



UADY

POSGRADO
INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS
QUÍMICAS Y
BIOQUÍMICAS

**ALQUINILACIÓN CATALIZADA POR COBRE DE
ANTRAQUINONAS AISLADAS DE *Morinda
panamensis* Seem.**

TESIS

PRESENTADA POR

FERNANDO IVÁN MOGUEL PARDÍO

EN OPCIÓN AL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS
QUÍMICAS Y BIOQUÍMICAS**

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO



Mérida, Yuc., 14 de febrero de 2018
Oficio Num.: PICQB/190/2018

Asunto: Autorización de impresión

La tesis "Alquilación catalizada por cobre de antraquinonas aisladas de *Morinda panamensis* Seem" presentada por el C. Fernando Iván Moguel Pardío, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar por el grado de Maestro en Ciencias Químicas y Bioquímicas, ha sido aprobada en cuanto a su contenido científico y en cuanto a lo establecido en el Manual de Procedimientos del Posgrado Institucional en Ciencias Químicas y Bioquímicas, por lo que se le autoriza la impresión de los ejemplares correspondientes.

Directores de la tesis

Dr. Gumersindo Mirón López

Dr. Rolando David Cáceres Castillo

Sinodales:

Firmas

Dra. Zulema Osiris Cantillo Ciau

Dr. Gonzalo Joaquín Mena Rejón

Dr. Leovigildo Quijano

ATENTAMENTE
"LUZ, CIENCIA Y VERDAD"

DRA. MAIRA RUBI SEGURA CAMPOS
COORDINADORA DEL POSGRADO INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS QUÍMICAS Y BIOQUÍMICAS

c.c. Archivo
MRSC

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

A todos aquellos quienes contribuyeron para que fuese posible la realización de este trabajo, comenzando con las personas responsables de mi formación durante el posgrado estos dos años, hasta las personas que de manera más estrecha compartieron ideas, metodologías, técnicas y experiencia para la finalización de este documento.

A mis directores de Tesis el Dr. Gumersindo Mirón López y Dr. Rolando David Cáceres Castillo por todos sus consejos, experiencia, acompañamiento, animos, conocimientos compartidos y guía durante la realización de este trabajo, gracias por brindarme su confianza, apoyo, paciencia, sabiduría y su amistad.

Al Comité Revisor y H. Sínodo, Dra. Zulema Osiris Cantillo Ziau, Dr. Gonzalo Joaquín Mena Rejón, Dr. Leovigildo Quijano y Dr. Rubén Marrero Carballo, por sus contribuciones para el mejoramiento, en cuanto a contenido, redacción y formato de este trabajo.

Al M. en C Manlio Joaquín Graniel Sabido por realizar los experimentos por Espectrometría de masas así como la guía para la interpretación de los mismos.

Al Dr. Ángel Herrera, M. en C. Jimmy Ceballos, M. en C. Jazmín Salazar, Q.F.B. Sara Medina, Q. Jessica González, Q. Mario Noh Burgos, Q. Dianela Silvana Lara Nah, Q. Gener Us Martín, Q. Marcelo Sosa, pQ. Edith Angulo, Br. Jesús Aguilera, Br. Carlos Pech y Br. Julio Aguiar, por su apoyo incondicional durante mi formación, sus consejos, apoyo y conocimientos durante la realización de este trabajo.

A las autoridades de la Facultad de Química y del Posgrado de Ciencias Químicas y Bioquímicas por permitir la realización de este trabajo y mi formación académica en dichas instalaciones.

RESUMEN

En el presente trabajo se llevó a cabo el aislamiento, modificación y síntesis de algunas antraquinonas presentes en la especie *Morinda panamensis* S., esto con la finalidad de formar bloques de construcción que posteriormente puedan dar lugar a la síntesis de heterociclos pequeños, añadidos a la molécula inicial.

La recolección de raíces de la especie se llevó a cabo en la Facultad de Química (UADY), posteriormente el material vegetal se secó, molió y sometió a extracción en un equipo soxhlet con diclorometano, obteniendo el extracto correspondientes. La purificación se llevó a cabo por cromatografía en columna obteniéndose cuatro antraquinonas mayoritarias.

El proceso de la modificación se llevó a cabo sobre una de las antraquinonas aisladas (damnacantal) la cual fue sometida a ruta sintética mediante una serie de cuatro reacciones, comenzando con la metilación de la posición tres con yoduro de metilo y carbonato de sodio en tetrahidrofurano (THF) a reflujo en agitación constante por 120 h (80%), por consiguiente la reducción del aldehído de la posición dos con borhidruro de sodio en THF en agitación constante a temperatura ambiente (60%), seguido de este proceso se llevó a cabo la halogenación con tribromuro de fósforo en diclorometano en agitación constante a 0 °C (50%), por último se llevó a cabo la reacción de acoplamiento cruzado catalizada con ayuda de Bu_4NI , MeCN , K_2CO_3 y TMSA, catalizada por CuI , Todos los derivados obtenidos de las reacciones fueron confirmados por experimentos de Resonancia Magnética Nuclear en un espectrómetro Bruker Avance Ultrashield 400 MHz con sonda BBO400 de 5 mm. Empleando disolventes deuterados de acuerdo la solubilidad de los compuestos. Los desplazamientos químicos (δ) se proporcionan en partes por millón (ppm) y se encuentran referenciados con respecto a la señal residual del disolvente deuterado utilizado en cada caso. (CDCl_3 - 7.26 ppm, 77.23 ppm; DMSO - 2.50 ppm, 39.5 ppm), y mediante los espectros de masas, tanto de baja y alta resolución (EM), los cuales se realizaron en un espectrómetro de masas Jeol GC-Mate II. La técnica utilizada fue impacto electrónico (EI) (70 eV) por inserción directa a una cámara de 300 °C, disuelto en CH_2Cl_2 .

ÍNDICE

	Página.
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1. Productos Naturales	3
2.2. Género Morinda	3
2.3 Estudios fitoquímicos del género Morinda	4
2.3.1 <i>Morinda citrifolia</i> Lee	4
2.3.2 <i>Morinda panamensis</i> Seem	4
2.4. Antraquinonas	6
2.5. Reacciones de acoplamiento cruzado	9
2.6. Reacciones de Alquilación	10
3. OBJETIVO	11
4. MATERIALES Y METODOS	13
4.1 Materiales y equipo de laboratorio	13
4.1.1 Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)	13
4.1.2 Espectrometría de Masas	13
4.2 Recolección y extracción de material vegetal	14
4.2.1 Obtención de extractos	14
4.2.2 Cuantificación de damnacantal	14
4.2.3 Fraccionamiento primario de raíz	15
4.2.4 Fraccionamiento primario de corteza	15
4.3 Modificación de antraquinonas	18
4.3.1 Reacciones de reducción	18
4.3.2 Reacciones de metilación	19
4.3.3 Reacciones de halogenación	20
4.3.4 Síntesis de Rubiadina	21
4.3.5 Reacción de acoplamiento	21
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
5.1 Cuantificación por RMN a partir de extractos orgánicos de <i>Morinda panamensis</i> Seem	23
5.2 Identificación de antraquinonas aisladas	23
5.2.1 Producto 1	25
5.2.2 Producto 2	30
5.2.3 Producto 3	35
5.2.4 Producto 4	39
5.3. Síntesis de los análogos de las antraquinonas	41
6. CONCLUSIONES	73
8. REFERENCIAS	75

1. INTRODUCCIÓN

La familia Rubiaceae está constituida por aproximadamente más de 10,000 especies distribuidas alrededor del mundo en zonas tropicales, encontrándose entre las cinco familias botánicas más grandes en el mundo. Esta familia es de gran importancia desde el punto de vista fitoquímico, debido a la cantidad de metabolitos secundarios que han sido aislados de ésta, así como por las actividades biológicas que presentan. Uno de los géneros más importantes de esta familia es el género *Morinda*, el cual es rico en metabolitos secundarios como, terpenos, antraquinonas, lignanos, flavonoides, alcaloides, etc. Varias especies de este género han sido objeto de estudio, pero entre ellas resalta *Morinda citrifolia*, que debido a las propiedades que se le atribuyen para el tratamiento de diversas dolencias ha cobrado importancia económica en muchas partes del mundo, por lo cual ha sido ampliamente estudiada.^{1,3}

En contraste, una de las especies menos estudiadas es *Morinda panamensis* Seem y en los pocos estudios realizados de las diferentes partes de la planta se ha reportado el aislamiento de metabolitos secundarios de interés como, antraquinonas, iridoides, triterpenos, carotenoides, cumarinas y esteroides.^{7,12}

De entre estos metabolitos los de mayor importancia para nuestro estudio y que han sido aislados de las raíces del género *Morinda* son las antraquinonas, su creciente interés se debe principalmente a las propiedades biológicas importantes que presentan como antioxidante, antitumoral, entre otras, ejemplo de ello es el damnacantal, un derivado de la 9,10-antracenediona sustituida con una función aldehído en la posición dos del sistema antracénico, así como un grupo metoxilo en la posición uno y por último en la posición tres un grupo hidroxilo. Los estudios sintéticos enfocados a las antraquinonas se han basado en la importancia de la modificación estructural de las mismas, a través de la introducción o sustitución de grupos funcionales. Para ello se propone la síntesis de alquinos terminales mediante reacciones de acoplamiento, ya que estos últimos son importantes en la síntesis orgánica por su reactividad versátil y para diversos procesos que posibilitan su transformación en diferentes grupos funcionales.²⁷

2. ANTECEDENTES

Productos naturales

En el mundo existen diferentes especies de plantas que el ser humano ha utilizado como remedios medicinales, para aliviar diversas enfermedades, así como para tratamientos estéticos, etc. Este es el caso de varias especies de la familia de las rubiáceas (Rubiaceae) la cual comprende cerca de 450 géneros y 10,700 especies que incluyen árboles, arbustos y en menor medida hierbas. Su distribución está restringida a las regiones tropicales y subtropicales, sin embargo, algunas especies se extienden hasta regiones templadas y aun frías. Es una de las familias más numerosas y diversas a nivel mundial ya que ocupan el cuarto lugar después de las familias Asteraceae, Orchidaceae y Poaceae en ese orden.¹⁻³

La familia Rubiaceae cuenta con varias especies que son utilizadas como plantas medicinales, tiene importancia económica en la producción de tintes, productos comestibles y ornamentales. Muchas de las especies están reportadas como antiinflamatorio, analgésico, antibacteriano, antiviral, antioxidante, así como actividad sobre el sistema nervioso central. Una característica de esta familia es la producción de metabolitos bioactivos con gran potencial biológico, como son los iridoideos, alcaloides del indol, antraquinonas, terpenoides, flavonoides y otros derivados fenólicos. El número de productos, la diversidad estructural y actividades biológicas reportados para varias especies de la familia Rubiaceae demuestran su potencial como fuente de nuevas sustancias bioactivas o incluso prototipos para el desarrollo de fármacos.^{1,2,4}

Genero *Morinda*

Uno de los géneros pertenecientes a la familia Rubiaceae es el género *Morinda*, el cual comprende 80 especies. En América se encuentran aproximadamente 26 de éstas, su distribución es en todo el neotrópico y región tropical de Norteamérica, principalmente en zonas bajas.

Entre las especies más conocidas de este género podemos mencionar a *Morinda seibertii* (Standl.) Steryerm, la cual es conocida en Colombia con el nombre de *tigutit niaquit* (cuna) y sus hojas se emplean para combatir la tos y contra afecciones hepáticas y de los ojos.² *Morinda royoc*, es una planta silvestre costera que está distribuida en toda la isla de Cuba, en las Bahamas, Florida, América Central, etc. Se utiliza en la elaboración de bebidas refrescantes, digestivas y cuadros ictéricos.⁵

Morinda panamensis Seem conocida como “yema de huevo” en la zonas del Norte y América Central, presenta una distribución limitada a Florida y regiones de México (Tabasco, Oaxaca, Chiapas, Yucatán), Belice, Panamá y Colombia. Se le ha catalogado como “falso noni” y los frutos de esta especie son consumidos aunque no existen reportes detallados sobre las propiedades biológicas del consumo de esta planta.^{3,6}

Morinda citrifolia L. es la especie más conocida y ampliamente cultivada, la cual es conocida en Hawái, Taití y Estados Unidos como “noni”. Desde el punto de vista medicinal tiene aplicaciones contra dolores de cabeza y de muelas, reumatismo, artritis, asma, fracturas de huesos, cáncer, dificultades urinarias, aliviar el dolor en ataques cardiacos, etc.. Aunque todas las partes de *M. citrifolia* son utilizadas, el uso del fruto maduro es el que predomina actualmente en Estados Unidos como suplemente botánico dietético.^{2,3,7-11}

Estudios fitoquímicos en el género *Morinda*.

Morinda citrifolia L.

En estudios fitoquímicos de la corteza, tallo, raíz, hojas y frutos de *M. citrifolia* se ha reportado el aislamiento de cerca de 160 compuestos, entre los cuales han sido identificados compuestos del tipo de los terpenoides, alcaloides, quinonas, aminoácidos, fenólicos y ácidos orgánicos por nombrar a algunos.^{7,12,13} De entre ellos uno de los grupos de compuestos que han demostrado ser responsables de las propiedades terapéuticas de la planta son las antraquinonas. Los estudios de la corteza de raíz, reportados en la literatura indican el aislamiento de antraquinonas de tipo rubia como se observa en la Figura 1.¹⁴⁻¹⁷

Morinda panamensis Seem

A pesar de sus escasos reportes, en 2012 se realizaron estudios fitoquímicos, del extracto diclorometánico de los frutos, se logró la identificación y aislamiento de antraquinonas (Figura 2) y de compuestos de tipo triterpeno. Otro estudio fue realizado a partir de las hojas, dando como resultado el aislamiento e identificación de ácido ursólico, loliólido e isololiólido, siendo estos dos últimos por primera vez aislados en especies del genero *Morinda* así como el iridoide 1-hidroxi-3,4,4a,7a-tetrahidro-1*H*-espiro[ciclopenta[c]piran-7,2'-oxiran]-4-carboxilato de metilo.¹⁸

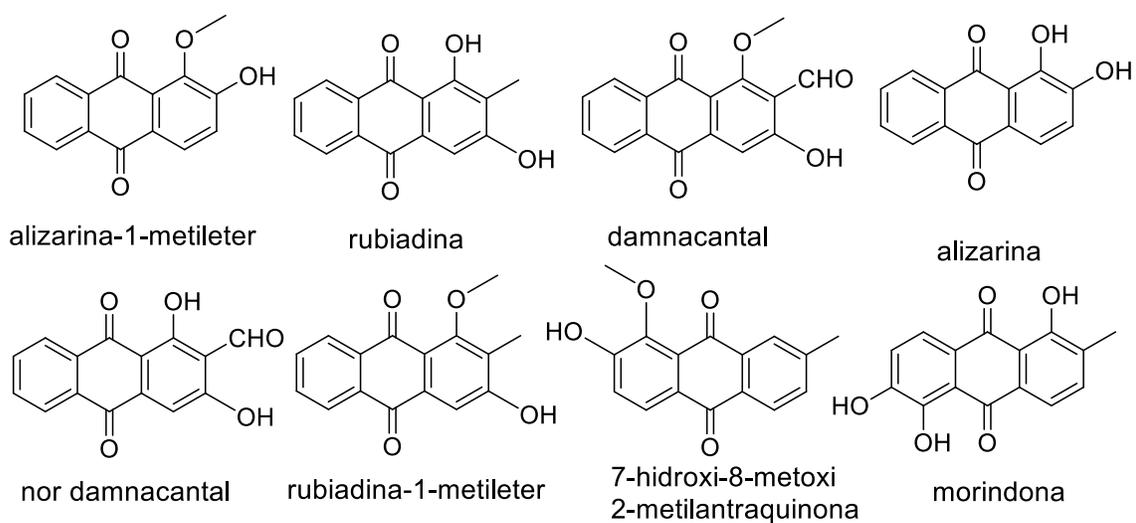


Figura 1. Antraquinonas aisladas de *Morinda citrifolia*.

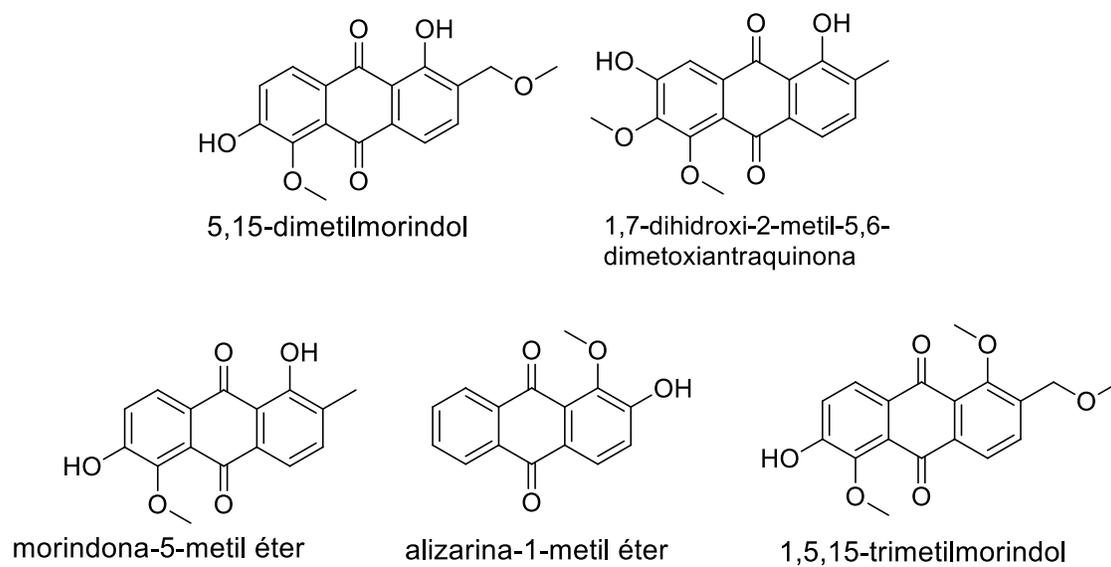


Figura 2. Antraquinonas aisladas de *Morinda panamensis*.

Antraquinonas

Las antraquinonas son un importante grupo de productos naturales que se producen en bacterias, hongos, líquenes y plantas superiores, de las cuales se encuentran en un gran número de familias, como la Rubiaceae, Ramnácea, Polygonácea y Fabaceae. Las antraquinonas son compuestos aromáticos que en su estructura base está constituida por dicetonas insaturadas, se caracterizan por tener un sistema tricíclico del antraceno, pero con el anillo central más o menos oxidado, lo cual permite diferenciar los distintos tipos de derivados antracénicos. Las principales rutas de biosíntesis de antraquinonas han sido objeto de diferentes estudios en los últimos 30 años. En general, las quinonas de plantas superiores se derivan de diversos precursores y se producen a través de diferentes vías, según la literatura se reportan dos principales rutas biosintéticas por las que se producen antraquinonas en las plantas superiores, una es la ruta de los policétidos y la segunda es una ruta mixta shikímico-terpenoide. Las antraquinonas presentes en la familia Rubiaceae provienen de esta última ruta y son consideradas del tipo “rubia”, en este caso la biosíntesis de los anillos A y B deriva del ácido corísmico proveniente del ácido shikímico y del α -cetoglutarato por la vía del ácido o-succinilbenzóico, mientras que el anillo C proviene de una unidad de isopentilpirofosfato a través de la vía de los terpenos, dando como resultado final las antraquinonas de tipo “rubia” (Figura 3).^{19,20}

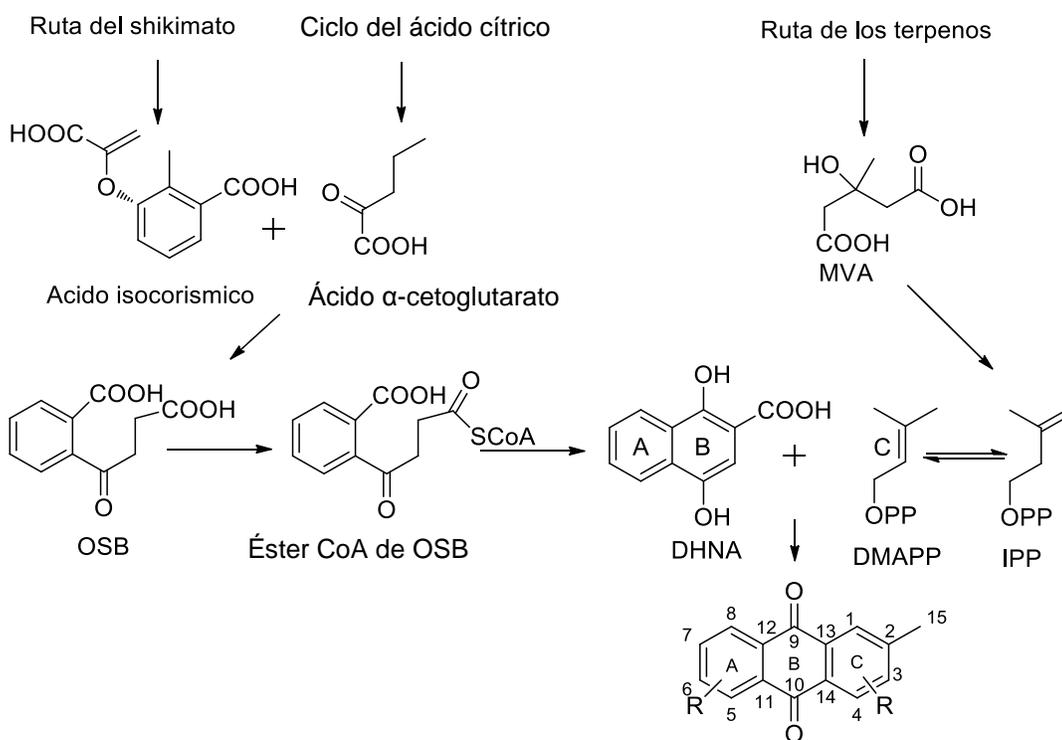


Figura 3. Biosíntesis de antraquinonas del tipo rubia.

Las antraquinonas siguen siendo de interés, en especial los derivados de 9,10-antracenediona que presentan una actividad anticancerígena potente según lo reportado por Jin *et al.*, en 2001, ejemplos como el damnacantal y el nordamnacantal por mencionar algunas, han sido evaluados frente a líneas celulares HL-60 (leucemia promielocítica humana, $IC_{50} = 14.89 \pm 0.35 \mu M$), CEM-SS (leucemia linfoblástica-T, $IC_{50} = 30.14 \pm 1.77 \mu M$), WEHI-3B (leucemia mielomonocítica en ratones, $IC_{50} = 11.70 \pm 1.77 \mu M$), PMBC (células mononucleares de sangre periférica humana, $IC_{50} = 106.38 \pm 1.77 \mu M$) y 3T3 (Fibroblastos en embrión de ratón, $IC_{50} = 106.38 \pm 1.77 \mu M$), presentando valores de IC_{50} prometedores.²¹⁻²³

Algunos ejemplos de los estudios acerca de la modificación estructural de antraquinonas han sido reportados, entre ellos, Zee-Cheng *et al.*, en 1979, realizaron la síntesis de análogos de antraquinonas a través de la adición de cadenas laterales de amino y otros grupos funcionales (Figura 4), de manera que pudiesen aumentar la actividad antineoplásica del compuesto inicial **1**, siendo el compuesto **2** el que en su evaluación presentó mejores resultados con respecto a la modificación de su estructura ya que no era necesario la adición de la doble cadena de aminoalquilamino para obtener los mismos resultados. Un estudio más reciente fue realizado por Manojlovic *et al.*, en 2007 mediante la síntesis de una serie de análogos (Figura 4) con el fin de modificar la actividad biológica antifúngica y antibacteriana que presentaban estos compuestos, los resultados fueron prometedores con respecto a valores de IC_{50} en la mejora de sus actividades biológicas con respecto al compuesto de partida.^{25,26}

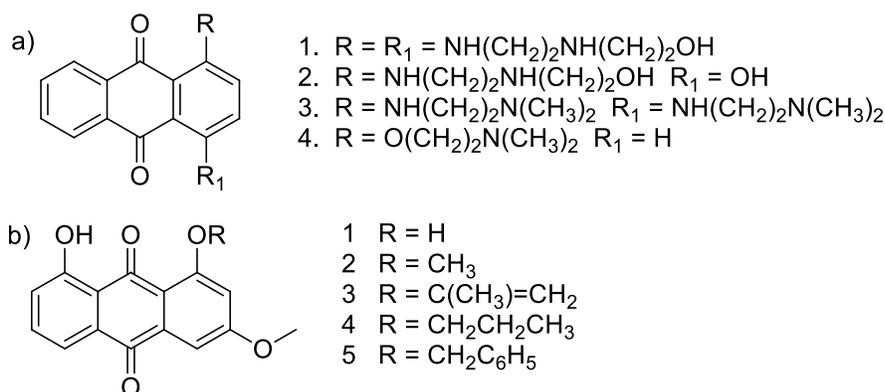


Figura 4. Análogos de antraquinonas amino sustituidas (a) y alquiladas (b)

A partir de lo ya mencionado acerca de los estudios en derivados de antraquinonas, se propuso obtener derivados acetilénicos a partir de las antraquinonas, mayoritarias de *Morinda panamensis*. La introducción de un alquino terminal tiene como fin generar un intermediario de reacción para la posterior síntesis de moléculas que pudiesen mejorar las propiedades biológicas de estos metabolitos antraquinónicos^{23, 25}

La presencia de alquinos en moléculas de alto valor añadido como fármacos, productos naturales y nuevos materiales es habitual, ya que han formado parte de pasos clave hacia la síntesis de una gran variedad de productos naturales y de interés industrial (Figura 5).²⁷ La baja deficiencia de electrones de los grupos alquino y su buena estabilidad bajo condiciones variables permite que los métodos de introducción a varias moléculas sea viable, una vez llevado a cabo estos acoplamientos es posible obtener intermediarios de reacción que darían lugar a una amplia gama de compuestos. Las reacciones de acoplamiento C-C forman parte de las principales reacciones para la introducción de un grupo alquino.^{26, 27}

Reacciones de acoplamiento cruzado

Las reacciones de acoplamiento cruzado, son una alternativa para la introducción de diversos grupos funcionales a una estructura de interés debido a la formación de enlaces carbono-carbono y heteroatomo-heteroatomo, y estas son de suma importancia en el área de la química; ya que proporcionan pasos clave en la construcción de moléculas bioactivas desarrolladas como medicamentos. El acoplamiento cruzado es un término genérico utilizado para denotar una reacción de metátesis de enlace sigma entre un reactivo nucleófilo y electrófilo, y por lo tanto puede considerarse como una generalización de sustitución nucleofílica. Muchas de estas reacciones tienen lugar sólo en presencia de un catalizador. Desde el descubrimiento de la reacción de Heck al término de la década de los años setenta, se han desarrollado una gran cantidad de reacciones de homoacoplamiento y acoplamiento cruzado, estas son versátiles con respecto a los sustratos que acoplan y a la tolerancia que muestran hacia muchos grupos funcionales, de igual manera las condiciones de reacción son suaves y los rendimientos de los productos obtenidos son altos.²⁷⁻³⁶

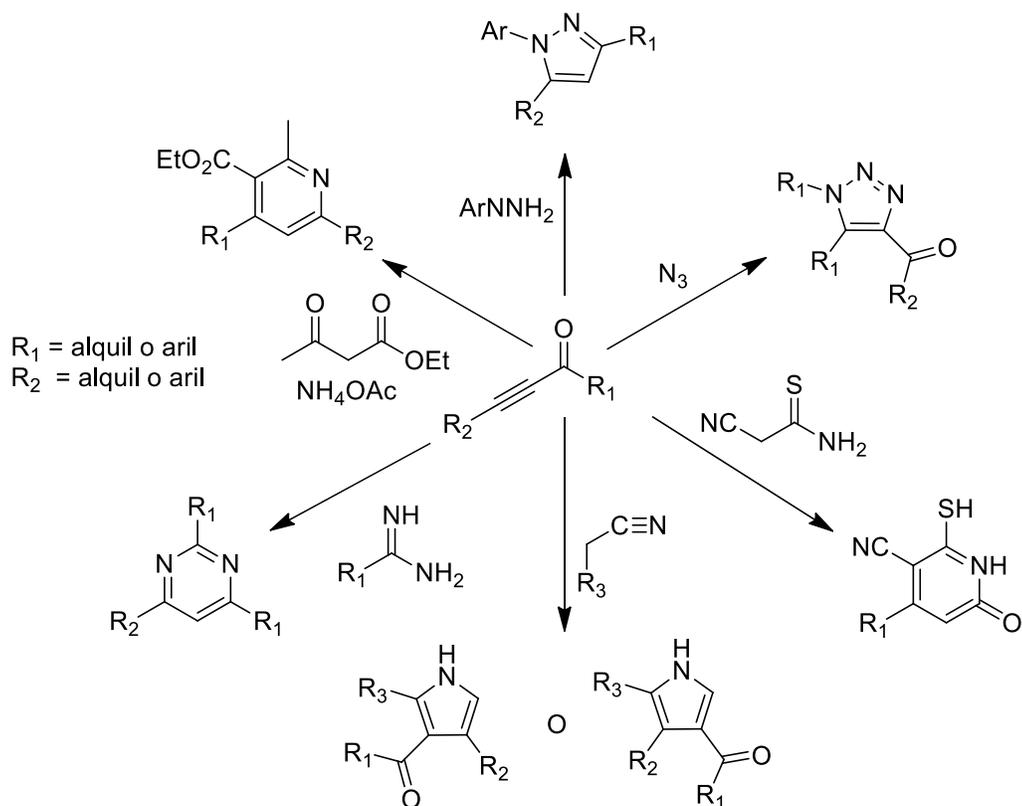


Figura 5. Derivados obtenidos a partir de acetilenos terminales

Reacciones de alquilación

Las reacciones de alquilación han tenido un gran interés en los últimos años, debido a su rigidez, propiedades electrónicas y numerosos métodos disponibles para la funcionalización del triple enlace. Los alquinos han sido siempre uno de los grupos funcionales más importantes de la química orgánica y se aplican ampliamente como bloques de construcción para la síntesis de productos químicos con aplicaciones en química orgánica, química de polímeros, ciencia de los materiales y conjugación biológica. Para ello es importante disponer de métodos eficientes y flexibles para introducir un triple enlace en todas las posibles posiciones de una molécula, más allá de la construcción del triple enlace, se requieren métodos que permitan la transferencia de acetilenos a varios sistemas. Esto es posible a través de la formación de enlaces C-C mediante acoplamiento catalizados por metales de transición.

