



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO.**

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS.

**SEMISÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL Y ANÁLISIS
CONFORMACIONAL DE COMPUESTOS POLIOXIGENADOS
DERIVADOS DE 6-ALQUENIL-5,6-DIHIDRO- α -PIRONAS DE
ORIGEN VEGETAL.**

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.F.B. FRANCISCO JAVIER JUÁREZ GONZÁLEZ



Tutor: Dr. Rogelio Pereda Miranda

Año: 2009



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.

JURADO ASIGNADO

| | |
|------------|---|
| Presidente | Dra. Rachel Mata Essayag |
| Vocal | Dr. Vladimir Basiuk Evdokimenko |
| Vocal | Dr. Francisco Miguel Castro Martínez |
| Vocal | Dr. Carlos Martín Cerda García Rojas |
| Secretario | Dr. Gabriel Eduardo Cuevas González-Bravo |

Sitio donde se desarrolló el tema:

Departamento de Farmacia, Laboratorio 123.

Facultad de Química.

Universidad Nacional Autónoma de México.

Asesor: Dr. Rogelio Gregorio Pereda Miranda.

Sustentante: Francisco Javier Juárez González.

AGRADECIMIENTOS

- Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada durante el período de Septiembre de 2007 – Agosto de 2009.
- Dirección General de Asuntos del Personal Académico, UNAM (IN 208307-3) por el financiamiento parcial de esta investigación.
- Dr. Carlos Martín Cerda García-Rojas del Departamento de Química del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional por la asistencia brindada en la determinación de los espectros de RMN.
- Q. Georgina Duarte de la USAI, Facultad de Química por el registro de los espectros de masas.
- Departamento de Supercómputo de la Dirección General de Servicios de Cómputo Académico de la UNAM por la asignación de recursos computacionales para realizar los estudios de modelado molecular.
- Miembros del jurado por sus observaciones que me permitieron la corrección del presente manuscrito.
- Dr. Rogelio Pereda Miranda por haberme permitido formar parte de su grupo de investigación, por su gran apoyo, disposición y dedicación en la dirección de la presente tesis.
- Dra. Mabel Clara Fragosó Serrano y a la M.en C. Berenice Corona Castañeda, por su apoyo y cooperación en la realización de la presente investigación.
- Dr. Fabian Harvey López Vallejo, por su valiosa asesoría durante la realización de los estudios de modelado molecular.
- Gracias a la Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, por mi formación profesional.

A mis padres, hermanas, sobrina, demás familia
y amigos por todo su apoyo.

ÍNDICE

| | |
|--|--------------------------------------|
| 1. RESUMEN..... | ; Error!Marcador no definido. |
| 2. ANTECEDENTES..... | ; Error!Marcador no definido. |
| 2.1. La importancia de los productos naturales..... | ; Error!Marcador no definido. |
| 2.2. Medicamentos anticancerígenos..... | ; Error!Marcador no definido. |
| 2.3. 5,6-Dihidro- α -pironas..... | ; Error!Marcador no definido. |
| 2.3.1. 6-Alquenil-5,6-dihidro- α -pironas encontradas en plantas...; | Error!Marcador no definido. |
| 2.3.2. Biosíntesis de las 5,6-dihidro- α -pironas..... | ; Error!Marcador no definido. |
| 2.4. Propiedades espectroscópicas y espectrométricas de las 5,6-dihidro- α -pironas. | ; Error!Marcador no definido. |
| 2.4.1. Espectroscopía de infrarrojo y ultravioleta..... | ; Error!Marcador no definido. |
| 2.4.2. Espectroscopía de RMN ^1H | ; Error!Marcador no definido. |
| 2.4.3. Espectroscopía de RMN ^{13}C | ; Error!Marcador no definido. |
| 2.5. Química computacional..... | ; Error!Marcador no definido. |
| 2.5.1. Análisis conformacional en moléculas flexibles.; | Error!Marcador no definido. |
| 3. JUSTIFICACIÓN..... | ; Error!Marcador no definido. |
| 4. HIPÓTESIS..... | ; Error!Marcador no definido. |
| 5. OBJETIVOS..... | ; Error!Marcador no definido. |
| 5.1. Objetivo general..... | ; Error!Marcador no definido. |
| 5.2. Objetivos específicos..... | ; Error!Marcador no definido. |
| 6. DESARROLLO EXPERIMENTAL..... | ; Error!Marcador no definido. |
| 6.1. Procedimientos generales..... | ; Error!Marcador no definido. |

| | |
|---|-------------------------------|
| 6.1.1. Cromatografía de líquidos de alta resolución..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| 6.1.2. Instrumental analítico..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| 6.2. Obtención de compuestos semisintéticos a partir de sinrotólida..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| 6.2.1. Acetilación parcial de la sinrotólida..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| 6.2.2. Oxidación del compuesto 4'-acetilsinrotólida..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| 6.2.3. Estudio de la conformación mediante modelado molecular y cálculo de las constantes de acoplamiento para los derivados semisintéticos 2-5.... | ¡Error! Marcador no definido. |
| 6.2.4. Ensayo de citotoxicidad. | ¡Error! Marcador no definido. |
| 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| 7.1. Modificaciones sintéticas de la sinrotólida. | ¡Error! Marcador no definido. |
| 7.1.1. Acetilación. | ¡Error! Marcador no definido. |
| 7.1.2. Resonancia Magnética Nuclear de los compuestos sintetizados. | ¡Error! Marcador no definido. |
| 7.1.3. Oxidación | ¡Error! Marcador no definido. |
| 7.1.4. Resonancia Magnética Nuclear del compuesto 5..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| 7.2. Análisis conformacional..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| 7.2.1. Análisis conformacional de los derivados semisintéticos de la sinrotólida. | ¡Error! Marcador no definido. |
| 7.3. Evaluaciones biológicas. | ¡Error! Marcador no definido. |
| 8. CONCLUSIONES | ¡Error! Marcador no definido. |
| 9. APÉNDICE | ¡Error! Marcador no definido. |

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS; **Error! Marcador no definido.**

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Sinrotólida..... ¡Error!Marcador no definido.
- Figura 2.** Vincristina y vinblastina. ¡Error!Marcador no definido.
- Figura 3.** Etopósido y tenopósido..... ¡Error!Marcador no definido.
- Figura 4.** Paclitaxel..... ¡Error!Marcador no definido.
- Figura 5.** Discodermólido..... ¡Error!Marcador no definido.
- Figura 6.** Pironetina..... ¡Error!Marcador no definido.
- Figura 7.** Anillo de δ -lactona $-\alpha,\beta$ -insaturado..... ¡Error!Marcador no definido.
- Figura 8.** Umuravumbólida y desacetilmuravumbólida..... ¡Error!Marcador no definido.
- Figura 9.** Hiptólida..... ¡Error!Marcador no definido.
- Figura 10.** Espicigerólida..... ¡Error!Marcador no definido.
- Figura 11.** Anamarina..... ¡Error!Marcador no definido.
- Figura 12.** Hipurticina..... ¡Error!Marcador no definido.
- Figura 13.** Ácido parasórbico..... ¡Error!Marcador no definido.
- Figura 14.** Aspirona..... ¡Error!Marcador no definido.
- Figura 15.** La incorporación de ^{13}C -acetato en la biosíntesis de la aspirona.¡Error!Marcador no defin
- Figura 16.** Psitolina..... ¡Error!Marcador no definido.
- Figura 17.** Biosíntesis de psitolina a partir de fenilalanina. ¡Error!Marcador no definido.
- Figura 18.** Incorporación de precursores marcados con ^{13}C en la biosíntesis de pironetina..... ¡Error!Marcador no definido.
- Figura 19.** 5,6-Dihidro- α -pironas sustituidas en C_6 ¡Error!Marcador no definido.
- Figura 20.** Desplazamientos químicos y multiplicidad característica para el protón H_4 del núcleo de la 5,6-dihidro- α -pirona. ¡Error!Marcador no definido.

-
- Figura 21.** Multiplicidad observada para el núcleo H₆ de la 5,6-dihidro- α -pirona. **¡Error! Marcador no**
- Figura 22.** Secuencia sintética para obtener los derivados **2-5** de la sinrotólida. **¡Error! Marcador no de**
- Figura 23.** Giro de los grupos acetato de los enlaces C₃'-C₄', C₄'-C₅' y C₅'-C₆' en tres diferentes posiciones: +60° (A), +180° (B) y -60° (C). **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 24.** Cromatograma generado mediante CLAR de la mezcla de la reacción obtenida durante la acetilación parcial de la sinrotólida (1). **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 25.** Espectro de RMN ¹H de la 4'-acetilsinrotólida (2). **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 26.** Espectro de RMN ¹H de la 5'-acetilsinrotólida (4). **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 27.** Espectro de RMN ¹H de la peracetilsinrotólida (3). **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 28.** Espectro de RMN ¹³C de la 4'-acetilsinrotólida (2). **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 29.** Espectro de RMN ¹³C de la 5'-acetilsinrotólida (4). **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 30.** Espectro de RMN ¹³C de la peracetilsinrotólida (3). **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 31.** Espectro bidimensional ¹H-¹H COSY de la 4'-acetilsinrotólida (2). **¡Error! Marcador no de**
- Figura 32.** Espectro bidimensional ¹H-¹H COSY de la 5'-acetilsinrotólida (4). **¡Error! Marcador no de**
- Figura 33.** Espectro bidimensional ¹H-¹H COSY de la peracetilsinrotólida (3). **¡Error! Marcador no de**
- Figura 34.** Cromatograma generado mediante CLAR de la mezcla de la reacción obtenida de la oxidación de 4'-acetilsinrotólida (2). **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 35.** Espectro de RMN ¹H de la 4'-acetil-5'-oxosinrotólida (5). **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 36.** Espectro bidimensional ¹H-¹H COSY de la 4'-acetil-5'-oxosinrotólida. **¡Error! Marcador no**
- Figura 37.** Espectro de RMN ¹³C de la 4'-acetil-5'-oxosinrotólida (5). **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 38.** Comparación del error medio cuadrático para peracetilsinrotólida, 4'-acetilsinrotólida, 5'-acetilsinrotólida y 4'-acetil-5'-oxosinrotólida con diferentes niveles de teoría. **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 39. Comparación entre las constantes de acoplamiento calculadas con DFT

y experimentales para los derivados semisintéticos de la sinrotólida. **Error! Marcador no d**

Figura 40. Confórmeros de mínima energía para la peracetilsinrotólida (3). **Error! Marcador no defin**

Figura 41. Confórmeros de mínima energía para la 5'-acetilsinrotólida (4). **Error! Marcador no defin**

Figura 42. Confórmeros de mínima energía para la 4'-acetilsinrotólida (2). **Error! Marcador no defin**

Figura 43. Confórmeros de mínima energía para la 4'-acetil-5'-oxosinrotólida (5). **Error! Marcador n**

LISTA DE CUADROS

- Cuadro 1.** Desplazamientos químicos en la RMN ^1H para los compuestos **2-5**; **Error! Marcador no definido.**
- Cuadro 2.** Desplazamientos químicos en la RMN ^{13}C para los compuestos **2-5**; **Error! Marcador no definido.**
- Cuadro 3.** Comparación entre las constantes $J_{\text{H-H}}$ vecinales calculadas y experimentales de la peracetilsinrotólida a nivel de mecánica molecular y criterio estadístico RMSD..... **Error! Marcador no definido.**
- Cuadro 4.** Comparación entre las constantes $J_{\text{H-H}}$ vecinales calculadas y experimentales de la peracetilsinrotólida a nivel semi-empírico AM1 y criterio estadístico RMSD **Error! Marcador no definido.**
- Cuadro 5.** Comparación entre las constantes $J_{\text{H-H}}$ vecinales teóricas y experimentales de la peracetilsinrotólida a nivel de DFT y criterio estadístico RMSD **Error! Marcador no definido.**
- Cuadro 6.** Conformaciones de mínima energía y enlaces de hidrógeno para la peracetilsinrotólida **Error! Marcador no definido.**
- Cuadro 7.** Comparación entre las constantes $J_{\text{H-H}}$ vecinales teóricas y experimentales de la 5'-acetilsinrotólida a nivel de DFT y criterio estadístico RMSD **Error! Marcador no definido.**
- Cuadro 8.** Conformaciones de mínima energía y enlaces de hidrógeno para 5'-acetilsinrotólida..... **Error! Marcador no definido.**
- Cuadro 9.** Comparación entre las constantes $J_{\text{H-H}}$ vecinales teóricas y experimentales de la 4'-acetilsinrotólida a nivel de DFT y criterio estadístico RMSD **Error! Marcador no definido.**

-
-
- Cuadro 10.** Conformaciones de mínima energía y enlaces de hidrógeno para 4'-acetilsinrotólida..... **¡Error!Marcador no definido.**
- Cuadro 11.** Comparación entre las constantes J_{H-H} vecinales teóricas y experimentales de la 4'-acetil-5'-oxosinrotólida a nivel de DFT y criterio estadístico RMSD..... **¡Error!Marcador no definido.**
- Cuadro 12.** Conformaciones de mínima energía y enlaces de hidrógeno para 4'acetil-5'-oxosinrotólida **¡Error!Marcador no definido.**
- Cuadro 13.** Citotoxicidad de los compuestos 1-5..... **¡Error!Marcador no definido.**

LISTA DE ABREVIATURAS

| Abreviatura | Significado |
|---------------------|---|
| AM1 | Austin Model 1 |
| COSY | Correlation Spectroscopy. |
| δ | Desplazamiento químico. |
| d | Doblete. |
| dd | Doble de doble. |
| ddd | Doble de doble de doble. |
| DFT | Density Functional Theory. |
| FAB | Fast Atom Bombardment. |
| CLAR | Cromatografía Líquida de Alta Resolución. |
| Hz | Hertz. |
| <i>J</i> | Constante de acoplamiento. |
| <i>m/z</i> | Relación masa carga. |
| MMFF | Molecular Mechanics Force Field. |
| MeOH | Metanol. |
| p.f. | Punto de fusión. |
| ppm | Partes por millón. |
| Q.P. | Químicamente puro. |
| R.A. | Reactivo analítico. |
| RMN | Resonancia Magnética Nuclear. |
| RMN ¹³ C | Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13. |
| RMN ¹ H | Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno. |
| t | Triplete. |
| t _R | Tiempo de retención. |
| RMSD | Root Mean Square Deviation. |

1. RESUMEN

A través de los tiempos los productos naturales han tenido un gran éxito en nuestra sociedad pues han reducido el dolor, el sufrimiento y la enfermedad, revolucionado también a la medicina actual. Los productos naturales, en primer lugar, proporcionan un número elevado de fármacos extremadamente útiles que son difíciles de producir comercialmente por síntesis y, en segundo lugar, pueden proporcionar compuestos susceptibles de modificación para convertirse en fármacos más efectivos o menos tóxicos (Cragg *et al.*, 1997).

Las cadenas polioxigenadas se encuentran en una gran diversidad de sustancias bioactivas de origen natural. Estas sustancias y varios derivados han sido objeto de investigación por su amplia diversidad estructural y mecanismos de acción. Dentro de los policétidos con cadenas lineales polioxigenadas encontramos las 5,6-dihidro- α -pironas que se distribuyen ampliamente en la naturaleza, particularmente en plantas, hongos y bacterias. Muchos de estos compuestos son biológicamente activos, exhibiendo fitotoxicidad y citotoxicidad contra diferentes líneas de células tumorales, o actividad antimicrobiana.

Tomando como antecedente la actividad biológica de las 5,6-dihidro- α -pironas sustituidas en C₆, resulta de interés el aislamiento, la caracterización y la síntesis de estos compuestos. Así, el objetivo de esta disertación consistió en la obtención de 5,6-dihidro- α -pironas semisintéticas a través de una secuencia de reacciones utilizando como materia prima a la sinrotólida (**Figura 1**; Davies-Coleman y Rivett, 1987). También, contempló la purificación por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) y la caracterización de la estructura molecular de los compuestos obtenidos, mediante la aplicación de técnicas espectroscópicas y espectrométricas. Por otra parte, se realizó un análisis conformacional por métodos computacionales de los compuestos obtenidos ya que no se ha explorado de manera suficiente el comportamiento de moléculas flexibles como los productos naturales que se describen en el presente trabajo. Estos análisis computacionales permiten entender, en una mejor medida, la relación entre la estructura tridimensional y la actividad biológica

de los principios biodinámicos, además de representar un punto esencial de partida para la comprensión del mecanismo de acción. Por último, se realizaron ensayos de citotoxicidad para establecer el potencial de los compuestos en estudio.

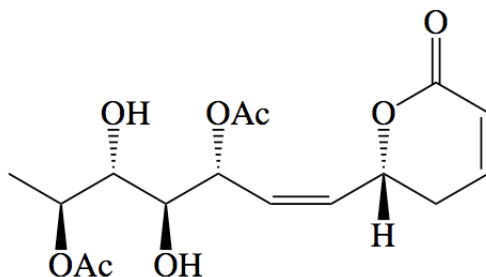


Figura 1. Sinrotólida.

2. ANTECEDENTES

2.1. La importancia de los productos naturales.

El uso de plantas para tratar enfermedades y dolencias, ha sido una característica antropológica del ser humano que es tan antigua como la existencia del mismo. El estudio adecuado y conocimiento de las drogas vegetales es seguramente una de las ciencias más antiguas (Zhang y Arnol, 2005). El estudio de las plantas fue uno de los primeros que el hombre desarrolló debido a la necesidad de conocer adecuadamente las propiedades de las plantas comestibles, tóxicas y medicinales que crecían cerca de su lugar de vivienda. Este estudio comienza con el uso de drogas vegetales por el hombre primitivo para protegerse de enfermedades, lo cual constituye un enorme bagaje de información, que en parte ha sido clasificada de forma más oficial en las farmacopeas locales, pero que coexiste con la sabiduría popular que aún se transmite de forma oral (Zhang y Arnol, 2005).

Así, a través de los tiempos los productos naturales han tenido un gran éxito en nuestra sociedad pues han reducido el dolor, el sufrimiento y la enfermedad, revolucionado así también a la medicina actual. Dentro de los productos naturales encontramos a los agentes antibióticos y anticancerígenos de mayor importancia. Más del 60 % de los medicamentos en proceso de ser aprobados y los ya aprobados, contienen principios activos provenientes de productos naturales o relacionados con ellos (Cragg *et al.*, 1997).

Muchos productos naturales han alcanzado su comercialización sin la necesidad de hacer modificaciones químicas en su estructura, tal es el caso de muchos antibióticos como la penicilina G, tetraciclina, eritromicinas A, B y C, así como la digitoxina. De hecho, el potencial para comercializar un compuesto sin modificaciones químicas distingue a los productos naturales como una gran fuente de compuestos con diversidad química, muchos ya conocidos y muchos más aun por ser descubiertos. En otros casos, la molécula extraída del producto natural no llega a utilizarse como tal, pero sirve como prototipo para su modificación mediante métodos químicos o genéticos. En estos casos, el producto natural

presenta la estructura química base responsable de la actividad biológica o farmacóforo, que puede ser modificado vía “semisíntesis” para producir fármacos con propiedades mejoradas (Verdine, 1996).

El metabolismo secundario está involucrado con la naturaleza de las respuestas a las necesidades y los retos del ambiente que rodea al organismo productor. La naturaleza ha llevado a cabo constantemente su propia combinación química desde hace 3 billones de años cuando las bacterias aparecieron sobre la tierra. Desde esos tiempos, ha existido un proceso de evolución con respecto a la producción de metabolitos secundarios. Si los metabolitos producidos son de utilidad para el organismo, los genes responsables de su biosíntesis se conservan. La síntesis química practicada por la naturaleza es mucho más compleja que la realizada en cualquier laboratorio moderno, creando complejas estructuras de estereoquímica compleja, y grupos funcionales reactivos (Verdine, 1996). Como resultado, una gran cantidad y variedad de productos han sido encontrados en la naturaleza. El número total de productos naturales encontrados en plantas ha sido estimado en 500,000 (Mendelson y Balick, 1995). De los cuales 160,000 productos naturales han sido identificados (Henkel *et al.*, 1999), la cifra aumenta alrededor de 10,000 productos naturales identificados por año (Henkel *et al.*, 1999). Alrededor de 100,000 metabolitos secundarios de pesos moleculares menores a 2500 g/mol han sido caracterizados, la mitad de ellos obtenidos de microorganismos y la otra mitad de plantas (Berdy, 1995).

En la última década, las grandes compañías farmacéuticas enfatizaron la química combinatoria, dejando a un lado los productos naturales y minimizando su importancia, al producir grandes cantidades de compuestos sintéticos. Desafortunadamente, la química empleada actualmente no llega a crear la diversidad suficiente de moléculas farmacológicamente activas. Pero por fortuna, algunas compañías están concientes de este hecho y han retomado y revitalizado el interés en los productos naturales (como la producción biotecnológica del taxol) (Expósito *et al.*, 2009). Los productos naturales desempeñan un papel significativo en la medicina moderna. En primer lugar proporcionan un número elevado de fármacos extremadamente útiles que son difíciles, si no imposible, de producir comercialmente por síntesis. En segundo lugar, pueden proporcionar

compuestos susceptibles de modificación para convertirse en fármacos más efectivos y/o menos tóxicos. El tercer papel consiste en que algunos productos naturales, que poseen escasa o nula actividad, son susceptibles de ser modificados por métodos químicos o biológicos para producir fármacos potentes que no se obtienen fácilmente por otros medios, como los opioides: folcodina, dihidrocodeína, apomorfina, etc. (Zhang y Arnol, 2005).

2.2. Medicamentos anticancerígenos.

En el año 2000, el 57 % de todos los medicamentos utilizados en estudios clínicos para el desarrollo de anticancerígenos eran productos naturales o compuestos relacionados con ellos (Parkin, 2000). En cuanto a los compuestos anticancerígenos obtenidos del reino vegetal cabe mencionar a los primeros agentes en avanzar al uso clínico, los alcaloides de la vinca, vinblastina y vincristina (Oncovin®) (**Figura 2**), aisladas de la pervinca de Madagascar, *Catharanthus roseus* (Sinkora *et al.*, 1999). Ambos agentes anticancerígenos están constituidos por dos alcaloides que por separado no tienen actividad citotóxica, pero químicamente combinados, interactúan con la tubulina, impidiendo la formación de los microtúbulos en la fase M del ciclo celular (Figg y McLeod, 2004).

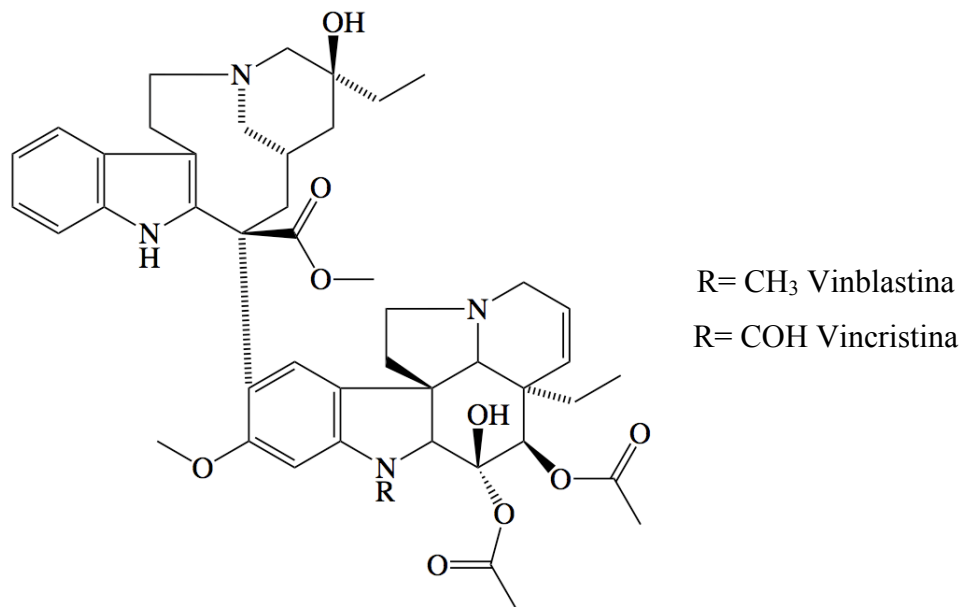


Figura 2. Vincristina y vinblastina.

La podofilotoxina es un agente antitumoral aislado de las raíces de varias especies del género *Podophyllum*. El compuesto resultó ser muy tóxico por lo que se recurrió a la semisíntesis para su modificación, dando como resultado dos agentes aprobados clínicamente, etopósido (Eposin®, Etopophos®, Vepesid®, VP-16®) y tenopósido (Vumon®, VM-26) (**Figura 3**) (Sinkora *et al.*, 1999). Estos compuestos bloquean el ciclo celular en dos puntos en específico: bloquean la fase entre la última división y el comienzo de la replicación del ADN (la fase G1) y también bloquean la replicación del ADN (en la fase S) al interactuar este compuesto con la topoisomerasa tipo II (Figg y McLeod, 2004).

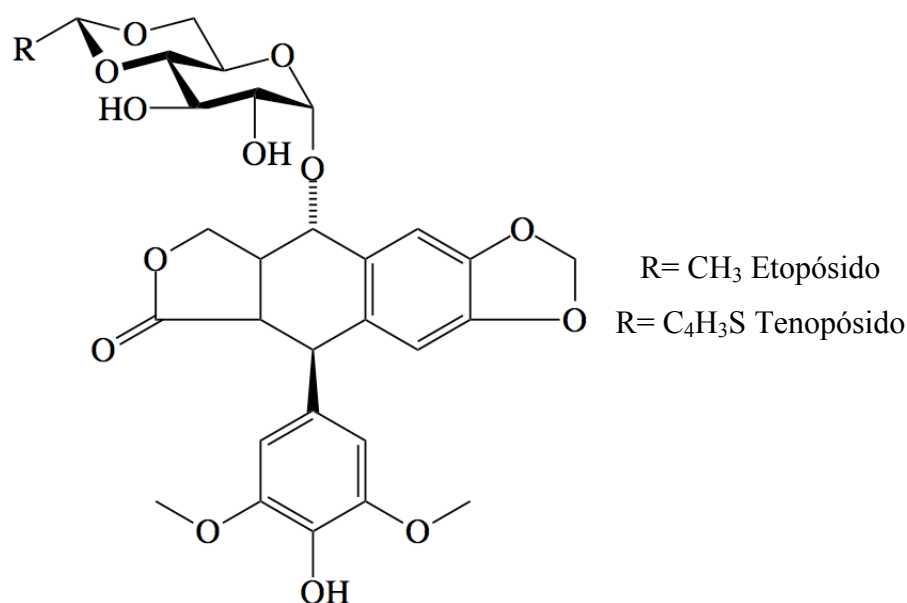


Figura 3. Etopósido y tenopósido.

Una molécula exitosa derivada del reino vegetal, utilizada como agente quimioterapéutico es el Taxol® (**Figura 4**) (nombre genérico Paclitaxel) que fue aislado en un inicio de la corteza de *Taxus brevifolia* (Sinkora *et al.*, 1999).

El Paclitaxel (**Figura 4**) fue un gran descubrimiento con respecto a su mecanismo de acción en el tratamiento contra el cáncer. Es el primer compuesto identificado que causa la estabilización de los microtúbulos de la célula en mitosis. Como resultado de tal estabilización la célula detiene la división celular y se desencadena la muerte celular programada (apoptosis) (Hanahan y Weinberg, 2000).

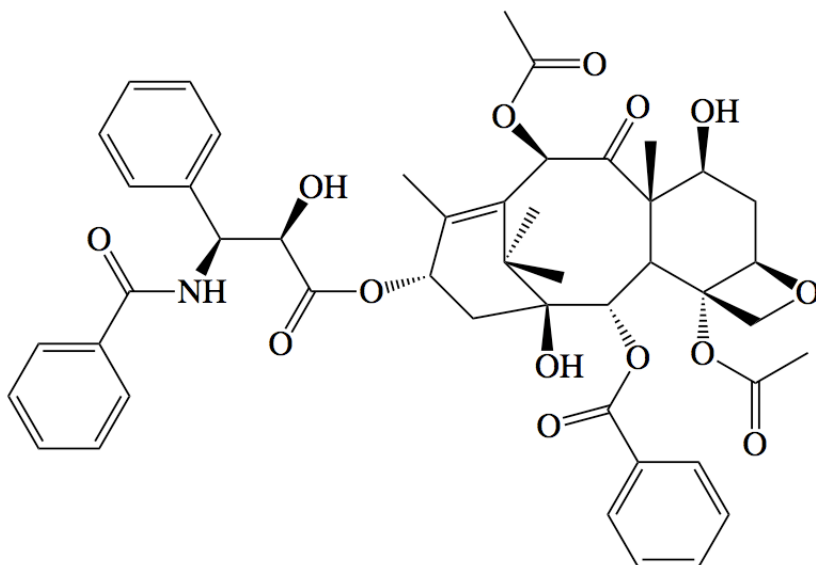


Figura 4. Paclitaxel.

El discodermólido (**Figura 5**) que se encuentra en estudios de fase clínica I, es un compuesto con actividad antitumoral potente que se obtiene de la esponja marina *Discodermia dissoluta* (Gunasekera, 1991). Este compuesto y algunos derivados han sido objeto de estudios exhaustivos, pues se sabe que el mecanismo de acción de estos compuestos está relacionado con la polimerización microtubular de forma similar al mecanismo del taxol. Un estudio comparativo reveló que el discodermólido resultó ser varias veces más potente que el taxol en el incremento de la supervivencia de ratones con leucemia (ter Haar *et al.*, 1996).

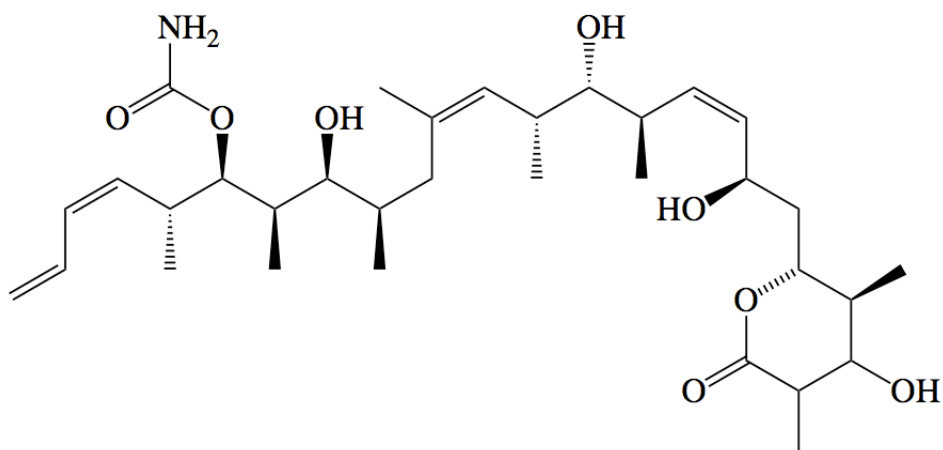


Figura 5. Discodermólido.

La pironetina (**Figura 6**) es un compuesto con potente actividad antitumoral aislado del caldo de cultivo de *Streptomyces sp.* De este compuesto se ha llegado a establecer su biosíntesis (Shinichi *et al.*, 1995) al igual que el mecanismo de acción. Se ha determinado que el mecanismo de acción para la pironetina procede a través de una adición tipo Michael en la subunidad α del dímero de tubulina. Esta adición se da entre el nitrógeno terminal de la lisina-352 con el doble enlace del sistema α, β -insaturado, mientras que la cadena lateral establece interacciones con los grupos funcionales de los aminoácidos aledaños (asparagina-258) al sitio de acción (Usui, 2007).

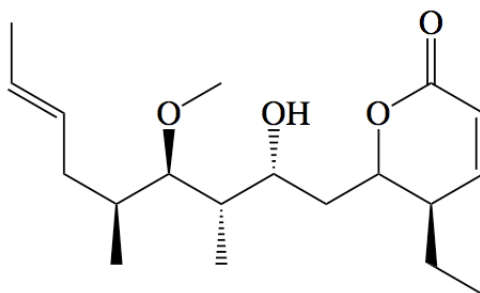


Figura 6. Pironetina.

La pironetina ha llegado a la fase clínica II y se estima que esta molécula podría presentar cierta toxicidad asociada al sistema α, β -insaturado ya que tiene la capacidad de generar uniones irreversibles (Usui *et al.*, 2004). Este inconveniente ha ocasionado que diferentes grupos de investigación inicien la búsqueda de nuevos análogos.

Un gran número de agentes obtenidos de plantas, siguen aún en diferentes niveles de ensayos clínicos. Algunos están siendo investigados como agentes citotóxicos directos, en tanto que otros están siendo estudiados desde el punto de vista de su potencial como inhibidores particulares de algunas enzimas, proteínas o vías del ciclo celular (Zhang y Arnol, 2005).

2.3. 5,6-Dihidro- α -pironas.

Las 5,6-dihidro- α -pironas, se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, particularmente en plantas, hongos y bacterias. Poseen un anillo de δ -lactona- α,β -insaturado (**Figura 7**) con un grupo sustituyente alquilo, alquenilo o arilo en el C₆ y en algunos compuestos presentan sustituciones alrededor del anillo. Muchos de estos compuestos son biológicamente activos, exhibiendo fitotoxicidad, citotoxicidad contra diferentes líneas de células tumorales o actividad antimicrobiana (Mollet *et al.*, 1998). Las propiedades de estos compuestos se encuentran asociadas al poder alquilante del núcleo de la δ -lactona- α,β -insaturada (Pereda-Miranda, 1995) y que representa una unidad estructural análoga al grupo farmacofórico de la pironetina.

