

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería



“Síntesis y estudio de relación estructura-actividad de nuevos capsaicinoides y capsinoides con perfil antioxidante”

Que para obtener el título de Químico Farmacobiólogo

PRESENTA

Gisela Andrea Camacho Hernández

Tijuana B. C.

19 Mayo del 2011

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

Folio No.013/11
Tijuana, Baja California
Mayo 05/11

C. CAMACHO HERNANDEZ GISELA ANDREA
Pasante de Químico Farmacobiólogo
Presente

El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la
Opción TESIS

es propuesto por el Dr. Iván Córdova Guerrero

quién será responsable de la calidad de trabajo que usted presenta, referido al tema:
"Síntesis y estudio de relación estructura-actividad de nuevos capsaicinoides y
capsinoides con perfil antioxidante" el cual deberá desarrollar, de acuerdo con el
siguiente orden:

- I.- INTRODUCCIÓN
- II.- ANTECEDENTES
- III.- PARTE EXPERIMENTAL
- IV.- DISCUSIÓN DE RESULTADOS
- V.- CONCLUSIONES
- VI.- BIBLIOGRAFÍA



Dr. Iván Córdova Guerrero
Asesor



Q. Noemi Hernández Hernández
Sub- Director



Dr. Luis Enrique Palafox Maestre
Director

AGRADECIMIENTOS

"Es muy común recordar que alguien nos debe agradecimiento, pero es más común no pensar a quienes le debemos nuestra propia gratitud". Johann Wolfgang Goethe

Todas las palabras que podría escribir para agradecer a todas las personas que me han ayudado y enseñado tanto a lo largo de mi vida podrían ser infinitas, a todos ustedes mi más sincera admiración y respeto.

A Dios

Por permitirme despertar día a día, por la maravillosa familia que tengo, por las amistades valiosas que he encontrado, por haberme permitido encontrar en la vida uno de tantos motivos que tengo para levantarme, la investigación científica, por haberme bendecido cada día, estoy tan agradecida por todo lo que tengo y lo que no tengo, gracias porque me siento una mujer muy afortunada.

A mis padres

No hay palabras que pueda imprimir en esta página que represente todo lo que ustedes dos significan en mi vida, estoy tan bendecida por tenerlos como padres, han sido mi pilar y guía durante toda mi vida. Me han enseñado desde pequeña el valor de las cosas, he aprendido de ustedes que no hay mejor manera de obtener lo que uno desea más que trabajando arduamente y con muchísima dedicación, ustedes son el motor que me impulso desde mi niñez a querer más de la vida, son el ejemplo más hermoso que tengo de lucha y superación. Gracias por que ustedes dos me enseñan todos los días que no hay mejor manera de encarar los obstáculos de la vida que con una sonrisa. Este logro también es de ustedes. Los amo con toda mi alma.

A mis hermanos

No imagino mi vida sin ustedes, tal vez nunca he tenido la oportunidad de decírselos pero estoy sumamente orgullosa de tenerlos como hermanos. Mony, eres el ejemplo vivo de superación, desde pequeña aunque no lo parezca he seguido tus pasos, he aprendido tanto de ti, se me llena la boca al decir que eres mi hermano, te agradezco muchísimo por todo lo que me has enseñado a lo largo de mi vida. Daniela, mi niña consentida, tu chispa y energía hace que mis días sean especiales, gracias por soportar mis cambios de humor y por ser la mejor vecinita de

AGRADECIMIENTOS

cama que yo pudiera tener, gracias porque a pesar de tu corta edad, todos los días me enseñas a ver la vida desde otra perspectiva. Los amo muchísimo.

Al Dr. Iván Córdova Guerrero

No hay palabras que yo pudiera expresarle para agradecerle absolutamente todo lo que he aprendido de usted, le voy a estar agradecida toda mi vida por creer en mí, por todo el apoyo incondicional que usted me ha brindado, por no solo ser mi asesor si no también un amigo, le agradezco infinitamente cada cosa que me ha enseñado, cada palabra, cada consejo, desde lo más básico hasta lo más complicado. Por apoyarme en cada una de mis decisiones y porque sin usted este sueño jamás se hubiera logrado, esto es también suyo! A usted mi más entero respeto y admiración, es el ejemplo vivo de un hombre triunfador.

Al Dr. Juan Cruz, Dr. Mario del Valle y Dr. Raúl Romero

A ustedes tres que me impulsaron cuando comenzaba el gusanito de la investigación, les estoy sumamente agradecida por haberme tenido la confianza de abrirme las puertas de su laboratorio, por todos los consejos y las palabras de aliento, por ser unos excelentes maestros, les estoy y estaré eternamente agradecida por toda la ayuda que me han brindado a lo largo de mi formación.

A la Dra. Alma Elia Leal

Por su invaluable ayuda y apoyo durante toda mi formación profesional, por tener siempre una excelente disposición, por sus palabras de aliento y apoyo, por hacernos sentir, no solamente a mí sino a cada una de mis compañeras de laboratorio que podemos contar con usted, muchísimas gracias, porque en usted tengo un ejemplo de una mujer luchadora y emprendedora que no se deja vencer.

Al Dr. Adrián Ochoa, Dra. Teresita Oropeza, Dr. Daniel Chávez y a la M.C. Patricia Calvillo.

Por siempre mostrar una entera disposición, porque de ustedes aprendí que el profesionalismo está por encima de todo, gracias por el apoyo brindado en la culminación de esta tesis.

AGRADECIMIENTOS

A mis compañeras del laboratorio

A Tere, Karina, Ely, Paty, Gaby, Tamara, Lupita, Lucia, y a todas las personas que se han visto involucradas en mi formación en el laboratorio, Nuria, Julio, Celina, José Luis, Gloria, Rodrigo, les voy a estar eternamente agradecidas por todos sus consejos, por sus observaciones y enseñanzas, por el apoyo brindado no solo en la realización de este trabajo si no a lo largo de mi formación y por su paciencia, gracias a todos ustedes que me han enseñado que no hay mejor manera de trabajar que en equipo.

A mis maestros

De todos ustedes me llevo lo mejor, gracias por compartirme sus conocimientos y por la paciencia que mostraron, por cada consejo y carcajada, porque de cada uno tengo un recuerdo de alguna vivencia que marcó mi vida, siempre tendrán mi admiración. A la maestra Luz María Pimentel, que aunque no me dio clases durante la carrera, fue quien marcó y guió mi vida hacia el mundo de la química.

A mis compañeros de carrera y amigos

Tantas vivencias, tantos recuerdos, ustedes son parte de este logro, de todos aprendí muchísimo. “Amiwas” les voy a estar toda mi vida agradecida por el apoyo incondicional que me dieron durante toda la carrera y durante este trabajo, Diana, Ayla, Mon, Angie, Mary, Alma, Ileana, Arlette, Paty y Shadai, a todos ustedes les agradezco tanta paciencia y apoyo, fueron las mejores “amiwas” y las llevaré siempre en mi corazón, gracias por siempre tener una palabra de aliento y de apoyo, gracias por ser quienes son. Las adoro mis pequeñas. A Molly y a Dafne, no podía dejar de mencionar a las dos mejores amigas que alguien pudiera tener, han sido desde hace muchos años como mis hermanas, ambas lejos de mí pero siempre conectadas, gracias por todo su apoyo, por las noches en vela, por las confidencias, por los consejos. Gracias por siempre tener una palabra de aliento. Las quiero mucho.

A la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería y a mi *alma mater*, la Universidad Autónoma de Baja California siempre estaré muy agradecida con esta institución.

A mis papás y hermanos

A ti

RESUMEN

En la presente tesis se muestra el trabajo relacionado a los estudios de aproximación sintética y de ensayos *in vitro* de actividad antioxidante, de varios análogos de capsaicinoides y capsinoides, metabolitos secundarios que han sido identificados y aislados de los frutos de las especies del género *Capsicum*, y que se reconocen por su amplio perfil farmacológico. El objetivo general de esta investigación es establecer los requerimientos estructurales de la acción antioxidante de estos productos naturales.

En la Introducción se presentan aspectos históricos relevantes de las plantas como fuentes potenciales de alimento, energía y medicina. También se hace énfasis en la gran utilidad de la síntesis química, como herramienta fundamental en la modulación de actividades biológicas de productos naturales, mejor conocidas como técnicas de quimiomodulación o quimioinducción.

El Capítulo 1 muestra las estrategias sintéticas y la caracterización estructural que se llevaron a cabo para obtener los diferentes capsaicinoides y capsinoides, buscando la diferente funcionalización química de estos compuestos, y que pueda aportarnos diferentes propiedades fisicoquímicas, tales como efectos electrónicos, estéricos y de hidrofobicidad de los sustituyentes en la actividad biológica.

El Capítulo 2, presenta las técnicas experimentales y los resultados obtenidos de los diferentes ensayos antioxidantes realizados *in vitro*, para evaluar a los productos obtenidos de este trabajo. Los experimentos realizados fueron, el método de decoloración oxidativa del β -caroteno, la reducción del radical DPPH y el determinación del potencial de oxidación con técnicas electroanalíticas.

Finalmente, todas las generalidades, datos, resultados, discusión de los mismos, y las conclusiones finales de este trabajo, se muestran en la redacción de esta tesis.

SUMMARY

SUMMARY

This thesis shows the work related to studies of synthetic approach and *in vitro* antioxidant activity of various analogues of capsaicinoids and capsinoids, secondary metabolites that have been identified and isolated from *Capsicum* genus and that are recognized by their wide pharmacological profile. The general purpose of this work is to establish the structural requirements of the antioxidant action of these natural products.

The introduction presents relevant historical aspects of plants as potential sources of food, energy and medical treatment. It also emphasizes the usefulness of chemical synthesis, as a fundamental tool in the modulation of biological activities of natural products.

Chapter 1 illustrates the synthetic strategies and structural characterization carried out to obtain the different capsaicinoids and capsinoids, looking for different chemical functionalization of these compounds, that may provide us with different physicochemical properties, such as electronic effects, steric and hydrophobic of the substituents on biological activity.

Chapter 2 show the experimental techniques and results of different *in vitro* antioxidant assays, to evaluate the products obtained in this work. The experiments performed were, oxidative bleaching of β -carotene, DPPH radical-scavenging activity and determination of the oxidation potential using electroanalytical techniques.

Finally, background, data, discussion of results, and the final conclusions of this work are shown in the writing of this thesis.

ÍNDICE	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS.....	I
ÍNDICE DE FIGURAS.....	III
ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	V
ÍNDICE DE ANEXOS.....	VIII
ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS.....	X
INTRODUCCIÓN.....	1
HIPÓTESIS.....	5
OBJETIVOS GENERAL Y PARTICULARES.....	6
CAPITULO I. SÍNTESIS DE ANÁLOGOS DE CAPSAICINOIDES Y CAPSINOIDES	
1.1 Antecedentes	
1.1.1 Generalidades de los capsaicinoides y derivados.....	7
1.1.2 Estudios sintéticos reportados en la literatura.....	10
1.2 Parte experimental	
1.2.1 Síntesis de análogos de capsaicinoides.....	15
1.2.1.1 Ruta sintética A.....	16
1.2.1.2 Ruta sintética B.....	26
1.2.2 Síntesis de análogos de capsinoides.....	31
1.2.2.1 Ruta sintética C.....	32
1.2.2.2 Ruta sintética D.....	36
1.3 Discusión de resultados	
1.3.1 Síntesis de capsaicinoides.....	42
1.3.2 Síntesis de capsinoides.....	53

CAPITULO II. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE CAPSAICINOIDES Y CAPSINOIDES

2.1 Antecedentes

2.1.1 Lesión celular por radicales libres.....	63
2.1.2 Antioxidantes endógenos y exógenos.....	65
2.1.3 Capsaicinoides como antioxidantes.....	65

2.2 Parte experimental

2.2.1 Decoloración oxidativa del β -caroteno.....	67
2.2.2 Reducción del radical DPPH.....	70
2.2.3 Evaluación electroquímica.....	72

2.3 Discusión de resultados74

CONCLUSIONES.....86

BIBLIOGRAFÍA.....88

APÉNDICE

Anexos.....	90
Técnicas experimentales.....	124

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Datos de RMN ^1H en CDCl_3 para el compuesto (8).....	44
Tabla 2. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (9).....	45
Tabla 3. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (10).....	47
Tabla 4. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (16).....	49
Tabla 5. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (17).....	51
Tabla 6. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (18).....	52
Tabla 7. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (11).....	55
Tabla 8. Datos de RMN ^1H en CDCl_3 para el compuesto (12).....	56
Tabla 9. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (13).....	57
Tabla 10. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (19).....	59
Tabla 11. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (20).....	60
Tabla 12. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (21).....	62
Tabla 13. Porcentajes de actividad antioxidante.....	75
Tabla 14. Porecentajes de actividad antirradicalaria a diferentes concentraciones.....	76
Tabla 15. Porcentajes de actividad antioxidante para los compuestos: 16, 17, 18, 19, 20 y 21.....	78
Tabla 16. Porecentajes de actividad antioxidante por el método de reducción del radical DPPH.....	79
Tabla 17. Comparación del Log P con respecto al % de actividad antioxidante.....	80
Tabla 18. Comparación del Log P con respecto al % de actividad antioxidante de los compuestos 16, 17, 18, 19, 20 y 21.....	81

Tabla 19. Potencial de oxidación de corriente anódica máxima de análogos sintéticos de capsaicina.....	85
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructura del ascaridol.....	1
Figura 2. Estructura de capsaicina.....	3
Figura 3. Frutos de las especies del género <i>Capsicum</i>	4
Figura 4. Estructuras típicas de vainilloides.....	6
Figura 5. Diferentes tipos de chiles.....	7
Figura 6. Estructura de capsaicina.....	8
Figura 7. Mano presentando signos de Artritis Reumatoide.....	9
Figura 8. Estructuras de dihidrocapsaicina, nordihidrocapsaicina, homocapsaicina y homodihidrocapsaicina.....	9
Figura 9. Estructura del capsiato.....	10
Figura 10. Producción de radicales libres del oxígeno.....	64
Figura 11. Enfermedades relacionadas con una producción acelerada de radicales libres.....	65
Figura 12. Ejemplos de antioxidantes naturales.....	66
Figura 13. Mecanismo de oxidación de la técnica de β -caroteno.....	67
Figura14 Disolución de β -caroteno.....	68
Figura15. Técnica de la decoloración oxidativa de β -caroteno.....	68
Figura 16. Experimento de la decoloración oxidativa del β -caroteno.....	69
Figura17. Tubos protegidos de la luz, por triplicado, rotulados a diferentes concentraciones.....	70
Figura 18. Disolución del DPPH en MeOH.	70
Figura 19. Reducción del radical DPPH.....	71

	Pág.
Figura 20. Celda electroquímica.....	72
Figura 21. Sistema utilizado para la técnicas voltamperométricas.....	73
Figura 22. Potenciostato-galvanostato EPSILON.....	73
Figura 23. Análogos sintéticos de tipo capsaicinoide y capsinoides.....	74
Figura 24. Gráfica de los porcentajes de actividad antioxidante por la técnica de decoloración oxidativa de β -caroteno de los análogos 8, 9, 10 (función amida), 11, 12 y 13 (función éster).....	76
Figura 25. Actividad Antirradicalaria de los análogos 8, 9, 10, 11, 12 y 13.....	77
Figura 26. Gráfica de los porcentajes de actividad antioxidante por la técnica de decoloración oxidativa de β -caroteno de los análogos 16, 17, 18, 19, 20 y 21.....	78
Figura 27. Comparación de la actividad antioxidante por el método de decoloración Oxidativa.....	78
Figura 28. Actividad antioxidante (Método DPPH).....	80
Figura 29. Gráfica comparativa del Log P con respecto al % de actividad antioxidante.....	81
Figura 30. Gráfica comparativa entre el Log P y el % de act. Antioxidante de los productos 16, 17, 18, 19, 20 y 21.....	82
Figura 31. Voltamperogramas del compuesto (13).....	83
Figura 32. Voltamperogramas de (11).....	84
Figura 33. Voltamperogramas de (8).....	84

ÍNDICE DE ESQUEMAS

	Pág.
Esquema 1. Metodología utilizada por Gannet <i>y col</i> / para general la vainillin amina.....	11
Esquema 2. Generación de las olefinas Z y E.....	11
Esquema 3. Síntesis de análogos de capsaicina.....	12
Esquema 4. Síntesis de tioureas (análogos de capsaicinoides).....	12
Esquema 5. Síntesis de análogos de capsaicinoides por Barbero <i>y col</i> /.....	13
Esquema 6. Generación de cloruros de acilo.....	13
Esquema 7. Silación y reducción de la vainillina.....	14
Esquema 8. Última etapa para formación de análogos de capsinoides.....	14
Esquema 9. Ruta sintética A.....	15
Esquema 10. Ruta sintética B.....	16
Esquema 11. Reacción de acilación de la vainillina.....	16
Esquema 12. Aminación del compuesto (2) con etilamina.....	17
Esquema 13. Acilación del compuesto (4) con cloruro de propanoílo.....	18
Esquema 13.1. Metodología general para la preparación de cloruros de acilo a partir de ácidos carboxílicos.....	19
Esquema 14. Acilación del compuesto (4) con cloruro de pentanoílo.....	20
Esquema 15. Acilación del compuesto (4) con cloruro de undecenoílo.....	21
Esquema 16. Desprotección del compuesto (5) para obtener el producto (8).....	22
Esquema 17. Desprotección del compuesto (6) para obtener el producto (9).....	23
Esquema 18. Desprotección del compuesto (7) para obtener el producto (10).....	24
Esquema 19. Aminación del benzaldehído con etilamina.....	26

Esquema 20. Acilación con cloruro de propanoílo del compuesto (14) para obtener el producto (16).....	27
Esquema 21. Acilación con cloruro de pentanoílo del compuesto (14) para obtener el producto (17).....	28
Esquema 22. Acilación con cloruro de undecenoílo del compuesto (14) para obtener el producto (18).....	29
Esquema 23. Ruta sintética C.....	31
Esquema 24. Ruta sintética D.....	32
Esquema 25. Reducción del grupo carbonilo de la vainillina con NaBH_4	32
Esquema 26. Acilación con cloruro de propanoílo del compuesto (3) para obtener el producto (11).....	33
Esquema 27. Acilación con cloruro de pentanoílo del compuesto (3) para obtener el producto (12).....	34
Esquema 28. Acilación con cloruro de undecenoílo del compuesto (3) para obtener el producto (13).....	35
Esquema 29. Reducción del grupo carbonilo del Benzaldehído con NaBH_4	36
Esquema 30. Acilación con cloruro de propanoílo del compuesto (15) para obtener el producto (19).....	37
Esquema 31. Acilación con cloruro de pentanoílo del compuesto (15) para obtener el producto (20).....	38
Esquema 32. Acilación con cloruro de undecenoílo del compuesto (15) para obtener el producto (21).....	40
Esquema 33. Ruta sintética A para la obtención de capsaicinoides a partir de vainillina.....	42

Esquema 34. Ruta sintética B para la obtención de capsaicinoides a partir de benzaldehído.....	48
Esquema 35. Ruta sintética C para la obtención de capsinoides a partir de vainillina.....	53
Esquema 36. Ruta sintética D para la obtención de capsinoides a partir de benzaldehído.....	58

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO 1. Espectro de IR del producto (8).....	90
ANEXO 2. Espectro de IR del producto (9).....	91
ANEXO 3. Espectro de IR del producto (10).....	92
ANEXO 4. Espectro de IR del producto (16).....	93
ANEXO 5. Espectro de IR del producto (17).....	94
ANEXO 6. Espectro de IR del producto (18).....	95
ANEXO 7. Espectro de IR del producto (11).....	96
ANEXO 8. Espectro de IR del producto (12).....	97
ANEXO 9. Espectro de IR del producto (13).....	98
ANEXO 10. Espectro de IR del producto (19).....	99
ANEXO 11. Espectro de IR del producto (20).....	100
ANEXO 12. Espectro de IR del producto (21).....	101
ANEXO 13. Espectro de masas del producto (8).....	102
ANEXO 14. Espectro de masas del producto (9).....	103
ANEXO 15. Espectro de masas del producto (10).....	104
ANEXO 16. Espectro de masas del producto (16).....	105
ANEXO 17. Espectro de masas del producto (17).....	106
ANEXO 18. Espectro de masas del producto (18).....	107
ANEXO 19. Espectro de masas del producto (12).....	108
ANEXO 20. Espectro de masas del producto (13).....	109
ANEXO 21. Espectro de masas del producto (19).....	110
ANEXO 22. Espectro de masas del producto (20).....	111

ANEXO 23. Espectro de masas del producto (21).....	112
ANEXO 24. Espectro de RMN ^1H del compuesto (8).....	113
ANEXO 25. Espectro de RMN ^1H del compuesto (9).....	114
ANEXO 26. Espectro de RMN ^1H del compuesto (10).....	115
ANEXO 27. Espectro de RMN ^1H del compuesto (16).....	116
ANEXO 28. Espectro de RMN ^1H del compuesto (17).....	117
ANEXO 29. Espectro de RMN ^1H del compuesto (18).....	118
ANEXO 30. Espectro de RMN ^1H del compuesto (11).....	119
ANEXO 31. Espectro de RMN ^1H del compuesto (12).....	120
ANEXO 32. Espectro de RMN ^1H del compuesto (13).....	121
ANEXO 33. Espectro de RMN ^1H del compuesto (20).....	122
ANEXO 34. Espectro de RMN ^1H del compuesto (21).....	123

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

Ac ⁰	Absorbancia control tiempo cero minutos
Ac ¹²⁰	Absorbancia control tiempo 120 minutos
AcOEt	Acetato de etilo
AcOH	Ácido acético
Act.	Actividad
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADP	Adenosin difosfato
Am ⁰	Absorbancia muestra tiempo cero minutos
Am ¹²⁰	Absorbancia muestra tiempo 120 minutos
ATP	Adenosin trifosfato
Bz	Benzoilo
BzCl	Cloruro de benzoilo
c	Cuarteto
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
cm	centímetros
col.	Colaboradores
d	Doblete
DIBAL-H	Hidruro de diisobutil aluminio
DMF	Dimetil formamida
DPPH	Difenil picril hidrazil
EM	Espectrometría de masas
Et ₃ N	Trietil amina
etc.	Etcétera
EtOH	Etanol
g	Gramos

GSSG	Disulfuro de glutatión
H	Hidrogeno
Hex	Hexano
hrs.	Horas
IR	Infrarrojo
J	Constante de acoplamiento
M	Molar
m	Multiplete
MeOH	Metanol
mg	Miligramos
mL	Mililitro
mmol	Milimoles
N	Normal
NADP	Nicotinamida adenina dinucleotido fosfato
NaOH	Hidroxido de sodio
nm	Nanometros
PF	Punto de fusión
Pyr	Piridina
RMN ^{13}C	Resonancia magnética nuclear de carbono
RMN ^1H	Resonancia magnética nuclear de protón
RMN	Resonancia magnética nuclear
s	Singulete
Se	Selenio
SGH	Glutatión
t	Triplete

THF	Tetrahidrofurano
β	Beta
δC	Desplazamiento químico de carbono trece.
δH	Desplazamiento químico de protón.

INTRODUCCIÓN

A lo largo de la historia del hombre las plantas han sido utilizadas como fuente de alimento, energía y medicina, con relación a su uso medicinal se pueden encontrar relatos antiguos que resaltan el impacto positivo o negativo al utilizarlas como pócimas o curaciones. Les eran atribuidas propiedades curativas de acuerdo a su color, olor, forma o en el hábitat en el que se encontraban. Por ejemplo, el quenopodio por su forma de lombriz fue utilizado como antihelmíntico (Marcano Deanna, 2002), hoy se sabe que el responsable de esta propiedad no es precisamente su forma si no un monoterpeno bicíclico conocido como ascaridol (Figura 1).

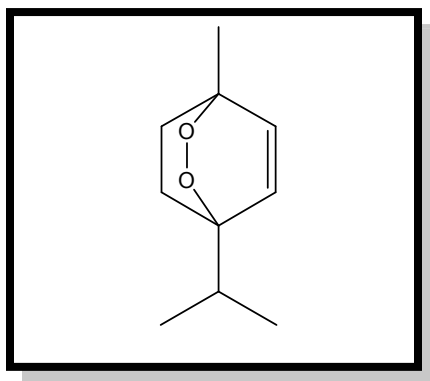


Figura 1. Estructura del ascaridol

Desde hace mas de 4000 años los chinos han descrito al Ch'ang Shang (*Dichroa febrífuga*), arbusto del cual utilizaban sus raíces pulverizadas como antimalárico (Romo de Vivar Alfonso, 2006). Teofrasto (371-286 a. de C.) nos regaló *La historia de las plantas*, una de las obras más importantes sobre botánica, en la que se clasifican de acuerdo a su modo de reproducción, su distribución, su hábito de crecimiento y de acuerdo a sus aplicaciones prácticas, tales como alimenticias y medicinales. Antes de la llegada de los europeos, en el continente americano ya se tenía un conocimiento amplio de los usos y aplicaciones de las plantas. El maíz y la papa eran la base de alimentación de las civilizaciones precolombinas, se utilizaban condimentos como el chile y la vainilla. Los remedios herbolarios resolvían los problemas de salud en los habitantes siendo estos recopilados en el código badiano escrito originalmente en náhuatl y posteriormente traducido al latín, lo cual demuestra que las plantas han desempeñado un papel muy importante en la evolución del hombre.

Con un interés despierto sobre la medicina natural o “naturista”, entre la comunidad científica surgió la pregunta: ¿qué compuestos químicos contenidos en las plantas son los responsables de sus efectos terapéuticos? Entonces fue que comenzó el aislamiento y purificación de estos principios activos. La teoría de la fuerza vital conocida también como la teoría del vitalismo, postulaba que los compuestos orgánicos se podían obtener únicamente por medio de organismos vivos; dichas ideas eran comunmente aceptadas hasta que el desarrollo de instrumentos analíticos proporcionaron clara evidencia de que las leyes químicas usuales que gobernaban el comportamiento de la materia inorgánica, eran también válidas para los compuestos orgánicos (Areal Guerra Rogelio, 2002).

En 1828 Friedrich Wöhler sintetizó urea utilizando cianato de amonio. Este experimento condujo el desarrollo de la química orgánica sintética y su estrecha relación con los productos naturales. En 1837 Liebig escribió: *“la extraordinaria y en parte inexplicable producción de urea sin la asistencia de los factores vitales, por lo que estamos en deuda con Wöhler, debe de considerarse como uno de los descubrimientos con los que inicia una nueva era de la Ciencia...”* (Areal Guerra Rogelio, 2002). Se podría pensar que desde que se descartó el vitalismo a comienzos del siglo XIX esta idea habría desaparecido. Sin embargo, el vitalismo forma parte de la mentalidad de las personas que creen que los productos “naturales” son diferentes y más saludables que aquellos compuestos exactamente iguales o “artificiales”, los cuales se sintetizan en el laboratorio (Wade L. G., 2004).

Los metabolitos secundarios estudiados de las plantas u organismos vivos que son aislados y purificados están presentes en bajas concentraciones, debido a esto, la síntesis de productos naturales es una herramienta muy importante ya que es fundamental para la producción a mayor escala de estos metabolitos. La síntesis orgánica ha contribuido de manera exitosa en la búsqueda de nuevos fármacos (agentes antitumorales, antioxidantes, antimicóticos, antibióticos, antihelmínticos, antinociceptivos, etc.) basados en los metabolitos secundarios extraídos de fuentes naturales, pero producidos de manera sintética. Muchos de los fármacos que actualmente se venden en el mercado fueron aislados de alguna fuente natural; algunos de estos son productos naturales que fueron modificados estructuralmente para que fueran absorbidos más fácilmente por el organismo. Tal es el caso del ácido salicílico, el cual fue extraído de la

corteza de una especie del género *Salix*. Se pueden enumerar muchos fármacos han sido aislados o sintetizado a partir de productos naturales y que a partir de estos se han derivado cientos de compuestos con capacidades farmacológicas aun mayores que de los originales.

Por lo anterior, podemos resumir una serie de etapas por los cuales los productos naturales han pasado:

1. Utilización de plantas enteras como pócimas o curaciones.
2. Tratamiento, cocción, maceración y mezclado con ciertas acciones específicas.
3. Extracción de los metabolitos que eran causantes de la acción.
4. Investigación sobre su estructura, sus características espectroscópicas y sus actividades biológicas.
5. Modificación de la estructura y síntesis.
6. Estudio de estructura-actividad, utilizándose cada vez más el método computacional.

La síntesis orgánica a partir de productos naturales ha marcado una pauta en la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos dada la gran demanda de nuevos productos de interés biológico y farmacológico. Es por ello que el presente trabajo se enfoca en la búsqueda de nuevos agentes antioxidantes semisintéticos basados en la capsaicina (Figura 2), un producto natural extraído de frutos del género *Capsicum* (Figura 3) el cual es el responsable principal de darle la “pungencia” o picor al chile, y al cual se le atribuyen propiedades farmacológicas como la antiinflamatoria y antitumoral.

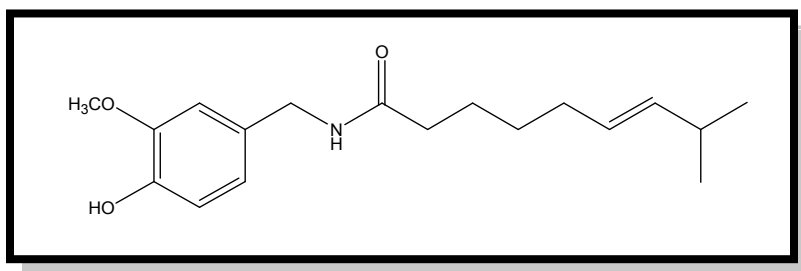


Figura 2. Estructura de capsaicina

En la literatura se ha reportado que los extractos de los frutos de las especies del género *Capsicum* tienen una importante actividad antioxidante, y estos al ser fraccionados se encontró que la capsaicina y la dihidrocapsaicina jugaban un papel importante en esta actividad (Materska Malgorzata, 2005). Este trabajo se enfoca en buscar la relación estructura-actividad de análogos semisintéticos de capsaicina, los cuales por medio de quimiomodulación se busca encontrar el farmacóforo, es decir, la parte activa de la estructura que es la responsable de la actividad antioxidante.



Figura 3. Frutos de las especies del género *Capsicum*

HIPÓTESIS

La estructura molecular de compuestos de tipo vainilloide, favorece los mecanismos de neutralización de diferentes fuentes de oxidación.

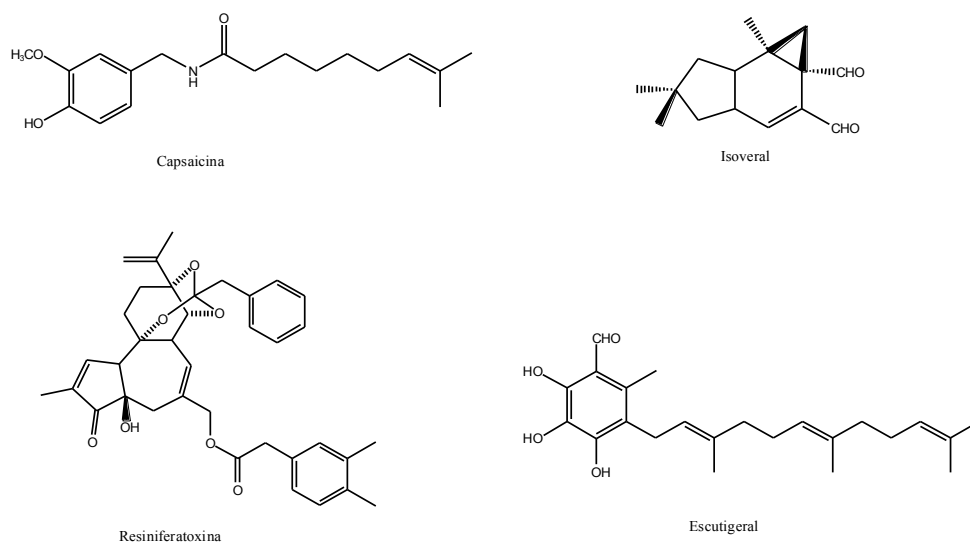


Figura 4. Estructuras típicas de vainilloides.

OBJETIVOS GENERAL Y PARTICULARES

OBJETIVO GENERAL

Realizar un estudio de correlación estructura-actividad antioxidante de análogos de capsaicinoides y capsinoides.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Encontrar la metodología sintética adecuada para generar nuevos análogos de capsaicinoides y capsinoides.
- Sintetizar y caracterizar todos los intermediarios y productos generados en este estudio.
- Evaluar la actividad antioxidante de los productos generados, mediante las técnicas de decoloración oxidativa del β -caroteno, reducción del radical libre DPPH y métodos electroanalíticos.
- Determinar cuáles son los parámetros estructurales que rigen el potencial antioxidante de estos productos.

CAPITULO I

Síntesis de análogos de capsaicinoides y capsinoides

1.1 Antecedentes

1.1.1 GENERALIDADES DE LOS CAPSAICINOIDES Y DERIVADOS

Los frutos de las especies del género *Capsicum* han sido utilizados como alimento, condimento o como remedio herbolario. Se calcula que un cuarto de la población mundial consume chile (figura 5) (Szallasi, A. 1999), provocando diversos efectos fisiológicos como sudoración, aceleración del pulso cardiaco, irritación del tracto gastrointestinal e incluso, en personas que no lo acostumbran, diarrea. Entre las propiedades terapéuticas encontradas en los extractos del chile, la más importantes es su acción antioxidante, atribuida a su alto contenido de vitamina C y E, carotenoides, flavonoides y capsaicinoides. Estos últimos están localizados en mayor proporción en la placenta del chile (Thiele y *col.*, 2008) y son responsables de la pungencia o el picor característico al fruto.



Figura 5. Diferentes tipos de chiles.

Los capsaicinoides son una familia de compuestos que tienen una importante acción farmacológica a nivel neurológico (Conforti, F. 2007), se ha encontrado además de su alto poder antioxidante, es anticanceroso, antiinflamatorio y puede ser utilizado para controlar la obesidad (Luo Xiu-Ju y *col.* 2011). El capsaicinoide que se encuentra en mayor abundancia y al cual se le atribuyen dichas propiedades es la capsaicina (figura 6). A este compuesto se le han atribuido numerosas actividades, entre las cuales destaca su efecto para inducir la apoptosis de células leucémicas así como su especificidad para no afectar las células normales (Ito Keisuke, 2004).

Está documentado el uso de extractos de alcohol de chile para ayudar contra la inflamación bucal; en el mercado actual existen una enorme cantidad de pomadas y cremas con capsaicina en pequeñas proporciones para ayudar con la inflamación de las articulaciones

ocasionados por diversas enfermedades como la osteoartritis, artritis reumatoide, dolor musculoesquelético (Reyes-Escogido M. y *col.* 2011) (figura 7) así como inflamaciones musculares. Investigaciones recientes demuestran que la excitación de neuronas sensoriales por el carácter irritable de estos compuestos, llevan a una desensibilización prolongada, a lo cual se le atribuye su característica analgésica (Luo Xiu-Ju y *col.* 2011).

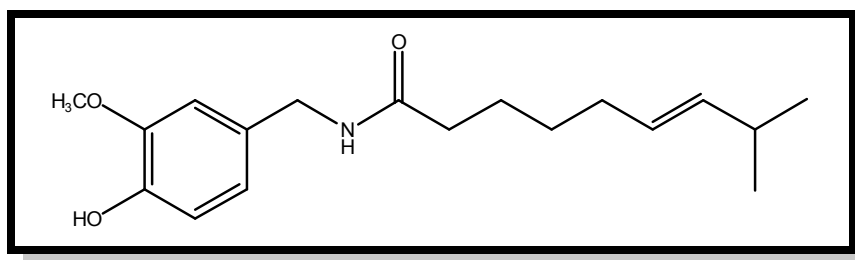


Figura 6. Estructura de capsaicina

Las propiedades antioxidantes de los capsaicinoides contribuyen de manera benéfica al sistema cardiovascular. En la aterosclerosis, la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL, por sus siglas en inglés) es considerada como el factor de la progresión de dicha enfermedad. La capsaicina y dihidrocapsaicina pudieron retardar la oxidación de LDL. En ensayos *in vivo*, el tratamiento con capsaicina reduce el colesterol total en ratas. Se encontró que un consumo regular de chile por cuatro semanas puede elevar la resistencia a la oxidación de lipoproteínas en hombres y mujeres de edad adulta (Ahuja y *col.*, 2006).

La capsaicina (N-vanilil-8-metil-1-nonenamida) ha sido objeto de estudio en numerosas investigaciones desde que se aisló por primera vez en 1876 (Gannett, P 1988). La estructura de la capsaicina se elucidó por primera vez en 1919 por Neelson y colaboradores; y once años después que se sintetizó completamente por Spath y Darlin.



Figura 7. Mano presentando signos de Artritis Reumatoide

Los capsaicinoides se biosintetizan por condensación de los ácidos grasos y la vainillinamina (Thiele y *col.*, 2008). En la familia de los capsaicinoides además de la capsaicina que es la más estudiada y considerada como la más importante, existen la dihidrocapsaicina, nordihidrocapsaicina, homocapsaicina y homodihidrocapsaicina (figura 8), éstas también se encuentran presente en los frutos pero en menor concentración y la única diferencia estructural con respecto a la capsaicina es el tamaño de la cadena alifática y la presencia del doble enlace.

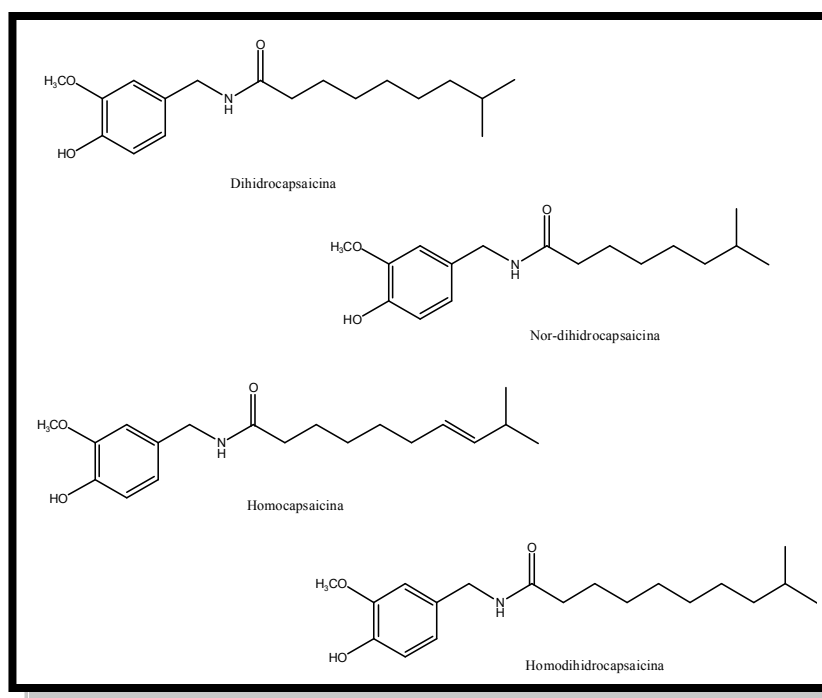


Figura 8. Estructuras de dihidrocapsaicina, nordihidrocapsaicina, homocapsaicina y homodihidrocapsaicina.

Los capsaicinoides son extremadamente irritantes e incluso tóxicos, esto limita su utilización farmacológica, por lo cual deben ser utilizados en bajas concentraciones. Se han encontrado otros compuestos en los mismos frutos de estas especies en menores proporciones con una similitud estructural a los capsaicinoides, denominados capsinoides, siendo el capsiato el más abundante (figura 9).

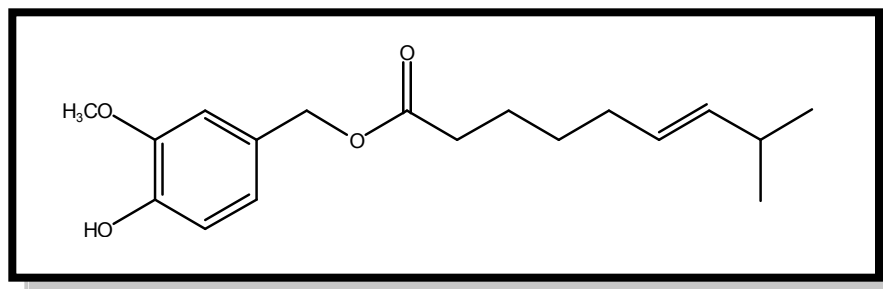
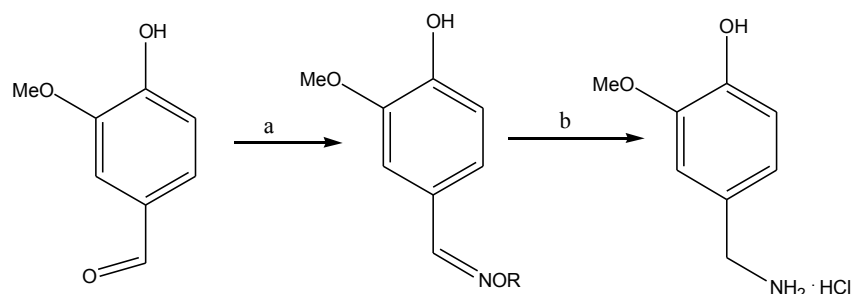


Figura 9. Estructura del capsiato

La diferencia estructural entre capsaicinoides y capsinoides, es la unión de la cadena alifática al anillo aromático, en los capsaicinoides esta unida por una amida y en los capsiatos por un éster. Esta diferencia estructural hace que los capsinoides (como el capsiato) pierdan la propiedad pungente que caracteriza a los capsaicinoides y por lo tanto su toxicidad disminuye, lo cual no limita su utilización ya que se dice que presentan la misma actividad antiinflamatoria y antioxidante sin ser irritantes (Barbero, G. 2010).

