignada a C-18, así como una correlación con la señal de carbono observada en 56.2 ppm característica de C-5, lo que indica que las señales de estos hidrógenos se encontraban traslapadas. Además se asignaron las señales correspondientes a los etoxilos. El resto de las señales de carbono se asignaron por comparación con el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (1).

Una vez propuesta la estructura para este compuesto, se determinó la estereoquímica de la molécula mediante el experimento NOESY (figura 27), el metilo 17, cuya orientación es  $\alpha$ , mostró una correlación en el espacio con uno de los hidrógenos del metileno 15, y éste a su vez con el protón de la posición 16, este último correlacionó además con uno de los hidrógenos del metileno 1'' del acetal, por lo que estos hidrógenos se encuentran orientados también en posición  $\alpha$ . Por otro lado, el hidrógeno H-11 se asignó en posición  $\beta$ , ya que mostró una correlación espacial con el protón de la posición 8, que conserva la estereoquímica de la materia de partida. Con base en los datos anteriores se propuso la estructura del seco-cassano **53**, formado por la apertura del anillo C entre las posiciones 11-12, y que además presenta un acetal en 11, lo que indica que proviene de la reacción del aldehído correspondiente con el etanol presente en el cloroformo. Esta estructura presenta además una  $\gamma$ -lactona hidroxilada en las posiciones 13 y 15. Al realizar una búsqueda en la literatura se encontraron reportes de la obtención de seco-cassanos similares al que se reporta en este

trabajo.<sup>50</sup> Sin embargo, dadas las funciones que presenta esta estructura, se trata de un nuevo derivado.

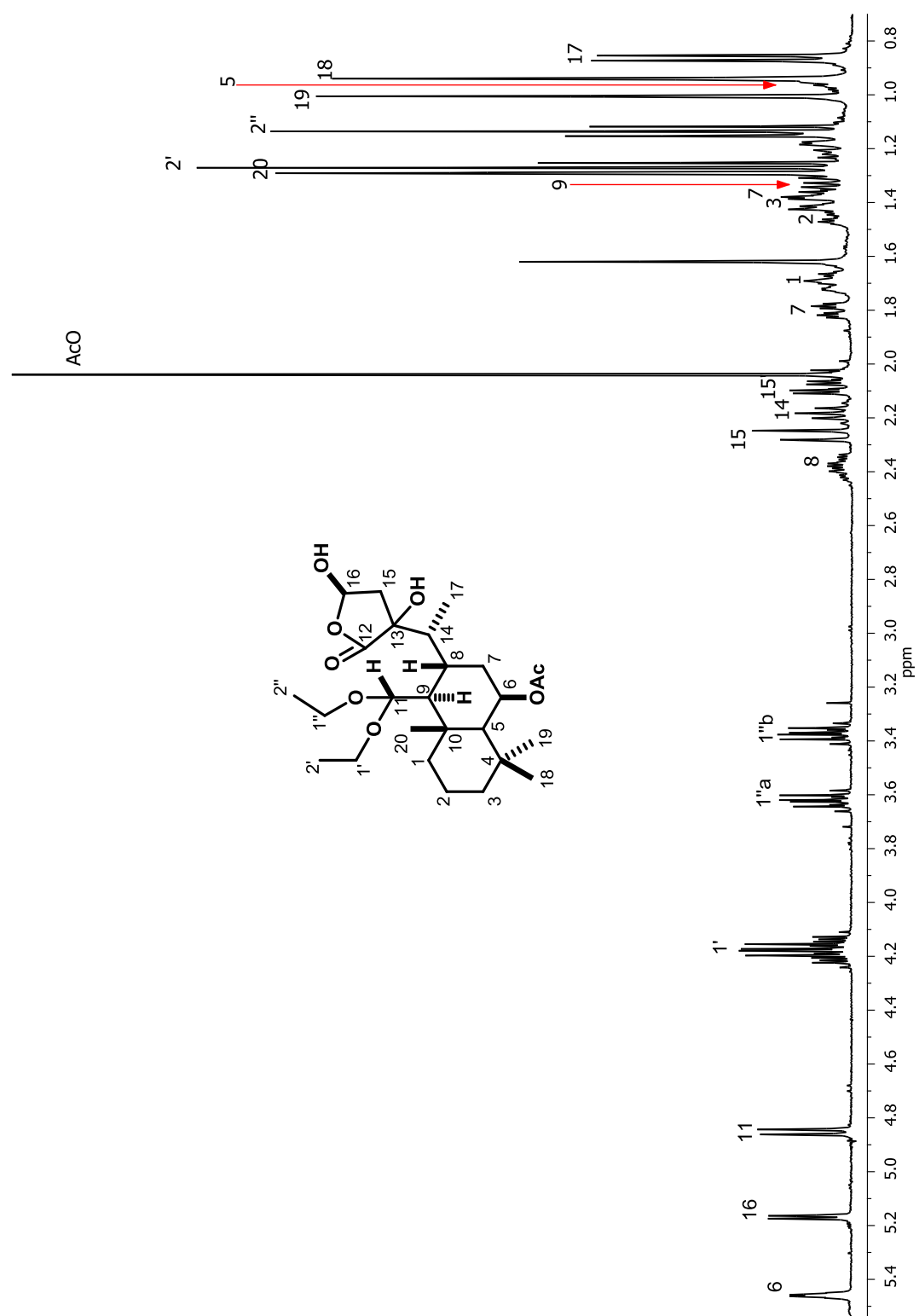


Figura 23. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz del seco-cassano **53** en  $\text{CDCl}_3$ .

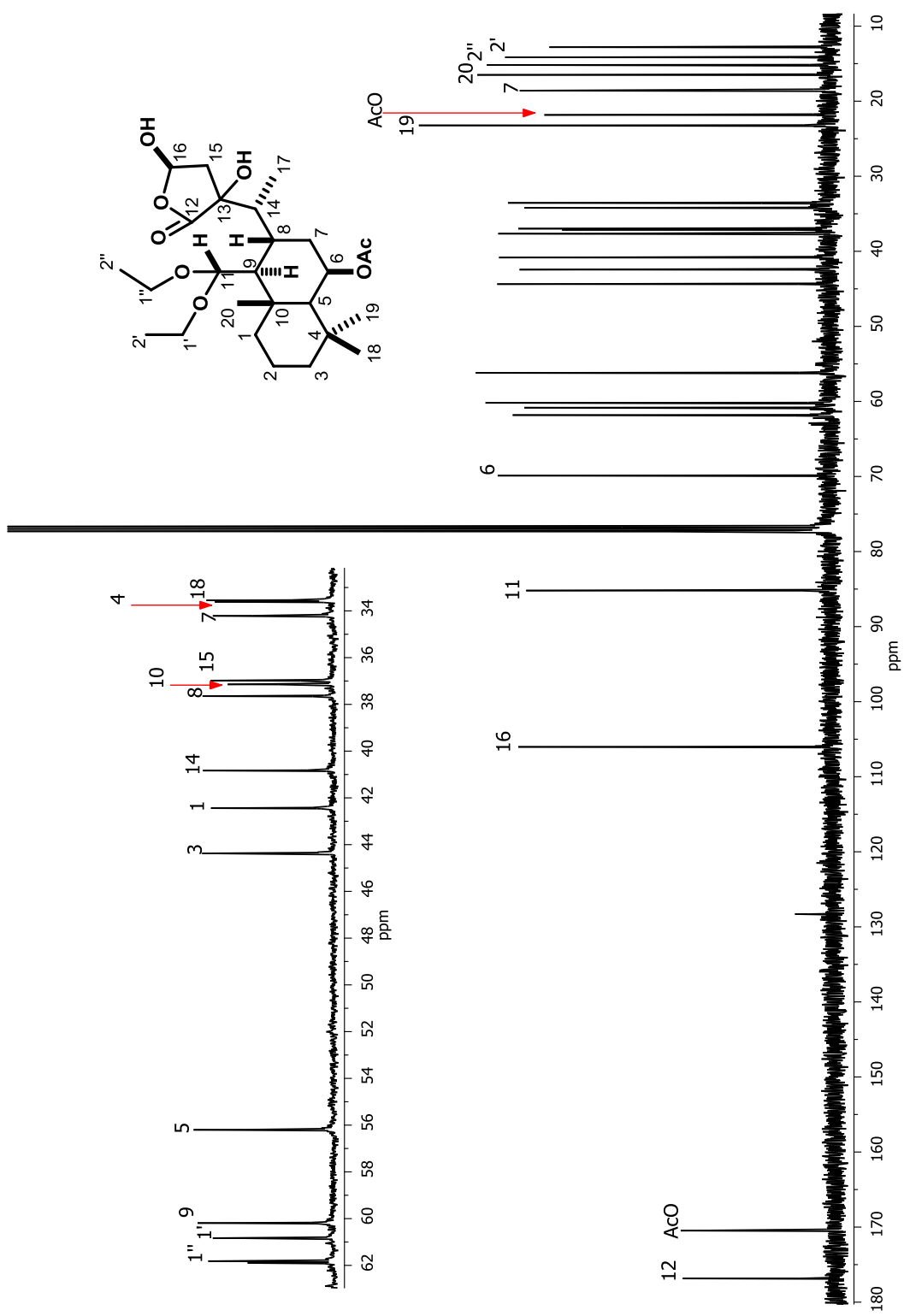


Figura 24. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz del seco-cassano **53** en  $\text{CDCl}_3$ .

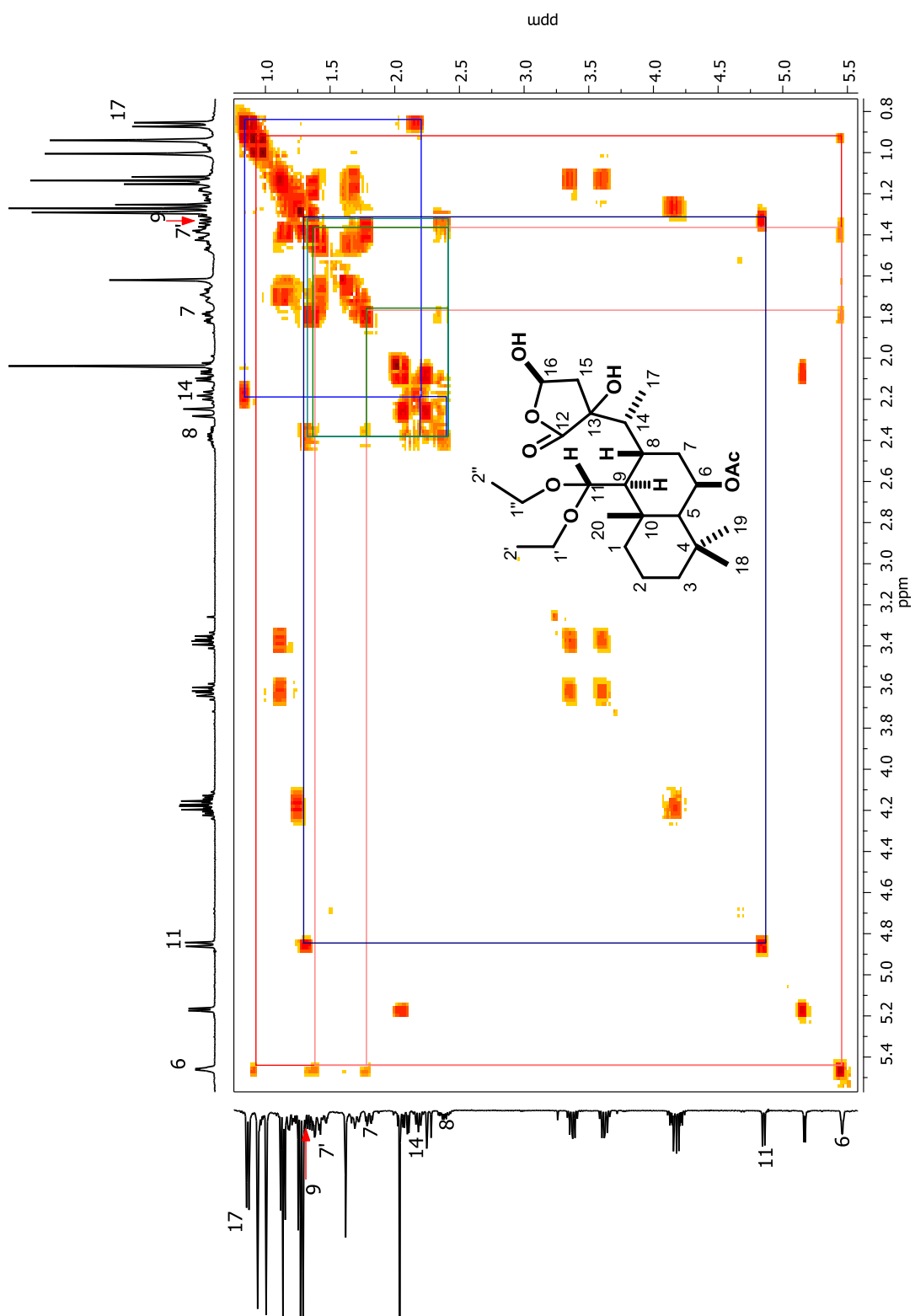


Figura 25. Experimento COSY del seco-cassano 53.

