



**UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO**

---

**CAMPUS GUANAJUATO**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS**

**SÍNTESIS ENANTIOSELECTIVA DE TETRAHIDROCARBAZOLES  
CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

**PRESENTA**

**Q. MARCO FERNANDO VALTIERRA GALVÁN**

Guanajuato, Gto., noviembre de 2019

**UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO**



**DIVISIÓN DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS**

**CAMPUS GUANAJUATO**

---

**SÍNTESIS ENANTIOSELECTIVA DE TETRAHIDROCARBAZOLES  
CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA.**

---

**Tesis que para obtener el título de**  
**MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

**Presenta:**  
**Q. Marco Fernando Valtierra Galván**

**Asesor**  
Dra. Clarisa Villegas Gómez

**Coasesor**  
Dr. Miguel Ángel Vázquez Guevara

Guanajuato, Gto.  
Noviembre de 2019

Guanajuato, Gto., noviembre de 2019

Hacemos constar que este trabajo de investigación titulado “*Síntesis Enantioselectiva de Tetrahidrocarbazoles con Actividad Biológica*” que presenta el **Q. Marco Fernando Valtierra Galván**, para obtener el grado de Maestro en Ciencias Químicas, es una idea original, desarrollada dentro de los lineamientos generales dictaminados por nuestra máxima casa de estudios y ha sido realizado bajo nuestra dirección en la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Guanajuato, Campus Guanajuato.

DIRECTOR DE TESIS

---

Dra. Clarisa Villegas Gómez

CO-DIRECTOR DE TESIS

---

Dr. Miguel Ángel Vázquez Guevara

Miembros del H. Jurado del Examen Profesional, que para obtener el Título de Maestro en Ciencias Químicas, presenta el Q. Marco Fernando Valtierra Galván:

Presidente:

---

Dr. Eduardo Peña Cabrera  
Departamento de Química  
DCNE, UG

Secretario:

---

Dr. David Cruz Cruz  
Departamento de Química  
DCNE, UG

Vocal:

---

Dr. José Luis Olivares Romero  
Red de Estudios Moleculares Avanzados  
Instituto de Ecología A. C. (INECOL)

Suplente:

---

Dr. Ángel Josabad Alonso Castro  
Departamento de Farmacia  
DCNE, UG

Guanajuato, Gto. noviembre de 2019

# **AGRADECIMIENTOS**

## LOGROS ACADÉMICOS

1.- Derivado del presente proyecto y acorde a la línea de investigación, se publicó el siguiente artículo de divulgación:

Valtierra Galván, M. F.; Vázquez, M. A.; Peña Cabrera, E.; Cruz Cruz, D.; Villegas Gómez, C. **El Tronco “Mágico” del Cuachalalate: Regalo de la Medicina Tradicional Mexicana a la Química de Productos Naturales.** *Naturaleza y Tecnología. Universidad de Guanajuato.* 2019, Año 6, Número 1, 36-48. ISSN: 2007-672X

2.- Durante el desarrollo del presente proyecto, se realizó una estancia en el **“Instituto de Ecología A.C, INECOL”** bajo la dirección y colaboración del Dr. José Luis Olivares Romero.

3.- Derivado del presente proyecto, el manuscrito para la publicación de los resultados se encuentra en preparación:

### **Enantioselective synthesis of tetrahydrocarbazole frameworks and their biological activity.**

Marco F. Valtierra Galván, Tushar J. Pawar, Angel Josabad Alonso-Castro, José Luis Olivares Romero, Miguel A. Vázquez, David Cruz Cruz, Clarisa Villegas Gómez.

# INDICE GENERAL

ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

RESUMEN

ABSTRACT

## 1. INTRODUCCIÓN

1.1. Medicina Tradicional Mexicana y Química de Productos Naturales

1.2. Alcaloides de Importancia Biológica

1.3. Síntesis Asimétrica y Aminocatálisis

1.4. Reacciones de Cicloadición

1.5. Síntesis Enantioselectiva de Carbazoles y Tetrahydrocarbazoles

## 2. JUSTIFICACIÓN

## 3. OBJETIVO GENERAL

3.1. Objetivos Particulares

## 4. METODOLOGÍA

4.1. Síntesis de Materiales de Partida

4.1.1 Síntesis de la 3-cianocromona

4.1.2 Síntesis del aldehído derivado de indol

4.2. Síntesis de los organocatalizadores: diaril prolinolsilil éter

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Reacción de cicloadición [4+2] organocatalítica para la síntesis de los derivados de tetrahydrocarbazoles

5.1.1. Estudio de la optimización de las condiciones de reacción

5.1.2. Estudio de la pureza enantiomérica: selección del aminocatalizador

5.2. Alcance de la reacción y limitaciones

5.2.1. Reacción de derivados de cromona

5.2.2. Reacción con otros dienófilos: derivados de benzo- y naftoquinona

5.3. Transformación sintética del aducto THC-6

5.4. Síntesis del enantiómero de THC-6 (THC-6')

## 6. ACTIVIDAD BIOLÓGICA

6.1. Pruebas de actividad biológica: evaluación de la actividad ansiolítica y antidepresiva

## 6.2. Metodología

### 6.2.1. Animales

### 6.2.2. Tratamiento farmacológico

### 6.2.3. Prueba exploratoria del cilindro

### 6.2.4. Prueba de suspensión de la cola (TST)

### 6.2.5. Análisis estadístico

## 6.3. Resultados

## 7. CONCLUSIONES

## 8. PERSPECTIVAS

## 9. SECCIÓN EXPERIMENTAL

### 9.1. Síntesis del dienódilo

#### 9.1.1. Síntesis de 3-cianocromona **1**

### 9.2. Síntesis del aldehído de indol $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturado **4**

#### 9.2.1. Síntesis de *tert*-butil 3-formil-2-metil-1*H*-indol-1-carboxilato **2**

#### 9.2.2. Síntesis de *tert*-butil (*E*)-3-(2-cianovinil)-2-metil-1*H*-indol-1-carboxilato **3**

#### 9.2.3. Síntesis de *tert*-butil (*E*)-2-metil-3-(3-oxoprop-1-en-1-il)-1*H*-indol-1-carboxilato **4**

### 9.3. Síntesis del catalizador quiral

#### 9.3.1. Síntesis de (*S*)- $\alpha,\alpha$ -difeníl-2-pirrolidin-metanol-trimetilsilil-éter **5b**

### 9.4. Procedimiento general para la síntesis de los derivados tetrahidrocarbazólicos THC.

#### 9.4.1. Síntesis de *tert*-butil 12a-ciano-13-oxo-12-(2-oxoetil)-6,12,12a,13-tetrahydrocromen[2,3-*b*]carbazol-7(5*aH*)-carboxilato **THC-6**

#### 9.4.2. Síntesis de *tert*-butil 12a-ciano-2-metil-13-oxo-12-(2-oxoetil)-6,12,12a,13-tetrahydrochromen[2,3-*b*]carbazol-7(5*aH*)-carboxilato **THC-7**

#### 9.4.3. Síntesis de *tert*-butil 2,4-dicloro-12a-ciano-13-oxo-12-(2-oxoetil)-6,12,12a,13-tetrahydrocromen[2,3-*b*]carbazol-7(5*aH*)-carboxilato **THC-8**

#### 9.4.4. Síntesis de *tert*-butil 7,10-dioxo-11-(2-oxoetil)-6,6a,7,10,10a,11-hexahidro-5*H*-benzo[*b*]carbazol-5-carboxilato **THC-13**

### 9.5. Transformaciones

#### 9.5.1. Reacción de olefinación de Wittig: síntesis de **THC-16**

## 10. ANEXOS

### 10.1. Espectros de RMN de $^1\text{H}$ y $^{13}\text{C}$

### 10.2. Cromatogramas

### 10.3. Artículos de divulgación científica y logros académicos



## ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

<b>Ac</b>	Acetil	<b>HOMO</b>	Orbital molecular ocupado de mayor energía
<b>AcOEt</b>	Acetato de etilo	<b><i>i</i>-PrOH</b>	Isopropanol
<b>AcONa</b>	Acetato de sodio	<b><i>J</i></b>	Constante de acoplamiento
<b>Ar</b>	Arilo	<b><math>\lambda</math></b>	Longitud de onda
<b>AB</b>	Ácido Benzoico	<b>LUMO</b>	Orbital molecular desocupado de menor energía
<b>Bn</b>	Bencilo	<b>MeCN</b>	Acetonitrilo
<b>Boc</b>	<i>tert</i> -butoxicarbonilo	<b>MeOH</b>	Metanol
<b>BuLi</b>	<i>n</i> -butillitio	<b>Me</b>	Metilo
<b>°C</b>	Grados Celsius	<b>m</b>	Multiplete
<b><sup>13</sup>C</b>	Carbono-13	<b>mg</b>	Miligramos
<b>Cat</b>	Catalizador	<b>mL</b>	Mililitro
<b>CCF</b>	Cromatografía en capa fina	<b>mmol</b>	Milimol
<b>CDCl<sub>3</sub></b>	Cloroformo deuterado	<b>MW</b>	Microondas
<b>Conv.</b>	Conversión	<b>nd</b>	No determinado
<b><i>d</i></b>	doblete	<b>nm</b>	Nanómetros
<b><i>dd</i></b>	doblete de dobletes	<b>Nu<sup>-</sup></b>	Nucleófilo
<b><math>\delta</math></b>	Desplazamiento químico	<b>cm<sup>-1</sup></b>	Número de onda
<b>DCM</b>	Diclorometano	<b><i>p</i>-NO<sub>2</sub>AB</b>	Ácido 4-nitrobenzoico
<b>DIBAL-H</b>	Hidruro de diisobutilaluminio	<b>pf</b>	Punto de fusión
<b>DMAP</b>	4-dimetilaminopiridina	<b>Ph</b>	Fenilo
<b>DMF</b>	<i>N,N</i> -dimetilformamida	<b>PhCOOH</b>	Ácido benzoico
<b>DPTU</b>	<i>N,N'</i> -difeniltiourea	<b>PhMe</b>	Tolueno
<b>dr</b>	Proporción diastereomérica	<b>PM</b>	Peso molecular
<b>E<sup>+</sup></b>	Electrófilo	<b>ppm</b>	Partes por millón
<b>EDG</b>	Grupo electrodonador	<b><i>q</i></b>	Cuadruplete
<b><i>ee</i></b>	exceso enantiomérico	<b>rac</b>	Racémico
<b>ent</b>	Enantiómero	<b>RMN</b>	Resonancia Magnética Nuclear
<b>Equiv</b>	Equivalentes	<b><i>s</i></b>	Singulete
<b>Et</b>	Etil	<b>t</b>	Tiempo
<b>EtOH</b>	Etanol	<b>T</b>	Temperatura
<b>EWG</b>	Grupo electroattractor	<b><i>t</i></b>	Triplete
<b>g</b>	Gramos	<b>ta</b>	Temperatura ambiente
<b>Hz</b>	Hertz	<b>THF</b>	Tetrahidrofurano
<b><sup>1</sup>H</b>	Protón	<b>TESH</b>	Trietilsilano
<b>h</b>	horas		
<b>HPLC</b>	Cromatografía de líquidos de alta resolución		

## RESUMEN

El presente proyecto muestra la síntesis enantioselectiva de Tetrahydrocarbazoles (THC), estructuras base de diversos alcaloides de importancia biológica.

La síntesis se llevó a cabo mediante reacciones de cicloadición [4+2] utilizando al modo de activación trienamino a través del aldehído indólico  $\alpha,\beta$ -insaturado **4** con diferentes dienófilos derivados de cromonas, benzoquinonas y naftoquinonas.

Inicialmente, se realizó la síntesis enantioselectiva del derivado **THC-6**, mediante la condensación de la amina secundaria del catalizador quiral al grupo carbonilo del aldehído indólico  $\alpha,\beta$ -insaturado **4** el cual, sufrió una reacción del tipo Diels-Alder con la 3-cianocromona **1** como dienófilo obteniendo el derivado tetrahydrocarbazólico con buenos rendimientos y excesos enantioméricos.

La viabilidad de la reacción se demostró mediante el uso de diferentes dienófilos derivados de la 3-cianocromona, benzoquinona y naftoquinona variando el patrón de sustitución por grupos electrodonadores y electroattractores con rendimientos del 36 al 51 y excesos enantioméricos del 83 a 96%. Del mismo modo al derivado **THC-6** se le realizaron diversas transformaciones químicas en sus grupos funcionales con el objetivo de sintetizar esqueletos base de alcaloides con diversidad estructural.

Finalmente, el compuesto **THC-6** se evaluó para medir su potencial biológico en el sistema nervioso central, encontrando que este compuesto posee una excelente actividad ansiolítica con una dosis efectiva 50 (DE<sub>50</sub>) de 4.1 mg/Kg y antidepresiva con un efecto máximo de 16%. Cabe señalar que, a la fecha, este es el primer reporte sobre la actividad ansiolítica de tetrahydrocarbazoles.

# ABSTRACT

In this project we show the enantioselective synthesis of tetrahydrocarbazole (THC), frameworks of various alkaloids with biological activity.

The synthesis was carried out by [4+2] cycloaddition reactions using the trienamine activation mode through the  $\alpha,\beta$ -unsaturated indolic aldehyde **4** with different dienophiles such chromones, benzoquinones and naphthoquinones.

Initially, the synthesis of **THC-6** derivative was accomplished, through the condensation the secondary amine of the chiral catalyst with the carbonyl group of the  $\alpha,\beta$ -unsaturated indolic aldehyde **4** which underwent a Diels-Alder type reaction with 3-cyanochromone **1** as dienophile obtaining the tetrahydrocarbazole derivative with good yield and enantiomeric excess.

The viability of the reaction was demonstrated using different dienophiles of 3-cyanochromone, benzoquinone and naphthoquinone varying the substituent pattern for electron donating and electron withdrawing groups with yields from 36 to 51% and enantiomeric excesses from 83 to 96%. On the other hand, the **THC-6** derivative was subjected to various chemical transformations by changing its functional groups in order to synthesize alkaloids frameworks with structural diversity.

Finally, the **THC-6** compound was evaluated for its biological potential in the central nervous system, finding that this compound has an excellent anxiolytic activity with an effective dose 50 (ED<sub>50</sub>) of 4.1 mg/Kg and antidepressant activity with a maximum effect of 16%. To the best of our knowledge, this is the first report dealing with the anxiolytic activity of tetrahydrocarbazole core.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Medicina Tradicional Mexicana y Química de Productos Naturales.

Actualmente la Medicina Tradicional Mexicana es reconocida como un recurso para la preservación de la salud de millones de seres humanos, es una parte importante de la cosmovisión de los pueblos indígenas, la cual representa el conocimiento sobre la madre tierra y el uso de las plantas medicinales.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Medicina Tradicional se define como “*La suma total de conocimientos, habilidades y prácticas basadas en teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas, sean explicables o no, utilizadas en el mantenimiento de la salud y/o en la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades físicas y mentales*”.<sup>1</sup> De acuerdo a la **Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana**, se reconoce hoy como, “*El recurso fundamental para la salud de millones de seres humanos, componente esencial del patrimonio tangible e intangible de las culturas del mundo, un acervo de información, recursos y prácticas para el desarrollo y el bienestar. Un factor de identidad de numerosos pueblos del planeta*”.<sup>2</sup>

Las plantas son la principal fuente en el ejercicio de la Medicina Tradicional Mexicana, sin embargo, cabe señalar que el uso de esta práctica se extiende hasta el uso de hongos, organismos marinos, insectos e inclusive algunos reptiles y anfibios. Con base en esta información, cabe destacar que México es un país megadiverso, es uno de los 7 países más ricos del mundo en especies de plantas y animales, debido a que ocupa el tercer lugar a nivel mundial en biodiversidad y el quinto lugar en plantas vasculares con más de 23,000 especies, siendo el 50% endémica del país.<sup>3</sup>

Como se ha mencionado previamente, por años se han utilizado a las plantas medicinales para la cura o el tratamiento empírico de diferentes enfermedades, debido a esto, durante décadas, investigadores especialistas en el área, se han dado a la tarea de realizar diversos estudios fitoquímicos y biodirigidos para saber cuáles son los metabolitos secundarios que sintetizan las especies responsables de la actividad biológica; todas estas investigaciones dieron origen a lo que actualmente se conoce como **Química de Productos Naturales**, la cual se define como “*El estudio de metabolitos secundarios aislados de fuentes naturales de origen vegetal, animal, fúngico o bacteriano en la obtención de compuestos con diversidad estructural y actividad biológica*”. Es importante mencionar, que las plantas sintetizan a los metabolitos secundarios principalmente como defensa ante sus enemigos naturales y curiosamente estos compuestos son los que ejercen una acción terapéutica.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Zhang, X. *Organización Mundial de la Salud*, OMS, Medicina Tradicional. Ginebra. **2018**.

<sup>2</sup> Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. Universidad Nacional Autónoma de México. UNAM. **2009**. [www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx](http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx)

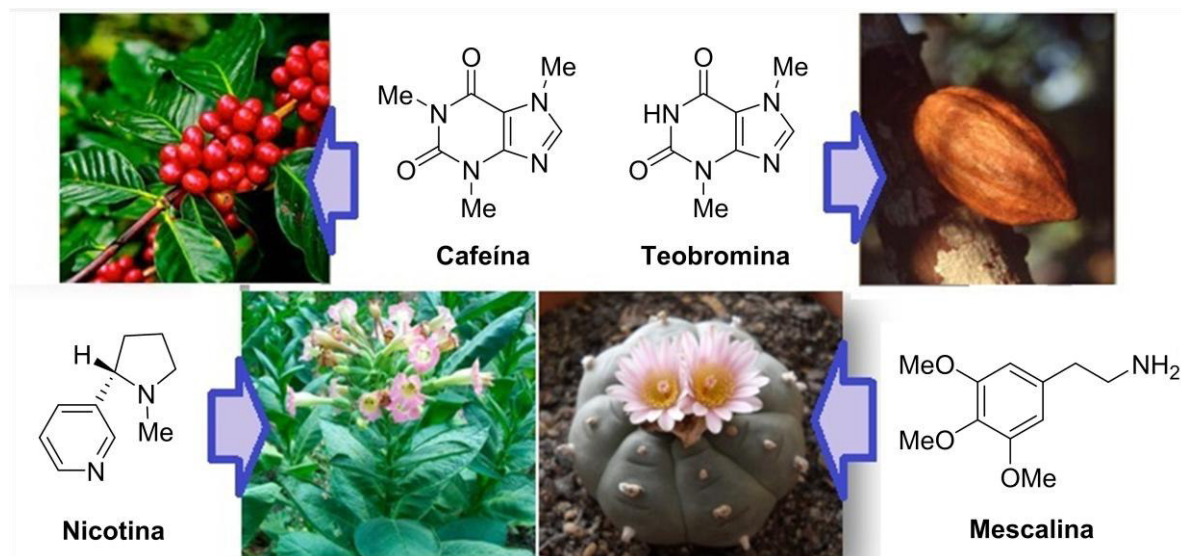
<sup>3</sup> CONABIO; Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. [www.biodiversidad.gob.mx](http://www.biodiversidad.gob.mx)

<sup>4</sup> Farnsworth, N. R.; Akerele, O.; Bingel, A. S. *Bulletin of the World Health Organization*, **1985**, 63, 965-981.

Dentro de los principales metabolitos secundarios de importancia estructural y biológica, se encuentran el grupo de los compuestos fenólicos, incluyendo a las cumarinas y los flavonoides, el grupo de los **terpenos** (mono-, sesqui-, di- y triterpenos), esteroides y a la amplia familia de los **alcaloides**.<sup>5</sup>

## **1.2 Alcaloides de Importancia Biológica.**

Los alcaloides son compuestos nitrogenados derivados de aminoácidos con carácter básico, que presentan una amplia diversidad estructural y las plantas lo utilizan como defensa ante sus depredadores naturales. Dentro de la Medicina Tradicional Mexicana, diversos estudios fitoquímicos en plantas medicinales endémicas de la región han demostrado la presencia de alcaloides de importancia biológica y estructural, tal es el caso de la *teobromina* y la *cafeína*, presentes tanto en las semillas del cacao (*Theobroma cacao*)<sup>6</sup> como en las semillas del café (*Coffea spp.*),<sup>7</sup> las cuales presentan actividad biológica como estimulantes del sistema nervioso central, de igual forma, la *nicotina* presente en las hojas del tabaco (*Nicotiana tabacum*)<sup>8</sup> se puede usar con esta misma finalidad e incluso, dependiendo de la concentración, se ha visto que presenta actividad insecticida. Otro ejemplo es la *mescalina* presente en el bulbo del peyote (*Lophophora williamsii*),<sup>9</sup> la cual en forma de ungüento puede ser utilizado para diferentes dolores, golpes e incluso mordeduras y picaduras de animales e insectos venenosos (Figura 1).



**Figura 1.** Algunos ejemplos de alcaloides comunes

<sup>5</sup> Kuklinski, C. *Farmacognosia*, **2003**, Ediciones Omega. España.

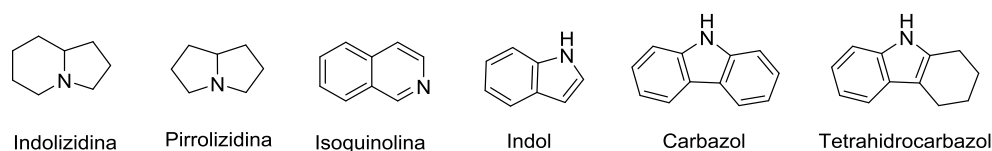
<sup>6</sup> Giorgetti, M.; Negri, G.; Rodrigues, E. *Journal of Ethnopharmacology*, **2007**, *109*, 338-347.

<sup>7</sup> Patay, É. B.; Bencsik, T.; Papp, N. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **2016**, *9*, 1127-1135.

<sup>8</sup> Mizusaki, S.; Kasaki, T.; Tamaki, E. *Plant Physiology*, **1968**, *43*, 93-98.

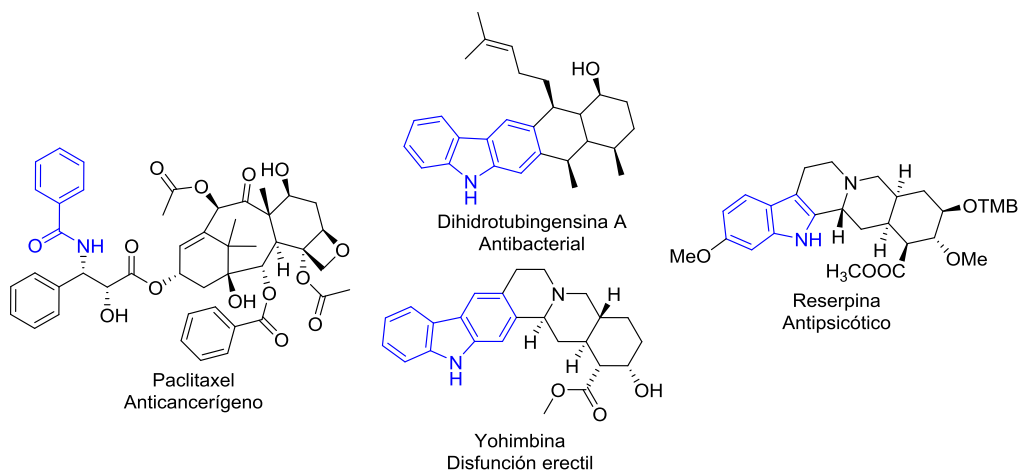
<sup>9</sup> El-Seedi, H. R.; De Smet, P. A.; Beck, O.; Possnert, G. *Journal of Ethnopharmacology*, **2005**, *101*, 238-242.

Con base en esta información, el grupo de los alcaloides ha adquirido gran importancia, principalmente porque debido a que no tienen una ruta biosintética definida y al ser derivados de aminoácidos poseen una amplia familia de esqueletos base (alcaloides del tipo indolizidina, pirrolizidina, isoquinolina, carbazólicos, indólicos, etc.) (Esquema 1). Por otro lado, existen numerosos reportes sobre las actividades biológicas de esos compuestos, dentro de las que destacan son su acción antiinflamatoria, citotóxica, analgésica, amebicidas, antihipertensivos, relajantes musculares y sobre todo, como estimulantes del sistema nervioso central.<sup>10</sup>



**Esquema 1.** Ejemplos de estructuras base presentes en algunos alcaloides

Debido a estas características, diversos alcaloides han sido un atractivo constante por parte de los químicos especialistas en el área de síntesis orgánica para el desarrollo de nuevas rutas de síntesis total o bien para el descubrimiento de nuevas metodologías para la formación de sus diferentes esqueletos base (Esquema 2).



**Esquema 2.** Ejemplos de algunos alcaloides de importancia biológica

El Paclitaxel, comercialmente conocido como taxol, es un alcaloide diterpénico con esqueleto de toxano, sintéticamente derivado de la benzamida, este se utiliza como anticancerígeno y su principal fuente de obtención es la corteza del árbol *Taxus brevifolia*.<sup>11</sup>

<sup>10</sup> Cordell, G. A.; Farnsworth, N. R. *Phytotherapy Research*. **2001**, *15*, 183-205.

<sup>11</sup> Wani, M. C.; Taylor, H. L.; Wall, M. E.; Coggon, P.; McPhail, A. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 2325-2327.

De igual forma, la dihidrotubingensina A es un alcaloide derivado del carbazol que se utiliza como agente antibacterial y cuya principal fuente de obtención es el hongo *Aspergillus tubingensis*.<sup>12</sup> También, la yohimbina es un alcaloide con núcleos de carbazol e isoquinolina que se ha utilizado ampliamente para tratar la disfunción eréctil y que principalmente se extrae de la corteza del árbol *Pausinystalia johimbe*.<sup>13</sup> Como último ejemplo se puede mencionar a la (-)-reserpina, cuyo núcleo de indol promueve su actividad como antipsicótico y que inicialmente se aisló de un arbusto nativo de la India conocido como *Rauwolfia serpentina*. Las estructuras de estos alcaloides se representan en el Esquema 2.

Debido a la actividad terapéutica de estos compuestos, el hombre se ha visto en la necesidad de atacar constantemente a la naturaleza para poder acceder a los beneficios que las plantas medicinales les provee, este hecho desastroso, aunado a que compuestos del tipo alcaloideo poseen una complejidad estructural muy atractiva, es que ha sido blanco de interés para diferentes grupos de investigación en el área de síntesis orgánica, pues se han dado a la tarea de desarrollar novedosas rutas o diferentes metodologías de síntesis. Desafortunadamente, las rutas clásicas de síntesis totales presentan varias desventajas atribuidas a sus numerosas etapas de síntesis, rendimientos globales bajos o bien, la obtención de compuestos con estereoquímica no definida.

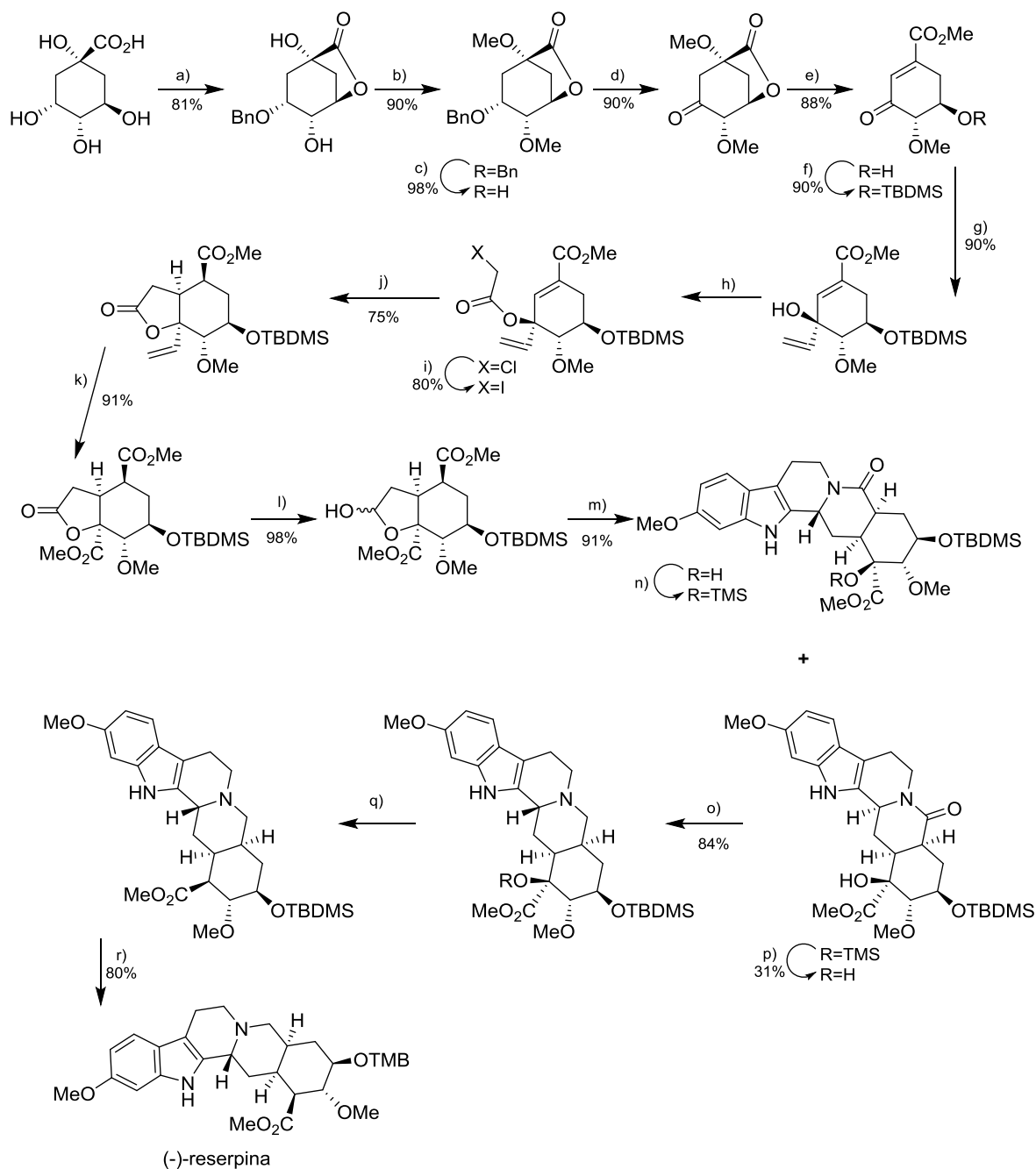
Un buen ejemplo de esto es la síntesis total de la (-)-reserpina descrita por Pearlman en 1979.<sup>14</sup> Como ya se mencionó anteriormente, este compuesto es un alcaloide del tipo indol, importante por su actividad antipsicótica y antihipertensiva, aislado por primera vez en 1952 de las raíces de *Rauwolfia serpentina* (Serpentaria). Es una estructura compleja debido a que presenta un alto número de centros estereogénicos y todos ellos con una estereoquímica bien definida. Dadas estas cualidades es que varios grupos de investigación se han dado a la labor de sintetizar a dicha molécula, donde a pesar de que cada una de las reacciones que conlleva ocurren con un rendimiento considerablemente alto, es debido a que transcurren con múltiples etapas de síntesis que el rendimiento global puede ser de apenas 10%.

En el caso particular de Pearlman, tras una serie de reacciones de protección y desprotección de grupos funcionales, de sucesivas oxidaciones, esterificaciones, así como otro tipo de complejas transformaciones, al cabo de 18 pasos de síntesis finalmente se logró obtener la (-)-reserpina con tan solo 2.6% de rendimiento (Esquema 3).<sup>14, 15</sup>

<sup>12</sup> Sings, H. L.; Harris, G. H.; Dombrowski, A. W. *Journal of Natural Products*. **2001**, *64*, 836-838.

<sup>13</sup> Myers, A., Barreto, F. *Journal of Medical Toxicology*. **2009**, *5*, 223.

<sup>14</sup> Pearlman, B. A., *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 6404-6408.



- a) TsOH/MDF/C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>, Bu<sub>2</sub>SnO/BnBr. b) KH/Mel/THF. c) Pd(OH)<sub>2</sub>/C-H<sub>2</sub>/MeOH. d) NaIO<sub>4</sub>, RuO<sub>2</sub>·xH<sub>2</sub>O, AcOEt/Acetona/H<sub>2</sub>O e) KHCO<sub>3</sub>/MeOH. f) TBDMSOTf/2,6-lutidina. g) THF/CH<sub>2</sub>=CHMgBr. h) DCC/ClCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H/DMAP/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. i) CH<sub>3</sub>CN/NaI. j) Ph<sub>3</sub>SnH/AIBN/C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>. k) 1.O<sub>3</sub> y DMS; 2.NaClO<sub>2</sub>/t-BuOH/metil-2-buteno/NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/H<sub>2</sub>O; 3. Et<sub>2</sub>O/CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>. l) Sia<sub>2</sub>BH/THF. m) 6-metoxitriptamina/PhCH<sub>3</sub>/(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>CCO<sub>2</sub>H. n) 2,6-lutidina/TMSOTf/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. o) B<sub>2</sub>H<sub>6</sub>/THF y HMPA, HO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH. p) 1.CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/2,6-lutidina/TBDMSOTf; 2.Sml<sub>2</sub>/HMPA/HO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH/THF. r) 1.HF/CH<sub>3</sub>CN; 2.3,4,5-clorotrimetoxibenzoilo/Et<sub>3</sub>N.