1.1.2 ESTUDIOS SINTÉTICOS REPORTADOS EN LA LITERATURA

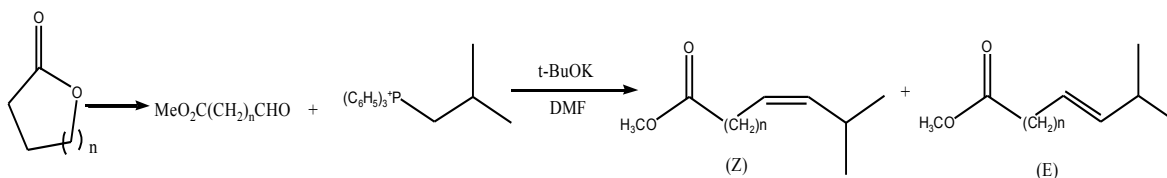
En la literatura se reportan diferentes síntesis para la obtención de análogos sintéticos de capsaicina. En 1988 Gannet y *col.* reportaron una ruta sintética utilizando vainillina como el sustrato de partida para la obtención de análogos de capsaicinoides (Esquema 1). Primero generaron la oxima de la vainillina para después reducir a la amina.



Reactivos: a) $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ o $\text{NH}_2\text{OMe} \cdot \text{HCl}$, EtOH, Pyr. b) PtO_2 o Pd/C , H_2 , EtOH, HCl

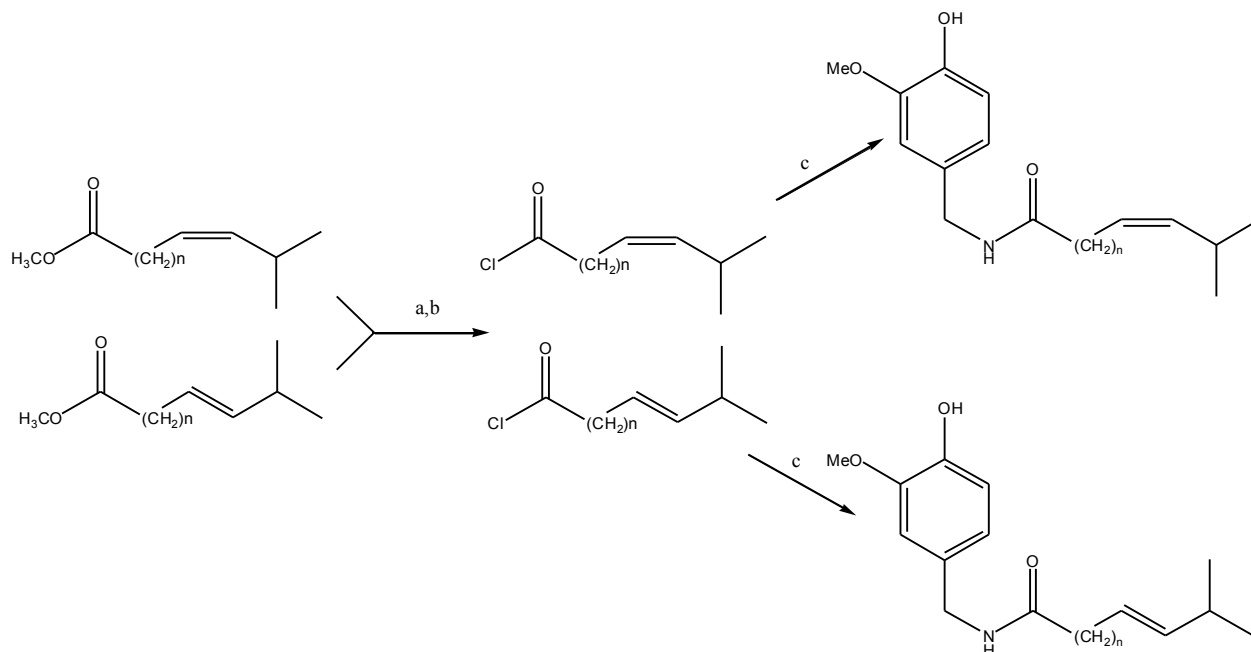
Esquema 1. Metodología utilizada por Gannet *y col* para sintetizar la vainillin amina.

En el mismo trabajo para generar cadenas alifáticas de diferentes tamaños utilizaron la apertura de lactonas para después realizar la reacción de Wittig y obtener la olefina *Z* y *E* (Esquema 2) como mezcla de isómeros, también utilizaron cicloalquenos tratándolos con trietilamina y anhídrido acético para obtener el mismo tipo de producto, mostrando esta metodología pocas ventajas.



Esquema 2. Generación de las olefinas *Z* y *E*

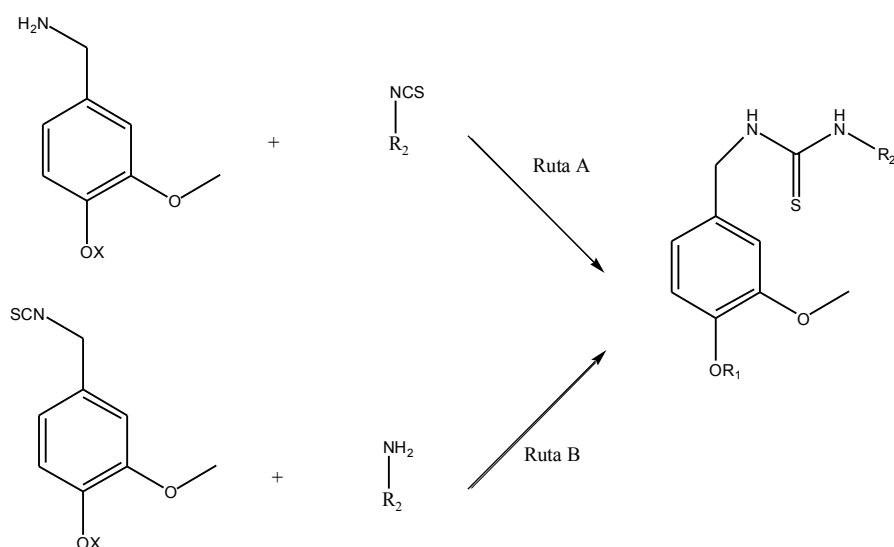
Por último se hidrolizó el éster y se generó el cloruro de ácido con cloruro de tionilo, y se condensó a la amina utilizando piridina como base y éter dietílico como disolvente. Se sintetizaron análogos *Z* y *E* con diferente tamaño en la cadena alifática (Esquema 3).



Reactivos: a) KOH, EtOH, b) SOCl₂, c) Piridina, Et₂O

Esquema 3. Síntesis de análogos de capsaicina

En 1996 Wrigglesworth y *col.* prepararon una serie de 29 análogos sintéticos de capsaicina, con el objetivo de efectuar un estudio de relación estructura-actividad analgésica. Se utilizaron dos rutas sintéticas para generar tioureas (Esquema 4).

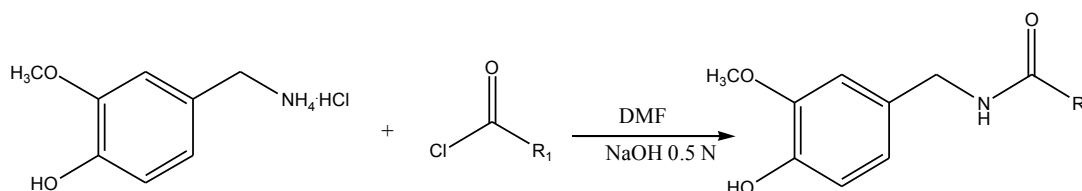


Esquema 4. Síntesis de tioureas (análogos de capsaicinoides).

Los análogos generados se utilizaron para hacer estudios analgésicos agonistas de apertura de los canales de Ca^{+2} en ratas y demostrando ser más eficientes que la propia capsaicina.

Estudios sintéticos recientes sobre síntesis de análogos de capsaicinoides y capsinoides llevaron a Barbero y *col.* en el 2010 a diseñar dos rutas sintéticas, una para generar capsaicinoides y otros para capsinoides, estos análogos sintetizados se utilizaron para estudios de correlación estructura-actividad para la cual se utilizaron bioensayos de elongación de coleóptilos, siendo los capsaicinoides, capsinoides y aquellos con una lipofilia similar a estos, los más bioactivos.

Para generar los análogos de capsaicina se utilizó el clorohidrato de vainillinamina como sustrato, se realizó la acilación con cloruros de ácido de diferentes tamaños de la cadena alifática, en DMF y utilizando NaOH (0.5 N) como base (Esquema 5).



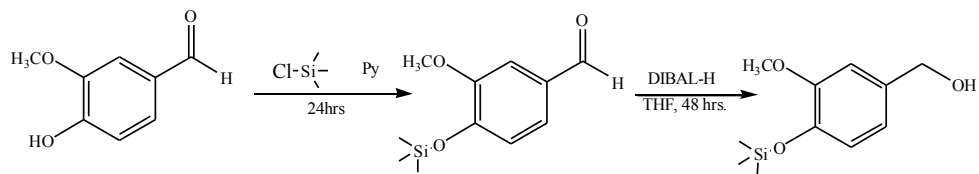
Esquema 5. Síntesis de análogos de capsaicinoides por Barbero y *col.*

Los cloruros de acilo que utilizaron para generar estos análogos se prepararon con el ácido carboxílico correspondiente y cloruro de tionilo.



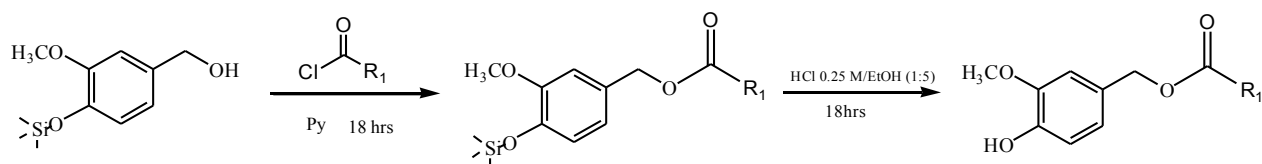
Esquema 6. Generación de cloruros de acilo.

Los análogos de capsinoides se sintetizaron utilizando la vainillina como sustrato, esta se protegió con cloruro de trimetil silano en piridina, posteriormente se redujo el grupo carbonilo con DIBAL-H en THF por 48 hrs, para producir el alcohol bencílico correspondiente.



Esquema 7. Sililación y reducción de la vainillina.

La acilación se efectuó con piridina y diversos cloruros de acilo. Para obtener los análogos de capsinoides, se llevó a cabo en la última etapa, una desililación con HCl 0.25 M en EtOH (1:5) por 18 hrs (Esquema 8). Esta síntesis es considerada como novedosa para la síntesis de estos compuestos.



Esquema 8. Última etapa para formación de análogos de capsinoides.

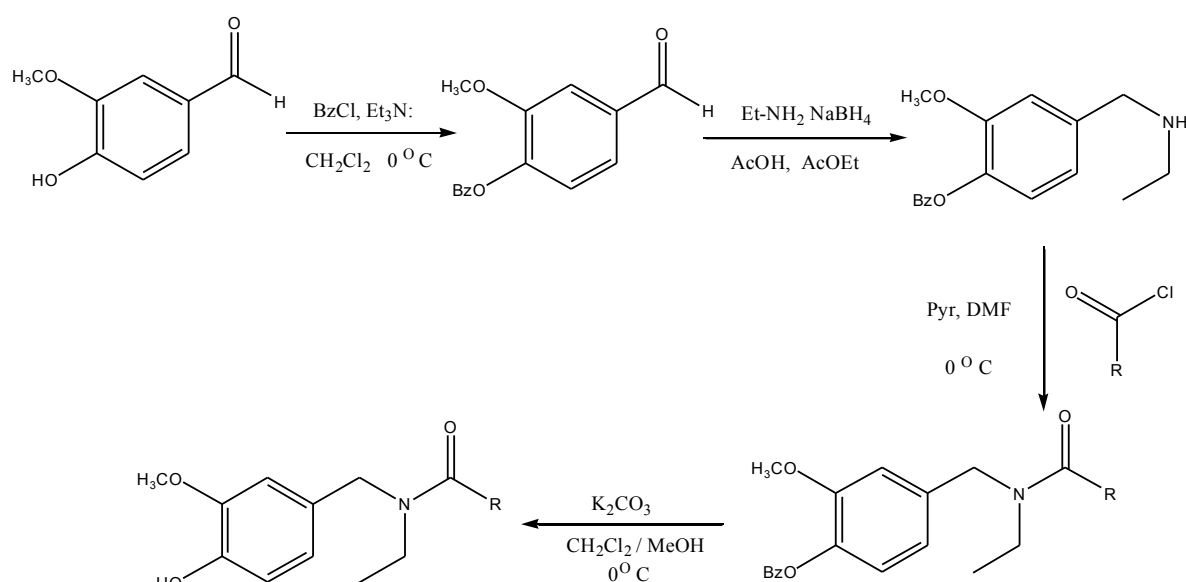
1.2 Parte experimental

1.2.1 SÍNTESIS DE CAPSAICINOIDES

Para la generación de estos compuestos, se utilizaron dos rutas sintéticas. La ruta A, que muestra a los análogos de capsaicinoides sintetizados a partir de vainillina, y la ruta B, que indica la obtención de estos productos utilizando al benzaldehído como sustrato.

Ruta A

La primera reacción de esta ruta es la protección del fenol con cloruro de benzoilo utilizando Et_3N como base y CH_2Cl_2 como disolvente a 0°C , posteriormente se realizó una aminación reductiva utilizando etilamina en AcOEt . A continuación se realizaron las correspondientes acilaciones con cloruro de propanoilo, cloruro de pentanoilo y cloruro de undecenoilo respectivamente en DMF, estos cloruros de acilo se prepararon según lo indica el esquema 13.1. Por último se utilizó K_2CO_3 para la desprotección del fenol. Obteniéndose tres análogos por esta ruta.



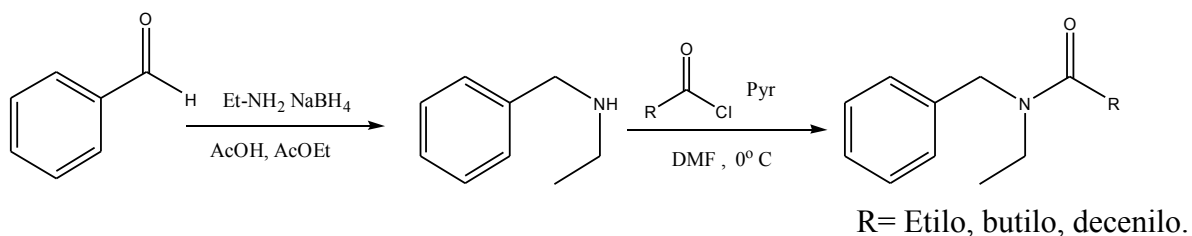
R= Etilo, butilo, decenilo.

Esquema 9. Ruta sintética A

Ruta B

La primera reacción de la ruta sintética B fue la aminación reductiva utilizando etil amina y posteriormente las acilaciones con cloruro de propanoilo, cloruro de pentanoilo y cloruro de

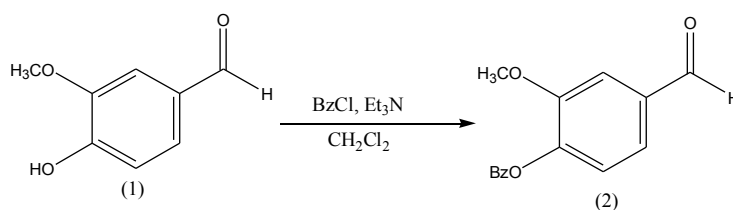
undecenoilo en DMF y utilizando piridina como base. Los cloruros de acilo se prepararon utilizando la metodología del esquema 13.1.



Esquema 10. Ruta sintética B.

1.2.1.1 RUTA SINTÉTICA A

Esquema 11. Reacción de acilación de la vainillina



A una disolución de 10 g (65.7 mmol) de vainillina en 300 mL de CH_2Cl_2 a 0°C se adicionó 16.64 g (164.4 mmol) de trietilamina y muy lentamente 18.49 g (131.5 mmol) de cloruro de benzoilo. La mezcla de reacción se dejó en agitación por 2 hrs. La reacción se paró adicionando una solución saturada de sulfato de cobre y se extrajo con éter etílico. La fase etérea se lavó después con una disolución acuosa de NaHCO_3 al 10% y se secó con MgSO_4 anhidro. El disolvente se eliminó en el rotaevaporador a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica de gel de sílice utilizando Hex/AcOEt al 10% como mezcla eluyente, para obtener el producto identificado como: benzoato de 4-formil-2-metoxifenilo (Rend. = 90 %).

Benzoato de 4-formil-2-metoxifenilo

Fórmula molecular: $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$

PF: 68 ° C

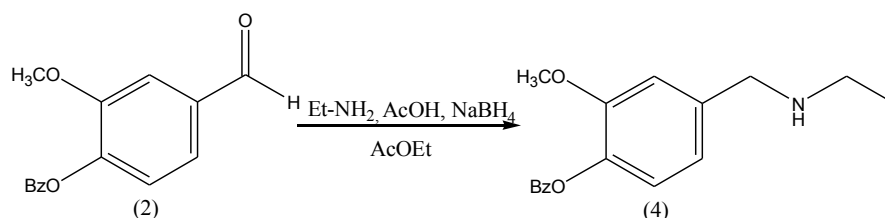
Aspecto Físico: Sólido blanco

R_f= 0.44 (Hex/AcOEt 25%)

IR (cm⁻¹): 3071, 2839, 1744, 1700, 1391, 1257, 1202, 1078

EM m/z (%) : 256 (M⁺), 151, 105, 77, 51

Esquema 12. Aminación del compuesto (2) con etilamina



A una disolución de 2 g (7.80 mmol) del compuesto (2) en 20 mL de AcOEt se le adicionó 3.9 mL de etilamina (2 M en MeOH) y 0.2 mL de AcOH (3.80 mmol), y se dejó en agitación durante 2 hrs. Posteriormente se adicionó a 0 °C, 0.41 g de NaBH₄ (10.8 mmol) y se dejó en agitación a temperatura ambiente por 24 hrs. La reacción se paró adicionando una disolución 1N de NaOH y se realizaron extracciones con CH₂Cl₂. La fase orgánica se lavó con una solución saturada de NaCl y se secó con MgSO₄ anhidro. El disolvente se eliminó en el rotaevaporador a presión reducida. El crudo de reacción se purificó formando la sal de oxalato * identificada como: benzoato de 4-[(etilamino)metil]-2-metoxifenilo (Rend = 60 %).

* Formación de la sal de oxalato

A una disolución de 1.78 g del crudo de reacción en 10 mL de AcOEt se adicionó 0.8g de ácido oxálico se dejó en agitación por 10 minutos a 50-55 °C. Posteriormente se bajó la temperatura a 25 °C por 20 minutos. Después se filtró por vacío y se lavó con AcOEt. Se obtuvo

un sólido blanco. El sólido blanco se disuelve en 10 mL de H₂O y se adicionó 5 mL de NaOH al 50%, se dejó en agitación a t.a. Se realizaron extracciones con CH₂Cl₂, la fase orgánica se lavó con brine y se seco sobre MgSO₄ anhidro. El disolvente se eliminó en el rotaevaporador a presión reducida.

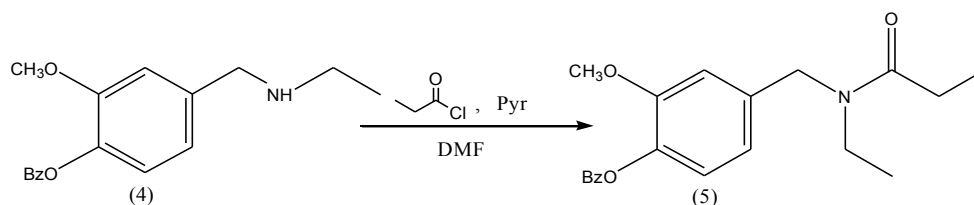
Benzoato de 4-[(etilamino)metil]-2-metoxifenilo

Fórmula molecular: C₁₇H₁₉NO₃

Aspecto físico: aceite transparente

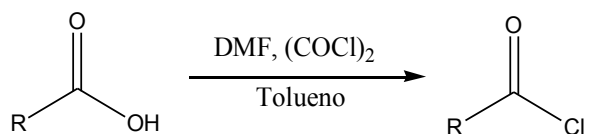
IR (cm⁻¹): 3006, 2965, 2937, 2832, 2870, 1741, 1509, 1452, 1266, 938, 799.

Esquema 13. Acilación del compuesto (4) con cloruro de propanoílo



A una disolución de 1.2 g (4.20 mmol) del compuesto (4) en 15 mL de DMF se adicionó a 0 °C 0.612 mL (7.56 mmol) de piridina y muy lentamente 0.7 g (7.56 mmol) de cloruro de propanoílo (Esquema 13.1). La mezcla de reacción se dejó en agitación por 18 hrs. La reacción se paró adicionando una disolución saturada de sulfato de cobre y se realizaron extracciones con éter. La fase etérea se lavó con una disolución saturada de NaHCO₃ y se secó con MgSO₄ anhidro. El disolvente se eliminó en el rotaevaporador a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica de gel de sílice utilizando Hex/AcOEt al 50% para obtener el producto caracterizado como: benzoato de 4-{[etil(propanoil)amino]metil}-2-metoxifenilo (Rend. = 84 %).

Esquema 13.1. Metodología general para la preparación de cloruros de acilo a partir de ácidos carboxílicos.



A una disolución de 1 equivalente de ácido carboxílico correspondiente en 5 mL de tolueno en atmósfera de N_2 se adicionó una cantidad catalítica de DMF y posteriormente se adiciona 1.3 equivalentes de cloruro de oxalilo 1M. Se dejó en agitación por 30 minutos y se utilizó inmediatamente después para las acilaciones correspondientes. Los tres ácidos carboxílicos que se utilizaron fueron: ácido propiónico, ácido pentanoico y ácido undecenoico, para preparar cloruro de propanoilo, cloruro de pentanoilo y cloruro de undecenoilo respectivamente.

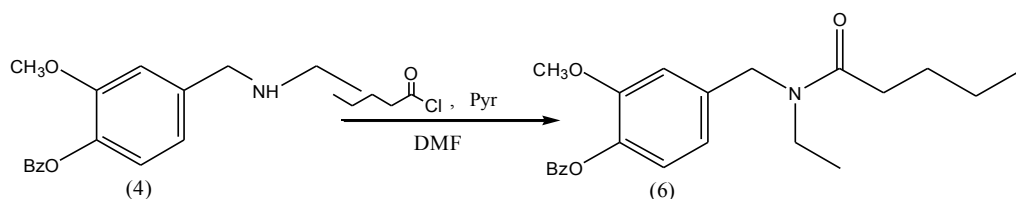
Benzoato de 4-{[etil(propanoil)amino]metil}-2-metoxifenilo

Fórmula molecular: $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_4$

Aspecto físico: aceite transparente

IR (cm^{-1}): 2975, 2937, 1742, 1644, 1452, 1265, 794.

Esquema 14. Acilación del compuesto (4) con cloruro de pentanoílo



A una disolución de 1 g (3.50 mmol) del compuesto (4) en 15 mL de DMF se adicionó a 0 °C 0.51 mL (6.30 mmol) de piridina y muy lentamente 0.76 g (6.31 mmol) de cloruro de pentanoílo (ver página 18). La mezcla de reacción se dejó en agitación por 18 hrs. La reacción se paró adicionando una disolución saturada de sulfato de cobre y se realizaron extracciones con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se lavó con una disolución acuosa de NaCO_3 al 10 % y se secó con MgSO_4 anhidro. El disolvente se eliminó en el rotaevaporador a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica de gel de sílice utilizando Hex/AcOEt al 50% para obtener el producto caracterizado como: Benzoato de 4-{[etil(pentanoil)amino]metil}-2-metoxifenilo (Rend. = 85 %).

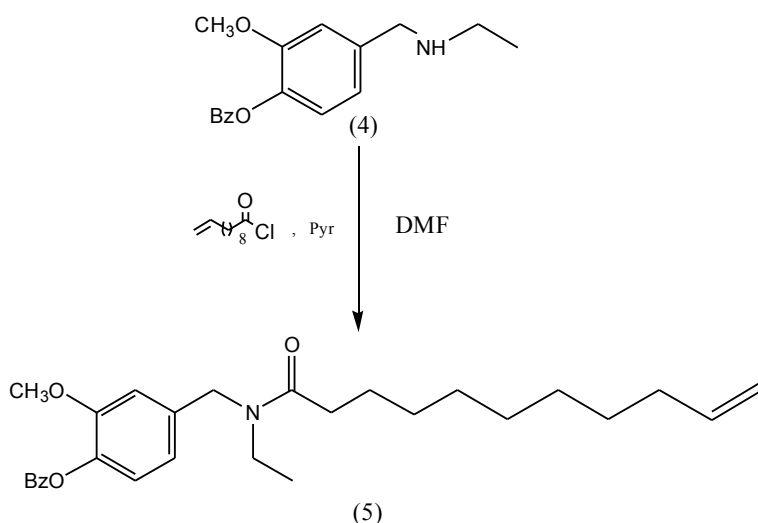
Benzoato de 4-{[etil(pentanoil)amino]metil}-2-metoxifenilo

Fórmula molecular: $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_4$

Aspecto físico: aceite transparente

IR (cm^{-1}): 2959, 2934, 1747, 1644, 1452, 1416, 1265, 797.

Esquema 15. Acilación del compuesto (4) con cloruro de undecenoílo
--



A una disolución de 1.1 g (3.85 mmol) del compuesto (4) en 15 mL de DMF se adicionó a 0 °C 0.56 mL (6.90 mmol) de piridina y muy lentamente 1.49 mL (6.90 mmol) de cloruro de undecenoílo (ver página 18). La mezcla de reacción se dejó en agitación por 18 hrs. La reacción se paró adicionando una disolución saturada de sulfato de cobre y se realizaron extracciones con éter. La fase etérea se lavó con una disolución acuosa de NaHCO_3 al 10 % y se secó con MgSO_4 anhidro. El disolvente se eliminó en el rotaevaporador a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica de gel de sílice utilizando Hex/AcOEt al 50% como mezcla eluyente, para obtener el producto caracterizado como Benzoato de 4-{[etil(undecen-10-amino)]metil}-2-metoxifenilo (Rend. = 88 %).

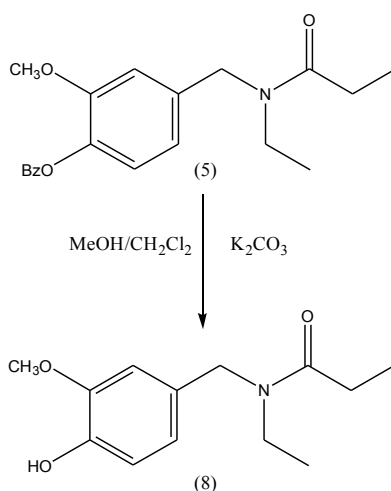
Benzoato de 4-{[etil(undecen-10-amino)]metil}-2-metoxifenilo

Fórmula molecular: $\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{NO}_4$

Aspecto Físico: aceite transparente

IR (cm^{-1}): 2927, 2854, 1743, 1642, 1452, 1264, 793.

Esquema 16. Desprotección del compuesto (5) para obtener el producto (8)



A una disolución de 1 g (2.93 mmol) del compuesto (5) en 22 mL de MeOH/ 9 mL CH₂Cl₂ se adicionó 0.45 g (3.25 mmol) de K₂CO₃ a 0 °C y se dejó en agitación por 4 hrs. La reacción se paró eliminando el sólido residual de la mezcla por filtración, y el disolvente en el rotaevaporador a presión reducida. El crudo de reacción se purificó mediante columna cromatográfica de gel de sílice usando AcOEt como fase eluyente, para obtener el producto caracterizado como: N-etil-N-(4-hidroxi-3-metoxibencil)propanamida (Rend. = 84 %).

N-etil-N-(4-hidroxi-3-metoxi-bencil)propanamida(8).

Fórmula molecular: C₁₃H₁₉NO₃

Aspecto físico: aceite transparente

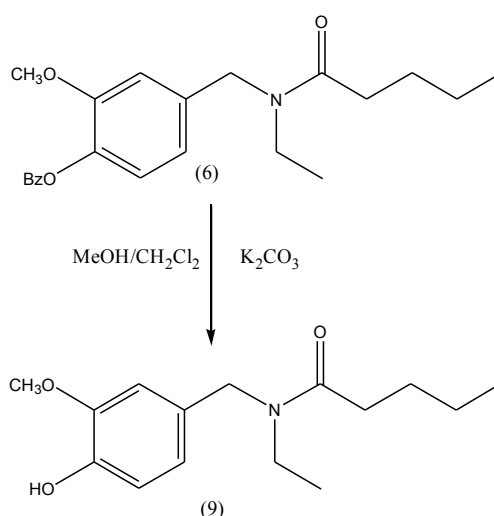
R_f= 0.38 (Hex/AcOEt 60%)

IR (cm⁻¹) : 3252, 2976, 2938, 2839, 1624, 1275, 1035.

EM m/z (%) : 237.2 (M^+), 208.1 (11), 180.1 (10), 164.1 (3), 152.1 (100), 137.1 (87), 122.1 (12), 107.1 (4), 94.1 (9), 77.1 (4), 57.1 (11), 44.1 (2).

RMN ^1H (CDCl_3) δ : 1.09 (t, 3H), $J = 7.2$ Hz; 2.34 (c, 2H), $J = 7.2$ Hz; 1.25 (t, 3H), $J = 7.0$ Hz; 3.42 (c, 2H), $J = 7.0$ Hz; 4.44 (s, 2H); 6.81 (m, 3H); 3.85 (s, 3H).

Esquema 17. Desprotección del compuesto (6) para obtener el producto (9)



A una disolución de 0.93 g (2.51 mmol) del compuesto (6) en 22 mL de MeOH/ 9 mL CH₂Cl₂ se adicionó 0.38 g (2.77 mmol) de K₂CO₃ a 0 °C y se dejó en agitación por 4 hrs. La reacción se paró eliminando el sólido residual de la mezcla por filtración y el disolvente en el rotaevaporador a presión reducida. El crudo de reacción se purificó mediante columna cromatográfica de gel de sílice usando AcOEt como fase eluyente, para obtener el producto caracterizado como: N-etil-N-(4-hidroxi-3-metoxibencil)-pentanamida (Rend. = 89 %).

N-etil-N-(4-hidroxi-3-metoxibencil)-pentanamida (9).

Fórmula molecular: C₁₅H₂₃NO₃

Aspecto físico: aceite café clarito

$R_f = 0.57$ (Hex/AcOEt 60%)

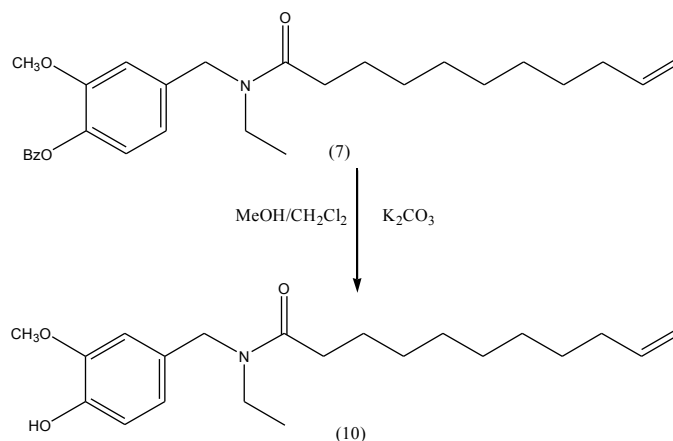
IR (cm^{-1}): 3253, 2959, 2934, 1623, 1462, 1210, 937, 797, 738.

EM m/z (%) : 265.1 (M^+), 236.2 (7), 223.2 (8), 194.1 (6), 180.1 (10), 164.1 (5), 152.1 (100), 137.1 (99), 122.1 (12), 107.1 (3), 94.1 (8), 77.1 (3), 57.1 (10), 41.1 (6).

RMN ^1H (CDCl_3) δ : 0.89 (t, 3H), $J = 7.4$ Hz; 1.33 (m, 2H), $J = 7.4$ Hz; 1.68 (m, 2H); 2.36 (t, 2H); 1.11 (t, 3H), $J = 7.0$ Hz; 3.41 (c, 2H), $J = 7.0$ Hz; 4.51 (s, 2H); 6.86 (m, 3H); 3.85 (s, 3H).

RMN ^{13}C (CDCl_3) δ : 13.7 (c); 22.6 (t); 27.7 (t); 32.8 (t); 173.4 (s); 13.9 (c); 41.3 (t); 50.4 (t); 129.8 (s); 111.0 (d); 146.9 (s); 145.1 (s); 114.2 (d); 121.0 (d); 55.9 (c).

Esquema 18. Desprotección del compuesto (7) para obtener el producto (10)



A una disolución de 1 g (2.21 mmol) del compuesto (7) en 22 mL de MeOH/ 9 mL CH_2Cl_2 se adicionó 0.33 g (2.43 mmol) de K_2CO_3 a 0 °C y se dejó en agitación por 4 hrs. La reacción se paró eliminando el sólido residual de la mezcla por filtración y el disolvente en el rotaevaporador a presión reducida. El crudo de reacción se purificó mediante columna

cromatográfica de gel de sílice usando AcOEt como fase eluyente, para obtener el producto caracterizado como: N-etil-N-[(4-hidroxi-3-metoxifenil)metil]undecen-10-enamida (Rend. = 85 %).

N-etil-N-[(4-hidroxi-3-metoxifenil)metil]undecen-10-enamida (10).

Fórmula molecular: $C_{21}H_{33}NO_3$

Aspecto físico: aceite transparente

$R_f = 0.76$ (Hex/AcOEt 60%)

IR(cm^{-1}): 3263, 3075, 2927, 2854, 1638, 1598, 1515, 1463, 1427, 1379, 1240, 994, 909.

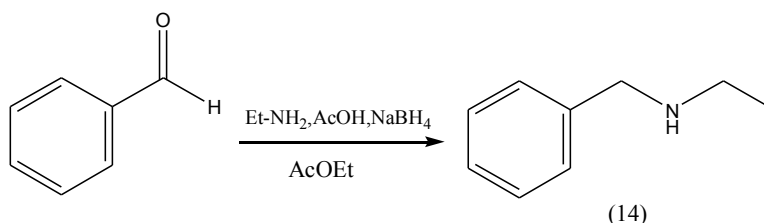
EM m/z (%) : 347.3 (M^+), 318 (3), 223.1 (19), 194.1 (10), 180.1 (10), 152.1 (79), 137.1 (100), 122.1 (9), 94.1 (5), 69.1 (3), 55.1 (12), 41.1 (7).

RMN 1H ($CDCl_3$) δ : 5.02 (dd, 1H); $J = 15.0$ Hz; 4.99 (dd, 1H); 4.95 (dd, 1H); 5.80 (m, 1H); 2.02 (m, 2H); 1.66 (m, 2H); 1.28 (m, 8H); 1.31 (m, 1H); 2.36 (t, 2H); 1.13 (t, 3H), $J = 7.0$ Hz; 3.40 (c, 2H), $J = 7.0$ Hz; 4.47 (s, 2H); 6.50 (m, 3H); 3.84 (s, 3H).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ : 114.7 (t); 139.1 (d); 33.7 (t); 29.3 (t); 29.0 (t); 28.9 (t); 29.4 (t); 25.6 (t); 25.4 (t); 33.1 (t); 173.0 (s); 13.7 (c); 41.2 (t); 50.4 (t); 55.9 (c); 110.9 (d); 146.8 (s); 145.0 (s); 114.0 (d); 121.1 (d); 55.9 (c).

1.2.1.2 RUTA SINTÉTICA B

Esquema 19. Aminación del benzaldehído con etilamina



A una disolución de 1.91 mL (18.8 mmol) del benzaldehído en 30 mL de AcOEt, se adicionó 10.4 mL de etilamina (2 M en MeOH) y 0.5 mL de AcOH (9.0 mmol) y se dejó en agitación durante 2 hrs. A continuación se adicionó a 0 °C 1 g de NaBH₄ (26.4 mmol) y se dejó en agitación a temperatura ambiente por 14 hrs. La reacción se paró adicionando una solución 1N de NaOH y se realizaron extracciones con CH₂Cl₂. Las extracciones de diclorometano se lavaron con brine y se secaron con MgSO₄ anhidro. El disolvente se eliminó en el rotaevaporador a presión reducida. El crudo de reacción se purificó formando la sal de oxalato * (ver página 17). del compuesto: N-benciletanamina (Rend. = 60 %).

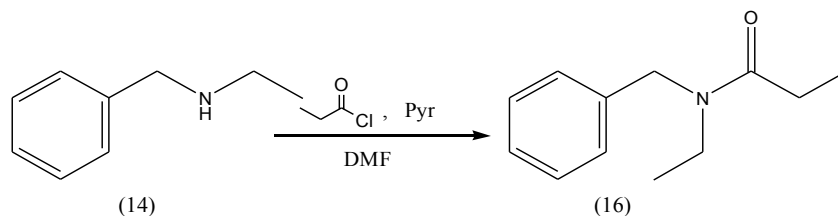
N-benciletanamina

Fórmula molecular: C₉H₁₃N

Aspecto Físico: aceite

IR (cm⁻¹): 2965, 2815, 1605, 1494, 1454, 1123, 1074, 1028, 734, 698.

Esquema 20. Acilación con cloruro de propanoilo del compuesto (14) para obtener el producto (16)



A una disolución de 1g (7.40 mmol) del compuesto (14) en 20 mL de DMF se adicionó a 0 °C 1.07 mL (13.28 mmol) de piridina y muy lentamente 1.23 g (13.28 mmol) de cloruro de propanoilo (Esquema 13.1). La mezcla de reacción se dejó en agitación por 2hrs. La reacción se paró adicionando una disolución saturada de sulfato de cobre y se realizaron extracciones con éter. La fase etérea se lavó con una disolución acuosa de NaHCO_3 al 10 % y se secó con MgSO_4 anhidro. El disolvente se eliminó en el rotaevaporador a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica de gel de sílice utilizando Hex/AcOEt al 60% como mezcla eluyente, para obtener el producto caracterizado como: N-Bencil-N-etilpropanamida (Rend. = 94 %).

N-Bencil-N-etilpropanamida.

Fórmula molecular: $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}$

Aspecto físico: Aceite Transparente

$R_f = 0.83$ (Hex/AcOEt 25%)

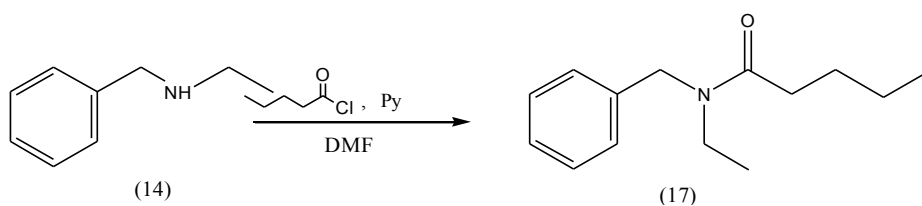
IR (cm^{-1}): 2977, 2937, 2877, 1647, 1496, 1452, 1427, 1363, 1070, 1029, 731.

EM m/z (%) : 191.2 (M^+), 162.1 (8), 134.1 (12), 120.1 (21), 106.1 (100), 91.1 (89), 65.1 (11), 57.1 (14), 44.1 (9).

RMN ^1H (CDCl_3) δ : 1.09 (t, 3H), $J = 7.2$ Hz; 2.34 (c, 2H), $J = 7.2$ Hz; 1.21 (t, 3H), $J = 7.2$ Hz; 3.43 (c, 2H), $J = 7.2$ Hz; 4.60 (s, 2H); 7.27 (m, 5H).

RMN ^{13}C (CDCl_3) δ : 9.6 (c); 26.3 (t); 173.8 (s); 13.7 (c); 41.5 (t); 50.6 (t); 138.0 (s); 127.8 (d); 128.3 (d); 126.5 (d); 128.3 (d); 127.8 (d).

Esquema 21. Acilación con cloruro de pentanoílo del compuesto (14) para obtener el producto (17)



A una disolución de 1 g (7.39 mmol) del compuesto (14) en 15 mL de DMF se adicionó a 0 °C 0.77 mL (9.60 mmol) de piridina y muy lentamente 1.15 g (9.60 mmol) de cloruro de pentanoílo (Esquema 13.1). La mezcla de reacción se dejó en agitación por 18 hrs. La reacción se paró adicionando una disolución saturada de sulfato de cobre y se realizaron extracciones con CH_2Cl_2 . Las fase orgánica se lavó con una disolución acuosa de Na_2CO_3 al 10 % y se secó con MgSO_4 anhidro. El disolvente se eliminó en el rotaevaporador a presión reducida, y el crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica de gel de sílice utilizando Hexano como eluyente, para obtener el producto caracterizado como: N-bencil-N-etilpentamida (Rend. = 70 %).

N-bencil-N-etilpentamida.

Fórmula molecular: $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{NO}$

Aspecto físico: Aceite transparente

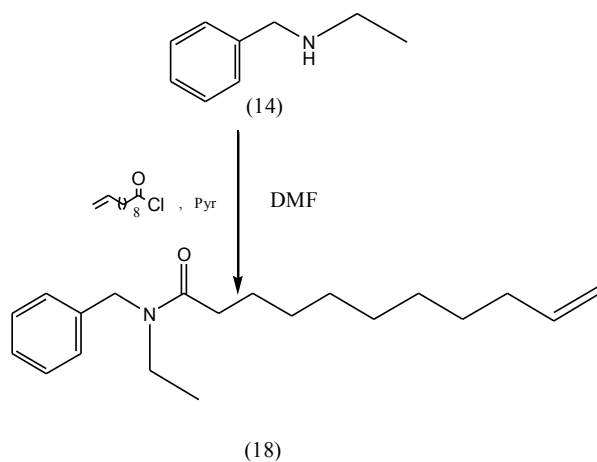
IR (cm^{-1}): 3030, 2959, 2932, 2873, 1644, 1495, 1453, 1362, 1100, 731.

EM m/z (%) : 219.2(M⁺), 190.2 (48), 177.2 (35), 162.1 (4), 148.1 (3), 134.1 (15), 120.1 (25), 106.1 (83), 91.1 (100), 65.1 (11), 57.1 (14), 44.1 (8).

