

005772



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

24
1177
1172

FACULTAD DE QUIMICA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

"ESTUDIO ANALITICO DE LA REACTIVIDAD DE PEREZONA. NUEVOS DERIVADOS HETEROCICLICOS DE AZUFRE Y NITROGENO Y SU CARACTERIZACION POR RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR BIDIMENSIONAL"

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS
(Química Analítica)
P R E S E N T A :

QUIM. JOSE ENRIQUE ALDUCIN SUAREZ

DIRECCION DE TESIS:

DR. RAUL ENRIQUEZ HABIB

ASESORES:

DR. BENJAMIN ORTIZ *Mendoza*

DR. DINO GNECCO *Medina*

ASESOR EXTERNO: PROF. W. F. REYNOLDS
Illiams

248413



MEXICO, D. F.

1998

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE QUÍMICA
DIRECCIÓN

LIC. ANTONIO DÍAZ GARCÍA
Jefe de la Unidad de Registro e Información.
Ciudad Universitaria
Presente.

Me es grato informarle que el alumno Q. JOSÉ ENRIQUE ALDUCÍN SUÁREZ presentará próximamente su examen para obtener el grado de Maestría en Ciencias Químicas (Química Analítica) ante el siguiente jurado:

Presidente:	Dra. Ma. Antonia Dosal Gómez
Primer Vocal	Dr. Eduardo Díaz Torres
Secretario:	Dr. Alain Queré Thorent
Primer Suplente:	I. Q. José Fernando Jauregui Zavala
Segundo Suplente:	M. en C. José Manuel Méndez Stivalet

Sin otro particular de momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, D. F., 8 de enero de 1997.


DR. ANDONI GARRITZ RUIZ
Director.

C.c.p. Integrantes del Jurado
C.c.p. Coordinador de Área
C.c.p. Departamento de Control Escolar
C.c.p. Interesado
*ggm.

Esta tesis se realizó en el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México bajo la dirección del Dr. Raúl Enríquez Habib

ASESORÍA:

Esta tesis describe los resultados parciales de un proyecto amplio de investigación sobre la química, espectroscopía y farmacología de Perezona y sus derivados. Por ello deseo hacer un reconocimiento expreso al apoyo y asesoría que en múltiples formas he recibido por parte del grupo académico involucrado.

Dr. Benjamín Ortiz Mendoza. Instituto de Química de la UNAM.

Dr. Dino Gnecco Medina. Centro de Química del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Dra. María Luisa Villarreal. Unidad de Investigación en Plantas Medicinas del Instituto Mexicano del Seguro Social .

Prof. William F. Reynolds. Universidad de Toronto Canadá.

AGRADECIMIENTOS

Al INSTITUTO DE QUÍMICA por el apoyo general recibido a lo largo de la realización de esta tesis.

A la BIBLIOTECA DEL INSTITUTO DE QUÍMICA por las facilidades otorgadas en la Investigación bibliográfica.

Al PERSONAL TÉCNICO DEL INSTITUTO DE QUÍMICA por el apoyo brindado en las determinaciones espectroscópicas.

Al CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA por el apoyo económico recibido durante los estudios de Maestría y de desarrollo experimental.

A la DIRECCIÓN GENERAL DE ASUNTOS DEL PERSONAL ACADÉMICO por el apoyo económico recibido para la adquisición de reactivos.

Particularmente, al DR. RAÚL ENRÍQUEZ HABIB por brindarme su apoyo y experiencia en todo el tiempo que he trabajado con él y por su significativa influencia en mi formación científica.

DEDICATORIAS

Para mis padres GAUDENCIO Y CONCEPCIÓN porque siempre me inspiraron el espíritu de superación, este trabajo también es parte de Ustedes.

Para mis hermanos MARTHA, MARIAM, LULÚ Y REFU para que sea un ejemplo en su futura superación y les indique el camino que deben seguir.

Para la familia Luna Alducin ALEJANDRO, CLARA, HARUKI Y ZURICH

Para la familia Alducin-Ortiz GAUDE, IRMA, JESSICA Y BRENDA

Particularmente para **HILDA GONZÁLEZ** por ser parte del esfuerzo en la realización de este trabajo y por compartir conmigo su tiempo y dedicación.

ÍNDICE

- Resumen
- Abstract

CAPÍTULO I

ANTECEDENTES

- 1.1. Aspectos Históricos y recientes de Perezona 1
- 1.2. La farmacología de Perezona 6
- 1.3. La fitoquímica del Género Pereziae 8
- 1.4. Planteamiento del Problema de Trabajo 7
- 1.5. Objetivos 8

CAPÍTULO II

DERIVADOS DE AZUFRE Y NITRÓGENO DE QUINONAS

- 2.1. Mercaptoquinonas 11
- 2.2. Aminoquinonas 12
- 2.3. Quinonas heterobifuncionales 13

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA ANALÍTICA ESPECTROSCÓPICA

- 3.1. Resonancia Magnética Nuclear 19
 - 3.1.1. Concepto de Magnetización Macroscópica 16
 - 3.1.2. Relajación Nuclear 17
 - 3.1.3. Obtención de la señal 18
 - 3.1.4. Ángulo de pulso 18
- 3.2. Resonancia Magnética Nuclear Bidimensional 19
 - 3.2.1. Espectroscopía de Correlación Homonuclear (COSY) 23
 - 3.2.2. Espectroscopía de Efecto Nuclear Overhauser (NOESY) 24
 - 3.2.3. Espectroscopía de Correlación Heteronuclear (HETCOR) 26
 - 3.2.4. Espectroscopía de Correlación de Núcleos Directamente Unidos por Coherencia Cuántica Heteronuclear (HMQC) 28
 - 3.2.5. Espectroscopía de Conectividad de Enlaces Múltiples Heteronucleares (HMBC) 30
 - 3.2.6. Incremento de la Señal sin Distorsión por Transferencia de Polarización (DEPT) 31

CAPÍTULO IV

PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Condiciones Generales	34
4.2. Obtención de Perezona	35
4.3. Derivados con Aminas Monofuncionales	36
4.4. Derivados con Mercaptanos	41
4.5. Derivados con Aminas Bifuncionales	42
4.6. Derivados con Aminomercaptanos	46
4.7. Derivados con Aminoácidos	49

CAPÍTULO V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN	57
CONCLUSIONES	76
BIBLIOGRAFÍA	78

RESUMEN

La Perezona es una quinona natural originaria de América que posee características químicas muy particulares. Desde su descubrimiento ha sido objeto de un intenso estudio, primeramente, para elucidar su estructura y después para conocer su reactividad química. Con base en una serie de reacciones químicas sistemáticas se estableció una estructura química "aceptable". Sin embargo, fue hasta la aplicación de la Resonancia Magnética Nuclear, como herramienta analítica fundamental, cuando se estableció la estructura inequívoca de esta interesante molécula.

El presente trabajo es una contribución al conocimiento de la reactividad química de perezona frente a especies nucleófilas que contienen átomos de azufre y nitrógeno, i. e. aminas, tioles y aminoácidos. Se encontró una reactividad diferencial del núcleo quinoideo que conduce a una variedad de estructuras, particularmente heterocíclicas, conteniendo diferentes funcionalizaciones químicas.

Las estructuras de los derivados de Perezona fueron propuestas por medio de la aplicación analítica de experimentos bidimensionales de Resonancia Magnética Nuclear de alto campo, i.e. Espectroscopía de Correlación Homonuclear (COSY), Espectroscopía de Efecto Nuclear Overhauser (NOESY), Espectroscopía de Correlación de Núcleos Directamente Unidos por Coherencia Cuántica Heteronuclear (HMQC) y Espectroscopía de Conectividad de Enlaces Múltiples Heteronucleares (HMBC). Asimismo, la elucidación estructural se fundamentó con la ayuda de otras herramientas analíticas espectroscópicas i. e. Espectrometría de Masas y Espectroscopía de Infrarrojo.

Con base en la elucidación estructural fue posible proponer, para algunos de los derivados obtenidos, una trayectoria mecanística que explica los productos de reacción. Adicionalmente, se inició una valoración biológica de actividad antimicrobiana y citotóxica, lográndose resultados muy satisfactorios en relación a la selectividad de la citotoxicidad sobre ciertas líneas celulares cancerosas. Estos resultados son materia de evaluación actual y de publicación en condiciones de protección de resultados.

ABSTRACT

Perezone is a naturally occurring quinone whose structure determination and the study of its unique reactivity is historically related to the development of chemistry in Mexico. The present work represents a contribution to the study of the reactivity of Perezone with nucleophiles, in particular, those containing sulphur and nitrogen which have not been systematically studied in the past. Also, the fact that we used homo or hetero bi-nucleophiles, allowed the obtention of unique by-products which showed by the first time, a new avenue of reactivity of Perezone. This was particularly true when α -aminoacids were used and with diamine, amino-sulphur, or disulphide reagents. In some cases, the stability of some reaction products, allowed their isolation and the proposal of a mechanism of reaction based on true intermediates. The structural study of all reaction products, was assessed by a strategic combination of modern One- and Two-Dimensional NMR techniques which successfully showed the great potential of this spectroscopic methodology for analytical purposes, when closely related chemical structures, have to be unambiguously discriminated. Due to the structural relationship with other known heterocycles with biological activity, the compounds obtained in this work were submitted to evaluation for antimicrobial and cytotoxic activity. Such results are under consideration for a possible protection of intellectual rights.

CAPÍTULO I.

ANTECEDENTES

1.1 ASPECTOS HISTÓRICOS Y RECIENTES DE PEREZONA.

La perezona (ácido pipitzaoico) es un compuesto abundante en la raíz del "pipitzáhuac" perteneciente a una planta mexicana (*Perezia adnata*). El primer informe de este compuesto fué realizado por el Dr. Leopoldo Río de la Loza¹ quien señala su aislamiento en 1852. Tres años después, Weld² informó que la composición química de la perezona es $C_{30}H_{20}O_6$, aunque la correcta sería $C_{15}H_{20}O_3$. Esta diferencia se resolvió cuando se estableció la equivalencia química de los elementos³.

Desde el descubrimiento de la perezona en 1852 hasta 1913, la molécula fué objeto de numerosos estudios en varios países; en 1884, Vigener⁴ hizo una amplia descripción de la sustancia, lo que trajo como consecuencia una serie de estudios en 1885 y 1886 por Mylius⁵, Anschütz⁶ y Leather⁷ quienes describieron la preparación de una serie de nuevos derivados de la molécula.

Las investigaciones de estos autores se pueden resumir a continuación: La perezona (1) tiene la fórmula empírica $C_{15}H_{20}O_3$; con metales monovalentes produce sales con fórmula $C_{15}H_{19}O_3M$ (de lo cual se dedujo la presencia de un grupo fenólico en la molécula), posee las propiedades de una quinona (color naranja intenso, se reduce fácilmente, se reoxida espontáneamente y produce amino derivados), sus derivados anilidos se hidrolizan con ácidos diluidos para dar 6-hidroxiperezona $C_{15}H_{20}O_4$ (2) y se puede convertir en perezinona (3) por reacción con ácido sulfúrico concentrado.

La reacción con bromo produce un derivado dibromado (inestable) por lo que se deduce la presencia de una insaturación. Por la similitud en el comportamiento químico entre perezona e hidroxitimoquinona (4), Anschütz sugirió que la molécula es una hidroxiquinona que contiene al menos dos grupos alquilo, en uno de los cuales se encuentra la insaturación.

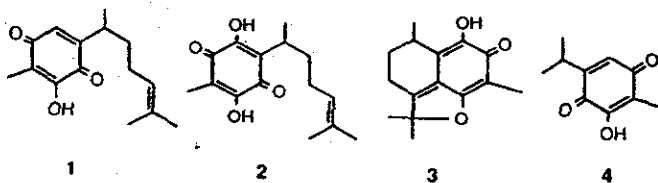
En 1906, Sanders en Inglaterra⁸ rechazó la fórmula establecida sin justificación y confirmó la composición $C_{15}H_{20}O_4$. Describió que el prolongado calentamiento de (1) por arriba de su punto de fusión da un compuesto cristalino incoloro. Sin embargo, este derivado no reacciona con hidroxilamina o anilina, pero reacciona con anhídrido acético formando un compuesto sólido.

En 1913 Fichter, Jetzer y Leepin⁹ mostraron que la 6-hidroxiperezona (2) tiene las propiedades de una 2,5-dihidroxi-3,6-dialquil-*p*-benzoquinona que produce ácido α , β -dicetobutírico cuando (1) se hace reaccionar con ozono. Ellos explicaron la formación de perezinona (3) y propusieron una estructura para la perezona.

Remfly, en Inglaterra¹⁰, reexaminó la estructura de la perezona y reestableció la fórmula mínima correcta *i. e.* $C_{15}H_{20}O_3$. Encontró que calentando la perezona a 210 °C se obtiene un compuesto que contiene un grupo hidroxilo que llamó pipitzol. Por otra parte, confirmó que la perezinona (3) tiene un fórmula $C_{15}H_{18}O_3$ y se forma por pérdida de agua de la 6-hidroxiperezona.

En 1935 Kögl y Boer en Holanda¹¹, resumieron todas las conclusiones y llevaron a cabo un estudio muy detallado para proponer una estructura "aceptable" para la perezona (1). Estos autores pudieron establecer la posición relativa de los radicales alquilo por hidrogenación catalítica de la 6-hidroxiperezona (2) seguida por metilación, destilación sobre polvo de Zn y finalmente la oxidación con ácido crómico para dar ácido tereftálico, demostrando la relación para de los grupos alquilo.

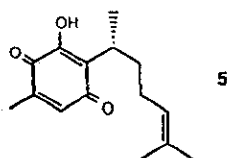
La oxidación de (1) con H_2O_2 en medio alcalino proporciona un ácido que posee nueve átomos de carbono, el cual fue transformado en ácido 2,6-dimetilheptanoico por hidrogenación catalítica, con lo que se dedujo que una de las cadenas es un grupo metilo. La posición del doble enlace fué establecida por ozonólisis del 6-hidroxileucotriacetilperezona, el cual produce acetona. Para la posición relativa del grupo hidroxilo en la molécula, Kögl y Boer¹¹ consideraron una posición *orto* del grupo hidroxilo y el grupo metilo como la más favorable, basados en la observación de que el tratamiento de (1) con ácido sulfúrico no proporciona un producto cíclico mientras que, la 6-hidroxiperezona (2) produce perezinona (3) bajo las mismas condiciones de reacción.



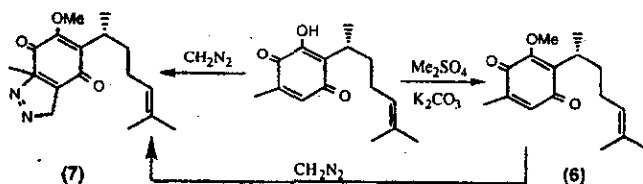
En 1954 en Suiza, Arigoni y Jeger¹² determinaron la configuración absoluta del carbono asimétrico de la perezona como R por correlación química entre el ácido dimetilheptanoico obtenido de perezona y el ácido obtenido por la oxidación del (+)-citronelal, ya que ambos tienen la misma rotación negativa.

La asignación de la estructura definitiva para la perezona fue obtenida como una consecuencia directa de la elucidación estructural de α y β -pipitzol¹³ por cuatro grupos independientes en 1965¹⁴. El patrón de acoplamiento en resonancia magnética nuclear entre el grupo metilo y el protón en el anillo quinónico, indica que están sobre átomos de carbono adyacentes. El grupo metilo en 2.05 ppm está acoplado (d, $J=1.8$ Hz) con el protón de la quinona a 6.45 (q, $J=1.8$ Hz). Otras quinonas, particularmente la 3-hidroxitimoquinona (4) muestran un patrón similar.

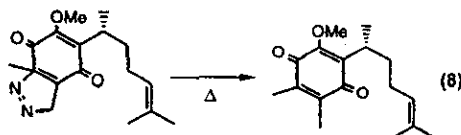
La estructura correcta de la Perezona (5) [2- (1,5-dimetil-4-hexenil)-3-hidroxi-5 metil-1,4-benzoquinona] es la siguiente :



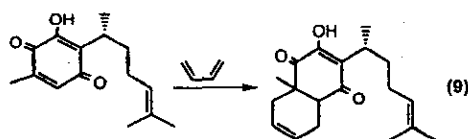
Una evidencia química adicional para elucidar la estructura de la perezona¹⁵ fué obtenida al tratar la Perezona con $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$ y obtener metoxiperezona (6) la cual al reaccionar con CH_2N_2 proporciona una pirazolina idéntica al producto obtenido por adición de un exceso de CH_2N_2 (7). Este producto mostró la desaparición de la señal del protón de la quinona en 6.45 ppm y la presencia de un metilo cuaternario en 1.50. Ello es indicativo de que una de las posiciones adyacentes al grupo metilo del anillo se encuentra libre.



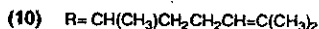
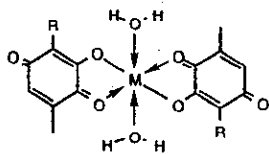
Una posterior evidencia para la estructura de (5) fue obtenida por tratamiento térmico de la pirazolina que produce metilmetoxiperezona la cual contiene un grupo metilo adicional (8).



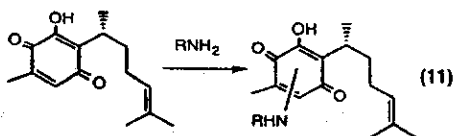
Una transformación de la perezona que muestra su reactividad como dienófilo es la reacción de Diels-Alder con butadieno (9).



Un rasgo característico de Perezona es que el sistema quinónico posee un grupo hidroxilo que establece un puente de hidrógeno con el carbonilo de la posición número 4 pudiendo formar complejos metálicos¹⁶ con la estructura general (10).

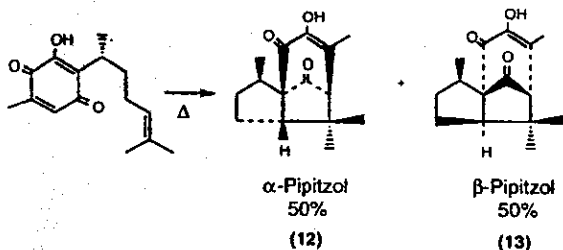


El sistema de dobles enlaces conjugados a carbonilos hace al sistema quinónico reactivo frente a nucleófilos. En reacciones tipo Michael producen compuestos con la estructura general del tipo (11):

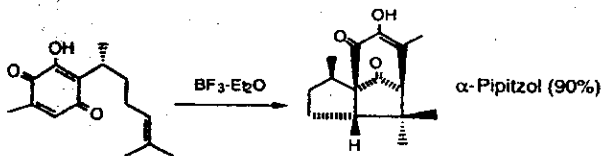


Esta reacción aunque fué descrita en términos generales para un número reducido de aminas primarias y secundarias, no ha sido explorada con suficiente amplitud como se verá más adelante.

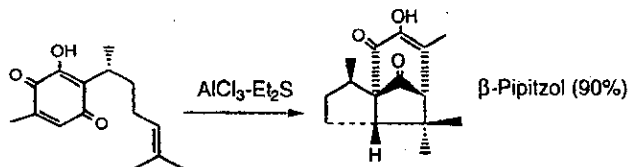
El doble enlace presente en la cadena alifática es de particular interés ya que interviene de diversas maneras en reacciones de ciclización. Esto se ejemplifica con la reacción de formación de α y β pipitzoles (12 y 13). Esta extraordinaria transformación se interpreta racionalmente como una cicloadición concertada¹⁷ de tipo ($\pi^4s+\pi^2s$). Cuando la reacción se realiza por inducción térmica, el resultado es una mezcla equimolecular de cada sesquiterpeno tricíclico¹⁸.



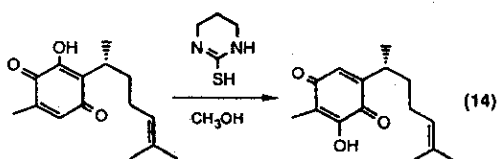
De los estudios de la reacción de ciclización, aquella catalización por el ácido de Lewis $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ condujo a la primera transformación estereoselectiva de formación de pipitzoles, donde se favorece la formación del isómero α en una relación 9:1, bajo condiciones apropiadas de temperatura y concentración de reactivo¹⁹ como se ilustra abajo.



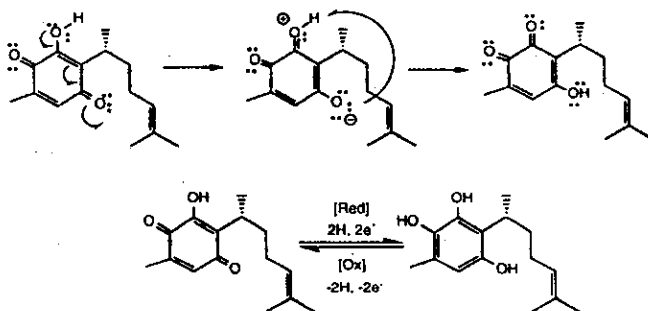
Como complemento de las reacciones estereoselectivas de formación de α -pipitzol, poco después se reportó la cicloadición estereoselectiva de Perezona con predominancia de efectos termodinámicos por reacción con $AlCl_3$ en etilioéter produciendo rendimientos con relación invertida de pipitzoles²⁰, i. e.



Ambas reacciones han sido aplicadas al estudio de ciclización inducida con ácidos de Lewis en otros sistemas químicos. Hasta principios de la década de los ochenta, se tiene conocimiento de las más importantes reacciones de Perezona. Sin embargo, fue en 1991, que se inició la exploración de las reacciones de Perezona dirigidas a obtener derivados de la reacción nucleofílica con aminoácidos, basadas en el conocimiento previo de la reacción de Perezona con nucleófilos. El resultado²¹ reporta los primeros derivados de (5) con aminoácidos en 1994. En ella se describen los productos de (5) con distintos nucleófilos conteniendo azufre ó nitrógeno y las múltiples variaciones observadas en los productos de reacción. De particular interés fue una reacción de isomerización carbonílica, de [(5) a Isoperezona (14)] por tratamiento con 3, 4, 5, 6-tetrahidro-2-piridinetiol²² de acuerdo a:



El sistema quinónico o quinoideo de Perezona posee diversos equilibrios tautoméricos y de óxidorreducción por medio del sistema de carbonilos α , β -insaturados y el OH enólico que constituye la base para explicar los diferentes productos obtenidos y puede representarse como sigue:



1.2. LA FARMACOLOGÍA DE PEREZONA

En el Siglo XVI, Francisco Hernández describe al extracto que contiene perezona como una "purga suave, cura el cansancio, quita la flatulencia, calma los dolores, evacua los intestinos, arroja las lombrices y cura el flujo del vientre, cura el empacho, laxa el vientre suavemente y mitiga los dolores agudos del mismo, provoca la orina, corta las fiebres. Maximino Martínez, en el Siglo XX señala los siguientes usos: es astringente, catártico, cicatricial y regenerativo, diurético y analgésico.

En 1890 se realizaron estudios para identificar el componente laxante presente en algunas especies de este género en el cual se encontró al monoangelato de perezona como el componente activo. En 1905, en el Instituto Médico Nacional²³, se realizaron estudios farmacológicos más rigurosos para corroborar la actividad de este componente.

Algunos estudios muestran que la perezona afecta la actividad contráctil del íleo aislado²⁴ y también se ha descrito la inhibición de contractibilidad intestinal y su acción anticolinérgica²⁵. Se han realizado estudios del efecto de perezona sobre el transporte de calcio y se ha encontrado que la perezona induce la captación de Ca por la mitocondria en la corteza suprarrenal²⁶. Así, el efecto inhibitor de la perezona sobre la contractibilidad intestinal sugiere una interacción de la perezona con la permeabilidad del calcio. Con base en esta última observación, se postuló que la perezona podría inhibir el flujo del calcio al interior de las células, al igual que los llamados "antagonistas del calcio". Este tipo de agentes ejercen importantes efectos sobre el músculo cardíaco y el músculo liso vascular, por lo que son de gran utilidad en la terapéutica cardiovascular²⁷ (como hipotensores).

La perezona produce un efecto inflamatorio en las articulaciones de la rodilla cuya magnitud depende de la dosis donde los efectos cardiovasculares no son de naturaleza refleja, sino que se postula que es el resultado de la liberación de mediadores de la inflamación entre los cuales se encuentran las prostaglandinas²⁸.

1.3. LA FITOQUÍMICA DEL GÉNERO PEREZIAE

El género *Perezia* (tribu Mutisieae, subtribu Nassaviinae) es exclusivo del Nuevo Mundo. Geográficamente y taxonómicamente se extiende de Norteamérica (sección *Acourtia*) (California y el centro de Texas) hasta el sur del Salvador²⁹ y en Sudamérica (sección *Perezia*) desde la Cordillera de los Andes hasta la región de la Patagonia³⁰. En la República Mexicana se distribuye en los Estados de México, Morelos, Michoacán, Guanajuato y Puebla.

Las plantas de este género también reciben el nombre de Espantavaqueros en Michoacán y Cola de Zorra o Calzadilla en Guerrero.

1.4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE TRABAJO.

Desde 1992, para nosotros se hizo evidente que las reacciones de Perezona con nucleófilos habían sido objeto de una exploración relativamente reducida como se pudo observar de la revisión bibliográfica correspondiente. Al llevar a cabo algunas reacciones con nucleófilos que contienen al átomo de nitrógeno del grupo amino de aminoácidos, se pudo observar que había diferencias en la reactividad del sistema quinónico hacia los distintos aminoácidos. Igualmente se puso en evidencia que los productos de reacción podían ser utilizados como pruebas de los diferentes pasos de reacción involucrando estructuras resonantes distintas. Igualmente importante fué la decisión de explorar los productos de reacción tratando de obtener derivados diastereoisoméricos dada la posibilidad de introducir un nuevo centro quiral en el derivado correspondiente además del centro quiral R ya presente en Perezona.

Sobre estas bases, se pensó en realizar una exploración sistemática de las estructuras químicas de los derivados de Perezona, al utilizar como nucleófilos a las funciones presentes en los aminoácidos por medio de los átomos de nitrógeno y azufre, tanto en forma única como competitiva. Dado que los productos de reacción iniciales contenían funcionalizaciones como α -dicarbonilos, fenoles o la propia p-quinona, se pensó conveniente examinar tales reacciones tratando de establecer la reactividad diferencial y competitiva a través de las funciones químicas de los productos de reacción.

De trabajos anteriores, se pudo lograr una reacción de isomerización de Perezona, que fué de extrema importancia porque abrió la posibilidad de llevar a cabo la exploración de las reacciones de Isoperezona, con la ventaja de contar con toda una serie de isómeros estructurales permitiendo una valoración comparativa de las mismas reacciones realizadas en un sistema quinónico de gran analogía.

1.5 OBJETIVOS

El estudio de la química de Perezona se inició hace 100 años a partir de su descubrimiento. La falta de métodos analíticos espectrocópicos para la elucidación estructural fue limitante para conocer algunos aspectos de su reactividad química correlacionada con su estructura química, que en ese momento era desconocida. No obstante, mediante la aplicación sistemática de una serie de transformaciones químicas conocidas se puso en evidencia muchas de sus propiedades químicas y características estructurales. Sin embargo, la estructura final propuesta para la molécula de Perezona era incorrecta. La aplicación de la Resonancia Magnética Nuclear, como herramienta analítica espectroscópica, fue fundamental para establecer la estructura correcta.

El presente trabajo de tesis pretende ampliar el conocimiento de la química de la Perezona. Las propiedades químicas y de reactividad que se quieren estudiar, requieren de un

método analítico que proporcione evidencias de los cambios originados en la molécula. Para este propósito se requiere a la Resonancia Magnética Nuclear debido al tipo de información que está presenta. En un espectro de RMN unidimensional se obtienen parámetros tales como, desplazamientos químicos, constantes de acoplamiento e intensidades; esta información puede servir para realizar un análisis estructural e inferir una estructura probable. Sin embargo, la información que proporciona un espectro unidimensional es insuficiente para hacer una elucidación estructural. La siguiente etapa es utilizar los diseños experimentales bidimensionales, tales como los que se mencionaran en el capítulo III, que proporcionan suficiente información estructural, i. e. conectividad de núcleos de H vecinales, conformación espacial tridimensional, equilibrios e intercambios químicos, mecanismos de transformación; lo cual es suficiente para presentar una estructura inequívoca. Es necesario señalar que cada uno de los experimentos de Resonancia Magnética Nuclear bidimensional proporcionan información específica y particular que de manera independiente no es suficiente para hacer una asignación estructural, sino que, se requiere de manera adicional la información de varios experimentos.

Es necesario recurrir a otras herramientas analíticas espectroscópicas complementarias que confirmen o modifiquen la estructura propuesta por la Resonancia Magnética Nuclear. Cada una de las herramientas analíticas espectroscópicas (i. e., Espectrometría de Masas, Espectroscopia de Infrarrojo) proporcionan diferente información estructural, que en conjunto servirá de justificación para sugerir una estructura química de manera inequívoca.