El papel de catalizador en las reacciones de alquilación consiste en su participación de un ciclo catalítico que consta de tres procesos: la adición oxidativa, transmetalación, y eliminación reductiva como se muestra en la Figura 6. Las alquilaciones y la formación del enlace C-C con alquinos terminales catalizadas por cobre han sido eficientes en sistemas con aminas terciarias, arilos y sistemas bencílicos sustituidos. La evidencia general adquirida hasta el día de hoy nos dice que el cobre ha sido utilizado para diferentes aplicaciones en reacciones de alquilación en compuestos diazónicos, introducción de acetilenos terminales en bases nitrogenadas y en adiciones enantioselectivas con buenos rendimientos.³¹⁻³⁵

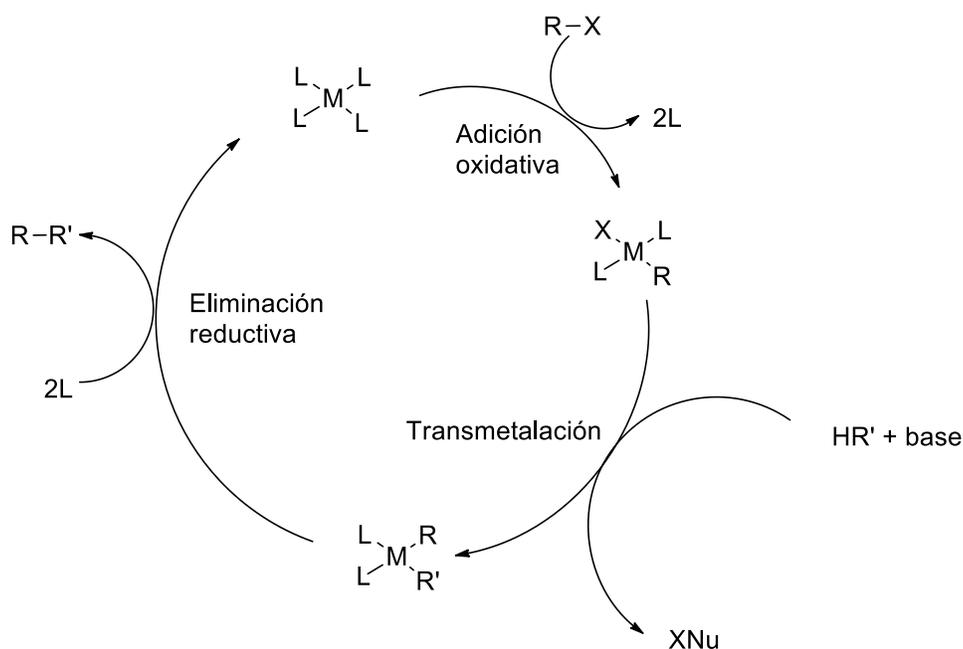


Figura 6. Posible ciclo catalítico de los metales de transición.

Sabiendo que las antraquinonas tienen una estructura funcionalizada en la posición dos con un grupo aldehído o metilo, las hace adecuadas para la generación de derivados acetilénicos terminales, siendo estos como ya se ha mencionado, intermediarios claves para la numerosas transformaciones sintéticas: como de productos naturales, candidatos de fármacos, construcciones supramoleculares y materiales orgánicos.^{28,37}

3. OBJETIVOS

Objetivo general

Obtener derivados de tipo etinil-antracenodiona, de antraquinonas mayoritarias obtenidas de *Morinda panamensis* Seem., mediante reacciones de acoplamiento carbono-carbono.

Objetivos particulares

1. Aislar las antraquinonas mayoritarias del extracto apolar de las raíces de *Morinda panamensis*.
2. Modificar la estructura de las antraquinonas aisladas para hacerlas susceptibles en reacciones de acoplamiento.
3. Emplear las reacciones de acoplamiento catalizadas por cobre para la obtención de derivados acetilénicos.
4. Caracterizar mediante métodos espectroscópicos y espectrométricos, la estructura de las antraquinonas y sus derivados.

4. MATERIALES Y METODOS

Materiales y equipo de laboratorio

Los disolventes utilizados para los procesos de extracción, separación y purificación fueron de grado industrial y destilados en el laboratorio previamente a su utilización.

El análisis por cromatografía en capa delgada (CCD) se realizó en cromatofolios de aluminio impregnados con gel de sílice G60 de 0.25 mm de espesor e indicador de fluorescencia F_{254} de la marca Merck.

Para las separaciones por cromatografía en columna (CC) se utilizaron columnas de vidrio empacadas con gel de sílice para cromatografía en columna con tamaño de partícula 63-200 μm (malla 70-230) y 40-63 μm (malla 230-400); gel de sílice para CCD, con tamaño de partícula de 2-25 μm , sin indicador de fluorescencia de la marca Merck. Mientras que las separaciones mediante cromatografía en capa delgada preparativa (CCDP) se llevó a cabo empleando placas de aluminio de 20 x 20 impregnadas con gel de sílice G60 de la marca Merck de 0.25 mm de espesor y placas de vidrio de 20 x 20 cm impregnadas con gel de sílice G60 de la marca Merck de 0.5 mm de espesor, ambas con indicador de fluorescencia F_{254} .

El agente revelador utilizado fue una lámpara de luz ultravioleta de onda corta (254 nm) y onda larga (365 nm).

Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Los experimentos de RMN se realizaron utilizando un equipo Bruker Avance Ultrashield 400 MHz con sonda BBO400 de 5 mm. Empleando disolventes deuterados de acuerdo a la solubilidad de los compuestos. Los desplazamientos químicos (δ) se proporcionan en partes por millón (ppm) y se encuentran referenciados con respecto a la señal residual del disolvente deuterado utilizado en cada caso. (CDCl_3 - 7.26 ppm, 77.23 ppm; DMSO – 2.50 ppm, 39.5 ppm)

Espectrometría de Masas

Los espectros de masas, tanto de baja y alta resolución (EM), se realizaron en un espectrómetro de masas Jeol GC-Mate II. La técnica utilizada fue impacto electrónico (EI) (70 eV) por inserción directa a una cámara de 300 °C, disuelto en CH_2Cl_2 .

Recolecta y extracción de material vegetal

La recolección del material vegetal se realizó en el mes de diciembre del 2015 en los terrenos de la ex Facultad de Química de la UADY al oriente de la ciudad de Mérida, Yucatán, México. Se recolectó un ejemplar de *Morinda panamensis* Seem de aproximadamente 2 m de altura. El procesado del material vegetal consistió en la separación de hojas, tallos y raíces, estas últimas se limpiaron y se descortezaron. La madera y la corteza de la raíz, una vez separadas, se secaron en un desecador para herbario a una temperatura menor de 50° C durante 3 días en ausencia de luz y se molieron en un molino de cuchillas con número de tamiz 10.

Obtención de extractos

La madera (4.76 kg) y la corteza (900 g) de la raíz seca y molida, fueron sometidas a extracción continua, primero por macerado, utilizando como disolvente hexano (Hx) con volúmenes de 5 L durante 48 horas, repitiendo este proceso 5 veces, y posteriormente utilizando un aparato Soxhlet con volúmenes de 500 mL de diclorometano (CH_2Cl_2) durante 8 horas; de esta manera se obtuvieron cuatro extractos que fueron etiquetados como mm (madera macerado, 13.65 g, 0.29%), ms (madera soxhlet, 102.10 g, 2.14 %), cm (corteza de raíz macerado, 3.19, 0.36%) y cs (corteza de raíz soxhlet, 12.36 g, 1.37 %).

Cuantificación de damnacantal

Con el fin de saber cuál de los cuatro extractos contenía en mayor proporción las antraquinonas se realizó la cuantificación por RMN utilizando un equipo Bruker Ultrashield Avance 400 con sonda BBO400 de 5 mm. Se prepararon muestras de cada extracto con 5 mg disueltos en 1 mL de CDCl_3 , se añadió 1 mg de nicotinamida como estándar interno (EI) y se obtuvo el espectro de resonancia magnética nuclear cuantitativa, a partir del cual se llevó a cabo la cuantificación.

Fraccionamiento primario del extracto de raíz

Debido a la cantidad de extracto (madera) de raíz con la que se contaba (115.80 g), el fraccionamiento por cromatografía en columna (CC) se llevó a cabo repitiendo 11 veces cada CC, utilizando 10 g de extracto en cada una. Las condiciones para el fraccionamiento fueron las siguientes: columna de vidrio de 7.5 cm de diámetro, empacada con gel de sílice con tamaño de malla 70-230, acondicionada con una disolución de trietilamina al 5%. Como eluyentes se utilizaron mezclas de Hx- CH_2Cl_2 95:05, 90:10, 80:20, 60:40, 40:60, 30:70, 10:90, CH_2Cl_2 y acetato de etilo, obteniéndose 20 fracciones que posteriormente fueron reunidas con base en su análisis por cromatografía en capa delgada (CCD), en nueve fracciones etiquetadas de A – I. En las fracciones G, H e I se obtuvo por precipitación espontánea un sólido de color amarillo, que fue filtrado y lavado con una mezcla de Hx: CH_2Cl_2 (3:1). De la misma manera se obtuvieron precipitados de color naranja en las fracciones E y F. (Figura 7).

Fraccionamiento primario del extracto de corteza

Se realizó el fraccionamiento del extracto de corteza de la raíz (15.56 g) utilizando la misma metodología ya descrita anteriormente. En este caso, se utilizaron volúmenes de 1L, primeramente Hx, posteriormente mezclas de Hx:acetona (Me_2CO) (70:30 y 10:10), Me_2CO y MeOH, obteniéndose 35 fracciones que posteriormente fueron reunidas con base en su análisis por CCD, logrando obtener en 11 fracciones etiquetadas como m1 hasta m11. La fracción m9 (1.10 g) mostró la presencia de damnacantal en el análisis por CCD por lo cual fue sometida a una segunda CC utilizando una columna de vidrio de 4.5 cm de diámetro y una altura de 14 cm. Como fase estacionaria gel de sílice (60-400), y como fase móvil mezclas de Hx: acetato de etilo (AcOEt) (90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 400 mL de cada una) y por último AcOEt obteniéndose en total 40 fracciones. La fracción m9-1(175.21 mg) se purificó en una columna de diámetro de 2.5 cm, siendo la fase estacionaria, gel de sílice (2-25 μm) y como fase móvil cloroformo (CHCl_3) de manera isocrática. Se obtuvieron 18 fracciones y después de un análisis por CCD, se obtuvo el damnacantal en la fracción m9-1-1 (143.2 mg).

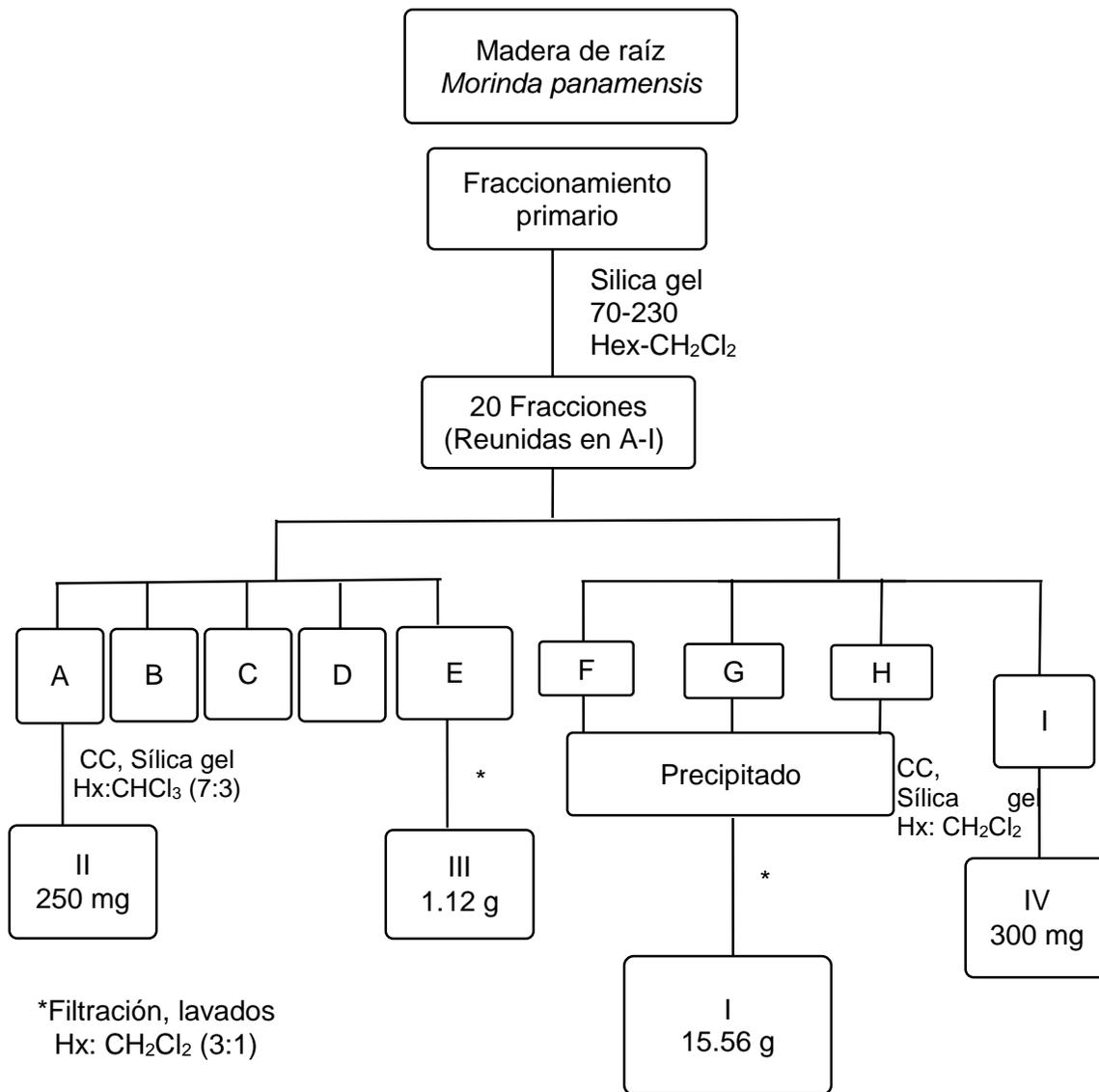


Figura 7. Fraccionamiento primario del extracto de la raíz de *Morinda panamensis*

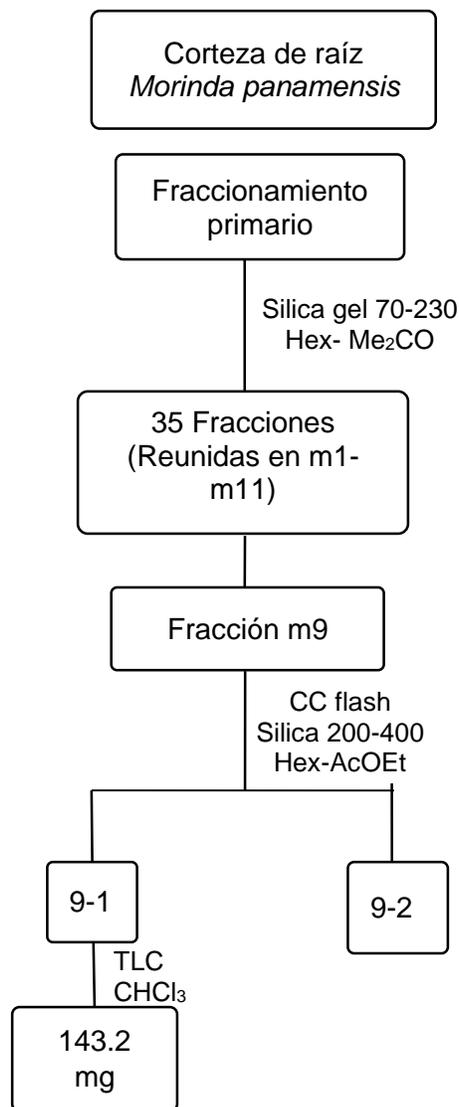


Figura 8. Fraccionamiento primario del extracto de la corteza de *Morinda panamensis*.

2-Carboxi-3-hidroxi-2-metoxi-9,10-antracenediona. Compuesto **1** (15.85 g) (damnacantal) RMN-¹H (CDCl₃): δ 12.27 (s, 1H, OH-3), 10.46 (s, 1H, CHO), 8.28 (dd, 1H, *J* = 7.46, 1.27 Hz, 1H, H-8), 8.24 (dd, 1H, *J* = 7.55, 1.27 Hz, H-5), 7.83 (td, 1H, *J* = 1.53, 7.50 Hz, H-6), 7.77 (td, 1H, *J* = 1.53, 7.45 Hz, H-7), 7.66 (d, 1H, 0.5 Hz, H-4), 4.12 (s, 3H, H-16).

1-Hidroxi-2-metil-9,10-antracenediona. Compuesto **2** (250 mg) RMN-¹H (CDCl₃): δ 12.85 (s, 1H, OH-1), 8.22 (m, 1H, H-5), 8.00 (m, 1H, H-8), 7.75 (td, 1H, *J* = 1.73, 7.55 Hz, H-7), 7.74 (td, 1H, *J* = 1.53, 7.45 Hz, H-6), 7.64 (d, 1H, *J* = 7.67 Hz, H-4), 7.45 (d, 1H, *J* = 7.67 Hz, H-4), 2.31 (s, 3H, H-15).

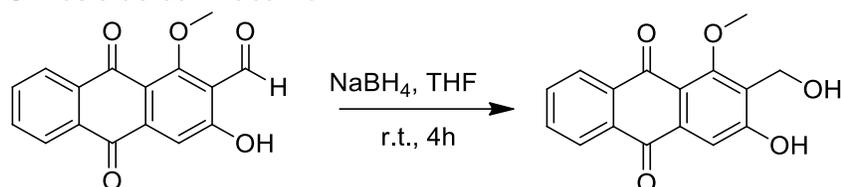
1,5,6-Trihidroxi-2-metil-9,10-antracenediona (morindona). Compuesto **3** (300 mg) RMN-¹H (CDCl₃): δ 13.21 (s, 1H, OH-1), 12.97 (s, 1H, OH-5), 7.85 (d, 1H, *J* = 7.50 Hz, H-7), 7.75 (d, 1H, *J* = 7.55 Hz, H-8), 7.52 (d, 1H, *J* = 7.50 Hz, H-4), 7.25 (d, 1H, *J* = 7.45 Hz, H-3), 2.48 (s, 3H, H-15).

2-Carboxi-1,3-dihidroxi-9,10-antracenediona (nordamnacantal). Compuesto **4** (1.12 g) RMN-¹H (CDCl₃): δ 12.48 (s, 1H, OH-3), 10.37 (s, 1H, CHO), 8.16 (dd, 1H, *J* = 7.63, 1.64 Hz, 1H, H-8), 8.12 (dd, 1H, *J* = 7.63, 1.64 Hz, H-5), 7.92 (td, 1H, *J* = 7.45, 1.53 Hz, H-7), 7.85 (td, 1H, *J* = 1.45, 1.53 Hz, H-6), 7.34 (s, 1H, H-4).

Modificación de antraquinonas

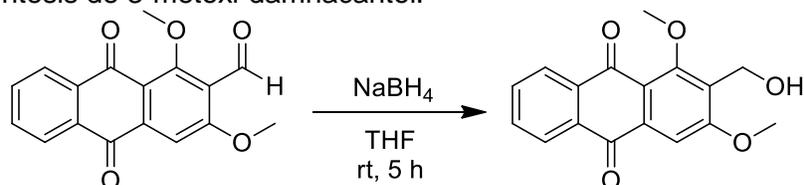
Reacciones de reducción

Síntesis de damnacantol



En un tubo Schlenk se agregaron 1 equivalente de damnacantal (0.145 g, 0.51 mmol), 1.5 equivalentes de borohidruro de sodio (0.029 g, 0.77 mmol) y se disolvieron en 15 mL de tetrahidrofurano anhidro (THF), la reacción se llevó a cabo en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente con agitación constante durante 4 h. Al finalizar la reacción, se agregaron 10 mL de ácido clorhídrico 1N, la mezcla se extrajo con CH₂Cl₂ (5 x 20 mL), posteriormente la fase orgánica se secó con sulfato de sodio y se evaporó el CH₂Cl₂ hasta sequedad, el crudo resultante se purificó por CC utilizando como fase estacionaria SiO₂ con tamaño de partícula 2 - 25 μm, la fase móvil empleada fue una mezcla de CHCl₃:MeOH (95:5). Se obtuvieron 0.065 g, de un sólido de color amarillo (**5**) (45%).

Síntesis de 3-metoxi-damnacantol.

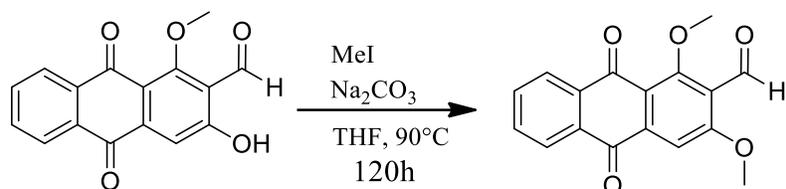


En un tubo Schlenk se agregaron 1 equivalente de 2-carbaldehido-1,3-dimetil-9,10-antracenediona (0.118 g, 0.39 mmol), 1.5 equivalentes de borohidruro de sodio (0.023 g, 0.6 mmol) y se disolvieron en 15 mL de THF, la reacción se llevó a cabo en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente con agitación constante durante 5 h. Al finalizar se agregaron 10 mL de una solución de ácido clorhídrico 1N, la mezcla de

reacción se extrajo con CH_2Cl_2 (5 x 20 mL), posteriormente la fase orgánica se evaporó hasta sequedad y se purificó por CC utilizando como fase estacionaria SiO_2 con tamaño de partícula 2 - 25 μm , la fase móvil empleada fue CH_2Cl_2 . Se obtuvieron 0.058 g, de un sólido de color amarillo (**9**) (50%).

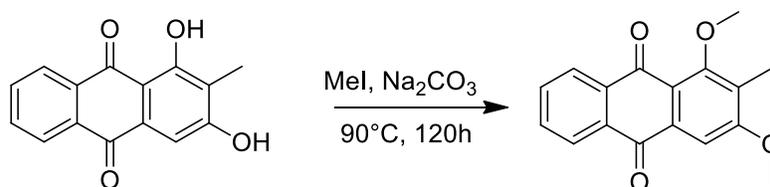
Reacciones de metilación

Síntesis de 3-metoxidamnacantal.



En un matraz de 25 mL se mezclaron 1 equivalente de damnacantal (0.2 g, 0.71 mmol), 60 equivalentes de ioduro de metilo (6.042 g, 42 mmol) y 19 equivalentes de carbonato de sodio (1.42 g, 13.49 mmol), en 15 mL de THF la reacción se llevó a cabo en atmósfera inerte durante 120 h a reflujo y agitación constante, la reacción fue detenida con 10 mL de agua destilada y se extrajo con CHCl_3 (4 x 10 mL), la mezcla fue evaporó hasta sequedad, obteniendo 0.18 g de un sólido de color morado (**8**) (85%).

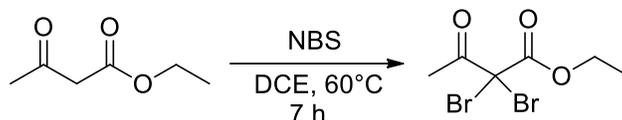
Síntesis de 1,3-dimetoxi-rubiadina.



En un matraz de 100 mL se mezclaron 1 equivalente de rubiadina (0.2 g, 0.78 mmol), 60 equivalentes de ioduro de metilo (6.645 g, 46.8 mmol) y 19 equivalentes de carbonato de sodio (1.57 g, 14.82 mmol) con 25 mL de THF, la reacción se llevó a cabo en atmósfera inerte durante 120 h a reflujo y agitación constante, al finalizar se detuvo con 10 mL de agua destilada y se extrajo con CHCl_3 (4 x 10 mL), la fase orgánica se evaporó hasta sequedad, para luego ser sometida a purificación por CC utilizando como fase estacionaria SiO_2 con tamaño de partícula 2 - 25 μm , la fase móvil empleada fue una mezcla de Hx: CH_2Cl_2 (1:1) de manera isocrática, obteniendo al final 0.11 g de un sólido de color amarillo (**12**) (60%).

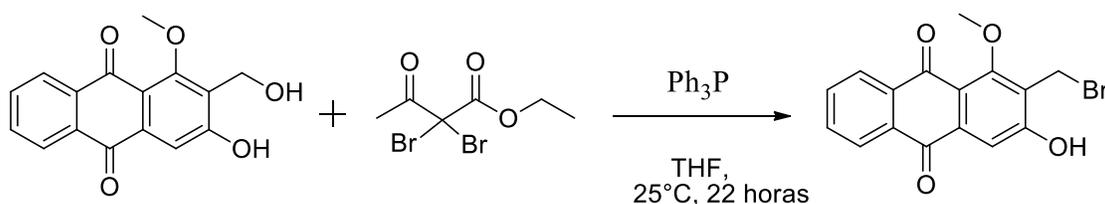
Reacciones de halogenación.

Síntesis de α,α -dibromoacetoacetato de etilo.



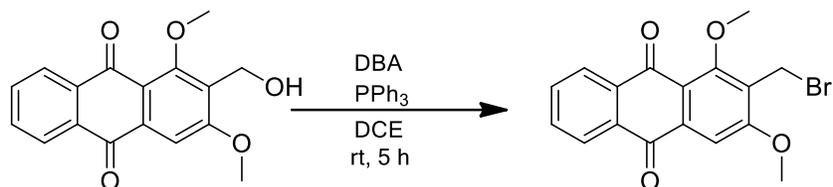
En un tubo Schlenk se agregaron 2.2 equivalentes de N-bromosuccinimida (1 g, 5.6 mmol), 1 equivalente de acetoacetato de etilo (AAcOEt) (0.335 mg, 2.58 mmol) y se disolvieron en 7 mL de dicloroetano (DCE), la reacción se llevó a cabo en atmósfera de nitrógeno bajo agitación constante y calentamiento a 60°C por 21 h. Al finalizar, el crudo de reacción se evaporó hasta sequedad y se purificó por CC utilizando como fase estacionaria SiO_2 con tamaño de partícula 2 - 25 μm , la fase móvil empleada fue una mezcla de CHCl_3 :AcOEt (10:1) de manera isocrática. Se obtuvieron 0.592 g, de un aceite de color amarillo (**6**) (80%).

Síntesis de 2-bromometil-3-hidroxi-1-metoxiantraquinona.



En un matraz de 10 mL se agregaron 1 equivalente de damnacantol (0.030 g, 0.1 mmol), 1.2 equivalentes de α,α -dibromoacetoacetato de etilo (0.034 g, 0.12 mmol), 2 equivalentes de trifenilfosfina (0.052 g, 0.2 mmol) y se disolvieron en 5 mL de THF, la reacción se llevó a cabo en agitación constante a temperatura ambiente y fue monitoreada por CCD durante 4 h en intervalos de 15 min. La reacción fue detenida con 5 mL de agua y posteriormente se extrajo con AcOEt (3 x 10 mL), por último la fase orgánica fue lavada con una solución salina, para luego ser secada a presión reducida, el crudo fue sometido a cromatografía en capa delgada preparativa, empleando una mezcla de CHCl_3 :AcOEt (**7**).

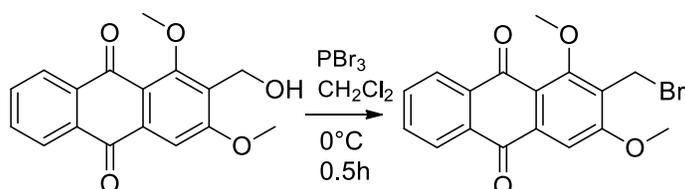
Síntesis de 2-bromometil-1,3-dimetoxiantraquinona.



En un matraz de 10 mL se agregaron 1 equivalente de 3-metoxi-damnacantol (0.030 g, 0.1 mmol), 1.2 equivalentes de α,α -dibromoacetoacetato de etilo (0.034 g, 0.12 mmol) y 1 equivalente de trifenilfosfina (0.026 g, 0.1 mmol), se disolvieron en 5 mL de C₂H₄Cl₂ anhidro en agitación constante y monitoreado mediante CCD durante 4 h por intervalos de 15 min. La reacción fue detenida con 5 mL de agua y posteriormente se extrajo con AcOEt (3 x 10 mL), por último la fase orgánica fue mezclada con una solución salina y posteriormente separada para llevar a sequedad, el crudo se purificó por cromatografía en capa delgada preparativa, empleando una mezcla de CHCl₃:AcOEt (10:1), obteniéndose 0.011 g de un sólido de color amarillo (**10**).

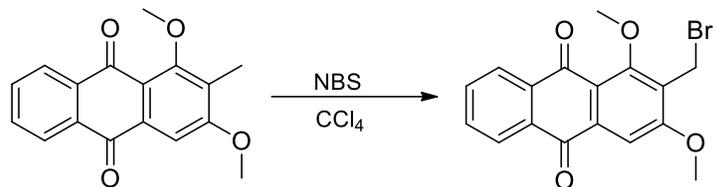
Síntesis de 2-bromometil-1,3-dimetilantraquinona.

Método A



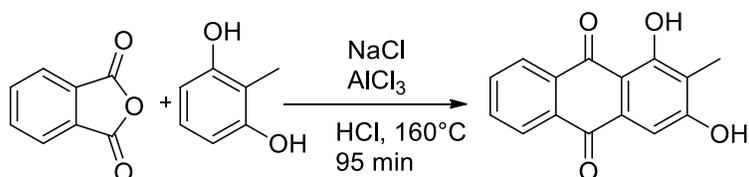
En un matraz de 25 mL se agregó 0.8 equiv de 2-hidroximetil-1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona (0.1 g, 0.33 mmol,) y se disolvieron en 10 mL de CH₂Cl₂, puesto en un baño de hielo-agua, posteriormente se agregó 1 equiv de tribromuro de fósforo (40 μ L, 0.42 mmol), la reacción se llevó a cabo durante 0.5 h en agitación constante a 0 °C. Al finalizar la reacción se detuvo con 10 mL de agua fría, se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 20 mL) y posteriormente se llevó a sequedad a presión reducida. La purificación del producto se llevó a cabo por CC utilizando como fase estacionaria SiO₂ con tamaño de partícula 2 - 25 μ m, la fase móvil empleada fue una mezcla de Hx:CH₂Cl₂ (3:7) obteniéndose 0.55 g de unos cristales de color amarillo (**10**) (46%).

Método B



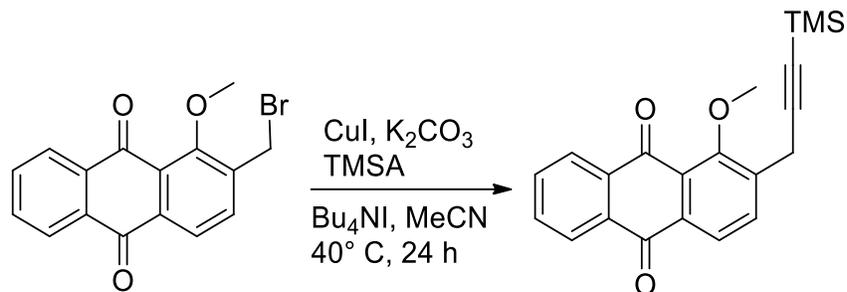
En un matraz de 25 mL se agregó 1 equivalente de 1,3-dimetil-O-rubiadina (0.11 g, 0.39 mmol), disuelto en 10 mL de tetracloruro de carbono (CCl₄), por último se añadió lentamente 3 equivalentes de *N*-bromosuccinimida (0.20 g, 1.17 mmol), la reacción se llevó a cabo en agitación constante y a reflujo por 42 h. Al finalizar el crudo de reacción fue llevado a sequedad a presión reducida y posteriormente diluido con 5 mL de CH₂Cl₂ y 5 mL de Hx, la mezcla se dejó evaporar para obtener unos cristales de color amarillo, al finalizar los cristales fueron lavados con agua destilada a ebullición y filtrados obteniendo 0.105 g (**13**) (80%).