RMN ¹H (CDCl₃) δ: 0.90 (t, 3H), *J* = 7.2 Hz; 1.10 (t, 3H), *J* = 6.8 Hz; 1.34 (m, 2H), *J* = 7.2 Hz; 2.39 (t, 2H); 3.41 (c, 2H), *J* = 6.8 Hz; 4.59 (s, 2H); 7.26 (m)

RMN ¹³C (CDCl₃) δ: 12.6 (c); 13.8 (c); 22.5 (t); 27.5 (t); 32.7 (t); 41.5 (t); 50.6 (t); 127.9 (d); 128.4 (d); 128.8 (d); 138.0 (s); 173.1 (s).

Esquema 22. Acilación con cloruro de undecenoílo del compuesto (14) para obtener el producto (18)



A una disolución de 0.5 g (3.69 mmol) del compuesto (14) en 15 mL de DMF se adicionó a 0 °C 0.6 mL (7.40 mmol) de piridina y muy lentamente 1.5 g (7.40 mmol) de cloruro de undecenoílo (ver página 18). La mezcla de reacción se dejó en agitación por 18 hrs. La reacción se paró adicionando una disolución saturada de sulfato de cobre y se realizaron extracciones con CH₂Cl₂. Las reünión de las extracciones se lavaron con una disolución acuosa de Na₂CO₃ al 10 % y se secó con MgSO₄ anhidro. El disolvente se eliminó en el rotaevaporador a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica de gel de sílice utilizando Hexano como eluyente, para obtener el producto caracterizado como: N-bencil-N-etilundec-10-enamida (Rend. = 73 %).

N-bencil-N-etilundec-10-enamida.

Fórmula molecular: $C_{20}H_{31}NO$

Aspecto físico: Aceite transparente.

IR cm^{-1} : 3475, 3278, 3278, 3065, 3029, 2927, 2854, 1646, 992, 909.

EM m/z (%) : 301.3 (M^+), 260.2 (9), 204.2 (6), 190.2 (38), 177.2 (69), 162.1 (4), 148.1 (17), 134.1 (18), 120.1 (19), 106.1 (54), 91.1 (100), 69.1 (5), 55.1 (17), 41.1 (11).

RMN 1H ($CDCl_3$) δ : 1.13 (t, 3H) ($J = 7.0$ Hz); 1.29 (m, 5H); 2.34 (t, 2H); 3.41 (c, 2H), ($J = 7.0$ Hz); 4.59 (s, 2H); 4.98 (dd), $J = 17.0$ Hz; 4.92 (dd), $J = 9.2$ Hz; 5.80 (m, 1H), $J_1 = 17.0$ Hz, $J_2 = 9.2$ Hz; 7.27 (m, 5H).

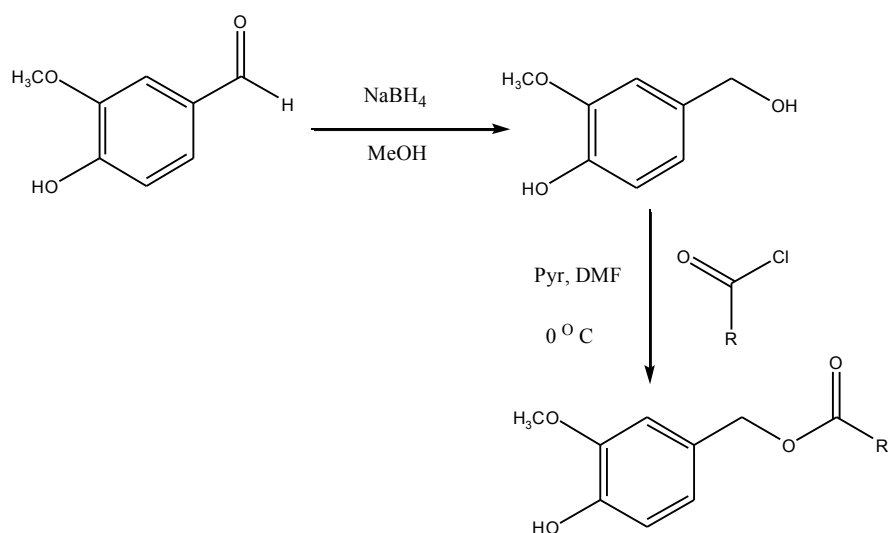
RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ : 13.7 (c); 23.7 (t); 25.3 (t); 25.5 (t); 29.0 (t); 29.3 (t); 29.4 (t); 33.3 (t); 33.7 (t); 41.5 (t); 50.5 (t); 114.1 (t); 127.9 (d); 128.4 (d); 128.8 (d); 130.8 (s); 139.1 (d); 173.2 (c).

1.2.2 SÍNTESIS DE CAPSINOIDES

Para la generación de estos compuestos, se utilizaron también dos rutas sintéticas. La ruta C que muestra a los análogos de capsinoides sintetizados a partir de vainillina, y la ruta D que indica la obtención de estos productos utilizando a benzaldehído como sustrato.

Ruta C

La primera reacción de la ruta sintética C fue la reducción del grupo carbonilo a un alcohol bencílico utilizando NaBH_4 en MeOH, posteriormente se realizaron las acilaciones con cloruro de propanoílo, cloruro de pentanoílo y cloruro de undecenoílo respectivamente, estos cloruros de acilo se prepararon de acuerdo con el esquema 13.1.

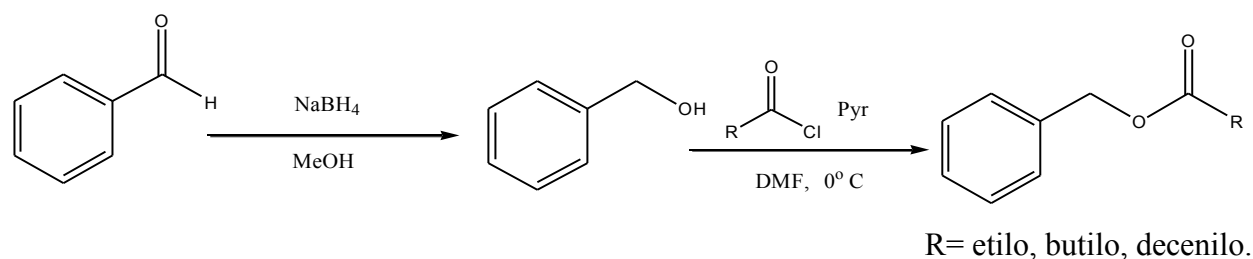


R= Etilo, butilo, decenilo

Esquema 23. Ruta sintética C.

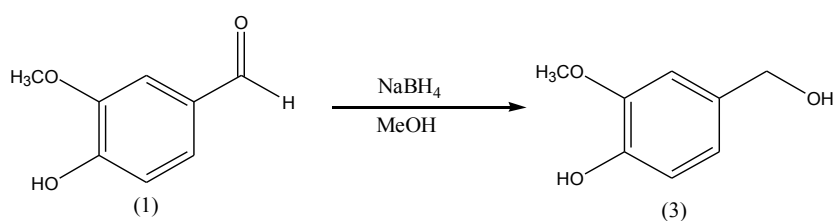
Ruta D

Para la ruta sintética D se realizó una reducción del grupo carbonilo del benzaldehído obteniéndose alcohol bencílico, para posteriormente hacer las acilaciones correspondientes con cloruro de propanoílo, cloruro de pentanoílo y cloruro de undecenoílo en DMF y utilizándose piridina como base, los cloruros de acilo se prepararon según el esquema 13.1.



Esquema 24. Ruta sintética D.

1.2.2.1 RUTA SINTÉTICA C

Esquema 25. Reducción del grupo carbonilo de la vainillina con NaBH₄

A una disolución de 5 g (32.8 mmol) de vainillina en 200 mL de metanol, se adicionó lentamente a temperatura ambiente 1.86 g (49.2 mmol) de borohidruro de sodio, y se dejó en agitación durante 20 minutos. La reacción se paró adicionando 100 mL de cloruro de amonio y el MeOH fue eliminado en el rotaevaporador a presión reducida. Posteriormente se hicieron extracciones con AcOEt y la reunión de estas se secaron con MgSO₄ anhidro. El disolvente se eliminó por rotaevaporación a presión reducida, para obtener el compuesto caracterizado como: 4-(hidroximetil)-2-metoxifenol (Rend. = 89 %).

4-(hidroximetil)-2-metoxifenol

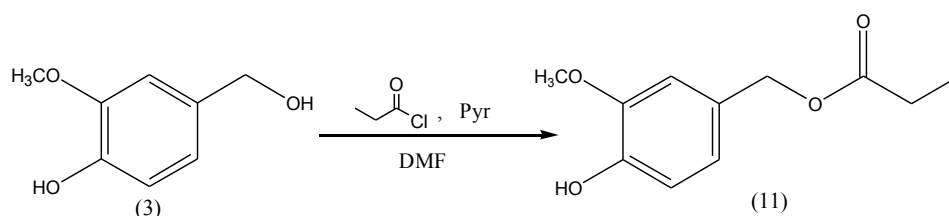
Fórmula molecular: C₈H₁₀O₃

PF: 111 °C

Aspecto físico: Polvo Blanco

IR (cm^{-1}): 3444, 2943, 2888, 1465, 1269, 1033, 996, 926.

Esquema 26. Acilación con cloruro de propanoilo del compuesto (3) para obtener el producto (11)



A una disolución de 1 g (6.48 mmol) del compuesto (3) en 30 mL de DMF. se adicionó a 0 °C 0.78 mL (9.72 mmol) de piridina y muy lentamente 1.12 (12.90 mmol) de cloruro de propanoilo (Esquema 13.1). La mezcla de reacción se dejó en agitación por 2 hrs. La reacción se paró adicionando una disolución saturada de sulfato de cobre y se realizaron extracciones con éter. La fase etérea se lavó con una disolución acuosa de NaHCO_3 al 10 % y se secó con MgSO_4 anhidro. El disolvente se eliminó en el rotaevaporador a presión reducida, y el crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica de gel de sílice utilizando *n*-Hex/AcOEt al 20% como mezcla eluyente para obtener el producto caracterizado como: Propanoato de 4-hidroxi-3metoxibencilo (Rend. = 67 %).

Propanoato de 4-hidroxi-3metoxibencilo

Fórmula molecular: $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_4$

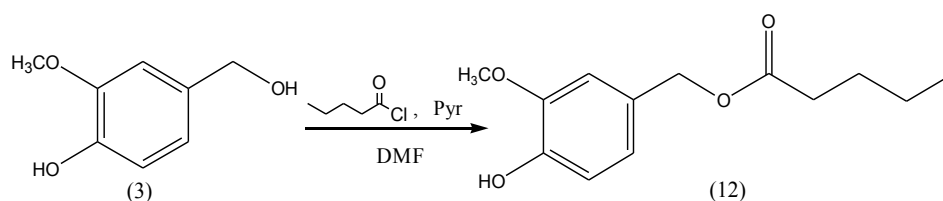
Aspecto físico: aceite transparente

IR cm^{-1} : 3437, 2927, 2853, 1732, 1378, 1277, 1241, 1182, 1034.

RMN ^1H (CDCl_3) δ : 1.49 (t, 3H), $J = 7.6$ Hz; 5.03 (s, 2H); 2.35 (c, 1H), $J = 7.6$ Hz; 6.88 (m, 3H); 3.89 (s, 3H).

RMN ^{13}C (CDCl_3) δ : 9.1 (c); 27.6 (t); 174.4 (s); 66.3 (t); 127.9 (s); 111.2 (d); 146.4 (s); 145.7 (s); 114.3 (d); 122.0 (d); 55.9 (c).

Esquema 27. Acilación con cloruro de pentanoilo del compuesto (3) para obtener el producto (12)



A una disolución de 0.5 g (3.24 mmol) del compuesto (3) en 15 mL de DMF se adicionó a 0 °C 0.66 mL (5.50 mmol) de piridina y muy lentamente 0.66 g (5.50 mmol) de cloruro de pentanoílo (Esquema 13.1). La mezcla de reacción se dejó en agitación por 18 hrs. La reacción se paró adicionando una disolución saturada de sulfato de cobre y se realizaron extracciones con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se lavó con una disolución acuosa de Na_2CO_3 al 10 % y se secó con MgSO_4 anhidro. El disolvente se eliminó en el rotaevaporador a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica de gel de sílice utilizando Hex/AcOEt al 7 % como mezcla eluyente para obtener el producto caracterizado como: Pentanoato de 4-hidroxi-3-metoxibencilo (Rend. = 78 %).

Pentanoato de 4-hidroxi-3-metoxibencilo

Fórmula molecular: $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_4$

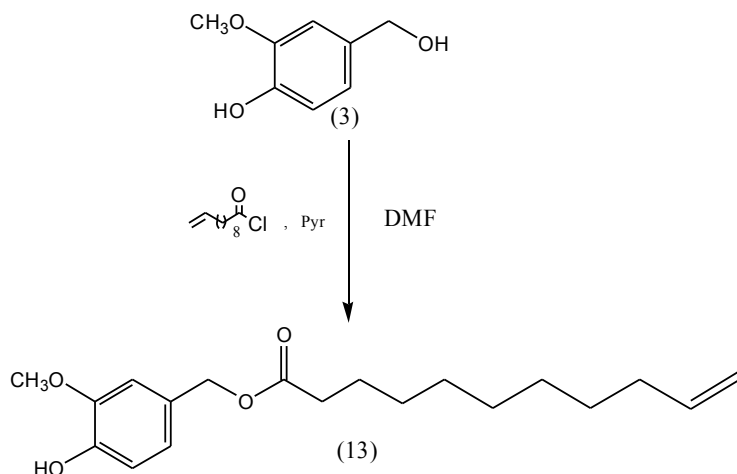
Aspecto físico: Aceite transparente

IR (cm^{-1}): 3424, 2960, 2873, 1730, 1465, 1278, 1170, 1035.

EM m/z (%) : 238.1 (M^+), 154.1 (28), 137.1 (58), 122.1 (8), 107.1 (6), 94.1 (4), 73.1 (3), 60 (7), 51.1 (2), 39.1 (3).

RMN ^1H (CDCl_3) δ : 0.91 (t, 3H); 1.33 (m, 2H), $J = 7.4$ Hz; 1.62 (m, 2H); 2.34 (t, 2H), $J = 7.4$ Hz; 5.03 (s, 2H); 6.88 (m, 3H); 3.88 (s, 3H).

Esquema 28. Acilación con cloruro de undecenoílo del compuesto (3) para obtener el producto (13)



A una disolución de 0.5 g (3.24 mmol) del compuesto (3) en 15 mL de DMF se adicionó a 0 °C 0.39 mL (4.90 mmol) de piridina y muy lentamente 1g (4.90 mmol) de cloruro de undecenoílo (Esquema 13.1). La mezcla de reacción se dejó en agitación por 18 hrs. La reacción se paró adicionando una disolución saturada de sulfato de cobre y se realizaron extracciones con éter. La fase etérea se lavó con una disolución acuosa de Na_2CO_3 al 10 % y se secó con MgSO_4 anhidro. El disolvente se eliminó en el rotaevaporador a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica de gel de sílice utilizando *n*-Hex/AcOEt al 5% como mezcla eluyente, para obtener el producto caracterizado como: Undec-10-enoato de 4-hidroxi-3metoxibencilo (Rend. = 67 %).

Undec-10-enoato de 4-hidroxi-3-metoxibencilo

Fórmula molecular: $C_{19}H_{28}O_4$

Aspecto físico: Aceite transparente

$R_f = 0.5$ (Hex/AcOEt 25%)

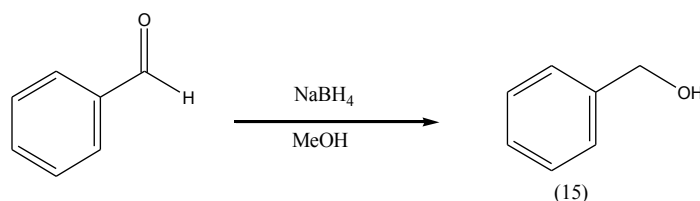
IR cm^{-1} : 3448, 3075, 2855, 2928, 1734, 1433, 1276, 1240, 1158, 1036, 994, 910.

EM m/z (%) : 320.2(M^+), 280.9 (4), 253 (3), 207 (8), 154.1 (29), 137.1 (100), 123 (12), 107 (17), 95.1 (4), 83.1 (10), 69.1 (13), 55.1 (24), 41.1 (15).

RMN 1H ($CDCl_3$) δ : 4.99 (dd, 1H), $J = 17.0$ Hz; 4.94 (dd, 1H), $J = 10.4$ Hz; 5.80 (m, 1H), $J_1 = 10.4$ Hz; $J_2 = 17.0$ Hz; 2.03 (m, 2H); 1.64 (m, 4H); 1.31 (m, 8H); 1.64 (m, 4H); 2.35 (t, 2H); 5.03 (s, 2H); 6.89 (s, 3H); 3.90 (s, 3H).

1.2.2.2 RUTA SINTÉTICA D

Esquema 29. Reducción del grupo carbonilo del Benzaldehído con $NaBH_4$



A una disolución de 1.5 g (14.1 mmol) de benzaldehído en 35 mL de metanol se adicionó lentamente a temperatura ambiente 0.64 g (16.9 mmol) de borohidruro de sodio, y se dejó en agitación durante 20 minutos. La reacción se paró adicionando 30 mL de cloruro de amonio y el MeOH fue eliminado en el rotaevaporador a presión reducida. Posteriormente se hicieron extracciones con AcOEt y sus reuniones se secaron con $MgSO_4$ anhidro. El disolvente

se eliminó por rotaevaporación a presión reducida, para obtener el compuesto: fenilmetanol (Rend. = 90 %)

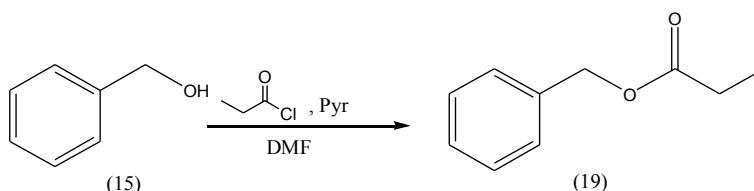
Fenilmetanol

Fórmula molecular: C_7H_8O

Aspecto físico: aceite transparente

IR (cm^{-1}): 3338, 3031, 2931, 1607, 1496, 1370, 1303, 1208, 1079, 735, 697.

Esquema 30. Acilación con cloruro de propanoilo del compuesto (15) para obtener el producto (19)



A una disolución de 0.7 g (6.47 mmol) del compuesto (15) en 10 mL de DMF se adicionó a 0 °C 0.8 mL (9.80 mmol) de piridina y muy lentamente 0.9 g (9.80 mmol) de cloruro de propanoilo (Esquema 13.1). La mezcla de reacción se dejó en agitación por 18 hrs. La reacción se paró adicionando una solución saturada de sulfato de cobre y se realizaron extracciones con éter. La fase etérea se lavó con una disolución acuosa de Na_2CO_3 al 10 % y se secó con $MgSO_4$ anhidro. El disolvente se eliminó en el rotaevaporador a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica de gel de sílice utilizando Hexano como eluyente para obtener el producto caracterizado como: Propanoato de bencilo (Rend. = 97 %).

Propanoato de bencilo

Fórmula molecular: $C_{10}H_{12}O_2$

Aspecto físico: aceite amarillo

$R_f = 0.76$ (Hex/AcOEt 25%)

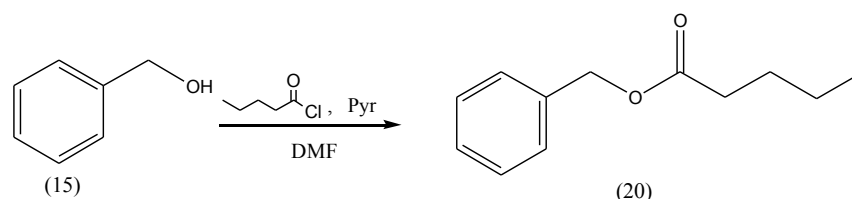
IR cm^{-1} : 3067, 3035, 2982, 2943, 2883, 1739, 1498, 1174, 698.

EM m/z (%) : 164.1 (M^+), 108.1 (95), 91.1 (100), 79.1 (14) 65.1 (13), 57.1 (23), 51.1 (6), 39.1 (4).

RMN ^1H (CDCl_3) δ : 1.15 (t, 3H), $J = 7.2$ Hz; 2.37 (c, 2H), $J = 7.2$ Hz; 5.11 (s, 2H); 7.33 (m, 5H).

RMN ^{13}C (CDCl_3) δ : 9.2 (c); 27.7 (t); 174.4 (s); 66.2 (t); 136.2 (s); 128.0 (d); 128.9 (d); 128.5 (d); 128.9 (d); 128.0 (d).

Esquema 31. Acilación con cloruro de pentanoílo del compuesto (15) para obtener el producto (20)



A una disolución de 0.5 g (4.62 mmol) del compuesto (15) en 10 mL de DMF se adicionó a 0 °C 0.8 mL (8.30 mmol) de piridina y muy lentamente 1.7 g (8.30 mmol) de cloruro de pentanoílo (Esquema 13.1). La mezcla de reacción se dejó en agitación por 18 hrs. La reacción se paró adicionando una disolución saturada de sulfato de cobre y se realizaron extracciones con CH_2Cl_2 . Las extracciones reunidas se lavaron con una disolución acuosa de Na_2CO_3 al 10 % y se secó con MgSO_4 anhidro. El disolvente se eliminó en el rotaevaporador a presión reducida. El crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica de gel de sílice

utilizando Hexano/Acetato de etilo al 1 % como mezcla eluyente, para obtener el producto caracterizado como: Pentanoato de bencilo (Rend. = 71 %)

Pentanoato de bencilo

Fórmula molecular: $C_{12}H_{16}O_2$

Aspecto físico: aceite transparente

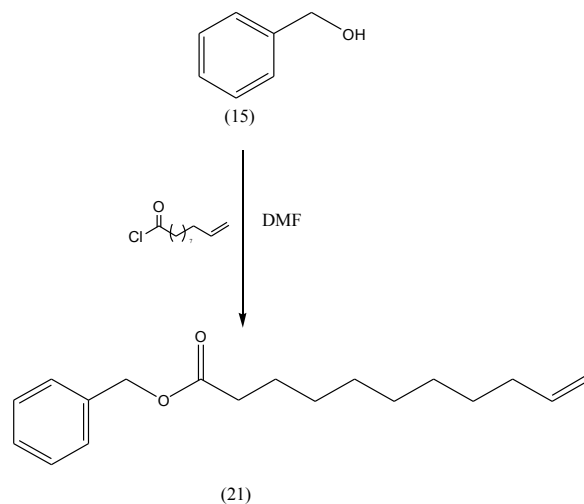
IR cm^{-1} : 3067, 3035, 2960, 2933, 2873, 1737, 1498, 1167, 697.

EM m/z (%) : 192.1 (M^+), 174.1 (4), 108.1 (100), 91.1 (100), 79.1 (12), 65.1 (16), 57.1 (21), 41.1 (8).

RMN 1H ($CDCl_3$) δ : 0.93 (t, 3H); 1.34 (m, 2H);, 1.65 (m, 2H); 2.35 (t, 2H); 5.10 (s, 2H); 7.34 (m, 5H).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) δ : 13.7 (c); 22.2 (t); 27.0 (t), 34.0 (t); 66.2 (t); 128.1 (d); 128.5 (d); 128.8 (d); 130.8 (s); 173.6 (s)

Esquema 32. Acilación con cloruro de undecenoílo del compuesto (15) para obtener el producto (21)



A una disolución de 0.5 g (4.62 mmol) del compuesto (15) en 10 mL de DMF se adicionó a 0 °C 0.8 mL (8.30 mmol) de piridina y muy lentamente 1.7 g (8.30 mmol) de cloruro de undecenoílo. La mezcla de reacción se dejó en agitación por 18 hrs. La reacción se paró adicionando una disolución saturada de sulfato de cobre y se realizaron extracciones con CH_2Cl_2 . Las extracciones reunidas se lavaron después con una disolución acuosa de Na_2CO_3 al 10 % y se secó con MgSO_4 anhidro. El disolvente se eliminó en el rotaevaporador a presión reducida, y el crudo de reacción se purificó por columna cromatográfica de gel de sílice utilizando Hexano como eluyente, para obtener el producto caracterizado como: Undec-10-enoato de bencilo (Rend. = 78 %).

Undec-10-enoato de bencilo

Fórmula molecular: $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_2$

Aspecto físico: aceite transparente

R_f = 0.82 (Hex/AcOEt 25%)

IR cm^{-1} : 3068, 3034, 2928, 2856, 1738, 1640, 1498, 1456, 1271, 994, 909.

EM m/z (%) : 274.1 (M^+), 256.1 (1), 183.2 (6), 165.1 (6), 147.1 (9), 123.2 (11), 108.1 (38), 91.1 (100), 81.1 (14), 69.1 (11), 55.1 (20), 41.1 (12).

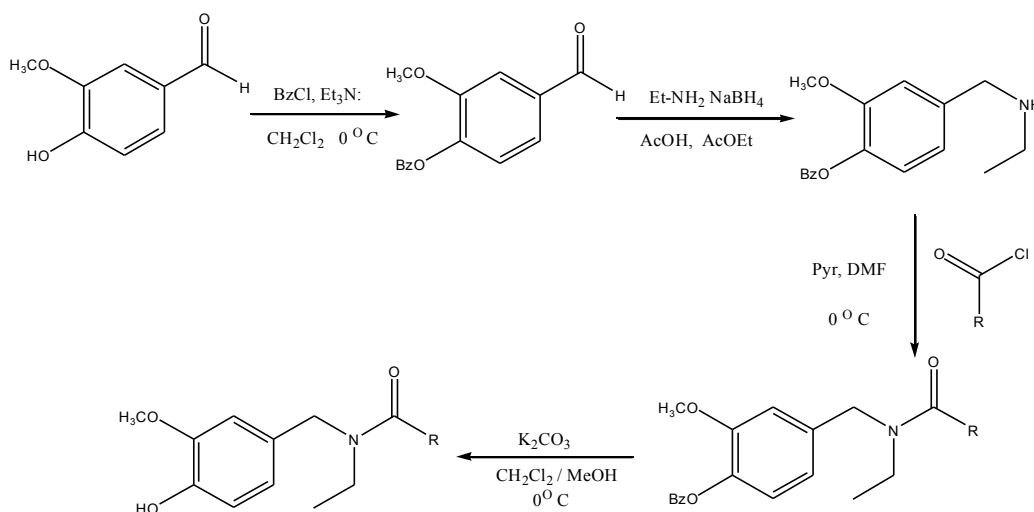
RMN ^1H (CDCl_3) δ : 4.99 (dd, 1H), $J = 17.2$ Hz; 4.77 (dd, 1H), $J = 10.4$ Hz; 5.80 (m, 1H), $J_1 = 10.4$ Hz; $J_2 = 17.0$ Hz; 2.02 (m, 2H); 1.64 (m, 4H); 1.32 (m, 8H); 2.33 (t, 2H); 5.10 (s, 2H); 7.35 (m, 5H).

RMN ^{13}C (CDCl_3) δ : 114.3 (t); 136.2 (d); 33.9 (t); 30.5 (t); 29.3 (t); 29.0 (t); 29.2 (t); 29.0 (t); 25.0 (t); 34.4 (t); 173.7 (s); 66.1 (t); 139.2 (s); 128.0 (d); 128.8 (d); 128.5 (d); 128.8 (d); 128.0 (d).

1.3 Discusión de resultados

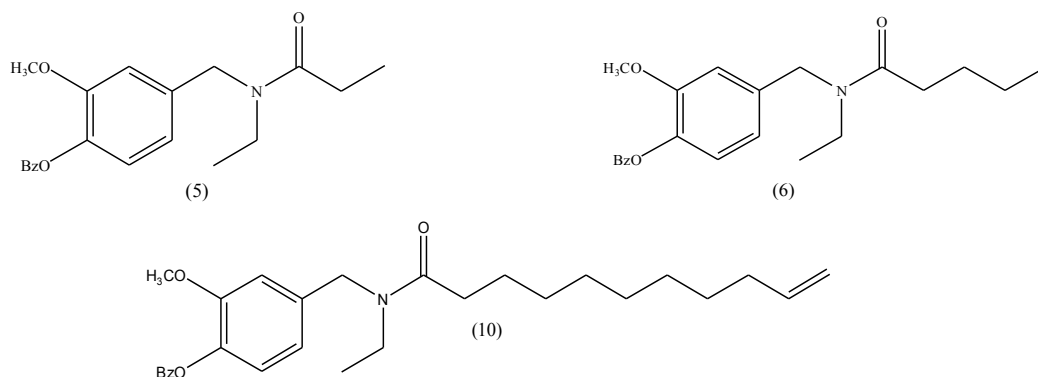
1.3.1 SÍNTESIS DE CAPSAICINOIDES.

Para la preparación de los diferentes análogos de capsaicinoides, se plantearon dos estrategias sintéticas como se indica en la parte experimental (Ruta A y B). En la primera de ellas se utilizó vainillina como material de partida (Esquema 33). En donde el hidroxilo fenólico se protegió con cloruro de benzoilo para poder realizar las siguientes reacciones sin la competencia de la reactividad de este grupo.



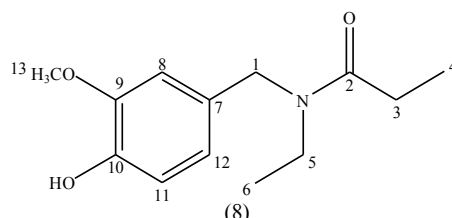
Esquema 33. Ruta sintética A para la obtención de capsaicinoides a partir de vainillina.

Enseguida se llevó a cabo una aminación con etil amina y borohidruro de sodio sobre el grupo aldehídico para generar la amina secundaria en un 60 % de rendimiento. Después se realizó una reacción de acilación con tres halogenuros de acilo (cloruro de propanoilo, cloruro de pentanoilo y cloruro de undecenoilo), para formar las correspondientes amidas, (5), (6) y (7) respectivamente.

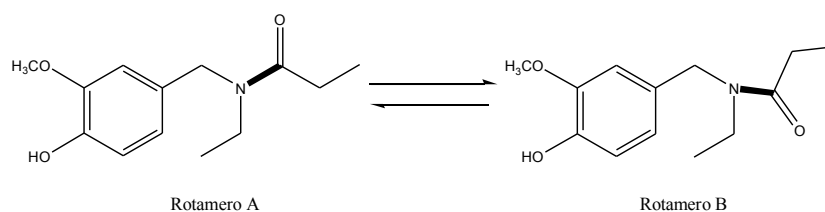


Finalmente se hizo la desprotección de estos compuestos utilizando carbonato de potasio, para generar los productos: (8) N-etil-N-(4-hidroxi-3-metoxibencil)propanamida, (9) N-etil-N-(4-hidroxi-3-metoxibencil)pentanamida, y (10) N-etil-N-[(4-hidroxi-3-metoxifenil)metil]undecen-10-enamida, con rendimientos del 84 %, 89% y 85 % respectivamente.

En la espectrometría de masas del producto (8) se observó un ión molecular m/z 237.2 (Anexo 13) que corresponde con la fórmula molecular $C_{13}H_{19}NO_3$. En el espectro de infrarrojo (Anexo 1) se observaron las bandas de absorción características del estiramiento H-O a 3252 cm^{-1} y para el carbonilo correspondiente al estiramiento del enlace $C=O$ de la amida a 1624 cm^{-1} .



En el espectro de RMN 1H (Anexo 24) se observó como evidencia espectroscópica, un singulete a 4.44δ con integración de dos hidrógenos, que se atribuyen a los protones metilénicos H-1; cabe mencionar que también se identificó un segundo singulete a 4.50δ correspondiente a los mismos protones H-1. Este fenómeno de duplicación de señales se observa por la presencia de isómeros rotacionales. A 3.42δ aparece un cuarteto asignable a los protones del metileno H-5 y otra señal duplicada de H-5 a 3.27δ el cual pertenece al rotamero B. También se identifica un triplete a 1.25δ correspondiente a los protones H-6 del grupo metilo, ambas señales pertenecen a la N-sustitución del grupo etilo, presentan una constante de acoplamiento característica de $J = 7.0\text{ Hz}$. El resto de los datos espectroscópicos corresponden correctamente con la estructura del producto (8) y se presentan en la tabla 1.



Isómeros rotacionales

Tabla 1. Datos de RMN ^1H en CDCl_3 para el compuesto (8).

Posición	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$
1	4.44 (s, 2H); 4.50 (s, 2H) ^b
2	-----
3	2.34 (c, 2H), $J = 7.2$
4	1.09 (t, 3H), $J = 7.2$
5	3.27 (c, 2H), $J = 7.0$; 3.44 (c, 2H) ^b $J = 7.0$
6	1.25 (t, 3H), $J = 7.0$
7	-----
8	6.81 (m)
9	-----
10	-----
11	6.81 (m)
12	6.81 (m)
13	3.85 (s, 3H)

^a δ en ppm, valores de J en Hz.^b Señales duplicadas por el efecto de interconversión de las amidas.

El producto (9), presentó en espectrometría de masas (anexo 14), un ión molecular m/z 265.1 que corresponde con la fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{NO}_3$. En el espectro de infrarrojo (anexo 2) se observaron las bandas de absorción características de un estiramiento O-H para grupo hidroxilo a 3253 cm^{-1} y para el estiramiento C=O del carbonilo de la amida a 1623 cm^{-1} .

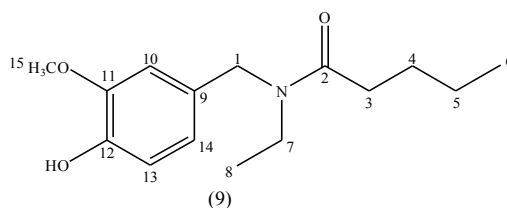


Tabla 2. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (9).

Posición	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$
1	4.51 (s, 2H); 4.45 (s, 2H) ^b	50.4 (t)
2	-----	173.4 (s)
3	2.36 (t, 2H)	32.8 (t)
4	1.68 (m, 2H)	27.7 (t)
5	1.33 (m, 2H), $J = 7.4$	22.6 (t)
6	0.89 (t, 3H), $J = 7.4$	13.7 (c)
7	3.41 (c, 2H), $J = 7.0$; 3.27 (c, 2H) ^b	41.3 (t)
8	1.11 (t, 3H), $J = 7.0$	13.9 (c)
9	-----	129.8 (s)
10	6.86 (m)	114.2 (d)
11	-----	146.9 (s)
12	-----	145.1 (s)
13	6.86 (m)	121.0 (d)
14	6.86 (m)	111.0 (d)
15	3.85 (s, 3H)	55.9 (c)

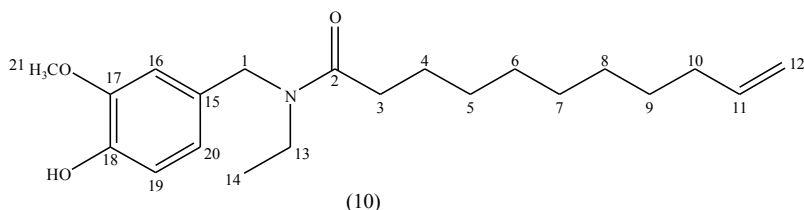
^a δ en ppm, valores de J en Hz.^b Señales duplicadas por efecto de interconversión de las amidas.

En el espectro de RMN ^1H (anexo 24) se observaron como señales más importantes, las correspondientes a los del grupo etilo unido al nitrógeno, en donde los protones H-7 del metileno aparecen como un cuarteto a 3.41 δ , la señal se ve duplicada a 3.27 δ por la interconversión que existe, y los protones H-8 del grupo metilo a 1.11 δ como triplete; ambas señales presentan una constante de acoplamiento esperada de $J = 7.0$ Hz.

También se identificó un singulete a 4.51 δ , atribuible a los protones H-1 con una integración correspondiente a 2 hidrógenos, esta señal también se ve duplicada a 4.45 δ como un singulete y esto también se le atribuye al rotamero que coexiste. En el espectro de RMN ^{13}C se

observaron los 15 carbonos esperados para esta molécula, en donde se destaca la señal del carbono carbonílico del grupo amida a 173.4 δ . El resto de la información espectroscópica fue superponible con la de este producto (9) (Tabla 2).

En la espectrometría de masas del compuesto (10) se observó un ión molecular m/z 347.3 que corresponde con la fórmula molecular $C_{21}H_{33}NO_3$ (anexo 15). En el espectro de infrarrojo (anexo 3) se observaron las bandas de absorción características de la vibración del estiramiento O-H del grupo hidroxilo a 3263 cm^{-1} y para el carbonilo, la vibración del estiramiento C=O de la amida a 1638 cm^{-1} .



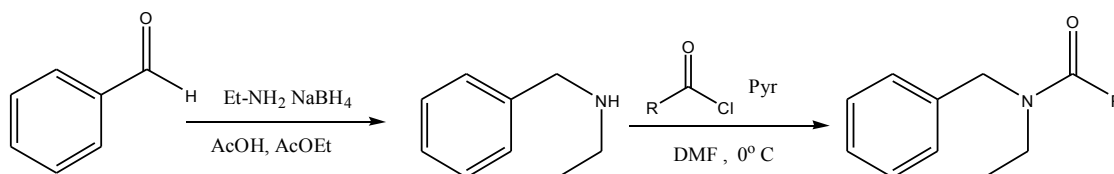
En el espectro de RMN 1H (anexo 26) se observaron como señales características, un singulete a 4.44 δ atribuible a los protones metilénicos H-1, esta señal se ve duplicada por la interconversión de la amida a 4.50 δ ; un multiplete a 5.80 δ que corresponde al protón H-11 de la olefina terminal y dobles de dobles a 4.99 y 4.95 δ atribuibles a los protones geminales H-12 de la correspondiente olefina. En el espectro de RMN ^{13}C se observaron los 21 carbonos esperados para esta análogo, en donde se identifican de mayor importancia la señal del carbono carbonílico del grupo amida a 173.0 δ , los carbonos del doble enlace a 139.1 y 114.7 δ que corresponden al C-11 y C-12 respectivamente. El resto de los datos espectroscópicos corresponden con la estructura del producto (10) (Tabla 3).

Tabla 3. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (10).

Posición	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$
1	4.44 (s, 2H); 4.50 (s, 2H) ^b	50.4 (t)
2	-----	173.0 (c)
3	2.36 (t, 2H)	33.7 (t)
4	1.66 (m, 2H)	29.4 (t)
5	1.28 (m)	29.0 (t)
6	1.28 (m)	25.6 (t)
7	1.28 (m)	25.4 (t)
8	1.28 (m)	28.9 (t)
9	1.31 (m, 2H)	29.3 (t)
10	2.02 (m, 2H)	33.1 (t)
11	5.80 (m, 1H)	139.1 (d)
12	12a 4.99 (dd); 12b 4.95 (dd)	114.7 (t)
13	3.40 (c, 2H), $J=7.0$; 3.27 (c, 2H) ^b $J=7.0$	41.2 (t)
14	1.13 (t, 3H), $J=7.0$	13.7 (c)
15	-----	130.0 (s)
16	6.50 (m)	110.9 (d)
17	-----	145.0 (s)
18	-----	146.8 (s)
19	6.50 (m)	114.0 (d)
20	6.50 (m)	121.1 (d)
21	3.84 (s)	55.9 (c)

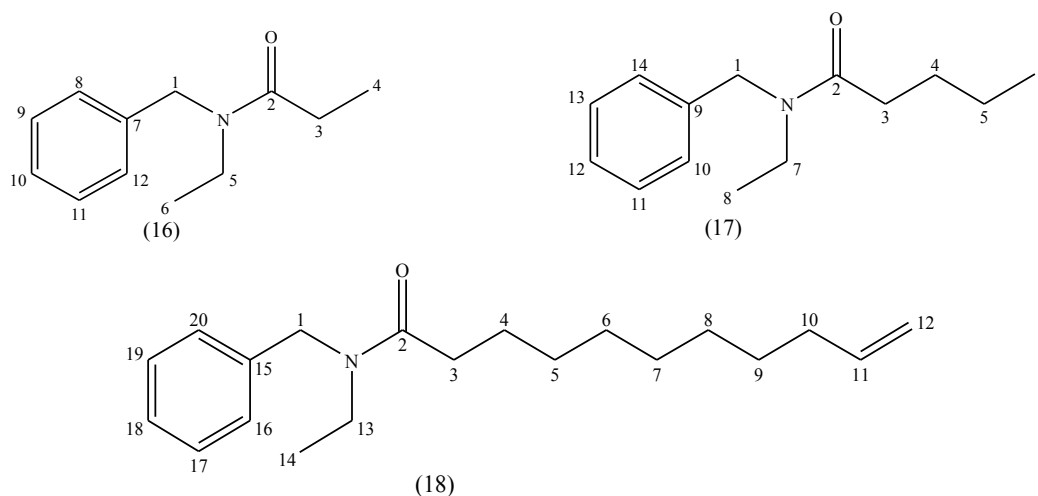
^a δ en ppm, valores de J en Hz.^b Señales duplicadas por el efecto de interconversión de las amidas.

Por medio de la ruta B (Esquema 10) se sintetizaron otros análogos tipo capsaicinoide, donde se utiliza benzaldehído como sustrato. La primera reacción fue una aminación del benzaldehído, con etil amina sobre el carbonilo aldehídico, obteniéndose la amina secundaria esperada con un 60 % de rendimiento.

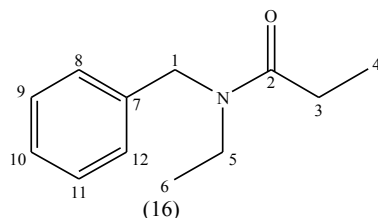


Esquema 33. Ruta sintética B, para la obtención de capsaicinoides a partir de benzaldehído.

Posteriormente mediante una reacción de acilación entre la amina generada y diferentes halogenuros de acilo se obtuvieron los productos: N-bencil-N-etilpropanamida (16), N-bencil-N-etilpentamida (17) y el N-bencil-N-etilundec-10-enamida (18) con un 94 %, 70 % y 73 % de rendimiento respectivamente.



El producto (16) presentó en espectrometría de masas (anexo 16), un ión molecular m/z 191.2 que corresponde correctamente con la fórmula molecular $C_{12}H_{17}NO$. En el espectro de infrarrojo (anexo 4) se observó la banda de absorción característica a las vibraciones $C=O$ para el grupo carbonilo de la amida a 1647 cm^{-1} .