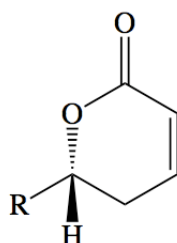


Figura 7. Anillo de δ -lactona α,β -insaturado.

2.3.1. 6-Alquenil-5,6-dihidro- α -pironas encontradas en plantas.

Las cadenas polioxigenadas se encuentran en una gran diversidad de sustancias bioactivas de origen natural. Estas sustancias y varios derivados han sido objeto de investigación por su amplia diversidad estructural y mecanismos de acción.

Dentro de los policétidos con cadenas lineales polioxigenadas encontramos a las 5,6-dihidro- α -pironas sustituidas en C₆ que están ampliamente distribuidas en el reino vegetal, pero se encuentran particularmente asociadas con las familias *Annonaceae*, *Piperaceae*, *Lamiaceae* y *Lauraceae*. Estos compuestos se han encontrado en todas las partes de la planta incluyendo hojas, tallos, flores y frutos. Las familias vegetales antes

mencionadas no son las únicas fuentes para la obtención de las 6-alquenil-5,6-dihidro- α -pironas pues se han encontrado estos compuestos en otras familias vegetales y también están ampliamente distribuidas en hongos (Davies-Coleman y Rivett, 1989; Collett *et al.*, 1998). En los últimos años se han estado diseñando rutas de síntesis para producir estos compuestos con mejores rendimientos (Bluet *et al.*, 2006).

De la familia *Lamiaceae* se han aislado 29 compuestos que tienen una cadena lateral con diferentes grados de oxigenación unida a la lactona insaturada. Los compuestos encontrados en esta familia han demostrado tener propiedades farmacológicas importantes como citotoxicidad en células tumorales humanas, así como actividad antimicrobiana y antifúngica.

- **Umuravumbólida y desacetilmuravumbólida:**

Estos compuestos (**Figura 8**) son algunos de los más simples de la serie y fueron aislados de *Tetradenia riparia*, (*Lamiaceae*) encontrada en el centro y sur de África. Aunque aun no se han estudiado sus efectos biológicos, se ha sugerido que poseen efectos similares a los demostrados por otras α -pironas (Van Puyvelde *et al.*, 1979). En 2001, se realizó la primera síntesis de enantiómeros puros de la umuravumbólida y la desacetilmuravumbólida. De esta forma, se confirmó su estructura y configuración (Venkat Ram *et al.*, 2001).

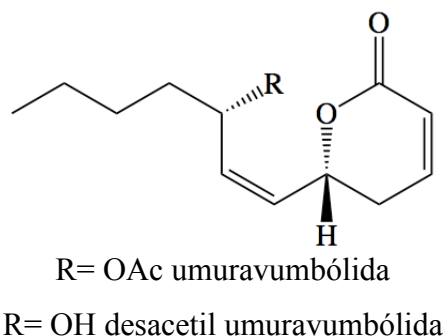


Figura 8. Umuravumbólida y desacetilmuravumbólida.

- **Hiptólida:**

Fue la primera 6-alquenil-5,6-dihidro- α -pirona aislada de la familia de las labiadas de *Hyptis pectinata*, aún cuando el compuesto (**Figura 9**) se había obtenido desde 1920, fue hasta los años sesenta que se describió su estructura correcta y sólo hasta el final de la década de los ochenta se estableció su configuración absoluta (Achmad *et al.*, 1987). Recientemente, se reportó la primera síntesis estereoselectiva de este compuesto. El análisis retrosintético determinó a 3,6-deoxi-L-aldosa como análogo de la cadena lateral, de igual forma se pudieron establecer los pasos de la síntesis total de la hiptólida que se desarrolló a partir de (*S*)-lactoaldehído como material de inicio (García-Fortanet *et al.*, 2004). Este compuesto es un buen candidato de estudio por la capacidad encontrada de inhibir el crecimiento sin causar la muerte celular (Mendoza-Espinoza, 2008).

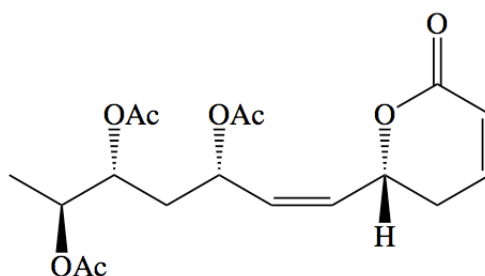


Figura 9. Hiptólida.

- **Espicigerólida:**

Este compuesto (**Figura 10**) se aisló como el principio antimicrobiano y citotóxico de las partes aéreas de *Hyptis spicigera* que se encuentra extensamente distribuida a través de los trópicos de ambos hemisferios. Esta especie se conoce en México como la hierba del burro y se utiliza ampliamente en la medicina tradicional mexicana (Fragoso-Serrano, 2000).

En 2003 se describió la síntesis estereoselectiva de esta lactona citotóxica y de tres isómeros, de los cuales dos resultaron tener actividad citotóxica en células de carcinoma cervicouterino y carcinoma nasofaríngeo. El análisis de retrosíntesis sugirió un azúcar

como material de inicio, la L-ramnosa que coincide con la quiralidad de la cadena lateral de esta lactona (Falomir *et al.*, 2003).

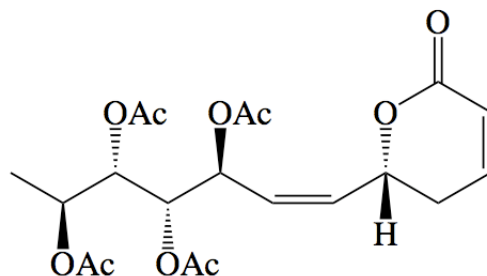


Figura 10. Espicigerólida.

- **Anamarina:**

La anamarina (**Figura 11**) fue aislada de las hojas y flores de una especie no identificada del género *Hyptis* (Alemany *et al.*, 1979). Se han realizado diferentes investigaciones conducentes a su síntesis total y parcial. En 2004, se describió una síntesis estereoselectiva de la anamarina, diseñada con base en un análisis de restosíntesis que mostró a la 6-Deoxi-L-glucosa como análogo de la cadena lateral. Para la síntesis total se utilizó L-Eritrulosa y (*S*)-lactoaldehído como materiales de partida (Díaz-Oltra *et al.*, 2004).

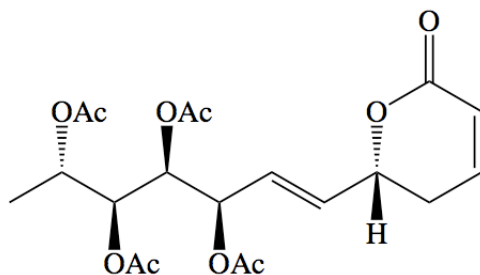


Figura 11. Anamarina.

- **Hipurtricina:**

La hipurtricina (**Figura 12**) fue aislada de *Hyptis urticoides*, (Romo de Vivar *et al.*, 1991). En estudios posteriores se corrigió y verificó la estructura inicialmente propuesta mediante métodos de modelado molecular, simulación espectral y la síntesis de compuestos con cadenas análogas. De esta forma, se logró establecer la conectividad y la

estereoquímica de todos los centros quirales (Mendoza-Espinoza *et al.*, 2009). Debido a su similitud estructural con la pironetina y las otras 5,6-dihidro- α -pironas citotóxicas de la misma familia podría presentar una actividad alquilante relevante.

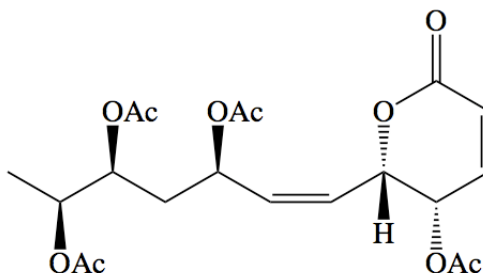


Figura 12. Hipurticina.

- **Sinrotólida:**

Aislada de la hojas de *Syncolostemon rotundifolius*, existe poca información con respecto a este compuesto (**Figura 1**), actualmente se conoce que su estructura se estableció a través de experimentos de doble resonancia, mientras que la estereoquímica relativa de todos sus centros quirales y la conformación *cis* del doble enlace se basó en el análisis cristalográfico de rayos X (Davies-Coleman y Rivett, 1987).

La hiptólida (**Figura 9**), la espicigerólida (**Figura 10**), la anamarina (**Figura 11**) y la hipurticina (**Figura 12**) son algunas de las 6-allyl-5,6-dihidro- α -pironas aisladas de especies pertenecientes a la familia *Lamiaceae*, en particular de varias plantas del género *Hyptis*, que constituyen una opción importante para realizar una exploración de su comportamiento conformacional debido a que algunas han mostrado actividad citotóxica frente a líneas celulares derivadas de tumores humanos.

2.3.2. Biosíntesis de las 5,6-dihidro- α -pironas.

Los primeros reportes de biosíntesis de 5,6-dihidro- α -pironas incluyen: el ácido parasorbico, la aspirona, la psitolina y la pironetina.

La primera investigación sobre la biosíntesis de una 5,6-dihidro- α -pirona C_6 sustituida, fue realizada en *Sorbus acuparia L.* en la formación del ácido parasórbico (**Figura 13**). La estructura de este compuesto muestra que la L-ramnosa es un posible precursor y se sugiere que la ruta biosintética principal es la vía del acetato malonato, ya que se observó que al utilizar (1- ^{14}C) y (2- ^{14}C)-acetato, así como (1- ^{14}C) malonato de sodio, hay una alta incorporación isotópica en C_1 , C_2 y C_6 (Crombie y Firth, 1968).

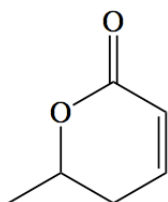


Figura 13. Ácido parasórbico.

Se han realizado investigaciones biosintéticas exhaustivas con la aspirona (**Figura 14**) aislada del hongo *Aspergillus melleus*, encontrándose que ésta ocurre a través de un rearrreglo de tipo Favorskii de una cadena lineal de policetona (**Figura 15**). Al utilizar como precursor acetato marcado doblemente con ^{13}C , se logró establecer que la aspirona proviene de tres unidades intactas de acetato y tres carbonos provenientes del rompimiento de unidades de acetato, además de que el enlace entre los C_3 y C_7 se forma por dos unidades de acetato enlazadas cabeza-cabeza.

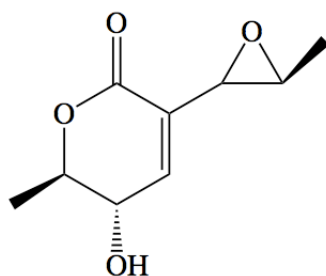


Figura 14. Aspirona

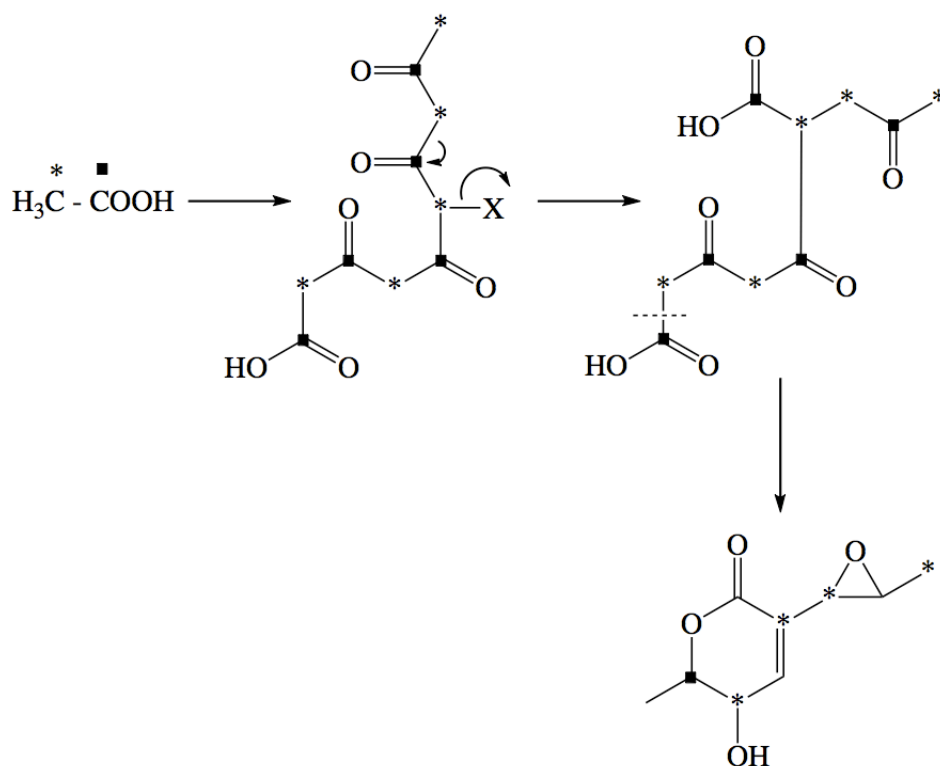


Figura 15. La incorporación de ^{13}C -acetato en la biosíntesis de la aspirina.

La fenilalanina es el precursor biosintético de la psitolina (**Figura 16**), aislada de *Psitlotum nudum*. La ruta fue propuesta mediante los estudios de incorporación isotópica con R,S -[2',3'- $^{14}\text{C}_2$] y S -[1'- ^{14}C]-fenilalanina (**Figura 17**), la extensión de la cadena lateral se lleva a cabo por la adición de una unidad de acetato como malonil CoA (Davies-Coleman y Rivett, 1989). Sin embargo, no se han realizado estudios sobre la biosíntesis de las 5,6-dihidro- α -pironas de las labiadas, pero se puede postular que provienen de carbohidratos (Davies-Coleman y Rivett, 1989).

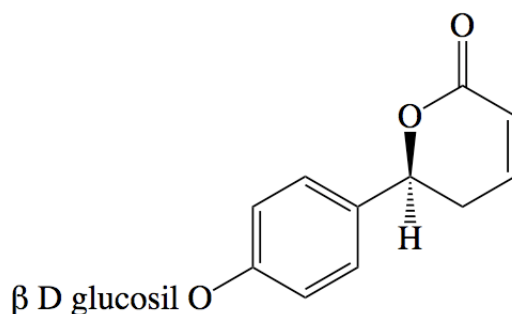


Figura 16. Psitolina.

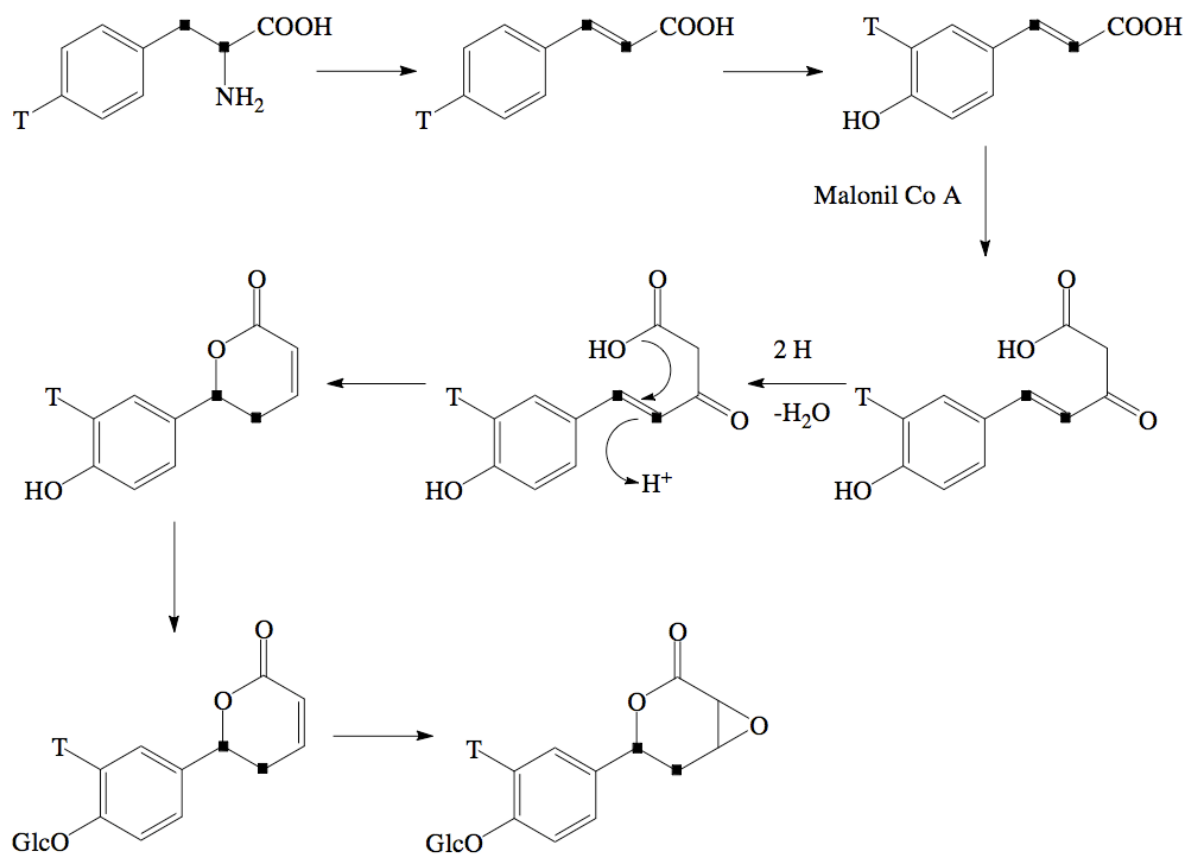


Figura 17. Biosíntesis de psitolina a partir de fenilalanina.

Finalmente, se describió el experimento de incorporación isotópica de precursores marcados con ^{13}C y el origen biosintético de los átomos de carbono en la pironetina. La ruta propuesta muestra la formación de una cadena policetida lineal de 14 carbonos (**Figura 18**). Se concluyó que la pironetina deriva de cuatro unidades de acetato, dos unidades de propionato, una unidad de butirato y una unidad de metilo proveniente de la metionina (Shinichi *et al.*, 1995).

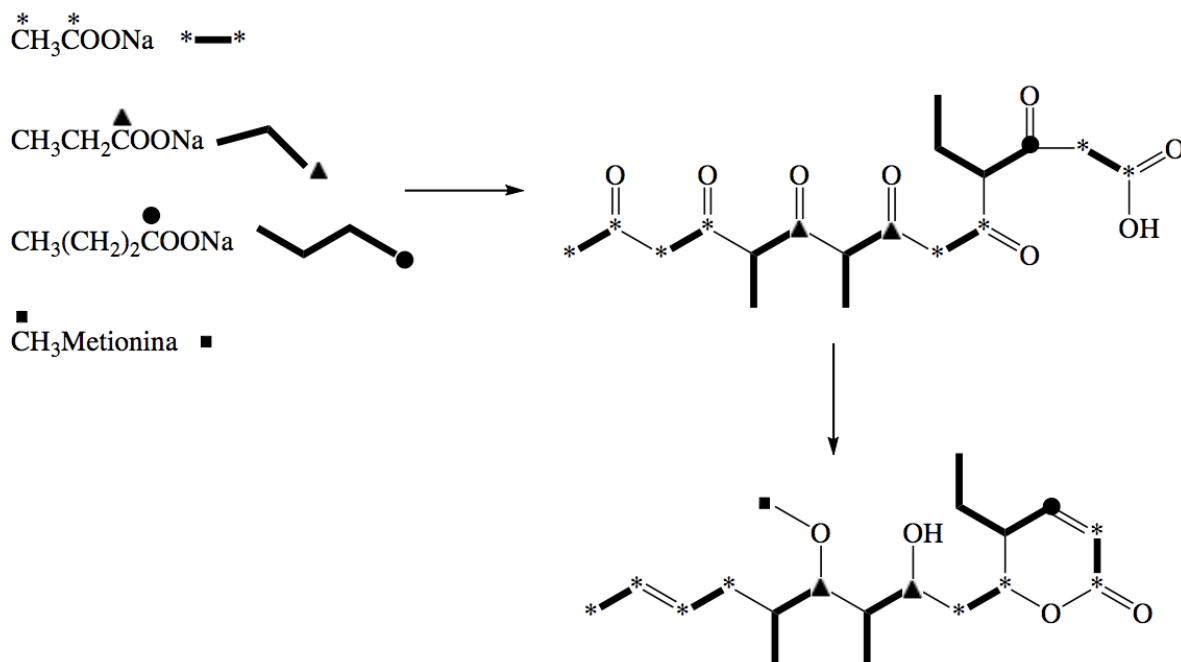


Figura 18. Incorporación de precursores marcados con ^{13}C en la biosíntesis de pironetina.

2.4. Propiedades espectroscópicas y espectrométricas de las 5,6-dihidro- α -pironas.

2.4.1. Espectroscopía de infrarrojo y ultravioleta.

Los espectros en el infrarrojo (IR) de las 5,6-dihidro- α -pironas C_6 sustituidas presentan una fuerte banda de absorción en $1710\text{-}1740\text{ cm}^{-1}$ debido al grupo carbonilo α,β -insaturado. El doble enlace de la lactona absorbe entre 1590 y 1640 cm^{-1} y aunque su intensidad es más débil que la del grupo carbonilo, se intensifica por la oxigenación de la posición C_4 o C_5 (Davies-Coleman y Rivett, 1989). Los sustituyentes en C_6 , en especial los 6-alquéniles generalmente se encuentran sustituidos por hidroxilos o acetatos dando origen a bandas de absorción entre 3200 y 3600 cm^{-1} , así como entre 1710 y 1730 cm^{-1} y 1240 y 1250 cm^{-1} (Davies-Coleman y Rivett, 1989).

La longitud de onda (λ) de máxima absorción en el espectro de UV de una C_6 -alquil y C_6 -alquénil-5,6-dihidro- α -pironas monosustituida aparece normalmente entre $200\text{-}215\text{ nm}$ ($\epsilon = 8\ 000 - 12\ 000$) (Davies-Coleman y Rivett, 1989).

2.4.2. Espectroscopía de RMN ^1H

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) ha desempeñado un papel importante en la elucidación estructural de más de las dos terceras partes de este tipo de compuestos. El desacoplamiento de espín y experimentos de doble resonancia se han utilizado ampliamente para determinar la estructura química. Las señales características presentan un patrón de espín de primer orden, con desplazamientos químicos (δ) y constantes de acoplamiento (J) definidas. Estas constantes se determinan a través del análisis de los espectros de RMN unidimensionales (protónica, ^1H y carbono-13, ^{13}C) y bidimensionales (^1H - ^1H y ^1H - ^{13}C), permitiendo obtener la información necesaria para la caracterización de este tipo de compuestos (Davies-Coleman y Rivett, 1989).

En el espectro de RMN ^1H las señales correspondientes al anillo de la 5,6-dihidro- α -pirona (**Figura 19**) se observan de la siguiente forma: El protón en C_3 (δ 5.9-6.1) se acopla con el protón de C_4 ($J = 9.7$ - 10.0 Hz), indicando un grupo olefínico *cis* adyacente a un grupo carbonilo que también se acopla a larga distancia con los dos protones en C_5 ($J_{3-5} = 1$ Hz, $J_{3,5\text{ax}} = 2$ - 3 Hz). La desprotección de H_4 (δ 6.78-7.05) respecto a H_3 es típica para un carbono β enlazado a un cromóforo de carbonilo α,β -insaturado. La multiplicidad de la señal para H_4 aparece como un doblete de dobletes por su acoplamiento con H_3 y con $\text{H}_{5\text{ax}}$ ($J_{4,5\text{ax}} = 2$ - 4 Hz) y $\text{H}_{5\text{ec}}$ ($J_{4,5\text{ec}} = 4$ - 6 Hz) (**Figura 20**). Estos valores de J se han utilizado para determinar la estereoquímica relativa de los sustituyentes en C_5 ; además, este conjunto de señales es sumamente característico en los espectros de RMN ^1H de las 5,6-dihidro- α -pironas sustituidas en C_6 y puede utilizarse para identificar la presencia de este tipo de compuestos en extractos o fracciones (Davies-Coleman y Rivett, 1989; Pereda-Miranda, 1995).

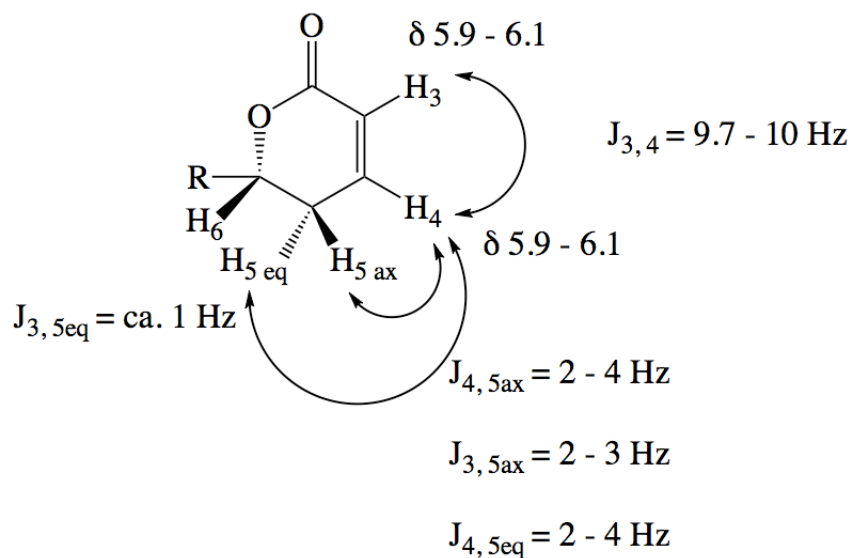


Figura 19. 5,6-Dihidro- α -pironas sustituidas en C₆

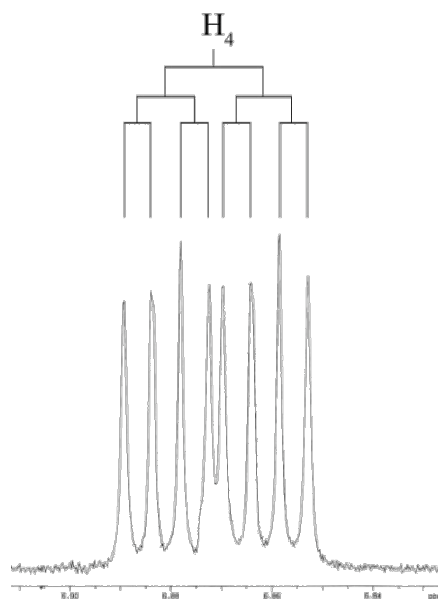


Figura 20. Desplazamientos químicos y multiplicidad característica para el protón H₄ del núcleo de la 5,6-dihidro- α -pirona.

Los dos protones alílicos en C₅ no son equivalentes y presentan un acoplamiento geminal típico ($J_{5\text{ec},5\text{ax}} = 15\text{-}19 \text{ Hz}$) y un acoplamiento con H₄ y H₆ ($J_{5\text{ec},6} = 9\text{-}12$; $J_{5\text{ec},6} = 3\text{-}6 \text{ Hz}$). Estos dos protones aparecen como un multiplete complejo en la mayoría de los casos

entre δ 2.3 y 2.8. La hidroxilación o la acetilación de C_5 provoca un desplazamiento a campo bajo del protón H_5 geminal a esta sustitución (δ 4.2-5.4). El desplazamiento químico de H_6 (δ 4.2-5.1) depende de la naturaleza de la cadena olefínica que sustituye al núcleo C_6 . En el caso de la hiptólida (**Figura 9**), los protones metilénicos en C_5 presentan un acoplamiento con el protón geminal a la función etérea de la lactona (H_6), cuyo desplazamiento químico se observa en δ 5.29 (**Figura 21**). El valor de la constante de acoplamiento (J) observado de 9.9 Hz sugiere una interacción *trans-diaxial* para los protones $H_{5\beta}$ y H_6 , de esta manera, se establece la configuración relativa pseudo-ecuatorial para la cadena lateral (Davies –Coleman y Rivett, 1989; Fragoso Serrano, 2000).

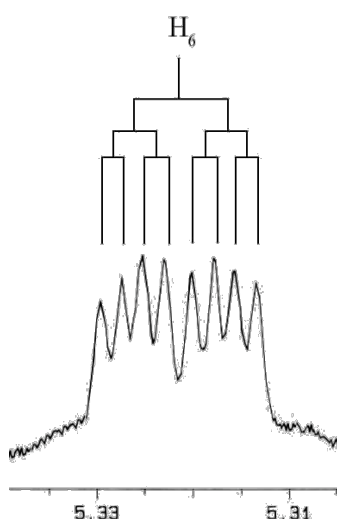


Figura 21. Multiplicidad observada para el núcleo H_6 de la 5,6-dihidro- α -pirona.

2.4.3. Espectroscopía de RMN ^{13}C .

En el espectro de RMN ^{13}C , la información de mayor importancia que se obtiene es la siguiente: el desplazamiento químico del carbonilo C_2 aparece usualmente centrado en δ 160 y 169, en tanto que el C_3 entre δ 120 y 122 y la señal de C_4 entre δ 144 y 148. El átomo de C_5 aparece en δ 25 y 30 y la oxigenación de este núcleo causa un desplazamiento paramagnético de casi 40 y provoca un efecto menor sobre el desplazamiento químico de C_4 . Así, C_6 que normalmente aparece en δ 72 y 78, se deslaza paramagnéticamente por aproximadamente 35 (Davies-Coleman y Rivett 1989). Las señales correspondientes a la

cadena lateral son las siguientes: la señal en el espectro a campo alto corresponde al grupo metilo terminal (δ 12.9 y 16.6). Los metinos enlazados a oxígeno aparecen en un intervalo de δ 66 y 81, los carbonos olefinicos en δ 121.1 y 126.3 y entre δ 132.9 y 144.9. (Davies-Coleman y Rivett, 1989; Fragoso Serrano, 2000).

2.5. Química computacional.

La química computacional es la disciplina que se extiende más allá de los límites tradicionales que separan la química, la física, la biología y la ciencia de la computación, permitiendo la investigación de átomos, moléculas y macromoléculas mediante programas de química especializados (Nicolás *et al.*, 2007). Desde luego no debe considerarse la química computacional como un rival de las técnicas experimentales tradicionales, ya que ambas son complementarias: cada una permite obtener resultados que son imposibles de obtener por la otra y viceversa. La química computacional nos ofrece herramientas que nos ayudan a estudiar, caracterizar y predecir la estructura y estabilidad de los sistemas químicos (Cuevas y Cortés, 2003).

2.5.1. Análisis conformacional en moléculas flexibles.

El gran número de enlaces σ presentes en las moléculas orgánicas de cadena abierta tiene una relación directa sobre la forma de sus estructuras, pues en un enlace σ los grupos funcionales pueden girar alrededor de él en intervalos que completen 360° (lo que no sucede con los enlaces π). Así, las moléculas con varios enlaces σ son capaces de tener múltiples movimientos de rotación internos, adoptando arreglos espaciales diversos a los cuales se les denomina conformaciones, isómeros conformacionales o confórmers, los cuales determinan la forma, el tamaño, y características de superficie de una molécula. El análisis conformacional es el estudio de dichos movimientos rotacionales en las moléculas y de cómo afectan estos a las características moleculares. Las moléculas están en constante movimiento, adquiriendo diferentes conformaciones en mayor número en relación a su

equilibrio conformacional. Sin embargo, habrá algunas preferidas, las de menor energía (Hoffman, 2004).

Desde el punto de vista del diseño de fármacos, una situación ideal sería aquella en la que se predijera tanto la conformación como la mayoría de las propiedades fisicoquímicas asociadas a una molécula antes de realizar su síntesis. Y eso es lo que se puede hacer cuando se dispone de computadoras de última generación, esquemas y programas computacionales apropiados. En la actualidad, las dos aproximaciones teóricas más usadas en el estudio de aspectos tridimensionales de fármacos son la mecánica molecular y la mecánica cuántica (Nicolás *et al.*, 2007). De tal forma que con el empleo de herramientas de la química computacional puede determinarse la estereoquímica y la conformación de una sustancia utilizando diferentes niveles de teoría y comparándolos con datos experimentales como las constantes de acoplamiento en la RMN (Pereda-Miranda *et al.*, 2001; Mendoza-Espinoza *et al.*, 2009). Un ejemplo de este método se describe en la determinación de la estereoquímica de la espicigerólida (**Figura 10**), en la cual se utilizó el cálculo de las constantes de acoplamiento J_{H-H} vecinales calculadas a partir de los ángulos diedros obtenidos en modelos de mecánica molecular. Además, dicha determinación se validó mediante modelos experimentales de configuración absoluta conocida, así como la síntesis total del propio compuesto (Pereda-Miranda *et al.*, 2001; Falomir *et al.*, 2003).

La inspección y comparación de diversas conformaciones de una serie de compuestos activos resulta una cuestión relevante a explorar, pues permite entender la relación entre la estructura tridimensional, los requerimientos estructurales del grupo farmacofórico y su actividad biológica, además representa un punto de partida esencial para la comprensión del mecanismo de acción así como también ofrecer una guía en la síntesis de nuevos compuestos que tengan una conformación definida como factor importante para la presencia de la actividad biológica.