Síntesis de rubiadina.



En un matraz balón de 100 mL se agregó 2.2 equivilantes de cloruro de aluminio seco (12 g, 90 mmol) y 1 equivalente de cloruro de sodio (2.39 g, 41 mmol) la mezcla se colocó a una temperatura entre 125–130 °C en agitación constante por 15 min una vez fundidas las sales, se adicionó una mezcla de 20 equivalentes de anhídrido ftálico (0.66 g, 4.45 mmol) y 20 equivalentes de resorcinol seco (0.50 g, 4.45 mmol). La mezcla se calentó a una temperatura de 165 °C por 1 h, al finalizar el tiempo se retiró de la placa el crudo de reacción y posteriormente se adicionó una mezcla de 25 mL de HCl con hielo, por último se llevó a reflujo por 20 min y posteriormente la reacción se dejó enfriar, se filtró a vacío y se extrajo con AcEOt (3 x 30 mL), la fase orgánica fue secada y sometida a CC utilizando como fase estacionaria SiO₂ con tamaño de partícula 2 - 25 µm, la fase móvil empleada fue una mezcla de Hx:AcOEt en dos proporciones (95:5 y 90:10) obteniendo al final 0.37 g de un polvo amarillo (**11**) (33%).

Síntesis del derivado acetilénico.



A una solución de 2-bromometil-1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona (0.05 g, 0.083mmol, 1 equivalente.), CuI (I) (0.0158 g, 0.083mmol, 1 equivalente.), carbonato de potasio (0.0214 g, 0.167 mmol, 2 equivalentes.), y yoduro de tetrabutilamonio (0.016 g, 0.083mmol, 1 equivalente.) en acetonitrilo seco (2 mL) se añadió trimetilacetileno (13.5 μL , 0.097 mmol, 1.18 equivalentes.), la reacción se llevó a cabo a 40°C en agitación constante durante 48 h. Al finalizar la mezcla se diluyó con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio (5 mL, 45 %), y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 20 mL), la fase orgánica se llevó sequedad a presión reducida y se purificó la mezcla por cromatografía en capa delgada preparativa, con una mezcla de Hx:DCM (3:7).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuantificación de damnacantal en extractos orgánicos de *Morinda panamensis* Seem por Resonancia Magnética Nuclear.

Previo a la purificación de las antraquinonas de cada extracto de *Morinda panamensis* por métodos cromatográficos se realizó la cuantificación por RMN, con el fin de elegir el extracto que contuviera la mayor proporción de los metabolitos de interés e iniciar el aislamiento y la purificación. La técnica implica el uso del espectro de RMN-¹H como herramienta analítica para el análisis cuantitativo de los protones intramoleculares; así como la ventaja para la estimación cuantitativa de la pureza de multicompuestos, sin necesidad de utilizar una referencia específica para cada compuesto. Para ello se obtuvieron los espectros de RMN-¹H de cada extracto mm, ms, cm y cs (Figura 9) y se realizó el análisis mediante las integrales de un estándar interno (nicotinamida) y la antraquinona mayoritaria (damnacantal). La señal del estándar interno (EI) elegido para la integración fue la de desplazamiento a 7.43 ppm correspondiente al protón de la posición 5 con acoplamiento *orto*, y de la antraquinona fue la señal con desplazamiento de 7.68 ppm para el protón aromático de la posición 4. Una vez obtenido los valores, fue necesario el uso de la Ecuación 1.^{44,45}

$$m_x = m_{ST} \frac{N_{ST}}{N_x} \frac{I_x}{I_{ST}} \frac{M_x}{M_{ST}} \quad \text{Ecuación 1}$$

m_x : miligramos del analito

m_{ST} : mg de EI

N_{ST} : Numero de protón del EI

N_x : Numero de protones del analito

I_x : Integral del analito

I_{ST} : Integral de EI

M_x : masa molar del analito

M_{ST} : masa molar del EI

Mediante la ecuación se sustituyeron los valores correspondientes y descritos en la fórmula, dando como resultado la cantidad en miligramos de la presencia del damnacantal en los extractos de *M. panamensis*, en la Tabla 1 se muestra los valores del porcentaje de damnacantal presente en cada extracto.

Tabla 1. Porcentaje de damnacantal en extractos de *Morinda panamensis*

Extracto	Integral extracto	Integral EI	% de damnacantal
mm	21.69	100	9.6%
ms	60.23	100	26.44%
cm	2.56	100	1.12%
cs	3.60	100	1.60%

mm (madera macerado), ms (madera soxhlet), cm (corteza macerado), cs (corteza soxhlet).

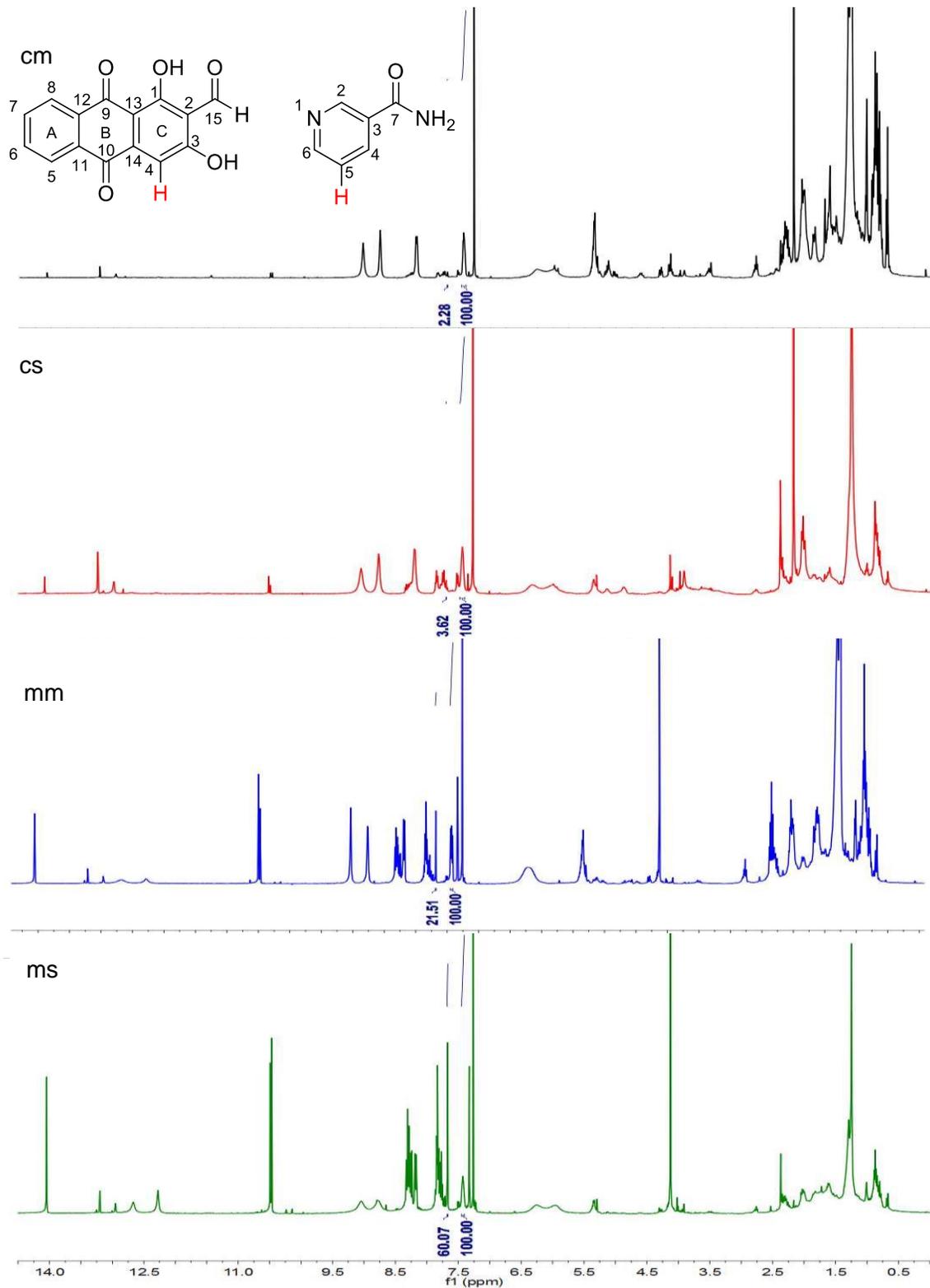


Figura 9. Espectros de RMN- ^1H q de los extractos de madera y corteza de raíz (CDCl_3). cm(corteza macerado), cs(corteza soxhlet), mm(madera macerado), ms(madera soxhlet)

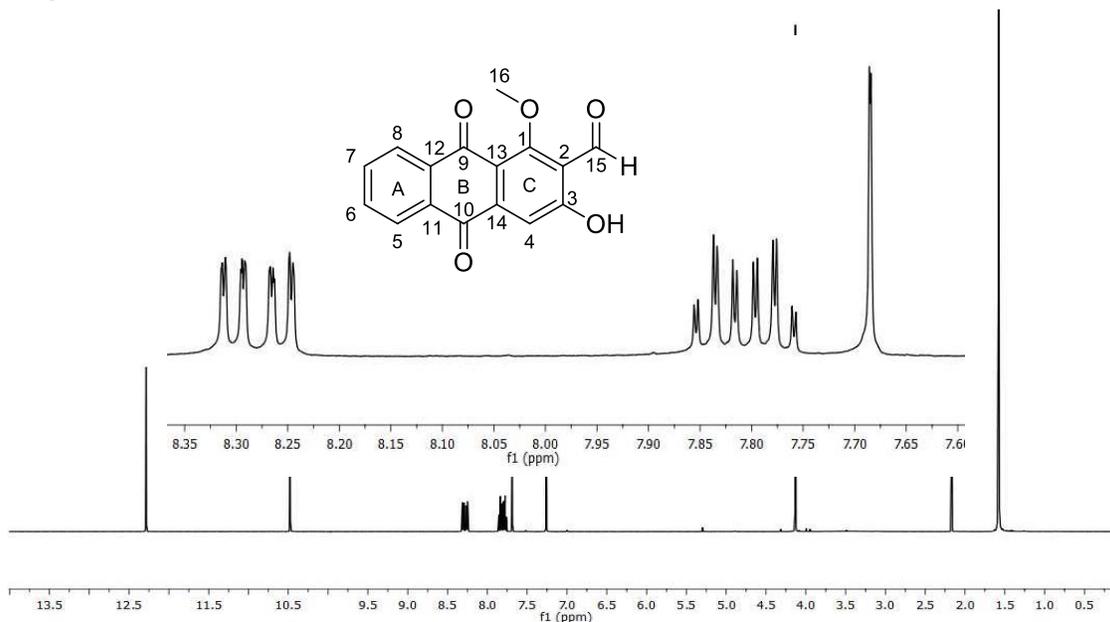
Los cálculos demuestran que entre los extractos, el correspondiente a la muestra de madera soxhlet contiene una mayor cantidad de la antraquinona deseada con un 26% mediante este resultado se decidió iniciar el proceso de purificación con dicho extracto.

La identificación de tres de las cuatro antraquinonas aisladas de *Morinda panamensis* se hizo por espectroscopía de RMN- ^1H y ^{13}C , incluyendo experimentos de secuencia de pulsos (DEPT 90) y en dos dimensiones, homo (COSY) y heteronucleares (HSQC y HMBC).

Identificación del compuesto 1 (damnacantal)

En el espectro de RMN- ^1H (Figura 10) se observaron señales características de un compuesto tipo antraquinona. Una señal simple a 4.22 ppm característica de un metoxilo, una señal doble a 7.66 ppm (d, 0.5 Hz,) atribuida al protón aromático de la posición 4 del sistema antracénico, también se observó la presencia de señales a 7.77 ppm (td, 7.45, 1.53 Hz) y 7.83 ppm (td, 7.50, 1.53, Hz) correspondientes a los protones 6 y 7 del anillo A de la antraquinona y dos señales dobles de dobles a 8.23 ppm (dd, 7.63, 1.34 Hz) y 8.28 (dd, 7.63, 1.34 Hz) correspondientes a H5 y H8 respectivamente, características de protones aromáticos con acoplamiento *orto* y *meta*. A frecuencias más altas se observaron dos señales simples, la primera a 10.46 ppm correspondiente al protón perteneciente a un grupo aldehído y la otra a 12.27 ppm correspondiente al protón del OH quelatado de la posición 3 del anillo C.

Figura 10. Espectro de RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) del compuesto 1 (damnacantal)



Los datos obtenidos del espectro de RMN-¹³C (Figura 11), revelaron la presencia de 14 átomos de carbono en la molécula, como se presentó en el espectro de protón anterior la molécula esperada es el damnacantal la cual contiene 16 átomos de carbono por lo que se piensa que los carbonos 1 y 3 así como 11 y 12 tienen desplazamientos similares y se encuentran sobrepuestos. Con ayuda del experimento DEPT 90° (Figura 11) se identificaron las señales correspondientes a seis metinos y comparándolo con el carbono se asignaron las señales de un metilo y nueve carbonos cuaternarios. Entre estas señales destacan las que se encuentran a 195.5 correspondiente a carbono de grupo aldehído, 182 y 182.1 ppm características a los desplazamientos de carbonilos de grupo cetona, 166.5 y 166.6 ppm correspondientes a carbonos unidos a oxígeno de hidroxilos, de igual manera se pueden observar las de carbonos cuaternarios aromáticos correspondientes a las posiciones 2, 11, 12, 13, 14, para los cuales dichos desplazamientos aparecen a 117.9, 132.2, 132.2, 141.5, 117.5 ppm.

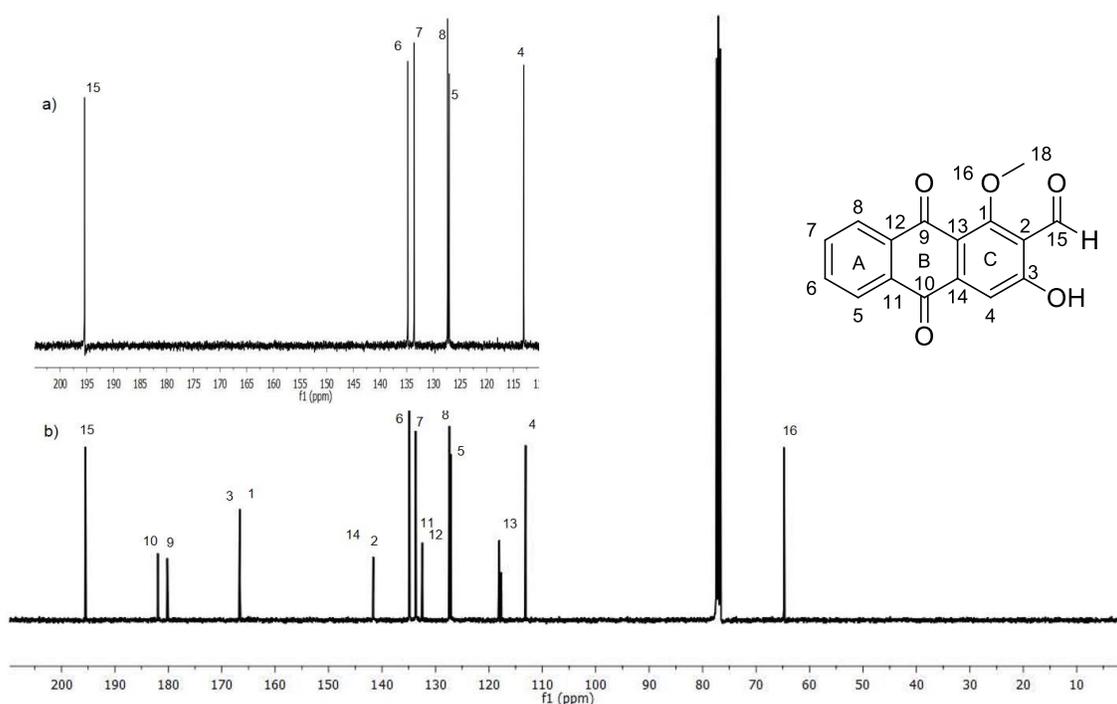


Figura 11. Espectro de RMN-¹³C (b) y experimento DEPT 90° (a) (100 MHz, CDCl₃) del compuesto 1 (damnacantal)

Se realizaron los experimentos bidimensionales de correlación homo y heteronuclear. El experimento COSY (Figura 12) revela una correlación a larga distancia entre los protones H-4 (δ 7.66) y H-15 (δ 10.46), corroborando así la señal doble que presentan. En el experimento HSQC que nos revela las correlaciones a un enlace entre protón y carbono (Figura 13), se logró observar la correlación de las señales de los protones aromáticos con los carbonos C-4, C-5, C-6, C-7 y C-8 (δ_c 113, 127, 134.8, 133.6 y 127.3 respectivamente). Por otro lado también se observó la correlación del protón del aldehído con el carbono C-15 (δ_c 195.5) y los protones del carbono unido a oxígeno C-16 (δ_c 64.1).

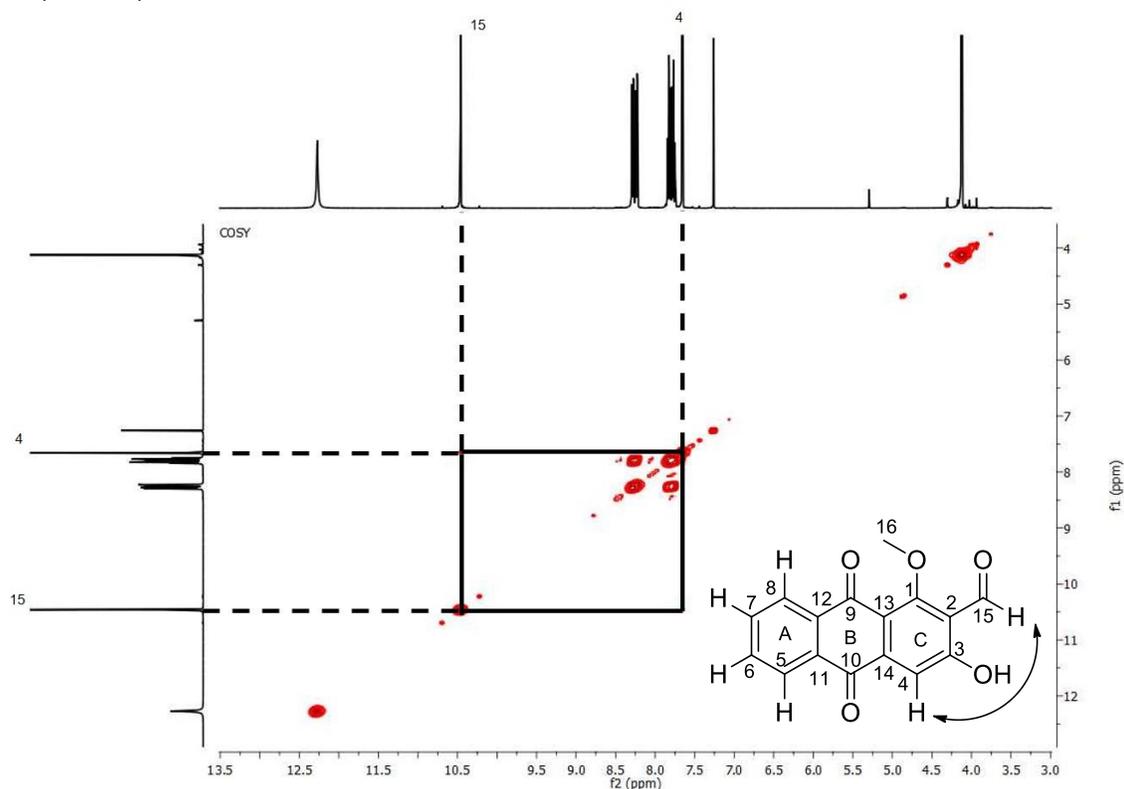


Figura 12. Experimento COSY del compuesto 1(damnacantal)

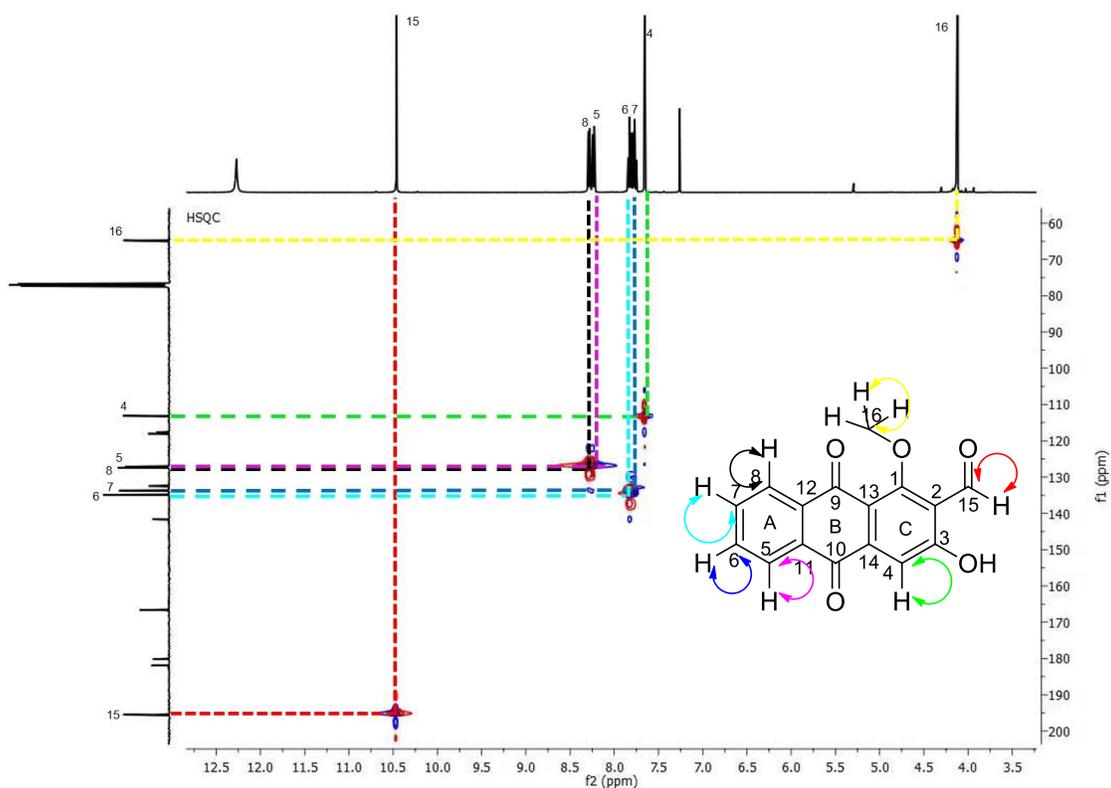


Figura 13. Experimento HSQC del compuesto 1 (damnacantal)

El experimento HMBC (Figura 14) reveló los acoplamientos a larga distancia de C-1 (δ 166.5) con los protones del metoxilo (δ 4.12), y con el protón del aldehído H-15 (δ 10.46). Mientras que C-2 (δ 118) presentó acoplamientos con los protones H-15 (δ 10.46), H-4 (δ 7.66) y del OH de la posición 3 (δ 12.3). De la misma manera se observaron para C-3 (δ 166.6) correlaciones con H-15 (δ 10.46), H-4 (δ 7.66) y con el protón del hidroxilo en la posición tres (δ 12.3). Por otra parte se observaron acoplamientos de C-9 (δ 180.1) con H-8 (δ 8.22) de C-10 con H-5 (δ 8.24) y H-4 (δ 7.66), de C-13 (δ 117.6) con H-4 (δ 7.66) y de C-14 con H-4 (δ 7.66) y el protón del hidroxilo de la posición tres (δ 12.27).

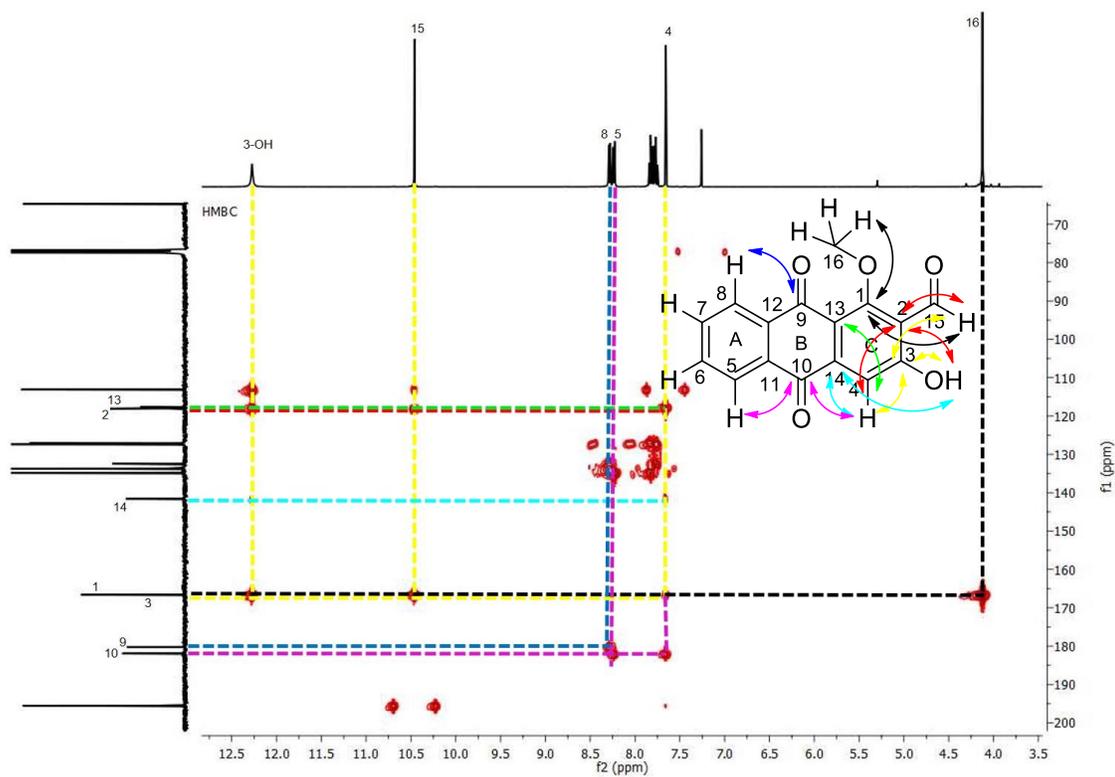


Figura 14. Experimento HMBC del compuesto 1 (damnacantal)

Con ayuda de los experimentos ya descritos se realizó la asignación del compuesto 1 como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Datos espectroscópicos de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) y ¹³C (100 MHz, CDCl₃) del compuesto I.

Posición	δ (¹ H)	δ (¹³ C)
1	---	166.5*
2	---	117.9
3	---	166.5*
4	7.66. (d, J = 0.6 Hz)	113.0
5	8.24 (dd, 7.55, 1.27 Hz)	127.1
6	7.83 (td, 1.53, 7.45 Hz)	134.8
7	7.77 (td, 1.53, 7.50 Hz)	133.6
8	8.28 (dd, 7.46, 1.27 Hz)	127.3
9	---	180.1
10	---	182.1
11	---	132.4*
12	---	132.3*
13	---	117.6
14	---	141.6
15	10.46 (d, J = 0.6 Hz)	195.5
16	4.12 s	64.2
OH (C-3)	12.27 s	---

s (simple), d (doble), dd (doble de dobles), td (triple de doble), J (constante de acoplamiento), δ (desplazamiento), *(señales sobre puestas)

Identificación del compuesto 2 (1-hidroxi-2-metilantraquinona)

El compuesto 2 (Figura 15), fue sólido de color amarillo y mediante su análisis por RMN-¹H, se observó una señal simple a 12.85 ppm correspondiente al protón quelatado de la posición uno, de igual manera se observaron dos dobles a 7.45 y 7.65 ppm (d, 7.67 Hz) correspondientes a protones en las posiciones tres y cuatro respectivamente con acoplamientos *meta*, a frecuencias más altas se observan dos señales doble de dobles simétricas con desplazamientos a 8.21 y 8.23 ppm, estas señales son atribuidas a las posiciones cinco y ocho correspondientes, siguiente a estos desplazamiento se pudo observar dos señales triples de dobles a 7.75 y 7.74 ppm (td, 1.73, 7.45 Hz) correspondientes a protones en el anillo A de las posiciones seis y siete ambos presentando acoplamientos *orto* y *meta*. Por último se observa una señal simple a 2.32 ppm con una integral equivalente a tres protones correspondiente a un metilo aromático ubicado en el anillo C.

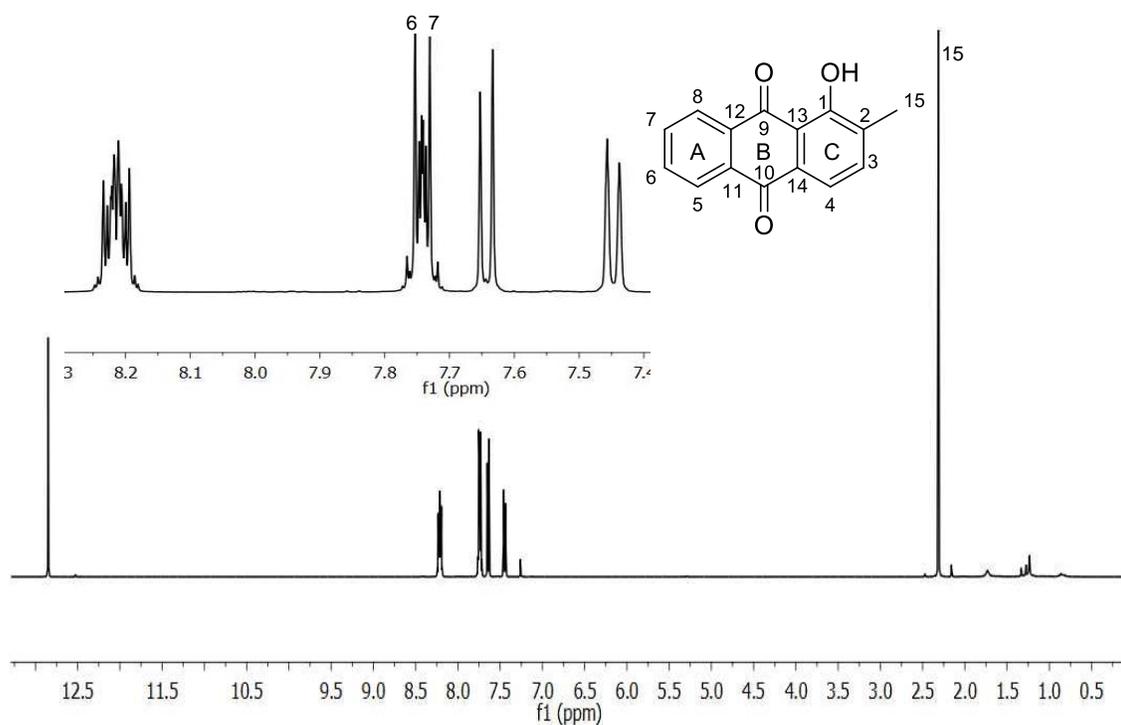


Figura 15. Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) del compuesto 2 (1-hidroxi-2-metilantraquinona)

El espectro de RMN-¹³C (Figura 16), reveló la presencia de 15 átomos de carbono en la molécula. Se realizó el experimento DEPT 90° (Figura 16) identificándose las señales correspondientes a seis metinos, un metilo y ocho carbonos cuaternarios. Entre las señales más desplazadas se pueden observar las de carbonilos de grupo cetona a 188.6 y 182.1 ppm y la del carbono unido a oxígeno de grupo hidroxilo a 160.8 ppm. De igual manera se pueden observar señales atribuidas a los carbonos cuaternarios aromáticos de las posiciones 2, 11, 12, 13, 14, para los cuales dichos desplazamientos aparecen a 131.1, 133.6, 133.1, 134.7 y 115 ppm respectivamente.