En el espectro de RMN ^1H (anexo 27) se identificó, un singulete a 4.60 δ con integración a dos unidades, que se atribuyen a los protones H-1 del carbono bencílico, esta señal se ve duplicada por la interconversión de la amida a 4.52 δ (s, 2H); también se observó un multiplete a 7.27 δ con integración de 5 unidades, que corresponden con el número de los protones del anillo aromático. Se identificó un cuarteto a 3.48 δ , que se asigna a los protones del metileno H-5, el cual se ve duplicado al igual que el H-1 por la interconversión de la amida a 3.24 δ y un triplete a 1.21 δ que se atribuye a los protones H-6 del grupo metilo, ambas señales de este grupo etilo, presentan una constante de acoplamiento de $J = 7.2$ Hz.

Tabla 4. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (16).

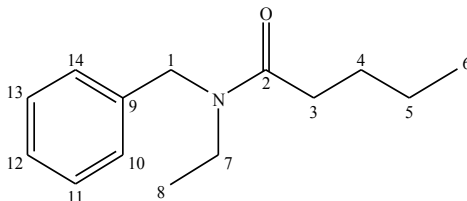
Posición	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$
1	4.60 (s, 2H); 4.52 (s, 2H) ^b	50.6 (t)
2	-----	173.8 (s)
3	2.34 (c, 2H), $J = 7.2$	26.3 (t)
4	1.09 (t, 3H), $J = 7.2$	9.6 (c)
5	3.48 (c, 2H), $J = 7.2$; 3.24 (c, 2H) ^b $J = 7.2$	41.5 (t)
6	1.21 (t, 3H), $J = 7.2$	13.7 (c)
7	-----	138.0 (s)
8	7.27 (m)	128.3 (d)
9	7.27 (m)	127.8 (d)
10	7.27 (m)	126.5 (d)
11	7.27 (m)	127.8 (d)
12	7.27 (m)	128.3 (d)

^a δ en ppm, valores de J en Hz.

^b Señales duplicadas por el efecto de interconversión de las amidas.

En el espectro de RMN ^{13}C se observaron los 12 carbonos esperados para esta molécula, en donde se destaca la señal del carbono carbonílico del grupo amida a 173.8 δ . El resto de los datos espectroscópicos corresponden con la estructura del producto (16) (Tabla 4).

El producto (17) presentó en espectrometría de masas (anexo 17), un ión molecular m/z 219.2 que corresponde con la fórmula molecular $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{NO}$. En el espectro de infrarrojo se observaron las bandas de absorción característica al estiramiento $\text{C}=\text{O}$ para el carbonilo de la amida a 1644 cm^{-1} .



En el espectro de RMN ^1H (anexo 28) se identificaron las siguientes señales: un singulete a 4.59 δ con integración de dos unidades, el cual se duplica a 4.51 δ por la interconversión de la amida, estos se atribuyen a los protones H-1; un cuarteto 3.41 δ correspondiente a los hidrógenos del metileno H-7 y un triplete a 1.10 δ , atribuible a los protones H-8, estas dos últimas señales presentan constantes de acoplamiento de $J = 6.8$ Hz, que explica la conexión adyacente en la que se encuentran.

Tabla 5. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (17).

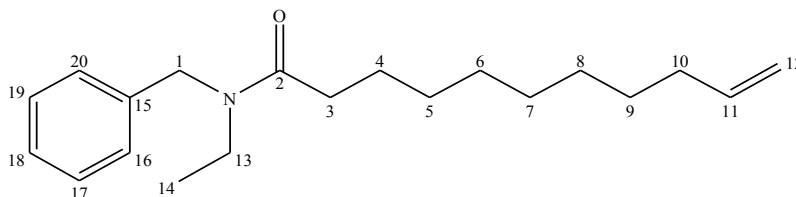
Posición	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$
1	4.59 (s, 2H); 4.51 (s, 2H) ^b	50.6 (t)
2	-----	173.1 (s)
3	2.39 (t, 2H) ; 2.31 (t, 2H) ^b	32.7 (t)
4	1.67 (m, 2H)	27.5 (t)
5	1.34 (m, 2H), $J = 7.2$ Hz	22.5 (t)
6	0.90 (t, 3H), $J = 7.2$ Hz	12.6 (c)
7	3.41 (c, 2H), $J = 6.8$ Hz; 3.26 (c, 2H) ^b	41.5 (t)
8	1.10 (t, 3H), $J = 6.8$ Hz	13.8 (c)
9	-----	138.0 (s)
10	7.26 (m)	128.8 (d)
11	7.26 (m)	128.4 (d)
12	7.26 (m)	127.9 (d)
13	7.26 (m)	128.4 (d)
14	7.26 (m)	128.8 (d)

^a δ en ppm, valores de J en Hz.

^b Señales duplicadas por el efecto de interconversión de las amidas.

En el espectro de RMN ^{13}C se observaron los 14 carbonos esperados para esta molécula, en donde destaca la presencia de la señal del carbono carbonílico del grupo amida a 173.1 δ . El resto de los datos espectroscópicos corresponden correctamente a la estructura del producto (17) (Tabla 5).

El producto (18) presentó en espectrometría de masas (anexo 18), un ión molecular m/z 301.3 que corresponde con la fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{NO}$. En el espectro de infrarrojo (anexo 6) se observaron las bandas de absorción característica del estiramiento $\text{C}=\text{O}$ para el carbonilo de la amida a 1646 cm^{-1} .

Tabla 6. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (18).

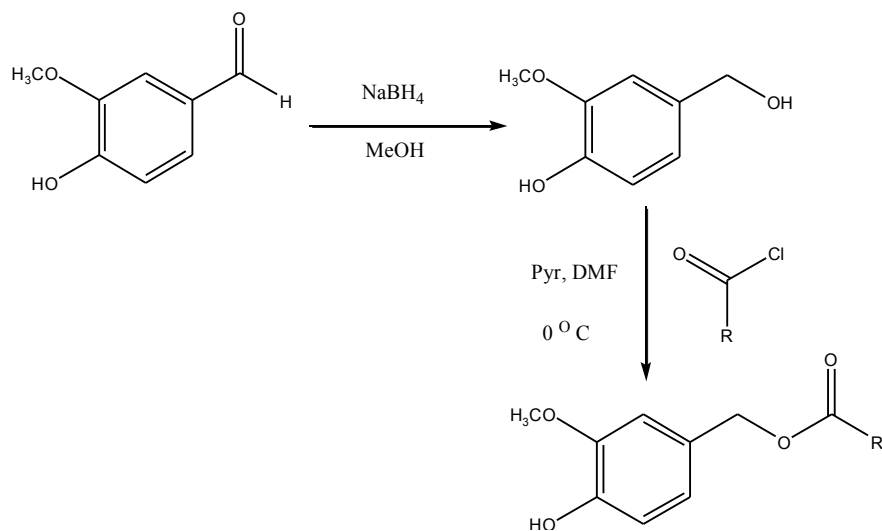
Posición	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$
1	4.59 (s, 2H); 4.52 (s, 2H) ^b	50.5 (t)
2	-----	173.2 (c)
3	2.34 (t, 2H); 2.30 (t, 2H) ^b	33.7 (t)
4	1.67 (m, 2H)	29.3 (t)
5	1.29 (m)	29.0 (t)
6	1.29 (m)	25.5 (t)
7	1.29 (m)	25.3 (t)
8	1.29 (m)	23.7 (t)
9	1.29 (m)	29.4 (t)
10	2.02 (m, 2H)	33.3 (t)
11	5.80 (m, 1H), $J_1 = 17.0$; $J_2 = 9.2$	139.1 (d)
12	12a 4.98 (dd), $J = 17.0$ 12b 4.92 (dd), $J = 9.2$	114.1 (t)
13	3.41 (c, 2H), $J = 7.0$; 3.26 (c, 2H) ^b	41.5 (t)
14	1.13 (t, 3H), $J = 7.0$	13.7 (c)
15	-----	130.8 (s)
16	7.27 (m)	128.8 (d)
17	7.27 (m)	128.4 (d)
18	7.27 (m)	127.9 (d)
19	7.27 (m)	128.4 (d)
20	7.27 (m)	128.8 (d)

^a δ en ppm, valores de J en Hz.^b Señales duplicadas por el efecto de interconversión de las amidas.

En el espectro de RMN ^1H (anexo 29) se observaron como señales características, un singlete a 4.59 δ atribuible a los protones metilénicos H-1; un multiplete a 5.80 δ asignable al protón H-11 de la olefina terminal, con constantes $J_1 = 17.0$ Hz y $J_2 = 9.2$ Hz; Estos valores indican el acoplamiento con los protones geminales H-12 de este alqueno, que se observan como dos dobles de dobletes a 4.98 δ ($J = 17.0$ Hz) y a 4.92 δ ($J = 9.2$ Hz). En el espectro de RMN ^{13}C se observaron los 20 carbonos que conforman la estructura molecular de este compuesto, en donde se identifican como de mayor importancia, la señal del carbono carbonílico del grupo amida a 173.2 δ , los carbonos del doble enlace a 139.1 y 114.7 δ que corresponden a C-11 y C-12 respectivamente. El resto de los datos espectroscópicos corresponden correctamente a la estructura del producto (18) (Tabla 6).

1.3.2 SÍNTESIS DE CAPSINOIDES

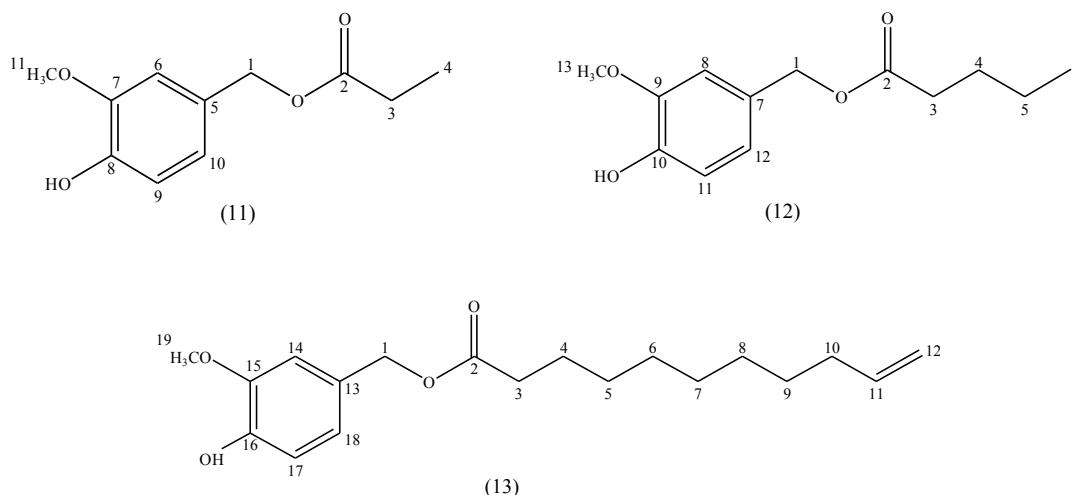
Para la preparación de los análogos de capsinoides, se plantearon dos estrategias sintéticas como se indica en la parte experimental (Ruta C y D). En la primera de ellas se utilizó vainillina como material de partida para obtener los productos propuestos (Esquema 35).



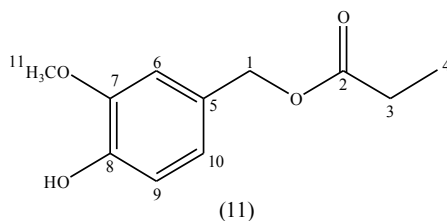
Esquema 35. Ruta sintética C para la obtención de capsinoides a partir de vainillina

Inicialmente se hizo la reducción carbonílica con borohidruro de sodio para obtener el alcohol tipo bencílico con un rendimiento del 89 %. Enseguida se esterificó el alcohol obtenido con diferentes haluros de ácido en DMF , para obtener los correspondientes capsinoides: (11) propanoato de 4-hidroxi-3-metoxibencilo con un 67 % de rendimiento, (12) pentanoato de 4-

hidroxi-3-metoxibencilo con un 78 % de rendimiento y (13) undec-10-enoato de 4-hidroxi-3-metoxibencilo con un 67 % de rendimiento .



Para el producto (11) en el espectro de infrarrojo (anexo 7) se observaron las bandas de absorción características para grupo hidroxilo a 3437 cm^{-1} y para el carbonilo del éster a 1732 cm^{-1} .



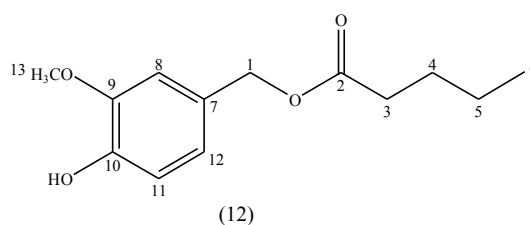
En el espectro de RMN ^1H (anexo 30) se observaron como señales características a este compuesto, un singlete a $5.03\text{ }\delta$ atribuible a los protones metilénicos H-1; un cuarteto a $2.35\text{ }\delta$ y un triplete a $1.49\text{ }\delta$ con una constante de acoplamiento equivalente de $J = 7.6\text{ Hz}$, que se atribuyen al grupo etilo adyacente al carbonilo. En el espectro de RMN ^{13}C se observaron los 11 carbonos esperados para esta producto, en donde se identifican de mayor importancia la señal del carbono carbonílico del grupo éster a $174.4\text{ }\delta$, El resto de los datos espectroscópicos tienen una relación correcta a la estructura del producto (11) (Tabla 7).

Tabla 7. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (11).

Posición	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$
1	5.03 (s, 2H)	66.3 (t)
2	-----	174.4 (s)
3	2.35 (c, 2H), $J = 7.6$	27.6 (t)
4	1.49 (t, 3H), $J = 7.6$	9.6 (c)
5	-----	127.9 (s)
6	6.88 (m)	111.2 (d)
7	-----	146.4 (s)
8	-----	145.7 (s)
9	6.88 (m)	114.3 (d)
10	6.88 (m)	122.0 (d)
11	3.89 (s, 3H)	55.9 (c)

^a δ en ppm, valores de J en Hz.

El producto (12) presentó en espectrometría de masas (anexo 19), un ión molecular m/z 238.1 que corresponde con la fórmula molecular $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_4$. En el espectro de infrarrojo se observaron las bandas de absorción características del estiramiento O-H para grupo hidroxilo a 3424 cm^{-1} y para el estiramiento C=O del carbonilo del éster a 1730 cm^{-1} .



En el espectro de RMN ^1H (anexo 31) se identificaron como señales más importantes las del grupo bencilo, en donde los protones H-1 aparecen como sigulete a 5.03 δ con una integración de 2 hidrógenos. Los protones H-13 del grupo metoxilo, se observan como un sigulete a 3.88 δ .

Tabla 8. Datos de RMN ^1H en CDCl_3 para el compuesto (12).

Posición	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$
1	5.03 (s, 2H)
2	-----
3	2.34 (t, 2H), $J=7.4$
4	1.33 (m, 2H), $J=7.4$
5	1.62 (m, 2H)
6	0.91 (t, 3H)
7	-----
8	6.88 (m)
9	-----
10	-----
11	6.88 (m)
12	6.88 (m)
13	3.88 (s, 3H)

^a δ en ppm, valores de J en Hz.

El resto de los datos espectroscópicos tienen una relación con la estructura del producto (12) (Tabla 8).

En la espectrometría de masas del producto (13) se observó un ión molecular m/z 320.2 que corresponde con la fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_4$ (anexo 20). En el espectro de infrarrojo se observaron las bandas de absorción características de las vibraciones del estiramiento O-H para grupo hidroxilo a 3448 cm^{-1} y para el estiramiento C=O del carbonilo del éster a 1734 cm^{-1} .

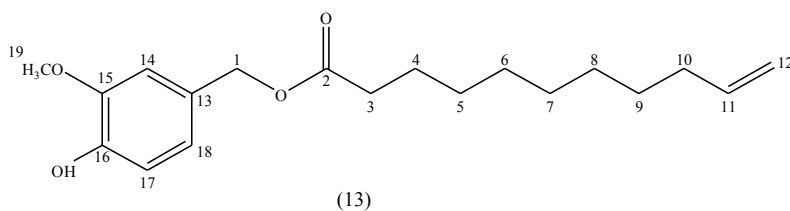


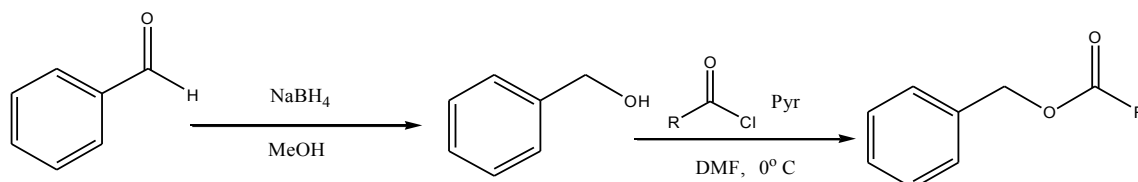
Tabla 9. Datos de RMN ^1H en CDCl_3 para el compuesto (13).

Posición	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$
1	5.03 (s, 2H)
2	-----
3	2.35 (t, 2H)
4	1.64 (m)
5	1.31 (m)
6	1.31 (m)
7	1.31 (m)
8	1.31 (m)
9	1.64 (m)
10	2.03 (m, 2H)
11	5.80 (m, 1H), $J_1 = 10.4$; $J_2 = 17.0$
12	12a 4.99 (dd), $J = 17.0$ 12b 4.94 (dd), $J = 10.4$
13	-----
14	6.89 (m)
15	-----
16	-----
17	6.89 (m)
18	6.89 (m)
19	3.90 (s, 3H)

^a δ en ppm, valores de J en Hz.

En el espectro de RMN ^1H (anexo 32) se observaron como señales más importantes para este compuesto, un singulete a 5.03 δ atribuible a los protones H-1; un multiplete a 5.80 δ con constantes de acoplamiento: $J_1 = 10.4$ y $J_2 = 17.0$ Hz, asignable al protón H-11 de la olefina periférica, y dos dobles de dobletes a 4.99 ($J = 17.0$ Hz) y 4.94 δ ($J = 10.4$ Hz), asignables a los protones geminales H-12 de la olefina. El resto de los datos espectroscópicos tienen una relación correcta con la estructura del producto (13) (Tabla 9).

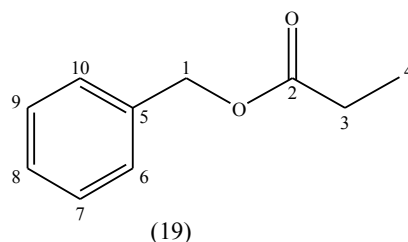
En la ruta D, se sintetizaron otros capsinoides donde se utiliza benzaldehído como sustrato y que se muestra en el Esquema 36.



Esquema 36. Ruta sintética D para la obtención de capsinoides a partir de benzaldehído.

Como se observa en la reacción general de esta ruta sintética, la primera transformación estructural fué la reducción carbonílica del benzaldehído con borohidruro de sodio en metanol, para obtener alcohol bencílico con un rendimiento del 90 %. Este compuesto intermediario fue caracterizado totalmente mediante técnicas espectroscópicas que se muestran en la parte experimental. Enseguida se esterificó el alcohol obtenido con diferentes halúros de ácido en DMF, para obtener así los capsinoides: (19) propanoato de bencilo con un 97 % de rendimiento, (20) pentanoato de bencilo con un 71 % de rendimiento y (21) undec-10-enoato de bencilo con un 78 % de rendimiento.

El producto (19) presentó en espectrometría de masas (anexo 21), un ión molecular m/z 164.1 que corresponde con la fórmula molecular $C_{10}H_{12}O_2$. En el espectro de infrarrojo se observó la banda de absorción característica de la vibración del estiramiento $C=O$ para el carbonilo del éster a 1739cm^{-1} .



En el espectro de RMN ^1H se observaron como señales más importantes, un cuarteto para los protones H-3 y un triplete para los protones H-4, con desplazamientos de 2.37δ y 1.15δ respectivamente, ambos con constantes de acoplamiento de 7.2 Hz

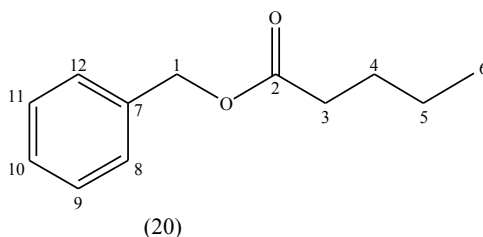
Tabla 10. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (19).

Posición	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$
1	5.11 (s, 2H)	66.2 (t)
2	-----	174.4 (s)
3	2.37 (c, 2H), $J=7.2$	27.7 (t)
4	1.15 (t, 3H), $J=7.2$	9.2 (c)
5	-----	136.2 (s)
6	7.33 (m)	128.0 (d)
7	7.33 (m)	128.9 (d)
8	7.33 (m)	128.5 (d)
9	7.33 (m)	128.9 (d)
10	7.33 (m)	128.0 (d)

^a δ en ppm, valores de J en Hz.

Se identificó también un singlete atribuible a los protones H-1 con un desplazamiento químico de 5.11 δ . En el espectro de RMN ^{13}C destaca la señal del carbono carbonílico del éster a 174.4 δ , y se observaron las señales de los 10 carbonos de esta molécula. El resto de la información espectroscópica fue superponible con la de este producto (19) (Tabla 10).

El producto (20) presentó en espectrometría de masas (anexo 22), un ión molecular m/z 192.1 que corresponde con la fórmula molecular $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_2$. En el espectro de infrarrojo (anexo 11) se observó la banda de absorción característica para el carbonilo del éster a 1737cm^{-1} .



En el espectro de RMN ^1H (anexo 33) se observaron como señales evidentes a esta estructura molecular, un triplete a 2.35 δ para los protones H-3 y tres multipltos a 1.65, 1.34 y 0.93 δ , correspondientes a los protones H-4, H-5 y H-6 respectivamente.

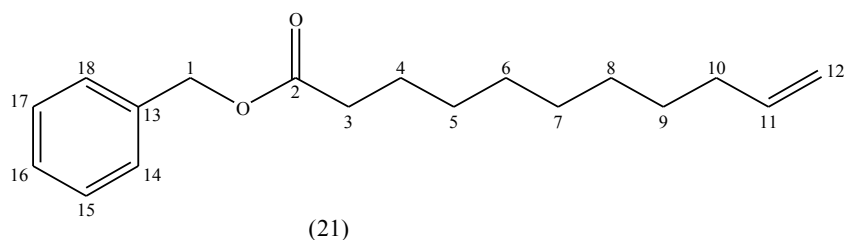
Tabla 11. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (20).

Posición	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$
1	5.10 (s, 2H)	66.2 (t)
2	-----	173.6 (s)
3	2.35 (t, 2H)	34.0 (t)
4	1.65 (m, 2H)	27.0 (t)
5	1.34 (m, 2H)	22.2 (t)
6	0.93 (t, 3H)	13.7 (c)
7	-----	130.8 (s)
8	7.34 (m)	128.8 (d)
9	7.34 (m)	128.5 (d)
10	7.34 (m)	128.1 (d)
11	7.34 (m)	128.5 (d)
12	7.34 (m)	128.8 (d)

^a δ en ppm, valores de J en Hz.

También se identificó un singulete atribuible a los protones H-1 con un desplazamiento químico de 5.10 δ . En el espectro de RMN ^{13}C se observó la señal del carbono carbonílico del éster a 173.6 δ y las todas las señales de los 12 carbonos que conforman esta molécula. El resto de la información espectroscópica fue superponible con la de este producto (20) (Tabla 11).

En la espectrometría de masas (anexo 23) del producto (21), se observó un ión molecular m/z 274.1 que corresponde con la fórmula molecular $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_2$. En el espectro de infrarrojo (anexo 12) se observó la banda de absorción característica para el carbonilo del éster a 1738cm^{-1} .



En el espectro de RMN ^1H se observaron como señales más importantes, un multiplete a 5.80δ con constantes de acoplamiento: $J_1 = 10.4$ y $J_2 = 17.2$ Hz, que se atribuye al protón H-11 de la olefina periférica; dos dobles de dobletes a 4.99δ y 4.77δ con constantes de acoplamiento de $J = 17.2$ y $J = 10.4$ Hz respectivamente, que se atribuyen a los protones geminales H-12. Cabe mencionar que estas constantes de acoplamiento coinciden con las observadas para el protón olefínico adyacente H-11. Se identificó también un singulete atribuible a los protones H-1 del metileno bencílico, con un desplazamiento químico observado a 5.11δ ; y un multiplete a 7.35δ , que corresponde a los protones del anillo aromático.

En el espectro de RMN ^{13}C , se observó la señal del carbono carbonílico del éster a 173.7δ , y se identificaron todas las señales de los 18 carbonos que conforman esta molécula. El resto de la información espectroscópica coincide correctamente con la estructura molecular de este producto (21) (Tabla 12).

Tabla 12. Datos de RMN ^1H y RMN ^{13}C en CDCl_3 para el compuesto (21).

Posición	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$
1	5.10 (s, 2H)	66.1 (t)
2	-----	173.7 (s)
3	2.33 (t, 2H)	34.4 (t)
4	1.64 (m)	30.5 (t)
5	1.32 (m)	29.2 (t)
6	1.32 (m)	29.0 (t)
7	1.32 (m)	25.0 (t)
8	1.32 (m)	29.0 (t)
9	1.64 (m)	29.3 (t)
10	2.02 (m, 2H)	33.9 (t)
11	5.80 (m, 1H), $J_1 = 10.4$; $J_2 = 17.0$	136.2 (d)
12	12a 4.99 (dd), $J = 17.0$ 12b 4.77 (dd), $J = 10.4$	114.3 (t)
13	-----	139.2 (s)
14	7.35 (m)	128.8 (d)
15	7.35 (m)	128.0 (d)
16	7.35 (m)	128.5 (d)
17	7.35 (m)	128.0 (d)

^a δ en ppm, valores de J en Hz.

CAPITULO II

Actividad antioxidante de capsaicinoides y capsinoides

2.1 Antecedentes

2.1.1 LESIÓN CELULAR POR RADICALES LIBRES

Existen numerosos agentes tanto externos como internos que ejercen su efecto adverso a través de especies reactivas conocidas como radicales libres. En la mayoría de los átomos, las orbitas de los electrones externos están ocupadas por pares de electrones que se desplazan en direcciones opuestas para equilibrar sus momentos angulares.

Los radicales libres son especies inestables y reactivas que presentan en su estructura atómica un electrón desapareado o impar en el orbital externo (Rodríguez Perón J. 2001). Las lesiones provocadas por radicales libres representan una vía final de lesión tisular común a numerosos agentes agresores. La especie radicalaria al ponerse en contacto con componentes celulares puede participar en reacciones en cadena, sobre todo con biomoléculas esenciales de la membrana celular y ácidos nucleicos. Además estos pueden establecer reacciones en cadena que en ocasiones podrían abarcar miles de pasos a medida que las moléculas con las que estos reaccionan pueden formar radicales libres.

Esta producción descontrolada de radicales libres induce lesiones de las membranas celulares, la formación de uniones cruzadas entre proteínas celulares, la inactivación de sistemas enzimáticos o el daño del ADN (Porth, 7ma edición. 2006).

Permanentemente estamos en una batalla con estas especies reactivas, ya que su producción es tanto exógena como endógena, exógena como la luz solar, las radiaciones UV, las sustancias químicas con las que estamos expuestos y que nos llevan a la formación de radicales libres. Uno de los más conocidos productores de estas especies inestables en el organismo, son el humo del tabaco, la combustión de hidrocarburos que conforman los combustibles, entre otros. Y la producción endógena es referida a los radicales libres que son productos intermediarios de numerosas reacciones celulares normales del organismo, un ejemplo sería la generación de energía y los procesos inflamatorios entre otros.

Durante la respiración celular normal, el oxígeno molecular es reducido en forma secuencial en la mitocondria mediante el agregado de cuatro electrones para producir agua. En este proceso, una pequeña cantidad de especies intermediarias parcialmente reducidas son convertidas en radicales libres. A estas especies reactivas pertenecen los radicales superóxido, el peróxido de hidrógeno y los radicales hidroxilo. Ciertos metales de transición, como el cobre o el

hierro, capaces de aceptar o donar electrones libres durante las reacciones intracelulares, también representan una fuente de radicales libres.

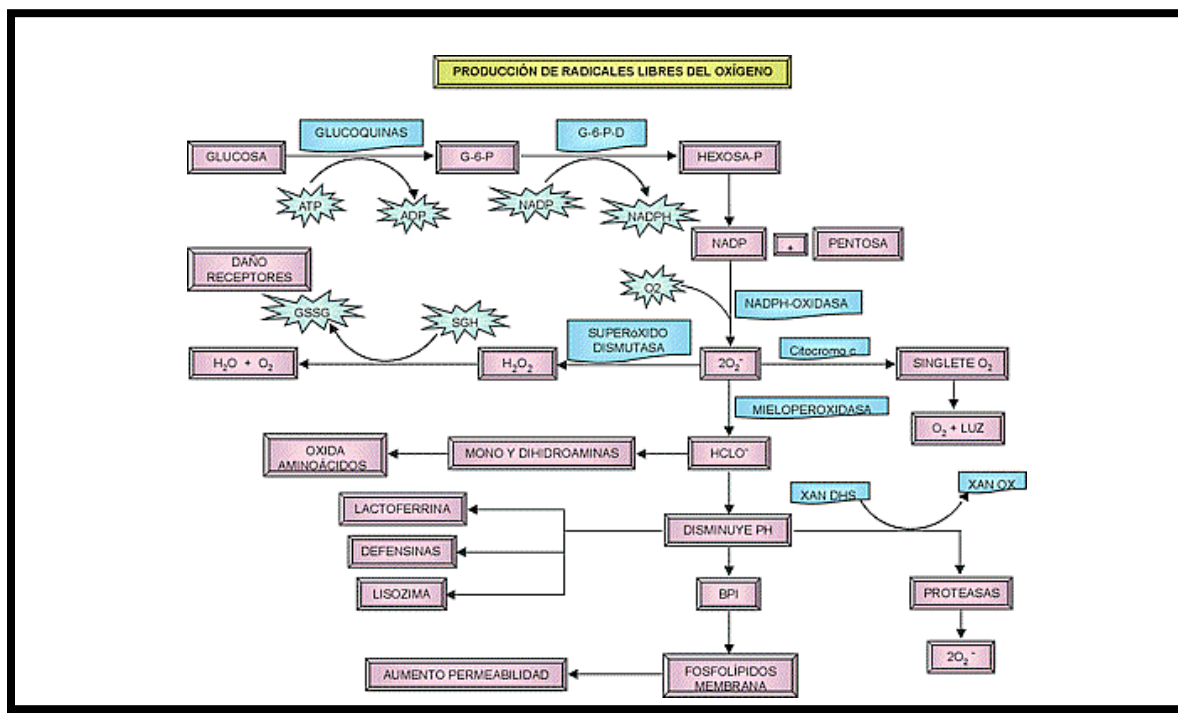


Figura 10. Producción de radicales libres del oxígeno.

Los efectos dañinos que ejercen las especies radicalarias son muy variados, en el daño celular se hace mención a tres formas importantes: los ejercidos sobre el ADN, la peroxidación de los lípidos y la modificación oxidativa de las proteínas. En el ADN las lesiones pueden ser variadas: ruptura de cadenas simples del ADN, modificación de los pares de bases o la formación de uniones cruzadas entre cadenas. La oxidación de los fosfolípidos de la membrana plasmática externa determina la pérdida de integridad de una célula. En cualquiera que sea el caso el daño causado aun cuando se cuenta con un sistema de reparación celular podría ser irreversible ocasionando envejecimiento, enfermedades crónicas e incluso la transformación maligna de las células (figura 11).

2.1.2 ANTIOXIDANTES ENDÓGENOS Y EXÓGENOS

Los antioxidantes son sustancias exógenas o endógenas que tienen la capacidad de neutralizar radicales libres sin perder su estabilidad. Estos inhiben la oxidación causada por los radicales libres, actuando algunos a nivel intracelular y otros en la membrana de las células, siempre en conjunto para proteger a los diferentes órganos y sistemas. Estos se producen tanto de manera endógena como exógena. Los antioxidantes endógenos son las enzimas superóxidodismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, glutatión entre otras que a su vez necesitan cofactores metálicos como el cobre, selenio para poder hacer su función. Por ejemplo, la glutatión peroxidasa es una enzima selenio (Se) dependiente que cataliza la reducción del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) o lipoperóxido (L-OOH), utilizando como agente reductor el glutatión reducido (GSH) (Cisneros E. 1997).

Los antioxidantes exógenos son los que comúnmente consumimos en nuestros alimentos como la vitamina C, vitamina E, β -caroteno, compuestos polifenólicos, taninos entre muchos otros y estos ayudarán junto con los antioxidantes endógenos a neutralizar a los radicales libres.

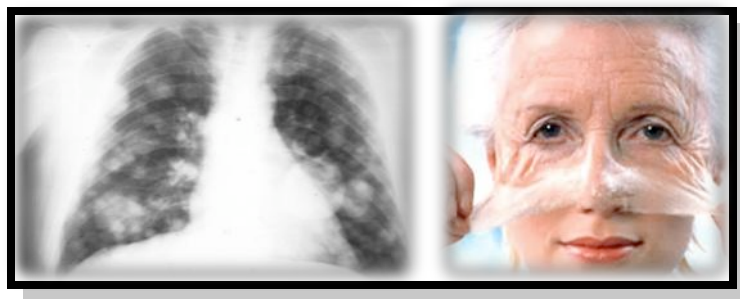


Figura 11. Enfermedades relacionadas con una producción acelerada de radicales libres.

2.1.3 CAPSAICINOS COMO ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes se utilizan ampliamente en la industria de alimentos y farmacéutica, dado que se ha encontrado cada vez más relación entre los radicales libres y las enfermedades crónicas y degenerativas, científicos en todo el mundo se han dado a la tarea de encontrar nuevos

agentes antioxidantes, ya que estos podrían ser utilizados como prevención a diferentes enfermedades.

Los extractos de los frutos del género *Capsicum* son una fuente impresionante de poderosos antioxidantes (Figura 12) tales como flavonoides (luteolina), carotenoides (β -caroteno, licopeno), vitaminas (vitamina A, ácido ascórbico, tocoferoles) y capsaicinoides (capsaicina y dihidrocapsaicina) (Howard, L 2000). Estos últimos pueden inhibir la peroxidación de lípidos (Murakami K, 2001), previenen también la oxidación del ácido oleico a temperaturas altas así como la formación de hidroperóxidos de la autoxidación de ácido linoléico.

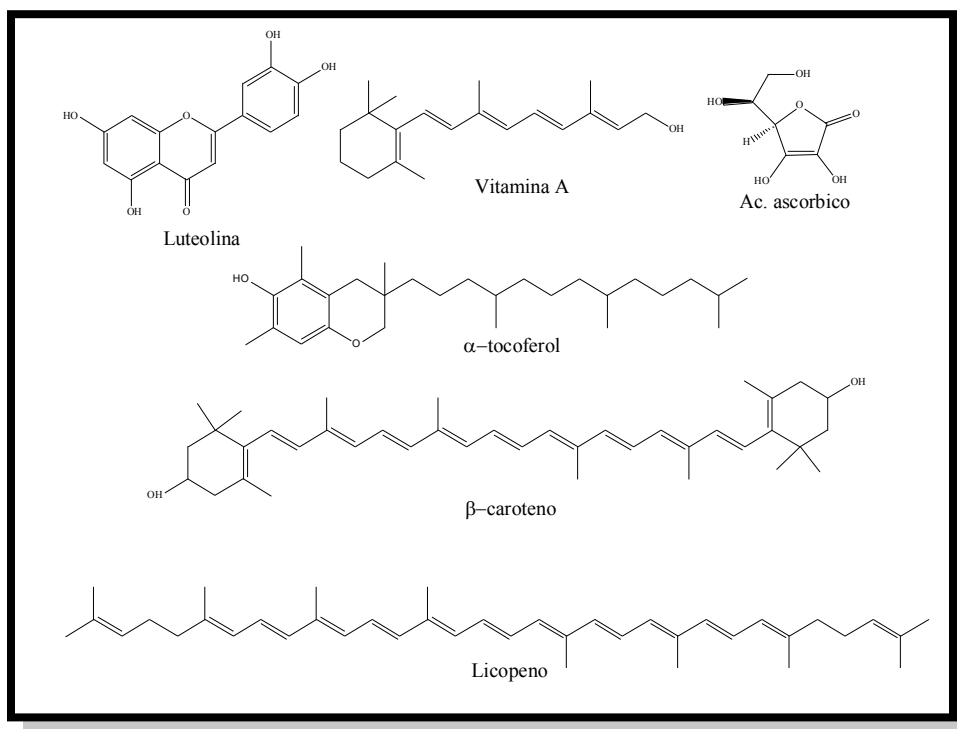


Figura 12. Ejemplos de antioxidantes naturales

2.2 Parte experimental

Para determinar la capacidad antioxidante de los análogos sintetizados en este trabajo, se utilizaron tres métodos: 1) Decoloración oxidativa del β -caroteno, 2) Neutralización del radical libre DPPH (dipiricril fenil hidrazilo) y 3) Técnicas electroquímicas de voltamperometría de onda cuadrada y pulso diferencial. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

2.2.1 Decoloración oxidativa del β -caroteno

Esta técnica se considera colorimétrica, porque la oxidación sucesiva del β -caroteno ocasionado por el medio oxidativo, es característica por la pérdida de coloración de la disolución utilizada en el experimento a $t = 0$. Cuando la muestra a evaluar presenta actividad antioxidante, en otros términos significa, que este compuesto efectúa una protección del β -caroteno frente a la oxidación, y por lo tanto, la decoloración de la disolución será lenta o nula.

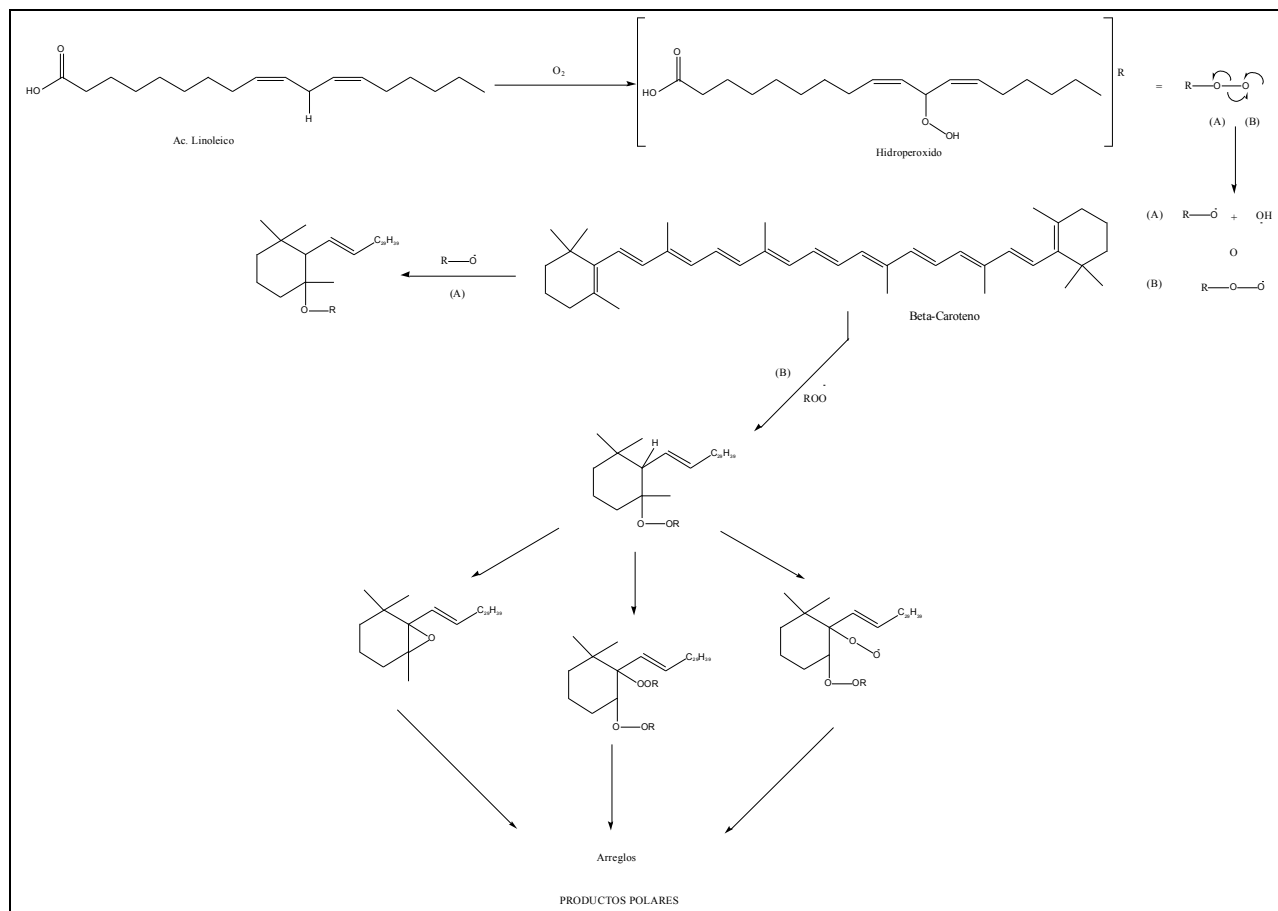


Figura 13. Mecanismo de oxidación de la técnica de β -caroteno.

En un matraz protegido de la luz se adiciona 0.02 mL de ácido linoleico, 0.2 mL de Tween 20 y 1 mL de solución de β -caroteno (0.2 mg de β -caroteno disuelto en 1 mL de cloroformo), se agitó y se dejó evaporar el cloroformo.

Una vez evaporado el cloroformo, se adicionó 50 mL de H₂O destilada mantenida previamente en constante burbujeo de aire durante 1 hr, y se agitó vigorosamente hasta la formación de una emulsión.



Figura 14. Disolución de β -caroteno

Se tomó una alícuota de 5 mL y se transfirió a un tubo que contenía 2 mg del compuesto a evaluar. Posteriormente se midió la absorbancia a 470 nm inmediatamente después de agregar la emulsión ($t=0$ min). Las subsecuentes lecturas de absorbancia fueron registradas en intervalos de 15 minutos manteniendo los tubos en baño maria a 50 °C por 120 minutos.