3. JUSTIFICACIÓN.

La espicigerólida (**Figura 10**) en estudios anteriores ha mostrado importantes propiedades citotóxicas para diferentes líneas celulares de tumores humanos (Fragoso-Serrano, 2000). Este compuesto cuya estereoquímica ya ha sido establecida anteriormente, se seleccionó como uno de los prototipos de estudio. Es de suma importancia destacar que la estructura del farmacóforo integrado por un sistema de un carbonilo α , β -insaturado de una δ -lactona es la base para realizar modificaciones específicas de las cadenas laterales que permitan descubrir los requisitos estructurales para modular la actividad antineoplásica debido a su similitud estructural con la pironetina.

Pocas investigaciones han abordado el análisis conformacional de estas sustancias con cadenas lineales polioxigenadas de origen vegetal (Pereda-Miranda *et al.*, 2001 y Mendoza-Espinoza *et al.*, 2009). Por tal motivo, resulta escasa la información acerca de su comportamiento conformacional y los factores electrónicos involucrados en tal comportamiento, los cuales tienen una repercusión en los equilibrios conformacionales de mínima energía. Así, resulta importante conocer su comportamiento conformacional y, en un proyecto futuro, su repercusión en la interacción fármaco-receptor.

4. HIPÓTESIS.

Tomando como antecedente la actividad biológica de las 5,6-dihidro- α -pironas C₆ sustituidas aisladas de la familia *Lamiaceae* y específicamente la espicigerólida, un diastereoisómero de la sinrotólida, que mostró actividad citotóxica selectiva para el carcinoma nasofaríngeo, se postula que las modificaciones en la configuración de los centros estereogénicos de la cadena lateral permitirá la formación de diastereoisómeros para realizar el análisis conformacional y la evaluación de su potencial citotóxico, lo que permitiría establecer la influencia de la estereoquímica de las 5,6-dihidro- α -pironas de las labiadas en la selectividad sobre líneas celulares derivadas de carcinomas humanos.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general.

El objetivo general de la presente disertación consistió en la obtención, caracterización estructural y análisis conformacional de derivados semisintéticos obtenidos a partir de la sinrotólida; con la finalidad de contribuir al desarrollo de nuevos agentes citotóxicos.

5.2. Objetivos específicos.

Para el cumplimiento del objetivo general se propusieron los siguientes objetivos específicos:

- Realizar la secuencia de reacciones químicas necesarias para la obtención de los derivados semisintéticos.
- Establecer la estructura molecular de los derivados generados, mediante la aplicación de técnicas espectroscópicas y espectrométricas (RMN y EM).
- Realizar el análisis conformacional de los derivados con herramientas de la química computacional para el establecimiento de la población conformacional de mínima energía para cada uno de los compuestos.
- Evaluar la actividad citotóxica de los derivados semisintéticos.

6. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

6.1. Procedimientos generales.

6.1.1. Cromatografía de líquidos de alta resolución.

Se utilizó un cromatógrafo marca Waters (Millipore Corporation, Waters Chromatography Division Milford, MA, EE.UU.) equipado con una bomba (modelo 600E) y detector de arreglo de diodos (modelo 996), adaptado a una computadora (Optiflex 466/LE, DELL). El control del equipo, la adquisición de datos, así como, el procesamiento y el manejo de la información cromatográfica se realizaron con el programa Empower 2 (Waters). La resolución de los crudos de reacción, así como la purificación de los compuestos, se efectuaron empleando una columna preparativa Symmetry C₁₈ (7 µm 19 x 300 mm) y una columna analítica Symmetry C₁₈ (5 µm 4.6 x 250 mm), ambas de la marca Waters.

6.1.2. Instrumental analítico.

Los puntos de fusión fueron determinados con el aparato Fisher-Johns. Los espectros de masas (EM) registrados mediante bombardeo rápido de átomos bajo la modalidad positiva (FAB⁺) utilizaron una matriz de glicerol en un espectrómetro Jeol SX (modelo 102-A). Los espectros por impacto electrónico se registraron a 20 eV en un espectrómetro Hewlett-Packard (modelo 5989-A). Los valores de dispersión óptica rotatoria (DOR) se determinaron en un polarímetro Perkin-Elmer 241. Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) protónica (¹H; 500 MHz) y de carbono 13 (¹³C; 125.7 MHz), así como los experimentos COSY, se registraron en un aparato Varian Unity Plus 500 o en un Bruker AMX-500.

6.2. Obtención de compuestos semisintéticos a partir de sinrotólida.

Con el fin de modificar las posiciones C₄' y C₅' y de obtener derivados semisintéticos a partir de la sinrotólida (**1**), se realizaron las reacciones indicadas en la **Figura 22**, para generar la sinrotólida peracetilada (**3**), sinrotólida acetilada en las posiciones C₄' y C₅' (**2** y **4**) y el producto de oxidación de la 4'-acetilsinrotólida (**5**).

6.2.1. Acetilación parcial de la sinrotólida.

La sinrotólida (**1**, 20 mg) se disolvió con 103 µL de una mezcla de Ac₂O (6 µL) y piridina (200 µL) se mantuvo en agitación magnética a -10 °C durante 30 minutos. Al cabo de ese tiempo, se adicionó una cantidad igual de Ac₂O-piridina, dejando la mezcla de reacción con agitación continua y a temperatura ambiente hasta completar 2 horas. La mezcla de reacción se llevó a sequedad con N₂ para eliminar los residuos volátiles. Posteriormente, se procedió a resolver el crudo de reacción (20.5 mg) por CLAR a una escala preparativa, utilizando una mezcla de acetonitrilo-agua (1:1) como fase móvil y una velocidad de flujo de 5 mL/min, recuperando 9.8 mg (49 %) de sinrotólida (**1**, t_R = 11.4 min). Además se obtuvieron los siguientes productos de reacción: 3.1 mg (15 %) de peracetato de la sinrotólida (**3**, t_R = 31.1 min), 5.8 mg (29 %) de la 4'-acetilsinrotólida (**2**, t_R = 17.4 min), 1.2 mg (6 %) de 5'-acetilsinrotólida (**4**, t_R = 13.5 min).

Compuesto 2. Sólido blanco, pf 101–102 °C; DOR (*c* 1.26, CHCl₃) [α]₅₈₉ 0, [α]₅₇₈ 0, [α]₅₄₆ 0, [α]₄₃₆ +17.5, [α]₃₆₅ +77.1; RMN ¹H ver **Cuadro 1**, **Figura 25**; RMN ¹³C, ver **Cuadro 2**. **Figura 28**; EM-IE (20 eV) *m/z* (int. rel.) [M]⁺ 384 (0.7), [M - H₂O]⁺ 366 (3.5), [M - C₂H₄O₂]⁺ 324 (5.7), [M - C₄H₇O₂]⁺ 297 (1.6), [M - C₄H₇O₂ - C₂H₄O₂]⁺ 236 (18.0), 204 (27.5), 178 (38.8), 177 (23.7), 165 (18.2), 154 (22.7), 153 (37.8), 149 (21.5), 148 (23.2), 137 (18.8), 136 (75.8), 135 (57.2), 129 (27.9), 118 (21.4), 108 (25.1), 107 (50.6), [M - C₁₃H₁₉O₇]⁺ 97 (7.3), 81 (42.1), 79 (11.1), [C₄H₄O]⁺ 68 (39.5), [C₂H₃O]⁺ 43 (100.0); EM-FAB⁺ alta resolución *m/z* [M + H]⁺ 385.1495 (calculado para C₁₈H₂₅O₉).

Compuesto 3. Sólido blanco, pf 101-102 °C; DOR (*c* 1.62, CHCl₃) [α]₅₈₉-8.6, [α]₅₇₈-8.6, [α]₅₄₆-9.8, [α]₄₃₆-7.3, [α]₃₆₅ +19.0; RMN ¹H, ver **Cuadro 1, Figura 27**; RMN ¹³C, ver **Cuadro 2, Figura 30**; EM-IE (20 eV) *m/z* (int. rel.) [M]⁺ 426 (18.5), 367 (12.0), [M – C₂H₄O₂]⁺ 366 (59.8), [M – C₂H₄O₂ – C₂H₂O]⁺ 324 (6.5), [M – 2C₂H₄O₂]⁺ 264 (8.5), 230 (23.2), [M – 3 C₂H₄O₂ – C₂H₂O]⁺ 204 (50.4), [M – C₁₀H₁₅O₆]⁺ 196 (9.6), 195 (88.0), 179 (18.1), 178 (71.4), 165 (26.8), 154 (19.2), 153 (57.7), 149 (19.3), 137 (23.6), 136 (100.0), [M – C₁₀H₁₅O₆ – C₂H₄O₂]⁺ 135 (81.0), 130 (22.2), 129 (53.8), 118 (24.1), 108 (25.5), 107 (44.2), [M – C₁₅H₂₁O₈]⁺ 97 (12.7), 81 (21.1), [C₄H₄O]⁺ 68 (37.4), [C₂H₃O]⁺ 43 (61.5).

Compuesto 4. DOR (*c* 0.59, CHCl₃) [α]₅₈₉ 0, [α]₅₇₈ 0, [α]₅₄₆ +2, [α]₄₃₅ +15, [α]₃₆₅ +64; RMN ¹H ver **Cuadro 1, Figura 26**; RMN ¹³C, ver **Cuadro 2, Figura 29**; EM-IE (20 eV) *m/z* (int. rel.) [M]⁺ 384 (0.3), [M – H₂O]⁺ 366 (0.9), [M – C₂H₄O₂]⁺ 324 (2.2), [M – 2 C₂H₄O₂]⁺ 264 (1.0), 236 (8.1), [M – 3C₂H₄O₂]⁺ 204 (20.6), [M – C₈H₁₃O₅]⁺ 195 (18.1), [M – C₈H₁₃O₅ – H₂O]⁺ 177 (26.6), 165 (20.4), 154 (38.4), 153 (38.6), 148 (19.8), 137 (17.8) 136 (66.8), [M – C₈H₁₃O₅ – C₂H₄O₂]⁺ 135 (62.1), 129 (40.7), 118 (20.2), 108 (28.3), 107 (47.1), [M – C₁₃H₁₉O₇]⁺ 97 (16.4), 81 (28.2), [C₄H₄O]⁺ 68 (33.1), [C₂H₃O]⁺ 43 (100); EM-FAB⁺ alta resolución *m/z* [M + H]⁺ 385.1496 (calculado para C₁₈H₂₅O₉).

6.2.2. Oxidación del compuesto 4'-acetilsinrotólida.

Se disolvieron 18 mg (**5**) en 800 μ L de AcOH y se adicionó una solución acuosa de CrO₃ (18 mg / 1600 μ L) a 0 °C, dividida en dos porciones de 800 μ L. La mezcla se dejó reposar una hora entre cada adición. Al cabo tres horas con agitación continua a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con CH₂Cl₂. Posteriormente, se lavó la fase orgánica con solución saturada de NaHCO₃ hasta pH neutro, se secó con Na₂SO₄ y se concentró a sequedad. El crudo de la reacción (14.6 mg) se purificó por CLAR utilizando las siguientes condiciones cromatográficas: escala preparativa, utilizando una mezcla de acetonitrilo-agua (1:1) como fase móvil y una velocidad de flujo de 5 mL/min, recuperando 6 mg (33 %) de 4'-acetil-5'-oxosinrotólida (**5**, *t_R* = 21.5 min).

Compuesto 5. RMN ^1H ver Cuadro 1, Figura 35; RMN ^{13}C , ver Cuadro 2, Figura 37; EM-IE (20 eV) m/z (int. rel.) $[\text{M}]^+$ 382 (0.2), $[\text{M} - \text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2]^+$ 322 (0.7), 167 (17.3) 166 (17.1), 165 (39.5), 153 (23.9), 149 (40.1), 148 (52.8) 147 (31.4), 137 (18.4), 136 (20.0), 135 (35.5), 115 (23.1), $[\text{M} - \text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{O}_7]^+$ 97 (29.3), 95 (15.0), 87 (18.2), 85 (19.4), 81 (100.0), 73 (14.9), 71 (35.7), 70 (13.7), 69 (29.0), $[\text{C}_4\text{H}_4\text{O}]^+$ 68 (35.6), 60 (12.8), 57 (43.5), 55 (11.5), $[\text{C}_2\text{H}_3\text{O}]^+$ 43 (84.7).

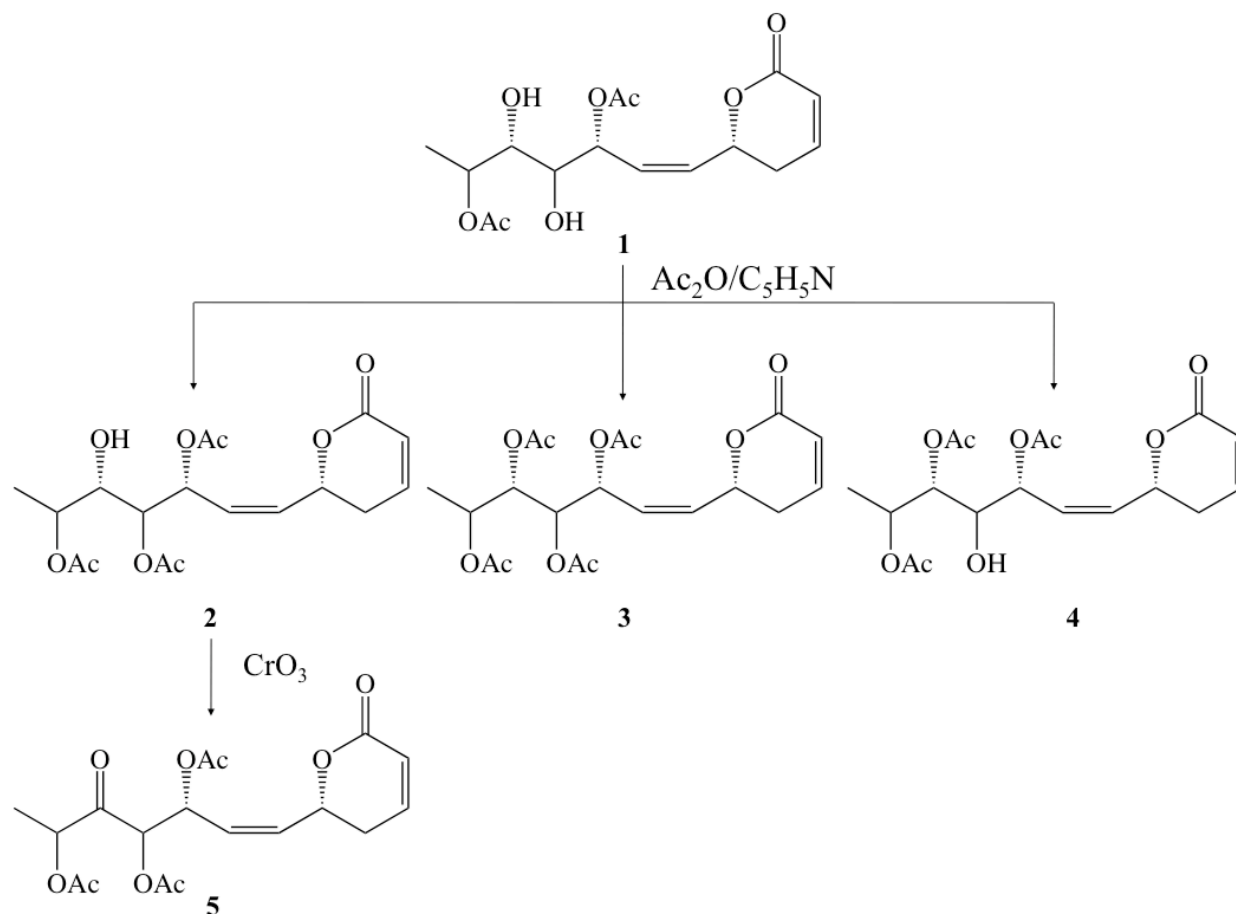
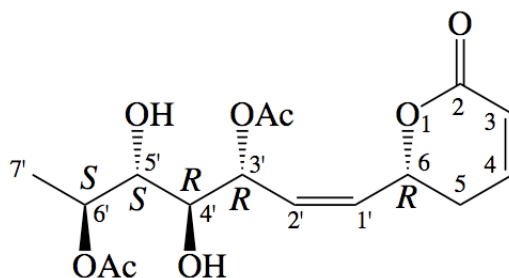


Figura 22. Secuencia sintética para obtener los derivados 2-5 de la sinrotólida.

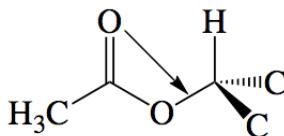
6.2.3. Estudio de la conformación mediante modelado molecular y cálculo de las constantes de acoplamiento para los derivados semisintéticos 2-5.

En el análisis conformacional se utilizó el método de búsqueda sistemática; para esto se empleó el programa Spartan'04 (Wavefunction, Inc.) con el campo de fuerza de mecánica molecular MMFF94 (Molecular Mechanics Force Field) considerando los siguientes criterios:

- a) La estructura inicial parte de la sinrotólida de la que se conoce la configuración de sus centros estereogénicos (C_6R , C_3R , C_4R , C_5S y C_6S) y la conformación *Z* del doble enlace.



- b) Rotaciones de 120° para cada uno de los enlaces $C_3'-C_4'$, $C_4'-C_5'$ y $C_5'-C_6'$ en la cadena polioxygenada y 180° para C_6-C_1' y $C_2'-C_3'$.
- c) Todos los grupos acetato se orientaron en la conformación de mayor estabilidad, es decir con los sustituyentes del enlace acetoxi-alquilo en posición *anti-clinal* (López-Calahorra *et al.*, 1990; Osawa *et al.*, 1991):



- d) El núcleo de 5,6-dihidro- α -pirona se considera como una unidad fija en la conformación de *pseudo*-silla de mayor estabilidad inferida a partir de los estudios de difracción de rayos X utilizando compuestos relacionados (Davies-Coleman y Rivett 1989), e.g. la hiptólida (**Figura 9**) y la sinrotólida (**Figura 1**).

De los conformeros generados para cada compuesto se eliminaron los que presentaron conformaciones con interacciones estéricas desfavorables. Las estructuras seleccionadas se optimizaron geoméricamente empleando el programa Spartan'04 con el método semi-empírico AM1 (Austin Model 1). Posteriormente, los conformeros se optimizaron geoméricamente empleando el programa Gaussian 03 (Gaussian, Inc.) utilizando el funcional de la teoría DFT, usando el método híbrido B3LYP y el conjunto de funciones de base DGDZVP (B3LYP /DGDZVP) (Frisch *et al.*, 2004).

Para las estructuras optimizadas geoméricamente, se calcularon sus frecuencias vibracionales y sus parámetros termodinámicos a 278 K y 1 atm. En este punto, se realizó una selección de conformeros, con base en la energía relativa respecto al ΔE , considerando un intervalo de energía de 0 a 4 kcal mol⁻¹.

Las constantes de acoplamiento J_{H-H} vecinales para los conformeros generados con mecánica molecular y los optimizados por el método semi-empírico se obtuvieron a partir de los ángulos diedros para cada conformero mediante el programa PCMODEL v. 7.0 (Serena *software*), el cual tiene implementado la ecuación descrita por Altona (Cerde-García-Rojas *et al.*, 1990). Las constantes de acoplamiento J_{H-H} para las estructuras optimizadas con DFT se calcularon empleando el programa Gaussian 03 usando la opción *SpinSpin* durante los cálculos de RMN por el método GIAO.

Enseguida, se procedió al cálculo de la población conformacional, expresada en fracción molar de acuerdo a la distribución de Boltzmann para los conformeros seleccionados, esta última obtenida mediante el programa FracMol (Cerde-García-Rojas y Pereda-Miranda, 1999). Las constantes de acoplamiento teóricas se calcularon efectuando la sumatoria del producto de la fracción molar de cada conformero por su constante de acoplamiento individual según la siguiente ecuación:

$$J_{\text{cal}} = \sum_{i=1}^M n_i J_i$$

Donde:

M = Número total de confómeros a ser considerados.

n_i = Fracción molar del i ésimo confómero.

J_i = Constante de acoplamiento vicinal del i ésimo confómero.

J_{cal} = Constante de acoplamiento vicinal calculada.

La comparación entre las constantes de acoplamiento teóricas contra las experimentales se llevó a cabo empleando el estadístico del error medio cuadrático (EMC) que se expresa con la siguiente fórmula:

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{M} \sum (J_{kexp} - J_{kcalc})^2}$$

Donde:

M = Número total de constantes de acoplamiento consideradas en la molécula.

J_{exp} , J_{cal} = Constantes de acoplamiento experimentales y calculadas, respectivamente.

Para el análisis de las conformaciones se utilizó la nomenclatura descrita por Frago-Serrano en el 2000 (**Figura 23**).

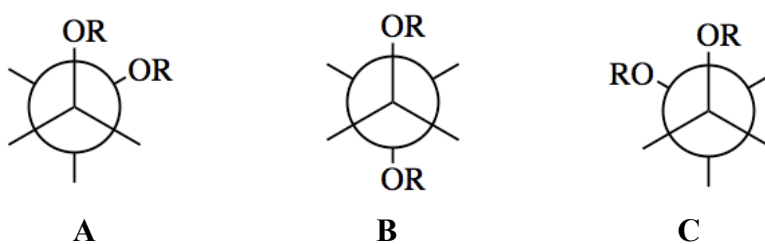


Figura 23. Giro de los grupos acetato de los enlaces $C_3'-C_4'$, $C_4'-C_5'$ y $C_5'-C_6'$ en tres diferentes posiciones: $+60^\circ$ (A), $+180^\circ$ (B) y -60° (C).

6.2.4. Ensayo de citotoxicidad.

Los procedimientos para el establecimiento de los cultivos celulares en las líneas cancerosas se fundamentaron en los protocolos previamente descritos en la literatura (Likhitwitayawuid, 1993). Se utilizaron cuatro líneas celulares cancerosas humanas: carcinoma nasofaríngeo (KB), carcinoma de colon (HCT-15), carcinoma de mama (MCF-7) y carcinoma de cérvix (HeLa). Estas líneas se mantuvieron en medio RMPI 1640 (10x), suplementado con 10 % de suero bovino fetal. Todas las líneas se cultivaron a 37 °C bajo atmosfera de CO₂ al 5 % en aire y 100 % de humedad relativa, el ensayo se realizó cuando las células se encontraban en la fase logarítmica de crecimiento.

El bioensayo se realizó en microplacas de plástico con 96 cavidades (250 µL) de acuerdo con procedimientos descritos previamente (Skehan *et al.*, 1990). Se depositaron en cada una de las cavidades de la placa 190 µL de las suspensiones celulares y se adicionaron 10 µL de la solución conteniendo las muestras de prueba, las cuales se evaluaron a las concentraciones de 20.0, 4.0, 0.16, y 0.032 µg/mL, por triplicado. Paralelamente, se prepararon ensayos de control utilizando 190 µL de la suspensión celular a evaluar y 10 µL de DMSO al 10 %. Por otro lado, se depositaron 190 µL de la suspensión celular en una placa adicional y se determinó su densidad óptica inicial. Las placas que contenían las muestras de prueba y los controles se incubaron a 37 °C durante 72 horas, en tanto que las placas etiquetadas como iniciales se incubaron a 37 °C durante 30 min. Al concluir el periodo de incubación, las monocapas celulares se sometieron a un proceso de fijación adicionando 50 µL de ácido tricloroacético al 50 % en cada una de las replicas del bioensayo y se incubaron a 4°C durante 30 minutos. Todas las placas se lavaron con agua helada por cuatro ocasiones, se tiñeron con 100 µL de una solución de sulfoamida B (0.4 %) en ácido acético (1 %) durante 30 minutos. Se eliminó el exceso de tinción lavando con ácido acético al 1 % por cuatro ocasiones y se secaron con una corriente de aire. Posteriormente, el colorante unido a las proteínas se solubilizó agitando moderadamente con 200 µL de tris base 10 mM (tris-hidroximetilaminometano) a un pH de 10 durante 5 minutos. Se registró la densidad óptica en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 564 nm. El porcentaje de sobrevivencia celular se determinó mediante la fórmula:

$$(T-Co/C-Co) \times 100$$

Donde:

T = Promedio de la densidad óptica de las concentraciones de prueba.

C = Promedio de la densidad óptica de los ensayos de control.

Co = Promedio de la densidad óptica inicial.

A través de un análisis de regresión lineal de los gráficos semilogarítmicos obtenidos entre las dosis y el porcentaje de crecimiento celular, se determinó la concentración efectiva del compuesto de prueba necesaria para inhibir el crecimiento celular en un 50 % (CE_{50} $\mu\text{g/mL}$). Se utilizaron como controles positivos a la colchicina CE_{50} : 0.004 (KB), 0.006 (HCT-15), 0.003 (MCF-7), 0.001 (HeLa), y la vinblastina: 0.005 (KB), 0.007 (HCT-15), 0.006 (MCF-7) y 0.001 (HeLa).

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

7.1. Modificaciones sintéticas de la sinrotólida.

7.1.1. Acetilación.

La sinrotólida (**1**) se acetiló parcialmente utilizando cantidades equimolares de anhídrido acético-piridina. La purificación de los compuestos individuales obtenidos en la secuencia sintética mostrada en la **Figura 22** se realizó mediante cromatografía de líquidos de alta resolución. El perfil cromatográfico (**Figura 24**) se observan cuatro constituyentes principales: la materia prima recuperada (**1**), la 4'-acetilsinrotólida (**2**), la 5'-acetilsinrotólida (**4**) y la sinrotólida peracetilada (**3**).

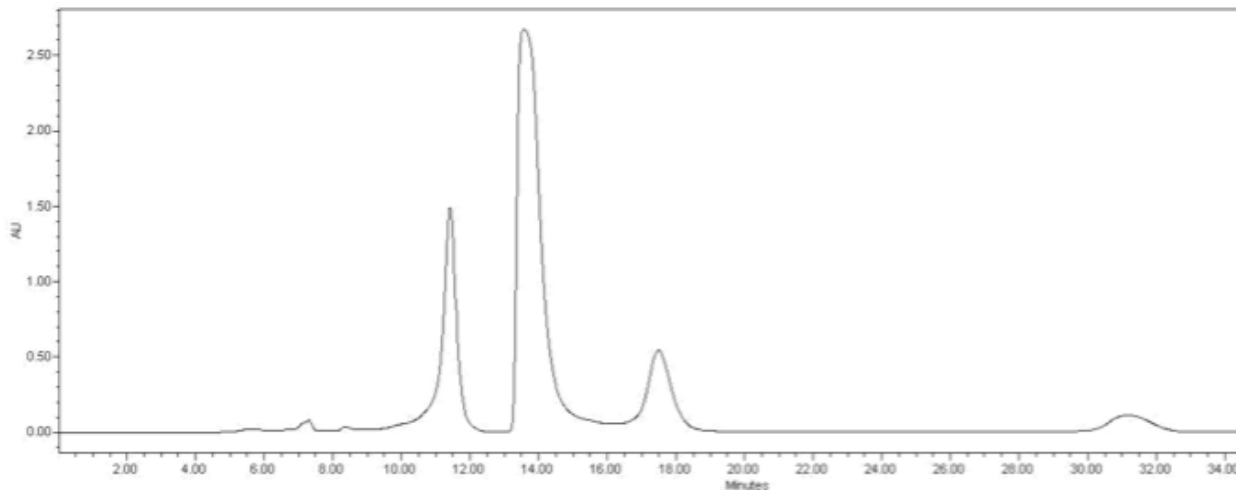


Figura 24. Cromatograma generado mediante CLAR de la mezcla de la reacción obtenida durante la acetilación parcial de la sinrotólida (**1**). Condiciones cromatográficas: columna preparativa Symmetry C₁₈: 7 μ m 19 \times 300 mm, fase móvil: acetonitrilo-agua 1:1, velocidad de flujo = 5 mL/min. Asignación de los picos: t_R = 11.4 min, sinrotólida (**1**); t_R = 13.5 min, 5'-acetilsinrotólida (**4**); t_R = 17.4 min, 4'-acetilsinrotólida (**2**); t_R = 31.1 min, peracetilsinrotólida (**3**).

7.1.2. Resonancia Magnética Nuclear de los compuestos sintetizados.

La monoacetilación de los compuestos **2** y **4** se estableció a través del análisis de sus espectros de RMN ^1H (Figuras **25** y **26**). En primer lugar, se observaron tres señales simples que integraron para los protones de los grupos metilo de los acetoxilos (δ 2.12, 2.08 y 2.02) y una señal que integró para un protón, cuyo desplazamiento químico correspondió a un metino geminal a un grupo hidroxilo en δ 3.80 (**2**) y 3.92 (**4**), además de la señales para los hidroxilos que se intercambiaron con agua deuterada (δ 2.82 y 2.62). La posición del grupo acetato en $\text{C}_{4'}$ o $\text{C}_{5'}$ se estableció con el registro de los espectros ^1H - ^1H COSY; en el compuesto **2**, la señal centrada en δ 3.80 (ddd, $J = 9.3, 5.5, 2.6$ Hz, $\text{H}_{5'}$) presentó cuadros de conectividad con la señal para $\text{H}_{6'}$ (δ 4.90, dc, $J = 6.6$ y 2.6 Hz) y con la señal centrada en δ 5.08 (dd, $J = 9.3, 2.8$ Hz, $\text{H}_{4'}$). Por lo tanto, el compuesto **2** corresponde a la 4'-acetilsinrotólida. En el compuesto **4**, que debería corresponder a la 5'-acetilsinrotólida, el metino base del grupo hidroxilo (δ 3.92, ddd, $J = 9.4, 4.5$ Hz, y 1.0) presentó interacciones con las señales centradas en δ 5.53 (ddd, $J = 9.4, 4.5, 1.0$ Hz, $\text{H}_{3'}$) y δ 5.06 (dd, $J = 7.2, 3.9$ Hz, $\text{H}_{5'}$). La interacción de esta última con la señal centrada en δ 5.23 (dc, $J = 6.5, 3.9$ Hz) permitió asignar el desplazamiento químico del protón $\text{H}_{6'}$. Así, se ratificó la posición del acetoxilo adicional en $\text{C}_{5'}$. Con respecto al compuesto peracetilado (**3**) en su espectro de RMN ^1H (fig. 24) se observaron señales para cuatro grupos acetoxilo (δ 2.11, 2.11, 2.06 y 2.03) y la desaparición de la señal que correspondía al protón del grupo hidroxilo.

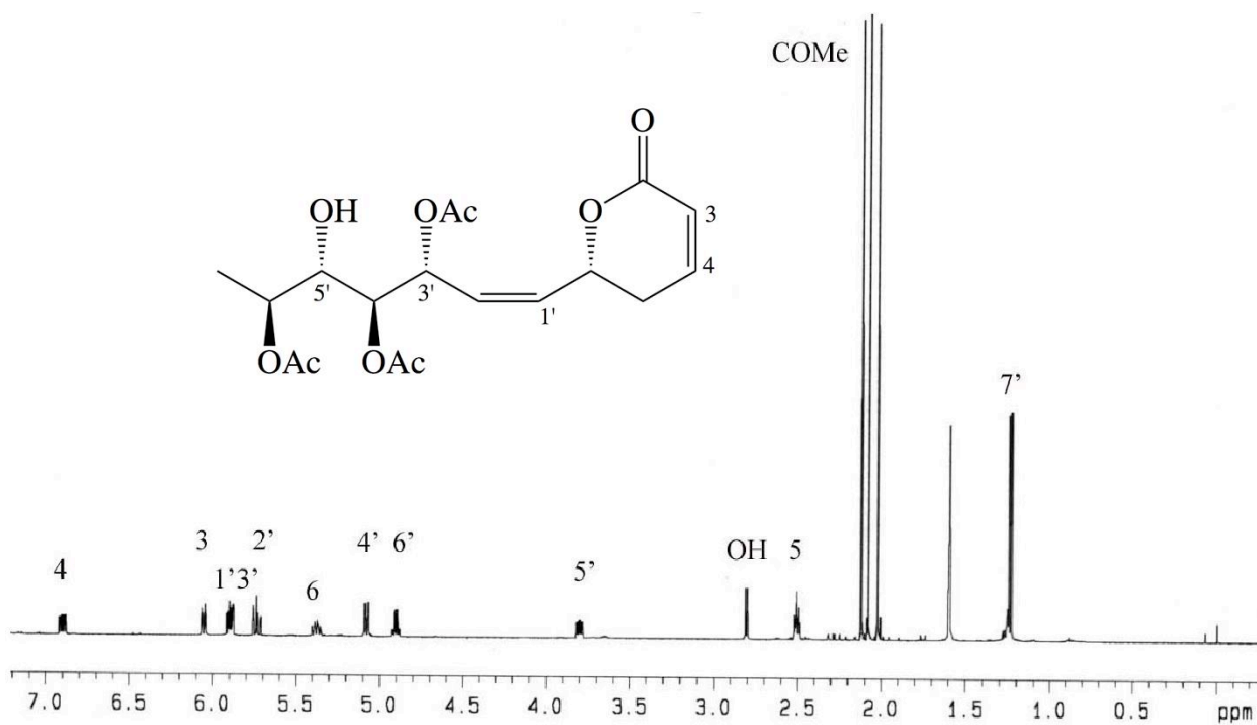


Figura 25. Espectro de RMN ¹H de la 4'-acetilsinrotólida (2) (500 MHz, CDCl₃).