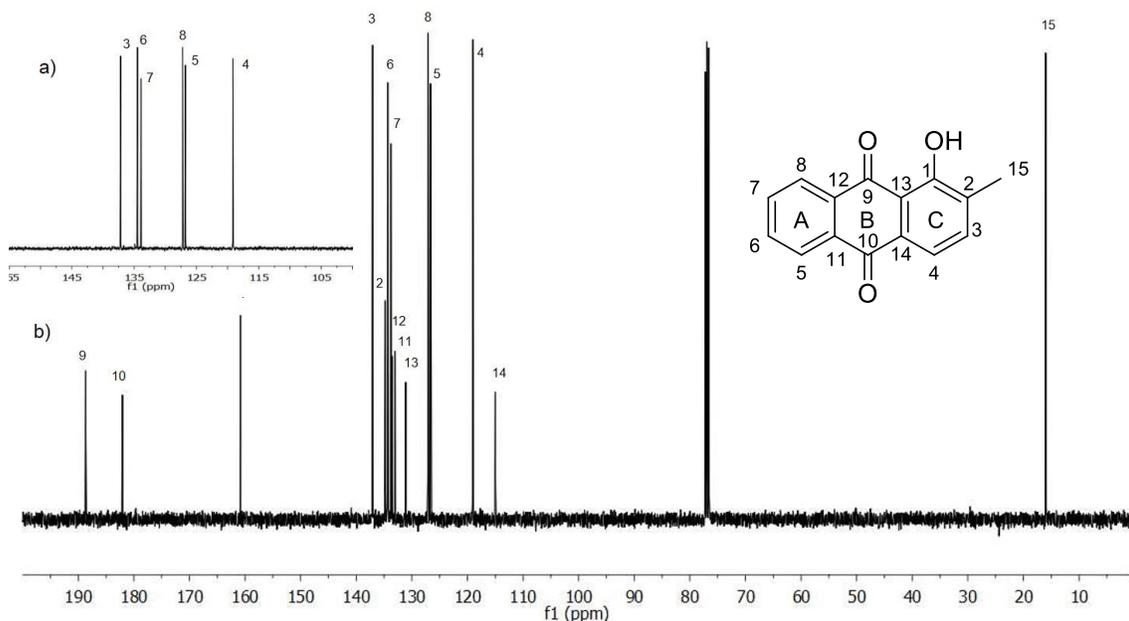


Figura 16. Espectro de RMN-¹³C (b) y experimento DEPT 90° (a) (100 MHz, CDCl₃) del compuesto 2 (1-hidroxi-2-metilantraquinona)

Al igual que con el compuesto 1 se realizaron para el compuesto 2 los experimentos bidimensionales de correlación heteronuclear. El experimento HSQC (Figura 17) presentó las señales para C-5, C-6, C-7 y C-8 del anillo A con desplazamientos a 126.8, 134.5, 133.9 y 126.7 ppm respectivamente y las señales de C-3, C-4 y C-15 del anillo C a 133.1, 119.1 y 64.1 ppm respectivamente, todas estas posiciones se corroboraron debido a que presentaron correlaciones a un enlace con las señales designadas en el espectro de protón.

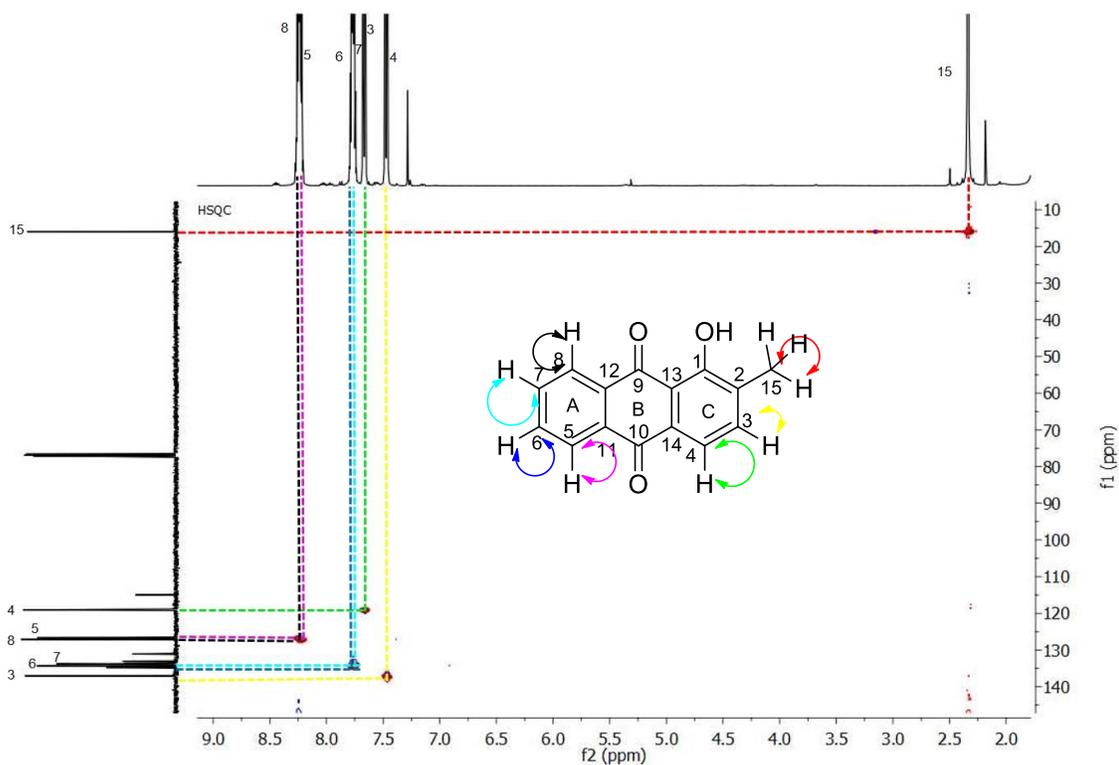


Figura 17. Experimento HSQC del compuesto 2 (1-hidroxi-2-metilantraquinona)

Para el experimento HMBC (Figura 18) se observó las interacciones a larga distancia de C-1 (δ 160.8) con los protones H-15 (δ 2.31) y con el protón H-3 (δ 7.45), C-2 (δ 131) presentó acoplamiento con los protones H-15 (δ 2.31), H-3 (δ 7.45) y H-4 (δ 7.65). De igual manera se observaron los acoplamiento de los carbonos cuaternarios C-11 (δ 133) con H-5 (δ 8.21), H-8 (δ 8.23) y H-6 (δ 7.75), C-12 (δ 133.5) con H-5 (δ 8.21), H-8 (δ 8.23) y H-7 (δ 7.74), C-13 (δ 134.7) con H-4 (δ 7.65), C-14 (δ 114.9) con H-4 (δ 7.65) y H-3 (δ 7.45), por último se observaron las interacciones de los carbonilos C-9 (δ 189) con H-8 (δ 8.23) y H-4 (δ 7.65), así como C-10 (δ 182.2) con H-5 (δ 8.21) y H-4 (δ 7.65).

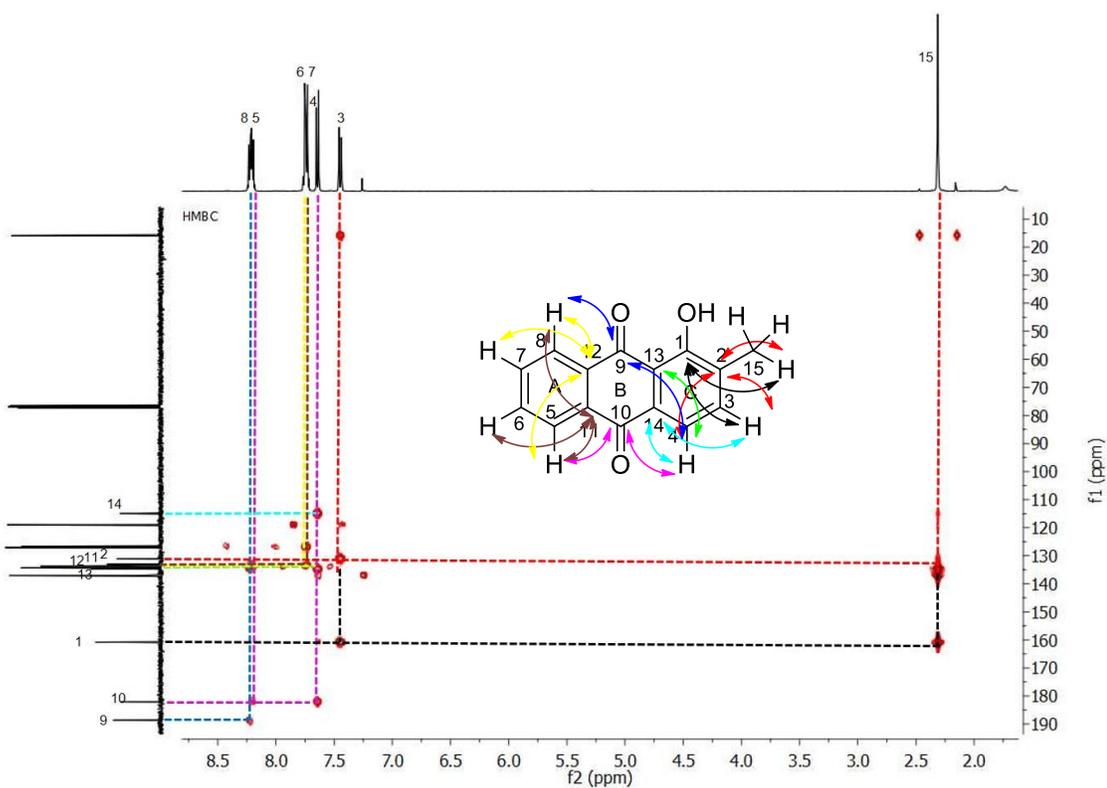


Figura 18. Experimento HMBC del compuesto 2 (1-hidroxi-2-metilantraquinona)

Tabla 3. Datos espectroscópicos de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) y ¹³C (100 MHz, CDCl₃) del compuesto 2 (1-hidroxi-2-metilantraquinona).

Posición	δ (¹ H)	δ (¹³ C)
OH (C-1)	12.85 s	160.8
2	---	131.0
3	7.45 (d, $J = 7.67$ Hz)	133.9
4	7.64 (d, $J = 7.67$ Hz)	119.1
5	8.22 (dd, $J = 2.35, 4.73$ Hz)	126.7
6	7.74 (td, $J = 1.73, 7.45$ Hz)	134.4
7	7.75 (td, $J = 1.73, 7.45$ Hz)	133.9
8	8.22 (dd, $J = 2.35, 4.73$ Hz)	126.7
9		188.6
10		182.0
11		133.0
12		133.5
13		134.7
14		114.9
15	2.31 s	15.9

s (simple), d (doble), m (múltiples), dd (doble de dobles), td (triple de doble), J (constante de acoplamiento), δ (desplazamiento).

Producto 3 (nor-damnacantal)

El compuesto III se obtuvo como un sólido de color naranja, este fue analizado por RMN-¹H (Figura 19). Tras el análisis se pudo observar señales características de un compuesto de tipo antraquinona, una señal doble a 7.34 ppm (d, 0.6 Hz) atribuida al protón aromático de la posición cuatro del sistema antracénico, también se observó la presencia señales a 7.85 ppm (td, 7.45, 1.53 Hz) y 7.83 ppm (td, 7.50, 1.53 Hz) correspondientes a los protones seis y siete del anillo A de la antraquinona. Las siguientes señales observadas fueron un par doble de dobles a 8.29 (dd, 7.63, 1.34 Hz) y 8.32 ppm (dd, 7.63, 1.34 Hz) correspondientes a las posiciones cinco y ocho respectivamente, característicos de protones aromáticos con acoplamientos *orto* y *meta*. A frecuencias más altas se observó una señal doble a 10.50 ppm (d, 0.6 Hz) correspondiente a protón de grupo aldehído y dos señales dobles a 12.68 y 14.06 ppm perteneciente al protones del OH quelatados de la posición tres y uno del anillo C respectivamente.

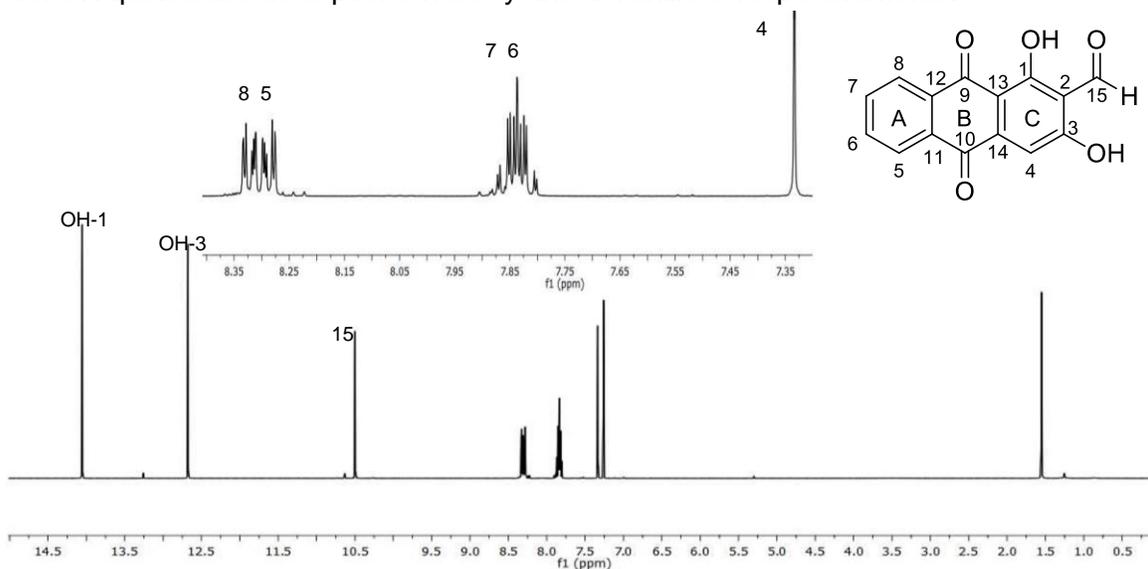


Figura 19. Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) del compuesto 3 (nor-damnacantal).

Los datos obtenidos del espectro de RMN-¹³C del compuesto III (Figura 20), reveló la presencia de 15 átomos de carbono en la molécula. Se realizó el experimento DEPT 90° (Figura 20) identificándose las señales correspondientes a seis metinos y nueve carbonos cuaternarios. En el espectro de ¹³C se observó a 193.8 ppm una señal correspondiente a carbono de grupo aldehído, otras dos señales menos desplazadas a 186.7 y 181.3 ppm son características a desplazamientos de carbonilos de grupo cetona, de igual manera se presentaron señales a 169.1 y 168 ppm que corresponden a carbonos unidos a oxígeno, por último se observaron señales carbonos cuaternarios aromáticos correspondientes a las posiciones 2, 11, 12, 13 y 14 con desplazamientos a 109, 133.1, 133.2, 139.4, 112 ppm.

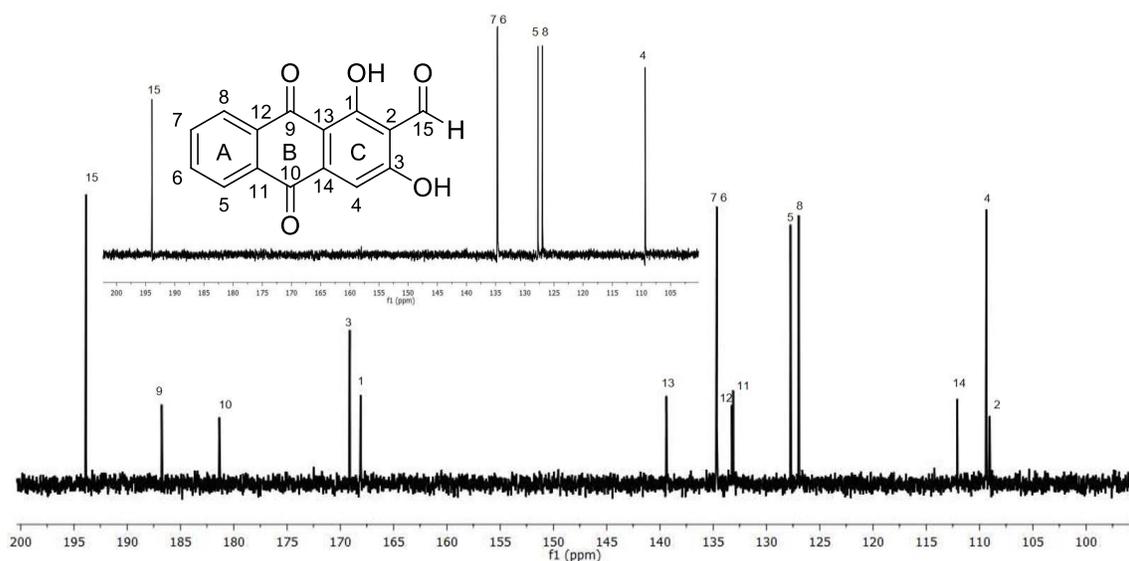


Figura 20. Espectro de RMN- ^{13}C (b) y experimento DEPT 90° (a) (100 MHz, CDCl_3) del compuesto 3 (nor-damnacantal).

Se realizaron los experimentos bidimensionales de correlación homo y heteronuclear. A través del experimento COSY (Figura 21) se confirmó la correlación entre los protones de las señales 7.33 y 10.50 ppm, correspondiente a un acoplamiento a larga distancia entre H-4 y H-15. El experimento HSQC (Figura 22), mostró que las señales de C-5, C-6, C-7 y C-8 del anillo A corresponden a desplazamientos en 127.73, 134.7, 134.6 y 126.9 ppm respectivamente, de la misma manera las señales de C-4 y C-15 del anillo C corresponden a los desplazamientos en 113.3 y 64.1 ppm respectivamente, se confirmaron las posiciones debido a que presentaron correlaciones a un enlace con las señales respectivas designadas en el espectro de protón.

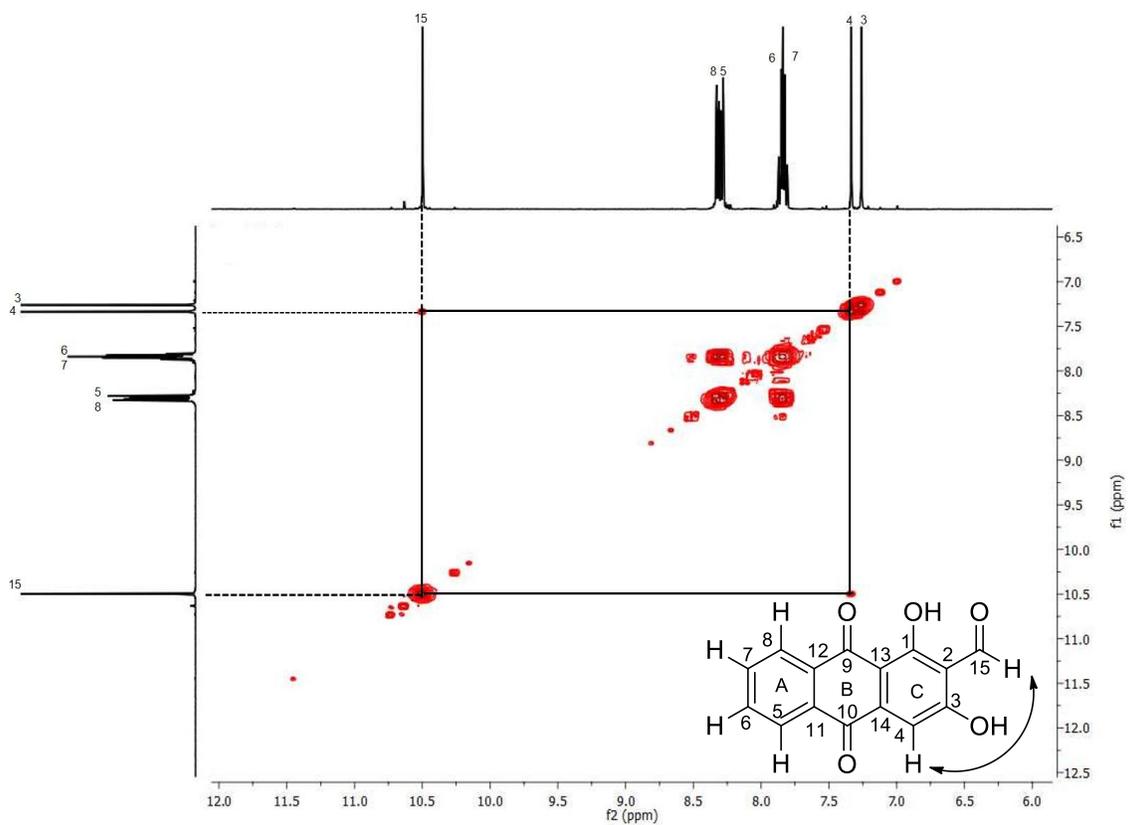


Figura 21. Experimento COSY del compuesto 3 (nor-damnacantal).

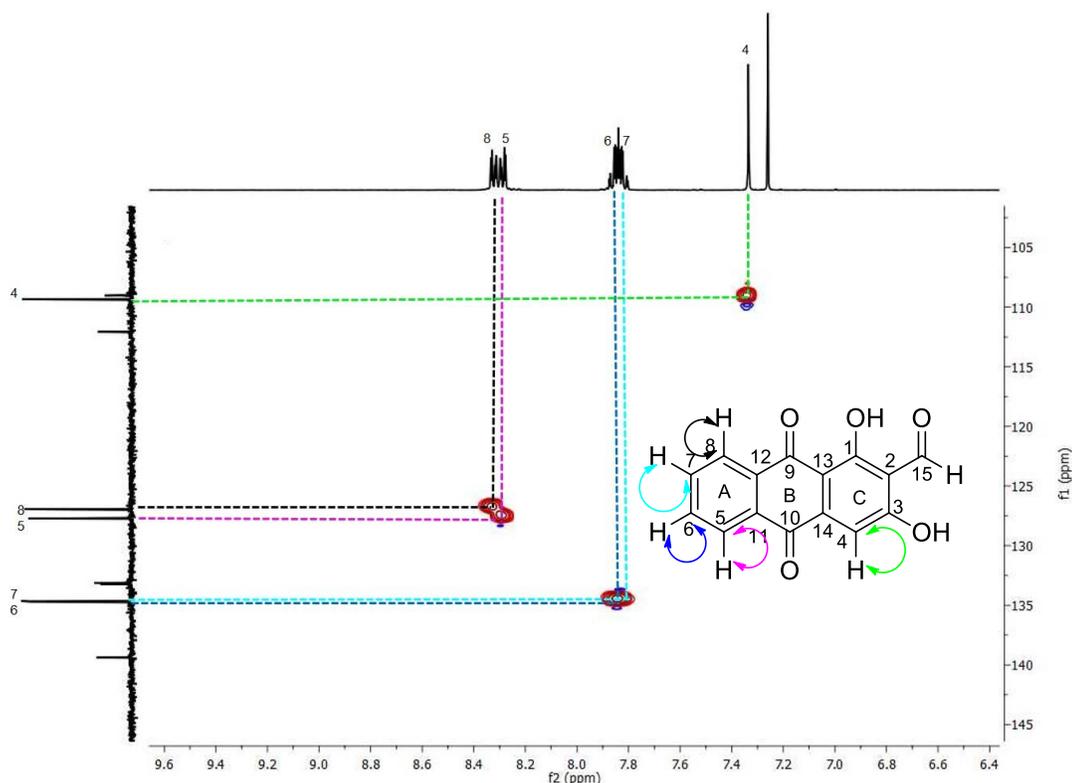


Figura 22. Experimento HSQC del compuesto 3 (nor-damnacantal).

Por último el experimento HMBC (Figura 23) presentó las interacciones a larga distancia de C-1 (δ 168) con el protón del aldehído H-15 (δ 10.50) y con el protón del grupo OH de la posición uno (δ 14.06), la siguiente correlación corresponde a C-2 (δ 109) con los protones de hidroxilos de la posición uno (δ 14.06) y tres (δ 12.68), así como H-15 (δ 10.50) y H-4 (δ 7.34). De la igual manera se observaron para C-3 (δ 169.1) correlaciones con H-15 (δ 10.50), H-4 (δ 7.34) y con el protón del hidroxilo en la posición tres (δ 12.6). La siguientes correlaciones observadas fueron de C-9 (δ 180.16) con H-8 (δ 8.32) y la de C-10 con H-5 (δ 8.29) y H-4 (δ 7.34), por último se observaron las interacciones de C-11 (δ 133.1) con H-5 (δ 8.29), H-6 (δ 7.85) y H-8 (δ 8.32), así como las correlaciones de C-12 con H-5 (δ 8.29), H-8 (δ 8.32) y H-7 (δ 7.82), C-13 (δ 139.4) con H-4 (δ 7.34) y C-14 (δ 112) con el protón H-4 (δ 7.34).

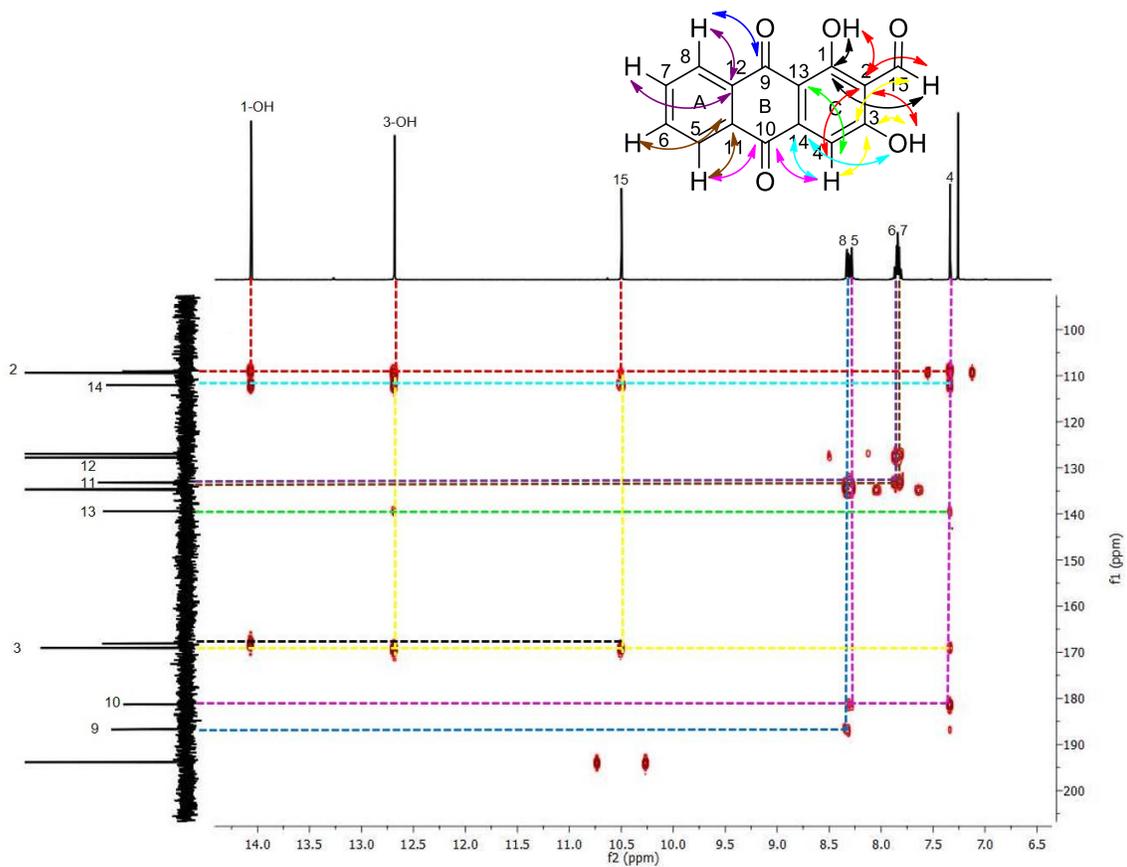


Figura 23. Experimento HMBC del compuesto 3 (nor-damnacantal).

Tabla 4. Datos espectroscópicos de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) y ¹³C (100 MHz, CDCl₃) para el compuesto 3 (nor-damnacantal)

Posición	δ (¹ H)	δ (¹³ C)
1		168.0
2		109.0
3		169.1
4	7.34 s	113.3
5	8.12 (dd, <i>J</i> = 7.63, 1.34 Hz)	127.7
6	7.85 (td, <i>J</i> = 7.45, 1.53Hz)	134.7
7	7.92 (td, <i>J</i> = 7.45, 1.53Hz)	134.6
8	8.16 (dd, <i>J</i> = 7.63, 1.34 Hz)	126.9
9		186.7
10		181.3
11		133.1
12		133.2
13		139.4
14		112.0
15	10.37 s	193.8
OH (C-1)	14.06 s	---
OH (C-3)	12.48 s	---

s (simple), dd (doble de dobles), td (triple de doble), *J* (constante de acoplamiento), δ (desplazamiento).

Producto 4 (morindona)

El sólido obtenido presentó un color anaranjado y fue analizado por RMN-¹H (Figura 24). Como resultado se observaron señales características de un compuesto de tipo antraquinona, a 2.48 ppm se observa una señal simple integrando para tres protones de un metilo aromático, así como cuatro señales dobles en la región aromática, 7.25, 7.52, 7.75 y 7.85 ppm, indicando de esta manera que los anillos A y C se encuentran sustituidos, y por último dos señales a 12.97 y 13.21 ppm características de protones quelatados.

