



UADY

POSGRADO
INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS
QUÍMICAS Y
BIOQUÍMICAS

SEMISINTESIS DE DERIVADOS LIPOFÍLICOS A
PARTIR DEL DAMNACANTAL AISLADO DE
Morinda panamensis.

TESIS

PRESENTADA POR

JESSICA ALEJANDRA CARRILLO UICAB

EN OPCIÓN AL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS
QUÍMICAS Y BIOQUÍMICAS

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO

2019



UADY

POSGRADO
INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS
QUÍMICAS Y
BIOQUÍMICAS

**SEMISINTESIS DE DERIVADOS LIPOFÍLICOS A
PARTIR DEL DAMNACANTAL AISLADO DE
Morinda panamensis.**

TESIS

PRESENTADA POR

JESSICA ALEJANDRA CARRILLO UICAB

EN OPCIÓN AL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS
QUÍMICAS Y BIOQUÍMICAS**

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO

2019



Mérida, Yuc., 30 de octubre de 2019

Oficio Num.: PICQB/206/2019

Asunto: Autorización de digitalización

La tesis "Semisíntesis de derivados lipofílicos a partir del damnacantal aislado de *Morinda panamensis*" presentada por Jessica Alejandra Carrillo Uicab, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar por el grado de Maestra 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 digitalización de los ejemplares correspondientes.

Directores de la tesis


Dr. Rolando David Cáceres Castillo


Dr. Gumerindo Milón López

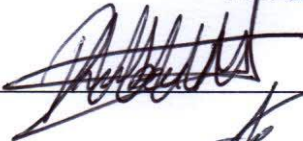


Sinodales

Dr. Rubén Marrero Carballo

Dr. Julio Cesar Torres Romero

Dr. Alejandro Ávila Ortega

Firmas

ATENTAMENTE
"LUZ, CIENCIA Y VERDAD"


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



c.c. Archivo
MRSC

POSGRADO INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS QUÍMICAS
Y BIOQUÍMICAS

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 los dos años del posgrado, hasta las personas que de manera más estrecha compartieron ideas y experiencia para la finalización de este documento.

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

Al Comité Revisor y H. Sínodo, **Dr. Rubén Marrero Carballo**, **Dr. Julio Torres Romero**, **Dr. Alejandro Ávila Ortega** y **Dr. Gonzalo Mena Rejón**, 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.

Al **Q. Mario Noh Burgos**, **Q.F.B Jesús Aguilera**, **M. en C. Sara Medina Gómez** y **Br. Mario López**, por toda su ayuda en la parte experimental, sus consejos e ideas, paciencia, tiempo invertido, amistad y apoyo incondicional durante mi formación, de igual manera agradezco al **Br. Martín Patiño** y **Q. Julio Aguiar** por su compañerismo y cooperación en la realización de este proyecto.

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.

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Química Farmacéutica de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán, bajo la dirección del Dr. Rolando David Cáceres Castillo y el Dr. Gumersindo Mirón López y forma parte del proyecto “Modificación estructural de antraquinonas aisladas de *Morinda panamensis*”, financiado con recursos del Programa de Fortalecimiento de la Calidad en Instituciones Educativas (PROFOCIE) 2014 (Registro SISTPROY FQUI-2016-0004).

RESUMEN

Las infecciones por parásitos intestinales siguen siendo, particularmente en los países en desarrollo, un importante problema de salud pública. Si bien existen en el mercado una gran variedad de fármacos para el tratamiento de estas enfermedades parasitarias, muchos de estos presentan ciertos inconvenientes tales como efectos secundarios y resistencia de algunas cepas frente a estos fármacos. Por lo que es necesaria la búsqueda de nuevas alternativas para el tratamiento de este tipo en particular de enfermedades parasitarias.

Considerando que la corteza de las raíces del género *Morinda* es fuente de antraquinonas y que estas estructuras cuentan con potencial biológico. El presente trabajo describe el aislamiento del damnacantal, antraquinona encontrada en las raíces de la especie *M. panamensis*. De forma complementaria se presenta la secuencia de reacciones para la obtención de ésteres antraquinónicos mediante la introducción de grupos acilo con cloruros de ácido, procedimiento del que se desprende la obtención de seis compuestos de tipo éster con el esqueleto de tipo 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo. Finalmente los ésteres obtenidos se analizaron en función de sus propiedades fisicoquímicas y se determinó que el butirato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo, presenta un mejor potencial como plantilla en la obtención de ésteres bioactivos derivados del damnacantal.

ABSTRACT

Intestinal parasitic infections remain as an important health problem, particularly in developing countries. Although there a variety of drugs for parasitic treatments are commercially available, they have shown certain inconvenience such as secondary effect as microbiological resistance to those drugs. Therefore, further investigations as novel alternatives for parasitic diseases are required.

Considering that *Morinda* genus bark from the roots are source of anthraquinones, being that these structures have biological activity potential. In this work is described isolation of damnacanthal, an anthraquinone founded in *Morinda panamensis*. In a complementary way, a sequence of reactions for the obtention of anthraquinonic esters through acyl groups introduction with different acyl chlorides, with this procedure six ester compounds with 1,3-dimethoxy-9,10-dioxo-9,10-dihydroanthracen-2-metyl skeleton. Finally, the obtained esters were analyzed by physicochemical properties and was determined that 1,3-dimethoxy-9,10-dioxo-9,10-dihydroanthracen-2-metyl butirate have a better potential as a scaffold for the future obtention of bioactive esters derivatives from damnacanthal.

ÍNDICE

| | Pág. |
|--|------|
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| ANTECEDENTES | 3 |
| Giardia | 3 |
| Antraquinonas con actividad antiparasitaria | 6 |
| Familia Rubiaceae | 8 |
| Genero <i>Morinda</i> | 8 |
| <i>Morinda panamensis</i> | 10 |
| Antraquinonas de <i>Morinda</i> | 12 |
| Análogos semisintéticos de antraquinonas | 14 |
| HIPOTESIS | 19 |
| JUSTIFICACIÓN | 21 |
| OBJETIVOS | 23 |
| Objetivo general | 23 |
| Objetivos específicos | 23 |
| MATERIALES Y METODOS | 25 |
| Materiales y equipo de laboratorio | 25 |
| Recolecta, procesamiento y extracción del material vegetal | 26 |
| Procedimientos generales de síntesis | 29 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 33 |
| Cuantificación de damnacantal en extractos orgánicos de <i>Morinda panamensis</i> Seem por Resonancia Magnética Nuclear. | 33 |
| Identificación del damnacantal | 34 |
| Productos de la síntesis de derivados lipofílicos | 35 |
| Calculo de propiedades fisicoquímicas moleculares | 46 |
| CONCLUSIONES | 51 |
| REFERENCIAS | 53 |
| ANEXOS | 59 |

INTRODUCCIÓN

La giardiasis es un parasitismo de amplia dispersión mundial y de elevada prevalencia, sobre todo entre la población infantil. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) la giardiasis afecta a más de 200 millones de personas alrededor del mundo anualmente. Datos presentados por la Secretaría de Salud, muestran que en México el número de casos nuevos reportados de giardiasis desde el año 2005 hasta el 2018 es igual a 280 114, mientras que en Yucatán es de 19 738. En la actualidad existe un número notable de drogas para el tratamiento de esta parasitosis, sin embargo se ha observado un fracaso terapéutico debido a que algunas cepas de *giardia* han presentado resistencia a los fármacos. Lo cual muestra la necesidad de búsqueda de nuevas alternativas para el tratamiento de esta parasitosis.

Las antraquinonas, quinonas tricíclicas, son compuestos que han presentado actividad antiparasitaria, por lo cual se han utilizado como patrón para la obtención de diferentes derivados con potencial biológico en el área de compuestos antiparasitarios. Las antraquinonas se encuentran en diversas familias de plantas, entre las que destacan las pertenecientes a la familia Rubiaceae, de donde se desprende el género *Morinda* cuyas especies se han empleado por décadas en la medicina tradicional. Las raíces de *Morinda* se caracterizan por ser fuente importante de antraquinonas. Por otra parte los metabolitos biosintetizados de las especies de este género han despertado gran interés debido a la diversidad de actividades biológicas que exhiben.

Con este argumento el presente trabajo se enfoca en el aislamiento y modificación de antraquinonas para la obtención de derivados esterificados, en los cuales se pueda modular su carácter lipofílico, mediante la reacción de un derivado hidroxiantraquinónico con diferentes cloruros de ácido. A partir de los derivados obtenidos, se presenta un análisis de las propiedades fisicoquímicas obtenidas de forma teórica.

ANTECEDENTES

Giardia

Las infecciones por parásitos intestinales siguen siendo una importante carga de salud, particularmente en los países en desarrollo donde una proporción considerable de la población tiene un saneamiento deficiente y no tienen acceso a agua adecuada.¹

La infección con *Giardia intestinalis* (sin. *G. duodenalis*, *G. lamblia*) es una de las principales causas de enfermedad parasitaria más común en todo el mundo. La giardiasis puede manifestarse como un síndrome diarreico agudo, crónico o intermitente. También existe el estado de portador asintomático. Esta parasitosis se inicia por la ingestión de los quistes del parásito, los cuales se liberan durante su pasaje por el contenido ácido del estómago, liberando los trofozoítos. Estos colonizan el intestino delgado superior (duodeno y parte inicial del yeyuno) y se adhieren a la superficie del epitelio intestinal mediante un organelo característico llamado disco ventral o de adhesión.²

Este protozooario constituye un importante problema de salud pública global, especialmente en países en desarrollo, por su capacidad de ser transmitido por el agua. El 64% de los brotes reportados por contaminación de agua, han tenido su origen en la infiltración de aguas negras hacia las tuberías de suministro de agua potable. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) la giardiasis afecta a más de 200 millones de personas alrededor del mundo anualmente.²

La frecuencia de esta parasitosis en México es muy variable, con cifras que fluctúan del 2% al 39%. Un estudio que reunió 37 trabajos realizados en 14 estados de la República Mexicana, mostró una prevalencia del 18.98%, presentándose la mayor parte de ellos en preescolares y escolares.³

Se calcula que en México hay 9 millones de personas parasitadas por *Giardia intestinalis*, siendo esta protozoosis la causa más común de parasitosis intestinal.² Datos presentados por la Secretaría de Salud, muestran que en México el número de casos nuevos reportados de giardiasis desde el año 2005 hasta el 2018 es igual a 280 114, mientras que en Yucatán es de 19 738. Los casos reportados por año desde el 2005, se muestran en la figura 1.⁴

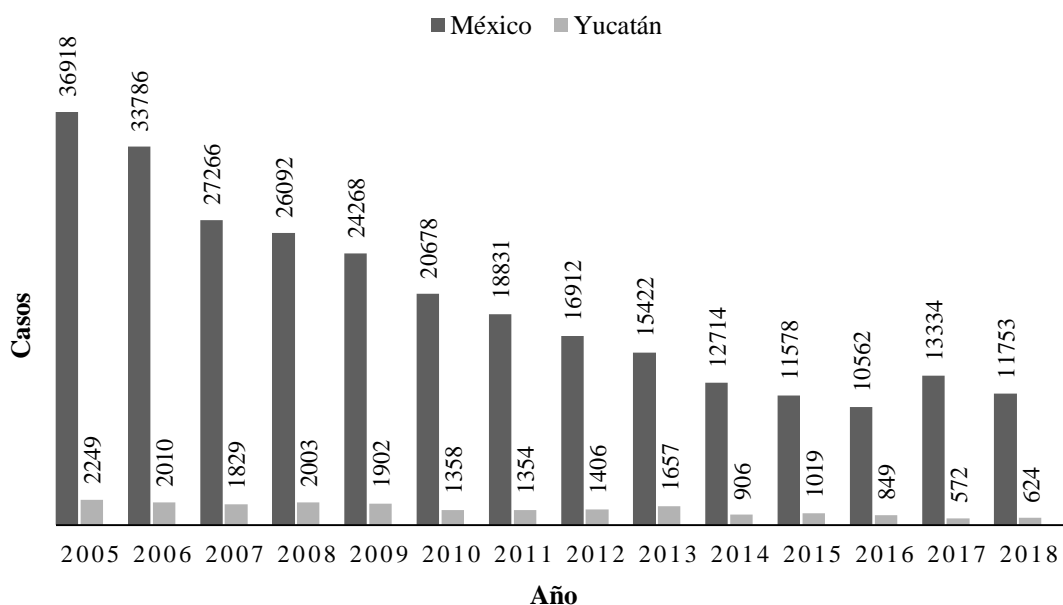
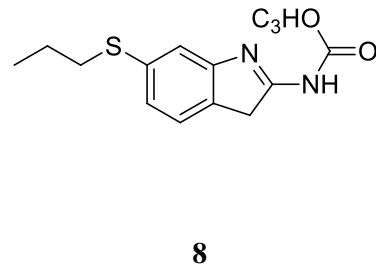
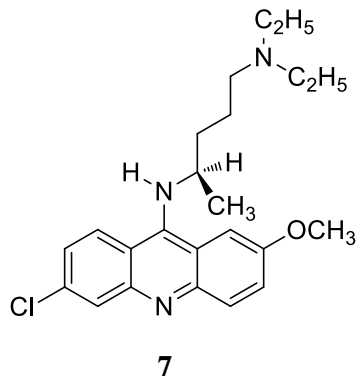
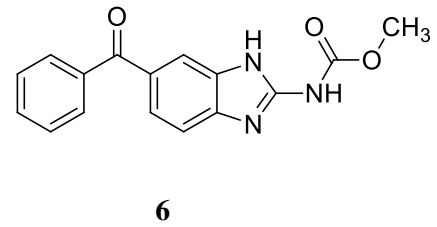
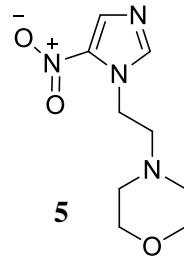
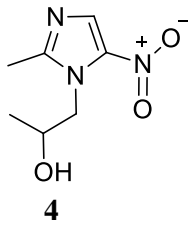
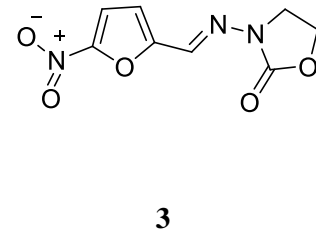
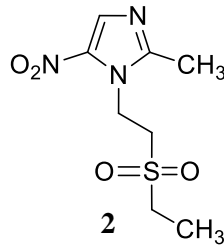
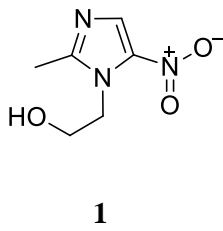


Figura 1. Datos anuales reportados de casos nuevos de giardiasis del 2005-2016, en México y Yucatán. ⁴

Los fármacos destinados para el tratamiento de la giardiasis son relativamente eficaces y son de uso mundial, sin embargo, numerosos estudios⁵⁻⁷ han demostrado que pueden presentar un gran número de efectos secundarios y ya se han registrado cepas de *Giardia* resistentes a los mismos.⁸ Para el tratamiento de esta parasitosis en México se utilizan ampliamente tres fármacos: el metronidazol **(1)**, el tinidazol **(2)**, y la furazolidona **(3)**. Otros fármacos usados para combatir la giardiasis son el secnidazol **(4)**, nimurazol **(5)**, mebendazol **(6)**, albendazol **(7)** y la quinacrina **(8)**.^{2,9}



Los efectos secundarios reportados para estos fármacos incluyen: anorexia, náusea, vómitos, teratogenicidad potencial, malestar estomacal, dolor de cabeza, fatiga física, mareos, somnolencia y perturbaciones del sueño.¹ Sumado a los efectos secundarios que estos fármacos ocasionan, es frecuente la reinfección luego del tratamiento debido a que estos individuos no generan mecanismos de defensas eficaces para eliminar el parásito.²

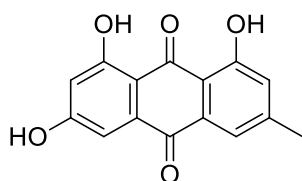
El metronidazol es el fármaco de elección para el tratamiento de este parásito y ha sido utilizado por más de cuatro décadas. Este fármaco no sólo ha presentado efectos secundarios, sólo o en conjunto con los otros agentes quimioterapéuticos, sino que igual se ha reportado la aparición de cepas de *Giardia* resistentes a su acción antiparasitaria, es por esa razón que se considera importante el estudio de nuevos agentes terapéuticos,

con el fin de desarrollar nuevos tratamientos contra la giardiasis que no presenten estos inconvenientes.²⁻⁴

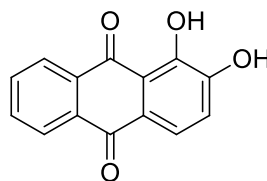
Antraquinonas con actividad antiparasitaria

Las antraquinonas son producto del metabolismo secundario con gran importancia en la industria farmacéutica. Estos metabolitos son un importante grupo de compuestos secundarios encontrados en bacterias, hongos, líquenes y plantas superiores.¹⁰ Estos compuestos exhiben variadas actividades biológicas entre las que destacan antimicrobiana,¹¹⁻¹³ antioxidante,^{14,15} contra la activación del virus de Epstein-Barr,¹⁴ actividad anti-citomegalovírica humana,^{14,16} antitumoral,^{14,18} antifúngica¹⁷ y antiparasitaria.²⁰ Entre las aplicaciones adicionales de las antraquinonas se pueden incluir: como biocatalizador en el proceso de producción de la pulpa de madera, como repelente de aves, laxante y agente inhibidor del crecimiento bacteriano.¹⁹

Diversos estudios han identificado antraquinonas con actividad en contra distintos protozoos.²⁰ La emodina (**9**), mostró efectos con un IC₅₀ de 18.5 μM contra *Plasmodium falciparum*, el protozoario causante de la malaria, una de las enfermedades de mayor impacto en los países en desarrollo, que causa pérdida de energía, debilidad, pérdida de la capacidad de trabajo y severos daños económicos.^{21, 22} Por otra parte se ha demostrado que la alizarina (**10**) igual es activa contra dicho protozoo.²³

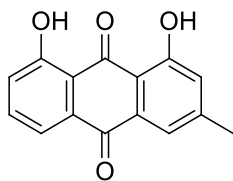


9

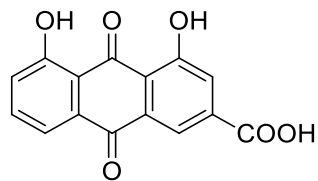


10

De especies del género *Picramnia* se aisló un derivado clorado de tipo antracencarboxílico con potencial aplicación en la enfermedad de Chagas (*Trypanosoma cruzi*). También se identificaron hidroxiantraquinonas naturales como el crisofanol (**11**), reina (**12**) y emodina (**9**) que poseen actividad contra la misma patología. Ensayos antiparasitarios realizados a estas antraquinonas demostraron que el crisofanol presenta una mayor acción contra el *Trypanosoma* que la reina y la emodina.^{24, 25}

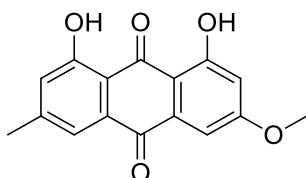


11



12

En 2007 se realizaron estudios de actividad antiprotozoaria a los extractos de metanol de hojas, raíces y corteza de *Senna racemosa*, así como a compuestos aislados de la misma, entre estos se encontraban dos antraquinonas, fision (**12**) y crisofanol (**11**) que presentaron actividad antiprotozoal contra *Giardia intestinalis* (IC₅₀ de 18.5 / 50 μM) y *Entamoeba histolytica* (IC₅₀ de 24.4 /44.7 μM).^{26, 27}

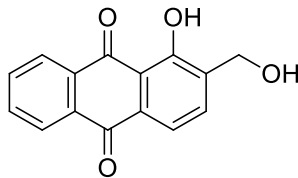


13

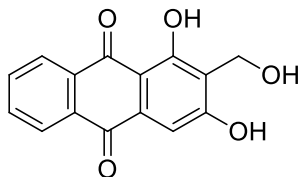
Estudios realizados en 2014 a extractos de la planta *Coptosapelta flavescens* evidenciaron la presencia de la antraquinona 1-hidroxi-2-hidroximetilantraquinona (**13**) que presentó actividad en contra de *Entamoeba histolytica* y *Giardia intestinalis* con valores mínimos de concentración inhibitoria de 78.7 y 9.8 μM, respectivamente. El efecto de esta antraquinona fue comparable al del metronidazol, que es uno de los medicamentos de elección para el tratamiento de estas parasitosis.²⁸

En 2015 estudios realizados a las antraquinonas presentes en *Morinda elliptica* mostraron que la antraquinona lucidina (**15**) es activa contra *Entamoeba histolytica* (CIM 115.7 μM) y *Giardia intestinalis* (CIM 28.8 μM).²⁹

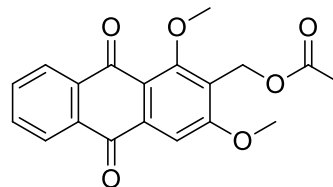
Estudios de actividad contra *Giardia intestinalis* realizados a derivados de damnacantal en 2016, mostraron que el acetato de 1,3-dihidroxi-2-hidroximetilantraquinona (**16**) resultó ser activo frente a esta parasitosis presentando un IC₅₀ de 4.2 μM.³⁰



14



15



16

Familia Rubiaceae

La familia Rubiaceae es cosmopolita, pero con mayor presencia en regiones tropicales y subtropicales. Cuenta con una gran diversidad, ya que ocupa el cuarto lugar después de Asteraceae, Orchidaceae y Poaceae, con alrededor de 10 700 especies.³¹ Comprende cerca de 659 géneros, de los cuales 214 se encuentran en el Neotrópico.³¹ La clasificación más reciente y completa subdivide esta gran familia en cuatro subfamilias a saber, estas son Cinchonoideae, Ixoroideae, Antirheoideae y Rubioideae, que corresponde a cerca de 50 tribus.³² Estudios recientes realizados sobre los constituyentes químicos reportados de Rubiaceae revelan gran contenido de antraquinonas. Sin embargo también contiene otros metabolitos secundarios tales como: iridoideas, alcaloides, flavonoides, derivados fenólicos, triterpenos y diterpenos. La importancia económica de esta familia recae en la producción de tintes, sustancias médicas y productos comestibles o maderables.³³

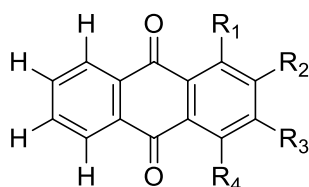
Genero *Morinda*

El género *Morinda* se deriva del latín *morus*, *mora* e *indicus*, proveniente de la India y significa mora de la india.³⁴ Es uno de los géneros más conocidos y estudiados de la familia Rubiaceae, comprende alrededor de 102 especies, entre las cuales *M. citrifolia*, es la única especie con distribución pantropical. Las especies restantes de *Morinda* son todas endémicas regionales.³⁵ En América se encuentran unas 26 especies que se distribuyen en todo el Neotrópico y región extratropical de Norteamérica, principalmente en zonas bajas.³¹

Existen varios reportes sobre los estudios fitoquímicos de diferentes especies del género *Morinda* a las que también se le han realizado pruebas de actividad biológica y

farmacológica. Entre estas especies se encuentra *Morinda lucida*, también llamada árbol de azufre, es un árbol tropical que se distribuye en la selva de África occidental con fines terapéuticos por ejemplo en el sur de Camerún la decocción de las hojas se emplea para el tratamiento de la fiebre, en tanto, en la mayor parte del África Occidental, la decocción en agua de la corteza, raíces y hojas se utiliza como tónico y astringente para la disentería, cólicos abdominales y la infestación de parásitos intestinales.³⁶ Los estudios fitoquímicos realizados a la corteza de la raíz de esta especie reportan la presencia de las antraquinonas damnacantal (**17**), nordamnacantal (**18**), alizarin-1-metil éter (**19**), rubiadina (**20**), rubiadina-1-metil éter (**21**), 2-metil-antraquinona (**22**), 1-metoxi-2-metil-antraquinona (**23**) y antraquinona-2-aldehído (**24**) (Tabla 1).³⁷

Tabla 1. Antraquinonas presentes en la raíz de *Morinda lucida*.

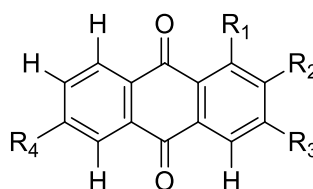


| | R ₁ | R ₂ | R ₃ | R ₄ |
|-----------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 17 | OMe | CHO | OH | --- |
| 18 | OH | CHO | OH | H |
| 19 | OMe | OH | H | H |
| 20 | OH | Me | OH | H |
| 21 | OMe | H | --- | --- |
| 22 | H | Me | --- | --- |
| 23 | OMe | Me | --- | --- |
| 24 | H | CHO | --- | --- |

Me: metilo, OMe: metoxilo, CHO: aldehído.

M. elliptica es una de las muchas plantas medicinales utilizadas por la población de Malasia, en donde la conocen como *menkudu kecil*, sus hojas se pueden añadir al arroz para tratar la pérdida de apetito, dolor de cabeza, el cólera, la diarrea, y la fiebre; las hojas molidas se aplican en heridas y la loción de las mismas se usa para las hemorroides y sobre el cuerpo después del parto. De esta especie se aislaron las antraquinonas nordamnacantal (**18**), alizarin-1-metil éter (**19**), rubiadina (**20**), soranjidiol (**25**), lucidín- ω -metil éter (**26**) y morindona (**27**) (Tabla 2).³⁸

Tabla 2. Antraquinonas aisladas de *Morinda elliptica*.



| | R ₁ | R ₂ | R ₃ | R ₄ |
|-----------|----------------|---------------------|----------------|----------------|
| 18 | OH | CHO | OH | H |
| 19 | OMe | OH | H | H |
| 20 | OH | Me | OH | H |
| 25 | OH | Me | H | OH |
| 26 | OH | CH ₂ OMe | OH | H |
| 27 | OH | Me | H | OH |

Me: metilo, OMe: metoxilo, CH₂OMe: metoximetilo, CHO: aldehído.