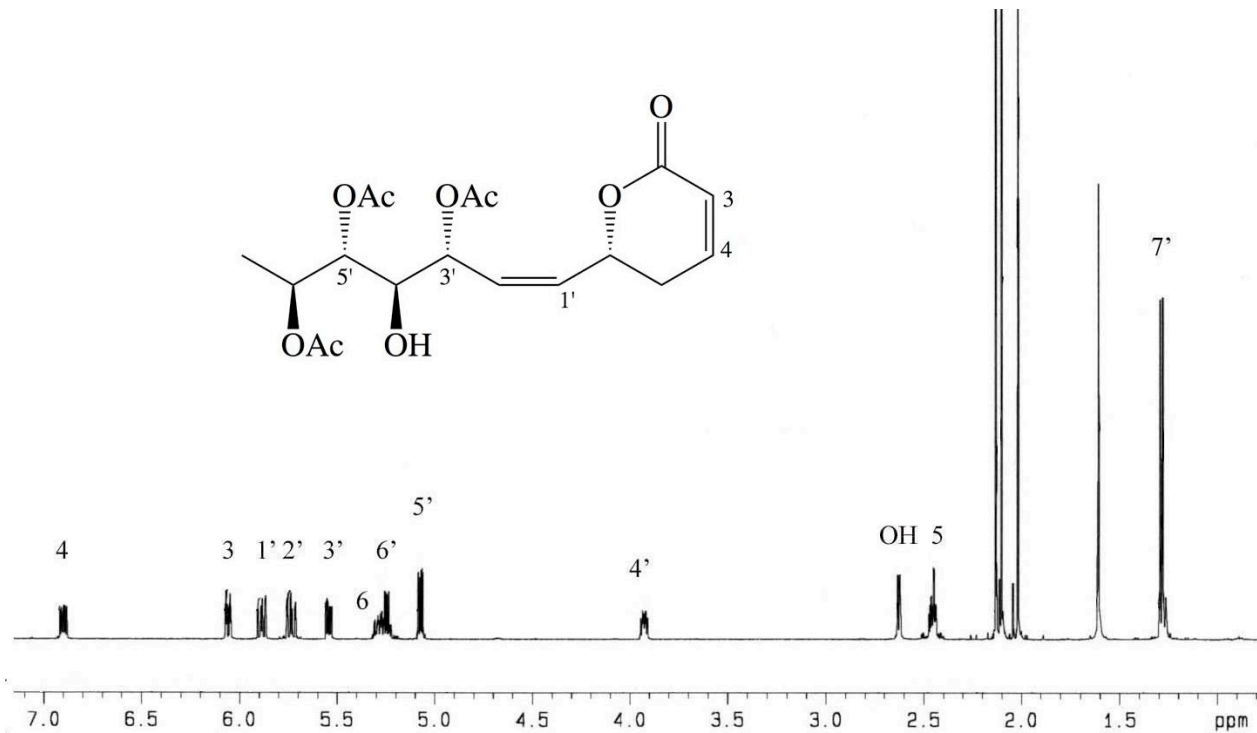


Figura 26. Espectro de RMN ¹H de la 5'-acetilsinrotólida (4) (500 MHz, CDCl₃).

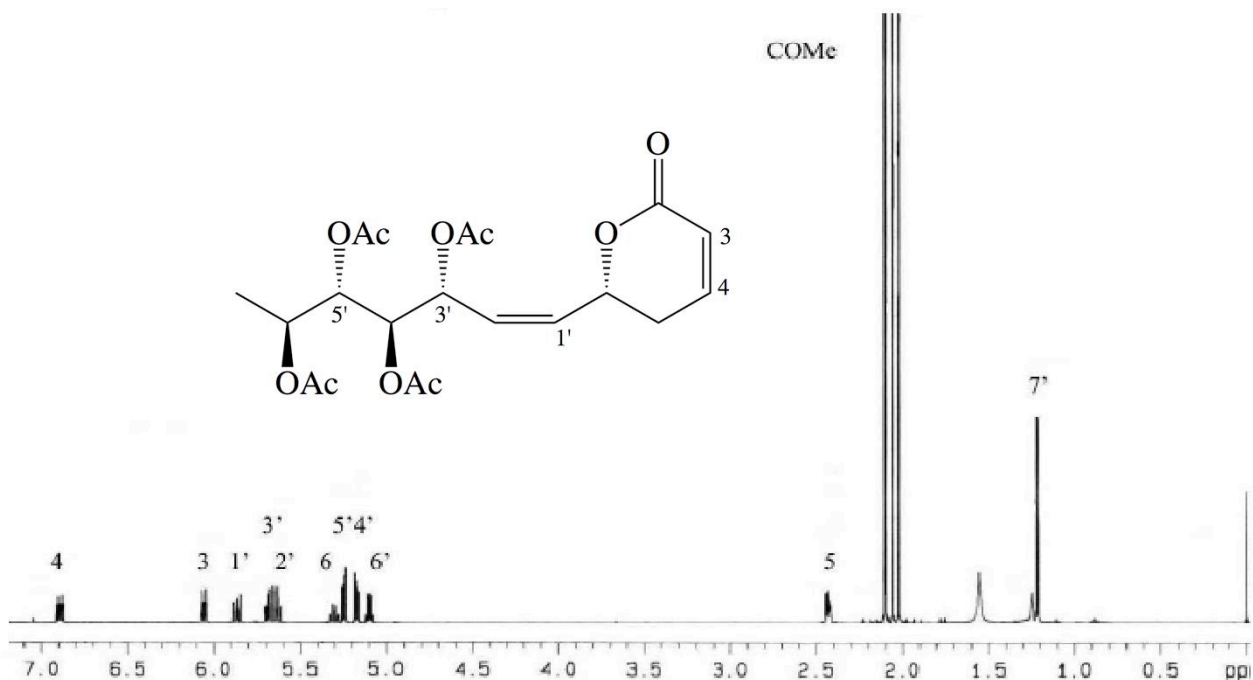


Figura 27. Espectro de RMN ^1H de la peracetilsinrotólida (**3**) (500 MHz, CDCl_3).

Los espectros de RMN ^{13}C confirmaron la presencia del núcleo de la 5,6-dihidro- α -pirona sustituida, mostrando señales prácticamente con los mismos desplazamientos en todos los compuestos (**Figuras 28, 29 y 30**). Las resonancias observadas fueron las siguientes: el carbonilo en C_2 observado entre δ 163.1-163.6; las señales para los carbonos olefinicos conjugados C_3 y C_4 se observaron entre δ 121.3-121.5 y 144.3-144.9; el metileno alílico C_5 asignado a la señal centrada entre δ 29.5 y 29.7, respectivamente; por último, la señal del metino centrado entre δ 73.7-74.2 se asignó al centro estereogénico C_6 , evidenciando la sustitución por una cadena lateral en esta posición del núcleo de la 5,6-dihidro- α -pirona (**Cuadro 2**). Así, se muestran las asignaciones de los núcleos de ^{13}C que satisfacen los requisitos para la fórmula molecular $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_9$ que corresponde a los compuestos **2** y **4** (**Cuadro 2**). De la misma forma, se presenta la asignación de los núcleos de ^{13}C que satisfacen los requisitos para $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$ (**3**) (**Figura 30; Cuadro 2**).

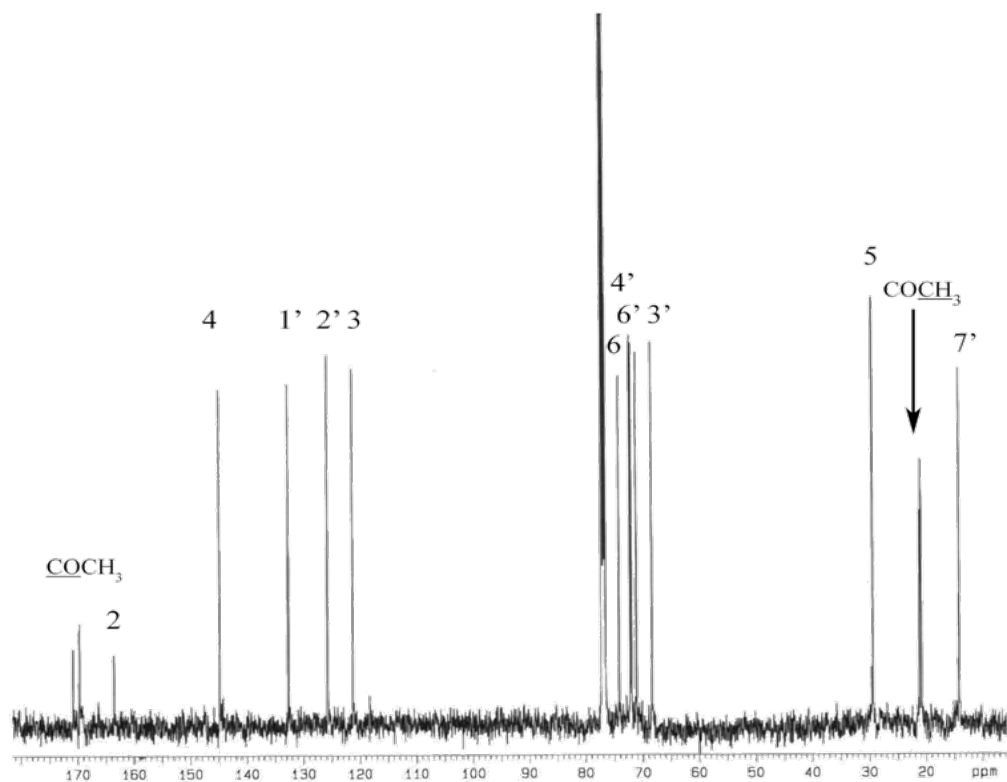


Figura 28. Espectro de RMN ^{13}C de la 4'-acetilsinrotólida (2) (75 MHz, CDCl_3).

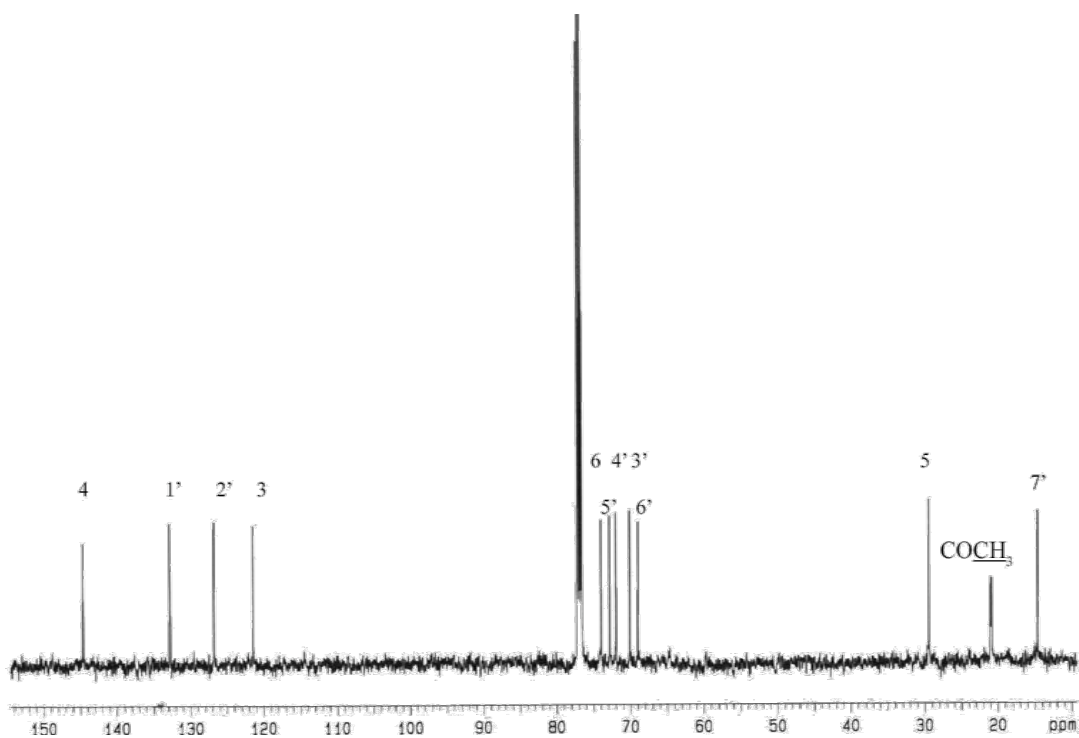


Figura 29. Espectro de RMN ^{13}C de la 5'-acetilsinrotólida (4) (75 MHz, CDCl_3).

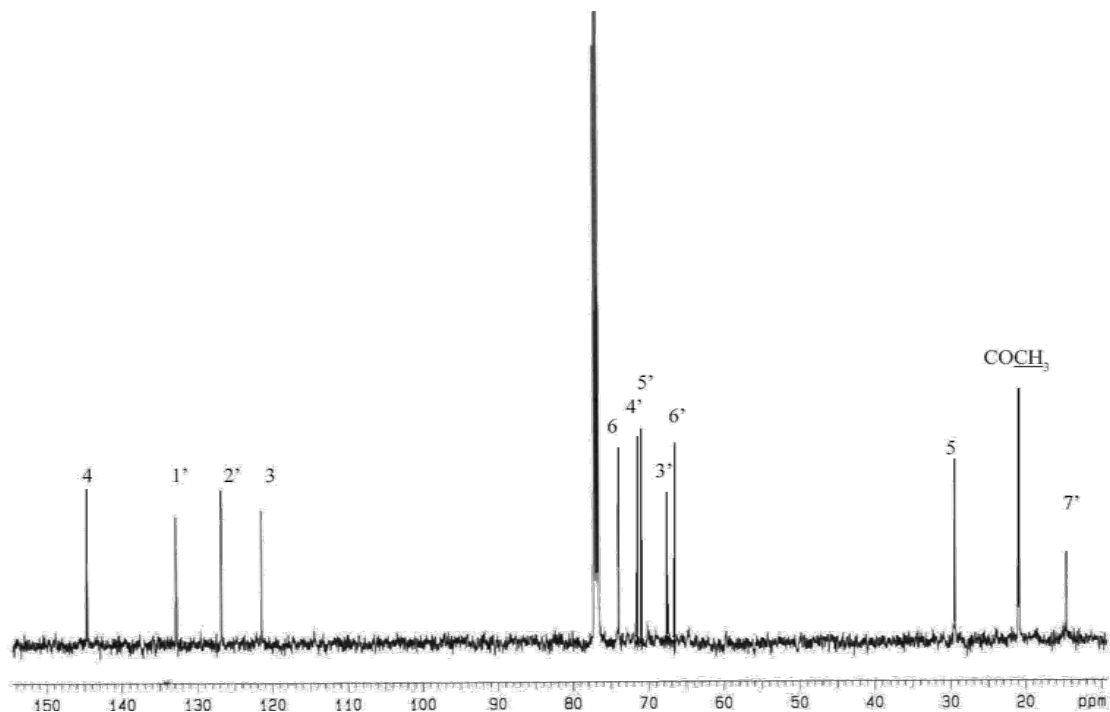


Figura 30. Espectro de RMN ^{13}C de la paracetilsinrotólida (**3**) (75 MHz, CDCl_3).

El empleo de RMN- ^1H bidimensional (2D-COSY) permitió verificar la conectividad entre los protones vecinos. En todos los compuestos (**2-5**), los cuadros de conectividad observados para $\text{H}_6 - \text{H}_{1'}$, relacionan al núcleo de la 5,6-dihidro- α -pirona con su cadena lateral (**Figuras 31, 32 y 33**). También, estos experimentos bidimensionales permitieron la localización del grupo hidroxilo en la cadena lateral, ubicado en el carbono 5' para la 4'-acetilsinrotólida (**2**) (**Figura 31**) y en el carbono 4' para la 5'-acetilsinrotólida (**4**) (**Figura 32**).

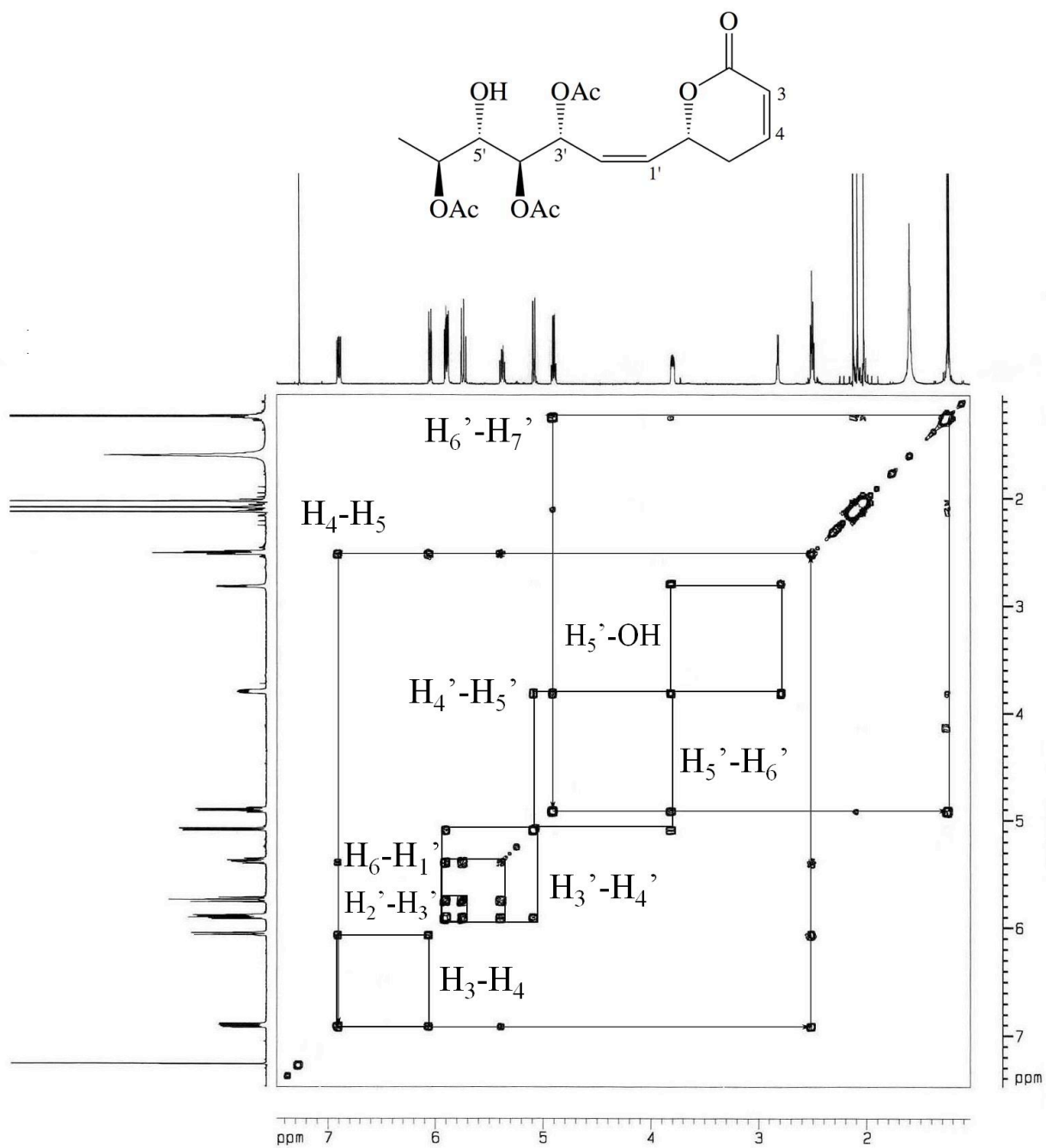


Figura 31. Espectro bidimensional ¹H-¹H COSY de la 4'-acetilsinrotólida (2).

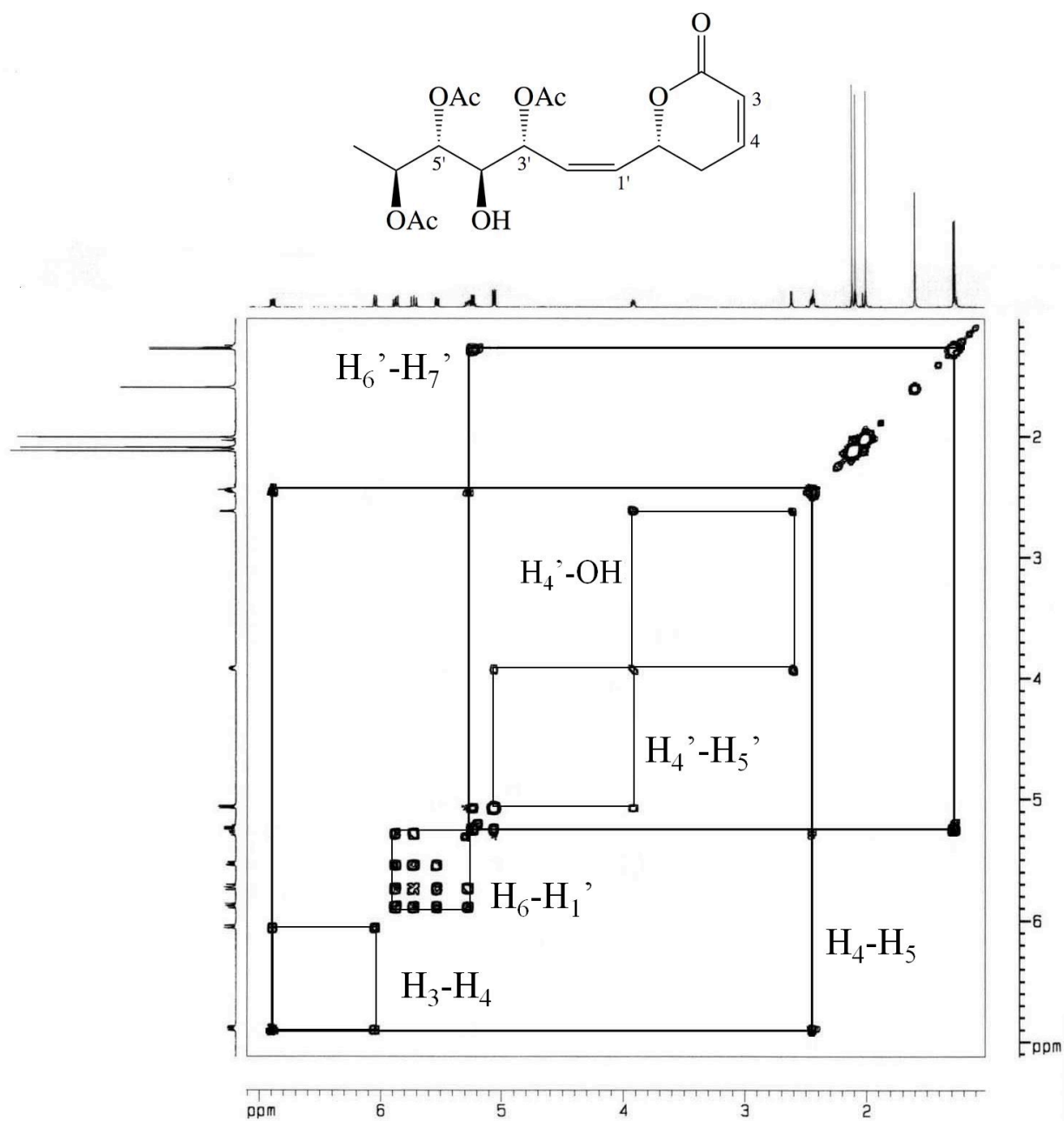


Figura 32. Espectro bidimensional ^1H - ^1H COSY de la 5'-acetilsinrotólida (4).

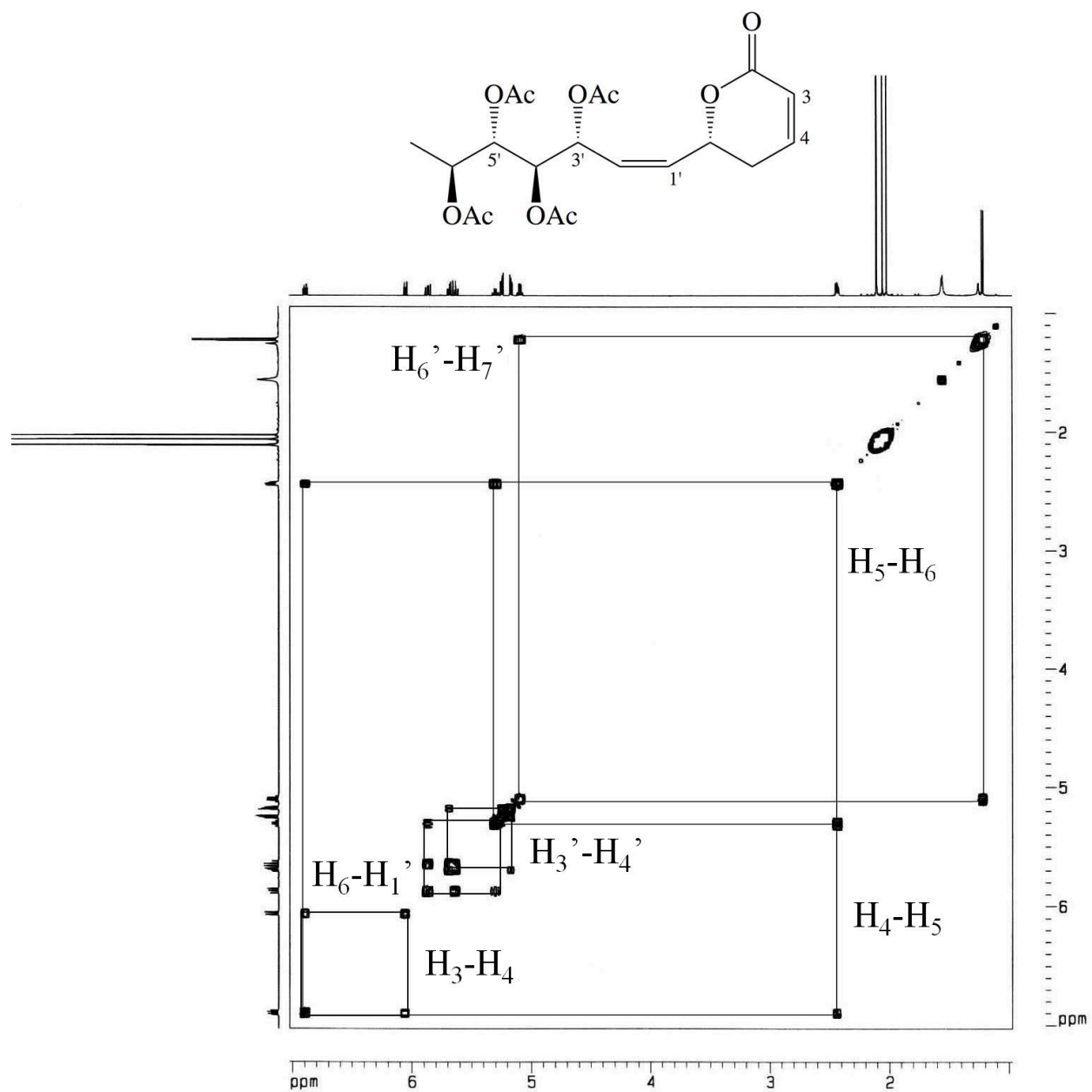


Figura 33. Espectro bidimensional ^1H - ^1H COSY de la peracetilsinrotólida (3).

7.1.3. Oxidación

Se realizó la oxidación del compuesto **2** (4'-acetilsinrotólida) utilizando trióxido de cromo, la separación de la mezcla de reacción mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (**Figura 34**) proporcionó dos constituyentes principales: la materia prima recuperada (**2**) y el derivado 4'-acetil-5'-oxosinrotólida (**5**).

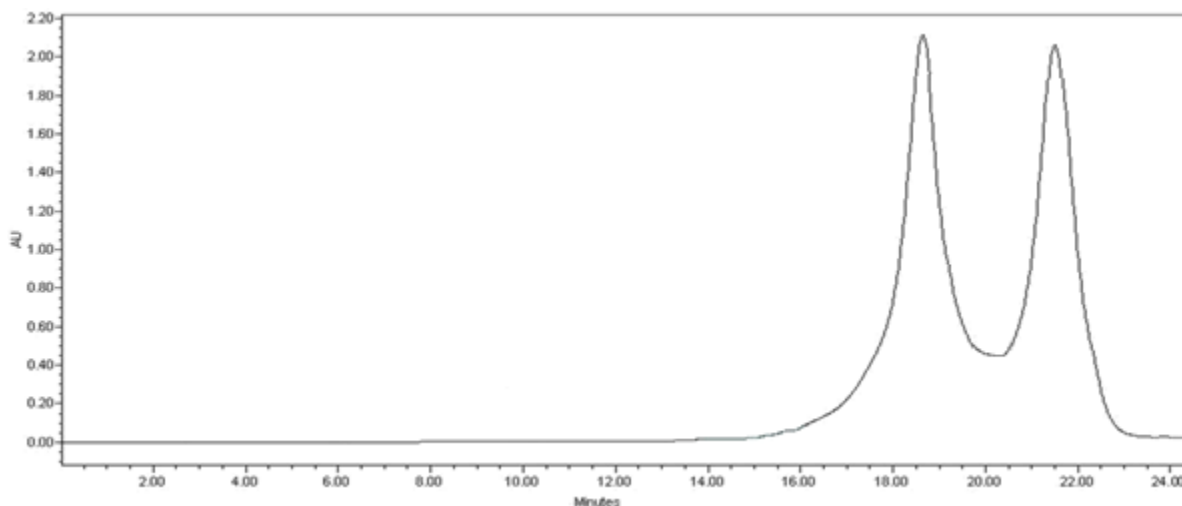


Figura 34. Cromatograma generado mediante CLAR de la mezcla de la reacción obtenida de la oxidación de 4'-acetilsinrotólida (**2**). Condiciones cromatográficas: columna preparativa Symmetry C₁₈: 7 μ m, 19 \times 300 mm, fase móvil: acetonitrilo-agua 1:1, velocidad de flujo = 5 mL/min. Asignación de los picos: t_R = 18.6 min, materia prima (**2**); t_R = 21.5 min, 4'-acetil-5'-oxosinrotólida (**5**).

7.1.4. Resonancia Magnética Nuclear del compuesto **5**.

En el espectro de RMN ¹H de **5** (**Figura 35**) se observan las mismas señales características del núcleo de la 5,6-dihidro- α -pirona sustituida (ver sección 6.1.2). Lo que es importante destacar en este espectro es la ausencia de la señal H_{5'}, por la oxidación de este carbono y la desprotección de H_{4'} (δ 5.70) como consecuencia del grupo carbonilo

vecinal. Además de observar señales para tres grupos acetoxilo (δ 2.18, 2.13 y 2.01) (**Cuadro 1**).