Rendimiento Global= 2.6%

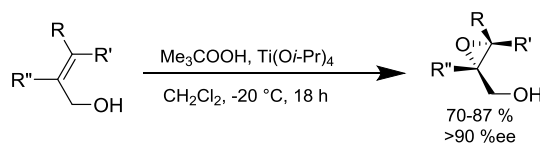
**Esquema 3.** Síntesis total de la (-)-reserpina descrita por Pearlman.<sup>14, 15</sup>



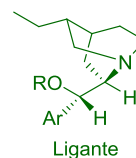
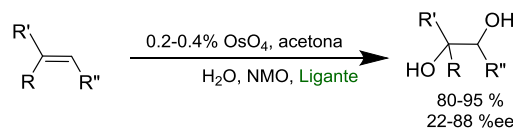
### 1.3. Síntesis Asimétrica y Aminocatálisis.

Para lograr obtener compuestos con estereoquímica definida han surgido diferentes rutas de síntesis que en su mayoría se fundamentan en el uso de catalizadores quirales para obtener un enantiómero en exceso con respecto al otro. A este tipo de síntesis se le conoce como **Síntesis Asimétrica**. En este ámbito destaca el científico *Karl Barry Sharpless*, quien se galardonó con el Premio Nobel en Química en el año 2001 por sintetizar moléculas quirales puras mediante reacciones de oxidación con catalizadores enantioselectivos. De aquí surgen la *Epoxidación de Sharpless*,<sup>16</sup> *Dihidroxilación Asimétrica de Sharpless*<sup>17</sup> y la *Oxiaminación de Sharpless*,<sup>18</sup> ilustradas en el Esquema 4.

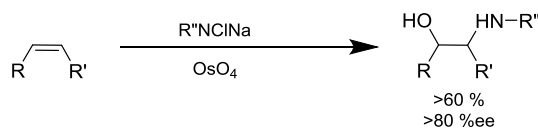
#### Epoxidación de Sharpless



#### Dihidroxilación Asimétrica de Sharpless



#### Oxiaminación de Sharpless



Esquema 4. Reacción de epoxidación, dihidroxilación y oxiaminación de Sharpless

Otra forma propuesta por los diversos grupos de investigación implica el uso de nuevas herramientas de síntesis. Una de estas nuevas herramientas es la **organocatálisis**, la cual consiste en el estudio de reacciones químicas orgánicas catalizadas por compuestos orgánicos de bajo peso molecular. Actualmente, la organocatálisis ha adquirido gran importancia debido a la forma sencilla, rápida y eficiente en la cual transcurren las reacciones químicas, facilitando la síntesis de compuestos enantioméricamente enriquecidos. Particularmente, la **aminocatálisis**, ha sido la técnica más estudiada dentro de esta área y tiene su origen en que aminas primarias y/o secundarias quirales pueden condensarse eficientemente con aldehídos y cetonas y a su vez, la hidrólisis para la regeneración del compuesto carbonilo inicial es igualmente efectivo.<sup>19</sup>

<sup>16</sup> Katsuki, T.; Sharpless, K. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5974-5976.

<sup>17</sup> Jacobsen, E. N.; Marko, I.; Mungall, W. S.; Schroeder, G.; Sharpless, K. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 1968-1970.

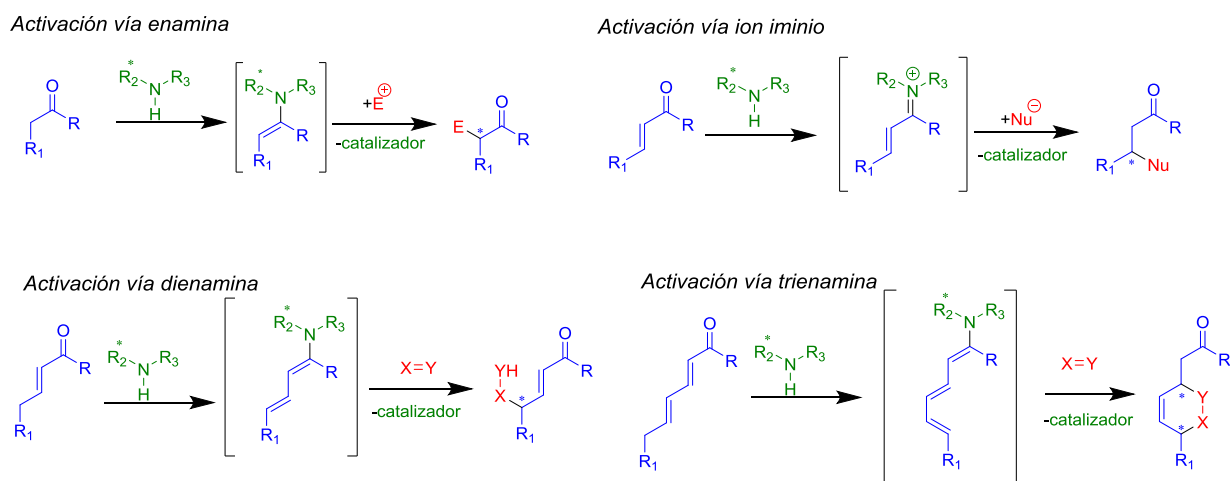
<sup>18</sup> Sharpless, K. B.; Patrick, D. W.; Truesdale, L. K.; Biller, S. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 2305-2307.

<sup>19</sup> Seayad, J.; List, B. *Organic & Biomolecular Chemistry*. **2005**, *3*, 719-724. b) MacMillan, D. W. C. *Nature*. **2008**, *455*, 304-308.

Desde el descubrimiento de la aminocatálisis, se han desarrollado diferentes modos de activación, tal es el caso de la vía **enamina**, que consiste en la condensación de la amina quiral secundaria con el grupo carbonilo de un aldehído enolizable, de tal manera que el carbono  $\alpha$  del aldehído adquiere un carácter nucleofílico que permite funcionalizarse en la posición  $\alpha$  al grupo carbonilo. Del mismo modo, existe el modo de activación **ión iminio**, el cual se fundamenta en la capacidad que presenta una amina quiral para condensarse con compuestos carbonílicos  $\alpha,\beta$ -insaturados para formar un intermediario ión iminio, provocando que el carbono  $\beta$  pueda sufrir ataques nucleofílicos dando la funcionalización en esa posición.

A raíz de los primeros trabajos en aminocatálisis,<sup>20</sup> la activación **enamina** e **ión iminio**, han sido consideradas como las metodologías más utilizadas en organocatálisis para la funcionalización enantioselectiva en las posiciones  $\alpha$  y  $\beta$  de compuestos carbonílicos, debido a eso, se han derivado nuevos modos de activación denominados **dienamina**,<sup>21</sup> **trienamina**<sup>22</sup> y **ion iminio vinilogo**<sup>23</sup> (Esquema 5).

El modo de activación **dienamina**, se forma a partir de la condensación del catalizador quiral (amina primaria o secundaria) con un aldehído o cetona  $\alpha,\beta$ -insaturado enolizable, como consecuencia el carbono  $\gamma$  adquiere un carácter nucleofílico logrando la funcionalización en esa posición. En este contexto, el modo de activación **trienamina**, consiste en la condensación de un aminocatalizador quiral con un aldehído o cetona  $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturado enolizable, al formarse este modo de activación simula a un dieno que puede llevar a cabo reacciones de cicloadición [4+2].



**Esquema 5.** Principales modos de activación en aminocatálisis

<sup>20</sup> List, B.; Lerner, R. A.; Barbas III, C. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2395-2396.

<sup>21</sup> Ramachary, D. B.; Reddy, Y. V. *European Journal of Organic Chemistry* **2012**, *2012*, 865-887.

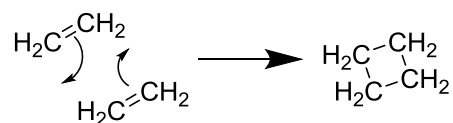
<sup>22</sup> a) Arceo, E.; Melchiorre, P. *Angewandte Chemistry International Edition* **2012**, *51*, 5290-5292. b) Jia, Z.-J.; Jiang, H.; Li, J.-L.; Gschwend, B.; Li, Q.-Z.; Yin, X.; Grouleff, J.; Chen, Y.-C.; Jørgensen, K. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 5053-5061. c) Albrecht, L.; Cruz-Acosta, F.; Fraile, A.; Christensen, J. Jørgensen, K. A. *Angewandte Chemistry International Edition* **2012**, *51*, 9088-9092.

<sup>23</sup> a) Tian, X.; Liu, Y.; Melchiorre, P. *Angewandte Chemistry International Edition* **2012**, *51*, 6439-6442. b) Hayashi, Y.; Okumara, D.; Umemiya, S.; Uchamaru, T. *Chemical Catalysis Chemistry* **2012**, *4*, 959-962. c) Halskov, K. S.; Naicker, T.; Jensen, M. E.; Jørgensen, K. A. *Chemical Communications* **2013**, *49*, 6382-6384.

Dichas estrategias han permitido la funcionalización remota de compuestos carbonílicos, gracias a la transferencia de asimetría desde el catalizador a centros de reacción localizados a cinco y siete enlaces. Con base en lo anterior, no cabe duda que la aminocatálisis ha permitido un notorio avance en el campo de la síntesis asimétrica, útil para la síntesis de compuestos con actividad biológica tales como agroquímicos, fármacos y materias primas de la industria cosmética y alimentaria.

#### **1.4. Reacciones de Cicloadición.**

Las reacciones de *cicloadición* son un tipo de reacción con mecanismos concertados en las cuales dos moléculas interactúan para formar un nuevo anillo mediante el reordenamiento de los electrones  $\pi$  para formar nuevos enlaces  $\sigma$  (Esquema 6).



**Esquema 6.** Ejemplo de una reacción de cicloadición [2+2]

De los tres tipos de reacciones de cicloadición característicos por el número de electrones  $\pi$  involucrados, destacan las reacciones de cicloadición [4+2] por ocurrir de manera sencilla. A este tipo de reacción también se le conoce como *Diels-Alder* que ocurre entre un dieno y un alqueno activado (llamado *dienófilo*) para generar un anillo de ciclohexeno. Éste tipo de reacciones han sido estudiados ampliamente de manera computacional, mecanística y sintética.

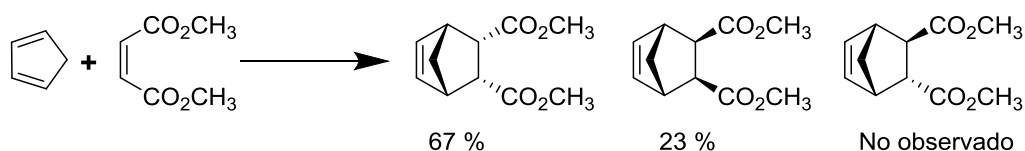
Este tipo de reacciones tienden a estar permitidas por simetría, sin embargo, para que se realicen de manera aun más eficiente es que deben cumplir con algunos requerimientos mínimos. Los dos principales efectos que alteran la velocidad de la reacción son *los conformeros del dieno* y *los sustituyentes del dienófilo*.

Con respecto a los conformeros del dieno, estos deben ser capaces de adoptar una conformación *s-cis*, que aunque sean menos estables que la *s-trans*, es una característica que ha demostrado ser indispensable para promover la reacción con respecto a aquellas moléculas más impedidas para adquirir dicha conformación.

El otro aspecto importante a considerar son los sustituyentes del dienófilo, donde se ha visto que la presencia de grupos electroattractores como C=O, C $\equiv$ N directamente enlazados al C=C ayudan a que la reacción se promueva de manera más eficiente que con respecto a cuando no los tienen o con aquellos que presentan grupos electrodonadores. Incluso, a una mayor presencia de grupos electroattractores se favorece la velocidad con la que transcurren las reacciones.

Debido a que se trata de una reacción concertada se sabe que es regioselectiva y estereoselectiva. El hecho de que sea concertada, nos permite predecir que la formación de los nuevos enlaces  $\sigma$  ocurre de manera simultánea, y no que se genere un enlace antes que

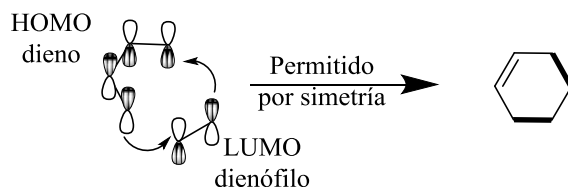
otro, evitando así la rotación del enlace  $\sigma$  presente en el dienófilo, lo que evita la formación de otro diastereoisómero como se ejemplifica en el Esquema 7.



**Esquema 7.** Ejemplo de la reacción de cicloadición [4+2] donde se observa la preferencia por un diastereoisómero

En ese mismo ejemplo se logra apreciar una mayor tendencia a generarse el producto *endo* con respecto al producto *exo*. Esto ocurre cuando hay grupos electroattractores en el dienófilo, ayudando a predecir que se prefiere el acercamiento *endo* entre las moléculas. A este tipo de predicción del compuesto mayoritario se le conoce como *Regla de Alder*, que aunque no es una regla 100 % certera, es útil como una guía inicial.

El hecho de que la reacción de cicloadición [4+2] sea permitida se atribuye a la simetría de los *orbitales frontera*. En este caso el Orbital Molecular Ocupado de Más Alta Energía (HOMO) del dieno interactúa por simetría con el Orbital Molecular Desocupado de Más Baja Energía (LUMO) del dienófilo; permitiendo así un traslape de fase que permite el flujo de electrones desde el dieno al dienófilo, favoreciendo así la formación simultánea de los nuevos enlaces  $\sigma$ .<sup>24, 25.</sup>



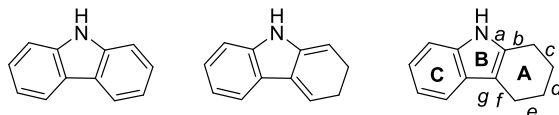
**Esquema 8.** Imagen representativa del flujo de electrones del dieno al dienófilo permitida por simetría

<sup>24</sup> Carey, F. A.; Sundberg, R. J. **2007**, *Advanced Organic Chemistry: Part A: Structure and Mechanisms*. Springer Science & Business Media. Pp. 833-964.

<sup>25</sup> Carey, F. A.; Giuliano, R. M. **2007**, *Química Orgánica 9a*. Edición. McGraw Hill Mexico. Pp. 391-405.

## 1.5. Síntesis Enantioselectiva de Carbazoles y Tetrahydrocarbazoles.

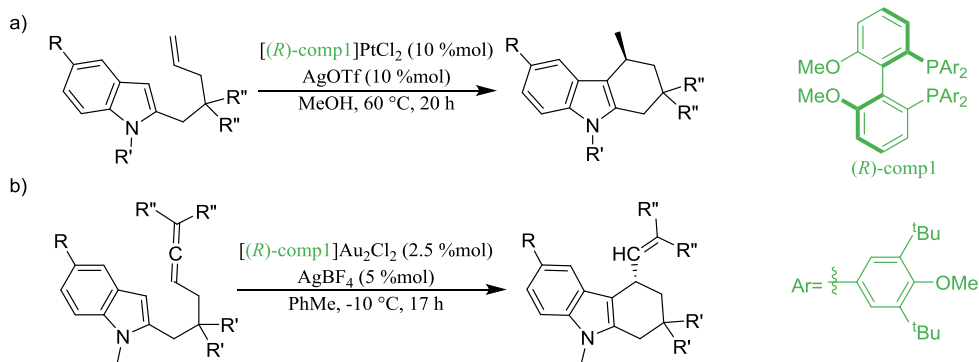
Una de las principales estructuras base de los alcaloides son los carbazoles y sus derivados, los tetrahydrocarbazoles (THC). El carbazol, también conocido como 9H-carbazol o 9-azafluoreno, es una especie tricíclica que consiste en un anillo de pirrol fusionado en sus caras “b” y “d”, a dos anillos de benceno. Fue aislado por primera vez en 1872 por Graebe y Glazer a partir del alquitrán.<sup>26</sup>



**Esquema 9.** Estructuras del 9H-carbazol, un dihidrocarbazol, un tetrahydrocarbazol (THC) y nomenclatura

La síntesis asimétrica de THC es de gran interés y atractivo para los químicos sintéticos, principalmente para quienes sintetizan compuestos con actividad farmacéutica. Existen tres categorías generales en las cuales se pueden clasificar las síntesis de THC y son: 1) *Alquilación del tipo Friedel-Crafts de indoles*, 2) *Reacciones de cicloadición [4+2] con 2- ó 3-vinilindoles* y 3) *Por generación in situ de orto-quinodimetanos (oQDM)*.<sup>27</sup>

Las reacciones de alquilación del tipo Friedel-Crafts pueden ser asistidas por metales de transición, organocatálisis o por ácidos de Lewis. Como ejemplo del primer caso, tenemos a la reacción descrita en 2004 por Widenhoefer y su grupo,<sup>28</sup> quienes reportaron una reacción de hidroarilación intramolecular asimétrica de alquénil indoles catalizada por complejos de platino(II). Bajo esta estrategia, empleando diferentes catalizadores se sintetizaron una serie de compuestos derivados de THC con rendimientos entre 56-96% y excesos enantioméricos del 47-90% como se ilustra en Esquema 10a. De manera similar, esta reacción se puede llevar a cabo con alenos, utilizando complejos de Au como catalizadores. Dicha síntesis también fue descrita en 2007 por Widenhoefer y col.<sup>29</sup> con rendimientos del 50-90% y con excesos enantioméricos del 72-92% (Esquema 10b).



**Esquema 10.** Síntesis de tetrahydrocarbazoles por alquilación del tipo Friedel-Crafts. a) De indoles con olefinas catalizadas por Pt y b) De indoles con alenos catalizadas por Au.

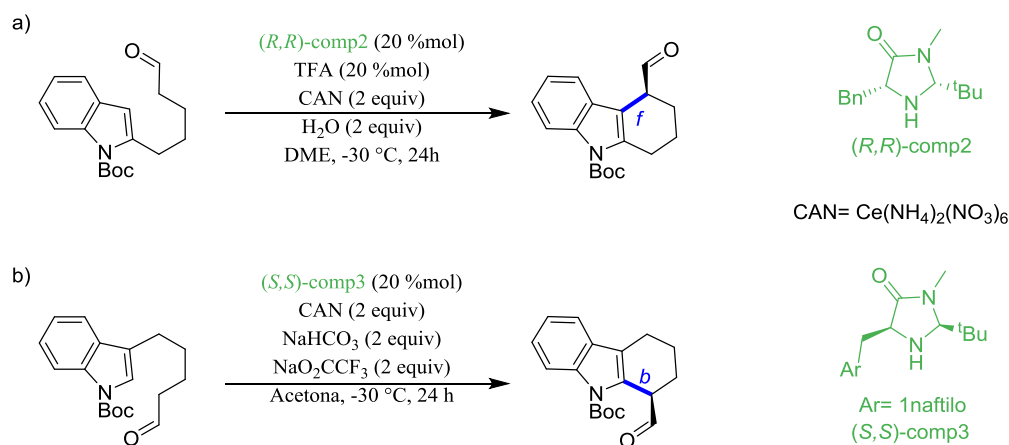
<sup>26</sup> Graebe, C.; Glazer, C. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1872**, *5*, 12.

<sup>27</sup> Tan, F.; Cheng, H. G. *Chemical Communications.* **2019**, *55*, 6151-6164.

<sup>28</sup> Liu, C.; Widenhoefer, R. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10250-10251.

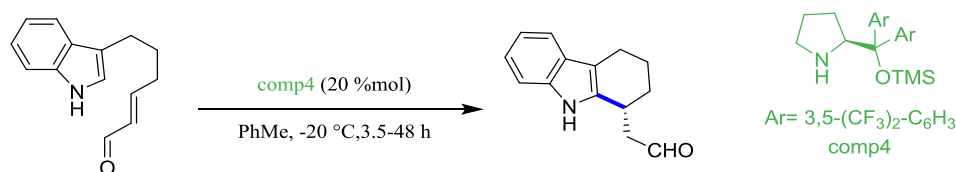
<sup>29</sup> Liu, C.; Widenhoefer, R. A. *Organic Letters.*, **2007**, *9*, 1935-1938.

Cuando se requiere hablar de la síntesis de THC por alquilación de indoles utilizando organocatálisis en la reacción de Friedel-Crafts se pueden ejemplificar las reacciones desarrolladas por Nicolaou<sup>30</sup> y MacMillan<sup>31</sup> en el año 2009. En ambos casos cada uno trabajó la  $\alpha$ -arilación de indolil aldehídos catalizados por imidazolidinonas quirales. En el caso de la reacción de Nicolaou se formó el enlace de la posición “f” del 4-formil-THC con rendimientos del 55-64% y excesos enantioméricos de 94-98%; mientras que en la reacción de MacMillan se generó el enlace “b” del 1-formil-THC con rendimientos del 84-86% y excesos enantioméricos de 92-96%. Ambas reacciones se ejemplifican en el Esquema 11.



**Esquema 11.** Reacciones intramoleculares de  $\alpha$ -arilación de indolil aldehídos catalizadas por imidazolidinonas quirales descritas por a) Nicolaou b) MacMillan.

De manera similar en el 2011, Xiao y colaboradores<sup>32</sup> desarrollaron una reacción de Friedel-Crafts intramolecular con aldehídos  $\omega$ -indolil  $\alpha,\beta$ -insaturados con la presencia de una amina secundaria quiral, como se describe en el Esquema 12. Con esta metodología se lograron sintetizar 9 diferentes compuestos con rendimientos del 40-95% y excesos enantioméricos de 89-98%.



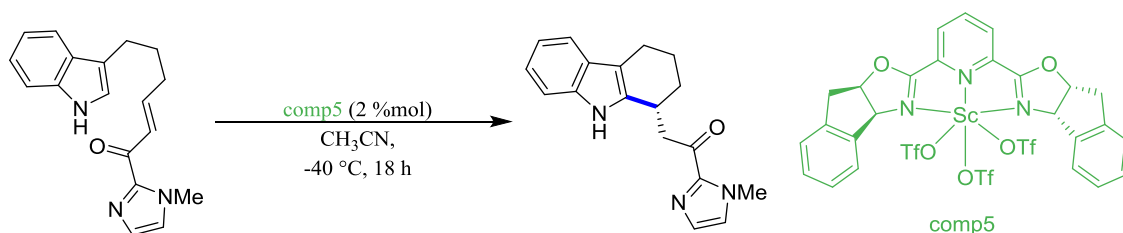
**Esquema 12.** Alquilación intramolecular organocatalítica de aldehídos  $\omega$ -indolil  $\alpha,\beta$ -insaturados

<sup>30</sup> Nicolaou, K. C.; Reinbruger, R.; Sarlah, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 2086-2087.

<sup>31</sup> Conrad, J. C.; Kong, J.; Laforteza, B. N.; MacMillan, D. W. C.; *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 11640-11641.

<sup>32</sup> Zhu, X.; An, X.; Chen, J. R.; Xiao, W. *J. Chemical Catalysis Chemistry.* **2011**, *3*, 679.

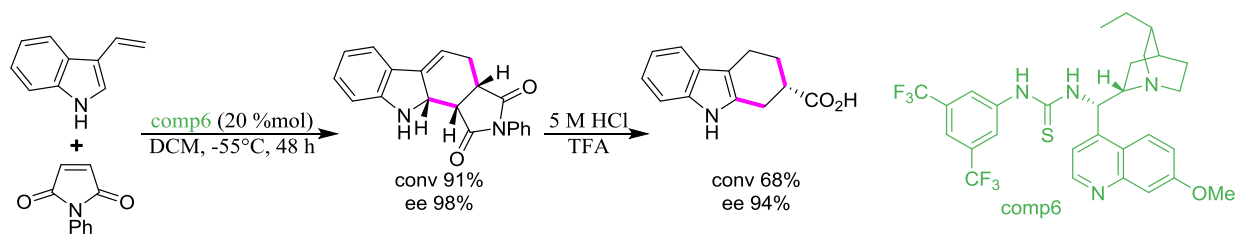
Un caso de síntesis de THC por alquilación de indoles utilizando ácidos de Lewis como catalizadores en la reacción de Friedel-Crafts se puede ejemplificar con la reacción desarrollada en el año 2005 por Evans y colaboradores.<sup>33</sup> Utilizando complejos de escandio se logró sintetizar el derivado tetrahidrocarbazólico con un rendimiento del 99% y exceso enantiomérico de 96% (Esquema 13).



**Esquema 13.** Alquilación de Friedel-Crafts intramolecular de indoles catalizada por complejos de escandio

Las reacciones de cicloadición [4+2] son de gran importancia y constantemente es utilizada para la obtención de THC. Los tres principales tipos de reacción de cicloadición [4+2] son los que utilizan a) 3-vinilindoles, b) 2-vinilindoles y c) *orto*-quinodimetanos generados *in situ*.

Ejemplos específicos del uso de 3-vinilindoles son los reportados en 2008 por Ricci y colaboradores,<sup>34</sup> donde reportan una reacción asimétrica Diels-Alder con *N*-fenilmaleimida en presencia de un organocatalizador quiral para generar un THC con un rendimiento del 91% y un exceso enantiomérico del 98%. Una vez generado el correspondiente cicloaducto, se llevó a cabo una hidrólisis ácida para la obtención del correspondiente derivado ácido de THC (Esquema 14).



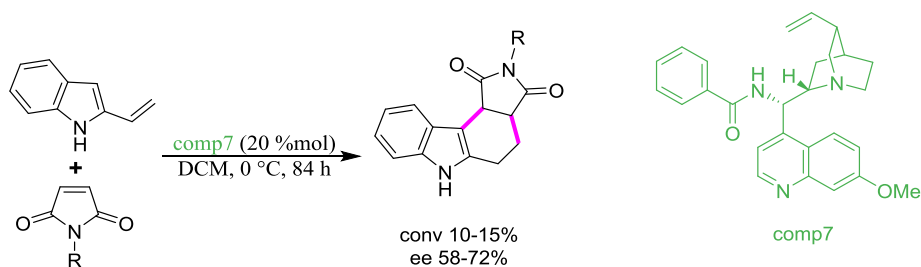
**Esquema 14.** Ejemplo de reacción de cicloadición [4+2] de un 3-vinilindol.

Un caso concreto de las reacciones de cicloadición [4+2] con 2-vinilindol para generar THC es el reportado por los mismos autores en el 2010.<sup>35</sup> Siguiendo el procedimiento descrito, obtuvieron una serie de cinco compuestos, que aunque los sintetizaron con bajos rendimientos (aproximadamente de 10-15%) y con porcentajes de excesos enantioméricos 58-72%, los autores lograron introducir una nueva ruta síntesis de THC (Esquema 15).

<sup>33</sup> Evans, D. A.; Fandrick, K. R.; Song, H. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8942-8943.

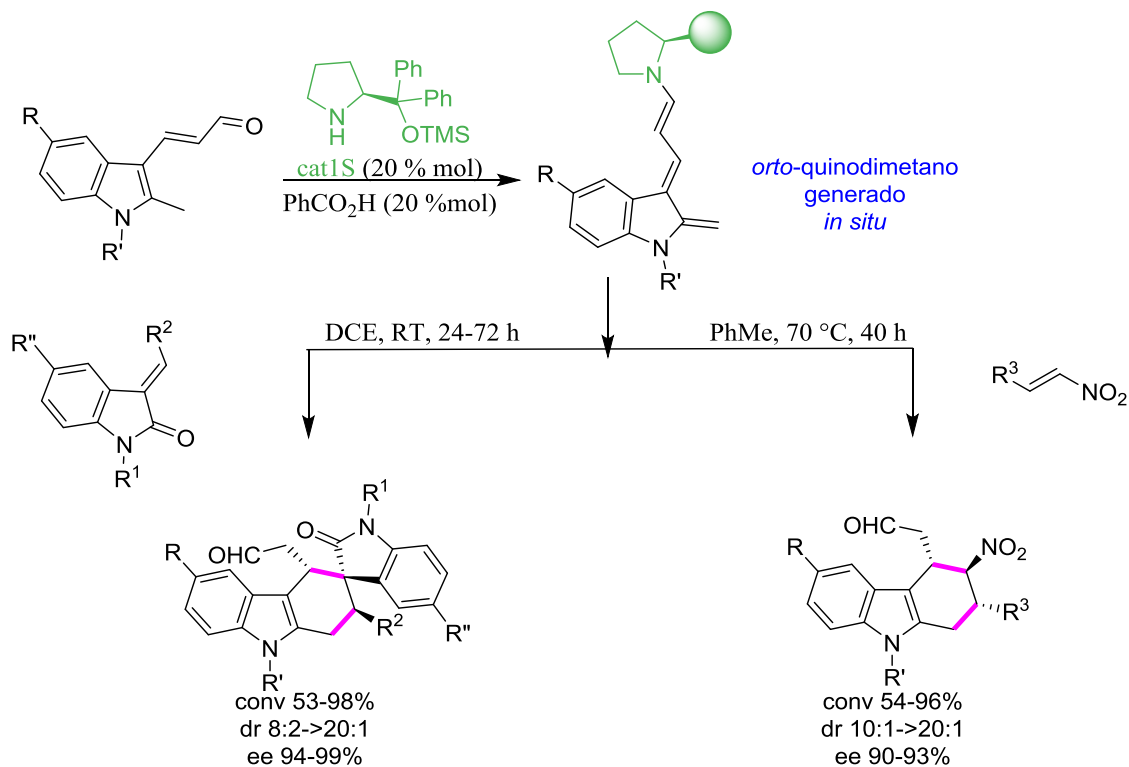
<sup>34</sup> Gioia, C.; Bernardi, L.; Ricci, A., *Angewandte Chemical International Edition.* **2008**, *47*, 9236-9239.

<sup>35</sup> Gioia, C.; Bernardi, L.; Ricci, A., *Synthesis*, **2010**, 161-170.



**Esquema 15.** Ejemplo de reacción de cicloadición [4+2] de un 2-vinilindol.

Casos similares fueron reportados en 2010 por el grupo de Zhao<sup>36</sup> y en 2011 por Chen y colaboradores.<sup>37</sup> En 2011 el grupo de Melchiorre,<sup>38</sup> reportó la primera reacción de Diels-Alder asimétrica para la generación de *o*QDM a partir de la generación *in situ* de *o*QDM con el uso de 3-(2-metil-indol-3-il)acrilaldehydos. Empleando aminocatalizadores quirales, pudieron obtener derivados de THC con nitroolefinas (rendimientos del 54-96% y excesos enantioméricos de 90-93%) y con oxoindoles olefinicos (rendimientos 53-98% y excesos enantioméricos de 94-99%) como dienófilos (Esquema 16).



**Esquema 16.** Reacción Diels-Alder con generación de *o*QDM a partir de derivados de indol.

<sup>36</sup> Zheng, C.; Lu, Y.; Chen, X.; Zhao, G. *Chemistry European Journal*. **2010**, *16*, 5853-5857.

<sup>37</sup> Cao, Y. J.; Cheng, H. G.; Zhang, J. J.; Xiao, W. J. *Advanced Synthesis and Catalysis*. **2011**, *353*, 617-623.

<sup>38</sup> Liu, Y.; Nappi, M.; Arceo, E.; Melchiorre, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 15212-15218.



## 2. JUSTIFICACIÓN

La organocatálisis ha demostrado ser una herramienta eficiente en la síntesis de compuestos con alto grado de estereocontrol. Por esta razón, esta herramienta puede ser aplicada a la síntesis y diversificación de esqueletos base de alcaloides con importancia biológica, a través de diferentes modos de activación en aminocatálisis.

Como consecuencia, se pretende utilizar al modo de activación trienamina para poder desarrollar reacciones de cicloadición [4+2] con diferentes dienófilos que permitan acceder a la síntesis de esqueletos base de alcaloides del tipo tetrahydrocarbazólico con alto grado de estereocontrol y sobre todo con diversidad estructural.