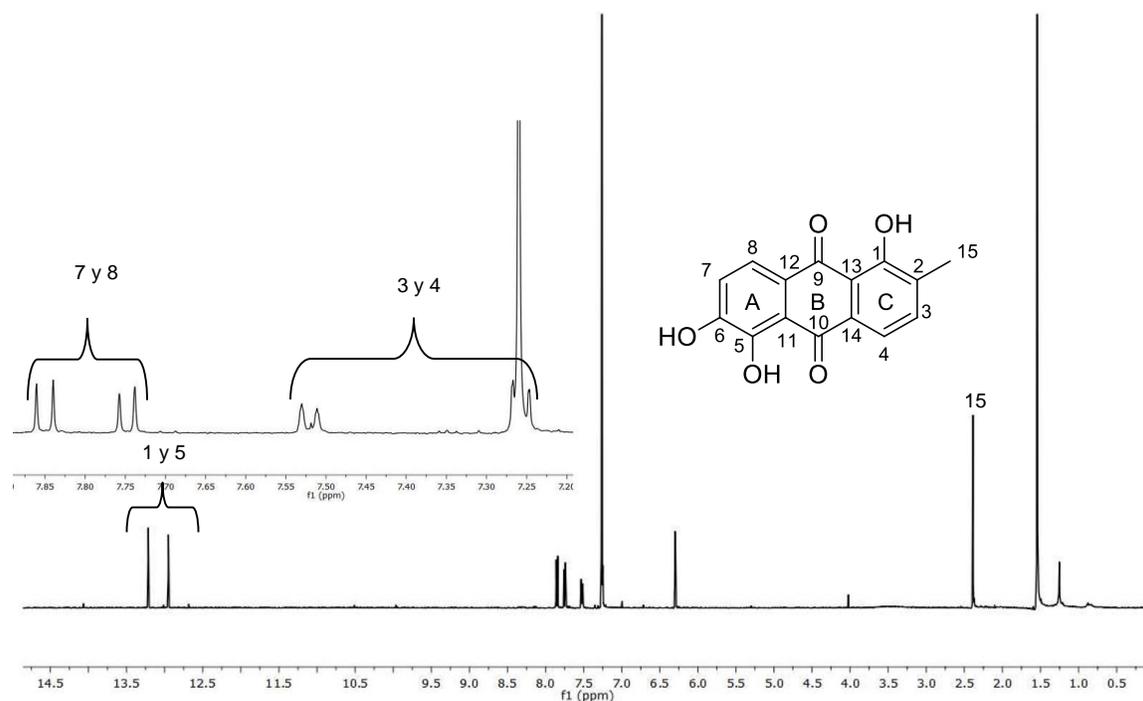


Figura 24. Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) del compuesto 4 (morindona).

Productos de la síntesis de derivados de antraquinonas

Se inició la síntesis de derivados de antraquinonas, partiendo del damnacantal siendo esta la antraquinona con la que se contaba con mayor cantidad. El primer paso de la síntesis consistió en la reducción del grupo aldehído de la posición dos a un alcohol primario, como se observa en la Figura 25.

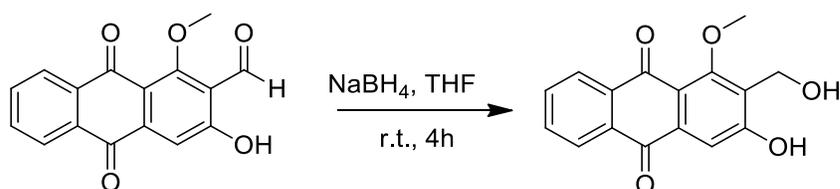


Figura 25. Reacción de reducción para la síntesis de 5 (damnacantol).

A partir de la metodología reportada en la literatura se realizaron pruebas con diferentes proporciones del agente reductor en relación a la antraquinona, así como el tiempo de reacción como se observa en la tabla 5.²¹

Tabla 5. Condiciones de reacción de la reducción de damnacantal.

Entrada	Damnacantal (equiv)	NaBH ₄ (equiv)	Tiempo (horas)	Rendimiento ^a
1	1	1	1	30
2	1	1	4	45
3	1	1.5	4	50
4	1	2	4	50

a: rendimiento aislado

Una vez realizadas las pruebas en las variaciones de condiciones la mejor fue la que se observa en la entrada tres, aunque el rendimiento fue del 50% es importante aclarar que parte del producto reducido no se pudo de extraer de la fase acuosa, esto se reveló mediante un análisis de cromatografía en capa delgada comparando la fase acuosa, la fase orgánica, el producto I y el estándar del compuesto reducido. La fase orgánica fue purificada como se menciona en la metodología y analizada por RMN-¹H (Figura 26), se compararon los espectros de protón del sustrato (1) y el producto (5).

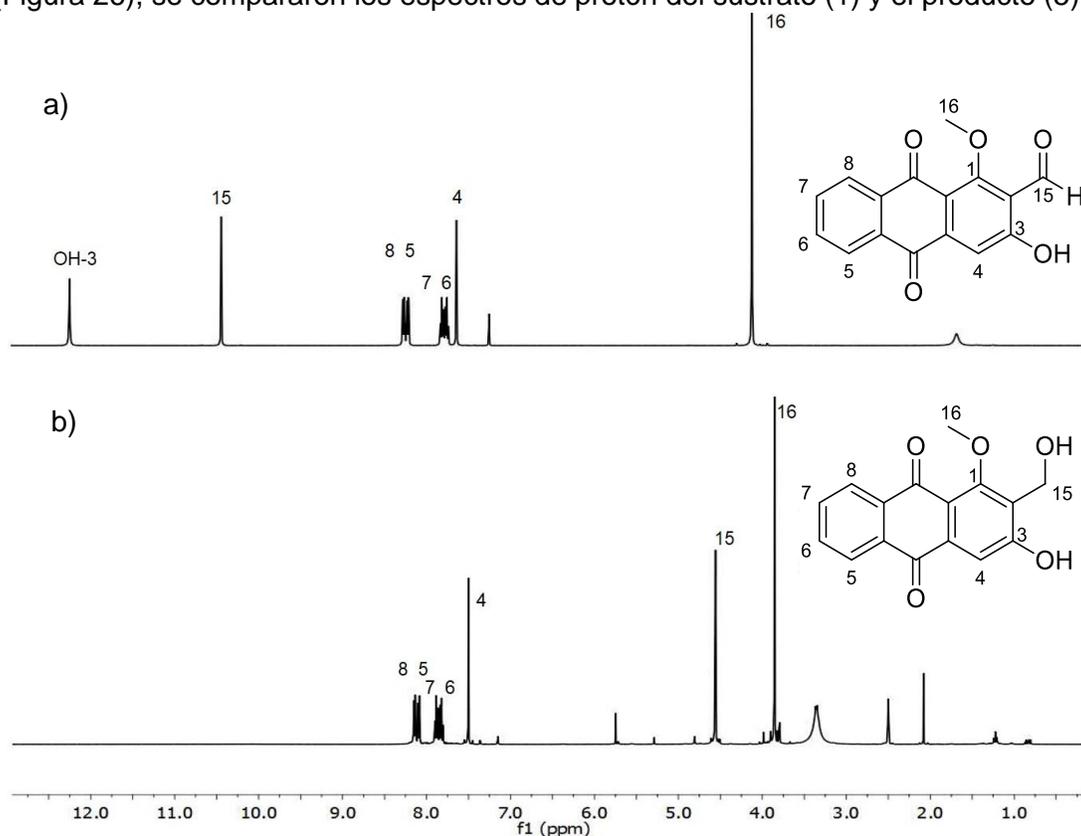


Figura 26. Espectros de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) de reacción de reducción. a) 1 (damnacantal) y b) 5 (damnacantol).

En los espectros de RMN-¹H se observaron las señales características de un compuesto tipo antraquinona, en la zona comprendida de 7 a 8.5 ppm se encuentran las señales correspondientes a protones aromáticos que tuvieron pequeñas diferencias en valores de desplazamiento químico del sustrato al producto, de igual manera se observó la desaparición de las dos señales simples entre 10 -12 ppm para el producto que correspondían antes al protón del aldehído y el protón quelatado de la posición tres y a su vez se puede observar la señal simple que corresponde al metileno como resultado de la reducción del aldehído a 4.56 ppm.

De posteriormente se analizó el producto por RMN-¹³C (Figura 27), el espectro reveló el cambio de desplazamiento para el carbono de la posición C-15 cambiando de 198 ppm a 52 ppm confirmando así la reducción de la molécula, las señales restantes permanecen similares en orden aunque con pequeñas variaciones en sus desplazamientos.

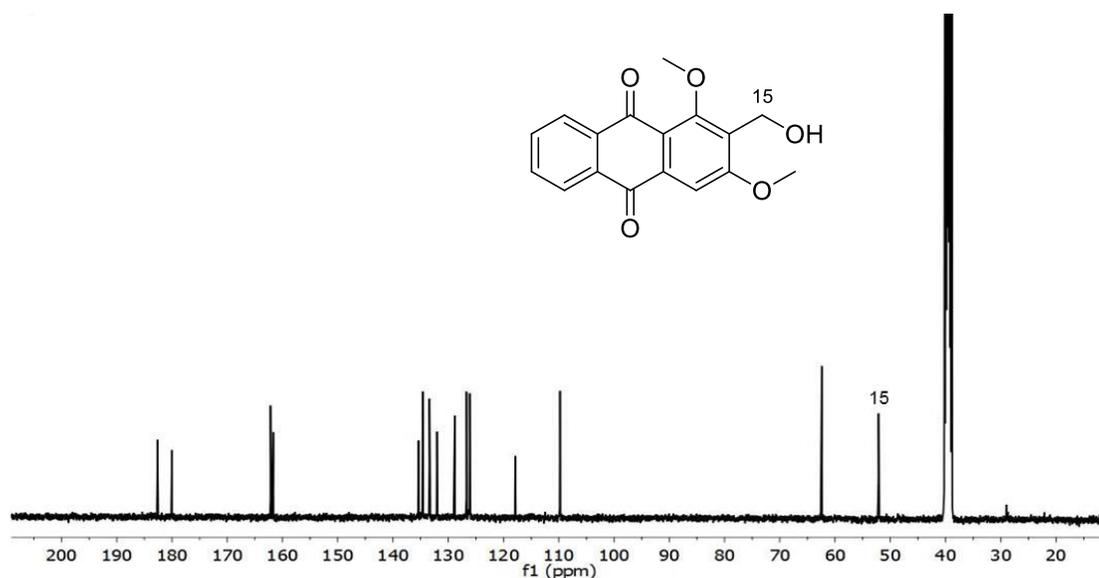


Figura 27. Espectro de RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) del producto 5 (damnacantol)

De igual manera por el análisis de masas mediante la técnica de impacto electrónico (Figura 28) se corroboró el peso del compuesto esperado.



Figura 28. Espectro de masas (IE, 70 ev) del producto 5 (damnacantol)

La obtención de este alcohol primario tiene como fin facilitar el siguiente paso de reacción, llevando a cabo una halogenación; para ello una alternativa es el uso de haluros de fosforo bajo condiciones de reacción duras, a bajas temperaturas y tiempos prolongados. Los haluros de alquilo son otro importante grupo de bloques de construcción con mayor aplicación en química orgánica, sin embargo con el fin de trabajar con condiciones más suaves con respecto a tiempo y temperatura, se recurrirá a un método alternativo mediante la reacción de Appel, que utiliza sistemas combinados de trifenilfosfina con una fuente de halógeno electrofílico, tales como CCl_4 , CBr_4 o I_2 .⁵¹

La reacción de Appel es el método más utilizado en la síntesis orgánica debido a sus condiciones de conveniencia, suavidad y fiabilidad. Sin embargo, las fuentes de halógeno electrofílico utilizadas para esta reacción son más bien limitadas y tóxicas como son el CCl_4 y CBr_4 . Ante esto se propuso una alternativa explorada en la literatura, usando los compuestos α,α -dibromo- β -dicarbonilo como una fuente bromo electrofílico en la reacción de Appel según lo reportado por Xiao y colaboradores.⁵²

Para ello primero se realizó la preparación de esta fuente de halogenación, mediante la síntesis del α,α -dibromoacetoacetato de etilo (Figura 29).

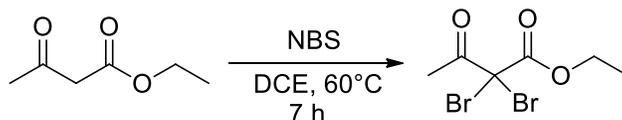


Figura 29. Síntesis de 6 (DBA) mediante la reacción de Appel

Evaluando las condiciones de reacción acorde a lo reportado en la literatura e intentando obtener el mayor rendimiento de formación de la fuente de halogenación se evaluaron las proporciones y los tiempos de reacción como se muestra en la tabla 6.³

Tabla 6 Condiciones de reacción para la síntesis del DBA

Entrada	AAcOEt (equiv)	NBS (equiv)	Tiempo (horas)	Rendimiento ^a
1	1.5	2.5	7	45
2	1.5	2.5	14	60
3	1.5	1.5	21	80
4	2.5	1	21	30
5	1	2.5	21	60
6	1.5	1.75	21	40

a: rendimiento aislado

Una vez analizadas las reacciones y asegurándose de la desaparición de los sustratos y la formación del producto se procedió a la purificación como ya ha sido descrita. El producto resultante fue un líquido viscoso de color amarillo el cual fue analizado por RMN-¹H obteniéndose el espectro (b) y comparándose con el acetoacetato de etilo (a) como se observa en la Figura 30.

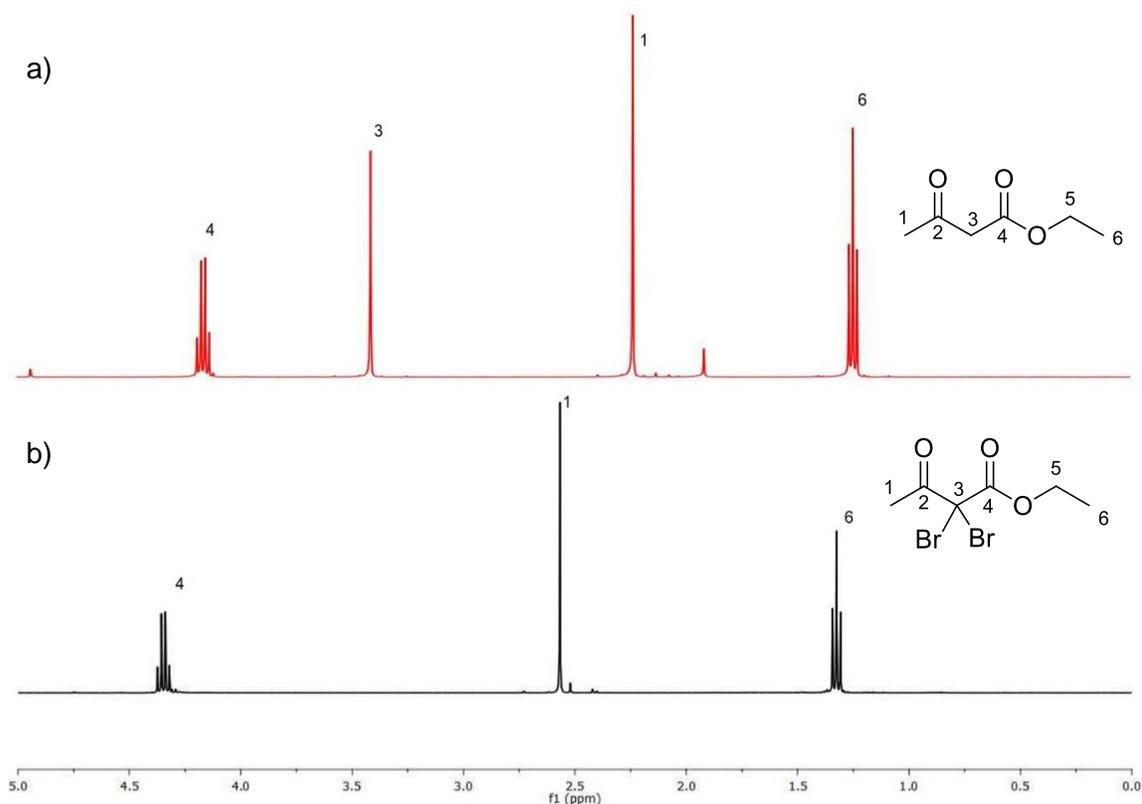


Figura 30. Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) del acetoacetato de etilo (a) y del producto 6 (a) (DBA).

Como se observa en el espectro de RMN-¹H (b) la señal correspondiente al metileno de la posición tres ha desaparecido, esto se debe a la sustitución de los protones por dos bromos, aunado a esto se observa el desplazamiento de las señales correspondientes a la posición seis con una multiplicidad cuádruple a 4.33 ppm (q, 7.04 Hz), la posición cuatro a 1.33 ppm (t, 7.22 Hz) correspondiente al metilo de la posición beta al oxígeno del éster, que de igual manera acopla con el metileno vecinal y por ultimo una señal simple a 2.57 ppm característico de protones alfa a carbonilo, estos desplazamientos varían en comparación con las de las señales del sustrato de partida debido a la adición de los bromos, confirmando así la obtención del producto esperado. Por otra parte con el fin de confirmar la observado en RMN se realizó un análisis de masas por la técnica de impacto electrónico dando como resultado mediante el espectro una masa molecular de 285 uma la cual correspondiente a la unidad de masa molecular del producto de síntesis DBA (Figura 31).

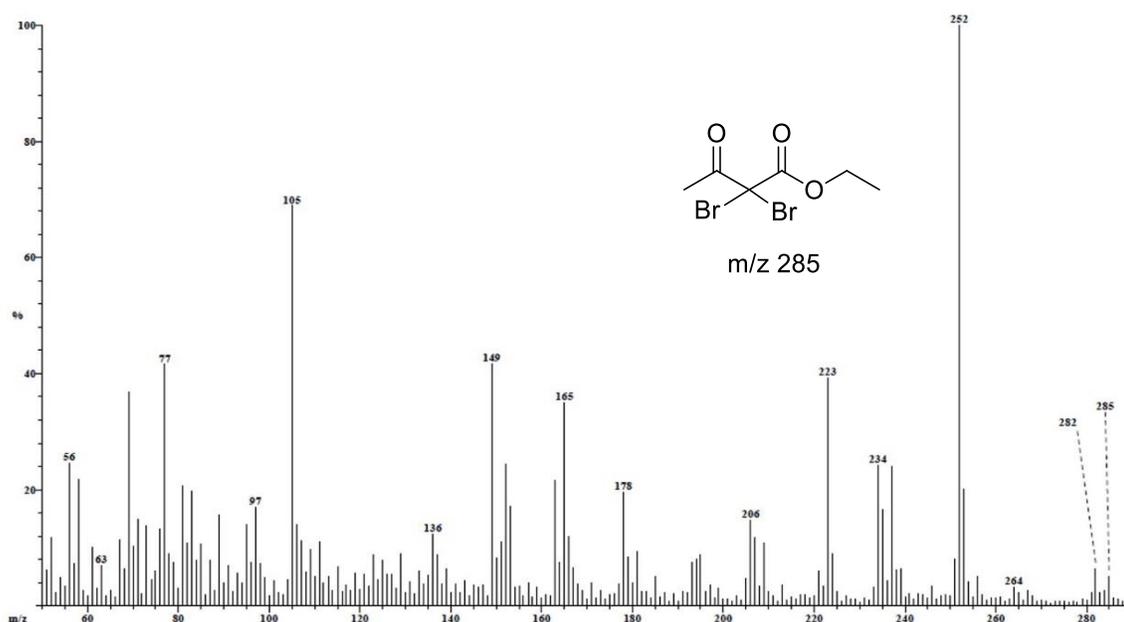


Figura 31. Espectro de masas (IE, 70 ev) del producto 6 (DBA).

Prosiguiendo con el esquema de reacción se continuó con la segunda etapa que consistía en la obtención del compuesto halogenado mediante la metodología ya descrita por Xiao *et al.* El crudo de reacción fue analizado por RMN-¹H (Figura 33) observándose las señales de los sustratos, así como señales diferentes, ante esto se prosiguió con la purificación del crudo de reacción como se menciona en la metodología, las diferentes fracciones observadas en la placa se analizaron por RMN-¹H (Figura 34) etiquetadas de 1 al 4 de acuerdo a su polaridad, de esta manera y después de revisar los espectros, en ninguno se observó una señal que integrara para un metileno, el cual estaría unido al bromo, el metileno tendría un desplazamiento entre 4 a 4.5 ppm, por lo cual se descartó la formación del producto halogenado en la antraquinona (Figura 32).

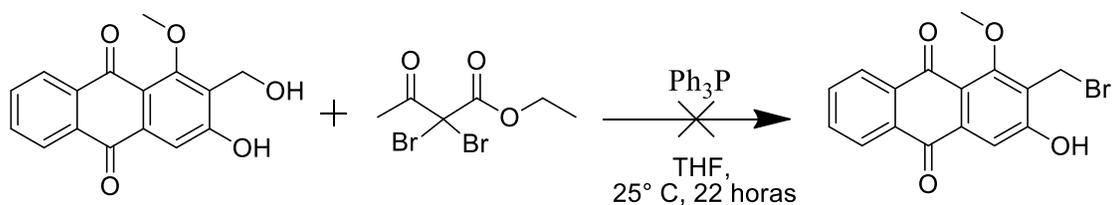


Figura 32. Síntesis de derivado teórico mediante el uso de la fuente halogenación obtenida.

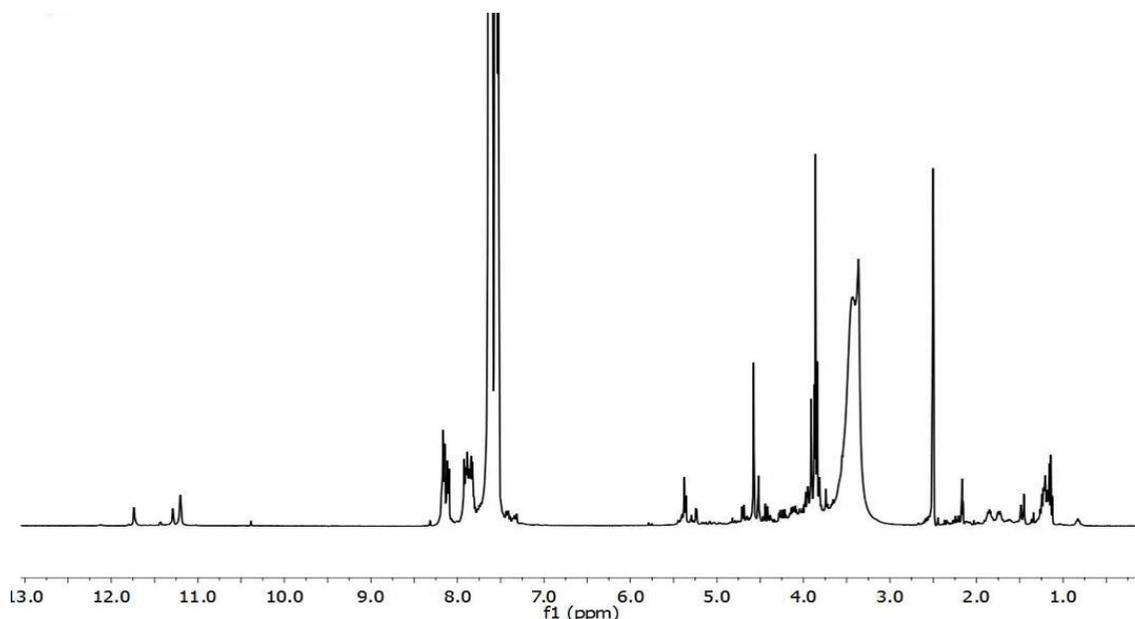


Figura 33. Espectro de RMN-¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) del crudo de reacción de la halogenación (7).

Ante este resultado se pensó que el grupo hidroxilo de la posición tres podría ser un factor que impide llevar a cabo la halogenación es por eso que se replanteó el esquema de reacción adicionando la reacción de metilación al grupo hidroxilo de la posición tres (Figura 35).

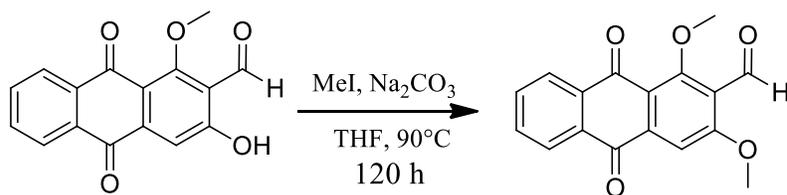


Figura 35. Reacción de metilación del damnacantal.

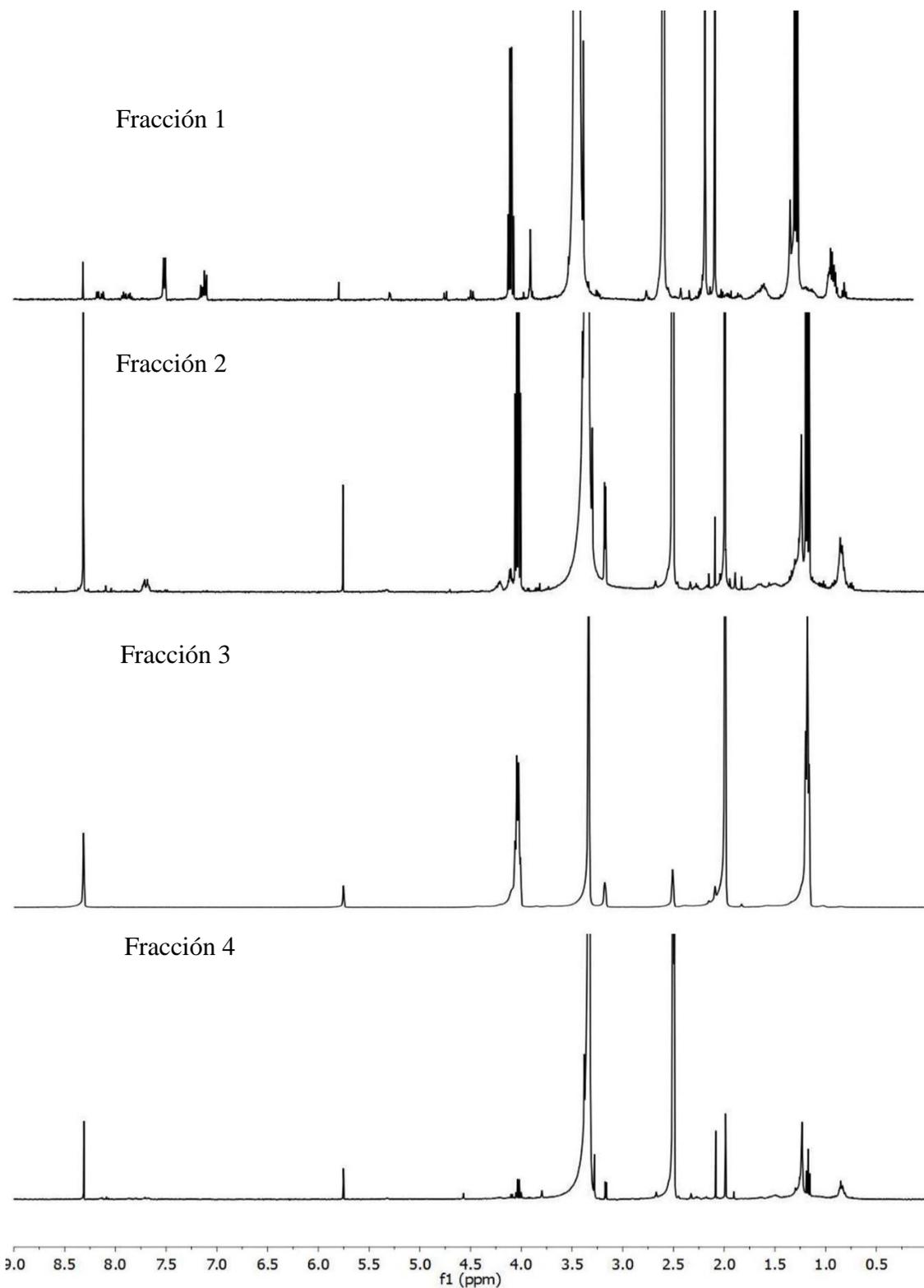


Figura 34. Espectros de RMN-¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) de las fracciones obtenidas por cromatografía en columna del crudo de la reacción de halogenación (7).

Se llevó a cabo la metilación del damnacantal partiendo con las condiciones reportadas en la literatura y realizando pruebas variando las condiciones como se observa en la tabla 7, esto con el fin de obtener el mayor rendimiento.⁵³

Tabla 7. Condiciones de reacción para la síntesis del producto 8

Entrada	Damnacantal (equiv)	Mel (equiv)	Na ₂ CO ₃ (equiv)	Tiempo (h)	Rendimiento
1	1	10	1.25	16	10
2	1	59	19	22	30
3	1	59	19	48	50
4	1	59	19	72	60
5	1	59	19	120	90

Al finalizar las pruebas de reacción y asegurar que los sustratos habían desaparecido en su totalidad, como resultó en las condiciones de la entrada 5 se obtuvo un polvo de color púrpura el cual fue analizado por RMN-¹H, obteniéndose el siguiente espectro (Figura 35).

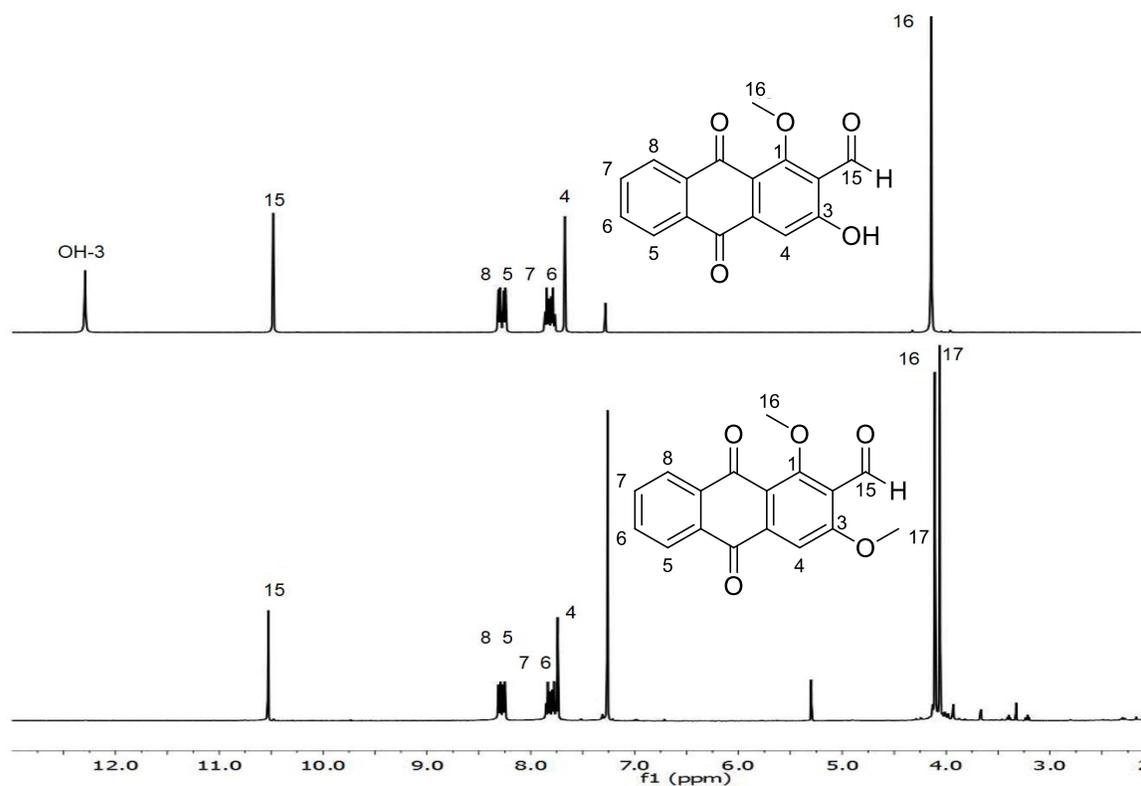


Figura 35. Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) del producto 8 (3-metoxidamnacantal) de la reacción de metilación.

Mediante el espectro de RMN-¹H se pudo determinar que la reacción de metilación fue llevada a cabo con éxito, ya que se pudieron observar las diferencias esperadas entre el sustrato y el producto, la más notoria fue la desaparición de la señal a 12.25 ppm correspondiente al protón quelatado del grupo hidroxilo de la posición tres, lo que a su vez, se transformó en una señal simple a 4.06 ppm confirmando así la presencia de un segundo metoxilo. Las demás señales entre la zona de 7.5 - 11 ppm no modificaron sus multiplicidades pero si su desplazamiento en pequeños valores de ppm.