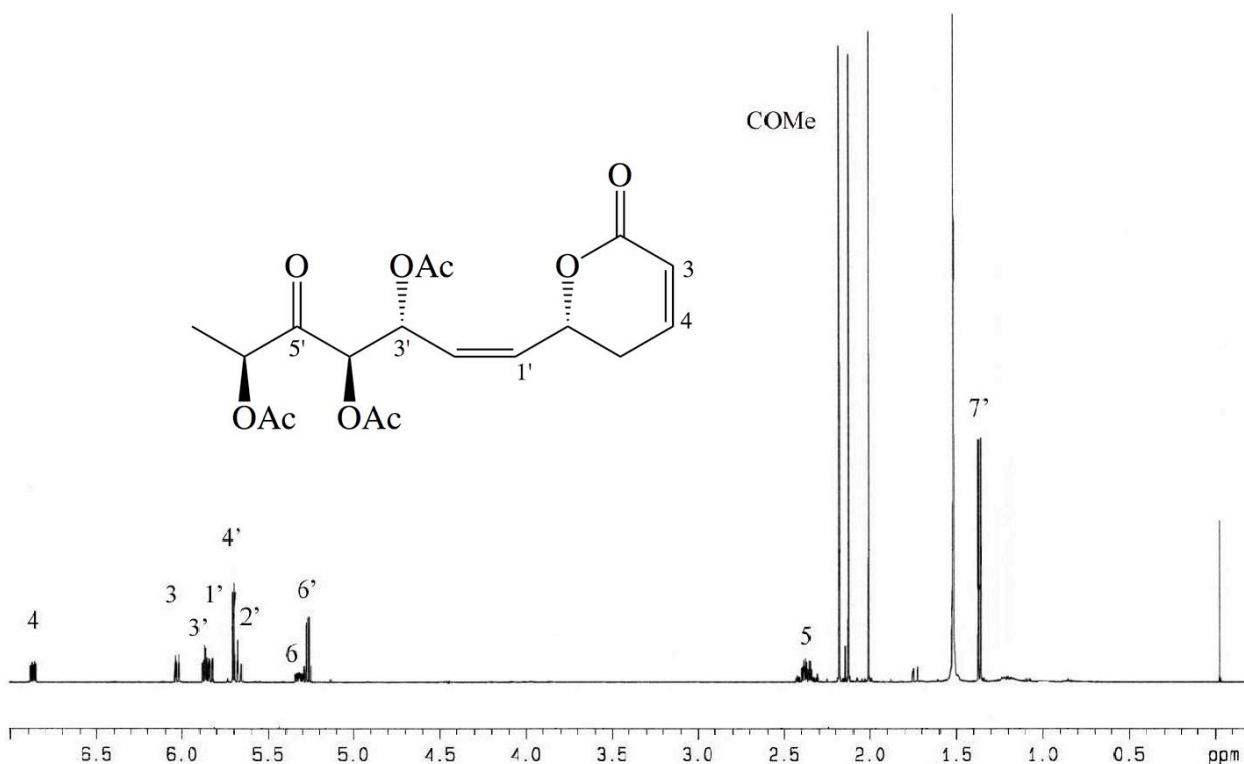
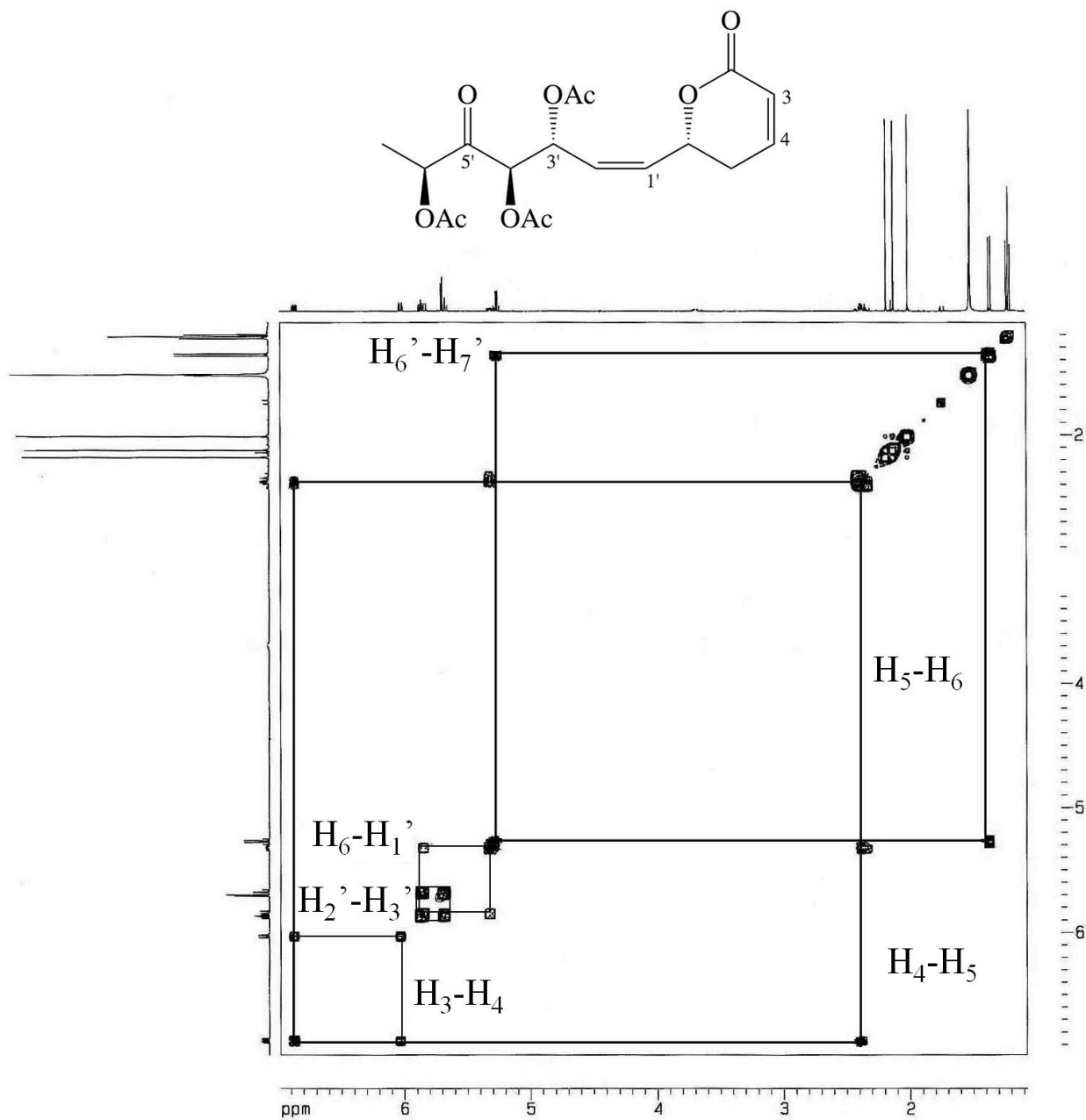


Figura 35. Espectro de RMN ^1H de la 4'-acetil-5'-oxosinrotólida (**5**) (500 MHz, CDCl_3).

El espectro de RMN- ^1H bidimensional (2D-COSY) de **5** difiere del espectro obtenido para el compuesto **2** por la ausencia de los cuadros de conectividad entre $\text{H}_{5'}$ – $\text{H}_{4'}$ y $\text{H}_{5'}$ – $\text{H}_{6'}$ (**Figura 33**). Los espectros de RMN ^{13}C confirmaron la presencia del núcleo de la 5,6-dihidro- α -pirona sustituida, mostrando las mismas señales que los compuestos **2** - **4** (ver sección **6.1.2**). También, resulta importante destacar en este espectro (**Figura 37**) la señal que aparece en δ 205.3 (**Cuadro 2**), correspondiente al grupo carbonilo de la cetona en $\text{C}_{5'}$, confirmando así la oxidación del compuesto 4'-acetilsinrotólida en dicha posición. Del mismo modos se identificaron las señales correspondientes a los tres carbonos geminales de las funciones acetoxilo (δ 170.5, 170.0 y 169.8). La asignación de los núcleos de ^{13}C satisfacen los requisitos para la fórmula molecular $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_9$ (**5**).



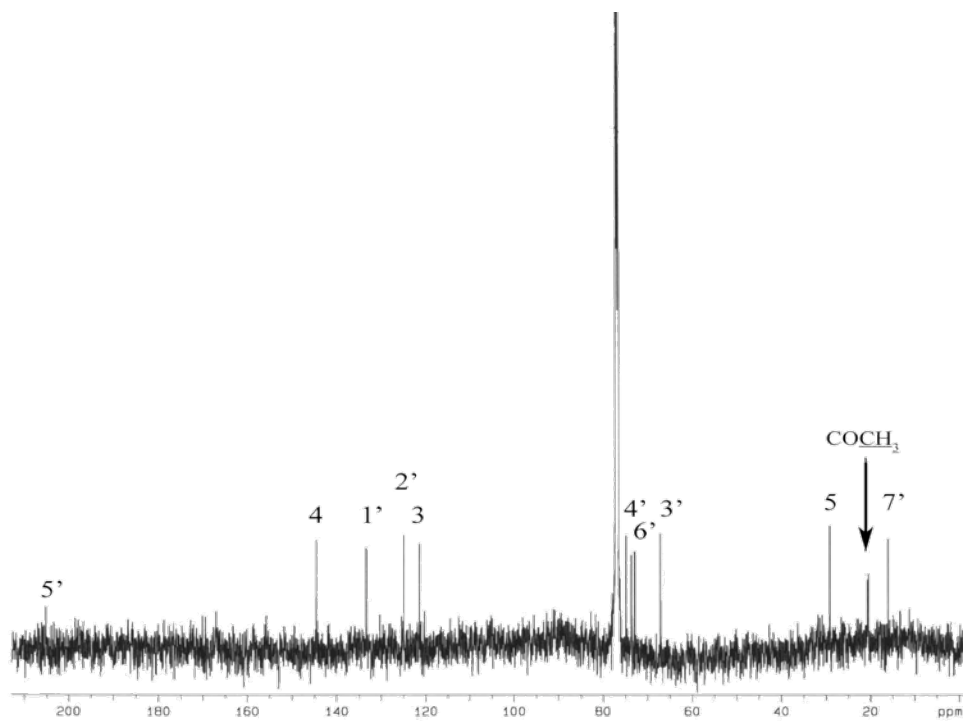


Figura 37. Espectro de RMN ^{13}C de la 4'-acetil-5'-oxosinrotólida (5).

Cuadro 1. Desplazamientos químicos en la RMN ^1H para los compuestos **2-5**^a

| Posición | 2 | 3 | 4 | 5 |
|----------|-----------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|
| 3 | 6.04 ddd (9.7, 1.8, 1.8,) | 6.06 ddd (10.0, 2.0, 2.0) | 6.04 ddd (9.8, 2.2, 1.4) | 6.03 ddd (9.5, 2.5, 1.0) |
| 4 | 6.9 ddd (9.7, 4.8, 3.5) | 6.06 ddd (10.0, 4.5, 4.0) | 6.89 ddd (9.8, 5.2, 3.2) | 6.87 ddd (9.5, 5.5, 2.5) |
| 5ax | 2.49 – 2.40 m | 2.45-2.42 m | 2.48 – 2.42 m | 2.34 dddd (18.5, 11.0, 2.5, 2.5) |
| 5ec | 2.49 – 2.40 m | 2.45-2.42 m | 2.48 – 2.42 m | 2.41 dddd (18.5, 5.5, 5.0, 1.0) |
| 6 | 5.38 dddd (9.5, 8.1, 7.1, 1.1) | 5.30 dddd (8.5, 8.5, 7.5, 1.0) | 5.27 dddd (9.0, 8.1, 7.5, 1.0) | 5.32 dddd (11.0, 8.5, 5.0, 1.0) |
| 1' | 5.90 ddd (11.3, 8.1, 0.7) | 5.87 ddd (10.5, 8.5, 0.5) | 5.88 ddd (11.3, 8.1, 1.0) | 5.85 ddd (11.0, 8.5, 0.5) |
| 2' | 5.73 ddd (11.3, 10.0, 1.1) | 5.64 ddd (10.5, 9.5, 1.0) | 5.72 ddd (11.3, 9.4, 1.0) | 5.68 ddd (11.0, 10.0, 1.0) |
| 3' | 5.80 ddd (10.0, 2.8, 0.7) | 5.69 ddd (9.5, 4.0, 0.5) | 5.53 ddd (9.4, 4.5, 1.0) | 5.87 ddd (10.0, 3.5, 0.5) |
| 4' | 5.08 dd (9.3, 2.8) | 5.25 dd (7.0, 4.0) | 3.92 ddd (7.2, 5.5, 4.5) | 5.70 d (3.5) |
| 5' | 3.80 ddd (9.3, 5.5, 2.6) | 5.18 dd (7.0, 4.0) | 5.06 dd (7.2, 3.9) | ---- |
| 6' | 4.90 dc (6.6, 2.6) | 5.10 dc (6.5, 4.0) | 5.23 dc (6.5, 3.9) | 5.27 c (7.0) |
| 7' | 1.24 d (6.6) | 1.22 d (6.5) | 1.28 d (6.5) | 1.36 d (7.0) |
| OAc | 2.12 s 2.08 s 2.03 s | 2.11 s 2.11 s 2.06 s 2.03 s | 2.12 s 2.09 s 2.01 s | 2.18 s 2.13 s 2.01 s |
| OH | 2.82 d (5.5) | ---- | 2.62 d (5.5) | ---- |

^aCDCl₃, 500 MHz (*J* en Hz). Las asignaciones se realizaron mediante $^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY, δ en.

Cuadro 2. Desplazamientos químicos en la RMN ^{13}C para los compuestos 2-5^a

| Posición | 2 | 3 | 4 | 5 |
|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| 2 | 163.6 | 163.1 | 163.6 | 163.6 |
| 3 | 121.3 | 121.5 | 121.5 | 121.5 |
| 4 | 144.9 | 144.3 | 144.6 | 144.6 |
| 5 | 29.5 | 29.7 | 29.5 | 29.2 |
| 6 | 74.2 | 73.7 | 74.1 | 73.7 |
| 1' | 132.8 | 133.0 | 132.9 | 133.4 |
| 2' | 124.8 | 126.3 | 126.9 | 125.0 |
| 3' | 68.5 | 67.7 | 70.2 | 67.3 |
| 4' | 72.3 | 71.6 | 72.0 | 75.0 |
| 5' | 71.2 | 71.1 | 72.9 | 205.3 |
| 6' | 72.0 | 66.6 | 69.0 | 73.0 |
| 7' | 14.2 | 15.0 | 14.6 | 16.1 |
| COCH₃ | 21.2 | 21.1 | 21.1 | 20.8 |
| | 20.9 | 21.0 | 21.0 | 20.7 |
| | 20.9 | 20.9 | 20.9 | 20.5 |
| | 20.9 | 20.9 | 20.9 | 20.5 |
| <u>COCH₃</u> | 170.9 | 170.0 | 170.2 | 170.5 |
| | 169.7 | 169.5 | 170.2 | 170.0 |
| | 169.7 | 169.5 | 169.9 | 169.8 |
| | 169.7 | 169.4 | 169.9 | 169.8 |

^a ^{13}C (125.7 MHz). Las asignaciones se realizaron mediante ^1H - ^{13}C HMQC y HMBC, δ en.

7.2. Análisis conformacional.

Para iniciar el análisis conformacional de las 6-alquenil-5,6-dihidro- α -pironas las cuales son moléculas flexibles debido a la presencia de la cadena lateral y que poseen numerosos grados de libertad conformacional y que pueden generar un amplio conjunto de rotámeros, se seleccionó el método de búsqueda sistemática para mapear las regiones de baja energía del espacio conformacional. En este caso se emplearon las consideraciones específicas mencionadas en la sección **5.2.3**. Terminada la búsqueda sistemática para los compuestos modificados por semisíntesis (**2-5**), se compararon las constantes de acoplamiento J_{H-H} vecinales experimentales con las constantes obtenidas para los conformeros en el análisis conformacional a diferentes niveles de teoría: mecánica molecular, el método semiempírico AM1 y por DFT.

7.2.1. Análisis conformacional de los derivados semisintéticos de la sinrotólida.

La búsqueda sistemática de la peracetilsinrotólida generó 47 conformeros y de acuerdo al criterio de selección (sección 5.2.3) se analizaron los conformeros que se presentan en el **Cuadro 3**.

Cuadro 3. Comparación entre las constantes J_{H-H} vecinales calculadas y experimentales de la peracetilsinrotólida a nivel de mecánica molecular y criterio estadístico RMSD

| Confórmero | ΔE^a | $^c J_{6,1'}$ | $J_{2',3'}$ | $J_{3',4'}$ | $J_{4',5'}$ | $J_{5',6'}$ | n^b | $nJ_{6,1'}$ | $nJ_{2',3'}$ | $nJ_{3',4'}$ | $nJ_{4',5'}$ | $nJ_{5',6'}$ |
|------------|--------------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 1 | 0.000 | 10.74 | 4.83 | 1.33 | 9.85 | 1.73 | 0.4708 | 5.0568 | 2.2741 | 0.6262 | 4.6378 | 0.8145 |
| 2 | -0.059 | 11.37 | 11.6 | 1.88 | 2.57 | 8.89 | 0.4260 | 4.8435 | 4.9415 | 0.8009 | 1.0948 | 3.7871 |
| 3 | -1.176 | 10.82 | 4.91 | 1.59 | 9.76 | 1.44 | 0.0647 | 0.7003 | 0.3178 | 0.1029 | 0.6317 | 0.0932 |
| 4 | -2.115 | 11.33 | 5.8 | 8.49 | 0.87 | 9.25 | 0.0133 | 0.1502 | 0.0769 | 0.1125 | 0.0115 | 0.1226 |
| 5 | -2.460 | 10.82 | 4.51 | 2.79 | 1.62 | 1.11 | 0.0074 | 0.0801 | 0.0334 | 0.0207 | 0.0120 | 0.0082 |
| 6 | -2.558 | 11.2 | 9.12 | 2.22 | 2.16 | 1.62 | 0.0063 | 0.0703 | 0.0572 | 0.0139 | 0.0136 | 0.0102 |
| 7 | -2.843 | 9.99 | 4.00 | 1.21 | 9.76 | 2.1 | 0.0039 | 0.0387 | 0.0155 | 0.0047 | 0.0378 | 0.0081 |
| 8 | -2.928 | 6.27 | 3.16 | 1.54 | 9.57 | 1.61 | 0.0034 | 0.0211 | 0.0106 | 0.0052 | 0.0321 | 0.0054 |
| 9 | -3.222 | 11.12 | 5.02 | 1.35 | 9.75 | 8.85 | 0.0020 | 0.0228 | 0.0103 | 0.0028 | 0.0200 | 0.0181 |
| 10 | -3.379 | 10.82 | 6.19 | 9.06 | 2.29 | 1.55 | 0.0016 | 0.0170 | 0.0097 | 0.0142 | 0.0036 | 0.0024 |
| 11 | -3.888 | 6.28 | 3.21 | 1.47 | 9.87 | 1.55 | 0.0007 | 0.0042 | 0.0021 | 0.0010 | 0.0066 | 0.0010 |
| | | | | | | | Valor teórico | 11.00 | 7.75 | 1.70 | 6.50 | 4.87 |
| | | | | | | | Valor experimental | 8.5 | 9.5 | 4 | 7 | 4 |
| | | | | | | | RMSD | | | | | 1.77 |

^a Variación de la energía en kcal mol⁻¹. ^b Fracción molar. ^c J_{H-H} vecinales en Hz calculadas por PCMODEL 7.0.

De la misma forma se optimizaron geoméricamente por el método semi-empírico AM1 los 47 confórmeros generados en la búsqueda sistemática de la peracetilsinrotólida y se realizó un análisis con los confórmeros seleccionados (**Cuadro 4**).

Cuadro 4. Comparación entre las constantes J_{H-H} vecinales calculadas y experimentales de la peracetilsinrotólida a nivel semi-empírico AM1 y criterio estadístico RMSD

| Confórmero | ΔE^a | $^c J_{6,1'}$ | $J_{2',3'}$ | $J_{3',4'}$ | $J_{4',5'}$ | $J_{5',6'}$ | n^b | $nJ_{6,1'}$ | $nJ_{2',3'}$ | $nJ_{3',4'}$ | $nJ_{4',5'}$ | $nJ_{5',6'}$ |
|------------|--------------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 1 | 0 | 11.37 | 7.42 | 1.7 | 0.96 | 0.9 | 0.4782 | 5.4373 | 3.5484 | 0.8130 | 0.4591 | 0.4304 |
| 2 | -0.944 | 7.98 | 11.22 | 0.86 | 9.69 | 1.15 | 0.0972 | 0.7755 | 1.0904 | 0.0836 | 0.9417 | 0.1118 |
| 3 | -1.151 | 8.09 | 11.19 | 0.86 | 9.57 | 0.91 | 0.0685 | 0.5544 | 0.7668 | 0.0589 | 0.6558 | 0.0624 |
| 4 | -1.213 | 11.55 | 2.78 | 2.54 | 0.78 | 1.13 | 0.0617 | 0.7128 | 0.1716 | 0.1568 | 0.0481 | 0.0697 |
| 5 | -1.287 | 9.23 | 7.57 | 2.13 | 3.12 | 8.79 | 0.0545 | 0.5027 | 0.4123 | 0.1160 | 0.1699 | 0.4788 |
| 6 | -1.296 | 9.66 | 3.6 | 2.76 | 0.91 | 0.94 | 0.0536 | 0.5182 | 0.1931 | 0.1481 | 0.0488 | 0.0504 |
| 7 | -1.352 | 10.77 | 8.68 | 3.36 | 1.77 | 1.09 | 0.0488 | 0.5257 | 0.4236 | 0.1640 | 0.0864 | 0.0532 |
| 8 | -1.43 | 5.88 | 11.38 | 1.168 | 9.85 | 1.45 | 0.0428 | 0.2516 | 0.4869 | 0.0500 | 0.4214 | 0.0620 |
| 9 | -1.684 | 5.62 | 11.58 | 9.17 | 0.92 | 9.29 | 0.0279 | 0.1566 | 0.3227 | 0.2555 | 0.0256 | 0.2589 |
| 10 | -2.004 | 7.52 | 11.47 | 1.06 | 8.15 | 1.6 | 0.0162 | 0.1221 | 0.1863 | 0.0172 | 0.1323 | 0.0260 |
| 11 | -2.113 | 6.23 | 11.46 | 8.43 | 4.51 | 8.84 | 0.0135 | 0.0842 | 0.1548 | 0.1139 | 0.0609 | 0.1194 |
| 12 | -2.51 | 10.25 | 5.45 | 0.85 | 8.77 | 1.92 | 0.0069 | 0.0708 | 0.0377 | 0.0059 | 0.0606 | 0.0133 |
| 13 | -2.623 | 5.65 | 11.37 | 1.23 | 9.84 | 0.88 | 0.0057 | 0.0323 | 0.0649 | 0.0070 | 0.0562 | 0.0050 |
| 14 | -2.631 | 10.13 | 5.17 | 1.21 | 5.33 | 1.43 | 0.0056 | 0.0571 | 0.0291 | 0.0068 | 0.0300 | 0.0081 |
| 15 | -2.744 | 9.59 | 6.05 | 9.41 | 0.8 | 8.96 | 0.0047 | 0.0447 | 0.0282 | 0.0438 | 0.0037 | 0.0417 |
| 16 | -2.844 | 10.24 | 5.6 | 1.61 | 8.93 | 5.52 | 0.0039 | 0.0403 | 0.0220 | 0.0063 | 0.0351 | 0.0217 |
| 17 | -3.068 | 6.43 | 8.53 | 2.29 | 0.73 | 0.89 | 0.0027 | 0.0173 | 0.0230 | 0.0062 | 0.0020 | 0.0024 |
| 18 | -3.075 | 6.43 | 9.03 | 1.87 | 9.35 | 0.98 | 0.0027 | 0.0171 | 0.0240 | 0.0050 | 0.0249 | 0.0026 |
| 19 | -3.278 | 6.48 | 7.88 | 1.98 | 0.74 | 0.88 | 0.0019 | 0.0123 | 0.0149 | 0.0037 | 0.0014 | 0.0017 |
| 20 | -3.402 | 9.33 | 3.99 | 1.12 | 9.58 | 1.37 | 0.0015 | 0.0143 | 0.0061 | 0.0017 | 0.0147 | 0.0021 |
| 21 | -3.816 | 9.74 | 6.02 | 9.28 | 3.1 | 1.97 | 0.0008 | 0.0074 | 0.0046 | 0.0071 | 0.0024 | 0.0015 |
| 22 | -3.916 | 9.77 | 4.66 | 1 | 7.33 | 7.3 | 0.0006 | 0.0063 | 0.0030 | 0.0006 | 0.0047 | 0.0047 |
| | | | | | | | Valor teórico | 9.96 | 8.01 | 2.07 | 3.29 | 1.83 |
| | | | | | | | Valor experimental | 8.5 | 9.5 | 4 | 7 | 4 |
| | | | | | | | RMSD | | | | | 2.31 |

^a Variación de la energía en kcal mol⁻¹. ^b Fracción molar. ^c J_{H-H} vecinales en Hz calculadas por PCMODEL 7.0.

Finalmente los 47 confórmeros optimizados por el método semi-empírico AM1 se optimizaron geoméricamente y calcularon las frecuencias vibracionales a nivel de DFT. Se seccionaron 24 confórmeros para hacer el análisis de la población conformacional de la peracetilsinrotólida (**Cuadro 5**).

Cuadro 5. Comparación entre las constantes J_{H-H} vecinales teóricas y experimentales de la peracetilsinrotólida a nivel de DFT y criterio estadístico RMSD

| Confórmero | ΔE^a | $J_{6,1^c}$ | $J_{2,3^c}$ | $J_{3,4^c}$ | $J_{4,5^c}$ | $J_{5,6^c}$ | n^b | $nJ_{6,1^c}$ | $nJ_{2,3^c}$ | $nJ_{3,4^c}$ | $nJ_{4,5^c}$ | $nJ_{5,6^c}$ |
|------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 1 | 0.000 | 8.46 | 11.41 | 0.78 | 10.77 | 2.43 | 0.2174 | 1.8388 | 2.4798 | 0.1694 | 2.3411 | 0.5294 |
| 2 | -0.247 | 10.11 | 7.39 | 5.14 | 3.19 | 1.58 | 0.1432 | 1.4478 | 1.0587 | 0.7368 | 0.4572 | 0.2256 |
| 3 | -0.285 | 9.80 | 4.90 | 2.55 | 11.38 | 2.85 | 0.1344 | 1.3168 | 0.6592 | 0.3427 | 1.5298 | 0.3830 |
| 4 | -0.323 | 10.03 | 8.14 | 5.39 | 3.78 | 1.88 | 0.1261 | 1.2646 | 1.0272 | 0.6799 | 0.4770 | 0.2368 |
| 5 | -0.457 | 8.40 | 11.20 | 0.95 | 9.23 | 2.11 | 0.1006 | 0.8443 | 1.1260 | 0.0960 | 0.9284 | 0.2126 |
| 6 | -0.714 | 8.28 | 10.98 | 1.10 | 9.33 | 2.53 | 0.0651 | 0.5396 | 0.7154 | 0.0717 | 0.6079 | 0.1646 |
| 7 | -0.761 | 5.36 | 10.21 | 10.38 | 2.15 | 11.11 | 0.0602 | 0.3229 | 0.6150 | 0.6249 | 0.1297 | 0.6689 |
| 8 | -1.157 | 9.17 | 9.97 | 3.31 | 5.32 | 11.01 | 0.0308 | 0.2828 | 0.3074 | 0.1020 | 0.1642 | 0.3396 |
| 9 | -1.168 | 9.17 | 9.97 | 3.31 | 5.33 | 11.01 | 0.0303 | 0.2775 | 0.3016 | 0.1001 | 0.1611 | 0.3331 |
| 10 | -1.257 | 2.14 | 11.21 | 2.56 | 11.21 | 2.81 | 0.0261 | 0.0557 | 0.2921 | 0.0668 | 0.2921 | 0.0732 |
| 11 | -1.451 | 2.37 | 11.30 | 2.73 | 11.01 | 2.82 | 0.0188 | 0.0446 | 0.2120 | 0.0512 | 0.2065 | 0.0529 |
| 12 | -1.571 | 9.12 | 4.83 | 1.76 | 11.06 | 3.18 | 0.0153 | 0.1397 | 0.0741 | 0.0270 | 0.1695 | 0.0488 |
| 13 | -1.941 | 5.64 | 10.87 | 0.52 | 10.82 | 2.16 | 0.0082 | 0.0463 | 0.0893 | 0.0042 | 0.0888 | 0.0178 |
| 14 | -2.255 | 10.80 | 7.04 | 10.47 | 0.54 | 10.52 | 0.0048 | 0.0522 | 0.0340 | 0.0506 | 0.0026 | 0.0509 |
| 15 | -2.283 | 5.64 | 10.87 | 0.52 | 10.82 | 2.16 | 0.0046 | 0.0260 | 0.0501 | 0.0024 | 0.0499 | 0.0100 |
| 16 | -2.525 | 10.43 | 3.67 | 3.62 | 1.12 | 0.61 | 0.0031 | 0.0319 | 0.0112 | 0.0111 | 0.0034 | 0.0019 |
| 17 | -2.619 | 9.52 | 6.91 | 11.64 | 4.27 | 2.32 | 0.0026 | 0.0249 | 0.0181 | 0.0305 | 0.0112 | 0.0061 |
| 18 | -2.743 | 3.87 | 11.47 | 2.89 | 10.54 | 0.48 | 0.0021 | 0.0082 | 0.0243 | 0.0061 | 0.0224 | 0.0010 |
| 19 | -2.884 | 9.62 | 3.66 | 1.60 | 10.64 | 0.61 | 0.0017 | 0.0161 | 0.0061 | 0.0027 | 0.0178 | 0.0010 |
| 20 | -2.928 | 7.13 | 8.98 | 6.12 | 3.21 | 1.82 | 0.0016 | 0.0111 | 0.0139 | 0.0095 | 0.0050 | 0.0028 |
| 21 | -3.121 | 7.12 | 8.98 | 6.13 | 3.22 | 1.83 | 0.0011 | 0.0080 | 0.0101 | 0.0069 | 0.0036 | 0.0021 |
| 22 | -3.322 | 6.13 | 10.16 | 10.60 | 4.96 | 10.01 | 0.0008 | 0.0049 | 0.0081 | 0.0085 | 0.0040 | 0.0080 |
| 23 | -3.471 | 9.31 | 10.77 | 0.74 | 4.82 | 11.26 | 0.0006 | 0.0058 | 0.0067 | 0.0005 | 0.0030 | 0.0070 |
| 24 | -3.739 | 10.30 | 5.38 | 2.77 | 9.42 | 2.27 | 0.0004 | 0.0041 | 0.0021 | 0.0011 | 0.0037 | 0.0009 |
| | | | | | | | Valor teórico | 8.61 | 9.14 | 3.20 | 7.68 | 3.38 |
| | | | | | | | Valor experimental | 8.5 | 9.5 | 4 | 7 | 4 |
| | | | | | | | RMSD | | | | | 0.57 |

^a Variación de la energía libre en kcal mol⁻¹ obtenidas por el método B3LYP/DGDZVP.^b

Fracción molar a partir de los valores de ΔE a 298 K y 1 atm. ^c J_{H-H} vecinales en Hz calculadas por DFT-GIAO a partir de las estructuras optimizadas por el método B3LYP/DGDZVP.

De los resultados del análisis conformacional de los derivados semisintéticos de la sinrotólida (**Cuadros 3 y 4**), 4'-acetilsinrotólida, 5'-acetilsinrotólida y la 4'-acetil-5'-oxosinrotólida (**Cuadros 1-6** del Apéndice) se puede observar que a nivel de mecánica molecular y a nivel semi-empírico no se está representando de forma precisa los sistemas, esto es evidente al comparar las constantes de acoplamiento (J_{H-H}) vecinales calculadas contra las experimentales obtenidas de los espectros de RMN 1H , ya que de acuerdo al criterio del RMSD, se puede observar que el nivel de teoría que mejor representa a los derivados semisintéticos de la sinrotólida es el DFT por el método B3LYP/DGDZVP (**Cuadro 5**), ya que tiene una desviación notablemente menor que los obtenidos por los otros niveles de teoría (**Figura 38**).

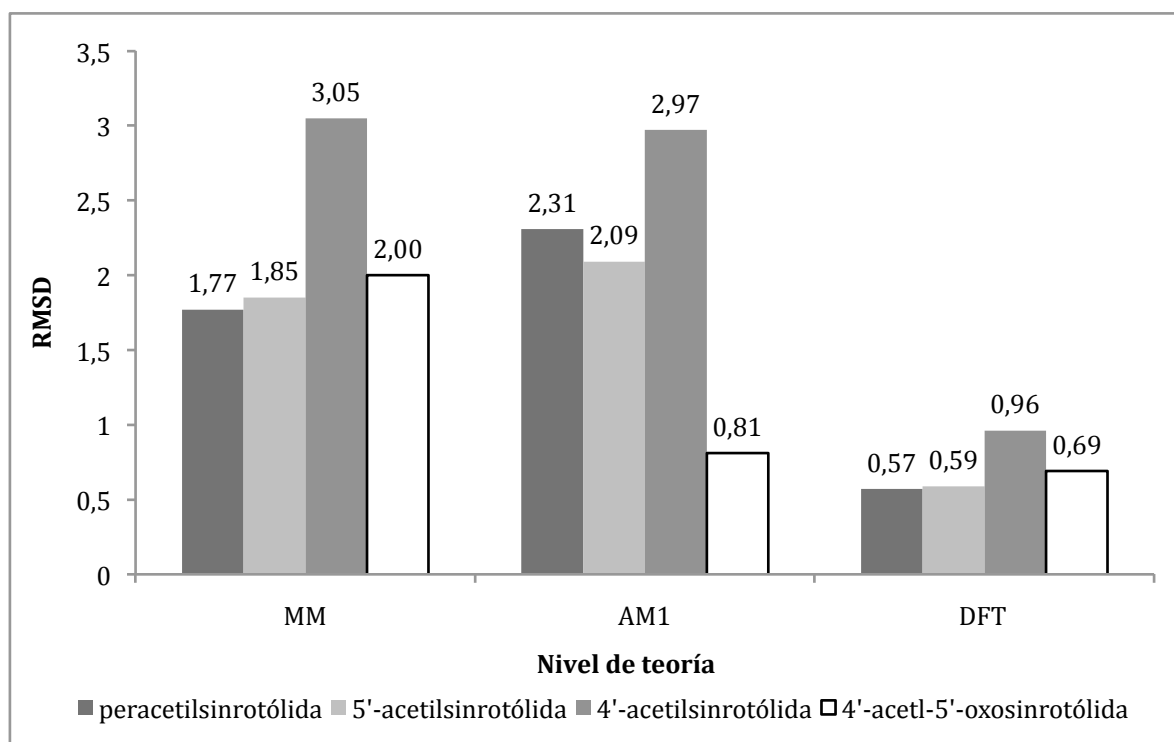


Figura 38. Comparación del error medio cuadrático para peracetilsinrotólida, 4'-acetilsinrotólida, 5'-acetilsinrotólida y 4'-acetil-5'-oxosinrotólida con diferentes niveles de teoría.