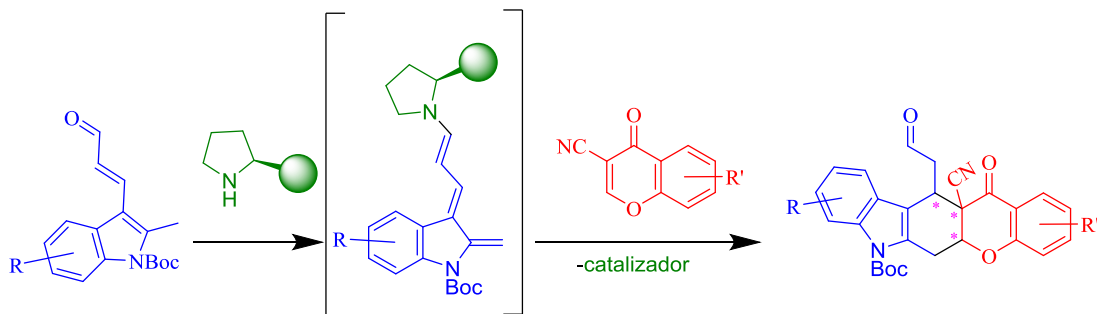
Debido a los antecedentes previamente ya reportados sobre la actividad biológica de alcaloides y su acción en el sistema nervioso central, se realizarán los bioensayos pertinentes para medir la actividad ansiolítica y antidepresiva de uno de los THC sintetizados.

### 3. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una nueva metodología mediante el uso de la organocatálisis, específicamente a la aminocatálisis, como herramienta para la síntesis de alcaloides de importancia biológica de una manera corta, eficiente y con estereoquímica definida, la cual permitirá acceder a bibliotecas de compuestos con diversidad estructural.

#### 3.1 Objetivos Particulares

- Aplicar del modo de activación trienamina en la síntesis enantioselectiva de derivados alcaloides del tipo tetrahidrocarbazólicos a través de reacciones de cicloadición [4+2] organocatalíticas con derivados de cromonas.
- Llevar a cabo la síntesis estereoselectiva de derivados de tetrahidrocarbazoles a partir de benzoquinonas y naftoquinonas que permitan acceder a estructuras con diversidad estructural.
- Evaluar la actividad biológica de los compuestos obtenidos como ansiolíticos y/o antidepresivos.

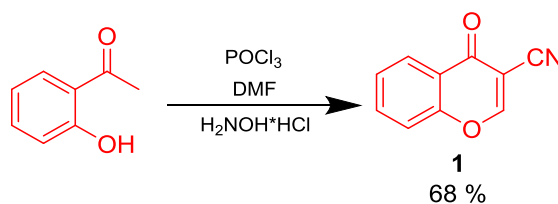


## 4. METODOLOGÍA

### 4.1 Síntesis de materiales de partida.

#### 4.1.1 Síntesis de la 3-cianocromona.

La obtención de las materias primas inició con la 3-cianocromona. La 3-cianocromona es un producto que se encuentra comercialmente disponible, aunque también se trata de un compuesto que puede ser sintetizado como se ilustra en el Esquema 17 con un rendimiento del 68% a partir de la 2'-hidroxiacetofenona, tal como lo describió Pellegatti en el 2012.<sup>39</sup> Este compuesto tiene la cualidad de ser un excelente dienófilo en un reacciones de cicloadición [4+2].



Esquema 17. Síntesis de 3-cianocromona descrita por Pellegatti *et al.*

#### 4.1.2 Síntesis del aldehído derivado de indol

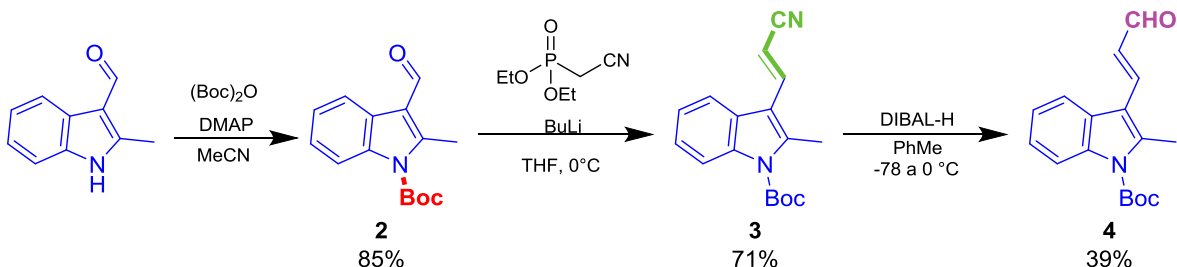
El compuesto utilizado como dieno, es un aldehído derivado de indol, el cual no se encuentra comercialmente disponible, razón por la cual fue necesaria su síntesis mediante un proceso de tres etapas como fue descrito por Liu y Melchiorre en el 2011.<sup>34a</sup> En el Esquema 18 se ilustra la estrategia sintética desarrollada para la obtención del aldehído indólico  $\alpha,\beta$ -insaturado **4**. Inicialmente se llevó a cabo la protección del grupo amino del 2-metil-1*H*-indol-3-carbaldehído, empleando el di-*tert*-butil dicarbonato en presencia de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) como base, disueltos en acetonitrilo. Bajo estas condiciones se obtuvo el producto **2** con un rendimiento del 85%.

Posteriormente, se llevó a cabo una reacción de Horner-Wadsworth-Emmons<sup>34b,c</sup> sobre el derivado protegido, utilizando el dietilcianometilfosfonato, obteniendo el nitrilo **3**, con un rendimiento del 71%.

Finalmente, se efectuó una reacción de reducción con DIBAL sobre el grupo ciano para obtener el correspondiente aldehído **4** con un rendimiento del 39% (Esquema 18).

<sup>39</sup> Pellegatti, L., *Org. Process Res. Dev.*, **2012**, *16*, 1442-1448.

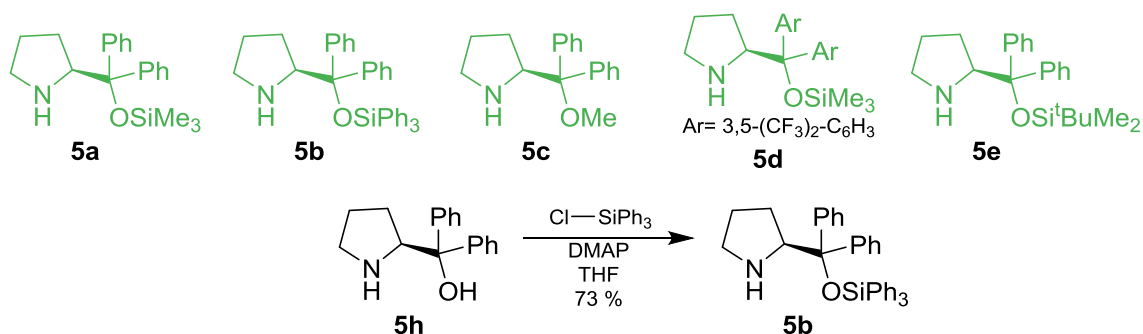
<sup>34a)</sup> Liu, Y.; Nappi, M.; Arceo, E.; Melchiorre, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 15212-15218. b) Horner, L.; Hoffmann, H.; Wipfel, H. G.; Klahre, G. *Chem. Ber.* **1959**, *92*, 2499-2505. c) Wadsworth, W. S.; Emmons, W. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 1733-1738.



Esquema 18. Ruta sintética para la preparación del 2,4-dienal indólico.

## 4.2 Síntesis de los organocatalizadores: diaril prolinolsilil éter

Otro compuesto clave en las reacciones aminocatalíticas son los aminocatalizadores quirales. Algunos se encuentran comercialmente disponibles pero en algunos otros casos fue necesaria su síntesis. Un ejemplo de catalizador que tuvo que ser sintetizado en el laboratorio es el diarilprolinolsilil éter **5b**. La síntesis de dicho catalizador se realizó al llevar a cabo la reacción de protección del (*S*)- $\alpha,\alpha$ -difeníl-2-pirrolidinmetanol con cloruro de trifenílsililo en presencia de DMAP, con un rendimiento del 73% (Esquema 19). La síntesis del catalizador **5e** también se realizó en el grupo de trabajo con metodologías similares. Los catalizadores **5a**, **5c** y **5d** son comerciales.



Esquema 19. Reacción para la síntesis del catalizador **5b**.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Reacción de cicloadición [4+2] organocatalítica para la síntesis de los derivados tetrahidrocarbazólicos.

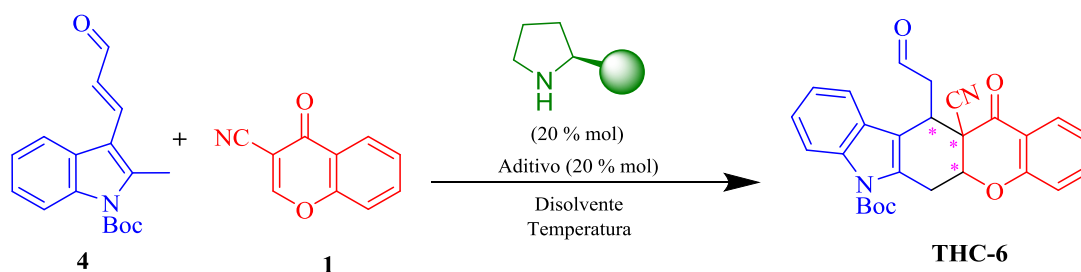
#### 5.1.1 Estudio de la optimización de las condiciones de reacción.

Una vez obtenidas las materias primas, se realizó el estudio de la reacción de cicloadición [4+2] entre el aldehído indólico  $\alpha,\beta$ -insaturado **4** y la 3-cianocromona **1** con la finalidad de encontrar las mejores condiciones de reacción que pudieran favorecer la formación del cicloaducto **THC-6** con alto grado de stereocontrol (Esquema 20).

Las condiciones de reacción evaluadas fueron elegidas acorde a lo reportado en la literatura.<sup>39</sup>

Para este estudio se propuso el uso de diferentes organocatalizadores derivados de diarilprolinolsilil éter **5a-e**. Se sugirió el uso de aditivos de naturaleza química, tanto ácida como básica, esto con la finalidad de favorecer la condensación del catalizador con el aldehído, así como la correspondiente hidrólisis durante el ciclo catalítico.

Dentro de los parámetros para poder realizar una eficiente optimización de las condiciones de reacción, se utilizaron disolventes polares apróticos y no polares a diferentes temperaturas (Tabla 1).



**Esquema 20.** Reacción general de síntesis para la obtención de derivados de tetrahidrocarbazol a partir de cromonas.

<sup>39</sup> Albrecht, L.; Cruz, A. F.; Fraile, A.; Albrecht, A.; Christensen, J.; Jørgensen, K. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 9088-9092.

**Tabla 1.** Optimización de las condiciones de reacción para la obtención del cicloadducto **THC-6**

Exp	Equivalentes <b>4:1</b> <sup>[a]</sup>	Disolvente	Aditivo [20%mol]	T [°C]	t [h]	Conversión [%] <sup>[b]</sup>	dr <sup>[c]</sup>	Rend. <sup>[d]</sup>
1	1:1	CHCl <sub>3</sub>	s. a.	t. a.	24	<10	n. d.	---
2	1:1	CHCl <sub>3</sub>	AB	t. a.	24	<10	n. d.	---
3	1:1	CHCl <sub>3</sub>	s. a.	50	72	<10	n. d.	---
4	1:1	CHCl <sub>3</sub>	AB	50	72	44	n. d.	---
5	1.5:1	CHCl <sub>3</sub>	AB	50	72	62	n. d.	---
6	1.5:1	THF	AB	60	24	<10	n. d.	---
7	1.5:1	MeCN	AB	70	24	<10	n. d.	---
8	1.5:1	DCE	AB	70	24	<10	n. d.	---
9	1.5:1	CHCl <sub>3</sub>	AB	55	28	85	77:22	49
10	1.5:1	CHCl <sub>3</sub>	<i>p</i> -NO <sub>2</sub> AB	55	52	84	76:23	54
11	1.5:1	CHCl <sub>3</sub>	AcONa	55	72	29	83:16	---
12	1.5:1	CHCl <sub>3</sub>	DPTU	55	72	27	76:23	---
13	1.5:1	Tolueno	AB	70	22	92	74:25	67
14	1.5:1	Tolueno	<i>p</i> -NO <sub>2</sub> AB	70	48	51	70:29	57
15	1.5:1	Tolueno	AcONa	70	72	14	77:22	---
16	1.5:1	Tolueno	DPTU	70	72	28	62:17:21	---
17	1.5:1	Dioxano	AB	70	48	72	79:12:9	69
18	1.5:1	Dioxano	<i>p</i> -NO <sub>2</sub> AB	70	48	52	84:15	59
19	1.5:1	Dioxano	AcONa	70	52	11	54:45	---
20	1.5:1	Dioxano	DPTU	70	72	40	68:13:19	---

<sup>[a]</sup>Escala de reacción **4** (1.0 mmol), **1** (1.5 mmol). <sup>[b]</sup><sup>[c]</sup>Se determinaron en el crudo de reacción por <sup>1</sup>H-RMN.

<sup>[d]</sup>Rendimiento del diastereoisómero mayoritario.

Todos los experimentos de la Tabla 1 (exp. 1-20) se realizaron en presencia de 20% mol del organocatalizador **5a**. Los experimentos 1 y 2 se hicieron de manera simultánea para ver la viabilidad de la reacción a temperatura ambiente. Se utilizó una proporción equimolar del aldehído derivado de indol **4** y de la 3-cianocromona **1** en ausencia y presencia de aditivo (ácido benzoico, *AB*); al cabo de 24 horas se pudo observar que la reacción procedió aunque con muy baja conversión. Con estos resultados, se desarrollaron los experimentos 3 y 4, donde se varió la temperatura, con el fin de favorecer la reacción. Al cabo de 72 horas se observó que la conversión del experimento 3 seguía siendo baja, mientras que la conversión en el experimento 4 había sido más significativa. Con estos resultados preliminares se concluyó que tanto la presencia de calor como de un aditivo eran necesarios para promover la reacción de cicloadición [4+2]. Una observación extra en los experimentos fue que el aldehído derivado de indol se consumía de manera más considerable con respecto a la cromona, tomando esto en consideración se decidió añadir 1.5 mmol de aldehído derivado de indol **4** por cada 1.0 mmol de cromona **1** (reactivo limitante).

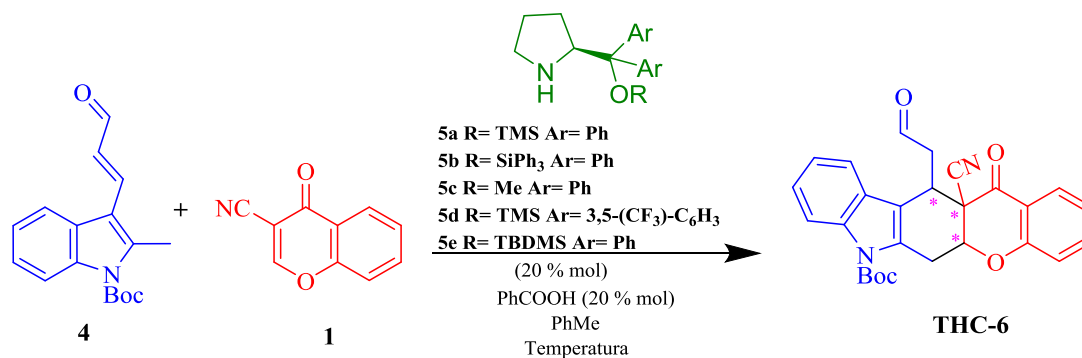
Una vez que se observó que la presencia de un aditivo y temperatura eran necesarias para llevar a cabo la reacción de cicloadición, los experimentos 5-9, 13 y 17 se realizaron para determinar cómo la naturaleza del disolvente afectaba a la reacción. En ese sentido, se observó que en el crudo de reacción había una mejor conversión cuando los disolventes eran cloroformo, tolueno y dioxano, con respecto a cuando se empleaba 1,2-dicloroetano (*DCE*), tetrahidrofurano (*THF*) o acetonitrilo (*MeCN*), ya que en estos tres hubo una mejor conversión en tan solo 24 horas. En el caso del dioxano, se decidió usar más tiempo de reacción debido a que a pesar de que su conversión fue elevada al cabo de 24 h, la conversión no era completa.

Una vez seleccionados tres diferentes disolventes como los óptimos en la reacción ( $\text{CHCl}_3$ , tolueno y dioxano), se analizó la influencia del aditivo; esto al utilizar tanto aditivos básicos como ácidos para ver cómo su presencia afectaba la reacción. Se seleccionaron dos aditivos de carácter ácido: el ácido benzoico (*AB*) y el ácido 4-nitrobenzoico (*p-NO<sub>2</sub>AB*); uno de carácter básico, el acetato de sodio (*AcONa*) y otro por formación de enlace de hidrógeno, la difeniltiourea (*DPTU*).

En los experimentos 11, 12, 15, 16, 19 y 20 se pudo observar que la naturaleza básica del aditivo, así como por enlace de hidrógeno, fue contraproducente para la reacción, ya que disminuyó la conversión, incluso a mayores tiempos de reacción. Caso contrario, a lo que ocurrió con las reacciones en presencia de aditivos ácidos, reacciones en las que se observó hubo una mayor conversión en menor tiempo, como se demuestra en los experimentos 9, 10, 13, 14, 17 y 18. Con estos experimentos se logró determinar que las mejores condiciones de reacción correspondían a las de la entrada 13 con 1.5 equivalentes de aldehído derivado de indol con 1.0 equivalentes de la 3-cianocromona, utilizando tolueno como disolvente a 70°C y ácido benzoico como aditivo al 20% mol. Bajo estas condiciones. Se logró una conversión del 92% en 22 h.

#### 5.1.2. Estudio de la pureza enantiomérica: elección del aminocatalizador.

Una vez seleccionadas las mejores condiciones de reacción, se realizaron las pruebas para determinar la eficiencia de la reacción por el uso de diferentes aminocatalizadores. Para estas pruebas se utilizaron cinco diferentes catalizadores **5a-e**, los cuales se muestran en el Esquema 21. La principal diferencia entre los aminocatalizadores utilizados se encuentra en el aumento de tamaño de los sustituyentes en la prolina, esto con la finalidad de obtener a un control de la estereoquímica elevada, favorecido por la transferencia de asimetría desde el catalizador. Dichos resultados se describen en la Tabla 2.



**Esquema 21.** Variación del catalizador en las condiciones de reacción.

**Tabla 2.** Optimización de las condiciones de reacción a través de diferentes aminocatalizadores. Determinación de la pureza enantiomérica.

Exp	Equivalentes <b>4:1</b> <sup>[a]</sup>	Catalizador 20% mol	T [°C]	t [h]	Conversión [%] <sup>[b]</sup>	dr <sup>[c]</sup>	Rend. [%] <sup>[d]</sup>	Ee [%] <sup>[e]</sup>
21	1.5:1	5 <sup>a</sup>	70	22	92	74:25:1	67	63
22	1.5:1	5 <sup>b</sup>	70	46	96	70:29:1	54	83
23	1.5:1	5 <sup>c</sup>	70	54	85	81:18:1	62	5
24	1.5:1	5 <sup>d</sup>	70	96	62	74:16:9	20	26
25	1.5:1	5 <sup>e</sup>	70	96	63	74:13:12	37	2
26	1.5:1	5 <sup>a</sup>	55	54	77	78:21:1	45	81
27	1.5:1	5 <sup>b</sup>	55	96	90	65:33:2	60	80
28	1.5:1	5 <sup>b</sup>	110 (MW)	10	71	77:21:2	34	55
29	1.5:1	5 <sup>b</sup>	130 (MW)	7	Degradación			

**Tabla 2.** <sup>[a]</sup>Escala de reacción **1** (1.0 mmol), **4** (1.5 mmol). <sup>[b]</sup><sup>[c]</sup>Se determinaron en el crudo de reacción por <sup>1</sup>H-RMN. <sup>[d]</sup>Rendimiento del diastereoisómero mayoritario. <sup>[e]</sup>Se determinó por HPLC utilizando una columna quiral Chiracel OD-H.

Con los experimentos 21-29 se determinaron las mejores condiciones de reacción las cuales, nos ayudaron a generar un enantiómero en mayor presencia con respecto del otro. El uso de los catalizadores **5c** y **5e** (experimentos 23 y 25) dieron porcentajes de exceso enantiomérico considerablemente bajos, siendo prácticamente iguales a tener una mezcla racémica, esto es presumiblemente a que el tamaño del sustituyente en el organocatalizador no es lo suficientemente grande para evitar de manera significativa el ataque del dienófilo a la especie intermediaria trienamina por una sola de sus caras. Por esta razón ambos organocatalizadores fueron descartados.

El caso del experimento 24, donde se empleó a **5d** como catalizador dio un porcentaje de exceso enantiomérico mayor a los catalizadores previamente descritos, pero con un valor aún menor del 50%, además de presentar una baja conversión aún después de



96 h de reacción. Caso contrario a lo que ocurrió con el uso de los catalizadores **5a** y **5b** (exp. 21 y 22) con los que se consiguieron porcentajes de excesos enantioméricos de 63 y 83% y conversiones de 92 y 96% en 22 y 46 h.

Una vez seleccionados estos catalizadores, se prosiguió a analizar en qué medida podía afectar la temperatura a la enantioselectividad de la reacción. En este sentido, se realizaron los experimentos 26 y 27, en los cuales empleando a este par de catalizadores, pero a una temperatura ligeramente menor (55°C), se observó que para el catalizador **5a** el porcentaje de exceso enantiomérico aumentó de 63 a 81%, aunque se redujo la conversión al 77% (en 54 h); caso contrario a lo ocurrido al emplear **5b** a 55°C, donde se observó un ligero descenso del exceso enantiomérico de 83 a 80%, con una conversión ligeramente menor al 90% (en 96 h).

Para completar los experimentos referentes a la optimización del exceso enantiomérico se realizaron dos pruebas utilizando las mejores condiciones de reacción, pero llevando a cabo los experimentos en un reactor de microondas tanto a 110°C como a 130°C. Los resultados obtenidos en el experimento 28 señalan un porcentaje de exceso enantiomérico aproximado de 60%, muy por debajo del 83% obtenido en el experimento 22, aun con una buena conversión del 70% en un tiempo menor. Los resultados obtenidos con el experimento 29 no fueron concluyentes, pues aunque hubo una conversión significativa del aldehído derivado de indol, esta fue una reacción de descomposición atribuida principalmente a las altas temperaturas alcanzadas en el experimento (130°C).

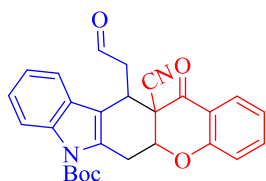
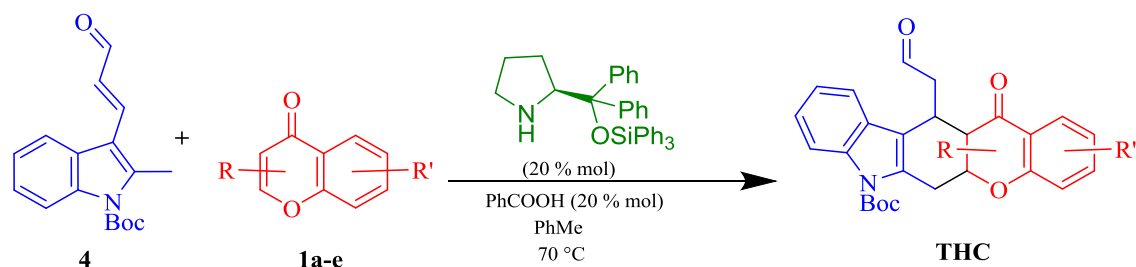
Con estos resultados, se logró seleccionar las mejores condiciones para la reacción de cicloadición organocatalítica, los cuales corresponden a los obtenidos en el experimento 22: donde el uso de 1.5 equivalentes de aldehído derivado de indol **4**, con 1.0 equivalentes de la 3-cianocromona **1**, disueltos en tolueno a 70°C con ácido benzoico al 20% mol como aditivo y a **5b** como organocatalizador (20% mol), nos da como resultado la formación del cicloaducto tetrahydrocarbazólico con una elevada conversión del 96% en menos de 48 h de agitación con un rendimiento del 56% para un solo enantiómero con el 83% de exceso enantiomérico.

## **5.2. Alcance y limitaciones de la reacción de cicloadición.**

### **5.2.1 Reacción con derivados de cromonas.**

Una vez establecidas las mejores condiciones de reacción para la síntesis organocatalítica de **THC-6**, se evaluaron diferentes cromonas con el fin de conocer el alcance y las limitaciones de la reacción, variando la naturaleza de los sustituyentes (electrodonadores y electroattractores) del anillo aromático, así como del sustituyente electroattractor de la posición 3 de la cromona.

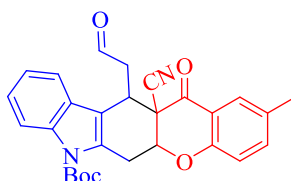
Así, se planteó la síntesis de 6 compuestos tetrahydrocarbazólicos (**6-11**), logrando sintetizar de manera satisfactoria solamente 3 de esos compuestos: **6**, **7** y **8**. Los resultados se muestran en el Esquema 22.



**THC-6**

% conv: 96  
dr: 71:29  
% rend: 51  
% ee: 83

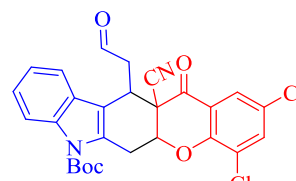
$[\alpha]_D^{24} = (+) 122.1(\text{C}_{0.11}, \text{THF})$



**THC-7**

% conv: 96  
dr: 62:27:11  
% rend: 36  
% ee: 96

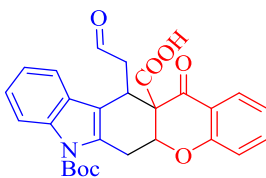
$[\alpha]_D^{24} = (+) 57.0(\text{C}_{0.10}, \text{THF})$



**THC-8**

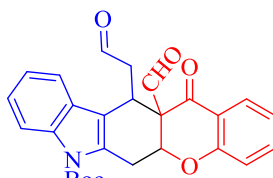
% conv: 96  
dr: 68:28:4  
% rend: 44  
% ee: 94

$[\alpha]_D^{24} = (+) 18.7(\text{C}_{0.11}, \text{THF})$



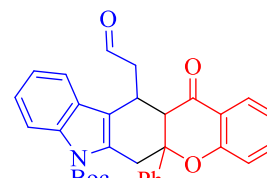
**THC-9**

% conv: <10 %



**THC-10**

% conv: <10 %



**THC-11**

% conv: <10 %

**Esquema 22.** Síntesis de derivados tetrahydrocarbazólicos. Los porcentajes de conversión y dr se determinaron por RMN- $^1\text{H}$ , el porcentaje de rendimiento se determinó con respecto al diastereoisómero mayoritario, el porcentaje de exceso enantiomérico se determinó por HPLC utilizando una columna quiral Chiracel OD-H, la rotación óptica se determinó en THF a las concentraciones previamente mencionadas.

Cuando se llevó a cabo la reacción de cicloadición [4+2] variando el grupo electroatractor ciano de la cromona por grupos electroattractores tales como aldehído, ácido carboxílico o fenilo, la conversión de dicha reacción se ve disminuida. Este efecto de disminución en la conversión es presumiblemente atribuido a la presencia de grupos carbonilo en las cromonas (-COOH para **THC-9** y -COH para **THC-10**) los cuáles podrían estar sufriendo dos tipos de reacción de competencia en la condensación entre el aminocatalizador empleado en la reacción, es decir, el grupo amino del catalizador se encontraría condensando de manera igualmente efectiva con el C=O del derivado de indol **4** como con el C=O presente en la cromonas. Por otro lado, la reacción entre el ácido carboxílico derivado de la cromona, podría estar llevando a cabo una reacción ácido base con el grupo amino del catalizador quiral.

Por otro lado, el uso de la flavona, para la síntesis de **THC-11** podría estar disminuyendo la conversión en la reacción, debido a que el grupo fenilo no funge como un grupo desactivador en la posición correcta de la cromona, imposibilitando así la formación satisfactoria del **THC-11**. Sin embargo, queda abierta la posibilidad de que la presencia de grupos electroattractores presentes en el fenilo de la flavona como ciano (-CN), ácidos carboxílicos, (-COOH), nitro (-NO<sub>2</sub>) o incluso algún halógeno entre otros, podrían ayudar a desactivar dicho grupo funcional y promover así el éxito en la reacción.

La reacción de formación de los THC **THC-7** y **THC-8** se logró de manera satisfactoria en las condiciones de reacción previamente establecidas, con buenos porcentajes de conversión, valores considerables de *dr* y especialmente con buenos rendimientos para un solo enantiómero. También se ha demostrado que presentan un buen porcentaje de *ee* y con eso, la obtención de un único producto.

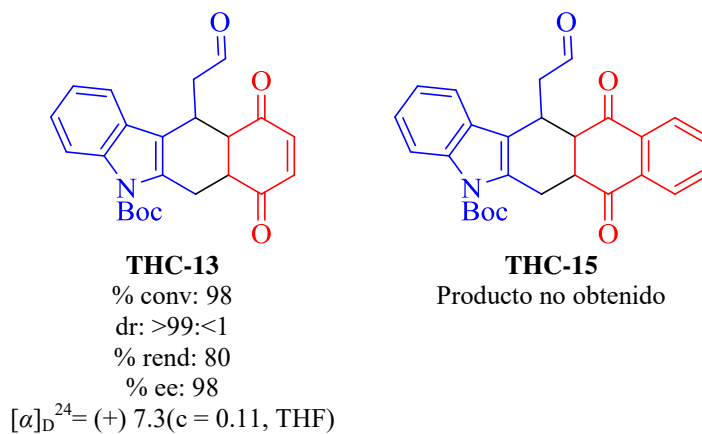
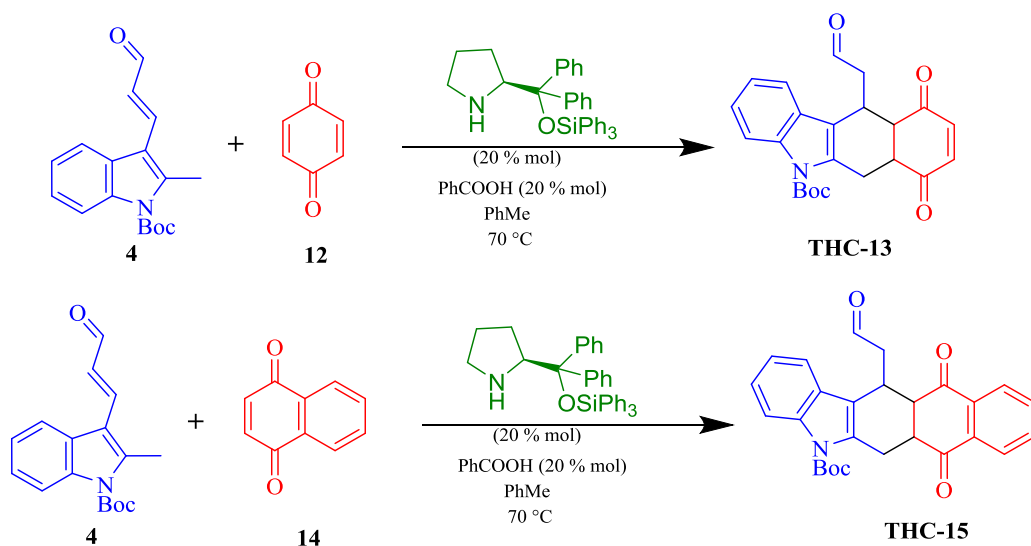
### 5.2.2 Reacción con otros dienófilos: derivados de benzo- y naftoquinonas.

Con base en los resultados previamente obtenidos, se evaluaron las mismas condiciones de reacción, pero aplicadas a diferentes tipos de dienófilos, tal es el caso de derivados de benzo- y naftoquinonas. Este estudio se realizó con la 1,4-benzoquinona **12** para obtener el derivado **THC-13**, así como con la 1,4-naftoquinona **14** para obtener la especie **THC-15**. Los resultados se muestran en el Esquema 23.

La reacción entre el aldehído derivado de indol y la 1,4-benzoquinona, para generar el aducto **THC-13**, se llevó a cabo de manera satisfactoria con los parámetros previamente establecidos. Sin embargo, la reacción no concluyó al cabo de las 72 h previamente establecidas, mostrando un alto nivel de conversión hacia un único producto, razón por la cual se decidió finalizar la reacción al cabo de 96 h. Dada la simetría de la benzoquinona, es que presumiblemente se obtiene un solo producto de cicloadición. Con excelente rendimiento así como exceso enantiomérico.

Por otro lado, de manera desafortunada, la síntesis del aducto **THC-15** (Esquema 23) no fue exitosa. Inicialmente, el proceso de la reacción demostraba ser viable siendo que tanto por cromatografía en placa fina, como por lo observado en el espectro del crudo por <sup>1</sup>H-RMN se observaba conversión. En consecuencia, se realizó la purificación de la reacción y se llevaron a cabo todos los experimentos analíticos necesarios para la elucidación estructural, encontrando que el producto aislado no era el esperado.

