



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN

**“Formación de derivados de capsaicina con posible  
actividad farmacológica, empleando estrategias  
verdes”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

*QUÍMICO*

P R E S E N T A

Alan Zoe Rodríguez Medina

Asesores: Dr. Joel Omar Martínez.

Dr. René Miranda Ruvalcaba.



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRÉSENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Formación de derivados de capsaicina con posible actividad farmacológica, empleando estrategias verdes.

Que presenta el pasante: Alan Zoe Rodríguez Medina

Con número de cuenta: 308239896 para obtener el Título de la carrera: Licenciatura en Química

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 06 de Junio de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. René Miranda Ruvalcaba	
VOCAL	M.C. Brígida del Carmen Camacho Enríquez	
SECRETARIO	Dr. Gabriel Arturo Arroyo Razo	
1er. SUPLENTE	Dr. Benjamín Velasco Bejarano	
2do. SUPLENTE	I.A. Sandra Margarita Rueda Enríquez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

## **AGRADECIMIENTOS**

### **UNAM**

Por ofrecer educación de calidad a la sociedad mexicana.

### **FES Cuautitlán**

Por ser durante cinco años mi segunda casa, por haber contribuido en mi formación profesional y personal al realizar actividades tanto académicas y culturales.

### **A los profesores de la carrera**

Por brindarnos sus conocimientos, paciencia y lograr que no perdiera el interés de la carrera, y que al contrario me gustara cada vez más.

### **Dr. René Miranda Ruvalcaba**

Por darme la oportunidad estar en su laboratorio de investigación y permitirme realizar este proyecto de tesis.

### **Dr. Joel Omar Martínez**

Por su comprensión, apoyo, paciencia y conocimientos brindados en la realización de este trabajo, sin los cuales no hubiera sido posible obtener estos resultados.

### **Dr. Ernesto**

Por su ayuda proporcionada en la realización de este proyecto de tesis.

### **Dr. Javier Pérez Flores**

Por su ayuda en la obtención de los espectros DART.

### **Dr. Vladimir Carranza Téllez**

Por su ayuda en la obtención de los espectros EI y los EMAR.

Se agradece al Técnico Académico Draucin Jiménez Celi del taller de soplado de vidrio, por el apoyo proporcionado en la adquisición y reparación del material de vidrio empleado durante la experimentación.

## INDICE

Abreviaturas y Símbolos .....	vi
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>ANTECEDENTES</b> .....	5
<i>Capsicum chinense</i> .....	5
<b>Capsaicina</b> .....	6
<b>Extracción</b> .....	9
<b>Actividad Farmacológica de la Capsaicina</b> .....	11
<b>Química Verde</b> .....	13
<b>Lipasa B de <i>Candida antarctica</i> (Novozym 435)</b> .....	15
<b>Apertura de Epóxidos</b> .....	17
<b>Química Computacional</b> .....	19
<b>HIPÓTESIS</b> .....	21
<b>OBJETIVOS</b> .....	22
<b>METODOLOGÍA</b> .....	24
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	28
<i>En el contexto químico</i> .....	28
<i>Caracterización espectroscópica de los productos</i> .....	32
<b>EMIE</b> .....	32
<b>AR-DART+</b> .....	34
<b>FAB+</b> .....	34
<b>AR-FAB+</b> .....	36
<b>RMN <sup>1</sup>H</b> .....	36
<b>RMN <sup>13</sup>C</b> .....	40
<b>HSQC (Heteronuclear Single-Quantum Correlation)</b> .....	43
<b>HMBC (Heteronuclear Multiple-Bond Correlation)</b> .....	45
<b>COSY (Homocuclear Correlation Spectroscopy)</b> .....	47
<i>En el contexto teórico-experimental</i> .....	49
<b>RMN</b> .....	49
<b>IR</b> .....	57
<i>Energía y parámetros geométricos</i> .....	63
<i>Distancia de enlace</i> .....	66

<i>Interacciones intramoleculares</i> .....	67
<i>Ángulo de enlace</i> .....	68
<i>Carga</i> .....	69
<i>Mapas de potencial electrostático</i> .....	70
<i>Orbitales moleculares</i> .....	73
<i>En el contexto de la Química Verde</i> .....	75
<i>Evaluación del acercamiento del proceso a la Química Verde</i> .....	79
<b>CONCLUSIONES</b> .....	83
<b>REFERENCIAS</b> .....	85

## Abreviaturas y Símbolos

$\delta$	Desplazamiento químico
\$	Peso mexicano
AcOEt	Acetato de etilo
AR-FAB <sup>+</sup>	Alta resolución mediante bombardeo con átomos rápidos (High Resolution-Fast Atom Bombardment)
AR-DART <sup>+</sup>	Alta resolución en tiempo real (High Resolution-Direct Analysis in Real Time)
Cap	Capsaicina
°C	Grados centígrados
CDCl <sub>3</sub>	Cloroformo deuterado
CD <sub>3</sub> OD	Metanol deuterado
cm <sup>-1</sup>	Centímetro a la menos uno
COSY	Espectroscopía de correlación homonuclear (Homonuclear Correlation Spectroscopy)
<i>cc</i>	Cromatografía en columna
<i>ccf</i>	Cromatografía en capa fina
CG	Cromatografía de gases
CGRP	Gen de la calcitonina
<i>cpp</i>	Cromatografía en placa preparativa
d	Señal doble
Da	Dalton
Dcap	Diol capsaicina
DFT	Teoría de funcionales de la densidad (Density Functional Theory)
DihiCap	Dihidrocapsaicina
DIT	Termogénesis inducida por la dieta
EMIE	Espectrometría de masas por impacto electrónico
EPA	Agencia de protección ambiental (Environment Protection Agency)
EpoCap	Epóxido capsaicina
EtOH	Etanol
eV	Electrón vatios (electrón volts)
FAB <sup>+</sup>	Bombardeo con átomos rápidos
g	Gramo
GHz	Giga Hertz
h	Hora
HAcO	Ácido acético
HF	Hartree-Fock
HMBC	Correlación heteronuclear de múltiple enlace (Heteronuclear Multiple-Bond Correlation)

HOMO	Orbital molecular ocupado de mayor energía
HPU	Peróxido de hidrógeno-urea
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
HSQC	Correlación heteronuclear cuántico-sencilla (Heteronuclear Single-Quantum Correlation)
Hz	Hertz
IE	Impacto electrónico
IR	Espectrofotometría infrarroja
IRC	Irradiación de infrarrojo cercano
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
kcal	Kilo calorías
kDa	Kilo Dalton
keV	Kilo electrón vatios (kilo electrón volts)
kWh	Kilo vatio-hora
LUMO	Orbital molecular desocupado de menor energía
$M^{+}$	Ion molecular
m	Señal múltiple
m	Metro
mg	Miligramo
MHz	Megahertcios (megahertz)
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MO	Microondas
mmol	Milimol
NET	Tumores neuroendócrinos
NPA	Análisis de población natural (Natural Population Analysis)
MPE	Potencial electrostático molecular
pH	Potencial de hidrógeno
ppm	Partes por millón
q	Señal cuádruple
RMN	Resonancia magnética nuclear
RMN $^1\text{H}$	Resonancia magnética nuclear de protón
RMN $^{13}\text{C}$	Resonancia magnética nuclear de carbono trece
s	Señal simple
$S_N2$	Sustitución nucleofílica bimolecular
t.a.	Temperatura ambiente
td	Señal triple de doble
TDF	Teoría de funcionales de la densidad



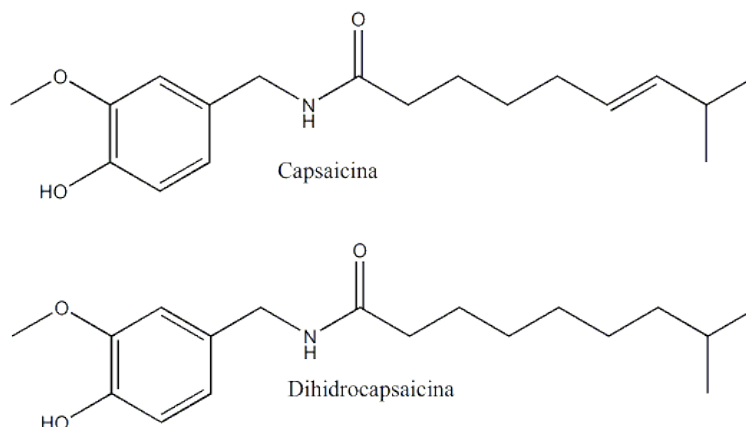
TMS	Tetrametilsilano
TRI	Tóxicos emitidos al ambiente (Toxics Release Inventory)
TRPV	Potencial transitorio del receptor vaillinoide 1
UV	Espectrofotometría de ultravioleta
V	Vatio o voltio
W	Watts

## INTRODUCCIÓN

El chile (*Capsicum* spp.) es uno de los cultivos más importantes en México y en el mundo. Su utilización se remonta a los tiempos precolombinos, donde su función primordial era como condimento. Los diferentes tipos de chiles jugaron un papel importante como fuente de vitamina C en las diferentes culturas americanas. Además, de un sinnúmero de usos que le daban nuestros antepasados como medicamento, castigo, moneda, material de tributo, etc.

Las distintas especies del género *Capsicum* son apreciados en todo el mundo debido a su amplia distribución, por su sabor, a que se cultivan en regiones tropicales, subtropicales y templadas, a su aroma como aditivos para alimentos y por sus usos farmacéuticos y fisiológicos. Son importantes económicamente para México, no solo para la preparación de platillos tradicionales mundialmente conocidos, sino también debido a la vasta cantidad y variedad genética que se produce en el territorio nacional. La superficie cultivada en el 2014 fue de 143,780 hectáreas con una producción de más de 2 millones de toneladas en México (INEGI, 2015).

Los capsaicinoides son los compuestos que le dan el sabor picante al chile, son un grupo de 12 o más alcaloides, con una estructura de vainillilamina ramificada de ácidos grasos de 9 a 11 átomos de carbono. La biosíntesis de los capsaicinoides ocurre en la placenta, donde las células epidérmicas especializadas los acumulan en las vacuolas, eventualmente son excretados estos alcaloides y son goteados en las semillas y en la superficie interna del pericarpio. Aún cuando el peso de las semillas y del pericarpio son mayores en comparación al de la placenta, la mayor cantidad de capsaicina presente en los chiles se encuentra en la placenta, que representa la mayor parte del total de capsaicina presente en el chile (Cisneros-Pineda, y otros, 2007). Entre todos los capsaicinoides, sólo destacan dos, la capsaicina, (*E*)-*N*-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-8-metil-6-nonenamida y la dihidrocapsaicina, su homólogo saturado, **Figura 1**. Estos dos capsaicinoides mayoritarios representan por lo general el 90 % de los capsaicinoides totales presentes en las variedades de chiles en concentraciones del 0.1 al 1.0 % en una proporción de 1:1 o 2:1 respectivamente.



**Figura 1.** Estructura de la capsaicina y dihidrocapsaicina.

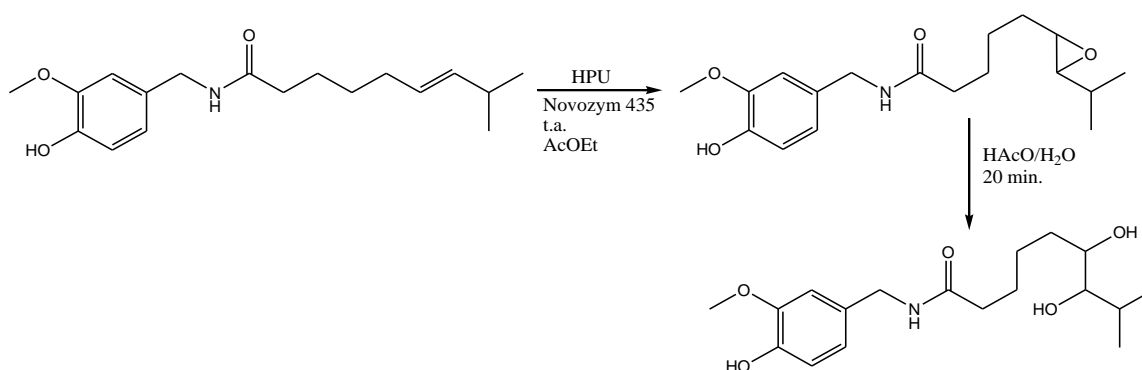
Las propiedades de la capsaicina han sido usadas para un número diverso de condiciones clínicas, por ejemplo, alivio para el dolor, pérdida de peso, problemas cardiovasculares, condiciones dermatológicas, problemas gastrointestinales, vejiga y músculo detrusor hiperactivo. En las últimas décadas, muchos estudios han tratado de establecer las propiedades anticancerígenas de la capsaicina. Algunos investigadores reportan efectos como la reducción de la proliferación y viabilidad de las células cancerosas, así como la apoptosis celular (Kumar Sharma, Singh Vij, & Sharma, 2013).

Por otro lado, la Química Verde consta de dos componentes principales. El primero, se refiere a la utilización eficiente de los recursos y la minimización de la contaminación. El segundo, trata con los problemas ecológicos, de salud y seguridad relacionados con la fabricación, el uso y la eliminación o reutilización de los productos químicos. El principio fundamental es “**benigna por diseño**” y, su objetivo, es la **prevención** de la contaminación a través de la minimización de residuos en lugar de la técnica de fin de ciclo “end of pipe” (Clark, Sheldon, Raston, Poliakoff, & Leitner, 2014).

En ese sentido, la biocatálisis, como herramienta de la Química Verde, emplea a las enzimas las cuales muestran una serie de ventajas frente a los catalizadores tradicionales: una elevada especificidad, estereoselectividad y regioespecificidad y, una gran actividad a temperatura ambiente y a presión atmosférica (Arroyo, Acebal, & de la Mata, 2014). En una perspectiva innovadora, las lipasas inmovilizadas han sido utilizadas para generar peroxiácidos en un disolvente orgánico adecuado, a partir de su correspondiente ácido carboxílico y peróxido de hidrógeno. Además, los peroxiácidos formados bajo estas

condiciones suaves de reacción se pueden utilizar para la epoxidación de alquenos (Carrea & Riva, 2000).

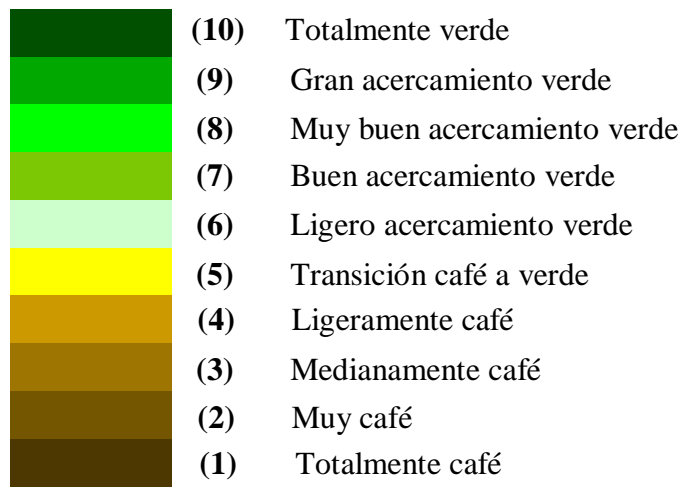
Al respecto en este trabajo, se presenta la formación del epóxido de capsaicina el cual fue sintetizado mediante el empleo de la biocatálisis. Posteriormente, se llevó a cabo la formación del diol de la capsaicina que fue generado mediante una estrategia de dos pasos y una estrategia sin el aislamiento de intermediarios, conocida como “Telescoped” (Rodríguez, Gambarotti, Liguori & Bjørsvik, 2006), empleando ácido acético y agua, ambos considerados verdes, **Esquema 1**.



**Esquema 1.** Síntesis del epóxido y del diol de la capsaicina.

También, se hace apropiado comentar que complementariamente se hizo el estudio mediante Química Computacional para tratar de establecer algunas de las propiedades que pueden tener las moléculas aquí generadas y cómo éstas podrían actuar frente a diversos reactivos electrofílicos o nucleofílicos. Además, tratar de determinar que isómero es el más favorecido en nuestra estrategia sintética; así como, la comparación de sus datos experimentales y teóricos, obtenidos de los estudios de espectrofotometría de infrarrojo y de espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón y carbono trece.

Finalmente, se llevó a cabo una evaluación de qué tan verde es el proceso, de acuerdo a lo propuesto por Morales y colaboradores en el 2011, mediante una evaluación cualitativa de color-tono y una escala semicuantitativa tipo Likert, que va de totalmente café (1) a totalmente verde (10) y, que, de manera ponderal, indica cuál es el grado de acercamiento al protocolo de la química verde, **Figura 2**, obteniendo una evaluación general total de 7, lo cual coloca este trabajo con un buen acercamiento verde.



**Figura 2.** Escala tipo Likert.

## ANTECEDENTES

### *Capsicum chinense* Jacquin

La característica distintiva de esta especie es la ausencia de cáliz dentado; presenta corola blanca opaca y tiene frutos colgantes con una constricción entre la base del cáliz y el pedúnculo, **Figura 3**. Se distribuye en la región del Caribe y en la parte tropical de Sudamérica, principalmente en la Cuenca del Amazonas, en Brasil.

En México, el chile habanero es el más representativo de la especie, se siembra exclusivamente en Campeche y Yucatán, donde está adaptado a las condiciones ambientales de dicha región. La planta tiende a ser perenne y presenta hasta seis frutos por axila. Los frutos son de forma redonda a oblonga, con tres o cuatro lóculos, de tamaño que varía de 2 a 6 cm de largo por 2 a 4 cm de ancho, inicialmente son verdes y al madurar pueden ser amarillos, rojos o anaranjados. Los frutos son extremadamente pungentes y aromáticos; sin embargo, no son irritantes al aparato digestivo humano. (Pozo Campodónico, Montes Hernández, & Redondo Juárez, 1991).



**Figura 3.** Planta de chile habanero con frutos (Karwath, André, 2005)

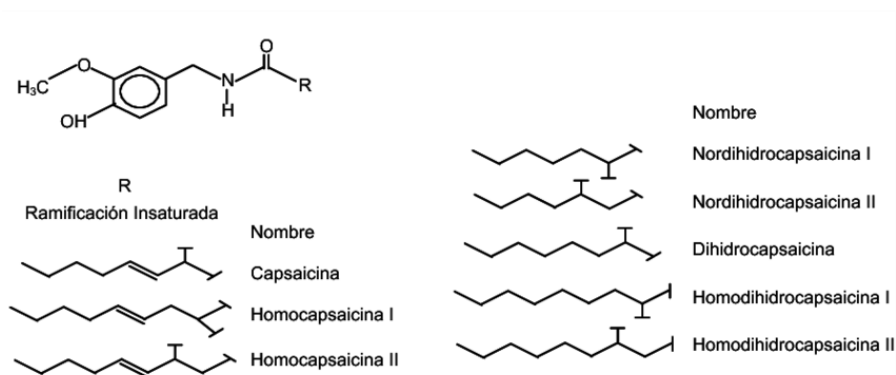
En México, el chile habanero (*Capsicum chinense*) se encuentra entre los principales productos agrícolas de la región sureste, ya que es altamente demandado por el mercado nacional, la industria farmacéutica, la industria de los alimentos y la química, por sus altos

contenidos de capsaicina. El chile habanero tiene una larga tradición en la dieta alimentaria de la población yucateca, siendo uno de los atributos que la identifica y, por ello, ha sido apreciado como condimento desde tiempos prehispánicos (Montes-Hernández, López-López, Hernández-Verduzco & Ramírez-Meraz, 2009).

## Capsaicina

Se conocen más de 20 diferentes capsaicinoides cuya estructura química consiste en un núcleo fenólico unido mediante un enlace amida a un ácido graso. Éstos se encuentran localizados en el tejido de la placenta y su principal función es la protección de las semillas. No obstante, las aves son insensibles a los capsaicinoides, lo que ha permitido la dispersión de las semillas en el medio silvestre.

La biosíntesis de los capsaicinoides se puede dividir en dos partes, una es la parte fenólica y la otra es la parte de la cadena lateral de ácido graso. Al respecto, la porción fenólica corresponde a la vainillilamina, la cual proviene de la fenilalanina (Leete & Louden, 1968), formándose por medio de la ruta de los fenilpropanoides. El ácido graso se forma a partir de aminoácidos de cadena lateral ramificada, ya sea valina o leucina. Las diferencias estructurales de los diversos capsaicinoides residen precisamente en la cadena lateral que puede ser de 9 u 11 carbonos de largo, con un número variable de dobles enlaces colocados en diferentes posiciones, **Figura 4**. La capsaicina (*E*)-*N*-(4-hidroxi-3-metoxibencil)-8-metil-6-nonenamida y la dihidrocapsaicina (su análogo 6,7-dihidro) representan más del 90 % del contenido total de los capsaicinoides presentes en los chiles.

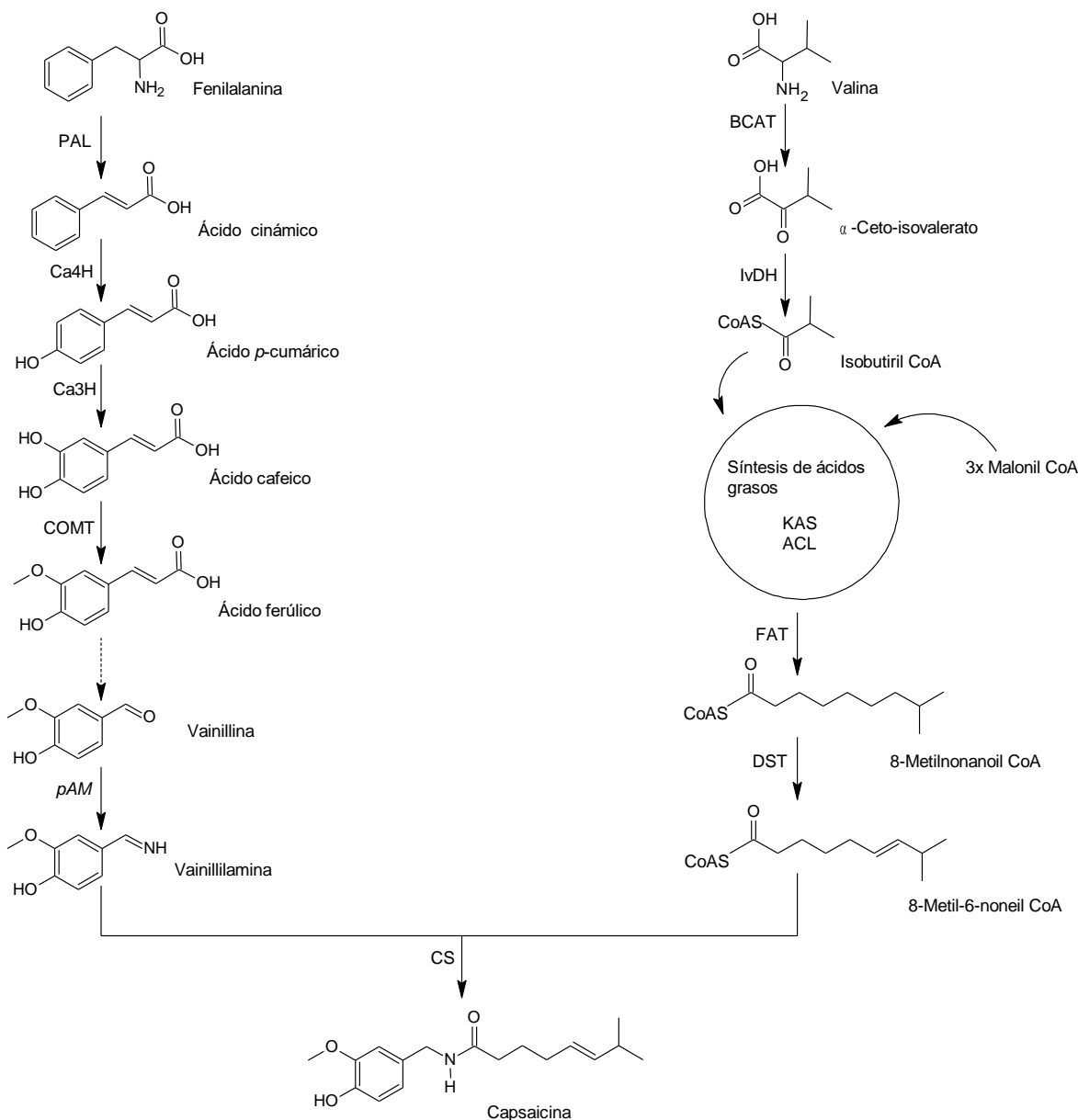


**Figura 4.** Estructuras de diferentes capsaicinoides (Tapia, Escamilla & Bonilla, 2008)

La vainillilamina se forma mediante conversiones sucesivas de la fenilalanina en los ácidos *trans*-cinámico, cumárico, caféico y ferúlico, por acción de las enzimas fenilalanina amonio liasa (PAL), cinamato 4-hidroxilasa (Ca4H), cumarato 3-hidroxilasa (Ca3H) y ácido caféico metiltransferasa (COMT). La vainillina es un intermediario tardío que es aminado por acción de una transaminasa, para dar lugar a la vainillilamina la cual, por acción de una aciltransferasa, capsaicinoide sintasa (CS), se condensa con el derivado acil-graso para dar lugar a los capsaicinoides. Mientras que la cadena lateral acilo se forma a partir de la valina o leucina. El primer paso involucra la desaminación de éstos aminoácidos por acción de la BCAT (una aminotransferasa específica) para producir  $\alpha$ -cetoisovalerato que posteriormente se transforma en isobutiril-CoA, por la acción de la IvDH ( $\alpha$ -isovalerato deshidrogenasa). Éste, a su vez, se convierte en la 8-metil-6-nonenoil-CoA mediante la participación del complejo multienzimático ácido graso sintasa (KAS,  $\beta$ -cetoacil sintasa, ACL, proteína acarreadora de grupos acilo y, FAT, tioesterasa). Las reacciones catalizadas por este complejo involucran la condensación del isobutiril-CoA con grupos malonilo, catalizada por el componente KAS. El componente ACL es el encargado de transportar los grupos malonilo al isobutiril-CoA, perdiendo una molécula de CO<sub>2</sub> en cada ciclo de elongación. Después de tres ciclos sucesivos de elongación, el ácido final es liberado por acción de la FAT. La reacción final es la condensación de la vainillilamina con la cadena lateral acilo catalizada por la CS (Vázquez-Flota, y otros, 2007), **Esquema 2**.

Las enzimas requeridas para la formación de los capsaicinoides se encuentran en el tejido placentario de frutos inmaduros. Por lo que grandes cantidades de capsaicinoides son sintetizados en los fragmentos inflados del retículo endoplásmico de la epidermis de la placenta. Los capsaicinoides son acumulados en pequeñas vesículas o ampollas en las vacuolas de las células epiteliales de la placenta (Zamski, Shoham, Palevitch, & Levy, 1987). A pesar de que la biomasa de la placenta es menor en comparación a las semillas y al pericarpio, la mayor concentración de capsaicina y dihidrocapsaicina se encuentran en la placenta (Cisneros-Pineda, y otros, 2007).





**Esquema 2.** Propuesta para la biosíntesis de los capsaicinoides para el género *Capsicum*. PAL, fenilalanina amonio liasa; Ca4H, ácido cinámico 4-hidroxilasa; Ca3H, cumarato 3-hidroxilasa; COMT, ácido caféico *O*-metiltransferasa; *pAM*, presunta aminotransferasa de la vainillina; BCAT, aminotransferasa de los aminoácidos ramificados; IvDH, α-isovalerato deshidrogenasa; KAS, β-cetoacil sintasa; ACL, proteína acarreadora de grupos acilo; FAT, tioesterasa; DST, desaturasa; CS, capsaicinoide sintasa (Vázquez-Flota, y otros, 2007).

## **Extracción**

Los principales métodos de extracción de los principios activos en productos naturales se compilan en (Kuklinski, 2000) y se resumen a continuación:

- a) Extracción mecánica: es una técnica que permite obtener los principios activos disueltos en los fluidos propios de la planta, los cuales una vez extraídos se denominan jugo.
- b) Destilación: es una técnica que se basa en la diferente volatilidad de los componentes de la planta, lo cual permite la separación de componentes volátiles de otros que son menos o nada volátiles.
- c) Extracción con gases en condiciones supercríticas: se trabaja con dispositivos especiales donde es posible controlar la presión (P) y la temperatura (T) y se trabaja a P y T superiores a la P y T críticas. La extracción con gases suele ser muy selectiva y posteriormente es relativamente sencillo eliminar el gas extractor, pero resulta muy cara y es difícil encontrar las condiciones óptimas de presión y temperatura.
- d) Extracción con disolventes: consiste en poner en contacto la planta con un disolvente capaz de solubilizar los principios activos. Los principios activos deben pasar de la planta al disolvente de manera que se obtenga un extracto líquido. Los diferentes tipos de extracciones se pueden englobar en dos grupos: las extracciones discontinuas y las extracciones continuas.
  - a. Extracción discontinua: se sumerge la planta en el disolvente, por lo que la totalidad de la planta contacta con el disolvente utilizado para la extracción y la difusión de los principios activos se producirá en todas direcciones hasta alcanzar el equilibrio.
  - b. Extracción continua o progresiva: el disolvente utilizado para la extracción se va renovando y actúa en una sola dirección. Son métodos que consisten en poner en contacto la planta con el disolvente adecuado y mantener, en todo momento, el desequilibrio entre la concentración de principio activo y el disolvente para que se produzca la difusión celular.

Con relación a la extracción de la capsaicina se ha llevado a cabo mediante métodos tradicionales, como la extracción por maceración (Estados Unidos Patente nº 5676991, 1997), o con una mezcla metanol/agua (Kirschbaum-Titze, Hiepler, Mueller-seitz, & Petz, 2002); extracción con acetona y centrifugación (Olga Cisneros Pineda, 2007), mediante extracción con Soxhlet (Korel, Bagdatlioglu, Balaban, & Hisil, 2002), se han realizado extracciones de capsaicinoides empleando fluidos supercríticos, como dióxido de carbono supercrítico y propano subcrítico (Daood, y otros, 2002); mediante extracción con líquidos presurizados (Barbero, Palma, & Barroso, 2006) y extracción asistida por microondas utilizando metanol como disolvente (Barbero, Palma, & Barroso, 2006). También, se ha llevado a cabo el estudio comparativo entre una extracción mediante Soxhlet con una microextracción en fase sólida, utilizando la extracción con Soxhlet como extracción exhaustiva y por lo tanto se considera como 100 % extraída (Peña-Alvarez, Ramírez-Maya, & Alvarado-Suárez, 2009).