De acuerdo con lo anterior se plantean los siguientes:

OBJETIVOS GENERALES

- 1.- Realizar transformaciones químicas sistemáticas en la estructura de la Perezona.
- 2.- Evaluar los efectos originados en la estructura original de la molécula de Perezona después de la transformación química.
- 3.- Hacer una valoración del uso de catalizadores, citados en la bibliografía, en la modificación estructural de Perezona.
- 4.- Aplicar las técnicas analíticas de separación, i.e. cromatografía en capa fina y en columna, como medio de purificación antes del análisis espectroscópico.
- 5.- Aplicar técnicas analíticas modernas de Resonancia Magnética Nuclear para el estudio de la transformación química de la estructura de Perezona.
- 6.- Hacer una valoración comparativa del uso de experimentos bidimensionales de Resonancia Magnética Nuclear, además de los experimentos unidimensionales, como herramienta analítica en la elucidación estructural inequívoca.

7.- Hacer una valoración de la contribución de otros métodos espectroscópicos (v.gr. Espectrometría de Masas e Espectroscopía de Infrarrojo), en el estudio analítico de la elucidación estructural en la transformación química de Perezona.

8.- A partir de la elucidación estructural del derivado obtenido, proponer una posible trayectoria mecanística que explique su formación.

9.- Caracterizar la reactividad de Perezona en términos de un sistema combinado de tipo carbonilo α , β -insaturado y β -dicetonico.

10.- Iniciar una exploración preliminar para la valoración biológica correlacionada con los cambios químicos estructurales realizados en la molécula de perezona.

11.- Dar difusión a los resultados en foros de publicación internacional así como en congresos nacionales e internacionales.

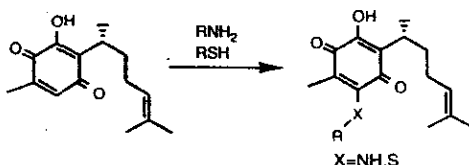
A pesar de que se conocen algunas de las propiedades químicas y de reactividad de Perezona, se requiere ampliar su conocimiento mediante una modificación estructural sistemática como criterio analítico. En este sentido, se formuló una serie de reacciones ordenadas que impliquen la condensación entre Perezona y un conjunto de sustratos de reactividad conocida, i.e. la propiedad nucleófila de las aminas y mercaptanos hacia centros de deficiencia electrónica presentes en el anillo quinoideo. De igual forma, la serie de reacciones pretende dar evidencias de los intermediarios presentes en la trayectoria mecanística que sigue la formación de un derivado obtenido en la condensación de una quinona y un nucleófilo que contenga nitrógeno o azufre.

Además, se puede incrementar el conocimiento de la farmacología de Perezona como producto natural que, tal como se indicó anteriormente, presenta propiedades farmacológicas interesantes. Por otro lado, algunos de los sustratos utilizados (i. e. aminoácidos) son sustancias que poseen intensa actividad biológica de manera independiente, la condensación de estos dos reactivos puede proporcionar un derivado que posea diferentes características químicas y biológicas de las sustancias que le dieron origen.

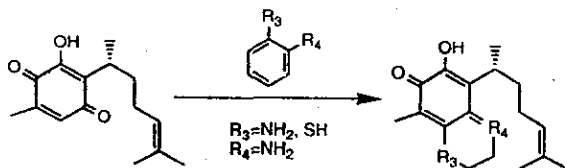
De acuerdo con lo anterior se proponen los siguientes:

OBJETIVOS PARTICULARES

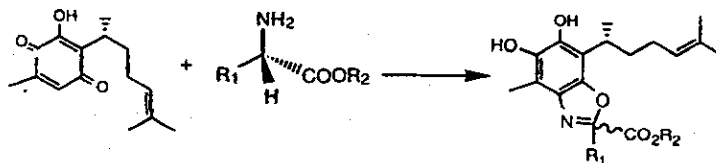
a) 1.- Estudiar la reactividad química de Perezona utilizando reactivos que contengan como nucleófilos monofuncionales átomos de azufre o nitrógeno en forma independiente.



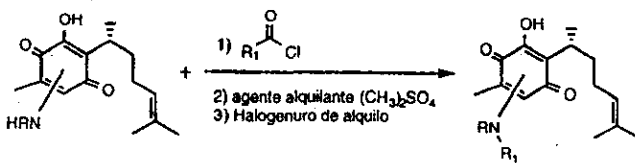
b) Estudiar el comportamiento químico de Perezona con reactivos bifuncionales alifáticos y aromáticos que contengan como nucleófilos átomos de azufre y nitrógeno.



c) Estudiar la condensación química de Perezona con sustratos que posean quiralidad conocida y que contengan como nucleófilo el átomo de nitrógeno, i. e. aminoácidos o aminas quirales.



d) Hacer secuencialmente una modificación estructural de los derivados obtenidos utilizando las propiedades químicas de los heteroátomos introducidos anteriormente. (por ejemplo, la nucleofilia del átomo de nitrógeno frente a sustratos electrofílicos).



R, R₁ = grupo alquilo

CAPITULO II.

DERIVADOS DE AZUFRE Y NITROGENO DE QUINONAS

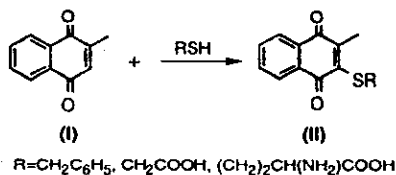
Las quinonas se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza. Muchas de éstas se utilizan como colorantes. Los compuestos quinoideos se usan en fotografía de color, electrofotografía, producción de láseres, materiales fotocromáticos, cristales líquidos y como centiladores de pantallas³¹. Su importancia no está limitada a la química de colorantes. También es muy importante el desarrollo en investigación referente a su actividad biológica. Tal desarrollo se asocia con el descubrimiento de la vitamina K, de herbicidas, de fungicidas y de agentes reguladores del crecimiento³² todos ellos contienen la función quinona. Las quinonas también se usan como reactivos analíticos, modificadores y estabilizadores en reacciones de polimerización³³.

La química de quinonas ha sido objeto de numerosos estudios teóricos y aplicados. Mientras que la mayoría de los estudios conducen a quinonas como productos intermedios, son muchos los dirigidos a la comprensión de la reactividad de esta clase química estructural. En distintos ejemplos, la relevancia del núcleo quinoide demanda estudios cuidadosos y sofisticados. Hay muchos ejemplos que demuestran la necesidad de realizar mayor investigación sobre el sistema quinónico y con sus respectivos estudios mecanísticos detallados.

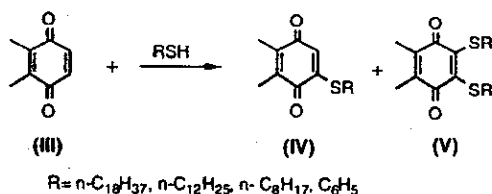
Las quinonas pueden ser funcionalizadas con heteroátomos como azufre y nitrógeno, también se pueden formar derivados heterocíclicos, con lo cual se cambia las propiedades químicas, físicas, estructurales y biológicas de las quinonas originales. Algunos de los derivados de las quinonas se describen a continuación.

2.1 MERCAPTOQUINONAS

Los derivados de tioles (R-SH) con quinonas continúa siendo materia de estudio para los químicos que buscan desarrollar nuevas drogas con actividad biológica e investigan aspectos mecanísticos de la interacción de quinonas con sistemas biológicos. Compuestos de importancia medicinal potencial (específicamente antihemorrágicas y de actividad bacteriostática) son por ejemplo los derivados de 2-metil-1,4-naftoquinonas (I) con azufre i.e. (II) investigados por Fieser y Turner³⁴.

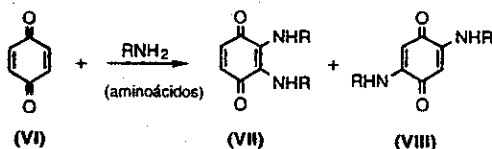


Las 1,4-quinonas que contienen grupos tiolalquil y aril, atraen la atención de microbiólogos y bioquímicos debido a que estos compuestos tienen una elevada actividad biológica. Los derivados de 2,3-dimetil-1,4-benzoquinona (III) con tiofenol (IV, V) tienen efecto inhibitorio en enzimas NADH-oxidasa y succinoxidasa, teniéndose los mejores resultados con compuestos como naftil-tiol. Las naftoquinonas sustituidas con grupos mercapto presentan un amplio espectro de actividad antibacteriana³⁵.

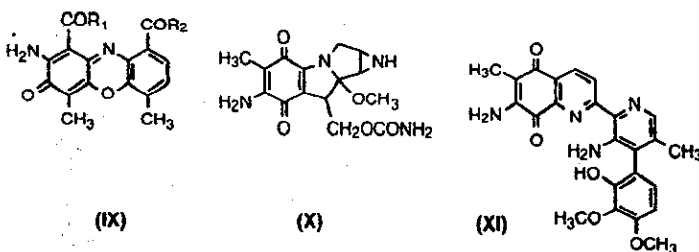


2.1 AMINOQUINONAS

Se han obtenido numerosas quinonas que contienen átomos de nitrógeno, las cuales presentan propiedades farmacológicas³⁶ interesantes. La posibilidad de su funcionalización con átomos de nitrógeno es muy importante. Los derivados (VII, VIII) de p-benzoquinona (VI) son ejemplos de estos productos los cuales presentan propiedades bactericidas³⁷.



El interés de compuestos alquilamino-hidroquinonas se asocia con la observación de que el grupo orto-aminoquinona está presente en muchos antibióticos antitumorales tales como actinomicinas (IX), mitomicinas (X), porfiriomicinas y estreptonigrina (XI)³⁸.

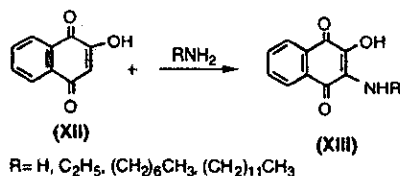


Muchos productos de origen natural y sintéticos incluyen la función aminoquinona en su estructura³⁹. El grupo amino puede estar libre, sustituido⁴⁰ o como parte de anillos heterocíclicos fusionados⁴¹. Las aminoquinonas son importantes en el transporte de electrones y toman parte en procesos bioquímicos como la fosforilación oxidativa. Diferentes proteínas (por ejemplo citocromo C) forman aductos con quinonas mediante el grupo amino libre; este

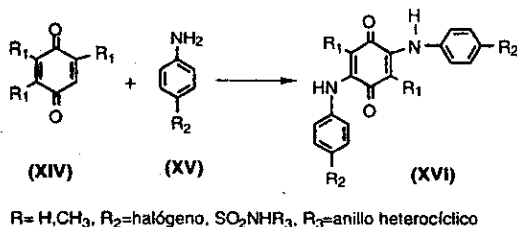
aducto sirve como catalizador en la producción de peróxido de hidrógeno a partir de oxígeno⁴². Otras aminoquinonas se utilizan como inhibidores enzimáticos, por su actividad antibacteriana, antifúngica y anticancerígena.

La investigación de derivados de quinonas con aminas secundarias ha dado impulso al estudio de la química de quinonas biológicamente activas. Derivados de 1,4-benzoquinonas, 2-metil-1,4-benzoquinona, 2-metil-1,4-naftoquinona y otras 1,4-quinonas tales como la desipramina, nortriptilina, protriptilina y benzoctamina⁴³ presentan actividad psicofarmacológica.

Se ha realizado un amplio estudio de compuestos bioactivos con series de hidrazonas y quinonas. De particular interés son los derivados de 4-aryl(aroil)-hidrazona y 1,4-naftoquinona que tienen empleo contra la tuberculosis además de actividad antibacteriana⁴⁴. Numerosos compuestos de tipo 2-alkilamino-3-hidroxi-1,4-naftoquinonas i.e. (XII) son derivados de (XII) y son interesantes por su actividad biológica contra malaria⁴⁵.



Muchos derivados de anilinas sustituidas del tipo (XV) con benzoquinonas del tipo (XIV) que contienen halógenos o grupos sulfonamido como se ilustra con (XVI) (principalmente en la posición *para*) presentan actividad antimicrobiana incrementada contra el bacilo de la tuberculosis⁴⁶.

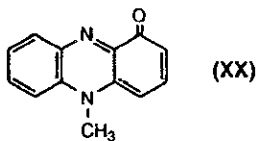


Además de la funcionalización de las quinonas con heteroátomos que contienen S y N, el estudio de las quinonas se ha ampliado a la formación de compuestos organometálicos. Como ejemplo se puede citar la actividad antimicrobiana y antifúngica de complejos de lawsona (2-hidroxi-1,4-naftoquinona, (XII) con Calcio y Zinc⁴⁷.

2.3 QUINONAS HETEROBIFUNCIONALES

Muchas sustancias heterocíclicas son derivadas de quinonas⁴⁸ (XVII) y de compuestos homo y hetero-bifuncionales que contienen nitrógeno y azufre. Por ejemplo son las

Mycobacterium smegmatis, *Brucella abortus*, *B. suis* y *Sarcina lutea*, y además se ha probado su actividad bactericida contra amibas y paramecios.



CAPITULO III.

METODOLOGÍA ANALÍTICA ESPECTROSCÓPICA

3.1 RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR UNIDIMENSIONAL

3.1.1 CONCEPTO DE MAGNETIZACIÓN MACROSCÓPICA

Un núcleo con espín nuclear diferente de cero, (I), se comporta como una pequeña barra magnética, con un momento magnético μ dado por $\mu = (\gamma h [I(I+1)]^{1/2}) / 2\pi$, donde h es la constante de Planck y γ es la constante giromagnética, una propiedad conocida como inherente del núcleo. El valor observado del momento magnético es la proyección de μ sobre el eje z , μ_z (figura 1). De acuerdo a la mecánica cuántica $\mu_z = m_I \gamma h / 2\pi$ donde m_I es el número cuántico magnético. Los valores permitidos para m_I son $I, (I-1), \dots, (-I+1), -I$, dando origen a $2I+1$ posibles estados del núcleo. En ausencia de un campo magnético la energía del núcleo es independiente de m_I pero existe degeneración de los niveles de energía cuando se aplica un campo externo. En un campo de magnitud B_0 y dirección sobre el eje z de un sistema de coordenadas cartesianas, las energías de los niveles están dadas por $E = -\mu_z B_0$. Para un núcleo con $m_I = 1/2$, se tienen dos posibles estados, la diferencia de energía entre los dos estados es $\Delta E = \gamma h B_0 / 2\pi$ lo cual corresponde a $\nu_0 = \gamma B_0 / 2\pi$ (Hz).

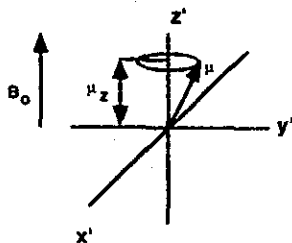


Figura 1. Movimiento de precesión de un momento magnético

En un campo magnético externo, el momento magnético μ se sitúa con un ángulo $\theta = 1/\cos(\mu_z/\mu I)$ con respecto al campo. De acuerdo con la mecánica clásica la interacción del espín nuclear con el campo causa un movimiento de precesión alrededor de B_0 . La frecuencia de este movimiento se conoce como *Frecuencia de Larmor* y es igual a ν_0 . Los dos estados de energía corresponden al movimiento de precesión de μ alineado con el campo y contra el campo.

Una muestra que contiene un conjunto de espines nucleares con valor de $I=1/2$, al equilibrio con B_0 , tendrá un pequeño exceso poblacional en el estado de energía inferior, como lo predice la distribución de Boltzmann. Si γ es positiva, más de la mitad de los espines nucleares se alinearán con el campo aplicado. Este exceso poblacional genera una magnetización neta en la dirección $+z$ que se conoce con el nombre de *Magnetización Macroscópica* M_0 .

En un experimento de resonancia magnética nuclear se aplica un campo de radio frecuencia, B_1 , perpendicular a B_0 . Esto se logra por el paso de una señal a través de una bobina situada en la dirección $+x$ (figura 2a). Con el fin de que la señal de la magnetización neta sea detectada se requiere situarla sobre el plano horizontal (figura 2). Cuando la frecuencia de B_1 es igual a la frecuencia de Larmor algunos de los espines nucleares son inclinados, causando una absorción de energía de B_1 . La componente resultante en el plano xy puede ser detectada por la bobina situada en el plano horizontal (figura 2b).

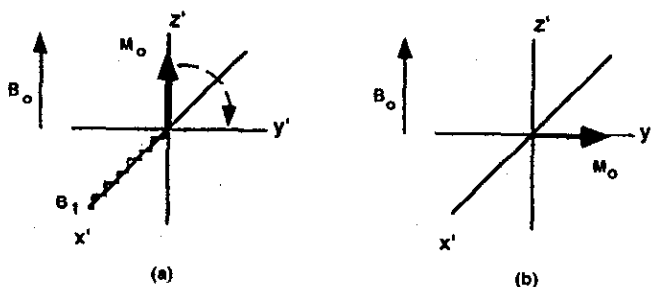


Figura 2. Detección de la componente de magnetización neta

Las transiciones entre los niveles de energía superior e inferior son análogos a la absorción de fotones por un cromóforo en la región de UV/Vis, con la diferencia en la forma de emisión de energía. Un campo magnético B_1 induce transiciones hacia el estado superior e inferior con igual probabilidad. Mientras más grande sea el número de núcleos en el estado de energía inferior, la absorción de energía excede a la emisión y se observa una señal. Existe un medio (llamado relajación) para que el núcleo regrese a su estado de energía inferior, ya que la continua irradiación de B_1 causará que las poblaciones de espín sean iguales (saturación). En este momento de *saturación* no hay absorción de energía ni señal, al contrario de otros sistemas donde ocurre emisión espontánea.

3.1.2 RELAJACIÓN NUCLEAR

Un núcleo no está aislado, éste forma parte de una molécula, la cual, si está en un medio no viscoso se encuentra en movimiento al azar. Este movimiento se puede representar matemáticamente por una gráfica en función del tiempo. Como en otros procesos físicos, la dependencia del movimiento molecular con el tiempo está relacionado a una distribución de frecuencias por medio de una transformada de Fourier. El dominio del tiempo se describe frecuentemente en términos del tiempo de correlación, τ_c , el cual se considera como el tiempo promedio en el cual la molécula mantiene un arreglo geométrico (en el orden de 10^{-12} a 10^{-10} s). Este movimiento molecular, en combinación con campos magnéticos locales permite al núcleo intercambiar energía con su alrededor (referido como "red") y retornar hacia el equilibrio

poblacional. Este proceso de relajación "espín-red" (o longitudinal, T_1) es una medida de la eficiencia del proceso.

En sistemas diamagnéticos, la principal fuente de campos magnéticos locales es la interacción a través del espacio de dos dipolos magnéticos nucleares, estos campos proporcionan un medio de relajación llamado *Relajación Dipolar*. Otra fuente de campos magnéticos, que reducen T_1 , es la presencia de sustancias paramagnéticas. Un par electrónico no apareado contiene un momento magnético grande, por lo que es un medio efectivo de relajación. Por esta razón, el oxígeno atmosférico se elimina en experimentos sensibles a T_1 . Por otro lado, la adición de pequeñas cantidades de compuestos paramagnéticos reduce tiempos largos de T_1 . Para este propósito comúnmente se usa acetilacetato de Cr (III).

Otra clase de proceso de relajación, que no causa transferencia de energía a su alrededor, es la inhomogeneidad del campo magnético B_0 , lo cual origina que sobre la muestra existan pequeñas diferencias de B_0 . Este tipo de relajación define un tiempo T_2 , llamado *tiempo de relajación espín-espín*. Para líquidos T_1 y T_2 son usualmente iguales. Si T_1 es muy corto, entonces T_2 tendrá un valor pequeño y se observará un ensanchamiento de las señales en el espectro.

3.1.3 OBTENCIÓN DE LA SEÑAL

Se pueden provocar transiciones entre los niveles de energía aplicando una radiofrecuencia perpendicular al campo magnético principal. Cuando el valor de esta radiación electromagnética es igual a la frecuencia de precesión de los núcleos, ocurre una absorción de energía y el núcleo migrará del estado de energía inferior al superior. Mediante procesos de relajación espín-red (T_1) y relajación espín-espín (T_2), el núcleo en el estado de energía superior retorna al estado de energía inferior por emisión de energía a su alrededor o hacia núcleos cercanos. El detector mide la disminución exponencial causado por los procesos de relajación en forma de un patrón de atenuación conocido como *atenuación libre de la inducción* (FID), el cual se almacena en la memoria de la computadora para ser convertido por una operación matemática, conocida como *transformada de Fourier*, en una señal en el dominio de frecuencias.

3.1.4 ÁNGULO DE PULSO

En un marco de referencia estacionario, los ejes x , y , y z se consideran estacionarios, y los vectores de magnetización precesionan en el plano xy alrededor del eje z con una velocidad angular $\omega = \gamma B_0$. En un marco de referencia rotante, el plano $x'y'$ se considera que está rotando a la frecuencia de referencia. Si se aplica un pulso de radiofrecuencia en la dirección x' , el vector de magnetización macroscópica M_0 se inclinará del eje z hacia el eje y' . La amplitud de la inclinación de M_0 depende de la fuerza y duración del pulso. Por ejemplo, en un instrumento

de 100 Mz (aplicando un campo de excitación de 25 gauss), un pulso de 5.5 μ s puede inclinar a M_0 en un ángulo de 90° situándolo sobre el eje y' (figura 3a). Un pulso aplicado con el doble de duración, por ejemplo 11 μ s, inclinará a M_0 en un ángulo de 180° situándolo sobre el eje $-z$ (figura 3b). La elección de un *ancho de pulso* apropiado (tiempo de duración del pulso) puede inclinar al vector M_0 en un ángulo deseado. El ángulo por el cual el vector M_0 se inclina lejos del eje z se conoce como *ángulo de pulso*. Los espectrómetros normalmente detectan la componente de la magnetización sobre el eje y' y la presentan en forma de señales. Por lo tanto, el pulso sirve para convertir la *magnetización longitudinal* (por ejemplo la que está situada sobre el eje z antes de la aplicación del pulso) a una *magnetización transversal* detectable sobre el eje y' . La magnitud de la componente sobre el eje y' se calcula por medio de $M_0 \sin \theta$ donde θ representa el ángulo de inclinación hacia el eje y' del vector de magnetización.

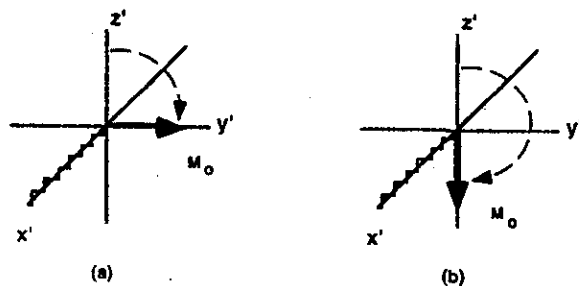


Figura 3. Dirección del vector de magnetización M_0 después de un pulso

Los pulsos pueden ser descritos como "duros" o "blandos" en función del ancho de pulso. La fuerza del campo B medido en Hz (cps) se relaciona con el ancho del pulso (t_π) por $t_\pi = 1/2B$. Por lo tanto, para producir un pulso de 20 μ s (un pulso "duro") se requiere un campo de fuerza B_1 de 25 kHz. Una irradiación de 25 Hz producirá un pulso "suave" de 20 ms de ancho.

3.2 RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR BIDIMENSIONAL

El desarrollo más sobresaliente en la espectroscopia es la Resonancia Magnética Nuclear Bidimensional, lo cual se debe principalmente a:

- a) las técnicas de pulsos que permiten la manipulación del espín nuclear; la introducción de tiempos de retardo en diferentes estados de evolución del vector de magnetización transversal antes de la detección de la señal, b) la disponibilidad de computadoras en las que se pueden almacenar y procesar los "FID's" (free induction decay) por transformada de Fourier, y c) a los adelantos teóricos proporcionados por espectroscopistas para predecir el comportamiento del espín nuclear bajo la influencia de otros núcleos y a la rápida

comprobación de estas predicciones. Además el desarrollo simultáneo de imanes superconductores que permiten lograr una mayor dispersión de las señales.

En un experimento unidimensional, el FID se obtiene y almacena inmediatamente después de la aplicación del pulso. Después de la obtención de un número suficiente de FIDs, la transformada de Fourier proporciona el espectro unidimensional. El intervalo de tiempo t_2 , se mantiene constante durante la adquisición del FID (t_2 se conoce como "periodo de detección").

Si consideramos que la señal no se detecta inmediatamente después de la aplicación del pulso, lo cual requiere un cierto intervalo de tiempo, t_1 (llamado "tiempo de evolución"). Si t_1 se incrementa se obtiene un FID para cada valor de t_1 y se observará el vector de magnetización en varios estados de evolución, figura 4(a). La obtención de cientos de FIDs y la aplicación posterior de una transformada de Fourier a la suma total de FIDs proporciona un espectro como función de t_1 y del dominio de frecuencias ν_2 , figura 4(b). La descripción anterior corresponde a un espectro unidimensional normal (excepto que cada espectro muestra una modulación en las intensidades de los picos, debido a la influencia de otros núcleos durante el tiempo de evolución).

$$S(t_1, t_2) \xrightarrow{\text{T. F. sobre } t_2} S(t_1, \nu_2)$$

El arreglo de estos espectros unidimensionales uno detrás del otro proporciona un espectro donde cada línea es un FID y cuya intensidad varía senoidalmente cuando se observa en la dirección del eje vertical (t_1), figura 4(c).

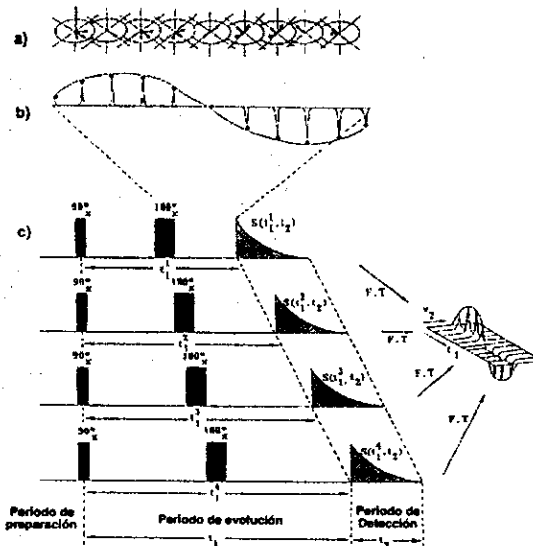


Figura 4. Obtención de un espectro de RMN bidimensional

Si se toma una fracción de estos datos paralelos a t_1 y se grafican como función de t_1 , se obtiene una gráfica que muestra las oscilaciones de amplitud respecto a la frecuencia ν , lo cual disminuye exponencialmente. Esta oscilación sinusoidal se genera punto por punto con el incremento de t_1 . Por lo tanto, esta gráfica se denomina "interferograma", para distinguirla de un FID normal. La transformada de Fourier de esta nueva matriz de datos (interferogramas) origina una gráfica bidimensional, figura 5.

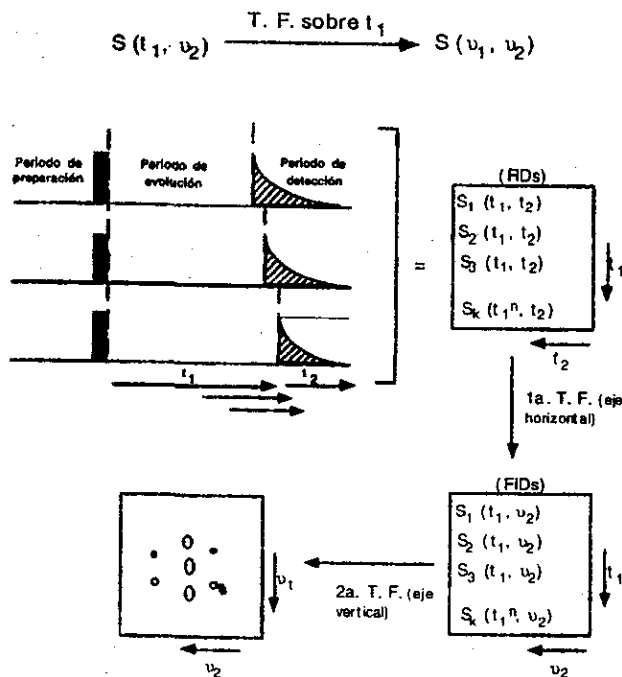


Figura 5. Representación de las etapas para la obtención de un espectro de RMN bidimensional

El eje horizontal en este espectro bidimensional representa el eje de frecuencia ν_2 mientras que el eje vertical representa el eje de frecuencias, ν_1 . Los datos son considerados como un conjunto de datos bidimensionales, ya que están en función de dos variables de tiempo, t_1 y t_2 , al contrario de un simple FID que sólo está en función de una variable de tiempo, t_1 .

En un experimento bidimensional, el tiempo puede ser dividido en tres o algunas veces cuatro periodos, figura 6. El periodo de *preparación* es un tiempo de retardo el cual es más grande que T_1 permitiendo que todos los núcleos alcancen un estado de equilibrio antes de la aplicación de los pulsos, y además permite el restablecimiento de las condiciones iniciales. El periodo de preparación también puede consistir de una serie de pulsos que sirven para alinear el espín nuclear de una manera preferente. A este periodo le siguen uno o más pulsos de

radiofrecuencia que alteran el equilibrio del vector de magnetización transversal. Durante el periodo de *evolución*, t_1 , el vector de magnetización nuclear está sujeto a distintas interacciones incluyendo las de acoplamiento espín-espín con otros núcleos

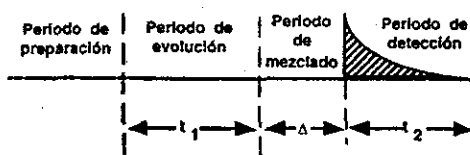


Figura 6. Etapas de un experimento bidimensional

El periodo de *mezclado* continúa después del periodo de evolución, y consiste de un simple pulso selectivo a un núcleo (como en un espectro de correlación de desplazamiento homonuclear) o por diferentes pulsos selectivos para diferentes núcleos (como en un espectro de correlación de desplazamiento heteronuclear). El cuarto periodo, t_2 , es el periodo de *detección*. Normalmente no se aplican pulsos en este periodo, no obstante se puede activar un dispositivo conocido como desacoplador el cual causa pérdida de multiplicidad de un núcleo en particular.