M. citrifolia, conocida como queso de frutas, *noni*, morera india, entre otros nombres; es nativa del sureste de Asia, Oceanía y de Asia tropical que se extiende desde la Polinesia hasta la India. El noni es una planta utilizada en la medicina tradicional para reforzar el sistema inmunológico y por su actividad antibacteriana, antiviral, antiparasitaria, antifúngica, antitumoral y el tratamiento de la diabetes. Por esta razón ha despertado un gran interés científico y económico, por lo que es una especie cultivada ampliamente.³⁹ Se han realizado muchos estudios para identificar los componentes presentes en *M. citrifolia*, hasta el momento se han aislado aproximadamente 200 compuestos en los que se observan antraquinonas glicosiladas, ácidos grasos y sus derivados, iridoides, iridoides glicosilados, lignanos, neolignanos, flavonoides glicosilados, fenilpropanoides, triterpenos y azúcares.^{40,41}

Morinda panamensis

La especie *M. panamensis* mejor conocida como palo de peine, yema de huevo, falso noni y *can-y-che* o *k'ani-chi'* en maya; puede llegar a medir hasta 25 m de altura, con un tronco de 10 cm de diámetro de madera amarilla, de tallos y ramitas glabrescentes. Sus hojas son simples de 9-21 x 5-8 cm, con forma elíptica, ápice agudo a ligeramente acuminado, base cuneada a obtusa, glabrescentes y pecioladas. Presentan inflorescencias globosas, axilares o terminales, de 0.5-1 cm de diámetro, muchas flores crema o blanco-crema, el tubo de 5–10 mm de largo, lóbulos de 3-6 mm de largo. Frutos, sincarpo de 1-4 cm de diámetro, sub-globosos, blanco-café al madurar, con varias semillas.^{31, 42,43} Esta especie habita en bosques muy húmedos o pantanosos y en elevaciones de 0-600 m. Se distribuye principalmente del sureste de Estados Unidos (Florida), México y las Antillas a Panamá. Esta especie es de la familia Rubiaceae a la

que también pertenece el noni (*M. citrifolia*) del cual, posee una estructura macroscópica similar (Figura 2). Al igual que el noni se consume por sus presuntas propiedades medicinales.^{31, 44}



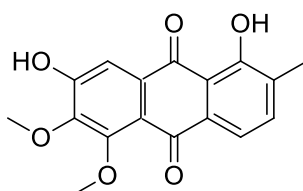
M. citrifolia



M. panamensis

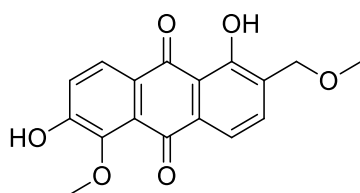
Figura 2. Comparación entre *M. citrifolia* y *M. panamensis*.⁴⁶

En el 2012, se realizaron estudios fitoquímicos a partir de extractos con diclorometano de los frutos de *M. panamensis*. De estos estudios se identificaron varios compuestos que están presentes en *M. citrifolia*; sin embargo, también se encontraron metabolitos diferentes, entre los cuales se encuentra la antraquinona 1,7-dihidroxi-2-metil-5,6-dimetoxiantraquinona (**28**).⁴⁵

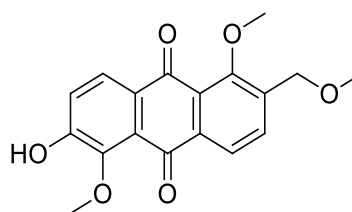


28

En cuanto a las hojas de esta especie, se aislaron e identificaron siete compuestos: el ácido ursólico, el loliólido y el isololiólido, estos dos últimos derivados de la degradación biológica de los carotenoides, un iridoide, la escopoletina y dos antraquinonas: 5,15-O-dimetilmorindol (**29**) y el 1,5,15-O-trimetilmorindol (**30**).⁴⁵ Estudios realizados en el 2017 a las raíces de esta especie, reportaron gran variedad de antraquinonas en las mismas, obteniéndose como antraquinona mayoritaria al damnacantal (**17**).³⁰



29



30

Antraquinonas de *Morinda*

Las antraquinonas se encuentran en un gran número de familias de plantas particularmente en las familias: Rubiaceae, Genelaceae y Scrophulariaceae. Muchas especies en la familia de la Rubiaceae, son fuentes abundantes de antraquinonas, las más conocidas son del género *Rubia*, *Galium*, *Morinda* y *Cinchona*.⁴⁷ Las raíces del género *Morinda*, suelen ser ricas en derivados antracénicos que a menudo se producen como agliconas o en forma de glicósidos. Sin embargo las antraquinonas pueden encontrarse en diferentes partes de la planta como hojas, tallos y frutos.²⁴

La familia Rubiaceae presenta antraquinonas en diez especies del género *Morinda*, las cuales han sido investigadas en los últimos años.²⁴ Alrededor del 90% de estos compuestos se producen como derivados de 9,10 antracenediona con varios grupos funcionales hidroxilo y otros, tales como metilo, hidroximetilo y carboxilo.³⁸

Entre las actividades biológicas de las antraquinonas se destacan, ser biocatalizadoras en el proceso de producción de la pulpa de madera, repelentes de aves, laxantes y agentes inhibidores del crecimiento bacteriano, ser activas contra el cáncer, anti-inflamatorias, antioxidantes, antimicrobianas, antiosteoporóticas y antiparasitarias.^{11-20,23}

A continuación en el tabla 3 se presenta un listado de antraquinonas que han sido aisladas del género *Morinda* con sus respectivas actividades biológicas.³¹

Tabla 3. Listado de antraquinonas aisladas del género *Morinda* y sus actividades biológicas.^{25, 48.}

| Antraquinona | Especie | Parte de la planta | Actividad biológica |
|--|------------------------|--------------------|--|
| 2-formilanttraquinona | <i>M. citrifolia</i> | Raíz | Efecto inhibidor del crecimiento sobre HCT116 ^a |
| 1-hidroxi-2-metilanttraquinona | <i>M. lucida</i> | Raíz | |
| | <i>M. citrifolia</i> | Raíz | |
| Rubiadina | <i>M. citrifolia</i> | Raíz | |
| | <i>M. angustifolia</i> | Raíz | |
| | <i>M. elliptica</i> | Raíz | Actividad hacia la línea celular CEM-SS ^b |
| Nordamnacantal | <i>M. citrifolia</i> | Raíz | |
| | <i>M. lucida</i> | Raíz | |
| | <i>M. elliptica</i> | Raíz | |
| Damnacantal | <i>M. citrifolia</i> | Raíz | |
| | <i>M. lucida</i> | Raíz | |
| 1,3,8-trihidroxi-2-metoxianttraquinona | <i>M. officinalis</i> | Raíz | Efecto inhibidor de resorción ósea osteoclastica. |
| Fisción | <i>M. officinalis</i> | Raíz | |
| 2-metoxi-1,3,6trihidroxianttraquinona | <i>M. citrifolia</i> | Frutos | Inductor de la actividad de QR ^c |
| Lucidina- ω-isopropil eter | <i>M. panamensis</i> | Raíz | Actividad hacia <i>Trichomonas vaginalis</i> . |

^a Líneas celulares de adenocarcinoma del colon humano.

^b Celula T- linfoblástica leucemia.

^c Quinona reductas

El damnacantal (**17**) (3-hidroxi-1-metoxi-9,10-dioxoantraceno-2-carbaldehído), es una antraquinona hidrofóbica de color amarillo pálido, que derivada principalmente de la familia Rubiaceae.²⁶ Esta antraquinona ha sido aislada de varias especies del género *Morinda*, especialmente de las raíces de *M. citrifolia*, en 2017 se reportó, como una de las antraquinonas mayoritarias presentes en las raíces de la especie *Morinda panamensis*.³⁰ El damnacantal es un compuesto particularmente interesante debido a que presenta distintas propiedades, como antitumoral, analgésico, inmunomodulador, antiinflamatorio, antiparasitario, antiviral, anti-VIH, y también contra el cáncer.⁴⁹

Como resultado de un estudio llevado a cabo en Japón en 1993, se demostró que el damnacantal, es capaz de inhibir la formación de tumores interfiriendo el crecimiento de células RAS.²⁸ Estas células son precursoras de diversos tumores malignos. También se demostró que el damnacantal y otras antraquinonas son capaces de restringir la circulación sanguínea a los tumores, privándolos de nutrientes.⁵⁰ Esta antraquinona igual ha presentado actividad antiparasitaria contra *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania*.⁵¹ Mientras que los extractos de damnacantal han demostrado actividad en contra del parásito *Plasmodium falciparum*, el organismo que causa la malaria y a *P. vivax*, otra forma del parásito.⁵² Esta característica que ha presentado el damnacantal, para actuar frente a procesos biológicos tan variados, se debe a que se trata de una sustancia multiana.²⁶

Análogos semisintéticos de antraquinonas

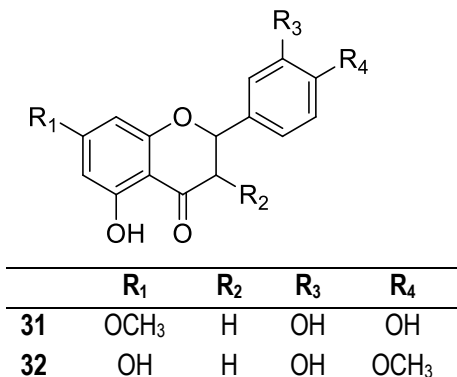
Los productos naturales procedentes de plantas, hongos y microorganismos, han demostrado ser una fuente fructífera de nuevos agentes terapéuticos, especialmente en el campo de: antimicrobianos, antineoplásicos e inmunodepresores.⁵³

La derivatización de estructuras tiene entre sus finalidades aportar información sobre las relaciones estructura-actividad, el aumento de potencia intrínseca, proveer aplicabilidad oral, aumentar la biodisponibilidad, así como la eliminación de efectos adversos.^{53, 54}

Se han realizado diversos estudios para la exploración y el aumento del conocimiento para el desarrollo de nuevos fármacos. Entre los productos naturales que han sido modificados para el estudio y conocimiento de sus derivados se encuentran las antraquinonas, a continuación, se presentan algunos efectos farmacológicos encontrados, a través de la incorporación de fragmentos hidrocarbonados.

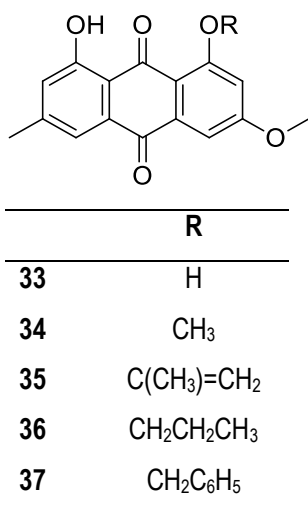
En 2002, se reportaron derivados de flavonoides (Tabla 4) que con mayor número de grupos hidroxilos en su estructura presentaron mayor inhibición en la duplicación bacteriana, especialmente aquellos que contenían un grupo metoxilo, el cual provocaba un aumento en la lipofilia del compuesto.⁵⁵

Tabla 4. Derivados de flavonoides.



En 2007, se reportó la síntesis de una serie de análogos derivados *O*-aquilados de fisciión (Tabla 5) con la finalidad de modificar la actividad antifúngica y antibacteriana, logrando observar una mejora en la actividad biológica con respecto a la del compuesto inicial.⁵⁶

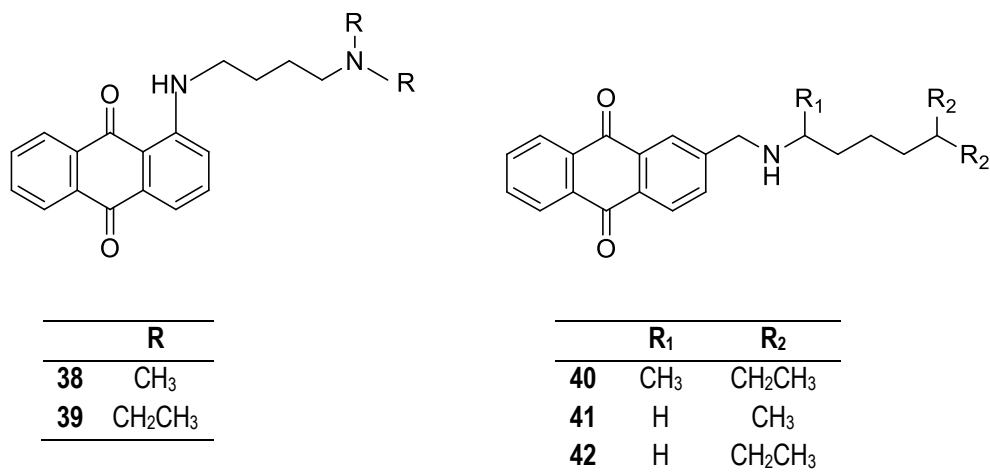
Tabla 5. Análogos de fisciión.



En 2008, se generó una serie de análogos de 9,10- antraquinonas hidrosolubles, estos compuestos fueron obtenidos en forma de sales a partir de la conjugación de varias aminas pequeñas de manera directa o a través de un puente de metileno al núcleo de antraquinona (Tabla 6). La evaluación de la actividad cianobactericida de estos análogos permitió observar un aumento en la actividad, con respecto al compuesto original 9,10- antraquinona, específicamente en los análogos 2- [N-(4'-N,N-dietil-1'-metilaminobutil)

aminometil]antraquinona y 2-[N-(1'- metiletil)aminometil]antraquinona, siendo este último diez veces más activo que el compuesto original.⁵⁷

Tabla 6. Análogos de 9,10- antraquinonas hidrosolubles.



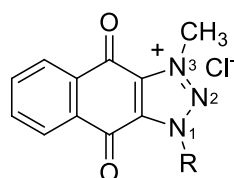
En 2008, se reportó la preparación de derivados 1,8-alkilados y 15-amino, de aloe-emodina (Tabla 7) y sus efectos citotóxicos sobre líneas celulares de cáncer colorectal (HCT 116) y hepatoma humano (Hep G2). Entre los derivados de tipo aloe-emodina con fragmentos hidrocarbonados, sólo el derivado 1,8-hexil-O-sustituido mostró un efecto similar (9.7 µM) sobre células HCT comparado con aloe-emodina. Se observó que el reemplazo del grupo hidroxilo en la posición 15 con los distintos grupos aumentó la actividad en células HCT 116.⁵⁸

Tabla 7. Algunos análogos de aloe-emodina.

| | R ₁ | R ₂ | |
|----|-----------------|----------------|--|
| 43 | CH ₃ | H | |
| 44 | n-propil | H | |
| 45 | n-hexil | H | |
| 46 | n-dodecil | H | |
| 47 | n-octadecil | H | |
| 48 | H | | |
| 49 | H | | |
| 50 | n-hexil | | |
| 51 | n-hexil | | |

En 2011, se reportaron análogos de antraquinonas catiónicas (Tabla 8) obtenidas a partir de reacciones de metilación en el nitrógeno en la posición tres, se obtuvieron tres productos deseados con grupos nonil, decil y undecil respectivamente. La evaluación de la actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* de estos análogos mostró un aumento de la actividad con respecto al compuesto original. Se estableció una relación lipofilia-actividad, siendo el análogo más lipofílico (mayor cadena hidrocarbonada) el que presentó mayor valor IC₅₀ frente a dicha bacteria.⁵⁹

Tabla 8. Análogos de antraquinonas catiónicas.



| | R |
|----|---------------------------------|
| 52 | C ₈ H ₁₇ |
| 53 | C ₉ H ₁₉ |
| 54 | C ₁₀ H ₂₁ |
| 55 | C ₁₁ H ₂₃ |
| 56 | C ₁₂ H ₂₅ |
| 57 | C ₁₆ H ₃₃ |

En un estudio realizado en 2016, el damnacantal (antraquinona hidrófoba) resulto no ser activo frente a *Giardia intestinalis*. En estudios más recientes, se sintetizó un derivado de damnacantal (Figura 3) a partir de una reacción de esterificación con cloruro de acetilo, en la posición 2 del anillo antraquinónico, el análisis del mismo evidenció actividad giardiásica y un aumento de la lipofilia con respecto al compuesto original debido a la incorporación de un grupo acetilo.⁶⁰

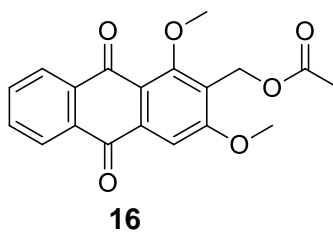


Figura 3. Derivado de damnacantal con actividad giardiásica.

Como se ha podido observar el carácter lipófilo de los compuestos orgánicos desempeña un papel importante en la acción del fármaco. Esta propiedad molecular es solo una de varias que, en conjunto, explica la acción biológica causada por un fármaco en particular. Por lo cual se propuso para este trabajo sintetizar derivados de damnacantal mediante la esterificación de la posición 2 de dicha estructura, empleando cloruros de acilo tanto lineales como cíclicos para finalmente evaluar la actividad biológica que estos derivados puedan presentar frente a *Giardia intstinalis*.

HIPÓTESIS

Es posible obtener antraquinonas con diferente carácter lipofílico, mediante la introducción de grupos acilo, a partir de la estructura base del damnacantal aislado de *Morinda panamensis*.

JUSTIFICACIÓN

De las enfermedades parasitarias, la giardiasis, ha demostrado una gran prevalencia en México con casi 9 millones de personas parasitadas por *Giardia intestinalis*, siendo esta protozoosis la causa más común de parasitosis intestinal. Uno de los estados con mayores reportes de casos es Yucatán, registrándose una incidencia mayor de casos nuevos en niños de edades entre 1-4 años. Se han observado un gran número de efectos secundarios y contraindicaciones en los fármacos empleados para su tratamiento, así como el desarrollo de resistencia por parte del parásito ante los tratamientos utilizados.

Los productos naturales son importantes debido a pueden ser útiles como agentes terapéuticos, o como materia prima para la síntesis de sustancias de interés biológico, dentro de la familia Rubiaceae el género *Morinda* se caracteriza por poseer en sus raíces gran variedad de antraquinonas. *Morinda citrifolia* ha sido una especie importante de este género debido a la diversidad de metabolitos secundarios que exhibe y su uso en la medicina tradicional, se sabe que presenta parecido macroscópico con *Morinda panamensis*, planta introducida al Estado de Yucatán, de la cual también se han aislado antraquinonas, reportándose como antraquinona mayoritaria de las raíces el damnacantal.

Las antraquinonas son productos del metabolismo secundario con importancia en el área farmacéutica debido a la gran variedad de actividades biológicas que poseen entre las que se encuentra la antiparasitaria. Estos metabolitos han demostrado su actividad antiparasitaria contra distintos protozoarios. Recientemente se ha identificado que las hidroxiantraquinonas fision, crisofanol, 1-hidroxi-2-hidroximetilantraquinona y lucidina presentan actividad anti-giardiasis. Aunado a esto se reportó que estas estructuras de tipo 9,10 antraquinona, potencian su actividad antiparasitaria al aumentar su lipofilia mediante la incorporación de cadenas hidrocarbonadas, tal es el caso del damnacantal, el cual resultó inactivo frente a *Giardia*, en contraste con el acetato de 1,3-dihidroxi-2-hidroximetilantraquinona, molécula que resultó con una actividad de 4.2 μM .

Considerando el perfil antiparasitario de las antraquinonas y la relevancia de los parámetros lipofílicos en las propiedades farmacodinámicas de los productos potencialmente activos, el presente trabajo se enfocó al aislamiento y modificación del damnacantal, antraquinona mayoritaria en las raíces de *Morinda panamensis*, para la obtención de derivados esterificados, en los cuales se pueda modular su carácter lipofílico, mediante la derivatización de la antraquinona antes mencionada. Se procuró la obtención de moléculas con potencial actividad anti-giardiasis, con el fin de generar información sobre las relaciones estructura-actividad y contribuir con datos farmacocinéticos para el desarrollo de compuestos antiparasitarios que ayuden en la problemática que representa la giardiasis.

OBJETIVOS

Objetivo general

Obtener derivados lipofílicos de tipo 9,10-antraquinona a partir del damnacantal aislado del género *Morinda*.

Objetivos específicos

1. Obtener damnacantal a partir del extracto con diclorometano de la madera de la raíz de *Morinda panamensis*.
2. Obtener derivados esterificados utilizando cloruros de ácido y un derivado hidroximetilantraquinona.
3. Purificar y analizar al damnacantal y derivados semisintéticos mediante técnicas cromatográficas así como métodos espectroscópicos y espectrométricos.

MATERIALES Y MÉTODOS

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. Los agentes reveladores utilizados fueron luz ultravioleta de onda corta (254 nm).

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, 35-75 y 2-25 μm de la marca Merck.

Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Los experimentos de resonancia magnética nuclear (RMN- ^1H , RMN- ^{13}C) se realizaron utilizando un espectrómetro Bruker Avance Ultrashield 400 con sonda BBO de 5 mm, empleando como disolvente CDCl_3 , Acetona- d_6 o $\text{DMSO}-d_6$, de acuerdo con la solubilidad del compuesto. Los desplazamientos químicos se proporcionan en partes por millón (ppm) y se encuentran referenciados con respecto a la señal residual del disolvente utilizado en cada caso.

Espectrometría de Masas

Los espectros de masas, tanto de baja (EM) como de alta resolución (EMAR) se realizaron en un espectrómetro de masas Jeol GC-Mate II. La técnica utilizada fue impacto electrónico (EI) por inserción directa a 70 eV, 280° C, las muestras se disolvieron en CH_2Cl_2 con un tiempo de análisis de 1 min. El análisis de alta resolución se llevó a cabo a 5000 Δm , calibrado con PFK (perflouroqueroseno).

Análisis teórico

Las propiedades fisicoquímicas para las antraquinonas obtenidas, así como la información relacionada con parámetros de biodisponibilidad, fueron calculadas a través del programa DataWarrior.^{61, 62}

Recolecta, procesamiento y extracción del material vegetal

La recolecta del material vegetal se realizó en el mes de noviembre de 2017 en los terrenos del campus de ciencias biológicas y agropecuarias de la Universidad Autónoma de Yucatán carretera Mérida Xmatkuil Km 15.5. Se recolectó un ejemplar de *Morinda panamensis* Seem de aproximadamente 2 metros de altura. Las raíces obtenidas se limpiaron y secaron en un desecador para herbario a una temperatura menor de 50°C durante una semana en ausencia de luz y se molieron en un molino de cuchillas con número de tamiz 10.

Obtención del extracto orgánico

La madera (5.215 kg) y la corteza (1.125 Kg) 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 equipo 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, 12 g, 0.23%), ms (madera soxhlet, 188.3 g, 3.60 %), cm (corteza de raíz macerado, 3 g, 0.26%) y cs (corteza de raíz soxhlet, 5.5 g, 0.48 %).

Cuantificación del damnacantal

Se realizó la cuantificación de los extractos ms y cs con el fin de saber cuál de los dos contenía en mayor proporción las antraquinonas. La cuantificación se realizó 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 acetona- d_6 , 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

Del total de extracto (madera) de raíz con la que se contaba (200.3 g) se tomó una porción de 85 g para trabajar, el fraccionamiento por cromatografía en columna (CC) se llevó a cabo repitiendo ocho veces cada CC, utilizando 11 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 partícula 63-200 μm , 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 23 fracciones que posteriormente fueron reunidas con base en su análisis por cromatografía en capa delgada (CCD), en siete fracciones etiquetadas de

A–G. En las fracciones E, F y G, se observó presencia del producto de interés por lo que se sometió a una segunda columna empleando como fase estacionaria gel de sílice con tamaño de partícula de 2-25 μm y fase móvil Hx- CH_2Cl_2 (8:2), obteniéndose 25 fracciones reunidas con base en su análisis por CCD, resultando 7 fracciones etiquetadas de A1-G1. En la fracción E1 se observó al damnacantal puro el cual fue concentrado en un evaporador rotatorio obteniéndose 5.87 g de un sólido de color amarillo. (Figura 4).

Fraccionamiento primario del extracto de corteza

Se realizó el fraccionamiento del extracto de corteza de la raíz (8.5 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 30 fracciones que posteriormente fueron reunidas con base en su análisis por CCD, logrando obtener 5 fracciones etiquetadas como Acm hasta Ecm, sin embargo en ninguna se observó presencia de damnacantal.

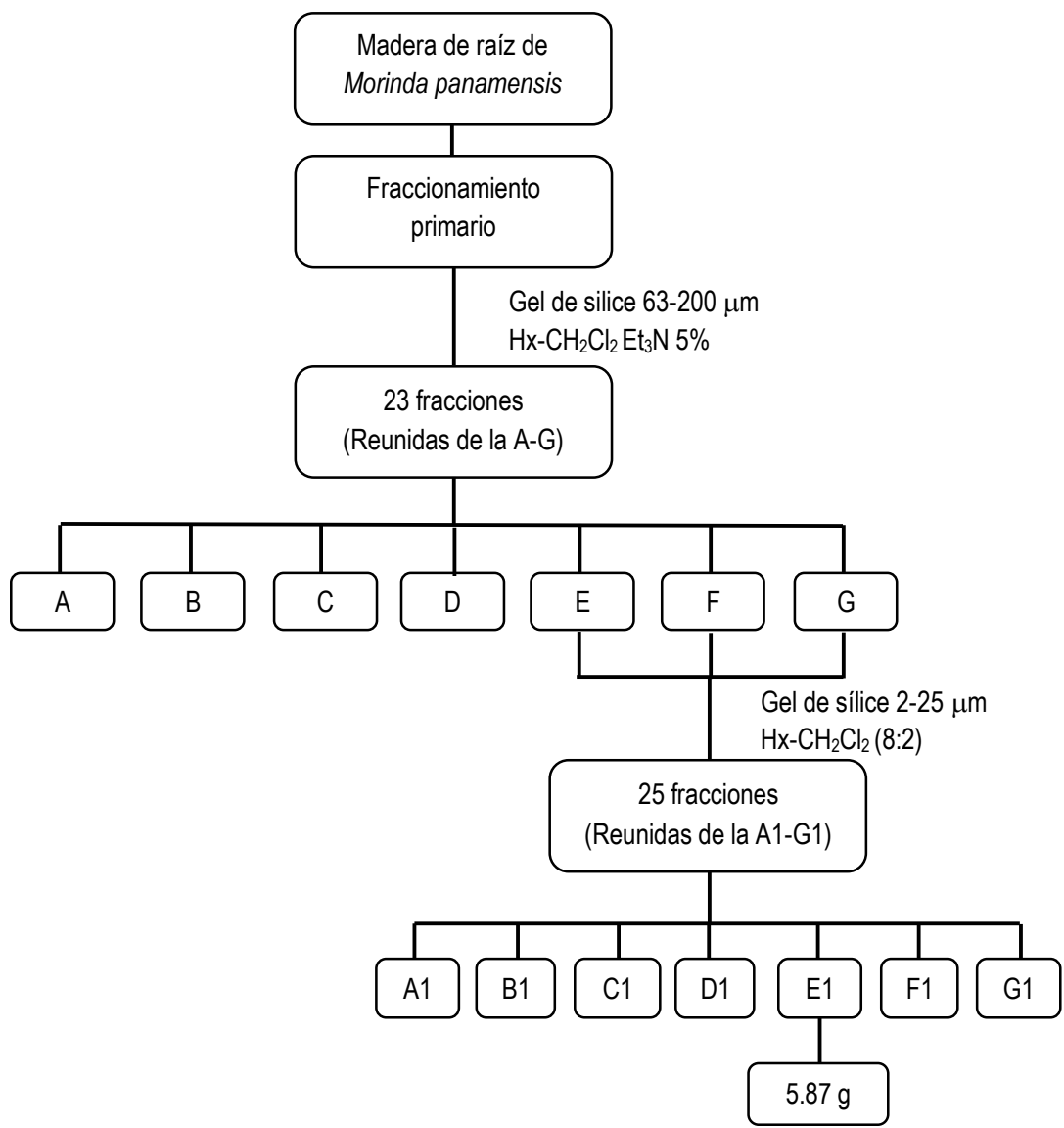
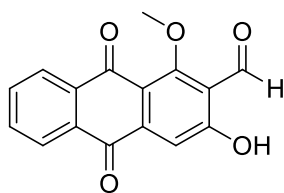


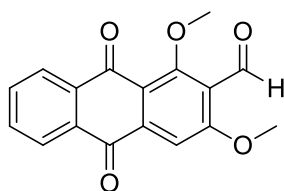
Figura 4. Fraccionamiento primario del extracto de CH_2Cl_2 de la raíz *Morinda panamensis*.



3-hidroxi-1-metoxi-9,10-antracenediona-2-carbaldehído (damnacantal). Sólido de color amarillo (6.90 %) (**17**). RMN-¹H (CDCl₃): δ (ppm) 12.26 (s, 1H, OH-3), 10.46 (s, 1H, CHO-2), 8.28 (dd, 1H, *J* = 7.46, 1.27 Hz, 1H, H-8), 8.23 (dd, 1H, *J* = 7.55, 1.27 Hz, H-5), 7.81 (td, 1H, *J* = 1.53, 7.50 Hz, H-6), 7.77 (td, 1H, *J* = 1.53, 7.45 Hz, H-7), 7.65 (d, 1H, 0.5 Hz, H-4), 4.12 (s, 3H, OMe-1).

Procedimientos generales de síntesis

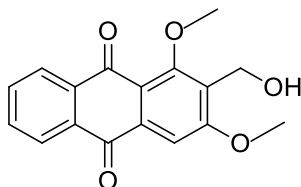
Síntesis de 1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona-2-carbaldehído.



En un matraz de 10 mL se mezcló damnacantal (0.1 g, 0.35 mmol), ioduro de metilo (2.96 g, 21 mmol) y NaCO₃ (0.38 g, 3.7 mmol), se disolvieron en 10 mL de tetrahidrofurano anhidro (THF) la reacción se llevó a cabo durante 120 h a reflujo y agitación constante, la reacción fue detenida con 10 mL de agua y lavada con CHCl₃ (4 x 10 mL), la mezcla fue concentrada en un evaporador rotatorio, el crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice con tamaño de partícula de 2-25 μm (TLC), empleando Hx-Acetato 7:3 como eluyente.

Sólido de color amarillo (30%) (**58**). RMN-¹H (CDCl₃): δ 10.50 (s, 1H, CHO-2), 8.27 (dd, 1H, *J* = 7.46, 1.27 Hz, 1H, H-8), 8.21 (dd, 1H, *J* = 7.55, 1.27 Hz, H-5), 7.81 (td, 1H, *J* = 1.53, 7.50 Hz, H-6), 7.77 (td, 1H, *J* = 1.53, 7.45 Hz, H-7), 7.70 (d, 1H, 0.5 Hz, H-4), 4.09 (s, 3H, OMe-1), 4.04 (s, 3H, OMe-3).

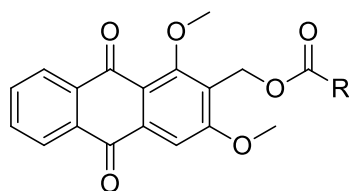
Síntesis de 2-hidroximetil-1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona.



En un matraz de 25 mL se agregaron (0.1 g, 0.34 mmol) de 1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona-2-carbaldehído, (0.019 g, 0.5 mmol) de borohidruro de sodio y se disolvieron en 10 mL de tetrahidrofurano anhidro (THF), la reacción se llevó a cabo en atmosfera de nitrógeno a temperatura ambiente con agitación constante durante 1 h. Al finalizar el tiempo se agregaron 10 mL de una solución de HCl 1N, la mezcla fue lavada con CH₂Cl₂ (5 x 20 mL), posteriormente se evaporó el disolvente a presión reducida, el crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice con tamaño de partícula de 2-25 μm (TLC), empleando CH₂Cl₂ como eluyente.