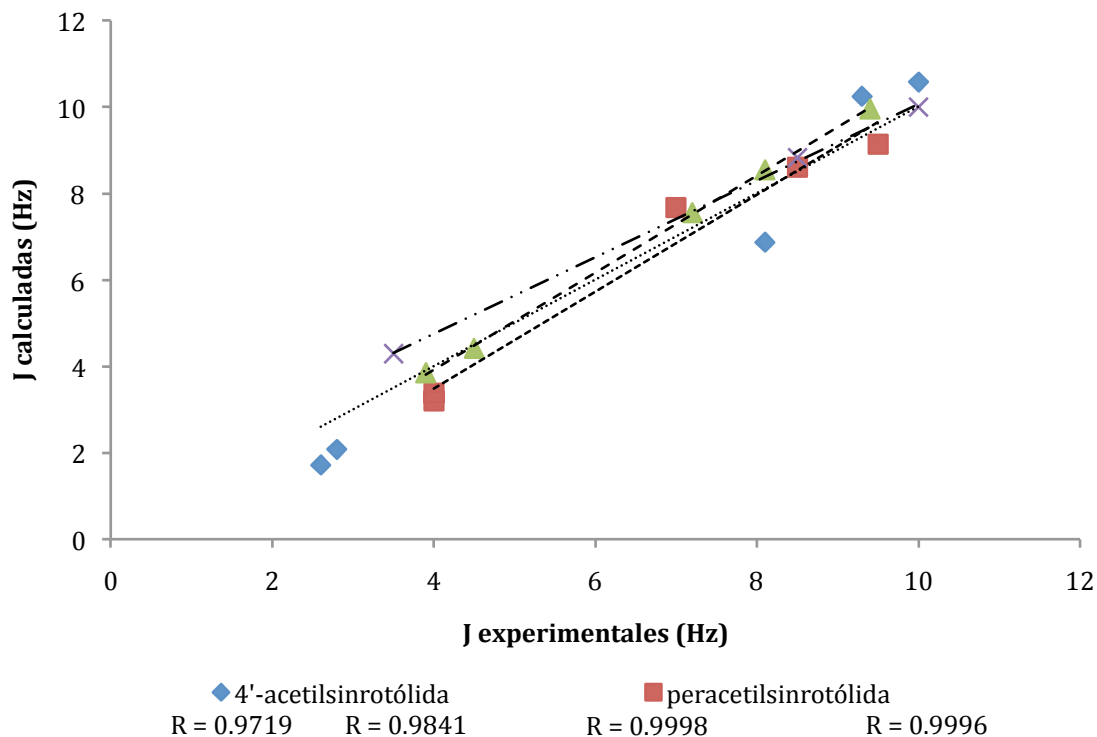


Figura 39. Comparación entre las constantes de acoplamiento calculadas con DFT y experimentales para los derivados semisintéticos de la sinrotólida.

Las constantes de acoplamiento calculadas se compararon con las experimentales encontrando una buena correlación entre ambos valores (**Figura 39**), lo que indica que las conformaciones de los compuestos **2–5** en solución de CDCl_3 están bien representadas por los modelos moleculares empleando la teoría de funcionales de la densidad a por el método B3LYP/DGDZVP (**Cuadros 7, 9 y 11**). Con respecto a lo anterior cabe mencionar que para este tipo de moléculas es indispensable considerar la energía vibracional, la entropía y las interacciones electrónicas y no sólo las interacciones electrostáticas o estéricas.

A continuación se muestran los resultados obtenidos a nivel DFT por el método B3LYP/DGDZVP para los compuestos **2-5**.

El análisis de las conformaciones de la cadena lateral se realizó según el criterio descrito en la **Figura 23** (sección 6.2.3.).

a) Peracetilsinrotólida.

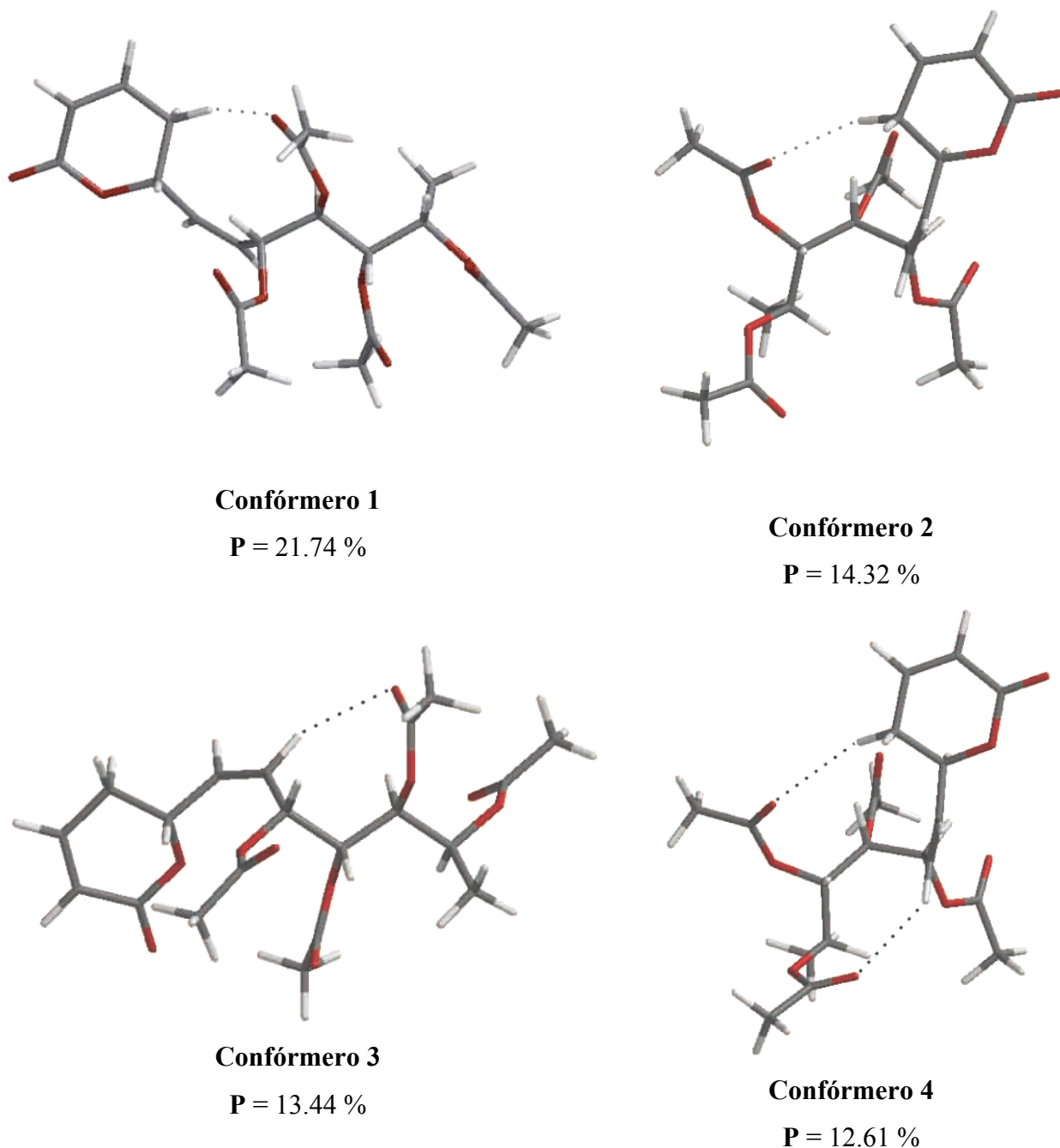


Figura 40. Confórmeros de mínima energía para la peracetilsinrotólida (**3**).

Participación de cada confórmero en porcentaje (P).

Cuadro 6. Conformaciones de mínima energía y enlaces de hidrógeno para la peracetilsinrotólida

| Confórmero | Conformación | Enlaces de hidrógeno | | | |
|------------|--------------|---------------------------|-----------------------|------------|--------------|
| | | H | O | Ángulo (°) | Longitud (Å) |
| 1 | ABA | C ₅ ecuatorial | -C=O C ₄ ' | 154.29 | 2.451 |
| 2 | AAA | C ₅ ecuatorial | -C=O C ₅ ' | 153.96 | 2.589 |
| 3 | CBA | C ₂ ' | -C=O C ₅ ' | 139.46 | 2.690 |
| 4 | AAA | C ₅ ecuatorial | -C=O C ₅ ' | 152.27 | 2.769 |
| | | C ₂ ' | -C=O C ₆ ' | 142.04 | 2.616 |

El confórmero de mínima energía de la peracetilsinrotólida muestra la cadena lateral en disposición de zigzag a partir de C₃' y se extiende hasta el oxígeno unido a C₆' (confórmero 1 **Figura 40**). La estabilidad de este confórmero también está dada por un enlace de hidrógeno débil (Desiraju y Steiner, 2001), entre el hidrógeno ecuatorial unido a C₅ del anillo de pirona y el oxígeno carbonílico del acetato en C₄' (**Cuadro 6**). El confórmero 2 (**Figura 40**) se estabiliza por la formación de un enlace de hidrógeno débil con el hidrógeno ecuatorial unido a C₅ del anillo de pirona, y en este caso con el oxígeno carbonílico del acetato en C₅' (**Cuadro 6**); este cambio conformacional tiene una diferencia de energía de 0.247 kcal mol⁻¹ (**Cuadro 5**). En el confórmero 3 (**Figura 40**) se adopta nuevamente la forma en zigzag a partir de C₃' y se extiende hasta el oxígeno unido a C₆'.

Aunque los confórmeros 1 y 3 tienen la forma en zigzag, la conformación es diferente entre C₃'-C₄', para el confórmero 1 **AB** y para el confórmero 3 es **CB** (hay una rotación de 120° del enlace). Debido a lo anterior y por el carácter polioxigenado del compuesto se forma un enlace de hidrógeno débil de diferente ubicación, ángulo y longitud, entre el hidrógeno unido a C₂' y el oxígeno carbonílico del acetato en C₅' (**Cuadro 6**); estos cambios conformacionales muestran una diferencia energética de 0.285 kcal mol⁻¹ (**Cuadro 5**).

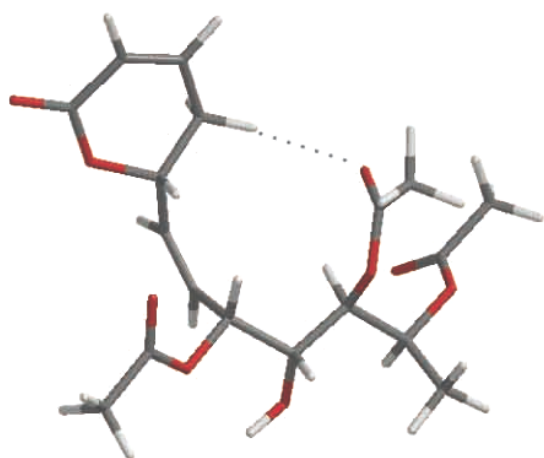
Los conformeros 4 y 2 presentan una conformación similar entre sí (**Figura 40**), es decir, también forman un enlace de hidrógeno con longitud y ángulo semejante pero, el conformero 4 forma un enlace de hidrógeno adicional entre el hidrógeno unido a C₂ y el oxígeno carbonílico del acetato en C₆ (**Cuadro 5**), la mayor estabilidad del conformero 2 con respecto al conformero 4 se debe a que el ángulo del enlace de hidrógeno es mayor y la distancia menor con respecto al enlace de hidrógeno formado en el conformero 4.

b) 5'-acetilsinrotólida.

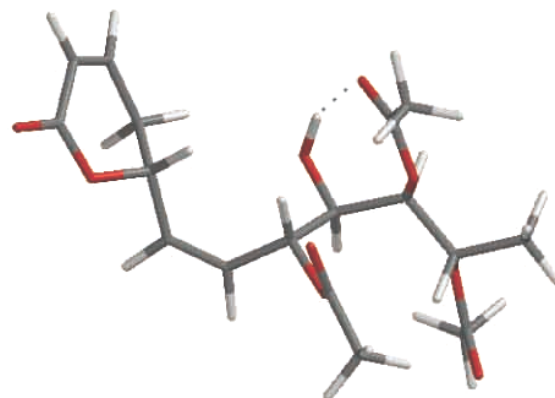
Cuadro 7. Comparación entre las constantes J_{H-H} vecinales teóricas y experimentales de la 5'-acetilsinrotólida a nivel de DFT y criterio estadístico RMSD

| Confórmero | ΔE^a | $^c J_{6,1'}$ | $J_{2',3'}$ | $J_{3',4'}$ | $J_{4',5'}$ | $J_{5',6'}$ | $^b n$ | $nJ_{6,1'}$ | $nJ_{2',3'}$ | $nJ_{3',4'}$ | $nJ_{4',5'}$ | $nJ_{5',6'}$ |
|------------|--------------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 1 | 0.000 | 9.87 | 10.73 | 2.20 | 9.65 | 2.95 | 0.3076 | 3.0357 | 3.2993 | 0.6753 | 2.9673 | 0.9068 |
| 2 | -0.409 | 9.38 | 8.58 | 10.08 | 0.23 | 11.02 | 0.1543 | 1.4484 | 1.3240 | 1.5564 | 0.0350 | 1.7012 |
| 3 | -0.480 | 7.92 | 11.21 | 0.35 | 10.81 | 2.95 | 0.1368 | 1.0831 | 1.5338 | 0.0483 | 1.4791 | 0.4037 |
| 4 | -1.089 | 6.24 | 9.90 | 3.97 | 9.48 | 2.70 | 0.0489 | 0.3053 | 0.4843 | 0.1940 | 0.4634 | 0.1320 |
| 5 | -1.170 | 9.74 | 10.66 | 2.37 | 10.44 | 1.77 | 0.0427 | 0.4156 | 0.4549 | 0.1013 | 0.4452 | 0.0756 |
| 6 | -1.197 | 7.34 | 9.91 | 10.16 | 4.06 | 2.32 | 0.0408 | 0.2994 | 0.4044 | 0.4144 | 0.1655 | 0.0948 |
| 7 | -1.328 | 10.31 | 7.90 | 2.78 | 10.37 | 2.75 | 0.0327 | 0.3367 | 0.2582 | 0.0907 | 0.3389 | 0.0899 |
| 8 | -1.515 | 4.77 | 10.58 | 3.10 | 10.16 | 2.92 | 0.0238 | 0.1137 | 0.2520 | 0.0740 | 0.2420 | 0.0695 |
| 9 | -1.554 | 10.28 | 9.40 | 0.21 | 10.24 | 2.79 | 0.0223 | 0.2293 | 0.2097 | 0.0047 | 0.2284 | 0.0623 |
| 10 | -1.566 | 4.77 | 10.58 | 3.10 | 10.16 | 2.92 | 0.0219 | 0.1043 | 0.2312 | 0.0679 | 0.2221 | 0.0638 |
| 11 | -1.609 | 6.32 | 9.88 | 10.05 | 2.27 | 11.35 | 0.0203 | 0.1286 | 0.2011 | 0.2046 | 0.0462 | 0.2310 |
| 12 | -1.693 | 7.90 | 10.68 | 0.34 | 10.12 | 2.53 | 0.0177 | 0.1395 | 0.1886 | 0.0061 | 0.1786 | 0.0447 |
| 13 | -1.698 | 7.89 | 10.69 | 0.34 | 10.12 | 2.53 | 0.0175 | 0.1381 | 0.1872 | 0.0060 | 0.1771 | 0.0443 |
| 14 | -1.699 | 7.89 | 10.69 | 0.34 | 10.12 | 2.53 | 0.0175 | 0.1378 | 0.1868 | 0.0060 | 0.1768 | 0.0442 |
| 15 | -1.703 | 7.89 | 10.69 | 0.34 | 10.12 | 2.53 | 0.0174 | 0.1370 | 0.1856 | 0.0060 | 0.1756 | 0.0439 |
| 16 | -1.719 | 6.32 | 9.88 | 10.05 | 2.27 | 11.35 | 0.0169 | 0.1067 | 0.1669 | 0.1698 | 0.0383 | 0.1917 |
| 17 | -1.758 | 9.87 | 10.27 | 2.07 | 2.52 | 2.05 | 0.0158 | 0.1562 | 0.1626 | 0.0327 | 0.0399 | 0.0325 |
| 18 | -2.044 | 6.43 | 10.06 | 4.82 | 3.46 | 1.91 | 0.0098 | 0.0627 | 0.0981 | 0.0470 | 0.0338 | 0.0187 |
| 19 | -2.251 | 10.24 | 7.64 | 6.34 | 2.68 | 1.44 | 0.0069 | 0.0705 | 0.0526 | 0.0437 | 0.0185 | 0.0099 |
| 20 | -2.419 | 10.01 | 10.52 | 0.99 | 9.77 | 9.01 | 0.0052 | 0.0519 | 0.0546 | 0.0051 | 0.0506 | 0.0467 |
| 21 | -2.547 | 9.18 | 9.06 | 10.44 | 0.36 | 4.06 | 0.0042 | 0.0383 | 0.0378 | 0.0436 | 0.0015 | 0.0169 |
| 22 | -2.790 | 10.04 | 6.27 | 10.28 | 0.27 | 11.17 | 0.0028 | 0.0278 | 0.0174 | 0.0285 | 0.0008 | 0.0310 |
| 23 | -2.908 | 10.27 | 7.25 | 6.33 | 2.50 | 1.25 | 0.0023 | 0.0233 | 0.0164 | 0.0144 | 0.0057 | 0.0028 |
| 24 | -2.963 | 9.88 | 6.93 | 5.70 | 3.37 | 2.29 | 0.0021 | 0.0204 | 0.0143 | 0.0118 | 0.0070 | 0.0047 |
| 25 | -3.148 | 8.60 | 9.05 | 2.74 | 5.31 | 10.93 | 0.0015 | 0.0130 | 0.0137 | 0.0041 | 0.0080 | 0.0165 |
| 26 | -3.171 | 9.77 | 7.09 | 0.58 | 9.03 | 9.41 | 0.0015 | 0.0142 | 0.0103 | 0.0008 | 0.0132 | 0.0137 |
| 27 | -3.177 | 6.99 | 9.80 | 6.22 | 0.40 | 11.35 | 0.0014 | 0.0101 | 0.0141 | 0.0090 | 0.0006 | 0.0164 |
| 28 | -3.203 | 9.77 | 7.08 | 0.58 | 9.03 | 9.41 | 0.0014 | 0.0135 | 0.0098 | 0.0008 | 0.0125 | 0.0130 |
| 29 | -3.203 | 9.77 | 7.08 | 0.58 | 9.03 | 9.41 | 0.0014 | 0.0135 | 0.0098 | 0.0008 | 0.0124 | 0.0130 |
| 30 | -3.217 | 10.03 | 7.83 | 4.13 | 10.15 | 2.08 | 0.0013 | 0.0135 | 0.0106 | 0.0056 | 0.0137 | 0.0028 |
| 31 | -3.250 | 10.29 | 8.32 | 2.94 | 9.37 | 9.37 | 0.0013 | 0.0131 | 0.0106 | 0.0037 | 0.0119 | 0.0119 |
| 32 | -3.402 | 5.99 | 10.04 | 1.95 | 1.78 | 1.19 | 0.0010 | 0.0059 | 0.0099 | 0.0019 | 0.0018 | 0.0012 |
| 33 | -3.451 | 5.51 | 10.01 | 1.39 | 2.52 | 1.43 | 0.0009 | 0.0050 | 0.0091 | 0.0013 | 0.0023 | 0.0013 |
| 34 | -3.889 | 10.08 | 8.57 | 3.44 | 9.27 | 8.94 | 0.0004 | 0.0044 | 0.0037 | 0.0015 | 0.0040 | 0.0039 |
| | | | | | | | Valor teórico | 8.72 | 10.12 | 3.88 | 7.62 | 4.46 |
| | | | | | | | Valor experimental | 8.1 | 9.4 | 4.5 | 7.2 | 3.9 |
| | | | | | | | RMSD | | | | | 0.60 |

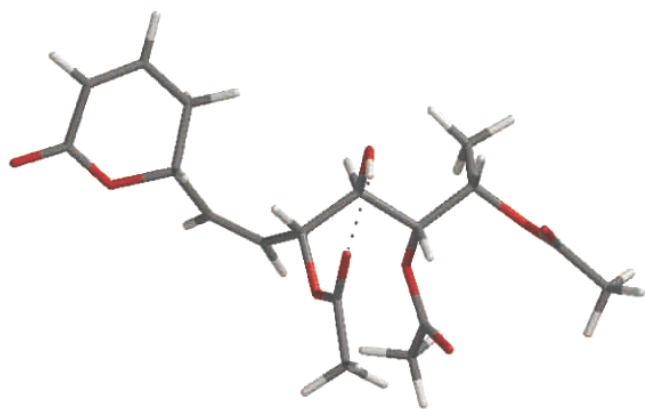
^a Variación de la energía libre en kcal mol⁻¹ obtenidas por el método B3LYP/DGDZVP. ^b Fracción molar a partir de los valores de ΔE a 298 K y 1 atm. ^c J_{H-H} vecinales en Hz calculadas por DFT-GIAO a partir de las estructuras optimizadas a nivel B3LYP/DGDZVP.



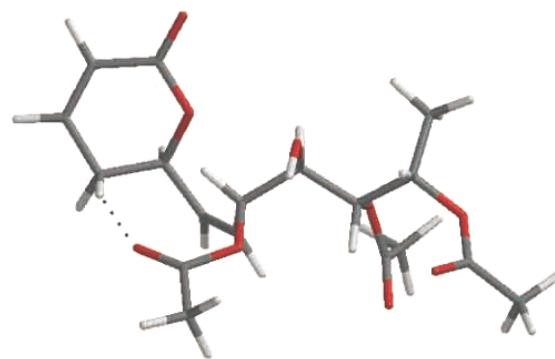
Confórmero 1
P = 30.76 %



Confórmero 2
P = 15.43 %



Confórmero 3
P = 13.68 %



Confórmero 4
P = 4.81 %

Figura 41. Confórmeros de mínima energía para la 5'-acetilsinrotólida (**4**).

Participación de cada confórmero en porcentaje (P).

Cuadro 8. Conformaciones de mínima energía y enlaces de hidrógeno para 5'-acetilsinrotólida

| Confórmero | Conformación | Enlaces de hidrógeno | | | |
|------------|--------------|---------------------------|-----------------------|------------|--------------|
| | | H | O | Ángulo (°) | Longitud (Å) |
| 1 | CBA | C ₅ ecuatorial | -C=O C ₅ ' | 171.03 | 2.438 |
| 2 | BAB | C ₄ '-O-H | -C=O C ₅ ' | 151.26 | 1.911 |
| 3 | ABA | C ₄ '-O-H | -C=O C ₃ ' | 145.80 | 1.991 |
| 4 | ABA | C ₅ axial | -C=O C ₃ ' | 158.69 | 2.496 |

El confórmero 1 presenta la cadena lateral en forma de zigzag a partir del oxígeno unido a C₃' hasta el oxígeno unido a C₆' (**Figura 41**), se forma un enlace de hidrógeno débil entre el hidrógeno ecuatorial unido a C₅ del anillo de pirona y el oxígeno carbonílico del acetato en C₅' (**Cuadro 8**). Los confórmeros 2 y 3 se estabilizan por un enlace de hidrógeno, en ambos casos el donador de hidrógeno es el hidroxilo unido C₄', para el confórmero 2 el aceptor de hidrógeno es el oxígeno carbonílico del acetato en C₅' y para el confórmero 3 es el oxígeno carbonílico del acetato en C₃' (**Figura 41**). De la misma figura podemos observar que la cadena lateral de los confórmeros 2 y 3 tiene forma de zigzag, pero el enlace de hidrógeno formado en el confórmero 2 tiene un ángulo mayor y una distancia menor, lo que le confiere mayor estabilidad con una diferencia de energía de 0.071 kcal mol⁻¹ (**Cuadro 8**). La rotación de aproximadamente 180° del enlace formado entre C₆-C₁' dirige la disposición espacial del confórmero 4, pues el hidrógeno axial unido a C₅ forma un enlace de hidrógeno débil con el oxígeno carbonílico del acetato en C₃' (**Cuadro 8**).

c) 4' acetilsinrótolida.

Cuadro 9. Comparación entre las constantes J_{H-H} vecinales teóricas y experimentales de la 4'-acetilsinrotólida a nivel de DFT y criterio estadístico RMSD

| Conformero | ΔE | $J_{6,1'}$ | $J_{2',3'}$ | $J_{3',4'}$ | $J_{4',5'}$ | $J_{5',6'}$ | n | $nJ_{6,5'cc}$ | $nJ_{6,1'}$ | $nJ_{2',3'}$ | $nJ_{3',4'}$ | $nJ_{4',5'}$ | $nJ_{5',6'}$ |
|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------|--------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 1 | 0.000 | 6.27 | 10.06 | 1.43 | 10.72 | 1.98 | 0.3854 | 1.5273 | 2.4164 | 3.8757 | 0.5495 | 4.1296 | 0.7616 |
| 2 | -0.023 | 6.27 | 10.06 | 1.43 | 10.71 | 1.98 | 0.3709 | 1.4700 | 2.3260 | 3.7308 | 0.5297 | 3.9745 | 0.7333 |
| 3 | -0.560 | 9.20 | 11.00 | 2.60 | 10.75 | 1.73 | 0.1497 | 0.6073 | 1.3764 | 1.6466 | 0.3892 | 1.6090 | 0.2592 |
| 4 | -1.200 | 7.67 | 11.01 | 1.67 | 10.23 | 2.88 | 0.0509 | 0.2175 | 0.3902 | 0.5597 | 0.0851 | 0.5202 | 0.1463 |
| 5 | -2.093 | 9.10 | 11.10 | 2.78 | 10.94 | 2.12 | 0.0113 | 0.0457 | 0.1025 | 0.1251 | 0.0313 | 0.1232 | 0.0239 |
| 6 | -2.492 | 6.10 | 9.98 | 8.90 | 0.99 | 10.50 | 0.0057 | 0.0239 | 0.0350 | 0.0572 | 0.0511 | 0.0057 | 0.0602 |
| 7 | -2.548 | 8.00 | 10.76 | 3.04 | 11.09 | 2.06 | 0.0052 | 0.0213 | 0.0418 | 0.0563 | 0.0159 | 0.0580 | 0.0108 |
| 8 | -2.793 | 9.50 | 10.84 | 2.67 | 9.71 | 3.28 | 0.0035 | 0.0136 | 0.0328 | 0.0374 | 0.0092 | 0.0335 | 0.0113 |
| 9 | -2.819 | 9.50 | 10.84 | 2.67 | 9.70 | 3.28 | 0.0033 | 0.0130 | 0.0314 | 0.0358 | 0.0088 | 0.0321 | 0.0109 |
| 10 | -2.829 | 9.90 | 6.47 | 3.45 | 10.48 | 2.62 | 0.0032 | 0.0128 | 0.0322 | 0.0210 | 0.0112 | 0.0341 | 0.0085 |
| 11 | -3.080 | 7.26 | 10.53 | 3.09 | 3.01 | 2.51 | 0.0021 | 0.0094 | 0.0155 | 0.0224 | 0.0066 | 0.0064 | 0.0053 |
| 12 | -3.387 | 7.74 | 11.36 | 0.99 | 7.48 | 2.16 | 0.0013 | 0.0053 | 0.0098 | 0.0144 | 0.0013 | 0.0095 | 0.0027 |
| 13 | -3.392 | 7.74 | 11.36 | 0.99 | 7.48 | 2.16 | 0.0013 | 0.0052 | 0.0097 | 0.0143 | 0.0012 | 0.0094 | 0.0027 |
| 14 | -3.424 | 8.49 | 5.39 | 2.28 | 10.28 | 2.31 | 0.0012 | 0.0046 | 0.0101 | 0.0064 | 0.0027 | 0.0123 | 0.0027 |
| 15 | -3.627 | 10.12 | 9.78 | 4.31 | 0.57 | 10.07 | 0.0008 | 0.0032 | 0.0086 | 0.0083 | 0.0036 | 0.0005 | 0.0085 |
| 16 | -3.651 | 9.20 | 9.70 | 3.15 | 4.63 | 10.16 | 0.0008 | 0.0034 | 0.0075 | 0.0079 | 0.0026 | 0.0038 | 0.0082 |
| 17 | -3.652 | 6.83 | 10.75 | 4.00 | 3.95 | 2.08 | 0.0008 | 0.0036 | 0.0055 | 0.0087 | 0.0032 | 0.0032 | 0.0017 |
| 18 | -3.658 | 8.08 | 10.71 | 9.95 | 0.72 | 11.32 | 0.0008 | 0.0033 | 0.0065 | 0.0086 | 0.0080 | 0.0006 | 0.0091 |
| 19 | -3.665 | 9.20 | 9.70 | 3.15 | 4.63 | 10.16 | 0.0008 | 0.0033 | 0.0073 | 0.0077 | 0.0025 | 0.0037 | 0.0081 |
| 20 | -3.855 | 7.47 | 10.32 | 11.08 | 4.63 | 2.07 | 0.0006 | 0.0024 | 0.0043 | 0.0059 | 0.0064 | 0.0027 | 0.0012 |
| 21 | -3.998 | 9.34 | 6.00 | 2.20 | 9.15 | 2.41 | 0.0005 | 0.0018 | 0.0042 | 0.0027 | 0.0010 | 0.0041 | 0.0011 |
| | | | | | | | | Valor teórico | 6.87 | 10.25 | 1.72 | 10.58 | 2.08 |
| | | | | | | | | Valor experimental | 8.1 | 10 | 2.8 | 9.3 | 2.6 |
| | | | | | | | | RMSD | | | | | 0.96 |

^a Variación de la energía libre en kcal mol⁻¹ obtenidas por el método B3LYP/DGDZVP.^b

Fracción molar a partir de los valores de ΔE a 298 K y 1 atm. ^c J_{H-H} vecinales en Hz calculadas por DFT-GIAO a partir de las estructuras optimizadas a nivel B3LYP/DGDZVP.

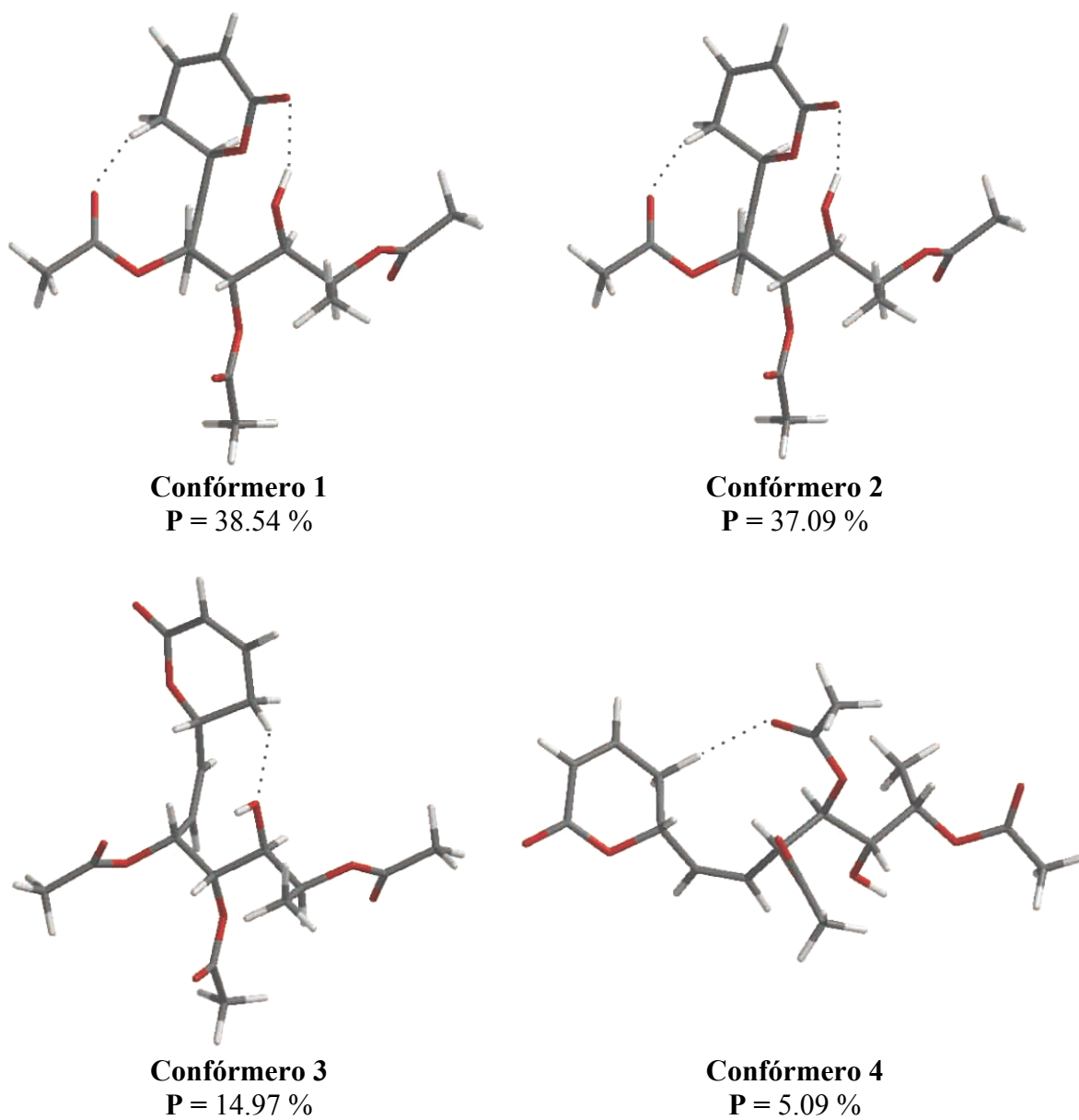


Figura 42. Confórmeros de mínima energía para la 4'-acetilsinrotólida (2).