Ahora bien, una vez conseguido el extracto, el siguiente paso es la purificación del mismo para obtener el principio activo deseado. Se puede llevar a cabo la purificación mediante métodos fisicoquímicos no cromatográficos o por métodos cromatográficos.

- a) Métodos fisicoquímicos no cromatográficos: incluyen toda una serie de operaciones como la sedimentación, decantación, centrifugación, filtración, precipitación selectiva, cristalización, partición, etc.
- b) Métodos cromatográficos: consisten en la separación de los componentes de una mezcla debido a la diferente velocidad de elución a través de una fase estacionaria (un sólido poroso o un líquido retenido en un soporte sólido) cuando la mezcla es transportada por una fase móvil (eluyente: puede ser líquido o gaseoso). La diferente velocidad de elución de los componentes se debe a uno de los siguientes fenómenos: adsorción, partición, intercambio iónico o exclusión molecular. Las principales técnicas cromatográficas utilizadas son:
  - a. Cromatografía en placa preparativa, *cpp*: donde la fase estacionaria es un sólido poroso dispuesto sobre una placa de vidrio o metálica. La fase móvil fluye en sentido ascendente arrastrando los diferentes componentes de la mezcla a velocidades diferentes, con lo que se consigue la separación.

- b. Cromatografía en columna, *cc*: la elución de los diferentes componentes de la mezcla se realiza por gravedad. La columna se dispone verticalmente y se deposita la muestra en la parte superior y se hace fluir la fase móvil hacia abajo. Es posible ir variando la composición de la fase móvil hasta que se produce la completa elución de los componentes.
- c. Cromatografía líquida de alta resolución, HPLC: consiste en hacer pasar, a mucha presión, la fase móvil (líquida), en la que previamente se ha introducido mediante un sistema de inyección la muestra, por una columna compactamente empaquetada con la fase estacionaria, que también es un líquido retenido sobre un soporte inerte.
- d. Cromatografía de gases, CG: es una cromatografía gas-líquido que se aplica a sustancias volátiles o que puedan dar derivados volátiles. La fase estacionaria, que es un líquido retenido sobre un soporte sólido, está dispuesta en una columna. La fase móvil es un gas inerte.

La técnica más empleada para la separación de los capsaicinoides es la cromatografía, ya sea CG (Peña-Alvarez, Alvarado, & Vera-Avila, 2012) o HPLC de fase inversa, acoplada a la espectrometría de masas (Kozukue, y otros, 2005) para su identificación. Pero estas técnicas no se pueden usar a escala industrial, por lo que también hay técnicas para ese fin, como la utilización de plata para formar un complejo con la capsaicina y así poder separarla (Estados Unidos Patente nº 5955631, 1999); sin embargo, está es una estrategia agresiva con el ambiente y por ello no es muy empleada.

### **Actividad Farmacológica de la Capsaicina**

La capsaicina se une al potencial transitorio del receptor vaillinoide 1 (TRPV), que se ha relacionado con procesos fisiológicos como la detección de estímulos dolorosos y la generación de procesos de inflamación. Los receptores TRPV también responden a la temperatura, acidosis, estímulo del dolor y cambios en el gradiente osmótico. La capsaicina activa los receptores de TRPV en los nervios sensoriales y causa una sensación que va del intervalo del calor hasta sentir quemazón. El resultado analgésico viene del agotamiento de la sustancia P que conduce a la insensibilidad de pequeños sensores neuronales. Los

sensores se tornan insensibles a más estímulos de dolor (Hayman & Kam, 2008). Es por eso que se utiliza como tratamiento para el dolor, usualmente en una presentación de crema tópica, con una concentración de 0.025 % a 0.075 % de capsaicina.

La mayoría de la actividad farmacológica se debe a la interacción de la capsaicina con el TRPV1, ya que este canal se distribuye ampliamente por el sistema nervioso central y periférico y por otros órganos y tejidos. La activación del canal en el estómago, propicia la liberación de óxido nítrico y del péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), que causan una vasodilatación y un incremento del flujo sanguíneo de la mucosa. Teniendo propiedades protectoras contra las gastropatías relacionadas con la indometacina y el etanol. Alternativamente, la liberación del CGRP induce la producción de prostaglandinas, las cuales desempeñan una función protectora en el epitelio estomacal.

El TRPV1 desempeña un papel fundamental en afecciones cardiacas, mediante la generación de procesos de dolor. La activación de estas fibras genera dos efectos: el primero consiste en la liberación de neurocinina A y CGRP, resultando en la vasodilatación, el segundo efecto, está dado por la llegada de señales provenientes de las fibras activadas hasta los centros de procesamiento del dolor en el sistema nervioso central, lo que genera una sensación de dolor que avisa al organismo de que algo anda mal. Adicionalmente, se ha demostrado que la capsaicina inhibe la agregación plaquetaria (Salazar, Jara-Oseguera, & Rosenbaum, 2009).

Otro efecto farmacológico notable de la capsaicina es la reducción de peso, en una dieta alta en grasa combinada con capsaicina en humanos demostró el incremento de la termogénesis inducida por la dieta (DIT), justo después de la ingesta de la capsaicina y en la oxidación lipídica, en el periodo posterior a la ingesta de capsaicina (Yoshika, y otros, 1995).

Por otra parte, el uso de la capsaicina para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas es también un activo campo de estudio. Experimentos recientes mostraron que la capsaicina redujo marcadamente los movimientos incontrolados, hipercinesis, de las ratas tratadas químicamente para simular la enfermedad de Huntington (Salazar-Olivo & Silva-Ortega, 2004).

En la última década han salido evidencias tratando de establecer las propiedades anticancerígenas de la capsaicina. Se ha encontrado que la capsaicina induce a la muerte

celular de tumores neuroendócrinos (NET) pancreáticos, mediante la activación del TRPV1, pero sin afectar a las células sanas (Skrzypski, Sassek, Abdelmessih, Mergler & Grötzinger, 2014). También, se sabe que induce la apoptosis de osteosarcoma y despliega un efecto analgésico para la hiperalgesia vista en el cáncer de huesos, la muerte de las células malignas ocurre por el estrés del retículo endoplásmico causado por el incremento de la concentración del ion  $\text{Ca}^{2+}$  (Chien, Ma, Lee, Liu, Li, Huang & Chueh, 2013).

## **Química Verde**

La Química Verde es la utilización de una serie de principios que reducen o eliminan el uso o producción de sustancias peligrosas en el diseño, manufactura y aplicación de los productos químicos. Se puede resumir su idea general en tres principales puntos (Anastas & Eghbali, 2009):

1. La Química Verde se implementa a través de todo el ciclo de vida del producto.
2. La Química Verde busca diseñar la naturaleza inherente de los productos y procesos químicos para reducir su peligro intrínseco.
3. La Química Verde trabaja como un sistema cohesivo de principios o criterios de diseño.

Los principios de la Química Verde son una herramienta que provee la estructura para un diseño sostenible. Ellos constituyen un sistema global para el diseño de químicos y transformaciones químicas más seguras. Siendo doce principios, ya establecidos, por los que se rige (Anastas & Warner, 1998):

1. *Prevención*: es mejor prevenir la generación de un residuo, que tratarlo o eliminarlo después de haberlo generado.
2. *Economía atómica*: los métodos de síntesis deberán diseñarse de tal manera que se incorporen al máximo, en el producto final, todos los sustratos usados durante el proceso.
3. *Síntesis químicas menos peligrosas*: los métodos de síntesis deberán ser diseñados para utilizar y generar sustancias que presenten baja o nula toxicidad, tanto para el ser humano como para el ambiente.
4. *Diseño de químicos seguros*: los productos químicos se diseñarán de manera que mantengan su eficacia y baja toxicidad.

5. *Uso de disolventes seguros o auxiliares*: evitar el empleo de sustancias auxiliares como disolventes, reactivos de separación, etc., y en caso de que se empleen deberán ser lo más inocuos posible.
6. *Diseño de la eficiencia energética*: los requerimientos energéticos en un proceso químico se catalogan por su impacto económico y al ambiente, por lo tanto, se sugiere llevar a cabo los métodos de síntesis a temperatura y presión ambiente.
7. *Uso de materia prima renovable*: la materia prima debe ser preferiblemente renovable en lugar de agotable, siempre que sea técnica y económicamente viable.
8. *Reducir derivados*: evitar el uso de grupos de bloqueo, de protección-desprotección o la modificación temporal de los procesos físico-químicos, ya que su empleo requiere reactivos adicionales y genera residuos.
9. *Catálisis*: considerar el empleo de catalizadores, lo más selectivo posible, de preferencia de origen natural.
10. *Diseñar sustancias biodegradables*: los productos deberán ser diseñados de tal manera que al final de su vida útil no persistan en el ambiente.
11. *Análisis en tiempo real para prevenir la contaminación*: las metodologías analíticas necesarias serán desarrolladas en el momento del proceso, lo que permitirá un seguimiento y control en tiempo real del proceso, previo a la formación de sustancias peligrosas.
12. *Químicos seguros para prevenir accidentes*: las sustancias y la forma de una sustancia usada en un proceso químico deberá ser elegida para reducir el riesgo de accidentes químicos incluyendo las emanaciones, explosiones e incendios.

Los doce principios son aplicables tanto a las diversas ramas de la industria química como a la actividad desarrollada en laboratorios de investigación y laboratorios docentes a cualquier nivel. Partiendo de estos principios, se observan las siguientes ventajas generales que permiten hacer “verdes” los procesos planteados en este trabajo, es decir, reducir el impacto ambiental de las condiciones de reacción y las tecnologías aplicadas para desarrollarlas (García Calvo-Flores & Dobado, 2008):

- Se reducen los residuos que se generan en cualquier proceso de preparación o manipulación de sustancias químicas.

- Los materiales son preparados por procedimientos mejorados que disminuyan los efectos no deseados sobre el ambiente.
- Se reemplazarán aquellos materiales que, por su toxicidad intrínseca, resulten peligrosos por otros con las mismas propiedades y aplicaciones y, que causen menor impacto sobre el ambiente.
- La energía necesaria para producir sustancias de interés será disminuida, bien por el uso de procedimientos de menor duración, o bien por el uso de energías renovables que supongan un menor costo energético con igual eficiencia.
- La toxicidad o peligrosidad general de las sustancias necesarias para obtener un determinado compuesto y la del propio compuesto será reducida.
- Los costos serán menores al eliminar toda manipulación que no sea estrictamente necesaria y al disminuir los tiempos que se invierten en la preparación de una sustancia.
- Impulsar todas las acciones necesarias para hacer la química compatible con un desarrollo sostenible.

En este sentido, el desafío para los químicos radica en el desarrollo de nuevos productos, procesos y servicios que permitan alcanzar los beneficios sociales, económicos y ambientales que ahora son requeridos, maximizando el uso de fuentes renovables y extendiendo la durabilidad y la reutilización de los productos, en una manera que incremente la competitividad industrial. Algunos de estos desafíos incluyen el desarrollo y descubrimiento de nuevas vías de síntesis utilizando materia prima alternativa o una química más selectiva, identificando las condiciones de reacción, disolventes alternos para mejorar la selectividad, la minimización de la energía y el diseño de productos químicos menos tóxicos y más seguros (Clark J. H., 1999).

### **Lipasa B de *Candida antarctica* (Novozym 435)**

Las lipasas (triacilglicerol hidrolasas) son enzimas que catalizan la hidrólisis de aceites y grasas con la subsiguiente formación de ácidos grasos libres, digliceroles, monogliceroles y glicerol. Estos biocatalizadores se distribuyen en animales, plantas y microorganismos

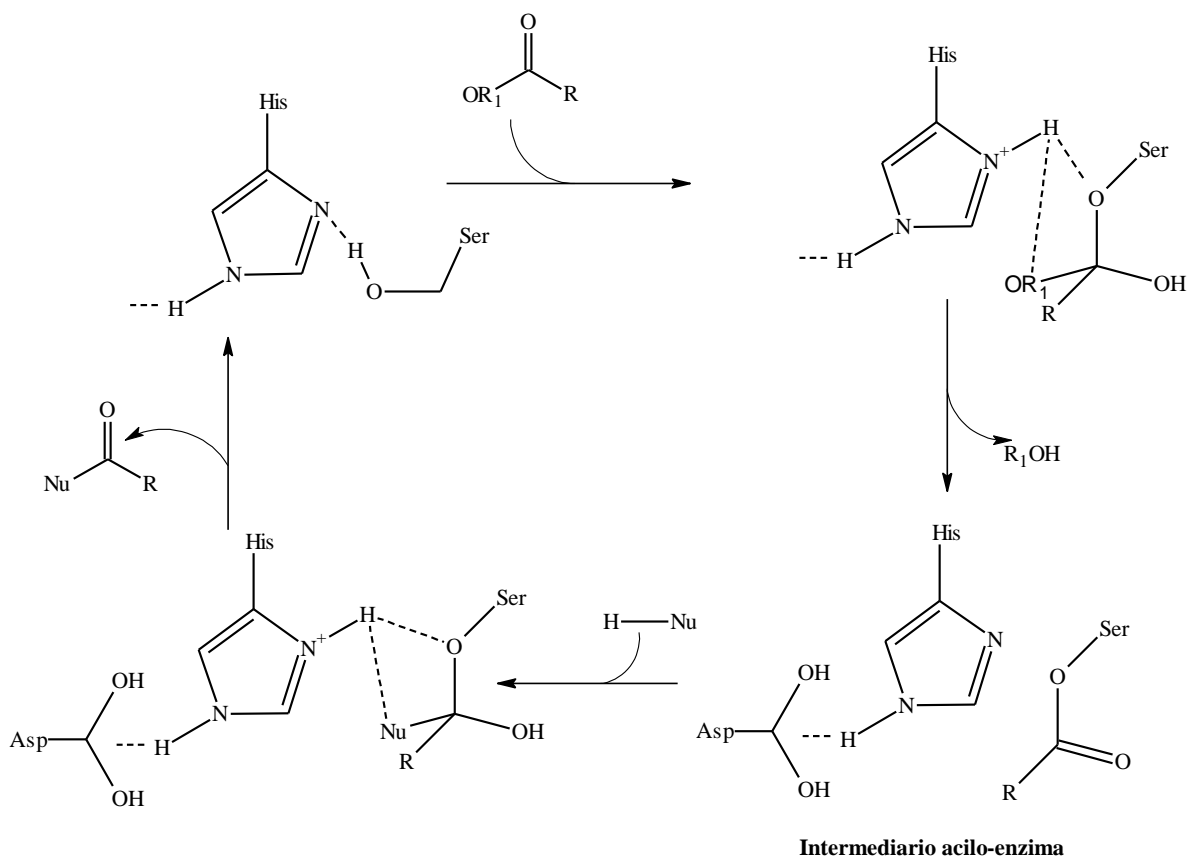


como enzimas digestivas que facilitan el transporte, la deposición y la movilización de las grasas (Woolley & Petersen, 1994).

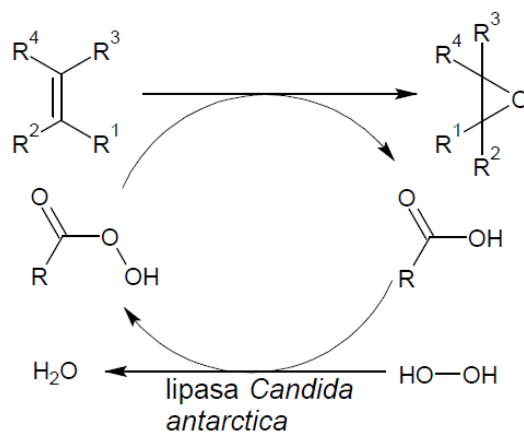
Al respecto, dentro del campo de las biotransformaciones y como herramienta de la Química Verde, la lipasa B de *Candida antarctica* es una de las lipasas que está formada por 317 aminoácidos, con un peso molecular de 33 kDa. Como la mayoría de las lipasas, su mecanismo de reacción es el de las hidrolasas serínicas, donde el ácido aspártico polariza al grupo imidazol de la histidina formando un puente de hidrógeno, ayudando a la histidina a actuar como base y atacar al protón de la serina, así la serina activada ataca al carbonilo del sustrato, produciendo un intermediario tetraédrico. El oxoanión se estabiliza volviendo a formar el doble enlace, ocasionando que el intermediario tetraédrico colapse y sea expulsado el grupo saliente, ayudado por la histidina, que ahora actúa como ácido, formando el intermediario acil-enzima. El intermediario es atacado por un nucleófilo, asistido por la histidina, formando un segundo intermediario tetrahedral, el cual colapsa formando un ácido carboxílico y liberando a la serina (Hedstrom, 2002), como se muestra en el **Esquema 4**.

Ha sido utilizada para catalizar la perhidrólisis de ácidos carboxílicos, como el ácido acético (Skouridou, Stamatis, & N., 2003), de sustancias que contengan un ácido carboxílico dentro de la molécula como los aceites vegetales insaturados (Hilker, Bothe, Prüss, & Warnecke, 2001) y de ésteres como la caprolactona (Xu, Jian Khaw, & Li, 2009). También se ha reportado, que con el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> forma *in situ* el peroxiácido correspondiente, el cual lleva a cabo la epoxidación de alquenos, como se muestra en el **Esquema 5** o la oxidación de Baeyer-Villiger.

La lipasa B resulta ser superior en la producción del peroxiácido en comparación de otras lipasas, como la *Mucor miehe* y la *Candida cylindracea* (Björkling, Godtfredsen, & Kirk, 1990). Una estrategia más interesante es usar un éster como el acetato de etilo (Ankudey, Olivo & Peeples, 2006) o un carbonato como el dimetilo carbonato (Rush Gen Klass, & Warwel, 1999) con una función dual: disolvente y sustrato para la perhidrólisis, conduciendo a una exitosa epoxidación de alquenos.



**Esquema 4.** Mecanismo de las hidrolasas serínicas (Rotticci, 2000).



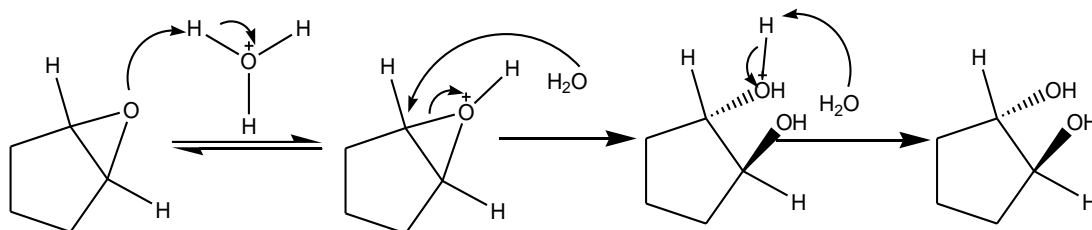
**Esquema 5.** Epoxidación de alquenos empleando la enzima *Candida antarctica*.

### Apertura de Oxiranos

Los oxiranos (epóxidos) se obtienen fácilmente a partir de los alquenos y participan en numerosas reacciones importantes y con interés sintético. Por este motivo los epóxidos son intermediarios sintéticos valiosos. Los epóxidos son muy reactivos debido a la gran energía

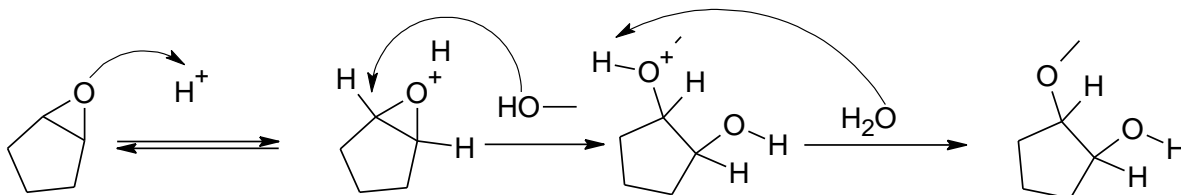
de tensión asociada al anillo de tres miembros, un ácido acuoso diluido a temperatura ambiente basta para causar la hidrólisis de los epóxidos a 1,2-dioles (Mc Murry, 2001). Los epóxidos reaccionan en condiciones ácidas y en condiciones básicas. Los productos de la apertura catalizada por un ácido dependen principalmente del disolvente que se utilice.

El mecanismo de la hidrólisis implica la protonación del oxígeno (formando un buen grupo saliente), seguida del ataque  $S_N2$  por el agua. La ruptura de un epóxido, catalizada por ácido, se efectúa por la parte posterior de donde ataca un nucleófilo en el epóxido protonado. Cuando un epoxicicloalcano se abre por un ácido acuoso, resulta en *trans*-1,2-diol, como se muestra en el **Esquema 6**.



**Esquema 6.** Apertura de un epóxido catalizada por un ácido en medio acuoso.

Cuando la apertura catalizada por un ácido de un epóxido se produce con alcohol como disolvente, la molécula de alcohol actúa como nucleófilo. Esta reacción da lugar a un  $\beta$ -alcoxi-alcohol con una estereoquímica *anti*. Éste es un método excelente para obtener compuestos con grupos funcionales éter y alcohol (Wade, 2004), como se muestra en el **Esquema 7**. Aunque el oxígeno de un éter es normalmente un grupo saliente pobre en una reacción  $S_N2$ , la reactividad del anillo de tres miembros basta para permitir que los epóxidos reaccionen con un ion hidróxido a temperaturas elevadas, dando lugar al mismo producto que la apertura del epóxido catalizada por un ácido: un 1,2-diol, con estereoquímica *anti*.



**Esquema 7.** Apertura de un epóxido catalizada por un ácido en solución alcohólica.

## Química Computacional-Teórica (*In Silico*)

Es la disciplina que comprende todos aquellos aspectos de la investigación en química que se benefician de la aplicación de las computadoras. Implica desde la aplicación del cómputo para controlar los equipos de investigación hasta el manejo de bancos de información, pasando por supuesto por las aplicaciones que impactan la descripción de la estructura de moléculas. El núcleo de la química computacional implica el uso de modelos matemáticos para la predicción de propiedades químicas y físicas de compuestos, empleando computadoras (Cuevas, 2005).

La química computacional abarca un amplio rango de métodos matemáticos que pueden dividirse en dos grandes categorías (Valles-Sánchez, Rosales-Marines, Serrato-Villegas, & Farías-Cepeda, 2014):

- Mecánica molecular, aplica las leyes de la física clásica al núcleo molecular sin considerar explícitamente a los electrones.
- Mecánica cuántica, se basa en la ecuación de Schrödinger para describir una molécula con un tratamiento directo de la estructura electrónica y se subdivide a su vez en dos clases según el tratamiento realizado, métodos semiempíricos y métodos *ab initio* (desde el principio).

La química computacional son una serie de técnicas que sirven para resolver problemas de investigación química, como (Lewars, 2011):

- a) Con la geometría molecular en un sentido amplio, además de distancias y ángulos de enlace, es posible caracterizar la forma y tamaños relativos de todo tipo de moléculas y macromoléculas.
- b) Además, se puede conocer la energía de todo tipo de especies químicas, incluyendo intermediarios, estados de transición, estados excitados, etc. También es posible estimar qué isómero es favorecido y qué tan rápida es la reacción.
- c) La reactividad química: por ejemplo, nos permite conocer en donde están concentrados los electrones (sitios nucleofílicos) y hacia donde se desplazan (sitios electrofílicos) permitiéndonos predecir qué tipos de reactivos podrían reaccionar con la molécula.
- d) Las propiedades espectroscópicas tales como la espectrofotometría infrarroja (IR), la resonancia magnética nuclear (RMN) y la espectrofotometría de ultravioleta (UV)

para una molécula desconocida, se pueden calcular y, emplearse como herramientas en la caracterización de manera inequívoca de la misma.

- e) Se puede predecir la interacción entre un sustrato y una enzima, además, conociendo como la molécula se enlaza en el sitio activo de la enzima nos da una ventaja para desarrollar mejores fármacos.
- f) Finalmente, nos ayuda a conocer las propiedades físicas de las sustancias, desde sus propiedades individuales de cada molécula hasta la interacción de las moléculas entre ellas.

## **HIPÓTESIS**

Se sabe que la Química Verde tiene como objetivo principal prevenir la contaminación en la síntesis de compuestos farmacológicamente activos, además se tiene conocimiento de que en los procesos de extracción el empleo de fuentes alternas de activación ha ido en aumento y, también se conoce que son pocos los estudios sobre la extracción y modificación química de capsaicinoides de chile habanero empleando éstas fuentes alternas. De esta forma, asumiendo la filosofía de la Química Verde, se propone extraer los dos capsaicinoides mayoritarios del chile habanero, capsaicina y dihidrocapsaicina; así, la capsaicina será susceptible de ser modificada, incidiendo en algunos de los principios de la Química Verde, para generar algunos derivados de capsaicina, que puedan presentar actividad farmacológica importante. Además, mediante estudios *in silico* corroborar las propiedades estructurales de las moléculas objetivo.

## OBJETIVOS

### General

A partir de capsaicina y dihidrocapsaicina, extraídas mediante irradiación infrarroja cercana de chile molido, formar el epóxido y el diol de capsaicina mediante el empleo de una estrategia sintética en dos pasos y una estrategia sintética sin aislamiento del intermediario, compuestos con posible actividad biológica. Lo anterior contribuyendo al protocolo de la Química Verde. Además, llevar a cabo los estudios *in silico* para complementar su caracterización.

### Particulares

- Realizar la extracción de capsaicina y dihidrocapsaicina a partir de un producto natural empleando una fuente alterna de extracción como la irradiación de infrarrojo cercano de acuerdo a lo propuesto por Rosas Julieta, 2016.
- Llevar a cabo la formación del epóxido de la capsaicina utilizando una enzima como biocatalizador.
- Generar el diol de capsaicina a partir del epóxido previamente formado y purificado.
- Formar, mediante una reacción Telescoped, el diol de capsaicina, a partir del epóxido previamente formado sin purificar.
- Determinar las mejores condiciones de reacción, tiempo, temperatura, cantidades de reactivos y sustrato.
- Aislar y purificar las moléculas objetivo, empleando la técnica de cromatografía en placa preparativa.
- Caracterización de las moléculas objetivos empleando técnicas espectroscópicas comunes (RMN:  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ ; EM: IE, FAB<sup>+</sup>, AR, AR-DART<sup>+</sup>)
- Realizar el análisis conformacional a nivel semiempírico, AM1, de las moléculas obtenidas, para encontrar la conformación de mayor estabilidad con base a la energía relativa obtenida de acuerdo al método computacional.

- Optimizar los conformeros seleccionados para nuevamente elegir aquellas estructuras de menor energía, para posteriormente determinar algunas propiedades moleculares.
- Determinar la propiedad espectroscópica (IR) mediante química computacional de las moléculas sintetizadas y compararlo con los datos experimentales.
- Determinar la propiedad espectroscópica (RMN) mediante química computacional de las moléculas sintetizadas y compararlo con los datos experimentales.
- Obtener propiedades como potencial electrostático molecular (MPE), orbitales HOMO y LUMO de las moléculas optimizadas.
- Llevar a cabo la evaluación de qué tan verde es el proceso experimental, para determinar su incidencia dentro de la Química Verde.



## METODOLOGÍA

### Reactivos

Los reactivos utilizados en este proyecto se adquirieron de los siguientes proveedores: el chile habanero (*Capsicum chinense*) se obtuvo previamente triturado y tratado de Chile Habanero Puro Molido, Industria Agrícola Maya S.A. de C.V., Mérida, Yucatán, con número de lote 105-109-11 y código PT 5000. La lipasa B de *Candida antarctica* (Novozym 435) y el peróxido de hidrógeno-urea, se obtuvieron de Sigma-Aldrich. El etanol absoluto utilizado para la extracción de los capsaicinoides se purificó utilizando el método que indica la literatura (Domínguez, 1982). El ácido acético glacial, es grado analítico y fue adquirido de la empresa Fermont. Los disolventes *n*-hexano y AcOEt son grado reactivo y se utilizaron sin tratamiento previo alguno. Para la purificación se empleó la técnica de cromatografía en placa preparativa (*cpp*) usando gel de sílice, Merck 60 con tamaño de poro de 0.063 mm (malla 230 ASTM) como fase estacionaria y como eluyente el sistema *n*-hexano/AcOEt (50:50). El revelado de éstas se llevó a cabo por diferentes métodos: luz ultravioleta, con una lámpara UVP (UVLS-24), vapores de yodo y con solución de sulfato cérico.

### Equipo

Para la extracción con irradiación de infrarrojo cercano se utilizó un equipo comercial “Flavor Time<sup>®</sup>” modelo AOT-F902 (1350 W/110 V/120 V-60 Hz|220 V/240 V-60 Hz). Los espectros de RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C fueron registrados en un espectrómetro Agilent DD2 a 600 MHz para <sup>1</sup>H y a 150 MHz para <sup>13</sup>C con OneNMR Probe, en disolución de CDCl<sub>3</sub> y CD<sub>3</sub>OD empleando como referencia interna TMS. Los espectros de masas se obtuvieron utilizando un espectrómetro de masas MStation MJS-700 JEOL (con potencial de ionización de 70 eV para IE y, de 6 keV para FAB<sup>+</sup> y FAB<sup>+</sup>-AR). Los datos de alta resolución en tiempo real se obtuvieron empleando un espectrómetro JEOL AccuTOF DART (Direct Analysis in Real Time). Los espectros de infrarrojo se obtuvieron en un espectrofotómetro Bruker modelo Tensor 27 equipado con ATR en un rango de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>.