Los experimentos en resonancia magnética nuclear bidimensional se pueden dividir en diferentes clases: **1)** espectros resueltos en J 2D. En estos espectros se define en un eje los desplazamientos químicos mientras que en el segundo se proporcionan las constantes de acoplamiento. Estas constantes pueden ser entre las mismas especies nucleares (espectro J-resuelto 2D homonuclear) o entre diferentes especies (espectro J-resuelto 2D heteronuclear); **2)** espectros de correlación de desplazamientos, en los cuales los desplazamientos químicos se definen en ambos ejes. Si ambos ejes contienen desplazamientos químicos del mismo tipo de núcleo (por ejemplo ^1H) el espectro se llama espectro de correlación homonuclear. Por otro lado, si en los dos ejes se representan los desplazamientos químicos de dos diferentes tipos de núcleos (por ejemplo, en un eje los desplazamientos químicos de ^1H y en el otro los de ^{13}C) se obtienen espectros de correlación de desplazamientos químicos heteronucleares. Estos espectros se originan por las interacciones de acoplamiento directo escalar entre los núcleos, o por la transferencia de magnetización a través de un núcleo intermedio que actúa como un acarreador temporal de magnetización. **3)** espectros de correlación de desplazamientos 2D que implica una relajación cruzada (Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy); las intersecciones en estos espectros se originan del acoplamiento dipolar a través del espacio entre núcleos cercanos, al contrario de los espectros de correlación de desplazamiento donde las intersecciones representan acoplamientos escalares a través del enlace químico; **4)** espectros de transiciones cuánticas múltiples los cuales implican excitaciones de coherencia cuántica múltiple.

3.2.1 ESPECTROSCOPIA DE CORRELACIÓN HOMONUCLEAR (COSY)

En la espectroscopía de correlación de desplazamiento (Correlation Spectroscopy) la amplitud de la señal de un núcleo es modulada (dependiente) por la frecuencia de los desplazamientos químicos (por ejemplo la frecuencia de Larmor) de otros núcleos con los que tiene acoplamiento escalar. En otras palabras, en un espectro COSY se correlacionan las frecuencias de desplazamientos químicos de los núcleos acoplados. Un espectro de correlación homonuclear no está limitado para observar conectividades H/H, también se usa para correlacionar en forma homonuclear los desplazamientos químicos de otros elementos⁵⁷.

La secuencia de pulsos empleada en un experimento COSY se muestra en la figura 7.

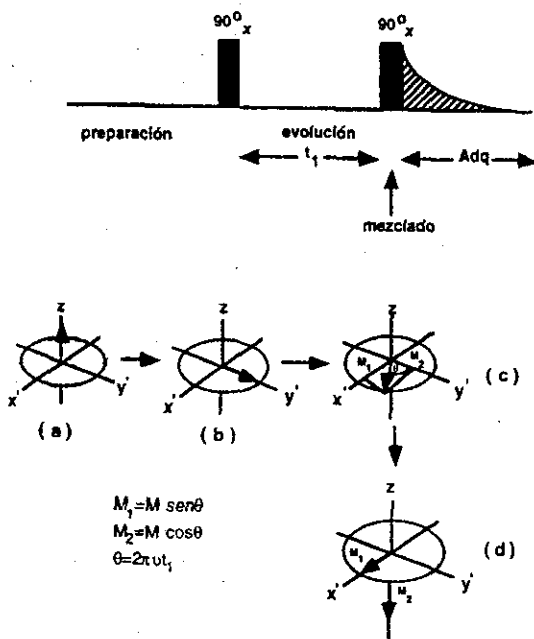


Figura 7. Secuencia de Pulsos para el experimento COSY y su efecto sobre los vectores de magnetización.

El primer pulso 90°_x inclina el vector de magnetización hacia el plano $x'y'$. Los vectores correspondientes a los diferentes tipos de núcleos de ^1H en la molécula se separan de acuerdo a su desplazamiento químico y constante de acoplamiento durante el periodo de evolución, un segundo pulso se aplica durante el periodo de mezclado que puede tener un ángulo de inclinación de 90° , 45° , o diferente. El pulso de mezclado causa transferencia de coherencia para todas las posibles transiciones en el sistema de espín. Por lo tanto, durante el periodo t_1 , la amplitud de la señal de cada núcleo de ^1H es modulada por las frecuencias de todos los otros núcleos de ^1H con los cuales está acoplado.

Frecuentemente en un espectro unidimensional no es posible identificar los átomos de ^1H inequívocamente aún en campos altos. El problema se resuelve fácilmente en un espectro bidimensional ya que los desplazamientos químicos son trazados en dos dimensiones. De esta forma se pueden eliminar los traslapes posibles. Una ventaja de la espectroscopia de correlación es que permite encontrar la conectividad entre fragmentos individuales, no encontrándose intersecciones por acoplamientos de largo alcance. Algunas intersecciones en un espectro COSY no aparecen o presentan muy baja intensidad, lo anterior es difícil de predecir con precisión; pero se puede tener presente dos factores. Primero, si un núcleo de ^1H está acoplado a otros núcleos de ^1H entonces las señales individuales de su multiplicidad aparecerán con baja intensidad en un espectro unidimensional y en un experimento COSY esta baja intensidad se distribuye entre todos los núcleos de ^1H con los que se acopla durante el periodo de mezclado, resultando una disminución de la intensidad en la intersección. Una constante de acoplamiento grande no necesariamente produce una señal de intersección intensa. Segundo, si los tiempos de relajación transversal, T_2 , son muy cortos en comparación a $1/J$, entonces la transferencia de magnetización no puede crecer y las intersecciones desaparecen por su baja intensidad.

3.2.2 ESPECTROSCOPÍA DE EFECTO NUCLEAR OVERHAUSER (NUCLEAR OVERHAUSER ENHANCEMENT SPECTROSCOPY)

Anteriormente se mencionó que un proceso posible para transferir magnetización a través de interacciones dipolares internucleares es el efecto nuclear Overhauser (nOe). Existe un procedimiento bidimensional para medir efecto nOe homonuclear (^1H - ^1H) el cual proporciona valiosa información de la conformación de la molécula.

Si dos núcleos A y B (por ejemplo ^1H) están cercanos en el espacio, cuando se altera la componente z de magnetización del núcleo A, se produce un cambio en la intensidad de magnetización del núcleo B debido a la interacción entre los momentos magnéticos de los dos núcleos⁵⁸. La tasa de cambio de intensidad, k, del núcleo H_B que sufre alteración por la componente z de la magnetización de núcleo H_A se representa aproximadamente por la siguiente ecuación:

$$k = [34.2 \tau_c / (1 + 4 \nu^2 \tau_c^2) - 5.7 \tau_c] \times 10^6 r^{-6}$$

donde "r" representa la distancia en Angstroms entre los núcleos H_A y H_B , ν es la frecuencia de resonancia del núcleo de H, y τ_c es el tiempo de correlación de la molécula (tiempo promedio que le toma a la molécula moverse en un ángulo de 1 radián).

La secuencia de pulsos para un experimento NOESY, donde se detecta la relajación homonuclear cruzada, se muestra en la figura 8.

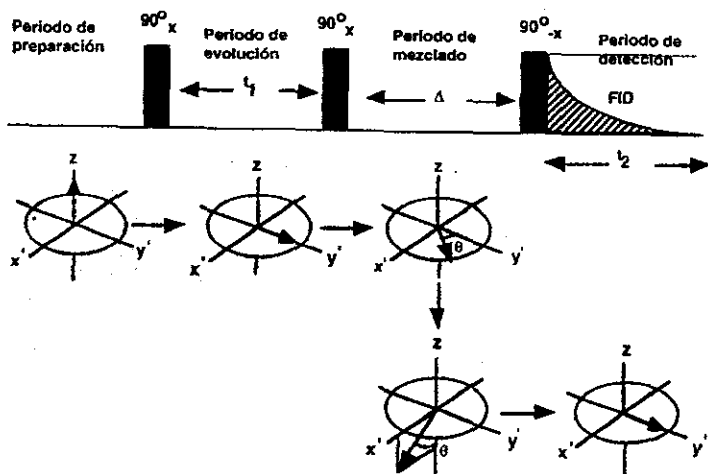


Figura 8. Secuencia de pulsos para un experimento NOESY y su efecto sobre el vector de magnetización

El primer pulso de 90°_x sirve para inclinar el vector de magnetización, del núcleo A, del eje z hacia el y' . Durante el periodo de evolución t_1 el vector de magnetización transversal del núcleo A precesará con la frecuencia Ω_A cerca del eje z y al final del tiempo t_1 , habrá viajado en un ángulo $\Omega_A t_1$. El segundo pulso 90°_x rota el vector de magnetización hacia el plano $x'z$. En este momento la componente x' del vector de magnetización será proporcional a $\sin(\Omega_A t_1)$ y la componente z igual a $-\cos(\Omega_A t_1)$. Al final del segundo pulso 90°_x , la magnitud de la magnetización longitudinal para el espín A es igual a $M_{zA}(t) = M_{0A} \cos(\Omega_A t_1)$.

Durante el periodo de mezclado, se presenta la transferencia de magnetización entre el espín del núcleo A y B. Esta transferencia de magnetización depende de la magnitud de la magnetización longitudinal del espín del núcleo A que existe al final del segundo pulso 90°_x . Por lo tanto, cuando la magnetización del espín del núcleo B se detecta al aplicar el tercer pulso 90°_{-x} , esta magnetización será modulada por la magnetización del espín del núcleo A, $\cos(\Omega_A t_1)$. Similarmente, la magnetización del espín del núcleo A será modulada por la magnetización del espín del núcleo B, $\cos(\Omega_B t_1)$. La transformada de Fourier mostrará intersecciones de NOESY en coordenadas $(\nu_B, \nu_A) = (\Omega_A, \Omega_B)$ y (Ω_B, Ω_A) , manifestándose el efecto NOESY entre los núcleos A y B. La intensidad de esta relajación cruzada depende de la tasa de cambio de la intensidad de "k", la cual como se indicó anteriormente depende de la distancia internuclear "r" (r^{-6}), del tiempo de correlación molecular y particularmente del tiempo de mezclado τ_c , el cual es un parámetro que puede controlar el espectroscopista.

Un espectro NOESY puede proporcionar información de las distancias entre los núcleos de 1H , pero un problema que hace inexacta esta estimación es que la tasa de construcción de las intersecciones no es lineal sino que es dependiente del tiempo de mezclado. Para evitar este problema sólo se utilizan tiempos cortos de mezclado donde existe linealidad, lo cual causa una

reducción de la intensidad de la intersección. Un segundo problema es que el movimiento aleatorio de la molécula no sigue un modelo esférico (isotrópico), así que este movimiento no se puede representar por un simple movimiento de correlación molecular, τ_c . Si las moléculas tienen movilidad interna tan lenta como τ_c pero más rápida en la escala de tiempo de la resonancia magnética nuclear, entonces las intensidades del nOe darán valores incorrectos de las distancias entre los núcleos de ^1H .

3.2.3 ESPECTROSCOPIA DE CORRELACIÓN HETERONUCLEAR (HETCOR)

Si la señal de ^{13}C es modulada por las frecuencias de desplazamiento químico de los núcleos de ^1H con los que está acoplado, se produce un experimento de *correlación bidimensional heteronuclear*. El principio fundamental del experimento es la transferencia de coherencia entre sistemas de espines acoplados. En un experimento de correlación heteronuclear, los últimos pulsos de 90° son aplicados simultáneamente sobre ambos tipos de núcleos acoplados lo que permite una transferencia de coherencia entre ellos.

La secuencia de pulsos en un experimento de correlación heteronuclear (HETCOR) se muestra en la figura 9. Se puede ver en esta secuencia que al final del periodo de evolución se tiene un periodo de tiempo extra Δ_1 , durante el cual la información de desplazamiento químico del núcleo de ^1H se mezcla con la información del desplazamiento químico del núcleo de ^{13}C .

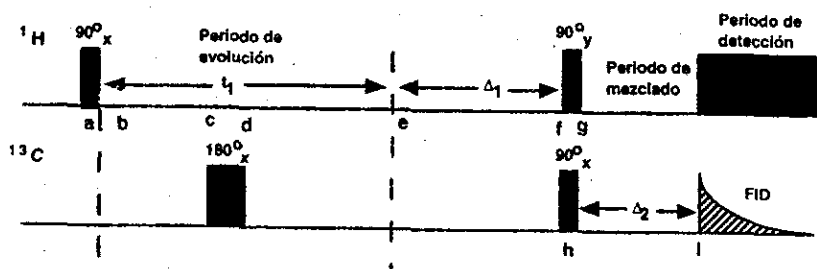


Figura 9. Secuencia de Pulsos para el experimento HETCOR

El primer pulso de 90°_x aplicado al núcleo de ^1H inclina el vector de magnetización hacia el eje y' . Esta magnetización se considera que está formada por dos vectores, dependiendo de si el núcleo de ^1H está unido al estado de espín inferior (α) o al estado más alto (β) del átomo de carbono. Estos dos estados se pueden señalar como H_α y H_β respectivamente. Durante el siguiente periodo de tiempo, $1/2t_1$, los dos vectores se separan y divergen uno del otro en el plano $x'y'$ ya que poseen diferentes velocidades angulares, en algún tiempo "t" durante la primera mitad del periodo de evolución, los ángulos formados por los dos vectores debido a su precesión se alejan del eje y' y se pueden representar como $(\Omega_0 + \pi J)t$ y $(\Omega_0 - \pi J)t$ donde Ω_0 es la frecuencia de desplazamiento químico de los núcleos de ^1H y J es la magnitud de su constante de acoplamiento con el núcleo de ^{13}C .

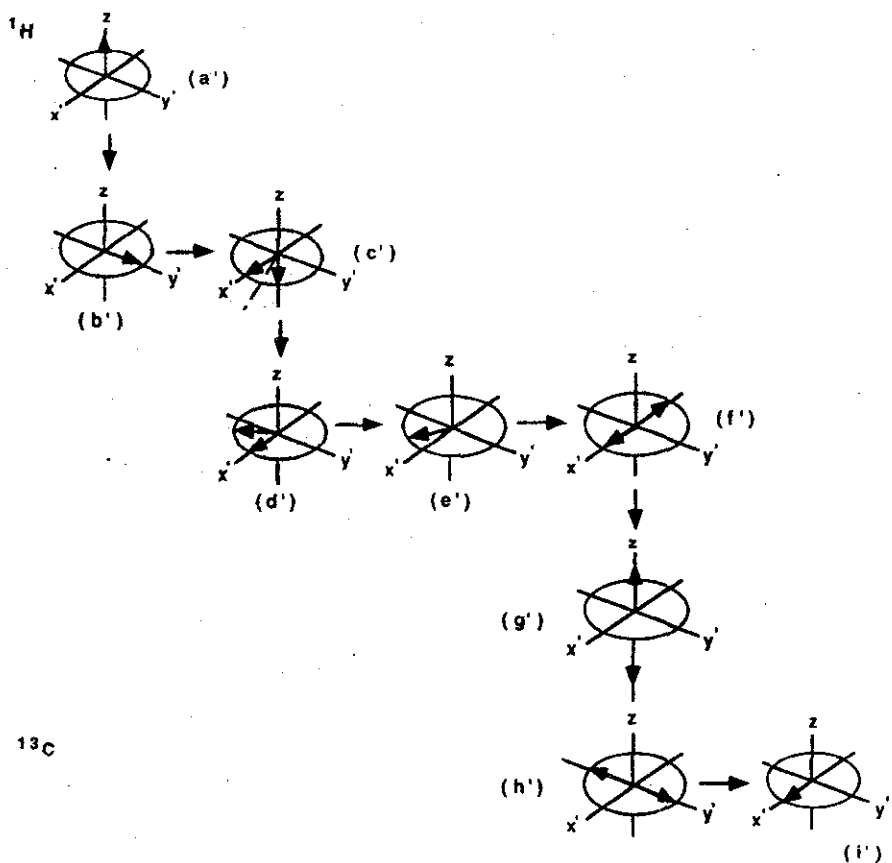


Figura 9. Efecto de la secuencia de Pulsos del experimento HETCOR sobre los vectores de magnetización de los núcleos ^1H y ^{13}C .

El ángulo θ representa el desfazamiento entre ambos vectores, y por lo tanto, determina la magnitud de la constante de acoplamiento entre los núcleos de ^1H y ^{13}C . El ángulo α (es el ángulo promedio entre la posición de los vectores y el eje y') depende de la frecuencia del desplazamiento químico de los núcleos de ^1H . El pulso de 180°_x a la mitad del periodo de evolución sirve para invertir las poblaciones de los estados del núcleo de ^{13}C , con lo cual se intercambia su frecuencia rotacional, así que durante la segunda mitad del periodo de evolución ellos concurren, y al final del periodo t_1 son reenfocados (figura 9e').

El ángulo α por el cual ellos divergen del eje y' refleja su frecuencia de desplazamiento químico, los núcleos de ^1H en estado de espín $+1/2$ tienen un ángulo α más grande que los núcleos de ^1H con espín $-1/2$. Los desdoblamientos ^1H - ^{13}C son eliminados debido al reenfocamiento durante t_1 , mientras que los desdoblamientos durante el periodo de adquisición t_2 son cancelados por desacoplamiento de ^1H . Durante el tiempo de mezclado Δ , la información de los desplazamientos químicos de ^1H (contenida en el ángulo α) se transfiere al

vector de magnetización del núcleo de ^{13}C . El tiempo en este periodo de mezclado se adapta al valor promedio de la constante de acoplamiento C-H. Como resultado del primer periodo $1/2J$, los dos vectores del núcleo de ^1H divergen y se alinean en direcciones opuestas sobre el eje x' (por ejemplo $\theta=180^\circ$). En este momento se aplica el segundo pulso de mezclado 90°_y que da como resultado la transferencia de polarización de los núcleos de ^1H a los de ^{13}C originando una mayor sensibilidad en las señales de ^{13}C . Este pulso hace que los dos vectores de magnetización situados sobre el eje x' se inclinen sobre el eje z . Ahora, un vector apunta hacia la dirección $+z$ mientras que el otro hacia $-z$. Un pulso de 90°_x se aplica al mismo tiempo sobre el núcleo de ^{13}C (figura 9i'), los vectores alineados sobre el eje y' se reenfojarán durante el siguiente periodo de retardo (el valor se mantiene a $1/2J_{\text{CH}}$) y pueden ser detectados como señales simples cuando se aplica el desacoplador para núcleos de ^1H durante el periodo de detección, t_2 . La amplitud de las señales de ^{13}C , detectadas durante t_2 , son moduladas, durante t_1 por las frecuencias del espín de ^1H . Como en otros experimentos bidimensionales, la primera serie de transformadas de Fourier proporciona espectros en los cuales las señales de ^{13}C son moduladas por las frecuencias de resonancia de los núcleos de ^1H . El primer retardo Δ_1 se optimiza a un valor de $1/2J$ para los sistemas CH_n , mientras Δ_2 se selecciona a $1/2J$ para CH , y $1/4J$ para grupos CH , CH_2 y CH_3 . Si el valor de retardo J_{CH} se adapta a un valor entre 130-140 Hz, (por ejemplo si Δ_1 y Δ_2 se amplían apropiadamente) se puede observar la interacción a través de un enlace ^{13}C - ^1H . Sin embargo, si el valor del retardo se adapta a un valor de 5-10 Hz, se observarán las intersecciones entre conexiones de núcleos de ^{13}C y ^1H a dos y tres enlaces. Éste último experimento se le llama *espectroscopía de correlación de largo alcance*.

Una ventaja del experimento de correlación heteronuclear (HETCOR) es que la dispersión de las señales de ^{13}C facilita la asignación de los desplazamientos químicos para los átomos de H. Además, en experimentos de largo alcance se puede obtener información de la conectividad H/C sobre dos y tres enlaces. Por lo tanto, en combinación con un experimento COSY se puede encontrar la secuencia carbonada de la molécula.

3.2.4 ESPECTROSCOPÍA DE CORRELACIÓN DE NÚCLEOS DIRECTAMENTE UNIDOS POR COHERENCIA MÚLTIPLE CUÁNTICA HETERONUCLEAR (HMQC).

Un incremento significativo de sensibilidad se puede alcanzar si los núcleos con constante giromagnética pequeña γ (por ejemplo ^{13}C) se detectan a través de sus efectos sobre núcleos más sensibles⁵⁹ (por ejemplo, ^1H). La primera propuesta para un experimento de correlación de desplazamientos químicos de ^1H a través de coherencia cuántica múltiple (HMQC) fue realizada por Muller, pero el experimento inicial no fue muy aceptado, primeramente por el problema de intervalo dinámico causado por los núcleos de ^1H que no están acoplados a

núcleos de ^{13}C . El problema fue resuelto por presaturación de las señales de núcleos de ^1H y posteriormente transferencia de nOe de los núcleos de ^1H hacia los núcleos ^{13}C .

Se desarrolló un experimento que resuelve el problema de intervalo dinámico y que elimina las señales de los núcleos de ^1H que no están acoplados a un núcleo con constante giromagnética γ pequeña⁶⁰ (por ejemplo ^{13}C). La secuencia de pulsos para un experimento HMQC se muestra en la figura 10. Los núcleos de ^1H que no están acoplados a un núcleo de ^{13}C son invertidos por el pulso bilineal inicial (BIRD), los núcleos de ^1H acoplados a ^{13}C permanecen intactos. Después del pulso BIRD continúa un tiempo de retardo τ durante el cual se realiza la inversión de magnetización (de los núcleos de ^1H que no están acoplados a núcleos de ^{13}C), i.e. los núcleos de ^1H son saturados. En este momento se aplica el primer pulso 90° del experimento HMQC. El tiempo de retardo τ se elige de tal forma que los núcleos de ^1H que no están acoplados tengan una intensidad igual a cero. El tiempo t entre barridos sucesivos es corto (1.3 veces el t_1 de los núcleos de ^1H), y el valor de τ se mantiene cerca de $0.35t$. La presencia de núcleos de ^{13}C junto a los núcleos de ^1H , disminuyen el tiempo t_1 significativamente, y la eficiencia de relajación de estos núcleos permiten aplicar un periodo corto de retardo sin afectar la sensibilidad. Los tiempos de adquisición normalmente son entre 20-30 ms.

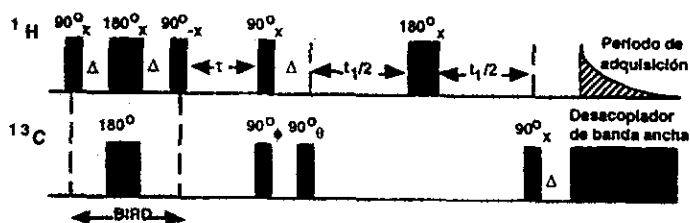


Figura 10. Secuencia de Pulsos para el experimento HMQC

Una desventaja de este experimento es que las señales de ^1H son moduladas no sólo por los desplazamientos químicos del núcleo de ^{13}C al que están acoplados, también existe acoplamiento escalar homonuclear. El experimento es significativamente más sensible que el experimento de correlación heteronuclear. Se ha estimado que, tomando varios factores en cuenta, el experimento HMQC es aproximadamente 16 o 100 veces más sensible para la detección de ^{13}C o ^{15}N que el experimento usual de correlación de desplazamiento químico heteronuclear, teniendo un factor de incremento de 2 para grupos CH_2 o NH_2 , y 3 para los grupos CH_3 . Sin embargo, este método no proporciona información para asignar átomos de ^{13}C no protonados. Además, si se traslapan los desplazamientos de diferentes núcleos de ^{13}C la asignación no se puede hacer inequívocamente.

3.2.5 ESPECTROSCOPÍA DE CONECTIVIDAD DE ENLACES MÚLTIPLES HETERONUCLEARES (HMBC).

Una modificación al experimento HMQC depende de las constantes de acoplamiento a dos y tres enlaces ($^2J_{CH}$ y $^3J_{CH}$) que generará coherencia cuántica múltiple heteronuclear a múltiples enlaces (HMBC), lo cual proporciona un espectro que es equivalente al de correlación de desplazamiento heteronuclear por acoplamiento de largo alcance.

La secuencia de pulsos empleada para la detección de coherencia heteronuclear a múltiples enlaces (HMBC) se muestra en la figura 11. La duración de Δ_1 se mantiene a $1/2^1J_{CH}$ mientras que Δ_2 se mantiene entre 50-80 ms. El primer pulso de 90° sobre el núcleo de ^{13}C produce coherencia cuántica múltiple heteronuclear para los núcleos de 1H directamente unidos al núcleo de ^{13}C . Las correlaciones a un enlace ($^1J_{CH}$) son eliminadas por el pulso de 90° sobre los núcleos de ^{13}C el cual funciona como un filtro⁶¹ simplificando el espectro.

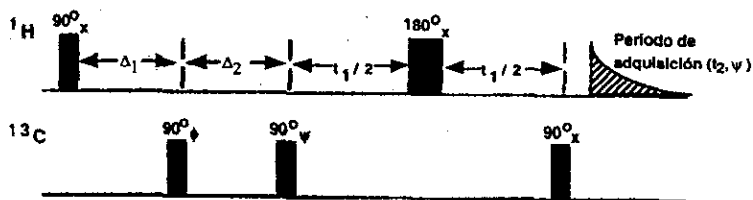


Figura 11. Secuencia de Pulsos para el experimento HMBC

El segundo pulso de 90° sobre el núcleo de ^{13}C crea coherencia cuántica doble y cero. Las componentes de estas coherencias son intercambiadas por el pulso de 180° sobre los núcleos de 1H con lo cual se elimina el efecto del desplazamiento químico durante t_1 . Después del último pulso de 90° sobre el núcleo de ^{13}C , las señales de 1H se originan por coherencia cuántica múltiple moduladas por los desplazamientos químicos de 1H y por los acoplamientos homonucleares entre ellos. El segundo pulso de 90° se realiza para eliminar las señales de los núcleos de 1H que no tienen acoplamiento de largo alcance con los núcleos de ^{13}C .

La sensibilidad de un experimento HMBC resulta del uso de la magnetización de los núcleos de 1H en lugar de aquella debida unicamente a los núcleos de ^{13}C . Esta magnetización es proporcional a la diferencia poblacional de los niveles de energía de los núcleos de 1H , dando por resultado una señal más intensa para los núcleos de ^{13}C . Para la correlación de ^{13}C de largo alcance, el tiempo de retardo Δ_1 se incrementa a un valor igual a $1/2J$. La ventaja de sensibilidad de un experimento HMBC se basa en el uso de la magnetización de los núcleos de 1H en lugar de los núcleos de ^{13}C (detección inversa).

3.2.6 INCREMENTO DE LA SEÑAL SIN DISTORSIÓN POR TRANSFERENCIA DE POLARIZACIÓN (DEPT)

Un problema que se encuentra frecuentemente en Espectroscopía de RMN es la presencia de núcleos con baja abundancia natural o con pequeña constante giromagnética. La sensibilidad de un experimento de RMN depende de la diferencia poblacional, ΔE , entre los estados de energía superior e inferior, los cuales dependen de sus constantes giromagnética: $\Delta E = \gamma \hbar B_0 / 2\pi$, donde \hbar es la constante de Planck y B_0 es el campo magnético aplicado.

Los núcleos tales como ^{13}C y ^{15}N tienen baja constante giromagnética, lo cual origina una diferencia poblacional más pequeña entre el estado excitado y basal. La constante giromagnética de un núcleo de ^1H es aproximadamente cuatro veces más grande que la del núcleo de ^{13}C . Por lo tanto, el núcleo de ^{13}C está menos polarizado por el campo magnético principal que un núcleo de ^1H , lo cual origina que la señal de ^{13}C sea más débil que la del núcleo de ^1H . La intensidad de la señal de un núcleo de ^{13}C es proporcional a γ^3 , la pequeña constante giromagnética del núcleo de ^{13}C originará una disminución en la intensidad de la señal de aproximadamente 64 veces. Además, cuando consideramos que el núcleo de ^{13}C tiene una abundancia natural del 1.1%, disminuirá la señal otras cien veces más, haciendo su intensidad total 6000 veces más débil que para el núcleo de ^1H . El problema anterior puede ser resuelto parcialmente por el efecto nuclear Overhauser. Una alternativa para incrementar la señal de ^{13}C es por transferencia de magnetización de los núcleos de ^1H hacia los núcleos de ^{13}C . Este fenómeno se conoce como *transferencia de población o polarización* y es la base de un método moderno de RMN denominado DEPT (Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer).

Este método es selectivo para determinar la multiplicidad de átomos de carbono (i.e. grupos CH_3 , CH_2 , CH y átomos de C cuaternarios). La secuencia de pulsos se muestra en la figura 12.