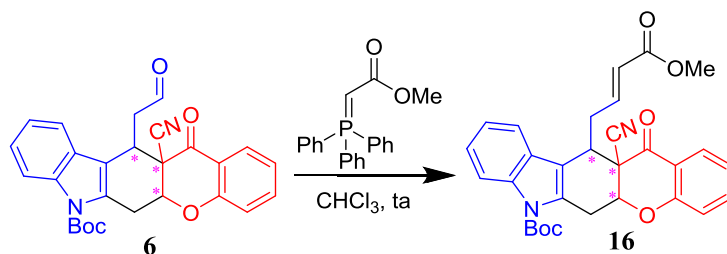
Al realizar todos los estudios necesarios, se llegó a la conclusión de que probablemente la naftoquinona en las condiciones de reacción, sufre una aromatización en su estructura antes de que pueda reaccionar con el aldehído, además de que éste sufre una notoria descomposición por el tiempo de reacción (>96 h a una temperatura de 70°C).



**Esquema 23.** Síntesis de derivados tetrahydrocarbazólicos a partir de benzo- y naftoquinonas. El porcentaje de conversión y dr se determinaron por RMN  $^1\text{H}$ , el porcentaje de rendimiento se determinó con respecto al diastereoisómero mayoritario, el porcentaje de exceso enantiomérico se determinó por HPLC utilizando una columna quiral Chiracel OD-H, La rotación óptica se determinó en THF a las concentraciones mencionadas.

### 5.3 Transformación sintética al aducto THC-6

Una vez sintetizado el aducto tetrahydrocarbazólico **THC-6** y con la finalidad de demostrar su aplicación sintética, se plantearon inicialmente diversas transformaciones en sus grupos funcionales, se le dió principal importancia a la reacción de tipo Wittig, la cual se muestra en el Esquema 24.

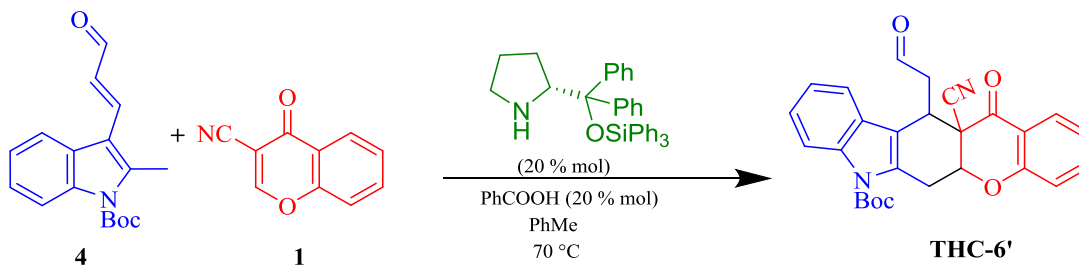


**Esquema 24.** Reacción de Wittig en el derivado **THC-6**

La reacción dió como resultado la síntesis eficiente de la olefina de Wittig **THC-16**, en un tiempo aproximado de 12 h y con 62% rendimiento.

#### 5.4 Síntesis del enantiómero de THC-6 (THC-6')

Se realizó la síntesis del enantiómero de **THC-6**, denominado **THC-6'**, mediante el uso del enantiómero del catalizador **5b**, bajo las mismas condiciones de reacción, esto para evaluarlo en la actividad biológica.



**Esquema 25.** Síntesis del aducto **THC-6'**

## 6. ACTIVIDAD BIOLÓGICA.

### 6.1 Pruebas de Actividad Biológica: Evaluación de la actividad ansiolítica y antidepresiva.

Los alcaloides son un amplio grupo de productos naturales con importancia biológica, los cuales poseen una amplia diversidad estructural, siendo de importancia, alcaloides del tipo isoquinolina, pirrolizidina, indol, carbazólicos, entre otros. Estudios previos han demostrado que poseen importantes actividades farmacológicas tales como, citotóxicos, analgésicos, antiinflamatorios y sobre todo, en efectos en el sistema nervioso central.

Por otro lado, a pesar de que compuestos del tipo indol, carbazólico y tetrahydrocarbazólico son estructuras base de alcaloides de importancia biológica, no se han reportado muchos estudios acerca de la acción de este tipo de compuestos en el sistema nervioso central, motivo por el cual, se decidió evaluar al aducto **THC-6** como posible ansiolítico y antidepresivo.

Cabe señalar que debido al resultado obtenido en la síntesis de **THC-6**, donde se logró aislar solo un diastereoisómero con un buen exceso enantiomérico, se decidió sintetizar el enantiómero opuesto con el fin de poder referenciar la acción biológica del par de enantiómeros.

### 6.2 Metodología

#### 6.2.1 Animales

Los ratones se obtuvieron del bioterio de la División de Ciencias Naturales y Exactas (Universidad de Guanajuato, México) y se alojaron en jaulas con alimento y agua *ad libitum*. El protocolo experimental fue aprobado por el Comité Institucional de Bioética en Investigación de la Universidad de Guanajuato (CIBIUG-P30-2019) antes del comienzo de todos los experimentos.

#### 6.2.2 Tratamiento Farmacológico

Los ratones fueron divididos en seis grupos (n=8, para cada grupo) como se describe a continuación: el Grupo I se utilizó como control negativo (solución salina), el Grupo II recibió 1.5 mg/Kg (p.o.) de clonazepam (CNZ) o 20 mg/Kg de fluoxetine (FLX) los Grupos III-VI, fueron tratados con el **THC-6** en concentraciones de 0.1, 1, 10 y 25 mg/Kg (p.o.) Los ratones recibieron el tratamiento una hora antes de cada experimento. Después del tratamiento, cada experimento se realizó como se describe a continuación.

### 6.2.3 Prueba exploratoria del cilindro

Los animales fueron puestos de manera individual en cilindros de acrílico (45 cm de alto, 20 cm de diámetro con paredes de 3 mm), colocado verticalmente en una habitación libre de ruido. La cantidad de elevaciones se grabaron en video durante 5 minutos (Oliva *et al.*, 2004).<sup>40</sup> Los valores ED<sub>50</sub> se calcularon mediante análisis de regresión lineal.

### 6.2.4 Prueba de suspensión de la cola (TST)

Los ratones fueron suspendidos individualmente a 50 cm del suelo en el borde de una mesa, fijado con cinta adhesiva colocada a 1 cm de la punta de la cola. La duración de inmovilidad (s) fue grabado por 5 min con una cámara digital (Peng *et al.*, 2007; Castagné *et al.*, 2010).<sup>41, 42</sup>

### 6.2.5 Análisis estadístico

Los resultados fueron expresados como media  $\pm$  error estándar de la media (SEM). Los resultados fueron analizados empleando pruebas de ANOVA y de Dunnett. Un valor de  $p < 0.05$  fue considerado como estadísticamente significativo.

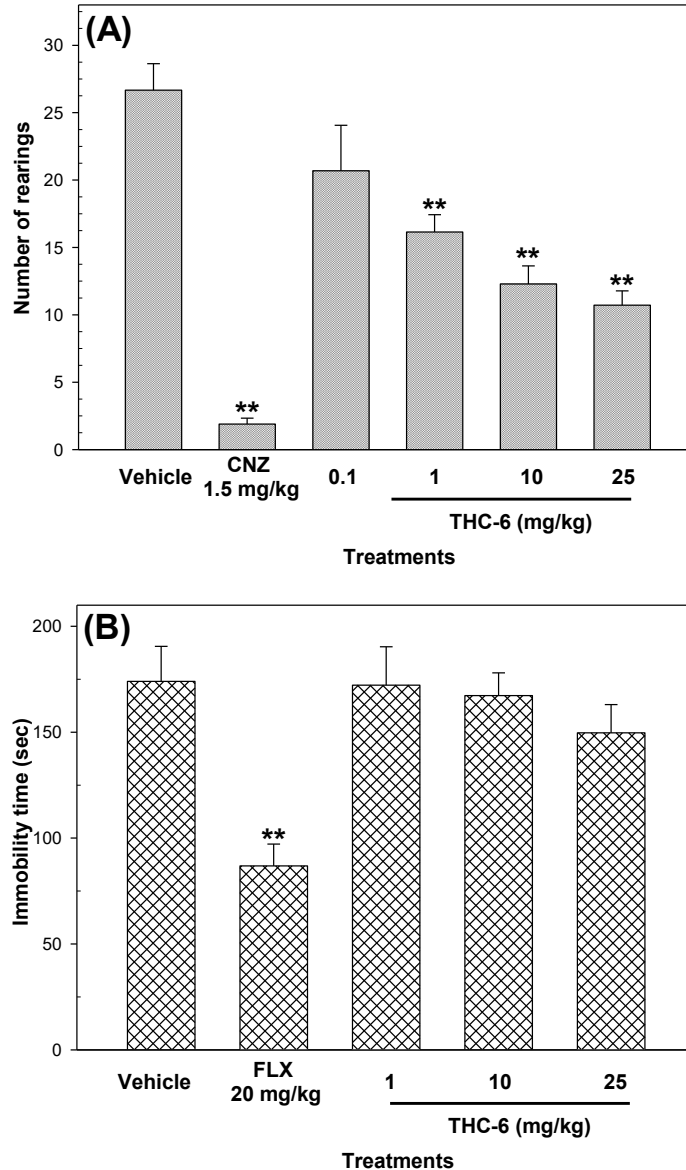
## **6.3 Resultados**

El **THC-6** mostró actividad como ansiolítico en forma dependiente de la dosis (Figura 2A). El valor de E<sub>max</sub> y el valor de la dosis efectiva 50 fue de 61.1% (25 mg/Kg) y 4.1 mg/Kg respectivamente. El **THC-6** ejerció un efecto como antidepresivo con E<sub>max</sub> = 16 % (Figura 2B).

El enantiómero **THC-6'** mostró una ED<sub>50</sub> > 50 mg/Kg en la prueba exploratoria del cilindro y en la prueba de suspensión de cola (no mostró resultados). Los controles positivos CNZ (1.5 mg/Kg) y FLX (20 mg/Kg) indujeron acciones ansiolítica y antidepresiva por 90% y 49%, respectivamente (Figura 2).

## **Discusión**

La prueba exploratoria del cilindro evalúa la aversión de los ratones a nuevos ambientes abiertos (Aguirre-Hernández *et al.*, 2007). La prueba TST induce un comportamiento de inmovilidad, que conduce a la desesperación en los animales, que emula la depresión humana (Castagné *et al.*, 2010). Los resultados mostraron que el **THC-6** indujo un comportamiento de tipo ansiolítico y bajas acciones de tipo antidepresivo en ratones.



**Figura 2.** Efectos ansiolíticos y antidepresivos de **THC-6**.

Los efectos ansiolíticos y antidepresivos del **THC-6** (0.1-25 mg/Kg p.o.) fueron evaluados usando la prueba exploratoria del cilindro registrando el número de elevaciones (A) y la prueba de suspensión de cola grabando el tiempo de inamovilidad (B). Grupos adicionales fueron administrados con 1.5 mg/Kg de clonazepam (CNZ) y fluoxetina (FLX) como control positivos o los vehículos (solución salina). Los datos demostrativos de dos experimentos en paralelo (n=8). Los resultados representan la media  $\pm$  error estándar de la media (SEM). \*\* representa  $p \leq 0.05$  a comparación del grupo vehículo para las pruebas de ANOVA y de Dunnett.

<sup>40</sup> Oliva, I., González-Trujano, M. E., Arrieta, J., Enciso-Rodríguez, R., Navarrete, A., *Phytotherapy Research*, **2004**, *18*, 290-296.

<sup>41</sup> Castagné, V., Moser, P., Roux, S., Porsolt, R. D., *Current Protocols in Neuroscience*, **2011**, *55*, 8-10.

<sup>42</sup> Peng, W. H., Lo, K. L., Lee, Y. H., Hung, T. H., Lin, Y. C., *Life Sciences*, **2007**, *81*, 933-938.

<sup>43</sup> Aguirre-Hernández, E.; Martínez, A., González-Trujano, M., Moreno, J., Vibrans, H., Soto-Hernández, M., *J. Ethnopharmacol*, **2007**, *109*, 140-145



## 7. CONCLUSIONES

En conclusión, se logró desarrollar una metodología sintética basada en el modo de activación trienamino, para la obtención enantioselectiva de tetrahidrocarbazoles, los cuales son esqueletos base de alcaloides de importancia biológica.

El presente estudio permitió observar el papel que tuvo el aminocatalizador quiral estéricamente impedido, para favorecer la alta enantioselectividad en la reacción de cicloadición [4+2].

Se lograron sintetizar diferentes derivados tetrahidrocarbazólicos funcionalizados, demostrando así la viabilidad de la reacción, además de que nos abre el panorama hacia la aplicación de dichas estructuras como bloques de construcción de moléculas más complejas o para la síntesis de productos naturales.

Finalmente, el derivado tetrahidrocarbazólico **THC-6**, demostró poseer una importante actividad ansiolítica y antidepresiva en ratones. Del mismo modo, el enantiómero **THC-6'** perdió la actividad biológica, demostrando que la estereoquímica asociada a este tipo de compuestos es fundamental. Cabe señalar que este es el primer estudio sobre la actividad ansiolítica y antidepresiva de derivados del tipo tetrahidrocarbazólicos.

## 8. PERSPECTIVAS

\* Estudio de la reacción de cicloadición [4+2] en derivados de la benzoquinona con patrones de sustitución con grupos electroattractores y electrodonadores.

\* Estudio del comportamiento de la reacción con naftoquinonas, así como la búsqueda de las mejores condiciones de reacción para evitar los problemas observados en el presente proyecto.

\* Evaluación de la actividad ansiolítica y antidepresiva de los derivados tetrahidrocarbazólicos sintetizados de la 3-cianocromona y de la benzoquinona sustituidas, esto con el fin de formar pequeñas bibliotecas de compuestos con variedad funcional y de actividad biológica.

## 9. SECCIÓN EXPERIMENTAL

En este apartado se proporcionan detalles de la síntesis y los datos de caracterización analítica y espectroscópica de los diversos compuestos obtenidos.

Los disolventes utilizados como medio de reacción ( $\text{CHCl}_3$ , THF, MeCN, tolueno, 1,4-dioxano, EtOH, MeOH, DMF, DCM, etc.) a menos que se indique lo contrario, se utilizaron en grado analítico y los reactivos disponibles comercialmente, sin purificación adicional. La cromatografía de capa fina se desarrolló en placas de gel de sílice sobre soporte de aluminio (Merk Kiesegel 60 F<sub>254</sub>). La purificación de las reacciones se llevó a cabo sobre columnas cromatográficas empleando gel de sílice como fase estacionaria (60 malla 230-400).

Los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  fueron obtenidos en un espectrómetro Bruker Ascend™ (500 MHz para  $^1\text{H}$  y 126 MHz para  $^{13}\text{C}$ ), Bruker Ascend™ (400 MHz para  $^1\text{H}$  y 100 MHz para  $^{13}\text{C}$ ) y Bruker Avance III HD 500™ (500 MHz para  $^1\text{H}$  y 126 MHz para  $^{13}\text{C}$ ) en  $\text{CDCl}_3$ . Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) de los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  están referenciados con respecto a la señal residual del  $\text{CHCl}_3$ , 7.26 ppm en  $^1\text{H}$  y 77.16 ppm en  $^{13}\text{C}$  respectivamente. Los datos de los espectros se reportan en el siguiente orden: Desplazamiento químico en ppm ( $\delta$ ), multiplicidad, la constante de acoplamiento en Hz ( $J$ ) e integración. Las multiplicidades se reportan como *s* (singulete), *d* (doblete), *dd* (doble de dobletes), *ddd* (doble de doble de dobletes), *t* (triplete), *dt* (doble de triplete), *ddq* (doble de doble de cuádruplete), *q* (cuádruplete), o *m* (multiplete).

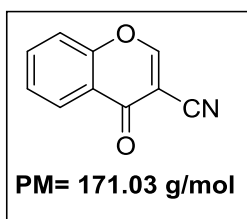
La proporción diastereomérica (dr) de los productos fue determinada por  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz). El exceso enantiomérico (ee) fue determinado por cromatografía líquida de alta resolución (High Performance Liquid Chromatograph HPLC) con columnas quirales Chiralcel OD-H, OJ-H, OB-H, y Chiralpack AS-H y AD-H, y un sistema de disolventes *i*-PrOH/hexano como eluyente, en un equipo Shimadzu Prominence – i. Las trazas de HPLC de los compuestos enantioméricamente enriquecidos sintetizados se compararon con las correspondientes muestras racémicas.

Los puntos de fusión fueron obtenidos en un aparato automatizado EXMelt y se reportan en grados Celsius ( $^{\circ}\text{C}$ ) y no están corregidos.

Las rotaciones ópticas fueron obtenidas mediante Bellingham Stanley™ ADP440+ Model Digital Polarimeter.

## 9.1. Síntesis del dienófilo.

### 9.1.1. Síntesis de 3-cianocromona **1**



A una solución de  $\text{POCl}_3$  (3.7 mL, 40 mmol) en DMF (6.2 mL) a 0 °C se dejó agitar por 30 min. Al cabo de este tiempo, a la mezcla de reacción se le adicionó 2'-hidroxiacetofenona (1.4 g, 10 mmol), la mezcla de reacción se removió del baño de hielo, permitiendo que la reacción ocurriera a temperatura ambiente por 4 h. La reacción se monitoreó mediante CCF para corroborar el término de la reacción.

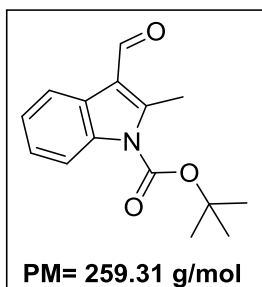
Una vez finalizada la reacción, se agregaron 40 ml de DCM y la mezcla de reacción se llevó a 0 °C. Se adicionó  $\text{H}_2\text{NOH}\cdot\text{HCl}$  (2.1 g, 30 mmol) en DMF (10 mL) a 0 °C y se dejó agitar por 4 h a temperatura ambiente, finalmente se añadió agua destilada fría (100 mL).

Al crudo de reacción se extrajo con DCM (2x20 ml), a la fase orgánica se le realizó un lavado con agua destilada (10 mL), seguida de otro lavado con solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (10 mL), y finalmente otro lavado con agua destilada (50 mL). La fase orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna (20% AcOEt/hexanos) para obtener **1** como un sólido amarillo translúcido (1.1 g, 68%).  $pf = 174\text{-}176$  °C.

$^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.42 (s, 1H), 8.25 (dd,  $J = 8.0, 1.7$  Hz, 1H), 7.79 (ddd,  $J = 8.8, 7.2, 1.7$  Hz, 1H), 7.58 – 7.49 (m, 2H).

## 9.2. Síntesis del aldehído de indol $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturado **4**

### 9.2.1. Síntesis de *tert*-butil 3-formil-2-metil-1*H*-indol-1-carboxilato **2**<sup>44</sup>



A una solución de 2-metil-1*H*-indol-3-carbaldehído (6 g, 37,73 mmol) en MeCN (150 mL) se adicionó DMAP (0.46 g, 3.77 mmol) seguido de *tert*-butil dicarbonato (10.8 mL, 45.28 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente por 4 h.

El crudo de reacción se concentró y posteriormente se redisolvió en DCM (20 mL). Se trató con una solución de  $\text{NaHCO}_3$  (3x20 mL) y se realizó una extracción con DCM (3x20 mL). La fase orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .

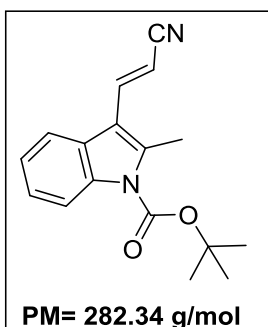
El disolvente se removió a sequedad seguido de una recristalización utilizando MeOH dando el producto deseado (8.3 g, 85%) en forma de un sólido de color amarillo pálido.  $pf = 110$ °C.

<sup>44</sup> Dhayalan, V.; Clement, J. A.; Jagan, R.; Mohanakrishnan, A. K. Eur. J. Org. Chem. **2009**, 4, 531-546.

**$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  10.34 (s, 1H), 8.33-8.29 (m, 1H), 8.08-8.04 (m, 1H), 7.35-7.31 (m, 2H), 2.93 (s, 3H), 1.72 (s, 9H) ppm.

**$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  186.09, 149.99, 149.02, 135.69, 126.23, 125.12, 124.58, 121.14, 118.53, 115.20, 85.80, 28.31, 13.98 ppm.

### 9.2.2. Síntesis de *tert*-butil (*E*)-3-(2-cianovinil)-2-metil-1*H*-indol-1-carboxilato **3**



A una solución de dietilcianometil fosfonato (3.58 g, 20.2 mmol) en THF anhidro (30 ml) a 0 °C, se añadió gota a gota *n*-butilitio (18.6 mmol, 2.5 M en hexanos) y la mezcla de reacción se agitó por 1 h a la misma temperatura.

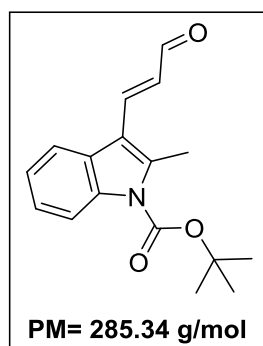
Se preparó una solución de **2** (15.5 mmol) en THF anhidro (20 ml). A esta se adicionó gota a gota la solución del reactivo de Wittig vía cánula. Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó a 0 °C por 5 h. Posteriormente, la reacción se concentró y el residuo se recrystalizó utilizando DCM/hexanos para obtener el nitrilo como un

sólido color baige (3.1 g, 71%). *pf*=117-123 °C.

**$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  8.18-8.12 (m, 1H), 7.69-7.65 (m, 1H), 7.59 (d,  $J$ =16.6 Hz, 1H), 7.35-7.28 (m, 1H), 5.92 (d,  $J$ =16.6 Hz, 1H), 2.69 (s, 3H), 1.70 (s, 9H) ppm.

**$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  150.07, 142.45, 141.22, 136.39, 126.42, 124.79, 123.97, 119.49, 119.08, 115.90, 114.44, 94.78, 85.37, 28.33, 14.47 ppm.

### 9.2.3. Síntesis de *tert*-butil (*E*)-2-metil-3-(3-oxoprop-1-en-1-il)-1*H*-indol-1-carboxilato **4**<sup>34</sup>



Una solución del nitrilo **3** (2.8 g, 10 mmol) en tolueno anhidro (60 mL) se llevó a cabo a -78 °C y se adicionó una solución de DIBAL-H en hexanos (1 M, 12 mL) gota a gota durante 10 min. La mezcla de reacción se agitó a -78 °C por 6 h. Posteriormente se adicionó metanol (4 mL) a la misma temperatura. La mezcla de reacción fue llevada a temperatura ambiente y después se adicionó HCl 1 M (20 mL) y se agitó por 2 min. Se agregó 40 mL de AcOEt y se separó la fase orgánica.

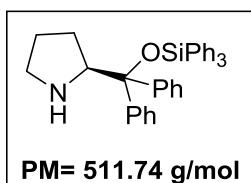
El producto crudo se extrajo con AcOEt (3x20 mL). Las fases orgánicas se combinaron y se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se concentraron y el residuo se purificó por cromatografía en columna (20% AcOEt/hexanos) para obtener **4** como un sólido de color amarillo (1.2 g, 46%). *pf*= 85-87 °C.

**$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  9.69 (d,  $J$ =7.6 Hz, 1H), 8.14 (d,  $J$ =7.8 Hz, 1H), 7.81 (d,  $J$ =7.2 Hz, 1H), 7.71 (d,  $J$ = 15.9, 1H), 7.36-7.29 (m, 2H), 6.86 (dd,  $J$ =15.9, 7.6 Hz, 1H), 2.76 (s, 3H), 1.71 (s, 9H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  194.40, 150.13, 144.60, 142.29, 136.46, 128.01, 126.79, 124.75, 123.99, 119.70, 115.74, 114.89, 85.36, 28.34, 14.55 ppm.

### 9.3. Síntesis del catalizador quiral.

#### 9.3.1. Síntesis de (*S*)- $\alpha,\alpha$ -difenil-2-pirrolidin-metanol-trimetilsilil-éter **5b**<sup>45, 46</sup>



A una solución de (*S*)- $\alpha,\alpha$ -difenilprolinol (0.5 g, 1.97 mmol) en THF anhidro se adicionó sucesivamente cloruro de trimetilsilano (1.0 g, 3.45 mmol) y DMAP (0.48 g, 3.94 mmol).

La mezcla de reacción se calentó a reflujo por 20 h. Posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente y se adicionó  $\text{H}_2\text{O}$  (1 mL). El disolvente se evaporó y se realizó una extracción DCM/ $\text{H}_2\text{O}$  (3x30 mL). La fase orgánica se separó, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (5% EtOH/DCM). El producto se consiguió como un aceite ligeramente café que después de recristalizar con AcOEt se observa como un sólido color blanco (1.4 g, 70%). *pf*= 147-150 °C.

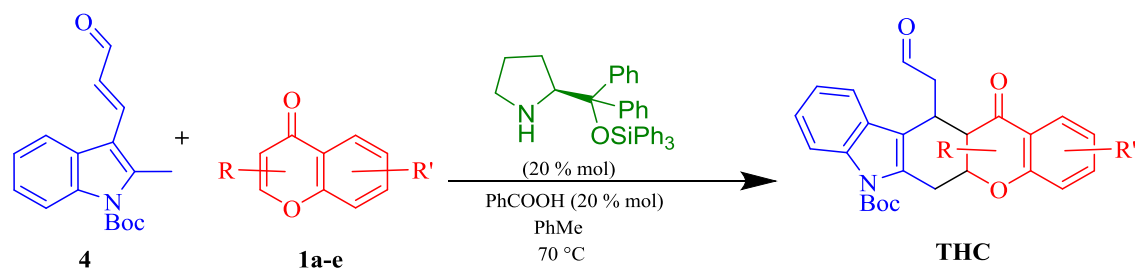
$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.64-7.63 (m, 1H), 7.45-7.28 (m, 14H), 7.25-7.07 (m, 10H), 3.97 (t,  $J$ = 7.6 Hz, 1H), 2.69-2.65 (m, 1H), 2.57-2.48 (m, 1H), 1.82-1.77 (m, 1H), 1.49-1.44 (m, 2H), 1.31-1.26 (m, 1H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  136.40, 135.62, 135.14, 130.24, 129.48, 129.23, 128.06, 127.84, 127.67, 127.61, 127.25, 126.88, 85.13, 65.35, 47.10, 28.14, 25.18 ppm.

<sup>45</sup> Gómez-Bengoá, E.; Landa, A.; Lizarraga, A.; Mielgo, A.; Oiarbide, M.; Palomo, C. Chem. Sci. **2011**, *2*, 353-357.

<sup>46</sup> Villegas Gómez, C.; Cruz, D. C.; Mose, R.; Jørgensen, K. A. Chem. Commun. **2014**, *50*, 6035-6038.

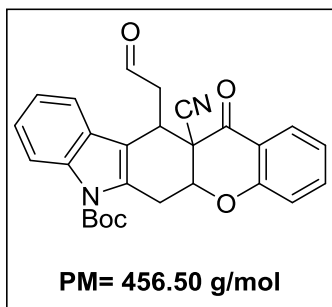
#### 9.4. Procedimiento general para la síntesis de los derivados tetrahidrocarbazólicos THC.



En un vial equipado con un agitador magnético se preparó una solución del catalizador **5b** (20% mol) en tolueno (0.4-0.8 mL). Posteriormente se adicionó el correspondiente aldehído (1.5 equiv) y a menos que se indique lo contrario, se adicionó PhCO<sub>2</sub>H como aditivo (20% mol) para llevar a calentamiento a 70°C. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación por al menos 10 min. Posteriormente se agregó el dienófilo (1.0 equiv). La mezcla de reacción se agitó por 72 h luego, se concentró a sequedad y se purificó por cromatografía en columna (15% AcOEt/hexanos).

**Síntesis de racemato:** Los racematos se prepararon con base al procedimiento general de las reacciones de cicloadición [4+2] anteriormente descrita, utilizando una mezcla 1:1 de los catalizadores (*S*)-**5a** y (*R*)-**5a**.

#### 9.4.1. Síntesis de *tert*-butil 12a-ciano-13-oxo-12-(2-oxoetil)-6,12,12a,13-tetrahidrocronen[2,3-*b*]carbazol-7(5a*H*)-carboxilato **THC-6**



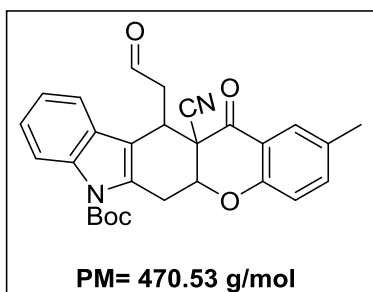
El producto se obtuvo como una mezcla de diastereoisómeros 71:29 siguiendo la metodología general para la reacción de cicloadición [4+2] organocatalítica. Se utilizó el catalizador **5b** (0.02 mmol, 10mg), el aldehído **4** (0.15 mmol, 43 mg), el dienófilo **1** (0.1 mmol, 17.2 mg), PhCO<sub>2</sub>H (0.02 mmol, 2.5 mg) en tolueno (0.4 mL). El exceso enantiomérico se determinó por HPLC empleando una columna quiral Chiralcel OD-H (90:10 Hexanos/*i*-PrOH), flujo: 1 mL/min,  $\lambda = 210$  nm;  $\tau_{\text{mayor}} = 13.12$  min,  $\tau_{\text{menor}} = 28.08$  min.

El producto deseado se observó como un sólido amarillento en forma de espuma con un rendimiento del 51% y 83% de exceso enantiomérico.

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$  9.89 (s, 1H), 8.18 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.94 (dd,  $J = 7.9, 1.7$  Hz, 1H), 7.58 (ddd,  $J = 8.7, 7.2, 1.8$  Hz, 1H), 7.29 (ddd,  $J = 8.5, 5.0, 3.5$  Hz, 1H), 7.21 – 7.09 (m, 3H), 6.99 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 5.17 (d,  $J = 3.9$  Hz, 1H), 4.39 (s, 1H), 3.80 (ddd,  $J = 19.2, 4.6, 2.7$  Hz, 1H), 3.69 (d,  $J = 19.6$  Hz, 1H), 3.51 – 3.37 (m, 2H), 1.71 (s, 9H) ppm.

**<sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$  198.38, 150.04, 137.54, 136.16, 130.54, 128.58, 126.88, 124.46, 123.10, 122.98, 118.15, 118.06, 117.43, 116.04, 115.98, 115.06, 84.78, 76.06, 44.29, 29.71, 28.29, 27.53 ppm.

#### 9.4.2. Síntesis de *tert*-butil 12a-ciano-2-metil-13-oxo-12-(2-oxoetil)-6,12,12a,13-tetrahidrochromen[2,3-*b*]carbazol-7(5a*H*)-carboxilato **THC-7**



El producto se obtuvo como una mezcla de diastereoisómeros 62:27:11 siguiendo la metodología general para la reacción de cicloadición [4+2] organocatalítica. Se utilizó el catalizador **5b** (0.02 mmol, 10 mg), el aldehído **4** (38 mg, 0.135 mmol), el dienófilo **1a** (15.6 mg, 0.090 mmol) PhCO<sub>2</sub>H (0.018 mmol) como aditivo en tolueno (0.4 mL). El exceso enantiomérico se determinó por HPLC empleando una columna quiral

Chiralcel OD-H (90:10 Hexanos/*i*-PrOH, flujo: 1 mL/min,  $\lambda = 210$  nm;  $\tau_{\text{mayor}} = 10.92$  min,  $\tau_{\text{menor}} = 27.19$  min.

El producto deseado se observó como un sólido amarillento en forma de espuma con un rendimiento del 36% y 96% de exceso enantiomérico.

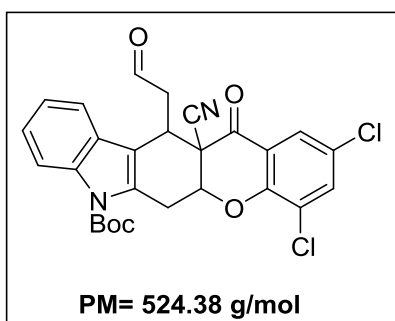
**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$  9.89 (s, 1H), 8.18 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.71 (dd,  $J = 2.3, 1.0$  Hz, 1H), 7.39 – 7.35 (m, 1H), 7.29 (ddd,  $J = 8.5, 5.1, 3.4$  Hz, 1H), 7.19 – 7.15 (m, 2H),



6.88 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 5.13 (t,  $J = 3.7$  Hz, 1H), 4.37 (s, 1H), 3.79 (ddd,  $J = 19.2, 4.5, 2.6$  Hz, 1H), 3.67 (d,  $J = 19.3$  Hz, 1H), 3.50 – 3.36 (m, 2H), 2.34 (s, 3H), 1.71 (s, 9H). ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  138.70, 128.00, 124.42, 122.96, 118.14, 117.83, 116.03, 28.30, 27.59, 20.50 ppm.