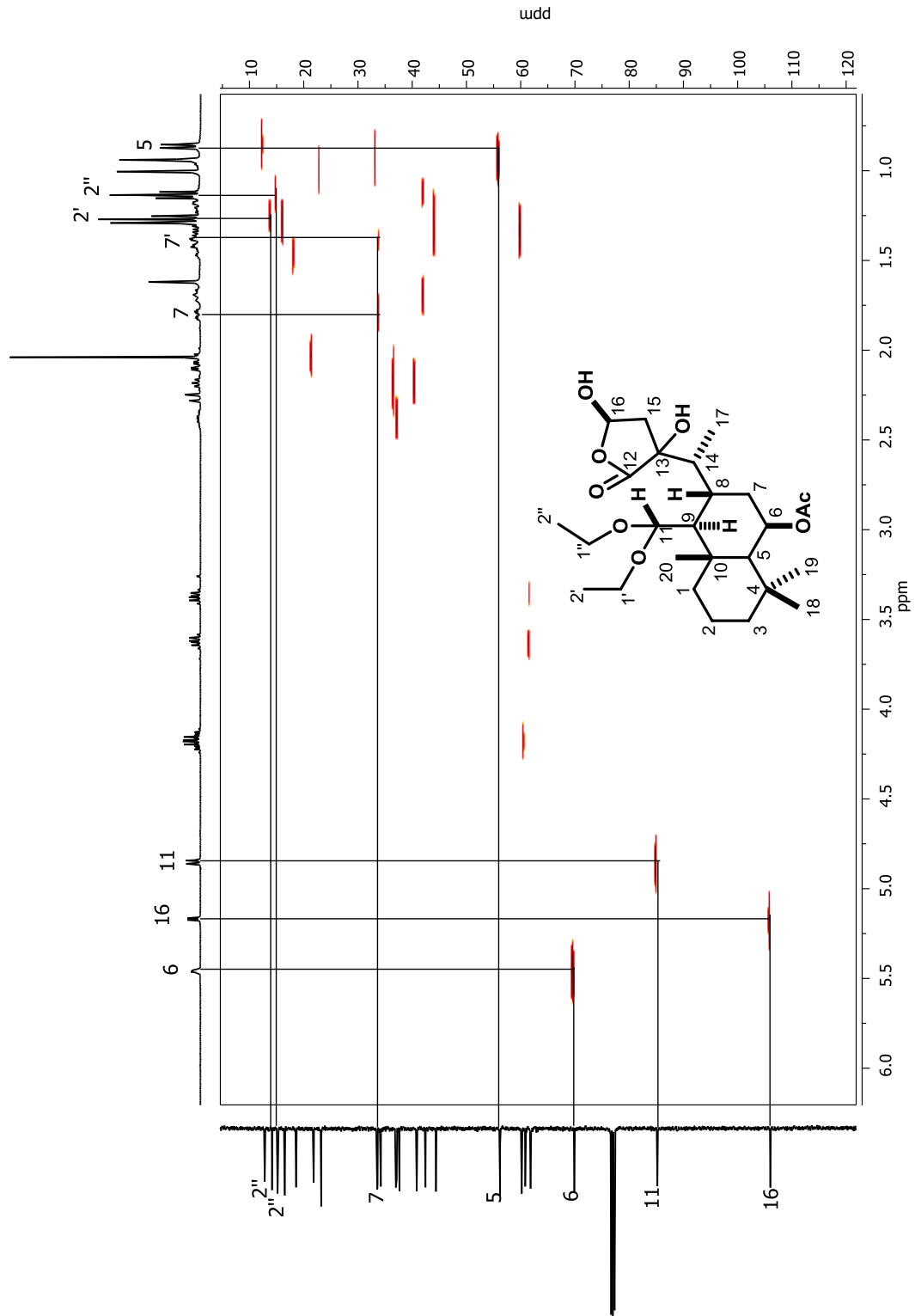


Figura 26. Experimento HETCOR del seco-cassano 53.

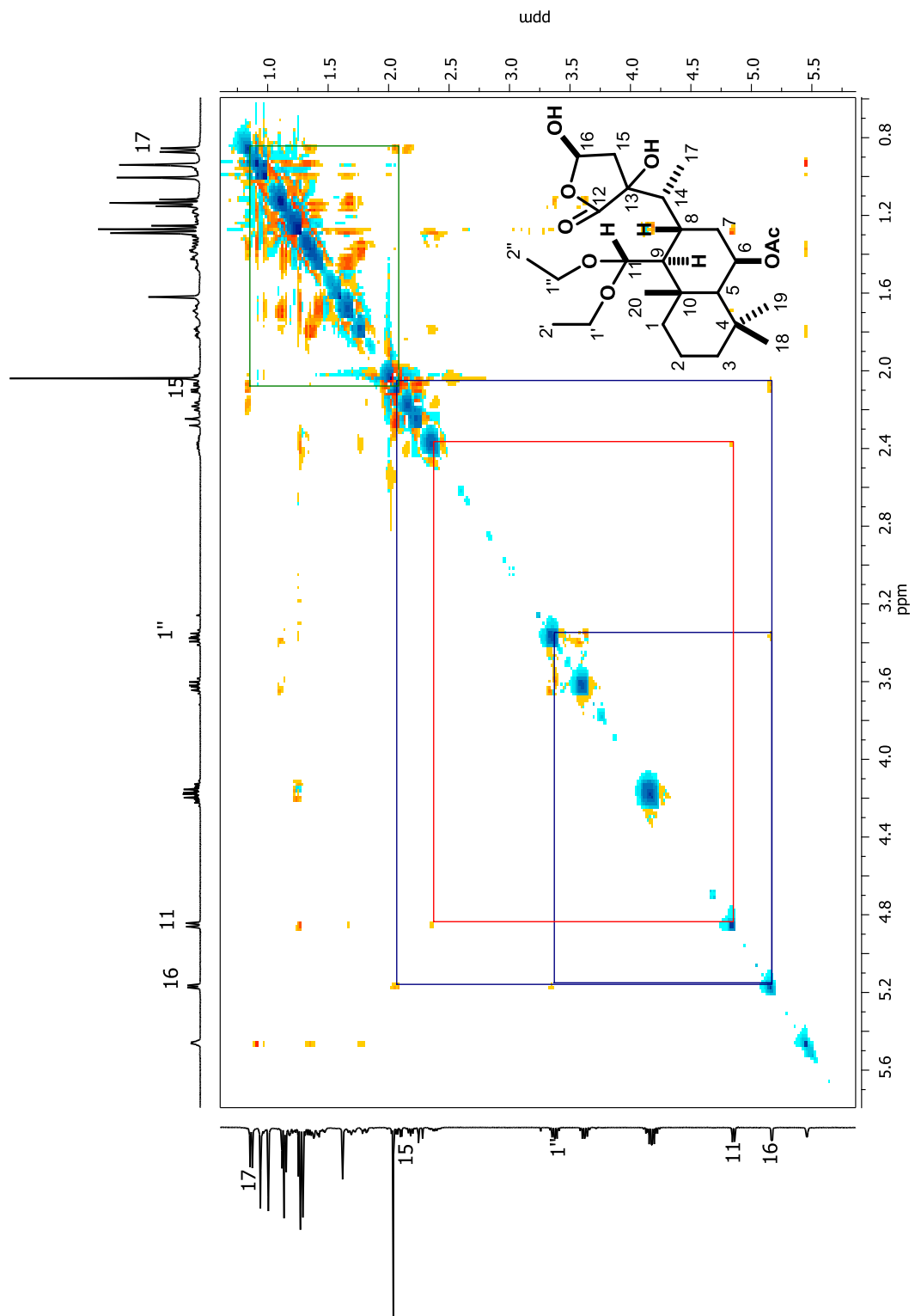
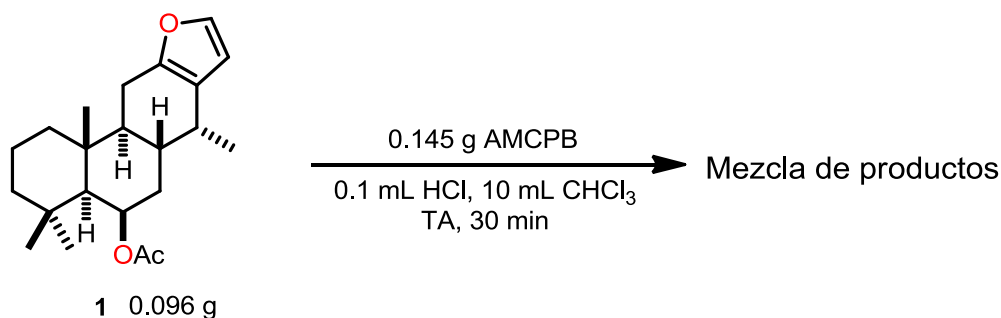


Figura 27. Experimento NOESY del seco-cassano 53.

Continuando con la cromatografía de la reacción, en las fracciones eluidas con hexano-AcOEt (4:1 y 7:3) se obtuvo una mezcla de compuestos, en la que por RMN el compuesto mayoritario correspondió a la espirolactona **52**, dicha mezcla se separó mediante recromatografía en columna, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y una mezcla de hexano-acetona (9:1) como fase móvil; en las fracciones 12-17 se obtuvieron 133 mg de cristales blancos con un punto de fusión de 109-112 °C, los cuales mostraron los mismos datos espectroscópicos que la espirolactona **52**. De esta reacción se obtuvo el 30 % de rendimiento, lo que indica que a baja temperatura se forma principalmente este compuesto.

## Método C

Por otro lado, una solución de 0.145 g de AMCPB disueltos en 5 mL de  $\text{CHCl}_3$  se adicionó a una solución de 0.096 g del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**) disueltos en 5 mL de  $\text{CHCl}_3$  acidificada con 0.1 mL de HCl concentrado, la mezcla de reacción se dejó en agitación durante 30 minutos (esquema 13), el crudo de esta reacción se analizó por RMN, observando el benzofurano **51** como producto mayoritario.



Esquema 13. Oxidación del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**) con AMCPB.

La mezcla de reacción se separó mediante cromatografía en columna, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y mezclas de hexano-acetona en orden creciente de polaridad como fase móvil. En las fracciones 13-15 eluidas en la polaridad de hexano-acetona (19:1) se obtuvieron 29.8 mg (31.3%) de una miel incolora, cuyos datos espectroscópicos correspondieron al benzofurano **51**.

Siguiendo con la cromatografía, en las fracciones 20-22 eluidas con la polaridad hexano-acetona (9:1) se obtuvieron 7 mg (7%) de un sólido de color blanco, que mostró en su espectro de masa un ion molecular  $[M+1]^+$  de 356  $m/z$ . En su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz (figura 28) se ubicó en 6.99 ppm una señal simple correspondiente a un hidrógeno aromático, que se asignó al protón H-11. En 5.80 ppm se observó una señal doble de triples con constantes de acoplamiento de 5.5 y 1.4 Hz, correspondiente al hidrógeno base del acetilo H-6. En 3.62 ppm se observó una señal simple que integró para dos hidrógenos, característica de protones alfa a carbonilo, las cuales se asignaron al metileno

CH<sub>2</sub>-15. En 2.11 ppm se observó una señal simple que integró para 3 hidrógenos, característica del metilo aromático CH<sub>3</sub>-17. En 2.02 ppm se apreció la señal simple del metilo del acetilo. En 1.58, 1.08 y 1.06 ppm se observaron las señales simples para los metilos terciarios CH<sub>3</sub>-20, CH<sub>3</sub>-19 y CH<sub>3</sub>-18, respectivamente. La desaparición del metilo secundario y la aparición de un metilo aromático, indicó la aromatización del anillo C del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**).

En el espectro de RMN de <sup>13</sup>C a 100 MHz (figura 29) se observaron 22 señales. En 174.4 ppm se observó la señal del carbonilo de la lactona C-16. En 170.8 ppm se ubicó la señal del carbonilo del acetilo. Entre 153.1 y 104.8 ppm se apreciaron 6 señales para carbonos aromáticos, que fueron asignadas a los carbonos C-12, C-9, C-14, C-8, C-13 y C-11, respectivamente, lo que confirmó la aromatización del anillo C. En 67.1 ppm se ubicó una señal del carbono C-6 base del acetilo. En 51.4 ppm se observó la señal característica del carbono C-5 cabeza de puente. Entre 42.9 y 16.5 ppm se ubicó el resto de las señales carbonadas de la estructura. La aparición de una señal de carbonilo de lactona aunado a la desaparición de dos de las señales de carbono para el anillo del furano, indican la oxidación de éste.

En el espectro COSY (figura 30) se observó la correlación entre la señal del protón aromático H-11 ubicada en 6.99 ppm con la señal del metilo aromático CH<sub>3</sub>-17 en 2.11 ppm y con la señal simple ubicada en 3.62 ppm, que fue asignada al metileno CH<sub>2</sub>-15. Se observó también una correlación entre el metilo aromático CH<sub>3</sub>-17 con la señal del metileno CH<sub>2</sub>-15. Se observó la correlación de la señal ubicada en 5.80 ppm, asignada al hidrógeno H-6 con las señales encontradas en 2.93 y 2.83 ppm las cuales fueron asignadas como los protones H-7 y H-7', respectivamente. También se observó una correlación del hidrógeno H-6 con una señal simple en 1.48 ppm la cual se asignó como H-5.

Con el experimento HETCOR (figura 31) se asignó la señal del carbono C-6 en 67.1 ppm, ya que se observó la correlación de ésta con la señal del hidrógeno H-6 base del acetilo en 5.80 ppm. Se observó la correlación de la señal característica del carbono C-5 ubicada en 51.4 ppm con una señal simple en 1.48

ppm, confirmando la asignación de hidrógeno H-5. La señal simple ubicada en 3.62 ppm asignada al metileno CH<sub>2</sub>-15, mostró una correlación con la señal de carbono ubicada en 32.4 ppm. Se observó una correlación entre la señal de carbono en 34.9 ppm, con señales de protón en 2.93 y 2.83 ppm, las cuales fueran asignadas mediante COSY para el metileno CH<sub>2</sub>-7. El resto de las señales se asignaron con ayuda del experimento HMBC, y por comparación con los datos del 6β-acetoxivouacapano (1).