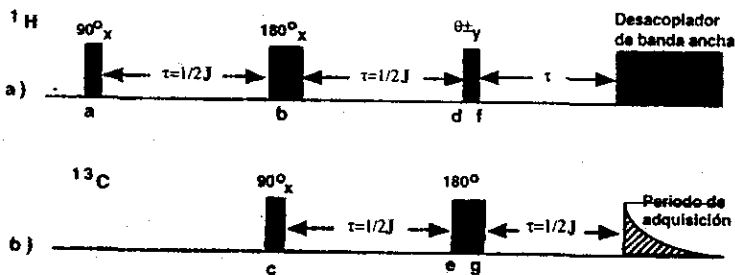


Figura 12. Secuencia de Pulsos para el experimento DEPT

Después de un tiempo de retardo el cual permite a los núcleos de ^1H alcanzar el equilibrio de Boltzmann, se aplica un pulso de 90° en la dirección del eje x' sobre los núcleos de ^1H . Esto causa que la magnetización macroscópica se incline en un ángulo de 90° de su posición de equilibrio sobre el eje z hacia el eje y' (figura 12a). Durante el siguiente periodo de retardo τ , el

cual se mantiene a $1/2J$, la magnetización transversal es modulada por la frecuencia de acoplamiento CH así que la magnetización se divide en dos vectores, los cuales rotan alrededor del eje z en el plano $x'y'$ y al final del tiempo de retardo estarán en sentidos opuestos uno del otro sobre el eje x' , figura 12b' (i.e. tienen una diferencia de fase de 180°).

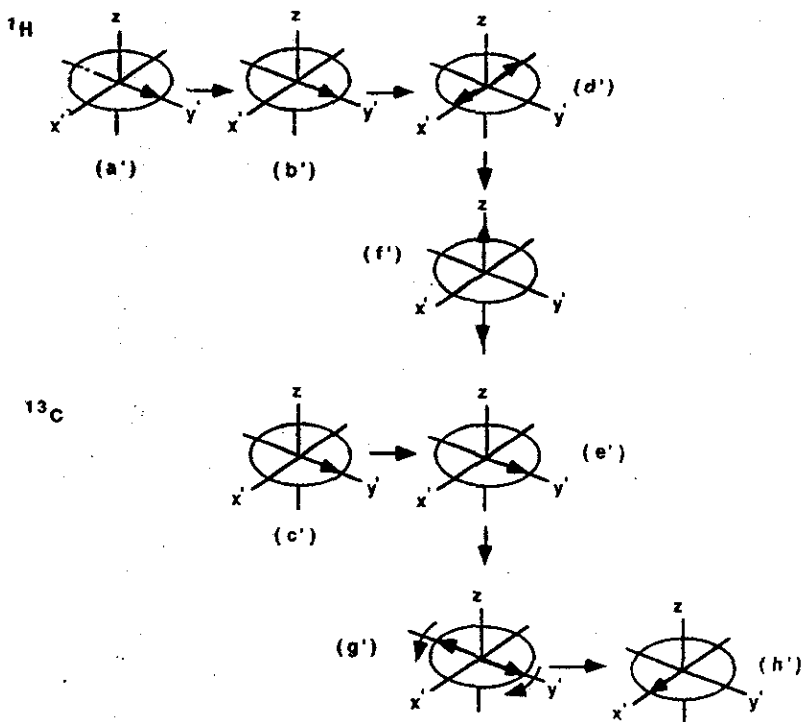


Figura 12. Efecto de la secuencia de Pulsos para el experimento DEPT sobre los vectores de magnetización de los núcleos ^1H y ^{13}C .

Se aplica un pulso de 180° sobre los núcleos de ^1H que sirve para reenfocar la inhomogeneidad del campo, mientras se aplica al mismo tiempo un pulso de 90° al núcleo de ^{13}C para situarlo sobre el eje y' (figura 12c'). Ya que no existe magnetización sobre el eje z para ninguno de los núcleos, los dos núcleos están desacoplados uno del otro. Por lo tanto, durante el siguiente tiempo de retardo $\tau = 1/2J$, ambos vectores de los núcleos de ^1H y ^{13}C permanecen en su posición original en el sistema de coordenadas rotante, este tiempo de retardo sirve para eliminar alguna inhomogeneidad del campo (figura 12d' y e'). Al final del segundo tiempo de retardo se aplica un pulso θ sobre el núcleo de ^1H . La longitud de este pulso se puede ajustar dependiendo del tipo de espectro que se desea registrar. Un pulso de 90° origina que ambos componentes del núcleo de ^1H giren sobre el eje $+z$ (figura 12f'). En esta posición, uno de los dos vectores del núcleo de ^1H (situado sobre el eje $+z$) está en equilibrio mientras que el otro

está invertido (situado sobre el eje -z). Esto origina una transferencia de polarización de los núcleos de ^1H hacia los núcleos de ^{13}C (debido al acoplamiento C-H) y por lo tanto se incrementa la señal de ^{13}C . En el siguiente periodo de retardo se aplica un pulso de 180° para reenfocar alguna desuniformidad del campo sobre el núcleo de ^{13}C . Durante el siguiente periodo de retardo $\tau=1/2J$ existe magnetización sobre el eje z del núcleo de ^1H y tiene lugar una modulación de los vectores del núcleo de ^{13}C debido al acoplamiento $^{13}\text{C}-^1\text{H}$. Los vectores de mayor intensidad del núcleo de ^{13}C rotarán alrededor del eje z en el plano $x'y'$, y al final de este tiempo de retardo se reenfoacán sobre el eje x' (figura 12h'). En este momento se registra el FID y se aplica la transformada de Fourier. La magnetización del núcleo de ^{13}C se puede detectar como una señal doble o si se aplica al mismo tiempo el desacoplamiento se puede detectar como una señal simple. La amplitud de la transferencia de polarización se determina por el último ángulo θ , la máxima transferencia de polarización ocurre con un ángulo $\theta=90^\circ$ para un grupo CH. Bajo estas condiciones, la magnetización sobre el eje x' del átomo de carbono de los grupos CH_3 y CH_2 es cero, por lo cual en el espectro sólo se observarán las señales para los átomos de carbono de CH. Con un ángulo $\theta=135^\circ$, las modulaciones de los átomos de carbono de CH y CH_3 difieren de los átomos de carbono de CH_2 . Al final del tercer tiempo de retardo los átomos de carbono de CH_3 y CH proporcionan señales positivas mientras que los átomos de carbono de CH presentarán señales invertidas. Con un ángulo $\theta=45^\circ$, las señales de los átomos de carbono para CH_3 , CH_2 y CH tendrán amplitudes positivas. Una comparación del espectro obtenido con un ángulo $\theta=135^\circ$ y el espectro con un ángulo $\theta=90^\circ$ permitirá una diferenciación inequívoca entre los átomos de carbono de los grupos CH_3 , CH_2 y CH. La comparación de estos espectros con un espectro de ^{13}C totalmente desacoplado, por diferencia, proporcionará los átomos de carbono cuaternarios.

CAPITULO IV

PARTE EXPERIMENTAL

3.1 CONDICIONES GENERALES.

Los espectros de infrarrojo y de Ultravioleta-Visible fueron obtenidos⁽¹⁾ en un espectrofotómetro Infrarrojo Nicolet modelo SX750 y un espectrofotómetro UV-VIS modelo UV160U Shimadzu empleando cloroformo y metanol como disolvente respectivamente.

Los espectros de rutina de ^1H , ^{13}C de Resonancia Magnética Nuclear fueron obtenidos⁽²⁾ en un espectrómetro Varian Unity 300, para los experimentos bidimensionales (HMBC, HMQC, NOESY, COSY) se utilizó un espectrómetro Varian Unity 500. En ambos casos se utilizó cloroformo deuterado como disolvente y se agregó óxido de deuterio para realizar el intercambio H-D, los desplazamientos químicos (δ) están dados en ppm tomando como referencia interna al tetrametilsilano (0.0 ppm); la multiplicidad de las señales se designa de la siguiente forma: a^D: ancho (intercambio con deuterio), a: ancho, m: múltiple, q: cuarteto, t: triple, d: doble, s: simple; también se indica la integración de la señal para los núcleos de ^1H .

Los espectros de masas se obtuvieron⁽³⁾ por impacto electrónico con introducción directa utilizando un espectrómetro JEOL JMS-AX505HA (con potencial de ionización de 70 eV), la temperatura de la fuente fue de 230 °C.

Los puntos de fusión se tomaron en un aparato Fisher-Johns y los valores no están corregidos.

Las cromatografías en columna se efectuaron utilizando Gel de Sílice de No. 60 con tamaño de partícula de 0.063-0.2 mm (malla 70-230).

Las cromatografías analíticas en placa delgada se realizaron empleando placas Gel de Sílice Merck de No. 60, de 10 x 5 cms. y 0.25 mm de espesor con indicador fluorescente.

Para cromatografía en columna se usaron disolventes grado analítico bidestillados. Los reactivos químicos (aminas, aminomercaptanos, aminoácidos) fueron obtenidos en diferentes compañías químicas (Aldrich y Sigma)

(1) QFB. Rocio Patiño Maya

(2) M. en C. Ma. Isabel Chavez Uribe

(3) M. en C. Javier Pérez Flores y el I.Q. Luis Velazco Ibarra.

3.2 OBTENCIÓN DE PEREZONA.

La raíz seca y triturada de *Perezia cuernavacana* (5 Kg) se dejó reposar en hexano en un recipiente de vidrio. Después de 12 hrs se filtró el disolvente y se evaporó el hexano al vacío, se repitió la extracción 3 veces, al final se obtuvo un residuo crudo cristalino, el cual se recrystalizó en una mezcla fría de acetona-hexano (25:75), obteniéndose 25g de cristales color amarillo-naranja, con punto de fusión 101-103 °C.

Perezona ¹ H RMN (ppm)	6.98 (a ^D , 1H), 6.48 (q, 1H), 5.07 (t, 1H), 3.05 (m, 1H), 2.05 (d, 3H), 1.94-1.74 (m, 4H), 1.64 (s, 3H), 1.53 (s, 3H), 1.19 (d, 3H)
¹³ C RMN (ppm)	187.4, 184.3, 151.0, 140.5, 135.9, 131.4, 124.6, 124.5, 34.1, 29.3, 26.7, 25.6, 18.2, 17.7, 14.6
IR (cm ⁻¹)	3413, 2968, 2929, 1654, 1639, 1639, 1396, 1377, 1323
EM (m/z, %Int)	248 (65) M ⁺ , 233 (10), 219 (10), 205 (13), 191 (25), 180 (15), 166 (100)
UV-VIS (nm, abs)	313 (14), 410 (0.79)

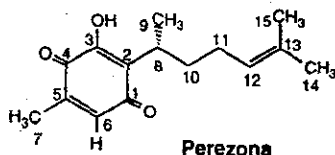
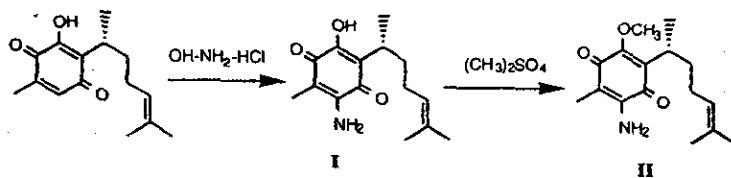


Tabla 1. Asignación mediante conectividades directas e indirectas para Perezona

¹³ C	δ (ppm)	HMBC	(δ, multíp.)	HMBC	COSY
1	187.4 (s)			H (3.05)	
2	124.6 (s)			H (1.20), H (3.05)	
3	151.0 (s)			H (3.05)	
4	184.3 (s)			H (7.02), H (2.06)	
5	140.5 (s)			H (2.06)	
6	135.9 (s)	6.48 (q)		H (2.06)	H (2.06)
7	14.6 (q)	2.06 (d)			H (6.48)
8	29.3 (d)	3.05 (m)			H (1.20), H (1.81)
9	18.2 (q)	1.20 (d)		H (3.05)	H (3.05)
10	34.1 (t)	1.81 (m)	1.58 (m)	H (1.20), H (3.05), H (1.89)	H (3.05), H (1.89)
11	26.7 (t)	1.89 (m)			H (5.07), H (1.59)
12	124.5 (d)	5.07 (t)		H (1.53), H (1.64)	H (1.89)
13	131.4 (s)			H (1.53), H (1.64)	
14	25.6 (q)	1.59 (s)		H (5.07)	
15	17.7 (q)	1.39 (s)		H (5.07)	
OH		7.02 (a ^D)			

3.3 DERIVADOS CON AMINAS MONOFUNCIONALES.

OBTENCIÓN DE I.



A temperatura ambiente se agitaron 221 mg (1.2 mmol) de $Zn(AcO)_2$ en 10 ml de metanol hasta la disolución completa; se agregaron 300 mg (1.2 mmol) de perezona y se agitó por 15 minutos. Se disolvieron 126 mg (1.8 mmol) de hidroxilamina (como clorhidrato) en 10 ml de metanol y se adicionó por goteo al matraz de reacción. La evolución de la reacción se siguió por CCF en sílice, eluyendo con una mezcla de hexano-AcOEt (70:30); se observó un producto principal de color azul-morado. Cuando la CCF en sílice mostró que la perezona había reaccionado totalmente, se evaporó el metanol y el residuo se lavó con una solución de HCl al 2%, se realizó una extracción con CH_2Cl_2 , se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando 80 g de sílice y se eluyó con una mezcla de Hexano-AcOEt (90:10). Se obtuvieron 300 mg de **I** con un 95% de rendimiento. El producto resultante **I** es de color azul-morado con punto de fusión 132 -134 $^{\circ}C$.

I	1H RMN (ppm)	8.02 (a ^D , 1H), 5.28 (a ^D , 2H), 5.08 (t, 1H), 3.05 (m, 1H), 1.83 (d, 3H), 1.89-1.78 (m, 4H), 1.64 (s, 3H), 1.54 (s, 3H), 1.18 (d, 3H)
	^{13}C RMN (ppm)	182.5, 179.8, 153.5, 131.3, 146.7, 124.6, 118.5, 103.4, 34.2, 29.2, 26.7, 25.7, 18.8, 17.6, 7.8,
	IR (cm^{-1})	3512, 3384, 2964, 2931, 1654, 1592, 1378, 1349
	EM (m/z, %Int)	263 (92) ^{M+} , 256 (05), 221 (905), 206 (14), 181 (100), 166 (13), 155 (12)
	UV-VIS (nm, abs)	206 (1.22), 233 (1.37), 266 (1.32), 408 (0.11)

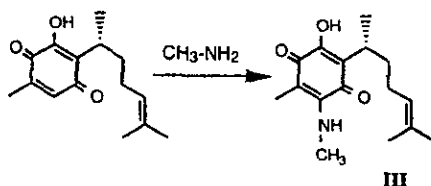
OBTENCIÓN DE II.

Se agitó 2 g (14.5 mmol) de K_2CO_3 en 25 ml de acetona, se agregaron 100 mg (0.38 mmol) de **I** y se continuó agitando por 20 minutos. Se adicionó por goteo 0.07 ml (0.76 mmol) de Me_2SO_4 ; se calentó a reflujo hasta que la solución se torna amarilla. La evolución de la reacción se siguió por CCF en sílice eluyendo con una mezcla de Hexano-AcOEt (75:25), hasta que **I** reaccionó totalmente. Cuando la CCF en sílice mostró el consumo total de **I**, se adicionaron 25 ml de una solución al 5% de NH_4OH ; se evaporó la acetona y el producto se

extrajo con CH_2Cl_2 ; se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró. Se obtuvieron 102 mg de **II** con un 97% de rendimiento. El producto resultante **II** es de color amarillo de consistencia aceitosa.

II	$^1\text{H RMN}$ (ppm)	5.05 (t,1H), 4.81 (a ^D , 2H), 4.00 (s, 3H), 3.06 (m,1H), 1.94-1.74 (m,4H), 1.80 (s,3H), 1.64 (s,3H), 1.53 (s,3H), 1.16 (d,3H)
	$^{13}\text{C RMN}$ (ppm)	183.9, 181.76, 157.85, 143.66, 131.45, 131.40, 124.61, 107.47, 61.45, 34.65, 29.44, 26.76, 25.61, 18.91, 17.59, 8.16
	IR (cm^{-1})	3465, 3355, 2962, 2930, 1638, 1592, 1397, 1266, 1050
	EM (m/z, %Int)	277 (60) M ⁺ , 262 (15), 247 (23), 234 (40), 230 (20), 208 (24), 195 (73), 180 (94), 167(100), 152(85).
	UV-VIS (nm, abs)	212 (0.91), 259 90.14), 304 (0.53), 399 (0.38), 506 (1.04)

OBTENCIÓN DE **III**.

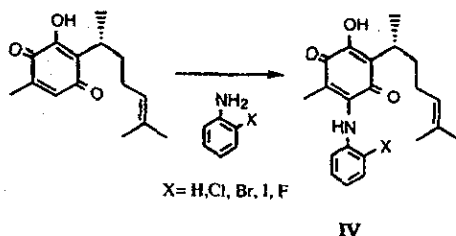


Se agitó a temperatura ambiente 185 mg (1.0 mmol) de $\text{Zn}(\text{AcO})_2$ en 10 ml de metanol hasta la disolución completa; se agregaron 250 mg (1.0 mmol) de perezona y se agitó por 20 minutos. Se disolvieron 0.1 ml (1.7 mmol) de metilamina en solución acuosa al 40% en 2 ml de metanol y se adicionó por goteo al matraz de reacción. La evolución de la reacción se siguió por CCF en sílice, eluyendo con una mezcla de Hexano-AcOEt (70:30); se observó un producto principal de color azul-morado. Cuando la CCF en sílice mostró que la perezona reaccionó totalmente, se evaporó el metanol y el residuo se lavó con una solución de HCl al 2%, se realizó una extracción con CH_2Cl_2 , se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando 75 g de sílice y se eluyó con una mezcla de Hexano-AcOEt (80:20). Se obtuvieron 250 mg de **III** con un 90% de rendimiento. El producto resultante **III** es de color azul-morado con punto de fusión 107-108 °C.

III	$^1\text{H RMN}$ (ppm)	8.34 (a ^D ,1H), 6.45 (a ^D ,1H), 5.05 (t,1H), 3.23 (d, 3H), 2.94 (m,1H), 2.13 (s,3H), 1.94-1.74 (m,4H), 1.63 (s,3H), 1.52 (s,3H), 1.14 (d,3H)
	$^{13}\text{C RMN}$ (ppm)	183.0, 180.0, 154.4, 147.4, 131.5, 124.7, 117.8, 101.2, 34.1, 32.3, 29.3, 26.6, 25.6, 18.3, 17.6, 9.6

IR (cm ⁻¹)	3689, 3338, 2966, 2931, 1643, 1618, 1579, 1521, 1408, 1296, 1089
EM (m/z, %Int)	277 (100) M ⁺ , 262 (5), 244 (5), 234 (10), 220 (12), 195 (60), 180 (35), 168(28), 109(13).
UV-VIS (nm, abs)	216 (1.37), 267 (0.21), 315 (0.97), 413 (0.02), 529 (0.1)

OBTENCIÓN DE IV.



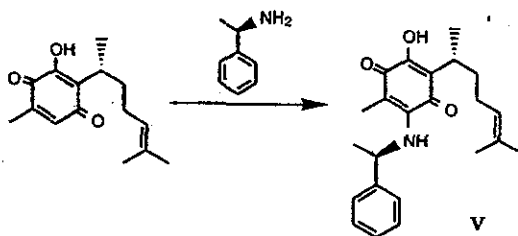
Se agitó a temperatura ambiente 148 mg (0.8 mmol) de Zn(AcO)₂ en 15 ml de metanol hasta la disolución completa, se agregaron 200 mg (0.8 mmol) de perezona y se agitó por 20 minutos. Para cada amina se disolvieron 1 mmol (75 mg, 103 mg, 140 mg, 89.5 mg, 176.4 mg) de la o-H, Cl, Br, F, I-anilina respectivamente en 5 ml de metanol y se adicionó por goteo al matraz de reacción. La evolución de la reacción se siguió por CCF en sílice, eluyendo con una mezcla de Hexano-AcOEt (25:75); se observó un producto principal de color azul-morado. Cuando la CCF en sílice mostró que la perezona había reaccionado totalmente, se evaporó el metanol y el residuo se lavó con una solución de HCl al 2%, se realizó una extracción con CH₂Cl₂, se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró. La mezcla de reacción para cada amina se purificó por cromatografía en columna utilizando 70 g de sílice y se eluyó con una mezcla de hexano-AcOEt (90:10). Se obtuvieron 230 mg de (IVa), 242 mg de (IVb), 253 mg de (IVc), 285 mg de (IVd) y 316 mg de (IVe) con un 85% de rendimiento cada uno. El producto resultante IV es de color azul-morado con punto de fusión 112-114 (X=Cl), 127-129 (X=F), 108-110 (X=Br), 136-137 (X=I), 137-138 (X=H) °C.

IVa (X=H)	¹ H RMN (ppm)	8.03 (a ^D , 1H), 7.81 (a ^D , 1H), 7.35 (t, 1H), 7.18 (t, 1H), 7.02 (d, 1H), 5.10 (t, 1H), 2.05 (m, 1H), 2.13 (s, 3H), 1.98-1.76 (m, 4H), 1.66 (s, 3H), 1.56 (s, 3H), 1.52 (s, 3H), 1.20 (d, 3H)
	¹³ C RMN (ppm)	183.7, 181.7, 153.5, 143.0, 138.8, 131.4, 128.9, 125.4, 124.6, 123.8, 119.0, 106.8, 98.3, 34.2, 29.4, 26.7, 25.7, 18.4, 17.7, 12.1
	IR (cm ⁻¹)	3316, 2966, 2930, 1643, 1606, 1586, 1505, 1401, 1299, 1093
	EM (m/z, %Int)	339 (100) M ⁺ , 310 (5), 296 (10), 282 (12), 257 (65), 230 (20), 180 (8)

UV-VIS (nm, abs)		207 (1.41), 238 (0.63), 59 (0.81), 302 (0.37), 330 (0.52), 529 (0.13)
IVb (X=F)	¹ H RMN (ppm)	7.94 (a ^D , 1H), 7.56 (a ^D , 1H), 7.15 (m, 1H), 7.00 (m, 1), 5.10 (t, 1H), 3.06 (m, 1H), 1.96-1.76 (m, 4H), 1.66 (s, 3H), 1.56 (s, 3H), 1.55 (s, 3H), 1.22 (d, 3H)
	¹³ C RMN (ppm)	183.3, 182.0, 156.3, 153.2, 142.7, 131.4, 127.1, 126.7, 125.7, 124.5, 124.0, 119.3, 116.0, 107.8, 34.2, 29.4, 26.7, 25.7, 18.4, 17.7, 11.2,
	IR (cm ⁻¹)	3319, 2966, 2929, 1643, 1597, 1514, 1400, 1284, 1103
	EM (m/z, %Int)	357 (100) M ⁺ , 328 (5), 314 (10), 300 (12), 275 (70), 256 (18), 246 (13), 213 (8), 185 (11).
	UV-VIS (nm, abs)	
IVc (X=Cl)	¹ H RMN (ppm)	7.91 (a ^D , 1H), 7.67 (a ^D , 1H), 7.42 (dd, 1H), 7.26 (td, 1), 7.11 (td, 1), 6.93 (dd, 1H), 5.10 (t, 1H), 3.07 (m, 1H), 1.98-1.77 (m, 4H), 1.66 (s, 3H), 1.56 (s, 3H), 1.53 (s, 3H), 1.23 (d, 3H)
	¹³ C RMN (ppm)	183.4, 182.0, 153.2, 142.4, 136.1, 131.4, 129.9, 126.8, 126.4, 126.0, 124.7, 124.5, 119.5, 108.5, 34.2, 29.5, 26.7, 25.7, 18.4, 17.7, 112.0
	IR (cm ⁻¹)	3689, 3338, 2966, 2931, 1643, 1618, 1579, 1521, 1408, 1296, 1089
	EM (m/z, %Int)	277 (100) M ⁺ , 262 (5), 244 (5), 234 (10), 220 (12), 195 (60), 180 (35), 168(28), 109(13).
	UV-VIS (nm, abs)	
IVd (X=Br)	¹ H RMN (ppm)	7.91 (a ^D , 1H), 7.65 (a ^D , 1H), 7.61 (dd, 1H), 7.32 (td, 1H), 7.06 (td, 1H), 6.94 (dd, 1H), 5.10 (t, 1H), 3.06 (m, 1H), 1.95-1.76 (m, 4H), 1.66 (s, 3H), 1.56 (s, 3H), 1.55 (s, 3H), 1.22 (d, 3H)
	¹³ C RMN (ppm)	183.3, 182.0, 153.2, 142.3, 137.4, 133.0, 131.4, 127.4, 126.3, 124.9, 124.5, 119.4, 118.6, 108.4, 34.2, 29.4, 26.7, 25.7, 18.3, 17.7, 12.0,
	IR (cm ⁻¹)	3299, 2961, 2923, 1643, 1604, 1503, 1521, 1396, 1288, 1091
	EM (m/z, %Int)	419 (100) M ⁺ , 376 (10), 362 (913), 336 (31), 308 (914), 279 (9), 256 (77), 228 (20), 185 (15), 167 (18), 149 (36), 129 (31)
	UV-VIS (nm, abs)	
IVe (X=I)	¹ H RMN (ppm)	7.94 (a ^D , 1H), 7.85 (dd, 1H), 7.58 (a ^D , 1H), 7.34 (td, 1), 6.92 (td, 1H), 5.10 (t, 1H), 3.07 (m, 1H), 1.95-1.80 (m, 4H), 1.66 (s, 3H), 1.57 (s, 3H), 1.47 (s, 3H), 1.23 (d, 3H)

^{13}C RMN (ppm)	183.3, 182.0, 153.3, 142.5, 140.4, 139.2, 131.4, 128.4, 127.0, 124.8, 124.5, 119.3, 107.9, 95.4, 34.2, 29.9, 26.7, 25.7, 18.4, 17.7, 12.0
IR (cm^{-1})	3293, 2959, 2920, 1642, 1601, 1493, 1285, 1091
EM (m/z, %Int)	465 (100) M^+ , 408 (5), 382 (12), 356 (5), 338 (5), 283 (10), 256 (43), 228 (12), 109 (16).
UV-VIS (nm, abs)	207 (1.47), 248 (52), 259 (90.53), 299 (0.34), 319 (0.53), 299 (0.34), 319 (0.38)

OBTENCIÓN DE V.



Se agitó a temperatura ambiente 185 mg (1.0 mmol) de $\text{Zn}(\text{AcO})_2$ en 10 ml de metanol hasta la disolución completa; se agregaron 250 mg (1.0 mmol) de perezona y se agitó por 15 minutos. Se disolvieron 0.15 ml (1.2 mmol) de (R)-metilbencilamina en 3 ml de metanol y se adicionó por goteo al matraz de reacción. La evolución de la reacción se siguió por CCF en sílice, eluyendo con una mezcla de hexano-AcOEt (80:20); se observó un producto principal de color azul-morado. Cuando la CCF en sílice mostró que la perezona reaccionó totalmente, se evaporó el metanol y el residuo se lavó con una solución de HCl al 2%, se realizó una extracción con CH_2Cl_2 , se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando 75 g de sílice y se eluyó con una mezcla de hexano-AcOEt (95:5). Se obtuvieron 294 mg de V con un 80% de rendimiento. El producto resultante V es de color azul-morado con punto de fusión de 71-73 $^\circ\text{C}$.

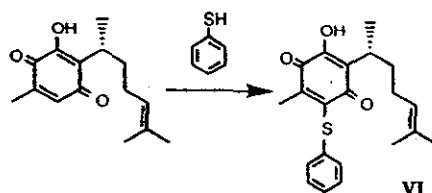
V	^1H RMN (ppm)	8.19 (a^{D} , 1H), 7.39-7.20 (m, 5H), 6.71 (a^{D} , 1H), 5.16 (m, 1H), 5.10 (m, 1H), 3.01 (m, 1H), 1.93 (s, 3H), 1.88-1.75 (m, 4H), 1.67 (s, 3H), 1.59 (d, 3H), 1.56 (s, 3H), 1.20 (d, 3H)
	^{13}C RMN (ppm)	183.2, 180.4, 154.1, 145.3, 144.1, 131.3, 129.1, 127.6, 125.2, 124.6, 118.1, 102.2, 53.6, 34.1, 29.4, 26.6, 25.7, 25.2, 18.3, 17.6, 9.7
	IR (cm^{-1})	3411, 3311, 2968, 2931, 1643, 1575, 1521, 1406, 1377, 1286, 1089

EM (m/z, %Int) 367 (55) M⁺, 352 (5), 262 (85), 244 (5), 220 (10), 207 (8), 180 (68), 154 (11), 105 (100)

UV-VIS (nm, abs) 318 (0.71), 264 (0.29), 209 (1.44)

3.3 DERIVADOS CON MERCAPTANOS.

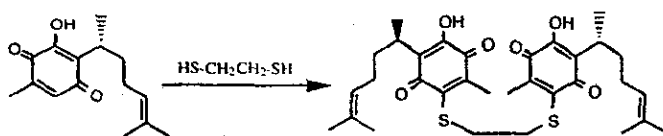
OBTENCIÓN DE VI.