#### 9.4.3. Síntesis de *tert*-butil 2,4-dicloro-12a-ciano-13-oxo-12-(2-oxoetil)-6,12,12a,13-tetrahidrocromen[2,3-*b*]carbazol-7(5a*H*)-carboxilato **THC-8**



El producto se obtuvo como una mezcla de diastereoisómeros 68:28:4 siguiendo la metodología general para la reacción de cicloadición [4+2] organocatalítica. Se utilizó el catalizador **5b** (0.018 mmol), el aldehído **4** (38 mg, 0.135 mmol), el dienófilo **1b** (21.5 mg, 0.090 mmol)  $\text{PhCO}_2\text{H}$  (0.018 mmol) como aditivo en tolueno (0.4 mL). El exceso enantiomérico se determinó por HPLC empleando una columna quiral Chiralcel OD-H (90:10 Hexanos/*i*-PrOH, flujo: 1 mL/min,

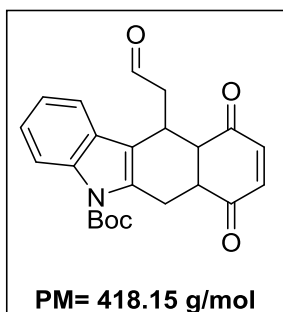
$\lambda = 210$  nm;  $\tau_{\text{mayor}} = 13.17$  min,  $\tau_{\text{menor}} = 37.58$  min.

El producto deseado se observó como un sólido rosado en forma de espuma con un rendimiento del 44% y 98% de exceso enantiomérico.

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.89 (s, 1H), 8.17 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.81 (d,  $J = 2.5$  Hz, 1H), 7.64 (d,  $J = 2.6$  Hz, 1H), 7.31 (ddd,  $J = 8.5, 6.5, 1.9$  Hz, 1H), 7.19 (h,  $J = 6.9, 6.5$  Hz, 2H), 5.22 (s, 1H), 4.38 (s, 1H), 3.85 (ddd,  $J = 19.3, 4.7, 2.5$  Hz, 1H), 3.73 (d,  $J = 20.0$  Hz, 1H), 3.50 – 3.37 (m, 2H), 1.72 (s, 9H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  198.14, 150.04, 137.12, 136.12, 130.26, 128.45, 126.74, 126.39, 124.62, 124.34, 123.06, 119.33, 118.11, 116.11, 115.25, 114.57, 85.00, 53.44, 44.22, 29.72, 28.30, 27.24 ppm.

#### 9.4.4. Síntesis de *tert*butil 7,10-dioxo-11-(2-oxoetil)-6,6a,7,10,10a,11-hexahidro-5*H*-benzo[*b*]carbazol-5-carboxilato **THC-13**



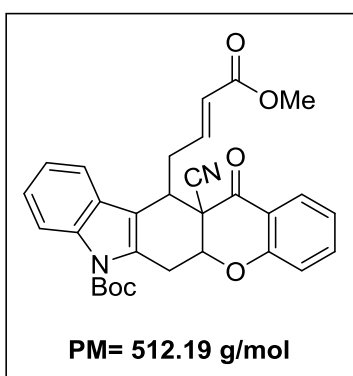
El producto se obtuvo como una mezcla de diastereoisómeros >99:<1 siguiendo la metodología general para la reacción de cicloadición [4+2] organocatalítica. Se utilizó el catalizador **5b** (0.018 mmol), el aldehído **4** (38 mg, 0.135 mmol), la 2,4-benzoquinona **12** (10 mg, 0.090 mmol),  $\text{PhCO}_2\text{H}$  (0.018 mmol) como aditivo en tolueno (0.4 mL). El exceso enantiomérico se determinó por HPLC empleando una columna quiral Chiralcel AD-H (98:2 Hexanos/*i*-PrOH, T= 35 °C, flujo: 1 mL/min,  $\lambda = 210$  nm;  $\tau_{\text{mayor}} = 15.09$  min,  $\tau_{\text{menor}} = 24.49$  min.

El producto deseado se observó como un sólido amarillento en forma de espuma con un rendimiento del 80% y 98% de exceso enantiomérico.

**<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 9.85 (s, 1H), 8.12 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.35 (ddd, J = 8.5, 3.8, 1.7 Hz, 1H), 7.29 (ddt, J = 6.1, 4.6, 1.9 Hz, 2H), 7.26 – 7.19 (m, 1H), 4.21 (p, J = 2.0 Hz, 1H), 3.75 (dd, J = 18.3, 1.7 Hz, 1H), 3.35 (q, J = 3.1 Hz, 1H), 3.19 (dd, J = 18.3, 6.2 Hz, 1H), 2.86 (dt, J = 4.1, 2.2 Hz, 1H), 2.65 (dt, J = 19.8, 2.3 Hz, 1H), 2.54 (dd, J = 19.8, 3.2 Hz, 1H), 1.69 (s, 9H) ppm.

## **9.5. Transformaciones.**

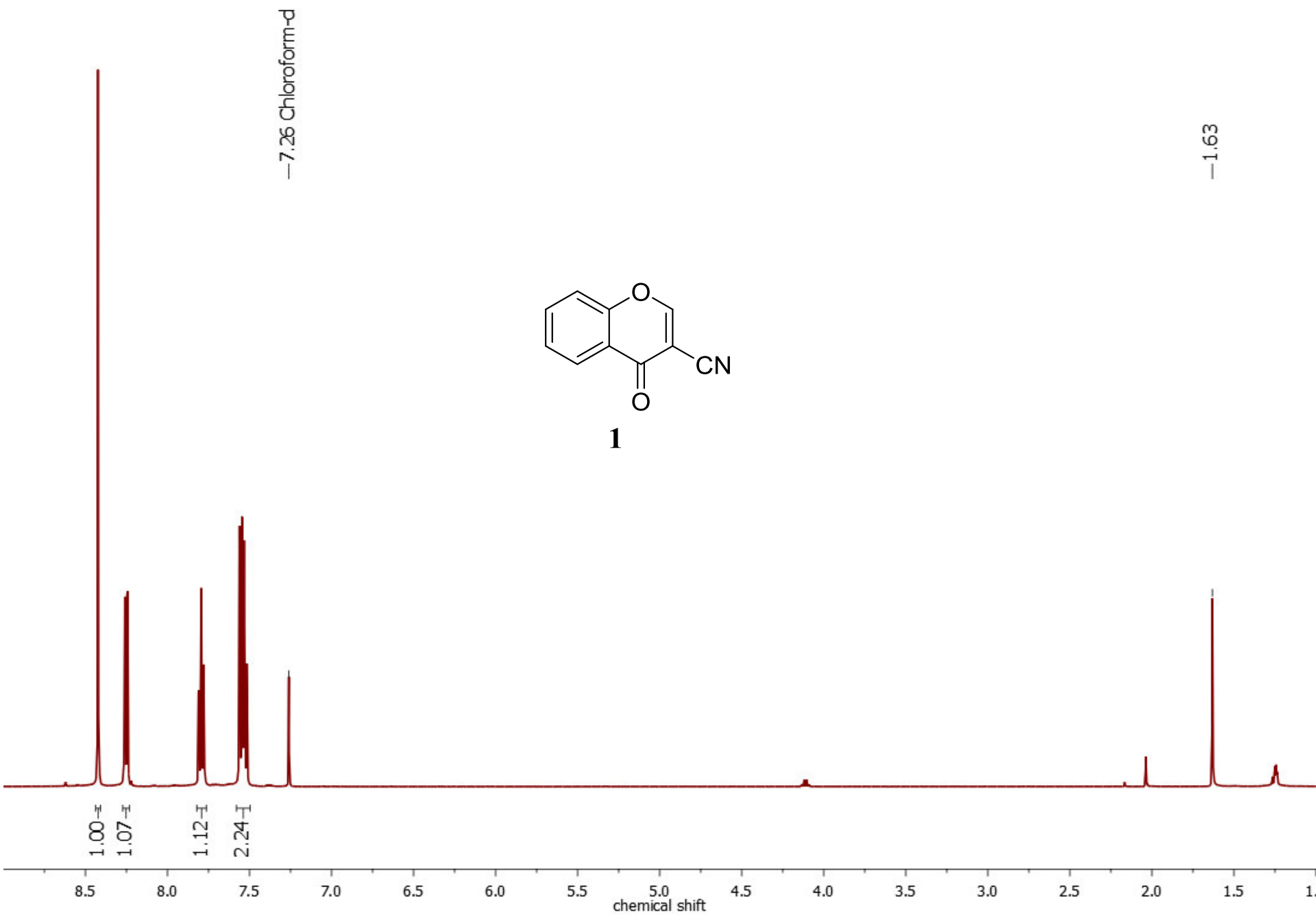
### **9.5.1. Reacción de olefinación de Wittig: síntesis de **THC-16****

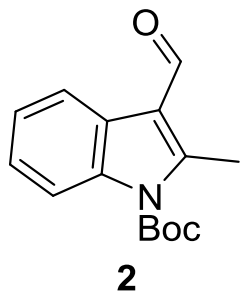


En un vial seco con barra de agitación se colocó el aminocatalizador **5b** (0.02 mmol, 10.0 mg), PhCO<sub>2</sub>H (0.02 mmol), el aldehído indólico **4** (0.15 mmol, 43.0 mg) y el derivado de cromona **1** (0.1 mmol, 17.2 mg) en tolueno (0.5 mL). La reacción se agitó a 70°C, una vez terminada la reacción, observado conversión completa por <sup>1</sup>H-RMN, se le adicionó el acetato de metiltrifenilfosforanilideno (0.2 mmol, 67.2 mg), agitando a temperatura ambiente toda la noche. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna en silica gel (hexano:EtOAc/ 9:1) con un rendimiento del 62%.

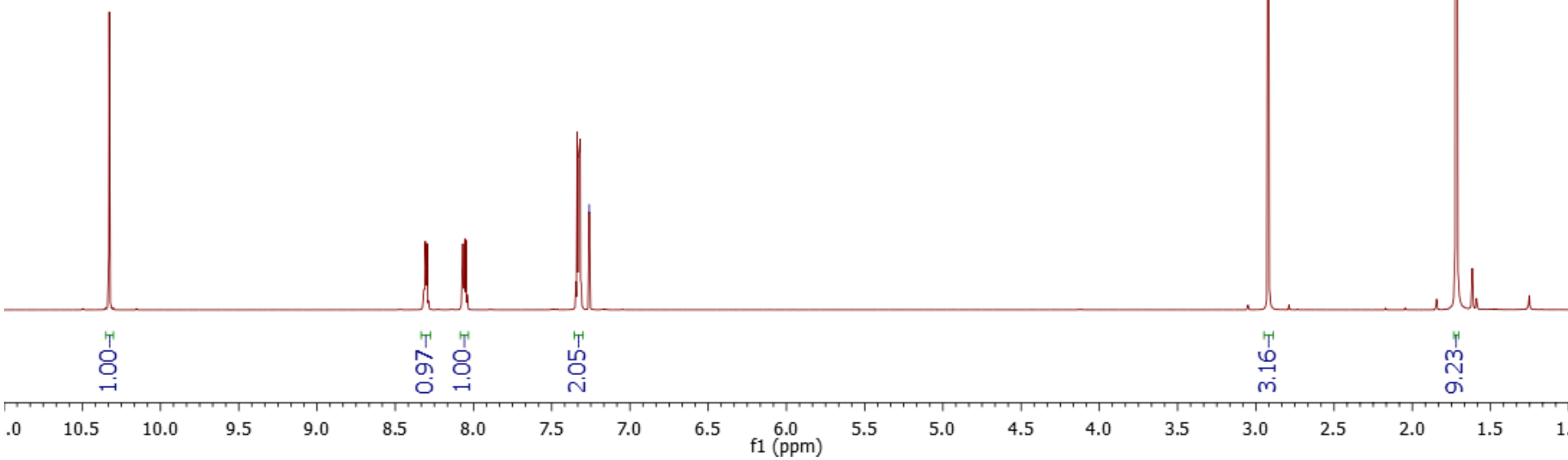
## 10. ANEXO

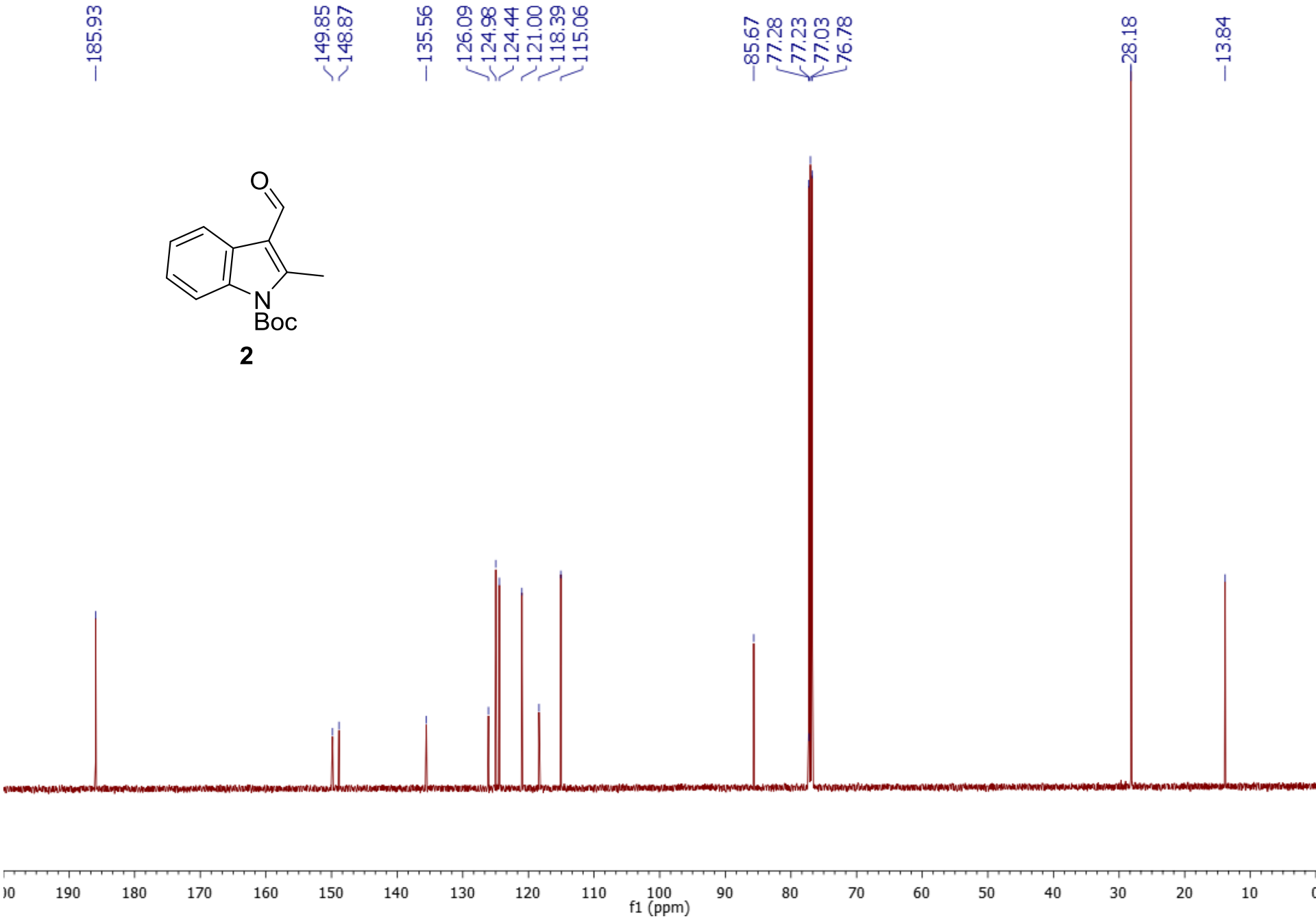
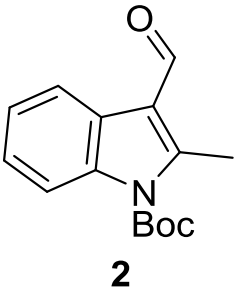
## **10.1 ESPECTROS DE RMN DE $^1\text{H}$ Y $^{13}\text{C}$**

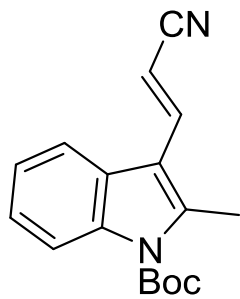




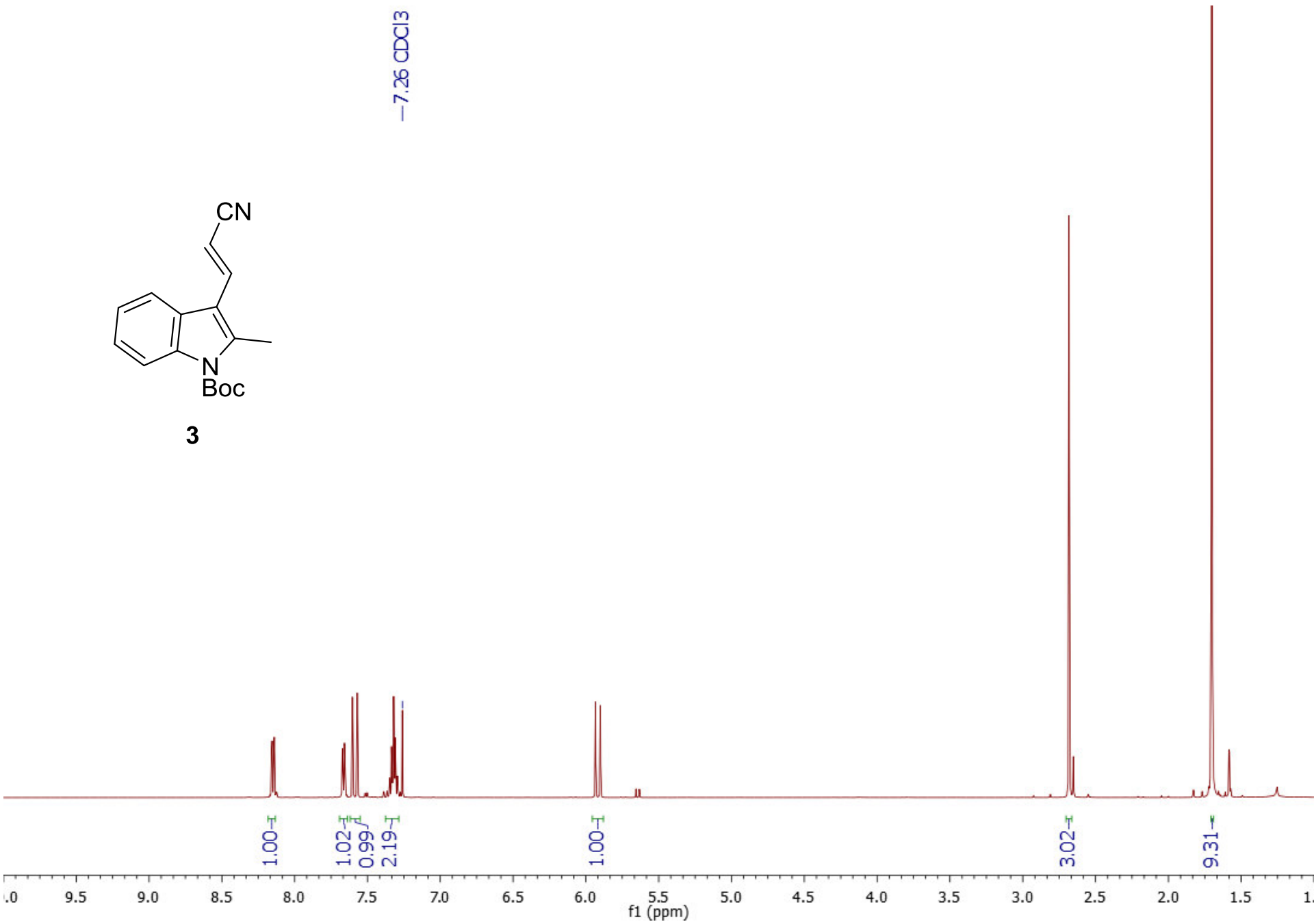
-7.26 CDCl<sub>3</sub>



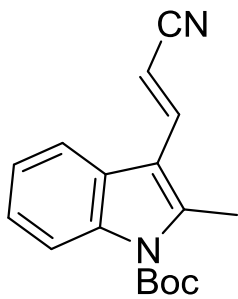




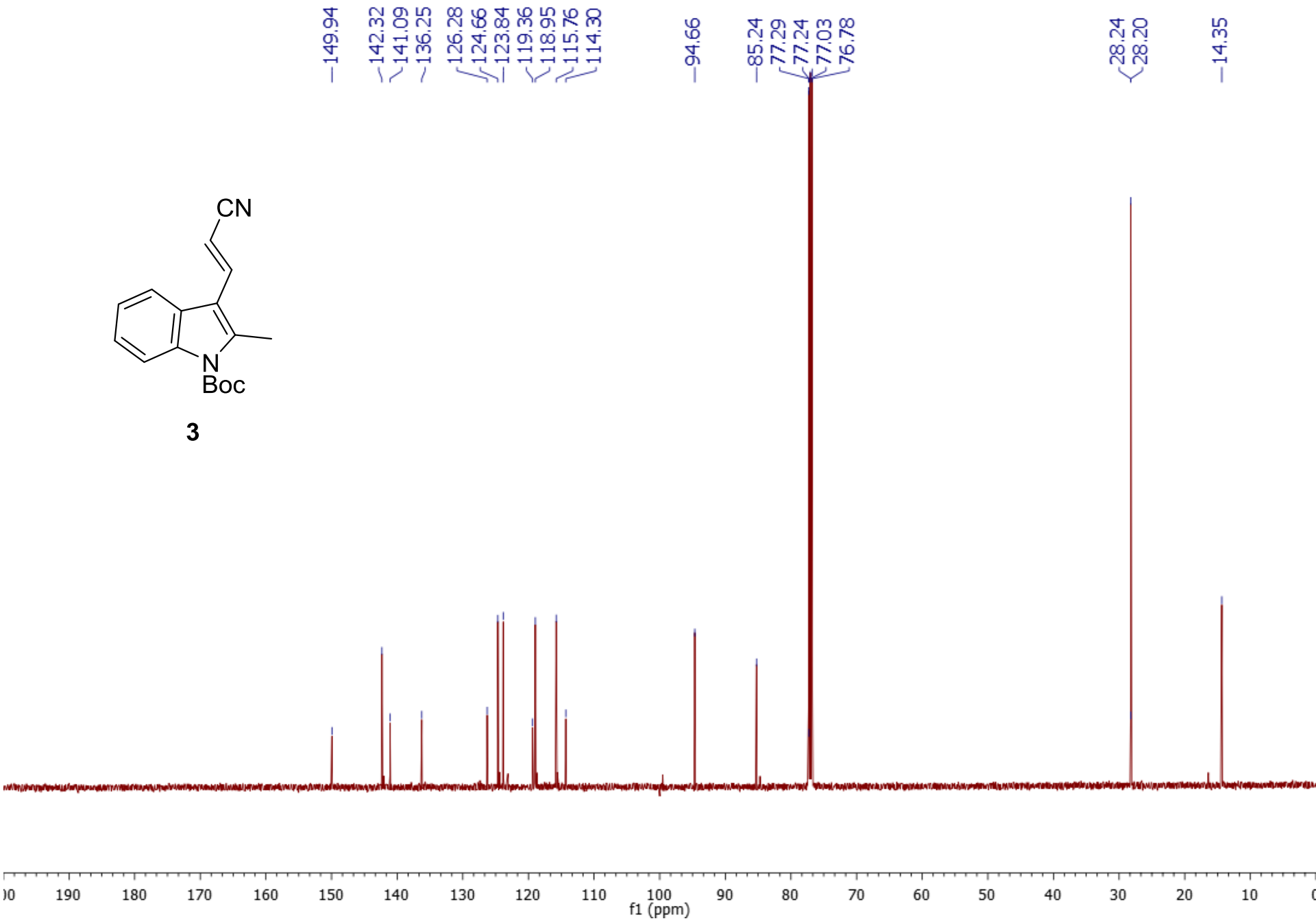
**3**

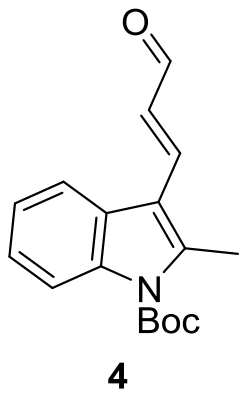




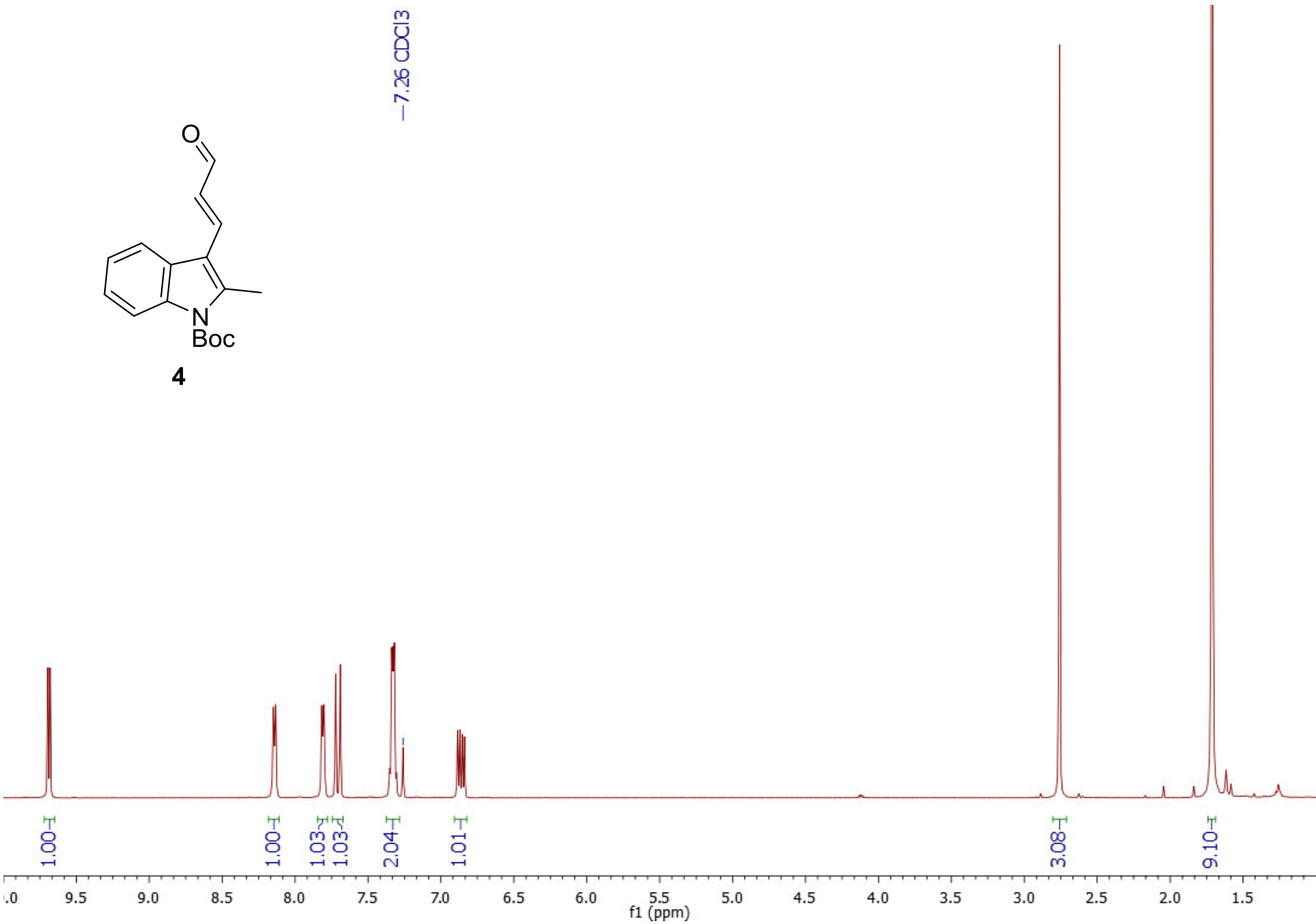


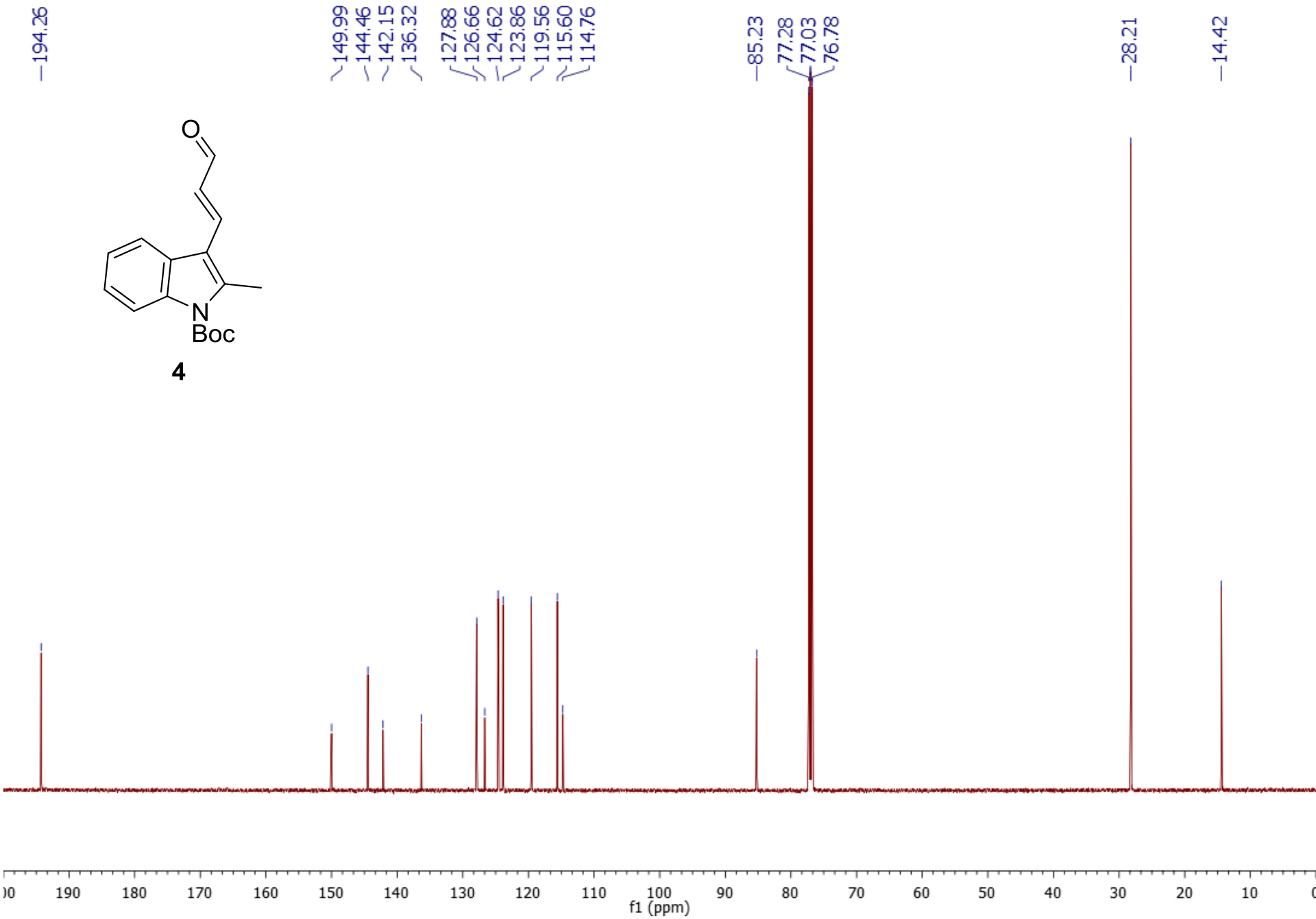
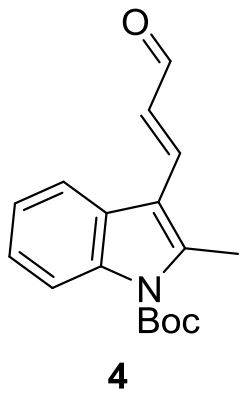
**3**