Con base en estos datos se propuso como estructura la lactona **54** en la que el anillo C se encuentra aromatizado y el anillo D, ahora es de tipo butenólido, no se encontraron reportes bibliográficos para esta estructura, por lo que se trata de un nuevo derivado.

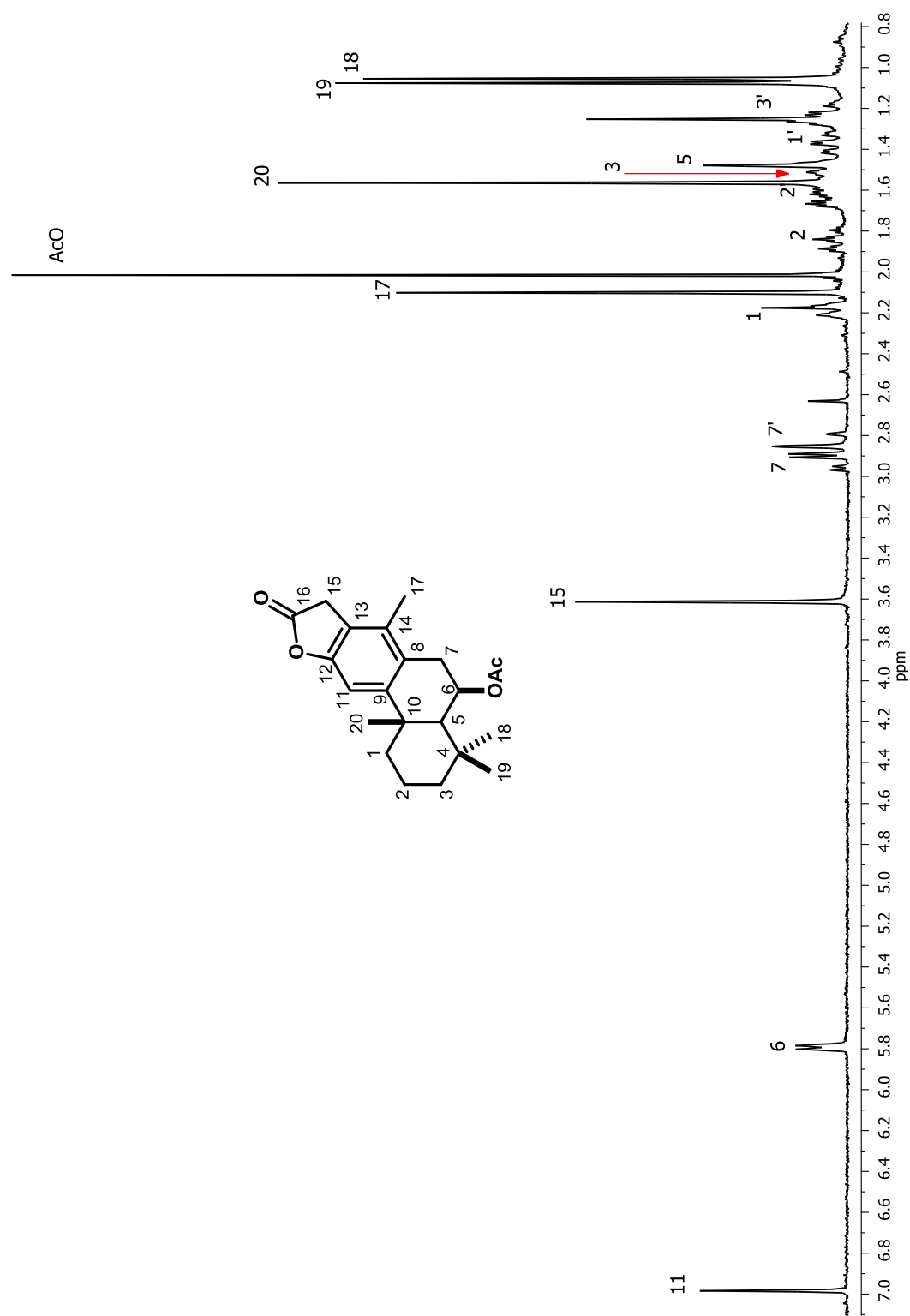


Figura 28. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz de la lactona **54** en  $\text{CDCl}_3$ .

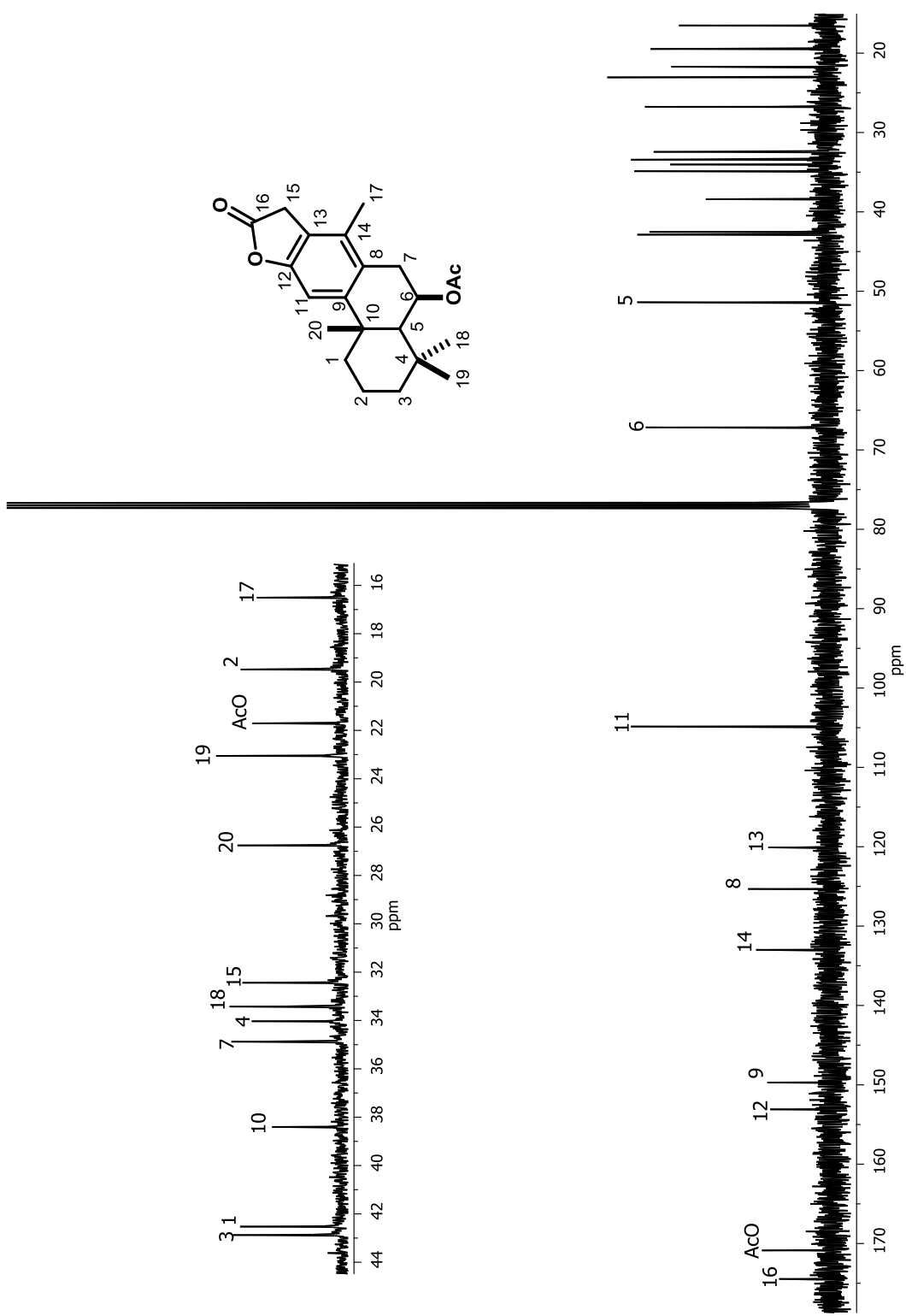


Figura 29. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz de la lactona **54** en  $\text{CDCl}_3$ .

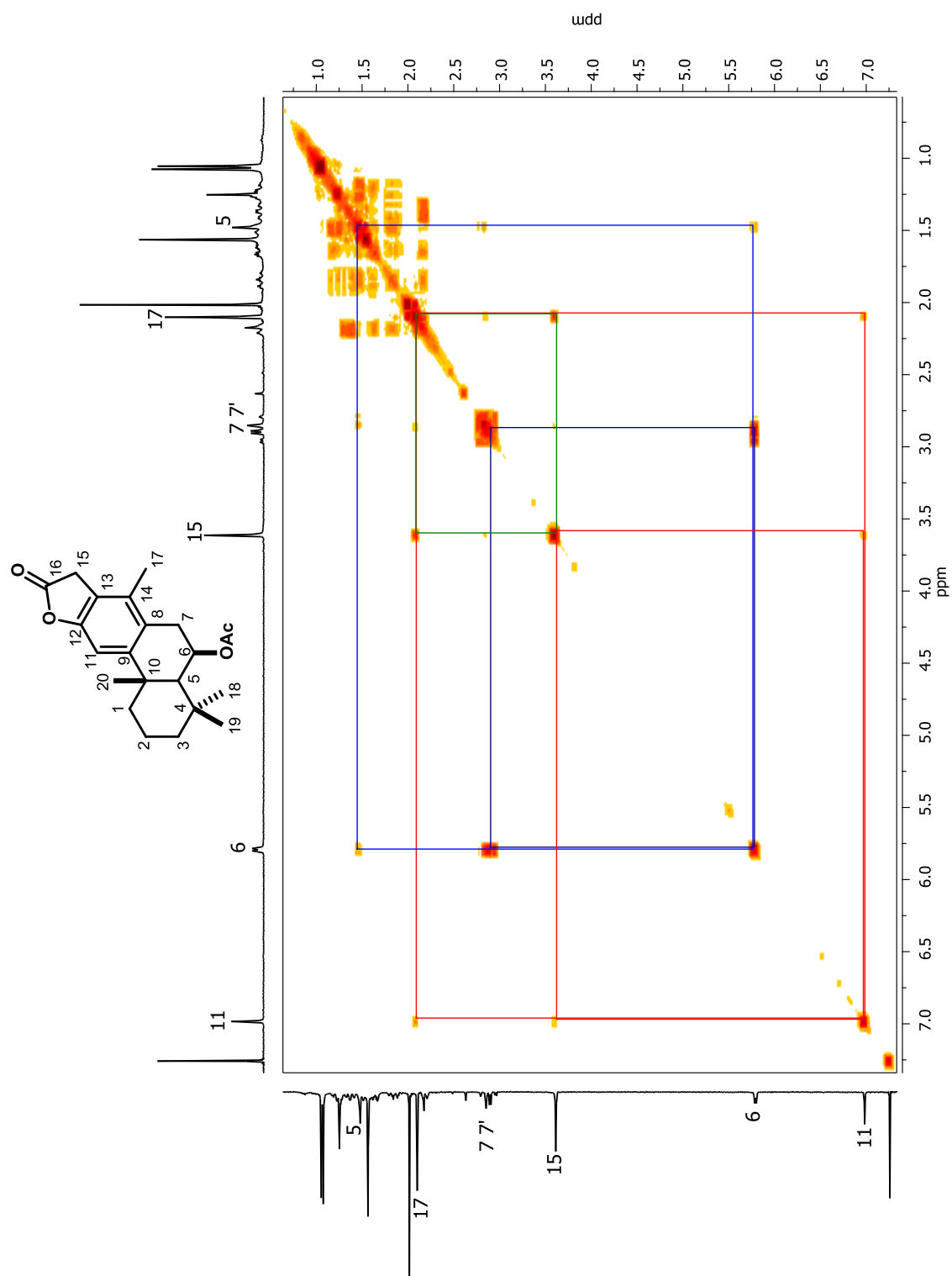


Figura 30. Espectro COSY de la lactona **54**.