Se agitó a temperatura ambiente 146 mg (0.4 mmol) de $Zn(AcO)_2$ en 10 ml de metanol hasta la disolución completa, se agregaron 200 mg (0.8 mmol) de perezona y se agitó por 15 minutos. Se adicionó por goteo 0.1 ml de tiofenol disueltos en 5 ml de metanol. La evolución de la reacción se siguió por CCF en sílice eluyendo con una mezcla de hexano-AcOEt (85:15), por medio de luz UV se observó un producto incoloro, que posteriormente por oxidación con aire tomó una coloración amarillo-oscuro. Cuando la CCF en sílice mostró que la perezona reaccionó totalmente, se evaporó el metanol, el residuo se disolvió en acetato de etilo y se lavó con agua varias veces, al final la fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando 50 g de sílice y se eluyó con una mezcla de hexano-AcOEt (99:1). Se obtuvieron 228 mg de VI con un 80% de rendimiento. El producto resultante VI es de color rojo-amarillo de consistencia aceitosa.

VI	¹ H RMN (ppm)	7.22-7.35 (m, 5H), 7.13 (a ^D , 1H), 5.02 (t, 1H), 3.01 (m, 1H), 2.98 (s, 3H), 1.89-1.74 (m, 4H), 1.63 (s, 3H), 1.52 (s, 3H), 1.15 (d, 3H)
	¹³ C RMN (ppm)	182.5, 182.1, 150.9, 147.0, 140.4, 134.0, 131.4, 130.8, 129.2, 127.5, 125.6, 124.4, 34.1, 30.1, 26.6, 25.6, 18.2, 17.6, 14.1
	IR (cm ⁻¹)	3376, 3059, 2964, 2928, 1764, 1641, 1579, 1390, 1296, 1262
	EM (m/z, %Int)	356 (65) M ⁺ , 341 (5), 314 (10), 299 (10), 274 (100)
	UV-VIS (nm, abs)	206 (1.03), 315 (0.87), 348 (1.45), 358 (0.12)

OBTENCIÓN DE VII.



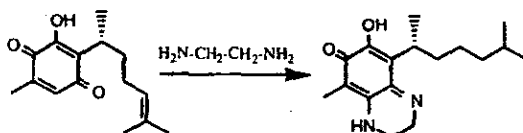
VII

Se agitó a temperatura ambiente 148 mg (0.8 mmol) de $Zn(AcO)_2$ en 10 ml de metanol hasta la disolución completa, se agregaron 200 mg (0.8 mmol) de perezona y se agitó por 15 minutos. Se adicionó por goteo 0.07 ml de 1,2-etanoditiol disueltos en 2 ml de metanol. La evolución de la reacción se siguió por CCF en sílice eluyendo con una mezcla de hexano-AcOEt (90:10), se observó un producto de color rojo. Cuando la CCF en sílice mostró que la perezona reaccionó totalmente, se evaporó el metanol, el residuo se disolvió en acetato de etilo y se lavó con agua varias veces, al final la fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando 60 g de sílice y se eluyó con una mezcla de hexano-AcOEt (93:7). Se obtuvieron 375 mg de VII con un 80% de rendimiento. El producto resultante VII es de color rojo-amarillo con punto de fusión 88-90 °C.

VII	1H RMN (ppm)	7.11 (s ^D , 1H), 5.06 (t, 1H), 3.38 (m, 2H), 3.05 (m, 1H), 2.18 (s, 3H), 1.96-1.72 (m, 4H), 1.64 (s, 6H), 1.53 (s, 6H), 1.19 (d, 6H)
	^{13}C RMN (ppm)	183.0, 180.7, 150.8, 146.9, 138.9, 131.5, 125.5, 124.4, 35.3, 34.1, 30.1, 26.7, 25.7, 18.2, 17.6, 13.7
	IR (cm ⁻¹)	3365, 2963, 2924, 1625, 1374, 1266
	EM (m/z, %Int)	586 (100) M ⁺ , 308 (25), 279 (34), 225 (33), 198 (39), 109 (23)
	UV-VIS (nm, abs)	219 (2.5), 252.5 (1.05), 271 (1.62), 350 (1.81)

3.4 DERIVADOS CON AMINAS BIFUNCIONALES.

OBTENCIÓN DE VIII.



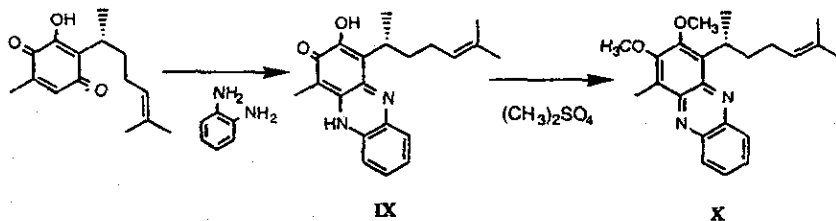
VIII

Se agitó a temperatura ambiente 297 mg (3.6 mmol) de acetato de sodio en 20 ml de solución agua-metanol (50:50) hasta la disolución completa. Se agregó 0.1 ml (2.4 mmol) de

etilendiamina y se agitó 25 minutos. Se disolvieron 300 mg (1.2 mmol) de perezona en 15 ml de metanol y se adicionó por goteo al matraz de reacción. La evolución de la reacción se siguió por CCF en sílice, eluyendo con una mezcla de hexano-AcOEt (50:50); se observó un producto principal muy polar de color negro. Cuando la CCF mostró el consumo de perezona, se evaporó el metanol y el residuo se lavó con una solución de HCl al 2%, se realizó una extracción con CH_2Cl_2 , se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando 80 g de sílice y se eluyó con una mezcla de CH_2Cl_2 - CH_3OH (90:10). Se obtuvieron 207 mg de VIII con un 60% de rendimiento. El producto resultante VIII tiene consistencia aceitosa.

VIII	$^1\text{H RMN}$ (ppm)	5.09 (t, 1H), 3.25-3.9 (a, 4H), 3.0 (a, 1H), 1.84 (s, 3H), 1.89 (a, 4H), 1.65 (s, 3H), 1.54 (s, 3H), 1.20 (d, 3H)
	$^{13}\text{C RMN}$ (ppm)	125.0, 34.2, 29.3, 26.7, 25.7, 18.4, 17.6
	IR (cm^{-1})	3287, 2964, 2977, 1549, 1417, 1346, 1249
	EM (m/z, %Int)	288 (100) M^+ , 278 (16), 273 (910), 245 (24), 231 (918), 217 (24), 206 (96), 179 (20),
	UV-VIS (nm, abs)	226 (0.65), 273 (0.20), 357 (0.55)

OBTENCIÓN DE IX Y X.



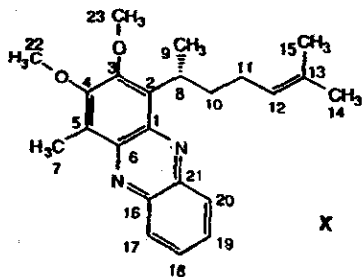
Se agitó a temperatura ambiente 295 mg (1.6 mmol) de $\text{Zn}(\text{AcO})_2$ en 15 ml de metanol hasta la disolución completa, se agregaron 400 mg (1.6 mmol) de perezona y se agitó por 20 minutos. Se disolvieron 180 mg (1.7 mmol) de *o*-fenilendiamina en 15 ml de metanol y se adicionó por goteo al matraz de reacción. La evolución de la reacción se siguió por CCF en sílice, eluyendo con una mezcla de CH_2Cl_2 - CH_3OH (95:5); se observó un producto principal de color rojo. Cuando la CCF en sílice mostró que la perezona reaccionó totalmente, se evaporó el metanol y el residuo se lavó con una solución de HCl al 2%, se realizó una extracción con CH_2Cl_2 , se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró. La mezcla de reacción se recrystalizó en una mezcla de acetona-hexano (25:75). Se obtuvieron 457 mg de IX con un 85% de rendimiento. El producto resultante IX es de color rojo con punto de fusión 225-227 °C.

IX	^1H RMN (ppm)	No se tiene buena resolución, las señales son indefinidas.
	^{13}C RMN (ppm)	130.0, 128.7, 128.7, 128.7, 124.9, 40.3, 40.0, 39.8, 39.5, 39.2, 38.9, 38.6, 34.3, 29.1, 26.3, 25.4, 19.0, 17.1
	IR (cm^{-1})	3734, 3246, 3155, 3080, 2923, 2856, 1618, 1544, 1508, 1460, 1394, 1242
	EM (m/z, %Int)	336 (33) M^+ , 267 (21), 254 (100), 239 (21), 227 (05)
	UV-VIS (nm, abs)	257 (1.81), 272 (1.59), 284 (1.90), 318 (0.09), 396 (0.98), 449 (0.22), 510 (0.33)

OBTENCIÓN DE X.

Se agitó a temperatura ambiente 100 mg (0.3 mmol) de IX en 15 ml de acetona hasta la disolución completa, se agregaron 250 mg (1.8 mmol) de K_2CO_3 y se agitó por 20 minutos. Se calentó a reflujo y se agregó 0.1 ml de $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$. La evolución de la reacción se siguió por CCF en sílice, eluyendo con una mezcla de hexano-AcOEt (80:20); la solución anteriormente de color rojo se torna amarilla. Cuando la CCF en sílice mostró la desaparición de IX, se evaporó la acetona y el residuo se lavó con una solución de NH_4OH al 2%, se realizó una extracción con CH_2Cl_2 , se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando 75 g de sílice y se eluyó con una mezcla de acetona-hexano (95:5). Se obtuvieron 98 mg de X con un 90% de rendimiento. El producto resultante X es de color amarillo de consistencia aceitosa.

X	^1H RMN (ppm)	8.20 (m, 2H), 7.74 (m, 2H), 5.12 (t, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.97 (s, 3H), 2.79 (s, 3H), 2.23, 1.99 (m, 2H), 1.97, 1.84 (m, 2H), 1.59 (s, 3H), 1.57 (s, 3H), 1.39 (s, 3H)
	^{13}C RMN (ppm)	154.3, 142.0, 141.9, 141.4, 133.3, 130.9, 129.8, 129.4, 129.2, 129.0, 125.9, 125.1, 61.1, 60.6, 36.2, 31.1, 27.1, 25.6, 20.5, 17.5, 10.1
	IR (cm^{-1})	2961, 2930, 2856; 1728, 1450, 1402, 1309
	EM (m/z, %Int)	364 (55) M^+ , 349 (10), 333 (65), 307 (5), 295 (74), 282 (100), 267 (89), 253 (30), 237 (20), 223 (10)
	UV-VIS (nm, abs)	210 (0.85), 236 (0.51), 261 (0.36), 369 (0.43)



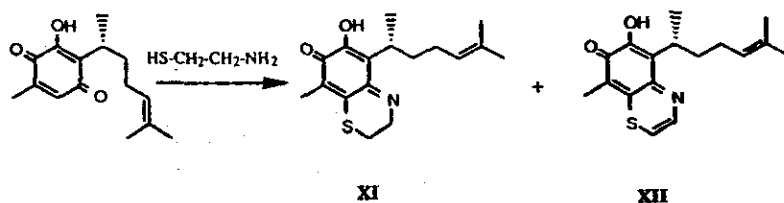
X

Tabla 2. Asignación mediante conectividades directas e indirectas para X

13C	δ (ppm)	HMQC	(δ , multip.)	HMBC	COSY
1	142.0 (s)				
2	133.3 (s)			H (1.57)	
3	154.3 (s)			H (4.00)	
4	154.3 (s)			H (2.79)	
5	125.9 (s)			H (2.79)	
6	141.9 (s)			H (2.79)	
7	10.1 (q)	2.79 (s)			
8	31.1 (d)				
9	20.5 (q)	1.57 (d)			
10	36.2 (t)	2.23 (m)	1.99 (m)	H (1.57), H (1.99)	H (1.84)
11	27.1 (t)	1.97 (m)	1.84 (m)	H (1.59), H (1.39)	H (1.99)
12	125.1 (d)	5.12 (t)		H (1.59), H (1.39)	H (1.99), H (1.84)
13	130.8 (s)			H (1.59), H (1.39)	
14	25.6 (q)	1.59 (s)		H (1.39), H (5.12)	
15	17.5 (q)	1.39 (s)		H (1.59), H (5.12)	
16	141.4 (s)			H (8.20), H (7.74)	
17	129.8 (d)	8.20 (m)		H (7.74)	H (7.74)
18	129.2 (d)	7.74 (m)		H (8.20)	H (8.20)
19	129.0 (d)	7.74 (m)		H (8.20)	H (8.20)
20	129.4 (d)	8.20 (m)		H (7.74)	H (7.74)
21	141.4 (s)			H (8.20), H (7.74)	
22	61.1 (q)	3.97 (s)			
23	60.6 (q)	4.00 (s)			

4.6 DERIVADOS CON AMINOMERCAPTANOS.

OBTENCIÓN DE XI Y XII.

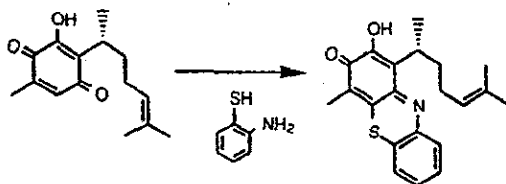


Se agitó a temperatura ambiente 150 mg (1.3 mmol) de 2-aminoetanotiol (como clorhidrato) en 15 ml de solución al 5% de bicarbonato de sodio en agua-metanol (50:50) hasta la disolución completa. Se disolvieron 300 mg (1.2 mmol) de perezona en 15 ml de metanol y se adicionó por goteo al matraz de reacción. La evolución de la reacción se siguió por CCF en sílice, eluyendo con una mezcla de hexano-AcOEt (75:25); se observó dos productos principales, el menos polar de color verde-amarillo XI y el más polar morado XII. Cuando la CCF en sílice mostró que la perezona reaccionó totalmente, se evaporó el metanol y el residuo se lavó con una solución de HCl al 2%, se realizó una extracción con CH_2Cl_2 , se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando 80 g de sílice y se eluyó una banda verde-amarilla con una mezcla de hexano-AcOEt (75:25), y la morada con una mezcla (50:50). Se obtuvieron 108 mg de XI y 183 mg de XII con un 30% y 50% de rendimiento respectivamente. El producto resultante XI tiene consistencia sólida (se descompone rápidamente para formar XII) y el producto XII de aceitosa.

XI	$^1\text{H RMN}$ (ppm)	6.93 (a ^D , 1H), 5.08 (a, 1H), 4.23 (m, 2H), 3.36 (m, 1H), 2.79 (t, 2H), 1.97 (s, 3H), 1.63 (s, 3H), 1.52 (s, 3H), 1.20 (d, 3H)
	IR (cm ⁻¹)	3363, 2850, 1645, 1614, 1409, 1280, 1036
	EM (m/z, %Int)	305 (100) M ⁺ , 290 (10), 262 (19), 248 (27), 223 (98), 208 (37), 195 (15), 190 (10)
	UV-VIS (nm, abs)	207 (0.81), 290 (0.23), 327 (0.43)
XII	$^1\text{H RMN}$ (ppm)	8.28 (d, 1H), 8.12 (a ^D , 1H), 7.32 (d, 1H), 5.08 (t, 1H), 3.96 (m, 12H), 2.24 (s, 3H), 2.07 (m, 1H), 1.88 (m, 2H), 1.72 (m, 1H), 1.61 (s, 3H), 1.44 (s, 3H), 1.35 (d, 3H)
	IR (cm ⁻¹)	3315, 2964, 2927, 2869, 1577, 1514, 1425, 1390, 1325, 1296.
	EM (m/z, %Int)	303 (100) M ⁺ , 288 (07), 246 (15), 233 (14), 221 (83), 202 (91), 188 (12)

UV-VIS (nm, abs) 207 (1.30), 224 (0.95), 242 (1.37), 300 (0.36), 318 (0.55), 345 (0.12), 428 (0.59)

OBTENCIÓN DE XIII.



XIII

Se agitó a temperatura ambiente 297 mg (3.6 mmol) de acetato de sodio en 15 ml de solución agua-metanol (50:50) hasta la disolución completa. Se agregó 0.26 ml (2.4 mmol) de 2-aminotiofenol y se agitó 25 minutos. Se disolvieron 300 mg (1.2 mmol) de perezona en 15 ml de metanol y se adicionó por goteo al matraz de reacción. La evolución de la reacción se siguió por CCF en sílice, eluyendo con una mezcla de hexano-AcOEt (95:5); se observó una mezcla de 2 productos principales poco polares de color rojo, uno de ellos correspondió a perezona. Después de 24 horas de agitación la CCF en sílice mostró que la perezona no reaccionó totalmente, se adicionó 0.5 ml de solución de metilamina al 40% y se agitó 24 horas más. La CCF mostró la formación de dos productos y el consumo de perezona. Se evaporó el metanol y el residuo se lavó con una solución de HCl al 2%, se realizó una extracción con CH_2Cl_2 , se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando 80 g de sílice y se eluyó una banda roja con una mezcla de hexano-AcOEt (95:5), y la morada con una mezcla (80:20) la última correspondió idéntica a **III**. Se obtuvieron 296 mg de **XIII** con un 70% de rendimiento. El producto resultante **XIII** tiene punto de fusión 184-185 °C.

XIII	$^1\text{H RMN}$ (ppm)	7.99 (dd, 1H), 7.72 (a ^D , 1H), 7.60 (m, 1H), 7.53 (m, 1H), 7.46 (m, 1H), 5.12 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 2.22 (s, 3H), 2.13 (m, 1H), 1.94 (m, 2H), 1.78 (m, 1H), 1.61 (s, 3H), 1.45 (s, 3H), 1.41 (d, 3H)
	$^{13}\text{C RMN}$ (ppm)	175.6, 150.5, 145.5, 138.9, 133.4, 131.8, 131.0, 129.1, 127.7, 126.2, 125.1, 124.8, 123.0, 122.5, 34.7, 30.4, 26.8, 25.7, 18.8, 17.5, 12.1
	IR (cm^{-1})	3356, 2964, 2929, 1595, 1583, 1442, 1415, 1323, 1307, 1099
	EM (m/z, %Int)	353 (100) M ⁺ , 338 (5), 310 (5), 296 (8), 271 (63), 256 (10), 244 (10), 224 (10)
	UV-VIS (nm, abs)	206 (0.77), 223 (0.55), 258 (0.88), 415 (0.56)

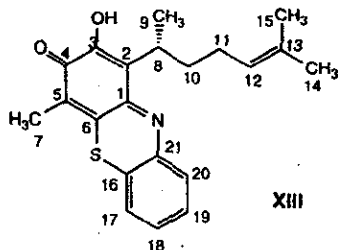
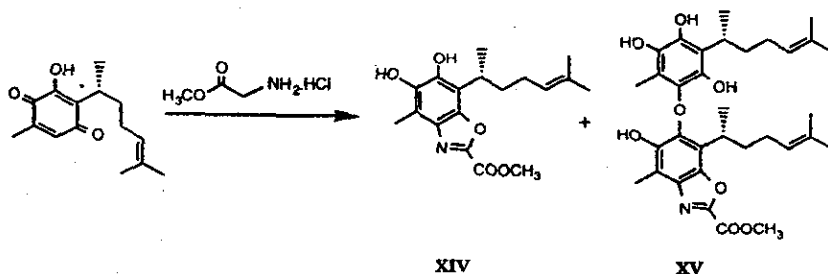


Tabla 3. Asignación mediante conectividades directas e indirectas para XIII

13C	δ (ppm)	HMQC (δ , multip.)	HMBC	COSY
1	145.5 (s)			
2	126.2 (s)		H (1.41), H (7.72)	
3	150.5 (s)		H(7.72),	
4	175.6 (s)		H (2.22), H (7.72)	
5	122.5 (s)		H (2.22)	
6	131.8 (s)		H (2.22)	
7	12.1 (q)	2.22 (s)		
8	30.4 (d)	4.03 (m)	H 1.41),	H (1.41),
9	18.8 (q)	1.41 (d)		
10	34.7 (t)	2.13 (m)	1.78 (m)	H (1.41),
11	26.8 (t)	1.94 (m)		geminal, H (1.94)
12	125.1 (d)	5.12 (t)		H (1.78)
13	131.0 (s)			H (1.61), H (1.65)
14	25.7 (q)	1.61 (s)		H (1.45), H (1.61)
15	17.5 (q)	1.45 (s)		H (1.45), H (5.12)
16	123.0 (s)			H (1.61), H (5.12)
17	124.8 (d)	7.60 (d)		H (7.46), H (7.99)
18	129.1 (d)	7.46 (t)		H (7.46)
19	127.7 (d)	7.53 (t)		H (7.53), H (7.99)
20	133.4 (d)	7.99 (d)		H (7.46), H (7.53)
21	138.9 (s)			H (7.60), H (7.53)
OH		7.72 (a ^D)		

4.7 DERIVADOS CON AMINOÁCIDOS.

OBTENCIÓN DE XIV Y XV



Se agitó a temperatura ambiente 369 mg (2 mmol) de $(\text{AcO})_2\text{Zn}$ en 15 ml de metanol hasta la disolución completa, se agregaron 253 mg (2 mmol) de éster metílico de glicina (como clorhidrato) y se agitó por 15 minutos. Se disolvieron 500 mg (2 mmol) de perezona en 15 ml de metanol y se adicionó por goteo al matraz de reacción. La evolución de la reacción se siguió por CCF en sílice, eluyendo con una mezcla de hexano-AcOEt (50:50); el revelado con yodo muestra dos productos principales. Cuando la CCF en sílice mostró que la perezona reaccionó totalmente, se evaporó el metanol y el residuo se lavó con una solución de HCl al 2%, se realizó una extracción con CH_2Cl_2 , se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando 100 g de sílice y se eluyó con una mezcla de hexano-AcOEt (70:30). Se obtuvieron 266 mg de XIV y 348 mg de XV con un 40 y 30% de rendimiento respectivamente. Los productos resultantes XIV y XV son de color café claro con punto de fusión 118-120 y 72-74 °C respectivamente.

XIV	$^1\text{H RMN}$ (ppm)	6.15 (a ^D , 1H), 5.85 (a ^D , 1H), 5.10 (t, 1H), 4.01 (s, 3H), 3.34 (m, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.00, 1.79 (m, 2H), 1.89 (m, 2H), 1.65 (s, 3H), 1.44 (s, 3H), 1.38 (d, 2H)
	$^{13}\text{C RMN}$ (ppm)	157.0, 151.0, 144.8, 144.0, 140.9, 133.3, 132.2, 124.5, 114.2, 113.6, 53.3, 35.3, 30.5, 26.3, 25.6, 19.6, 17.5, 10.1
	IR (cm^{-1})	3599, 3339, 2968, 2931, 1741, 1641, 1541, 1438, 1273
	EM (m/z, %Int)	333 (45) M ⁺ , 263 (25), 250 (100)
	UV-VIS (nm, abs)	209 (2.56), 238 (0.35), 252 (0.45), 266 (0.27), 329 (1.81)
XV	$^1\text{H RMN}$ (ppm)	6.58 (a ^D , 1H), 5.62 (a ^D , 2H), 5.09 (t, 1H), 5.06 (t, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.24 (m, 1H), 2.95 (m, 1H), 2.48 (s, 3H), 1.95 (s, 3H), 1.91-1.81 (m, 6H), 1.68 (m, 2H), 1.64 (s, 6H), 1.52 (s, 3H), 1.43 (s, 3H), 1.35 (d, 3H), 1.26 (d, 3H)

^{13}C RMN (ppm)	158.7, 154.6, 147.6, 143.4, 142.5, 140.6, 140.1, 139.8, 133, 4, 132, 3, 131.5, 125.1, 124, 6, 124, 6, 124.1, 114.2, 112, 9, 111.9, 55.6, 35.6, 34, 6, 31.2, 30.4, 29.7, 26.6, 26.3, 25.7, 19.7, 18.2, 17.6, 13.3, 10.1
IR (cm^{-1})	3602, 3541, 3427, 2966, 2929, 1762, 1620, 1448, 1377, 1270
EM (m/z, %Int)	581 (67) M^+ , 531 (15), 523 (20), 505 (54), 499 (100), 462 (35), 440 (29), 368 (11), 356 (15), 256 (11), 242 (15)
UV-VIS (nm, abs)	209 (1.95), 259 (0.48), 306 (0.83)

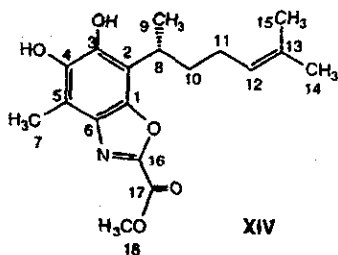
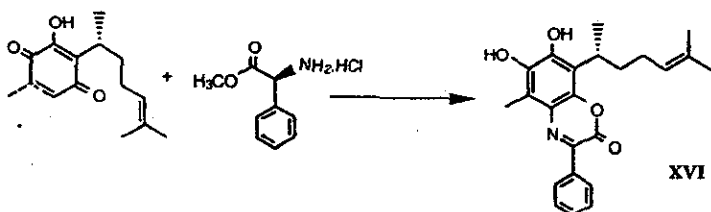


Tabla 4. Asignación mediante conectividades directas e indirectas para XIV

^{13}C	δ (ppm)	HMQC (δ , multip.)	HMBC	COSY	
1	144.0 (s)				
2	114.2 (s)		H (2.49), H (1.79)		
3	144.8 (s)		H (3.34)		
4	140.9 (s)		H (2.49)		
5	113.6 (s)		H (2.49)		
6	133.3 (s)		H (2.49)		
7	10.1 (q)	2.49 (s)			
8	30.5 (d)	3.34 (m)	H (1.42)	H (1.42), H (1.79)	
9	19.6 (s)	1.42 (d)	H (3.34)	H (3.34)	
10	35.3 (t)	2.00 (m)	1.79 (m)	H (1.42)	Geminal
11	26.3 (t)	1.89 (m)	H (1.79)		
12	124.5 (d)	5.10 (t)	H (1.65), H (1.44)	H (1.89)	
13	132.2 (s)		H (1.65), H (1.44)		
14	25.6 (q)	1.65 (s)	H (1.44)		
15	17.5 (q)	1.44 (s)	H (4.01)		
16	151.0 (s)				
17	157.0 (s)		H (4.01)		
18	53.3 (q)	4.01 (s)			
OH		6.15 (a ^D)			

OBTENCIÓN DE XVI.



Se agitó a temperatura ambiente 369 mg (2 mmol) de $(\text{AcO})_2\text{Zn}$ en 15 ml de metanol hasta la disolución completa, se agregaron 406 mg (2 mmol) de éster metílico de S-(L)-fenilglicina (como clorhidrato) y se agitó por 20 minutos. Se disolvieron 500 mg (2 mmol) de perezona en 15 ml de metanol y se adiciónó por goteo al matraz de reacción. La evolución de la reacción se siguió por CCF en sílice, eluyendo con una mezcla de hexano-AcOEt (75:25); se observó un producto principal de color azul-morado, posteriormente desapareció formandose otro de color amarillo. Cuando la CCF en sílice mostró que la perezona reaccionó totalmente, se evaporó el metanol y el residuo se lavó con una solución de HCl al 2%, se realizó una extracción con CH_2Cl_2 , se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando 100 g de sílice y se eluyó con una mezcla de hexano-AcOEt (85:15). Se obtuvieron 568 mg de XVI con un 75% de rendimiento. El producto resultante XVI es de color amarillo con punto de fusión 142-143 °C.