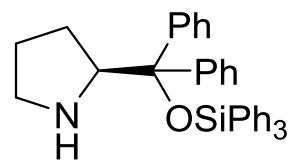
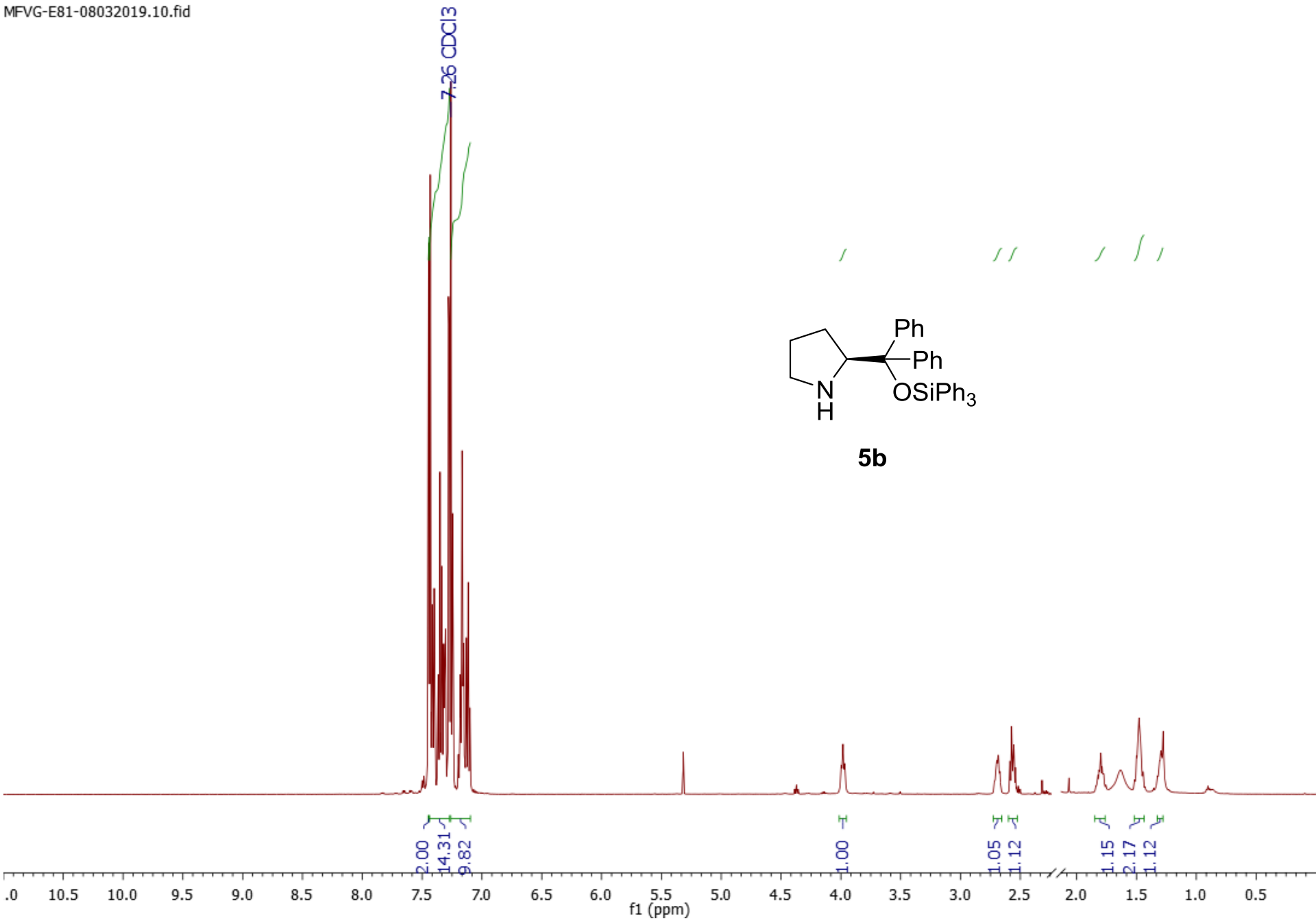




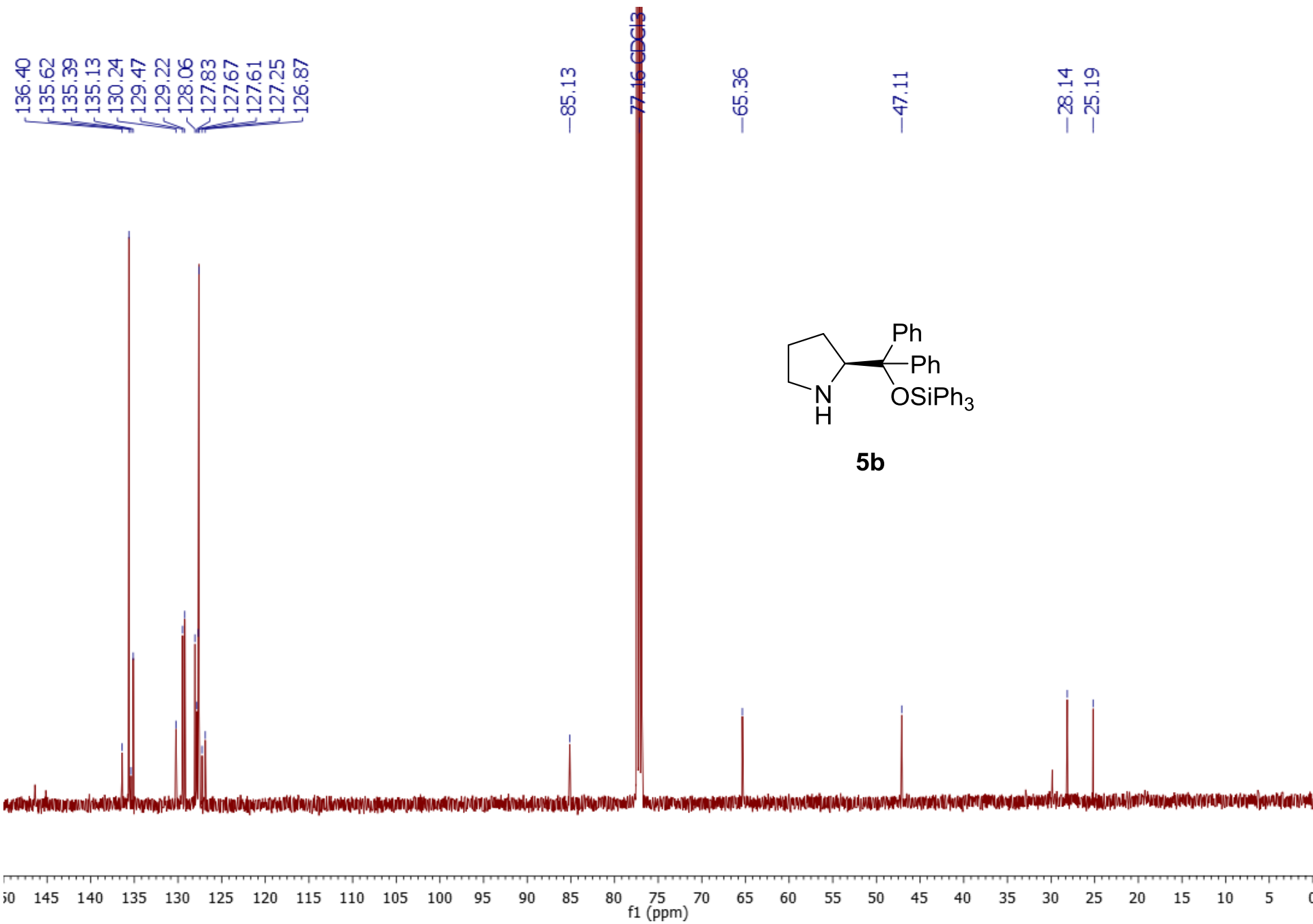
-7.26 CDCl<sub>3</sub>

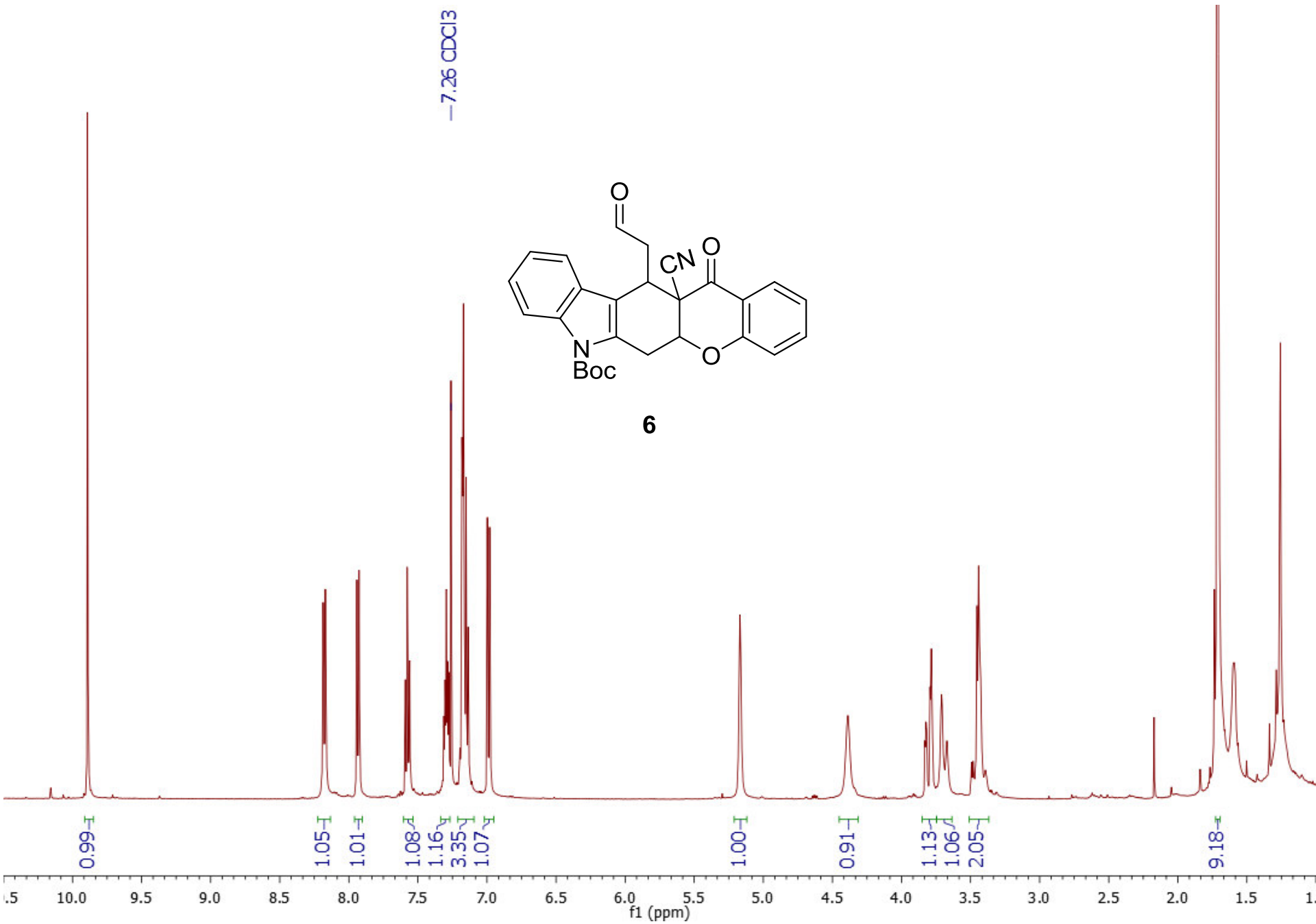


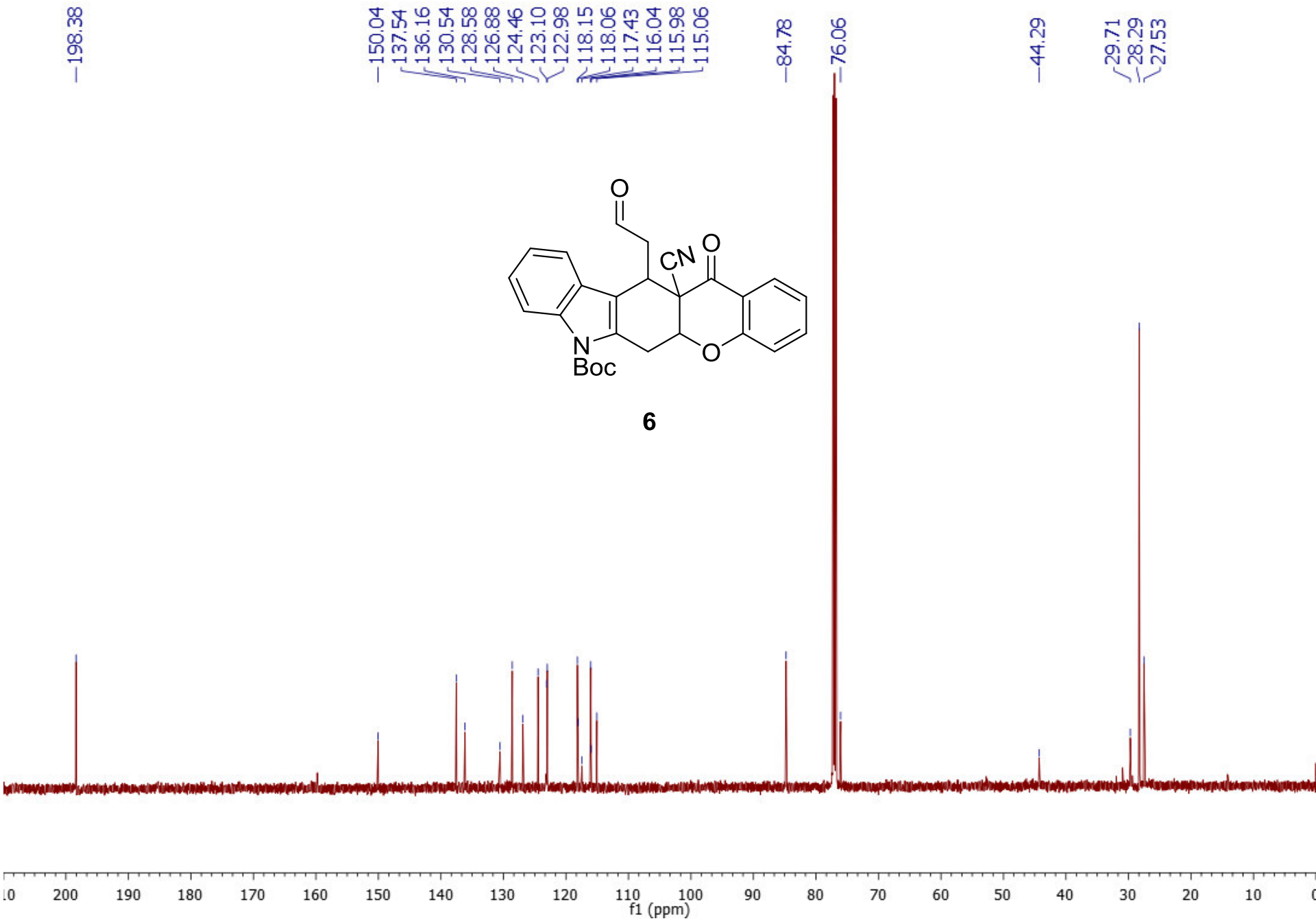


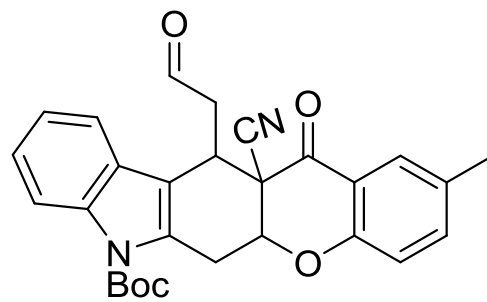


5b

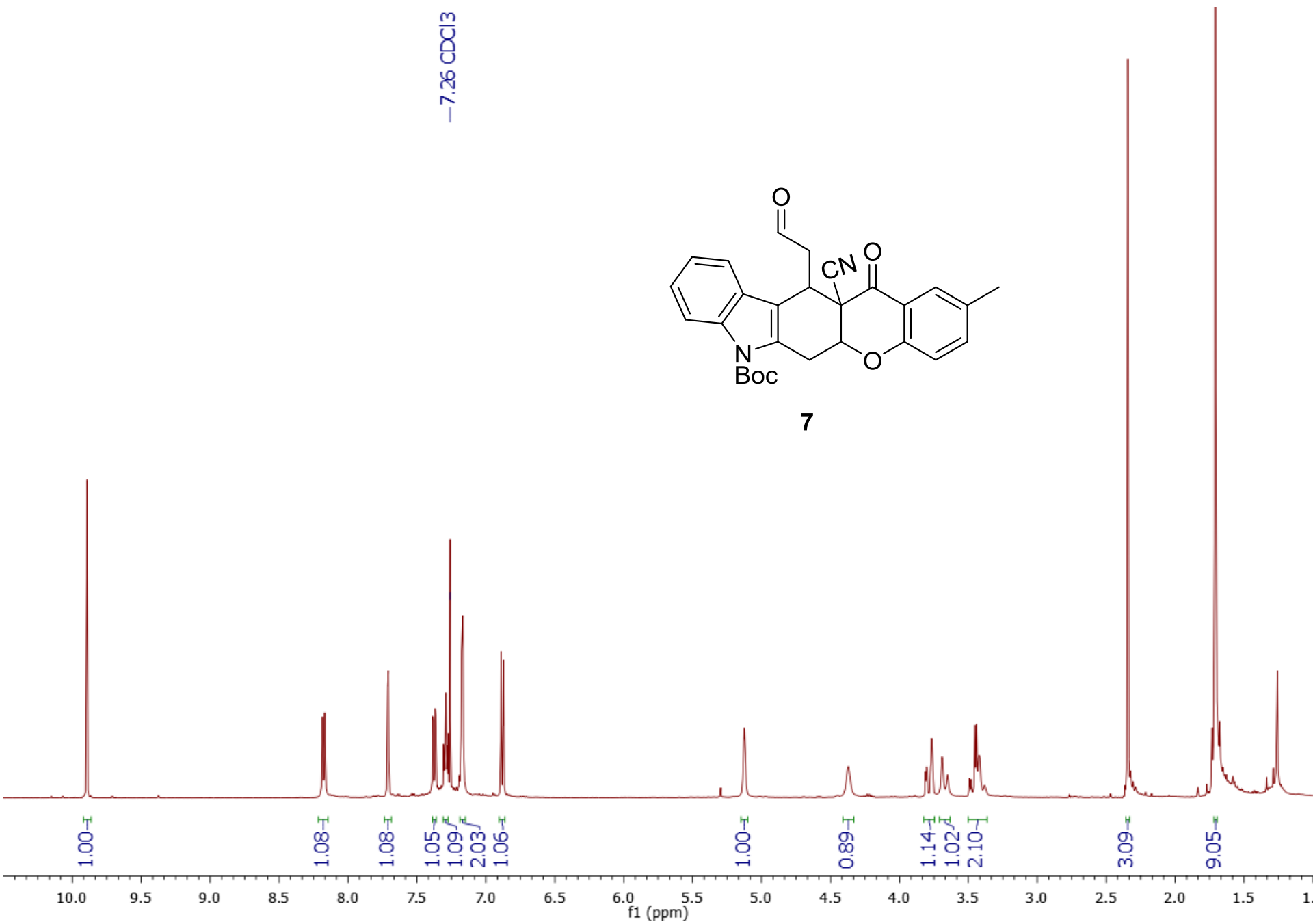






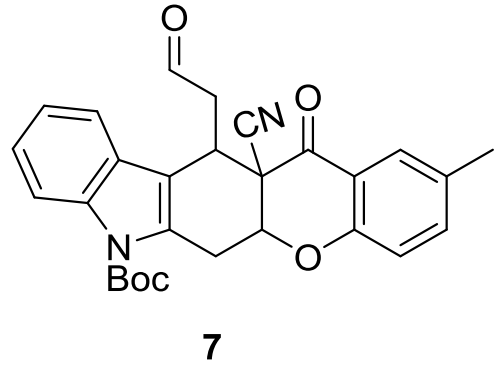


7

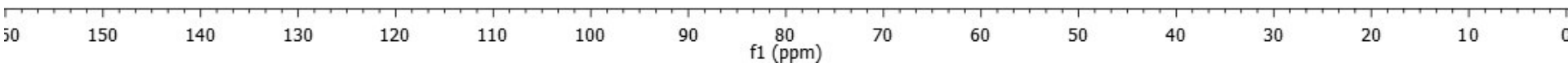


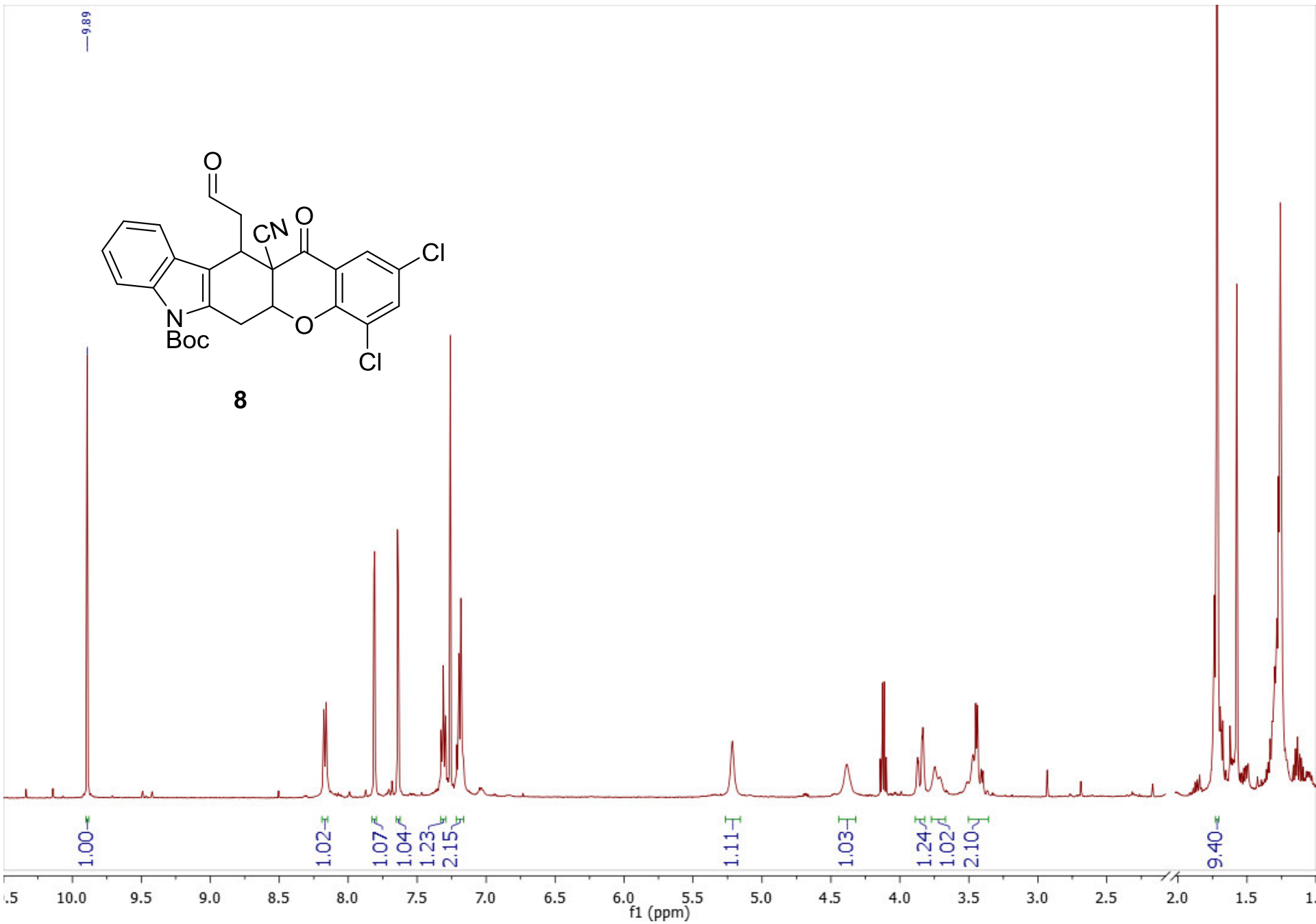


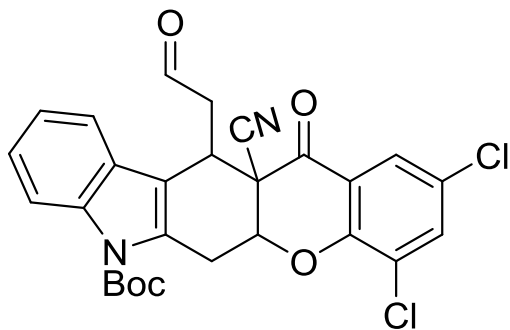
-138.70  
128.00  
124.42  
122.96  
118.14  
117.83  
116.03



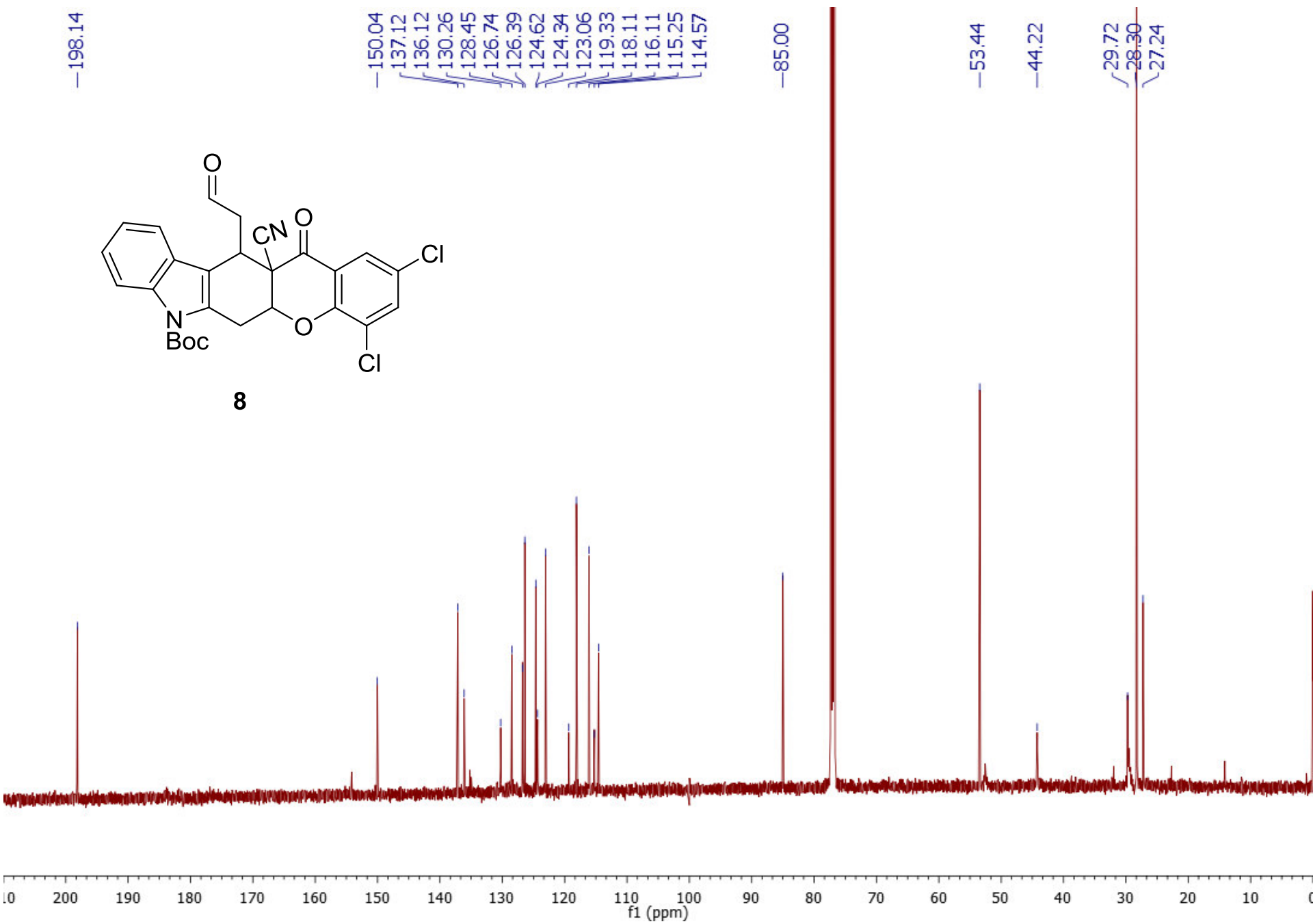
28.30  
27.59  
20.50







**8**



## **10.2 CROMATOGRAMAS**



SHIMADZU

LabSolutions

# Analysis Report

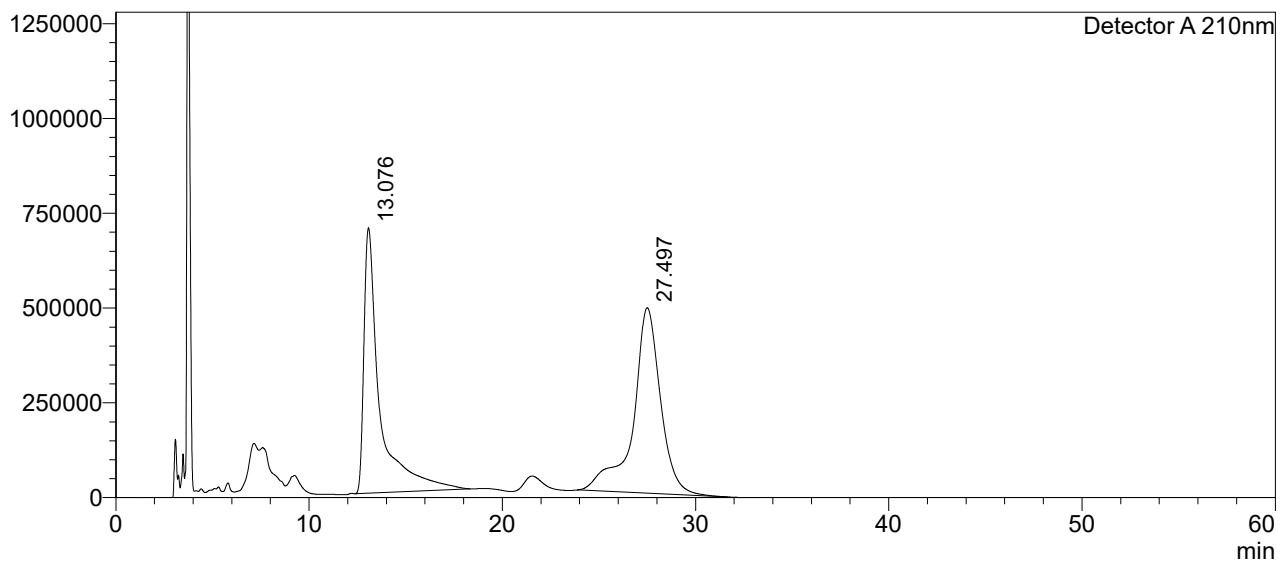
## <Sample Information>

Sample Name : Catalis  
 Sample ID : mfv00-e  
 Data Filename : mfv00-e.lcd  
 Method Filename : Epoxido racemico (4a).lcm  
 Batch Filename :  
 Vial # : 1-1  
 Injection Volume : 15 uL  
 Date Acquired : 9/19/2018 5:38:33 PM  
 Date Processed : 9/24/2018 2:19:24 PM

Sample Type : Unknown  
 Acquired by : user  
 Processed by : user

## <Chromatogram>

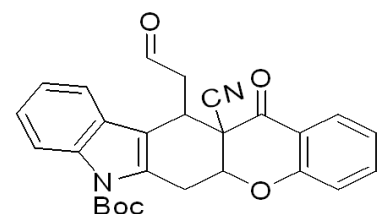
uAU



## <Peak Table>

Detector A 210nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	13.076	39934941	699671	45.197		M	
2	27.497	48422533	489133	54.803		M	
Total		88357474	1188804				