## Método Experimental

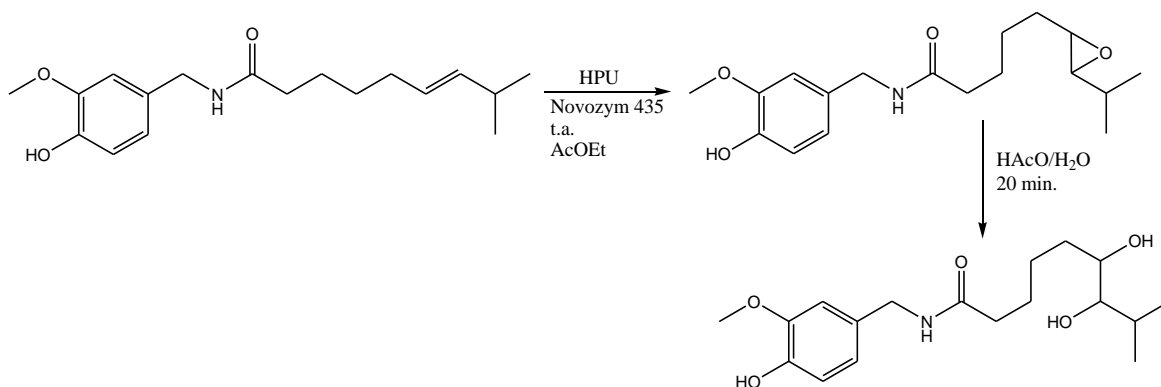
### *Obtención de la capsaicina y dihidrocapsaicina*

La extracción de capsaicina y dihidrocapsaicina del chile habanero molido se realizó usando 3 g de chile para cada extracción, utilizando irradiación de infrarrojo cercano, IRC. En primera instancia se irradió el chile molido por 15 min en ausencia de disolvente; posteriormente, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se adicionaron 90 mL de EtOH y se irradió por 15 min más, en este paso es apropiado comentar que por cada 5 min de irradiación se dejaron 5 min de reposo con agitación constante para evitar la proyección del disolvente. Concluido el tiempo de irradiación se filtró y se concentró a presión reducida.

Una vez obtenido el extracto de capsaicina-dihidrocapsaicina, se prosiguió a la formación del epóxido y del diol de capsaicina mediante los siguientes dos métodos.

### *Obtención del diol de capsaicina a partir de capsaicina, por etapas*

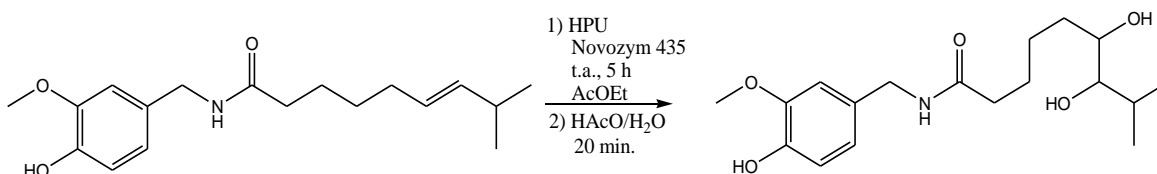
Se colocó en un matraz Erlenmeyer de 25 mL, 200 mg (0.3416 mmol) de capsaicina, 470 mg (4.9963 mmol) de peróxido de hidrógeno- urea, 30 mg de enzima Novozym 435 y 7 mL de acetato de etilo. Esta mezcla se dejó con agitación constante durante 5 h a temperatura ambiente, realizando un seguimiento de reacción mediante cromatografía en capa fina (*ccf*), utilizando como fase móvil *n*-hexano/AcOEt (50:50). Transcurrido el tiempo de reacción, se filtró la mezcla para recuperar la enzima y se dejó evaporar el disolvente a presión reducida. El epóxido de capsaicina, se purificó por cromatografía en placa preparativa (*cpp*), la fase móvil fue *n*-hexano/AcOEt (50:50). Una vez obtenido el epóxido de capsaicina puro, posteriormente, se colocó en un matraz Erlenmeyer de 25 mL y se adicionaron 3 mL de una mezcla AcOH/Agua (2:1), esta mezcla se dejó con agitación constante por 20 min a temperatura ambiente, **Esquema 8**. Concluido el tiempo de reacción se dejó evaporar el disolvente a presión reducida y la mezcla de reacción se purificó empleando la técnica de *cpp*, la fase móvil fue *n*-hexano/AcOEt (50/50) para obtener el diol de capsaicina puro.



**Esquema 8.** Reacciones de formación del diol de capsaicina.

#### *Obtención del diol de capsaicina mediante una reacción Telescoped*

En un matraz Erlenmeyer de 25 mL se colocaron 200 mg (0.3416 mmol) de capsaicina, 470 mg (4.9963 mmol) de peróxido de hidrógeno-urea, 30 mg de enzima Novozym 435 y 7 mL de acetato de etilo, la mezcla se dejó con agitación constante por 5 h a temperatura ambiente, el seguimiento de la reacción se llevó a cabo mediante cromatografía de capa fina (*ccf*), utilizando como fase móvil *n*-hexano/AcOEt (50:50). Una vez transcurrido el tiempo de reacción se agregaron 3 mL de una mezcla de AcOH/Agua (2:1), y se dejó con agitación constante por 20 min más a temperatura ambiente, **Esquema 9**. Al concluir el tiempo de reacción, la mezcla se filtró para recuperar la enzima y se dejó evaporar el disolvente a presión reducida. El diol de capsaicina se purificó mediante la técnica de placa preparativa (*cpp*), empleando la fase móvil fue *n*-hexano/AcOEt (50:50).



**Esquema 9.** Reacción Telescoped del diol de capsaicina.

#### **Metodología Computacional**

Para la realización de este trabajo se utilizaron computadoras personales de escritorio. Asimismo, se ocupó la supercomputadora *Miztli* (DGTIC-UNAM), para llevar a cabo la optimización de las moléculas.

Las moléculas (epóxido de capsaicina y diol de capsaicina) fueron diseñadas en el programa Spartan 02 para PC. Primeramente, se realizó un análisis conformacional con mecánica molecular usando los niveles de teoría MMFF94 y AM1, implementados en el mismo programa. Estas estructuras de mínima energía, fueron optimizadas con teoría de funcionales de la densidad (DFT), específicamente empleando el método B3LYP y el conjunto de funciones base 6-311++G(d,p), utilizando el programa Gaussian 03.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *En el contexto químico*

Con este trabajo se busca contribuir a la química de los capsaicinoides y, asimismo, a la filosofía de la Química Verde, mediante él se encontró que con las condiciones estudiadas es posible generar el epóxido y el diol de la capsaicina. De esta forma, en primera instancia es apropiado comentar que en base al método de extracción propuesto por Rosas, 2015. Se obtuvo un porcentaje del 52.10 % de extracción de los capsaicinoides mayoritarios, así la masa de capsaicina pura en los 200 mg utilizados es de 104.2 mg. Con ello, se llevó a cabo la generación del epóxido, el cual se presenta como un aceite rojo con un rendimiento del 81.18 %, **Tabla 1**.

**Tabla1.** Rendimiento del epóxido de capsaicina.

Capsaicina pura utilizada		Epóxido de capsaicina generado		Rendimiento (%)
mg	mmol	mg	mmol	81.18
104.2	0.3416	89	0.2773	

En la **Tabla 2** se registran los datos del rendimiento del diol generado por el método por etapas, haciendo reaccionar 89 mg de epóxido de capsaicina con la mezcla ácida, obteniéndose 93.68 mg del diol de capsaicina para un rendimiento del 99.67 %, el cual se obtuvo como un aceite rojo, y tomando como base los 104.2 mg de capsaicina usados para la formación del epóxido el rendimiento real de la obtención del diol de capsaicina fue del 80.90 %.

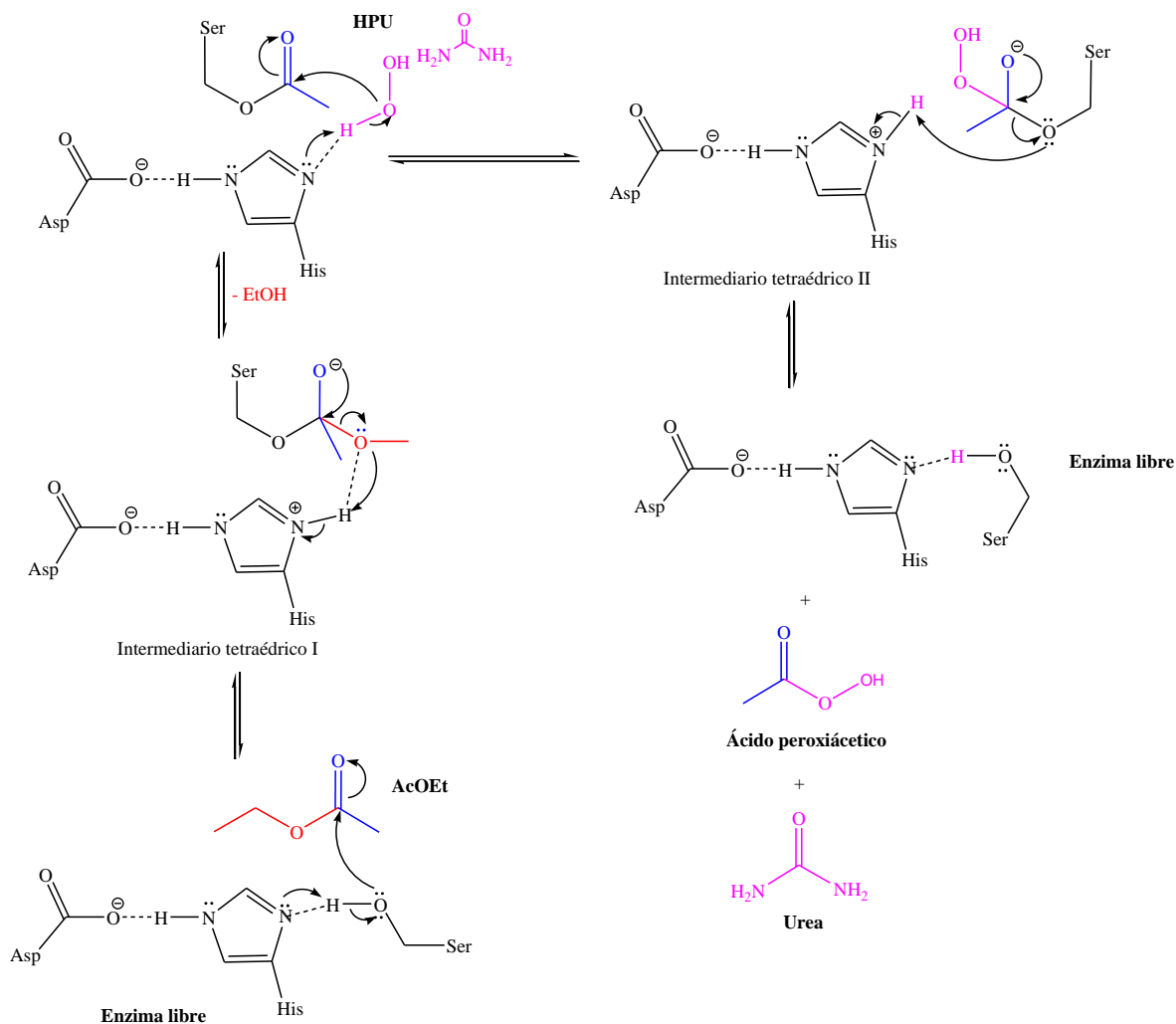
Por otro lado, cuando se llevó cabo el método “Telescoped”, se generaron 60 mg del diol de capsaicina para un rendimiento real del 51.90 %. Aquí es apropiado comentar que en esta reacción, el epóxido que no reacciona es recuperado para su posterior uso en la generación de más diol; esto es la posible causa de que el rendimiento por esta estrategia sea menor. Además, como alternativa para explicar los bajos rendimientos se puede presentar una adición del protón del medio ácido al oxígeno del carbonilo y la posterior interacción del agua o se puede llevar a cabo una sustracción del protón realizada por el nitrógeno de la

urea formando el intermediario correspondiente. Consecuentemente, se puede concluir que el mejor método es el desarrollado mediante etapas, esto al generar un mayor rendimiento.

**Tabla 2.** Comparación de métodos de obtención del diol de capsaicina.

Método	Capsaicina pura utilizada		Diol de capsaicina obtenido		Rendimiento (%)
	mg	mmol	mg	mmol	
Reacción “Telescoped”	104.2	0.3416	60	0.1770	51.90
Por etapas	104.2	0.3416	93.68	0.2763	80.90

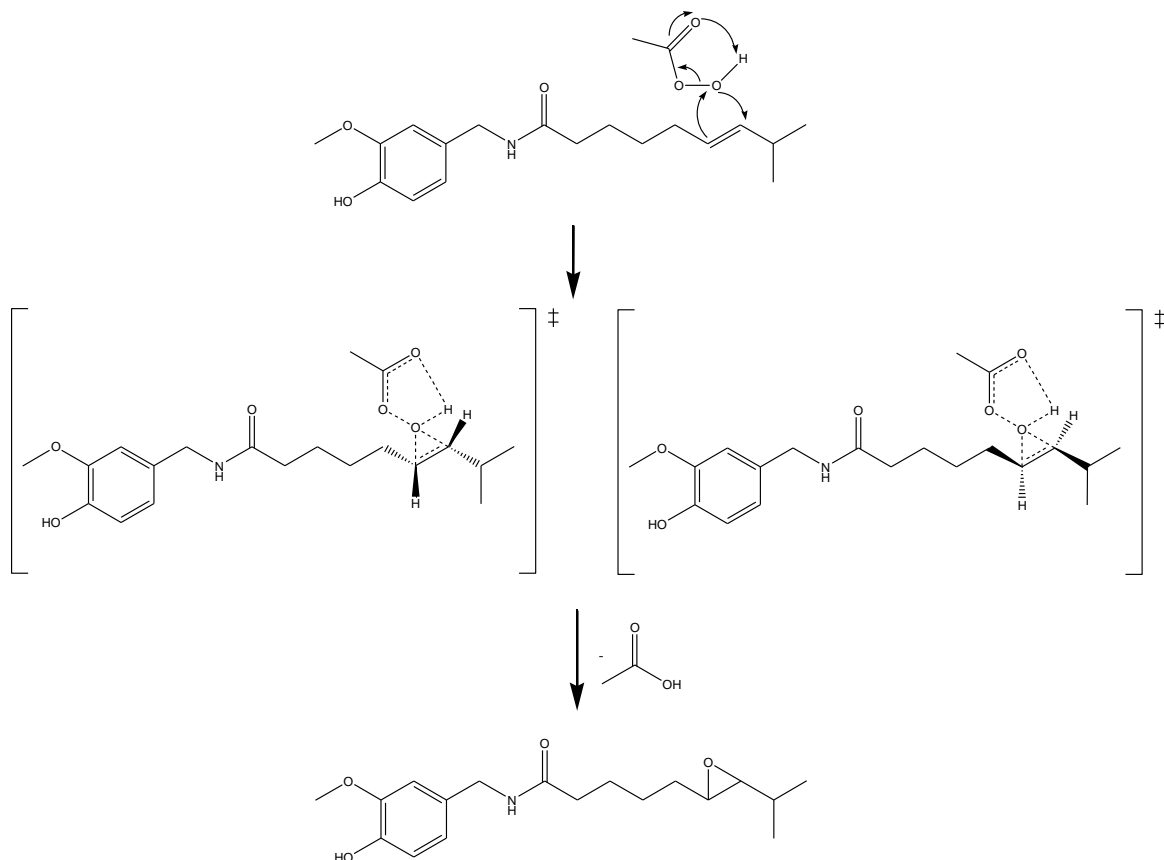
La formación del epóxido de capsaicina se propone se lleve a cabo, mediante la formación del peroxiácido a partir del acetato de etilo y del peróxido de hidrógeno-urea con ayuda de la lipasa *Candida antarctica*. Obteniéndose como productos el ácido peroxiacético y el etanol (Abdulamlek, y otros, 2014), **Esquema 10**. En primera instancia se lleva a cabo la sustracción del hidrógeno por el nitrógeno de la histidina que es más electronegativo debido al residuo carboxílico del aspartato y del ácido glutámico; de esta forma el residuo de serina ataca al carbono del grupo carbonilo para formar el primer intermediario tetraédrico. Este intermediario es estabilizado por una interacción oxianión-hueco, este último encontrado en todas las lipasas. Posteriormente, se lleva a cabo un rompimiento del enlace carbono-oxígeno, en donde el oxígeno sustrae el protón de la histidina provocando la ruptura del enlace N-H y se produce la salida de etanol. Con la adición de HPU, el nitrógeno de la histidina sustrae el protón del peróxido y el oxígeno ataca el carbono del grupo carbonilo desplazando los electrones  $\pi$  hacia el oxígeno, dando lugar al intermediario tetraédrico II. Finalmente, los electrones  $\pi$  del oxígeno se deslocalizan hacia el carbono del grupo carbonilo provocando la escisión del enlace carbono-oxígeno de la serina, el cual sustrae el protón de la histidina dando lugar a la enzima libre, el peroxiácido acético y urea.



**Esquema 10.** Mecanismo de formación del peroxiácido empleando *Candida antarctica*.

Una vez generado el peroxiácido, éste reacciona con el doble enlace de la capsaicina mediante una reacción concertada, **Esquema 11**, en donde se observa una adición *syn* del oxígeno del ácido peroxicarboxílico al doble enlace, este hecho se basa en que la epoxidación de alquenos por peroxiácidos es un proceso concertado, como sucede en la reacción de Prilezhaev, en donde generalmente se obtienen mezclas racémicas. La reacción toma lugar en el átomo de oxígeno terminal del peroxiácido, en donde el HOMO  $\pi$  de la olefina se acerca al LUMO  $\sigma^*$  del enlace O-O en un ángulo de  $180^\circ$  generando un estado de transición conocido como mariposa, aquí es apropiado comentar que la reacción es

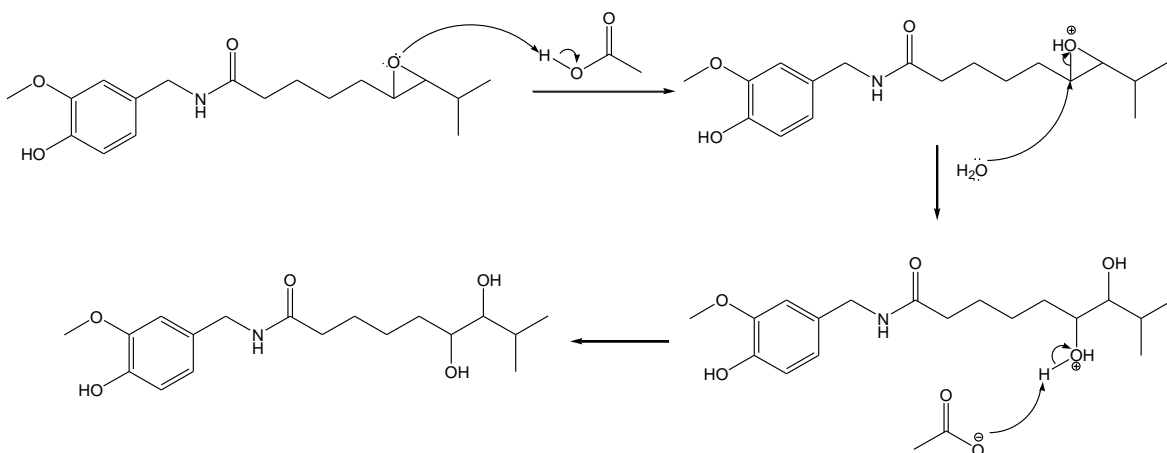
estereoespecífica, es decir, el alqueno de partida con estereoquímica *trans* genera un epóxido con estereoquímica *trans* (Kürti & Czáko, 2005).



**Esquema 11.** Mecanismo de reacción del Epóxido de Capsaicina.

Por otro lado, con relación a la formación del diol mediante la apertura del epóxido, como se comentó anteriormente, el mecanismo involucra la protonación del oxígeno del anillo de tres miembros que sustrae un protón del ácido acético, dando lugar a la formación un buen grupo saliente, acto seguido, se lleva a cabo la sustitución nucleofílica bimolecular por la molécula de agua. La ruptura del epóxido, se efectúa por la parte posterior por donde ataca el nucleófilo al oxígeno protonado, generando el *trans*-1,2-diol, como se muestra en el **Esquema 12**.





**Esquema 12.** Mecanismo de formación del diol de capsaicina.

### *Caracterización espectroscópica de los productos*

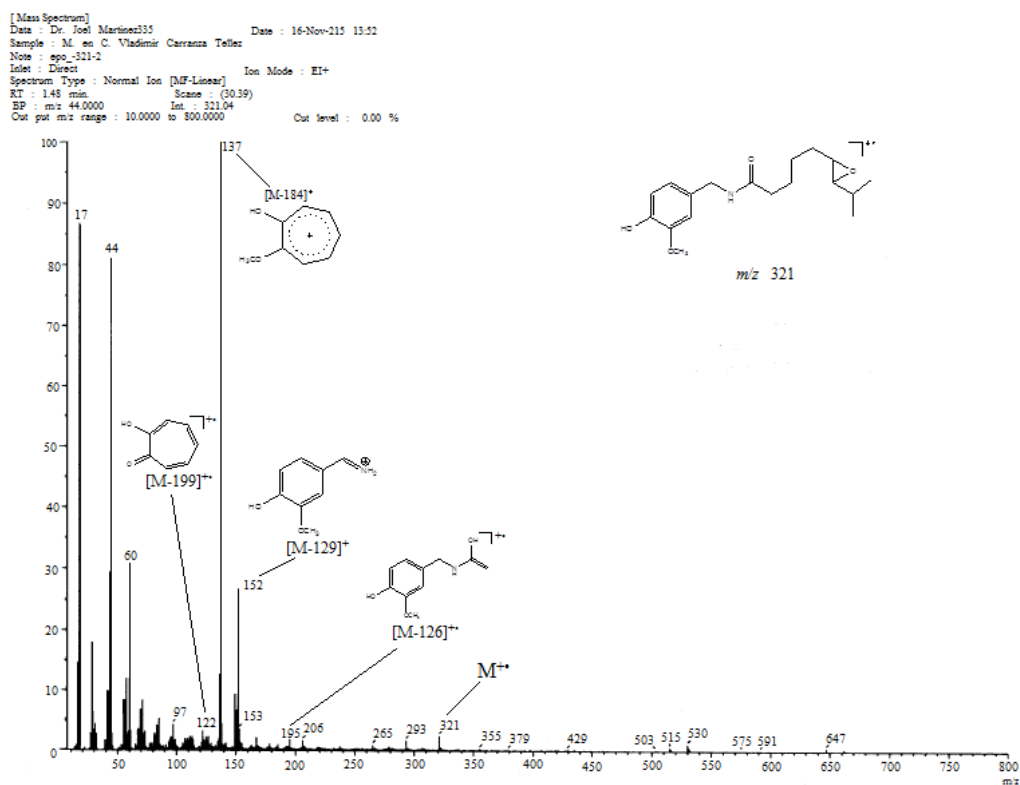
La identificación estructural de los compuestos formados, epóxido de capsaicina y diol de capsaicina, se realizó primeramente por técnica de espectrometría de masas, mediante los experimentos de impacto electrónico, alta resolución en tiempo real, bombardeo con átomos rápidos y alta resolución de bombardeo con átomos rápidos.

**EMIE:** Al respecto, en el **Espectro 1** y **Tabla 3**, se puede observar el ion molecular para el epóxido con una relación  $m/z$  321 y un patrón de fragmentación que contiene las picos procedentes de la fragmentación del ion molecular, en este sentido el ion  $m/z$  195 proviene de un rearrreglo de McLafferty; el fragmento de relación  $m/z$  152 proviene de una pérdida de 169 Da a partir del ion molecular; el pico de relación  $m/z$  137 es asignado al ion tropilio, siendo éste el pico base y, finalmente, el fragmento de relación  $m/z$  122 es generado por una pérdida de 199 Da a partir del ion molecular, fragmentos que son corroborados con lo reportado para la capsaicina y la dihidrocapsaicina (Rosas, 2015). En el **Espectro 2** y **Tabla 3**, para el diol de capsaicina se puede observar el  $M^{+\bullet}$  con una relación  $m/z$  339, así como un patrón de fragmentación similar al del epóxido; de esta manera, el ion de relación  $m/z$  195 proviene del rearrreglo de McLafferty, los picos con relación  $m/z$  152, 137 y 122 son generados por la pérdida, desde el  $M^{+\bullet}$ , de 187, 202 y 217 Da respectivamente; además, es apropiado comentar que en este caso el pico base corresponde al fragmento de relación  $m/z$  44 proveniente de una ligera contaminación de urea y que corresponde a la pérdida de 16 Da.

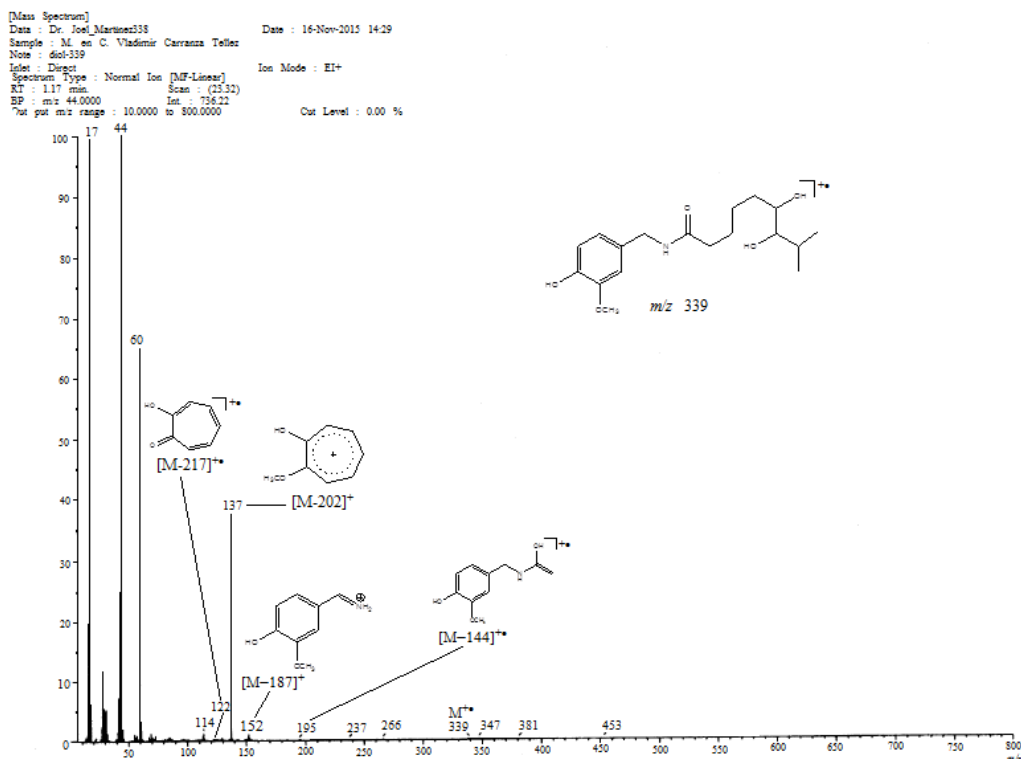
**Tabla 3.** Fragmentos del epóxido y diol de capsaicina mediante EMIE.

Compuesto	M <sup>+</sup> (% ar)	Fragmentos m/z (% ar)[*]
Epóxido de capsaicina	321 (3)	195 (2) [M-126] <sup>++</sup> , 152 (27) [M-169] <sup>+</sup> , 137 (100) [M-184] <sup>+</sup> , 122 (3) [M-199] <sup>++</sup>
Diol de capsaicina	339 (1)	195 (1) [M-144] <sup>++</sup> , 152 (1) [M-187] <sup>+</sup> , 137 (38) [M-202] <sup>+</sup> , 122 (1) [M-217] <sup>++</sup>

(% ar): abundancia relativa, \*: asignaciones



**Espectro 1.** Espectro del epóxido de capsaicina (70 eV).



**Espectro 2.** Espectro del diol de capsaicina (70 eV).

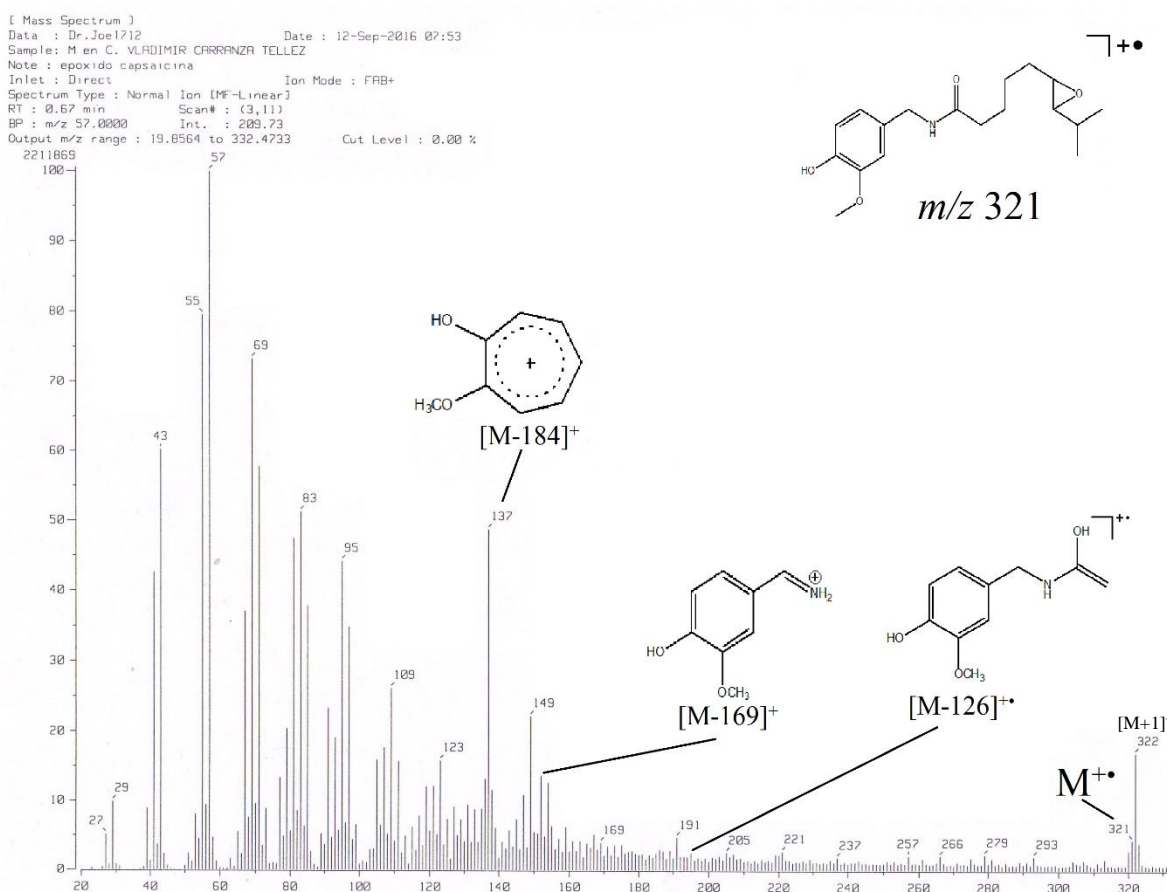
**AR-DART+:** Es apropiado comentar que estas moléculas fueron identificadas por sus datos de alta resolución en tiempo real, de esta forma para el epóxido de capsaicina se presenta para la fórmula condensada  $C_{18}H_{28}N_1O_4$ , una masa exacta calculada de 322.20183 Da y una masa experimental exacta de 322.20239 Da con un error de +1.73 ppm. Para el diol de capsaicina se tiene la fórmula condensada  $C_{18}H_{30}N_1O_5$ , con una masa exacta calculada de 340.21240 Da y una masa experimental exacta de 340.21271 Da con un error de +0.91 ppm. Es adecuado resaltar que la unidad de más en la fórmula condensada es proporcionada por el equipo, debido a que en la ionización se proporciona un protón más.