XVI	$^1\text{H RMN}$ (ppm)	8.38 (m, 2H), 7.48 (m, 3H), 6.13 (a ^D , 1H), 5.45(a ^D , 1H), 5.20 (t, 1H), 3.48 (m, 1H), 2.58 (s, 3H), 2.05, 1.78 (m, 2H), 1.91 (m, 2H), 1.65 (s, 3H), 1.46 (s, 3H), 1.41 (d, 3H)
	$^{13}\text{C RMN}$ (ppm)	153.0, 146.4, 144.9, 141.5, 139.2, 135.0, 132.0, 130.5, 129.0, 128.3, 124.6, 124.5, 119.9, 116.7, 34.7, 29.5, 26.6, 25.7, 19.1, 17.6, 9.7
	IR (cm^{-1})	3691, 3600, 3529, 2968, 2929, 1730, 1622, 1446, 1276
	EM (m/z, %Int)	379 (94) M ⁺ , 351 (25), 296 (16), 268 (100), 241 (10), 236 (8)
	UV-VIS (nm, abs)	207 (1.45), 305 (0.1), 401 (0.67)

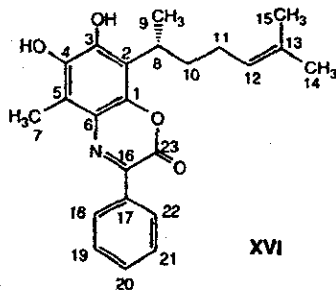
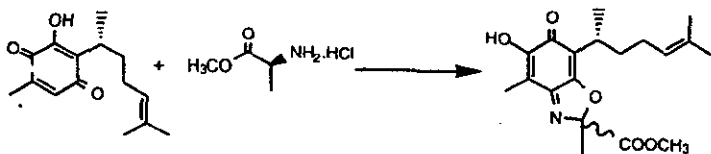


Tabla 5. Asignación mediante conectividades directas e indirectas para XVI

¹³ C	δ (ppm)	HMQC (δ, multíp.)		HMBC	COSY
1	141.5 (s)			H (3.48)	
2	116.7 (s)			H (1.41), H (6.13), H (3.48)	
3	146.4 (s)			H (6.13), H (5.45), H (3.48)	
4	139.2 (s)			H (2.58), H (5.45), H (6.13)	
5	119.9 (s)			H (2.58), H (5.45)	
6	124.6 (s)			H (2.58)	
7	9.7 (q)	2.58 (s)			
8	29.5 (d)	3.48 (m)		H (1.91), H (2.05)	H (2.05), H (1.78), H (1.41)
9	19.1 (q)	1.41 (d)		H (3.48)	H (3.48)
10	34.7 (t)	2.05 (m)	1.78 (m)	H (1.910)	geminal, H (1.91)
11	26.6 (t)	1.91 (m)		H (2.050)	H (5.20)
12	124.6 (d)	5.20 (t)		H (1.91), H (1.65), H (1.46)	H (1.91)
13	132.0 (s)			H (1.91), H (1.65), H (1.46)	
14	25.7 (q)	1.65 (s)		H (5.20)	
15	17.6 (q)	1.46 (s)		H (5.20)	
16	144.9 (s)			H (8.35)	
17	135.0 (s)			H (7.48), H (8.38)	
18	129.0 (d)	8.38 (m)		H (7.48), H (8.38)	H (7.48)
19	128.3 (d)	7.48 (m)		H (7.48), H (8.38)	H (8.38)
20	130.5 (d)	7.48 (m)		H (8.38)	H (8.38)
21	128.3 (d)	7.48 (m)		H (7.48), H (8.38)	H (8.38)
22	129.0 (d)	8.38 (m)		H (7.48), H (8.38)	H (7.48)
23	153.0 (s)				
OH		5.45 (a ^D)			
OH		6.13 (a ^D)			

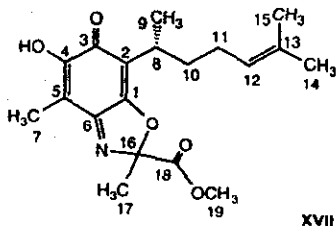
OBTENCIÓN DE XVII



XVII

Se agitó a temperatura ambiente 366 mg (2 mmol) de $(\text{AcO})_2\text{Cu}$ en 15 ml de metanol hasta la disolución completa, se agregaron 281 mg (2 mmol) del éster metílico de S-(L)-alanina (como clorhidrato) y se agitó por 20 minutos. Se disolvieron 500 mg (2 mmol) de perezona en 15 ml de metanol y se adicionó por goteo al matraz de reacción. La evolución de la reacción se siguió por CCF en sílice, eluyendo con una mezcla de hexano-AcOEt (80:20). Cuando la CCF en sílice mostró que la perezona reaccionó totalmente, se evaporó el metanol y el residuo se lavó con una solución de HCl al 2%, se realizó una extracción con CH_2Cl_2 , se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando 100 g de sílice y se eluyó con Hexano-AcOEt (95:5). Se obtuvieron 555 mg de XVII con un 80% de rendimiento. El producto resultante XVII es de color amarillo de consistencia aceitosa.

XVII	$^1\text{H RMN}$ (ppm)	7.67 (a ^D , 1H), 5.06 (t, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.00 (m, 1H), 2.15 (s, 3H), 1.91 (m, 2H), 1.89 (s, 3H), 1.77 (m, 1H), 1.64 (s, 3H), 1.55 (m, 1H), 1.53 (s, 3H), 1.19 (d, 3H)
	$^{13}\text{C RMN}$ (ppm)	181.6, 166.5, 160.9, 160.5, 150.8, 131.4, 124.2, 114.2, 113.1, 106.9, 53.5, 34.3, 29.2, 26.3, 25.6, 21.8, 18.6, 17.6, 8.8
	IR (cm^{-1})	3684, 3358, 2969, 2929, 1753, 1644, 1628, 1524, 1437
	EM (m/z, %Int)	347 (33) M ⁺ , 288 (100), 265 905), 246 (09), 206 (80).
	UV-VIS (nm, abs)	204 (0.61), 314 (0.72)

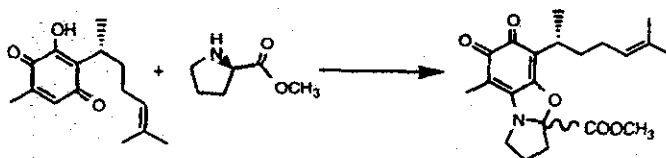


XVII

Tabla 6. Asignación mediante conectividades directas e indirectas para XVII

13C	δ (ppm)	HMQC (δ , multíp.)	HMBC	COSY
1	160.5 (s)		H (3.00)	
2	114.2 (s)		H (1.19), H (3.00)	
3	181.6 (s)		H (3.00), H (7.67)	
4	150.8 (s)		H (2.15), H (7.67)	
5	106.9 (s)		H (2.15), H (7.67)	
6	160.9 (s)		H (2.15)	
7	8.8 (q)	2.15 (s)		
8	29.2 (d)	3.00 (m)	H (1.19)	H (1.19), H (1.77), H (1.55)
9	18.6 (q)	1.19 (d)		H (3.00)
10	34.3 (t)	1.77 (m)	1.55 (m)	vicinal, H (1.91), H (3.00)
11	26.3 (t)	1.91 (m)		H (1.77), H (1.55), H (5.06)
12	124.2 (d)	5.06 (t)		H (1.91)
13	131.4 (s)		H (1.53), H (1.64)	
14	25.6 (q)	1.64 (s)		H (1.53), H (5.06)
15	17.6 (q)	1.53 (s)		H (1.64), H (5.06)
16	113.1 (s)		H (1.89)	
17	21.8 (q)	1.89 (s)		
18	166.5 (s)		H (3.77), H (1.89)	
19	53.5 (q)	3.77 (s)		
OH		7.67 (a ^D)		

OBTENCIÓN DE XVIII.



XVIII

Se agitó a temperatura ambiente 366 mg (2 mmol) de $(\text{AcO})_2\text{Cu}$ en 15 ml de metanol hasta la disolución completa, se agregaron 333 mg (2 mmol) del éster metílico de L-prolina (como clorhidrato) y se agitó por 20 minutos. Se disolvieron 500 mg (2 mmol) de perezona en 15 ml de metanol y se adicionó por goteo al matraz de reacción. La evolución de la reacción se siguió por CCF en sílice, eluyendo con una mezcla de hexano-AcOEt (50:50); en las primeras 5 horas de reacción se observaron tres productos principales de color azul-morado, posteriormente a las 24 horas se consumieron los dos menos polares aumentando la concentración del más polar de los tres. Cuando la CCF en sílice mostró que la perezona reaccionó totalmente, se evaporó el metanol y el residuo se lavó con una solución de HCl al 2%, se realizó una extracción con CH_2Cl_2 , se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró. La

mezcla de reacción se prepurificó por cromatografía en columna utilizando 100 g de sílice y se eluyó con una mezcla de hexano-AcOEt (70:30). Se realizó una segunda purificación eluyendo con una mezcla de metanol-diclorometano (2:98). Se obtuvieron 522 mg de XVIII con un 70% de rendimiento. El producto resultante XVIII es de color rojo oscuro de consistencia aceitosa y presenta descomposición.

XVIII	$^1\text{H RMN}$ (ppm)	5.07 (t, 1H), 3.80 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.55 (m, 1H), 2.98 (m, 1H), 2.85 (m, 1H), 2.38 (m, 1H), 2.31 (m, 1H), 2.05 (m, 1H), 1.97 (m, 3H), 1.93 (s, 3H), 1.90 (m, 2H), 1.78 (m, 1H), 1.50 (m, 1H), 1.64 (s, 3H), 1.54 (s, 3H), 1.16 (d, 3H), 1.11 (d, 3H)
	$^{13}\text{C RMN}$ (ppm)	178.3, 178.18, 167.7, 162.4, 150.1, 131.3, 124.5, 118.2, 109.4, 107.5, 53.4, 51.4, 34.3, 32.6, 29.7, 26.5, 26.0, 25.6, 18.6, 17.6, 9.6
	IR (cm^{-1})	2960, 2929, 1752, 1620, 1438, 1389
	EM (m/z , %Int)	373 (67) M^+ , 345 (10), 330 (5), 324 (9100), 302 (30), 286 (370), 262 (20), 232 (60), 204 (18)
	UV-VIS (nm, abs)	207 (1.86), 280 (0.25), 338 (1.36), 402 (0.1), 465 (0.19)

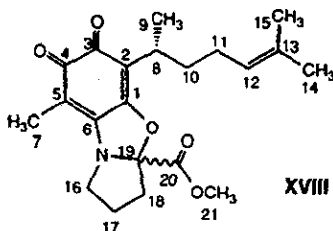
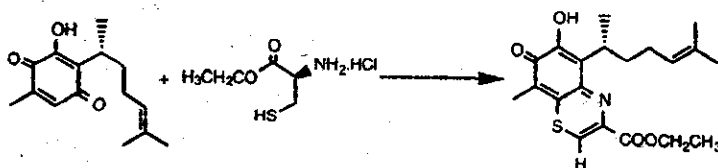


Tabla 7. Asignación mediante conectividades directas e indirectas para XVIII

^{13}C	δ (ppm)	HMQC (δ , multip.)	HMBC	COSY
1	162.4 (s)		H (2.98)	
2	118.2 (s)		H (2.96), H (1.16)	
3	178.2 (s)		H (2.98)	
4	178.3 (s)		H (1.97)	
5	109.4 (s)		H (1.97)	
6	150.1 (s)		H (1.97)	
7	9.6 (q)	1.97 (s)		
8	29.7 (d)	2.98 (m)	H (1.16), H (1.90)	H (1.50), H (1.78), H (1.16)
9	18.6 (q)	1.16 (d)	H (2.98)	H (2.98)
10	34.3 (t)	1.78 (m)	H (2.98), H (1.16)	H (2.98), H (1.90)

11	26.5 (t)	1.90 (m)		H (5.07)	H (5.07), H (1.78)
12	124.5 (d)	5.07 (t)		H (1.64), H (1.54)	H (1.90)
13	131.3 (s)			H (1.64), H (1.54)	
14	25.6 (q)	1.64 (s)		H (1.54), H (5.07)	
15	17.6 (q)	1.54 (s)		H (1.64), H (5.07)	
16	51.4 (t)	3.80 (m)	3.55 (m)	H (2.85), H (2.05)	geminal, H (2.38)
17	26.0 (t)	2.38 (m)	2.31 (m)	H (2.05), H (3.55)	H (2.05)
18	32.6 (t)	2.85 (m)	2.05 (m)	H (3.55)	geminal, H (2.38),
19	107.5 (s)			H (2.05)	
20	167.7 (s)			H (3.83)	
21	53.4 (q)	3.83 (s)			

OBTENCIÓN DE XIX.



XIX

Se agitó a temperatura ambiente 165 mg (2 mmol) de AcONa en 15 ml de metanol hasta la disolución completa, se agregaron 374 mg (2 mmol) del éster etílico de (L) cisteína (como clorhidrato) y se agitó por 20 minutos. Se disolvieron 500 mg (2 mmol) de perezona en 15 ml de metanol y se adicionó por goteo al matraz de reacción. La evolución de la reacción se siguió por CCF en sílice, eluyendo con una mezcla de hexano-AcOEt (80:20), se observó un producto de color rojo. Cuando la CCF en sílice mostró que la perezona reaccionó totalmente, se evaporó el metanol y el residuo se lavó con una solución de HCl al 2%, se realizó una extracción con CH_2Cl_2 , se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando 80 g de sílice y se eluyó con Hexano-AcOEt (90:10). Se obtuvieron 225 mg de XIX con un 30% de rendimiento. El producto resultante XIX es de color rojo de consistencia aceitosa y presenta descomposición.

XIX	$^1\text{H RMN}$ (ppm)	8.33 (s, 1H), 8.05 (a ^D , 1H), 5.10 (t, 1H), 4.44 (q, 2H), 3.95 (a, 1H), 2.26 (s, 3H),
		2.20 (m, 1H), 1.93 (m, 1H), 1.82 (m, 2H), 1.60 (s, 3H), 1.44 (t, 3H), 1.15 (d, 3H).
	IR (cm^{-1})	3435, 2963, 2926, 1713, 1559, 1443, 1277, 1214
	EM (m/z, %Int)	377 (100) M ⁺ , 349 (07), 293 (57), 265 (13), 220 (29), 202 (08)
	UV-VIS (nm, abs)	212 (2.5), 256 (1.08), 269 (1.4), 290 (0.44), 307 (0.58), 331 (0.37), 384 (0.59)

CAPITULO V.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la literatura existen muchos informes de derivados de quinonas⁶² con aminas y mercaptanos. Sin embargo, dentro de la revisión bibliográfica no se encontraron informes de aminoderivados de perezona. Los estudios encontrados están enfocados, primeramente, hacia su elucidación estructural; y otros, para conocer parte de su interesante reactividad química. Este trabajo pretende ampliar la química de la perezona, en el cual se encontró diferentes propiedades químicas de óxido-reducción, la presencia de diferentes formas resonantes del sistema quinónico que conduce a distinguir dos sistemas de reactividad específicos (figura 1): un sistema de carbonilo α , β -insaturado (trayectoria a) y un sistema β -dicetonico (trayectoria b).

Cada uno de estos sistemas se puso de manifiesto, de manera individual o conjunta, durante el estudio sistemático con aminas, mercaptanos y aminoácidos que se realizó en la presente tesis. La discusión de los resultados se realiza en base a la transformación estructural, principalmente, del anillo quinonoido; sobre la posible ruta mecanística hacia el producto final y en relación a los datos espectroscópicos que justificaron la estructura propuesta de los derivados obtenidos.

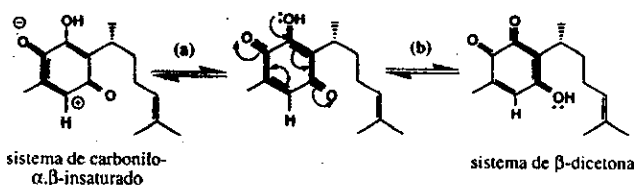


Figura 1

La reactividad de Perezona frente a diferentes aminas y mercaptanos monofuncionales (tanto aromáticos como alifáticos) se manifestó por medio del sistema de carbonilo α , β -insaturado. La formación de los aminoderivados de perezona se puede entender mediante el mecanismo propuesto de la figura 2.

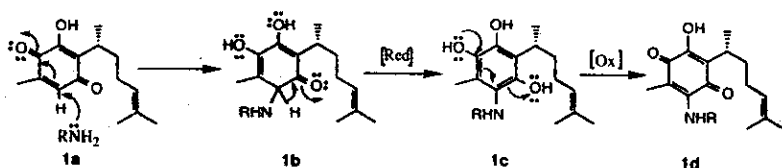


Figura 2

La posición β del sistema de carbonilos α , β -insaturado posee una deficiencia electrónica originada por la electroatracción del grupo carbonilo, lo que origina una adición

nucleofílica 1,4-tipo Michael (**1a**) de la amina o el mercaptano para formar la especie intermedia via (**1b**); ésta, mediante un proceso de reducción conduce a un sistema aromático (**1c**), termodinámicamente más estable que (**1B**), seguido por un proceso de óxido-reducción que regenera la quinona inicial (**1d**).

El proceso de oxidación puede realizarse mediante la exposición al aire ó la adición de un oxidante⁶³ o por la misma quinona. El uso de iones metálicos proporciona mejores resultados en la efectividad del proceso de oxidación incrementando el rendimiento de obtención de los productos. El uso de metanol y acetato de zinc o de cobre como medio de reacción son las mejores condiciones de reacción de acuerdo a la literatura y a lo encontrado experimentalmente en este trabajo. El uso de iones metálicos y el grupo orto-hidroxicetona ofrece la posibilidad de formación de complejos de perezona, lo cual aumenta la deficiencia electrónica en el átomo de carbono de la posición β en el sistema de carbonilo α , β -insaturado donde se realiza la adición nucleofílica.

El anillo quinónico muestra un lugar único y constante de reactividad hacia las aminas monofuncionales. Las aminas (por ejemplo, metilamina, anilina y bencilamina) como agentes nucleofílicos sobre perezona, generan productos de adición, por ejemplo (**III**, **IVa-IVd** y **V**); en todos los casos en el espectro de resonancia magnética nuclear de ¹H se observa la eliminación de la señal en 6.48 ppm, que corresponde al único átomo H del anillo quinoideo. Asimismo, el grupo metilo de esta anillo cambia su multiplicidad de una señal doble a una simple. Además, la espectroscopia infrarroja muestra bandas entre 1650 y 1640 cm⁻¹ que corresponden a sistemas de carbonilos α , β -insaturados, con lo cual se confirma la regeneración de la quinona en (figura 2.1d).

En el derivado (**III**) se observa una señal ancha en 6.45 ppm posiblemente de tipo NH, ésta desaparece con la adición de D₂O; y una señal doble en 3.23 ppm que corresponde al grupo metilo unido a la amina. La espectrometría de masas confirma la condensación entre la molécula de perezona y la amina. El espectro de masas del derivado (**III**) indica un producto de adición ($m/z=277$) con fórmula mínima C₁₆H₂₃O₃N. Los derivados de anilinas halogenadas (**IVa-IVd**), muestran en sus espectros de masas iones moleculares que corresponden a productos normales de adición (fórmula mínima C₂₁H₂₄O₃NX, X=H, Cl, Br, F, I), también se observa la composición isotópica debida a los átomos de halógeno.

Los derivados (**IVa-IVd**) presentan una característica semejante, i. e. el desplazamiento químico hacia campo alto (0.4 ppm) del grupo metilo orto a la amina en el anillo quinoideo. Este cambio de desplazamiento químico puede atribuirse al efecto de anisotropía diamagnética del anillo aromático de la anilina sobre el grupo metilo.

El derivado (**V**), obtenido a partir de (R)-bencilamina, corresponde a un producto de adición (M⁺, $m/z=367$) con fórmula mínima C₂₃H₂₉O₃N. En este caso no se observa el efecto

de anisotropía diamagnética del anillo aromático sobre el grupo metilo, lo que hace suponer que el anillo aromático está alejado del núcleo quinoideo debido a la estereoquímica del átomo de carbono asimétrico de la amina, no fué posible preparar un cristal adecuado de este producto para estudios de rayos X. Esta posibilidad fué explorada en este tipo de productos dado el interés por evaluar el efecto anisotrópico sobre dicho metilo.

Un caso particular de los derivados de aminas con perezona, es el que se obtiene a partir de hidroxilamina. El derivado (I) no corresponde a un producto de adición normal, la espectrometría de masas indica una fórmula mínima $C_{15}H_{21}O_3N$ (M^+ , $m/z=263$), obteniéndose un producto que posee un grupo amino libre con pérdida del grupo OH, la formación del derivado (I) se puede entender mediante el mecanismo propuesto en la figura 3.

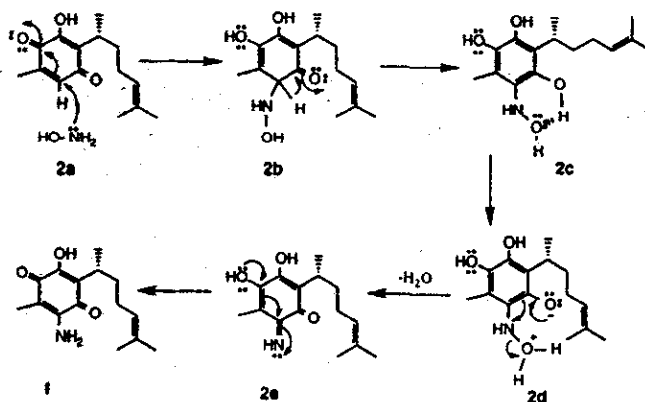


Figura 3

La adición de hidroxilamina (**2a**) sobre el sistema de carbonilo α - β -insaturado (adición 1,4-tipo Michael) origina el intermediario (**2b**) el cual se reduce para formar el sistema aromático (**2c**). La formación de un enlace por puente de hidrógeno interno entre el grupo OH fenólico y el átomo de O de la hidroxilamina origina la formación de un buen grupo saliente (**2d**). La eliminación de agua conduce a la formación del intermediario (**2e**) que por medio de un mecanismo de tautomerización regenera el sistema de carbonilo α - β -insaturado de la quinona. En este caso la perezona, mediante un equilibrio de tautomerización, presenta una característica de reducción que no se observa con otro tipo de amina.

En la literatura se han dado a conocer algunos métodos para obtener aminoquinonas simples utilizando a) ácido hidrazoico⁶⁴, b) azidotrimetilsilano⁶⁵, c) nitroquinonas⁶⁶, d) sulfonamidas aromáticas⁶⁷, e) acilhidrazidas⁶⁸. Muchos de estos métodos no son generales, y resultan laboriosos y con bajos rendimientos. El uso de hidroxilamina⁶⁹ con perezona proporciona la aminoquinona libre (I) por un método simple con altos rendimientos (95%).

Muchas de las alquil-aminoquinonas se obtienen mediante la aminoquinona libre y un agente alquilante (por ejemplo, un cloruro de ácido o un halogenuro de alquilo) que utiliza la propiedad nucleofilia del átomo de nitrógeno. La aminoquinona (I) reacciona con sulfato de dimetilo (como agente alquilante), formándose (II) el éter metílico (metoxiaminoperezona) en lugar de obtenerse la metilaminoperezona. En resonancia magnética nuclear de ^1H se observa una señal en 4.0 ppm que corresponde a un grupo metilo de tipo éster (CO_2CH_3), también se observa una señal doble en 4.81 ppm que se elimina con la adición de D_2O . La formación del derivado (II) indica que el átomo de nitrógeno pierde su propiedad nucleofilia por efecto de conjugación de su par electrónico libre dentro del sistema quinonoide

La reactividad de perezona con mercaptanos es semejante a la observada con aminas, manifestándose la reactividad por medio del sistema de carbonilo α , β -insaturado. El derivado de perezona (VI) con tiofenol corresponde a un producto de adición (M^+ , $m/z=356$) con fórmula mínima $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{S}$, el mecanismo de formación de mercaptoquinonas es similar al de las aminas, figura 2.

En el derivado (VI) no se observa el efecto de anisotropía diamagnética que presentan los derivados con aminas aromáticas (IVa-IVd) sobre el grupo metilo de la quinona. Este resultado indica que la amina en los derivados IVa-IVd puede formar un enlace por puente de hidrógeno interno con el grupo carbonilo (figura 4), que origina una conformación espacial para que el anillo aromático se aproxime al grupo metilo originando un intenso efecto de anisotropía diamagnética. En el derivado (VI) existe libre rotación del anillo aromático sobre el enlace Ar-S lo cual aleja el anillo aromático del grupo metilo.

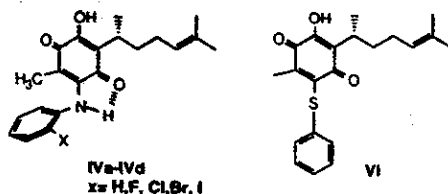


Figura 4

La reactividad de perezona con un nucleófilo bifuncional (i.e. 1,2-etanoditiol) conduce al derivado (VII), el espectro de masas de (M^+ , $m/z=586$) indica la formación de un dímero, con fórmula mínima $\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{O}_6\text{S}_2$, por la adición nucleofílica de cada grupo tiol a una molécula de perezona. En este caso, el carbonilo no es atacado por el grupo SH libre, sino que éste se encuentra suficientemente alejado para realizar un segundo ataque sobre otra molécula de perezona. El espectro de resonancia magnética nuclear de ^1H , muestra señales que corresponden a la mitad de la molécula debido a la simetría que presenta el derivado (VII). La señal en 3.38 ppm la origina el grupo metileno unido al átomo de azufre ($-\text{CH}_2-\text{S}-$). En este

caso fue fundamental la espectrometría de masas para conocer la estructura ya que la resonancia magnética nuclear no permitió definir la estructura como dímero.

Del resultado anterior se formuló la hipótesis de que el empleo de una amina bifuncional, por ejemplo la etilendiamina, formaría un producto similar al derivado (VII). El espectro de masas del derivado (VIII), obtenido a partir de etilendiamina, muestra una fórmula mínima $C_{17}H_{24}O_2N_2$ (M^+ , $m/z = 288$) que no corresponde a la formación de un dímero, el derivado (VIII) contiene 18 unidades menos presuntamente por pérdida de agua. El espectro de infrarrojo presenta una banda en 1549 cm^{-1} que puede ser relacionada a un enlace $C=N$, no se observan bandas para grupos $C=O$ α , β -insaturados; la conjugación del sistema electrónica origina que se observe una estructura promedio entre el diol y la diamina. El espectro de resonancia magnética nuclear de 1H presenta baja resolución de las señales, entre 3.90-3.25 ppm se observan dos señales anchas que integran para 4 átomos de H originadas por los grupos metileno ($-NH-CH_2-CH_2-NH-$) de la etilendiamina. La formación del derivado heterocíclico (VIII) se puede explicar mediante la figura 5. En el caso de etilendiamina puede suponerse que el producto de reacción está dominado por factores termodinámicos, donde el ataque nucleofílico del segundo átomo de nitrógeno es una reacción más favorable que hacia una segunda molécula de perezona a diferencia de lo que ocurre con el derivado heterobifuncional de nitrógeno y azufre.

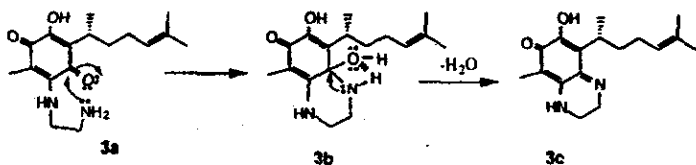


Figura 5

La formación del intermediario (3a) resulta de la adición de un átomo de nitrógeno al anillo quinoideo de perezona por un mecanismo de adición 1,4-tipo Michael. El segundo átomo de nitrógeno ataca al carbonilo en la posición orto a la amina originando el aminoalcohol (3b), el cual mediante un proceso de deshidratación con la asistencia del par electrónico del átomo de nitrógeno forma la imina de estructura (3c).

La reactividad del sistema de carbonilo α , β -insaturado y el sistema β -dicetónico de perezona se manifestaron conjuntamente en el derivado heterocíclico de tipo (VIII). De acuerdo a la estructura propuesta de este derivado, la baja resolución que presenta el espectro de resonancia magnética nuclear de 1H se debe a la alta conjugación que presenta el sistema electrónico que genera diferentes formas resonantes que contribuyen al equilibrio tautomérico.

Esta misma reactividad de perezona se manifestó con el empleo de otra diamina, en presencia de o-fenilendiamina se forma un producto de ciclización (IX) similar en características

al derivado (VIII). El producto fue caracterizado principalmente por su espectro de masas el cual muestra un M^+ con $m/z=336$ con fórmula mínima $C_{21}H_{24}O_2N_2$. En resonancia magnética nuclear de 1H se tiene una baja resolución espectral haciendo difícil la interpretación del espectro aún a alto campo (500 MHz). La espectroscopia infrarroja presenta bandas en 3734, 3246 cm^{-1} que pueden relacionarse con grupos O-H que forman un enlace por puente de hidrógeno, una banda en 1544 cm^{-1} que se puede relacionar a un enlace C=N. Debido a la conjugación del sistema electrónico no se observa claramente bandas para grupos C=O.

Al igual que el derivado (VIII), el derivado (IX) tiene un sistema altamente conjugado que origina un equilibrio tautomérico representado en la figura 6, en las formas resonantes participa el sistema 1,2-diol (4a) y el sistema α -dicetonico (4c).

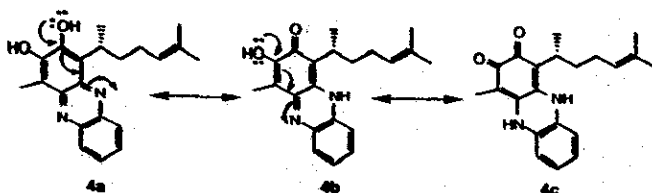


Figura 6

El equilibrio tautomérico que presenta el derivado (IX) se puede eliminar al "bloquear" los sitios de conjugación mediante la derivación con un agente alquilante [por ejemplo $(CH_3)_2SO_4$]. De todas las formas resonantes del derivado (IX) contribuye mayoritariamente la estructura (4a) ya que son los grupos OH los que reaccionan con el agente alquilante para formar los correspondientes éteres metílicos, el espectro de resonancia magnética nuclear de 1H muestra dos señales muy cercanas entre sí (a 4.00 y 3.97 ppm) que corresponden a dos grupos $-OCH_3$ muy semejantes.

La asignación de la estructura del derivado X se realizó por medio de los datos espectroscópicos de resonancia magnética nuclear bidimensional presentados en la tabla 2.

En el espectro de 1H RMN se observan cuatro grupos metilos de tipo alifático a 25.6 (3H), 20.5 (3H), 17.5 (3H) y 10.1 (3H) ppm, dos grupos metilo de tipo metoxilo a 4.00 (3H) y 3.97 (3H) ppm. En la región aromática se observan dos señales múltiples a 8.20 (2H) y 7.74 (2H) ppm. Mientras que a 5.12 (1H) ppm se observa una señal para un átomo de hidrógeno de tipo vinílico. Se observan otras señales múltiples a 2.23 (1H), 1.99-1.97 (2H) y 1.84(1H) ppm.