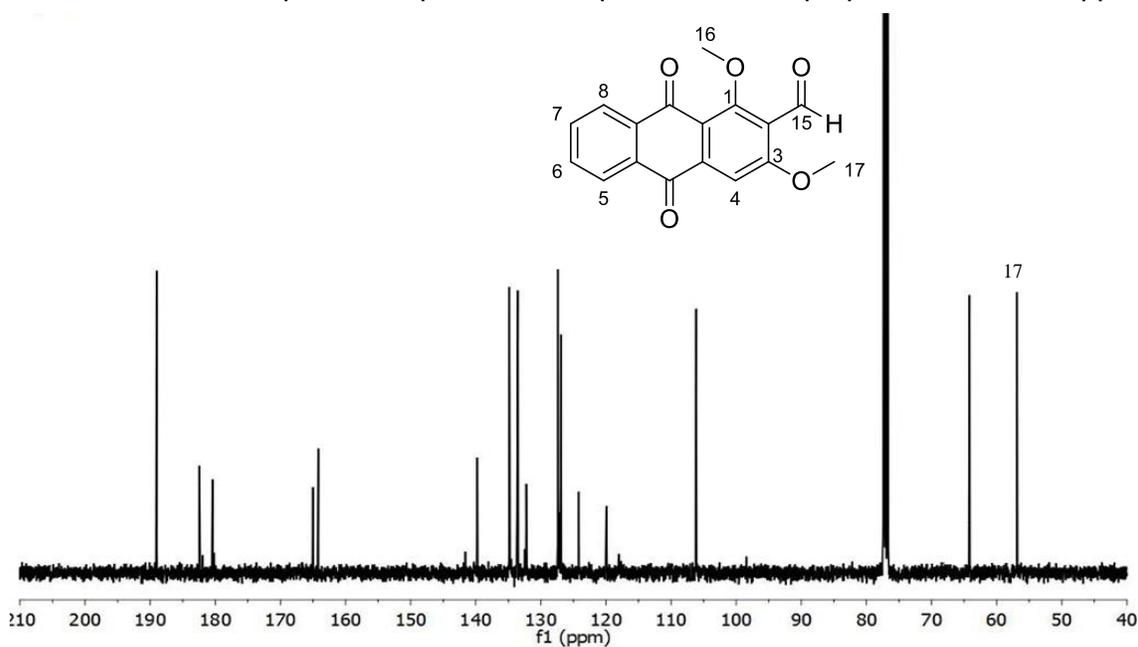


Figura 36. Espectro de RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) del producto 8 (3-metoxidamnacantal) de la reacción de metilación.

El análisis por RMN-¹³C (Figura 36) mostró la presencia de 17 señales, una de ellas a 57.5 ppm siendo la resultante de la metilación del carbono C-3, con un desplazamiento característico de carbono unido a heteroátomo, las señales restantes muestran variaciones mínimas en su desplazamiento.

El espectro de masas en la modalidad impacto electrónico (Figura 37), evidenció un peso molecular de 296 uma correspondiente al producto 8, confirmando así la formación del derivado.

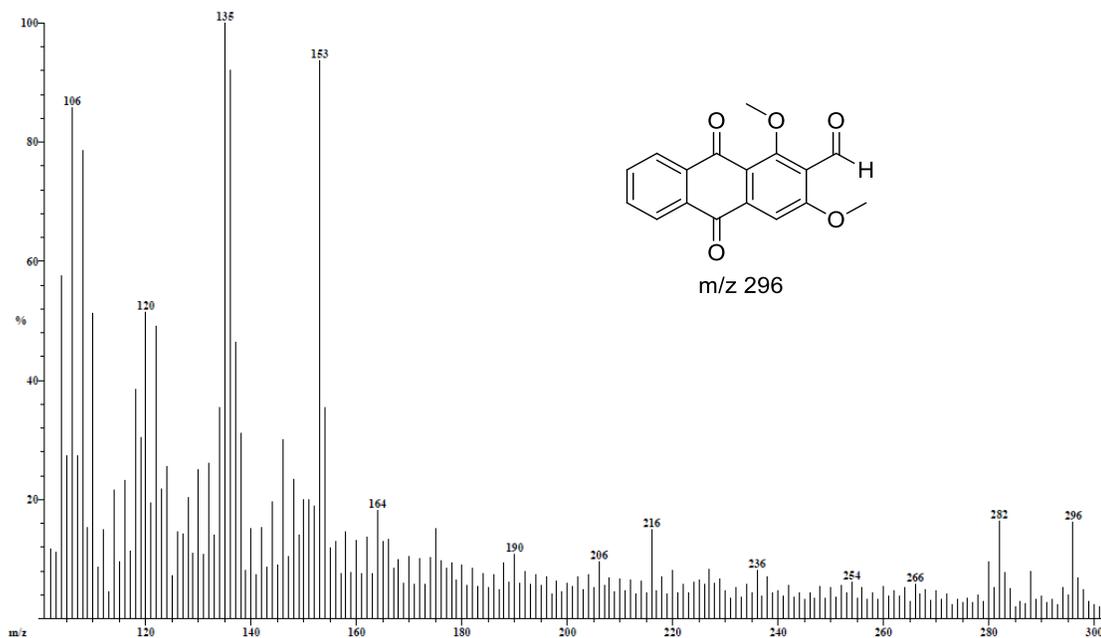


Figura 37. Espectro de masas (IE, 70 ev) del producto 8 (3-metoxidamnacantal) de la reacción de metilación.

Una vez confirmado el producto metilado se prosiguió con la reducción del grupo aldehído (Figura 37) llevando a cabo la metodología para el producto 9, el sólido amarillo obtenido al finalizar la purificación fue analizado por RMN-¹H observándose el siguiente espectro (Figura 38).

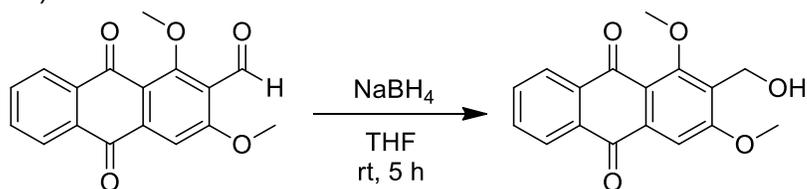


Figura 37. Reacción de reducción para la síntesis del producto 9.

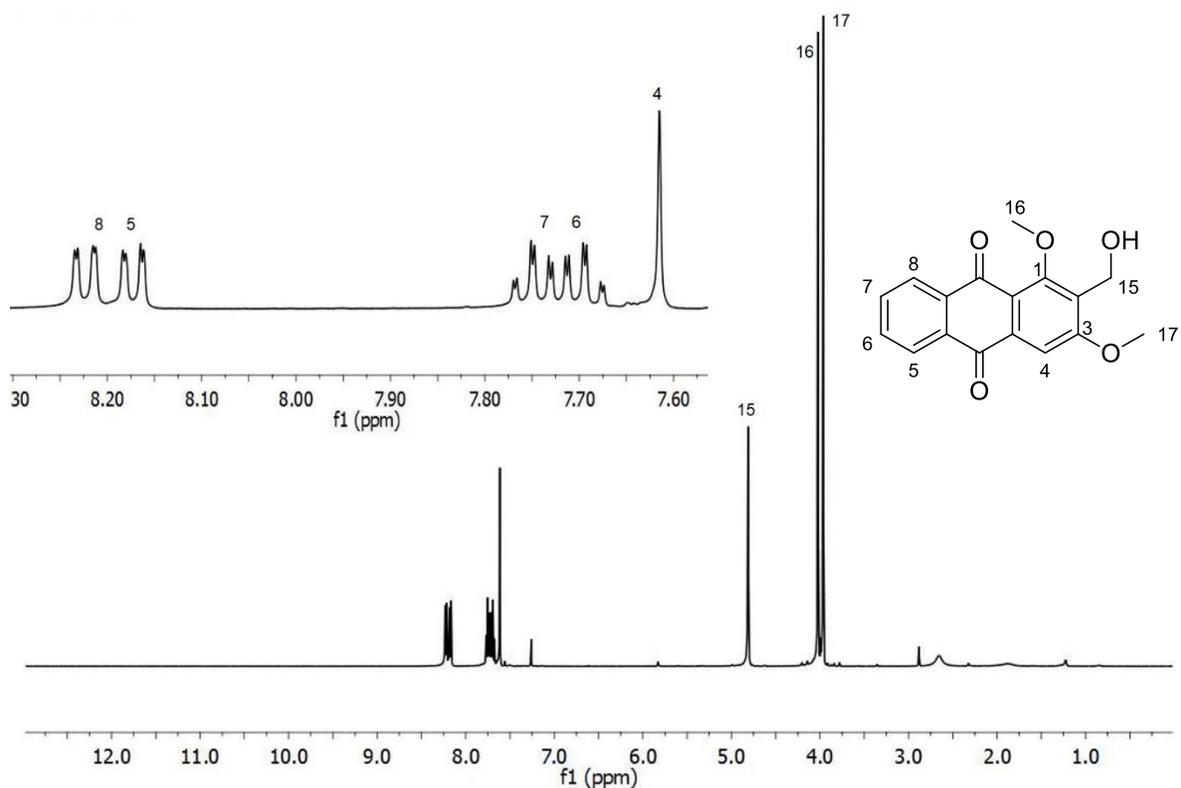


Figura 38. Espectro de RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) del producto 9 (3-metoxidamnacantol) de la reacción de reducción.

Analizando el espectro se pudieron observar señales características de los protones aromáticos de la antraquinona entre 7.5 y 8.5 ppm como ya se han descrito en los anteriores espectros, el desplazamiento de estas señales varían en mínimas cantidades con respecto a las del sustrato de partida manteniéndose sus multiplicidades, la señal esperada para el producto se observó como un simple a 4.81 ppm con un valor de integral correspondiente a dos protones de un metileno, el segundo indicador de que el producto fue obtenido se debió a la desaparición de la señal a 10.53 ppm que correspondía al grupo aldehído del sustrato antes de ser reducido.

Por otro lado, en el espectro de RMN- ^{13}C (Figura 39) se observaron las 17 señales esperadas, en particular una señal a 54 ppm que corresponde al desplazamiento de un carbono unido a heteroátomo, correspondiente al metileno C-15 como resultado de la reducción del carbonilo que ya no es posible observar en el espectro, confirmando así el resultado de la obtención del producto. Las demás señales presentaron pequeñas variaciones en su desplazamiento.

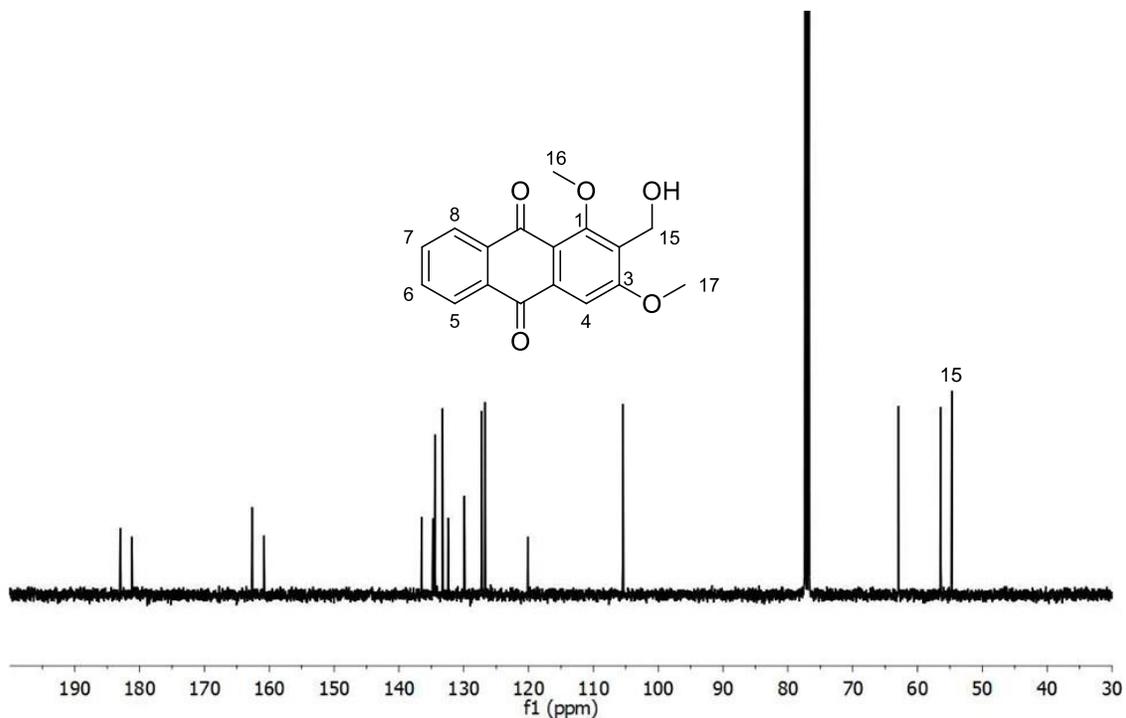


Figura 39. Espectro de RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) del producto 9 (3-metoxidamnacantol) de la reacción de reducción.

El espectro de masas en la modalidad impacto electrónico (Figura 40), evidenció un peso molecular de 298 una correspondiente al producto 9, confirmando así la formación del derivado.

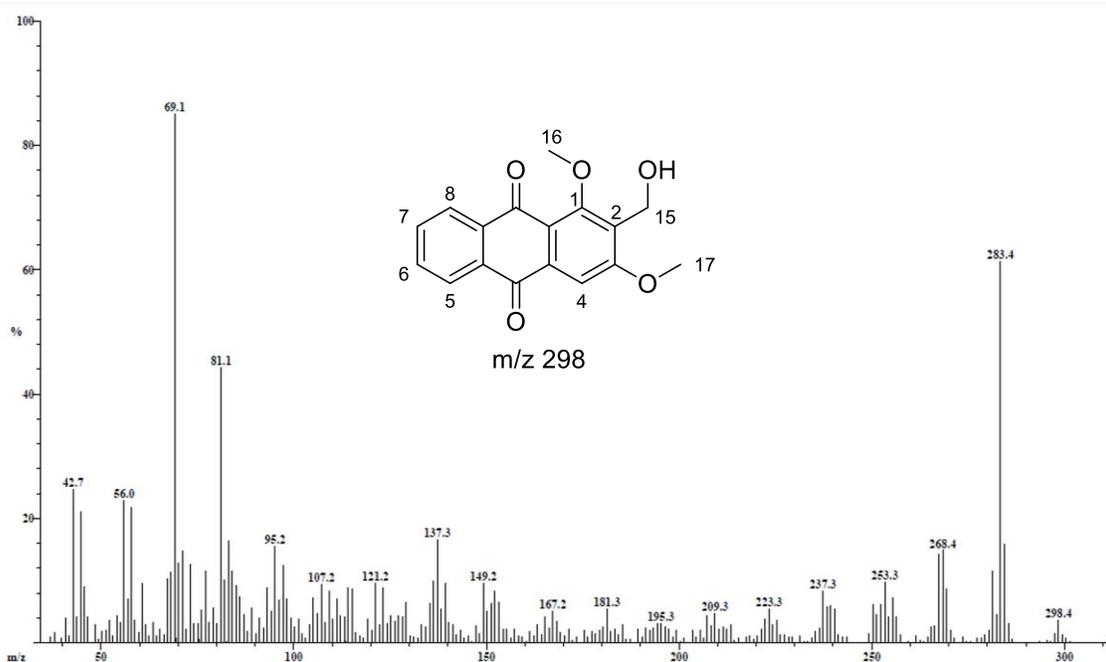


Figura 40. Espectro de masas (IE, 70 ev) del producto 9 (3-metoxidamnacantol) de la reacción de reducción.

Por lo consiguiente una vez confirmado el producto de la metilación y reducción se prosiguió con la reacción de halogenación (Figura 41) como ya se ha descrito en la metodología.

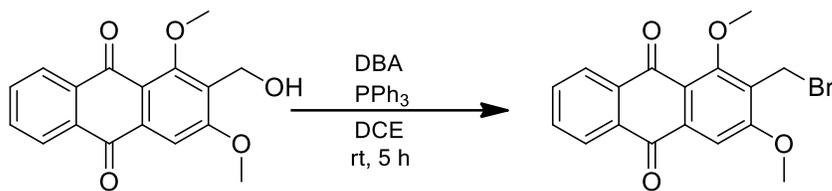


Figura 41. Reacción de halogenación del 3-metoxidamnacantol.

Mediante el crudo de reacción se obtuvo un sólido de color de amarillo como se describe en la metodología, este fue analizado por RMN-¹H (Figura 42) las señales observadas correspondieron a los mismos desplazamientos que el sustrato, con la diferencia de la presencia de señales correspondientes a la trifenilfosfina, ante esto la muestra se analizó por espectrometría de masas en modalidad de impacto electrónico (Figura 43) esto evidenció que el peso molecular no correspondía a lo esperado para el derivado bromado, por lo que se descartó la formación del mismo. Debido a esto se pensó que la fuente de halogenación sintetizada no era eficaz para un sustrato de tipo antraquinona.

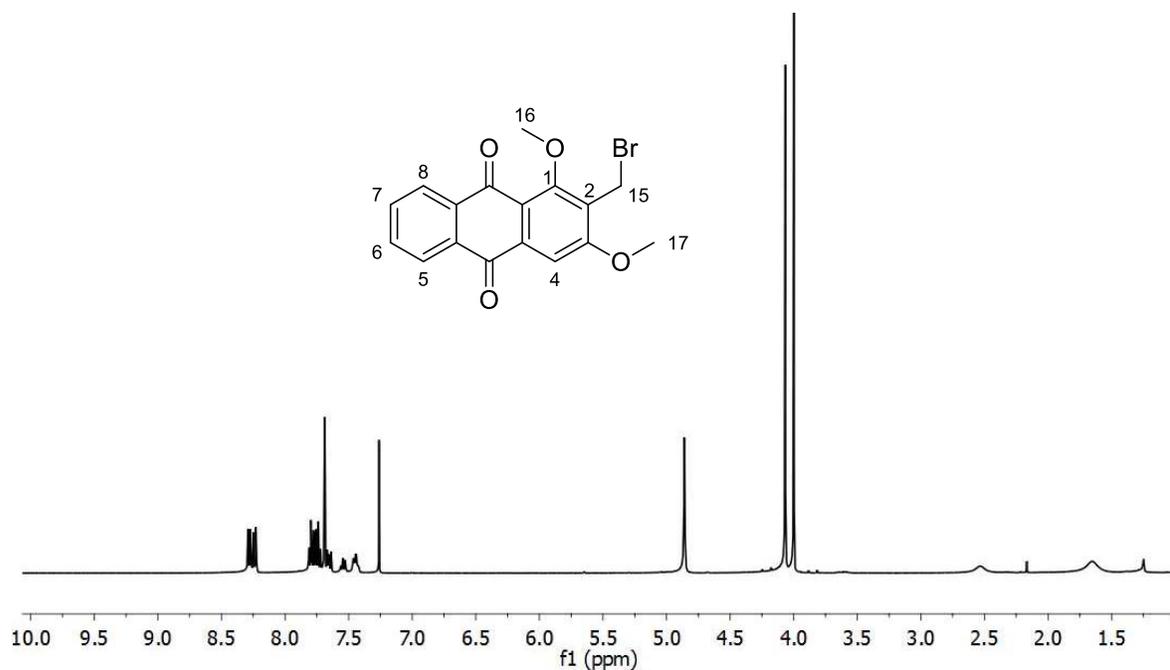


Figura 42. Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) del sólido obtenido mediante el crudo de reacción de la halogenación del 3-metoxidamnacantol.

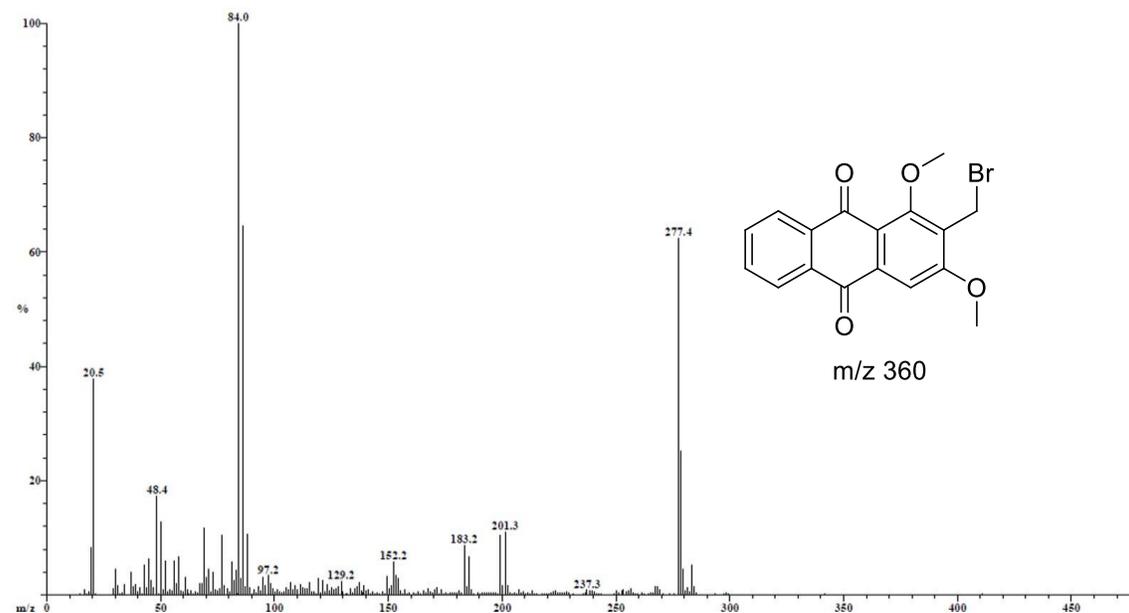


Figura 43. Espectro de masas (IE, 70 eV) del sólido obtenido mediante el crudo de reacción de la halogenación del 3-metoxidamnacantol.

Ante lo ya mencionado y debido al nulo éxito de la reacción de halogenación con una fuente alternativa de bromo, se prosigió con adquirir el tribromuro de fosforo llevando a cabo la metodología descrita para la síntesis del producto 10, partiendo de la literatura revisada se planteó la reacción como se muestra en la Figura 44.

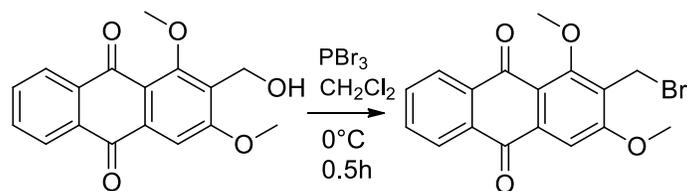


Figura 44. Reacción de halogenación para la síntesis del producto 10.

A partir de ello se realizaron tres pruebas de reacción modificando las condiciones del tiempo con el fin de obtener un rendimiento mayor como se presenta en la tabla 8.

Tabla 8. Condiciones de reacción para la síntesis del producto 10

Entrada	Producto 9 (equiv)	PBr ₃ (equiv)	Tiempo (h)	Rendimiento ^a %
1	0.8	1	0.25	15
2	0.8	1	0.5	46
3	0.8	1	0.75	30

La purificación del producto 11 fue llevada a cabo como describe en la metodología (A) obteniéndose unos cristales amarillos en forma de aguja, los cuales fueron analizados por RMN-¹H (Figura 45).

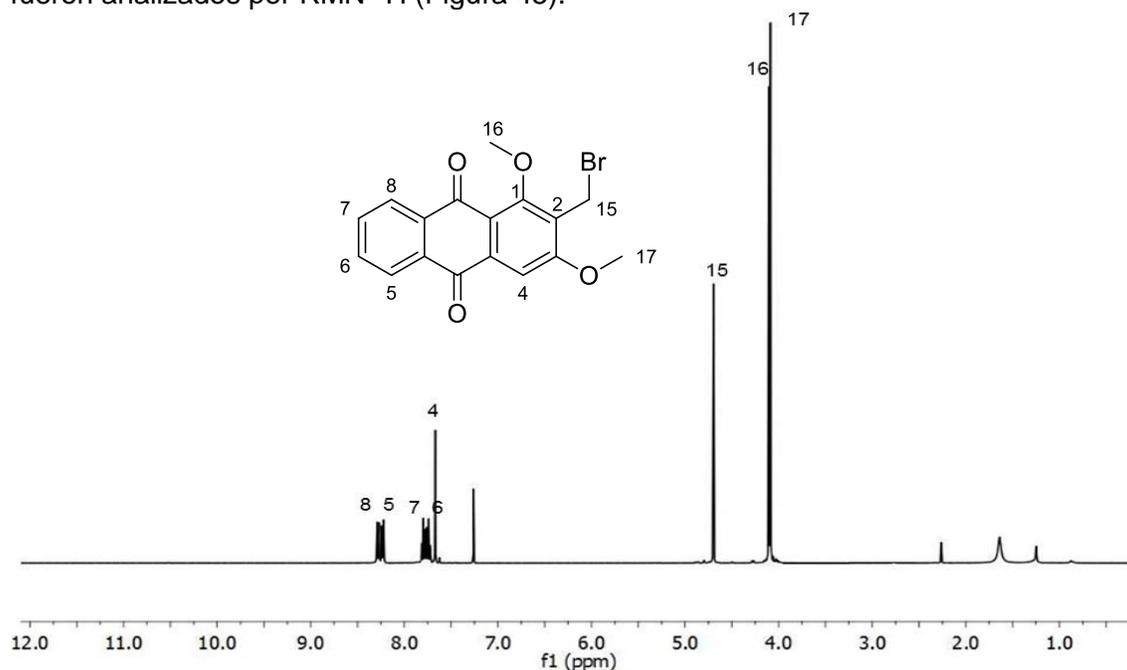


Figura 45. Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) del producto 10 (2-bromometil-1,3-dimetilantraquinona) de la reacción de halogenación.

El espectro se observan señales características de protones aromáticos de la antraquinona en la zona entre 7.5 y 8.5 ppm, de igual manera se observó el desplazamiento del metileno a 4.70 ppm unido al bromo, por otra parte se siguieron observando las señales de los metoxilos con mínimas variaciones en sus desplazamientos a 4.10 y 4.09 ppm para las posiciones 16 y 17 respectivamente. El espectro de carbono (Figura 46) reveló 17 señales, primeramente se observó una señal a 20 ppm que corresponde al carbono C-15 sobre el cual se llevó a cabo la halogenación confirmando así la formación de la unión carbono- halógeno (bromo), por consiguiente las 16 señales restantes modificaron su desplazamiento en pequeños valores de frecuencia.

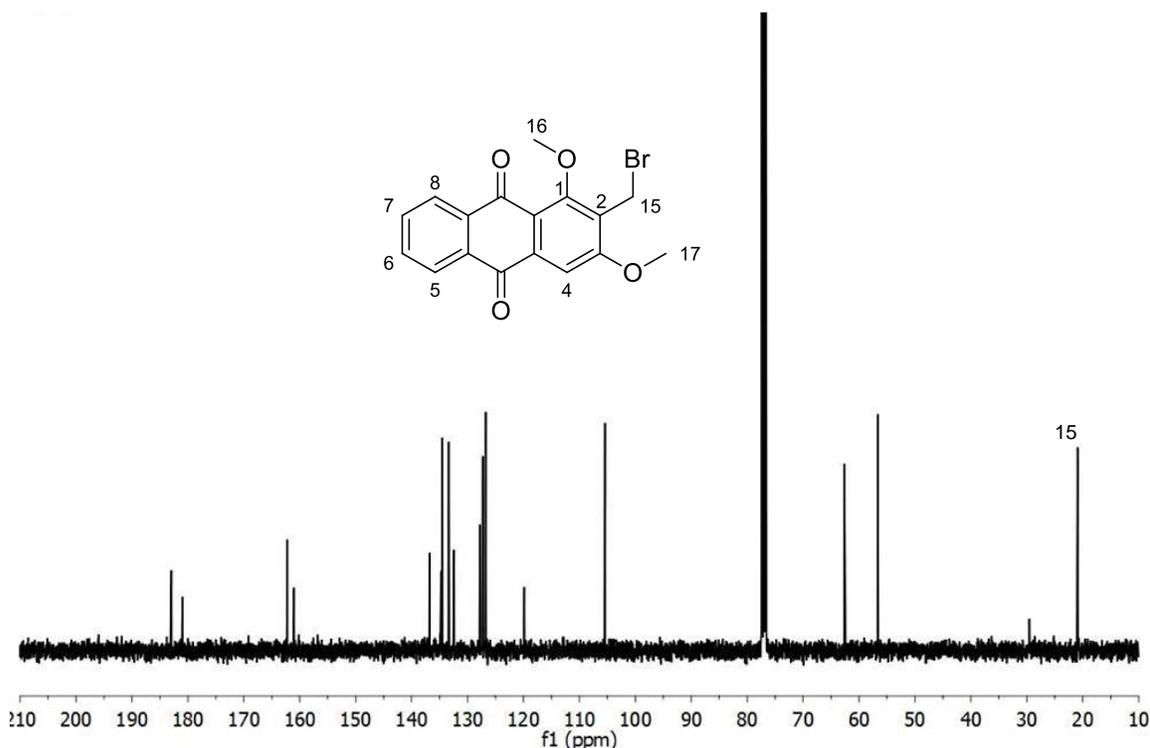


Figura 46. Espectro de RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) del producto 10 (2-bromometil-1,3-dimetilantraquinona) de la reacción de halogenación.

Ante un rendimiento total de reacción del 18 % se propuso llegar al mismo sustrato mediante una vía alterna con el fin de obtener un mayor rendimiento. La vía propuesta involucraba la síntesis de la antraquinona, rubiadina (Figura 47) la cual se consideró como un buen sustrato para llevar a cabo la halogenación con NBS según lo reportado Akhtar *et al.* La reacción es bien conocida por proceder a través de un mecanismo radicalario, con rendimientos altos, lo que ayudaría a mejorar el rendimiento total del derivado deseado.^{43, 54}

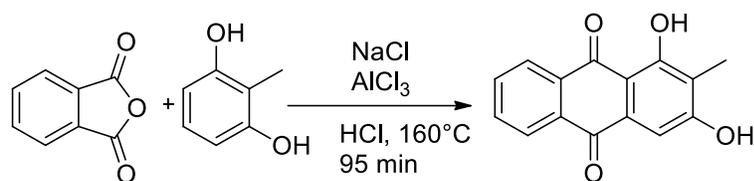


Figura 47. Síntesis del producto 11 (rubiadina).

La síntesis y purificación de la rubiadina se llevó a cabo como se menciona en la metodología y el producto fue analizado por RMN-¹H obteniéndose el siguiente espectro (Figura 48).