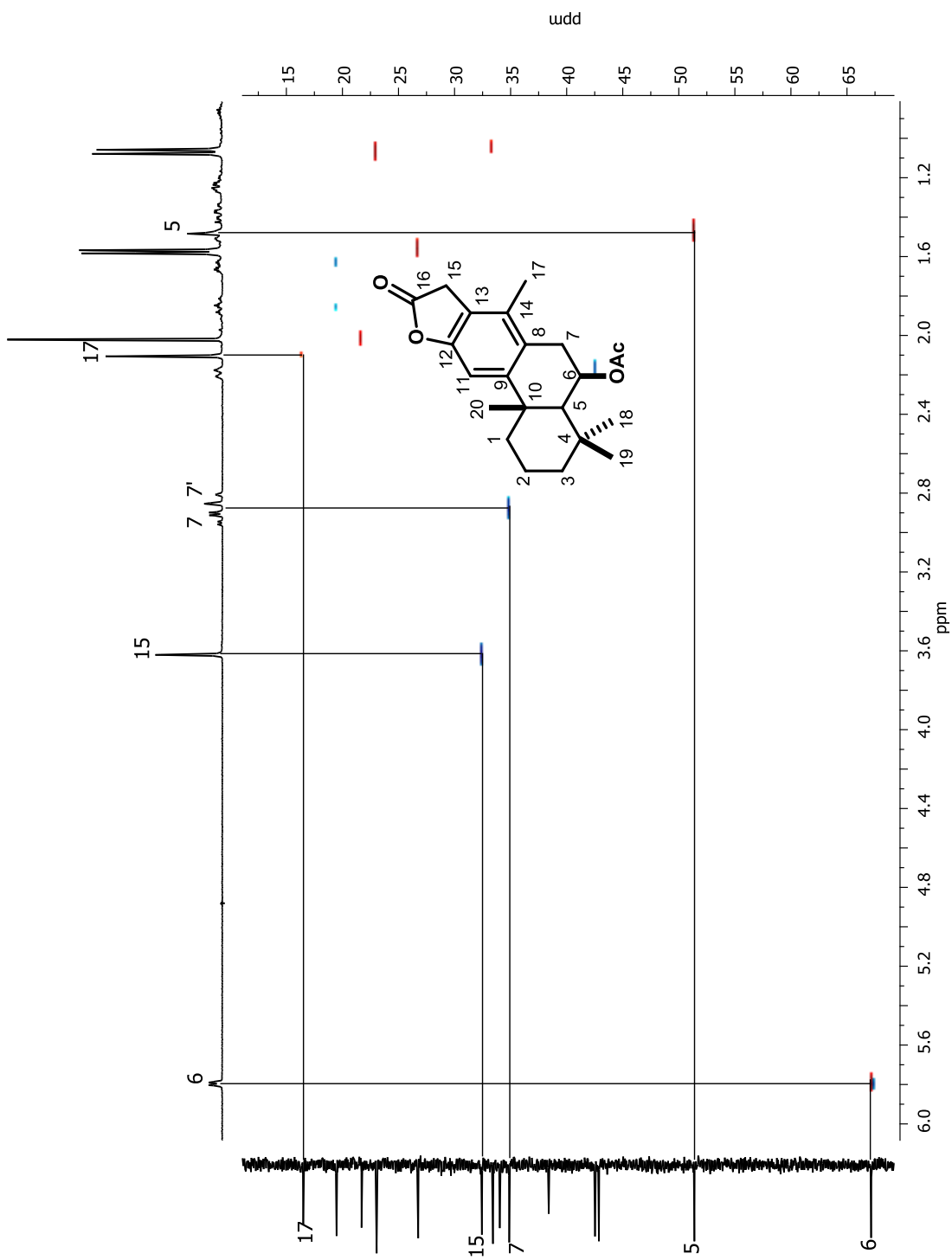
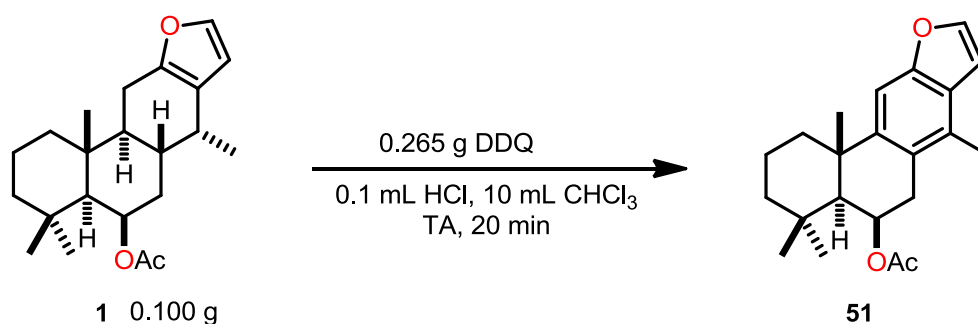


Figura 31. Espectro HETCOR de la lactona 54.

Continuando con la cromatografía de la reacción, en las fracciones 27 y 28 eluídas con la polaridad hexano-acetona (4:1), se aislaron 12.8 mg de cristales blancos con punto de fusión de 103-105 °C, los cuales fueron caracterizados mediante sus datos de RMN, concordando sus datos con los de la espirolactona **52**, obteniendo un rendimiento del 12 % de ésta. Por lo tanto, a temperatura ambiente se favorece la formación del compuesto benzofuránico **51** sobre la espirolactona **52**.

## OXIDACIÓN DEL 6 $\beta$ -ACETOXIVOUCAPANO (1) CON DDQ

Con la finalidad de obtener en mayor proporción los derivados aromatizados, y sabiendo que el DDQ es utilizado para este tipo de reacciones, una solución de 0.100 g del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**) disueltos en 5 mL de CHCl<sub>3</sub> acidificada con HCl se adicionó a una suspensión de 0.265 g de DDQ disuelta en 5 mL de CHCl<sub>3</sub> acidificada con HCl mL de ácido clorhídrico concentrado, la mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 20 minutos (esquema 14), obteniendo una miel de color café, la cual fue analizada por RMN de <sup>1</sup>H, observando como único producto al benzofurano **51**.



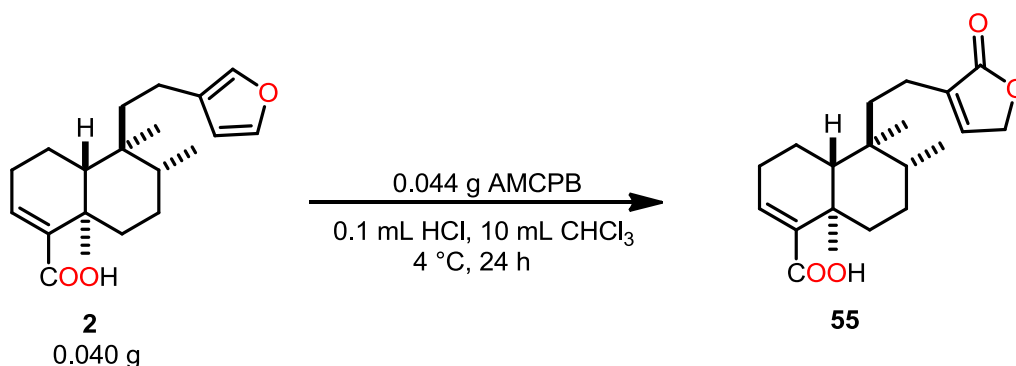
Esquema 14. Oxidación del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**) con DDQ.

Esta mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía en columna, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y una mezcla de hexano-AcOEt (19:1) como fase móvil. En las fracciones 5-10 se obtuvieron 70 mg (70%) de una miel incolora, la cual se caracterizó mediante RMN, coincidiendo sus datos con los reportados para el benzofurano **51**, lo que implica que la reacción del compuesto **1** con DDQ en medio ácido produce un solo compuesto, el derivado aromatizado en el anillo C del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**), con lo que se reducen los tiempos de reacción y facilita la purificación por técnicas cromatográficas.

Una vez realizado el estudio preliminar de la oxidación del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**) con ambos agentes oxidantes en diferentes condiciones, se decidió realizar el estudio de la oxidación del ácido hardwickiico (**2**).

## TRATAMIENTO OXIDATIVO DEL ÁCIDO HARDWICKIICO (2) CON AMCPB

Las condiciones de reacción con las que se inició el estudio con el ácido hardwickiico (2), fueron las mismas con las que se inició para el voucapanao 1. A una solución de 0.040 g de ácido hardwickiico (2) disueltos en 5 mL de  $\text{CHCl}_3$  frío y acidificada con HCl concentrado, se le adicionó una solución de 0.044 g de AMCPB disueltos en 5 mL de  $\text{CHCl}_3$  frío y HCl, la mezcla de reacción se dejó en reposo a 4 °C durante 24 horas (esquema 15).



Esquema 15. Oxidación del ácido hardwickiico con AMCPB.

De esta reacción se obtuvo una miel incolora, la cual mostró mediante RMN de  $^1\text{H}$  un compuesto mayoritario. El producto de la reacción se purificó utilizando gel de sílice como fase estacionaria y una mezcla de hexano-AcOEt (4:1) como eluyente. En la fracción 6 se obtuvo una miel incolora. En su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (figura 32) se observó en 7.11 ppm una señal triple con  $J = 1.5$  Hz, asignada al hidrógeno H-14. En 6.89 ppm se ubicó una señal múltiple asignada al protón vinílico H-3. En 4.78 ppm se observó una señal doble con  $J = 1.5$  Hz que integró para dos hidrógenos y fue asignada al metileno H-15. En 1.26 ppm se ubicó la señal simple característica del metilo  $\text{CH}_3$ -19. En 0.83 ppm se encontró una señal doble con una  $J = 6.3$  Hz que integró para tres hidrógenos, la cual fue asignada al metilo  $\text{CH}_3$ -17. Por último en 0.77 ppm se observó la señal simple del metilo

terciario CH<sub>3</sub>-20. La desaparición de las señales del anillo del furano indicaron que la oxidación se había llevado a cabo.

En el espectro de RMN de <sup>13</sup>C (figura 33) se observaron las 20 señales esperadas para la estructura. Se ubicaron dos señales para carbonilos, una en 174.4 ppm que fue asignada al carbonilo de lactona C-16, y la otra en 171.8 ppm asignada al carbonilo de ácido C-18. En 143.5, 141.1, 140.4 y 134.9 ppm se observaron cuatro señales para carbonos de doble enlace, las cuales fueron asignadas a los carbonos C-14, C-4, C-3 y C-13, respectivamente. En 70.2 ppm se observó la aparición de una señal base de éster, asignada al carbono C-15. En 46.6 ppm se apreció la señal característica del carbono metínico C-10. El resto de las señales de carbono fueron ubicadas entre 38.7 y 15.9 ppm, las cuales fueron asignadas en base a datos de RMN en dos dimensiones y mediante comparación con los datos reportados para la materia prima.

Mediante el espectro bidimensional COSY (figura 34) se observó la correlación de la señal del hidrógeno H-14 ubicada en 7.11 ppm con la señal doble observada en 4.78 ppm, que fue asignada al metileno CH<sub>2</sub>-15, ésta mostró a su vez una correlación con una señal múltiple ubicada en 2.06 ppm, y fue asignada a uno de los hidrógenos del metileno alílico CH<sub>2</sub>-12. La señal del metileno CH<sub>2</sub>-2 se asignó a la señal múltiple ubicada en 2.32 ppm, ya que mostró una correlación con la señal ubicada en 6.89 ppm asignada al hidrógeno vinílico H-3. Se logró asignar la señal correspondiente el metino CH-8 en 1.52 ppm ya que se observó la correlación correspondiente con el metilo secundario CH<sub>3</sub>-17 ubicada en 0.83 ppm.

El experimento HETCOR (figura 35) permitió asignar de manera inequívoca las señales correspondientes a los carbonos vinílicos protonados, la señal ubicada en 143.5 ppm fue asignada al carbono C-14, ya que mostró una correlación con la señal de hidrógeno ubicada en 7.11 ppm. Mientras que la señal observada en 140.4 ppm correlacionó con la señal de protón ubicada en 6.89 ppm asignada al hidrógeno H-3. Por último, la señal múltiple ubicada en 1.36 ppm se asignó al

hidrógeno H-10, ya que correlacionó con la señal característica de carbono ubicada en 46.6 ppm.

Mediante el experimento HETCOR a larga distancia (figura 36) se asignaron de manera inequívoca los carbonilos de la estructura. La señal ubicada en 174.4 ppm mostró una correlación con la señal de hidrógeno en 7.11 ppm (H-14), por lo que fue asignada al carbonilo CO-16. Mientras que la señal observada en 171.8 ppm se asignó al carbonilo CO-18, ya que correlacionó con la señal de hidrógeno ubicada en 6.89 ppm asignada al protón H-3. Fue posible diferenciar los carbonos vinílicos cuaternarios, ya que la señal ubicada en 141.1 ppm correlacionó con la señal de hidrógeno en 6.89 ppm, por lo que se asignó al carbono C-4. En base a los datos anteriores se propuso la estructura de la lactona **55**, en la que el anillo de furano de la materia prima es ahora una lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada. Los datos de este compuesto fueron comparados con los reportados para el ácido patagónico<sup>57,58</sup> (tabla 4), observando que existe una concordancia de los datos, con excepción del carbono C-18 correspondiente al ácido carboxílico de la estructura, lo cual puede deberse a la acidez de la muestra. Diferencias en los desplazamientos químicos para los carbonilos de los ácidos carboxílicos han sido observados en otros diterpenos funcionalizados con COOH.<sup>59,60</sup>

Aunque en bajos rendimientos, se obtiene un solo producto, lo que permite obtener cantidades suficientes para explorar pruebas biológicas. En virtud de que el compuesto **2** no presenta un anillo adyacente al furano, no se realizó la oxidación con DDQ, ya que no habría aromatización, aunque esta reacción queda como una perspectiva para un trabajo posterior, ya que pudiera llevarse a cabo la oxidación alílica o la generación de una lactona.