Por medio de los espectros de ^{13}C y DEPT se pueden observar cuatro grupos metino de tipo aromático a 129.8, 129.4, 129.2, 129.0 ppm, un grupo metino de tipo vinílico a 125.1 ppm y un grupo metino de tipo alifático a 31.1 ppm. Se observan dos grupos metileno a 36.2 y 27.1 ppm. Finalmente, seis grupos metilo (CH_3) a 61.1, 60.6, 25.63, 20.5, 17.5 y 10.1 ppm. Además, por diferencia con el espectro de ^{13}C totalmente desacoplado se identifican ocho

átomos de carbono de tipo cuaternario a 142.0, 133.3, 154.3, 141.9, 141.4, 130.8, 125.9, y 31.1 ppm.

En el espectro COSY se observa un acoplamiento intenso entre las señales a 8.20 y 7.74 ppm, mientras que la señal a 5.12 ppm está acoplada con aquellas a 1.99 y 1.84 ppm; entre estas dos últimas señales también se observa acoplamiento (figura 8a).

La correlación heteronuclear, entre los núcleos de ^1H y ^{13}C , se realizó a través del espectro HMQC. Se encontró correlación entre la señal de ^1H a 8.20 ppm con las correspondientes de ^{13}C a 129.8 y 129.4 ppm, la señal ^1H a 7.74 ppm con las señales ^{13}C a 129.2 y 129.0 ppm. Otras correlaciones existentes son de la señal de ^1H a 4.0 ppm con la señal de ^{13}C a 61.09 ppm y de la señal de ^1H a 3.97 ppm con la señal de ^{13}C a 60.58 ppm. También se observa que la señal de ^{13}C a 10.12 ppm presenta correlación con la señal de ^1H a 2.79 ppm y las señales de ^1H a 2.23 y 1.99 ppm presentan correlación con la señal de ^{13}C a 36.2 ppm. De la misma forma, se observa que las señales de ^1H a 1.99 y a 1.84 ppm presentan correlación con la señal de ^{13}C a 27.11 ppm. De lo anterior se concluye que la señal de ^1H a 1.99 ppm contiene dos átomos de hidrógeno que pertenecen a átomos de carbono diferentes. Por último, se observa correlación de la señal de ^1H a 1.59 ppm con la señal de ^{13}C a 25.63 ppm, de la señal de ^1H a 1.57 ppm con la señal de ^{13}C a 20.51 ppm y la señal de ^1H a 1.39 ppm con la señal de ^{13}C a 17.45 ppm. La diferenciación entre los átomos de carbono anteriores se debe al efecto sin periplanar que tiene el átomo de carbono a 17.5 ppm con el átomo de carbono a 27.1 ppm (figura 7b).

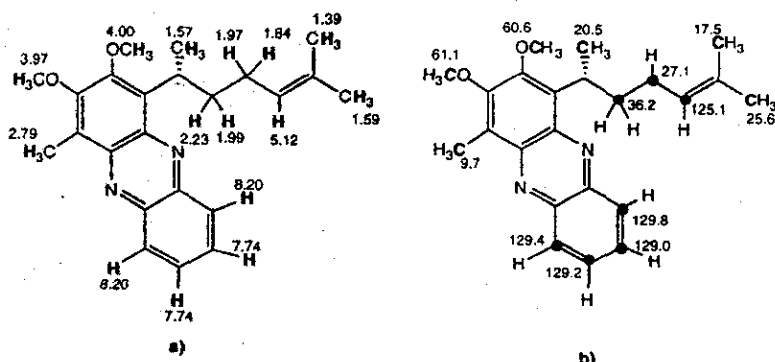


Figura 7. Correlaciones directas ^1H e ^{13}C del derivado X

Los átomos de carbono cuaternario fueron asignados mediante la correlación indirecta (espectro HMBC). En el cual se observa el acoplamiento de las señales de ^1H a 4.0 y 3.97 ppm con la señal de ^{13}C a 154.3 ppm (figura 8a y 8b), el acoplamiento de la señal de ^1H a 2.79 ppm con las señales de ^{13}C a 154.28, 141.92 y 125.93 ppm, de las cuales la señal a 154.28 ppm se asignó anteriormente (figura 8a). La asignación de las otras dos señales se realizó mediante del análisis del ambiente químico que rodea a cada uno de los átomos de carbono, el átomo de

desplazamiento químico a campo más bajo (141.9 ppm) sufre el efecto de atracción electrónica del átomo de nitrógeno de la imina, mientras que el átomo de ^{13}C a campo alto (125.93 ppm) no presenta el efecto anterior. Por otro lado, la señal de ^1H a 1.57 ppm presenta acoplamiento con la señal de ^{13}C a 133.3 ppm. La señal de ^{13}C de tipo cuaternario (espectro DEPT) a 142.0 ppm no presenta acoplamiento con alguna señal de ^1H , su desplazamiento químico sugiere que debe tener un ambiente químico similar al átomo de carbono a 141.92 ppm (figura 8b). Otra correlación que se observa es de la señal de ^{13}C con las señales de ^1H a 1.39 y 1.59 ppm (figura 8c). Finalmente, el átomo de carbono de tipo cuaternario (espectro DEPT) a 141.4 ppm se asignó por su acoplamiento con las señales de ^1H a 8.20 y 7.74 ppm. Otros sistemas heterocíclicos que contienen la función fenacina presentan desplazamientos químicos muy semejantes.

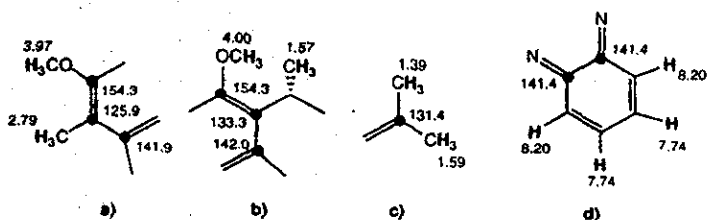


Figura 8. Correlaciones indirectas H/C del derivado X

Particularmente útil fue el espectro NOESY para la asignación de cada uno de los grupos CH_3 unidos a cada uno de los átomos de oxígeno, el grupo metoxilo a 3.97 ppm presenta interacción con el grupo metilo a 2.79 ppm y el grupo metoxilo a 4.00 ppm con el grupo metilo a 1.57 ppm.

La reactividad conjunta del sistema de carbonilo α , β -insaturado y el sistema β -dicetonico se hizo evidente con un reactivo heterobifuncional que contiene el grupo amino y tiol conjuntamente. La reacción con 2-aminoetanotiol y perezona produce dos derivados (XI y XII). Estos productos presentan estructuras heterocíclicas muy semejantes. El derivado menos polar (XI) tiene un M^+ de $m/z=305$ con una fórmula mínima $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{O}_2\text{NS}$, en el espectro de infrarrojo se observa una banda a 3363 cm^{-1} , que corresponde a un grupo OH o NH , a 1645 cm^{-1} originada por un grupo $\text{C}=\text{O}$ α , β -insaturado, el espectro de resonancia magnética nuclear de ^1H muestra una señal en 4.23 y 2.79 ppm que corresponden a los grupos metileno $-\text{N}-\text{CH}_2-$ y $-\text{S}-\text{CH}_2-$ respectivamente.

La formación del derivado de (XI) se puede explicar por medio del mecanismo de la figura

9.

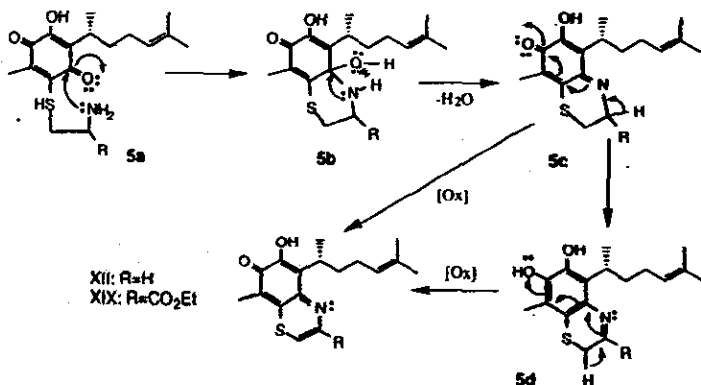


Figura 9

Cuando se tienen como nucleófilos los grupos amino y tiol presentes en el reactivo, se tiene la posibilidad de formar la aminoquinona o la mercaptoquinona de acuerdo al mecanismo de la figura 2. La postulación de la adición nucleofílica 1,4- tipo Michael del átomo de azufre para formar la mercaptoquinona (5a) se justifica en base al mayor carácter nucleofílico que tiene el átomo de azufre debido a su menor electronegatividad, además, la formación de la aminoquinona deja libre al grupo tiol que no tiene el carácter nucleofílico para atacar al grupo carbonilo que conduce al intermediario aminoalcohol de estructura (5b). Esto se observó en la reactividad de perezona frente a 1,2-etanoditiol (derivado (VIII)) el cual no corresponde a un producto de ciclización.

Otra característica observada del sistema quinoideo de perezona es su propiedad de óxido reducción que conduce a la formación de sistemas heterocíclicos altamente conjugados, lo anterior se observó en la oxidación de los grupos metileno del heterociclo para obtener un doble enlace. El segundo producto (XII), obtenido a partir de 1,2-etanoditiol, presenta en su espectro de resonancia magnética nuclear de ¹H dos señales dobles en 8.28 y 7.32 ppm que corresponden -N-CH= y -S-CH= respectivamente. El espectro de masas muestra un M⁺ con m/z=303 con fórmula mínima C₁₇H₂₁O₂NS, dos unidades de m/z menor que el derivado (XI).

El doble enlace adicional en el derivado (XII) se forma por un proceso de oxidación sucesivo a partir del derivado (XI), esto se observó en el derivado (XI) ya que éste presenta rápida descomposición para formar el derivado (XII), en el espectro de resonancia magnética nuclear de ¹H se observaron pequeñas señales dobles en 8.28 y 7.32 ppm originadas por la formación del derivado (XI).

La formación del derivado (XII) se puede explicar por medio de la figura 9. Las propiedades particulares de óxido reducción de perezona se hacen evidentes por la formación del doble enlace que puede ser concertado o bien por un proceso de reducción que implica al

derivado (5c) que conduce al intermediario (5d) que a su vez se reduce para formar el derivado (XII).

La reactividad de perezona frente a nucleófilos heterobifuncionales que conduce a productos heterocíclicos también se observó con orto-aminotiofenol que produce el derivado (XIII) el cual corresponde a un producto de ciclización (M^+ con $m/z= 353$ y fórmula mínima $C_{21}H_{23}O_2NS$). La formación del derivado (XIII) se puede explicar por el mecanismo de la figura 9, similar a la formación del derivado (XI).

La serie de reacciones ordenadas con reactivos homo- y heterobifuncionales manifestaron un segundo sitio de reacción del anillo quinoideo donde participa el grupo carbonilo. Asimismo, se estudio la competitividad entre el átomo de azufre y nitrógeno de manera conjunta hacia el primer sitio reactivo del anillo quinoideo.

En el espectro de 1H de RMN se observan cuatro señales múltiples de tipo aromático a 7.99 (1H), 7.60 (1H), 7.53 (1H) y 7.46 (1H) ppm, también se observa una señal a 7.72 ppm de tipo OH o NH la cual desaparece con la adición de D_2O . Mientras que a 5.12 (1H) ppm se observa una señal de tipo vinílico y a 4.03 (1H) ppm una señal multiple. A campo alto, se observa una señal simple a 2.22 (3H) ppm, tres señales multiples a 2.13 (1H), 1.94 (2H) y 1.78 (1H) ppm. Finalmente, se observan tres grupos metilo de tipo alifático a 1.61 (3H), 1.45 (3H) y 1.41 (3H) ppm.

Los espectros de ^{13}C y DEPT indican cinco grupos metino de tipo aromático a 133.4, 129.1, 127.7, 124.8, un grupo metino de tipo alifático a 30.4 ppm; y dos grupos metileno a 34.7 y 26.8 ppm. Además, se observan cuatro grupos metilo de tipo alifático a 25.7, 18.8, 17.5 y 12.1 ppm. La diferencia del espectro de ^{13}C totalmente desacoplado y DEPT indican ocho átomos de carbono de tipo cuaternario a 150.5, 145.5, 138.9, 131.0, 130.97, 126.2, 123.0 y 122.52 ppm y un grupo carbonilo a 175.6 ppm.

En el espectro COSY se observa acoplamiento de la señal a 7.99 ppm con las señales a 7.53 y 7.46 ppm. Mientras que la señal a 7.60 ppm está acoplada con las señales a 7.53 y 7.46 ppm. Por otro lado, la señal a 7.53 ppm tiene acoplamiento con la señal a 7.46 ppm. Otros acoplamientos importantes son de la señal a 5.12 ppm con la señal a 1.94 ppm y de la señal a 4.03 ppm con la señal a 1.41 ppm. Entre las señales multiples se observa acoplamiento intenso de la señal a 2.23 ppm con las señales a 1.94 y 1.78 ppm; y de señal a 1.94 con la señal a 1.78 ppm (figura 10a)

El espectro HMQC proporcionó la correlación heteronuclear entre los átomos de 1H y ^{13}C . Se observa correlación de la señal de 1H a 7.99 ppm y la señal de ^{13}C a 124.8 ppm, de la señal de 1H a 7.60 ppm con la señal de ^{13}C a 133.4 ppm; también se observa correlación de la señal de 1H a 7.53 ppm con la señal de ^{13}C a 127.65 ppm y de la señal de 1H a 7.46 ppm con la señal de ^{13}C a 129.1 ppm (figura 10.1). La señal de 1H a 5.12 ppm tiene correlación con la

señal de ^{13}C a 125.1 ppm. Otras correlaciones son de la señal de ^1H a 2.22 ppm con la señal de ^{13}C a 12.1 ppm, de la señal de ^1H a 4.03 ppm con la señal de ^{13}C a 30.4 ppm. Las señales múltiples a 2.13 y 1.78 ppm presentan correlación con la señal de ^{13}C a 34.7 ppm (figura 10b).

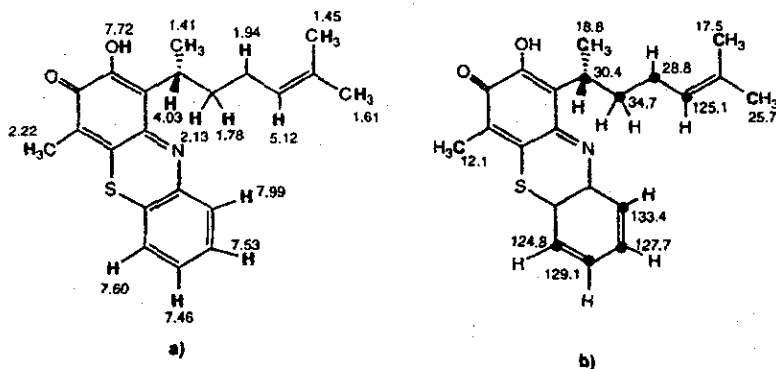


Figura 10. Correlaciones directas HM y H/C del derivado XII

La asignación completa se realizó por correlación indirecta (espectro HMBC) con acoplamiento a largo alcance. En el espectro se observa el acoplamiento entre la señal de ^1H a 7.72 ppm con las señales de ^{13}C a 175.6, 150.5 y 126.2 ppm, la primera señal corresponde al desplazamiento químico de un grupo carbonilo. La asignación inequívoca de la señal de ^{13}C a 126.2 ppm se realizó por medio de su correlación con la señal de ^1H a 1.41 ppm, por diferencia se asignó la señal de ^{13}C a 150.5 ppm (figura 11b). Por otro lado, la señal de ^1H a 2.22 ppm presenta correlación con los átomos de ^{13}C a 175.6, 131.8 y 122.5 ppm. La primera señal se asignó, por su desplazamiento químico y por su correlación con la señal de ^1H a 7.72 ppm, como grupo carbonilo en posición *orto* al grupo OH. La asignación de las otros dos señales se justificó en base al análisis del ambiente químico que rodea a los átomos. El átomo de carbono a 131.77 ppm se sitúa a campo más bajo debido a la deficiencia electrónica que tiene por efecto del equilibrio ceto-enólico del sistema de carbonilo α,β -insaturado. Mientras que el átomo de carbono a 122.52 ppm presenta un mismo ambiente químico incluso en el equilibrio del carbonilo α,β -insaturado (figura 11a)

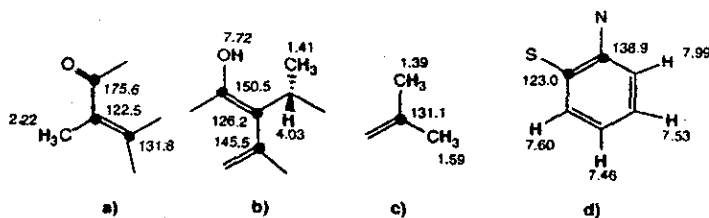


Figura 11. Correlaciones indirectas H/C del derivado XII

Las señales de ^1H a 1.39 y 1.59 ppm presentan correlación con la misma señal de ^{13}C a 131.1 ppm (figura 11c). Finalmente, la asignación del átomo de carbono del anillo aromático a

138.9 ppm se realizó por su correlación con las señales de ^1H a 7.53 y 7.60 ppm, mientras que la señal a 123.0 ppm presenta correlación con las señales de ^1H a 7.99 y 7.46 ppm (figura 11d).

Los derivados de quinonas con aminoácidos están poco descritos en la literatura. Algunos de estos trabajos son, por ejemplo, el de Cooper y Haines³⁷ donde se menciona que la acción bactericida de las quinonas está asociada con la formación de derivados con aminoácidos (como constituyentes celulares). Estos derivados son productos de adición 1,4-tipo Michael (figura 2) del aminoácido sobre la quinona.

Otro antecedente de un derivado de quinona con un aminoácido es en la síntesis de antibióticos antitumorales tales como mitomicinas y sus análogos, donde se obtiene un producto de adición entre una benzoquinona y el éster metílico de prolina⁷⁰. Se ha descrito que algunas ortoquinonas reaccionan con aminoácidos para formar aldehídos y α -aminocarbonilos⁷¹, así mismo se han obtenido compuestos heterocíclicos que contienen el núcleo 1,3-benzoxazol.

Los productos de perezona con aminoácidos son derivados muy diferentes a los encontrados anteriormente con aminas mono y bifuncionales, mercaptanos y aminomercaptanos. Estos derivados muestran diferentes equilibrios tautoméricos originados por el sistema de carbonilo α , β -insaturado, el sistema β -dicetónico y propiedades de óxido-reducción no encontradas anteriormente, los derivados pueden constituir intermediarios en la reactividad del sistema quinoideo.

La utilización de acetato de cobre (II) y metanol proporciona un medio más oxidante comparado con el acetato de Zn en metanol, este cambio del medio origina una variación en las propiedades ácido-base de los aminoácidos y del potencial de óxido-reducción del sistema quinoideo con lo cual se obtienen productos derivados de los equilibrios químicos y de tautomerización.

Los derivados de perezona con aminoácidos, por ejemplo glicina, fenilglicina y alanina muestran una reactividad diferente (figura 12) a los derivados con aminas tanto mono como bifuncionales aún bajo las mismas condiciones de reacción.

De datos previamente descritos se conoce la formación de los aminoderivados de perezona con aminoácidos obtenidos como productos de adición 1,4-tipo Michael (figura 2) que produce la aminoquinona de estructura (6a). El átomo de nitrógeno y el sistema de carbonilo α , β -insaturado de la quinona forman el equilibrio tautomérico que origina la imina (6b).

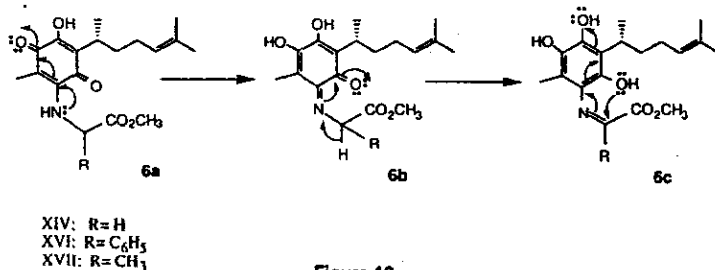


Figura 12

Las condiciones de reacción aumentan la acidez del átomo de H α - al carbonilo del aminoácido de tal forma que produce un proceso de óxido-reducción que forma la hidroquinona (6c), durante el proceso de reducción se originan isómeros geométricos a través del doble enlace. Este proceso es común para la obtención de los derivados (XIV, XVI, XVII) a partir de los aminoácidos glicina, fenilglicina y alanina respectivamente.

Esta estructura constituye una forma muy apropiada para demostrar mecanísticamente al proceso de óxido-reducción del sistema quinoideo. Estos productos constituyen de hecho una forma resonante atrapada en uno de sus pasos de reacción que resulta fortuitamente estable. Varias estructuras mostraron esta capacidad dando como productos finales los correspondientes fenoles.

El medio básico aumenta el carácter nucleofílico del fenol que reacciona con el átomo de carbono de la imina para formar un producto de ciclización. En el caso del aminoácido glicina (figura 13), la existencia de isómeros de posición en el intermediario (6c) origina un derivado de estereoquímica indefinida (7a). La existencia de un átomo de hidrógeno origina un nuevo proceso de oxidación para formar el derivado orto-hidroxifenol (XIV) en el cual se pierde la quiralidad presente en el intermediario (7a).

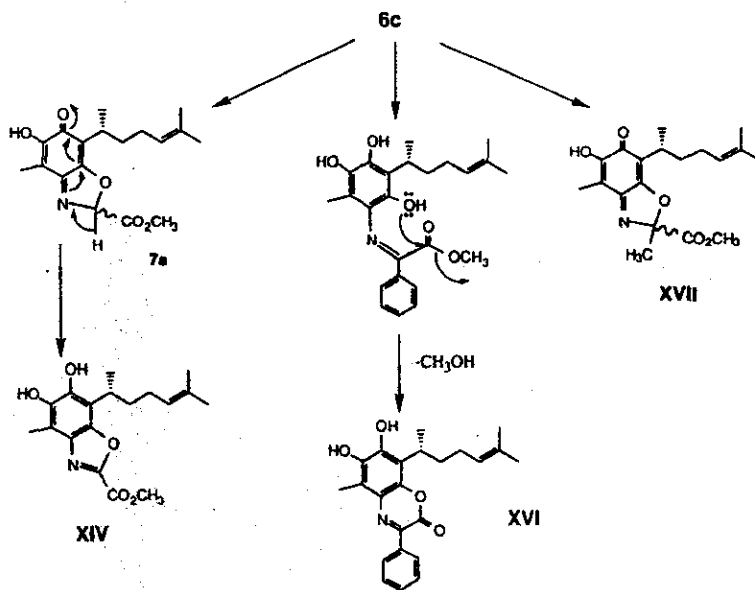


Figura 13

La estereoquímica indefinida se observa en el derivado (XVII) obtenido a partir del aminoácido alanina. El espectro de infrarrojo muestra una banda en 1644 cm^{-1} que corresponde a un grupo carbonilo α, β -insaturado. La estructura inequívoca del derivado XVII se estableció mediante el análisis espectroscópico de los datos resumidos en la tabla No. 6, la asignación se realizó para la mezcla de diastereoisómeros XVIIa y XVIIb (figura 14).

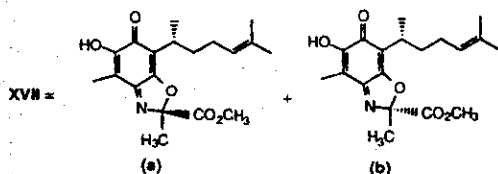


Figura 14

En el espectro de ¹H RMN se observa una señal a 7.67 (1H) ppm de tipo OH o NH la cual desaparece con la adición de D₂O, una señal triple a 5.06 (1H) de tipo vinílico. También se observa una señal de grupo metoxilo a 3.77 (3H) ppm y cuatro grupos metilo de tipo alifático a 2.15, 1.89, 1.64, 1.53 y 1.19 ppm. Finalmente, se observan señales múltiples a 3.01 (1H), 1.91 (2H) y 1.77 (1H) ppm.

Los espectros DETP y ¹³C indican dos átomos de carbono de tipo metino a 124.2 y 29.2 ppm, dos átomos de carbono de tipo metileno a 34.3 y 26.3 ppm. Además, se observan cinco grupos metilo de tipo alifático a 25.6, 21.8, 18.6, 17.6 y 8.8 ppm; asimismo un grupo metilo de

tipo metoxilo a 53.5 ppm. La diferencia del espectro de ^{13}C totalmente desacoplado y el espectro DEPT indicó siete átomos de carbono de tipo cuaternario a 160.9, 160.5, 150.8, 141.4, 114.2, 113.1 y 106.9 ppm; por último, un átomo carbono de tipo carbonilo a 181.6 ppm.

El espectro COSY mostró acoplamiento de la señal a 3.00 ppm con las señales a 1.19, 1.77 y 1.55 ppm. Mientras que la señal a 5.06 ppm presenta acoplamiento con la señal a 1.91 ppm (figura 15a).

Las correlaciones directas H/C se observaron através del espectro HMQC, la señal de ^1H a 2.15 ppm con la de ^{13}C a 8.8 ppm, la señal de ^1H a 3.00 ppm con la de ^{13}C a 29.2 ppm. De la misma forma, las señales de ^1H a 1.55 y 1.77 ppm tienen correlación con la señal de ^{13}C a 34.3 ppm, este metileno contiene átomos de hidrógeno de tipo diastereotópico por lo cual se observan dos señales de ^1H . La diferenciación entre los átomos de carbono a 17.6 y 25.6 ppm se debe al efecto sin periplanar del primero con el átomo de carbono a 26.3 ppm (figura 15b).

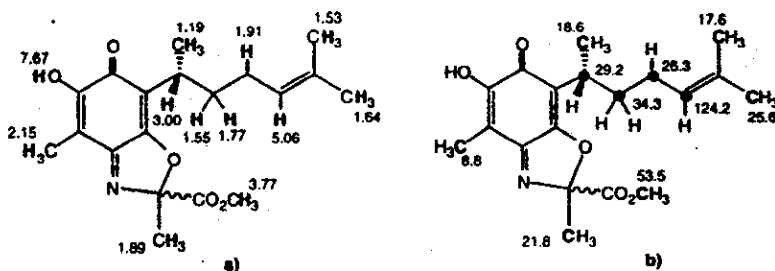


Figura 15. Correlaciones directas H/H e H/C del derivado XVII

La asignación completa se realizó por medio del espectro HMBC. La señal de ^1H a 2.15 ppm presenta correlación de largo alcance con las señales de ^{13}C a 160.9, 150.8 y 106.9 ppm. La señal de ^1H a 7.67 ppm presenta correlación con las señales de ^{13}C a 181.6, 150.8 y 106.9 ppm, lo cual por diferencia determina inequívocamente el átomo de carbono a 160.9 ppm. Asimismo, indica la existencia de un grupo carbonilo (181.6 ppm) en posición orto al grupo OH (figura 16a). Por otro lado, la señal de ^1H a 3.00 ppm muestra correlación con las señales de ^{13}C a 181.6, 160.5 y 114.2 ppm. La primera señal, a 181.6 ppm corresponde al grupo carbonilo en posición orto al grupo OH, encontrado anteriormente. La asignación inequívoca de la señal de ^{13}C a 114.2 ppm se realizó por su correlación con la señal de ^1H a 1.19 ppm (figura 16b). Otro átomo de carbono de tipo cuaternario a 131.4 ppm se estableció por su correlación con las señales de ^1H a 1.53 y 1.64 ppm (figura 16c). Finalmente, el átomo de carbono de tipo cuaternario a 113.1 ppm se asignó por su correlación con la señal de ^1H a 1.89 ppm. El grupo carbonilo del éster se estableció por su correlación con la señal de ^1H a 3.83 ppm.

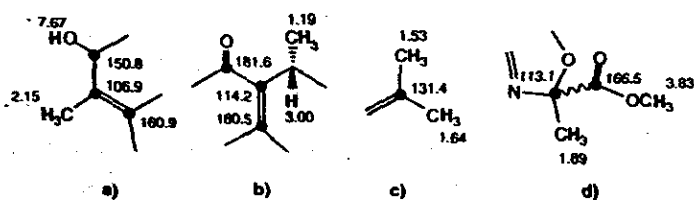


Figura 16. Correlaciones indirectas H/C del derivado XVII

La formación del derivado (XVI), obtenido a partir del aminoácido fenilglicina, se explica mediante un proceso de transesterificación intramolecular del grupo fenol sobre el grupo éster del aminoácido (figura 13). La formación del derivado (XVI) a diferencia de los derivados (XIV y XVII) se debe a la presencia de un grupo fenilo voluminoso que origina un efecto de repulsión estérica que impide que el átomo de oxígeno del fenol reaccione con el átomo de carbono de la imina, sin embargo, el mismo efecto origina que el grupo éster quede cerca del átomo de oxígeno del fenol para producir la transesterificación.

En los tres derivados (XIV, XVI, XVII) se tuvo evidencia de la reactividad del sistema quinoideo de Perezona por medio del sistema β -dicetónico que proporciona productos que tienen un sistema aromático heterocíclico donde no se observa el proceso de oxidación que regenera el sistema quinoideo.