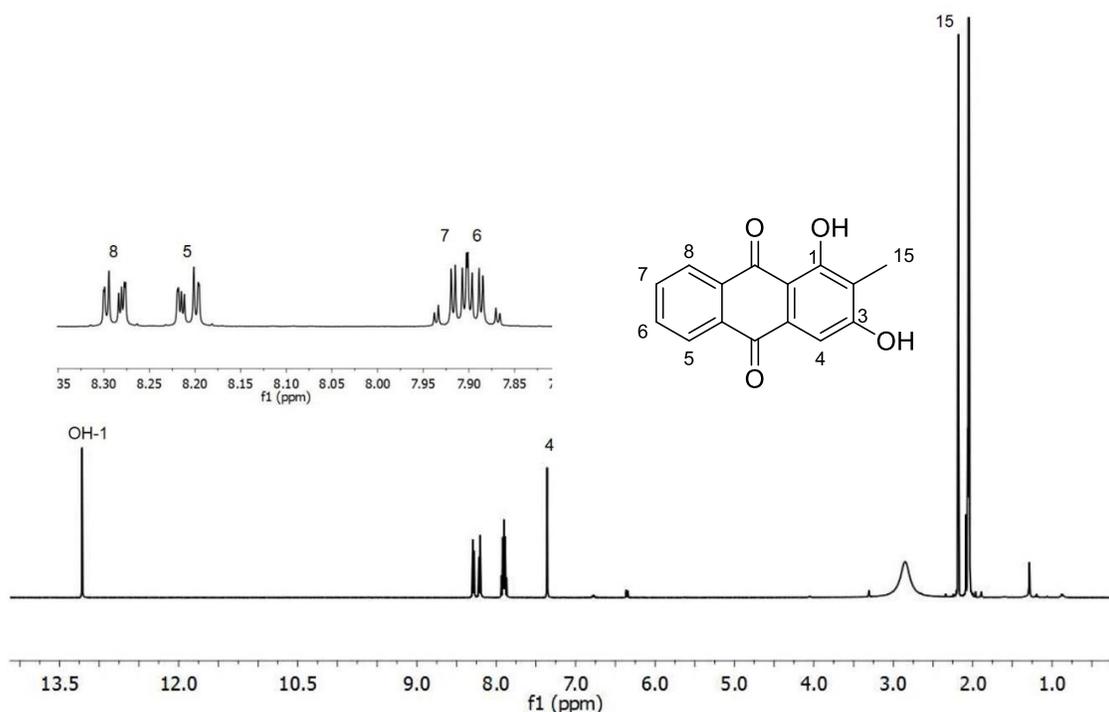


Figura 48. Espectro de RMN-¹H (400 MHz, C₆D₆) del producto 11 (rubiadina).

Se pudo observar en el espectro del producto 11 las señales características del anillo A, una señal simple a 7.36 ppm correspondiente al protón de la posición cuatro, seguida de una señal múltiple a 7.90 ppm atribuida a los protones de la posición 7 y 6 y por ultimo un par de señales a 8.21 (dd, 6.53, 2.27 Hz) y 8.29 (dd, 6.49, 2.13 Hz) ppm, de igual manera se observó a frecuencias más altas una señal quelatada correspondiente al protón del grupo hidroxilo de la posición 1 a 13.22 ppm, por ultimo a 2.18 ppm se observó una señal simple atribuida al metilo de la posición dos.

Por otra parte el análisis por RMN-¹³C (Figura 49) nos mostró la presencia de 15 señales correspondientes a los carbonos de la molécula de la rubiadina, un señal a 9 ppm correspondiente al metilo de la posición C-2, por consiguiente se lograron observar 10 señales correspondientes a carbonos aromáticos entre la zona de 105 a 135 ppm,

por ultimo a frecuencias mayores se observaron cuatro señales, dos de ellas correspondientes a los carbonos aromáticos C-1 y C-3 unidos a un grupo hidroxilo a 163 y 164 ppm respectivamente, las señales restantes correspondieron a los carbonilos de C-9 y C-10 con desplazamientos de 187 y 182 ppm respectivamente. Para finalizar se llevó a cabo el análisis del producto por espectrometría de masas (Figura 50).

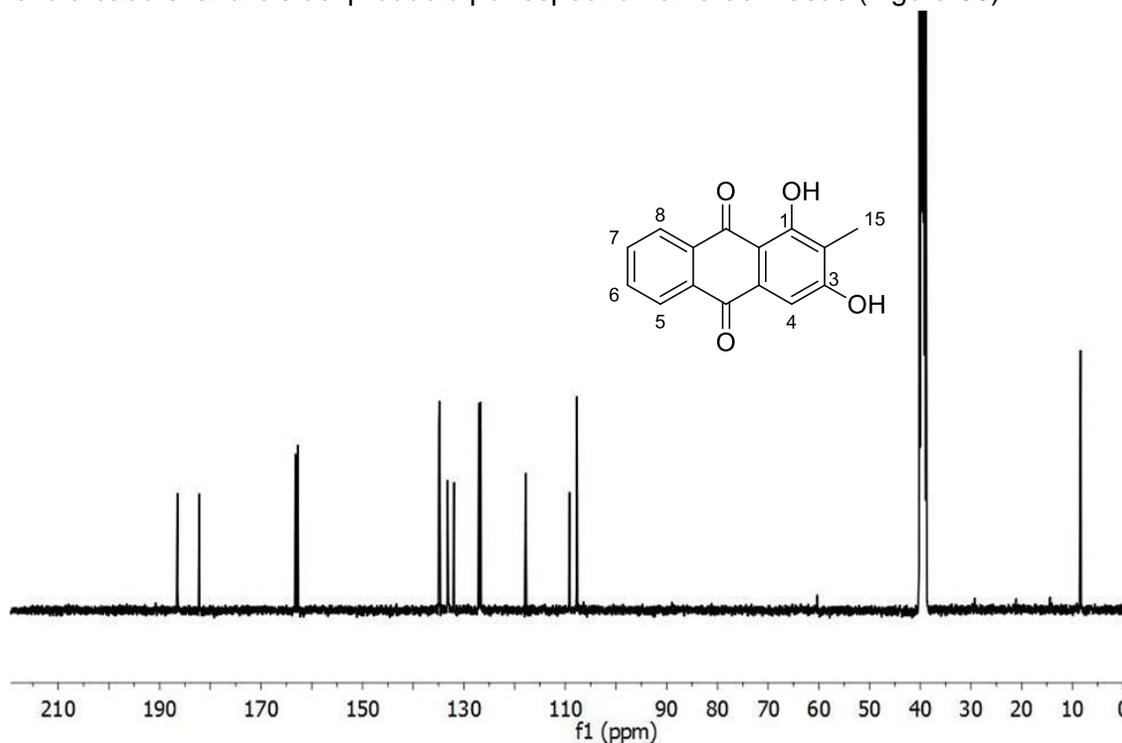


Figura 49. Espectro de RMN-¹³C (100 MHz, C₆D₆) del producto 11 (rubiadina).

El espectro de masas en modalidad de impacto electrónico evidenció un peso molecular de 254 una correspondientes al peso de la antraquinona sintetizada.

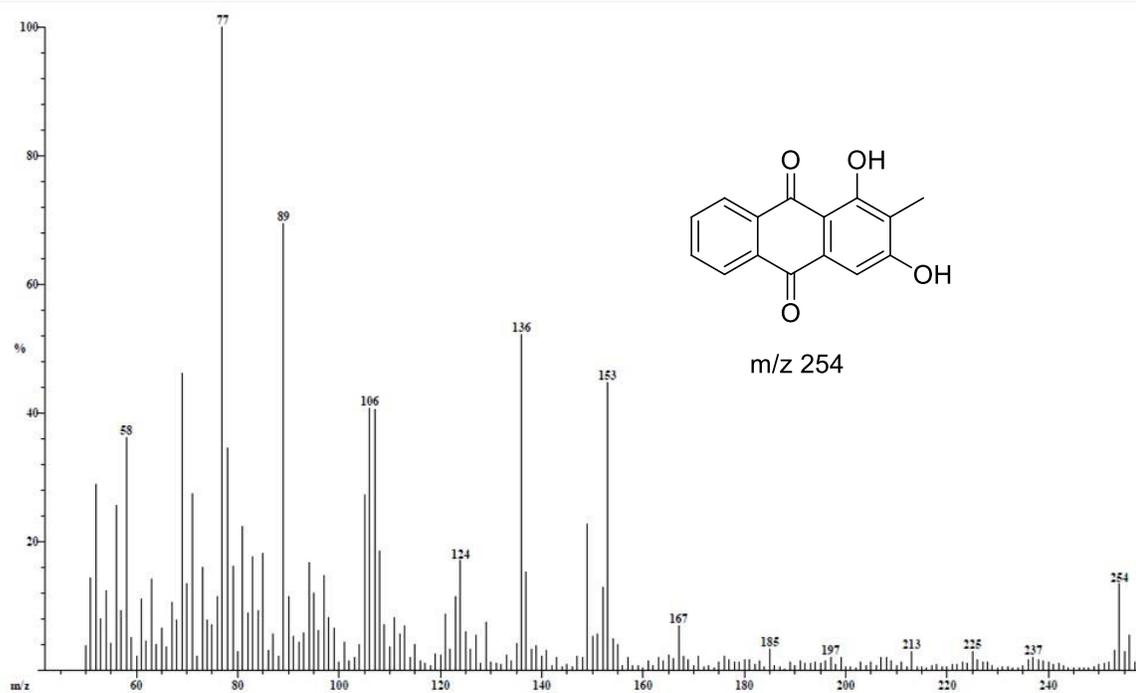


Figura 50. Espectro de masas (IE, 70 ev) del producto 11 (rubiadina).

Una vez que se logró la síntesis de la rubiadina, se prosiguió siguiendo el esquema de reacción (Figura 51).

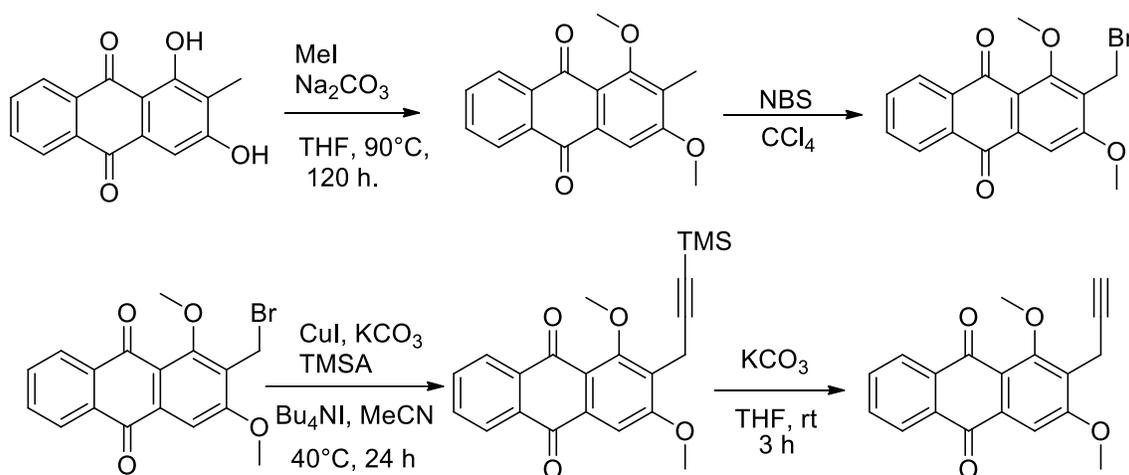


Figura 51. Reacciones para la síntesis de derivados antraquinónicos.

La reacción de metilación fue realizada siguiendo los pasos ya descritos anteriormente en la metodología para el producto 12, obteniéndose como resultado un polvo de color amarillo cuyo espectro de RMN-¹H (Figura 52) presentó las señales características a un sistema antraquinónico en la zona entre 7.7 y 8.5 ppm correspondientes a los protones cuatro, seis, siete, así como cinco y ocho

respectivamente en ese orden. La diferencia esperada entre el sustrato y el producto se observó con la presencia de dos nuevas señales simples a 3.89 y 4.06 ppm correspondientes a los protones de carbonos de grupo metoxilo confirmando así la metilación de los grupos hidroxilos de las posiciones tres y uno respectivamente.

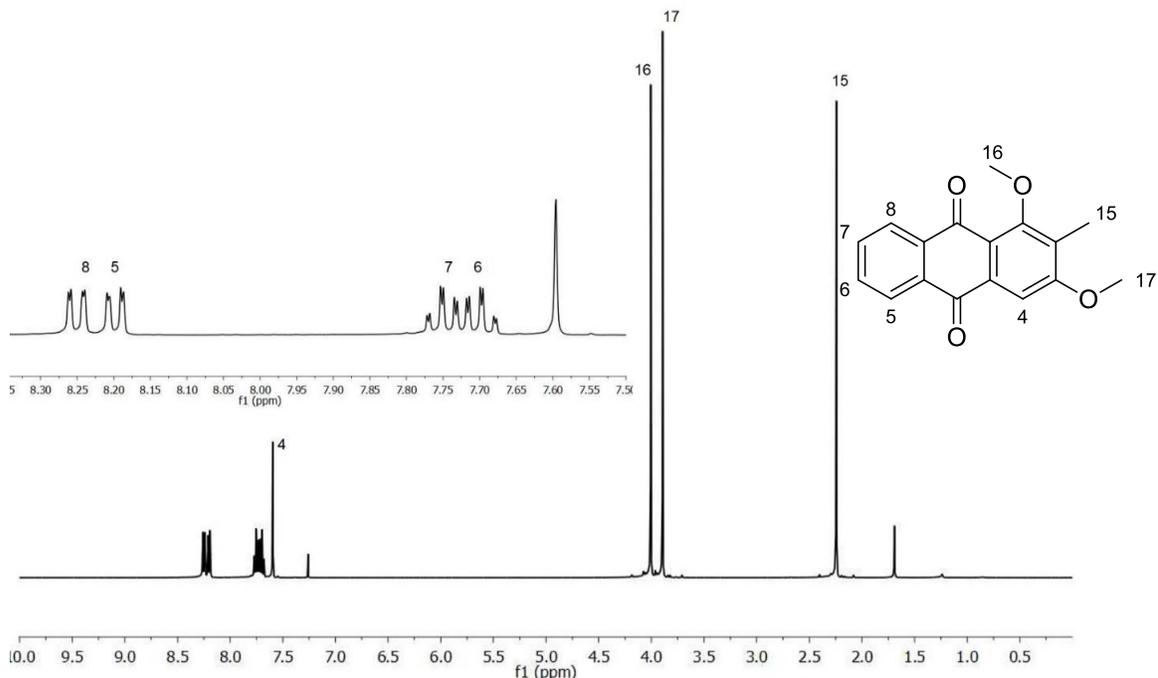


Figura 53. Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) del producto 12 (1,3-dimetilrubiadina).

De igual manera se realizó el análisis por RMN-¹³C (Figura 54) observándose 17 señales correspondientes al producto de antraquinona como se ha presentado en los derivados anteriores, las señales características del producto son dos nuevas señales que se observan a 56 y 61 ppm correspondientes a los carbonos de la metilación C-17 y C-16.

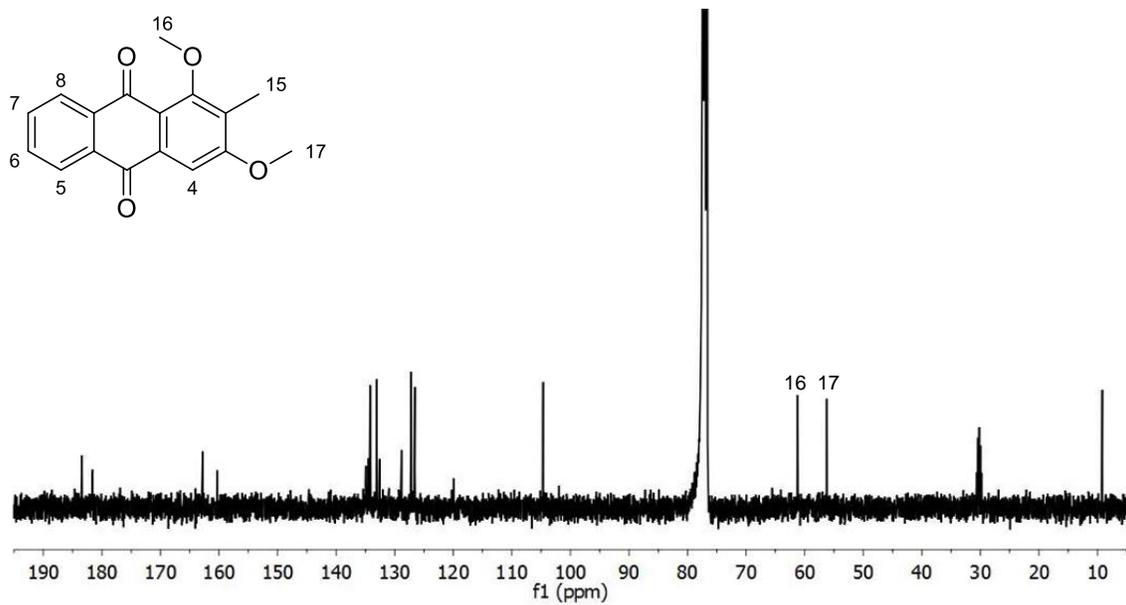


Figura 54. Espectro de RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) del producto 12 (1,3-dimetilrubiadina).

El análisis por espectrometría de masas en la modalidad impacto electrónico (Figura 55) corroboró el peso molecular de 282 una el cual corresponde al peso de la rubiadina metilada.

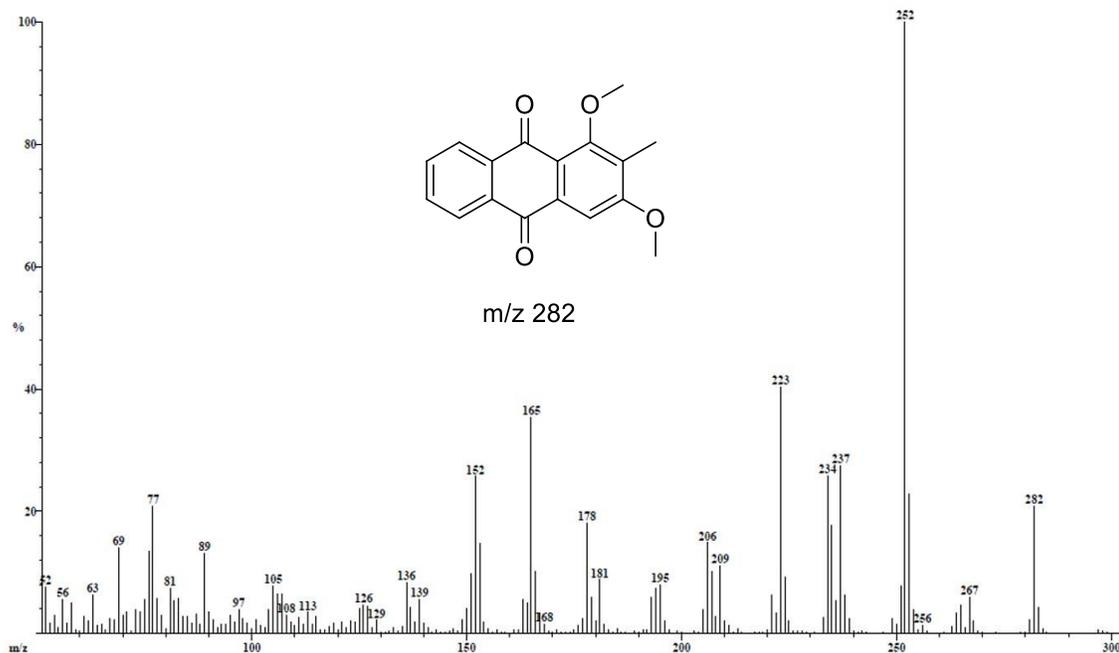


Figura 55. Espectro de masas (IE, 70 eV) del producto 12 (1,3-dimetilrubiadina).

Continuando con los pasos de reacción se llevó a cabo la síntesis del intermediario bromado con las condiciones reportada por Zhang *et al.* Como se presenta en la Figura 56.⁵⁵

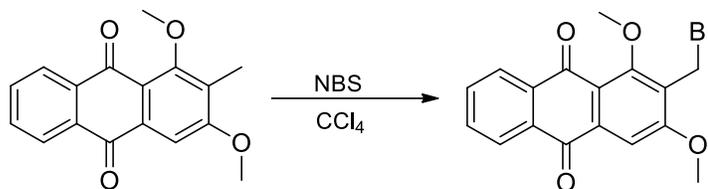


Figura 56. Reacción de halogenación para la síntesis del producto 13 (2-bromometil-1,3-dimetilantraquinona).

El crudo obtenido fue purificado según lo descrito en la metodología, obteniéndose unos cristales amarillos en forma de aguja los cuales fueron analizados por RMN-¹H (Figura 50) observándose señales aromáticas características del padrón de las antraquinonas en la zona entre 7.5 a 8.5 ppm, de igual manera se observó el cambio esperado para el producto con la desaparición de la señal simple del metilo que se encontraba a 2.24 ppm y ahora correspondía a un metileno con desplazamiento a 4.70 ppm característico de protones de carbono unido bromo, se siguieron observando las señales de los metoxilos con mínimas variaciones en sus desplazamientos a 4.10 y 4.09 ppm para las posiciones 16 y 17 respectivamente.

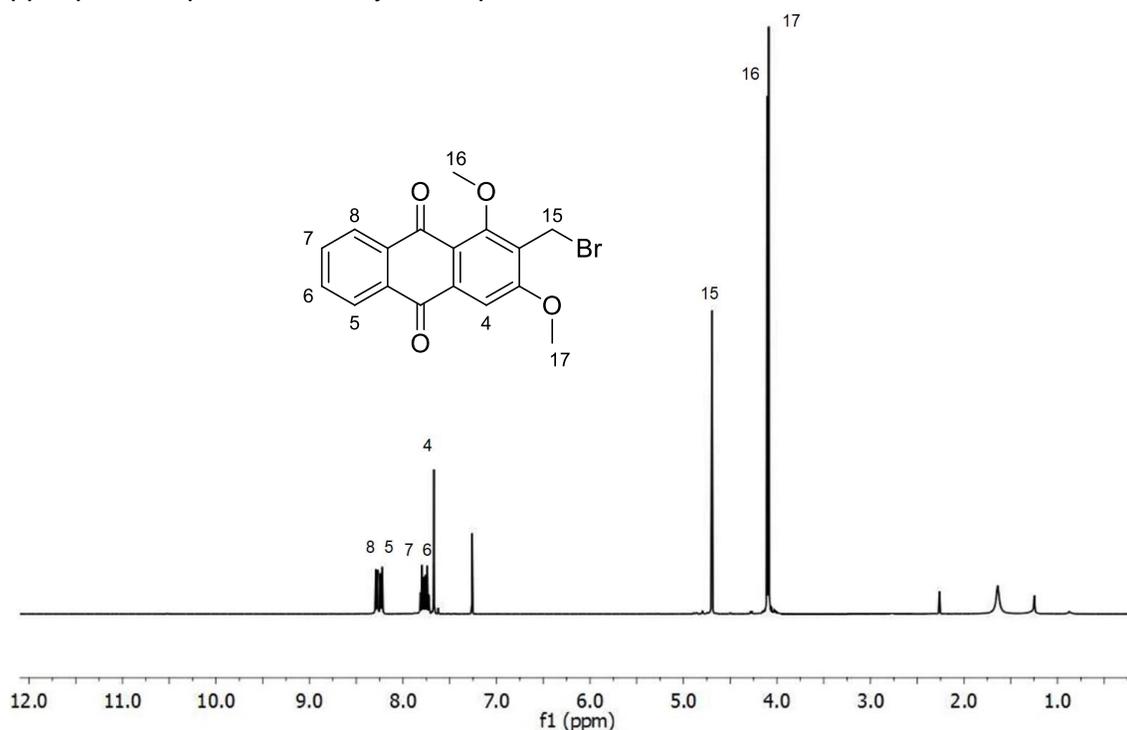


Figura 57. Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) del producto 13 (2-bromometil-1,3-dimetilantraquinona)

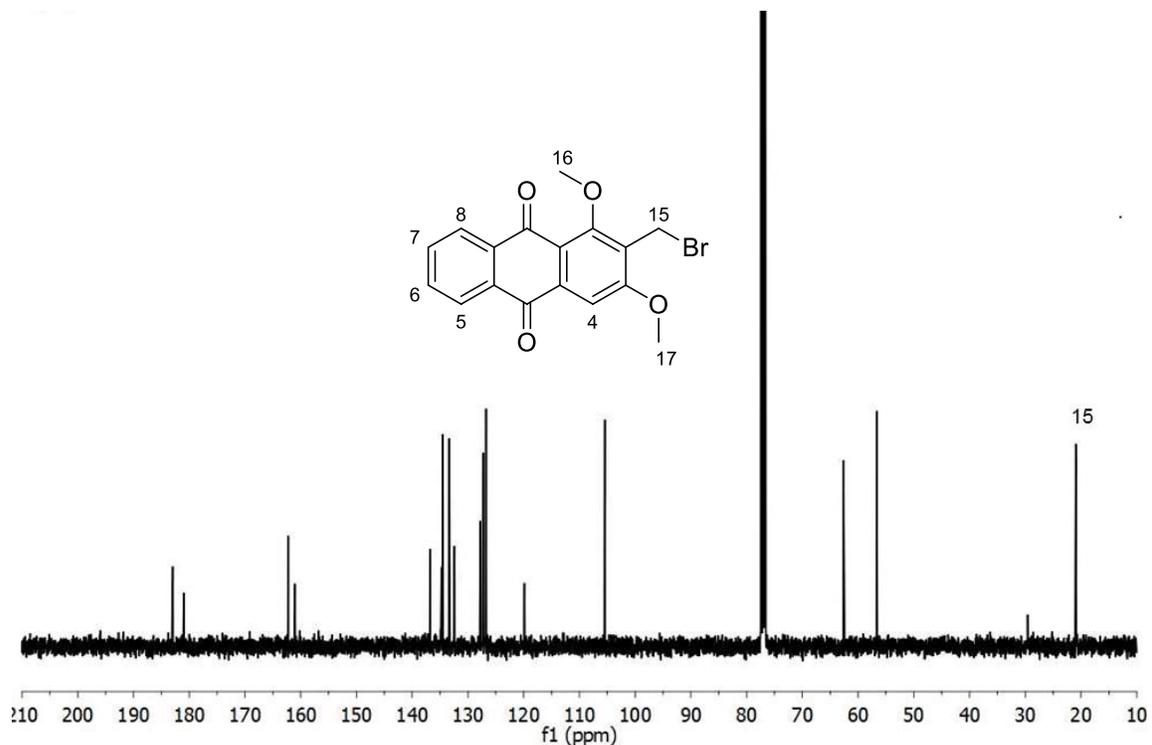


Figura 58. Espectro de RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) del producto 13 (2-bromometil-1,3-dimetilantraquinona)

Por su parte en el espectro de RMN- ^{13}C (Figura 58) se observó una señal a 20 ppm correspondiente al desplazamiento de carbono unido a bromo, así como las 16 señales restantes de la molécula de la antraquinona con pequeñas variaciones en sus desplazamientos.

Por otra parte el producto fue confirmado mediante el espectro de masas de alta resolución en modalidad de impacto electrónico, corroborando un peso molecular de 360 uma, correspondiente a una fórmula molecular $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{BrO}_4$.

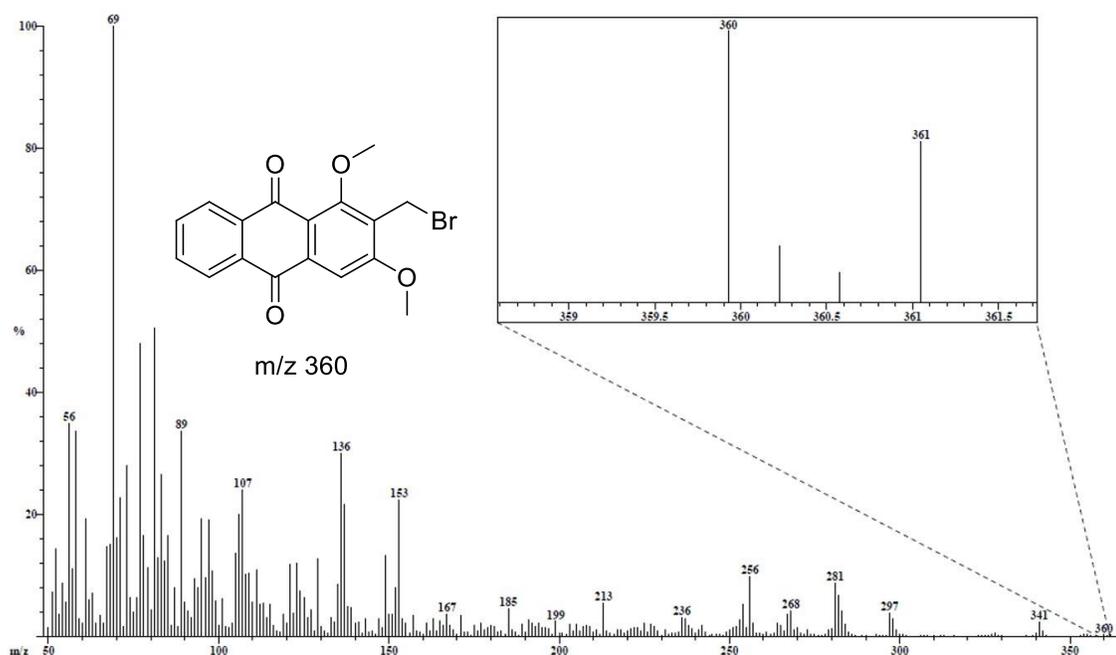


Figura 59. Espectro de masas (IE, 70 ev) del producto 13 (2-bromometil-1,3-dimetilantraquinona).

Una vez obtenido el derivado bromado se comparó el rendimiento total de ambas metodologías como se presenta en la tabla 9.

Tabla 9. Condiciones de reacción para la síntesis del producto 11.

Entrada	Síntesis de rubiadina rendimiento	Metilación Rendimiento	Reducción Rendimiento	Bromación Rendimiento	Rendimiento total
1 ^a	---	85 %	50%	46 %	19.5 %
2 ^b	33%	60 %	----	80 %	15.8 %

a: Partiendo de damncantal. b: Partiendo de resorcinol y anhídrido ftálico.

Como se presenta en la tabla la obtención del derivado bromado a partir de damnacantal resultó ser el de mejor rendimiento, por lo que se proseguiría con esa metodología para reunir la cantidad necesaria y llevar a cabo el acoplamiento.

Como siguiente paso se llevó a cabo la reacción de acoplamiento (Figura 59) como esta descrita en la metodología para la reacción del derivado acetilénico se realizaron pruebas en diferentes tiempos de reacción llevando a cabo las reacciones como se presenta en la tabla 10, las variaciones realizadas fueron con respecto al tiempo esto se debió a que la metodología que fue punto de partida realizaba reacciones de 24 hasta 96 horas.

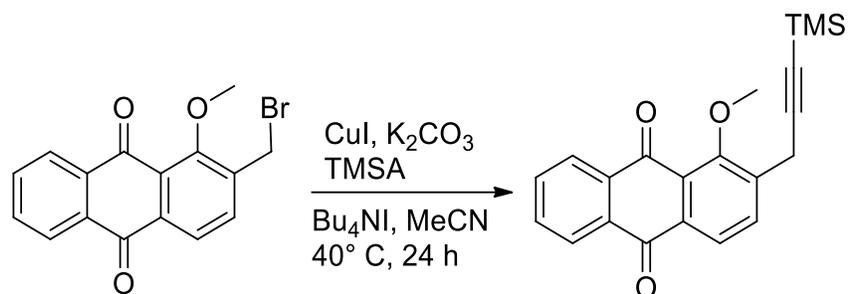


Figura 59. Reacción de acoplamiento del derivado antraquinónico bromado catalizada por cobre.