**FAB+:** Dado que los iones moleculares presentaron una baja abundancia relativa, se procedió a obtener los espectros de masas empleando la técnica de  $FAB^+$  para tratar de incrementar la abundancia y, asimismo, la determinación de la fórmula condensada de manera inequívoca mediante sus datos de alta resolución. De esta forma, en el **Espectro 3**, **Espectro 4** y **Tabla 4**, se pueden observar los iones moleculares con una relación  $m/z$  321 y

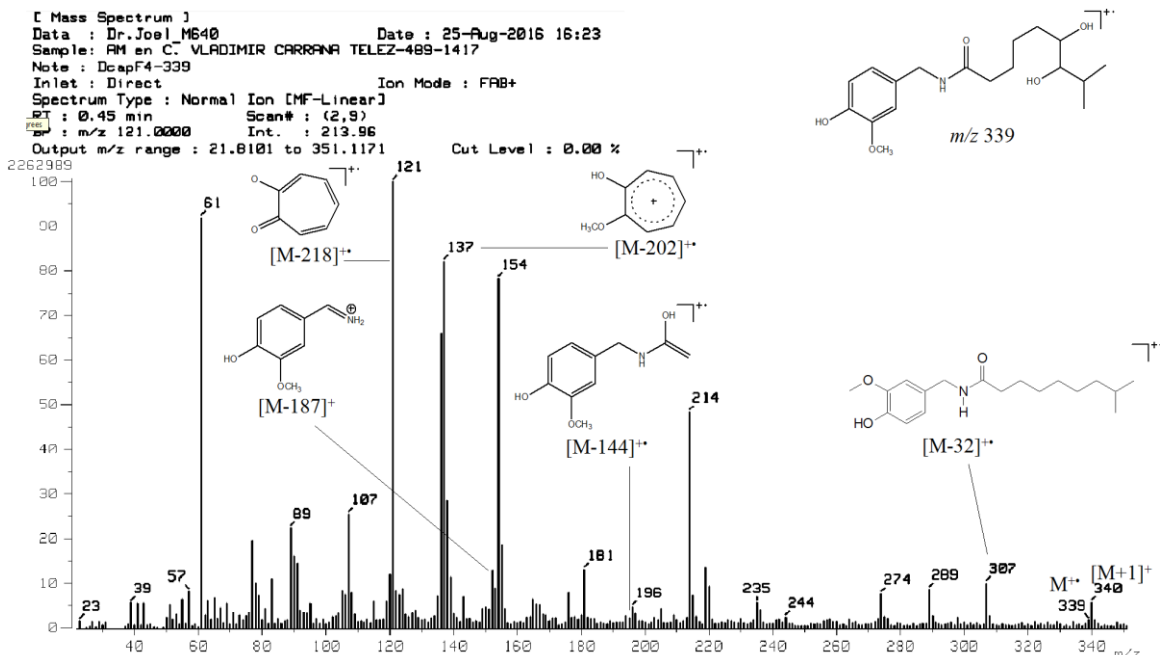
339 para el epóxido y el diol de manera respectiva. También, puede apreciar un patrón de fragmentación común al presentado mediante la técnica EMIE.

**Tabla 4.** Fragmentos del Epóxido y Diol de Capsaicina mediante FAB<sup>+</sup>.

Compuesto	M <sup>+</sup> (% ar)	Fragmentos m/z (% ar)*
Epóxido de Capsaicina	321 (5)	195 (2) [M-126] <sup>++</sup> , 152 (14) [M-169] <sup>+</sup> , 137 (49) [M-184] <sup>+</sup> , 122 (5) [M-199] <sup>++</sup>
Diol de Capsaicina	339 (3)	307 (13) [M-32] <sup>++</sup> , 195 (2) [M-144] <sup>++</sup> , 152 (15) [M-187] <sup>+</sup> , 137 (83) [M-202] <sup>+</sup> , 121 (100) [M-218] <sup>++</sup>



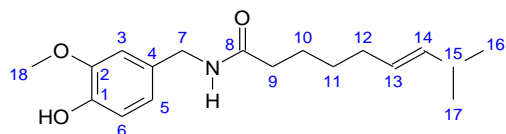
**Espectro 3.** Espectro del epóxido de capsaicina (6 keV).



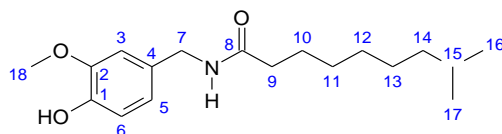
**Espectro 4.** Espectro del diol de capsaicina (6 keV).

**AR-FAB<sup>+</sup>:** Es apropiado comentar que estas moléculas fueron identificadas por sus datos de alta resolución para el ion molecular más uno [M+1]<sup>+</sup>. Así, para el epóxido de capsaicina se presenta la formula condensada C<sub>18</sub>H<sub>28</sub>N<sub>1</sub>O<sub>4</sub>, con una masa exacta calculada de 322.2021 Da y una masa experimental exacta de 322.2018 Da con un error de +1.00 ppm. Para el diol de capsaicina con la formula condensada C<sub>18</sub>H<sub>30</sub>N<sub>1</sub>O<sub>5</sub>, se tiene una masa exacta calculada de 340.2143 Da y una masa experimental exacta de 340.2124 Da con un error de +5.7 ppm.

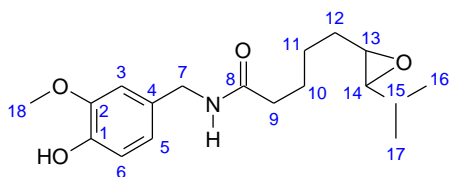
**RMN <sup>1</sup>H:** A continuación, se presentan las estructuras, así como la numeración asignada a las moléculas objetivo, se incluyen también las de la capsaicina y la dihidrocapsaicina. Aquí es apropiado comentar que la numeración es personalizada y empieza por el anillo aromático de la vainillilamida así como el etiquetado mediante un acrónimo para cada molécula.



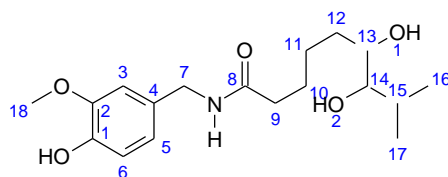
**Capsaicina (Cap)**



**Dihidrocapsaicina (DihiCap)**



**Epóxido capsaicina (EpoCap)**



**Diol capsaicina (DCap)**

En las **Tablas 5 y 6** se registran los datos de las señales de protón para todas las estructuras involucradas en este trabajo, aquí es necesario resaltar que las señales proporcionadas para la capsaicina fueron tomadas de la literatura (Gannet, y otros, 1988) y, considerando que al llevar a cabo la reacción de epoxidación en dos pasos o Telescoped solo reacciona la capsaicina, se puede llevar a cabo la recuperación de la dihidrocapsaicina con lo que se pudieron obtener sus respectivos datos los cuales fueron correlacionados con los de la literatura, espectros no mostrados.

**Tabla 5.** Datos de RMN  $^1\text{H}$  de capsaicina, dihidrocapsaicina, epóxido de capsaicina, en  $\text{CDCl}_3$  y del diol de capsaicina, en  $\text{CD}_3\text{OD}$ .

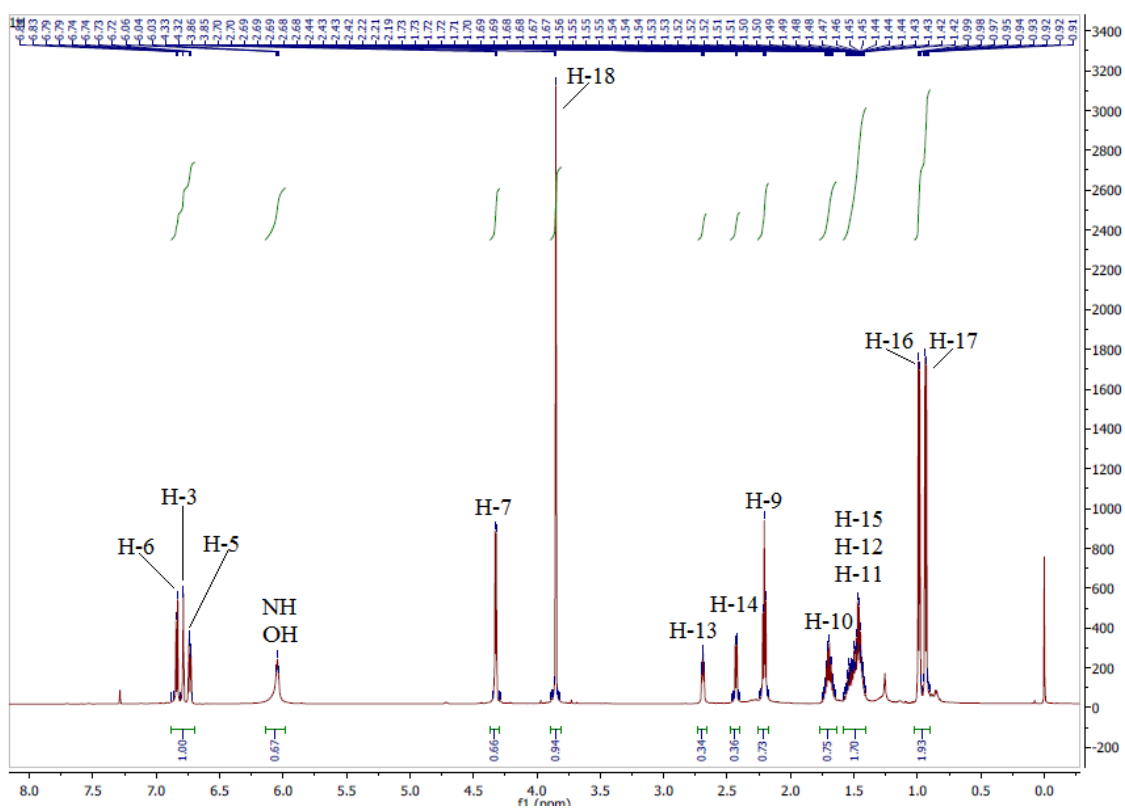
H	Cap	DihiCap	EpoCap	DCap
	$\delta$ (ppm)			
1	---	---	---	---
2	---	---	---	---
3	6.78, s	6.79, s	6.79, s	6.86
4	---	---	---	---
5	6.73, d, $J=9.0$	6.74, d, $J=6.0$	6.73, d	6.77
6	6.84, d, $J=9.0$	6.85, d, $J=6.0$	6.84, d	6.73
7	4.33, d, $J=6.0$	4.33, d, $J=6.0$	4.33, d	4.26
8	---	---	---	---
9	2.18, t, $J=7.5$	2.19, t, $J=6.0$	2.21, t	2.35, m
10	1.62, p, $J=8.1$	1.65, p, $J=6.0$	1.70, p	2.35, m
11	1.37, p, $J=6.8$	1.2, m	1.5, m	1.32, m
12	1.97, q, $J=6.6$	1.2, m	1.5, m	1.32, m
13	5.33, m	1.2, m	2.69, td, $J=12.0$	3.65
14	5.33, m	1.14, q	2.44, dd, $J=9.0$	3.65
15	2.20, m	1.50, m	1.5, m	1.17
16	0.93, d, $J=7.8$	0.86, d	0.99, d	0.94
17	0.93, d, $J=7.8$	0.86, d	0.94, d	0.87
18	3.85, s	3.87, s	3.85, s	3.83, s
19	---	---	---	1.99, s
20	---	---	---	2.25, m
NH	5.82	5.91	6.04	5.69
OH	5.82	5.96	6.04	5.69

$J$  = constante de acoplamiento en Hertz

Un aspecto importante que cabe resaltar con relación a las moléculas objetivo, es referido a que el esqueleto base de vainillilamida no sufre cambios significativos en los desplazamientos; además, es oportuno comentar que en relación a la cadena alílica, el

mayor cambio se presenta en las posiciones 13, 14 y 15, por lo que la discusión se centrará en esas posiciones.

Como se puede observar en el **Espectro 5** y **Tabla 5**, para el derivado EpoCap se observa para el H-13 una señal triple doble con un desplazamiento químico de 2.69 ppm, con relación al H-14 se presenta una señal doble de dobles centrada en 2.44 ppm, señales que presentan una constante de acoplamiento  $J = 3$  Hz, con lo que se confirma la presencia de una configuración *trans* respecto al epóxido (Lambert, Shurvell, Lightner, & Cooks, 1998) y corroborando que el mecanismo sigue la reacción de Prilezhaev descrita previamente. También, se observa para el H-15 una señal múltiple por acoplamiento con los hidrógenos etiquetados como H-14, H-16 y H-17, esta señal esta sobrepuesta con las señales de H-11 y H-12.

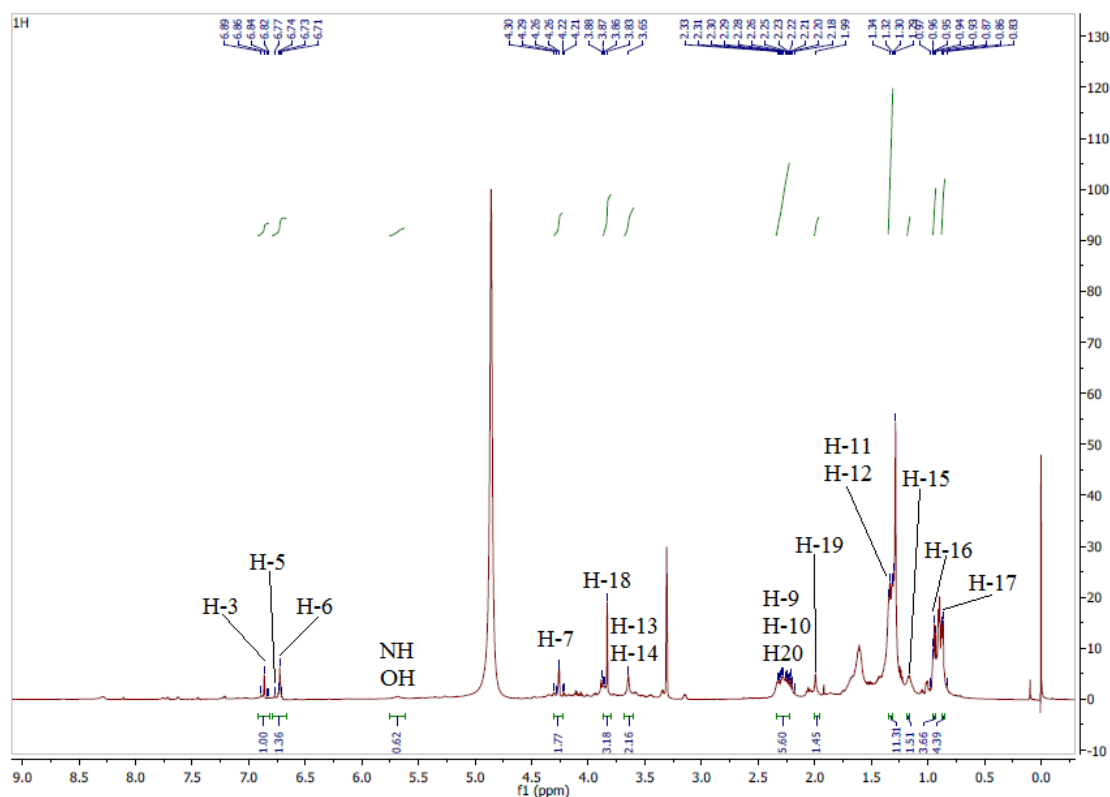


**Espectro 5.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  para EpoCap ( $\text{CDCl}_3/\text{TMS}$ ).

En el **Espectro 6** y en la **Tabla 5** se observa que para el derivado DCap, las señales para el H-3 y H-6 se presentan a un desplazamiento de 6.86 y 6.77 ppm, de manera respectiva. Las



señales correspondientes al H-13 y al H-14 se desplazan hasta 3.65 ppm y presentan una sola señal para los dos hidrógenos, posiblemente al encontrarse los protones del OH disociados, estos hidrógenos se comportan como si tuvieran el mismo ambiente químico y magnéticamente equivalentes. El H-20, correspondiente al OH en C-14, se encuentra enmascarada dentro de la señal múltiple de 2.25 ppm, junto con el H-9 y el H-10. La señal en 1.99 ppm corresponde al H-19 asignado al OH en C-13. Un aspecto importante en relación al protón de la amina y del OH de la región vainillilica, es su intensidad, como se aprecia en el espectro, ésta es muy disminuida lo que se puede deber a una posible deuteración con el disolvente.



**Espectro 6.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  para DCap ( $\text{CDCl}_3/\text{TMS}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$ :** De manera análoga a lo descrito en la resonancia de protón, en la **Tabla 6** se pueden ver los datos de las señales de protón para todas las estructuras involucradas en este trabajo, aquí es necesario resaltar que las señales proporcionadas para la capsaicina fueron tomadas de la literatura (Gannet, y otros, 1988) y, considerando que al llevar a cabo la

reacción de epoxidación en dos pasos o Telescoped solo reacciona la capsaicina, se pudo llevar a cabo la recuperación de la dihidrocapsaicina con lo que se pudieron obtener sus respectivos datos los cuales fueron correlacionados con los de la literatura, espectros no mostrados.

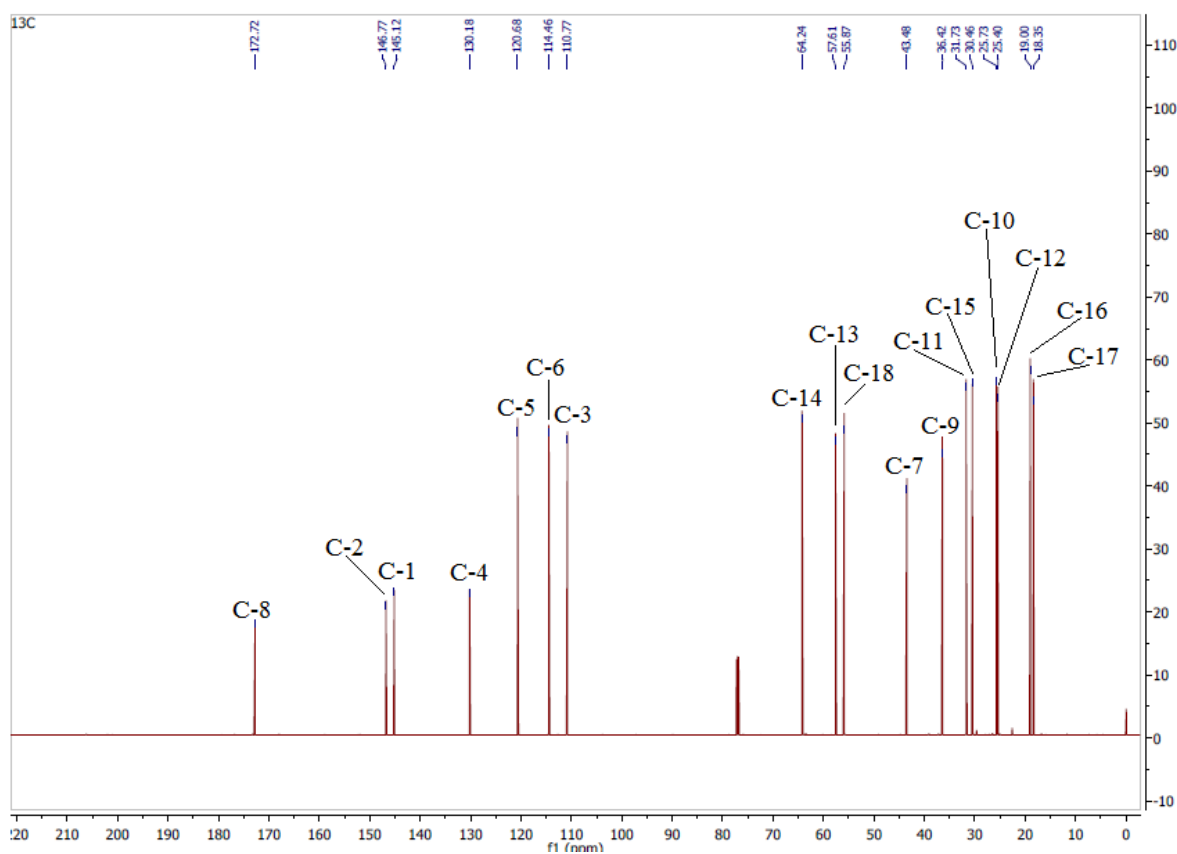
**Tabla 6.** Datos de RMN  $^{13}\text{C}$  de capsaicina, dihidrocapsaicina en  $\text{CDCl}_3$  y los derivados de capsaicina en  $\text{CD}_3\text{OD}$ .

C	Cap	DihiCap	EpoCap	DCap
	$\delta$ (ppm)			
1	144.5	145.1	145.1	143.53
2	147.3	146.7	146.8	147.88
3	110.9	110.7	110.8	112.49
4	130.2	130.3	130.2	130.05
5	121.1	120.7	120.7	120.31
6	114.3	114.4	114.5	116.09
7	44.0	43.5	43.5	40.11
8	172.0	173.1	172.7	173.71
9	36.8	36.8	36.4	33.96
10	25.8	25.8	25.7	36.97
11	26.2	27.9	31.7	27.01
12	30.1	29.6	25.4	30.68
13	138.1	29.3	57.6	69.09
14	125.9	38.9	64.2	74.60
15	27.2	27.2	30.5	30.73
16	23.3	22.6	19.0	20.29
17	22.8	22.6	18.4	20.20
18	55.6	55.9	55.9	53.88

Un aspecto importante que cabe resaltar con relación a las moléculas objetivo, es referido a que el esqueleto base de vainillilamida no sufre cambios significativos en los desplazamientos; además, es oportuno comentar que en relación a la cadena alílica, el

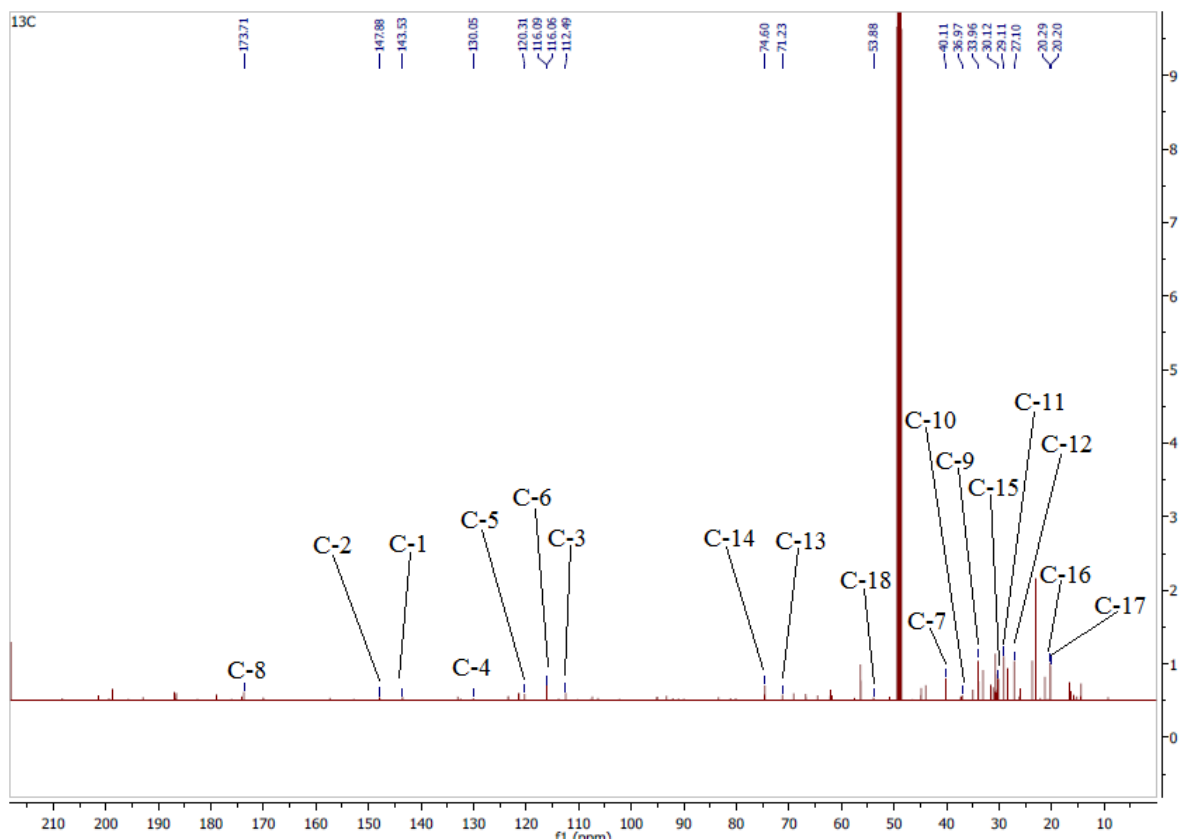
mayor cambio se presenta en las posiciones 13 y 14, por lo que la discusión se centrará en ellas.

Como se puede observar en el **Espectro 7** y **Tabla 6**, para el derivado EpoCap se observa para el C-13 que paso de ser una señal de doble enlace (138.1 ppm) a una señal base de oxígeno a 57.6 ppm, con relación al C-14, también dejo de ser una señal de doble enlace (125.9 ppm) y se presenta a 64.2 ppm debido a que es base del oxígeno del epóxido.



**Espectro 7.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  para EpoCap ( $\text{CDCl}_3/\text{TMS}$ ).

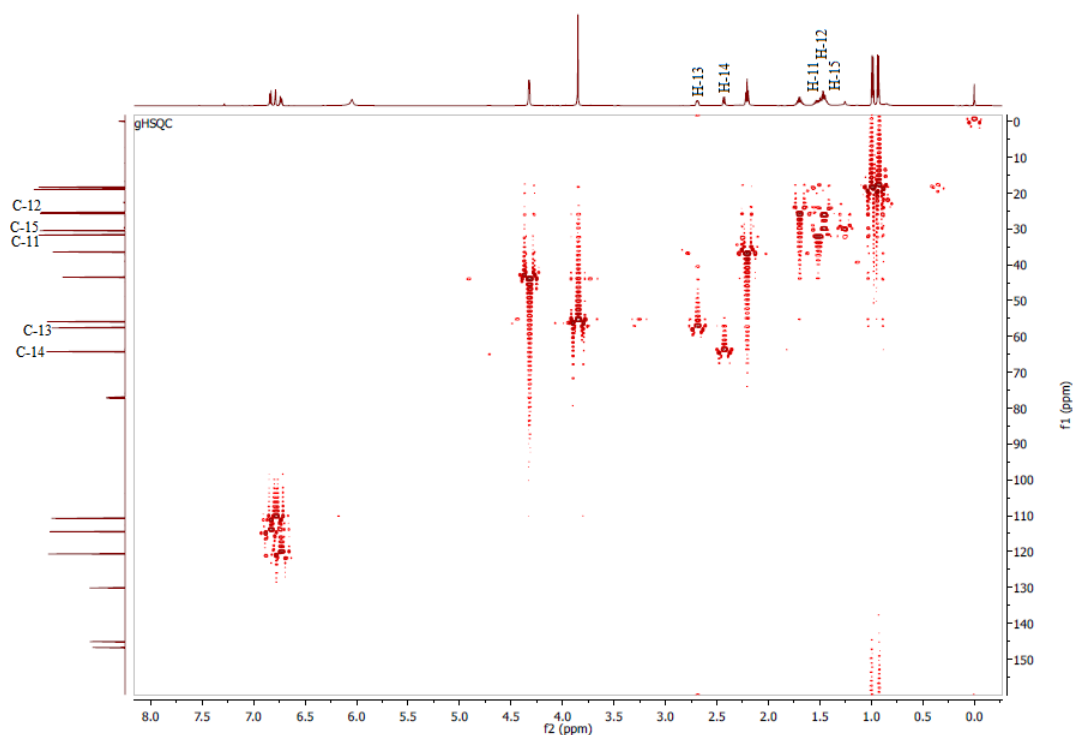
En el **Espectro 8** y **Tabla 6**, se observa que las señales de C-13 a 71.23 ppm y, de C-14 a 74.60 ppm, se desplazan ligeramente en comparación con las señales de EpoCap, debido a la acción que ejercen los hidroxilos sobre éstos carbonos. Además, la señal del C-10 a 36.97 ppm, se desplaza debido a que por el acomodo de la molécula éste carbono se ve afectado estéricamente por el OH del carbono 14.