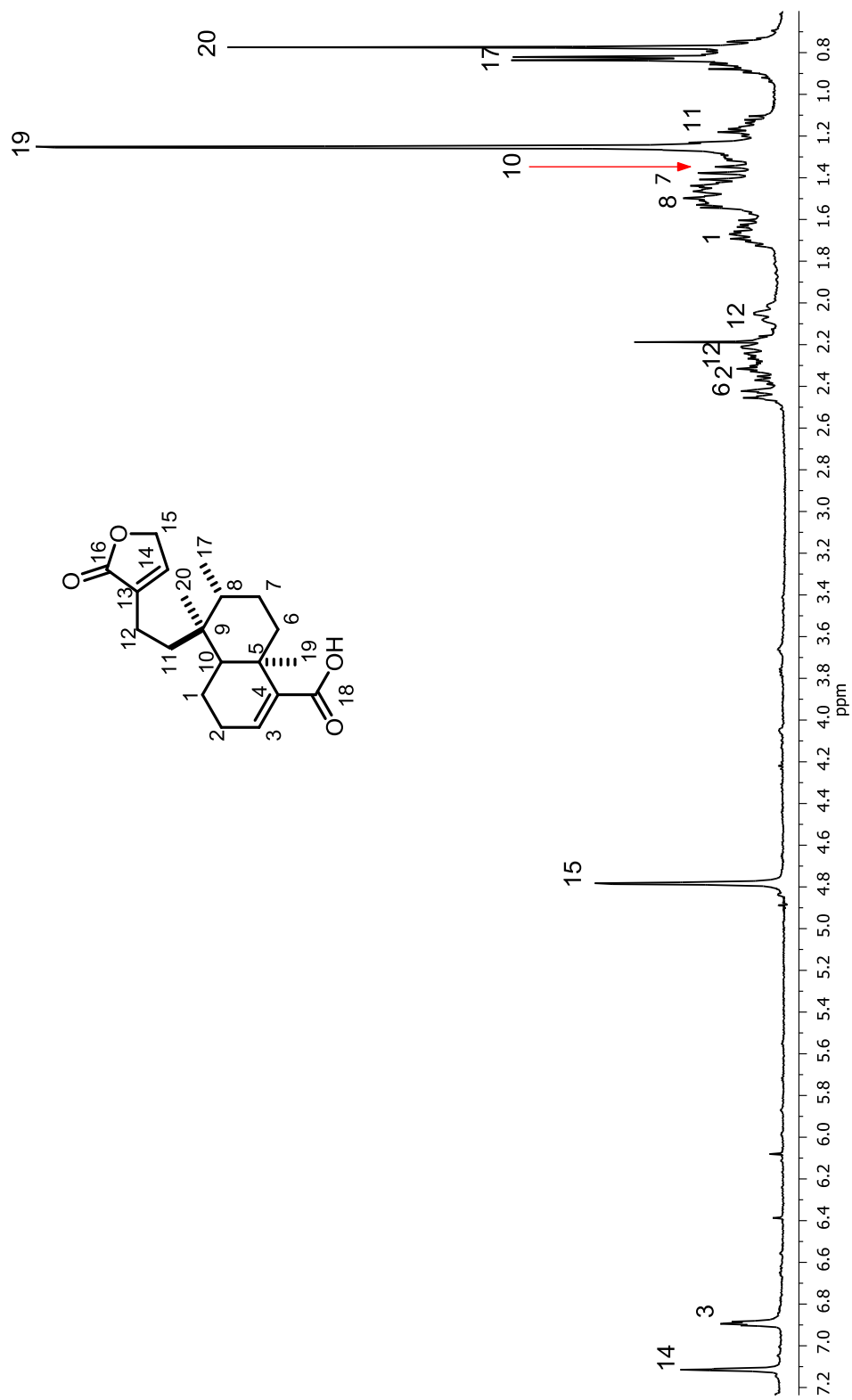


Figura 32. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  a 400 MHz de la lactona **55** en  $\text{CDCl}_3$ .

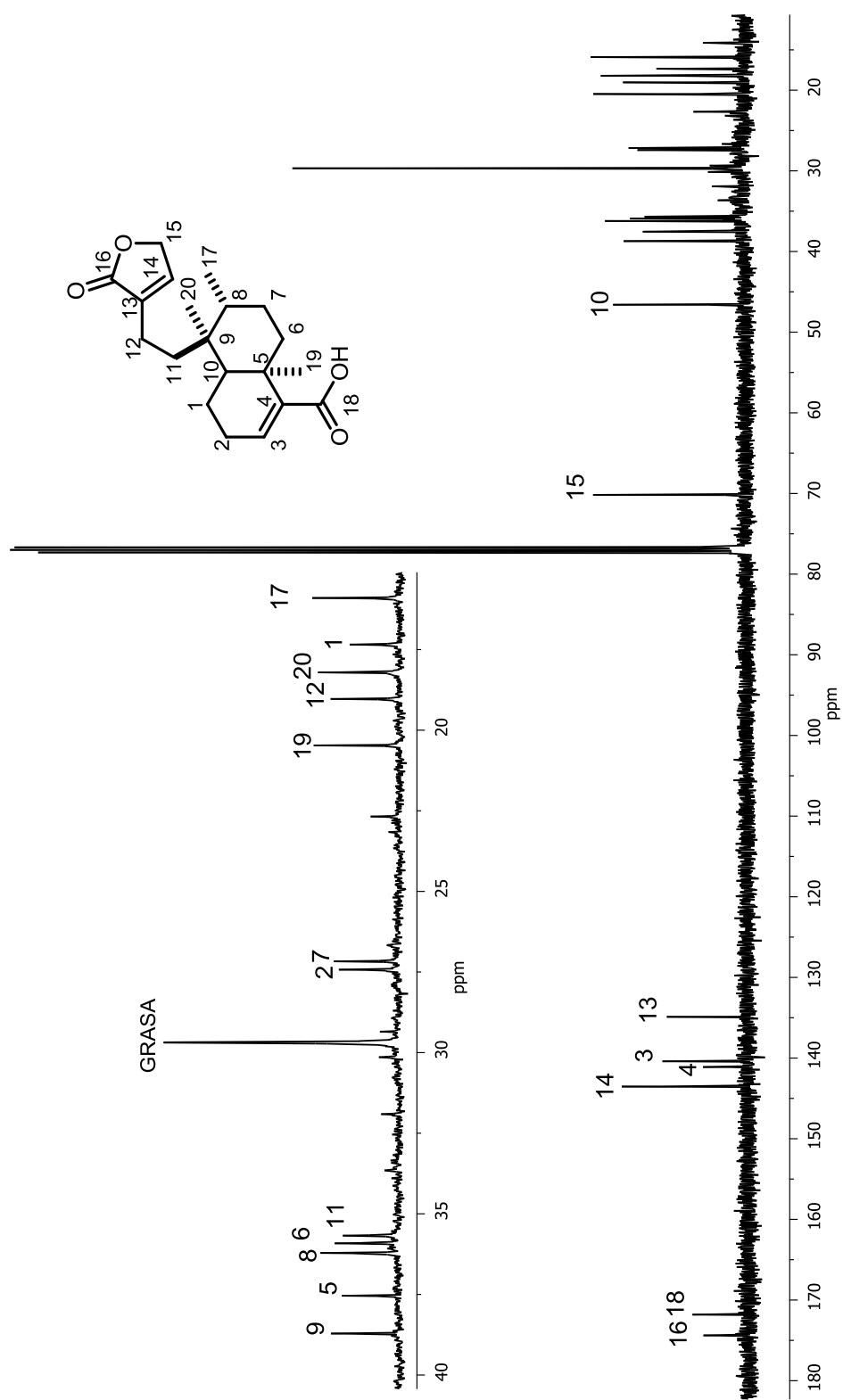


Figura 33. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  a 100 MHz de la lactona **55** en  $\text{CDCl}_3$ .

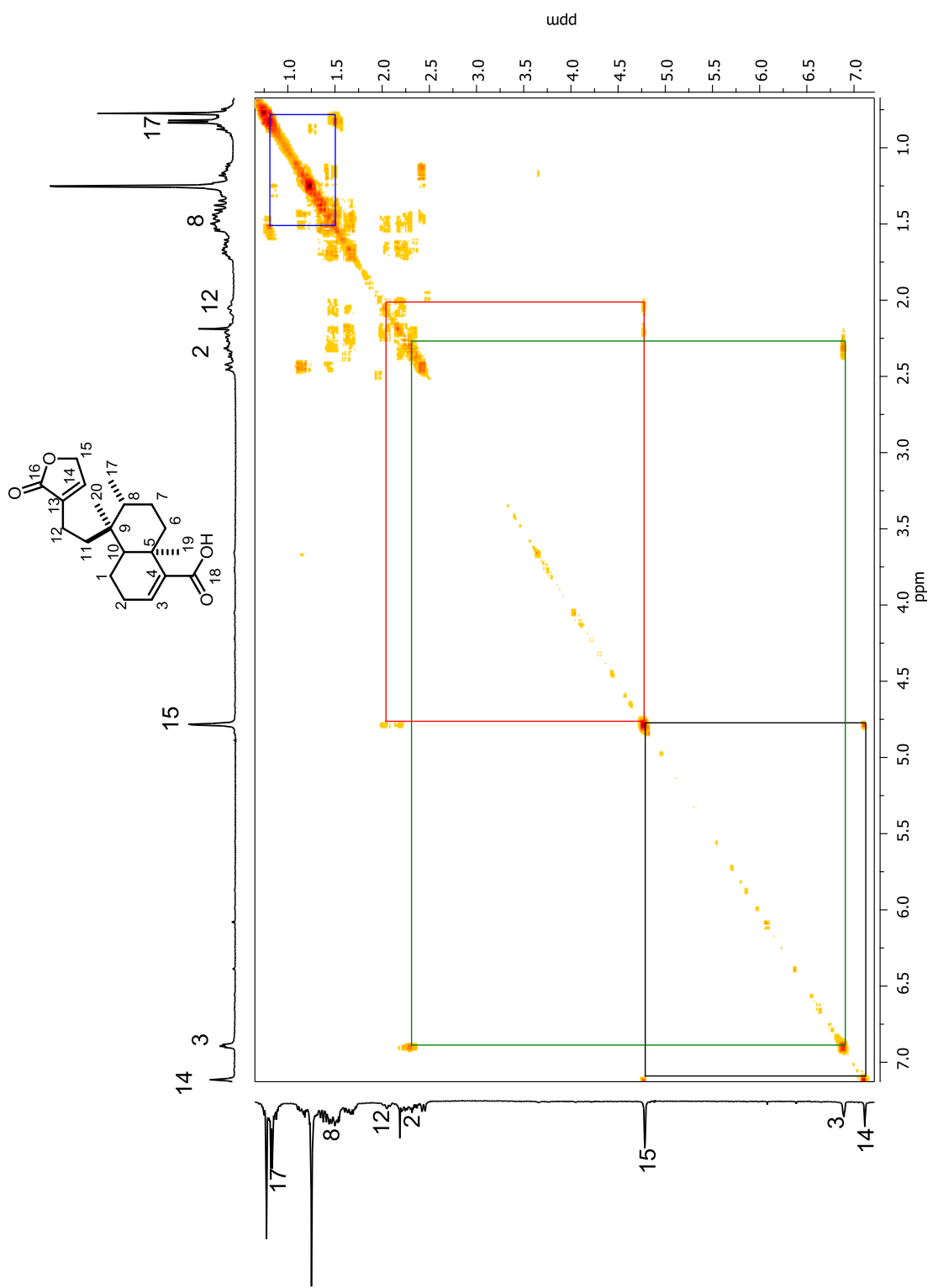


Figura 34. Espectro COSY de la lactona 55.

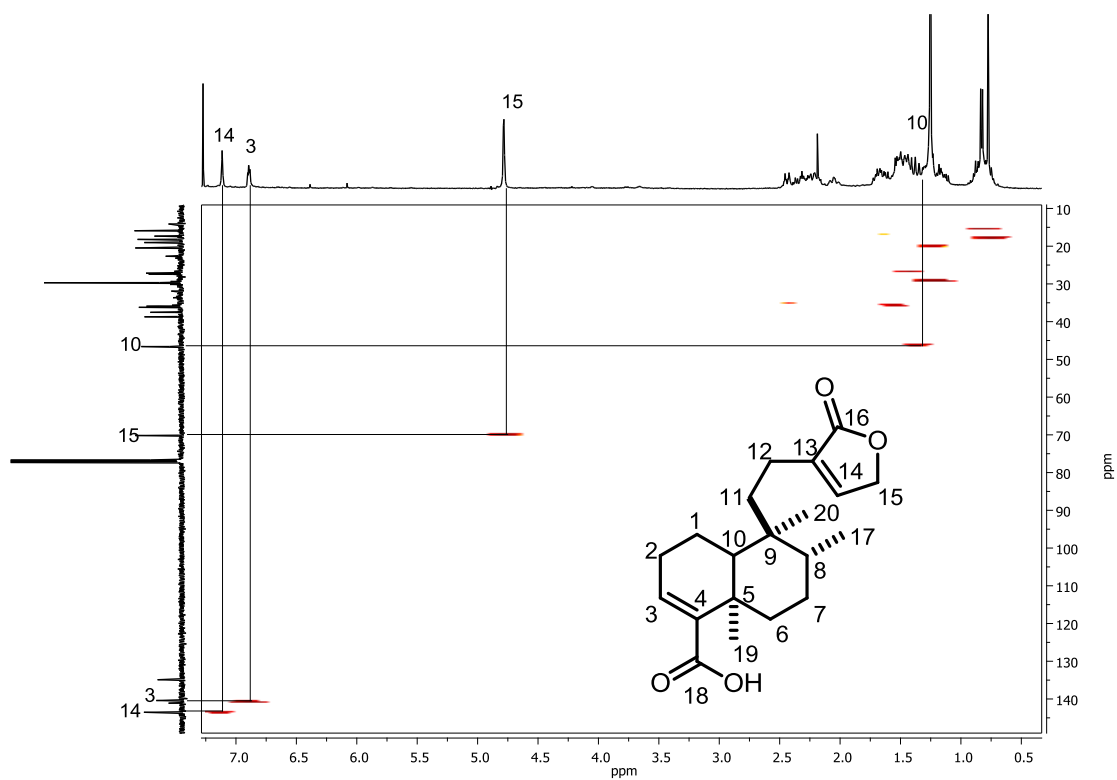


Figura 35. Espectro HETCOR de la lactona **55**.