Otra diferencia de reactividad de perezona con los aminoácidos se observó en el derivado (XVIII), obtenido a partir del éster metílico de prolina. Este derivado corresponde a un producto de ciclización con características diferentes a los derivados (XIV, XVI, XVII). En el espectro de infrarrojo no se observan bandas para grupos O-H ni N-H en la región de 3100 - 3500 cm^{-1} . Se observa una banda a 1752 cm^{-1} que corresponde al grupo carbonilo del éster. El espectro de resonancia magnética nuclear de ^1H muestra la eliminación del átomo de H del centro asimétrico del aminoácido. También se observan dos señales dobles de igual intensidad en 1.13 y 1.11 ppm que corresponden al grupo metilo unido al centro asimétrico en la cadena alifática de la perezona. La expansión de cada una de las señales del espectro de ^{13}C indica dos átomos de ^{13}C de desplazamiento químico muy semejante que muestran la presencia de dos diastereoisómeros de (XVIIIa y XVIIIb) en proporción aproximadamente equimolar (figura 17).

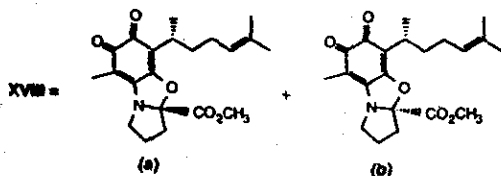


Figura 17

La presencia de ambos diastereoisómeros confirma la existencia de un intermediario plano representado por la estructura **8d** (fig. 18), previo al ataque del oxígeno para formar el sistema 1,3-oxazol.

La formación de (**XVIII**) puede explicarse mediante el mecanismo de la figura 17. Existe un equilibrio tautomérico entre las estructuras (**8a** y **8b**) por la conjugación de la amina con el sistema de carbonilo α , β -insaturado, con la electroneutralidad presente. La carga negativa es intercambiada con el grupo OH vecino, de acuerdo a la estructura (**8c**). La eliminación de un átomo de H α -al carbonilo del aminoácido proporciona un sistema aromático de estructura (**8d**), el cual mediante un proceso de oxidación regenera la quinona de estructura (**8e**). Posteriormente la conjugación de la carga negativa hacia el anillo quinonoido produce la ciclización hacia un sistema 1,2-dicarbonílico el cual es eléctricamente neutro.

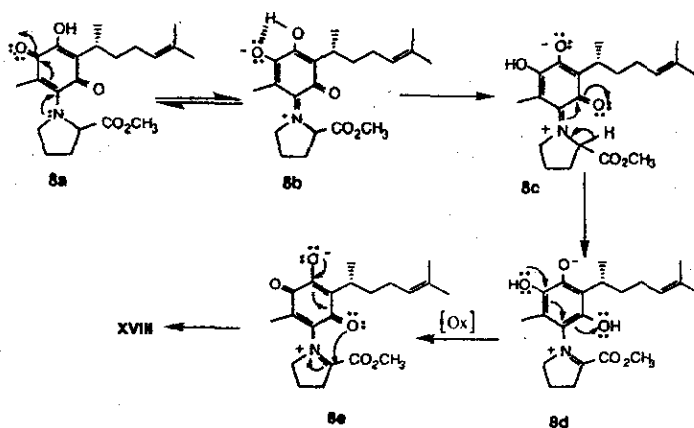


Figura 18

La estructura inequívoca del derivado XVIII se estableció mediante el análisis espectroscópico de los datos resumidos en la tabla No. 7.

En el espectro de ^1H RMN se observa un grupo metino tipo vinílico a 5.07 (1H) ppm, un grupo metilo de tipo metoxilo a 3.83 (3H) ppm, varias señales múltiples a 3.80 (1H), 3.55 (1H), 2.98 (1H), 2.85 (1H), 2.38 (1H), 2.31 (1H) y 2.05 (1H) ppm; cuatro grupos metilo a 1.97 (3H), 1.64 (3H), 1.54 (3H) y 1.16 (3H) ppm. Se observan otras señales múltiples a 1.98 (2H), 1.78 (1H) y 1.50 (1H) ppm (figura 18a).

El espectro DEPT indicó que hay dos grupos metino a 124.5 y 29.7 ppm, cinco grupos metileno a 51.4, 34.3, 32.6, 26.5 y 26.0 ppm; cinco grupos metilo a 53.4, 25.6, 18.6, 17.6 y 9.6 ppm. La comparación del espectro DEPT con el espectro de ^{13}C totalmente desacoplado mostró siete átomos de carbono de tipo cuaternario a 167.7, 162.4, 150.1, 131.3, 118.2, 109.4 y 107 ppm; además, dos grupos carbonilo de desplazamiento químico muy semejante a 178.3 y 178.2 ppm.

El análisis del espectro COSY indicó el acoplamiento de las señales a 5.07 y 1.90 ppm, de la señal a 3.80 ppm con las señales a 3.55 y 2.38 ppm; la anterior a 3.55 ppm tiene acoplamiento con la señal a 2.38 ppm. Mientras que la señal a 2.85 ppm tiene acoplamiento con las señales a 2.38 y 2.05 ppm. Otros acoplamientos importantes son de la señal a 2.98 ppm con las señales a 1.16, 1.50 y 1.78 ppm (figura 19a)

El espectro HMQC indicó las correlaciones H/C siguientes: la señal de ^1H a 1.97 ppm con la de ^{13}C a 9.6 ppm, la señal de ^1H a 2.98 ppm con la de ^{13}C a 29.7 ppm, la señal de ^1H a 1.16 ppm con la de ^{13}C a 18.6 ppm. Otras correlaciones son de las señales de ^1H a 3.80 y 3.55 ppm con la señal de ^{13}C a 51.4 ppm, las señales de ^1H a 2.38 y 2.31 ppm con la de ^{13}C a 26.0 ppm, las señales de ^1H a 2.05 y 2.85 ppm con la de ^{13}C a 32.6 ppm (figura 19b). La diferenciación de los átomos de carbono a 1.54 y 1.64 ppm se debe, a que el primero, presenta un desplazamiento químico a campo alto por efecto sin periplanar con el átomo de carbono a 26.5 ppm.

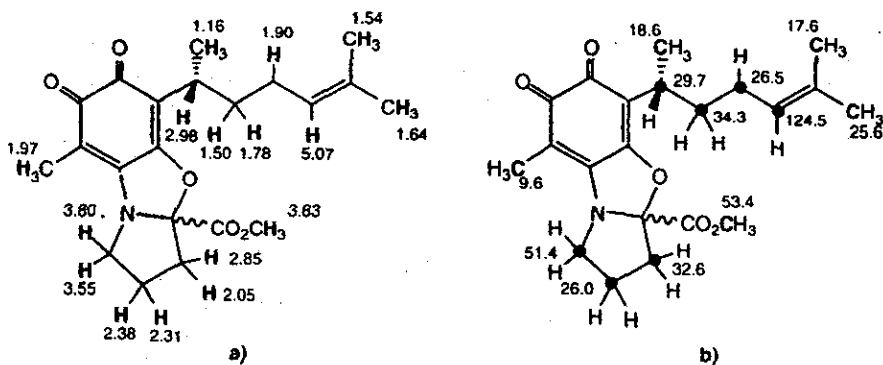


Figura 19. Correlaciones directas H/H e H/C del derivado XVIII

La asignación total del derivado XVIII se completó por correlación indirecta de largo alcance (espectro HMBC). La señal de ^1H a 1.97 ppm presenta correlación con tres señales de ^{13}C a 178.3, 109.4 y 150.1 ppm. La señal a 178.3 ppm corresponde a un grupo carbonilo, las otras dos señales fueron asignadas por su ambiente químico. La señal de desplazamiento químico a campo más bajo (150.1 ppm) se debe al efecto electroattractor del átomo de nitrógeno (figura 20a). Por otro lado, la señal de ^1H a 2.96 ppm presenta correlación con tres señales de ^{13}C a 178.2, 162.4 y 118.2 ppm. La señal a 178.2 ppm corresponde a un grupo carbonilo. La diferenciación de las otras dos señales se realizó con la ayuda de la señal de ^1H a 1.16 ppm, la cual presenta correlación sólo con la señal a 118.2 ppm y por diferencia se asigna la señal a 162.4 ppm (figura 20b).

Las señales de ^1H a 1.54 y 1.64 ppm presentan una correlación común con la señal de ^{13}C a 131.3 ppm (figura 20c). Por último, la señal de ^{13}C a 167.7 ppm se asignó por su

correlación con la señal de ^1H a 3.83 ppm y la señal de ^{13}C a 107.5 ppm presenta correlación a dos enlaces con la señal de ^1H a 2.05 ppm (figura 20d).

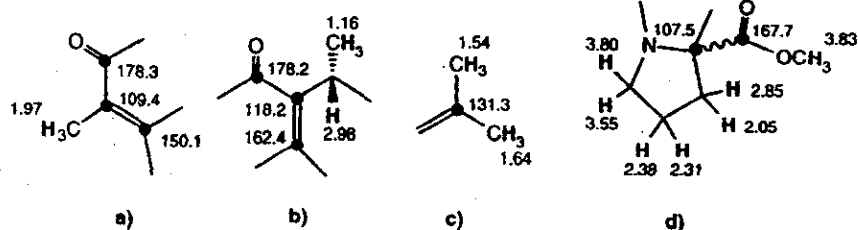


Figura 20. Correlaciones indirectas H/C del derivado XVIII

La cisteína es un aminoácido que no forma un núcleo 1,3-benzoxazol con perezona. El derivado (XIX) corresponde a un producto de ciclización similar al derivado (XII) con la formación de un doble enlace adicional. El espectro de masas tiene un M^+ con $m/z=377$ y en el espectro de resonancia magnética nuclear de ^1H se observa una señal simple a 8.33 ppm que corresponde al átomo de H del sistema S-CH=C-. La formación del derivado (XIX) es semejante al representado en la figura 7 para la obtención del derivado (XII). De igual forma se observa que la adición nucleofílica del átomo de azufre para formar la mercaptoquinona va seguido por un ataque nucleofílico por el átomo de nitrógeno sobre el carbonilo con posterior deshidratación para la correspondiente formación de la imina.

CONCLUSIONES

La aplicación analítica de métodos modernos bidimensionales de resonancia magnética nuclear, fue una herramienta fundamental en la elucidación estructural de los derivados de Perezona. En algunos casos, fue útil también la utilización complementaria de otros métodos espectroscópicos v. gr. espectrometría de masas y espectroscopia de infrarrojo, que confirmaron o modificaron la estructura propuesta por resonancia magnética nuclear. Particularmente, en la aplicación de espectrometría de masas para la elucidación del compuesto dimérico obtenido a partir de 1,2-atanoditol, así como del obtenido a partir de ortofenilendiamina, cuyo espectro de ^1H presenta señales indefinida. Asimismo, en los derivados de 2-aminoetanotiol que sólo difieren en dos átomos de hidrógeno. De manera muy clara, en espectroscopia infrarroja se observaron bandas características que mostraron los equilibrios tautoméricos del anillo quinoideo, el cual originó estructuras variadas i. e. α -hidroxiketona, *orto*-quinona, dihidroquinonas y *para*-quinona.

La elección del experimento de resonancia magnética nuclear estuvo en función del tipo de información que se deseaba obtener, de la cantidad y solubilidad de la muestra. Una estrategia muy común, la cual se aplicó satisfactoriamente en este trabajo, fue registrar el espectro de ^1H unidimensional en alta resolución y hacer expansiones de las secciones de interés. Después se registró el espectro de ^{13}C totalmente desacoplado y el espectro DEPT que permitió la asignación de la multiplicidad de cada uno de los átomos de carbono. La siguiente estrategia fue la correlación homonuclear (COSY) que permitió observar acoplamientos entre núcleos de ^1H . La expansión de varias regiones del espectro COSY permitió un análisis más detallado de la estructura. En este momento se pudieron preparar mapas de conectividad ^1H - ^1H para construir diferentes fragmentos de la molécula.

El espectro NOESY proporcionó información útil respecto a la proximidad espacial de los átomos. Sin embargo, la movilidad intrínseca de la cadena alifática no permitió un análisis muy detallado. La siguiente táctica fue la correlación heteronuclear por medio del espectro HMQC que proporcionó información de la unión directa (a un enlace) de los átomos de carbono con sus correspondientes átomos de hidrógeno. En este momento se amplió el mapa de conectividad desarrollado en el experimento COSY mediante la correlación de los átomos de carbono a los correspondientes átomos de hidrógeno en cada fragmento de la molécula.

Un cuidadoso análisis de las señales de acoplamiento a largo alcance (i.e. acoplamiento a dos y tres enlaces) obtenidas en un experimento HMBC, junto con la información obtenida del espectro COSY, permitió encontrar fragmentos de la molécula que hicieron posible la elucidación completa.

Después de la elucidación estructural se pudo hacer un análisis completo de la reactividad de Perezona, la cual posee una reactividad diferencial en dos sistemas de reacción muy

particulares y bien definidos i.e. un sistema de carbonílico α,β -insaturado y un sistema β -dicetónico. Cada uno de estos sistemas puede actuar de manera independiente o en forma simultánea, lo cual se hace evidente al analizar la estructura de los derivados obtenidos. Las propiedades de óxido-reducción del núcleo quinoideo de Perezona pueden extenderse fuera del núcleo quinoideo haciendo participar el radical alquilo de la amina, como se puede observar en la formación adicional de un doble enlace carbono-carbono y por la presencia de la forma reducida del sistema quinoideo (orto-hidroquinona) en algunos productos de reacción.

Se hicieron evidentes los equilibrios tautoméricos que puede formar el sistema quinoideo de Perezona particularmente frente a aminoácidos. Estos equilibrios pueden observarse en la formación de sistemas heterocíclicos, i.e. 1,4-benzoxazona, el 1,3-benzoxazol, orto-dicetona, 1,4-benzodiazina. Las condiciones de reacción son determinantes en el curso que sigue la reacción después de la adición nucleofílica al sistema quinoideo de Perezona. Un medio poco oxidante genera productos de adición 1,4-tipo Michael, mientras que un medio muy oxidante genera sistemas heterocíclicos conjugados.

Estudios preliminares han mostrado que la mayor actividad biológica se presenta en aquellos derivados de sistemas heterocíclicos, siendo ésta actividad selectiva y específica en líneas celulares (actividad citotóxica) y en inhibición de microorganismos (actividad antimicrobiana).

Se confirmaron algunos mecanismos de reacción mediante el aislamiento y análisis espectroscópico de los productos, cuya estereoquímica sólo puede ser explicada mediante los intermediarios de reacción correspondientes. Por ejemplo, los derivados diastereoisoméricos obtenidos a partir de aminoácidos tales como alanina y prolina, vía la ciclización sobre el átomo de carbono de la imina correspondiente tanto por la cara pro-R como por la pro-S.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- L. Río de la Loza, Discurso pronunciado por el catedrático de Química Médica de la Escuela de Medicina (23 de Noviembre de 1852), en J. M. Noriega (Compilador), *Escritos de Leopoldo Río de la Loza*, Imprenta Escalante, México, 1911, pp. 94-100.
- 2.- M. C. Weld, Ueber die pipitzahoinsäure, einen eigenthümlichen pflanzenstoff, *Ann.*, **19**(1855) 188-192.
- 3.- E. N. Hiebert, The experimental basis of Kekule's Valence Theory, *J. Chem. Educ.*, **36**(7) (1959) 320-327.
- 4.- H. A. Vigenar, Allgemeine sitzung, Sitz. ber. niederrhein. Ges. Bonn, 86 (1884).
- 5.- F. Mylius, Ueber die pipitzahoinsäure, *Chem. Ber.*; **18**, 480 (1885); Ueber die pipitzahoinsäure oder das perezon, **18**, 936 (1885).
- 6.- R. Anschütz, Ueber die pipitzahoinsäure, *Chem. Ber.*; **18**, 709 (1885).
- 7.- R. Anschütz y W. Leather, Ueber einige derivate der pipitzahoinsäure, *Chem. Ber.*; **18**, 715 (1885), Ueber die pipitzahoinsäure, *Ann.*, **237**, 90(1887).
- 8.- J. Mc Connell Sanders, Pipitzoic acid, *Proc. Chem. Soc.*; **22**, 134 (1906).
- 9.- Fr. Fichter, M. Jetzer y R. Leepin, Ueber synthetische p-dialkylierte dioxychinone und über oxiperezon, *Ann.*; **395**(1) 1 (1913).
- 10.- F. G. P. Remfly, Perezone, *J. Chem. Soc.*; **103**, 1076 (1913).
- 11.- F. Kögl y A. G. Boer, Ueber die konstitution des perezons, *Rec. Trav. Chim.*; **54**(4), 779 (1935).
- 12.- D. Arigoni y O. Jeger, Ueber sesquiterpene und azulene. Ueber die absolute konfiguration des zingiberens, *Helv. Chim. Acta.*, **37**(3), 881 (1954).
- 13.- F. Walls, J. Padilla, P. Joseph-Natan, F. Giral and J. Romo, The structures of α y β -pipitzols, *Tetrahedron Lett.*, (21) 1577(1965).
- 14.- E. R. Wagner, R. D. Moss, R. M. Brooker, J. P. Heeschen, W. J. Potts and M. L. Dilling, A correction of the structure of perezone, *Tetrahedron Lett.*, (47) 4233 (1965); D. A. Archer and R. H. Thomson, The structure of perezone, *Chem. Commun.*, (15) 354 (1965); R. B. Bates, S. K. Paknicar and V. P. Thalacker, A 1,3-addition of hydroxyquinone: The structure of perezone, *Chem. and Ind.*, 1793 (1965); F. Walls, M. Salmón, J. Padilla, P. Joseph-Nathan and J. Romo, La estructura de la perezona, *Bol. Inst. Quím. Univ. Nat. Autón. Méx.* **17**(1) 3 (1965).
- 15.- V. D. Kelkar, B. M. Rawal, P. T. Kulkarni, *Ind. J. Pharm. Sci.*, Nov-Dic., 198, 1986.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

- 16.- Complejos Metálicos de Coordinación de la Perezona. R. G. Enríquez, J. de Gyves y A. Queré, *Congreso Nacional de Química Pura y Aplicada*. Tijuana, Baja California norte., 1978.
- 17.- I. Fleming, "*Frontier Orbitals and Organic Chemical Reactions*," New York; Wiley, 1976, pag. 92..
- 18.- P. Joseph-Nathan, L. U. Román, J. D. Hernández, Z. Taira, and W. H. Watson, *Tetrahedron*, **36**, 731,(1980).
- 19.- I. H. Sánchez, R. Yáñez, R. Enríquez, and P. Joseph-Nathan, *J. Org. Chem*; **46**, 2818 (1981).
- 20.- I. H. Sanchez, F. Basurto, P. Joseph-Nathan, *J. Nat. Prod.*, **47**, 382 (1984).
- 21.- J. Enrique Alducin Suárez, Tesis "Nuevos Derivados Sulfurados y Nitrogenados de Perezona". Departamento de Química Orgánica, Escuela de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Puebla. Febrero de 1994.
- 22.- A. Rodriguez-Hernández, H. Barrios, O. Collera, R. G. Enríquez, B. Ortiz, R. Sánchez-Obregón, F. Walls, F. Yuste, W. F. Reynolds and M. Yu., *Nat. Prod. Lett.*, **4**(2), 133 (1994).
- 23.- Altamirano F. La raíz de pipitzahoac ¿*Perezia Adnata*?. *Anales del Instituto Médico Nacional*, **VII**, 18 (1905).
- 24.- R. Enríquez, J. Ortega, and X. Lozoya, *J. Ethnopharmacol.*, **2**, 389 (1980).
- 25.- E. Gijón, X. García and G. Alcantara, *Abstr. Soc. Neurosciences*, Phoenix, Ar., November 2-6, 555 (1989).
- 26.- A. Cuellar, A. Cárabez and E. Chávez, *Life Sci.*, **41**, 2045 (1987).
- 27.- Godfraind T., Miller R., Wibo M., Calcium antagonism and calcium entryblockade, *Pharmacol. Rev.*, **38**, 321 (1986).
- 28.- García Mondragón, M. J; Campos A. E., Alcántara G., "Efectos Cardiovasculares de la Perezona"; VIII Congreso de Farmacología., Monterrey N. L. México. 1984, pp. 71.
- 29.- R. Bacigalupi, A Monograph of the Genus *Perezia*, Sección *Acourtia*, Contribución from the Gray Herbarium of Harvard University, XCVII, The Gray Herbarium of Harvard University, Cambridge, 1931, pp. 1-81.
- 30.- B. S. Vuilleumier, The Systematics and Evolution of *Perezia* Sect. *Perezia* (Compositae), in: R. C. Rollins and R. C. Forster (Eds), Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University, CXCIX, The Gray Herbarium of Harvard University, Cambridge, 1970, pp. 1-163.

- 31.- Takahashi, K. *J. Synth. Org. Chem. Jap.* **1986**, *44*, 806., Chu, K. Y; Griffiths J., *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1979**, *1*, 696., Kim, S. H; Matsuoka, M; Kitao, T. *Chem. Lett.* **1985**, 1351.
- 32.- Yamada, T; Yamashita, T; Nakamura, M; Shimamura, H; Takaya, M. *J. Pharm. Soc. Jap.* **1980**, *100*, 799., Zee-Cheng, R. K. Y; Mathew, A. E; Northcutt, R. V; Cheng, C. C; *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 1682., Sankawa, U; Otsuka, H; Kataoka, Y; Litaka, Y; Hoshi, A; Kuretani, K. *Chem and Pharm. Bull.* **1981**, *29*, 116., James, C. S. *Pest Sci.* **1981**, *72*, 1.
- 33.- Maruyama, K; Sehmiya, H; Tsukube, H; *Tetr. Lett.* **1985**, *26*, 3553., Fujita, S. *J. Synth. Org. Chem. Jap.* **1982**, *40*, 307., Horspool, W. M. *Photochemistry*, **1985**, *16*, 233.
- 34.- L. F. Fieser and R. B. Turner, *J. Amer. Chem. Soc.* **69**, 2335 (1947).
- 35.- Mori, K; Takahashi, K; Kishi, T; Sayo, H; *Chem. and Pharm. Bull.* **1987**, *35*, 1270.
- 36.- Suida, H; Suida, W. *Liebigs Ann. Chem.* **1918**, 416, 113.
- 37.- E. A. Cooper and R. B. Hainess, *Biochem. J.* **22**, 317 (1928), *ibid* **23**, 4 (1929).
- 38.- K. V. Rao, K. Biemann, R. B. Woodward, *J. Amer. Chem. Soc.* **85**, 2532 (1963).
- 39.- Thomson, R. H. *Naturally Occurring Quinones*, 2a. ed. Academic, New York, 1971.
- 40.- Brown, E. R; Finley, K. T; Reeves, R. L. *J. Org. Chem.* **1971**, *36*, 2849., Bittner, S, Krief, P. *Synthesis* **1990**, 350.
- 41.- *The Chemistry of Quinoid Compounds*. Patai, 5a. ed, Wiley, New York, 1974.
42. Morrison, M; Steele, W; Danner, *J. Arch. Biochem. Biophys.* **1969**, *134*, 515.
- 43.- Kallmayer, H. J; Tappe, Ch. *Arch. Pharm.* **1981**, *314*, 884., *ibid* **1985**, *318*, 569; *ibid* **1986**, *41*, 29; *ibid* **1986**, *319*, 607.
- 44.- Roushdi, I. M; Ibrahim, E. S. A.; Habib, N. S. *Pharmazie* **1976**, *31*, 856.
- 45.- L. F. Fieser, M. T, Leffler, *J. Amer. Chem. Soc.* **70**, 3151 (1948); L. F. Fieser, S. Archer, *J. Med. Chem*; **10**, 513 (1967), L. F. Fieser, M. G. Ettlinger, G. Fawaz, *J. Amer. Chem. Soc.* **70**, 3228 (1948).
- 46.- I. Shaaban and R. Soliman. *Pharmazie* **33**, 642 (1978), S. A. A Osman, A. A. Abdalla and M. O. Alaib. *J. Pharm. Sci.* **72**, 68 (1983).
- 47.- V. D. Kelkar, B. M. Rawal, P. T. Kulkarni and P.L. Kulkarni, *Ind. J. Pharm. Sci.* **198** (1986).
- 48.- Y. Ueno, Y. Takeuchi, J. Koshitani and T. Yoshida, *J. Heterocycl. Chem.*, **18**, 645 (1981)
- 49.- K. Fujii, *Japanese Patent* 5241 (1958) [CA **53**, 17156 (1959)].
- 50.- H. S. Lowrie, *U. S. Patent* **2**, 947, 744 (1960) [CA **55**, 583 (1961)].
- 51.- S. O. Winthrop and R. Gaudry, *U. S. Patent* **2**, 989, 528 (1961) [CA **56**, 4777 (1962)].

- 52.- J. Krapcho and H. L. Yale, *U. S. Patent* 3, 117, 124 (1964) [CA 60, 8048 (1964)].
- 53.- 36.- A. Mackie and J. Raeburn, *J. Chem. Soc.* 787 (1952); A. Mackie, G. M. Stewart, A. A. Cutler and A. L. Misra, *Br. J. Pharmacol. Chemother.*, **10**, 7 (1955); A. Mackie and G. M. Stewart, *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* **102**, 476 (1955). W. K. Hoya, *U. S. Patent* 3, 148, 188 (1964) [CA 61, 13324 (1964)]. H. Kano, S. Takahashi, Y. Ogawa, T. Yoshizaki, and T. Kitakaze, *Shionogi Kenkyusho Nempo* 11, 1(1961) [CA 56, 4749 (1962)]. R. N. Prasad, *J. Med. Chem.* **12**, 290 (1969). K. Irmscher, J. Kraemer, G. Cimbollek, D. Orth, H. H. Novwack, and K. O. Freisberg, *Ger. Offen.* 1, 809, 454 (1970) [CA 73, 66594 (1970)].
- 54.- J. W. Worley, *U. S. Patent* 3, 923, 709 (1975) [CA 84, 74279 (1976)].
- 55.- R. Tenaka, K. Taramura, and S. Yokoyama, *Japanese Patent* 41/5833 (1966)[CA 65, 9062 (1966)], J. B. Dickey, W. H. Strain, and R. A. Corbitt, *U. S. Patent* 2, 364, 347, (1944)[CA 39, 4233, (1945)].
- 56.- S. A. Waksman and H. B. Woodruff, *J. Bact.*, **44**, 373 (1942); N. P. Brazil, *Arch. Uruguay med. cirugía y especial Montevideo*, **25**, 627 (1944).
- 57.- T. L. Venable, W. C. Hutton and R. N. Grimes, *J. Am. Chem. Soc.* **106**(1)(1984)29-37.
- 58.- J. H. Noggle and R. E. Schirmer, *The Nuclear Overhauser Effect*, Academic Press, New York, 1971.
- 59.- L. Muller, Sensitivity enhanced detection of weak nuclei using heteronuclear multiple quantum coherence, *J. Am. Chem. Soc.*, **101** (1979)4481-4484
- 60.- A. Bax and S. Subramanian, Sensitivity enhanced two-dimensional heteronuclear shift correlation NMR spectroscopy, *J. Magn. Resonance*, **67**(1986) 565-569.
- 61.- H. Kogler, O. W. Sorensen, G. Bodenhausen and R. R. Ernst, Low-pass J-filters. Suppression of neighbour peaks in heteronuclear relayed correlation spectra, *J. Magn. Resonance*, **55**(1)(1983)157-163.
- 62.- Finley, K. T. *The Chemistry of the Quinoid Compounds*, Part 2, Patai, S (ed) John Wiley, New York, 1974, pp. 877.
- 63.- Crosby, H. A.; Lutz, E. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, **78**, 1233.
- 64.- Fieser, L. F., Gartwell, J. L., *J. Am. Chem. Soc.*, **1935**, **57**, 1482.
- 65.- Husu, B., Kafka, S. Kadunce, Z., Tisler, M. *Monat. Chem.* **1988**, **119**, 215.
- 66.- Podrebarac, E. G., Cheng, C. C., *J. Org. Chem.* **1970**, **35**, 281.
- 67.- Richter, H. J., Dessler, R. L. *J. Org. Chem.* **1962**, **27**, 4066.
- 68.- Dudley, K. M., Miller, J. W., Scheneider, P. W., Mckee, R. I. *J. Org. Chem.* **1969**, **34**, 1750.

69.- Raúl G. Enríquez, Benjamín Ortiz, Enrique Alducin, Fernando Walls, Dino Gnecco, William F. Reynolds and Margaret Yu, *Nat. Prod. Letters.*, **6**, 103-109 (1995).

70.- Luly, J. R., Rapoport, H., *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 2404.

71.- Zwan, V. M., Hartner, W. F., Reaner, A. R., Tull, R. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 509.

Libros Consultados:

Atta-ur-Rahman, *One and Two Dimensional NMR Spectroscopy*, ed. Elsevier. 1989.

Horst Friebolin, *Basic One-and Two-Dimensional NMR enlarged Spectroscopy*. 2nd edition, VCH.

Eberhard Breitmaier, Wolfgang Voelter, *Carbon -13 NMR Spectroscopy. High Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry*. 3th. edition, NEH