**THC-6**  
Racemato



SHIMADZU

LabSolutions

# Analysis Report

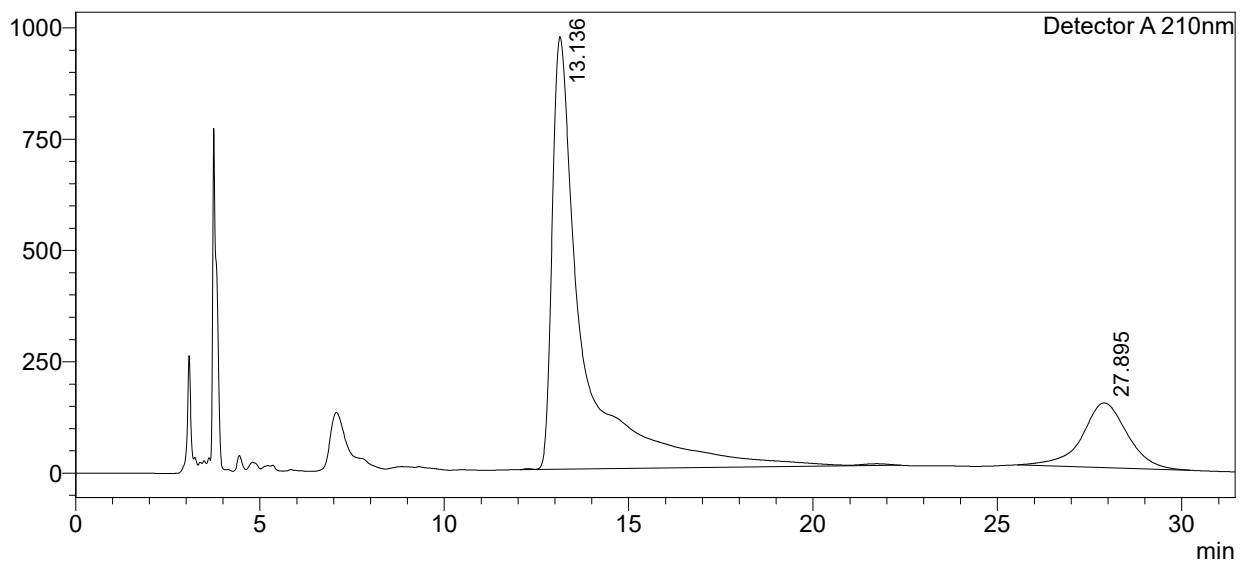
## <Sample Information>

Sample Name : Catalisis  
 Sample ID : mfv01  
 Data Filename : mfv01.lcd  
 Method Filename : Epoxido racemico (4a).lcm  
 Batch Filename :  
 Vial # : 1-1  
 Injection Volume : 10 uL  
 Date Acquired : 9/19/2018 4:21:19 PM  
 Date Processed : 9/19/2018 5:43:20 PM

Sample Type : Unknown  
 Acquired by : user  
 Processed by : user

## <Chromatogram>

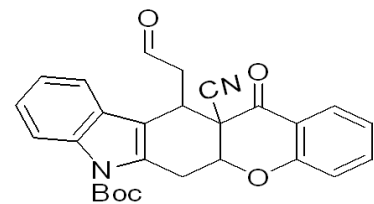
mAU



## <Peak Table>

Detector A 210nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	13.136	56449085	971724	82.032		M	
2	27.895	12364027	145189	17.968		M	
Total		68813112	1116913				



**THC-6**  
 Catalizador 1  
 70 °C



SHIMADZU

LabSolutions

# Analysis Report

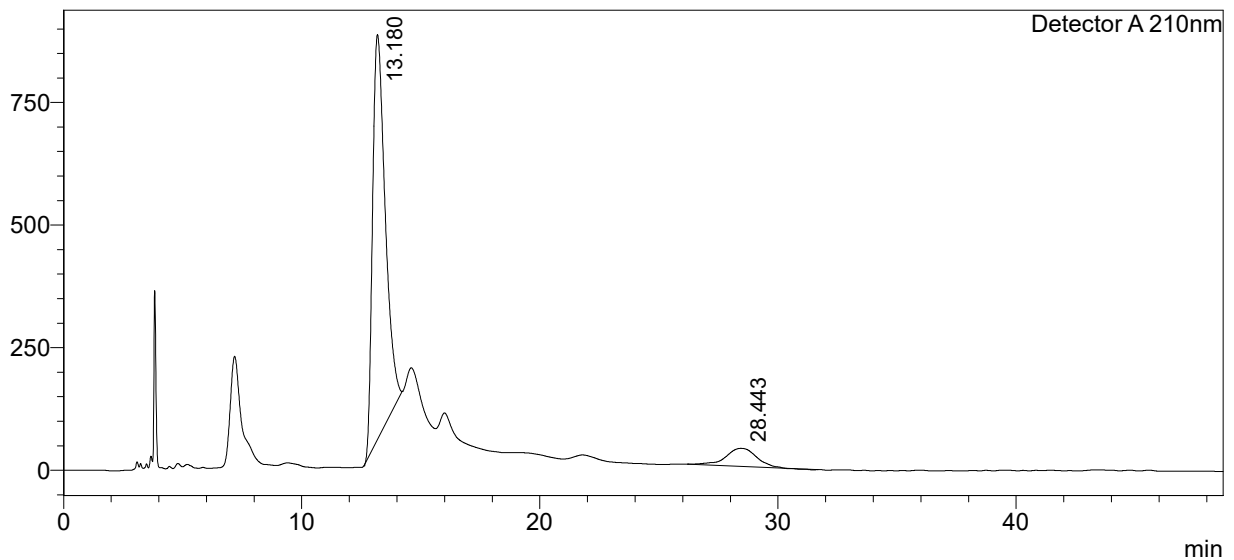
## <Sample Information>

Sample Name : Catalisis  
 Sample ID : mfvq-61  
 Data Filename : mfvq-61.lcd  
 Method Filename : Epoxido racemico (4a).lcm  
 Batch Filename :  
 Vial # : 1-1  
 Injection Volume : 5 uL  
 Date Acquired : 10/22/2018 3:45:30 PM  
 Date Processed : 10/22/2018 4:41:12 PM

Sample Type : Unknown  
 Acquired by : user  
 Processed by : user

## <Chromatogram>

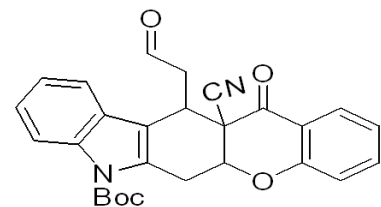
mAU



## <Peak Table>

Detector A 210nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	13.180	30567657	825953	90.281		M	
2	28.443	3290549	36894	9.719		M	
Total		33858206	862848				



**THC-6**  
 Catalizador 1  
 55 °C



SHIMADZU

LabSolutions

# Analysis Report

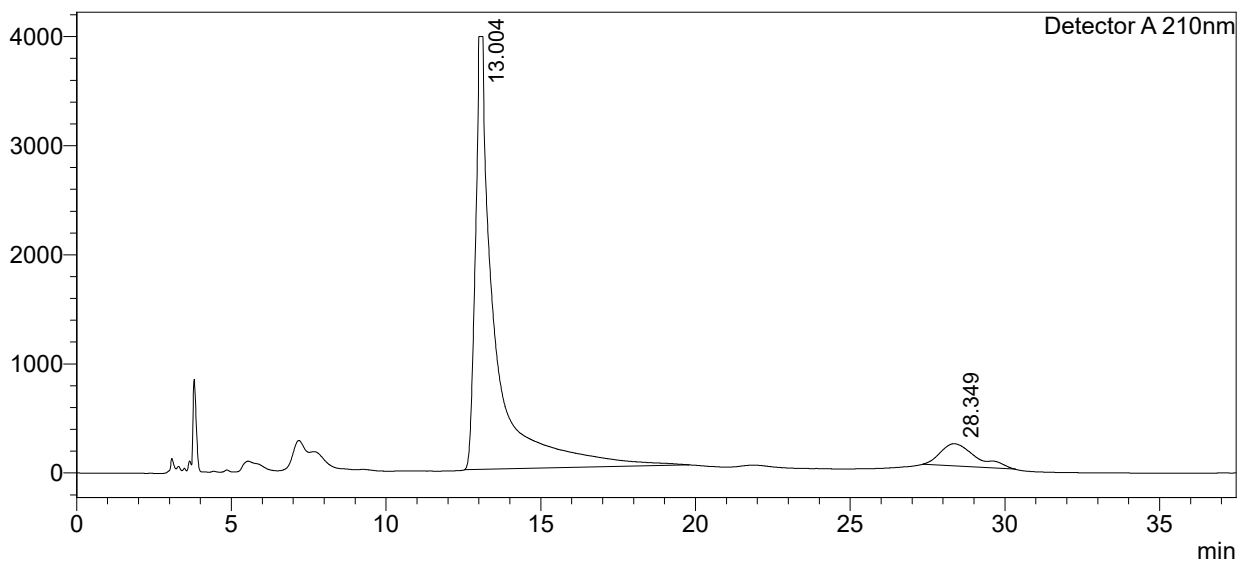
## <Sample Information>

Sample Name : Catalisis  
 Sample ID : mfv-57a  
 Data Filename : mfv-57a.lcd  
 Method Filename : Epoxido racemico (4a).lcm  
 Batch Filename :  
 Vial # : 1-1  
 Injection Volume : 5 uL  
 Date Acquired : 10/22/2018 1:11:18 PM  
 Date Processed : 10/22/2018 2:09:57 PM

Sample Type : Unknown  
 Acquired by : user  
 Processed by : user

## <Chromatogram>

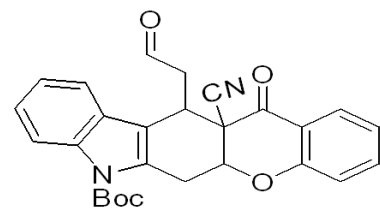
mAU



## <Peak Table>

Detector A 210nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	13.004	174202082	3966206	91.414		M	
2	28.349	16361363	202440	8.586		M	
Total		190563445	4168646				



**THC-6**  
 Catalizador 2  
 70 °C





SHIMADZU

LabSolutions

# Analysis Report

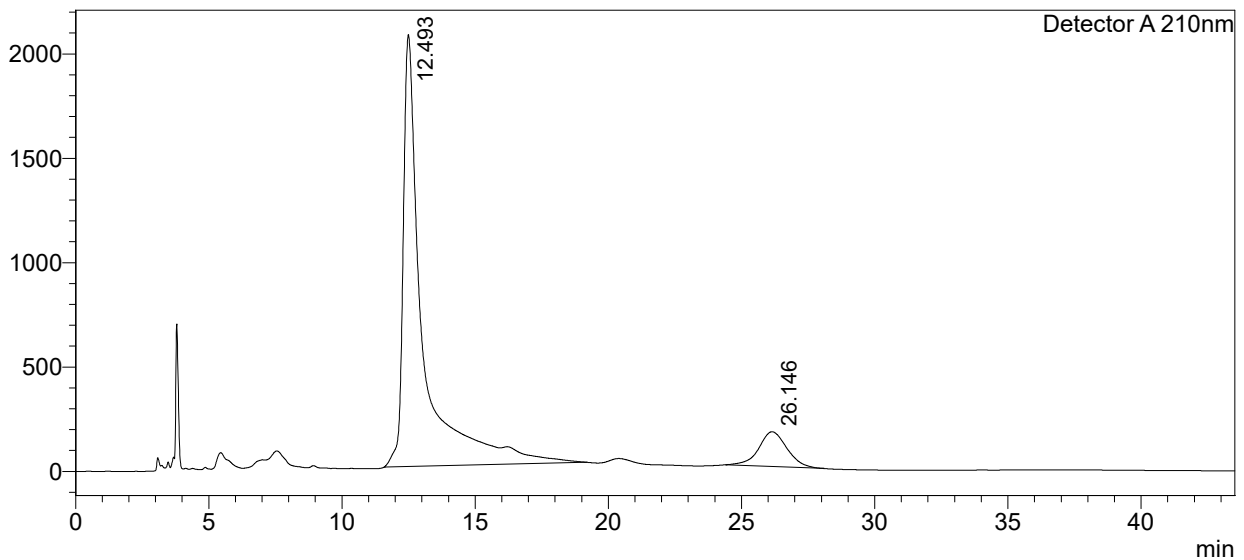
## <Sample Information>

Sample Name : Metodo HPLC  
 Sample ID : mfv63  
 Data Filename : mfv63.lcd  
 Method Filename : Epoxido racemico (4a).lcm  
 Batch Filename :  
 Vial # : 1-1  
 Injection Volume : 5 uL  
 Date Acquired : 11/12/2018 12:06:34 PM  
 Date Processed : 11/12/2018 12:53:50 PM

Sample Type : Unknown  
 Acquired by : user  
 Processed by : user

## <Chromatogram>

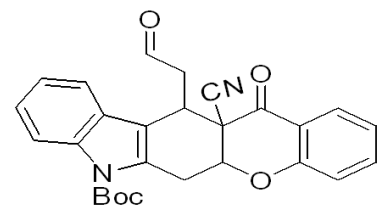
mAU



## <Peak Table>

Detector A 210nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	12.493	106486027	2068341	89.635		M	
2	26.146	12313693	166420	10.365		M	
Total		118799720	2234761				



**THC-6**  
 Catalizador 2  
 55 °C



SHIMADZU

LabSolutions

# Analysis Report

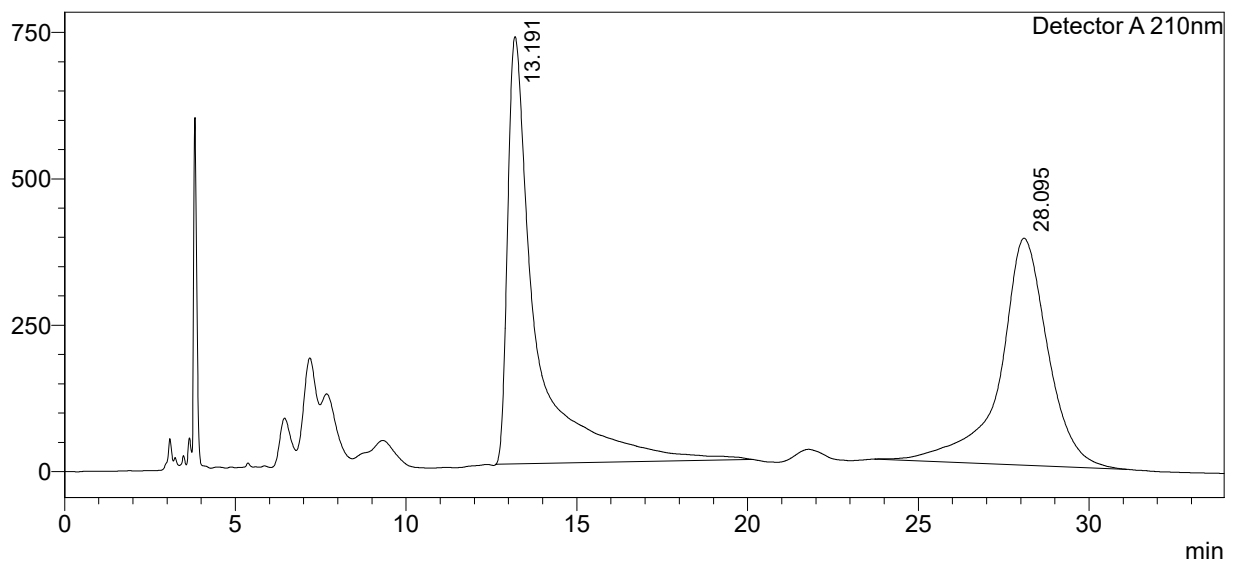
## <Sample Information>

Sample Name : Catalisis  
 Sample ID : mfv-58  
 Data Filename : mfv-58.lcd  
 Method Filename : Epoxido racemico (4a).lcm  
 Batch Filename :  
 Vial # : 1-1  
 Injection Volume : 5 uL  
 Date Acquired : 10/22/2018 1:49:39 PM  
 Date Processed : 10/22/2018 2:34:24 PM

Sample Type : Unknown  
 Acquired by : user  
 Processed by : user

## <Chromatogram>

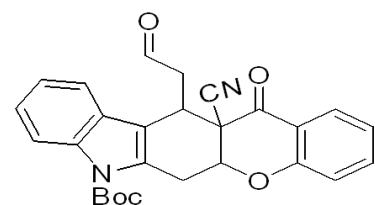
mAU



## <Peak Table>

Detector A 210nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	13.191	42040349	729650	52.629		M	
2	28.095	37840459	387848	47.371		M	
Total		79880809	1117498				



**THC-6**  
 Catalizador 3  
 70 °C



SHIMADZU

LabSolutions

# Analysis Report

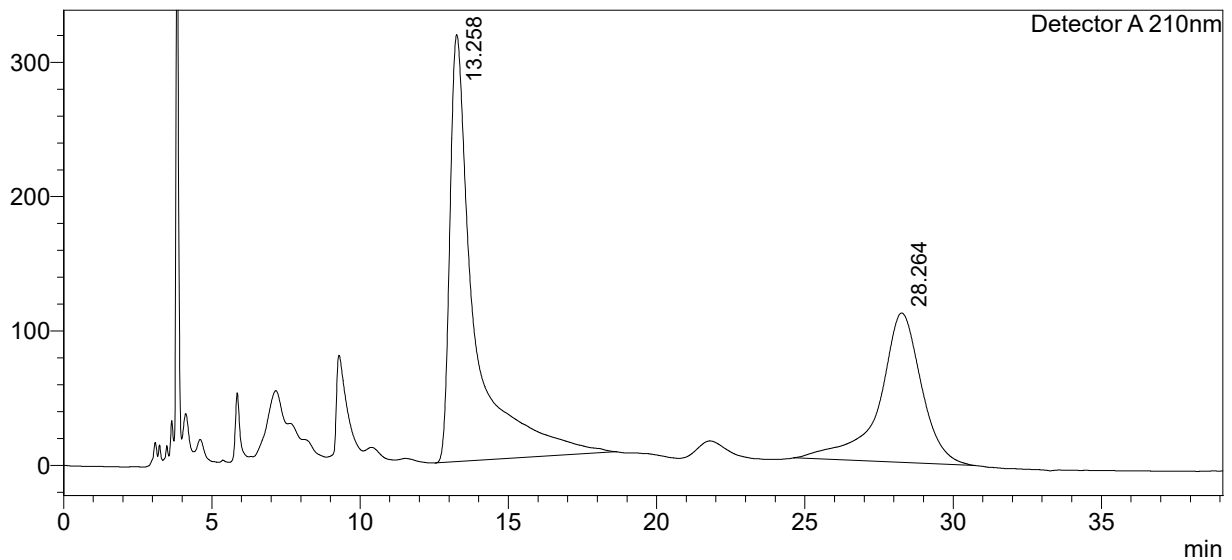
## <Sample Information>

Sample Name : Catalisis  
 Sample ID : mfv-59  
 Data Filename : mfv-59.lcd  
 Method Filename : Epoxido racemico (4a).lcm  
 Batch Filename :  
 Vial # : 1-1  
 Injection Volume : 5 uL  
 Date Acquired : 10/22/2018 2:24:27 PM  
 Date Processed : 10/22/2018 3:06:55 PM

Sample Type : Unknown  
 Acquired by : user  
 Processed by : user

## <Chromatogram>

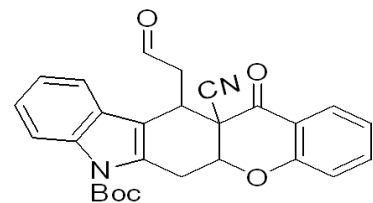
mAU



## <Peak Table>

Detector A 210nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	13.258	18421703	317734	62.768		M	
2	28.264	10927227	111144	37.232		M	
Total		29348930	428877				



**THC-6**  
 Catalizador 4  
 70 °C

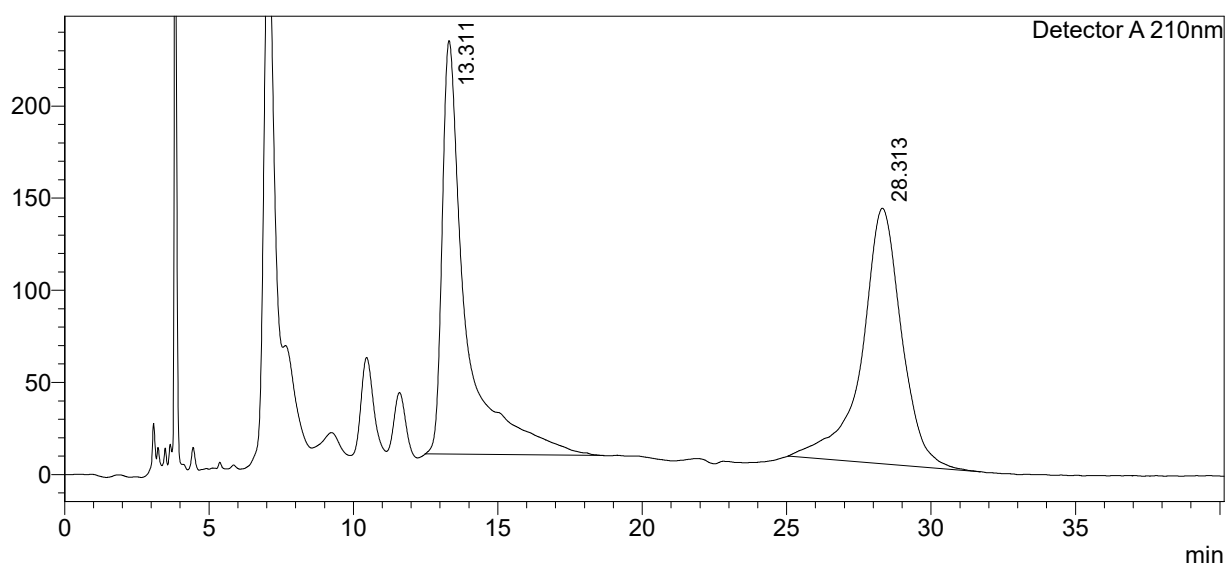
## <Sample Information>

Sample Name : Catalisis  
 Sample ID : mfv-60  
 Data Filename : mfv-60.lcd  
 Method Filename : Epoxido racemico (4a).lcm  
 Batch Filename :  
 Vial # : 1-1  
 Injection Volume : 5 uL  
 Date Acquired : 10/22/2018 3:04:36 PM  
 Date Processed : 10/22/2018 4:02:33 PM

Sample Type : Unknown  
 Acquired by : user  
 Processed by : user

## <Chromatogram>

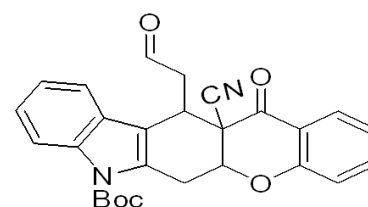
mAU



## <Peak Table>

Detector A 210nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	13.311	12817418	224447	49.086		M	
2	28.313	13294530	138714	50.914		M	
Total		26111949	363161				



**THC-6**  
 Catalizador 5  
 70 °C

### **10.3 ARTICULO DE DIVULGACION CIENTÍFICA Y LOGROS ACADÉMICOS**



## **El Tronco “Mágico” del Cuachalalate: Regalo de la Medicina Tradicional Mexicana a la Química de Productos Naturales.**

Marco F. Valtierra Galván, Miguel A. Vázquez, Eduardo Peña Cabrera, David Cruz Cruz, Clarisa Villegas Gómez\*

*División de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Química, Universidad de Guanajuato. Col. Noria Alta S/N. Guanajuato, Gto. 36050. México  
e-mail: clarisa.villegas@ugto.mx*

### **Resumen**

Actualmente, la Medicina Tradicional Mexicana es reconocida como un recurso para la preservación de la salud de millones de seres humanos, es una parte importante de la cosmovisión de los pueblos indígenas, representando el conocimiento sobre la madre tierra y el uso de plantas medicinales. Esta sabiduría, día con día ha ido adquiriendo cada vez mas importancia, pues se ha ido fortaleciendo para poder preservar su identidad. Dentro de este tesoro vegetal, se encuentra el Cuachalalate, el cual ha sido ampliamente utilizado en la Medicina Tradicional como agente gastroprotector, donde el tallo se utiliza en forma de infusión para tratar úlceras estomacales, esto debido a la disminución de la secreción de jugos gástricos, ayudando a la renovación del epitelio. Estudios previos, demuestran que la actividad biológica se debe a la presencia de triterpenos, tales como el ácido masticadienónico y algunos de sus derivados. El presente artículo, destaca la importancia de este árbol nativo de México, su uso como alternativa en la cura de problemas digestivos, así como el perfil químico para conocer los metabolitos secundarios responsables de su actividad biológica.

**Palabras clave:** Medicina Tradicional Mexicana, Cuachalalate, *Amphipterygium adstringens*; Triterpenos.

### **Abstract**

Nowadays, the Mexican Traditional Medicine is recognized as a resource for the preservation of the health of millions of human beings, it is an important part of the worldview of indigenous people, representing knowledge about mother earth and the use of medicinal plants. This wisdom, day by day has been acquiring more and more importance, because it has been strengthened to preserve its identity. Within this vegetable treasure, the cuachalalate, has been widely used in traditional medicine as a gastroprotective agent, where the stem is used as an infusion to treat stomach ulcers, this due to the decrease in the secretion of gastric juices, helping to renew the epithelium. Previous studies, show that the biological activity is due to the presence of triterpenes, such as masticadenonic acid and some of its derivatives. This article highlights the importance of this Mexican native tree, its use as an alternative for the cure of digestive problems, as well as the chemical profile to know the secondary metabolites responsible for its biological activity.

**Keywords:** Mexican Traditional Medicine, Cuachalalate, *Amphipterygium adstringens*; Triterpenoids.



## Introducción

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Medicina Tradicional se define como “*La suma total de conocimientos, habilidades y prácticas basadas en las teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas, sean explicables o no, utilizadas en el mantenimiento de la salud y/o en la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades físicas y mentales*”. (Zhang, 2018)

En México, la Medicina Tradicional Indígena se define como un conjunto de prácticas relacionadas a la atención de la salud, y que tiene sus raíces en los conocimientos sobre la salud y enfermedad que los diferentes pueblos indígenas y rurales de nuestro país han acumulado a través de su historia, los cuales están fundamentados en una interpretación del mundo (cosmovisión) de la salud y enfermedad de origen prehispánico.

Históricamente, el nacimiento de la Medicina Tradicional Mexicana es posterior al mestizaje, debido a eso, los colonizadores veían a este tipo de costumbre como un fuerte impedimento para la evangelización de los grupos indígenas. Como resultado, se buscó hacer una relación entre la medicina indígena y la occidental donde, solo se podía reconocer la utilidad empírica de los recursos naturales empleados en el ejercicio de las prácticas curativas, mientras que las costumbres de los rituales indígenas se intentaron marginar, lamentablemente la medicina occidental no pudo tener el mismo impacto en todos los grupos indígenas, ocasionando que persistieran las prácticas y tradiciones curativas, las cuales siguen adquiriendo relevancia hasta nuestros días. (Jiménez, 2017)

Las plantas medicinales son la principal fuente en el ejercicio de la Medicina Tradicional Mexicana, sin embargo, cabe señalar que el uso de esta práctica se extiende hasta el uso de hongos, organismos marinos, insectos e inclusive algunos

animales. En este sentido, es de importancia destacar que México es un país megadiverso, ya que es uno de los 7 países más ricos del mundo en especies de plantas y animales, posee el tercer lugar mundial en biodiversidad y el quinto lugar mundial en plantas vasculares con más de 23,000 especies diferentes, de las cuales el 50% son endémicas de la región. (Fuente, Conabio). Gracias a esta riqueza vegetal, en México alrededor de 4000 especies de plantas con flores (15% de la flora total) tienen propiedades medicinales, es decir que más o menos una de cada siete especies posee alguna propiedad curativa. (Tabla 1) (Jiménez, 2017).

Dentro de las especies que se han utilizado por años y que, hasta el día de hoy, la población ha seguido fielmente su uso, encontramos al “gordolobo” (*Bocconia frutescens* L.) (Papaveraceae) donde su uso medicinal abarca diversas afecciones respiratorias como resfriado, tos ferina, bronquitis y tuberculosis, para problemas de la piel, se aplica el látex sobre jiones, escarlatina, tiña y verrugas. Del mismo modo, también es muy utilizado en trastornos del aparato digestivo como disentería, dolor de estómago, úlceras y afecciones del hígado. Por otro lado, el “árnica” (*Heterotheca inuloides*) (Compositae), este género es originario de México con respecto a otras sinonimias, se utiliza principalmente como cicatrizante, desinfectante, desinflamante y analgésico, así como para tratar problemas gastrointestinales como ardor de estómago, gastritis o úlceras y en afecciones respiratorias como bronquitis o dolores de pulmón. Del mismo modo, otra especie muy común es el “toronjil” (*Agastache mexicana*) (Labiatae) endémico de México, se usa frecuentemente para tratar el espanto, como ocurre en los estados de Hidalgo, Michoacán, en Morelos y Puebla.



**Tabla 1. Enfermedades mas comunes de la Medicina Tradicional Mexicana**

<b>DIGESTIVO</b>	
<b>Mal de ojo.</b>	Afecta principalmente a los niños menores de tres años. Síntomas: gastroenteritis infecciosa
<b>Empacho, susto, espanto de tierra, mal de espanto.</b>	Trastorno generalmente de la infancia: pérdida de apetito, indigestión, flatulencia, dolor abdominal, estreñimiento.
<b>Caída de mollera, mal de mollera.</b>	Signo característico de una severa deshidratación en niños, hundimiento de la fontanela que usualmente se acompaña de fiebre, vómito o diarrea como una manifestación de gastroenteritis infecciosa.
<b>NERVIOSO</b>	
<b>Alferesía</b>	Término coloquial para llamar a las convulsiones, generalmente en niños, independiente del origen.
<b>MÚSCULO-ESQUELÉTICO</b>	
<b>Torceduras</b>	En la mayoría de los casos, son luxaciones, esquinces u otro traumatismo ocasionado por accidentes.
<b>CARDIOVASCULAR</b>	
<b>Corazón (Latido/taquicardia)</b>	Percepción de alteraciones en el ritmo o intensidad del flujo sanguíneo sobre la red vascular (sistema de palpitaciones)
<b>RESPIRATORIO</b>	
<b>Anginas</b>	Medicina moderna: Amigdalitis
<b>CREENCIA POPULAR</b>	
<b>Aire (aire de animales de muerto, basura, agua). Golpe de aire.</b>	Se atribuye a la acción de una entidad nociva, de origen exterior que no siempre es física (aire), que penetra o se adhiere a una parte del cuerpo. En la mayoría de los casos se refiere a trastornos cutáneos, respiratorios o musculares. Síndrome de filiación cultural.
<b>Daño (brujería, maldad, hechizo o posesión)</b>	Creencias culturales sobre la brujería: ocasionar molestias, enfermedades, lesiones o bien dañar a una persona víctima de procedimientos que pueden ser naturales o sobrenaturales. Síndrome de filiación cultural.

Fuente: Jiménez, 2017





En algunas comunidades se emplea en la curación del mal de ojo o problemas nerviosos como el susto. El cocimiento administrado por vía oral se recomienda en el tratamiento de problemas gástricos como dolor de estómago, cólico, dolor intestinal o empacho. Una planta que se utiliza de manera frecuente en la vida cotidiana es el “epazote” (*Teloxys ambrosioides* L. Weber) (Chenopodiaceae), originario de América, se emplea contra múltiples padecimientos relacionados al sistema digestivo, es útil en casos severos de parasitosis y trastornos menstruales, en algunas regiones del país es útil contra picaduras de alacrán y verrugas. Por otra parte, se destaca el uso de esta planta en el tratamiento de enfermedades tradicionales de filiación cultural como el “espanto, susto o mal de ojo”. Existe un arbusto llamado “mala mujer de cerro” (*Cnidocolus multilobus*) (Euphorbiaceae) esta es empleada principalmente como analgésico dental y en alteraciones ginecobstétricas específicamente para tratar la inflamación de los ovarios. Finalmente, y no de menos importancia se encuentra el “ajo” (*Allium sativum* L.) (Liliaceae) originario del oeste de Asia, Europa y del Mediterráneo, se utiliza para combatir los parásitos intestinales, oxiuros, tricocéfalos, tenia e incluso amibas. Para el tratamiento de reumatismo y problemas de la piel como sabañones, roña o sarna, siendo también muy efectivo como auxiliar en picaduras de diferentes clases de insectos.

### **Cuachalalate.**

*Amphipterygium adstringens* Schiede ex Schlech. (Anacardiaceae) con sinonimia popular chalalate, coachalalate, volador, cuachalalá o cuachinala y sinonimia botánica *Juliania adstringens* Schlechter. Es un árbol de 10 m de altura, con el tronco torcido, de corteza grisácea con escamas. Las hojas en el anverso son de color verde opaco y en el reverso son grisáceas, agrupadas en las puntas de las ramas. Las flores se encuentran solitarias o en ramilletes. Los frutos

Sin embargo, es de suma importancia mencionar que no todas las plantas medicinales son utilizadas con fines terapéuticos, existen especies que poseen un interés especial con propósitos menos ortodoxos y/o mas bien lúdicos, como ejemplo podemos mencionar al “peyote” (*Lophophora williamsii*) (Cactaceae), los huicholes lo utilizan como alucinógeno en ceremonias curativas, adivinatorias y en rituales religiosos. En varias regiones del país se emplea como analgésico, para aliviar dolores reumáticos, del mismo modo, la planta se aplica o ingiere contra las picaduras de escorpión o mordeduras de víbora. La “mariguana” (*Cannabis sativa* L. var. *Indica*) (Cannabinaceae), tiene como principal uso, tratamiento del reumatismo, sanación de dolores musculares y contra el insomnio, teniendo como desventaja sus propiedades narcóticas si es fumado. (Biblioteca de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009)

Con lo anteriormente mencionado y con toda la riqueza florística que tiene México, son muchas las especies de las cuales podríamos hacer énfasis pero lamentablemente, este espacio no nos lo permite, sin embargo, en la presente contribución podemos dar a conocer una especie vegetal que por muchos años la población se ha visto beneficiada debido a sus propiedades medicinales, “el cuachalalate”, herramienta fundamental dentro de la Medicina Tradicional Mexicana.

son nueces abultadas y alargadas. El origen es desconocido y habita en climas cálidos y semicálidos, crece en zonas perturbadas de bosque tropical caducifolio y subcaducifolio, de matorral xerófilo, bosque espinoso, mesófilo de montaña y pino-encino.