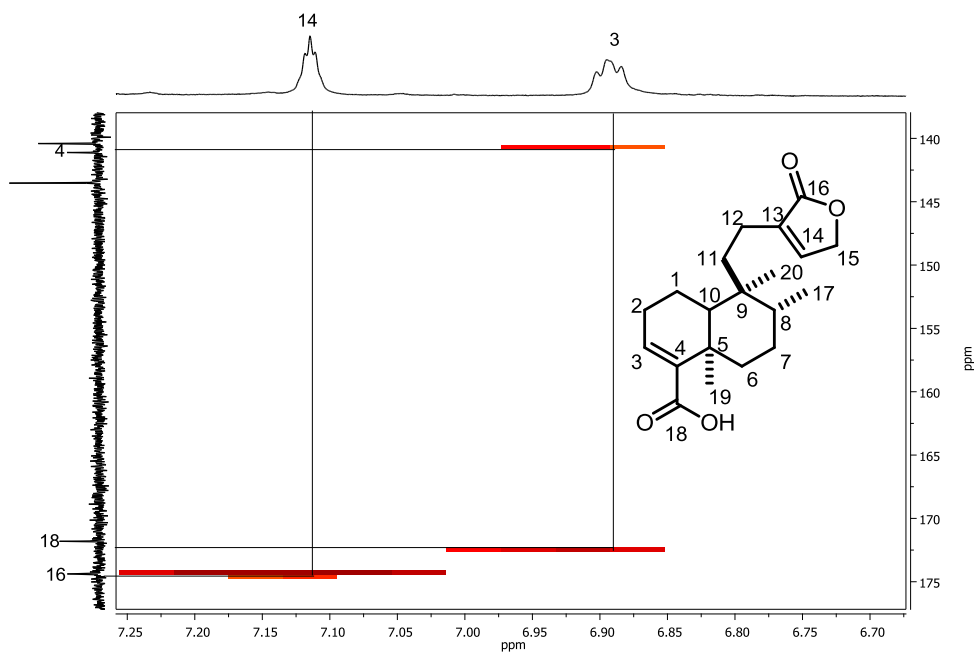
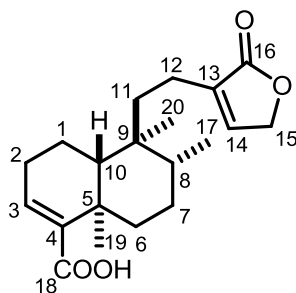


Figura 36. Ampliación del HETCOR a larga distancia de la lactona **55**.

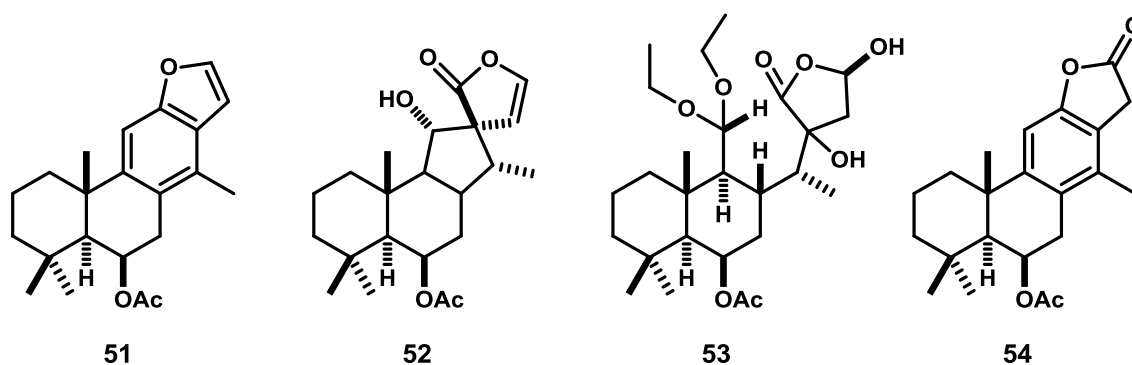
Tabla 4. Comparación de los datos de RMN de  $^{13}\text{C}$  del ácido patagónico experimental y reportado de *Nanuza plicata*



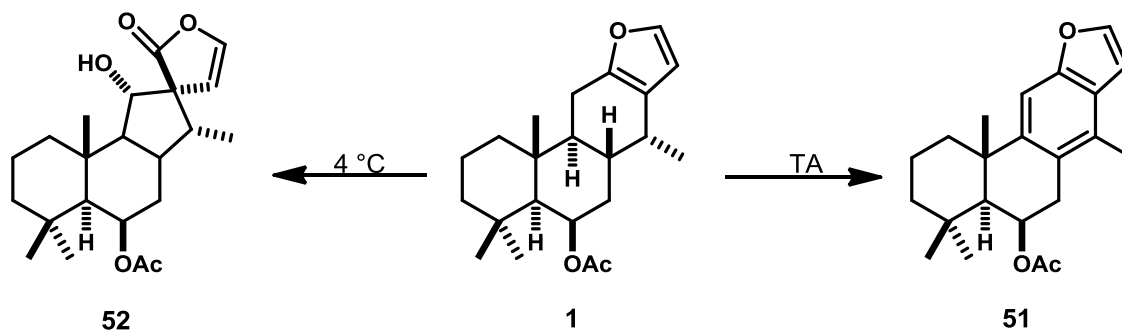
| Posición | Experimental<br>CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz | Literatura <sup>57</sup><br>CDCl <sub>3</sub> , 125 MHz |
|----------|---|---|
| 1        | 17.3  | 17.4  |
| 2        | 27.4  | 27.4  |
| 3        | 140.4                                       | 140.1   |
| 4        | 141.1                                       | 141.1   |
| 5        | 37.5  | 37.4  |
| 6        | 35.9  | 36.0  |
| 7        | 27.2  | 27.2  |
| 8        | 36.2  | 36.3  |
| 9        | 38.7  | 38.7  |
| 10       | 46.6  | 46.7  |
| 11       | 35.7  | 35.7  |
| 12       | 19.0  | 19.0  |
| 13       | 134.9                                       | 135.0   |
| 14       | 143.5                                       | 143.4   |
| 15       | 70.2  | 70.1  |
| 16       | 174.4                                       | 174.3   |
| 17       | 15.9  | 15.8  |
| 18       | 171.8                                       | 174.2   |
| 19       | 20.5  | 20.5  |
| 20       | 18.2  | 18.1  |

## CONCLUSIONES

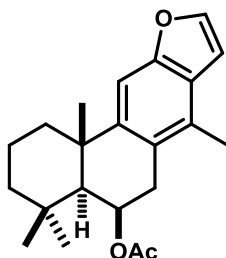
El tratamiento oxidativo del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**) con AMCPB condujo a la obtención y caracterización de los compuestos **51-54**; el derivado benzofuránico **51**, fue aislado previamente de una fuente natural en bajos rendimientos, mientras que los derivados **52-54** corresponden a estructuras novedosas.



El tratamiento de **1** con AMCPB en medio ácido a baja temperatura favorece la formación de la espirolactona **52**, mientras que a temperatura ambiente se favorece la formación del benzofurano **51**.

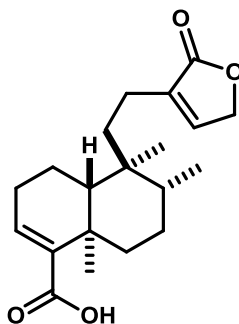


La oxidación del cassano **1** con DDQ en medio ácido solo promueve la aromatización del anillo C del vouacapano **1**, por lo que se obtiene como único producto el benzofurano **51**.



**51**

El tratamiento del ácido hardwickiico (**2**) con AMCPB en medio ácido, condujo a la obtención y caracterización de la lactona **55**, conocida como ácido patagónico previamente aislado de manera natural de *Nanuza plicata* y *Baccharis patagonica*.



**55**

Las variaciones de las condiciones de oxidación exploradas con **1** y **2** permitieron generar distintos derivados diterpénicos (**51-55**), lo cual abre la posibilidad de continuar con la exploración de la reactividad de estos compuestos frente a otros agentes oxidantes y condiciones de reacción, así como realizar estudios de la relación estructura-actividad.

## PARTE EXPERIMENTAL

Las purificaciones se realizaron mediante cromatografía en columna, empleando columnas de vidrio, gel de sílice 230-400 mallas de la marca MERCK, y mezclas de disolventes como fase móvil.

Los espectros de RMN de 1D y 2D se determinaron en un espectrómetro Varian Mercury Plus 400, utilizando  $\text{CDCl}_3$  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  $650\text{ cm}^{-1}$ . Los datos se expresan en números de onda  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) para los máximos principales de absorción.

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

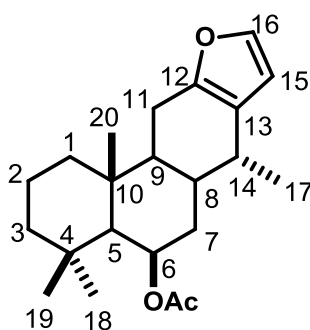
Las mediciones de UV se llevaron a cabo usando un espectrofotómetro marca Perkin Elmer Lambda 12, empleando celdas de cuarzo de 1 cm de longitud y soluciones etanólicas.

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

### **Obtención del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (1)**

*Caesalpinia platyloba*, se colectó el mes de Septiembre del 2012 en Los Charcos, Municipio de Buenavista, Michoacán. La planta fue identificada por el M.C. Xavier Madrigal, de la Facultad de Biología de la UMSNH con número de voucher 20401, conservándose un ejemplar en el Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la UMSNH. Un lote de 1.6 kg de hojas se secaron a la sombra y se obtuvieron los extractos de hexano y  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , por el método de maceración a temperatura ambiente, obteniendo 159 g de extracto de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a partir de 1.6 kg de hojas secas, lo que representa aproximadamente el 10 % de rendimiento.

Un lote de 51 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 utilizó hexano y mezclas de hexano-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, en las fracciones eluidas en la polaridad de hexano-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (49:1) se obtuvieron 2.2 g de cristales con un punto de fusión de 114-116 °C y 1.9 g de una miel ligeramente amarilla, correspondiente al compuesto **1**.



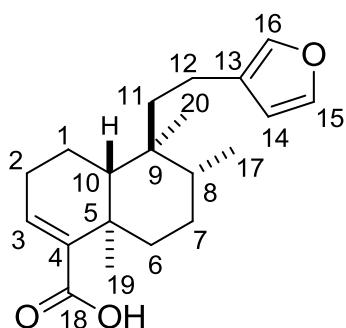
RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 7.23 (1H, da, *J* = 1.9 Hz, H-16), 6.19 (1H, da, *J* = 1.9 Hz, H-15), 5.51 (1H, sa, H-6), 2.60 (1H, m, H-14), 2.60 (1H, dd, *J* = 16.9, 7.1 Hz, H-11), 2.48 (1H, dd, *J* = 16.9, 10.0 Hz, H-11'), 2.03 (1H, m, H-8), 2.03 (3H, s, OAc), 1.85 (1H, dt, *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, H-3), 1.20 (3H, s, CH<sub>3</sub>-20), 1.19 (1H, m, H-3'), 1.09 (1H, s, H-5), 1.02 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 0.99 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18), 0.96 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, CH<sub>3</sub>-17).

### Obtención del ácido hardwickiico (**2**)

*Chromolaena pulchella*, se colectó en Octubre de 2012 en el kilómetro 62 de la carretera Morelia-Zacapu. La planta fue identificada por el D.C. J. Rzedowski, conservando un ejemplar en el Herbario del Instituto de Ecología Pátzcuaro A.C (número de voucher 192522). Un lote de 230 g de flores se secaron a la sombra y se obtuvo el extracto de hexano por el método de maceración a temperatura ambiente, obteniendo 16 g de extracto, equivalente al 7 % de rendimiento.

Un lote de 2 g del extracto hexánico se sometió a purificación mediante cromatografía en columna, utilizando una columna de vidrio de 2 cm de diámetro, empacada con gel de sílice hasta una altura de 15 cm como fase estacionaria y mezclas hexano-acetona como eluente; en las fracciones eluidas en polaridades

hexano-acetona (19:1 y 9:1) se obtuvo mezcla de compuestos, en la cual se observó mayoritariamente el ácido hardwickiico (**2**), esta mezcla se sometió a recromatografía en columna, empleando una columna de 1 cm de diámetro y empacada con de gel de sílice (12 cm de altura) como fase estacionaria una mezcla hexano-acetona (9:1) como eluente, aislando en las fracciones 5-8 una miel incolora, correspondiente al compuesto **2**.



RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.34 (1H, t,  $J = 1.6$  Hz, H-15), 7.20 (1H, dd,  $J = 1.6, 1.0$  Hz, H-16), 6.84 (1H, dd,  $J = 4.0, 3.0$  Hz, H-3), 6.25 (1H, dd,  $J = 1.6, 1.0$  Hz, H-14), 1.25 (3H, s, H-19), 0.83 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-17), 0.76 (3H, s, H-20).

## Tratamiento del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**) con AMCPB

### Método A

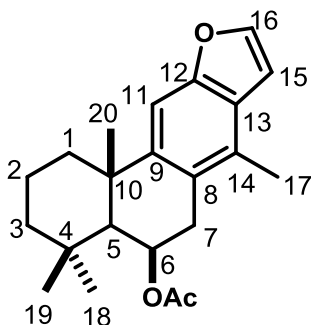
0.131g de 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**) se disolvieron en 3 mL de  $\text{CHCl}_3$ , se le adicionó una gota de HCl concentrado, posteriormente se le adicionaron 0.185 g de AMCPB (2.8 Eq) disueltos en 7 mL de  $\text{CHCl}_3$  a temperatura ambiente, esta mezcla se dejó reaccionar durante 48 horas en reposo a 4 °C. Transcurrido este tiempo la reacción se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , se lavó 5 veces con solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  y 3 veces con agua destilada. Se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. Se evaporó el disolvente en un rotavapor, obteniendo 0.2 g de una miel de color amarillo.