Sólido de color amarillo (43%) (**59**). RMN-¹H (CDCl₃): 8.16 (dd, 1H, *J* = 1.28, 7.56 Hz, 1H, H-8), 8.11 (dd, 1H, *J* = 7.56, 1.28 Hz, H-5), 7.90 (td, 1H, *J* = 1.35, 7.45 Hz, H-6), 7.84 (td, 1H, *J* = 1.35, 7.45 Hz, H-7), 7.50 (d, 1H, 0.5 Hz, H-4), 4.56 (s, 2H, CH₂-2), 3.85 (s, 3H, OMe-1), 3.32 (s, 3H, OMe-3).

Síntesis de los ésteres



R=-CH₃
R=-CH₂CH₃
R=-CH₂CH₂CH₃
R=-CH(CH₃)₂
R=-C(CH₃)₃
R=-C₅H₉

En un tubo de ensayo previamente secado en la estufa, purgado a vacío y en atmósfera de nitrógeno, se agregó un equivalente de la 2-hidroximetil-1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona, 2 mL de CH₂Cl₂ anhidro, 1.5 equivalentes de Et₃N y 2 equivalentes del cloruro correspondiente, la mezcla se dejó agitando por 24 h a temperatura ambiente. Posteriormente se evaporó el disolvente a presión reducida, el crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice con tamaño de partícula de 35-75 μm, empleando CH₂Cl₂ como eluyente.

Caracterización de los ésteres obtenidos

Acetato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo (59a). Sólido de color amarillo (36%). RMN-¹H (CDCl₃): 8.28 (dd, 1H, $J = 7.66, 1.22$ Hz, 1H, H-8), 8.23 (dd, 1H, $J = 7.66, 1.22$ Hz, H-5), 7.79 (td, 1H, $J = 1.59, 7.50$ Hz, H-6), 7.74 (td, 1H, $J = 1.59, 7.50$ Hz, H-7), 7.68 (d, 1H, 0.5 Hz, H-4), 5.27 (s, 2H, CH₂-2), 4.04 (s, 3H, OMe-1), 3.06 (s, 3H, OMe-3), 2.08 (s, 3H, Me-2).

Propionato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo (59b). Sólido de color amarillo (76%). RMN-¹H (CDCl₃): 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), 7.67 (d, 1H, 0.5 Hz, H-4), 5.28 (s, 2H, CH₂O-2), 4.03 (s, 3H, OMe-1), 3.06 (s, 3H, OMe-3), 2.35 (c, 2H, COCH₂-2), 1.15 (t, 3H, Me-2).

Butirato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo (59c). Sólido de color amarillo (50%). RMN-¹H (CDCl₃) 8.27 (dd, $J = 7.7, 1.2$ Hz, 1H, H-8), 8.23 (dd, $J = 7.6, 1.2$ Hz, 1H, H-5), 7.79 (td, $J = 7.5, 1.5$ Hz, 1H, H-6), 7.73 (td, $J = 7.5, 1.5$ Hz, 1H, H-7), 7.67 (s, 1H, H-4), 5.28 (s, 2H, CH₂O-2), 4.03 (s, 3H, OMe-1), 3.96 (s, 3H, OMe-2), 2.30 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H, CH₂), 1.66 (h, $J = 7.4$ Hz, 1H, CH₂), 0.94 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, Me).

Isobutirato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo (59d). Sólido de color amarillo (37%). RMN-¹H (CDCl₃) 8.28 (dd, $J = 7.7, 1.3$ Hz, 1H, H-8), 8.24 (dd, $J = 7.5, 1.4$ Hz, 1H, H-5), 7.80 (td, $J = 7.5, 1.6$ Hz, 1H, H-6), 7.74 (td, $J = 7.5, 1.5$ Hz, 1H, H-7), 7.69 (s, 1H, H-4), 5.28 (s, 2H, CH₂O-2), 4.03 (s, 3H, OMe-1), 3.96 (s, 3H, OMe-2), 2.56 (hept, $J = 7.0$ Hz, 1H, CH), 1.17 (d, 6H, Me).

Pivalato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo (59e). Sólido de color amarillo (60%). RMN-¹H (CDCl₃) 8.28 (dd, $J = 7.6, 1.1$ Hz, 1H, H-8), 8.23 (dd, $J = 7.3, 1.4$ Hz, 1H, H-5), 7.79 (td, $J = 7.5, 1.5$ Hz, 1H, H-6), 7.74 (td, $J = 7.5, 1.5$ Hz, 1H, H-7), 7.68 (s, 1H, H-4), 5.26 (s, 2H, CH₂O-2), 4.02 (s, 3H, OMe-1), 3.96 (s, 3H, OMe-2), 1.19 (s, 9H, Me).

Ciclopentanocarboxilato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo (59f). Sólido de color amarillo (34%). RMN-¹H (CDCl₃) 8.28 (dd, $J = 7.6, 1.4$ Hz, 1H, H-8), 8.24 (dd, $J = 7.6, 1.4$ Hz, 1H, H-5), 7.80 (td, $J = 7.4, 1.3$ Hz, 1H, H-6), 7.74 (td, $J = 7.4, 1.2$ Hz, 1H, H-7), 7.69 (s, 1H, H-4), 5.28 (s, 2H, CH₂O-2), 4.03 (s, 3H, OMe-1), 3.96 (s, 3H, OMe-2), 2.73 (p, $J = 8.0$ Hz, 1H, CH), 1.95 – 1.61 (m, 8H, CH₂).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El inicio del proyecto se encaminó hacia la evaluación fitoquímica de la corteza de la raíz de *Morinda panamensis*, esto con el objetivo de aislar e identificar los sustratos antraquinónicos que se encuentran en mayor proporción.

De manera paralela al aislamiento e identificación del damnacantal se inició la secuencia sintética para la obtención de derivados lipofílicos, esto con la finalidad de contar con la materia prima suficiente para desarrollar un pequeño grupo de compuestos con variación de la polaridad y probar su actividad frente a *Giardia intestinalis*.

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

Antes de realizar la purificación de las antraquinonas de cada extracto de *Morinda panamensis* por métodos cromatográficos, se eligió a los dos extractos que presentaron mayor rendimiento (ms y cs), los cuales se analizaron 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 de 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. Se obtuvieron los espectros de RMN-¹H de los extractos ms y cs (Figura 5). Tomando como referencia la integral de la señal desplazada a 7.46 ppm correspondiente al protón de la posición 5 con acoplamiento orto del estándar interno (EI) (nicotinamida) y la integral de la señal desplazada a 10.50 ppm del protón del aldehído en la posición 2 de la antraquinona mayoritaria (damnacantal), se procedió a realizar el cálculo del porcentaje de damnacantal presente en cada extracto empleando la Ecuación 1.^{63, 64} Los resultados de la cuantificación de los extractos ms y cs se presentan en la tabla 8.

Ecuación 1:

$$m_x = m_{ST} \frac{NST}{NX} \frac{IX}{IST} \frac{MX}{MST}$$

mx: miligramos del analito
mST: miligramos del estándar
NST: número del protón del EI
NX: número de protones del analito

IX: integral del analito
IST: integral de EI
MX: masa molar del analito
MST: masa molar EI

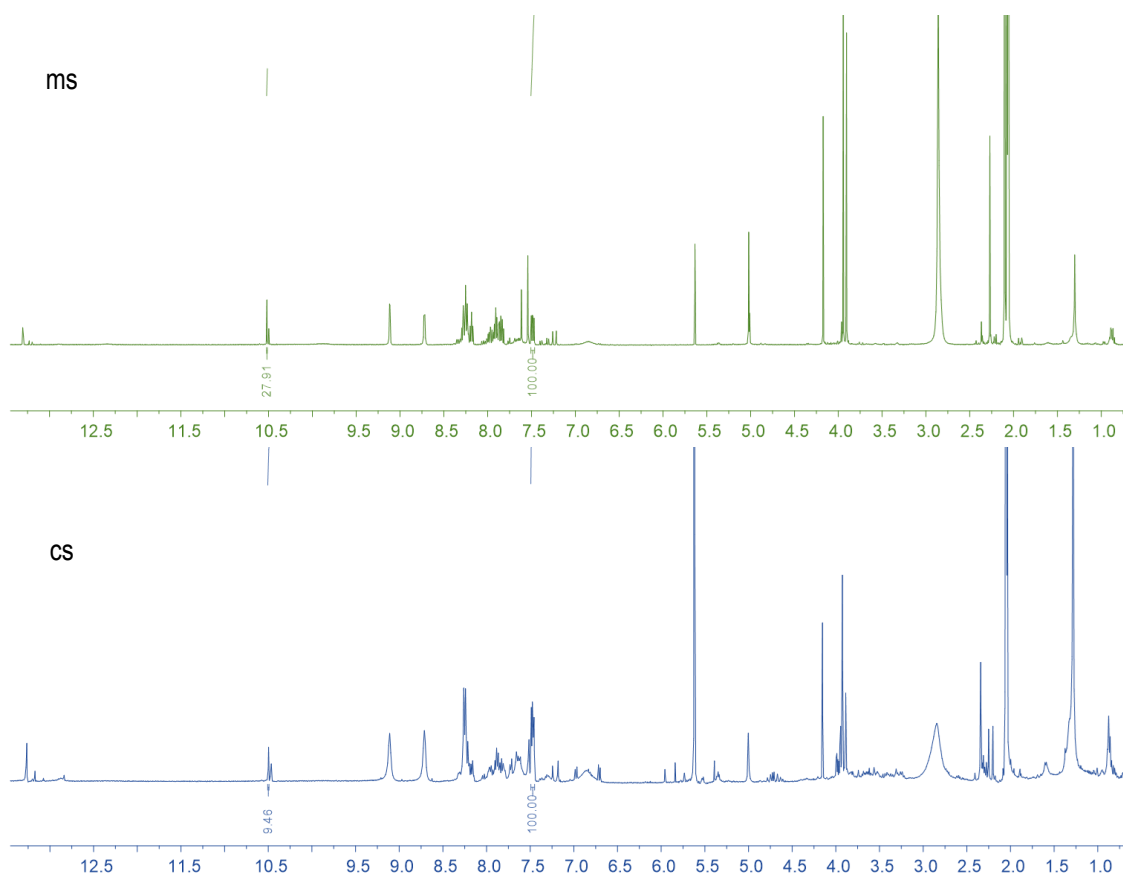


Figura 5. Espectros de RMN¹Hq de los extractos de madera y corteza de raíz (acetona-d₆) ms (madera soxhlet) y cs (corteza soxhlet).

Tabla 8. Porcentaje de damnacantal en extractos de *Morinda panamensis*

| Extracto | Integral extracto | Integral EI | % damnacantal |
|----------|-------------------|-------------|---------------|
| ms | 27.91 | 100 | 12.81% |
| cs | 9.46 | 100 | 4.30% |

ms (madera soxhlet), cs (corteza soxhlet), EI (estandar interno)

Mediante los cálculos se aprecia que entre los extractos obtenidos por soxhlet, el correspondiente a la muestra de madera (ms) presenta mayor cantidad de la antraquinona de interés con un 12.81%, por lo cual se decidió empezar la purificación con dicho extracto.

Identificación del damnacantal

A partir del estudio fitoquímico de 5.225 Kg de la madera de raíces de *M. panamensis*, se obtuvieron 188.3 g de extracto con diclorometano, de dicha cantidad se tomó una porción de 85 g la cual se sometió a cromatografía en columna (Figura 10). Las fracciones E, F, y G se sometieron a una segunda purificación de la cual resultaron 7

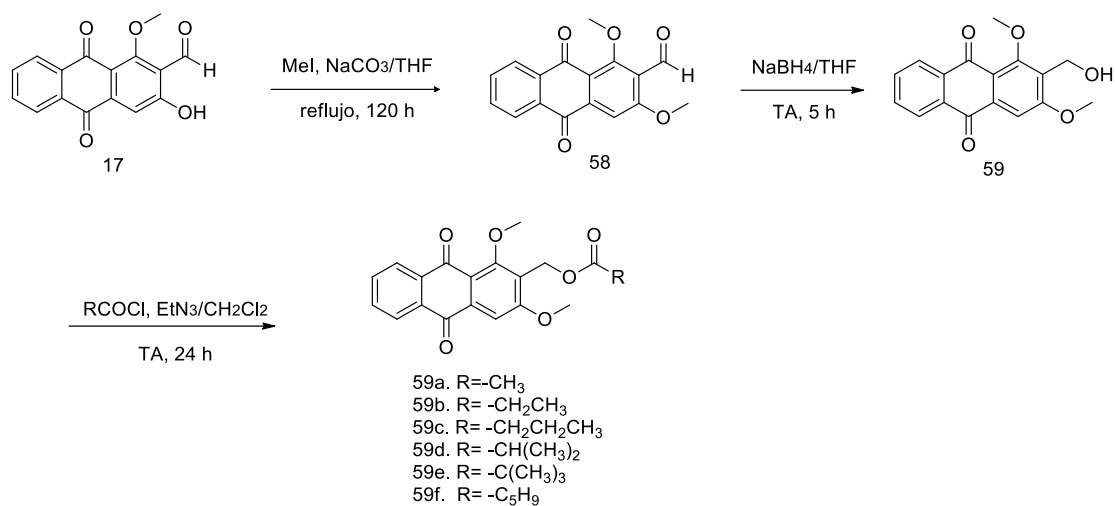
fracciones (A1-G1), encontrándose en la fracción E1 un producto puro el cual por RMN-¹H mostró un perfil espectroscópico de señales de protones aromáticos característicos de una antraquinona.

Para la identificación de la antraquinona aislada se realizaron experimentos por resonancia magnética nuclear (RMN). En el espectro de RMN-¹H (Ver anexo Figura A1) se observaron señales características de un compuesto tipo antraquinona, describiendo el espectro, se observó una señal simple a 4.22 ppm característica de un metoxilo, una señal doble a 7.66 ppm (d, $J = 0.5$ Hz,) atribuida al protón aromático de la posición 4 del sistema antracénico, también se observó la presencia de señales a 7.77 ppm (td, $J = 7.45, 1.53$ Hz) y 7.83 ppm (td, $J = 7.50, 1.53$ Hz) correspondientes a los protones 6 y 7 del anillo A de la antraquinona. Las siguientes señales observadas fueron un par doble de dobles a 8.23 ppm (dd, $J = 7.63, 1.34$ Hz) y 8.28 (dd, $J = 7.63, 1.34$ Hz) correspondientes a H5 y H8 respectivamente, características de protones aromáticos con acoplamientos *orto* y *meta*. A frecuencias más altas se observaron dos señales simples, la primera a 10.46 ppm correspondiente al protón de un grupo aldehído y la otra a 12.27 ppm correspondiente al protón del OH que se encuentra formando un puente de hidrógeno, de la posición 3 del anillo C. El espectro de masas (Ver anexo Figura A3) bajo la modalidad de EI, evidenció un ión molecular m/z 282.05, al cual corresponde una fórmula molecular C₁₆H₁₀O₅, correspondiente al damnacantal.

Con esta información se confirma un aislamiento de 5.87 g de un sólido amarillo identificado como damnacantal; reportándose de esta manera, un rendimiento de 6.90 % de damnacantal a partir de la madera de la raíz.

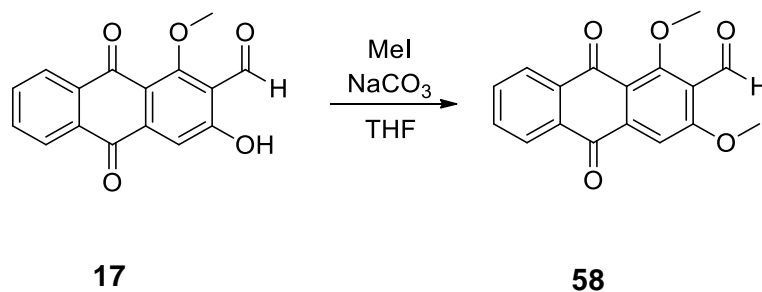
Productos de la síntesis de derivados lipofílicos

Considerando el objetivo de obtener diferentes derivados lipofílicos a partir de la hidroxiantraquinona aislada de la especie en estudio, se siguió la ruta sintética que se presenta en el esquema 1, tomando como producto de partida al damnacantal (**17**) aislado inicialmente.



Esquema 1. Ruta sintética para la obtención de ésteres.

Se llevó a cabo la metilación del damnacantal (**17**) (Esquema 2) partiendo de las condiciones de reacción reportadas en la literatura (Método A: calentamiento convencional con MeI) y realizando pruebas variando las condiciones como se observa en la tabla 9, esto con el fin de obtener el mayor rendimiento.⁶⁵



Esquema 2. Síntesis del 1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona-2-carbaldehído por el método A.

Tabla 9. Condiciones de reacción para la síntesis 1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona-2-carbaldehído para el método A.

| Entrada | Damnacantal (eq) | Mel (eq) | Na ₂ CO ₃ (eq) | Tiempo (h) | Rendimiento (%) |
|----------------|------------------|----------|--------------------------------------|------------|-----------------|
| 1 ^a | 1 | 59 | 19 | 120 | 15 |
| 2 ^b | 1 | 59 | 19 | 72 | 50 |
| 3 ^b | 1 | 59 | 19 | 120 | 13 |
| 4 ^c | 1 | 120 | 19 | 120 | 20 |
| 5 ^c | 1 | 120 | 4.75 | 120 | 25 |
| 6 ^c | 1 | 59 | 10 | 120 | 30 |

^a 0.71 mmol de damnacantal, ^b 0.17 mmol de damnacantal, ^c 0.35 mmol de damnacantal

La entrada 1 replica las condiciones reportadas en la literatura obteniéndose un rendimiento muy bajo del 15% en comparación con el reportado en la literatura (90%). Tomando en cuenta el resultado obtenido se decidió realizar los siguientes ensayos con una menor cantidad de sustrato (0.17 mmol). En la entrada 2 se observó que a las 72 horas el crudo de reacción ya se tornaba de color violáceo, motivo por el cual la reacción fue detenida, obteniéndose un rendimiento del 50%. Este resultado nos motivó a ensayar la entrada 3 en la cual se aumentó el tiempo de reacción a 120 h esperando una mayor conversión del producto, sin embargo el rendimiento fue del 13%. Si bien la entrada 2 presentó un rendimiento considerable, la cantidad de sustrato empleada implicaba un mayor número de reacciones para acumular la cantidad necesaria del producto de interés, razón por la cual las entradas 4, 5 y 6 se llevaron a cabo empleando 0.35 mmoles de sustrato, en estos ensayos se varió el número de equivalentes de la base (Entradas 5 y 6) observándose rendimientos del 25 y 30 % respectivamente, por lo cual la mejor condición de reacción se presenta en la entrada 6, al permitir obtener el producto de interés en mayor cantidad a partir de un menor número de reacciones repetidas.

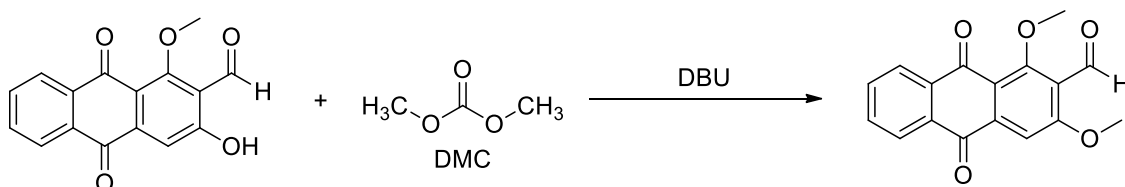
El producto resultó ser un polvo de color púrpura, la identificación se realizó por resonancia magnética nuclear (RMN). En el espectro de RMN-¹H (Ver anexo Figura A4) se pudo comprobar que la reacción de metilación resultó satisfactoria, ya que se observó la desaparición de la señal a 12.25 ppm que corresponde al protón que se encuentra formando un puente de hidrógeno del grupo fenol y la aparición de una señal simple a 4.06 ppm perteneciente a un grupo metoxilo.

El espectro de masas modalidad +FAB (Ver anexo Figura A6), evidenció un ion molecular m/z 296, el cual pertenece una fórmula molecular $C_{17}H_{12}O_5$, correspondiente al 2-carbaldehido-1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona.

En vista de que la metodología empleada para la metilación del damnacantal implicaba tiempos de reacción muy largos y los rendimientos obtenidos no resultaron favorables se decidió explorar tres métodos: método (B) calentamiento convencional empleando 1,8-Diazabicyclo [5.4.0]undec-7-ene (DBU) como catalizador y dimetil carbonato (DMC) como agente metilante; método (C) calentamiento asistido por microondas empleando DBU como catalizador y DMC como agente metilante y el método (D) calentamiento asistido por microondas en ausencia de catalizador y DMA-DMF como agente metilante esto con la finalidad de encontrar el método óptimo para la síntesis de dicho compuesto.

Método B

Las reacciones de metilación de fenoles por calentamiento convencional se pueden mejorar empleando DBU, catalizador nuevo y activo que promueve este tipo de reacciones en presencia de DMC en condiciones suaves. Las condiciones de reacción se establecieron de acuerdo a lo reportado en la literatura (Esquema 3).⁶⁶ Como se observa en la tabla 10, se probaron dos condiciones, observándose que en la entrada 1 no se reporta % de formación ya que al analizar el crudo de reacción por CCD y RMN-¹H, no hubo indicio de la formación del producto metilado, por lo que en la entrada 2 se modificó la temperatura de reacción a 110°C, obteniendo un porcentaje de formación del producto metilado de 5.53 % aproximadamente.



Esquema 3. Síntesis del 1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona-2-carbaldehido por el método B.

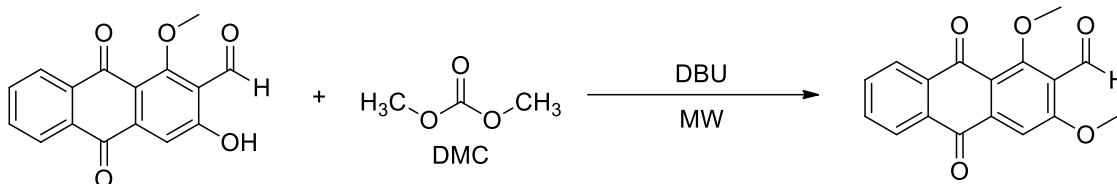
Tabla 10. Optimización del método B para la síntesis del 1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona-2-carbaldehido.

| Entrada | DMC | DBU | T | t | % de formación del producto |
|---------|------|-------|-------|------|-----------------------------|
| 1 | 1 eq | 33 eq | 90°C | 38 h | - |
| 2 | 1 eq | 33 eq | 110°C | 24 h | 5.53 |

*Cada reacción empleó 100 mg de damnacantal.

Método C.

Las reacciones asistidas por microondas han demostrado completarse en menor tiempo comparadas a los métodos clásicos que resultan ser menos eficientes.⁶⁷ Tomando en cuenta lo anterior, se procedió a ensayar una metodología asistida por microondas para la obtención del 1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona-2-carbaldehído en la cual al igual que el método B, emplea DBU como catalizador tabla 11. Las condiciones de reacción se establecieron de acuerdo a lo reportado en la literatura (Esquema 4).⁶⁶ Los crudos de reacción de las entradas 1, 2 y 3 se analizaron por CCD y RMN-¹H, observando la degradación del sustrato, lo cual motivo a hacer modificaciones, las variante consistieron en disminuir la temperatura a 110°C (Entrada 4), con la obtención del producto de interés en proporciones mínimas. Por lo que fue necesario continuar modificando las condiciones de reacción, para la entrada 5 se decidió utilizar acetonitrilo (CH₃CN) como disolvente y para la entrada 6 en ausencia de disolvente, sin embargo, a pesar de observarse el compuesto de interés los porcentajes aproximados de formación del producto fueron bajos 7.13 % y 6.12 % respectivamente.



Esquema 4. Síntesis del 1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona-2-carbaldehído por el método C.

Tabla 11. Optimización del método C para la síntesis del 1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona-2-carbaldehído.

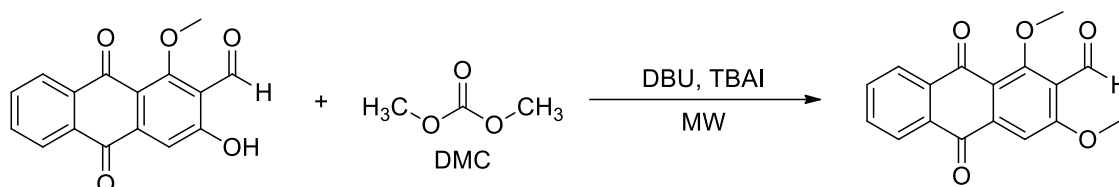
| Entrada | DMC | DBU | Disolvente | T | t | % de formación del producto |
|---------|------|-------|-------------------------|-------|--------|-----------------------------|
| 1 | 1 eq | 15 eq | DMF 2 mL | 160°C | 60 min | - |
| 2 | 1 eq | 15 eq | CH ₃ CN 2 mL | 160°C | 60 min | - |
| 3 | 1 eq | 15 eq | DMF 2 mL | 160°C | 10 min | - |
| 4 | 1 eq | 15 eq | DMF 2 mL | 110°C | 60 min | - |
| 5 | 1 eq | 15 eq | CH ₃ CN 2 mL | 110°C | 60 min | 7.13 |
| 6 | 1 eq | 15 eq | Sin disolvente | 110°C | 60 min | 6.12 |

* eq.: equivalente

*Cada reacción empleó 1 equivalente de damnacantal.

En la literatura se reporta que agregar un catalizador de transferencia de fase a las reacciones de metilación puede acelerar la tasa de reacción y que uno de los catalizadores de transferencia más empelados para estas reacciones es el yoduro de tetrabutilamonio (TBAI).⁶⁶ Por esta razón se decidió probar condiciones de reacción

empleando dicho catalizador tabla 12 (Esquema 5). Se dio inicio con las condiciones descritas en entrada 5 de la tabla 11, con la adición de un equivalente de TBAI (Entrada 1). En el espectro de RMN-¹H del crudo de reacción se observó presencia del producto metilado, calculándose un porcentaje aproximado del 7.63 %; con base a lo anterior se decidió probar las mismas condiciones para 2 y 3 horas de reacción (Entrada 2), sin embargo los resultados no fueron favorecedores pues a mayor tiempo de reacción disminuía la presencia del producto de interés. También se trabajó con el aumento de la temperatura (120°C y 140°C respectivamente, entradas 3 y 4 tabla 12), sin embargo no hubieron buenos resultados, ya que el espectro de RMN-¹H de los crudos de reacción no se observó señal alguna del producto metilado. Adicionalmente se decidió ensayar la reacción aumentando los equivalentes de la base (DBU) (Entrada 5), esto debido a que en los crudos de reacción de las reacciones previas se observó gran cantidad de damnacantal sin reaccionar, talvez es resultado del uso de una cantidad insuficiente de base para abstraer el proton del hidroxilo del damnacantal, desafortunadamente no se obtuvieron buenos resultados.



Esquema 5. Síntesis del 1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona-2-carbaldehído por el método C con TBAI como catalizador.

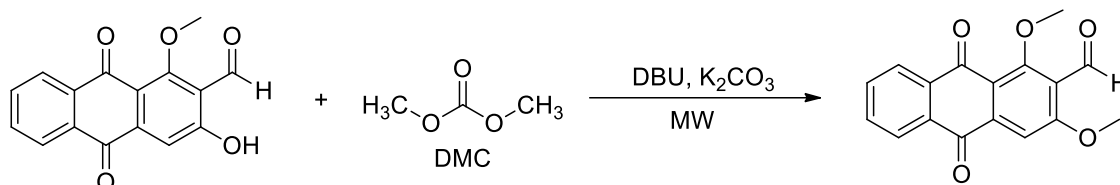
Tabla 12. Optimización del método C con TBAI, para la síntesis del 1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona-2-carbaldehído.

| Entrada | DMC | DBU | TBAI | Disolvente | T | t | % de formación del producto. |
|---------|-------|------|------|-------------------------|-------|-----|------------------------------|
| 1 | 15 eq | 1 eq | 1 eq | CH ₃ CN 2 mL | 110°C | 1 h | 7.63 |
| 2 | 15 eq | 1 eq | 1 eq | CH ₃ CN 2 mL | 110°C | 2 h | 4.47 |
| | | | | | | 3 h | 3.50 |
| 3 | 15 eq | 1 eq | 1 eq | CH ₃ CN 2 mL | 120°C | 1 h | - |
| 4 | 15 eq | 1 eq | 1 eq | CH ₃ CN 2 mL | 140°C | 1 h | - |
| 5 | 15 eq | 2 eq | 1 eq | Sin disolvente | 110°C | 2 h | - |

eq.: equivalente Cada reacción empleó 1 equivalente de damnacantal.