**Espectro 8.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  para DCap ( $\text{CDCl}_3/\text{TMS}$ ).

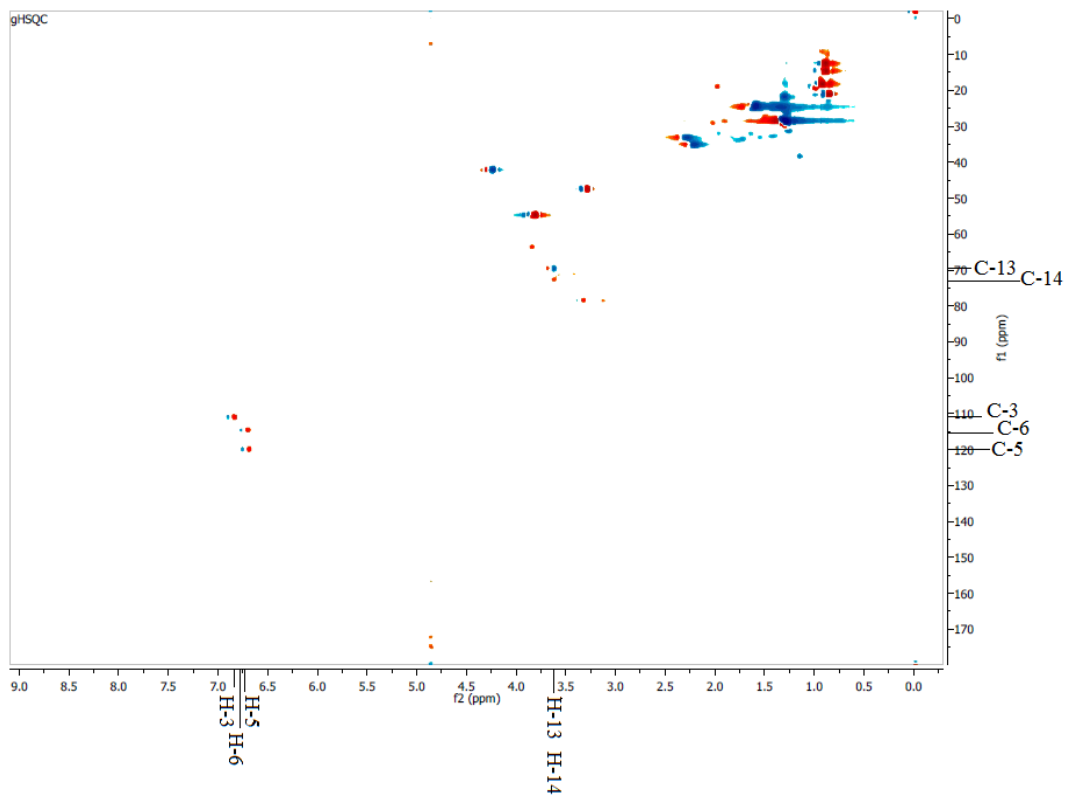
Para determinar la posición correcta de las señales de los compuestos EpoCap y DCap, se llevaron a cabo diferentes experimentos bidimensionales, los cuales se presentan a continuación, así como la discusión de los mismos.

**HSQC (Heteronuclear Single-Quantum Correlation):** es un experimento donde se correlacionan las señales a un enlace para acoplamiento heteronucleares  $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ . Como se observa en el **Espectro 9** y **Tablas 5** y **6**, para el compuesto EpoCap, la señal para el H-13 centrada a 2.69 ppm presenta una correlación con la señal a 57.6 ppm, señal que se etiquetó como C-13. De manera similar, la señal H-14 ubicada a 2.44 ppm se correlaciona con la señal a 64.2 ppm, la cual se asignó al C-14. También, debido a la complejidad de la multiplicidad, se llevó a cabo la correlación para los hidrógenos etiquetados como H-11, H-12 y H-15, las que tienen correlación con las señales a 31.7, 25.4 y 30.5 ppm de forma respectiva, señales que se etiquetaron como C-11, C-12 y C-15 respectivamente, estableciendo así y de manera inequívoca su asignación.



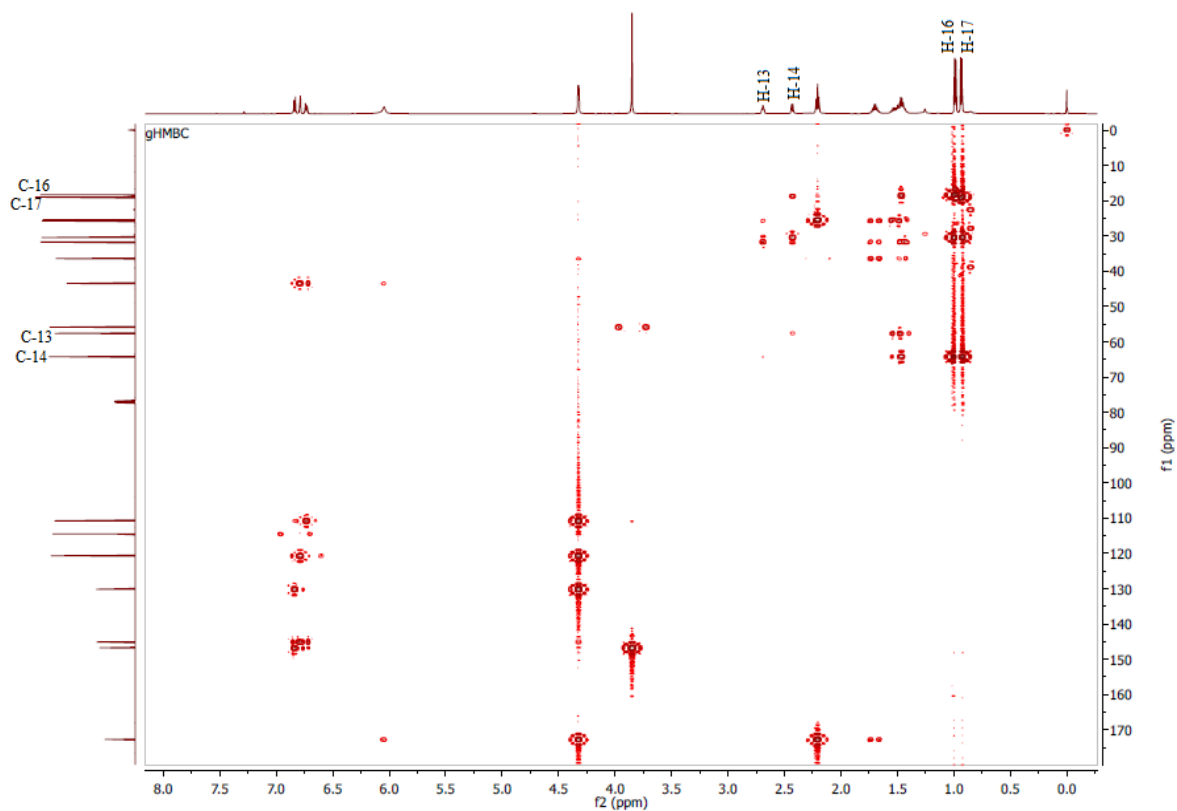
**Espectro 9.** Espectro bidimensional gHSQC para EpoCap ( $\text{CDCl}_3/\text{TMS}$ ).

En el **Espectro 10** y **Tablas 5** y **6**, para el DCap, se confirma que en la señal a 3.65 ppm corresponde al H-13 y al H-14, por su correlación con las señales a 69.09 ppm para C-13 y 74.60 ppm para C-14. También, con este experimento se pudo detectar el cambio en el desplazamiento de los hidrógenos del anillo aromático, la señal a 6.86 ppm asignada a H-3, correlaciona con la señal centrada a 112.49 ppm asignada a C-3, para el hidrógeno H-5 en 6.77 ppm se presentó una correlación con el C-5 en 120.31 ppm y la señal a 6.73 ppm, H-6, tiene una correlación con la señal centrada a 116.09 ppm asignada a C-6.



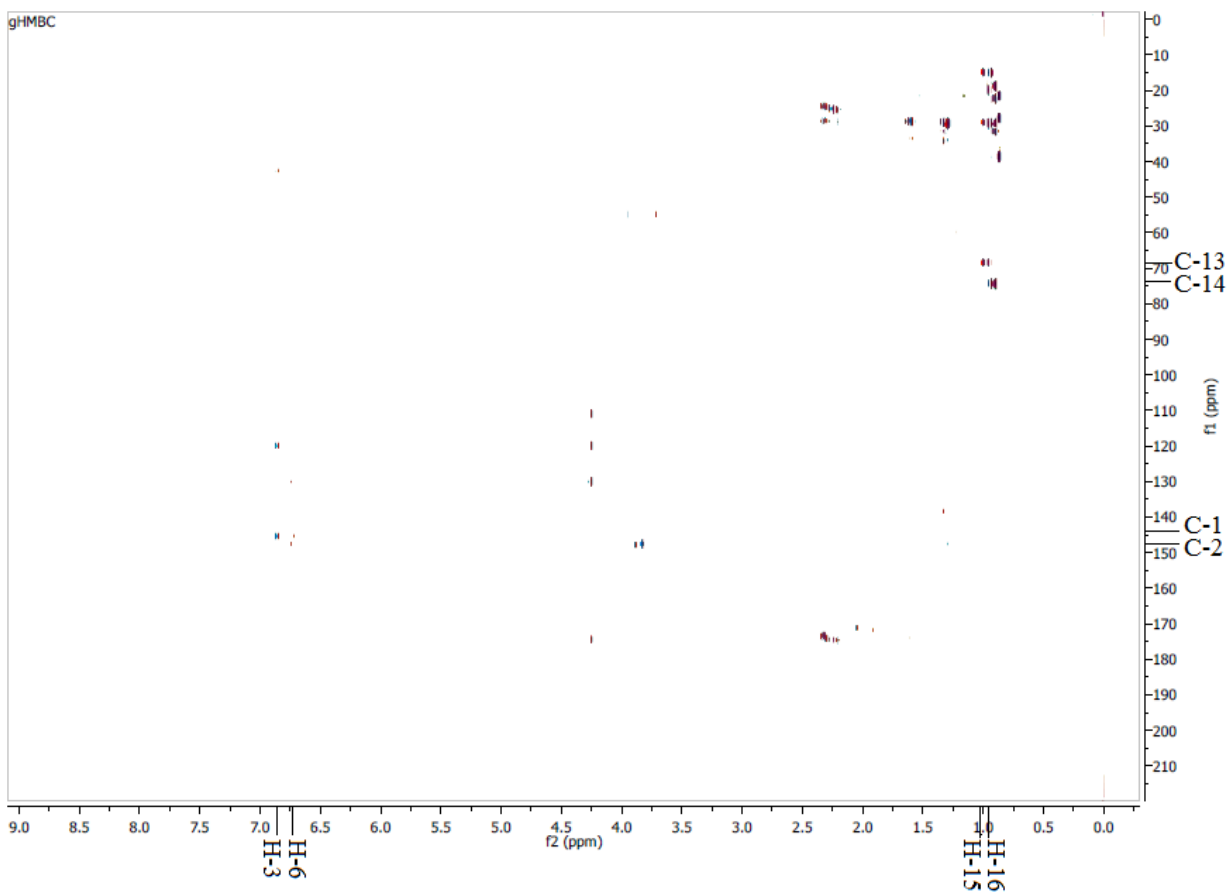
**Espectro 10.** Espectro bidimensional gHSQC para DCap (CDCl<sub>3</sub>/TMS).

**HMBC (Heteronuclear Multiple-Bond Correlation):** es un experimento donde se correlacionan las señales a dos y tres enlaces de distancia para acoplamientos heteronucleares  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ . Para el compuesto EpoCap, **Espectro 11** y **Tablas 5** y **6**, la señal para el H-16 y el H-17 en 0.99 ppm y 0.94 ppm respectivamente, presentan una correlación con la señal en 64.24, que se asignó al C-14, que se encuentra a tres enlaces de distancia. Dado que el C-13 se encuentra a más de tres enlaces de distancia del H-16 y del H-17 no presenta correlación con estos, de esta forma se puede confirmar la asignación del C-14 a la señal de 64.24 ppm.



**Espectro 11.** Espectro bidimensional gHMBC para EpoCap ( $\text{CDCl}_3/\text{TMS}$ ).

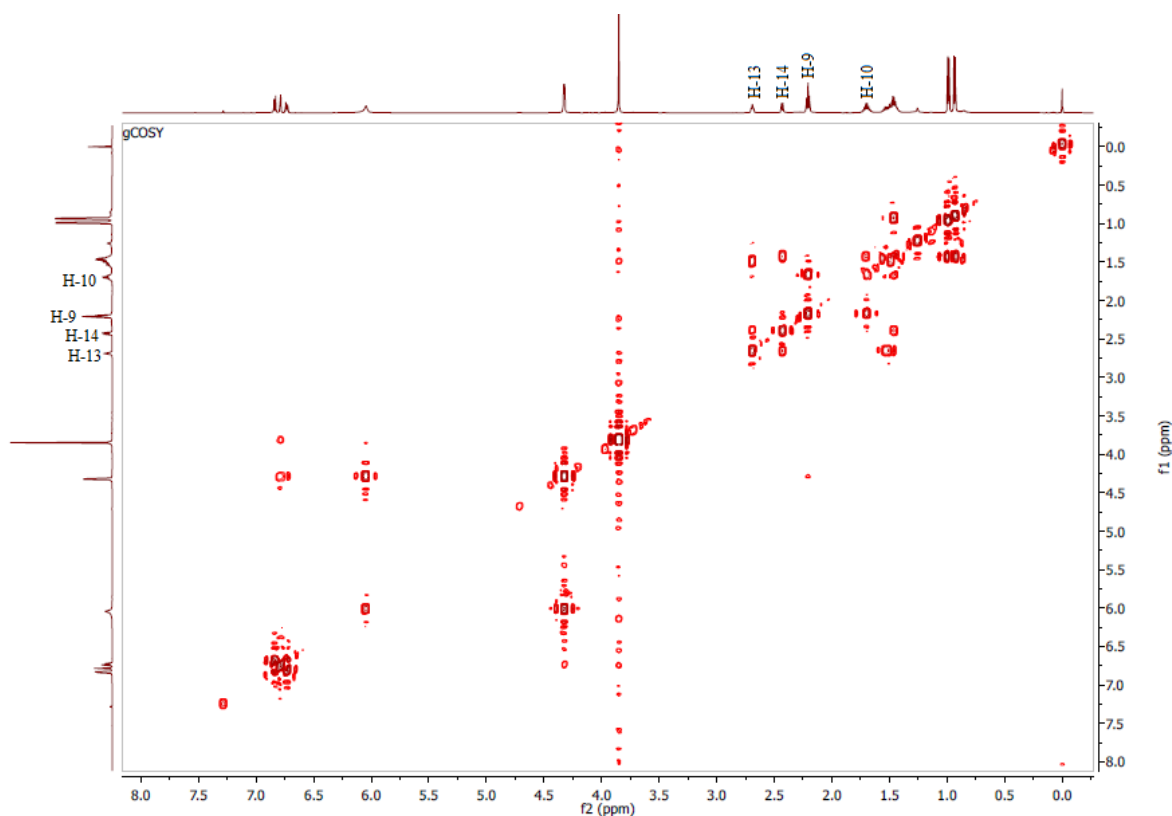
En el caso del **Espectro 12** y **Tablas 5** y **6** para el DCap, se confirma la asignación de las señales de C-13 y C-14 a 69,09 y 74.60 ppm de forma respectiva. Aquí la señal ubicada a 1.17 ppm, asignada a H-15, presenta una correlación con la señal a 69.09 ppm, que se encuentra a tres enlaces de distancia la cual se determinó que corresponde a C-13, asimismo, no fue detectada la correlación, a dos enlaces, de la señal centrada a 74.60 ppm del C-14 con la señal del H-15. En relación a la señal en 0.94 ppm, etiquetada como H-16, se presenta una correlación a tres enlaces de distancia con la señal a 74.60 ppm del C-14.



**Espectro 12.** Espectro bidimensional gHMBC para DCap ( $\text{CDCl}_3/\text{TMS}$ ).

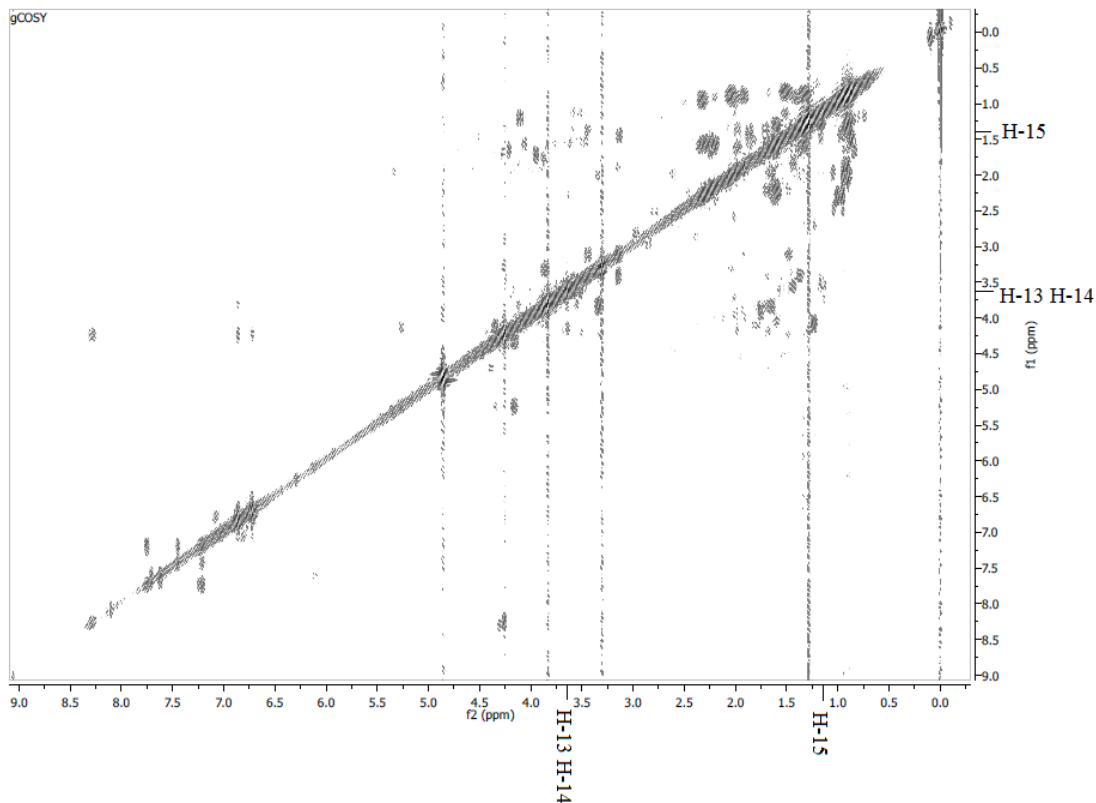
**COSY (Homocuclear Correlation Spectroscopy):** es un experimento donde se correlacionan los núcleos de la misma especie  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ . Como se observa en la molécula EpoCap, **Espectro 13** y **Tabla 5**, la señal en 2.49 ppm, correspondiente al H-14, tiene correlación con la señal en 2.69 ppm, etiquetado como H-13 y, además, tiene correlación con la señal en 1.5 ppm, pero no se logra distinguir al hidrógeno debido a la proximidad de otros dos hidrógenos en esa misma señal. Asimismo, este experimento sirvió para distinguir al H-10 con la señal ubicada en 1.73 ppm, gracias a su correlación con la señal en 2.22 ppm, que fue asignada a H-9.





**Espectro 13.** Espectro bidimensional gCOSY para EpoCap ( $\text{CDCl}_3/\text{TMS}$ ).

En el **Espectro 14** y **Tabla 5**, para el DCap, se observa la correlación que hay entre la señal a 3.65 ppm, asignada al H-13 y al H-14. También se observa la señal centrada a 1.17 ppm, asignada al H-15. Terminando de confirmar las asignaciones para esos hidrógenos que son los que tienen cambios más significativos en su desplazamiento durante las diferentes síntesis químicas, en comparación con el resto de las señales, además de ser los centros de reacción.



**Espectro 14.** Espectro bidimensional gCOSY para DCap ( $\text{CDCl}_3/\text{TMS}$ ).

Con estos estudios bidimensionales, se confirma que tanto para el EpoCap como para el Dcap se encuentran como mezclas racémicas, ya que no se aprecia la separación de los estereoisómeros.

### *En el contexto teórico-experimental*

Por otro lado, con ayuda de la química computacional se obtuvieron las propiedades espectroscópicas teóricas de IR y RMN, para una mayor contribución a la caracterización espectroscópica de las moléculas estudiadas.

**RMN:** En la **Tabla 7** se pueden observar los resultados teóricos y experimentales de RMN  $^1\text{H}$  y de RMN  $^{13}\text{C}$  de las moléculas estudiadas. Es importante resaltar que para el caso de la molécula DCap, al obtener los resultados finales se presentaron los dos isómeros conformacionales, *cis-trans*, con una diferencia de energía de 2.2 kcal, indicando que estos

isómeros podrían encontrarse en equilibrio, por lo que se presentarán los datos de ambos isómeros, a efecto de presentar un mejor estudio comparativo.

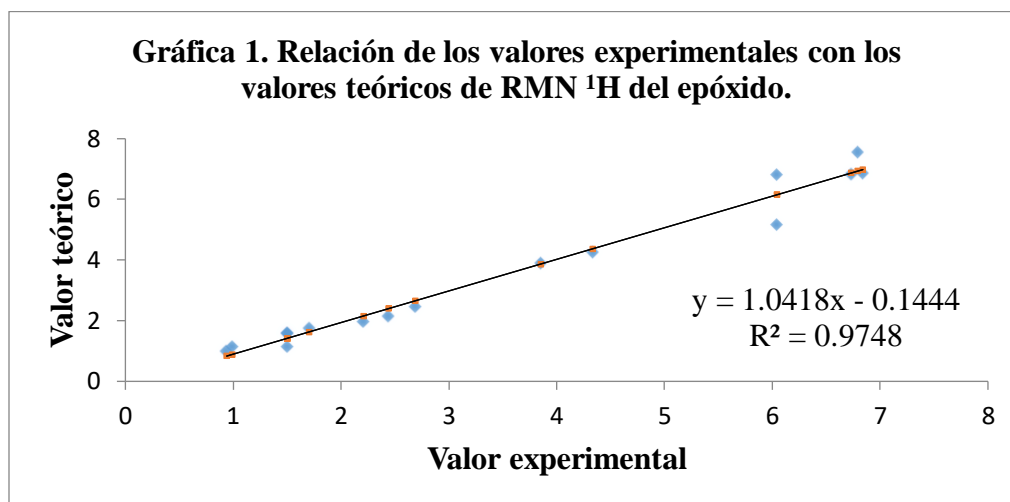
**Tabla 7.** Valores teóricos y experimentales de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de las moléculas estudiadas.

Posición	EpoCap				<i>trans</i> -Dcap				<i>cis</i> -Dcap			
	Teórico		Experimental		Teórico		Experimental		Teórico		Experimental	
	ppm											
	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$
<b>1</b>	----	153.74	----	145.1	----	154.11	----	143.53	----	155.07	----	143.53
<b>2</b>	----	153.67	----	146.8	----	153.71	----	147.88	----	154.63	----	147.88
<b>3</b>	7.546	116.39	6.79	110.8	7.266	117.38	6.86	112.49	6.927	115.16	6.86	112.49
<b>4</b>	----	141.51	----	130.2	----	138.43	----	130.05	----	137.53	----	130.05
<b>5</b>	6.828		6.73	120.7	6.615	125.72	6.77	120.31	6.817	126.15	6.77	120.31
<b>6</b>	6.864		6.84	114.5	6.904	118.93	6.73	116.09	7.044	119.57	6.73	116.09
<b>7</b>	4.262		4.33	43.5	4.269	48.76	4.26	40.11	4.382	47.56	4.26	40.11
<b>8</b>	----		----	172.7	----	179.74	----	173.71	----	179.44	----	173.71
<b>9</b>	1.961	126.42	2.21	36.4	2.210	37.71	2.35	33.96	2.079	41.13	2.35	33.96
<b>10</b>	1.754	118.32	1.70	25.7	1.520	30.03	2.35	36.97	2.108	25.81	2.35	36.97
<b>11</b>	1.580	47.79	1.50	31.7	1.478	20.96	1.32	27.01	1.544	36.13	1.32	27.01
<b>12</b>	1.583	179.19	1.50	25.4	2.022	30.89	1.32	30.68	1.269	27.70	1.32	30.68
<b>13</b>	2.457	38.19	2.69	57.6	3.988	75.62	3.65	69.09	3.650	81.93	3.65	69.09
<b>14</b>	2.143	30.18	2.44	64.2	3.431	81.41	3.65	74.6	3.292	87.07	3.65	74.6
<b>15</b>	1.126	31.55	1.50	30.5	2.229	34.05	1.17	30.73	1.453	36.22	1.17	30.73
<b>16</b>	1.141	33.31	0.99	19.0	0.933	20.85	0.94	20.29	0.722	22.93	0.94	20.29
<b>17</b>	0.992	64.88	0.94	18.4	0.938	14.23	0.87	20.20	1.081	19.56	0.87	20.20

**Continuación Tabla 7.** Valores teóricos y experimentales de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de las moléculas estudiadas.

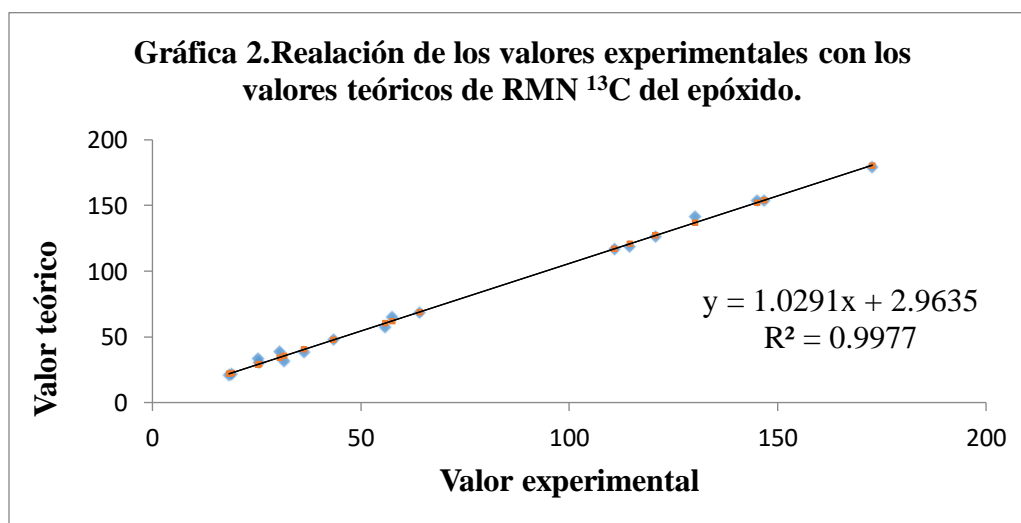
<b>18</b>	3.898	68.44	3.85	55.9	4.216	58.28	3.83	53.88	4.143	58.95	3.83	53.88
<b>19</b>	----	38.63	----	----	3.457	----	1.99	----	5.572	----	1.99	----
<b>20</b>	----	21.58	----	----	0.288	----	2.25	----	2.308	----	2.25	----
<b>NH</b>	6.812	20.53	6.04	----	5.376	----	5.69	----	4.943	----	5.69	----
<b>OH</b>	5.177	57.36	6.04	----	5.339	----	5.69	----	5.284	----	5.69	----

Con los respectivos datos de la **Tabla 7** se determinó su regresión lineal para poder obtener la correlación entre los valores teóricos y experimentales, **Gráficas 1-6**.



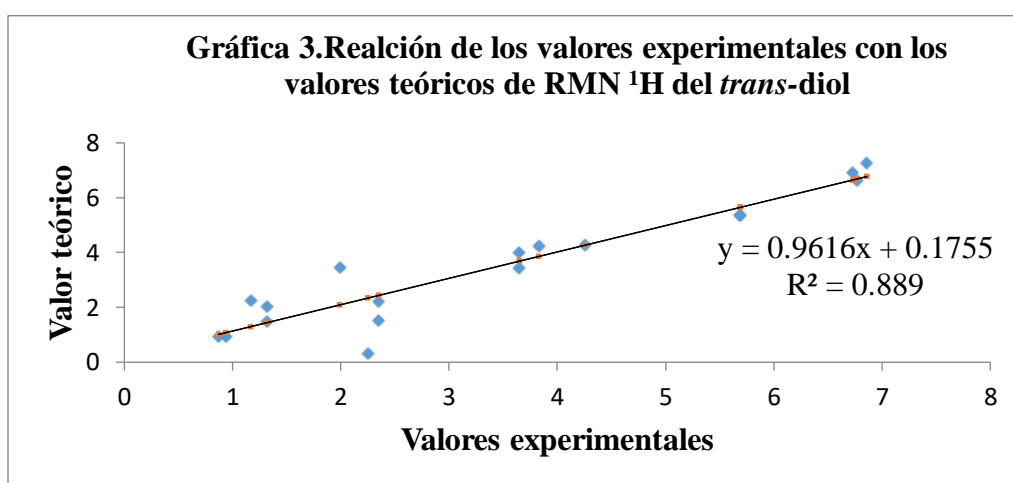
Coefficiente de Correlación = 0.987309;  $R^2 = 97.4779\%$ ; Error estándar del estimado = 0.394697.

Para los datos de <sup>1</sup>H RMN de EpoCap, el estadístico  $R^2$  indica que el modelo ajustado explica 97.4779 % de la variabilidad de los valores teóricos, presentando entonces una variabilidad del 2.5 % respecto a los datos experimentales. El coeficiente de correlación es igual a 0.987309, indicando una relación fuerte entre los valores experimentales y teóricos. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 0.394697 ppm.