Figura 15. Técnica de la decoloración oxidativa de β -caroteno.

Cada tubo fue ensayado por triplicado y las absorbancias obtenidas se promediaron para realizar los correspondientes cálculos, el porcentaje de actividad antioxidante se determinó utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Act. Antioxidante} = 100 [1 - (Am^0 - Am^{120}) / (Ac^0 - Ac^{120})]$$

Donde:

Am^0 = absorbancia de la muestra a 0 minutos.

Am^{120} = absorbancia de la muestra a 120 minutos.

Ac^0 = absorbancia de la muestra a 0 minutos.

Ac^{120} = absorbancia de la muestra a 120 minutos.



Figura 16. Experimento de la decoloración oxidativa del β -caroteno.

En la figura 16 el primer tubo es el control negativo (Existe rápida decoloración), y el segundo es una muestra que presentó actividad antioxidante, se puede observar que este último no se decolora por la presencia del producto sintético antioxidante.

2.2.2 Reducción del radical DPPH

La reducción del radical DPPH con compuestos antioxidantes que presentan este mecanismo reductor, se determinó aplicando el método descrito por Burda y Olezak (2001) con algunas modificaciones. En esta técnica, los compuestos activos reducen el radical Difenil picril hidrazilo (DPPH, por sus siglas en inglés) al compuesto inactivo dipicril fenil hidrazina.

Para cada uno de los compuesto a evaluar se prepararon diferentes diluciones encontrando 4.5 mM como la concentración máxima para la reducción de este radical.



Figura 17. Tubos protegidos de la luz, por triplicado, rotulados a diferentes concentraciones.

Cada muestra con diferente concentración, se añadió a un tubo que contenía 2 mL de la disolución de DPPH en MeOH (7.5 mg/ 250 mL).



Figura 18. Disolución del DPPH en MeOH.

La disolución resultante se dejó en reposo durante 5 minutos y posteriormente se midió la absorbancia a 517 nm usando MeOH como blanco.

Cada muestra evaluada se realizó por triplicado y los resultados obtenidos fueron promediados, el porcentaje de actividad antiradicalaria se calculó con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Act. Antirradicalaria} = 100 [1 - A_m/A_c]$$

Donde:

A_m = absorbancia de la muestra.

A_c = absorbancia de la muestra control (DPPH).

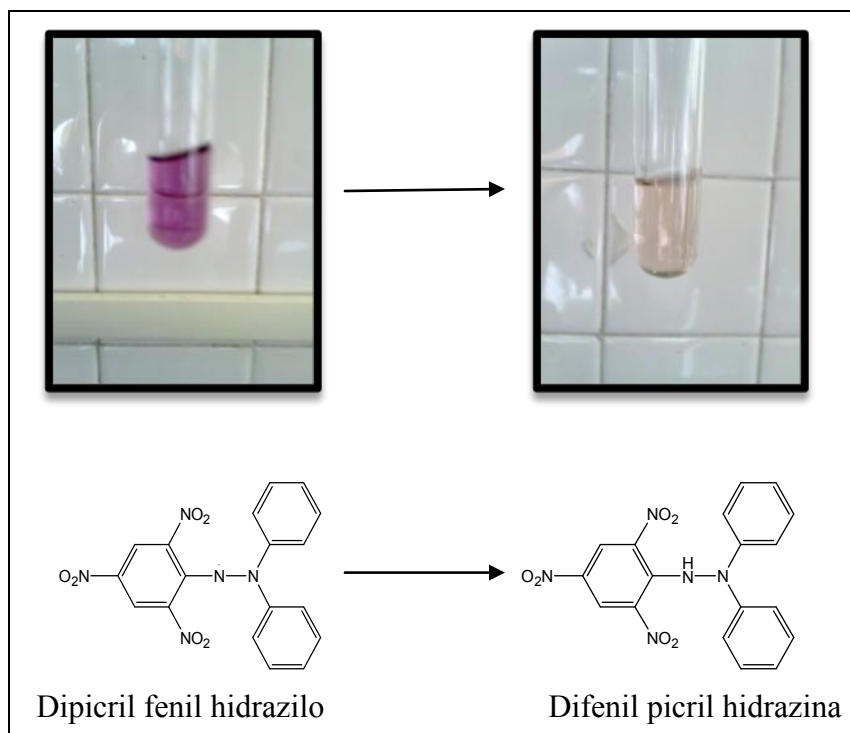


Figura 19. Reducción del radical DPPH.

2.2.3 Evaluación electroquímica

Sistema Electroquímico

Este trabajo se realizó en una celda electroquímica convencional para tres electrodos en atmósfera inerte de nitrógeno. Se utilizó un electrodo de carbón vítreo de 3 mm de diámetro como electrodo de trabajo, un electrodo de platino como contraelectrodo y como electrodo de referencia un electrodo Ag/AgCl. Las sustancias químicas que se utilizaron fueron grado reactivo: solución Hartmann (PISA) como electrolito soporte y etanol (FERMONT).



Figura 20. Celda electroquímica

Preparación de las soluciones trabajo

Para la obtención del potencial de oxidación de corriente anódica máxima de los análogos sintéticos de la capsaicina, derivados de la vainillina, estos fueron disueltos en una disolución 40:60 v/v (etanol/Hartmann) a una concentración de 5.68 mM; mientras que los derivados del benzaldehído fueron preparados a una concentración 5.68 mM en una disolución 45:55 v/v (etanol/Hartmann).



Figura 21. Sistema utilizado para la técnicas voltamperométricas.

El electrolito soporte fue adicionado a la celda electroquímica en una cantidad de 15 mL, al cual se le añadieron 2800 μL del análogo a estudiar.

Las técnicas electroquímicas empleadas fueron voltamperometría de pulso diferencial (DPV) y voltamperometría de onda cuadrada (OSWV), el potencial aplicado fue de 0-1100 mV en un potenciostato-galvanostato EPSILON.



Figura 22. Potenciostato-galvanostato EPSILON.

2.3 Discusión de resultados

Los resultados obtenidos con estas tres técnicas antioxidantes, sirvieron como base para establecer la correlación estructura-actividad de los capsaicinoides y capsinoides sintetizados. Se determinó la importancia del heteroátomo (función amida o éster) de la cadena lateral alifática y de la diferente funcionalización que presenta la parte aromática en los análogos evaluados. Por ende, se pudo conocer cuales son los requerimientos estructurales para que estos compuestos presenten dicha actividad. Los resultados arrojados se discutirán a continuación, para cada una de las dos metodologías realizadas.

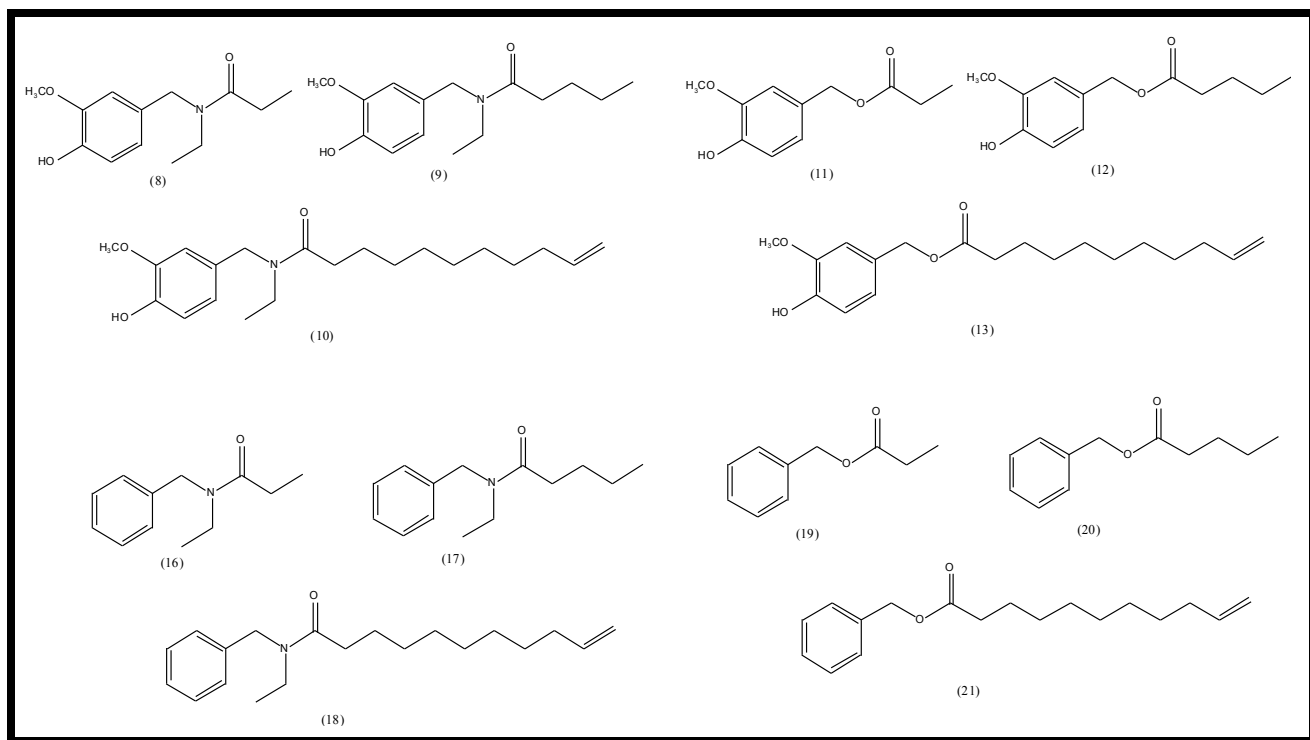


Figura 23. Análogos sintéticos de tipo capsaicinoide y capsinoides.

En la figura 23 se muestran los doce análogos sintetizados para este estudio, donde se utilizó como material de partida a la vainillina y el benzaldehído. Las principales diferencias estructurales, se muestran a continuación:

- Función amida (análogos 8, 9, 10, 16, 17 y 18).
- Función éster (análogos 11, 12, 13, 19, 20 y 21).
- Funcionalización en la parte aromática: *p*-OH y el grupo *m*-OCH₃ (análogos 8, 9, 10, 11, 12 y 13).

- Un grupo propilo como cadena alifática (análogos 8, 11, 16 y 19), un grupo pentilo (análogos 9, 12, 17 y 20), y una cadena undecenilo (análogos 10, 13, 18 y 21).
- Presencia de una olefina terminal en la cadena lateral (análogos 10, 13, 18 y 21).

Análisis de la actividad antioxidante por el método de la decoloración oxidativa del β -caroteno, con los análogos 8,9,10,11,12 y 13.

En la tabla 13 se muestran los porcentajes de actividad antioxidante de los compuestos 8, 9, 10, 11, 12 y 13 determinado por el método de decoloración oxidativa del β -Caroteno.

Tabla 13. Porcentajes de actividad antioxidante.

Compuestos	% Actividad Antioxidante
8	42%
9	65%
10	76%
11	48%
12	80%
13	91%

Se puede apreciar por esta técnica un importante porcentaje de inhibición de la oxidación, siendo los compuestos con la función éster los de mayor actividad. En este caso hubo un incremento sustancial de la actividad, cuando aumenta el tamaño de la cadena alifática de estos análogos. Se tiene que establecer si el coeficiente de partición o la presencia del enlace C=C es determinante en el resultado con estudios posteriores.

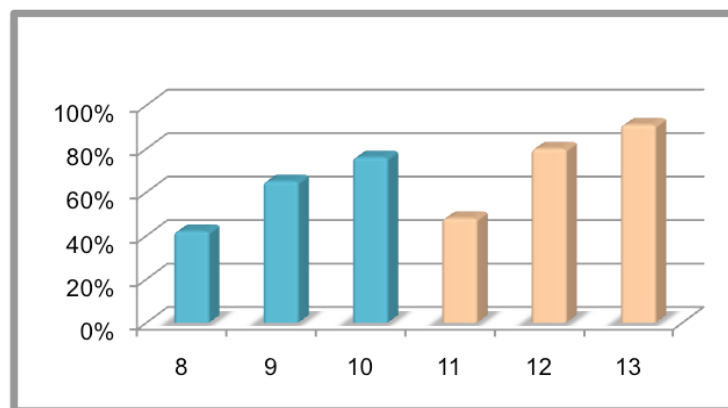


Figura 24. Gráfica de los porcentajes de actividad antioxidante por la técnica de decoloración oxidativa de β -caroteno de los análogos 8, 9, 10 (función amida), 11, 12 y 13 (función éster).

Análisis de la actividad antioxidante por el método de la reducción del radical DPPH con los análogos 8,9,10,11,12 y 13.

A continuación se muestran los porcentajes de actividad antirradicalaria de los compuestos 8, 9, 10, 11, 12 y 13 sintetizados utilizando vainillina como sustrato, en el método de DPPH se utilizaron diferentes concentraciones, para así poder obtener la concentración máxima a la que se reduce el radical libre.

Tabla 14. Porcentajes de actividad antirradicalaria a diferentes concentraciones.

Compuestos	8	9	10	11	12	13
Concentraciones						
0.03mg	43%	24%	27%	59%	22%	23%
0.06mg	50%	31%	33%	58%	30%	33%
0.12mg	58%	46%	45%	65%	42%	42%
0.25mg	71%	69%	66%	77%	58%	57%
0.50mg	80%	83%	78%	88%	69%	70%
1mg	88%	90%	86%	90%	82%	82%

En la tabla 14 y figura 25, se puede apreciar que para la reducción de este radical no es fundamental el tamaño de la cadena alifática. Se observa que para la concentración de 1 mg del

compuesto, se tiene un mejor comportamiento antioxidante (82%-90%). También se puede indicar que en este experimento, la función amida o éster de los productos estudiados, no presentan diferencias significativas en los resultados, por lo que no se considera una variable importante.

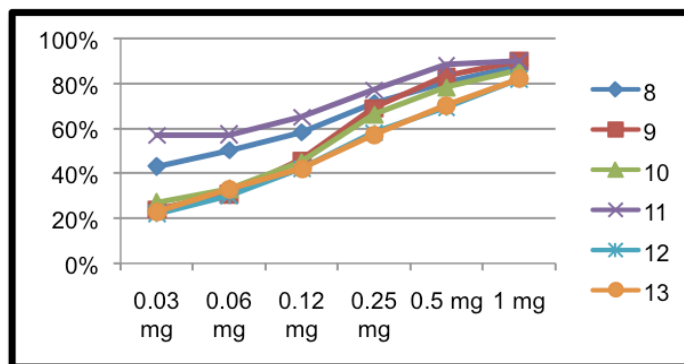
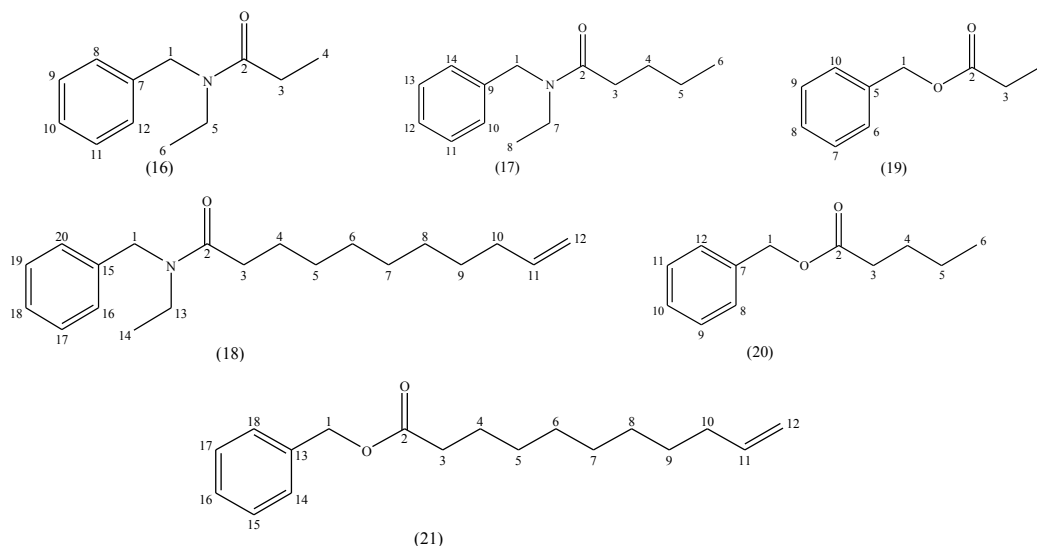


Figura 25. Actividad Antirradicalaria de los análogos 8, 9, 10, 11, 12 y 13.

Análisis de la actividad antioxidante por el método de la decoloración oxidativa del β -caroteno con los análogos 16, 17, 18, 19, 20 y 21.

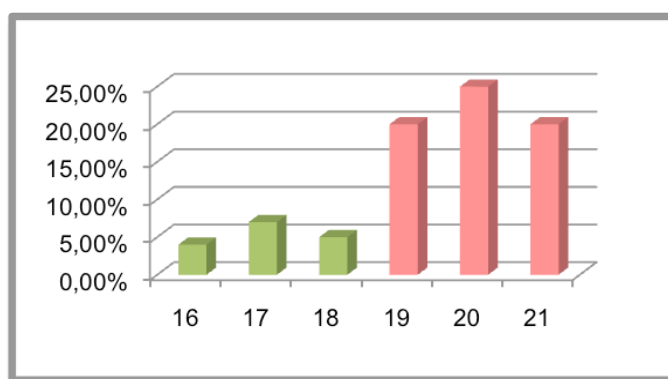
Por otro lado, se realizaron estos mismos experimentos pero ahora evaluando los seis análogos (16, 17, 18, 19, 20 y 21) sintetizados a partir del benzaldehído.



En la tabla 15 y figura 26 se presentan los resultados obtenidos por el método de decoloración oxidativa del β -Caroteno con los compuestos 16, 17, 18 (función amida), 19, 20 y 21 (función éster).

Tabla 15. Porcentajes de actividad antioxidante para los compuestos: 16, 17, 18, 19, 20 y 21.

Compuestos	% Actividad Antioxidante
16	4%
17	7%
18	5%
19	20%
20	25%
21	20%

Figura 26. Gráfica de los porcentajes de actividad antioxidante por la técnica de decoloración oxidativa de β -caroteno de los análogos 16, 17, 18, 19, 20 y 21.

En estos resultados se puede observar un decremento significativo en dicha actividad, por lo que se establece la gran importancia de la presencia del grupo hidroxilo o del metoxilo en el anillo aromático de estos productos.

En la siguiente figura 27 se puede apreciar las diferencias de la actividad antioxidante por el método de decoloración oxidativa del β -caroteno, entre los análogos funcionalizados en la parte aromática (columnas traseras) y aquellos que no la poseen (columnas frontales), manifestando la importancia de estos grupos funcionales para dicha actividad.

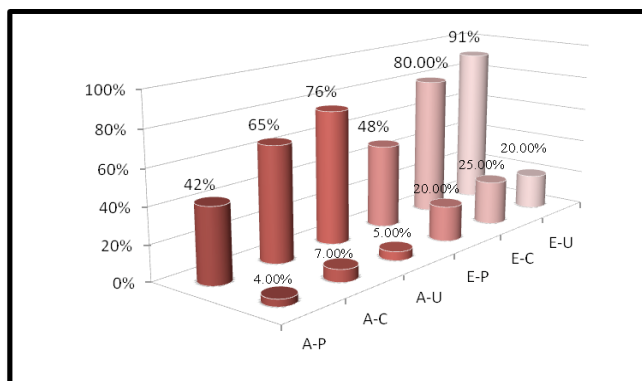


Figura 27. Comparación de la actividad antioxidante por el método de decoloración oxidativa de los doce análogos sintéticos, siendo “A” para las amidas “E” para los esteres, “P” para cadena propilo, “C” para cadena pentilo y “U” para la cadena undecenilo.

Análisis de la actividad antioxidante por el método de la reducción del radical DPPH con los análogos 16,17,18,19,20 y 21.

En la tabla 16 y en la figura 28 que se muestran acontinuación, se observan los porcentajes de actividad antioxidante a diferentes concentraciones por el método de reducción del radical de DPPH, de los compuestos 16, 17, 18, 19, 20 y 21 sintetizados a partir de benzaldehido.

Tabla 16. Porecentajes de actividad antioxidante por el método de reducción del radical DPPH.

Compuestos	16	17	18	19	20	21
Concentraciones						
0.03mg	3%	4%	3%	1%	1%	4%
0.06mg	3%	3%	4%	4%	2%	4%
0.12mg	3%	3%	5%	4%	2%	3%
0.25mg	2%	3%	4%	4%	2%	4%
0.50mg	2%	3%	4%	5%	2%	4%
1mg	2%	3%	4%	5%	3%	3%

A partir de los resultados encontrados se establece que los compuestos 16, 17, 18 (función amida), 19, 20 y 21 (función éster) no presentan actividad antioxidante, lo cual nos indica que dicha actividad se rige por las funcionalización de la parte aromática.

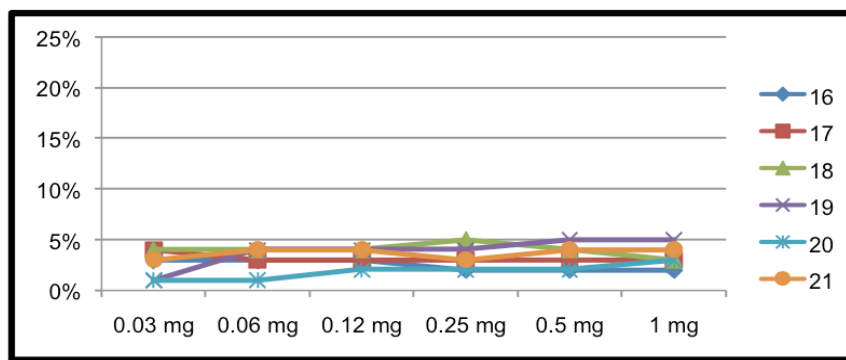


Figura 28. Actividad antioxidante (Método DPPH) de los compuestos 16, 17, 18, 19, 20 y 21 sintetizados a partir del benzaldehído.

Análisis de la actividad antioxidante con respecto al coeficiente de partición (Log P) de los productos evaluados

Tabla 17. Comparación del Log P con respecto al % de actividad antioxidante

Compuesto	Log P	% Act. Antioxidante
8	1.74	42%
9	2.63	65%
10	4.99	76%
11	1.89	48%
12	2.78	80%
13	5.14	91%

En estas gráficas se puede observar que conforme aumenta el coeficiente de partición de los productos sintetizados, hay un incremento significativo de su actividad antioxidante, principalmente en los análogos de tipo capsinoide (11, 12 y 13) que son los que presentan un Log P más alto con respecto a los análogos de tipo capsaicinoide. Estos datos sugieren que la lipofilia es un parametro fisicoquímico que puede favorecer la inhibición oxidativa del β -caroteno.

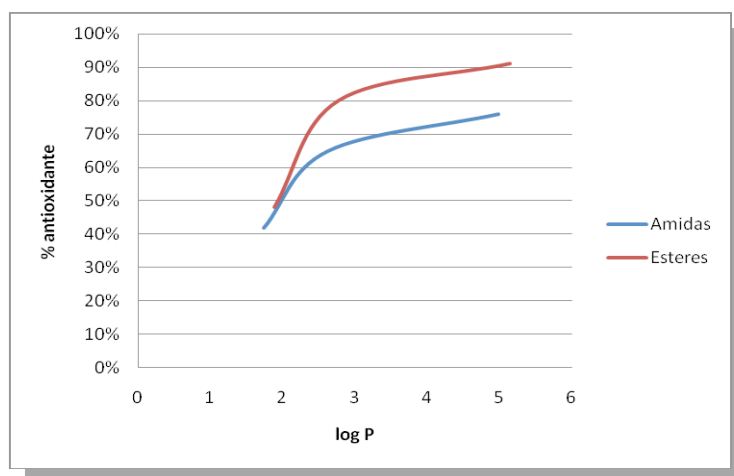


Figura 29. Gráfica comparativa del Log P con respecto al % de actividad antioxidante

Tabla 18. Comparación del Log P con respecto al % de actividad antioxidante de los compuestos 16, 17, 18, 19, 20 y 21.

Compuesto	Log P	% Act. Antioxidante
16	2.2	4%
17	2.97	7%
18	5.45	5%
19	2.35	20%
20	3.24	25%
21	5.6	20%

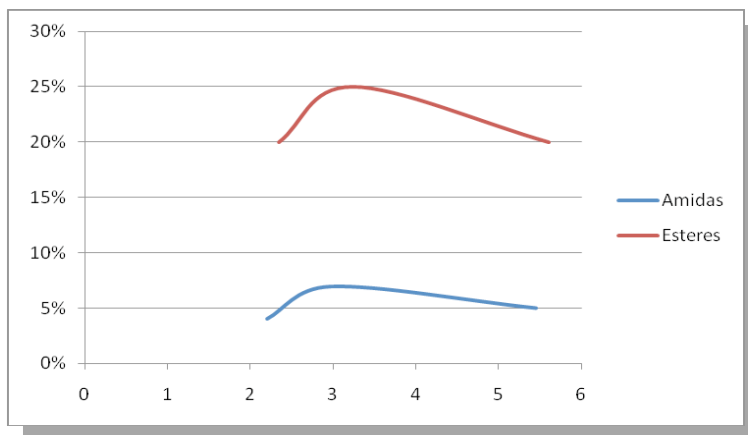
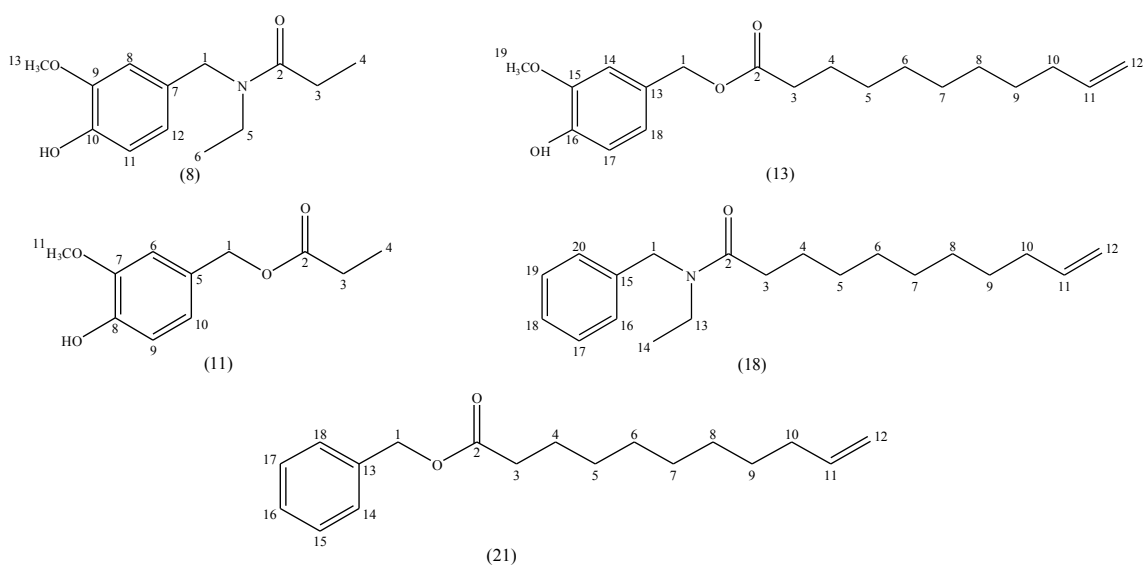


Figura 30. Gráfica comparativa entre el Log P y el % de act. Antioxidante de los productos 16, 17, 18, 19, 20 y 21.

También estos resultados obtenidos, muestran la gran importancia de la funcionalización del anillo aromático (hidroxilo y metoxilo) en estos compuestos, ya que a pesar de que los productos sintetizados a partir de benzaldehído (16, 17, 18, 19, 20 y 21) mostraron mayores coeficientes de partición que los derivados 8, 9, 10, 11 y 12, su actividad antioxidante fue mucho muy baja.

Análisis del potencial antioxidante de los compuestos 8, 11, 13, 18 y 21 por el método de voltamperometría de onda cuadrada y de pulso diferencial.



Los potenciales de oxidación de corriente máxima anódica, del compuesto (13), fueron de 460 mV mediante DPV y 496 mV por OSWV, lo anterior se observa en la Figura 31 que se muestra a continuación.

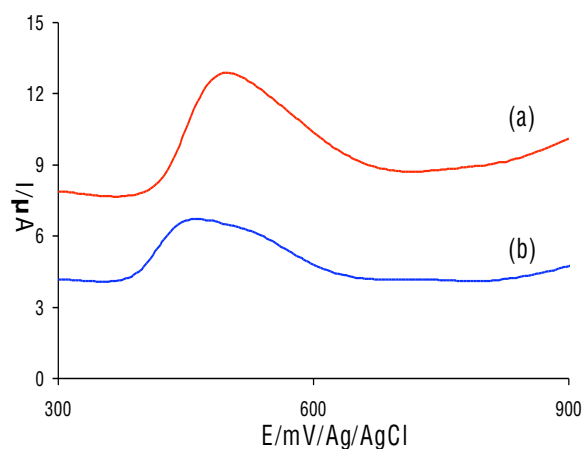


Figura 31. Voltamperogramas del compuesto (13), obtenidos por OSWV (a) yDPV (b), a una concentración 5.68 mM en una disolución 40:60 v/v (etanol-Hartmann), empleando solución Hartmann como electrolito soporte.

La Figura 32, muestra los potenciales de oxidación de corriente anódica máxima para el análogo (11) obtenidos mediante DPV y OSWV; En la cual se observa que en la DPV se obtuvo un potencial de oxidación de 516 y mediante OSWV un potencial de 552 mV.

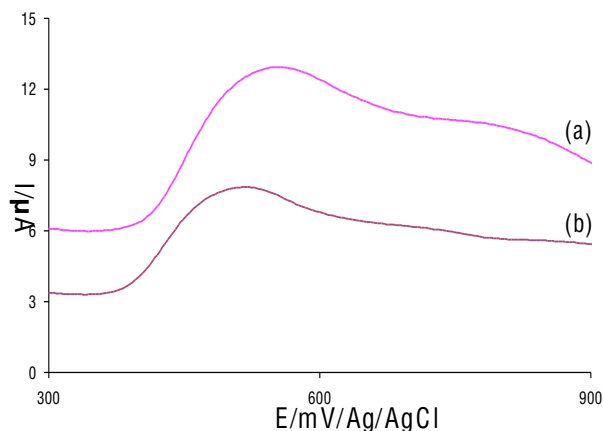


Figura 32. Voltamperogramas de (11), obtenidos por OSWV (a) y DPV (b), a una concentración 5.68 mM en una disolución 40:60 v/v (etanol-Hartmann), empleando solución Hartmann como electrolito soporte.

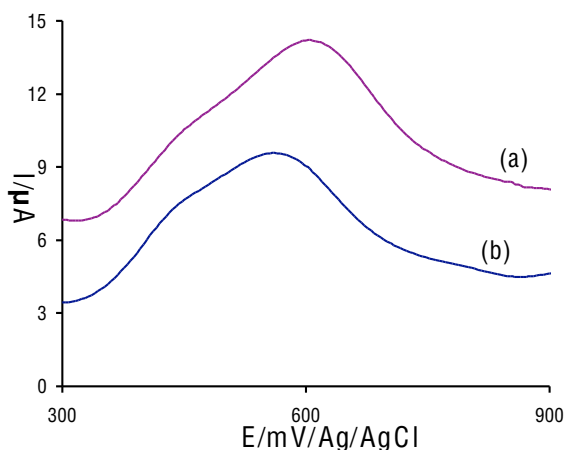


Figura 33. Voltamperogramas de (8), obtenidos por OSWV (a) y DPV (b), a una concentración 5.68 mM en una disolución 40:60 v/v (etanol-Hartmann), empleando solución Hartmann como electrolito soporte.

Los compuestos derivados del benzaldehído (18) y (21), no mostraron potenciales de oxidación de corriente anódica en el barrido de potencial aplicado (0-1100 mV). En la Tabla 17 se presentan los resultados de los potenciales de oxidación de corriente anódica máxima de los diferentes análogos sintéticos de la capsaicina en solución Hartmann como electrolito soporte.

Tabla 19. Potencial de oxidación de corriente anódica máxima de análogos sintéticos de capsaicina en solución etanólica/Hartmann 5.68 mM, empleando solución Hartmann como electrolito soporte. Potencial aplicado 0-1100 mV.

Análogo	DPV/mV	OSW/mV
13	460	496
11	516	552
18	0	0
21	0	0
8	560	584

CONCLUSIONES

Mediante el uso de los sustratos vainillina y benzaldehído como materiales de partida en este trabajo, se llevó a cabo la síntesis química de análogos de capsaicinoides (8, 9, 10, 16, 17 y 18) y capsinoides (11, 12, 13, 19, 20 y 21). Sus estructuras moleculares fueron confirmadas mediante espectrometría de masas y por diferentes técnicas espectroscópicas.

En la caracterización espectroscópica por resonancia magnética nuclear, se observó la presencia de isómeros rotacionales que coexisten en los análogos de tipo capsaicinoide; estos se identificaron en los espectros, por la aparición de señales duplicadas de los núcleos de protón y carbono que se encuentran entorno a la función amida de estos rotámeros.

Los productos sintetizados proporcionaron algunas diferencias estructurales importantes como variables para este estudio exploratorio antioxidante:

- Función amida (análogos 8, 9, 10, 16, 17 y 18).
- Función éster (análogos 11, 12, 13, 19, 20 y 21).
- Grupos *p*-OH y *m*-OCH₃ en sistema aromático (análogos 8, 9, 10, 11, 12 y 13).
- En la cadena lateral: grupo propilo (análogos 8, 11, 16 y 19), grupo pentilo (análogos 9, 12, 17 y 20) y grupo undecenilo (análogos 10, 13, 18 y 21).
- Olefina periférica en la cadena lateral (análogos 10, 13, 18 y 21).

Con los resultados obtenidos en el ensayo de la decoloración oxidativa del β -caroteno de las entidades: 8, 9, 10, 11, 12 y 13, se pudo establecer que el tamaño de la cadena lateral, la función éster (capsinoides) y todos los factores estructurales que contribuyen al incremento del coeficiente de partición (Log P), favorecen el aumento de la actividad antioxidante de estos compuestos.

El estudio de la reducción del radical libre DPPH utilizando los análogos 8, 9, 10, 11, 12 y 13, demuestra que el tamaño de la cadena alifática, la funciones amida (capsaicinoides) y éster

(capsinoides), no son una variable importante para modular la actividad antioxidante mediante un mecanismo antirradicalario de estos productos.

Las técnicas antioxidantes realizadas para evaluar las moléculas sintetizadas a partir de benzaldehído (16, 17, 18, 19, 20 y 21), no mostraron resultados favorables. Estos datos sugieren que la funcionalización del anillo aromático es fundamental para la inhibición de la oxidación.

Los resultados de los experimentos con las técnicas electroquímicas de voltamperometría de onda cuadrada y de pulso diferencial de los derivados 8, 11, 13, 18 y 21, indican que el grupo hidroxilo (-OH) en el anillo aromático, es requerido para generar un potencial de oxidación de corriente anódica máxima.

Con los datos obtenidos en la metodología experimental de este trabajo, se pudo establecer una correlación estructura-actividad para los productos que se evaluaron. Se determinó que los parámetros que rigen la inhibición oxidativa de estos compuestos, están en función de factores estructurales relacionados con la solubilidad, reactividad y en general con el tipo de mecanismo que presentan estos derivados químicos frente a la fuente oxidativa del medio.

Finalmente se establece que de los análogos de tipo capsaicinoides y capsinoides estudiados, el grupo hidroxilo fenólico es un elemento y requerimiento estructural determinante para la actividad antioxidante de estos productos.

BIBLIOGRAFÍA

Ahuja, K.D., Kunde, D.A., Ball, M.J., Geraghty, D.P. “Effects of capsaicin, dihydrocapsaicin, and curcumin on copper-induced oxidation of human serum lipids”. *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 6436–6439.

Areal Guerra R. Química Orgánica aplicada I. Editorial UPC, Barcelona, España. Reimpresión 2002, pag. 26.

Barbero Gerardo, Molinillo Jose M, Varela Rosa M, Palma Miguel, Macias Francisco A, Barroso Carmelo “Application of Hansch’s Model to Capsaicinoids and Capsinoids: A Study Using the Quantitative Structure-Activity Relationship. A Novel Method for the Synthesis of Capsinoids” *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, 3342–3349.

Cisneros Prego Elio, Pupo Balboa Judith y Céspedes Miranda E.; “Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: III. Glutatión peroxidasa”, *Rev Cubana Invest Biomed* 1997; 16(1):10-15.

Conforti Filomena, Statti Giancarlo, Menichini Francesco; “Chemical and biological variability of hot pepper fruits (*Capsicum annuum* var. *acuminatum* L.) in relation to maturity stage” *J. Food Chem.*, 2007, 102, 1096-1104.

Gannett PM, Nagel DL, Reilly PJ, Lawson T, Sharpe J and Toth B; “The capsaicinoids: Their separation, synthesis, and mutagenicity”. *J Org Chem.*, 1988, 53, 1064–1071.

Howard, L. R.; Talcott, S. T.; Brenes, C. H.; Villalon, B.; “Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity”. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 1713-1720.

Ito Keisuke, Nakazato Tomonori, Yamato Kenji, Miyakawa Yoshitaka, Yamada Taketo, Hozumi Nobumichi, Segawa Kaoru, Ikeda Yasuo, Kizaki Masahiro; “Induction of Apoptosis in Leukemic Cells by Homovanillic Acid Derivative, Capsaicin, through Oxidative Stress: Implication of Phosphorylation of p53 at Ser-15 Residue by Reactive Oxygen Species” *Cancer Research*, 2004, 64, 1071–1078.

Luo Xiu-Ju, Peng Jun, Li Yuan-Jian “Recent advances in the study on capsaicinoids and capsinoids” *European Journal of Pharmacology*, 2011, 650, 1–7.

Materska Małgorzata, Perucka Irena ; “Antioxidant Activity of the Main Phenolic Compounds Isolated from Hot Pepper Fruit (*Capsicum annuum* L.)”. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, 53(5), pp 1750–1756.

Mattson Porth Carol; “Fisiopatología; Salud-enfermedad: un enfoque conceptual” Editorial medica Panamericana, 7ma edición 2006, páginas 111-113.

Murakami, K.; Ito, M.; Htay, H. H.; Tsubouchi, R.; Yoshino, M. “Antioxidant effect of capsaicinoids on the metal-catalyzed lipid peroxidation”. *Biomed. Res.* 2001, 22, 15-17.

Reyes-Escogido Maria de Lourdes, Mondragon Gonzalez Edith G., Vazquez Tzompantzi Erika. “Chemical and Pharmacological Aspects of Capsaicin” *Molecules* 2011, 16, 1253-1270.

Rodríguez Perón José M., Menéndez López José R., Trujillo López Yoel; “Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo”. *Revista Cubana Med Milit* 2001; 30 (1) 36-44.

Romo Alfonso de Vivar Alfonso; “Química de la flora Mexicana” Investigaciones en el instituto de Química UNAM, Primera edición 2006, páginas iX.

Rosa Antonella, Deiana Monica, Casu Viviana, Paccagnini Stefania, Appendino Giovanni, Ballero Mauro and Assunta M. ; “Antioxidant Activity of capsinoids” *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 7396-7401.

Szallasi Arpad, Blumberg Peter; “Vanilloid (Capsaicin) Receptors and Mechanisms” *Pharmacological Reviews*, 1999, 51, 159-211.

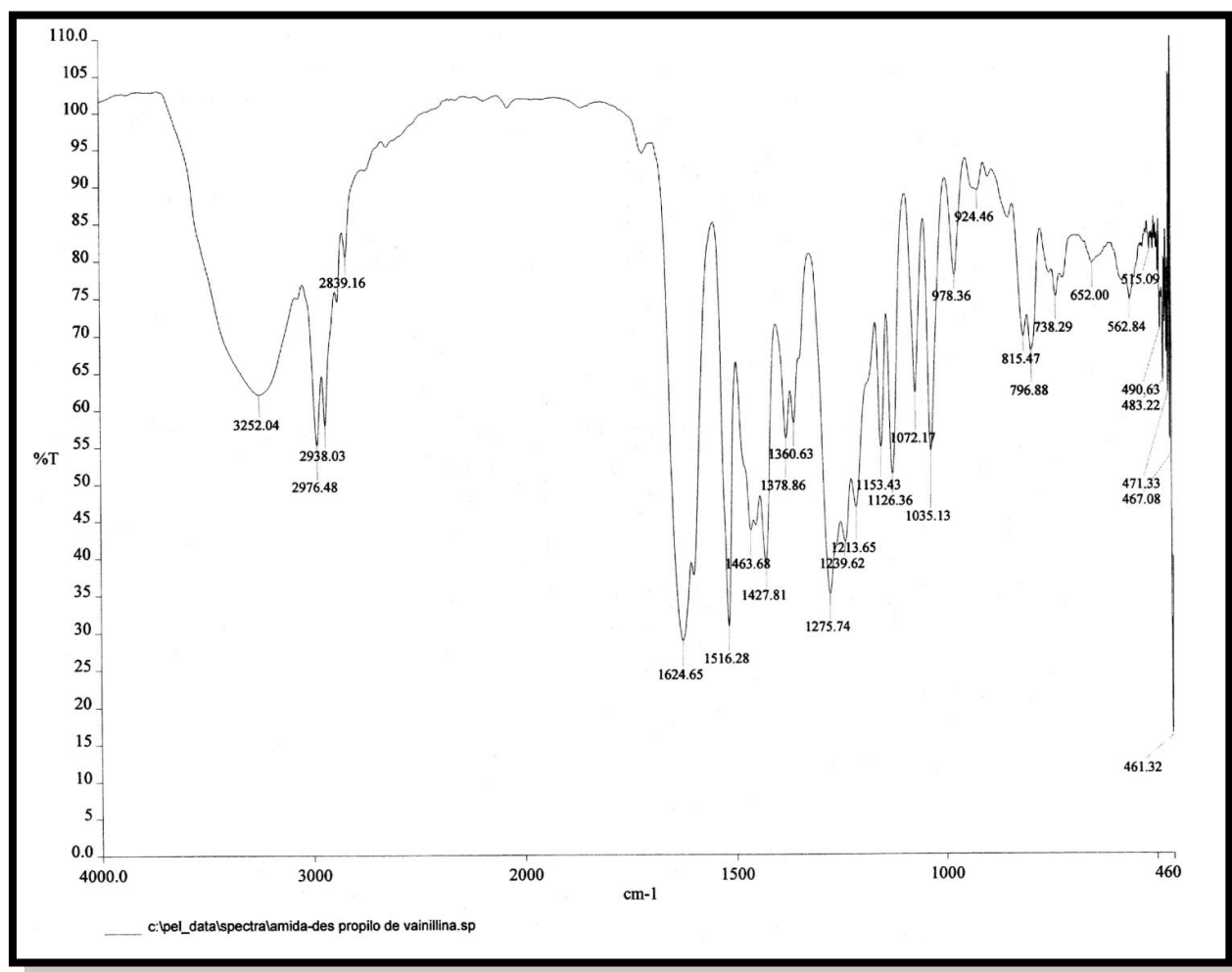
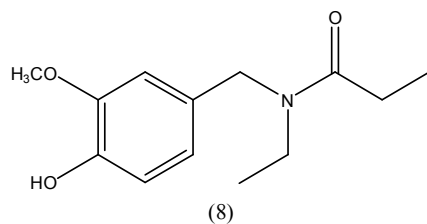
Thiele, R., Mueller-Seitz, E., Petz, M. “Chili pepper fruits: presumed precursors of fatty acids characteristic for capsaicinoids”. *J. Agric. Food Chem.* 2008, 56, 4219–4224.