Considerando los resultados obtenidos se decidió ensayar el empleo de carbonato de potasio (K₂CO₃) como catalizador (Esquema 6) tabla 13. Las Se replicaron las condiciones tal y como se describe en la literatura ⁶⁸ (entradas 1 y 2), los crudos de reacción resultantes se analizaron por RMN-¹H. En el primer crudo se detectó la presencia del producto metilado en mezcla con el sustrato; para la segunda reacción en

la cual se empleó mayor cantidad de DMC a menor temperatura (120°C) no hubo formación del producto. En otro intento (Entrada 3) se adicionaron 95 equivalentes de agente metilante (DMC), sin embargo el resultado fue el mismo que el obtenido en las condiciones expuestas en la entrada 1, por lo que en un nuevo intento se modificó el tiempo de reacción a 2 h (Entrada 4), sin embargo no se observó un buen resultado. Por último se decidió aumentar los equivalentes de la base a 1.5 esperando una mejora en el resultado, lo cual no ocurrió al observarse un porcentaje bajo de la formación del producto metilado.



Esquema 6. Síntesis del 1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona-2-carbaldehído por el método C con K_2CO_3 .

Tabla 13. Optimización del método C con K_2CO_3 , para la síntesis del 1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona-2-carbaldehído.

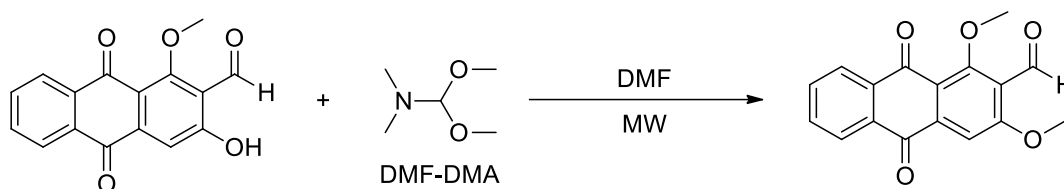
| Entrada | DMC | K_2CO_3 | T | t | % de formación del producto |
|---------|-------|-----------|-------|-----|-----------------------------|
| 1 | 30 eq | 1 eq | 200°C | 1 h | - |
| 2 | 95 eq | 1 eq | 120°C | 1 h | - |
| 3 | 95 eq | 1 eq | 200°C | 2 h | - |
| 4 | 95 eq | 1.5 eq | 200°C | 1 h | - |

eq.: equivalente Cada reacción empleó 1 equivalente de damnacantal.

Método D

En vista de que las reacciones ensayadas por los métodos anteriores no produjeron buenos resultados, se decidió emplear DMF-DMA como agente metilante en ausencia de catalizador (Esquema 7) tabla 14. En un primer ensayo (entrada 1) se trabajó a una temperatura de 140°C por 1 h tal como se describe en la literatura.⁶⁹ En el crudo de reacción no se observó presencia del producto metilado, sin embargo seguía presente el sustrato sin reaccionar, motivo por el cual se decidió extender los tiempo de reacción (Entrada 2), observándose a dos horas la formación del producto metilado del (54 %), mientras que en un tiempo de tres horas se observó la degradación del producto. También se trabajó a 160°C en tiempos de 1, 2 y 3 h (Entradas 1 y 2), pero no hubo presencia del producto metilado, por lo que se decidió aplicar calentamiento de 140°C por 2 h y aumentar los equivalentes del agente metilante (Entrada 5), pero al igual que en el ensayo anterior no se obtuvo evidencia del producto de interés. Por último se

replicaron las condiciones descritas en la entrada 2 (Entrada 5) y en esta ocasión se observó la formación del producto en un 41 % aproximadamente.



Esquema 7. Síntesis del 1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona-2-carbaldehído por el método D.

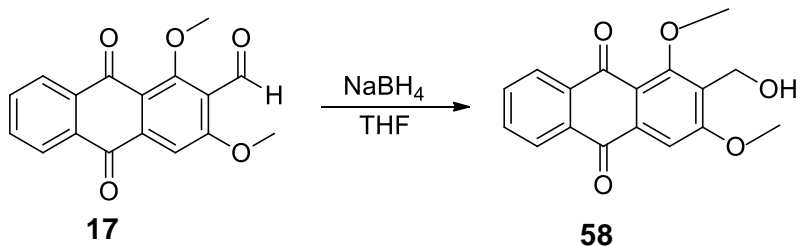
Tabla 14. Optimización del método D, para la síntesis del 1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona-2-carbaldehído.

| Entrada | DMF-DMA | DMF | T | t | % de formación del producto |
|---------|---------|------|-------|-----|-----------------------------|
| 1 | 0.5 eq | 2 mL | 140°C | 1 h | - |
| 2 | 0.5 eq | 3 mL | 140°C | 2 h | 54 |
| | | | | 3 h | - |
| 3 | 0.5 eq | 2 mL | 160°C | 1 h | - |
| 4 | 0.5 eq | 3 mL | 160°C | 2 h | - |
| | | | | 3 h | - |
| 5 | 1 eq | 2 mL | 140°C | 2 h | 41 |

eq.: equivalente Cada reacción empleó 1 equivalente de damnacantal.

Al comparar los métodos B,C y D con el método A se observa que si bien la síntesis asistida por radiación microondas disminuye los tiempos de reacción, los porcentajes de conversión obtenidos son bajos como los obtenidos por calentamiento convencional. Por lo cual se puede establecer que ninguno de los cuatro métodos ensayados permite obtener el 1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona-2-carbaldehído de manera reproducible y eficiente, esto al no poderse replicar los resultados descritos en la literatura, sin embargo el método A fue el que presentó mejores rendimientos en comparación a los métodos B, C y D.

Prosiguiendo con el esquema de reacción se continuó con la reducción del grupo carbonilo (Esquema 8) tomando como referencia condiciones de reacción reportadas en la literatura.⁷⁰ Esta reacción tuvo un rendimiento del 42 %, posterior al proceso de purificación, resultando un sólido amarillo identificado por RMN como la 2-hidroximetil-1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona. En su espectro de RMN-¹H (Ver anexo Figura A7) se observa la desaparición de la señal a 10.50 ppm, correspondiente al aldehído del sustrato y la aparición de una señal a 4.56 ppm cuyo valor de integral corresponde a un metileno.

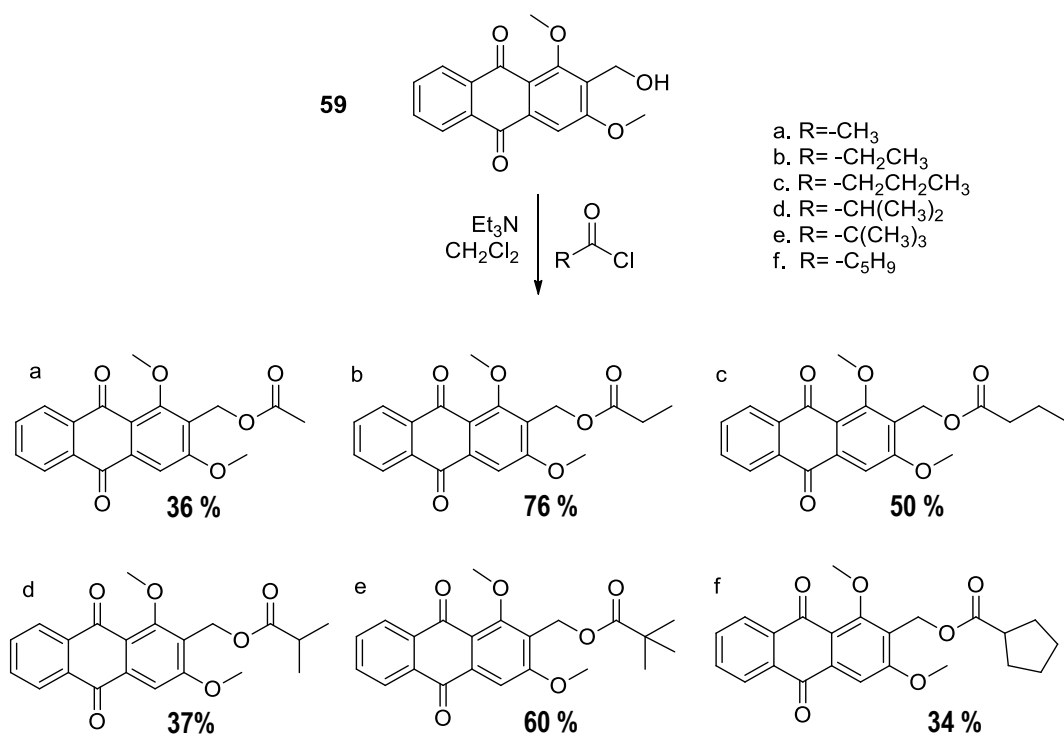


Esquema 8. Síntesis de 2-hidroximetil-1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona.

El espectro de masas modalidad EI, evidenció un ion molecular m/z 328, el cual pertenece a una fórmula molecular $C_{19}H_{20}O_5$, correspondiente al 2-hidroximetil-1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona (Ver anexo Figura A9).

Las esterificaciones con cloruros de ácido (Esquema 9) son directas, rápidas, exotérmicas y producen el éster en grandes cantidades; es por esto que para la obtención de los ésteres se utilizaron cloruros de ácido (cloruro de acetilo, propilo, butirilo, isobutirilo, trimetilacetilo y ciclopentanocarbonilo) economizando tiempo y reactivos. Las condiciones de reacción se tomaron de la literatura ⁷¹ y fueron las mismas para cada uno de los ésteres (2 mL de CH_2Cl_2 , un equivalente de Et_3N y un equivalente de cloruro de ácido con 24 h de reacción).

Los cloruros de ácido son muy inestables y sensibles a la humedad por lo que las reacciones se llevaron a cabo en condiciones de atmósfera inerte. Las esterificaciones con cloruros de ácido forman como subproducto HCl, por esta razón se adicionó a cada reacción una cantidad de Et_3N con la finalidad de eliminar el ácido clorhídrico formado.⁷¹



Esquema 9. Síntesis de los derivados lipofílicos.

Los productos esterificados se obtuvieron como sólidos de color amarillo; y presentaron rendimientos del 36, 76, 50, 37, 60 y 34 % respectivamente. Las reacciones de esterificación a partir de cloruros de ácido son sustituciones nucleofílicas acílicas, las cuales se ven limitadas por factores estéricos y electrónicos, es decir mientras más grupos voluminosos se encuentren del lado de la cadena carbonada del grupo carbonilo menos reactiva será la reacción. Por lo que se esperaría que los compuestos alifáticos lineales presenten mejor rendimiento que los alifáticos cíclicos y estos a su vez mejores rendimientos que los aromáticos. Al comparar los rendimientos obtenidos no se observa una tendencia lógica, para esta situación es importante mencionar que los ensayos de estas reacciones solo se realizaron una vez por lo que no se sabe si los resultados de reacción son constantes, dificultándose de esta manera realizar un análisis adecuado de los mismos. En los espectros de RMN-¹H de los compuestos se observaron las siguientes señales: para el compuesto **59a** se observó una señal a 5.27 ppm proporcional a 3 hidrógenos correspondiente a un grupo metilo (Ver anexo Figura A10); compuesto **59b** se observaron dos señales, una a 3.34 ppm perteneciente a un metileno y otra a 1.16 ppm correspondiente a un metilo (Ver anexo Figura A13); compuesto **59c** se observaron tres señales, una a 0.94 ppm correspondiente a un metilo, una sextúpulo a 1.66 ppm correspondiente a un metileno adyacente a un metilo y una señal triple a 2.30 ppm correspondiente a un metileno en posición α al carbonilo del éster (Ver anexo Figura A16); compuesto **59d** se observó una señal héptuple a 2.56 ppm correspondiente a un metino unido a dos metilos y una señal doble a 1.17 ppm que corresponde a los

dos metilos del éster (Ver anexo Figura A19); compuesto **59e** se observó una señal simple desplazada a 1.19 ppm que corresponde a los tres metilos del éster (Ver anexo Figura A22) y para el compuesto **59f** se observó una señal quintuple desplazada a 2.73 ppm correspondiente al metino que soporta al ciclopentano y señales múltiples con desplazamientos entre 1.61 y 1.95 ppm correspondientes a los 4 metilenos del ciclopentano (Ver anexo Figura A25).

El espectro de masas para el acetato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo modalidad EI, evidenció un ion molecular m/z 340.09, al cual pertenece una fórmula molecular $C_{19}H_{16}O_6$ (Ver anexo Figura A12) correspondiente al compuesto **59a**. El espectro de masas para el propionato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo modalidad EI, evidenció un ion molecular m/z 354.11, al cual pertenece una fórmula molecular $C_{20}H_{18}O_6$ (Ver anexo Figura A15) correspondiente al compuesto **59b**. El espectro de masas para el propionato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo modalidad EI, evidenció un ion molecular m/z 368.4, al cual pertenece una fórmula molecular $C_{21}H_{20}O_6$ (Ver anexo Figura A18) correspondiente al compuesto **59c**. El espectro de masas para el propionato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo modalidad EI, evidenció un ion molecular m/z 368.4, al cual pertenece una fórmula molecular $C_{21}H_{20}O_6$ (Ver anexo Figura A21) correspondiente al compuesto **59d**. El espectro de masas para el propionato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo modalidad EI, evidenció un ion molecular m/z 382.5, al cual pertenece una fórmula molecular $C_{22}H_{22}O_6$ (Ver anexo Figura A24) correspondiente al compuesto **59e**. El espectro de masas para el propionato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo modalidad EI, evidenció un ion molecular m/z 394.5, al cual pertenece una fórmula molecular $C_{23}H_{22}O_6$ (Ver anexo Figura A15) correspondiente al compuesto **59f**.

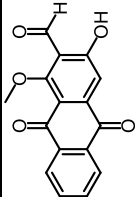
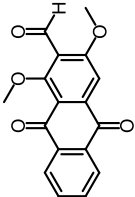
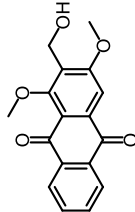
Con todo lo anterior se establece la ruta sintética para la preparación de seis ésteres con diferente grado de lipofilia, el acetato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo, con un rendimiento total del 5 %, el propionato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo con un rendimiento total del 10 %, el butirato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo, con un rendimiento total del 6 %, el isobutirato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo, con un rendimiento total del 5 %, el pivato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo, con un rendimiento total del 5 % y el ciclopentanocarboxilato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo, con un rendimiento total del 4 %. Dichos porcentajes son a partir del damnacantal, una antraquinona que se encuentra presente en mayor cantidad en la corteza de las raíces de *Morinda panamensis*.

Cálculo de las propiedades fisicoquímicas moleculares

De forma general es posible asumir que ciertos descriptores fisicoquímicos aplicados a compuestos terapéuticos, pueden ser utilizados para la predicción de la absorción y la difusión pasiva de fármacos. La mayoría de los fármacos disponibles en el mercado son administrados por vía oral, por lo que la biodisponibilidad oral es una de las consideraciones clave en el descubrimiento y desarrollo de nuevas entidades químicas (NCE, *New Chemical Entities*). Considerando que propiedades fisicoquímicas como la solubilidad y la difusión, están íntimamente relacionadas con la farmacocinética de moléculas bioactivas, se han establecido tendencias como la denominada regla de los cinco (Ro5, *Rule-of-five*) planteada por Lipinski. Aunque el análisis realizado por Lipinski a principios de los años 90, deriva de las propiedades de un conjunto de moléculas en fase clínica II, aún es utilizado como marco general para la identificación de compuestos dentro de un espacio químico con potencial de fármaco (*drug-like*).⁷²

Las propiedades moleculares de partición (Clog P), solubilidad (ClogS), superficie polar (PSA, *Polar Surface Area*) y potencial tipo fármaco (*druglikeness*), fueron calculadas con el software DataWarrior.^{61, 62} y los resultados obtenidos se presentan en la tabla 15.

Tabla 15. Propiedades fisicoquímicas de las antraquinonas obtenidas del programa DataWarrior.

| Antraquinona | FM | PM | ClogP ^a | PSA ^b | N _A ^c | N _b ^d | dl ^e | Ro5 ^f |
|---|--|--------|--------------------|------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------|------------------|
|  | C ₁₆ H ₁₀ O ₅ | 282.25 | 2.55 | 80.67 | 5 | 1 | -3.094 | ✓ |
|  | C ₁₇ H ₁₂ O ₅ | 296.28 | 2.83 | 69.67 | 5 | 0 | -3.143 | ✓ |
|  | C ₁₇ H ₁₄ O ₅ | 298.29 | 2.30 | 72.83 | 5 | 1 | -1.031 | ✓ |

^a log P calculado

^b superficie polar

^c suma de grupos N y O-H aceptores de

enlaces de hidrógeno

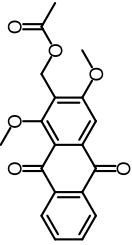
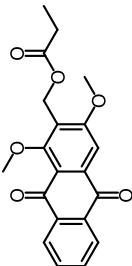
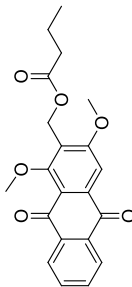
^d suma de grupos N y O-H donadores de

enlaces de hidrógeno

^e potencial tipo fármaco (*druglikeness*)

^f Regla de los 5 (Lipinski)

Continuación de la Tabla 15. Propiedades fisicoquímicas de las antraquinonas obtenidas del programa DataWarrior.

| Antraquinona | FM | PM | ClogP ^a | PSA ^b | N _A ^c | N _D ^d | dl ^e | Ro5 ^f |
|---|--|--------|--------------------|------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------|------------------|
|  | C ₁₉ H ₁₆ O ₆ | 340.33 | 2.78 | 78.90 | 6 | 0 | -0.850 | ✓ |
|  | C ₂₀ H ₁₈ O ₆ | 354.56 | 3.23 | 78.90 | 6 | 0 | 0.945 | ✓ |
|  | C ₂₁ H ₂₀ O ₆ | 368.38 | 3.65 | 78.90 | 6 | 0 | -4.168 | ✓ |

^a log P calculado

^b superficie polar

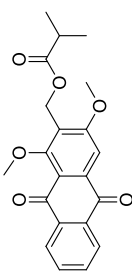
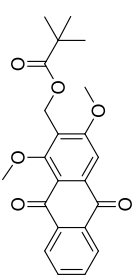
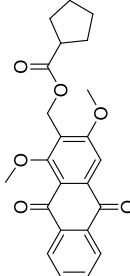
^c suma de grupos N y O-H aceptores de enlaces de hidrógeno

^d suma de grupos N y O-H donadores de enlaces de hidrógeno

^e potencial tipo fármaco (*druglikeness*)

^f Regla de los 5 (Lipinski)

Continuación de la Tabla 15. Propiedades fisicoquímicas de las antraquinonas obtenidas del programa DataWarrior.

| Antraquinona | FM | PM | ClogP ^a | PSA ^b | N _A ^c | N _B ^d | dl ^e | Ro5 ^f |
|---|--|--------|--------------------|------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------|------------------|
|  | C ₂₁ H ₂₀ O ₆ | 368.38 | 3.45 | 78.90 | 6 | 0 | -0.1314 | ✓ |
|  | C ₂₂ H ₂₂ O ₆ | 382.41 | 4.01 | 78.90 | 6 | 0 | -1.116 | ✓ |
|  | C ₂₃ H ₂₂ O ₆ | 394.42 | 3.78 | 78.90 | 6 | 0 | -2.445 | ✓ |

^a log P calculado

^b superficie polar

^c suma de grupos N y O-H aceptores de

enlaces de hidrógeno

^d suma de grupos N y O-H donadores de

enlaces de hidrógeno

^e potencial tipo fármaco (*druglikeness*)

^f Regla de los 5 (Lipinski)

El logaritmo del coeficiente de partición de un compuesto es un parámetro relacionado con el cociente de las concentraciones en una fase orgánica y una fase acuosa ($\log[C_{\text{octanol}}/C_{\text{agua}}]$) y representa una medida de su hidrofiliidad. Una baja hidrofiliidad se encuentra representado por un alto valor de $\log P$, situación que deriva en una baja absorción. Se ha demostrado que los compuestos mejor absorbidos, son aquellos que presentan un valor de $\log P$ no mayor a 5.0.⁶¹

Los datos de la tabla 15, muestran que los derivados obtenidos del damnacantal aumentan la lipofilia en un 10, 25, 45, 32, 57 y 48 % para los ésteres de tipo acetilo, propionilo, butirilo, isobutirilo, trimetilacetilo y ciclopentanocarbonilo respectivamente.

Otro criterio fisicoquímico importante es la superficie polar (PSA), el cual se encuentra calculado con base en la suma de las contribuciones superficiales tabuladas de diferentes fragmentos polares. Este parámetro se puede correlacionar con la biodisponibilidad a través de un mecanismo de transporte pasivo.⁶¹ El procedimiento original para el cómputo de la PSA, se realiza a través de las conformaciones representativas en tres dimensiones de la estructura química; sin embargo Ertl y Selzer⁷⁴ han demostrado una buena correlación del método denominado superficie polar topológica (TPSA). Para el caso de las antraquinonas del presente trabajo, todas se encuentran dentro de los límites deseados de TPSA que va de 50 a 100 Å²; lo que sugiere cierto potencial para una adecuada absorción intestinal y permeabilidad a través de membranas celulares.⁷⁵

El parámetro que mide el potencial como fármaco (*druglike*) para las moléculas bioactivas, se define a través de las contribuciones de diferentes propiedades moleculares y características estructurales y determina el grado de semejanza de una estructura química en particular con fármacos conocidos. El valor calculado, se basa en una lista de fragmentos y subestructuras obtenidos de 3300 fármacos registrados y 15000 sustancias químicas disponibles (Fluka).⁷¹ Para las antraquinonas analizadas en la tabla 9, se observan valores negativos con excepción del éster de tipo propionilo ($dI = 0.945$). Un valor positivo de este parámetro expresa que la antraquinona cuenta con fragmentos frecuentemente presentes en fármacos comerciales.⁶¹

Los parámetros asociados a la regla de los 5 (Ro5) consideran las siguientes características: peso molecular ≤ 500 , $\log P \leq 5$, grupos donadores de enlaces de hidrógeno ≤ 5 , grupos aceptores de enlaces de hidrógeno ≤ 10 . Las antraquinonas analizadas en la tabla 15, no presentan violaciones para esta tendencia, por lo que al cumplir con la regla de lipinski, es de esperarse que cuenten con una adecuada biodisponibilidad.

CONCLUSIONES

Se realizó el aislamiento de la hidroxiantraquinona damnacantal, a partir del extracto con diclorometano de la madera de las raíces de la especie *Morinda panamensis* Seem, con un rendimiento del 6.9%, lo que determina que esta especie es una fuente importante para la obtención de esta antraquinona.

Se desarrolló una metodología mediante la cual es posible realizar una variación de la lipofilia de las antraquinonas de *M. panamensis*, a través de la formación de ésteres en la posición 2 de un sistema antraquinónico. Esto permitió establecer la ruta sintética para la preparación de seis ésteres con diferente grado de lipofilia a partir de damnacantal: acetato, propionato, butirato, isobutirato, pivalato y el ciclopentanocarboxilato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantraceni-2-metilo.

REFERENCIAS

1. Martha Ponce-Macotella.; Gustavo E. Peralta-Abarca. *Giardia intestinalis* and other zoonotic parasites: Prevalence in adult dogs from the southern part of Mexico City. *Vet. Parasitol*, **2005**, *131*, 1–4.
2. Hugo, D, L; Giardia y Giardiasis., *Medicina (Buenos Aires)*, **2006**, *66*, 70-74.
3. Vázquez Tsuji, O.; Campos Rivera, T. Giardiasis. La parasitosis más frecuente a nivel mundial., *Rev. Cent. Invest. Univ*, **2009**, *8*, 75-90.
4. Dirección general de epidemiología <http://www.epidemiologia.salud.gob.mx> (Consultado octubre del 2017).
5. Jacqueline A. Upcroft.; Linda A. Dunn. 5-Nitroimidazole Drugs Effective against Metronidazole-Resistant *Trichomonas vaginalis* and *Giardia duodenalis*. *Antimicrob. agents chemother*. **2006**, *50*, 344–347.
6. Jayne e. Ellis. Oxygen affinities of metronidazole-resistant and sensitive stocks of *giardia intestinalis*. *International journal for parasitology*. **1993**, *23*, 35-39.
7. Busatti, H. G. N. O.; Santos, J. F. G.; Gomes, M. A. The old and new therapeutic approaches to the treatment of giardiasis: Where are we? *Biol.: Targets Ther*. **2009**, *3*, 273-287
8. Astelbauer, F.; Walochnik, J. Antiprotozoal compounds: state of the art and new developments. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **2011**, *38*, 118-124.
9. Tian, H.; Chen, B.; Wen, J. Giardiasis Resistance, and New Target Discovery. *Infect. Disord. Drug Targets*. **2012**, *10*, 295-302.
10. Schripsema, J.; Ramos-Valdivia, A.; Verporte, R. Robustaquinones, novel anthraquinones from an elicited *Cinchona robusta* suspensión culture. *Phytochemistry*, **1999**, *51*, 55-60.
11. Xiang, W.; Song, Q.; Zhang, H.; Guo, S.; Antimicrobial anthraquinones from *Morinda angustifolia*. *Fitoterapia*, **2008**, *79*, 501-504.
12. Comini, L. R.; Montoya, S. C. Páez, P. L.; Arquello, G. A.; I. Albesa, I.; Cabrera, J. L. Antibacterial activity of anthraquinone derivatives from *Heterophyllaea pustulata* (Rubiaceae). *J. Photochem. Photobiol. B*. **2011**, *102*, 108-114.
13. Garcia-Sosa, K.; Villareal-Alvarez, N.; Lübben, P.; Peña-Rodríguez, L. M. Chrysophanol, an Antimicrobial Anthraquinone from the Root Extract of *Colubrina greggi*. *J. Mex. Chem. Soc*. **2006**, *50*, 2, 76-78.
14. Hemmateenejad, B.; Shamsipur, M.; Safavi, A.; Sharghi, H.; Amiri, A. A. Reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) characteristics of some 9,10-anthraquinone derivatives using binary acetonitrile-water mixtures as mobile phase. *Talanta* **2008**, *77*, 351-359.
15. Yen, G.; Duh, P.; Chuang, D. Antioxidant activity of anthraquinones and anthrone. *Food Chem*. **2000**, *70*, 437-441.
16. Barnard, D. L.; Huffman, J. H.; Morris, J. L.; Wood, S. G.; Hughes, B. G.; Sidwell, R. W. Evaluation of the antiviral activity of anthraquinones, anthrones and anthraquinone derivatives against human cytomegalovirus. *Antiviral Res*. **1992**, *17*, 1, 63-77.

17. Agarwal, S. K.; Singh, S. S.; Verma, S.; Kumar, S. Antifungal activity of anthraquinone derivatives from *Rheum emodi*. *J. Ethnopharmacol.* **2000**, *72*, 1-2, 43-46.
18. Avedaño, C.; Perez, J. M.; Blanco, M. M.; de la Fuente, J. A.; Manzanaro, S.; Vincent, M. J.; Martín, M. J.; Salvador-Tormo, N.; Menéndez, J. C. Synthesis and structure-activity relationships of 1,5-diazaanthraquinones as antitumor compounds. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 3929-3932.
19. Kunyotyng, T.; Leksawasdi, N. Anthraquinone extraction from *Morinda* sp. root powder under steam pressurized conditions. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 2009, *43*, 238-244.
20. Camacho, M. d. R.; Phillipson, J. D.; Croft, S. L.; Solis, P. N.; Marshall, S. J.; Ghazanfar, S. A. Screening of plant extracts for antiprotozoal and cytotoxic activities. *J. Ethnopharmacol.* **2003**, *89*, 185-191.
21. Ayo, R. G. Phytochemical constituents and bioactivities of the extracts of *Cassia nigricans* Vahl: A review. *J. Med. Plants Res.* **2010**, *4*, 1339-1348.
22. Batista, R.; Silva, A. J. Jr.; Braga d Oliveira, A. Plant-Derived Antimalarial Agents: New Leads and Efficient Phytomedicines. Part II. Non-Alkaloidal Natural Products. *Molecules* **2009**, *14*, 3037-3072.
23. Pawlus, A. D.; Su, B. N.; 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
24. Phakhodee, W. Distribution of naturally occurring anthraquinones, iridoids and flavonoids from *Morinda* genus: chemistry and biological activity. *Walailak J. Sci. Tech.* **2012**, *9*, 173-188.
25. Wijnsma, R. and Verpoorte, R. Anthraquinones in the Rubiaceae. In *Progress in the chemistry of organic natural products. Mol. Biol. Biotechnol.* **1986**, *11*, 3-7.
26. Pakin Sukamporn, Seung Joon Baek, Self-assembled nanomicelles of damnacanth-loaded amphiphilic modified chitosan: Preparation, characterization and cytotoxicity study. *Mater. Sci. Eng. C*, **2017**, *77*, 1068–1077.
27. Moo-Puc, R. E.; Mena-Rejon, G. J.; Quijano, L.; Cedillo-Rivera, R. Antiprotozoal activity of *Senna racemosa*. *J. Ethnopharmacol.* **2007**, *112*, 2, 415-416.
28. London Kruawan H.; Nongyao S.; Wipapan K.; Vatcharin R.; Supayang P.; Voravuthikunchai, Souwalak P. Anti-intestinal protozoan activities of 1-hydroxy- 2 - hydroxymethylantraquinone from *Coptosapelta flavescens*. *Asian Pac J Trop Dis*, **2014**; *4(6)*:457-462.
29. Kiedparinya Loonjang.; David Duangjinda. A new anthraquinone from *Morinda elliptica* Ridl. *Nat. Prod. Res.* **2015**, *19*, 1833–1838.
30. Carrillo Uicab Jessica A.; Derivados esterificados de antraquinonas aisladas de *Morinda panamensis* Seem. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, México 2017.
31. Chízmar Fernández, C. Plantas comestibles de Centroamérica; Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio): Santo Domingo de Heredia, 2009; pp 276-277.