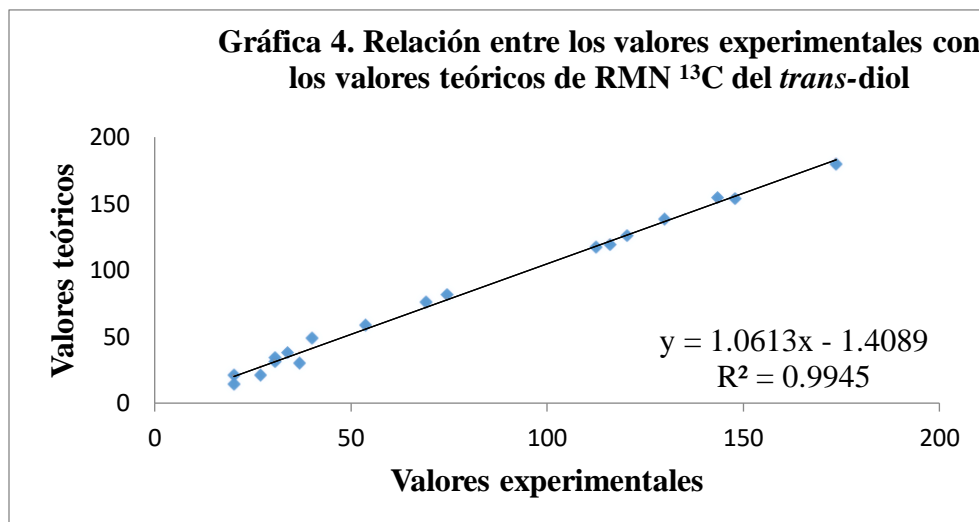
Coefficiente de Correlación = 0.998871;  $R^2 = 99.7743 \%$ ; Error estándar del estimado = 2.62263.

Para los datos de  $^{13}\text{C}$  RMN de EpoCap, el estadístico  $R^2$  indica que el modelo ajustado explica 99.7743 % de la variabilidad de los valores teóricos con los experimentales, se observa que esta relación es mucho más exacta. El coeficiente de correlación es igual a 0.998871, indicando una relación muy fuerte entre los valores teóricos y experimentales. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 2.62263 ppm.



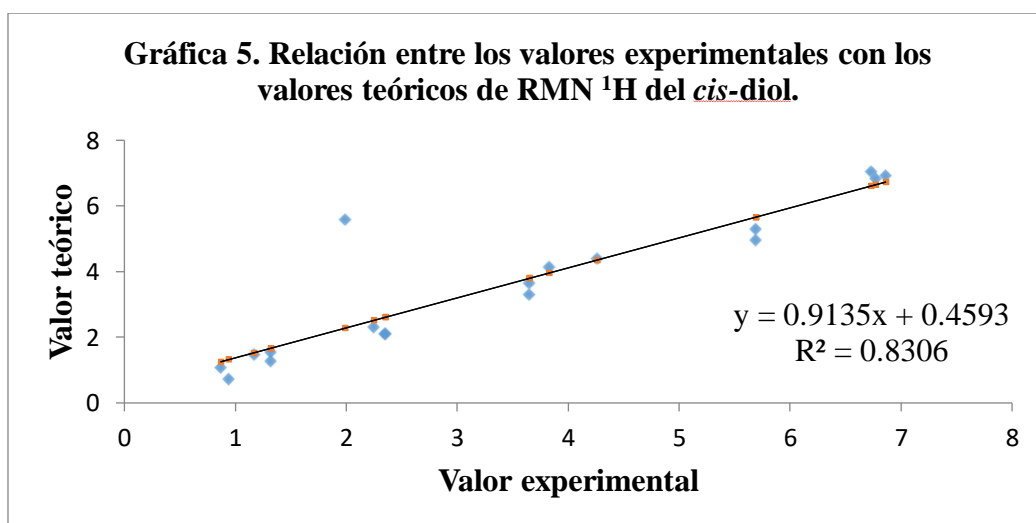
Coefficiente de Correlación = 0.942866;  $R^2 = 88.8997 \%$ ; Error estándar del estimado = 0.748018

Con relación a los datos de  $^1\text{H}$  RMN de DCap, en este caso para el isómero *trans*, el estadístico  $R^2$  indica que el modelo ajustado explica 88.8997 % de la variabilidad de los valores teóricos, presentándose así una variabilidad del 12 % en relación a los datos experimentales. El coeficiente de correlación es igual a 0.942866, indicando una relación relativamente fuerte entre los valores experimentales y teóricos. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 0.748018 ppm.



Coefficiente de Correlación = 0.997251;  $R^2 = 99.451\%$ ; Error estándar del estimado = 4.178

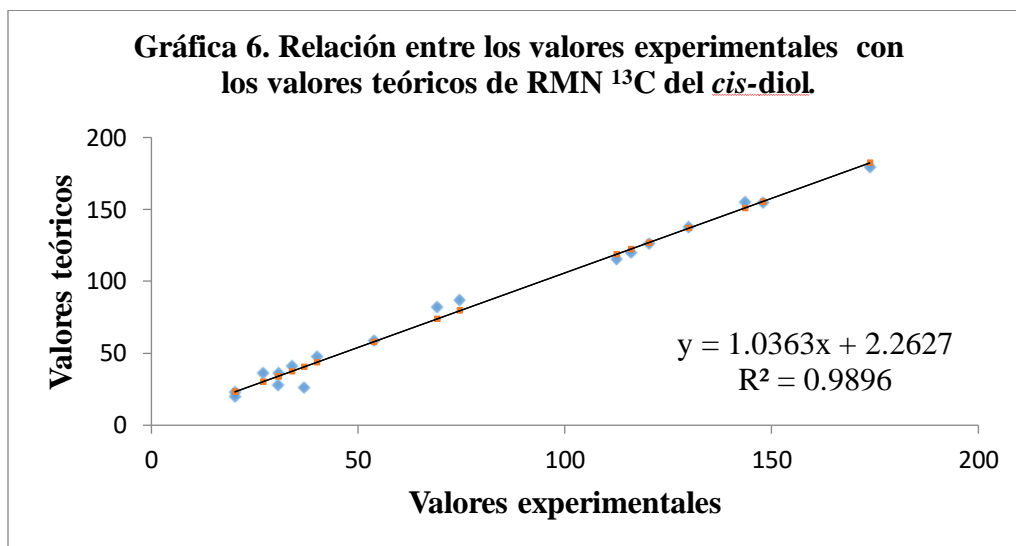
Para los datos de <sup>13</sup>C RMN de DCap, en este caso para el isómero *trans*, el estadístico  $R^2$  indica que el modelo ajustado explica 99.451% de la variabilidad entre los valores teóricos y los experimentales, con una variabilidad del 0.5 %. El coeficiente de correlación es igual a 0.997251, indicando una relación muy fuerte entre los valores teóricos y experimentales. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 4.178 ppm.



Coefficiente de Correlación = 0.911349;  $R^2 = 83.0558\%$ ; Error estándar del estimado = 0.90828.



Para los datos de  $^1\text{H}$  RMN de DCap, en este caso para el isómero *cis*, el estadístico  $R^2$  indica que el modelo ajustado explica 83.0558% de la variabilidad entre los valores teóricos y los experimentales, el porcentaje de variabilidad es del 13 %, presentando más variación que el isómero *trans*. El coeficiente de correlación es igual a 0.911349, indicando una relación relativamente fuerte entre ambos valores. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 0.90828 ppm.



Coeficiente de Correlación = 0.994768;  $R^2 = 98.9563$  %; Error estándar del estimado = 5.63966.

En relación a los datos de  $^{13}\text{C}$  RMN de DCap, en este caso para el isómero *cis*, el estadístico  $R^2$  indica que el modelo ajustado explica 98.9563 % de la variabilidad entre los valores teóricos y los experimentales, presentando una variación del 1 %. El coeficiente de correlación es igual a 0.994768, indicando una relación relativamente fuerte entre los valores teóricos y los valores experimentales. El error estándar del estimado indica que la desviación estándar de los residuos es 5.63966 ppm.

Con estos datos se puede indicar que el isómero que mejor correlación muestra, teórico-experimental, es el isómero *trans* al presentar una menor variación de sus datos y una mayor correlación. Esto está muy de acuerdo a la estrategia experimental propuesta, en donde la apertura del epóxido mediante ácido acuoso da lugar al diol *trans*.

**IR:** Como parte de la caracterización de las moléculas también se obtuvieron los espectros de infrarrojo experimentales y teóricos. En las **Tablas 8-10** se pueden observar los valores para cada molécula, los **Espectros 16 y 19** fueron los obtenidos experimentalmente y los **Espectros 15, 17 y 18** se obtuvieron de manera teórica. Con relación a los datos teóricos obtenidos para las moléculas objetivo, los valores de las frecuencias vibracionales de IR calculadas teóricamente fueron sistemáticos.

Con relación al EpoCap en el **Espectro 18** y **Tabla 8**, la banda del OH se encuentran a  $3308.64\text{ cm}^{-1}$  y se presenta como una banda intensa y ancha. Las bandas de los CH-13 y CH-14 se observan a  $1025.17\text{ cm}^{-1}$  y  $1119.18\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente, y se presentan como bandas intensas. La banda a  $1460.11\text{ cm}^{-1}$  de mediana intensidad corresponde al enlace C-C del epóxido. La banda intensa que se encuentra a  $1512.73\text{ cm}^{-1}$ , de tipo I, fue asignada al NH de la amida, que coincide con la banda a  $1511.35\text{ cm}^{-1}$  del **Espectro 17**. La banda del enlace O-C del epóxido se encuentra a  $861\text{ cm}^{-1}$  en la región de huellas dactilares, además de que no varía mucho con su valor teórico corregido,  $885.90\text{ cm}^{-1}$ .

La señal en Dcap a  $3357.7485\text{ cm}^{-1}$ , **Espectro 19**, se muestra como una banda ancha y de mediana intensidad la cual es asignada a los grupos hidroxilo presentes en la molécula. En el mismo espectro se presentan las bandas de los CH-13 y CH-14 a  $1463.62\text{ cm}^{-1}$  y a  $1375.93\text{ cm}^{-1}$ , de manera respectiva, las cuales se presentan como unas bandas intensas.

Además, también se puede observar la banda del grupo carbonilo a  $1646.0147\text{ cm}^{-1}$  para el epóxido y a  $1635.4968\text{ cm}^{-1}$  para el diol, las cuales tienen una buena correlación con las respectivas bandas teóricas,  $1667.97\text{ cm}^{-1}$  para el epóxido,  $1643.62\text{ cm}^{-1}$  y  $1647.23\text{ cm}^{-1}$  para los isómeros del diol *trans* y *cis* de forma respectiva.

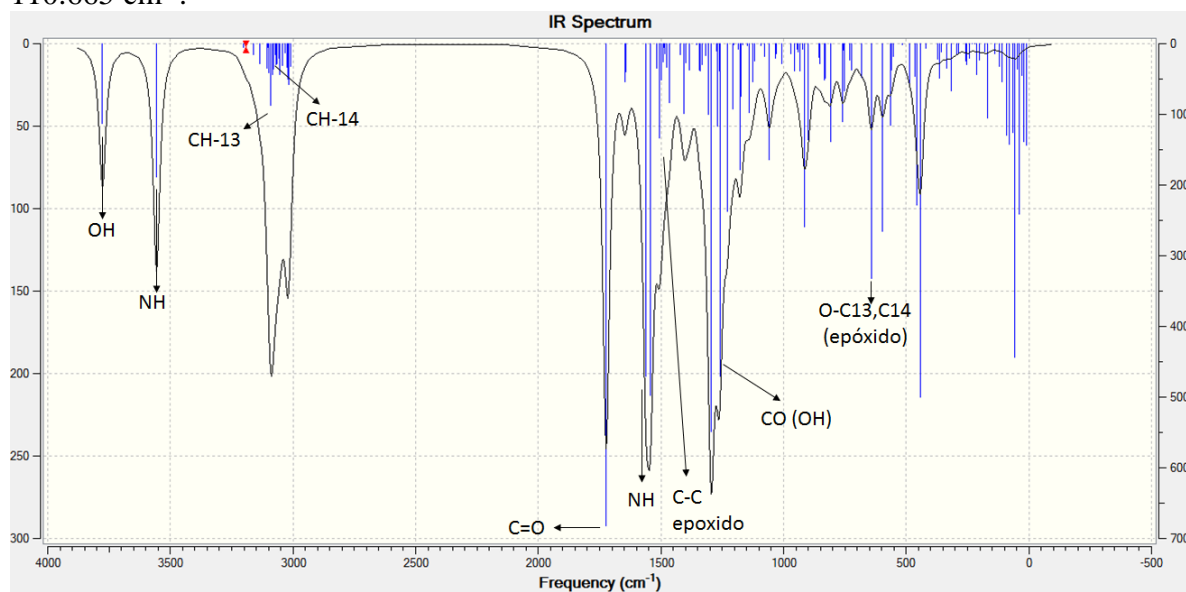
La correlación entre los valores teóricos y los valores experimentales de las **Tablas 9, 10 y 11** es mayor del 99 %, lo que es indicativo de una fuerte relación entre los valores.

**Tabla 8.** Datos teóricos y experimentales de IR para EpoCap.

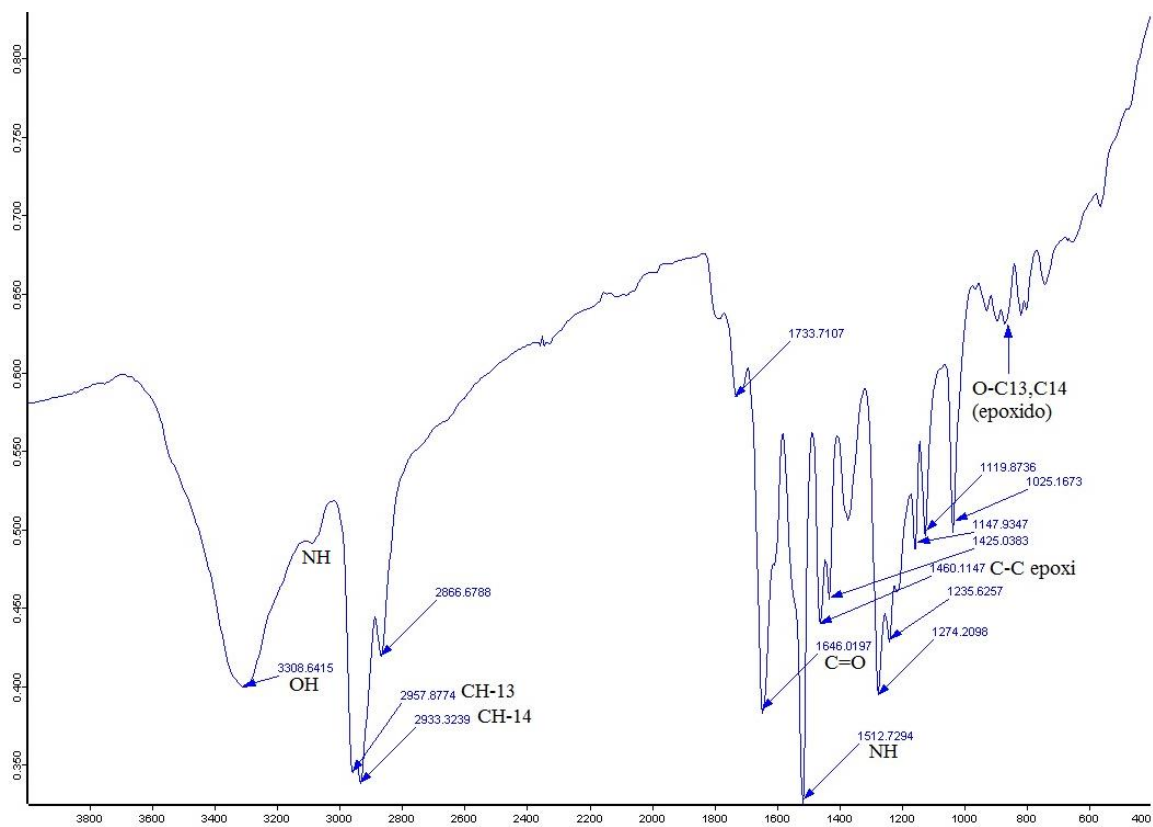
Bandas	Valor Experimental	Valor Teórico ajustado*	Valor Teórico
	cm <sup>-1</sup>		
OH	3308.64	3655.33	3776.56
NH	3091	3492.04	3607.85
CH (C-13)	2957.87	2991.94	3091.17
CH (C-14)	2933.34	2974.05	3072.68
C=O	1646.01	1667.97	1723.29
NH (amida)	1512.73	1511.35	1561.47
C-C (epoxi)	1460.11	1449.86	1497.94
OH	1425.04	1360.63	1405.76
C-O (OH)	1235.63	1219.78	1260.23
CH (C-14)	1119.88	1112.53	1149.43
CH-(C-13)	1025.17	1082.83	1118.74
O-C13, C14	861	885.90	915.28

\*Valor teórico ajustado = 0.9679 \* Valor Teórico.

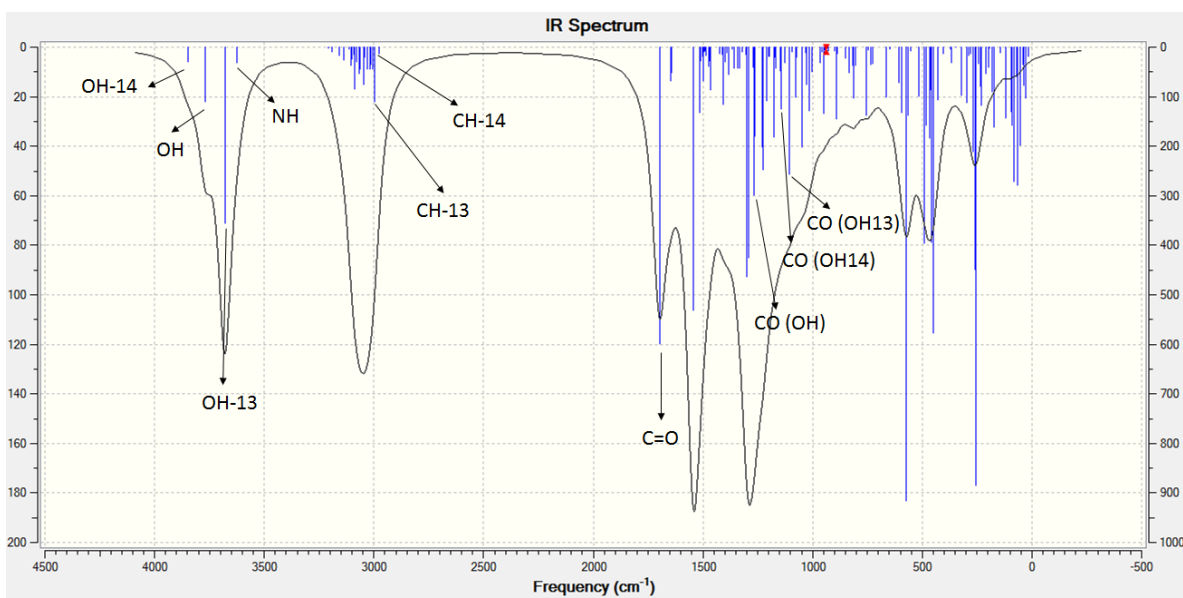
Coefficiente de Correlación = 0.994568; R<sup>2</sup> = 98.9165 %; Error estándar del estimado = 110.665 cm<sup>-1</sup>.



**Espectro 15.** Espectro de IR teórico de EpoCap.



**Espectro 16.** Espectro de IR experimental de EpoCap.



**Espectro 17.** Espectro de IR teórico de *trans*-DCap.

**Tabla 9.** Datos teóricos y experimentales de IR para *trans*-DCap.

Bandas	Valor Experimental	Valor Teórico ajustado	Valor Teórico
	(cm <sup>-1</sup> )		
OH	3357.75	3648.51	3769.51
OH-13	3357.75	3561.18	3679.22
OH-14	3357.75	3723.67	3847.16
NH	n.o.	3510.02	3626.43
CH (C-13)	2929.82	2902.48	2998.74
CH (C-14)	2856.16	2882.37	2977.96
C=O	1635.49	1643.62	1698.13
C-O (OH)	1270.70	1226.36	1267.03
C-O (OH-14)	1183.01	1109.73	1146.53
C-O (OH-13)	1154.95	1071.94	1107.49
CH (C-14)	1375.93	1336.38	1380.7
CH (C-13)	1463.62	1420.94	1468.07

\*Valor teórico ajustado = 0.9679 \* Valor Teórico. n.o.= no observado.

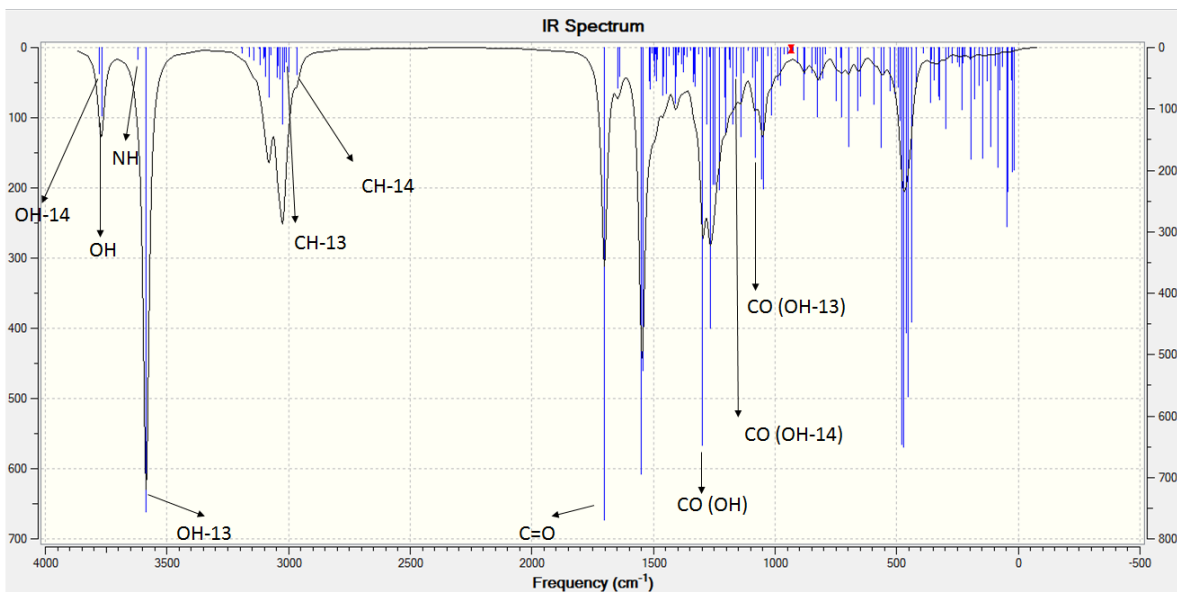
Coefficiente de Correlación = 0.996796; R<sup>2</sup> = 99.3603 %; Error estándar del estimado = 93.4804 cm<sup>-1</sup>.

**Tabla 10.** Datos teóricos y experimentales de IR para *cis*-DCap.

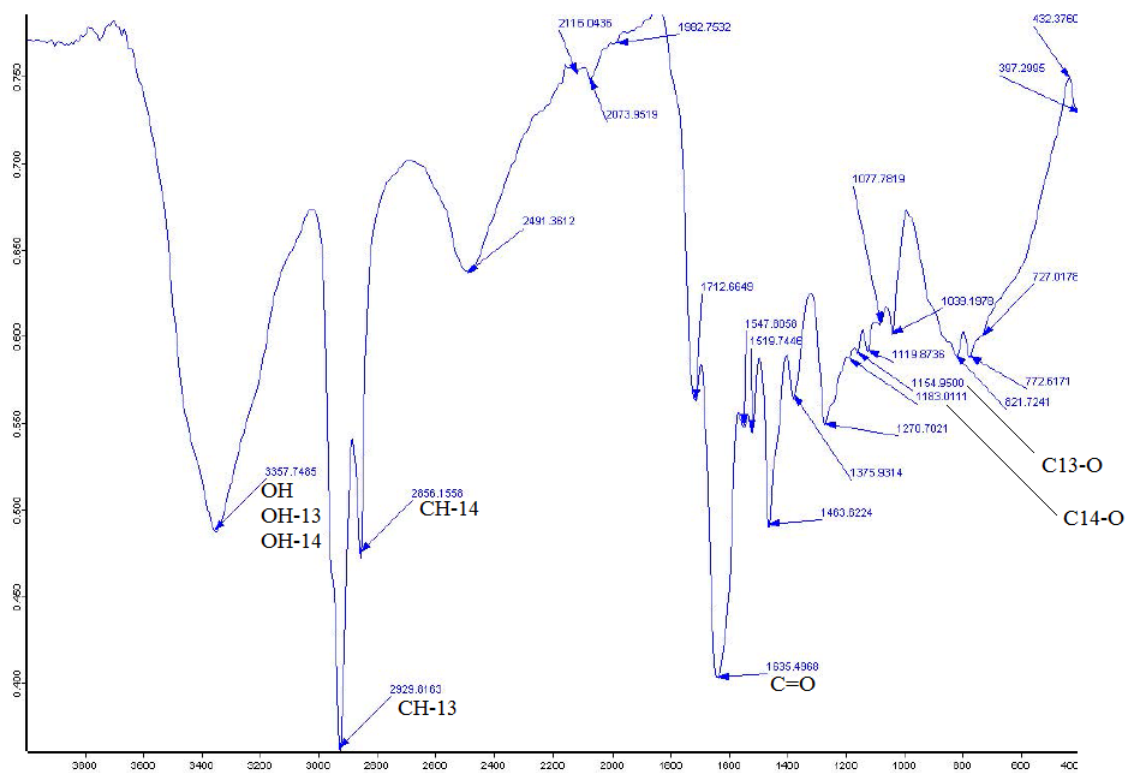
Bandas	Valor Experimental	Valor Teórico ajustado	Valor Teórico
	cm <sup>-1</sup>		
OH	3357.75	3646.81	3767.75
OH-13	3357.75	3470.61	3585.71
OH-14	3357.75	3657.04	3778.32
NH	n.o.	3504.90	3621.14
CH (C-13)	2929.82	2918.61	3015.40
CH (C-14)	2856.16	2870.22	2965.41
C=O	1635.49	1647.23	1701.89
C-O (OH)	1270.70	1255.95	1297.60
C-O (OH-14)	1183.01	1121.09	1158.27
C-O (OH-13)	1154.95	1048.23	1082.99
CH (C-14)	1375.93	1332.22	1376.40
CH (C-13)	1463.62	1400.16	1446.55

\*Valor teórico ajustado = 0.9679 \* Valor Teórico. n.o.= no observado.

Coefficiente de Correlación = 0.997176; R-cuadrada = 99.436 %; Error estándar del estimado = 86.2619 cm<sup>-1</sup>.



**Espectro 18.** Espectro de IR teórico de *cis*-DCap.



**Espectro 19.** Espectro de IR experimental de DCap.

Como se puede apreciar de los datos de correlación, el espectro de IR del EpoCap posee una gran correlación respecto a al espectro experimental, 0.994568 así como una variación del 2 %, lo que sustenta que el epóxido está en forma *trans*. Asimismo, para los isómeros *trans-cis* del Dcap se presenta una gran correlación entre los valores teóricos y los datos experimentales, 0.996796 y 0.997176 de manera respectiva, que como se observa, son muy similares, debido al equilibrio que existe entre ambos isómeros. Con ello se puede justificar que el diol generado es el isómero *trans* al presentar un menor impedimento estérico.

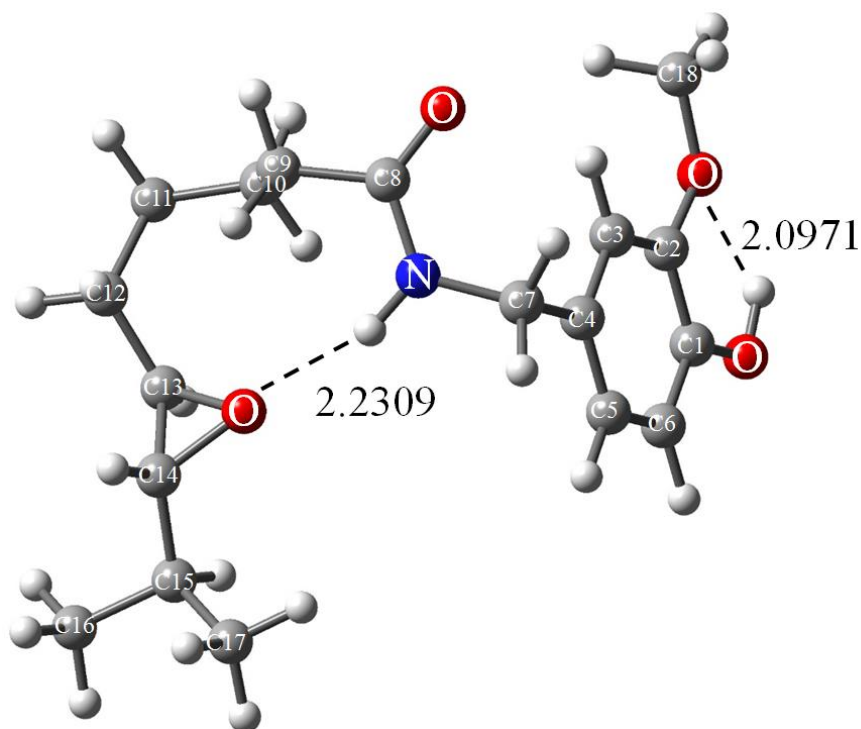
### ***Energía y parámetros geométricos***

De acuerdo al análisis conformacional se determinaron los conformeros de máxima estabilidad, para ser optimizadas mediante Teoría de Funcionales de la Densidad. En la **Figura 5** y **Tabla 11**, se presenta la estructura más estable para EpoCap, el cual posee la energía 663926.2713 kcal/mol. Para los isómeros del Dcap, en las **Figuras 5 y 6** y **Tabla 12**, se presentan los conformeros *cis-trans* más estables, los cuales muestran energías con valores de 711921.6386 kcal/mol para el *cis*-Dcap y 711919.4424 kcal/mol para el *trans*-Dcap, donde la diferencia energética es de 2.19 kcal/mol, por la diferencia energética, estos conformeros tienen una muy alta posibilidad de coexistir en equilibrio.