### Cromatografía de la reacción

Se empacó una columna de 1.5 cm de diámetro exterior con gel de sílice hasta una altura de 14 cm, después se adicionó 0.2 g de gel de sílice impregnada con el crudo de la reacción. Se eluyó con mezclas de hexano-AcOEt.

## Benzofurano 51

En las fracciones eluidas en la polaridad de hexano-AcOEt (49:1) se obtuvieron 20 mg (14.7%) de una miel incolora correspondiente al benzofurano **51**.



IR  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$  (ATR): 2929, 2867, 1731, 1619, 1463, 1372, 1245, 1225.

RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.54 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-16), 7.40 (1H, s, H-11), 6.73 (dd,  $J = 2.3, 0.9$  Hz, H-15), 5.84 (1H, dt,  $J = 5.4, 1.5$  Hz, H-6), 3.06 (1H, dd,  $J = 18.0, 5.4$  Hz, H-7), 2.98 (1H, d,  $J = 18.0$  Hz, H-7'), 2.34 (3H, s, H-17), 2.32 (1H, da,  $J = 16.8$  Hz, H-1), 2.02 (3H, s, OAc), 1.88 (1H, qt,  $J = 13.8, 3.6$  Hz, H-2), 1.65 (1H, dt,  $J = 13.8, 3.6$  Hz, H-2'), 1.62 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -20), 1.58 (1H, s, H-5), 1.49 (1H, m, H-1'), 1.44 (1H, m, H-3), 1.25 (1H, td,  $J = 13.5, 3.6$  Hz, H-3'), 1.10 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 1.07 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -18).

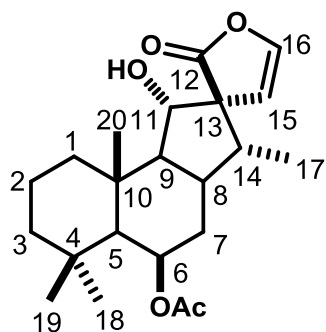
RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.0 (CO, OAc), 153.7 (C, C-12), 146.0 (C, C-9), 144.4 (CH, C-16), 128.4 (C, C-14), 125.6 (C, C-13), 123.7 (C, C-8), 105.1 (CH, C-11), 104.9 (CH, C-15), 67.6 (CH, C-6), 51.5 (CH, C-5), 43.0 ( $\text{CH}_2$ , C-3), 43.0 ( $\text{CH}_2$ , C-1), 38.4 (C, C-10), 35.1 ( $\text{CH}_2$ , C-7), 34.1 (C, C-4), 33.5 ( $\text{CH}_3$ , C-18), 27.5 ( $\text{CH}_3$ , C-20), 23.1 ( $\text{CH}_3$ , C-19), 21.8 ( $\text{CH}_3$ , OAc), 19.7 ( $\text{CH}_2$ , C-2), 16.0 ( $\text{CH}_3$ , C-17).

## Espirolactona 52

En las fracciones eluidas en la polaridad de hexano-AcOEt (9:1) se obtuvo una mezcla que mostró en RMN de  $^1\text{H}$  un compuesto mayoritario. Esta mezcla se purificó mediante recromatografía en columna, utilizando una columna de 1 cm de diámetro exterior y empacada con gel de sílice (15 cm de altura) como fase

estacionaria y una mezcla de hexano-acetona (9:1) como fase móvil, en las fracciones 23-27 se obtuvieron 11 mg (7.7 %) de **52**.

Cristales blancos de p.f. 109-112 °C.



IR  $\nu_{\max}$   $\text{cm}^{-1}$  (ATR): 3562, 3476, 2928, 2899, 1769, 1730, 1460, 1372, 1242.

RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  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, dc,  $J = 7.8, 7.8$  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,  $\text{CH}_3$ -20) 1.18 (2H, m, H-3), 1.02 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 1.00 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-5), 0.96 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -18), 0.92 (3H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-17).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  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 ( $\text{CH}_2$ , C-3), 42.7 (CH, C-14), 42.4 ( $\text{CH}_2$ , C-1), 37.9 (C, C-10), 33.8 ( $\text{CH}_2$ , C-7), 33.7 ( $\text{CH}_3$ , C-18), 33.7 (C, C-4) 33.0 (CH, C-8), 23.2 ( $\text{CH}_3$ , C-19), 21.9 ( $\text{CH}_3$ , OAc), 18.6 ( $\text{CH}_2$ , C-2), 16.6 ( $\text{CH}_3$ , C-20), 13.2 ( $\text{CH}_3$ , C-17).

## Método B

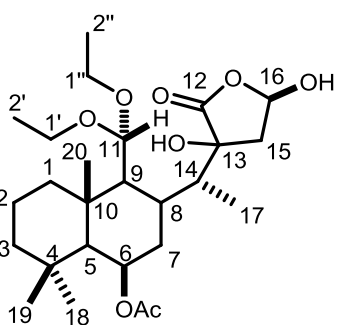
Un lote de 0.420 g del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**) se disolvieron en 5 mL de cloroformo frío, se colocaron en baño de hielo, se adicionó 0.1 mL de HCl concentrado, se dejó en reposo durante 10 minutos, posteriormente se adicionó una solución de 0.634 g de AMCPB (3 Eq) disueltos en 5 mL de cloroformo frío, esta mezcla se dejó reaccionar durante 48 horas a 4 °C. La reacción se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, se lavó una vez con agua, 5 veces con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y 3 veces con agua. Se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó el disolvente en un rotavapor, obteniendo 0.52 g de una miel amarilla.

## Cromatografía de la reacción

Se empacó una columna de 2 cm de diámetro exterior con gel de sílice hasta una altura de 10 cm, después se adicionó gel de sílice impregnada con el crudo de la reacción. Se eluyó con mezclas de hexano-AcOEt en orden creciente de polaridad.

## 11,12-seco-cassano **53**

En las fracciones 7-11 obtenidas con la polaridad de hexano-AcOEt (9:1) se obtuvo una mezcla en la que se observó un compuesto mayoritario mediante RMN, ésta se separó mediante recromatografía en columna, utilizando nuevamente gel de sílice como fase estacionaria y una mezcla hexano-acetona (19:1) como fase móvil, en las fracciones 21-26 se obtuvieron 17.8 mg (3%) del compuesto **53**.



IR  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup> (ATR): 2972, 2925, 2867, 1727, 1441, 1367, 1240.

RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  5.46 (1H, dd,  $J$  = 5.2, 2.8 Hz, H-6), 5.17 (1H, d,  $J$  = 4.4 Hz, H-16), 4.85 (1H, d,  $J$  = 7.6 Hz, H-11), 4.18 (1H, dc,  $J$  = 9.7, 7.2 Hz, H-1'a ), 4.17 (1H, dc,  $J$  = 9.7, 7.2 Hz, H-1'b ), 3.62 (1H, dc,  $J$  = 9.7, 7.2 Hz, H-1''a ), 3.37 (1H, dc,  $J$  = 9.7, 7.2 Hz, H-1''b), 2.38 (1H, dddd,  $J$  = 13.1, 13.1, 7.6, 3.6 Hz, H-8), 2.27 (1H, dd,  $J$  = 13.4, 0.8 Hz, H-15), 2.18 (1H, dc,  $J$  = 7.6, 7.6 Hz, H-14), 2.09 (1H, dd,  $J$  = 13.4, 4.4 Hz, H-15'), 2.04 (3H, s, OAc), 1.80 (1H, dt,  $J$  = 13.8, 3.6, H-7), 1.70 (1H, m, H-1), 1.65 (1H, m, H-2), 1.46 (1H, m, H-2'),

1.39 (1H, m, H-3), 1.39 (1H, dd,  $J = 13.8, 2.6$  Hz, H-7'), 1.34 (1H, dd,  $J = 13.1, 7.6$  Hz, H-9), 1.29 (3H, s, H-20), 1.27 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-2'), 1.20 (1H, m, H-3'), 1.14 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-2''), 1.01 (3H, s, H-19), 0.94 (3H, s, H-18), 0.94 (1H, s, H-5) 0.86 (3H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-17).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  176.9 (CO, C-12), 170.5 (CO, OAc), 106.0 (CH, C-16), 85.2 (CH, C-11), 69.9 (CH, C-6), 61.9 (C, C-13), 61.8 ( $\text{CH}_2$ , C-1'), 60.8 ( $\text{CH}_2$ , C-1'), 60.2 (CH, C-9), 56.2 (CH, C-5), 44.4 ( $\text{CH}_2$ , C-3), 42.4 ( $\text{CH}_2$ , C-1), 40.8 (CH, C-14), 37.7 (CH, C-8), 37.2 (C, C-10), 37.0 ( $\text{CH}_2$ , C-15), 34.2 ( $\text{CH}_2$ , C-7), 33.6 (C, C-4), 33.5 ( $\text{CH}_3$ , C-18), 23.2 ( $\text{CH}_3$ , C-19), 21.8 ( $\text{CH}_3$ , OAc), 18.6 ( $\text{CH}_2$ , C-2), 16.5 ( $\text{CH}_3$ , C-20), 15.2 ( $\text{CH}_3$ , C-1''), 14.2 ( $\text{CH}_3$ , C-1'), 12.8 ( $\text{CH}_3$ , C-17).

### Espirolactona **52**

En las fracciones eluidas con la polaridad de hexano-AcOEt (4:1 y 7:3) se obtuvo una mezcla de compuestos, detectándose por RMN la espirolactona **52** como producto mayoritario, dicha mezcla se separó mediante recromatografía en columna, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y una mezcla de hexano-acetona (9:1) como fase móvil. En las fracciones 12-17 se obtuvieron 133 mg (30%) de la espirolactona **52**.

### Método C

Una solución de 0.096 g del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (1) en 5 mL de cloroformo, se acidificó con 0.1 mL de HCl concentrado, se dejó en agitación durante 1 minuto, posteriormente se adicionó una solución de 0.145 g de AMCPB (3 Eq) disueltos en 5 mL de cloroformo, la mezcla se dejó reaccionar durante 30 minutos a temperatura ambiente. Una vez terminada la reacción, se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, se lavó una vez con agua, cinco veces con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y tres veces con agua. Se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó en rotavapor, obteniendo 0.13 g de una miel de color amarillo.

### Cromatografía de la reacción

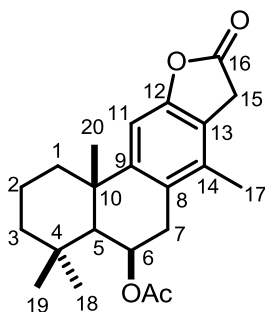
Se empacó una columna de 2 cm de diámetro exterior con gel de sílice hasta una altura de 10 cm, se adicionó gel de sílice impregnada con el crudo de la reacción. Se eluyó con mezclas de hexano-acetona en orden creciente de polaridad.

### Benzofurano 51

En las fracciones 13-15 eluidas en la polaridad (19:1) se obtuvieron 29.8 mg (31%) de una miel incolora, cuyos datos espectroscópicos correspondieron al benzofurano 51.

### Lactona 54

En las fracciones 23-26 eluidas con la polaridad de hexano-acetona (9:1) se obtuvo un sólido de color blanco, correspondiente a la lactona



### 54.

Sólido blanco.

$[\alpha]_{589} -22.3$ ,  $[\alpha]_{578} -23.2$ ,  $[\alpha]_{546} -26.4$ ,  $[\alpha]_{436} -41.4$ ,  $[\alpha]_{365}$  BE

RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  6.99 (1H, s, H-11), 5.80 (1H, dt,  $J = 5.5, 1.4$  Hz, H-6), 3.62 (2H, s, H-15), 2.93 (1H, dd,  $J = 18.5, 5.5$  Hz, H-7), 2.83 (1H, d,  $J = 18.5$  Hz, H-7'), 2.19 (1H, da,  $J = 13.0$  Hz, H-1), 2.11 (3H, s, H-17), 2.02 (3H, s, OAc), 1.87 (1H, dt,  $J = 14.3, 3.6$  Hz, H-2), 1.65 (1H, dt,  $J = 14.3, 3.6$  Hz, H-2'), 1.58 (3H, s, H-20), 1.48 (1H, m, H-3), 1.48 (1H, s, H-5),

1.37 (1H, dt,  $J = 13.0, 3.6$  Hz, H-1'), 1.23 (1H, dt,  $J = 13.3, 3.6$  Hz, H3'), 1.08 (3H, s, H-19), 1.06 (3H, s, H-18).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  174.5 (CO, C-16), 170.9 (CO, OAc), 153.1 (C, C-12), 149.7 (C, C-9), 133.0 (C, C-14), 125.3 (C, C-8), 120.1 (C, C-13), 104.8 (CH, C-11), 67.1 (CH, C-6), 51.4 (CH, C-5), 42.9 ( $\text{CH}_2$ , C-3), 42.5 ( $\text{CH}_2$ , C-1), 38.4 (C, C-10), 34.9 ( $\text{CH}_2$ , C-7), 34.0 (C, C-4), 33.4 ( $\text{CH}_3$ , C-18), 32.4 ( $\text{CH}_2$ , C-15), 26.8 ( $\text{CH}_3$ , C-20), 23.0 ( $\text{CH}_3$ , C-19), 21.7 ( $\text{CH}_3$ , OAc), 19.5 ( $\text{CH}_2$ , C-2), 16.5 ( $\text{CH}_3$ , C-17).

EMIE 70 eV  $m/z$  (Int. Rel.) 357(1)[M+1]<sup>+</sup>, 296(54), 281(21), 253(21), 186(14), 226(42), 215(100), 43(15).

### Espirolactona **52**

En las fracciones 27 y 28 eluidas con la polaridad de hexano-acetona (4:1), se aislaron 12.8 mg (12%) del compuesto **52**.