Wade L. G., Jr; “Química orgánica” Pearson educación, S. A. Quinta edición, Madrid, 2004, página 1.

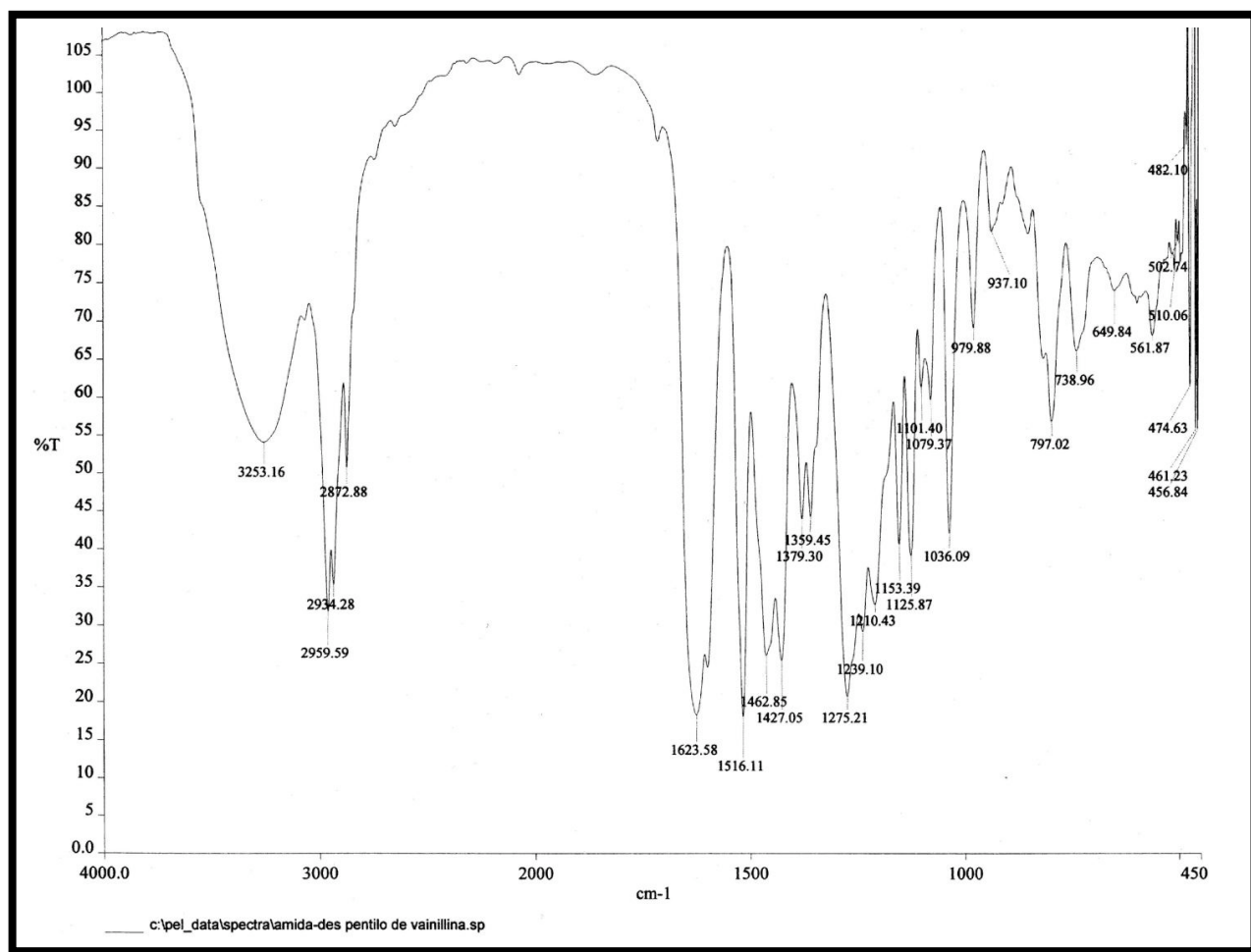
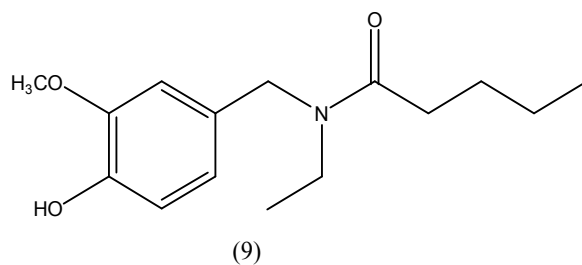
Wrigglesworth Roger, Walpole Christopher S. J. Bevan Stuart, Campbel E. A., Dray Andy, Hughes Glyn A., James Iain, Masdin Kay J., Winter Janet. “Analogues of capsaicin with agonist activity as novel analgesic agents: structure-activity studies. 4. Potent, orally active analgesics” *J. Med. Chem.* 1996, 39, 4942-4951.

APÉNDICE

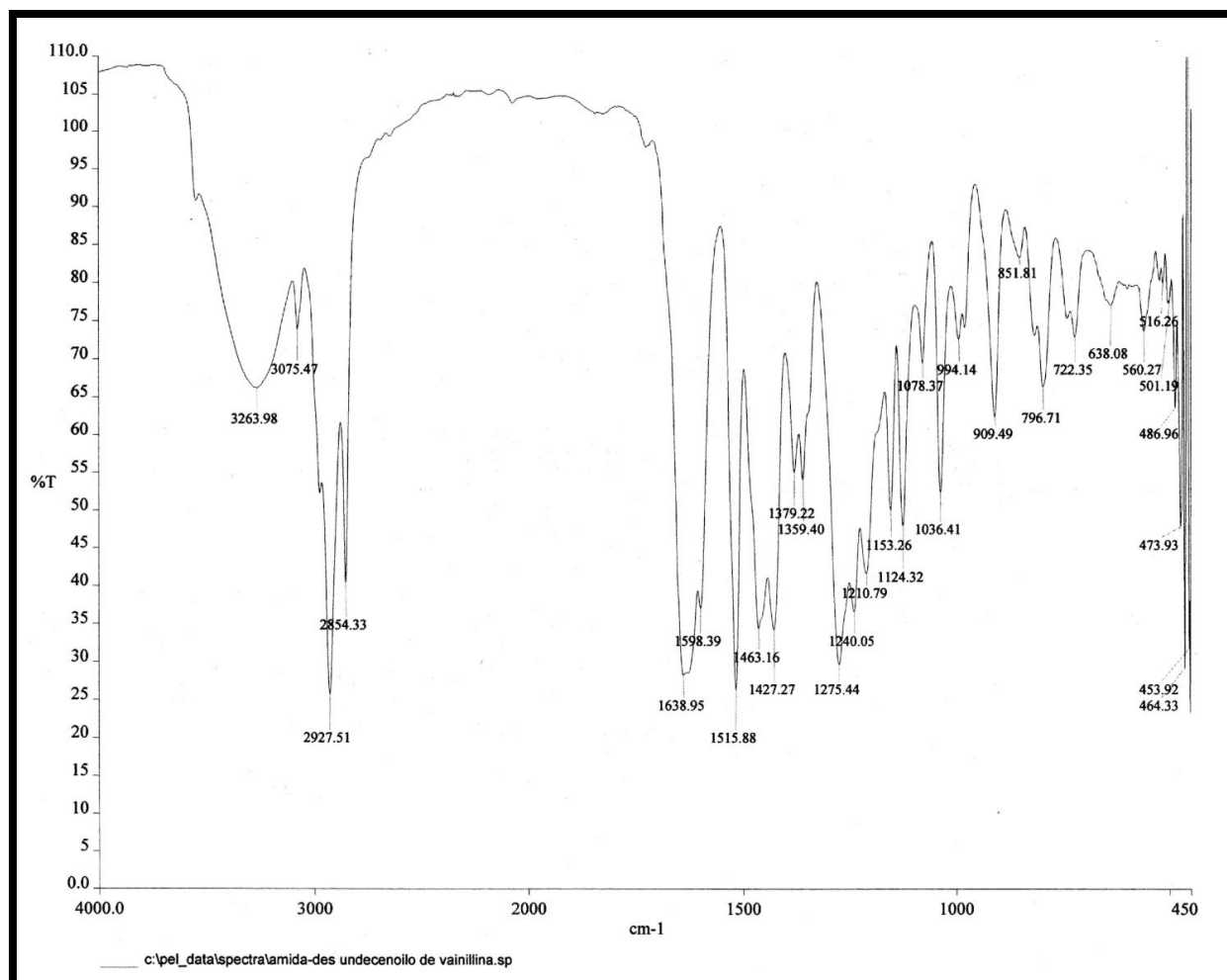
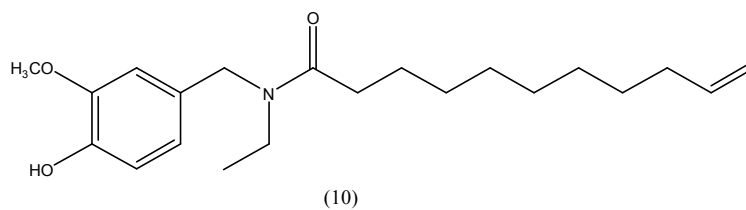
Anexo



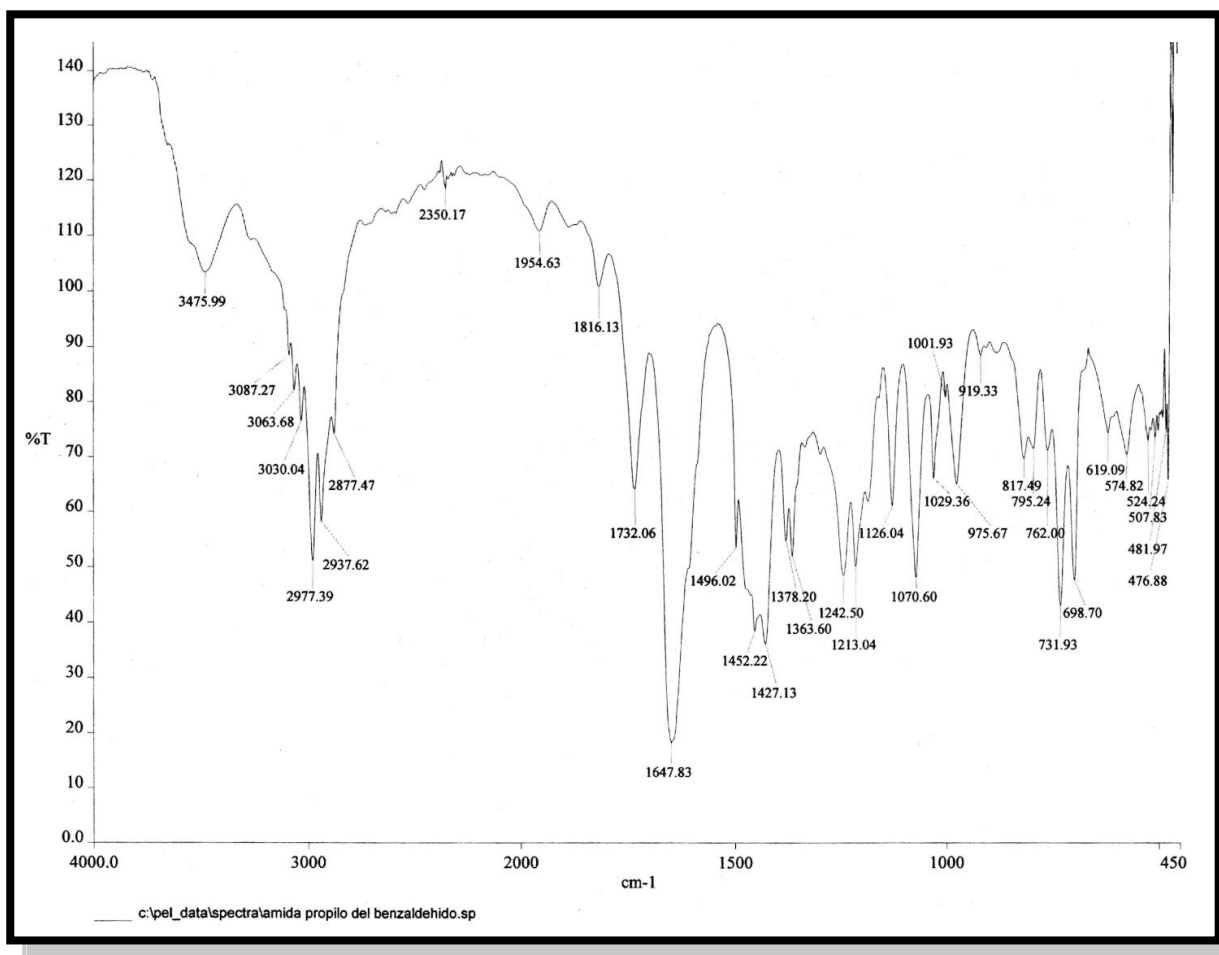
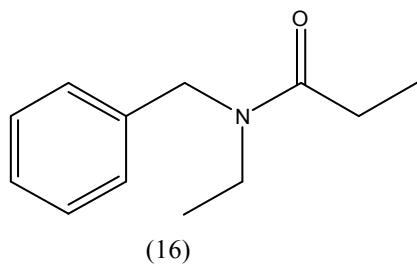
ANEXO 1. Espectro de IR del producto (8).



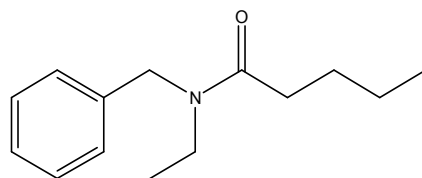
ANEXO 2. Espectro de IR del producto (9).



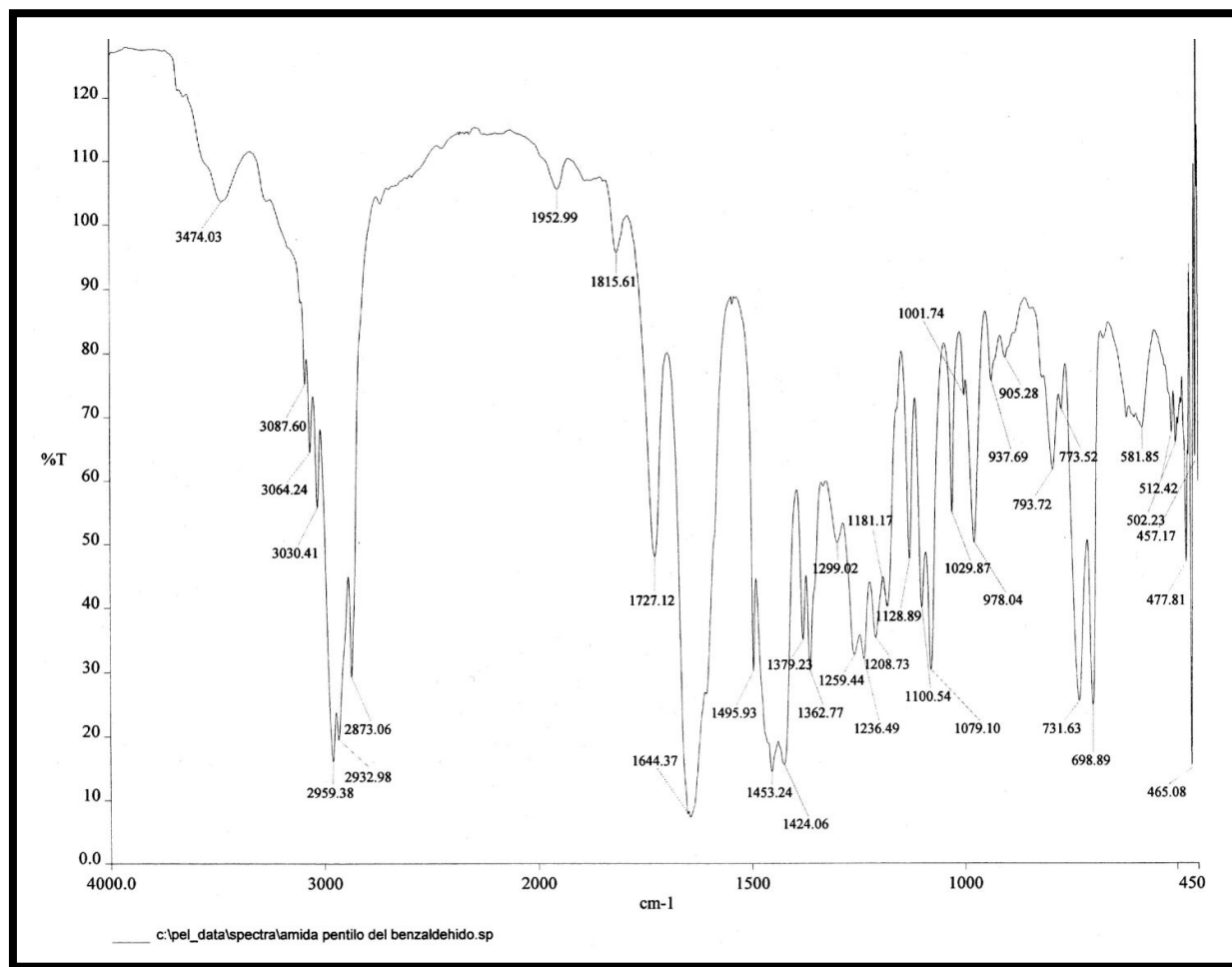
ANEXO 3. Espectro de IR del producto (10).



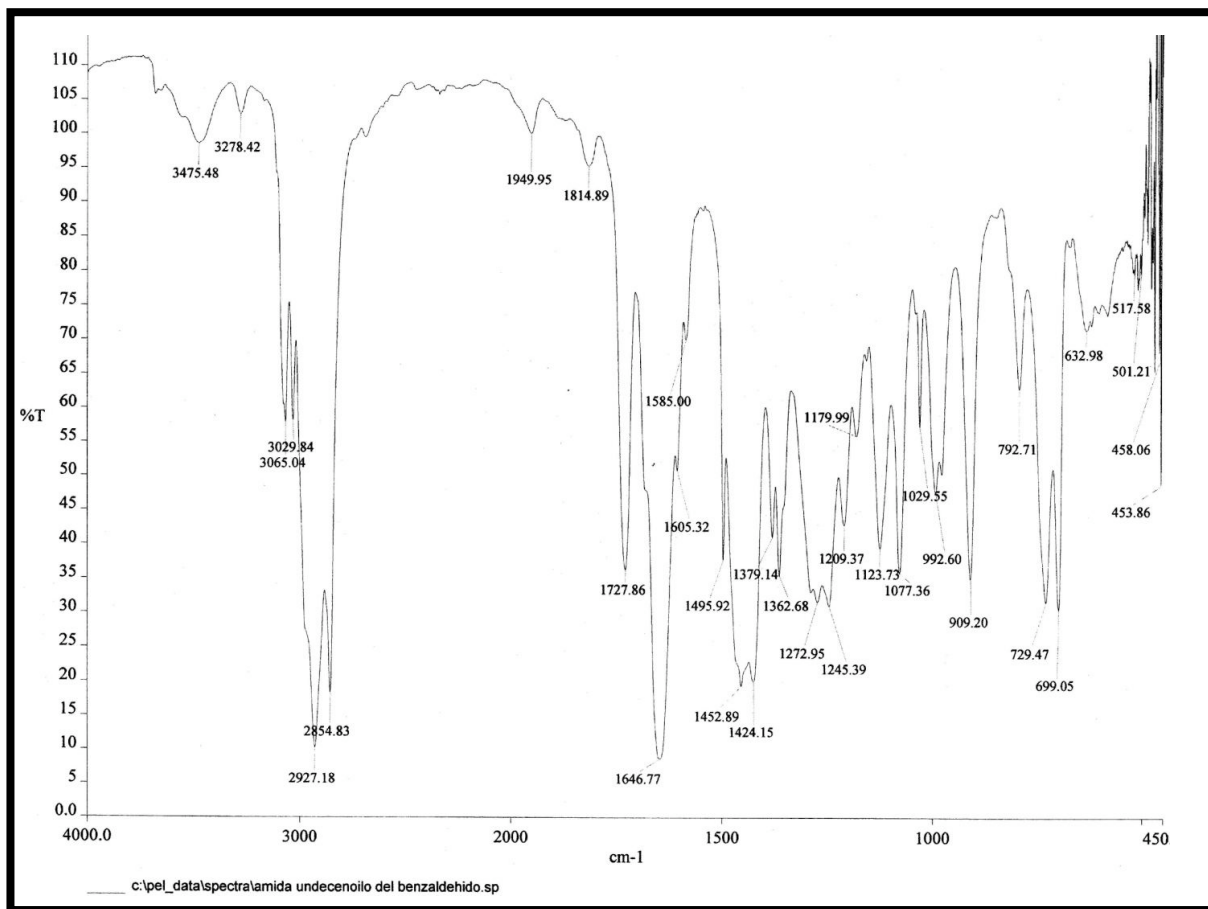
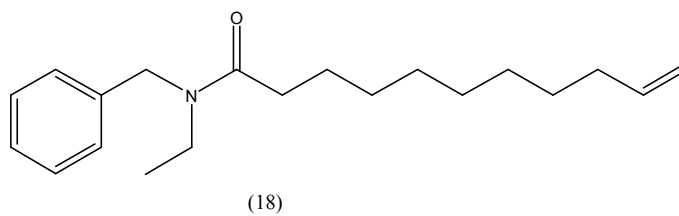
ANEXO 4. Espectro de IR del producto (16).



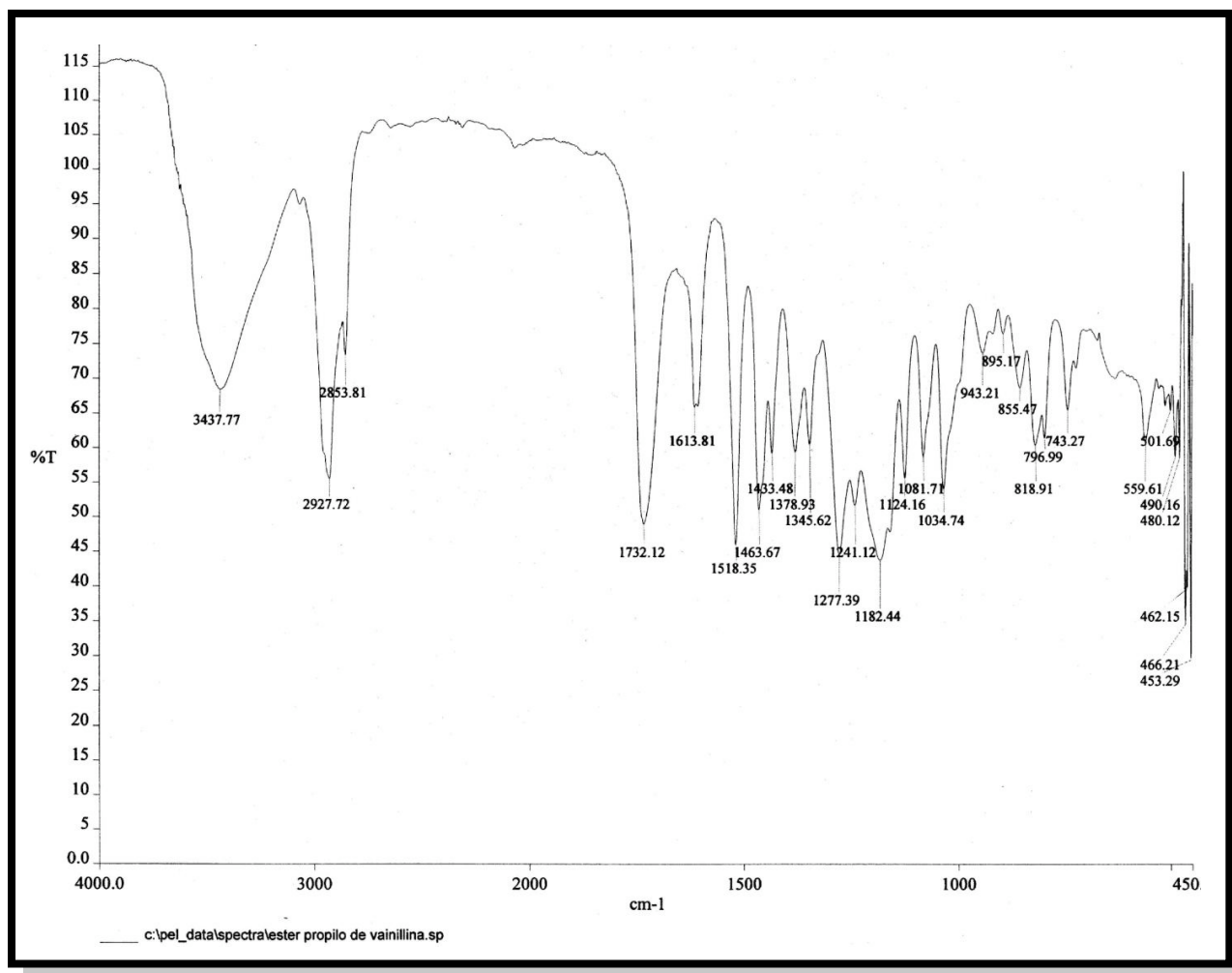
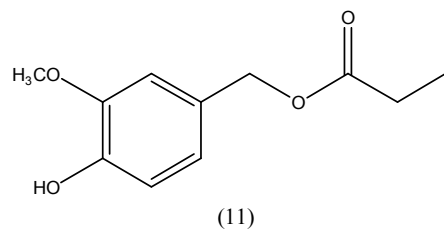
(17)



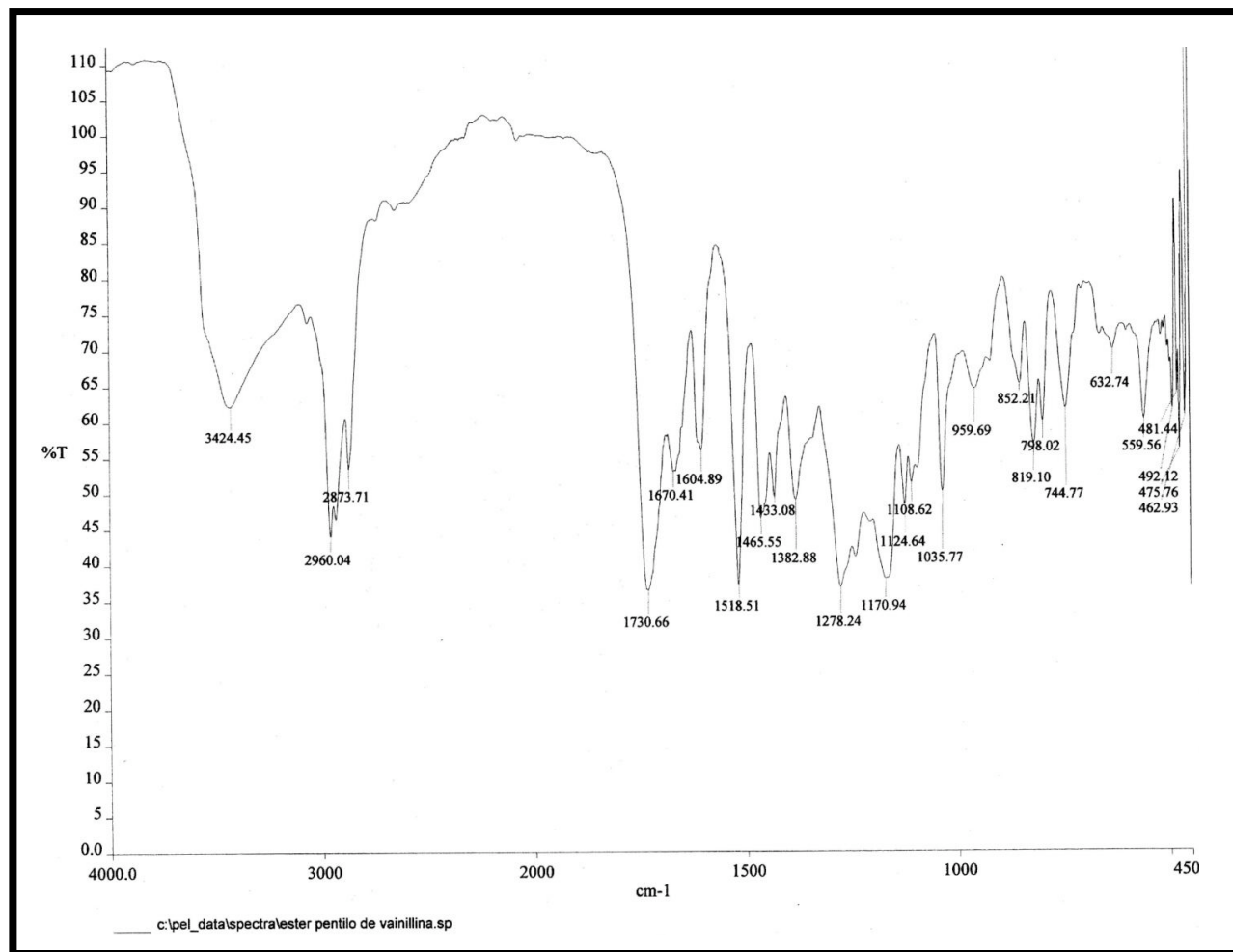
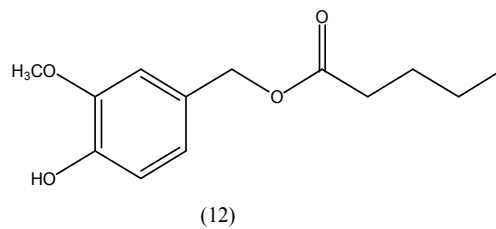
ANEXO 5. Espectro de IR del producto (17).



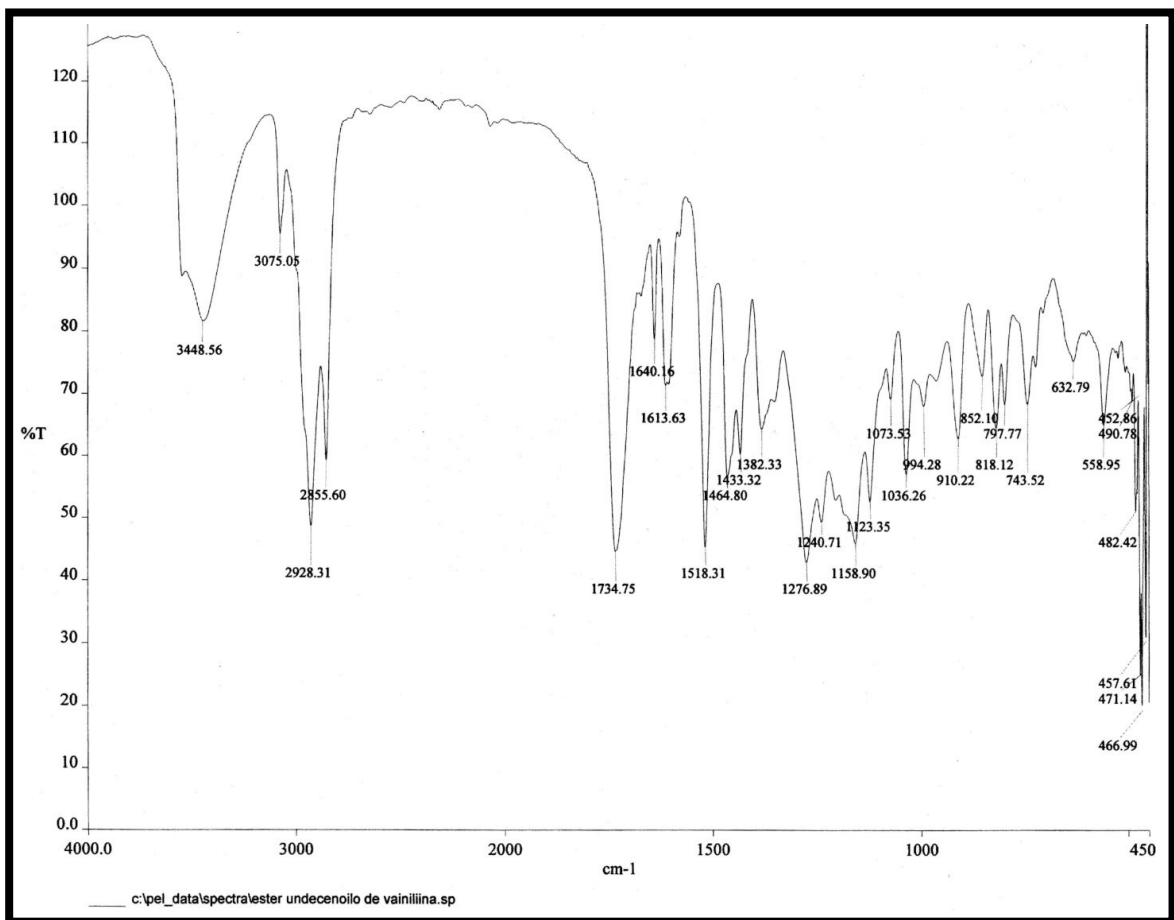
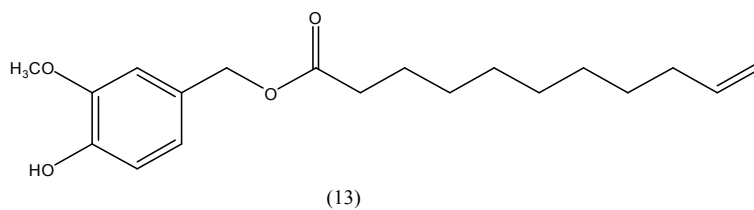
ANEXO 6. Espectro de IR del producto (18).



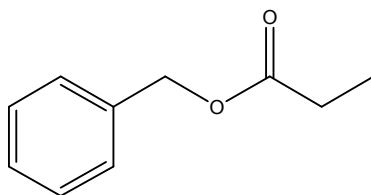
ANEXO 7. Espectro de IR del producto (11)



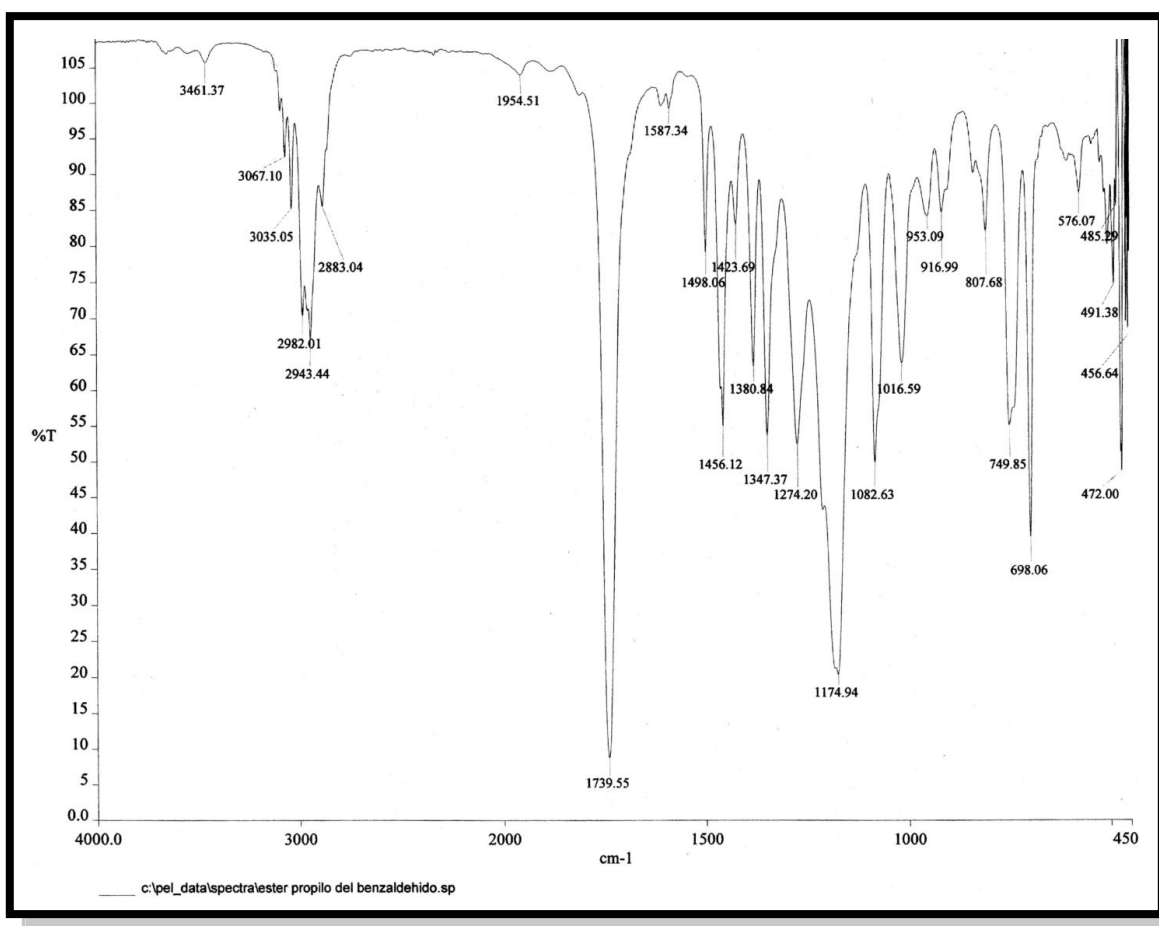
ANEXO 8. Espectro de IR del producto (12).



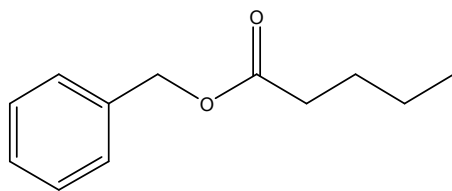
ANEXO 9. Espectro de IR del producto (13).