**Tabla 11.** Energía obtenida para EpoCap y para los isómeros de Dcap.

Molécula	Energía [Hartree]	Energía [eV]	Energía [kcal/mol]
EpoCap	-1058.1129	28791.2520	663926.2713
<i>cis</i> -Dcap	-1134.6041	30872.5776	711921.6386
<i>trans</i> -Dcap	-1134.6006	30872.4823	711919.4424



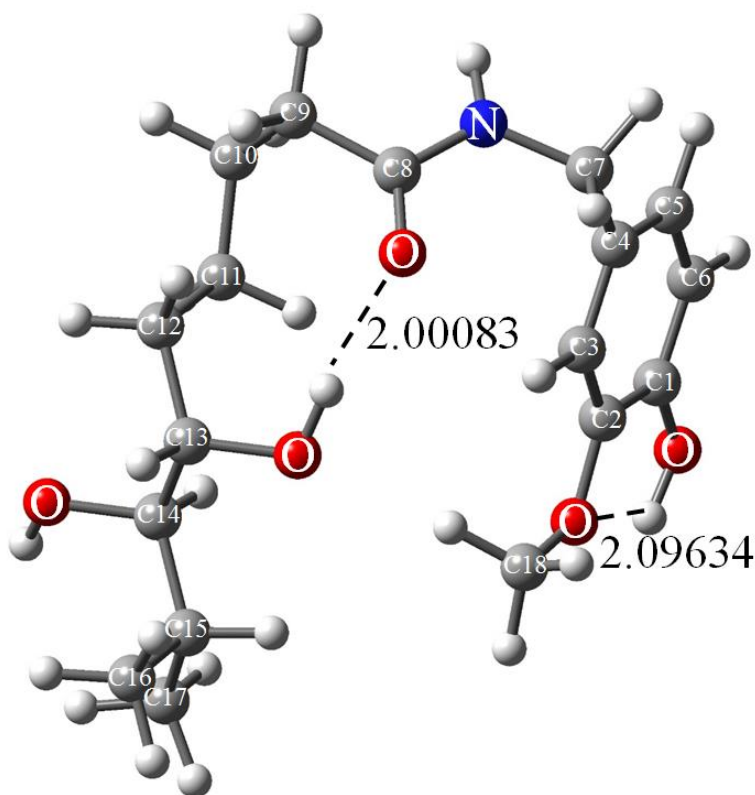


**Figura 5.** Confórmero más estable del epóxido de capsaicina.

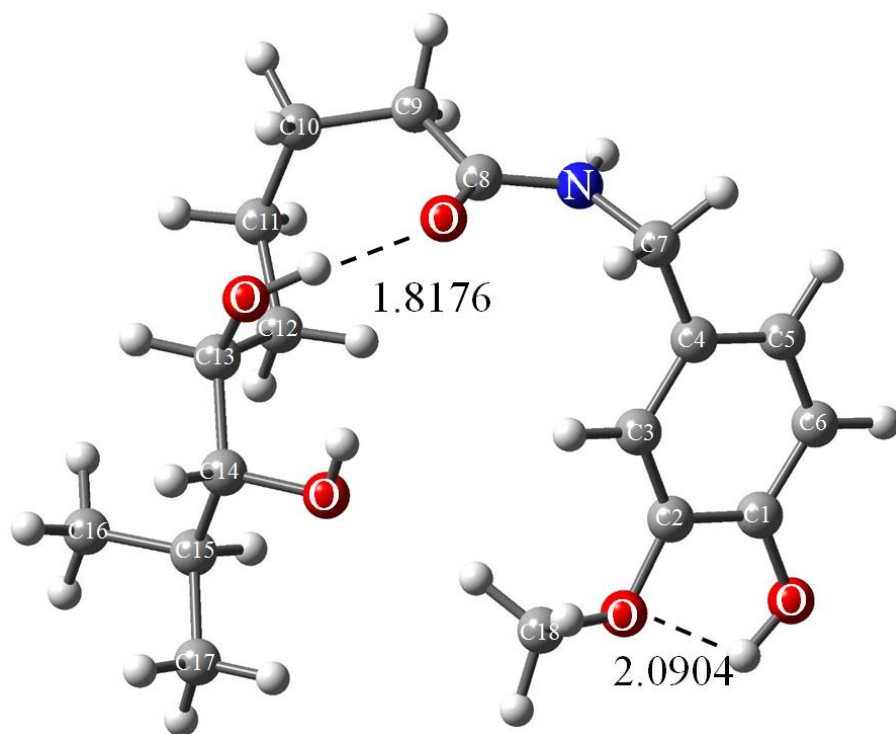
La estabilidad del confórmero del epóxido de capsaicina, **Figura 5**, se puede explicar al presentar el menor número de eclipsamientos dentro de la molécula, así como la formación de los puentes de hidrógeno intramoleculares. Se presenta una interacción intramolecular entre el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo y el átomo de oxígeno del grupo metóxilo del anillo aromático, con una distancia de 2.0971 Å, la cual es muy cercana a la reportada por (Metha, Sen, & Kumara, 2011) siendo de 2.10 Å. También, se presenta el puente de hidrógeno formado entre el hidrógeno del nitrógeno (grupo amida) y el átomo de oxígeno del epóxido con una distancia de 2.2309 Å, la cual tiene una ligera variación a lo reportado por (Albrecht, Witt, Fröhlich, & Kataeva, 2002), 2.32 Å, para este tipo de enlace de puente de hidrógeno. Los datos de las distancias obtenidas en el presente trabajo son menores que los reportados por otros autores, indicando que las interacciones intramoleculares mostradas por los sistemas bajo estudio son más fuertes.

En las **Figuras 6** y **7** se presentan los confórmeros más estables del Dcap y su estabilidad puede ser explicada por el menor número de eclipsamientos y la formación de puentes de hidrógeno intramoleculares. Con respecto al isómero *trans*, este tiene un puente de

hidrógeno entre átomo de oxígeno del grupo hidroxilo y el átomo de oxígeno del grupo metoxilo del anillo aromático, con un valor de 2.0963 Å y, otra interacción entre el átomo de oxígeno del grupo carbonilo y el átomo de hidrógeno del OH en el C-13 con un valor de 2.00083 Å. Mientras que el isómero *cis*, muestra un puente de hidrógeno entre el átomo de oxígeno del grupo hidroxilo y el átomo de oxígeno del grupo metoxilo del anillo aromático con un valor de 2.090 Å y uno más entre átomo de oxígeno del grupo carbonilo y el átomo de hidrógeno del OH en el C-13 con un valor de 1.8176 Å. Es apropiado resaltar que el isómero *trans* posee una menor estabilidad respecto a su homólogo *cis*, posiblemente se deba a la cercanía de uno de los hidrógenos del grupo metoxilo con el átomo de oxígeno del OH en C-13, generando mayores interacciones y con ello una menor estabilidad. Situación que no se presenta para el *cis*-Dcap, aquí la posible interacción se llevaría a cabo con el átomo de oxígeno del OH en C-14.



**Figura 6.** Confórmero más estable del isómero *trans*-Dcap.



**Figura 7.** Confórmero más estable del isómero *cis*-Dcap.

#### *Distancia de enlace*

Los parámetros geométricos de las moléculas bajo estudio están reportadas en la **Tabla 12**, así como, las longitudes de enlace obtenidas por difracción de Rayos X de un capsaicinoide (Park, Kim, Jeong, Chung, & Yeong, 2002). Al respecto, se indican solamente aquellos enlaces en donde están involucrados los heteroátomos. Las longitudes de enlace de las moléculas son muy similares entre ellas. Los enlaces más cortos están entre los heteroátomos y el hidrógeno. Longitudes de enlace entre el C1-O, C2-OMe y el C8-O son similares a las reportadas experimentalmente, mientras que existe una diferencia entre la distancia reportada del O-H (0.70 Å) y las obtenidas en este trabajo.

**Tabla 12.** Distancia de enlace teórico de los heteroátomos de las moléculas sintetizadas.

Átomo	<i>trans</i> -Dcap	<i>cis</i> -Dcap	EpoCap
	[Å]		
C1-O	1.362	1.362	1.364
O-H	0.967	0.967	0.967
C2-OMe	1.368	1.368	1.374
C18-OMe	1.431	1.431	1.425
C7-N	1.468	1.468	1.464
C8-N	1.356	1.356	1.36
N-H	1.009	1.009	1.01
C8-O	1.232	1.232	1.227
C13-O	1.433	1.434	1.451
O-H (19)	0.975	0.975	---
C14-O	1.435	1.435	1.442
O-H (20)	0.966	0.966	---

***Interacciones intramoleculares***

Los resultados del puente de hidrógeno entre el O-H--OMe son muy similares entre las tres moléculas, **Tabla 13**, en esta misma tabla se pueden observar los parámetros geométricos entre donador-hidrógeno, donador-aceptor e hidrógeno-aceptor. Así, la interacción intermolecular entre el oxígeno del metoxilo con el hidrógeno del hidroxilo muestra una distancia de enlace de 2.097 Å para el EpoCap, de 2.096 Å para el isómero *trans* y para el isómero *cis* de 2.090 Å, y de acuerdo a la literatura (Desiraju & Steiner, 1999) los tres puentes de hidrógenos se consideran como puentes de hidrógeno débiles. El puente de hidrógeno entre el átomo de oxígeno del grupo carbonilo y el H-19, tiene una distancia de enlace de 2.001 Å para el isómero *trans* y una distancia de 1.8176 Å para el isómero *cis*, y cotejando los valores con la literatura el puente de hidrógeno del isómero *trans* se considera como débil y el puente de hidrógeno del isómero *cis* como fuerte.

Otro dato que se observa en la tabla es la distancia de enlace entre el átomo donador y el átomo receptor. La interacción entre el oxígeno del metoxilo y el oxígeno del hidroxilo en las tres moléculas muestra una distancia de enlace de 2.649 Å, que de acuerdo a la literatura

se considera como puentes de hidrógeno fuertes. Las distancias de enlace de las interacciones N--O (3.211 Å) y O--O, entre el grupo carbonilo y el hidroxilo en los isómeros *cis* (2.643 Å) y *trans* (2.933 Å), quedan dentro del rango de enlaces fuertes de acuerdo a Desiraju y Steiner.

### ***Ángulo de enlace***

Comparando los resultados obtenidos a nivel teórico de ángulo de enlace con los indicados en la literatura (Desiraju & Steiner, 1999), el ángulo entre el O-H--OMe se cataloga como un puente de enlace débil. Los puentes de hidrógeno entre el N-H--O y el puente de hidrógeno entre el O-H--O del isómero *cis* se consideran fuertes al quedar dentro del rango de 130°-180°. Mientras que el puente de hidrógeno entre el O-H--O del isómero *trans* se considera muy fuerte al estar dentro del rango de 175°-180°.

Si se comparan los resultados obtenidos en cuanto a las distancias de enlace entre las tres posibles interacciones y ángulos de enlaces de los mismos puentes de hidrógeno pueden no coincidir los resultados. Como es el caso del isómero *trans*, que con respecto a su ángulo de enlace corresponde a un puente de hidrógeno muy fuerte, pero tomando en cuenta su distancia de enlace se considera fuerte, donador-aceptor, y débil, hidrógeno-aceptor. Esto se debe a que los rangos propuestos en la literatura para la clasificación de los puentes de hidrógeno no deben de ser utilizados como regla general, y por eso mismo hay rangos de clasificación que se sobrepone en sus límites. La misma literatura recomienda usarlos como guía.

**Tabla 13.** Parámetros geométricos, ángulo de enlace [°] y distancia de enlace [Å], de los puentes de hidrógeno intramoleculares.

	<b>EpoCap</b>	<i>trans-Dcap</i>	<i>cis-Dcap</i>
O-H(OH) [Å]	0.967	0.967	0.967
H(OH)--OMe [Å]	2.097	2.096	2.090
O(OH)--O(OMe) [Å]	2.649	2.649	2.643
O-H--OMe [°]	114.57	114.55	114.57
N-H [Å]	1.013	---	---
H--O(epóxido) [Å]	2.231	---	---
N--O [Å]	3.211	---	---
N-H--O [°]	162.34	---	---
O-H (19) [Å]	---	0.971	0.975
H--O(O=C) [Å]	---	2.001	1.817
O(19)--O(O=C) [Å]	---	2.939	2.643
O-H--O [°]	---	161.75	177.14

### **Carga**

Las cargas parciales atómicas observadas en la **Tabla 14** de las moléculas sintetizadas se obtuvieron bajo el esquema de análisis de población natural (NPA). La mayoría de las cargas entre los mismos átomos de las tres moléculas son muy similares, a excepción de los C-13 y C-14, con sus respectivos oxígenos.

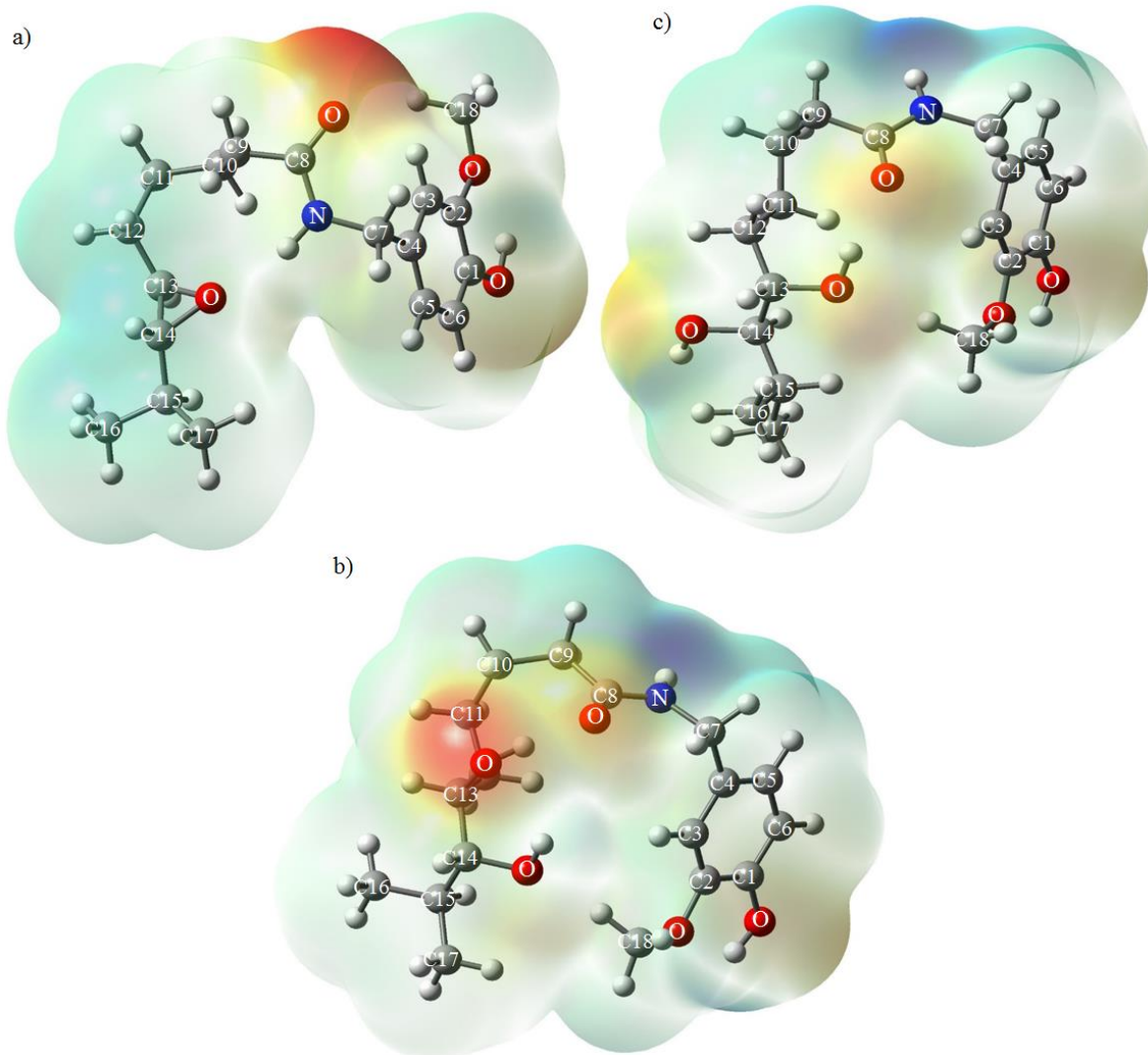
Las mayores cargas negativas en los isómeros del diol recaen en los oxígenos O19 y O20 (-0.783 e<sup>-</sup> y -0.789 e<sup>-</sup> para el O19, -0.752 e<sup>-</sup> y -0.769 e<sup>-</sup> para O20), mientras que en el caso del epóxido la mayor carga negativa se encuentra en el oxígeno del grupo hidroxilo (-0.677 e<sup>-</sup>).

**Tabla 14.** Cargas atómicas de las moléculas sintetizadas.

Átomo	<i>trans</i> -Dcap	<i>cis</i> -Dcap	EpoCap
	[e <sup>-</sup> ]		
C-1	0.286	0.287	0.281
C-2	0.271	0.273	0.266
O (OH)	-0.675	-0.674	-0.677
H (OH)	0.486	0.487	0.485
O (OMe)	-0.573	-0.572	-0.574
C-18	-0.213	-0.21	-0.201
C-7	-0.195	-0.197	-0.194
N	-0.619	-0.615	-0.647
H (NH)	0.386	0.386	0.411
C-8	0.694	0.696	0.686
O (C=O)	-0.693	-0.691	-0.66
C-13	0.129	0.113	0.096
O (19)	-0.783	-0.789	---
H (19)	0.497	0.497	---
C-14	0.127	0.126	0.109
O (20)	-0.752	-0.769	---
H (20)	0.459	0.472	---
O (epóxido)	---	---	-0.602

**Mapas de potencial electrostático**

En la **Figura 7** se observa el mapa de potencial electrostático molecular para EpoCap, así como para los isómeros de Dcap representado por un código de colores. En donde la zona de color rojo representa una superficie de potencial negativo y la zona de color azul representa una superficie de potencial positivo. De esta forma, la región negativa es susceptible a un ataque electrofílico, mientras que la región positiva lo es para un ataque nucleofílico.



**Figura 8.** Mapas de potencial electrostático molecular: (a) EpoCap, (b) *cis*-Dcap (b) y (c) *trans*-Dcap.

Para el epóxido de capsaicina, **Figura 8a** y **Tabla 14**, la mayor parte de la densidad electrónica se concentra en el oxígeno del grupo carbonilo y en menor cantidad en el grupo hidroxilo del anillo aromático. En contraparte, la deficiencia de densidad electrónica, no se encuentra en un solo punto, está dispersada en la cadena alifática, desde el C-11 hasta el C-16.

En cuanto al isómero *cis*-Dcap, **Figura 8b** y **Tabla 14**, su densidad electrónica se encuentra en el oxígeno del hidroxilo que está enlazado al C-13 y en menor cantidad al oxígeno del grupo carbonilo, siendo el átomo de oxígeno del C-13 es el de mayor carga negativa en la

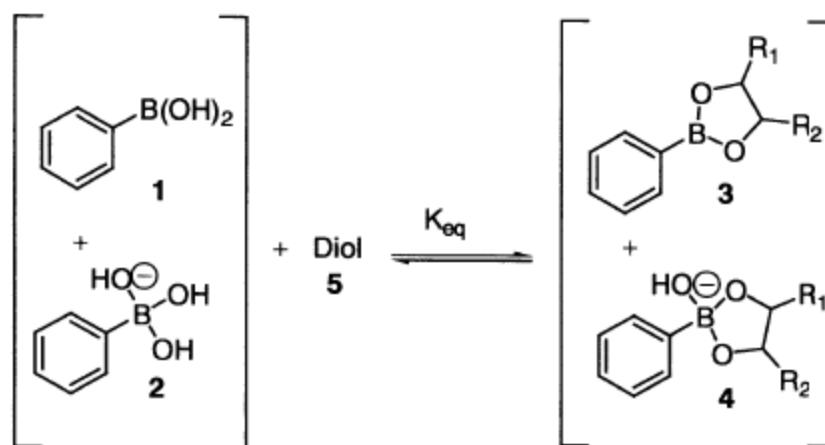


molécula, seguido por el oxígeno del C-14 y el oxígeno del grupo carbonilo es el tercero más negativo. Para la deficiencia de densidad electrónica, se puede comentar que esta se ubica en el hidrógeno enlazado al nitrógeno y en los carbonos adyacentes tanto al grupo carbonilo, C-9, como al nitrógeno, C-7.

En el isómero *trans*-Dcap, **Figura 8c** y **Tabla 14**, se puede observar que su densidad electrónica no se concentra en un sitio en particular, como ocurre en el epóxido y en el isómero *cis*, ésta se encuentra repartida en todos los grupos hidroxilos de la molécula, así como en el oxígeno del grupo carbonilo, siendo éstos átomos los que mayor carga negativa tienen dentro de la molécula. En relación a su deficiencia, se hace apropiado comentar que esta se concentra en el hidrógeno enlazado al nitrógeno y en los carbonos adyacentes tanto al grupo carbonilo, C-9 y C-10, como al nitrógeno, C-7.

Las moléculas sintetizadas pueden ser usadas como intermedios para otro tipo de moléculas. Una de las propuestas para el diol de capsaicina es la formación de ésteres borónicos a partir de ácidos borónicos.

Los ácidos borónicos tienden a interactuar con compuestos que contengan diol para formar un éster en una reacción reversible, **Esquema 13**, el cual depende del pH y del disolvente en su estabilidad (Springsteen & Wang, 2002).

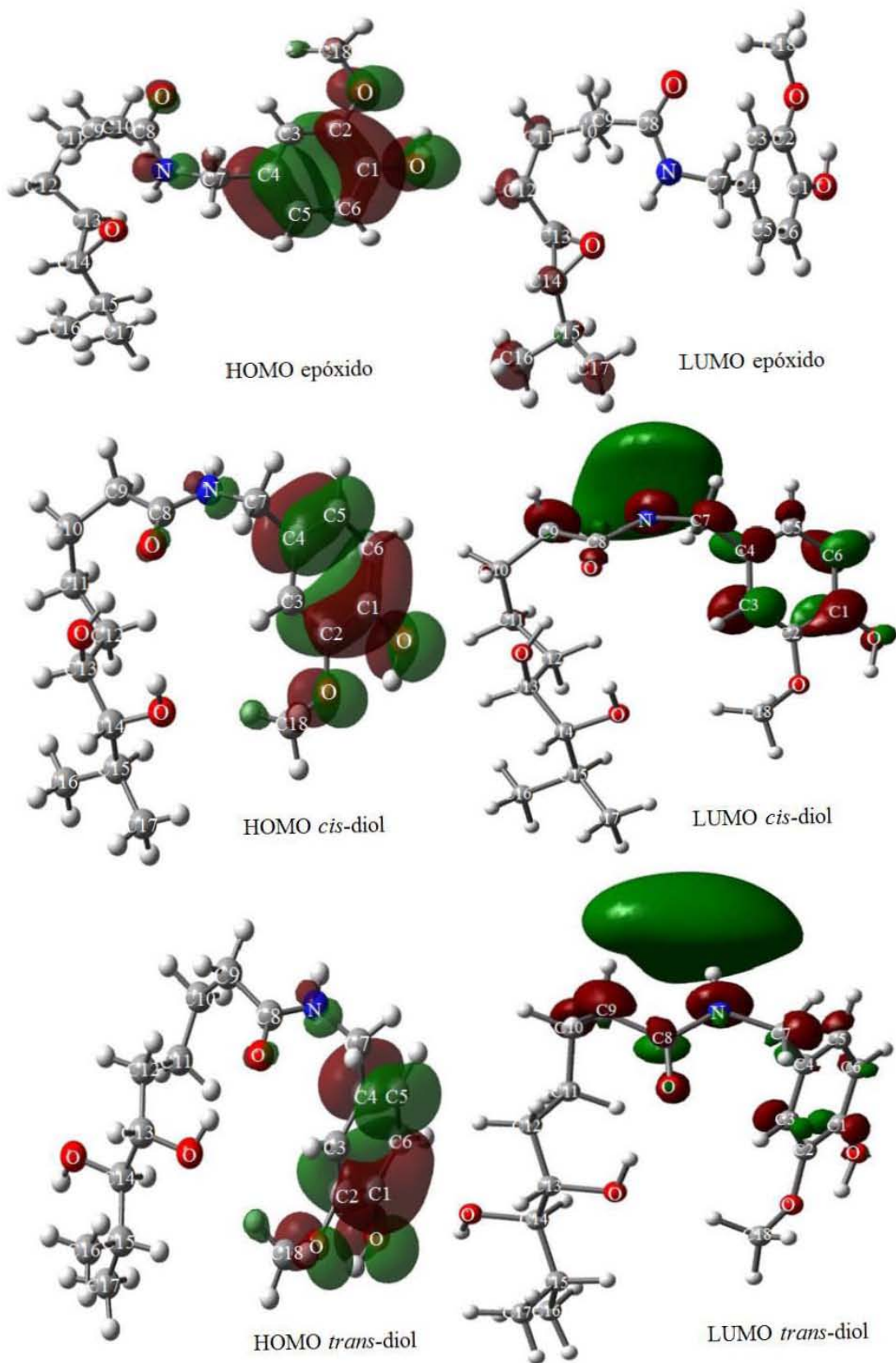


**Esquema 13.** Formación del éster borónico.

### ***Orbitales moleculares***

Las moléculas, epóxido y diol de capsaicina, sintetizados pueden fungir como intermediarios para la obtención de otras moléculas, entonces, con la finalidad de predecir aquellos sitios reactivos ante un posible ataque electrofílico o nucleofílico se determinó, como una aproximación, el mapa de potencial electrostático molecular y sus orbitales HOMO, orbital molecular ocupado de mayor energía y, sus orbitales LUMO, orbital molecular desocupado de menor energía.

Como se observa en la **Figura 9**, para las tres moléculas, el orbital HOMO se encuentra deslocalizado en el anillo aromático y en los oxígenos de los grupos sustituyentes. Esto es indicativo de que aquí se pueden llevar a cabo diferentes sustituciones electrofílicas o llevar a cabo interacciones con centros electrofílicos de moléculas objetivo y establecer una mejor relación actividad-estructura. Para el orbital LUMO, en el epóxido se encuentra deslocalizado en el anillo y los carbonos adyacentes a él, desde C-11 a C-17, siendo susceptible a diversos ataques por moléculas nucleofílicas para dar lugar a otros derivados interesantes, sin interferir con las propiedades del anillo aromático. Respecto a los isómeros del diol comparten su deslocalización en el grupo amida y de manera menos pronunciada en los carbonos del anillo aromático, así como en el carbono adyacente al grupo carbonilo, C-9. También, el orbital LUMO, se aprecia mejor su deslocalización en el hidrógeno de la amida para los isómeros, lo que hace suponer que es un grupo aceptor de electrones y/o que es muy fácil de donar.



**Figura 9.** Orbitales HOMO y LUMO del epóxido y los dos isómeros del diol.

### *En el contexto de la Química Verde*

Con este trabajo se busca contribuir al acervo de la Química Verde, la cual ha sido ampliamente reconocida y aceptada como un nuevo medio para alcanzar el desarrollo sostenible, es importante señalar que, con la aplicación en mayor o menor grado de los doce principios de la Química Verde, se contribuye a la reducción de los productos contaminantes generados durante las reacciones químicas. Además, se debe tener en cuenta, que el objetivo real no es la aplicación de todos los principios, que sería la situación ideal, sino considerar la mayor cantidad posible de éstos para generar un mayor acercamiento verde, de esta forma se encontró que se abarcaron los siguientes principios:

1.- *Prevención*. Es mejor prevenir la generación de un residuo, que tratarlo y/o eliminarlo después de su formación. Tomando en cuenta esto, los residuos generados en este trabajo son ácido acético, urea y etanol, todas ellas catalogadas como moléculas, residuo, verdes de acuerdo a la TRI de la EPA. Además, es apropiado comentar que de acuerdo a como ha ido evolucionando el área de la Química Verde, los desechos generados por la parte de la purificación son mínimos ya que se utilizó la técnica de *ccp* para realizarla y con ello se disminuyó el uso de los disolventes para su elución.

2.- *Economía atómica*. La evaluación clásica de la efectividad y eficiencia de una síntesis es el rendimiento, el cual ignora totalmente el uso o generación de algún producto no deseado que es una parte intrínseca de la síntesis. Por otro lado, la economía atómica es una evaluación en donde uno mira que todos los reactantes se incorporen dentro del producto final; el cálculo de este porcentaje se hizo con base en la siguiente relación (Lancaster, 2002):

$$\% \text{ Economía atómica} = 100 \times \frac{\text{Masa molecular del producto deseado}}{\text{Masa molecular de todos los reactantes}}$$

De acuerdo a la ecuación anterior, para la formación del epóxido se tiene una economía atómica del 55.33 % y para la formación del diol se tiene una economía atómica del 57.79 %. Se puede observar que la economía atómica es baja; sin embargo, aquí es apropiado comentar que la economía sería aún más baja si se utilizará por ejemplo peróxido de

hidrógeno como agente oxidante ya que requeriría de una mayor cantidad estequiométrica, para ser precisos de 75 mmoles y un tiempo de reacción de 8 h. Ahora bien, aún no tratándose de cantidades equimolares, la economía atómica es similar a las cantidades equimolares 65 y 60 % respectivamente, pero se hace apropiado resaltar que el rendimiento obtenido sería 30 y 24 % aproximadamente.

3.- *Síntesis químicas menos peligrosas.* El desarrollo de la industria química ha traído como consecuencia la acumulación de residuos y productos de desecho que afectan al ser humano y deterioran el ambiente; al respecto, un peligro está definido como una situación que puede llevar a un daño, mientras que el riesgo es la probabilidad de que el daño ocurra, así, el peligro puede ser causado por la exposición a un químico, Fórmula 1 (Anastas, Lauren, Bartlett, Kirchhoff, & Tracy, 2000) (Anastas, Lauren, Bartlett & Kirchhoff, 2002).

$$\text{Riesgo} = f[\text{peligro, exposición}]$$

**Fórmula 1.** Determinación del factor riesgo.

En este apartado se tiene, en primera instancia, el empleo de una reacción a temperatura ambiente en donde los sustratos y reactivos empleados tienen como característica ser irritantes, con excepción del ácido acético. En este sentido, el AcOEt empleado como disolvente y reactivo no corre riesgo de inflamabilidad, así como el EtOH que se forma en el seno de la reacción por la conversión del acetato a peroxiácido. La enzima empleada no es considerada tóxica y se puede reusar. También, se busca la máxima incorporación de éstos al producto final, aquí como subproductos están la urea, el ácido acético y el etanol compuestos residuos verdes que no son considerados como contaminantes emitidos al ambiente (EPA, 2017) y el daño, local o global que pueda suscitarse, por la cantidad generada es nulo ya que las cantidades son muy pequeñas. En el caso de la urea se evitó la formación gases tóxicos dado que se trabajó a condiciones de temperatura y presión ambiente. En relación a la parte de la extracción, se puede comentar que el disolvente no es considerado como tóxico debido a su buena degradabilidad y que la agitación en el reactor

de IRC evitó su proyección. Finalmente, el llevar a cabo la reacción a temperatura ambiente protege al usuario al evitar emanaciones, incendios y la proyección de la reacción. En cuanto a la extracción, el matraz está colocado al interior del reactor protegiendo al usuario de cualquier proyección.