Dentro de la Medicina Tradicional Mexicana, los pueblos prehispánicos le atribuían un efecto purificador, años después el cuachalalate ha sido utilizado en varios estados de la república, el cocimiento de la corteza se utiliza para tratar úlceras, cáncer de estómago, gastritis y ciertas



lesiones cutáneas. Para tratar heridas se lava localmente con un macerado de la corteza en agua, los granos y las llagas se curan mediante la ingestión del cocimiento o la aplicación de la resina de la corteza, del mismo modo se utiliza en golpes o postemas, mordeduras o piquetes de animales venenosos y como cicatrizante.

Por otra parte, se emplea en malestares digestivos, dolor de estómago, infección o inflamación intestinal, para limpiar el estómago, para el hígado, vesícula, contra la tifoidea y en problemas del tipo bucal como estomatitis, dolor de muelas, endurecimiento de las encías y herpes (fuegos) bucales.

En el caso de problemas relacionados con afecciones respiratorias, se utiliza para aliviar la tos, inflamación de anginas, enfermedades pulmonares, incluso para tratar a la tuberculosis. En algunos casos, se utiliza en problemas de circulación sanguínea, ayuda a purificar, desintoxicar y curar várices y úlceras varicosas. Otras aplicaciones medicinales son para fiebre, paludismo, caída del cabello y manchas en la piel. (García, 1973)

En la historia de nuestro país, en el siglo XX, dentro del tratado de Maximino Martínez, se registra a esta especie como anticancerosa, antipalúdica, astringente y para la fiebre tifoidea. Posteriormente, la Sociedad Farmacéutica de México, la registró como astringente. De manera desafortunada, se considera como una especie en peligro de extinción. (Rzedowski, 1987)

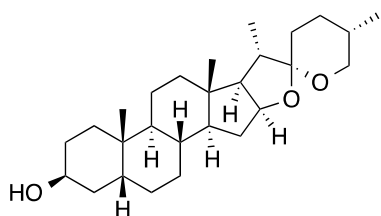


Figura 1. Estructura de la sarsasapogenina.

## Perfil químico y de la actividad biológica del Cuachalalate.

Durante décadas se han realizado numerosos estudios acerca del perfil químico, así como de la actividad biológica de los extractos y metabolitos secundarios aislados de *A. adstringensis*.

Los primeros ensayos biológicos los realizó Delgado a finales de 1962, evaluando la actividad antineoplásica de la corteza seca del cuachalalate en ratones portadores de adenocarcinoma mamario, encontrando que el extracto metanólico inhibió en un 54% el crecimiento tumoral. Del mismo modo, una fracción butanólica obtenida por partición del extracto metanólico mostró una inhibición del 50%.

Sin embargo, cabe señalar que los extractos provenientes de éter de petróleo y cloroformo tuvieron un efecto totalmente contrario, pues incrementaron el crecimiento tumoral en un 57 y 113% respectivamente (Delgado, 1962).

En ese mismo año, los mismos autores realizaron un estudio preliminar para conocer el tipo de metabolitos secundarios presentes en la especie, realizando diferentes ensayos de identificación, tales como contenido de fitosteroles, alcaloides, compuestos glicosidados y taninos, encontrando la presencia de fitosteroles, algunos taninos y compuestos glicosidados, incluyendo una saponina esteroideal semejante a la sarsasapogenina (Figura 1) (Delgado, 1962).

En los años de 1983 y 1987 se realizaron diversos estudios fitoquímicos de la corteza, encontrando un perfil químico triterpénico del tipo tirucalano conformado por el ácido masticadienónico, el ácido instipolinácico y el ácido cuachalácico (Amezcuca, 1983) (García, 1987) (Mata, 1989) (Figura 2).

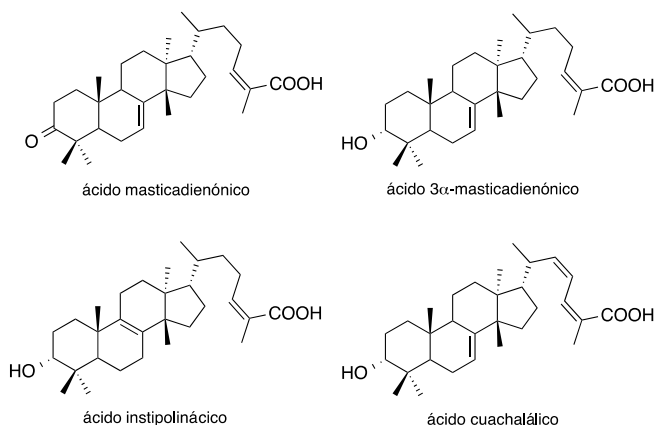


Figura 2. Perfil triterpénico de la corteza de *A. adstringensis*.

Posteriormente, en 1989 Mata reportó el aislamiento del ácido 3-*epi*-hidroximasticadienoico, el ácido 3- $\alpha$ -hidroximasticadienónico, ácido *epi*-oleanólico, el ácido isomasticadienónico,  $\beta$ -sitosterol, así como, tres diferentes ácidos alquilanacárdicos, tales como, el ácido 6-pentadecilsalicílico, el ácido 6-heptadecilsalicílico y el ácido 6-nonadecilsalicílico. (Mata, 1989) (Figura 3).

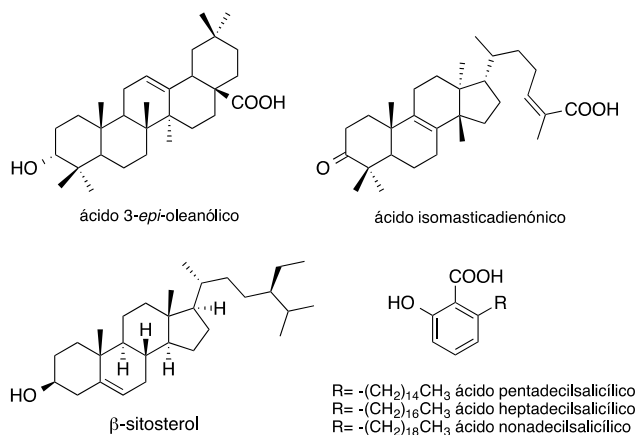


Figura 3. Metabolitos secundarios aislados de *A. adstringensis*.

En 1991, el grupo de investigación de Mata en colaboración con Navarrete, estudiaron el efecto hipocolesterolémico del extracto hexánico vía subcutánea en ratas, mostrando un efecto

significativo a una dosis de 100 mg/Kg, bajando los niveles de colesterol hasta en un 31%. Con base en esos resultados, se realizó el aislamiento de los metabolitos presentes en dicho extracto, encontrando una mezcla de compuestos fenólicos de cadena alquílica larga (Figura 4). Sin embargo, es de importancia mencionar que ninguna de estas mezclas mostró una actividad hipocolesterolémica significativa. (Mata, 1991)

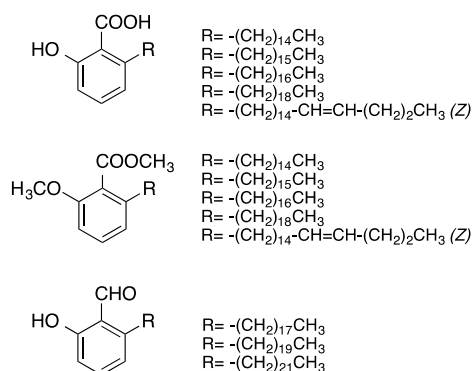


Figura 4. Compuestos alquilfenólicos aislados del extracto hexánico de *A. adstringensis*.

Uno de los usos más importantes que tiene el cuachalalate dentro de la Medicina Tradicional Mexicana es el tratamiento de enfermedades relacionadas con el sistema digestivo, para corroborar esta actividad, Navarrete en 1998, realizó los estudios correspondientes para evaluar el efecto gastroprotector del extracto metanólico de la corteza de *A. adstringensis* en úlceras gástricas en ratas, inducidas por etanol, dicho estudio fue comparado ante el efecto ya conocido del subsalicilato de bismuto (Pepto-bismol®) como control positivo, encontrando que el extracto metanólico posee un 74.5% de efecto gastroprotector contra un 62.2% del Pepto-bismol®. Con base en estos resultados, se realizó la partición de dicho extracto, obteniendo tres extractos de diferentes polaridades, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAC y Acetona. Estos, fueron evaluados para medir la actividad antiulcerosa, encontrando que el extracto diclorometánico fue el más activo con un 77.1% de efecto gastroprotector en comparación



con el 47.3% del Pepto-bismol® a una dosis de 300 mg/Kg. Tomando en cuenta este resultado se realizó el fraccionamiento del extracto de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> mediante cromatografía en columna, obteniendo cuatro fracciones diferentes con un perfil químico del tipo triterpénico, estas fueron evaluadas en comparación con el Pepto-bismol® a una dosis de 100 mg/Kg, encontrando un porcentaje de efecto gastroprotector hasta del 96.7% con respecto al 36.7% del control. (Navarrete, 1998)

Posteriormente, en 1999, Soto-Hernández reportó el estudio fitoquímico del cuachalalá, tomando en cuenta factores como la estación y el sexo de la especie. En dicho proyecto, se colectó la corteza de cuatro árboles en diferentes estaciones del año, así como de diferente sexo. Cada una de las muestras se dejaron secar y se les realizó una extracción con hexano. Posteriormente, cada extracto se sometió a una separación cromatográfica en mezclas de Hexano:Acetato de Etilo como eluyente, de manera general, de cada uno de los extractos, se aislaron los siguientes compuestos de interés: el ácido masticadienónico, el ácido  $\alpha$ -hidroximasticadienónico, la mezcla de los ácidos masticadienónico e isomasticadienónico y otra mezcla del ácido hidroximasticadienónico con un compuesto hasta ahora desconocido. De los resultados obtenidos se realizó una comparación sobre la concentración de los compuestos aislados y el sexo de la especie, así como de la concentración de los compuestos con la época de año, encontrando que el ácido masticadienónico, el ácido  $\alpha$ -hidroximasticadienónico y la mezcla de los ácidos masticadienónico e isomasticadienónico se encuentran en mayor proporción en plantas femeninas y solo la mezcla de ácido hidroximasticadienónico con el compuesto desconocido, predominaron en plantas masculinas. (Figura 2 y 3) (Soto-Hernández, 1999).

Con respecto a la relación de la abundancia de los metabolitos secundarios con la estación del año, se

encontró que en el mes de febrero la concentración mayoritaria es del ácido masticadienónico y de la mezcla del ácido  $\alpha$ -hidroximasticadienónico con el compuesto desconocido. Por otro lado, en el mes de noviembre la acumulación de la mezcla de los ácidos masticadienónico e isomasticadienónico es mayoritaria.

Debido a la abundancia del ácido  $\alpha$ -hidroximasticadienónico, se evaluó en experimentos preliminares para determinar su actividad antiinflamatoria, encontrando que después de 3 horas de ser administrado a una concentración de 10 mg/Kg mostró un 93% de la inhibición del edema

Con base en los usos de esta especie dentro de la medicina tradicional, así como de la actividad biológica que presentan los derivados del ácido masticadienónico, este estudio resulta ser de gran interés, pues proporciona información más precisa para saber cual es la mejor época del año para poder colectar la especie, así como la identificación de la mejor concentración de los compuestos con respecto al sexo de la especie vegetal.

Posteriormente, en el año 2003, Navarrete y su grupo de colaboradores, siguieron la línea de investigación descrita previamente por Soto-Hernández en 1999. Continuando con el estudio de la fracción activa del extracto diclorometánico de la corteza, realizaron la separación cromatográfica de los metabolitos secundarios presentes, logrando aislar, el ácido masticadienónico, el ácido 3- $\alpha$ -hidroximasticadienónico,  $\beta$ -sitosterol y el ácido 3-*epi*-oleanólico (Figura 3). Estos compuestos fueron evaluados biológicamente para medir la actividad gastroprotectora, utilizando a la carbenoxolona como control positivo, este es un fármaco comercial muy utilizado en el tratamiento de úlceras del tracto digestivo. (Figura 5).

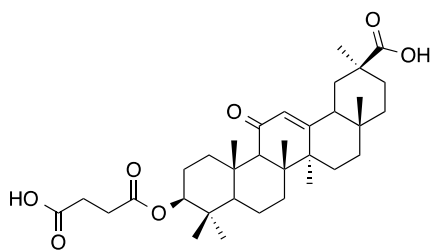


Figura 5. Estructura de la carbenoxolona.

Los estudios se realizaron en ratas Wistar, mediante la inducción de úlceras gástricas con etanol. Los resultados mostraron que a una dosis de 30 mg/Kg, el ácido 3-*epi*-oleanólico fue el más activo con un 88.8% de efecto gastroprotector, similar al de la carbenoxolona con un 88.4 %, los otros compuestos fueron menos activos, pues el ácido 3- $\alpha$ -hidroximasticadienónico, el ácido masticadienónico y el  $\beta$ -sitosterol tuvieron un 69.8, 29.3 y 42.5 % respectivamente. (Navarrete, 2003).

Por otro lado, Martínez-Vázquez en el 2004, inició los estudios para medir las propiedades antiinflamatorias basándose en la utilidad de la especie dentro de la Medicina Tradicional Mexicana. Evaluó la efectividad del extracto acuoso y hexánico de la corteza de *A. adstringens* en ratas Wistar con dos tipos de modelo de inflamación aguda: edema en la oreja inducido por TPA (12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato) y edema en la pata inducido por carragenina.

Los resultados mostraron que en el edema de oreja inducido por TPA, el extracto hexánico tuvo una interesante actividad antiinflamatoria con un comportamiento dependiente de la dosis ( $ED_{50} > 1.0$ ) mientras que el extracto acuoso no mostró un efecto significativo.

En los resultados del edema de pata inducido por carragenina, se encontraron efectos inversos, pues el extracto acuoso mostró un 73.5% de

inhibición total del edema, mientras que el extracto acuoso mostró solo un 14.4% a una concentración de 100 mg/Kg de peso corporal. Estos resultados podrían indicar que tanto el extracto acuoso, como el hexánico poseen diferentes mecanismos de acción antiinflamatoria.

Por otro lado, como se ha mencionado previamente, la corteza de este árbol posee diversos constituyentes del tipo triterpénico, entre los cuales podemos encontrar al ácido masticadienónico y al ácido 3- $\alpha$ -hidroximasticadienónico, debido a que son de los principales metabolitos con mayor abundancia y actividad biológica de interés, se decidió estudiarlos en los mismos modelos de inflamación, encontrando que el ácido 3- $\alpha$ -hidroximasticadienónico mostró un efecto dependiente de la dosis ( $ED_{50}= 0.748$ ) en el edema de oreja inducido por TPA, mientras que otro derivado triterpénico no mostró efecto alguno. En el caso de los resultados del edema de pata inducido por carragenina ambos compuestos mostraron casi la misma actividad (alrededor del 44% de inhibición total del edema a una dosis de 100 mg/Kg de peso corporal). (Martínez-Vázquez, 2004).

Bajo esta línea de trabajo, un año después Martínez reportó la semisíntesis de dos derivados del ácido masticadienónico, el ácido 24, 25S-dihidromasticadienónico y el ácido masticadienólico (Figura 6). Del mismo modo, bajo este esquema de trabajo, se reportó la actividad citotóxica del extracto hexánico de la corteza del cuachalalate, así como de los metabolitos secundarios y sus derivados semisintéticos.



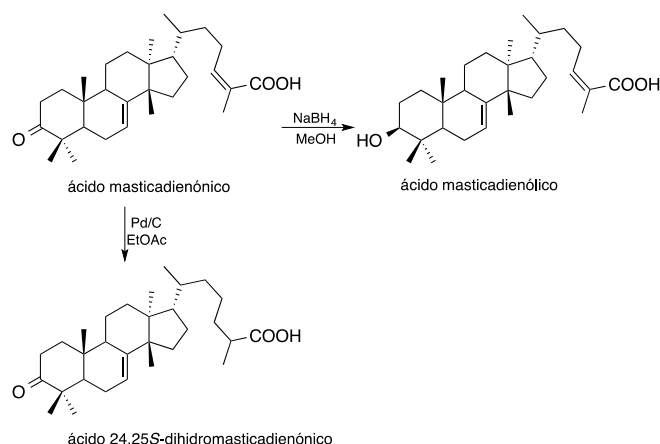


Figura 6. Diagrama semisintético de los derivados del ácido masticadienónico. a) Ácido 24, 25S-dihidromasticadienónico. b) ácido masticadienólico.

El extracto hexánico y compuestos aislados se evaluaron para medir la actividad citotóxica frente a cinco diferentes líneas celulares (HCT-15 de colon, MCF-7 de mama; U251 de cerebro; PC-3 de próstata y K562 de leucemia). Los resultados mostraron que el extracto hexánico es muy activo específicamente con la línea celular de mama y leucemia con una  $IC_{50}$  de  $7.9 \pm 1.9$  mg/ $\mu$ L y  $8.4 \pm 0.1$   $\mu$ g/mL respectivamente.

Por otro lado, el derivado semisintético, el ácido masticadienólico mostró una importante actividad contra la línea celular de colon con una  $IC_{50}$ :  $20.2 \pm 8.4$   $\mu$ M, del mismo modo, el ácido masticadienónico presentó valores significativos contra las líneas celulares de mama, cerebro y próstata con valores de  $IC_{50}$  de  $18.4 \pm 1.0$   $\mu$ M,  $20.4 \pm 2.2$   $\mu$ M y  $27.4 \pm 3.9$   $\mu$ M respectivamente.

El segundo derivado semisintético, el ácido 24, 25S-dihidromasticadienónico, mostro una moderada actividad contra la línea celular de colon con un  $IC_{50}$  de  $22.9 \pm 5.2$   $\mu$ M, siendo muy cercano al valor mostrado por el ácido masticadienólico. Cabe señalar que ambos productos no son aislados del cuachalalate, si no modificados sintéticamente a partir del ácido masticadienónico. (Martínez-Vázquez, 2005)

En otro orden de ideas, el dolor es considerado uno de los malestares mas comunes que aquejan a la población mundial, los agentes analgésicos convencionales juegan un papel importante en la medicina moderna, pero desafortunadamente causan muchos efectos adversos, debido a eso surge la necesidad de seguir en la continua búsqueda de nuevos y mejores fármacos que curen el dolor. Tomando en cuenta esta información, Deciga-Campos en el 2005, dedicó parte de sus estudios a investigar el potencial antinociceptivo (reversión o alteración de los aspectos sensoriales de la intensidad del dolor) de seis plantas comúnmente utilizadas en la Medicina Tradicional Mexicana para el dolor o el tratamiento de golpes contusos (*Exostema caribaeum* (albarillo), *Brickellia veronicaefolia* (hierba dorada), *Scaphyglottis lívida* (Orquídea), *Ligusticum porteri* (raíz de oso), *Gnaphalium spp.* (Gordolobo) y *Amphipterygium adstringens* (cuachalalate)).

El efecto antinociceptivo fue probado en ratones machos mediante la prueba de retorcimiento, es decir que de manera intraperitoneal se administró ácido acético al 0.6% provocando contracciones abdominales, movimientos repentinos de las patas traseras y torsión de los músculos dorsoabdominales. La reducción del estiramiento por unidad de tiempo se consideró como antinocicepción. (Deciga-Campos, 2005)

La prueba se llevó a cabo mediante la administración por vía oral de los extractos metanólicos-clorofórmicos de las seis especies vegetales, los resultados mostraron que *E. caribaeum*, *Gnaphalium spp.* y *A. adstringens* no tuvieron un efecto antinociceptivo, sin embargo, *B. veronicaefolia*, *S. lívida* y *L. porteri*, tuvieron una significativa reducción del número de contracciones producidas por el ácido acético.

Por otro lado, siguiendo los estudios de Navarrete en 1998, sobre los efectos gastroprotectores del cuachalalate, Romero y su grupo de colaboradores



estudiaron los efectos de la corteza de este árbol contra *Helicobacter pylori* (bacteria Gram-negativa considerada como el principal agente etiológico de la gastritis crónica, enfermedad de úlcera péptica relacionada al carcinoma gástrico).

Mediante extracción vía Soxhlet, se realizaron acorde a la polaridad diferentes extractos (éter de petróleo, éter dietílico, cloroformo, etanol y agua). Se evaluaron para medir la actividad antibacteriana contra *H. pylori*, encontrando que el concentrado de éter de petróleo mostró una actividad significativa.

Con base en la actividad, se realizó un estudio biodirigido de la fracción, aislando una mezcla de ácidos anacárdicos más los tres triterpenos ya conocidos y previamente reportados; el ácido masticadienónico, 3-hidroximasticadienónico y 3-*epi*-oleanólico.

Todos los compuestos fueron evaluados frente a cultivos de *H. pylori* a diferentes concentraciones (200, 100, 50, 12.5 y 6.25  $\mu\text{g/ml}$ ) utilizando metronidazol y amoxicilina como referencia. Los resultados mostraron que solo la mezcla de los ácidos anacárdicos poseen una potente actividad antibacteriana dependiente de la dosis con una completa inhibición en el crecimiento de la bacteria (MIC a 10  $\mu\text{g/ml}$ ) comparado con el metronidazol (MIC<sub>90</sub> a 300  $\mu\text{g/ml}$ ) y amoxicilina (MIC<sub>90</sub> a 0.1  $\mu\text{g/ml}$ ). (Romero, 2007).

Para identificar los componentes en la mezcla de los ácidos anacárdicos, se realizó la esterificación de los mismos mediante diazometano, obteniendo la mezcla de los ésteres metil anacárdicos, la cual se sometió a un cromatógrafo de gases, revelando una composición de cuatro ácidos fenólicos de cadena larga; C-15 (46.8%), C-16 (7.2%), C-17 (29.9%) y C-19 (7.5%), similares a los reportados por Mata. (Mata, 1991, Figura 4).

Posteriormente, bajo esta misma línea de investigación, Romero junto con Rivero-Cruz realizaron los estudios del extracto metanólico de

la corteza del cuachalalate frente a la actividad antibacteriana contra *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*, mostrando una MIC de 69 y 82  $\mu\text{g/ml}$  respectivamente. Debido a los resultados obtenidos, el extracto se sometió a un fraccionamiento aislando un nuevo ácido anacárdico; el ácido 6-[16'Z-pentadecenil]-salicílico, junto con compuestos ya conocidos y previamente reportados. (Figura 3 y 7). (Rivero-Cruz, 2011).

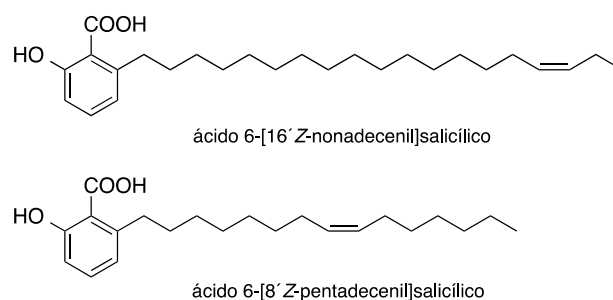


Figura 7. Compuestos aislados del extracto metanólico de *A. adstringens*.

Los compuestos aislados (Figura 7) se evaluaron para medir la actividad antibacteriana, encontrando que el nuevo ácido anacárdico posee una potente actividad antibacteriana contra *S. mutans* y *P. gingivalis*, con MICs de 7 y 12  $\mu\text{g/ml}$  respectivamente.

Finalmente, como última contribución al presente artículo, es importante hacer mención sobre una revisión realizada por Reyes-Chilpa y colaboradores, inspirada principalmente por los datos reportados sobre el uso de plantas medicinales en afecciones respiratorias.

Hasta la fecha, se conoce que aproximadamente 187 especies de plantas ya sean endémicas o no de la región, se utilizan dentro de la Medicina Tradicional para el tratamiento de enfermedades respiratorias incluyendo las relacionadas con la tuberculosis. Reyes-Chilpa, realizó la revisión bibliográfica pertinente para saber los datos etnobotánicos, químicos y farmacológicos de especies utilizadas por diversos pueblos indígenas,



filtrando su búsqueda a especies vegetales que han sido estudiadas exclusivamente como agentes antituberculosos (actividad antimicobacteriana).

Como resultado de la revisión, de las 187 especies de plantas utilizadas en el tratamiento de enfermedades respiratorias, solo el 62 (33% del total) fueron evaluadas in vitro en su actividad antimicobacteriana. Cabe señalar que para la mayoría de los autores que reportaron la actividad de estas especies vegetales contra *Mycobacterium tuberculosis*, proponen que una MIC < 200 µg/ml se considera prometedora.

De todas las plantas estudiadas, para catalogar las especies más activas, se eligieron las especies con una MIC < 64 µg/ml de las cuales se enlistan: *Aristolochia taliscana* (guaco), *Aristolochia brevipes*, *Citrus sinensis* (naranja), *Chrysactinia mexicana* (hierba de San Nicolás), *Persea americana* (aguacate), *Olea europea* (olivo).

Es de importancia mencionar, que algunos autores no reportaron la actividad en MIC, sino en porcentaje de inhibición, eligiendo así, las especies con un porcentaje de actividad inhibitoria >95%; de las cuales encontramos a *Amphyterigium adstringens* (cuachalalate), *Larrea divaricata* (jarilla) y *Phoradendron robinsonii* (muérdago). (Reyes-Chilpa, 2017).

## Conclusiones

*Amphyterigium adstringens* (cuachalalate, cuachalalá) es una especie que ha sido utilizada por años dentro de la medicina tradicional para la cura de diversas enfermedades tales como, úlceras estomacales, gastritis, tratamiento en golpes contusos y como cicatrizante en diversas lesiones cutáneas. Debido a estos y muchos otros usos, ha resultado ser de interés en el área de la química de productos naturales, esto para saber cual es el perfil químico de la especie, así como para tener el conocimiento de cuales son los metabolitos

secundarios responsables de la actividad biológica.

Se encontró que una serie de triterpenos del tipo tirucalano son los responsables de la actividad anti-inflamatoria, teniendo la capacidad de inhibir edemas tanto en oreja como en pata de ratón. Asimismo, ejerce una capacidad gastroprotectora, inhibiendo el crecimiento bacteriano de *H. pylori* (bacteria causante de los problemas de gastritis y cáncer gástrico).

Del mismo modo, se encontró un perfil químico de una mezcla de ácidos anacárdicos, los cuales demostraron tener una potente actividad antibacteriana contra *Helicobacter pylori*, *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*. Por otro lado, la mezcla de los triterpenos del tipo tirucalanos mostraron una importante actividad citotóxica frente a diferentes líneas celulares.

Finalmente, el presente artículo muestra la efectividad del uso del cuachalalate como alternativa en el tratamiento de diversas afecciones. Una vez más, se demuestra la cantidad de tesoros culturales, mejora de la salud y sobre todo de recursos científicos que la Medicina Tradicional Mexicana nos ha provisto por años, esto gracias a la diversidad cultural y vegetal que tiene nuestro país.

## Referencias

Domínguez, X., Franco, R., García S., Porras, M. E., Vázquez, G., **Amezcu, B.** (1983). Plantas medicinales mexicanas XLVIII: estructura del ácido instipolinácico separado de la corteza de (*Amphyterigium adstringens*). *Revista Latinoamericana de Química*, 14, 99-100.

**Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana.** (2009). Universidad Nacional





Autónoma de México, UNAM. Ciudad de México  
[www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx](http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx).

CONABIO; Comisión Nacional para el  
Conocimiento y Uso de la Biodiversidad  
[www.biodiversidad.gob.mx](http://www.biodiversidad.gob.mx)

**Deciga-Campos, M.**, González-Trujano, E.,  
Navarrete, A., Mata, R. (2005). Antinociceptive  
effect of selected mexican traditional medicinal  
species. *Proceedings of the Western  
Pharmacology Society*, 48, 70-72.

González, E. E., McKenna, G. F., **Delgado, J. N.**  
(1962). Anticancer evaluation of *Amphipterygium  
adstringens*. *Journal of Pharmaceutical  
Sciences*, 51, 901-903.

González, E. E., **Delgado, J. N.** (1962).  
Phytochemical Investigation of *Amphipterygium  
adstringens*. *Journal of Pharmaceutical  
Sciences*, 51, 786-790.

**García, M.** (1973). *Los Manuales de Don Manuel;  
Manual de Fitoterapia*, 3a. edición, Guadalajara,  
México, 233.

Watson, W. H., Domínguez, X., Vázquez, G.,  
**García, S.** (1987). Cuachalalic acid, a new  
triterpene from *Amphipterygium adstringens*.  
*Revista Latinoamericana de Química*, 18, 89-91.

**Jiménez, A. A.** (2017) Medicina Tradicional.  
*CONAMED, Boletín 13*, 30-35.

Oviedo-Chavez, I., Ramírez-Apan, T., Soto-  
Hernández, M., **Martínez-Vázquez, M.** (2004).  
Principles of the bark of *Amphipterygium  
adstringens* (Julianaceae) with anti-  
inflammatory activity. *Phytomedicine*, 11, 436-  
445.

Oviedo-Chávez, I., Ramírez-Apan, T., **Martínez-  
Vázquez, M.** (2005). Cytotoxic activity and effect  
on nitric oxide production of tirucallane-type

triterpenes. *Journal of Pharmacy and  
Pharmacology*, 57, 1087-1091.

Navarrete, A., **Mata, R.**, Delgado, G. (1989).  
Alkylanacardic acids from *Amphipterygium  
adstringens*. *Planta Medica*, 55, 579.

**Mata, R.**, Calzada, F., Navarrete, A., del Rio, F.,  
Delgado, G. (1991). Long-chain phenols from the  
bark of *Amphipterygium adstringens*. *Journal of  
Ethnopharmacology*, 34, 147-154.

**Navarrete, A.**, Martínez-Urbe, L. S, Reyes, B.  
(1998). Gastroprotective activity of the stem bark  
of *Amphipterygium adstringens* in rats.  
*Phytotherapy Research*, 12, 1-4.

Arrieta, J., Benítez, J., Flores, E., Castillo, C.,  
**Navarrete, A.** (2003). Purification of  
gastroprotective triterpenoids from the stem bark  
of *Amphipterygium adstringens*; role of  
prostaglandins, sulfhydryls, nitric oxide and  
capsaicin-sensitive neurons. *Planta Medica*, 69,  
905-909.

Gómez-Cansino, R., Guzmán-Gutiérrez, S. L.,  
Campos-Lara, M. G., Espitia-Pinzón, C. I., **Reyes-  
Chilpa, R.** (2017). Natural compounds from  
mexican medicinal plants as potential drug leads  
for anti-tuberculosis drugs. *Annals of the Brazilian  
Academy of Sciences*, 89, 31-43.

Rivero-Cruz, B. E., Esturau, N., Sánchez-Nieto,  
S., Romero, I., Castillo-Juárez, I., **Rivero-Cruz, F.**  
(2011). Isolation of the new anacardic acid 6-  
[16'-Z-nonadecenyl]-salicylic acid and evaluation  
of its antimicrobial activity against *Streptococcus  
mutans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Natural  
Products Research*, 25, 1282-1287.

Castillo-Juárez, I., Rivero-Cruz, F., Celis, H.,  
**Romero, I.** (2007). Anti-*Helicobacter pylori*  
activity of anacardic acids from *Amphipterygium  
adstringens*. *Journal of Ethnopharmacology*,  
114, 72-77.



Olivera-Ortega, A. G., **Soto Hernández, M.**, Martínez-Vázquez, M., Terrazas Salgado, T., Solares Arenas, F. (1999). Phytochemical study of cuachalalate (*Amphyterigium adstringens*, Schiede ex Schlecht). *Journal of Ethnopharmacology*, 68, 109-113.

**Rzedowski, J.**, Equihua, M. (1987). *Atlas Cultural d México; Flora*. Editorial Planeta, México, 51.

**Zhang, X.** (2018). *Organización Mundial de la Salud, OMS. Medicina Tradicional*, Ginebra.