32. Mongrand, S.; Badoc, A.; Brigitte, P.; Chantal, L.; Marie, C.; Jean-Jacques, B. Chemotaxonomy of the Rubiaceae family based on leaf fatty acid composition. *Phytochemistry*. **2005**, *66*, 549-559.
33. V. da S. Bolzani, M. C. M. Young, M. Furlan, A. J. Secondary metabolites from Brazilian Rubiaceae plant species: chemotaxonomical and biological significance. *Devel. Phytochem.* **2001** *5*, 19-31.
34. Mathivanan, N.; Surendiran G.; Srinivasan, K.; Sagadevan, E.; Malarvizhi K. Review on the current scenario of noni research: taxonomy, distribution, chemistry, medicinal and therapeutic values of *Morinda citrifolia*., *Intl. J. Noni Res.* **2005**, *1*, 1-16.
35. Xianggang, S, Jianhua, J, Chuangxing, Y, Weiqiu, L; First fruit fossil record of *Morinda* (Rubiaceae) from China. *Rev. Palaeobot. Palynol.* **2012**, *179*, 13-16.
36. Odutage A.A, Dairo J.O.;Minari, J, B.; Bamisaye F, A. Anti-Diabetic Effect of *Morinda lucida* Stem Bark Extracts on Alloxan-Induced Diabetic Rats, *Res. J. Pharmacol.* **2010**, *4*, 78-82.
37. Adelani, P. O. Synthetic pathway of 8-hydroxyl-9,10-dimethoxyanthracene-2-aldehyde (oruwalol). *Eur. J. Sci. Res.* **2007**, *16*, 44-54.
38. Wijnsma, R. and Verpoorte, R. Anthraquinones in the Rubiaceae. In *Progress in the chemistry of organic natural products. Mol. Biol. Biotechnol.* **1986**, *11*, 3-7.
39. Garay, Z.; López, A.; Acha De la Cruz, O.; Souza, O.; Olivera, P.; Santiago, J.; Microstructural characterization of ashes from *Morinda citrifolia* Linneo noni., *Rev. Soc. Quím.*, **2011**, *77*, 109-116.
40. Duduku, K.; Awang, B.; Rosalam, S.; Anisuzzaman S, M.; Antioxidant activity and total phenolic content of an isolated *Morinda citrifolia* L. methanolic extract from Polyethersulphone (PES) membrane separator. *J. King Saud. Univ. Sci.*, **2015**, *27*, 63-67.
41. Potterat, O.; Hamburger, M. *Morinda citrifolia* (Noni) Fruit – Phytochemistry, Pharmacology, *Safety. Plant Med.* **2007**, *73*, 191-199.
42. Sánchez, V.; Santa, J, F.; Estudio de antraquinonas presentes en extractos de mucilago y hojas de *Aloe vera* de plantas cultivadas en la región cafetera. Tesis de licenciatura, Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia, 2009.
43. Flora de Nicaragua. <http://www.tropicos.org/name/27903324?projectid=7> (consultado febrero 2016).
44. Zamora, P.C., G.G. García., J.S. Flores y J.J Ortiz, 2008. "Estructura y composición florística de la selva mediana subcaducifolia de en el sur del estado de Yucatán, México". *Polibotánica*, pp. 33-66.
45. Ceballos Cruz Jimmy Josué. Estudio fitoquímico del fruto de *Morinda panamensis* Seem. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, México 2012.
46. Flora de Nicaragua. <http://www.tropicos.org/name/27903324?projectid=7> (consultado octubre 2017).
47. Segunda Gibaja. Pigmentos Naturales quinónicos; Universidad Nacional mayor de San Marcos: Lima, Peru, 1998; pp 124-130.

48. David Cáceres-Castillo, Yussel Pérez-Navarro, Julio César Torres-Romero. Trichomonocidal activity of a new anthraquinone isolated from the roots of *Morinda panamensis* Seem. *Drug Dev Res.* **2018**, 1–7.
49. Koushik Saha • Kok Wai Lam, 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.
50. Hiramatsu T.; Imoto M, Koyano T.; Umezawa K, Induction of normal phenotypes in ras-transformed cells by damnacanthal from *Morinda citrifolia*. *Cancer Lett*, **1993** 30, 161-166.
51. Louis P. Sandjo.; Milene H. de Moraes. Individual and combined antiparasitic effect of six plant metabolites against *Leishmania amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2016**, 26, 1772–1775.
52. Beck, J., Barrett-Connor, E., 1971, Medical Parasitology, The C.V. Mosby Company London.
53. San Román del Barrio Luis. Desarrollo de nuevos fármacos: desde la invención a la Farmacia; Salamanca, España, 2013; pp. 23-30.
54. Grabley, S.; Thiericke, R. Bioactive agents from natural sources: trends in discovery and application. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* **1999**, 64, 101-154.
55. Brenda Modak.; Abel Arrieta. Actividad antibacteriana de flavonoides aislados del exudado resinoso de *heliotropium sinuatum*: efecto del tipo de estructura. *Bol. Soc. Chil. Quím.* **2002**, 47, 94-98.
56. Manojlovic, N.; Markovic, Z.; Duric, M. Regioselective synthesis and antimicrobial activity of O-alkylated physcion's derivatives. *J. Chil. Chem. Soc.* **2007**, 52, 4, 1330-1331.
57. Dhammika Nanayakkara, N. P.; Schrader K. K. Synthesis of water-soluble 9,10-antraquinone analogues with potent cyanobactericidal activity toward the musty-odor cyanobacterium *Oscillatoria perornata*. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, 56, 3, 1002-1007.
58. Xing-Ri, C.; Kazutoshi, T.; Takeshi, S.; Jyunichi, K.; Fusao K. Setsuo, S. Preparation of 1,8-di-O-alkylaloe-emodins and 15-Amino-, 15-Thiocyano-, and 15-Selenocyanochrysofanol Derivatives from Aloe-Emodin and Studying their Cytotoxic Effects. *Chem. Pharm. Bull.* **2008**, 56, 4, 497-503.
59. Chan, K. Y.; Zhang, J.; Chang, C. W. T. Mode of action investigation for the antibacterial cationic anthraquinone analogs, *Bioorg. Med. Chem*, **2011**, 21, 6353-6356.
60. Ceballos Cruz Jimmy Josué. Modificación estructural de antraquinonas aisladas de las raíces de *Morinda panamensis*. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, México 2016.
61. Openmolecules.org. <http://www.openmolecules.org/propertyexplorer/clogp.html> (consultado en octubre de 2019).
62. Sander, T.; Freyss, J.; Tosco, P.; Bergmann, D.; von Korff, M.; Rufener, C.; Hanson, R.; Kulla, C. Datawarrior, versión 4.6.0; Actelion *Pharmaceuticals Ltd.* Suiza, 2017.

63. Kumar, S., Roy, R. Quantitative ¹H NMR Spectroscopy. *Trens Anal. Chem.*, **2012**, *35*, 5.
64. 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.
65. Dani, S.; Kalamera, C.; Bohne, O.; Landgraf, S.; Basaric, N. Photodeamination Reaction Mechanism in Aminomethyl p-Cresol Derivatives: Different Reactivity of Amines and Ammonium Salts. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 10818.
66. Wen-Chung Shieh, Steven Dell, Oljan Repic. 1,8-Diazabicyclo [5.4.0] undec-7-ene (DBU) and Microwave-Accelerated Green Chemistry in Methylation of Phenols, Indoles, and Benzimidazoles wit Dimethyl Carbonate. *Org. Lett.*, **2001**, *3*, 4279-4281.
67. 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
68. Piero Tundo, Sofia Memoli. Synthesis of methylethers by reaction of alcohols with dimethylcarbonate. *Green Chem.*, **2004**, *6* , 609-612
69. Pavel Belov, Veronica L., Microwave-assisted methylation of phenols with DMF-DMA. *Tetrahedron Lett.*, **2011**, *52*, 2776-2779.
70. Mao, J; Synthesis and antituberculosis activity of novel mefloquine-isoxale carboxylic esters as prodrugs. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 1263-1265.
71. Klaus Hinterding; Axel Knebel; Peter Herrlich and Herbert Waldmann; Synthesis and Biological Evaluation of Aeroplysinin Analogues: a New Class of Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **1998** *6* 1153-1162.
72. El-Kattan, A.; Varma, M. Oral Absorption, Intestinal Metabolism and Human Oral Bioavailability. En *Topics on Drug Metabolism*, Paxton, J., Ed.; InTech: Rijeka, Croacia, **2012**; pp 1-34.
73. Sander, T.; Freyss, J.; von Korff, M.; Rufener, C. DataWarrior: An opensource program for chemistry aware data visualization and analysis. *J. Chem. Inf. Model.* **2015**, *55*, 460-473.
74. Ertl, P.; Rohde, B.; Selzer, P. Fast Calculation of Molecular Polar Surface Area as a Sum of Fragment-Based Contributions and Its Application to the Prediction of Drug Transport Properties. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3714-3717.
75. Saha, K.; Lam, K. W.; Abas, F.; Hamzah, A. S.; Stanslas, J.; Hui, L. S.; Lajis, N. H. 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.

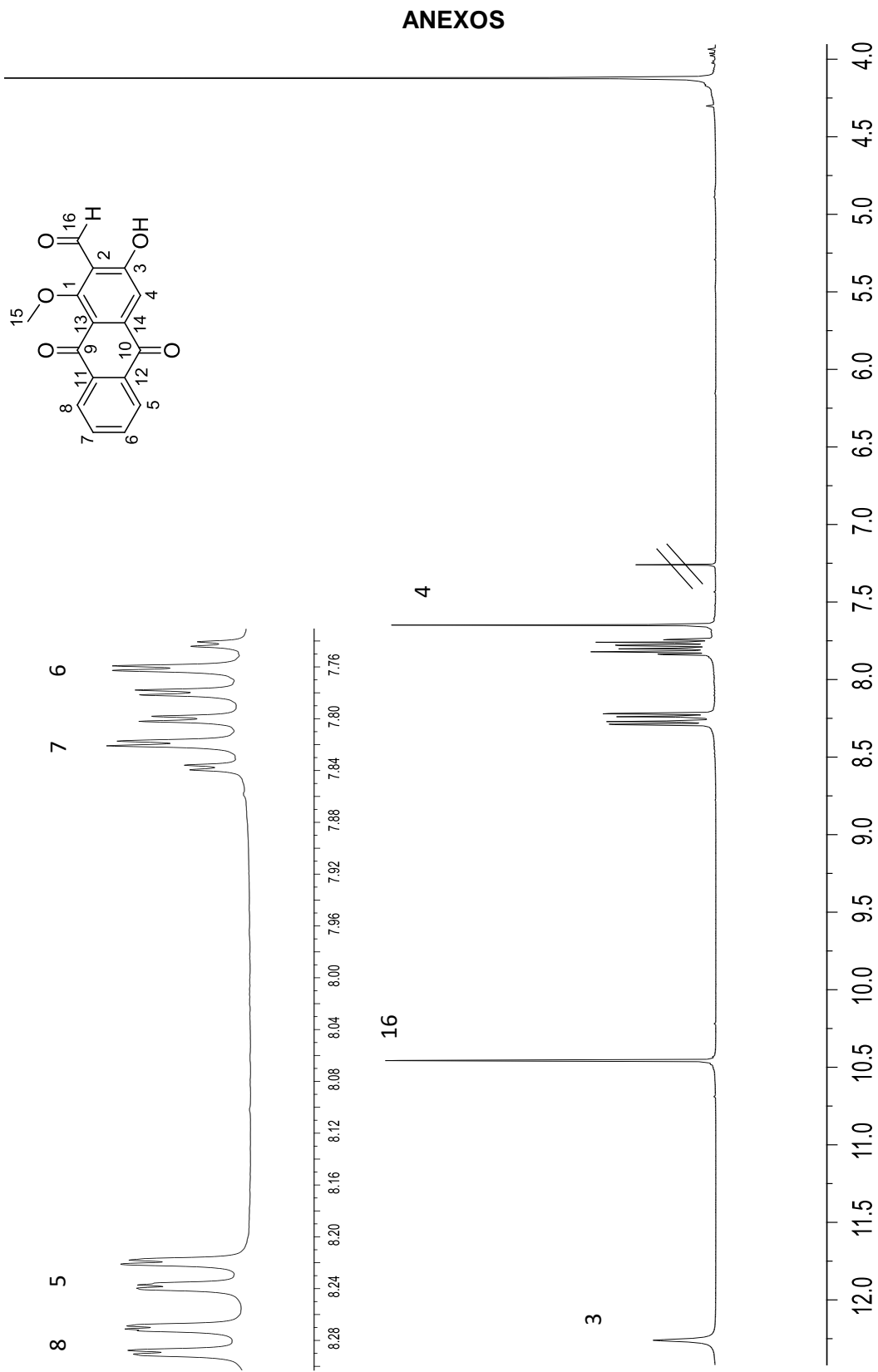


Figura A1. Espectro de RMN-¹H del damnacantal (400 MHz, CDCl₃)

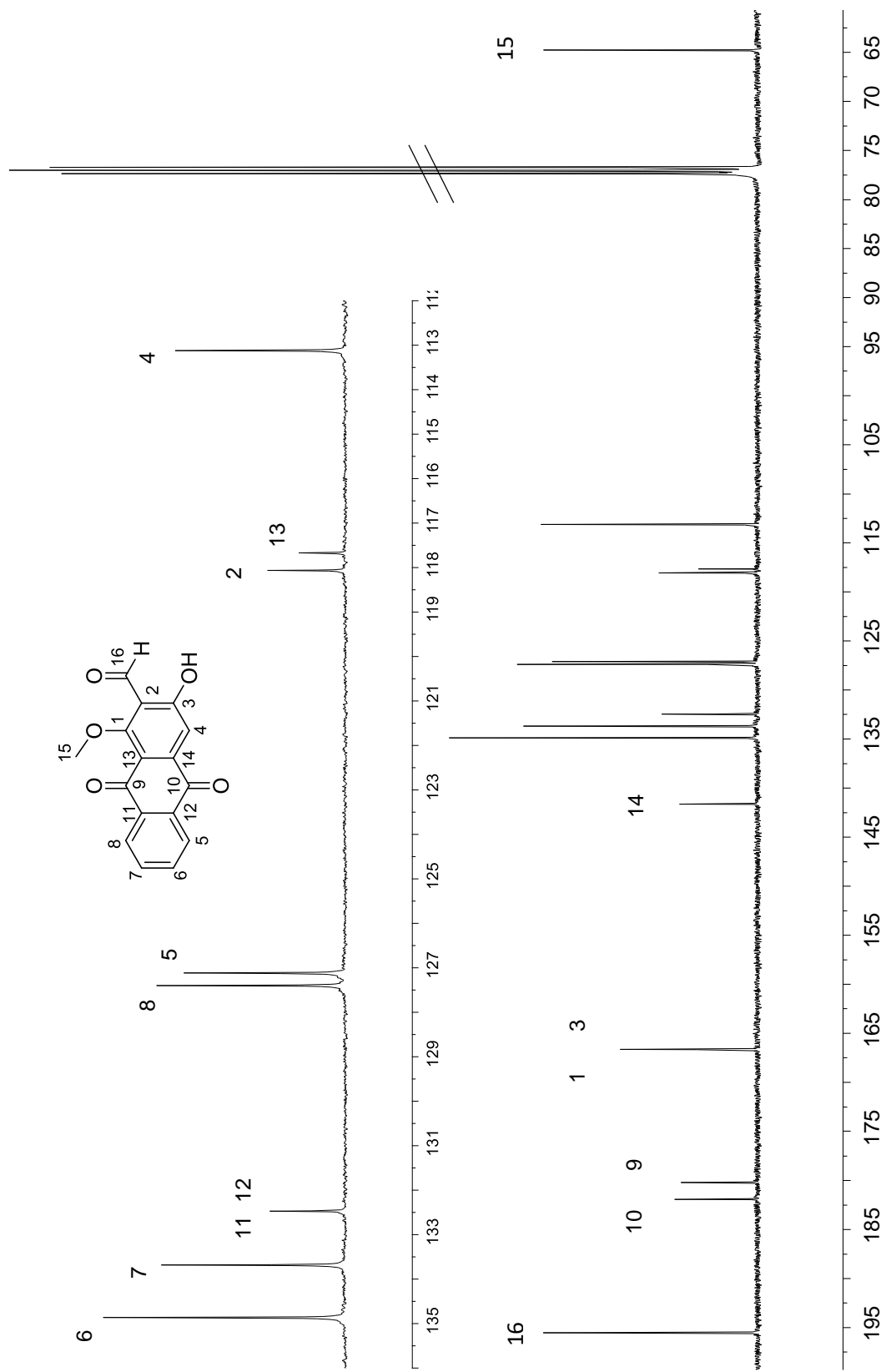


Figura A2. Espectro de RMN- ^{13}C del damnacantal (400 MHz, CDCl_3)

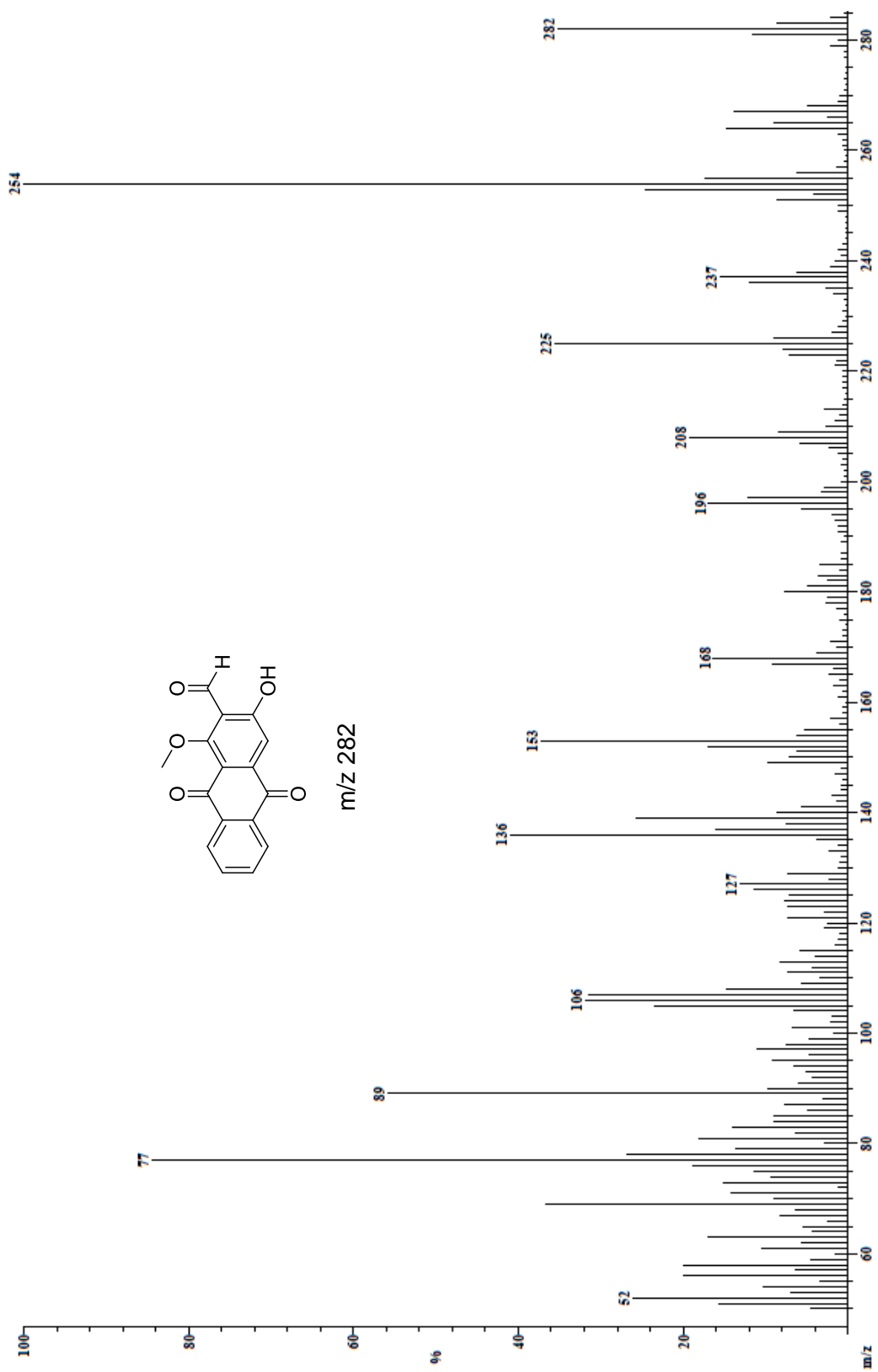


Figura A3. Espectro de masas EI (70 eV) del damnacantal

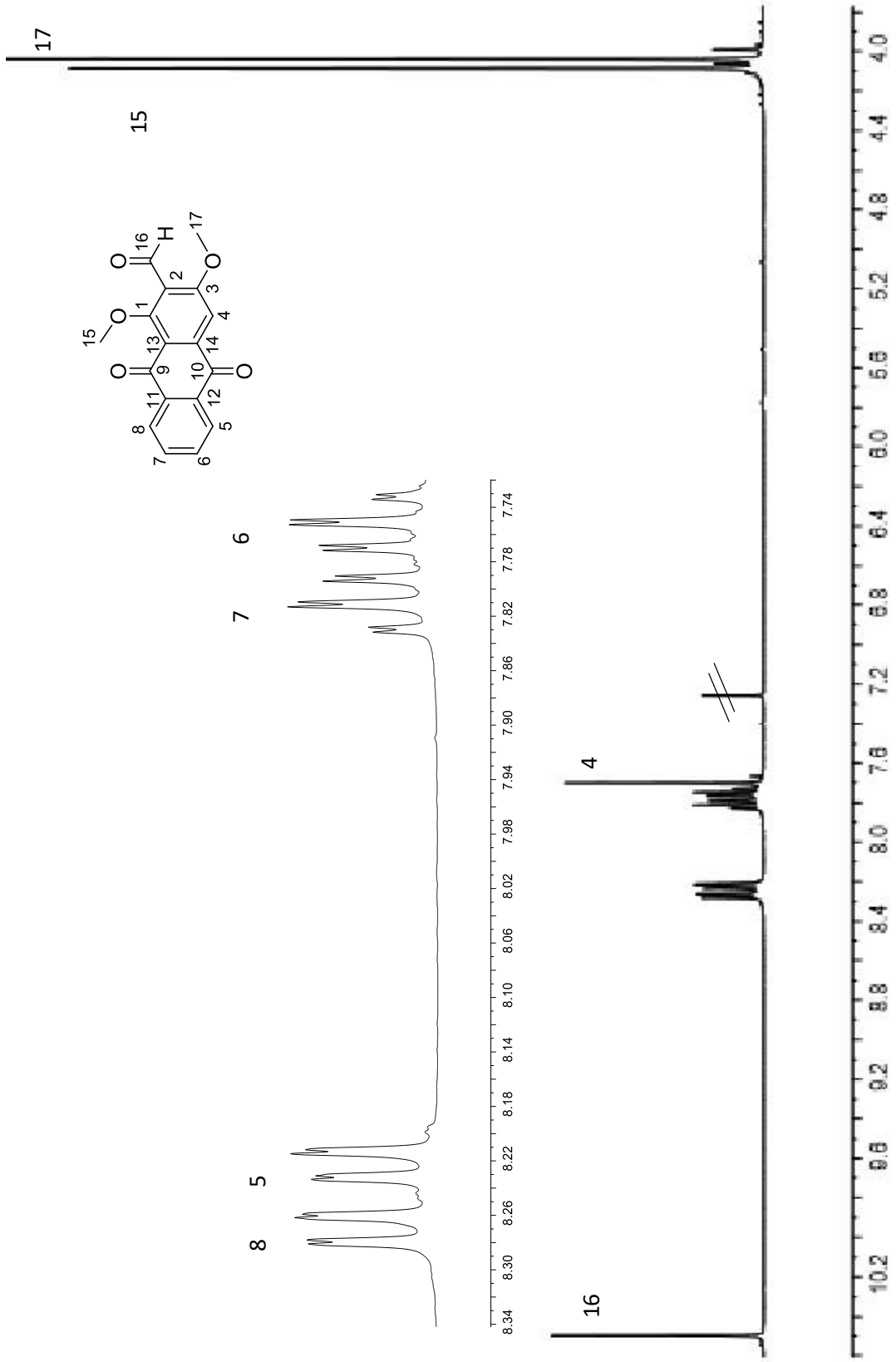


Figura A4. Espectro de RMN-¹H del 2-carbaldehido-1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona (400 MHz, CDCl₃)

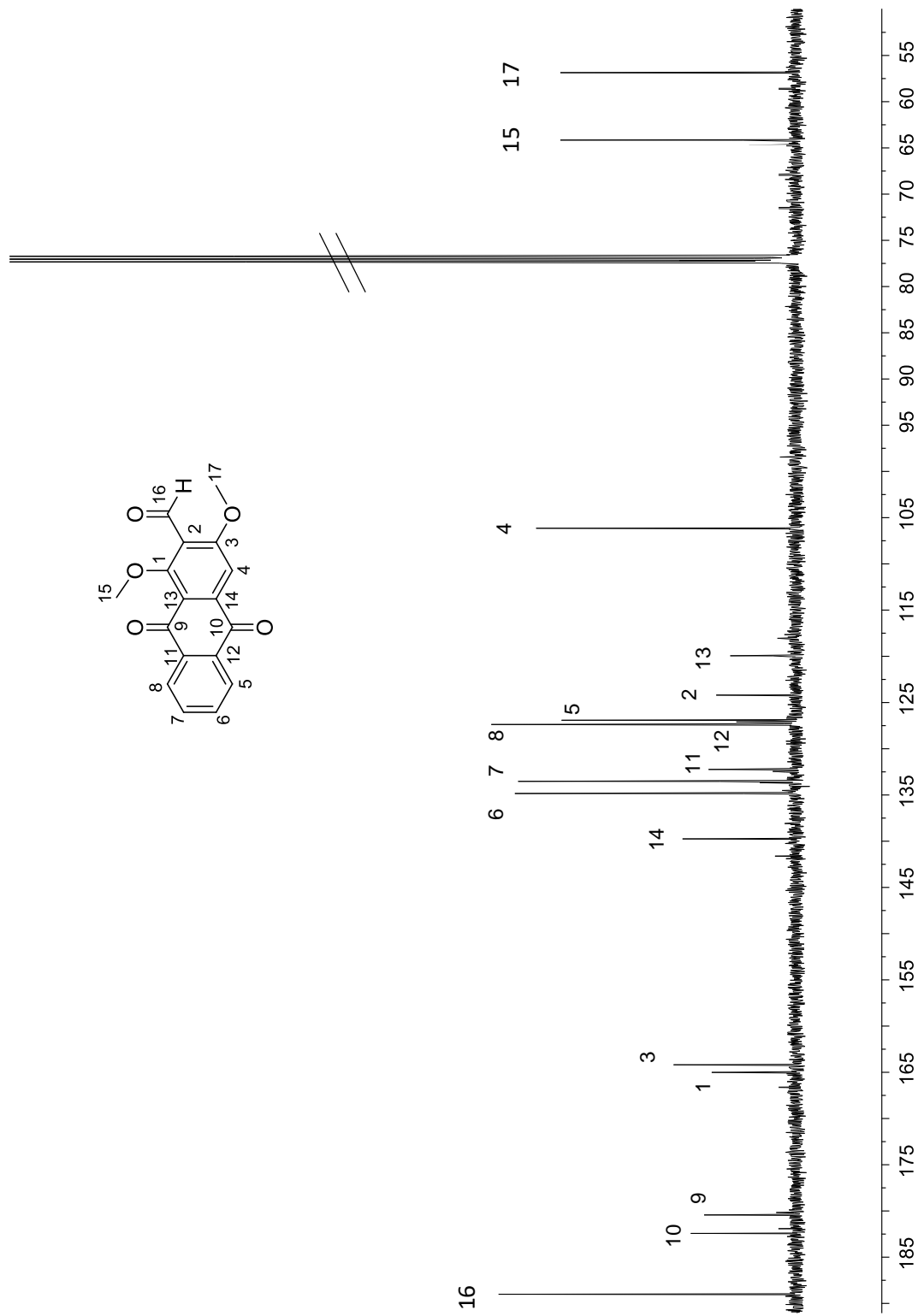


Figura A5. Espectro de RMN- ^{13}C del 2-carbaldehido-1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona (400 MHz, CDCl_3)