Participación de cada confórmero en porcentaje (P).

Cuadro 10. Conformaciones de mínima energía y enlaces de hidrógeno para 4'-acetilsinrotólida

| Confórmero | Conformación | Enlaces de hidrógeno | | | |
|------------|--------------|---------------------------|----------------------|------------|--------------|
| | | H | O | Ángulo (°) | Longitud (Å) |
| 1 | CBA | C ₅ axial | -C=O C _{3'} | 159.39 | 2.347 |
| | | C _{5'} -O-H | -C=O C ₂ | 158.78 | 2.046 |
| 2 | CBA | C ₅ axial | -C=O C _{3'} | 159.39 | 2.347 |
| | | C _{5'} -O-H | -C=O C ₂ | 158.79 | 2.045 |
| 3 | CBA | C ₅ ecuatorial | -O-C _{5'} | 147.41 | 2.498 |
| 4 | ABA | C ₅ ecuatorial | -C=O C _{4'} | 154.68 | 2.527 |

Los confórmeros 1 y 2 (**Figura 42**) de 4'-acetilsinrotólida muestran una diferencia energética de 0.023 kcal mol⁻¹ (**Cuadro 9**) y representan dos geometrías ligeramente diferentes, esto puede observarse en uno de los enlaces de hidrógeno formado entre el hidrógeno del hidroxilo unido a C_{5'} y el oxígeno carbonílico del anillo de pirona, en el cual el ángulo y la longitud varía sutilmente entre un confórmero y otro, el enlace de hidrógeno débil formado entre el hidrógeno axial unido a C₅ y el oxígeno carbonílico del acetato en C_{3'} es igual en los confórmeros 1 y 2 (**Cuadro 10**). En ambos confórmeros se encuentra la cadena lateral en forma de zigzag desde el metilo del acetato unido al C_{3'} hasta el oxígeno unido al C_{6'}.

La rotación de 180° del enlace entre C₆-C_{1'} guía la geometría del confórmero 3 (**Figura 42**), la cadena lateral conserva prácticamente la misma conformación que los confórmeros 1 y 2, la disposición en zigzag de la cadena lateral inicia en el oxígeno unido a C_{3'} y termina en el oxígeno unido a C_{6'} pero, el giro del anillo de pirona establece la formación de un enlace de hidrógeno débil entre el hidrógeno ecuatorial unido a C₅ y el oxígeno unido a C_{5'}.

El confórmero 4 tiene una cadena lateral en zigzag desde C_{3'} hasta el metilo del grupo acetato unido a C_{6'} (**Figura 42**), debido a la rotación de 120° del enlace C_{3'}-C_{4'}, con el cual se forma también un enlace de hidrógeno débil entre el hidrógeno ecuatorial unido a C₅ y el oxígeno carbonílico del acetato en C_{4'} (**Cuadro 10**).

d) 4'-acetil-5'-oxosinrotólida.

Cuadro 11. Comparación entre las constantes J_{H-H} vecinales teóricas y experimentales de la 4'-acetil-5'-oxosinrotólida a nivel de DFT y criterio estadístico RMSD

| Confórmero | ΔE | $J_{6,1'}$ | $J_{2',3'}$ | $J_{3',4'}$ | n | $nJ_{6,5ec}$ | $nJ_{6,1'}$ | $nJ_{2',3'}$ | $nJ_{3',4'}$ |
|------------|------------|------------|-------------|-------------|--------|--------------------|-------------|--------------|--------------|
| 1 | 0.000 | 9.66 | 11.09 | 3.30 | 0.2096 | 0.8330 | 2.0240 | 2.3239 | 0.6914 |
| 2 | -0.026 | 9.65 | 11.09 | 3.30 | 0.2005 | 0.7973 | 1.9353 | 2.2231 | 0.6618 |
| 3 | -0.603 | 9.84 | 10.75 | 2.81 | 0.0757 | 0.3118 | 0.7452 | 0.8146 | 0.2127 |
| 4 | -0.622 | 9.84 | 10.75 | 2.81 | 0.0734 | 0.3022 | 0.7219 | 0.7891 | 0.2060 |
| 5 | -0.644 | 7.79 | 10.89 | 3.50 | 0.0706 | 0.2917 | 0.5502 | 0.7690 | 0.2471 |
| 6 | -0.692 | 9.83 | 10.76 | 2.81 | 0.0652 | 0.2685 | 0.6407 | 0.7009 | 0.1830 |
| 7 | -0.710 | 6.78 | 11.08 | 10.57 | 0.0632 | 0.2606 | 0.4285 | 0.7004 | 0.6680 |
| 8 | -0.720 | 7.92 | 10.65 | 1.83 | 0.0622 | 0.2661 | 0.4927 | 0.6623 | 0.1138 |
| 9 | -0.925 | 7.02 | 10.52 | 10.32 | 0.0440 | 0.1819 | 0.3087 | 0.4628 | 0.4539 |
| 10 | -0.939 | 6.60 | 11.28 | 10.41 | 0.0429 | 0.1776 | 0.2833 | 0.4841 | 0.4467 |
| 11 | -1.239 | 9.66 | 10.91 | 3.07 | 0.0259 | 0.1004 | 0.2501 | 0.2825 | 0.0796 |
| 12 | -1.303 | 6.93 | 9.65 | 3.42 | 0.0233 | 0.0998 | 0.1610 | 0.2244 | 0.0796 |
| 13 | -1.798 | 2.52 | 11.41 | 3.39 | 0.0101 | 0.0379 | 0.0255 | 0.1150 | 0.0341 |
| 14 | -2.359 | 9.48 | 4.31 | 3.29 | 0.0039 | 0.0156 | 0.0371 | 0.0168 | 0.0129 |
| 15 | -2.369 | 9.47 | 4.31 | 3.29 | 0.0038 | 0.0153 | 0.0364 | 0.0165 | 0.0126 |
| 16 | -2.489 | 10.27 | 5.75 | 2.21 | 0.0031 | 0.0123 | 0.0323 | 0.0181 | 0.0069 |
| 17 | -2.526 | 6.48 | 10.54 | 9.66 | 0.0029 | 0.0110 | 0.0191 | 0.0311 | 0.0285 |
| 18 | -2.526 | 6.48 | 10.54 | 9.66 | 0.0029 | 0.0110 | 0.0191 | 0.0311 | 0.0285 |
| 19 | -2.526 | 6.48 | 10.54 | 9.66 | 0.0029 | 0.0110 | 0.0191 | 0.0311 | 0.0285 |
| 20 | -2.528 | 6.47 | 10.54 | 9.66 | 0.0029 | 0.0110 | 0.0190 | 0.0310 | 0.0284 |
| 21 | -2.666 | 6.83 | 10.75 | 10.38 | 0.0023 | 0.0096 | 0.0159 | 0.0250 | 0.0241 |
| 22 | -3.008 | 5.65 | 10.63 | 0.89 | 0.0013 | 0.0049 | 0.0074 | 0.0139 | 0.0012 |
| 23 | -3.048 | 9.93 | 5.14 | 2.26 | 0.0012 | 0.0048 | 0.0121 | 0.0063 | 0.0028 |
| 24 | -3.048 | 5.86 | 10.35 | 10.47 | 0.0012 | 0.0048 | 0.0072 | 0.0126 | 0.0128 |
| 25 | -3.173 | 6.33 | 9.88 | 10.10 | 0.0010 | 0.0036 | 0.0063 | 0.0098 | 0.0100 |
| 26 | -3.281 | 10.10 | 5.37 | 2.84 | 0.0008 | 0.0032 | 0.0083 | 0.0044 | 0.0023 |
| 27 | -3.512 | 8.09 | 11.08 | 1.83 | 0.0006 | 0.0024 | 0.0045 | 0.0062 | 0.0010 |
| 28 | -3.564 | 8.09 | 11.08 | 1.83 | 0.0005 | 0.0022 | 0.0041 | 0.0057 | 0.0009 |
| 29 | -3.587 | 8.09 | 11.07 | 1.83 | 0.0005 | 0.0021 | 0.0040 | 0.0054 | 0.0009 |
| 30 | -3.663 | 5.78 | 10.43 | 10.52 | 0.0004 | 0.0015 | 0.0025 | 0.0045 | 0.0046 |
| 31 | -3.811 | 7.46 | 7.45 | 4.21 | 0.0003 | 0.0015 | 0.0025 | 0.0025 | 0.0014 |
| 32 | -3.896 | 7.27 | 10.38 | 9.60 | 0.0003 | 0.0012 | 0.0021 | 0.0030 | 0.0028 |
| 33 | -3.948 | 2.20 | 8.61 | 1.53 | 0.0003 | 0.0010 | 0.0006 | 0.0023 | 0.0004 |
| | | | | | | Valor teórico | 8.83 | 10.83 | 4.29 |
| | | | | | | Valor experimental | 8.5 | 10 | 3.5 |
| | | | | | | RMSD | | | 0.69 |

^a Variación de la energía libre en kcal mol⁻¹ obtenidas por el método B3LYP/DGDZVP.^b Fracción molar a partir de los valores de ΔE a 298 K y 1 atm. ^c J_{H-H} vecinales en Hz calculadas por DFT-GIAO a partir de las estructuras optimizadas a nivel B3LYP/DGDZVP.

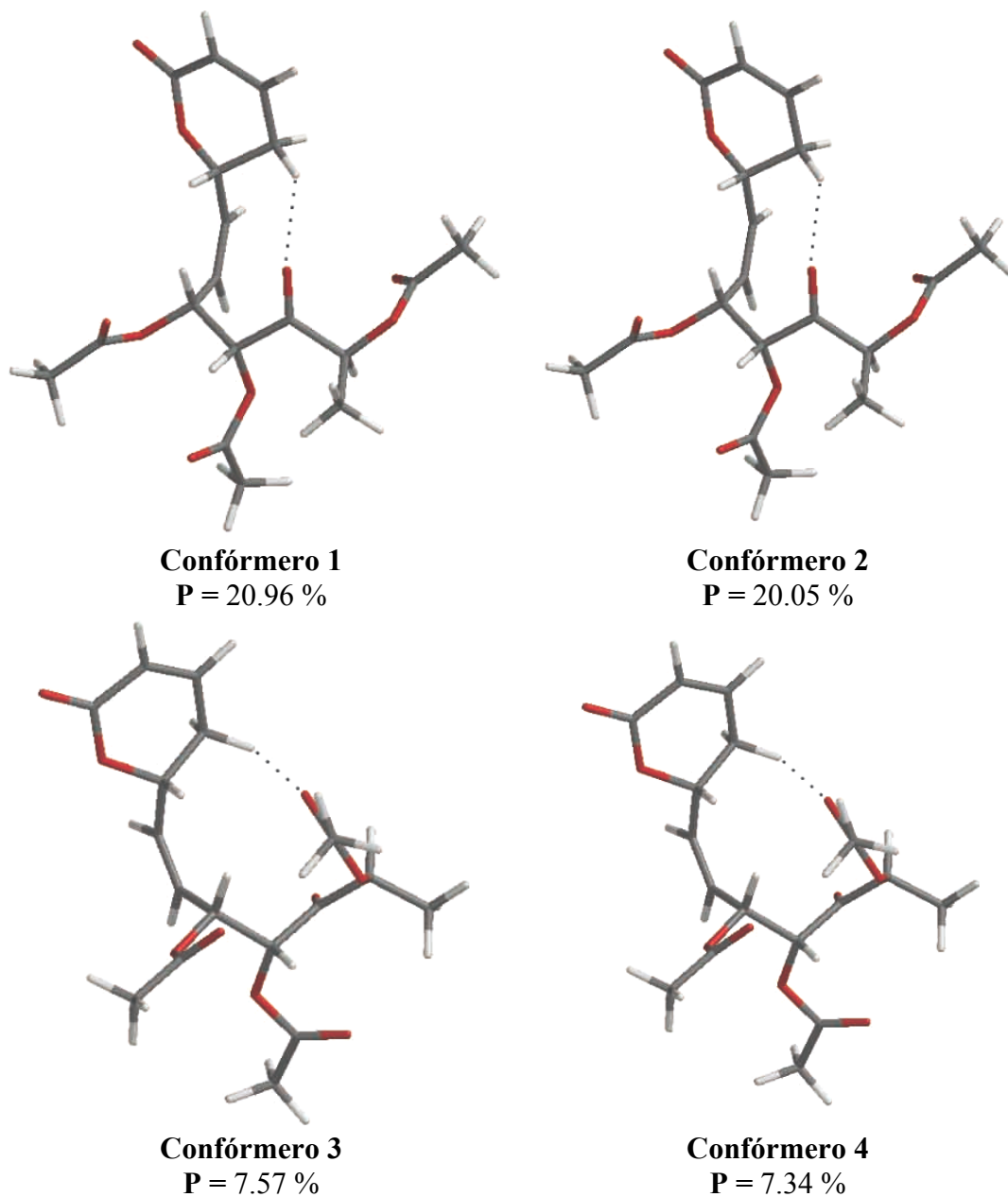


Figura 43. Confórmeros de mínima energía para la 4'-acetil-5'-oxosinrotólida (5).

Participación de cada confórmero en porcentaje (P).

Cuadro 12. Conformaciones de mínima energía y enlaces de hidrógeno para 4'-acetil-5'-oxosinrotólida

| Confórmero | Conformación | Enlaces de hidrógeno | | | |
|------------|--------------|---------------------------|-----------------------|------------|--------------|
| | | H | O | Ángulo (°) | Longitud (Å) |
| 1 | C | C ₅ ecuatorial | -C ₅ '=O | 144.04 | 2.479 |
| 2 | C | C ₅ ecuatorial | -C ₅ '=O | 144.10 | 2.479 |
| 3 | C | C ₅ ecuatorial | -C=O C ₆ ' | 157.07 | 2.590 |
| 4 | C | C ₅ ecuatorial | -C=O C ₆ ' | 157.07 | 2.590 |

Los confórmeros 1 y 2 (**Figura 43**) representan geometrías ligeramente diferentes con una diferencia energética de 0.026 kcal mol⁻¹, lo cual se puede observar en las constantes de acoplamiento vecinales (J_{H-H}) de los protones H₆-H₁' (**Cuadro 11**) y en el ángulo que se forma en el enlace de hidrógeno débil entre el hidrógeno ecuatorial unido a C₅ y el oxígeno carbonílico en C₅' (**Cuadro12**). En ambos confórmeros, el carbonilo en C₅' dirige la conformación de la 4'-acetil-5'-oxosinrotólida. Se sugiere que las pequeñas diferencias observadas en los ΔE (**Cuadro 11**) de los confórmeros se debe a que el grupo carbonilo en la cadena lateral le confiere una mayor libertad rotacional.

Los confórmeros 3 y 4 (**Figura 43**) también poseen geometrías ligeramente diferentes y de igual manera se puede observar en las constantes de acoplamiento vecinales (J_{H-H}) de los protones H₆-H₁' (**Cuadro 11**). En estos últimos dos confórmeros, también se forma un enlace de hidrógeno débil entre el hidrógeno ecuatorial unido a C₅ y el oxígeno carbonílico del acetato en C₆' (**Cuadro12**).

De la **Figura 43** se puede observar que los confórmeros 1-4 tienden a adoptar la forma en zigzag, aún cuando el carbonilo en posición C₅' tiene una hibridación diferente (sp²) que los otros carbonos de la cadena (C₃', C₄', C₆' y C₇'). En los confórmeros 1 y 2 la forma en zigzag parte del oxígeno unido al C₃' y hasta el oxígeno unido al C₆', en cambio, para los confórmeros 3 y 4 la forma en zigzag inicia en el oxígeno unido a C₃' y hasta C₇' (**Figura 43**).

A partir de los **Cuadros 6, 8, 10 y 12** se concluye que las conformaciones adoptadas por los conformeros analizados no presentan una conformación **A-C** para el fragmento $C_3-C_4-C_5$ y/o **C-A** para el fragmento $C_4-C_5-C_6$, debido a que en estos casos se presentarían interacciones 1,3 oxígeno//oxígeno (O//O) que corresponden a conformaciones inestables. Es importante señalar que:

- A. Los conformeros de mínima energía para cada uno de los compuestos analizados (**Figuras 40 a 43**):
- Presentan la cadena alifática de manera lineal en zigzag a partir del C_3 , con el fin de evitar interacciones desfavorables (O//O y 1,3-carbono//oxígeno).
 - Esta disposición en zigzag de la cadena lateral tiene una conformación **ABA o CBA**.
 - Se observan interacciones de enlaces de hidrógeno débiles entre los protones geminales en C_5 del anillo de pirona con los oxígenos carbonílicos de los acetatos a lo largo de la cadena polioxigenada.
- B. Para los conformeros de 4'-acetilsinrotólida y 5'-acetilsinrotólida (**Figuras 41 y 42**):
- Existen interacciones de enlaces de hidrógeno entre el hidrógeno del grupo hidroxilo y los oxígenos carbonílicos del anillo de pirona y los de la cadena polioxigenada.
- C. Para todos los conformeros de los compuestos analizados:
- Los enlaces de hidrógeno mostrados en los **Cuadros 6, 8, 10 y 12** constituyen uno de los factores que gobiernan la conformación de las 6-alquenil-5,6-dihidro- α -pironas polioxigenadas (Mendoza-Espinoza J. 2009)

El cálculo a nivel DFT por el método B3LYP/DGDZVP diferenció entre un isómero y otro, se realizó la comparación de las J_{H-H} vecinales teóricas (V.T.) de 4'-acetilsinrotólida (**2**) con las J_{H-H} vecinales experimentales (V.E.) de 5'-acetilsinrotólida (**4**) y viceversa, se determinó el RMSD (**Figura 44**) y los valores obtenidos muestran que efectivamente existe una diferencia significativa entre los isómeros.

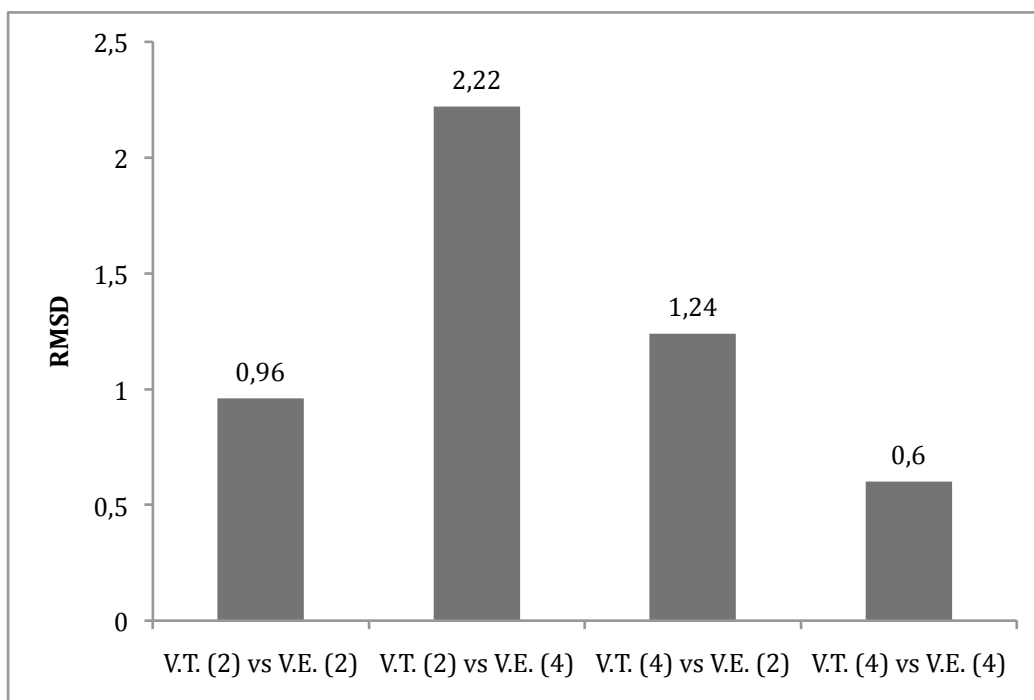


Figura 44. Comparación entre las constantes de acoplamiento calculadas con DFT y experimentales para la 4'-acetilsinrotólida (**2**) y la 5'-acetilsinrotólida (**4**).

Nota: V.T.:Valores teóricos. V.E.: Valores experimentales.

7.3. Evaluaciones biológicas.

La 4'-acetilsinrotólida (**2**) presentó actividad citotóxica importante contra la línea celular de carcinoma nasofaríngeo (KB) con una $CE_{50} = 0.4 \mu\text{g/mL}$. La 5'-acetilsinrotólida (**4**) y la 4'-acetil-5'-oxosinrotólida (**5**) presentaron una actividad citotóxica significativa también contra la línea celular KB con una $CE_{50} = 4.4$ y $4.8 \mu\text{g/mL}$, respectivamente. La sinrotólida (**1**) mostró una actividad citotóxica marginal con un $CE_{50} = 7.1 \mu\text{g/mL}$ para la línea KB, al igual que el compuesto 5'-acetilsinrotólida (**4**) con $CE_{50} = 8.4 \mu\text{g/mL}$ contra la línea celular de carcinoma de cérvix (HeLa) (**Cuadro 3**).

Cuadro 13. Citotoxicidad de los compuestos 1-5.

| Compuesto | Línea celular, CE ₅₀ (µg/mL) ^a | | | |
|-----------------------------|--|--------|-------|------------|
| | KB | HCT-15 | MCF-7 | HeLa |
| Sinrotólida | 7.1 | 11.2 | >20 | >20 |
| 4'-acetilsinrotólida | 0.4 | >20 | 19.3 | 19.9 |
| Peracetilsinrotólida | >20 | >20 | >20 | >20 |
| 5'-acetilsinrotólida | 4.4 | >20 | 14.8 | 8.4 |
| 4'-acetil-5'-oxosinrotólida | 4.8 | 17.8 | 10.5 | 11.3 |
| Vinblastina | 0.005 | 0.007 | 0.006 | 0.001 |
| Colchicina | 0.004 | 0.006 | 0.003 | 0.001 |

^a Abreviaciones: KB, carcinoma nasofaríngeo; HCT-15: carcinoma de colon; MCF-7: carcinoma de mama; HeLa: carcinoma de cérvix.

Esta actividad citotóxica resultó ser prometedora en comparación con las encontradas para la especigirólida (**Figura 10**) que presentó una CE₅₀ de 1.5 µg/mL para la línea KB y de algunos de sus estereoisómeros con CE₅₀ > 4.3 µg/mL (Falomir *et al.*, 2003).

8. CONCLUSIONES

- Se lograron sintetizar cuatro derivados semisintéticos a partir de la sinrotólida, dos de los derivados se obtuvieron mediante acetilación selectiva bajo condiciones equimolares de anhídrido acético-piridina.
- El presente trabajo constituye el primer estudio conformacional y de evaluación de la actividad citotóxica de 6-alquenil-5,6-dihidro- α -pirona con un grupo carbonilo en la cadena alifática
- Se logró establecer la estructura molecular de los derivados obtenidos, mediante la aplicación de técnicas espectroscópicas y espectrométricas.
- Las conformaciones de los derivados semisintéticos se representan adecuadamente por los modelos moleculares empleando la teoría de funcionales de la densidad por el método B3LYP/DGDZVP.
- Los enlaces de hidrógeno constituyen uno de los factores que gobiernan la conformación de las 6-alquenil-5,6-dihidro- α -pironas polioxigenadas.
- El confórmero de mínima energía para cada uno de los compuestos analizados presenta la cadena alifática de manera lineal en zig-zag para evadir las interacciones desfavorables (O//O).
- El compuesto 4'-acetilsinrotólida presentó una actividad citotóxica importante contra la línea celular KB para esta misma línea celular los compuestos 5'-acetilsinrotólida y 4'-acetil-5'-oxosinrotólida presentaron una actividad marginal

9. APÉNDICE

Cuadro 1. Comparación entre las constantes $J_{\text{H-H}}$ vecinales calculadas y experimentales de la 5'-acetilsinrotólida a nivel de mecánica molecular y criterio estadístico RMSD

| Confórmero | ΔE^a | $^c J_{6,1'}$ | $J_{2',3'}$ | $J_{3,4}$ | $J_{4,5'}$ | $J_{5',6'}$ | n^b | $nJ_{6,1'}$ | $nJ_{2',3'}$ | $nJ_{3,4'}$ | $nJ_{4',5'}$ | $nJ_{5',6'}$ |
|------------|--------------|---------------|-------------|-----------|------------|-------------|--------------------|-------------|--------------|-------------|--------------|--------------|
| 1 | 0.000 | 11.56 | 10.58 | 1.14 | 9.53 | 1.52 | 0.5686 | 6.5729 | 6.0156 | 0.6482 | 5.4186 | 0.8643 |
| 2 | -0.608 | 10.41 | 5.24 | 1.77 | 9.79 | 1.57 | 0.2036 | 2.1200 | 1.0671 | 0.3605 | 1.9937 | 0.3197 |
| 3 | -1.200 | 5.24 | 11.23 | 1.36 | 1.1 | 1.12 | 0.0750 | 0.3931 | 0.8425 | 0.1020 | 0.0825 | 0.0840 |
| 4 | -1.582 | 9.47 | 11.5 | 8.91 | 2.68 | 1.63 | 0.0394 | 0.3729 | 0.4529 | 0.3509 | 0.1055 | 0.0642 |
| 5 | -1.643 | 11.55 | 8.81 | 3.54 | 2.14 | 1.53 | 0.0355 | 0.4098 | 0.3126 | 0.1256 | 0.0759 | 0.0543 |
| 6 | -1.875 | 5.2 | 10.89 | 9.31 | 1.86 | 9.1 | 0.0240 | 0.1248 | 0.2613 | 0.2234 | 0.0446 | 0.2184 |
| 7 | -2.159 | 5.1 | 11.31 | 1.17 | 1.4 | 1.19 | 0.0149 | 0.0758 | 0.1680 | 0.0174 | 0.0208 | 0.0177 |
| 8 | -2.229 | 11.35 | 4.8 | 2.58 | 1.73 | 1.38 | 0.0132 | 0.1500 | 0.0634 | 0.0341 | 0.0229 | 0.0182 |
| 9 | -2.537 | 5.49 | 10.88 | 8.79 | 2.61 | 3.03 | 0.0078 | 0.0431 | 0.0854 | 0.0690 | 0.0205 | 0.0238 |
| 10 | -2.622 | 10.58 | 4.52 | 1.69 | 9.56 | 1.5 | 0.0068 | 0.0719 | 0.0307 | 0.0115 | 0.0650 | 0.0102 |
| 11 | -3.278 | 10.7 | 5.24 | 1.98 | 9.26 | 1.75 | 0.0022 | 0.0241 | 0.0118 | 0.0045 | 0.0208 | 0.0039 |
| 12 | -3.432 | 10.41 | 5.21 | 1.77 | 0.78 | 1.05 | 0.0017 | 0.0180 | 0.0090 | 0.0031 | 0.0014 | 0.0018 |
| 13 | -3.466 | 5.85 | 2.65 | 0.98 | 9.69 | 1.85 | 0.0016 | 0.0096 | 0.0043 | 0.0016 | 0.0159 | 0.0030 |
| 14 | -3.572 | 11.53 | 9.04 | 3.79 | 1.67 | 8.52 | 0.0014 | 0.0158 | 0.0124 | 0.0052 | 0.0023 | 0.0117 |
| 15 | -3.579 | 5.44 | 10.34 | 2.77 | 2.24 | 1.73 | 0.0014 | 0.0074 | 0.0140 | 0.0037 | 0.0030 | 0.0023 |
| 16 | -3.688 | 10.89 | 11.54 | 1.19 | 1.41 | 1.59 | 0.0011 | 0.0123 | 0.0130 | 0.0013 | 0.0016 | 0.0018 |
| 17 | -3.793 | 6.35 | 4.06 | 1.61 | 9.8 | 1.48 | 0.0009 | 0.0060 | 0.0038 | 0.0015 | 0.0092 | 0.0014 |
| 18 | -3.920 | 11.36 | 8.59 | 0.85 | 8.83 | 9.23 | 0.0008 | 0.0086 | 0.0065 | 0.0006 | 0.0067 | 0.0070 |
| | | | | | | | Valor teórico | 10.44 | 9.37 | 1.96 | 7.91 | 1.71 |
| | | | | | | | Valor experimental | 8.1 | 9.4 | 4.5 | 7.2 | 3.9 |
| | | | | | | | RMSD | | | | | 1.85 |

^a Variación de la energía en kcal mol⁻¹. ^b Fracción molar. ^c $J_{\text{H-H}}$ vecinales en Hz calculadas por PCMODEL 7.0.

Cuadro 2. Comparación entre las constantes $J_{\text{H-H}}$ vecinales calculadas y experimentales de la 5'-acetilsinrotólida a nivel semi-empírico AM1 y criterio estadístico RMSD

| Confórmero | ΔH_f^a | $^c J_{6,1}$ | $J_{2,3}$ | $J_{3,4}$ | $J_{4,5}$ | $J_{5,6}$ | n^b | $nJ_{6,1}$ | $nJ_{2,3}$ | $nJ_{3,4}$ | $nJ_{4,5}$ | $nJ_{5,6}$ |
|------------|----------------|--------------|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| 1 | 0.000 | 5.92 | 11.16 | 9.24 | 1.26 | 9.29 | 0.3705 | 2.1934 | 4.1348 | 3.4234 | 0.4668 | 3.4419 |
| 2 | -0.658 | 11.27 | 10.25 | 1.57 | 9.61 | 1.03 | 0.1220 | 1.3754 | 1.2509 | 0.1916 | 1.1728 | 0.1257 |
| 3 | -0.719 | 11.6 | 6.17 | 2.04 | 7.66 | 8.75 | 0.1101 | 1.2772 | 0.6793 | 0.2246 | 0.8434 | 0.9634 |
| 4 | -0.746 | 5.8 | 11.2 | 9.08 | 5.48 | 9.16 | 0.1052 | 0.6104 | 1.1787 | 0.9556 | 0.5767 | 0.9640 |
| 5 | -0.915 | 9.7 | 5.25 | 0.93 | 6.4 | 1.61 | 0.0791 | 0.7670 | 0.4151 | 0.0735 | 0.5060 | 0.1273 |
| 6 | -1.121 | 5.75 | 11.16 | 9.3 | 0.08 | 7.35 | 0.0559 | 0.3212 | 0.6234 | 0.5195 | 0.0045 | 0.4106 |
| 7 | -1.328 | 6.26 | 10.49 | 3.98 | 0.72 | 9.23 | 0.0394 | 0.2465 | 0.4131 | 0.1567 | 0.0284 | 0.3635 |
| 8 | -1.400 | 7.38 | 11.51 | 9.31 | 1.21 | 8.63 | 0.0349 | 0.2575 | 0.4016 | 0.3248 | 0.0422 | 0.3011 |
| 9 | -1.874 | 7.02 | 11.58 | 8.79 | 2.85 | 2.06 | 0.0157 | 0.1100 | 0.1815 | 0.1378 | 0.0447 | 0.0323 |
| 10 | -1.874 | 6.15 | 10.34 | 1.14 | 9.64 | 1.57 | 0.0157 | 0.0964 | 0.1620 | 0.0179 | 0.1510 | 0.0246 |
| 11 | -1.985 | 10 | 3.31 | 3.04 | 0.88 | 1.01 | 0.0130 | 0.1298 | 0.0430 | 0.0395 | 0.0114 | 0.0131 |
| 12 | -2.070 | 7.72 | 11.38 | 2.19 | 1.35 | 2.06 | 0.0113 | 0.0869 | 0.1281 | 0.0247 | 0.0152 | 0.0232 |
| 13 | -2.106 | 11.48 | 10.53 | 0.85 | 8.38 | 2.05 | 0.0106 | 0.1216 | 0.1115 | 0.0090 | 0.0888 | 0.0217 |
| 14 | -2.238 | 11.21 | 6.15 | 1.14 | 9.65 | 8.78 | 0.0085 | 0.0950 | 0.0521 | 0.0097 | 0.0818 | 0.0744 |
| 15 | -2.915 | 9.52 | 5.76 | 1.51 | 9.43 | 1.1 | 0.0027 | 0.0257 | 0.0156 | 0.0041 | 0.0255 | 0.0030 |
| 16 | -2.976 | 7.05 | 11.4 | 3.52 | 2.02 | 2.94 | 0.0024 | 0.0172 | 0.0278 | 0.0086 | 0.0049 | 0.0072 |
| 17 | -3.112 | 6.14 | 10.41 | 3.45 | 2.22 | 1.37 | 0.0019 | 0.0119 | 0.0202 | 0.0067 | 0.0043 | 0.0027 |
| 18 | -3.400 | 11.27 | 7.88 | 2.36 | 0.92 | 0.97 | 0.0012 | 0.0134 | 0.0094 | 0.0028 | 0.0011 | 0.0012 |
| | | | | | | | Valor teórico | 7.76 | 9.85 | 6.13 | 4.07 | 6.90 |
| | | | | | | | Valor experimental | 8.1 | 9.4 | 4.5 | 7.2 | 3.9 |
| | | | | | | | RMSD | | | | | 2.09 |

^a Variación de la energía en kcal mol⁻¹. ^b Fracción molar. ^c $J_{\text{H-H}}$ vecinales en Hz calculadas por PCMODEL 7.0.