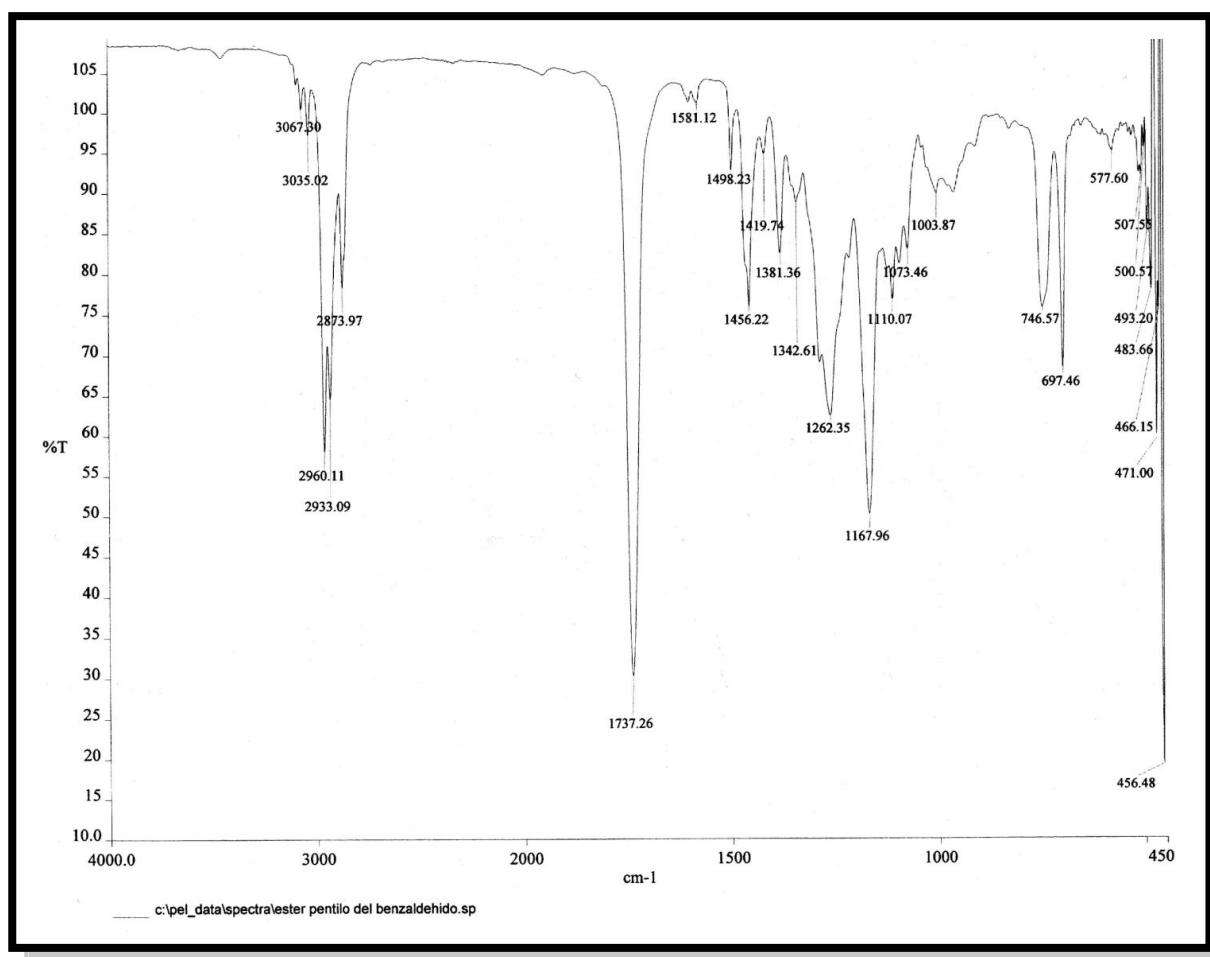
(19)



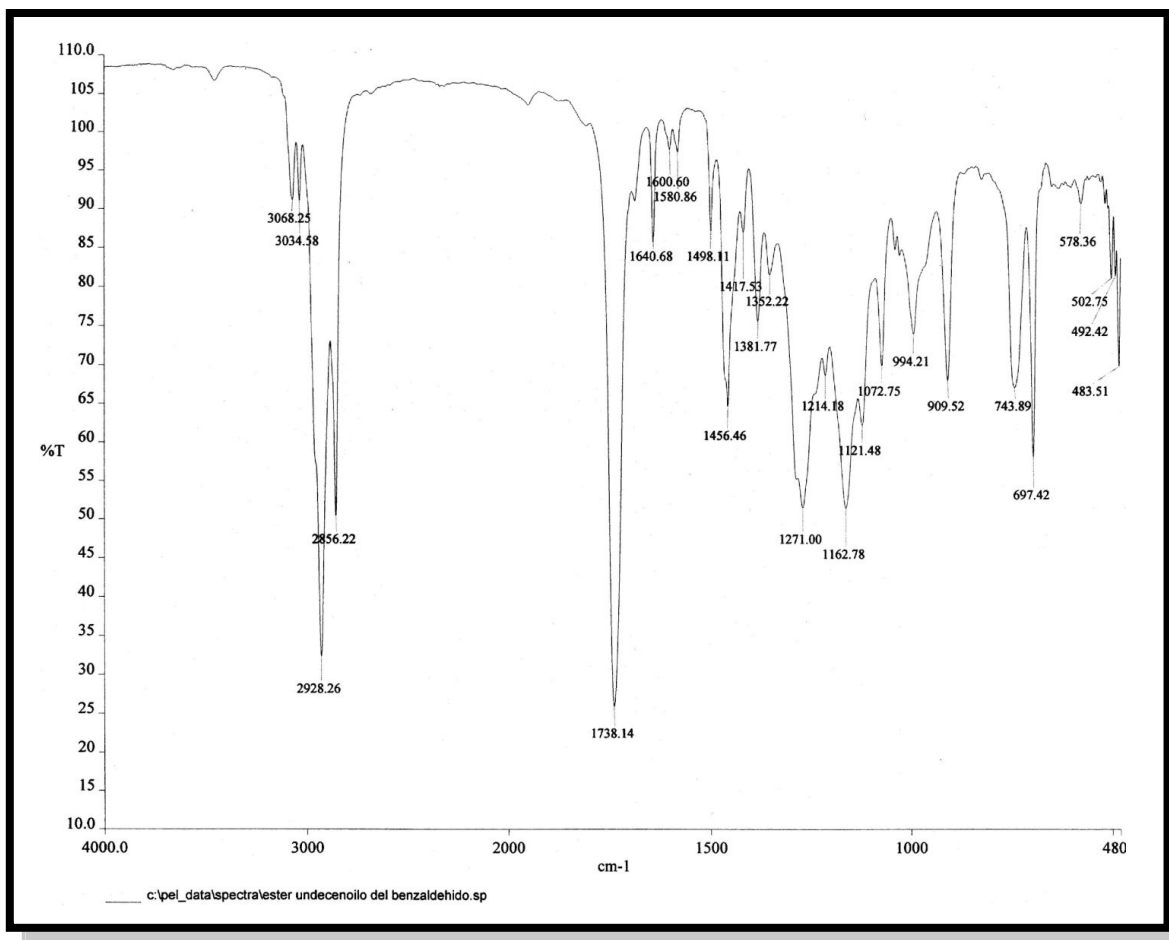
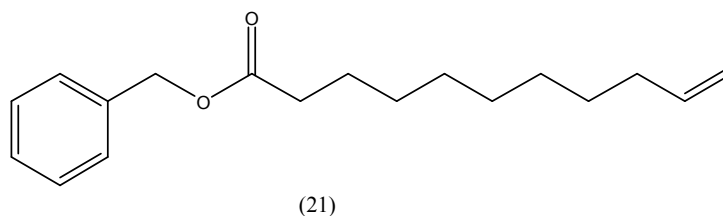
ANEXO 10. Espectro de IR del producto (19).



(20)



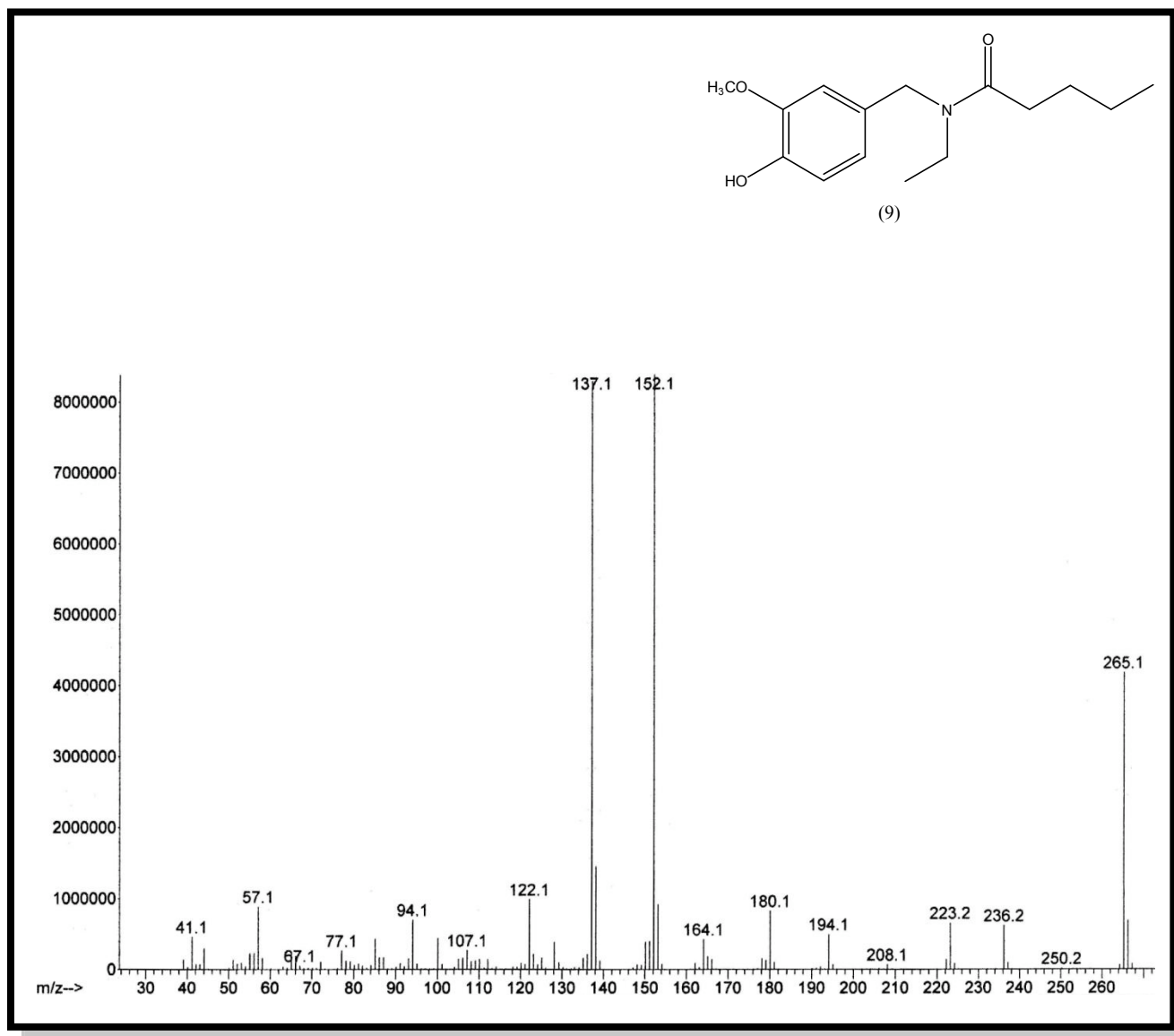
ANEXO 11. Espectro de IR del producto (20).



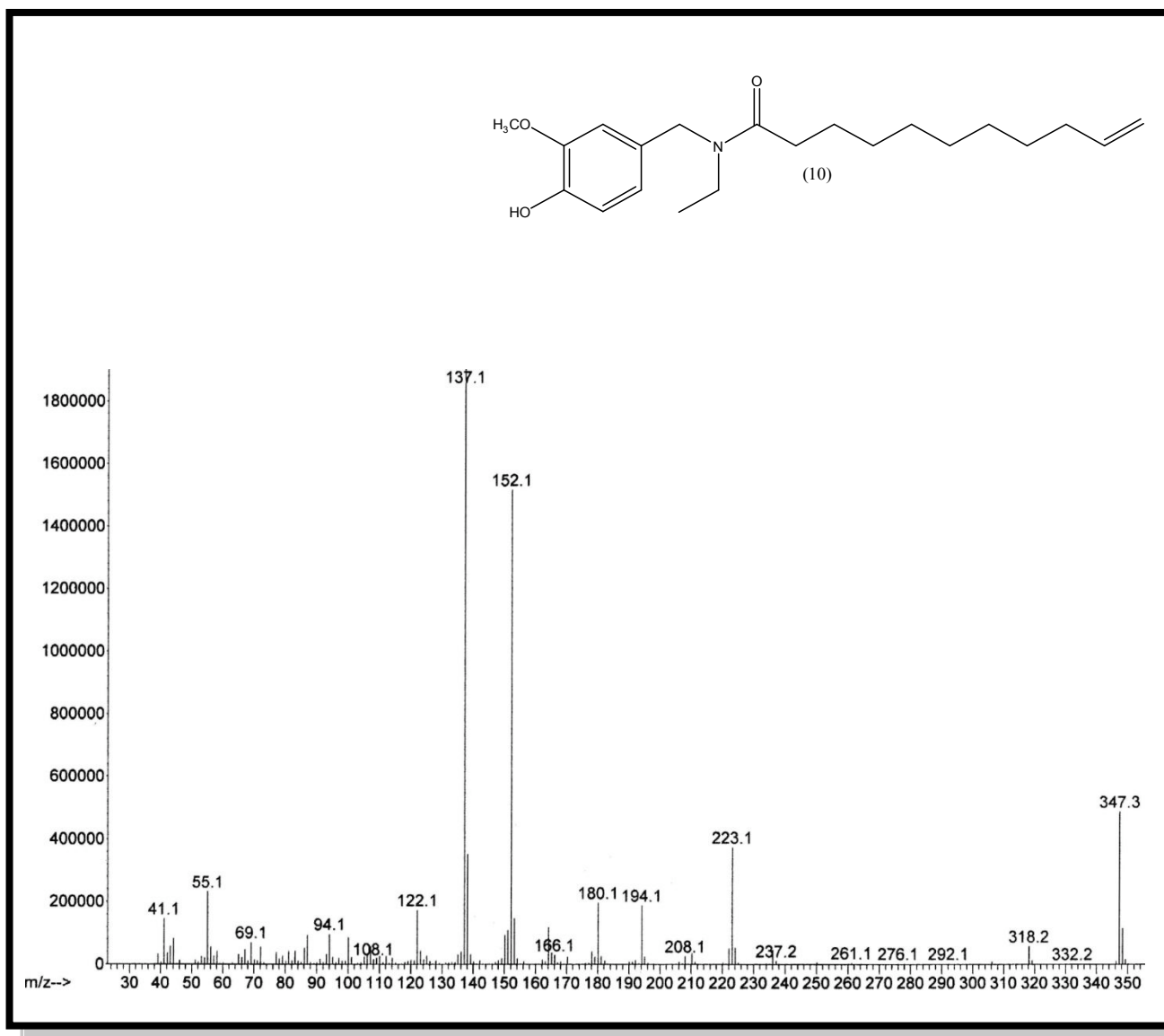
ANEXO 12. Espectro de IR del producto (21).



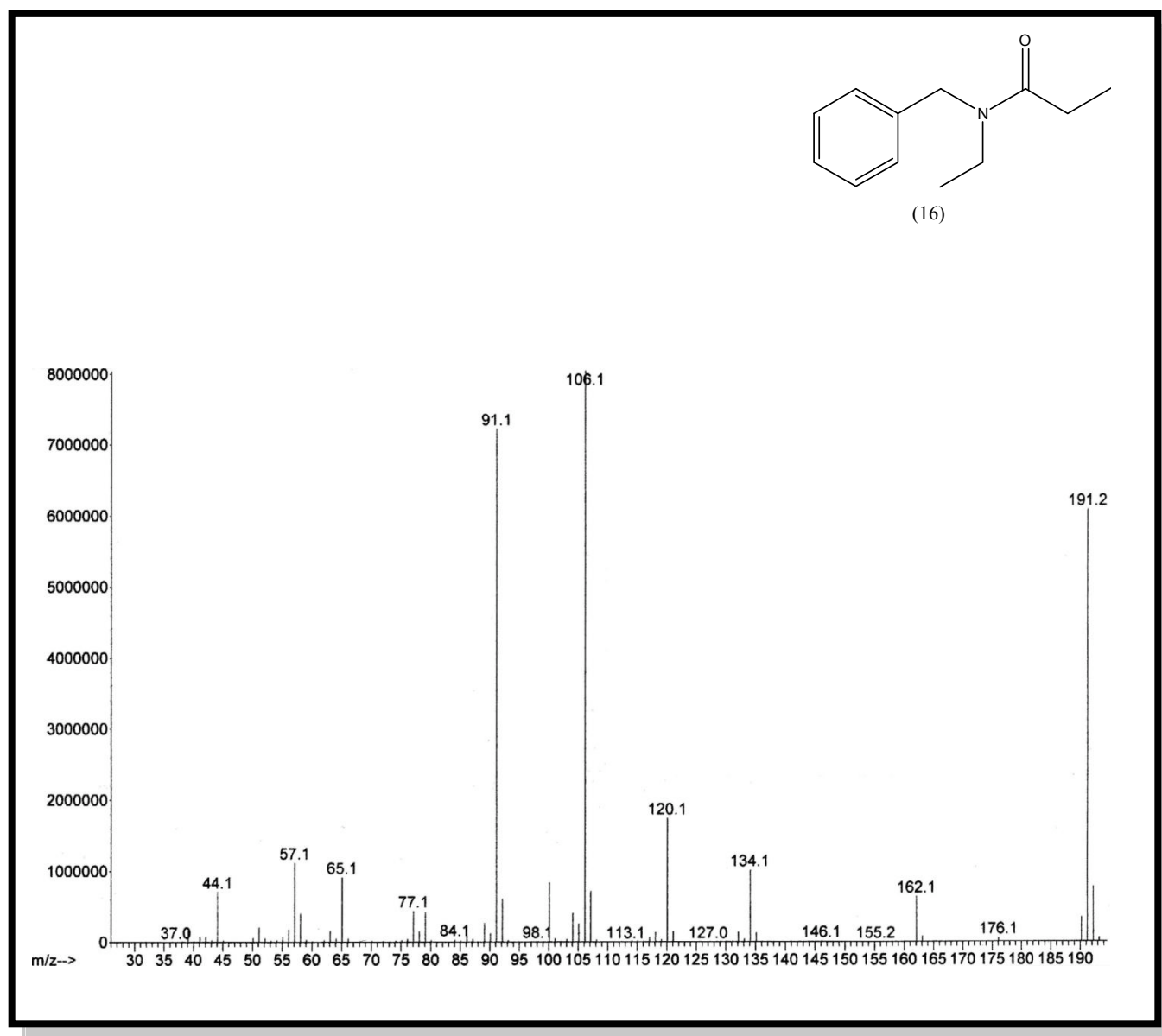
ANEXO 13. Espectro de masas del producto (8).



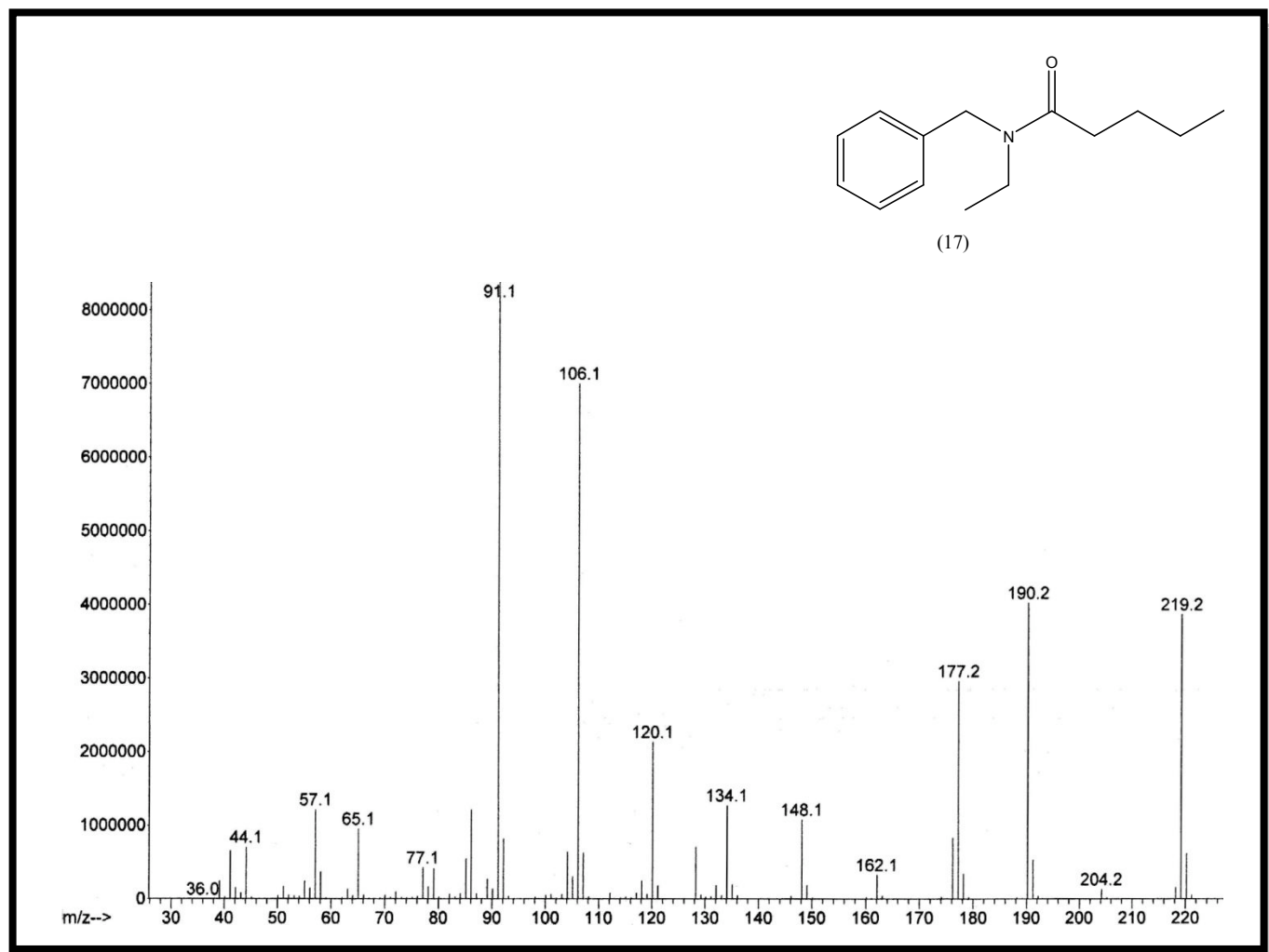
ANEXO 14. Espectro de masas del producto (9).



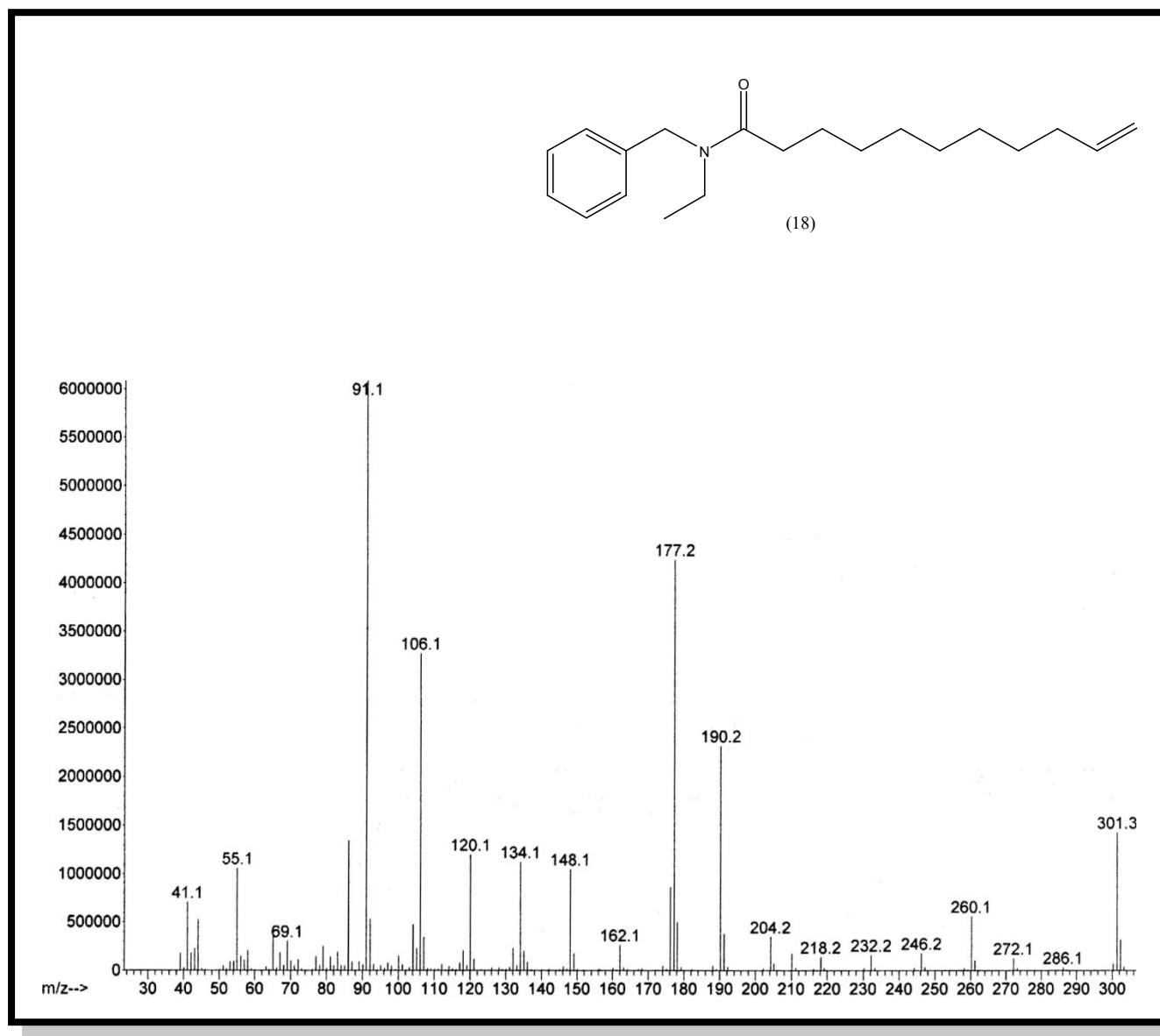
ANEXO 15. Espectro de masas del producto (10).



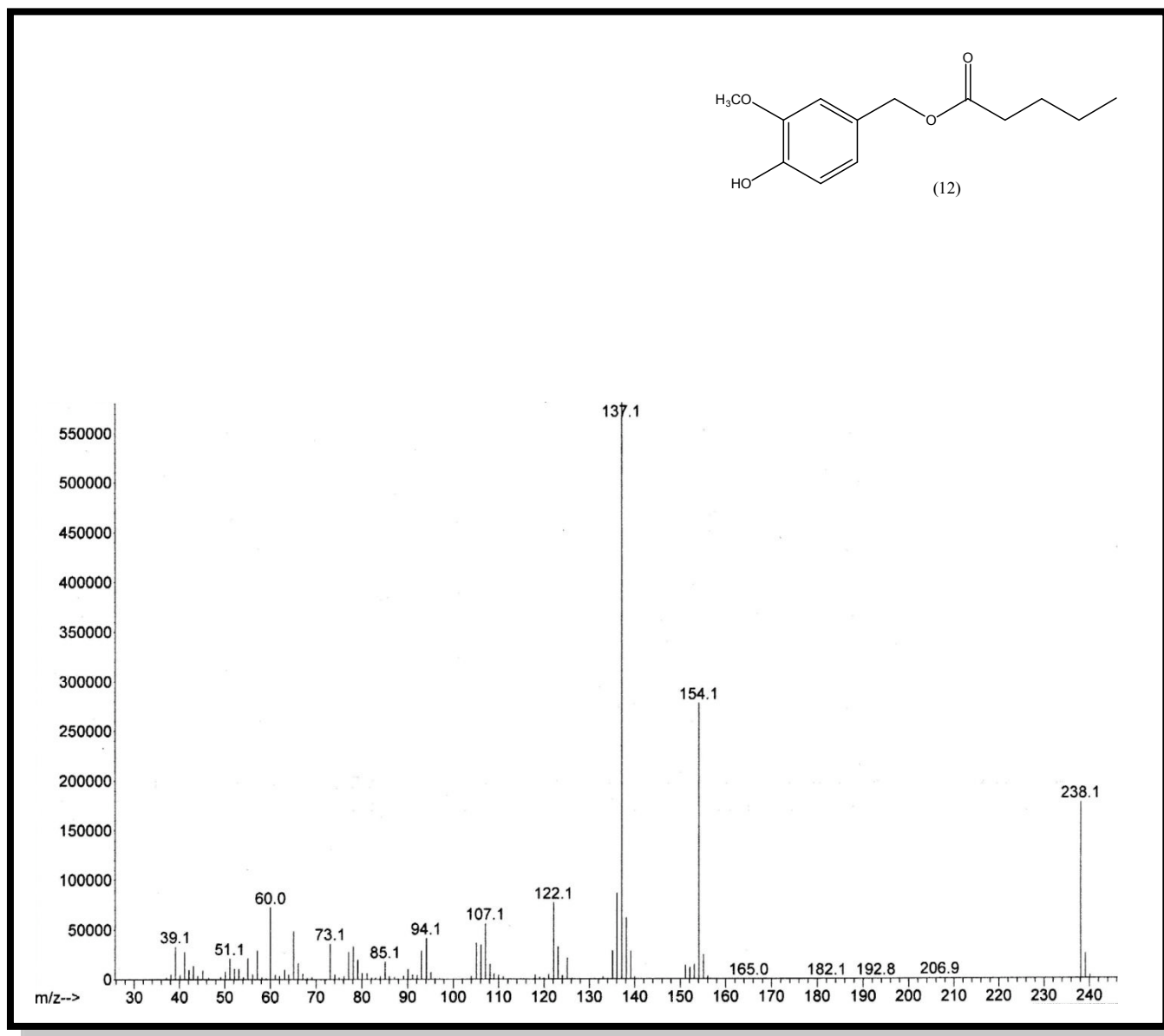
ANEXO 16. Espectro de masas del producto (16).



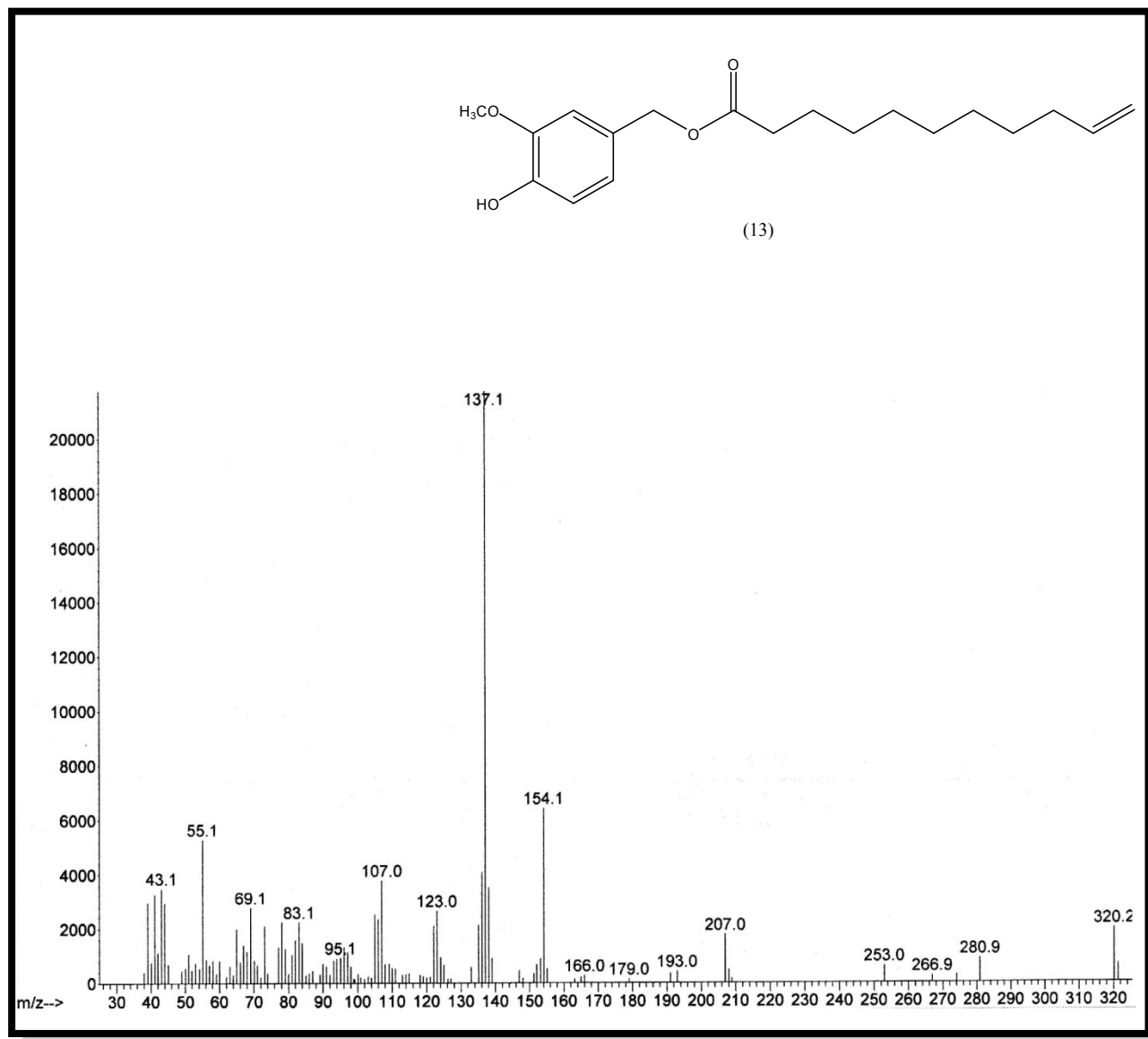
ANEXO 17. Espectro de masas del producto (17).



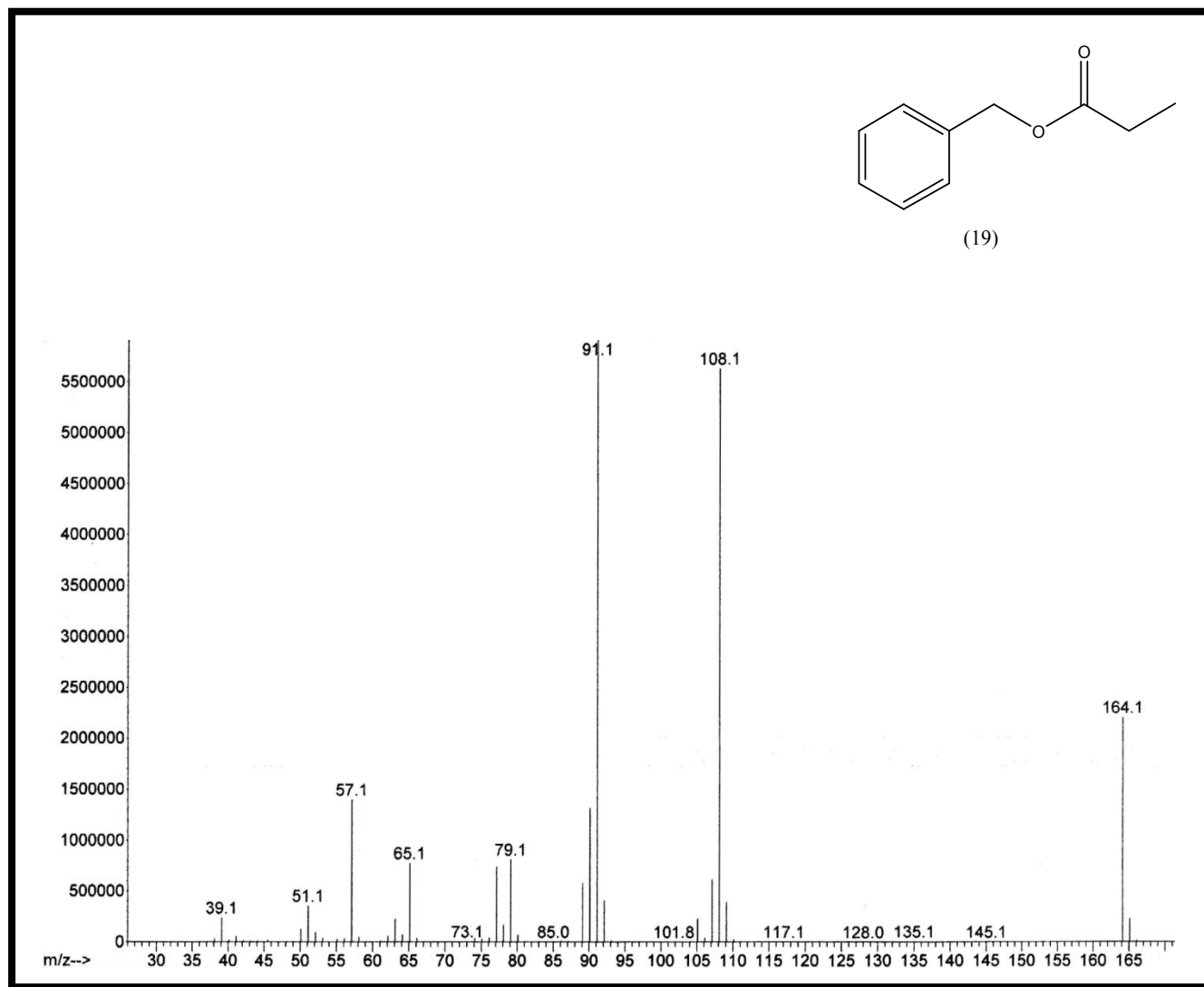
ANEXO 18. Espectro de masas del producto (18).



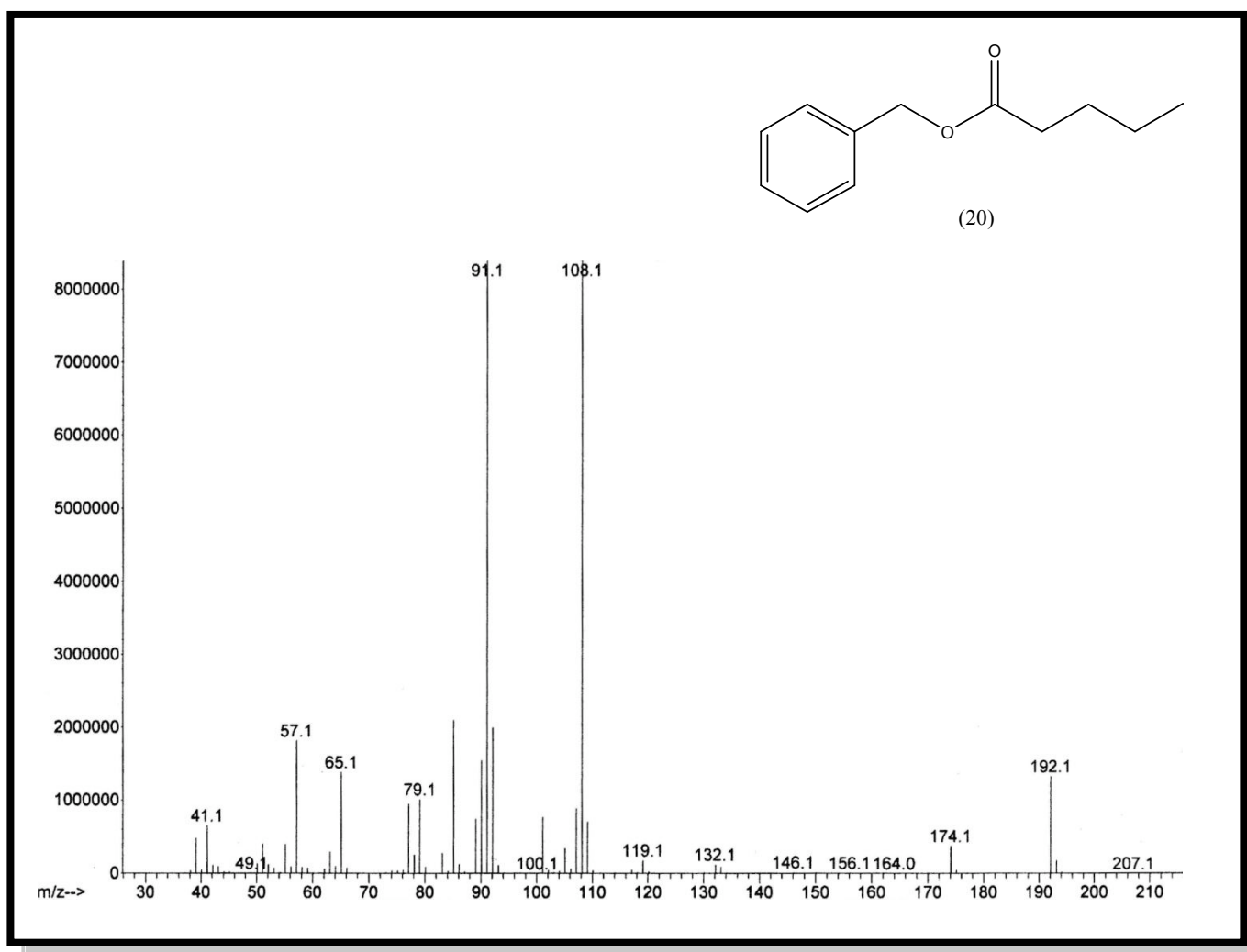
ANEXO 19. Espectro de masas del producto (12).



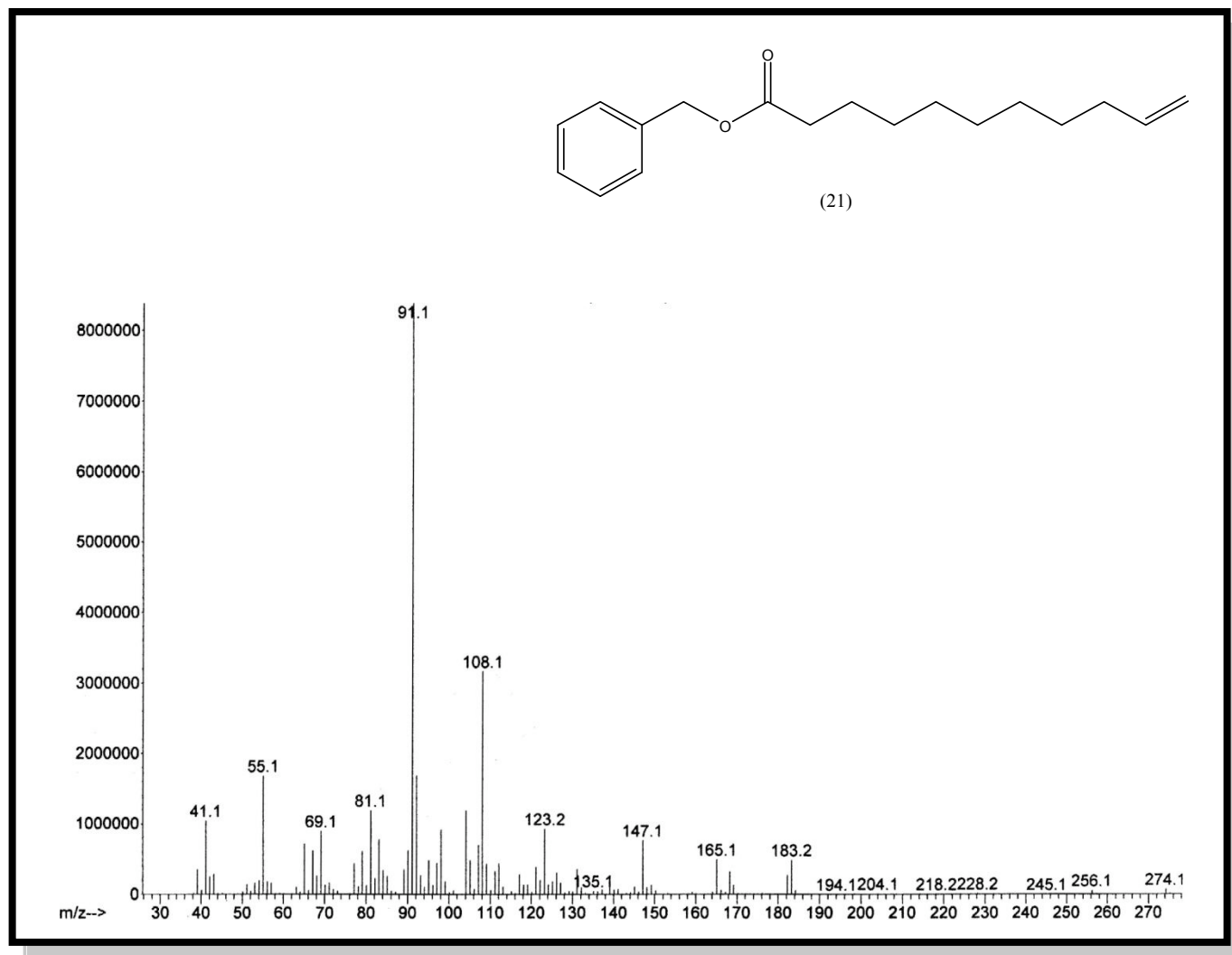
ANEXO 20. Espectro de masas del producto (13).