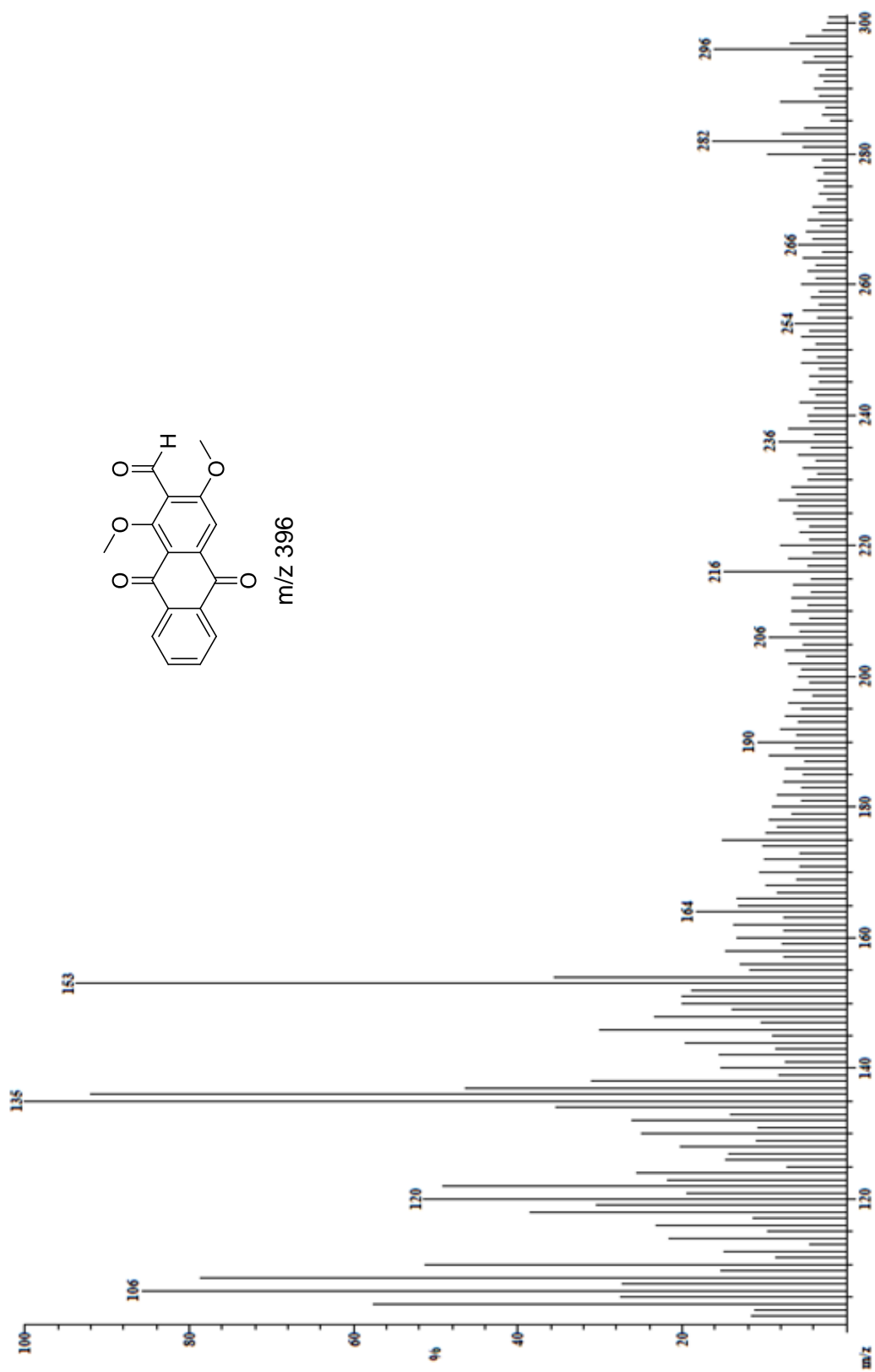


Figura A6. Espectro de masas +FAB del 2-carbaldehido-1,3-dimetoxi-9,10-antracnodiona

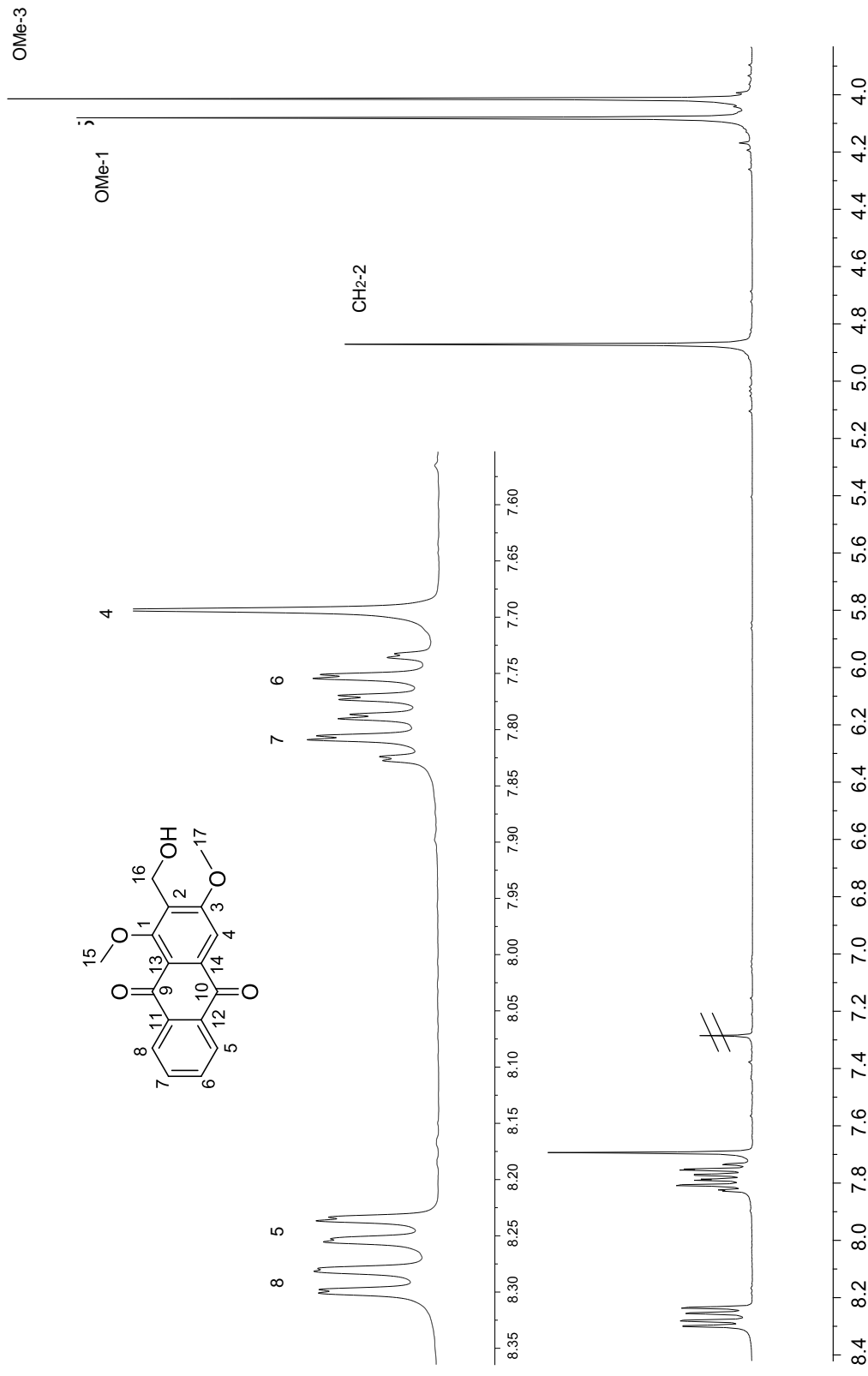


Figura A7. Espectro de RMN-¹H del 2-hidroximetil-1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona. (400 MHz, CDCl₃)

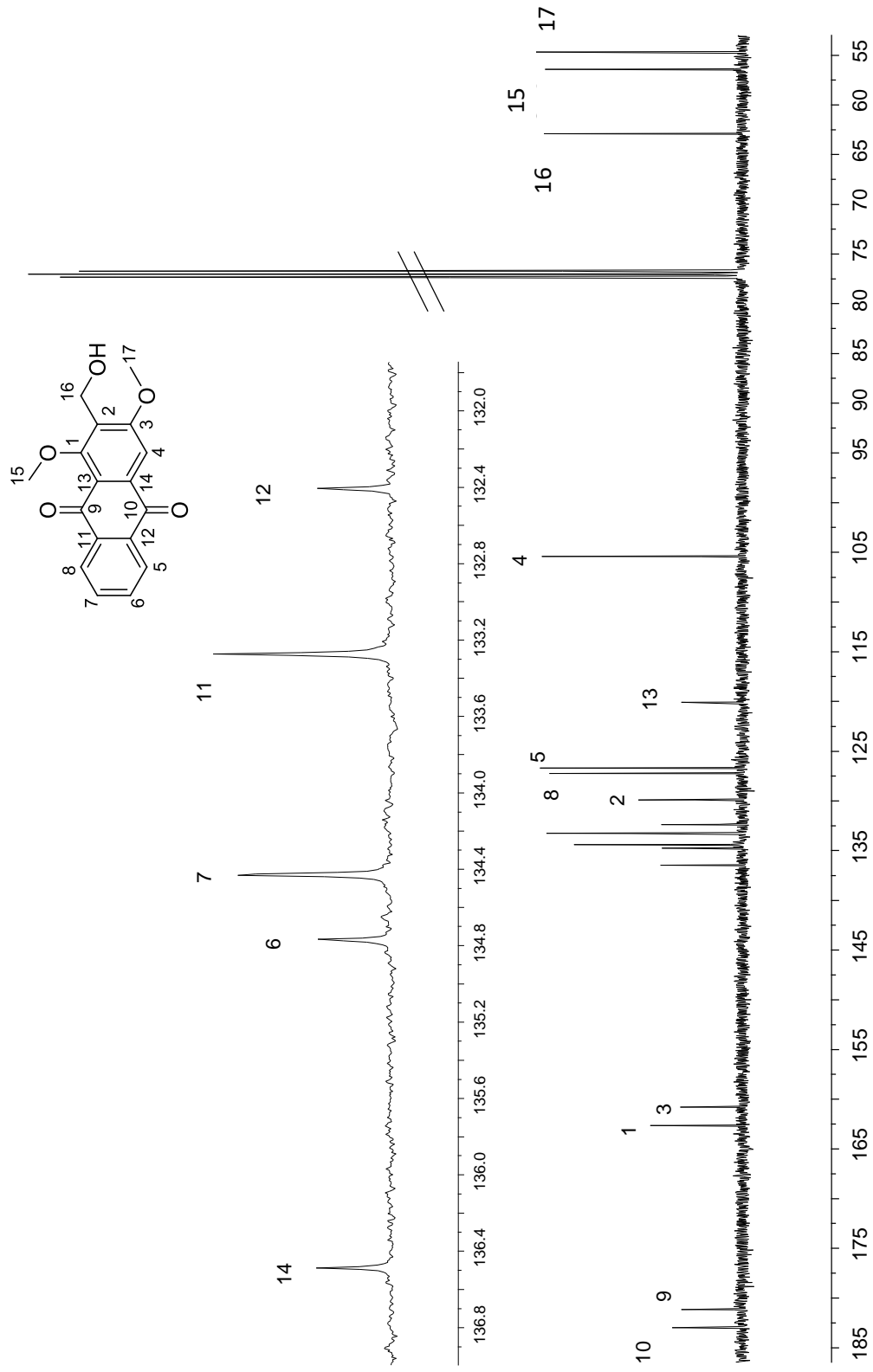


Figura A8. Espectro de RMN- ^{13}C del 2-hidroximetil-1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona. (400 MHz, CDCl_3)

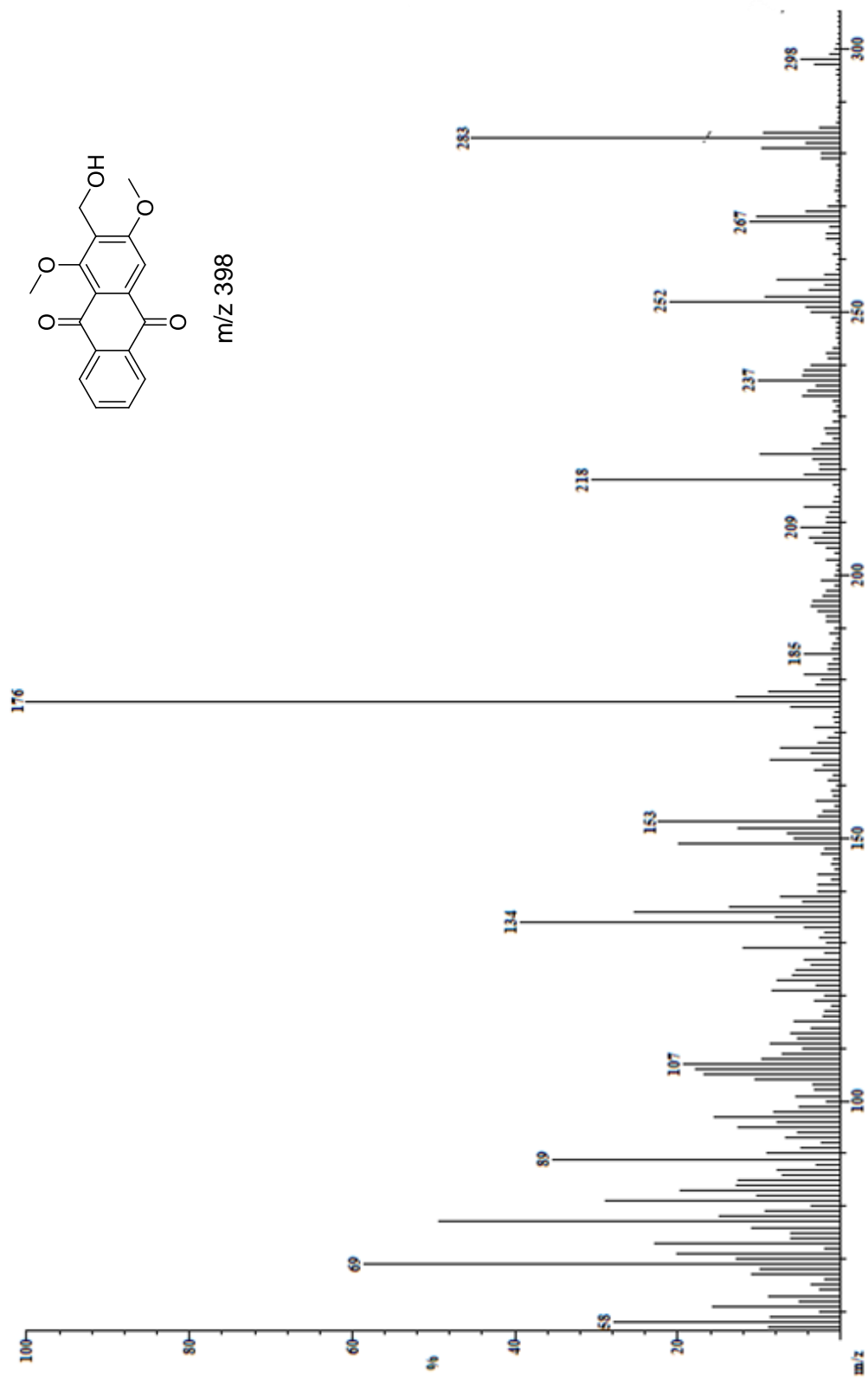


Figura A9. Espectro de masas EI (70 eV) del 2-hidroxi-metil-1,3-dimetoxi-9,10-antracenediona

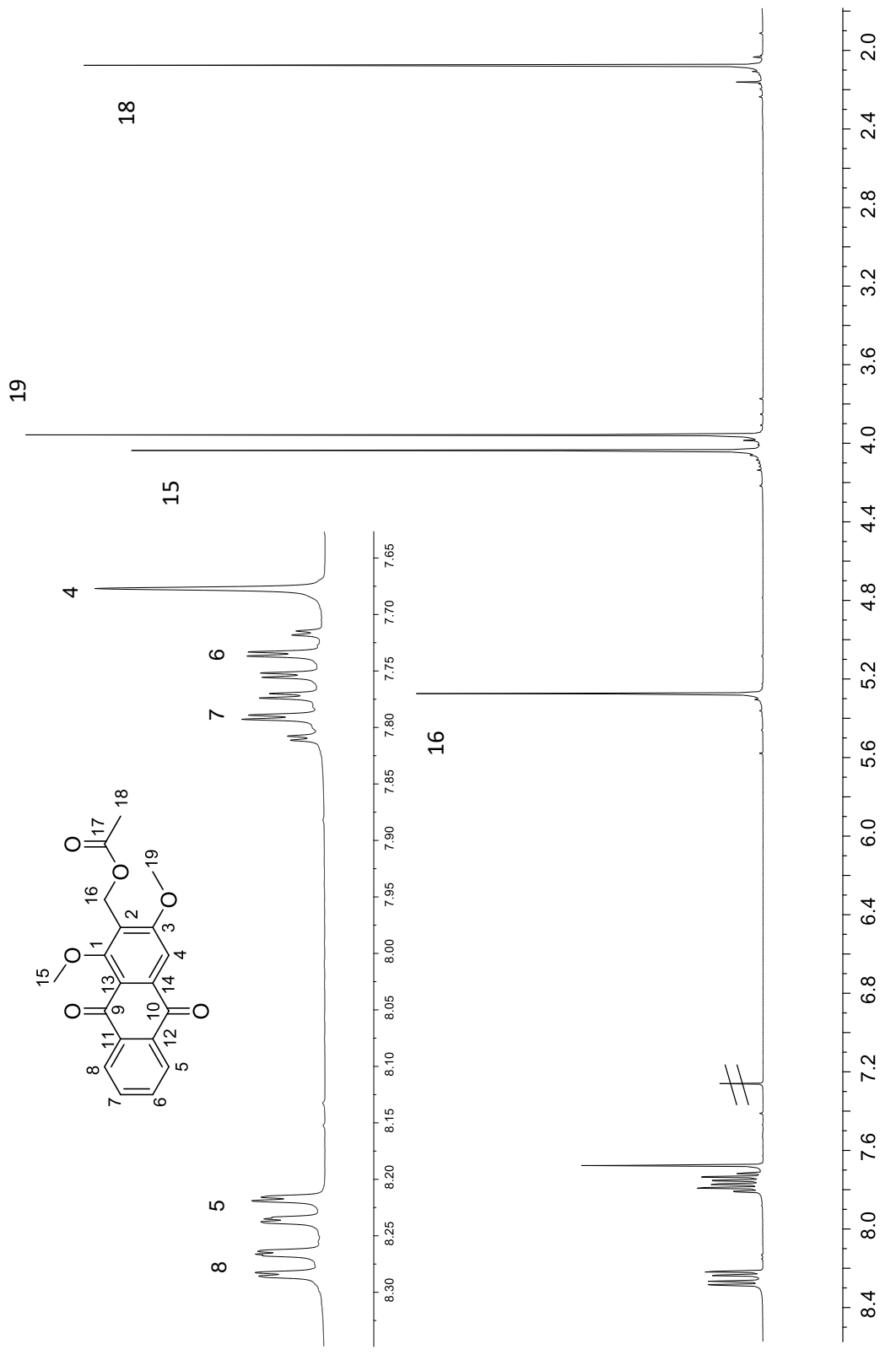


Figura A10. Espectro de RMN-¹H de acetato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo. (400 MHz, CDCl₃)

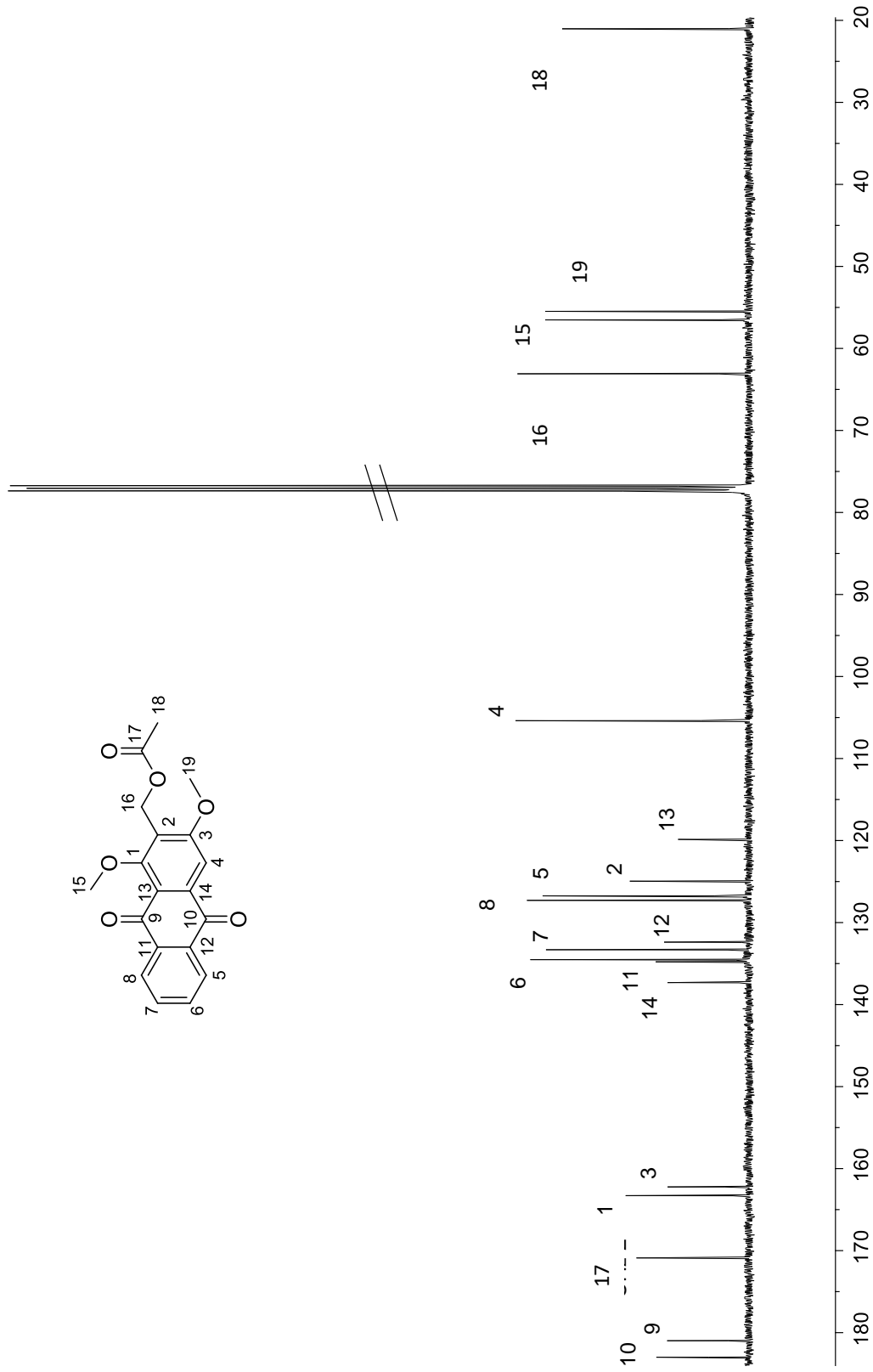


Figura A11. Espectro de RMN- ^{13}C de acetato de 1,3-dimetoxi-9,10-dihidroantracén-2-metilo. (400 MHz, CDCl_3)

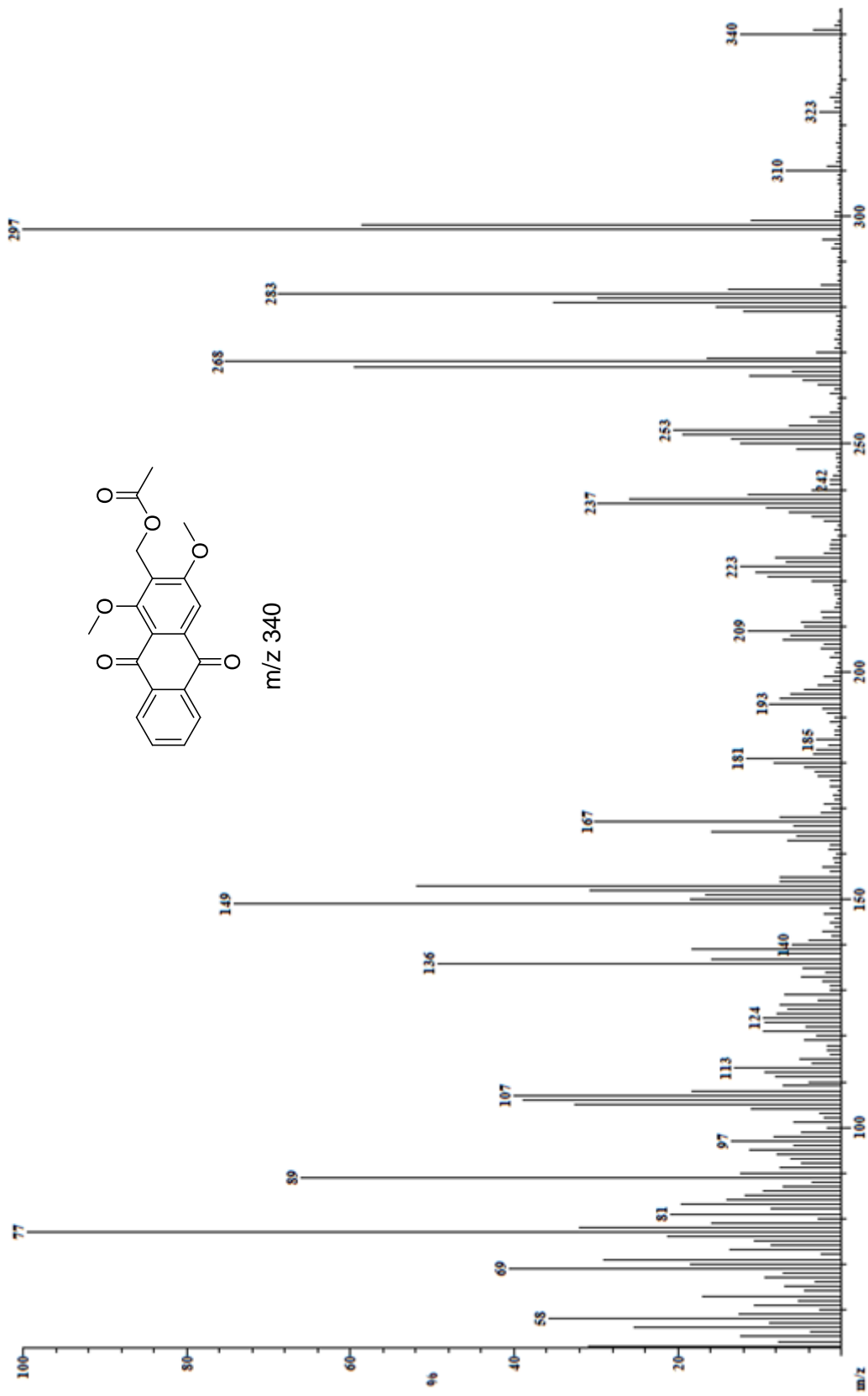


Figura A12. Espectro de masas EI (70 eV) de acetato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo

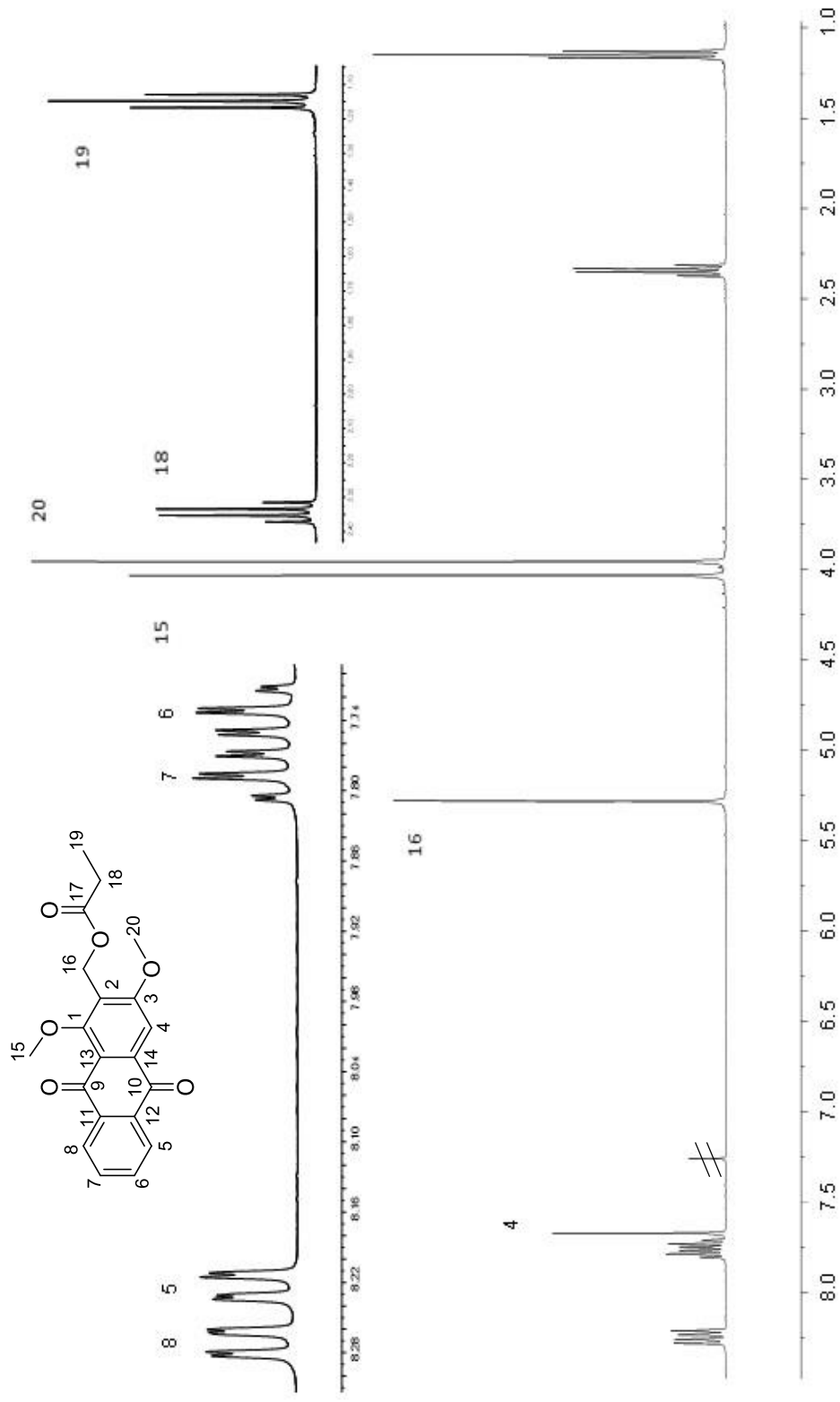


Figura A13. Espectro de RMN-¹H de propionato de 1,3-dimetoxi-9,10-dihidroantracén-2-metilo. (400 MHz, CDCl₃)

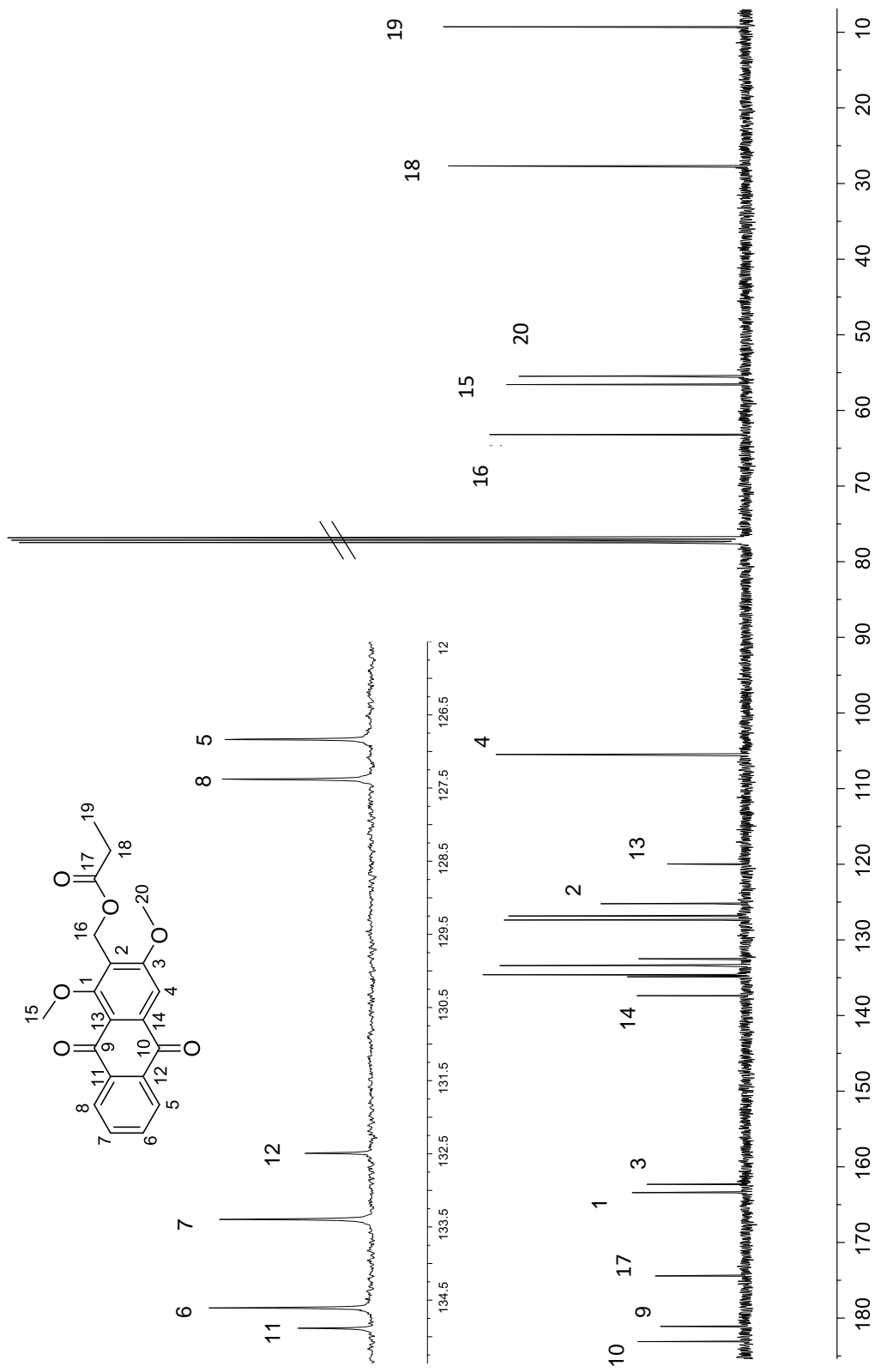


Figura A14. Espectro de RMN- ^{13}C de propionato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo. (400 MHz, CDCl_3)

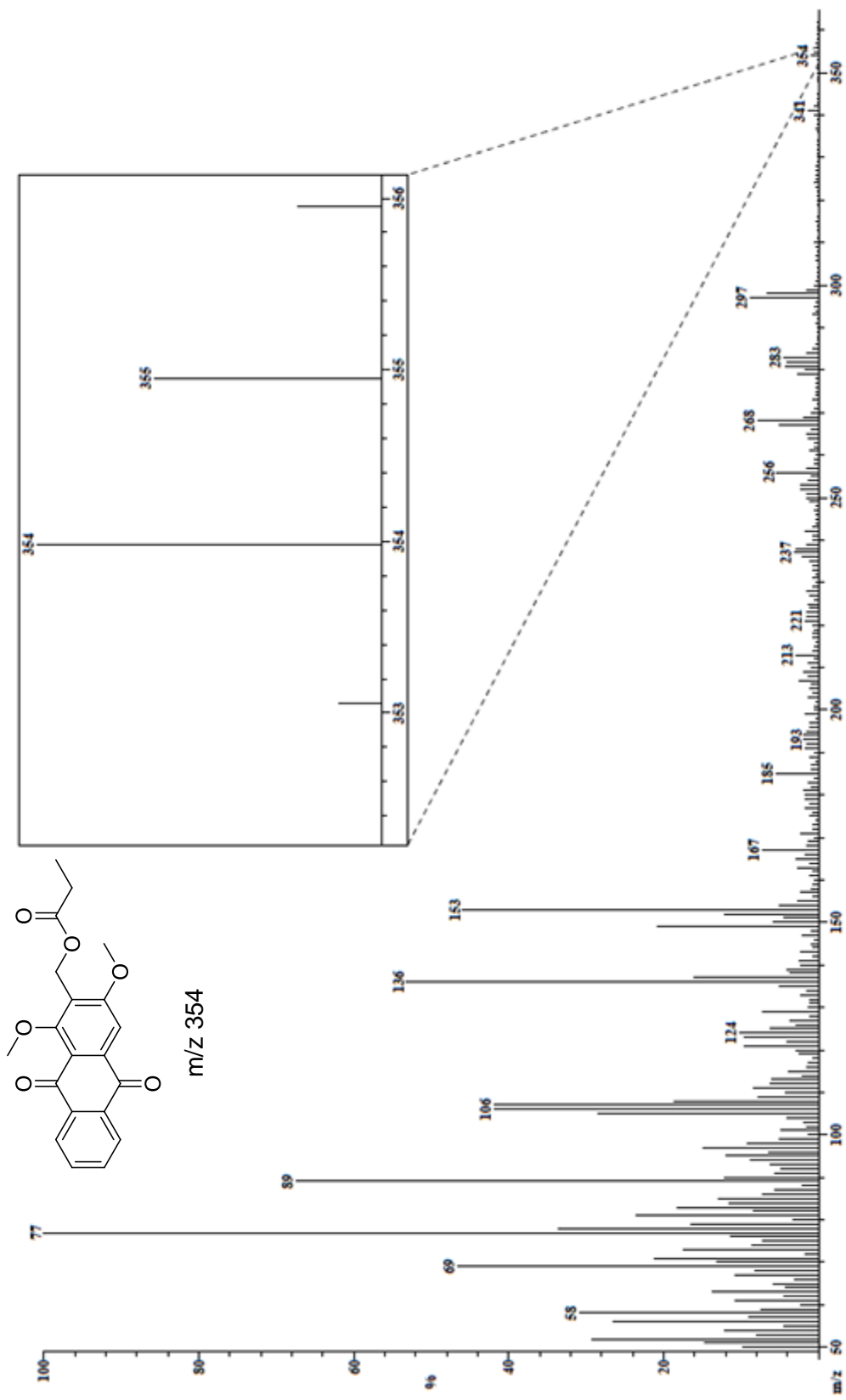


Figura A15. Espectro de masas EI (70 eV) de propionato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo

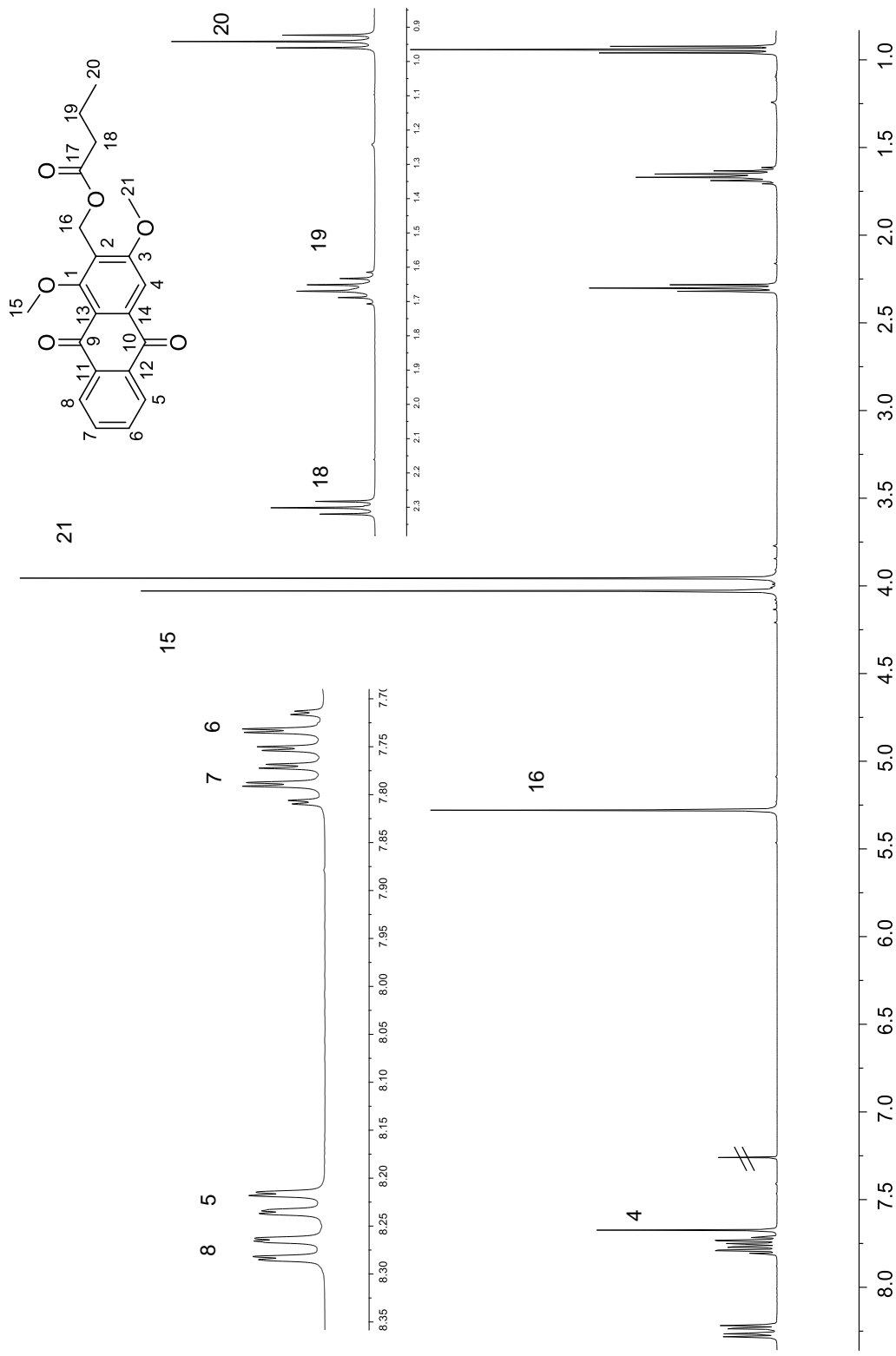


Figura A16. Espectro de RMN-¹H de butirato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo. (400 MHz, CDCl₃).

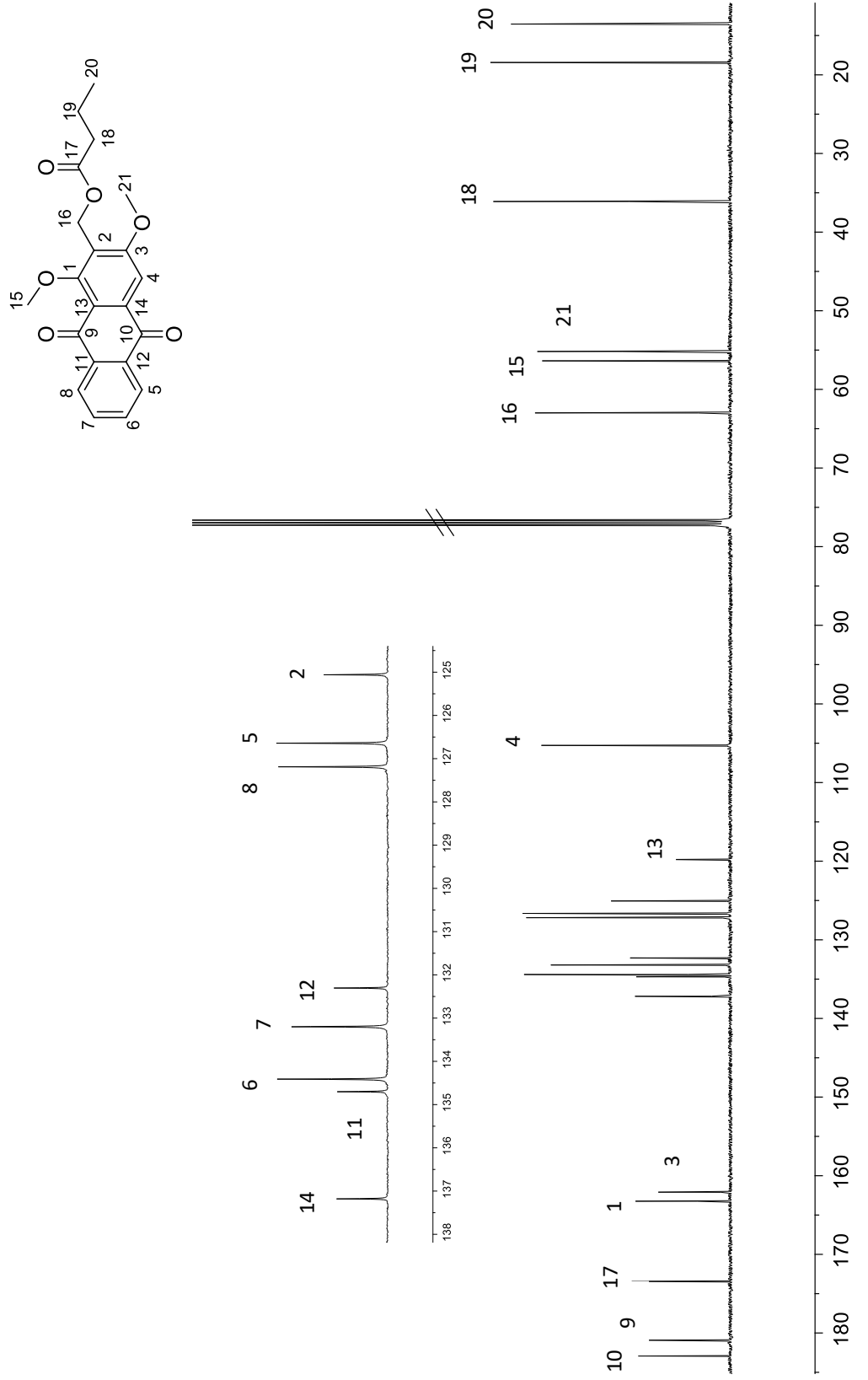


Figura A17. Espectro de RMN-¹³C de butirato de 1,3-dimetoxi-9,10-dihidroantracén-2-metilo. (400 MHz, CDCl₃)

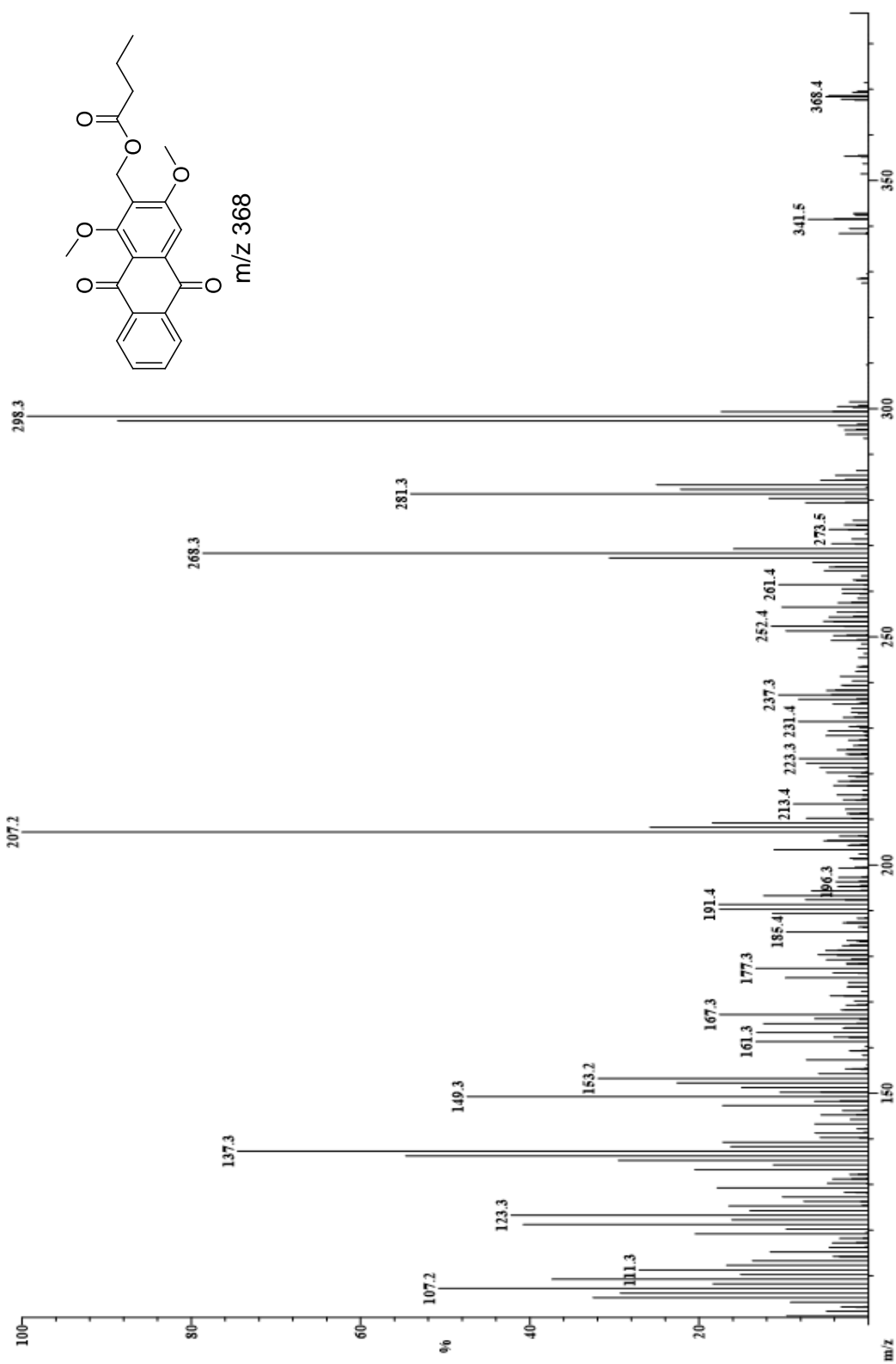


Figura A18. Espectro de masas EI (70 eV) de butirato de 1,3-dimetoxi-9,10-dihidroantracén-2-metilo

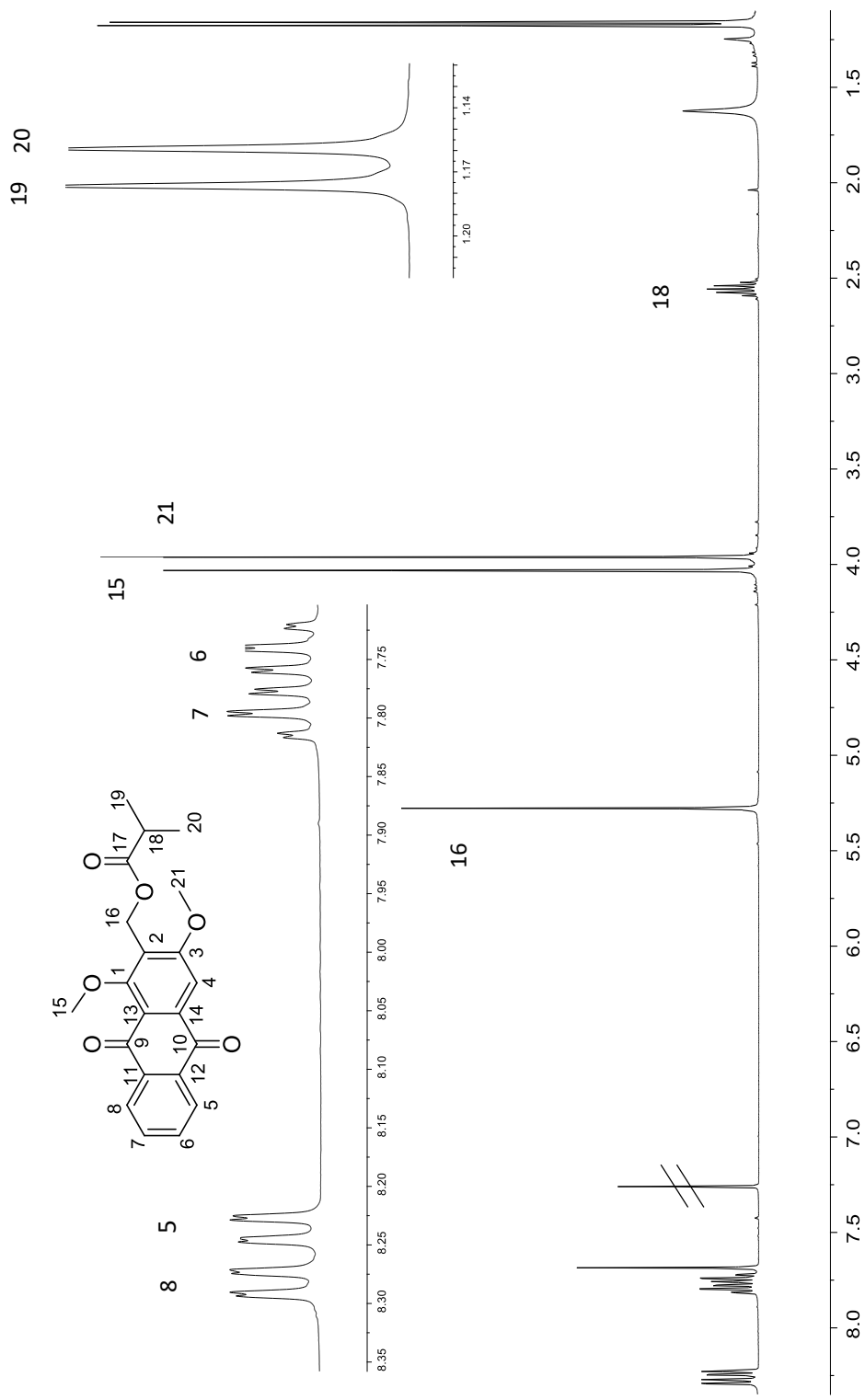


Figura A19. Espectro de RMN-¹H de isobutirato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo. (400 MHz, CDCl₃).