### Tratamiento del 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**) con DDQ

Una solución de 0.1 g de 6 $\beta$ -acetoxivouacapano (**1**), disueltos en 5 mL de  $\text{CHCl}_3$  acidificada con HCl, se adicionó a una suspensión de 0.265 (4 Eq) de DDQ en 5 mL de  $\text{CHCl}_3$ , la mezcla de reacción se dejó en agitación durante 20 minutos a temperatura ambiente. Terminada la reacción se extrajo con 100 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , se lavó 5 veces con agua y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se evaporó en rotavapor, obteniendo 0.119 g de una miel de color café.

### Cromatografía de la reacción

0.120 g de gel de sílice impregnada con el crudo de reacción se aplicaron sobre una columna cromatográfica de 1 cm de diámetro exterior empacada con 12 cm de gel de sílice. Se eluyó con una mezcla de hexano-AcOEt (19:1).

### Benzofurano **51**

En las fracciones 5-10 eluidas con la polaridad de hexano-AcOEt (19:1), se aislaron 70 mg de una miel incolora, cuyos datos espectroscópicos correspondieron con los del benzofurano **51**.

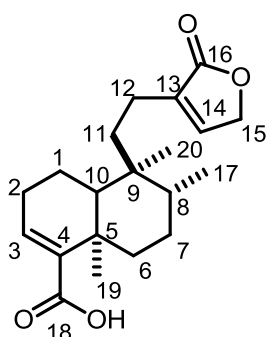
### Tratamiento del Ácido hardwickiico (2) con AMCPB

A una solución de 0.040 g de ácido hardwickiico (2) en 5 mL de  $\text{CHCl}_3$  acidificada con 0.1 mL de HCl concentrado, se le adicionó una solución de AMCPB en 5 mL de  $\text{CHCl}_3$ . La mezcla anterior se dejó reaccionar en reposo a 4 °C durante 24 horas. Terminado el tiempo de reacción, la muestra se extrajo con 100 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , se lavó tres veces con agua, cinco veces con solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ , y nuevamente tres veces con agua, se secó sobre  $\text{NaSO}_4$  anhidro y se evaporó en rotavapor.

### Cromatografía de la reacción

0.05 g de gel de sílice impregnada con el crudo de la reacción se aplicaron en una columna de 1 cm de diámetro exterior empacada con 12 cm de gel de sílice 230-400 mallas. La cromatografía se eluyó con una mezcla de hexano-AcOEt (4:1).

### Ácido patagónico (55)



En la fracción 17 se obtuvo una miel incolora, correspondiente a **55**.

RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.11 (1H, t,  $J = 1.5$  Hz, H-14), 6.89 (1H, m, H-3), 4.78 (2H, d,  $J = 1.5$  Hz, H-15), 2.43 (2H, m, H-6), 2.32 (2H, m, H-2), 2.23 (1H, m, H-12), 2.06 (1H, m, H-12'), 1.68 (2H, m, H-1), 1.52 (1H, m, H-8), 1.43 (2H, m, H-7), 1.36 (1H, m, H-10), 1.26 (3H, s, H-19), 1.18 (2H, m, H-11),

0.83 (3H, d,  $J = 6.3$  Hz, H-17), 0.77 (3H, s, H-20).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  174.4 (CO, C-16), 171.8 (CO, C-18), 143.5 (CH, C-14), 141.1 (C, C-4), 140.4 (CH, C-3), 134.9 (C, C-13), 70.2 ( $\text{CH}_2$ , C-15), 46.6 (CH, C-10), 38.7 (C, C-9), 37.5 (C, C-5), 36.2 (CH, C-8), 35.9 ( $\text{CH}_2$ , C-6), 35.7 ( $\text{CH}_2$ , C-11), 27.4 ( $\text{CH}_2$ , C-2), 27.2 ( $\text{CH}_2$ , C-7), 20.5 ( $\text{CH}_3$ , C-19), 19.0 ( $\text{CH}_2$ , C-12), 18.2 ( $\text{CH}_3$ , C-20), 17.3 ( $\text{CH}_2$ , C-1), 15.9 ( $\text{CH}_3$ , C-17).

## BIBLIOGRAFÍA

1. Brahmachari G., "Natural Products in Drug Discovery: Opportunities and Challenges in Medicinal Chemistry", 1a Edición, Ed. World Scientific, Singapur, **2012**, pp 5-7.
2. Sneader W., "Drug Discovery A History" 1a Edición, Ed. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, Inglaterra, **2005**, pp 12-18.
3. McChesney J. D., Venkataram S. K., Henri J. T., *Phytochemistry*, **2007**, *68*, 2015-2022.
4. Navarro M. M. C., *Revista de Fitoterapia*, **2005**, *5*, 41-53.
5. Newman D. J., *J. Med. Chem.*, **2008**, *51*, 2589-2599.
6. Newman D. J., Cragg G. M., *J. Nat. Prod.*, **2012**, *75*, 311-335.
7. Romo J., Joseph-Nathan P., *Tetrahedron*, **1964**, *20*, 2331-2337.
8. Joseph-Nathan P., Morales J. J., Romo J., *Tetrahedron*, **1966**, *22*, 301-307.
9. Shindo K., Kimura M., Iga M., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **2004**, *68*, 1393-1394.
10. Liu W., Furuta E., Shindo K., Watabe M., Xing F., Pandey P. R., Okuda H., Pai S. K., Murphy L. L., Cao D., Mo Y. Y., Kobayashi A., Iizumi M., Fukuda K., Xia B., Watabe K., *Breast Cancer Res. Treat.*, **2011**, *128*, 57-68.
11. Salinas-Arellano E. D., Boyzo-Correa L. M., Hernández-Hernández J. D., Román-Marín L. U., Guzmán-Mejía R., del Río R. E., Cerda-García-Rojas C. M., Joseph-Nathan P., *Rev. Latinoamer. Quim.* **2011**, *38* (Suplemento Especial), 155.
12. Hong-Xi X., Hui D., Keng-Yeow S., *Phytochemistry*, **1996**, *42*, 149-151.
13. Margaros I., Vassilikogiannakis G., *J. Org. Chem.*, **2008**, *73*, 2021-2023.
14. Gómez-Hurtado M. A., Torres-Valencia J. M., Manríquez-Torres J., del Río R. E., Motilva V., García-Mauriño S., Ávila J., Talero E., Cerda-García-Rojas C. M., Joseph-Nathan P., *Phytochemistry*, **2011**, *72*, 409-414.
15. Gómez Hurtado M. A., Estudio Químico y Biológico de *Chromolaena pulchella*, Tesis de Doctorado en Química, presentada en el Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Área Académica de Química, Doctorado en Química, UAEH, **2011**.

16. Lin W., Karin M., *J. Clinic. Invest.*, **2007**, *117*, 1175-1183.
17. Karin M.; *Nature*, **2006**, *441*, 431-436.
18. 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**.
19. 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**.
20. Gómez-Hurtado M. A., Álvarez-Esquivel F. E., Rodríguez-García G., Martínez-Pacheco M. M., Espinoza-Madrigal R. M., Pamatz-Bolaños T., Salvador-Hernández J. L., García-Gutiérrez H. A., Cerda-García-Rojas C. M., Joseph-Nathan P., del Río R. E., *Phytochemistry*, **2013**, *96*, 397-403.
21. Newman D. J., Cragg G. M., *Journal of Ethnopharmacology*, **2005**, *100*, 72-79.
22. Guo P., Li Y., Xu J., Liu C., Ma Y., Guo Y., *J. Nat. Prod.*, **2011**, *74*, 1575-1583.
23. Ragasa C. Y., Cruz Ma. C., Gula R., Rideout J. A., *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 509-511.
24. Efdi M., Itoh T., Akao Y., Nozawa Y., Koketsuc M., Ishihara H., *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, *15*, 3667-3671.
25. Jones W. P., Kinghorn A. D., *Current Bioactive Compounds*, **2008**, *4*, 15-32.
26. Rasikari H. L., Leach D. N., Waterman P. G., Spooner-Hart R. N., Basta A. H., Banbury L. K., Winter K. M., Forster P. I., *Phytochemistry*, **2005**, *66*, 2844-2850.
27. Shirota O., Nagamatsu K., Sekita S., *J. Nat. Prod.*, **2006**, *69*, 1782-1786.
28. Pittaluga A., Olivero G., Di Prisco S., Merega E., Bisio A., Romussi G., Grilli M., Marchi M., *Neurochemistry International*, **2013**, *62*, 354-359.
29. Guo Y., Li Y., Xu J., Watanabe R., Oshima Y., Yamakuni T., Ohizumi Y., *J. Nat. Prod.*, **2006**, *69*, 274-276.

30. Klein Gebbinck E. A., Jansen B. J.M., de Groot A., *Phytochemistry*, **2002**, *61*, 737-770.
31. Maurya R., Ravi M., Singh S., Yadav P. P., *Fitoterapia*, **2012**, *83*, 272-280.
32. Qi-Jian T., Yang-Hui O., Xing-Bing H., Bing-Liu, Yong-Dong J., *Nat. Prod. Res.*, **2013**, *27*, 537-540.
33. Guo-Xu M., Jing-Quan Y., Li C., Jun-Shan Y., Xu-Dong X., *Nat. Prod. Res.*, **2013**, *27*, 818-823.
34. Ochieng' C. O., Mang'uro L. A. O., Owuor P. O., Akala H., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2013**, *23*, 3088-3095.
35. Eldeena I. M. S., Van Heerdenb F. R., Van Stadena J., *J. Ethnopharmacol.*, **2010**, *128*, 555-560.
36. Ochieng' C. O., Owuor P. O., Mang'uro L. A.O., Akala H., Ishola I. O., *Fitoterapia*, **2012**, *83*, 74-80.
37. Ren-Wang J., Shuang-Cheng M., But P. P. H., Mak T. C. W., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **2001**, *1*, 2920-2923.
38. Yadav P. P., Arora A., Bid H. K., Konwar R. R., Sanjeev Kanojiya. *Tet. Lett.*, **2007**, *48*, 7194-7198.
39. Yadav P. P., Maurya R., Sarkar J., Arora A., Kanojiya S., Sinha Sudhir, Srivastava M. N., Raghubir R., *Phytochemistry*, **2009**, *70*, 256-261.
40. Guo-Xu M., Jing-Quan Y., Cao L., Jun-Shan Y., Xu-Dong X., *Nat. Prod. Res.*, **2013**, *27*, 818-823.
41. Li D., Ma L., Liu G., Hu L., *Chem & Biodivers.*, **2006**, *3*, 1260-1265.
42. Ma G., Yuan J., Wu H., Cao L., Zhang X., Xu L., Wei H., Wu L., Zheng Q., Li L., Zhang L., Yang J., Xu X., *J. Nat. Prod.*, **2013**, *76*, 1025-1031.
43. Badovskaya L. A., Povarova L. V., *Chem. Heterocycl. Compd.*, **2009**, *45*, 1023-1034.
44. Gunn B. P., *Tetrahedron Lett.*, **1985**, *26*, 2869-2872.
45. Poskonin V. V., Badovskaya L. A., Povarova L. V., *Chem. Heterocycl. Compd.*, **1998**, *34*, 771-774.
46. Iesce M. R., Cermola F., De Lorenzo F., Orabona I., Graziano M. L., *J. Org. Chem.*, **2001**, *66*, 4732-4735.

47. Pavlakos E., Georgiou T., Tofi M., Montagnon T., Vassilikogiannakis G., *Org. Lett.*, **2009**, *11*, 4556-4559.
48. Dimitris N., Kouridaki A., Vassilikogiannakis G., *Org. Lett.*, **2011**, *13*, 1166-1169.
49. Imamura P. M., Costa M., *J. Nat. Prod.*, **2000**, *63*, 1623-1625.
50. Yosuke M., Jun D., Yusuke H., Kunio O., Hiroo T., Chieko H., Wiwied E., Aty W., Cholies Z. N., Hiroshi M., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, *18*, 3774-3777.
51. Goldberg Y., Alper H., *J. Mol. Catal.*, **1994**, *88*, 377-384.
52. Khatuya H., *Tetrahedron Lett.*, **2001**, *42*, 2643-2644.
53. Scully J. F., Brown E. V., *J. Org. Chem.*, **1954**, *19*, 894-901.
54. Katritzky A. R., Scriven E. F.V., Majumder S., Akhmedova R. G., Akhmedov N. G., Vakulenko A. V., *Arkivoc*, **2005**, *3*, 179-191.
55. Joule J. A., Mills K., "Heterocyclic Chemistry", 5<sup>a</sup> Edición., ed. Wiley, Chichester, Reino Unido, **2010**, pp. 347-363.
56. Yosuke M., Jun D., Takahiro H., Yusuke H., Chieko H., Motoo S. Hiroshi M., *J. Nat. Prod.*, **2009**, *72*, 976-979.
57. Pinto F. M. E., da Silva M. S., Schindler E., Barbosa F. J. M., dos Santos El-Bachá R., Vieira S. Castello-Branco M., Agra M. F., Fachine T. J., *J. Braz. Chem. Soc.*, **2010**, *21*, 1819-1824.
58. Rivera A. P., Faini F., Castillo M., *J. Nat. Prod.* **1988**, *51*, 155-157.
59. García-Sánchez E., Ramírez-López C. B., Talavera-Alemán A., León-Hernández A., Martínez-Muñoz Rosa E., Martínez-Pacheco M.M., Gómez-Hurtado M. A., Cerda-García-Rojas C. M., Joseph-Nathan P., del Río R.E. *J. Nat. Prod.*, **2014**, *77*, 1005–1012.
60. Ramírez M. B., Tellez A. N., Torrenegra R. D. *Rev. Latinoamer. Quím.* **2000**, *28*, 119-121.