Cuadro 3. Comparación entre las constantes J_{H-H} vecinales calculadas y experimentales de la a 4'-acetilsinrotólida a nivel de mecánica molecular y criterio estadístico RMSD

| Confórmero | ΔE^a | $^c J_{6,1'}$ | $J_{2,3'}$ | $J_{3,4'}$ | $J_{4,5'}$ | $J_{5,6'}$ | n^b | $nJ_{6,1'}$ | $nJ_{2,3'}$ | $nJ_{3,4'}$ | $nJ_{4,5'}$ | $nJ_{5,6'}$ |
|------------|--------------|---------------|------------|------------|------------|------------|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 1 | 0.000 | 11.1 | 4.93 | 1.36 | 2.76 | 8.95 | 0.5262 | 5.8407 | 2.5941 | 0.7156 | 1.4523 | 4.7094 |
| 2 | -0.761 | 6.39 | 11.27 | 1.51 | 9.54 | 1.74 | 0.1457 | 0.9312 | 1.6424 | 0.2201 | 1.3903 | 0.2536 |
| 3 | -1.033 | 11.26 | 11.47 | 2.14 | 9.8 | 1.81 | 0.0921 | 1.0370 | 1.0563 | 0.1971 | 0.9025 | 0.1667 |
| 4 | -1.149 | 11.49 | 11.59 | 1.82 | 2.73 | 8.77 | 0.0757 | 0.8699 | 0.8774 | 0.1378 | 0.2067 | 0.6639 |
| 5 | -1.353 | 10.58 | 4.93 | 1.72 | 9.8 | 1.81 | 0.0536 | 0.5669 | 0.2641 | 0.0922 | 0.5251 | 0.0970 |
| 6 | -1.613 | 11.3 | 4.78 | 1.96 | 1.75 | 1.35 | 0.0346 | 0.3907 | 0.1653 | 0.0678 | 0.0605 | 0.0467 |
| 7 | -1.613 | 11.3 | 4.78 | 1.96 | 1.75 | 1.35 | 0.0346 | 0.3907 | 0.1653 | 0.0678 | 0.0605 | 0.0467 |
| 8 | -1.874 | 5.51 | 11.39 | 9.29 | 2.95 | 1.53 | 0.0223 | 0.1226 | 0.2535 | 0.2068 | 0.0657 | 0.0341 |
| 9 | -2.493 | 10.87 | 10.74 | 1.08 | 9.49 | 1.85 | 0.0078 | 0.0851 | 0.0841 | 0.0085 | 0.0743 | 0.0145 |
| 10 | -3.315 | 5.51 | 11.25 | 8.56 | 0.85 | 8.98 | 0.0020 | 0.0108 | 0.0220 | 0.0167 | 0.0017 | 0.0175 |
| 11 | -3.403 | 10.53 | 10.48 | 1.85 | 2.33 | 1.67 | 0.0017 | 0.0178 | 0.0177 | 0.0031 | 0.0039 | 0.0028 |
| 12 | -3.404 | 5.43 | 10.82 | 9.18 | 1.55 | 8.96 | 0.0017 | 0.0091 | 0.0182 | 0.0154 | 0.0026 | 0.0151 |
| 13 | -3.524 | 11.11 | 9.58 | 0.88 | 2.8 | 9.1 | 0.0014 | 0.0153 | 0.0132 | 0.0012 | 0.0038 | 0.0125 |
| 14 | -3.876 | 9.96 | 11.31 | 9.23 | 3.16 | 1.57 | 0.0008 | 0.0076 | 0.0086 | 0.0070 | 0.0024 | 0.0012 |
| | | | | | | | Valor teórico | 10.30 | 7.18 | 1.76 | 4.75 | 6.08 |
| | | | | | | | Valor experimental | 8.1 | 10 | 2.8 | 9.3 | 2.6 |
| | | | | | | | RMSD | | | | | 3.05 |

^a Variación de la energía en kcal mol⁻¹. ^b Fracción molar. ^c J_{H-H} vecinales en Hz calculadas por PCMODEL 7.0.

Cuadro 4. Comparación entre las constantes J_{H-H} vecinales calculadas y experimentales de la 4'-acetilsinrotólida a nivel semi-empírico AM1 y criterio estadístico RMSD

| ^a Confórmero | ΔH_f^a | $J_{6,1'}$ | $J_{2,3'}$ | $J_{3',4'}$ | $J_{4',5'}$ | $J_{5',6'}$ | n^b | $nJ_{6,1'}$ | $nJ_{2,3'}$ | $nJ_{3',4'}$ | $nJ_{4',5'}$ | $nJ_{5',6'}$ |
|-------------------------|----------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|--------------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| 1 | 0.000 | 5.88 | 10.3 | 6.42 | 1.07 | 9.21 | 0.1934 | 1.1374 | 1.9924 | 1.2418 | 0.2070 | 1.7815 |
| 2 | -0.108 | 5.87 | 10.85 | 0.91 | 0.72 | 0.85 | 0.1611 | 0.9458 | 1.7482 | 0.1466 | 0.1160 | 0.1370 |
| 3 | -0.290 | 7.7 | 10.98 | 8.94 | 1.77 | 5.67 | 0.1185 | 0.9127 | 1.3015 | 1.0597 | 0.2098 | 0.6721 |
| 4 | -0.533 | 7.81 | 11.11 | 1.53 | 9.77 | 2.93 | 0.0787 | 0.6145 | 0.8742 | 0.1204 | 0.7687 | 0.2305 |
| 5 | -0.613 | 7.61 | 10.99 | 1.43 | 0.73 | 0.88 | 0.0687 | 0.5227 | 0.7549 | 0.0982 | 0.0501 | 0.0604 |
| 6 | -0.655 | 6.88 | 10.66 | 2.03 | 0.7 | 7.81 | 0.0640 | 0.4404 | 0.6824 | 0.1299 | 0.0448 | 0.5000 |
| 7 | -0.856 | 6.27 | 11.38 | 9.1 | 3.24 | 2.46 | 0.0456 | 0.2858 | 0.5187 | 0.4148 | 0.1477 | 0.1121 |
| 8 | -0.944 | 6.53 | 11.06 | 2.63 | 2.64 | 1.21 | 0.0393 | 0.2567 | 0.4347 | 0.1034 | 0.1038 | 0.0476 |
| 9 | -1.045 | 6.16 | 11.33 | 0.92 | 9.66 | 1.73 | 0.0331 | 0.2041 | 0.3754 | 0.0305 | 0.3201 | 0.0573 |
| 10 | -1.065 | 7.29 | 11.59 | 1.5 | 7.95 | 2.07 | 0.0320 | 0.2335 | 0.3712 | 0.0480 | 0.2546 | 0.0663 |
| 11 | -1.216 | 7.36 | 11.59 | 1.51 | 8.33 | 2.07 | 0.0248 | 0.1828 | 0.2879 | 0.0375 | 0.2069 | 0.0514 |
| 12 | -1.247 | 8.04 | 11.18 | 0.88 | 9.02 | 0.92 | 0.0236 | 0.1896 | 0.2637 | 0.0208 | 0.2127 | 0.0217 |
| 13 | -1.314 | 7.97 | 11.15 | 0.88 | 9.07 | 0.91 | 0.0211 | 0.1678 | 0.2347 | 0.0185 | 0.1909 | 0.0192 |
| 14 | -1.349 | 9.69 | 7.63 | 2.02 | 3.51 | 8.83 | 0.0198 | 0.1923 | 0.1514 | 0.0401 | 0.0696 | 0.1752 |
| 15 | -1.378 | 5.9 | 11.18 | 7.58 | 1.00 | 9.06 | 0.0189 | 0.1115 | 0.2114 | 0.1433 | 0.0189 | 0.1713 |
| 16 | -2.019 | 7.17 | 11.23 | 9.05 | 7.77 | 2.24 | 0.0064 | 0.0459 | 0.0719 | 0.0580 | 0.0498 | 0.0144 |
| 17 | -2.039 | 10.31 | 5.4 | 0.95 | 9.38 | 1.56 | 0.0062 | 0.0639 | 0.0335 | 0.0059 | 0.0581 | 0.0097 |
| 18 | -2.145 | 8.48 | 10.38 | 9.07 | 1.11 | 4.48 | 0.0052 | 0.0439 | 0.0537 | 0.0469 | 0.0057 | 0.0232 |
| 19 | -2.203 | 9.57 | 6.18 | 5.51 | 1.42 | 9.21 | 0.0047 | 0.0449 | 0.0290 | 0.0259 | 0.0067 | 0.0433 |
| 20 | -2.271 | 6.42 | 9.74 | 2.64 | 9.72 | 0.94 | 0.0042 | 0.0269 | 0.0408 | 0.0111 | 0.0407 | 0.0039 |
| 21 | -2.323 | 10.53 | 4.55 | 1.85 | 0.73 | 1.00 | 0.0038 | 0.0404 | 0.0174 | 0.0071 | 0.0028 | 0.0038 |
| 22 | -2.323 | 10.53 | 4.55 | 1.85 | 0.73 | 1.00 | 0.0038 | 0.0403 | 0.0174 | 0.0071 | 0.0028 | 0.0038 |
| 23 | -2.340 | 10.93 | 4.63 | 1.68 | 0.74 | 1.07 | 0.0037 | 0.0407 | 0.0172 | 0.0063 | 0.0028 | 0.0040 |
| 24 | -2.407 | 9.29 | 3.84 | 2.88 | 0.74 | 0.92 | 0.0033 | 0.0309 | 0.0128 | 0.0096 | 0.0025 | 0.0031 |
| 25 | -2.417 | 6.19 | 11.01 | 2.59 | 1.65 | 1.44 | 0.0033 | 0.0202 | 0.0360 | 0.0085 | 0.0054 | 0.0047 |
| 26 | -2.629 | 6.39 | 10.28 | 3.68 | 0.71 | 9.18 | 0.0023 | 0.0146 | 0.0235 | 0.0084 | 0.0016 | 0.0210 |
| 27 | -2.665 | 6.31 | 11.46 | 5.82 | 0.76 | 9.21 | 0.0022 | 0.0136 | 0.0247 | 0.0125 | 0.0016 | 0.0198 |
| 28 | -2.968 | 8.09 | 10.33 | 9.27 | 3.05 | 2.36 | 0.0013 | 0.0104 | 0.0133 | 0.0120 | 0.0039 | 0.0030 |
| 29 | -2.974 | 6.35 | 11.4 | 8.64 | 1.03 | 9.17 | 0.0013 | 0.0081 | 0.0146 | 0.0110 | 0.0013 | 0.0117 |
| 30 | -3.045 | 10.36 | 5.13 | 1.75 | 2.64 | 8.87 | 0.0011 | 0.0117 | 0.0058 | 0.0020 | 0.0030 | 0.0100 |
| 31 | -3.192 | 9.31 | 9.13 | 1.03 | 1.7 | 1.55 | 0.0009 | 0.0082 | 0.0081 | 0.0009 | 0.0015 | 0.0014 |
| 32 | -3.197 | 8.07 | 3.97 | 1.19 | 0.82 | 8.93 | 0.0009 | 0.0071 | 0.0035 | 0.0010 | 0.0007 | 0.0078 |
| 33 | -3.283 | 9.11 | 6.52 | 0.89 | 2.63 | 0.84 | 0.0008 | 0.0069 | 0.0049 | 0.0007 | 0.0020 | 0.0006 |
| 34 | -3.519 | 6.08 | 11.24 | 1.28 | 0.71 | 1.57 | 0.0005 | 0.0031 | 0.0057 | 0.0007 | 0.0004 | 0.0008 |
| 35 | -3.553 | 9.81 | 5.83 | 8.84 | 1.08 | 9.21 | 0.0005 | 0.0047 | 0.0028 | 0.0042 | 0.0005 | 0.0044 |
| 36 | -3.702 | 5.66 | 11.08 | 2.36 | 0.95 | 9.08 | 0.0004 | 0.0021 | 0.0041 | 0.0009 | 0.0004 | 0.0034 |
| 37 | -3.838 | 7.01 | 10.98 | 2.16 | 1.79 | 0.99 | 0.0003 | 0.0021 | 0.0033 | 0.0006 | 0.0005 | 0.0003 |
| 38 | -3.840 | 10.14 | 5.35 | 1.62 | 9.54 | 1.68 | 0.0003 | 0.0030 | 0.0016 | 0.0005 | 0.0028 | 0.0005 |
| | | | | | | | Valor teórico | 6.89 | 10.65 | 3.9 | 3.12 | 4.3 |
| | | | | | | | Valor experimental | 8.1 | 10 | 2.8 | 9.3 | 2.6 |
| | | | | | | | RMSD | | | | | 2.97 |

Variación de la energía en kcal mol⁻¹. ^b Fracción molar. ^c J_{H-H} vecinales en Hz calculadas por PCMODEL 7.0.

Cuadro 5. Comparación entre las constantes $J_{\text{H-H}}$ vecinales calculadas y experimentales de la 4'-acetil-5'-oxosinrotólida a nivel de mecánica molecular y criterio estadístico RMSD

| <i>Confórmero</i> | ΔE^a | ${}^c J_{6,1'}$ | $J_{2',3'}$ | $J_{3',4'}$ | n^b | $nJ_{6,1'}$ | $nJ_{2',3'}$ | $nJ_{3',4'}$ |
|-------------------|--------------|-----------------|-------------|--------------------|--------|-------------|--------------|--------------|
| 1 | 0.000 | 11.56 | 11.14 | 1.64 | 0.5661 | 6.5446 | 6.3069 | 0.9285 |
| 2 | -0.482 | 11.06 | 4.72 | 0.94 | 0.2509 | 2.7753 | 1.1844 | 0.2359 |
| 3 | -1.101 | 11.03 | 4.65 | 0.85 | 0.0883 | 0.9742 | 0.4107 | 0.0751 |
| 4 | -1.610 | 11.58 | 10.59 | 1.61 | 0.0374 | 0.4328 | 0.3958 | 0.0602 |
| 5 | -1.847 | 2.6 | 11.4 | 2.37 | 0.0251 | 0.0652 | 0.2857 | 0.0594 |
| 6 | -2.461 | 11.16 | 10.69 | 0.92 | 0.0089 | 0.0992 | 0.0950 | 0.0082 |
| 7 | -2.520 | 6.04 | 10.71 | 8.73 | 0.0080 | 0.0486 | 0.0862 | 0.0702 |
| 8 | -2.996 | 11.52 | 6.29 | 9.39 | 0.0036 | 0.0415 | 0.0226 | 0.0338 |
| 9 | -3.101 | 10.48 | 4.28 | 1.55 | 0.0030 | 0.0316 | 0.0129 | 0.0047 |
| 10 | -3.297 | 5.02 | 4.72 | 1.21 | 0.0022 | 0.0109 | 0.0102 | 0.0026 |
| 11 | -3.535 | 11.59 | 11.38 | 1.71 | 0.0015 | 0.0168 | 0.0165 | 0.0025 |
| 12 | -3.656 | 9.24 | 11.57 | 9.41 | 0.0012 | 0.0109 | 0.0137 | 0.0111 |
| 13 | -3.677 | 11.56 | 11.14 | 1.64 | 0.0011 | 0.0132 | 0.0127 | 0.0019 |
| 14 | -3.741 | 11.22 | 4.78 | 0.85 | 0.0010 | 0.0115 | 0.0049 | 0.0009 |
| 15 | -3.779 | 10.92 | 4.69 | 1.07 | 0.0010 | 0.0105 | 0.0045 | 0.0010 |
| 16 | -3.975 | 10.96 | 5.47 | 0.86 | 0.0007 | 0.0076 | 0.0038 | 0.0006 |
| | | | | Valor teórico | | 11.09 | 8.87 | 1.5 |
| | | | | Valor experimental | | 8.5 | 10 | 3.5 |
| | | | | RMSD | | | | 2.0 |

^a Variación de la energía en kcal mol⁻¹. ^b Fracción molar. ^c $J_{\text{H-H}}$ vecinales en Hz calculadas por PCMODEL 7.0.

Cuadro 6. Comparación entre las constantes J_{H-H} vecinales calculadas y experimentales de la 4'-acetil-5'-oxosinrotólida a nivel semi-empírico AM1 y criterio estadístico RMSD

| Confórmero | ΔH_f^a | $^c J_{6,1'}$ | $J_{2,3'}$ | $J_{3,4'}$ | n^b | $nJ_{6,1'}$ | $nJ_{2,3'}$ | $nJ_{3,4'}$ |
|------------|----------------|---------------|------------|--------------------|--------|-------------|-------------|-------------|
| 1 | 0.000 | 9.7 | 9.48 | 1.61 | 0.2769 | 2.6862 | 2.6253 | 0.4459 |
| 2 | -0.002 | 7.48 | 11.57 | 1.49 | 0.2759 | 2.0641 | 3.1927 | 0.4112 |
| 3 | -0.163 | 9.64 | 9.4 | 1.94 | 0.2101 | 2.0258 | 1.9753 | 0.4077 |
| 4 | -0.889 | 5.89 | 9.66 | 2.43 | 0.0617 | 0.3636 | 0.5963 | 0.1500 |
| 5 | -0.964 | 7.81 | 11.23 | 1.11 | 0.0544 | 0.4247 | 0.6107 | 0.0604 |
| 6 | -1.369 | 8.66 | 10.02 | 9.12 | 0.0275 | 0.2379 | 0.2753 | 0.2505 |
| 7 | -1.918 | 7.04 | 11.54 | 9.42 | 0.0109 | 0.0765 | 0.1254 | 0.1023 |
| 8 | -1.924 | 7.55 | 10.96 | 9.21 | 0.0108 | 0.0812 | 0.1179 | 0.0991 |
| 9 | -1.925 | 11.42 | 10.84 | 1.04 | 0.0108 | 0.1228 | 0.1165 | 0.0112 |
| 10 | -2.128 | 8.33 | 10.98 | 1.21 | 0.0076 | 0.0635 | 0.0837 | 0.0092 |
| 11 | -2.305 | 8.17 | 10.94 | 0.87 | 0.0057 | 0.0462 | 0.0618 | 0.0049 |
| 12 | -2.319 | 7.02 | 10.95 | 1.59 | 0.0055 | 0.0388 | 0.0605 | 0.0088 |
| 13 | -2.360 | 8.14 | 10.95 | 0.87 | 0.0052 | 0.0420 | 0.0565 | 0.0045 |
| 14 | -2.458 | 9.87 | 3.75 | 2.43 | 0.0044 | 0.0432 | 0.0164 | 0.0106 |
| 15 | -2.513 | 8.15 | 11.6 | 0.94 | 0.0040 | 0.0324 | 0.0462 | 0.0037 |
| 16 | -2.627 | 6.4 | 11.36 | 8.72 | 0.0033 | 0.0210 | 0.0373 | 0.0287 |
| 17 | -2.679 | 8.55 | 11.6 | 1.13 | 0.0030 | 0.0257 | 0.0349 | 0.0034 |
| 18 | -2.695 | 11.6 | 2.69 | 2.81 | 0.0029 | 0.0340 | 0.0079 | 0.0082 |
| 19 | -2.742 | 7.08 | 11.22 | 9.06 | 0.0027 | 0.0191 | 0.0303 | 0.0245 |
| 20 | -2.762 | 6.17 | 7.86 | 2.29 | 0.0026 | 0.0161 | 0.0206 | 0.0060 |
| 21 | -2.991 | 6.25 | 11.38 | 7.82 | 0.0018 | 0.0111 | 0.0202 | 0.0139 |
| 22 | -3.048 | 6.46 | 11.43 | 8.6 | 0.0016 | 0.0104 | 0.0184 | 0.0139 |
| 23 | -3.062 | 10.72 | 6.25 | 3.04 | 0.0016 | 0.0169 | 0.0099 | 0.0048 |
| 24 | -3.144 | 6.05 | 11.43 | 8.62 | 0.0014 | 0.0083 | 0.0157 | 0.0118 |
| 25 | -3.263 | 10.49 | 5.12 | 0.94 | 0.0011 | 0.0118 | 0.0057 | 0.0011 |
| 26 | -3.349 | 10.24 | 5.27 | 0.86 | 0.0010 | 0.0099 | 0.0051 | 0.0008 |
| 27 | -3.367 | 6.03 | 11.44 | 4.14 | 0.0009 | 0.0057 | 0.0108 | 0.0039 |
| 28 | -3.506 | 10.19 | 5.27 | 1 | 0.0007 | 0.0076 | 0.0039 | 0.0007 |
| 29 | -3.535 | 6.43 | 11.43 | 8.57 | 0.0007 | 0.0046 | 0.0081 | 0.0061 |
| 30 | -3.537 | 6.99 | 11.51 | 9.37 | 0.0007 | 0.0049 | 0.0081 | 0.0066 |
| 31 | -3.588 | 10.42 | 5.32 | 1.09 | 0.0006 | 0.0068 | 0.0035 | 0.0007 |
| 32 | -3.737 | 5.74 | 11.31 | 8.07 | 0.0005 | 0.0029 | 0.0057 | 0.0041 |
| 33 | -3.802 | 6.43 | 9.9 | 1.54 | 0.0005 | 0.0029 | 0.0045 | 0.0007 |
| 34 | -3.946 | 6.35 | 10.15 | 2.47 | 0.0004 | 0.0023 | 0.0036 | 0.0009 |
| 35 | -3.953 | 6.6 | 6.85 | 1.24 | 0.0004 | 0.0023 | 0.0024 | 0.0004 |
| 36 | -3.982 | 6.23 | 10.1 | 3.8 | 0.0003 | 0.0021 | 0.0034 | 0.0013 |
| | | | | Valor teórico | | 8.5 | 10.22 | 2.12 |
| | | | | Valor experimental | | 8.5 | 10 | 3.5 |
| | | | | RMSD | | | | 0.81 |

^a Variación de la energía en kcal mol⁻¹. ^b Fracción molar. ^c J_{H-H} vecinales en Hz calculadas por PCMODEL 7.0

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Achmad, S.; Hoyer, T.; Kjaer, S.; Makmur, L.; Norrestam, R. (1987). Molecular and crystal structure of Hyptolide, a naturally occurring α,β -unsaturated γ -lactone. *Acta. Chem. Scand.* **B41**: 599-609.
- Alemany, A.; Márquez, C.; Pascual, C.; Valverde, S.; Martínez-Ripoll, M.; Fayos, J.; Perales, A. (1979). New compounds from *Hyptis*. X-ray crystal and molecular structures of anamarine. *Tetrahedron Lett.* **37**: 3583-3586.
- Berdy, J. (1995). Are actinomycetes exhausted as a source of secondary metabolites? In Proc. 9th International Symposium of Biology; Part1. *Allerton*. U.S.A. 3-23.
- Bluet, G.; Bazan-Tejada, B.; Campagne, J. (2006). Catalytic asymmetric access to α,β unsaturated δ -lactones through a vinylogous aldol reaction: application to the total synthesis of the Prelog-Djerassi lactone. *Org. Lett.* **3**: 3807-3810.
- Cerda-García-Rojas, C.; Pereda-Miranda, R. (1999). Programa FRACMOL para el cálculo de fracciones molares. Departamento de Química, CINVESTAV-IPN; Facultad de Química, UNAM, México.
- Cerda-García-Rojas, C.; Zepeda, G.; Joseph-Nathan, P. (1990). A PC program for calculation of dihedral angles from ^1H NMR data. *Tetrahedron Comput. Methodol.* **2**: 113-118.
- Collett, L.; Davies-Coleman, M.; Rivett, D. (1998). Naturally Occurring 6-substituted 5,6-Dihydro- α -Pyrones. Progress in the chemistry of organic natural products. Springer Verlag: New York. **75**, 182-209.
- Cragg, G.; Newman D.; Sander, K. (1997). Natural products in drug discovery and development. *J. Nat. Prod.* **60**: 52-60.
- Crombie, L.; Firth, P. (1968). Biosynthesis of parasorbic acid (hex-2-en-5-olide) by the rowan berry (*Sorbus aucuparia* L.). *J. Chem. Soc., Chem. C.* 2852 - 2856.
- Cuevas, G.; Cortés, F. (2003). *Introducción a la Química Computacional*. Fondo de Cultura Económica. México. 15-25.

- Davies-Coleman, T.; Rivett, D. (1987). Stereochemical studies on Boronolide, an α -pyrone from *Tetradenia barcerae*. *Phytochemistry*. **26**: 3047-3050.
- Davies-Coleman, T.; Rivett, D. (1987). Synrotolide, an α -pyrone from *Syncolostemon rotundifolius*. *Phytochemistry*. **26**: 1447-1497
- Davies-Coleman, T.; Rivett, D. (1989). Naturally occurring 6-substituted 5,6-Dihydro- α -pyrones. Progress in the chemistry of organic natural products. Springer Verlag, New York, **55**, 1-135.
- Desiraju, G.; Steiner, T. (2001). *The weak hydrogen bond in structural chemistry and biology*. Oxford Sciences Publications. U.S.A.
- Díaz-Oltra, S.; Murga, J.; Falomir, E.; Carda, M.; Marco, A. (2004). Stereoselective Synthesis of anamarine. *Tetrahedron*. **60**: 2979-2985.
- Expósito, O.; Bonfill, M.; Moyano, E.; Onrubia, M.; Mirjalili, M.; Cusidó, R.; Palazón, J. (2009). Biotechnological production of taxol and related taxoids: current state and prospects. *Anticancer Agents Med Chem*. **9**: 109-21.
- Falomir, E., Murga, J., Ruiz, P., Carda, M., Marco, A., Pereda-Miranda, R., Fragoso-Serrano, M., Cerda-García-Rojas, C. (2003) Stereoselective Synthesis and Determination of the Cytotoxic Properties of Spicigerolide and Three of Its Stereoisomers. *J. Org. Chem*. **68**: 5672-5676.
- Falomir, E.; Murga, J.; Carda, M.; Marco, A. (2003). Stereoselective síntesis of spicigerolide. *Tetrahedron Lett*. **44**: 539-541.
- Figg, W.; McLeod, H. (2004). *Hand Book of Anticancer Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. Humana Press. U.S.A. 1-7.
- Fragoso-Serrano, M. (2000). Elucidación estructural y establecimiento de la configuración absoluta de metabolitos secundarios biodinámicos aislados de la planta medicinal *Hyptis spicigera*. Aplicación de la mecánica molecular en la elucidación estereoquímica de la espicigerólida, una 5,6-Dihidro- α -pirona citotóxica. Tesis doctoral. Facultad de Química, UNAM. México.
- Frisch, M.; Trucks, G.; Schlegel, H.; Scuseria, G.; Robb, M.; Cheeseman, J.; *et al.* (2004). Gaussian, Inc., Wallingford CT.
- Gao, D.; O'Doherty, G. (2005). De novo asymmetric síntesis of anamarine and its analogues. *J. Org. Chem*. **70**: 9932-9939.

- García-Fortanet, J.; Murga, J.; Carda, M.; Marco, J. (2004). Stereoselective synthesis of Hyptolide and 6-epi-hyptolide. *Tetrahedron*. **60**: 12261-12267.
- Gunasekera, S.; Gunasekera, M.; Longley, R.; Schulte G. (1991). A new bioactive polyhydroxylated lactone from the marine sponge *Discodermia dissolute*. *J. Org. Chem.* **56**: 1346.
- Hanahan, D.; Weinberg, R. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*. **100**: 57-70.
- Henkel, T.; Brunne, R.; Müller, H.; Reichel, F. (1999). Statistical investigation in to the structural complementarity of natural products and synthetic compounds. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **38**: 643-647.
- Hoffman, R. (2004). *Organic Chemistry*. 2a edición. Wiley Interscience. U.S.A. 157-166.
- Likhitwitayawuid, K.; Angerhofer, C.; Cordell, G.; Pezzuto, J.; Raungrunsi, N. (1993). Cytotoxic and antimalarial bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Stephania erecta*. *J. Nat. Prod.* **56**: 30-38.
- López-Calahorra, F.; Velasco, D.; Castells, J. (1990). Conformational study of peracetylated aldonitrile. *Journal of Organic Chemistry*. **55**: 3530-3536.
- Mendelson, R.; Balick, M. The value of undiscovered pharmaceuticals in tropical forest. *Econ Bot.* **49**: 223-228.
- Mendoza-Espinoza, J. (2008). Análisis Conformacional de 6-Heptenil-5,6-dihidro-2H-piran-2-onas, Síntesis de sus Precursores y Evaluación de sus Propiedades Citotóxicas. Tesis doctoral, Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.
- Mendoza-Espinoza, J.; López-Vallejo, F.; Fragoso-Serrano, M.; Pereda-Miranda, R.; Cerda-García-Rojas, C. (2009). Structural Reassignment, Absolute Configuration, and Conformation of Hypurticin, a Highly Flexible Polyacyloxy-6-heptenyl-5,6-dihydro-2H-pyran-2-one. *J. Nat. Prod.* **72**: 700-708.
- Nicolás, V.; Marín, E.; Castro, F.; Miranda, R. (2007). *Algunos Aspectos Básicos de la química computacional*. Universidad Nacional Autónoma de México-Cuautitlán. 9-19.
- Osaw, E.; Imai, K.; Fujiyoshi-Yoneda, T.; Jaime, C. (1991). On the possibility of determining stereochemistry in acyclic polyhydroxylated compound by the

- combined vicinal coupling constant/molecular mechanic method. A test with alditol peracetates. *Tetrahedron*. **47**: 4579-4590.
- Parkin, M. (2001). Global cancer statics in the year. *Lancet Oncol* **2**:533-543.
 - Pereda-Miranda, R. (1995). Bioactive natural products from traditionally used mexican plants. In J.T. Arnason, R. Mata, J.T. Romeo. *Phytochemistry of Medicinal Plants*. Plenum Press. U.S.A. 83-112.
 - Pereda-Miranda, R.; Fragosó-Serrano, M.; Cerda-García-Rojas, C. (2001). Application of molecular mechanics in the total stereochemical elucidation of spicigerolide, a cytotoxic 6-tetraacetyloxyheptenyl-5,6-dihydro- α -pyrone from *Hyptis spicigera*. *Tetrahedron*. **57**: 47-53.
 - Roessner, C.; Scott, A. (1996). Genetically synthesis of natural products: from alkaloids to corrins. *Annu Rev Microbiol*. **50**: 467-490.
 - Romo, A.; Vidales, P.; Pérez, A. (1991). An aliphatic δ -lactone from *Hyptis urticoides*. *Phytochemistry*. **30**: 2417-2418.
 - Shinichi, K.; Kouichi, T.; Mituyuki, N.; Takaaki, N.; Taizo, N.; Nobuyoshi, S. (1995). Pironetin, a novel plant growth regulator produced by *Streptomyces sp.* NK10958.. *J Antibiot*. **48**: 893-895.
 - Sinkora, K.; Advani, S.; Kroltchouk, V.; Magrath, I.; Levy, L.; Pinedo, H.; Schawartsman, G.; Tattersall, M.; Yan, S. (1999). Essential drugs for cancer therapy: a world health organization consultation. *Ann. Oncol*. **10**: 385-390.
 - Skehan, P.; Storeng, R.; Scudiero, D.; Monks, A.; McMahon, J.; Vistica, D.; Warren, J.; Boskesch, H.; Kenney, S.; Boyd, M. (1990). New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J. Natl. Cancer Inst*. **88**: 1107-1112
 - Steiner, T. (2002). The hydrogen bond in the solid state. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*. **41**: 48-76.
 - Ter Haar, E.; Kowalski, R.; Hamel, E.; Lin, C.; Longley, R.; Gunasekera, S.; Rosenkranz, H.; Day, B. (1996). Discodermolide, a cytotoxic marine agent that stabilizes microtubules morepotently than taxol. *Biochemistry* **35**: 243-50.
 - Usui, T. (2007). Actin and Microtubule- Targeting Bioprobes: Their Binding Sites And Inhibitori Mechanisms. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. **71**: 300-308.

- Usui, T.; Watanabe, H.; Nakayama, H.; Tada, Y.; Kanoh, N.; Kondoh, M.; Asao, K.; Takio, K.; Watanabe, H.; Nishikawa, K.; Kitahara, T.; Osada, H. (2004). The Anticancer Natural Product Pironetin Selectively Targets Lys352 of α -Tubulin. *Chem. Biol.* **11**: 799–806.
- Van Puyvelde, L.; Dube, S.; Uwimana, E.; Uwera, C.; Dommissie, A.; Esmans, L.; Schoor, V.; Vletinck, J. (1979). New α -pyrones from *Iboza riparia*. *Phytochemistry*. **18**: 1215-1218.
- Venkat, R.; Rearick, J.; Hoch, N.; Ramachandran, V. (2001). Asymmetric Synthesis of Umuravumbolide. *Org. Lett.* **3**: 19-20.
- Verdine, G. (1996). The combinatorial chemistry of nature. *Nature*. **384**: 11-13.
- Zhang, L.; Arnol, D. (2005). *Drug Discovery and therapeutic Medicine*. Humana Press. U.S.A. 4-13, 129-141.