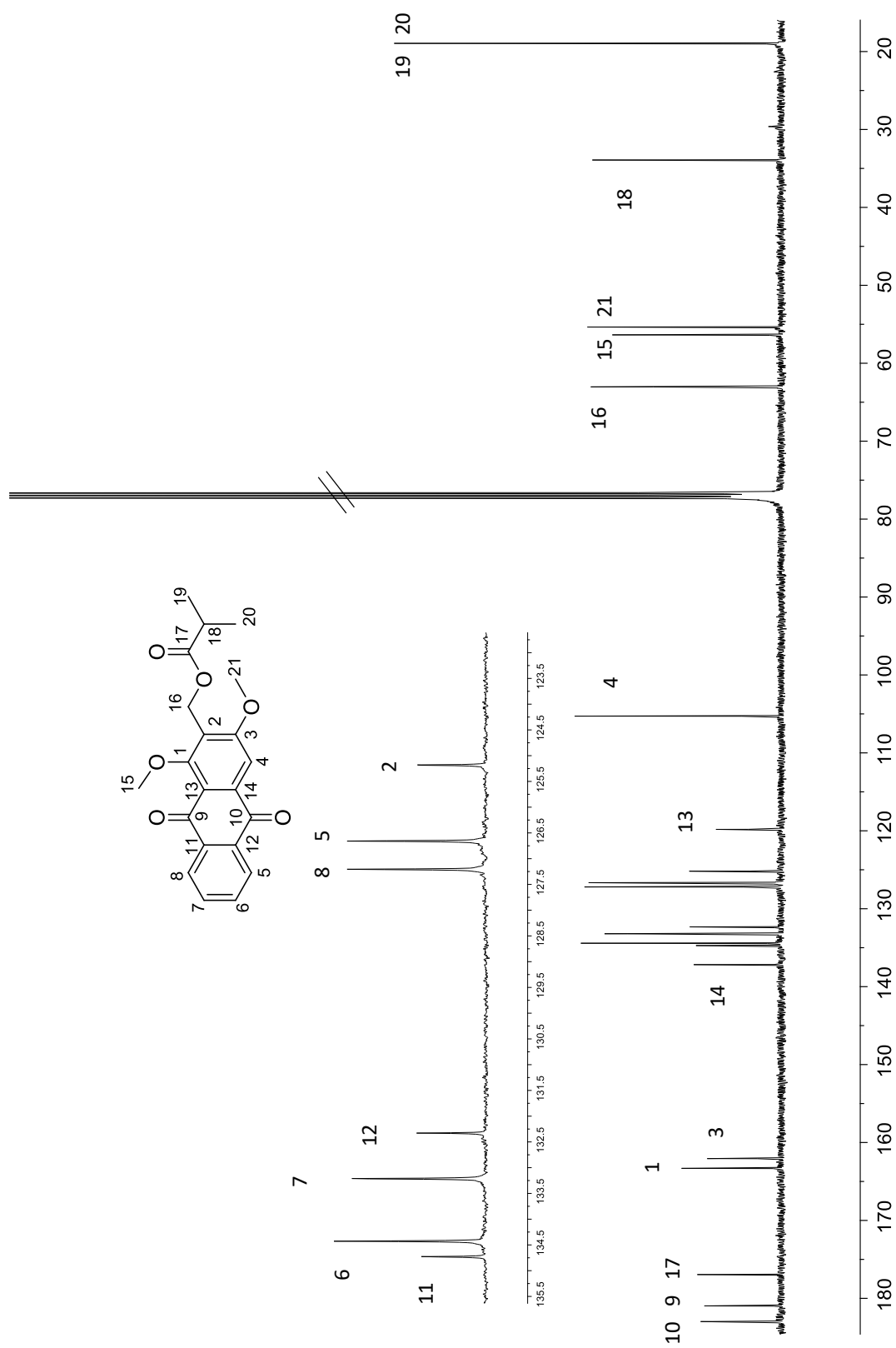


Figura A20. Espectro de RMN- ^{13}C de isobutirato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantraceno-2-metilo. (400 MHz, CDCl_3)

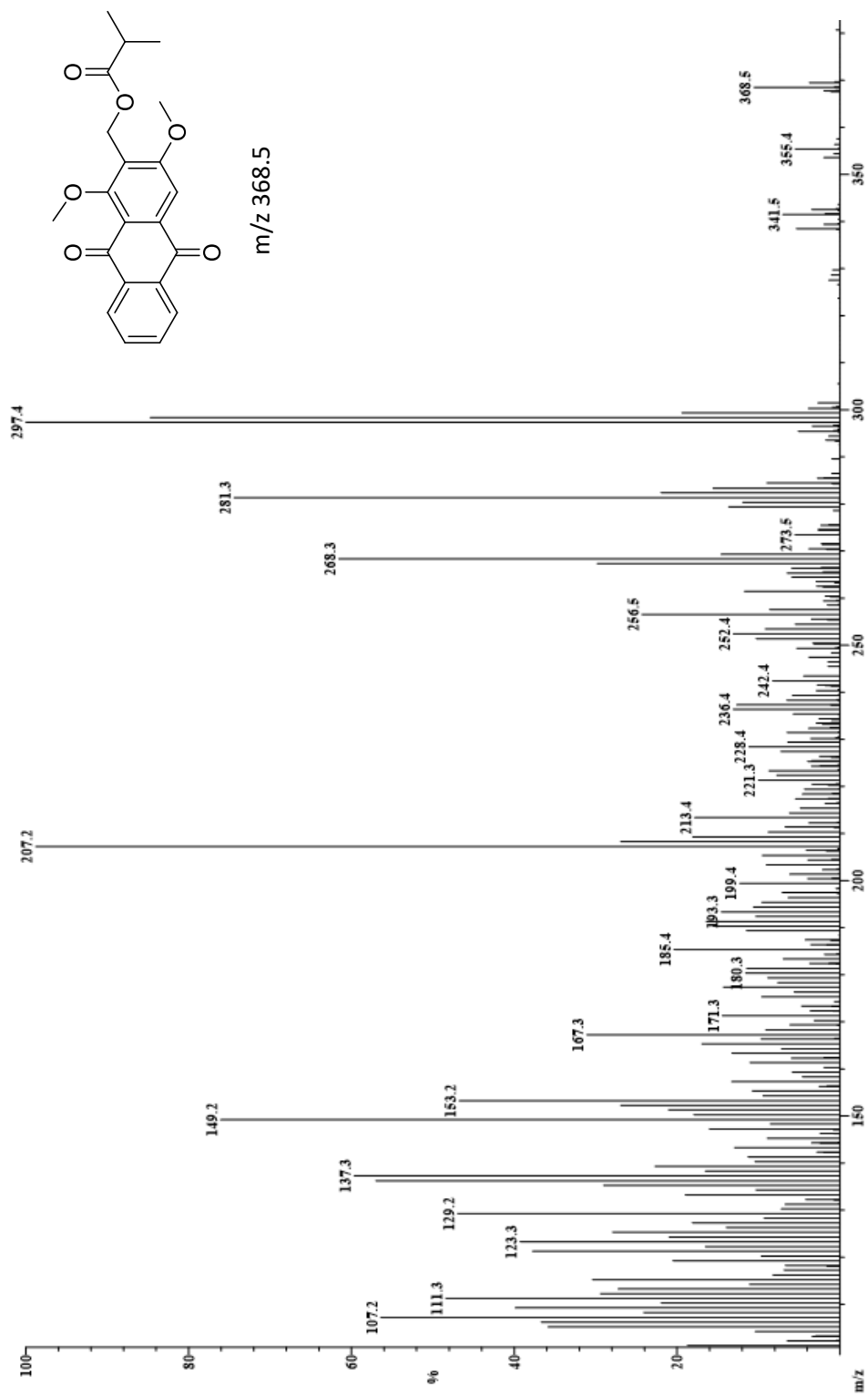


Figura A21. Espectro de masas EI (70 eV) de butirato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo

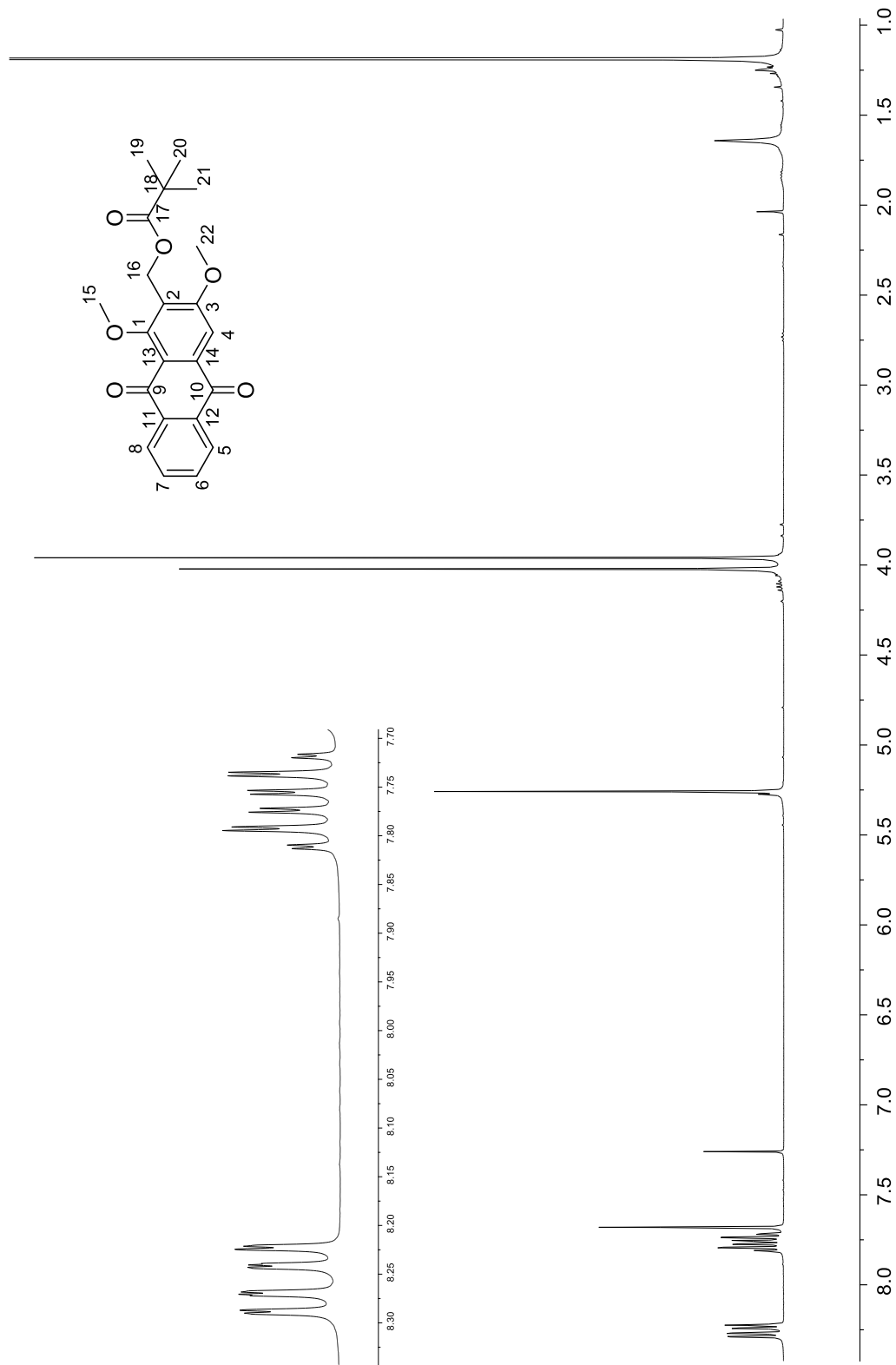


Figura A22. Espectro de RMN-¹H de pivato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metil. (400 MHz, CDCl₃).

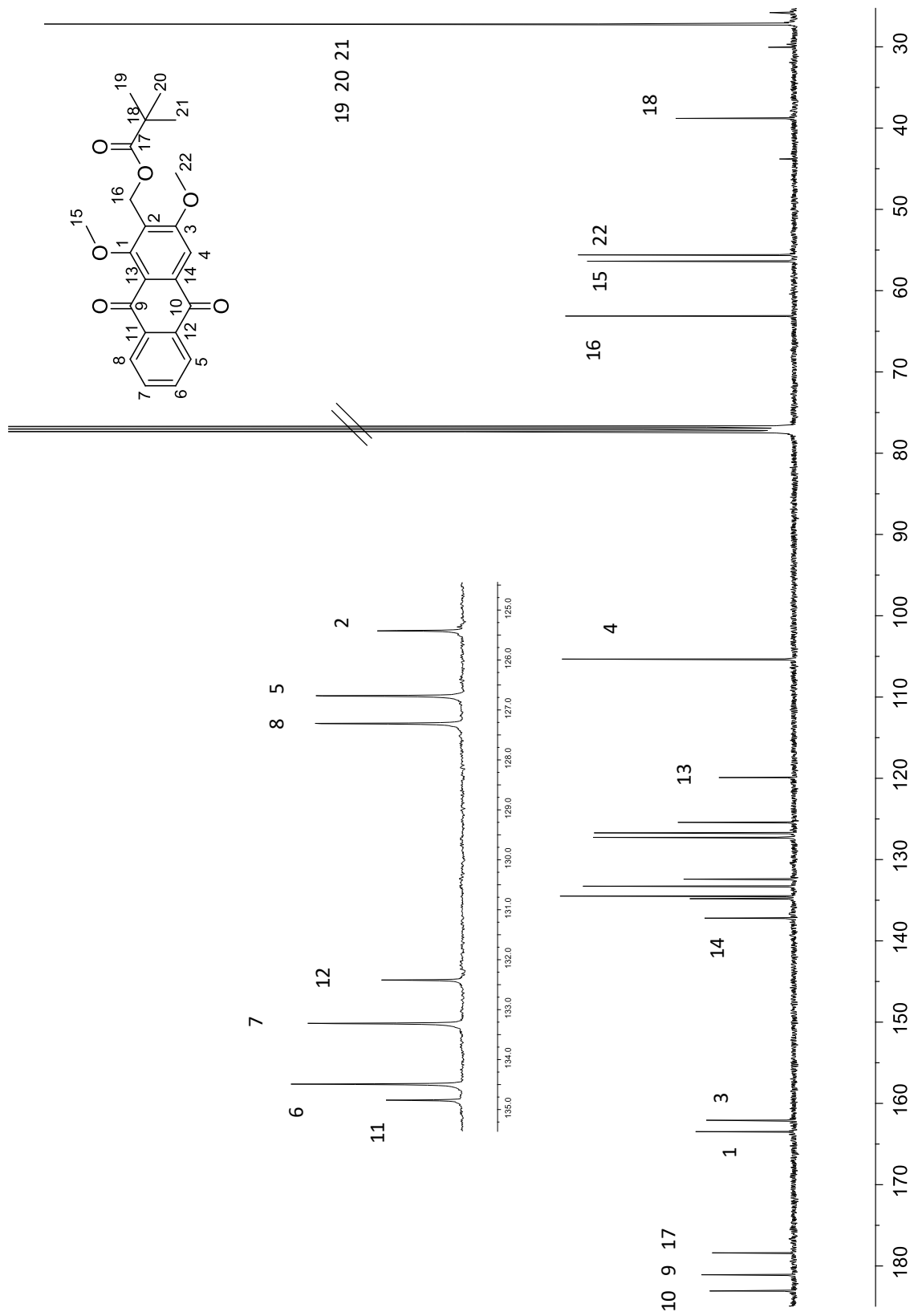


Figura A23. Espectro de RMN- ^{13}C de pivato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracén-2-metilo. (400 MHz, CDCl_3)

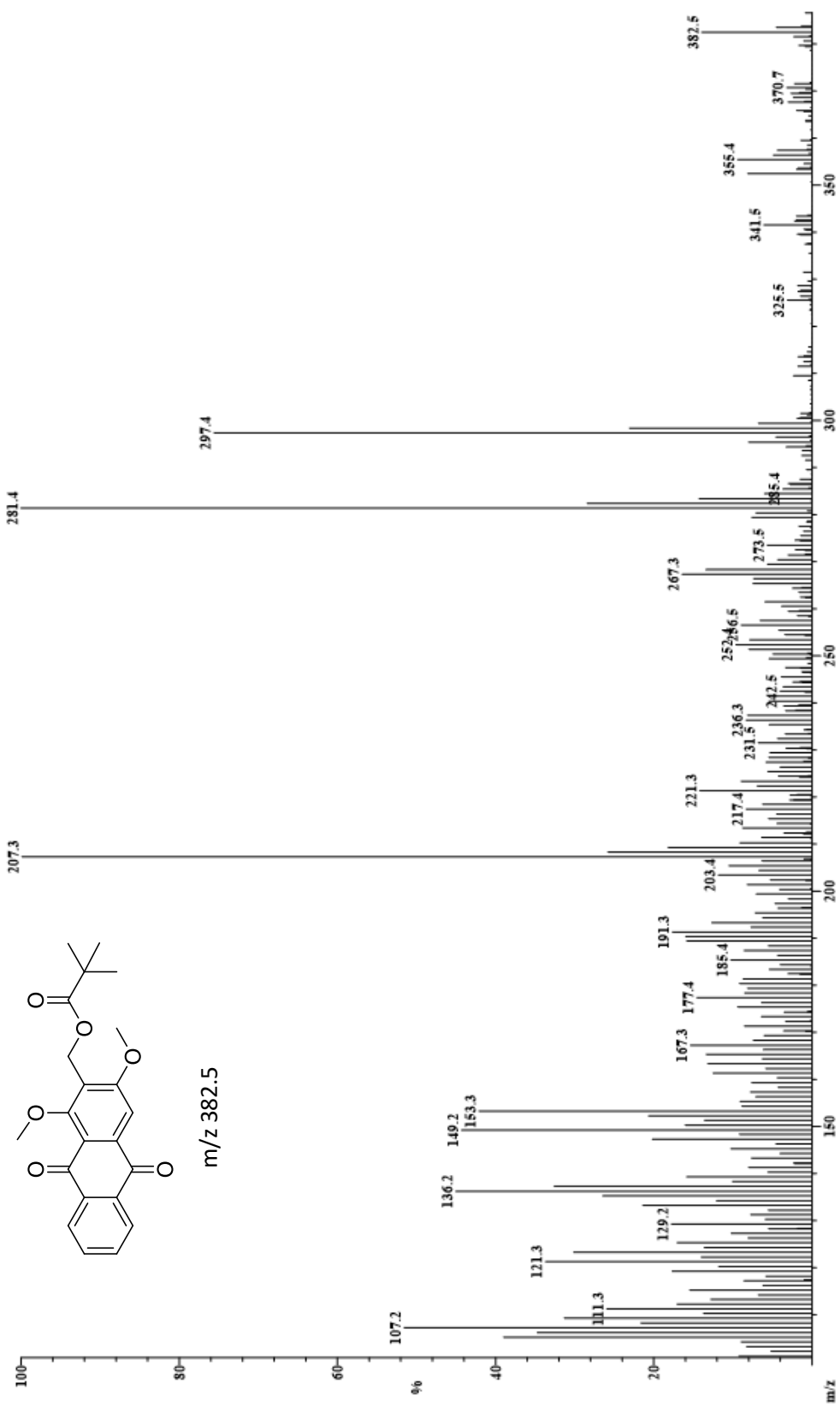


Figura A24. Espectro de masas EI (70 eV) de pivato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracen-2-metilo

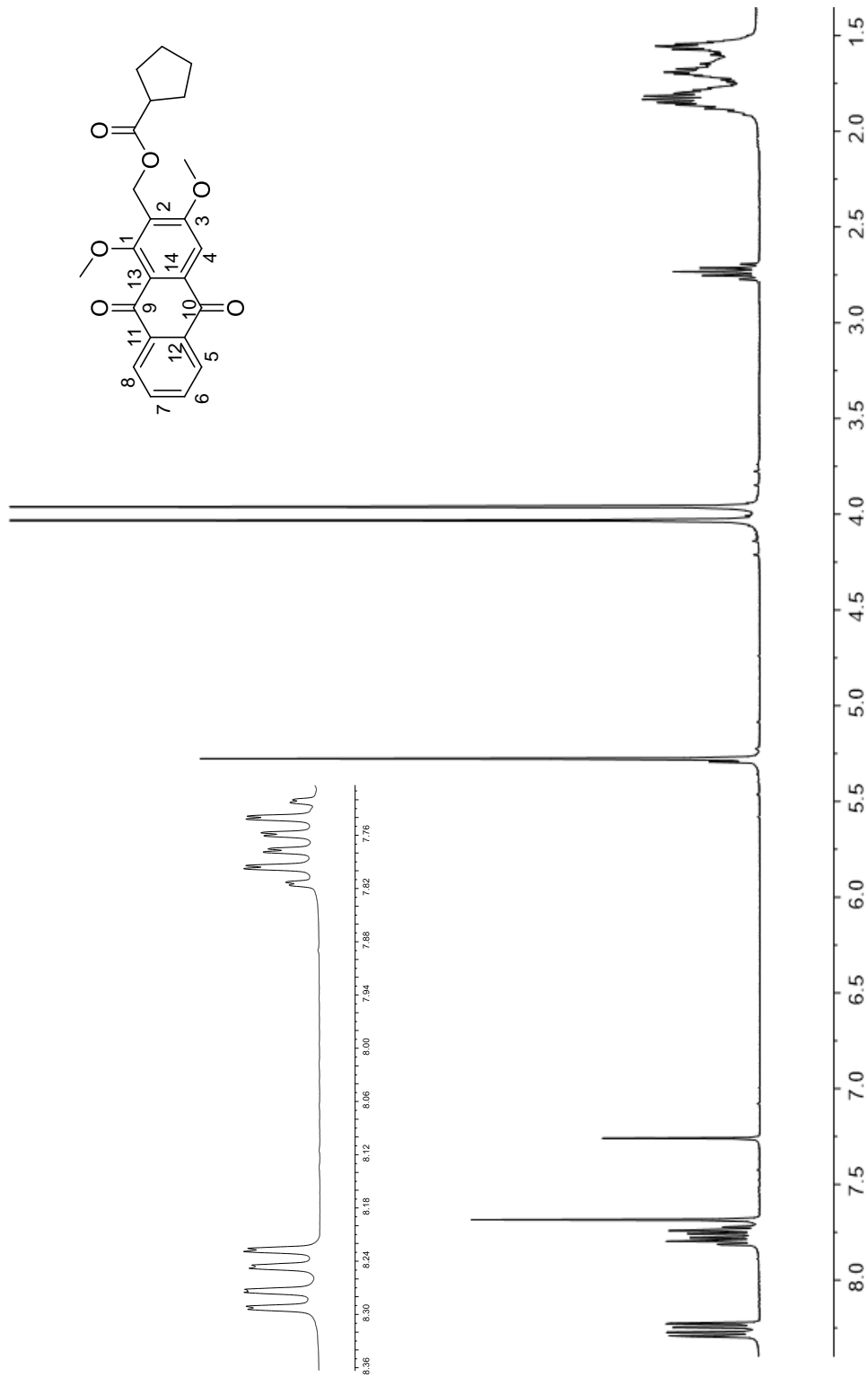


Figura A25. Espectro de RMN- ^1H de ciclopentanocarboxilato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracen-2-metilo. (400 MHz, CDCl_3).

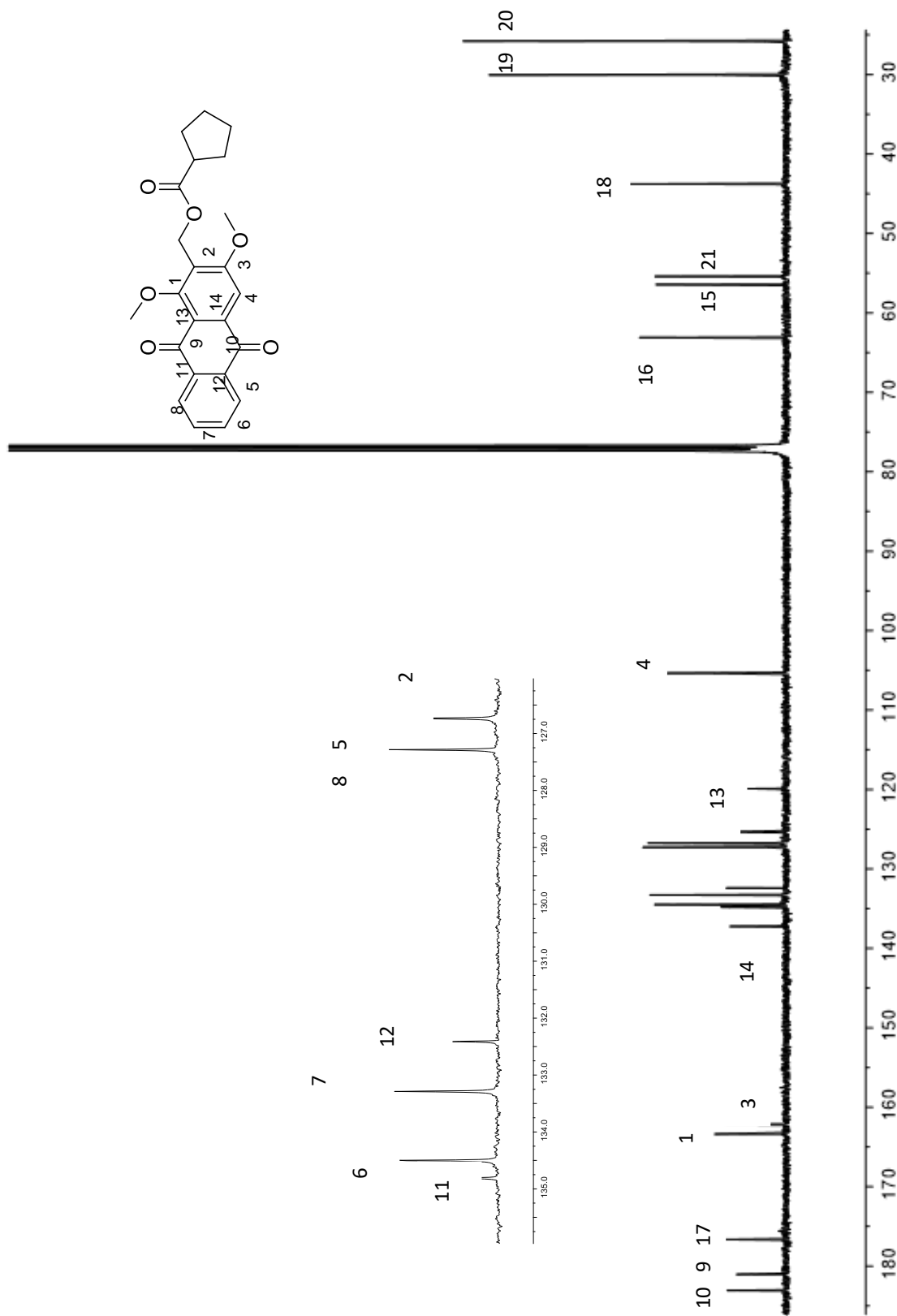


Figura A26. Espectro de RMN- ^{13}C de ciclopentanocarboxilato de 1,3-dimetoxi-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracen-2-metilo. (400 MHz, CDCl_3)

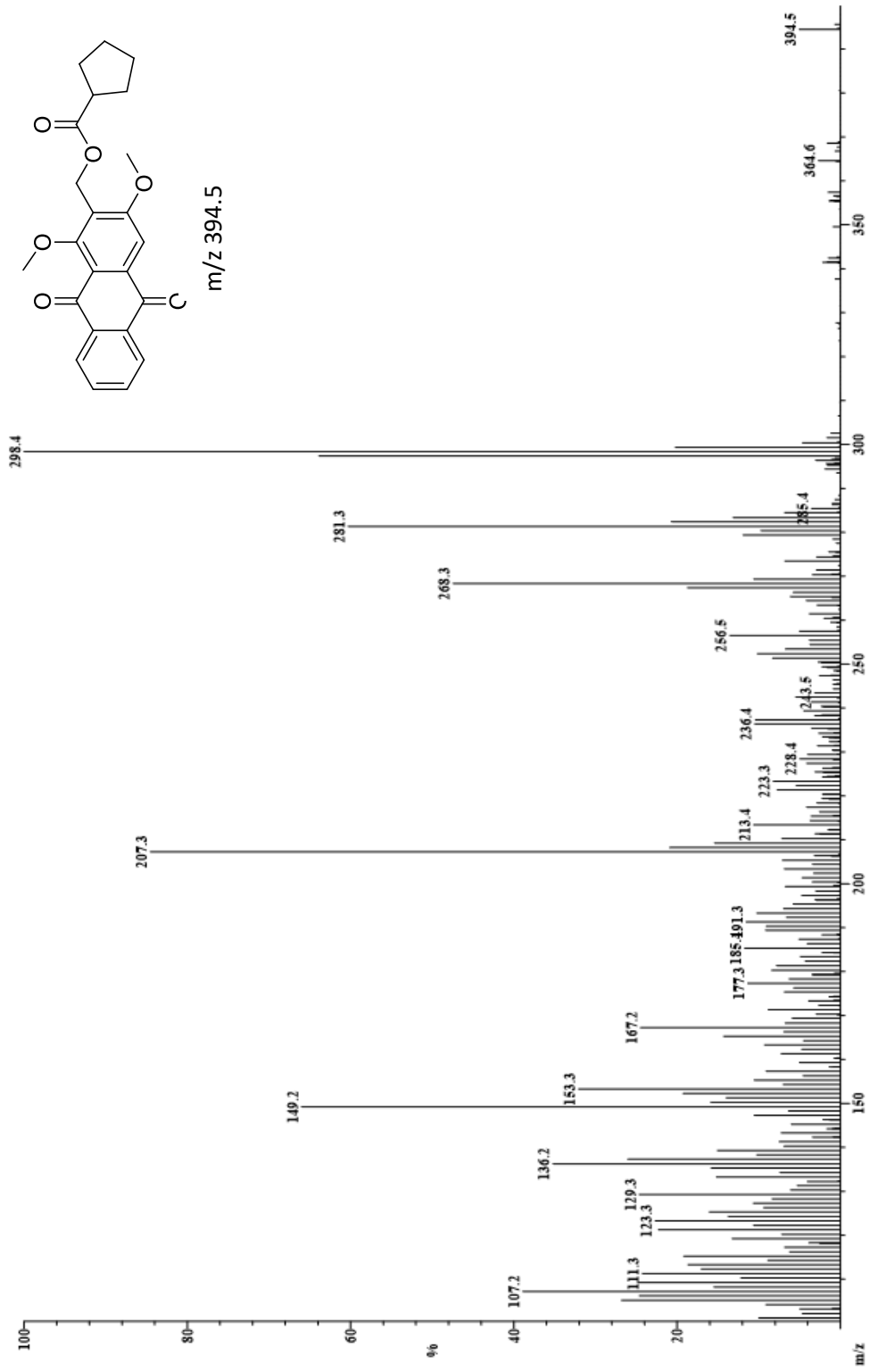


Figura A27. Espectro de masas EI (70 eV) de ciclopentanocarboxilato de 1,3-dimetoxi-9,10-dihidro-9,10-dioxo-9,10-dihidroantracen-2-metilo