Tabla 10 Condiciones de reacción para el acoplamiento del derivado antraquinónico.

Entrada	#	CuI	K ₂ CO ₃	Bu ₄ NI	TMSA	Tiempo
	equiv	equiv	equiv	equiv	equiv	h
1	1	1	2	1	1.18	24
2	1	1	2	1	1.18	48
3	1	1	2	1	1.18	72
4	1	1	2	1	1.5	96

Las crudos de reacción en los diferentes tiempos fueron analizados por RMN-1H como se presenta en la Figura 60, se pudo observar que en los cuatro espectros aparecen señales del patrón del sustrato de la antraquinona, sin embargo, la señales que nos dan indicio de la formación del producto son la del metileno unido a un carbono *sp* entre 3 y 4 ppm y una señal simple entre 0 y 1 ppm correspondiente al TMSA, ante ello se eligió el crudo de 48 horas el cual presento las señales mencionadas anteriormente por lo cual fue sometido a purificación por cromatografía en placa preparativa, de la cual se obtuvieron tres fracciones, que fueron analizadas por RMN-¹H como se presenta en la Figura 61.

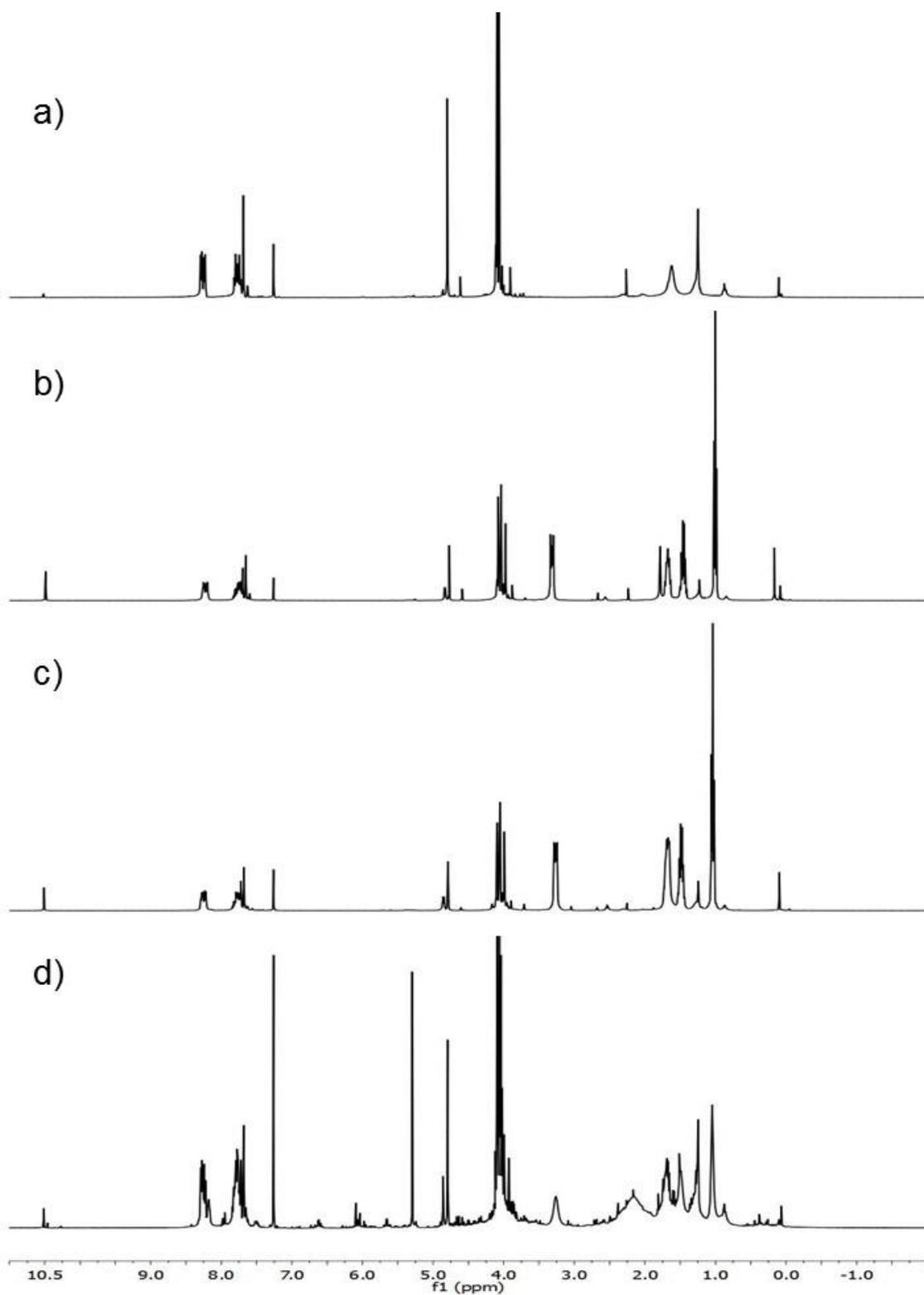


Figura 60. Espectros de RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) del crudo de reacción a intervalos de tiempo de: (a) 24 horas, b) 48 horas, c) 72 horas, d) 96 horas.)

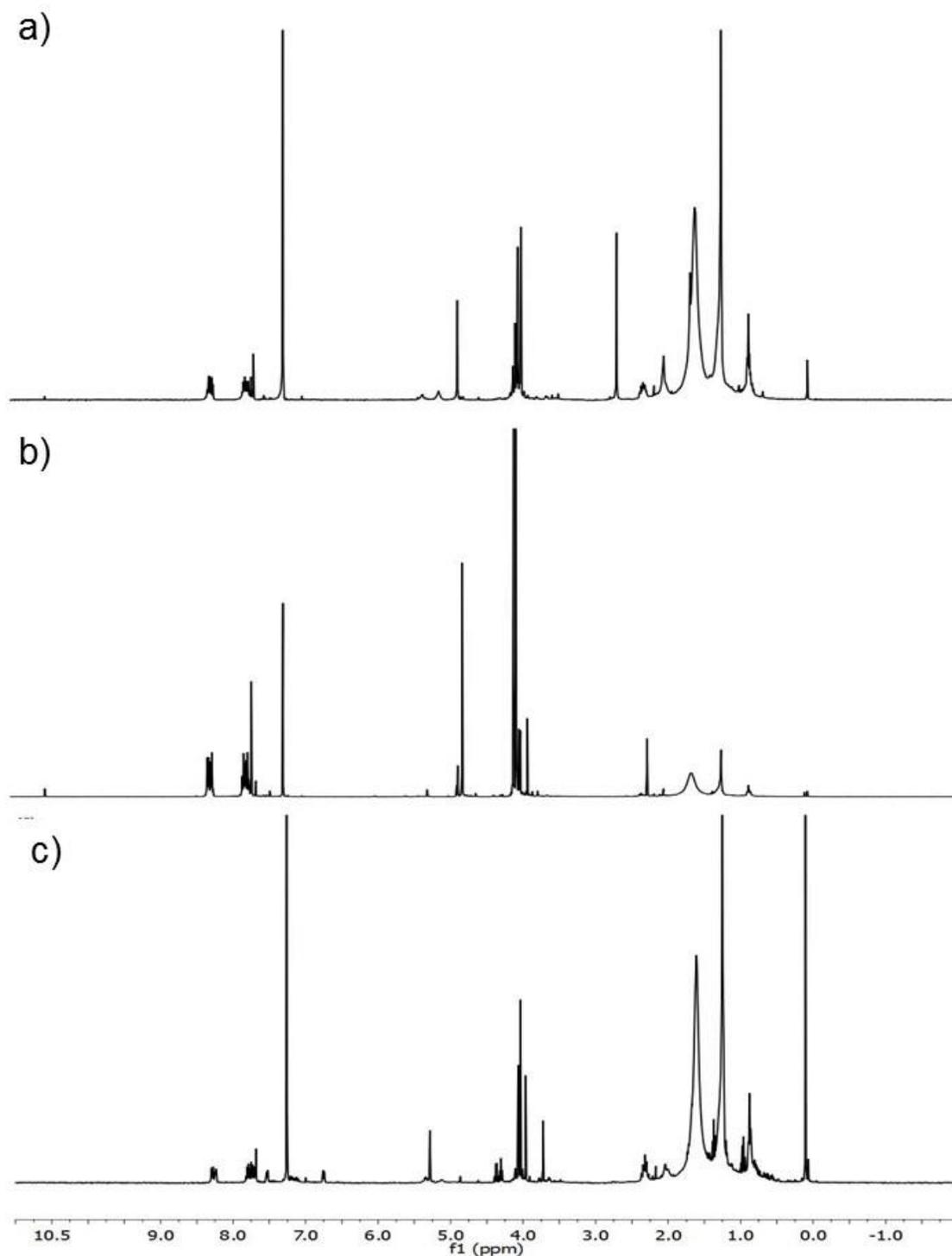


Figura 61. Espectros de RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) de las fracciones obtenidas del crudo de reacción de 48 horas, a) Fracción 1 b) fracción 2, c) fracción 3.

Como se observa en los espectros de RMN-¹H, las tres fracciones presenta las señales características de la antraquinona entre 7.5 y 8.5 ppm correspondientes a los protones aromáticos, de igual manera se observan señales entre 4 y 4.5 ppm pertenecientes a los protones de grupo metoxilo, y por ultimo solo en la fracción tres se logró observar una señal que podría corresponder a los protones del trimetilacetileno y una señal simple probablemente resultante al metileno unido a carbono *Sp*.

Por consiguiente se purificó la fracción tres por cromatografía en placa preparativa obteniéndose dos fracciones las cuales fueron analizadas por RMN-¹H como se muestra en la Figura 62

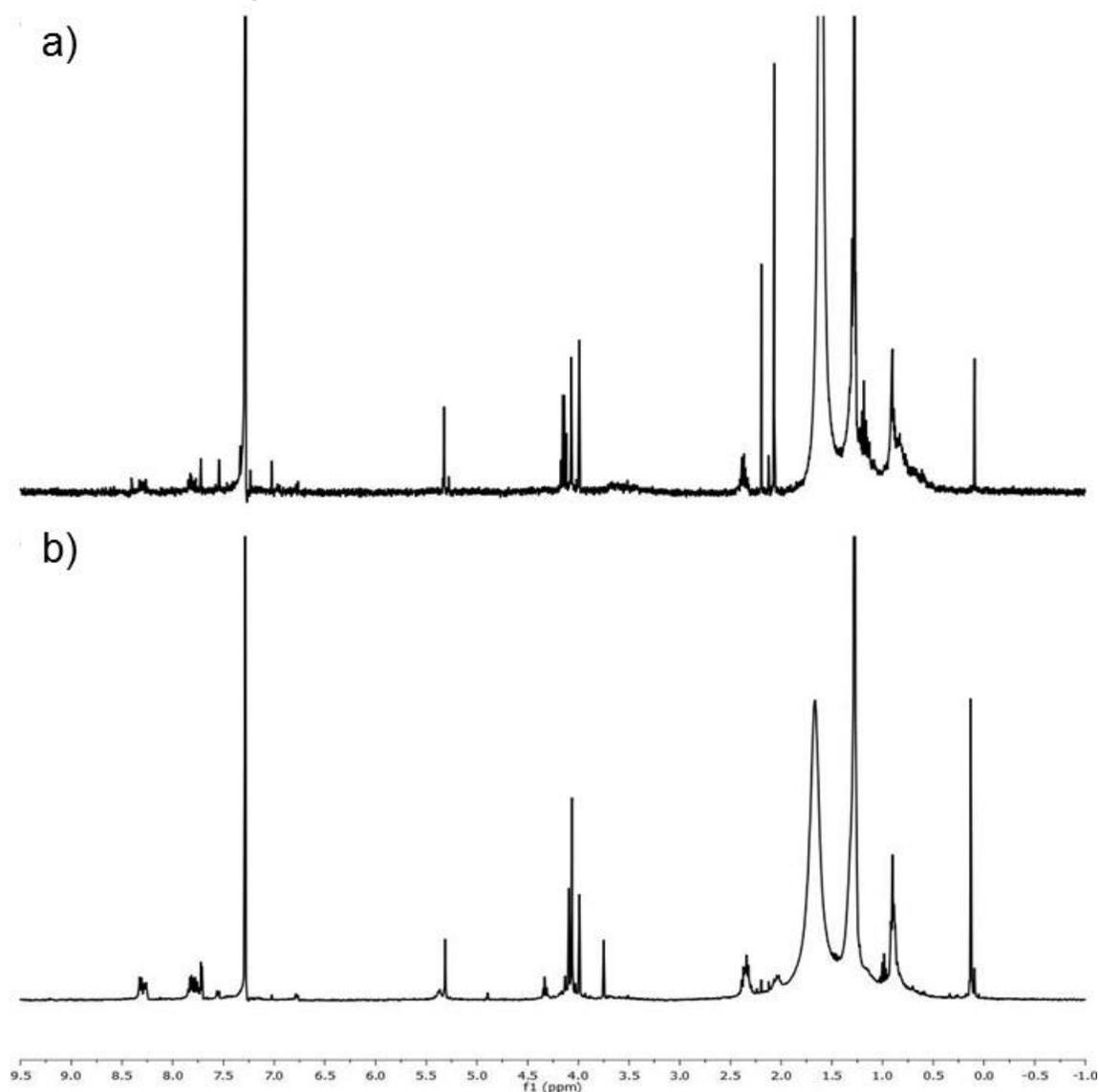


Figura 62. Espectros de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) de la reacción de acoplamiento de la fracción tres de 48 horas, a) Fracción 1 b) fracción 2.

Como se observa en los espectros anteriores solo una de las fracciones pudo dar un indicio de la formación del producto deseado, sin embargo, a través de la medición de integrales de las señales se descartó que la fracción dos correspondiera al derivado acetilénico.

Ante ello se piensa que el derivado bromado se ve afectado por la baja reactividad de las antraquinonas como ya lo hemos confirmado en las anteriores reacciones en los que se han visto que los rendimientos y los tiempos de reacción son mayores de los esperados, por su parte las reacciones de acoplamiento catalizadas por un metal de transición requieren tiempos prolongados, una fusión de estos dos inconvenientes puede ser la causa del fallido acoplamiento así como la sensibilidad del catalizador ante condiciones de humedad esto aunado a los tiempos prolongados de dichas reacciones.

6. CONCLUSIONES

La raíz de la especie *Morinda panamensis* Seem es una fuente rica para la obtención de compuestos de naturaleza 9,10-antracenodionas, especialmente antraquinonas de tipo rubia, esto se vio reflejado en las cantidades de las antraquinonas aisladas, reforzando así lo que se reporta en la literatura para las especies del género *Morinda* y tomando en cuenta que se trabajaron con cuatro de las nueve fracciones obtenidas de la columna primaria; además que mediante el análisis de cuantificación por RMN de los extractos orgánicos se confirmó lo mencionado anteriormente.

Es posible realizar modificaciones al anillo C de las antraquinonas de tipo rubia aisladas y sintetizadas en las posiciones funcionalizadas, 1, 2 y 3, tales como acetilaciones, metilaciones, reducciones, halogenaciones y esterificaciones por mencionar algunas, partiendo de lo reportado en la literatura.

Como se presenta en el trabajo la replicación de las metodologías de metilación, reducción síntesis de la fuente de halogenación fueron estandarizadas con condiciones óptimas de reacción, esto fue demorado debido a la variación de los equivalentes y tiempos de reacción, siendo este último el que presentó mayor problema ante las modificaciones realizadas sobre las antraquinonas, ya que sus tiempos de reacción van desde las 24 h hasta 120 h, proponiendo así la baja reactividad de las antraquinonas y el uso de excesos de equivalentes en reacciones de metilación y halogenación.

Se realizaron dos métodos para la obtención final del derivado bromado, el primero partiendo del damnacantal a través de tres pasos dando un rendimiento total del 18% y el segundo método mediante la síntesis de la rubiadina seguida de dos pasos más, dando como rendimiento total un 15 %. Con base a lo anterior se comprobó que la forma más efectiva de obtener el derivado bromado es a partir del damnacantal presente en la raíz de *M. panamensis*, evitando así el gasto de reactivos y tiempo.

De acuerdo a los datos obtenidos en las modificaciones realizadas para la obtención del intermediario bromado, se logró evaluar la reactividad del damnacantal, como fue el caso del uso de una fuente de halogenación propuesta, el α,α -dibromo- β -dicarbonilo el cual no tuvo éxito para llevar a cabo la halogenación, por lo que sugiere que ante este tipo de sustrato como las antraquinonas no puede ser aplicable esta fuente alternativa de halogenación.

Ante todo lo anterior el mayor motivo de la modificación de las antraquinonas es la obtención de compuestos que tienen la función de ser bloques de construcción para llegar a un intermediario final mediante una alquilación, que este a su vez pueda dar lugar a una amplia gama de compuestos (heterociclos) con interés biológico.

No es viable el acoplamiento cruzado utilizando un catalizador de CuI entre etiniltrimetil silano y una antraquinona halogenada en la posición dos, sin embargo, no se descarta que con el uso de otros catalizadores.

7. REFERENCIAS

1. Su, B.; Pawlus, A. D.; Jung, H.; Keller, W. J.; Mclaughlin, J. L.; Kinghorn, A. D. Chemical Constituents of the Fruits of *Morinda Citrifolia* (Noni) and their Antioxidant Activity. *J. Nat. Prod.* **2005**, *1*, 592 - 595.
2. Mendoza, H.; P, B. R. R.; Jiménez, L. C.; Mendoza, H. Rubiaceae de Colombia. Guía Ilustrada de Géneros. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. 1a ed., Bogotá, Colombia. 2004; pp 31 - 32.
3. Borroto, J., Trujillo, I. R., Yael, I. I., Torre, C. De, Noemí, I. I., Hernández, I. V. M., & Vi, V. R. S.. Actividad Antimicrobiana y Toxicidad Frente a *Artemia salina* del Extracto Diclorometánico de Raíces de *Morinda royoc*. **2011**, *16*, 34 - 42.
4. Martins, D.; Nunez, C. V. Secondary Metabolites from Rubiaceae Species. *Molecules.* **2015**, *20*, 13422 - 13495.
5. Blanco, J. B.; Jerez, M. A. B.; Paneca, M. R.; Torre, H. De; Laffite, O. C.; Sánchez, R. T. Meroterpenos (Antraquinonas) En Diferentes Partes de la Planta de *Morinda royoc* L. *Revista CENIC Ciencias Biológicas.* **2005**, *36*.
6. Chizmar, F., Plantas Comestibles de Centroamérica, 1a ed., Santo Domingo de Heredia, Costa Rica. 2009, pp 276 - 277.
7. Potterat, O. *Morinda citrifolia* (Noni) Fruit Phytochemistry, pharmacology, safety. *Planta Med.* **2007**, *73*, 191 - 199.
8. Nandhasri, P.; Pawa, K. K. Nutraceutical Properties of Thai "Yor", *Morinda citrifolia* and "Noni" Juice Extract. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **2004**, *27*, 579 - 586.
9. Shotipruk, A.; Kiatsongserm, J.; Pavasant, P.; Goto, M.; Sasaki, M. Pressurized Hot Water Extraction of Anthraquinones From the Roots of *Morinda citrifolia*. *Biotechnol. Prog.* **2004**, *20*, 1872 - 1875.
10. Pawlus, A. D.; Su, B.; Keller, W. J.; Kinghorn, A. D. An Anthraquinone with Potent Quinone Reductase-Inducing Activity and Other Constituents of the Fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*, 1720 - 1722.
11. Deng, Y.; Chin, Y.; Chai, H.; Keller, W. J.; Kinghorn, A. D. Anthraquinones with Quinone Reductase-Inducing Activity and Benzophenones from *Morinda citrifolia* (Noni) Roots. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 43, 2049 - 2052.
12. Hornick, C. A.; Myers, A.; Sadowska-krowicka, H.; Anthony, C. T.; Woltering, E. A. Inhibition of Angiogenic Initiation and Disruption of Newly Established Human Vascular Networks by Juice from *Morinda citrifolia* (Noni). *Angiogenesis.* **2003**, *6*, 143 - 149.
13. Siddiqui, B. S.; Sattar, F. A.; Ahmad, F.; Begum, S. Isolation and Structural Elucidation of Chemical Constituents from the Fruits of *Morinda citrifolia* Liin. *Arch Pharm Res.* **2007**, *30*, 919 - 923.

14. Zin, Z. M.; Hamid, A. A.; Osman, A.; Saari, N.; Misran, A.; Science, F. Isolation and Identification of Antioxidative Compound From Fruit of Mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Inter. J. of Food*. **2007**, No. 773294225.
15. Sang, S.; Cheng, X.; Zhu, N.; Wang, M.; Jhoo, J.; Stark, R. E.; Badmaev, V.; Ghai, G.; Rosen, R. T.; Ho, C. Iridoid Glycosides From the Leaves of *Morinda citrifolia*. *J. Nat. Prod*. **2001**, *64*, 799 - 800.
16. Kamiya, K.; Tanaka, Y.; Endang, H.; Umar, M.; Satake T., Chemical Constituents of *Morinda citrifolia* Fruits Inhibit copper-induced Low-Density Lipoprotein Oxidation. *J. Agric. Food Chem*. **2004**, *52*, 5843 - 5848.
17. Mian-ying, W.; West, B. J.; Jensen, C. J.; Nowicki, D.; Chen, S. U.; Palu, A. K.; Anderson, G. *Morinda citrifolia* (Noni): A Literature Review and Recent Advances in Noni Research. *Acta Pharmacol. Sin*. **2002**, *23*, 1127 - 1141.
18. Espitia L. Contribución al Conocimiento Fitoquímico de las Hojas de *Morinda panamensis*. Tesis de Maestría. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Yucatán. (2013).
19. Mcclatchey, W. From Polynesian Healers to Health Food Stores : Changing Perspectives of *Morinda citrifolia* (Rubiaceae). *Integr. Cancer. Ther*. **2002**, *1* (2), 110 - 120.
20. Han, Y. H., Van der Heijden, R., Verpoorte, R. Biosynthesis of Anthraquinones in Cell Cultures of the Rubiaceae. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, **2001**, *67*, 201 - 220.
21. Saha, K.; Lam, K. W.; Abas, F.; Hamzah, A. S.; Stanslas, J.; Hui, L. S.; Lajis, Synthesis of Damnacanthal, a Naturally Occurring 9, 10-anthraquinone and its Analogues, and its Biological Evaluation Against Five Cancer Cell Lines. *Med. Chem. Res*. **2013**, *22*, 2093 - 2104.
22. Fat'it M., Yamini Y., Sharghi H., Shamsipur M. Solubilities of Some 1,4-dihydroxy-9,10-Anthraquinone Derivatives in Supercritical Carbon Dioxide. *J.Chem. Eng*. **1998**, *43*, 400 - 402.
23. Sciences, B.; Sciences, B.; Darul, U.; Terengganu, K. Cytotoxic Effect of Damnacanthal, Nordamnacanthal, Zerumbone and Betulinic Acid Isolated from *Malaysian* Plant Sources. *Int. Food Res. J.*, **2010**, *17*, 711 - 719.
24. Kamei, H., Koide, T., Kojima, T., Hasegawa, M. Inhibition of Cell Growth in Culture by Quinones. *Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals*, **1998**, *13*, 185 - 188.
25. Zee-Cheng R., Podrebarac E., Menon C., Cheng C. Structural Modification Study of Bis (Substituted Aminoalkylamino) Anthraquinones. An Evaluation of the Relationship of the [2-[(2-hydroxyethyl)amino]amino Side Chain with Antineoplastic Activity. *J. of Med. Chem.*, **1979**, *22*, 501 - 505.
26. Mavolij, N.; Marcovic, Z.; Duric, M. Regioselective Synthesis and Antimicrobial Activity of O-Alkylated Physcion's Derivates. *J. Chil. Chem. Soc*. **2007**, *52*, 4, 1330 - 1331.
27. Cívicos J. Reacciones de Acoplamiento Carbono-Carbono Catalizadas por Paladacillos Derivados de Oximas con Cloruros Orgánicos e Imidazolilsulfonatos

- Asistidas por Microondas. Tesis de Doctorado. Departamento de Química Orgánica, Universidad de Alicante. (2012).
28. Bock, V., Hiemstra, H., Maarseve, J. Cu¹-Catalyzed Alkyne-Azide "Click" Cycloadditions from a Mechanistic and Synthetic Perspective. *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, *1*, pp 51 - 68.
 29. Wu, J., Gong, L., Xia, Y., Song, R. Nickel-Catalyzed Kumada Reaction of Tosylalkanes with Grignard Reagents to Produce Alkenes and Modified Arylketones. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, *51*, 9909 - 9913.
 30. Horton D., Bourne G., Smythe M. The Combinatorial Synthesis of Bicyclic Privileged Structures or Privileged Substructures. *Chem. Rev.*, **2003**, *103*, 893 - 930.
 31. Prasad, D., Waser, J. Copper Catalysed Oxo-Alkynylation of Diazo Compounds with Hypervalent Iodine Reagentstion. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 2190 - 2193.
 32. Brand, J. P.; Waser, J. Electrophilic Alkynylation: The Dark Side of Acetylene Chemistry. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 416 - 4179.
 33. Wang, W.; Wei, F.; Ma, Y.; Tung, C.-H.; Xu, Z. Copper(I)-Catalyzed Three-Component Click/Alkynylation: One-Pot Synthesis of 5-Alkynyl-1,2,3-Triazoles. *Org. Lett.* **2016**, 2199 - 2223.
 34. Teong, S., Yu, D., Sum, Y., Zhang, Y. Copper Catalysed Alkynylation of Tertiary Amines with CaC₂ via Sp³ C-H Activation. *Green Chem.* **2016**, *42*, 1 - 5.
 35. Beletskaya, I., Cheprakov, A., Copper in cross-couplin reactions the post-Ullmann chemistry, *Coordination Chem. Rev.* **2004**, *248*, pp 2337 - 2364.
 36. Beletskaya, I., Cheprakov, A., Copper in Cross-Coupling Reactions the Post-Ullmann Chemistry, *Coordination. Chem. Rev.* **2004**, *248*, pp 2337 - 2364.
 37. Davies, K. A.; Abel, R. C.; Wulff, J. E. Operationally Simple Copper-Promoted Coupling of Terminal Alkynes With Benzyl Halides. *J. Org. Chem.* **2009**, *6*, 3997 - 4000.
 38. Ye, H.; Liu, R.; Li, D.; Liu, Y.; Yuan, H.; Guo, W.; Zhou, L.; Cao, X.; Tian, H.; Shen, J.; Wang, P. G. A Safe and Facile Route to Imidazole-1-Sulfonyl Azide as a Diazotransfer Reagent. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 18 - 21.
 39. Gow-Chin Y, Pin-Der D. DaYon C. Antioxidant Activity of Anthraquinones and Anthrone. *Food Chem.***2000**, *70*, 437 - 441.
 40. Liang J., Cha H., Son J. Chang H.A Facile Synthesis of Emodin Derivades, Emodin Carbaldehyde, Citreorosein, and Their 10.Deoxygenated Derivatives and Their Inhibitory Activities on μ -Calpain. *Arch. Pharm. Res.***2012**, *35*, 447 - 454.
 41. Feng L., Liu M., Wang S., Zhao J. Li S. Synthesis and *in vitro* Antibacterial Activity of Gemifloxacin Derivatives Containing a Substituted Benzyloxime Moiety. *Eur. J. Med. Chem.*, **2012**, *55*, 125 - 136.
 42. Xu Y., Hu R., Cai M. A facile Synthesis of Terminal Arylacetylenes Via Sonogashira Coupling Reactions Catalized by MCM-41 Suported Mercapto Palladium(0) Complex. *Chin. Chem. Lett.* **2008**, *19*, 783 - 787.

43. Akhtar, M. N.; Zareen, S.; Yeap, S. K.; Ho, W. Y.; Lo, K. M.; Hasan, A.; Alitheen, N. B. Total Synthesis, Cytotoxic Effects of Damnacanthal, Nordamnacanthal and Related Anthraquinone Analogues. *Molecules*, **2013**, *18*, 10042 - 10055.
44. Kumar, S., Roy, R. Quantitative ¹H NMR Spectroscopy. *Trens Anal. Chem.*, **2012**, *35*, 5.
45. Staneva, J., Dencova P., Todorova M.; Quantitative Analysis of Sesquiterpene Lactones in Extract of Arnica Montana L. by ¹H NMR Spectroscopy; *J. Pharm. Biomed. Anal., Bulgaria*, **2011**, *54*, 94 - 99.
46. Endale M., Ekberg, A., Alao, J., Akala, H., Ndakala A., Sunnerhagen, P. Antraquinones of the Roots of Pentas Micratha, *Molecules*, **2013**, *18*, 311 - 321.
47. Chang P., Lee K.; Antitumor Agents Synthesis of Cytotoxic Anthraquinones Digiferrunginol and *Morinda parvin-B*. *J. Nat. Prod.*, **1985**, *48*, 948-951.
48. Bhuyan R., Saikia C. Extraction of Natural Colorants From Roots of *Morinda angustifolia* Roxb-Their Identification and Studies of Dyeing Characteristic on Wool. *In. J. Chem. Tec.*, **2003**, *10*, 131 - 136.
49. Saha K., Aba F., Stanslas J. Synthesis of Damnacanthal, a Naturally Occurring 9,10-Anthraquinone and its Analogues, and its Biological Evaluation Against Five Cancer Cell Line. *Med. Chem. Res.*, **2013**, *22*, 2093 - 2104.
50. Hinterding, K.; Knebel, A.; Waldmann, H. Synthesis and Biological Evaluation of Aeroplysinin Analogues : A New Class of Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.*, **1998**, *6*, 1153 - 1162.
51. Azad, C. S.; Saxena, A. K. One Pot Conversion of Carbohydrates Alcohol into Chloride via Benzotriazole Sulfonate. *Tetrahedron*, **2013**, *69*, *12*, 2608 - 2612.
52. Cui, X.; Guan, Y.; Li, N.; Lv, H.; Fu, L.; Guo, K.; Fan, X. A Mild and Efficient Method for Bromination of Alcohols Using α,α -Dibromo- β -Dicarbonyl Compounds as Halogen Sources. *Tetrahedron Lett.*, **2014**, *55*, 90 - 93.
53. Skalamera, Đ.; Bohne, C.; Landgraf, S.; Basaric, N. Photodeamination Reaction Mechanism in Aminomethyl p-Cresol Derivatives: Different Reactivity of Amines and Ammonium Salts. *J. Org. Chem.*, **2015**, *80*, 10817 - 10828.
54. Li, Y. A Facile Synthesis and Application of Ethyl 6-(Bromomethyl)-[1,3]dioxolo[4,5-G]quinoline-7-Carboxylate., *Res. Chem. Intermed.*, **2015**, 4977 - 4985.
55. Zhang, T.; Li, S.; Yuan, W.; Wu, Q.; Wang, L.; Yang; Discovery and Biological Evaluation of Some (1 H -1 , 2 , 3-Triazol-4-Yl) Methoxybenzaldehyde Derivatives Containing an Anthraquinone Moiety as Potent Xanthine Oxidase Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, *27*, *4*, 729 - 732.