5.- *Uso de disolventes seguros o auxiliares.* Una sustancia auxiliar está definida como aquella que ayuda en la manipulación de un químico o químicos, pero no es parte integral de la molécula misma, el uso de estas sustancias está diseñado para cubrir obstáculos específicos en la síntesis o producción de una molécula o producto químico. Los disolventes utilizados en este trabajo fueron el etanol para llevar a cabo la extracción y el acetato de etilo que además funciona como reactivo, los cuales de acuerdo a la lista TRI de la EPA del 2016 no son considerados contaminantes emitidos al medio ambiente.

6.- *Diseño de la eficiencia energética.* Es sabido que la generación y consumo de energía producen el mayor efecto ambiental, de esta forma la química desarrolla un papel importante al emplear la energía en las transformaciones químicas de las sustancias; además, se ha buscado obtener energía de las diferentes fuentes naturales en una forma que sea usable para la sociedad y con ello tener un menor impacto ambiental. En este contexto, es apropiado comentar que la reacción se llevó a cabo a temperatura y presión ambiente no hubo consumo de energía. Además, es oportuno comentar, en relación a la extracción de la capsaicina/dihidrocapsaicina mediante irradiación de infrarrojo cercano, en acuerdo con (Rosas Julieta, 2016) que este método es el más eficiente para la extracción. Consecuentemente, se determinó que el consumo energético fue de 0.3375 kWh para un gasto 0.32 pesos.

7.- *Uso de materia prima renovable.* Sin duda alguna los procesos en los cuales la materia prima sea inagotable, seguirán teniendo un mayor auge. Por ello los procesos deben de ser sostenibles para poder saciar las necesidades actuales sin comprometer la disponibilidad de los recursos para futuras generaciones. En este sentido, sabemos que la planta del chile es una planta perenne y cuyo ciclo de crecimiento puede ser modificado para tenerlo durante

todo el año. Para este trabajo se empleó el chile habanero, siendo este, además de producto natural, un material renovable que proporciona el sustrato capsaicina.

9.- *Catálisis*. La catálisis es considerada como el pilar fundamental de la Química Verde, el diseño y aplicación de nuevos catalizadores y sistemas catalíticos son simultáneamente requeridos debido a los beneficios ambientales y económicos que se pueden obtener. Al usar la enzima *Candida antarctica*, para la epoxidación se cumple con este principio, además es de origen natural y se puede reutilizar hasta cuatro ciclos más sin perder su actividad. También, en relación a su recuperación, basta con tan solo una filtración y un lavado con agua para eliminar la urea.

11.- *Análisis en tiempo real para prevenir la contaminación*. el desarrollo de procesos analíticos químicos para la Química Verde está basado en la premisa “*tú no puedes controlar lo que tú no puedes medir*”, por lo que las técnicas son desarrolladas en tiempo real durante todo el proceso y de esta forma poder efectuar los cambios en el mismo; al respecto, el avance de la reacción se evaluó mediante *ccf*, que para los químicos representa la forma más útil de determinar cuándo se ha completado la reacción y, asimismo, ver la cantidad de posibles subproductos que se estén formando bajo las condiciones de reacción propuestas.

12.- *Químicos seguros para prevenir accidentes*. la importancia de la prevención de un accidente en química y en la industria química no debe ser ignorado, de esta forma un peligro no debe ser enfocado solamente a la contaminación o la eco-toxicidad, dado que se puede potenciar un accidente inadvertidamente mientras se minimiza la generación de desperdicios en pro del ambiente, por lo que es necesario realizar un balance entre la prevención de la contaminación y la prevención de un accidente.

Al respecto, en este principio se adecua notablemente el uso del HPU, dado que si se emplea peróxido de hidrógeno este generaría agua como subproducto, un disolvente verde, sin embargo, genera un bajo rendimiento y se necesita de una mayor cantidad y al emplear HPU se genera como residuo urea que puede servir como reactivo para otras síntesis por ejemplo en la síntesis de Biginelli y está no alcanza su temperatura de descomposición

(150-160 °C) dentro de la reacción no produce gases inflamables y tóxicos como amoníaco, dióxido de carbono, cianato de amonio y biurea; por otro lado, se evitó el empleo de catalizadores metálicos, el uso del ácido *m*-cloro perbenzoico o ácidos minerales fuertes para generar el epóxido. En relación al ácido acético empleado para llevar a cabo la apertura del epóxido, como se mencionó anteriormente no es considerado tóxico emitido al ambiente y su riesgo viene disminuido al estar diluido con agua. También y de acuerdo a la lista TRI de la EPA el etanol, a pesar de ser un disolvente flamable, es considerado verde en función de su baja toxicidad y buena degradabilidad y el acetato de etilo no es considerado como material tóxico al ser emitido al ambiente.

### ***Evaluación del acercamiento del proceso a la Química Verde***

En muchos trabajos de investigación publicados se manifiesta presentan un buen o muy buen acercamiento verde; sin embargo, hasta ahora pocos son en los que se cuestiona qué tanta es su incidencia en los planteamientos de la Química Verde o en los cuales se proponga cómo evaluar ésta. Por ello, con la finalidad de contribuir a un cambio educativo que acerque a la química a la búsqueda cotidiana de la sostenibilidad, se ha implementado una propuesta para analizar de forma crítica y subjetivamente, apegados a los doce principios de la química verde, desarrollos experimentales, tanto de publicaciones en revistas indizadas, como de prácticas, ejercicios o proyectos educativos, con objeto de establecer criterios para determinar qué tan verde es un experimento o proceso.

La herramienta metodológica que se propone es mixta: cualitativa, mediante un código de color y semicuantitativa, a través del uso de la escala tipo Likert<sup>♦</sup> evaluaciones que son indicadas entre paréntesis. Así para realizar la evaluación del acercamiento del proceso a la química verde, se requiere de la elaboración del diagrama de flujo del método experimental propuesto, en el cual se incluyen los pictogramas de los reactivos y disolventes, **Figura 10**, también, se indica qué principio de la química verde se está evaluando mediante un análisis justificado en los doce principios, por lo que se requiere conocer con profundidad estos principios y sus implicaciones (Morales, y otros, 2011).

---

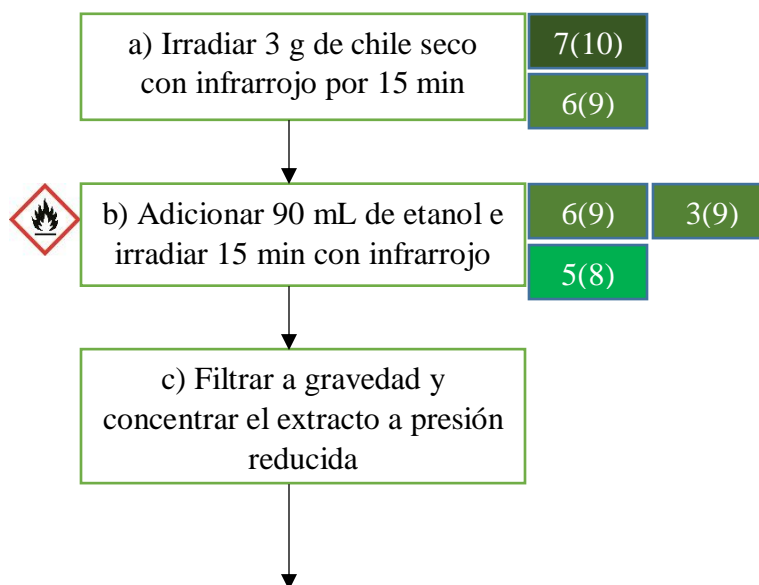
<sup>♦</sup> Es una escala ordinal que permite ordenar datos en categorías, con objeto de medir una respuesta referente a niveles diferentes de conocimientos, habilidades y/o experiencias.





**Figura 10.** Pictogramas de seguridad.

Una vez realizado el diagrama de flujo se coloca un cuadro que contenga el principio que se abarca y mediante la escala Likert planteada determinar el grado de acercamiento verde (color-tono) de éstos, finalmente se realiza una sumatoria de las evaluaciones realizadas la cual se divide entre el total de eventos realizados obteniendo de esta forma la evaluación correspondiente para el proceso. Asimismo, se enfatiza, qué en relación al protocolo de la Química Verde, no está estipulado un número mínimo de principios que deberían cubrirse para que un proceso, un producto químico o una reacción sean considerados como verdes.



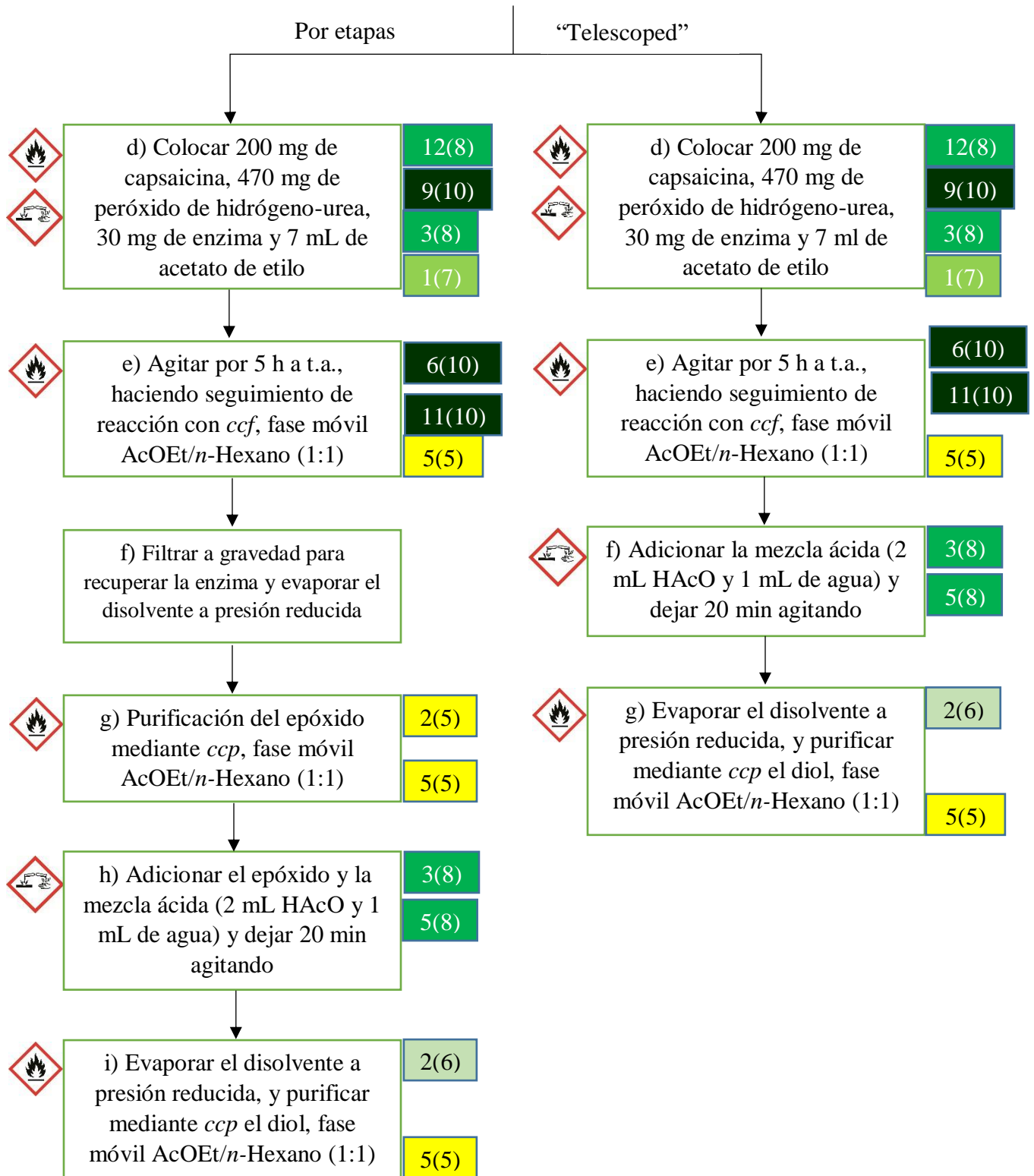


Diagrama de flujo del proceso experimental.

Aquí es apropiado resaltar, que se determinaron dos evaluaciones una para cada proceso y en base a ellas se determinó la evaluación total del proceso. En este sentido, para el proceso por etapas se obtuvo una sumatoria de 140, la que se divide entre 18 eventos realizados obteniendo un valor de 7.78, lo cual coloca a este proceso con un buen acercamiento verde. En relación al proceso Telescoped se obtuvo una sumatoria de 130 que se dividió entre 16 eventos, para un valor de 8.13 colocándolo con un proceso con un muy buen acercamiento verde.

De esta forma la evaluación total del proyecto corresponde, mediante la sumatoria de las evaluaciones individuales de cada proceso, a un valor de **7.95**, el cual se describe como un **buen acercamiento verde**.



Con lo que se concluye que ambas estrategias son favorables para desarrollar este tipo de moléculas como alternativa a los procesos químicos convencionales donde se involucran agentes oxidantes tóxicos.

## CONCLUSIONES

### *En el contexto químico*

En primera instancia, es conveniente resaltar que tanto la hipótesis como los objetivos originalmente propuestos, fueron cubiertos.

Se generaron dos compuestos, el EpoCap y el Dcap, los cuales fueron caracterizadas con los datos correspondientes de **RMN:**  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , **EM:** IE, AR-DART<sup>+</sup>, FAB<sup>+</sup> y AR-FAB<sup>+</sup>; **IR.**

De los dos métodos de síntesis evaluados-comparativamente, en lo general, se determinó que el mejor es la síntesis en dos pasos, esto debido al rendimiento obtenido; sin embargo, si hay que tener presente que el método Telescoped ofrece la ventaja de un menor gasto de materiales para la purificación y que es posible recuperar el epóxido y, consecuentemente, volver a usarlo para generar más diol, propiciando una menor inversión económica.

### *En el contexto teórico-experimental*

En relación a la parte teórica también se cumplieron con los objetivos propuestos. Mediante el análisis conformacional a nivel semiempírico se obtuvieron las moléculas de mayor estabilidad de los compuestos sintetizados. Y se determinaron sus propiedades geométricas, sus cargas, sus mapas de potenciales electrostáticos y sus orbitales moleculares de cada molécula optimizada.

En cuanto a sus propiedades espectroscópicas se compararon los espectros de RMN y de IR teóricos con sus respectivos espectros experimentales. Obteniéndose para el epóxido de capsaicina una correlación del 98.73 % para los espectros de RMN  $^1\text{H}$ , 99.89 % para los espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  y una correlación del 99.46 % para los espectros de IR.

En cuanto al diol de capsaicina se obtuvieron teóricamente los espectros de los dos isómeros (*cis* y *trans*), los cuales coexisten en equilibrio, y se compararon con los obtenidos experimentalmente. Obteniendo para el isómero *trans* una correlación del 94.29 % para los espectros de RMN  $^1\text{H}$ , una correlación del 99.72 % para los espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  y una correlación del 99.68 % para los espectros de IR. Para el isómero *cis* su correlación es del 91.13 % para sus espectros de RMN  $^1\text{H}$ , una correlación del 99.48 % para los espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  y una correlación del 99.72 % para sus espectros de IR.

De esta forma, el desarrollo de la química computacional para estas moléculas sirvió como otra gran herramienta de elucidación estructural y confirmando que el modelado molecular presenta una gran cercanía a lo generado de manera experimental.

*En el contexto de la química verde*

Dado que el desarrollo experimental se llevó a cabo dentro del contexto de la química verde, en este sentido se hace adecuado resaltar los principios en los que se tuvo incidencia:

**Principio 1.** Prevención

**Principio 2.** Economía atómica

**Principio 3.** Síntesis químicas menos peligrosas

**Principio 5.** Uso de disolventes seguros o auxiliares

**Principio 6.** Diseño de la eficiencia energética

**Principio 7.** Materias primas renovables

**Principio 9.** Catálisis

**Principio 11.** Análisis en tiempo real para prevenir la contaminación

**Principio 12.** Químicos seguros para prevenir accidentes

Se logró obtener los compuestos a partir del proceso en dos pasos y Telescoped planteado, generando con ello un método alternativo de producción para este tipo de compuestos y con ello incidir en un menor impacto al ambiente.

La aplicación de estos principios nos permitió conocer cuál es el acercamiento verde, que presenta nuestra metodología, ubicándonos, de manera general, con un **buen acercamiento verde (7)**, lo que hace de este proceso una excelente alternativa para la producción de los compuestos objetivo.

## REFERENCIAS

- Abdulamlek, E.; Arumugan, M.; Nabillah Mizan, H.; Rahman, M.B.A.; Basri, M.; Bakar Salleh A. (2014). Chemoenzymatic epoxidation of alkenes nad reusability study of the phenylacetic acid. *The Scientific World Journal* **2014**, 1.
- Albrecht, M., Witt, K., Fröhlich, R., & Kataeva, O. (2002). Inter- and intramolecular hydrogen bonding in amide- and urea-substituted 8-hydroxyquinoline derivatives. *Tetrahedron* **58**, 561.
- Anastas, P. T.; Lauren, B.; Bartlett, M.; Kirchhoff, M. (2002). *Accounts of Chemical Research* **35**, 686.
- Anastas, P. T.; Lauren, B.; Bartlett, M.; Kirchhoff, M.; Tracy, C. (2000). *Catalysis Today* **55**, 11.
- Anastas, P., & Eghbali, N. (2010). Green chemistry: Principles and practice. *Chemical Society Reviews* **39**, 301.
- Anastas, P. T., & Warner, J. C. (1998). *Green Chemistry: Theory and Practice*. New York: Oxford University Press.
- Ankudey, E.G.; Olivo, H.F., Peeples, T.L. (2006). Lipase-mediated epoxidation utilizing urea-hydrogen peroxide in ethyl acetate. *Green Chemistry*, **8**, 923.
- Arroyo, M., Acebal, C., & de la Mata, I. (2014). Biocatálisis y biotecnología. *Arbor* **190**, 156.
- Barbero, G. F., Palma, M., & Barroso, C. G. (2006). Determination of capsaicinoids in peppers by microwave-assisted extraction-high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta* **578**, 227.
- Barbero, G. F., Palma, M., & Barroso, C. G. (2006). Pressurized liquid extraction of capsaicinoids from peppers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**, 3231.
- Björkling, F., Godtfredsen, S. E., & Kirk, O. (1990). Lipase-mediated formation of peroxycarboxylic acids used in catalytic epoxidation of alkenes. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **19**, 1301.
- Carrea, G., & Riva, S. (2000). Properties and synthetic applications of enzymes in organic solvents. *Angewandte Chemie International Edition* **39**, 2226.
- Chien, C.-S., Ma, K.-H., Lee, H.-S., Liu, P.-S., Li, Y.-H., Huang, Y.-S., & Chueh, S.-H. (2013). Dual effects of capsaicin on cell death in human osteosarcoma G292 Cells. *European Journal of Pharmacology* **718**, 350.
- Cisneros-Pineda, O., Torres-Tapia, L. W., Gutiérrez-Pacheco, L. C., Contreras-Martín, F., González-Estrada, T. & Peraza-Sánchez, S. R. (2007). Capsaicinoids quantification

- in chili peppers cultivated in the state of Yucatan, Mexico . *Food Chemistry* **104**, 1755.
- Clark, J. H. (1999). Green chemistry: challenges and opportunities. *Green Chemistry* **1**, 1.
- Clark, J., Sheldon, R., Raston, C., Poliakoff, M., & Leitner, W. (2014). 15 years of green chemistry. *Green Chemistry* **16**, 18.
- Cuevas, G. (2005). Química computacional. *Ciencia* **56**, 33.
- Daood, H. G., Illés, V., Gnayfeed, M., Mészáros, B., Horváth, G., & Biacs, P. A. (2002). Extraction of pungent spice paprika by supercritical carbon dioxide and subcritical propane. *The Journal of supercritical Fluids* **23**, 143.
- Desiraju, G. R., & Steiner, T. (1999). *The Weak Hydrogen Bond: In Structural Chemistry and Biology*. New York: Oxford University Press.
- Domínguez, X. A. (1982). *Experimentos en Química Orgánica*. D.F.: Limusa.
- Dull, B. J. (1997). *Estados Unidos Patente n° 5676991*.
- EPA. (26 de Marzo de 2017). *United States Environmental Protection Agency*. Obtenido de <https://www.epa.gov/toxics-release-inventory-tri-program/tri-listed-chemicals>
- Escobedo, R., Mirnda, R., & Martínez, J. (2016). Infrared irradiation: Toward green chemistry, a review. *International Journal of Molecular Sciences* **17**, 453.
- Gannet, P. M., Nagel, D. L., Reilly, P. J., Lawson, T., Sharpe, J., & Toth, B. (1988). The capsaicinoids: Their separation, synthesis and mutagenicity. *American Chemical Society* **53**, 1064-1071.
- García Calvo-Flores, F., & Dobado, J. A. (2008). Química sostenible: Una alternativa creíble. *Anales de Química* **104**, 205.
- Hayman, M., & Kam, P. C. (2008). Capsaicin: A review of its pharmacology and clinical applications. *Current Anaesthesia & Clinical Care* **19**, 338.
- Hedstrom, L. (2002). Serine protease mechanism and specificity. *Chemical Reviews* **102**, 4501.
- Hilker, I., Bothe, D., Prüss, J., & Warnecke, H. -J. (2001). Chemo-enzymatic epoxidation of unsaturated plant oils. *Chemical Engineering Science* **56**, 437.
- INEGI. (7 de Septiembre de 2015). *INEGI*. Obtenido de [http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/encuestas/agropecuarias/ena/ena\\_2014/doc/presentacion/ena2014\\_pres.pdf](http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/encuestas/agropecuarias/ena/ena_2014/doc/presentacion/ena2014_pres.pdf)
- Karwath, André. (2005). Esta imagen muestra el fruto del Habanero (*Capsicum chinense*). [Imagen]. Recuperado de [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Habanero\\_chile\\_-\\_fruits\\_\(aka\).jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Habanero_chile_-_fruits_(aka).jpg)

- Kirschbaum-Titze, P., Hiepler, C., Mueller-seitz, E., & Petz, M. (2002). Pungency in paprika (*capsicum annum*). 1. Decrease of capsaicinoid content following cellular disruption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**, 1260.
- Korel, F., Bagdatlioglu, N., Balaban, M. O., & Hisil, Y. (2002). Ground red peppers: capsaicinoids content, Scoville scores, and discrimination by an electronic nose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**, 3257.
- Kozukue, N., Han, J.-S., Kozukue, E., Lee, S.-J., Kim, J.-A., Lee, K.-R., Friedman, M. (2005). Analysis of eight capsaicinoids in peppers and pepper-containing foods by high-performance liquid chromatography and liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 9172.
- Kumar Sharma, S., Singh Vij, A., & Sharma, M. (2013). Mechanisms and clinical uses of capsaicin. *European Journal of Pharmacology* **720**, 55.
- Kuklinski, C. (2000). *Farmacognosia*. Barcelona: Omega.
- Kürti, L., & Czáko, B. (2005). *Strategic Applications of Named Reactions in Organic Synthesis*. California: Elsevier Academic Press.
- Lambert, J. B., Shurvell, H. F., Lightner, D. A., & Cooks, R. G. (1998). *Organic Structural Spectroscopy*. New Jersey: Prentice Hall.
- Lancaster, M. *Green Chemistry: an Introductory text*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 2002
- Leete, E., & Loudon, M. C. (1968). Biosynthesis of capsaicin and dihydrocapsaicin in *Capsicum frutescens*. *Journal of the American Chemical Society* **90**, 6837.
- Lewars, E. G. (2011). *Computational Chemistry. Introduction to the Theory And Applications of Molecular and Quantum Mechanics*. New York: Springer.
- Metha, G., Sen, S., & Kumara, T. H. (2011). Can the conformational flexibility of cis-decalins be modulated through intramolecular O-H...O hydrogen bonding? Profiling the molecular and supramolecular attributes of designer cis-fused polycyclics. *Tetrahedron* **67**, 3440.
- Mc Murry, J. (2001). *Química Orgánica*. D.F.: Thomson.
- Montes-Hernández, S., P. López- López, S. Hernández-Verduzco y M. Ramírez-Meraz. (2009). Recopilación y análisis de la información existente de las especies del género *Capsicum* que crecen y se cultivan en México (primer informe). Campo Experimental Bajío, Campo Experimental Valles Centrales, Campo Experimental Sur de Tamaulipas INIFAP- Escuela de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS). Dentro del Proyecto “Generación y recopilación de información de las especies de las que México es centro de origen y diversidad genética”, financiado por la Dirección General del Sector Primario y Recursos Naturales



Renovables (DGSPRNR), perteneciente a la SEMARNAT y coordinado por la CONABIO. CONABIO. México D.F.

- Morales, M. L.; Martínez, J.; Reyes-Sánchez, L.; Martín, O.; Arroyo, G.; Obaya, A.; Miranda, R. (2011). *Educación Química* **22**, 240.
- Park, N. S., Kim, Y. B., Jeong, E. J., Chung, U. T., & Yeong, P. I. (2002). The crystal structure of KR-21042, an analgesic capsaicinoid. *Archives of Pharmacol Research* **25**, 25-27.
- Peña-Alvarez, A., Alvarado, L. A., & Vera-Avila, L. E. (2012). Analysis of capsaicin and dihydrocapsaicin in hot peppers by ultrasound assisted extraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. *Instrumentation Science and Technology* **40**, 429.
- Peña-Alvarez, A., Ramírez-Maya, E., & Alvarado-Suárez, L. Á. (2009). Analysis of capsaicin and dihydrocapsaicin in peppers and pepper sauces by solid phase microextracion-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1216**, 2843.
- Pozo Campodónico, O., Montes Hernández, S., & Redondo Juárez, E. (1991). Chile (*Capsicum* spp.). En G. P. Rafael Ortega Paczka, *Avances en el Estudio de los Recursos Fitogenéticos de México* (pp. 217-238). Chapingo: Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C.
- Rodríguez, R.; Gambarotti, C.; Liguori, L.; Bjørsvik H-R. (2006). Efficient and green telescoped process to 2-methoxy-3-methyl-[1,4]benzoquinone. *Journal Organic Chemistry* **71**, 1703.
- Rosas Becerril, Martha Julieta. Estudio comparativo de extracción y mecanismo de fragmentación de la capsaicina y la dihidrocapsaicina presentes en el chile (*Capsicum chinense*). Tesis (Licenciatura en Química). Cuautitlán Izcalli, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, 2015. 56 p.
- Rotticci, D. (2000) Understanding and Engineering the Enantioselectivity of *Candida antarctica* Lipasa B towards *sec*-Alcohols. Stockholm. Kungl Tekniska Högskolan.
- Rush Gen Klass, M.; Warwel, S. (1999). Chemoenzymatic epoxidation of alkenes by dimethyl carbonate and hydrogen peroxide. *Organic Letters* **1**, 1025.
- Salazar, H., Jara-Oseguera, A., & Rosenbaum, T. (2009). El canal TRPV1 como diana para tratar el dolor. *Neurofarmacología* **48**, 357.
- Salazar-Olivo, L. A., & Silva-Ortega, C. O. (2004). Efectos farmacológicos de la capsaicina, el Principio Pungente del Chile. *Biologia Scripta* **1**, 7.
- Segi, H., Yamada, S., Kato, S., & Murasugi, S. (1999). *Estados Unidos Patente n° 5955631*.

- Springsteen, G., Wang, B. (2002). A detailed examination of boronic acid-diol complexation. *Tetrahedron* **58**, 5291.
- Skrzypski, M., Sassek, M., Abdelmessih, S., Mergler, S., Grötzinger, C., Metzke, D., Strowski, M. Z. (2014). Capsaicin induces cytotoxicity in pancreatic neuroendocrine tumor cells via mitochondrial action. *Cellular Signalling* **26**, 41.
- Skouridou, V., Stamatis, H., & N., K. F. (2003). Lipase-mediated epoxidation of  $\alpha$ -pinene. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* **21**, 67.
- Tapia, J., Escamilla, E., Bonilla, A., (2008). Aislamiento de capsaicinoides directamente del fruto de Capsicum. *Afinidad* **536**, 307.
- Valles-Sánchez, A., Rosales-Marines, L., Serrato-Villegas, L. E., & Farías-Cepeda, L. (2014). Métodos y usos de la química computacional. *AQM* **6**, 16.
- Vázquez-Flota, F., Miranda-Ham, M. d., Monforte-González, M., Gutiérrez-Carbajal, Velázquez-García, C., & Nieto-Pelayo, Y. (2007). La biosíntesis de capsaicinoides, el principio picante del chile. *Rev. Fitotec. Mex.* **30**, 353.
- Wade, L. G. (2004). *Química Orgánica*. Madrid: Pearson Educación.
- Woolley, P., & Petersen, S. B. (1994). *Lipases Their Structure, Biochemistry and Application*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Xu, Y., Jian Khaw, N. R., & Li, Z. (2009). Efficient epoxidation of alkenes with hydrogen peroxyde, lactone and lipase. *Green Chemistry* **11**, 2047.
- Yoshika, M., Lim, K., Kikuzato, S., Kiyonaga, A., Tanaka, H., Shindo, M., & Masashige, S. (1995). Effects of red-pepper diet on the energy metabolism in men. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* **41**, 647.
- Zamski, E., Shoham, O., Palevitch, D., & Levy, A. (1987). Ultrastructure of capsaicinoid-secreting cells in pungent and nonpungent red pepper (*Capsicum annuum* L.) Cultivars. *Botanical Gazette* **148**, 1.