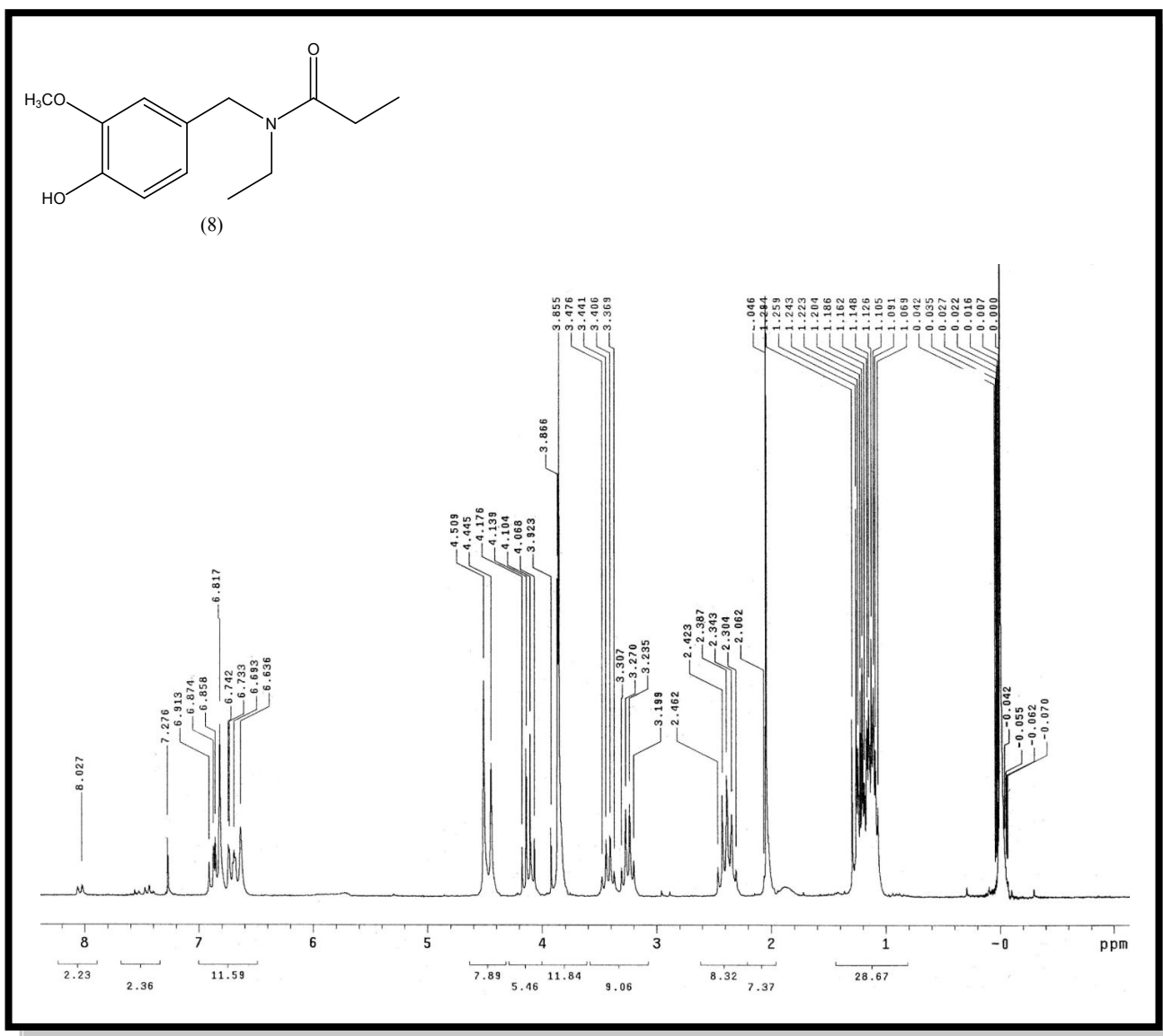
ANEXO 21. Espectro de masas del producto (19).



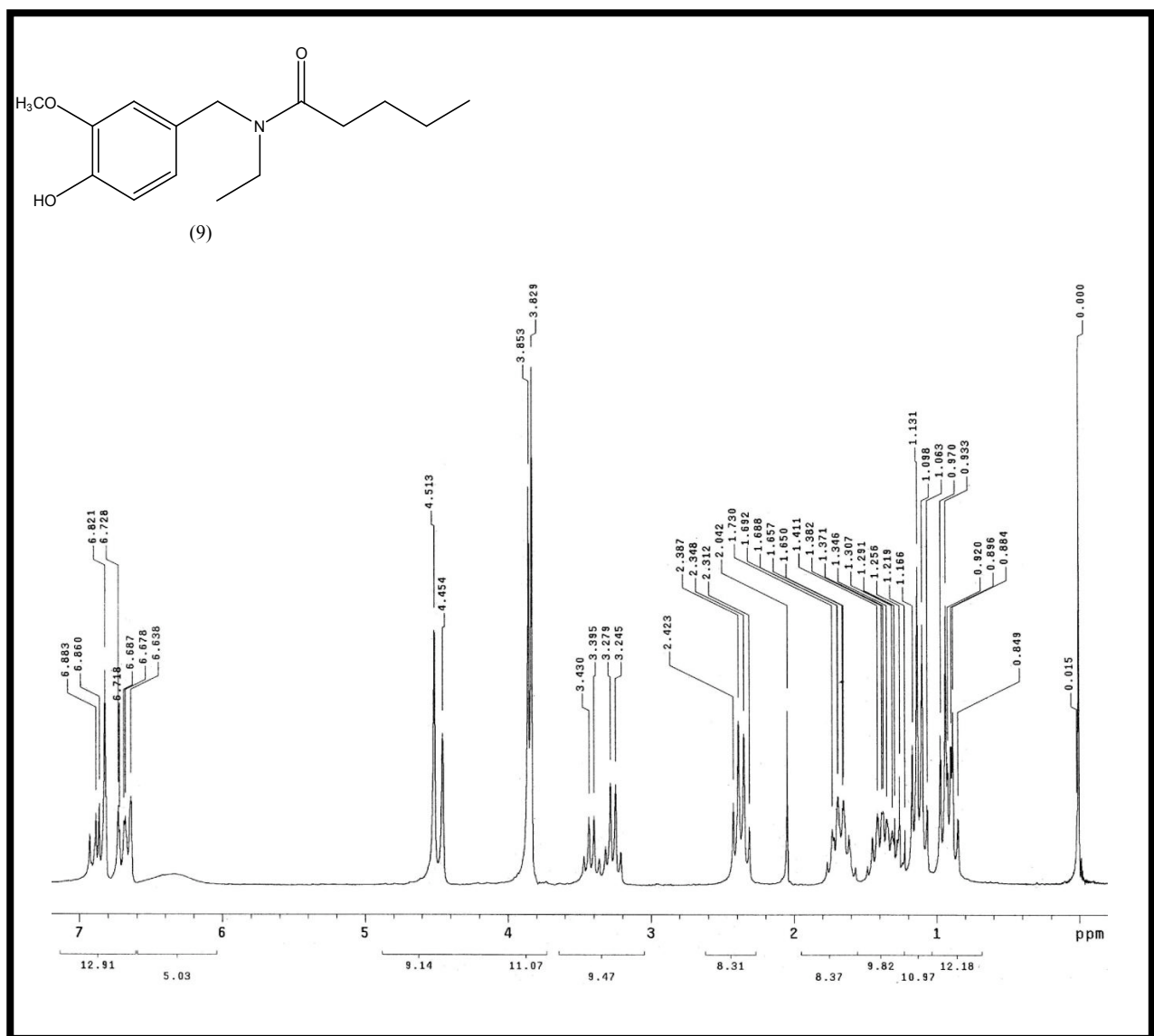
ANEXO 22. Espectro de masas del producto (20).



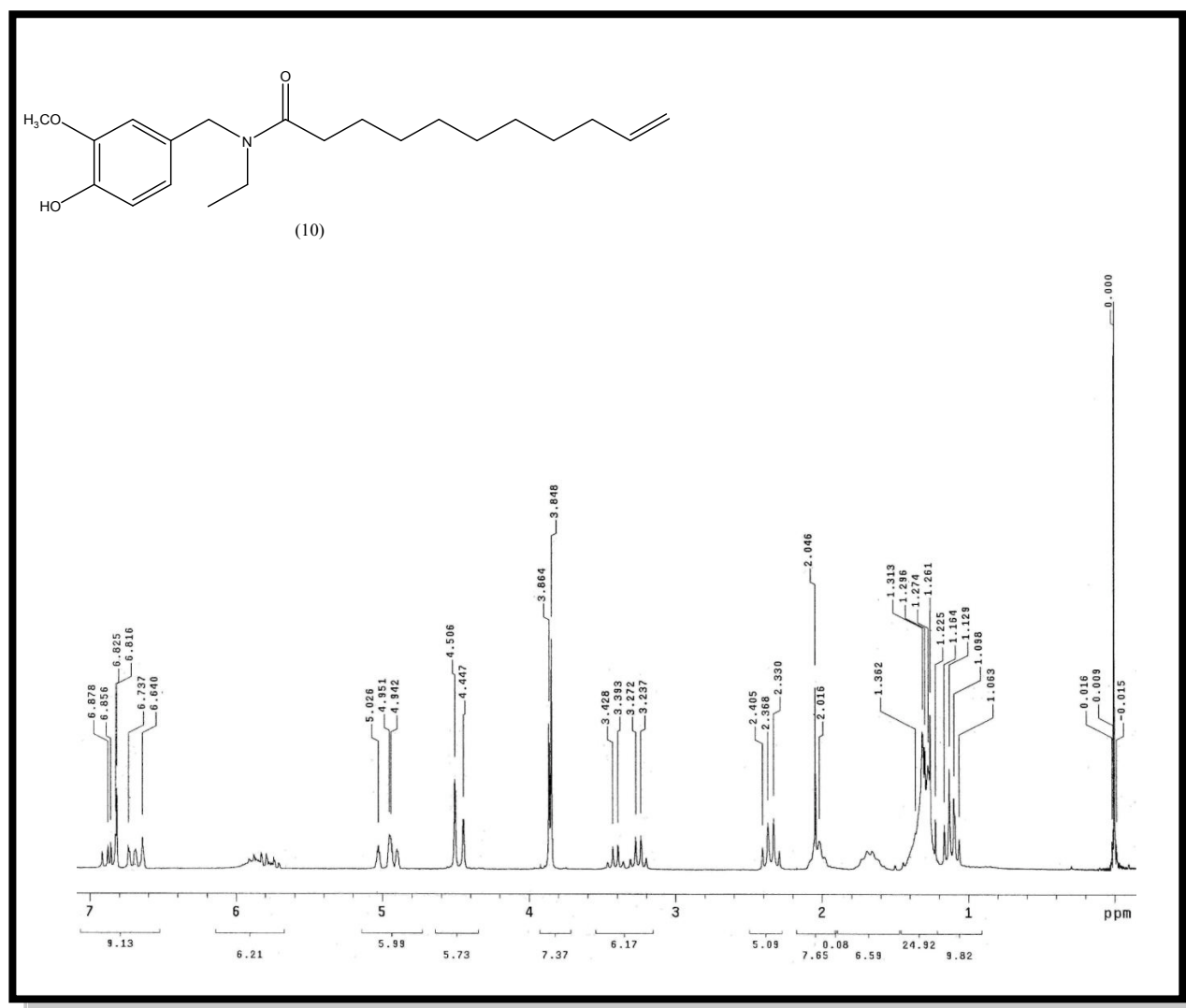
ANEXO 23. Espectro de masas del producto (21).



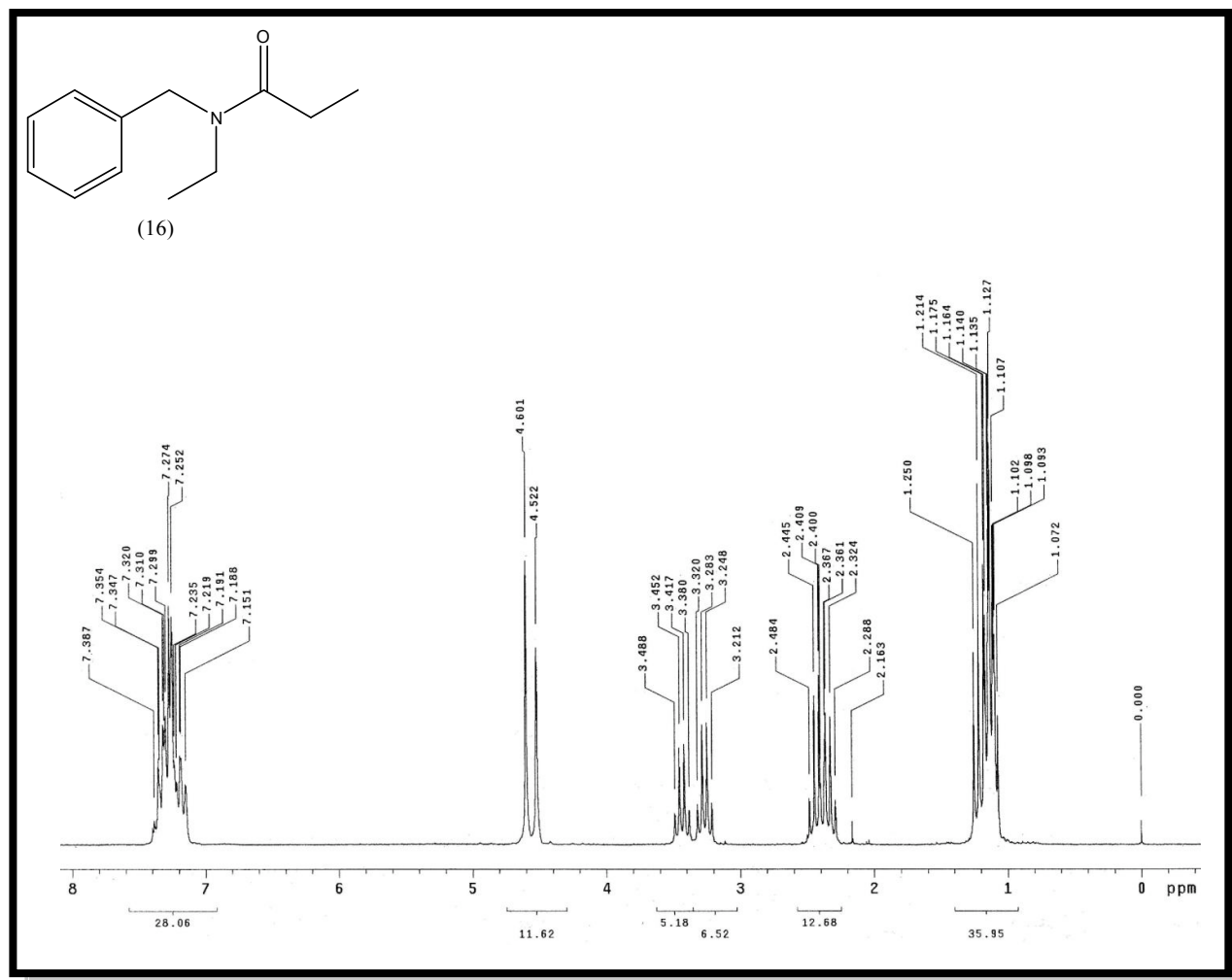
ANEXO 24. Espectro de RMN ¹H del compuesto (8).



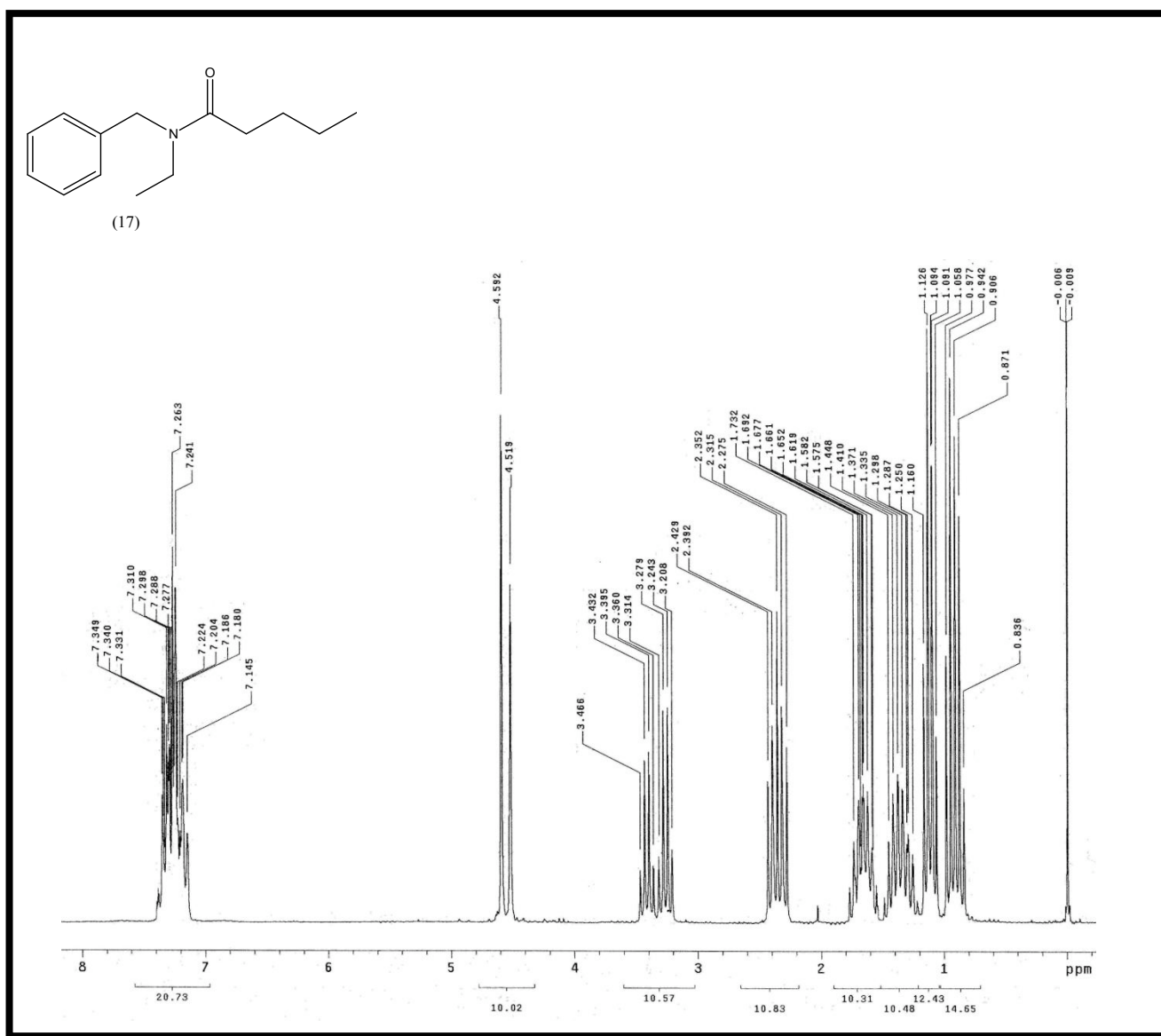
ANEXO 25. Espectro de RMN ¹H del compuesto (9).



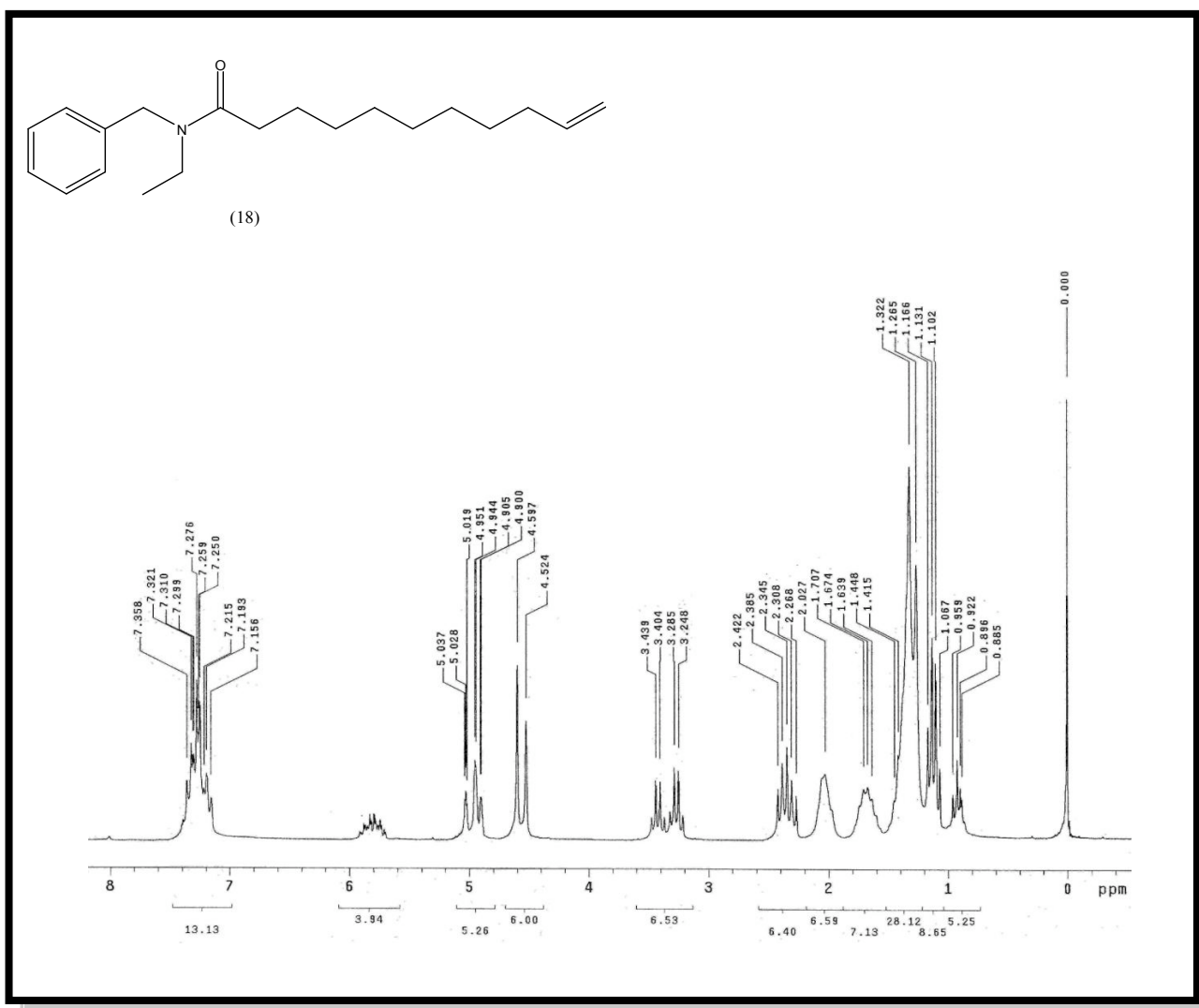
ANEXO 26. Espectro de RMN ¹H del compuesto (10).



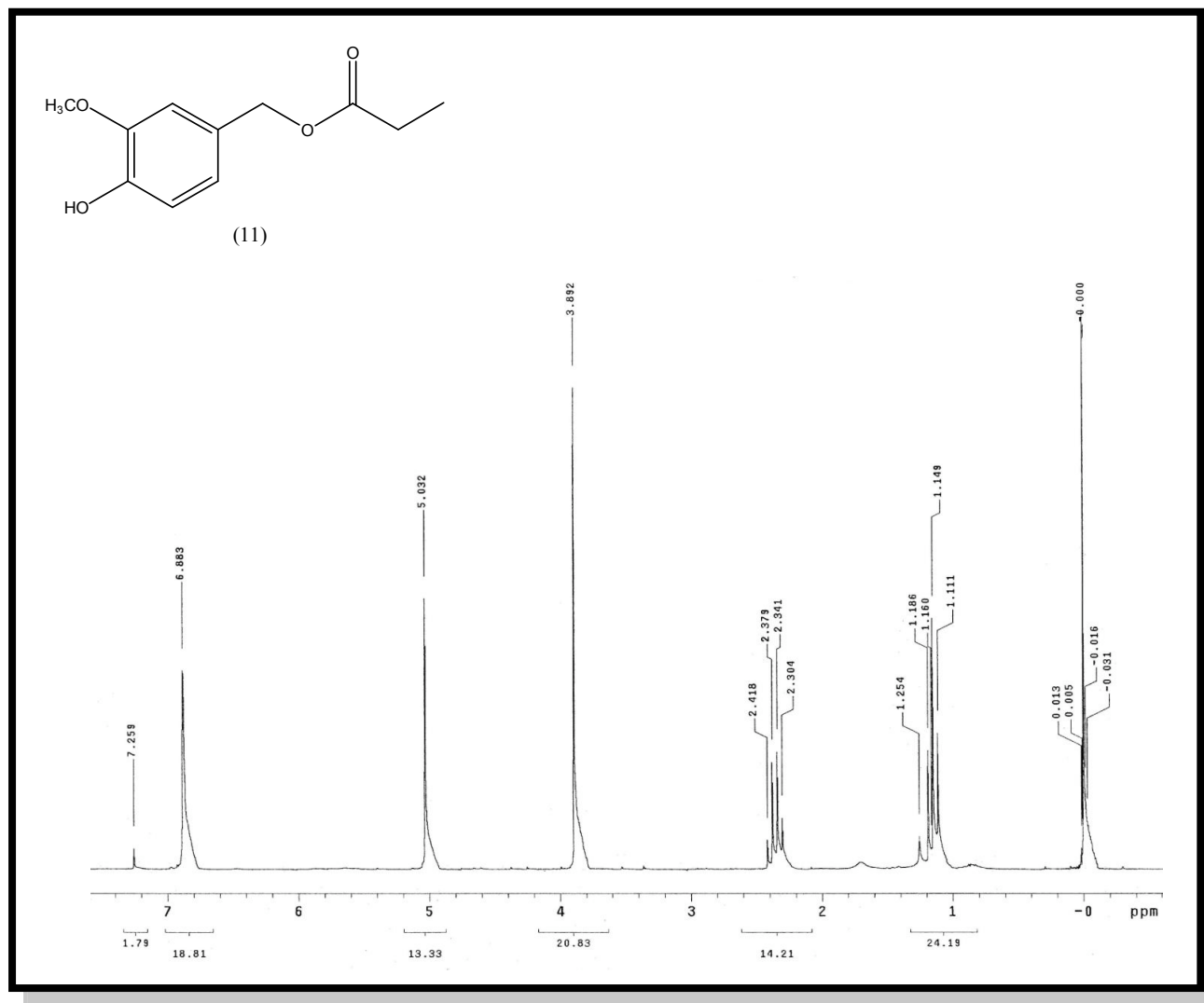
ANEXO 27. Espectro de RMN ¹H del compuesto (16).

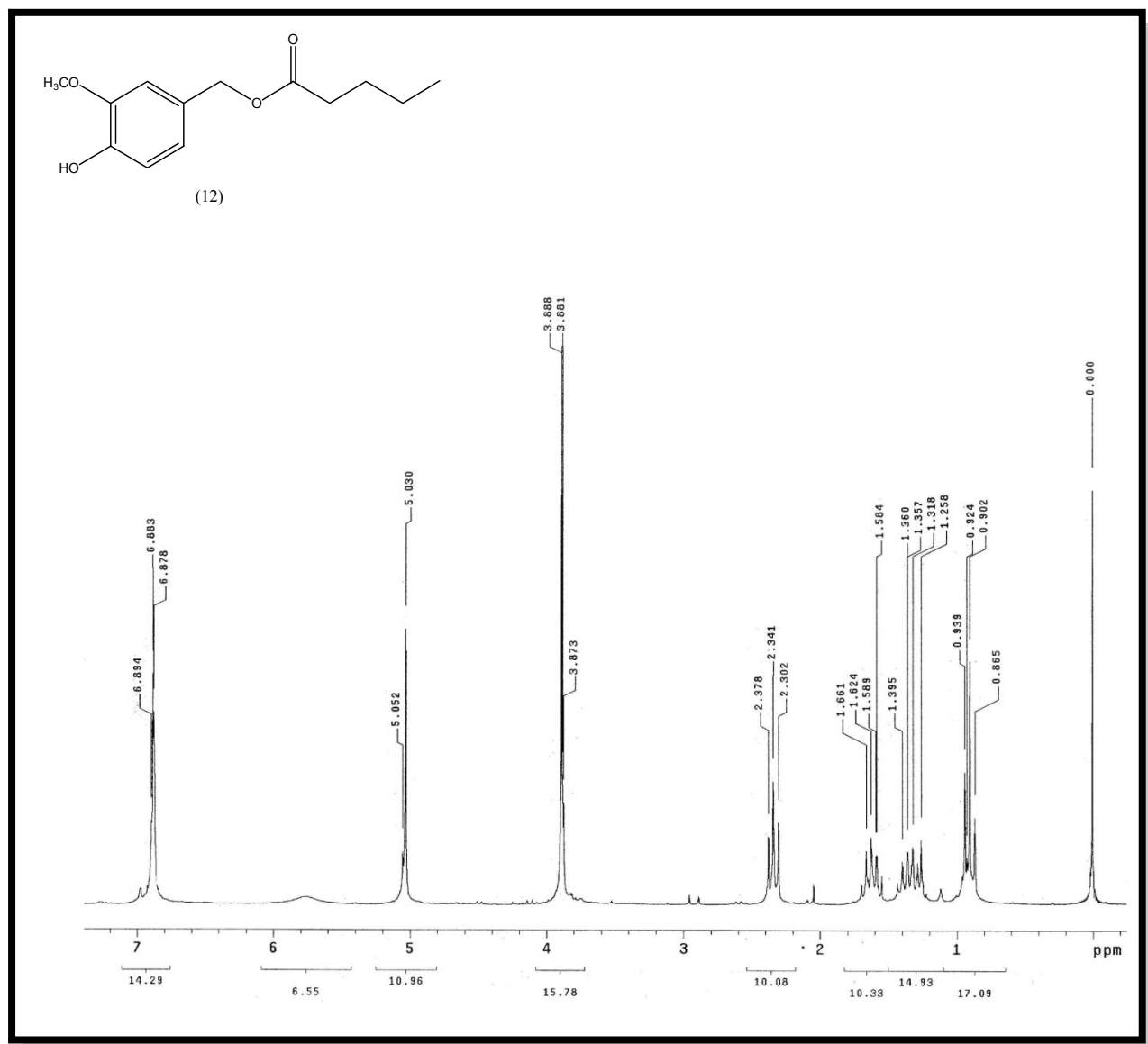


ANEXO 28. Espectro de RMN ¹H del compuesto (17).



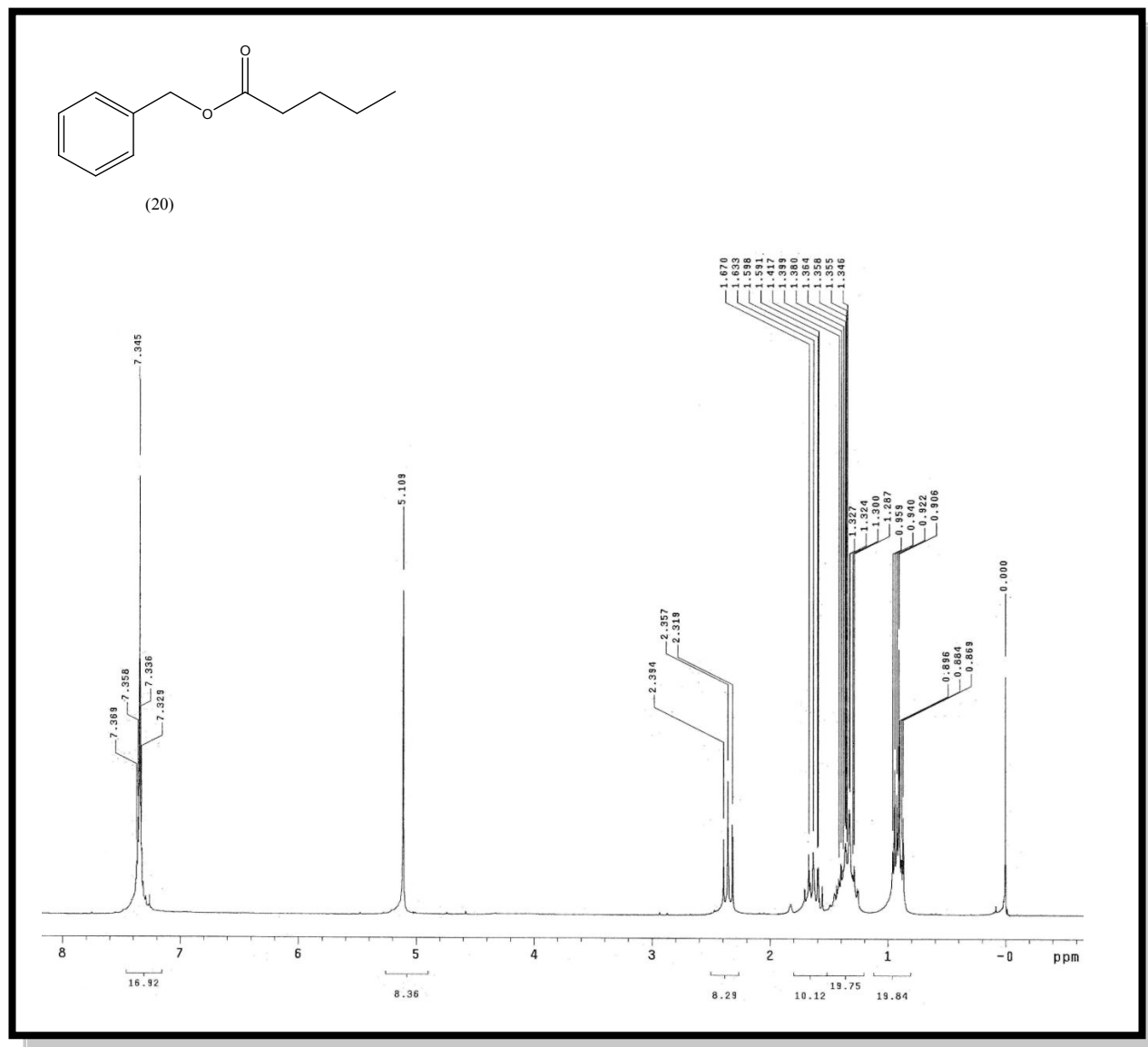
ANEXO 29. Espectro de RMN ^1H del compuesto (18).

ANEXO 30. Espectro de RMN ^1H del compuesto (11).

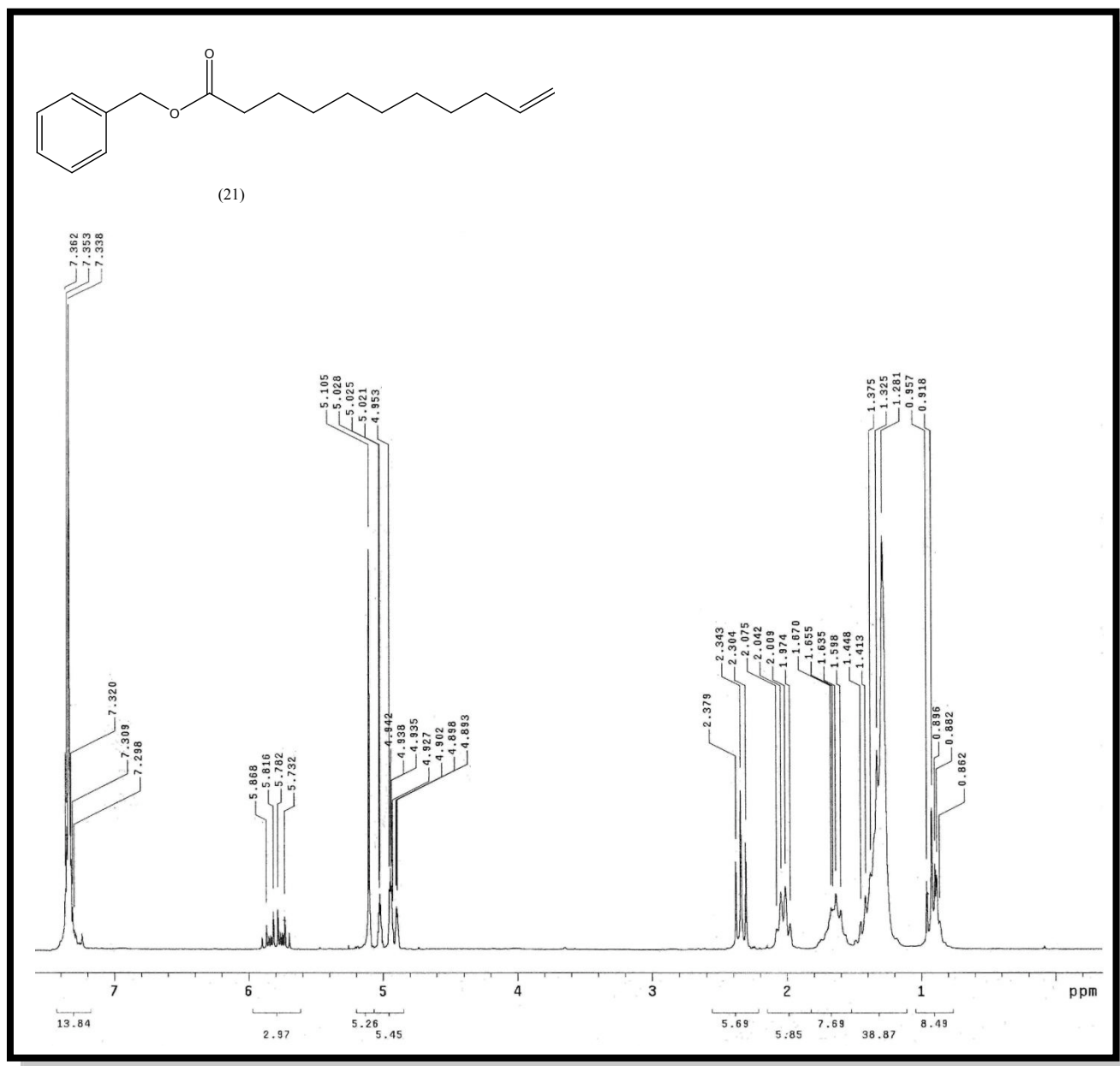


ANEXO 31. Espectro de RMN ¹H del compuesto (12).





ANEXO 33. Espectro de RMN ¹H del compuesto (20).



ANEXO 34. Espectro de RMN ^1H del compuesto (21).

INSTRUMENTACIÓN

Resonancia Magnética Nuclear

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) se realizaron en el espectrómetro VARIAN 200 MHz. Se utilizó CDCl_3 como disolvente, y TMS como referencia interna. Los valores de desplazamiento químico (δ), se expresan en ppm, y las constantes de acoplamiento (J), se expresan en Hz. Las siguientes abreviaciones se utilizaron para explicar las multiplicidades: s= singlete; d= doblete; t= triplete; dd= doble doblete; m= multiplete. En los experimentos de RMN ^{13}C , la multiplicidad de las señales se indica por las abreviaturas: q (CH_3), t (CH_2), d (CH), s (C).

Espectroscopía de Infrarrojo

Los espectros de IR fueron realizados en espectrofotómetros PERKIN-ELMER Modelo SPECTRUM 1 , utilizando pastillas de NaCl. Los valores de ν están expresados en cm^{-1} .

Espectroscopia Ultravioleta

Las mediciones de absorbancia de las técnicas antioxidantes se realizaron en un espectrofotómetro THERMO SCIENTIFIC, modelo Genesys 20, en una celda de cuarzo de 10 mm. Como disolvente se empleó MeOH o agua destilada. Los valores de λ se expresan en nm.

Espectrometría de Masas

Los espectros de masas, fueron realizados empleando las técnicas de ionización por impacto electrónico (EI).

Punto de fusión

Se realizaron en un aparato Electrothermal No. Cat. IA6304. Los datos se expresan en grados centígrados.

Potenciostato-galvanostato

Las técnicas electroquímicas empleadas fueron voltamperometría de pulso diferencial (DPV) y voltamperometría de onda cuadrada (OSWV), el potencial aplicado fue de 0-1100 mV en un potenciostato-galvanostato EPSILON.

CONDICIONES DE REACCIÓN

Todas las reacciones se realizaron bajo atmósfera de nitrógeno, y algunas en condiciones anhidras. Los rendimientos de las reacciones se establecieron una vez purificados los productos y caracterizados espectroscópicamente. Los reactivos fueron comprados de la más alta calidad comercial, y usados sin purificaciones posteriores. Finalmente todas las reacciones fueron monitoreadas por cromatografía de capa fina (CCF).

TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS

Cromatografía en capa fina (CCF)

Las cromatografías en capa fina fueron realizadas con placas FLUKA analytical de 0.2 mm, usando como agente visualizador luz ultravioleta (UV), a 254 nm. Las placas se revelaron según las necesidades de cada caso, utilizando disoluciones tales como: vainillina (1g) (EtOH 100mL/H₂SO₄ 1 mL), oleum [H₂SO₄/AcOH/H₂O (1:20:4)] y ninhidrina (0.3g) (EtOH 100mL/AcOH 2 mL) con posterior calentamiento.

Cromatografía en columna

Para la purificación de productos se usaron columnas empleando gel de sílice 70-230 mesh, 60 Å. La preparación de las columnas se realizó mediante la previa mezcla de la gel de sílice con el eluyente, Los eluyentes habituales fueron mezclas de *n*-Hexano/AcOEt en distintas proporciones.

SOFTWARE

Para darle el nombre correcto a los análogos sintetizados y a los intermediarios se utilizó el programa ACD/ChemSketch (Freeware) 1997-2010.

Para calcular los coeficientes de partición (Log P) de todos los productos se utilizó el software de ChemAxon Version 5.5.0.0.